


약 력

1. 인적사항

	성 명	구 만 복
	소속기관	고려대학교 생명과학대학
	직 위	정교수
	전자메일	mbgu@korea.ac.kr

2. 경력/경력

연 도	학교 / 기관	전공 / 직위	학위 / 비고
1984	서울대학교	화학공학과	학사
1986	한국과학기술원(KAIST)	생물화학공학	석사
1994	Univ. of Colorado 화학공학과	생물화학공학	박사
1986. 2 - 1990. 2	(재) \목암연구소	주임연구원	
1994. 8 - 1996. 8	Univ. of Delaware / DuPont Co. / Univ. of Colorado	Research Associate	
1996. 8 - 2005. 8	광주과학기술원	조교수, 부교수, 교수	
2002. 5 - 2004. 4	광주과학기술원	환경공학과장/ BK21 사업단장	
2001. 7 - 2005. 8	과기부지정 환경생물공학 국가지정연구실	연구책임자	
2005. 9 - 현재	고려대학교 생명과학대학	교수	
2004 - 현재	- Appl. Biochem. & Biotech. (ABAB, SCI) - Env. Monitoring & Assess. (EMAS, SCI)	Editorial board member	

3. 주요연구실적(개조식, 간단하게)

연구 분야 (Cell Biosensors, DNA array biosensors, Cell & DNA Biochips, Eco- & Chemi- Toxicogenomics)

- 박테리아기반 환경바이오센서, 세포어레이 칩 개발, 앵타머기반 DNA 센서
- 미생물탐지용 유전자칩 개발
- 송사리 2K 유전자칩 개발

수상 등

- 한국 생물공학회 담연학술상(2005), 한국 과학기술 한림원 준회원(2004), 광주과학기술원 교육상(2004)
- YABEC Award (Osaka YABEC meeting, Japan)(2004), 행정 자치부 과학의 날 국무총리표창(2004)
- 한국 생물공학회 신인 학술상(2003), Alexander von Humboldt Research Fellowship (Germany)(2001)
- Marquis Whos' Who in the World, in Science and Engineering, & in Medicine and Healthcare (2001-현재)

4. 발표시 사용 기자재

* LCD projector의 사용을 원칙으로 합니다.

* LCD 사용을 위해 CD나, 저장 매체에 담아 오시는 것을 권장하며, Zip드라이브는 학회에서 준비하지 않습니다.

Toxicogenomic Analysis of Bacteria and Medaka Fish in Response to Environmental Toxic Chemicals

