

불멸의 꽃 김정일화의 가물견딜성에 미치는 *miR393a* 도입의 영향

허 동 수

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《나라의 과학기술을 세계적수준에 올려세우자면 발전된 과학기술을 받아들이는것과 함께 새로운 과학기술분야를 개척하고 그 성과를 인민경제에 적극 받아들여야 합니다.》
(《김정일선집》 증보판 제11권 138~139페이지)

최근 miRNA 유전자가 스트레스조건에서 그 발현이 증대된다는데로부터 그것을 과잉 발현시켜 식물의 스트레스견딜성을 높이는데 리용[3-5]하고있다.

우리는 스트레스견딜성에 관여하는 *miR393a*를 도입한 불멸의 꽃 김정일화의 가물견딜성을 검증하기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

Agrobacterium tumefaciens EHA105(pCAMBIA13011)를 리용하여 *miR393a*를 도입한 불멸의 꽃 김정일화(*Begonia* × *tuberhybrida* Voss Kimjongilhwa) 전이식물체[1]를 리용하였다.

선발한 개체의 잎으로부터 싹증식, 싹생장배양, 순화모, 화분포기시기를 거쳐 온실에서 재배하면서 생육특성[1]을 조사하였다.

잎, 꽃잎에서 증산량과 유리프롤린함량은 선행방법[2]으로 결정하였다.

0.1g의 잎조직(화분포기단계)을 취하여 CTAB법[5]으로 분리한 핵산을 주형으로 PCR를 진행하였다. *miR393a*의 프라이머배열과 증폭산물의 크기는 다음과 같다.

상류프라이머 5'-GGGGTACCT₄₆ACACAAACCAGGCATCTCCAC₆₇-3' *Kpn*I

하류프라이머 5'-CGGGATCCG₆₂₈AGCTTTCTTGCACAACACCTT₆₀₇-3' *Bam*HI

증폭산물의 크기는 599bp.

결과 및 논의

주로 조직배양방법으로 증식시키는 불멸의 꽃 김정일화에 있어서 순화단계는 스트레스상태이므로 대조개체와 전이개체에서 차이가 나타나게 된다.

전이개체의 순화모의 생육특성을 조사한 결과는 표 1과 같다.

표 1. 순화모의 생육특성

구분	잎수/개	줄기길이/cm	줄기굵기/mm	잎면적/cm ²	사름률/%	잎색
대조구	2.8±0.2	1.2±0.1	1.6±0.2	2.3±0.3	67	연푸른색
전이구	3.4±0.2	1.6±0.2	2.1±0.3	3.7±0.3	94	진푸른색

순화 40d후

표 1에서 보는바와 같이 유전자전이모는 대조개체에 비하여 잎수는 1.2배, 줄기길이와 굵기는 1.3배, 잎면적은 1.6배였으며 사름률은 94%(1.4배)로 높았고 잎색도 더 진하였다. 이것은 순화단계의 유전자전이모가 대조보다 생육특성이 좋다는것을 보여준다.

다음으로 7일간 물을 주지 않은 온실조건에서 선발개체후대의 생육특성을 보았다.(표 2)

표 2. 물스트레스조건에서의 생육특성

구분	줄기굵기/cm		줄기길이/cm		꽃직경/cm		꽃길이/cm		잎상태
	처리전	처리후	1	2	1	2	1	2	
대조	1.9±0.1	2.0±0.1	26.6±0.3	26.9±0.2	9.7±0.2	10.5±0.3	4.9±0.1	5.6±0.2	시들
전이	2.0±0.1	2.2±0.1	27.0±0.2	29.8±0.2	10.5±0.2	11.4±0.3	4.9±0.2	5.8±0.1	정상

n=20, 꽃피기 전단계

표 2에서 보는바와 같이 줄기굵기와 길이, 꽃직경과 길이에서 대조개체와 전이개체의 차이는 크게 나타나지 않았지만 잎상태에서는 차이가 명백하였다. 대조개체의 잎들은 7일 후에 모두 아래로 늘어졌지만 전이개체의 잎들은 변화가 없었다. 이와 같이 유전자전이개체후대의 가물건딜성이 대조개체보다 높았다.

식물의 가물건딜성은 잎의 증산량과 세포안의 유리프롤린함량과 연관되어있다.

보통조건(토양절대습도 33.6%)과 7일 동안 물을 주지 않은 스트레스조건(초기 토양절대습도 33.6%, 실험말기 토양절대습도 10.3%)에서 키운 전이식물체에서 취한 잎과 꽃잎으로부터 시간에 따르는 증산량을 대조개체와 비교한 결과는 표 3, 4와 같다.

표 3. 시간에 따르는 잎의 증산량

구분		증산량 /(mg·cm ⁻²)						
		1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h
보통조건*	대조구	3.4	4.3	5.2	6.3	7.3	8.3	9.1
	전이구	2.4	3.1	3.7	4.4	5.1	5.8	6.7
스트레스조건**	대조구	0.8	1.3	1.9	2.6	3.3	4.1	4.8
	전이구	0.5	0.9	1.3	1.5	2.1	2.5	3.0

* 토양절대습도 33.6%, ** 토양절대습도 10.3~33.6%, 증산온도 16℃

표 3에서 보는바와 같이 보통조건에서 키운 전이개체의 시간에 따르는 증산량은 대조개체보다 적었는데 7h후 대조개체의 증산량은 9.1mg/cm²이고 전이개체의 증산량은 6.7mg/cm²였다.(증산비율 74%) 스트레스조건에서 키운 전이개체의 시간에 따르는 증산량도 대조개체보다 적었으며 그 차이는 보통조건에서보다 좀더 명백하였다.(증산비율 63%)

