식물생명공학회지 제34권 제1호
J Plant Biotechnol
Vol. 34, No. 1, 75-80 (2007)

GMO 격리포장에서의 유전자변형 들잔디로부터 토착미생물로의 수평유전자전달 평가

배태웅[1], 이효연[1], 류기현[2], 이태형[3], 임평옥[4], 윤필용[5], 박신영[6], 류기중[1], 송필순[1], 이용억[3*]
[1]제주대학교 생명지원과학대학 생명공학부, [2]서울여자대학교 환경생명과학부, [3]동국대학교 생명공학과, [4]제주대학교 사범대학 과학교육과, [5]제주하이테크산업진흥원, [6]제주한라대학

Evaluation of horizontal gene transfer from genetically modified zoysiagrass to the indigenous microorganisms in isolated GMO field

Tae-Wung Bae[1], Hyo-Yeon Lee[1], Ki Hyun Ryu[2], Tae Hyeong Lee[3], Pyung Ok Lim[4], Pill-Yong Yoon[5], Sin-Young Park[6], Key-Zung Riu[1], Pill-Soon Song[1], and Yong-Eok Lee[3*]
[1]Faculty of Biotechnology, Cheju National University, Jeju-Si, Jeju 690-756, Korea
[2]Division of Environmental and Life Sciences, Seoul Woman's University, Seoul 139-774, Korea
[3]Department of Biotechnology, Dongguk University, Kyungju, Kyongbuk 780-714, Korea
[4]Faculty of Science Education, Cheju National University, Jeju-Si, Jeju 690-756, Korea
[5]Jeju Hi-Tech Industry Development Institute, Jeju 690-121, Korea
[6]Department of Clinical Pathology, Halla College, Jeju 690-708, Korea

ABSTRACT The release of genetically modified organisms (GMOs) into the environment has the potential risks regarding the possibility of gene transfer from GMOs to natural organisms and this needs to be evaluated. This study was conducted to monitor the possible horizontal gene transfer from herbicide-resistant zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud.) to indigenous microorganisms. We have first examined the effect of field-released GM zoysiagrass on the microbial flora in the gut of locust (*Locusta migratoria*). The microbial flora was analyzed through determining the 16S rDNA sequences of microorganisms. The comparison of the microbial flora in the gut of locusts that were captured at the field of GM zoysiagrass and of wild-type revealed that there is no noticeable difference between these two groups. This result indicates that the GM zoysiagrass does not have negative impact on microbial flora in the gut of locust. We then investigated whether the horizontal gene transfer occurred from GM zoysiagrass to microbes in soil, rhizosphere and faecal pellets from locusts by utilizing molecular tools such as Southern hybridization and polymerase chain reaction (PCR). When the total DNAs isolated from microbes in GM zoysiagrass and in wild-type zoysiagrass fields were hybridized with probes for *bar* or *hpt* gene, no hybridization signal was detected from both field isolates, while the probes were hybridized with DNA from the positive control. Absence of these genes in the DNAs of soil microorganisms as well as microbes in the gut of locust was further confirmed by PCR. Taken together, our data showed that horizontal gene transfer did not occur in this system. These results further indicate that frequencies of transfer of engineered plant DNA to bacteria are likely to be negligible.

서 론

농업 생산성을 효율적으로 증가시키기 위한 방법의 일환으로 유전자변형 생물 (genetically modified organism, GMO)의 개발이 최근 10여년간 급속히 증가되어왔고, 일부 품종(콩, 옥수수, 유채, 면화 등)은 상품화 되어서 자국 및 외국에서 판매되고 있다. 유전자변형 식물을 상품화하기 위해서는 자연환경에 방출하여 재배하는 것이 필수 조건이다. 그러나 유전자변형 식물을 환경에 방출하는 과정에서 많은 사람들이 갖고 있는 가장 큰 우려 중의 하나는 GMO의 제조에 사용된 선택표식유전자 (selection marker), 예를 들어 항생제 내성유전자와 같이 잠재적으로 유해한 유전자가 오랜 기간을 걸쳐 비표적생물로 전이되어 자연생태계를 위협할 가능성이다 (de Vries and Wackernagel 2004, Nap et al. 1992). 비록 명확한 증거는 없지만 GMO는 독성을 나타내거나 알레르기성 질환을 일으킬 가능성 때문에 인류의 건강을 위협할 수도 있다. 그러나 이러한 부정적인 우려에도 불구하고, GMO의 개발과 재배되는 품종의 수는 계속 늘고 있다. 따라서 유전자변형 식물을 환경에 방출하기 전에 환경에 어떠한 영향을 미치는지 면밀히 분석하고 평가할 필요가 있다.

