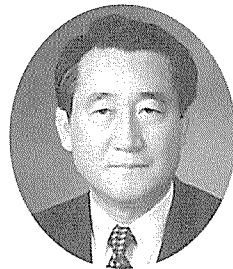


# 농업 생명공학기법 활용을 위한 RI 이용연구와 개발전망



김 영 상

농촌진흥청 작물시험장 석좌연구관

## 서 언

1980년대 이후 생명공학에 대한 관심이 고조되면서 유전자 조작, 세포융합 및 조직배양 기술에 의한 작물 품종개량 연구가 추진되었으며, 1991년 농업유전공학연구소(현재 농업과학기술원 생물자원부)가 신설되어 본격적인 유전공학연구 체계를 갖추게 되었다. 이로써 농업분야에서 생명공학연구는 식물조직배양 및 형질전환 연구, 벼 배추의 Genome 연구, GMO 안전관리, 신기능 소재 개발, 미생물 유전자원 종합관리 및 기능개발, 유전자원 수집 평가 등의 연구가 수행되고 있다. 유용한 동식물의 유전자를 탐색하여 새로운 형질을 발현하게 하는 유전자 재조합 기술은 1983년 시작된 대장균내 플라스미드 분리기술에서부터 시작하였다. 이후 이 분야의 급속한 기술발

달로 최근에는 유전자 변형을 통한 내병충성 배추와 바이러스 저항성 토마토 등이 실험실 단계를 거쳐 온실에서 특성검정하는 단계에 있으며, 벼는 제초제 Basta에 저항성을 가지는 제초제 저항성 벼가 포장시험 단계에 와 있어 수 년 내에 품종등록이 이루어질 것으로 전망된다.

유전자재조합 기술은 앞으로 21세기 식량 문제해결의 유력한 대안으로 부상되고 있으며, 주곡작물의 생산성 향상, 병해충저항성, 제초제저항성, 그리고 영양분의 개선 및 신기능성 물질 생산 등 다양하게 활용할 수 있으므로, 금후의 식량확보와 농업 발전을 위하여 조기에 실용화할 수 있도록 연구개발에 박차를 가해야 할 것이다.

방사선의 농업적 이용은 Muller(1927)가

초파리에 방사선을 조사하여 돌연변이 효과를 발견한 이래 육종에 이용하려는 연구가 많이 이루어져 이미 실용화된 품종만도 1900여 종이 넘게 보고되고 있으며, 인위돌연변이체 유발, 유전양식 구명 및 관련 유전자 탐색 등에 활용되고 있다. 특히 유전공학분야에서는 RI로 표지한 핵산을 probe로 이용하여 특정 유전자의 선발 및 분리, 유전자 변형 작물의 확인, 유전자의 발현, 염기서열 분석 등에 이용하고 있다. 또한 방사선의 추적자로서의 기능을 이용하여 식물 및 동물의 생리, 생태분야 연구에도 이용되어, 식물 뿌리에서의 양분흡수 및 체내이동, 영양생리 기구, 동물의 대사 및 체지방 축적 연구 등에 이용되고 있다. 그 외에도 방사선의 살균·살충효과를 이용한 식품저장, 발아억제 효과를 이용한 농산물 장기 저장 등에도 널리 활용되고 있다.

## 생명공학기법과 RI 이용연구

### 1. RI를 이용한 생명공학기법

생명공학연구에 널리 사용되고 있는 방사성 동위원소(RI)는 주로 DNA 및 RNA와 같은 핵산을 방사선으로 표지하는데 사용하는  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^3\text{H}$ 의 세 종류가 있다.  $^{32}\text{P}$ 는 ( $\alpha^{32}\text{P}$ )dNTP 또는 ( $\lambda^{32}\text{P}$ )dNTP 형태로 DNA를 표지할 때 가장 보편적으로 사용되며  $\beta$ -입자를 방출하고 반감기는 14일 정도로 짧으나 가장 높은 specific activity가 있어 Southern blot 및 Northern blot 기법으로 clone 선발, RFLP mapping, 유전자 발현확인 등에 많이 사용되고 있다.  $^{35}\text{S}$ 는  $^{32}\text{P}$  보다 에너지가 적고 specific activity가 낮으나 반감기는 87일로  $^{32}\text{P}$ 보다 길어 DNA sequencing 등 비교적 높은 해상도가 요구되는 실험에 이용된다.  $^3\text{H}$ 는 가장

낮은 specific activity를 갖으나 반감기는 12년으로 길며 방출 에너지가 낮아 autoradiogram에 사용하기는 부적절하여 in situ hybridization에 사용된다.

