

04-1-28

## CuZnSOD와 APX를 도입한 형질전환 tall fescue 개발 및 특성규명

김도현, 이상훈, 이동기, 곽상수<sup>1</sup>, 이병현\*경상대학교 농업생명과학대학 동물자원과학부, <sup>1</sup>생명공학연구소목 적

다양한 환경스트레스에 대해 내성을 갖는 사료작물을 개발할 목적으로 산화스트레스 유도성 SWPA2 promoter (Kim et al., 2003)의 조절하에 엽록체 *CuZnSOD* 및 *APX*가 동시에 도입된 발현벡터 (*SWPA2::SOD/APX*)를 제작한 후, *Agrobacterium*을 이용하여 사료작물인 tall fescue에 도입하였다. 형질전환된 tall fescue를 이용하여 발현에 따른 내성의 획득정도를 검증하고 항산화 관련 환경스트레스 (cold, drought, salt, ozone, wound 등)로 인한 피해를 예방하고, 생산성 향상에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료: Tall fescue (*Festuca arundinacea*) cv. Kentucky-31.

2. 방법

- 발현벡터 *SWPA2::SOD/APX*가 동시에 엽록체에서 발현될 수 있도록 연결시킨 후 hygromycin phosphotransferase (HPT) 유전자를 선발표지로 가지고 있는 pCAMBIA1300에 도입한 벡터를 *Agrobacterium* EHA105에 도입하여 형질전환에 이용하였다.
- 형질전환: 종자로부터 유도한 callus를 *Agrobacterium* 배양액과 현탁한 후 200  $\mu$ M acetosyringone이 첨가된 배지에서 5일간 공동배양 후, 50 mg/L hygromycin과 250 mg/L cefotaxime이 첨가된 재분화배지에서 6주간 선발한 후 rooting 배지에 옮겨 형질전환 식물체를 선발하였다.
- 스트레스 처리: 생육 8주 된 식물체의 잎을 절취하여 (지름 4 mm) 0.4 M sorbitol이 첨가된 다양한 농도의 methyl viologen (MV)에 잎 절편을 띄워 암 조건에서 12시간 배양한 후 광조건에서 72시간 배양하여 잎의 손상정도를 배양 시간에 따른 이온전도도를 측정하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리는 MV 처리의 암 조건에서 12시간 배양을 제외하고 동일하게 실시하였다.

결과 및 고찰

Tall fescue에 *Agrobacterium*을 이용하여 *SWPA2::SOD/APX*를 형질전환 시켰다. 각각의 형질전환체에 있어서 유전자 도입을 PCR과 Southern blot 분석을 통하여 확인하였다. *CuZnSOD* 및 *APX* 유전자의 도입에 따른 스트레스 내성 정도를 각각의 형질전환체로부터 잎 절편을 취하여 methyl viologen (MV), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 세포의 손상을 ion leakage 정도로 비교하였다. *SWPA2::SOD/APX* 형질전환체의 경우 MV 또는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 산화스트레스를 처리한 결과 세포의 손상정도가 비형질전환체에 비해 20% 이상 완화되었다. 고온스트레스 처리의 경우에도 형질전환체의 세포의 손상정도도 완화되어 도입한 *CuZnSOD* 및 *APX* 유전자가 tall fescue에서 정상적으로 발현함을 알 수 있었다.

현재 각각의 발현벡터가 도입된 형질전환체를 이용하여 다양한 스트레스 조건에서의 내성을 검토 중에 있다.

\*연락처: 이병현, 전화 055-751-5418, E-mail: hyun@nongae.gsnu.ac.kr