생명공학기술을 이용한 유전자변형 식물은 자연계에 현존하는 미생물의 유전자를 이용하거나 다른 식물체의 유전자를 이용하고 있다. 본 연구에서 사용된 유전자변형 들잔디 (*Zoysia japonica* Steud.)에도 토양미생물인 *Streptomyces hygroscopicus*로부터 유래된 bialaphos 내성유전자인 basta resistance (*bar*) 유전자 (Thompson et al. 1987)와 hygromycin 내성유전자인 hygromycin phosphotransferase (*hpt*) 유전자 (Zalacain 1986)가 포함되어 있다 (Toyama et al. 2003). 토양에는 유전자변형 식물을 포함한 다양한 식물로부터 방출된 DNA가 지속적으로 남아있다 (Widmer et al. 1996, Gebhard and Smalla 1999, Lorenz and Wackernagel 1994). 토양에서 자연형질전환 (natural transformation)이 일어날 수 있다는 것은 이미 알려진 사실이다 (Nielsen et al. 1997, Lorenz and Wackernagel 1994). 만일 토양미생물이 토양에 방출된 유전자변형 식물의 DNA와 가까이 접촉된다면 형질전환에 의한 유전자전달 (gene transfer)이 일어날 가능성이 있다 (Williamson 1992, Bertolla and Simonet 1999). 그러나 자연환경에서 형질전환을 통한 유전자전달은 생물학적, 물리적 장벽에 의해 강하게 제약을 받는 것으로 보고된바 있다 (Smith et al. 1981, Bertolla and Simonet 1999). 따라서 유전자변형 식물로부터 토양미생물로의 자연형질전환을 통한 유전자전달은 만일 일어나더라도 탐지범위 아래의 극히 낮은 빈도로 일어날 것이라는 것이 일반적인 견해이다 (Hoffmann et al. 1994, Schlüter et al. 1995). 그러나 예상하지 못한 유전자전달이 일어날 가능성은 배제될 수 없다.

지금까지 대부분의 수평유전자전달 (horizontal gene transfer, HGT)에 대한 연구는 실험실내에서 이루어져왔기 때문에 그 결과에 대한 논란이 많았던 것이 사실이다. 보다 정확한 연구를 위해서는 자연환경에 가까운 조건을 갖춘 포장 (field)에서의 실험을 통해 GMO로부터 비표적생물로 HGT가 일어났는지를 조사하는 것이 바람직하다. 따라서 본 연구에서는 GMO의 환경영향평가를 위한 기초기술을 확립하기 위한 방안의 일환으로 유전자변형 들잔디가 비표적생물체인 풀무치의 장내 미생물상에 미치는 영향과 유전자변형 들잔디로부터 근권세균을 포함한 토양미생물 및 풀무치의 장내 미생물로의 유전자전달 여부를 분자생물학적 방법을 이용해 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 야생형 들잔디 (*Zoysia japonica* Steud.)와 유전자변형 들잔디 (bialaphos 내성유전자 도입)는 제주도 남제주군 위미리 소재 GMO 격리포장에서 3년 동안 재배 중인 재료로부터 채취하였다. 먼저 비표적 생물체의 장내 세균을 동정하기 위해 상기의 포장에서 가장 많이 관찰되는 메뚜기목 메뚜기과인 풀무치 (*Locusta migratoria*)를 격리된 제초제 저항성 유전자변형 들잔디와 대조구인 야생형 들잔디 포장에서 각각 채집하였다. 또한 풀무치의 장내 미생물은 풀무치의 배설물 (faecal pellet)로부터 분리하였다. 토양미생물과 근권미생물을 분리하기위해 유전자변형 들잔디 포장과 야생형 들잔디 포장에서 들잔디의 뿌리를 각각 5개의 구역에서 3cm x 3cm 면적으로 토양과 함께 채취하였다.

