

벼 Genome 연구 및 육종 활용기술 개발

은무영
농업과학기술원

1. 연구추진배경

농업은 생명을 키우고, 명절이면 돌아가고 싶은 아늑한 향수를 간직한 환경을 가꾸는 전통산업이다. 예나 지금이나 농업의 가장 중요한 역할은 인간의 생존에 필수적이고 기본적인 요소인 먹거리를 생산·공급하는데 있으며 앞으로도 그 중요성에는 변함이 없을 것이다. 이러한 식량 생산의 중요성 이외에도 농업 행위 자체가 자연 환경을 유지·보전한다는 환경 보전적 역할, 대기, 수질 및 토양 오염을 정화시키는 생활 환경의 정화 기능, 동·식물의 유전자원을 보존하는 역할, 식량의 안정적 공급을 통한 사회와 경제 발전의 안정화 도모에 기여하는 역할 등 농업은 다양한 분야에서 중요한 역할을 하고 있다.

21세기에 예측되는 세계 식량위기는 인류 최대의 난제이며 이를 극복하기 위한 해결책으로 생명공학에 커다란 기대를 걸고 있다. 생명공학은 잘 정립된 전통적인 생명공학의 접근 방법과 현대 생명공학으로부터 창출된 새로운 기법이 통합된 기술을 의미한다. 생명공학은 지식 집약적 새로운 분야로서 동·식물 및 미생물 체계에 있어서 DNA 또는 유전자원의 인위적 특성변화를 유발하는 기술의 집합이며 유용한 생산물과 기술을 개발해 한다.

최근 미국 등 선진국에서는 한 식물을 구성하는 식물전체의 유전자지도도를 작성하고, 이를 바탕으로 전체 염색체의 유전자 기능과 구조를 밝혀려 하는 식물 게놈 연구가 진행되고 있다. 이 연구는 고유 유전자의 확보와 유전자 구조에 대한 다량의 정보를 제공하고 있어 조직적인 생명공학 분야의 연구수행에 필수적인 발판이 되고 있다. 왜냐하면 대부분 유용형질과 연관된 유전자는 잘 알려져 있지 않아 그 이용성에 한계가 되고 있고, 따라서 유전공학적으로 생산성이 높고 품질 좋은 농산물을 창출하기 위해서는 우선 유용 유전자를 탐색 개발하는 것이 먼저 이루어져야 하기 때문이다.

화본과는 벼, 옥수수, 밀, 보리 등 세계 10대 작물의 대부분을 포함한다. 벼는 화본과 중 가장 유전체 구성이 서로 매우 비슷하다는 점이 발견되면서 벼 연구에 대한 값어치가 더욱 돋보이게 되었다. 유전체 구조가 간단한 벼로부터 유전자 정보를 얻은 다음, 이에 해당하는 유전자를 옥수수, 밀 등 각각의 작물에서 분리 이용한다면 유전체 구성이 복잡한 타작물의 유전자 연구에 큰 도움이 될 것이다. 이에 따라 미국 유럽 등에서 벼에 대한 국가적 연구 과제 도출이 제안되고 있으며 기업에서도 관심도 매우 높다. 뿐만 아니라 우리나라에서는 주곡으로서 벼 육종기술 수준을 확보하기 위해 계속적인 연구가 절실히 요구되는 분야이다.

농촌진흥청에서는 지난 '86년부터 농업분야에서도 생명공학 기술이 우리농업의 국제경쟁력 제고에 핵심기술로 인식하고

이 분야연구를 담당할 전문연구원을 양성하면서 핵심 기반 기술을 개발하고 있다. 특히 '94년부터는 G7연구사업의 일환으로 농업과학기술원과 3개 작물시험장 및 각 대학과의 공동 연구를 추진하여 벼의 게놈연구 및 육종활용기술을 확립함으로써 전통적인 육종방법에 생명공학 기술을 결합한 새로운 생력육종체계를 확립하고 있다.

2. 주요 연구 결과

가. 벼 표준 고밀도 유전자 지도작성 및 종합화

분자유전자지도는 제한효소로 절단한 DNA 조각을 활용하여 이 크기의 다양한 현상을 근거로 유전자의 상대적 위치를 밝혀 놓은 것으로, 이 지도는 수량, 고품질, 내병충성, 내재해성 등 주요형질을 지배하는 특정 유전자의 위치를 밝혀내고 그 유전자를 사용해 새로운 특성을 갖는 양질, 다수성 신품종의 효율적 선발이나 유전자원의 평가 등, 여러 분야에서 활용되고 있다.

