

국내외 상업화 GM 작물의 유전요소 분석

우희종¹ · 정찬미¹ · 신공식¹ · 지현소¹ · 이기종¹ · 서석철¹ · 권순종¹ · 조용구^{2*}
¹농촌진흥청 국립농업과학원, ²충북대학교 식물자원학과

A survey of the genetic components introduced into approved GM crops

Hee-Jong Woo¹ · Chan-Mi Chung¹ · Kong-Sik Shin¹ · Hyeon-So Ji¹ · Ki-Jong Lee¹ ·
Seok-Chul Suh¹ · Soon-Jong Kweon¹ · Yong-Gu Cho^{2*}

¹National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration (RDA), Suwon 441-707, Korea

²Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract Genetic components introduced into approved GM crops are a key subject for safety assessment and provide a basis for the development of detection methods for GM crops. In order to understand the genetic components in approved GM crops comprehensively, we screened the genetic vector maps of GM crops that had been approved for commercialization around the world. A total of 64 varieties from 5 major GM crop species (maize, canola, cotton, soybean, and tomato) were subjected to analysis. The genetic components included genes, promoters, terminators, and selection marker. This survey may be useful for researchers who develop GM crops and methods for detecting GM crops.

서 론

우리나라는 GM 작물이 상업적 목적으로 재배되거나 이용되고 있지는 않아 국내에서 사용되는 GM 농작물은 국외에서 재배되어 수입된 것이다. 우리나라의 경우 곡물 자급률이 27.8%이며, 특히 콩과 옥수수의 자급률은 13.6%, 0.6%로 매우 낮아 수요량 대부분을 GM 작물의 재배 및 사용이 활발한 미국 등의 국가에서 수입하고 있다. 따라서 식용유 제조에 주로 사용되는 콩의 경우 수입물량 중 76%가 GM 작물이며, 전분당용 옥수수 수입물량의 53%가 GM 작물로 추정된다 (2008년 기준, KBCH, <http://www.biosafety.or.kr>).

유전자변형 (genetically modified, GM) 작물이 처음으로 상업화된 1996년 이후 13년이 경과한 2008년을 기준으로 세계 유전자 변형작물 재배면적은 1억2천 5백만 ha로 비약적으로 증가하였으며, GM 작물재배 비율도 콩 64%, 옥수수 24%, 목화 43%, 유채 20%에 이르고 있다 (James 2008). GM 작물은 연구/개발되어 상업화되기 이전단계에서 반드시 인체와 환경 위해성에 대한 안전성평가를 거쳐야 한다. GM 작물의 안전성 평가는 각 국가별로 달리 진행되며, 우리나라의 경우 식품안전성은 식품의약품안전청 (식약청, KFDA)에서 평가/심사하며 환경안전성은 농촌진흥청에서 평가/심사를 담

당하고 있다. 2009년 4월 현재까지 수입용으로 총 57종의 작물이 식품안전성평가의 승인이 완료되었다. 식품안전성 평가에서 승인된 작물별 현황은 두 GM 작물을 교배시켜 유전자가 집적된 stack 중을 제외하면 옥수수 15종, 카놀라 6종, 면화 7종, 콩 2종 등이다 (KFDA, <http://gmo.kfda.go.kr>). GM 작물의 도입 유전물질 정보는 안전성평가의 주요 평가항목이며 GM 작물 검출방법 개발을 위한 기초정보로 매우 중요하다.

따라서 본 총설은 국외 상업화 승인 GM 작물의 유전자 정보와 제조 방법을 수집/분석하여, GM 작물 검출방법의 개발과 안전성평가의 기초 자료로 삼고자 수행하였다. 국내외 상업화 GM 작물의 유전정보 수집은 국외 AGBIOS (<http://www.agbios.com>), GMO detection method database (GMDD, <http://gmdd.shgmo.org>)의 자료를 이용하였고, 수집된 벡터 맵과 유전자 특성을 분류하여 유전자-프로모터-종결부위 형태의 유전자 카세트로 분류하였다. 두 가지 이상의 유전자 카세트가 형질전환 된 이벤트 (event, 형질전환 방법에 의해 목표유전자를 식물체에 도입하는 경우 같은 유전자가 식물체로 도입되지만 도입된 유전자의 수 (copy number)와 식물체내 도입 위치가 다른 여러 종류의 형질전환체 (transgenic line)가 만들어지며, 이러한 도입유전자의 특성이 다른 형질전환체 각각을 이룸)의 경우 형질전환과정 이후에 식물형질로 나타나지 않는 항생제 내성 유전자와 같은 선발마커 유전자를 제외하고 각기 분리하여 정리하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 유전요소가 분석된 작물의 범위는 GM 작물 개발이 활발한 옥수수, 카놀라, 면화, 콩, 토마토 등 5작목의

*Corresponding author Tel 043-261-2514 Fax 043-273-2242

E-mail: ygcho@cbnu.ac.kr

Table 1 Information on approved GM crops used for genetic material analysis. The underlined GM crops were approved to import for commercial purpose in Korea

