J Plant Biotechnol (2010) 37:456-464
DOI:10.5010/JPB.2010.37.4.456

Review

감자에서의 조직배양과 형질전환의 이용 및 연구 동향

조광수 · 박영은 · 박태호

Recent advances in the applications of tissue culture and genetic transformation in potato

Kwang-Soo Cho · Young-Eun Park · Tae-Ho Park

Received: 2 December 2010 / Accepted: 14 December 2010
ⓒ Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Potato is one of the most important crops in the world. Due to vegetative propagation of this crop, techniques of plant tissue culture and genetic transformation are often applied for potato researches and a lot of progress has been made in the breeding programs using these techniques during the last decades. In potato, there have been several trials to introduce GM potato varieties to the world market, but they so far failed due to the changed legislation and unwillingness of large processors to process GM potatoes. These issues are highly associated with the general acceptances of the public and other political decisions. In addition to these, there are still obstacles to overcome to achieve the development of commercial potato variety and several factors to improve horticulturally important traits. In this study, therefore, we reviewed recent advances and research status on tissue culture and genetic transformation in potato and discussed future perspective.

서 론

남미 안데스산맥 지역으로부터 유래한 감자(*Solanum tuberosum* L.)는 약 8천년 전 인간에 의해 처음 재배되어 식용된 이래, 세계적으로 가장 중요한 작물 중 하나로 재배되고 있다 (Hawkes 1978). 감자는 세계 4대 식량작물의 하나로 그 생산량이 옥수수, 벼, 보리 다음으로 많은 비중을 차지하고 있으며, 생육기간이 짧고 단위면적당 생산량이 많아 전 세계적으로 재배되고 있다. 감자는 중요한 전분의 공급원으로 고품질 단백질과 비타민C를 함유하고 있으며, 우리나라에서 일반적으로 소비되는 신선감자, 전분생산, 감자칩, 감자튀김 등 다양한 용도로 이용되고 있다. 2008년도 국내 감자재배면적은 2만 ha가 조금 넘으며, 생산량은 60만 5천 톤으로 재배면적은 지속적으로 감소하는 반면 생산성은 증가하고 있다. 2009년도 전 세계 감자 재배면적은 1,830만 ha이며, 생산량은 3억 2,960만 톤으로 1961년부터 2009년까지 전세계 감자 생산량과 중국을 포함한 주요대륙의 감자 생산량 변화추이를 보면 유럽을 제외하고는 대체로 점진적 증가세를 보이고 있으며 특히 저개발 국가를 중심으로 재배면적이 증가하고 있다 (Fig. 1) (FAOSTAT 2010). 또한 감자는 기후적응성이 뛰어나 위도상으로는 열대, 아열대, 온대, 일부 한대지방까지 포함하는 남위 50도에서 북위 65도, 고도상으로는 해발 0 m부터 4,000 m에 이르기까지 넓은 재배지역 분포를 보이고 있으며, 감자를 재배하는 재배국가의 수도 150개국 이상인 것으로 알려져 있다 (Lübeck 2010). 최근 조사된 바에 따르면, 약 150년 동안의 전통육종법에 의해 육성된 품종의 수가 100여 개국 이상에서 4,200가지가 넘지만, 그 유전적 배경은 상대적으로 매우 좁은 것으로 알려져 있다 (Bradshaw et al. 2006; Hils and Pieterse 2007). 그러나 여전히 지속적인 감자 생산에 대한 소비자의 요구가 증가하고 있고 1980년대 이후부터 생명공학적 방법의 적용으로 감자의 이용성이 확대되고 실용화됨에 따라 감자 육종가와 생명공학은 연구하는 연구자에게는 새로운 도전의 기회가 될 수 있을 뿐 만 아니라 감자 재배면적 또한 지속적으로 증가할 것으로 예상된다 (Mullins

T.-H. Park (✉)
대구대학교 생명환경대학 원예학과
(Department of Horticultural Science, College of Life & Environmental Science, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Republic of Korea)
e-mail: thzoo@daegu.ac.kr

K.-S. Cho · Y.-E. Park
농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구센터
(Highland Agriculture Research Center, National Institute of Crop Science, RDA, Pyongchang 232-950, Republic of Korea)

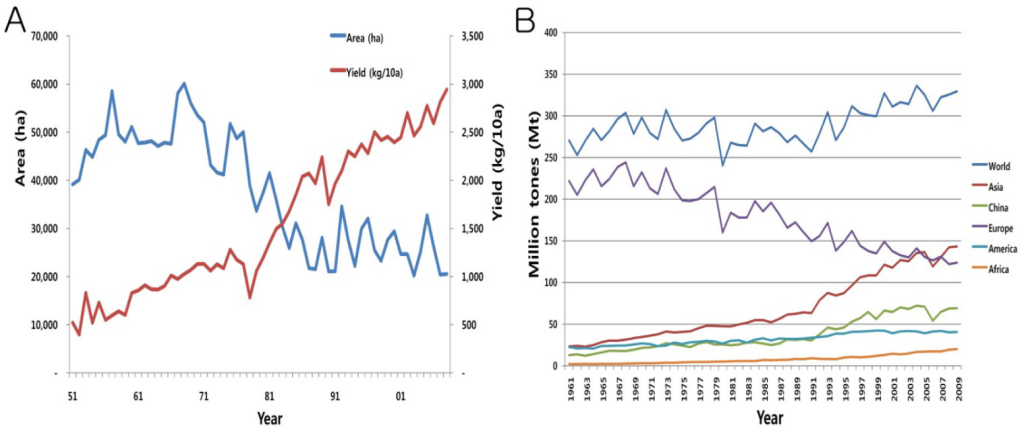

Fig. 1 Annual potato production-related statistics. A: Timescale yield and cultivated area of potato in Korea between 1951 and 2008. B: Timescale production quantity (million tones, Mt) of potato across World, Asia, China, Europe, America and Africa between 1961 and 2009. Data were collected from Food and Agricultural Organization of the United Nations Statistics Database (FAOSTAT 2010)

et al. 2006).

