

전분입자 생합성 경로에 대한 이해와 식품산업체 활용 모색

Understanding Starch Biogenesis Pathway toward Application in Food Industry

유 상 호
Sang-Ho Yoo

세종대학교 식품공학과, 탄수화물소재연구소
Department of Food Science & Technology, BK21+ Project Team,
Carbohydrate Bioproduct Research Center, Sejong University

1. 서론

전분은 재생가능한 생분해성 천연 고분자 물질로서 대부분의 식물체에서 에너지 저장 매체로서 합성, 축적되며, 인간에게는 섭취에너지의 70-80%를 제공한다. 식물체의 줄기, 뿌리, 종자 및 쌀, 옥수수, 밀, 타피오카, 감자, 고구마 등의 곡물에서 발견되어 자연계에 존재하는 두 번째로 풍부한 탄소자원이다. 전분산업에서는 습식분쇄(wet milling) 공정을 통한 침지, 분쇄, 여과(체질), 건조 과정 등을 통해 전분을 추출하고 정제한다. 추출된 전분은 천연전분(native starch) 자체로 혹은 화학적 처리를 통해 특수한 특성을 갖게 제조된 변성전분(modified starch)으로 증점제, 젤화제, 보습제, bulking agent, 지방대체제, sizing agent, 접착제 등 식품 및 비식품 산업 분야를 망라해서 다양한 용도로 활용된다. 전세계적으로 옥수수(82%), 밀

(8%), 감자(5%), 카사바(5%) 등이 주요 전분 공급원으로 이용되고 있다. 2000년에는 전세계 전분시장이 천연 및 변성전분을 합쳐 48.5 백만 톤 규모로 추정되었고 생산량의 경제적 규모는 연간 150억 유로에 이르는 것으로 파악되었다. 이는 산업계 및 학계에서 전분의 새로운 특성이나 고부가가치 응용분야를 지속적으로 추구하고 있음을 간접적으로 암시하고 있다.

2. 전분의 화학적 구조와 물리적 특성

전분은 본질적으로 포도당(D-glucose)으로 이루어진 고분자이며, 포도당 단량체의 결합양식에 따라 두가지 고분자인 아밀로펙틴(amylopectin)과 아밀로스(amylose)로 구분한다(그림 1).

아밀로펙틴은 포도당 분자들이 α -(1, 4)-glycosidic 결합으로 이루어진 주쇄(backbone)상에 약 4-5%의

Corresponding Author: Sang-Ho Yoo
Department of Food Science & Technology, BK21+ Project Team, and Carbohydrate Bioproduct Research Center,
Sejong University, 98 Gunja-Dong, Gwangjin-Gu, Seoul 143-747, Republic of Korea
Tel: +82-2-3408-3221
Fax: +82-2-3408-4319
E-mail: shyoo@sejong.ac.kr

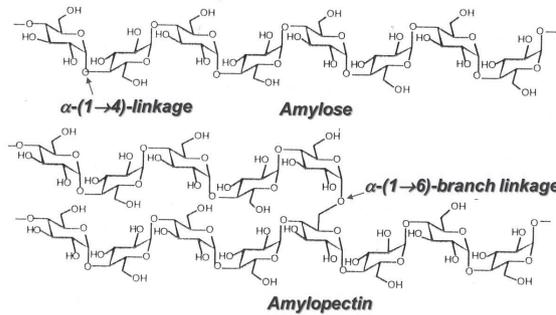


그림 1. 아밀로스 및 아밀로펙틴의 분자 구조

α -(1, 6)-glycosidic 결합을 분지점(branching point)으로 갖고 있는 생체고분자이다. 이 고분자의 평균 중합도(degree of polymerization, DP)는 10^4 - 10^6 glucose units/molecule에 이르며, 이는 106-108 g/mol에 해당되는 분자량으로 계산된다. 자연계에 존재하는 전분 급원에 따라 탈분지화 효소 처리된 아밀로펙틴의 수평균(number-average) DP는 대부분 20-30의 범위 내에 있다. 이 아밀로펙틴의 분지사슬길이 전분입자 결정성 타입을 결정하는 것으로도 보고되어 있다. 상대적으로 짧은 분지사슬길이 분포를 갖는 아밀로펙틴은 결정성을, 긴 분지사슬길이 갖는 전분입자 내의 아밀로펙틴은 B-타입을 갖는다. A-타입의 일반 옥수수전분의 자연발생적인 돌연변이에 의해 겉보기 아밀로스함량이 50-70%에 이르는 B-타입의 고아밀로스 옥수수전분으로의 전이는 이러한 분지사슬길이분포와 결정성과의 관계를 극명하게 보여준다. 참고로 고아밀로스 옥수수전분의 현저한 아밀로스 함량 증가 이유는 잘 증명되어 있으며, 이 원고의 다음 단원인 전분의 생합성 경로를 통해 이해하도록 하자. 현재 아밀로펙틴의 화학적 구조를 설명하기 위해 가장 설득력있게 받아들여지고 있는 가설은 “클러스터 모델(cluster model)”이며, 이 모델은 A, B, C 등 3가지 형식의 결합사슬들로 표현되어 있다(그림 2). A-사슬은 다른 분지사슬이 결합되어 있지 않고 B- 또는 C-사슬에 α -(1, 6)-결합으로 결합되어 있으며, 주로 아밀로펙틴 분자의 바깥쪽에 존

