

## 콩 종실 단백질의 유전변이

김 용 호

순천향대학교 자연과학대학 식물자원전공

### Genetic variation of 7S and 11S globulins in soybean seed

Yong-Ho Kim

Dept. of Botanical Resources, Soonchunhyang University, Asan-si, Choongnam, 336-745, Korea

#### ABSTRACT

7S and 11S globulins are two major storage proteins in soybean seed. For improving the quality of soybean seed protein, an increase of 11S/7S ratio would be a desirable objective because 11S globulin contains much more sulfur-containing amino acids than 7S globulin. In this study, six soybean varieties grown at three locations were used for genetic variation analysis of 7S and 11S globulins. It was possible to screen the soybean genotypes having aberrant subunit compositions of the two globulins by a sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE). So, heritabilities, genotypic and phenotypic correlations among eight globulin fraction contents of soybean seeds were estimated. The mean value of 7S and 11S globulin fraction contents were 38.9% and 61.1%, respectively, and the ratio of 7S to 11S globulin ranged from 0.58 to 0.74. The high heritability value was found in  $\beta$  subunits but the values of acidic and basic subunits were relatively low. Genotypic correlations were higher than the corresponding phenotypic correlations in most of globulin subunit contents.  $\beta$  subunits was negatively correlated with  $\alpha$  and  $\alpha'$  subunits among 7S fractions, while no significant correlation between  $\alpha$  and  $\alpha'$  subunits could be found In case of 11S fractions, acidic and basic subunits exhibited no genotypic but negative phenotypic correlation.

**Key word :** Storage protein, 7S and 11S globulin, Heritability, Genetic analysis

#### 서 언

콩은 우리나라에서 수천년동안 재배되어 왔으며, 단백질과 지방의 함량이 높아 영양적으로 우수한 까닭에 예로부터 간장, 된장, 두부, 콩나물, 밥밀콩 등

우리 국민의 전통식품으로 이용되어온 중요한 작물이다. 특히 식물성 단백질인 콩의 식품이용은 콩의 높은 단백질 함량과 질의 우수성으로 인해 동물성 단백질의 결점을 보완할 수 있어 영양적, 경제적 측면으로도 큰 비중을 차지하고 있다. 이러한 콩 단백질의 우수한 영양적 가치와 독특한 기능성은 콩 자

---

본 연구는 순천향대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행되었음.

Corresponding author: 김용호, 우.336-745, 충남 아산시 신창면, 순천향대학교, 식물자원전공

체의 이용뿐만 아니라 식품제조시 식품구성성분으로서 단백질 이용도를 높일 수 있어 최근에는 다른 식품에 첨가하는 단백질 보강재료로도 이용되고 있으며, 따라서 콩 단백질의 식품가공원료로서의 가치는 더 높아지리라 생각된다.

콩에는 40% 내외의 단백질이 포함되어 있는데 이들의 대부분(90%)은 가용성 단백질이며, 이들 가용성 단백질은 대부분이 globulin으로서 저장단백질로 이용되고 나머지는 세포내 효소나 lipoprotein 등으로 되어 있다. 콩 단백질은 초원심분리하면 침강속도에 따라 2S, 7S, 11S와 15S 등 4가지로 구분되며 이중 7S와 11S가 전체 저장단백질의 70%를 차지한다 (Ibuchi와 Imahori, 1978; Tsukada 등, 1986). 7S와 11S의 주요차이는 아미노산 조성에 있어서 11S가 함황 아미노산인 메티오닌과 시스테인의 함량이 7S보다 몇배 높다는 것인데(Kitamura 와 Kaizuma, 1981; Ogawa 등, 1989), 콩 단백질이 양질의 단백질이기는 하나 함황아미노산 부족이 큰 결점인 것을 감안할 때 11S 함량을 높이는 단백질 조성 개량의 의의는 크다고 하겠다. 이와함께 7S량을 줄이면 11S량이 많아진다는 실험 결과(Kitamura 등, 1984)등으로 인해 11S/7S비율을 높이기 위한 연구가 국내외에서 계속 중이다.