Oligonucleotide primer는 Bioneer Co. (Cheongwon, Korea)에서 제작하였고, PCR (polymerase chain reaction)에 사용된 primer의 염기서열은 Table 1에 나타내었다. 제한효소, Taq polymerase, T4 DNA ligase와 pGEM-T Easy vector는 Promega (Madison, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였고, 기타 시약은 Sigma (St. Louis, U.S.A.)에서 구입하였다.

DNA의 추출

풀무치의 장내 세균 DNA를 추출하기 위해 격리된 유전자변형 들잔디 구역과 대조구인 야생형 들잔디 구역에서 각각 채집된 풀무치에서 분리한 장을 액체질소를 사용하여 곱게 마쇄하였다. 풀무치 장내 세균의 total genomic DNA는 cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) 방법 (Jones and Walker

*Corresponding author Tel 054-770-2226 Fax 054-770-2226
E-mail: yelee@mail.dongguk.ac.kr

Table 1. Nucleotide sequences of the primers used in this study

Name	Sequences (5'→3')	Characteristics
16S-F	AACTGGAGGAAGGTGGGGAT	forward primer for 16S rDNA fragment
16S-R	AGGAGGTGATCCAACCGC	reverse primer for 16S rDNA fragment
Bar-F	CATCGAGACAAGCACGGTCAACTTC	forward primer for *bar* gene fragment
Bar-R	TCCGAGCGCCTCGTGCATGCG	reverse primer for *bar* gene fragment
Hpt-F	GATGTAGGAGGGCGTGGATATGTC	forward primer for *hpt* gene fragment
Hpt-R	CTTCTACACAGCCATCGGTCCAGA	reverse primer for *hpt* gene fragment
27-F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	forward primer for 16S rDNA fragment
685-R	TCTACGCATTTCACCGCTAC	reverse primer for 16S rDNA fragment

1963)으로 추출하였다. 유전자변형 식물의 유전자가 토양, 근권, 메뚜기의 장내 미생물에 전이가 되었는지를 검정하기 위해 각각 DNA를 추출하였다. 추출방법은 유전자변형 들잔디 구역과 야생형 들잔디 구역에서 토양과 잔디뿌리 주위의 근권토양 및 풀무치 배설물을 각각 1g씩 채취하여 멸균된 생리식염수 9 ml에 현탁시킨 후 각 현탁액 1 ml을 각각의 nutrient broth 100 ml에 접종하여 30℃에서 24시간 배양하였다. 원심분리로 세포를 회수한 후 G-Spin™ Genomic DNA Extraction Kit for Bacteria (iNtRON Biotechnology, Inc. Korea)를 사용하여 미생물로부터의 total chromosomal DNA를 추출하였다. Southern hybridization과 PCR 실험에 *bar*와 *hpt* 유전자의 positive control로 사용된 pGPTV-HB DNA (Lee et al. 1998)는 이 플라스미드를 가지고 있는 *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA101로부터 분리하였다.

