

韓國大豆에서의 Trypsin Inhibitor Variant 의 分布와 遺傳

崔 鍾 烈 · 張 炳 皓*

Distribution and Inheritance of Trypsin Inhibitor Variant in Soybeans Grown in Korea

Choi, J. Y. and B. H. Chang*

ABSTRACT

Seed proteins of 51 varieties of soybean were separated by disc electrophoresis. Nine varieties had Rf 0.79 electrophoretic band, and 42 varieties had Rf 0.83 band. The frequency for Rf 0.79 was 0.176 and the frequency for Rf 0.83 was 0.824.

The F₁ seeds of crossed between Kumgangdaepip (Rf 0.79) and Uidu (Rf 0.83) possessed both bands. Analysis of 96 F₂ seeds showed a ratio of 22 : 53 : 21 (Rf 0.79 : Rf 0.79/Rf 0.83 : Rf 0.83), suggesting single gene control with two codominant alleles.

緒 言

Trypsin inhibitor 는 大豆를 포함하여 豆類에 널리 分布되어 있으며, 豆類가 飼料로서 家畜에 의하여 攝取되었을 때 蛋白質 消化에 미치는 影響 때문에, 깊은 關心의 對象이 되어왔다.

大豆는 生食으로 攝取되었을 때 pancreatic hypertrophy 를 誘發시키며^{3,4,15}, methionine 과 cystine 間의 均衡을 攪亂함으로써 生長을 抑制하는 것으로 推測된다². 그러나 trypsin inhibitor 는 비단 豆類에 만 局限된 것이 아니라, 감자, 고구마, 사탕무 및 그밖에 穀類에도 널리 存在하고 있으며¹⁹, 이러한 廣範圍한 分布는 植物體에서 trypsin inhibitor 가 擔當하는 役割의 重要性을 暗示하고 있으나, 그 役割에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 다만 蛋白質 加

水分解의 制禦나, 細菌 또는 害虫의 侵入에 대한 植物體의 防禦機構로서의 役割도 trypsin inhibitor 의 機能中의 하나라고 생각되고 있다^{9,19}.

大豆의 trypsin inhibitor 는 Kunitz¹²에 의하여 처음으로 精製되었으며, 最少 4種이 있는 것으로 報告되고 있으나^{1,7,8,12,16,20}, 그 活性의 大部分은 Kunitz trypsin inhibitor 로 알려진 SBTI-A₂에 의한 것으로 믿어지고 있다¹⁷.

Singh *et al*¹⁸은 disc electrophoresis 에 의하여 大豆의 種實 蛋白質을 分離한 후, acrylamide gel 을 front 로부터 一定 間隔으로 切斷해서 分離畫分을 溶出시키고, trypsin inhibitor activity 를 檢出함으로써 2種의 electrophoretic forms 를 確認했으며, 交雜試驗의 F₂ 分離比로부터 이들의 遺傳이, 一座位에서의 두 codominant alleles 에 의하여 支配된다고 假定했다. Clark *et al*⁵은 美國 大豆 294 品種의 種實

* 江原大學校 農科大學

*College of Agriculture, Kangwon National Univ., Choonchon Korea 200

蛋白質을 分離하고, 이들 soybean trypsin inhibitor (SBTI) variant의 分布에 대하여 報告했으며, Hymowitz·Hadley¹¹⁾는 Singh 등이 使用한 同一한 品種들의 交雜試驗에서 Singh 등의 假定的 正當性を 確認했다. 또 Hymowitz¹⁰⁾는 韓國과 日本에서 由來된 系統에서 第2의 SBTI variant를 發見했고, Orf·Hymowitz¹³⁾는 이들 variant가 codominant multiple allelic system을 形成하며, Kunitz trypsin inhibitor의 缺在는 이들 codominant alleles에 대하여 劣性으로 行動한다고 했다¹⁴⁾.

本 論文에서는 韓國 大豆에서의 soybean trypsin inhibitor variant의 分布와, 交雜試驗의 F₂에서 얻은 이들 variant의 分離結果에 대하여 報告하였다.

