

## 고구마에서 ADP-Glucose Pyrophosphorylase Small Subunit cDNA의 Antisense 발현에 의한 전분생합성 저해

민성란<sup>1</sup>, 배정명<sup>2</sup>, 한지학<sup>3</sup>, 정원중<sup>1</sup>, 이영복<sup>4</sup>, 유장렬<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국생명공학연구원 식물유전체연구센터, <sup>2</sup>고려대 생명공학원,  
<sup>3</sup>(주)농우바이오 생명공학연구소, <sup>4</sup>충남대 농업생명과학대학 원예학과

### Inhibition of Starch Biosynthesis by Antisense Expression of cDNAs Encoding ADP-Glucose Pyrophosphorylase Small Subunit in Sweetpotato

Sung Ran Min<sup>1</sup>, Jung Myung Bae<sup>2</sup>, Chee Hark Harn<sup>3</sup>, Won Joong Jeong<sup>1</sup>, Young Bok Lee<sup>4</sup>, and Jang Ryol Liu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Plant Genome Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Daejeon 305-806, Korea

<sup>2</sup>School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

<sup>3</sup>Biotechnology Institute, Nongwoo Bio Co., Ltd., Yeosu 469-885, Korea

<sup>4</sup>Dept. of Horticulture, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**ABSTRACT** Embryogenic calluses derived from shoot apical meristem explants of sweetpotato were subjected to particle bombardment to generate transgenic plants for antisense expression of cDNAs encoding two different AGPase small subunit (*ibAGP1* and *ibAGP2*). Plants were generated via somatic embryogenesis. PCR and Southern analysis demonstrated that the incorporation of *ibAGP1* and *ibAGP2* into the genome in an antisense orientation. Immunoblot analysis confirmed reduced levels of AGPase small subunit in transgenic plant leaves. Plants with both *ibAGP1* and *ibAGP2* produced a lower level of the protein than plants with *ibAGP1* alone. Iodine test demonstrated that transgenic plant leaves and storage root accumulated reduced amounts of starch. Iodine staining of leaf tissues indicated that transgenic plants accumulated less amount of starch than control. In accordance with western blot analysis, plants with both *ibAGP1* and *ibAGP2* accumulated a lower amount of starch than plants with *ibAGP1* alone. Both transgenic plants exhibited a severely retarded growth, resulting in bare survival. It is suggested that disrupted expression of the gene encoding AGPase small subunit is lethal to the growth of sweetpotato contrast to other species including potato.

#### 서 론

고등식물의 ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase; EC 2.7.7.27)는 탄수화물대사의 중심적 위치에 있으며, sink-source

의 탄소분배를 결정하는 주요인자가 된다. 세포에서 전분생산을 조절하며 전분생합성 경로에 관여하여 glucose-1-phosphate와 ATP로부터 ADP-glucose와 pyrophosphate를 생성하는 반응을 촉매한다. 고등식물에서 AGPase는 2개의 small subunit과 2개의 large subunit으로 구성된 heterotetramer로 존재한다. 식물의 엽록체와 전분체에 존재하는 이 효소는 3-phosphoglycerate (3-PGA)에 의해 반응이 촉진되고 pyrophosphate (PPi) (inhi-

\*Corresponding author Tel 042-860-4430 Fax 042-860-4608

E-mail: jrliu@kribb.re.kr

bitor)에 의해 저해를 받는 allosteric 속성 (Ghosh and Preiss 1966, Outlaw and Tarczynski 1984, Plaxton and Preiss 1987)으로 이들 조절인자의 비에 따라 전분합성 양을 조절하는 효소로 알려져 있다 (Preiss 1991). 이들 조절인자를 변화시켜 전분의 양을 조절하고자 감자, 옥수수, 밀, 벼 등과 같은 전분 축적 작물에서 시도되었고 (Müller-Röber et al. 1992, Stark et al. 1992, Giroux et al. 1996, Smidansky et al. 2002, 2003), AGPase small subunit에 해당하는 유전자들이 옥수수, 콩, 고구마 및 들깨 등에서 클로닝 되었다 (Giroux and Hannah 1994, Prioul et al. 1994, Weber et al. 1995, Bae and Liu 1997, Choi et al. 2001).