16S rDNA 염기서열 분석에 의한 풀무치 장내세균의 동정

풀무치의 장내 세균들을 동정하기 위해 풀무치의 장에서 추출된 DNA로부터 전체 16S rRNA 유전자를 박테리아에 특이적인 primer인 16S-F와 16S-R (Table 1)을 이용해 PCR로 증폭하여 클로닝하였다. PCR 반응은 94℃에서 5분간 DNA를 변성시킨 후, 94℃에서 25초, 54℃에서 25초, 72℃에서 45초의 단계를 35회 반복하여 실시하고 72℃에서 7분간 최종 증폭하였다. PCR로 증폭된 16S rRNA 유전자 단편들은 1.0% agarose gel에서 전기영동하여 분석하였다. 증폭된 PCR산물들은 GENEALL™ PCR Purification Kit (generalbiosystem, Korea)를 사용하여 정제한 후 pGEM-T Easy vector (Promega)에 삽입시켜 *E. coli* DH5α에 형질전환하였다. 클로닝된 16S rDNA의 염기서열은 dye terminator sequencing 방법으로 automatic sequencing 장비를 사용하여 결정하였다. 결정된 16S rRNA 유전자의 염기서열은 BLAST 프로그램 (Altschul et al. 1990)을 이용하여 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 database에 있는 알려진 염기서열들과 비교하여 종 (species) 수준의 분류를 시행하였다.

Southern Hybridization

Southern hybridization방법 (Southern 1975)을 이용해 유전자전달 여부를 검정하기 위해서 유전자변형 들잔디구역과 야생형 들잔디구역의 토양, 근권토양 및 풀무치 배설물에서 분리된 미생물의 전체 DNA를 제한효소인 *Hin*dⅢ로 절단하였다. 절단된 각각의 DNA 2 μg을 0.8% agarose gel에서 전기영동한 후 capillary transfer방법 (Sambrook et al. 1989)으로 nylon membrane (Hybond™-N, Amersham, England)으로 옮겼다. Positive control로는 pGPTV-HB DNA 0.2 μg을 이용하였으며 probe로는 pGPTV-HB DNA로부터 PCR로 증폭된 *bar*와 *hpt* 유전자 조각을 각각 사용하였다. 탐침의 표지 및 탐색은 비동위원소인 digoxigenin (DIG)를 이용한 DIG DNA Labeling and Detection Kit (Roche, Mannheim, Germany)를 사용하여 protocol에 따라 수행하였다.

PCR 분석

토양미생물, 근권미생물 및 풀무치 배설물에 존재하는 미생물로부터 추출된 DNA에 대한 *bar*와 *hpt* 유전자의 PCR 검정은 genomic DNA 100 ng을 주형으로 하여 16S rDNA 유전자 단편을 위한 primer (27-F와 685-R)와 *bar* 유전자 및 *hpt* 유전자에 특이적으로 결합하는 primer (Table 1)를 이용하여 시행하였다. *bar* 유전자의 증폭을 위한 PCR 반응은 95℃에서 3분간 DNA를 변성시킨 후, 95℃에서 40초간, 65℃에서 35초간, 72℃에서 50초간의 단계를 30회 반복하여 실시하고 72℃에서 5분간 최종 증폭하였다. *hpt* 유전자의 증폭을 위해서는 95℃에서 3분간 DNA를 변성시킨 후, 94℃에서 1분간, 59℃에서 1분간, 72℃에서 1분간의 단계를 30회 반복하여 실시하고 72℃에서 5분간 최종 증폭하였다. 대조구로 사용된 16S rDNA 유전자 단편의 증폭을 위해서는 94℃에서 5분간 DNA를 변성시킨 후, 94℃에서 1분간, 58℃에서 1분간, 72℃에서 2분간의 단계를 30회 반복하여 실시하고 72℃에서 10분간 최종 증폭하였다. 증폭된 PCR산물은 1.3% agarose gel로 전기영동하여 확인하였다.

