

1. New reconstituted tobacco sheets for improved physicochemical characteristics of cigarettes

Kim, D. J., and T. W. Song.
Tae-A Industry, Taejon, Korea

This study was carried out to improve physicochemical characteristics and to effectively control the smoke delivery of cigarettes by developing new reconstituted tobacco sheets. Addition of potassium salts and organic potassium salts in reconstituted tobacco sheets resulted reductions in the delivery of smoke contents such as nicotine, carbon monoxide, and tar by 20.8%, 38.4%, and 39.5%, respectively. In cigarettes which were blended with the reconstituted tobacco sheets up to 7%, each of the above smoke contents was decreased by approximately 5% and especially its static burning rate was greatly enhanced. No difference in taste was revealed when compared with the cigarette product on the market.

1. 제품담배의 이화학성 개선을 위한 새로운 제지식 판상엽의 제조

김대중, 송태원
태아산업(주)

제품담배의 물리화학성을 개선함과 동시에 연기성분 이행량을 효과적으로 조절하기 위한 일환으로 새로운 제지식 판상엽 제조방법을 개발하고자 하였다. Potassium염과 유기 Potassium염을 첨가하여 제지식 판상엽을 제조하였다. 이 판상엽의 연기성분 이행량을 측정 한 결과, nicotine은 20.8%, 일산화탄소는 38.4%, 타르는 39.5%를 각각 감소시킬 수 있었다. 또한 새로 제조된 제지식 판상엽이 7% 배합된 담배제품에서는 위 연기성분들을 5% 정도 감소시킬 수 있었으며 특히 제품담배의 연소성이 크게 향상됨을 알 수 있었다. 또한 키크미에 있어서도 현재 시중에 발매되고 있는 제품과 비슷하였다.

2. A study on the optimal drying condition by mass-drying method

Park, H.J., S.K. Kim, B.J. Kim, J.H. Kim, and J.Y. Seo

Institute of Moisture Measurement, Department of Physics, Suwon University

A study on the optimum drying condition by a vacuum drying oven was done using shredded tobacco lamina and cigarettes ('This' and 'Marlboro'). Changes in the mass of the experimental material were monitored for about 50 hours at 6 different temperatures (50°C~100°C, 10°C stepwise) while continuously operating a vacuum pump. After 30 hours, small amount of samples from each material were taken sequentially to monitor changes in moisture content using an instrument which measures chemically (701 KF titrino. Karl-Fischer). Absolute moisture contents calculated from the measurements indicated an ideal data distribution could be obtained by drying at temperatures between 70°C ~80°C. Results from cigarette products which contains humectant and tobacco lamina without it were compared.

2. Vacuum Drying Oven과 Karl-Fischer 를 이용한 연초의 최적 건조조건에 대한 연구

박홍진, 김승현, 김봉주, 김정환, 서지연
수원대학교 물리학과 수분측정연구소

Vacuum Drying Oven(VO-10X)을 이용한 연초의 최적 건조조건에 관한 연구를 각초상태의 담배와 상품화된 'This', 'Marlboro'를 대상으로 수행하였다. Vacuum Pump를 연속적으로 가동하면서 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C, 100°C의 온도에서 50여시간에 걸친 충분한 시간동안 건조시키며 질량의 변화를 측정하였다. 30시간 후 부터는 소량의 시료를 채취하여 화학적 방법인 Karl-Fischer 수분측정기(701 KF Titrino)를 사용하여 함수율을 측정하여 변화추이를 살펴 보았다. Karl-Fischer로 측정한 결과로 질량변화에 따른 절대수분량을 계산한 결과를 보면 70~80°C의 온도범위에서 진공으로 건조시키는 것이 가장 이상적인 data분포를 나타내고 있고, 보습제를 함유한 상품화된 담배와 함유하지 않은 잎담배를 비교 건조하였다.

3. Relationship between tipping materials and smoke yields of the cigarette under restricted conditions

Kim, Y. H., Y. T. Lee, S. H. Kim,
J. Y. Kim, C. H. Shin, and K. S. Rhim
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

In order to minimize the trial frequency in designing of new filtered cigarettes, we studied the relationship among three major independent variables involved in it. A central composite design involving filament denier (X_1 , 2.5-3.3d), porosity of the filter plug wrap (X_2 , 3500-16000CU) and porosity of the tip paper (X_3 , 400-1200CU) was used. Three independent factors (X_1 , X_2 , X_3) were chosen for their effects on various responses and the function was expressed in terms of a quadratic polynomial equation, $Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$ which measures the linear, quadratic and interaction effects. Twenty-nine trial numbers were obtained as a result of using rotatable central composite design and it is analyzed by multiple regression analysis with forward stepwise in SYSTAT/pc under restricted conditions.

Tar and nicotine yields of the cigarette were affected by porosity of tip paper, filament denier, and porosity of plug wrap in decreasing order, and linear effect of tip paper porosity (β_3) and filament denier (β_1) were significant at a level of 0.01 (α). Based on the analysis of variance, the model fitted for tar and nicotine ($Y_{1,2}$) was significant at 5% confidence level and the coefficient of determination (0.85, 0.84) is the proportion of variability in the data fitted for by the model.

3. 담배 연기발생과 Tipping 재료와의 상관성 연구

김영호, 이영택, 김성한, 김종열,
신창호, 임광수
한국인삼연초연구원

새로운 담배설계시 발생하는 실험회수를 최소화 하기위하여 담배설계의 주요영향인자 즉, acetate tow의 filament denier (X_1 , 2.5-3.3d), plug wrap 기공도(X_2 , 3500-16000CU) 및 tip paper 기공도를 (X_3 , 400-1200CU) 선정하고 독립인자간의 상관성을 연구하였다. 실험계획법에 의해 총27구를 조합한 다음 제조, 분석하였으며 얻어진 자료를 SYSTAT에 의해 통계분석하여 본 회귀모형에 대한 선형, 곡선 및 교호작용을 관찰하였다.

연기성분과 tipping 재료 특성간의 연기이행량에 관한 분석중에서 Tar 및 Nicotine제거능 분석결과, tip paper 기공도, filament denier, plug wrap 기공도의 순서로 영향을 주었으며, 본 회귀모형의 신뢰도가 0.01(α) 수준으로 분석되었고, 그 결정계수는 각각 0.85 및 0.84로 본 model을 설명할 수 있었다.