Crop	Event name	Number
Maize	676/678/680, 3272, <u>59122</u> , <u>BT10</u> , <u>BT11</u> , <u>BT176</u> , CBH-351, <u>DBT418</u> , <u>DLL25(B16)</u> , <u>GA21</u> , LY038, <u>MIR604</u> , MON802, MON809, MON832, <u>MON863</u> , MON80100, <u>MON88017</u> , <u>MON89034</u> , MS3, MS6, <u>NK603</u> , T14/T25, <u>TC1507</u> , TC-6275	25
Canola	23-18-17/23-198, GT200, HCN10, HCN92, <u>MS1(B91-4)</u> , <u>MS8</u> , OXY-235, PHY14/35, PHY36, <u>RF1(B93-101)</u> , <u>RF2(B94-2)</u> , RF3, <u>RT73(GT73)</u> , <u>T45(HCN28)</u>	14
Cotton	19-51A, <u>281-24-236</u> , <u>3006-210-23</u> , 31807/31808, BXN, COT102, Event-1, <u>LLCotton25</u> , <u>MON531/MON757/MON1076</u> , <u>MON1445/MON1698</u> , <u>15985</u> , <u>MON88913</u>	12
Soybean	<u>A2704-12/A2704-21/A5547-35</u> , A5547-127, G94-1/G94-19/G168, <u>GTS40-3-2</u> , GU262, MON89788, W62/W98	7
Tomato	351N, 1345-4, 5345, 8338, B/Da/F, Flavr Savr	6
Total		64

64종을 대상으로 하였다. 또한 같은 운반체를 이용하여 생산된 다른 이벤트는 동일한 것으로 분류하였으며, 두개의 GM 이벤트를 교잡육종에 의해 생산한 Stack GM 작물은 조사범위에 포함하지 않았다. 또한 각 GM 작물별로 형질전환 방법과 형질전환체 선발을 위한 식물체 선발마커 유전자에 대한 정보도 분류하였다.

상업화 GM 작물의 형질과 사용 유전자 조사

작물의 품질 (지방산 대사 및 과실 숙기 조절), 병해충 저항성 (곤충 및 바이러스 저항성) 및 농업적 형질 (제조제 내성) 등이 개선된 GM 작물의 상업화가 최근에 활발하게 이루어지고 있다. GM 작물은 목적하는 형질의 특정 외래 유전자를 형질전환 (transformation) 방법으로 식물체의 게놈내로 도입시킨 작물을 의미한다. 식물체로 도입하는 특정 유전자는 형질전환과정 이전에 식물체내에서 성공적 발현을 위한 여러 변형과정을 거치게 된다. 유전자의 목적에 적합한 발현을 위해 유전자 암호화서열 상부에 프로모터 서열 부분을 위치시켜야 하며, 전사종결 (transcriptional termination)과 다중아데닐화 (polyadenylation)을 위해 종결부위 (terminator) 서열을 유전자의 하부에 삽입시켜야 한다. 일반적으로 “프로모터-유전자-종결부위” 형태를 유전자 카세트 (gene cassette)라고 부르며 GM 작물의 생산을 위한 운반체 제조에는 두 종류 이상의 유전자 카세트가 사용된다.

옥수수 25종, 카놀라 14종, 면화 12종, 콩 7종 등 총 64종의 국내의 상업화 GM 작물의 유전정보 분석으로 전체 102 종류의 유전자 카세트를 조사하였다. Table 2와 3에 나타난 바와 같다. GM 작물개발에 제조제 내성 *pat*, *epsps* 유전자와 해충저항성 BT 독소 유전자가 여러 작물에 폭넓게 사용되고 있는 것으로 나타났다. 제조제 내성 유전자는 *Streptomyces viridochromogenes*와 *Streptomyces hygroscopicus*에서 유래된 glufosinate 내성 *pat* 유전자가 주로 이용되었으며, *Agrobacterium tumefaciens* 유래의 glyphosate 내성 *epsps* 유전자도 많이 사용되었다. *gox* 유전자는 *epsps* 유전자와 함께 사용하여 제조제 내성을 높이는데 사용되며, GA21 GM 옥수수의 경우 옥수

수 유래의 *epsps* 유전자도 사용되었다. 제조제 내성 유전자가 도입된 작물의 경우에 BT11, TC1507 GM 옥수수 등과 같이 해충저항성과 제조제 내성을 함께 나타내는 복합 형질의 작물이 많이 조사되었다.

해충저항성 유전자로는 GM 옥수수와 면화에 *Bacillus thuringiensis* 유래의 δ 내독소 *cry* 유전자가 많이 사용되었다. 상업화 GM 작물에 사용된 *cry* 유전자는 대부분 식물체의 발현 최적화를 위해 유전자 염기서열을 변형 또는 합성하여 사용하였으며, 같은 *cry1Ab* 유전자이지만 BT11, BT176에 도입된 유전자는 MON802 등에 도입된 유전자와 염기서열이 다른 유전자인 것으로 조사되었다. 또한 59122, MON88034 GM 옥수수와 MON15985 GM 면화에서는 두 종류의 다른 *cry* 유전자를 동시에 작물 내에 도입하여 해충저항성 강화를 위해 사용되었고, DBT418 옥수수에서는 나비목의 살충 활성을 강화시키기 위해 *pinII* (serine protease inhibitor) 유전자를 *cry1A* 유전자와 같이 도입하여 사용하였으나, *pinII* 유전자에서 어떤 단백질도 만들어지지 않았다.

