

## 대두 (*Glycine max* L.)의 자엽 부정근 형성시 특이단백질의 변화 양상

韓泰鎭\*

한림대학교 자연과학대학 생물학과

### Changes in Specific Protein Profiles during Initiation of Adventitious Roots in Soybean (*Glycine max* L.) Cotyledons

Tae Jin HAN\*

Department of Biology, Hallym University, Chuncheon, Korea. \*Corresponding author.

The potency of adventitious root initiation was investigated in relation with germination days and the effect of culture days treated with root induction medium on the initiation of adventitious roots from explants of soybean (*Glycine max* L.) cotyledon. Also, the changes in the pattern of protein profiles related with adventitious root initiation have been examined by two-dimensional polyacryl-amide gel electrophoresis during the germination and the initiation of adventitious roots. The potency of adventitious root initiation from germinated cotyledons was high after 4 days, and adventitious roots were initiated from after 4 days and very high after 6 days treated with root induction medium. There was a reproducible quantitative change in 34 specific protein spots during germination and adventitious root initiation. A necessary basic protein for adventitious root initiation with relative molecular weight of 27 kD was induced during the germination. And three basic protein groups with relative molecular weight 22 kD, 23 kD and 33 kD, and two acidic protein groups with relative molecular weight 27 kD and 29 kD were induced during the initiation of adventitious roots.

**Key word:** adventitious root, silver staining, soybean, specific protein

## 서 론

식물의 기관 분화는 식물 조직 절편에 대한 배지 내 auxin과 cytokinin 조성비에 좌우되는 것으로 알려져 있으며 (Skoog and Miller, 1957) 기관 분화 중 부정근 형성에 관한 연구는 주로 auxin에 의한 부정근 촉진 효과에 관한 연구 (Eliasson and Arebled, 1984; Pluss et al., 1989)가 대부분이다.

Trewavas(1983)는 이러한 호르몬에 의한 부정근이나 묘조의 형성은 동일한 세포가 각각 다른 호르몬 조성에 의하여 형성되는 것이 아니라 이미 묘조나 부정근 형성 세포로 결정되어진 세포가 식물 호르몬의 영향을 받아 각각의 기

관 형성이 이루어진다고 하였다. 따라서 부정근 형성을 포함한 식물의 기관 분화시 기관 분화에 특이적인 세포나 기관 분화에 관련된 식물 호르몬의 작용 양상에 대한 연구가 필요하나 식물 호르몬의 종류와 농도, 처리 시간, 및 조직 절편에 따른 영향 등에 관련된 실험 결과도 아직은 일관성 있는 결론을 내리기에는 미흡하며 더욱이 기관 분화와 관련된 유전자의 발현이나 특이단백질 등과 같은 분야의 연구는 더욱 미흡하다.

식물의 기관 분화시 식물 호르몬의 처리 시간에 대한 연구는 Christianson과 Warnick(1983)에 의하여 이루어진 바 있으며 이러한 기관 분화시 나타나는 특이 단백질은 Dhindsa 등(1987)에 의하여 연구되었으나 부정근 형성시

저분자량 단백질들이 auxin에 의하여 특이적으로 합성된다는 보고 정도이다. 이처럼 기관 분화나 식물 호르몬의 작용에 대한 연구는 아직 초기 단계에 있으므로 부정근 형성에 작용하는 식물 호르몬의 작용 양상과 이에 따른 특이 단백질의 변화 양상 등에 대한 보다 깊이 있는 연구가 필요하며 기관 분화를 위한 식물 조직의 조건이나 특성 규명도 필요하리라 생각된다.

이에 따라 본 실험은 부정근 형성 기구 규명의 일환으로 대두 자엽 절편을 이용하여 발아 정도에 따른 대두 자엽 절편의 부정근 형성능과 부정근 형성 배지에서 식물 호르몬 처리 시간이 부정근 형성에 미치는 영향을 조사한 다음, 발아 정도에 따라 부정근 형성에 관련이 있는 자엽내 특이 단백질의 변화 양상과 부정근 형성 배지에서의 배양일 경과에 따른 자엽 절편 내 특이 단백질의 변화 양상을 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 식물 재료

대두(*Glycine max* L. cv 0'장영') 종자를 살균하여 암소에서 발아시킨 유식물에서 폭 3 mm 자엽 절편을 만들어 실험 재료로 사용하였다.

