

아산 명암리 출토 인골의 고유전학적 연구

자상현 | 김윤지 | 정용재 | 서민석* | 박양진**

국립문화재연구소 보존과학연구실
*국립문화재연구소 연구기획과
**충남대학교 고고학과

A Paleogenetic Analysis of Human Skeletal Remains from the Myeongam-ri Site, Asan in Korea

Sang Hyun Jee · Yun Ji Kim · Yong Jae Chung¹ · Min Seok Seo* · Yangjin Pak**

Conservation Science Division, National Research Institute of Cultural Heritage, Daejeon, 305-380, Korea

*Research Planning Division, National Research Institute of Cultural Heritage, Daejeon, 305-380, Korea

**Department of Archaeology, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea

¹Corresponding Author : iamchung@nricp.go.kr

초 록 오늘날 고대 DNA 분석을 통한 고유전학 연구는 인류학, 고고학, 생물학 분야의 중요한 관심사로 떠오르고 있다. 본 연구는 충청남도 아산시 탕정면 명암리 유적 9지점에서 발굴조사된 고려 말에서 조선시대 초기 분묘 출토 인골 20개체를 대상으로 고유전학적 연구를 수행한 결과를 보고한 것이다. DNA 추출 및 PCR 과정에서 연구자에 의해 일어날 수 있는 DNA 오염을 모니터링하기 위하여 모든 실험과정은 무균작업대에서 시약과 소모품을 고온멸균 및 자외선 처리하여 진행되었으며, 음성대조군을 설정하여 결과의 신뢰성을 검증하였다. 실리카 추출 방법에 의하여 출토 인골로부터 DNA를 추출한 후, 미토콘드리아 DNA(mtDNA)의 과변이지역을 9지역으로 나누어 PCR법에 의해 부분 증폭을 실시하였다. 증폭산물에 대한 염기서열 분석을 통하여 과변이지역의 변이형을 동정하였으며, 이를 현대 한국인의 결과와 비교하였다. 아산 명암리 소규모 지역집단의 옛사람 인골 20개체를 대상으로 한 이번 연구에서 기대 이상의 다양한 mtDNA haplogroup이 분석되었다. 이러한 결과는 오랜 세월 동안 생활문화 중심지로 자리 잡은 아산 명암리 유적 주변의 개방적인 지역적 조건과 이곳에 거주했던 개체군의 유전적 특성을 반영하고 있으며, 아산 지역에 널리 분포하는 선사시대에서 조선시대에 이르는 많은 유적에 대한 고고학적 발굴 성과가 이 결과를 뒷받침하고 있다.

중심어 : 미토콘드리아 DNA, 고유전학, 출토 인골, 유전적 다양성, 명암리, 고대 DNA

ABSTRACT The analysis of ancient DNA (aDNA) in paleogenetics has become an increasingly important subject of archaeological, anthropological, biological as well as public interest. In this study, paleogenetic analyses were carried out on the human skeletal remains from a historical cemetery site in Myeongam-ri, Asan, Korea. Archaeological records show that this particular location had been used as a habitation or mortuary site as early as the Bronze Age and up until the Joseon Dynasty. Human remains of twenty individuals out of forty-nine tombs from the Goryeo to Joseon Dynasty were selected for the analysis of this study. In order to identify the genealogy of the population and traditional burial pattern of the cemetery, we conducted comparative analyses of the hyper variable regions (HVRs) in mitochondrial DNA (mtDNA) of each sample. A number of cautious steps were taken at all experimental stages in order to avoid erroneous recombination by the segmental and modern contaminations derived from the researchers. We sequenced segmental amplicons of HVRs and

assigned relevant haplogroups according to the sequence polymorphism on the basis of the known mtDNA database. The result shows that diverse haplogroups were unexpectedly present in the small population group of the Myeongam-ri site. This diversity appears to be related to the geographical conditions and archaeological properties of the Myeongam-ri site.

Key Word : Mitochondrial DNA, Paleogenetics, Excavated human bone, Genetic diversity, Myeongam-ri, Ancient DNA

1. 서론

고생물학(paleobiology)은 고고학적 발굴지나 지층조사에서 출토되는 생물과 화석을 비교생물학, 형태학적으로 연구한다. 고유전학(paleogenetics)은 고생물학을 분자유전학적으로 연구하기 위한 학문분야로서 1963년 생물학자 에밀 츠커칸들(Emile Zuckerkandl)과 화학자 라이너스 폴링(Linus Carl Pauling)에 의하여 최초로 정의되었으며, 최근 스반테 파보(Svante Pääbo)와 스티브 베너(Steve Benner)에 의하여 고대 DNA(ancient DNA, aDNA) 연구 분야에서 괄목할 만한 연구결과가 발표되고 있다. 특히 고대 DNA에 대한 연구는 인류의 진화, 인류의 이동 경로와 국가의 형성, 문명과 문화의 전파, 멸종 동·식물의 연구와 관련된 분야로 점차 적용 범위가 확대되어 가면서 고대 인류사, 자연사를 연구하는데 있어 그 중요성이 더해지고 있다.^{1,2,3}