작물별 형질로는 GM 옥수수에서는 농업적 형질 (제조제 저항성), 곤충 저항성, 작물의 품질 등을 개선하기 위한 다양한 종류의 유전자가 GM 작물 개발에 적용되고 있는 것으로 나타났으며, GM 카놀라에 제조제 내성 유전자 이외에 응성불임에 관련된 유전자의 사용이 많았다. 또한 GM 면화의 경우에는 주로 제조제 저항성 유전자와 곤충저항성 유전자가 사용되어 생산량의 증대를 이룬 반면, GM 콩에서는 제조제 내성과 유지성분 개선 유전자가 이용되었고, GM 토마토의 경우 숙기조절에 관련된 유전자의 사용이 많았다.

상업화 GM 작물의 프로모터 조사

외래유전자를 식물체에 도입하여 원하는 형질이 발현하도록 만드는 GM 작물의 개발과정에서 유전자의 전사 조절을 담당하는 프로모터의 선택은 매우 중요하다. Table 4와 5에 나타난 바와 같이 CaMV 유래의 항시발현 35S 프로모터(P-35S)가 전체 조사된 64종의 GM 작물 중 41종(64%, 41종/64종)의 작물에서 사용되어 가장

Table 2 Traits and genes used for approved GM crops (maize and canola). *pat*: phosphinothricin N-acetyltransferase, *cry*: delta-endotoxin, *m epsps*: 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, CP4 *epsps*: 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, *gox*: glyphosate oxidoreductase, *pinII*: protease inhibitor II, *amy797*: thermostable alpha-amylase, *bxn*: nitrilase, *bay TE*: thioesterase, *cordapA*: dihydrodipicolinate synthase gene, *dam*: DNA adenine methyltransferase, *barnase*: a major extra-cellular ribonuclease, *barstar*: specific inhibitor of Barnase

Crop	Trait	Gene	Origin	Event name	Number of occurrence			
Maize	Herbicide tolerance (25)	<i>pat</i>	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	BT176, CBH-351, DBT418, DLL25(B16), MS3, MS6, TC-6275	7			
			<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	676/678/680, 59122, BT10, BT11, T14/T25, TC1507	6			
		<i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	MON802, MON809, MON832, MON80100, MON88017, NK603(2)	7			
		<i>gox</i>	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	MON802, MON809, MON832, MON80100	4			
		<i>m epsps</i>	<i>Zea mays</i>	GA21	1			
	Insect resistance (19)		<i>cry1Ab</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	BT11, BT176, MON802, MON809, MON80100	5		
				<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i>	BT10, BT176	2		
			<i>cry3Bb1</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MON863, MON88017	2		
			<i>cry1F</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	TC1507, TC-6275	2		
			<i>cry34Ab1</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	59122	1		
			<i>cry35Ab1</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	59122	1		
			<i>cry1Ac</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	DBT418	1		
			<i>cry9c</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	CBH-351	1		
			<i>cry3A</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MIR604	1		
			<i>cry1A.105</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MON89034	1		
			<i>cry2Ab</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MON89034	1		
			<i>pinII</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	DBT418	1		
			Modified Composition (2)		<i>amy797E</i>	<i>Thermococcales spp.</i>	3272	1
					<i>cordapA</i>	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	LY038	1
Male Sterility (3)		<i>barnase</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	MS3, MS6	2			
		<i>dam</i>	<i>Escherichia coli</i>	676/678/680	1			
Canola	Herbicide Tolerance (15)	<i>pat</i>	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	PHY14/PHY35, PHY36, RF3, MS8, MS1, RF1, RF2	7			
			<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	HCN10, HCN92, T45(HCN28)	3			
		<i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	GT200, RT73(GT73)	2			
		<i>gox</i>	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	GT200, RT73(GT73)	2			
		<i>bxn</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXY-235	1			
	Fertility Restoration	<i>barstar</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	RF1, RF3, RF2, PHY14/PHY35, PHY36	5			
	Male Sterility	<i>barnase</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	MS8, MS1, PHY36, PHY14/PHY35	4			
	Modified Composition	<i>bay TE</i>	<i>Umbellularia californica</i>	23-18-17/23-198	1			

많이 사용되는 것으로 조사되었으며, 유전자 카세트에 사용된 빈도는 52%(54/102 프로모터)였다. 유전정보 조사결과 GM 검출의 대상 유전자로 많이 사용되는 P-35S, P-ract1 등은 상업화된 GM 작물에서의 유전자발현을 위해 사용하는 대부분의 경우에 유전자 발

