

大豆蛋白質에 關한 研究 [第二報]

7S Globulin중의 複合蛋白質의 分離 및 그 構成 Subunit에 대하여

李 春 寧 · 金 仁 洙 · 金 秀 彥

(서울대학교 農科大學 農化學科)

(1976년 12월 23일 수리)

Studies on Soybean Protein [Part II]

Isolation and Subunit Composition of Multiple 7S Globulins

C.Y. Lee, I.S. Kim and S.U. Kim

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Seoul National University

(Received Dec. 23, 1976)

SUMMARY

The multiple 7S globulins composed of two fractions (A and B) in the electrophoresis with Davis' method were isolated at different stages of the soybean seed development. Electrophoresis of their subunits liberated in PAWU solvent [phenol-acetic acid-water (2:1:1) solution plus 5M urea] yielded 4 major bands. Observation of both the electrophoretic bands of the multiple 7S fractions(7S-A and 7S-B) and those of their subunits was suggestive of a similarity of the subunit pattern between two 7S fractions.

The two fractions in multiple 7S globulins were isolated with DEAE-Sephadex A-50 column(2.0×100cm) chromatography. They were separated into 2 fractions in a linear gradient concentration of 0.28 to 0.40M NaCl with phosphate buffer (pH 7.8) containing 10mM β -mercaptoethanol(ME).

The isolated protein was dissociated into subunits with two different solvent systems; in PAWU solvent and in Tris-HCl buffer(pH 8.0) containing 1% sodium dodecyl sulfate (SDS) and 40mM ME. The dissociated subunits were subjected to electrophoresis in PAWU-treated 7.5% acrylamide gel and in 1% SDS-treated 5.6% acrylamide gel. In PAWU gel electrophoresis, total 7S globulin was separated into 5 major bands, two of which were occupied in common by two 7S fractions(7S-A and 7S-B). In SDS gel electrophoresis, total 7S globulin was separated into 7 major bands, three of which were overlapped with the subunit of the two 7S fractions.

The above results alluded us to the presence of a common and/or similar subunit between the multiple 7S globulins.

緒 論

大豆의 7S globulin은 적어도 2가지 이상의 단백질로 구성된 複合體로 알려져있다. Catsimpoalas

등^(1,2)은 7S globulin을 免疫學的으로 2가지 蛋白質로 구분하고 β -conglycinin과 γ -conglycinin으로 命名하였다. β -Conglycinin은 Roberts 등⁽³⁾과 Koshiyama^(4,5,6)에 의해서 分離研究되었는데, 분자량

이 20萬 정도로서 7S globulin의 주성분이다. 이것은 단백질용액의 이온강도(μ)에 따라서 더 큰 분자로 응합하는 특성을 갖고 있기 때문에 免疫學的으로는 單一 단백질이지만 gel전기영동에서는 2개의 분리대로 나타나기도 한다. γ -Conglycinin은 Catsimpooolas 등⁽¹²⁾과 Koshiyama⁽⁹⁾에 의하여 分離研究되었는데 Koshiyama는 이 단백질은 이온강도(μ)에 따라서 응합하지 않으며 그 분자량은 10萬이라고 보고하고 있다.

그러나 최근 Hill 등⁽⁷⁾은 초원심분리로 분리한 7S분획을 gel전기영동으로 3개의 분리대로 분리하였으며 Thanh 등⁽⁸⁾은 gel전기영동상으로 이동도가 다른 5개의 7S globulin을 DEAE-Sephadex A-50으로 크로마토그래피하여 분리하였다. 그런데 위의 두 저자가 연구한 7S globulin은 이온강도에 따라서 모두 응합하는 특성을 갖고 있었다. 이와 같은 결과는 7S globulin이 免疫學的으로 동정할 수 있는 2가지 단백질 외에도 여러가지 단백질의 複合體로 구성되어 있을 것임을 시사한다.

이와 같은 7S globulin의 複合性으로 인하여 7S globulin에 관한 연구가 지연되고 있으며 연구자마다 分離研究한 단백질의 物理·化學의 성질이 다르게 나타나고 있다. 더욱이 그들의 構成 subunit에 관한 성질은 알려지지 않고 있다.