고밀도 유전자 지도작성을 위하여서는 계통간의 다양한 유용형질이 잘 분포하면서 각 개체의 유전형이 뚜렷이 나타내는 '고정된 표준집단' 육성이 필수적이다. '고정된 표준집단'은 재료 육성시간이 많이 걸리는 약점이 있으나, 완전 고정되어 순계로 유지되기 때문에 공동 활용함으로써 여러 환경에서 유용 유전자의 분석이 가능하고, 연구결과를 지속적으로 축적할 수 있다. 이를 위하여 1988년에 통일계인 "밀양 23호"와 일반계 "기호벼"를 교배하여 벼 육종팀과 공동연구로 13년간에 걸쳐 16세대를 진전시킴으로서 고밀도 지도 작성용 "MG RIL(F16)" 164계통을 육성하였다.

그 재료를 기반으로 하여 현재 1,192개의 DNA gene marker가 집적된 고밀도 유전자 지도를 작성하였으며, 특히 미국 코넬대학교 및 네델란드 KeyGene Co. 등과 국제공동연구를 통하여 최신 기술인 microsatellite 및 AFLP 지도작성 기술을 도입 집적하여 "국제표준유전자지도"의 하나로 활용하게 되어 선진국과 동일한 기술 수준을 확보하고 있다(그림 1).

나. QTL Mapping 및 Map-based 유전자 클로닝 기반 기술 개발

수량, 내병성, 품질 등 육종가들이 관심을 가지는 대부분의 주요 농업형질들은 여러 개의 유전자에 의해 지배되며 양적 유전을 한다. 여러 개의 유전자가 작용하는 형질을 일컬어 양적형질이라 하며 이들 형질을 조절하는 유전인자를 양적형질 유전자좌(quantitative trait loci : QTL)라고 부르고 있다.

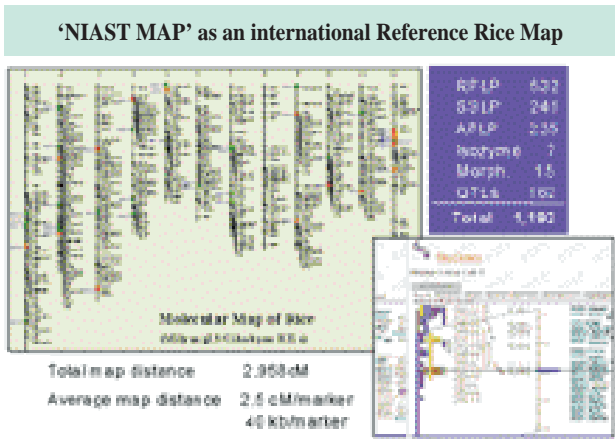
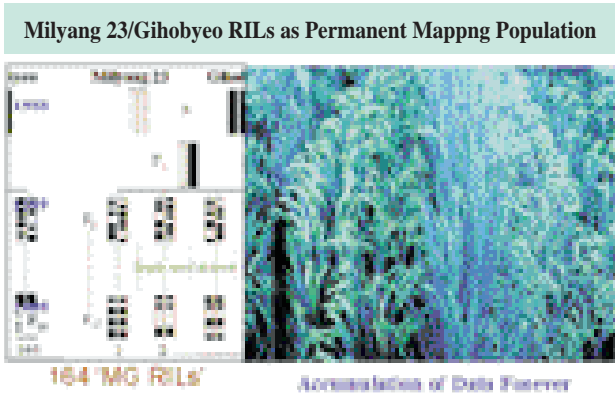


그림 1 '밀양 23호/기호벼 RILs' (recombinant inbred lines) 육성 및 이를 이용한 벼 고밀도 분자유전자 지도작성

최근 이 고밀도 유전자 지도를 이용하여 출수기, 키, 낱알 수 등 경종 특성과 수량구성요소, 쌀알의 길이, 두께, 단백질 함량 등 형태 특성과 화학성분 특성, 밥을 지은 후의 끈기 등 물리적 특성 등 여러 가지 품질 관련 형질들의 유전자 분석을 시도하고 있다. '밀양 23호'가 보유한 다수확을 결정하는 여러 개의 유전자 중 가장 중요한 한 유전자의 위치가 9번 염색체 상에 존재하고 있음을 확인하였으며, 특히 수량에는 영향 없이 단지 키만 작게 하여 태풍 등에 쓰러지지 않는 형질(sd-1) 유전자를 1번 염색체 유전자지도에서 위치를 밝히고 정밀 탐색 분리 연구를 추진중에 있다.

