

대두 재조합순계주에서 고빈도체세포배발생능 계통 조사

최규명¹ · 다가오 고마쓰다² · 김민훈¹ · 최동욱¹ · 유장렬^{1,3} · 최필선^{1*}

¹유진텍 부설연구소, ²일본 농업생물자원연구소, ³한국생명공학연구원

연구 목적

기내배양이 어려운 콩과식물에서 품종간 재분화능 비교연구는 필수적이며, 재분화능이 높은 계통 또는 품종 선발은 대두의 식물체 재생과 형질전환율을 향상시킬 수 있는 중요한 과정이라 할 수 있다. 본 연구에서는 대두 기능유전체 분석을 위한 고빈도 형질전환시스템을 개발할 목적으로 117개 재조합순계주에서 고빈도 체세포배발생능을 갖는 3계통을 선발하였고 체세포배로부터 식물체 재생연구를 수행하였다.

재료 및 방법

일본 농업생물자원연구소에서 공급 받은 117개 재조합순계주를 노지에 파종하여 85계통의 식물체를 얻었다. 개화 후 15 일째에 미숙배로부터 자엽절편을 무균적으로 분리하여 체세포배 유도배지 (SIM, somatic induction medium)에서 약 5주간 배양하였다. 체세포배 유도배지는 MS salt (Murashige and Skoog, 1962), B5 비타민 (Gamborg et al., 1968), 40 mg⁻¹ 2,4-D (Finer and Nagasawa, 1988) 및 30 g⁻¹ sucrose를 조합하여 조성하였다. 배지는 4 g⁻¹ Phytigel을 첨가하기 전 pH를 5.8로 조정하여 고압 멸균하였으며, 페트리디쉬당 25 ml씩 분주하여 사용하였다. 배양 5주 후 각 자엽절편에 대한 체세포배발생빈도와 자엽당 체세포배발생 수를 기록하였다. 2차 체세포배증식 방법으로 증식된 체세포배를 성숙배지와 식물체 전환배지 (Komatsuda, 1992)에 옮겨 완전한 식물체로 생육시켰다.

결과 및 고찰

양친을 포함한 85개 재조합순계주의 미숙배 자엽절편을 체세포배유도배지에서 5주 동안 배양한 결과 갈변현상을 보인 자엽절편에서는 캘러스 형성 없이 일차 체세포배가 유도되었으나, 갈변현상이 없는 경우는 체세포배가 형성되지 않고 대부분 캘러스만 왕성하게 증식되었다. 배양 5주 후 재조합순계주의 두 양친, 즉 Keburi와 Masshokutou Kou 502의 체세포배 형성 빈도는 각각 0%와 92%로 품종 간 차이가 뚜렷하였으며, 이는 이전 연구결과 (Ito et al., 1999)와 아주 잘 일치하였다. 117개 재조합 순계주중 36계통에서 10%이하의 체세포배 발생빈도와 자엽당 0.07개의 체세포배가, 37계통에서 11~49%의 체세포배 발생빈도와 0.90개의 체세포배가 그리고 9계통에서 50~89%의 체세포배 발생빈도와 3.12개의 체세포배가 형성되었다. 특히 90% 이상의 체세포배발생빈도는 KM1032, KM1064 및 KM1010 등 3계통에서만 나타났고 자엽당 체세포배 발생 수도 가장 높은 6.36개 정도였다. 이러한 계통간 또는 품종간 체세포배발생 및 식물체 재분화능의 차이는 옥수수 (Green, 1982), 보리 (Foroughi-Wehr and Friedt, 1981), 밀(Vasil et al., 1990) 및 벼 (Kamiya et al., 1988) 등의 작물에서도 확인 된 바 있으며, 선발된 품종 또는 계통은 식물체 재분화 및 형질전환시스템 확립에 이용 되어 왔다. 따라서 본 연구를 통해 선발된 고빈도 체세포배발생능 계통 (KM1032, KM1064 및 KM1010)은 지금까지 매우 낮은 대두 식물체 재분화율과 형질전환율을 향상시키는 데 중요한 유전자원으로 활용될 수 있을 것이다.