

## 국내 육성 감자의 재분화와 형질전환 효율에 미치는 생장조절제의 조성 및 몇 가지 요소

이정윤\*, 서효원, 조지홍, 이신우<sup>1</sup>, 윤한대<sup>2</sup>

농촌진흥청 고령지농업시험장, <sup>1</sup>진주산업대 작물생명과학과, <sup>2</sup>경상대학교 응용생명과학부

### Effects of Hormone and Several Factors on the Regeneration and Transformation rate of Potato Cultivars Bred in Korea

Jung-Yoon Yi\*, Hyo-Won Seo, Ji-Hong Cho, Shin-Woo Lee<sup>1</sup>, Han-Dae Yun<sup>2</sup>

Highland Crop Research Division, National Highland Agricultural Experiment Station, RDA,  
Pyeongchang 232-955, Korea

<sup>1</sup>Department of Crops Biotechnology, Jinju National University, Jinju 660-758, Korea

<sup>2</sup>Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

**ABSTRACT** The optimal condition of *in vitro* regeneration and transformation were investigated for newly bred potato varieties in Korea. Leaf and internodal stem tissues of 'Chubak', 'Namsuh', 'Jasim', 'Jopung' and 'Jowon' were used to investigate the influence of growth regulator on regeneration efficiency. The effect of phenolic compound acetosyringone on gene transformation efficiency was also investigated. Leaf tissue of 'Jowon' and internodal stem tissues of 'Jopung' were showed high regeneration efficiency on M5 medium supplemented with 0.1 mg/L GA<sub>3</sub>, 2.0 mg/L Zeatin and 0.01 mg/L NAA. The other three potato cultivars were showed low regeneration efficiency less than 25%. The effect of acetosyringone on *Agrobacterium*-mediated gene transformation with leaf and internodal stem tissues were noticeable. By adding the 75 μM of acetosyringone during the *Agrobacterium* inoculation, the transformation efficiency was increased up to 1.5~4.0 fold compare to non-treated control. In case of 'Jowon' the transformation efficiency was 87.9% in leaf tissue and 'Jopung' was 68.4% in internodal stem tissues.

**Key words:** Acetosyringone, growth regulator, potato, transformation

#### 서 론

감자 (*S. tuberosum*)는 4배체 (2n=4x)의 영양 번식작물로 교잡을 통한 육종이 타 작물에 비해 매우 어렵다 (Bradshaw and Mackay 1994). 따라서 반수체 (haploid)를 유기하여 육종에 이용하거나 (Ross 1986), 형질전환 기술을 통한 육종이 활

발하게 이루어지고 있다. 특히 감자는 식물학적으로 줄기에 해당하는 괴경으로 증식되는 작물로 형질전환체의 유전적 안정성 확보 측면에서 다른 작물에 비해 매우 유리하다 (Ghislain et al. 1997). 감자는 형질전환 연구의 초기세대부터 재료로 많이 이용되어 왔고 (An et al. 1988; De Block 1988), 비교적 형질전환이 잘 이루어지는 것으로 알려져 있지만 실제로 형질전환 연구재료로 이용되는 감자 품종은 많지 않다. 이는 연구재료로 재분화와 형질전환이 용이하게 이루어지는 감자 품종들을 이용했기 때문으로 실제 감자의 품종과 조직에 따라 호르몬의 조성 등 재분화의 조건이 많은 차이를 보

\*Corresponding author Tel 033-330-7814 Fax 033-330-7715  
E-mail jyoonee@rda.go.kr

이는 것으로 알려져 있다 (D'Amato 1975; De Block 1988; Dobigny et al. 1996). 감자의 경우 잎 조직 (De Block 1988)이나 괴경 조직 (Sheerman and Bevan 1988; Stiekema et al. 1988) 등을 재료로 이용하여 형질전환에 이용하고 있으나 사용되는 조직에 따라 재현성과 형질전환율 등이 다를 뿐만 아니라 품종에 따라서도 많은 차이를 보이고 있음을 보고한 바 있다. 최근까지 국내외에서 형질전환 연구재료 (Youm et al. 2002)로 많이 이용되고 있는 일부 품종의 경우 재분화나 형질전환 효율이 다른 감자 품종에 비해 탁월한 것으로 알려져 있지만 (Choi et al. 1996), 현재 우리나라에서는 재배되고 있지 않는 품종으로 형질전환 이후 실용화 등에 문제가 있다. 형질전환체의 유전적 고정을 위한 별도의 육종 과정을 거치지 않아도 되는 감자의 경우 개발된 이후 실용화를 위해서는 우리나라에서 재배가 가능한 품종을 재료로 이용하는 것이 필요하다.