감자의 조직배양과 형질전환 기술은 영양번식을 하는 특성과 배수성의 특성에 의해 감자의 증식과 육종에 있어서 매우 중요한 부분을 차지하고 있다. 감자의 육종은 주로 병충해저항성, 맛, 요리품질, 괴경피색 및 괴경육색, 괴경 모양 및 수확량 등 다양한 목적으로 이루어지고 있으나, 재배되고 있는 감자의 대부분이 4배체(tetraploid)로 이러한 특성은 높은 이형접합성과 사염색체성유전과 연관되어 효율적인 육종의 걸림돌이 되고 있다. 따라서 형질전환과 같은 생명공학적 방법의 적용은 감자의 다양한 형질을 개량하는데 육종가들에게 중요한 기법으로 고려될 수 있을 것이다. 감자의 형질전환체는 1983년 최초 보고된 이후 1986년 형질전환 가능 작물로 인정받았으며, 1989년 형질전환법이 정착되었다 (Herrera-Estrella et al. 1983; Horsch et al. 1984; Ooms et al. 1986; Rocha-Sosa et al. 1989).

이후 감자의 형질전환은 식물의 분자생리학과 분자유전학에서 기초적 연구를 위해 가장 선호되는 작물의 하나로 각광받고 있다. 여기에는 각종 병충해저항성, 괴경의 품질과 관련된 형질, 영양학적 가치와 관련된 형질, 이차대사산물의 생산 등에 포함될 뿐 만 아니라 의학 또는 약학적으로 중요한 외래 단백질의 유전자발현 연구에도 활용되고 있다. 감자의 유전적 형질전환을 위한 방법으로는 주로 *Agrobacterium tumefactions*와 particle bombardment (유전자총)을 이용하는 방법이 이용되고 있다. *Agrobacterium*의 이용은 유전자총을 이용하는 방법보다 매우 높은 형질전환 빈도와 효율성을 가지고 있으며 유전자총의 이용은 다수의 유전자를 도입하고자 할 때 대체 가능한 방식으로 여겨지고 있다 (Romano et al. 2003). 이에 더해 미세주사를 이용하여 DNA를 직접 삽입하는 방법, 원형질체(protoplast)에 polyethylene glycol (PEG)를 처리하는 방법, 전기충격을 이용한 DNA의 삽입과 같은 다양한 물리적 방법이 있다 (Weiland 2003). 그러나 유전자총을 이용하는 방법은 gene silencing, transgene rearrangement, high copy number 등 복잡한 결과를 야기할 수 있어 주로 세포기관의 형질전환이나 효율적인 재분화 시스템이 없는 식물의 형질전환에 주로 사용된다 (Sawahel 2002). 따라서 감자의 형질전환은 *Agrobacterium*을 이용한 방법이 가장 널리 사용되고 있다.

감자의 조직배양 기술은 앞서 언급한 형질전환 감자의 생산을 위해 필요한 가장 기본적인 기술중의 하나이며, 이는 감자가 괴경을 통해 영양번식을 하는 작물로 바이러스 무병 씨감자(virus free seed potato)의 생산을 위해 매우 중요하다. 바이러스는 기주식물에 한 번 감염되면, 제거되지 않고 다음 세대로 지속적으로 전달되므로 감자의 생산과 씨감자의 생산 과정에서 바이러스 감염에 특히 주의해야 하고 씨감자 생산에 필요한 기간이 길어 증식과정에 바이러스에 노출될 가능성이 크다 (Seo et al. 2005). 따라서 바이러스 무병주인 씨감자의 생산을 위한 노력이 지속적으로 이루어지고 있는데, 조직배양이 기술에 의한 바이러스 무병주 감자생산에 관한 연구가 과거 수십 년간 수행되고 있다 (Baker 1953; Gregory 1956).

본 논문에서는 앞서 언급한 감자의 조직배양과 형질전환에 대한 내용을 바탕으로 현재 국내외에서의 감자 조직배양 및 형질전환과 관련된 연구의 성과와 동향 등을 알아보고자 한다.

조직배양 기술을 활용한 씨감자 생산 및 연구 동향

감자는 영양번식 작물로 병리적, 생리적 퇴화율이 매우 높아 종자갱신의 효과가 클 뿐 만 아니라, 1 ha에 필요한 씨감자 (종서)의 양이 200-240 kg 정도 소요되고 감자재배 시 바이러스 피해가 가장 큰 문제점으로 바이러스 무

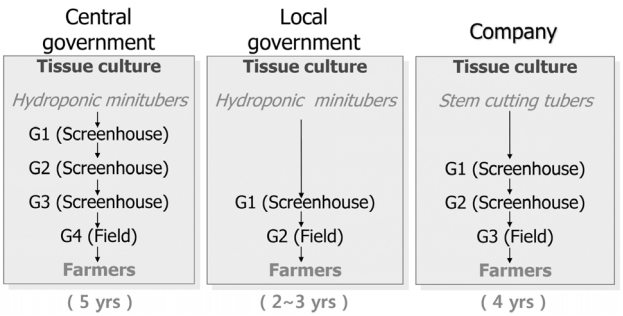

Fig. 2 Schematic representation of the procedures of seed potato production by central government, local government and company in Republic of Korea (Source: Kangwon Potato Symposium in 2009)