4. Improved smoke removal by an innovative paper filter

Kim, Y. H., C. R. Kim, J. Y. Kim,
C. H. Shin, M. Y. Lee, and K. H. Lee
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Performance of a paper filter is mainly depending on weight, bulk density, crepe type, roughness, and specific surface area (m^2/g) of the raw paper material. Although high smoke removal efficiency of paper filter has been known for many years, the removal efficiency available is not good enough for ultra-low tar and nicotine cigarette. Therefore, this project was initiated to improve tar removal ability of paper filter. Conventional wet crepe was switched to dry crepe to which a new type of raw paper matched was also developed using pulp fibers mixed with Aracruz (NBKP) and Cariboo (LBKP). Dual filter constructed with this dry crepe paper filter and acetate filter was tested. Tar removal efficiency was measured by CORESTA method. When the result was compared with the tar retention capacity of conventional wet crepe paper filter, it was shown that this innovative paper filter reduced the delivery of tar in cigarette smoke by as much as 12%. This indicates that tar retention of a paper filter is very much dependent on creping index (CI) of raw paper.

4. 종이필터의 연기제거능 개선연구

김영호, 김정렬, 김종열, 신창호,
이문용, 이근희
한국인삼연초연구원

종이필터의 기능은 주로 무게, 밀도, 크리핑 형태, 표면 거칠음도 및 비표면적에 따라 달라진다. 종이필터는 탁월한 타르 제거특성을 갖고 있지만, 실제로 초저타르 담배를 설계하기 위해서는 지금보다 더 높은 흡착효과를 갖는 종이필터의 개발이 필요하다. 그러므로 본 실험은 덜 해로운 담배의 제조에 이용할 수 있도록 타르 제거능이 보다 개선된 필터를 개발하고자 종이필터 제조시 크리핑방법을 현행의 습식법에서 건식으로 바꾸었으며 또 이에맞는 종이원지를 Aracruz (NBKP)와 Cariboo (LBKP) 펄프섬유를 이용하여 새로이 제조하였다. 시험에 사용한 담배 필터는 건식법에 의해 제조된 종이필터를 아세테이트 필터와 복합으로 사용하였으며 타르 제거능에 관한 시험은 CORESTA에서 규정한 방법에 준해 수행하였다. 실험결과를 현행의 습식 종이필터의 제거능과 비교하여 분석하였다. 그 결과 이 새로운 종이필터의 타르 제거능이 현행과 비교해 12% 향상되었고 필터제조시 크리핑율(CI)에 크게 영향을 받을 수 있음을 알 수 있었다.

5. Study on some physico-chemical properties of cigarette filter rods with different triacetin content

Kim J. Y., C.H. Shin, C.R. Kim, Y.H. Kim, and K.H. Lee

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

This study was carried out to investigate the influence of triacetin (TA) on some physico-chemical properties of cigarette filter rods. To find the effect of TA on physical properties, we made six different filters varying in TA level (0%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10%) and measured the hardness, resilience, and roundness of them. The hardness of filter rods was increased from 83.2% to 94.6% with increasing TA level but the roundness was not affected by TA levels. After manufacturing cigarette with the filters, we have analyzed the amount of phenol and TA deliveries according to the content of TA. The amount of phenol was decreased from 20.58 μ g/cig. to 12.01 μ g/cig. with increasing TA level of the filters which was thought to be caused by solution effect. Also, the amount of TA delivery as smoke aerosol particles through the filter rods was increased from 0% to 5% of TPM with increasing amount of TA. We have found an interesting phenomenon that ventilation rate was also decreased up to 9% with increasing TA level. It seemed to be due to decrease of the encapsulated pressure drop and the porosity reduction of plug wrap which also caused by the TA smeared on the surface of plug wrap. From these results, we could find that not only the hardness, resilience, and ventilation rate but also the contents of phenol and TA in cigarette smoke were affected by TA levels in cigarette filter rods.

5. Triacetin 함량에 따른 담배 필터의 이화학적 특성에 관한 연구

김종열, 신창호, 김정열, 김영호, 이근희
한국인삼연초연구원

담배필터에 있어서 가소제인 triacetin(TA)이 물리화학적 특성에 어떤 영향을 미치는지에 관해 조사하였다. 물리적 성질을 조사하기 위해 TA 함량이 다른(0%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10%) 6가지 종류의 필터를 제조하여, 경도 및 탄력성, 원형도를 측정하였다. 필터의 경도는 TA 함량이 증가함에 따라 83.2%에서 94.6%로 증가하였고, 탄력성 또한 92.5%에서 97.7%로 증가하였으나, 원형도에 있어서는 관련성이 없는 것으로 나타났다. 필터의 물성을 분석후 담배를 제조하여 TA함량에 따른 phenol 및 TA 이행량을 분석하였다. Phenol의 이행량은 TA함량이 증가함에 따라 20.58 μ g/cig.에서 12.01 μ g/cig.로 감소하였는데 이는 solution effect의 영향 때문인 것으로 생각된다. 또한 필터를 통해 연무질로 이행된 TA함량은 TA함량이 증가함에 따라 TPM중 0%에서 5%까지 증가였다. 이 연구수행중 TA함량이 증가함에 따라 공기회석율이 9%까지 감소되는 관심있는 현상을 찾았다. 이는 필터의 흡인저항(EPD) 감소영향과 필터권지 표면에 TA가 부착되어 필터권지의 기공도를 감소시키는 영향에 기인되는 것으로 생각된다. 이 연구결과로 부터 가소제인 TA 첨가량에 따라 물리적 성질인 경도 및 탄력성, 공기회석율 뿐만아니라 담배연기중으로 이행되는 phenol 및 TA 또한 영향이 있음을 알수 있었다.

6. Analysis of the volatile components of cigarette by purge & trap methods

Kim, O. C., H. J. Jang, J. J. Kwag, Y. J. Kwon, and J. G. Lee.
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Volatile components of both imported and domestic cigarettes were isolated by Purge & Trap methods and analyzed by GC/MSD and GC retention index matching. Major volatile components of American cigarettes were hydrocarbons and pyrazines. Japanese cigarettes were found to have anethol content much higher than that of American and domestic cigarettes. Contents of solanone, damascone, and damascenone in domestic cigarettes were higher than in imported cigarettes.

