

Agrobacterium tumefaciens를 매개로 한 옥수수 유동유전자 Ac 및 Ds에 의한 서양고추냉이(Armoracia rusticana)의 형질전환

裴昌然 · 盧一燮¹ · 林容杓² · 閔庚洙 · 金東喆¹ · 金鶴鎭¹ · 李孝淵*
전남대학교 농과대학, ¹순천대학교 농과대학, ²충남대학교 농과대학

Transformation of Maize Controlling Element Ac and Ds into Armoracia rusticana via Agrobacterium tumefaciens

Chang Hyu BAE, Ill Sup NOU¹, Yong Pyo LIM², Kyung Soo MIN, Dong Choul KIM¹, Hak Jin KIM¹, and Hyo Yeon LEE*
Coll. of Agri., Chonnam Nat'l Univ., Kwangju, 500-757; ¹Coll. of Agri., Suncheon Nat'l Univ., Suncheon 540-742;
and ²Coll. of Agri., Chungnam Nat'l Univ., Taejon, 305-764. *Corresponding author.

For the gene tagging of *Armoracia rusticana*, maize controlling element Ac and Ds were introduced into *A. rusticana* via *Agrobacterium*-mediated transformation method. We established an efficient *in vitro* regeneration and transformation system for gene transfer in *A. rusticana*. The optimum *in vitro* regeneration condition has been obtained from leaf, petiole and root organs on modified MS medium supplemented with NAA 0.1 mg/L plus BA 1.0 mg/L for direct shooting and with free growth regulators for root induction. For transformation, the leaf, petiole and root explants of *A. rusticana* were cocultivated with *Agrobacterium tumefaciens*, LBA4404 which carries a binary vector pEND4K containing maize controlling element Ac or Ds, respectively. Selections were performed in the shoot induction medium supplemented with 100 mg/L kanamycin, and 500 mg/L carbenicillin. Transformation frequency showed about 8 to 10% in case of leaf disks. PCR and Southern blot analyses showed that the Ac and the Ds elements were integrated into the chromosome of donor plants.

Key words: gene tagging

*Agrobacterium*을 이용한 외래 유전자 도입은 쌍자엽 식물 중에서 재분화가 용이한 담배, 토마토, 페튜니아, 애기장대 등을 비롯한 많은 식물에서 이루어지고 있다. 십자화과 식물중에는 애기장대(Schmidt and Willmitzer, 1985; Van Sluy et al., 1987) 및 유채(Sohn et al., 1991; Radke et al., 1988)에서 다수의 보고가 있으나, 주요 채소작물인 배추, 양배추는 그 효율성이 떨어지고 있다. 이것은 재분화계 또는 형질전환 방법이 확립되지 않았기 때문이다. *Armoracia rusticana*는 십자화과에 속하며, 내한성이 강한 다년생식물로 독특한 향기와 매운 맛이 있고, *Wasabia japonica*와 같은 신미성분이 있어서 일본에서는 분말 와사비로 이용되고 있다(박, 1986). 이 식물은 잎, 엽병, 뿌리의 모든 기관에서 식물체의 재분화 능력이 뛰어나기 때문에 십자화과 식물의 형질전환 체계를 연구하는데 매우 유리한 재료로 생각된다.

본 연구에 사용된 유전자는 McClintock(1951)에 의해 옥

수수에서 발견된 유동유전자(Ac/Ds계)로서 식물체의 genome상에서 이동할 수 있기 때문에 돌연변이를 유발시키고 결실, 역위, 전좌와 같은 염색체의 재구성을 유발시키는 인자이다(Sciaky et al., 1978). 이중 Ac는 양끝에 11bp의 역반복 염기 배열을 가진 4565bp의 유전자로 auto-transposition이 가능하고, Ds는 Ac가 존재할 때만 transposition을 일으키는 유전자 단편이다(Fedoroff, 1989). 이러한 옥수수의 유동유전자의 성질이 밝혀지면서 최근 이 유전자를 옥수수 이외의 식물에 도입하여 돌연변이를 유도한 다음 그 식물체로부터 유동유전자를 gene tagging 방법의 의하여 cloning하는 연구가 많이 이루어지고 있다(Altmann et al., 1992; Chandlee, 1990; Fedoroff et al., 1984; Haring et al., 1991).