병해 저항성과 같은 농업적으로 중요한 유전자는 유전 현상이 잘 밝혀져 있는데도 불구하고 이들 저항성이 근본적 기작이나 저항성 유전자가 생산하고 있는 물질의 종류에 대한 정보는 그리 알려져 있지 않다. 따라서 유전자 산물을 모르는 이러한 유전자를 분리 증식하는 방법이 무엇보다 필요하다. Chromosome walking/map-based cloning 기술은 염색체 위치가 밝혀진 유용형질 특성 유전자를 고밀도 유전자 지도와 연계시켜 유전자 산물을 모르는 유용한 농업형질 유전자의 분리에 필수적인 복합 기반 기술이다. 대형 BAC 단편은행 약 110,000 clone을 제작하였으며, 유용 농업형질 염색체 부위의 염색체 positive BAC clone의 선발과, physical mapping 및 contig linking 기술 개발 등 기반 기술을 확립하여 주요 농업형질 유전자 분리에 활용 가능토록 하였다(그림 2).

고밀도 유전자 지도를 활용하게 되면 병충해 저항성, 밥맛, 향기 등 연차간 환경에 따라 변이가 큰 주요 농업형질의 유전자 위치를 알 수 있어, 정확히 도입된 개체를 선발할 뿐

아니라 도입되지 않아야 할 유전자 단편의 제거에도 이용이 되므로, 신품종 개발을 촉진하고 우량한 농업형질을 한 품종에 집적하여 개체유지에 소요되는 시간과 경비를 크게 줄일 수 있는 새로운 생력 육종 체계를 확립할 수 있게 될 것이다.

유용 유전자 Map Based Cloning 기술 개발

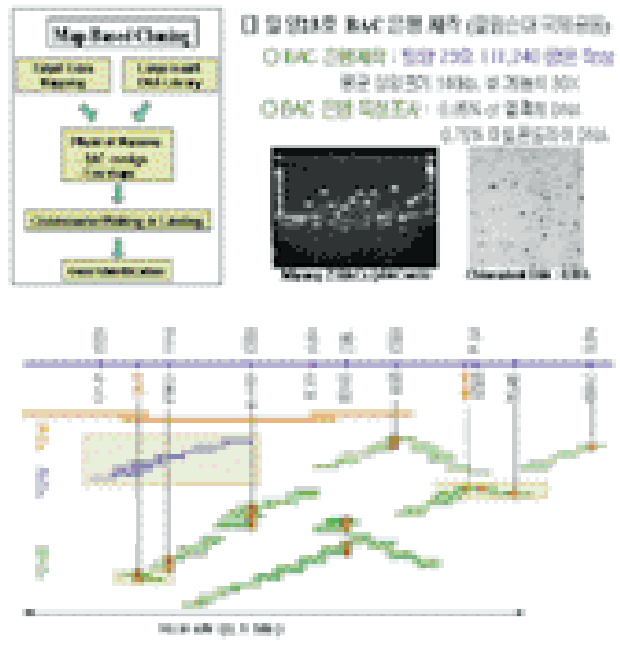


그림 2 유용 유전자 map-based cloning 기반 기술 개발

다. 전이인자 Ac/Ds mutagenesis를 통한 유전자 기능 탐색과 동정

기능유전체 연구(functional genomics)는 유전자 서열정보를 해석하는 연구로써 유전자의 지적 권한을 주장하기 위해서는 그 기능이 밝혀져야 한다. 재래적인 방법에 의한 기능연구는 이미 한계에 다다랐으며 보다 효율적으로 다량의 유전자 기능을 분석하는 방법과 도구가 필요하게 되었다. 유전자의 기능을 밝히는 방법으로 insertional mutagenesis, antisense suppression, activation tagging 등 다양한 유전적 방법이 있으며 단백질 수준에서 기능을 유추하는 proteomics 분야도 최근 빠르게 발전하고 있는 추세이다.