발굴지의 고대 무덤에서 출토되는 인골은 과거 동시대 거주민의 생활문화사를 재구성하는데 활용될 수 있으며, 통시적 비교 연구를 통해서 집단의 이동과 사회상의 변화 등을 해석할 수 있는 지표로서 중요한 연구대상이다.^{4,5} 출토 인골의 분석을 통해 지난 과거 인류의 식생활, 영양, 건강상태에 대한 유용한 정보를 확보할 수 있기 때문에 고인류학(paleoanthropology), 고고학(archaeology)에서 중요한 연구 자료로 활용하고 있다.⁶ 집단적으로 발굴된 인골에 대한 고유전학적 연구는 옛사람과 그들의 생활 문화를 규명하는데 있어 보다 많은 자연과학적 해석을 가능케 하였다. 특히 피장자(被葬者)의 DNA 연구를 통하여 성별, 연령, 질병관계, 혈연관계 등과 같은 개인정보와 매장양식, 결혼문화, 집단이동, 정치사회적 변화 등의 사회문화에 대한 정보를 얻을 수 있게 되었다.^{7,8,9}

출토 인골 등 오랫동안 매장된 생체시료에서 추출되는

DNA는 물리·화학적 손상에 의하여 절편화(fragmentation)되어 있기 때문에 이를 분석하기 위해서는 일반적인 DNA 분석법을 적용할 수 없다. 추출되는 DNA의 양이 극미량일 뿐만 아니라 그마저도 대부분 손상되어 있는 경우가 많아 정밀하고도 효율적인 연구방법이 요구 된다.¹⁰ 미토콘드리아 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)는 분해되고 손상된 DNA를 연구에 있어서 상염색체에 비하여 월등히 유리하다. mtDNA는 한 개의 세포 당 100-10,000개의 복제수가 존재하고 있기 때문에 2개의 복제수를 가지고 있는 상염색체에 비하여 미량분석이 가능한 장점이 있다. 또한 mtDNA의 D-loop 조절부위는 약 1.7kb의 길이로서 과변이부위(Hyper-variable region, HVR) HVR1, HVR2, HVR3을 포함하고 있는데 HVR은 상염색체에 비하여 돌연변이에 의한 염기 치환율이 10배 정도 높아 생물종의 진화와 분자 계통학적 분류를 위한 중요한 연구 대상이 되고 있다.

충청남도 아산시 탕정면 명암리 아산 테크노콤플렉스 지방산업단지 조성 부지는 충남대학교박물관(5, 9지점), 충청매장문화재연구원(현 충청문화재연구원)(3-1, 2, 11지점), 충남대학교백제연구소(6지점)에 의하여 2000년에서 2001년까지 발굴 조사 되었다(Figure 1). 이 유적에서 청동기에서 조선시대 이르기까지 여러 시기에 해당하는 다양한 유구가 발견되었으며 이는 아산시의 시대별 인류사와 문화상을 가늠해 볼 수 있는 중요한 문화유적 자료로 평가되고 있다. 본 연구는 제 9지점에서 발굴된 고려 말에서 조선시대 초로 추정되는 분묘 49기 가운데 17기에서 출토된 20개체의 인골을 대상으로 mtDNA에 대한 고유전학적 분석을 수행함으로써 당시 아산 명암리에 거주하던 옛사람들의 유전적 특징과 친연관계를 규명하고 충청남도 서부 지역 옛 한국인에 대한 유전정보의 기초 자료를 확보하고자 하였다.



Figure 1. Map of the Myeongam-ri site that was located in the middle western part of Korea.

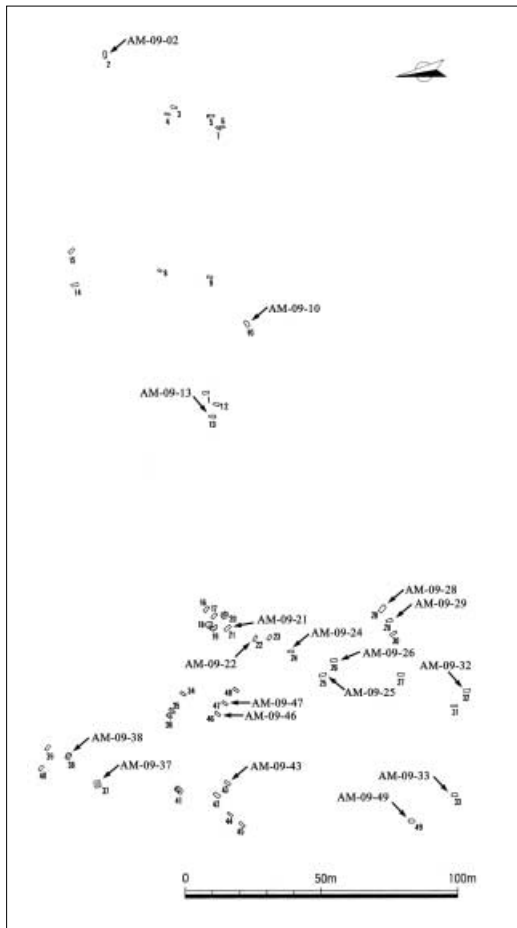


Figure 2. Distribution of skeletal remains in the site. See Table 1 for specimens used in the study (AM-09-28, AM-09-37, AM-09-38, and AM-09-49 are tombs of burying together).