### 부정근 형성 양상 조사

발아일 경과에 따른 부정근 형성능을 조사하기 위하여 발아 0일부터 6일까지의 대두 자엽 절편을  $5 \times 10^{-7}$  M kinetin과  $5 \times 10^{-6}$  M NAA로 조성한 부정근 형성 배지(Ha et al., 1991)에 치상하여 10일간 배양하면서 부정근 형성 양상을 조사하였으며, 부정근 형성 배지에서 식물 호르몬의 처리 시간 경과에 따라 부정근 형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 발아일에 따른 부정근 형성능 확인 실험을 근거로 하여 발아 4일된 대두 자엽 절편을 부정근 형성 배지에 배양 0일부터 6일까지 날짜별로 각각 치상하여 배양한 대두 절편을 다시 호르몬 결체 배지에 옮겨 각각 4일부터 10일간 배양하여 모든 배양 절편의 전체 배양일이 10일이 되도록 배양하면서 부정근 형성 양상을 조사하였다.

### 시료의 채취

발아일에 따른 2차원 전기영동법에 의한 특이 단백질 변화 양상을 조사하기 위하여 발아 0일, 2일 및 4일의 자엽 절편을 취하였으며 부정근 형성시의 특이 단백질 변화 양상을 조사하기 위한 단백질 시료는 발아 4일의 대두 자엽

절편을 부정근 형성 배지에 치상하여 배양 2일, 4일 및 6일 경과된 것을 취하였고 수용성 단백질 함량 조사는 배양 개시일부터 6일까지 날짜별로 취하여 각각 단백질 추출 시료로 사용하였다.

### 단백질의 추출과 정량

2차원 전기영동을 위한 단백질의 추출은 자엽 절편 500 mg을 4°C의 막자사발에서 Reynolds(1990)의 방법을 변형한 단백질 추출용 완충액(0.2 M Tris-HCl, 56 mM 2-mercaptoethanol, 0.5 M sucrose, pH 8.5) 2 ml에 sea sand를 넣고 균질화시킨 다음 8,000 x g, 4°C에서 20분간 원심분리시킨 상정액을 cold acetone 침전법(Krama, 1989)으로 분리한 후 urea solubilization buffer (O'Farell, 1975)와 혼합하여 사용하였다. 단백질 정량은 Lowry (Lowry et al., 1951)의 방법을 사용하였다.

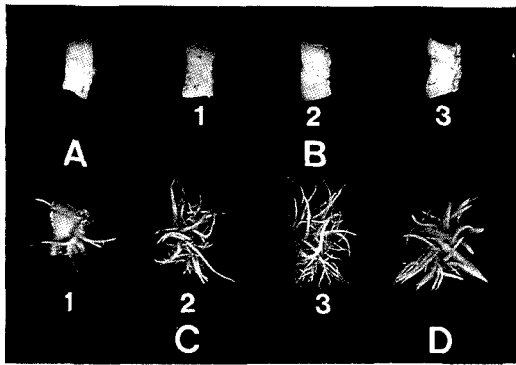
### 2차원 전기영동

2차원 전기영동은 O'Farell(1975)의 방법을 기본으로 하여 Stabel(1990), Hurkman(1986)의 방법을 변형하여 사용하였다. 등전점 분리를 위한 gel 조성은 9 M urea, 2% Nonidet P-40, 2% ampholines (pH 5-7 Ampholine 1.6%: pH 3-10 Ampholine 0.4 %), 4% acrylamide로 조성하였으며 등전점의 분리는 200 V에서 15분, 300 V에서 30분, 400 V에서 30분간 pre-focusing시킨 후 500 V에서 16시간, 800 V에서 2 시간 수행하였다. Slab gel은 12% polyacrylamide gel을 사용하여 (Laemmli, 1970) silver staining (Oakley et al., 1980) 방법으로 염색하였다.

## 결 과

### 부정근 형성 양상

발아일과 부정근 형성 배지에서의 배양일에 따른 대두 자엽 절편의 부정근 형성 양상 조사(Fig. 1)에서 먼저 발아일에 따른 부정근 형성능(Table 1)은 종자 자체의 자엽은 부정근 형성능이 전혀 없었고 발아 1일 즉 하배축이 0.5 mm 정도인 자엽에서는 약 5개 정도로 극소수의 부정근이 형성되었으나 발아 2일의 하배축 길이 1 cm 정도의 자엽에서는 약 46개, 발아 3일의 하배축 길이 2 cm 정도의 자엽에서는 약 74개, 그리고 발아 4일의 하배축 길이 5 cm 정도의 자엽에서는 약 82개의 부정근이 형성되었는데 그 이후는 발아 4일의 경우와 유사하였으며 자엽이 심하게 갈변화되기까지 부정근 형성능에 큰 변화가 없었다. 한편 부정근 형



**Figure 1.** Adventitious root initiation in 10 days from cotyledonary explants of soybean. (A): Cotyledonary explant in hormone free medium after 10 days; (B): Cotyledonary explants transferred into hormone free medium after treating on the rooting medium for 1 (B1), 2 (B2) and 3 (B3) days; (C): Adventitious roots initiated after transfer into hormone free medium after treating on the rooting medium for 4 (C1), 5 (C2) and 6 (C3) days; (D): Adventitious roots initiated on root induction medium after 10 days.