6. Purge & Trap 방법을 이용한 제조담배의 향기성분 분석

김옥찬, 장희진, 곽재진, 권영주, 이재곤
한국인삼연초연구원

제조담배의 휘발성 향기성분을 N₂ 기체 60 ml/min으로 추출한 후 Tenax GR에 흡착시켜 Headspace Sampler를 이용하여 GC의 Injector에 직접 주입하는 분석방법으로 국내산 제조담배 3종과 외국산 제조담배 3종의 향기성분을 비교 분석하였다. 미국담배에서는 hydrocarbon류와 pyrazine류가 많이 검출되었고, 일본담배에서는 anethol, 국산담배에서는 solanone, damascone, damascenone 등이 많이 함유되어 있었다.

7. Enzymatic synthesis of aromatic alcohol and monoterpene alcohol- β -D-glucosides by various β -glucosidases

Kim, Y. H., K. S. Kim, D. Y. Kim, M. Y. Lee, and E. S. Park
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

It is well known that aromatic alcohols, monoterpene alcohols, nor-isoprenoids and spirovetivol-related compounds are present in tobacco leaves either as free form or glycosides via bounding to sugars. The glycosidically bound volatiles contribute indirectly to the smoking quality and aroma by releasing the aroma-bearing aglycones during thermal degradation. Although methods to synthesize β -glycosides of aromatic alcohols and monoterpene alcohols by means of Koenigs-Knorr method have already become popular, synthesis of aromatic alcohol and monoterpene alcohol- β -glucosides by enzymatic transglycosylation reactions are not well documented. This paper reports the preparation of aromatic alcohol and monoterpene alcohol- β -glucosides using various commercial β -glucosidases. β -Glucosidase from *Aspergillus* spp., *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp. and bitter almonds have been shown to catalyze synthesis of β -glucosides of benzyl alcohol, 2-hydroxybenzyl alcohol, 2-phenylethyl alcohol, geraniol and citronellol in the presence of cellobiose as sugar donor. Among enzyme preparations tested, β -glucosidase from *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger* gave higher yield in glucoside synthesis, but monoterpene alcohols, such as linalool, α -terpineol, and menthol, were not used as acceptor in transglycosylation reactions.

7. β -Glucosidase에 의한 aromatic alcohol 및 monoterpene alcohol- β -D-glucoside의 효소적 합성

김영희, 김근수, 김도연, 이문용, 박은수
한국인삼연초연구원

잎담배 정유성분의 중요 구성 성분들인 aromatic alcohol, monoterpene alcohol, nor-isoprenoid 및 spirovetivol 계열 화합물들 중의 일부는 잎담배 중에서 유리 형태 또는 당류와 배당체의 형태로 결합하여 존재하는데, 특히 배당체 형태로 존재하는 화합물들은 흡연시 열분해되어 향기를 지닌 aglycone을 생성함으로써 향긋미에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 지금까지 이와 같은 배당체들을 제조하는데 있어서는 화학적 합성방법인 Koenigs-Knorr법이 널리 이용되어 왔으나 효소적 방법에 의한 배당체 제조에 대해서는 그다지 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 β -glucosidase가 지니고 있는 당 전이반응을 이용한 aromatic alcohol 및 monoterpene alcohol의 β 형 배당체의 합성을 시도하였다. 당 공급원인 cellobiose와 당 수용체인 benzyl alcohol, 2-hydroxybenzyl alcohol, 2-phenylethyl alcohol, geraniol, citronellol, linalool, α -terpineol 또는 menthol의 혼합액에 *Aspergillus*속, *Trichoderma*속, *Penicillium* 속의 미생물 또는 bitter almonds로부터 분리한 β -glucosidase를 반응시킨 결과 benzyl alcohol, 2-hydroxybenzyl alcohol, 2-phenylethyl alcohol, geraniol, citronellol은 β 형의 배당체가 생성되었으나 linalool, α -terpineol 및 menthol은 생성되지 않았다. 또한 본 실험에서 시판품을 구입하여 사용한 13종의 β -glucosidase 중에서 *Aspergillus niger* 및 *Trichoderma viride*에서 유래하는 β -glucosidase가 배당체의 생성 수율이 높은 경향을 보였다.

8. Determination of Organochlorine pesticide residues in tobacco leaves by GC/NCI-MS

Lee, U. C., G. C. Jang, J. Y. Bock, S. B. Han, S. O. Baik, and H. H. Rha
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

The most important factors for the determination of pesticide residues to a degree of trace level are the selection and application of proper extraction and detection procedure for a given sample matrix. This study was carried out to effectively analyze organochlorine pesticide residues in tobacco leaves, according to extraction methods of solid phase extraction (SPE) and supercritical fluid extraction (SFE), and detection techniques of gas chromatography/electron ionization mass spectrometry (GC/EI-MS) and gas chromatography/negative chemical ionization mass spectrometry (GC/NCI-MS). It was clearly shown that SFE pretreatment method could significantly remove interferences from nonpesticides compared to SPE cleanup, on the basis of total ion current chromatograms of tobacco extracts prepared by each extraction methods. Detection limits of several organochlorine pesticide standards by GC/EI-MS and GC/NCI-MS ranged approximately 10-100 picograms and 1-10 picograms, respectively. In particular, detection sensitivity for aldrin, endosulfan I, endosulfan II, endrin aldehyde, and endosulfan sulfate by GC/NCI-MS was at least ten times higher than that by GC/EI-MS. It was concluded that the extraction and detection procedure by SFE and GC/NCI-MS could be a powerful analysis tool for the determination of organochlorine pesticide residues in materials containing complicated matrix such as tobacco leaves.

8. GC/NCI-MS에 의한 잎담배중 유기염소계 잔류농약 분석에 관한 연구

이운철, 장기철, 복진영, 한상빈, 백순옥,
나효환
한국인삼연초연구원

담배와 같이 그 성분이 아주 복잡한 시료에 잔류하는 극미량의 농약성분을 분석할 때 가장 중요한 것은 매트릭스의 방해를 가급적 줄일 수 있는 전처리 방법과 아울러 분석대상 성분에 대하여 선택성이 높은 고감도 검출방법을 적절하게 선택 적용하여 분석효율을 높이는 것이다. 이 연구는 잎담배 시료에서 유기염소계 잔류농약을 분석할 때 보다 능률적인 분석법을 찾기 위하여 전처리는 solid phase extraction(SPE)와 supercritical fluid extraction(SFE)법을, 분리 및 정량은 gas chromatography/electron ionization mass spectrometry(GC/EI-MS)와 gas chromatography/negative chemical ionization mass spectrometry(GC/NCI-MS)법을 적용한 결과를 비교 검토하였다. 잎담배 시료를 유기용매로 추출하여 SPE로 cleanup한 GC/MS의 TIC 크로마토그램과 SFE법으로 추출하여 얻은 TIC 크로마토그램을 비교한 결과 SFE법이 SPE법보다 시료 매트릭스의 영향이 적은 것으로 나타났다. 그리고, aldrin의 15종 유기염소계 표준물질의 검출한계는 GC/EI-MS에서는 10-100 pg, GC/NCI-MS에서는 1-10 pg 수준으로 나타나 성분별로 MS의 이온화 방법에 따라 상당한 차이가 있음을 알 수 있었다. 특히 aldrin, endosulfan I, endosulfan II, endrin aldehyde 및 endosulfan sulfate의 검출한계는 NCI 검출방법이 EI 검출방법 보다 10배 이상의 높은 감도로 검출되었다. 따라서 담배와 같이 매트릭스가 복잡한 시료에 대한 유기염소계 잔류농약을 분석할 경우, SFE법으로 추출하여 GC/NCI-MS로 분석하는 방법이 가장 효과적인 것으로 확인되었다.