2. 재료 및 방법

2.1. 출토 인골의 확보 및 보관

아산 명암리 유적 제 9지점은 해발 156m의 국사봉에서 남쪽으로 내려오는 주능선에서 서쪽으로 뺀 가지능선 위에 위치하고 있다(Figure 2). 청동기시대에서 조선시대에 이르는 주거지 및 수혈유구가 발굴되었으며, 고려말에서 조선시대 초에 조성된 것으로 추정되는 분묘 49기가 발굴되었다. 이 가운데 합장을 포함한 회곽묘 18기에서 21개체의 인골이 출토되었으며, 보존상태가 양호한 20개체의 인골을 대상으로 mtDNA 분석을 수행하였다(Table 1). 발굴된 인골은 별도의 전처리 및 수세과정 없이 멸균된 시료봉투에서 실험직전까지 30-40%의 습도와 상온 상태를 유지하면서 보관되었다.

2.2. DNA 추출을 위한 인골의 전처리

인골을 약 5cm × 2cm 크기로 절단한 후 표면오염물질을 제거하기 위하여 치과용 연마기로 표면을 약 1mm 정도 연마하였다. 이를 다시 5-6 조각으로 절단 한 후, 6% 차아염소산나트륨을 시료가 잠길 정도로 분주하여 상온에서 15분간 교반한 다음, 멸균 증류수로 2-3회 세척하였다. 세척한 시료를 무균상자 안에서 5시간 이상 자연 건조시켜 시료의 수분을 완전히 제거한 후, 시료의 각 표

Table 1. Specimens list used in this study.

| No. | Specimens | Size of tombs (cm) | Major axis |
|-----|------------------------|--------------------|------------|
| 01 | AM-09-02 | 205×74×111 | E-W |
| 02 | AM-09-10 | 238×92×117 | SW-NE |
| 03 | AM-09-13 | 218×78×119 | S-N |
| 04 | AM-09-21 | 212×70×109 | SE-NW |
| 05 | AM-09-22 | 212×70×109 | E-W |
| 06 | AM-09-24 | 214×63×117 | S-N |
| 07 | AM-09-25 | 129×90×62 | S-N |
| 08 | AM-09-26 | 192×68×43 | S-N |
| 09 | ^a AM-09-28L | 252×124×141 | S-N |
| 10 | ^a AM-09-28R | | |
| 11 | AM-09-29 | 212×86×107 | S-N |
| 12 | AM-09-32 | 210×89×103 | S-N |
| 13 | ^a AM-09-37L | 226×194×148 | W-E |
| 14 | ^a AM-09-37R | | |
| 15 | ^a AM-09-38L | 216×154×145 | W-E |
| 16 | ^a AM-09-38R | | |
| 17 | AM-09-46 | 200×66×- | S-N |
| 18 | AM-09-47 | 224×84×- | S-N |
| 19 | ^a AM-09-49L | - | S-N |
| 20 | ^a AM-09-49R | | |

^a were excavated with a couple

면에 자외선을 40분간 조사하여 표면 오염원을 제거하였다. 오염물이 제거된 인골 시료는 분말제조기 MM 301(Retsch, Germany)로 30초 동안 분쇄하여 분말 제조한 후, DNA 추출 전까지 -20℃에서 보관하였다.

2.3. DNA의 추출 및 정제

인골 시료의 mtDNA를 추출하기 위해 실리카 추출법을 사용하였다.¹¹ 분말 상태의 인골 시료를 0.5g씩 정량하여 extraction solution(0.45M EDTA, 0.25mg/ml proteinase K, pH 8.0) 10ml을 첨가한 다음, 18-24시간 동안 천천히 교반하여 탈칼슘화(decalcification) 반응을 유도하였다. 이 반응액을 5,000g에서 2분 동안 원심분리하고, 상층액을 새로운 시험관튜브에 옮긴 다음, binding buffer(5M GuSCN, 25mM NaCl, 50mM Tris) 40ml와 silica 현탁액 100μl를 첨가한 후, 30% HCl로 pH를 4.0으로 맞추었다. 반응액을 실온에서 3시간 동안 보관 후, 5,000g에서 2분 동안 원심분리 하여 상층액을 완전히 제거하였다. 남아 있는 silica pellet에

washing buffer(50% ethanol, 125mM NaCl, 10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.0) 1ml 첨가하여 잘 섞어준 후, 16,000g에서 15초 동안 원심분리 한 후 상층액을 완전히 제거하는 과정을 2회 반복 후, silica pellet을 실온에서 15분 동안 자연건조 시켰다. silica pellet에 1% TE buffer(10mM Tris, 1mM EDTA, pH 8.0) 100μl를 첨가하여 10분 동안 교반한 다음, 16,000g에서 15초 동안 원심분리한 후, 상층액을 새 시험관튜브에 옮겨 다음 실험 전까지 -20℃에서 보관하였다.