**Table 1.** Mean number of adventitious roots produced in 10 days from cotyledonary explants of soybean after various days of germination on root induction medium.

Days	0	1	2	3	4	5	6
Root No.	-	7±1.2	46.1±2.9	74.2±3.9	81.2±1.6	83.4±1.3	82.5±1.5

\*Mean values±SEM for 5 explants.

**Table 2.** Mean number of adventitious roots produced in 10 days from cotyledonary explants of soybean on hormone free medium, after they are exposed to root induction medium for various days.

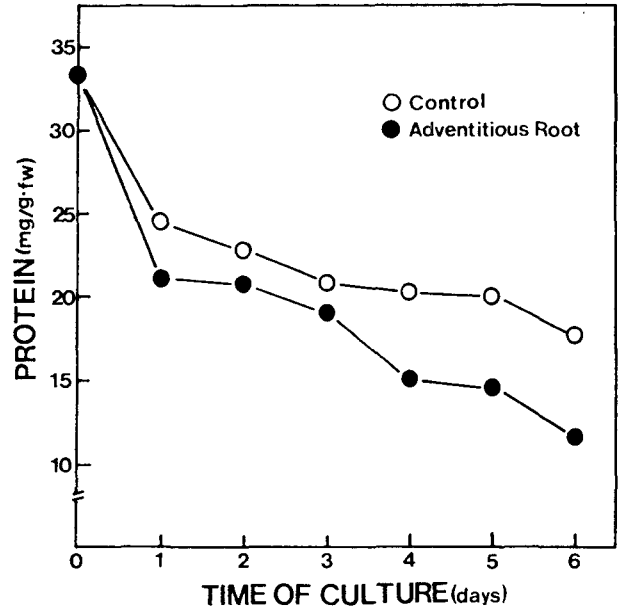
Days	0	1	2	3	4	5	6
Root No.	-	-	-	-	8.2±1.0	7.2±1.4	8.2±1.6

\*Mean values±SEM for 5 explants.

성 배지에 치상한 후 호르몬 결제 배지에 옮겨 총 배양일이 10일이 되도록 한 실험에서 호르몬 처리일 경과에 따른 부정근 유기 결과(fig. 2) 부정근 형성 배지에 치상한 후 3일까지는 전혀 부정근 형성이 없었으며 호르몬 처리 4일에 평균 8개 정도 형성되기 시작하여 호르몬 처리 5일과 6일에는 각각 72개 및 82개 정도의 부정근이 형성되었으나 이때의 부정근(Fig. 1C)은 자엽 절편을 10일간 계속 부정근 형성 배지에서 배양한 것(Fig. 1D)에 비하여 부정근이 가늘었다.