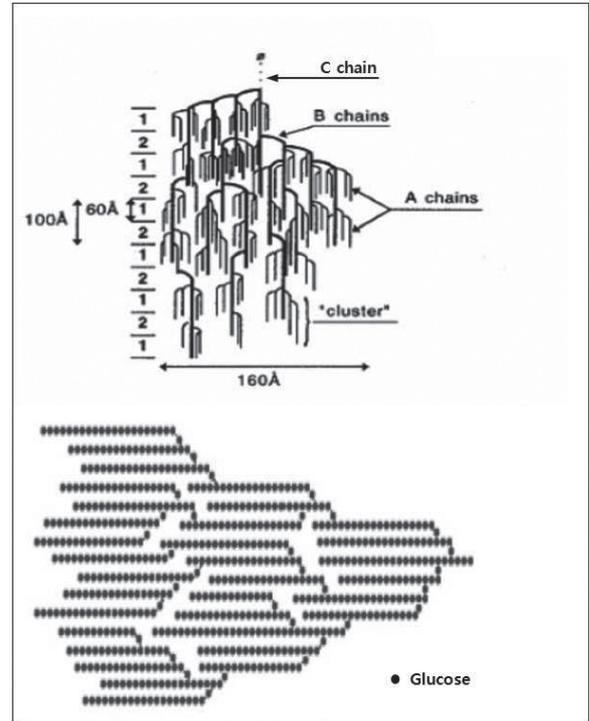


그림 2. 아밀로펙틴 분자구조를 설명하기 위한 클러스터 모델

재한다. B-사슬은 A- 및 다른 B-사슬과 결합하고 있으며 2개 혹은 그 이상의 클러스터 단위에 걸쳐 존재한다. C-사슬은 이론적으로 아밀로펙틴 분자에 1개만 존재하며, 동시에 유일하게 환원성 말단을 갖고 있다.

아밀로스는 본질적으로 포도당이 오로지 α -(1, 4)-결합만으로 이루어진 수평균 DP990(옥수수전분)-DP2110(감자전분)를 갖는 직쇄형 고분자이나, 일부 소수의 분지점(α -(1, 6)-결합)을 갖고 있는 것으로 알려져 있다. 아밀로스 분자는 독특하게도 전분생합성 과정에 관여하는 효소류 중 입자결합 전분합성효소, 즉 granule-bound starch synthase I (GBSSI)에 의해 합성된다. 아밀로스의 사슬길이 및 합성량은 전분입자가 발달하는 생육기간 동안 이 효소의 상대적 활성에 따라 달라진다. 아밀로스 분자간 및 복합체 형성제제와의 빠른 속도의 결정생성은 이 고분자의 또 다른 고유한 특



성이다. V- 타입의 결정성은 바로 아밀로스분자의 단독 나선구조의 공간배치로 중앙 채널에 지질과 같은 소수성 물질이 결합함으로써 이루어진다.

표 1. 다양한 전분 유래 아밀로펙틴의 평균 분자량, 크기 및 밀도

	$M_w (\times 10^6)^b$	R_z (nm) ^c	ρ (g/mol/nm ³) ^d
A-type starches			
normal maize	4.9 (0.8) ^e	312 (23)	16.1
waxy maize	8.3 (0.2)	372 (11)	16.1
<i>du wx</i> maize	4.9 (0.5)	312 (13)	16.1
normal rice	26.8 (2.9)	581 (41)	13.7
waxy rice	56.8 (9.3)	782 (36)	11.9
sweet rice	13.9 (1.0)	486 (5)	12.1
normal wheat	3.1 (0.3)	302 (3)	11.3
waxy wheat	5.2 (0.4)	328 (6)	14.7
barley	1.3 (0.1)	201 (8)	16.0
waxy barley	6.8 (0.1)	341 (3)	17.1
cattail millet	2.7 (0.2)	278 (6)	12.6
mung bean	3.8 (0.2)	312 (3)	12.5
chinese taro	12.6 (3.6)	560 (15)	7.2
tapioca	0.7 (0.1)	191 (25)	10.0
B-type starches			
<i>ae wx</i> maize	3.2 (0.2)	306 (8)	11.2
amylomaize V	2.4 (0.0)	357 (24)	5.3
amylomaize VII	1.7 (0.0)	389 (57)	2.9
potato	1.7 (0.2)	356 (36)	3.8
waxy potato	2.0 (0.2)	344 (37)	4.9
green leaf canna	3.4 (2.2)	436 (85)	4.1
C-type starches			
lotus root	1.5 (0.4)	280 (57)	6.8
water chestnut	7.1 (1.5)	230 (25)	58.4
green banana	1.9 (0.8)	286 (29)	8.1
Glycogen			
cyanobacterial glycogen ^f	0.2 (0.0)	55 (4)	99.2

^a Data were averages of at least two injections

^b weight-average molecular weight

^c z-average radius of gyration

^d Density (ρ) = M_w/R_z^3

^e Standard deviation

^f Glycogen was isolated from *Synechocystis* sp. PCC6803 in our laboratory

아밀로스의 노화(retrogradation) 또는 재결정화(re-crystallization)는 매우 빠른 속도로 진행되어 불완전하지만 큰 결정을 만들게 된다. 실제로 아밀로스 분자길이의 차이가 재결정화 속도에 영향을 주며, DP 80-100가 가장 빠른 노화속도를 나타낸다.

기타 전분과 공존하는 미량의 구성성분으로 지질, 단백질, 인산에스터 등을 제시하기도 하나, 본 단원에서는 그간 상대적으로 많이 다루어지지 않은 전분구조에 존재하는 인산에스터가 전분의 물리적 특성에 미치는 영향을 설명하고자 한다. 추출된 전분에 존재하는 인산은 크게 인지질과 인산에스터 2가지 형태로 존재한다. 감자전분의 독특한 열적 특성은 부분적으로는 상당량의 인산에스터의 존재로부터 비롯되는 것으로 알려져 있으며, 이는 곡류 전분에서 주요하게 발견되는 인지질과는 거의 완벽히 다른 영향을 전분 특성에 부여한다. 일반 밀전분의 경우 거의 모든 내부 지질과 인산 함량은 인지질임이 알려져 있으며, 이는 시차주사열량계 분석을 통한 아밀로스-지질 복합체로 검출된다. 감자전분의 아밀로펙틴에 결합된 인산에스터는 페이스트 점도 상승, 겔 투명도 및 안정성 향상을 나타내며, 또한 페이스팅 및 호화 온도 저하, 인산기들간의 음전하를 통한 반발력에 기인한 노화속도 저하 등을 가져온다. 이러한 물리적 특성의 부여는 산업적으로 매우 유용하여 화학적 변형 방법이 아닌 생합성 경로의 조절을 통한 인산에스터 부여의 가능성을 탐색하여 왔으나, 현재까지 전분인산화에 관련된 효소가 발견되지 않고 있다.