Arabidopsis를 제외한 십자화과 식물은 다른 식물에 비해 transposon을 이용한 돌연변이 개체의 연구가 많이 이루어

져 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구는 *Armoracia rusticana*를 이용하여 식물체의 재분화 및 *Agrobacterium*을 매개로한 형질전환체를 확립한 후, 옥수수의 유동유전자, Ac 및 Ds가 도입된 형질전환체를 선발하여 유용 gene tagging을 위한 재료를 만들고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물체의 재분화능력조사

일반적으로 재배종의 *Armoracia rusticana*는 조직의 세포 간극에 세균을 비롯한 잡균이 침입되어 있으므로 노지식물의 잎을 사용해서는 무균주를 육성하기가 어렵다. 무균주를 육성하기 위하여 40°C에서 1일간 식물체를 열처리한 후, 70% 에탄올에서 15초간, 2% calcium hypochlorite에서 20분간 소독, 3-4회 멸균수로 수세하여 생장점 부위를 해부현미경하에서 1-2 mm 크기로 적출, MS 배지에 치상하였다. 얻어진 무균주들을 기내에서 8주간 배양한 후 잎은 5 × 5 mm 크기로, 엽병은 굵기가 일정(1 mm)한 것을 길이 7-8 mm로, 뿌리는 직경 0.8 mm 굵기의 것을 길이 10 mm로 절단하여 100 ml 삼각플라스크에 5개씩 5반복 치상하였다.

배지는 MS 기본배지에 8 g/L의 agar와 30 g/L의 sucrose를 첨가 하였고, pH는 autoclaving 전에 5.8로 적정하였다. 배양온도는 20°C, 광은 1,500 Lux 전후에서 1일 18시간 조명하였다. 생장조사는 배양 6주후부터 싹, 뿌리, 생체중으로 나누어 조사하였다. 생장조절제에 따른 기관분화능은 naphthalene acetic acid(NAA)와 6-benzyl adenine(BA)을 각각 0, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/L까지 단계별로 농도를 조합하여 처리하였다(Kim and Park, 1988).

공시균주

형질전환에 사용된 vector는 binary vector인 pEND4K였고, pEND4K의 증식에는 *E. coli* HB101을 사용하였으며, 증식 후 이를 *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404에 도입하여 식물형질전환에 사용하였다. Vector T-DNA의 RB와 LB 사이에는 neomycin phosphotransferase II(NPT II) 유전자와 옥수수 유동유전자인 Ac 또는 transposase는 활성을 가지나 Ac자체는 이동할 수 없게 만든 dAc와 Ds가 각각 삽입되어 있다. 위의 pEND4K에 Ac, dAc1, dAc2, dAc3 및 Ds가 삽입된 vector를 각각 TAc7, TAcD1, TAcD2, TAcD3, TDs라 명명하였다(Lim et al., 1990).

Kanamycin 내성조사

*A. rusticana*의 kanamycin 내성 정도를 조사하기 위하여

엽조직을 5 × 5 mm로 자른 후 NAA 0.1 mg/L와 BA 1.0 mg/L를 포함한 MS 배지(direct shoot 배지)에 kanamycin 농도를 0, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 150, 200 mg/L까지 첨가하여 배양한 후 생존율을 조사하였다.

식물체의 형질전환 및 재분화

기내 식물체의 잎을 5 mm 직경의 코르크보러로 적출하였고, 엽병과 뿌리는 상기 기관분화 때와 동일한 조건으로 절단하여 NAA 0.1 mg/L와 BA 1.0 mg/L가 포함된 MS배지에 preculture한 후 YEP 배지에서 24 시간 배양한 *Agrobacterium*을 preculture용 배지의 호르몬 조성과 동일한 MS액체 배지에 희석(10^7 cell/L)하여 침적, 감염시켰다. 감염시킨 잎은 멸균된 filter paper로 여분의 균액을 제거하고 상기와 동일한 고체배지 위에 멸균된 여과지를 한장 깔고 그 위에 치상하여 28°C, 암소에서 24 시간 공조배양 하였다. 그 후, 잎절편은 상기와 동일한 배지에 carbenicillin 500 mg/L을 첨가한 배지에서 7-10 일간 배양한 후, 동일 배지에 kanamycin 100 mg/L을 첨가한 배지로 옮겨 3-4 주간 25°C에서 배양하였다. 재분화된 싹은 MS 기본배지에 옮겨 발근을 유도하였다.

