

## GFP 유전자를 이용한 대목용 박 형질전환

임미영<sup>1</sup>, 박상미<sup>1</sup>, 권정희<sup>1</sup>, 한상렬<sup>1</sup>, 신윤섭<sup>1</sup>, 한증술<sup>2</sup>, 한지학<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경기도 여주군 가남면 (주)농우바이오 생명공학연구소 <sup>2</sup>수원시 권선구 농촌진흥청 원예연구소

### Transformation of Bottle Gourd Rootstock (*Lagenaria siceraria* Standl.) using *GFP* gene

Mi Young Lim<sup>1</sup>, Sang Mi Park<sup>1</sup>, Jung Hee Kwon<sup>1</sup>, Sang Lyul Han<sup>1</sup>, Yoon Sup Shin<sup>1</sup>,  
Jeung Sul Han<sup>2</sup>, Chee Hark Harn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology Institute, Nong Woo Bio Co. Ltd., Ganam, Yeosu, Gyeonggi 469-885 South Korea

<sup>2</sup>National Horticultural Research Institute, Rural Development Administration, Suwon 441-440, South Korea

**ABSTRACT** Bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.) has been used as a rootstock for the watermelon cultivation because of better growth ability at low temperature and avoidance from contamination of the soil disease. Since the genetic source for the elite rootstock is limited in nature, the genetic engineering method is inevitable to develop new lines especially to obtain the functionally important or multi-disease resistant bottle gourd. Recently, our lab has set up a successful system to transform the bottle gourd. In order to monitor the transformation process, *GFP* gene is used. Cotyledons of the inbred line 9005, 9006 and G5 were used to induce the shoot under the selection media with MS + 30 g/L sucrose + 3.0 mg/L BAP + 100 mg/L kanamycin + 500 mg/L cefotaxime + 0.5 mg/L AgNO<sub>3</sub>, pH 5.8. The shoot was developed from the cut side of the explants after 3 weeks on the selection media. The shoot was incubated in the rooting media with 1/2 MS + 30 g/L sucrose + 0.1 mg/L IAA + 50 mg/L kanamycin + 500 mg/L cefotaxime, pH 5.8 and moved to pot for acclimation. Although the shoot development rate was depended on the genotype, the G5 was the best line to be transformed. Monitoring *GFP* expression from the young shoot under microscope could make the selection much easier to distinguish the transformed shoot from the non-transformed shoots.

**Key words:** Bottle gourd, *GFP*, Transformation, *Agrobacterium*, Rootstock

#### 서 론

수박, 오이, 호박 등 박과 (Cucurbitaceae) 작물은 세계 채소 생산면적의 약 29%를 차지하고 있다 (Lee 2003). 특히 박 (*Lagenaria siceraria* Standl.)은 한국을 비롯 일본과 대만에서 식용 외에도 접목재배용 대목으로 많이 이용되고 있다 (Lee and Oda 2003). 그러나 대목용 박은 내병성 유전자원이 많지 않아서 병에 취약함으로 전통적 육종방법을 통한 내성 품종의 개발이 어려운 실정이다. 따라서 유전공학 방법을 이용한 토양병 내성이 증대된 신품종

개발이 절실하다 (Dabauza et al. 1997). 현재 박과작물 형질전환에 대한 보고로는 멜론 (Fang and Grumet 1990; Ayub et al. 1996), 오이 (Chee and Slightom, 1991; Ando et al. 2001; Kim et al. 1998), 수박 (Compton 2000; Chaturvedi and Bhatnagar 2001; Ellul et al., 2003; Park et al. 2005) 등에 한정되어 있었다. 그러나 최근 자엽 절편체를 이용한 박 형질전환 (Han et al. 2004a; Han et al. 2004b)이 성공하여 그동안 침체되었던 박 형질전환 개발에 전기를 마련하는 계기가 되었다.