수용성 단백질 함량 변화

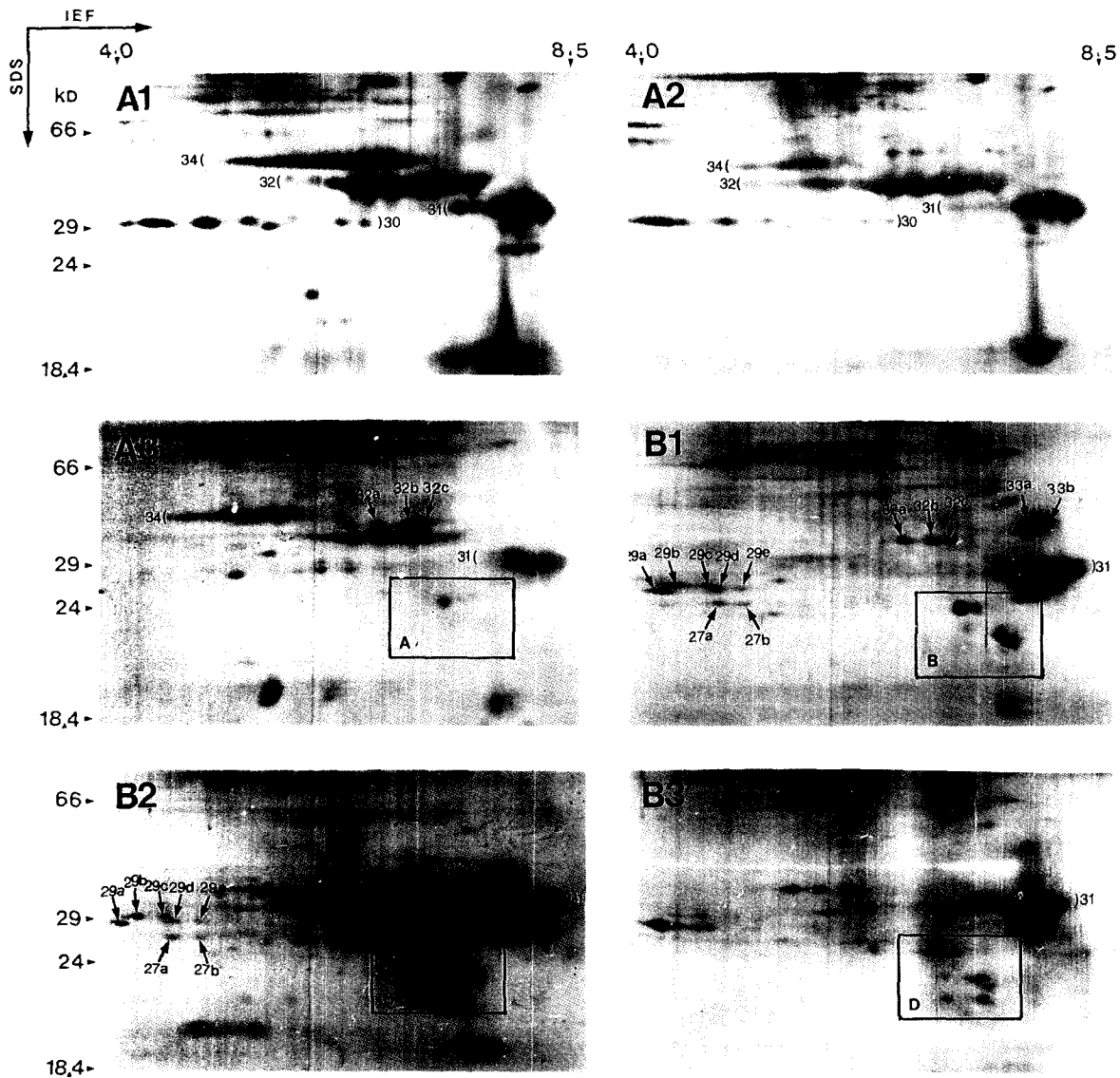
대두 자엽 절편의 부정근 형성시의 총단백질 변화 양상을 조사한 결과(Fig. 2) 호르몬 결제구인 대조구에서는 비교적 완만히 감소하였으며 부정근 형성구인 시험구에서는 배양 1일에 다소 많이 감소하였다가 배양 2일에는 배양 1일과 유사하였으나 그 이후 급격히 감소하였다.



**Figure 2.** Variation of total soluble protein contents in cotyledonary explants of soybean during the initiation of adventitious root on root induction medium.

2차원 전기영동법에 의한 특이 단백질의 검색

대두의 발아 및 부정근 유기시 배양 경과일에 따른 2차원 전기영동법에 의하여 단백질 변화 양상을 조사한 결과 (Fig. 3, Table 3), 분자량 66-18.4 kD 사이에서 분자량과 pI 값 및 출현 시기에 따라 특이한 변화 양상을 나타내는 주요 단백질 11개군 중, 34개의 단백질 spot를 확인하였다. 이들 단백질들은 분자량이 거의 유사하여 pI값만이 다른 일련의 단백질군을 이루고 있는 특징을 가지고 있었으며 이들 동일한 분자량의 단백질들은 출현 및 소멸을 같이 하는 경향을 나타내었다. 또한 이들 단백질들은 그 분자량과 pI 값에 따라 모두 11개 단백질군으로 구분할 수 있었는데 (Table 3), 이 단백질군들은 다시 그 존속 양상에 따라 발아시 항상 존재하는 것(30 kD군, 32 kD군, 34 kD군), 발아시 새롭게 출현하여 부정근 형성 과정에서 소멸되는 것[32 kD(a-c)], 발아시와 부정근 유기시에 모두 존재하나 특이한



**Figure 3.** Two-dimensional gel electrophoretic patterns of silver stained soluble proteins isolated from the cotyledonary explants of soybean. (A): Protein profiles during germination on basal medium (A1, day 1 cotyledonary explants: A2, day 2 cotyledonary explants: A3, day 4 cotyledonary explants): (B): Protein profiles during the initiation of adventitious root on root induction medium (B1, day 2 cotyledonary explants: B2, day 4 cotyledonary explants: B3, day 6 cotyledonary explants). The size of the protein markers used are indicated by the arrows.

