

Petunia에 도입된 *bar* Gene의 세대진전에 따른 발현 양상

하영민, 박상미, 김주현*

경상대학교 원예학과, 농업생명과학연구원

Expression in Successive Generations of *bar* Gene Introduced in Petunia

Young-Min Ha, Sang-Mi Park, Zhoo-Hyeon Kim*

Department of Horticulture, Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

ABSTRACT This experiment was carried out to confirm the stability of *bar* gene introduced into petunia plant through *Agrobacterium*-mediated transformation, in successive generation, or after crossing or back-crossing. Some of different 25 transgenic plants were used in crossing and back-crossing to wild type, or repeated-selfing to T₄ generation. On the processing of experiment, it was found that some lines lost their resistant ability to herbicide basta, or showed non-Mendelian segregation mode: produced much more susceptible segregants than resistant plants. Even though there are exceptional cases, which was off from expected, the genetic stability of *bar* gene introduced could be confirmed strongly, because in almost case, the segregation of resistant and susceptible plants to basta was done under Mendelian-law according to single gene dominant model.

Key words: *Agrobacterium*, back-cross, basta herbicide, F₂, generation, hybrid, stability, transformation

서 론

근래 유전공학적인 방법에 의한 작물의 형질전환 연구의 결과로 이미 콩, 옥수수, 목화, 유채 등 수종의 중요한 작물들은 대량생산재배에 돌입하였으며, 이외에도 많은 작물들에서 형질전환의 성공에 관련된 보고가 속속 발표되고 있다 (James 2003).

국내에서도 경제적으로 중요한 작물인 벼, 감자, 토마토, 양배추 등과 그 외 여러 작물에서 형질전환에 성공하였다는 보고가 있으나 아직 실용화단계에는 이르지 못하고 있다 (Lee 2003). 국내외적으로 많은 작물에서 형질전환이 성공하였다고는 하나 작물에 따라서는 아직도 형질전환이 매우 어려운 경우가 많으며, 설사 형질전환에 성공하였다 하더라도 형질전환된 식물체에 도입된 유전자가 여러 세대를 경과할 경우에도 안정적인 발현을 지속적으로 보였다는

보고는 그다지 흔치 않다 (Gahakwa et al. 2000; Rathore et al. 1993; McCabe et al. 1999; Ha et al. 2003; Won et al. 2004).

물론 형질전환 작물인 제초제 저항성 콩, Bt 옥수수, Bt 목화 등의 경우이들 작물이 이미 산업적으로 재배 되고 있다는 사실은 도입된 유전자가 세대진전이 되더라도 안정적인 후대에 잘 전달되고 있음을 간접적으로 시사하는 것이기는 하나, 이러한 인위적으로 도입된 유전자의 안정적인 발현양상에 대한 보고는 많지 않으므로 작물별 또는 도입된 유전자별 세대진전에 따른 안정적인 발현 특성에 대한 검토가 필요하다.

본 실험은 페튜니아 형질전환 개체들의 후대에서 전이된 유전자의 유전적 안정성을 확인코자 수세대에 걸쳐 자식, 교배, 여교배 등을 실시하여 얻은 연구 결과의 일부이다. 형질 전환된 유전자가 세대진전이나 교배 등에 의해 어떻게 발현되는지를 확인하는 것은 형질전환 연구에 대한 확신과 연구 방향에 대한 지침을 제공할 것으로 생각된다.