Green fluorescent protein (*GFP*)는 jellyfish (*Aequorea victoria*)에서 유래된 유전자이다 (Stewart 2001). UV 광 (360-400 nm)과 청색광 (440-480 nm)에서 녹색 형광 (Hu and Cheng 1995)을 발현하기 때문에 UV광을 조사하여

\*Corresponding author Tel 031-883-7055 Fax 031-884-7065

E-mail: chharn@nongwoobio.co.kr

형질전환체를 빠르게 분석할 수 있어서 식물 형질전환 연구에 매우 효율적인 마커로 이용되고 있다 (Martin et al. 1992). 배추 (Halfhill et al. 2001), 유채 (Cardoza and Stewart 2003), 담배 (Kim et al. 2005) 등에서 *GFP* 유전자가 성공적으로 발현된 바 있으며, 박과 작물의 경우 멜론에서 형질전환 된 바 있다 (Galperin et al. 2003). 최근에 박 형질전환이 성공하였지만 (Han et al. 2004 a, b) *GFP*를 삽입 유전자와 co-transformation 한다면 *GFP* 발현을 통한 삽입 유전자 확인 및 선발이 훨씬 더 용이해 질 수 있다. 따라서 본 연구에서는 박 자엽 절편체로부터 신초가 자라는 과정에서 *GFP* 발현을 monitor 할 수 있는지를 확인하기 위해서 *GFP* 유전자를 박에 형질전환하였다.

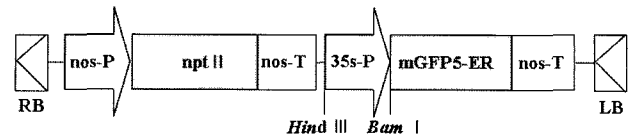
## 재료 및 방법

### 식물재료

연구에 이용된 식물체 재료는 박 (*Lagenaria siceraria* Standl.) 계통인 9005, 9006 (농우바이오) 및 G5 (원예연구소)를 이용하였다. 실험에 이용된 박 형질전환 방법은 Han 등 (2004a, b)이 발표한 방법과 동일하게 수행하였다. 박 종자의 종피를 인위적으로 제거한 후, 70% (v/v) ethanol에서 1분, Tween20을 섞은 25% (v/v) sodium hypochlorite (Yuhan-Chlorox, Korea)에서 20분, 다시 70% (v/v) ethanol에서 1분, 25% (v/v) sodium hypochlorite에서 15분 각각 shaking 하여 표면 살균하였다. 각 단계마다 1회 증류수로 세척하였으며 마지막에는 3회 증류수로 세척하였다. 1/2 MS 배지 (Murashige and Skoog 1962)에 살균된 종자를 과중하여 25°C, 16L/8D 광주기에서 배양하였으며 과중 후 5 일째 된 자엽 절편체를 실험 재료로 사용하였다. 자엽 상부 2/5와 유근 및 유아를 제거하고 하반편만 *Agrobacterium* 과 공동배양하기 위한 재료로 사용하였다.

### 형질전환

형질전환을 위하여 *Agrobacterium tumefaciens* strain은 EHA105를 사용하였으며 EHA105는 *GFP* 유전자가 삽입된 pmGFP5-ER 벡터를 포함하고 있다 (Figure 1). *Agrobacterium* EHA105를 50 mg/L kanamycin와 30 mg/L rifampicin 이 첨가된 YEP 액체배지에 접종한 후, 28°C에서 220 rpm으로 진탕하면서 O.D<sub>600</sub> 0.9가 되도록 배양하였다. 배양액을 3000 rpm으로 10분 원심분리 후 상등액을 버리고 접종 액체배지 (MS + 30 g/L sucrose + 0.5 g/L MES + 50 µM acetosyringone, pH 5.2)를 첨가하여 pellet을 녹였다. 준비된 자엽 절편체를 20분정도 *Agrobacterium* 용액에 접종한 후 접종 액체배지로 한번 세척하고 멸균된 filter pa-



**Figure 1.** Diagram of pmGFP5-ER vector. RB: right border; nos-P: nopaline synthase promoter; nos-T: nopaline synthase terminator; npt II: neomycin phosphotransferase gene; 35S-P: 35S promoter; nos-T: nopaline synthase terminator; mGFP5-ER: modified green fluorescent protein with ER targeting signal; LB: left border.