변화 양상을 보이는 것(31 kD군) 그리고 특히 발아시 새롭게 출현하기 시작하여 부정근 형성시에 단계적으로 소멸되는 것[27 kD(c-e)]과 부정근 유기시에만 출현하는 것[22 kD(a-f), 27 kD(a-b), 29 kD(a-e), 33 kD(a-c)] 등의 5부류로 나눌 수 있었다.

발아 개시 단계에서 단백질군 33 kD(pI 5.0-7.0), 32 kD(pI 6.5-7.5), 32 kD(pI 6.0-7.5), 31 kD(pI 7.8-8.5), 30 kD(pI 4.4-7.0) 및 27 kD(pI 6.8-7.6)가 존재하였는데, 다량 존재하는 주단백질군 34 kD(pI 5.0-7.0), 32 kD(pI 6.0-7.5) 및 31 kD(pI 7.8-8.5) 단백질들은 소량 존재하는 다른 단백질 spot

와 함께 동일 gel 상에서 pI값에 따라 분리할 수 없었으나 소량의 단백질 시료를 사용한 결과 단백질군 34 kD(pI 5.0-7.0)와 32 kD(pI 6.0-7.5)는 각각 10개와 7개의 단백질 spot로 구성되어 있음을 확인할 수 있었다. 단백질군 33 kD(pI 8.2-8.4), 32 kD(pI 6.0-7.5) 및 30 kD(pI 4.4-7.0)는 발아 경과에 따라 차츰 감소하여 부정근 유기시에는 소멸하였으며, 단백질군 31 kD(pI 7.8-8.5)는 부정근 유기 6일에도 존속하였다. 단백질군 32 kD(pI 6.5-7.5)는 부정근 유기 단계까지 유지되었으나 부정근 유기 4일과 6일에 각각 소멸되었고, 단백질군 27 kD(pI 6.8-7.6)와 23 kD(pI 7.5-8.2) 단백질군은

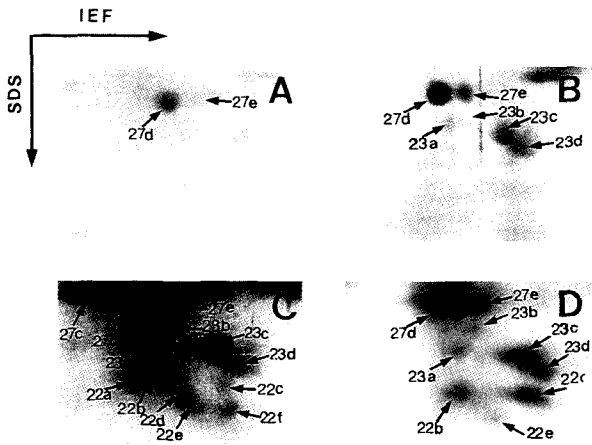


Figure 4. Two-dimensional gel electrophoretic patterns of rooting specific proteins in box A, B, C and D of fig. 3 at the four stage of adventitious root initiation. Specific protein spots are indicated by 1 to 13.

발아 개시 단계에서는 존재하지 않았으나 발아 4일에 새롭게 출현하였으며, 27 kD(pI 6.8-7.6)와 23 kD(pI 7.5-8.2) 단백질군은 부정근 유기 6일까지 존속한 반면 단백질군 N과 P는 부정근 유기 초기에 소멸하였다.

한편 부정근 유기시에는 단백질군 33 kD(pI 8.2-8.4), 27 kD(pI 4.5-5.0), 27 kD(pI 6.8-7.6) 및 22 kD(pI 7.4-7.8)이 새롭게 출현하였으며, 이들 단백질군들은 부정근 유기 6일까지 계속 유지되었다.

### 고찰

대두 자엽 절편의 부정근 유기시 질소원과 호르몬 조성에 관하여서는 이미 보고(Ha et al., 1991)한 바 있으나 본 실험에서 발아 정도에 따른 자엽 절편의 부정근 형성능을 조사한 결과(Table 1), 발아 이전의 종자 자엽은 부정근 형성능이 없었다. 부정근 형성은 발아 1일부터 매우 적은 수의 부정근이 형성되기 시작하여 발아 2일에는 발아 4일에 비하여 57% 정도의 부정근이 형성되었으며, 발아 4일부터 정상적인 수의 부정근이 형성되기 시작하여, 그 이후 자엽이 심하게 갈변화되기까지 발아 4일과 비슷한 정도의 부정근 형성능을 지속적으로 지니고 있었다. 이러한 사실로 미루어 대두 자엽의 부정근 형성은 발아 단계에 따라 새롭게 형성되는 대두 자엽 속의 어떤 특정 물질들의 생성과 관련이 있음을 알 수 있으며, 이 부정근 형성에 필요한 물질은 발아 2일부터 어느 정도 생성되어 발아 4일 이후 일정 기간 지속적으로 유지되는 것을 알 수 있었다. 또한 호르몬 처리 기간에 따른 대두 자엽의 부정근 형성능을 조사한 결

Table 3. Changes in the protein spots from the cotyledonary explants of soybean during germination and the initiation of adventitious roots.

