

바이러스 저항성 형질전환 식물체 개발 연구의 현황과 전망

Current status and prospects for studies of virus-resistant transgenic plants

백 경 희
(한국과학기술연구원 유전공학연구소)

서 론

생명공학 기술은 인류의 건강, 복지 및 환경개선을 위한 핵심산업기술로 인식이 되어 기술개발이 점증 일로에 있다. 나아가 21세기에는 전자, 정보와 더불어 세계의 첨단 산업군을 선도할 전망이다. 특히 농산물의 증산 및 품질향상을 목표로 하여 시작된 농업생명공학은 짧은 역사에도 불구하고 그 발전속도가 눈부시다 할 수 있다. 한편, 외래 유전자를 도입하여 새로운 형질을 가지는 형질전환 기술체 개발 기술은 차세대 농업의 방향을 결정할 중요 기술로 부각되고 있다.

바이러스에 의해 야기되는 식물병은 곰팡이, 세균 또는 해충에 의해 발생하는 식물병과 달리 이렇다 할 화학적 방제가 알려져 있지 않고 농작물의 생산량 저하 및 품종 퇴화 등 농업생산 전반에 심각한 피해를 준다. 바이러스 퇴치책으로서 현재 사용하고 있는 조직배양을 통한 virus-free한 종묘의 생산이나 저항성 품종의 이용등은 바이러스 피해를 부분적으로 감소시키는 효과는 보이나 근본적인 방지책으로는 시간이 많이 걸리는등 많은 한계 및 문제점을 지니고 있다. 이에 대한 해결 방안의 하나로 조직배양과 *Agrobacterium tumefaciens*를 이용한 식물형질전환 기술개발로 유전자조작에 의해 식물자체에 바이러스내성을 부여함으로써 바이러스 저항성 작물을 개발하고자하는 시도가 이루어지고 있다. 1986년에 담배모자이크바이러스(TMV)의 피복유전자를 이용한 바이러스 저항성 형질전환 담배의 개발이 보고

되어(Powell-Abel *et al.*, 1986) 유전자도입 기술에 의해 작물에 바이러스 저항성을 부여할 수 있는 가능성을 뚜렷이 보여 주었다. 그 뒤 다양한 바이러스 유래 유전자 및 식물체 유래 유전자인 *Phytolacca*의 ribosome inactivating protein(RIP) 유전자를 이용하여 이미 많은 작물에서 성공사례가 입증되고 있다. 그러나, 한편으로는 도입된 바이러스 유전자가 환경에 노출될 때 재조합에 의한 새로운 종류의 바이러스를 만들어 낼 가능성이 자연상태에서의 재조합수준을 결코 넘지는 않으나(Greene and Allison, 1994) 환경에 전혀 영향을 주지 않는다는 결론을 내릴때까지 실용화를 기다리고 있다.

국내에서는 지난 4-5년 사이에 유전자조작과 도입에 의한 고등식물 형질전환기술의 학문적인 면과 실용적인 면에서의 중요성이 인식되어 수년내로 유전자조작에 의한 고등식물 형질전환분야에서의 중요한 업적들이 이루어질 것으로 전망된다. 본 연구팀에서는 국내에서 순수분리된 오이모자일바이러스(CMV-K) 및 감자바이러스 Y(PVY-VN)의 유전자를 분석하고 다양한 방법으로 유전자를 조작하여 주요 원예작물에 바이러스 저항성을 도입하는 연구를 진행하고 있다. 또한, 우리나라에서 식용으로 이용하고 있는 비름(*Amaranthus viridis*)에서 항바이러스성 단백질을 분리하고 이를 이용하여 복합감염에 대한 저항성작물 연구가 진행중이다. 따라서 본론에서는 본 연구팀에서 주로 진행되고 있는 연구를 항목별로 소개하고자 한다.

본 론

1. *Agrobacterium tumefaciens*를 이용한 고추, 배추의 형질전환

우리나라의 주요 원예작물인 고추, 배추등에서 형질전환이 아직 제대로 이루어지지 않아 외래 유전자의 도입을 통한 신품종 개발에 큰 장애가 되고 있으며 따라서 이러한 기술개발이 선행되어야 한다. 배추의 경우, oilseed type의 *Brassica campestris*에서만 형질전환체가 보고되어 있고(Mukhopadhyay *et al.*, 1992), 고추의 경우 bell pepper(*Capsicum annuum*), sweet pepper(*C. frutescens*)등에서만 보고되어 있고 hot pepper에서는 보고되어 있지 않다. 본 실험실에서는 young seedlings의 cotyledonary petioles를 explants로 하여 배추, 고추 각각 형질전환체를 얻고(Lee *et al.*, 1994; Paek *et al.*, 1994) 그 progeny를 분석중이다. Fig.1과 Fig.2에 형질전환체의 분석이 표시되어 있다.

