농촌진흥청
국립식량과학원

콩 유전자교정 작물 개발을 위한 기반 구축

서미숙*, 박규태, 강현애, 배지현, 송지연, 문중경

전북 완주군 이서면 혁신로 181, 국립식량과학원 작물기초기반과

ABSTRACT

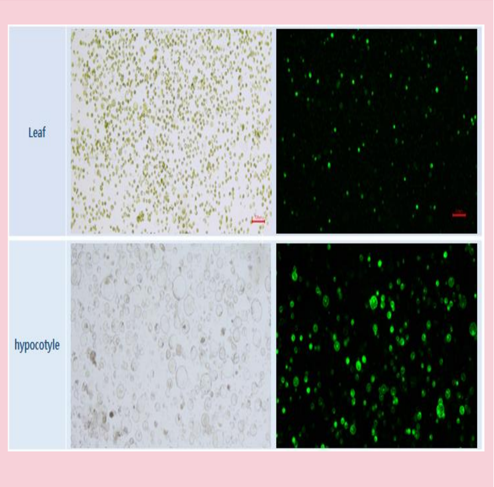
주요 식량작물인 콩(*Glycine max* (L.) Merr.)은 식용 외에 사료용, 녹비용 등 다양한 용도로 재배되고 있다. 최근, 기후변화와 국제 분쟁으로 인해 식량안보의 중요성이 대두되고 있으며, 콩에서도 자급률 향상 및 새로운 용도 창출을 위해 다양한 콩 품종 개발이 요구되고 있다. 유전자교정 기술은 돌연변이 모사 기술로써 GMO를 대체할 기술로 각광 받고 있으며, 콩에서도 유전자교정 기술을 통한 새로운 육종 소재 개발 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 본 연구에서는 콩에 유전자교정 기술을 적용하기 위해 필수적인 형질전환 기술을 개발하고, 국내 연구진에게 개발된 형질전환 기술을 안정적으로 제공하고자 하였다. 현재, 지방산에 관여하는 multiple 유전자 4종의 gRNA를 포함하는 CRISPR/Cas9 벡터에 대한 콩 형질전환을 실시하여, 광안콩과 maverick에서 다수의 형질전환 식물체를 생산할 수 있었고, deep sequencing을 통해 유전자교정 효율이 확인되었다. 또한, 제초제 저항성 유전자교정 콩 개발을 위해 형질전환을 실시하여, 유전자의 삽입이 확인된 식물체를 생산하였다. 형질전환을 식물체에서 trans-clean mutant의 신속한 선발과 고정을 통한 유전자교정 식물체의 조기 실용화를 위해 speed breeding 시스템을 이용한 빠른 세대 진전이 필요할 것이다. 본 연구에서는 콩에서 speed breeding 시스템을 구축하고, 최적 조건을 설정하고자 실험을 수행하였다. LED 광량, 토양조건 및 품종에 따른 재배 조건을 검토한 결과, 품종에 따라 다소의 차이는 있으나, 파종 후 평균 23~28일에서 개화가 관찰되었고, 70~80일 후 종자의 수확이 가능하였다. 향후, 광 파장, 재배온도 및 광주기 등 최적의 재배 조건을 검토하여, 유전자교정 작물 개발을 위한 기반을 마련하고자 한다.

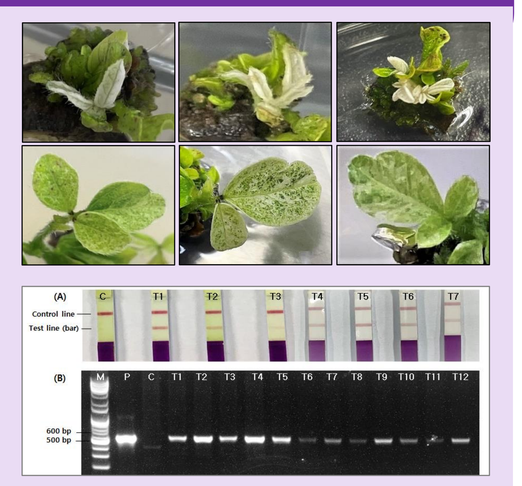
연구 목표 "유전자교정 콩 품종 개발을 위한 일원화된 통합 시스템 구축"