PCR 분석

Kanamycin 100 mg/L 농도에서 선발한 형질전환체에 Ac 혹은 Ds의 삽입 여부를 확인하기 위하여 PCR 방법을 적용시켰다. Ac primer 1은 2071-2097 bp 사이의 5'-GGTTGAATTCATCTAGTTGAGACATC-3' 이고, Ac primer 2는 2799-2825 bp 사이의 complementary sequence인 5'-ATCTCATTGAGCCTTATAAGTACGATG-3'이었으며, Ds primer 1은 19-44 bp 위치의 5'-GAAACGGTATTTATTCGGTAATCAGT-3'이고, Ds primer 2는 379-400 bp 위치의 complementary sequence인 5'-AAGTGATAATCTGAGCTGTTAG-3'이었다. PCR 반응의 반응액 조성은 Taq polymerase 1 unit, dNTP 0.1 mM, primer 5 pM과 50 ng의 genomic DNA를 사용하여 수행하였으며, 반응액 표면을 약 20 ul의 mineral oil로 피막처리하여 반응 도중 용액증발을 예방하고자 하였다. PCR 조건은 predenature(94°C, 120초)한 다음 denature(94°C, 15초), annealing(55°C, 30초), elongation(72°C, 90초)을 1 cycle로 해서 45 cycle로 증폭 시켰다. DNA 증폭이 끝난 반응 용액은 72°C에서 5분간 안정화 시킨 다음, 4°C에서 유지되도록 하였다. 반응이 끝난 DNA는 1.2% agarose gel 상에 분획하여 Ac 또는 Ds 유전자가 증폭되었는지 확인하였다. 사용된 PCR 기기는 Perkin Elmer Cetus사의 Thermal Cycler 480을 이용하였다.

Southern Blot 분석

CTAB법(Rogers and Bendich, 1988) 방법으로 추출한 형질전환 식물체 및 대조구 식물체의 DNA는 *Hind* III로 소화시킨 후 전기영동에 의해 0.8% agrose gel에 분획하여 nylon membrane에 전사시켰다. Hybridization 반응을 위한 probe는 *Hind* III로 소화시켜 작제한 1.6 kb의 Ac 단편 및 *Kpn* I과 *Sal* I으로 2중소화시켜 작제한 0.6 kb의 Ds 단편이었으며, [³²P]로 표식하였다. Band의 검출은 Southern(1975)방법에 준하여 행하였다.

결 과

식물체의 재분화 조건

MS배지에 NAA와 BA를 각각 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/L 농도로 단독 혹은 조합처리 하여 잎, 엽병, 뿌리 기관을 치상한 다음 배양 6주째 기관분화율을 조사한 결과, 신초형성율은 잎 조직이 31%로 가장 높았고 뿌리 조직이 11%로 가장 낮았다. 뿌리형성율도 비슷한 결과였으며, 유식물체 형성도 잎에서 가장 높았고 엽병, 뿌리 순이었다(Table 1).

Table 1. Organogenesis ratio of leaf, petiole, and root explants in *Armoracia rusticana*.

Explants	Number of cultured explants	Shooting (%)	Rooting (%)	Plantlet formation (%)
Leaf	360	31	42	26
Petiole	360	20	24	18
Root	360	11	15	8

생장조절제의 농도별, 처리조합별 기관분화의 양상은 잎, 엽병, 뿌리에서 결과가 유사하였는데, 잎의 경우 BA 0.1-2.0 mg/L 사이에서 multiple shoot가 형성되었고, NAA 0.1-1.0 mg/L 사이에서 캘러스가 형성되어 신초와 뿌리형성이 되었으나 NAA와 BA 모두 4.0 mg/L 이상의 고농도에서는 기관분화가 극히 저조하였다(Figure 1). NAA 0.1 mg/L와 BA 0.5-1.0 mg/L의 조합처리구에서 잎, 엽병, 뿌리 모두 신초형성이 90% 이상으로 가장 높았다(Figure 2-A, B, C). 신초가 형성된 식물체는 MS 기본배지로 옮겨 뿌리를 유도하였다(Figure 2-D). 생장조절물질을 처리하지 않는 경우에도 뿌리와 신초형성이 이루어졌으나 기관분화율은 저조하였다(Figure 1).

