

## D23 돼지 설사병 예방을 위한 Oral Vaccine 당근 개발

단국대학교: 이영선\*, 황철호

Development of Carrot Oral Vaccine to Protect against ETEC Diarrhea in Swine  
Dankook University: Young Sun Lee\*, Cheol Ho Hwang

### 실험목적

형질전환식물을 이용하여 세균성 돼지 설사병을 예방 및 치료하기 위한 oral vaccine을 개발하여 안정성 및 경제성이 제고된 사료 첨가제의 생산

### 재료 및 방법

○ 실험재료 : *E. coli* K88ac strain

5품종의 당근(조춘 5촌, 대풍 5촌, 만산 5촌, 여름 5촌, 한여름 5촌)

○ 실험방법

- PCR 방법으로 *E. coli* K88ac strain에서 pili 유전자 분리
- pili gene을 T-vector에 cloning
- 얻어진 유전자를 pGA748 vector에 cloning한 후 *Agrobacterium* LBA4404에 형질전환
- pili 유전자의 배축 절편을 이용한 당근 형질전환
- 형질전환 당근의 유전자 존재 및 발현 정도를 판단하기 위한 PCR 및 western분석

### 결과 및 고찰

- PCR을 수행한 결과 예상되는 850bp의 band가 나타났다.
- T-Vector에 cloning한 후 insert를 확인하기 위해 plasmid DNA를 XhoI과 BglII로 digestion을 한 결과 3Kb의 T-Vector와 850bp의 insert를 확인하였다.
- PCR product의 sequencing을 통해 *E.coli* pili gene임을 확인하였다.
- Pili 유전자를 pGA748에 cloning한 후 PstI으로 digestion하여 예상 크기의 band를 확인하였다.
- LBA4404의 형질전환 여부를 판단하기 위해 Southern 분석한 결과, 예상되는 850bp의 band를 확인하였다.
- 형질전환된 *Agrobacterium tumerfaciens*를 당근 배축에 cocultivation시킨 후 설사 방지용 형질전환 당근 세포주를 확립하였다.
- 당근의 형질전환 여부를 판단하기 위해 callus 수준에서 PCR한 결과 형질전환된 당근에서만 850bp의 band를 확인하고 western을 통해 발현여부를 확인하고 있는 중이다.

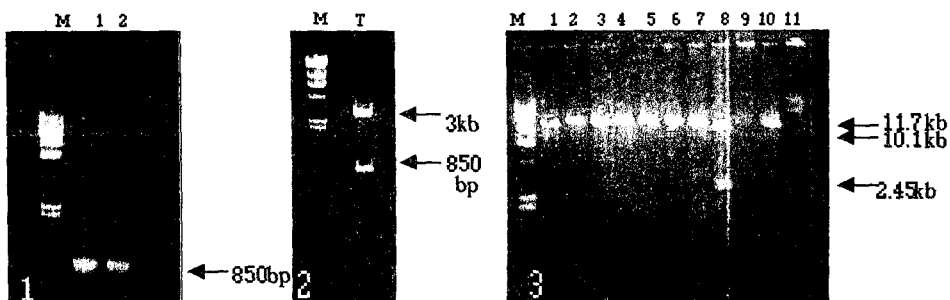


Figure 1. PCR cloning of pili gene(850bp) from *E. coli* strain K88ac

Figure 2. Confirmation of the PCR product cloned into T-vector by digestion with XhoI and BglII to produce two bands of 3kb and 850bp

Figure 3. Confirmation of the pili gene cloned into pGA748 by digestion with PstI: Only the transformant 8 shows an expected band of 2.45kb including the pili gene among transformants.

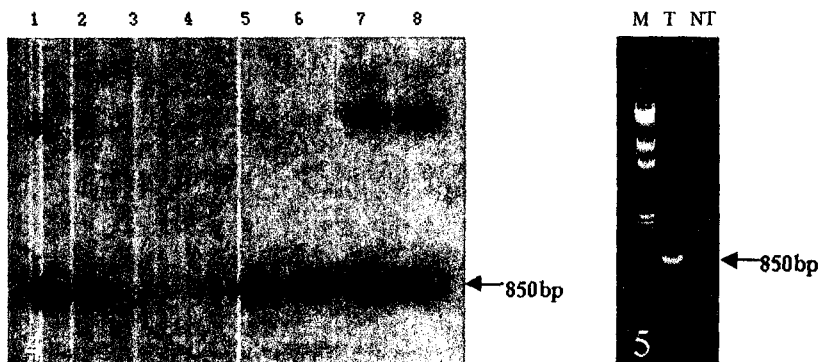


Figure 4. Southern analysis showing the pili gene(850bp) introduced in *Agrobacterium* after transformation into LBA4404.

Figure 5. Confirmation of the pili gene introduced in transgenic carrot cell by PCR, T; transgenic carrot cell, NT; nontransgenic carrot cell