본 연구는 국내에서 육성한 장려품종 감자들을 이용하여 품종별 재분화 및 형질전환 효율에 미치는 다양한 요인들을 규명하고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

본 실험에서는 국내에서 육성되어 장려품종으로 지정된 감자 '추백' (Chubak), '남서' (Namsuh), '자심' (Jasim), '조풍' (Jopung), '조원' (Jowon) 등 5품종을 재료로 이용하였다.

### 배지와 배양방법

감자의 품종별 재분화 조건 규명을 위하여 table 1의 7가지 배지를 사용하였다. 이들 배지의 기본은 MS 배지 (Murashige and Skoog 1962)이며, M1부터 M5배지는 캘러스 형성과정 없이 직접 신초를 유기시키기 위해 이용한 것으로 단계를 구분하지 않고 동일배지에서 연속하여 계대배양하였다. M6와 M7 배지는 indirect 재분화에 이용한 것으로 감자조직을 14일간 캘러스 유기 배지에서 배양하여 캘러스를 유기시킨 다음 재

분화된 신초를 유기하기 위해 이용하였다. 형질전환 과정에는 table 2의 조성으로 조제된 배지들을 사용하였다. 또한 감자식물체의 기내유지 및 신초의 급속 증식을 위해 table 2의 배지들을 사용하였다. 형질전환된 *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404은 30±1°C에서 진탕 배양하였으며, 감자 식물체는 23±1°C에서 16시간 일장 조건으로 배양하였다.

### 감자의 재분화 및 형질전환

감자의 형질전환은 Visser 등 (1989)의 방법과 Joung 등 (1996)의 방법을 응용하여 수행하였다. 감자 조직의 재분화 조건 확립 및 형질전환 과정에 이용한 배지는 table 1과 2의 조성으로 조제된 것을 사용하였다. 감자 잎은 기내에서 증식시킨 어린 감자 식물체를 펄라이트에서 순화시킨 후 온실 내 수경 재배상에서 50일간 생육시킨 다음 채취하여 사용하였다. 채취한 잎은 Tween-20으로 계면활성화된 유효염소농도 0.5% (v/v)의 sodium hypochlorite (NaOCl) 용액으로 15분간 흔들면서 소독한 후 멸균수로 5~6회 세척하였다. 이때 모든 작업은 무균상에서 실시하며 이후 멸균한 여과지를 사용하여 소독된 잎의 수분을 제거하고 1 cm<sup>2</sup>의 크기로 절단하여 전배양 배지 (PPM)에 24시간 동안 배양하였다. 감자 줄기의 경우 무균상태의 기내 액체 진탕배양으로 급속 증식시킨 감자 식물체로

**Table 1.** Hormone composition of media for potato regeneration.

Medium	Callus culture (mg/L)					Shoot-inducing culture (mg/L)	
	BA	GA <sub>3</sub>	Zeatin	IAA	NAA	BA	GA <sub>3</sub>
M1 <sup>1</sup>	2.25	5					
M2 <sup>2</sup>	2.25	10					
M3 <sup>3</sup>	1	5	3				
M4 <sup>4</sup>			2	0.5			
M5 <sup>5</sup>		0.1	2		0.01		
M6 <sup>6</sup>	2.25				0.2		5
M7 <sup>7</sup>	2.25			0.17		2.25	5

<sup>1</sup>Visser et al. 1989, <sup>2</sup>Ooms et al. 1987, <sup>3</sup>Dobigny et al. 1995, <sup>4</sup>Sheerman and Bevan 1988, <sup>5</sup>Joung et al. 1996, <sup>6</sup>Carputo et al. 1995, <sup>7</sup>Ooms et al. 1987.

**Table 2.** Composition of media for potato transformation, sub-culture and multiplication culture.

Medium <sup>1</sup>	Composition of medium (mg/L)									Agar (g/L)
	BA	GA <sub>3</sub>	Zeatin	NAA	2,4-D	CaCl <sub>2</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	kanamycin	carbenicillin	
PPM	10			10						
PCM					2	147	80			8
PSM		0.1	2	0.01				50	500	8
SUM								50	500	8
MUM		0.1								

<sup>1</sup>Except MUM, all the media contains the 1×MS salt with 1×vitamin mixture and 30 g/L sucrose. The MUM contains 2×MS salt with 1×vitamin mixture and 30 g/L sucrose. PPM, potato pre-culture media; PCM, potato co-culture media; PSM, potato selection media; SUM, subculture media; MUM, multiplication media.