현 증대를 위해 전사촉진인자(enhancer)를 연결해서 사용하는 등의 변형된 형태로 사용된 것으로 나타났다. 예를 들면 DBT418 옥수수에서는 같은 옥수수 유래의 alcohol dehydrogenase(*adh1*) 유전자의 intron I과 VI를 P-35S와 연결하여 프로모터의 전사안정성(transcript

Table 3 Traits and genes used for approved GM crops (cotton, soybean, and tomato). *pat*: phosphinothricin N-acetyltransferase, *cry*: delta-endotoxin, CD4 *epsps*: 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, *bxn*: nitrilase, *vip3A*: VIP3A vegetative insecticidal protein, *als*: acetolactate synthase, *gm fad2-1*: delta(12)-fatty acid dehydrogenase, *sam-k*: S-adenosylmethionine hydrolase, *acc*: aminocyclopropane cyclase synthase, *accd*: 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid deaminase, *pg*: polygalacturonase

Crop	Trait	Gene	Origin	Event name	Number of occurrence
Cotton	Herbicide Tolerance (7)	<i>pat</i>	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	LLCotton25	1
		<i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	MON1445/MON1698, MON88913(2)	3
		<i>bxn</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	BXN, 31807/31808	2
		<i>als</i>	<i>Nicotiana tabaccum</i>	19-51A	1
	Insect Resistance (8)	<i>cry1F</i>	<i>Bacillus thuringiensis aizawai</i> PS811	281-24-236	1
		<i>cry1Ac</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	3006-210-23, MON15985, 31807/31808, Event-1, MON531/MON757/MON1076	5
		<i>cry2Ab</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	MON15985	1
		<i>vip3A</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> AB88	COT102	1
Soybean	Herbicide Tolerance	<i>pat</i>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i>	A2704-12/A2704-21/A5547-35, A5547-127, GU262	3
		<i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	W62/W98	1
	Modified Composition	<i>gm fad2-1</i>	<i>Glycine max</i>	GTS 40-3-2, MON89788	2
Tomato	Delayed Ripening	<i>sam-k</i>	<i>Coliphage</i> T3	351N	1
		<i>acc</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	1345-4	1
		<i>accd</i>	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	8338	1
		<i>pg</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	B/Da/F, Flavr Savr	2
	Insect Resistance	<i>cry1Ac</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	5345	1

stability)을 높였고, 아그로박테리움 유래의 octopine synthase double enhancer를 사용하여 *cry* 유전자의 전사를 증강하고자 하였다. 또한, 31807/31808 면화의 경우 P-35S를 아그로박테리움 유래의 mannopine synthase 프로모터와 키메라 (chimeric) 형태로 제조하여 사용하였다.

상업화 GM 작물에 도입된 프로모터들을 유래와 역할 측면에서 크게 분류하면 세 가지 형태의 프로모터가 도입된 것으로 조사되었다. 첫 번째는 강력한 항시발현을 위해 바이러스 유래의 프로모터의 도입이다. 식물 바이러스에서 유래된 P-35S와 P-FMV(Figwort mosaic virus promoter)는 조사된 옥수수, 면화, 콩, 카놀라, 토마토

모두에서 제조제 내성 유전자 및 곤충 저항성 유전자의 발현을 위하여 사용되었다. 이러한 바이러스 유래 프로모터의 사용은 프로모터가 항시 전신발현성이며 넓은 작물범위에서 높은 전사활성을 가지기 때문인 것으로 판단된다. 두 번째는 도입된 작물에서 유래한 프로모터를 이용하여 유전자를 발현시키는 경우이다. Table 4에 나타난 바와 같이 GM 옥수수에서는 P-ubiZm1 (ubiquitin gene promoter), P-PPC (phosphoenolpyruvate carboxylase promoter), P-CDPK (calcium-dependent protein kinase promoter)와 같은 많은 종류의 옥수수 유래의 프로모터가 사용되었다. 목표작물에서 유래한 프로모터의 사용은 도입유전자의 안정적 발현을 위해 사용된 것으로 추

Table 4 Introduced promoters into approved GM crops (maize and canola). Promoter numbers may be present more than event numbers, since each event has several cassettes. Some events have multi copy transgenes, but all of them are not included in the table. P-35S: CaMV 35S promoter, P-GZein: zein gene promoter, P-peroxidase: peroxidase gene root-preferred promoter, P-ubiZm1: Zea mays ubiquitin gene promoter, P-PPC: phosphoenolpyruvate carboxylase gene promoter, P-CDPK: calcium-dependent protein kinase promoter, P-ract1: actin I promoter, P-5126del: 512del anther-specific promoter, P-Glb1: globulin1 promoter, P-mt: metallothionein-like gene promoter, P-FMV: Figwort Mosaic Virus 35S promoter, P-TA29: anther specific promoter Ta29 Promoter

