

조직배양에 의한 잔대(*Adenophora triphyll* DC.)의 형질전환

송민정*, 김현순¹, 백소현¹, 김명준, 고정애
전북대학교 생물자원과학부 원예학과, ¹호남농업시험장

실험목적

잔대 엽병 및 본엽 절편체 배양을 통한 식물체 재분화 및 이를 토대로 Particle Bombardment를 이용한 형질전환 체계 확립

재료 및 방법

- 실험재료 : 무균 발아된 성숙 종자 유묘의 엽병 및 본엽 절편체
- 배지 : MS기본 배지에 NAA와 BA 혼용처리(0.5-2.0 mg/L)
- Particle Bombardment : 1.0/1.6 μ m Gloden particle, 1100psi Rupture disk.
- 유전자 : pACT1D(β -glucuronidase: *gus*)
- Gus 유전자 조직화학적 분석 : X- Gluc이용 (37 $^{\circ}$ C, Overnight)
- PCR 조건 : 94 $^{\circ}$ C 5분- (94 $^{\circ}$ C 1분- 55 $^{\circ}$ C 30초- 72 $^{\circ}$ C 1분) \times 35회- 72 $^{\circ}$ C 5분

결과 및 고찰

식물체는 주로 엽 절편체에서 기관분화성 캘러스를 통해 분화되었으며 1.0 mg/L NAA와 2.0 mg/L BA 혼용처리구에서 절편체 당 평균 30-40개 신초가 발생되어 신초 분화에 적합하였다. 분화된 신초는 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 MS 기본배지에 0.3% Activated Charcoal를 첨가 하므로써 뿌리 발생 및 갈변현상 억제에 의한 정상적인 생육을 유도하였다.

위의 잔대 재분화 체계를 이용, 형질전환 체계를 확립하기 위하여 종자발아 후 유묘 엽병과 본엽 절편체에 Particle Bombardment를 이용하여 pACT1D (β -glucuronidase: *gus*) 유전자를 도입하였다.

재분화 식물체는 X-gluc를 이용하여 *gus* 활성을 측정 한 결과 본엽으로 부터 유도된 재분화 식물체에서 높은 활성을 나타내었으며, *gus* 활성이 확인된 식물체의 genomic DNA를 이용하여 PCR을 수행한 결과 *gus* 유전자가 안정적으로 삽입되었음을 확인하였다.