per에서 자엽 절편체를 건조시켰다. 공동배양배지 (MS + 30 g/L sucrose + 3.0 mg/L BAP + 0.5 g/L MES + 0.001 mg/L AVG + acetosyringone 50µM, pH 5.2)에 자엽 절편체를 45° 각도로 비껴 치상하고 25°C, 16L/8D 광주기에서 5일간 공동배양하였다. 공동배양 후 자엽 절편체를 균 세척액 (MS + 30 g/L sucrose + 3.0 mg/L BAP + 100 mg/L kanamycin + 500 mg/L cefotaxime + 0.5 mg/L AgNO<sub>3</sub>, pH 5.8)으로 세척 한 후 멸균된 filter paper에서 자엽 절편체를 건조하여 신초 선발배지에 6개씩 치상하였다. 신초 선발배지는 균 세척액과 동일한 배지에 8 g/L agar를 첨가하였다. 배양 3주차에 동일한 신초 선발배지로 계대배양 하였으며 계대 배양 4주 후 선발배지에서 재분화된 신초를 절편체에서 분리하여 신초 발근 배지 (1/2MS + 30 g/L sucrose + 0.1 mg/L IAA + 50 mg/L kanamycin + 500 mg/L cefotaxime + 8 g/L agar, pH 5.8)로 이식하였다. 이식 4주 후 발근된 개체는 Jippy pot으로 이식하여 순화하였다.

### 형질전환체 *GFP* 선발, PCR 및 Southern blot 분석

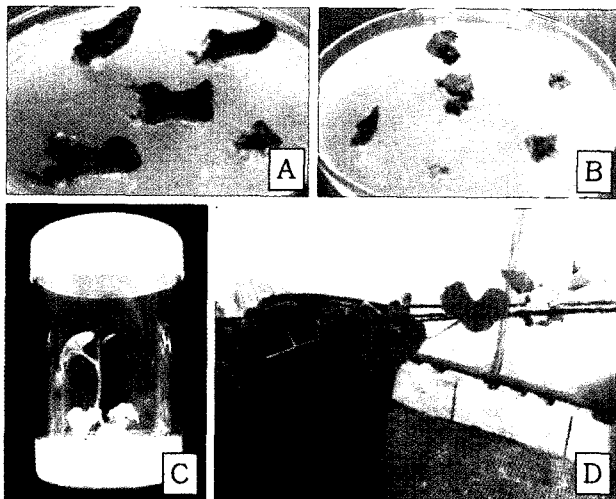
선발된 식물체에서 *GFP* 유전자 삽입 여부를 확인하기 위하여 형광 현미경 (BX51 OLYMPUS, Japan)을 이용하였다. *GFP* 유전자가 도입된 식물체는 형광현미경 하에서 UV (360-400 nm)나 청색광 (440-480 nm)을 조사하면 녹색 형광을 발현한다. 또한 *GFP* 유전자에 대한 PCR 분석을 실시하였다. Genomic DNA isolation은 Dellaporta 등 (1983)의 방법에서 약간 변형된 방법으로 수행하였다. Primer는 35' S-C primer (5' - ATG ACG CAC AAT CCC ACT AT - 3')와 reverse primer (5' - CAT GTG GTC TCT CTT TTC GTT GG - 3')를 이용하였다. PCR 조건은 premix (Accupower®, Bioneer)를 이용하였으며 pre-denaturation은 94°C에서 5분간 하였고 그 후 denaturation은 94°C에서 1분, annealing은 60°C에서 1분, extension은 72°C에서 1분간으로 35 cycle을 하였으며 last extension은 72°C에서 5분간하였다. 분석은 PCR 기계 (CORBETT RESEARCH, Australia)로 수행하였다. 합성된 DNA는 0.8% agarose gel로 전기영동 후 band 유무를 관찰하였다. PCR 분석시 *GFP* 유전자 도입이 확인된 식물체를 대상으로 Southern 분석을

실시하였다. 하우스에서 생육중인 박 잎을 이용하여 genomic DNA를 분리하였으며 분리한 DNA (50 µg)를 *Hind* III와 *Xba* I 제한효소로 각각 절단하여 0.8% agarose gel에 전기영동하였다. Agarose gel 상의 DNA 밴드를 Zeta<sup>R</sup>-Probe nylon membrane (Bio-Rad)에 전이시켜 <sup>32</sup>P-dCTP로 표지된 약 572 bp GFP Probe를 이용하여 Southern 분석하였다 (Southern 1975).