부터 절취하여 사용하였다. 사용된 줄기는 결눈을 포함하지 않은 절간부위를 약 0.5 cm의 길이로 절단하여 사용하였다. 멸균된 감자 조직을 형질전환용 운반체 pBI121 (Clontech, USA)로 형질전환된 *Agrobacterium*으로 10분간 감염시켰다. 이때 감자의 형질전환효율에 미치는 페놀 화합물 acetosyringone의 효과를 조사하기 위하여 처리별로 각각 0, 25, 50, 75과 100  $\mu$ M씩 첨가하였다. *Agrobacterium* 감염을 시킨 감자 조직 절편들은 공동배양 배지 (PCM)에서 48시간 동안 배양한 후 선발배지 (PSM)에 옮겼다. 재분화된 싌초들은 kanamycin이 첨가된 선발배지에 배양하여 생존하는 것들을 선발하였다. 선발된 싌초들은 0.1 mg/L GA<sub>3</sub> 호르몬이 첨가된 액체증식배지 (MUM)에 옮겨서 120 rpm 진탕 배양기에서 증식시켰다. 액체증식배지에서 증식된 감자 싌초들은 호르몬이 없는 MS 고체배지에서 발근시켰으며, 뿌리가 발생된 후 멸균된 펄라이트에서 묘를 순화시킨 다음 멸균된 비미큘라이트와 펄라이트를 1:1로 혼합시킨 포트에 심어 온실에서 순화시켰다.

#### 선발된 형질전환 감자의 분석

감자 잎으로부터 total DNA 분리는 Teresa 등 (1995)이 이용한 방법을 다소 변형하여 수행하였다. 약 0.1 g의 어린 감자 잎 조직을 1.5 mL micro centrifuge tube에 넣고 -80°C 초저온 냉동고에서 동결시킨 다음 일회용 tissue grinder로 조직을 파쇄하였다. 이후 0.7 mL의 감자 DNA 추출용 완충용액 [DNA extraction buffer (0.35 M sorbitol, 0.1 M Tris base, 5 mM EDTA (pH 7.5) : nuclei lysis buffer (0.2 M Tris base, 50 mM EDTA, 2 M NaCl, 2% (w/v) CTAB : 5% (w/v) sarkosyl = 2.5 : 2.5 : 1)]을 가하여 잘 섞은 다음 65°C 수조에서 60분간 반응시켰다. 이후 0.7 mL의 chloroform: isoamyl alcohol (24 : 1)을 채워 vortex 한 다음 10,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상층액의 투명한 부분을 회수하여 2/3배의 isopropanol을 가하여 침전된 DNA를 회수하였다. 회수된 DNA는 RNase를 처

리하고 정량한뒤 농도를 200 ng/ $\mu$ L로 맞춘 후 PCR 반응의 주형으로 이용하였다. 선발된 감자의 형질전환 여부를 확인하기 위해 항생제 저항성 선발 마커인 NPT II 유전자에 특이적인 2개의 primer sets (5'-CTGAATGAAGTGCAGGACGAGG-3'와 5'-GCCAACGCTATGTCCTGATAGC-3')를 사용하였다. PCR 증폭반응은 94°C에서 5분간 pre-denaturation한 후 94°C에서 20초간 denature, 50°C에서 20초간 annealing, 그리고 72°C에서 1분간 expansion하여 45 cycle 처리하였고, 마지막으로 72°C에서 5분간 full extension시켰다. 이후 1.2% (w/v) agarose gel에서 전기 영동하고 사진으로 기록하였다.

형질전환 감자조직의 GUS activity는 선발배지 (PSM)에서 재분화된 식물체의 잎, 줄기를 면도날을 이용하여 작은 크기로 절단한 조직을 이용하였다. 절단된 조직은 0.3% (v/v) formaldehyde, 10 mM MES (pH 5.6), 0.3 M mannitol을 포함한 고정용액으로 2시간 동안 고정시키고, 2.0 mM의 X-gluc을 포함한 50 mM NaPO<sub>4</sub> (pH 7.0)에 37°C에서 14시간 동안 염색하였다. 염색된 조직은 50% (v/v), 75% (v/v), 100% (v/v) 에탄올에 각각 3시간씩 탈색시킨 후 조직을 절단하여 현미경으로 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

### 품종별 싌초형성에 미치는 호르몬 조성의 영향

온실에서 8주 동안 재배한 감자식물체에서 잘라낸 잎으로부터 1 cm<sup>2</sup> 크기의 조직을 잘라내어 호르몬 조성을 달리한 배지 (Table 1)에 치상한 다음 싌초형성 정도를 조사하였다 (Table 3). Plate 당 10~20 절편의 조직을 치상하여 계대배양 과정에서 오염되지 않은 최소 10 plate를 조사하여 재분화율을 평가하였으며, plate별로 치상된 조직과 재분화된 조직의 비율을 전수 조사하여 평균하였다. 잎 조직에서 가장 높은 싌