본 실험에서는 大豆의 성숙과정중에 나타나는 複合蛋白質의 構成비가 다른 7S globulin을 분리하여 그들 構成비의 변화와 동시에 5M urea를 함유하는 phenol-acetic acid-water(2:1:1) 용액(PAWU)에 의해서 遊離되는 그들 subunit의 변화를 관찰하였다. 또 7S globulin의 각 분획을 DEAE-Sephadex A-50으로 분리하여 PAWU에 의해서 유리되는 subunit와 sodium dodecyl sulfate(SDS)에 의해서 유리되는 subunit를 polyacrylamide gel 전기영동으로 관찰하고 그들의 相互關係를 살펴보았다.

實驗材料 및 方法

1. 실험재료

1975년 7월 30일에 開花한 大豆(*Glycine max* cultivar Kwang-gyo)를 결실초기인 開花後 25일과 32일 및 완숙기인 開花後 61일에 채취하였다. 채취기마다 中粒의 대두를 선별하여 冷凍乾燥하였다. 건조된 대두의 종피를 제거하고 막자사발로 60mesh로 粉碎한 후에 diethyl ether로 脫脂하여 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

7S Globulin의 분리: 李 등⁽¹⁵⁾의 방법에 따라서 시료를 20배의 0.2M NaCl용액에 넣고 교반하면서 N HCl로 pH를 4.5로 조절하면서 45분간 추출하였다. 이 추출액을 4°C에서 6시간 동안 방치한 후에 10,000×G에서 20분간 원심분리하여 얻은 上澄液을 24시간 동안 증류수에 透析하여 globulin의 침전을 얻었다. 이 침전을 표준완충액(0.035M phosphate buffer, pH 7.6, 0.4M NaCl, 10mM β -mercaptoethanol)에 녹여 Sephadex G-100 칼럼(2.5×60cm)에 넣고 표준완충액으로 용출하여 7S globulin을 분리하였다. 분리된 단백질은 증류수에 투석하여 冷凍乾燥하였다.

DEAE-Sephadex A-50에 의한 7S globulin의 각 분획의 분리: Thanh 등⁽⁸⁾의 방법을 變改하여 다음과 같이 분리하였다. 정제된 7S globulin(400 mg)을 0.23M NaCl을 함유하는 磷酸緩衝液(19mM potassium phosphate, pH 7.8, 10mM β -mercaptoethanol) 15ml에 녹여 같은 완충액에 평형시킨 DEAE-Sephadex A-50칼럼(2.0×100cm)에 넣고 위의 완충액 500ml로 세척하였다. 그 다음 0.23M NaCl과 0.45M NaCl을 함유하는 磷酸緩衝液(pH 7.8)이 각각 1.5ℓ씩 들어 있는 2개의 容器로 0.23M NaCl부터 0.45M NaCl까지의 直線濃度勾配를 만들어 globulin을 용출하였다. 이때 용출속도는 1시간당 30ml이었으며, 용출액은 12ml분획으로 받아 각 분획을 Davis方法⁽¹²⁾에 의한 gel전기영동으로 검정하였다. 전기영동으로 검정된 결과에서 정제된 각 분획을 합하여 증류수에 透析하고 냉동건조하였다.

Polyacrylamid Gel 전기영동 :

(1) Davis方法⁽¹²⁾에 의한 5% acrylamide gel 전기영정 : Davis의 방법에 따라 5% acrylamide gel을 만들고 gel당 50~100 μ g의 단백질을 넣고 Tris-glycine 완충액(pH 8.3)에서 전기영동하였다. 이때 gel당 2.5mA의 전류로 3시간 동안 전기영동하였다. Gel의 염색은 Amido Black 10B용액으로 하였다.