꽃잎의 증산량도 같은 결과를 보여주었다.(표 4)

표 4. 시간에 따르는 꽃잎의 증산량

구분		증산량 /(mg·cm ⁻²)						
		1h	2h	3h	4h	5h	6h	7h
보통조건*	대조구	1.4	2.3	3.1	3.7	4.2	4.6	4.9
	전이구	1.2	2.0	2.7	3.3	3.7	4.0	4.2
스트레스조건**	대조구	0.5	0.8	1.0	1.2	1.5	1.8	2.1
	전이구	0.4	0.7	0.9	1.1	1.3	1.6	1.8

* 토양절대습도 33.6%, ** 토양절대습도 10.3~33.6%, 증산온도 16℃

전이개체의 가물견딜성을 보기 위하여 보통조건과 우와 같은 스트레스조건에서 키운 식물체잎과 꽃잎의 유리프롤린함량을 비교하여보았다.(표 5)

표 5. 전이개체의 유리프롤린함량

구분		유리프롤린함량 $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$		대조에 비한 비율/%
		대조구	전이구	
보통조건	잎	69.1	93.7	136
	꽃잎	165.7	246.7	149
스트레스조건	잎	77.7	103.4	133
	꽃잎	188.6	273.7	145

표 5에서 보는바와 같이 보통조건과 스트레스조건에서 키운 전이개체의 유리프롤린함량을 비교하여보면 보통조건에서 키운 전이개체의 잎의 유리프롤린함량이 대조보다 36% 더 높았으며 꽃잎의 유리프롤린함량은 49% 더 높았다. 한편 스트레스조건에서 키운 전이개체의 잎의 유리프롤린함량도 대조보다 33% 더 높았으며 꽃잎의 유리프롤린함량은 45% 더 높았다. ($p < 0.05$)

*miR393a*가 아옥신신호전달경로의 유전자를 조절하여 식물의 스트레스견딜성을 높인다는것은 이미 알려졌다[2, 4]지만 프롤린과 같은 삼투보호제유전자를 조절한다는 자료는 제기된것이 없다. 전이개체의 유리프롤린함량이 높아진것으로 보아 *miR393a*가 프롤린합성유전자를 조절하는 물질새로도 스트레스견딜성을 높일수 있다는것을 보여준다.

다음으로 *miR393a*가 후대에 삽입되어있는가를 PCR로 확인하여보았다.(그림)

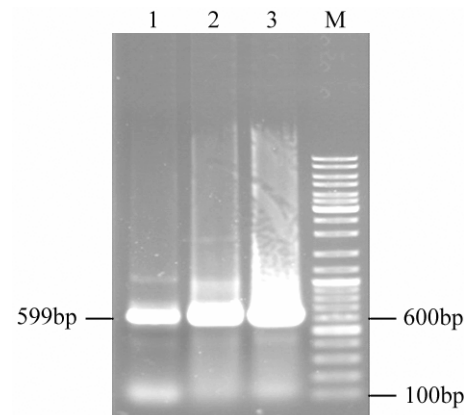


그림. 전이개체에서 *miR393a*의 PCR분석
M은 분자량표식자(100bp DNA Ladder),
1-3은 전이개체

그림에서 보는바와 같이 600bp 근방에서 *miR393a*의 띠가 나타났다. 이것은 목적유전자가 전이후대에도 정확히 삽입되어있다는것을 보여주며 이로부터 전이개체의 가물견딜성이 대조보다 높을뿐아니라 견딜성이 안정하게 유지된다는것을 알수 있다.

맺 는 말

1) 순화모시기에 대조개체에 비하여 유전자전이개체의 잎수는 1.2배, 줄기길이와 굵기는 1.3배, 잎면적은 1.6배, 사름률은 1.4배이며 잎색도 더 진하다.

2) 보통조건과 7일동안 물을 주지 않은 스트레스조건에서 키운 전이개체잎의 시간에 따르는 증산량은 대조보다 적었으며 7h후 그 비율은 각각 74, 63%였다.

3) 보통조건에서 키운 전이개체의 잎과 꽃잎의 유리프롤린함량은 각각 대조보다 36, 49% 높으며 7일동안 물을 주지 않은 스트레스조건에서 키운 잎과 꽃잎의 유리프롤린함량은 각각 대조보다 33, 45% 높았다.

참 고 문 헌

- [1] 허동수 등; 조선생물공학회지, 1, 19, 주체103(2014).
- [2] Anastasia Giannakoula et al.; Journal of Plant Physiology, 165, 385, 2008.
- [3] A. M. Anithakumari et al.; Mol. Breeding, 30, 1413, 2012.
- [4] Kemal Kazan; Annals of Botany, 12, 1, 2013.
- [5] Olivier Voinnet; Cell, 136, 669, 2009.

주체106(2017)년 1월 5일 원고접수

Effect of Transgene *miR393a* on Drought Tolerance of Immortal Flower Kimjongilia

Ho Tong Su

The effect of transgene *miR393a* on drought tolerance of immortal flower Kimjongilia was evaluated in this paper.

Survival rate of regeneration seedling of transformants was increased 1.4 fold than control, transpiration rates of leaves after 7h were 74 and 63% of control and free proline contents in leaves were 136 and 133% of control in usual and 7-day stress conditions.

Key words: Kimjongilia, drought tolerance, *miR393a*