가장 효과적인 방법은 특정 유전자의 기능을 제거한 (knockout) 돌연변이를 유기하여 이를 활용하는 것이다. 식물에서 knockout 돌연변이를 만드는 방법으로는 T-DNA와 Ac/Ds를 이용하여 삽입변이를 다량으로 유기하고 이를 토대로 유용 유전자를 분리 활용하는 방법이다. 애기장대에서는 이미 이 기술이 보편화되어 여러 나라에서 이 시스템을 활용하고 있다.

전이인자 Ac/Ds system을 운영하는 작업은 genome에서 무작위로 이동하는 전이인자를 이용하여 유전적 변이 (mutation)를 통한 표현형적 특성이나 발현 양상을 관찰하며 cloning할 수 있어 농업 유용 유전자의 탐색과 응용에 매우 유용한 도구이다. 특히 전이인자의 게놈상의 위치가 확인되면 전이인자를 재이동시켜 근접한 유전자를 tagging하여 클로닝할 수 있는 매우 강력하며 효과적인 연구 방법이다. 본 연구에서는 우수 형질의 변이를 유발시키는 주요인자를 전이

인자를 통하여 동정하는 기반기술을 확립하였으며, 염색체 위치가 확인된 isogenic line 집단의 확보 유지는 특정 유전자의 농업적, 생물학적 가치를 판단하는 가장 기본적인 유전자 자료가 될 것이다.

벼의 경우 knockout 기술의 개발은 아직 초기단계이다. 다행히 이 유전체 기능 연구에 핵심 기술인 knockout 라인 생산 기술분야에선 국내학자들이 세계적 선두를 유지하고 있다. 경상대 한창덕 박사팀과 G7과제에서 산학연 공동연구로 Ac/Ds transposon system을 벼에 도입하여 이를 이용한 knockout line을 구축하는 기반기술을 확립하였다. 한편 포항공대의 안진홍 박사팀은 세계 최초로 벼에서 다량(30,000여)의 T-DNA knockout line을 생산하여 기능연구를 수행하고 있다.

라. 유용 농업형질 관련 유전자 기내선발 기술 개발 및 분자유종

육종 측면에서 표지인자를 토대로 한 선발은 특정 DNA단편의 존재 유무를 근거로 유망한 형질들의 존재 여부를 간접적으로 확인할 수 있다. 예를 들면 도열병 내구저항성 유전자 탐색을 위하여 내구저항성 검정용 집단을 육성하고 race KJ-

201, KJ-105 저항성 유전자 *Pi-22(t)*를 동정하였고, 벼멸구 저항성 유전자 탐색을 위하여 Kanto PL7/동진벼의 3조합 및 밀양05/가야벼의 2조합 이용 저항성 계통 육성 및 벼멸구 저항성 반응과 연관된 동위효소 마커 선발하였다(그림 3). 향미 방향성 유전자, 약배양에 의한 미립 돌연변이체 등의 근동질유전자 계통(NIL)을 육성하여 유전적 특성을 조사하였으며, 이들 유전자와 연관된 DNA marker를 선발, 염색체상의 지도를 작성하여 기내선발을 위한 DNA marker를 개발하였다. 또한 고품질 단간 품종 육종소재 육성을 위하여 단간 유전자와 1 cM 이내의 고도로 연관된 동위효소, RFLP, PCR marker (STS, CAPS) 등을 개발하고, 이 기술을 이용하여 미질특성, 초형 및 수량성을 종합하여 japonica 초형이면서 단간인 우량계통을 선발하고 있다. 벼의 약배양 효율과 관련된 유전양식과 유전자의 염색체상의 위치를 밝혀, 약배양 효율이 높은 genotype의 선발과 DNA marker를 이용한 육종선발도 추진중에 있다.

마. 유전자 전환기술 확립 및 제초제저항성 벼 분자유종의 실제

GM(Genetically Modified) 농산물 개발은 기존육종의 한계를 뛰어넘어 미생물이나 다른 식물 종으로부터도 우량한 유전자를 유전자 재조합기술로 삽입하여 작물 재배시 투여되는 노동력과 경비를 절약하고 다수성과 고품질의 작물을 육성하는 것으로, 그 결과 새로운 작물육종 방법으로 점차 자리를 잡아가고 있다. 최근 개발된 GM 농산물의 종류로는 제초제 저항성 콩, 제초제 및 해충 저항성 옥수수 및 면화 등을 대표적으로 열거할 수 있다.

