

Peroxiredoxin 유전자 발현 산화스트레스 내성 형질전환 고구마의 선발

김명덕¹ · 양경실¹ · 권석운² · 이상열³ · 광상수¹ · 이형순^{1*}

¹한국생명공학연구원 환경바이오연구센터, ²식물시스템공학연구센터, ³경상대학교 국가핵심연구센터

Selection of transgenic sweetpotato plants expressing 2-Cys peroxiredoxin with enhanced tolerance to oxidative stress

Myoung Duck Kim¹ · Kyoung-Sil Yang¹ · Suk-Yoon Kwon² · Sang Yeol Lee³ · Sang-Soo Kwak¹ · Haeng-Soon Lee^{1*}

¹Environmental Biotechnology Research Center

²Plant Systems Engineering Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB),
Gwahangno 111, Yuseong-gu, Daejeon 305-806, Korea

³Division of Applied Life Science, EB-NCRC and Plant Molecular Biology and Biotechnology Research Center,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

ABSTRACT In order to develop transgenic sweetpotato plants [*Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Yulmi] with enhanced tolerance to oxidative stress, we constructed transformation vectors expressing 2-Cys peroxiredoxin (Prx) gene under the control of the stress-inducible *SWPA2* or enhanced 35S promoter (named as SP or EP). Transgenic sweetpotato plants were attempted to generate from embryogenic calli using an *Agrobacterium*-mediated transformation system. Embryogenic calli gave rise to somatic embryos and then converted into plantlets on MS medium containing 100 mg/L kanamycin. Transgenic plants were regenerated in the same medium. Southern blot analysis confirmed that the Prx gene was inserted into the genome of the plants. To further study we selected the transgenic plant lines with enhanced tolerance against methyl viologen (MV). When sweetpotato leaf discs were subjected to methyl MV at 20 μ M, transgenic plants showed about 40% higher tolerance than non-transgenic or empty vector-transformed plants.

서 론

Peroxiredoxin (Prx)은 peroxide를 분해하는 항산화효소로 핵에 존재하는 엽록체 단백질이며 세포신호전달경로의 조절자, redox sensor 기능, 산화적 손상으로부터 엽록체의 단백질을 보호한다. 2-Cys Prx는 2개의 cysteine 잔기를 가지는 그룹으로 엽록체로 이동되어 산화스트레스로부터 광합성기구를 보호하는 기능을 한다 (Cheong et al. 1999). 벼 Prx (Ostrxm)는 식물의 생장과 발달 동안 엽록체에서 필수적인 역할을 수행하는 것으로 알려졌으며 (Chi et al. 2008), 2-Cys Prx가 감소된 형질전환 애기장대의 경우 광합성이 손상되었고 DI 단백질, LHCP II 등의 엽록체 단백질이 분해되었다 (Baier and Dietz 1999). 또한 벼 1-Cys Prx가 도입된 형질전환 담배가 항산화활성 증가로 인해 산화스트레스에 내성이 증가되었음이

보고되었다 (Lee et al. 2000). 2-Cys Prx는 H₂O₂를 제거하는 peroxidase로서의 기능을 할 뿐만 아니라 스트레스 조건에서 고분자량의 complex를 이루어 chaperone으로서의 기능을 하여 heat shock 등 외부 스트레스에 내성을 부여하는 효소이다 (Jang et al. 2004). 이상과 같이 2-Cys Prx 유전자가 산화스트레스로부터 식물체를 보호하는 기능이 있다 (Baier and Dietz 1999)는 점을 고려할 때 재해내성 고구마 개발에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

식물이 과도한 스트레스를 받게 되면 생체내 산소가 superoxide anion radical (O₂⁻), hydrogen peroxide (H₂O₂), hydroxyl radical (⁻OH) 등의 반응성이 높은 독성의 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)으로 변하게 되고 (Allen 1995), ROS의 과다 발생은 식물의 생산성을 감소시키는 주요 요인이 되고 있다 (Inze and Van Montagu 1995). 그러나 이러한 ROS는 superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) 등의 항산화효소와 ascorbic acid, α -tocopherol, glutathione 등의 저분자 항산화물질 등에 의해 효율적으로 제거된다 (Allen 1995).