2.4. mtDNA의 증폭

추출된 mtDNA를 주형으로 과변이부위(HVR1, HVR2, HVR3)를 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)으로 증폭하였다. PCR에 사용된 primer는 Table 2에서와 같이 9쌍의 primer를 사용하였으며, 중합효소로는 HotStart Taq(Qiagen, Germany)를 사용하였다. PCR 반응액은 12.5pmol forward/reverse primer 4μl, HotStart Taq polymerase 5unit, 2.5mM dNTP 3μl, 10× buffer 5μl, 1μg/μl BSA 5μl를 첨가한 후 최종 50μl에 맞추어 제조하였다. PCR 반응액을 증폭하기 위하여 95℃에서 predenaturation 15분 후, 95℃에서 denaturation 30초, 58℃에서 annealing 30초, 72℃에서 extension 30초를 40회 반복하고, 72℃에서 10분간 final extension의 조건으로 ABI veriti(Applied Biosystems, USA)를 이용하여 PCR 반응을 실시하였다. 증폭된 DNA 산물은 전기영동장치 HDA-GT12(eGene, USA)를 이용하여 추출 여부를 확인한 후, PCR purification kit(Qiagen, Germany)를 이용하여 정제하고 염기서열 자동 분석 장치인 ABI PRISM 3100(Applied Biosystems, USA)을 이용하여 염기서열이 결정되었다. HVR의 9개 부분에 대한 contig assay는 Vector NTI version 8.0(Informax, USA)으로 수행하였으며, mtDNA의 haplotype 간 네트워크 모델은 NETWORK version 4.502(<http://www.fluxus-technology.com/>)를 통해 mtDNA 표준염기서열(Cambridge Reference Sequence, CRS)과 비교 분석되었다.¹² Haplogroup의 결정은 mtDNAMAN(

ager.yonsei.ac.kr)가 이용되었다.

3. 결과 및 고찰

2.5. 시료의 오염방지

출토 인골 시료의 전처리 및 DNA 추출의 전 과정과 PCR 반응액 조성 등의 모든 과정은 오염방지를 위하여 무균작업대에서 실행하였으며, 실험에 필요한 모든 시약과 삼차 증류수 및 용기는 고온 또는 자외선 조사에 의해 멸균하여 사용하였다. 분석 결과의 재현성 확인 및 검증 을 위하여 동일한 시료에 대하여 1개월 간격으로 동일한 방법을 2차에 걸쳐서 실시하였다. 모든 실험과정에 음성 대조군을 설정하여 외부 DNA에 의한 오염여부를 확인하였다. 또한 본 연구와 관련된 실험자뿐만 아니라 실험실의 모든 출입인원에 대한 mtDNA를 분석하여 비교함으로써 실험자의 부주의 및 외부인에 의한 오염여부를 검증 하였다.¹³

3.1. 출토인골의 보존상태와 특성

매장된 피장자의 생체는 이화대사효소(catabolic enzyme)에 의하여 가수분해(hydrolysis)되어 급격히 자연 분해되기 시작한다. 또한 박테리아, 곰팡이, 곤충 등의 미세생물의 작용으로 생체분자들이 분해되면서 광물화(mineralization)가 가속화 된다.¹³ 토양의 특성(토성)은 매장 문화재의 보존 상태에 다양한 영향을 미칠 수 있는데, 특히 이화학적 특성은 생물유체 및 유기유물의 보존 상태와 매우 밀접한 관련이 있다. 매장지 토양의 낮은 수소이온농도(pH)는 생체조직의 분해와 뼈의 주성분인 수산화인회석(hydroxyapatite, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$)의 광물화 과정을 활성화시키기 때문에 이러한 매장지에 피장된 시신 및 동식물 등의 생물유체는 보존상태가 매우 좋지 않

Table 2. Primers used for amplification analysis in this study.

| No. | Target | Primer | Amplicon | Sequences (5'-3') | Size (bps) | Nucleotide Positions | | | | | | | | | |
|-----|---------------|---------------|----------|---|------------|----------------------|-----|-------------|--|-------------|--|-----|--------|-----|---------|
| 01 | | H1-3F | H1-1 | TAAAACGACGCCAGTCACCATTAGCACCCAAAGCT | 208 | 15978-16153 | | | | | | | | | |
| 02 | | H1-3R | | AACAGCTATGACCATGCAGGTGGTCAAGTATTTATGGT | | | | | | | | | | | |
| 03 | | Hs1-3F | | CACCATTAGCACCCAAAGCT | | | | | | | | | | | |
| 04 | | Hs1-3R | | CAGGTGGTCAAGTATTTATGGT | | | | | | | | | | | |
| 05 | mtDNA HVR1 | H1-4F | H1-2 | TAAAACGACGGCCAGTGCCAGCCACCATGAATATTGT | 185 | 16106-16258 | | | | | | | | | |
| 06 | | H1-4R | | AACAGCTATGACCATGTGGCTTTGGAGTTGCAGTTG | | | | | | | | | | | |
| 07 | | H1-6F | H1-3 | TAAAACGACGCCAGTCCCATGCTTACAAGCAAGT | | | 198 | 16190-16355 | | | | | | | |
| 08 | | H1-6R | | AACAGCTATGACCATGGGGATTTGACTGTAATGTGCTAT | | | | | | | | | | | |
| 09 | | H1-7F | H1-4 | TAAAACGACGCCAGTCAACTGCAACTCCAAAGCCA | | | | | 204 | 16239-16410 | | | | | |
| 10 | | H1-7R | | AACAGCTATGACCATGGAGGATGGTGGTCAAGGGAC | | | | | | | | | | | |
| 11 | | | H2-1F | H2-1 | | | | | | | TAAAACGACGCCAGTCACCCATTAAACCACTCACG | 203 | 15-185 | | |
| 12 | | | H2-1R | | | | | | | | AACAGCTATGACCATGCCTGTAATATTGAACGTAGGTGCGAT | | | | |
| 13 | | | H2-4F | H2-2 | | | | | | | TAAAACGACGGCCAGTCCCTATGTCGCAGTATCTGT | | | 197 | 112-274 |
| 14 | | mtDNA HVR2 | H2-4R | | | | | | | | AACAGCTATGACCATGTCTGTGTGAAAAGTGGCTGT | | | | |
| 15 | H2-6F | | H2-3 | TAAAACGACGGCCAGTGGCGAACATACTTACTAAAGTG | 202 | 184-353 | | | | | | | | | |
| 16 | H2-6R | | | AACAGCTATGACCATGGTTTGGCAGAGATGTGTTTAAG | | | | | | | | | | | |
| 17 | H2-7F | | H2-4 | TAAAACGACGGCCAGTCTTAAACACATCTCTGCCAAAC | | | 185 | 332-484 | | | | | | | |
| 18 | H2-7R | | | AACAGCTATGACCATGTGAGATTAGTAGTATGGGAG | | | | | | | | | | | |
| 19 | mtDNA HVR3 | | H3-1F | H3-1 | | | | | TAAAACGACGGCCAGTATCTTTTGGCGGTATGCACTTTTA | 198 | 403-568 | | | | |
| 20 | | | H3-1R | | | | | | AACAGCTATGACCATGGTGTCTTTGGGGTTTGGTTG | | | | | | |