여기까지 전분의 구성성분에 대한 논의를 마무리한다면, 이 이외의 다른 거의 대부분의 전분 특성은 전분의 입자상 구조에 기인하는 것으로 이해되고 있다. 아밀로펙틴의 지구상에 존재하는 그 어떤 천연 및 합성 고분자와 비교해도 비교할 수 없을 정도로 큰 분자량을 갖고 있다. 크기배제 크로마토그래피기법 등을 통해 전분의 분자량 분포에 대해 어느 정도는 이해하고 있으나, 상대적 분자량을 측정하기 위한 표준물질의 부재, 아밀로펙

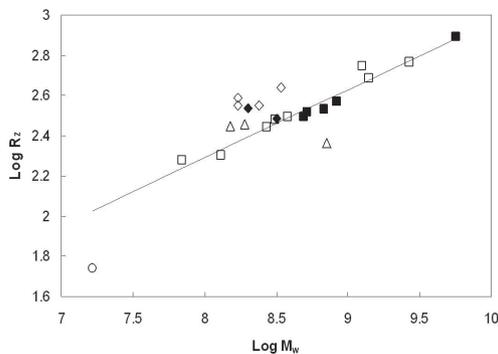
틴 분자 크기를 분리할 수 있는 분자체(molecular sieve)에 해당되는 담체의 부재 등으로 완벽한 정보를 얻기에는 무리가 있다. 실상 아밀로스와 아밀로펙틴의 분자량이 전분의 물리적 특성에 많은 영향을 준다. 이들 두 고분자의 분자량이 커질수록 전분의 페이스트 점도가 높아짐을 예상하기 어렵진 않다. 비교적 최근 다각도 광산란 기법이 전분 내 아밀로펙틴의 절대 분자량 측정에 활용되면서 보다 정밀한 전분분자구조의 정보를 얻어낼 수 있었다. 밀전분의 경우 아밀로펙틴의 질량평균 분자량(M_w)은 아밀로스 함량과 역비례관계를 나타낸 반면, 아밀로펙틴 내 최장분지사슬(Extra-long branch chain) 함량은 아밀로스 함량과 비례관계를 나타냈다. 다양한 종류의 식물체로부터 얻어진 전분의 아밀로펙틴 분자량의 범위는 $7.0 \times 10^7 - 5.7 \times 10^9$ g/mol로 분석되었다(표 1).

일반적으로 찰전분의 아밀로펙틴 분자량과 수화분자밀도가 일반전분에 비해 현저히 높게 나타났다. 찰전분 아밀로펙틴 내에는 최장분지사슬이 존재하지 않았으며, 이 최장사슬은 아밀로스 합성에 관계하는 GBSSI(Granule-bound starch synthase I)에 의해 합성됨이 확인되었다. 위의 결과들은 찰전분 아밀로펙틴이 최장분지사슬을 갖고 있지 않

으며 상대적으로 분지 비율이 높고, 이는 다시 일반전분 아밀로펙틴보다 더 밀도 높은 분자들임을 보여준다. A- 타입과 B- 타입 결정성을 갖는 전분 입자 내 아밀로펙틴 분자들 사이의 분지구조차이는 전분 희박용액에서의 수화된 아밀로펙틴 분자들의 밀도차이로 나타난다. B- 타입 아밀로펙틴은 현저히 길지만 상대적으로 적은 양의 분지 사슬을 갖고 있어, A- 타입 아밀로펙틴과 비교하여 수화된 분자의 밀도가 작은 것으로 보여진다(그림 3).

3. 전분입자의 구조

식물체로부터 분리된 전분은 냉수에 녹지 않는 백색 가루 형태로 존재하며, 식물체 급원에 따라 0.5-200 μm 범위의 직경, 약 1.5 수준의 밀도를 갖고 있는 입자상이며, 입자의 모양은 생육 환경 및 생육 기간에 따라서도 달라진다. 전분구조는 생체 고분자로서($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$)의 매우 쉬운 화학식으로 표현되며 포도당 단량체가 반복적으로 결합된 구조로 오랜 기간 연구되어오음에도 불구하고, O-glycosidic linkage로 대표되는 공유결합양식 분포 및 비공유결합에 의한 결정성 분포 등에 대한 이해 부족으로 여전히 보편적으로 인정받고 있는 모델은 존재하지 않고 있다. 아무튼 현재까지 이루어진 연구를 토대로 한가지의 구조 모델이 설득력있게



Data are plotted on Log-Log scale: A-type (□); B-type (◇); C-type (△); waxy A-type (■); waxy B-type (◆); amylopectins; glycogen (○). The linear regression line on the graph comprises data of A-type amylopectin.

그림 3. 다양한 전분 유래 아밀로펙틴의 분자량과 분자크기간의 관계

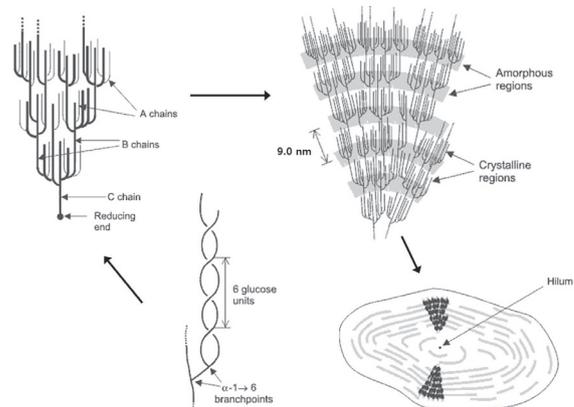
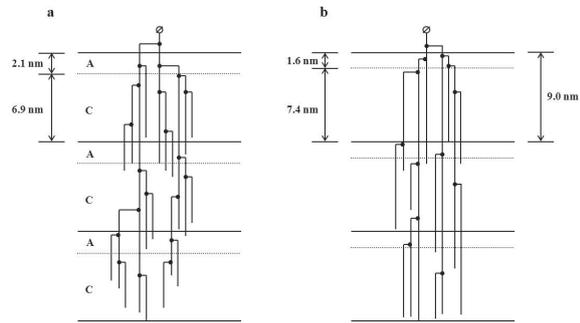


그림 4. 아밀로펙틴 분자를 기반으로 한 전분입자 구조의 단계적 해석

받아들여지고 있다. 이 모델은 분자단위의 수준으로부터 현미경학적으로 측정될 수 있는 전분 입자 수준에 이르는 구조를 단계별로 구분하여 제시하고 있고 이를 간단히 표현하면 그림 4와 같다.

