

植物 Protoplast의 細胞壁再生과 Cytokinin

柳 基 中 博 士
(濟州大農大)

Cytokinin의 하나인 benzyladenine(BA)이 대두 *Glycine max* (L) Merr, var. Acme)에 있어서 조직수준의 상처치유 즉, 상처 callus 形成을 促進하는 機能이 있다는 것과 protoplast의 細胞壁再生에 있어서 BA의 역할을 究明하고자 하였다. 아울러 BA와 결합하는 일단백을 調査하고 receptor로서의 可能性을 檢討하였다.

유묘의 자엽 및 배축조직절편을 培養했을 때, BA를 添加한 배지에서는 callus가 形成되었으나 添加하지 않은 배지에서는 callus가 形成되지 않았다. 자엽조직절편으로부터 生成된 callus의 양은 0-5mg/l의 範圍내에서 배지의 BA濃度(대수값)에 비례하였다. Callus 유기에 사용된 조직절편의 처음무게는 callus 生成량에 影響을 주지 않았다. 이 結果들은 BA가 상처 callus의 形成을 促進하는 作用이 있음을 보여 주었다.

BA가 細胞壁再生을 促進한다는 다음과 같은 증거들을 얻었다. Calcoflour white法으로 測定한 protoplast 細胞壁再生率이 배지의 BA濃度(0~1mg/l 범위)가 클수록 높았다. 방사능표지 BA를 배지에 添加했을 때 protoplast의 방사능이 18時間 以內에 最大에 到達했으며, 6時間 以內에 最大放射能의 2/3에 이르렀다. Protoplast의 細胞分列이 배지의 BA에 의해 촉진되었다. Callus의 NaOH 可溶性 callose含量은 배지의 BA濃도가 클수록 낮았으나, 불용성 callose 含量은 높았다.

β -1,3-Glucan synthase를 活性化시키는 것으로 알려진 Ca^{2+} 을 배지에 添加했을 때, protoplast의 細胞壁再生이 促進되었고 callus의 Ca^{2+} 含量은 배지의 BA 濃도가 높을수록 增加했다. Callus의 전질소와 borate buffer(0.2M, pH 7.6)가용성 단백질함량이 배지의 濃도가 높을수록 증가했다. 또 protoplast와 plasmolyzed 細胞의 nonspecific esterase (fluorescein diacetate 分解酵素) 活性이 BA處理에 의하여 增加되었다. 이 結果들은 BA가 Ca^{2+} 조절, 단백질합성 또는 esterase 活性化를 통하여 細胞壁再生을 促進할 수 있음을 보여 주었다.

유묘의 蛋白質추출물을 Sephadex G-150 gel permeation chromatography하여, β -1, 3-glucanase 活性이 있는 분획의 polypeptide를 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis로 調査하였다. 주된 polypeptide는 分子量이 21 KD인 것이었는데 polypeptide는 callus 細胞 추출물에도 있음이 확인되었다. BA는 callus 細胞의 β -1, 3-glucanase 合成의 抑制를 통해 callose 분해계를 不活性化 시킴으로서도 細胞壁再生을 增進시킬 수 있는 것으로 생각되었다.

Ammonium sulfate 침전법, gel permeation chromatography 및 paper chromatography에 의하여 單단백질과 BA의 結合을 確認하였다. 5% gel을 사용한 polyacrylamide gel electrophoresis에서 분리된 단백질중 Rf가 0-0.2인 분리대의 단백질이 BA에 대해 친화도가 큰 것으로 나타나 이 단백질분획에 cytokinin receptor가 포함되어 있을 가능성이 있었다.