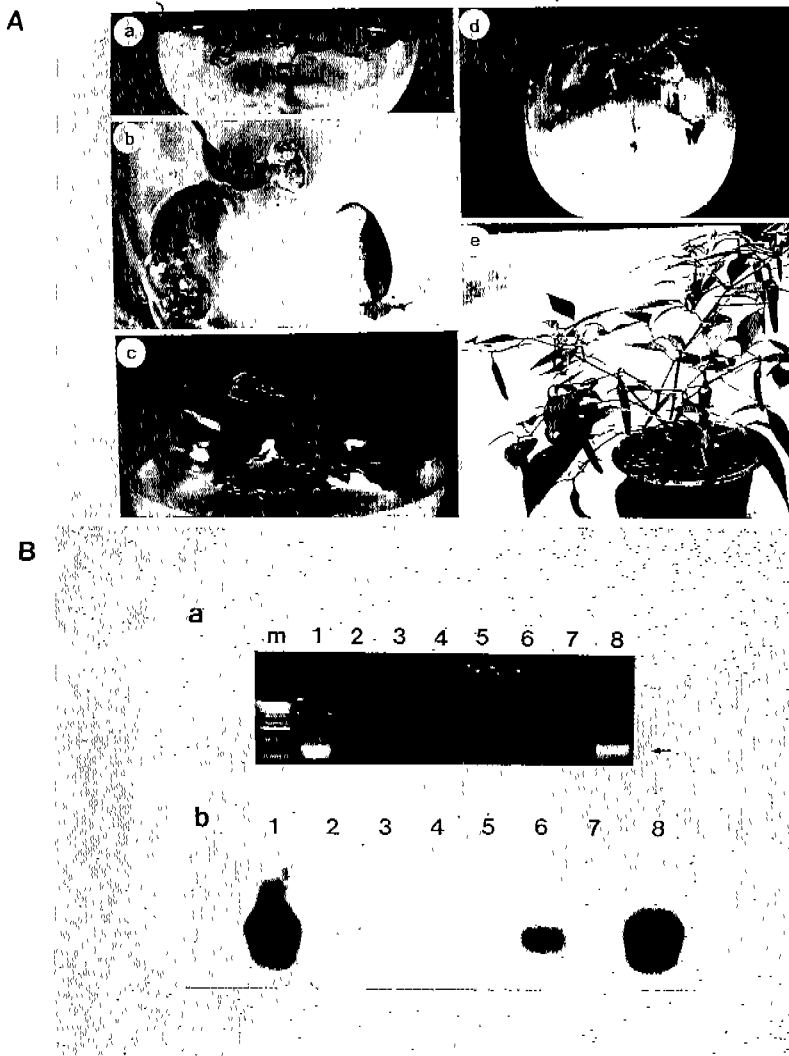


Fig. 1. (A) Development of shoots form *C. annuum* cotyledon explants. a, cotyledon explants: b, calli and shoot-buds formation: c, shoot regeneration: d, root establishment: e, a transformant bearing fruits. (B) Agarose gel electrophoresis (a) and Southern blot analysis (b) of PCR amplification products. m, BRL's 1 kb DNA ladder: lanes 1 and 8, amplified product from plasmid pRok1/105: lane 2, amplified product from genomic DNA of nontransformed hot pepper plant: lanes 3, 4, 5, 6, and 7, amplified products from genomic DNA of transgenic hot pepper plants transformed with pRok1/105. The arrow indicates approximately 0.7 kb of amplified *nptII* product.

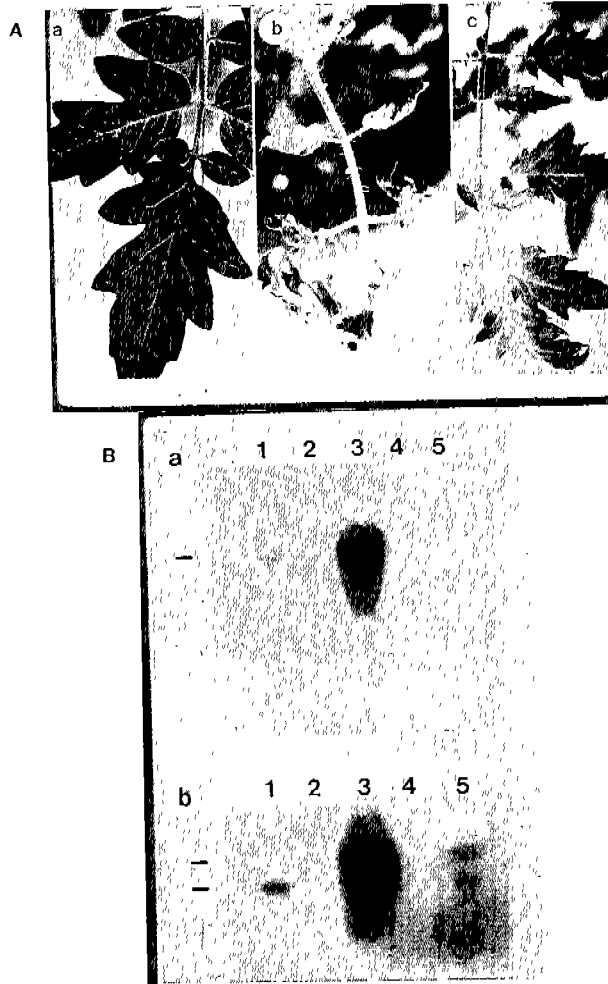


Fig. 2. (A) Symptom development on the leaves of the transgenic tomato plant inoculated with CMV-Y. Photographs were taken 2 weeks after inoculation. a, a noninoculated nontransformed plant: b, an inoculated nontransformed plant: c, an inoculated transgenic plant. (B) Northern blot analysis for the production of viral RNAs in CMV-Y inoculated transgenic tomato plants. Probes were cDNA clones of CMV RNA 1 (a) and CMV RNA 4 (b). Lane 1, purified CMV-Y RNAs: lane 2, total RNA extracted from a noninoculated nontransformant: lane 3, total RNA extracted from an inoculated nontransformant: lane 4, total RNA extracted from a noninoculated transgenic plant: lane 5, total RNA extracted from an inoculated transgenic plant. 50 ng of purified CMV-Y RNAs and 25 μ g of total plant RNA were loaded on each lane involved. RNA blots were exposed to X-ray film for various periods of time to get appropriate exposure for each viral RNA. Upper bar indicates the position of CMV RNA 3, lower bar RNA4 in (b).