Crop	Promoter	Origin	Event name	Number of occurrence
Maize	P-35S & derivatives	Cauliflower mosaic virus	676/678/680, 59122, BT176, CBH-351(2), DBT418(3), DLL25(B16), MS3, MS6, T14/T25, TC1507, BT10(2), BT11(2), MON809(3), MON802(3), MON832(2), MON80100(3), MON89034, TC-6275, NK603, MON863, MON88017	33
	P-ubiZm1 & derivatives	<i>Zea mays</i>	59122, TC1507, TC-6275	3
	P-ract1	<i>Oryza sativa</i>	GA21, NK603, MON88017	3
	P-TA29	<i>Nicotiana tabacum</i>	MS3, MS6	2
	P-GZein	<i>Zea mays</i>	3272	1
	P-peroxidase	<i>Triticum aestivum</i>	59122	1
	P-PPC	<i>Zea mays</i>	BT 176	1
	P-CDPK	<i>Zea mays</i>	BT 176	1
	P-5126del	<i>Zea mays</i>	676/678/680	1
	P-Glb1	<i>Zea mays</i>	LY038	1
	P-mt	<i>Zea mays</i>	MIR604	1
	P-FMV	Figwort mosaic virus	MON89034	1
Canola	P-TA29	<i>Nicotiana tabacum</i>	PHY14/PHY35(2), PHY36(2), MS8, RF3, RF2, RF1, MS1	9
	P-SsuAra	<i>Arabidopsis thaliana</i>	PHY14/PHY35, PHY36, MS8, RF3, RF2, RF1, MS1	7
	P-35S & derivatives	Cauliflower mosaic virus	HCN10, HCN92, OXY-235, T45(HCN28)	4
	P-FMV	Figwort mosaic virus	GT200(2), RT73(2)	4
	P-napin	<i>Brassica rapa</i>	23-18-17/23-198	1

정된다. 세 번째 형태는 모델작물에서 유래한 프로모터의 도입이다. GM 카놀라인 PHY14/PHY35, PHY36, MS8 등에서는 애기장대에서 유래한 P-SsuAra (atS1A ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit gene promoter)가 제초제 내성 유전자의 발현을 위해 사용되었고, 담배 유래의 부위 특이적 발현 P-TA29 (anther specific gene TA 29 promoter)가 웅성불임 관련 유전자의 발현을 위해 사용되었다.

상업화 GM 작물의 종결부위 조사

유전자 조합에서 다른 중요한 요소는 종결부위 (terminator)이다. Table 6에 나타낸 바와 같이 조사된 상업화 GM 작물에서 가장 많이 사용된 종결부위는 아그로박테리움의 nopaline synthase 유전자에서 분리된 nos 종결부위 (T-nos)로 전체 102개 유전자 카세트 중 옥수수, 카놀라, 면화, 콩, 토마토 등 44개의 유전자 카세트에서 종결부위로 사용되었다. T-nos와 함께 많이 사용된 종결인자는 T-35

(CaMV 35S terminator)로 16개의 유전자 카세트에서 사용되었다. 조사된 전체 상업화 GM작물에 사용된 종결부위의 종류는 16종이었으며, 이 중 절반인 8종의 종결부위의 유래는 아그로박테리움이었다.

상업화 GM 작물의 선발마커 조사

일반적으로 식물체 내에 목적유전자를 도입하기 위한 운반체를 제조할 때 목적유전자 카세트와 함께 선발마커 유전자를 운반체와 연결하여 이용한다. 이는 아그로박테리움을 이용한 형질전환법을 이용할 경우에 형질전환과정에서 식물 세포내로 외래 운반체가 도입되는 비율이 매우 적기 때문에, 선발마커 유전자를 이용하여 외래 유전자가 도입된 식물체만을 손쉽게 얻을 수 있기 때문이다.

식물형질전환에는 통상적으로 가장 많이 사용되고 있는 선발마커 유전자가 가나마이신 내성 유전자 (*nptII*)로 알려져 있다 (Miki & McHugh, 2004). 그러나 Table 7에 나타낸 바와 같이 상업화된

Table 5 Introduced promoters into approved GM crops (cotton, soybean, and tomato). Promoter numbers may be present more than event numbers, since each event has several cassettes. Some events have multi copy transgenes, but all of them are not included in the table. P-35S: CaMV 35S promoter, P-ALS: Acetolactate synthase gene promoter, P-ubiZm1: Zea mays ubiquitin gene promoter, P-Mact2: modified actin-2 gene promoter, P-FMV: Figwort Mosaic Virus 35S promoter(FMV), P-FMV/TSF1: chimeric promoter containing the elongation factor EF-1 alpha promoter and FMV 35S promoter, P-35S/ACT8: chimeric promoter containing the act8 gene promoter and CaMV 35S promoter, P-35S/mas: chimeric promoter containing CaMV 35S promoter and mannopine synthase gene from *A. tumefaciens*, P-conglycinin: seed specific beta-conglycinin gene promoter