*Corresponding author Tel 055-751-5488 Fax 055-751-5483

E-mail zeekim@nongae.gsnu.ac.kr

재료 및 방법

본 실험에 사용된 재료는 경상대학교 원예학과 육종연구실에서 보유하고 있는 폐츄니아 육성계통 GP538에 *Agrobacterium tumefaciens* EHA 105를 매개로 하여 *bar* 유전자를 도입, 형질전환시켜 얻은 25개의 형질전환 개체들 중 일부 (Ha et al. 2003)와 wild type의 원계통 GP538을 이용하여 후대를 육성하였다. 세대전전과 교배, 여교배는 모두 뇌수분에 의하였다. T₀, T₁, T₂, T₃, T₄ 세대 및 T₀ 간의 교배, 여교배, 그리고 그 후대에서의 *bar* 유전자의 안정성검정은 Basta ((주) 경농) 0.1% 액을 식물체가 본엽 2-3매를 가지게 되는 파종후 4주째에 엽면 살포하여 처리 5일 후의 생존여부에 의한 유전분리비로써 판정하였다. 시험에 공시된 상태는 토실이 ((주) 신안그로)를 사용하였고, 128구 tray에 파종 재배하였다. 필요한 식물재료들에 대해서는 *NPTII*와 *bar* 유전자의 보유 유무를 PCR에 의해 확인하였다. PCR에 의한 *NPTII* 유전자를 확인하기 위하여 염기서열 forward, 5'-GTG GAG AGG CTA TTC GGC TA-3'와 reverse, 5'-CCA CCA TGA TAT TCG GCA AG-3'의 primer를, *bar* 유전자의 확인은 염기서열 forward, 5'-GGT CTG CAC CAT CGT CAA-3'과 reverse, 5'-TCA GAT CTC GGT GAC GGG CA-3'의 primer를 이용하였다. PCR 방법과 전기영동방법은 Ha 등 (2003)의 보고에서 이미 언급된 바와 같다.

결과 및 고찰

Table 1에서 보는 바와 같이 조사된 wild type (GP538)과 13개 T₀ 개체들의 *bar* 유전자 보유 유무를 확인해 본 결과, wild type을 제외하고는 모두 *bar* 유전자를 보유하고 있음을 알 수 있었다. 이들 13개 형질전환된 개체들은 모두 0.1% Basta를 처리하였을 때 생존하였던 T₀개체들로 (Ha et al. 2003), 이들 각각의 자가수분에 의한 자식세대인 T₁ 유묘들에 대해 0.1% Basta를 2-3엽기에 다시 처리하였을 경우, 처리 5일 후 wild type은 모두 고사하였으나 형질전환 후대들은 생존개체와 고사개체가 분리하였다. T₀3의 자식1세대 경우는 1 : 1, T₀6의 자식1세대의 경우는 Basta 감수성 개체가 더 많았으나, 나머지 계통들은 Basta 저항성 개체가 많아 3 : 1의 분리비에 일치하였다. 그러나 T₀12의 경우는 15 : 1에 가까웠다. 살아남은 T₁개체들에 대해 개체별로 다시 자가수분시켜 T₂ 개체를 얻고 이들에 대해 Basta를 처리한 후 분리비를 조사 하였다. T₁세대에서 PCR 검정 결과 *bar*와 *NPT II* 유전자가 없는 것으로 판명되었던 T₁15-31과 T₁15-17중 T₁15-31의 전 자식개체들 (T₂)은 모두 감수성이었으며, T₁15-8 개체의 자식세대 (T₂)는 모두 저항성이 있는 것으로 나타나 T₁15-8 개체는 *bar* 유전자

homozygote 개체였음을 알 수 있었다. 흥미로운 것은 T₀15 개체는 Basta 저항성이고 *bar* 유전자를 보유한 것으로 나타났으나, 이 개체의 후손들 중 T₁15-17과 T₁15-47은 채종이 되지 않았다. 이 중 T₁15-47은 PCR 결과 *bar* 유전자를 보유하고 있는 것으로 나타났고 Basta에 대해서도 저항성이었다. 그러나 이 중 T₁15-17은 Basta 감수성이었고, *bar* 유전자도 가지고 있지 않았음에도 불구하고 채종이 되지 않는 것은 이해하기 어렵다.