(2) PAWU용매계에 의한 전기영동 : Catsimpooolas 등⁽¹³⁾의 방법에 準하여 다음과 같이 하였다. 정제된 단백질 500 μ g을 0.1ml의 PAWU용매에 녹여 30°C에서 30분간 방치하여 단백질의 subunit를 유리시켰다. PAWU gel은 5M urea와 10% acetic acid를 함유하는 7.5% acrylamide gel을 PAWU용매에 40시간동안 평형시켜서 만들었다. 이 gel

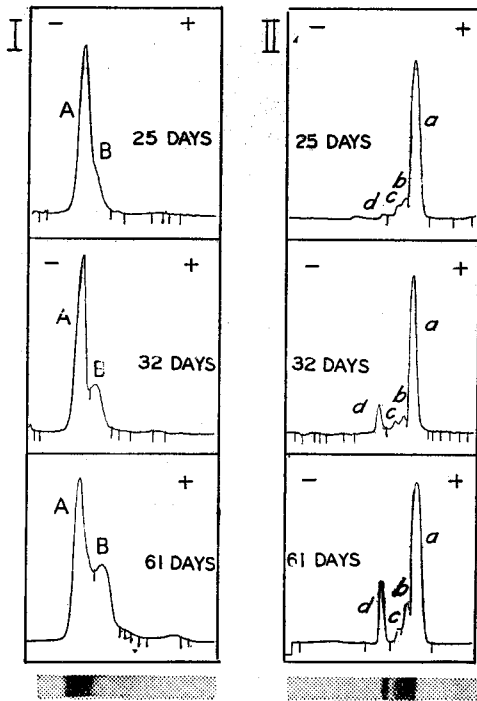


Fig. 1. Densitograms of an isolated soybean 7S globulin on polyacrylamide gel electrophoresis at different stages of seed development under non-dissociating condition (I) after the method of Davis⁽¹²⁾ and dissociating condition (II) in PAWU solvent after the method of Catsimpoalas *et al*⁽¹³⁾. Days represent days after flowering.

에 단백질용액 15~20 μ l을 넣고 10% acetic acid에서 gel당 2.5mA의 전류로 4시간 동안 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 gel은 Amido Black 10B로 염색하였다.

(3) SDS-polyacrylamide gel 전기영동: Fairbank등⁽¹⁴⁾의 방법에 따라서 다음과 같이 하였다. 정제된 단백질 500 μ g을 0.2ml의 SDS완충액[1% SDS, 5% sucrose, 10mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM EDTA(pH 8.0), 40mM β -mercaptoethanol]에 녹여 37°C에서 30분간 방치하여 subunit를 유리시켰다. SDS-polyacrylamide gel은 Tris-acetate완충액(pH 7.4)으로緩衝化된, 1% SDS를 함유하는 5.6% acrylamide로 0.45 \times 10.0cm의 Pyrex 유리관에 8cm높이의 gel을 만들어 25°C에서 12시간동안 방치하였다. 이 gel에 단백질 용액 10~15 μ l을 넣고 1% SDS를 함유하는 Tris-acetate완충액(pH 7.4)에서 gel당 8mA의 전류로 2시간 동안 전기영

동하였다. 전기영동이 끝난 gel은 Coomassie blue 용액(25% iso-propyl alcohol, 10% acetic acid, 0.025~0.05% Coomassie blue)으로 12시간 동안 염색한 후에 脫色溶液 I(10% iso-propyl alcohol, 10% acetic acid, 0.0025~0.005% Coomassie blue)에서 12시간, 脫色溶液 II(10% acetic acid)에서 12시간동안 탈색하였다.

Polyacrylamide Gel의 Scanning: 脫色된 gel을 densitometer(Densitrol MDU-33C, Toyo Inc.)로 0.2 \times 2.0cm의 slit를 사용하여 620nm 파장에서 scanning하였다.

結 果

大豆의 7S globulin분획은 熟期에 따라서 그構成 단백질의 組成이 다르게 나타나고 있다.⁽⁷⁾⁽¹¹⁾ 이들 7S globulin분획을 李 등⁽¹⁵⁾의 방법에 따라서 분리할 때, 전 단백질중의 7S globulin에 비하여 B분획이 A분획보다 相對的으로 작은 量으로 추출되고 있다. 이것은 pH 4.5에서 0.2M NaCl에 대한 두 분획의 溶解度가 다르기 때문인 것으로 나타났다. 그러나 성숙초기에는 A분획이 크고 후기에는 B분획이 증가하는 7S globulin을 얻었다(그림 1-I). 이와같이 A,B 두분획의 構成比率이 다른 7S globulin의 構成 subunit를 PAWU용매에서 유리시켜 전기영동할 때 5개의 주 분리대를 얻었으나 scanning한 결과에서는 다같이 a,b,c 및 d의 4개의 주 분리대를 나타냈다. 그러나 성숙후기로 갈수록 d subunit가 커지는 반면 a subunit가 작아지고 있었다(그림 1-II). 이 결과에서 볼 때 A,B