핵산을 RI로 표지하는 방법에는 크게 두 가지 방법이 있는데 그 하나는 핵산 전체를 임의로 표지하는 방법과 다른 하나는 핵산의 5'-말단이나, 3'-말단만을 표지하는 End-labeling방법이 있다. 핵산 전체를 임의로 표지하는 방법에는 nick translation 방법과 random primer 방법이 이용되고 있으며, 핵산의 양쪽 말단만을 표지하는 방법에는 5-쪽 인산화 방법과 3-쪽 filling방법이 이용되고 있다.

### 2. 농촌진흥청에서 RI 관리 및 이용 연구

농촌진흥청은 RI 사용허가(허가번호 제11-23-15호)를 받아 농업과학기술원내에 RI 실험실을 설치 운영하고 있으며 부속시설로서 분배실, 저장시설, 폐기시설, GC 분석실, 함수량측정기 등이 구비되어 있다.

RI 안전관리를 위하여 농촌진흥청 방사성 동위원소 안전관리규정(훈령 제538호)을 제정하여 방사성동위원소의 사용, 저장, 운반, 폐기 및 기타 취급상에 필요한 기준을 정함으로써 방사선에 의한 인체, 물체 및 공공상의 장해를 미연에 방지할 수 있는 관리체계를 확보하고 있다.

방사선 작업관련 인원현황을 보면 방사선안전관리책임자(1명)와 방사선작업종사자(25명)로 구성되어 있으며, RI 면허취득자는 감독자면허 2명과 일반면허 2명이 있다.

농진청에서 주로 사용하는 RI 종류는 개봉 RI로  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{125}\text{I}$ 이 있으며,

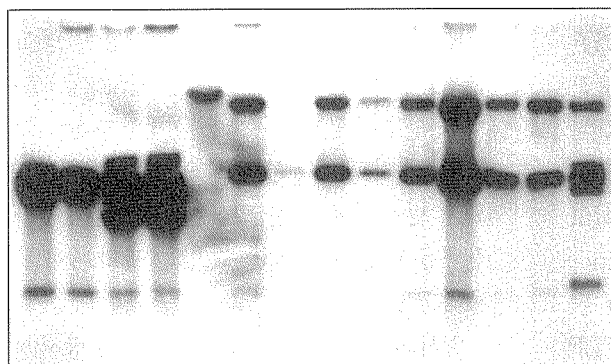
(표 1) 핵종별 이용현황

(단위: mCi)

핵종 년 도	<sup>32</sup> P	<sup>35</sup> S	<sup>14</sup> C	<sup>3</sup> H	<sup>33</sup> P	<sup>85</sup> Sr	<sup>125</sup> I
1994	45	32.25	0.8	3.75		1	0.003
1995	115.5	34.55	5.39			1	
1996	108.75	40.25	13.87	6		1	
1997	74.75	41.5	5.65	5			1
1998	66.5	15.5	5.025	5	1.25		4.0144
계	410.5	164.1	30.7	19.8	1.25	3	5.0174

밀봉 RI로는 Am-241/Be, Cs-137, Ni-63(중성자수분측정장치, 가스크로마토그래프)등이 사용되고 있다. 최근 5년간 핵종별 이용현황을 보면 표 1과 같다. RI중 <sup>32</sup>P을 가장 많이 사용하였으며 다음으로 <sup>35</sup>S, <sup>14</sup>C, <sup>3</sup>H

순이었다. 특히 <sup>32</sup>P는 dNTP 형태로 Southern blot 을 위한 DNA 표지에 이용하여 벼, 배추 등 작물의 유전자 지도작성과 형질전환체 확인 등에 많이 이용되었으며 초기에는 염기서열 분석을 위하여도 사용되었다. <sup>35</sup>S는 염기서열 분석을 위하여 주로 사용되었으며 <sup>14</sup>C은 지질대사 분석, 광합성 분석 등에 주로 이용되고 있다.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