식물체의 형질전환 및 재분화

NPT II 유전자를 선발 marker로 이용하기 위하여 형질도입을 시키지 않은 식물의 잎 절편을 이용하여 kanamycin

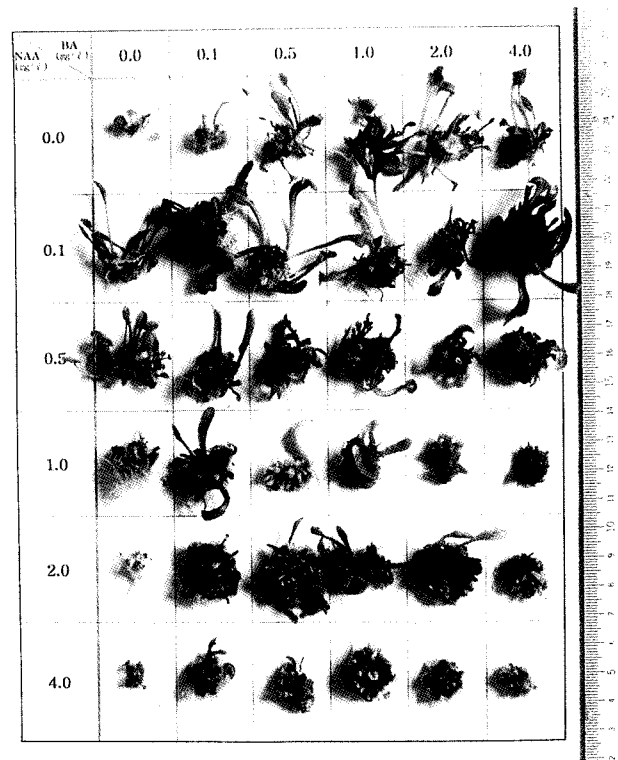


Figure 1. Plantlets differentiated from leaf explants of *A. rusticana* in different combination of NAA(0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/L) and BA(0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/L).

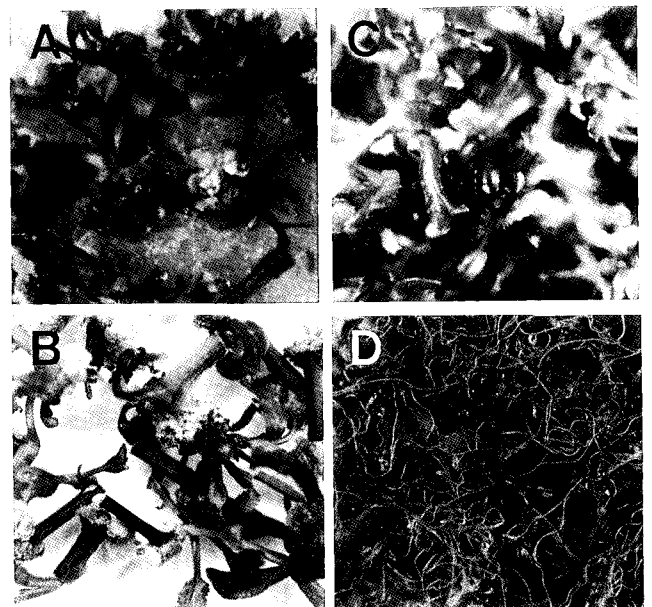


Figure 2. Plantlets regenerated from leaf(A), petiole(B), and root explants(C) of *A. rusticana*. The shoot induced on MS medium supplemented with NAA 0.1 mg/L and BA 1.0 mg/L, and the root induced on MS hormone free medium(D).

내성을 조사한 결과, kanamycin의 농도가 10 mg/L 이상에

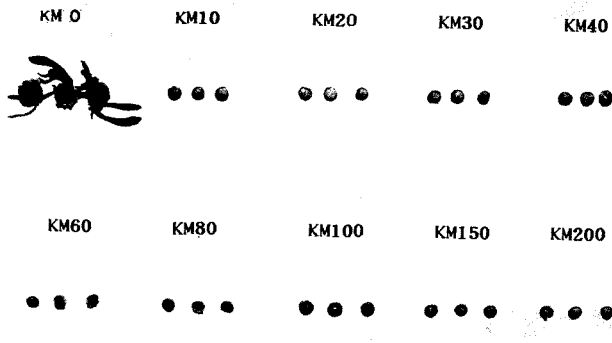


Figure 3. The effect of kanamycin concentration(0, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 150, 200 mg/L) added to culture medium for investigating the survival ratio in non-transformed leaf tissues.

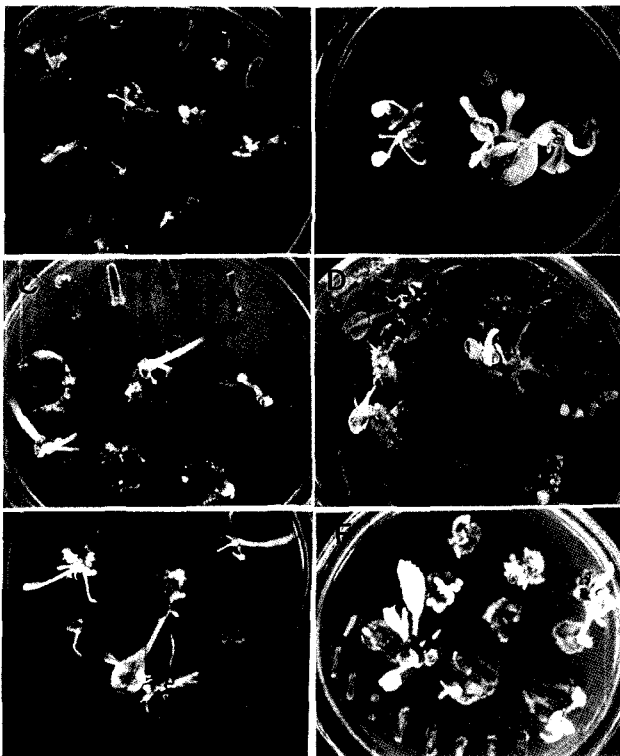


Figure 4. Shoots formed from leaf disks when they were infected with pEND4K(A), TAc7(B), TAcD1(C), TAcD3(D), and TDs(E) in *A. tumefaciens* LBA4404 strain. On the other hand the leaf disks were died(F), without the infection of the *A. tumefaciens*. The profiles were pictured after incubation on MS medium containing 100 mg/L kanamycin for 2 weeks.

