

04-1-36

## 감자에서의 수분 스트레스 저항성 유전자 분리

권영선<sup>1</sup>, 최윤희<sup>2</sup>, 방일란<sup>1</sup>, 이규화<sup>1</sup>, 윤정하<sup>1</sup>, 임학태<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 식물생명공학과, <sup>2</sup>제노마인(주)

### 목적

최근에 감자의 수량성 증가를 위하여 내한성 유전자 도입이 시급하다. 최근 이 문제를 해결하고자 감자에 수분 스트레스 저항성 유전자의 발현조절에 관한 연구가 진행되고 있다. AtSIZ는 *Arabidopsis*(애기장대)의 스트레스 적응 반응 과정에서 염분과 가뭄, 추위 등에 저항성을 가진 몇몇 유전자가 표현되는 것을 조절하는 유전자로, 이 유전자가 과다 발현되면 염분 가뭄 추위에 대한 저항성이 높아진다. AtSIK는 외부 스트레스에 의해 유도되는 유전자들의 발현을 억제하는 기능을 한다. 따라서 이 유전자의 활성을 막으면 억제되던 스트레스 저항성 유전자들의 발현 정도가 높아진다.

따라서 본 연구에서는 감자에서 AtSIZ 및 AtSIK 유전자와 유사한 수분 스트레스 유전자를 분리하여 감자에 도입하면 유전자 발현을 증가시키고 수분 저항성 감자 품종을 육성하는데 더 효과적일 것으로 사료되어 국내감자 품목목록에 등재(출원번호 102002000006)된 “밸리품종”중의 하나인 극조생 품종인 얼리밸리 ((주)포테이토밸리 특허등록) 에서 AtSIZ homologue와 AtSIK homologue를 분리하는 실험을 진행하였다.

### 재료 및 방법

1. 재료: Early Valley(*Solanum tuberosum* L)(얼리밸리)

2. 방법:

감자 신품종 중 하나인 얼리밸리 품종에서 total RNA를 분리한 후 애기장대에서 분리된 AtSIZ와 AtSIK 유전자의 sequence를 바탕으로 제작한 primer(AtSIZ는 sequence로 제작한 primer 2개와 oligo polyA primer 조합, AtSIK는 sequence로 제작한 primer 4개)를 이용하여 RT-PCR(annealing Tm은 AtSIZ 45°C 15min AtSIK 52°C이며 95°C 5min, 4°C overnight 40 cycle)을 하였다. PCR 생성물을 확인한 후 band가 보이는 것은 모두 Gel Elution 하고 PGEM-T vector에 heat shock 방법으로 cloning 한 후 *E.coli*(Top 10)에 transformation 하였다. 이들의 염기서열을 분석하여 기존의 AtSIZ와 AtSIK 유전자 염기서열과 대조하였다.

감자에서 AtSIZ와 AtSIK 유사한 유전자를 찾을 수 있었으며 sequence가 확인된 생성물은 방향성을 확인한 후 (주) 제노마인에서 자체 제작한 vector에 cloning 하였다.

### 결과 및 고찰

감자에서 분리한 수분 stress의 유전자들이 alignment를 통해 애기장대의 AtSIZ와 AtSIK의 염기서열과 90% 이상의 상동성을 가짐을 확인하였고, 이들 유전자들을 감자에서 RT-PCR를 통하여 분리하였다. 증폭된 유전자 fragment들을 감자에 형질전환하기 위하여 T-vector 에 cloning 하였고 현재 binary vector(pNB96)에 cloning 하고 있는 중이다. 이 후 *Agrobacterium*(LBA4404 and EHA105)에 transformation을 한 후 감자의 품종 중 수분에 저항성인 품종에 이용 한다면 수분에 더 강한 새로운 품종을 만들 수 있을 것으로 사료되며 또한, 애기장대에서 분리한 유전자와 감자에서 분리한 유전자를 모두 형질전환 한다면, 식물에 따른 유전자 분리가 어떠한 영향을 미치는지도 관찰할 수 있을 것으로 판단된다.