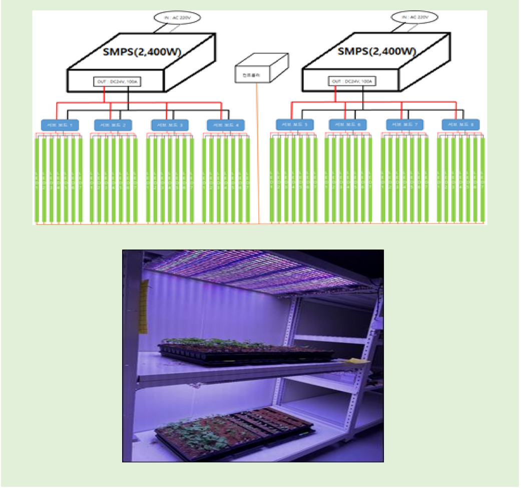
콩 유전자교정 작물 개발을 위한 통합 시스템 구축 현황

"단계별 기술 개발 및 시스템 구축 "

1단계	2단계	3단계
1. 목적 유전자 선발 2. gRNA 선발(3~5종) 3. gRNA 효율 검증 4. 최적 gRNA 선발	1. gRNA cloning ⇒ CRISPR/Cas9 vector 2. 식물에 형질전환 ⇒ *Agrobacterium* or RNP	1. 유전자교정체 생산 2. 식물체 기능 분석 3. vector free 식물체 선발
품종별 원형질체 분리 및 외래 유전자 도입 시스템 구축	재배 품종별 유전자교정을 위한 형질전환 기술 개발	빠른 세대진전을 위한 speed breeding 시스템 구축







NBT 사업 1단계(2020 ~ 2021)

NBT 사업 2단계(2022 ~ 2023)

콩 유전자교정 작물 개발을 위한 유전자 도입 기반 기술 구축

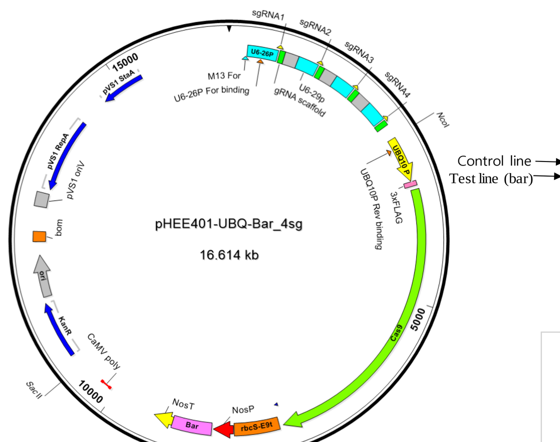
콩 형질전환 거점 서비스
- 고올레인산·저포화지방산
- 제초제저항성 (base-editing)

