

04-1-6

Agrobacteria 매개에 의한 고구마 형질전환 및 식물체 재분화

임순^{1,3}, 양경실¹, 권석윤², 백기엽³,곽상수², 이행순^{1*}

한국생명공학연구원¹ 식물세포공학연구실, ²환경생명공학연구실, ³충북대학교 원예학과

목 적

지금까지 국내에서 고구마 (*Ipomoea batatas*) 형질전환 식물체는 particle bombardment 방법으로 개발되었다. 그러나 이러한 방법은 배발생 캘러스의 다량 확보, multi copy 유전자 도입, 고가의 장비 및 비싼 재료가 필요한 단점이 있다. 연구팀은 국내 고구마 품종을 대상으로 배발생 캘러스로부터 체세포배발생에 의한 고빈도식물체 재분화 체계를 확립한 바 있다. 따라서 본 연구에서는 배발생 캘러스를 이용하여 *Agrobacterium* 매개에 의한 형질전환 고구마 식물체를 개발하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료: 고구마 '율미' 배발생 캘러스

2. 방법

- 형질전환: *Agrobacterium tumefaciens* EHA105/pCAMBIA2301 매개
- 배발생 캘러스 선발: MS배지 + 1 mg/L 2,4-D, 100 mg/L kanamycin, 400 mg/L cefotaxime
- 식물체 재분화: MS배지 + 100 mg/L kanamycin, 400 mg/L cefotaxime
- 형질전환체 분석: PCR, Southern blot 분석, GUS 조직화학적 분석

결과 및 고찰

고구마 배발생 캘러스 형질전환에 이용한 아그로박테리아 균주는 EHA105로 intron이 결합된 β -glucuronidase (GUS) 유전자와 kanamycin 저항성 유전자를 선발표지로 한 pCAMBIA2301 벡터를 함유하고 있다. 일시적인 GUS 발현율은 7일 동안 전배양한 배발생 캘러스를 재료로 하여 아그로박테리아와 2일 동안 공동배양하였을 때 가장 높았으며 이때 100 mg 배발생 캘러스 당 120 여개의 GUS spot이 관찰되었다. 아그로박테리아와 공동배양 후 배발생 캘러스를 1 mg/L 2,4-D, 100 mg/L kanamycin, 400 mg/L cefotaxime이 포함된 MS배지에서 4주 동안 선발하였다. Kanamycin 첨가배지에서 선발된 배발생 캘러스를 100 mg/L kanamycin, 400 mg/L cefotaxime이 포함된 호르몬이 첨가되지 않은 MS배지에서 4주간 배양하여 체세포배를 유도하였으며 이 후 식물체로 재분화 하였다. 재분화된 식물체의 형질전환은 PCR로 확인하였으며, PCR 양성반응을 보인 식물체를 대상으로 Southern 분석을 실시하였다. 그 결과 형질전환 고구마 식물체는 1-3 copy GUS 유전자가 도입되었음을 확인하였다. 또한 조직학적 분석으로 GUS 유전자가 배발생 캘러스, 재분화 식물체의 잎, 엽병, 뿌리 등 식물체의 여러 조직에서 강하게 발현함을 알 수 있었다. 따라서 본 형질전환 방법은 스트레스 내성 뿐만 아니라 여러 유용 유전자를 도입한 형질전환 고구마 식물체 개발에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

*Corresponding author: 이행순, TEL: 042-860-4439, E-mail: hslee@kribb.re.kr