

DNA 칩을 활용한 환경 바이오 모니터링 기술



고려대학교 생명과학대학
구만복 교수



환경모니터링신기술 연구센터
광주과학기술원
김병찬 박사

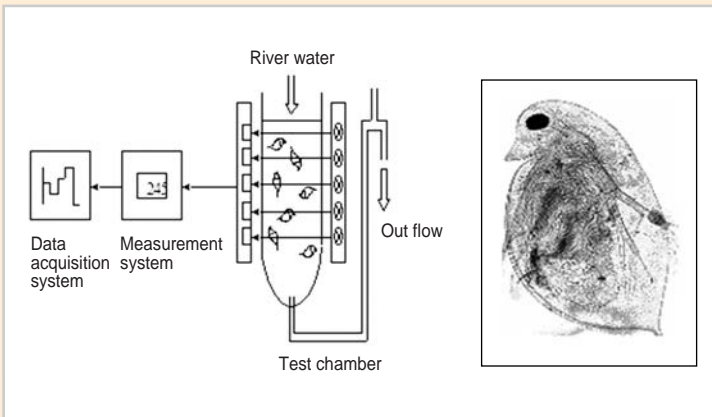


환경모니터링신기술 연구센터
광주과학기술원
이진형 박사과정

20세기 말까지 인류의 산업활동 및 화석연료 사용량의 증가로 야기되기 시작한 환경오염은 환경생태계의 파괴, 기형동물의 출생, 및 지구온난화 등의 결과로 나타나는 심각한 양상으로 전개되어 왔으며 이제 21세기에도 환경오염 방지에 대한 특별한 노력이 없이 이러한 경향이 계속된다면 환경오염 문제는 지역적, 국지적 문제로부터 전 지구적 환경문제로 확산될 것이다. 이러한 점에서 오염된 환경을 정확히 진단하고 처리기술을 평가하기 위한 환경모니터링 기술은 자연과학 및 공학 관련기술의 적극적인 도입과 새로운 기술수요에 부응하는 21세기 환경분야의 신기술영역으로 발전해 나가고 있다. 오염물질의 성분분석을 근간으로 하는 분석모니터링 기술이 이미 알려진 물질의 화학적 상태와 정량적인 정보를 주는 반면, 미지의 오염물질 또는 복합적인 오염상태에서의 환경 독성 및 위해성에 대한 직접적인 자료를 제공하는 것은 불가능하다. 특히 환경오염 모니터링이라는 것이 특정 성분분석을 해 내는 것도 의미가 있겠지만 더욱 그 본질적인 필요를 생각한다면 그 영향 또는 위해성에 대한 정보를 제공하는 것이 더욱 중요한 목적이라고 할 수 있다. 또한 최근 전세계적으로 문제가 되는 내분비계 장애물질 즉 소위 환경호르몬을 생각할 때 이러한 문제점은 더욱 심화된다.

1. 환경공학 기술과 바이오 모니터링

환경공학기술은 정보통신, 바이오 기술과 더불어 미래 핵심 산업기술의 하나로 분류되고 있다. 생활수준이 높아지고 삶의 질이 향상 될수록 좋은 환경에서 살고자 하는 인간의 욕구는 높아지게 마련이고 그에 따라 환경오염에 대한 규제는 점점 더 강화될 전망이다. 당연히 환경오염 처리나 예방과 관련된 시장은 나날이 커지고 있고 관련기술 또한 비약적인 발전을 거듭하고 있다. 환경공학기술은 크게 환경오염 처리기술(Environmental Treatment Technology), 환경오염 방지기술(Pollution Prevention Technology) 그리고 환경 진단기술(Environmental Monitoring Technology) 등으로 나눌 수 있다. 지금까지의 환경 공학기술



〈그림 1〉 Dynamic daphnia test 장치 개념도 및 물벼룩 (daphnia), 물벼룩의 활동성에 따라 광 다이오드의 진동 정도로 독성을 판단한다.



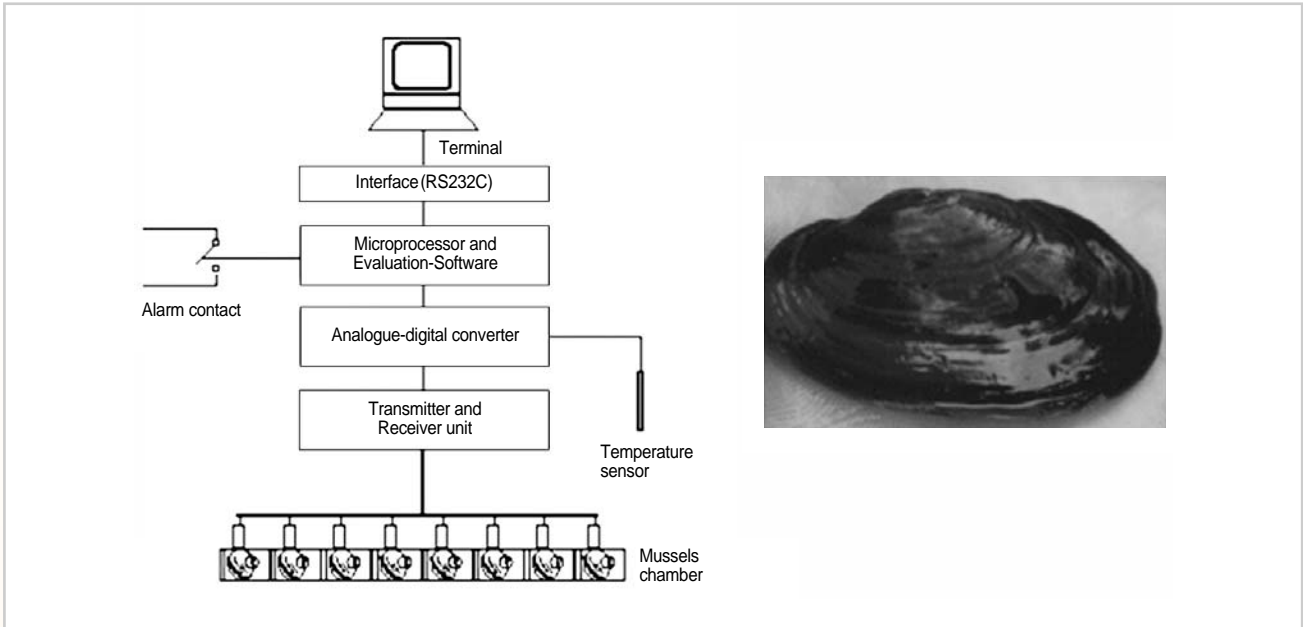
〈그림 2〉 물고기를 이용한 수질 독성 모니터링 장치, 물고기가 물의 흐름에 역방향으로 유영하는 것에 착안하여 구성된 장치로 독성에 의해 물고기 유영 속도가 줄어들게 되면 챔버 뒷부분의 센서를 작동시키는 원리로 수질 독성을 판단한다.

