

11213
4-5

사막
화지
역에
재배
가능
한수
출용
At
BG1
유전
자도
입2
세대
유채
품종
육성
및상
용화
최종
보고
서

2017

농생 농림
명산 식품
업기 기술
술개 기획
발사 평가
업 원

보안 과제(), 일반 과제() / 공개(), 비공개(), 발간등록번호()
농생명산업기술개발사업 제5차년도 최종보고서

발 간 등 록 번 호

11-1543000-002227-01

사막화 지역에 재배 가능한 수출용 AtBG1 유전자 도입 2세대 유채 품종 육성 및 상용화 최종보고서

2017. 12. 20.

주관연구기관 / 농업회사법인(주) 에프앤피

농 립 축 산 식 품 부
농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “사막화 지역에 재배 가능한 수출용 AtBG1 유전자 도입 2세대 유채 품종 육성 및 상용화”(개발기간 : 2012. 12. 21 ~ 2017. 12. 20)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 3. .

주관연구기관명 : 농업회사법인(주)에프엔피 부설기술연구소 (인)
참여기관명 : 농업회사법인(주)에프엔피 (인)

주관연구책임자 : 김신제
참여기관책임자 : 김신제

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제 고유 번호	112134-5	해당 단계 연구 기간	2012. 12. 21 ~ 2017. 12. 20	단계구분	최종보고서
연구사업명	중사업명				
	세부사업명	농생명산업기술개발사업			
연구과제명	대과제명				
	세부과제명	사막화 지역에 재배 가능한 수출용 AtBG1 유전자 도입 2세대 유채 품종 육성 및 상용화			
연구책임자	해당단계 참여연구원 수	총: 25명 내부: 25명 외부: 0명	해당단계 연구개발비	정부: 280,000천원 민간: 70,000천원 계: 350,000천원	
	총 연구기간 참여연구원 수	총: 25명 내부: 25명 외부: 25명	총 연구개발비	정부: 280,000천원 민간: 70,000천원 계: 350,000천원	
연구기관명 및 소속 부서명	농업회사법인주식회사 에프앤피 부설 기술연구소		참여기업명 농업회사법인주식회사 에프앤피		
국제공동연구	상대국명:		상대국 연구기관명:		
위탁연구	연구기관명:		연구책임자:		

※ 국내·외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의
보안등급 및 사유

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설·장비	기술요약 정보	소프트웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명정보	생물자원	정보	실물
등록·기탁 번호	1	1									

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약

1. 초고도 내건성 비식용 GM유채(이벤트 번호 2802)의 인체 위해성 평가 수행
 - E.coli를 이용한 AtBG1 단백질 발현 및 분리 정제
 - AtBG1 단백질에 대한 단회 경구 투여 독성시험 완료
 - 이벤트 번호 2802에 대한 LMO 위해성평가심사서 작성
2. GM 2세대 준과형 2품종 개발
 - 교배조합별 후대 세대진전 및 농업형질 분석으로 개체선발
 - 오일성분, GM마커 및 RAPD 분석 등으로 도입 목표형질 분석
 - 매 세대마다 몽골현지에서 농업형질 분석 및 개체선발
 - 5개 교배조합으로부터 고올레인산 3, 고에루신산 4계통 선발
 - 준과유채 선발계통의 몽골현지재배시험 수행
3. GM 2세대 추과형 1품종 개발
 - 교배조합별 후대 세대진전 및 농업형질 분석으로 개체선발
 - 오일성분 및 분자마커 분석 등으로 도입 목표형질 분석
 - 3개 교배조합으로부터 고올레인산 3, 고에루신산 6계통 선발

p144

국문 요약문

		코드번호	D-01
연구의 목적 및 내용	<p>I. 연구의 목적</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. AtBG1으로 형질전환된 비식용 GM유채의 인체 위해성 평가 완료 2. 사막화 진행지역 재배 가능한 GM 유채 2802와 조숙 춘파 일반계통을 이용한 GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 2 품종 개발 3. 사막화 진행지역 재배 가능한 GM 유채 2802와 내동성 추파 일반계통을 이용한 GM 2세대 추파형 다수확 1 품종 개발 4. 제 2세대 GM 유채의 상용화를 위한 위해성 평가 <p>II. 연구 내용</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 초고도 내건성 비식용 GM유채(이벤트 번호 2802)의 인체 위해성 평가 완료 <ul style="list-style-type: none"> - GM 유채의 일반 영양 분석 및 지방산분석(의뢰) - 유채에서 외래 단백질발현 및 분리 정제 - 외래 단백질 발현 단백질의 정맥 투여 방법을 통한 독성 평가(의뢰) - 외래 단백질 유래 알레르기 유무 평가 (의뢰) 2. 사막화 진행지역 재배 가능한 GM 유채 2802와 조숙 춘파 일반계통을 이용한 GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 2 품종 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 2802와 우량 품종 춘파형 4종과 교배하여 현지 적응성이 높은 계통 선발 - 2802의 GM 선발 마커를 이용한 여교배 집단의 초기 선발 - 각 여교배 집단 1차 선발 후 지방산 함량 측정하여 2차 선발 - 각 세대별 현지 생육 특성 검정 (목표 및 농업형질 분석) - 내건, 조숙 및 고올레인산 함유 이벤트 선발 - 지방산 함량에 다른 공업용(바이오디젤) GMO 2세대 2개 이벤트 선발 3. 사막화 진행 지역 재배 가능한 GM 유채 2802와 내한성 추파 일반계통을 이용한 GM 2세대 추파형 다수확 1 품종 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 2802와 우량 추파형 3품종(2품종에서 3품종으로 변경) 교배로 현지적합 계통선발 - 2802의 GM 선발 마커를 이용한 여교배 집단의 초기 선발 - 각 여교배 집단 1차 선발 후 지방산 함량 측정하여 2차 선발 - 각 세대별 현지 생육 특성 검정(목표 및 농업형질 분석) - 내건, 내한 및 만생으로 고올레인산 함유 이벤트 선발 - 지방산 함량 올레인산 60% 이상인 상업용 1개 이벤트 선발 4. 제 2세대 GM 유채의 상용화 <ul style="list-style-type: none"> - 제 2세대 유채의 대규모 재배를 위한 시험 재배 분석 - 현지 재배 농가를 통한 재배법 개발 및 활용 		
연구개발성과	<ol style="list-style-type: none"> 1. 초고도 내건성 비식용 GM유채(이벤트 번호 2802)의 인체 위해성 평가 완료 <ul style="list-style-type: none"> - E.coli를 이용한 AtBG1 단백질 발현 및 분리 정제 - AtBG1 단백질에 대한 단회 경구 투여 독성시험 완료 - 비식용 GM유채(이벤트 번호 2802)에 대한 LMO 위해성평가심사서 작성 2. GM 2세대 춘파형 2품종 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 교배조합별 후대(F6 및 F7) 세대진전 및 농업형질 분석으로 개체선발 - 오일성분 분석 및 분자마커 분석 등으로 도입 목표형질 분석 - 5개 교배조합으로부터 F6~F7 62라인 세대진전 - 지방산분석, GM마커 및 RAPD 분석으로 최종 7라인 선발 : 고올레인산 3계통, 고에루신산 4계통 - 선발된 고올레인산 3계통의 몽골현지재배시험 수행 3. GM 2세대 추파형 1품종 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 교배조합별 후대(F3 및 F5) 세대진전 및 농업형질 분석으로 개체선발 - 오일성분 분석 및 분자마커 분석 등으로 도입 목표형질 분석 - 3개 교배조합으로부터 F5 49라인, F3 81라인 세대진전 - GM마커 분석으로 총 65라인 선발 육성 - 고올레인산 춘파 11라인 분리 		

	<ul style="list-style-type: none"> - 지방산분석으로 9라인 선발 : 고올레인산 3계통, 고에루신산 6계통 4. 분리후대의 세대진전, 몽골현지 선발 및 현지 적응성 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 목표 형질 도입을 위한 교배조합별 후대 육성, 춘과형 F7 및 F8 세대진전 및 후대종자수확 - 후대의 농업형질 분석 및 개체선발 - 오일성분 분석 및 분자마커 분석 등으로 도입 목표형질 분석 - 적응성 시험 평가 수행 - F6~F7 8라인의 후대 15라인 몽골현지 세대진전 - 추파계통 육성중에 분리된 고올레인산 춘과 F5 11라인의 후대 54라인 몽골현지 세대진전 - 몽골 현지 재배특성조사 및 후대 종자 확보 5. 몽골현지 적합 2세대 GM유채 선발계통의 현지적응성 및 수량성 조사 <ul style="list-style-type: none"> - 교배조합의 세대진전시 매회 몽골 현지 육성 및 개체선발을 수행함 - 최종선발계통의 현지적응성 및 수량성 조사 - 춘과유채 우선선발 3계통(D194, D195, D196)의 몽골현지재배시험 수행 				
<p style="text-align: center;">연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 기술적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - 해외 시장 경쟁력이 있는 형질전환체 개발 - 사막화 진행 지역의 바이오원자재 생산 단지로의 전환되는 기술 축적 가능 - 해외 GMO 종자 시장 진출을 위한 품종 개발 - 전통육종 방법과 GMO 육종을 이용한 차세대 육종 체계 확립 - 바이오원자재 생산, 이산화탄소 감축 등 GM개발 분야의 핵심 및 응용기술 축적 2. 경제적 · 산업적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - 해외 GMO 종자 수출로 외화 획득 - 신품종 유채 품종 개발로 해외 바이오 에너지 시장에 종자 수출 - 복합형질 (내건, 조숙 등) 품종의 사막화 진행지역 녹화로 기후 변화와 사막화 진행 억제 및 황사에 의한 피해 방지 (황사의 호흡기질환 및 농작물 피해 등으로 연간 5~7조원 규모 손실) 3. 사회적 측면 <ul style="list-style-type: none"> - 몽골 사막화 진행 지역의 녹색화를 위한 재배 작목으로 선정 가능 - 사막화 방지 모델 개발로 국가 위상 제고 				
<p style="text-align: center;">중심어 (5개 이내)</p>	GM 2세대	유채	바이오디젤	지방산 조성	내건성

< SUMMARY >

	코드번호	D-02
Purpose& Contents	<p>I. Purpose of research</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Human risk assessment of drought-tolerant non-edible GM rapeseeds (event # 2802) 2. Development of two GM F2 rapidly-growing high-yielding spring-type cultivars using GM rapeseed 2802 to be grown in desertification area and rapidly-growing spring-type non-GM rapeseed 3. Development of a GM F2 fall-type high-yielding cultivar using GM rapeseed 2802 to be grown in desertification area and cold tolerant fall-type non-GM rapeseed 4. Commercialization of F2 GM rapeseeds <p>II. Contents of research</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Human risk assessment of drought-tolerant non-edible GM rapeseeds (event # 2802) <ul style="list-style-type: none"> - Nutrition and fatty acid analysis of GM rapeseeds (external request) - Expression and purification of exogenous proteins in rapeseeds - Toxicity assessment of exogenous protein expressed protein by intravenous administration (external request) - Assessment of the presence or absence of allergen derived from exogenous protein (external request) 2. Development of two GM F2 rapidly-growing high-yielding spring-type cultivars using GM rapeseed 2802 to be grown in desertification area and rapidly-growing spring-type non-GM rapeseed <ul style="list-style-type: none"> - Selection of highly local adaptable lines by crossing 2802 and four kinds of good spring-type cultivars - Initial screening of crossbred group using GM selection markers of 2802 - The first selection of each crossbred group and the second selection by measurement of fatty acid content <ul style="list-style-type: none"> - Assessment of local growth characteristics of each generation (target and agronomic traits analysis) - Selection of events with drought tolerance, rapid growth and high oleic acid content - Selection of two events of industrial (biodiesel) F2 GMO by different fatty acid content 3. Development of a GM F2 fall-type high-yielding cultivar using GM rapeseed 2802 to be grown in desertification area and cold tolerant fall-type non-GM rapeseed <ul style="list-style-type: none"> - Selection of highly local adaptable lines by crossing 2802 and three kinds of good fall-type cultivars (2 -> 3 kinds) - Initial screening of crossbred group using GM selection markers of 2802 - The first selection of each crossbred group and the second selection by measurement of fatty acid content - Assessment of local growth characteristics of each generation (target 	

	<p>and agronomic traits analysis)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Selection of events with drought and cold tolerance, late-maturing(만생) and high oleic acid content - Selection of a commercial event with fatty acid content 60% or more of oleic acid <p>4. Commercialization of F2 GM rapeseeds</p> <ul style="list-style-type: none"> - Analysis of pilot cultivation for large-scale cultivation of F2 rapeseeds - Development and utilization of cultivation methods through local farmers
Results	<ol style="list-style-type: none"> 1. Completion of human risk assessment of drought-tolerant non-edible GM rapeseeds (event # 2802) <ul style="list-style-type: none"> - Expression and purification of AtBG1 protein using E. coli - Completed single oral toxicity test for AtBG1 protein - Prepared LMO risk assessment report for non-edible GM rapeseeds (event # 2802) 2. Development of two GM F2 spring-type cultivars <ul style="list-style-type: none"> - Selection of individuals by F6 and F7 generational advancement and analysis of agronomical traits for each cross combination - Analysis of target traits by oil composition and molecular marker analysis - Generation advancement of 62 F6~F7 lines from 5 cross combinations - Selected five final lines by fatty acid analysis, and GM markers and RAPD analysis : 3 lines with high oleic acid and 4 lines with high erucic acid - Performed local cultivation test of 3 selected lines with high oleic acid in Mongolia in Mongolia 3. Development of a GM F2 fall-type cultivar <ul style="list-style-type: none"> - Selected individuals by F3 and F5 generation advancement and agronomical traits analysis for each cross combination - Analyzed target traits by oil composition and molecular marker analysis - Generation advancement of 49 F5 lines and 81 F3 lines from three cross combinations, - Selected 65 lines by analyzing GM markers - Separated 11 high oleic spring-type lines - Selected 9 lines by analysis of fatty acids : high oleic acid (3), high erucic acid (6) 4. Generation advancement of separated progeny generations, local selection and local adaptability survey in Mongolia <ul style="list-style-type: none"> - For introduction of target traits, selection of progeny generation for each cross combination, generation advancement of spring-type F7 and F8 and seed harvest - Analysis of agronomic characteristics and molecular markers of future generations, and selection of individuals - Analysis of oil composition and molecular marker analysis - Performed adaptability test and evaluation - Generation advancement of 15 progeny lines of eight F6 ~ F7 lines in Mongolia - Generation advancement of 54 progeny lines of 11 high oleic spring-type

	<p>F5 lines separated during breeding of fall-type lines in Mongolia</p> <ul style="list-style-type: none"> - Investigated the characteristics of local cultivation and secured seeds for progeny generations in Mongolia <p>5. Local adaptability and yield survey of F2 GM rapeseeds suitable to growth in Mongolia</p> <ul style="list-style-type: none"> - Performed local breeding and individual selection in every generation advancement for each cross combination - Local adaptability test and yield survey of the final selected lines - Performed local cultivation test of three spring-type lines (D194, D195, D196) in Mongolia 				
<p>Expected Contribution</p>	<p>1. Technical aspects</p> <ul style="list-style-type: none"> - Development of transgenic plants that are competitive in overseas market - Build-up of technology transformed to biomaterial production in desertification area - Development of varieties for entry to overseas GMO seed markets - Establishment of next generation breeding system using traditional breeding method and GMO breeding - Build-up of core and applied technologies of GM development field such as production of bio raw material and reduction of carbon dioxide <p>2. Economic and industrial aspects</p> <ul style="list-style-type: none"> - Acquisition of foreign profit through overseas GMO seed export - Seed exports to overseas bio-energy market by developing new rapeseed varieties - Prevention of climate change, desertification and damages caused by yellow dust due to greening of the desertification by varieties with multi-target traits (drought-tolerance and rapid growth (loss of 5~7 trillion won annually due to respiratory diseases and damage to crops by yellow dusts)) <p>3. Social aspect</p> <ul style="list-style-type: none"> - Can be selected as cultivation material for the greening of desertification area in Mongolia - Increase national standing by developing prevention model of desertification 				
<p>Keywords</p>	<p>GM F2 population</p>	<p>Rapeseed</p>	<p>Biodiesel</p>	<p>Fatty acid composition</p>	<p>Drought tolerance</p>

< CONTENTS >

1. Research Outlines	10
2. Status of Domestic and Overseas Technology Development related to the Project	15
3. Research Contents and Results	18
4. Achievement of goal and contribution	133
5. Plan for utilization of research results	134
6. Overseas science and technology information collected during the research process	135
7. Security of R & D achievement	136
8. Research facilities registered in National Science and Technology Comprehensive Information System.	136
9. Implementation of safety measures in laboratories based on R & D tasks	136
10. Representative research achievements of R & D tasks	138
11. Etc	139
12. Reference	140

<별첨> 자체평가의견서

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의개요	10
2. 국내외 기술개발 현황	15
3. 연구수행 내용 및 결과	18
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	133
5. 연구결과의 활용계획 등	134
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	135
7. 연구개발성과의 보안등급	136
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설장비현황	136
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	136
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	138
11. 기타사항	139
12. 참고문헌	140

<별첨> 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
<p>1-1. 연구개발 목적</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ AtBG1으로 형질전환된 비식용 GM유채의 인체 위해성 평가 완료 ○ 사막화 진행지역 재배 가능한 GM 유채 2802와 조속 춘파 일반계통을 이용한 GM 2세대 춘파형 조속 다수확 2 품종 개발 ○ 사막화 진행지역 재배 가능한 GM 유채 2802와 내동성 추파 일반계통을 이용한 GM 2세대 추파형 다수확 1 품종 개발 ○ 제 2세대 GM 유채의 상용화를 위한 위해성 평가 <p>1-2. 연구개발의 필요성</p> <p>1-2-1. 유채의 경제·산업적 중요성</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유채는 불포화 지방산이 높은 유지작물로 사용 목적에 따라 1) 식용유의 원료 2) 바이오디젤의 원료 3) 화장품과 같은 공업용 원료 4) 사료 첨가제로 많이 쓰이고 있음 ○ FAO의 2017년 통계에 따르면, 2014년 전세계 유채 재배 면적은 36.1백만ha, 생산량은 약 73백만톤임. 전세계 유채 재배면적은 최근 10년간 매년 약 4.2% 증가 추세를 보임 ○ GM 유채 재배면적 또한 매년 증가하였으며 2016년에 이르러 총재배면적의 24%에 달함 (ISAAA, 2016) ○ 유채의 원료 수급 해결을 위해 국내 유채종자 개발 및 해외 플랜테이션이 필요한 시점임. 따라서 해외의 열악한 재배조건에서도 생육이 강한 GMO 식물체의 개발이 절실히 요구됨 ○ 바이오디젤 원료로 사용되는 주요 식물성 오일의 필터막힘점 (Cold Filter Plugging Point, CFPP, 저온유동성)을 비교하면, 유채의 경우 -20℃로 가장 우수함 ○ 따라서 온대지방에서 바이오디젤 연료의 원료로 적합한 유채기름이 이미 유럽에서 상용화가 이루어지고 있음 ○ 특히 유채는 타 유지작물에 비해 지방산조성 중에 바이오디젤과 분자구조가 흡사한 올레인산 (C18:1) 함량이 65%로 높으며, 이는 바이오디젤 제조공정에서 메칠에스터화 반응을 거치게 되면 저온유동성이 낮아지게 되어 겨울철 수송용 바이오디젤로서의 제조공정에 효율이 높음 ○ 또한 유채는 평균 1.8-3.2ton/ha에 이르는 높은 유채 수확량 및 38~45%에 이르는 유지 함량으로 타 작물에 비해 매우 유리함 <p>1-2-2. 국내의 바이오디젤 생산 및 시장현황</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 세계 바이오디젤 생산량은 2007년 1,030만톤에서 2012년 2,512만톤으로 2.4배 성장하였으며 전세계적으로 기후변화 및 화석연료의 고갈에 대응하기 위해 주요 선진국들은 신재생에너지 보급·확대 정책을 실시하고 있음 ○ 미국의 경우 2015년 이후에도 지속적인 성장을 하고 있는 것을 그림 3에서 볼수 있다 (그림 1) ○ 바이오디젤 원료로 사용되는 주요 식물성 오일의 필터막힘점 (Cold Filter Plugging Point, CFPP, 저온유동성)을 비교하면, 대두 -3℃, 팥 12℃, 유채 -20℃로 유채가 가장 우수함 ○ 따라서 유럽의 온대지방에서 저온유동성이 낮아 겨울철 수송용 바이오디젤 원료로도 적합한 유채 	

오일은 이미 유럽에서 상용화되어 있음

U.S. biodiesel production still increasing despite expiration of tax credit

U.S. monthly biodiesel (B100) production (Jan 2011 - Sep 2017)
million gallons



Source: U.S. Energy Information Administration, [Monthly Biodiesel Production Report](#)

그림 1. 미국의 바이오디젤 소모량 Source: U.S. Energy Information Administration, [Monthly Biodiesel Production Report](#)

Through the first nine months of 2017, U.S. biodiesel production levels were slightly higher than 2016 levels, despite the expiration of a federal biodiesel blender's tax credit at the end of 2016. Domestic biodiesel production may continue to increase because of changes to import policies such as [those recently announced by the U.S. Department of Commerce](#) on biodiesel imports from Argentina and Indonesia.

- 특히 유채는 타 유지작물에 비해 지방산조성 중에 바이오디젤과 분자구조가 흡사한 올레인산 (C18:1) 함량이 65%로 높으며, 이는 바이오디젤 제조공정에서 메칠에스터화 반응을 거치게 되는 바이오디젤로서의 제조공정에 효율성이 매우 높음
- 또한 유채는 평균 1.8~3.2ton/ha에 이르는 높은 유채 수확량 및 38~45%에 이르는 유지 함량으로 타 작물에 비해 매우 유리함
- EU 국가들은 유채를 이용한 바이오디젤이 상용화되고 있으며 독일은 벨로루시, 프랑스는 알제리 건조지역에서부터 수입을 하고 있는 실정임

1-2-3. 해외 농산물 생산 및 해외생산기지 필요

- 기후변화 및 화석연료의 고갈 등 인류가 직면한 에너지 문제를 해결하기 위한 세계 각국의 경쟁에 심화됨에 따라 원자재 생산 기반이 되는 식물(농업)의 중요성 증가하고 있음 (그림 2)
- 생명공학 기술을 이용한 에너지 작물의 생산성 향상은 인류가 직면한 문제를 해결하기 위한 방법의 하나이나 개발기간이 길고 산업화에 많은 장애요인을 극복해야 하는 문제점을 가지고 있음
- 따라서 기존에 개발된 형질전환 식물체의 이용한 조기 산업화를 위해 필요한 형질을 단기간에 도입하는 방법이 필요한 실정임
- 또한, 바이오에너지 원자재로 활용할 경우 장점이 많은 유채의 대량재배를 위한 해외 농업생산기지 발굴에 적합한 품종 및 재배법 개발이 필요함
- 유채 밭 3.3m²은 이산화탄소 7.9kg을 흡수하고 산소 2.5kg을 만들어 내고 유채로 만든 경유 역시 이산화황, 톨루엔, 벤젠 등 대기 유해물질을 거의 내지 않아 환경 개선 효과가 큼



그림 2. 농업기반 국가 (식량, 에너지 작물 생산국)가 세계시장에서 점점 중요한 위치를 확보할 것임 (동아일보, 2008년 9월 5일)

1-2-4. 고비지역의 대단위 해외 생산기지개발 및 현지 적응 GM 유채 개발 필요성

- 몽골의 농업생산기반은 1980년대 중반까지 구 소련에 밀과 감자를 수출한 바 있는 농업국가 이었지만 1990년대 체제 전환 이후 농업생산성이 급격히 쇠퇴하여 2007년도의 농업생산액은 1989년의 20%에도 못 미치는 수준까지 감소되었음
- 세계 각국의 몽골에 대한 관심은 지하자원의 개발에 있지만, 농업은 몽골경제의 기반을 이루는 중요한 산업요소(축산, 케시미어 등) 중의 하나이기 때문에 몽골의 경제발전을 위해 농업발전은 필수적임
- 몽골 정부는 농산업 환경의 조성, 농업 생산성의 증대, 지속가능성의 확보, 식품의 안전성 개선, 선진 농업기술의 도입이라는 5가지 정책 목표를 세워 추진하고 있어 농업 분야의 기술 수요 및 지원이 지속될 전망이다
- 우리나라 정부기관(농림수산식품부, KOICA)에서 몽골의 해외 농업생산기지로 추천지역은 울란바타르 근교와 몽골 북부지역의 다르한 및 보르강의 에르테네트 지역으로 수자원이 풍부, 러시아 이르츠크행 철도 주·정차 지역이라 국경무역이 성행, 향후 물류거점지역으로 부상할 가능성이 높을 것으로 판단 됨
- 몽골의 알타이 산맥을 중심으로 위쪽 지역에 비해 아래쪽 지역의 사막화 진행이 빠름. 따라서 지역 환경을 고려한 재배적합 품종을 개발할 필요성이 큼 (그림 3)



그림 3. 해외의 사막화 진행지역에 따른 목표 지역 별 재배 적합 품종 개발

- 몽골지역은 작물의 재배가능 기간이 짧고, 야간온도가 낮은 점 등을 고려하여 기존에 개발된 건조 내성 품종에 조기 개화 및 수확이 가능한 유용형질의 도입이 필요함
- 따라서, 건조 내성 형질전환체의 조기 산업화를 위해 조숙 및 고올레인산 함유 등 유용형질을 포함한 계통과 교배를 통해 산업화에 요구되는 형질을 도입하고자 함
- 또한, 사막화가 진행되고 있는 내몽골 지역의 추파 만생종의 유채 재배에 적합한 기온 분포를 가

지고 있으나 건조에 강한 품종이 없어 수확을 할 수 없으므로 AtBG1유전자가삽입된 이벤트 2802와 우수품종을 교배하여 초고도 내건성 품종을 육성할 필요성이 매우높음

1-3. 연구개발 범위

- AtBG1으로 형질전환된 비식용 GM유채의 인체 위해성 평가 완료
- 사막화 진행지역 재배 가능한 GM 유채 2802와 조숙 춘파 일반계통을 이용한 GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 2 품종 개발
- 사막화 진행지역 재배 가능한 GM 유채 2802와 내동성 춘파 일반계통을 이용한 GM 2세대 춘파형 다수확 1 품종 개발
- 제 2세대 GM 유채의 상용화를 위한 위해성 평가

2. 국내외 기술개발 현황

코드번호	D-04
------	------

- 2017년 현재, 국내 위해성심사 승인된 작물은 식품용 7개 작물 총 155건, 농업용 5개 작물 총 146건임. 이 중 농업용으로는 콩 26건, 옥수수 74건, 면화 29건, 캐놀라 14건, 알팔라 3건임 (한국바이오안전성정보센터)
- 국내외적으로 기후변화 및 바이오에너지에 대한 수용 증가로 세계적으로 바이오에너지 원자재를 확보하기 위한 국가적인 정책 목표를 설정하고 해외시장 개척 등 적극적인 개발이 이루어지고 있음 (그림 4)

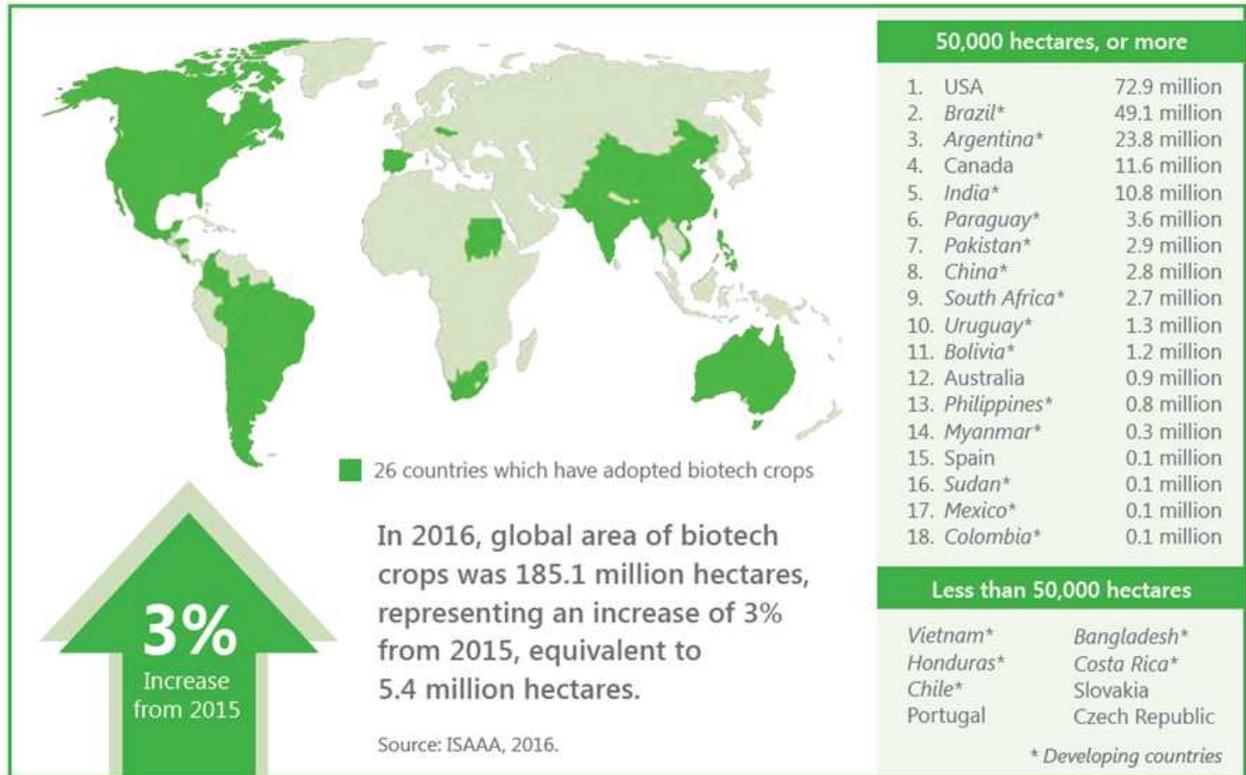


그림 4. 전세계 GM 작물 개발 현황 (ISAAA, 2017)

- GMO 작물은 개발 도상국에서 약 1천8백만명의 농부들에 의해 전 세계적으로 재배됨 (www.isaaa.org)
- 총 70개국에서 GMO를 수입, 재배 및 연구하고 있으며, 2016년 현재 GMO를 재배하는 상위 5개 국은 미국, 브라질, 아르헨티나, 캐나다, 인도 순으로 이들은 세계의 91%를 차지함 (그림 5)
- 1992년부터 2016년까지 개발된 GM 이벤트는 총 404종으로, 이 중 유채는 19종으로 캐나다에서 93% 이상 재배되고 있으며, 미국, 오스트렐리아, 칠레에서도 재배됨 (그림 5)

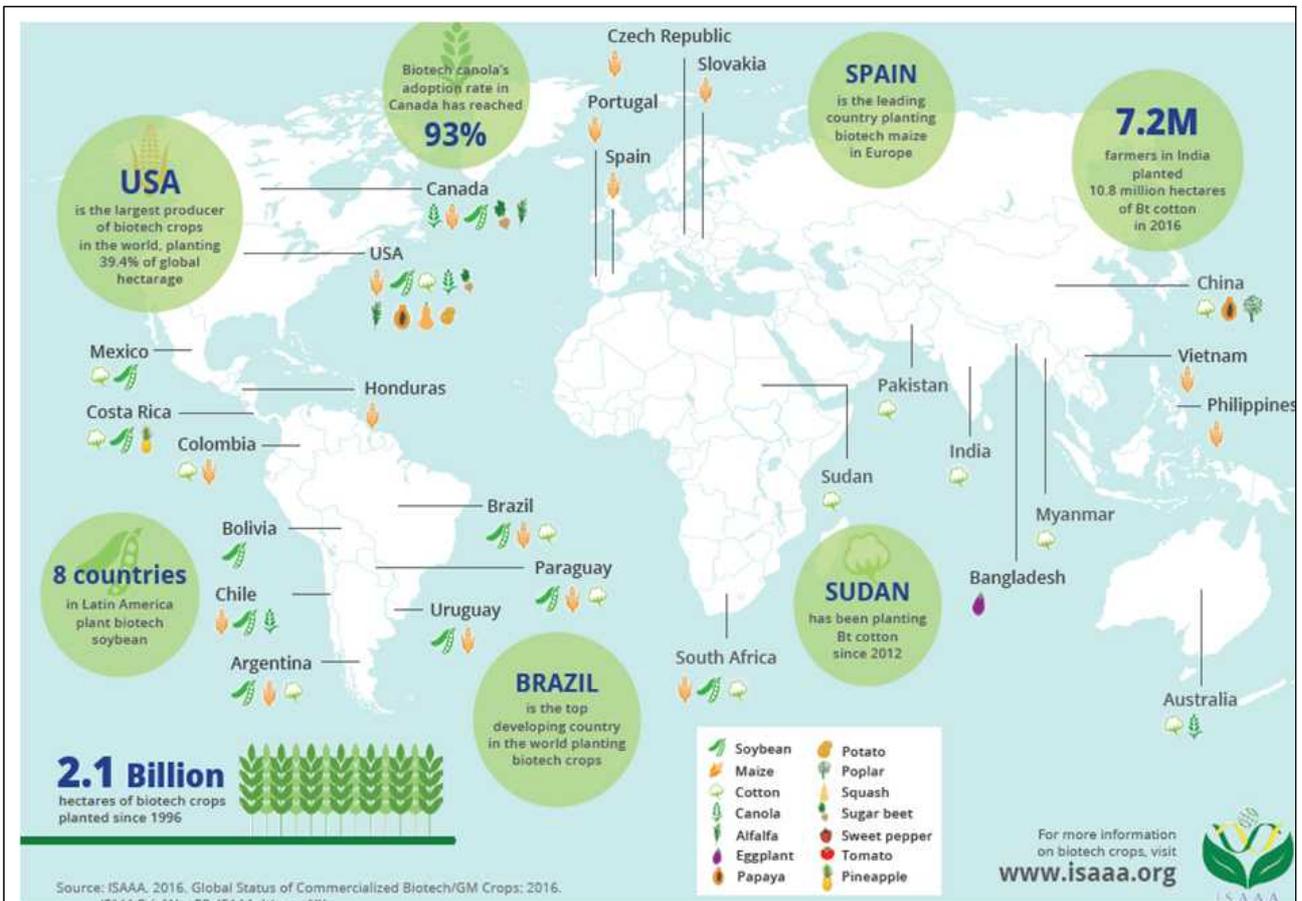


그림 5. 전세계 GM 작물 재배현황

- 주요 GM 작물의 도입 유전자를 살펴보면 대부분 제초제저항성과 해충저항성 유전자를 도입하였으나 환경저항성 유전자의 도입에 대한보고는 저조한 편임. 또한 제초제 저항성 또는 해충저항성의 단일 형질보다는 복합형질을 보유한 GM 이벤트 채택율이 높아지는 추세임 (그림 6)
- 본 연구과제에서는 비식용 등 식량작물과 경합이 없는 새로운 용도의 GM 유채를 개발하여 바이오산업에 활용하고자 함
- 유채 (카놀라)의 경우 2016년 전체 재배면적 36백만 ha 중 24%를 차지하는 8백만 ha에서 GMO가 재배되고 있으며 현재까지 매년 지속적으로 증가하고 있음 (그림 7)
- 유전자변형작물을 재배하고 있는 국가는 2016년 기준으로 26개 국가에 이르나, 주요 LMO 재배 국가인 미국, 아르헨티나 등은 바이오안전성의정서에 비준하지 않음 (바이오안전성의정서 홈페이지, <http://www.cbd.int/biosafety>)

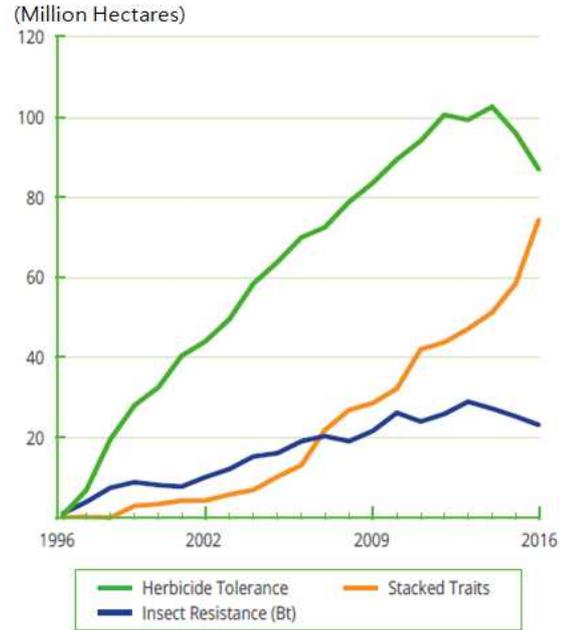
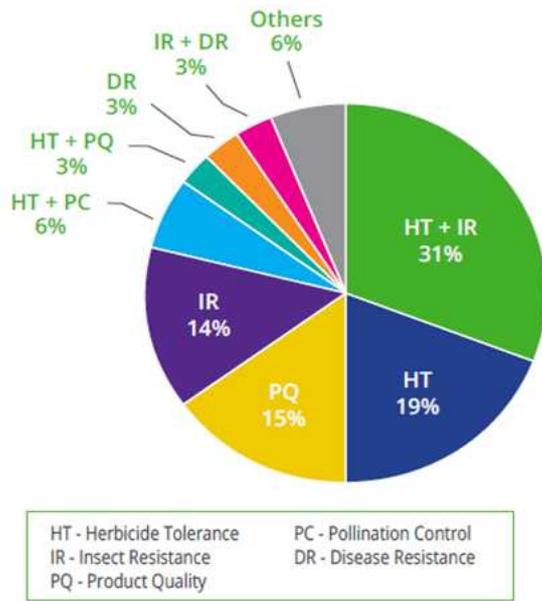


그림 6. 1992-2016년간 채택된 GM 이벤트의 형질(좌)과 동향(우)

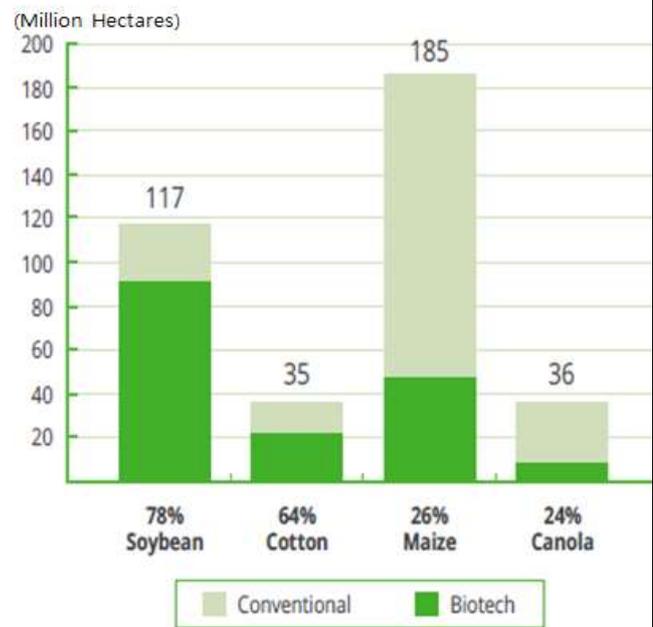
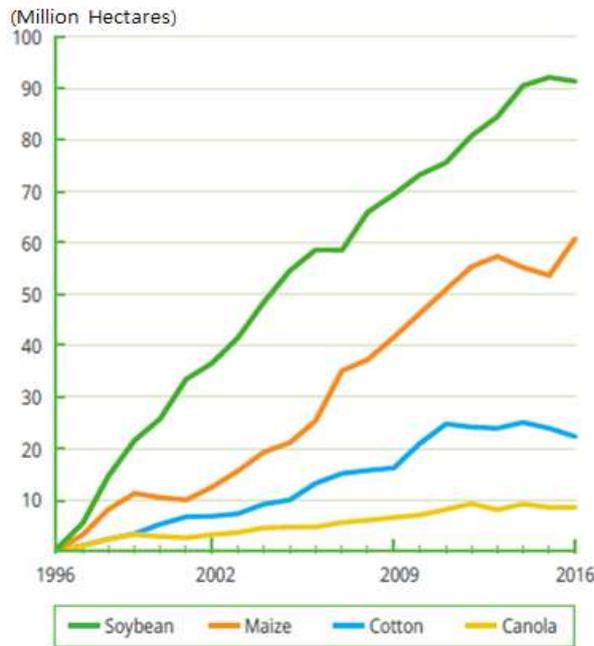


그림 7. GM 작물 (콩, 옥수수, 목화, 카놀라)의 연도별 세계 재배면적(좌)과 GM작물의 채택비율(우) (ISAAA, 2017)

- KISTI 『글로벌동향브리핑 (GTB), 2008』에 따르면 바이오연료의 생산이 전 세계 식량가격을 75%까지 증가시키는 원인이 되고 있다는 주장이 제기됨
- 따라서 식량과 경합하지 않는 원료를 이용한 바이오연료의 생산이 요구되기 때문에 복합형질을 가진 GM 유채의 개발은 비식용으로 사막화 방지를 위한 녹화사업과 바이오디젤 생산을 가능하게 하는 산업화 모델이 될 수 있음

3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호	D-05
------	------

○ 제 1절. 이론적, 실험적 접근방법

1. 연구개발 추진전략·방법 및 추진체계

1) 연구개발 추진전략·방법

- GM2802의 위해성 심사서 제출 및 종자생산체계 확립
- 형질전환체(GM2802)에 형질도입을 위한 교배조합의 세대진전
 - 국내 선발라인의 세대단축 및 내건성 선발효율 증대를 위해 매 세대마다 몽골 현지재배 실시
 - 5월~9월에 걸쳐 몽골현지에서의 세대진전 수행하여 몽골현지에서의 생육조사 및 선발을 실시함. 10월에 후대 종자수확 완료 후 분자마커 분석 및 오일성분분석을 수행하여 최종선발에 활용함
 - 몽골 현지에서 수행된 세대진전과 연계하여 몽골현지 선발개체를 국내에서 가을~이듬해 봄 기간 동안 세대진전 및 종자생산
- 건조내성, 조숙계통의 고올레인산 및 고에루신산 춘,추파 유채품종 선발
 - 몽골현지의 생육조사로 건조 및 조숙 형질을 보유한 개체 선발
- 세대고정 및 특성 검정
 - 개발된 2세대 GM유채 품종의 몽골 현지적응성 시험 및 선발
 - 최종 선발계통의 몽골 현지적응성 시험, 생산력 검정 실시

연구범위	연구수행방법	구체적인 내용
○ GM 유채 (#2802)의 인체위해성 평가	<ul style="list-style-type: none"> - AtBG1 단백질 합성 및 정제 - AtBG1 단백질에 대한 단회투여 독성시험 수행 - LMO 위해성심사자료 작성 * 안정성평가를 마친 GMO품종을 이용하여 교잡종을 육성하였을 경우, 별도의 안전성 평가는 필요하지 않음 (Biosafety vol.8 No.2) 	<ul style="list-style-type: none"> - AtBG1 유전자를 PCR로 증폭시켜 pET26 벡터에 넣어 E. coli STAR(DE3) strain에 형질 도입후 IPTG- induced protein expression을 이용하여 AtBG1 단백질 생산 및 추출 - GLP인증기관(바이오톡스텍)에 대장균 유래 AtBG1 단백질의 단회투여독성시험 수행하여 AtBG1의 치사량은 2000mg/kg(OECD 407 기준)를 상회하는 것을 확인함 - GM유채의 LMO 위해성심사서 작성
○ GM 2세대 춘파형 2품종 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 형질전환체와 유용형질 보유 계통의 교배조합 작성 - 각 조합별 교배 및 세대 육성 (3개 조합) 및 형질분석에 의한 개체선발 	<ul style="list-style-type: none"> - 목표 형질 도입을 위한 교배조합 (3조합, 2802xS19, 2802xS20, 2802xS21)의 교배육종 - 교배조합 특성조사 : 생육특성, 분자마커 분석, 오일성분 분석 수행 - 개체선발, 후대채종 및 세대진전(F7, F8) - 후보라인의 원원종 증식
○ GM 2세대 추파형 1품종 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 형질전환체와 유용형질 보유 계통의 교배조합 작성 - 각 조합별 교배 및 세대 육성 (3개 	<ul style="list-style-type: none"> - 목표 형질 도입을 위한 교배조합 (3조합, DFx2802, DGx2802F2, 2802xS16) 의 교배육종 - 교배조합 특성조사 : 생육특성, 분자마커 분석, 오