Table 2. Bacterial species found in the gut of locust captured in the field of GM and wild-type zoysiagrass*

GM zoysiagrass	Wild-type zoysiagrass
Acetanaerobacterium elongatum	***Acinetobacter sp.***
Actinomyces sp.	*Bacillus sp.*
Bacillus sp.	*Burkholderia sp.*
Burkholderia sp.	*Erwinia sp.*
Erwinia sp.	*Escherichia albertii*
Escherichia albertii	*Enterobacter sp.*
Escherichia coli	*Enterobacter sakazakii*
Enterobacter sp.	*Enterococcus sp.*
Enterobacter sakazakii	*Lactococcus garvieae*
Enterococcus sp.	*Lactococcus lactis*
Lactobacillus sp.	***Methylomonas methanica***
Lactococcus garvieae	***Novosphingobium sp.***
Lactococcus lactis	*Photorhabdus luminescens*
Photorhabdus luminescens	*Pseudomonas fluorescens*
Pseudomonas fluorescens	*Rhizobium sp.*
Rhizobium sp.	***Salmonella bovis***
Salmonella enterica	*Salmonella enterica*
Serratia marcescens	*Serratia marcescens*
Shigella boydii	*Shigella boydii*
Stenotrophomonas maltophilia	*Thiomicrospira crunogena*
Thiomicrospira crunogena	*Wolbachia pipientis*
Wolbachia pipientis	*Xenorhabdus sp.*
Xanthomoas sp.	
Xenorhabdus sp.	

* Species in bold represent the species found only in each group.

결과 및 고찰

풀무치 장내 세균상의 동정

미생물의 동정은 16S rRNA 유전자 분석에 크게 의존하고 있다. 세균의 경우 수많은 균주에 대해서 16S rRNA 유전자의 염기서열이 분석되어 데이터화 되어있기 때문에 이를 비교하면 종 (species) 수준의 동정이 가능하다. 현재 16S rDNA의 지문영역의 염기서열의 유사도가 97% 이상일 때 동종으로 간주하고 있다. 본 연구에 사용된 시료를 채취한 GMO 포장은 GM 들잔디와 대조군으로 야생형 들잔디를 식재한 후 격리된 상태로 3년이 지난 곳이다. 채집된 풀무치 또한 포장 내에서 격리된 상태로 잔디를 먹이로 자연 증식된 곤충이다. 풀무치는 자라는 환경, 특히 먹이식물의 엽면 생물상 (phylloplane biota)에서 흔히 접하는 종들로 구성된 다양한 장내 미생물상을 가지고 있다 (Hunt and Charnley 1981). 유전자변형 들잔디가 풀무치의 장내 미생물상에 어떤 변화를 가져왔는지를 조사하기 위해 유전자변형 들잔디와 야생형 들잔디에서 채집한 풀무치의 장내 세균들의 16S rDNA 염기서열을 분석하여 이들의 장내 세균들을 동정하여 비교하였다 (Table 2). 야생형 구역에서 자란 풀무치에서 확인된 장내 세균은 총 22종으로 그 중에서 4종이 야생형에서만 발견된 종이고 나머지 18종은 유전자변형 들잔디 구역에서 채집된 풀무치에서 발견된 세균들과 동일하거나 유사하였다. 유전자변형 들잔디 구역에서 자란 풀무치의 장에서는 총 24종의 세균이 발견되었는데 이 중에서 6종이 유전자변형들잔디 구역에서 채집된 풀무치에서만 발견되었고 18종은 야생형에서와 동일하였다. 이것은 두 집단의 장내 세균상에는 큰 차이가 없다는 것을 나타낸다. 따라서 유전자변형 들잔디가 풀무치의 장내 세균상에는 별다른 영향을 미치지 않은 것으로 보인다.

