

형질전환에 의한 신품종 개발

안 진 흥
(워싱턴 주립대학교)

서 론

세계인구의 증가는 한동안 지속될 전망이어서 향후 20년 동안 적어도 50%의 인구증가가 예상된다. 그러나 식량의 생산은 오히려 1980년 이후 감소되기 시작하였다. 그 이유는 세계각국의 공업화 현상으로 농지가 도시와 도로로 전향되고 있으며 또한 새로운 유전자자원의 고갈로 신품종의 개발이 지연되고 있기 때문이다. 새로운 환경의 변화 및 새시대의 요구에 대응하는 신품종을 얻기 위하여는 각종 생물로부터 새로운 유전자자원을 개발하여야 하며 또한 이러한 자원을 유용작물에 전이시킬 수 있는 형질전환 방법이 발달되어야 한다. 다행히도 분자생물학의 각종 기술의 발달로 유전자의 분리 및 조작이 식물에서도 용이하게 되었다. 특히 식물은 형질전환이 다른 고등생물에 비해 비교적 용이하여 분화 및 발달에 관계되는 여러가지 생명현상을 규명하는데 좋은 재료가 되고 있으며 아울러 재태적인 방법으로는 얻기 어려웠던 새로운 형질을 가진 신품종을 생산할 수 있게 되었다.

본 론

현재 흔히 쓰이는 형질전환 방법은 세가지로 나뉜다(1). 첫째는 *Agrobacterium* 을 이용하는 것으로 그 세균에 들어 있는 Ti plasmid를 매개체로 하여 외부 유전자를 식물에 넣어주는 기술이다. 이 방법은 비교적 다루기가 용이하며 특별한 장

비가 필요하지 않아 각종 쌍자엽 식물에 넓게 응용되고 있다. 그러나 대부분의 단자엽 식물은 상기한 방법에 둔감하여 새로운 기술이 요구되었다. 둘째는 전기충격에 의해 DNA를 식물세포에 넣어주는 방법이다. 그러나 이 기술을 사용하기 위하여서는 세포벽을 제거하여야 하는 번거로움이 따르며 또한 처리과정 후 전능성이 크게 감소되어 형질전환체를 얻는데 많은 시간 및 노력이 요구된다. 세째는 이러한 점을 보완하기 위하여 발달된 것으로 DNA를 작은 금속입자에 씌운 후 helium gas등을 사용하여 식물세포에 직접 넣어주는 방법이다. 이 기술은 분화가 왕성한 생장조직에 최소한 영향을 주며 외부 유전자를 전이할 수 있어 형질전환 속도 및 효율이 비교적 높다. 그러나 후자의 방법들에 의해 얻어진 형질전환체들은 외부 유전자의 양 및 숫자가 높아 비정상적인 성장을 보이는 수도 있으며, 또한 전이된 유전자들이 기능을 잃는 등의 문제성이 발견되기도 한다. 따라서 *Agrobacterium*을 이용한 형질전환이 용이치 않은 식물에서 주로 이 방법이 사용되고 있다.

비록 수십 종류의 식물이 상기한 방법에 의해 형질전환이 가능하게 되었으나 이러한 연구는 주로 서구 사회를 중심으로 진행되어 한국의 중요작물인 쌀, 고추, 배추, 과실 등에서는 아직도 그 방법의 발달이 초기단계에 머무르고 있다. 따라서 국내 중요작물의 형질전환 방법의 개발이 무엇보다도 시급하다. 좋은 유전자나 아이디어가 있다하더라도 실제로 해당작물에 그 유전자를 전이시켜 포장실험을 하여 보기 전까지는 큰 의미가 없다.

형질전환 기술로 외부 유전자의 전이가 가능해진 후 각종 유용형질이 개발되어 식물에 도입되고 있다. 그중 일부는 이미 미국등에서 상품화 되었으며 또한 포장실험이 끝나 정부의 허락을 기다리는 품종도 여럿이 되는 것으로 알려졌다. 이러한 신품종은 국내에도 그 필요성이 절실하여 빠른 시일내에 이러한 유용형질의 개발 및 응용이 요구된다. 다음은 그들 중 국내 각종 작물에 넓게 쓰일 수 있으리라 생각되는 형질들의 일부를 소개하고자 한다.