[그림 1] 형질전환식물체의 Southern hybridization 분석  
([<sup>32</sup>P]dCTP로 표지한 probe 이용)

lane 1-4 : Glucose oxydase 유전자

lane 5-14 : Hygromycine 저항성 유전자

### 3. 주요 연구분야별 이용 연구

#### 가. 작물 유전자지도 작성 연구

농촌진흥청에서는 벼 계통연구 및 육종활용기술개발을 중점추진과제로 선정하여 '94년부터 농업과학기술원과 3개 작시 및 각 대학과의 공동 연구로 추진하고 있으며 벼 표준 고밀도 유전자 지도작성 및 종합화 연구는 국내 토종 벼 품종의 유전정보를 개발하여 유용한 특성을 한 품종에 모아 "꿈의

쌀"을 개발하려는 연구로, 1988년에 통일계인 "밀양 23호"와 일반계 "기호벼"를 교배하여 전통 육종팀과 공동연구로 10년간에 걸쳐 14세대를 진전시킴으로써 벼 개능연구의 기본이 되는 고밀도 분자 유전자 지도 작성용 "고정된 표준 집단" 164계통을 육성하였고, 이를 국내에서 공동 활용함으로써 국내 환경에 맞는 유용유전자의 분석과 연구 결과를 지속적으로 축적할 수 있도록 하는 독자적인 연구를 추진하고 있다. 다른 국가와도 공동연구를 통하여 현재 농업과학기술원에서는 850개의 DNA marker로 이루어진 벼 유전자지도, 'NIAST Map'을 발표하였고 이것은 미국 'Cornell Map' 및 일본 'RGP Map'과 더불어 세계 3대 주요 유전자지도로 활용되고 있다. [그림 1]

과거에는 형태나 색깔 변화 등 돌연변이 형질 유전자를 위주로 200여 유전자가 연구되어 왔으나 최근에는 분자생물학의 발달로 이들 개개의 형질유전자와 DNA 수준의 유전자와 연계가 가능하기 때문에 실용성이 크게 증대되었으며, 이를 보다 효율적으로 수행하기 위해 국제 공동연구를 통하여 최신 기술인 RFLP, microsatellite 및 AFLP 유전자 지도 작성 기술을 도입 선진국과 동일한 기술 수준을 확보하였다.

또한 최근 이 고밀도 유전자지도를 이용하여 두 품종이 가진 우량특성들의 유전양식을 탐색하고 있다. 예를 들면 출수기, 키, 낱알수 등 농업적인 특성 및 수량구성요소와 쌀알의 길이, 두께, 단백질함량 등 형태 특성과 화학 성분 특성, 밥을 지은 후의 끈기 등 물리적 특성 등 품질에 관련된 형질을 포함한 162 가지의 양적형질(QTL) 유전자에 대한 염색체상

의 위치를 확인 중에 있다.

배추유전연구는 배추 조직특이 cDNA 유전자를 이용 RFLP 연관분석을 실시하여 231개 유전자좌에서 2,418 cM에 이르는 연관군지도로 작성하였으며, 지도작성에 이용된 cDNA 유전자에 대한 GenBank 상동성을 조사하여 유전자의 기능을 동정하였다.

위와 같은 유전자 선발, 지도작성 등에는 방사성동위원소로 표지한 핵산이 주로 사용되고 있고 최근에 비방사선을 이용한 방법이 개발 이용되고 있으나 방사선이 specific activity가 높고 사용이 간편하여 여전히 주요 방법으로 이용되고 있다.

#### 나. 방사선을 이용한 돌연변이(Mutants) 유발 및 품종개발

방사선을 이용한 돌연변이 유발은 유용한 품종육종 수단으로 이용되고 있다. FAO/IAEA보고(1998)에 의하면 현재까지 59개국에서 163종 1,868개 돌연변이 유래 품종이 보급되었다고 하였다. 농촌진흥청에서도 최근에 참깨 돌연변이체(dt-45)에서 유래된 '풍산깨'를 육성하여 장려품종으로 보급하였으며, 농업과학기술원에서는 벼에 감마선을 조사하여 여러 세대 동안 mutant를 선발한 결과, 조기노화 mutant를 육성하여 생리적인 특성을 조사하고 관련 유전자 위치확인 및 분리를 위한 연구를 추진 중에 있다.