서는 기관분화가 전혀 불가능하였다(Figure 3).

A. tumefaciens LBA4404 균주에 pEND4K: Ac 또는 pEND4K: Ds 벡터를 형질전환시켜 *A. rusticana*의 잎, 엽병, 뿌리에 접종시켰다. Carbenicillin 500 mg/L가 포함된 신초형성배지(MS 배지 + NAA 1.0 mg/L + BA 0.1 mg/L)에

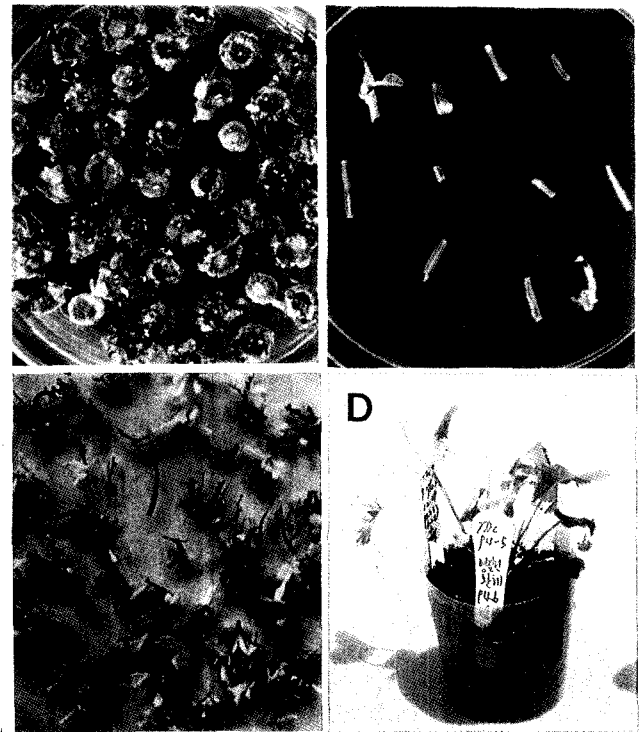


Figure 5. Shoots induced from horseradish tissues(A: leaf, B: petiole, C: root) on selection medium containing 100 mg/L kanamycin and 500 mg/L carbenicillin. Shoot primordia were formed after one week of inoculation. D: The transgenic plant selected by leaf disk culture on the selection medium.

Table 2. Shoot regeneration ratio from different explants mediated with *Agrobacterium* in *A. rusticana*.

Explants	No. of explants inoculated ^a	No. of explants producing shoot(%) ^b
	Ac / Ds	Ac / Ds
Leaf	50 / 50	5(10) / 4(8)
Petiole	50 / 50	2(4) / 2(4)
Root	50 / 50	0(0) / 0(0)

^aMedium: MS + 0.1 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA + 30 g/l sucrose + 8 g/L agar.

^bShoots were counted at 30 days after explant culture.

서 접종 5-7일 후부터 미세 캘러스와 신초의 원기가 형성되기 시작하였다. 이것을 kanamycin 100 mg/L 배지에 옮기면 잎의 경우 2주 후부터 신초가 형성되고 형질전환 되지않은 조직에서는 3-4주 후 또는 계대배양이 2회 이상 반복되면 신초가 백화하여 고사하였다(Figure 4). 엽병에서는 신초가 약간 형성되었으나 뿌리에서는 신초가 형성되지 않았다(Figure 5). Kanamycin 100 mg/L 선발배지로 옮겨 3-4주 배양시킨 결과 옥수수 유동유전자 Ac/Ds의 형질전환율은 앞에서 8-10% 정도, 엽병에서는 4%의 형질전환 식물체가 출현하였으나 뿌리에서는 형질전환 식물체를 얻을 수 없었다(Table 2).

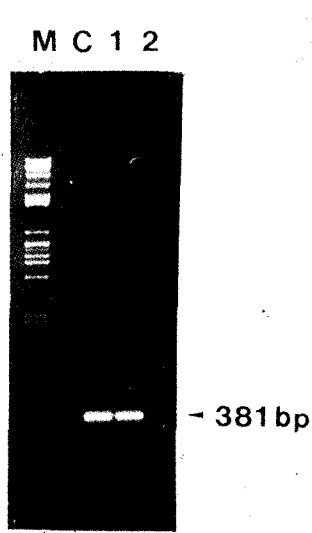


Figure 6. Electrophoregram of PCR products from Ds transformed plant and control plant of *A. rusticana*. Lanes M: Molecular marker, C: Control plant, 1: Bacterial plasmid, 2: Transgenic plant.