일반적으로 7S와 11S 확인은 원심분리를 이용한 분리 및 정제와 전기영동을 통하여 그 subunit를 확인하고 있으나 시간과 노력이 많이 소모되는데, Cho 등(1987)은 NIRS(Near Infrared Reflectance Spectroscopic)를 이용한 결과 7S와 11S 함량 분석이 가능함을 보고한 바 있으며, 따라서 앞으로 다양한 정밀기기를 이용한 손쉽고 새로운 분석방법이 개발됨으로써 콩 단백질 개량의 목표도 쉽게 이루어질 수 있리라 판단된다.

본 연구에서는 콩 저장단백질 조성 개량을 위한 기초연구로 몇가지 콩 품종에서 7S와 11S분석을 시도하고, 이들 분획단백질의 유전변이를 조사하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

공시재료 : 본 실험에 공시된 재료들은 1997년에 국내 3개지역에서 재배, 수확된 콩 장려품종중 각 용도별로 대표적인 품종(장류콩: 황금콩, 만리콩; 나물콩: 광안콩; 밥밀콩: 검정콩1호; 풋콩: 큰을콩, 화엄풋콩)들로서 작물시험장(수원), 호남농업시험장(익산), 영남농업시험장(밀양)등에서 분양받아 사용하였다. 수집된 6개의 장려품종들은 40 mesh로 분쇄한 후 냉장 보관하면서 분석에 이용하였다.

전기영동 : 전기영동은 Kitamura 등(1984)의 방법을 조정하여 SDS-PAGE법(Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis)으로 실시하였다. 10mg의 종자시료를 buffer(0.05M Tris-HCl, 0.2% SDS, 5M urea) 2 ml에 넣은 후 하룻밤 방치시키고 다시 10ul의 mercaptoethanol을 첨가하여 7시간 동안 전기영동을 실시하였으며, acrylamide gel은 7%로 조정하였다. 염색은 0.2% Coomassie blue R2-250을 H<sub>2</sub>O-MeOH-HOAc (48 : 45 : 7)용액에 녹인 후 이 용액에서 gel을 24시간 동안 염색시키고, 다시 H<sub>2</sub>O-MeOH-HOAc (73 : 20 : 7)용액에서 탈염색 시킨 다음 그 양상을 관찰하였다.

단백질 함량 측정 및 유전분석 : 11S와 7S의 양은 densitometer(Scan master 3+)를 사용하여 측정하였으며 단백질 함량의 비교 분석은 SAS 6.03을 이용하였다. Densitometer에 의한 함량 추정시 미량 밴드들의 함량은 무시하고 7S와 11S의 함량 합을 100%로 취급하였다. 유전력은 분산분석법에 의한 광의의 유전력을 추정하였으며, 상관계수는 공분산분석에 의하여 공분산을 계산한 후 이들에 의해 다시 상관계수를 산출하였다.

## 결과 및 고찰

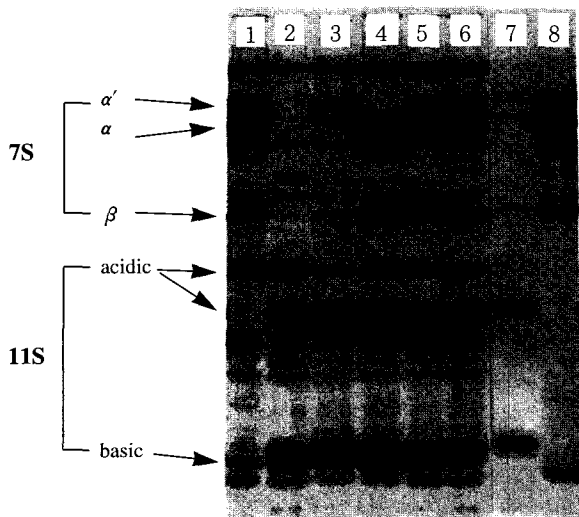
7S는  $\beta$ 와  $\gamma$ -conglycinin으로 되어 있는데 대부분이 낮은 이온 농도에서 9S로 변할 수 있는  $\beta$ -conglycinin (M.W=150,000)으로 이루어져 있으며(Ibuchi와 Imahori, 1978), 7S 단백질의 90%를 차지하는  $\beta$ -

