

04-1-34

## 국내 박과작물의 형질전환시스템 개발

조미애<sup>1</sup>, 송윤미<sup>1</sup>, 최우형, 박윤옥<sup>1</sup>, 유장렬<sup>2</sup>, 최필선<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>유진텍부설연구소, <sup>2</sup>한국생명공학연구원, <sup>3</sup>남부대학교 생약자원학과

### 목적

국내 주요 박과작물인 수박, 오이, 멜론에서 분자육종에 의한 품종개량을 목적으로 안정적인 고빈도 형질전환시스템을 확립하고자 수행하였다.

### 재료 및 방법

대상 작물의 자엽과 자엽 절 절편으로부터 기관발생과 배측 절편으로부터 체세포배발생시스템을 이용하여 pPTN289와 pPTN290가 도입된 *Agrobacterium tumefaciens* (GV3101, LBA4404, EHA101)으로 형질전환 시켰다. 공동배양 된 자엽과 자엽 절 절편은 5 mg/L phosphinotricin 또는 100 mg/L paromomycin이 첨가된 기관발생배지에서 그리고 배측절편은 100 mg/L paromomycin이 첨가된 체세포배발생배지에서 2주 간격으로 계대 배양하면서 선발하였다. 배양 4-6주 후 절편으로부터 형성된 부정아를 shoot신장배지에 옮겨 배양하였으며, 정상적인 형태를 갖는 shoot만을 분리하여 부정근 유도배지에서 소식물체를 얻었다. 오이와 멜론으로부터 얻은 putative 형질전환체를 GUS분석을 수행하여 확인 하였고, 토양에서 순화한 형질전환체 각 10개체를 선발하여 Southern분을 수행하였다. 또한 배측 절편으로부터 배 발생캘러스를 선발하여 동일배지에 계대 배양하면서 형질전환 된 배 발생캘러스를 대량 증식하였다.

### 결과 및 고찰

기관발생시스템에서 멜론 (0.4%), 오이 (1.1%), 수박 (2.1%)로 각각 낮은 형질전환율을 얻었으나, 체세포배발생시스템에서 멜론 (20%)과 오이 (6.8%)로 높은 형질전환율을 보였다. 그러나 수박은 형질전환 된 배 발생캘러스를 얻을 수 없었다. 선발마커인 phosphinotricin과 paromomycin을 비교 하였을 때 멜론의 기관발생에서는 phosphinotricin이 그리고 체세포배발생에는 paromomycin항생제가 효과적이었고, 오이와 수박에서는 재분화시스템에 영향을 받지 않고 paromomycin보다는 phosphinotricin이 첨가된 배지에서 효과적으로 형질전환체를 얻을 수 있었다. 특히 사용한 균주 중 3작물 모두에서 GV3101보다는 EHA101로 공동배양 하였을 때 높은 형질전환율을 얻었고, LBA4404의 경우는 재분화시스템과 벡터와 상관없이 형질전환 식물체 또는 배 발생캘러스를 얻을 수 없었다. 오이와 멜론 형질전환체 (T0)를 Southern분석과 GUS assay 결과 GUS유전자가 식물체 게놈 상에 도입되어 안정적으로 발현되고 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 체세포배발생에서 얻은 형질전환된 캘러스로부터 아직 형질전환체를 얻지 못하였고 현재 수행 중에 있다.

따라서 본 연구 결과로부터 멜론과 오이의 체세포배발생시스템에 pPTN289 (*kanamycin gene*)과 pPTN289 (*bar gene*)가 도입된 EHA101 균주를 각각 공동배양 하거나 수박의 기관발생시스템에 pPTN289 (*bar gene*)가 도입된 EHA101균주를 공동배양 할 때 가장 효과적인 형질전환시스템이라 확인할 수 있고, 체세포배발생 보다는 기관발생 시스템을 이용할 경우 그 빈도는 낮을 지라도 형질전환체를 얻을 수 있었다.

\*연락처: 최필선, 전화 062-970-0161, E-mail: cps6546@nambu.ac.kr