*Corresponding author Tel 042-860-4439 Fax 042-860-4608
E-mail: hslee@kribb.re.kr

엽록체는 광합성에 관련된 전자전달계가 있어 산화스트레스를 받기 쉬운 높은 세포소기관이다. ROS를 제거하기 위하여 엽록체에서 식물의 항산화작용을 잘 설명하는 Water-Water cycle (Asada 1999)은 대사과정 중 발생하는 superoxide anion radical 및 hydrogen peroxide가 다른 세포내 물질과 반응하기 전에 신속하고 효율적으로 제거되는 것을 보여준다. 하지만 보다 악화된 환경에서 이러한 항산화 시스템은 식물체의 생산성이나 생존에 충분하지 않으며, 환경스트레스 조건에서 식물의 생산성을 유지하기 위해서 항산화 효소 또는 저분자 항산화 물질의 대사공학적 방법에 의한 엽록체의 항산화 기구를 강화하는 것이 중요하다.

환경스트레스에 대한 내성을 향상시키기 위하여 항산화 기구를 강화시킨 형질전환 식물체 개발에 관한 많은 연구가 진행되고 있고 급후 환경재해에 강한 실용적인 농작물의 분자육종이 기대되고 있다 (Oberschall et al. 2000; Kwon et al. 2002b, 2003). 저자들은 Copper/zinc SOD (CuZnSOD)와 APX를 동시에 엽록체에 발현시킨 담배 식물체가 복합스트레스에 강한 특성이 있음을 밝혔다(Kwon et al. 2002b). 또한 CuZnSOD와 APX를 동시에 엽록체에 발현시킨 감자 (Tang et al. 2004a, 2006) 와 nucleoside diphosphate kinase 2 (NDPK2, Moon et al. 2003)를 도입한 형질전환 감자 식물체에서 복합스트레스에 내성이 증가됨을 조사하였다 (Tang et al. 2004b, 2008). 대부분의 형질전환체 개발에는 항상 강하게 발현되는 CaMV 35S 프로모터가 주로 사용되었으나 환경스트레스 내성 형질전환체 개발에는 산화스트레스 조건에서 발현이 강하게 유도되는 SWPA2 프로모터 (Kim et al. 2003)를 이용하였다.

본 연구팀은 국내에서 식용으로 이용되는 울미를 대상으로 산화스트레스에 의해 발현이 강하게 유도되는 SWPA2 프로모터 (Kim et al. 2003) 조절 하에 SOD와 APX 유전자가 동시에 엽록체에 발현하는 식물체 (SSA 식물체, Lim et al. 2007)를 개발한 바 있다. 본 연구에서는 엽록체에서 산화스트레스로부터 광합성기구를 보호하는 기능이 있는 2-Cys Prx 유전자를 이용하여 산화스트레스 내성을 증가시킨 고구마를 개발하여 잎 절편체 수준에서 MV에 의해 유도되는 산화스트레스에 대해 내성이 증가된 형질전환 고구마 식물체를 선발하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료

고구마 식물체 (*Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Yulmi) 정단분열 조직으로부터 유도된 배발생 캘러스를 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지에 100 mg/L myo-inositol, 0.4 mg/L thiamine·HCl, 30 g/L sucrose, 1 mg/L 2,4-D 및 4 g/L Gelrite (MS1D)가 첨가된 배지에서 4주 간격으로 계대배양하여 유지하였다(Kwon et al. 2002a). 이러한 배발생 캘러스를 형질전환 재료로 사용하였다.

