

A-3

## 고구마 배양세포에서 새로운 산화스트레스 유도성 Peroxidase Promoter의 분리 및 특성규명

류선화, 박수영, 김윤희, 권석윤, 곽상수\*

한국생명공학연구원 환경생명공학연구소

### 목 적

높은 산화스트레스 조건에서 배양되는 고구마 현탁 배양세포에 고발현 하는 6종의 새로운 POD cDNA (*swpa4*, *swpa5*, *swpa6*, *swpb1*, *swpb2*, *swpb3*)를 분리하여 다양한 스트레스 조건에서 유전자의 발현특성을 비교한 바 있다 (Park et al., 2003). 본 연구에서는 물리, 화학, 생물학적 스트레스에 의해서 높은 발현이 유도되는 SWPA4 프로모터를 chromosome walking 방법으로 분리하여 형질전환 담배에서 프로모터의 발현 특성을 조사하였다.

### 재료 및 방법

1. 식물재료 : 고구마 (*Ipomoea batata* (L.) Lam. cv. White Star), 담배 BY-2 현탁배양세포, 담배 (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi)
2. 방법 : Transient assay - PEG transfection  
담배형질전환 식물체 - *Agrobacterium tumefaciens* 이용한 형질전환

### 결과 및 고찰

분리한 SWPA4의 genomic DNA는 전사개시점의 5'-말단 방향으로 2,433 bp와 두개의 intron (115 bp, 168 bp)과 1,229 bp의 coding region으로 구성되어 있었다. SWPA4 promoter의 deletion mutant를 제작하여 transient assay한 결과, SWPA4 promoter는 CaMV 35S promoter에 비해 약 5.3배 높은 활성을 나타내었으며, -1934 bp 및 -1467 bp의 경우는 약 8.5배 높은 활성을 가지고 있었으며, -1199 bp의 경우 약 7.5배, -818 bp의

경우 약 5.1배 및 -443 bp의 경우 4.8배의 높은 활성을 나타내었다. 이 결과를 바탕으로 -2436 bp와 -1934 bp 사이에 발현을 억제시키는 전사인자의 부착부위가 있으며 반면에 가장 활성이

높은 -1467 bp와 다시 활성이 낮아진 -818 bp사이에 발현을 증폭시키는 전사인자의 부착부위가 있을 것으로 예상 할 수 있었다. 3종의 deletion mutant (-2433 bp, -1467 bp, -433 bp)를 이용한 형질전환 담배식물체를 제작하고 식물체에서 GUS 발현변화 조사를 통해 promoter의 활성을 분석하였다. 형질전환식물체 앞에서 GUS 발현이 전혀 나타나지 않았으나 wounding, NaCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 등 abiotic stress에 의해 발현이 유도되는 것을 확인할 수 있었다. -1467 bp 식물체에서 gibberellic acid (GA) 및 salicylic acid (SA)는 GUS 활성을 유도하였으며 -2433 bp 식물체에서 indole acetic acid (IAA) 및 GA는 GUS 활성을 증가시켰으나, -433 bp 식물체에서는 GUS 활성 변화를 일으키지 않았다. SWPA4 promoter의 구체적인 특성과 그 조절인자들을 규명하기 위하여 형질전환식물체에 다양한 stress를 처리하여 활성의 변화를 조사하고 있으며 앞으로 EMSA 및 yeast one hybrid 등을 수행할 예정이다.

### 인용문헌

1. Park SY et al. (2003) Differential expression of six novel peroxidase cDNAs from cell cultures of sweetpotato in response to stress. *Mol. Gen. Genomics* 269: 542-552
2. Jang IC et al. (2004) Differential expression of ten sweetpotato peroxidase genes in response to bacterial pathogen, *Pectobacterium chrysanthemi*. *Plant Physiol. Biochem.* (in press).