Southern Hybridization에 의한 유전자전달의 검정

서로 연관된 혹은 관련이 없는 비표적생물로의 수평유전자전달 (HGT)에 대한 논란은 최근 활발히 연구되고 있는 분야 중 하나이다. HGT는 진화적인 측면에서뿐만 아니라 우발적으로 또는 일부러 환경으로 방출된 유전자변형 식물의 환경영향평가를 위해서도 매우 중요하다. 제초제저항성 들잔디의 개발에 사용된 *bar* 유전자의 산물은 독성을 나타내지 않으며 다른 비표적생물 및 생태계에 대한 부정적인 영향이 아직까지 보고되지 않았으나 Jorgensen과 Anderson (1994)은 제초제저항성 유전자가 인근지역의 야생잡초로 자연전이 될 수 있는 가능성을 제시하였다. 형질전환식물을 만들기 위해 선택표식유전자로 사용된 *hpt* 유전자는 항생제인 hygromycin B에 저항성을 나타내는 유전자로서 만일 병원균으로의 수평유전자전달이 일어난다면 내성균의 확산을 일으킬 수도 있다. 본 연구에서는 *bar*와 *hpt* 유전자를 이용해 격리포장에서 HGT가 일어났는지를 알아보았다. 비표적생물체인 풀무치 및 토양미생물로의 유전자전달을 검정하기 위하여 유전자변형 들잔디 구역과 야생형 들잔디 구역의 토양과 근권토양 및 풀무치 배설물로부터 분리된 미생물들의 total genomic DNA를 제한효소 *Hind*Ⅲ로 절단한 뒤 전기영동하여 nylon membrane으로 옮겼다. DIG로 표지된 *bar* 유전자와 *hpt* 유전자를 각각 probe로 사용하여 Southern hybridization 실험을 진행한 결과 두 probe 모두 positive control로 사용된 pGPTV-HB DNA에만 결합하였고 시료들로부터 추출된 다른 DNA에서는 결합된 band가 나타나지 않았다 (Figure 1). Southern hybridization 방법에 의해 탐지 가능한 DNA의 검출한계를 조사하기 위하여 pGPTV-HB DNA와 DIG로 표지된 *bar* 유전자를 탐침으로 하여 실시한 예비실험 결과에서는 0.2 ng 까지 선명한 band를 관찰할 수 있었다 (data not shown). 따라서 토양 미생물 또는 장내 미생물 DNA 2 μg의 수준에서는 *bar*와 *hpt* 유전자의 수평이동이 관찰되지 않았다. 다만 실험에 사용된 control DNA와는 달리 미생물들의 전체 DNA는 수많은 미생물들의 DNA가 섞여있으므로 특정 미생물에 실제로 유전자전달이 일어났다고 하더라도 그 미생물의 수가 적으면 DNA의 양이 적어

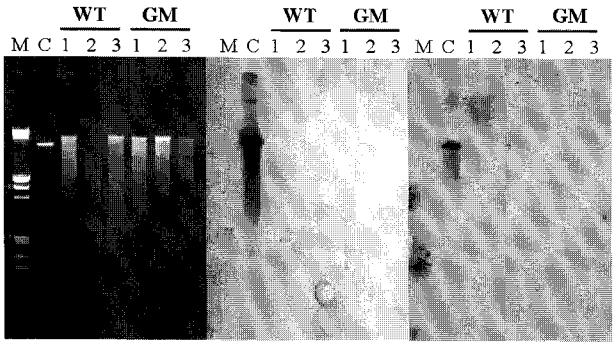

Figure 1. Southern hybridization analyses of microbial genomic DNAs digested with *Hind*Ⅲ and probed with DIG-labeled *bar* and *hpt* gene fragments.
(A) Ethidium bromide-stained agarose gel. (B) Southern blot hybridized with *bar* probe. (C) Southern blot hybridized with *hpt* probe. WT, samples from wild-type field; GM, samples from GM field; lane M, size marker (λ DNA digested with *Hind*Ⅲ+*Eco*R Ⅰ); lane C, positive control (pGPTV-HB DNA); lane 1, DNA from soil microbes; lane 2, DNA from rhizosphere microbes; lane 3, DNA from microbes in faecal pellets from locusts.

탐지되지 않을 수도 있다. 이 문제를 해결하기 위해서는 미생물들을 개별 콜로니 형태로 분리배양하여 colony hybridization을 하는 것이 바람직하나 이 또한 배양되지 않는 미생물에는 적용할 수 없는 단점이 있다.