병 씨감자의 대량생산에 대한 관심이 높아 이에 대한 연구가 지속적으로 수행되고 있다 (Kang and Kim 2004; Seo et al. 2005). 현재 국내의 씨감자 생산체계를 보면 크게 중앙정부 조직인 농촌진흥청, 지방정부 조직인 도농업기술원 그리고 일반 기업체에서 이루어지는 세 가지로 구분해 볼 수 있다 (Fig. 2). 각각의 조직마다 씨감자를 생산해 농가에 보급하는데, 소형의 씨감자를 몇 차례 재배 증식하여 농가에 공급하느냐에 따라 연한에 약간의 차이가 있으나, 모든 씨감자 생산의 시작은 조직배양을 통해 이루어진다. 여기에도 크게 두 가지 방법으로 나누어 볼 수 있는데, 첫째는 조직배양을 통해 감자묘를 1차 증식 한 후 이를 줄기꺾꽂이 (경삽)를 하여 묘를 생산하고 다시 이를 양액재배 또는 토경을 하여 우량씨감자를 대량생산하는 방법이다 (Kang and Kim 1995; Kim et al. 1997, 2002). 둘째는 감자의 줄기를 조직배양 기술을 이용하여 증식한 후 이 감자줄기를 배양조건을 변경한 배지로 옮겨 씨감자 (소괴경)를 생산하는 방법으로 보다 많은 소괴경를 효율적으로 생산하기 위해 다양한 연구가 진행되고 있다. 조직배양에 의한 소괴경의 형성 및 씨감자의 생산은 일장, 온도 등의 환경요인과 식물생장조절 물질, 배지농도 등 배지조건에 영향을 받을 뿐 만 아니라, 소괴경 생산에 필요한 감자줄기를 어떻게 배양했느냐에 또한 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 (Kim et al. 2009, 2010). 이 중 온도 및 일장과 관련된 환경적인 영향에 대한 보고로는 밤낮의 변온처리 또는 20℃ 조건에서 단일처리는 소괴경 형성을 촉진하나, 장일과 높은 밤 온도는 소괴경의 형성을 저해하는 것으로 알려져 있다 (Tibbitts and Wheeler 1987; Kim et al. 1992; Hwang and Lee 2008). 배지의 구성성분으로 배지 내의 높은 sucrose농도는 기내소괴경 형성을 촉진하며 (Choi et al. 1994; Hwang and Lee 2007), 생장조절물질 중에서는 benzyladenine (BA), coumarin, CCC는 괴경의 형성을 촉진하나, GA_3와 에틸렌은 괴경형성을 억제하는 것으로 알려져 있다 (Palmer and Smith 1970; Stallknecht and Fransworth 1979; Wang and Hu 1982; Ahn et al. 2002a; Hwang and Lee 2007, 2008). 또한 최근에는 바이오리액터를 이용한 조직배양 감자줄기의 대량증식과 감자소괴경 대량 생산이 가능한 것으로 보고되고 있으나 경제성 분석 및 실제 포장내에서의 적응성 등을 검토하여야 할 것으로 판단된다 (Kim et al. 2009, 2010).

이외에도 감자의 조직배양 기술은 체세포 융합에도 효과적으로 이용되고 있다. 체세포 융합기술은 주로 교잡이 불가능한 이종속간에 새로운 핵과 세포질의 조합을 유도하여 새로운 품종을 육성할 목적으로 이용된다. 감자 재배종의 경우 육종에 활용될 수 있는 유전적 다양성이 상대적으로 적은 편이라 새로운 형질, 특히 병저항성과 같은 형질을 도입하기 위해 야생종 감자가 많이 이용되고 있으나 많은 야생종들이 재배종 감자와 교잡이 되지 않는 특성을 가지고 있어 조직배양 기술을 이용한 체세포 융합이 효과적으로 이용되고 있다 (Möller et al. 1994; Laferriere et al. 1999; Fock et al. 2001; Ahn et al. 2002b; Greplová et al. 2008).

형질전환 감자 개발 연구 동향

형질전환 효율 및 방법

감자는 영양번식 작물로 형질전환 후 후대 유전적 안전성이 다른 종자번식 작물 보다 유리하여 형질전환 연구 초기부터 실험재료로 많이 이용되어 왔다 (Yi et al. 2003a). 그러나 품종 별로 그리고 조직 부위별로 형질전환 효율이 매우 달라 국내에 실용화가 가능한 장려품종에 대한 최적의 형질전환 방법이 필요할 것으로 판단된다. Yi 등은 (2003a) 국내에서 개발된 품종에 대한 형질전환 효율을 검토한 결과 조원 품종은 잎 조직을 이용하고 75 uM의 acetosyringone을 첨가하였을 경우 87.9%의 형질전환율을 보여주었고 조풍은 줄기 조직과 acetoosyringone을 첨가하여 약 68.4%의 높은 형질전환을 얻을 수 있다고 보고하였다. 그러나 다른 품종은 매우 낮은 효율을 나타내 각 품종별로 최적의 재분화 및 형질전환 protocol 개발이 필요할 것으로 판단된다. 감자의 형질전환은 *Agrobacterium tumefactions*와 유전자총을 이용하여 왔으며 국내의 형질전환은 모두 아그로박테리움을 이용하고 있는 것으로 나타났다 (Table 1). 그러나 아그로박테리움으로 도입된 유전자는 대부분이 하나 혹은 두 개의 유전자로 대사작용 (metabolic pathway)과 같은 다중유전자 (multiple genes) 또는 큰 사이즈의 유전자를 도입하기 위해서는 유전자총을 활용한 기술의 개발이 필요하다 (Romano et al. 2003). 또한 형질전환체의 선발 마커는 주로 항생제 내성 유전자 (neomycin phosphor transferase)를 활용하여 kanamycin 혹은 hygromycin으로 선발하였으며 이는 감자의 경우 조직배양 과정에서 재분화 효율이 높아 항생제만으로도 형질전환체 선발이 가능하기 때문이라고 생각된다.