고구마는 세계 7대작물로 아시아지역에서는 탄수화물의 주된 공급원이며 에탄올 등과 같은 연료생산의 주요한 대체 에너지원으로 이용되고 있다. 고구마 형질전환은 particle bombardment (Prakash and Varadarajan 1992, Min et al. 1998)와 *Agrobacterium*를 이용한 방법 (Otani et al. 1993, 1998, Newell et al. 1995, Gama et al. 1996, Lim et al. 2004)이 보고되었다. 본 연구에서는 고구마의 AGPase small subunit 유전자를 antisense-RNA 기법으로 도입된 식물발현 벡터를 이용하여 particle bombardment 방법으로 고구마에 형질전환 시킨 후 형질전환체에서 전분 생합성이 조절되는지를 알아보고자 수행하였다.

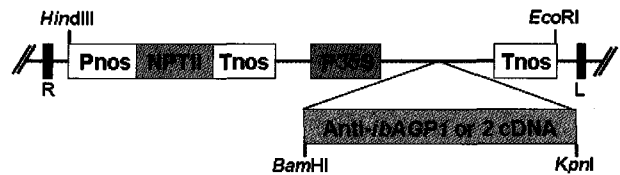
## 재료 및 방법

### 식물재료 및 Particle Bombardment

국내품종 고구마 (*Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Yulmi)의 정단 분열조직 유래 배발생 캘러스 (Liu et al. 1989, Min et al. 1994)를 particle bombardment 재료로 이용하였다. 고구마 AGPase small subunit cDNA [*ibAGP1* (*sTL1*) or *ibAGP2* (*sTL2*): Bae and Liu 1997]를 CaMV 35S promoter와 neomycin phosphotransferase (NPTII) 유전자가 선발표지로 되어있는 pMBP1 binary vector (Figure 1)의 *Bam*HI-*Kpn*I 위치에 antisense 방향으로 삽입시킨 후 Min 등 (1998)의 방법에 따라 두 플라스미드 *ibAGP1*, *ibAGP2*을 섞어서 particle bombardment를 수행하였다.

### 형질전환체 생산

1 mg/L 2,4-D와 100 mg/L kanamycin을 첨가한 선발배지에



**Figure 1.** A partial map of the plant expression vector, *pMBP1-ibAGP1* or *pMBP1-ibAGP2*. Both cDNAs were inserted in an antisense orientation. P35S: Cauliflower mosaic virus 35S promoter; Pnos and Tnos: Nopaline synthase promoter and terminator sequences, respectively; NPTII: Neomycin phosphotransferase II; L and R: T-DNA left and right borders, respectively.

서 배양된 배발생 캘러스로부터 체세포배 및 식물체로 재분화시키기 위하여 100 mg/L kanamycin을 첨가한 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지에 옮겨 25°C, 약 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ 의 cool-white 형광, 16시간 광주기 조건에서 배양하였다. 재분화 식물체는 토양으로 옮겨 순화처리를 거친 후 생육상에서 키웠다.

### 형질전환체 분석

기내 및 토양에서 생육중인 고구마 잎으로부터 Asemota (1995)의 방법으로 genomic DNA를 분리하였다. *ibAGP1* 또는 *ibAGP2* specific primer를 이용하여 변성 (94°C, 1분), annealing (55°C, 1분), 및 extension (72°C, 1분) 과정으로 30회 PCR을 수행하였다. PCR에 사용된 *ibAGP* specific primer는 다음과 같다.

*ibAGP1* primer: 5'-GTCCGCAGAGAGCTC-3'

5'-AGTCTCTCAAACGGC-3'

*ibAGP2* primer: 5'-CGATCGAAGAGAGAG-3'

5'-CATGTTACTTGCATATGCCC-3'

Southern 분석을 위해 약 30  $\mu\text{g}$  DNA를 제한효소 *Bam*HI과 *Xho*I으로 처리하여 0.8% agarose gel에 전기영동한 후 capillary transfer 방법 (Southern 1975)으로 Zeta-Probe membrane (Bio-Rad)에 전이시켰다. Membrane은 prehybridization (1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1 M  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ , 7% SDS, 1 mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ )용액에 2시간 (60°C) prehybridization 한 다음 [ $\alpha$ - $^{32}\text{P}$ ] dCTP로 표지된 *ibAGP1* specific DNA를 첨가하여 약 16시간 hybridization하였다. Membrane은 1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1 M  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ , 1% SDS, 1 mM  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ 으로 10분 세척한 후 X-ray 필름에 노출시켰다. 형질전환고구마 잎 0.3 g을 10 mM DTT를 포함한 80 mM Hepes buffer (pH 7.4)에서 마쇄하여 11,000 rpm (4°C), 10분 동안 원심분