9. Aroma analysis of cigarettes and CSC by electronic nose system

Ra. D. Y., J. W. Ko^{*}, and M. S. Rhee
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute,
Korea Alpha Science Co^{*}

Sensory test and aroma analysis are of utmost concern in tobacco science. However, it is often difficult to apply them to research and development. As we are aware of, aromas are particularly troublesome to quantify and define precisely. Physicochemical analyses are commonly based on proportional response to the concentration of a single chemical or a group of related chemicals. Nevertheless, aromas are not easily characterized by classical chemical analysis and human perception of odor is frequently a non-linear response to the concentrations and ratios of the compounds in the complex mixture as well. A new type of instrument commonly referred to as "Electronic Nose System" has shown fingerprints of sample volatiles from cigarettes, cigarette smoke condensate, and environmental tobacco smoke (ETS) odor with which we sought instrumental estimation of aromas. We believe the results would provide applicable means for quantifying the aroma and odor of tobacco.

9. 전자코에 의한 담배와 담배연기 응축물의 Aroma 분석

라 도영, 고 재원^{*}, 이 문수
 한국인삼연초연구원, 한국 알파과학(주)^{*}

관능검사와 aroma 분석은 담배과학분야에서 매우 관심이 높은 반면 때때로 연구와 응용분야에 적용하기에는 어려움이 있다. 우리가 잘 알다시피 aroma를 정량적으로 표현하기에는 부분적으로 문제점이 있다. 기존의 물리화학적 분석은 단일성분이나 화학물질과 관련이 있는 관능기의 농도에 따른 감응이 직선성을 갖는데 기초를 두고 있다. 그러나 aroma는 전통적인 화학분석에 의해서 쉽게 특징지을 수 없으며 혼합물에서 단일성분의 농도와 분포비에 의해서 직선성의 감응이 일어나지 않으며 이것은 사람의 후각반응에서도 같다. 최근 개발된 Electronic Nose System(전자코)에 의하여 권련자체와 담배연기응축물 그리고 Environmental Tobacco Smoke의 odor에 대한 fingerprint를 얻어 aroma의 기계적 강도표현 가능성을 연구하였다. 이 방법들은 담배관련 분야의 aroma와 odor를 표현하는데 유용한 방법이 될 것이다.

10. Assessment of Environmental tobacco smoke exposure in Korea

Ra, D. Y., K. J. Hwang, and M. S. Rhee
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Exposure to ETS has become a matter of serious concern emerged mainly by health related organizations claiming health hazardness of ETS based on a few epidemiological studies. Mathematical assesment of exposure to ETS adopts "Cigarette Equivalents(CE)" concept, which relates the magnitude of nonsmokers' exposure to ETS to direct smoke inhalation and has become a legitimate conceptual device for reporting and comparing ETS exposures. Using Ogden's modified CE equation which involves area concentration data such as RSP, nicotine solanesol, and 3-EP measured in 1995~1996 and urinary nicotine values in Korean smokers and nonsmokers. The calculated CE values which corresponds to a cigarette with 10 mg tar per cigarette were 2.7 cig. for RSP, 1.6 cig. for nicotine, and 0.9 cig. for solanesol. As a conclusion, exposure of nonsmokers to ETS in public fields in Korea is still very low.

10. 한국에서 Environmental Tobacco Smoke 노출의 평가

라 도영, 황 건중, 이문수
 한국인삼연초연구원

ETS(환경담배연기)의 노출 문제는 대단히 중요한 현상으로 부각되었고 국제관련기관에서는 약간의 역학적 논문들의 결과를 기초로 하여 노출에 대한 건강위험성을 표현하고 있다. 노출에 대한 수학적 평가는 Cigarette Equivalents(흡연 평형) 개념을 사용하는데, 이것은 흡연에 의해서 야기된 담배연기가 비흡연자에게 노출되는 것과 ETS 노출의 비교와 보고를 위한 분리된 개념을 모두 포함하고 있다.

우리는 'Ogden' 에 의해서 새로이 유도된 CE 등식으로부터 한국에서의 CE값을 얻었는데 이 계산에는 1995-1996년 사이에 측정된 ETS 지표성분들의 농도와 비흡연자와 흡연자들의 Urine 중 nicotine과 cotinine의 농도 등이 인자로 사용되었다. 이 결과 한국에서의 비흡연자들이 연간 노출되는 담배의 양은 tar이 10mg/cig인 담배의 경우 RSP(부유분진)는 2.7개피, nicotine은 1.6개피, solanesol은 0.9개피 정도의 ETS가 노출되는 것으로 계산되었다. 이러한 결론으로부터 우리는 한국의 주요 공공장소에서의 ETS 노출은 매우 미약하다는 것을 알 수 있었다.

