

# A50 보리에서 結氷防止 蛋白質의 遺傳分析

순천대학교 : 천중은, 강석원\*, 최갑성

## Genetic Analysis of Antifreeze Proteins in Barley Crosses

Sunchon Nat'l Univ. : Jong Un Chun, Seuk Won Kang\*

and Kap Seong Choi

### 시험목적

보리의 저온 순화과정에서 세포의 apoplast 내에 축적되는 결빙방지 단백질의 유전양식과 유전력을 규명하고, 내동성과의 관계를 규명하여 내동성 품종의 육성에 기초 정보를 제공하고자 함

### 재료 및 방법

- 실험재료 : 내동성 정도가 다른 보리 4개 품종 (사천 6호, 오월보리, 동보리 1호, Rino) 및 F1 교잡종을 growth chamber와 포장에서 재배. Growth chamber 에서 증자를 1주간 최아시킨 후에 20/16°C (주/야), 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 광도에서 2주간 생육시키고, 포장에서는 11월25일경에 교배친 및 F1 교잡종의 종자를 조파하여 40일 후 완전히 전개된 잎을 채취함
- 단백질추출은 수집한 잎의 생체중을 측정후 완충용액 (20 mM ascorbic acid + 20 mM  $\text{CaCl}_2$ , pH 3.0)에서 30분간 진공여과하고 원심분리(2,500 rpm, 30 min.)하여 추출함
- Bradford 방법에 따라 단백질 농도를 측정하였고,
- Immunoblotting은 전기영동으로 분리된 단백질을 0.45  $\mu\text{m}$  nitrocellulose막에 전이하고 25 mM Tris-HCl (pH 7.6), 140 mM NaCl, 1% skim milk가 포함된 용액에서 24시간 blocking한 다음 GLP, CLP, TLP 로 2시간 또는 24시간 처리한 후 Alkaline phosphate-conjugated goat anti-rabbit IgG로 검정함

### 결과 및 고찰

- 양친 및 F1 교잡종의 분산분석 결과, D가  $H_1$ ,  $H_2$  보다 크고 우성정도( $\sqrt{H_1/D}$ ) 0.463~0.758 으로 결빙방지 단백질 (AFP)의 유전은 유전자의 상가적 작용이 부분 우성으로 나타남
- F 값이 -(負)로 열성대립유전자가 관여하고 유전자의 평균빈도 ( $H_2/4H_1$ )는 0.21~0.23으로 비교적 낮음
- 관여 유전수는 1개 정도로 추정되며, 교배친의 열성과 우성유전자의 비는 0.728~0.822로 열성이 약간 많은 편임
- Wr-Vr 회귀직선에서 동보리 1호는 열성유전자를, 사천 6호는 우성유전자를 포함 (그림 1.2)
- GLP에 대해서 교배친의 고온구 및 저온구에서 35 kD band가 뚜렷이 관찰되나, 사천 6호는 고온구에서 band 농도가 낮았다. F1의 저온구에서는 band가 진하고 고온구는 약하게 나타남
- CLP에 대해서 교배친의 저온구에서 28, 35 kD가 관찰되었는데, 35 kD band는 희미하나 Rino의 경우는 2 bands 모두 현저하였다. 또한 고온구에서는 2 bands 모두 매우 흐렸다. F1의 저온구에서 35, 28 bands가 나타났으나, 35 kD가 흐린 상태, 고온구는 bands가 거의 없었다.
- TLP에 대해서 교배친의 저온구에서 25, 22, 16 kD bands가 관찰되나, 사천 6호 및 오월보리는 25, 22 bands가 낮게 나타남. 고온구에서 사천6호는 bands가 거의 없었으며, 기타 품종은 매우 약하게 나타남. F1의 저온구에서 3 bands가 출현, 고온구에서는 매우 흐리게 나타나고 16 kD만 약간 관찰됨

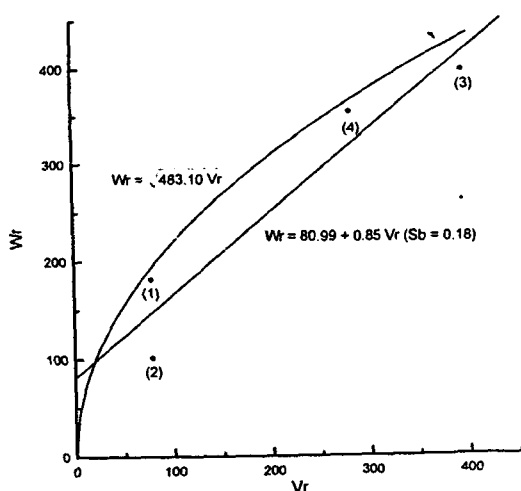
**Table 1.** Mean squares for Wr - Vr of antifreeze protein concentrations in the 4-parent diallel barley cross grown in growth chamber (GC : 20/16°C, 300  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) and open field (OF).

Source	DF	Mean square	
		GC	OF
Replications	3	5.21	6.38
Arrays	9	1306.88**	9525.25**
Error	27	4.75	15.35

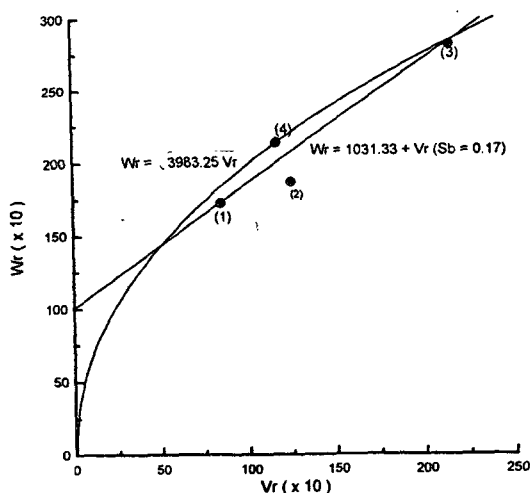
\*\* Significant at the 5% level

**Table 2.** Components of variation for antifreeze protein concentrations in the 4-parent diallel barley cross grown in growth chamber (GC) and open field (OF).

Component	Estimate	
	GC	OF
D	481.91 $\pm$ 51.91	3979.42 $\pm$ 194.45
H <sub>1</sub>	277.7 $\pm$ 150.90	854.08 $\pm$ 565.25
H <sub>2</sub>	252.74 $\pm$ 139.30	732.43 $\pm$ 521.77
h <sup>2</sup>	244.82 $\pm$ 94.48	689.31 $\pm$ 353.91
F	- 69.16 $\pm$ 133.37	- 579.7 $\pm$ 499.55
E	1.19 $\pm$ 23.22	3.84 $\pm$ 86.96
$\sqrt{H_1/D}$	0.758	0.463
H <sub>2</sub> /4H <sub>1</sub>	0.234	0.214
K <sub>D</sub> /K <sub>R</sub>	0.822	0.728
h <sup>2</sup> /H <sub>2</sub> (K)	0.970	0.941
Heritability (B)	1.00	1.00
Heritability (N)	0.82	0.93



**Fig. 1.** Regression of Wr on Vr of antifreeze protein concentrations in the 4-parent diallel cross grown in growth chamber (20/16 C). The parents are : (1) Sacheon 6, (2) Oweolbori, (3) Dongbori 1, (4) Rino.



**Fig. 2.** Regression of Wr on Vr of Antifreeze protein concentration in 4-parent diallel cross grown in open field. The parents are : (1) Sacheon 6, (2) Oweolbori, (3) Dongbori 1, (4) Rino.