

04-2-5

배양기간에 따른 일품벼 retrotransposon(TOS 17)의 활성화 비교

양희은, 홍순관*

강원대학교 농업생명과학대학 생명공학부

목적

일품벼에서 배양된 callus을 이용하여 배양기간 및 배양조건에 따른 retrotransposon(TOS 17)의 활성화를 유도함을 일차적인 목적으로 하였으며, 이에 따른 재분화 개체를 통하여 다양한 돌연변이체(M_1)를 얻음과 동시에 세대의 진전에 따른 돌연변이체(M_2 , M_3)가 나타내는 표현형과 TOS 17과의 연관성을 확인하여 특정 유전자의 cloning이 향후 목적으로 하고 있다.

재료 및 방법

1. 재료

식물체 - 일품벼 종자 및 유기 callus

2. 방법

일품벼 유래의 callus를 일반 식물세포 원형질체배양배지($2N_6$)를 수정한 배지를 이용하여 진탕배양하며, 2주일 간격으로 증식된 callus를 일정한 크기로 분산시켜 계대배양을 실시함으로 TOS 17의 활성을 유도하고, 배양중인 callus에서 0(control), 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개월간의 배양기간 단계별로 재분화를 유도하여 재분화 식물체를 얻었으며, 각 배양기간에서 얻어진 식물체를 10개씩 bulk로 DNA를 추출하여 TOS 17의 southern blot를 통하여 활성정도를 조사하였다.

결과 및 고찰

벼의 callus를 대상으로 한 TOS 17의 활성화증가를 이용한 새로운 돌연변이체의 유발 및 선발에 대한 연구는 많이 시도되어왔다. 본 연구에서는 일품벼 callus의 TOS 17의 활성화에 필요한 유효한 배양기간 및 배양조건을 구명하고, 다수의 돌연변이체(M_1)를 얻고자 하였으나, 장기간의 계대배양에 따른 callus의 증식에 따른 결과 재분화 식물체의 성공률은 낮았으나 총 306개의 M_1 돌연변이체를 얻었다.

각각의 배양기간 단계별 재분화 식물체에서 얻어진 TOS 17의 활성정도를 나타내는 TOS 17의 southern blot의 결과 0(control) 즉, 일품벼는 5개, 1개월 7개, 3개월 9.5개, 5개월 12개, 6개월 6개, 7개월 13.5개, 8개월 17.5개의 band를 확인할 수 있었다. 2, 4, 6개월의 경우 callus의 계대배양 및 재분화 유도중 오염으로 인하여 많은 개체를 상실함으로 재 실험을 실시하여 재분화 단계에 있다.

TOS 17의 southern blot의 결과 기본식물인 일품벼가 5개의 copy수를 가지고 있는 것을 알 수 있었으며, 3-5개월의 배양기간이 경과해야만 기본 copy의 2배수로 TOS 17이 활성화됨을 알 수 있었다. 이는 실험 목적에 맞추어 돌연변이체 집단을 작성함에 있어 적정 수준의 활성화와 개체의 세대진전을 통한 돌연변이 재조합비율(recombination ratio)을 산출하는 근거가 될 것이다. 본 실험의 결과 일품벼 TOS 17의 활성화에 가장 효과적인 배양기간은 최소한 5개월간의 배양기간을 거치는 것으로 나타났다. 향후 M_1 돌연변이체의 세대 진전으로 다양한 재조합 개체의 확보 및 분석은 차후 M_2 , M_3 세대의 집단증식과 유지가 가장 중요한 요인으로 작용할 것이며, 다양한 형태로 원하는 돌연변이를 선발하는 screening 방법을 개발하는 것이 시급하고 중요한 과제이다.

*연락처: 홍순관, 전화 033-250-6476, E-mail: soonkwan@kangwon.ac.kr