거나 모두 분해되어 토양화 되기 쉽다.¹⁴ 우리나라 토양의 대부분은 토양모재가 산성암인 화강암의 풍화토로서 사질 토양이 주를 이루고 있는데 이러한 토성은 발굴지에서 발견되는 인골 등 생물 잔여체의 보존상태가 대부분 양호하지 못한 상태로 출토되는 원인이 되기도 하다. 매장지의 인골 보존 상태는 토양의 이화학적 특성과, 물의 배수, 공기의 유출입, 매장지의 온도 등의 환경 요인과 매장양식, 도굴 및 발굴 등 인간에 의한 교란 등에 의하여 다양하게 나타날 수 있다.¹⁵

아산시 명암리 탕정면 550번지 일대는 화강암으로 이루어진 산성암 지대로서 9지점의 발굴조사에서 49기의 분묘가 확인되었는데, 이 가운데 인골은 모두 18기의 회곽묘에서만 발견되었다. 회곽은 내부의 매장환경과 외부 환경을 효과적으로 밀폐시켜 공기의 유출입을 차단하고 혐기성 상태를 지속시킬 뿐만 아니라 주변 산성 토성의 영향을 중화하므로 뼈의 광물화를 지연시키는 효과가 있어 회곽묘 또는 회격묘에서 보존상태가 양호한 인골과 미라가 발굴되는 사례가 많다. 아산 명암리에서 출토된 인골 대부분은 유전자 분석이 가능한 보존 상태로 출토되었는데 이는 회곽의 영향인 것으로 사료된다(Figure 3).

3.2. 출토 인골 DNA 추출 및 mtDNA의 증폭

본 연구에서는 기존의 출토 인골의 DNA 추출법으로 널리 사용되어 오던 페놀추출법을 이용하지 않고 실리카를 이용한 추출법을 적용하였다. 이 추출법은 DNA의 추출 과정을 간소화하고 오염 가능성을 최소화할 수 있을 뿐만 아니라 시료의 양에 따라 신속적으로 시약을 처리할 수 있기 때문에 페놀을 이용한 DNA 추출법보다 효율적이다. 또한 PCR 반응을 방해하는 PCR 억제물질을 최대한 제거함으로써 DNA 증폭의 성공률을 높일 수 있는 것으로 알려져 있다.¹⁶

mtDNA HVR의 변이형을 결정하기 위하여 HVR을 모두 9 절편으로 나누어 증폭산물마다 양 말단이 인접 증폭산물과 겹치도록 하였으며, 오랜 기간 동안 손상되었을 DNA의 특성을 고려하여 180bp 미만의 산물로 증폭되도록 primer를 고안 하였다(Figure 4). 출토 인골 20개체를 대상으로 각각 2회에 걸친 DNA의 추출과 PCR을 수

행한 결과, 17개체에서 HVR 전체 부위가 완벽하게 증폭되었고 AM-09-02, AM-09-24, AM-09-37L 등 3개체는 HVR2의 H2-3 부분이 부분적으로 증폭되지 않았다(Figure 5).

3.3. 염기서열 분석에 의한 HVR의 변이형 결정

아산 명암리 출토 인골의 mtDNA HVR 분석 결과를 CRS 서열과 비교하면 치환된 변이를 발견할 수 있는데 이러한 개체 변이형의 조합을 mtDNA haplotype이라 하며, 유사한 haplotype의 집단을 haplogroup이라 한다. Haplotype은 개체의 유전적 특징을 반영하며, 개인 동정 및 모계 친연관계 등을 분석할 수 있으며, haplogroup은 집단의 유전적 특징을 반영하기 때문에 개체군의 진화, 이동, 공통조상(기원) 연구에 활용된다. 아산 명암리 출토 인골의 변이형 분석결과는 Table 3과 같이 표시하였는데, DNA 증폭이 이루어지지 않은 부분과 DNA 증폭이 성공적으로 이루어졌더라도 염기서열 분석이 불완전한 부분은 별도 표기하였다. AM-09-24, AM-09-28R, AM-09-29, AM-09-32를 제외한 16개체의 변이형은 mtDNAMANAGER에 의하여 haplogroup이 결정되었다. AM-09-24는 변이형에 대한 데이터를 충분히 확보하지 못하여 haplogroup의 결정을 보류하였다.