형질전환 감자 개발

형질전환에 이용되고 있는 국내 품종은 봄 재배 작형의 대표 품종인 수미 (Superior)와 가을 재배 작형의 대표 품종인 대지 (Dejima)라고 할 수 있다 (Table 1). 하지만 수미 품종의 경우 감자 역병에 치명적인 약점을 가지고 있으며 대지 품종은 감자 더뎅이병에 약한 특성을 나타내고 있어 기존 품종의 약점을 극복할 수 있는 병저항성 유전자 도입이 시급함에도 불구하고 이들에 대한 연구가 부족한 것으로 나타났다. 또한 최근 용도별로 새로운 품종들, 역병저항성품종 '하령', 더뎅이병저항성 품종 '서홍' 등이 개발되고 있어 형질전환을 시작하기 전 품종의 특성 파악 후 도입 형질을 결정하고 형질전환을 시도하는 것이 금후 형질전환체의 실용화를 촉진할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 감자는 괴경을 통해 영양번식을 하는 작물로 씨감자 생산에 필요한 기간이 길어 씨감자 증식 과정에서 바이러스 감염에 노출될 확률이 높고 한번 감염되면 씨감자 생산 과정을 통해 지속적으로 증식되어 후대 수량 감소에 매우 큰 영향을 미친다 (Seo et al. 2005). 감자에 감염되어 피해를 주는 대표적인 바이러스인 감자잎말림바이러스 (PLRV, potato leaf roll virus)에 저항성 감자를 개발하기 위해 국내에서 분리된 PLRV의 외피 단백질을 도입하여 저항성을 검정한 결과 PLRV에 매우 저항성인 계통을 선발 할 수 있었다 (Seo et al. 2005). 또한 감자의 무름병은 생육 기간뿐만 아니라 수확된 감자의 저장기간에도 발생하여 수량감소 및 품질 저하를 유발하고 있어 세균병 저항성 품종 육성이 시급한 실정이다 (Yi et al. 2003b). 무름병 저항성 형질전환 감자는 용균성 단백질을 도입하여 방제하는 방법 (Yi et al. 2003b) 및 세균 침입 시 발생하는 산소종 (Reactive oxygen species; ROS)의 산화반응을 억제하는 유전자를 이용한 방법이 보고되고 있다 (Bae et al. 2002). 최근의 형질전환 유전자는 이슈가 되고 있는 가뭄, 고온 등과 같은 불량환경에 대한 저항성을 극복하기 위한 내재해성 유전자를 활용한 형질전환이 보고 되고 있다 (Jeong et al. 2001; Tang et al. 2004; Lee et al. 2007; Ahmad et al. 2010; Shin et al. 2011). 감자는 열대지방부터 극지까지 매우 다양한 환경에서 적응이 가능한 것으로 보고 되고 있으나 (Haverkort 1990), 괴경의 형성기에 17℃ 이상의 기온에서는 괴경이 형성되지 않는 것으로 보고되어 (Stol et al. 1991) 지구온난화와 같은 기온상승에 대응하기 위한 형질전환 전략이 필요할 것으로 판단된다. 실제로 Hijmans (2003)은 기후온난화 시뮬레이션을 활용한 결과 적절한 대책 (내재해성 품종 개발 등)이 없을 경우 18%에서 32%의 수량이 감소될 것으로 예측하였으며 또한 감자는 서리피해에 매우 취약하여 내상성(耐霜性)에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 생각된다. 내재해성에 관련된 유전자는 Myb, EREBP, NDPK2와 같

Table 1 The list of transgenic potato lines developed by Korean research group

Transgene	Selectable marker	Cultivar	Target Trait	Transformation method	References
SOD, APX	Kanamycine	Superior	Abiotic stress resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Ahmad et al (2010)
Myb	Hygromycine	Superior	Abiotic stress resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Shin et al (2011)
EREBP	Kanamycine	Superior	Abiotic stress resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Lee et al (2007)
NDPK2	Kanamycine	Superior	Abiotic stress resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Tang et al (2004)
GPD	Kanamycine	Dejima	Abiotic stress resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Jeong et al (2001)
Bt	Kanamycine	Dejima	Insect resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Shin et al (2008)
PLRV-CP	Kanamycine	Superior	Virus resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Seo et al (2005)
Shiva	Kanamycine	Irish Cobbler	Soft rot resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Yi et al (2003)
Ferrittin	PAT[1]	Superior	Soft rot resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Bae et al (2002)
Bar, CP4-EPSPS	PAT	Atlantic, Taedong Valley	Herbicide resistance	*Agrobacterium tumefaciens*	Fang et al (2007)
CAX1	Kanamycine	Superior	Calcium enhancement	*Agrobacterium tumefaciens*	Oh et al (2005)
Rotavirus-VP6	Kanamycine	Desiree	Antigen production	*Agrobacterium tumefaciens*	Youm et al (2002)

[1] Phosphinothricin Acetyl Transferase

은 전사인자 (transcription factor)와 산화스트레스에 내성을 유도하기 위한 osmoprotectant를 유도하는 SOD (superoxide dismutase)와 GPD(Glyceraldehyde-3 Phospate Dehydrogenase) 유전자를 도입하는 시도가 이루어졌다.

국내외 형질전환 감자 실용화 연구 동향

국외 형질전환 감자 실용화

2010년 현재 전세계적으로 형질전환 감자가 실용화 되어 보급된 것은 5건으로 보고 되고 있다 (Table 2). 이중 4건은 다국적 종자회사인 몬산토가 1건은 BASF사가 개발하였으며 몬산토회사가 개발한 형질전환 감자는 Bt (*Bacillus thuringiensis*로부터 유래된 *cry3A* 유전자) 유전자를 활용한 콜로라도 감자 딱정벌레 해충 저항성 또는 바이러스 외피 단백질 (coat protein)을 도입하여 바이러스 (PLRV 또는 PVY)에 저항성을 보이는 형질전환 감자였다. 특히 최근에는 유럽연합에 재배 승인을 얻은 BASF사 개발한 형질전환 감자, Amflora는 전분합성에 관여 하는 GBSS (granule bound starch synthase)유전자를 antisense로 발현시켜 불활성화시킴으로써 아밀로스 함량이 매우 적고 아밀로펙틴 함량이 증가되어 산업적으로 매우 유용한 고급전분을 생산하도록 유도된 감자이다. 또한 몬산토에서 형질전환 감자개발에 이용된 품종은 국내에서도 장려품종으로 등록된 대서 (Atlantic), 수미 (Superior)가 포함되어 국내 도입 시 한국의 재배환경에서 쉽게 적응되어 재배면적이 급속하게 증가될 가능성이 높다. 몬산토에서 개발한 4가지 형질전환감자는 2004년에 재배목적이 아닌 식용으로 한국식품의약품안전청으로부터 허가를 얻었으나 공식적인 수입은 현재까지 없는 실정이다. 형질전환 감자의 재배면적은 1999년 미국과 캐나다에서 약 2500 ha가 재배되었으며 2001년 이후 답보 상태이며 Amflora가 독일에서 약 15 ha, 스웨덴에서 약 80 ha 및 체코에서 150 ha정도 재배가 되는 것으로 보고되고 있다 (http://gmo-compass.org).

