



유전자 회로 기술

Gene Circuit Engineering

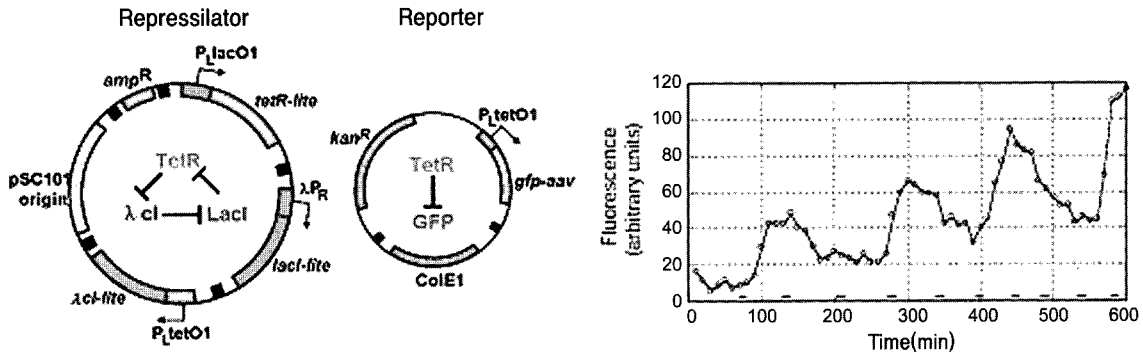


부산대학교 화학공학과
이 선 구 교수

세포내의 유전자 발현 기작은 다양한 전사 조절 인자들에 의해 엄격히 제어되고 있으며, 이들 전사 조절 기작은 서로 긴밀한 네트워크를 형성하고 있어 유전자 네트워크(genetic network) 또는 전자 회로(electrical circuit)와 비견하여 유전자 회로(gene circuit)라 명명된다^[1]. 유전자 회로 기술(gene circuit engineering)은 세포내 유전자 발현에 관련된 조절 인자들과 이들의 영향을 받는 유전자 서열, 즉 프로모터(promoter) 등 유전자 발현 인자들을 유전자 수준에서 분리하고 인위적으로 재구성하여 이들의 유기적 반응을 통해 유전자 발현 형태를 임의적으로 설계 및 제어하고자 하는 기술로써, 여러 가지 유전체 기술들과 지금까지 축적된 생명정보를 이용하여 우리가 원하는 기능을 수행할 수 있는 새로운 인공 생명 시스템(artificial biological systems)을 구축하는 방법들을 연구하는 합성 생물학(synthetic biology)의 범주에 속하는 학문 및 기술 분야이다. 유전자 회로의 재구성 및 합성에 관한 연구는 유전자 발현 기작의 정보 및 기술적 한계 때문에 주로 수학적 모델 및 모사를 중심으로 이루어져 왔으나, 유전자 서열의 대량 분석 및 유전자 조작, 도입 기술 등이 급격히 발전함에 따라 최근 들어 실험적인 결과들이 발표되고 있다.

유전자 회로 설계 및 구현에 대한 최초의 실험적 결과로는 2000년 Leibler 교수 연구진(Princeton University, USA)에서 개발한 진동 유전자 회로(oscillatory genetic circuit)를 들 수 있는데^[2], 이는 세 가지의 유전자 발현 억제인자(repressor) 즉 lacI, tetR, λCI와 이에 의해 조절 받는 프로모터를 이용해 유전자 회로를 설계하여 세포내 유전자 발현을 진동형태로 조작할 수 있음을 보여주었다(그림 1). 또한 같은 개념을 이용한 유전자 토글 스위치(genetic toggle switch)가 비슷한 시기에 Collins 교수 연구진(Boston University, USA)에 의해 발표되었다^[3].

위의 두 결과는 유전자 발현 형태를 인위적으로 또한 논리적으로 디자인(design)하여 실험적으로 구현할 수 있음을 처음으로 제시해 주었으며, 유전자 회로 공학의 서막을 열어 이후 다양한 형태의 유전자 회로 설계 및 합성에 관한 연구를 촉발시켰다. 위에서 언급한 진동 유전자 회로(oscillatory genetic



〈그림 1〉 oscillatory genetic circuit [2]

circuit)의 발표 이후 유전자 회로의 재구성에 대한 연구는 I) 다양한 유전자 발현 조절인자를 이용한 다양한 형태의 유전자 회로의 구현에 대한 연구 및 II) 유전자 회로 구현의 효율성 증진에 대한 연구를 중심으로 진행되고 있으며 대표적인 연구 결과들을 다음에서 살펴보고자 한다.