현재까지도 많은 연구자들이 잘못 이해하고 있거나 이해하지 못하는 사항을 잠시 언급하고자 한다. 반결정성을 갖고 있는 전분입자 내의 아밀로스 분자는 실제 전분입자의 결정성을 나타내는데 참여하고 있지 않으며 이는 실험적으로도 증명된 사실이다. 아밀로스 분자가 결정을 쉽게 만드는 것은 호화과정 등을 통해 입자로부터 분리된 이후의 거동양식이다. 또한 아밀로스 분자는 용해도가 지극히 낮은 고분자임을 분명히 하고자 한다. 물론 아밀로펙틴 분자가 참용액을 만드는 수준의 용해도를 갖고 있지 못하나 점도가 높은 meta-stable 분산용액의 형태로 아밀로스에 비해서는 훨씬 높은 수화(solvation) 능력을 갖추고 있다. 전분입자의 형태와 크기는 그 식물체 급원의 종류만큼이나 다양하게 존재한다. 입자 표면에 pore가 존재하는 전분도 있으며, 경우에 따라서는 이 pore가 완벽한 channel을 이루어 입자의 중심에 해당되는 hilum or cavity에 이르기도 한다. 편광현미경하에서는 결정성에 해당되는 복굴절(birefringence) 특성을 나타내고 이는 “Maltese cross”로 표현된다. 전분입자의 반결정성은 X-선 회절 분석법을 통해 밝혀졌다. 사슬간의 이중나선구조 형성을 통해 이루어지는 결정성은 동일한 아밀로펙틴 분자 클러스터 혹은 이웃한 클러스터간에 이루어지고 1차원적인 섬유상 구조에서 이를 통해 초나선구조를 형성하게 된다. 이와같은 초2차구조가 발전하여 crystal lamellar 구조를 형성하며 다시 3차원적으로 진행되면 바로 입체적인 결정구조를 나타내는 것이다. 아밀로펙틴 내 하나의 분자사슬 클러스터는 약 9 nm의 길이를 갖고 있다. 아밀로스 분자는 개별적인 분자로 입자 내에 존재하며, 비교적 무작위로 결정과 비결정 부위에 산재해 있는 것으로 보고되고 있다. 천연전분입자는 약 15-45% 수준의 결정성을 갖고 있다. X-선 회절 분석 결과에 따



Amylopectin structure models of a, normal maize (A-type) and b, amylopectin VII (B-type) starches. A and C stand for the amorphous and crystalline regions, respectively. A repeating distance of 9.0 nm for the cluster and A:B chain ratio of 1.2:1 for both starches are used for the models. Average branch chain-lengths of normal maize and amylopectin VII amylopectins are 24 and 31, respectively.

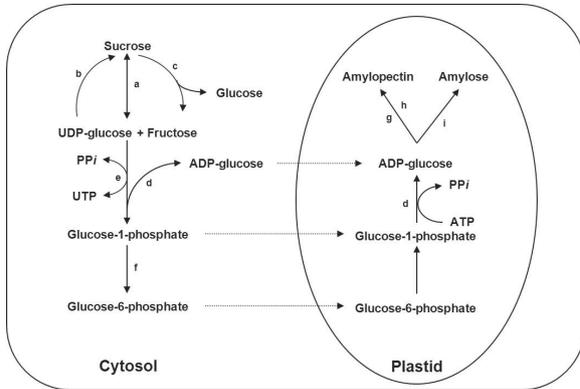
그림 5. A-와 B- 타입 결정구조 전분입자의 아밀로펙틴 분자 구조 모델 비교

르면 결정 패턴에 따라 3가지 형태인 A, B, C 타입으로 구분된다. 아밀로펙틴 사슬길이가 결정타입을 결정하는 중요한 인자이며 실험적으로도 유의적인 연관성을 나타내었다. 이 서로 다른 결정성은 분지형식의 차이에서 기인될 수 있음이 제시되었다. B- 타입의 경우 아밀로펙틴 내 분지점의 분포가 대부분 비결정 부위에 몰려있는 반면, A- 타입은 비결정 부위뿐만 아니라 결정 부위 내에도 분지점들이 존재해서 상대적으로 결정의 유연성이 높을 것으로 예상된다(그림 5).

전분입자의 결정구조가 9.0-9.2 nm에 해당되는 크기로 반복됨을 저각도 X-선 회절분석법을 통해 밀, 감자, 쌀, 옥수수, 보리, 타피오카 전분으로부터 측정되었다. 한 단위의 결정 및 비결정 부위에 해당되는 이 반복적인 길이는 분지사슬길이 분포 측정을 통한 아밀로펙틴 클러스터 크기와 정확히 일치하고 있음이 확인되었다.

4. 전분의 생합성 기전에 대한 이해

전분의 생합성 경로는 그림 6에 간략하게 도식화되어 있다. 잎으로부터 저장기관에 전달된 자당(sucrose)은 alkaline invertase 혹은 sucrose synthase(SuSy)



a, Sucrose synthase (Susy); b, Sucrose-phosphate synthase (SPS); c, Invertase; d, ADPG pyrophosphorylase; e, UGPase; f, Phosphoglucomutase; g, Soluble starch synthase (SSS); h, Branching enzyme (BE); i, Granule-bound starch synthase (GBSS).

