

04-1-47

스트레스 내성 유전자를 이용한 친환경선발표지인자 개발EunJu Kim¹⁾, MinKyung Lee¹⁾, JaeJu Yu¹⁾, KyungHee Kim¹⁾, SunngHye Won¹⁾, SoonKee Sung²⁾, JungMyung Bae³⁾,
ShinWoo Lee¹⁾¹진주산업대학교, ²동부기술원생명공학연구소 ³고려대학교 생명공학원**목적**

기존의 선별마커로 사용되는 항생제 저항성 유전자(Kan⁺, Hyg⁺)는 인체 및 환경에 악영향을 미칠 수도 있다는 주장과 함께 NGO단체들이 거부감을 나타내기 때문에 이를 제거 하거나 대체 할 수 있는 system의 개발이 요구되고 있다. 본 실험은 tunicamycin에 저항성을 나타내는 bip (binding protein)와 gpt (UDP-GlcNAc:dolichol phosphate N-acetylglucosamine -1-phosphate transferase)유전자를 식물체로부터 분리하여 환경친화형 식물형질전환체 선별마커를 개발하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

- 식물체: rice, arabidopsis thaliana, Tabacco
- apple cDNA library

2. 방법

Total RNA를 이용한 RT PCR과 cDNA library를 이용한 5'-혹은 3' RACE 기법을 이용하여 full length cDNA를 분리 확인한후 식물체 형질전환용 운반체(binary vector pIG121-Hm)에 도입하여 식물체에 형질전환.

결과 및 고찰

단자엽인 벼로부터 bip 유전자(1종)를 분리하고 pIG121-Hm에 도입하여 형질전환용 운반체(pIG121-rBip)를 제작하였으며 사과 cDNA library로부터 5'-혹은 3'RACE 기법을 통해 Bip 유전자를 분리하여 염기서열을 결정하였다. 형질전환용 vector로는 kanamycin과 hygromycin을 선별 마커로 가지고 있는 binary vector pIG121-Hm을 사용하였다. 벼의 Bip 유전자와 사과 Bip 유전자의 아미노산 identity를 비교한 결과 74%의 높은 상동성을 나타냈다. 사과 및 벼에서 분리한 Bip유전자가 삽입된 운반체를 각각 사용하여 Agrobacterium-mediated 기법으로 담배에 형질전환중에 있다.

한편, arabidopsis thaliana로부터 분리한 total RNA를 이용하여 RT-PCR로분리한 gpt 유전자는 1296 bp로서 432개의 아미노산을 암호화 하고 있는 것으로 조사되었다. site-directed mutagenesis를 이용하여 ORF내에 있는 sacI site를 제거하고 형질전환용 운반체인 pIG121-Hm에 도입한후 Agrobacterium에 형질전환하여 현재 담배에 형질전환중에 있다.