은 주로 오염된 물질을 사후에 처리하는 end of pipe technology로써 환경오염 처리기술이 주류를 이루어 왔지만, 앞으로는 사전에 오염을 차단하는 오염 예방(Pollution Prevention)분야 및 오염 사전 진단, 환경 생태 진단 기술이 핵심이 되는 환경 진단 기술이 중요하게 부각될 것이다. 환경 진단 기술 중 특히 생물공학 기술을 이용하는 기법을 환경 바이오 모니터링(Environmental biomonitoring)이라 한다. 환경 바이오 모니터링 연구에는 환경매체 내에서의 오염도와 독성 정도를 측정하거나 혹은 환경호르몬으로 불리는 내분비계 장애물질 등 특수한 유해 화학물질을 탐지 및 측정할 수 있는 바이오센서 개발 및 바이오 assay기법 개발 기술, 환경 생태계 내에서의 미생물 분류 및 탐지 기술 등이 핵심기술이다. 대기, 토양 및 지하수, 그리고 지표수 등의 독성 정도 및 그 유해성을 평가하거나 생태 군집 진단 및 생태 유전체 분석 기술을 모두 환경 바이오 모니터링 기술이라 할 수 있다.

유독성 물질일수록 분석에 많은 시간과 경비와 노력이 든다는 점을 생각할 때 환경 유해물질로 오염된 수질, 대기, 토양 및 지하수 등의 유해성을 간편하고 신속하게 측정할 수 있는 측정기술 및 방법의 개발은 필연적이다. 지금까지

사용되고 있는 전통적인 환경 바이오 모니터링 기술은 물벼룩 〈그림 1〉, 물고기 〈그림 2〉, 혹은 홍합 〈그림 3〉 및 해저 발광미생물등 살아있는 생물체를 이용하여 수질의 독성을 평가하는 방법이었다. 즉, 이러한 독성/유해성측정의 공통점은 그 매개체로서 살아있는 생물체나 혹은 세포를 사용한다는 점이다. 이 외에도 유전공학기법을 이용하여 세포가 가지는 외부 스트레스에 반응하는 메커니즘을 응용하여 세포기반 바이오센서 혹은 Biofuel cell을 이용하여 독성을 모니터링 하는 시스템도 국내외에서 개발되고 있다.

한편 1995년 Stanford대학의 P.O. Brown그룹에서 cDNA 칩의 개발 내용과 응용 가능성을 Science지에 게재한 이후 생명공학연구 전반에 걸친 DNA 칩의 응용 사례가 지속적으로 발표되고 있다(Schena et al, 1995). 다양한 종의 genome project에 의해 수많은 염기서열 정보가 쏟아져 나오고 있고 이들 각각의 DNA가 어떻게 발현이 조절되며 연관 지어 질 수 있는지에 대한 관심이 커지고 있으며 이에 대한 연구가 활발히 진행 중이다. 즉, DNA구조와 기능 해석에 중점을 둔 기존의 연구 접근 방식과 더불어 동시에 DNA들 사이의 연관성을 살펴보려는 노력들이 진행되고 있는 것



〈그림 3〉 홍합을 이용한 수질 독성 모니터링 장치 개념도, 홍합의 호흡에 따른 패각의 벌려짐과 닫혀짐의 빈도를 이용하여 수질 독성을 판단한다.

이다. 이러한 측면에서 DNA 칩 기술은 수 천, 수 만 DNA의 발현 정도를 동시에 (high-throughput) 탐지할 수 있으므로 이와 같은 연구 방향을 이끌어 줄 가장 주목 받는 기술이라 할 수 있다. DNA 칩은 생명과학 및 공학 분야에 이미 광범위하게 사용되고 있으나 환경 공학 분야의 응용은 이제 막 태동하는 단계라 할 수 있다. 하지만 진단이라는 측면에서 생물분자를 활용하는 DNA 칩 형태의 플랫폼은 그 광범위한 진단 특성을 고려할 때 환경 바이오 모니터링 연구에 가장 적합한 도구라 할 수 있겠다. 따라서 본 고에서는 DNA 칩의 환경 바이오 모니터링 응용이라는 주제로 독성 유전체학 (toxicogenomics) 연구를 위한 DNA 칩의 활용, DNA 칩 정보로부터 분석 가능한 신기술 응용 및 환경 센서로서의 DNA 칩 활용에 관한 신기술 등을 살펴보자 한다.