conglycinin은 3가지 polypeptides( $\alpha$ : 57K daltons,  $\alpha'$ : 58K daltons,  $\beta$ : 46K daltons)로 구분되어진다. 11S(M.W.=350,000)인 glycinin은 몇개의 acidic(34-45K daltons)과 basic(19-23K daltons) subunit로 구성되어 있는데 이들은 disulfide bond로 연결되어 있다 (Ogawa 등, 1989). 그러나 Kitamura 등(1980)은 7S와 11S 모두 subunit의 수에 관해서는 아직까지 연구자에 따라 약간의 차이가 나타난다고 하였다.

콩 종실을 분쇄한 후 전기영동(SDS-PAGE)한 것이 그림 1이다. 7S와 11S의 subunit가 결핍된 mutant 들과 일반품종인 황금콩을 대비하여 볼 때 그림에서와 같이 11S와 7S로 구분할 수 있었으며 11S와 7S도

각각의 subunit로 구분되어졌다. 이밖에 원심분리를 이용하여 7S와 11S를 분획한 뒤 이들을 전기영동했을 때 crude 11S와 crude 7S는 각각의 특정 band를 확인할 수 있었으며 따라서 원심분리법에 의해 11S와 7S 분리가 가능함을 알 수 있었다. 그러나 그림에서 보는 바와같이 crude 11S와 7S는 깨끗하게 분리되지 않았으며 그 경향은 crude 11S에서 심하게 나타났는데, 이것은 원심분리시 pH 조정 등에 따라 purity가 높은 11S로 분리할 수 있으리라 판단된다.

표1은 densitometer를 이용하여 콩 종실의 7S와 11S 함량을 측정된 결과이다. 국내 장려품종인 공시재료들의 3개지역 4반복의 7S 함량 평균은 38.9%, 11S가 61.2%를 나타내어 7S/11S 비율은 0.64를 보였다. 공시품종들의 지역간 차이는 크지 않았지만 품종간의 변이는 나타났다. 표에 나타난 변이계수의 차이와 같이 7S가 11S보다 함량 변이가 크게 나타났다. 7S의 분획별 함량차이를 분석한 결과, 표로 제시하지는 않았지만  $\alpha$  함량은 장류콩 종류인 황금콩과 만리콩이 높게 나타나 전체적인 7S의 함량도 높게 나타난 반면,  $\beta$  함량은 풋콩류인 큰올콩과 화엄풋콩이 황금콩의 13.6%에 비해 현저히 떨어지는 8.1 - 8.5%의 함량을 보여 7S의 총함량도 낮게 나타났다. 지역간의 함량 차이가 크지 않아 콩 글로부린의 환경변이는 크지 않으리라 생각되나 풋콩류들의 파종기 및 등숙기가 기타 용도의 콩들보다 빠른 점을 감안할 때 7S의 함량변이와 기상과의 관계도 분석할 필요가 있으리라 판단된다. Kitamura 등(1981)은 7S low계통인 Mo-shi-dou Gong 503과 Keburi를 전기영동 방법을 이용해 발견한 후 이들의 11S/7S 비율을 확인한 결과 각각 1.61과 2.59였다고 하였으며, Ogawa 등(1989)은 교잡에 의해 7S low 계통을 육성하고 이들 육성계통은 부모본에 비해 11S량이 14%



**Fig 1.** SDS-PAGE patterns of the total seed protein in soybeans.

- 1: 11S low line,                      2: 7S low line  
 3: Mo-shi-dou Going 503( $\alpha$  and  $\beta$  low)  
 4: Keburi( $\alpha'$  -null)                5:  $\beta$  -low line  
 6: Hwangkeumkong(normal)  
 7: Crude 11S globulin                8: Crude 7S globulin

**Table 1.** Mean value and coefficient of variation for globulin fraction contents in soybean seeds obtained from six varieties at three locations.