PCR에 의한 유전자전달의 검정

PCR은 특정 DNA 부위를 특이적으로 반복 합성하여 시험관내에서 원하는 DNA 분자를 증폭시키는 방법으로서, 아주 적은 양의 DNA로도 특정 유전자의 증폭이 가능하므로 유전자전달을 연구하는데 적합하다 (Gachet et al. 1999). 토착미생물로의 HGT를 보다 정밀하게 검정하기 위하여 유전자변형 들잔디 구역과 야생형 들잔디 구역의 토양과 근권토양 및 풀무치의 배설물로부터 분리된 미생물들의 genomic DNA 100 ng을 주형으로 하여 *bar*와 *hpt* 유전자에 각각 특이적인 primer (Table 1)를 사용하여 PCR 증폭을 실시하였다. 대조구로 사용된 16S rDNA 유전자 단편의 PCR에서는 모든 시료의 DNA에서 예상된 크기의 DNA가 증폭된 반면에 (Figure 2A), *bar* 유전자에 대한 PCR에서는 positive control로 사용된 pGPTV-HB DNA에서만 340 bp 크기의 DNA가 증폭되었고 유전자변형 들잔디와 야생형 들잔디 그룹에서 채집된 시료의 DNA들로부터는 증폭된 band가 나타나지 않았다 (Figure 2B). *hpt* 유전자에 대한 PCR 결과도 *bar* 유전자와 마찬가지로 positive control (pGPTV-HB DNA)에서만 850 bp 크기의 DNA band가 증폭되었다 (Figure 2C). 따라서 토양미생물, 근권미생물 및 풀무치의 장내 미생물들로부터 추출된 DNA에는 *bar*와 *hpt* 유전자가 존재하지 않는 것으로 나타났다.

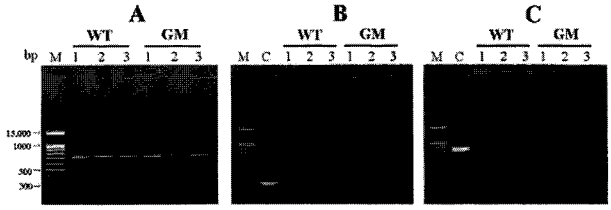

Figure 2. PCR analyses for detecting 16S rDNA fragment (A), *bar* gene (B) and *hpt* gene (C) in microbes isolated from wild-type (WT) and GM field (GM). Lane M, size marker (100 bp ladder); lane C, positive control (pGPTV-HB DNA); lane 1, DNA from soil microbes; lane 2, DNA from rhizosphere microbes; lane 3, DNA from microbes in faecal pellets from locusts.

본 연구로부터 얻어진 결과를 토대로 유전자변형 들잔디로부터 토양미생물이나 비표적생물인 풀무치의 장내 세균으로의 HGT는 일어나지 않았음을 알 수 있었다. 만일 HGT가 일어났다고 하더라도 그 빈도는 PCR로도 탐지되지 않는 아주 낮은 수준일 것이다. 이러한 결과는 기존의 HGT에 대한 가능성 여부를 조사한 논문들로부터 얻어진 결과와 일치한다 (Hoffmann et al. 1994, Schlüter et al. 1995, Kim et al. 2004). 그러나 본 실험의 결과는 한정된 규모로부터 얻어진 분석결과이기 때문에 아직 속단하기는 어렵다. 본 연구결과처럼 자연조건하에서 유전자변형 식물로부터 토착미생물로 HGT가 일어난다는 것이 아직까지 명확하게 증명되지 않았다고 해서 GMO가 환경에 위해하지 않다고 단정 지을 수는 없다. 실제로 위해하지 않다고 해도 그것을 명확하게 증명하지 않는 한 사회적인 불안감을 해소하기는 어려울 것이다. 이러한 이유로 GMO에 대한 환경영향평가는 매우 중요하며 GMO를 환경에 방출하기 전에 오랜 기간 동안 정밀한 방법으로 철저히 검증해야 한다.

사 사

본 연구는 농림부 바이오그린 21 연구사업의 연구비(2006년)에 의해 수행된 연구결과이다.