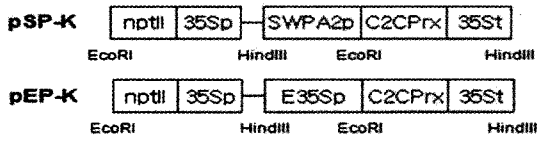


Figure 1. Plant transformation vector. A, pSP-K; B, pEP-K. SWPA2p, sweetpotato peroxidase SWPA2 promoter; C2CPrx, At 2-Cys peroxoredoxin; 35St, CaMV 35S terminator, E35Sp, enhanced CaMV 35S promoter; nptII, neomycin phosphotransferase

벡터 제작

2-Cys Prx 유전자 (At3g11630)의 식물발현벡터 제작을 위하여 정상대 이상렬 교수로부터 확보한 식물발현벡터에서 2-Cys Prx의 코딩부위를 제거하여 불리한 후 스트레스 유도성 SWPA2 프로모터 또는 CaMV 35S 프로모터에 각각 연결하였다. 이것들을 kanamycin 저항성 선발표지를 갖는 pCAMBIA2300의 Hind III 자리에 삽입하여 pSP-K, pEP-K 벡터로 명명하였다 (Figure 1). 위 두 벡터를 *Agrobacterium tumefaciens* EHA105에 각각 도입하여 고구마 형질전환에 이용하였다.

Agrobacterium 매개에 의한 형질전환 및 식물체 재분화

MS1D 고체배지에 계대배양한지 1주일 된 배발생 캘러스를 형질전환 재료로 이용하였다. 1일 동안 배양한 *Agrobacteria*를 원심분리하여 모은 후, 10 mL의 MS1D 액체배지에 현탁하여 배발생 캘러스와 혼합하여 30분 동안 방치한 후 멸균된 filter paper를 이용하여 캘러스에 묻은 *Agrobacteria*와 배지를 제거하고 2일 동안 MS1D 배지에 공동 배양하였다 (Lim et al. 2004). 400 mg/L cefotaxime이 함유된 멸균수로 공동 배양한 캘러스를 3회 세척하여 *Agrobacteria*를 제거한 후 100 mg/L kanamycin과 400 mg/L cefotaxime이 함유된 선발배지 (MS1DCK)에서 약 4개월 동안 3주 간격으로 계대배양하면서 kanamycin 저항성 캘러스를 선발하였다. 선발된 배발생 캘러스로부터 체세포배 및 식물체를 유도하기 위하여 2,4-D를 제거한 MS 기본배지 (100 mg/L kanamycin, 400 mg/L cefotaxime 함유: BMCK)에 옮겨 25℃, 약 40 μmol·m⁻²·sec⁻¹의 cool-white 형광, 광주기 16시간 조건에서 배양하였다.

형질전환 식물체 분석

Kanamycin 함유배지에 일차적으로 선발된 재분화 식물체를 PCR로 확인하였다. PCR에 사용된 primer는 Prx 및 npt II 유전자 특이 염기서열 부분을 사용하였으며 Prx 프라이머는 5'-TCT AGA ATG GCG TCT GTT GCT-3' 5'-GAG CTC CTA AAT AGC TGA GAA-3' 이고 npt II 프라이머는 5'-GAG GCT ATT CGG CTA TGA CTG-3' 5'-ATC GGG AGC GGC GAT ACC GTA-3'이다. PCR로 Prx 유전자의 도입이 확인된 고구마 식물체를 대상으로 Southern 분석을 실시하였다. 배양기에서 생육중인 고구마 식물체의 잎으로부터 DNeasy

Plant Maxi Kit (Qiagen, Germany)를 이용하여 genomic DNA를 분리하였다. 분리한 DNA (30 µg)를 *EcoRI*로 절단하여 0.8% agarose gel에 전기영동한 후, Zeta Probe membrane (Bio-Rad 제품)으로 전이시켰다. 형질전환 식물체의 probe는 *Prx* 유전자 특이부분에서 제작된 primer를 이용하여 PCR로 합성하여 이용하였으며 (800 bp), 공백터를 도입한 식물체는 *npt II* 유전자를 probe로 이용하였다. 이 DNA를 동위원소[α -³²P] dCTP로 labelling시켜 prehybridization용액 (Zeta Probe membrane 용)에 첨가하여 60°C에서 24시간 동안 혼성화시켰다. 반응을 마친 membrane을 세척하고 X-ray 필름에 노출시켜 밴드를 확인하였다.