2. 오이모자이크바이러스의 위성 RNA를 이용한 바이러스 형질전환식물체 연구

오이모자이크바이러스는 cucumovirus에 속하며(Kurath and Palukaitis, 1987) (+) sense single-strand의 tripartite genome을 갖는 RNA plant virus이다. 또한 오이모자이크바이러스는 약 800여종의 식물체를 감염시켜 세계적으로 중요한 경제성을 지니고 있다. 이들은 3종류의 RNA를 가지며 종종 330 내지 380 개의 염기서열을 갖는 위성 RNA를 포함하기도 한다. 1973년 Peden과 Symons에 의해 오이모자이크바이러스의 위성 RNA가 발견된 이래 CMV에 의한 병원성을 강하게 또는 약하게 하는 여러 CMV의 변종 위성 RNA가 발견되었고 또한 클로닝되었다. 이 변종 위성 RNA는 CMV에 감염되었을 때에만 복제 가능하며 이 복제의 결과로 CMV에 의한 병원성을 조절하는 것으로 해석되고 있다. 본 연구진은 CMV균주 I_{17N}에서 분리된 위성 RNA의 cDNA(Baulcombe *et al.*, 1986; Harrison and Baulcombe, 1987)를 이용하여 담배, 페튜니아, 토마토 및 고추등에 형질전환을 시키고 이들 형질전환 개체에 외래유전자가 안정하게 도입되고 또한 발현됨을 PCR분석, Southern blot, Northern blot 및 Western blot, progeny analysis등으로 확인하였다(Table 1).

Table 1. Segregation pattern of transformants on the medium containing kanamycin (250µg/ml)

Lines	No. of tested plants			Expected ratio	χ^2	P value	cDNA inserted
	Km ^R	Km ^S	Total				
W38	0	135	135	-	-	-	-
VIR2	418	139	557	3 : 1	0.00	0.95-	1
VIR4	419	130	549	3 : 1	0.51	0.50-0.75	1
VIR4/W38	192	162	354	1 : 1	2.54	0.10-0.25	1
VIR10	167	14	181	15 : 1	0.69	0.25-0.50	2

W38: nontransformed wild type tobacco plant (*N. tabacum* L. cv. Wisconsin 38)
 VIR#: transformed tobacco plants with Rok1/105
 VIR/W38: back-crossing tested

또한 바이러스 감염실험을 통하여 형질전환개체에서 형질전환하지 않은 대조구에 비하여 병증이 현저히 저하됨을 관찰 및 제반 실험을 통하여 확인하였다(Fig. 3).

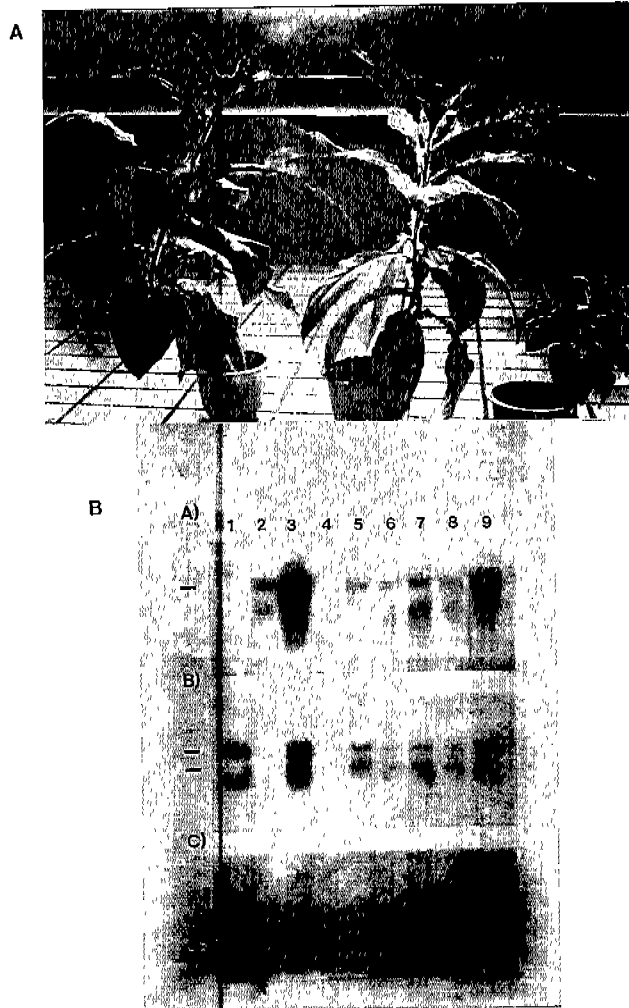


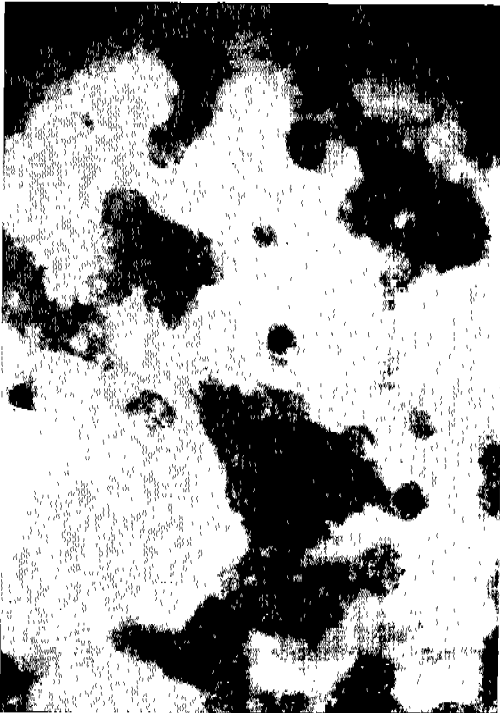
Fig. 3. (A) Symptom development pattern of T_1 transgenic tobacco plant 7 weeks postinoculation with CMV-Y. Left, uninoculated transgenic plant; Middle, inoculated transgenic plant; Right, inoculated nontransformant. (B) Northern blot analysis for the viral RNAs from T_1 transgenic tobacco plants. Probes were cDNA clones of CMV RNA 1 (A), CMV RNA 4 (B), and CMV satellite RNA (C). Lane 1, purified CMV-Y; 2, uninoculated W38 plant; 3, inoculated W38 plant; 4, uninoculated T_1 transgenic plant; 5-9, inoculated individual T_1 transgenic plants. Samples were prepared after 20 days of virus inoculation.

