

04-1-59

## Expression of Resveratrol Synthase Gene in *Codonopsis lanceolata*

강찬호<sup>1\*</sup>, 윤성중<sup>2</sup>, 박명렬<sup>2</sup>, 백소현<sup>3</sup>, 김명준<sup>4</sup>, 최인영<sup>1</sup>, 김대향<sup>1</sup>, 최동철<sup>1</sup>

<sup>1</sup>전라북도 농업기술원, <sup>2</sup>전북대학교 생물자원과학부, <sup>3</sup>작물과학원 호남농업연구소, <sup>4</sup>임실군농업기술센터.

### 목적

분자 육종기술을 이용하여 항암·순환계질환 예방 기능이 강화된 더덕 품종을 육성하고자 RS 유전자를 도입하고 유전자가 안정적으로 발현되어 resveratrol 발현량이 증가됨을 확인.

### 재료 및 방법

Resveratrol 합성 효소인 resveratrol synthase (RS) 유전자가 결합된 식물 유전자 발현 운반체 pGA643을 *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404을 이용하여 무균 배양된 더덕 기내 유식물체의 자엽 또는 유엽에 형질전환 하였으며 PCR 및 Southern 분석, HPLC를 이용한 발현분석을 통하여 형질전환 여부를 확인하고 고효율 형질전환 세포주를 선발하였다.

### 결과 및 고찰

1. 자엽 또는 유엽을 이용한 더덕 형질전환시 *Agrobacterium* 공동배양 및 Callus 형성조건 은 MS+BA 1.0mg/L 이었으며 형질전환체 선발은 kanamycin 100mg/L, carbenicillin 500mg/L 농도 하에서 이루어졌고 동일배지 내에서 4~8주 배양하여 shoot를 유도하고 성장조정제 무침가 선발배지 내에서 발근시켜 식물체 재분화를 유도 하였다.
2. RS 유전자를 형질전환시켜 재분화시킨 더덕 식물체 내의 RS 유전자 존재 유무를 PCR과 Southern 분석을 이용하여 확인한 결과 재분화된 4개의 형질전환 식물체에서 1.5kb의 RS 특이적 DNA 단편이 증폭되었으며 증폭된 DNA에 대한 Southern 분석 결과 증폭된 DNA 단편이 RS 특이적 probe에 검출되었다.
3. Versapak(25x0.4 cm, 10 um, Alltech)과 Symmetry(25x0.46 cm, 5 um, Waters) 컬럼을 이용한 HPLC 분석을 통하여 형질전환 식물체 내에서의 resveratrol 발현량을 조사한 결과 RS 유전자 형질전환 계통에서 0.25~0.32 $\mu$ g/gFW의 resveratrol이 검출되어 비형질전환체에 비하여 발현량이 최대 6.4배 증가함을 확인하였다.

A Mk 1 2 3 4 5 6 7

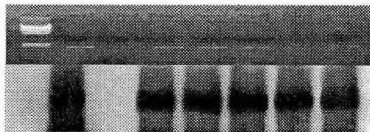


Fig. 1. A. PCR amplification of RS sequences from the plasmid DNA of pRS-AH(lane 1), non-transgenic(lane 2) and transgenic *Codonopsis lanceolata* plants(lanes from 3 to 7). B. Southern blot hybridization of PCR amplified fragments in panel A with the B Dig-labeled RS probe.