	7S				11S		
	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	total	acidic	basic	total
Mean(%)	12.77±0.72	15.48±0.71	10.61±0.65	38.86±1.13	32.43±1.20	28.79±1.07	61.19±1.13
C.V.(%)	11.3	9.2	12.3	5.8	7.4	7.4	3.7

증가되었으며 함황아미노산의 함량도 20% 증가되었다고 하였다. 이같은 기존의 보고를 검토할 때에는 성분 개량육종을 할 수 있는 다양한 변이의 유전자원이 있으며 이들을 이용한 성분개량이 가능하므로, 앞으로 국산콩의 성분조성개량을 위해서는 많은 유전자원의 확보와 특성검정이 요구된다고 생각한다.

표2는 콩 글로부린 분획들의 함량에 대한 분산분석의 결과를 나타내었다. 표에서 보는바와 같이 품종간에는 유의성이 나타났지만 지역간 유의성은 없었다. 특히 7S에서는  $\alpha$ 와  $\alpha'$ 가 보다 유의성이 낮으므로 7S 함량을 낮추기 위한 성분육종시 이를 유념하는 것이 필요하리라 생각된다. 품종과 지역간의 상호작용은 유의성이 높게 나타났으므로 유전자원의 특성검정시 지역간 차이는 무시하여도 무리가 없으리라 판단된다.

작물에 있어 어떤 성분을 중점적으로 육성하고자 할 때는 먼저 이들의 유전형상을 살펴보아야 한다. 표3은 7S와 11S 함량에 관련된 글로부린 분획들의

유전력을 분석한 결과이다.  $\beta$ 의 유전력이 72.7%로 기타 분획들에 비해 월등히 높았다. 따라서 고품질의 콩 품종을 육성하려면  $\beta$ 함량을 조정하는 것이 다른 방법보다 손쉬운 접근 방법이 되리라 판단된다. 특히 7S 함량을 줄임으로써 11S 함량을 높일 수 있으므로 전체적인 7S-low 계통 탐색 보다는  $\beta$ 함량이 적거나 결핍된 유전자원을 확보하는 것이 중요하리라 사료된다.

콩 글로부린 각 분획간의 표현형 및 유전 공분산을 계산하여 표현형 상관과 유전형 상관을 산출한 결과가 표 4이다.

대체적으로 유전상관 값이 표현형 상관 보다 다소 높은 경향이였다. 각 분획간에는 부의 상관이 많이 나타났지만 정의 상관도 있었다. 7S에서는  $\alpha$ 와  $\alpha'$ 가 상호간에 높은 정의 상관을 보인 반면 두가지 모두  $\beta$ 와는 부의 상관을 나타내었다. 따라서  $\alpha$ 와  $\alpha'$  함량을 높임으로써  $\beta$ 함량을 낮출 수 있음을 알 수 있겠다. 11S와의 관계에서 7S 분획들은 11S 분획들과 부의 상관을 보였지만 basic subunit와는 유의성이 크지

**Table 2.** F value and levels of significance of ANOVA for soybean seed globulin fraction contents of six varieties grown at three locations.

Source	df	$\alpha'$	$\alpha$	$\beta$	7S	11S	7S/11S
Between var.(V)	5	2.73*	2.73*	31.13**	11.78**	11.07**	11.82**
Between loc.(L)	2	0.35 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	0.30 <sup>ns</sup>	0.24 <sup>ns</sup>	0.19 <sup>ns</sup>	0.24 <sup>ns</sup>
V × L	10	5.21**	5.76**	4.18**	4.81**	4.65**	4.68**

ns, not significance ; \* and \*\*, significant at 5 and 1 %, respectively

**Table 3.** Genotypic variance, environmental variance and heritabilities of globulin fraction contents in soybean seed.