**Table 3.** Shoot formation efficiency of the leaf discs and internodal tissues.

Tissue <sup>1</sup>	Variety	Rates of shoot formation (%)						
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Leaf	Chubak	0	0	0	0	0	0	0
	Namsuh	0	0	0	0	5.3±2.0	0	0
	Jasim	0	0	0	3.3±0.9	21.8±3.1	0	0
	Jopung	0	0	0	0	0	0	0
	Jowon	15.9±2.3	29.7±3.4	28.8±2.9	22.7±2.7	93.8±7.8	0	0
Inter-node	Chubak	0	0	0	0	1.7±0.5	29.3±5.8	1.7±0.7
	Namsuh	0	0	0	0	25.9±5.5	0	0
	Jasim	0	0	8.3±2.3	0	23.6±4.7	0	0
	Jopung	32.1±4.5	21.9±3.7	12.9±2.1	53.6±6.8	70.3±7.9	18.6±3.7	54.6±5.7
	Jowon	0	0	0	3.3±1.1	6.3±1.3	22.6±4.7	19.4±3.8

<sup>1</sup>Used leaf discs were excised from young and full-expanded potato leaves grown for seven to eight weeks in green house and the internodal tissues were excised from *in vitro* cultures.

초형성률을 보인 품종은 '조원'으로, 특히 GA<sub>3</sub> 0.1 mg/L, Zeatin 2 mg/L와 NAA 0.1 mg/L가 포함된 배지 (M5)에서 90% 이상의 신초형성률을 나타내었다. 특히하게도 다른 품종에서 채취한 잎조직으로부터는 모든 배지에서 20% 미만이거나 거의 신초가 형성되지 않는 결과를 나타내어 품종별로 상당한 차이를 나타냄을 알 수 있었다. 반면에 줄기조직의 경우 '조풍'이 가장 높은 신초형성률을 나타내었으며 (10~70%), 배지별로는 역시 M5배지에서 가장 높은 신초형성률 (70%)을 나타내었다 (Table 3). 그러나 잎조직을 사용한 M5배지에서 90% 이상의 신초형성효율을 나타낸 '조원'은 줄기조직의 경우 6%의 신초형성을 나타내었으며 '조풍'은 줄기에서 70%의 효율을 보였으나, 잎조직에서는 거의 신초형성이 되지 않는 것으로 나타나 대조적인 결과를 나타내었다.

따라서 본 연구에 사용한 5품종 중 잎은 '조원', 줄기는 '조풍'을 이용하여 금후 형질전환연구에 사용하여야 할 것으로 판단되었다. 특히, 엽록체 형질전환을 할 경우에는 훨씬 많은 엽록체를 포함하고 있는 잎 조직을 이용하는 것이 줄기 조직을 이용하는 것보다 유리하므로 '조원'의 잎 조직을 이용하는 것이 효율적일 것으로 생각된다. 이러한 결과는 많은 연구자들이 이미 지적한 사실과 일치하는 것으로, BF15 품종의 줄기조직은 5.5%, Fanette 품종의 줄기조직은 20.7%의 신초형성률을 보고한 결과 (Dobigny et al. 1996)와 일치한다. 감자의 여러 조직 (잎, 줄기, 괴경 등)으로부터 식물체를 재분화시키는 기술은 이미 1970년대부터 여러 연구자들을 통해 연구되어 왔다 (Binding et al. 1978; Bragod-Aas 1977; Shepard and Totten 1977). 감자의 괴경 조직을 사용한 Sheerman과 Bevan의 경우 (1988), 'Maris peper', 'Maris Bard' 품종은 0%의 신초형성률을 나타낸 반면, 'Desiree'와 'Pentland Dell'은 100%의 신초형성률을 나타내었다고 보고한 바 있다. 이는 품종별로 다른 재분화 조건이 필요하고 감자의 genotype에 따

라 다른 기내배양 및 재분화조건이 필요하다는 것을 의미한다.