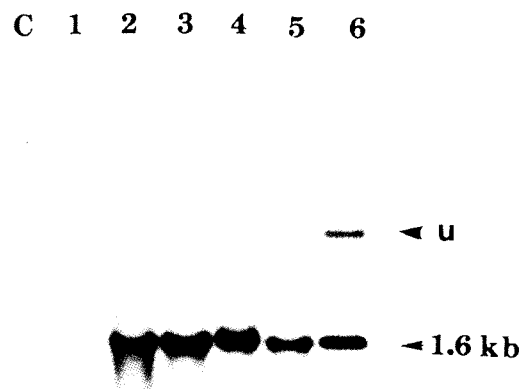


Figure 7. Southern blot analysis of *A. rusticana* with Ac derived transposon by the Ac probe(1.6 kb Ac fragment was used as probe). Lanes C: Control plant, 1: pEND4K(only vector which did not containing Ac gene), 2: TAc7, 3: TAcDL, 4: TAcD2, 5:TAcD3, 6: Bacterial plasmid, u: non-understood.



Figure 8. Southern blot analysis of *A. rusticana* with TDs by the Ds probe(0.6 kb Ds fragment was used as probe). Lanes 1: pEND4K(only vector, not inserted Ds fragment), 2: Bacterial plasmid, 3: Ds transformed plant.

Southern Blot 분석

Ac를 형질도입한 식물체는 고농도의 km⁺ 배지에서 왕성한 생육을 보였으나, PCR 분석에 의하여 Ac 단편의 삽입이 확인되지 않았다. 그리하여 Ac probe를 이용하여 Southern 분석을 실시하였다. Figure 7에서와 같이 모든 형질전환체에서 1.6kb 위치에서 band가 확인되었다. 이에 반해 nontransgenic plant와 pEND4K만을 도입한 식물체에서는 아무런 band도 검출되지 않았다. 또한, bacterial plasmid DNA를 positive control로 사용한 lane(6)에서 해석불가능한 band(u)가 검출 되었다. Ds의 경우(Figure 8)에도 형질전환체에서는 0.6kb 위치에 band가 확인되어 Ds가 식물체내에 형질전환 되었음을 확인하였다.

고 찰

PCR 분석을 이용한 도입 유전자의 확인

PCR 방법을 이용하여 kanamycin 배지에서 선발된 형질 전환 식물체에 대한 Ds의 삽입 여부를 조사한 결과, 0.381 kb(19-400 bp까지의 증폭범위) 위치에서 단일 band가 검출 되었다(Figure 6). 그러나, Ac를 도입한 형질전환 식물체에서는 증폭된 DNA가 검출되지 않았다.

지금까지 옥수수 유동유전자가 옥수수 이외의 식물체에 도입되어 그 유전자가 발현한 것은 애기장대(Altmann et al., 1992; Van Sluy et al., 1987), 당근(Van Sluy et al., 1987), 담배(Baker et al., 1987; Kim et al., 1991; Lim et al., 1990), 벼(Izawa et al., 1991), 대두(Zhou and Atherly, 1990), 감자(Knapp et al., 1988), 토마토(Yoder et al., 1988) 및 페추니아(Ahn et al., 1993; Kim et al., 1993) 등으로 형질전환된 유동

유전자는 genome 내에서 이동할 수 있다는 것이 밝혀졌다. 본 실험에서는 서양고추냉이에 옥수수 유동유전자를 도입하고자 기내배양에 의한 식물체의 재분화계를 검토하였고, 옥수수 유동유전자(Ac 및 Ds)를 서양고추냉이에 형질전환시켜 식물체 내에 Ac 및 Ds 유전자가 존재하는지를 PCR 분석과 Southern blot 방법에 의하여 확인하였다. 그 결과 다수의 Ac 혹은 Ds가 도입된 형질전환체를 얻었다.

일반적으로 십자화과 식물의 경우에는 식물체의 재분화가 어려운 것으로 알려져 있으나(Peak et al., 1987), 서양고추냉이는 기관별로 차이는 있었지만 성장조절물질을 공급하지 않아도 재분화능을 나타내는 십자화과 식물로서, 기관분화능력이 뛰어난 담배(Kim et al., 1991), 페튜니아(An et al., 1993) 등과 함께 형질전환 실험계에 용이하게 이용할 수 있는 실험재료이다. 또한, 이들 식물들은 비슷한 배지조건에서 multiple shoot를 유도할 수 있는 공통점을 갖고 있었다.