	$\sigma^2_G$	$\sigma^2_E$	$h^2(\%)$
$\alpha'$	1.5175	2.0881	42.09
$\alpha$	1.6325	2.0237	44.64
$\beta$	4.5575	1.7121	72.69
7S	6.7750	5.0903	57.10
Acidic	4.0231	5.7894	41.00
Basic	3.1955	4.5670	41.16
11S	6.4303	5.1264	55.64
7S/11S	0.0048	0.0037	56.65

않았다. 특히 basic subunit는  $\alpha$ 와는 부의 상관이 크게 나타난 반면  $\alpha'$ 와는 유전상관에서만 5% 수준에서 유의성이 나타났을 뿐이며  $\alpha'$ 의 표현형 상관이나  $\beta$ 와는 유의성이 없었다.

11S 분획에서는 acidic과 basic 간에 부의 상관이 있었지만, 유의성은 표현형 상관에서 인정되었을 뿐 유전상관에서는 나타나지 않았다. 따라서 이상과 같은 결과를 종합하여 볼 때 7S/11S 비율을 낮추기 위해서는 11S 함량을 높이는 것 보다 7S 함량을 줄이고자 노력하는 것이 유리하리라 판단된다. 특히 7S

**Table 4.** Phenotypic and genotypic correlation coefficients among globulin fractions in soybean seed.

	7S			11S			7S/11S		
	$\alpha$	$\beta$	total	acidic	basic	total			
7S	$\alpha'$	rph	0.56**	-0.30*	0.62**	-0.47**	-0.22	-0.62**	0.61**
		rG	0.67**	-0.34*	0.53**	-0.42**	-0.27*	-0.53**	0.52**
	$\alpha$	rph		-0.27*	0.65**	-0.25*	-0.51**	-0.66**	0.64**
		rG		-0.23	0.62**	-0.18	-0.64**	-0.62**	0.61**
	$\beta$	rph			0.42**	-0.34**	-0.13	-0.41**	0.43**
		rG			0.55**	-0.51**	-0.22	-0.53**	0.56**
	Total	rph				-0.64**	-0.50**	-0.99**	0.99**
		rG				-0.71**	-0.62**	-0.99**	1.00**
11S	Acidic	rph				-0.34**	0.64**	-0.64**	
		rG					-0.11	0.69**	-0.72**
	Basic	rph						0.51**	-0.50**
		rG						0.63**	-0.61**
	Total	rph							-0.99**
		rG							-0.99**

-rph, phenotypic correlation coefficient; rG, genotypic correlation coefficient

-phenotypic and genotypic correlation coefficients of 0.232 and 0.302 are necessary to be significant at 5% and 1% level, respectively

중에서도  $\alpha$ 와  $\alpha'$  보다  $\beta$  함량 변이에 유의해야 할 것이다. 그러나 본 실험의 공시재료들은 6개 품종에 불과하며 각 용도별로 1-2개가 수집된 것이기에 좀더 용도별로 광범위한 재료를 사용하여 검토할 필요가 있을 것이다.

Ogawa 등(1989)은 7S와 11S 함량과의 상관은  $r=0.84$ 로 부의 상관을 나타내며 7S와 11S를 조절함으로써 단백질 조성 개량의 가능성이 있다고 하였다.

한편, 7S와 11S의 이화학적 성질이 틀림을 감안할 때 7S 함량이 높은 품종 육성도 콩 가공식품 개발등에서 신소재로서의 역할을 감당할 수 있으리라 판단되며, 따라서 11S 글로부린의 각 subunits가 결핍된 개체 육성도 중요한 과제라 사료된다. 이와같은 사실을 감안할 때 SDS-PAGE를 이용한 콩 유전자원들의 탐색은 새로운 자원 개발면에서 접근되어야 할 것이며, 이것은 본 논문에서 분석한 것과 같이 7S와 11S의 유전변이를 이용한 7S/11S 비율을 다양하게 조정함으로써 가능하리라 판단된다.