리하여 단백질을 추출하였다. 50 µg의 단백질을 끓는 물에서 변성시킨 후 10% polyacrylamide gel에서 전기영동 (Laemmli 1970)시키고 PVDF nylon membrane (Millipore Co.)에 고정시켰다 (Towbin et al. 1979). 이 후 membrane을 1% BSA와 TBS 10 mM Tris-HCl (pH 7.4) 및 0.15 M NaCl이 첨가된 blocking solution에 2시간 동안 담근 후 감자 괴경 유래의 AGPase small subunit 항체와 함께 1시간 동안 반응하였다. Membrane을 TBS buffer로 3번 씻은 후 1시간 동안 horseradish peroxidase-conjugated donkey anti-rabbit IgG (Bio-Rad)가 첨가된 용액에 담근 후 TBS 완충용액으로 세척하고 ECL Plus Kits (Amersham Pharmacia Co.)를 이용하여 detection 하였다.

**전분염색**

형질전환체의 전분염색을 위하여 70% 에탄올로 클로로필을 제거한 잎과 괴근 절편체를 Lugol's 용액 (2 g KI, 1 g I<sub>2</sub>/300 mL)에 담가 염색한 후 증류수로 세척한 다음 관찰하였다.

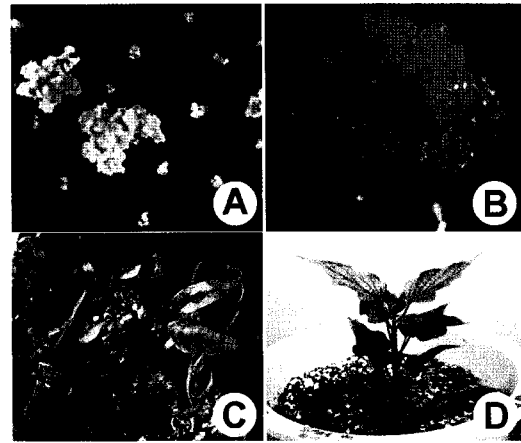
**결 과**

**Kanamycin 저항성 캘러스로부터 식물체 재분화 및 재분화체의 특성**

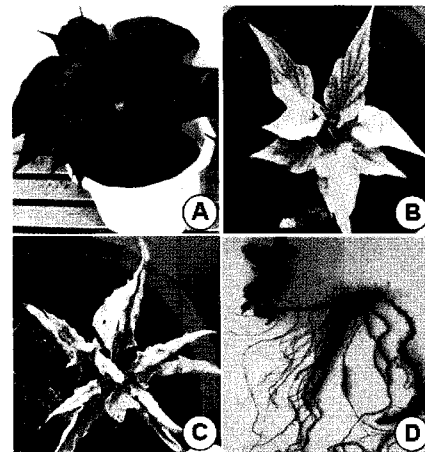
선발배지에서 형성된 배발생 캘러스 (Figure 2A)로부터 체세포배발생 과정을 거쳐 식물체로 재분화되었고 (Figure 2B-C) 토양으로 옮겨 생육상에서 키웠다 (Figure 2D). 고구마 형질전환체의 초기 생장은 대조구와 큰 차이가 없었으나 생육기간이 경과할수록 생장에 큰 차이를 보였는데 대조구 (Figure 3A)에 비해 형질전환체의 잎은 클로로필 형성이 잘 이루어지지 않고, 정아우세성이 감소하여 액아가 성장하는 개체들이 많았으며 특히, 절간이 짧아지고 잎 모양이 오그라지거나 다소 뾰족해지는 경향을 나타내었고 (Figure 3B-C) 대조구와는 달리 정상적인 생장이 이루어지지 않았으며 괴근 형성도 거의 이루어지지 않았다 (Figure 3D).