아산 명암리 출토 인골에서 동정된 haplogroup은 대체로 동아시아인 집단에서 자주 출현하는 haplogroup과 일치했으며, 다양성이 높은 것으로 분석되었다. 일반적으로 D, B, G haplogroup은 아시아인에게서 높은 빈도로 나타나는데, 최근의 한국인에 대한 연구에서 D, B, G haplogroup이 각각 32.6%, 14.8%, 9.7% 등 총 57%로 나타났으며 아산 명암리 출토 인골에서는 52.6%로 나타났다.¹⁷ 또한 M7, M10, N9, Y2, Z 등도 빈도는 낮으나 한국, 중국, 일본을 비롯한 동아시아인에게서 주로 발견되는 haplogroup이다.¹⁸

AM-09-28R, AM-09-29, AM-09-32의 haplotype은 16223, 16290, 16362, 73, 114, 263, 315.1C, 489로 결정되었다. HVR1의 16223, 16290, 16362은 대부분 haplogroup A2, A4와 일부 D에서 나타나며, HVR2의 73, 114, 263, 315.1C

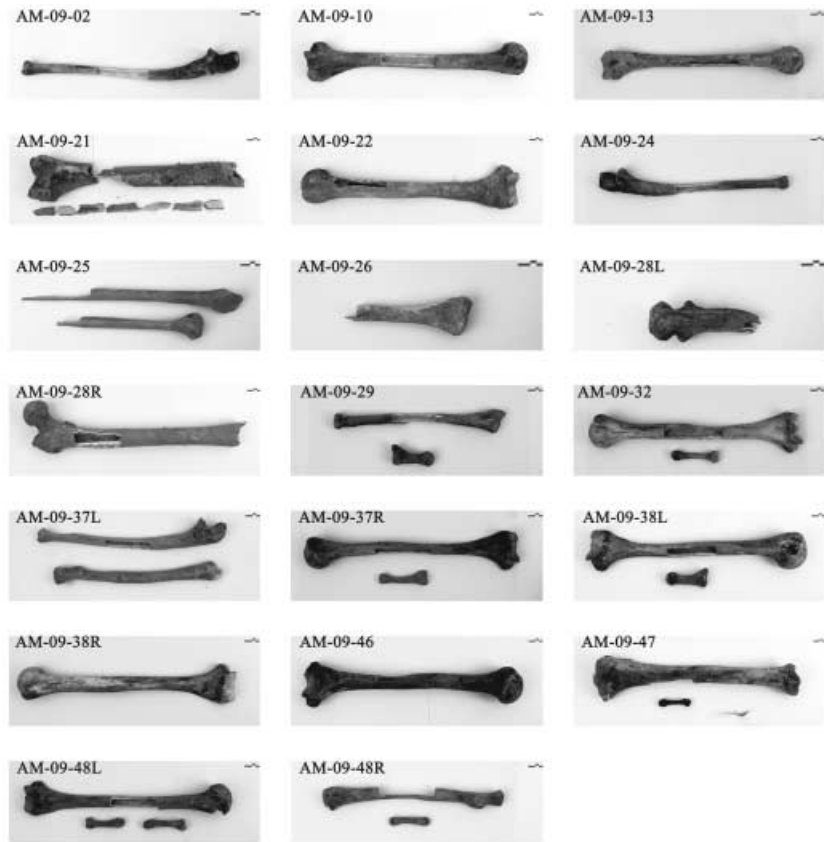


Figure 3. Photographs of bone samples in this study. Each bone was cut to piece of 5 cm x 2 cm.

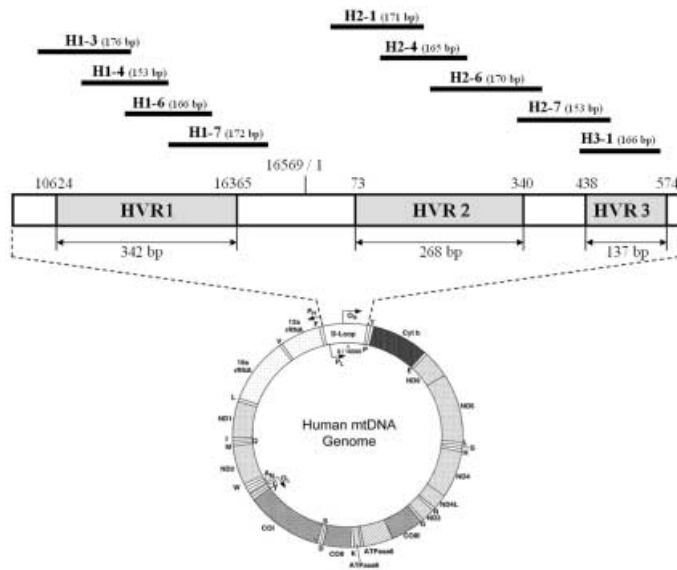


Figure 4. Systematic HVR structure of mtDNA and primer sets for determination of haplogroup.