Crop	Promoter	Origin	Event name	Number of occurrence
Cotton	P-35S & derivatives	Cauliflower mosaic virus	31807/31808, BXN, LLCotton25, MON531/MON757/MON1076, Event-1, MON15985(2)	7
	P-ALS	Nicotiana tabacum	19-51A	1
	P-ubiZm1	Zea mays	281-24-236, 3006-210-23	2
	P-mact2	<i>Arabidopsis thaliana</i>	COT102	1
	P-FMV	Figwort mosaic virus	MON1445/MON1698	1
	P-FMV/TSF1	Figwort mosaic virus <i>Arabidopsis thaliana</i>	MON88913	1
	P-35S/ACT8	Cauliflower mosaic virus <i>Arabidopsis thaliana</i>	MON88913	1
	P-35S/mas	Cauliflower mosaic virus <i>A. tumefaciens</i>	31807/31808	1
Soybean	P-35S & derivatives	Cauliflower mosaic virus	A2704-12/A2704-21/A5547-35, A5547-127, GU262, W62/W98, GTS40-3-2	5
	P-conglycinin	<i>Glycine max</i>	G94-1/G94-19/G168	1
	P-FMV/TSF1	Figwort mosaic virus <i>Arabidopsis thaliana</i>	MON89788	1
Tomato	P-35S & derivatives	Cauliflower mosaic virus	351N, 1345-4, 5345, B/Da/F, Flavr Savr	5
	P-FMV	Figwort mosaic virus	8338	1

GM작물 개발에서 가장 많이 사용된 선발마커는 제초제 내성 *pat* 유전자로 나타났다. 옥수수, 카놀라, 면화, 콩에서 *pat*나 *epsps*와 같은 제초제 내성 유전자가 선발마커로 주로 이용된 것은, 제초제에 내성을 지닌 식물체를 개발할 수 있으면서 형질전환과정에 선발이 가능하기 때문이다. 또한 콩과 같은 일부식물의 경우 항생제 내성 유전자는 형질전환과정에서 선별력이 약한 것으로 알려져 있다.

GM 토마토의 선발마커로는 조사된 6종 모두 *nptII* 유전자가 사용된 것으로 조사되었다. GM 토마토의 형질전환과정에서 항생제 내성 유전자가 주로 선발마커로 이용된 것은, GM 토마토의 목적 형질이 주로 과실의 숙기조절과 곤충저항성의 개선이며 토마토의 형질전환이 1986년 시작된 (McCormick *et al.* 1986) 이래 오랜 기간의 연구 성과로 항생제 저항성 유전자를 선발마커로 사용하여 어려움 없이 높은 수준의 형질전환이 이루어지고 있기 때문으로 생각된다.

최근에 여러 작물을 대상으로 선발마커가 제거된 마커프리(marker-free) 식물체 개발을 활발히 추진하고 있다. 조사된 GM 옥수수 중 LY038과 MON89034는 식물형질전환에서 *nptII*를 이용하여 형질전환체를 선발한 후 선발마커 유전자를 제거한 마커프리 작물이다. LY038은 위치-특이적 재조합효소 시스템인 *cre/lox*를 이용하여 선발마커 유전자가 제거되었고, MON89034의 경우에는 두개의 백

터를 같이 형질전환하는 이중형질전환(co-transformation) 후 자식세대 유전자 분리 현상을 이용하여 선발마커 유전자를 제거하였다.

형질전환 방법 조사

식물형질전환은 목적유전자를 식물 계층으로의 안정적 도입이 중요하다. 여러 가지 형질전환 방법이 현재까지 고안되었으며 많은 식물종이 성공적으로 형질전환 되었다. 상업화 GM 작물의 개발에 사용된 형질전환 방법은 세 가지 방법으로 분류되었다. 아그로박테리움 매개에 의한 방법은 식물체 형질전환의 가장 널리 이용되는 방법으로, Table 8에 나타난 바와 같이 옥수수, 카놀라, 면화, 토마토 등 36개 GM 작물의 제조에 사용된 것으로 조사되었다. 직접 DNA 도입 (direct DNA transfer) 방법은 전기충격 (electroporation) 과 같은 물리적 또는 화학적 약품을 사용하여 식물세포에 DNA를 도입하는 방법이다. BT10, BT11, MS3, MS6 등의 형질전환 옥수수가 주로 전기충격을 이용하여 형질전환 되었다. 입자충격 (particle bombardment) 방법은 텅스텐 또는 금으로 코팅된 DNA를 공기압 등으로 가속하여 식물 세포내로 도입하는 방법으로, 식물체 내에서 코팅된 DNA 입자가 용해되어 식물체의 계층내로 삽입되게 된다 (Klein *et al.* 1987). 입자충격법에 의해 형질전환 된 작물은 주로

Table 6 Introduced terminators into approved GM crops. Lists all terminators, the organism from which they originated, and how often they are found in GM crops. The numbers in parenthesis are usage frequencies of terminator in one GM crop. T-nos: nopaline synthase 3'-polyadenylation signal terminator, T-35S: CaMV 35S terminator, T-E9: ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit non-translated region, T-g7: 3' untranslated region of the TL-DNA gene 7(3'g7) derived from the octopine Ti plasmid of *A. tumefaciens*, T-pin II: proteinase inhibitor II terminator, T-Tr7: T-DNA transcript number 7 termination signal, T-hsp: heat shock protein 17.3 terminator, T-7S: 3' poly(A) signal from soybean alpha subunit of the β -conglycinin gene terminator, T-ORF25: 3' polyadenylation signal from ORF25 of *A. tumefaciens*, T-tml: polyadenylation region of tml gene terminator, T-glb1: globulin gene terminator, T-napin: napin terminator, T-ALS: tobacco acetolactate synthase1 terminator, T-Phaseolin: 3' poly(A) signal from phaseolin gene, T-tml/T-Tr7: tml gene and the transcript 7gene from the octopine-type Ti plasmid pTiA6