Estimated relative Molecular weight (kD)	No. of Spots <sup>a</sup>	Time (days)					
		Germination			Root initiation		
		0	2	4	2	4	6
22(pI 7.4-7.8)	6(a-f)	-	-	-	+	+	+
23(pI 7.5-8.2)	3(a-c)	-	-	-	+++	+++	++
27(pI 4.5-5.0)	2(a-b)	-	-	-	+	+	+
27(pI 6.8-7.6)	3(c-e)	-	-	+	++	++	+
29(pI 3.7-5.7)	5(a-e)	-	-	-	+	+	+
30(pI 4.4-7.0)	9	++	++	+	-	-	-
31(pI 7.8-8.5)	NC	++	++	++	++	+++	++
32(pI 6.0-7.5)	NC	+++	+++	++	-	-	-
32(pI 6.5-7.5)	3(a-c)	-	++	++	++	-	-
33(pI 8.2-8.4)	2(a-b)	-	-	-	++	+	+
34(pI 5.0-7.0)	NC	+++	+++	++	-	-	-

<sup>a</sup>It refers to the number of protein spots of same molecular weight and different pI values proteins in figure 3. NC, not countable.

\* +++, dense; ++, detectable; +, faint; -, not detectable.

과(Table 2) 대두 자엽 절편은 일정 기간 부정근 형성 배지에 각각 치상한 후 호르몬 결제 배지에 옮겨 전체 배양일이 10일이 되도록 한 경우, 처리 3일까지는 전혀 부정근 형성이 없었고, 4일 이상에서야 비로서 소수의 부정근이 형성되기 시작하여, 처리 6일부터 부정근 형성이 급증하였다. 그러므로 하배축을 절단한 유식물을 이용하여 부정근을 유기시킬 경우, 호르몬 처리 시간이 호도(Mato et al., 1986)는 2분, 녹두(Dhindsa et al., 1987)와 *Populus* (Pythoud and Buchala, 1989)는 24시간 정도로 비교적 짧은 시간인 것에 비하여, 대두 자엽 절편의 경우 4일 이상의 매우 긴 시간을 필요로 하였는데, 이것은 대두 자엽의 경우 부정근 유기에 필요한 물질과 구조를 형성하는 데, 다른 식물 재료에 비하여 장시간에 걸쳐 호르몬을 필요로 한다는 것을 시사한다. 이처럼 대두 자엽의 경우, 부정근 유기에 있어서 장기간의 호르몬 처리를 필요로 하는 것은 발아 4일 이상의 대두 자엽은 노화가 되기까지 안정적인 부정근 형성능을 지니는 것을 고려할 때, 적어도 대두 자엽의 미발달에 따른 문제는 아닌 것을 알 수 있다. 따라서 대두 자엽 절편의 부정근 유기에는 호르몬이 일회적으로 한번 작용하여 부정근을 유기시키는 것이 아니라, 부정근 유기 전단계인 competence기간(Christianson and Warnick, 1985)동안 지속적으로 필요하며, 대두 자엽의 부정근 형성을 위한 competence 기간은 약 4일

인 것으로 추정된다.

Haissig(1974)는 부정근 형성은 특이 단백질에 의하여 수행되며 부정근 형성시 단백질은 양적으로나 질적으로 변화한다고 하였는데, 대두 자엽의 경우도 부정근 유기시 이러한 단백질의 함량 변화가 나타났다. 즉 부정근 유기 배지에서 호르몬 처리 시간에 따른 부정근 형성 과정에서 수용성 단백질의 변화 양상은 먼저 수용성단백질 함량(Fig. 2)의 경우, 호르몬이 없는 대조구에서는 비교적 완만히 감소하여 배양 1일에 28%정도 급감한 이후 배양 2일부터 5일까지는 거의 변화가 없다가 배양 6일에 배양 5일에 비하여 12%정도 감소하였으나, 부정근 형성구인 시험구에서는 배양 1일에 대조구보다 많은 33%정도 감소하였다. 또한 배양 4일에 급감한 이후 배양 5일에는 큰 변화가 없었으나, 배양 6일에는 대조구에 비하여 급격히 감소하여, 대조구가 배양 개시일에 비하여 47%정도 감소한 반면 시험구의 경우는 61%정도 감소하였다. 이러한 결과는 대두 자엽을 auxin과 cytokinin을 혼용하여 배양한 Zurfluh와 Guilfoyle(1980)의 실험 결과와 일치하였으나 미국 전나무 자엽에서의 묘조 유기시(Campbell et al., 1992)와는 배양 후기에 반대 경향을 나타내었는데, 이것은 일반적으로 묘조가 유근에 비하여 일반적으로 단백질 함량이 많은 까닭으로 사료된다.