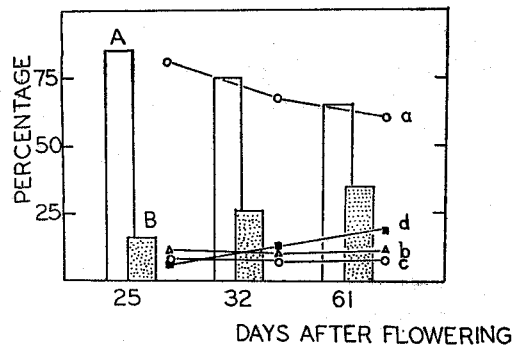


Fig. 2. Changes in soybean 7S globulin fractions (A and B) and their subunit components (a, b, c and d) at different stages of seed development. The diagram was prepared from the percent area of each peak in Fig. 1.

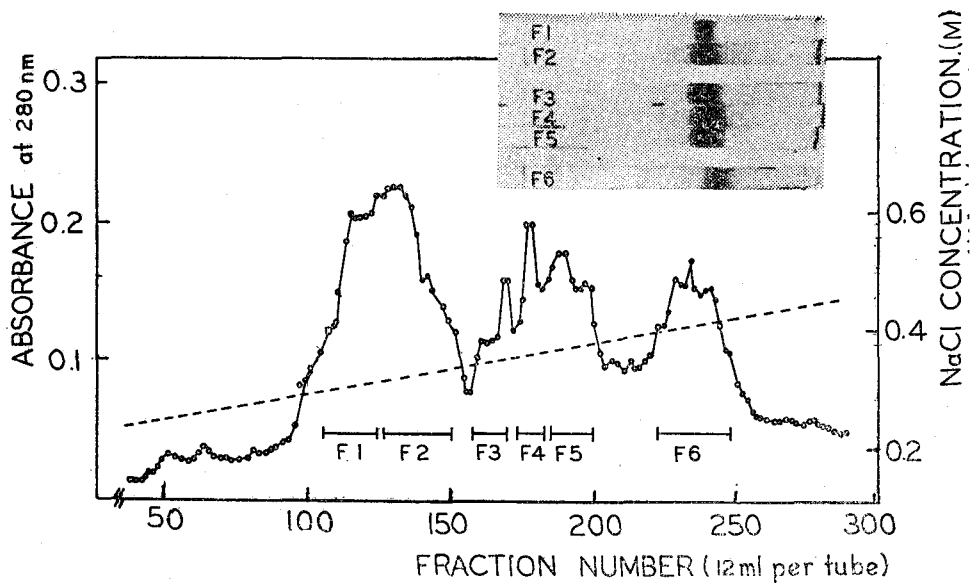


Fig. 3. Chromatogram of a soybean 7S globulin on DEAE-Sephadex A-50 column(2.0×100cm) and disc gel electrophoretic patterns of the fractionated 7S globulin.

The column was equilibrated with starting buffer(20mM potassium phosphate, pH 7.8, 0.23M NaCl and 10mM β -mercaptoethanol). The purified 7S globulin (400mg) was dissolved in 15ml of starting buffer, and applied to the column. The column was washed with 500ml of the starting buffer and then eluted with the same buffer containing NaCl in a gradient concentration of 0.23M to 0.45M. A linear gradient system was made by using a mixing chamber containing 1.5l of starting buffer and a reservoir chamber containing equal volume of same buffer containing 0.45M NaCl. Flow rate was 30ml per hour. Absorbance of the eluate was measured at 280nm. Circle (o) was absorbance at 280nm and dashed line (---) NaCl concentration.

Each pooled fraction(F1~F6) was submitted to disc gel electrophoresis by the procedure of Davis⁽¹²⁾ with 5% acrylamide. The total 7S globulin was separated into 2 fractions, 7S-A and 7S-B, which temporarily named in present paper.