3. 오이모자이크바이러스 한국균주(CMV-K)의 계통분석 및 cDNA 클론을 이용한 바이러스 저항성 연구

CMV-K의 cDNA 합성 및 분석

국내에서 순수분리된 CMV-K균주를 TMV-resistant 담배(*Nicotiana tabacum* cv. Xanthi)에서 대량 증식한 후 바이러스입자를 추출하였다. 전자현미경사진, 단백질 전기영동등을 통하여 CMV입자임을 확인하였다(Fig. 4).

A



B

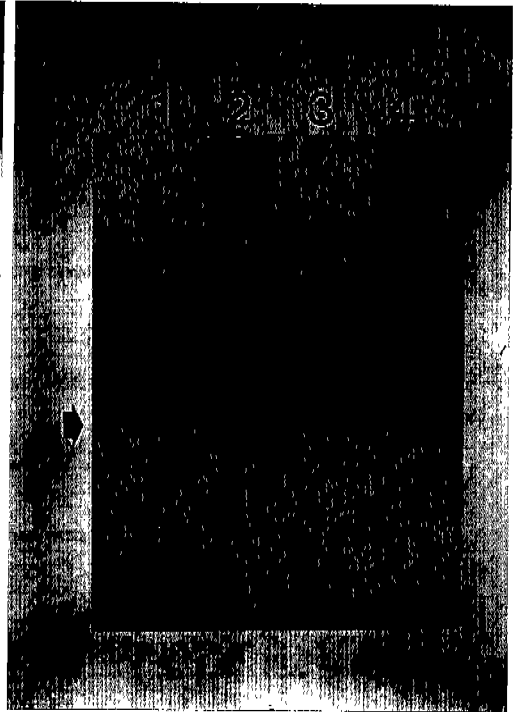


Fig. 4. (A) Electron micrograph of purified CMV-K (X 150,000). (B) Western blot analysis for the CMV-K inoculated tobacco plants. Proteins were extracted from CMV-K inoculated and non-inoculated plants and dissolved in phosphate sample buffer and run on a 10% SDS-polyacrylamide gel. Proteins were blotted onto nitrocellulose membrane and hybridization was carried out with anti-CMV-K polyclonal antibody. Hydrogen peroxidase was used as a second antibody conjugate. Arrow indicates the position of CMV-K coat protein. Lane 1, protein standard marker; Lane 2, 1.5 μ g of purified CMV-K; Lane 3, 1 μ g of purified CMV-K; Lane 4, protein extracted from non-inoculated tobacco plant.

이 CMV입자에서 RNA를 추출한 후 random primer 및 polyadenylation을 한 후 oligo dT를 이용하여 cDNA 합성을 행하였다. cDNA절편을 [α - 32 P]로 표지하여 Northern blot 분석을 행함으로써 CMV-K RNA의 각 genome에 대한 cDNA clone임을 확인하였다. 합성 primer와 RNA sequencing을 이용하여 CMV-K RNA3의 염기서열을 결정하고 다른 CMV 균주들과의 이동단백질 및 피복단백질의 아미노산서열을 비교 분석하였다(Fig. 5). 이 결과 CMV-K는 subgroup I에 속하는 것이 확인되었다.

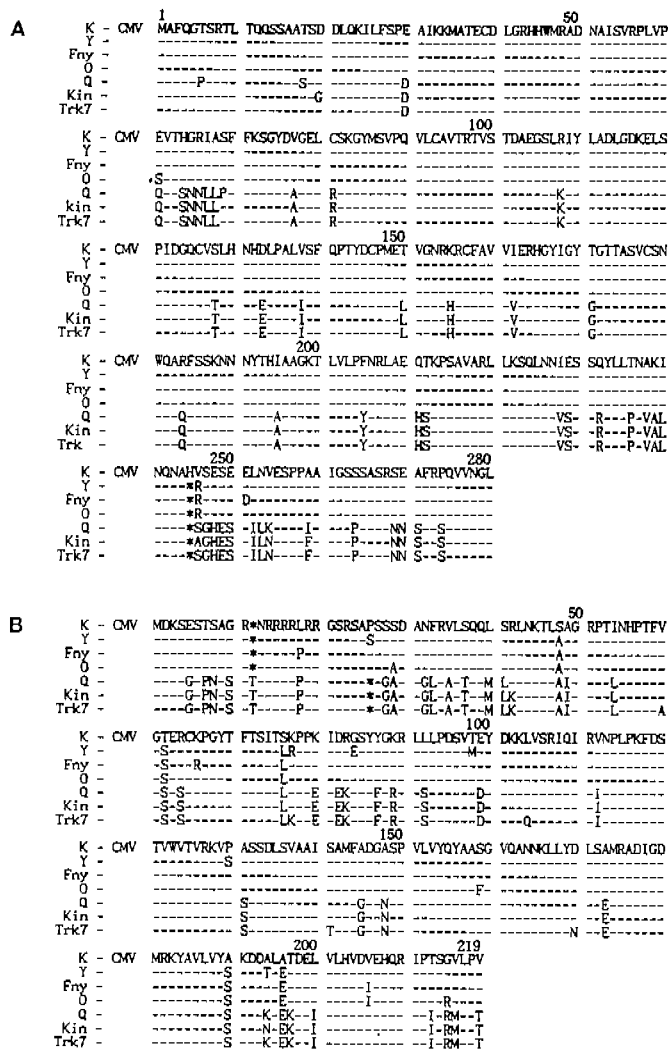


Fig. 5. Amino acid sequence comparison of CMV-K and other known CMV strains. (A) movement protein aa sequence and (B) coat protein sequence.

CMV-K cDNA clone들의 조작 및 담배, 고추에로의 도입

Random primer로 얻은 CK161 및 CK230 clone들을 각각 sense 및 antisense 방향으로 식물체 expression vector인 pMBP-1에 subcloning하였다. 또한 synthetic primer를 사용하여 MP, ICR2 및 CP에 해당하는 유전자를 PCR로 합성하였다(Fig. 6). 이들중 일부는 담배 및 고추에 형질전환시키고 분석하였다.