## 적 요

콩 저장 단백질의 대부분은 globulin이며, 이중 7S와 11S가 70% 이상을 차지한다. 따라서 콩 단백질의 조성개량을 위해서는 11S/7S 비율 조정이 우선되는데, 본 연구에서는 전기영동(SDS-PAGE)법을 사용하여 콩 단백질 7S와 11S를 분리 확인하고, 이들 분획 단백질의 유전변이를 분석하였다.

국내 3개지역에서 재배된 콩 장려품종 6계통들의 평균 7S 함량은 38.9% 이었고 11S는 61.2%의 함량을 나타내었다. 분산분석 결과 품종간에는 유의성이 있었지만 지역간에는 변이가 없었으며, 품종 x 지역의 상호작용은 고도의 유의성을 나타내었다. 유전력은 7S분획중의  $\beta$ 함량이 72.7%로 높게 나타났다. 공분산을 이용한 상관계수 추정에서는 유전상관이 표현형 상관 보다 다소 높게 나타났다. 따라서 7S와 11S의 분획간 함량을 조정함으로써 콩 단백질의 조성을 개량할 수 있으리라 판단된다.

## 인 용 문 헌

- Cho, R. K., M. Iwamoto and K. Saio. 1987. Determination of 7S and 11S globulins in ground whole soybeans by Near Infrared Reflectance Spectroscopic analysis. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 34(10):666-672.
- Harada, K., Y. Toyokawa and K. Kitamura. 1983. Genetic analysis of the most acidic 11S globulin subunit and related characters in soybean seeds. *Japan. J. Breed.*, 33(1):23-30.
- Iibuchi, C. and K. Imahori. 1978. Interconversion between monomer and dimer of the 7S globulin of soybean seed. *Agric. Boil. Chem.*, 42(1):25-30.
- Johnson, L. D. and L. A. Wilson. 1984. Influence of soybean variety and the method of processing in tofu manufacturing : Comparison of methods for measuring soluble solids in soymilk. *J. Food Science* 49:202-204.
- Kitamura, K., T. Takagi and K. Shibasaki. 1976. Subunit structure of soybean 11S globulin. *Agr. Biol. Chem.*, 40(9):1837-1844.
- Kitamura, K., Y. Toyokawa and K. Harada. 1980. Polymorphism of glycinin in soybean seeds. *Phytochemistry*(19):1841-1843.
- Kitamura, K. and N. Kaizuma. 1981. Mutant strains with low level of subunits of 7S globulin in soybean seed. *Japan J. Breed.* 31(4):353-359.
- Kitamura, K., C. S. Davies and N. C. Nielsen. 1984. Inheritance of alleles for Cgy1 and Cgy4 storage protein genes in soybean. *Theor. Appl. Genet.* 68:253-257.
- Nielsen, N. C. 1985. The structure and complexity of the 11S polypeptides in soybeans. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62:1680-1686.
- Nakamura, T., S. Utsumi, K. Kitamura, K. Harada and T. Mori. 1984. Cultivar differences in gelling characteristics of soybean glycinin. *J. Agric. Food Chem.* 32:647-651.
- Ogawa, T., E. Tayama, K. Kitamura and N. Kaizuma. 1989. Genetic improvement of seed storage proteins using three variant alleles of 7S globulin subunits in soybean. *Japan J. Breed.* 39:137-147.
- Thanh, V. H. and K. Shibasaki. 1976. Major proteins of soybean seeds. A straight- forward fractionation and their characterization. *J. Agric. Food Chem.* 24(6):1117 -1121.
- Tsukada, Y., K. Kitamura, K. Harada and N. Kaizuma. 1986. Genetic analysis of subunits of two major storage proteins( $\beta$ -conglycinin and glycinin) in soybean seeds. *Japan J. Breed.* 36:390-400.
- (접수일 1999. 4. 20)  
(수리일 1999. 10. 20)