분획의 변화와 그 구성 subunit의 변화 간에는 관련이 있는 것으로 나타났다. 즉 A분획의 크기와 a subunit의 크기와 比例하고, B는 d와 比例하고 있으며 b와 c subunit는 A,B분획의 변화에 관계 없이 항상 일정한 크기를 유지하였다(그림 2). 이와같은 결과는 7S globulin의 複合蛋白質인 A와 B 분획간에 그 구성 subunit가 類似性이 있음을 시사하는 것이 었다.

이들 相互關係를 좀더 면밀히 연구하기 위하여 完熟한 대두에서 분리한 7S globulin을 DEAE-Sephadex A-50으로 크로마토그래피하여 A,B 두 분획을 분리하였다. 크로마토그래피중의 각 분획을 몇개씩 모아서 Davis방법⁽¹²⁾에 따라 gel전기영동한 결과는 그림 3과 같다. A,B의 두 분획이 NaCl의 농도가 0.28M~0.40M 사이에서 모두 용

출되었지만 두 분획이 분명하게 분리되지 않았다. 그러나 gel전기영동과 免疫電氣泳動上으로 순수한 單一 단백질을 F₁과 F₆분획에서 분리할 수 있었다. 이 두 분획을 透析한 후에 gel전기영동을 하였더니 F₁분획은 변화가 없었으나 F₆분획은 擴散된 분리로 나타났다. 이것은 β -conglycinin과 같이 이온강도(μ)가 낮아짐에 따라서 단백질이 會合하기 때문에 나타나는 것으로 생각되었다.⁽³⁾⁽¹⁰⁾ 본 실험에서 분리된 F₁분획과 F₆분획을 便宜上 각각 7S-B globulin, 7S-A globulin으로 命名하였다.

Catsimpoalas 등⁽²⁾과 Thanh 등⁽⁸⁾도 7S globulin의 구성 단백질을 DEAE-Sephadex A-50으로 분리하였으나 그 결과는 모두 다르게 나타나고 있다. Catsimpoalas 등⁽²⁾은 표준완충액(pH 7.6)에서 0.1M~1.0M NaCl 농도구배를 하였는데 0.5M

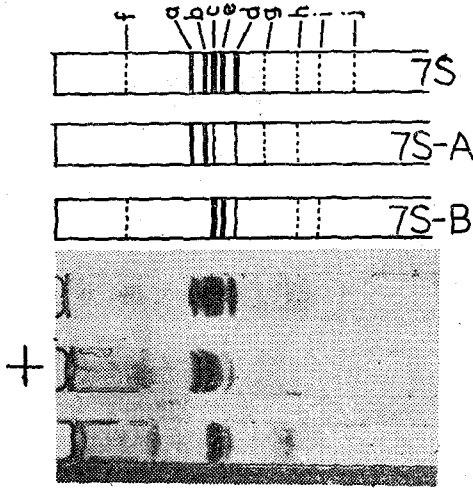


Fig. 4. Comparative study of electrophoretic patterns of total 7S, 7S-A and 7S-B globulin. Each globulin was incubated in PAWU solution for 30min. and submitted to PAWU-treated 7.5% polyacrylamide gel electrophoresis after the method of Catsimpoolas *et al*⁽¹³⁾.

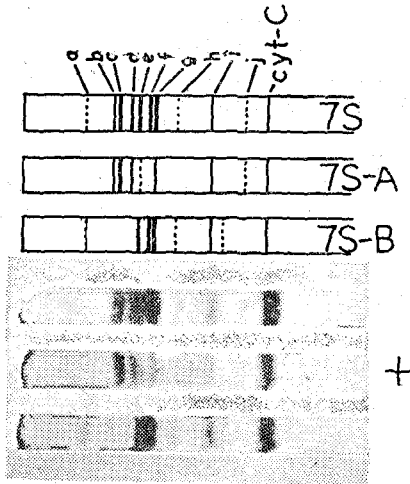


Fig. 5. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis of total 7S, 7S-A and 7S-B globulin. Each protein was incubated in 1% SDS incubation buffer at 37°C for 30 min. and applied to 5.6% acrylamide gel column containing 1% SDS. Electrophoresis was carried out at pH 7.4 (Tris-acetate buffer) with 8.0mA per gel. Gels were stained with Coomassie blue. Cyt-C represents cytochrome-C used as a reference.