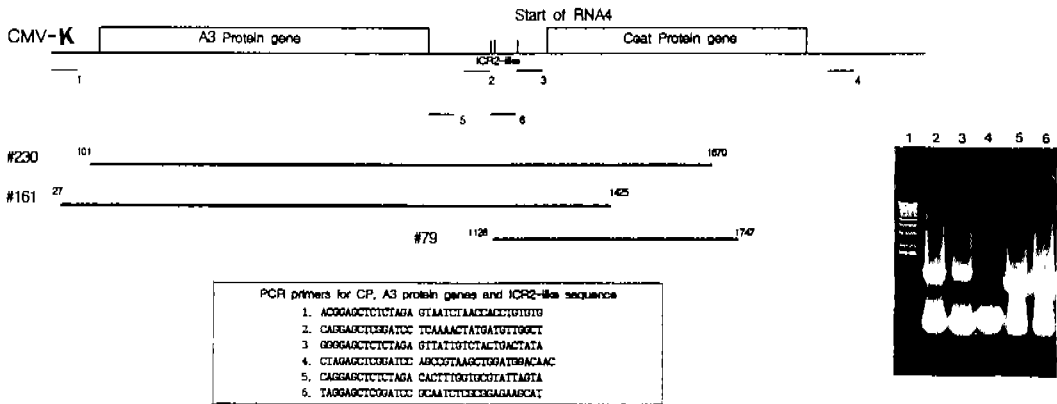


Fig. 6. The cDNA clones of CMV-K RNA 3 obtained using random primers. The clones are shown as long and thick bars. The locations of synthetic PCR primers used for MP, CP and ICR2 synthesis are indicated as short bars. The sequences of primers are shown in the box. The PCR products run on an agarose gel are on the right side photograph.

CMV-K의 cDNA clone이 도입된 형질전환 담배 분석

CK161 및 CK230 clone이 sense 및 antisense로 도입된 형질전환 담배 분석을 행하고 또한 이 clone들의 CMV RNA3 translation inhibition 정도를 *in vitro* 실험을 통하여 관찰하였다. 형질전환 담배에 CMV-K 및 CMV-Y를 감염시켜 병증 전개 및 protection 양상을 눈으로 관찰하고 또한 CMV의 local lesion host인 명아주에 local lesion assay를 행함으로써 병증 완화현상을 정량적으로 분석하였다.

4. Vein-necrotic type의 potato virus Y(PVY-VN) 계능분석, 유전자조작 및 연초 재배품종으로의 도입

PVY는 세계적으로 분포되어 있고 경제적인 피해도 심각하여 식물 바이러스에 의한 전체 손실의 약 40%를 차지하는 것으로 알려져 있다. 한편, 우리나라에서 1992년의 경우 연초경작종 PVY에 의한 피해로서는 황색종의 경우 2.1%, 버어리종의 경우에는 6.2%의 산지 발병율을 보이고 있다(Hong *et al.*, 1992). 따라서 본 연구에서는 국내 잎담배에서 분리된 PVY-VN의 유전자조작을 통하여 PVY내성 연초 품종을 육성하고자 한다.

Oligo dT primer를 이용한 PVY-VN의 cDNA cloning

순수분리된 PVY-VN을 전자현미경과 단백질 전기영동을 통하여 확인하고 RNA를 회수한 후 oligo dT primer를 이용하여 cDNA를 합성하였다. cDNA clone들의 염기서열과 아미노산 서열을 분석한 결과 피복유전자의 경우 다른 PVY들과 93-96%의 높은 아미노산서열 유사성을 보임을 확인하였다(Fig. 7).