	조합) 및 형질분석에 의한 개체선발	일성분 분석 수행 - 개체선발, 후대채종 및 세대진전(F3, F5) - 후보라인의 원원종 증식
○ 몽골현지 재배시험	- 각 교배조합 후보라인의 몽골현지 재배특성 조사 및 선발 - 교배조합 특성조사 : 농업형질, 생육특성, 분자마커 분석, 오일성분 분석 수행	- 분리후대의 세대진전 및 현지 재배 분석 - 몽골현지 계통 선발 및 선발 계통의 후대 확보 - 몽골현지 적합 2세대 GM유채 선발계통의 현지적응성 및 수량성 조사

2) 연구개발 추진체계

- 교배조합 작성 및 교배조합 F1 식물체의 형질조사를 국내에서 수행한 후 분리후대의 육성 및 선발을 국내와 몽골지역에서 동시에 진행하여 선발 및 세대진전 효율을 높임 (그림 8)
- 국내의 여름기간에는 유채의 생육특성을 제대로 조사할 수 없으므로 5월 ~ 10월에 걸쳐 몽골지역에서 세대진전을 수행함으로써 내건성을 보유한 개체선발이 효율적이며 후대 종자 수확이 완료되는 10월 중순에 오일성분 분석을 수행하여 개체선발에 활용함
- 몽골 현지의 세대진전 및 개체 선발, 적응성 분석은 매 세대마다 현지에 재배농장을 보유한 회사에 시험연구를 의뢰하여 수행함. 선발시 필요한 분자마커 및 오일성분 분석은 현지에서 샘플링 하여 1세부과제에서 수행하고 현지의 세대진전 및 개체선발에 적극 활용함
- 선발된 계통은 현지적응성 및 생산성 검증, 안정적인 형질 발현 분석을 수행하여 최종적으로 초고도 내건성과 고올레인산 함유 형질을 보유한 2세대 GM 유채 품종을 개발함



그림 8. 연구과제의 추진 체계

제 2절. 연구내용 및 연구결과

1. 연구내용

○ 연차별 개발목표 및 내용

구분 (연도)	세부연구목표	연구개발 수행내용
1차 년도 (2012~2013)	○ GM유채 (#2802)의 인체위해성 평가	- T2세대 GM유채와 GM벼에서 추출한 단백질로 단백질 발현양 분석 (포스텍 의뢰) - 대량 단백질 추출에 용이한 E.coli 발현 단백질 추출 방법 검토 - 대량 단백질 추출에 적합한 AtBG1 유전자 삽입 GM 작물의 선정 - AtBG1 단백질 추출 및 정제 방법 고안
	○ GM 2세대 춘파형 2품종 개발	- 건조 저항성 형질전환 유채(GM2802)의 내건성 고올레인산 형질 도입을 위한 교배후보 라인 특성 검정 - GM유채 (2802)와 우량 품종 춘파형 3종 (S19, S20, S21)의 교배조합 작성 - 교배조합 F1의 생육특성 조사 및 세대진전 - 형질전환체 및 교배 라인의 육성 및 교배 - 교배조합 특성조사 : 생육특성, 분자마커 분석, 오일성분 분석 수행 - 개체선발 및 후대채종
	○ GM 2세대 추파형 1품종 개발	- 건조 저항성 형질전환 유채(GM2802)의 내건성 고올레인산 형질 도입을 위한 교배후보 라인 특성 검정 - GM유채 (2802)와 우량 품종 춘파형 3종3종 (S16-14, 독일도입유채, 프랑스도입유채)의 교배조합 작성 - 교배조합 F1의 생육특성 조사 및 세대진전 - 형질전환체 및 교배 라인의 육성 및 교배 - 교배조합 특성조사 : 생육특성, 분자마커 분석, 오일성분 분석 수행 - 개체선발 및 후대채종
2차 년도 (2013~2014)	○ 몽골현지 재배시험을 통한 계통 선발 및 현지 적응성 조사	- 분리후대의 세대진전 및 현지 재배 분석 - 몽골현지 계통 선발 및 선발 계통의 후대 확보
	○ GM유채 (#2802)의 인체위해성 평가	- 1년차에 확립된 GM작물 선정 (AtBG1 유전자 도입 벼) 및 단백질 추출 방법 (Anti-HA resin을 이용한 affinity purification)에 이용할 AtBG1 도입 벼의 대량 증식 - GM유채 이벤트의 일반영양성분 분석 - 발현단백질의 서열분석을 통한 알레르기유발 유무 평가
	○ GM 2세대 춘파형 2품종 개발	- 교배조합 F3~F5의 생육특성 조사 및 세대진전 - 형질전환체 및 교배 라인의 육성 및 교배 - 교배조합 특성조사 : 생육특성, 분자마커 분석, 오일성분 분석 수행 - 개체선발 및 후대채종

	○ GM 2세대 추파형 1품종 개발	- 교배조합 F1의 생육특성 조사 및 세대진전 - 형질전환체 및 교배 라인의 육성 및 교배 - 교배조합 특성조사 : 생육특성, 분자마커 분석, 오일성분 분석 수행 - 개체선발 및 후대채종
	○ 몽골현지 재배시험을 통한 계통 선발 및 현지 적응성 조사	- 분리후대의 세대진전 및 현지 재배 분석 - 몽골현지 계통 선발 및 선발 계통의 후대 확보
3차 년도 (2014~2015)	○ GM유채 (#2802)의 인체위해성 평가	- 1년차에 확립된 단백질 추출 방법 (Anti-HA resin을 이용한 affinity purification)의 재검증 및 개선점 모색 - GLP인증기관(바이오톡스텍)과 형질도입 단백질 atBG1의 단회투여독성평가 계약 체결
	○ GM 2세대 춘파형 2품종 개발	- 목표 형질 도입을 위한 교배조합 (3조합, 2802xS19, 2802xS20, 2802xS21)의 교배육종 - 교배조합 특성조사 : 생육특성, 분자마커 분석, 오일성분 분석 수행 - 개체선발, 후대채종 및 세대진전(F6, F7)
	○ GM 2세대 추파형 1품종 개발	- 목표 형질 도입을 위한 교배조합 (3조합, DFx2802, DGx2802F2, 2802xS16)의 교배육종 - 교배조합 특성조사 : 생육특성, 분자마커 분석, 오일성분 분석 수행 - 개체선발, 후대채종 및 세대진전(F3, F5)
	○ 몽골현지 재배시험을 통한 계통 선발 및 현지 적응성 조사	- 분리후대의 세대진전 및 현지 재배 분석 - 몽골현지 계통 선발 및 선발 계통의 후대 확보
4차 년도 (2015~2016)	○ GM유채 (#2802)의 인체위해성 평가	- 대장균유래 AtBG1 단백질 합성 및 정제 - AtBG1 단백질에 대한 단회투여 독성시험 수행 완료 및 논문투고 - LMO 위해성심사자료 작성
	○ GM 2세대 춘파형 2품종 개발	- 5개 교배조합으로부터 F6~F7 62라인 세대진전 - 후대의 농업형질 분석 및 개체선발 - 지방산분석, GM마커 및 RAPD 분석으로 최종 7라인 선발 : 고올레인산 3계통, 고에루신산 4계통 - 우선선발 3계통의 몽골현지재배시험 수행
	○ GM 2세대 추파형 1품종 개발	- 3개 교배조합으로부터 F5 49라인, F3 81라인 세대진전 - 후대의 농업형질 분석 및 개체선발 - GM마커 분석으로 총 65라인 선발 육성 - 고올레인산 춘파 11라인 분리 - 지방산분석으로 9라인 선발 : 고올레인산 3계통, 고에루신산 6계통

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 분리후대의 세대진전, 몽골현지 선발 및 현지 적응성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - F6~F7 8라인의 후대 15라인 몽골현지 세대진전 - 후대의 농업형질 분석 및 개체선발 - 추파계통 육성중에 분리된 고올레인산 춘파 F5 11라인의 후대 54라인 몽골현지 세대진전 - 몽골 현지 재배특성조사 및 후대 종자 확보
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 몽골현지 적합 2세대 GM유채 선발계통의 현지적응성 및 수량성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 교배조합의 세대진전시 매회 몽골 현지 육성 및 개체선발을 수행함 - 춘파유채 우선선발 3계통(D194, D195, D196)의 몽골현지재배시험 수행
5차 년도 (2016~ 2017)	<ul style="list-style-type: none"> ○ GM유채 (#2802)의 인체위해성 평가 	<ul style="list-style-type: none"> - GM2802의 위해성 평가 - GM2802 및 2세대 유채품종의 생산체계 확립
	<ul style="list-style-type: none"> ○ GM 2세대 춘파형 2품종 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 목표 형질 도입을 위한 교배조합별 후대 육성, F8 세대진전 및 후대 종자수확 (선발 16계통) - 후대의 농업형질 분석(UPOV) 및 개체선발, 선발라인의 MS 육성을 위한 교배조합 작성 - 오일성분 분석 및 분자마커 분석 등으로 도입 목표형질 분석 - 적응성시험 평가 실시
	<ul style="list-style-type: none"> ○ GM 2세대 추파형 1품종 개발 	<ul style="list-style-type: none"> - 목표 형질 도입을 위한 교배조합별 후대 육성, F6 세대진전 및 후대 종자수확 (선발 9계통) - 후대의 농업형질 분석(UPOV) 및 개체선발, 선발라인의 MS 육성을 위한 교배조합 작성 - 오일성분 분석 및 분자마커 분석 등으로 도입 목표 형질 분석 - 적응성시험 평가 수행
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 분리후대의 세대진전, 몽골현지 선발 및 현지 적응성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 목표 형질 도입을 위한 교배조합별 후대 육성, F9 세대진전 및 후대 종자수확 - 후대의 농업형질 분석(UPOV) 및 개체선발 - 오일성분 분석 및 분자마커 분석 등으로 도입 목표형질 분석 - 선발 16계통, 대조구 7계통의 적응성시험 평가 수행
	<ul style="list-style-type: none"> ○ 몽골현지 적합 2세대 GM유채 선발계통의 현지적응성 및 수량성 조사 	<ul style="list-style-type: none"> - 몽골 재배포의 토양 및 기온 조사 - 교배조합의 세대진전시 매회 몽골 현지 육성 및 개체선발을 수행함 - 최종선발계통의 현지적응성 및 수량성 조사

2. 연구수행 결과

1) AtBG1 유전자 도입 식물체의 인체위해성 평가

가) 1년차(2013) 연구수행 결과

- 본사의 보유 AtBG1 유전자 삽입 형질전환 식물체인 GM유채와 GM벼에 대한 단백질 발현량을 포스텍에 의뢰하여 분석한 결과 GM유채 10개체와 GM벼 T2세대 2개 라인에서 AtBG1 발현이 확인되었음 (그림 9)

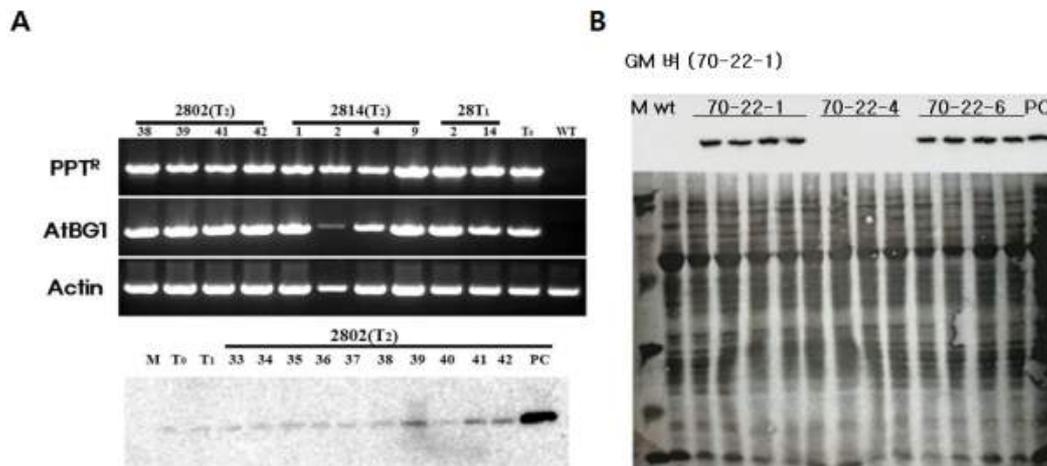


그림 9. T2세대 GM 유채와 GM 벼에서의 AtBG1 단백질 발현 양 분석. (A) GM유채의 RT-PCR 분석(위)과 western blot 분석(아래). (B) GM벼 3개 라인 각 4개체에 대한 AtBG1 단백질 발현 분석. M;protein marker, PC;positive control.

- 대량 단백질 추출에 용이한 *E.coli* 발현 단백질 추출 방법 검토
 - *E.coli* 상에서 단백질을 발현시키는 발현 벡터로 알려진 pET28b, pET28c 벡터를 사용하여 AtBG1 유전자를 클로닝 하였고 (그림 10) IPTG로 유도되는 단백질 발현을 온도 (27°C, 30°C, 37°C) 및 IPTG 첨가 후 배양 시간(0h, 4h, o/n)에 따라 분석하였음 (그림 11)
 - IPTG 유도 AtBG1 단백질 발현 분석을 수행한 결과, 단백질 발현양이 일반적으로 기대 하였던 *E.coli* 단백질 발현에 비하여 상당히 낮은 발현이 관찰되었음 (그림 11)

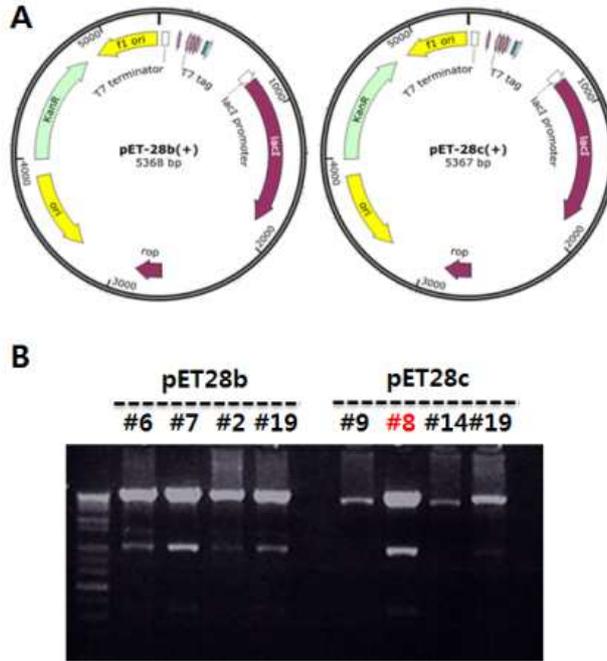


그림 10. *E.coli* 단백질 발현을 위한 AtBG1 유전자 클로닝. (A) *E.coli* 상 단백질 발현을 유도하는 시스템을 가지고 있는 pET28b와 pET28c 벡터사용. (B) pET28b, pET28c 벡터로 AtBG1 유전자 삽입 후 제한 효소로 자른 후 1.2% agarose gel에서 확인.

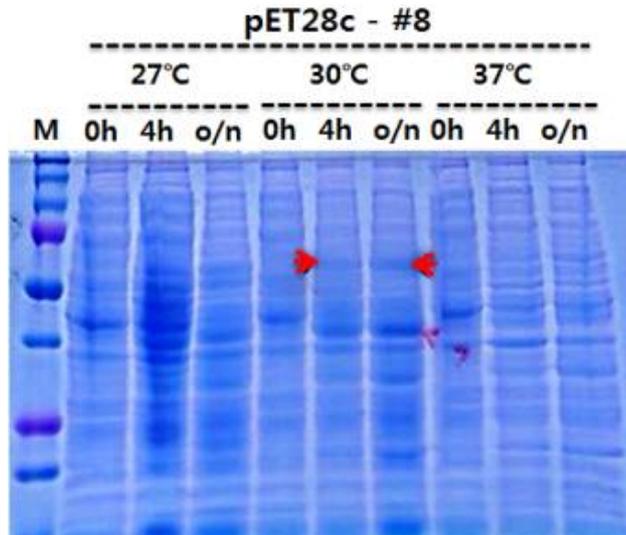


그림 11. *E.coli* AtBG1 단백질 IPTG 유도 조건 분석. *E.coli* 단백질 발현을 유도하고자 BL21로 형질전환 시킨 pET28c-#8 벡터에서 AtBG1 단백질 발현의 최적 상태를 테스트 하고자 27°C, 30°C, 37°C 등 3가지 온도조건과 IPTG 첨가 후 시간 0h, 4h, o/n에 따른 단백질 발현을 분석하였음. 화살표, 빨강색;예상 되어지는 AtBG1 단백질 발현.

- 위와 같이 형질전환 식물체와 *E.coli*, 즉 대장균에서의 단백질이 같은 작용을 하는지에

대한 동등성 실험이 추가 되므로, 그에 따른 비용과 많은 시간이 필요로 하므로 *E.coli* 발현 AtBG1 단백질 대신 식물체 조직(잎)에서 AtBG1 단백질을 추출 및 정제 하는 방법을 수행하기로 함

○ 대량 단백질 추출을 위한 효율적인 형질전환식물체 선정

- 형질전환 유채와 벼에서 추출한 Total protein에서 AtBG1 단백질 밴드를 시각적으로 확인하기 위하여 Large size 18x16cm gel(hoefer,SE400 Air-Cooled Vertical Electrophoresis Unit)을 이용하여 SDS-PAGE 분석을 수행함 (그림 12)
- 유채의 경우 WT유채에 비하여 많은 양이 증가된 밴드가 GM 유채에서 관찰되었음(그림 12, 검정색 화살표)

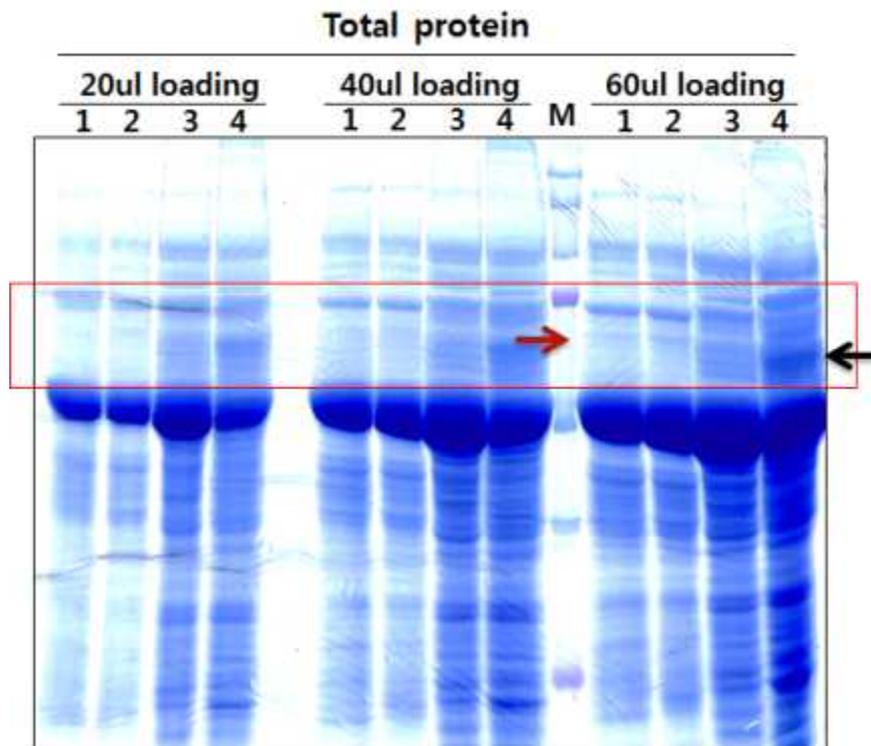


그림 12. 형질전환 유채와 벼의 AtBG1 단백질 확인을 위한 SDS-PAGE gel 분석. 많은 볼륨을 적용할 수 있는 Large size gel에서 AtBG1 단백질 사이즈를 찾고자 함. 1;WT 벼, 2;GM 벼, 3;WT 유채, 4;GM 유채. 화살표, 빨강색;GM벼의 AtBG1 단백질이라 예상되는 밴드, 검정색;GM유채의 AtBG1 단백질이라 예상되는 밴드. 빨간 네모는 AtBG1 단백질 발현이 나타나는 50-75kDa 부분을 표시함

○ T4세대 GM유채와 T3세대 GM 벼에 대한 AtBG1 단백질 발현 비교 분석

- 단백질 발현 분석을 위한 western blot 프로토콜 작성 : BCA assay 정량한 단백질에 4XSDS loading buffer(200mM,Tris-cl pH6.8, 8%SDS, 0.4%bromophenol blue,

20%Glycerol, 20mM DTT)를 첨가하여 샘플을 준비 함

- 각 샘플을 SDS-PAGE gel에 loading 후, stacking gel에서 80V에 40분, seperating gel에서 120V, 1시간 30분간 전기영동 한 다음, PVDF membrane을 gel 사이즈만큼 잘라서 100% methanol에 5분간 shaking 후, 1xtransfer buffer(25mM Tris, 190mM glycine, 20% MeOH)에 10분간 shaking. 전기영동이 끝난 gel 도 1xtransfer buffer에 10분 shaking 시킴
- 준비된 membrane과 gel은 TE70 ECL semi-dry transfer unit(Amersham)을 30V로 2시간동안 gel에서 membrane으로 단백질을 transfer 시킴
- Membrane으로 단백질이 잘 transfer 되었는지 0.1% PonceauS(in 5% acetic acid) 용액으로 염색 후 확인한 다음, Blocking buffer(5% skim milk in 1XTBS-T; 150 mM NaCl, 50 mM Tris-Cl(pH 8.0), 0.1% Tween20)에 상온에서 2시간 또는 4℃, 24시간동안 shaking 시킴
- Blocking 후, primary antibody(Monoclonal Anti-HA, sigma)를 상온에서 2시간동안 shaking 시키고, 1xTBS-T buffer로 10분간 3회 반복으로 membrane을 세척하고, secondary antibody(Anti-mouse IgG Peroxidase conjugatie, sigma)를 상온에서 1시간 반 동안 binding 시킨 후, 1xTBS-T buffer로 10분간 3회 반복 세척 함
- Antibody binding 한 memembrane은 substrate(Supersignal West Femto Trial Kit, Thermo)로 형광발현을 유도 한 다음, membrane을 필름 노출 카세트에 고정 한 채로 암실에서 x-ray 필름으로 단백질 발현에 따른 형광부분을 노출시킴

○ Western blot 분석

- 형질전환체 세대 진전에 따른 단백질 발현의 안정성 및 지속성에 대한 검증을 위하여 앞선 SDS-PAGE 분석으로 확인된 T4세대 GM유채와, T3세대 GM 버의 total protein을 이용하여 단백질 발현 분석을 수행함 (그림 13, 14)
- 정량적 단백질 발현 분석을 위하여 추출 total protein의 일정량을 실험에 사용 하고자 BCA protein assay kit(Thermo) 제품을 사용하여 단백질 정량을 측정 후 정량된 단백질 각 50ug으로 정량 후 분석 함 (그림 13)
- 단백질 발현을 보기 위한 western blot 분석 결과 GM 버에서 강한 AtBG1 단백질 발현이 관찰되었고(그림 14A), 유채의 경우 GM 버와 다르게 발현이 관찰되지 않았으며, x-ray 필름을 오래 노출한 경우에도 GM 유채에서 AtBG1 단백질 발현을 관찰 할 수 없었음(그림 14B)

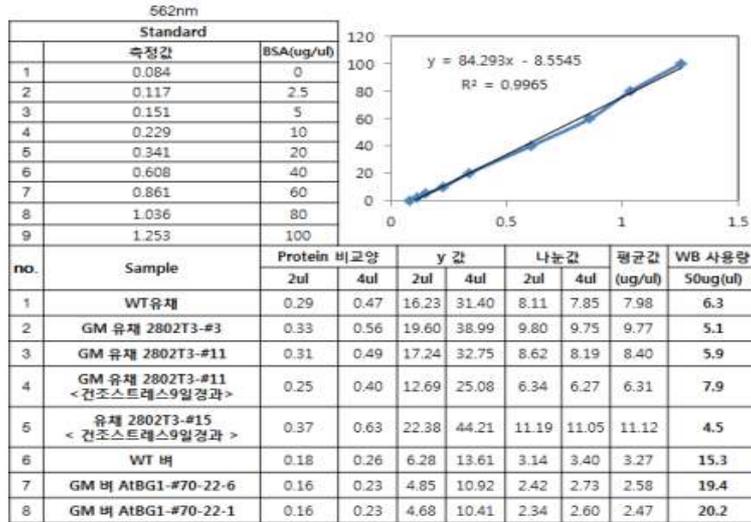


그림 13. 추출 total protein에 대한 단백질 정량. 추출 단백질 샘플 8개에 대한 단백질 양을 BCA protein assay kit (Thermo) 이용하여 정량. standard 샘플에 대한 수치 값을 오른쪽 그래프에서 R-제곱값을 얻어 샘플 측정값에 적용 후 계산하여 정량함.

- AtBG1 삼입 유채 (#2802)와 벼 (70-22-1)에서 대량 단백질 추출에 적합한 식물체를 선정하기 위하여 western blot 분석을 수행한 결과 GM 벼에서 강한 AtBG1 단백질 발현이 관찰되었고(그림 14A), 유채의 경우 GM 벼와 다르게 발현이 관찰되지 않았으며, x-ray 필름을 오래 노출한 경우에도 GM 유채에서 AtBG1 단백질 발현을 관찰할 수 없었음(그림 14B)

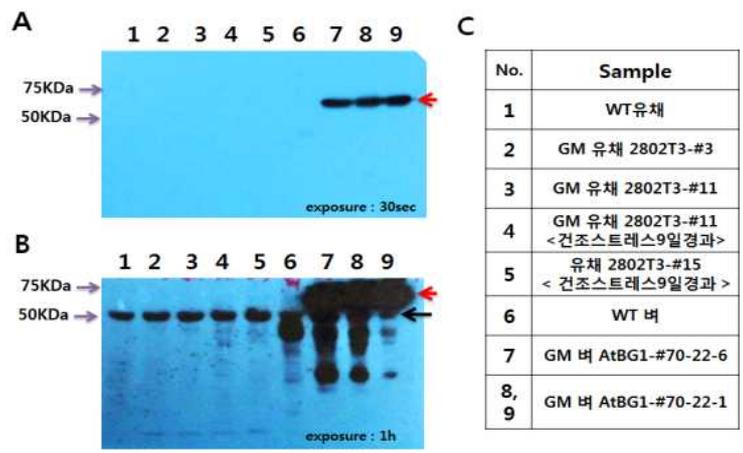


그림 14. 형질전환 유채와 벼에서 AtBG1 단백질 발현 분석. western blot으로 AtBG1 단백질 분석결과. (A) 필름 노출 30초 후 관찰된 AtBG1 단백질 발현. (B) 필름 노출 1시간 경과 후 관찰된 AtBG1 단백질 발현. (C) A, B의 각 well에 대한 샘플명칭설명. 화살표, 빨강; AtBG1 단백질, 검정; 루비스코 단백질

- Western blot 실험 결과 동일양의 단백질 상태에서 GM유채 와 GM벼에서의 단백질 발현이 GM벼에서만 관찰 되었고, 이것은 유전자의 전사과정 중 primary RNA가 mRNA로 바뀌는 과정에서 일어나는 alternative splicing에 의한 mRNA 일부의 손실에 따른 영향으로 예측되어짐(그림 15)

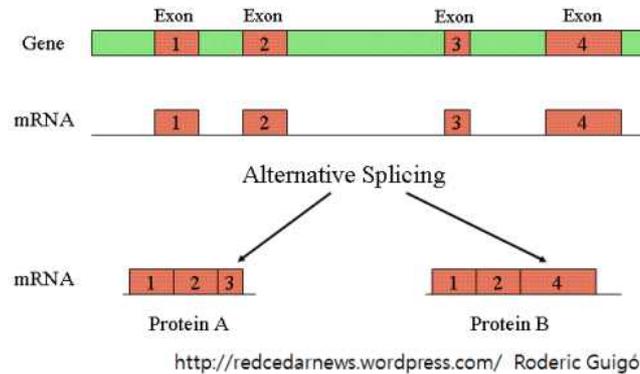


그림 15. Alternative splicing 과정 모식도

- 유채에 삽입된 AtBG1 유전자 뒤쪽에 붙은 HA tag 유전자가 이러한 splicing 과정에서 손실 되어 western blot 분석 시 HA tag으로 AtBG1 단백질의 발현이 잡히지 않았을 가능성이 있다고 보고, 인체위해성 평가를 위한 AtBG1 단백질의 대량 추출은 T3세대에서도 western blot 분석시 높은 발현이 확인된 GM벼에서 AtBG1 단백질을 추출하기로 하였음
- 대량 단백질 추출에 적합한 단백질 정제 방법을 확립하기 위하여 Electro-Eluter unit (E-E unit)와 Anti-HA resin을 이용한 affinity purification를 비교한 결과 E-E unit을 이용한 단백질 추출은 단백질 양적 손실도가 크기 때문에 대량 추출을 목적으로 하는 식물 조직 단백질 추출에 적용하기 부적합하여 Anti-HA resin을 이용한 affinity purification 단백질 추출 방법이 단백질 추출시 시간적 손실을 줄이고, 효율적으로 AtBG1 단백질을 정제 하는데 용의할 것으로 판단되었음 (그림 16)
- 전기영동으로 얻은 elute를 SDS-PAGE 분석으로 확인 하였더니, GM벼와 GM유채의 total protein과 E-E unit 추출 elute의 양을 비교 한 결과 total protein에 비해 단백질 양 손실이 매우 큰 것을 확인 할 수 있었음 (그림 17A)
- E-E unit 추출 elute의 단백질 양 손실은 루비스코 단백질 밴드 잘라 E-E unit 추출한 경우에서도 많은 양의 루비스코양이 E-E unit을 통해 추출시 양이 매우감소 한 것을 식별 할 수 있었음(그림 17B)
- 따라서, E-E unit을 이용한 단백질 추출은 단백질 양적손실도가 크기 때문에 대량추출을 목적으로 하는 식물 조직 단백질 추출에 적용하기 부적합함을 확임 함

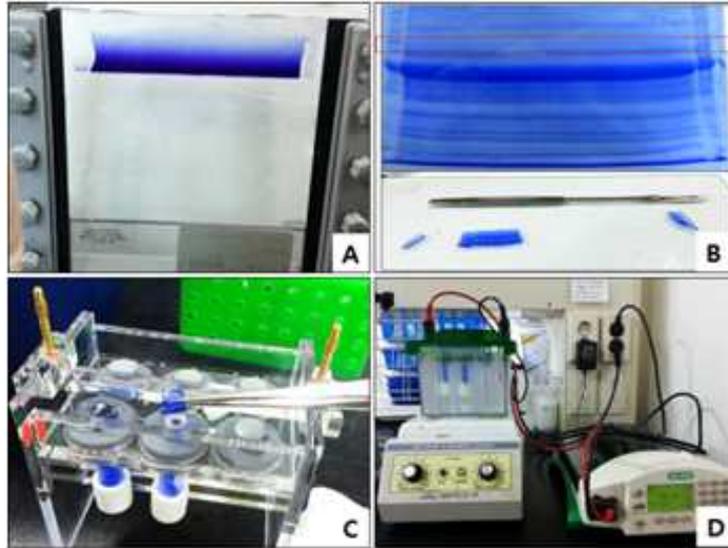


그림 16. Electro-eluter unit 사용한 단백질 추출 방법. A, Large size SDS-PAGE gel에서 추출 total protein의 전기영동. B, SDS-PAGE gel에서 원하는 단백질 사이즈 밴드를 잘라냄. C, electro-eluter gel 탱크에 잘라낸 gel을 buffer와 함께 적용시킴. D, electro-eluter 전기영동, 10mA 3h.

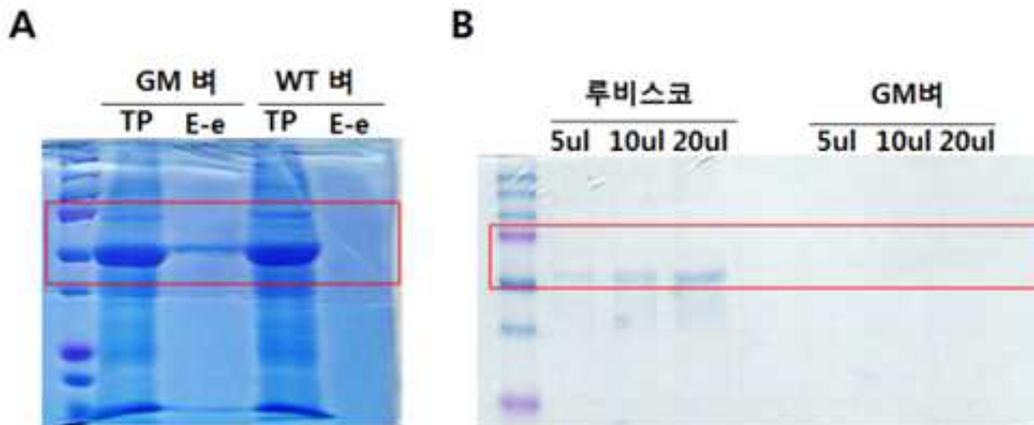


그림 17. Electro-eluter unit으로 추출한 단백질 검정. A, GM 버와 WT 버에서 E-E unit에서 추출한 단백질양 관찰, TP;GM버의 total protein, E-e; E-E unit으로 추출한 단백질. B, E-E unit 추출 단백질의 양적 효율을 보기 위한 루비스코 단백질과 GM버의 단백질 추출 비교. 빨강색 네모; 50-75KDa

- Anti-HA resin을 이용한 affinity purification은 GM 버 5g의 식물 잎 조직을 갈아 10ml의 total protein을 추출 하여 사용 하였고, Anti-HA resin으로 정제된 단백질은 SDS-PAGE 분석으로 확인하여 AtBG1 단백질 사이즈인 66kDa 부근에서 뚜렷한 밴드가 관찰 되었고, 그 외에 37KDa 과 25KDa에서도 밴드가 관찰되었음(그림 18, 19)

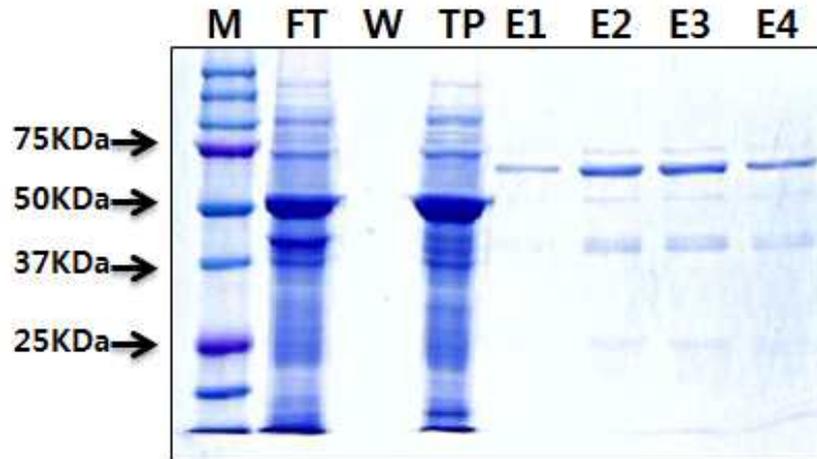


그림 18. Anti-HA resin을 이용한 AtBG1 단백질 정제. **M**, Size marker; **FT**, Flow-through (protein extract); **W**, Wash - fraction; **TP**, 벼 AtBG1 total protein - control **E1-E4**, Elution fraction (total vol. 약700ul), **E4**, o/n

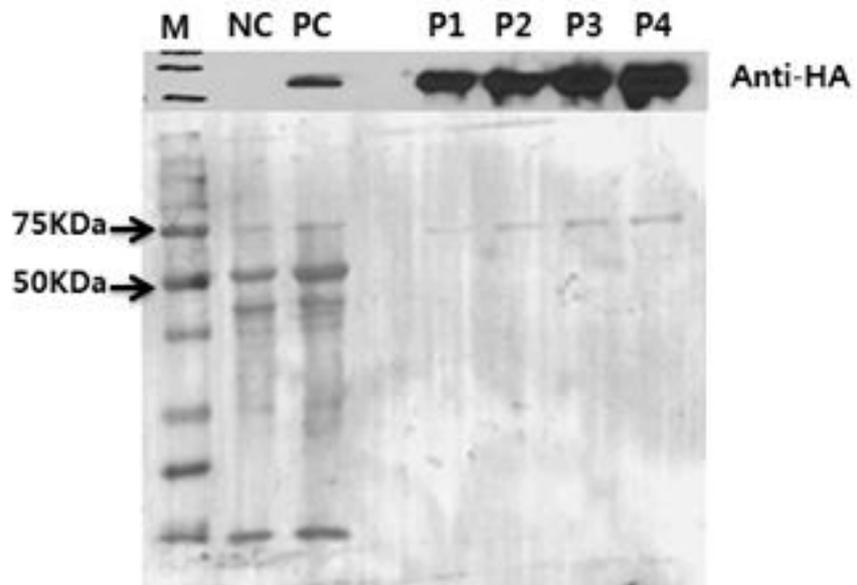


그림 19. Anti-HA resin 으로 정제된 단백질 발현 분석. **M**, Size marker; **NC**, negative control 동진벼 **PC**, positive control 벼 AtBG1 total protein **P1-P4**, AtBG1 elution fraction 1ug, 2ug, 3ug, 5ug

- 식물 조직에서 total protein을 추출 하여 인체 위해성 평가를 위한 대량 AtBG1 단백질을 정제하기 위하여, 많은 GM 벼 식물체를 증식을 위해 1차 육묘하였음 (그림 20)



그림 20. 대량 생육중인 GM 벼.

나) 2년차(2014) 연구수행 결과

- 1년차에 AtBG1 단백질 추출 및 정제 방법에 대한 프로토콜이 확립되었고, 식물 조직에서 total protein을 추출 하여 인체 위해성 평가를 위해서는 다량의 식물 조직이 필요함. 대량으로 AtBG1 단백질을 정제하기 위하여 많은 GM 벼 식물체를 증식하였음
- 인체위해성 평가를 위한 독성실험에 필요한 단백질 양은, Rat 암수 5마리 4개군 총 20마리에 대한 실험을 수행할 경우 최소 2000mg의 단백질 양이 필요함
- AtBG1 형질전환 벼 식물체가 대량으로 필요 하므로 기존에 보유한 종자를 대량으로 발아 시켜 후세대 종자 확보 및 식물 조직을 확보 하고 있음
- 자사 보유중인 GM벼를 확인한 결과 170g 정도의 종자를 확보하고 있으며, 이것을 증식하기 위하여 최아시킨 후 파종하여 육묘하였으며 (그림 21, 22), 논흙으로 이용하여 큰 포트에 정식하고, 타 작물과 격리하여 재배하며 교배망을 씌워 오염을 방지하였음 (그림 23)

AtBG1 형질전환 벼의 종자 확보상태



종자명	종자량(g)	보관상자 no.
11-8-1	7.3	09-13
70-3-5(2009)	4.2	09-28
70-3-5	10.1	09-14
70-22-1	6	09-15
70-23-17(2009)	3.5	09-24
70-23-17	70	09-24
70-23-2(2009)	3.76	09-23
70-23-2	35.9	09-23
70-24-2(2009)	5.2	09-25
70-25-1(2009)	8.25	09-28
70-25-8	8.7	09-28
70-25-16	8	09-28

다량의 종자를 페트리디쉬상에서 최아시킴

그림 21. 대량 증식을 위해 최아중인 종자와 종자목록



그림 22. 발아 후 육묘중인 GM 벼



그림 23. 큰 포트에서 육성중인 GM 벼

- 일부 수확한 종자는 건조하여 보관 계획임 (그림 24)



그림 24. 일부 수확하여 건조중인 AtBG1 유전자 도입 벼 종자

- **AtBG1 형질 전환된 벼 분석 결과**

- 분석개요 : FnP로 11라인, 각 20 sibilngs에 대한 종자를 받음 (segregation population 을 대상으로한 수분 손실 실험 결과를 기초로 하여 선별하였음. 일부는 쪽정이로 종자 확보가 용이하지 않은 라인도 있었음.)
- Hygromycin 배지에 심어 선별 작업을 시도함- 표현형이 leaky하여 wt이 만남. 표현형 별로 PCR을 5개체씩 HPT 유전자를 대상으로 PCR실시한 결과를 바탕으로 호모라인과 야생형을 추정 선별하였음 (그림 25, 26, 27, 28)
- 확실한 결과 도출을 위해 선별된 라인별로 10개체씩 더 심어 HPT에 대한 PCR을 재 실시하고, 동일한 배지에서 자란 개체 4개를 무작위 선별하여 단백질 발현을 확인하였음
- PCR과 단백질 발현 실험을 근거로 7개 독립적 라인에서 최소 1개의 호모와 야생형을 확보하였음

표 1. AtBG1 형질전환 벼의 단백질 발현 실험 결과 (Transgenic(BG1)라인 #70-1)

#	Line No.	남은 종자 수
1	70-1	*70-1-1=7립 *70-1-2=8립 *70-1-10=11립
2	70-3	*70-3-5=10립 *70-3-9=35립
3	70-22	*70-22-1=25립 *70-22-4=48립 *70-22-6=5립
4	70-23	*70-23-2=30립 *70-23-12=33립 *70-23-17=25립
5	70-24	*70-24-2=11립 *70-24-15=11립
6	70-25	*70-25-1=24립 *70-25-8=13립 *70-25-15=9립 *70-25-16=4립
7	11-8	*11-8-1=50립 *11-8-18=12립

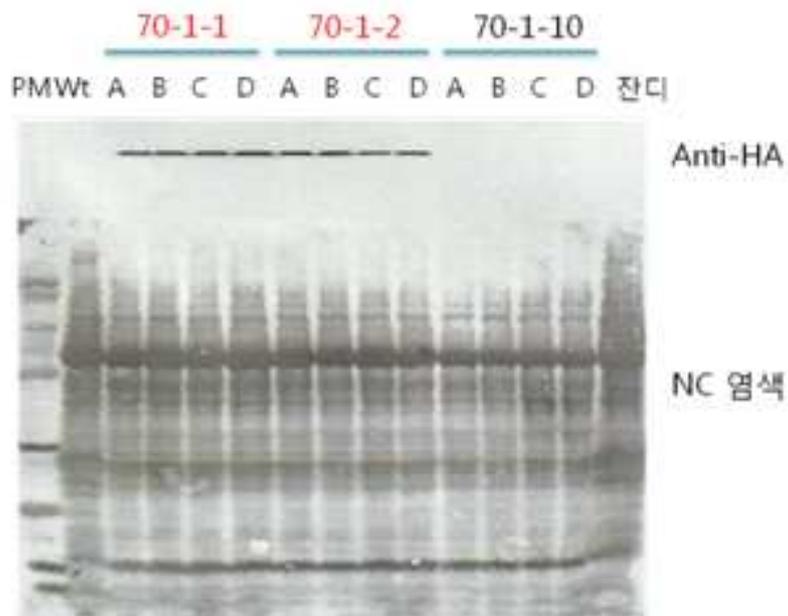


그림 25. Hyg-PCR 결과 후 Homo와 wild type으로 추정되는 3개의 plate, 각 4개의 sample 실험

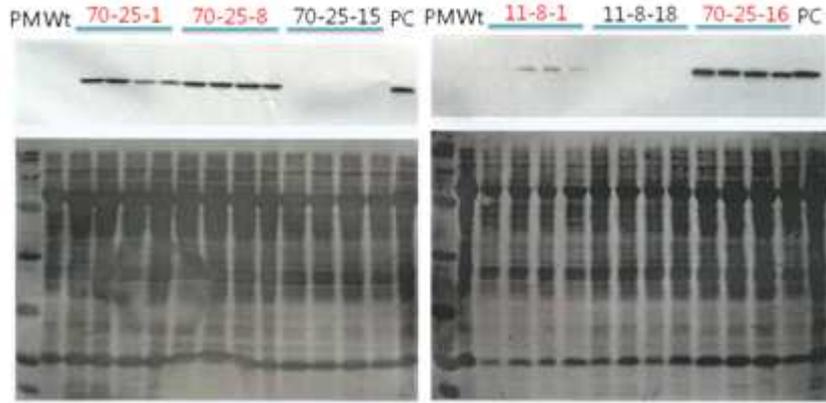


그림 26. #70-25,#11-8 라인 Western: anti-HA(rat). Hyg-PCR 결과 Homo 70-25-1,8,16 11-8-1와 wild type 70-25-15, 11-8-18로 추정

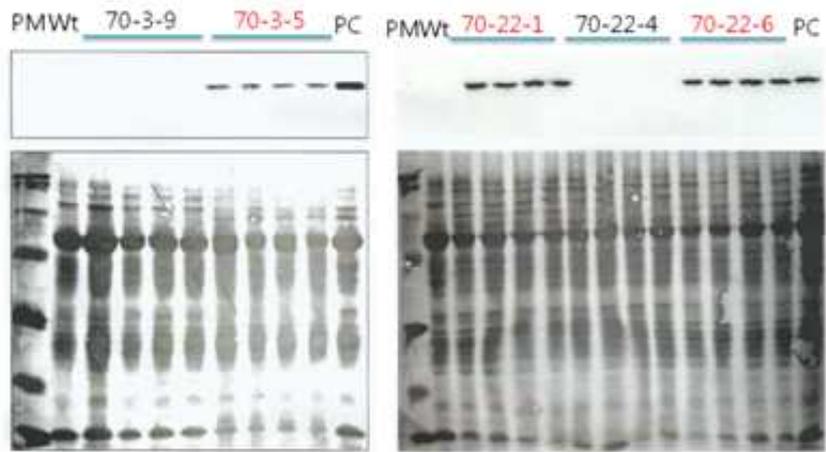


그림 27. Hyg-PCR 결과 Homo 70-3-5, 70-22-1,6 wild type 70-3-9, 70-22-4로 추정되는 plate 중 각각 4개의 sample

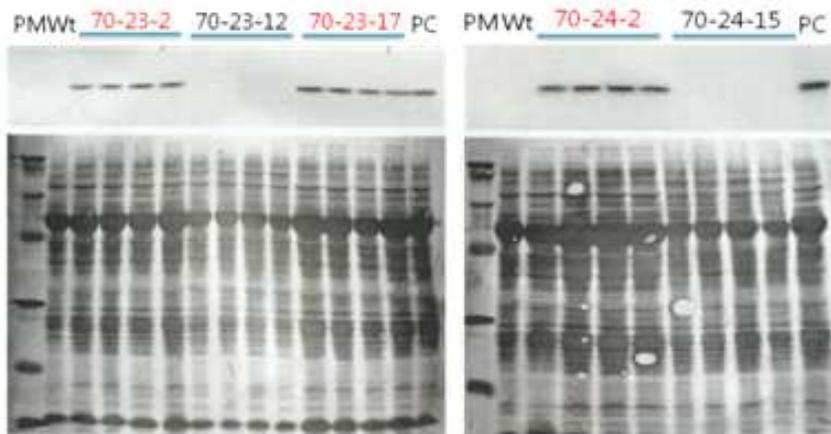


그림 28. Hyg-PCR 결과 후 Homo 70-23-2,17 70-24-2와 wild type 70-23-12, 70-24-15로 추정

- AtBG1 유전자도입 이벤트 #2802와 대조구인 일반유채의 일반영양성분 분석을 위하여 종자를 준비하였으며, 몽골에서 육성중인 유전자 도입 후 세대의 일반영양 평가를 우선 수행하였음 (표 2)

표 2. 몽골 생산 유채의 일반영양 평가

시험항목	단위	결과	비고
납	(mg/kg)	0.001	
비소	(mg/kg)	불검출	
벤조피렌	(mg/kg)	0.3	
산가		0.43	
요오드가		116	
열량	(kcal/100 g)	899.02	
탄수화물	(g/100 g)	0.01	
당류	(g/100 g)	0	
단백질	(g/100 g)	0.06	
지방	(g/100 g)	99.86	
포화지방	(g/100 g)	6.30	
트랜스지방	(g/100 g)	0.08	
플라스타롤	(mg/100 g)	불검출	
나트륨	(mg/100 g)	불검출	
총 안토시아닌	(mg/100 g)	불검출	

비고: 1. 위 관장은 의뢰된 시험-검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
 2. 이 시험성적서는 의뢰자가 제시한 재품 및 재품량으로 시험한 결과로서 전체재품에 대한 품질을 보증하지 않습니다.
 3. 이 시험성적서는 당 센터의 사전 서면 동의 없이 홍보, 선전, 광고 및 소송용으로 사용될 수 없으며, 무단 이외의 사용을 금합니다.