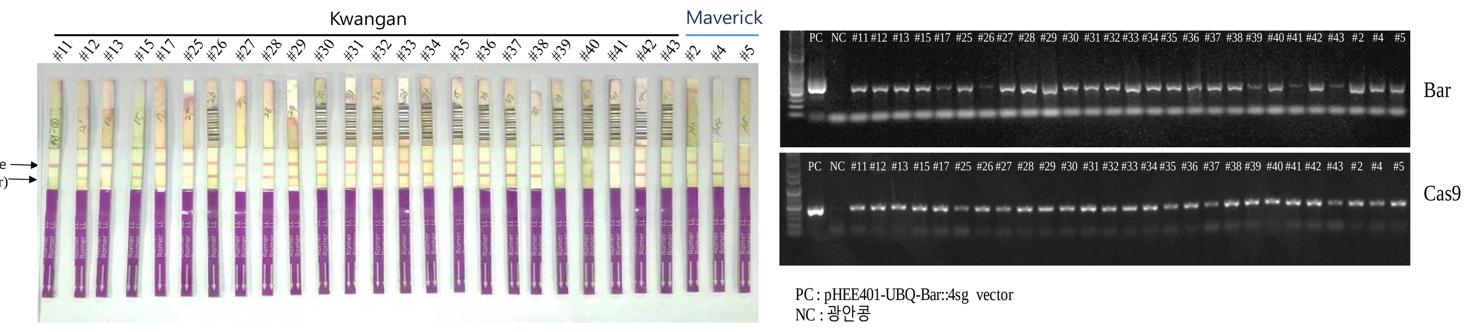
Speed breeding 조건 설정

Speed breeding을 위한 콩 품종별 재배 조건 검토

*Agrobacterium*법에 의한 콩 형질전환 거점 서비스

고올레인산 · 저포화지방산 콩 제작 (세종대)





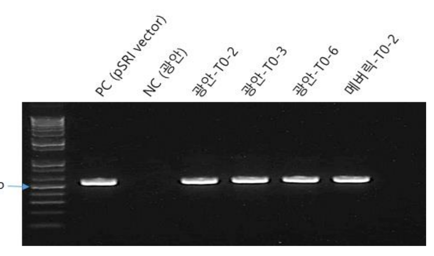
"4 gRNA 광안, Maverick 형질전환체 생산"

Table 1. Gene edited Indel ratio for FAD2 and FATB mutignes in soybean (Gwangan cultivar)

No	Deep seq file	No	lines	FAD2 (10G278000)		FAD2-1 (20G111000)		FATB_a (05G012300)		FATB_b (17G120400)	
				1st target site	2nd target site	1st target site	2nd target site	1st target site	2nd target site	1st target site	2nd target site
1	001_join.fastq	1	pHEE-1	14.2	9.6	18.3	11	20	2.2	15.2	6.4
2	002_join.fastq	2	pHEE-3	88.5	39.9	93.6	92.7	84.8	24.5	91.4	91.9
3	003_join.fastq	3	pHEE-4	95.9	89.6	95.8	20.2	31.8	0.4	9.4	7.2
4	004_join.fastq	4	pHEE-8	77.3	3.9	82.2	67.9	90.2	4.7	88.9	57.5
5	005_join.fastq	5	pHEE-10	96.1	3.2	80.7	3.5	0.4	0.7	0.2	0.5
6	006_join.fastq	6	pHEE-11	20.4	18.4	18.1	10.7	22.9	1	17.6	8.1
7	007_join.fastq	7	pHEE-12	86.6	84.9	86.1	74.3	89.9	8.5	49.7	90
8	008_join.fastq	8	pHEE-12'	87.8	84.4	84.6	73.6	89	6.3	93.2	72.3
9	009_join.fastq	9	pHEE-15	96	0.4	74	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3
10	010_join.fastq	10	WT	0.2	0.4	0.3	0.3	0.3	0.4	0.2	0.2

제초제저항성(base-editing) 콩 제작 (툴젠)

EPSPs 유전자 타겟하여 C →T 염기교정



콩 형질전환 서비스

품종	균주, 유전자	형질전환체 확보
형질전환 가능 품종 ⇒ 광안, 풍원, Maverick * 타 재배품종 확대 가능	· *Agrobacterium* strain ⇒ GV3101, EHA105 · 선발 마커 ⇒ 제초제 저항성(bar) · Vector ⇒ 상관 없음	· 제초제 저항성 bar strip으로 확인된 형질전환 유식물체 · vector 당 독립된 20개체 · 약 6개월 소요

