

(05-1-61)

엽록체 형질전환용 콩 벡터개발 및 GFP 발현

김영진^{1*}, 이승범², Henry Daniell², 엄미옥¹, 윤성중³

¹작물과학원 호남농업연구소, ²University of Central Florida, USA, ³전북대학교

연구목적

엽록체 형질전환은 기존의 핵 형질전환에 비하여 삽입유전자의 발현양이 현저하게 많으며, 형질전환체가 모계유전을 하므로 화분에 의한 생태계 변화에 안전하고 당대에 도입유전자가 안정적으로 작물에 고정되는 장점을 지니고 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 엽록체 형질전환용 콩 벡터를 개발한 후, 우선 엽록체 형질전환시스템이 잘 갖춰진 담배를 대상으로 형질전환을 수행하여 벡터의 기능을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 콩의 엽록체 형질전환용 운반체를 만들기 위해 콩의 total DNA를 분리, 정제한 후 PCR을 통해 border 염기서열을 분리해 내고 PCR2.1 topo cloning 벡터에 클로닝 하였다. smGFP와 선발마커로 aadA 유전자가 재조합된 카세트를 콩의 long flanking sequence의 중간위치에 삽입하여 콩 벡터를 개발하였다.
2. 콩 벡터를 이용하여 담배의 잎을 재료로 엽록체형질전환을 수행하여 형질전환체를 얻은 후, PCR 및 Southern 분석을 실시하였으며, 잎과 꽃가루에서 GFP의 발현양상을 조사하였다.

Results and Discussion

Green fish protein (GFP)을 reporter gene으로 하는 콩 엽록체 형질전환용 벡터, pGM-LF-smGFPSPC (8.5kb)를 개발하였다. 콩 벡터의 DNA border 염기서열 부위는 담배의 동일부위와 96.6%의 상동성을 나타내었으며 엽록체 형질전환이 잘되는 담배에 콩 벡터를 형질전환 시킨 후 GFP의 발현양상을 검토하였다. 항생제 선발배지(RMOP+500mg/l spectinomycin)에서 총 6개체의 형질전환체를 얻었으나, PCR 및 Southern 분석을 통해 3개의 homoplastomy 개체를 선발하였다. 잎 조직에서 GFP 단백질의 발현은 형광현미경 및 SDS-PAGE를 수행하여 UV 하에서 잘 발현됨을 관찰하였다. 특이한 사실은 꽃가루에서도 GFP가 발현되었으며, 꽃가루가 약 발아배지에서 정상적으로 발아됨을 관찰하였다. 이는 엽록체 형질전환체에서도 꽃가루의 비산을 통해 도입유전자가 외부로 방출될 수 있다는 점을 시사하기 때문에 추후 좀 더 정밀한 실험이 요구되어진다.