- 도입유전자의 독성 및 알러지 검정
 - LMO법 통합고시안 제3-1조 3항에 따라 본 형질전환에 사용한 벡터에 포함된 Kanamycin 유전자 및 *Agrobacterium* 숙주 벡터는 승인 제외대상 유전자에 해당
 - 따라서 이들 유전자를 제외한 나머지 벡터 구성요소에 대한 allergen DB 검색을 실시하였음
 - 유채 EVENT (Event #; FnPBnTg2802)의 독성 및 allergy 검정을 위해 형질전환에 사용된 벡터 유전자 origin을 3개의 allergen database를 검색하였음
 - Allergen DB 검색 결과, 유채 EVENT에 사용된 유전자 (Phosphinothricin, PPT; AtBG1)는 인체 독성 또는 allergy를 유발하는 인자가 포함되지 않은 것으로 확인되었음

다) 3년차(2015) 연구수행 결과

- 1년차에 AtBG1 단백질 추출 및 정제 방법에 대한 프로토콜이 확립되었으나 추출가능한 단백질의 농도가 낮아 독성평가에 필요한 최소 단백질 양인 2000mg의 AtBG1 단백질을 정제하기 위해서는 GM 벼 식물체가 50kg 이상 필요로 하였음. 기존의 보유한 종자를 대량 발아 시켜 후세대 종자 확보 및 식물 조직을 -70도에 급속냉동 보관하고 있으나, 벼의 후대 종자 확보까지의 생육기간이 120 - 180일로 시간적 소모가 많고, 환경적, 공간적 제약이 있어 단백질을 좀 더 높은 농도로 뽑기 위한 실험 방법을 개선하고자 하였음

- 1차년도에 확립된 단백질 추출 방법에서는 최아상태의 벼를 파종하여, 2주내의 어린육묘를 가지고 단백질을 추출하였으나, 많은 양의 식물체를 확보하기에 제약이 있어 보유하고 있는 AtGBG1의 벼 종자 중 100g을 파종하고 5개의 모판에서 육묘중임. 주기적으로 어린잎을 수확하여 액체질소를 이용한 초저온급속냉동(-70℃)으로 보관하고, 식물체는 지속적으로 성장할 수 있도록 관리함 (그림 29)



그림 29. 육묘중인 AtBG1 형질도입벼 (파종 후 8주차)

- 벼의 경우, 잎이 성장함에 따라 목질화 현상이 일어나 단백질 추출이 잘 안되는 것으로 알려져 있었고 기존 프로토콜에서는 파종후 2~3주 정도 자란 어린육묘 전체를 수확하여 단백질을 추출하였음. 이에 목질화가 진행되지 않은 잎을 더 많이 지속적으로 확보하고자, 육묘의 뿌리는 건들지 않고 어린잎만을 수확하여 -70℃에 보관하였음. 어린잎에서 AtBG1 단백질 발현 실험을 진행하였고, 정상적으로 발현되고 있음을 확인하였음 (그림 30, 31)

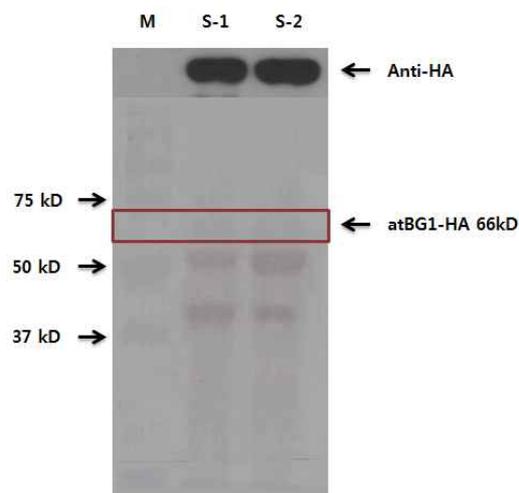


그림 30. Anti-HA을 이용한 GM 벼에서의 atBG1 단백질 확인 **M**, Size marker; **S-1,2**, 파종 후 6주차의 벼에서 채취한 어린잎



그림 31. atBG1 단백질 추출 GM 벼의 샘플 잎이 새로 올라오는 어린잎을 채취(빨간색)

- 단백질 추출 및 정제 방법을 재검증하기 위해 GM 벼의 잎 1.8g과 형질도입 전 식물체인 동진벼 0.5g을 각각 초저온냉동상태에서 막자사발로 갈아 분말로 만들었고, extraction buffer (50mM Tris-cl ph 8.0, 250mM Sucrose, 2mM DTT (dithiothreitol), 2mM EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)와 proteinase inhibitor (1mM PMSF (Phenylmethylsulfonyl fluoride), 3ug/ml Pepstatin, 5ug/ml Aprotinin, 3ug/ml Leupeptin)를 첨가하여 Total protein (GM 벼 2ml, 동진벼 0.4ml)을 추출하였음. 이 total protein을 가지고 HA affinity matrix (Roche)를 이용하여 column purification을 진행하였음
- GM 벼에서 추출한 total protein 2ml 중 0.6ml 단백질 정제에 사용하였고, HA-Peptide(1mg/ml)를 각 회에 0.2ml씩 넣은 후, 37°C에서 15분간 배양 후 elution을 진행하였음. elution되어 나온 fraction 용액 중 2~5회에서 atBG1-HA 단백질이 검출됨을 X-ray film 현상으로 확인하였음 (그림 32)

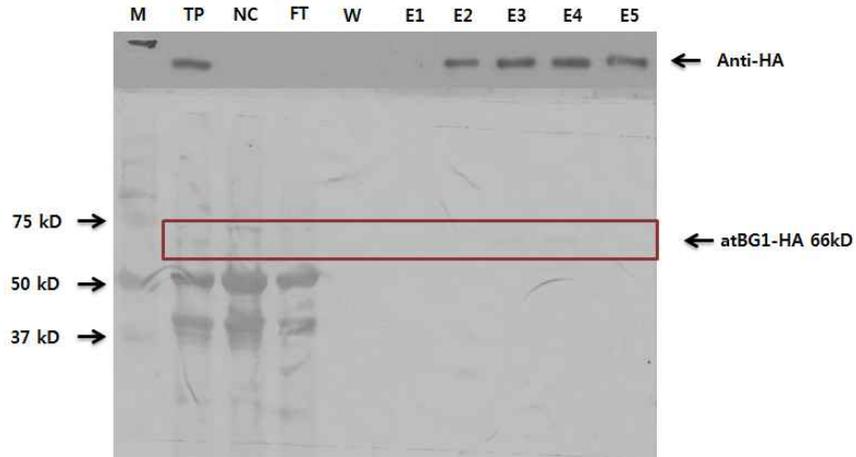


그림 32. Total protein에서 HA-affinity matrix를 이용한 정제 후 atBG1 단백질 확인 **M**, Size marker; **TP**, atBG1 형질도입 배 Total Protein **NC**, negative control 동진배 **FT**, Flow-through (protein extract); **W**, Wash - fraction **E1-E5**, Elution fraction(total vol. 약780ul)

- elution 용액에 추출량은 회차에 따라 차이를 보였으며 첫 회에는 120ul, 2회, 3회에는 150ul, 4회, 5회에는 180ul가 추출되었음. 이를 가지고 BCA protein assay kit (Thermo) 를 가지고 BSA(bovine serum albumin)로 standard curve를 작성하여 단백질 함량을 측정해 보았음(그림 33)

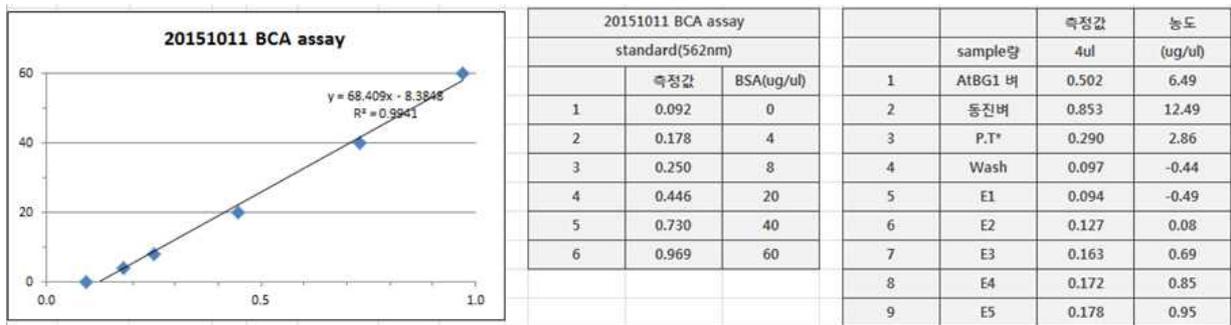


그림 33. HA - affinity matrix를 이용한 elution 용액의 단백질 농도측정

- 각 회에 elution 용액의 양과 단백질 농도를 계산해 보았을 때, 2~5회차까지 elution buffer 680ul에 약 437ug이 용출됨을 확인하였고 이는 단백질 농도로 환산하면 0.642(ug/ul)로 추론 할 수 있음
- 기존의 프로토콜에서는 elution시에 column의 elution buffer를 전부 뽑아내지 않아, 각 회차별로 elution되어 나온 용액의 양이 상이하고, 각 회차별 용액이 뚜렷하게 구분되지 않는다는 점을 개선하고자 AtBG1 단백질 정제 과정에서 elution buffer를 추출방법을 변경하여 실험을 진행하였음.

- GM 벼 잎 샘플 (0.5g)을 초저온 냉동상태에서 막자사발로 갈은 후, 1차년도에 정립된 protein extraction protocol의 절차와 동일하게 진행하였고. HA-affinity matrix (Roche)를 200ul column에 넣고 0.6ml의 total protein을 통과시킨 뒤, wash buffer로 다른 단백질을 씻어주고 elution 단계에서 HA-peptide (1mg/ml) 200ul를 첨가 후 37도에서 15분간 배양을 하고 원심분리기를 이용하여 1000rpm에서 5초간 단백질 용액을 추출하였음. 실험 방법 변경 후 각 fraction 마다 용출되는 buffer의 양이 약 200ul 정도로 일정하게 나왔고, 또한 각각의 fraction에서의 HA에 반응하는 감도의 차이가 확연한 것을 확인하였음 (그림 34) 하지만, HA-affinity resin을 이용한 column purification은 resin과 AtBG1-HA의 결합을 HA-peptide를 첨가하여 교환시키고 AtBG1-HA를 용출해내는 방식으로, BCA protein assay kit를 이용한 단백질 정량값이 실제 AtBG1의 정량값이 아님을 알 수 있었음 (그림 35, 36) HA-peptide를 포함하지 않는 단백질 농축방법에 대한 개선이 필요함
- 현재 0.5g -> 28.5ug의 단백질을 추출할 수 있으며, 최소 2000mg의 단백질이 독성평가에 이용되므로 GM벼를 최소 35kg 증식하기 위하여 육성중임 (그림 37)

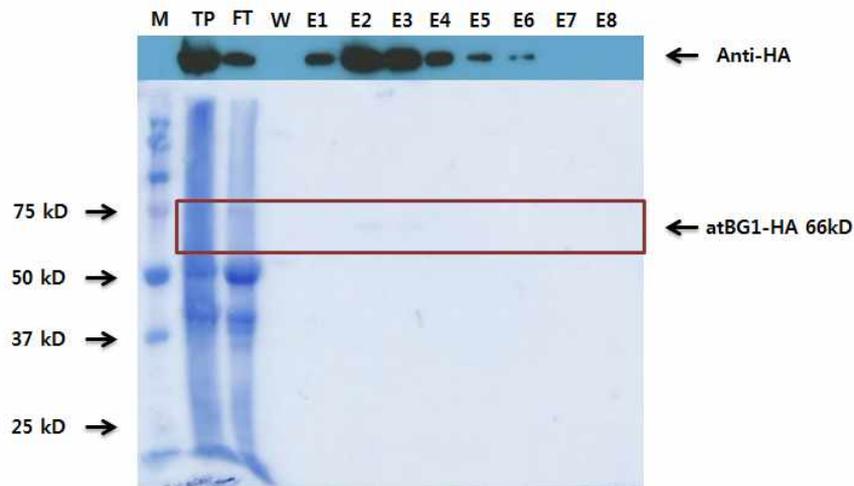


그림 34. Anti-HA를 이용한 GM 벼에서의 atBG1 단백질 확인. **M**, Size marker; **TP**, atBG1 형질도입 벼 Total Protein; **FT**, Flow-through(protein extract); **W**, Wash - fraction **E1-E8**, Elution fraction(total vol. 1.6ml)

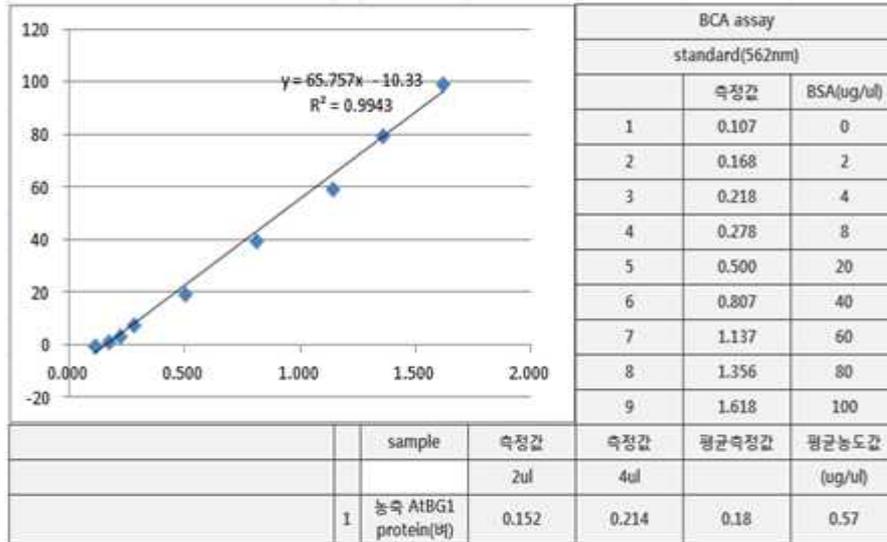


그림 35. 정제된 atBG1 단백질을 농축 후 protein 양 정량

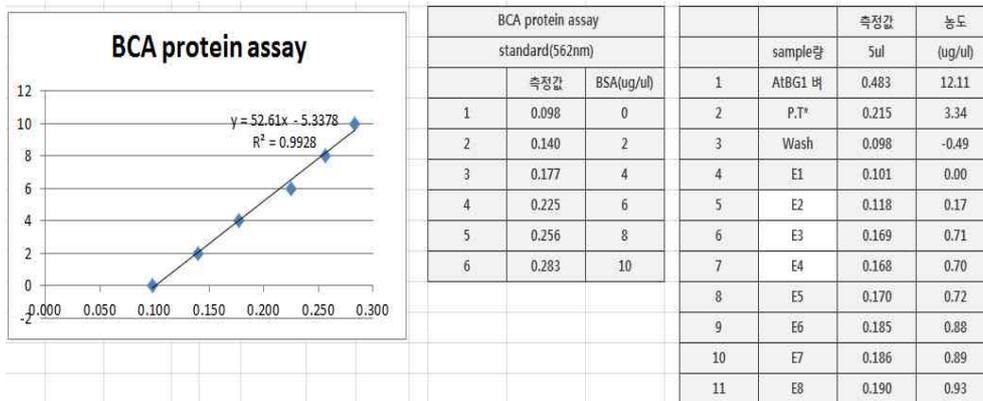


그림 36. HA - affinity matrix를 이용한 elution 용액의 단백질 농도측정



AtBG1 형질전환 벼의 증자 보유량

증자명(수확년도)	증자량(g)
11-8-1(2009)	6.55
70-3-5(2009)	2.40
70-3-5(2013)	4.85
70-22-1(2009)	2.77
70-22-1(2013)	1.41
70-22-1(2014)	907.47
70-23-2(2009)	3.26
70-23-2(2013)	7.11
70-23-17(2009)	3.23
70-23-17(2013)	7.09
70-24-2(2009)	4.05
70-25-1(2009)	6.65
70-25-8(2009)	7.68
70-25-16(2009)	7.80
총 보유증자량(g)	972.32

그림 37. 대량증식을 위해 육모 중인 GM 벼 (2015.11.20) 및 현재 보유량

(2)인체 위해성 관련 독성평가

- 현재 비식용·산업용 단백질에 대한 독성평가 기준은 명확하지 않음.
- 화학물질 독성시험에 대한 규정인 OECD 가이드라인 407조 및 408조에서 규정한 고정용량법을 바탕으로, 최고 농도인 2,000 mg/kg body weight를 설치류(Rat)에 투여하는 단회투여 독성시험을 진행하기 위해 GLP (Good Laboratory Practice)인증기업 바이오톡스텍과 계약 체결 (그림 38)



그림 38. 단회투여 독성검사 시험 계약서

(3) 몽골 및 국내 GM 유채의 일반영양성분분석

- 대조구(제주한라)와 GM2802의 일반영양분석을 실시하였음. 국내와 몽골에서 재배한 종자에 대한 분석을 하고자 하였으나, GM2802는 몽골에서 개화가 안되거나 너무 늦게 개화하기 때문에 종자확보가 불가능하였음
- 따라서, 국내에서 재배한 대조구(제주한라)와 GM2802의 일반영양분석만을 실시하였음 (그림 39)



그림 39. 유채 control(제주한라; (좌)와 event(2802; (우))의 영양성분 평가

라) 4년차(2016) 연구수행 결과

(1) *E.coli*를 이용한 AtBG1 단백질 발현 및 정제

- 이전 연구 결과에 따르면 2g의 AtBG1 단백질을 얻기 위해서는 35Kg의 GM 식물체의 생중량이 필요하기에, 연구 진행의 효율을 높이고자 *E. coli*상에서 AtBG1 단백질을 발현하여 정제하는 것으로 계획을 변경하였음.
- *E.coli*에서 재조합 단백질을 대량 생산할 경우 GM 유채에서 생산된 단백질과의 상동성 유무를 확인하여야 함. 아미노산 서열의 N-말단 부분의 상동성을 확인하기 위해 GM 유채에서의 단백질을 추출 하였음
- AtBG1 유전자를 pET26 벡터에 넣기 위하여 GM유채 도입에 사용되었던 pFnP01 벡터에서 AtBG1HA 염기서열을 확보하였고, 이를 주형(template)로 PCR 증폭 후 In-Fusion 방법(TaKaRa)을 사용하여 pET26a 벡터에 N-말단 또는 C-말단에 6개의 histidine를 추가하여 도입하였음. 도입된 플라스미드는 colony PCR 및 DNA sequencing 분석을 통하여 플라스미드에 올바르게 도입되었는지 확인하였음 (그림 40)

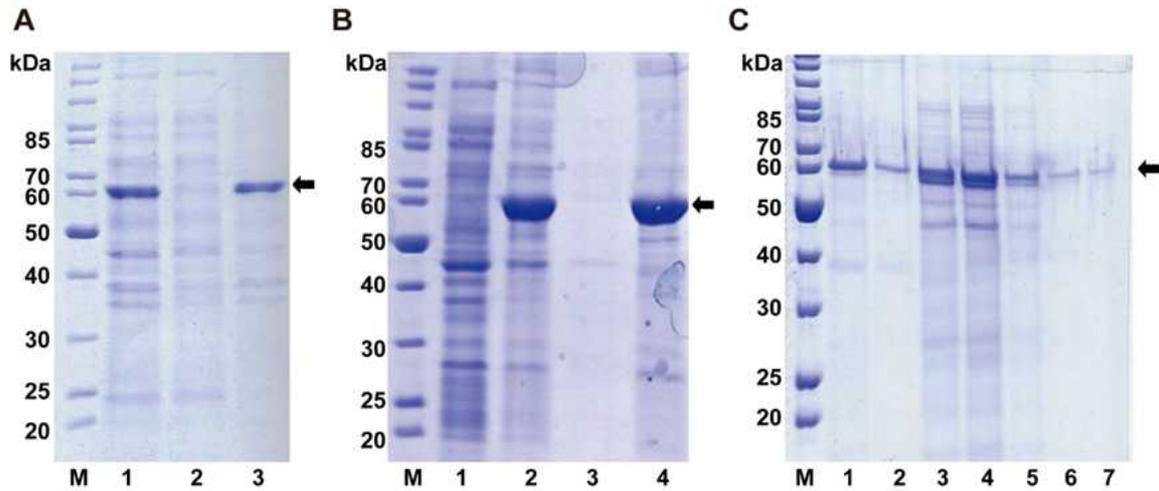


그림 40 N-말단과 C-말단의 6-히스티딘(Histidine)을 가지는 AtBG1의 단백질 확인.

(A) M, Marker proteins; Lane 1, total cellular proteins after induction; Lane 2, soluble cellular proteins; Lane 3, insoluble proteins. (B) Over-expression of AtBG1 protein with C-terminal. Lane 1, total cellular proteins before induction; Lane 2, total cellular proteins before induction; Lane 3, soluble cellular proteins; Lane 4, insoluble proteins. (C) Purification of AtBG1 protein using Ni-affinity chromatography. Lane 1, sample; Lane 2, flow-through; Lane 3-7, elution fractions. Black arrow indicates AtBG1.

- pET26-H6AtBG1 (N-말단에 6개의 histidine 포함) 및 pET26-AtBG1H6 (C-말단에 6개의 histidine 포함) 플라스미드를 *E.coli* STAR(DE3) Δ *slyD* strain에 도입(transformation)시킨 후 콜로니를 취하여 각각 800ml LB broth에 접종(inoculation)하여 OD₆₀₀값이 0.60이 될 때까지 37°C에서 배양한 후, IPTG 1 mM로 induction하여 4시간동안 단백질을 과발현 시킴. AtBG1 단백질의 대량 배양을 위하여 pET26-H6AtBG1 플라스미드가 함유된 균주를 5-L jar fermentor를 이용하여 유가식 배양 방법(Fed-batch culture)으로 배양하였음. 배양시작 후 약 7시간 후 초기 배지의 포도당(20 g/L)가 소모되어 추가적인 기질공급(feeding)을 시작하였음. O.D. 68까지 성장한 16시간에 최종농도가 1 mM이 되도록 IPTG를 첨가하여 H6AtBG1의 발현을 유도하였음. 유도 후에도 세포 농도는 지속적으로 증가하여 24시간에 O.D. 135까지 성장하였다.
- 4 M의 urea 포함된 lysis buffer (50mM Na-phosphate pH 7.0, 4 M urea, 2% Triton X-100)로 재현탁 후 microfluidizer를 이용하여 파쇄하였음. 파쇄된 H6AtBG1 발현 대장균을 12,000 rpm에서 20분간 원심분리 후 가용성(soluble) 및 불용성(insoluble) 분획으로 나눈 후 1 M NaOH를 이용하여 pH 12까지 올려 가용화 시킨 후 원심분리(12,000 rpm, 20분)하여 세포벽 성분 등 추가적인 cell debris들을 제거하였고 상등액 내의 정제된 H6AtBG1는 1 M HCl을 이용하여 pH 7.0을 중성화 시켰으며 원심분리(12,000 rpm, 20분)를 수행하여 불용성 응집체 형태의 H6AtBG1를 회수하였음. 회수된

H6AtBG1의 불용성 응집체는 증류수로 재현탁시켜 동물실험을 위한 동결전조 시료를 제작하였음(그림 41)

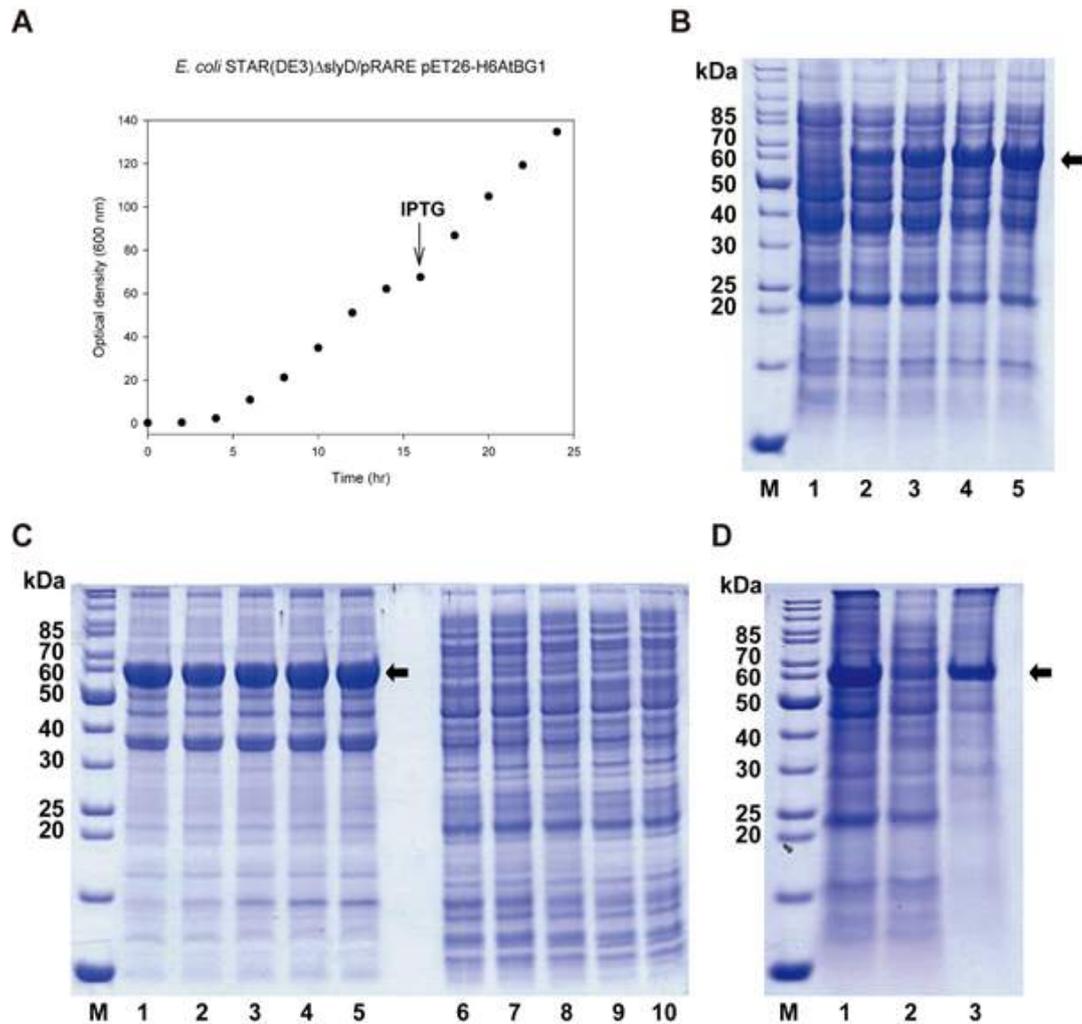


그림 41. 대량생산된 AtBG1 단백질의 확인. (A) Fed-batch culture of recombinant *E. coli* STAR(DE3) Δ slyD/pET26-H6AtBG1. (B) SDS - PAGE analysis after 16 h of culture time. **Lane 1 to 5**, 16, 18, 20, 22, 24 h after induction at 16 h, respectively. (C) Isolation of AtBG1 protein in inclusion body according to urea concentration. Lane 1-5, insoluble fractions in 4, 3, 2, 1, 0 M Urea, respectively; **Lane 6-10**, soluble fractions in 4, 3, 2, 1, 0 M Urea (D). Isolation of AtBG1 protein. **Lane 1**, total cellular proteins after induction; **Lane 2**, soluble cellular proteins; **Lane 3**, insoluble proteins.

(2) AtBG1 단백질에 대한 단회 경구투여 독성시험

- 기존 연구계획상에는 AtBG1 단백질을 정맥에 투여하려 하였으나, GM 유채의 사용 목적이 비식용 에너지생산을 위한 유지 생산인 점과 최종산물에 포함되는 AtBG1의 단백질의 양과 노출 빈도가 매우 적을 것으로 판단하여 단회 경구 투여 독성시험으로 변경하여 수행하였음

- 인체위해성 평가는 AtBG1 유전자를 도입한 형질전환유채를 비의도적으로 인체에 섭취 되었을 경우 인체에 미치는 영향을 확인하기 위하여 실험동물을 사용하여 OECD 테스트 가이드라인 (OECD, 2002, No.420)과 식품의약품안전처 고시 제2015-82호에 따라서 AtBG1 단백질을 단회 경구 투여하여, AtBG1 단백질이 독성으로 작용할 가능성을 평가하고자 비임상시험을 실시하였음.
- 시험물질의 제조는 실험동물에 투여하는 당일 투여 단백질인 AtBG1을 전자저울 (CP323S, Sartorius, Germany)을 사용하여 측정 한 후 규정농도 (133.3 mg/mL)로 부형제(주사용수, Choongwae Pharma Corp., Republic of Korea)를 첨가하여 현탁 하였음.
- 실험은 실험동물윤리위원회의 승인을 거쳐 ICR 암·수 마우스 (CrIjOri:CD1(ICR), SPF) 5 주령을 (주)오리엔트바이오(Republic of Korea)부터 수령하여 검역 서류 확인 및 외관 육안 검사를 실시하고, 전자저울(CP323S, Sartorius, Germany)로 체중 측정하여 정상범위인 수컷 18.0~26.0 g, 암컷 17.0~25 g 범위 내에 있는지 확인하였음. 또한 검역 사육장에서 3일간 일반증상을 확인하고 순화를 위하여 순화 사육장에서 6일간 순화를 실시하였고 매일 1회씩 일반증상을 관찰하고 순화 종료일에는 체중, 일반증상 등 동물의 이상유무를 평가하였으며 평균체중에 가까운 암·수 각 10 마리를 선발하여 군분리를 수행하였음. 실험기간 동안 사육환경은 스테인레스 철망사육장(100 W×200 D×130 H, mm)에 수용동물 수는 3 마리(순화기간)/ 1 마리(관찰기간), 온도는 19~25℃, 상대 습도는 30.0~70.0%, 환기횟수는 시간 당 10~15 회, 조명은 12 시간 명암주기(오전 7 시부터 오후 7 시), 조도는 150~300 Lux로 유지하였으며, 사육 상자 및 급이기는 2 주당 1 회, 급수병은 주당 1 회 교환하였음. 그리고 실험동물용 고품사료(Harlan Laboratories, Inc., U.S.A.)와 음수는 청주시 수돗물을 필터유수살균기로 여과 후 자외선을 조사하여 자유 섭취시켰음
- 실험 군 구성 및 투여는 AtBG1 단백질의 단회 경구투여 독성 평가를 위하여 실험군 구성을 두 군으로 분리하여 수행하였음. AtBG1 단백질을 현탁에 사용되었던 부형제만을 처리한 G1 군과 AtBG1 단백질이 부형제에 현탁 되어진 G2 군으로 나누어 진행하였음. 또한 각 군은 군 분리일 기준으로 6 주령의 암컷 5 마리와 수컷 5 마리 총 10 마리를 각각 사용하여 이번 분석에서는 총 20 마리를 사용하여 AtBG1 단백질에 대한 단회 경구투여 독성 평가를 수행하였음. 각 실험동물에는 고유 식별번호를 부여하여 관리하였는데 4자리 숫자 중 첫 번째 자리는 수컷과 암컷을 각각 1과 2로 표기하였고 두 번째 자리는 G1군과 G2군을 각각 1과 2로 표기하였음. 나머지 두 자리는 각 군의 개체별로 순차적으로 번호를 부여하였다 (표 3). 실험동물 당 투여액량은 15 mL/kg으로 통일하였고 투여당일의 체중을 기준으로 정하였으며 경구 투여용 존데를 부착한 일회용 주사기 (1 mL)를 이용하여 위내에 단회 강제 투여하였음. 실험에 사용된 모든 동물은 투여 전 적어도 4시간 전부터 음수를 제외하고 절식시켰으며 투여 종료 2시간 이후 사료 제공을 제게 하였음. 시험에 사용되는 AtBG1 단백질의 Organization for

Economic Cooperation and Development(OECD)의 급성독성시험 허용 한계용량 (OECD, 2001)인 2,000 mg/15 mL/kg에서 사망사례 및 이상증상이 관찰되는지 확인하기 위하여 본시험 전에 암·수 마우스 각 1 마리에 단회 경구 투여한 결과 이상 변화가 확인되지 않아 허용 한계용량인 2,000 mg/kg의 농도를 단일 시험군 농도로 설정하였고 대조군인 G1군에는 동일한 액량의 부형제를 투여하였음

표 3. 단회 투여 독성 시험의 대조군(G1)과 실험군(G2) 설정

	Group	Dose	Inj. volume	No. of animals (number)	
		(mg/kg)	(mL/kg)	Male	Female
G1	Control	0	15	5 (1101~1105)	5 (2101~2105)
G2	AtBG1 treatment	2,000	15	5 (1201~1205)	5 (2201~2205)

- AtBG1 단백질을 단회 투여한 G2 군과 대조군인 G1 군의 암·수 ICR 마우스를 (0 일)과 투여 후 각 30 분, 1, 2, 4, 6 시간에 상태를 관찰하고, 2 일 부터 14 일 까지 매일 1회 씩 관찰하였음. 그 결과 대조 군(G2)과 비교하여 AtBG1 단백질 투여에 관련된 어떠한 임상적 이상소견도 관찰되지 않았으며(표 4), 사망사례 또한 관찰되지 않았음 (표 5)

표 4. AtBG1 섭취시 ICR 마우스의 임상적 변화 (Clinical signs)

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Clinical sign	Hours (Day 0) after dosing				
				0.5	1	2	4	6
Male	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5
	G2 2,000	5	NOA	5	5	5	5	5
Female	G1 0	5	NOA	5	5	5	5	5
	G2 2,000	5	NOA	5	5	5	5	5

표 5. AtBG1 섭취시 ICR 마우스의 사망률 (Mortality)

Sex	Group / Dose (mg/kg)	No. of animals	Days after dosing														Mortality		
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14	
Male	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	G2 2,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
Female	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	G2 2,000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5

- AtBG1 단백질 2,000 mg/kg을 단회 투여한 G2 군 과 대조군인 G1 군의 암·수 ICR 마우스에 대한 투여 전 0 일 과 투여 후, 1 일, 3 일, 7 일, 및 14 일에 체중을 측정 한 결과 대조군 G1과 단백질 투여군 G2의 0일차 수컷에서 체중은 각 28.0±0.9 g과 27.2±1.5 g, 암컷에서 체중은 각 23.1±1.2 g과 23.5±0.7 g이였고, 단백질 처리 후 1 일차 체중은 수컷에서 각 29.5±0.8 g과 29.2±1.4 g, 암컷에서 각 24.4±1.7 g과 24.3±0.9 g, 3 일차 체중은 수컷에서 각 30.5±0.9 g과 30.4±1.0 g, 암컷에서 각 25.1±2.1 g과 24.8±1.2 g, 7 일차 체중은 수컷에서 각 33.1±1.2 g과 33.6±1.4 g, 암컷에서 각 27.0±2.2 g과 26.3±0.7 g, 그리고 14 일차 체중은 수컷 에서 각 36.0±1.5 g과 36.8±2.1 g, 암컷에서 28.4±2.6 g과 28.7±1.1 g으로 모든 동물에서 시작 체중에 비하여 시간이 지남에 따라서 체중이 점차 증가하는 경향을 보였으며, 대조군인 G1과 비교하여 체중은 통계적으로 유의한 변화는 확인되지 않았음(그림 42, 표 6)
- AtBG1 단백질 단회 투여일로부터 14 일(부검일)에 모든 암·수 ICR 마우스에 대하여 부검을 실시한 결과 암·수 대조군 및 시험물질 2,000 mg/kg 투여 군에서 육안으로 이상 소견은 관찰되지 않아(data not shown), 조직병리학적 검사를 실시하지 않았음

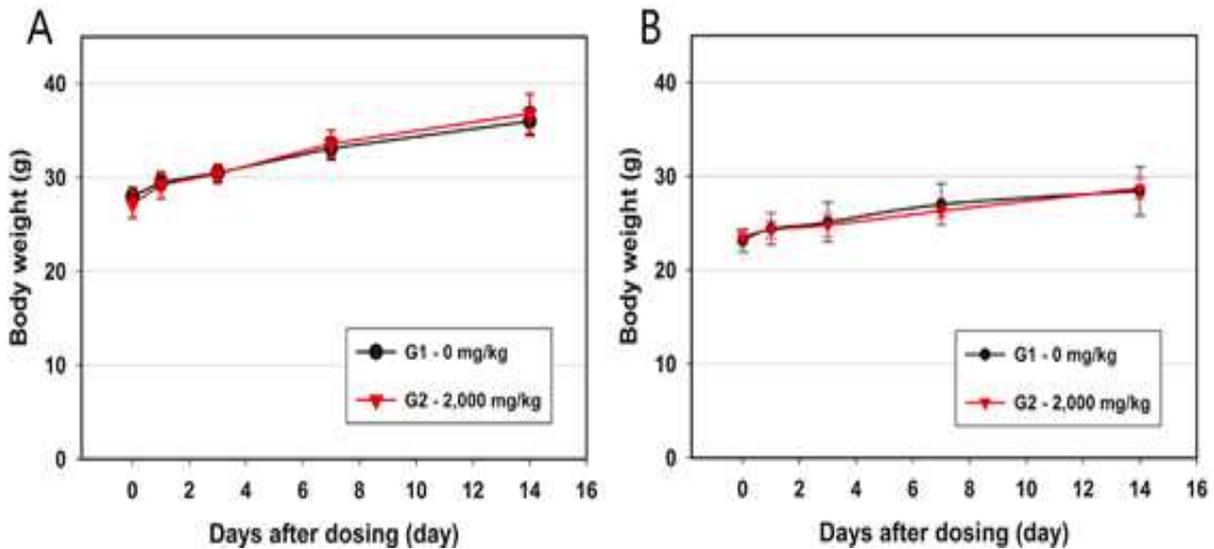


그림 42. 경구 단회 투여시 암(A)과 수(B) ICR 마우스 (암(A)과 수(B))의 체중량 변화량

표 6. AtBG1 섭취시 ICR 마우스의 체중량 (Body weight)

Sex : Female (g)							
roup / Dose(mg/kg)	Animal ID	Days after dosing					Gain
		0	1	3	7	14	0 ~ 14
G1	2101	23.7	24.3	24.3	26.1	28.2	4.5
0	2102	21.5	22.5	22.6	24.3	24.3	2.8
	2103	24.3	25.8	27.5	29.3	29.9	5.6
	2104	22.4	23.1	24.2	26.1	28.3	5.9
	2105	23.8	26.4	27.1	29.3	31.2	7.4
	Mean	23.1	24.4	25.1	27.0	28.4	5.2
S .D.	1.2	1.7	2.1	2.2	2.6	1.7	
N	5	5	5	5	5	5	
G2	2201	23.1	24.1	24.2	26.0	27.7	4.6
2,000	2202	23.8	24.8	25.1	26.6	30.0	6.2
	2203	24.3	25.3	26.5	27.5	29.6	5.3
	2204	22.5	23.0	23.4	26.0	27.5	5.0
	2205	23.8	24.1	24.8	25.6	28.9	5.1
	Mean	23.5	24.3	24.8	26.3	28.7	5.2
S .D.	0.7	0.9	1.2	0.7	1.1	0.6	
N	5	5	5	5	5	5	

- 시험 결과 AtBG1 단백질의 마우스에 대한 최소 치사량(minimal lethal dose)은 2,000 mg/kg 이상의 고용량인 것으로 확인되었으며, 2,000 mg/kg 투여 용량에서도 임상증상에서 대조군과 비교하여 특별한 이상소견은 전혀 발견되지 않았고, 부검소견에서도 육안으로 이상소견이 발견되지 않았음. 또한 무게변화를 측정 하였을 때도 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았음. 마우스를 이용한 급성독성 시험 결과로 AtBG1 단백질은 급성독성의 측면에서 안전한 물질인 것으로 판단됨
- 본 실험에서 AtBG1 단백질의 최소 치사량(minimal lethal dose)은 암·수 ICR 마우스 모두 2,000 mg/kg을 크게 상회하는 것으로 나타났음

(3) GM 유채의 위해성심사

- AtBG1이 삽입된 비식용 산업용 GM 유채 #2802에 대해 위해성 심사 신청하여 진행하였음 (그림 43)

