

## D33 $\gamma$ -TMT 유전자의 상추 형질전환

전북대학교 생물자원과학부, 전북대 농업과학기술연구소 : 백소현\*, 김명준, 윤성중<sup>1</sup>

### Transformation of $\gamma$ -TMT cDNA into *Lactuca sativa* L.

<sup>1</sup>Faculty of Biological Resources Sciences and Institute of Agricultural Sciences and Technology, Chonbuk National University :

So Hyeon Baek\*, Myung Jun Kim and Song Joong Yun<sup>1</sup>

#### 시험목적

식물체내에서  $\gamma$ -tocopherol methyltransferase( $\gamma$ -TMT) 유전자의 기능 구명 및 형질전환을 이용한 식물체내  $\alpha$ -tocopherol 함량의 증진

#### 재료 및 방법

1. Binary vector 제작 : pBI 121에 Arabidopsis의  $\gamma$ -TMT cDNA 재조합
2. Agrobacterium 형질전환 : A. tumefaciens LBA4404에 Freeze-thaw법을 이용해 binary vector 도입
3. 상추 형질전환 : Agrobacterium과 공동배양
4. 조직배양조건 :  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 연속광
5. 유전자의 형질전환 확인 : PCR 방법 이용

#### 결과 및 고찰

지용성 항산화제인 tocopherol에는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -와  $\delta$ -tocopherol의 4가지가 존재한다(M. J. Fryer, 1992). Tocopherol은 지질 이중막내에서 다가불포화 지방산이 lipoxygenase에 의해 산화되는 것을 방어하여 안정화 시키는 기능이 있다.(A. N. Erin, 1985). 항산화작용이 있는 tocopherol은 암과 노화작용에 부분적으로 관여한다고 알려진 반응성이 강하고 위험한 자유 라디칼(free radical)과 반응하여 이를 제거하는 기능을 가지고 있다. Tocopherol 동족체중 Vitamin E 활성이 가장높은 것은  $\alpha$ -tocopherol이다(A. Kamal-Eldin, 1996). 이러한 항산화 작용이 강한  $\alpha$ -tocopherol은  $\gamma$ -TMT gene의 메틸전이에 의해  $\gamma$ -tocopherol로부터 생성된다.

형질전환 기법을 이용하여 식물체내  $\alpha$ -tocopherol 함량을 증가시킬 목적으로  $\gamma$ -TMT gene을 갖는 binary vector를 A. tumefaciens LBA4404에 도입하고 상추의 엽조직을 형질전환 시켜, 그림 1과 같이 항생제(kanamycin 50mg/L)가 포함된 배지에서 재분화된 식물체를 선발하였다.  $\gamma$ -TMT gene의 형질전환 여부를 확인하기 위해 재분화 식물체로부터 DNA를 추출하여  $\gamma$ -TMT 유전자의 primer를 이용하여 PCR을 수행한 결과 1,070bp의  $\gamma$ -TMT gene product를 확인하였고(그림 2), HPLC를 통해  $\gamma$ -tocopherol과  $\alpha$ -tocopherol의 양적변화를 확인중에 있다. 들깨, 유채등 다수의 작물에 대하여 형질전환을 실시하고 있다.

---

연락처 전화 : 0652-270-2508, E-mail : shbaek1998@yahoo.com

Table 1. Composition of plant culture media for leaf disk transformation in lettuce.

| Composition         | Coculture | Regeneration | Rooting |
|---------------------|-----------|--------------|---------|
| Salt + Vitamin      | MS        | MS           | MS      |
| Sucrose(g/L)        | 30        | 30           | 30      |
| NAA(mg/L)           | 0.1       | 0.1          | -       |
| BA(mg/L)            | 0.5       | 0.5          | -       |
| Kanamycin(mg/L)     | -         | 50           | 50      |
| Carbenicillin(mg/L) | -         | 500          | 250     |

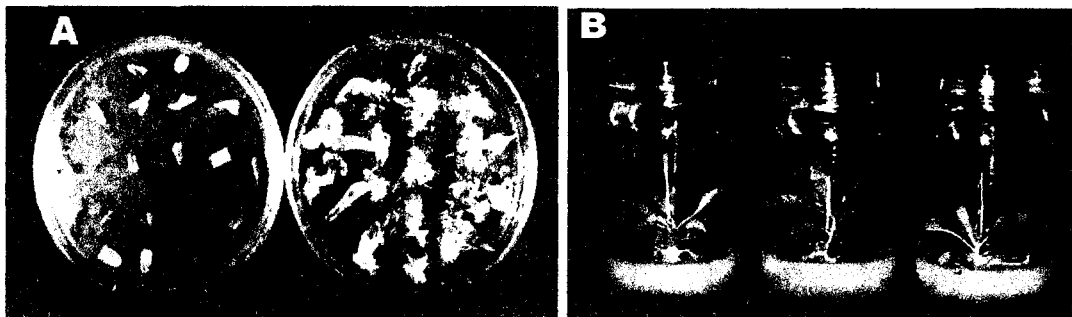


Fig 1. Nontansgenic explants(left) and transgenic lettuce shoot transformed with  $\gamma$ -TMT cDNA(light) growing on medium containing 50mg/L kanamycin (A). Regenerated lettuce plants growing in rooting media containing 50mg/L kanamycin(B).

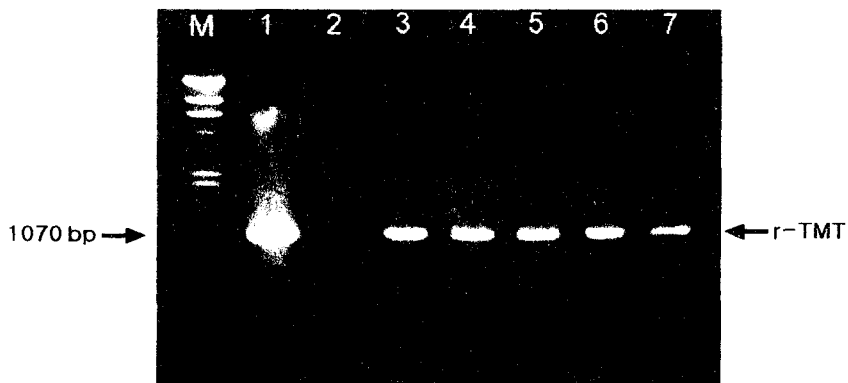


Fig 2. Agarose elctrophoresis of PCR amplification products.

M, lamda DNA/Hind III ladder : lane 1, amplified product from plasmid pBI-TMT : lane 2, nontransgenic plant : lanes 3-7, transgenic plants transformed with pBI-TMT.