

사업구분	경상기본	수행구분	전반기	연구기간	'02~(3년차)
연구과제명	생명공학기술 실용화 연구			연구책임자	권순배
세부과제명	「칼라」의 바이러스 저항성 품종 육성 연구				
세부과제책임자	농산물이용시험장 농업연구사 권 순배 (033-258-4511)				
색인용어	바이러스 저항성, 유전자재조합, 칼라(<i>Zantedeschia elliotiana</i>)				

1. 당해연도 목표

- 칼라(*Zantedeschia sp.*)의 바이러스병은 생육불량의 주 요인으로 절화품질이 저하 됨
- 고급화종으로 외국에서는 품종육성연구가 많이 되고 있으나, 바이러스 저항성 등 내병성 육종은 극히 미흡한 실정으로 칼라재배적지인 본 도에서 내병성품종 개발이 요구됨.
- 형질전환 방법으로 Particle bombardment 조건 확립 및 바이러스 저항성 유전자 발현 칼라(*Zantedeschia elliotiana*)의 식물체 육성을 목적으로 함

2. 수행방법

- 대상품종 : 골든 어페어(GA), 블랙 매직(BM), 오렌지 엘리트(OE)
 - 성장점 유래 캘러스 사용
- 발현벡터 : pGreen + ZaMVCP, pCKGFPS65C, pMDGFPS65C(pBI121 + GFPS65C)
- 형질전환 (Transformation : Particle bombardment)

형질전환 수행 회수	품 종	도입 유전자
1	GA	ZaMVCP
2	GA	pCKGFPS65C
3	GA,OE	ZaMVCP
4	GA, OE, BM	ZaMVCP
5	GA, OE, BM	ZaMVCP
6	GA, BM	ZaMVCP
7	BM	pMDGFP

- 형질전환체 선발 : PCR 및 GFP 발현 조사

3. 시험성적

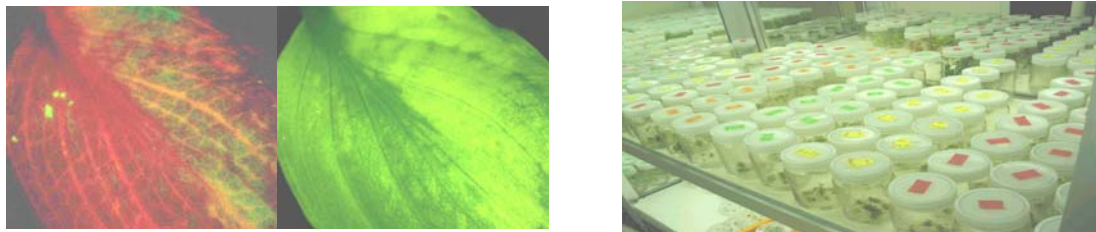
Particle bombardment방법으로 ZaMVCP gene 혹은 GFPgene 도입된 벡터를 3품종의 칼라의 성장점 유래 캘러스에 형질전환을 시도하였다. 그림 1은 GA에 ZaMVCP 및 GFP유전자삼입 시험 후 칼라의 생육장면이다. 그림 2는 GFP 단백질의 형광발현을 온실에서 순화한 GA 식물체 일부 개체에서 확인하였을 때 위와 같이 형광을 발현하는 식물체를 얻을 수

있었다. 그림 3은 각 유전자가 도입된 벡터를 bombardment한 GA, BM, OE 식물체를 위와 같이 배양실 안에서 shoot 유도장면이다.