## 결과 및 고찰

*Agrobacterium*와 공동배양한 자엽 절편체를 선발배지 (MS + 30 g/L sucrose + 3.0 mg/L BAP + 100 mg/L kanamycin + 500 mg/L cefotaxime + 0.5 mg/L AgNO<sub>3</sub>, pH 5.8)에 치상하였다. 자엽 절편체는 3~4주정도 지나면서 절단면 즉 치상 부위에서 작은 돌기들이 발생하면서 신초가 유기되었다. 그리고 약 4주가 지나면 kanamycin 저항성을 지닌 신초가 신장되고 자엽 절편체는 갈변하여 고사하였다. 선발된 신초는 발근배지로 계대하였고, 발근되면 pot로 이식하여 완전한 식물체를 얻을 수 있었다 (Figure 2). GFP가 도입된 형질전환체는 형질전환 시키지 않은 대조구와 비교하여 외형적인 표현형의 차이를 나타내지 않았다.

본 실험결과 박 형질전환시 계통에 따른 신초 발생률에 상당한 차이를 보였다 (Table 1). 계통 9005의 경우 신초 발생률이 0.0%이었으며 계통 G5의 경우는 4.1%이었다. 따라서 G5가 다른 계통에 비해 다소 높은 신초 발생률을 나타



**Figure 2.** Shoot induction and plant regeneration from cotyledon explants of bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.) transformed with *Agrobacterium* harboring pmGFP5-ER vector. (A-B) Adventitious shoots were formed at the marginal region of cotyledon explant after 4 weeks in culture on MS medium with 3.0 mg/L BAP. (C) Roots were developed after 7 weeks in culture on 1/2 MS medium with 0.1 mg/L IAA. (D) The plantlet was acclimatized and transferred to pot.

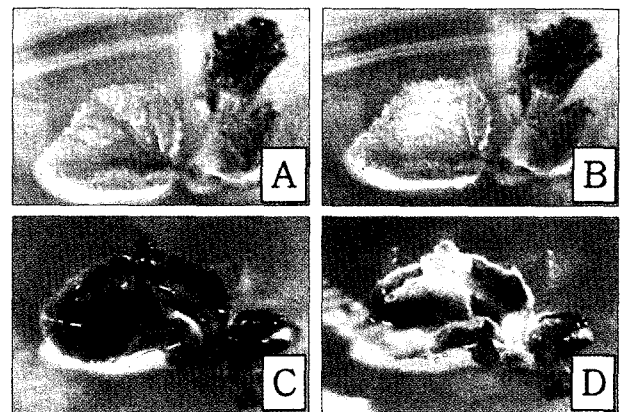
**Table 1.** Shoot induction frequency on cultured cotyledon explants of bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.) co-cultured with *Agrobacterium*.

Genotype	Number of explants	Number of shoots (%)	GFP expression (%)
9005	125	0 (0.0)	0 (0.0)
9006	108	2 (1.9)	1 (0.9)
G5	122	5 (4.1)	1 (0.8)

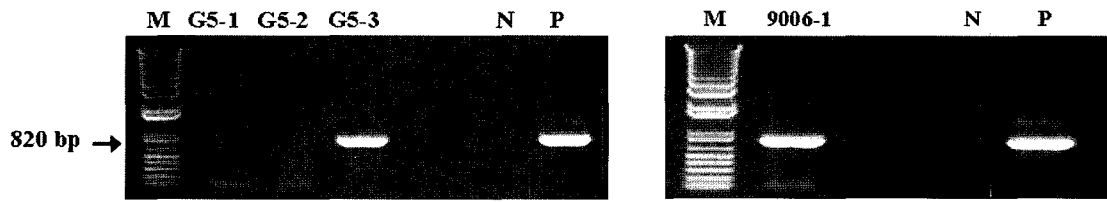
내었을 뿐만 아니라 신초가 먼저 유도 되었고, 발생된 신초의 신장이 빠르며 뿌리 발생도 빨랐다.

