

7. BcHSP17.6 유전자 도입에 의한 알팔파 형질전환 및 재분화

김기용^o · 임용우 · 최기준 · 성병렬 · 한확석 · 박근재 · 조진기*
축산기술연구소 · 경북대학교*

BcHSP17.6 유전자를 *Agrobacterium*을 매개로 하여 알팔파 (*Medicago sativa* L. cv. Anchor) 캘러스에 도입후, 이들 캘러스로부터 식물체를 재분화시키는 알팔파의 형질전환을 시도하였다. 알팔파의 캘러스는 소독한 종자를 SH-3 배지 (SH 배지에 2,4-D를 3mg/l 농도로 첨가한 배지)에 치상하여 28℃ 암조건에서 20일간 배양함으로써 유도하였다. 알팔파의 형질전환을 위한 발현벡터로는 pIG121-Hm 벡터의 *Xba*I 및 *Sna*B I restriction site 에 *Xba*I/*Sma*I restriction site를 가지는 *BcHSP17.6* 유전자 단편을 subcloning 함으로써 제작한 pIGH4를 이용하였다. pIGH4 plasmid로 형질전환된 *Agrobacterium* 현탁액으로 캘러스를 감염시켜, kanamycin (100mg/l), cefotaxim (500mg/l), 2,4-D (3mg/l)를 첨가한 SH-3-kc 배지에서 배양하면서, 여기에서 살아남는 캘러스를 형질전환 캘러스로 선발하였다. 형질전환 식물체의 재분화는 5 mg/l의 NAA (1-naphtalene acetic acid)와 2 mg/l의 kinetin (6-furfurylaminopurine)을 첨가한 배지에서 28~30일간 배양하고, 11 mg/l의 2,4-D와 1 mg/l의 kinetin을 첨가한 배지에서 3~5일 배양한 다음, 1.6 g/l의 ammonium sulfate와 5.75 g/l의 proline을 첨가한 배지에서 21~25일 배양 후, IBA를 첨가한 배지에서 shoot 및 root를 유도하였다.

8. 알팔파 조직배양에서 IBA 처리에 의한 뿌리형성 촉진

김기용^o · 임용우 · 최기준 · 성병렬 · 신동은 · 이병현* · 원성혜*
축산기술연구소 · 경북대학교*

알팔파 (*Medicago sativa* L.) 종자로부터 캘러스를 유도후, 캘러스로부터 식물체를 재분화함에 있어 재분화배지에 IBA를 첨가하면 뿌리형성이 촉진됨을 확인하였다. Anchor 품종의 종자를 소독하여 SH-3 배지 (SH 배지에 3mg/l의 2,4-D 첨가)에서 20일 배양하여 캘러스를 유도후, NAA (5mg/l)와 kinetin (2mg/l)을 첨가한 SH-nk 배지에서 28~30일간 배양하고, 2,4-D (11mg/l)와 kinetin(1mg/l)을 첨가한 SH-11b 배지에서 3~5일 배양한 다음, ammonium sulfate (1.6g/l)와 proline (5.75g/l)을 첨가한 SH-sp 배지에서 21~25일 배양하여 shoot와 root가 어느 정도 형성된 것만 선발하였다. 캘러스 부분을 떼내지 않은 상태로 1 mg/l의 IBA를 첨가한 SH 배지에서 배양한 결과, 1/2 SH-0 배지나 SH-0 배지에서 배양한 조건에 비해 뿌리형성이 많이 촉진됨을 알 수 있었다.