PCR을 이용한 복제유전자, 피복유전자 합성, 조작 및 연초 재배품종으로의 도입

복제유전자와 피복유전자 각각의 5'말단(ATG codon포함) 및 3'말단에 해당하는 primer를 합성하여 유전자를 얻고 이들 유전자를 expression vector(pMBP1과 pMBP2)에 sense 및 antisense 방향으로 삽입한 뒤 우리나라의 연초 재배품종인 NC82와 Burley21에 각각 도입하였다. 특히, 기간단축에 유념하여 반수체 형질전환을 시도하고 있다.

```

PVY-VN      - GNDTI DAGGSTKKDAKQEQGSI QPNPKKKEKEDVAVGTSGRHTVPRIKAITSKRMKPTSKGATVNLNLEHLLVYAPQQIVISNTRATOSQFDTWEAVRMA -100
PVY-N1      - ANDTI DAGGSNKKDAKPEQGSIQPNPKGKDKDVNAAGTSGRHTVPRIKAITSKRMKPTSKGATVNLNLEHLLVYAPQQIDISNTRATOSQFDTWEAVRMA
PVY-N2      - GNDTI DAGGSTKKDAKQEQGSI QPNLKKKEKEDVNAAGTSGRHTVPRIRAITSKRMKPSKGAIVNLNLEHLLVYAPQQIDISNTRATOSQFDTWEAERMA
PVY-N3      - GNDTI DAG-SITKDAKQEQGSI QPNLKKKEKEDVNAVGTSGRHTVPRIKAITSKRMKPSKGAIVNLNLEHLLVYAPQQIEISNTRATOSQFDTWEAVQLA
PVY-0       - ANDTI DAGGSNKKIQKPEQSSIQSNPKKSKDKDVNAAGTSGRHTVPRIKAITSKRMKPSKGAIVNLNLEHLLVYAPQQIDISNTRATOSQFDTWEAVRMA
PVY(CH)     - ANDTI DAGVKKKDAKPEQGSIQSNPKKSKDKDVNAAGTSGRHTVPRIKAITPKRMKPSKGAIVNLNLEHLLVYAPQQIDISNTRATOSQFDTWEAVRMA
PVY-H       - GNDTI DAGGSTKKDAKQEQGSI QPNLNNKKEKEDVNAVGTSGRHTVPRIKAITSKRMKPSKGAIVNLNLEHLLVYAPQQIDISNTRATOSQFDTWEAVQLA
PVY-VN      - YDIGETEMPTVANNGLAVWFCIENGTSPNNGVWVMMDDGNEQVEYPLKPIVENAKPTLRQIMAHFSVVAEAYIEKRNKKEPVMRFRYGLIRNLRDVGELARVAF -200
PVY-N1      - YDIGETEMPTVANNGLAVWFCIENGTSPNNGVWVMMDDGNEQVEYPLKPIVENAKPTLRQIMAHFSVVAEAYIEKRNKKEPVMRFRYGLIRNLRDMG GARVAF
PVY-N2      - YDIGETEMPTVANNGLAVWFCIENGTSPNNGVWVMMDDGNEQVEYPLKPIVENAKPTLRQIMAHFSVVAEAYIEKRNKKEPVMRFRYGLIRNLRDVGELARVAF
PVY-N3      - YDIGETEMPTVANNGLAVWFCIENGTSPNNGVWVMMDDGDEQVEYPLKPIVENAKPTLRQIMAHFSVVAEAYIEKRNKKEPVMRFRYGLVARNLRDVSILARVAF
PVY-0       - YDIGETEMPTVANNGLAVWFCIENGTSPNNGVWVMMDDGNEQVEYPLKPIVENAKPTLRQIMAHFSVVAEAYIEKRNKKEPVMRFRYGLVARNLRDVSILARVAF
PVY(CH)     - YDIGETEMPTVANNGLAVWFCIENGTSPNNGVWVMMDDGNEQVEYPLKPIVENAKPTLRQIMAHFSVVAEAYIEKRNKKEPVMRFRYGLIRNLRDVGELARVAF
PVY-H       - YDIGETEMPTVANNGLAVWFCIENGTSPNNGVWVMMDDGDEQVEYPLKPIVENAKPTLRQIMAHFSVVAEAYIEKRNKKEPVMRFRYGLVARNLRDVSILARVAF
PVY-VN      - DFYEYTSRTPVVARAREAHIIQKKAALAKSAQPRFLGLDGGISTDEENSRHTTEDVSPSMHTLLGVKMM -267
PVY-N1      - DFYEYTSRTPVVARAREAHIIQKKAALAKSAQPRFLGLDGGISTDEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKMM (95.9%)
PVY-N2      - DFYEYTSRTPVVARAREAHIIQKKAALAKSAQPRFLGLDGGISTDEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKMM (96.3%)
PVY-N3      - DFYEYTSRTPVVARAREAHIIQKKAALAKSAQPRFLGLDGGISTDEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKMM (93.6%)
PVY-0       - DFYEYTSRTPVVARAREAHIIQKKAALAKSAQPRFLGLDGGISTDEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKMM (93.6%)
PVY(CH)     - DFYEYTSRTPVVARAREAHIIQKKAALAKSAQPRFLGLDGGISTDEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKMM (94.0%)
PVY-H       - DFYEYTSRTPVVARAREAHIIQKKAALAKSAQSRFLGLDGGISTDEENTERHTTEDVSPSMHTLLGVKMM (93.6%)

```

Fig. 7. Comparison of the deduced capsid protein amino acid sequences among the PVY strains. The overall amino acid homology comparison of PVY-VN with other known PVY strains are designated as percentage (%) at the end of sequence.

5. Hammerhead ribozyme 이용기술

Hammerhead ribozyme은 식물 viroids, virusoids 및 satellite DNA의 transcript에서 발견되는 RNA효소로 동일분자에 존재하는 특정 GUC(or GUA) 염기서열의 3'쪽을 절단한다. 따라서 특정 유전자의 target site의 양옆의 염기서열과 상보적으로 만들면 다른 분자에 존재하는 특정 NUX(N=A,G,U,C, X=not G) 염기서열의 3'쪽을 절단하여 특정 유전자의 발현을 억제할 수 있다. 따라서 이를 이용한 바이러스 성장억제제의 개발등이 가능하다. 본 연구팀에서는 ribozyme을 CMV-K의 replicase 유전자를 target으로 하여 합성하고 이를 이용하여 *in vitro*에서는 CMV-K RNA를 cleavage하는지 보고 나아가 *in vivo* 실험은 담배등에 형질전환시켜 ribozyme에 의한 바이러스 억제를 유도할 것을 목표로 한다. 또한 satellite RNA와 ribozyme을 결합하여 *in vivo* 실험을 수행중이다(Fig. 8).

6. 비름(*Amaranthus viridis*)에서의 항바이러스성 단백질 연구

유전자 조작 및 형질전환을 이용한 바이러스 저항성 작물개발 시도는 주로 바이러스 유래 유전자를 사용하고 있으나 이 방법은 주로 특정 바이러스에만 저항성을 보일 수 있다. 또한 바이러스 유래 유전자가 도입된 식물체가 외부 환경에 노출되었을 때 재조합에 의해 새로운 변종의 바이러스가 만들어질 가능성도 완전히 배제할 수는 없다. 따라서 주로 복합감염을 해결하려는 시도에서 자리공을 비롯한 식물체의 항바이러스성 단백질을 이용하고자 하는 노력이 이루어지고 있다.

