

빛자루病에 感染된 대추나무 組織內 蛋白質의 電氣泳動¹

羅瑋俊² · 朴元喆² · 朴元穆³ · 李鎔世³

Electrophoresis of Proteins in the Tissues from Witches'-Broom infected Jujube Tree¹

Yong Joon La² · Weon Chul Park² · Weon Mook Park³ · Yong Se Lee³

要 約

대추나무가 대추나무·빛자루病마이코플라스마(Jujube witches' broom mycoplasma)에 感染되었을 때 植物体内的 蛋白質像에 어떠한 變化가 일어나는가를 위해, 잎과 줄기組織의 蛋白質抽出液을 2-30% polyacrylamide linear gradient disc gel上에서 電氣泳動하여 다음과 같은 結果를 얻었다. 1) 健全組織과 感染組織의 蛋白質電氣泳動像 間에는 뚜렷한 差異를 보였다. 즉, 健全葉에서 뚜렷하게 나타난 蛋白質泳動帶(分子量 約 50 kd)가 感染葉에서는 觀察되지 않았다. 한편, 感染葉에서는 25 kd의 泳動帶가, 그리고 健全葉에서는 198 kd의 泳動帶가 各各 強하게 나타났다. 2) 感染株內的 外觀上 健全葉에서는 50 kd의 特異泳動帶가 多少 弱하게 나타남으로써 健全木의 葉과 感染葉의 中間狀態의 蛋白質泳動像을 보였다. 3) 줄기의 경우 잎과는 對照적으로, 健全줄기에 없는 特異泳動帶(335 kd)가 感染줄기에서 나타났다.

ABSTRACT

Protein profiles of healthy and witches' broom (mycoplasma) infected jujube plants (*Zizyphus jujuba*) were investigated by 2-30% linear gradient polyacrylamide gel electrophoresis. Distinct differences in band patterns between healthy and infected samples were observed. Gels from samples of healthy leaves showed a characteristic protein band in the 50kd-range, which was not detected in infected leaves. Band with 25kd was more distinct in the infected leaves, whereas band with 198kd was more apparent in the healthy leaves. Healthy-looking leaves in the infected samples demonstrated the characteristic band of 50kd with less intensity showing intermediate pattern between healthy leaves and infected leaves. In contrast with leaf samples, gels from infected stem samples showed a characteristic band in the 335kd-range which was absent in healthy stem samples.

Key words: jujube witches' broom mycoplasma; protein profile; polyacrylamide gel electrophoresis.

緒 言

最近에 McCoy와 Charudattan(3, 4), Ishizaka

(2) 등은 마이코플라스마(Mycoplasmalike organism; MLO)에 感染된 植物과 健全한 植物의 組織汁液을 電氣泳動하여 兩者 間의 蛋白質泳動像에 뚜렷한 差異가 있음을 確認하고, 電氣泳動에 依한 蛋白質分析

¹ 接受 11月 1日 Received November 1, 1984.

² 서울大 農大 College of Agric., Seoul Nat'l Univ., Suweon, Korea.

³ 高麗大 農大 College of Agric., Korea Univ., Seoul, Korea.

이 MLO病을 診斷하는데 有用함을 報告하였다.

本 實驗은 電氣泳動法으로 빛자루病 MLO에 感染된 대추나무 (*Zizyphus jujuba*)와 健全株間의 蛋白質泳動像을 比較 分析할 目的으로 實施하였다.

材料 및 方法

1. 供試植物

1984年 8월에 安城地方에 植栽되어 있는 健全한 대추나무 5그루와 빛자루病에 感染된 대추나무 5그루를 選定하여 各各 잎과 줄기部分을 採取하여 本實驗에 使用하였다. 잎과 줄기를 모두 가지 끝部分에서 採取하였으며, -20°C 에 貯藏한 다음 實驗에 使用하였다.

2. 蛋白質 抽出

잎 또는 줄기組織 1g에 0.1M Phosphate buffer (pH 7.5) · 2 mM EDTA 3ml, Polyvinylpyrrolidone 1g, 그리고 小量의 sea sand를 加하여 乳鉢속에서 杵게 磨碎한 다음 20,000g로 20分間 遠心分離하여 얻은 上清液을 蛋白質電氣泳動의 材料로 使用하였다. Standard protein으로는 bovine serum albumin을 使用하였다.

3. 電氣泳動

0.1 M Tris - HCl (pH 8.9)를 gel buffer로 하여 2-30% polyacrylamide linear gradient disc gel을 만들고, running buffer로는 0.1 M Tris-Glycine (pH 8.3)을 使用하였다. Gel tube當 蛋白質抽出液 200 μl 를 넣고, 3 mA/tube의 電流로 24時間 電氣泳動을 시킨 다음, Coomassie-Brilliant Blue(tri-chloroacetic acid 30g, methanol 100ml, acetic acid 35ml, 증류수 400ml를 混合한 溶液의 40ml에, 1% Coomassie-Brilliant Blue R - 250 水溶液 1ml를 添加)로 1時間 染色하고 destaining solution (acetic acid : methanol : water = 1:6:14)에서 1日間 脫色시켜 나타난 蛋白質泳動帶를 觀察하였다.