는 코카시아인에서 높은 빈도를 보이는 haplogroup K에 서만 나타난다. 반복된 추출과 실험에서 연구자에 의한 오염, 시료 간 교차 오염의 가능성을 검증하였으며 모두 동일한 결과를 확보였다. Haplogroup K와 HVR2의

114 변이는 현대 한국인과 동아시아 집단에서 거의 출현 하지 않는다.^{17,18} AM-09-28R, AM-09-29, AM-09-32의 haplotype에 대한 haplogroup을 규명하기 위 해서는 mtDNA의 암호화부위(coding region)에 대한 변

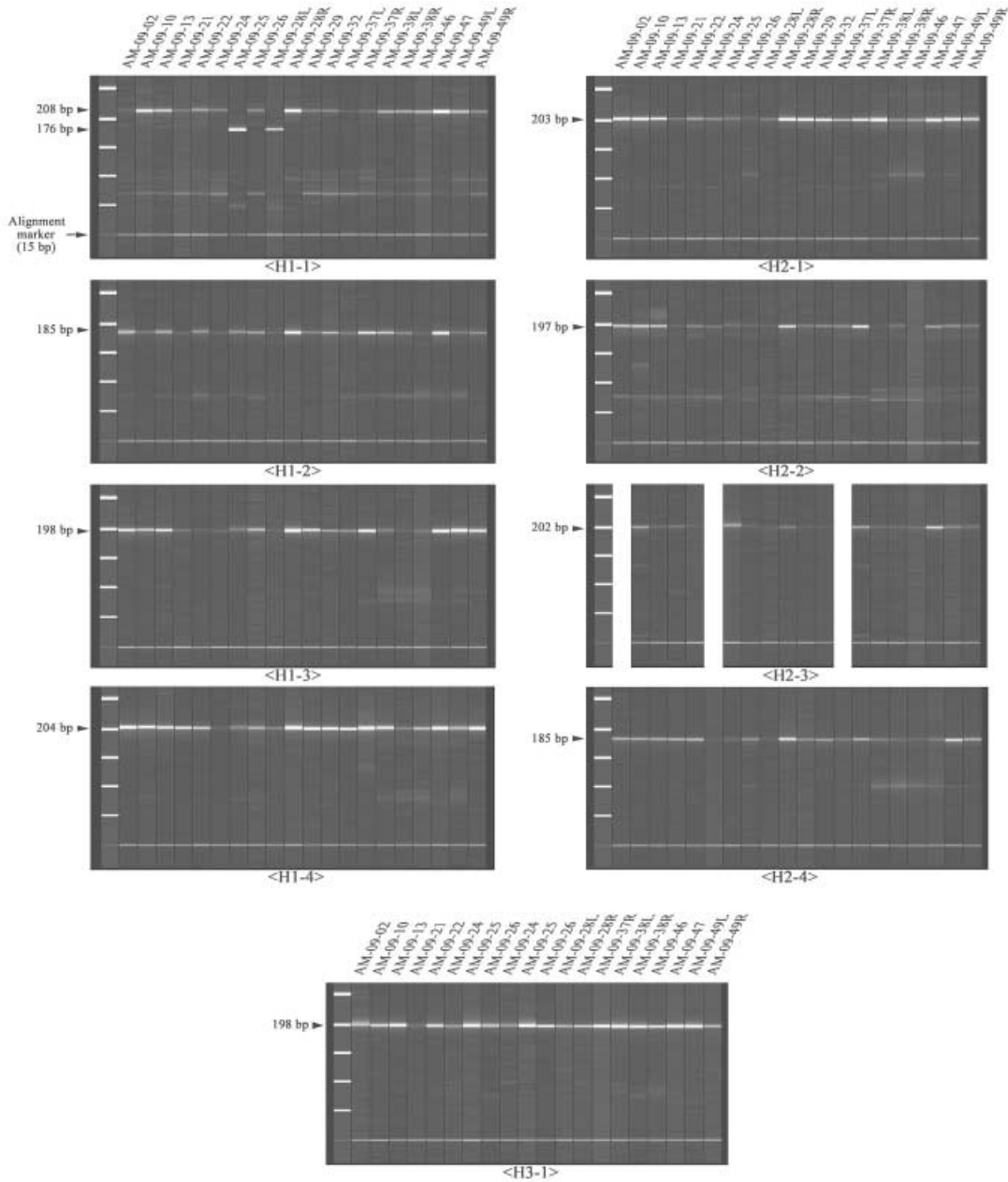


Figure 5. Capillary gel electrophoresis analysis for segmental amplicons of mtDNA HVR1 (H1-1, H1-2, H1-3, H1-4), HVR2 (H2-1, H2-2, H2-3, H2-4) and HVR3 (H3-1) by PCR from 20 individuals. The H1-1 amplicons of AM-09-25 and AM-09-28L were amplified by Hs1-3F and Hs1-3R primers (Table 2). AM-09-02, AM-09-24, and AM-09-37L did not produce amplicons of H2-3. The first lane of each result presents DNA ladder (50 bp, 100bp, 150 bp, 200 bp 250 bp).

이형 분석이 추가적으로 요구된다.