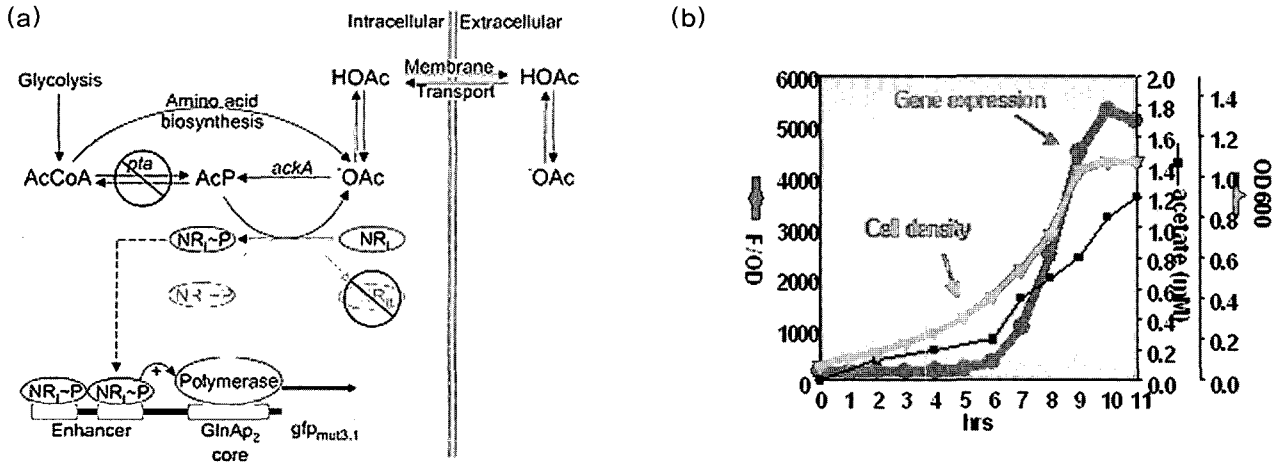
1. 유전자-대사 회로(gene-metabolic circuit)

회로 설계 및 구현

UCLA의 Liao 교수 연구진은 실제 세포내의 유전자 네트워크와 보다 가까운 유전자 회로로서 세포의 대사 조절 기작과 유전자 발현 조절 기작을 이용한 유전자-대사 회로(gene-metabolic circuit)을 설계 및 구현하였다. 현재까지 대장균의 아세트산(acetic acid) 대사 기작을 이용한 “인공 정족수 인식 회로 (artificial quorum sensing circuit^[41])”와 “유전자-대사 진동 회로 (gene-metabolic oscillator)^[51]” 두 가지 회로에 관한 연구 결과를 발표하였는데, 먼저 아세트산 대사 기작을 이용한 정족수 인식 회로 구현에 관한 연구를 살펴보면 다음과 같다. 대장균의 경우 아세트산 생산의 주된 대사 경로인 pta(phosphoacetyl transferase) 경로를 파괴할 경우, 아미노산 합성 과정에서 생성되는 아세트산이 세포 밖으로 일정한 속도로 분비되어 세포 농도에 비례하여 세포 밖 아세트산 농도가 증가하고, 세포 밖의 아세트산이 일정 농도에 도달하면 ack (acetate kinase) 경로에 의해 세포내에서 acetyl phosphate로 변환되며, NRI(조절단백질)-glnAp2(프

로모터) 시스템은 세포내 acetyl phosphate를 감지할 수 있으므로 유전자 발현이 세포농도의 증가에 의해 유발된다〈그림 2 (a)〉. 즉, 대장균 밖으로 분비되는 대사 산물인 아세트산을 세포 간 신호 물질로 이용하고, 세포 밖 아세트산을 감지하는 전사 조절 기작을 이용하여 자연계의 몇몇 미생물들이 보이는 정족수 인식 (quorum sensing) 유전자 회로를 대장균에서 구현하였다〈그림 2 (b)〉. 이 연구 결과는 대사 산물을 세포 간 신호 전달 물질로 이용한 최초의 유전자 회로이며, 유전자 회로에 사용된 전사 조절 모듈(module) 즉, acetate/aetate kinase/acetyl phosphate/NRI/glnAp2은 세포간의 유전자 발현의 단일화를 구현하는데 이용될 수 있어 유전자 회로 공학의 발전 및 실용화에 크게 기여할 것으로 평가되었다^[6].