Acetosyringone 농도가 감자의 형질전환효율에 미치는 영향

품종별로 최적 형질전환조건을 규명하고자 잎 및 줄기조직에서 가장 높은 신초형성률을 보였던 M5배지를 사용하여 품종별로 형질전환을 수행하였다. 형질전환 효율을 확인하기 위하여 vector pBI121로 형질전환된 *A. tumefaciens* LBA 4404와 공동배양을 한 다음 kanamycin 50 mg/L가 첨가된 M5 배지에서 6~8주간 연속하여 계대배양을 하여 재분화된 신초들을 분석하여 형질전환효율을 조사하였다. 이때 *Agrobacterium*과 공존배양하지 않은 조직의 경우 kanamycin 50 mg/L이 포함된 배지에서 조직이 괴사하는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 2). 재분화된 신초들은 온실에서 순화시킨 후 PCR을 이용한 1차 screening을 통해 형질전환 여부를 확인하였으며 (Figure 3), PCR로 형질전환 여부를 일차 screening 한 일부 개체들의 GUS staining을 통해서도 형질전환 여부를 확인하였다 (Figure 4).

M5배지의 경우 캘러스 형성 과정이 없이 신초가 유기되는데 감자조직으로부터 직접 신초를 유기하는 과정으로 형질전환하는 경우 캘러스 배양단계에서 일어날 수 있는 체세포변이 가능성이 적어 보다 유리하다는 보고들 (Horsch et al. 1985; Sheerman et al. 1988; Stiekema et al. 1988)이 있다. 재분화 배지로 가장 유리한 것으로 확인된 M5배지는 이러한 점에서 유리할 것으로 판단된다.

*Agrobacterium* 접종과정에 일정한 농도 (0~100 μM)의 acetosyringone을 첨가할 경우 형질전환율이 높아진다는 보고들이 많이 있다 (Chen and Winans 1991; Shimoda et al. 1990). 각 품종에서 acetosyringone 처리농도별로 후보 형질전환체를 조사한 결과, 잎조직과 줄기조직을 사용한 모든 품종에서 75

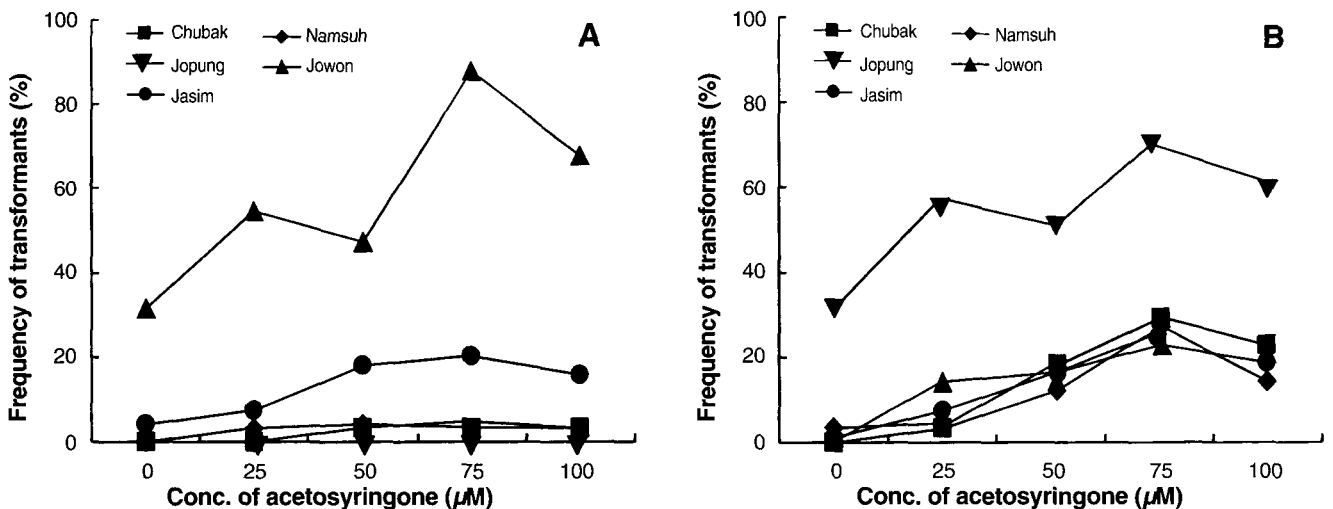
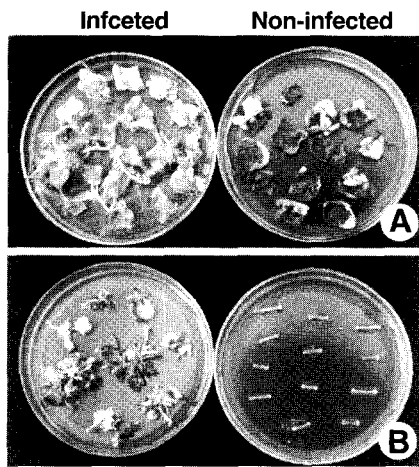
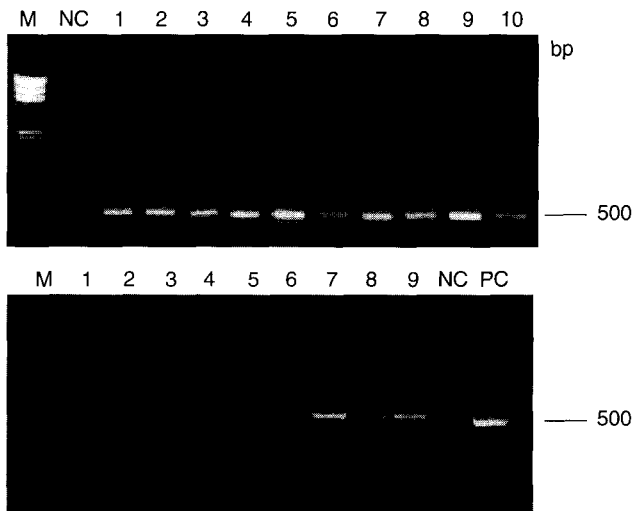