국내 형질전환 감자 실용화

현재 국내에서 개발되어 실용화된 형질전환 감자는 없으나 농촌진흥청 고령지농업연구센터를 중심으로 국내에서 개발된 형질전환 감자의 실용화를 위한 형질전환 감자의 재료평가연구가 수행 중이다 (Table 3). 고령지농업연구센터에서는 제초제저항성 형질전환감자(Bar)등 7종에 대한 재료를 증식, 유지 및 평가를 수행 중에 있다. 이중 제초제저항성 형질전환감자에 대한 재료평가 연구가 가장 많은 연구가 이루어진 예로 농업적 특성 및 독성물질 생산 가능성에 대한 검정을 예로 들 수 있다 (Cho 2008). 식물 생장 습성, 꽃색, 괴경 모양, 표피색, 과육색, 눈 깊이, 2차 생장, 수량성, 더뎅이병 발생 정도와 같은 농업적 특성 조사 형질전환 감자가 실질적 동등성(substantial equivalence)을 확보하였음을 알 수 있었다 (Ahn et al. 2011). 제초제저항성 형질전환 감자를 SD rat에 13주간 경구투여 시에도 유의할 만한 독성을 유발하지 않았음을 확인하였다 (Cho 2008). 이외에도 해충저항성 유전자 (*Bt*, *CryIA3*)가 도입된 형질전환감자의 인체 위해성 여부를 판단하기 위하여 마우스 비장세포에서 인터루킨과 housekeeping gene의 발현을 RT-PCR로 비교 분석연구를 수행한 결과, APRT, β-tubulin, Actin, Hsp20.2, Cyclophilin, 18S RNA and Efla, and Tbp, GAPDH, β-actin, Tuba2, Hprt, Cyclophlin A, Tfrc 및 RPL13A의 발현에는 유전자 변형 감자와 그렇지 않은 감자와의 차이를 발견할 수 없었다 (Kwon et al. 2008).

GM감자 생산을 위한 최근 이슈

작물에서 처음으로 GM품종이 육성되어 상업적인 판매가 이루어진 것이 거의 20년 전이며, 2006년 기준으로

Table 2 The list of commercialized transgenic potato in the world

Event	Company	Cultivar	Description
ATBT04-6, ATBT04-27, ATBT04-30, ATBT04-31, ATBT04-36, SPBT02-5, SPBT02-7	Monsanto	Atlantic Superior	Resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*, Say).
BT6, BT10, BT12, BT16, BT17, BT18, BT23	Monsanto	Russet Burbank	Resistance to Colorado potato beetle (*L. decemlineata*, Say).
RBMT15-101, SEMT15-02, SEMT15-15	Monsanto	Superior	Resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*, Say); resistance to potato virus Y (PVY).
RBMT21-129, RBMT21-350, RBMT22-082	Monsanto	Russet Burbank	Resistance to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*, Say); resistance to potato leafroll luteovirus (PLRV)
EH92-527-1	BASF Plant Science	Prevalent	Altered starch composition

<Source: Center for Environmental Risk Assessment (CERA) and GMO Compass>

Table 3 The status of transgenic potato lines ongoing research for the commercialization

Transgene	Cultivar	Target Trait	Status	Developer[1]
PLRV-CP	Superior	Virus resistance	Risk assessment	HARC
ScaM4	Dejima	Soft rot resistance	Gene function analysis	JNU
atTIR	Dejima	Soft rot resistance	Gene function analysis	JNU
EREBP	Superior	Soft rot resistance	Agricultural characteristics evaluation	NAAS
Myb	Superior	Soft rot resistance	Gene function analysis	NAAS
codA	Superior	Soft rot resistance	Agricultural characteristics evaluation	KRIBB
Bar	Dejima	Herbicide resistance	Risk assessment	NAAS

[1] HARC; Highland Agriculture Research Center, JNU; Jinju National University, NAAS; National Academy of Agricultural Science, HARC; Highland Agriculture Research Center, KRIBB; Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

Table 4 The different steps in introgression breeding, induced translocation breeding and cisgenesis. This table was adopted from Jacobsen and Schouten (2008)

Step	Introgression breeding	Induced translocation breeding	Cisgenesis
1	Interspecific crossing with wild source containing the desired gene	Interspecific crossing with wild source	Isolation of the desired gene from wild source
2	Back cross procedure and removal of disturbing linkage drag	Back cross procedure resulting in monosomic addition line	Backbone free transformation and selection for cisgene expression
3	Crosses with breeding parent for variety selection	Irradiation and selection for useful translocations in offspring	Selection of cisgenic variety without linkage drag
4	Resistant variety with linkage drag	Crosses with induced translocation line for variety selection	
5		Resistance variety with linkage drag	

GM작물이 재배되고 있는 면적이 1억 ha 이상으로 증가되었다 (James 2006). 작물에 도입된 유전자는 거의 모두 해충, 바이러스 및 제초제 저항성 유전자이며, 이들은 transgene으로 세균, 바이러스 등 다른 생물체로부터 유전자가 분리되어 작물에 도입된 것을 의미한다.

감자의 경우 GM감자를 개발하여 시장에 판매하고자 하는 시도가 여러 번 있었으나, GM감자에 대한 변경된 법률과 감자 소비에 있어서 시장 지배자라고 할 수 있는 감자가공업자들이 GM감자를 꺼려하는 경향에 의해 지금까지는 실패했다. 이러한 이슈들은 대중과 정치적인 결정에서 나오는 일반적 정서와 깊은 연관이 있다. 현재 변화된 전분구성을 갖는 GM감자는 유럽을 중심으로 실용화되었고 *Phytophthora infestans*에 저항성을 나타내는 GM감자가 실제 포장에서 실험재배 되고 있으나, 이제 새로운 GM감자의 개발과 환경적 염려 등을 포함하여 GM감자의 더 많은 이용 가능성을 논의하고 실행해야 할 때이다. 여기에는 clean vector technology라 일컬어지는 기술로 선발유전자(마커유전자)는 모두 배제하고 오직 농업적으로 필요한 유전자만 도입하는, 다시 말하자면, 오직 식물체 유래 유전자만 도입하여 식물 이외의 생물체에서 분리된 유전자로부터 영향을 받지 않은 상태의 cisgenic을 이용한 기술의 개발을 포함한다 (de Vetten et al. 2003; Schaart et al. 2004; Jacobsen and Hutten 2006; Schouten et al. 2006a, 2006b; Jacobsen and Schouten 2007, 2008; Haverkort et al. 2008; Park et al. 2009). 이것은 transgenesis와 cisgenesis를 분명히 구별하는 기반을 제공한다. Cisgenesis의 경우, 생식적으로 매우 근접한 또는 교잡이 가능한 공여식물체 (donor plant)로부터 하나 또는 두 개 이상의 유전자를 수여식물체 (recipient plant)로 빠르게 도입하는 것으로 여기에서는 대상 작물의 promoter와 terminator를 이용하게 된다. 반면 transgenesis의 경우 이미 잘 알려진 것처럼, 식물 이외의 다른 생물체로부터 유래한 유전자를 도입하거나 식물체가 아닌 다른 생물체로부터 유래한 유전자 혹은 합성유전자의 promoter에 의해 조절되는 교잡이 가능한 식물체로부터 유래한 유전자를 도입하는 것을 의미한다. 따라서 cisgenic 식물은 전통육종에 의해 육성된 식물과 동일한 것으로 생각할 수 있을 것이다 (Park et al. 2009). 이러한 차이는 Table 4에서 그 과정과 장단점을 요약하고 있다.