십자화과 식물에서 NPT II gene에 의한 형질전환체의 선발은 kanamycin 15-20 mg/L로 사용한 예가 있으나(Schmidt and Willmitzer, 1985; Radke et al., 1988; Shon and Cho, 1991), 이 경우 kanamycin 선발에 의한 형질전환체의 선발효율은 높은 반면 유전자 삽입 여부의 확인 후의 형질전환체 획득률은 0.4-4.1%로 낮았다. 서양고추냉이에서는 kanamycin 선발농도를 100 mg/L로 높일 경우에도 식물체의 재분화가 이루어졌으며, DNA 수준에서 유전자 삽입을 확인한 결과 같은 농도의 선발배지에서 재분화된 식물체 모두가 형질전환된 식물이었다.

서양고추냉이의 경우 선발배지에서 얻은 많은 수의 형질전환체를 우선 PCR을 이용하여 유식물 단계에서 유전자 삽입 여부를 조사하였다. Ds의 경우는 사용한 forward와 reverse primer 간의 증폭된 단편 길이가 381 bp인 위치에서 band가 검출되었으나, Ac의 경우는 DNA 증폭이 이루어지지 않았다. 그 이유는 현재 검토중이나 동일한 식물체의 DNA를 사용한 Southern blot 분석에서 1.6 kb 위치에서 DNA band가 확인되었기 때문에 PCR 반응에 문제가 있는 것으로 생각되었다. Southern blot 분석에 의하여 Ac와 Ds는 각각 1.6 kb와 0.6 kb 위치에서 DNA band가 확인되었으므로 선발된 모든 개체는 genome내에 유동유전자 Ac 또는 Ds가 존재하는 것으로 생각되었다.

위에서 언급한 바와 같이 개념의 한 장소에서 다른 장소로 이동할 수 있는 옥수수 유동유전자 Ac/Ds (McClintock, 1951)를 타식물체에 형질전환시켜도 이들이 염색체 상에서 전위 활동을 하면서 삽입돌연변이를 유기하여 식물체의 표현형을 바꾼다. 본 실험에서 *A. rusticana*의 형질전환체와 정상식물체간의 외형적 차이는 관찰되지 않았으나 앞으로 다른 probe와 제한효소를 사용하여 Ac 유전자의 삽입 위치를 조사하여 형질전환체의 양적형질의 변화에 관심을 기울일 필요가 있다고 생각한다. 또한 Ac는 auto-transposition이 가능하고, Ds의 transposition에는 Ac의 활성이 요구되는 상호

관련성이 있기 때문에(Pohlman et al., 1984; Fedoroff, 1989), Ac와 Ds의 형질전환체를 교배하여 F2를 육성한 후, Ac와 Ds가 함께 들어 있어 고정된 돌연변이주 선발이 가능할 것이다.

이상의 내용으로부터, *Aromoracia rusticana*는 식물의 각 기관으로부터 높은 재분화율을 보이며, 형질전환율도 잎조직을 이용할 경우 대단히 높기 때문에 십자화과 식물의 유전자 발현과 제어를 연구하기 위한 매우 유리한 식물이라고 생각된다.

적 요

십자화과 식물의 유용유전자를 cloning하기 위한 기초연구로서 십자화과 식물인 *Armoracia rusticana*의 재분화계와 형질전환계를 확립하고, gene tagging을 하기 위하여 binary vector에 삽입된 옥수수의 transposon 유전자 Ac/Ds를 도입한 결과, NAA 0.1 mg/L와 BA 1.0 mg/L를 함유한 MS 배지에서 최적의 shoot를 유기할 수 있었으며, MS 기본배지에 옮기면 쉽게 발근을 유도할 수 있었다. 옥수수의 Ac/Ds의 유전자를 잎에 형질전환시킨 결과 8-10%의 형질전환율을 보였으며, 엽병의 경우에도 4%의 형질전환 식물체가 얻어졌다. Kanamycin 100 mg/L 농도에서 선발한 개체를 PCR 분석 및 Southern blot 분석을 행하였던 결과 PCR 분석으로부터 Ds 유전자가 식물에 도입된 것이 확인 되었고, Southern blot 분석으로부터 Ac/Ds 모두가 도입된 것이 확인되었다.

시사 본 논문은 한국과학재단의 특정기초 연구과제(92-24-001-15)의 지원을 받아 수행하였음.

