1. 내열성 유전자 도입에 의한 알팔파의 형질전환

김기용° · 임용우 · 최기준 · 김원호 · 신재순 · 조진기*

축산기술연구소, 경북대학교*

내열성 유전자 *BcHSP17.6*을 *Agrobacterium*을 매개로 하여 알팔파 캘러스에 감염시키므로서, 알팔파의 형질전환을 시도하였다. 알팔파 종자로부터 캘러스 유도를 위해서 소독한 종자를 SH-3 배지 (SH 배지에 2,4-D를 3㎎/ℓ 농도로 첨가한 배지)에 치상하였으며, 28℃ 암조건에서 20일간 배양하여 샘플로 사용할 캘러스를 유도하였다.

*BcHSP17.6*을 가지는 발현벡터를 제작하기 위해, pIG121-Hm 벡터의 Xba I 및 SnaB I restriction site를 절단한 다음, Xba I /Sma I restriction을 가지는 *BcHSP17.6* 유전자단편과 ligation 하므로서 형질전환용 발현벡터인 pIGH4를 제작하였다. pIGH4 plasmid는 freeze & thaw 방법으로 *Agrobacterium* LBA4404에 도입하였으며, 이들을 식물세포의 형질전환을 위한 감염균으로 이용하였다.

알팔파 캘러스를 *Agrobacterium* 현탁액에 담구어 항생제를 첨가하지 않은 SH-0 배지에서 이틀간 배양하여 감염을 유도하였으며, 감염시킨 캘러스는 kanamycin과 cefotaxim을 각각 100㎎/ℓ와 500㎎/ℓ 농도로 첨가하고 2,4-D를 3㎎/ℓ 농도로 첨가한 SH-3-kc 배지에서 배양하면서, 여기에서 살아남는 캘러스를 형질전환 캘러스로 선발하였으며, 현재 형질전환 알팔파의 재분화를 유도중에 있다.

2. 벼로부터 chloroplast small heat shock protein cDNA의 cloning 및 characterization

이병현° · 원성혜 · 이효신 · 김기용* · 김미혜 · 정동민 · 조진기

경북대학교 동물공학과, 축산기술연구소*

고등식물에 있어서 엽록체에 존재하는 저 분자량 heat shock protein (smHSP)은 식물의 내열성 획득에 있어서 필수유전자임이 mutant를 이용한 유전학적인 연구에 의해 보고된 바 있다. 고온내성이 강한 작물인 벼로부터 엽록체 smHSP cDNA를 분리

하고자 벼의 잎에서 분리한 mRNA로 작성한 cDNA library로부터 screening하였다. 선발된 smHSP cDNA는 1,026 bp의 염기로 구성되어 있었으며, 239개의 아미노산으로 구성되는 예상분자량 26.6 kDa의 단백질을 code하고 있었다. 또한 다른 식물로부터 보고된 엽록체 smHSP와 가장 높은 아미노산 배열 homology 및 엽록체 smHSP만이 갖는 보존영역이 존재함으로서 분리한 cDNA가 엽록체 smHSP임을 알았다. 엽록체 smHSP유전자는 벼의 genome내에 2 copies 존재하였으며, 그 발현 양상을 조사해 본 결과, 38℃에서부터 발현되기 시작하여 42℃, 2시간에서 가장 높은 발현량을 보였고, 잎, 줄기, 뿌리 등 모든 조직에서 발현되었다. 또한 oxidative stress (H_2O_2, methyl vilogen)처리에 의해서도 발현됨을 확인하였다. 이러한 결과는 엽록체 smHSP가 고온stress 뿐만 아니라, 세포내의 oxidative stress에 대한 내성획득에도 관여하고 있음을 나타낸다. 한편 목초자원에로의 엽록체 smHSP 유전자의 도입에 따른 고온내성 증가여부를 조사하기 위하여, 현재 이 cDNA를 형질전환용 vector에 도입하여 목초류에 형질전환 중에 있다.

Acknowledgement : This work was supported by grant of Post-Doc. Program Kyungpook National University (1998).

3. Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.)의 종자유래 캘러스 및 조직 절편체로부터 식물체의 재분화

원성혜 · 이병현 · 이효신 · 김미혜° · 정동민 · 배은경 · 조진기
경북대학교 동물공학과

Perennial ryegrass의 종자유래 캘러스 및 조직 절편체로부터 식물체 재분화에 적합한 조건을 조사하였다. 종자유래 캘러스로부터 식물체 재분화 조건을 확립하기 위하여, 품종, 배지 및 생장조절물질의 조성 등에 따른 재분화율을 조사하였다. Reveille과 Modus의 품종간 비교에서 종자로부터 형성된 캘러스 생체중은 Reveille이 2,4-D 10 mg/ℓ에서 가장 좋았으며, MS배지가 SH, B5배지보다 더 좋았다. 2,4-D 10 mg/ℓ가 첨가된 MS배지에서 증식한 Reveille의 캘러스로부터 식물체 재분화율을 조사한 결과, kinetin 0.5 mg/ℓ 단용처리구에 이식하였을 때 식물체 재분화율이 32%로 가장 좋았다. 조직절편체로부터 식물체 재분화는 distal과 proximal의 두 절편으로