그림 6. 저장기관 내 전분의 생합성 예상 경로

에 의해 포도당(또는 UDP-glucose)과 과당(fructose)으로 분해되고, 이는 다시 계속 대사과정을 거치거나 수송체(translocators)를 통해 hexose phosphates의 형태로 amyloplast 내로 전달된다. 일단 ADP-glucose로 전환되면 이미 존재하고 있는 a-D-glucan 사슬의 비환원성 말단에 포도당 공여체로 작용하여 전분합성을 개시한다. 이때 관여하는 효소가 starch synthase이며, 이를 포함해 전분합성에 관여하는 주요 효소를 크게 3가지로 분류한다. 다른 2가지가 ADP-glucose pyrophosphorylase와 branching enzyme이다. 식물체에서 전분 생합성에 관여하는 이들 효소는 각기 여러 개의 동위효소들(isozymes)을 갖고 있어 생합성 기전을 이해하기 어렵게 하고 있다.

ADP-glucose pyrophosphorylase(ADPG-PP, EC 2.7.7.27)는 전분합성 방향으로 탄소 유입을 조절하는 핵심 효소이다. ADPG-PP는 glucose-1-phosphate와 ATP를 활용하여 비가역적으로 ADP-glucose를 생산한다. 따라서 ADPG-PP 활성량의 변화는 직접적으로 전분합성량은 물론 전분구조에 영향을 주어 아밀로펙틴과 아밀로스 생성량의 상대적인 비율에 변화를 줄 수 있는 것으로 밝혀졌다. 옥수수 품종 중 2가지 돌연변이체인 *Shrunken-2*와

*Brittle-2*에서는 전분함량이 절대적으로 감소했으며, 이는 ADPG-PP의 활성 수준이 현저히 감소한 결과로 파악되었다. 담배잎, 토마토, 감자 등의 식물체에 조절인자에 의해 조절받지 않도록 유전자 조작을 한 대장균 ADPG-PP을 이식한 형질전환체가 대조구에 비해 훨씬 더 많은 양의 전분을 합성하여 축적한 사례들이 보고되었다.

Starch synthase(SS, EC 2.4.1.21)는 ADP-Glc를 공여체 기질로 활용하여 이미 존재하고 있는 말토올리고당류나 글루칸 분자들을 수용체 기질로 인식하고 포도당을 새로운 α -1,4-결합을 통해 비환원성 말단에 옮겨주는 전이효소이다. 다양한 종류의 식물체 내에서 다수의 starch synthase 동위효소들이 발견되어 오고 있다. 아미노산 서열 분석을 통해 옥수수에는 최소 3 종류의 수용성 SS 동위효소들이 존재함이 확인되었다. 이들 각각의 동위효소가 인위적으로 유도된 돌연변이주 연구를 통해 어떻게 개별적인 역할을 하고 있는지 밝혀지고 있으나, 정확한 반응 및 대사조절 기전에 관해서는 좀 더 많은 연구가 필요하다. Granule-bound starch synthase I(GBSSI)은 전분입자에 단단히 결합된 형태의 SS 동위효소이며, 아밀로펙틴 합성에 관여하는 수용성 SS와 기능적 역할에 있어서 완벽하게 분리된 특이한 효소다. 이 효소는 아밀로스 합성을 위한 배타적이고 유일하게 진행되는 효소로 알려져 있다. 따라서 GBSSI 효소 유전자의 발현 억제를 통해 전분입자 내의 아밀로스 합성을 원천적으로 차단할 수 있다. 물론 GBSSI가 아밀로펙틴 합성에 관여할 수 있음을 배제할 수는 없다. GBSSI이 결여된 돌연변이주에서 아밀로펙틴의 최장분지사슬 비율이 대조구에 비해 현저히 감소하거나 사라진 결과가 이를 뒷받침하고 있다.

Branching enzyme(BE, EC2.4.1.18)은 전분구조 내 새로운 α -(1, 6)-결합을 생성함으로써 전분생합성 과정에 관여하는 가지화 효소이다. 식물체 BE 동위효소들의 역할은 상대적으로 SS 동위효소들에 비해 잘 이해되고 있는 편이다. 2가지 타입의 옥수수 BEI과 II가 *in vitro* 생화학적 연구방법을 통해서



로 다른 기질 특이성과 분지 양식을 갖고 있음을 알아냈다. BEI은 상대적으로 긴 사슬을 전이시키며 BEIIa 나 BEIIb 보다 상대적으로 아밀로스에 대한 활성이 높게 측정되었고, 이들 BEII 아밀로펙틴과 짧은 사슬에 대한 반응을 선호하는 것으로 나타났다. hypothesized BEI 이 아밀로펙틴의 B- 사슬을 생산하는데 깊이 관여하고 있는 반면, BEIIa 와 BEIIb는 A- 사슬을 생성하는데 주로 관여할 것으로 가설을 제시하기도 했다. 몇몇 연구에서는 특정 SS와 BE 동위효소들간에 아밀로펙틴의 분지 비율 조절을 위한 상호작용이 존재하는 것으로 가설을 제시했다. 아마도 발현되는 SS와 BE 효소들간의 평형관계가 전분의 최종 구조를 결정하는데 중요한 인자일 가능성은 매우 높다. 그러나 전분구조에 미치는 영향이 일방적으로 돌연변이에 의해 나타난 결과인지 이들 효소간의 활성 평형이 파괴됨으로써 이차적인 영향을 준 것인지 해답을 얻기가 쉽지 않다. 또 다른 연구들에서는 이들 해당 효소 유전자의 antisensing이나 돌연변이를 통해 pleiotropic effect(특정 효소 유전자 발현 억제가 동위효소 유전자의 발현을 통해 상쇄되어 표현형에 변화가 없는 효과)가 관여하고 있음을 제안하기도 했다.

