

04-1-22

## 철분흡수 관련 유전자의 개량에 의한 식물체내 철분대사 증진 벼 육성

박세화<sup>1</sup>, 류호진, 송범현, 강권규<sup>1</sup>, 송범현, 정봉환, 박진하, 이재준, 유선상, 이철원, 조용구\*

충북대학교 식물자원학과, <sup>1</sup>한경대학교 원예학과

### 목 적

벼의 체내 철분대사에 철의 흡수능력을 증가시킬 목적으로 식물체내의 철분관련 기작을 분자생물학적 기법에 의해 유전자 발현을 증가시켜 기존 벼보다 더 많이 토양으로부터 철을 흡수 및 이용할 수 있는 새로운 형태의 식물체를 육성하고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

1. 재료
  - 공시품종 - 동안벼, 화신벼, ○ 유전자 - nicotianamine synthase, citrate synthase
2. 방법
  - 형질전환 방법 - *Agrobacterium*-mediated transformation,
  - 형질전환 확인 - PCR, RT-PCR, real time-PCR

### 결과 및 고찰

철분흡수 관련 유전자인 nicotianamine synthase 유전자를 보리로부터 분리한 결과 유전자의 DNA 염기서열은 986bp이며, 종결코돈을 포함하여 328개의 아미노산으로 구성되었다. 이미 알려진 유전자들과의 아미노산 상동성을 비교한 결과 벼와는 87%, 옥수수와는 80%, 보리와는 99%의 상동성을 보였다. 보리유래 nicotianamine synthase 유전자의 발현양상을 알아보기 위하여 semi-quantitative RT-PCR 방법을 사용하여 분석한 결과 줄기 및 뿌리에서 발현되는 것을 확인할 수 있었으며 특히 뿌리조직에서 강한 발현을 보였다. 당근으로부터 citrate synthase 유전자를 RT-PCR에 의하여 분리한 결과 1,419bp의 DNA 염기서열을 얻었으며 이는 종지코돈을 포함하여 472개의 아미노산으로 구성되어 있었다. Nicotianamine synthase 및 citrate synthase 유전자의 벼 염색체상의 위치를 확인한 결과 nicotianamine synthase 유전자 OsNAS1과 OsNAS2는 벼 3번 염색체의 상부의 RM7 부근에 위치하였고 OsNAS3는 벼 7번 염색체의 말단부위의 C213과 가까운 곳에 위치하였다. 한편, citrate synthase 유전자 OsCS는 벼 2번 염색체 상부의 RZ87 부근과 11번 염색체의 동원체 부근의 RM21과 가까운 곳에 위치하는 것으로 분석되었다.

Nicotianamine synthase 유전자의 형질전환을 통해 얻어진 T0세대 식물체는 총 158 개체였는데, 이들 식물을 대상으로 유전자의 도입 여부를 NAS 유전자의 특이 primer를 이용하여 PCR 분석을 한 결과 150개 형질전환체에서 예상 크기인 550 bp의 밴드가 증폭되었다. Citrate synthase 유전자의 형질전환을 통해 얻어진 T0세대 식물체는 총 22 개체로서 이들 식물을 대상으로 유전자의 도입 여부를 확인하기 위하여 CS 유전자의 특이 primer를 이용하여 PCR 분석을 한 결과 예상 크기인 900bp의 증폭산물을 보인 것은 13개체이었다. RT-PCR에 의하여 유전자의 도입을 조사하고, Realtime-PCR 방법으로 도입된 NAS와 CS 유전자의 세포내에서 mRNA의 발현량을 조사한 결과 유전자가 도입된 형질전환체에서 안정적으로 발현하고 있음을 보여주었다.