Figure 1. Effect of acetosyringone on *Agrobacterium*-mediated transformation of leaf tissues (A) and internodal stem cuts (B) from five potato varieties bred in Korea.

μM의 acetosyringone을 사용하였을 때 가장 높은 형질전환율을 나타내었다 (Figure 1). *Agrobacterium*을 이용한 식물체 형질전환 과정에 acetosyringone을 처리할 경우 약 3배 이상 효율이 증가한다는 여러 연구결과들이 보고 (Hiei et al. 1994; Ishida et al. 1996; Sheikholeslam et al. 1987)된 바 있는데, 이는 일반적으로 *Agrobacterium*이 식물에 감염되면 평상시에는 발현이 되지 않는 *vir* (virulence)유전자가 식물세포로부터 세포 외로 방출되어지는 acetosyringone에 의하여 유도적으로 발현이 된다는 사실에 기인하는 것으로 알려져 있다 (Engstrom et al. 1987; Mathews et al. 1990).



**Figure 2.** Regeneration of putative transformants from the selection media containing kanamycin 50 mg/L after *Agrobacterium* infection A, Putative transformants of 'Jowon' transformants regenerated from leaf tissues; B, Putative transformants of 'Jopung' regenerated from internodal stem tissues.

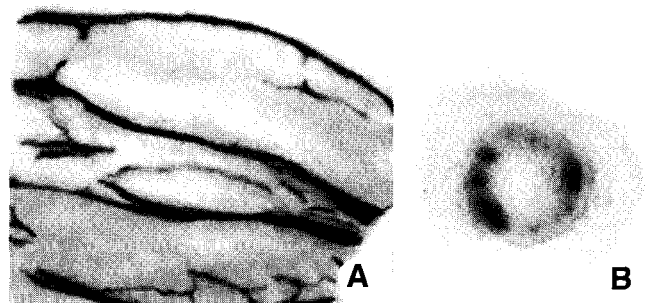


**Figure 3.** PCR detection of NPT II selective marker in putative transgenic potato by using the NPT II specific primers. M,  $\lambda$ HindIII; NC, DNA from control potato plant; PC, vector pBI121 as a positive control; 1~10 putative transformants selected from potato selection media (PSM).

품종별로 잎 조직을 이용한 경우에는 '조원'이 87.9%로서 가장 높은 효율을 나타내었으며, 줄기 조직의 경우에는 '조풍'이 68.4%로 가장 높은 효율을 보였다. 잎 조직으로부터 형질전환효율을 조사한 결과를 품종별로 비교하여 보면 '추백'과 '조풍'의 경우 선발배지에서 전혀 재분화되지 않아 형질전환체를 얻지 못하였으며, '자심'과 '남서'의 경우도 최고 20%를 넘지 못하는 저조한 형질전환효율을 나타내었다. 그러나 '조원'의 경우 최대 90%에 가까운 높은 효율을 나타내었다 (Figure 1A). 이러한 결과는 감자의 형질전환에 있어서 품종의 선택이 매우 중요하다는 것을 의미하는 것으로, 이러한 점은 이미 여러 연구자들에 의하여 밝혀진 사실과 일치한다 (Sheerman and Bevan 1988; Sung et al. 1994; Visser 1989). 줄기의 경우는 잎조직에 비하여 품종간 차이가 적게 나타났으나 75 μM의 acetosyringone을 포함한 배지에서 최대치인 '조풍' 68.4%와 최저치인 '조원' 20.4%를 비교하면 약 48% 정도의 차이를 나타내어서 역시 품종별로 상당한 차이를 보인다는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 1B).