11. Protection mechanism of cigarette smoke against MPTP neurotoxicity in mouse brain

Moon, J. Y., Y. K. Kang*, H. B. Lim, H. O. Sohn, Y. G. Lee, and D. W. Lee
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute,
Taejon University*

Even though several epidemiological studies have shown an inverse relationship between smoking and idiopathic Parkinson's disease, the possible mechanism underlying their relationship remains unclear. The purpose of this study was to determine whether the attenuation effect of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP)-induced neurotoxicity by cigarette smoke correlates with inhibition of monoamine oxidase-B (MAO-B) in C₅₇Bl₆ mice. For this purpose, effects of cigarette smoke exposure on the changes of striatal dopamine level and MAO-B activity caused by MPTP in mouse brain were investigated. Mice were exposed to mainstream of cigarette smoke generated from 15 cigarettes using smoking machine for 10 minutes per day until sacrificed. At one hour after exposure to smoke, mice were administered with MPTP, 10 mg/kg, by subcutaneous injection for 6 consecutive days. Ten days after the final injection, they were sacrificed by decapitation. Smoke exposure was found to attenuate the decreases in striatal dopamine and in tyrosine hydroxylase positive cell numbers caused by MPTP about 30%. Whereas, smoke exposure remarkably inhibited MAO-B activities in cerebral cortex, striatum, hippocampus, and

11. 생쥐 뇌에서 담배연기에 의한 MPTP 신경독성의 완화효과

문자영, 강영국*, 임홍빈, 손형욱,
이영구, 이동욱
한국인삼연초연구원, 대전대학교 생물학과*

많은 역학연구에서 흡연과 idiopathic 파킨슨 질환 사이에는 역관계가 있음을 보여주고 있지만 이에 대한 정확한 반응기작은 명확히 밝혀지지 않고 있다. 본연구의 목적은 C₅₇BL₆ 생쥐에 신경독성물질인 MPTP를 투여하여 유발된 독성을 흡연에 의해 완화시키는 현상이 흡연에 의한 monoamine oxidase-B (MAO-B)의 활성도 저해와 상관관계가 있는지를 구명하는데 있다. 이 목적을 위해 생쥐뇌에서 MPTP 투여에 의해 유발된 MAO-B의 활성도와 선조체의 dopamine 함량변화에 미치는 흡연의 효과를 측정하였다. 생쥐를 하루에 10분씩 희생될 때까지 자동흡연장치를 이용하여 15개피의 담배를 연소시켜 생성된 연기에 전신평로법으로 노출시켰다. 연기에 노출된지 1시간 후에 MPTP (10 mg/kg)를 6일간 연속 피하주사로 투여하였으며, 마지막 투여 후 10일이 경과한 날에 희생하여 뇌를 적출하였다. 연기에의 노출은 MPTP에 의해 유발된 선조체의 도파민 함량과 도파민 생성세포(tyrosine hydroxylase-positive cells)수의 감소를 약 30% 완화시킨 반면, cerebral cortex, striatum, hippocampus 및 cerebellum에서 MAO-B의 활성도를 저해시켰다. 한편, 생쥐뇌에서 MAO-B의 활성도는 10분간 1회 연기에 노출되었을 때 가장 많이 저해되었으나 2시간 후에는 정상상태로 회복되었으며, 10분간 2, 3회연속 노출했을 때 역시 이와 비슷한 저

cerebellum. MAO-B activity in mouse brain was greatly inhibited at 1 hr after single 10 minute-exposure to smoke, but recovered to normal state after 2 hrs. The inhibitory effect of cigarette smoke on MAO-B activity was shown the same inhibitory potency up to three times of consecutive 10 minute-exposure.

These results suggest that the attenuation of MPTP neurotoxicity by cigarette smoke exposure may be related to its reversible inhibition potency of MAO-B activity, by which blocks the conversion of MPTP to MPP⁺. Given these data, it is supposed that some components in cigarette smoke either prevent degeneration of nigrostriatal neurons or enhance their functioning.

해효과를 보였다.

이상의 실험결과로 부터 담배연기에의 노출에 의한 MPTP 신경독성의 완화효과는 연기성분이 MAO-B의 활성도를 가역적으로 저해하여 MPTP의 MPP⁺로의 대사를 막음으로써 비롯함을 제시한다. 또한 이들 결과로 부터 담배연기에는 nigrostriatal 신경세포의 퇴화를 억제하거나 그 기능을 향상시키는 성분(들)이 존재하는 것으로 생각된다.

12. Effect of cigarette smoke exposure on MPTP metabolism in the liver of mice

Lim, H. B., H. O. Sohn, Y. G. Lee,
J. Y. Moon, and D. W. Lee.

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), a selective neurotoxin to nigrostriatal dopaminergic neurons, has been shown to be metabolized by microsomal cytochrome P-450 system to 4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and by flavin-containing monooxygenase (FMO) to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine N-oxide in liver. Present study was designed to investigate whether these metabolic rates in the detoxification pathways of MPTP is changed by cigarette smoke exposure for the understanding of an inverse relationship between smoking and MPTP-induced Parkinsonism. Cigarette smoke exposure to C57BL6 mice with the mainstream smoke generated from 15 cigarettes for 10 minutes per day, 5 days per week, for 6 weeks, attenuated effectively the decline in the level of striatal dopamine caused by MPTP treatments. Liver microsomal cytochrome P-450 content, and the activities of NADPH cytochrome P-450 reductase, arylhydrocarbon hydroxylase, ethoxyresorufin O-deethylase and nicotine oxidase in cigarette smoke exposure were not significantly changed compared with control groups. However, benzphetamine N-demethylase and aniline hydroxylase activities were increased in mice exposed to cigarette smoke. Interestingly, microsomal FMO activity was also increased by cigarette smoke in the liver of mice. These results strongly suggest that the enhancement in the N-demethylation reaction of P-450 system and in the FMO activity by cigarette smoke in mouse liver may play a role in attenuating the neurotoxic effects of MPTP on the nigrostriatal dopaminergic neurons.

12. 담배연기 노출이 생쥐 간의 MPTP 대사에 미치는 영향

임흥빈, 손형욱, 이영구, 문자영, 이동욱
한국인삼연초연구원

뇌에서 도파민성 신경조직에 선택적으로 작용하는 신경독소 MPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)는 간의 cytochrome P-450계에서 4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine으로 대사되고, flavin-containing monooxygenase에서 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine으로 대사된다. 본 연구는 흡연과 MPTP에 의해 유발되는 Parkinsonism과의 역상관계의 기작을 조사하기 위하여 장기간 담배연기를 노출시켰을 때 생쥐 간에서 무독화과정인 MPTP의 대사가 변하는지를 조사한 것이다. 6주일동안 일주일에 5일, 하루에 10분씩, 담배 15개피의 주류연을 생쥐에게 노출시킨 결과, 뇌의 선조체에서 MPTP투여로 인하여 생기는 도파민의 감소가 효과적으로 완화되었다. 흡연군에서 간의 cytochrome P-450 함량과 NADPH cytochrome P-450 reductase, arylhydrocarbon hydroxylase, ethoxyresorufin O-deethylase 및 nicotine oxidase의 활성도는 대조군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았으나, benzphetamine N-demethylase와 aniline hydroxylase의 활성도는 담배연기에 노출된 생쥐에서 높았다. 또한 흡류정도 간의 FMO 활성도도 담배연기에 노출된 담배연기에서 높았다. 담배연기에 노출됨으로 인하여 간의 이물질대사 작용에서 cytochrome P-450계의 N-demethylation 반응과 FMO 활성도가 증가하는 현상은 MPTP가 흑질의 도파민성 신경세포에 신경독소로 작용하는 것을 완화하는데 중요한 역할을 하고 있다는 것을 강하게 암시해 준다.