감자 역병저항성 품종육성에 대한 하나의 예로, 재배종 감자는 역병을 일으키는 *Phytophthora infestans*에 대해 감수성으로, 저항성 감자품종을 육성하기 위해서는 감자의 야생종이 가지고 있는 저항성을 재배종 감자에 도입해야 한다. 이를 위해서는 고전적 육종에 의한 저항성의

도입과 형질전환을 통한 저항성 유전자의 도입에 의한 방법이 있다. 과거 감자에서 고전적 육종법을 이용한 감자 역병 저항성 품종을 육성하기 위한 육종은 이종교잡과 이 후 지속적으로 저항성 형질의 유지를 위해 선발과정을 통한 재배종 감자와의 여교잡 (backcross)을 통해 감자야생종으로부터 저항성 유전자를 도입하는데 목적을 두고 있었다. 그러나 이 방법을 이용하여 얻을 수 있는 품종은 야생종에서 온 DNA에 둘러싸인 하나 혹은 그 이상의 다른 유전자를 포함하고 있다. 연관장애물 (linkage drag)로 불리는 이러한 영향은 새로운 품종에 저항성 유전자뿐만 아니라 야생종으로부터 많은 다른 유전자좌들이 새로운 품종에 전달된다는 것을 의미한다. 이런 알려지지 않은 유전자좌들은 기대하지 않았던 부정적인 형질을 야기한다. 육종가들이 이러한 부정적 효과의 개선을 위해 적당한 유전적 배경의 선발을 시도하지만 이는 쉬운 일이 아니다. 결과적으로 이런 다양한 단계의 과정을 거치게 함으로써 시간이 많이 소요되며, 원하는 형질을 도입하였다 하더라도 좋은 품종으로서의 특성을 나타내지 않을 수 있다.

이와 달리 형질전환 방법을 이용한 cisgene 을 도입하는 육종법은 이런 linkage drag의 문제점을 해결할 수 있는 방법이다. 현재 상대적으로 분리된 많은 역병저항성 유전자의 이용가능성은 고전적 육종법에 의한 것과 달리 새로운 저항성 품종의 개발을 위한 전략의 발전을 가져올 것이다. 하나의 예로 여러 개의 저항성 유전자를 포함하는 하나의 cisgene cassette를 재배종에 도입하는 방법을 이용할 수 있을 것이다. 위에서 고전적 육종과 형질전환 방법에 의한 육종의 비교에서 본 바와 같이, cisgene 을 이용한 형질전환 저항성 육종은 돌연변이 육종과 같이 과거의 형질전환 육종의 규제와 달리 이런 규제에서 예외적으로 적용되어야 할 것이다. 궁극적으로 형질전환 작물 개발 반대자들 혹은 규제 담당자들은 이러한 다른 생물체로부터 도입되는 transgene 과 같은 식물체로부터 도입되는 cisgene의 차이를 인식하여야 할 것이다. 이 cisgene의 도입은 명백히 고전적인 육종과 유사한 육종법이며, 또한 linkage Drag의 문제점을 해결할 수 있어 더 향상된 결과를 나타낼 것이다 (Haverkort et al. 2008; Jacobsen and Schouten 2008; Park et al. 2009).

결 론

이상에서 국내외 감자의 조직배양기술을 이용한 감자의 증식과 형질전환기술에 대한 연구 및 실용화, 상업화 현황을 설명하였다. 감자는 주요 세계 4대 작물의 하나이며, 영양번식 작물로 바이러스 무병의 씨감자 생산은 감자재배에 있어서 가장 중요한 요소 중의 하나이다. 또한 형질전환체의 후대에 도입유전자의 안정적 발현을 확인하기 위한 기초 작물로 많이 이용되고 있다. 이를 위해 조직배양 기술, 형질전환 기술 등은 생명공학적 기법의 적용을 통한 감자 개발에 필수적이라 할 수 있다. 지금까지 형질전환에 의해 생산된 농산물의 상업화에 대한 국내외적인 논란이 지속되고 있음에도 불구하고 형질전환 작물의 재배면적은 점차 확대되고 있으며, 감자를 이용한 형질전환체 개발에 대한 연구 또한 활발히 진행되고 있어 형질전환에 의한 신품종 개발 또는 유용물질 생산을 위한 연구 결과가 보고되고 있다. 하지만 여전히 효율적인 형질전환체 생산을 위한 기술의 필요성이 존재하고 있으며, 현재 개발되고 있는 감자의 형질전환이 일부 특정 환경저항성, 병충해저항성을 위한 것으로 제한되어 있고, 상업화의 빈도가 극히 적은 편이다.

이러한 문제점은 국내의 연구환경을 고려해 볼 때, 국가의 연구정책과 연구관리 상 단기간 내의 연구성과 도출을 요구하고 있고 시설과 연구비에 있어서 외국에 비해 투자 규모가 극히 적으며 연구자의 수 또한 적다는데 기인하고 있는 것으로 판단된다. 뿐 만 아니라 전통육종과의 낮은 연계성에 의해 국제 경쟁력이 떨어져, 분자육종 기술을 적용한 품종개발에는 전통육종가와 분자육종 연구자 상호간의 도움이 절실히 필요할 것이다. 이에 더해 식량 안보 문제와 직결된 식량 문제 해결, 기능성 감자의 개발 등, 미래 사회에 인류가 필요로 하고 기대하고 있는 생명공학적 기술을 활용한 감자의 개발, 특히 cisgenesis에 의한 감자의 개발은 지속적으로 중요한 연구가 될 것이며, 가까운 미래에 일반적인 기법으로 자리매김 할 것으로 예상된다.

사 사

이 논문은 2010학년도 대구대학교 학술연구비지원에 의한 논문임.