2. DNA 칩 기반 독성유전체학 연구

1) DNA 칩과 독성유전체학 연구

현재 Chemical Abstract Service(CAS)에는 유기, 무

기 화학물질을 통틀어 대략 1800만 종의 화학물질이 등록되어 있다. 이들 화학물질은 산업 전반에 걸쳐 인류에게 막대한 부를 가져다 주고 있지만 이들의 환경과 인간 건강에 대한 잠재적인 위해성을 간과해서는 안 된다. 생물학적 관점에서 화학물질의 독성을 판별하는 가장 일반적인 방법은 animal / fish / bacteria test를 이용한 bioassay다. 개체에 직접 화학물질을 투여 혹은 접촉 시켜 사멸 정도를 확인함으로써 LD (lethal dose), LC (lethal concentration) 값의 기준 농도를 결정하고 이를 근거로 화학물질의 독성 강도와 여부를 구분 짓게 된다. 그러나 자연 환경에 유출되는 화학물질들은 단일 종만이 아니며 또한 현재 유출되는 화학물질의 10% 정도만이 유출 후 분석 가능한 것으로 알려져 있다. LD, LC 기준의 농도는 화학물질이 사멸을 유도하기까지 세포나 개체에 미치는 생리 활성적 영향의 지표는 전혀 제시해 줄 수 없는 것이 사실이다. 즉, 저 농도에 오랫동안 노출될 경우 나타나는 세포의 생리활성 변화에 의한 독성이 더 심각할 수 있다는 의미이다. 이런 관점에서 볼 때 화학물질의 독성 정도를 밝혀내기 위해 유전자 발현수준에서 화학 물질이 어떠한 영향을 미치는지 반드시 살펴볼 필요성

을 느끼게 된다. 따라서 독성학적 측면에서 새로운 독성 정보를 알려줄 수 있는 도구의 필요성이 대두되고 있는 시점에서 DNA 칩 기술은 이의 궁극증을 해결해 줄 강력한 도구가 된다. 특히 각종 생물체의 genome시퀀스와 이에 따른 EST(Expression Sequence Tag) 정보가 체계적으로 축적되고 있는 상황에서 대상 생물 종의 DNA 칩 활용은 생물체의 화학물질에 대한 반응 기작을 유전자 발현 수준에서 확인하는데 강력한 도구로 자리잡고 있다. 이와 같이 독성 물질에 대한 전체 유전자 발현 패턴을 분석하고 조절하는지 밝히는 연구 분야가 독성 유전체학이며 이를 위한 DNA 칩의 활용은 필수불가결 하다 할 수 있겠다.

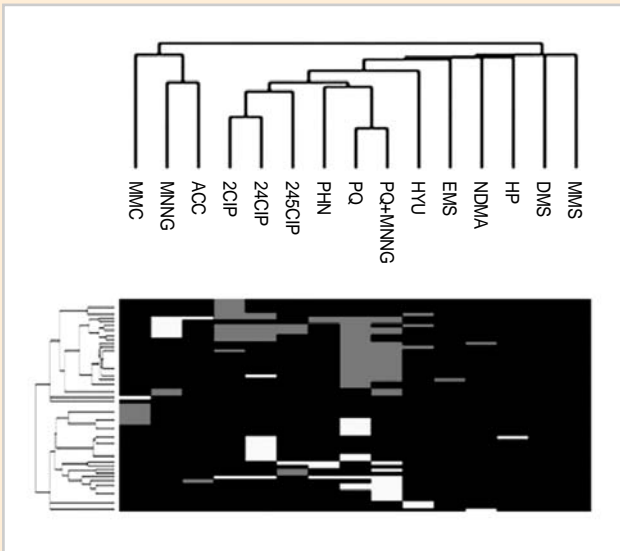
독성 유전체학연구는 화학물질이나 약품이 처리된 대상 세포나 개체가 어떠한 방식으로 유전자를 발현시키고 조절하는지를 genome wide 수준에서 분석하는 것을 의미한다(Neumann and Galvez, 2002). 따라서 독성 유전체학 측면에서 DNA 칩을 활용하여 유전자 발현 패턴에 따른 화학물질 스크리닝, 화학물질에 의한 중간 생리활성 변화 분석, 독성학적 기작 분석을 수행할 수 있다. DNA 칩을 이용한 독성 유전체학 연구는 서로 다른 클래스에 속하는 화학물질이 접촉된 시간이나 농도에 따라 대상 세포나 개체의 유전자 발현 패턴의 차이가 날 것이라는 점을 전제로 시작한다. 서로 다른 클래스에 속하는 화학물질은 잠재적으로 DNA 발현 양상에 차이를 보이게 될 것이며 이를 통해 화학물질에 특이적인 발현 양상을 DNA 칩으로 분석함으로써, 첫째 DNA 발현 네트워크 검증을 통해 환경 시료에 대한 잠재적인 독성 평가를 실시할 수 있으며, 둘째 잘 분석된 화학물질의 DNA 발현 정보를 통해 미지 시료나 독성 분석이 이루어 지지 않은 신규 화학물질의 독성 정보를 비교하고 그 독성 효과를 예측 할 수 있고, 셋째 멀티 바이오마커(biomarker) 역할을 기대 할 수 있다. 넷째 사용되는 DNA 칩의 DNA 소스에 따른 중복되는 DNA 발현을 분석함으로써 중간 독성 비교 연구가 가능하며, 다섯째 복잡 성상의 화학 종에 대한 생리활성 측면에서의 독성 분석이 가능하다. 마지막으로 화학물질의 급성 독성 혹은 장기 독성 효과를 판단할 수 있다. 이와 같은 가능성은 이미 몇몇 연구진들에

의해 제시되고 있다. Hepatotoxin 독성 분석을 위해 rat DNA 칩을 이용 각각의 hepatotoxin류에 대해 특이적인 DNA 발현 패턴을 분석하고 이들 간의 DNA 발현을 hepatotoxin류를 중심으로 clustering한 결과가 보고되었으며(Waring et al, 2001), 비슷한 구조를 갖는 화학물질에 따라 발현되는 유전자 패턴이 연관성 있게 분류된다는 보고도 있다(Kitagawa et al, 2003). Bartosiewicz 는 물고기 DNA 칩을 이용하여 몇몇 환경 호르몬에 대한 DNA 발현 패턴이 달라짐을 확인 하였고 화학물질의 fingerprinting으로 DNA 발현 패턴을 이용할 수 있음을 제시 하였다(Bartosiewicz et al, 2001).