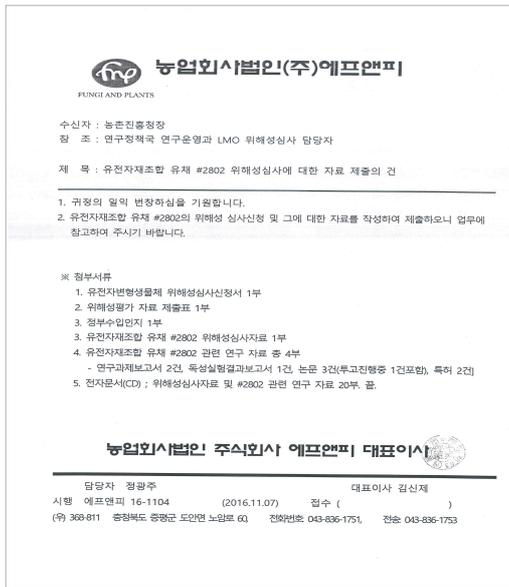


그림 43. AtBG1 유전자가 삽입된 GM 유채 #2802의 위해성 심사 신청

마) 5년차(2017) 연구수행 결과

(1) AtBG1 단백질에 대한 단회 경구투여 독성시험 관련 논문 투고

- 4년차(2016)에 수행된 독성시험 관련한 논문 ‘Single-dose Oral Toxicity Study of β -glucosidase 1 (AtBG1) Protein Introduced into Genetically Modified Rapeseed (*Brassica napus* L.)’ 생명과학회지에 투고 (그림 44)

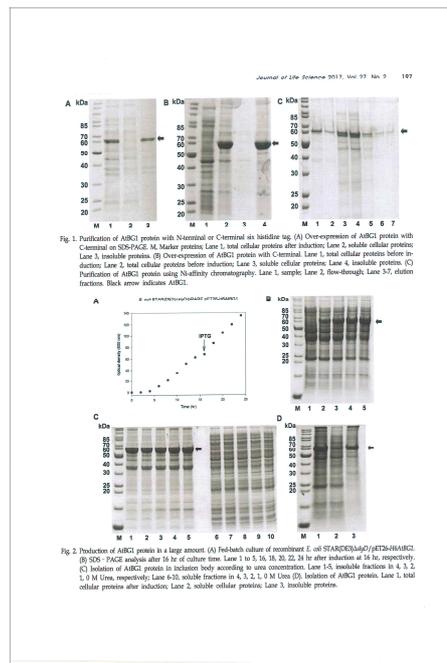


그림 44. 생명과학회지 투고된 AtBG1 단백질 독성시험 관련 논문 (2017년 1월)

표 7. 몽골 울란바타르 (좌표 북위 47° 55' 00" 동경 106° 55' 00")의 기후 조건

월별	1월	2월	3월	4월	5월	6월	7월	8월	9월	10월	11월	12월
최고기온(℃)	-14℃	-9℃	-1℃	9℃	17℃	21℃	22℃	19℃	14℃	8℃	-3℃	-12℃
최저기온(℃)	-25℃	-22℃	-14℃	-5℃	2℃	8℃	10℃	8℃	2℃	-5℃	-14℃	-22℃
강수량(mm)	2mm	2mm	3mm	8mm	13mm	51mm	66mm	76mm	32mm	8mm	5mm	3mm
일출시간 평균	8:30	8:00	7:00	6:00	5:15	5:00	5:00	5:45	6:30	7:15	8:00	8:30
일몰시간 평균	17:30	18:15	19:00	19:45	20:15	21:00	21:00	20:00	19:00	18:00	17:15	17:30

- 내건성 형질전환 유채 GM2802는 환경 내성 유전자가 삽입되어 있으며, 고에루신산의 지방산조성을 보유함. 건조 지역에서 실험한 결과, 재배는 가능하나 종자생산이 불가능함
- S19, S20, S21 춘파유채는 조기 개화, 고올레인산 형질을 보유하고 있으나, 재배환경이 불량한 곳에서 수확량이 높지 못함 (그림 46, 47, 표 8)



그림 46. GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 품종 개발을 위한 교배조합



그림 47. GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 품종 개발을 위한 교배친의 특성

표 8. GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 품종 개발을 위한 교배친의 특성

2802(GM)의 생육 특성	GM유채로 건조 75일에서도 생육 및 종자 생산 가능, 건조시기에 대조구에 비해 빠르게 생산량이 대조구 보다 0.3ton/ha 높음 비고: 건조 내성 유전자가 삽입된 유채
S19-M10-6-1Line 특성	춘파유채로써 파종에서 개화까지 걸리는 기간은 75일로 다수성을 나타내며, 고투리 생성이 좋음
S20-M0-3-5Line 특성	춘파유채로써 파종에서 개화까지 걸리는 기간은 43일로 조기개화 및 조숙이 나타남
S21-M6-K2-8Line 특성	춘파유채로써 파종에서 개화까지 걸리는 기간은 77일이며, 건중량이 큼

- 각 교배 조합의 특성조사 중 지방산 함량이 높은 교배조합을 선발하기 위해 지방산 분석결과를 식물체 선발에 활용함. 춘파인 S19, S20, S21 유채의 올레인산 함량은 61.3~54.17%로 올레인을 많이 함유하며, 2802(GM)은 22.9%로 올레인을 적게 함유함 (표 9)

표 9. GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 품종 개발을 위한 교배친의 지방산 특성

No	교배번호	계통명	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n7c)	vaccenic acid (C18:1n7c)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)
1	826-10	S19-10-12-1-10	30.33	0.00	0.01	0.02	0.07	0.03	4.53	0.30	0.05	1.77	64.41	2.68	15.85	8.07	0.60	1.24	0.33	0.04
2	826-5	S19-10-12-1-5	29.74	0.00	0.01	0.02	0.07	0.03	4.60	0.30	0.04	2.42	58.21	3.15	18.07	10.66	0.56	1.29	0.32	0.25
S19의 평균			30.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	4.6	0.3	0.0	2.1	61.3	2.9	17.0	9.4	0.6	1.3	0.3	0.1
3	828-1	S20-M0-2-3-1	34.11	0	0.01	0.02	0.07	0.02	0.01	0.23	0.05	1.67	64.09	3.20	20.25	7.88	0.63	1.47	0.37	0.04
4	164-6	S20-M0-6-6	33.06	0.00	0.01	0.01	0.07	0.03	4.90	0.23	0.05	1.97	51.87	3.07	20.16	11.45	0.65	2.79	0.38	2.36
5	165-6	S20-M0-8-6	41.18	0.00	0.01	0.01	0.07	0.03	4.68	0.20	0.05	1.89	52.43	2.47	20.34	11.73	0.69	2.65	0.48	2.27
6	165-18	S20-M0-8-18	41.49	0.00	0.01	0.01	0.05	0.02	4.56	0.20	0.05	1.06	45.30	2.54	21.41	14.87	0.62	4.82	0.40	4.08
7	167-2	S20-M0-9-2	44.51	0.00	0.01	0.01	0.05	0.02	4.90	0.20	0.05	1.74	52.60	2.32	22.97	11.81	0.68	1.82	0.48	0.35
8	828-6	S20-2-3-6	34.89	0.00	0.01	0.01	0.08	0.03	4.68	0.24	0.05	1.50	58.56	2.98	21.24	8.46	0.55	1.26	0.30	0.05
9	831-5	S20-3-8-5	33.57	0.00	0.01	0.02	0.07	0.03	4.42	0.25	0.05	1.57	56.65	2.92	23.02	8.94	0.54	1.18	0.30	0.05
10	142-6	S20-8-6-6	20.37	0.00	0.01	0.01	0.05	0.02	4.42	0.21	0.05	1.70	55.13	2.26	20.56	12.32	0.65	1.66	0.43	0.53
11	145-2	S20-9-7-2	18.75	0.00	0.01	0.01	0.07	0.03	5.33	0.23	0.05	1.86	50.88	3.38	22.83	12.16	0.69	1.72	0.48	0.28
S20의 평균			33.55	0.00	0.01	0.01	0.06	0.02	4.21	0.22	0.05	1.66	54.17	2.79	21.42	11.07	0.63	2.15	0.40	1.11
12	169-2	S21-M6-1-2	41.01	0.00	0.01	0.01	0.07	0.03	5.34	0.28	0.06	1.91	53.48	3.09	20.40	11.68	0.74	1.88	0.51	0.52
13	839-1	S21-M6-3-5-1	35.84	0	0.02	0.02	0.09	0.03	0.02	0.30	0.05	1.52	69.99	4.13	22.10	9.66	0.64	1.61	0.40	0.07
14	147-1	S21-M6-3-5-1	31.58	0.00	0.01	0.01	0.07	0.03	5.35	0.31	0.06	1.69	47.67	3.56	25.32	12.80	0.72	1.68	0.58	0.13
15	147-2	S21-M6-3-5-2	40.98	0.01	0.02	0.01	0.06	0.03	5.34	0.27	0.06	2.18	56.28	3.57	18.83	9.75	0.83	1.99	0.53	0.24
S21의 평균			37.35	0.00	0.01	0.02	0.07	0.03	4.01	0.29	0.06	1.83	56.86	3.58	21.66	10.97	0.73	1.79	0.50	0.24
16		2802-2009년생산							8.89			1.70	23.74		22.41	7.82		9.70		25.73
17		2802-2010년생산							5.13			1.31	22.13		17.30	7.76	0.56	11.21		31.94
2802의 평균									7.01			1.51	22.94		19.85	7.79	0.56	10.45		28.84

- 내건성 형질을 보유한 고올레인산 춘파유채 교배 조합의 최종 목표는 내건, 조생, 고올레인을 육성하는 것으로 다음 표 10에서 확인할 수 있음

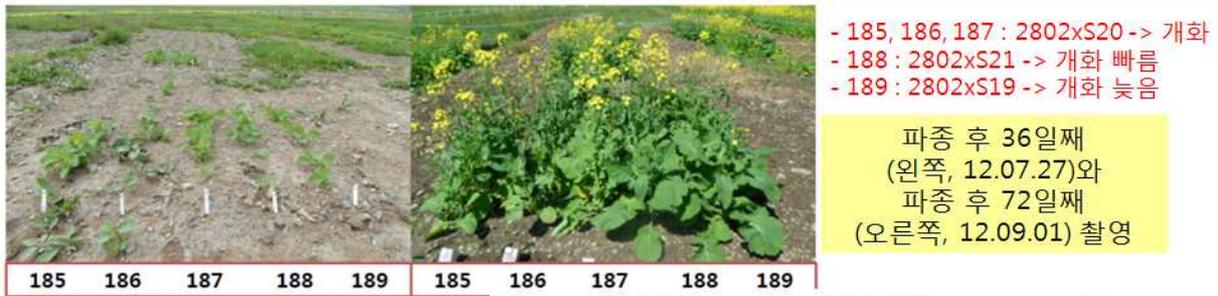
표 10. 건조 내성 형질전환 유채 (2802)를 이용한 조숙 및 고올레인산 함유 특성 도입을 위한 교배품종의 특성 및 목표 형질.

교배조합	모계X부계	교배계통의 유용형질	최종목표 형질
GM 2세대 춘파형 품종	2802 x S19	춘파 중조생, 고올레인산 함유	몽골재배맞춤형, 조숙, 다수확
	S19 x 2802		
	2808 X S20	춘파 극조생, 고올레인산 함유	몽골재배맞춤형, 조숙, 다수확
	S20 X 2802		
	2802 X S21	춘파 만생종 고올레인산 함유	몽골재배맞춤형, 조숙, 다수확
	S21 X 2802		

(2) 목표형질 도입을 위한 교배 및 세대진전

- GM유채 (2802)와 우량 품종 춘파형 3종 (S19, S20, S21)과 교배하여 몽골 현지 적응성이 높은 계통을 선발
- 연구 1년차에 F1 잡종종자를 국내 동절기 하우스 정식 및 몽골현지 직파 재배하여 특성을 조사하였으며, 선발 및 도태 없이 세대진전으로 진행하였음 (그림 48)
 - GM2802 x S19 : 개화일 늦음. F2 총 3,125주 전개
 - S19 x GM2802 : 개화일 중간. F2 총 500주 전개
 - GM2802 x S20 : 개화일 빠름. F2 총 3,025주 전개
 - S20 x GM2802 : 개화일 매우 늦음. 육성 제외
 - GM2802 x S21 : 개화일 빠름. F2 총 4,500주 전개
 - S21 x GM2802 : 개화일 빠름. F2 총 1,692주 전개
- 국내에서 F2~F3 세대진전을 수행하였음. 총 11계통 38라인을 육성하여 13라인의 후대를 육성하였음. 선발라인은 AtBG1 유전자가 삽입되어 있으며, 조기개화 형질을 보유하고 지방산 분석결과 고올레인산 또는 고에루신산 식물체를 선발함 (그림 48)

1년차 몽골에서 GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 품종 개발을 위한 교배조합 F1 특성조사



1년차 국내에서 F2~F3 세대진전 및 특성조사:

- 분자 마커 분석으로 AtBG1 유전자가 삽입된 개체를 선발
- 춘화처리 필요 없는 조기 개화 개체 선발

춘파형 조생 고오일 품종 F2, F3 육성동 모습(13.10.15 촬영)



그림 48. 1년차 몽골에서 GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 품종 개발을 위한 교배조합 F1 특성조사

나) 2년차(2014) 연구수행 결과

○ 연구 2년차에 F3~F4 총 13계통 45라인을 몽골 현지에서 세대진전 하였음 (그림 49)

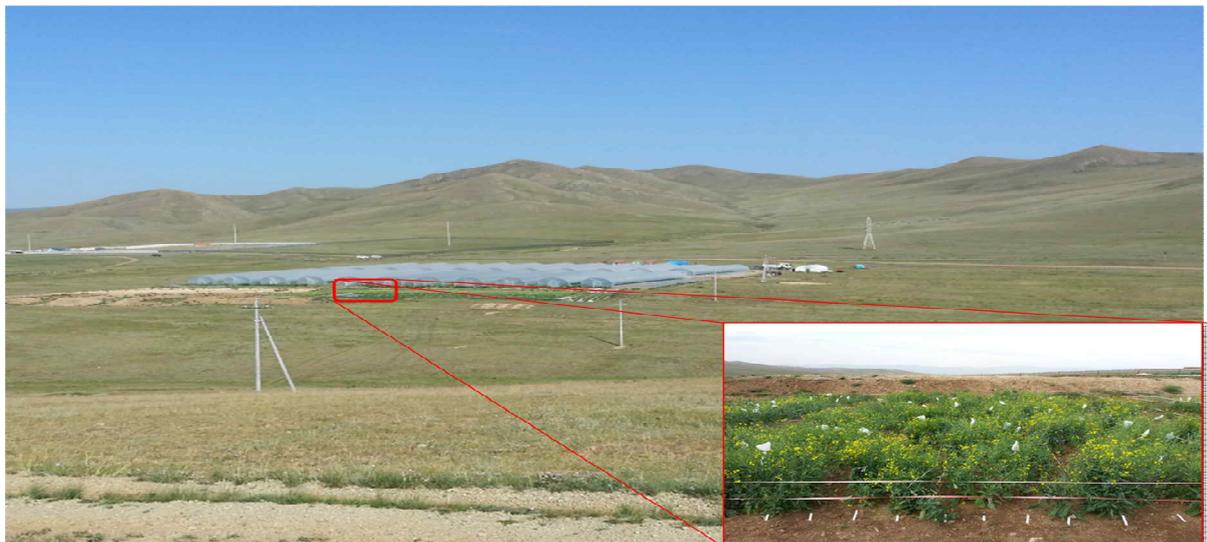


그림 49. 몽골 울란바토르 농장 뒤편에서 춘파 GM 유채실험 지역.

○ 표 11는 춘파형 조생 고오일 품종 F2 세대 개발을 위한 몽골에서의 F3, F4의 생육조사 내용임

표 11. 2년차 몽골 현지 생육 조사표

사막화 방지 GM 2세대 준파형 조숙 다수확 품종 개발 - 파종5/30 파종, 받아들 추대 조사 7/15(파종 46일째)																	
		파종 번호	파종수	7/15조사		7/15조사		7/29조사		포투리	도시아닌유 무	8/18조사 경장(cm)	초형 ⁿ	전세대 지방산(%)			비고
				발아	발아율(%)	추대	추대율(%)	개화	개화율(%)					조지방	올레안산	에루신산	
#1 S21x2802	내부N	1001	50	0	0.0	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
	GM	1002	50	14	28.0	1	7.1	5	35.7	-	-	70	II	-	-	-	
	GM	1003	50	0	0.0	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
	내부N	1004	50	0	0.0	0	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	
	내부N	1005	50	4	8.0	3	75.0	3	75.0	-	-	75	II	23.8	43.79	0.42	
	내부N	1006	50	1	2.0	1	100.0	1	100.0	-	-	75	II	-	-	-	
	GM	1007	50	28	56.0	15	53.6	8	28.6	-	1	85	IV	30.1	14.31	38.36	만생 출음
	GM	1008	50	30	60.0	20	66.7	14	46.7	-	2	65	II	-	-	-	
	GM	1009	50	27	54.0	15	55.6	10	37.0	-	1	65	II	28.9	11.39	42.11	
	GM	1010	50	19	38.0	11	57.9	8	42.1	-	2	55	II	-	-	-	
	GM	1011	50	38	76.0	36	94.7	18	47.4	-	-	60	II	-	-	-	생육출음
	GM	1012	50	27	54.0	16	59.3	11	40.7	협압이나 많음	2	65	II	-	-	-	
	GM	1013	50	30	60.0	22	73.3	18	60.0	-	-	65	II	-	-	-	
	GM	1014	50	11	22.0	10	90.9	5	45.5	-	-	60	II	-	-	-	
	내부N	1015	50	18	36.0	16	88.9	9	50.0	-	-	48	II	-	-	-	
	GM	1016	50	12	24.0	10	83.3	7	58.3	-	보라색	70	II	-	-	-	
	GM	1017	50	12	24.0	11	91.7	5	41.7	-	-	60	II	31.6	14.06	35.51	
	내부N	1018	50	31	62.0	20	64.5	13	41.9	-	-	60	II	-	-	-	
	내부N	1019	50	23	46.0	14	60.9	15	65.2	-	-	60	II	-	-	-	
#2 2802xS20	GM	1020	50	26	52.0	24	92.3	3	11.5	협없음	-	50	II	-	-	-	
	GM	1021	50	9	18.0	6	66.7	4	44.4	-	-	70	II	17.2	34.37	8.55	
	GM	1022	50	12	24.0	11	91.7	1	8.3	협없음	-	50	II	-	-	-	
	GM	1023	50	35	70.0	30	85.7	17	48.6	-	-	55	II	32.9	21.74	23.64	생육출음
	GM	1024	50	35	70.0	31	88.6	13	37.1	협없음	-	65	II	-	-	-	생육출음
#3 2802xS21	GM	1025	50	24	48.0	18	75.0	14	58.3	-	-	65	II	-	-	-	
	GM	1026	50	33	66.0	9	27.3	10	30.3	-	10	60	II	-	-	-	생육출음
	GM	1027	50	30	60.0	26	86.7	8	26.7	-	-	70	II	-	-	-	
#4 S20x2802	GM	1028	50	27	54.0	19	70.4	12	44.4	협없음	-	52	II	-	-	-	개화늦고 종자 적음
	GM	1029	50	5	10.0	3	60.0	4	80.0	-	-	60	II	-	-	-	
	GM	1030	50	14	28.0	12	85.7	9	64.3	-	-	55	II	-	-	-	
	GM	1031	50	11	22.0	9	81.8	6	54.5	-	-	70	II	-	-	-	
#5 2802xS19	GM	1032	50	24	48.0	11	45.8	6	25.0	-	-	55	II	-	-	-	
	내부N	1033	50	31	62.0	25	80.6	15	48.4	-	-	65	II	26.7	49.74	0.19	
	내부N	1034	50	29	58.0	29	100.0	15	51.7	-	-	60	II	29.5	50.67	0.11	
	내부N	1035	50	24	48.0	24	100.0	9	37.5	-	-	70	II	-	-	-	
	내부N	1036	50	27	54.0	22	81.5	16	59.3	-	-	50	II	31.6	51.59	0.07	
	내부N	1037	50	33	66.0	30	90.9	14	42.4	-	-	60	II	-	-	-	
	내부N	1038	50	33	66.0	31	93.9	10	30.3	-	-	60	II	24.6	49.39	0.1	
	내부N	1039	50	27	54.0	25	92.6	15	55.6	-	-	60	II	-	-	-	
	내부N	1040	50	33	66.0	25	75.8	18	54.5	-	-	45	II	22.9	52.38	0.08	
	내부N	1041	50	22	44.0	22	100.0	13	59.1	협없음	-	55	II	20.5	51.12	0.08	
내부N	1042	50	33	66.0	30	90.9	20	60.6	협적음	-	50	II	-	-	-		

- 일반종 S20, S21을 모본으로한 교배조합들의 발아율은 평균 34.6%인 반면, 내건성 유전자 도입된 이벤트 2802를 모본으로한 교배조합들의 발아율은 평균 57.0%로 일반종 모본보다 약 23% 발아율이 높음 (표 11)
- GM과 non-GM 식물체를 비교해보면, 대부분 GM 식물체의 추대, 개화율이 non-GM 식물체보다 느리기 때문에, GM 식물체 중 추대, 개화율이 빠른 개체를 선발하여 분리육종을 진행함
- 조기개화 식물체를 현지에서 우선선발 하였으며, 수확 후 지방산 및 GM마커 분석으로 최종 14라인을 선발하여 국내에서 세대진전 하였음

- 연구 2년차 몽골현지 선발 시험 후 확보된 종자를 국내에서 세대진전하기 위하여 선발된 라인별로 각각 24주씩 육묘하였음 (그림 50)
- 본업 4매이상 전개시 샘플링하여 gDNA를 추출하였으며, RAPD를 이용하여 유전적 분리여부를 확인하였음 (그림 51)
- RAPD 분석결과, 동일한 계통 (전세대 모주가 동일함)에서 마커패턴이 상이한 식물체는 이형주로 판단하여 제거하였음
- 춘파형 품종개발을 위해 선발된 계통의 지방산 조성을 분석하였음

2년차 몽골에서 F3~F4 세대진전 및 특성 조사

- 대조품종인 GM2802는 몽골 재배지에서 개화가 안되거나 10월경 개화
- 몽골재배지의 식물생육기간내에 GM2802 종자확보 불가능한 반면,
- 육성계통은 7월부터 개화하여 9월말 종자수확 가능함



GM 2802와 육성계통의 개화 비교 (왼쪽 8월11일, 오른쪽 10월 1일 촬영)



2년차 국내에서 F4~F5 세대 진전

- 분자마커 분석으로 AtBG1 유전자 삽입 개체 선발
- 춘화처리 필요없는 조기개화 개체 선발

그림 50. 2년차 몽골에서 GM 2세대 춘파형 조숙 다수확 품종 개발을 위한 교배조합 F4 세대진전 및 특성조사

표 12 춘파형 조생 고오일 품종 F2 개발 중인 몽골 파종 개체 일부 12종의 F4세대의 지방산 분석 결과

NO	계통명	계통번호	교배번호	조생번호	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n7c)	vaccenic acid (C18:1n7c)	Linoleic acid (C18:2n6cd)	Arachidonic acid (C20:4n6)	g-linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)	
ck	페미오니아	페미오니아			36.3	0.00	0.01	0.01	0.05	0.03	3.77	0.22	0.12	1.68	59.76	2.75	18.72	10.60	0.57	1.29	0.30	0.13
ck	7802	#28			31.1	0.00	0.00	0.01	0.04	0.01	2.76	0.18	0.03	1.06	16.85	1.32	15.47	8.86	0.69	8.34	0.65	43.75
1	12DS3	NA217-3-5-6	525-6	380	23.8	0.03	0.12	0.02	0.12	0.06	6.82	0.33	0.07	1.65	43.79	4.30	27.86	11.44	0.58	2.03	0.36	0.42
2	12DS3	NA217-7-2-1	528-1	382	30.1	0.00	0.00	0.02	0.07	0.03	3.75	0.27	0.03	0.87	14.31	1.98	17.46	12.23	0.58	9.36	0.48	38.56
3	12DS3	NA217-7-2-3	528-3	384	28.9	0.00	0.00	0.01	0.07	0.03	4.07	0.29	0.03	0.83	11.39	1.67	17.91	12.43	0.60	7.96	0.58	42.11
4	12DS3	NA217-7-8-9	531-9	398	31.6	0.01	0.00	0.03	0.10	0.05	5.15	0.33	0.05	1.35	14.06	2.33	20.83	8.65	0.74	10.30	0.51	35.51
5	12DS4	NA218-4-1-4OP	545-4OP	419	17.2	0.00	0.00	0.02	0.08	0.04	5.39	0.36	0.05	2.13	34.37	4.65	25.32	10.97	0.74	6.98	0.35	8.55
6	12DS4	NA218-4-3-3	547-3	425	32.9	0.00	0.00	0.01	0.07	0.03	4.51	0.28	0.03	1.13	21.74	2.95	19.80	12.99	0.60	12.05	0.17	23.64
7	12DS5	NA219-8-1-2	559-2	448	26.7	0.00	0.00	0.02	0.06	0.03	5.13	0.22	0.05	1.59	49.74	3.88	23.56	12.89	0.60	1.62	0.41	0.19
8	12DS5	NA219-8-1-3	559-3	449	29.5	0.00	0.00	0.01	0.06	0.02	4.74	0.22	0.05	1.40	50.67	3.41	23.35	13.47	0.57	1.51	0.41	0.11
9	12DS5	NA219-8-1-5	559-5	451	31.6	0.00	0.00	0.01	0.06	0.02	4.85	0.23	0.05	1.64	51.59	4.12	21.92	12.91	0.60	1.53	0.39	0.07
10	12DS5	NA219-8-1-8	559-8	453	24.6	0.00	0.00	0.01	0.06	0.02	4.94	0.23	0.05	1.49	49.39	3.85	23.70	13.64	0.58	1.52	0.41	0.10
11	12DS5	NA219-8-1-11	559-11	456	22.9	0.00	0.00	0.01	0.06	0.02	4.75	0.23	0.05	1.61	52.38	3.83	21.99	12.41	0.61	1.54	0.42	0.08
12	12DS5	NA219-8-1-13	559-13	457	20.5	0.00	0.00	0.02	0.06	0.03	4.94	0.24	0.05	1.76	51.12	3.92	22.42	12.75	0.65	1.52	0.45	0.08

다) 3년차(2015) 연구수행 결과

(1) 3년차 상반기 국내 육종포에서 세대진전 수행

- 3년차의 교배조합별 세대진전표는 표 13과 같음
- 2년차 하반기에 몽골에서 세대진전한 6계통 42라인을 국내에서 세대진전 하였음
- 국내 세대진전을 위한 종자파종은 2014. 10. 23. ~ 2014. 10. 31, 포장정식은 2014. 12. 27에 실시함 (표 14, 그림 52)
- 춘파용 국내육성라인의 육성하우스는 겨울철엔 보일러 및 전열등으로 가온함
- GM 마커로 형질전환체 도입여부를 분석한 결과 5~6세대를 진전했기 때문에 도입유전자는 고정되어 있는 것으로 판단됨. Non-GM으로 분석된 5개체는 현재 사용하고 있는 마커의 특성상 (dominant 마커이며, SCAR 마커인 특성) PCR 반응이 실패한 것으로 판단되어 마커를 재분석하지 않고 식물체를 폐기하였음
- RAPD를 이용한 다형성분석으로 순도검정을 실시한 결과, 파종번호 802, 804, 806, 808번이 개체간에 다양한 유전자형이 확인되었고, 1~2회의 세대진전이 필요할 것으로 판단됨 (표 14)

표 14. 춘파용 국내육성라인의 분자마커분석을 통한 순도검정 결과

GM마커 분석 결과

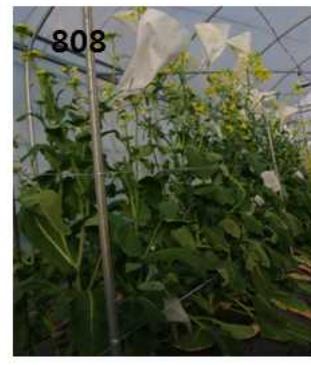
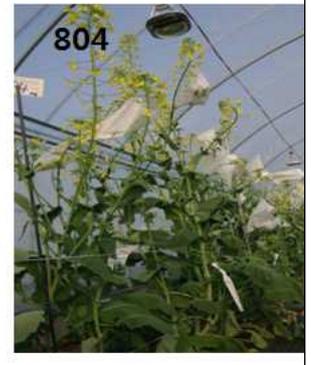
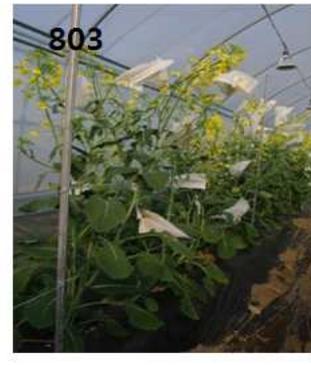
No.	파종 번호	GM 마커	No.	파종 번호	GM 마커	No.	파종 번호	GM 마커
Cont.	2802	G	Cont.	2802	G	Cont.	2802	G
	520	N		520	N		520	N
1	801-1	G	48	803-15	G	95	701-1	G
2	801-2	G	49	803-16	G	96	701-2	G
3	801-3	G	50	803-17	G	97	701-3	G
4	801-4	G	51	803-18	G	98	701-4	N
5	801-5	G	52	803-19	G	99	701-5	G
6	801-6	G	53	803-20	G	100	701-6	G
7	801-7	G	54	804-1	G	101	701-7	G
8	801-8	G	55	804-2	G	102	701-8	G
9	801-9	G	56	804-3	G	103	701-9	G
10	801-10	G	57	804-4	G	104	701-10	G
11	801-11	G	58	804-5	G	105	702-1	G
12	801-12	G	59	804-6	G	106	702-2	G
13	801-13	G	60	804-7	G	107	702-3	G
14	801-14	G	61	804-8	G	108	702-4	G
15	801-15	G	62	804-9	G	109	702-5	G
16	801-16	G	63	804-10	G	110	702-6	N
17	801-17	G	64	804-11	G	111	702-7	G
18	801-18	G	65	804-12	G	112	702-8	G
19	801-19	G	66	804-13	G	113	702-9	G
20	802-1	G	67	804-14	G	114	702-10	G
21	802-2	G	68	804-15	G	115	702-11	G
22	802-3	G	69	804-16	G	116	702-12	G
23	802-4	G	70	804-17	G	117	702-13	G
24	802-5	G	71	804-18	N	118	702-14	G
25	802-6	G	72	804-19	G	119	702-15	G
26	802-7	N	73	804-20	G	120	702-16	G
27	802-8	G	74	806-1	G	121	702-17	G
28	802-9	G	75	806-2	G	122	702-18	G
29	802-10	G	76	806-3	G	123	703-1	G
30	802-11	G	77	806-4	G	124	703-2	G
31	802-12	G	78	806-5	G	125	703-3	G
32	802-13	G	79	806-6	G	126	703-4	G
33	802-14	G	80	806-7	G	127	703-5	G
34	803-1	G	81	806-8	G	128	660-1	G
35	803-2	G	82	806-9	G	129	660-2	G
36	803-3	G	83	807-1	G	130	660-3	G
37	803-4	G	84	807-2	G	131	660-4	G
38	803-5	G	85	807-3	G	132	660-5	G
39	803-6	G	86	808-1	G	133	605-1	G
40	803-7	G	87	808-2	G	134	605-2	G
41	803-8	G	88	808-3	G	135	605-3	G
42	803-9	G	89	808-4	G	136	605-4	G
43	803-10	G	90	808-5	G	137	605-5	G
44	803-11	G	91	808-6	G	138	557-1	G
45	803-12	N	92	808-7	G	139	557-2	G
46	803-13	G	93	808-8	G	140	557-3	G
47	803-14	G	94	808-9	G	141	557-4	G

RAPD마커 순도검정 결과

No.	파종번호	A18-650	A18-550	N5-800	N5-600	M12-450	A6-1300	A7-1000	A7-750	A10-550	M12-1000	B20-600	B20-850	B20-500	No.	파종번호	A18-650	A18-550	N5-800	N5-600	M12-450	A6-1300	A7-1000	A7-750	A10-550	M12-1000	B20-600	B20-850	B20-500
1	801-1	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	58	804-14	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
2	801-2	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	59	804-15	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
3	801-3	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	60	804-16	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
4	801-4	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	61	804-17	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
5	801-5	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	62	804-18	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
6	801-6	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	63	804-19	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
7	801-7	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	64	804-20	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
8	801-8	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	65	806-1	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
9	801-9	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	66	806-2	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
10	801-10	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	67	806-3	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
11	801-11	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	68	806-4	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
12	801-12	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	69	806-5	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
13	801-13	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	70	806-6	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
14	802-1	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	71	806-7	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
15	802-2	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	72	806-8	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
16	802-3	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	73	806-9	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
17	802-4	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	74	807-1	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
18	802-5	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	75	807-2	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
19	802-6	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	76	807-3	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
20	802-7	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	77	808-1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
21	802-8	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	78	808-2	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
22	802-9	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	79	808-3	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
23	802-10	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	80	808-4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
24	802-11	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	81	808-5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
25	802-12	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	82	808-6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
26	802-13	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	83	808-7	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
27	802-14	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	84	808-8	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
28	803-1	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	85	808-9	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
29	803-2	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	86	701-1	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
30	803-3	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	87	701-2	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
31	803-4	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	88	701-3	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
32	803-5	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	89	701-4	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
33	803-6	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	90	701-5	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
34	803-7	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	91	701-6	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
35	803-8	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	92	701-7	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
36	803-9	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	93	701-8	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
37	803-10	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	94	701-9	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
38	803-11	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	95	702-1	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
39	803-12	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	96	702-2	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
40	803-13	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	97	702-3	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
41	803-14	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	98	702-4	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
42	803-15	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	99	702-5	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
43	803-16	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	100	702-6	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
44	803-17	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	101	702-7	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X
45	804-1	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X	102	702-8	O	O	O	X	O	X	X	O	O	X	X	X	X



대조구 2802 (파종번호 833)



대조구 2802 (파종번호 833)

그림 52. 3년차 선발 계통(F6)의 국내 세대진전 및 특성검정 (춘파용 국내육성라인의 개화기 모습 일부, 15년 3월 16일 촬영)

표 15. 춘파용 국내육성라인 셀핑종자의 지방산 분석 결과

교배조합	계통명	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n7c)	vaccenic acid (C18:1n7c)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)	조제번호
대조구	2802	30.52	0.00	0.00	0.01	0.05	0.03	3.17	0.24	0.02	0.93	17.54	1.63	16.00	8.34	0.62	8.15	0.67	42.60	2802
	S16	31.46	0.00	0.00	0.01	0.07	0.02	2.32	0.26	0.03	1.11	7.51	1.33	18.36	12.47	5.48	1.65	1.35	48.04	1
	DG3	27.48	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	4.42	0.23	0.00	1.18	61.16	2.65	19.67	7.79	0.49	1.44	0.27	0.64	15-2021
S21x2802	D801-1	27.08	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	3.26	0.20	0.00	1.10	28.17	1.95	16.02	8.35	0.59	13.21	0.35	26.75	15-1001
	D803-1	25.52	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	3.69	0.26	0.00	0.77	10.65	1.32	15.41	11.29	0.63	5.95	0.74	49.23	15-1023
	D804-2	29.55	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.84	0.22	0.00	0.83	15.98	2.02	16.95	13.29	0.57	12.48	0.38	33.44	15-1041
2802xS21	D808-6	30.97	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	4.74	0.29	0.00	1.14	18.33	2.63	19.78	11.52	0.68	13.05	0.42	27.35	15-1065
	D701-5	28.37	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.21	0.25	0.00	1.51	24.18	2.36	16.22	10.49	0.71	10.72	0.41	29.95	15-1351
S19x2802	D702-5	28.98	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.54	0.26	0.00	1.41	34.59	2.84	17.79	11.69	0.54	10.68	0.24	16.41	15-1358
	D703-5	29.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	0.24	0.00	1.62	33.41	2.34	16.06	10.48	0.70	10.77	0.46	20.62	15-1370
	D660-3	35.1	0.00	0.01	0.01	0.05	0.02	3.93	0.26	0.04	2.07	57.65	3.07	18.89	10.91	0.69	1.62	0.39	0.41	15-3217
2802xS19	D605-21	39.4	0.00	0.01	0.01	0.04	0.02	3.51	0.18	0.04	2.08	58.21	2.26	17.85	11.66	0.50	1.86	0.19	1.57	15-3186
	D557-6	36.34	0	0.01	0.01	0.05	0.02	3.62	0.17	0.04	1.71	58.5	2.5	20.78	10.54	0.43	1.18	0.17	0.26	15-1852

(2) 3년차 하반기 몽골 육종포에서 세대진전 수행

- 3년차 하반기 몽골에서 세대진전 및 현지선발, 수확을 위하여 해외출장
- 상반기 국내에서 세대진전한 F5 42라인의 후대인 F6 세대를 몽골 현지에서 무관수, 무비료 상태로 재배하여 생육조사 후 최종 5계통 13라인 선발하였으며, 세대진전을 위해 국내육성 진행함
- 2015년 5월 말, 국내에서 종자를 수확하여 몽골에서 세대진전을 수행함 (그림 53)
- 파종 3개월 후인 15년 9월 중순, 육성 중인 식물은 몽골현지에서 개화되어 채종까지 가능하였으나, 대조품종 GM2802는 개화되지 않음

3년차 몽골에서 F5 세대진전 및 특성 조사 (15.09,14)



3년차 말 몽골에서 한국으로 유채 수입 허가 및 운송



- 몽골에 86일간 단 한방울의 비도 내리지 않아 많은 개체가 고사하였고 6월까지 생육중인 개체들은 하우스로 옮겨 종자를 받기 위해 교배 작업을 수행하였음
- 이에 따라 종자의 수확이 늦어져서 9월 초부터 수확을 시작하였고 11월 중순까지 수확하였음
- 10월16일, 11월1일, 11월 16일 3회에 걸쳐 수입

그림 53. 몽골에서 세대진전 수행 모습 및 수확종자의 수입준비

라) 4년차(2016) 연구수행 결과

(1) GM2802 특이마커의 co-dominant 전환

- GM 마커는 2802(GM) 유체의 도입유전자인 AtBG1 특이 및 주변 염기서열로부터 확보된 염기서열을 이용하여 개발된 마커로 GM 여부 분석에 활용 (그림 54)

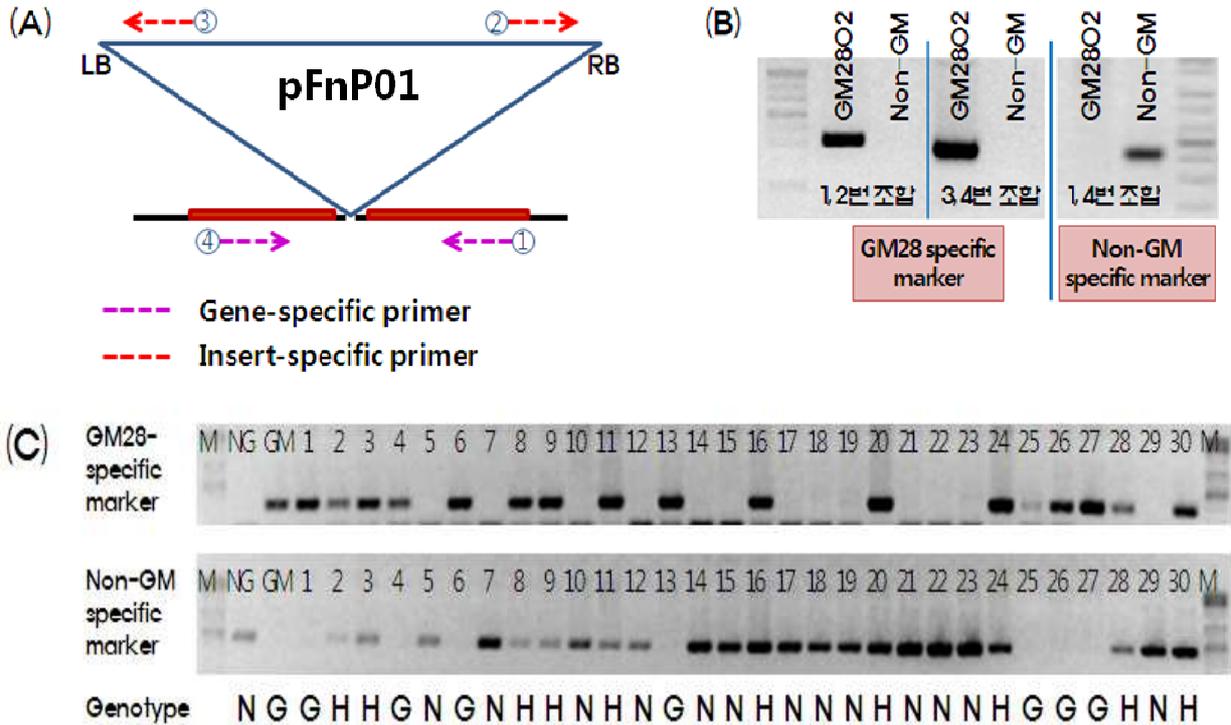


그림 54. Insertion site의 염기서열을 이용한 GM28 및 Non-GM 특이 마커의 PCR 프라이머 모식도 (A, B)와 그 분석 결과 (C)

- 그림 54에서 보는바와 같이 기존에 분석에 사용한 마커는 dominant marker로써, GM 특이마커와 Non-GM 특이마커를 각각 분석하여 homo/hetero의 genotype을 확인할 수 있음
- 그러나, GM 및 Non-GM 특이마커 중 어느 한가지 마커의 분석실패로 인해 DNA 단편이 증폭되지 않을 경우 hetero type의 유전자형을 homotype으로 오역할 우려가 있으며, 실제로 전세대에서 GM(homo)으로 선발한 식물체 중 후대에서 GM과 Non-GM으로 분리되는 계통이 일부에서 확인되기도 함
- 이를 개선하기 위하여 기존에 사용하던 마커의 염기서열을 Brassica Database (<http://brassicadb.org/>)에서 blast search하여 마커 주변의 확장된 염기서열을 확보하였음 (그림 55)
- Multiplex PCR 방법을 이용하여 co-dominant 마커로 전환하기 위하여 그림 56과 같이 프라이머를 제작하였음

- Insert DNA의 Right border쪽은 9, 10, 11번과 12, 13, 14번 프라이머 조합을, Left border쪽은 15, 16번과 17, 18, 19번 프라이머 조합을, 목적유전자가 삽입되는 않는 경우엔 9, 10, 11번과 17, 18, 19번 프라이머 조합을 이용하여 PCR 증폭여부를 확인한 후 multiplex PCR 조건을 테스트하였음

B.napus (chromosome v1.0) 2014-11-19: 이 10 kbp 정보는 chrCnn_random 6,135,050 - 6,145,049 사이의 정보입니다