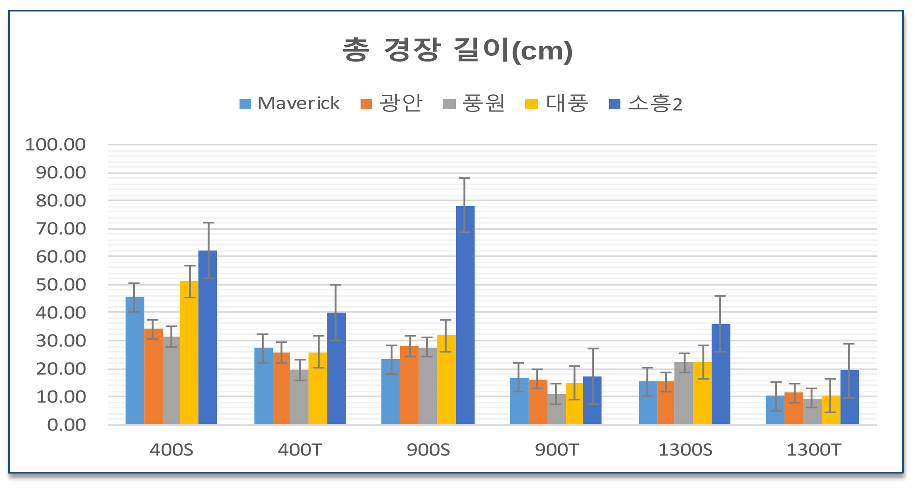
Trans-clean mutant 조기 선발을 위한 Speed breeding 조건 설정

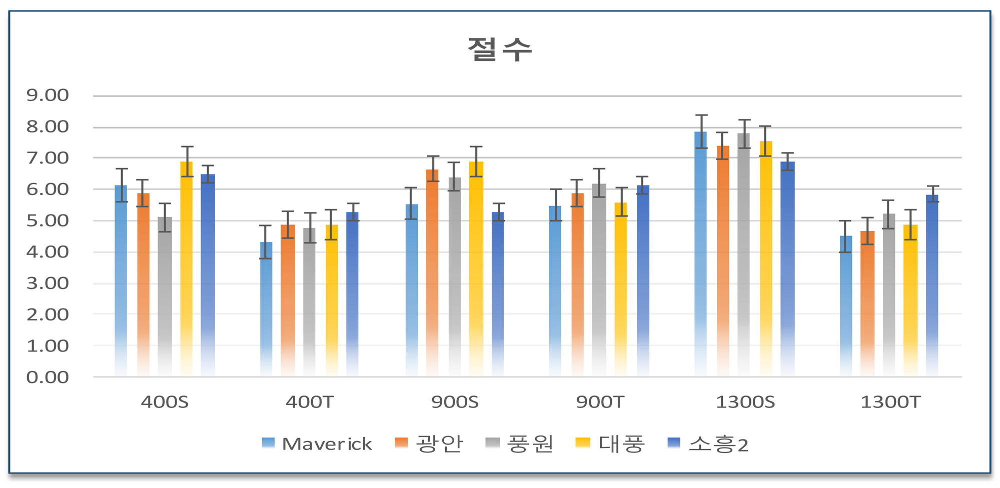
"Trans-clean mutant 조기 선발 및 고정화를 통한 조기 품종화를 위해 Speed breeding 시스템 구축 필요"