인용문헌

Ahmad R, Kim YH, Kim MD, Kwon SY, Cho KS, Lee HS, Kwak SS (2010) Simultaneous expression of choline oxidase, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in potato plant chloroplasts provides synergistically enhanced protection against various abiotic stresses. Physiol Plant 138: 520-533

Ahn SY, Cho KS, Seo HY, Yi JY, Bae SC, Cho JH, Park YE, Kim JI, Kim HJ, Cho HM (2011) Evaluation and analysis of agronomic characteristics, nutritional contents, and bioassay of the glufosinate ammonium resistant potato. J Kor Soc Hort Sci (in press)

Ahn Y-K, Choi Y-W, Kim D-S, Na S-Y (2002a) MS medium

supplement and optimum coumarin concentration for in vitro tuberization of potato. Korean J Breed 34:178-182

Ahn Y-K, Ghislain M, Choi H-S, Park H-G (2002b) Selection of somatic hybris of potato using molecular marker and chloroplast number. Korean J Breed 34:188-194

Bae SC, Yeo YS, Heu SG, Hwang DJ, Byun MO, Go SJ (2002) Tolerance to potato soft rot disease in transgenic potato expressing soybean ferritin gene. Korean J Plant Biotechnol 29:229-233

Barker WG (1953) A method for the in vitro culturing of potato tubers. Science 118:384-385

Bradshaw JE, Bryan GJ, Ramsay G (2006) Genetic resources (including wild and cultivated *Solanum* species) and progress in their utilization in potato breeding. Potato Res 49:49-65

Cho HS (2008) Studies in the environmental safety assessment of genetically modified rice, Chinese cabbage, potato and grass. Rural Development Administration: 1-350

Choi YW, Cho JL, Kang SM (1994) Studies on rapid multiplication of microtubers from potatoes (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro* and their practical use several factors affecting *in vitro* microtuberization. J Kor Soc Hort Sci 35:111-125

de Vetten N, Wolters MA, Reamakers K, van der Meer I, ter Stege R, Heeres P, Visser RGF (2003) A transformation method for obtaining marker-free plants of a cross-pollinating and vegetatively propagated crop. Nat Biotechnol 21:439-442

Fang YL. Kim JS, Gong S, Mo HS, Min SK, Kwon SY, Li KH, Lim HT (2007) Development of antibiotics marker-free potato having resistance against two herbicides. J Plant Biotechnol 34:253-261

FAOSTAT (2010) Food and Agricultural Organization of the United Nations Statistical Database, (http://faostat.fao.org)

Fock I, Collonnier C, Luisetti J, Purwito A, Souvannavong V, Vedel F, Servaes A, Ambroise A, Kodja H, Ducreux G, Sihachakr D (2001) Use of *Solanum stenotomum* for introduction of resistance to bacterial wilt in somatic hybrids of potato. Plant Physiol Biochem 39:899-908

Gregory LE (1956) Some factors for tuberization in the potato plant. Amer J Bot 43:281-288

Greplová M, Polzerová H, Vlastníková H (2008) Electrofusion of protoplasts from *Solanum tuberosum*, *S. bulbocastanum* and *S. pinnatisectum.* Acta Physiol Plant 30:787-796

Hawkes JG (1978) History of the potato, In: Harris PM (ed), The potato crop: The Scientific basis for improvement. Chapman and Hall, London: 1-69

Haverkort AJ (1990) Ecology of potato cropping systems in relation to latitude and altitude. Agr Syst 32:251-272

Haverkort AJ, Boonekamp PM, Hutten R, Jacobsen E, Lotz LAP, Kessel GJT, Visser RGF, van der Vossen EAG (2008) Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenic modification. Potato Res 51:47-57

Herrera-Estrella L, Depicker A, van Montagu, M, Schell J (1983) Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector. Nature 303:209-213

Hijmans RJ (2003) The effect of climate change on global potato production. Amer J of Potato Res 80:271-280

Hils U, Pieterse L (2007) World catalogue of potato varieties. Agrimedia, Bergen

Horsch RB, Fraley RT, Rogers SG, Sanders PR, Lloyd A, Hoffman N (1984) Inheritance of functional foreign genes in plants. Science 223:496-498

Hwang HY, Lee YB (2007) Microtuberization and morphological development by culture condition *in vitro* node culture of potato. J Plant Biotechnol 34:331-338

Hwang HY, Lee YB (2008) Influences by position of node and existence of leaf on microtuberization in node culture of potato. Kor J Plant Biotechnol 35:63-68

Jacobsen E, Hutten R (2006) Stacking resistance genes in potato by cisgenesis instead of introgression breeding. In: Haase NU, Haverkort AJ (eds), Potato developments in a changing Europe, Wageningen Academic Publishers, Wageningen: 46-57

Jacobsen E, Schouten HJ (2007) Cisgenesis strongly improves introgression breeding and induced translocation breeding of plants. Trends Biotechnol 25:219-233

Jacobsen E, Schouten HJ (2008) Cisgenesis, a new tool for traditional plant breeding, should be exempted from the regulation on genetically modified organisms in a step by step approach. Potato Res 51:75-88

James C (2006) Global status of commercialized biotech/GMO crops. ISAAA Briefs No. 34

Jeong MJ, Park SC, Byun MO (2001) Improvement of salt tolerance in transgenic potato plants by glyceraldehyde-3 phosphate dehydrogenase gene transfer. Mol and Cells 12:185-189

Kang JG, Kim SY (1995) Studies on tuber formation and enlargement of potato (*Solanum tuberosum* L.) in hydroponics. RDA J Agri Sci 37:187-199

Kang BK, Kim CW (2004) Development of recirculating wick hydroponic techniques for safe seed tuber multiplication of potatoes. Korean J Crop Sci 49:447-451

Kim SY, Chang DC, Kim HJ, Shin KY (2002) Improvement of rooting of stem cuttings propagated *in vitro* through hydroponics in potato. Kor J Hort Sci Technol 20:29-31

Kim JW, Choi EG, Kim J-K (2009) Mass production of potato shoots by liquid culture. J Plant Biotechnol 36:1-6

Kim JW, Choi EG, Oh SC, Joo SA, You DM, Kim SK, Kim J-K (2010) Mass production of potato microtubers by bioreactor culture. J Plant Biotechnol 37:110-114

Kim HS, Jeon JH, Park SW, Joung H (1992) Effects of alternating temperature on microtuberization of potato. J Kor Soc Hort Sci 33:432-437

