

북극 이끼 *Aulacomnium turgidum* 형질전환체 제작 조건 확립

이형석¹, 강필성^{1,2}, 김동일², 임정한^{1*}

¹ 한국해양과학기술원 부설 극지연구소 극지생명과학연구부; ² 인천광역시 인하대학교 해양과학·생물공학과

대표적 극한 환경인 북극에 여러 종류의 식물들이 극한 스트레스에 적응하기 위해 내성 메커니즘을 획득하는 방향으로 진화했고, 이중 다양하고 넓게 분포하고 있는 종이 이끼류이다. 우리는 북극 다산기지 (78° 54N / 011° 57E) 인근에서 채집한 북극이끼 중 성장이 빠르고 내성 메커니즘이 강한 *A. turgidum*을 선발했다. *A. turgidum*은 무균상태로 만들고 BCDAT 한천배지에서 1주일 간격으로 계대 배양했다. 확보된 무균상 *A. turgidum*은 원형질체 (protoplast) 분리 조건과 minimum inhibitory concentration (MIC) 테스트를 실시했다. 원형질체 분리에 적합한 효소를 선별하기 위해, 3종류의 효소를 사용하였고, 시간 별로 분리된 원형질체 농도를 비교하였다. 그 결과 40분동안 driselase 처리구에서 분리된 원형질체 농도가 높았고, 농도는 1.5 %, 반응에 사용된 *A. turgidum*의 함량은 150 mg/mL 처리구에서 고농도 원형질체로 분리 됐다. 항생제 hygromycin 이 함유된 BCDAT 한천배지에 접종하여 MIC를 분석한 결과, MIC는 20 ug/mL로 분석되었다. 그리고, *A. turgidum*에 삽입하기 위한 외래 단백질 유전자는 Gateway method를 이용하여 pGWB502에 삽입했다. 제작된 재조합 벡터는 PEG-mediated transformation method로 형질전환을 하였고, 20 ug/mL hygromycin이 함유된 BCDAT 한천배지에서 형질전환체를 선별했다. 선별된 *A. turgidum*은 PCR 분석을 통해 유전자가 삽입 유무를 판단하였다. 외래 단백질 유전자가 삽입된 세포주 (cell line)는 지금까지 총 2개 확인 되었고 추후 더 확보할 계획이며, 외래 단백질 고 발현과 성장이 빠른 세포주를 선별하고 배양 최적화 실험을 할 계획이다.

*주저자: Tel. 032-760-5540, e-mail: jhyim@kopri.re.kr