Methyl viologen 처리

MV 처리를 위하여 기내에서 증식시킨 식물체를 순화하여 pot로 옮겼다. 생육 8주 된 식물체의 잎 (위로부터 5-7번째)으로부터 8 mm 직경의 잎 disc을 7개씩 취해 20 µM의 MV를 포함하는 0.4 M sorbitol 용액 5 mL씩 들어있는 직경 5 cm의 Petri dish에 각각 띄웠다. 25°C의 암 조건에서 12시간 동안 배양하여 MV가 흡수되도록 한 후 연속 광 조건에서 24시간 배양하여 12시간 간격으로 전기전도도계 (model 455C, Istek, Co., Seoul Korea)를 이용하여 용액의 이온 전도도를 측정하여 잎의 손상 정도를 조사하였다. 형질전환 식물체는 벡터 종류별 10 개체 이상을 이용하였으며, 실험은 3회 반복 실시하였다.

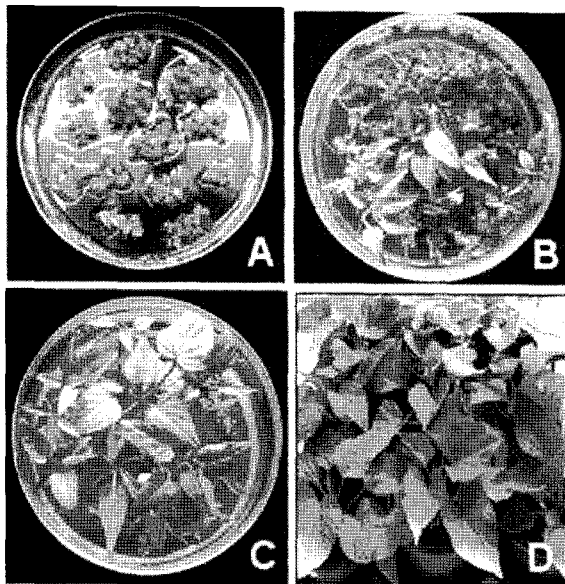


Figure 2. Somatic embryogenesis and plant regeneration from embryogenic calli of sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Yulmi] after *Agrobacterium* co-cultivation with SWPA2p::C2C-Prx/pCAMBIA2300 (pSP-K) vector. A, Embryogenic calli and somatic embryos on selection medium with 100 mg/L kanamycin; B and C, Plantlets developed from somatic embryos; D, Transgenic plants grown on pot

결과 및 고찰

***Agrobacterium* 매개에 의한 형질전환 및 식물체 재분화**

SWPA2p::C2C-Prx/pCAMBIA2300 (pSP-K), E35Sp::C2C-Prx/pCAMBIA2300 (pEP-K) 및 벡터 control (pEV-K)을 각각 함유한 *Agrobacterium*을 매개로 고구마 배발생 캘러스를 형질전환하였다. 배발생 캘러스를 2일 동안 항생제가 함유되지 않은 MS1D 배지에서 공동 배양한 후 100 mg/L kanamycin과 400 mg/L cefotaxime이 첨가된 MS1DCK 선발배지에서 3주 간격으로 계대 배양하면서 선발하였다. 선발배지에서 계대배양이 진행되면서 대부분의 캘러스는 죽었지만 일부 캘러스가 배발생능을 그대로 유지하면서 증식되었다. 선발배지에서 4개월 동안 배양된 캘러스를 2,4-D를 제거한 BMCK 배지로 옮겨 명 조건에서 배양한 결과 체세포배가 유도되었으며 1-2개월 배양 결과 shoot와 뿌리가 유도되어 소식물체로 재분화되었다 (Figure 2). 카나마이신 저항성 형질전환 고구마 캘러스에서 식물체 재분화의 형성은 1% 미만으로 낮은 빈도를 나타내었으나 캘러스의 대부분이 체세포배로 발달하였다. 지금까지 보고된 고구마 형질전환 효율이 1% 정도인 다른 보고와 비슷한 수준이었다 (Lim et al. 2004).