나머지 개체들의 후대는 모두 3 : 1로 분리하였다. T₂세대 실험을 위해 T₁ 세대계통과 개체들 중에서 무작위로 선택되었던 위의 17 계통들 중 채종이 되지 않았던 2 계통 (T₁15-17과 T₁15-47)을 제외한 15 계통으로 Basta에 대한 집단 내 저항성반응으로 보아 분리계통과 비분리 계통의 비를 추정할 때 저항성 homo 1 : hetero 13 : 감수성 homo 1로 기대 분리비 3.75 : 7.5 : 3.75 (1 : 2 : 1)과는 $X^2 = 8.0667$, $P = 0.025 - 0.010$ 로 일치하지 않았다. 그러나 17계통 전체로 본 *bar* 유전자 보유상태 (T₂세대실험을 위해 임의로 선택된 T₁세대 17개체)의 PCR 결과에서는 *bar* 유전자 보유계통 15 : 비보유계통 2로 이론 분리비 3:1 ($X^2 = 1.5882$, $P = 0.25 - 0.1$)에 일치하였으므로 Basta 저항성 homo계통, hetero계통, Basta 감수성 homo 계통 분리의 이론비와 실제비의 불일치는 공시된 계통수가 적은 데서 온 결과로 보아진다.

자식 3세대와 4세대 (T₃, T₄)에서의 Basta 저항성 분리조사 결과 자식 2세대 식물인 T₂15-8-2, T₂15-8-4 개체들의 후대 유묘들 (자식 3세대, T₃)은 모두 저항성을 보여 선택되었던 자식 2세대 개체 (T₂15-8-2, T₂15-8-4)들이 *bar* 유전자를 homo로 가지는 것들이었고, 또한 T₁ 세대 개체들 중에서 선택된 개체 (T₁15-8)의 후대유묘들 (T₂)이 모두 Basta 저항성이어서 T₁15-8개체가 역시 Basta 저항성 homozygote이었던 결과가 서로 잘 일치하고 있다. 한편 T₂2-1-4의 유묘들 (T₃)은 모두 Basta 저항성으로, 그리고 T₂2-1-1과 T₂2-1-3의 유묘들은 다 같이 3 : 1로 분리되어 T₂2-1-4개체는 homozygote, T₂2-1-1과 T₂2-1-3개체들은 hemizygote였던 것으로 판명되었으며, T₄ (T₃2-1-3-10)에서도 3 : 1로 분리되어 T₃세대 개체였던 T₃2-1-3-10이 hemizygote였음을 추정할 수 있었다. 따라서, 이상의 결과로 보아 도입된 *bar* 유전자가 후대에서도 안정적으로 발현하고 있는 것으로 판명되었다.

Table 2는 형질전환에서 얻어진 개체들을 서로 교배하여 얻은 6개 F₁ 집단들 각각의 Basta 저항성 분리비를 조사한 결과이다. 일부 F₁ 개체들은 Basta 저항성을 검정하지 않고 키운 후 자식시켜 F₂용 종자를 확보한 다음 F₂ 세대에서의 Basta 저항성분리를 보았다. 동시에 이들 F₂의 각각의 모본 F₁ 개체들에 대해서 *NPTII*와 *bar* 유전자 보유 유무를 PCR검정으로 확인하였다. T₀ 개체들간의 교잡에서 얻어진 F₁개체들의 Basta 저항성은 T₀ 개체들 각각이 한 copy씩의

Table 1. Segregation of Basta resistance in successive generations (T₁, T₂, T₃, T₄) derived from selfing of transgenic plants (T₀).