Kanamycin 저항성 선발 개체는 GFP 분석을 위하여 형광 현미경(BX51 OLYMPUS, Japan)을 이용하여 수행하였다. *Agrobacterium*와 공동배양 후 자엽에서 유기된 신초에 UV광을 조사 한 결과 형광 발현되지 않는 것과 형광 발현되는 것 두 가지 양상을 볼 수 있었다 (Figure 3B, Figure 3D). Kim 등 (2005)은 GFP 형질전환 담배에서 형광 현미경 관찰시 형질전환 식물체는 밝은 초록색의 형광을 발현하는 반면 형질전환 되지 않은 식물체는 엽록소의 auto-fluorescence로 인하여 붉은 빛을 띠는 경향이 있다고 보고하였다. 본 실험의 박 형질전환 식물체에서도 같은 경향을 보였다 (자료 미제시). Halfhill 등 (2001)의 보고에 따르면 배추의 어린잎, 줄기, 잎맥 그리고 꽃 등에서 GFP 발현을 볼 수 있었는데 본 실험에서도 식물체 전체에서 발현되고 있음을 확인하였고 특히 GFP가 도입된 박 형질전환 신초에서는 UV광 조사 전후 확인한 형광반응의 차이를 보였다 (Figure 3C, 3D). 따라서 형질전환 한 후 kanamycin 선발과 병행하여 형광현미경을 이용한 GFP 발현은 형질전환 식물체를 확인하는데 있어서 선발 마커로 효과적임을 알 수 있었다.

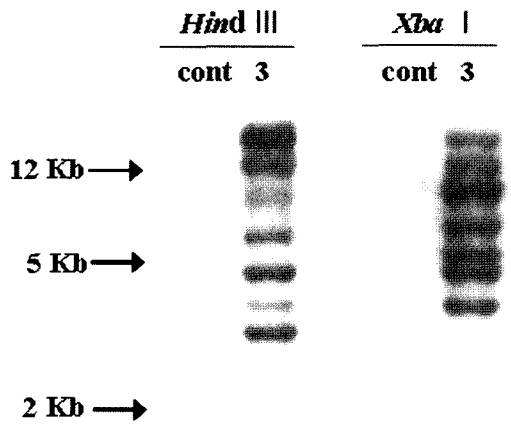
선발된 형질전환 신초의 GFP 유전자 유무를 알기 위해서 PCR 분석을 한 결과, G5-3과 9006-1 각각에서 GFP 유전자를 가지고 있는 것으로 확인되었다 (Figure 4). 이 신



**Figure 3.** GFP expression in the shoot of bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.) after transformation. Under stereo (A, C) and fluorescence (B, D) microscope, the green fluorescence of transformed shoot was identified (D).



**Figure 4.** Agarose gel electrophoresis analysis of PCR products of the *GFP* gene in putative transformed shoots in bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.). Lane M: 1kb ladder (Gibco BRL Co.); P: positive control (*Agrobacterium* with pmGFP5-ER); N: negative control (non-transformed plant); Lane G5-3, 9006-1: transformed shoots.



**Figure 5.** Southern analysis of genomic DNA prepared from transgenic and non-transformed bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.) leaves. Fifty  $\mu$ g of genomic DNA was digested with the *Hind*III and *Xba*I, electrophoresed in 0.8% agarose gel, and blotted onto a membrane. The blot was hybridized with 572 bp fragment of *GFP* as a probe. cont: non-transformed; 3: transformed; The molecular weight markers are shown on the left.

초들을 하우스에서 성장시킨 후 잎으로부터 genomic DNA를 추출하여 Southern 분석을 수행 하였고 그 결과 형질전환 식물체내로 *GFP*가 도입되었음을 확인할 수 있었다 (Figure 5). 그리고 형질전환을 하지 않은 control은 *GFP* 밴드를 나타내지 않았다.