형질전환체의 분석

카나마이신 함유배지에서 재분화된 식물체로부터 게놈 DNA를 분리한 후 *Prx* 유전자의 특이 염기서열의 primer를 이용하여 PCR로 분석하였다. 분석결과 재분화 식물체의 90% 이상에서 800 bp 크기의 *Prx* 유전자가 각각 관찰되었다. 하지만 벡터만 도입한 식물체에서는 *nptII* 만이 확인되었으며 형질전환시키지 않은 식물체에서는 밴드가 합성되지 않았다 (Figure 3). *Prx* 유전자의 도입이 확인된 식물체를 SP (pSP-K 벡터 도입), EP (pEP-K 벡터 도입) 및 EV (공백터 pEV-K 도입)로 각각 명명하였다.

PCR로 *Prx* 유전자의 도입이 확인된 고구마 식물체로부터 게놈 DNA를 분리한 후 Southern blot 분석을 실시하였다. 그 결과 형질전환된 고구마 식물체에 *Prx* 유전자가 1-3 copy 도입된 것으로 나타났다 (Figure 4). 이러한 결과는 주로 particle bombardment 방법으로 가능하였던 고구마의 형질전환이 (Min et al. 1998) *Agrobacterium*에 의해서 가능함을 보여주는 것이고, 또한 많은 copy가 도입되는 단점을 극복할 수 있는 결과임을 확인할 수 있었다 (Lim et al. 2004).

잎 절편 수준에서의 methyl viologen (MV) 내성 분석

제초제 파라quat (methyl viologen, MV)은 PSI에서 광환원되어 전자를 산소로 전달하여 세포독성이 있는 산소 라디칼 (O₂⁻)를 생성시켜 결과적으로 재산화되는 산화환원 (redox) 활성 물질로서 (Slooten et al. 1995), 환경스트레스에 대한 내성을 증가시킨 형질전환 식물체의 산화스트레스 내성을 검정하는 산화 스트레스원으로

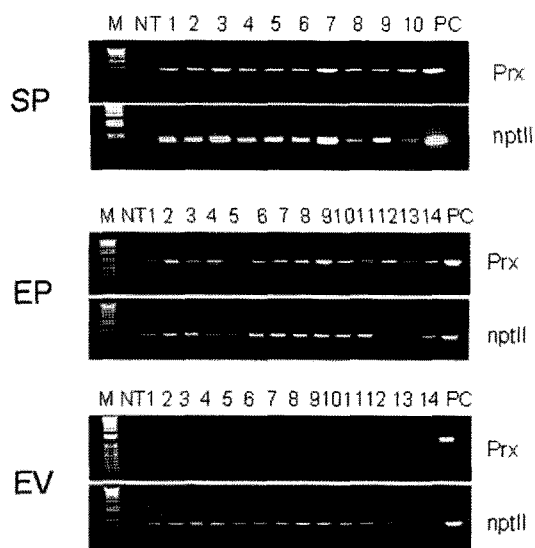


Figure 3. PCR analysis of sweetpotato plantlets cultured on kanamycin containing medium. SP, pSP-K vector-transformed plantlets; EP, pEP-K vector-transformed plantlets; EV, control pEV-K vector-transformed plantlets. M, Size marker; NT, Non-transformed sweetpotato plant; PC, Transformation vector DNA as a positive control

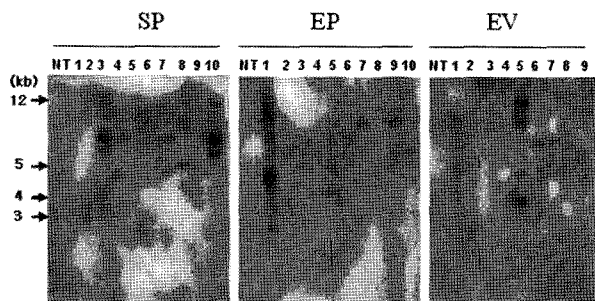


Figure 4. Southern blot analysis of genomic DNA prepared from transgenic and non-transgenic sweetpotato plants. SP, PCR-positive plants transformed pSP-K; EP, PCR-positive plants transformed pEP-K; EV, PCR-negative plants transformed pEV-K. Equal amounts (30 µg) of genomic DNA were digested with the *EcoRI*, electrophoresed in 0.8% agarose gel, and blotted onto a membrane. The blot was hybridized with the 800 bp fragment of Prx gene and 700 bp fragment of NPTII gene as a probe. NT, Non-transgenic plants. 1-10, PCR-positive plants. The positions of size markers are shown on the left

많이 사용되고 있다 (Oberschall et al. 2000).