Generation	Source	No. of seedlings	Observed		X ²	P	PCR band of source plants	
			Bar ^R	Bar ^S			<i>NPTII</i>	<i>bar</i>
	WT ^z	130	0	130	-	-	x	x
T ₁	T ₀ 1 ^y	81	60	21	0.005(3:1)	0.9-0.97	o	o
	T ₀ 2	80	60	20	0.000(3:1)	0.99-1.00	o	o
	T ₀ 3	60	35	25	1.667(1:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₀ 6	24	5	19	?	-	o	o
	T ₀ 7	9	7	2	0.090(3:1)	0.5-0.9	o	o
	T ₀ 8	20	15	5	0.000(3:1)	0.99<	o	o
	T ₀ 10	34	26	8	0.127(3:1)	0.5-0.9	o	o
	T ₀ 12	50	45	5	0.897(15:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₀ 13	24	21	3	2.000(3:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₀ 14	24	18	6	0.000(3:1)	0.99<	o	o
	T ₀ 15	89	70	19	0.633(3:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₀ 17	76	60	16	0.631(3:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₀ 18	30	21	9	0.400(3:1)	0.5-0.9	o	o
T ₂	T ₁ 1-2 ^x	47	31	16	2.049(3:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₁ 1-8	80	58	22	0.267(3:1)	0.5-0.9	o	o
	T ₁ 2-1	4	3	1	0.000(3:1)	0.99<	o	o
	T ₁ 2-4	44	29	15	1.940(3:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₁ 2-45	24	18	6	0.000(3:1)	0.99<	o	o
	T ₁ 15-3	58	51	7	5.170(3:1)	0.01-0.025	o	o
	T ₁ 15-8	43	43	0	homo(1:0)	-	o	o
	T ₁ 15-9	58	43	15	0.023(3:1)	0.5-0.9	o	o
	T ₁ 15-16	37	25	12	1.150(3:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₁ 15-17	-	-	-	-	-	x	x
	T ₁ 15-26	28	21	7	0.000(3:1)	0.99<	o	o
	T ₁ 15-27	53	48	5	6.849(3:1)	0.005-0.01	o	o
	T ₁ 15-29	34	33	1	8.823(3:1)	<0.005	o	o
	T ₁ 15-31	41	0	41	homo(0:1)	-	x	x
	T ₁ 15-43	45	37	8	1.252(3:1)	0.1-0.5	o	o
	T ₁ 15-46	38	21	17	5.170(3:1)	0.01-0.025	o	o
	T ₁ 15-47	-	-	-	-	-	o	o
T ₃	T ₂ 2-1-1	30	24	6	0.000(3:1)	0.99<	-	-
	T ₂ 2-1-3 ^w	33	23	10	0.495(3:1)	0.1-0.5	-	-
	T ₂ 2-1-4	32	32	0	homo(1:0)	-	-	-
	T ₂ 15-8-2	38	38	0	homo(1:0)	-	-	-
	T ₂ 15-8-4	38	38	0	homo(1:0)	-	-	-
T ₄	T ₃ 2-1-3-10	51	42	9	1.470(3:1)	0.1-0.5	-	-

^zWT, wild type (GP538). ^yT₀1 and T₀18 indicate the first plant and the eighteenth plant among 25 transgenic plants, respectively. ^xT₁1-2, the second plant among T₁ generation plants induced from selfing of T₀1 plant; T₁15-3, the third plant among T₁ generation plants induced from selfing of T₀15 plant; ^wT₂2-1-3, the third plant among T₂ generation plants induced from selfing of T₂2-1 plant.

bar 유전자를 각기 다른 염색체상에 가졌다면 각 조합별 F₁ 개체들은 3 : 1의 분리비를 따를 것이다. 실제 T₀ 8 x T₀15의 F₁을 제외하고는 3 : 1의 분리비를 따르고 있었다. T₀18x

T₀12는 표 1에서 T₀12의 자식세대가 15 : 1의 분리비를 따르는 것으로 추정되었으므로, T₁12가 2 copy의 *bar* 유전자를 보유하고 있다고 본다면 T₀18 x T₀12의 F₁ 집단은 7:1의

Table 2. Segregation of Basta resistance in F₁ and F₂ generations derived from mating among independent transgenic plants.