아세트산 대사 기작을 이용한 진동회로는 대장균 세포내에 acetyl phosphate가 생성되면 이의 생산을 담당하는 pta의 발현이 저해되어 acetyl phosphate의 세포내 농도가 낮아지고 이는 다시 pta의 발현을 유도하여 세포내 acetyl phosphate 농도가 증가되도록 설계하였으며〈그림 3 (a)〉, 이를 위해 glnAp2 promoter에 의한 lacI 발현 시스템, lac promoter에 의한 pta 발현 시스템을 구축하였고, acetyl phosphate의 소모 속도를 촉진시키기 위하여 glnAp2에 의한 acs (acetate synthetase) 발현 시스템을 부가적으로 추가하였다〈그림 3(b)〉. 회로 거동을 관찰하기 위해 lacI에 의해 조절되는 tac promoter에 의한 GFP 발현 시스템을 이용하였으며, 단일 세포 수준에서 형광 현미경을



〈그림2〉 Acetate mediated artificial quorum sensing circuit^[4]

이용하여 세포내 GFP 발현이 진동 형태로 나타남을 확인하였다(그림 3(c)). 또한 세포 배지 내 탄소원을 달리 함에 따라, 즉 glucose, fructose, mannose, glycerol을 사용하였을 때 유전자 발현 형태가 달라짐을 보여 주었는데, 이는 세포내의 대사 상태가 디자인된 유전자-대사 회로에 영향을 주고 있음을 시사하고 있다^[6]. 이 연구 결과는 유전자 회로 구현에 있어 세포의 대사 조절 기작과 유전자 발현 조절 기작을 이용한 최초의 유전자 발현 진동 회로이며, 세포내 대사 상태와 유전자 발현과 밀접한 관계를 가지고 있는 실제 세포내의 유전자 네트워크와 가장 가까운 유전자 회로라 할 수 있다.