Crop	Origin	Event name	Number of occurrence
T-nos	<i>A. tumefaciens</i>	[Maize] BT10(2), BT11(2), CBH-351, GA21, MON802(3), MON809(3), MON832(2), MON80100(3), MON88017, MS3(2), MS6(2), NK603(2), MIR604, MON89034 [Canola] OXY-235, MS1, MS8, RF1, RF2, RF3, PHY14/PHY35(2), PHY36(2) [Cotton] COT102, LLCotton25, Event-1, MON15985 [Soybean] GTS40-3-2 [Tomato] 1345-4, B/Da/F, 351N	44
T-35S	<i>Cauliflower mosaic virus</i>	[Maize] 676/678/680, 3272, 59122, BT176(3), CBH-351, T14-T25, TC1507 [Canola] HCN10, HCN92, T45(HCN28) [Soybean] A5547-127, GU262, A2704-12/A2704-21/A5547-35, W62/W98	16
T-E9	<i>Pisum. sativum (pea)</i>	[Canola] GT200(2), RT73(GT73)(2), [Cotton] MON1445/MON1698, MON88913(2) [Soybean] MON89788 [Tomato] 8338	9
T-g7	<i>A. tumefaciens</i>	[Canola] PHY14/PHY35, PHY36, RF3, MS8, MS1, RF1, RF2	7
T-pinII	<i>Solanum tuberosum</i>	[Maize] 59122(2), DBT418, TC-6275(2), 676/678/680	6
T-Tr7	<i>A. tumefaciens</i>	[Maize] DBT418(2), DLL25(B16)	3
T-hsp	<i>Triticum aestivum</i>	[Maize] MON863, MON88017, MON89034	3
T-7S	<i>Glycine max</i>	[Cotton] MON15985, MON531/MON757/MON1076 [Tomato] 5345	3
T-ORF25	<i>A. tumefaciens</i>	[Maize] TC1507 [Cotton] 281-24-236, 3006-210-23	3
T-tml	<i>A. tumefaciens</i>	[Cotton] 31807/31808, BXN	2
T-glb1	<i>Z. mays</i>	[Maize] LY038	1
T-napin	<i>Brassica rapa</i>	[Canola] 23-18-17/23-198	1
T-ALS	<i>Nicotiana tabacum</i>	[Cotton] 19-51A	1
T-mas	<i>A. tumefaciens</i>	[Cotton] 31807/31808	1
T-Phaseolin	<i>Phaseolus vulgaris</i>	[Soybean] G94-1/G94-19/G168	1
T-tml/T-Tr7	<i>A. tumefaciens</i>	[Tomato] Flavr Savr	1

옥수수과 콩으로, 전체 21종의 상업화 GM 작물이 입자충격법에 의해 형질전환 되었다. 아그로박테리움 매개에 의한 형질전환 방법은 조사된 5작물 모두에서 폭 넓게 사용된 것으로 조사되었고, 특히 조사된 카놀라, 토마토 및 면화는 주로 아그로박테리움 매개에 의한 방법으로 형질전환 되었다.

결 론

상업화 GM 작물에 도입된 유전물질에 대한 정보는 안전성 평가와 검출방법의 개발에 매우 중요하다. 본 총설에서는 상업화 GM 작물들의 유전요소에 대한 정보를 얻기 위해서, 국내외에서 승인된 GM 작물의 유전자 지도와 유전정보를 조사하였다. 식물생

명공학 분야에서 연구목적으로 애기장대, 담배 등에서 제한적으로 이루어졌던 식물형질전환이 현재는 다양한 식물에서 가능해지면서 제초제 내성, 해충저항성, 병저항성, 품질개선 등 여러 목적형질을 지닌 GM 작물이 개발되고 상업화되어 전세계적으로 재배되고 있다. 현재까지 총 18개국에서 식용/사료용 /재배용/기타용 등의 용도로 승인된 GMO는 총 184개 이벤트에 이르고 있다 (KBCH 2008).