농업과학기술원에서는 효율적인 벼 유전자전환 기술체계를 확립하였으며 전통적인 육종 기술과 상호 보완적으로 벼 유전자 전환 작물을 개발하고 있다. 예로서 제초제 저항성 유전자(bar)를 벼에 도입하여 안정적인 제초제 저항성 벼 계통을 육성하였으며, 이 계통을 국내 주요 장려품종인 일품벼와 동진벼에 교배하여 생산성이 높은 계통을 선발하였으며, 환경 및 인체 안전성도 검정하고 있다(그림 4).

쌀 생산성의 획기적 증가를 위하여 이용되는 일대잡종기술은 벼의 수량성을 획기적으로 증가시킬 수 있으나, 종자생산의 어려움 등 아직 육종적으로 해결할 문제가 많이 있다. 특히 indica × japonica 간 1대 잡종의 경우 초기 영양생장기 잡종강세 효과는 매우 크지만, 출수기 지연 및 불임으로 현재 전통 육종기술로도 거의 극복하기 어려운 문제로 실용화되지 못하고 있다. 최근 전환유전자의 염색체 삽입위치를 탐색하기 위한 연구를 진행 중, F1세대에서 잡종강세가 크게 나타나며 정상출수와 정상임실률을 보이는 1계통을 선발하였다. 이 선발된 형질전환체와 영남대 서학수 교수팀이 개발한 삼강벼 오성불임체를 교배하여 재배한 1대 잡종에서 잡종강세 효과가 매우 크게 나타나, 특히 이삭수가 증가하고 임실률이 높으며 천립중이 커져, 수량성 검정 결과 기존 삼강벼 대비 80% 이상 증수된 최고 정조수량 1,344 kg/10a(쌀 980 kg/10a)이 생산되었으며 이는 벼 육종목표인 단위면적당 생산량 1000 kg/10a에 거의 육박하는 결과였다. 따라서 이는 생명공학 기술로 전통육종의 단점을 보완 극복할 수 있는 한 사례의 하나로, 이 재료를 활용하여 초다수 1대 잡종 종자 생산 체계를 확립하여 생산성을 획기적으로 향상할 수 있도록 연구를 확대 추진할 예정이다.