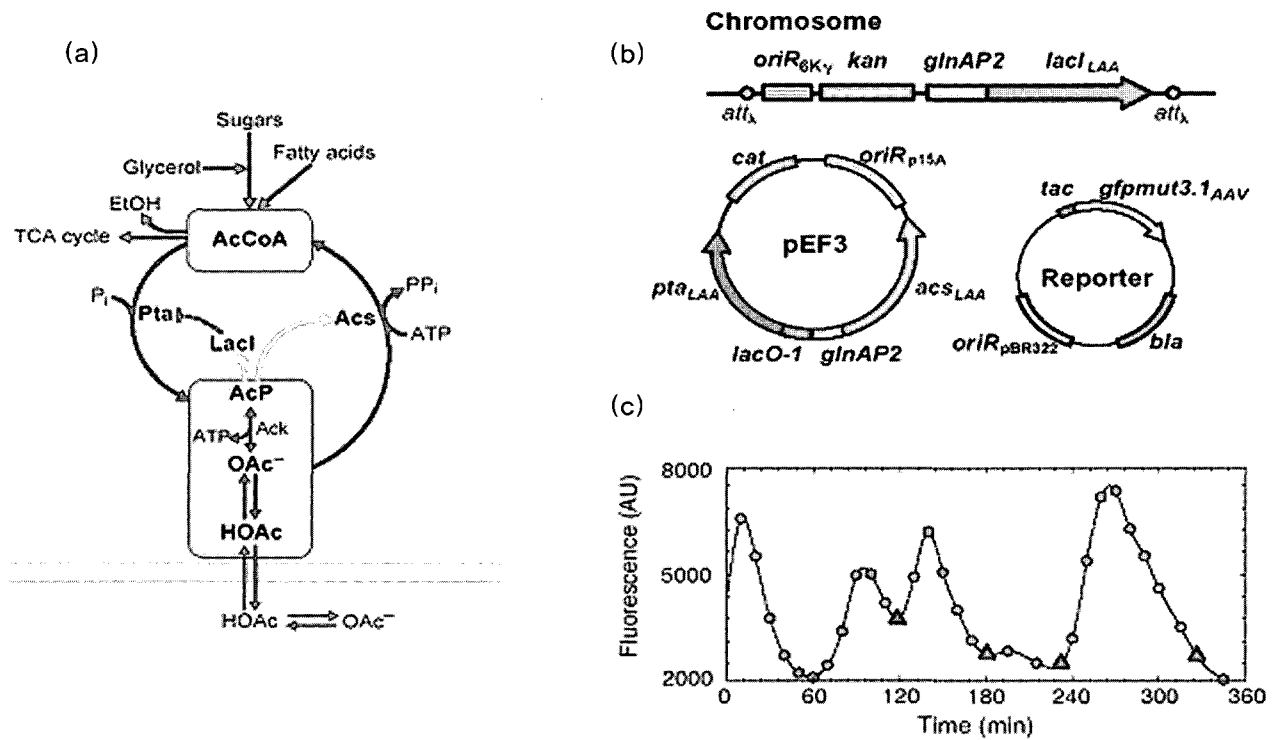
2. 세포간 신호 물질을 이용한 유전자 회로 설계 및 구현

유전자 회로 구현 시 발생하는 문제점 중 하나는 세포 간 유전자 발현의 단일화(synchronization) 수단의 부재로 인해 유전자 회로의 작동을 거시적으로 관찰하기 어렵고 단일 세포 수준에서 관찰해야만 한다는 것이다. 예를 들면 위에서 살펴본(그림 1) 및 (그림 3)의 진동 회로는 모두 단일 세포의 유전자 발현 진동 결과이다. 이러한 문제점을 극복하기 위한 방안으로 세포 간 신호 전달이 관여된 유전자 발현 조절 기작인 정족수 인식(quorum sensing)에 관여된 발현 인자를 이용한 유전자 회로의 구현에 대한 방법이 Collins 교수 연구

진(Boston University, USA)에 의해 제시되었으나 모델링 수준에서 그쳤고^[7], 이후 Caltech의 Arnold 교수 연구팀과 Princeton 대학의 Weiss 교수 연구팀은 실제 quorum sensing 화합물인 N-acylhomoserine lactone (AHL) 및 관련 유전자 회로를 재조합하여 프로그래밍된 “세포 사멸 회로” 합성에 실험적으로 이용하였다^[8]. 이들 연구팀들은 이후 이외에도 AHL 및 관련 유전자를 이용한 다양한 유전자 회로를 디자인 및 구현하였다^[9,10]. 또한 Arnold 교수 연구팀은 이들 유전자 회로를 디자인 및 구현한 후 방향성 진화(directed evolution) 기술을 이용하여 최적화시킴으로써 유전자 회로를 구현할 때 발생하는 문제점 중의 하나인 전사 조절인자 및 유전자 발현의 실험적 제어의 어려움을 극복하는 방안을 제시하였다^[11,12].