#### 다. 유전자변형 작물(GMO: Genetically Modified Organism) 및 안전성 연구

GMO는 사람이 인위적으로 유전물질(DNA)을 한 생명체에서 다른 생명체로 전환하여 자연상태에서는 일어나지 않거나 전통적인 육종방법으로는 가능하지 않은 새로운 특성을 갖도록 유전적 구성을 변형시킨 생물

을 말한다.

농촌진흥청에서는 유용 유전자를 탐색·연구하여 이를 작물에 도입하는 방법으로, 제초제 저항성 및 내병충성 벼, 혈압강하기능성인 토마토, 역병 저항성 고추 등을 대상으로 유전자 재조합 신품종을 개발 중에 있으며, 대부분은 실내 실험단계 또는 온실 시험단계에 있고 이중 제초제 저항성 벼, 혈압강하기능성인 토마토는 포장실험 및 온실 검정 단계에 있어 수년 내에 실용화가 가능할 전망이다.

주로 환경단체를 중심으로 제기되고 있는 GMO의 잠재적 위험성(potential risk)은 크게 인체에 대한 직접적인 위험과 환경에 대한 위험으로 나누어진다. 인체에 대한 위험은 예측 못한 알러지 발현, 자연 독소, 생성정도 또는 영양분 균형파괴 등의 가능성으로 인한 소비자의 안전문제를 들 수 있으며 환경에 대해서는 생물체 자체의 영향과 저항성 병해충 발생 또는 주변 잡초에의 이전가능성 등에 의한 환경 및 생태계에 대한 악영향 등으로 구분되고 있다.

현재까지 GMO의 유해성에 대한 과학적이고 실증적인 증거는 세계적으로 없는 상태이며, 환경단체 등이 주장하고 있는 자연독소의 양 증대, 알러지 유발, 영양분 균형파괴, 자연 생태계 파괴 등에 대한 잠재적 유해성의 경우도 현재의 국제 기술수준으로는 확실한 검증이 어려운 실정이다.

이러한 GMO의 잠재적 위험성에 대해서는 실무연구가들도 염려하며 대비 중에 있지만 현재 미국 등에서 상용화된 GMO는 미농무부, 환경부 식의약 안전청 등의 정부 검정기관에서 이미 과학적 검정을 거쳐 인체에 대한 유해성은 없다고 판명된 것이다.

그러나 미래에 나타날 위해성 우려에 대하여는 현재 기술로서는 입증하기가 곤란하므로 농촌진흥청에서는 환경부, 식품의약품안전청 등 유관 기관과 긴밀히 협조하여 제도적인 면에서의 대응을 할 것이며 실험 연구단계에서의 안전성 확보를 위하여 농촌진흥청에서는 “농림축산업 관련 유전자 재조합체 실험 및 취급 지침안”을 마련하고 있는 중이다.

유전자 변형농산물의 국내 수입량이나 유통량을 파악하기는 어려운 실정이나 미국에서 GM 콩, 또는 옥수수의 생산량이 연차적으로 증가하고 있는 추세로 보아 일부 혼입되어 들어왔을 가능성을 배제할 수 없다.

#### 라. 원예분야의 방사성 동위원소 이용

원예분야에서의 방사성 동위원소의 이용은 작물의 칼슘 흡수 및 이동특성 연구분야에서 토마토의 배꼽썩음병 발생과 관련이 있는 것으로 추정되는  $Ca^{++}$ 의 역할을 구명하기 위하여 뿌리에 처리한  $^{45}Ca$ 의 토마토 과실로의 이동을 확인하는 연구가 수행되었다. 수박의 경우 품질향상을 위하여 수박 잎의 엽 위치별  $^{14}C$ 의 전류율을 조사하고, 수박 재배시 적절한 정지 작업을 위한 연구를 실시한 결과  $^{14}C$ 의 분배율은 과실로 가장 많은 양이 전류되어 과실이 가장 주된 sink 기관이고, 수박의 품질향상을 위해서는 착과절 아래에 측지를 1줄기 키우는 것이 좋다는 결과를 도출하였다.