식물의 생산에 가장 큰 저해요소는 병충해에 의한 손실이다. 그중 특히 virus는 그 예방 및 치유방법이 재래적인 기술로는 쉽게 얻지 못하여 그 피해는 작물마다 심각하다. 그러나 분자생물학적인 방법으로 이러한 어려움을 극복할 수 있었다.

Virus 저항성은 피막단백질을 숙주 식물에 강하게 발현시킴으로써 얻을 수 있

었으며 또한 결핍된 복제효소(replicase)를 생산시키므로써 얻을 수가 있었다. TMV 저항성을 가진 토마토, rice stripe virus 저항성을 띠는 벼, 혹은 maize dwarf mosaic virus 저항성 옥수수등이 피막단백질을 이용하여 얻어진 신품종의 예들이다(2).

박테리아에 대한 저항성 유전인자의 개발은 훨씬 어려움을 겪고 있다. 그 이유는 미생물과 식물사이의 연관관계가 매우 복잡하여 미생물의 감염과정및 식물의 방어기작이 아직 자세히 알려져 있지 못하기 때문이다(3). 그 기작은 각 식물과 병균에 따라 다를 수도 있을 것으로 추정되나 대략 아래와 같은 모델에 의하여 식물이 저항성을 갖을 것이라 생각된다. 대부분의 미생물은 특이한 독소를 분비하여 식물을 공격하는데 저항성 기능을 가진 식물은 이 독소나 혹은 다른 물질을 인지하여 식물세포내로 신호를 보내 여러가지 방어기작에 관여하는 유전자들을 작동시키므로써 그 병균에 대한 저항성을 띠게 된다고 가정된다. 최근 Tanksley 박사 연구진은 토마토로부터 *Pseudomonas*의 저항성 유전자를 분리한 결과 이는 신호전달에 관여하는 Protein kinase인 것이 드러났다(4). 앞으로 이 토마토 유전자를 이용하여 이와 유사한 저항성 유전자들을 다른 식물에서도 분리 연구함으로써 다양한 저항성 형질을 식물체에 도입하게 될 수 있으리라 기대된다. 이 외에 *Pseudomonas* 독소를 제거하는 유전자를 미생물로부터 분리하여 식물에 전이하므로써 식물의 방어 능력을 증가시킨 예가 있다. 또다른 예로는 T4 lysozyme을 감자에 발현시켜 세포밖으로 분비시키므로써 주요 병균인 *Erwina*에 대한 저항성을 갖게 한 경우도 보고되었다.

곰팡이 저항성에 대한 연구도 활발히 진행되어 병균의 침입시 발현되는 여러 가지 유전자들을 분리하게 되었다(5). 이러한 유전자들을 병원성 관련 유전자라고 하는데 이들은 β -1,3-glucanase나 chitinase와 같은 단백질을 생산하여 곰팡이의 침입을 지연시킬 것으로 추정된다. 콩의 chitinase를 담배에 넣어줌으로써 *Rhizoctonia*에 저항성을 갖게 하였다는 보고는 이 병원성 관련 유전자들을 이용하여 곰팡이에 대한 피해를 줄일 수 있음을 제시한 좋은 예이다. 그러나 chitinase 및 β -1,3-glucanase 등에는 여러 종류가 있어 어떤 유전인자가 실제로 내병성을 나타내는데 직접 관여하는지는 각기 조사하여 보아야 한다. 이 효소들은 혼자보다는 함께 작용할 경우 보다 강한 내병성 현상을 보일 것으로 추측된다. 이 외에도

식물에는 여러 가지 물질이 생성되어 병균의 침입에 대처한다. 그 중 한 예는 phytoalexin으로써 곰팡이의 침입시 축적되어 내병성 기작에 기여한다고 알려져 있다. 포도의 phytoalexin인 resveratrol은 *Botrytis* 곰팡이에 저항성을 보이는데 이의 생합성 유전인자를 분리하여 담배에 넣어준 결과 이 병원균에 대한 저항성이 증가되었음이 보고되었다. 이 외에도 cystein을 많이 가진 단백질이나 osmotin같은 단백질 등이 항균성을 갖고 있다고 보고되어 이 유전인자들의 분리 및 응용이 기대된다. 또 다른 예는 제초제 저항성 유전자를 벼에 도입하므로써 잡초뿐만 아니라 그 제초제에 민감한 곰팡이인 *Rhizoctonia*를 함께 조절할 수 있음이 보고되었다.