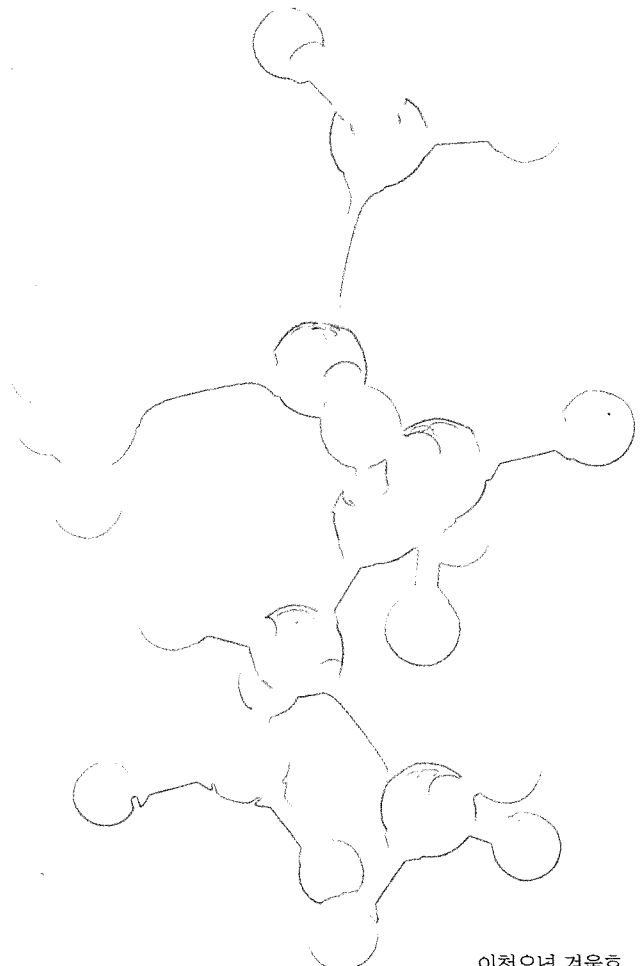
맺음말

위에서 예시한 결과들 이외에 다양한 유전자 회로 합성에 대한 연구가 진행 및 발표되고 있는데 유전자 회로 합성에 대한 연구는 I) 포스트게놈 연구의 핵심이라 할 수 있는 세포내 유전자 네트워크의 구성 및 이에 의한 단백질 발현 네트워크에 대한 이해를 심화시키고, II) 유전자 발현의 임의 제어 기술을 제공함으로써 대사



〈그림 3〉 oscillatory gene-metabolic circuit [5]

공학 기술, 단백질 생산 기술, 바이오 센서 및 유전자 치료 기술 등 생물 기술과 생물 산업 전반에 영향을 줄 것으로 기대되고 있다. 국내의 경우 유전자 회로 합성을 위한 기본단위인 전사 조절 인자 각각에 대한 연구 수준은 매우 높은 편이며 활발히 진행되고 있으나 이들을 인위적으로 재구성 및 합성하고자하는 연구는 거의 진행되지 않았다. 이는 유전자 회로 합성 분야가 기초 연구에 가까운 연구로서 응용 연구 중심으로 운영되고 있는 국내 실정과 무관하지 않은 것으로 판단된다. ㉞



<참고 문헌>

- [1] Hasty, J., McMillen, D. & Collins, J. J. (2002) Engineered Gene circuit. *Nature* 420, 224-230
- [2] Elowitz, M. B. & Leibler, S. (2000) A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators *Nature* 403, 335-338.
- [3] Gardner, T. S., Cantor, C. R. & Collins, J. J. (2000) Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature* 403, 339-342.
- [4] Bulter T, Lee S.-G, Wong WW, Fung E, Connor MR, and Liao JC (2004), Design of artificial cell-cell communication using gene and metabolic network. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101: 2299-2304
- [5] Fung E, Wong W, Suen J, Buelter T, Lee SG, Liao JC, (2005) A synthetic gene-metabolic oscillator. *Nature*, 435, 118-122.
- [6] Gerchman Y, Weiss R. (2004) Teaching bacteria a new language. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101(8):2221-2.
- [7] McMillen D, Kopell N, Hasty J, Collins JJ (2002) Synchronizing genetic relaxation oscillators by intercell signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99(2):679-684
- [8] You L, Cox RS 3rd, Weiss R, Arnold FH.(2004) Programmed population control by cell-cell communication and regulated killing. *Nature*. 428(6985):868-871
- [9] Basu S, Gerchman Y, collins CH, Arnold FH, Weiss R (2005) A synthetic multicellular system for programmed pattern formation. *Nature*. 434(7037):1130-4
- [10] Karig D, Weiss R (2005) Signal-amplifying genetic circuit enables in vivo observation of weak promoter activation in the Rhl quorum sensing system. *Biotechnol Bioeng*. 2005 Mar 20;89(6):709-18.
- [11] Yokobayashi Y, Weiss R, Arnold FH. (2002) Directed evolution of a genetic circuit. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99(26):16587-91.
- [12] Collins CH, Arnold FH, Leadbetter JK (2005) Directed evolution of *Vibrio fischeri* LuxR for increased sensitivity to a broad spectrum of acyl-homoserine lactones. *Mol Microbiol*. 55(3):712-23