고려대학교 생명과학대학 구만복

생물체의 cDNA를 유리기판위에 고밀도로 침착 시킨 유전자 칩과 정량적인 방법으로 개별 유전자 발현을 진단 가능한 Real-time PCR (실시간 고분자중합연쇄반응 기술) 기법은 첨단 의학분야와 신약개발 및 독성유전체 연구분야에 활발히 도입되고 있는 기술이다. 본 발표의 첫 번째 부분에서는 유전자칩 에서 얻어진 유전자 발현패턴분석에 기반한 바이오마커 선정 및 real time PCR에 의한 확증 관련 기술 과 유전자칩에서 얻어지는 수많은 데이터를 재정렬 및 다양한 분석기법 과 display기술을 활용하여 광범위한 화학물질에 대한 독성효과 분석을 가능하게 해주며, 특정 독성물질에 대한 관련유전자 그룹 발견 및 독성영향에 따른 분류방법에 관한 결과를 발표할 것이다. 또한 바이오마커 활용의 하나로 박테리아세포 기반 바이오센서 제작및 세포칩 개발등에 대한 결과도 추가될 것이다. 두 번째 부분에서는 non-model organism(유전체정보가 확보되지 않은 생물체)인 송사리를 이용하여 새로운 2K 유전자칩을 개발하고, 여기서 각종 화학물질에 대하여 얻어진 수많은 유전자칩 분석 데이터를 활용하여 각각의 화학물질이 보여주는 독성효과를 매우 효과적이고 쉽게 이해할 수 있는 display기술을 개발, 적용함으로써 유전자칩 발현에 기반한 화학물질 독성 screening 및 specificity discrimination을 가능케 하는 예가 발표될 것이다. 이 연구에서 개발한 송사리 유전자칩은 간조직의 RNA를 직접 cDNA화 하는 방식을 취하고 있어 전체 송사리의 유전정보를 필요로 하지 않아 비용 및 효율에서 전체 송사리의 유전정보를 얻는 비용과 노력을 취하지 않고 간에서 발생하는 독성학적 영향 및 유전자의 발현정도를 정밀하고 효율적인 방법으로 얻어 낸다. 현재 2000여개의 cDNA유전자중 50%이상의 유전자가 17베타에스트라디올, 페놀, 노닐페놀, 비스페놀, 감마레이조사, 잔류약품중 이보프란, 다이클로펜악, 농약중의 파라쿼트, 돌연변이 유발물질중의 이티비알, 금속류중의 카드뮴을 통해 발현양상과 특정 캐미칼별 발현 특이성이 조사되었고, 이들 유전자는 염기서열 분석을 통해 염기서열이 분석되었으며, 미국 NCBI의 유전자 은행과의 비교를 통해 일부유전자는 새로운 유전자로 밝혀지고 있다. 또한 이 발표에서는 소염진통제계열 의약품인 dichlofenac 이 송사리의 각종 조직에 미치는 독성영향을 Real-time PCR을 이용하여 대표적 스트레스 유전자의 발현에 미치는 영향에 대한 분석 예가 발표될 것이다.



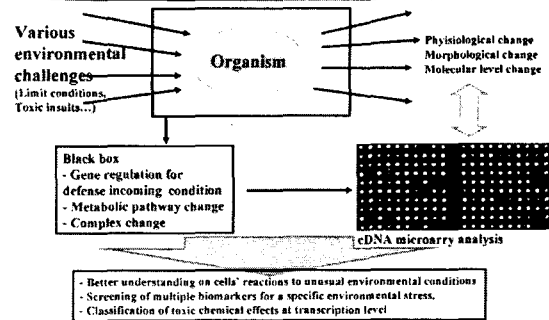
Toxicogenomic Analysis of Japanese Medaka Fish in Response to Environmental Toxic Chemicals

한국유전체 학회 동계워크샵
부주리조트 티오포럼, Feb. 16, 2006

Man Bock Gu

College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University

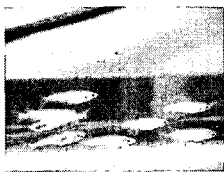
Toxicogenomic study using DNA microarray data



Fish in Eco-toxicogenomics

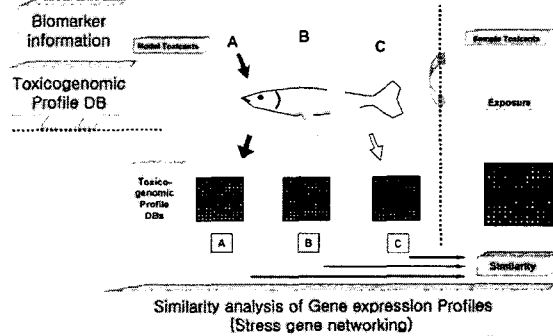
• *Attractive model system* for Eco-toxicogenomics

Suitable as long/short-term biomonitors
Unique among the vertebrates because of large numbers of eggs
Similar reproductive and endocrine systems to mammals, including humans



- Oryzias latipes*, Japanese Medaka
- Inexpensive model system
 - Mature quickly
 - Easy to raise in large numbers
 - Sensitive to a wide variety of chemical carcinogens
 - Have an extremely low incidence of spontaneous cancer (< 0.5% in most studies)