**형질전환체 분석**

선발배지에서 형성된 #2, #13의 배발생 캘러스로부터 체세포배발생을 거쳐 식물체로 재분화된 개체를 대상으로

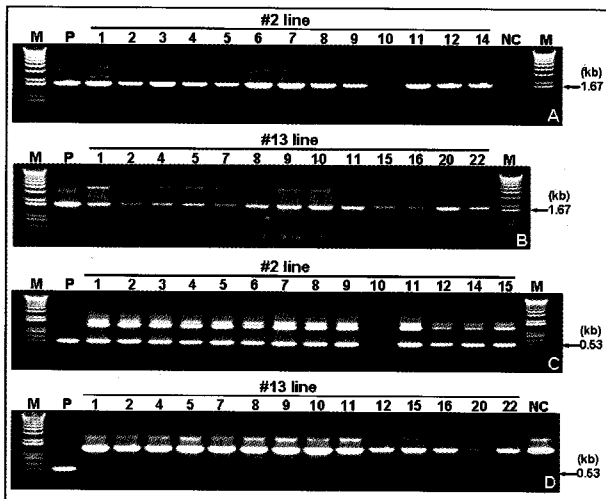


**Figure 2.** Plant regeneration through somatic embryogenesis from sweetpotato embryogenic calluses after particle bombardment. A: Embryogenic calluses on selection medium; B: Somatic embryos developed from embryogenic calluses; C: Plantlets developed from somatic embryos; D: Transgenic plant transplanted to potting soil.



**Figure 3.** Comparison of growth between nontransgenic and transgenic sweetpotato plants expressing AGPase small subunit. A: Nontransgenic plant; B-C: Transgenic plants; D: Storage root formation in transgenic plant.

*ibAGP1* 또는 *ibAGP2* specific primer를 이용하여 PCR을 수행하였다. 그 결과 #13번 라인 개체들은 약 1.67 kb 크기의 *ibAGP1* 유전자가 도입되었음을 확인하였고 (Figure 4B, D), #2 라인 개체들은 *ibAGP1*과 약 0.53 kb 크기의 *ibAGP2* 유전자가 동시에 들어 있음을 확인하였다 (Figure 4A, C). PCR로 유전자 도입이 확인된 개체로부터 염색체 DNA를 분리하여 제한효소 *Bam*HI과 *Ko* I으로 절단한 후 *ibAGP1* specific probe를 사용하여 Southern 분석을 실시하였다. 형질전환체에서는 대조구에서 보여 주는 바와 같이 고구마 자체의 내생 AGPase 밴드 이외에 또 다른 밴드가 형성되어 고구마 염

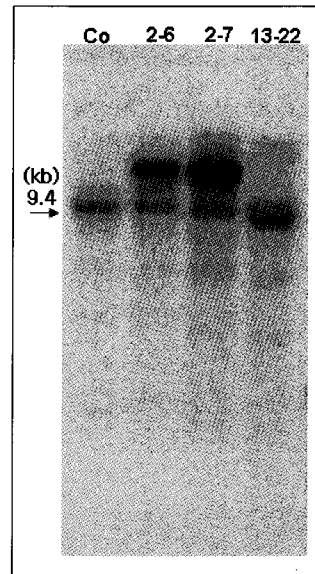


**Figure 4.** PCR products of the *ibAGP*-antisense transgenic sweetpotato plants. A and C are #2 line; and B and D are #13 line transgenic plants. *ibAGP1* specific primers were used in A and B; and *ibAGP2* specific primers were used in C and D. M: Molecular size marker; P: Positive control; NC: Nontransgenic sweetpotato.

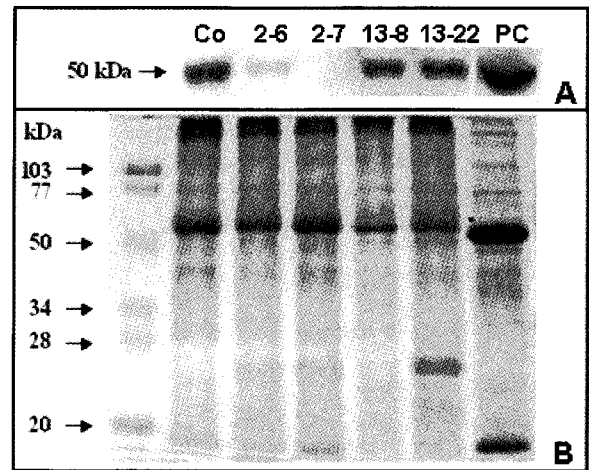
록체 게놈에 AGPase cDNA가 도입되었음을 확인할 수 있었다 (Figure 5). 2번과 13번 라인의 밴드 크기가 다른 것으로 보아 이 두 라인은 각각 고구마 게놈의 다른 위치에 *ibAGP1* antisense cDNA가 삽입되었음을 추정할 수 있다. 또한, 형질 전환 고구마 잎으로부터 단백질을 추출하여 변성시킨 후 10% polyacrylamide gel에서 전기영동 한 후 감자 껍질의 AGPase small subunit 항체와 hybridization 시켰을 때 50 kDa에 해당하는 밴드가 확인되었고 형질전환체의 AGPase small subunit 단백질 수준이 *ibAGP1*, *ibAGP2* 유전자가 동시에 들어 있는 2번 라인에서는 매우 감소하였으며, *ibAGP1*만 들어 있는 13번 라인에서도 대조구에 비해 상당량 감소하였음을 알 수 있었다 (Figure 6).