2) DNA 칩 정보 기반 신기능 연구

DNA 칩으로부터 얻을 수 있는 유전자 발현 정보를 통해 기존의 환경 바이오 모니터링 기법으로는 접근할 수 없었던 다양한 신기능 연구가 가능케 되었다. 앞서 제시한 DNA 칩의 독성 유전체학 응용성 중에 가장 크게 부각 되는 것은 특정 화학물질에 특이적으로 발현하게 되는 다양한 바이오마커를 transcription 수준에서 빠른 시간 내에 선별하고 확보할 수 있다는 점이다. 일반적으로 잘 알려진 바이오마커로는 내분비계 장애 물질에 대해 과 발현되는 vitellogenin(난황단백질)을 들 수 있다. Vitellogenin의 발현 정도는 화학물질의 내분비계 장애 가능성을 가늠하는 중요한 척도로 활용되고 있다(Brasfield et al, 2002). 그러나 vitellogenin을 유도하기까지의 관련 유전자 발현 과정은 vitellogenin 단일 바이오마커로는 확인할 수 없는 한계가 있으며, 이는 대상물질의 환경 호르몬으로써의 작용 가능성을 제시해줄 뿐 다른 생리 활성적 영향을 단일 바이오마커 측정 결과로 판단하는 것은 무리가 있다. 독성 분석을 위한 바이오마커 활용 측면에서 DNA 칩 결과는 단일 유전자뿐만 아니라 유전자 간의 상관관계를 좀더 광범위하고 때로는 세세하게 추적 할 수 있도록 해준다.

<그림 4>는 15종의 화학물질에 대한 대장균 RFM443의 유전자 발현 패턴을 클러스터링한 결과이다. 15종 모두 동일한 유전자 발현 패턴이 나타나지 않으며 일부 비슷한 화학종의 경우 유의성을 나타내게 된다. 또한 혼합화학물질



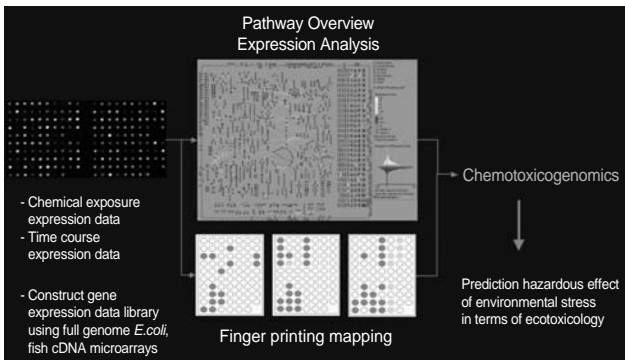
〈그림 4〉 15종의 화학물질에 대한 E. coli RFM443의 DNA 발현 패턴 양상과 화학 종의 clustering

궁극적으로 화학물질의 시간에 따른 노출과 농도 별 노출을 통한 유전자 발현 패턴에 근거하여 화학물질의 독성 분석이 가능하며 이들로부터 얻어진 정보는 대사과정 흐름 분석과 fingerprint mapping 등의 분석 과정을 통해 화학물질이 미치는 독성을 좀더 세분화하여 관찰할 수 있으며 나아가서는 실제 환경 생태계의 독성 분석과 risk assessment를 수행하는데 활용될 수 있을 것이다.

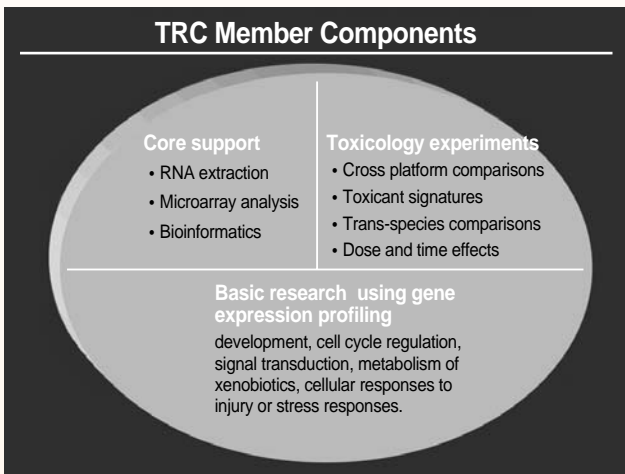
의 경우 각각에서 up regulation/down regulation 된 유전자 패턴의 중첩이 정확하게 나타난다. 이로부터 각각의 화학종에 대한 유전자 발현 패턴을 data base 화 하여 여타 다른 화학물질 검색으로부터 그 화학물질의 유전자 발현 유도 과정을 통해 독성 정도를 예측 하고 분류할 수 있다. 각각의 유전자 발현 패턴 특이성으로부터 multi 바이오마커의 활용이 가능하다. 바이오마커의 또 다른 활용 가능성은 특정 화학물질에서 유도되는 탐색된 바이오마커 선별을 통해 발광 혹은 형광 유전자와의 결합을 활용한 독성 탐지용 재조합 세포주를 개발할 수 있다. DNA 칩 결과로부터 선별된 유전자 군을 이용하여 독성 분석에 용이한 DNA 칩의 개발이 가능하다. 실제 수천 수만 DNA 중 어느 화학물질에 어느 DNA가 발현될지는 알 수 없으나 데이터 베이스 축적을 위한 실험 과정 중 그 대상 후보군이 선정 될 수 있고 이들 중 대표성이 나타나는 몇몇의 DNA를 선별하고 조합하여 DNA 수 측면에서 축소화된 DNA 칩을 활용하면 여타 다른 화학물질이나 환경 시료의 독성을 분석하는데 훌륭한 환경 독성 바이오센서의 역할을 할 수 있는 것이다.