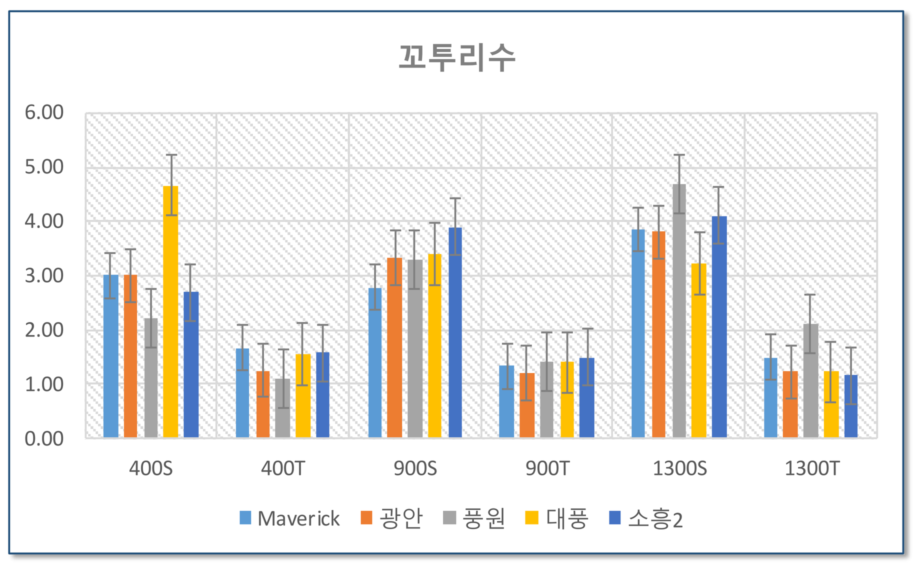
- 품종 – Maverick , Kwangan, Pungwon, Daepung, Soheung2
- 토양조건 – (S) 원예용 상토, (T) 토분
- 광량(PPFD) – 400, 900, 1300

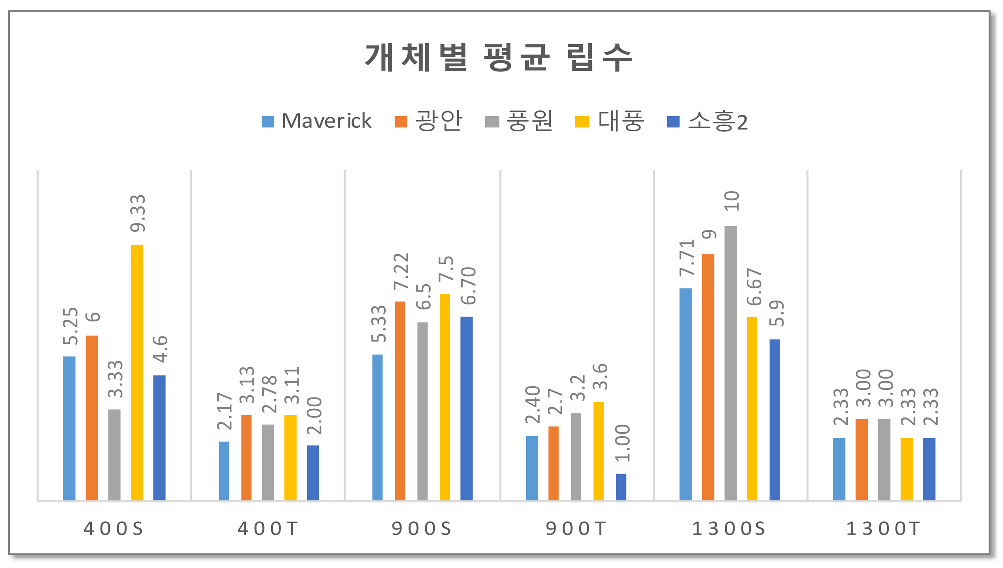
품종별 재배조건에 따른 개화시기 → 평균 24 ~ 30 일 사이 개화

	400(S)	400(T)	900(S)	900(T)	1300(S)	1300(T)
Maverick	30±3.5	28.9±2.4	29.1±2.7	29.1±2.4	27±2.3	29.6±2.6
Kwangan	28.7±1	29.1±3.4	24.9±0.7	24.7±0.6	25.1±0.8	24.5±0.3
Pungwon	29.5±0.7	30.2±1.4	26.5±0.6	27.8±1.9	26.5±2	27.9±3.2
Daepung	29.1±0.4	29.6±0.7	29±0.3	30.2±2.4	29.7±0.8	29.2±3
Soheung2	29.5±0.5	29.1±2.5	24.8±3.6	27.8±3.7	28.2±2.3	27.1±3.9









" 최단 70 days에 종자 수확 가능 "

→ RGB비율, 온도, 광주기 등 조건의 최적화 필요