

## 最近文獻 抄綠

閔成美等 (1995) 뽕나무에 있어서 多芽體 형성과 植物體 再生. 日蠶雜 64(2), 117-123.

組織培養은 뽕나무 증식을 하기 위한 한가지 방법으로서 多芽體 유도에 의한 식물체 재생은 매우 중요한 과제이다.

多芽體 유도를 위하여 뽕나무의 눈에서 생긴 莖頂 (1-1.5 mm)을 BA, zeatin, 4PU, TDZ 등 Cytokinin을 함유한 MS 액체 배지에 넣고 조명하에서 2rpm으로 하여 수직회전 배양한 결과, 2mg/l 4PU를 첨가한 경우에 1-2개월 사이에 多芽體가 형성되었다. BA와 zeatin은 shoot의 신장을 촉진하였지만 다아체를 형성하지 않았고, NAA는 多芽體 형성을 억제하였다.

多芽體는 중심부의 柔組織과 그 주위에 분포하는 다수의 눈으로부터 되어 있고, 苗條原基와 마찬가지로 分割繼代가 가능하였으며, 回轉培養하는 한 shoot의 신장이 억제되었다. 多芽體를 BA를 첨가한 고형배지에서 배양하면 shoot가 신장하지만, 이때蔗糖보다 果糖을 사용한 쪽이 보다 다수의 shoot가 신장하였다.

多芽體에서 얻은 shoot는 0.01 mg/l NAA를 첨가한 發根培地로 이식하면 용이하게 발근하였으며, 또한 多芽體는 배양면적이 적어도 배지고화제를 필요로 하지 않으므로 증식을 하기 위해서는 유용한 培養系라고 생각된다.

(잠사곤충연구소, 남학우)

今西重雄, 富田秀一郎, 中尾肇 (1966) 인시목 곤충 부 유성 배양세포의 고밀도 대량배양. 日蠶雜 65(1): 7-12

최근 바쿨로바이러스 유전자 발현계를 이용하는 배양세포계에서 유용단백질 생산이 가능해짐에 따라, 전갈독 유전자등 외래유전자를 도입한 재조합 바이러스를 곤충 배양세포계에서 증식시켜 생물농약으로 이용하는 등, 특수 기술이 개발되고 있다. 이러한 경우에 필요한 대규모 세포 배양계의 문제점을 해결하기 위하여, 누에 배자 유래의 배양세포계인 SES-BoMo-15A와 도둑나방 유충 지방체 유래의 배양세포계인 SES-

MaBr-1 및 SES-MaBr-4를 이용하여 고밀도 대량 세포 배양에 필요한 최적조건을 검토하였다.

회전배양법 및 교반배양법에 의한 대량배양에서는 증식저해 요인인 배지의 산성화를 방지함으로서 세포증식을 촉진시켰다. 이 경우 500 ml 용량의 배지에서 배양한 回分培養 방식에서는 세포밀도가 초기의  $5 \times 10^6 / ml$ 에서 최대  $1.2 \times 10^6 / ml$  까지 높아졌다. 또한, 용존산소 농도를 조절하는 한편 일정량의 신구배지를 연속교환하는 灌流培養 방식에서는 도둑나방 유충 지방체 유래 배양세포계를 초기 세포밀도  $1 \times 10^6 / ml$ 에서 최대  $3.2 \times 10^6 / ml$  까지 높일 수 있었다. 그러나 현재의 시스템 기술은 모든 세포에 적용 가능한 汎用的 수준에 이르러 있지 못함으로, 사용하는 세포의 특성을 충분히 파악한 후 각 세포의 종류에 적합한 시스템을 선택할 필요가 있다.

(잠사곤충연구소, 김 삼은)

吉村 央, 谷啓史, 梶原俊明 (1995) 絹の改質, その 1M-MAAに 方法. 纖維加工 47(6) : 285-288

Methylol methacrylamide (M-MAA)를 사용하여 저온비 가공이 가능한 pad steam법과 pad cure법에 의한 가공을 행하고 부착율의 향상과 개질효과에 대하여 검토하였다.

Pad steam법은 M-MAA (0-60% o.w.f.) 수용액에 촉매 과유산 카리움 3% (o.w.f.) 및 개미산 2g/l을 첨가한 용액에 padding한 후 80°C, 20분간 전조한 다음 100°C, 20분간 steaming하였으며, pad cure법은 padding과 전조는 pad steam법과 동일하나 열처리는 130°C, 10분간으로 하여 비교 시험한 결과 그라프트 효율에 대하여 pad steam법에서는 70%에서 거의 평형에 달하는데 반하여 pad cure법은 graft 효율이 monomer 농도와 함께 높아지는 경향이 있다. 따라서 pad steam법이 pad cure법에 비하여 그라프트효율이 좋고 증량율도 높아 반응이 용이한 것으로 실증되었다. 가공포 (pad-steam법)의 물성평가를 위한 실험 결과에서는 주름회복성이 저증량율에서는 증량율과 비례하여 증가하지만 고증량율에서는 반대로 증량율의 증가와 함께 주름성 회복이 떨어지는 경향을 보였다.