Starch debranching enzyme(DBE)는 특이적으로 전분구조내의 α -(1, 6)-결합을 특이적으로 분해하는 탈가지화 효소이며, 2가지 서로 다른 DBE가 식물체에 존재함을 확인하였다. Isoamylase-타입(glycogen 6-glucanohydrolase, EC 3.2.1.68) 효소는 아밀로펙틴이나 글리코겐의 α -(1, 6)-결합을 쉽게 분해하지만 분지된 말토올리고당이나 플루란 구조에는 미미하거나 전혀 활성을 나타내지 못한다. Pullulanase-타입(pullulan 6-glucanohydrolase, EC 3.2.1.41) 효소는 식물체에서 R-효소 또는 한계-dextrinases 로도 알려져 있으며, 플루란과 β -한계 텍스트린에 훨씬 높은 특이적 활성을 보여준다. 생화학적 연구를 통해 옥수수과 쌀의 *Sugary-1*과 *Chlamydomonas*의 *Sta-7* 돌연변이체가 모두 DBE 활성이 결여되어 전분 대신 phytyglycogen을 생산하여 축적하는

결과를 나타냈다. 두 가지 가설이 DBE 효소의 전분생합성에 관여하는 역할을 설명하기 위해 제시되었다. 첫번째 가설인 “glucan-trimming model”에서는 글리코젠과 유사한 무작위적인 분지패턴(즉 phytyglycogen)이 중간산물 혹은 아밀로펙틴 전구체로 생산되며, 이후 DBE가 과도하게 분지된 사슬을 가지치기하여 아밀로펙틴의 클러스터화된 분지구조로 발전하게 된다고 설명하고 있다. 두번째 가설은 phytyglycogen이 전분생합성 과정에서 SS and BE가 수용성 올리고당 또는 글루칸에 작용하여 일반적으로 생성되는 부산물이며, 이 phytyglycogen 분자는 대부분 amylases, phosphorylases, DBE 효소들의 작용을 통해 전분으로 축적되는 과정이 억제된다는 설명을 하고 있다. 이 “glucan recycling model”가설에 따르면 DBE이 소실된 돌연변이주에서는 phytyglycogen 합성이 아밀로펙틴 합성 과정과 SSS, SBE, ADP-glucose를 활용하기 위해 경쟁적으로 이루어지고 있으며, 결과적으로 아밀로펙틴의 합성이 감소하고 phytyglycogen이 축적되는 것으로 설명하고 있다. 현재까지도 DBE 효소들이 아밀로펙틴 합성에 직접적으로 관여하고 있는지 여부는 직접적인 증명을 통해 밝혀야 하는 연구주제이다.

5. 유전자 조절을 통한 맞춤형 전분구조 개발 및 식품 산업체 응용

ADPG-PP은 전분합성 방향으로의 탄소 공급 속도를 지배하는 핵심 효소이자 조절 효소이다. 앞선 단원에서 언급했듯이 대장균 ADPG-PP 유전자를 감자에 발현시킴으로써 전분 함량을 유의적으로 증가시킨 연구결과가 보고되었으며, 이는 유전공학적인 기법을 활용한 첫번째 연구결과로써 의미가 매우 크다. 전체적으로 전분합성을 위한 탄소 유입속도는 결과적으로 전분구조에 큰 영향을 준다. 전분 생합성 대사경로에서 ADP-glucose를 생산하는데 관여하는 이 효소활성의 감소는 아밀로펙틴 대비 아밀로스 함량 비율을 낮추는 결과

를 가져다 주었다. 전분 생합성 경로로의 탄소 유입의 감소와 ADP-glucose 농도의 저하는 아밀로스에 비해 아밀로펙틴 합성이 선호되는 것으로 보인다. 전분합성을 위한 탄소공급 조절을 통해 전분의 구성성분과 구조에 변화를 가져올 수 있도록 할 수 있다는 것이다. 자연적으로 혹은 육종을 통해 GBSS가 결여된 돌연변이는 아밀로스가 존재하지 않는 100% 아밀로펙틴의 waxy-type 전분을 합성하여 축적한다. 보다 적극적으로는 형질 전환 감자와 쌀의 antisense RNA 도입으로 GBSS의 발현 수준을 저하시킬 수 있다. 역으로는 waxy 발현형에 GBSS 유전자를 도입하여 발현시킴으로써 GBSS가 명확히 아밀로스 합성에 관여함을 보여주기도 했다. 따라서 아밀로스가 없는 전분 구조는 현재 유전공학적인 기법을 통해서 상대적으로 쉽게 생산될 수 있음을 의미한다. 반면 고아밀로스 전분은 branching enzyme의 발현을 억제함으로써 생산할 수 있으며, 현재 수종의 고아밀로스 옥수수 전분을 상업적으로 구입이 가능하다. A significantly reduced activity of 옥수수 BEII 동위효소 활성의 감소를 통해 일반 옥수수전분의 아밀로스 함량의 현저한 증가와 더불어 아밀로펙틴의 평균적인 분지사슬길이의 증가로 이어졌다. 이는 세균 glycogen branching enzyme를 감자에 과발현시킴으로써 아밀로스가 사라지고 분지된 글루칸이 생성됨으로써도 정확히 이해될 수 있었다. 동시에 BEI과 II 동위효소들을 모두 antisensing을 통해 발현 억제 시킴으로써 초 고아밀로스 감자전분을 생산할 수도 있었다. 평균적인 분지사슬길이의 변화 등을 통해 변형된 아밀로펙틴 구조의 생성은 총 SS 활성의 조절 또는 개별적인 SS 동위효소 활성을 조절함으로써 이루어질 것으로 예상된다.