Pot에서 약 8주 성장한 형질전환 고구마식물체 5-7번째 잎을 취하여 20 µM MV 용액이 든 Petri dish에 띄워 24 시간 배양하여 잎의 손상 정도를 관찰하였다. MV를 처리하여 광 조건에서 배양한 지 12 시간 경과 후부터 잎의 손상이 관찰되기 시작하였다. SP 식물체의 경우 MV를 처리한 12시간과 24시간 후에 NT에 비해 50% 정도 적게 손상되었으며 (Figure 5A), EP 식물체는 20 µM MV 처리 12 시간 후에 34%, 24 시간 후에는 40% 내성이 증가하였다 (Figure 5B). 그러나 벡터만을 도입한 EV 식물체의 잎 절편체는 NT

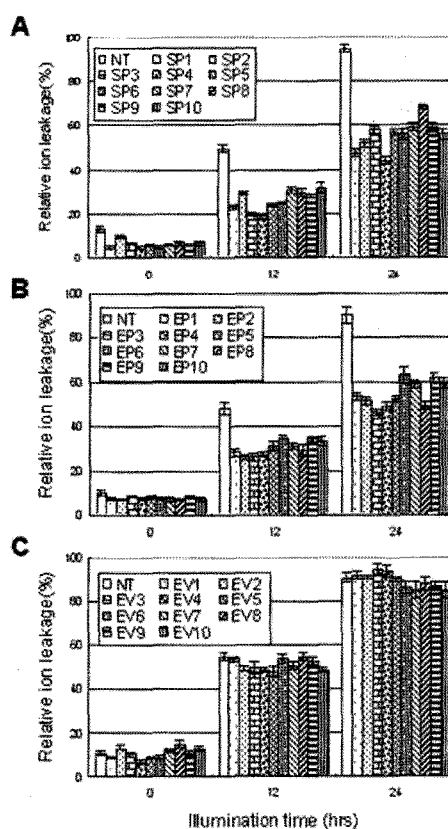


Figure 5. Effect of MV on membrane damages in leaf discs of NT, SP, EP and EV sweetpotato plants at 24 h after treatment of 20 µM MV. A, Transgenic SP plants; B, Transgenic EP plants; C, Transgenic EV plants. Relative ion leakages were determined with respect to conductivity of the solution obtained on complete membrane disruption. Data are means ± SD of three replicates

와 같은 수준의 손상을 입은 것으로 나타났다 (Figure 5C).

이와 같은 결과로부터 Prx 도입 고구마 식물체가 MV에 대해 내성을 갖은 것은 산화 스트레스 유도성 *SWPA2* 프로모터가 도입 유전자인 *Prx*의 발현을 강하게 유도한 결과라 판단된다. 이와 비슷하게 *SOD*와 *APX*를 도입한 SSA 고구마 식물체에서 *SOD*와 *APX* 유전자가 스트레스에 의해 강하게 발현되었을 뿐만 아니라 엽록체에서 높은 활성을 나타내어 MV에 의한 산화스트레스 및 저온 스트레스에 내성이 증가된 것으로 확인된 바 있으며, 이러한 내성증가는 도입한 항산화효소 유전자의 과발현에 의한 결과로 보고된 바 있다 (Lim et al. 2007). 또한 복합 스트레스 내성 유전자 *ndpk2*를 도입한 감자 (cv. 대서) 식물체에서도 MV에 의한 산화스트레스에 내성이 증가되었는데 이 경우에도 *NDPK* 활성이 *APX* 활성 증가를 가져온 결과로 확인되었다 (Tang et al. 2008).