후보 형질전환체로 선발된 대부분의 개체들은 NPTII 유전자에 특이적인 primer를 이용한 PCR 결과 약 500 bp의 특이 밴드를 확인할 수 있었으며 (Figure 3), NPTII 유전자 도입을 확인한 형질전환 개체들은 GUS staining을 통해서도 형질전환 여부를 확인할 수 있었다 (Figure 4).

최근까지 감자를 재료로 국내에서 이루어진 형질전환 연구는 많이 보고되고 있으나 (Youm et al. 2002; Sung et al. 1994; Jung et al. 1996; Choi et al. 1996) 극히 일부 품종에 제한되고 있고 품종별로 다르게 나타날 수 있는 감자의 재분화 조건이나 형질전환 조건을 규명한 보고는 확인되지 않고 있다. 국내 외에서 형질전환 연구재료로 많이 이용되고 있는 'Desiree' 'Superior'와 'Russet Burbank' 같은 일부 품종의 경우 재분화나 형질전환 효율이 다른 감자 품종에 비해 것으로 알려져 있지만 (Choi et al. 1996), 대부분 외국품종 것들로 국내에서 육성되어 보급되고 있는 장려품종 감자에 형질전환하는 것이 보다 바람직 할 것으로 판단되며, 감자의 경우 형질전환체의 유전적 고정과정을 거치지 않아도 되므로 개발 이후 실용화



**Figure 4.** Histochemical analysis of GUS activity in transgenic potato tissues after *in situ* staining. Leaf (A) and stem (B) tissues were squashed and were cross-sectioned respectively for observation of GUS activity.

를 고려한다면 우리나라에서 재배가 가능한 품종을 재료로 이용하는 것이 유리할 것으로 판단된다.

## 적 요

국내에서 육종된 감자 품종들에 대하여 재분화 및 형질전환 효율에 영향을 미치는 여러 요인들을 조사하고 품종별 최적 조건을 규명하고자 하였다. 최근 육종된 5품종 '추백', '남서', '자심', '조풍'과 '조원'의 잎과 줄기 조직을 재료로 사용하여 배지 내 호르몬 조성별 신초형성률을 조사하였다. 신초형성률은 잎 조직의 경우 '조원'이 GA<sub>3</sub> 0.1 mg/L, Zeatin 2.0 mg/L과 NAA 0.01 mg/L가 포함된 M5 배지에서 90% 이상으로 가장 높은 반면 다른 공시품종은 20% 미만이었으며 줄기 조직을 치상한 경우 '조풍'이 M5 배지에서 70%의 신초형성률을 나타내었으나, 다른 품종은 25% 이하의 신초형성률을 나타내어 품종별, 조직별로 큰 차이를 나타내었다. 감자의 형질전환 시 *Agrobacterium* 접종과정에서 75 μM의 acetosyringone을 처리한 경우 잎 조직은 '조원'이 87.9%, 줄기 조직은 '조풍'이 68.4%로 높은 형질전환효율을 나타내어 acetosyringone을 처리하지 않은 대조구에 비하여 1.5~4.0배의 높은 형질전환효율을 나타냈다.

사사 - 본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업 연구 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사를 드립니다.