**형질전환체의 전분 염색**

형질전환 식물체 및 대조구의 잎과 괴근 조직을 요오드 용액에 담가 전분을 염색하였다. 예상한대로 대조구의 잎과 괴근에서는 전분이 강하게 염색이 된 반면 *ibAGP1*, *ibAGP2* 유전자가 동시에 들어 있는 2번 라인 형질전환체의 잎에서는 거의 전분염색이 이루어지지 않았고 *ibAGP1*만 들어 있는 13번 라인의 괴근과 잎에서는 부분적으로 전분이 염색되었다 (Figure 7). 한편, 2번 라인에서는 괴근의 형성이 일어나지 않아서 괴근에 대한 전분 염색을 실시할 수 없었다.



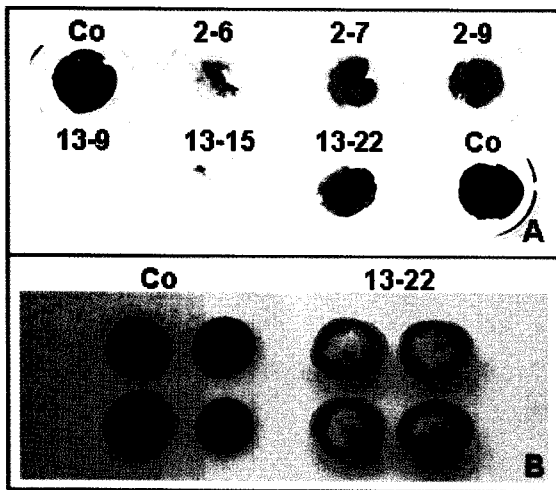
**Figure 5.** Southern blot analysis of *ibAGP*-antisense transgenic sweetpotato plants. Co: Nontransgenic plant; 2-6, 2-7: *ibAGP1* + *ibAGP2* transgenic plant; 13-22: *ibAGP1* transgenic plant.



**Figure 6.** Immunoblot analysis of *ibAGP*-antisense transgenic sweetpotato plants. Co: Nontransgenic; 2-6, 2-7: *ibAGP1* + *ibAGP2* transgenic; 13-8, 13-22: *ibAGP1* transgenic plants; PC: Nontransgenic potato leaf. Fifty microgram of each soluble protein was loaded on 10% SDS PAGE gel. A: Proteins were transferred onto PVDF membrane and cross-reacted with antibody raised against AGPase small subunit from potato tuber; B: Coomassie blue stained gel.

**고 찰**

AGPase는 고등식물에서 전분의 생합성을 조절하는 주요 효소로 source 조직에서 합성된 전분은 sucrose 형태로 다양한 저장조직에 전이되고 저장조직에 축적되기 위하여 전분



**Figure 7.** Iodine staining of the leaf (A) and storage root discs (B) from #2 (*ibAGP1+ibAGP2*) and #1 (*ibAGP1*) antisense transgenic sweetpotato.

형태로 전환되거나 식물의 성장과 발육에 필요한 탄수화물의 공급원으로 가수분해 된다. 이와 같이 AGPase 유전자를 과발현시키거나 억제시켜 전분 함량을 조절하려는 연구가 진행되었다. Inhibitor binding site가 돌연변이 된 *E. coli*의 AGPase를 과발현시킨 형질전환 담배, 감자 및 토마토에서는 AGPase 유전자의 높은 발현과 많은 양의 전분축적 (35%)이 이루어졌고 (Stark 1992), 감자 AGPase small subunit를 antisense 방향으로 감자에 형질전환 하였을 경우 전분함량이 줄고 당 함량이 증가된 결과를 얻었다 (Müller-Röber et al. 1992). 또한, 고구마 괴근 유래 heterologous AGPase mRNA를 담배에 과발현시켰을 때 내생 AGPase 유전자의 발현이 억제되어 결과적으로 전분입자가 없는 비정상적인 화분이 되기도 하였다 (Bae et al. 2001).