13. Effect of Cigarette smoke on the Survival of Neuronal cells

Sohn, H. O., J. Y. Moon, Y. G. Lee,
H. B. Lim, and D. W. Lee

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute

It has been reported that there exists an inverse relationship between the risk of Alzheimer's disease and/or Parkinson's disease onset and cigarette smoking. Our previous studies also have suggested that cigarette smoking have beneficial actions in neurodegenerative disease models. To investigate the effect of cigarette smoke on neurons, we used two neuronal cell cultures, cerebellar granule cells (CGC) in rat and PC12 cells. Four fractions—acidic, basic, neutral and phenolic fraction—of cigarette smoke condensates (CSC) were used at a concentration of 10 and 20 ug/ml of cell culture medium. As results, acidic and phenolic fractions were found to increase the survival of both neuronal cells. Interestingly, all of the fractions increased the nerve growth factor (NGF)-mediated survival of PC12 cells. Especially, the effect of phenolic fraction was conspicuous to increase the survival of PC 12 cells by 79%. The phenolic fraction seems to have potentiating effect of NGF function, which may serve to promote neuronal survival. Phenolic fraction showed a protection effect against apoptosis of the neuronal cells by increasing survival of cerebellar granule cells about 30% compared with that of control. These results suggest that the phenolic fraction of CSC has a neurotrophic survival effect on cerebellar granule cells and PC12 cells.

13. 담배연기가 신경세포의 생존에 미치는 영향

손형옥, 문자영, 이영구, 임홍빈, 이동욱
한국인삼연초연구원

흡연자가 노인성치매와 같은 신경성노인질환에 덜 걸린다는 것은 역학조사 등을 포함한 다수의 논문들을 통하여 발표된 바 있으며, 본 연구팀은 치매증과 파킨슨씨병에 대하여 흡연이 긍정적으로 작용하고 있음을 실험동물모델을 통하여 확인, 보고한 바 있다. 본 연구에서는 흡연이 신경성 노인질환에 미치는 긍정적인 효과에 대한 작용기전을 구명하기 위하여 우선 담배연기응축물(CSC)이 신경세포의 생존에 미치는 영향을 조사하였다. 흰쥐의 cerebellar granule cells(소뇌 신경세포) 및 PC12 세포배양계에서 4가지 담배연기 응축물 분획(산성, 염기성, 중성 및 페놀성분획)을 각각 처리한 후 신경세포의 생존률에 미치는 영향을 조사하였다. 담배연기분획중 산성 및 페놀성분획은 두 신경세포계 모두에서 신경세포의 생존률을 증가시켰으며 신경성장인자(NGF)를 처리하여 분화를 유도한 PC12 세포계에서는 모든 연기분획이 신경세포의 생존률을 증가시켰다. 특히 페놀성분획은 NGF를 처리한 PC12세포의 생존률을 79%나 증가시켰는데 이는 페놀성분획이 NGF의 작용을 상승시켜 신경세포의 생존을 증가시키는 것으로 사료된다. 한편 세포배양계에서 scrum과 K^+ 를 제거함으로써 cerebellar granule cells의 apoptosis를 유발시켰을 경우 페놀성분획은 세포사를 억제시켜 대조군에 비해 약 30% 정도 생존률을 증가시켰다. 담배연기중 페놀성분획에 존재하는 어떤 성분(들)이 cerebellar granule cells 및 PC12 세포에 대해 neurotrophic survival effect를 지니고 있는 것으로 사료된다.

14. Changes in contents of free amino acids and volatile components in burley tobacco during curing

Bae, S. K., H. G. Lim, C. J. Jo, Y. T. Kim, D. Y. Kim, Y. H. Kim
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute.

This study was conducted to trace the changes in contents of free amino acids and volatile compounds of burley tobacco (KB108) during curing. Fully ripen leaves of 9th and 10th stalk position from the top were harvested and cured in an air-curing barn. Leaf samples were taken at yellowing stage, browning stage and after the completion of curing. To investigate the effect of 3 different curing methods on those compounds, leaf samples of air-cured (priming), conventionally cured (priming) and stalk-cured leaves were also analysed. GC and HPLC were used to analyse volatile compounds and free amino acids, respectively. The content of DVT(3,8,13-Duvatrien-1,5-diol), one of the solanone precursors, decreased from yellowing stage to the end of curing by half, but solanone content increased from the beginning to the end of curing by four times. Megastigmatrienone and damascenone contents also increased from the beginning to browning stage of curing period. Neophytadiene content decreased after yellowing stage when it reached highest. Contents of free amino acids decreased gradually from the harvest, except that aspartic acid, phenylalanine and ammonia were highest at yellowing stage and began to decrease from browning stage. Contents of aromatic compounds except neophytadiene were lowest in conventionally cured leaves and no difference was observed between air-cured and stalk-cured leaves. Free amino acids content was highest in conventionally cured leaves and lowest in air-cured leaves.

14. 건조중 버어리종의 유리아미노산과 휘발성물질의 변화

배성국, 임해건, 조천준, 김요태,
김도연, 김영희
한국인삼연초연구원

우리나라 버어리종 잎담배의 품질이 낮은 것으로 평가되는 주요인은 각미가 불량하기 때문이다. 건조과정별로 각미와 관련이 깊은 유리아미노산과 휘발성성분을 조사하여 각미 증진에 활용코져 본 연구를 수행하였다. 버어리종 KB108을 시험에 사용하여 성숙이 완료된 잎(착엽위치 9-10)만을 수확하여 음건건조실에서 건조중 황변기, 갈변기 그리고 건조종료 후에 각각 시료를 채취하였고, 건조방법별로는 음건줄말림, 하우스줄말림(관행), 대말림으로 구분하여 건조된 잎을 분석시료로 하였다. 휘발성 성분은 GC로, 유리아미노산은 HPLC로 분석하였다. 건조과정에서 휘발성물질중 향기 성분인 Solanone의 전구물질인 DVT(3,8,13-Duvatrien-1,5-diol)는 황변기 이후부터 크게 증가하기 시작하여 건조후에는 약 4배가 증가되었으며, Megastigmatrienone과 damascenone 등은 갈변기까지 증가하였다. Neophytadiene은 황변기에 최대가 되었다가 이후 크게 감소하였다. 건조방법에서 neophytadiene을 제외한 향기성분은 관행줄말림이 제일 낮았고, 음건줄말림과 대말림은 비슷하였다. 유리아미노산함량은 수확시보다 건조가 진행됨에 따라 점차 감소하였으나 aspartic Acid, phenylalanine, ammonia는 황변기에 최대가 되었다가 갈변기 이후에 감소하였으며 건조방법별로는 음건줄말림<대말림<관행줄말림 순으로 많았다.