Generation	Source	No. of seedlings	Observed ^x		X ²	P	PCR band of F ₁ plants ^w	
			Bar ^R	Bar ^S			<i>NPTII</i>	<i>bar</i>
F ₁	T ₀ 2xT ₀ 1	54 ^z	38	16	0.617(3:1)	0.1-0.5	-	-
	T ₀ 1xT ₀ 3	46	31	15	1.420(3:1)	0.1-0.5	-	-
	T ₀ 8xT ₀ 15	57	53	4	9.830(3:1)	<0.005	-	-
	T ₀ 13xT ₀ 17	41	32	9	0.203(3:1)	0.5-0.9	-	-
	T ₀ 15xT ₀ 5	36	27	9	0.000(3:1)	0.99<	-	-
	T ₀ 18xT ₀ 12	80	60	20	11.428(7:1) ^y	<0.005	-	-
F ₂	(T ₀ 2xT ₀ 1)-2	28 ^y	28	0	homo(1:0)	-	o	o
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-5	33	23	10	0.495(3:1)	0.1-0.5	o	o
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-6	36	25	11	0.592(3:1)	0.1-0.5	o	o
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-21	44	29	15	1.939(3:1)	0.1-0.5	o	o
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-27	44	35	9	0.480(3:1)	0.1-0.5	o	o
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-30	22	19	3	1.515(3:1)	0.1-0.5	o	o
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-31	36	0	36	homo(0:1)	-	x	x
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-34	36	0	36	homo(0:1)	-	o	o
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-44	36	0	36	homo(0:1)	-	x	x
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-45	36	0	36	homo(0:1)	-	x	x
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-46	50	48	2	11.76(3:1)	<0.005	o	o
	(T ₀ 2xT ₀ 1)-52	33	25	8	0.010(3:1)	0.9-0.975	o	o

^zF₁ plants induced from crossing between the second plant (T₀2) and the first plant (T₀1) among 25 transgenic plants.

^yF₂ plants induced from selfing of the second plant among a lot of F₁ plants that produced by crossing between T₀2 and T₀1.

^xBar^R, resistant plants to herbicide Basta; Bar^S, susceptible plants to Basta.

^wNPTII and *bar* indicate the bands of 551 and 492 bp, respectively.

^yIn case of T₀18xT₀12, segregation ratio of (7:1) was calculated under assumption which T₀18 has one copy of *bar* gene, but T₀12 has two copies of *bar* gene from Table 1. But the segregation ratio investigated was not fitted to the assumption of 7:1, while it was more well fitted to segregation ratio of 3:1 (X²=0.000, P>0.99).

분리비를 보여야 한다. 그러나 3:1의 분리비 (X²=0.000, P>0.99)를 따르고 있으므로 앞의 조사에서 T₀12가 *bar* 유전자를 2 copy 가졌을 것이라는 추정이 매우 낮은 확률로 발생 할 수 있는 통계적 오류이거나, 그렇지 않고 T₀12가 2 copy를 가진 것이 맞다면 교배과정이나 그 이후에 1 copy가 불활성화 되었거나 상실 되었을 것으로 생각해 볼 수 있다.

T₀ 개체들간의 교잡에서 얻어진 F₁들의 자식에 의해 얻어진 F₂개체들의 Basta 저항성 분리를 조사하였다. F₁ 개체들에 대한 *NPTII*와 *bar* 유전자 보유상태의 PCR 검정결과 이들 두 유전자를 모두 가지는 것으로 확인된 9개 F₁ 개체들 ((T₀2 x T₀1)-2, 5, 6, 21, 27, 30, 34, 46, 52)의 각각의 F₂ 집단들 중 1 집단은 집단 내 모든 개체들이 Basta 저항성 이어서 원 F₁ 개체가 Basta 저항성 homozygote이었던 것으로 판명되었고 ((T₀2 x T₀1)-2), 6개 집단은 3:1로 분리되어 이들 집단들의 원 F₁개체들이 hemizygote 이었고 ((T₀2 x T₀1)-5, 6, 21, 27, 30, 52), 나머지 1 집단은 원래 F₁ 개체에는 *NPTII*와 *bar* 유전자가 들어 있었음에도 불구하고 F₂ 개