본 연구에서는 고구마 유래 *ibAGP1* 또는 *ibAGP2* 유전자가 antisense 방향으로 도입된 벡터 플라스미드를 섞어서 고구마의 배발생 캘러스에 particle bombardment 방법으로 형질전환을 수행하였다. 형질전환체의 PCR과 Southern 분석을 통해 고구마 계놈에 AGPase small subunit 유전자가 도입됨을 확인하였고 (Figure 4, 5), western blot과 전분염색을 통해 AGPase 효소활성이 저해되어 결과적으로 전분 함성이 감소됨을 알 수 있었다 (Figure 6, 7). 본 연구에 사용된 *ibAGP1*과 *ibAGP2*는 모두 AGPase small subunit 유전자이므로 형질전환 고구마내에 large subunit 유전자들은 정상적으로 발현하고 있으리라 추측할 수 있다. 따라서 13번 라인같이 *ibAGP1*만 knock-down된 개체에서는 또 다른 small subunit인 *ibAGP2*

가 정상적으로 발현되므로 어느 정도의 정상적인 효소를 만들 수 있을 것으로 사료된다. 그러므로 *ibAGP1* 유전자만 들어있는 13번 라인에 *ibAGP2* 유전자가 동시에 들어 있는 2번 라인에 비해 AGPase 효소생산과 전분합성이 부분적으로 저해되었다고 할 수 있다 (Figure 6, 7). 본 연구결과는 AGPase 유전자를 antisense로 blocking한 감자의 괴경에서는 AGPase 효소의 발현이 완전히 억제되었고 앞에서 부분적인 억제를 보였다는 결과와 유사한 경향을 보였다 (Müller-Röber et al. 1992).

AGPase 유전자를 형질전환 하였을 경우 표현형 (phenotype)에 크게 영향을 주었다는 보고는 없었으나 고구마의 AGPase small subunit가 과발현된 담배의 형질전환체 (Bae et al. 2001)에서는 전분입자가 거의 없는 비정상적인 화분 (pollen)을 형성하였다. 그러나 이 경우에도 외형적으로 볼 때 식물체의 표현형은 변하지 않았다. 본 연구에서는 고구마 유래 *ibAGP1* 유전자를 antisense로 도입한 형질전환체를 토양으로 옮겼을 때 초기 성장에 있어서는 대조구와 큰 차이가 없었으나 생육기간이 경과할수록 커다란 차이를 보여주었다 (Figure 3). 형질전환체의 경우 잎의 엽록소 형성이 부족하였고, 마디와 마디사이가 짧아지고 액아가 성장하거나, 잎이 오그라지고 다소 뾰족해지는 등 비정상적인 생장으로 (Figure 3B-C) 괴근 형성도 제대로 이루어지지 않았다 (Figure 3D). *ibAGP1*과 *ibAGP2* 두 개 유전자가 도입된 형질전환체에서는 이러한 생육차이가 더욱 컸으며 결과적으로 괴근도 얻을 수 없었다 (data not shown). 이와 유사한 경향은 감자 형질전환체에서도 나타났는데 잎 사이의 액아가 성장하고, 줄기 상부에 안토시아닌 색소가 다소 높게 축적되었으며, 개화 시기도 대조구에 비해 약간 빨라진 경향을 보여주었다 (Müller-Röber et al. 1992). 이와 같은 결과는 정상적인 AGPase의 활성이 저장조직의 전분 함성량 뿐만 아니라 식물의 정상적인 발달에도 영향을 미침을 시사한다. 전분 함성 양의 감소로 인한 성장 감소가 세포 신장과 세포 분열 중 어느 원인에 기인한 결과인지는 더 확인할 필요가 있으며, AGPase 활성이 세포 분열 혹은 세포신장에 어떻게 영향을 미치는지도 밝혀져야 한다.

한편, 최근 Kwak 등 (2007)은 담배 꽃받침에서 발현하는 AGPase small subunit의 발현을 억제시킨 결과 꽃잎 세포의 정상적인 expansion growth가 저해되어 꽃잎 모양이 변화하였다고 보고하였다. 이는 지금까지 집중적으로 규명되었던 식물 저장조직에서 전분생합성 양의 조절에 관여하는 AGPase

의 기능 외에 식물 발달에 관련된 다른 기능도 가지고 있음을 의미한다. 그러므로 식물 발달에 관련된 AGPase의 역할에 대해 향후 체계적인 연구가 필요하다.