Southern 분석에서 *GFP* 유전자의 복수 copy를 확인하였는데 여러 차례 반복실험을 수행한 결과 동일한 결론을 얻을 수 있었으며, *Hind* III와 *Xba* I 두 가지 제한 효소 처리에서도 각각의 복수 copy 양상을 나타냈다. 이는 *GFP* 유전자의 형질전환시 여러 copy의 *GFP* 유전자가 동시에 삽입된 것으로 추론 할 수 있다. *Agrobacterium*-mediated transformation에서는 주로 one copy가 나오는 것이 일반적이거나 산화스트레스 내성 형질전환 감자에서 다수 복수 copy의 Southern 결과가 보고 된 경우도 있다 (Tang et al 2004).

따라서 본 실험 수행결과 형질전환 식물체의 report 유전자 분석 (*GFP* 분석) 및 분자생물학적 분석(PCR 및 Southern blot)을 통하여 식물체내 외래유전자 *GFP*의 안정적 삽입과 발현을 확인하였다. 향후 유용유전자가 도입된 대목용 박 형질전환체가 본 실험의 시스템을 토대로 현미경상에서 *GFP* 발현을 monitor 하면서 선발될 수 있을 것으로 기대된다.

## 적 요

박과 (Cucurbitaceae) 작물에서 박 (*Lagenaria siceraria* Standl.)은 식용뿐만 아니라 주로 저온 신장성의 확보와 토양전염성 병해를 회피하기 위한 수단으로서 수박의 대목으로 많이 사용된다. 유전공학 방법을 이용한 토양병 내성이 증대된 신품종 개발이 필요한 요즘 박 형질전환체 개발의 효과적인 시스템 확립을 위하여 식물형질전환 연구에 매우 효율적으로 이용되는 마커인 *GFP* 유전자를 도입하였다. 실험재료로 이용된 박 계통은 9005, 9006 및 G5였으며, 신초 유기를 위한 선발 배지는 3.0 mg/L BAP + 100 mg/L kanamycin + 500 mg/L cefotaxime + 0.5 mg/L AgNO<sub>3</sub>, pH 5.8이었다. 박 선발배지에 치상된 자엽 절편체는 3주 정도 지나면 절단면 즉 치상 부위에서 작은 돌기들이 발생하였고, 갈수록 절편체는 갈변하여 고사하였다. 선발된 개체에서는 신초가 발생하였으며 선발 후 7주가 경과하면 pot로 이식하여 발근된 완전한 식물체를 얻을 수 있었다. 본 실험결과 박 형질전환 시 genotype에 따른 신초 발생률에 상당한 차이를 보였는데 계통 9005의 경우 신초 발생률이 0.0%이었으며 계통 G5의 경우 4.1%이었다. 형질전환으로 발생된 신초는 *GFP*가 발현되지 않는 것과 *GFP*가 발현되는 것 두 가지 양상을 볼 수 있었다. PCR 및 Southern blot 분석을 한 결과, 9006과 G5 두 genotype에서 형질전환 신초에서 *GFP* 유전자를 가지고 있는 것으로 확인되었으며 *GFP* 유전자가 도입된 박 형질전환체를 얻을 수 있었다. 따라서 *GFP* 유전자는 박 형질전환시 유식물체에서 형질전환체를 쉽게 선발할 수 있는 유용한 마커로 이용 될 수 있다.

## 사 사

본 연구는 농진청 바이오그린 21 연구사업단(과제번호: 20050301034379)과 과기부 프론티어 작물유전체기능연구 사업단(과제번호: CG2242) 지원에 의해 수행되었습니다.