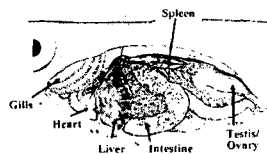
Toxicogenomics



Preparation of Samples from Different Organs of *Oryzias latipes*

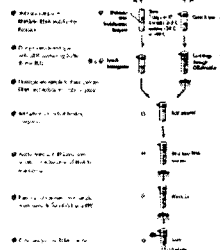


1. *Oryzias latipes*

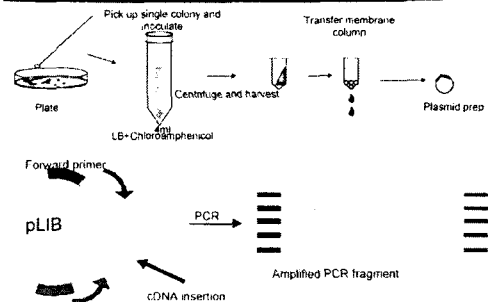


2. Isolation of tissues from *Oryzias latipes*

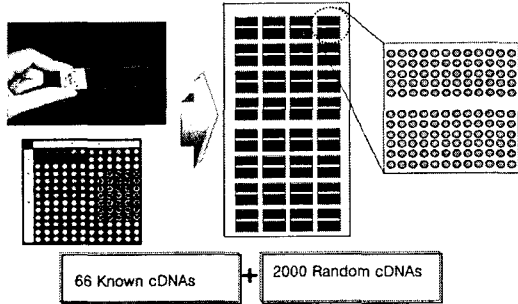
3. RNA purification



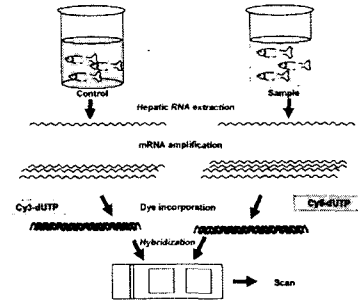
cDNA probes for DNA Microarray



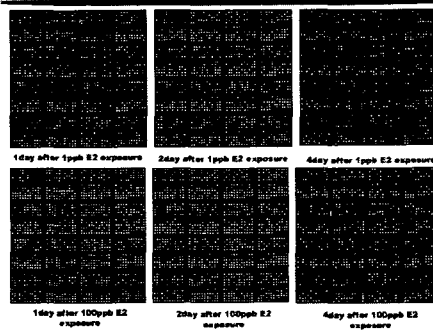
Fabrication of cDNA Microarray



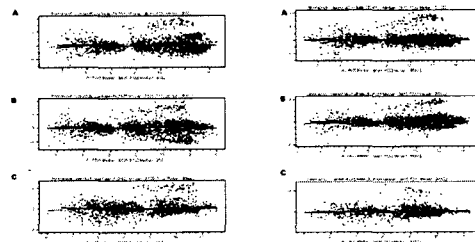
Overall Protocol to Analysis Fish cDNA Chips



Impacts of E2



Normalization of E2 Exposure data

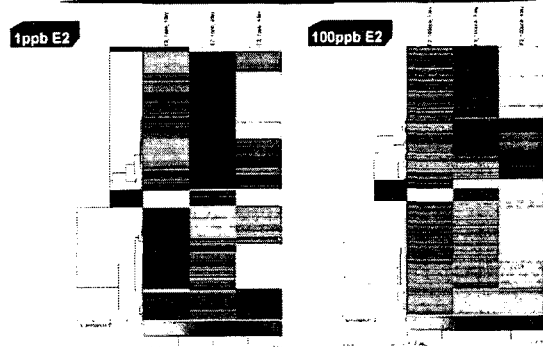


17beta estradiol test as EDC

id	1day	2day	4day	id	1day	2day	4day
CHO_H	6.605	3.393	5.929	VIT-1	6.514	6.598	10.775
VIT-1	6.332	5.451	6.297	CHO_H	6.054	5.838	-
L-SF-p	5.516	4.564	3.646	L-SF-p	5.213	5.470	-
CHO-L	4.597	3.176	-	CHO-L	4.601	7.183	-
ER-a	3.212	1.697	-	Gel-b	2.955	2.248	-
Gel-b	3.048	1.438	-				