Pea embryo 내의 SSII 동위효소 활성의 변화를 유도하여 아밀로펙틴의 분지사슬길이 분포를 바꿀 수 있었다. 이 경우에는 단쇄 및 장쇄 사슬들의 상대적 분포 비율의 증가가 중간크기(DP15-50) 사슬의 감소를 통해 이루어진 것으로 파악되었다. 따라서 SSII 동위효소가 중간크기의 사슬을 생성

하는 역할을 담당하고 있는 것을 알게 되었다. 그러나 감자에서는 SSII이나 SSIII 동위효소들의 발현억제를 통해서 아주 미세한 분지사슬길이 분포의 변화만을 나타냈다. 이들 SSII와 SSIII 동위효소들의 동시적인 발현억제를 통해서 상당히 큰 아밀로펙틴 구조의 변화를 보여주었는데, DP12보다 긴 분지사슬들의 비율이 현저히 감소했고 이는 총 SS 활성 감소량과 밀접한 관계가 있는 것으로 파악되었다. 지금까지 유전공학적인 기법을 활용한 전분구조의 변형은 전분생합성에 관여된 효소들의 역할을 밝히는 수준에 머물러 있는 것이 사실이다. 맞춤형 전분구조의 생산은 전분생합성 대사경로와 조절기작에 대한 완벽한 이해를 통해 가능할 것이다. 이 연구분야의 궁극적인 목적은 유전공학적인 기법으로 개량된 전분구조의 응용범위를 고려한 정밀한 생산방법의 설계에 있다. 이와 같은 목적지향적이고 예상 가능한 방향으로의 전분생합성 대사경로의 조절은 식품산업뿐만 아니라 기타 산업분야의 응용범위에도 큰 영향을 줄 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Abel GJW, Springer F, Willmitzer L, Kossmann J. Cloning and functional analysis of a cDNA encoding a novel 139 kDa starch synthase from potato(*Solanum tuberosum* L.) Plant J. 10: 981-991 (1996).
2. Aberle T, Burchard W, Vorweg W, Radosta S. Conformational contributions of amylose and amylopectin to the structural properties of starches from various sources. Starch/Staerke 46: 329-335 (1994).
3. Ball S, Guan H, James M, Myers A, Keeling P, Mouille G, Buleon A, Colonna P, Preiss J. From glycogen to amylopectin: A model for the biogenesis of the plant starch granule. Cell 86: 349-352 (1996).
4. Bello-Perez LA, Roger P, Baud B, Colonna P. Macromolecular features of starches determined by aqueous high-performance size exclusion chromatography. J. Cereal Sci. 27: 267-278 (1998).
5. Bogracheva TY, Davydova NI, Genin YV, Hedley CL. Mutant genes at the r and rb loci affect the structure and physico-chemical properties of pea seed starches. J. Experim. Botany 46: 1905-1913 (1995).
6. Boyer CD, Preiss J. Evidence for independent genetic control of the multiple forms of maize endosperm branching enzymes and starch



- syntheses. *Plant Physiol.* 115: 949-957 (1981).
7. Craig J, Lloyd JR, Tomlinson K, Barber L, Edwards A, Wang TL, Martin C, Hedley CL, Smith AM. Mutations in the gene encoding starch synthase II profoundly alter amylopectin structure in pea embryos. *Plant Cell* 10: 413-426 (1998).
 8. Delure B, Fontaine T, Routier F, Decq A, Weiruszeski, J-M et al. Waxy *Chlamydomonas reinhardtii* monocellular algal mutants defective in amylose biosynthesis and granule-bound starch synthase activity accumulate a structurally modified amylopectin. *J. Bacteriol.* 174: 3612-3620 (1992).
 9. Denyer K, Waite D, Motawia S, Moller BL, Smith AM. Granule-bound starch synthase I in isolated starch granules elongates malto-oligosaccharides processively. *Biochem. J.* 340: 183-191 (1999).
 10. Doehlert DC, Knutson CA. Two classes of starch debranching enzymes from developing maize kernels. *J. Plant Physiol.* 138: 566-572 (1991).
 11. Edwards A, Borthakur A, Bornemann S, Venail J, Denyer K, Waite D, Fulton D, Smith A, Martin C. Specificity of starch synthase isoforms from potato. *Eur. J. Biochem.* 266: 724-736 (1999).
 12. Edwards A, Marshall J, Sidebotto C, Visser RGF, Smith AM, Martin C. Biochemical and molecular characterization of a novel starch synthase from potato tubers. *Plant J.* 8: 283-294 (1995).
 13. Flipse E, Keetels CJAM, Jacobson E, Visser RGF. The dosage effect of the wildtype GBSS allele is linear for GBSS activity but not for amylose content: absence of amylose has a distinct influence on the physico-chemical properties of starch. *Theor. Appl. Genet.* 92: 121-127 (1996).
 14. French D. Fine structure of starch and its relationship to the organization of starch granules. *Denpun Kagaku* 19: 8-25 (1972).
 15. Galliard T, Bowler P. Morphology and composition of starch. (In) *Critical Reports on Applied Chemistry*, vol 13. Starch: Properties and Potential. John Wiley & Sons, London, UK, pp 55-78 (1987).
 16. Gallant DJ, Bouchet B, Baldwin PM. Microscopy of starch: evidence of new level of granule organization. *Carbohydr. Polymers* 32: 177-191 (1997).
 17. Gao M, Wanat J, Stinard PS, James MG, Myers AM. Characterization of *dull1*, a maize gene coding for a novel starch synthase. *Plant Cell* 10: 399-412 (1998).
 18. Guan H, Kuriki T, Sivak M, Preiss J. Maize branching enzyme catalyzes synthesis of glycogen-like polysaccharide in *glgB*-deficient *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 92: 964-967 (1995).
 19. Guan H, Li P, Imparl-Radosevich J, Preiss J, Keeling P. Comparing the properties of *Escherichia coli* branching enzyme and maize branching enzyme. *Arch. Biochem. Biophys.* 342: 92-98 (1997).
 20. Guan H, Preiss J. Differentiation of the properties of the branching isozymes from maize (*Zea mays*). *Plant Physiol.* 102: 1269-1273 (1993).
 21. Harn C, Knight M, Ramakrishnan A, Guan H, Keeling PL, Wasserman BP. Isolation and characterization of the zSSIa and zSSIb starch synthase clones from maize endosperm. *Plant Mol. Biol.* 37: 639-649 (1998).
 22. Hizukuri S. Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. *Carbohydr. Res.* 141: 295-310 (1985).
 23. Hizukuri S, Takeda Y, Maruta N, Juliano BO. Molecular structures of rice starch. *Carbohydr. Res.* 189: 227-235 (1989).
 24. Hovenkamp-Hemelink JHM, Jacobson E, Ponstein AS, Visser RGF, Vos-Scheperkeuter GH, Bijmolt EW, De Vries JN, Witholt B, Feenstra WJ. Isolation of an amylose-free starch mutant of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 75: 217-221 (1987).
 25. Iglesias AA, Kakefuda G, Preiss J. Regulatory and structural properties of the cyanobacterial ADPglucose Pyrophosphorylases. *Plant Physiol.* 97: 1187-1195 (1991).
 26. Imberty A, Buleon A, Vinh T, Perez. Recent advances in knowledge on starch structure. *Starch/Staerke* 43: 375-384 (1991).
 27. Inouchi N, Glover DV, Fuwa H. Chain length distribution of amylopectins of several single mutants and the normal counterpart, Sugary-1 phytoglycogen in maize (*Zea mays* L.). *Starch/Staerke* 39: 259-266 (1987).
 28. Jane J, Chen J. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. *Cereal Chem.* 69: 60-65 (1992).
 29. Jane J, Wong K, McPherson A. Branch-structure difference in starches of A- and B-type x-ray patterns revealed by their Naegeli dextrans. *Carbohydr. Res.* 300: 219-227 (1997).
 30. Jane J, Xu A, Radosavljevic M, Seib PA. Location of amylose in normal starch granules. I. Susceptibility of amylose and amylopectin to cross-linking reagents. *Cereal Chem.* 69: 405-409 (1992).
 31. Kasemsuwan T, Jane J. Location of amylose in normal corn starch granules II. Locations of phosphodiester cross-linking revealed by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance. *Cereal chem.* 71: 282-287 (1994).
 32. Kasemsuwan T, Jane J. Quantitative method for the survey of starch phosphate derivatives and starch phospholipids by ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Cereal Chem.* 73: 702-707 (1996).
 33. Knight ME, Harn C, Lilley CER, Guan H, Singletary GW, Mufoster C, Wasserman BP, Keeling PL. Molecular cloning of starch synthase I from maize (W64) endosperm and expression in *Escherichia coli*. *Plant J.* 14: 613-622 (1998).
 34. Kortstee AJ, Suurs LCJM, Vermeesch AMS, Keetels CJAM, Jacobson E, Visser RGF. The influence of an increased degree of branching in the physico-chemical properties of starch from genetically modified potato. *Carbohydr. Polymers* 37: 173-184 (1998).
 35. Kossmann J, Abel GJW, Springer F, Lloyd J, Willmitzer L. Cloning and functional analysis of a cDNA encoding a starch synthase from potato (*Solanum tuberosum* L.) that is predominantly expressed in