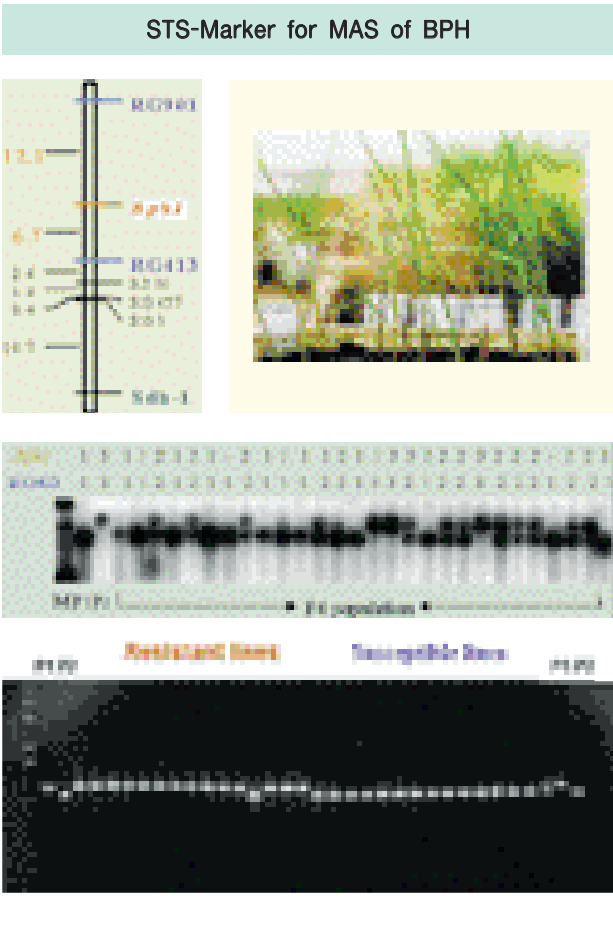


그림 3 벼멸구 저항성 유전자 염색체 위치 결정 및 marker-assisted selection

BASTA 저항성 벼

= Transformation
+ Breeding



그림 4 제초제 저항성(bar) 유전자 형질전환 및 육종 활용에 의한 우량계통 선발

바. 벼 유용 유전자 대량 개발

특정한 유전자 선별을 목표로 하지 않으나 대량의 유전자 확보를 위한 접근방법으로 random cDNA 단편 염기서열 분석 방법이 있다. 최근 시도되고 있는 cDNA 염기분석을 이용한 대량 cDNA 카탈로그 작성은 발현된 유전자의 단백질 정보 부위만을 포함하기 때문에 조직 특이성이나 성장단계의 유전자의 선별에 효과적으로 이용될 수 있다. 현재 벼 genome 연구에서도 미숙 종자로부터 만든 cDNA clone의 염기서열을 분석하고 있는데 10,000여개의 clone의 부분염기서열의 유사성을 분석 비교하여 database화 하고 있다. 이 중 7,500여개의 유전자(ESTs)를 GenBank에 등록하였으며, 이중 완전염기서열을 분석하여 192개를 GenBank에 등록하였다. 이러한 노력에도 불구하고 아직도 벼에서 발현되는 유전자의 완전 발현 유전자 염기서열정보(full length cDNA)는 현재 약 600여개 불과하다. 완전한 발현 유전자의 염기서열정보는 향후 유전체 염기서열정보와 함께 유전체 정보분석에 매우 중요한 자료이며, 벼는 물론 주요 식량작물의 유전자연구 및 신품종 개발을 위한 형질전환연구에 필수적인 유전자원으로 그 가치는 매우 중요하리라 생각된다.

사. 벼 게놈 염기서열 완전해독 국제 공동연구(IRGSP) 참여 추진

인체의 유전정보를 캐는 인류의 원대하고 야심찬 생명과학사업이 인간게놈프로젝트(HGP)라면, 벼의 전체 염색체 유전자 구조를 밝히려는 거대 계획이 벼 게놈해독 국제공동 프로젝트(IRGSP)이다. 벼는 세계 인구의 절반에 해당하는 30억명이 먹는 주식인데다 게놈정보의 양이 밀의 1/37, 옥수수의 1/6에 불과해 적은 연구비와 짧은 연구기간으로 분석할 수 있는 작물이기 때문에 식물게놈 연구의 모델이 되고 있다. 그러나 벼는 게놈 크기가 다른 작물에 비하여 작다고는 하지만, 한국가가 벼의 전체 염기서열을 밝히기에는 너무 막대한 사업이다. 따라서 IRGSP는 일본, 미국, 중국, 한국 등 10개국이 지난 97년 싱가포르에서 만나, 미래의 식량 부족에 대비하고 쌀 수확량과 영양가를 높이기 위해 98년 2월 컨소시엄을 구성, 착수한 공공부문의 국제연구협력 사업으로, 당초 10년 동안 2억 달러를 투입해, 일본의 벼 품종인 '니뽀바레(Nipponbare)'를 표준으로 하여 약 4억 3000만 쌍의 염기서열을 각 참여국이 분담하여 완성한다는 계획이었다. 그러나 최근 첨단 생물산업 신기술 발전으로(몬산토, 신젠타 등 기업의 연구결과에 힘입어) 2004년 이전으로 앞당겨질 전망이다. 쌀이 주식으로 벼 게놈연구가 어느 국가보다 절실한 우리나라는 98년 농촌진흥청이 IRGSP 컨소시엄 초기부터 정식 일원으로 참여해, 벼의 1번 염색체 일부에 대한 해독을 분담하고 있다.

아. 벼 유전자 정보 전산화

농업과학기술원과 명지대학교는 공동연구로 그 동안 국내에서 분석한 벼 유전자정보를 모두 D/B화하여 "Korea Rice Genome Database Network" 인터넷 site에 접속하여 이용토록 하였다. 국제 미국 농업부에서 주관하고 있는 벼 종합 database인 RiceGenes에 유전자지도를 포함시켜 "국제표준 분자유전자 지도"로서 인터넷으로 전세계 연구자에게 연구 결과를 활용토록 자료를 제공하고 있다. 또한 선진국의 정보획득을 위해 RiceGenes의 정보를 국내에서도 신속히 입수할 수 있도록 인터넷 mirror site를 구축하여 정보를 공유할 수 있는 길을 열었다.