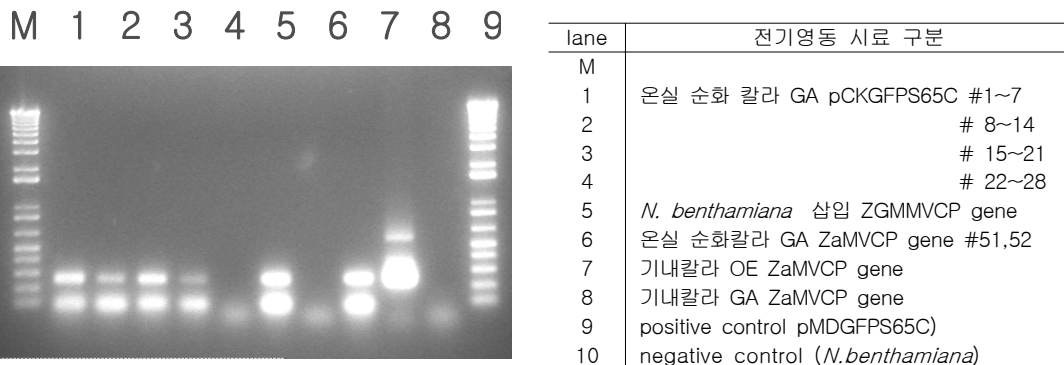


ZaMVCP gene 도입 GA pCKGFPS65C 도입한 GA
 [그림 1] 형질전환 및 기내배양 후 온실 순화중인 칼라 식물체

U.V normal

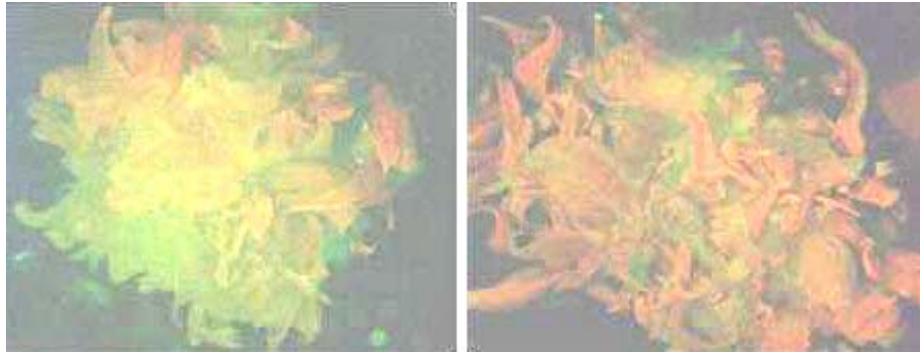


[그림 2] 2차 bombardment로 pCKGFPS65C를 도입한 GA의 형광 발현 확인
 [그림 3] 3, 4, 5차 bombardment로 ZaMVCP gene을 도입한 GA, BM, OE를 기내에서
 항생제 없는 배지에 치상하여 shoot 유도



[그림 4] 형질전환 식물체의 도입유전자 발현여부 PCR 확인

pCKGFPS65C 및 ZaMVCP gene을 bombardment한 기내 GA 또는 OE 식물체에서 도입 유전자 발현 여부를 PCR (primer : 35S promoter detection primer) 실시한 결과 몇 개의 식물체에서 특이밴드가 확인되었다<그림 4>.



[그림 5] 7차 pMDGFP 유전자를 bombardment 한 BM 캘러스의 형광발현

pMDGFP를 bombardment한 BM 캘러스에서 GFP 단백질의 형광발현 확인<그림 5>.

4. 주요결과 요약

- Particle bombardment 방법으로 ZaMVCP gene 및 GFP gene 도입한 칼라 (품종 GA)의 기내배양 및 온실 순화 실시.
- 형질전환한 GA 식물체에서 GFP 단백질 발현하는 개체 획득.
- 형질전환한 GA 및 OE 식물체에서 35S promoter 확인 PCR 검정결과, 일부 순화 식물체에서 특이밴드가 확인 됨
- pMDGFP를 도입한 BM 품종의 캘러스(7차 bombardment)에서 bombardment 1일 후 GFP 단백질이 발현됨을 확인.

5. 금후계획

- 바이러스 저항성 칼라 식물체 육성 (논문 및 산업재산권, 2005)