본 총설에서는 국내외에서 상업화된 64종의 GM 작물의 유전정보를 수집하여 유전자, 프로모터, 종결부위 등의 유전정보를 분석한 결과, 상업화된 GM 작물의 도입유전 성분의 특징은 도입유전자의 발현과 안정성을 위한 최적화에 초점을 맞추어 진행되었다. 예를 들면 도입 프로모터의 경우 CaMV 35S프로모터가 많이 사용되고 있지만 각 종에 따라 변형된 형태로 사용되었으며, 해충저항

Table 7 Selection markers used for the development of approved GM crops. *pat*: phosphinothricin N-acetyltransferase, *m epsps*: 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, *CD4 epsps*: 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, *bxn*: nitrilase, *als*: acetolactate synthase, *nptII*: neomycin phosphotransferase, *hpt*: Hygromycin phosphotransferase, *mpi*: Mannosephosphate isomerase, *gus*: β-glucuronidase. Marker-free GM crops were presented with asterisk(*)

Crops	Maize	Canola	Cotton	Soybean	Tomato
<i>pat</i>	676/678/680, TC-6275, BT176, BT11, T14/T25, 59122, TC1507, MS3, CBH-351, DBT418, MS6, B16(DLL25)	MS8, RF1(B93-101), PHY14/PHY35, PHY36, RF2, RF3, T45(HCN28), HCN10, MS1(B91-4)	281-24-236, 3006-210-23, LLCotton25	A5547-127, GU262, A2704-12/A2704-21/A5547-35, W62/W98	
<i>cp4 epsps</i>	MON809, MON80100, MON88017, MON802, MON832, NK603	GT200, RT73(GT73)	MON88913	GTS40-3-2, MON89788	
<i>m epsps</i>	GA21				
<i>nptII</i>	BT10, LY038*, MON863, MON89034*	23-18-17/23-198, HCN92	31807/31808, BXN, Event-1, MON531/757/1076, MON1445/169		351N, 1345-4, 5345, 8338, B/Da/F, FLAVR SAVR
<i>aph4</i>			COT102		
<i>mpi</i>	MIR604, 3272				
<i>bxn</i>		OXY-235			
<i>als</i>			19-51A		
<i>gus</i>				G94-1/G94-19 /G168	

Table 8 Transformation methods used for the development of approved GM crops

Crops	Method	Microparticle bombardment	Agrobacterium mediated	Direct DNA transfer
Maize		676/678/680, BT176, CHB-351, DBT418, DLL25(B16), GA21, LY038, MON802, MON809, MON832, MON863, MON80100, NK603, TC1507	3272, 59122, MIR604, MON88017, MON89034, TC-6575	BT10, T14/T25, BT11, MS3, MS6
Canola			23-18-17/23-198, RF3, GT200, HCN10, HCN92, OXY-235, PHY14/PHY35, PHY36, MS8, RT73(GT73), T45(HCN28), MS1(B91-4), RF1(B93-101), RF2(B94-2)	
Cotton		Event-1, MON15985	19-51A, BXN, 281-24-236, 3006-210-23, 31807,31808, COT102, LLCotton25, MON531/MON757/MON1076, MON88913, MON1445/MON1698	
Soybean		A2704-12/A2704-21/A5547-35, A5547-127, GTS40-3-2, G94-1/G94-19/G168, GU262, W62/W98	MON89788	
Tomato			35 1 N, 1345-4, 5345, 8338, B/Da/F, Flavr Savr	

성 유전자로 많이 사용되는 *cry* 유전자의 경우 대부분 식물체 내 발현을 위해 변형된 형태였다. 같은 형질 및 유전요소를 가지는 이러한 GM 작물 종간의 유전자 다양성은 GM 작물의 검출 방법으로 이용할 수 있을 것이다. 또한 GM 작물의 개발이 활발한 옥수수에서는 동일 작물에서 유래한 프로모터가 많이 사용되었다. 특히 LY038 옥수수의 경우 같은 식물 유래의 프로모터와 종결부위가 도입된 마크프리 형질전환체로 기존 GM 검출의 대상 DNA로 사용되는 P-35S, T-nos 등의 유전요소가 도입되지 않았다. 미래의 상업

화 작물은 작물의 안정성을 높이고 유전자 변형을 최소화하는 방향이 될 것이기에 이에 맞는 새로운 GM 검출방법의 개발이 시급히 요구된다.

본 총설에서 상업화 GM 작물들의 유전요소에 대한 정보를 얻기 위해서 국내외에서 승인된 5작목 64종의 GM 작물의 유전정보를 유전자, 프로모터, 종결부위, 선발마커와 형질전환 방법별로 분류/정리한 이 정보는 상업화를 위한 GM 작물의 개발과 GM 검출에 유용하게 사용될 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청의 기본과제(과제번호: 200901FHT0208 15367, 우회중)로 수행되었습니다.

인용문헌

James C (2008) Global status of commercialized biotech/GM crops, ISAAA Brief 39. ISAAA
KBCH (2008) 2008 Biosafety white paper. Korea Biosafety Clearing

House(KBCH) of KRIBB. 452-462
Klein TM, Wolf ED, Sanford JC (1987) High-velocity microprojectiles for delivering nucleic acids into living cells. *Nature* 327: 70-73
McCormick S, Niedermeyer J, Fry J, Barnason A, Horsch R, Fraley R (1986) Leaf disc transformation of cultivated tomato(*L. esculentum*) using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant cell Rep* 5:81-84
Miki B, McHugh S (2004) Selection marker genes in transgenic plants: application, alternatives and biosafety. *J Biotechnol* 107: 193-232

(접수일자 2009년 6월 25일, 수리일자 2009년 6월 27일)