

P 16 오갈피 (*Eleutherococcus sessiliflorus*)의 embryonic cell을 이용한

고빈도 형질전환 및 제초제 저항성 식물 개발

이미현¹ · 윤익수¹ · 정재훈² · 최용익^{2*}

공주대학교 생명과학과, 인삼산업연구센터

연구 목적

오갈피에서 유도된 embryonic cell을 *Agrobacterium tumefaciens*과 공동배양하는 기술을 이용하여 고빈도 형질전환 방법을 개발하고 이러한 방법을 이용하여 효율적인 제초제 저항성 식물체를 생산하고자 본 실험을 수행하였다. 또한 본 실험은 오갈피 최초의 형질전환 실험으로 그 가치가 매우 높다.

재료 및 방법

1. 재료

- 식물재료 : 오갈피에서 유도된 embryonic cells
- 유전자 : GUS::NPT II gene과 PAT gene으로 구성되어 있는 pRD 320 plasmid를 binary vector로 가지는 *A. tumefaciens* GV 3101

2. 방법

*Agrobacterium tumefaciens*를 오갈피의 embryonic cell에 접종한 후 10 mg/L acetosyringone이 첨가된 MS 호르몬 무첨가 배지에서 3일간 공동배양하였다. 이 후 300 mg/L cefotaxime이 첨가된 배지에 3주간 배양하며 선발하지 않으면서 균을 제거하고, 이 후 30 mg/L kanamycin과 300 mg/L cefotaxime을 첨가한 배지에서 배양하며 형질전환 세포를 선발하였다. 선발된 세포는 embryo로 성숙시킨 다음 GA₃ 처리를 통해 발아 유도한 후 식물체로 재생시켰다. 선발된 embryo와 유식물에서 유전자의 도입 및 발현을 확인하고자 GUS assay,

PCR 및 Southern analysis를 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 오갈피 embryonic cell을 *Agrobacterium tumefaciens*에 접종한 후 filter paper에서 건조되는 조건은 형질전환율에 영향을 미쳤다.
2. 접종된 세포가 완전히 건조될수록 형질전환율이 높았다.
3. 배양재료는 약 25~50 mg/L kanamycine이 첨가된 배지에서 3주마다 계대되었으며, 계대 횟수가 많을수록 형질전환율이 증가되었으며, 약 7번 계대 했을 경우 90%가 형질전환된 세포로 구성되었다.
4. 선발된 세포주로부터 배를 유도한 다음 GUS 유전자의 발현을 조사한 결과 형질전환된 배의 경우 청색으로 염색되었으나 형질전환되지 않은 배에서는 반응이 일어나지 않았다.
5. 유전자의 도입은 PCR 및 Southern analysis를 수행하여 확인하였다.
6. 유전자의 도입이 확인된 형질전환된 배는 발아시켜 유식물체를 대량으로 증식 (약 20,000본)시켰다.
7. 오갈피 형질전환체는 토양순화를 거쳐 제초제인 바스타에 내성을 지님을 확인하였다.