비름에서의 항바이러스성 단백질의 탐색, 분리 및 N-말단 염기서열 결정

우선 비름잎의 즙액으로 TMV에 대한 항바이러스성 단백질의 활성을 측정하였다. 즉 TMV의 local lesion host인 *Nicotiana glutinosa*를 택해 잎의 midrib을 기준으로 반쪽에는 비름의 즙액을 도말하고 다른 반쪽에는 대조구로서 buffer만을 도말하였다. 이를 건조시킨 후 TMV를 감염시켜 나타나는 local lesion 숫자를 조사하였다. 항바이러스성 단백질 분리는, CM-sepharose column chromatography 후 Mono-S column을 이용한 FPLC의 결과 나타난 fraction을 모아 Sephadex G-50

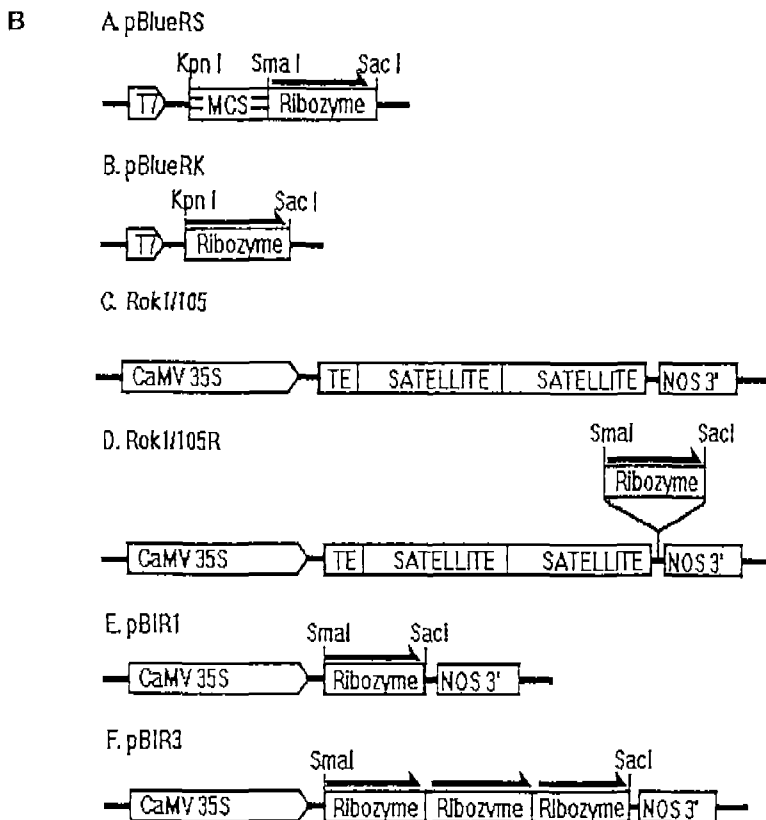
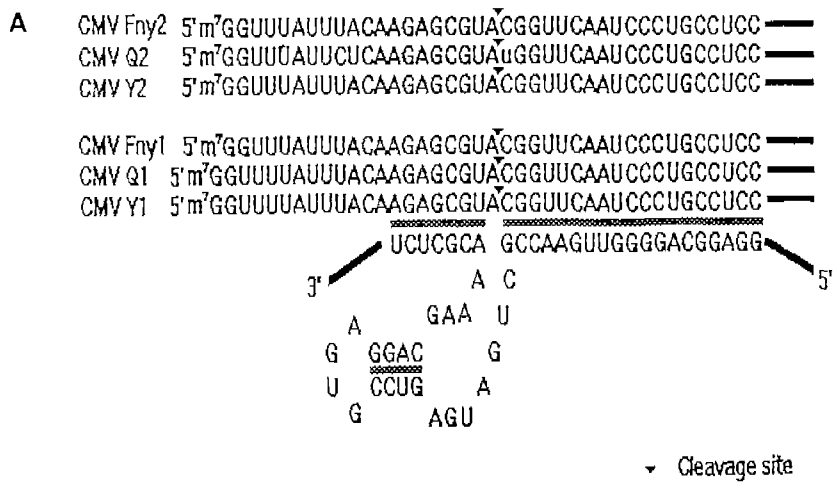


Fig. 8. (A) Expecting cleavage site in CMV RNA 1 and RNA 2 with synthesized ribozyme. (B) Construction of CMV ribozyme and CMV satellite RNA cDNA clones in vectors for *in vivo* and *in vitro* experiments.

column으로 desalting하여 단백질을 정제하고, 이것에 대한 polyclonal 항체를 토끼를 이용하여 제작하였다(Fig. 9). 순수분리 단백질은 protein blotting을 하여 N-말단의 아미노산 서열을 결정하였다. 또한 비름의 cDNA library를 제작하고 항바이러스성 단백질의 clone을 RT-PCR을 이용하여 선발중에 있다.