체들 모두가 Basta 감수성 이어서 원 F₁ 개체의 *NPTII*와 *bar* 유전자가 원인을 알 수 없지만 상실되었거나 gene silencing이 일어난 것으로 고려된다. F₁ 세대에서 PCR 결과 *NPTII*와 *bar* 유전자를 가지지 않는 것으로 나타난 F₁개체들의 F₂ 집단들 ((T₀2 x T₀1)-31, 44, 45)은 예상대로 모두 Basta 감수성 개체들만으로 구성되어 있었다. 실험에 사용하기 위해 임의로 선택되었던 위의 12개 F₂집단들의 Basta 저항성 homo 집단 : 분리집단 : Basta 감수성 homo 집단의 비는 1 : 7 : 4로 이론 분리비인 3 : 6 : 3에 일치하였다 (X²=1.8337, P=0.5-0.25).

Table 3은 Basta 저항성인 T₀개체들, T₁개체들, T₂개체들을 원래의 wild type인 GP538에 여교잡한 여교잡1세대 (BC₁T₀, BC₁T₁, BC₁T₂)와, 형질전환 개체들중 T₀1 개체와 wild type을 교배하여 얻은 BC₁T₀1개체들중 임의로 12 개체를 택하여 basta를 처리하지 않고 PCR에 의해 *NPTII*와 *bar* 유전자의 보유상태를 확인한 후 이들을 키워 자식시켜 얻은 후대 ((BC₁T₀1)-3, 4, 11, 18, 27, 30, 35, 36, 37, 42, 45, 48)인 여교잡 2세대에서의 Basta 저항성을 본 것이다.

Table 3. Segregation of Basta resistance in back-crossed generations of transgenic plants.

Description	Sources	No. of seedlings	Observed		X ²	P	PCR band of source plants	
			Bar ^R	Bar ^S			<i>NPTII</i>	<i>bar</i>
Control	WT	80	0	80	-	-	x	x
BC with T ₀	WTxT ₀ 1	59	29	30	0.016(3:1)	0.9-0.97	-	-
S ₁ of BC ₁ T ₀	(WTxT ₀ 1)-3	-	-	-	-	-	o	o
	(WTxT ₀ 1)-4	57 ^z	45	12	0.474(3:1)	0.1-0.5	o	o
	(WTxT ₀ 1)-11	-	-	-	-	-	o	o
	(WTxT ₀ 1)-18	54	33	21	5.555(3:1)	0.025-0.01	o	o
	(WTxT ₀ 1)-27	78	56	22	0.428(3:1)	0.5-0.9	o	o
	(WTxT ₀ 1)-30	64	37	27	10.083(3:1)	<0.005	o	o
	(WTxT ₀ 1)-35	-	-	-	-	-	o	o
	(WTxT ₀ 1)-36	74	45	29	7.945(3:1)	<0.005	o	o
	(WTxT ₀ 1)-37	80	58	22	0.267(3:1)	0.5-0.9	o	o
	(WTxT ₀ 1)-42	56	0	56	homo(0:1)	-	x	x
	(WTxT ₀ 1)-45	62	48	14	0.193(3:1)	0.5-0.9	o	o
(WTxT ₀ 1)-48	70	51	19	0.171(3:1)	0.5-0.9	o	o	
BC with T ₁	T ₁ 15-8xWT	39	38	1	homo(1:0)	-	-	-
BC with T ₂	WTxT ₂ 2-1-3	37 ^y	14	23	2.190(1:1)	0.1-0.5	-	-
	WTxT ₂ 2-1-4	36	36	0	homo((1:0)	-	-	-

^zThe plants induced from selfing of the fourth plant among many plants gained by back-crossing between WT and T₀1.

^yBack-cross population between wild type GP538 and transgenic Basta resistant plant T₂2-1-3 (one of F₂ plants induced by selfing of T₁2-1 plant).