#### 마. 축산 분야에서의 방사성동위원소 이용

축산 분야에서는 가축의 유용유전자 분석 및 이용연구와 사료안정성 확보를 위한 항생물질 정성분석, 사료 곰팡이 오염 독소 정성분석, 생체 내 각종 호르몬 및 효소·단백질의 정확한 정량분석, 체외배양계를 이용한 생식세포의 호르몬 분석을 통해 기능해석에 활용

되고 있고, 특정 유전자의 분석 및 면역조직 화학적 방법에 의한 조직내 호르몬 발현검색 시 활용되고 있으며 주로  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ 가 사용되고 있다.

이러한 동위원소를 이용하여 비만관련 유전자의 다형성검정과 지방축적 연관분석 및 Microsatellite를 이용한 경제형질관련 유전자분석을 통하여 한우 고급육 생산을 위한 지방축적관련 유전자를 확인하였고, 임의 증폭 다형 DNA 분석법 및 유전자 암호해독에 의한 표지인자 발견으로 인한 한우·젓소고기의 판별을 위한 유전자 감식법을 개발하게 되어 이는 축산 농가 소득향상에 일익을 담당한 셈이 되었다.

## 기술개발 전망

### 1. 주요 핵종별 이용목적 및 사용량 변화

- $^{32}\text{P}$ : 생명공학분야에서 가장 많이 사용된 동위원소 중 하나로서, Southern blot 및 Northern blot 분석, 핵산 염기서열분석에서 DNA labelling에 사용되고 있으나, 형광색소표지법 (fluorescence dye등을 이용한 labelling)등의 활용으로 사용량이 감소되는 추세를 보이고 있다.
- $^{35}\text{S}$ : 핵산 염기서열분석에서 DNA labelling용으로 사용되고 있으며, 염기서열 자동 분석기 (automatic DNA sequencer)의 도입으로 사용량이 급감하고 있다.
- $^{14}\text{C}$ : 생체내 물질대사연구(대사물질 이동 및 함량조사, 효소활성측정)에 사용되며, 화합물의 labelling용으로 쓰이고 있다.
- $^3\text{H}$ : 생체내 물질대사연구(효소활성측정)에 사용되며, 화합물의 labelling용으로

로 쓰이고 있다.

### 2. RI 이용 연구개발 전망

최근 생명공학분야에서 RI 이용을 대체하기 위한 기술이 많이 개발되었다. 특히 형광색소 (fluorescence dye)를 이용한 표지법이 개발되어 자동염기서열 분석, FISH(fluorescence in situ hybridization)등에 활용되고 있으나, 아직도 대량 RFLP mapping등에는 RI가 여전히 많이 사용되고 있다. 이러한 기술들을 활용하여 목적하는 유전자를 tagging하고, 유전자원의 평가 및 유연관계를 분석하며, 어떤 다른 품종 혹은 야생종으로부터 우리가 원하는 특정 농업 형질을 재배종으로 옮겨 넣으려 할 때 유전자 이입(移入)의 추적을 용이하게 할 수 있다. 멘델 유전양식을 바로 적용하기 힘든 양적형질의 유전자 분석을 실시할 수 있고, 유전자 지도를 이용한 유전자 분리 증식과 비교 염색체 지도 작성 등에 활용할 수 있으며, 특히 생체내 물질대사나 효소활성연구에도 RI가 유용하게 이용되고 있다. 품종개발 면에서는 육종가들이 특정형질에 대한 정확한 정보를 갖고 유전자의 조정자(gene engineer)로서 연구개발에 종사할 날이 현실로 나타날 수 있게 될 것이다.

자원이 부족하고 에너지 공급구조도 취약한 우리나라에서 복지를 증진하고 경제발전을 지속하기 위해서는 RI와 같은 원자력의 이용 기술을 적극적으로 개발하고 그 이용을 확대해야 할 것이다. RI는 주의 깊게 사용하고 안전하게 관리한다면 인류의 지속적인 성장 발전을 위협하는 세 가지 문제-식량 안보, 에너지 고갈, 지구환경 오염을 해결시켜줄 대안으로 충분히 활용될 수 있을 것이다. **KRIA**