- leaf tissue. *Planta* 208: 503-511 (1999).
36. Lloyd JR, Landschütze V, Kossmann J. Simultaneous antisense inhibition of two starch-synthase isoforms in potato tubers leads to accumulation of grossly modified amylopectin. *Biochem. J.* 338: 515-521 (1999).
 37. Mouille G, Maddelein ML, Libessart N, Talaga P, Decq A, Delrue B, Ball S. Preamylopectin processing: a mandatory step for starch biosynthesis in plants. *Plant Cell* 8: 1353-1366 (1996).
 38. Nakamura Y, Umemoto T, Takahata Y, Komae K, Amano E, Satoh H. Changes in the structure of starch and enzyme activities affected by sugary mutations in developing rice endosperm. Possible role of starch branching enzyme(R-enzyme) in amylopectin biosynthesis. *Physiol. Plant* 97: 491-498 (1996).
 39. Sarko A, Wu HCH. The crystal structures of A-, B- and C-polymorphs of amylose and starch. *Starch/Stärke* 30: 73-78 (1978).
 40. Schwell GP, Safford R, Westcott RJ, Jeffcoat R, Tayal A, Shi YC., Gidley MJ, Jobling SA. Production of very-high-amylose potato starch by inhibition of SBE A and B. *Nature Biotech.* 18: 551-554 (2000).
 41. Sidebottom C, Kirkland M, Strongitharm B, Jeffcoat R. Characterization of the difference of starch branching enzymes activities in normal and low-amylopectin maize during kernel development. *J. Cereal Sci.* 27: 279-287 (1998).
 42. Singletary GW, Banisadr R, Keeling P. Influence of gene dosage on carbohydrate synthesis and enzyme activities in endosperm of starch-deficient mutants of maize. *Plant Physiol.* 113: 291-304 (1997).
 43. Stark DM, Timmerman KP, Barry GF, Preiss J, Kishore GM. Regulation of the amount of starch in plant tissues by ADP glucose pyrophosphorylase. *Science* 258: 287-292 (1992).
 44. Stitt M, Sonnewald U. Regulation of metabolism in transgenic plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Biol.* 46: 341-368 (1995).
 45. Van den Koornhuysse N, Libersert N, Delure B, Zabawinski C, Decq A, Iglesias A, Carton A, Preiss J, Ball S. Control of starch composition and structure through substrate supply in the monocellular alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Biol. Chem.* 271: 16281-16287 (1996).
 46. Viksø-Nielsen A, Blennow A, Nielsen TH, Møller BL. Phosphorylated $\alpha(1 \rightarrow 4)$ glucans as substrate for potato starch-branching enzyme I. *Plant Physiol.* 117: 869-875 (1998).
 47. Visser RGF, Somhorst I, Kuipers GJ, Ruys NJ, Feenstra WJ, Jacobsen E. Inhibition of the expression of the gene for granule-bound starch synthase in potato by antisense constructs. *Mol. Gen. Genet.* 225: 289-296 (1991).
 48. Yuan RC, Thompson DB, Boyer CD. Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from the waxy-containing genotypes in two inbred lines. *Cereal Chem.* 70: 81-89 (1993).
 49. Zeeman SC, Umemoto T, Lue WL, AuYeung P, Martin C, Smith AM, Chen J. A mutant of *Arabidopsis* lacking a chloroplastic isoamylase accumulates both starch and phytoglycogen. *Plant Cell* 10: 1699-1711 (1998).