가공포의 인열강도에 있어서 증량율 10-20% 부근에서는 미가공포와 거의 차이가 없지만 증량율이 그 이상으로 되면 인열강도가 현저히 저하되어 증량율 40%에서는 미가공포의 약 절반까지 떨어졌다. 이것은 가공포의 촉감이 조경하여 짐으로서 인열강도 저하의 요인이 된 것으로 생각된다. 한편 가공포의 염색성에 대하여는 증량율이 높아지는 만큼 염착농도가 상승하는 것으로 밝혀졌는데 이것은 증량에 의해 염료의 염착좌석이 증가하기 때문이다.

결론적으로 이 보고에서는 견에 M-MAA를 필요한 정도의 부착율로 가공하는 것이 가능하고 가공포의 특성으로서는 아래와 같은 점을 제시하였다. 즉 증량율이 증가하는 만큼 염착농도가 향상되는 경향이고 주름성 회복에 대하여는 증량율 10-20% 정도에서 최고치를 보였으며, 인열강도는 낮은 증량율에서는 미가공포와 차이가 없었지만 증량율 증가와 함께 paper-like로 되어 극히 저하되었다. 강연성은 증량율에 있어 증가하는 만큼 Total hand값이 높아지고 촉감은 조경하게 되는 경향을 보였다.

금후에는 M-MAA로 가공된 견을 이용하여 화학적 성질 변화에 대한 검토와 매치를 기에 개질제를 반응시켜 물성변화를 유도하는 것이 기대된다.

(잠사곤충연구소, 이용우)

**Francis Rajamohan, Jeffrey A. Cotrill, Fred Gould and Donald H. Dean (1996) Role of Domain II, Loop 2 Residues of *Bacillus thuringiensis* CryIAb δ-Endotoxin in Reversible Binding to *Manduca sexta* and *Heliothis virescens*. J. Biol. Chem. 271, 2390-2396.**

일반적으로 *Bacillus thuringiensis* δ-endotoxin에서 발견되는 세 가지 domain 중에서 domain II는 곤충에 대한 숙주특이성과 membrane binding에 관여하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 기존에 밝혀진 CryIIIA domain II의 loop 2와 비교하여 cryIAb에서 이에 해당하는 부위를 site-directed mutagenesis를 이용하여 이의 역할을 연구하였다. 즉, CryIAb에서 밝

혀진 또 다른 loop 2 segment인 <sup>368</sup>RRP<sup>370</sup>의 *Heliothis virescens*와 *Manduca sexta*에 대한 독성과 초기 결합에서의 기능을 조사하고, CryIAb의 잔여기 중 Phe<sup>371</sup>을 반대의 물리화학적 성질을 갖는 다른 아미노산 (Cys, Ser, Val, Leu, Tyr, Try)으로 대체하여 *M. sexta*에 대한 membrane association function을 분석하였다. 또한 CryIAb의 370-375번째 잔여기 내에서 single alanine substitution mutant의 membrane binding 특성들도 구명하였다.

그 결과, 아미노산이 대체된 재조합 단백질들은 원래의 것과 유사한 양으로 발현되며 trypsin-resistant core 형성에 있어서도 유사하였으며, 중장 소화액 처리 후 Western blot 결과 또한 원래의 것과 유사하였다. <sup>368</sup>RRP<sup>370</sup>의 alanine substitution mutant의 *M. sexta*와 *H. virescens*에 대한 독성은 wild type과 비교하였을 때 각각 600배와 50배 이상 감소하였으며, competition binding assay 결과 BBMV에 대한 결합력은 무시할 수준이었다. CryIAb의 Phe<sup>371</sup> 잔여기를 다른 아미노산으로 대체한 돌연변이주들은 F371W를 제외하고는 원래의 것보다 독성이 감소하였으며, autoradiography 결과 F371C가 wild type보다 높은 40% 가량의 결합력을 보였다. Single alanine substitution mutant 중에서 I373A는 독소를 형성하지 않으며, 나머지는 분자량 60 kDa의 wild type과 유사한 독소를 형성하였다. 독성 검정 결과 F371A와 N372A는 wild type과 유사한 독성 및 binding activity를 보였으나 D2, G374A, I375A는 독성이 감소하였다.

독성의 저하는 membrane binding domain의 conformational alteration에 의한 것이 아니라 단순히 아미노산의 대체에 의한 것이며, 따라서 결합친화력과 독성 간에는 직접적인 관계가 있다. 본 실험에서 <sup>368</sup>RRF<sup>370</sup>는 native toxin에서 세포 receptor에 결합하는데 anchor 역할을 하는 것으로 생각된다. Phe<sup>371</sup>의 side-chain substitution 결과 aromatic bulky side-chain substitution이 aliphatic, small side-chain substitution보다 독성이 높은 것으로 나타났다.

(서울대학교 농업생물신소재연구센터, 진병래)