NaCl이상에서 7S globulin이 용출되었다. 그러나 β -conglycinin과 γ -conglycinin의 相互混入을 제거하지 못하였다. 반면 Thanh 등⁽¹⁶⁾은 본 실험에서 사용한 磷酸緩衝液(pH 7.8)에서 0.2M~0.4M NaCl의 농도구배를 할 때 0.28M~0.35M NaCl에서 7S globulin이 5개의 분획으로 분리되었다. 이와 같이 연구자에 따라 相異한 결과를 나타내는 것은 7S globulin의 複合성에 基因하는 것일 것이다.

DEAE-Sephadex A-50에 의해서 분리된 7S-A와 7S-B의 subunit組成을 관찰하기 위하여 荷電量에 의해서 분리되는 PAWU gel 전기영동과 分子量에 따라서 분리되는 SDS gel 전기영동을 하였다. PAWU gel 전기영동에서는 7S globulin이 5개의 주 분리대(그림 4의 a,b,c,d 및 e)와 5개의 소분리대로 분리되었는데 이것은 7S-A와 7S-B의 각 분리대의 습으로 나타났다. 그런데 5개의 주 분리대중 c와 d는 7S-A 및 7S-B 분획에서 共有하고 있으며, a와 b는 7S-A 분획에만, e는 7S-B 분획에만 屬하여 있었다. Catsimpoolas 등⁽¹³⁾과 Koshiyama⁽¹⁶⁾는 Koshiyama⁽¹⁷⁾의 方法에 따라서 精제한 7S globulin을 갖고 본 실험에서와 같은 PAWU gel 전기영동을 하였는데 두 연구자의 分離樣相이 相異하게 나타났다. 위의 두 연구자의 실험결과를 본 실험의 것과 比較하여 보면 Koshiyama⁽¹⁶⁾의 결과는 본 실험의 7S-A globulin과 같고 Catsimpoolas 등⁽¹³⁾의 결과는 7S-B globulin과 같다. 이것은 Koshiyama⁽¹⁶⁾가 指摘한 바와 같이 Catsimpoolas 등⁽¹³⁾이 Koshiyama⁽¹⁷⁾의 7S globulin 분리방법을 再現하지 못하였음을 의미한다.

SDS gel 전기영동에서는 7S globulin이 7개의 주 분리대(그림 5의 b,c,d,e,f,g 및 i)와 3개의 소분리대로 분리되었는데 이것도 7S-A와 7S-B 분획의 subunit의 습으로 나타났다(그림 5). 주 분리대중 e,g 및 i는 7S-A 및 7S-B 분획에 共有되어 있고 b,c 및 d는 7S-A 분획에만, f는 7S-B 분획에만 나타나고 있다. SDS 전기영동에서 주분리대의 分子量를 bovine serum albumin, pepsin, trypsin 및 cytochrome-C를 표준물질로 하여 측정하여 본 결과 약 8萬에서 3萬사이에 있었다. 이것은 Masaki 등⁽²⁰⁾이 7S globulin의 subunit가 81,000과 51,000의 분자량을 갖고 있다는 보고와 비슷한 결과를 나타내고 있었다.

考 察

大豆의 7S globulin은 複合蛋白質로 알려져 있으

나 그들의 종류나 성질에 관해서는 연구자에 따라 다른 결과를 報告하고 있다. (7,8,17,18,20) 본 실험에서 분리된 7S globulin은 Davis方法⁽¹²⁾에 의한 gel 전기영동에서 두 분획(7S-A와 7S-B globulin)으로 나누어 지고 더 나아가 각 분획의 subunit를 전기영동한 결과에서도 7S-A와 7S-B 두 분획의 합이 7S globulin의 것과 同一하여 본 실험에서 분리된 7S globulin은 2가지의 複合蛋白質로 구성되어 있음을 알 수 있었다.