15. Influence of thickness of styrofoam-panel on tobacco seedling growth in newly developed floating system

Baek, K. H., S. K. Shin, J. K. Han,
K. H. Kwon, Y. S. Kim, S. C. Lee
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute,
Chungbuk National University

In a direct-seeded float system developed recently, the floating frame consists of styrofoam panel(106x108cm) with 8 holes(1.5x25.0 cm) for wicking upon which an absorption cloth placed to ensure uniform distribution of water and nutrient for seedlings. Eight plastic trays can be placed on each floating frame. We have investigated the effect of various thickness(26~46 mm) of the panel and two different media(medium A; peat:carbonized rice chaff:soil =4:3:3, medium B; peat:perlite=8:2) on the growth of seedlings. For medium A, dry cells occurred at a rate of 5.6% and 10.1% only by using styrofoam panels of which the thickness was 43 mm and 46 mm, respectively. For medium B, dry cells did not occurred with the panels of which the thickness ranging 26~34 mm, but with thicker panels(37~46 mm) it occurred at rates of 1.6~20.6%. Seedlings grew bigger and the T/R ratio was lower with medium A when compared with medium B. And the thinner the thickness of the panel, more tender and succulent seedlings were produced but with less root system. Considering those results, we suggest that the optimum thickness of the styrofoam panel is to be around 34 mm for the production of sound flue-cured tobacco seedlings.

15. 새로 개발된 부상형육묘 시스템에서 스티로폼판의 두께가 연초 묘생육에 미치는 영향

백기현, 신승구, 한종구, 권구홍,
김영신, 이승철
한국인삼연초연구원, 충북대학교 농과대학

스티로폼판(108 x 106cm)에 8개의 끼움구멍을 뚫어 보조 흡수천을 끼우고 그위에 흡수천을 간 부상틀위에 8개의 플라스틱 트레이를 설치하였다. 이러한 부상형 관수체계에서 스티로폼 판의 두께가 육묘에 미치는 영향을 조사하였다. 마른 구멍의 발생율은 피트 : 훈탄 : 원야토 = 4 : 3 : 3 상토를 사용하였을 때 26mm - 40mm 두께의 스티로폼 판에서는 발생되지 않았으며 두께 43 또는 46mm의 판에서는 각각 5.6 및 10.1%였다. 피트 : 퍼라이트 = 8 : 2인 상토를 사용하였을 때에는 26-34mm의 판에서는 마른구멍이 발생되지 않았으며 37mm-46mm 두께의 판에서는 마른구멍의 발생율이 1.6-20.6%였다. 피트 : 훈탄 : 원야토 = 4 : 3 : 3인 상토를 사용할 경우 피트 : 퍼라이트 = 8 : 2인 상토에 비하여 묘의 생육이 큰 편으로 나타났으나 T/R율은 낮은 편이었다. 또한 스티로폼의 두께가 얇을수록 뿌리의 양을 제외한 생육특성이 큰 편이며 T/R율은 높아지는 경향이였다. 본 시험에서 육성된 묘는 어느 처리의 묘나 실용적으로 큰 문제가 없었으므로 결국 T/R율이 낮으면서 마른구멍의 발생이 없는 스티로폼 판의 두께라면 조기재배를 하는 우리나라 실정에 적합한 건전묘의 생산이 가능 할 것으로 생각된다.

16. Gene expression in the fifth generation of the TMV resistant transgenic tobacco plant at high temperature.

Lee, K. W., S. W. Park, E. K. Park,
S. Y. Chae, and S. S. Kim
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Genetic stability and expression of TMV coat protein cDNA of the fifth generation of TMV resistant transgenic tobacco plants were investigated. TMV coat protein cDNA was amplified by genomic PCR in all the TMV resistant transgenic tobacco plants. The TMV coat protein expressed in the transgenic tobacco plants was detected at very low level by immunoblotting. Even in transgenic plants that showed the viral symptom only on very late sucker growth (delay type plants), the coat protein production in the suckers was much less than that of susceptible tobacco plants infected with TMV. TMV coat protein produced in the transgenic tobacco plants was below 0.01% of total protein. Transcription and expression of the coat protein cDNA in delay type plants were observed at high temperature (38°C), and TMV replication was suppressed at 28°C and 38°C. This indicates that unlike the resistance conferred by 'N' gene, TMV resistance of transgenic tobacco plant seems to be stable at high temperature.

16. TMV저항성 형질전환 연초 식물체 (제 5 세대)의 유전자 안정성 및 고온조건에서의 유전자 발현 확인

이기원, 박성원, 박은경, 채순용, 김상석
한국인삼연초연구원

TMV 저항성인 형질전환 식물체 R5세대의 유전자 안정성 및 고온에서의 특성 등을 조사한 결과 TMV 저항성 식물체의 염색체 DNA에 TMV 외피 단백질 유전자가 안정되게 존재하고 있음을 genomic PCR을 수행하여 확인하였다. 또한 형질전환 식물체내에서 TMV 외피 단백질 발현은 Immuno blot hybridization 방법으로 확인하였다. 발현된 단백질의 양은 매우 적었으며 특히 수확기 이후 발생한 액아에서만 TMV의 반점이 나타나는 병징발현 지연형의 경우에도 TMV의 양은 정상 NC 82에 TMV가 감염되었을때와 비교하여 현저히 적었다. 형질전환 식물체 내에서 발현되는 TMV 외피 단백질의 양은 총 단백질의 0.01% 이하이었다. TMV 병징 발현 지연형인 형질전환 식물체에 TMV를 인공접종후 고온처리상태에서 외피 단백질 유전자의 전사 및 발현을 RT-PCR과 Immuno blot hybridization을 통하여 확인하였으며, 이때 TMV의 증식도 억제되었으므로 개량 멸칭시 나타나는 고온조건하에서도 저항성이 안정적으로 발현될 수 있음을 알 수 있었다.