2차원 전기영동에 의한 단백질 분석 결과, 발아시 나타난 단백질군(Table 3)중 32 kD와 34 kD의 단백질군은 다량 존재하여 소량 존재하는 다른 단백질 spot과 함께 동일 gel 상에서 pI값에 따라 분리할 수 없었으나, 소량의 단백질 시료를 사용한 결과 32 kD와 34 kD의 이 주단백질군은 각각 대두의 저장단백질인 2S와 7S globulin의 subunit (Wolf, 1972)가 포함되어 있는 것으로 추정되며, 이 두 단백질군은 부정근 유기시 소멸되는 것으로 미루어 자엽의 부정근 유기에 필요한 단백질로 전이되었을 것으로 추측된다. 그리고 발아시에만 존재하는 30 kD의 단백질군은 그 단백질의 종류나 기능을 알 수 없으나 부정근 형성시 소멸되는 것으로 미루어 부정근 형성에 이용되는 소량 단백질인 것으로 추정되며, 발아시 생성되어 부정근 형성시 소멸되는 32 kD(32a-c)의 단백질과 발아시 출현하여 부정근 형성 전과정에 존재하는 31 kD 단백질군도 부정근 형성에 필요한 전단계의 단백질인 것으로 추정된다. 또한 발아시에만 출현, 부정근 형성 단계에 따라 단계적으로 생성되었다가 소멸하는 27 kD(c-e) 단백질은 발아 0일이나 2일에는 생성되지 않았으나 부정근 형성이 활발한 발아 4일에 27d의 출현을 시작으로 부정근 형성 2일에는 단백질 27e가, 4일에는 27c도 생성되었다가 부정근 발생이 육안으로 관찰되는 배양 6일에는 27d만 존재하고 27c와 27e는 소멸되었는데, 이것으로 미루어 염기성 단백질 27d는 부정근 형성 준비와 부정근 형성에 중요하며, 27c와 27e는 부정근 형성 촉발에만 관여하는 것으로 추정된다.

한편 부정근 형성시에만 생성되는 단백질(Fig. 3B)인 22 kD(a-f), 23 kD(a-d), 27 kD(a-b), 29 kD(a-e) 및 33 kD(a-b)중, 저분자량의 염기성 단백질인 23a-d는 부정근 형성시 초기단계에, 같은 저분자량의 염기성 단백질군인 22a-f와 27a-b 및 산성 단백질인 29a-e와 33a-b는 실제 부정근 유기 단계에서 생성되는 단백질로 추정된다. 특히 단백질22a-f는 부정근 유기 4일에야 출현하였는데, 이는 부정근 유기시 4일 이상 장기간의 호르몬 처리를 필요로 한 실험 결과(Table 2)와도 일치한다. 따라서 이들 특이 단백질이 부정근 형성에 관여하리라고 추측되나 확실한 기능은 알 수 없으며, Dhindsa 등(1987)의 녹두 부정근 유기 실험시의 특이 단백질과도 분자량의 미세시로 비교하기 어려웠다.

이상의 실험 결과와 추론을 통하여 대두 자엽의 부정근 유기에는 적당한 발아 상태의 자엽과 4일간 이상의 지속적인 호르몬 처리가 필요하며, 이러한 발아와 부정근 유기 단계에서 특이 단백질이 생성되는 것을 확인할 수 있었으나, 이들 단백질들의 종류와 그 기능을 정확히 알 수 없었으므로 향후 식물 호르몬에 의한 부정근 형성 기구를 이해하기 위하여서는 이러한 특이 단백질의 기능과 이를 합성하는 유전자의 성질 규명이 필요할 것으로 생각된다.