이들 7S-A와 7S-B분획은 DEAE-Sephadex A-50으로 분리가 되었으며 gel전기영동과 免疫電氣泳動上으로 純粹함이 증명되었다. 이들 두 분획이 免疫學的으로 동정된 β -conglycinin이나 γ -conglycinin과의 관계는 알 수 없으나 7S-A globulin은 전기영동상의 이동도 및 DEAE-Sephadex A-50 크로마토그래피상의 溶出順序⁽²⁾ 또는 이온강도에 따른 會合現象 등의 특성으로 보아 β -conglycinin과 유사한 성질을 갖고 있었다. 본 실험에서 분리된 7S globulin은 2개의 단백질로 구성된 반면 Tharh 등⁽⁸⁾은 본 실험과 유사한 조건에서 DEAE-Sephadex A-50으로 크로마토그래피하여 7S globulin을 gel전기영동상으로 이동도가 다른 5개의 분획을 분리하였다. 그러나 7S globulin은 용액의 이온강도(μ)에 따라서 會合하는 특성⁽⁶⁾을 갖고 있기 때문에 單一 단백질이라 할지라도 gel전기영동에서 여러개의 분리대로 나타날 수 있는 점⁽²⁾⁽¹⁰⁾을 考慮하여야 할 것이다.

7S globulin의 subunit에 관하여서는 urea^(16,17,18,19) SDS^(17,20) 또는 guanidine-HCl⁽¹⁶⁾ 등과 같은 단백질 變性劑를 사용하여 살피고 있으나 연구자에 따라 相異한 결과를 보고하고 있다. 즉 Koshiyama⁽¹⁷⁾는 8M urea용액에서 변성된 7S globulin은 22,500정도의 분자량을 가진 9개의 subunit로 구성되어 있다고 하였고 Vaintraub 등⁽¹⁸⁾은 4M urea에서 83,000의 subunit가 6M urea에서 31,200의 subunit가 遊離됨을 관찰하고 6개의 subunit로 구성되어 있을 가능성을 제시하였다. 이와같이 7S globulin의 構成 subunit가 연구자마다 다른 것은 7S globulin의 複合성에 비추어 분리연구된 단백질의 異質성과 subunit를 遊離시키는 조건 및 분자량의 측정방법의 相異하기 때문에 나타나는 것일 것이다.

본 실험의 결과에서 볼 때 7S-A globulin은 5M urea에서 4개의 주 분리대를, 1% SDS에서 5개의 주 분리대를 나타내고 있어서 5개 이상의 subunit

로 構成되어 있으며 7S-B globulin은 5M urea에서 3개, 1% SDS에서 4개의 주 분리대를 나타내고 있어서 4개 이상의 subunit로 構成되어 있었다. SDS gel 전기영동으로 측정된 이들 subunit의 분자량은 가장 작은 1개가 약 3萬이고 나머지는 8萬에서 5萬 사이에 있었다. Masaki 등⁽²⁰⁾도 SDS gel 전기영동에서 7S globulin이 81,000과 51,000의 분자량을 가진 2종류의 subunit로 구성되어 있다고 報告하였다. 그러나 본 실험에서 나타난 subunit의 數와 그 分子量으로 볼 때 지금까지 알려진 7S globulin의 분자량(약 20萬)보다 훨씬 크게 나타나고 있다. 이런점으로 미루어 보아 7S globulin은 糖蛋白質이므로 SDS gel 전기영동을 이용하여 그 分子量을 측정하는 것은 不適當하다고 생각된다.⁽²¹⁾

大豆의 11S globulin은 單一 단백질⁽²²⁾인데 비해 7S globulin은 複合蛋白質이다. 이들 複合蛋白質의 분리방법이 밝혀져 가고 있으나 아직 各蛋白質間의 相互關係는 알려지지 않고 있다. 본 실험의 7S-A와 7S-B globulin의 相互關係를 5M urea gel 전기영동과 1% SDS gel 전기영동으로 살펴 본 결과 이들의 구성 subunit간에는 類似性이 있었다. 즉 5M urea에서는 5개의 주 분리대중에 2개가, 1% SDS gel 전기영동에서는 7개의 주 분리대중에 3개가 전기영동상의 이동도가 같았으며 다른 분리대들도 相互間에 비슷한 이동도를 나타냈다. 이와 같이 7S globulin의 두 분획간에 荷電量에 따라서 분리되는 PAWU gel 전기영동과 分子量에 따라서 분리되는 SDS gel 전기영동에서 易動도가 같거나 비슷한 subunit를 가짐으로서 7S-A globulin과 7S-B globulin을 構成하는 subunit간에는 類似性이 있음을 알 수 있었다.