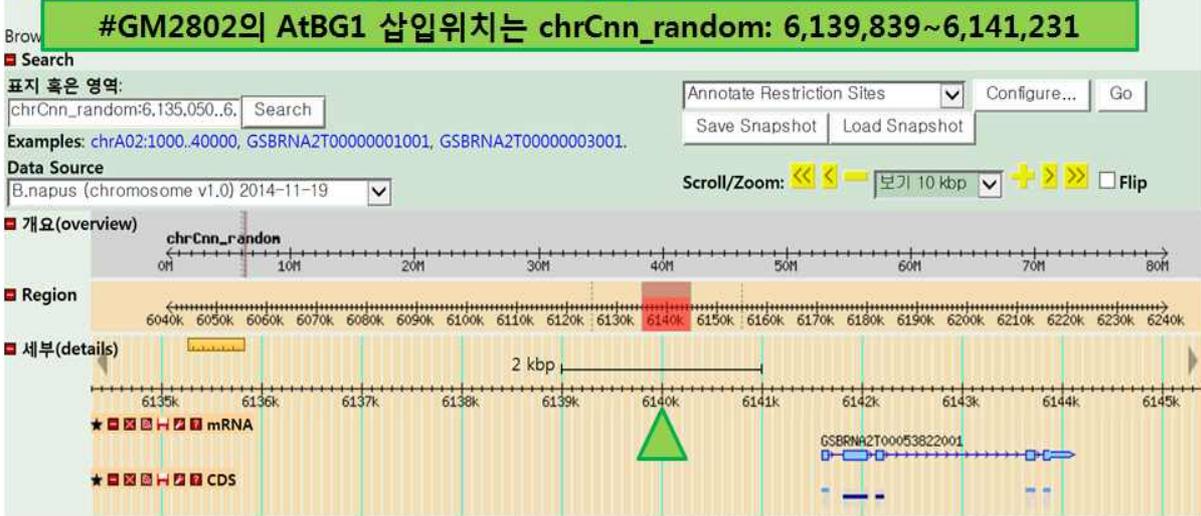


그림 55. Brassica Database (<http://brassicadb.org/>)에서 blast search 결과

- 그림 56와 같이 총 3곳을 증폭할 수 있는 프라이머 조합들을 단일 PCR을 수행하여 DNA 단편이 증폭됨을 확인하였음

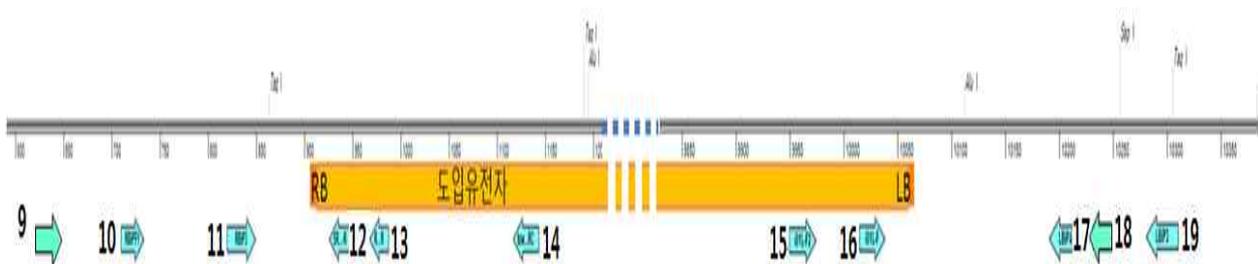
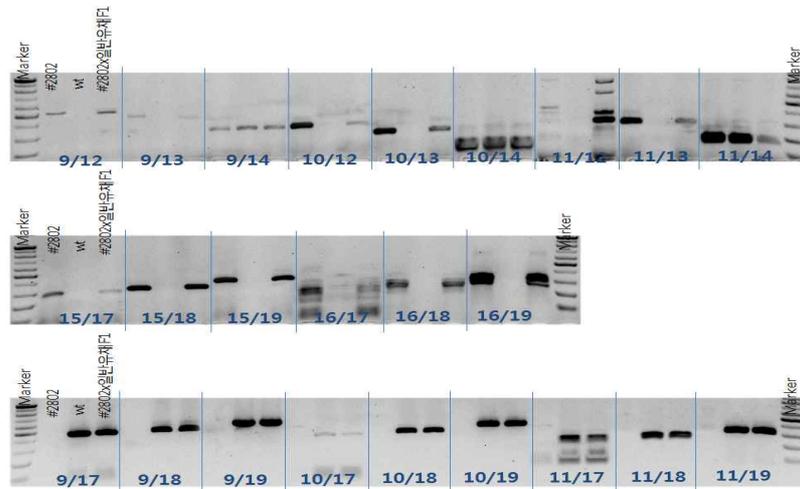


그림 56. multiplex PCR 조건 확립을 위한 프라이머 제작 모식도

- 그림 57의 (가)와 같이 프라이머 9/12, 9/13, 10/12, 10/13, 11/13 조합의 경우 이벤트 2802 특이적인 증폭이 확인되었고 야생형의 경우에는 증폭산물이 나타나지 않았으나, 프라이머 9/14, 10/14, 11/14 조합의 경우 상기 PCR 조건에서 다형성이 확인되지 않았으며, 프라이머 11/12 조합은 비특이밴드가 다수 증폭되었음

(가)



(나)

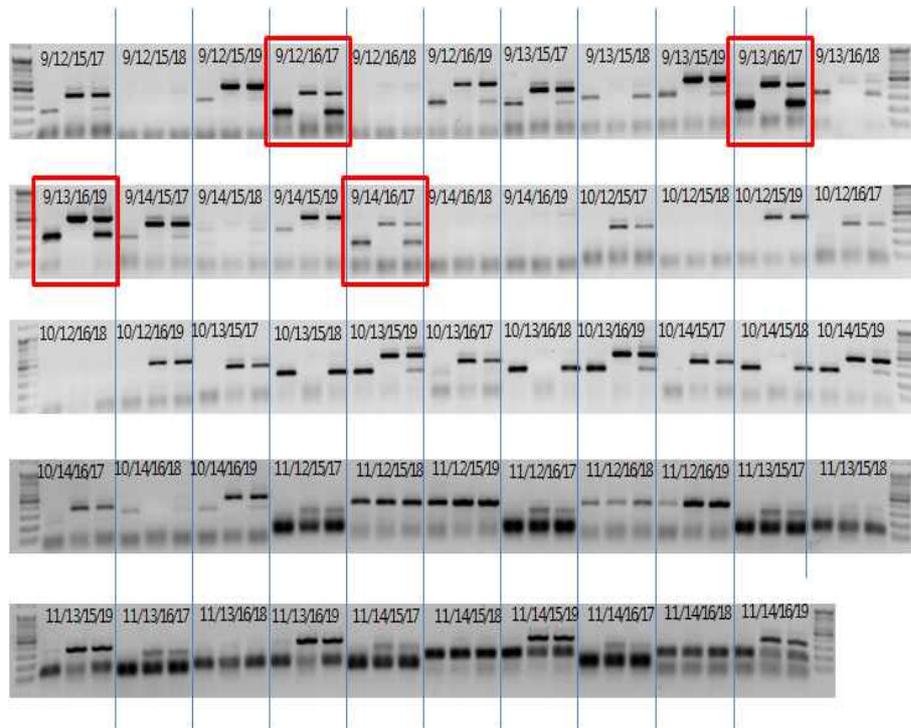


그림 57. multiplex PCR을 이용한 2세대 GM 계통의 마커분석 결과

- 우측 경계를 증폭하기 위해 사용된 프라이머 조합의 경우 프라이머 15/17, 15/18, 15/19 조합에서 이벤트 #2802 특이적인 단일밴드가 확인되었으나, 프라이머 16/17, 16/18, 16/19 조합의 경우 상기 PCR 조건에서 비특이밴드가 다수 증폭되는 것이 확인되어 부적절한 것으로 확인되었음
- 계통 DNA 서열로부터만 제작된 프라이머 9/17, 9/18, 9/19, 10/17, 10/18, 10/19, 11/17, 11/18, 11/19 조합의 경우 이벤트 #2802에서는 전혀 증폭이 되지 않았으나, 야생형에서는 모두 증폭되었음

- 그러나 프라이머 11/17 조합의 경우 상기 PCR 조건에서 비특이밴드가 증폭되는 것이 확인되어 부적절한 것으로 확인되었음
- 총 3곳을 타깃으로 하는 단일 PCR 프라이머들을 이용하여 총 54조합의 multiplex PCR 프라이머 조합을 구성하였음
- 구성된 54가지의 프라이머 조합을 테스트한 결과 그림 57의 (나)에서 나타난 바와 같이, 프라이머간의 간섭에 의하여 형질도입 유전자의 우측 경계 쪽을 증폭할 수 있는 프라이머가 증폭되지 않음이 확인되었으나, 이벤트 #2802 이형 접합 식물체를 식별할 수 있는 조합이 선발되었음
- 선발된 프라이머 조합은 프라이머 9/12/16/17, 9/13/16/17, 9/13/16/19 및 9/14/16/17 조합으로 12, 13, 14 프라이머는 조합에서 제외할 수 있음
- 이벤트 #2802 동형 접합의 경우에는 프라이머 16번 및 프라이머 17번에 의해 좌측 경계의 206 bp의 단편이, 프라이머 16번 및 프라이머 19번에 의해 좌측 경계의 296 bp의 단편이 증폭되었고, 동형 접합의 경우 프라이머 9번 및 프라이머 17번에 의한 439 bp의 단편, 프라이머 9번 및 프라이머 19번에 의한 529 bp의 단편이 증폭이 되지 않았는데, AtBG1 형질도입 유전자 컨스트럭트를 포함하는 더 긴 증폭산물이 나타날 수도 있었음에도 불구하고 이와 같은 더 긴 증폭산물 역시 확인이 되지 않아, 야생형 특이적 증폭산물을 산출하는데 적합함
- 이형접합의 경우, 상기 두 가지 단편이 모두 검출되었고, 야생형의 경우에는 상기 프라이머 조합에 따라 각각 439 bp 또는 529 bp의 단편만 검출되었으므로, 선발된 멀티플렉스 PCR 조건을 이용하여 이벤트 #2802의 후대에 있어서 형질도입 유전자의 유무 뿐만 아니라, 이들이 동형접합인지 아니면 이형접합인지 여부까지 확인하는데 사용될 수 있음

(2) 4년차 상반기 국내 육종포에서 세대진전 진행

- 4년차 현재 교배조합별 선발계통의 세대진전표는 다음의 표 16과 같음
- 전세대 (F5) 14계통을 세대진전 수행하여 후대를 확보하였음
- 지방산 분석결과 파종번호 557, 605, 660번은 고올레인산, 802, 803번은 고에루신산, 806, 807번은 지방산 분석을 하지 않고 세대진전 하였으며, 그 외 7개 라인은 지방산조성이 목표에 부합하지 않아서 세대진전하지 않았음
- 2015년 5월경 파종번호를 동일하게 하여 몽골에서 세대진전 하였으나, 몽골의 작황상태가 좋지 않아서 일부만 종자수확이 가능하였음
- 2015년 9월 10일에 F6~F7 62라인(D001~D059, D194~D196)을 파종하였으며, 전세대의 지방산 분석 결과와 유묘기의 GM 마커분석 결과로 9라인을 선발하여 가식 및 정식하였음
- 형태적, 유전형적으로 고정율이 비교적 높은 D194, D195, D196번은 우선 선발하여 하

우스에 재배하였으며, D001~D059번은 RAPD를 이용한 유전형을 확인하여 분리되지 않는 개체를 선발 후 화분 육성하여 후대종자를 확보하였음 (그림 58)



그림 58. 선발 후보라인 D001~D059라인의 선발개체 화분육성모습 (사진촬영일 16.01.11)

- 화분육성한 D001~D059번 계통들은 2015년 9월 10일 파종하여 16년 1월 11일경 개화하였으며, 셀핑봉투를 씌워 종자를 생산하였음
- 우선선발한 D194, D195, D196 계통은 하우스재배로 아래와 같이 생육특성을 조사하였음
- D194번의 개화기는 늦은편이며, D196번의 잎은 장란형으로 열편이 없고, D194 및 D195번에 비해 주지가 가는 편임. 3계통 모두 주당 수확량은 25~40g 정도임 (그림 59)
- D194, D195, D196번을 포함하여 선발한 총 9계통의 지방산분석을 수행하였으며, **고올레인산 춘파 3계통, 고에루신산 춘파 4계통을 선발하였음 (표 17)**
- 2016년 6월 초 몽골에서 선발계통 9계통과 추파계통 육성중에 분리된 춘파계통의 세대진전 및 우선 선발된 3계통의 현지재배시험을 실시하였음



그림 59. 우선 선발된 3개 라인 D194, D195, D196의 육성모습 (사진촬영일 16.03.03)

표 17. 국내 육성한 9계통의 지방산 분석 결과

NO	조제번호	교배번호	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n9c)	vaccenic acid (C18:1n7c)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidonic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)	비고
1	16-0081	D032-3	29.86	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	3.13	0.28	0.00	0.92	14.44	1.57	12.33	7.06	0.76	10.36	0.63	48.48	고에루신산 준파
2	16-0101	D031-08	30.34	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.15	0.23	0.00	0.88	11.74	1.37	13.78	8.06	0.69	9.29	0.61	50.19	고에루신산 준파
3	16-0104	D033-07	31.02	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	3.40	0.27	0.00	0.84	10.79	1.50	13.96	8.56	0.68	9.08	0.63	50.24	고에루신산 준파
4	16-0107	D036-06	32.71	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	3.70	0.27	0.00	0.87	10.76	1.53	14.29	10.54	0.72	2.86	0.66	53.73	고에루신산 준파
5	16-0111	D051-03	28.61	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	3.90	0.26	0.00	1.06	15.97	2.25	16.62	9.78	0.71	15.32	0.41	33.69	
6	16-0113~115	D054-03/6/8	32.19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	4.69	0.27	0.00	2.07	44.30	3.81	23.89	10.52	0.66	4.96	0.29	4.54	
7	16-0058	D194-1	34.09	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	3.65	0.16	0.00	1.60	62.86	2.05	18.00	9.74	0.49	1.14	0.21	0.08	고올레인산 준파
8	16-0068	D195-3	29.48	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.76	0.16	0.00	1.74	66.46	2.02	15.80	8.11	0.55	1.16	0.23	0.00	고올레인산 준파
9	16-0048	D196-1	33.74	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	4.05	0.27	0.00	1.70	60.70	3.27	19.11	8.39	0.66	1.38	0.41	0.00	고올레인산 준파
대조1	16-0479	D190-1	42.90	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	4.39	0.23	0.00	1.48	61.81	2.68	18.35	6.97	0.50	1.01	2.54	0.00	
대조2	16-0482	D191-1	33.18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.88	0.21	0.00	0.95	17.28	1.55	13.72	6.67	0.68	9.52	0.57	45.96	
대조3	16-0486	D192-2	34.16	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	4.58	0.24	0.00	1.41	56.06	3.11	22.13	10.31	0.55	1.15	0.34	0.06	
대조4	16-0488	D193-1	34.34	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	4.69	0.34	0.00	1.29	56.91	4.13	20.60	9.42	0.62	1.49	0.44	0.00	

(3) 4년차 하반기 몽골 육종포에서 세대진전 수행

- 대조구 4계통(GM2802, D03, S20, S21)과 국내선발 F6 8계통의 후대 15라인(파종목록 No. 5~19), 추파계통 개발 중에 분리된 춘파 11계통을 계통당 1~3라인씩, 총 54라인(파종목록 No. 20~54)을 파종하였음 (그림 60)



No.	파종번호	계통명	교배번호	조제번호	파종일	파종량(톤)	비고
1	101-1	#2802	D190-3_CK	16-0075	160603	50	
2	101-2	DG3	D191-3_CK	16-0076	160603	50	
3	101-3	S20	D192-2_CK	16-0077	160603	50	
4	101-4	S21	D193-2_CK	16-0078	160603	50	
5	101-5	12PD53	D031-08	16-0001	160603	50	
6	101-6	12PD53	D031-09	16-0002	160603	50	
7	101-7	12PD53	D031-10	16-0003	160603	50	
8	101-8	12PD53	D033-07	16-0004	160603	50	
9	101-9	12PD53	D033-09	16-0005	160603	50	
10	101-10	12PD53	D033-10	16-0006	160603	50	
11	102-1	12PD53	D036-09	16-0008	160603	50	
12	102-2	12PD54	D051-01	16-0009	160603	17	
13	102-3	12PD54	D054-03	16-0010	160603	13	
14	102-4	12PD54	D054-06	16-0011	160603	50	
15	102-5	12PD54	D054-08	16-0012	160603	20	
16	106-1	2802x319	D194-03	16-0060	160603	50	
17	106-2	2802x319	D195-3	16-0068	160603	50	
18	106-3	2802x319	D195-13	16-0072	160603	50	
19	106-4	2802x319	D196-03	16-0057	160603	50	
20	102-6	13PD513	D097-05	16-0116	160603	29	OP
21	102-7	13PD514	D112-02	16-0013	160603	50	
22	102-8	13PD514	D116-08	16-0014	160603	50	
23	102-9	316x2802	D147-03	16-0015	160603	50	
24	102-10	316x2802	D148-01	16-0016	160603	50	
25	103-1	316x2802	D148-02	16-0017	160603	13	
26	103-2	316x2802	D148-03	16-0018	160603	50	
27	103-3	316x2802	D151-02	16-0019	160603	50	
28	103-4	316x2802	D151-03	16-0020	160603	50	
29	103-5	316x2802	D151-05	16-0021	160603	44	
30	103-6	316x2802	D152-04	16-0022	160603	50	
31	103-7	316x2802	D152-05	16-0023	160603	50	
32	103-8	316x2802	D152-09	16-0024	160603	50	
33	103-9	316x2802	D153-02	16-0025	160603	50	
34	103-10	316x2802	D153-07	16-0026	160603	50	
35	104-1	316x2802	D157-06	16-0027	160603	25	
36	104-2	316x2802	D166-01	16-0028	160603	9	
37	104-3	316x2802	D166-02	16-0029	160603	21	
38	104-4	316x2802	D176-07	16-0030	160603	50	
39	104-5	316x2802	D176-09	16-0031	160603	20	
40	104-6	316x2802	D176-10	16-0032	160603	49	
41	104-7	316x2802	D178-04	16-0033	160603	50	
42	104-8	316x2802	D178-09	16-0034	160603	50	
43	104-9	316x2802	D180-02	16-0035	160603	40	
44	104-10	316x2802	D180-05	16-0036	160603	50	
45	105-1	316x2802	D181-03	16-0037	160603	50	
46	105-2	316x2802	D181-05	16-0038	160603	3	
47	105-3	316x2802	D181-08	16-0039	160603	50	
48	105-4	316x2802	D187-03	16-0040	160603	50	
49	105-5	316x2802	D188-05	16-0041	160603	15	
50	105-6	316x2802	D188-07	16-0042	160603	50	
51	105-7	316x2802	D188-08	16-0043	160603	50	
52	105-8	316x2802	D189-07	16-0044	160603	50	
53	105-9	316x2802	D189-08	16-0045	160603	50	
54	105-10	316x2802	D189-09	16-0046	160603	50	

그림 60. 세대진전을 위한 몽골현지 파종모습(좌) 및 파종목록(우) (사진촬영일 16.05.29)

- 세대진전을 수행한 계통들은 GM2802와 DG3와는 대조적으로 개화기가 빠르고, 열편이 없는 장란형의 잎을 가지며, 측지발생이 왕성하였음 (그림 61)
- 춘파형 육성계통들이 개화초기에 저온으로 인하여 주지의 결실은 불량하였으나, 측지에서 결실된 꼬투리는 대조구 S20 및 S21보다 많은 편임

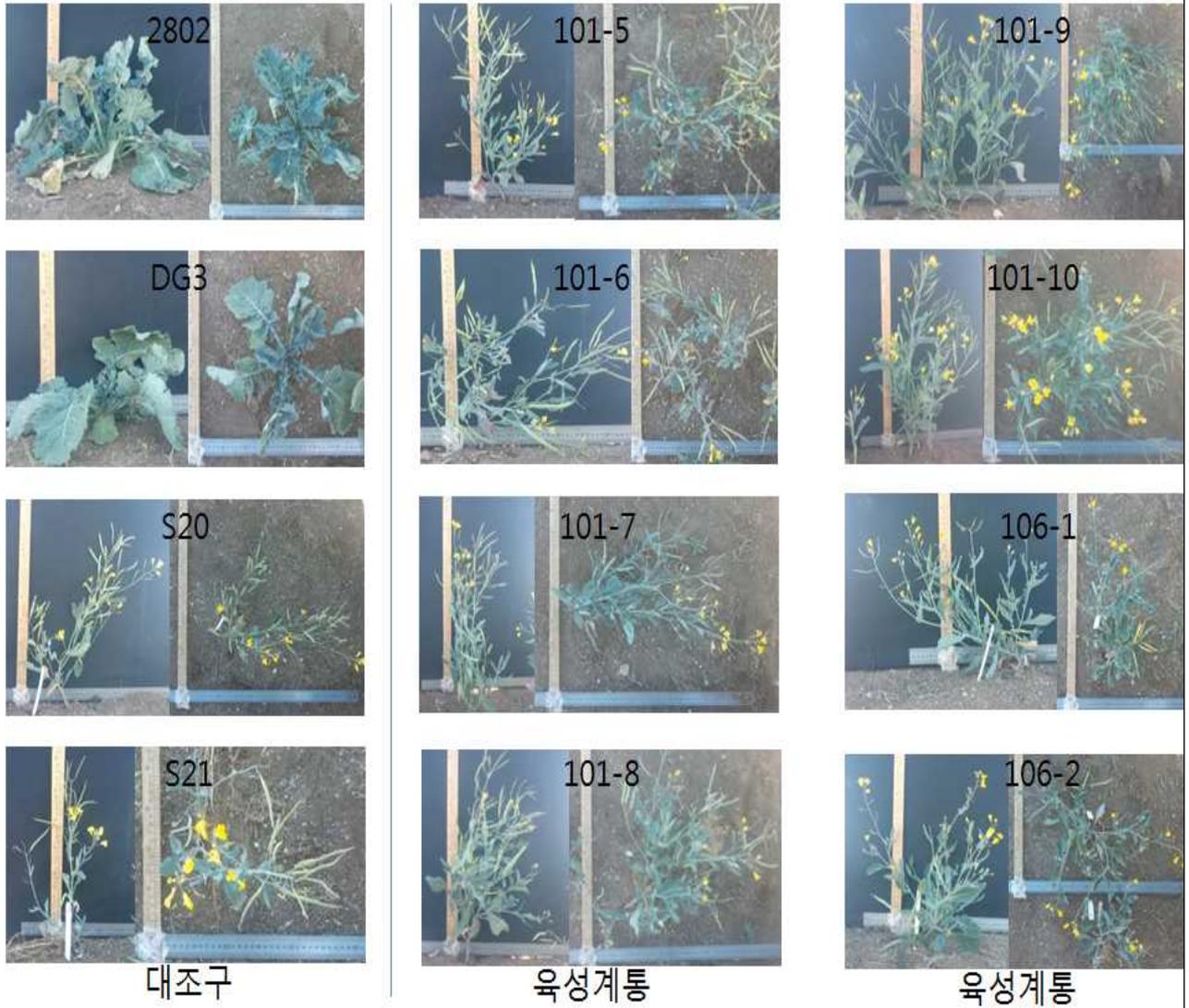


그림 61. 선발계통의 세대진전 모습 (사진촬영일 16.09.20)

- 16년 5월 31일경 우선선발 품종 D194, D195, D196를 포함하여 총 18계통의 현지 재배 시험을 실시하였음 (표 18)
- 파종은 수동파종기로 하였으며, 각 구획을 말뚝을 박아 표시하였음 (그림 62)
- 재배지 환경에 따라 달라질 수 있으나, 일반적인 유채종자의 파종량은 4~5kg/ha임. 그러나 몽골현지에서 수동파종기로 파종한 결과, 계획했던 것보다 파종량이 많이 소요되었으며, 한 지점에서 10주이상의 유채가 발아되었음

표 18. 현지재배 시험을 위한 파종목록

No.	파종번호	계통명	교배번호	조제번호	파종일	파종량(립)	비고
1	111	#104N	P07_bulk	16-bulk	160531	150 g	
2	112	#7	P08_bulk	16-bulk	160531	150 g	
3	113	#7	P09_bulk	16-bulk	160531	150 g	
4	114	#7	P10_bulk	16-bulk	160531	150 g	
5	115	#9	P11_bulk	16-bulk	160531	150 g	
6	116	#9	P12_bulk	16-bulk	160531	150 g	
7	117	#9	P13_bulk	16-bulk	160531	150 g	
8	118	#10	P14_bulk	16-bulk	160531	150 g	
9	119	#4	P16_bulk	16-bulk	160531	150 g	
10	120	#25N	P02_bulk	16-bulk	160531	400 g	
11	121	#4	P15_bulk	16-bulk	160531	400 g	
12	122	#19	P17_bulk	16-bulk	160531	400 g	
13	123	제주한라	제주한라_bulk	15-8094	160531	50 g	
14	124	미소	SLT_bulk	NA388	160531	50 g	
15	125	S21	D193_bulk	16-bulk	160531	30 g	
16	126	S16x2802	D194_bulk	16-bulk	160531	30 g	
17	127	S16x2802	D195_bulk	16-bulk	160531	30 g	
18	128	S16x2802	D196_bulk	16-bulk	160531	30 g	



그림 62. 우선선발계통의 몽골현지 재배시험을 위한 파종모습 (사진촬영일 16.05.31)

- 파종 한달 후 초기생육은 왕성하였으며, 재식밀도가 높기 때문에 개체의 생육은 왕성하지 못한 편임 (그림 63)
- 8월 2일경 총 18계통 중 6계통을 제외하고 모두 개화가 시작되거나 만개기에 도달하였음 (그림 64)
- D194, D195, D195번은 8월 2일경 만개하여 8월 19일경엔 꼬투리 결실기 도달함 (그림 65)



그림 63. 현지재배시험 중인 연구포장의 초기생육 모습 (사진촬영일 16.06.28)



그림 64. 현지재배시험 중인 연구포장의 개화기 생육 모습 (사진촬영일 16.08.02)



그림 65. 현지재배시험 중인 연구포장의 결실기 생육 모습 (사진촬영일 16.08.15)

- 우선선발계통 D193, D194, D194 대조구로는 제주한라와 미소, S21 계통을 재배하여 비교하였음 (그림 66)
- 대조품종과 비교하면, 개화기는 조생종인 미소와 춘파종인 S21의 중간정도로 빠르며, 생육상태 및 결실정도, 주당협수는 대조품종에 비하여 비교적 많은 편임
- 파종번호 123(제주한라)을 제외한 모든 계통이 수확이 가능하였으며, 몽골 현지에서 9월말 수확하였음



그림 66. 현지재배시험 중인 파종번호 123~128번 결실기의 근접(위) 및 전경(아래) 사진
(사진촬영일 16.08.19)

- 파종번호 123번만 개화하지 않았으며, 모든 계통이 춘파 조생종임. 124(미소)번은 극조생종으로 9월 6일경에는 꼬투리가 많이 떨어짐
- 다른 대조품종에 비해 127, 128번은 생육후기까지 생육이 왕성한 편임 (그림 67)
- 몽골현지에서 세대진전한 8라인의 후대를 국내에서 11월에 파종하여 세대진전함

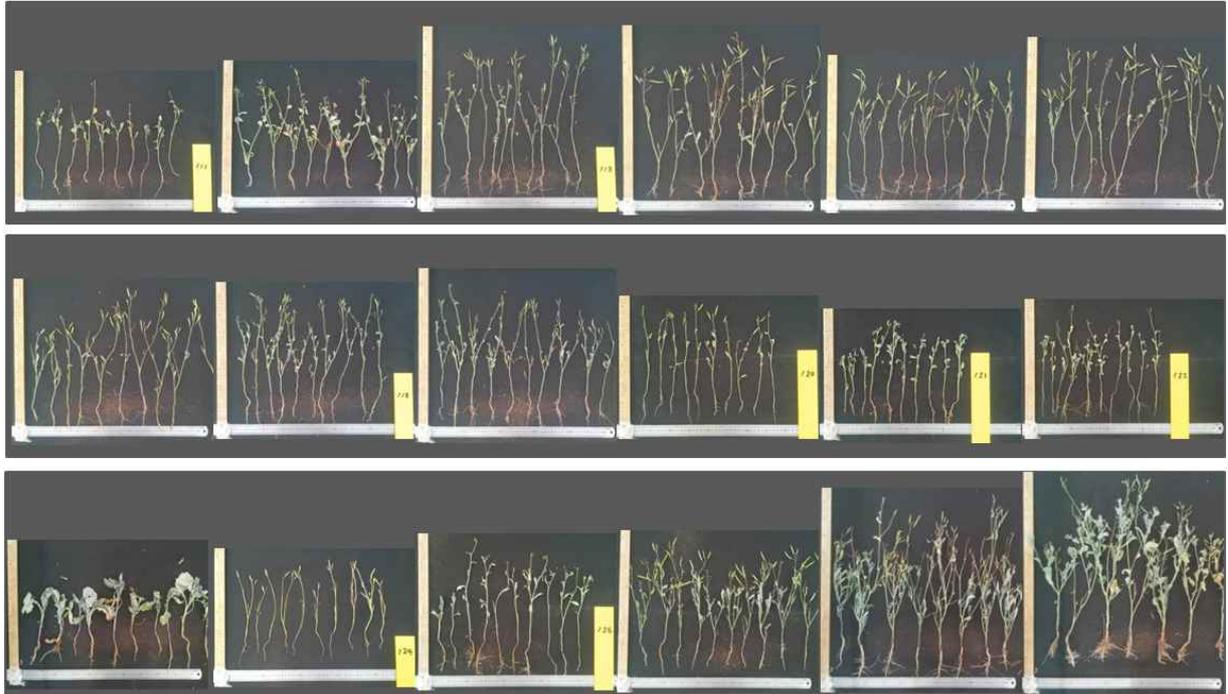


그림 67. 현지재배시험 중인 계통의 결실기 식물체 모습. 위쪽의 왼쪽부터 파종번호 111번~116번,中间的 왼쪽부터 파종번호 117번~122번, 아래쪽의 왼쪽부터 파종번호 123번~128번임 (사진촬영일 16.09.06)

(4) GM 유채 개발을 위한 유전자원 기술이전 실시

- 주식회사 에프앤피와 주식회사 포스코는 GM 유채 개발을 위한 유전자원으로 춘파성의 '포스비엔 606', '포스비엔 629' 과 이를 이용해 개발한 '형질전환유채(GMO) 4종'을 주식회사 포셈으로 기술이전함 (2016년 1월 7일, 그림 68)

기술이전계약서

■ 기술명 : 내건성 유채품중 기술

2016년 1월 7일

“계약당사자”

경북 포항시 남구 동해안로 6261
주식회사 포스코

대표이사 권 오 준



‘갑’

충북 증평군 도안면 노암로 60, 2층
주식회사 에프엔피

대표이사 김 신 제



‘을’

충북 증평군 도안면 노암로 60, 2층
주식회사 포셉

대표이사 김 신 제



POSCO CONFIDENTIAL

주식회사 포스코 및 주식회사 에프엔피(이하 ‘갑’ 이라 함)와 주식회사 포셉(이하 ‘을’ 이라 함)은 ‘갑’ 이 보유한 ‘내건성 유채품종’ 기술의 실시 및 사용에 대하여 다음과 같이 기술이전 계약을 체결하는 것에 상호 합의한다.

제1조 (계약의 목적)

본 계약은 ‘갑’ 이 그 권리를 가지는 제2조에 명기한 대상기술에 대하여 ‘을’ 에게 독점적 통상실시권을 부여하고, ‘을’ 은 ‘갑’ 에게 기술료를 지불하는 권리·의무 관계를 규정하는 것을 목적으로 한다.

제2조 (대상기술 및 범위)

본 계약에서 대상기술은 ‘갑’ 이 소유한 ‘내건성 유채품종 기술’ 의 연구결과, 노하우(Know-how) 및 다음의 지식재산권을 의미한다.

(유채)포스비엔 606	특허등록 제2015-515호
(유채)포스비엔 629	특허등록 제2015-514호
형질전환유채(GMO) 계통으로 우선 선발된 4종	



제3조 (실시권의 부여)

- (1) ‘갑’ 은 ‘을’ 에게 대상기술에 대한 국내외 독점적 통상실시권을 부여한다.
- (2) 상기 조항의 “독점적 통상실시권” 이라 함은 ‘갑’ 이 제공한 대상기술을 이용, 실시하여 ‘을’ 이 제품 또는 서비스를 제조, 생산 또는 판매하는 권리를 말한다. 다만, 이 경우에도 ‘갑’ 은 대상기술을 이용, 실시할 수 있다.

제4조 (기술이전방법)

‘갑’ 은 계약 체결 후 3개월 이내에 제2조에 명기한 “기술” 을 ‘을’ 에게 이전한다. 만약, 이 기간 내에 기술이전이 완료되지 못했을 경우 ‘을’ 은 서면으로 그 사실을 ‘갑’ 에게 통지하여야 하며, ‘갑’ 과 ‘을’ 의 상호 합의로 기술완료시기를 3개월을 더 연장할 수 있다.

제5조 (계약기간)

- (1) 본 계약은 ‘갑’ 과 ‘을’ 이 계약을 체결한 때부터 발효되며, 계약기간은



POSCO CONFIDENTIAL

그림 68. ‘포스비엔 606’, ‘포스비엔 629’, ‘형질전환유채(GMO) 4종’ 기술이전 실시

- (5) 카타르 QSTP TECH 주최 한국기술소개에서 내건성 식물체 개발 기술에 관련 소개
- 2016년 4월 24일 카타르에서 ‘Industrial technology & commercialization: best practices from different perspectives in qatar and korea’ 세미나 참석하여 ‘Development of Drought and Heat Tolerance Korean Grass for Making Green Grass Land in Subtropical/Tropical Region’ 발표 (그림 69)



그림 69. ‘Development of Drought and Heat Tolerance Korean Grass for Making Green Grass Land in Subtropical/Tropical Region’ 발표 (2016년 4월 24일)

마) 5년차(2017) 연구수행 결과

- (1) 5년차 상반기 국내 육종포에서 세대진전 진행
 - 4년차에 선발한 고올레인산 춘파 9계통과 고에루신산 춘파 4계통, 그리고 이들을 몽골에서 세대진전하여 op로 수확한 9라인을 2016년 11월에 국내 육종하우스에 파종하였음
 - 대조구로는 이벤트 #2802, 추파일반종인 DG3, 춘파일반종인 S20과 S21, 그리고 기개발된 GM 2세대 계통 4계통(D37~D40)을 파종하였음 (표 19)
 - 선발된 계통들의 세대진전상황은 춘파계통 육성을 위한 교배조합별 세대진전표로 정리하였음 (표 20)
 - 2016년 말~2017년초의 동절기 동안은 이중비닐하우스에 터널하우스와 내부 전열패드를 설치하여 가온하여 육성하였음

표 19. 2017년 상반기 춘파 계통 육성을 위한 파종대장

파종번호	계통명	교배번호	조제번호	파종일	비고
D011	12PDS3	D031-08	16-0001	161103	에루신산, 춘파
D012	12PDS3	D032-3	16-0081	161103	에루신산, 춘파
D013	12PDS3	D033-07	16-0004	161103	에루신산, 춘파
D014	12PDS3	D036-09	16-0008	161103	에루신산, 춘파
D015	S16x2802	D147-03	16-0015	161103	올레인산, 춘파
D016	S16x2802	D148-01	16-0016	161103	올레인산, 춘파
D017	S16x2802	D151-02	16-0019	161103	올레인산, 춘파
D018	S16x2802	D153-07	16-0026	161103	올레인산, 춘파
D019	S16x2802	D176-07	16-0030	161103	올레인산, 춘파
D020	S16x2802	D178-09	16-0034	161103	올레인산, 춘파
D021	S19(타)x2802	D194-01	16-0058	161103	올레인산, 춘파
D022	S19(타)x2802	D195-01	16-0066	161103	올레인산, 춘파
D023	S19(타)x2802	D196-01	16-0048	161103	올레인산, 춘파
D024	12PDS3	101-5-1 (D31-8-1)	16-0771	161103	에루신산, 춘파, 몽골 op
D025	12PDS3	101-8-1 (D33-7-1)	16-0786	161103	에루신산, 춘파, 몽골 op
D026	S16x2802	102-9-1 (D147-3-1)	16-0793	161103	올레인산, 춘파, 몽골 op
D027	S16x2802	102-10-2 (D148-1-1)	16-0799	161103	올레인산, 춘파, 몽골 op
D028	S16x2802	103-3-3 (D151-2-3)	16-0807	161103	올레인산, 춘파, 몽골 op
D029	S16x2802	103-10-1 (D153-7-1)	16-0818	161103	올레인산, 춘파, 몽골 op
D030	S16x2802	104-8-3 (D178-9-3)	16-0823	161103	올레인산, 춘파, 몽골 op
D031	S19(타)x2802	106-1-1 (D194-3-1)	16-0826	161103	올레인산, 춘파, 몽골 op
D032	S19(타)x2802	106-2-1 (D195-3-1)	16-0827	161103	올레인산, 춘파, 몽골 op
D033	#2802	2802-bulk	15-1693	161103	에루신산, 추파, 대조품종
D034	DG3	D191-03	16-0484	161103	에루신산, 추파, 대조품종
D035	S20	D192-02	16-0486	161103	올레인산, 춘파, 대조품종
D036	S21	D193-02	16-0489	161103	올레인산, 춘파, 대조품종
D037	#25G	P001-6	16-3371	161103	올레인산, 춘파, 대조품종
D038	#32G	P003-7	16-3412	161103	에루신산, 춘파, 대조품종
D039	#81G	P005-6	16-3430	161103	에루신산, 춘파, 대조품종
D040	#104G	P006-8	16-3442	161103	올레인산, 춘파, 대조품종

- 교배조합 양친인 대조품종 D33~D36이 개화되지 않은 것과 대조적으로, 선발계통들은 파종 후 약 3개월, 정식 후 약 2개월만에 선발계통 중 50% 이상의 계통에서 개화가 진행되었음 (그림 70, 71, 72)
- 개화조사는 동일 계통내에 50% 이상의 개체가 개화했을 때를 개화일로 조사하였음



그림 70. 17년 02월 09일 촬영한 대조 품종. 개화된 계통이 없음



그림 71. 17년 02월 09일 촬영한 춘파계통 전경. 선발계통 중 50% 이상이 개화진행됨

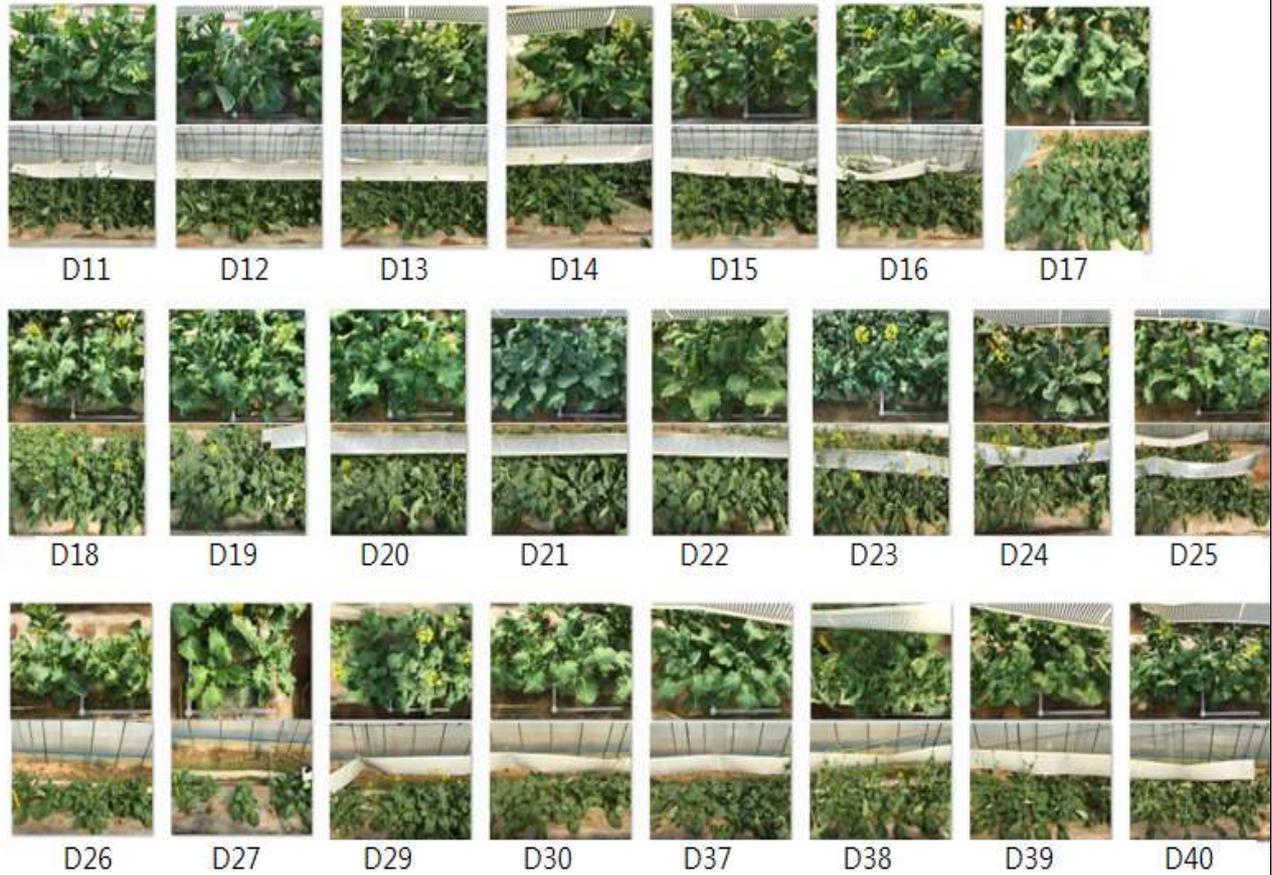


그림 72. 17년 02월 09일 촬영한 춘파계통 사진 (동절기에 가온관리함)

- 교배조합 양친 대조품종 중 춘파일반종인 D35, D36은 2월 중순 개화하여 3월 초 만개 하였으며, 이벤트 #2802는 3월 초 개화, 추파일반종인 D34는 3월초까지 개화하지 않음
- 선발계통들은 1월 말부터 2월 말까지 계통간 약간의 차이를 두고 개화하였으며, 3월 초 대부분 만개하였음 (그림 73)



그림 73. 17년 03월 06일에 촬영한 춘파계통의 만개사진

- 선발계통들의 꽃은 대부분 유사한 모양과 색깔을 가지고 있음 (그림 74)
- 다만, D21, D22 계통의 경우 3월초에 꽃잎이 오글거리는 현상이 심했으나, 날씨가 따뜻해지면서 점차 회복되었음 (그림 75)
- 꽃잎이 오글거리는 현상은 기개발된 대조품종인 D38에서도 올해에 특이적으로 나타났으며, 이러한 영향 때문인지 총 op 수확량이 다소 감소하였음



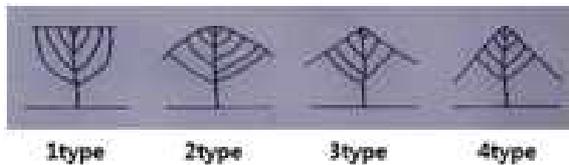
그림 74. 17년 03월 06일에 촬영한 춘파계통의 꽃 사진



그림 75. D21, D22 계통의 경우 3월초에 꽃잎이 오글거리는 현상을 보였으나, 점차 회복되었음

○ 선발계통의 형질조사는 다음과 같이 조사하였음

- 엽형 및 열편 : 본잎 7~8잎 전개시 앞의 형태
- 톱니 : 본잎 7~8잎 전개시 상위 제 2~3엽의 톱니의 정도
- 솜털유무 : 생육초기1회 조사, 본잎 7~8잎 전개시 본잎 제 2잎의 솜털의 정도
- 추대 : 동일 계통내 전체 개체 중 50% 이상의 개체가 추대한 시점
- 개화 : 동일 계통내 전체 개체 중 50% 이상의 개체가 개화한 시점
- 초형 : 만개시 4가지 타입으로 분류



- 초장 : 만개시 토양에 접한 기부부터 가장 높은 꽃대까지의 길이를 측정하여 평균한 값
- 주당수확량 : 전 개체의 op 종자를 수확하여 개체수로 나눈 수량

○ 형질조사 결과는 표 21과 같이 정리하였음

○ 춘파 계통으로 국내에서 육성한 32계통의 지방산 분석을 하였음 (표 22)

○ 선발계통들의 초장은 100~125cm 정도에 분포하며, 솜털은 없고, 톱니는 강한 편이 아니며, 초형은 대부분 2형에 속함

- 잎형과 열편, 개화일에서 차이를 보임. 대부분의 계통이 2월초에 개화됨
- D24~D30의 경우 몽골 노지에서 재배하면서 op로 수확한 종자임. 원종과 생육특성을 비교한 결과 차이를 나타내었으며, 꽃가루 오염이 있었을 것으로 추정됨. 이로 인해 주당수확량이 증가한 것으로 추정됨
- D11~D23 계통 중 열편, 엽형, 추대 및 개화에서 차이를 보이는 6개 계통 D18~D23을 이용하여 웅성불임계통 개발 및 F1 예비조합을 작성하였음
- 춘파이면서 고올레인산 6개 라인, 고에루신산 4개 라인의 GM분석 실시함 (그림 76, 표 23)

표 21. 춘파 선발계통의 형질조사 결과 (파종 16.11.03, 정식 16.12.02, 수확 17.5.22)