광범위한 유전자 발현 정도는 독성 측면에서의 유전자

발현 network 분석을 가능케 한다. 기존의 많은 통계학적 분석 방법을 통해 속속히 더욱 정교하고 분석적인 모티프를 활용한 방법들이 등장하고 있다. DNA 칩에서의 유전자 발현 정도는 ratio 값으로 나타나며 그 데이터의 양 또한 수천에서 수만에 이른다. 따라서 DNA 칩으로부터 유전자 발현 network의 엄밀한 구성을 위해 다양한 알고리즘과 방법이 개발되고 있다. 유전자 발현에 대한 대표적인 통계 분석 방법은 clustering 방법인데 이는 발현 양상이 비슷한 유전자 군을 군집 시켜주지만 그 유전자들이 반드시 동일 발현 선상에(regulatory network) 위치하는 것을 의미하지는 않는다. 그러나 유전자의 발현을 on-off 개념으로 변환시키게 되면 유전자 network 구성을 위해 흔히 logic 알고리즘으로 불리는 'Boolean 알고리즘'을 활용할 수 있다. 이는 연속적인 유전자 발현흐름을 밝히는 데는 불리하나 특수 상황에서 연관 유전자들의 on-off 특성을 살펴 유전자 발현 network를 분석 할 수 있으며 각 화학물질을 유전자 발현 패턴을 근거하여 fingerprinting mapping을 할 수 있는 근거를 제시해준다(Hatzimanikatis and Lee, 1999). 이와 같은 특성을 이용하여 독성 환경 하에서의 생물 종의 유전자 발현 패턴



〈그림 5〉 DNA 칩을 활용한 독성 유전체 학의
신기능 연구 흐름도



〈그림 6〉 독성 유전체학 연구 컨소시움 분야 별 구성도
(출처 : <http://www.niehs.nih.gov/dert/trc/intro.htm>)

이 어떻게 변화하는 가를 살피고 유전자 발현 흐름이 어떻게 조절되는지 알게 된다면 화학물질의 유전자 분석 방법에 근거한 독성 정보를 더욱 세분화 하여 구축 할 수 있으며 이에 대한 질병 유발 인자 분석과 함께 새로운 해독제 제작 분야에도 응용될 수 있을 것이다. 궁극적으로 화학물질의 시간에 따른 노출과 농도 별 노출을 통한 유전자 발현 패턴에 근거하여 화학물질의 독성 분석이 가능하며 이들로부터 얻어진 정보는 대사과정 흐름 분석과 fingerprint mapping 등의 분석 과정을 통해 화학물질이 미치는 독성을 좀더 세분화하여 관찰 할 수 있으며 나아가서는 실제 환경 생태계의 독성 분석과 risk assessment를 수행하는데 활용될 수

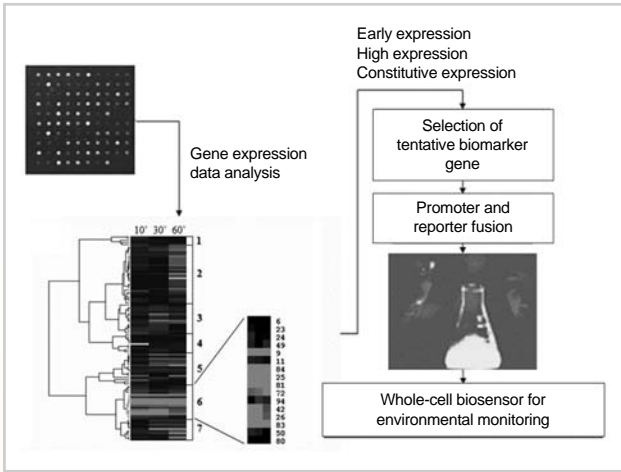
있을 것이다(그림 5).

이런 응용성을 기반으로 2000년부터 미국의 NIEHS의 Toxicogenomics Research Consortium(TRC-<http://www.niehs.nih.gov/dert/trc/home.htm>) 을 중심으로 DNA 칩 연구 분야/독성학 연구 분야/분석 분야로 나뉘어 서로의 연구 결과를 공유하고 정보를 구축하고 있으며 그 핵심은 DNA 칩 연구와 분석 분야이다(그림 6).

이 컨소시움에는 미국의 NIEHS를 비롯하여 Duke University Medical Center, Fred Hutchinson Cancer Research Center / University of Washington, Oregon Health and Science University, Paradigm Genetics 등이 참여 하고 있다.

3. DNA 칩 기반 환경 바이오센서

환경 바이오센서 및 바이오 모니터링에 사용되는 기술은 첫째 특이한 유해 화학물질을 독립적으로 탐지하고 정량화 시킬 수 있는 화학물질에 특이한 바이오센서 시스템이 존재 해야 하는데 화학물질에 특이한 효소를 활용하거나 혹은 생물체 전체를 활용한다(Rowe-Taitt et al., 2000). 이들은 일반 기기 분석 방법으로 측정하는데 걸리는 시간과 장비 및 경제성 등을 극복해 낼 수 있다는 점에서 매우 유리하나 유사화학물질이 혼합되어 있을 경우에는 그 분석의 효용성이 떨어질 수밖에 없다. 두 번째는 지구상의 모든 생명체가 외부의 환경 오염으로 인한 스트레스를 받을 때 그 독성으로 인하여 자신을 보호하고자 가지는 스트레스 반응 대사과정과 방어 기작을 활용하는 기술이다. 독성 물질로 인한 생물체의 반응을 DNA 수준에서의 대응을 준비하게 되는데 독성 물질과 접촉 시 그 피해 정도에 따라 이를 회복하거나 대응하기 위한 요소 DNA들의 발현이 진행되며 이를 유도하는 DNA를 스트레스 DNA라고 명칭 한다. 바로 이들 스트레스 DNA의 선별을 위해 DNA 칩이 적용 될 수 있으며 새로운 스트레스 DNA의 기능을 분석함으로써 다양한 형태와 기능을 갖는 환경 바이오센서를 제작 할 수 있다. 이들 스트레스 DNA의 프로모터 영역을 발광(lux)/형광(GFP)