## 인용문헌

- Ando S, Yuka S, Kamachi S, Sakai S (2001) Isolation of MADS-box gene (*ERAF17*) and correlation of its expression with induction of formation of female flowers by ethylene in cucumber plants. *Planta* 231:943-952
- Ayub R, Guis M, Ben A M, Gillot L, Roustan JP, Latche A, Bouzyen M, Pech JC (1996) Expression of ACC oxidase antisense gene inhibits ripening of cantaloup melon fruits. *Nat Biotechnol* 14:862-866
- Cardoza V, Stewart CN (2003) Increased *Agrobacterium*-mediated transformation and rooting efficiencies in canola (*Brassica napus* L.) from hypocotyl segment explants. *Plant Cell Rep* 21:599-604
- Chaturvedi R, Bhatnagar SP (2001) High-frequency shoot regeneration from cotyledon explants of watermelon cv. sugar baby. *In Vitro Cell. Dev Biol.-Plant* 37:255-258
- Chee PP, Slightom JL (1991) Transfer and expression of cucumber mosaic virus coat protein gene in the genome of *Cucumis sativus*. *J Amer Soc Hort Sci* 116:1098-1102
- Compton ME (2000) Interaction between explant size and cultivar affects shoot organogenic competence of watermelon cotyledons. *HortScience* 35:749-750
- Dabauza M, Bordas M, Salvador A, Roig LA, Moreno V (1997) Plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation of cotyledon explants of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. *Plant Cell Rep* 16: 888-892
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) A simple and rapid method for plant DNA preparation. Version II. *Plant Mol Biol Rep* 1:19-21
- Ellul P, Ríos G, Atarés A, Roig LA, Serrano R, Moreno V (2003) The expression of the *Saccharomyces cerevisiae HAL1* gene increases salt tolerance in transgenic watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun. & Nakai.]. *Theor Appl Genet* 107:462-469
- Fang G, Grumet R (1990) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation and regeneration of muskmelon plants. *Plant Cell Rep* 9:160-164
- Galperin M, Patlis L, Ovadia A, Wolf D, Zelcer A, Kenigsbuch D (2003) A melon genotype with superior competence for regeneration and transformation. *Plant Breed* 122:66-69
- Halfhill MD, Richards HA, Mabon SA (2001) Expression of GFP and Bt transgenes in *Brassica napus* and hybridization with *Brassica rapa*. *Theor Appl Genet* 103:659-667
- Hu W, Cheng CL (1995) Expression of *Aequorea* green fluorescent protein in plant cells. *FEBS Lett* 369:331-334
- Han JS, Kim CK, Park SH, Hirschi HD, Mok IG (2004a) *Agrobacterium*-mediated transformation of bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.). *Plant Cell Rep* 23: 692-698
- Han JS, Oh DG, Mok IG, Park HG, Kim CK (2004b) Efficient plant regeneration from cotyledon explants of bottle gourd (*Lagenaria siceraria* Standl.). *Plant Cell Rep* 23:291-296
- Kim JW, Oh SY, Lee HS, Jo MH, Lee EM, Woo IS, Kwak SS (1998) Expression of pea superoxide dismutase gene in transgenic cucumber (*Cucumis sativus* L.) plant. *Kor J Plant Tiss cult* 25:210-206
- Kim YS, Kim MY, Kang TJ, Kwon TH, Jang YS, Yang MS (2005) Expression of the green fluorescent protein (GFP) in tobacco containing low nicotine for the development of edible vaccine. *J Plant Biotechnology* 7(2):97-103
- Lee JM (2003) New trends in production and utilization of world vegetables. Proceedings of international vegetable symposium. Organized by National Horticultural Research Institute Asian Vegetable Research and Development center:9-30
- Lee JM, Oda M (2003) Grafting of herbaceous vegetable and ornamental crops. *Hortic Rev* 28:61-124
- Martin G, Ganai M, Tanksley SD (1992) Construction of a yeast artificial chromosome library of tomato and identification of cloned segments linked to two disease resistance loci. *Mol Gen Genet* 233:25-32
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-479
- Park SM, Lee JS, Jegal S, Jeon BY, Jung M, Park YS, Han SL, Shin YS, Her NH, Lee JH, Lee MY, Ryu KH, Yang SG, Harn CH (2005) Transgenic watermelon rootstock resistant to CGMMV (cucumber green mottle mosaic virus) infection. *Plant Cell Rep* 24:350-356
- Southern E (1975) Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 98:503-512
- Stewart CN (2001) The utility of green fluorescent protein in transgenic plants. *Plant Cell Rep* 20:376-382
- Tang LI, Kwon SY, Kwak SS, Sung CK, Lee HS (2004) Selection of transgenic potato plants expressing both CuZnSOD and APX in chloroplasts with enhanced tolerance to oxidative stress. *Kor J Plant Biotechnol* 31: 109-113

(접수일자 2006년 2월 16일, 수리일자 2006년 3월 20일)