

P80. 내동성 관련 유전자 형질전환 식물체의
식물조직, 생화학, 분자유전학 수준에서의 분석

단국대학교 생명자원 과학부: 성하창*, 최창현, 황철호

Molecular Biology, Biochemistry and Tissue Level Analysis of Transgenic Tobacco(*Nicotiana tabacum* L.) with a freeze tolerance-related gene

Dankook University School of Bioresource Sciences :
Ha Chang Sung*, Chang Hyun Choi, Cheol Ho Hwang

실험목적

내동성 관련 유전자(CLP)가 형질전환 된 담배를 이용하여 유전자의 삽입 여부 및 발현 정도를 식물조직, 생화학, 분자 유전학적 수준에서 검증하고, 내동성 관련 형질의 변화 및 내동성 정도를 분석, 확인함을 목적으로함.

재료 및 방법

- 공시재료 : CLP로 형질전환된 담배(*Nicotiana tabacum* L.)와 T₁세대 식물
- 실험방법 :
 - Genomic DNA PCR: 형질전환체로부터 추출한 genomic DNA에 CLP primer를 이용하여 DNA수준에서 분석함.
 - Western analysis: CLP antiserum을 이용하여 형질전환체의 세포밖 공간에 축적되는 CLP 단백질 수준의 분석함.
 - Ion leakage test: -1, -3, -5, -7°C에서 처리하여 유출되는 이온의 양을 spectrometer를 이용하여 260nm에서 측정하여 식물체 수준에서 분석함.
 - Enzyme assay: Chitinase activity를 측정하여 내동성뿐만 아니라 내병성과 관련한 dual function의 여부를 분석함.

결과 및 고찰

- 재분화된 형질전환 식물체의 Genomic DNA 내의 내동성 관련 유전자의 도입을 PCR 분석에 의하여 확인함.
- 내동성 관련 유전자에 의해 발현되어 세포밖 공간에 축적된 CLP를 western 분석에 의하여 확인함.
- 결빙온도 조건하에서의 광합성의 전자전달 속도 및 효소활성을 측정 antifreezing 및 antifungal 활성을 확인함.
- 형질전환 식물체의 결빙온도 하에서의 Ion leakage 분석을 통하여 nontransgenic에 비하여 강한 내동성을 확인함.
- 형질전환체에서 비형질전환체에는 없는 Chitinase activity를 확인함.

연락처 전화: 041-550-3626, E-mail: sfeho@anseo.dankook.ac.kr

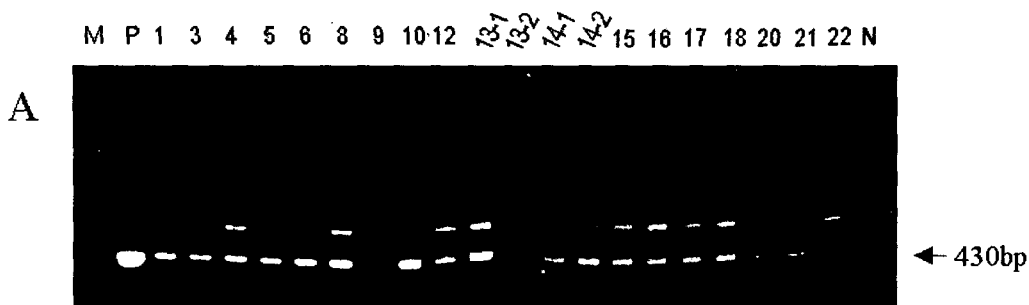


Figure 1. Detection of CLP gene in the genomic DNA of the transformed tobaccos by PCR (M: molecular size marker, P: CLP in pGA748 as positive control, 1-22: transformed plants, N: nontransformed plant as a negative control)

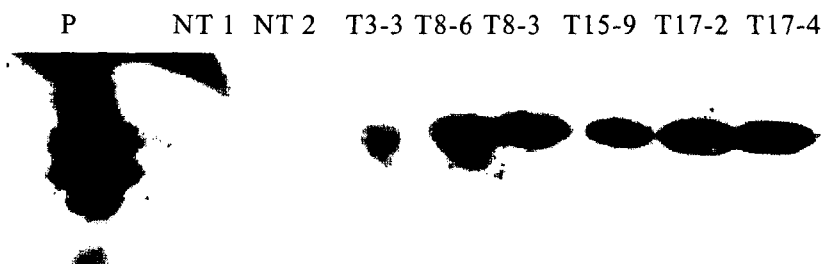


Figure 2. Western analysis of apoplastic proteins from transgenic plants probed with CLP antiserum (NT: nontransgenic tobacco; T3-3, T8-6, T8-3, T15-9, T17-2 and T17-4 : transgenic tobacco with CLP).

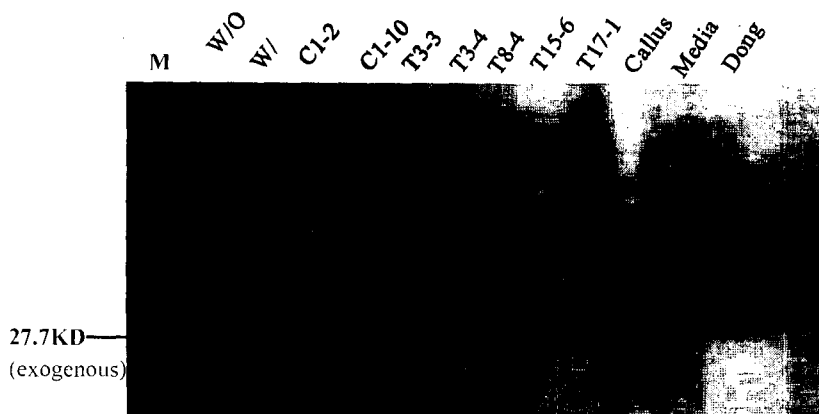


Figure 3. Chitinase activity assay of apoplastic proteins from transgenic plant (T0) (M: marker, W/o: nontransgenic E.coli, W/ : transgenic E.coli, C nontransgenic tobacco, T3, T8, T15, T17 and Callus, Media : transgenic tobacco, carrot with chitinase, Dong: dongbori).