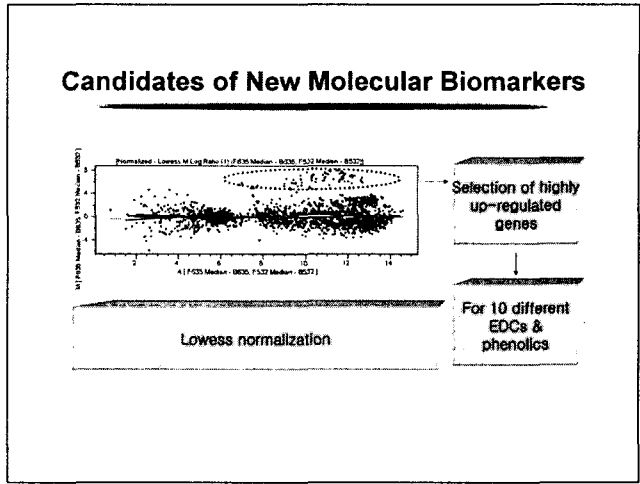
1ppb E2 100ppb E2

Clustering of Gene Expression Profiles for E2



ID	NCBI #	Gene	ID	NCBI #	Gene
1A107	AB094320	Uhl	B108		Uhl
1A121		Uhl	B24	D39502	CNH
1A133	U85928	CNH	C128	D39502	CNH
1A139		Uhl	D269	D39502	CNH
1A395	D38630	L-af	D279	D39502	CNH
1D102	D38630	L-af	D311	D39502	CNH
1B119	U85922	CNH	D43	AB064320	VH1
1B154	D38630	L-af	D97		L-af
1B6	AB064320	VH1	D95	D39502	CNH
1B86	U85920	CNH	E104	D39502	CNH
1C10	D38630	L-af	E214	D39502	CNH
1C126	U85920	CNH	F01	D38630	L-af
1C156	AF025502	CNH-m	F229	D38630	L-af
1D106	D38630	L-af	F244	D39502	CNH
1D109	D38630	L-af	F25	D39502	CNH
1D125	AB064320	VH1	F28	D39502	CNH
1D1H1	D38630	L-af	F280	D39502	CNH
1D1H9	U85920	CNH	F351	D39502	CNH
1H53	U85928	CNH	F360	AB064320	VH1
1D97		Uhl	F4	D38630	L-af
			F46	D38630	L-af
			F50	AY635604	
			L181	AB064320	VH1

SUM at tppb



Real time PCR

<Conventional methods for the quantification of transcription>

- Northern blotting
- In situ hybridization
- RNAse protection assays
- RT-PCR

Low Sensitivity & Limited Information & Complex, long Procedure

Real time PCR
 - Analysis of the accumulation of amplified DNA over the course of an entire PCR using fluorescence probe
 - Sensitive, accurate and reproducible

probe anneals complementary sequence. When the probe is intact, the proximity of the reporter dye to the quencher dye results in suppression of the reporter fluorescence.

Strand Displacement

Polymerase cleaves probes. Cleavage separates the reporter dye from the quencher, which results in increased fluorescence by the reporter.

Endogenous Control

Endogenous Control (=Housekeeping Gene)
 A gene that is expressed the same level in all cell or tissue types.
 -RNA amount, RNA degradation differences