항목	파성	열편 (개수)	톱니 (0.1.3.5.7)	엽형	솜털유 무(0.1)	추대	개화	초형	초장 (cm)	주당수확 량 (g)
조사일	-	17.1.10	16.12.9	17.1.10	16.12.9	4~5일 간격	4~5일 간격	17.3.1 6	17.3.16	17.5.30
D11	춘파	4	3	원형	0	17.1.10	17.2.8	2	110.6 ± 2.33	12.7
D12	춘파	4	3	원형	0	17.1.10	17.2.13	2	118.7 ± 1.81	21.6
D13	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.8	2	115.9 ± 2.21	7.5
D14	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.13	2	118.3 ± 1.80	7.0
D15	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.2	2	113.4 ± 2.69	12.0
D16	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.8	2	105.4 ± 1.41	59.0
D17	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.22	2	103.4 ± 1.83	42.5
D18	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.2	2	105.7 ± 2.12	35.7
D19	춘파	6	3	원형	0	17.1.10	17.2.13	2	113.3 ± 1.72	14.2
D20	춘파	6	3	원형	0	17.1.10	17.2.8	2	117.8 ± 1.33	18.2
D21	춘파	6	3	원형	0	17.1.24	17.2.22	2	120.7 ± 1.50	26.4
D22	춘파	4	3	원형	0	17.1.24	17.2.13	2	124.3 ± 1.81	28.2
D23	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.1.31	2	111.2 ± 1.85	40.6
D24 (≒D11)	춘파	6	3	원형	0	17.1.10	17.2.2	2	105.5 ± 5.30	20.2
D25 (≒D13)	춘파	6	3	원형	0	17.1.10	17.2.13	2	113.3 ± 1.03	24.1
D26 (≒D15)	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.8	2	102.2 ± 2.56	91.2
D27 (≒D16)	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.22	2	100.4 ± 3.74	75.8
D29 (≒D18)	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.2.13	2	115.0 ± 3.23	54.3
D30 (≒D20)	춘파	6	3	원형	0	17.1.10	17.2.17	2	122.1 ± 3.68	60.9
D33 (2802)	추파	6	3	원형	0	17.1.24	17.3.6	3	111.7 ± 4.75	46.5
D34 (DG3)	추파	6	2	타원형	0	17.2.22	17.3.24	4	200.8 ± 4.08	35.3
D35 (S20)	춘파	0	3	원형	0	17.1.24	17.2.17	2	106.8 ± 3.52	20.9
D36 (S21)	춘파	0	3	타원형	0	17.1.24	17.2.13	2	116.8 ± 0.40	21.5
D37 (대조)	춘파	6	3	원형	0	17.1.10	17.2.22	2	105.4 ± 9.00	47.4
D38 (대조)	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.1.31	2	126.2 ± 2.38	18.9
D39 (대조)	춘파	2	3	원형	0	17.1.10	17.2.13	2	108.7 ± 8.67	31.6
D40 (대조)	춘파	4	3	원형	0	17.1.10	17.2.2	2	106.3 ± 7.29	21.7

표 22. 춘파 선발계통의 지방산 분석 결과

사료번호	계통명	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n9c)	vaccenic acid (C18:1n7c)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)
D11	12PDS3	29.26	0.00	0.00	3.32	0.27	0.00	1.27	17.28	1.55	13.37	6.42	0.99	8.20	0.93	46.35
D12	12PDS3	30.71	0.00	0.00	3.18	0.29	0.00	0.98	16.54	1.62	12.98	6.95	0.80	7.86	0.73	48.01
D13	12PDS3	27.95	0.00	0.00	3.51	0.32	0.00	1.22	17.06	1.92	13.41	6.55	0.95	7.32	0.98	46.70
D14	12PDS3	28.18	0.00	0.00	3.64	0.38	0.00	1.29	16.86	2.19	13.48	6.81	1.02	7.29	1.08	45.89
D15	S16x2802	30.90	0.00	0.00	2.57	0.14	0.00	0.86	32.15	1.53	12.65	48.55	0.34	0.71	0.20	0.26
D16	S16x2802	34.13	0.00	0.00	4.56	0.24	0.00	1.31	57.22	2.57	22.89	8.83	0.56	1.22	0.37	0.15
D17	S16x2802	33.78	0.00	0.00	4.48	0.25	0.00	1.34	57.45	2.51	22.68	8.98	0.56	1.26	0.36	0.06
D18	S16x2802	32.24	0.00	0.00	4.13	0.22	0.00	1.30	59.15	2.31	19.60	6.80	0.54	1.21	0.33	0.09
D19	S16x2802	26.25	0.00	0.00	4.73	0.26	0.00	2.39	49.41	3.63	26.48	10.16	0.80	1.72	0.42	0.00
D20	S16x2802	27.21	0.00	0.00	3.78	0.20	0.00	1.78	60.02	2.72	20.65	8.46	0.63	1.41	0.36	0.00
D21	S16x2802	32.54	0.00	0.00	3.79	0.16	0.00	1.70	65.12	2.01	17.88	7.42	0.50	1.14	0.21	0.07
D22	S16x2802	31.51	0.00	0.00	3.62	0.15	0.00	1.75	65.80	1.79	17.36	7.48	0.49	1.16	0.19	0.20
D23	S16x2802	28.63	0.00	0.00	4.09	0.25	0.00	2.05	62.19	3.07	19.23	6.56	0.75	1.31	0.42	0.08
D24	12PDS3	31.42	0.00	0.00	3.41	0.22	0.00	1.36	28.16	2.28	13.64	7.67	0.74	15.15	0.40	26.97
D25	12PDS3	31.32	0.00	0.00	3.56	0.22	0.00	1.26	29.35	2.31	13.76	8.31	0.70	13.80	0.40	26.35
D26	S16x2802	33.24	0.00	0.00	4.56	0.22	0.00	1.64	60.45	3.39	19.04	8.25	0.68	1.35	0.42	0.00
D27	S16x2802	30.94	0.00	0.00	4.46	0.22	0.00	1.69	60.93	3.22	18.73	7.56	0.77	1.56	0.51	0.35
D29	S16x2802	34.76	0.00	0.00	3.91	0.19	0.00	1.58	51.99	2.70	17.34	7.02	0.74	5.81	0.45	8.25
D30	S16x2802	32.62	0.00	0.00	3.74	0.18	0.00	1.60	58.37	3.01	19.09	7.69	0.67	2.58	0.42	2.64
D33	#2802	26.52	0.00	0.00	2.66	0.16	0.00	1.05	16.67	1.33	12.04	4.90	0.79	8.82	0.85	50.71
D34	DG3	32.71	0.06	0.00	3.70	0.27	0.00	0.87	10.76	1.53	14.29	10.54	0.72	2.86	0.66	53.73
D35	S20	25.07	0.00	0.00	4.36	0.21	0.00	1.89	58.83	3.12	20.80	7.48	0.76	1.59	0.50	0.45
D36	S21	34.13	0.00	0.00	4.32	0.19	0.00	1.79	66.48	2.89	16.31	5.22	0.72	1.55	0.42	0.11

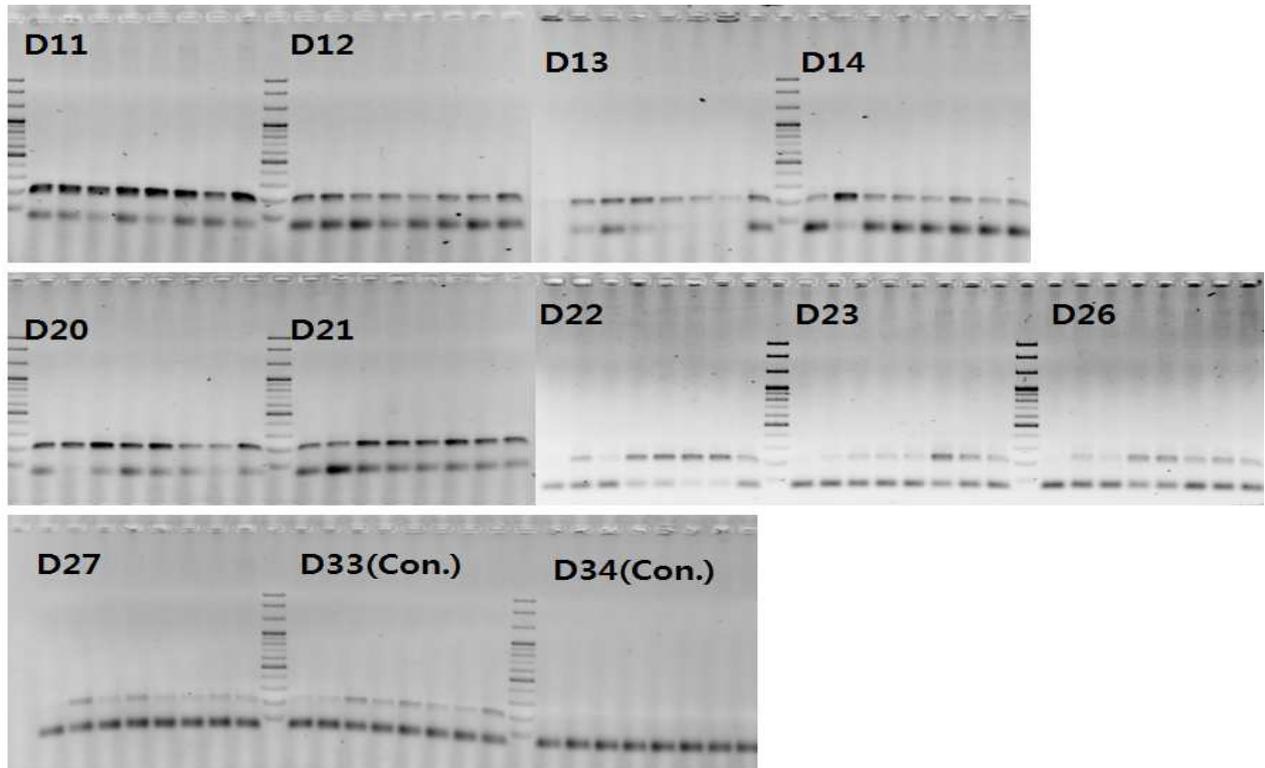


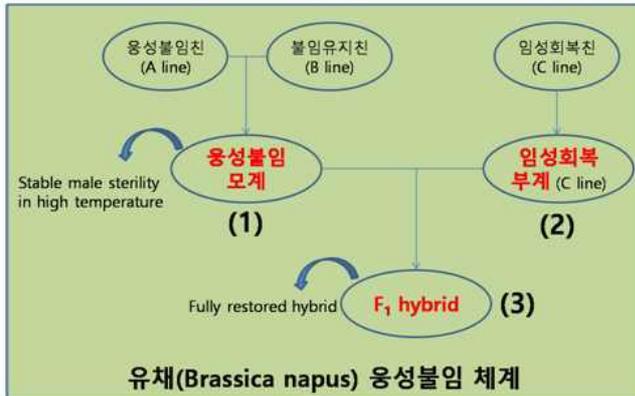
그림 76. 춘파계통 고올레인산 6개 라인, 고에루신산 4개 라인 선발하여 GM분석

표 23. 춘파계통 고올레인산 6개 라인, 고에루신산 4개 라인 선발하여 GM분석 결과

과종 번호	계통명	계통번호	교배변 호	조제번호	GM 마커 분석결과 (G:gm확인, N:None, F:Fail 표기)								비 고
					1	2	3	4	5	6	7	8	
D11	12PDS3	NA217-7-2-1 -4-01-08-1	D11-1	17-0028	G	G	G	G	G	G	G	G	RbIR2, ioIL-F, LBiP4
D12	12PDS3	NA217-7-2-1 -4-02-3-1	D12-1	17-0031	G	G	G	G	G	G	G	G	
D13	12PDS3	NA217-7-2-1 -4-04-07-1	D13-1	17-0034	F	G	G	G	G	G	G	G	
D14	12PDS3	NA217-7-2-1 -4-09-09-1	D14-1	17-0037	G	G	G	G	G	G	G	G	
D20	S16x28 02	NA62-8-5-2- 09-09-1	D20-1	17-0052	G	G	G	G	G	G	G	G	
D21	S16x28 02(타)	NA62-5-1-52 -4-6-01-1	D21-1	17-0055	G	G	G	G	G	G	G	G	
D22	S16x28 02(타)	NA62-5-1-52 -2-11-13-21 -01-1	D22-1	17-0058	F	G	G	G	G	G	G	G	
D23	S16x28 02(타)	NA62-5-1-52 -2-11-13-12 -01	D23-1	17-0061	G	G	G	G	G	G	G	G	
D26	S16x28 02	NA62-5-26-2 -03-03-1-1	D26-1	17-0070	F	G	G	G	G	G	G	G	
D27	S16x28 02	NA62-5-26-2 -06-01-2-1	D27-1	17-0072	G	G	G	G	G	G	G	G	
D33	#2802	2802-bulk-1	D33-1	17-0079	G	G	G	G	G	G	G	G	
D34	DG3	NA132-03-1	D34-1	17-0082	N	N	N	N	N	N	N	N	

(2) 춘파계통을 이용한 F1 예비조합 작성

- 형질조사 결과 열편, 톱니 및 엽형과 추대 및 개화시기에 차이를 보이는 6계통을 선발하여 F1 잡종생산을 위한 예비조합을 작성하였음
- F1 잡종종자 생산을 위해서 유채의 *Rfp* 회복인자를 이용한 CGMS 방법을 사용하고자 함. 본 과제를 통해 개발된 AtBG1 유전자 도입 계통을 웅성불임 모계로 활용하고, *Rfp* 회복인자를 보유한 DC2 계통을 회복친으로 사용할 계획임 (그림 77)



(1) 웅성불임 모계

웅성불임성이용 유출방지

- 유용유전자원의웅성불임계통 전환
- 유전자원의유출방지
- F1잡종종자개발시모친으로 활용



내건성유채 일반종



내건성유채 웅성불임

(2) 임성회복 부계

회복친내 회복인자가 웅성불임 모계의임성회복

- 웅성불임친과 회복친의교배조합작성
- 내건성, 병저항성, 내한경성, 다수성등의원예적형질우수



에프앤피 연구포장 내 유전자원 증식 및 선발포장

(3) F1 잡종종자 개발 및 생산기술 확립

잡종종자개발로 생산성증대

- 웅성불임친과 회복친의 교배조합작성
- 조합선발및양친증식
- 1.5배이상의수확량증대



조생종모계와 다수확부계의 F1 교배 조합 작성 결과

그림 77. 유채 CGMS를 이용한 F1 잡종종자 생산체계 활용

- F1 예비조합 작성에 회복친으로 활용되는 DC2는 당사가 보유한 *Rfp* 연관마커를 이용하여 유전자원을 스크리닝하여 선발한 계통임
- 당사의 *Rfp* 마커는 CAPS 마커로써 유전자형 판별에 유용함. 육성중인 추파 계통을 분석한 결과, 선발된 계통들은 모두 *Rfp* 회복 유전자를 보유하지 않은 것으로 분석되었음 (그림 78)

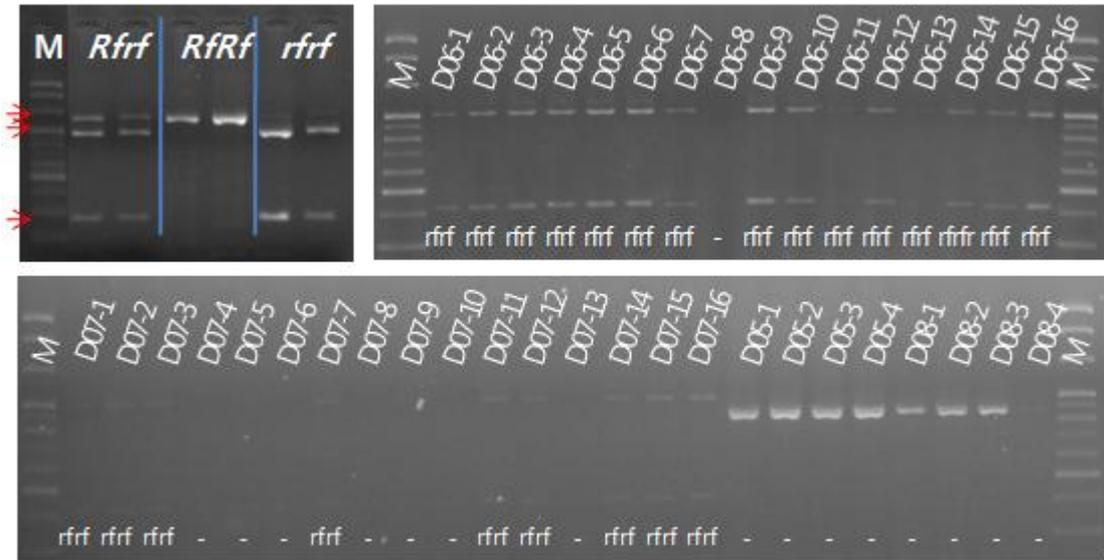


그림 78. 당사보유 Rfp 마커를 이용하여 추파 육성 계통을 분석한 결과. M : 1kb Marker, Rf : Restore-of-fertility genotype, RfRf : hetero zygote genotype, rf : recessive restore-of-fertility genotype, - : not amplified

- 본 연구에서 육종소재로 활용된 교배친들, 즉 #2802 (wt은 제주한라임), S19, S20, S21, S16, DG3, DF는 모두 Rfp 회복유전자를 보유하지 않는 것으로 분석되었음 (표 24)
- 당사보유 유전자원 중 Rfp 마커를 보유한 고정 계통 DC2를 회복친으로 사용하기 위하여 선발하였음
- 선발된 DC2 계통은 초장 150cm 내외의 춘파 계통으로 그 특성은 그림 79과 같음

표 24. 당사가 보유한 유전자원을 Rfp 마커로 분석한 결과. 본 과제의 육종소재로 사용된 계통들은 Rfp 마커를 보유하지 않았으며, Rfp 마커를 보유한 고정계통 DC2를 회복친으로 사용하고자 선발하였음

No.	name	genotype	No.	name	genotype	No.	name	genotype	No.	name	genotype	No.	name	genotype
1		rff	33		rff	55	S19	-	97	DF	-	129		-
2		rff	34		rff	56	S20	rff	98		-	130		-
3		rff	35		rff	57	S21	rff	99		-	131		-
4		rff	36		rff	58		-	100		-	132		-
5		rff	37		rff	59		rff	101	도입F1	RfRf	133		-
6		rff	38		rff	70		-	102	도입F1	RfRf	134		-
7		rff	39		rff	71		-	103	도입F1	RfRf	135		-
8		rff	40		rff	72	도입F1	RfRf	104	도입F1	-	136		rff
9		rff	41		-	73	도입F1	RfRf	105	도입F1	RfRf	137		rff
10		rff	42		-	74	NA1 (#2802_wt)	rff	106	도입F1	RfRf	138		rff
11		rff	43		-	75		rff	107	도입F1	rff	139		rff
12		rff	44		-	76		rff	108		rff	140		rff
13		rff	45		-	77		rff	109		rff	141		rff
14		rff	46		-	78		rff	110		rff	142		-
15		rff	47		rff	79		rff	111		-	143	SLF	-
16		rff	48		rff	80	도입F1	RfRf	112		rff	144	도입F1	RfRf
17		rff	49		rff	81		-	113		-	145	DC2	RfRf
18		rff	50		rff	82		-	114		-	146		-
19		rff	51		rff	83		-	115		rff	147		-
20		rff	52	NA561 (DC2 유래)	RfRf	84		-	116		rff	148		-
21		-	53		-	85	도입F1	RfRf	117		rff	149		-
22		rff	54		rff	86		-	118		-	150		rff
23		rff	55		rff	87		-	119		-	151		rff
24		rff	56	NA565 (S16 유래)	-	88		-	120		-	152		rff
25		rff	57	NA566 (S16 유래)	-	89		-	121		-	153		-
26		-	58	DG3	-	90	DG11	-	122		-	154		rff
27		rff	59	DG7	rff	91		-	123		-	155		rff
28		rff	60	DG4	rff	92		-	124		-	156		rff
29		rff	61	DG1	rff	93		-	125		-	157		rff
30		rff	62	DG1	rff	94		-	126		-	158		rff
31		rff	63	DG5	rff	95		rff	127		-	159		rff
32		rff	64	DG5	rff	96		rff	128		-	160		rff



특성	DC2
1. 식물체 : 키	1580mm
2. 잎 : 열편	중간
3. 잎: 가장자리의 톱니	중간
4. 잎 : 색	녹색
5. 잎 : 솜털	없다
6. 식물체 : 형태	4형
7. 안토시아닌 유무	없다
8. 꽃 : 색	노란색
9. 약 : 얼룩	없다
10. 협 : 길이	84mm
11. 협당 종자수	32립
12. 종피 색깔	흑색
13. 천립중	4~5 g
14. 춘파성	춘파

그림 79. 예비조합 작성을 위해 선발된 회복친 DC2의 형태적 특성

- 작성된 예비조합은 총 6조합으로, 개발 계통인 D18~D23 식물체에 각각 DC2 회복친의 꽃가루를 교배하여 F1 잡종종자를 개발하는 한편, D18~D23의 꽃가루를 각각 DC2_ms 웅성불임 개체에 교배함으로써 D18~D23의 웅성불임친 육성을 시작하였음 (그림 80)
- 예비조합 작성으로 생산한 종자량은 아래 표 (표 25)와 같음

표 25. 예비조합 작성으로 확보된 종자량

No.	교배번호	채종량 (g)	조제번호
1	DC2ms x D18	0.23	17-0101
2	DC2ms x D19	0.10	17-0102
3	DC2ms x D20	0.24	17-0103
4	DC2ms x D21	0.34	17-0104
5	DC2ms x D22	0.19	17-0105
6	DC2ms x D23	0.09	17-0106
7	D18 x K54	1.61	17-0107
8	D19 x K54	0.94	17-0108
9	D20 x K54	0.96	17-0109
10	D21 x K54	0.51	17-0110
11	D22 x K54	0.03	17-0111
12	D23 x K54	0.12	17-0112



그림 80. 개발계통 중 D18~D23의 웅성불임친 육성을 위하여 DC2_ms 웅성불임 개체에 교배를 실시함

- 예비조합으로 교배한 종자를 2017년 10월 9일 각 라인 당 24립씩 파종 (표 26)하여 임성의 회복 여부를 조사하여 F1 잡종종자 개발을 위한 육종 자원으로 활용할 예정
- 현재 D51~D63의 임성조사 진행중이며, D51~D56의 임성조사 결과 D18~D23이 유지친으로 활용이 가능한 것을 확인되면 여교배를 통해 BC₁ F1을 생산할 예정. D57~D63은 세대진전을 통해 *Rfp* 회복인자를 갖는 식물체만을 육성하여 회복친으로 이용할 계획임

표 26. 예비조합 교배종 파종대장

파종번호	계통명	계통번호	조제번호	파종일	파종량 (립)	비고
D51	DC2ms x D18	NA775	17-0101	171009	24	
D52	DC2ms x D19	NA776	17-0102	171009	24	
D53	DC2ms x D20	NA777	17-0103	171009	24	
D54	DC2ms x D21	NA778	17-0104	171009	24	
D55	DC2ms x D22	NA779	17-0105	171009	24	
D56	DC2ms x D23	NA780	17-0106	171009	24	
D57	D18 x K54	NA781	17-0107	171009	24	
D58	D19 x K54	NA782	17-0108	171009	24	
D59	D20 x K54	NA783	17-0109	171009	24	
D60	D21 x K54	NA784	17-0110	171009	24	
D61	D22 x K54	NA785	17-0111	171009	24	
D62	D23 x K54	NA786	17-0112	171009	24	
D63	D24 x K54	NA787	17-0113	171009	24	

(3) 5년차 하반기 몽골 육종포에서 세대진전 수행

- 몽골 현지적응성 시험을 위해 예비조합 작성된 라인 (D18~D23) 중 국내에서 생육이 우수하고 올레인산이 높은 춘파 라인이며, 생육적으로 차이가 있는 2개 라인(D22, D23)을 실험구로 선발(표 27)하여 대조구 4개 라인과 몽골 현지 적응성 재배 실험 수행
- 실험구 2개 라인 중 D22는 열편이 있으며, 원형의 엽형을 특성으로 가지며, D23은 열편이 없고, 타원형의 엽형과 주당 수확량이 많은 특성을 가지고 있어 선발. 에루신산 높고 추파인 2개 라인(D33, D34)과 올레인산이 높은 춘파 라인 2개 라인(D35, D36)을 대조구로 선발

표 27. 몽골 현지 적응성 조사를 위해 선발된 실험구 라인의 생육조사

항목	파성	열편수 (개수)	톱니 (0.1.3. 5.7)	엽형	솜털 유무 (0.1)	추대	개화	초형	초장 (cm)	주 당 수확량 (g)
D22	춘파	4	3	원형	0	17.1.24	17.2.13	2	124.3 ± 1.81	28.2
D23	춘파	0	3	타원형	0	17.1.10	17.1.31	2	111.2 ± 1.85	40.6
D33	추파	6	3	원형	0	17.1.24	17.3.6	3	111.7 ± 4.75	46.5
D34	추파	6	2	타원형	0	17.2.22	17.3.24	4	200.8 ± 4.08	35.3
D35	춘파	0	3	원형	0	17.1.24	17.2.17	2	106.8 ± 3.52	20.9
D36	춘파	0	3	타원형	0	17.1.24	17.2.13	2	116.8 ± 0.4	21.5

- 몽골 아르호스트 현지에서 현지적응성 시험을 위하여 파종한 라인은 표 28와 같으며, 각 라인 당 시험구의 면적은 15m²이고 각각의 시료종자 30g을 줄뿌림(조파) 함

표 28. 2017. 6. 10. 몽골 현지 적응성 조사 파종대장

파종번호	계통명	교배번호	조제번호	파종일	비고
D022	S19(타)x2802	D195-01	16-0066	170610	올레인산, 춘파
D023	S19(타)x2802	D196-01	16-0048	170610	올레인산, 춘파
D033	#2802	2802-bulk	15-1693	170610	에루신산, 추파, 대조품종
D034	DG3	D191-03	16-0484	170610	에루신산, 추파, 대조품종
D035	S20	D192-02	16-0486	170610	올레인산, 춘파, 대조품종
D036	S21	D193-02	16-0489	170610	올레인산, 춘파, 대조품종

- 실험구(D22, D23), 대조구(D35, D36)는 몽골에서도 생육이 우수하였으며, 파종 55일 후 개화되어 몽골 현지 적응 가능한 것으로 확인 (그림 81, 82, 83, 84)
- 몽골 현지적응성 시험 결과 대조구(D33, D34)는 개화는 되었지만 만개되지 않고 수확기에 종실을 맺지 못해 몽골에서는 추파의 품종은 생육하기에 적합하지 않다는 것으로 확인 (그림 81, 82, 83, 84)



그림 81. 몽골 현지 적응성 조사 개화초기 사진 (사진촬영일 2017. 8. 8)



그림 82. 몽골 현지 적응성 조사 개화중기 사진 (사진촬영일 2017. 8. 23)

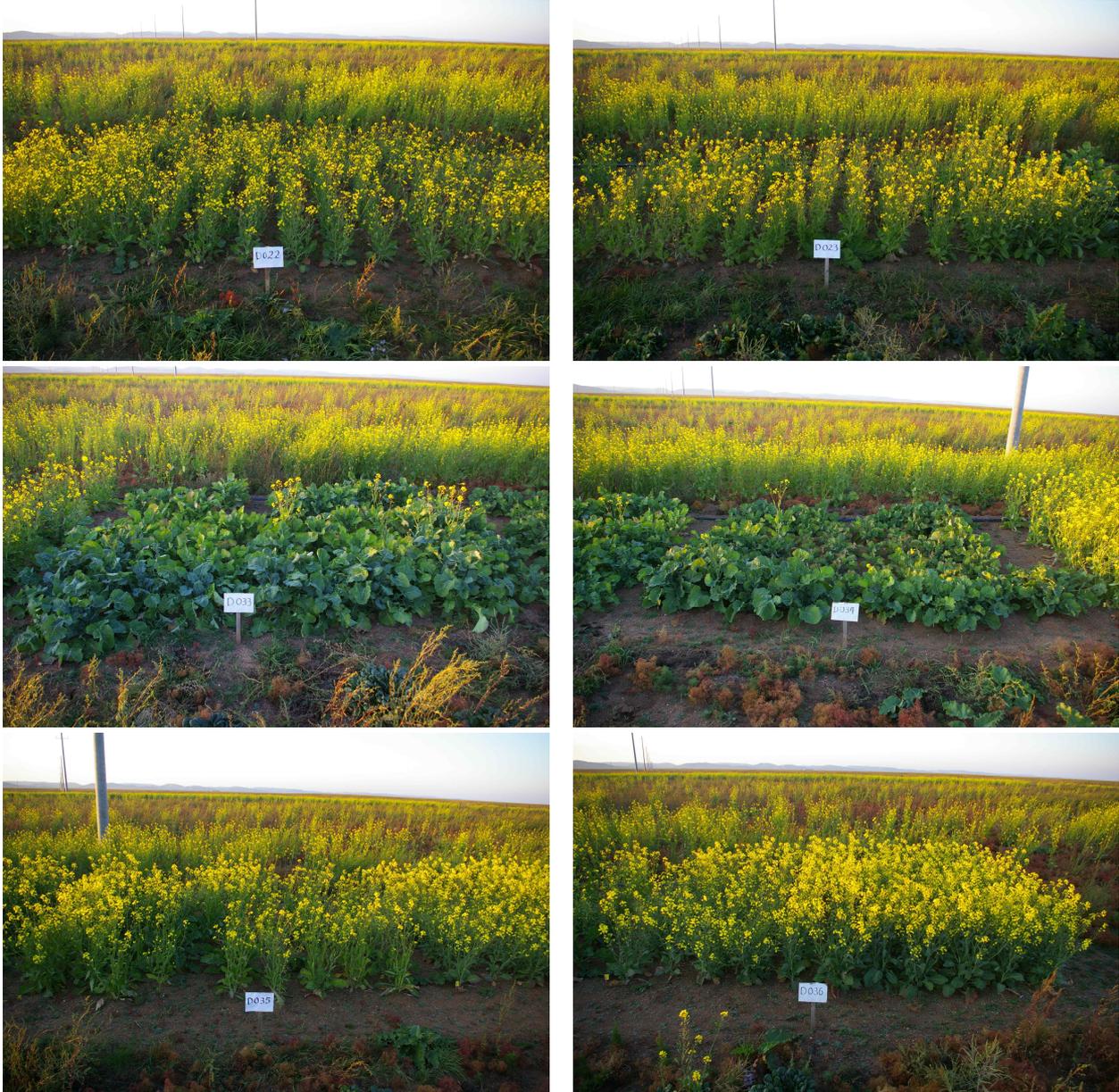


그림 83. 몽골 현지 적응성 조사 개화성기 사진 (사진촬영일 2017. 9. 7)

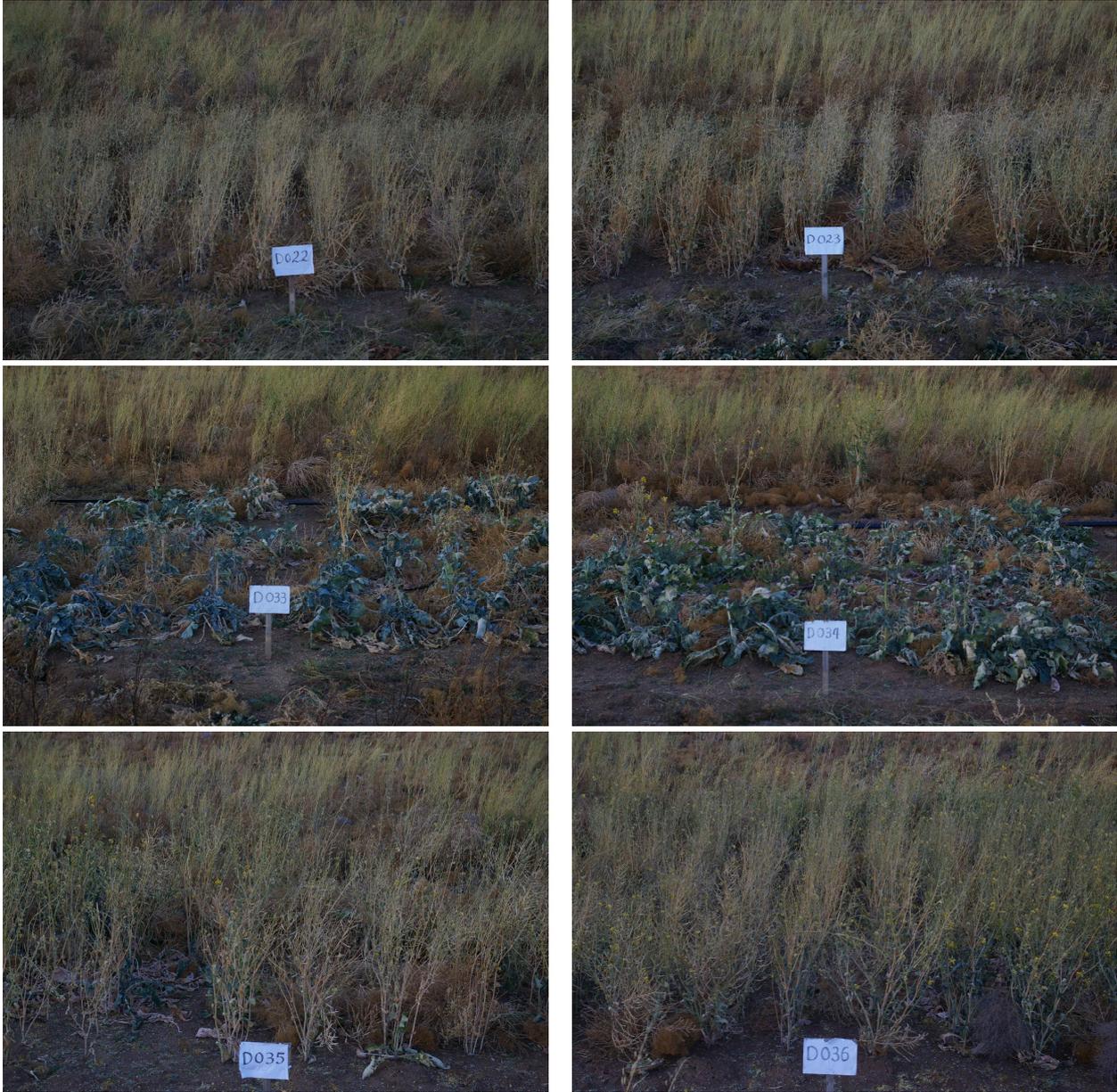


그림 84. 몽골 현지 적응성 조사 결실기 사진 (2017. 10. 03. 촬영)

3) GM 2802를 이용한 GM 2세대 추파형 1품종 개발

가) 1년차(2013) 연구수행 결과

- (1) GM 2세대 추파형 1품종 개발을 위한 내건성 형질전환 유채(GM2802)의 내건성 고올레인산 형질 도입을 위한 교배 후보 라인 특성
- 내건성 형질을 보유한 고올레인산 추파유채 품종 개발을 위해 내건성 형질전환 유채 GM2802와 추파형 고올레인산 유채 교배 후보라인의 생육 특성 검정
 - 후보라인인 내건성 형질전환 유채 GM2802는 건조 내성 유전자가 삽입되어 있으며 건조 지역에서 실시한 실험 결과 생육과 종자 생산이 가능하여 사막지역에서 생육 가능하고, S16, 독일도입종 DG, 프랑스도입종 DF 추파유채는 고올레인산 형질을 보유한 유채임 (그림 85)



그림 85. GM 2세대 추파형 다수확 품종 개발을 위한 교배조합

- 내건성 형질을 보유한 고올레인산 추파유채 교배 조합의 최종 목표는 내건, 내한, 만생의 고올레인산 함유 유채를 육성하는 것으로 표 29에서 확인 할 수 있음

표 29. 건조 내성 형질전환 유채(2802)를 이용한 추파 만생 고올레인산 함유 특성을 위한 교배품종의 특성 및 목표 형질

교배조합	모계X부계	교배계통의 유용형질	최종목표 형질
GM 2세대 추형 품종	2802 x S16-14	추파만생형, 내한, 고올레인산 함유 계통	내건, 내한, 만생, 고올레인산(60% 이상)
	S16-14 x 2802		
	2802x도입종(독일)	추파중생형, 내한, 고올레인산 함유 계통	내건, 내한, 만생, 고올레인산(60% 이상)
	도입종(독일)x2802		
2802x도입종(프랑스)	추파중생형, 내한, 고올레인산 함유 계통	내건, 내한, 만생, 고올레인산(60% 이상)	
도입종(프랑스)x2802			

- 독일 및 프랑스 도입종의 순계 분리

① 교배 조합 라인의 생육특성 : 교배 후보 라인의 개화일수 및 생육 특성에 따라

- 독일 도입종 143개체 중 조생종 7개체, 만생종 14개체 총 21개체 선발
 - 프랑스 도입종 164개체 중 조생종 8개체, 만생종 5개체 총 13개체 선발
- ② 교배 조합 라인의 분자마커 분석 : 교배 후보 라인의 순도를 검정하기 위해 11개의 Primer를 가지고 순도검정을 실시
- 독일도입 선발 7라인 38개체 유체의 순도 검정 결과 교배친 1개 라인 최종선발 (표 30)

표 30. 독일 도입 선발 7라인 38개체 유체의 순도 검정 결과

No.	파종번호	A18-1000	B18-400	N06-900	N05-800	N08-800	O19-550	O19-500	No.	파종번호	A18-1000	B18-400	N06-900	N05-800	N08-800	O19-550	O19-500
454	117-2	O	O	O	-	O	-	-	469	118-1	-	-	-	O	O	O	-
455	117-3	O	O	O	-	O	-	-	470	118-2	-	-	-	O	O	O	-
456	117-4	O	O	O	-	O	-	-	471	118-3	-	-	-	O	O	O	-
457	117-5	O	O	O	-	O	-	-	472	118-4	-	-	-	O	O	O	-
458	117-6	O	O	O	-	O	-	O	473	118-5	-	-	-	O	O	O	-
460	117-8	O	O	O	-	O	-	-	474	118-6	-	-	-	O	O	O	-
462	117-10	O	O	O	-	O	-	-	475	118-7	-	-	-	O	O	O	-
463	117-11	O	O	O	-	O	-	-	476	118-8	-	-	-	O	O	O	-
464	117-12	O	O	O	-	O	-	-	492	120-1	-	-	-	O	O	O	-
465	117-13	O	O	O	-	O	-	-	493	120-3	-	-	-	O	O	O	-
466	117-14	O	O	O	-	O	-	-	495	120-7	-	-	-	O	O	O	-
467	117-16	O	O	O	-	O	-	O	496	120-8	-	-	-	O	O	O	-
468	117-17	O	O	O	-	O	-	-	497	120-9	-	-	-	O	O	O	-
480	119-1	O	O	-	-	O	O	-	498	120-10	-	-	-	O	O	O	-
481	119-2	O	O	-	-	O	O	-	500	120-12	-	-	-	O	O	O	-
482	119-4	O	O	-	-	O	O	-	501	120-13	-	-	-	O	O	O	-
483	119-5	O	O	-	O	O	O	-	506	121-1	-	-	-	O	O	O	-
484	119-6	O	O	-	O	O	O	-	507	121-2	-	-	-	O	O	O	-
485	119-7	O	-	-	O	O	O	-	509	121-4	-	-	-	O	O	O	-
486	119-8	O	-	-	O	O	O	-	510	121-5	-	-	-	O	O	O	-
487	119-9	O	O	-	O	-	-	-	511	121-6	-	-	-	O	O	O	-
488	119-10	O	O	-	O	-	O	-	512	121-7	-	-	-	O	O	O	-
489	119-11	O	O	-	-	-	-	-	513	121-8	-	-	-	O	O	O	-
490	119-12	O	-	-	-	O	O	-	514	121-9	-	-	-	O	O	O	-
491	119-13	O	O	-	O	O	O	-	515	121-11	-	-	-	O	O	O	-

- 프랑스도입 선발 라인 10라인 59개체의 순도검정으로 교배친 1개라인 최종선발 (표 31)

표 31. 프랑스 도입 선발 라인 10라인 59개체 유체의 순도 검정 결과

과종번호	계통명	계통번호	교배번호	특징	N2	N6	N9	N15	N26	N30	N38	N52	N296
1	274-3	NA125-1-3			A	A	A	A	A	A	A	A	A
2	274-4	NA125-1-4			A	A	A	A	A	A	A	A	A
3	274-5	NA125-1-5			A	A	A	A	A	A	A	A	A
4	274-6	NA125-1-6	864-1	274-4만생종 발가채(Seal)	A	A	A	A	A	A	A	A	A
5	274-7	NA125-1-7			A	A	A	A	A	A	A	A	A
6	274-8	NA125-1-8			A	A	A	A	A	A	A	A	A
7	274-9	NA125-1-9			A	A	A	A	A	A	A	A	A
8	274-10	NA125-1-10			A	A	A	A	A	A	A	A	A
9	277-1	NA125-6-1			A	A	A	A	A	A	A	A	A
10	277-2	NA125-6-2	864-6	277-2만생종 발가채(Seal)	A	A	A	A	A	A	A	A	A
11	277-3	NA125-6-3			A	A	A	A	A	A	A	A	A
12	277-4	NA125-6-4			A	A	A	A	A	A	A	A	A
13	277-5	NA125-6-5			A	A	A	A	A	A	A	A	A
14	281-0	NA126-6-0			A	A	A	A	A	A	A	A	A
15	281-1	NA126-6-1	865-6	281-6조기개 확선발가채 (Seal)	A	S	A	S	A	A	S	A	A
16	281-2	NA126-6-2			A	S	A	S	A	A	S	A	A
17	281-5	NA126-6-5			A	S	A	S	A	A	S	A	A
18	281-6	NA126-6-6			A	S	A	S	A	A	S	A	A
19	282-2	NA126-7-2	865-7	282-7조기개 확선발가채 (Seal)	A	S	A	S	A	A	S	A	A
20	282-3	NA126-7-3			A	S	A	S	A	A	S	A	A
21	282-5	NA126-7-5			A	S	A	S	A	A	S	A	A
22	282-7	NA126-7-7			A	S	A	S	A	A	S	A	A
23	282-8	NA126-7-8			A	S	A	S	A	A	S	A	A
24	282-10	NA126-7-10			A	S	A	S	A	A	S	A	A
25	285-0	NA126-11-0			A	A	A	A	A	A	A	A	A
26	285-3	NA126-11-3	865-11	285-4조기개 확선발가채 (Seal)	A	A	A	A	A	A	A	A	A
27	285-4	NA126-11-4			A	A	A	A	A	A	A	A	A
28	285-5	NA126-11-5			A	A	A	A	A	A	A	A	A
29	285-6	NA126-11-6			A	A	A	A	A	A	A	A	A
30	285-10	NA126-11-10			A	A	A	A	A	A	A	A	A

(2) 목표형질 도입을 위한 교배 및 세대진전

- GM유채 (2802)와 우량 품종 추파형 3종(S16-14, 독일도입유채, 프랑스도입유채)과 교배하여 몽골 현지 적응성이 높은 계통을 선발하기 위해 교배 조합의 분리세대 육성을 진행
- S16-14와 GM2802의 교배조합은 연구과제 수행전에 선행연구결과물을 활용하였으므로 세대진전상황이 한세대 빠름
- 독일 및 프랑스 도입유채의 교배확률은 독일도입 유채(DG) x 2802는 6%, 2802 x 독일도입 유채(DG)는 27%이며, 프랑스도입 유채(DF) x 2802는 15%, 2802 x 프랑스도입 유채(DF)는 26%로 GM유채인 2802가 모계일 때 교배확률이 높아짐
- 만생종의 특징으로 추대 및 개화가 늦고, 초형은 IV형을 나타나는 등 추파형 만생종의 형태를 나타남
- 각 라인의 세대진전은 생육특성인 개화일수, 수확량 조사와 분자 마커 분석, 지방산 함량을 통해 세대진전을 진행함
- 교배 후보 라인의 오일 성분분석 결과, 2802(GM)은 올레인산이 낮고, S16-14, 독일, 프랑스 도입 유채는 올레인산이 높은 것을 확인하였음 (표 32)