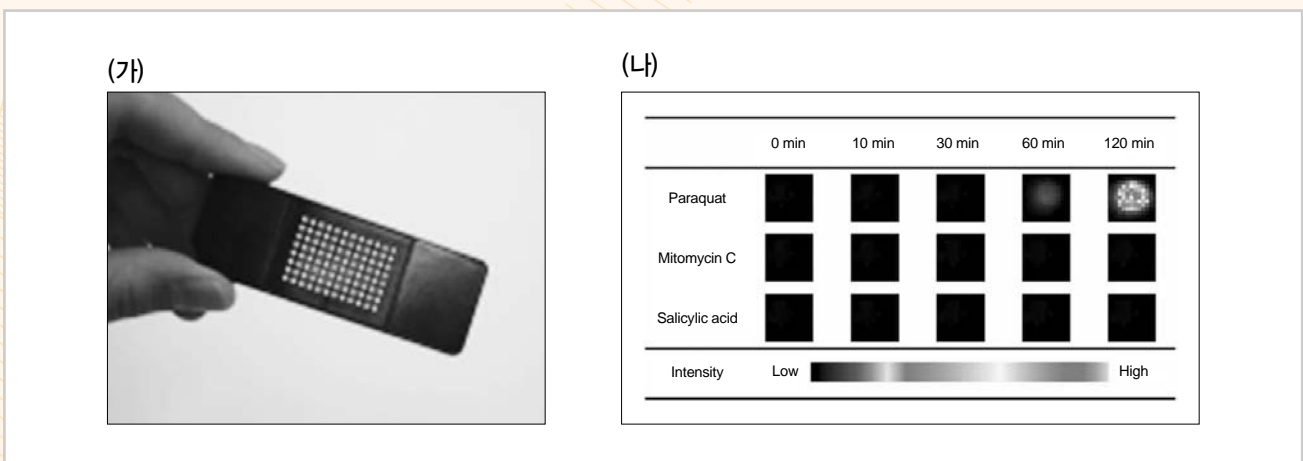
〈그림 7〉 DNA chip 정보로부터 whole-cell 바이오센서 개발을 위한 과정

DNA로 대변되는 소위 리포터 DNA와의 결합을 통하여 세포에 특이적인 스트레스를 유도하는 독성 물질을 탐지 할 수 있는 DNA 재조합 생물체를 개발하여 활용할 수 있다 (Min et al., 1999; Daunert et al., 2000; Gu et al, 2002; Kim et al, 2005) (그림 7). 이 기술은 DNA 칩이 transcription 수준에서의 발현 여부를 알려주는데 비해 translation 수준 즉 단백질 발현 수준에서의 독성 평가에 활용될 수 있다는 측면에서 서로상호 보완적인 관계로 발전해 나갈 수 있다.

DNA 칩으로부터 새로운 바이오마커를 선별하여 개발한 바이오센서를 이용하여 서로다른 종류의 세포를 집적시킨 세포칩 제작이 가능하게 되었다(그림 8). 이러한 방법은 스트레스에 민감하게 반응하는 유전자만을 선택하여 선별한 바이오마커를 활용하므로 초고속 독성 스크리닝을 가능케 한다(Lee et al., 2005). 기존에 실험실에서 수행하던 환경 모니터링 방법은 96-well plate를 사용하는 방법으로 실제 환경에서 적용하는 단시간에 독성물질의 탐지에는 문제점이 있었다. 또한 하나의 바이오센서 세포를 고정하여 활용하는 경우는 한가지의 스트레스 물질만을 모니터링 할 수 밖에 없기 때문에 다양한 스트레스를 한번에 탐지하는 데는 문제점을 드러내고 있다. 따라서 DNA 칩을 기반으로 개발된 다량의 바이오센서를 활용하여 High throughput 방식의 독성 분석이 가능한 세포 칩 어레이 기술은 기존의 환경 모니터링 기술의 단점을 극복한 새로운 모니터링 방법을 제시해 주고 있다.

4. 미생물 진단용 DNA 칩

환경 바이오 모니터링에서의 또 다른 DNA 칩의 활용 가능성은 환경 시료에서의 생태 군집을 진단할 수 있다는 점이다. 환경 미생물 생태학자들은 아마도 자연 환경에 존



〈그림 8〉 (가) 세포 어레이 칩, (나) CCD 카메라를 이용한 세포 어레이칩 반응 신호 감지.

최근 들어 pathogen을 이용한 생물학적 테러를 사전에 방지하기 위한 pathogen 분석 및 식중독균 분석용 DNA 칩 연구가 활발히 진행되고 있으며, 토양 미생물 군집 분석을 위한 DNA 칩 등 다양한 응용 분야에 DNA 칩 연구가 활용되고 있다.