Target RNA

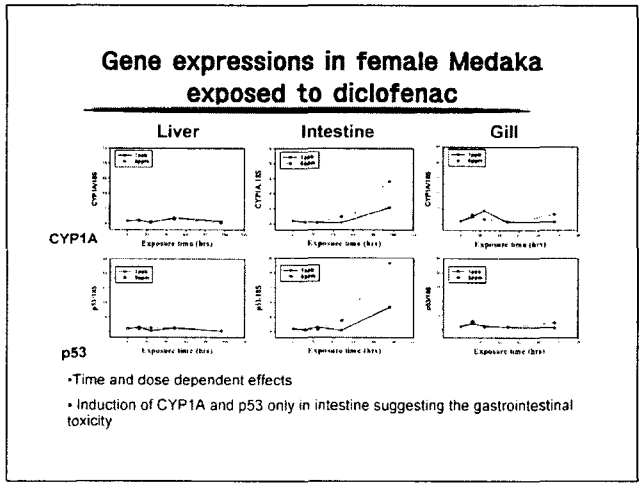
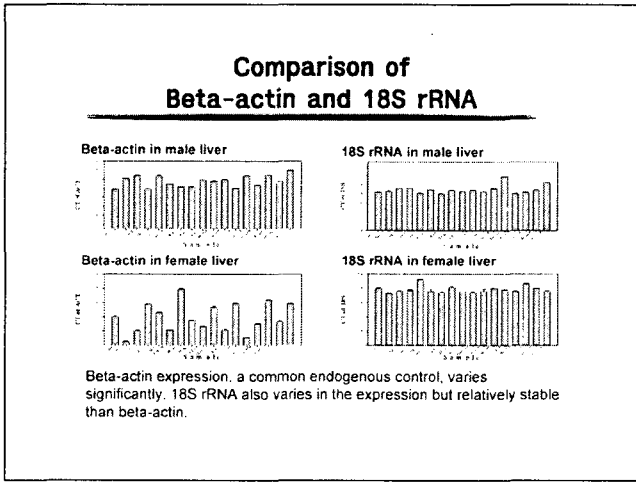
Endogenous control

$$\frac{Tq}{Eq} \text{ (For solvent control) = A} \quad \frac{Tq}{Eq} \text{ (For sample) = B}$$

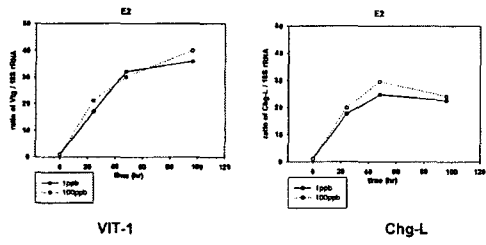
∴ Gene expression fold = B/A

Tq=RNA quantity of Target gene, Eq=RNA quantity of Endogenous Control

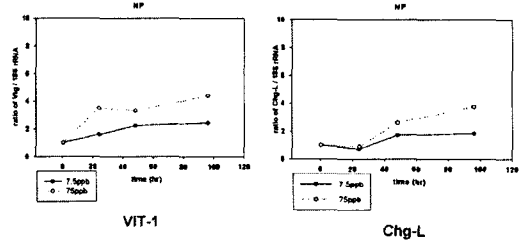
Traditional endogenous control = Beta-actin
 New candidate = 18S rRNA



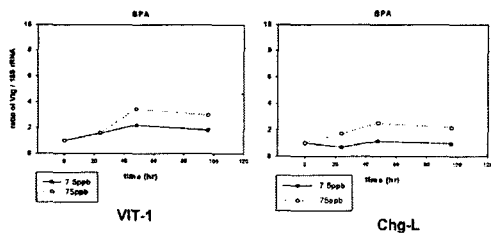
Gene expressions in male Medaka exposed to E2



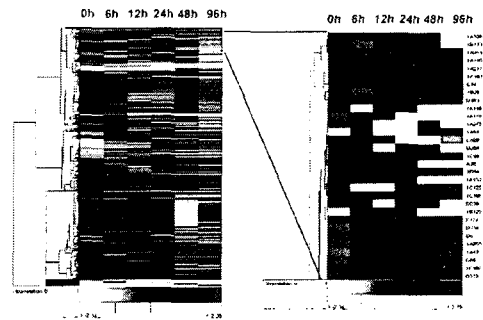
Gene expression in the liver of male exposed by nonylphenol



