

## PB-15

## 토마토의 MS1-like와 AMS-like 유전자 부위의 편집을 통한 기능 연구

김은희<sup>1</sup>, 이진정<sup>1</sup>, 설영주<sup>1</sup>, 안일평<sup>1</sup>, 윤혜진<sup>1</sup>, 김성미<sup>1</sup>, 라수정<sup>1</sup>, 강명진<sup>1</sup>, 오재현<sup>1\*</sup><sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농업생명자원부 유전자공학과

웅성불임 소재는 종묘회사 등에서 부분으로 활용되는 우량 계통의 보호적 측면에서 F1 교잡종 육성에 활용하는 것은 가치가 높다. 이를 위해 다양한 작물에서 웅성불임소재를 보유하고자 노력하고 있지만 전통 육종 방법으로 소재를 만들기에 어려움이 존재한다. 따라서 본 연구에서 우리는 웅성불임 소재를 만드는데 유전자교정기술을 이용하였다. 우리는 먼저 전사체 분석을 통해 수술발달과 관련된 후보유전자들을 확인하였고, 해당 후보유전자 정보를 이용하여 gRNA를 디자인하였다. golden gate 방법을 이용해 Cas9과 gRNA(MS1-like, AMS-like) 그리고 항생제 저항성 유전정보로 구성된 벡터를 제작하였으며, 아그로박테리움에 형질전환하였다. 또한 아그로박테리움 매개체를 이용하여 토마토(Micro-tom; Mt) 식물에 형질전환하여, MS1-like를 타겟한 T0세대의 경우 자엽 800여개를 확보하였으며, 이 중 신초는 230개, 뿌리가 유도된 개체는 92개체를 확보하였다. 또한 AMS-like를 타겟한 T0세대의 경우 자엽 800여개, 신초 200개, 뿌리 유도 80개체를 확보하였다. 이 중 Cas9과 NPTII의 PCR 검정을 통해 운반체DNA가 들어간 개체를 선별하였으며, 편집 부위에 대한 프라이머를 제작하여 sanger-seq를 의뢰하였다. 이를 통해 편집 수준에 대한 유전형질을 확인하였으며, 운반체DNA에 대한 Copy 수도 확인하여 세대진전을 통해 충분한 분리가 가능한 유전형질을 가지는 개체를 각 1개체씩 선별하였다. 웅성불임 소재인 만큼 일부 개체의 경우 자가수정이 되지 않아 back-crossing(BC)를 통해 세대진전을 하였지만 편집부위가 hetero한 경우가 있어 자가수정이 되는 case도 있었다. T1세대의 경우 운반체DNA가 분리비에 의해 제거된 개체만을 PCR 검정을 통해 확인하였으며, targeted deep-seq를 통해 편집부위 편집 수준을 확인하였다. 그 결과, 운반체DNA가 제거되고 편집부위에 편집이 이루어진 개체를 얻을 수 있었으며, WGS를 통해 운반체DNA와 on-&off-target를 검증하였다. 또한 MS1-like 또는 AMS-like의 편집을 통해 유전적 기능이 상실되었을 때 보여주는 표현형을 확인하였다. 이를 통해 육종에 중간모본으로 활용가능함이 확인되었다.

## [사서]

본 연구는 농촌진흥청 기관고유사업(PJ016001012023)의 지원에 의해 이루어진 것임

\*Corresponding author: E-mail, jhoh8288@korea.kr Tel. +82-63-238-4656