결론적으로 *ibAGP1*, 2의 발현을 억제함으로써 고구마 내 전분 생합성을 감소시킬 수 있음을 보여주었는데 *ibAGP1* 유전자의 발현을 억제하는 것 보다 *ibAGP1*과 *ibAGP2*의 두 유전자의 발현을 동시에 억제하는 것이 전분 생합성을 더 효과적으로 감소시킬 수 있음을 확인하였다. 고구마의 경우 감자를 비롯한 다른 식물들과는 달리 외형적인 성장 자체를 심하게 저해하였으며 괴근이 형성되지 않아 *ibAGP1*, 2의 발현 여부가 식물체의 성장에 절대적인 영향을 미침을 시사한다.

## 적 요

고구마 유래 *ibAGP1*, *ibAGP2* 유전자가 antisense 방향으로 각각 도입된 벡터를 섞어서 particle bombardment 방법으로 고구마 배발생 캘러스에 형질전환을 수행하였다. 선발배지에서 형성된 배발생 캘러스로부터 체세포배발생 과정을 거쳐 식물체로 재분화된 개체에서 PCR과 Southern 분석으로 고구마의 염색체 게놈에 *ibAGP1*, *ibAGP2* 유전자가 도입되었음을 확인하였고, western blot을 통해 형질전환체의 AGPase small subunit 효소 생산이 전반적으로 대조구에 비해 감소하였다. 또한, 형질전환체의 잎과 괴근 절편체의 전분염색 결과에서도 대조구에 비해 부분적으로 전분염색이 이루어짐을 알 수 있었다. 특히, *ibAGP1*, *ibAGP2* 유전자가 동시에 들어 있는 식물체 잎에서는 *ibAGP1*만 들어있는 것에 비해 전분합성이 더욱 감소됨을 확인하였다. 고구마의 경우 감자를 비롯한 다른 식물들과는 달리 외형적인 성장 자체를 심하게 저해하였으며 괴근이 형성되지 않아 *ibAGP1*, 2의 발현 여부가 식물체의 성장에 절대적인 영향을 미침을 시사한다.

## 사 사

본 연구는 해양수산기술진흥원 해양 극한생물 분자유전체연구단 사업, 과학기술부 프론티어 작물유전체기능연구사업, 농촌진흥청 바이오그린21 사업, 과학재단 SRC 경희대 식물대사연구센터 및 한국생명공학연구원 기관고유사업의 지원으로 수행되었다.

## 인용문헌

- Asemota HN (1995) A fast, simple, and efficient miniscale method for the preparation of DNA from tissues of yam (*Dioscorea spp.*). *Plant Mol Biol Rep* 1: 19-21
- Bae JM, Liu JR (1997) Molecular cloning and characterization of two novel isoforms of the small subunit of ADP-glucose pyrophosphorylase from sweetpotato. *Mol Gen Genet* 254: 179-185
- Bae JM, Harn CH, Tae KH, Suh MC, Shin JS, Liu JR (2001) Partial male sterility induced in tobacco by overproduction of mRNA of sweetpotato small subunit ADP-glucose pyrophosphorylase. *J Plant Physiol* 158: 1273-1279
- Choi SB, Kim KH, Kavakli IH, Lee SK, Okita TW (2001) Transcriptional expression characterization and subcellular localization of ADP-glucose pyrophosphorylase in the oil plant *Perilla frutescens*. *Plant Cell Physiol* 42: 146-153
- Gama MICS, Leite Jr RP, Cordeiro AR, Cantliffe DJ (1996) Transgenic sweetpotato plants obtained by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 46: 237-244
- Ghosh HP, Preiss J (1966) Adenine diphosphate glucose pyrophosphorylase: a regulatory enzyme in the biosynthesis of starch in spinach leaf chloroplasts. *J Biol Chem* 241: 4491-4504
- Giroux MJ, Hannah LC (1994) ADPglucose pyrophosphorylase in *shrunken-2* and *brittle-2* mutants of maize. *Mol Gen Genet* 243: 400-408
- Giroux MJ, Shaw J, Barry G, Cobb BG, Greene T, Okita T, Hannah LC (1996) A single mutation that increases maize seed weight. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 5824-5829
- Kwak MS, Min SR, Lee SM, Kim KN, Liu JR, Paek KH, Shin JS, Bae JM (2007) A sepal-expressed ADP-glucose pyrophosphorylase gene (NtAGP) is required for petal expansion growth in 'Xanthi' tobacco. *Plant Physiol* 145: 277-289
- Laemmli V (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685
- Lim S, Yang KS, Kwon SY, Paek KY, Kwak SS, Lee HS (2004) *Agrobacterium*-mediated genetic transformation and plant regeneration of sweetpotato (*Ipomoea batatas*). *Korean J Plant Biotechnol* 31: 267-271
- Liu JR, Cantliffe DJ, Simonds SC, Yuan JF (1989) High frequency somatic embryogenesis from cultured shoot apical meristem dome of sweetpotato (*Ipomoea batatas*). *SABRAO J* 21: 93-101
- Min SR, Liu JR, Rho TH, Kim CH, Ju JI (1994) High frequency somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue culture of Korean cultivar sweetpotato. *Korean*

