

***Brassica oleracia*에서 항산화와 항암 활성 증대 관련 글루코시놀레이트 생합성 유전자 분리 및 형질전환**

강원대학교 : 유지혜, 김형석, 성은수, <sup>2</sup>임정대, 김명조, 유창연\*

강릉과학산업진흥원 : <sup>1</sup>길현영

송호대학교 : <sup>3</sup>김나영

**Transformation of *Brassica oleracia* using gene related to Glucosinolate biosynthesis to enhance antioxidant and anticancer activities**

Bioherb Research Institute, Kangwon National University

<sup>1</sup>Gangneung Science Industry Foundation

<sup>2</sup>Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University

<sup>3</sup>Food Service Cuisine, Songho College, Hoingsung 25-704, Korea

Ji Hye Yoo, Hyoung Seok Kim, Eun Soo Seong, <sup>1</sup>Hyun young Kil, <sup>2</sup>Jung Dae Lim, Myong Jo Kim, <sup>3</sup>Na Young Kim, Chang Yeon Yu\*

**Objectives**

본 연구는 브로콜리로부터 Glucosinolate 생합성 유전자를 분리하여 특이적인 Glucosinolate와 오옥신 수송 시스템 관련 경로를 변화시켜 항산화와 항암 활성이 증가된 *Brassica oleracia* 형질전환체를 생산하는데 목적이 있다.

**Materials and Methods**

Methyl Jasmonic acid를 브로콜리에 처리하여 글루코시놀레이트 생합성 관련 유전자들을 분리하고 발현양상을 분석하였다. 또한 MeJA와 Wounding signal 관련 유전자들의 변화와 함께 glucosinolate 함량을 브로콜리 부위별로 조사하였다. 브로콜리 형질전환체 생산을 위해 0.1% HgCl<sub>2</sub>로 10 min 소독한 종자로 5~7일 발아시킨 브로콜리의 hypocotyl을 이용하여 형질전환하였다. 형질전환은 ESP 유전자를 이용하였고 2일 전처리 (MS salts + 3% sucrose + 2 mg/L Zeatin), 2일 공동배양 (MS salts + 3% sucrose + 2 mg/L Zeatin + 100 mM Acetosyrigone) 후 선발배지에 옮긴 후 관찰하였다. 1달 후에 뿌리 유도 배지 (MS salts + 1% sucrose + 2 mg/L IBA)로 옮겨주었으며 2달 후에 온실로 순화한 후 PCR을 통해서 결과를 확인하였다.

**Results**

- 온실에서 자란 브로콜리에 MeJA를 처리한 후 1일 경과후 Basal leaves에서 글루코시놀레이트 대사 관련 유전자 BoCYP79B2가 대조구에 비해 약 100배 이상 발현 양상을 보여주었다. 또한 식물 방어 기작 관련 유전자 BoPR과 BoDEF 유전자의 발현도 상당히 높게 나타났다.
- Wounding과 MeJA를 처리한 브로콜리의 Apical leaves와 Florets부위에서 5.3배 이상의 glucosinolate 함량이 증대된 것으로 나타났다.
- 브로콜리의 hypocotyl을 이용하여 형질전환한 결과, 재분화된 13개의 브로콜리 중 8개의 형질전환체가 얻어졌다.

.....  
Corresponding author : 유창연 E-mail : cyyu@kangwon.ac.kr Tel : 033) 250-6411



Fig. 1. Current knowledge of signaling and metabolic network that regulate glucosinolate metabolism

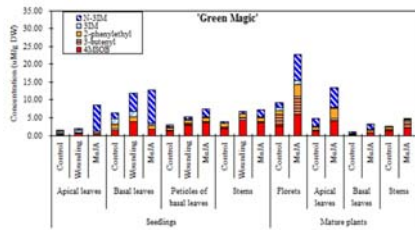


Fig. 3. Changes in glucosinolate metabolism mediated by MeJA signaling in broccoli



Figure 5. Transformed Broccoli. Putative transgenic plant with induced roots on root-inducing medium.

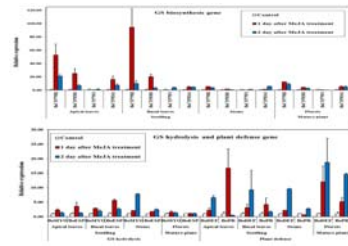


Fig. 2. Isolation of indolyl GS biosynthesis genes in broccoli: Expression pattern analysis of genes associated with GS metabolism

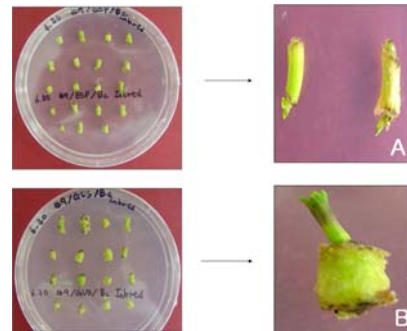


Fig. 4. Transformation of Broccoli 'Inbred' on selection medium after 4weeks. Hygromycin resistance shoots developed from hypocotyl of Broccoli in the selection medium (A) ; kanamycin resistance shoots developed from hypocotyl of Broccoli in the selection medium (B).

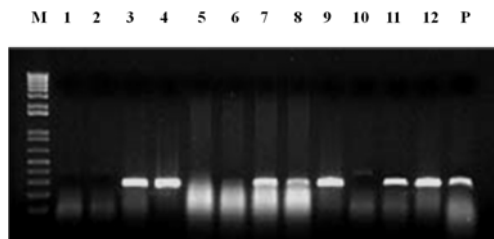


Figure 6. PCR amplification products from transgenic Broccoli Broccoli transgenic plants with ESP gene and 8 line was expressed the ESP gene. Transformation was confirmed by PCR analysis of ESP positive plants. M, 1 kb ladder, lanes 1~12, putative transgenic plants of Broccoli, P, plasmid as positive control, non-transformed plant as negative control..