材料 및 方法

1. SBTI variant의 分布 : 分布調査를 위하여 江原大學校 農科大學 實驗圃場에서 維持해온 大豆 51 品種을 使用했다.

2. SBTI variant의 遺傳 : 金剛大粒(Rf 0.79)과 義豆(Rf 0.83)를 交雜시키고, F₁, F₂의 種實 蛋白質을 種實別로 分離하여 比較했다.

3. Electrophoresis : Electrophoresis는 Davis⁶⁾의 方法에 의하였으나 sample gel은 使用하지 않았다. 大豆는 種皮, 幼芽, 幼根을 除去하고 子葉만을 亂鉢에서 微細하게 粉碎하고, 0.2 g을 秤量하여 su-

crose 10%가 包含된 acetate buffer(0.084 M) 4ml에 浸漬시켰다. 24時間 後, 10,000×g에서 遠心分離하고 上澄液 50μl를 注射器로 spacer gel 上部에 注入했다. 分離 後에 gel을 0.5% naphthal blue black에서 1時間 染色했고, 7% acetic acid에서 脫色했다.

結果 및 考察

51 品種의 種實 蛋白質을 分離한 結果 品種들은 trypsin inhibitor variant에 따라 寫眞 1과 같이 Rf 0.79 band(slow-moving band)와 Rf 0.83 band(fast-moving band)를 갖은 두 群으로 나누어지며, 品種間 分布는 表 1과 같다.

51 品種中 9 品種이 slow band(Rf 0.79)를 갖고 있고 42 品種이 fast band(Rf 0.83)를 갖고 있었다. 報告에 의하면 美國 大豆 294 品種에서의 slow band의 分布比率는 7%였고⁹⁾, 1,595 導入種에서의 分布比率는 21%였으며¹⁰⁾ 本調査에서는 17.6%였다. 美國 大豆에서 slow band를 나타내는 338 導入種중 에 30%는 韓國에서 由來된 것이며, 韓國 大豆에서 的 slow band의 分布比率와 比較하여 興味있는 일이다.

金剛大粒(Rf 0.79)과 義豆(Rf 0.83)의 F₁은 Rf 0.79 band와 Rf 0.83 band를 모두 갖고 있었으며, F₂에서는 Rf 0.79, Rf 0.79/Rf 0.83, Rf 0.83 bands의 分離를 보였고(寫眞 2), 分離比는 表 2와 같았다.

F₂에서 Rf 0.79 : Rf 0.79/Rf 0.83 : Rf 0.83은 22 :

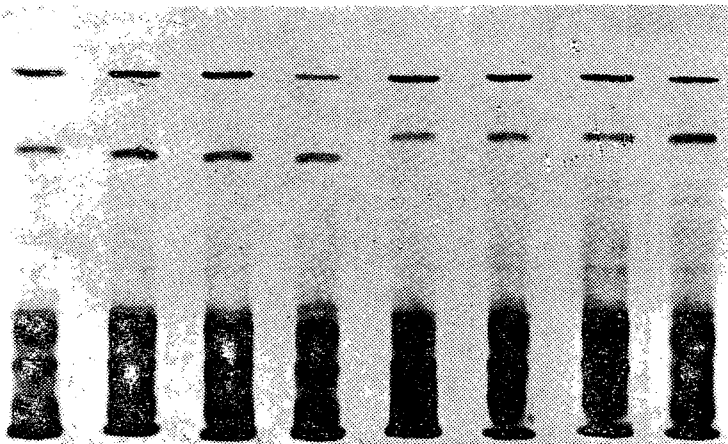


Fig. 1. Electrophoretic patterns of soybean seed extracts and trypsin inhibitor. From left to right : Kumgangdaerip, Yukwoo 7, Chongkok, Haman, Hamnam, Kumsan, Miltae and Bongcheon-baktae.

Table 1. Distribution of Rf 0.79 and Rf 0.83 bands in seed proteins of soybean varieties.