- J Plant Tiss Cult 21: 157-160
- Min SR, Jeong WJ, Lee YB, Liu JR (1998) Genetic transformation of sweetpotato by particle bombardment. Korean J Plant Tiss Cult 25: 329-333
- Müller-Röber B, Sonnewald U, Willmitzer L (1992) Inhibition of the ADP-glucose pyrophosphorylase in transgenic potatoes leads to sugar-storing tubers and influences tuber formation and expression of tuber storage protein genes. EMBO J 11: 1229-1238
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-497
- Newell CA, Lowe JM, Merryweather A, Rooke LM, Hamilton WDO (1995) Transformation of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) with *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of plants expressing cowpea trypsin inhibitor and snowdrop lectin. Plant Sci 107: 215-227
- Otani M, Mii M, Handa T, Kamada H, Shimada T (1993) Transformation of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) plants by *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Sci 94: 151-159
- Otani M, Shimada T, Kimura T, Saito A (1998) Transgenic plant production from embryogenic callus of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) using *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Biotechnol 15: 11-16
- Outlaw WC Jr, Tarczynski MC (1984) Guard cell starch biosynthesis regulated by effectors of ADP-glucose pyrophosphorylase. Plant Physiol 74: 424-429
- Plaxton WC, Preiss J (1987) Purification and properties of non-proteolytically degraded ADP-glucose pyrophosphorylase from maize endosperm. Plant Physiol 83:105-112
- Prakash CS, Varadarajan U (1992) Genetic transformation of sweetpotato by particle bombardment. Plant Cell Rep 11: 53-57
- Preiss J (1991) Biology and molecular biology of starch synthesis and its regulation. Oxford Surv Plant Mol Cell Biol 7: 59-114
- Prioul JL, Jeannette E, Reyss A, Gregory N, Giroux M, Hannah LC, Causse M (1994) Expression of ADPglucose pyrophosphorylase in maize (*Zea mays* L.) grain and source leaf during grain filling. Plant Physiol 104: 179-187
- Smidansky ED, Clancy M, Meyer FD, Lanning SP, Blake NK, Talbert LE, Giroux MJ (2002) Enhanced ADP-glucose pyrophosphorylase activity in wheat endosperm increase seed yield. Proc Natl Acad Sci USA 99: 1724-1729
- Smidansky ED, Martin JM, Hannah LC, Fischer AM, Giroux MJ (2003) Seed yield and plant biomass increase in rice are conferred by deregulation of endosperm ADP-glucose pyrophosphorylase. Planta 216: 656-664
- Southern EM (1975) Detection of specific sequences among DNA fragments. J Mol Biol 98: 503-517
- Stark DM, Timmerman KP, Barry GF, Preiss J, Kishore GM (1992) Regulation of the amount of starch in tissue by ADP-glucose pyrophosphorylase. Science 258: 287-292
- Towbin H, Staehelin T, Gordon J (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc Natl Acad Sci USA 76: 4350-4354
- Weber H, Heim U, Borisjuk L, Wobus U (1995) Cell-type, specific, coordinate expression of two ADP-glucose pyrophosphorylase genes in relation to starch biosynthesis during seed development in *Vicia faba* L. Planta 195: 352-361

(접수일자 2007년 10월 4일, 수리일자 2007년 11월 1일)