농과원	http://krgpr.rda.go.kr
명지대	http://bioserver.myongji.ac.kr
RiceGenes	http://ars-genome.cornell.edu/cgi-bin/WebAce/webace

그러나 이러한 미국의 RiceGenes 정보는 원리 UNIX 포맷으로 작성되어 있어 개인 PC 이용자의 편의를 돕기 위해 윈도우 95/98 포맷(windows 95/98 format)과 매킨토시 포맷(Macintosh format)으로 치환하였으며, CD-ROM으로 만들어 인터넷 접속이 어려운 이용자에게 제공하고 있다. 현재 CD-ROM에 있는 정보는 RiceGenes, GrainGenes 및 BlastGenes DB를 포함하여 유전자 염기서열, 유전자 위치, 작성자, 보관장소, 대립인자, 유전자 산물, 참고문헌 등 유전자 관련정보가 유기적으로 연계되게 하였다.

3. 미래 전망

최근 쌍자엽 식물의 모델로 애기장대(Arabidopsis)의 유전체 염기 구조가 완전해독되었으며, 단자엽 식물의 모델인 벼에서 주요작물로서는 첫 번째로 완전해독이 눈앞에 두고 있어, 벼보다도 복잡한 타작물의 유전자 구명에 기초발판을 제공하는 이정표가 세워지게 되었다. 이는 생명체 규명은 물론이고 21세기의 최대 난제인 식량수급과 생산성 증대를 위한 획기적 계기가 마련될 것이다.

우리 나라는 벼 육종분야에 있어서 기술적 우위를 유지하여 왔으나 앞으로 식량생산의 국제 경쟁력 향상과 주곡인 쌀의 안정적 공급을 위해서는 첨단 분자생물학 기술과 육종을 체계적으로 연계하여 신품종 개발을 가속화 해야 한다. 이를 위하여 국가적 전략산업으로서 생명공학분야에 대한 우선적 투자는 선택이 아닌 필수조건이 되고 있다. 어차피 제한된 연구인력과 투자예산 조건에서 기대효과를 극대화하기 위해서는 국내 각 연구기관의 특성에 맞춰 연구의 분업화와 협력 체계를 확립하여야 할 것이다. 또한 이 모든 것이 성공을 거두기 위해서 정부의 대폭적이고 지속적인 지원이 있어야 한다.

오늘날 우리의 국민소득이 향상되고 국내외적 여건이 변화되면서 벼농사와 쌀에 대한 중요도가 달라지고 있지만, 이 땅의 벼농사는 식량공급적 기능 이외에 자연환경의 보전과 전통문화의 존속이라는 다양한 공익적 기능을 함께 가지고 있다는 점을 잊어서는 안되겠다. 벼를 재배하지 않으면 논으로서의 생산기반도 쉽게 파괴될 것이며, 이에 따른 자연재앙과 국제곡물가격변동 등에 따른 식량수급대책은 어떻게 해결할 수 있을 것인지를 생각하면 이 땅의 벼농사는 언제까지라도 계속되어야 된다는 것을 알 수 있다. 앞으로 현재보다 각종 재해에 견디는 능력이 현저히 높고 수량성이 크게 향상된 '꿈의 쌀'이 개발된다면 식량문제의 장래가 그렇게 어두운 것만은 아닐 것이다.

그러나 우리모두가 염두해 두어야 할 사실은 이러한 분자유전학적 접근 기술은 어디까지나 전통기술의 대체기술이 아니라 보조적 기술로 인식되어야 한다는 것이다. 즉 기존의 육종체계와 조화를 이룰 때 분자유전학적 기술이 그 진가를 발휘하게 됨으로 분자생물학 연구종사자와 전통육종가의 긴밀한 연구 협조체제가 그 어느 때보다 절실히 요구된다 하겠다.

◆ 소속 및 직위 ◆



은무영
농학박사
농업과학기술원 생물자원부

- 1972 전북대학교 농과대학 학사
- 1978 전북대학교 대학원 석사
- 1980 Louisiana State University, Baton Rouge, Ph. D.
- 1971~1984 호남농업시험장, 연구사, 연구관
- 1985~2000 농업과학기술원, 연구관, 세포유전과장, 생물자원부장
- 2001~현재 농업과학기술원 생물자원부 석좌연구관