

UPLC 분석에 의한 밀 단백질 분석 및 알러지 저감 유전자원 탐색

윤영미^{1*}, 강천식¹, 정영근¹, 손재한¹, 박태일¹, 김정호¹, 김양길¹, 박종호¹, 송태화¹, 박철수²

¹전북 완주군 이서면 혁신로 181, 국립식량과학원 작물육종과

²전북 전주시 덕진구 백제대로 567, 전북대학교 작물생명과학과

[서론]

밀은 종실내에 함유되어 있는 단백질 함량 및 질적 특성에 따라 밀가루의 용도(강력분, 중력분, 박력분)가 달라진다. 밀 단백질은 크게 산과 염기에 용해되는 글루테닌과 알콜에 용해되는 글리아딘으로 구분되며, 글루테닌은 분자량이 큰 고분자 글루테닌 서브유닛(HMW-GS), 저분자 글루테닌 서브유닛(LMW-GS)으로, 글리아딘은 α -, β -, γ -, ω -글리아딘으로 다시 나누어진다. 글루테닌은 밀가루 반죽의 탄성, 글리아딘은 점성과 관련이 있으며, 밀가루에 수분첨가 후 반죽에 의해 네트워크 구조를 가진 글루테닌이 형성되어 효모의 발효에 의해 생성된 CO₂를 가두면서 빵을 부풀게 한다. 하지만 이러한 특성을 가지고 있는 글루테닌은 환자들의 알러지원으로 작용하면서 셀리아병(celiac disease), WDEIA를 유발하기도 한다. 본 연구에서는 ω 5-글리아딘과 γ -글리아딘의 일부가 제거된 오프리와 같은 알러지 저감 자원이면서, HMW-GS에 5+10(*Glu-D1*)을 보유하여 품질특성이 우수할 것으로 기대되는 유전자원을 탐색하고자 UPLC를 이용하여 밀 글리아딘과 글루테닌을 분석하였다.

[재료 및 방법]

농촌진흥청 국립식량과학원에서 보유한 인공교배집단(crossing block, CB) 608개 유전자원으로부터 ω 5-gliadin이 저감된 자원을 탐색하고자 UPLC를 이용하여 밀 글리아딘과 글루테닌을 분석하였다. 밀 글루테닌과 글리아딘 추출 및 분석은 Yan 등(2014)의 방법과 Han 등(2015)의 방법을 변형하여 수행하였다. 각각의 글리아딘과 글루테닌 추출물은 0.2 μ m PVDF membrane filter로 여과 후 PDA가 장착된(λ : 210 nm) ACQUITY UPLC®(Waters, USA)를 이용하여 분석하였다. 글리아딘과 글루테닌의 분석 조건은 동일하였으며, 분석을 위해 컬럼은 Peptide BEH C18 column(300 Å, 1.7 μ m, 2.1 mm \times 50 mm, Waters), 이동상은 0.1% TFA in water(A), 0.1% TFA in acetonitrile(B)로, B용매에서 기울기 20%에서 47%로 30분간 변화를 주었다. 컬럼 온도와 샘플 온도는 각각 55°C와 10°C로, 주입량은 3 μ l, 유속은 0.55 μ l/min로 조정하여 분석하였다. SDS-PAGE를 이용한 밀 글리아딘과 글루테닌의 분석은 Singh(1991)의 분석법을 변형하여 수행되었다.

[결과 및 고찰]

국립식량과학원에서 CB자원으로 보유하고 있는 국내 육성 품종(금강, 고소 등)과 계통, 붉은곰팡이 저항성을 가진 외국 품종(Satant, Kakatsi 등)과 계통 등 608개의 자원이 분석에 이용되었다. 글루테닌의 HMW-GS와 글리아딘 피크의 확인은 금강을 포함한 40개의 국내 육성 밀 품종의 SDS-PAGE 분석과 UPLC 분석값을 비교하여 수행되었다. LC 분석은 30분 동안 이뤄졌으며, HMW-GS는 15분 이전에 모두 검출되었다. *Glu-D1y* subunit인 12, 10이 7-8분 시간에 가장 먼저 검출되었고 *Glu-A1*의 subunit인 1과 2*가 13분으로 가장 나중에 검출되었다. 금강의 HMW-GS는 10, 5, 8, 7, 2* subunit 순서로 피크가 확인되었고, 오프리는 12, 2.2, 8, 7, 2* subunit 순서로 피크가 분리되었다. 교배집단에서 오프리와 같은 글리아딘 피크 양상을 보이는 자원은 16WCB048 등 22개 유전자원이었으며, 이들은 ω 5-글리아딘 검출 시간대에서 peak가 확인되지 않아 ω 5-글리아딘이 감소된 자원임을 알 수 있었다. 또한 이들 자원은 SDS-PAGE 분석을 통해 ω 5-글리아딘이 검출되지 않음을 재확인하였다. 향후 이들 자원에 대한 지속적인 알러지 저감 가능성에 대한 연구를 수행할 계획이다.

[사서]

본 연구는 농촌진흥청 아젠다 사업(과제번호: PJ012527042017)의 지원에 의해 수행되었다

*주저자: Tel. 063-238-5224, E-mail. mi3710@korea.kr