Kim HJ, Ryu SY, Choi KS, Kim BH, Kim JK (1997) Mass production of seed potato via hydroponic culture. J Kor Soc Hort Sci 38:24-28

Kwon MA, Heo JC, Cho HS, Lee SH (2008) Analysis of housekeeping genes in mice feeding on GM and non-GM potatoes. Korean J Food Preserv 15:562-567

Laferriere LT, Helgeson JP, Allen C (1999) Fertile *Solanum tuberosum* + *S. commersonii* somatic hybrids as sources or resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. Theor Appl Genet 98:1272-1278

Lee HE, Shin DJ, Park SR, Han SE, Jeong MJ, Kwon TR, Lee SK,

Park SC, Yi BY, Kwon HB, Byun MO (2007) Ethylene responsive element binding protein 1 (*StEREBP1*) from *Solanum tuberosum* increases tolerance to abiotic stress in transgenic potato plants. Biochem Biophys Res Commun 353:863-868

Lübeck J (2010) Potato, In:Kempken F, Jung C (eds), Genetic modification of plants, biotechnology in agriculture and forestry 64. Springer, New York: 393-408

Möller C, Frei U, Wenzel G (1994) Field evaluation of tetraploid somatic potato hybrids. Theor Appl Genet 88:147-152

Mullins E, Milbourne D, Petti C, Doyle-Prestwich BM, Meade C (2006) Potato in the age of biotechnology. Trends Plant Sci 11:254-260

Oh JY, Chung MY, Lee HS, Kim HR, Jee SO, Han JS, Kim JH, Kim CK (2005) Selection of transgenic calcium-rich potato (*Solanum tuberosum* cv. Superior) tuber overexpressing *Arabidopsis sCAX1*. Kor J Hort Sci Technol 23:170-174

Ooms G, Bossen ME, Burrell MM, Karp A (1986) Genetic manipulation in potato with *Agrobacterium rhizogenes*. Potato Res 29:367-379

Palmer CE, Smith OE (1970) Effect of kinetin on tuber formation on isolated stolons of *Solanum tuberosum* L. cultivated in vitro plant. Plant Cell Physiol 11:303-314

Park T-H, Vleeshouwers VGAA, Jacobsen E, van der Vossen E, Visser RGF (2009) Molecular breeding for resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in potato (*Solanum tuberosum* L.): a perspective of cisgenesis. Plant Breeding 128:109-117

Rocha-Sosa M, Sonnewald U, Frommer W, Stratmann M, Schell J, Willmitzer L (1989) Both developmental and metabolic signals activate the promoter of a class I patatin gene. EMBO J 8:23-29

Romano A, Raemakers K, Bernardi J, Visser R, Mooibroek H (2003) Transgene organization in potato after particle bombardment-mediated (co)-transformation using plasmids and gene cassettes. Transgenic Res 12:461-473

Sawahel WA (2002) The production of transgenic potato plants expressing human α-interferon using lipofectin-mediated transformation. Cell Mol Biol Lett 7:19-29

Schaart JG, Krens FA, Koen TB, Pelgrom OM, Rouwendaal JA (2004) Effective production of marker-free transgenic strawberry plants using inducible site-specific recombination and a bifunctional selectable marker gene. Plant Biotechnol J 2: 233-240

Schouten HJ, Krens FA, Jacobsen E (2006a) Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants: international regulations for genetically modified organisms should be altered to exempt cisgenesis. EMBP Rep 7:750-753

Schouten HJ, Krens FA, Jacobsen E (2006b) Do cisgenic plant warrant less stringent oversight? Nat Biotechnol 24:753

Seo H-W, Yi J-Y, Park Y-E, Cho J-H, Hahm Y-I, Cho H-M (2005) Cloning of coat protein gene from Korean isolate potato leafroll virus (PLRV) and introduction into potato (*Solanum tuberosum*). Korean J Plant Biotechnol 32:243-250

Shin KS, Lee JH, Rhim SL, Kweon SJ, Suh SC (2008) Transformation of potato plant with δ-endotoxin gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* and analysis of B.t.-toxin gene expression in transgenic potatoes. Korean J Intl Agri 20:301-307

Shin DJ, Moon SJ, Han SY, Kim BG, Park SR, Lee SK, Yoon HJ, Lee HE, Kwon HB, Beak DW, Yi BY, Byun MO (2011) Expression of *StMYB1R-1*, a novel potato single MYB-like domain transcription factor, increases drought tolerance. Plant Physiol (in press)

Stallknecht GF, Farnsworth S (1979) The effect of nitrogen on the coumarin-induced tuberization of potato axillary shoots cultured *in vitro*. Am Potato J 56:523-530

Stol W, de Koning GHJ, Haverkort AJ, Kooman PL, van Kulen H, de Vries FWT (1991) Agro-ecological characterization for potato production. A simulation study at the request of the International Potato Center (CIP), Lima, Peru. CABO-DLO, Report 155

Tang L, Kwon SY, Yun DJ, Kwak SS, Lee HS (2004) Selection of transgenic potato plants expressing NDP kinase 2 gene with enhances tolerance to oxidative stress. Korean J Plant Biotechnol 31:191-195

Tibbitts TW, Wheeler RW (1987) Utilization of potatoes for life support system in space. Am Potato J 64:311-320

Wang PJ, Hu CY (1982) *In vitro* mass tuberization and virus-free seed-potato production in Taiwan. Am Potato J 59:33-37

Weiland JJ (2003) Transformation of *Pythium aphanidermatum* to geneticin resistance. Curr Genet 42:344-352

Yi JY, Seo HW, Cho JH, Lee SW, Yun HD (2003a) Effects of hormone and several factors on the regeneration and transformation rate of potato cultivars bred in Korea. Korean J Plant Biotechnol 30:27-33

Yi JY, Seo HW, Lee SW, Yang MS, Kim SY (2003b) NPT Ⅱ protein expression and resistance to bacterial disease in transgenic potato with lytic gene. J Kor Soc Hort Sci 44:187-191

Youm JW, Jeon JH, Jung JY, Lee BC, Kang WJ, Kim MS, Kim CJ, Joung H, Kim HS (2002) Introduction of VP6 gene into potato plant by *Agrobacterium-mediated* transformation and analysis of VP6 expression in transgenic potatoes. Korean J Plant Biotechnol 29:93-98