Basta 저항성 T₀1을 wild type에 여교배하여 얻은 BC₁ 집단의 개체들은 29R : 30S로 1 : 1의 이론 분리비에 일치하였다. Basta처리를 하지 않고 기른 12개 개체들을 자식 시킨 후 여교잡 2세대에 대해 Basta 저항성의 안정성을 조사한 바, BC₁ 세대에서 *bar* 유전자를 보유치 않았던 것으로 나타났던 BC₁T₀1-42 개체의 후대는 모두 감수성이었으며, 무슨 이유인지는 모르나 자식에 의해 종자가 얻어지지 않은 BC₁T₀1-3, 11, 35의 세 계통을 제외한 8개체들의 후대들도 모두 저항성과 감수성이 분리하였다.

이들 중 BC₁T₀1-30, 36, 18의 경우는 저항성 개체가 기대치보다 다소 적어 분리비 3 : 1에 일치하지 않았으나 나머지는 모두 감수성과 저항성이 기대한 바 대로 3 : 1로 분리되었다. 이상과 같이 *Agrobacterium*을 이용한 형질전환 개체들은 부분적으로 기대분리비에 일치하지 않는 경우가 있었으나 대부분의 경우는 3 : 1 (자식, T₀간 교잡) 또는 1 : 1 (여교잡1세대)의 유전분리를 잘 따르고 있어 형질전환 개체에 따라 그 결과가 같지는 않으나 도입된 유전자가 안정적으로 그 기능을 잘 발휘하고 있는 것으로 나타났다. 물론 형질 전환 개체 유기과정중 Kanamycin에 대해서는 저항성이나 Basta에 대해서는 감수성인 개체, 저항성 후대가 더 많이 나오는 경우, 저항성 개체가 훨씬 적은 경우가 있었고, 저항성의 정도도 보통 사용량의 40배 이상 강한 독성인

Basta 4% 수준에서도 전혀 반응을 보이지 않는 개체로부터, 보통의 0.1%에서 저항성을 보이기는 하나 일시적으로 엽색의 퇴색이 심하게 나타나는 등 Basta 저항성의 정도가 모든 형질전환 개체들에 대해 동일하지는 않았다.

감수성과 저항성이 기대 분리비 (3 : 1)를 따르지 않는 경우는 이미 벼, 옥수수 등에서 보고 된 바가 있다 (Christo et al. 1989; Cooley et al. 1995; Gahakwa et al. 2000; Kuai et al. 1999; Ulian et al. 1994, 1996; Zhang et al. 1996). 또한 본 실험에서 T₀ 개체들 간의 교잡에서 얻은 F₁ 세대 개체들에 대한 PCR 검정에서 *NPTII*와 *bar* 유전자가 확인되었고 Basta 저항성이었으나 이 식물체의 자식세대인 F₂ 세대에서는 모두 감수성을 보이는 경우와 비슷한 기존 연구 결과로는 세대 진전에 따라 유전자 상실의 일어나기도 한다는 Umbaek 등 (1989)의 보고 등이 있기는 하다. 또 멘델식 분리비를 따르지 않았다는 Cooley 등 (1995), Christo 등 (1989), Kuai 등 (1999) Ulian 등 (1994, 1996) 등의 보고도 있는데 이들은 화분의 기능저하, genetic background, DNA methylation, gene silencing 등이 원인이라고 하고 있으나 본 실험 과정에서는 어떤 것이 원인인지는 알 수 없다. 단지 이러한 개체들의 경우가 그다지 많지 않았고 대부분 멘델식 분리를 따르고 있어 도입된 *bar* 유전자가 안정적으로 유전되는 경우가 많으므로 형질전환에 의해 얻어진

유전자의 안정성은 페튜니아에서는 그다지 큰 문제가 되지 않을 것으로 판단된다. 그러나 저항성이 후대에서 없어지는 경우, 정상 분리를 않는 경우 등이 있으므로 실제 형질전환 육종에서는 형질 전환 개체들을 상대적으로 많이 획득하여 이중에서 안정적으로 강하게 발현되는 개체나 후대를 이용하여야 할 것으로 고려된다.