17. Development of potato virus Y resistant tobacco plant by transformation of untranslatable coat protein cDNA of the virus

Lee, C. H., Y. G. Lee, S. W. Kang,
S. S. Kim, and E. K. Park
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Potato virus Y (PVY-VN) was isolated from *Nicotiana tabacum* cv. Br21 and was purified by density gradient centrifugation method using cesium chloride. From purified total viral RNA, cDNA of the coat protein (CP) encoding region was synthesized by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). Artificial starting and stop codon were inserted in CP encoding cDNA fragment. To make untranslatable form of the CP cDNA, three stop codons were inserted near the starting codon by megaprimer-PCR method. The change of the sequences was confirmed by DNA sequencing. Untranslatable CP cDNA fragment was subcloned to plant expression vector and transformed to *N. tabacum* cv. NC82 by *Agrobacterium tumefaciens*. Highly resistant transgenic plants to the PVY infection were selected by symptom development after mechanical inoculation of the virus in a greenhouse. By the genomic PCR and Southern blot hybridization, it was confirmed that one, two or three copies of the untranslatable CP cDNA was integrated in the genome of highly resistant tobacco plants. In the case of resistant transgenic plants, expression level of transgene was much lower than the susceptible transgenic plants by northern blot hybridization study.

17. 비전이성 외피단백질 유전자를 이용한 감자 바이러스 Y 저항성 형질전환 연초 품종 개발

이철희, 이영기, 강신용, 김상석, 박은경
한국인삼연초연구원

감자바이러스 Y (PVY-VN)를 버어리종 연초 (*Nicotiana tabacum* cv. Br21)로부터 밀도 구배 원심분리법에 의하여 순수분리하였다. 추출한 바이러스의 총 RNA로부터 역전사 핵산중합 반응을 이용하여 바이러스의 외피단백질에 해당하는 cDNA를 만들었으며, DNA 가닥에는 인위적으로 개시 및 종결 codon을 삽입시켰다. "megaprimer-PCR 방법"을 사용하여 세 개의 종결 codon을 개시 codon 뒤에 넣어주어 비전이성 외피단백질 유전자로 만들었으며, 염기서열을 조사하여 변화를 확인하였다. 비전이성 외피단백질 유전자 가닥을 식물발현벡터에 재조합한 뒤, 황색종 연초 (*N. tabacum* cv. NC82)에 *Agrobacterium tumefaciens*를 이용하여 형질 전환하였다. 다수의 재분화된 형질전환체 중 감자 바이러스 Y에 대하여 고도의 저항성을 지니는 형질전환체를 인위적인 바이러스 접종 후 나타나는 병징 정도에 따라 선별하였다. Genomic PCR과 Southern blot hybridization의 결과로부터 감자 바이러스 Y에 대한 고도 저항성 형질전환 연초 식물체는 모두 비전이성 외피단백질 유전자가 하나에서 세개까지 삽입되어있음을 확인하였으며, northern blot hybridization의 결과 저항성 형질전환 식물체가 감수성 식물체에 비해 전사된 비전이성 외피단백질 RNA의 양이 현저히 적음을 알 수 있었다.

18. Resistance to potato virus Y in transgenic tobacco plants mediated with cDNA of PVY replicase mutant genes

Chae, S. Y., E. K. Park, Y. H. Kim,
K. H. Paek, and S. S. Kim
Korea Ginseng & Tobacco Research Institute,
Korea University

This study was conducted to develop a resistant tobacco against potato virus Y (PVY) by transformation of the plants with genetically engineered viral genes. The complimentary DNAs (cDNAs) of replicase (NIb) mutant genes (3'-deleted, 5'-deleted and ADD-mutant NIbs) of PVY-VN(vein necrosis) were synthesized through RT-PCR by using purified RNA and synthesized primers, and cloned in the sense orientation into a plant expression vector (pMBP1). The cDNAs of the genes were transferred into *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404, and then transformed into tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. Br21) plants. Regenerated plants were tested for PVY resistance by artificial viral inoculation: 13 transgenic plants including 7 for 3'-deleted NIb, 3 for 5'-deleted NIb, and 3 for ADD-mutant NIb appeared to be resistant at 4 weeks after the inoculation with PVY-VN. Among the 13 transgenic tobacco plants, 8 plants had no symptom up to 14 weeks after inoculation. The progenies (T1) from self-fertilized transgenic lines varied 0% to 81.2% in their resistance (% of resistant plants). The analysis of NIb-3'-deleted, -5'-deleted and -ADD mutant in the T1 plants by PCR showed stable integration of those mutant genes in the genome of the resistant plants.

18. PVY 복제유전자의 변이유전자가 도입된 형질전환 식물체의 저항성 특성

채순용, 박은경, 김영호, 백경희, 김상석
한국인삼연초연구원, 고려대학교 생명공학원

본 연구는 유전공학 기법을 이용하여 바이러스 유전자가 도입된 PVY 저항성 형질전환 연초를 개발 육성하기 위하여 실시하였다. PVY-VN 복제유전자의 결손 및 변이유전자(3'-deleted, 5'-deleted and ADD-mutant NIbs)의 cDNA를 primer와 RT-PCR을 이용하여 합성하여 pMBP1 vector에 정방향으로 재조합하였다. 합성된 유전자들의 cDNA를 *Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404에 전이시킨 다음 연초(*Nicotiana tabacum* cv. Br21)에 형질전환시켰다. 형질전환된 식물체의 PVY에 대한 저항성을 조사해 본 결과 3'-deleted NIb 유전자로 형질전환된 식물체 중에서 7식물체, 3'-deleted NIb로 형질전환된 식물체 중에서 3식물체, 그리고 ADD-mutant NIb 유전자로 형질전환된 식물체 중에서는 3식물체가 PVY-VN 접종후 4주 후까지 병징이 나타나지 않았으며 정상적인 성장을 하였다. 저항성을 보인 13 식물체중 8 식물체는 접종후 14주까지 병징을 보이지 않았다. 형질전환 세포주들의 자가수분에 의해 채종한 식물체들(T1)의 PVY-VN에 대한 저항성 정도는 0~81.2%로 다양하게 나타났다. PCR을 이용하여 T1세대 형질전환 식물체의 3'-deleted, 5'-deleted and ADD-mutant NIb 유전자의 존재가 모든 저항성 식물체에서 확인되었다.