要 約

大豆(*Glycine max* cultivar Gwang-gyo)의 各 成熟時期에 나타나는 7S globulin을 분리하여 Davis方法⁽¹²⁾에 의한 전기영동과 PAWU용매에 의해서 遊離되는 그들의 subunit를 전기영동한⁽¹³⁾ 결과 7S globulin중의 複合蛋白質間에는 그 構成 subunit에 類似性이 있음을 시사하였다.

7S globulin의 複合蛋白質을 DEAE-Sephadex A-50으로 크로마토그래피하여 분리하였다. 이때 pH 7.6의 磷酸緩衝液에서 NaCl의 濃度勾配가 0.28M부터 0.40M 사이에서 두개의 分劃으로 분리되었다. 이들 各 蛋白質의 subunit를 5M urea와 1% SDS로 遊離시켜 7.5% acrylamide-PAWU gel

과 5.6% acrylamide-SDS gel에서 전기영동하였다. 그 결과 subunit의 荷電量에 의해서 분리되는 PAWU gel전기영동에서 7S globulin이 5개의 주 분리대로 분리되고 그중 2개의 분리대가 7S-A globulin과 7S-B globulin에 共有되어 있었다. 또 subunit의 分子量에 따라서 분리되는 SDS gel 전기영동에서는 7S globulin이 7개의 주 분리대를 나타내는데 그 중에서 3개의 분리대가 7S-A와 7S-B 분획에 共有되어 있었다. 따라서 7S globulin의 複合蛋白質間에는 構成 subunit間에 類似性이 있는 것으로 나타났다.

參 考 文 獻

1. Catsimpoalas, N.: Cereal Chem., **46**, 369 (1968)
2. Catsimpoalas, N. and C. Ekenstam: Arch. Biochem. Biophys., **129**, 490(1969)
3. Roberts, R.C. and D.R. Briggs: Cereal Chem., **42**, 71(1965)
4. Koshiyama, I.: Cereal Chem., **45**, 405(1968)
5. Koshiyama, I.: Agr. Biol. Chem., **32**, 879 (1968)
6. Koshiyama, I.: Cereal Chem., **45**, 394(1968)
7. Hill, J.E. and R.W. Breidenbach: Plant Physiol., **53**, 747(1974)
8. Thanh, V.H., K. Okubo and K. Shibasaki: Plant Physiol., **56**, 19(1975)
9. Koshiyama, I. and D. Fukushima: Phytoc-hem., **15**, 161(1976)
10. Koshiyama, I. and D. Fukushima: Phytoc-hem., **15**, 157(1976)
11. Lee, C.Y., I.S. Kim, S.U. Kim and K.Y. Park: J. Natl. Acad. Sci., Natural Sci. Series **15**, 279(1976)
12. Davis, B.J.: Ann. N.Y. Acad. Sci., **121**, 404 (1964)
13. Catsimpoalas, N., C. Ekenstam, D.A. Rogers and E.W. Meyer: Biochem. Biophys. Acta, **168**, 122(1968)
14. Fairbank, G., T.C. Steck and D.F.H. Wallach: Biochem., **10**, 2606(1971)
15. Lee, C.Y., I.S. Kim and D.H. Jo: Korean Biochem. J., **9**, 129(1976)
16. Koshiyama, I.: Agr. Biol. Chem., **35**, 385 (1971)
17. Koshiyama, I.: Agr. Biol. Chem., **34**, 1815 (1970)
18. Vaintraub, I.A. and A.D. Shutov: Dokl. Biochem. (Engl. Transl.) **203**, 118(1972)
19. Okubo, K., G. Sagara and K. Shibasaki: Tohoku. J. Agr. Res., **20**, 222(1969)
20. Masaki, T. and M. Soejima: Science Rep. Fac. Agr. Ibaraki Univ., **20**, 35(1972)
21. Segrest, J.P. and R.L. Jackson: in "Methods in Enzymology" XXIII, Ginsburg ed., p. 54, Academic Press, N.Y.
22. Catsimpoalas, N. and E.W. Meyer: Arch. Biochem. Biophys. **125**, 742(1968)