적 요

*Agrobacterium*을 이용하여 도입된 유전자의 세대진전, 교잡 등에 따른 유전적 안정성을 확인코자, 형질 전환으로부터 얻어진 *bar* 유전자가 도입된 형질전환 식물체들을 상호 교배, 여교배, T₄세대 까지의 자식의 반복 등에 의해 유전적 안정성을 검토 하였다. 조합이나 계통에 따라서는 일부 멘델식 분리를 따르지 않고 제초제 Basta에 대한 저항성이 사라지거나 저항성개체보다 감수성개체가 기대치보다 많은 등의 경우가 있었으나, 대부분 멘델식 분리를따르고 있어 세대진전, 교배 등에 의해서도 유전적 안정성이 높게 유지됨을 확인할 수 있었다.

인용문헌

- Christou P, Swain WF, Yang NS, McCabe DE (1989) Inheritance and expression of foreign genes in transgenic soybean plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 1991-1995
- Cooley J, Ford T, Christou P (1995) Molecular and genetic characterization of elite transgenic rice plants produced by electric-discharge particle acceleration. *Theor Appl Genet* 90: 97-104
- Gahakwa D, Maqbool SB, Fu X, Sudhakar D (2000) Transgenic rice as a system to study the stability of transgene expression: multiple heterologous transgenes show similar behaviour in diverse genetic backgrounds. *Theor Appl Genet* 101: 388-399
- Ha YM, Kim JC, Lee SW, Lee SW, Kim ZH (2003) Expression and inheritance of *bar* gene in petunia hybrida transformed with *Agrobacterium*. *Korean J Plant Biotechnol* 30: 143-149
- James C (2003) Global review of commercialized transgenic crop. ISAAA briefs. No. 24
- Kuai B, Dalton SJ, Bettany AJE, Morris P (1999) Regeneration of fertile transgenic tall fescue plants with a stable highly expressed foreign gene. *Plant Cell Tiss Org Cult* 58: 149-154
- Lee SW (2003) Current research on the development of genetically modified plants in Korea. *Korean J Plant Biotechnol* 30: 1-6
- Rathore KS, Chowdhury VK, Hodges TK (1993) Use of *bar* as a selectable marker gene and for the production of herbicide-resistant rice plants from protoplasts. *Plant Mol Biol* 21: 871-884
- McCabe MS, Scheoers F, Van der Arebd A, Mohaptra U, De Laat AMM, Power JB, Davey MR (1999) Increased stable inheritance of herbicide resistance in transgenic lettuce carrying a *petE* promoter-*bar* gene compared with a CaMV 35S-*bar* gene. *Theor Appl Genet* 99: 587-592
- Ulian EC, Magill JM, Magill CW, Smith RH (1996) DNA methylation and expression of NPTII in transgenic petunias and progeny. *Theor Appl Genet* 92: 976-981
- Ulian EC, Magill JM, Smith RH (1994) Expression and inheritance pattern of two foreign genes in petunia. *Theor Appl Genet* 88: 433-440
- Umbeck P, Will S, Yang NS (1989) Inheritance and expression of genes for kanamycin and chloramphenicol resistance in transgenic cotton plants. *Crop Sci* 29: 196-201
- Won YJ, Yi GH, Cho JH, Ko JM, Park HM, Han CD, Yang SJ, Kim SC, Nam MH (2004) Establishment of a new breeding scheme for rapid release of variety using *bar* gene transformed rice. *Korean J Plant Biotechnol* 31: 7-11
- Zhang S, Warkentin D, Sun B, Zhong H, Sticklen M (1996) Variation in the inheritance of expression among subclones for unselected (*uidA*) and selected (*bar*) transgenes in maize (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet* 92: 752-761

(접수일자 2004년 10월 5일, 수리일자 2004년 10월 31일)