내충성 형질은 곤충의 다양도 등의 복잡성으로 큰 진척을 못보고 있다. 다만 십여년 전 *Bacillus*에서 분리된 Bt 독소 단백질은 여러 식물에서 그 효능이 증명되었다(6). 그러나 Bt 독소에 의해 영향을 받는 곤충의 범위가 협소하여 다양한 Bt 독소 유전인자의 분리가 요구되며 더우기 곤충이 이러한 형질전환체에 대하여 저항성을 습득하는 등 여러가지 문제성을 보여주고 있다. 다른 예는 단백질 분해 효소 억제제(proteinase inhibitor)이다. 식물에는 여러 종류의 단백질 분해효소 억제제가 있어서 곤충의 피해를 감소시킨다고 알려져 있다(7). Bt독소에 비해 그 작용이 완만한 단점이 있으나 한 종류의 억제제가 영향을 미치는 곤충의 범위가 넓으며 또한 곤충의 저항성 발달이 늦다는 점등의 장점 때문에 내충성 형질로 쓸 수 있는 좋은 자원이라 생각된다. 그러나 특히 곤충은 그 변이가 심하여 한 종류의 저항성 형질의 도입으로는 만족할 만한 효과가 기대되지는 않는다. 따라서 보다 다양한 저항성 형질을 개발하여 함께 사용하므로써 자연 상태에서 오래 저항성을 유지하는 품종을 얻을 수 있을 것이다.

여러 종류의 제초제 저항성 유전인자들이 많은 실험실에서 분리되어 사용되고 있다(8). 특히 제초제 회사들은 자기 상품에 대한 저항성 품종을 개발하기 위하여 경쟁이 치열하다. 한 예로 Du Pont 회사는 sulfonyl urea 제초제 저항성 유전자를 애기장대등의 식물에서 분리하여 사용하였으며 Monsanto 회사는 그들의 등록 상표인 glyphosate 제초제에 대한 저항성 유전자를 옥수수 및 애기장대 등에서 분리하여 형질전환에 쓰고 있다. 이 외에도 atrazine, bromoxynil, paraquat 등의 제초제에 대한 저항성 유전인자들이 분리되어 이들의 응용을 제시한 바 있다.

유전공학 기술로 가장 처음 생산된 상품은 calgene 회사의 토마토이다(9). 이 토마토는 성숙이 크게 지연된 것으로 과실의 성숙에 관여하는 생장호르몬인 ethylene의 함량을 감소시키므로 얻은 것이다. 이러한 과실은 운반 및 저장과정 중 생기는 손실을 줄일 수 있어서 다른 과일이나 야채 작물에도 유용할 것이라 기대된다.

분자식물학 기술은 화훼작물에도 응용되어 새로운 형질이 개발되고 있다. 꽃의 색깔에 관여하는 색소체의 생합성 회로를 연구하므로써 이 유전인자들을 분리할 수 있었으며 따라서 색깔의 종류나 강도를 변화시킬 수 있음이 증명되었다(10). 꽃의 색깔은 대부분 flavonoid 색소체에 의해 결정되는데, chalcone synthase는 황색 색소를 생산하는 중요한 효소이다. 이 외에도 적색의 cyanine 및 오렌지색 계통의 pelargonidin, 청색의 delphinidin 등 1000가지가 넘는 다양한 색소체를 합성시키는 유전자들을 점차 분리하므로써 새로운 화훼작물을 개발할 수 있는 길을 열어놓았다.

인구의 증가로 시급히 요구되는 식량문제를 해결하는 가장 중요한 방법은 생산량의 증가라고 하겠다. 이의 한 방법은 저장단백질이나 저장전분의 양을 증가시킴으로 가능할 것이다. 전분의 생합성회로 중 ADP-glucose pyrophosphorylase(AGP)는 그 경로의 첫번째 반응에 관여하는 효소로 전분의 저장에 가장 중요한 역할을 한다. Monsanto 회사의 연구진은 이에 해당하는 유전자를 대장균에서 분리하여 감자의 저장조직에 표현시킨 결과 전분 함량이 현저히 증가된 형질전환체를 얻을 수 있었다(10). 이 유전자는 다른 농작물에도 전이되어 그 유용도가 시험되고 있다.