인 용 문 헌

- Altmann T, Schmidt R, Willmitzer L (1992) Establishment of a gene tagging system in *Arabidopsis thaliana* based on the maize transposable element Ac. *Theor Appl Genet* 84: 371-383
- Ahn BJ, Noh HY, Choi YY (1993) T-DNA mediated transformation of maize transposable element for petunia gene tagging. *Korean J Plant Tissue Culture* 20: 9-14.
- Baker B, Coupland G, Fedoroff N, Starlinger P, Shell J (1987) Phenotypic assay for excision of the maize controlling element Ac in tobacco. *EMBO J* 6: 1547-1554
- Chandlee JM (1990) The utility of transposable elements as tools for the isolation of plant genes. *Physiol Plantarum* 79: 105-115
- Fedoroff NV (1989) Maize transposable elements *In* Mobile DNA. American Society for microbiology. 1913 I Street NW Washington, DC

20006. pp 375-405
- Fedoroff NV, Furtek DB, Nelson OE** (1984) Cloning of the bronze locus in maize by a simple and generalizable procedure using the transposable controlling element Activator(Ac). *Proc Natl Acad Sci* **81**: 3825-3829
- Haring MA, Rommens CMT, Nijkamp HJJ, Hille J** (1991) The use of transgenic plants to understand transposition mechanisms and to develop transposon tagging strategies. *Plant Molecular Biology* **16**: 449-461
- Izawa T, Miyazaki C, Yamamoto M, Terada R, Iida S, Shimamoto K** (1991) Introduction and transposition of the maize transposable element Ac rice(*Oryza sativa* L). *Mol gen Genet* **227**: 391-396
- Kim JH, Park KW** (1988) Effects of NAA and BA on the organ differentiation of horseradish (*Armoracia rusticana*) cultured *in vitro*. *J Kor Soc Hort Sci* **29**: 272-282
- Kim SJ, Cho HJ, Choi KT, Lim YP, Kim BD** (1993) Introduction of Maize controlling element 'Ac' into *Petunia hybrida*. *J Kor Soc Hort Sci* **34**: 294-300
- Kim SJ, Cho HJ, Choi KT, Lim YP, Kim BD** (1991) Introduction and transposition of maize controlling element "Ac" into *Nicotiana tabacum*. *Kor J Breed* **23**: 20-29
- Knapp S, Coupland G, Uhrig H, Staringer P, Salamini F** (1988) Transposition of the maize transposable element Ac in *Solanum tuberosum*. *Mol Gen Genet* **213**: 285-290.
- Lim YP, Park SW, Chen JC, Dellaporta SL, Choi KT** (1990). Transformation of controlling element Ac and Ds into tobacco using binary vector pEND4K. *Kor Soc Plant Tissue Cult* **17**: 119-127
- McClintock B** (1951) Chromosome organization and genetic expression. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* **16**: 13-47
- 朴權瑀 (1986) 西洋菜蔬論. 高麗大學校出版部 pp 144-151
- Peak KY, Cheong JK, Rhee WY, Lee CW** (1987) Effects of growth regulators and several additives on callus and growth from cultured tissues of Chinese cabbage(*B. campestris* ssp. *pekinensis*). *Kor J Plant Tissue Cult* **14**: 75-85
- Pohlman R, Federoff NV, Messing J** (1984) The nucleotide sequence of the maize controlling element Activator. *Cell* **37**: 635-643
- Radke SE, Andrews BM, Moloney MM, Crouch ML, Kridl JC, Knauf VC** (1988) Transformation of *Brassica napus* L. using *Agrobacterium tumefaciens*: developmentally regulated expression of a reintroduced napin gene. *Theor Appl Genet* **75**: 685-694
- Rogers SO, Bendich AJ** (1988) Extraction of DNA from plant tissue. In *plant Molecular Biology Manual A6:1-10*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Sciaky D, Montoya AL, Chilton MD** (1978) Fingerprints of *Agrobacterium* Ti-plasmid. *Plasmid* **1**: 238-253
- Schmidt R, Willmitzer L** (1985) High efficiency *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* leaf and cotyledone explants. *Plant Cell Rep* **7**: 586-593
- Sohn JK, Cho HS** (1991) Transformation of *Brassica napus* using cotyledon tissue cocultured with *Agrobacterium tumefaciens*. *Korean J Plant Tissue Cult* **18**: 113-118
- Southern EM** (1975) Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* **98**: 505-517
- Van Sluys MA, Tempe J, Fedoroff N** (1987) Studies on the introduction and mobility of the maize Activator element in *Arabidopsis thaliana* and *Daucus carota*. *EMBO J* **6**: 3889-3991
- Yodeer J, Palys J, Alpert K, Lassner M** (1988) Ac transposition in transgenic tomato plant. *Mol Gen Genet* **231**: 291-296
- Zhon JH, Atherly AG** (1990) In situ detection of transposition of the maize controlling element(Ac) in transgenic soybean tissues. *Plant Cell Report* **8**: 542-545

(1994년 10월 7일 접수)