재하는 복잡한 미생물 생태 군집 분석과 환경에서의 이들의 역할을 밝히는데 주안 점을 둘 것이다. 복잡한 미생물 생태 군집 안에서는 다양한 유전자 pool이 존재하고 이들 유전자 pool의 발현 검색과 미생물 군집 분석은 미생물에 의한 환경 정화 작용 분석과 친 환경적 생태계 분석을 위해 필수적인 과정이다. 이러한 관점에서 다양한 유전자 pool 확보와 분석을 가능케 하는 것이 바로 DNA chip의 역할이다. 이와 같은 기능을 부여한 DNA 칩을 species identification DNA chip (SIDC) 혹은 community identification DNA chip (CIDC) 라고 한다. 환경생물처리공정의 대표적인 공정으로 하수처리과정 중 슬러지 공정과 토양오염복원 공정을 들 수 있는데 이들 공정들의 대부분은 공정설계 및 운영측면에서는 사실상 연구가 완료되었다고 볼 수 있는데 비해서 운영상에서 나타나는 문제점을 이해하고 해결하는 데는 아직도 trial & errors 기법이 가장 중요한 해결책인 것이 현실이다. 즉 아직도 이들 시스템의 핵심 처리공정은 블랙박스라고 봐도 될 것이다. 핵심처리공정의 내부를 살펴보면 가장 중요한 것이 생축매, 즉 다양한 생물체인데 이는 일반 화학공정에 비해서 너무나 많은 종류의 다양한 분해특성과 거동특성을 가지는 것들이다. 다시 말하면 일반 화학처리공정의 반응특성 및 효율예측을 위한 수치모사는 어느 정도 가능한 것이 현실이라고 한다면 이들 생축매로 구성된 환경 생물처리공정의 수치모사를 통한 예측은 거의 불가능하고 결국 경험론적인 예측과 함께 아주 미미한 수준의 원인규명을 시도하고 있는 수준이다. 한 가지 예로 폐수처리장의 효율적인 운영과 밀접한 관계가 있는 bulking과 foaming은 그것들을 일으키는 원인 미생물들을 몇 종류 발견하는 수준 정도까지는 이르렀으나 그 원인이 무엇이며 그것들을 어떻

게 제어해서 최적의 운영이 가능하게 할 수 있을 것인지에 관한 연구는 기본적인 도구가 마련되고 있지 않은 이유로 인하여 거의 진행되고 있지 못한 것이 현실이다(de los Reyes et al, 2002). 이런 측면에서 볼 때 환경 공학분야의 SIDC / CIDC의 응용 가능 분야는 다양하다.

최근 들어 pathogen을 이용한 생물학적 테러를 사전에 방지하기 위한 pathogen 분석 및 식중독균 분석용 DNA 칩 연구가 활발히 진행되고 있으며(Wilson et al, 2002), 토양 미생물 군집 분석을 위한 DNA 칩 등 다양한 응용 분야에 DNA 칩 연구가 활용되고 있다(Small et al, 2001). 일반적으로 SIDC / CIDC를 위해 사용되는 target probe는 16s rRNA가 많이 이용되고 있다. DNA 칩은 서로 다른 미생물의 16s DNA를 집적화 하는 것을 가능케 하므로 이론적으로 집적화된 probe의 수가 증가 할수록 검출해 낼 수 있는 미생물의 수가 증가한다. 이들의 예로 직접적으로 토양에서 분리된 nucleic acid 시료를 이용하여 Geobacter와 Desulfovibrio종의 탐지를 시도한 경우가 있으며(Small et al, 2001), Loy 등은 sulfur reducing 박테리아의 16s RNA를 타겟으로 하는 DNA 칩을 개발하였고(Loy et al, 2002) 바이러스 검출과 genotyping을 위한 DNA 칩의 응용 예도 보고되었다(Wang et al, 2002). 16s DNA는 미생물 간의 homologous 한 영역이 많아 이들의 특이적인 부위를 찾아야 하며 특이적인 부위를 찾더라도 이들 간의 hybridization의 최적 조건을 고려하기가 어렵다. 이의 대안으로 16s DNA 뿐만이 아닌 다른 대표되는 DNA probe를 동시에 이용하는 방법이 고려되기도 하며 또한 random fragmented 된 DNA pool 혹은 oligomer를 집적화 하여 한 종의 미생물에 최소 수십에서 수백개의

probe를 확보하고 이를 community analysis나 species identification에 활용하려는 노력이 시도되고 있다(Kim et al., 2004, Kim et al., 2005). 또한 강이나 호소, 토양 등의 미생물 군집에서 특징적으로 과 발현되는 유전자를 선별하여 환경 성장에서의 특정 유전자의 역할과 미생물의 역할을 살펴 보려는 시도가 이루어 지고 있다. 호소에 존재하는 미생물 군집들의 질소 순환 과정을 알아 보기위해 질소 순환에 관여하는 유전자를 집적화 한 DNA chip을 구성하고 질소 순환에 중심적인 역할을 하는 미생물 검색과 유전자 발현 분석을 시도하고 있으며(Wu et al, 2001; Taroncher-Oldenburg et al, 2003) 특정 화학물질에 노출된 호소에서의 biodegradatio에 관여하는 유전자 발현 정도를 살펴보는 노력도 진행되고 있다(Dennis et al, 2003). 따라서 기존의 미생물 군집 분석과 발현을 위한 여타 분자 생물학 방법의 취약점인 high throughput 분석 관점에서 보면 black box와 같은 복잡 생태계 모니터링을 위한 DNA 칩의 활용은 가히 혁명적이라 할 수 있다.

5. 앞으로의 방향

이상과 같이 환경 바이오 모니터링에 응용될 수 있는 DNA 칩의 신기술들을 살펴 보았다. 그러나 이들 기술이 확고히 접목되기 위해서는 해결해야 할 문제점들도 많은 것이 사실이다. DNA 칩을 이용한 정확한 환경 진단이 가능해지기 위해서는 칩으로부터 양산되는 무수히 많은 데이터의 정량, 정성적인 체계적인 분석, 민감도 향상 등이 고려되어야 한다. 비단 환경공학 분야의 적용을 위해서 만이 아니라 DNA 칩의 연구는 데이터의 논리적인 해석과 정렬이 반드시 수반되어야만 한다. 이를 위해서는 체계적인 데이터 마이닝 방식의 적용(bioinformatics의 활용)과 학제간 융합 연구 구축이 필수적이다. 또한 한가지 간과해서는 안될 것은 mRNA의 발현이 세포수준에서의 반응을 완전히 대변해주지 않는다는 점이다.