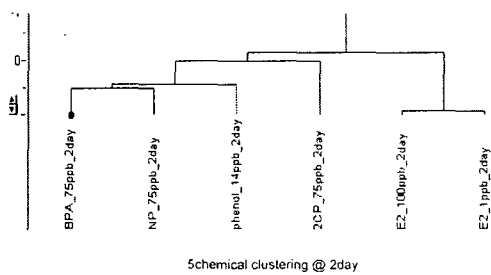
Gene expression in the liver of male exposed by bisphenol A



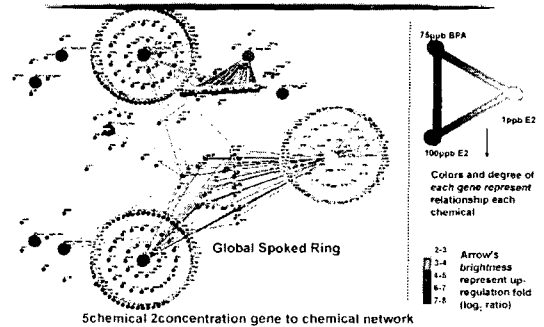
Gene to Gene Clustering



Chemical to Chemical Clustering



Gene to Chemical Network



Ex) Pharmaceutically Active Compounds

PhACs

- substances of pharmaceutical origin
- not eliminated in wastewater treatment plants and not biodegraded in the environment.
- cause negative effects to non-target aquatic organism

Diclofenac



Chemical Name	Structure	MW	Log Kow
Diclofenac Sodium		318	4.51

NSAID (Non-steroidal anti-inflammatory drugs)

- One of the most important PhAC present in water-cycle.
- Amount in Europe in 1999 - 179.8 tons
- It is frequently detected at concentrations up to ppb level in surface waters.

Biomarkers

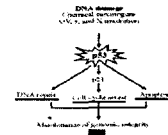
- **Biomarkers:** biological response that can be related to an exposure to, or toxic effect of, an environmental chemicals

CYP1A

Catalyze the oxidative Biotransformation of drugs, xenobiotics, Endogenous substances, etc.

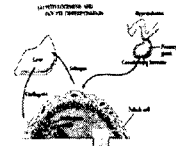
Cellular Toxicity related

p53



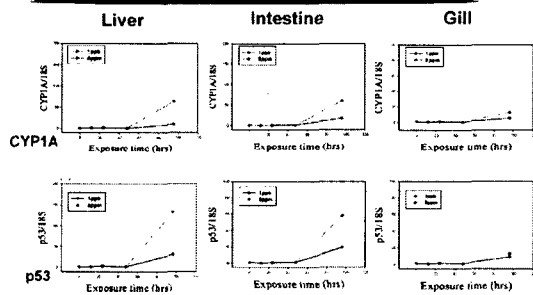
Carcinogenic/ Mutagenic effects related

vitellogenin



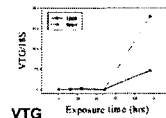
Indicator of Endocrine Disruptor

Gene expressions in male Medaka exposed to diclofenac

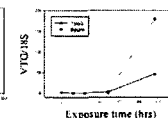


Submitted to Environmental Science & Technology (2005)

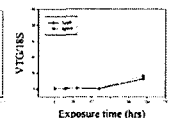
Liver



Intestine



Gill



VTG

- Dramatically increase of genes after 4days exposure
- Induction of biomarkers in dose dependent manner
- VTG > p53 ≥ CYP1A indicating high estrogenic potential and then, apoptotic and carcinogenic effects(p53) and cellular toxicity (CYP1A)
- Liver ≥ intestine > gill
- Significant response in 1ppb of diclofenac exposure as well as 8ppm

Acknowledgements



- Dr. Sung Kyu Lee (KRICT)

- Ms. Hong, Han Na, Dr. Jiho Min

Supported by :
ECO Project through KIENT under Ministry of Environment (MOE)



Any Questions or Comments?