따라서 본 연구의 결과는 도입된 다른 항산화효소 유전자와 마찬가지로 Prx가 MV에 의해 유도되는 활성산소를 효과적으로 제거하여 산화스트레스에 대한 내성이 증가된 것으로 사료된다. 향후 식물체 수준에서 산화스트레스 내성 증가 뿐만 아니라 온도 스트레스 등 복합스트레스에 대한 내성을 조사하고 도입 유전자의 발

현 및 효소 활성을 분석할 계획이다. 이로부터 최근 들어 심각하게 나빠지는 환경에 대비하여 고염, 건조, 저온 스트레스 등의 복합 스트레스에 저항성을 가지는 고구마 품종이 개발될 수 있을 것이다.

적 요

산화스트레스에 내성을 지닌 형질전환 고구마 식물체를 개발하기 위해서 산화스트레스에 의해 발현이 강하게 유도되는 SWPA2 프로모터 또는 CaMV 35S 프로모터에 2-Cys peroxiredoxin (Prx) 유전자가 발현되도록 연결한 형질전환 벡터 (pSP-K, pEP-K)를 제작한 후, 각각 *Agrobacterium* 매개로 형질전환 하였다. 카나마이신 저항성 배발생 캘러스로부터 체세포배발생 과정을 거쳐 100 mg/L kanamycin이 포함된 MS 배지에서 소식물체로 발달하였다. Southern 분석으로 외래 유전자가 안정적으로 고구마 게놈 내로 삽입되었음을 확인하였다. 형질전환 고구마 잎 조직을 대상으로 20 µM methyl viologen에 대한 내성 검정을 조사하여 형질전환 고구마 식물체가 비형질전환 식물체 또는 벡터 대조구 식물체 보다 40% 정도 높은 산화스트레스에 대한 내성을 보여주었다. 선발된 형질전환 식물체는 저온, 건조 등의 여러 가지 환경스트레스 내성검정에 이용될 것이며 향후 복합재해 내성 고구마 계통육성에 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

본 연구는 바이오21사업 연구비 지원 (20070301034015), 교육과학기술부 재원으로 국제과학기술협력재단의 지원을 받아 수행된 연구결과이다.

인용문헌

Allen RD (1995) Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiol* 107:1049-1054

Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50:601-639

Baier M, Dietz KJ (1999) Protective function of chloroplast 2-cysteine peroxiredoxin in photosynthesis. Evidence from transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 119:1407-1414

Cheong NE, Choi YO, Lee KO, Kim WY, Jung BG, Chi YH, Jeong JS, Kim K, Cho MJ, Lee SY (1999) Molecular cloning, expression, and functional characterization of a 2-Cys-peroxiredoxin in Chinese cabbage. *Plant Mol Biol* 40:825-834

Chi YH, Moon JC, Park JH, Kim HS, Zulfugarov IS, Fanata WI, Jang HH, Lee JR, Lee YM, Kim ST, Chung YY, Lim CO, Kim JY, Yun D-J, Lee CH, Lee KO, Lee SY (2008) Abnormal chloroplast development and growth inhibition in rice thioredoxin m knock-down plants. *Plant Physiol* 148:808-817

Inze D, Van Montagu M (1995) Oxidative stress in plants. *Curr Opin Biotechnol* 6:166-172

Jang HH, Lee KO, Chi YH, Jung BG, Park SK, Park JH, Lee JR, Lee SS, Moon JC, Yun JW, Choi YO, Kim WY, Kang JS, Cheong GW, Yun DJ, Rhee SG, Cho MJ, Lee SY (2004) Two enzymes in one; two yeast peroxiredoxins display oxidative stress-dependent switching from a peroxidase to a molecular chaperone function. *Cell* 117:625-635

Kim KY, Kwon SY, Lee HS, Hur YK, Bang JW, Kwak SS (2003) A novel oxidative stress-inducible peroxidase promoter from sweet potato: molecular cloning and characterization in transgenic tobacco plants and cultured cells. *Plant Mol Biol* 51:831-838

