

1. SAAT법을 이용한 Italian ryegrass의 형질전환 효율 향상

우현숙 · 곽상수¹ · 권석윤¹ · 원성혜² · 조진기² · 박근제³ · 성병렬³ · 김기용³ · 최기준³ ·
이효신⁴ · 이병현

경상대학교 축산과학부, 한국생명공학연구원¹, 경북대학교², 축산기술연구소³,
영남작물시험장⁴

남부지방에서 가장 널리 재배되고 있는 중요한 사료작물 중의 하나인 Italian ryegrass는 습기에는 잘 견디나 추위에는 약하여 재배가능지역이 겨울철 평균기온이 영하 5℃ 이상인 지역으로 국한되는 단점이 있다. 이러한 Italian ryegrass의 월동성을 증가시킬 목적으로 먼저 저온내성 관련 유전자 도입을 위한 고효율 형질전환시스템인 SAAT법(Sonication-Assisted *Agrobacterium*-mediated Transformation)을 개발하였다. 종자로부터 직접 유도한 callus를 *Agrobacterium* 배양액과 현탁한 후 단시간의 초음파 처리를 통하여 callus로의 감염율을 증가시킨 후, acetosyringone이 첨가된 배지에서 2일간 공동배양 하였다. 감염시킨 callus를 cefotaxime이 첨가된 재분화배지에 계대배양하여 여분의 *Agrobacterium* 제거와 재분화를 동시에 유도한 후, rooting 배지에 옮겨 형질전환식물체를 선발하였다. 선발된 형질전환식물체로부터 genomic DNA를 분리하여 PCR 분석을 통하여 유전자도입을 확인함으로써 Italian ryegrass의 단기간, 대량, 고효율 형질전환 시스템을 구축하였다. (본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21사업의 지원으로 수행되었음)

2. *Agrobacterium*을 이용한 orchardgrass의 급속 고효율 형질전환

이상훈¹ · 이동기¹ · 윤대진¹ · 곽상수² · 권석윤² · 이병현¹

경상대학교 응용생명과학부¹, 한국생명공학연구원²

우리나라에서 도입 재배되고있는 사료작물 중에서 가장 중요한 목초종의 하나인 orchardgrass에 유용유전자 도입을 통한 고생산성, 고품질 목초를 분자육종하기 위하여 *Agrobacterium*을 이용한 고효율 형질전환 시스템을 확립하였다. Orchardgrass 종자로부터 직접 embryogenic callus를 10일간 유도한 후, 선발 marker 유전자인 kanamycin 또는 hygromycin 내성 유전자와 CaMV35S 또는 stress inducible promoter의 하류영역에 몇 가지 stress 내성 유전자를 가지는 *Agrobacterium*으로 감염시킨 후, 단시간의 초음파 처리를 통하여 감염효율을 증가시킨 후 2일간 공동배양 하였다. 각각의 항생물질이 첨가된 선발배지에서 2주간 배양한 다음, 재분화 배지로 계대배양

하여 2주간 형질전환식물체의 재분화를 유도한 후, 항생물질이 첨가된 rooting 배지로 이식하여 1주간 배양하여 형질전환식물체를 선발하였다. 선발된 형질전환식물체로부터 genomic DNA를 분리하여 PCR 분석 및 reporter 유전자 분석을 통하여 유전자도입을 확인하였다. 본 실험을 통하여 지금까지 보고된 4개월 이상의 장기간이 소요되는 화분과 사료작물의 형질전환 소요기간을 2개월 이내로 단축시키면서 형질전환효율을 극대화할 수 있는 형질전환기법을 개발하였다. (본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 지원으로 수행되었음)

3. Proteomics 기법을 이용한 식물 저온스트레스 관련 단백질의 분리동정

이동기 · 이상훈 · 김진수 · 김범수 · 원성혜¹ · 이종주² · 강규영 · 이병현

경상대학교 응용생명과학부, 농생물학과², 경북대학교¹

작물생산성에 있어서 가장 큰 제한요인 중에 하나인 저온장애를 극복할 수 있는 내재해성 작물의 분자육종을 위하여 저온 스트레스 특이적인 단백질들의 proteome 분석을 실시하였다. 실험재료로는 이미 genome project이 거의 완성 단계에 있어서 data 분석이 용이한 벼를 이용하였으며, 비교적 내냉성이 우수한 동진벼를 이용하였다. 벼에 있어서 저온 스트레스 하에서 특이적으로 발현되는 단백질을 대량으로 분리동정하고 이들에 대한 고해상도 2-DE map을 구축하고자 벼의 생육시기별, 조직 부위별 및 저온처리 온도에 따른 단백질들의 발현양상을 분석하였다. 추출한 단백질을 15% PEG로 prefractionation하여 soluble protein의 50%를 차지하는 Rubisco 단백질을 제거한 후, 1st dimension IEF 및 25×20cm 크기의 대형 gel을 이용한 이차원 전기영동으로 분리 분석하였다. 저온처리 온도는 15℃보다 10℃에서 처리했을 때 저온 특이적인 변화를 보이는 단백질이 가장 많았으며, 발아 후 10~15일령의 유묘기 벼를 저온 스트레스 처리했을 때 가장 많은 특이 단백질이 분리동정 되었다. 본 실험을 통하여 벼의 유묘기에 있어서 저온 스트레스 특이적인 발현 단백질들에 대한 효율적인 2-DE 분리기술을 확립하였다. (본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 지원으로 수행되었음)