結果 및 考察

Gel上에 나타난 健全木의 葉汁液과 感染木의 葉汁液의 蛋白質泳動像은 그림 1과 같다. 그림에서 보는 바와 같이 健全木汁液에서는 Rf = 0.62의 位置에서 約 50Kd의 分子量을 갖는 泳動帶(화살표)가 뚜

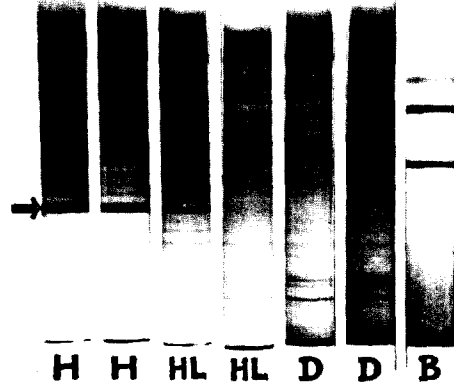


Fig. 1. Protein bands isolated from leaves of healthy(H) and diseased(D) jujube trees. HL: Externally healthy-looking leaves from diseased trees. B: Oligomers of bovine serum albumin (67kd). Arrow indicates characteristic band (50kd).



Fig. 2. Externally healthy-looking leaves (arrows) in the witches' broom infected jujube shoot.

렷하게 나타났으나, 感染葉汁液에서는 이 泳動帶가 보이지 않았다. 한편, 빛자루病에 걸린 대추나무에서 外觀上 健全하게 보이는 잎(그림 2)의 蛋白質泳動像을 보면, 健全葉에서 나타난 50kd의 特異泳動帶가 多少 弱하게 나타남으로써 病徵이 뚜렷한 잎과 健全木葉의 中間狀態의 泳動像을 보였다. 또한, 感染葉에서는 Rf = 0.83 (25kd)의 泳動帶가 健全葉에서 보다 더 強하게 나타난데 비해, 健全葉에서는 Rf = 0.29 (198kd)의 泳動帶가 感染葉에서 보다 훨씬 弱하게 나타나는 등 健全葉과 感染葉間에 泳動帶의 強度에 差異가 있었다.

한편, 그림 3에서 줄기組織汁液의 蛋白質泳動像

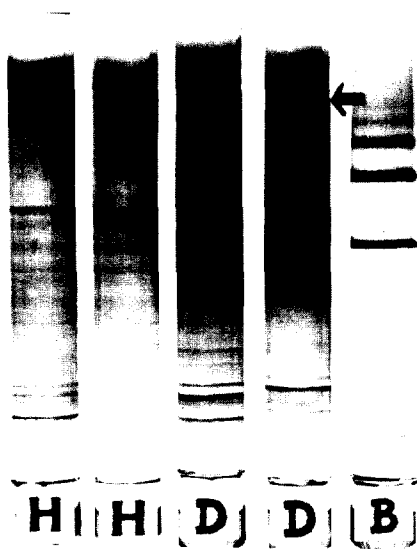


Fig. 3. Protein bands isolated from stems of healthy (H) and diseased (D) jujube trees. B: Oligomers of bovine serum albumin (67kd). Arrow denotes characteristic band (335kd).

을 보면,健全木의 줄기에서 볼 수 없는 특이한蛋白質泳動帶(Rf = 0.18, 335kd)가 感染 줄기에서 나타났다. 줄기의蛋白質泳動像이 잎에서와 다르게 나타났는데, 이것은組織部位에 따른蛋白質組成의 차이로 생각된다.

本實驗에 供試한健全株 5 個體間과 感染株 5 個體間에는蛋白質泳動像이 모두同一하게 나타남으로써, 供試植物 個體間의蛋白質泳動像의 差異를 볼 수 없었다. 따라서,健全株와 感染株 間에 나타난蛋白質泳動像의 顯著한 差異는 分明히 MLO의 感染 結果

로 나타난 것이라고 할 수 있으며, 이것은 MLO의 感染에 依해 大추나무組織內의蛋白質代謝에 變化(1, 5)가 생겼음을 말해준다. 또한, 本實驗에서 觀察된 특이蛋白質泳動帶는 大추나무의 MLO 感染與否를 알려주는 指標로서, 本病의 診斷에 有用하게 使用될 수 있음을 보여 준다. 한편, 感染된 가지에서 볼 수 있는 外觀上健全葉에서 특이蛋白質泳動帶가 弱하게 나타난 것은 비록 外觀上健全하게 보이는 잎이라도 MLO 感染의 影響을 받고 있음을 말해주며, 이泳動帶의 強度가 試料에 따라 같지 않은 것은 病의 進展狀態가 각기 다르기 때문인 것으로 생각된다.

引用文獻

1. Heitefuss, R. and P. H. Williams. (eds). 1976. Physiological plant pathology, Encyclopedia of plant physiology, New Series, vol. 4. Springer-Verlag, New York.
2. Ishizaka, T. 1971. Agarose-gel electrophoresis of proteins in the leaves from dwarf-diseased mulberry tree. J. Sericult. Sci. Japan 40(5):391-394.
3. McCoy, R. E. (ed). 1983. Lethal yellowing of palms. Univ. of Florida IFAS Bull. No. 834.
4. McCoy, R. E. and R. Charudattan. 1976. Progress towards the isolation and characterization of the lethal yellowing pathogen. Principles 20:61.
5. Uritani, I. 1971. Protein changes in diseased plants. Ann. Rev. Phytopathol. 9:211-234.