생산량의 증가는 또한 잡종종자의 개발로 이루어진다. 잡종은 순계보다 우수하여 생산량에 현저한 증가를 가져다 주는 것이 여러 식물에서 증명되었다. 그러나 대부분의 식물은 암수동체임으로 자가수정이 결핍된 웅성불임 형질을 이용하면 보다 용이하게 잡종종자를 얻을 수 있다. 웅성불임은 자연에서 흔히 나타나는 현상이지만 cytoplasmic male sterility(CMS)와 같이 잡종 종자의 개발에 이용할 수 있는 형질은 흔치 않다. 그 이유는 대부분의 웅성불임이 열성형질이거나 또는 그 웅성불임을 복귀하여 줄 restore 유전자가 없기 때문이다. 따라서 UCLA의 Goldberg 교수와 유럽의 Plant Genetic System 회사는 공동연구를 통하여 유전공학적인 방법을 이용한 웅성불임 형질을 고안하게 되었다(11). 이 형질은 수술의

용단조직(tapetum)에서만 특이하게 표현되는 유전자로부터 조절자 부위를 떼어내어 RNase에 연결하여 만든 것으로서 수술의 발달과정 중 이 형질이 표현됨에 따라 용단조직의 RNA가 파괴되 수술의 발달이 저해되므로써 옹성불임 현상이 나타나게 된다. 본 저자의 연구실에서도 이와 유사한 방법으로 옹성불임 형질을 고안하였다. 본 연구실의 형질은 저자와 달리 화분에서만 특이하게 발현되는 조절자를 썼으며 RNase 대신 식물 성장 홀몬을 생산하는 *ro1B* 유전자를 사용하였다. *ro1B* 유전자는 RNase와는 달리 소량의 표현으로는 식물의 발달에 큰 지장을 초래하지 않아 보다 사용하기에 안전할 것으로 기대된다.

결 론

각종 기계와 기술의 발달로 유전자의 분리와 조작이 날로 쉬워진다. 따라서 과거에 비해 빠른 속도로 유용 형질이 분리될 것이다. 그러나 아직도 대부분의 국내 작물이 형질전환이 어려워 신품종의 개발이 지연되고 있다. 분자생물학과 조직 배양기술의 균형된 발달이 요구된다.

참 고 문 헌

1. An, G. Current status and future perspectives of biotechnology using plant tissue culture techniques(II). *Korean J. Plant Tissue Culture*. 19: 255-259 (1992).
2. Scholthof, K.B.G., Scholthof, H.B., Jackson, A.O. Control of plant disease by pathogen-derived resistance in transgenic plants. *Plant Physiol*. 102: 7-12 (1992).
3. Dixon, R.A., Lambk, C.J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 339-367 (1990).
4. Martin, B.B., Brommonschenkel, S.H., Chunwongse, J., Fray, A., Ganai, M.W., Spivey, R., Wu, T., Rarle, E.D., Tanksley, S.I.D. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistnce in tomato. *Science*. 262: 1432-1436 (1993)
5. Cornelissen, B.J.C., Melchers, L.S. Strategies for control of fungal diseases with transgenic ploants. *Plant Physiol*. 101: 709-712 (1993).
6. Vaeck, M., Reynaerts, A., Hofte, H., Jansens, S., De Beuckeleer, M., Dean, C., Zabeau, M., Van Montagu, M., Leemans, F. Transgenic plants protected from insect attack. *Nature*. 328: 33-37 (1987).
7. Ryan, C.A. Proteinase inhibitors in plant leaves: A biochemical model for pest-induced natural plant protection. *Trends Biochem. Sci.* 5: 148-150 (1978).
8. Powles, S.B., Holtum, J.A.M. Mechanisms and agronomic aspects of herbicide resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. & Plant Mol. Biol.* 44: 203-209 (1993).
9. An, G. current status and future perspectives of biotechnology using plant tissue culture techniques. *Korean J. Plant Tissue Culture*. 19:

55-58 (1992).

10. An, G. Current status and future perspectives of biotechnology using plant tissue culture techniques. *Korean J. Plant Tissue Culture*. 20: 59-62 (1993).
11. Maliani, C., De Beuckeleer, M., Truettner, J., Leemans, J., Goldberg, R.B. Induction of male sterility in plants by a chimeric ribonuclease gene. *Nature*. 347: 737-741 (1990).