

Cucumber Green Mottle Mosaic Virus 외피단백질 유전자를 이용한 바이러스 내성 식물체의 유도

이진숙, 윤의수¹⁾, 민병훈²⁾, 양덕춘
한국인삼연초연구원, ¹⁾공주대학교, ²⁾배재대학교

박과 작물에 쉽게 감염되는 CGMMV-W는 수박의 생산성에 질적, 양적으로 지대한 악영향을 미쳐왔기 때문에 바이러스 병을 진단하여 무병종묘의 선발 혹은 무병 영양 번식체의 증식을 도모함이 시급한 실정이다. 따라서 본 연구는 RT-PCR방법을 이용하여 보다 간편하고 정확한 바이러스진단을 구명함과 동시에, CGMMV 외피단백질(CP) 유전자를 식물에 도입, 발현시켜 바이러스 내성식물체를 얻고자 수행하였다. 한국산 수박 녹반 모자이크 바이러스(CGMMV-WK)를 간편하고 정확한 RT-PCR방법에 의해 분리하였고 아울러 CGMMV의 외피단백질(CP) 유전자를 클로닝하여 염기서열을 분석하였으며, 식물발현 벡터에 재 조합하여 형질전환 연초식물체를 획득하였다. 바이러스의 추출은 간이 조즙액추출법을 변형하여 정제된 핵산 추출액을 사용하였으며, 20pmol의 primer, reverse transcriptase (30 unit), RNasin (5 unit) 이 첨가된 용액에서 one step reaction으로 RT-PCR반응이 가능하였다. CGMMV의 진단을 위한 RT-PCR조건은 42℃에서 45분간 cDNA를 합성하고, 이어서 95℃에서 2분간 pre-denaturation, 96℃에서 30초, 60℃에서 30초 그리고 72℃에서 1분간으로 36 cycle반응을 수행함으로써 간편하고 확실하게 CGMMV를 진단할 수 있었다. RT-PCR로 증폭된 DNA band를 pCR-script vector(stratagene)에 cloning 한 후 염기서열을 분석하였으며, 클로닝된 CP유전자를 식물발현용 카세트 벡터 524XbaI에 도입하고 최종적으로 식물형질전환용 벡터인 pRD400에 재조합하여 pDY500 binary 벡터를 재조합 하였다. 재조합된 pDY500 벡터는 *A. tumefaciens* MP90 균주에 도입하여 우선 재배종 연초품종 *N. tabacum* cv. NC82에 형질전환을 시도하여 다수의 형질전환된 연초유식물체를 획득하였으며 형질전환된 담배의 DNA를 분리하여 Southern blotting 과 RT-PCR을 수행한 결과 대부분의 형질전환체에 CP유전자가 삽입 및 전사되고 있음을 확인하였다. 또한 현재 본 연구는 본래의 목표인 수박, 메론과 오이에도 CGMMV 외피단백질 유전자를 도입하였으며 특히 메론에서는 식물체의 유도에 성공하였고 그 저항성 및 안정성에 대한 연구가 진행중이다.