Rf 0.79		Rf 0.83		
Kumgangdaerip (金剛大粒)	Okzo (玉 造)	Gapsanjaerae (甲山在來)	Wulsan (蔚 山)	Yeongil (迎 日)
Bongeu (鳳 儀)	Pyongyang (平 壤)	Jeonzujaerae (全州在來)	Baekdu (白 豆)	Souweon 9 (水原9號)
Hamandaerip (咸安大粒)	Jandanbaekmok (長端白目)	Baektae (白 太)	Pyeongbuktae (平北太)	Kumgangsorip (金剛小粒)
Jeokgok (赤 殼)	Euidu (義 豆)	Chungbukwhang 1 (忠北黃1號)	Iksan (益 山)	Hoibaekdaerip (灰白大粒)
Jwinoonkong (취논콩)	Kumdu (金 豆)	Suweon 2 (水原2號)	Chungbuktae (忠北白)	Oealkong (외알콩)
Gilkumkong (길금콩)	Sangdu (尙 豆)	Heukhyeop (黑 莢)	Iyonkong (이용콩)	Yuwoldu (六月豆)
Dancheon (端 川)	Chujeon (秋 田)	Angaeburi (안개부리)	Baekjomkong (白종콩)	Huekdaedu (黑大豆)
Yukoo (陸羽7號)	Hamnam (咸 南)	Daedongtae (大同太)	Seonbijaebikong (선비재비콩)	Cheongtae (青 太)
Cheonggok (青 殼)	Kumsan (錦 山)	Manjutae (滿州太)	Mulkong (물 콩)	
	Miltae (密 太)	Buseok (浮 石)	Baekmioyal (白眉외알)	
	Bongcheondanbaek (奉天蛋白)	Poryeo (包 禮)	Baekjung 42 (白中42號)	

Table 2. Observed and expected F₂ segregation of electrophoretic bands from the cross kumgangdaerip × Uidu.

Item	Rf 0.79	Rf 0.79/Rf 0.83	Rf 0.83
Observed	22	53	21
Expected	24	48	24
χ^2	1.061		
Probability	70 - .50		

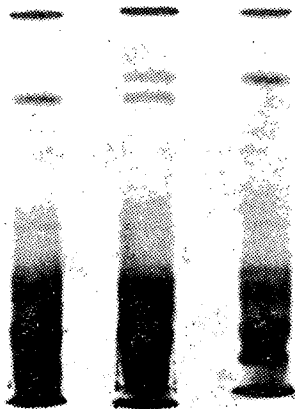


Fig. 2. 7.5 percent polyacrylamide gels of seed extracts from F₂ seeds of the cross Kumgangdaerip × Uidu. From left to right: Rf 0.79 (slow-moving band), Rf 0.79/Rf 0.83 (slow- and fast-moving bands), and Rf 0.83 (fast-moving band).

의 遺傳이 1座位에서의 두 codominant alleles 에 의해서 支配된다고 한 Singh 등¹⁸⁾과 Hymowitz¹⁹⁾의 結果와 一致한다.

Orf · Hymowitz^{13,14)}는 SBTI의 第2의 variant 와 SBTI의 缺在의 分布와 遺傳에 대하여 報告하고 있으나, 韓國品種에서는 아직 이들이 發見되지 않았다. 다만 前者의 경우는 美國大豆에서 이것을 갖은 두 도입 중 하나가, 韓國에서 由來된 것이기 때문에 韓國大豆에서도 第2의 variant를 갖고 있는品種이나 系統이 發見될 것으로 期待된다.

53:21로 分離되었으며, 이것은 1:2:1의 分離比에 잘 符合되고, soybean trypsin inhibitor variant

摘 要

韓國에서栽培되고 있는大豆에서의 trypsin inhibitor variant의 分布를 調査하기 위하여 51品種의 種實 蛋白質을 disc electrophoresis에 의하여 分離했다. 9品種이 Rf 0.79 band를, 그리고 42品種이 Rf 0.83 band를 갖고 있었으며, Rf 0.79의 分布比率은 17.6% 이었다.