표 32. 고올레인산 추파 유채 육종을 위한 교배 후보 라인 오일 분석 결과

No.	계통명	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n9c)	vaccenic acid (C18:1n7c)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C18:3n3)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n7c)
1	#2802	31.07	0.00	0.00	0.01	0.04	0.01	2.76	0.18	0.03	1.06	16.85	1.32	15.47	8.86	0.69	8.34	0.65	43.75
2	S16-9-1	34.80	0	0.01	0.01	0	0.04	4.17	0.24	0.06	2.29	68.09	2.53	16.79	4.02	0.53	0.99	0.19	0.05
3	S16-9-2	34.45	0	0.01	0.01	0	0.04	4.17	0.25	0.06	2.22	68.86	2.61	16.38	3.62	0.51	0.97	0.19	0.10
4	S16-16-1	34.48	0	0.01	0.01	0	0.04	4.03	0.23	0.05	2.23	68.48	2.30	16.54	4.18	0.54	1.04	0.20	0.10
5	S16-16-2	34.50	0	0.01	0.01	0	0.03	4.09	0.24	0.06	2.09	70.07	2.61	15.31	3.82	0.48	0.97	0.17	0.05
6	S16-16-3	34.40	0	0.01	0.01	0	0.03	3.88	0.21	0.05	2.09	69.68	2.21	16.05	4.02	0.49	1.01	0.18	0.08
7	프랑스 유채 Na 125-1	38.99	0.00	0.01	0.01	0.06	0.03	4.53	0.24	0.03	1.12	65.83	2.98	17.77	5.70	0.40	1.03	0.21	0.03
8	프랑스 유채 Na 125-3	38.89	0.00	0.01	0.01	0.06	0.02	4.55	0.23	0.04	1.18	62.12	2.98	20.20	6.67	0.44	1.16	0.25	0.07
9	프랑스 유채 Na 125-4	39.31	0.00	0.01	0.01	0.06	0.03	4.72	0.25	0.04	1.21	63.02	3.26	19.40	6.09	0.45	1.11	0.26	0.08
10	프랑스 유채 Na 125-5	37.11	0.00	0.01	0.01	0.07	0.03	4.86	0.26	0.04	1.26	64.24	3.23	18.59	5.36	0.46	1.15	0.25	0.07
11	프랑스 유채 Na 125-6	38.79	0.00	0.01	0.01	0.06	0.03	4.66	0.25	0.04	1.25	62.32	3.32	19.55	6.61	0.45	1.15	0.25	0.05
12	프랑스 유채 Na 125-7	39.73	0.00	0.01	0.01	0.06	0.01	4.79	0.24	0.04	1.21	63.39	3.15	18.92	6.18	0.44	1.14	0.24	0.05
13	프랑스 유채 Na 126-10	37.61	0.00	0.01	0.02	0.07	0.03	4.72	0.25	0.04	1.17	64.50	2.82	18.65	5.61	0.50	1.22	0.33	0.05
14	프랑스 유채 Na 126-11	40.14	0.00	0.01	0.01	0.05	0.02	4.27	0.21	0.04	1.41	69.69	2.28	15.05	4.98	0.51	1.19	0.26	0.03
15	프랑스 유채 Na 126-12	38.04	0.00	0.01	0.02	0.07	0.03	4.58	0.25	0.04	1.15	65.61	2.76	17.93	5.50	0.48	1.21	0.30	0.06
16	프랑스 유채 Na 126-13	35.60	0.00	0.01	0.02	0.07	0.01	4.71	0.26	0.01	1.16	62.67	2.77	20.00	6.11	0.51	1.27	0.35	0.07
17	프랑스 유채 Na 126-3	38.25	0.00	0.02	0.02	0.07	0.03	4.52	0.23	0.04	1.12	67.40	2.82	16.62	4.98	0.46	1.25	0.28	0.15
18	프랑스 유채 Na 126-5	40.95	0.00	0.01	0.01	0.05	0.02	4.55	0.21	0.04	1.70	67.83	2.46	14.40	6.25	0.66	1.30	0.36	0.15
19	프랑스 유채 Na 126-6	39.51	0.00	0.01	0.01	0.06	0.02	4.40	0.23	0.04	1.18	66.62	2.59	17.53	5.15	0.51	1.26	0.33	0.06
20	프랑스 유채 Na 126-7	44.70	0.00	0.01	0.01	0.06	0.02	4.47	0.23	0.04	1.16	67.41	2.45	16.99	5.06	0.50	1.22	0.32	0.04
21	프랑스 유채 Na 126-8	31.96	0.00	0.01	0.02	0.07	0.03	4.58	0.25	0.04	1.12	64.81	2.94	18.68	5.35	0.49	1.24	0.32	0.05
22	프랑스 유채 Na 126-9	36.60	0.00	0.01	0.01	0.06	0.02	4.47	0.19	0.04	1.53	66.62	2.30	15.82	6.58	0.61	1.34	0.35	0.04
23	독일도입 유채 NA482	40.1	0.00	0.01	0.01	0.04	0.02	4.04	0.26	0.06	1.84	57.37	2.94	21.26	9.94	0.60	1.21	0.31	0.11

- GM2802 x S16 교배조합은 F3에서 만생종 총 10라인을 선발하였음. 그중 79번 선발개체는 다수성으로 꼬투리가 튼실한 편임 (그림 86)
- 몽골 현지 재배시 독일도입 유채는 생육이 왕성하고 꼬투리의 길이는 길었으나, 종자가

- 대부분 비립이며, 프랑스도입 유채는 발아하여 육성할 수 있었으나 추대가 되지 않음
- 유채 도입품종 중 추파형 품종개발에 적합한 독일 및 프랑스 도입품종을 선발하여 새로 교배조합을 작성함
 - 독일도입종 DG13, DG3, DG9, DG15을 교배한 4계통 6라인과 프랑스도입종 DF1, DF2, DF4, DF를 교배한 5계통 8라인을 세대진전 하였음 (그림 86)
 - GM2802 유채와 프랑스도입종의 교배조합이 독일도입종과의 교배조합보다 생육이 왕성하였음

1년차 국내에서 F3 세대진전 및 특성조사

- GM2802xS16 세대진전하여 F3에서 만생개체 35번(A), 79번(B), 86번(C) 선발
- GM2802xS16-14의 F3 세대 진전 중 다수성인 79번 선발
- 79번 선발개체는 꼬투리가 튼실함(D, E)



그림 86. 2802xS16 교배조합은 F3에서 총 10라인을 선발

나) 2년차(2014) 연구수행 결과

- 고올레인산 추과품종 개발을 위한 교배조합 2802xS16-14 중 선발한 79번의 후대를 이용하여 PPT(MS배지+PPT25pp) 검정 및 마커분석을 수행하여 AtBG1 유전자가 도입된 식물체임을 확인하였음
- 선발된 79번 후대의 지방산 조성을 분석한 결과, 모두 에루신산이 높게 분석되었기 때문에 육성을 중단하였음 (표 33)

표 33. 고올레인산 추과계통 육종단계에서 선발된 79번 계통의 오일 분석 결과

No.	교배 번호	계통명	계통번호	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n7c)	vacenic acid (C18:1n7d)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)	조제 번호
1	79-3	2802xS16-14 F1	NA62-10-15-3	33.56	0.00	0.00	0.01	0.04	0.02	3.34	0.21	0.03	0.87	9.89	1.43	15.91	11.64	0.56	6.49	0.56	49.00	6014
2	79-6	2802xS16-14 F1	NA62-10-15-6	34.35	0.00	0.00	0.01	0.04	0.02	3.08	0.21	0.03	0.87	15.92	1.90	15.24	11.67	0.56	12.29	0.39	37.77	6017
3	79-7	2802xS16-14 F1	NA62-10-15-7	31.91	0.00	0.00	0.00	0.04	0.02	2.83	0.17	0.03	0.82	12.39	1.18	14.37	11.66	0.56	7.29	0.54	48.10	6018
4	79-8	2802xS16-14 F1	NA62-10-15-8	28.58	0.00	0.00	0.01	0.05	0.02	3.48	0.26	0.04	1.32	19.57	2.50	17.63	11.47	0.75	13.88	0.43	28.60	6019

- 선발된 79번의 지방산 조성이 고올레인산이 아닌 것으로 확인됨에 따라 동일세대에서 다른 라인의 지방산 분석을 수행하여 고올레인산 계통을 재선발하여 육성하였음 (표 34)

표 34. 2802xS16-14 교배조합의 선발계통이었던 79번 식물체와 동일세대, 다른 라인의 지방산 분석 결과

파종 번호	계통명	교배 번호	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n7c)	vacenic acid (C18:1n7d)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)
45	2802xS16-14	821-2	30.1	0.00	0.01	0.01	0.08	0.02	4.46	0.26	0.04	1.30	53.37	2.92	24.65	8.67	0.49	1.22	0.31	0.19
53	2802xS16-14	822-8	35.8	0.00	0.01	0.01	0.06	0.02	3.24	0.21	0.08	1.22	35.83	1.99	14.93	7.67	0.55	12.40	0.27	21.51
59	2802xS16-14	823-2	38.6	0.00	0.00	0.01	0.07	0.02	2.17	0.27	0.02	0.95	8.89	1.30	19.27	13.13	0.77	5.62	1.13	46.38
		823-3	37.8	0.00	0.00	0.01	0.04	0.02	3.70	0.20	0.05	1.33	53.26	2.97	22.93	12.69	0.53	1.63	0.37	0.25
		823-4	35.1	0.00	0.00	0.01	0.04	0.02	2.85	0.17	0.03	1.18	24.22	2.17	15.36	11.83	0.66	14.94	0.18	26.36
		823-5	33.7	0.00	0.00	0.01	0.03	0.02	3.06	0.19	0.03	1.11	21.70	2.20	15.48	12.24	0.63	14.42	0.34	28.54
		823-6	34.9	0.00	0.00	0.01	0.04	0.02	2.99	0.19	0.03	1.21	25.52	2.27	16.40	12.02	0.60	14.80	0.28	23.61
79	2802xS16-14	824-8	32.4	0.00	0.00	0.01	0.04	0.02	2.94	0.20	0.03	0.97	20.36	1.98	16.04	12.49	0.59	13.80	0.36	30.16
		824-15	35.1	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	3.24	0.20	0.03	1.01	22.77	1.54	13.39	5.86	0.66	11.56	0.58	39.09
103	2802xS16-14	825-19(1)	35.0	0.00	0.01	0.02	0.00	0.06	5.00	0.37	0.06	2.50	60.42	3.98	19.58	5.67	0.77	1.18	0.37	0.00
		825-19(2)	31.1	0.00	0.01	0.08	0.00	0.04	4.39	0.31	0.05	2.23	54.76	3.34	18.23	5.98	0.74	5.10	0.34	4.39
		825-19(3)	28.4	0.00	0.01	0.01	0.06	0.03	3.67	0.29	0.04	1.46	29.72	1.85	15.92	7.79	0.76	11.04	0.48	26.89

- 고올레인산 추과품종 개발을 위해 독일도입종과 프랑스도입종을 이용한 교배조합의 세대진전을 수행하였음
- 13년 6월 15일에 파종하여 본엽 5매 일 때 4°C에서 30일 동안 저온처리를 실시한 후 포장에 정식하여 육성하였음. 국내 8~9월의 고온기에 육성이 진행됨으로써 생육이 불량하고, 개화 및 꼬투리형성이 불량하였음. 따라서 가지치기를 수행 후 동절기를 보낸 다음해인 14년 5월 말에 채종하였음

- 표 35에서 보듯이 국내에서는 독일도입유체의 교배조합보다는 프랑스도입유체의 교배조합의 생육이 더 왕성함을 볼 수 있음
- 독일도입 교배조합에서 4계통 6라인과 프랑스도입 교배조합에서 4계통 8라인을 선발하여 후대 육성을 진행함

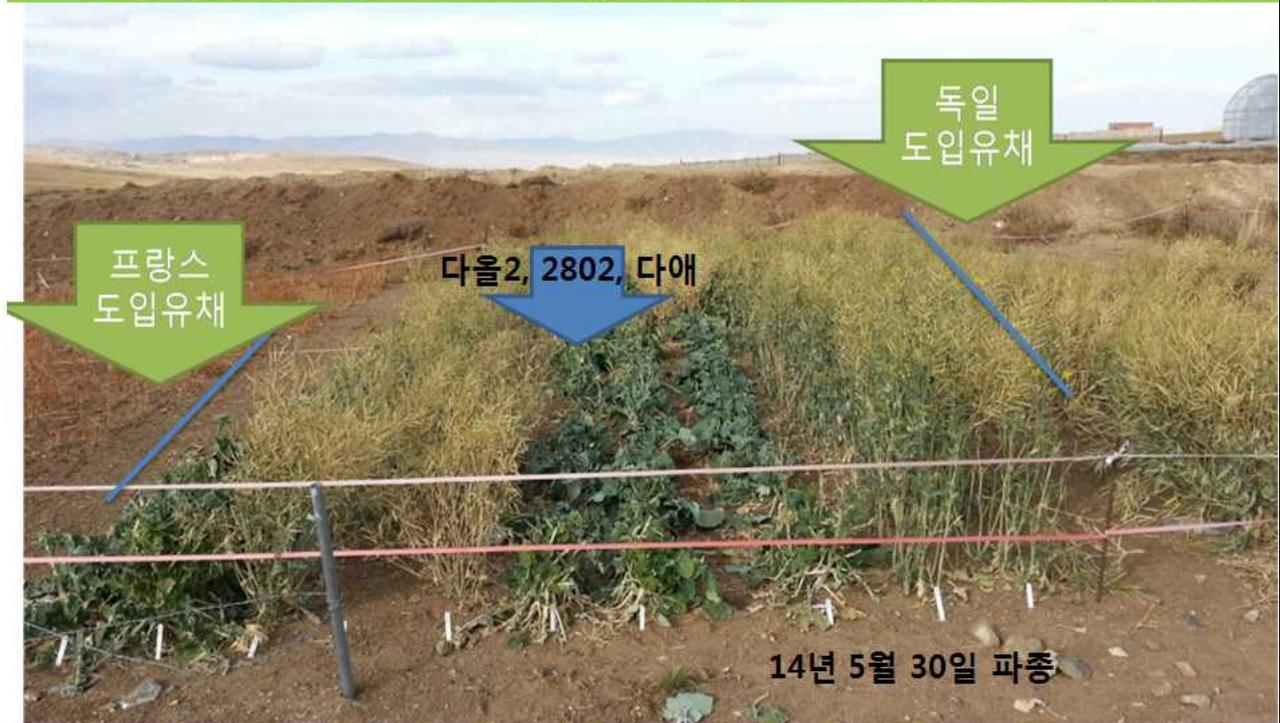
표 35. 고올레인산 추파 유체 육종 개체의 생육조사 및 우수 개체 선발

No.	샘플명	계통번호	교배번호	GM	Non-GM	개화일	1차채종유무	특징	기타	1차채종	비고
				OS126/OS79	OS126/OS124						
1	S01-1	NA270-1	NA270	G	N	140211	가능			13DS2	DGx#2802
2	S02-1	NA271-1		G	N	140323	가능	허걱주조음	줄기얇음		
3	S02-2	NA271-2		G	N	140317	가능	협 많음	투투		
4	S02-3	NA271-3	NA271	G	N		가능	셀핑돌떨어짐	성아우체 없음	13DS4	DGx#2802
5	S02-4	NA271-4		G	N	140418	2차	생육느림			
6	S02-5	NA271-5		G	N	140316	가능	협 좋음	n.IV		
7	S03-1	NA272-1		G	N		가능	포투리보통	원가루감수성		
8	S03-2	NA272-2	NA272	G	N	140323	가능		원가루감수성	13DS5	#2802xDG
9	S03-3	NA272-3		G	N	140326	2차	꽃은종으나 포투리 느림	초장작음		
10	S04-2	NA273-2		G	N		가능	포투리 장맹현	줄기얇음		
11	S04-3	NA273-3		G	N	140420	2차	포투리 가능			
12	S04-4	NA273-4	NA273	G	N	140311	가능	보통	가지 작나오	13DS6	#2802xDG
13	S04-5	NA273-5		G	N	140420	2차				
14	S05-1	NA274-1		G	N	140228	가능	허 겁고 동동	줄기 두꺼움		
15	S05-2	NA274-2		G	N	140330	가능	협 길쭉, 중간			
16	S05-3	NA274-3	NA274	G	N		가능	셀핑돌떨어짐		13DS7	#2802xDG
17	S05-4	NA274-4		G	N	140305	2차	꽃봉오리 작고 생 육느림	줄기 두꺼움		
18	S05-5	NA274-5		G	N		2	셀핑돌떨어짐			
19	S06-1	NA275-1		G	N	140416	가능	협 길고 얇음	줄기 두꺼움		
20	S06-2	NA275-2		G	N	140410	2		줄기 두꺼움		
21	S06-3	NA275-3	NA275	G	N	140301	가능	협 길쭉, 중간 느림		13DS8	#2802xDG
22	S06-4	NA275-4		G	N		2				
23	S06-5	NA275-5		G	N	140110	2	개화 빠르나 포투 리 없음			
24	S07-2	NA276-2	NA276	G	N		가능			13DS9	#2802xDG
25	S07-3	NA276-3		G	N	140316	가능	협 상중			
26	S08-1	NA277-1		G	N		2차	추가	생육느림		
27	S08-2	NA277-2	NA277	G	N	140228	가능	협 길쭉		13DS10	#2802xDG
28	S08-5	NA277-5		G	N	140220	가능	셀핑돌떨어짐			
29	S10-1	NA280-1		G	N		가능	협 길고 장맹현	줄기얇음		
30	S10-2	NA280-2	NA280	G	N	140316	가능	협 많음		13DS12	#2802xDG
31	S10-3	NA280-3		G	N	140527	가능	협 길고 조음	줄기 두꺼움		
32	S10-4	NA280-4		G	N		가능	협 많음	명명해		
33	S11-1	NA281-1		G	N	140323	가능	보통			
34	S11-2	NA281-2	NA281	G	N	140318	가능	셀핑돌떨어짐		13DS14	#2802xDG
35	S11-3	NA281-3		G	N	140318	가능	협 많음			
36	S11-4	NA281-4		G	N	140318	가능	조음			
37	S12-1	NA284-1		G	N	140315	가능	협 길고 많음			
38	S12-2	NA284-2	NA284	G	N		2차	협 길쭉 많음	생육느림	13DS17	#2802xDF
39	S12-3	NA284-3		G	N	140317	가능	셀핑돌떨어짐			
40	S12-4	NA284-4		G	N		가능	뚝뚝길쭉 보통			
41	S13-1	NA285-1		G	N	140319	가능	길쭉 동동			
42	S13-2	NA285-2		G	N	140318	가능	협 길쭉			
43	S13-3	NA285-3	NA285	G	N	140320	가능	줄자 많고 뚝뚝		13DS18	#2802xDF
44	S13-4	NA285-4		G	N	140321	가능	협 크고 뚝뚝			
45	S13-5	NA285-5		G	N	140320	추가	셀핑돌떨어짐			
46	S14-1	NA288-1		G	N	140318	가능	협자 길고 좋음			
47	S14-2	NA288-2		G	N	140308	가능	협장 길고 좋음			
48	S14-3	NA288-3		미분석	N	140323	가능	협장 길고 좋음			
49	S14-4	NA288-4		G	N	140323	가능	협장 길고 좋음			
50	S14-5	NA288-5	NA288	G	N	140313	가능	협자 길고 좋음		13DS19	DFx#2802
51	S14-6	NA288-6		G	N	140325	가능	협장 길고 좋음	1협 26립		
52	S14-7	NA288-7		G	N	140305	가능	협장 길고 좋음			
53	S14-8	NA288-8		G	N	140312	가능	협장 길고 좋음	줄기 두꺼움		
54	S14-9	NA288-9		G	N	140323	가능	협장 길고 좋음			
55	S15-1	NA289-1		G	N		중간	길쭉 좋아			
56	S15-2	NA289-2	NA289	G	N		중간	셀핑돌 조금 떨어 짐		13DS20	DGx#2802

(3) 교배 조합들에 대한 몽골 현지 검정 및 선발

- 몽골에서의 생육을 확인하기 위해 모부분으로 쓰인 독일 도입유채와 프랑스 도입 유채 14년 5월 30일 파종 (그림 87)
- 독일 도입유채는 생육이 왕성하고 꼬투리의 길이는 길었으나, 종자가 대부분 비립이였으며, 프랑스 도입유채는 발아는 되었으나 추대가 되지 않아 몽골 현지에서의 내한성 정도를 파악할 수 있도록 철거하지 않고 남겨둠
- 추파형으로 몽골현지 적응성이 약간 떨어지는 추파형 2세대 GM유채의 모부분인 독일 도입유채는 GM 2802유채와 교배함으로 개화를 늦추는 목표로 육성

2년차 독일 및 프랑스 유채 도입종, 교배종 F1 유채 몽골 현지 재배 시험



- 독일 도입 F3유채는 생육이 왕성하고 꼬투리의 길이는 길었으나, 종자가 대부분 비립임
- 프랑스 도입 F3유채는 발아는 되었으나 추대가 되지 않음
- 추파형으로 GM 2802유채와 교배함으로 개화를 늦추는 목표로 육성(몽골에서 육성은 어려움)

그림 87. 독일도입종과 프랑스도입종 및 이와 교배한 분리세대의 몽골재배모습

다) 3년차(2015) 연구수행 결과

- (1) 3년차 상반기 국내 육종포에서 세대진전 수행
 - 3년차 교배조합별 세대진전표는 표 36와 같음
 - 2년차에 한쪽친을 GM2802로 교배한 3개 교배조합 (DG, DF, S16)으로부터 10계통 총 24라인을 국내에서 세대진전 하였음 (표 36)



그림 88. 3년차 선발 계통(F2~F4)의 국내 세대진전 및 특성검정 (15년 3월 16일 촬영)

- 추파용 국내육성라인의 개체별로 채종한 종자의 지방산을 분석하여 2802xS16 교배조합 10라인 중 6라인을 선발하였음 (표 38)

표 38. 추파용 국내육성라인 셀핑종자의 지방산 분석 결과

교배조합	계통명	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n7c)	vaccenic acid (C18:1n7d)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	α-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)	조제번호	천립중
대조구	2802	30.52	0.00	0.00	0.01	0.05	0.03	3.17	0.24	0.02	0.93	17.54	1.63	16.00	8.34	0.62	8.15	0.67	42.60	2802	4.738
	S16	31.46	0.00	0.00	0.01	0.07	0.02	2.32	0.26	0.03	1.11	7.51	1.33	18.36	12.47	5.48	1.65	1.35	48.04	1	3.445
	DG3	27.48	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	4.42	0.23	0.00	1.18	61.16	2.65	19.67	7.79	0.49	1.44	0.27	0.64	15-2021	4.536
DGx2802	809-1	29.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.71	0.22	0.00	1.34	36.26	2.69	17.72	7.70	0.63	12.40	0.31	17.01	15-1068	4.747
	810-2	29.85	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.35	0.21	0.00	1.13	29.90	2.22	17.47	7.29	0.54	13.81	0.26	23.84	15-1071	5.176
	811-9	32.73	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	3.39	0.23	0.00	1.04	18.56	1.35	12.56	8.49	0.73	11.38	0.55	41.68	15-1079	3.415
2802xDG	812-2	24.45	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	3.44	0.26	0.00	0.94	14.05	1.20	14.48	9.48	0.73	7.28	0.67	47.40	15-1015	6.182
	813-7	29.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.99	0.19	0.00	0.85	18.74	1.49	13.26	8.31	0.63	12.12	0.45	40.98	15-1089	5.396
	814-4	32.67	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	3.29	0.21	0.00	1.08	27.18	2.11	15.78	7.87	0.57	13.89	0.30	27.69	15-1096	4.874
	815-10	33.93	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	3.64	0.19	0.00	1.43	41.97	2.30	18.64	7.45	0.51	11.45	0.20	12.17	15-1102	5.020
2802xDF	816-1	30.03	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	3.81	0.22	0.00	1.22	34.49	2.70	20.50	7.78	0.54	13.31	0.24	15.14	15-1106	5.876
	817-1	29.59	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	3.50	0.18	0.00	1.37	28.92	2.19	17.23	9.07	0.61	13.90	0.26	22.73	15-1111	5.845
	818-15	31.57	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.14	0.21	0.00	1.04	21.32	2.12	16.86	8.47	0.70	13.24	0.48	32.41	15-1123	4.774
	819-9	29.50	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	2.82	0.17	0.00	0.72	13.87	0.98	13.84	8.06	0.63	7.69	0.67	50.51	15-1127	4.643
	820-5	31.18	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	4.31	0.24	0.00	1.21	35.37	2.31	20.43	7.34	0.60	12.06	0.32	15.74	15-1132	5.377
DFx2802	821-5	29.31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.40	0.19	0.00	1.01	23.34	2.09	16.97	8.68	0.58	12.48	0.38	30.89	15-1137	7.517
	822-5	27.25	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	4.25	0.20	0.00	1.32	35.24	2.48	23.42	8.55	0.51	10.38	0.22	13.39	15-1143	7.567
	823-1	35.72	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	3.16	0.21	0.00	0.88	20.85	1.93	18.34	10.36	0.61	12.74	0.45	30.42	15-1149	6.725
	824-9	32.32	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	4.17	0.21	0.00	1.17	56.35	2.40	24.42	9.13	0.48	1.20	0.31	0.10	15-1157	5.812
2802xS16	825-9	29.93	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	3.21	0.16	0.00	1.39	31.32	1.67	19.21	6.99	0.53	14.27	0.29	21.10	15-1160	2.669
	826-5	33.62	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	3.04	0.16	0.00	1.33	31.17	1.46	16.05	5.82	0.83	16.07	0.42	23.63	15-1171	5.132
	827-4	32.45	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	3.10	0.15	0.00	1.11	20.03	1.44	16.21	8.64	0.61	13.26	0.40	36.10	15-1187	4.038
	828-1	32.95	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	3.57	0.19	0.00	1.60	55.30	2.66	24.52	9.91	0.51	1.26	0.16	0.16	15-1314	5.579
	829-1	30.42	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	3.72	0.18	0.00	1.44	56.21	2.31	23.79	9.25	0.52	1.44	0.29	0.79	15-1190	6.184

- 3년차 선발 계통 (2802xS16 F5, 2802xDG/DF F3)을 세대진전을 위해 파종한 후, 유묘기 일 때 GM 마커 검정 실시함 (표 39)
- 2802 x S16 F5 세대는 GM 마커 분석결과 AtBG1 유전자가 고정되었으며, 2802 x DG / 2802 x DF F3 세대는 AtBG1 유전자가 고정되지 않은 라인을 제거한 후 하우스에 정식하였음

표 39. 추파용 국내육성라인의 분자마커분석을 통한 순도검정 결과

<2802xS16 F5>

파종번호	계통명	계통번호	교배번호	조제번호	GM 마커 분석결과 (G, N 표기)								
					1	2	3	4	5	6	7	8	
D141	S16x2802	NA62-10-15-8-01	823-01	15-1149	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D143	S16x2802	NA62-10-15-8-08	823-08	15-1151	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D146	S16x2802	NA62-10-15-8-18	823-18	15-1154	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D147	S16x2802	NA62-5-26-2-03	824-03	15-1155	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D153	S16x2802	NA62-5-26-2-19	824-19	15-1161	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D156	S16x2802	NA62-5-26-3-06	825-06	15-1164	G	G	G	G	G	G			
D158	S16x2802	NA62-5-26-3-10	825-10	15-1166	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D159	S16x2802	NA62-5-26-3-12	825-12	15-1167	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D171	S16x2802	NA62-5-26-7-06	827-06	15-1179	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D173	S16x2802	NA62-5-26-7-11	827-11	15-1181	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D176	S16x2802	NA62-8-5-2-01	828-01	15-1184	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D178	S16x2802	NA62-8-5-2-09	828-09	15-1186	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D180	S16x2802	NA62-8-5-2-15	828-15	15-1188	G	G	G	G	G	G			
D181	S16x2802	NA62-8-5-2-16	828-16	15-1189	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D182	S16x2802	NA62-8-5-3-01	829-01	15-1190	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D184	S16x2802	NA62-8-5-3-08	829-08	15-1192	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D185	S16x2802	NA62-8-5-3-09	829-09	15-1193	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D187	S16x2802	NA62-8-5-3-13	829-13	15-1195	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D188	S16x2802	NA62-8-5-3-18	829-18	15-1196	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D189	S16x2802	NA62-8-5-3-19	829-19	15-1197	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D190	#2802	#2802-01	833-01	15-1198	G	G	G	G	G	G	G	G	G
D191	DG3	NA132	4017-05	15-2021	N	N	N	N	N	N	N	N	N
D192	S20	NA011-0-6-4-6-5	129-05	14-3159	N	N	N	N	N	N			

<2802xDG/DF F3>

파종번호	계통명	계통번호	교배번호	조제번호	GM 마커 분석결과 (G, N 표기)								
					1	2	3	4	5	6	7	8	
D060	13PD54	NA271-1-01	809-01	15-1068	N	G	G	N	N	G			
D061	13PD54	NA271-1-02	809-02	15-1069	G	G	G	G	G	G	G	N	
D062	13PD54	NA271-1-03	809-03	15-1070	G	G	G	N	N	G	G	N	
D063	13PD54	NA271-2-02	810-02	15-1071	G	N	N	G	G	G	G	G	
D064	13PD54	NA271-2-07	810-07	15-1072	G	G	G	G	G	G	G	G	
D065	13PD54	NA271-2-08	810-08	15-1073	G	G	G	N	G	G	G	G	
D066	13PD54	NA271-2-11	810-11	15-1074	G	G	G	G	N	N	G	G	
D067	13PD54	NA271-2-12	810-12	15-1075	G	N	N	G	N	G	N	G	
D068	13PD54	NA271-2-14	810-14	15-1076	G	G	G	N	N	G	G	G	
D069	13PD56	NA273-2-01	811-01	15-1077	N	G	N	G	G	G	G	N	
D070	13PD56	NA273-2-03	811-03	15-1078	G	G	G	G	G	N	N	G	
D071	13PD56	NA273-2-09	811-09	15-1079	N	G	G	G	G	N	N	N	
D072	13PD56	NA273-2-19	811-19	15-1080	G	N	N	G	G	G	G		
D073	13PD56	NA273-4-05	812-05	15-1081	G	G	G	G	G	N	G	G	
D074	13PD56	NA273-4-06	812-06	15-1082	G	N	G	G	G	N	N	G	
D075	13PD56	NA273-4-11	812-11	15-1083	N	N	G	N	N	G	G	G	
D076	13PD56	NA273-4-17	812-17	15-1084	N	G	G	G	G	G	N	G	
D077	13PD56	NA273-4-18	812-18	15-1085	N	G	G	G	G	N	N	G	
D078	13PD57	NA274-1-01	813-01	15-1086	G	G	G	G	G	N	G	G	
D079	13PD57	NA274-1-02	813-02	15-1087	G	G	G	N	G	G	G	G	
D080	13PD57	NA274-1-05	813-05	15-1088	G	G	G	G	G	N	G	G	
D081	13PD57	NA274-1-07	813-07	15-1089	G	G	G	G	G	G	G	G	
D082	13PD57	NA274-1-08	813-08	15-1090	G	G	G	G	G	G	G	G	
D083	13PD57	NA274-1-10	813-10	15-1091	N	G	G	G	G	G	N	G	
D084	13PD57	NA274-1-12	813-12	15-1092	N	G	N	N	G	G			
D085	13PD57	NA274-1-15	813-15	15-1093	G	G	G	G	G	G	G	G	
D086	13PD510	NA277-2-02	814-02	15-1094	G	G	G	G	G	G	G	G	
D087	13PD510	NA277-2-03	814-03	15-1095	G	G	G	G	G	G	G	G	
D088	13PD510	NA277-2-04	814-04	15-1096	G	G	G	G	G	G	G	G	
D089	13PD510	NA277-2-06	814-06	15-1097	G	G	G	G	G	G	G	G	
D090	13PD510	NA277-2-08	814-08	15-1098	G	G	G	G	G	G	G	G	
D091	13PD510	NA277-2-12	814-12	15-1099	G	G	G	G	G	G	G	G	
D092	13PD513	NA280-2-04	815-04	15-1100									
D093	13PD513	NA280-2-08	815-08	15-1101									
D094	13PD513	NA280-2-10	815-10	15-1102									
D095	13PD513	NA280-2-13	815-13	15-1103									
	13PD513	NA280-2-15	815-15	15-1104									

라) 4년차(2016) 연구수행 결과

(1) 국내 육종포에서의 세대진전 진행

- 4년차 현재 교배조합별 선발계통의 세대진전표는 다음의 표40과 같음
- 2015년 9월 10일에 GM2802 x S16 교배조합의 F5 세대를 D141~D189로 총 49라인 파종하여 유묘기의 GM 마커 분석으로 14라인을, 2802 x DG, DF 교배조합의 F3세대를 파종번호 D060~D140으로 총 81라인 파종하여 동일한 방법으로 51라인을 선발하였으며, 10월 28일에 하우스에 정식하였음 (그림 89)
- 하우스에 정식한 65라인 중 1월 초에 추대 및 개화하는 춘파성 유채가 11라인이 분리되었으며, 이를 화분으로 옮긴 후 춘파유채 육성종인 집단과 동일하게 재배관리하여 종자를 확보하였음

표 40. 추파계통 육성을 위한 세대진전 상황표

세대명	세대번호	세대종류	추진기간: 2022년 12월 15일 - 13월 15일				추진기간: 2023년 1월 15일 - 2월 15일				추진기간: 2023년 3월 15일 - 4월 15일				추진기간: 2023년 5월 15일 - 6월 15일				추진기간: 2023년 7월 15일 - 8월 15일				추진기간: 2023년 9월 15일 - 10월 15일			
			계획면적	진행률	잔여면적	비율	계획면적	진행률	잔여면적	비율	계획면적	진행률	잔여면적	비율	계획면적	진행률	잔여면적	비율	계획면적	진행률	잔여면적	비율	계획면적	진행률	잔여면적	비율
2802x	516	G	31,486	22.94	28,344	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	518	N	45,666	69.63	0,038	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	519	N	45,666	57.37	0,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	520	N	32,335	68.62	0,044	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	521	G	31,486	22.94	28,344	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	522	G	31,486	22.94	28,344	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	523	G	31,486	22.94	28,344	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	524	G	31,486	22.94	28,344	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	525	G	31,486	22.94	28,344	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	526	G	31,486	22.94	28,344	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2802x	506	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	507	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	508	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	509	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	510	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	511	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	512	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	513	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	514	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	515	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
2802x	504	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	505	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	506	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	507	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	508	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	509	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	510	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	511	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	512	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	513	G	31,7	24.7	28,111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
2802x	500	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	501	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	502	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	503	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	504	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	505	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	506	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	507	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	508	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	509	G	34,200	23.62	29,553	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		



그림 89. 대조품종의 육성모습 (사진촬영일 16.01.11)

- 추파계통의 경우 하우스내에서 3월 초중 ~ 4월 중순에 개화기에 도달함 (그림 90, 91)
- 대조품종 GM2802와 DG3, 일부 만생종 20라인은 3월 21일경까지 개화하지 않았으며, 4월 중순경에 만개하였음 (그림 92)



그림 90. 추파계통 육성을 위한 국내 세대진전 모습 (사진촬영일 16.03.21)

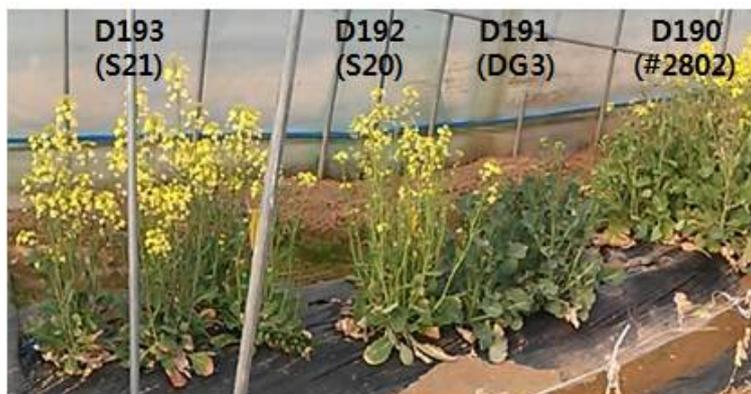


그림 91. 대조품종의 육성모습 (사진촬영일 16.03.21)



그림 92. 추파계통 육성을 위한 국내 세대진전 모습 (사진촬영일 16.04.18)

○ 추파계통 중 숙기가 빠른 계통과 늦은 계통을 아래 그림 93, 94과 같이 index를 주어 조사하였음. 1번 단계의 유채는 수확시기를 놓칠 경우 채종시 종자 소실율이 높으며, 5번 단계의 유채는 수확하여 별도의 후숙기간이 필요하였음



그림 93. 계통별로 결실기의 차이를 보임 (사진촬영일 16.05.26)



그림 94. 추파계통 육성을 위한 국내 세대진전 모습 (사진촬영일 16.05.26)

- 하우스에서 세대진전한 추파계통의 생육특성을 표 41와 같이 정리하였음. 표 41의 조사 항목 중 '숙기'는 그림 93의 index로 평가하였음

표 41. 세대진전 계통의 하우스 재배시 특성조사

No.	개화	잎색	숙기	초장(cm)	비고	No.	개화	잎색	숙기	초장(cm)	비고
D060	4/10	녹색	5	110~150		D112	1/11	-	-	-	화분육성
D061	4/10	회녹~진녹	4	125~135		D113	3/21	진녹	1	125~135	
D062	4/10	회녹~진녹	4	105~115		D115	-	-	-	-	폐기
D063	4/10	회녹~진녹	3, 4	105~115	숙기분리	D116	1/11	-	-	-	화분육성
D064	4/10	회녹~진녹	4	115~125		D118	3/21	진녹	2	120~150	
D065	3/21~4/10	회녹~진녹	2, 4	120~150	형태분리	D119	3/21	회녹~진녹	4	145~155	
D068	4/10	회녹~진녹	5	110~120		D120	3/21	회녹~진녹	4	115~125	
D069	3/21	회녹~진녹	3, 5	115~125	숙기분리	D123	3/21	회녹~진녹	4	120~140	
D070	3/21	회녹~진녹	3	145~155		D124	4/10	회녹~진녹	4	125~135	
D071	4/10	회녹~진녹	3	125~135		D126	4/10	회녹~진녹	4	125~135	
D072	4/10	회녹~진녹	3	95~105	결실불량	D127	4/10	회녹~진녹	3	115~125	
D073	4/10	회녹~진녹	2	115~125		D129	3/21	회녹~진녹	1~2	95~105	
D080	3/21	회녹~진녹	2	135~145		D130	3/21	회녹~진녹	3	95~105	
D081	3/21	회녹~진녹	3	165~175		D131	3/21	회녹~진녹	2	125~135	
D082	3/21	회녹~진녹	2	120~130		D133	4/10	회녹~진녹	3	140~160	
D085	3/21	회녹~진녹	1	115~125		D135	3/21	녹색	2	115~125	
D086	3/21	회녹~진녹	2	115~125		D136	3/21	회녹~진녹	3	135~145	
D087	3/21	회녹~진녹	2	120~140		D140	3/21	회녹~진녹	5	175~185	
D088	3/21	회녹~진녹	2	115~125		D147	1/11	-	-	-	화분육성
D089	3/21	회녹~진녹	2	175~185		D148	1/11	-	-	-	화분육성
D090	3/21	회녹~진녹	3	145~155		D151	1/11	-	-	-	화분육성
D093	3/21	회녹~진녹	4	135~145		D152	1/11	-	-	-	화분육성
D094	3/21	회녹~진녹	2, 4	135~145		D153	1/11	-	-	-	화분육성
D096	4/10	회녹~진녹	4	135~145		D176	1/11	-	-	-	화분육성
D097	1/11	-	-	-	화분육성	D178	1/11	-	-	-	화분육성
D098	3/21	진녹색	2	165~175		D180	1/11	-	-	-	화분육성
D100	4/10	진녹색	3	175~185		D181	1/11	-	-	-	화분육성
D101	3/21	진녹색	2	155~165		D184	2/21	녹색	2	135~145	
D102	3/21	진녹색	1	155~165		D185	2/21	녹색	2	135~145	
D103	3/21	회녹~진녹	2	105~115		D187	3/21	녹색	2	105~115	
D104	4/10	회녹~진녹	4	165~175	생육차이 큼	D188	1/11	녹색	-	-	화분육성
D105	4/10	회녹~진녹	2	115~125		D189	1/11	녹색	-	-	화분육성
D106	4/10	회녹~진녹	2	115~125							

- 춘파 유채로 분리된 11계통을 포함하여 총 27계통과 대조품종 4계통의 지방산분석을 수행하였으며 (표 42), 그 결과에 따라 고올레인산 춘파 6계통, 고올레인산 추파 3계통, 고에루신산 추파 7계통을 선발하여 11월에 파종하였음

표 42. 국내 육성중인 추파 계통의 지방산 분석 결과

NO	조제번호	교배번호	조지방 (%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Lauric acid (C12:0)	Myristic acid (C14:0)	Pentadecanoic acid (C15:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Heptadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n7c)	vaccenic acid (C18:1n7c)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)	비고
1	16-0181	D069-1	25.87	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	4.51	0.38	0.00	1.42	35.78	3.63	17.87	8.45	0.55	13.36	0.23	13.76	
2	16-0187	D070-1	33.96	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.84	0.15	0.00	1.18	21.38	1.36	14.70	8.74	0.78	14.18	0.59	34.09	고에루신산 추파
3	16-0192	D071-1	47.59	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.95	0.18	0.00	1.02	24.74	1.51	9.87	9.26	0.67	17.89	0.37	31.55	고에루신산 추파
4	16-0199-200	D072-1/7	30.59	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	4.14	0.34	0.00	1.47	35.46	2.67	16.98	12.69	0.71	8.01	0.45	17.02	
5	16-0210	D080-1	38.84	0.03	0.00	0.00	0.03	0.00	2.93	0.16	0.00	1.00	22.41	1.45	13.07	7.63	0.65	16.69	0.37	33.59	고에루신산 추파
6	16-0218	D081-2	33.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.94	0.20	0.00	0.92	19.71	1.56	12.46	7.37	0.66	14.22	0.46	39.49	고에루신산 추파
7	16-0227	D082-1	41.87	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.97	0.23	0.00	0.98	19.33	1.51	12.79	6.86	0.69	12.07	0.54	42.04	고에루신산 추파
8	16-0234	D085-1	38.97	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.17	0.19	0.00	1.28	29.15	1.89	12.85	8.06	0.66	14.79	0.34	27.61	
9	16-0372	D118-1	41.23	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	3.28	0.20	0.00	1.15	26.78	1.96	14.74	6.72	0.68	17.84	0.33	26.26	
10	16-0381	D119-1	35.50	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	2.91	0.19	0.00	0.93	16.70	1.18	11.27	6.86	0.74	10.71	0.56	47.91	고에루신산 추파
11	16-0388	D120-2	33.01	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	4.53	0.23	0.00	1.29	50.53	2.69	20.04	8.15	0.52	5.14	0.28	6.55	
12	16-0391	D123-5	33.96	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	3.50	0.16	0.00	1.12	18.79	1.58	16.02	8.32	0.59	13.87	0.32	35.69	고에루신산 추파
13	16-0121	D147-03	34.07	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	4.31	0.24	0.00	1.80	56.63	3.21	21.68	9.39	0.66	1.42	0.38	0.23	고올레인산 추파
14	16-0123	D148-01	34.48	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	4.40	0.23	0.00	1.60	55.32	3.06	22.71	9.97	0.63	1.42	0.41	0.19	고올레인산 추파
15	16-0019	D151-02	35.68	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	4.45	0.24	0.00	1.51	55.37	2.88	23.88	9.15	0.63	1.29	0.41	0.15	고올레인산 추파
16	16-0024	D152-09	28.30	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	5.00	0.33	0.00	2.06	51.62	4.16	25.15	9.06	0.78	1.23	0.48	0.07	
17	16-0132	D153-07	31.48	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	4.23	0.24	0.00	1.73	55.51	2.98	23.48	8.96	0.65	1.45	0.39	0.33	고올레인산 추파
18	16-0030	D176-07	28.68	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.93	0.24	0.00	1.75	55.47	3.33	23.02	9.86	0.63	1.41	0.37	0.00	고올레인산 추파
19	16-0034	D178-09	27.95	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.88	0.23	0.00	1.75	57.34	3.39	21.43	9.40	0.63	1.43	0.37	0.15	고올레인산 추파
20	16-0464	D180-6	36.52	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.87	0.16	0.00	1.06	20.16	1.38	12.79	6.30	0.64	12.92	0.39	41.31	(추파, 선발제외)
21	16-0037	D181-03	31.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.89	0.21	0.00	1.81	54.73	3.01	23.31	10.64	0.61	1.36	0.35	0.07	
22	16-0465	D184-1	33.03	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	4.02	0.20	0.00	1.39	60.06	2.76	21.52	7.71	0.53	1.33	0.30	0.13	고올레인산 추파
23	16-0470	D185-1	36.48	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	4.06	0.22	0.00	1.47	58.39	2.41	22.08	9.30	0.52	1.21	0.30	0.00	고올레인산 추파
24	16-0474	D187-2	28.68	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	3.84	0.23	0.00	1.59	59.97	2.46	19.63	9.66	0.59	1.38	0.33	0.28	고올레인산 추파
25	16-0042-43	D188-07/8	30.12	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	4.50	0.32	0.00	1.97	49.67	3.47	26.52	10.95	0.73	1.35	0.46	0.00	
26	16-0044	D189-07	31.44	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.95	0.18	0.00	1.67	54.76	2.91	24.14	10.04	0.60	1.40	0.35	0.00	
27	16-0133-134	D166-1/2	36.00	0.05	0.00	0.00	0.05	0.00	3.20	0.20	0.00	1.50	25.03	1.77	17.51	6.62	0.95	15.92	0.50	26.76	
대조1	16-0479	D190-1	42.90	0.04	0.00	0.00	0.04	0.00	4.39	0.23	0.00	1.48	61.81	2.68	18.35	6.97	0.50	1.01	2.54	0.00	
대조2	16-0482	D191-1	33.18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.88	0.21	0.00	0.95	17.28	1.55	13.72	6.67	0.68	9.52	0.57	45.96	
대조3	16-0486	D192-2	34.16	0.06	0.00	0.00	0.06	0.00	4.58	0.24	0.00	1.41	56.06	3.11	22.13	10.31	0.55	1.15	0.34	0.06	
대조4	16-0488	D193-1	34.34	0.07	0.00	0.00	0.07	0.00	4.69	0.34	0.00	1.29	56.91	4.13	20.60	9.42	0.62	1.49	0.44	0.00	