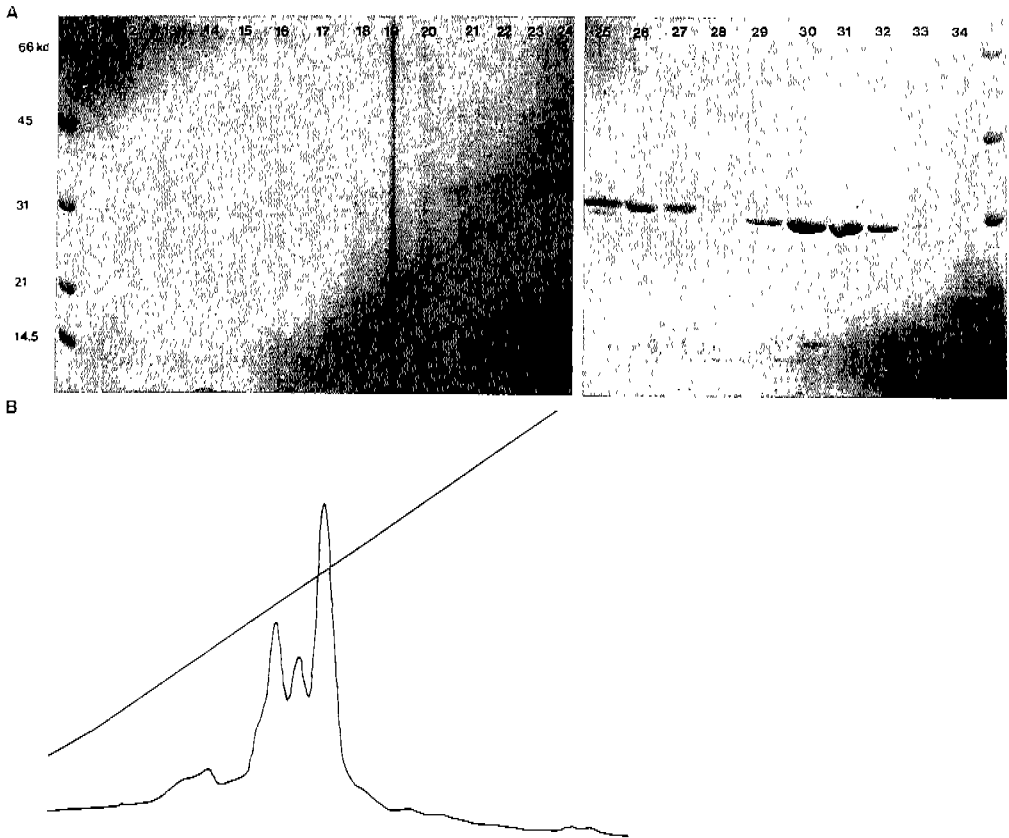


Fig. 9. SDS-PAGE analysis (A) of fractions and FPLC-elution profile (B) of Mono-S column.

요약 및 논의

1. 요약

본 실험실에서 얻은 결과를 요약하면

- 1) 우리나라 주요 원예작물인 고추와 배추의 형질전환
- 2) 오이모자이크바이러스의 위성 RNA를 이용한 형질전환 담배, 페튜니아, 토마토, 고추 등을 개발하고 담배, 페튜니아, 토마토 등에서 bioassay를 수행하여 바이러스 저항성을 나타내는 것을 확인
- 3) 우리나라에서 순수분리된 CMV-K strain의 genome 분석 및 이를 이용한 이동단백질 유전자와 피복유전자를 조작하여 이를 담배 및 고추에 도입
- 4) 우리나라 연초 재배품종인 Burley21에서 분리된 PVY VN의 genome을 분석하고 복제유전자와 피복유전자를 조작하여 NC82, Burley21의 형질전환
- 5) CMV-K의 복제유전자를 대상으로 하여 ribozyme 제작
- 6) 비름에서의 항바이러스성 단백질 분석 및 분리

2. 논의

최근 신국제경제질서 및 신국제환경질서의 확립 움직임에 따라 물질특허제도, UR(농산물 시장개방 및 지적 소유권 등), GR(환경보호) 및 생물다양성협약 등 선진국의 기술보호 추세가 강화되고 있어 국내에서도 대책마련이 시급한 실정이다. 따라서 고부가가치작물, 고수확작물 및 그 종자의 개발이 필수적이다. 본 실험실에서는 다른 식물병과는 달리 화학적 방제가 어려운 바이러스병에 대하여 유전자 조작기술 및 형질전환기술을 통하여 유전적으로 안정한 바이러스 저항성 작물개발이 가능함을 보여주었다. 나아가 국내에서 순수분리된 바이러스의 게놈분석을 통하여 우리나라에 창궐하는 바이러스의 동향을 파악하고 이의 방제를 위한 길을 모색하고 있다. 한편 우리나라에서 식용으로 이용되는 비름에서 항바이러스성 단백질을 추출하고 분석하여 복합감염의 해결을 위한 연구를 수행중이다.

그러나 진정한 신품종창출을 위해서는 해결해야 할 과제가 산적해 있다. 우선

식물체에서는 아직 homologous recombination을 이용한 targeted insertion이 불가능하여 position effect등을 고려할 때 다량의 형질전환체를 얻을 수 있어야 한다. 그런데 아직까지 담배를 제외한 다른 주요 작물의 형질전환의 성공빈도가 낮아 이를 높이는 것이 선행되어야 한다. 뿐만 아니라 포장실험을 통한 저항성의 확인과 몇 세대를 거친 유전적 안정성 점검 및 환경에 미치는 잠재적인 영향 등이 충분히 고려되어야 한다. 따라서 산·학·연간의 긴밀한 공조체제가 진정한 신품종 창출을 위해 필수적이다.

참 고 문 헌

- Baulcombe, D.C., Saunders, G.R., Bevan, M.W., Mayo, M.A. and Harrison, B.D. (1986) Expression of biologically active viral satellite RNA from the nuclear genome of transformed plants. *Nature* 321: 446-449.
- Greene, A.E. and Allison, R.F. (1994) Recombination between viral RNA and transgenic plant transcripts. *Science* 263: 1423-1425.
- Harrison, B.D., Mayo, M.A. and Baulcombe, D.C. (1987) Virus resistance in transgenic plants that express cucumber mosaic virus satellite RNA. *Nature* 328: 799-802.
- Hong, S.K., Son, J.S., Ohh, M.M. and Kang, Y.K. (1992) *In Annual Report for Tobacco Research, Breeding and Environment* pp.129-213, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute.
- Kurath, G. and Palukaitis, P. (1987) Biological activity of T7 transcripts of a prototype clone and a sequence variant clone of a satellite RNA of cucumber mosaic virus. *Virology* 159: 199-208.
- Lee, S.J., Kim, B.D. and Paek, K.H. (1993) *In vitro* plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation from cotyledon explants of hot pepper(*Capsicum annuum* cv Golden Tower). *Korean J. Plant Tissue Cul.* 20: 289-294.
- Mukhopadhyay, A., Arumugam, N., Nandakumar, P.B.A., Pradhan, A.K., Gupta, V., Pental, D.(1992) *Agrobacterium*-mediated genetic transformation frequency is strongly influenced by the mode of shoot regeneration. *Plant Cell Rep.* 11: 506-513.
- Paek, K.H., Jun, S.I., Kwon, S.Y. and Paek, K.Y. (1994) Genetic transformation of Chinese cabbage(*Brassica campestris* cv Spring Flavor) via *Agrobacterium*-mediated DNA transfer and regeneration of fertile transgenic plants, submitted.
- Peden, K.W.C. and Symons, R.H. (1973) Cucumber mosaic virus contains a

functionally divided genome. *Virology* 53: 487-492.

Powell-Abel, P., Nelson, R.S., Hoffmann, B.N., Rogers, S.G., Fraley, R.T. and Beachy, R.N. (1986) Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science* 232: 758-743.