Kwon EJ, Kwon SY, Kim MZ, Lee JS, Ahn YS, Jeong BC, Kwak SS, Lee HS (2002a) Plant regeneration of major cultivars of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) in Korea via somatic embryogenesis. *Korean J Plant Biotechnol* 29:189-192

Kwon SY, Jeong YJ, Lee HS, Kim JS, Cho KY, Allen RD, Kwak SS (2002b) Enhanced tolerances of transgenic tobacco plants expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in chloroplasts against methyl viologen-mediated oxidative stress. *Plant Cell Environ* 25:873-882

Kwon SY, Choi SM, Ahn YO, Lee HS, Lee HB, Park YM, Kwak SS (2003) Enhanced stress-tolerance of transgenic tobacco plants expressing a human dehydroascorbate reductase gene. *J Plant Physiol* 160:347-353

Lee KO, Jang HH, Jung BG, Chi YH, Lee JY, Choi YO, Lee JR, Lim CO, Cho MJ, Lee SY (2000) Rice 1 Cys-peroxiredoxin over-expressed in transgenic tobacco does not maintain dormancy but enhances antioxidant activity. *FEBS Lett* 486:103-106

Lim S, Kim YH, Kim SH, Kwon SY, Lee HS, Kim JS, Cho KY, Paek KY, Kwak SS (2007) Enhanced tolerance of transgenic sweetpotato plants that express both CuZnSOD and APX in chloroplasts to methyl viologen-mediated oxidative stress and chilling. *Mol Breeding* 19:227-239

Lim S, Yang KS, Kwon SY, Paek KY, Kwak SS, Lee HS (2004) *Agrobacterium*-mediated genetic transformation and plant regeneration of sweetpotato (*Ipomoea batatas*). *Korean J Plant Biotechnol* 31:267-271

Min SR, Jeong WJ, Lee YB, Liu JR (1998) Genetic transformation of sweetpotato by particle bombardment. *Korean J Plant Tissue Cult* 25:329-333

Moon HJ, Lee BY, Choi G, Shin DJ, Prasad T, Lee OS, Kwak SS, Kim DH, Nam JS, Bahk JD, Hong JC, Lee SY, Cho MJ, Lim CO, Yun D-J (2003) NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activated MAPKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants. *Proc Natl Acad Sci* 100:358-363

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497

Oberschall A, Deak M, Torok K, Saa L, Vass I, Kovacs I, Feher A, Dudits D, Horvath GV (2000) A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stresses. *Plant J* 24:437-446

Slooten L, Capiou K, Van Camp W, Van Montagu M, Sybesma C,

- Inze D (1995) Factors affecting the enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco overexpressing manganese superoxide dismutase in the chloroplasts. *Plant Physiol* 107: 737-750
- Tang Li, Kwon SY, Kim SH, Kim JS, Choi JS, Cho KY, Sung CK, Kwak SS, Lee HS (2006) Enhanced tolerance of transgenic potato plants expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in chloroplasts against oxidative stress and high temperature. *Plant Cell Rep* 25:1380-1386
- Tang Li, Kwon SY, Kwak SS, Sung CK, Lee HS (2004a) Selection of transgenic potato plants expressing both CuZnSOD and APX in chloroplasts with enhanced tolerance to oxidative stress. *Korean J Plant Biotechnol* 31:109-113
- Tang Li, Kwon SY, Yun DJ, Kwak SS, Lee HS (2004b) Selection of transgenic potato plants expressing NDP kinase 2 gene with enhanced tolerance to oxidative stress. *Korean J Plant Biotechnol* 31:191-195
- Tang Li, Kim MD, Yang KS, Kwon SY, Kim SH, Kim JS, Kwak SS, Lee HS (2008) enhanced tolerance of transgenic potato plants overexpressing nucleoside diphosphate kinase 2 against multiple environmental stresses. *Transgenic Res* 17:705-715

(접수일자 2009년 3월 18일, 수리일자 2009년 3월 23일)