마) 5년차(2017) 연구수행 결과

(1) 국내 육종포에서의 세대진전 진행

- 4년차 추파계통 육성중에 분리된 고올레인산 추파 6계통은 추파계통 육성부분으로 이관하였으며, 선발된 고올레인산 추파 3계통, 고에루신산 추파 7계통을 2016년 11월에 국내 육종하우스에 파종하였음
- 대조구로는 이벤트 #2802, 추파일반종인 DG3, 추파일반종인 S20과 S21, 그리고 기개발된 GM 2세대 계통 4계통 (D37~D40)을 파종하였음 (표 43)
- 선발된 계통들의 세대진전상황은 추파계통 육성을 위한 교배조합별 세대진전표로 정리하였음 (표 44)

표 43. 2017년 상반기 추파 계통 육성을 위한 파종대장

파종번호	계통명	교배번호	조제번호	파종일	비고
D001	13PDS6	D070-1	16-0187	161103	에루신산, 추파
D002	13PDS6	D071-1	16-0192	161103	에루신산, 추파
D003	13PDS7	D080-1	16-0210	161103	에루신산, 추파
D004	13PDS7	D081-2	16-0218	161103	에루신산, 추파
D005	13PDS7	D082-1	16-0227	161103	에루신산, 추파
D006	13PDS18	D119-1	16-0381	161103	에루신산, 추파
D007	13PDS18	D123-5	16-0391	161103	에루신산, 추파
D008	S16x2802	D184-1	16-0465	161103	올레인산, 추파
D009	S16x2802	D185-1	16-0470	161103	올레인산, 추파
D010	S16x2802	D187-2	16-0474	161103	올레인산, 추파
D033	#2802	2802-bulk	15-1693	161103	에루신산, 추파, 대조품종
D034	DG3	D191-03	16-0484	161103	에루신산, 추파, 대조품종
D035	S20	D192-02	16-0486	161103	올레인산, 춘파, 대조품종
D036	S21	D193-02	16-0489	161103	올레인산, 춘파, 대조품종
D037	#25G	P001-6	16-3371	161103	올레인산, 춘파, 대조품종
D038	#32G	P003-7	16-3412	161103	에루신산, 춘파, 대조품종
D039	#81G	P005-6	16-3430	161103	에루신산, 춘파, 대조품종
D040	#104G	P006-8	16-3442	161103	올레인산, 춘파, 대조품종

- 교배조합 양친인 대조품종 D33~D36은 동절기에 가온하여 육성하였으며, 선발된 추파 계통은 이중하우스에서 가온하지 않고 육성함
- 대조품종과 마찬가지로 선발된 추파계통들은 모두 2월 중순까지 개화하지 않음 (그림 95, 96)



그림 95. 17년 02월 09일 촬영한 대조 품종. 개화된 계통이 없음 (동절기에 가온 관리함)



그림 96. 17년 02월 09일 촬영한 춘파계통 전경 및 추파계통 사진

- 교배조합 양친 대조품종 중 춘파일반종인 D35, D36은 2월 중순 개화하여 3월 초 만개 하였으며, 이벤트 #2802는 3월 초 개화, 추파일반종인 D34는 3월초까지 개화하지 않음 (그림 97)
- 선발된 추파계통들은 3월 초순까지 추대 상태를 유지함 (그림 98)



그림 97. 17년 03월 06일 촬영한 대조품종의 사진



그림 98. 17년 03월 06일 촬영한 추파계통의 사진

- 교배조합 양친 대조품종 중 춘파일반종인 D35, D36은 2월 중순 개화하여 3월 초 만개 하였으며, 이벤트 #2802는 3월 초 개화, 추파일반종인 D34는 3월 말에 개화하였음 (그림 99)
- 선발된 추파계통들은 3월 말부터 4월 초까지 계통간 약간의 차이를 두고 개화하였으며, 4월 초 대부분 만개하였음 (그림 100)

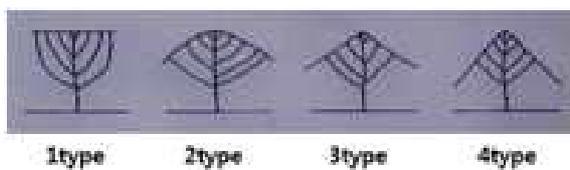


그림 99. 17년 03월 25일에 촬영한 대조품종의 사진



그림 100. 17년 04월 07일에 촬영한 추파계통의 만개사진

- 선발계통의 형질조사는 춘파 계통에서 설명한 것과 동일함
 - 엽형 및 열편 : 본잎 7~8잎 전개시 앞의 형태
 - 톱니 : 본잎 7~8잎 전개시 상위 제 2~3엽의 톱니의 정도
 - 솜털유무 : 생육초기1회 조사, 본잎 7~8잎 전개시 본잎 제 2잎의 솜털의 정도
 - 추대 : 동일 계통내 전체 개체 중 50% 이상의 개체가 추대한 시점
 - 개화 : 동일 계통내 전체 개체 중 50% 이상의 개체가 개화한 시점
 - 초형 : 만개시 4가지 타입으로 분류



- 초장 : 만개시 토양에 접한 기부부터 가장 높은 꽃대까지의 길이를 측정하여 평균한 값
- 주당수확량 : 전 개체의 op 종자를 수확하여 개체수로 나눈 수량
- 형질조사 결과는 표 45와 같이 정리하였음
- 선발계통들의 초장은 114~152cm로 다양하였으며, 솜털은 없고, 톱니는 강한 편이 아니며, 초형은 2형 또는 3형으로 조사됨
- 9계통 중 4계통은 대조구에 비하여 주당수확량이 같거나 많은 것으로 조사되었으며, 5계통은 대조구의 일반종보다는 주당수확량이 많은 편이나 GM 이벤트 #2802보다는 적은 것으로 조사되었음
- 추파계통 중 D08, D09, D10은 F7까지 세대진전하여 형질이 대부분 고정된 고올레인산

추파계통으로 최종선발하였음

- D01~D07은 F4까지 세대진전하여 형질이 고정되지 않은 고에루신산 추파계통으로 추후 활용가능성을 고려하여 지속적인 세대진전을 수행할 계획임
- 추파이면서 고올레인산 1개 라인, 고에루신산 1개 라인의 GM분석 실시함 (그림 101, 표 47)

표 45. 추파 선발계통의 형질조사 결과 (파종 16.11.03, 정식 16.12.02, 수확 17.5.22)

항목	파성	열편 (개수)	톱니 (0.1.3.5.7)	잎형	숨털유무(0.1)	추대	개화	초형	초장 (cm)	주당수확량 (g)
조사일	-	17.1.10	16.12.9	17.1.10	16.12.9	4~5일 간격	4~5일 간격	17.4.5	17.4.5	17.5.30
D01	추파	2	3	원형	0	17.3.6	17.4.10	3	114.4 ± 5.52	23.0
D03	추파	2	3	원형	0	17.2.22	17.3.24	2	149.0 ± 2.20	29.8
D04	추파	4	2	원형	0	17.2.22	17.3.24	3	149.8 ± 2.93	41.6
D05	추파	2	3	원형	0	17.2.22	17.3.24	3	152.0 ± 3.55	63.3
D06	추파	2	2	원형	0	17.2.22	17.3.31	3	143.1 ± 5.93	34.6
D07	추파	2	3	타원형	0	17.2.22	17.3.31	3	149.0 ± 2.99	51.9
D08	추파	0	3	타원형	0	17.1.31	17.3.24	2	129.6 ± 2.04	33.6
D09	추파	2	3	타원형	0	17.1.31	17.3.24	2	128.1 ± 1.99	46.9
D10	추파	2	3	타원형	0	17.1.31	17.3.24	2	117.0 ± 3.12	48.1
D33 (2802)	추파	6	3	원형	0	17.1.24	17.3.6	3	111.7 ± 4.75	46.5
D34 (DG3)	추파	6	2	타원형	0	17.2.22	17.3.24	4	200.8 ± 4.08	35.3
D35 (S20)	춘파	0	3	원형	0	17.1.24	17.2.17	2	106.8 ± 3.52	20.9
D36 (S21)	춘파	0	3	타원형	0	17.1.24	17.2.13	2	116.8 ± 0.40	21.5

표 46. 추파 선발계통의 지방산 분석 결과

과종번호	계통명	조지방(%)	Caprylic acid (C8:0)	Capric acid (C10:0)	Palmitic acid (C16:0)	Palmitoleic acid (C16:1)	Hepadecanoic acid (C17:0)	Stearic acid (C18:0)	Oleic acid (C18:1n9c)	vaccenic acid (C18:1n7c)	Linoleic acid (C18:2n6c)	Arachidic acid (C20:0)	cis-11-Eicosenoic acid (C20:1)	Linolenic acid (C18:3n3)	Behenic acid (C22:0)	Erucic acid (C22:1n9)
D01	13PDS6	36.08	0	0	3.1	0.15	0	1.25	23.3	1.33	14.43	7.75	0.83	14.05	0.55	33.26
D03	13PDS7	35.24	0	0	2.9	0.15	0	1.09	23.38	1.37	13.08	6.85	0.71	15.4	0.41	34.66
D04	13PDS7	35.63	0	0	3	0.18	0	0.95	19.63	1.38	12.98	6.67	0.69	12.04	0.52	41.95
D05	13PDS7	37.91	0	0	2.82	0.19	0	1.01	20.87	1.28	12.66	6.1	0.72	11.07	0.57	42.7
D06	13PDS18	36.47	0	0	3.03	0.17	0	0.89	16.21	0.98	12.87	6.25	0.71	10.09	0.57	48.18
D07	13PDS18	35.93	0	0	3.55	0.16	0	1.32	23.56	1.5	16.04	6.3	0.66	14.41	0.33	32.13
D08	S16x2802	33.47	0	0	3.93	0.21	0	1.56	60.25	2.59	21.25	7.78	0.59	1.36	0.33	0.09
D09	S16x2802	36.25	0	0	4.05	0.19	0	1.36	57.14	2.43	22.27	9.09	0.54	1.7	0.33	0.85
D10	S16x2802	35.22	0	0	3.79	0.18	0	1.52	59.93	2.29	20.08	8.66	0.6	1.53	0.35	1.01
D33	#2802	26.52	0	0	2.66	0.16	0	1.05	16.67	1.33	12.04	4.9	0.79	8.82	0.85	50.71
D34	DG3	32.71	0.06	0	3.7	0.27	0	0.87	10.76	1.53	14.29	10.54	0.72	2.86	0.66	53.73
D35	S20	25.07	0	0	4.36	0.21	0	1.89	58.83	3.12	20.8	7.48	0.76	1.59	0.5	0.45
D36	S21	34.13	0	0	4.32	0.19	0	1.79	66.48	2.89	16.31	5.22	0.72	1.55	0.42	0.11

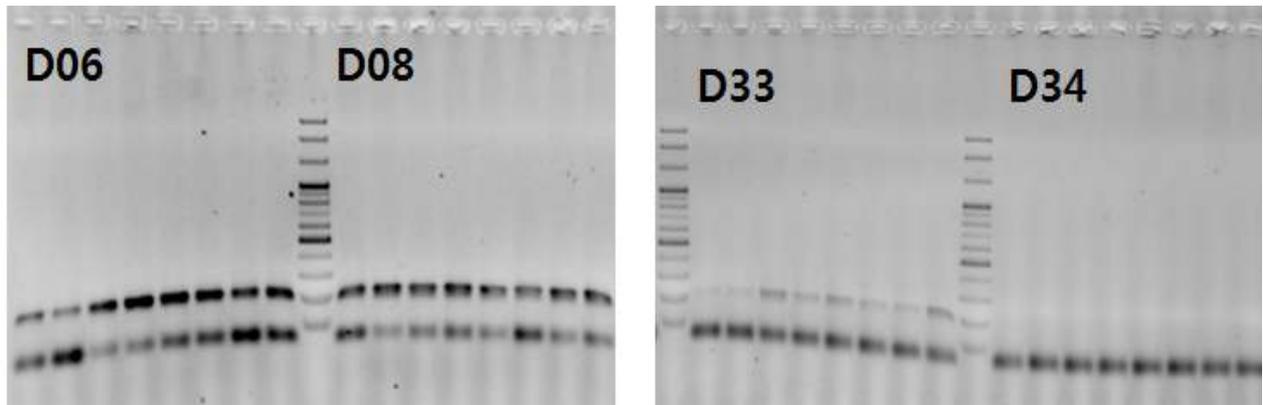


그림 101. 추파계통 고올레인산 1개 라인, 고에루신산 1개 라인 선발하여 GM분석

표 47. 추파계통 고올레인산 1개 라인, 고에루신산 1개 라인 선발하여 GM분석 결과

과중번호	계통명	계통번호	교배번호	조제번호	GM 마커 분석결과 (G:gm확인, N:None, F:Fail 표기)								비고
					1	2	3	4	5	6	7	8	
D06	13PD S18	NA285-1-09- 1-1	D06- 1	17-001 3	G	G	G	G	G	G	G	G	RBiR2, ioIL-F, LBiP4
D08	S16x2 802	NA62-8-5-3- 08-1-5	D08- 5	17-001 9	G	G	G	G	G	G	G	G	
D33	#2802	2802-bulk-1	D33- 1	17-007 9	G	G	G	G	G	G	G	G	
D34	DG3	NA132-03-1	D34- 1	17-008 2	N	N	N	N	N	N	N	N	

4) 몽골 현지에서 연구성과 활용방안 검토 (전문가 활용)

가) 사막화진행지역의 경관조성

- 작물경작 척박지 활용 효과 : 몽골의 알타이 산맥을 중심으로 위쪽 지역에 비해 아래쪽 지역의 사막화 진행이 빠르므로, 지역 환경을 고려한 맞춤형 품종 개발로 척박지 활용 효과 증대
- 몽골의 총 농업용지 면적 130,500,000ha 중 경지 면적은 1,199,000ha, 이중 600,000ha는 사막화 진행 지역임
- 광활한 사막화 지역을 활용한 농지면적 (1,325,000ha)에서 당사 개발 유채품종과 재배 시스템을 활용하여 유채생산 가능
- 현재 당사의 몽골 현지재배포가 위치한 아르호스트 지역도 연간 강수량이 280mm 정도 밖에 안되는 사막화 진행지역으로, 포플러 및 유채를 이용하여 경관조성을 추진함 (그림 102)

➤ Land of environmental resources



2015년, 몽골의 건조지역에 포플러를 이용한 경관조성



2016년 8월(좌)과 9월(우), 포플러 식재구역 주변에 유채재배지 조성

그림 102. 몽골 건조지역에서 2015년부터 실시한 포플러 및 유채를 사용한 경관조성 모습.

포플러 식재 1년 후인 현재 자리를 잡아가고 있으며, 주변에 유채재배지를 조성하였음

- 내건성 형질을 보유한 식물체의 경우, 직사광선하에서는 잎을 늘어뜨려 직사광선하에 노출되는 면적을 적게 함. 현재 개발된 유채 계통들 중 일부는 그러한 특성을 보유하고 있는 것으로 관찰됨
- 국내에서 재배했을 때와 비교해보면, 직사광선하에서 잎이 늘어지는 계통들이 과습에 약한 경우가 많은 것으로 분석됨. 개발계통들에 대하여 몽골 현지의 건조한 환경과 국내에서의 재배적합환경 하에서 재배시 식물체의 표현형 차이에 대하여 연구해볼 필요가 있음 (그림 103)
- 당사는 몽골 사막화진행지역에서 나파벨리의 와이너리 형태의 경관 조성되어 사막화 방지 및 농업지구가 가능하도록 연구 중임 (그림 104)



그림 103. 몽골 건조지역의 경관조성을 위해 적합한 식물체의 종류 및 특성에 관한 논의 모습

➤ **Land of environmental resources**

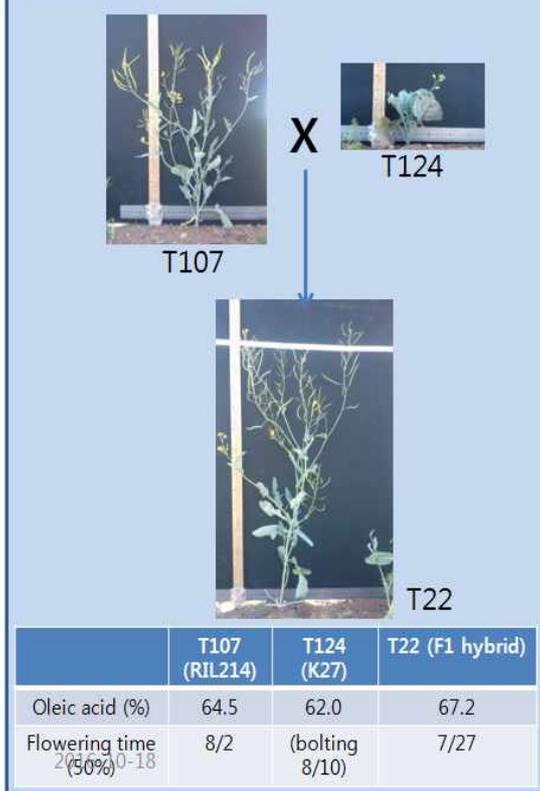


그림 104 몽골 현지재배포 인근의 경관조성 모습

나) 개발계통 등의 유전자원 보호를 위한 웅성불임체 전환 및 F1 품종 개발

- 계통의 개발이 거의 완료되었으므로, 유전자원 유출 방지를 위하여 웅성불임체로 전환할 필요가 있으며, 추후 이를 이용한 F1 잡종종자 개발시 수확량도 증대될 것임 (그림 105)

T22



T56

(파종후 77일째)

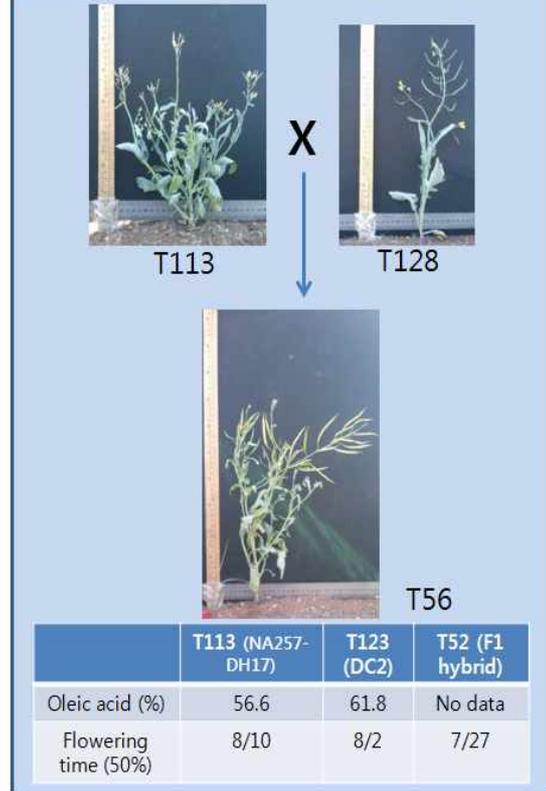


그림 105. 잡종강세 효과를 보이는 F1 품종의 모습

- 웅성불임을 이용한 F1 잡종종자 개발시 화분친의 회복인자의 보유여부는 아주 중요함. 현재 유채의 회복인자 관련 연구가 보고된 바 있으며, 이를 활용하면 F1 품종개발 기간이 단축될 것임
- 당사가 보유하고 있는 웅성불임 식물체의 웅성불임성이 고온 등의 환경 하에서도 안정적으로 발현되는지 다시 한번 확인하고, 이것과 교배할 다양한 계통들에 대하여 회복인자를 보유하고 있는가를 분자마커를 활용한 결과로 교배조합 작성 및 선발 효과적임 (그림 106)
- 초고도내건성 유채개발에 관하여 이데일리에 홍보 (그림 107)



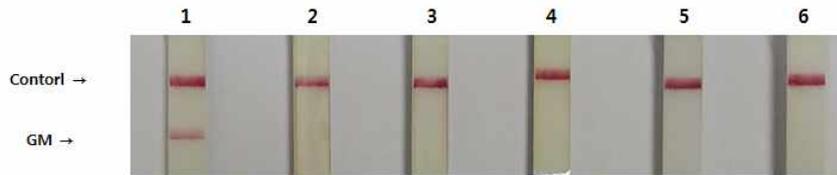
그림 106. 몽골 현지 재배포에서의 유채 생육상태 확인(좌) 및 당사에서 연구회의 진행(우)

그림 107. 2017년 1월 5일 이데일리에 초고도 내건성 유채 홍보

다) GM 유채 모니터링

- 식량과 원료 부족으로 인한 세계적으로 GM 생산량 증가하고 있음
- 2014년 LM 작물의 재배 면적은 2013년 1억 7,530만 ha 보다 약 620만 ha 증가

- 미국, 브라질, 아르헨티나, 캐나다, 인도, 중국 등이 주요 GM 작물 재배 국가로서 콩, 면화, 옥수수, 캐놀라 등을 재배하고 있으며 재배 작물도 증가하고 있음
- 2015년 국내에는 131개의 GMO가 식용, 사료용, 가공용으로 수입 유통 되고 있음
- 콩 6개, 면화 6개, 유채 5개, 옥수수 15개, 사탕무 1개 총 5종 33개 이벤트(event)의 검출기법을 확립
- 선발된 GM 유채 또한 분자 마커를 이용한 GM판별이 가능
- Strip GM 판별 키트 개발로 제초제 저항성 GM 유채인지 판별이 가능 (그림 108)



No.	계통명	GM 유무	No.	계통명	GM 유무
1	Positive Control	G	4	DC5	N
2	다올 1	N	5	청주 유채종자 F1	N
3	다올 2	N	6	청주고을 F1	N

그림 108. 본사가 가지고 있는 종자에서 GM 판별 확인

- AtBG1 유전자 GM판별 키트 제작하여 GM 유채에 대한 오염 여부 확인 할 계획임
- 환경 안정성 평가를 위하여 GM 유채 재배지 이외에 주변지역에서도 확인
- 세대진전 될수록 지속적으로 GM 유채에 대한 모니터링을 하고 이러한 결과를 토대로 GMO 관련 법 계정이 될 수 있도록 유관기관과의 협조가 필요함

3. 연구성과

○ 정량적 성과

- 특허출원 1건 : A t B G 1 유전자가 도입된 유전자 변형 유채 판별을 위한 멀티플렉스 PCR 키트 및 이를 이용한 유전자 변형 유채 판별방법 (10-2016-0146385)
- 품종출원(심사서제출) 1건 : 비식용 산업용 GM 유채 # 2802 위해성 심사 신청 (2016.11)
- 품종보호 출원(품종보호 출원서제출) 2건 : GM 유채 개발에 이용된 자원(‘포스비엔 606’, ‘포스비엔 629’)의 품종보호 출원 신청(2015.09)
- 기술이전 3건 : 포스비엔 606, 포스비엔 629, 형질전환유채(GMO) 4종 기술이전

(2016.01)

- 논문투고 1건 : Single-dose oral toxicity study of β -glucosidase 1 (AtBG1) protein introduced into genetically modified rapeseed (*Brassica napus* L.) (Journal of Life Science 2017, Vol.27, No.2, 194~201)
- 국제학술회의 발표 2건 :
 - Development of Drought and Heat Tolerance Korean Grass for Making Green Grass Land in Subtropical/Tropical Region (2016, Industrial technology & commercialization: best practices from different perspectives in qatar and Korea).
 - Single-dose oral toxicity study of β -glucosidase 1 (AtBG1) protein introduced into genetically modified Rapeseed (*Brassica napus* L.) (2017, Plant and Animal Genome conference)
- 교육지도 4건 : 분자유종, 형질전환육종에 대한 종자생명아카데미 수강생, 인턴, 신입직원 교육지도
- 인력양성 3건 : 육종보조원 및 분자유종전문인력 양성
- 연구 결과 홍보 2건:
 - 2016년 4월 24일 카타르QSTP TECH 주최 한국기술소개에서 내건성 식물체 개발 기술에 관련 소개
 - 2017년 1월 5일 이데일리에 초고도 내건성 유채 개발 및 몽골사막화지역재배에 관하여 신문기사화

○ 정성적 성과

1. 초고도 내건성 품종 개발

- GM2세대 품종 개발에 활용되는 유채 이벤트 GM#2802의 AtBG1 단백질에 대한 단회 경구 투여 독성시험을 완료하여 인체위해성 평가를 수행하고, 누적된 환경위해성 평가내용을 취합하여 위해성 심사신청을 완료하였음
- GM #2802를 이용한 GM 2세대 초과형 품종 육성결과, 형질이 고정된 고올레인산 초과 3계통, 고에루신산 초과 4계통을 선발하여 몽골에서 현지재배시험을 수행에 성공
- GM #2802를 이용한 GM 2세대 초과형 품종 육성결과, 형질이 대부분 고정된 고올레인산 초과 3계통, F4 세대진전중인 고에루신산 초과 7계통을 선발

- 춘파의 경우, 계통선발을 위한 평가방법은 조기개화, AtBG1 유전자 도입, 고올레인산 또는 고에루신산 함량의 지방산조성, 몽골 재배대상지 맞춤형으로 내건성 형질을 보유, 다수성 계통 개발 성공
- 추파의 경우, 계통선발을 위한 평가방법은 저온감응성에 따라 다양한 계통을 선발, AtBG1 유전자 도입, 고올레인산 또는 고에루신산 함량의 지방산조성, 몽골 재배대상지 맞춤형으로 내건성 형질을 보유, 다수성 계통 개발 성공
- 몽골 지역에 재배 가능한 초고도내건성 유채 개발에 성공

2. 환경 보호 분야

- 몽골지역은 사막화가 진행되는 지역으로 사막화방지가 무엇보다 절실한 지역임
- 몽골 사막화지역에 바타민나무 재배 사이에 유채 재배에 성공하여 사막화방지 모델 시스템구축.
- 우리나라 황사 및 미세먼지 발원지인 몽골에 캘리포니아 나파밸리의 와이너리와 같은 시스템의 환경 복원시스템의 구축으로 환경 문제 해결의 실마리 제공

3. 외교 문화분야

- 몽골은 우리나라 ODA 사업 지원국으로 본 과제로 개발된 시스템을 몽골에 전파
- 몽골은 비타민 나무를 이용한 농가의 수입을 창출하고
- 우리나라는 황사와 미세먼지를 유입을 방지하는 일석이조의 효과가 가능함

○ 사업화성과 및 매출실적

- 사업화 성과

항목	세부항목			성 과	
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	억원	
			향후 3년간 매출	억원	
		관련제품	개발후 현재까지	억원	
			향후 3년간 매출	억원	
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %	
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %	
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : % 국외 : %	
			향후 3년간 매출	국내 : % 국외 : %	
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위			위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위			위

- 사업화 계획 및 매출 실적

- 몽골측에서는 한국에서 위해성 평가를 통과한 후 몽골에서 위해성 평가를 신청하여야 함
- 2017년 사해통상의 유전자 변형 작물의 유통으로 인한 국내 유채 재배지 전수 조사를 통한 GMO 여부를 확인하였음
- 현재 상황에서 GMO로 사업화 하는 것이 한국 상황에 맞지 않음

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(백만원)				
	시장 점유율	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후
		단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내			
	국외				
무역 수지 개선 효과	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획				
	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)				
	수 출				

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

															코드번호		D-06		
4-1. 목표달성도																			
성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식재산권			기술실시(이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책활용-홍보		기타(타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종출원(심사제출)	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
최종목표	1		2	2		2							2				2		
1차년도	목표																		
	실적																		
2차년도	목표																		
	실적																		
3차년도	목표											1							
	실적			2											1				
4차년도	목표			1								1							
	실적	1		1	3								1	4	2				
5차년도	목표	1		1															
	실적											1	1					2	
합계	목표	1		2	2		2					2						2	
	실적	1		3	3							1	2	4	3			2	
목표달성도(%)	100		추가달성	추가달성		0						50	추가달성	추가달성	추가달성			100	
4-2. 관련분야 기여도																			

5. 연구결과의 활용계획

코드번호

D-07

1. 기술적 측면

- 내건, 조숙 및 고올레인산 함유 품종을 자체기술 실시 또는 국내외 연구기관에 기술이전
- 해외 시장 경쟁력이 있는 형질전환체 품종 개발로 해외시장 진출
- 전통육종 방법과 GMO 육종을 이용한 차세대 육종 체계 확립
- 바이오 원자재 생산 및 이산화탄소 감축 등 GM 개발 관련분야의 핵심 및 응용기술 축적

2. 경제적·산업적 측면

- 신품종 유채 품종 개발로 해외 바이오 에너지 시장에 종자 수출
- 복합형질 (내건, 조숙 등) 품종의 사막화 진행지역 녹화로 기후변화와 사막화 진행 억제 및 황사에 의한 피해 방지
- 황사의 호흡기질환 및 농작물 피해 등으로 연간 5~7조원 규모 손실
- 국내 및 해외 보급용 종자생산 등 관련 신규 일자리 200개 이상 창출
- 종자용 재배면적 1,000ha, 일자리 2명/ha 기준
- 이산화탄소 감축 등 청정개발체제 (CDM) 사업으로 부가가치 창출
- 1,000ha 재배면적에서 약 8,000천만원 (2008년 RGGI의 배출권 거래 가격 기준)

3. 외교 환경적 측면

- 본사업을 수행하는 과정에서 개발한- 몽골지역은 사막화가 진행되는 지역으로 사막화방지가 무엇보다 절실한 지역임
- 몽골 사막화지역에 바타민나무 재배 사이에 유채 재배에 성공하여 사막화방지 모델 시스템구축.
- 우리나라 황사 및 미세먼지 발원지인 몽골에 캘리포니아 나파밸리의 와이너리와 같은 시스템의 환경 복원시스템의 구축으로 환경 문제 해결의 실마리 제공
- 몽골은 우리나라 ODA 사업 지원국으로 본 과제로 개발된 시스템을 몽골에 전파
- 몽골은 비타민 나무를 이용한 농가의 수입을 창출하고 우리나라는 황사와 미세먼지를 유입을 방지하는 일석이조의 효과가 가능함

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

코드번호	D-08
<p>○ 독성평가 관련 문헌</p> <p>Simyung Lee†, Dongsuk Seo*, Mihye Jeong**, Hajung Sung*, Jaekwang Kim, Hyojin Kim, Yunsoo Yeo, Hyunsuk Cho (2012) Safety Evaluation of the Phosphinothricin Acetyltransferase Proteins and Herbicide Resistant Potato. Journal of the Korean Society of International Agriculture Vol.24 No.5 pp.598-608</p> <p>IPCS (1986). Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. Environmental Health Criteria Document No. 60</p> <p>OECD (1992). Chairman's Report of the Meeting of the ad hoc Working Group of Experts on Systemic Short-term and (Delayed) Neurotoxicity.</p> <p>OECD (2011) Revised Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of LOW ERUCIC ACID RAPESEED (CANOLA) Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Toxicants</p> <p>농림축산식품부 고시 제2015-42호 (2015) 『유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 통합고시』 개정안</p> <p>○ 유채 품종 특성 관련 문헌</p> <p>Plants for a future http://www.pfaf.org/</p> <p>UPOV http://www.upov.int/</p> <p>○ 바이오디젤 생산 관련 사이트</p> <p>U.S. Energy Information Administration, Monthly Biodiesel Production Report</p>	

7. 연구개발결과의 보안등급

		코드번호	D-09
보안등급 분류	보안	일반	
		√	

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

					코드번호	D-10		
구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

	코드번호	D-11
<ul style="list-style-type: none"> ○ 연구실 안전점검 정기적 실시 연구실의 기능 및 안전을 유지 관리하기 위하여 안전점검지침에 따라 연구실에 관한 안전점검을 정기적으로 실시함 ○ 참여 연구원의 안전관련 교육훈련 시행 산업안전보건법 제31조 (안전보건교육) 및 연구실 안전환경조성에 관한 법률 제 18조에 의거, 전 직원에 대한 안전보건교육을 매달 실시함. 교육 방법은 모든 직원에 대한 자체교육(2시간)을 실시하고, 안전보건교육 일지를 작성하여 관리함 ○ 연구 내용 및 결과물 안전 확보 정기적으로 인원 및 시설 보안 항목, 문서보안 항목 그리고 정보보안 항목의 보안점검을 실시하여 연구 내용 및 결과물의 안전을 확보하고 있음. 참여 연구원들을 대상으로 연구 결과의 안전한 관리를 위한 안전교육 실시 ○ 연구실 안전 확보 계획 <ul style="list-style-type: none"> - 참여 연구원들이 안전관련 각종 법규, 규정 및 지침을 준수하도록 하며, 요구되는 안전교육 및 훈련 실시 - 실험에 관련된 위험 정보를 숙지하고 적절한 개인 보호 장비 착용 실험실에 노출된 위험을 안전관리책임자에게 보고 - 연구실의 잠재되어 있는 위험성 발견 및 위험물질과 각종 실험장비 등 사용에 따른 안전수칙이 잘 이행될 수 있도록 지도점검 및 교육 ○ GMO 안전관리 기술 <ul style="list-style-type: none"> - 유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 법률과 환경방출실험 안전관리 매뉴얼에 준하여 관리를 하고있음 - 환경방출용 유전자도입 식물체의 세대진전 및 증식은 방충망이 설치된 비닐하우스에 격리하여 재배 - 수확된 종자는 종자 보관용 봉투에 넣어 분리하여 보관하여 다른 종자의 혼입에 주의 - 필요에 따라서 작물별로 그물망을 이용하여 종자 확산을 방지 		

- 수확된 종자의 관리대장을 기록하고 보관
- 포장시험 및 증식에 이용 후 남은 식물체는 비선택성 제초제를 사용하여 제초제 저항성 및 비저항성 식물체를 모두 고사시킴
- 고사한 포장의 식물체는 비닐백에 넣어 분리하여 계약된 폐기물 수탁업체에서 수거 소각
- 모든 잔존물은 격리포장 밖으로 이동시 불활성화 시킨 후 이동을 하며 폐기물 처리업체에 의뢰하여 일괄 소각처리
- 격리포장관련 처리된 폐기물을 관리대장에 기입하고 보관
- 실험종료시 모든 포장 및 관련시설의 처리는 포장시험 처리규정에 따라 완전소각 폐기처분

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	Monitoring of the Escape of Introduced Genes of Transgenic Oilseed Rapeseed Outside the Trial Site in a Confined Field Trial	에프앤피	공동	한국국제농업개발학회지		2012		KC1등재지
2	논문	Single-dose oral toxicity study of β -glucosidase 1 (AtBG1) protein introduced into genetically modified Rapeseed (Brassica napus L.).	에프앤피	교신	Journal of Life Science		2017		
3	특허	신규유채 품종	에프앤피	발명자			2014		등록번호 1014322780 000
4	특허	AtBG1 유전자가 도입된 유전자 변형 유채 관별을 위한 멀티플렉스 PCR 키트 및 이를 이용한 유전자 변형 유채 관별방법	에프앤피	발명자			2016		출원번호10-2016-0146385
5	발표	Development of Drought and Heat Tolerance Korean Grass for Making Green Grass Land in Subtropical / Tropical Region	에프앤피	발표자	Industrial technology & commercialization		2016		
6	발표	Single-dose oral toxicity study of β -glucosidase 1 (AtBG1) protein introduced into genetically modified Rapeseed (Brassica napus L.)	에프앤피	발표자	Plant and Animal Genome conference		2017		

7	교육	종자생명아카데미 강의	에프엔피	강의			2016		
8	교육	분자표지 육종 - 분자마커 탐색 및 분석	에프엔피	강의			2015		
9	교육	형질전환 육종 - 유전자 특성 검정 및 형질전환체 육성	에프엔피	강의			2015		

11. 기타사항

		코드번호	D-13
○			

12. 참고문헌

코드번호	D-14
Bouchet, A. S., Laperche, A., Bissuel-Belaygue, C., Baron, C., Morice, J., Rousseau-Gueutin, M., Dheu, J. E., George, P., Pinochet, X., Foubert, T., Maes, O., Dugue, D., Guinot, F. and Nesi, N. 2016. Genetic basis of nitrogen use efficiency and yield stability across environments in winter rapeseed. <i>BMC Genet.</i> 17, 131.	
Han, Y. J., Cho, K. C., Hwang, O. J., Choi, Y. S., Shin, A. Y., Hwang, I. and Kim, J. I. 2012. Overexpression of an Arabidopsis beta-glucosidase gene enhances drought resistance with dwarf phenotype in creeping bentgrass. <i>Plant Cell Rep.</i> 31, 1677-1686.	
Hunter, J. and Duff, G. 2016. GM crops-lessons from medicine. <i>Science.</i> 353, 1187. KFDA 2015. Partial amendment official announcement about toxicity test for Drug.	
Lee, K. H., Piao, H. L., Kim, H. Y., Choi, S. M., Jiang, F., Hartung, W., Hwang, I., Kwak, J. M., Lee, I. J. and Hwang, I. 2006. Activation of glucosidase via stress-induced polymerization rapidly increases active pools of abscisic acid. <i>Cell.</i> 126, 1109-1120.	
OECD 2001. OECD Guideline for Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class. Test guideline 423.	
OECD Publishing, P. 2002. Test No. 420: Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4.	
Pandolfo, C. E., Presotto, A., Carbonell, F. T., Ureta, S., Poverene, M. and Cantamutto, M. 2016. Transgenic glyphosate-resistant oilseed rape (<i>Brassica napus</i>) as an invasive weed in Argentina: detection, characterization, and control alternatives. <i>Environ Sci Pollut Res Int.</i> 23, 24081-24091.	
Schmutzer, T., Samans, B., Dyrzka, E., Ulpinnis, C., Weise, S., Stengel, D., Colmsee, C., Lespinasse, D., Micic, Z., Abel, S., Duchschere, P., Breuer, F., Abbadi, A., Leckband, G., Snowdon, R. and Scholz, U. 2015. Species-wide genome sequence and nucleotide polymorphisms from the model allopolyploid plant <i>Brassica napus</i> . <i>Sci Data.</i> 2, 150072.	
Weselake, R. J., Taylor, D. C., Rahman, M. H., Shah, S., Laroche, A., McVetty, P. B. and Harwood, J. L. 2009. Increasing the flow of carbon into seed oil. <i>Biotechnol Adv.</i> 27, 866-878.	
Bae, T.W., E. Vanjildori, S.Y. Song, S. Nishiguchi, S.S. Yang, I.J. Song, T. Chandrasekhar, T.W. Kang, J.I. Kim, Y.J. Koh, S.Y. Park, J. Lee, Y.-E. Lee, K.H. Ryu, K.Z. Riu, P.-S. Song, and 246 韓國際農誌(Korean J. Intl. Agri.), 24(2), 2012 H.Y. Lee. 2008. Environmental risk assessment of genetically engineered	

- herbicide-tolerant *Zoysia japonica*. *J. Env. Qual.* 37:207-218.
- Cai, L., B.W. Zhou, X.L. Guo, C.H. Dong, X.J. Hu, M.S. Hou, and S.Y. Liu. 2008. Pollen-mediated gene flow in Chinese commercial fields of glufosinate-resistant canola (*Brassica napus*). *Chinese Sci. Bull.* 53:2333-2341.
- Chadoeuf, R., H. Darmency, J. Maillet, and M. Renard. 1998. Survival of buried seeds of interspecific hybrids between oilseed rape, hoary mustard and wild radish. *Field Crop Res.* 58:197-204.
- Chun, Y.J., D.I. Kim, K.W. Park, H.-J. Kim, S.-C. Jeong, J.H. An, K.H. Cho, K. Back, H.M. Kim, and C.-G. Kim. 2011. Gene flow from herbicide-tolerant GM rice and the heterosis of GM riceweed F2 progeny. *Planta* 233:807-815.
- D'Hertefeldt, T., R.B. Jørgensen, and L.B. Pettersson. 2008. Longterm persistence of GM oilseed rape in the seedbank. *Biol. Lett.* 4:314-317.
- FitzJohn, R.G., T.T. Armstrong, L.E. Newstrom-Loyd, A.D. Wilton, and M. Cochrane. 2007. Hybridisation within *Brassica* and allied genera: evaluation of potential for transgene escape. *Euphytica* 158:209-230.
- Ford, C.S., J. Allainguillaume, P. Grilli-Chantler, G. Cuccato, C.J. Allender, and M.J. Wilkinson. 2006. Spontaneous gene flow from rapeseed (*Brassica napus*) to wild *Brassica oleracea*. *Proc. R. Soc. B* 273:3111-3115.
- Huangfu, C.-H., S. Qiang, and X.-L. Song. 2011. Performance of hybrids between transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) and wild *Brassica juncea*: An evaluation of potential for transgene escape. *Crop Prot.* 30:57-62.
- Hüsken, A. and A. Dietz-Pfeilstetter. 2007. Pollen-mediated intraspecific gene flow from herbicide resistant oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Transgenic Res.* 16:557-569.
- Kim, C.-G., B. Lee, D.I. Kim, J.E. Park, H.-J. Kim, K.W. Park, H. Yi, S.-C. Jeong, W.K. Yoon, C.H. Harn, and H.M. Kim. 2008. Detection of gene flow from GM to non-GM watermelon in a field trial. *J. Plant Biol.* 51:74-77.
- Kim, C.-G., K.W. Park, B. Lee, D.I. Kim, J.-Y. Park, H.-J. Kim, J.E. Park, J.H. An, K.-H. Cho, S.-C. Jeong, K.H. Choi, C.H. Harn, and H.M. Kim. 2009a. Gene flow from genetically modified to conventional chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Sci.* 176:406-412.
- Kim, C.-G., D.I. Kim, H.-J. Kim, J.E. Park, B. Lee, K.W. Park, S.-C. Jeong, K.H. Choi, J.H. An, K.-H. Cho, Y.S. Kim, and H.M. Kim. 2009b. Assessment of gene flow from genetically modified anthracnose-resistant chili pepper (*Capsicum annuum* L.) to a conventional crop. *J. Plant Biol.* 52:251-258.
- Lee, I.-Y., J.-E. Park, B.-C. Moon, S.-C. Suh, K.-S. Shin, M.-O. Woo, and S.-J. Kweon. 2009. Possibility of gene flow and unintended escape from leaf-folder

- (*Cnaphalocrocis medinalis*) resistant rice. *Kor. J. Weed Sci.* 29:46-55.
- Lee, S.Y., M.S. Kim, H.J. Kim, J.H. Ahn, S.H. Baek, W.C. Shin, and H.S. Kim. 2007. Pollen-mediated gene flow between glufosinate ammonium-tolerant GM and non-GM rice. *J. Plant Biotechnol.* 34:47-53.
- Pessel, F.D., J. Lecomte, V. Emeriau, M. Krouti, A. Messean, and P.H. Gouyon. 2001. Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside of cultivated fields. *Theor. Appl. Genet.* 102:841-846.
- Pivard, S., K. Adamczyk, J. Lecomte, C. Lavigne, A. Bouvier, A. Deville, P.H. Gouyon, and S. Huet. 2008. Where do the feral oilseed rape populations come from? A large-scale study of their possible origin in a farmland area. *J. Appl. Ecol.* 45:476-485.
- Rieger, M.A., M. Lamond, C. Preston, S.B. Powles, and R.T. Roush. 2002. Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science* 296:2386-2388.
- Scheffler, J.A. and P.J. Dale. 1994. Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) to related species. *Transgenic Res.* 3:263-278.
- Scheffler, J.A., R. Parkinson, and P.J. Dale. 1993. Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*). *Transgenic Res.* 2:356-364.
- Simyung Lee†, Dongsuk Seo*, Mihye Jeong**, Hajung Sung*, Jaekwang Kim, Hyojin Kim, Yunsoo Yeo, Hyunsuk Cho (2012) Safety Evaluation of the Phosphinothricin Acetyltransferase Proteins and Herbicide Resistant Potato. *Journal of the Korean Society of International Agriculture* Vol.24 No.5 pp.598-608
- IPCS (1986). Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. *Environmental Health Criteria Document* No. 60
- OECD (1992). Chairman's Report of the Meeting of the ad hoc Working Group of Experts on Systemic Short-term and (Delayed) Neurotoxicity.
- OECD (2011) Revised Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of LOW ERUCIC ACID RAPESEED (CANOLA) Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Toxicants
- 농림축산식품부 고시 제2015-42호 (2015) 『유전자변형생물체의 국가간 이동 등에 관한 통합고시』 개정안

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술 개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.