## 인용문헌

- An G, Ebert PR, Mitra A, Ha SB (1988) Binary Vectors. In: Gelvin SB, Schilperoort RA, Verma DPS, Plant Molecular Biology Manual. Kluwer Academic Publisher, Boston, PMAN-A3: 1-19
- Binding H, Nehls R, Schieder O, Sopory SK, Wenzel G (1978) Regeneration of mesophyll protoplasts isolated from dihaploid clones of *Solanum tuberosum*. *Physiol Plant* 43: 52-54
- Bradshaw JE, Mackey GR (1994) Potato Genetics. CAB International. Wallingford
- Bragod-Aas M (1977) Regeneration of plants from callus of potato tubers. *Acta Hort* 78: 133-137
- Carputo D, Cardi T, Chiari T, Ferraiolo G, Frusciante L (1995) Tissue culture response in various wild and cultivated *Solanum* germplasm accession for exploitation in potato breeding. *Plant Cell Tiss Org Cult* 41: 151-158
- Chen CY, Winans SC (1991) Controlled expression of the transcriptional activator gene *virG* in *Agrobacterium tumefaciens* by the *Escherichia coli* lac promoter. *J Bacteriol* 173: 1139-1144
- Choi KH, Jeon JH, Kim HS, Joung YH, Yang DC, Joung H (1996) An effective method for the selection of transgenic potato using mouse adenosine deaminase gene. *Korean J Plant tissue culture* 23: 97-101
- D'Amato F (1975) The problem of genetic stability in plant tissue and cell cultures. *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*. Cambridge Univ Press. pp 333-348
- De Block M (1988) Genotype-independent leaf disc transformation of potato (*Solanum tuberosum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Theor Appl Genet* 76: 767-774
- Dobigny A, Tizroutine S, Gaisne C, Haicour R, Rossignol L, Ducreux G, Sihachakr D (1996) Direct regeneration of transformed plants from stem fragment of potato inoculated with *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 45: 115-121
- Dobigny A, Ambroise A, Haicour R, David C, Rossignol L, Sihachakr D (1995) Transformation of potato using mannopine and cucumopine strains of *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 40: 225-230
- Engstrom P, Zambryski P, Van Montague M, Stachel S (1987) Characterization of *Agrobacterium tumefaciens* virulence protein induced by the plant factor acetosyringone. *J Mol Biol* 197: 635-645
- Ghislain M, Querci M, Bonierbale M, Golmirzaie R, Nels R (1997) Biotechnology and the potato. CIP, Peru. Lima
- Hiei Y, Ohta S, Komari T, Kumashiro T (1994) Efficient transformation of rice (*Oryza sativa* L.) mediated by *Agrobacterium* and sequence analysis of the boundaries of the T-DNA. *Plant J* 6: 271-282
- Horsch RB, Fry JE, Hoffmann NL, Wallroth M, Eichholtz D, Rogers SG, Fraley RT (1985) A simple and general method for transferring genes into plants. *Science* 27: 1229-1231
- Ishida Y, Saito H, Ohta S, Hiei Y, Komari T, Kumashiro T (1996) High efficiency transformation of maize mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Nature Biotech* 14: 745-750
- Joung YH, Jeon JH, Choi KH, Kim HS, Joung H (1996) Transformation of potato leafroll virus coat protein gene into potato. *Korean J Plant Tiss Cult* 23: 77-81
- Mathews H, Bharathan N, Litz RB, Narayanan KR, Rao PS, Bhatla CR (1990) The promotion of *Agrobacterium* mediated transformation in *Atropa belladonna* L. by acetosyringone. *J Plant Physiol* 136: 404-409
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497
- Ooms G, Burrell MM, Karp A, Bevan M, Hille J (1987) Genetic transformation in two potato cultivars with T-DNA from disarmed *Agrobacterium*. *Theor Appl Genet* 73: 744-750
- Ross H (1958) Virus resistance of the potato. *European Potato J* 1: 1-19
- Sheerman S, Bevan MW (1988) A rapid transformation method for *Solanum tuberosum* using binary *Agrobacterium tumefaciens*

- vectors. *Plant Cell Rep* 7: 13-16
- Shepard JF, Totten RE (1977) Mesophyll cell protoplasts of potato. Isolation, proliferation, and plant regeneration. *Plant Physiol* 60: 313-316
- Sheikholeslam SN, Weeks DP (1987) Acetosyringone promotes high efficiency transformation of *Arabidopsis thaliana* explants by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Mol Biol* 8: 291-298
- Shimoda N, Yamamoto T, Nagamine J, Usami S, Katayama M, Sakagami Y, Machida Y (1990) Control of expression of *Agrobacterium vir* genes by synergistic actions of phenolic signal molecules and monosaccharides. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6684-6688
- Stiekema WJ, Heidekamp F, Louwerse JD, Verhoeven HA, Dijkhuis P (1988) Introduction of foreign genes into potato cultivars Bintje and Desiree using an *Agrobacterium tumefaciens* binary vector. *Plant Cell Rep* 7: 47-50
- Sung SK, Choi SB, Jeon, JS, Park MC, Lee KW (1994) Expression patterns of CaMV 35S promoter-GUS in transgenic potatoes and their clonal progenies. *J Plant Biol* 37: 17-25
- Teresa MF, Julapark C, Tanksley SD (1995) Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Plant Mol Biol Rep* 13: 207-209
- Visser RGF, Jacobsen E, Hesselting-Meinders A, Schans MJ, Witholt B, Feenstra WJ (1989) Transformation of homozygous diploid potato with an *Agrobacterium tumefaciens* binary vector system by adventitious shoot regeneration on leaf and stem segments. *Plant Mol Biol* 12: 329-337
- Yuom JW, Jeon JH, Jung JY, Lee BC, Kang WJ, Kim MS, Kim CJ, Joung H, Kim HS (2002) Introduction of VP6 gene into potato plant by *Agrobacterium*-mediated transformation and analysis of VP6 expression in transgenic potatoes. *Korean J Plant Biotech* 29: 93-98

(접수일자 2003년 2월 13일, 수리일자 2003년 2월 19일)