金剛大粒(Rf 0.79band)과 義豆(Rf 0.83band)의 F₁은 Rf 0.79band와 Rf 0.83band를 모두 갖고 있었으며, F₂에서의 Rf 0.79 : Rf 0.79/Rf 0.83 : Rf 0.83의 分離는 22:53:21로서 이들 soybean trypsin inhibitor variant가 1쌍의 codominant alleles에 의하여 支配됨을 나타냈다.

引用 文 献

- Birk, Y. 1961. Purification and some properties of a highly active inhibitor of trypsin and chymotrypsin from soybeans. *Biochem. Biophys. Acta* 54:378-381.
- Booth, A.N., A.J. Robbins, W.E. Rebelin, and F. Deeds. 1960. Effect of raw soybean meal and amino acids in pancreatic hypertrophy in rats. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 104:681-683.
- Bray, D.J. 1964. Pancreatic hypertrophy in laying pullets induced by unheated soybean meal. *Poultry Sci.* 43:382-384.
- Chernick, S.S., S. Lepkovsky, and I.L. Chaikoff. 1948. A dietary factor regulating the enzyme content of the pancreas: Changes induced in size and proteolytic activity of the chick pancreas by ingestion of raw soybean meal. *Am. J. Physiol.* 155:33-41.
- Clark, R.W., D.W. Mies, and T. Hymowitz. 1970. Distribution of a trypsin inhibitor variant in seed proteins of soybean varieties. *Crop Science* 10:486-487.
- Davis, B.J. 1964. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 121:404-427.
- Eldridge, A.C., R.L. Anderson, and W.J. Wolf. 1966. Polyacrylamide gel electrophoresis of soybean whey proteins and trypsin inhibitors. *Arch. Biochem. Biophys.* 115:495-504.
- Frattali, V., and R.F. Steiner. 1968. Soybean inhibitors. I. Separations and some properties of three inhibitors from commercial crude soybean trypsin inhibitor. *Biochemistry* 7:521-530.
- Green, T.R., and C.A. Ryan. 1972. Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves: A possible defense mechanism against insects. *Science* 175:776-777.
- Hymowitz, T. 1973. Electrophoretic analysis of SBTI-A₂ in the USDA soybean germplasm collection. *Crop Science* 13:420-421.
- Hymowitz, T., and H.H. Hadley. 1973. Inheritance of a trypsin inhibitor variant in seed protein of soybeans. *Crop Science* 12:197-198.
- Kunitz, M. 1945. Crystallization of a trypsin inhibitor from soybean. *Science* 101:668-669.
- Orf, J.H., and T. Hymowitz. 1977. Inheritance of a second trypsin inhibitor variant in seed protein of soybeans. *Crop Science* 17:811-813.
- Orf, J.H., and T. Hymowitz. 1979. Inheritance of the absence of the Kunitz trypsin inhibitor in seed protein of soybeans. *Crop Science* 19:107-109.
- Rachis, J.J. 1965. Physiological properties of soybean trypsin inhibitors and their relationships to pancreatic hypertrophy and growth inhibition of rats. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 24:1488-1497.
- Rachis, J.J., and R.L. Anderson. 1964. Isolation of four soybean trypsin inhibitors by DEAE-cellulose chromatography. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 15:230-235.
- Rachis, J.J., H.A. Sesame, R.K. Mann, R.L. Anderson, and A.K. Smith. 1962. Soybean trypsin inhibitors: Isolation, purification and physical properties. *Arch. Biochem. Biophys.* 98:471-478.
- Singh, L., C.M. Wilson, and H.H. Hadley. 1969. Genetic differences in soybean trypsin inhibitors separated by disc electrophoresis. *Crop Science* 9:489-491.
- Vogel, R., I. Trautschold, and E. Werle. 1969. Natural proteinase inhibitors. Academic Press, N.Y.

20. Yamamoto, M, and T. Ikenaka. 1967. Studies on soybean trypsin inhibitors. I. Purification and characterization of two soybean trypsin inhibitors. *J. Biochem.(Tokyo)* 62:141-149.