인용문헌

Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W and Lipman DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402

Bertolla F and Simonet P (1999) Horizontal gene transfers in the environment: natural transformation as a putative process for gene transfers between transgenic plants and microorganisms. Res. Microbiol. 150: 375-384

de Vries J and Wackernagel W (2004) Microbial horizontal

gene transfer and the DNA release from transgenic crop plants. Plant and Soil 266: 91-104

Gachet E, Martin GG, Vigneau F and Meyer G (1999) Detection of genetically modified organisms (GMOs) by PCR: a brief review of methodologies available. Trends Food Sci. Technol. 9: 380-388

Gebhard F and Smalla K (1999) Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. FEMS Microbiol. Ecol. 28: 261-272

Hoffmann T, Golz C, Schieder O (1994) Foreign DNA sequences are received by a wild-type strain of *Aspergillus niger* after co-culture with transgenic higher plants. Curr. Genet. 27: 70-76

Hunt J and Charnley AK (1981) Abundance and distribution of the gut flora of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. J. Invert. Pathol. 38: 378-385

Jones AS and Walker RT (1963) Isolation and analysis of the deoxyribonucleic acid of *Mycoplasma mycoides* var. capri. Nature 198: 588-589

Jorgensen RB and Anderson B (1994) Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (*Brassicaceae*): A risk of growing genetically modified oilseed rape. Amer. J. Botany 81: 7973

Kin YT, Park BK, Hwang EI, Yim NH, Kim NR, Kang TH, Lee SH and Kim SU (2004) Investigation of possible gene transfer to soil microorganisms for environmental risk assessment of genetically modified organisms. J. Microbiol. Biotechnol. 14: 498-502

Lee HY, Lee CH, Kim HI, Han WD, Choi JE, Klm JH and Lim YP (1998) Development of bialaphos-resistant transgenic rice using *Agrobacterium tumefaciens*. Korean J. Plant Tissue Culture 25: 283-288

Lorenz MG and Wackernagel W (1994) Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. Microbiol. Rev. 58: 563-602

Nap JP, Bijvoet J and Stiekema WJ (1992) Biosafety of kanamycin-resistant transgenic plants. Transgenic Res. 1: 239-249

Nielsen KM, van Weerelt M, Berg TN, Bones AM, Hagler AN and van Elsas JD (1997) Natural transformation and availability of transforming DNA to *Acinetobacter calcoaceticus* in soil microcosms. Appl. Environ. Microbiol. 63: 1945-1952

Sambrook J, Fritsch EF and Maniatis T (1989) Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York

Schlüter K, Fütterer J and Potrykus I (1995) "Horizontal" gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia chrysanthemi*) occurs-if at all-at an extremely low frequency. Bio/Technology 13: 1094-1098

Smith HO, Danner DB and Deich RA (1981) Genetic transformation. Annu. Rev. Biochem. 50: 41-68

Southern EM (1975) Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J. Mol. Biol. 98: 503-517

Thompson CJ, Movva NR, Tizard R, Crameri R, Davies JE, Lauwereys M and Bottermann J (1987) Characterization of the herbicide-resistance gene bar from *Streptomyces hygroscopicus*. EMBO J. 6: 2519-2523

Toyama K, Bae CH, Kang JG, Lim YP, Adachi T, Riu KZ, Song PS and Lee HY (2003) Production of herbicide-tolerant zoysiagrass by *Agrobacterium* transformation. Mol. Cells 16: 19-27

Widmer F, Seidler RJ and Watrud LS (1996) Sensitive detection of transgenic plant marker gene persistence in soil microcosms. Mol. Ecol. 5: 603-613

Williamson M (1992) Environmental risks from the release of genetically modified microorganisms (GMOs)-the need for molecular ecology. Mol. Ecol. 1: 3-8

Zalacain M, Gonzales A, Guererro MC, Mattaliano RJ, Malpartida F and Jimenez A (1986) Nucleotide sequence of the hygromycin B phosphotransferase gene from *Streptomyces hygroscopicus*. Nucleic Acids Res. 14: 1565-1581

(접수일자 2006년 8월 14일, 수리일자 2006년 10월 24일)