적용 면에 있어서 아직까지는 DNA 칩의 민감도는 그다지 만족할 만한 수준은 아니다. 또한 실제 환경 시료의 진단

을 위해서는 좀더 간소화된 진단 과정이 필요하고 환경 바이오센서로서 손쉽게 활용되기 위해서는 위해서는 DNA 칩의 플랫폼이 변화되어야 할 필요성이 있다. 언급된 문제점들을 해결할 수 있는 기술들이 지속적으로 등장하고 있으며 이런 점에도 불구하고 DNA 칩은 환경연구에 있어서 가히 혁명적이라 할 수 있는 강력한 도구로 자리잡고 있다. ⑤

〈참고 문헌〉

1. Bartosiewicz M, Penn S, Buckpitt A. Applications of gene arrays in environmental toxicology : fingerprints of gene regulation associated with cadmium chloride, benzo(a)pyrene, and trichloroethylene. *Environ Health Perspect.* 2001 109:71-4.
2. Brasfield SM, Weber LP, Talent LG, Janz DM. Dose-response and time course relationships for vitellogenin induction in male western fence lizards (*Sceloporus occidentalis*) exposed to ethinylestradiol. *Environ Toxicol Chem.* 2002 21:1410-6.
3. Daunert S, Barrett G, Feliciano JS, Shetty RS, Shrestha S, Smith-Spencer W. Genetically engineered whole-cell sensing systems : coupling biological recognition with reporter genes. *Chem Rev.* 2000 100:2705-38.
4. de los Reyes FL 3rd, Rothauszky D, Raskin L. Microbial community structures in foaming and nonfoaming full-scale wastewater treatment plants. *Water Environ Res.* 2002 74:437-49.
5. Gu MB, Min J, Kim EJ. Toxicity monitoring and classification of endocrine disrupting chemicals (EDCs) using recombinant bioluminescent bacteria. *Chemosphere.* 2002 46:289-94.
6. Hatzimanikatis V, Lee K. Dynamic analysis of gene network requires both mRNA and protein expression information. *Metabol Eng.* 1999 1:E1-7.

7. Kim BC, Park JH, Gu MB. Development of a DNA microarray chip for the identification of sludge bacteria using an unsequenced random genomic DNA hybridization method. *Environ Sci Tech.* 2004 38:6767-74.
8. Kim BC, Park JH, Gu MB. Multiple and simultaneous detection of specific bacteria in enriched bacterial communities using a DNA microarray chip with randomly generated genomic DNA probes. *Anal Chem.* 2005 77:2311-7.
9. Kim BC, Youn CH, Ahn JM, Gu MB. Screening of target-specific stress-responsive genes for the development of cell-based biosensors using a DNA microarray. *Anal Chem.* 2005 77: 8020-6.
10. Kitagawa E, Momose Y, Iwahashi H. Correlation of the structures of agricultural fungicides to gene expression in *Saccharomyces cerevisiae* upon exposure to toxic doses. *Environ Sci Tech.* 2003 37:2788-93
11. Lee JH, Mitchell RJ, Kim BC, Gu MB. A cell array biosensor for environmental toxicity analysis. *Biosens Bioelectron.* 2005 21:500-7.
12. Loy A, Lehner A, Lee N, Adamczyk J, Meier H, Ernst J, Schleifer KH, Wagner M. Oligonucleotide microarray for 16S rRNA gene-based detection of all recognized lineages of sulfate-reducing prokaryotes in the environment. *Appl Environ Microbiol.* 2002 68:5064-81.
13. Min J, Kim EJ, LaRossa RA, Gu MB. Distinct responses of a *recA : luxCDABE* *Escherichia coli* strain to direct and indirect DNA damaging agents. *Mutat Res.* 1999 442:61-8.
14. Neumann NF, Galvez F. DNA microarray and toxicogenomics : application for ecotoxicology? *Biotechnol Adv.* 2002 20:391-419.
15. Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science.* 1995 270:467-70.
16. Small J, Call DR, Brockman FJ, Straub TM, Chandler DP. Direct detection of 16S rRNA in soil extracts by using oligonucleotide microarrays. *Appl Environ Microbiol.* 2001 67:4708-16.
17. Dennis P, Edwards EA, Liss SN, Fulthorpe R. Monitoring gene expression in mixed microbial communities by using DNA microarrays. *Appl Environ Microbiol.* 2003 69:769-78.
18. Taroncher-Oldenburg G, Griner EM, Francis CA, Ward BB. Oligonucleotide microarray for the study of functional gene diversity in the nitrogen cycle in the environment. *Appl Environ Microbiol.* 2003 69:1159-71
19. Wang D, Coscoy L, Zylberberg M, Avila PC, Boushey HA, Ganem D, DeRisi JL. Microarray-based detection and genotyping of viral pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002 99:15687-92.
20. Waring JF, Jolly RA, Ciurlionis R, Lum PY, Praestgaard JT, Morfitt DC, Buratto B, Roberts C, Schadt E, Ulrich RG. Clustering of hepatotoxins based on mechanism of toxicity using gene expression profiles. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2001 175:28-42.
21. Wilson WJ, Strout CL, DeSantis TZ, Stilwell JL, Carrano AV, Andersen GL. Sequence-specific identification of 18 pathogenic microorganisms using microarray technology. *Mol Cell Probes.* 2002 16:119-27.
22. Wu L, Thompson DK, Li G, Hurt RA, Tiedje JM, Zhou J. Development and evaluation of functional gene arrays for detection of selected genes in the environment. *Appl Environ Microbiol.* 2001 67:5780-90.