## 적 요

대두(*Glycine max* L.) 자엽의 발아 정도에 따른 부정근 형성능과 자엽 절편의 부정근 형성 배지 처리 시간에 따른 부정근 형성 정도를 조사하였으며 부정근 형성과 관계 있는 발아 및 부정근 유기시의 단백질 변화 양상을 2차원 전기영동법으로 조사하였다. 발아된 자엽의 부정근 형성능은 발아 4일 이후에 높았으며 부정근 형성 배지에서의 부정근 형성은 처리 4일 이후부터 형성되어 6일 이상 처리한 것이 가장 부정근 형성이 높았다. 또한 부정근 형성과 관계 있는 단백질 34개의 단백질 spot를 얻었는데 부정근 형성을 위한 발아 자엽의 주요 단백질은 염기성 단백질 27d이었다. 그리고 부정근 유기시 생성되는 단백질은 염기성의 22 kD, 23 kD 및 33 kD였으며 산성의 27 kD와 29 kD이었다.

## 사 사

본 연구는 1990년도 교육부 대학교수 국비해외파견 연구비로 이루어졌음.

## 인 용 문 헌

- Campbell MA, Gaynor JJ, Kirby EG** (1992) Culture of cotyledons of Douglas-fir on a medium for the induction of adventitious shoots induces rapid changes in polypeptide profiles and mRNA populations. *Physiol Plant* **85**: 180-188
- Christianson ML, Warnick DA** (1984) Phenocritical times in the process of *in vitro* shoot organogenesis. *Developmental Biology* **101**: 382-390
- Christianson ML, Warnick DA** (1985) Temporal requirement for phytohormone balance in the control of organogenesis *in vitro*. *Developmental Biology* **112**: 494-497
- Dhindsa SR, Dong G, Lalonde L** (1987) Altered gene during expression a auxin-induced root development from excised mung bean seedling. *Plant Physiol* **94**: 1148-1153
- Eliasson L, Arebled K** (1984) Auxin effects on rooting in pea cuttings. *Physiol Plant* **61**: 293-297
- Ha KS, Han TJ, Jo SH** (1991) Effects of nitrogen sources and auxins on the formation of adventitious root and callus in soybean (*Glycine max* L.) tissue culture. *Korean J Plant Tissue Culture* **18**(1): 33-37
- Haissig BE** (1974) Metabolism during adventitious root primodium initiation and development. *New Zealand Journal of Forest Science* **4**: 324-337
- Hurkman WJ, Tanaka CK** (1986) Solubilization of plant membrane Proteins for analysis by two-dimensional gel electrophoresis. *Plant Physiol* **81**: 802-806
- Kramer V, Lahners K, Back E, Privalle LS, Rothstein S** (1989) Transient accumulation of nitrite reductase mRNA in maize following the addition of nitrate. *Plant Physiol* **90**: 1214-1220
- Laemmli UK** (1970) Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ** (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265-275
- Mato MC, Vietez AM** (1986) Change in auxin protectors and IAA oxidases during the rooting of chestnut shoots *in vitro*. *Physiol Plant* **66**: 491-494
- Oakley BR, Kirsch DR, Morris NR** (1980) A simplified ultrasensitive silver stain for detecting proteins in polyacrylamide gels. *Anal Biochem* **105**: 361-363
- O'Farrell PH** (1975) High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J Biol Chem* **250**: 4007-4021
- Pluss R, Jenny T, Meier H** (1989). IAA induced adventitious root formation in greenwood cuttings of *Populus tremula* and formation of 2-indolone-3-acetylaspatic acid, a new metabolite of exogenously applied indole-3-acetic acid. *Physiol Plant* **75**: 89-96
- Pythoud F, Buchala AJ** (1989) Peroxidase activity and adventitious rooting in cuttings of *Populus tremula*. *Plant Pysiol Biochem* **27**(4): 503-510
- Reynolds TL** (1990) A two-dimensional electrophoretic analysis of protein synthesis and accumulation during adventitious shoot formation in somatic tissue cultures of *Solanum carolinense* L. *J Plant Physiol* **136**: 213-218
- Skoog F, Miller CO** (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp Soc Exp Biol* **11**: 118-130
- Stabel P, Eriksson T, Engstrom P** (1990) Changes in protein synthesis upon cytokinin-mediated adventitious bud induction and during seedling development in Norway spruce, *Picea abies*. *Plant Physiol* **92**: 1174-1183
- Trewavas, AJ** (1983) Nitrate as a plant hormone. *Brit Plant Growth Regyl Group, Monogr* **9**: 97-110
- Wolf WJ** (1972) What is soy protein. *Food Technol* **26**(5): 44-54
- Zurfluh LL, Guilfoyle TJ** (1980) Auxin-induced changes in the patterns of protein synthesis in soybean hypocotyl. *Proc Natl Acad Sci USA* **77**: 357-361

(1994년 2월 3일 접수)