아산 명암리 출토 인골에서 확인된 각각의 변이가 현대 한국인 집단과 세계 지역 집단에서 출현하는 빈도를 Figure 6와 같이 분석하였다. African(1388), West Eurasian(2857), East Asian(1557), Admixed(1288) 등 7090개의 mtDNA 조절 부위의 염기서열에 대한 데이터베이스를 근간으로 East Asian Data에 포함되어 있는 한국인 593명을 별도로 추출하여 분석하였다. 아산 명암리 출토 인골에서 나타난 변이는 모두 56개로 다양하게 나타났으며, HVR2의 489, 523d, 524d가 동아시안보다 약간 높게 나타난 것을 제외하고 대부분의 변이가 동아시아인과 현대 한국인에서 거의 비슷한 빈도로 나타나는 것을 확인하였다.

3.4. 아산 명암리 출토 인골의 유전학적 연관 관계

아산 명암리 출토 인골의 mtDNA haplogroup 가운데

AM-09-10과 AM-09-25는 haplogroup N9a2이며 AM-09-38L과 AM-09-47은 haplogroup G2a1을 공유하나 haplotype의 변이형이 완전히 일치하는 동일모계형은 아니다. 즉 이들은 공통조상형을 공유하고 있는 관계로서 혈연관계로 보기 어렵다. 한편, AM-09-28R, AM-09-29, AM-09-32는 haplotype의 완전히 일치하는 동일모계형으로 밝혀졌다. 출토 인골의 무덤 위치가 근접하고(Figure 2) haplotype 유형이 특이한 점을 고려할 때, 이들 관계는 가까운 동일모계에서 비롯된 혈연관계일 가능성이 높다. AM-09-28L과 AM-28R은 mtDNA haplotype을 공유하지 않는 전형적인 부부합장묘로서 매장방식을 고려할 때, 왼쪽에 위치하고 있는 AM-09-28L이 여성, AM-09-28R은 남성일 가능성이 높으므로 이들의 관계가 동일 세대라면 AM-09-29, AM-09-32와 형제 또는 남매일 가능성이 있다. 또한 AM-09-29와 AM-09-32가 동일 세대가 아니라면 모계 혈연관계가 성립할 수도 있다. 그러나 수세대 차이가

Table 3. Results of nucleotide changes observed in the Myeongam-ri individuals.

| No. | Specimens | Expected Haplogroup ^a | Mutation in the Segments ^a | | | | | | | | | | Not Analyzed Region |
|-----|-----------|----------------------------------|---------------------------------------|----------------------|--------------|-------------|---------------|-------------|------------------------|---------|-----------------|----------------------|---------------------|
| | | | HVR1 (16024-16365) (16000+) | | | | HVR2 (73-340) | | | | HVR3 (438-574) | | |
| | | | 15978-16120 | 16121-16230 | 16231-16320 | 16321-16410 | 15-130 | 131-230 | 231-342 | 343-484 | 403-568 | | |
| 1 | AM-09-02 | B4b1 | CRS | 217 NA | 284 | 357 | 73 | 199 202 207 | NA | CRS | 499 | 16135-16204, 256-342 | |
| 2 | AM-09-10 | N9a2 | CRS | 172 223 | 257A 261 | CRS | 73 | 150 | 263 309,1C 315,1C | CRS | CRS | - | |
| 3 | AM-09-13 | B4c1a | 66 | 129 NA 217 | 311 | CRS | 73 | CRS | 263 315,1C | 394 | CRS | 16135-16204 | |
| 4 | AM-09-21 | D4h1 | CRS | 174 223 | CRS | 362 | 73 | 146 183 | 263 309,1C 315,1C | CRS | 489 | - | |
| 5 | AM-09-22 | B4 | CRS | 182b 183C 193,1C 217 | CRS | CRS | 73 | CRS | 263 309,1C 309,2C NA | CRS | CRS | 315-342 | |
| 6 | AM-09-24 | ND | CRS | 223 NA | CRS | CRS | 73 | CRS | NA | CRS | 523d, 524d | 16135-16197, 249-342 | |
| 7 | AM-09-25 | N9a2 | CRS | 172 223 | 257A 250 261 | CRS | 73 | 150 | 263 309,1C 309,2C NA | CRS | CRS | 315-342 | |
| 8 | AM-09-26 | Z | CRS | 185 223 | 260 298 302 | CRS | NA | 151 152 | 249d 263 309,1C 315,1C | CRS | 489 | 15-127 | |
| 9 | AM-09-28L | D4JG | CRS | 223 | CRS | 362 | 73 | NA | 263 315,1C | CRS | 489, 523d, 524d | 193-202 | |
| 10 | AM-09-28R | ND | CRS | 223 | 290 | 362 | 73 | 114 | 263 315,1C | CRS | 489 | - | |
| 11 | AM-09-29 | ND | CRS | 223 | 290 | 362 | 73 | 114 | 263 315,1C | CRS | 489 | - | |
| 12 | AM-09-32 | ND | CRS | 223 | 290 | 362 | 73 | 114 | 263 315,1C | CRS | 489 | - | |
| 13 | AM-09-37L | D5a2 | 92 | 223 NA | 266 293 | 362 | 73 | 150 | NA | CRS | 489, 523d, 524d | 16135-16204, 256-342 | |
| 14 | AM-09-37R | M10b | 66 | 223 | 311 | CRS | 73 | CRS | 263 315,1C | CRS | 489 | - | |
| 15 | AM-09-38L | G2a1 | CRS | 223 227 | 278 | 362 | 73 | 146 | 263 315,1C | CRS | 489 | - | |
| 16 | AM-09-38R | A4 | CRS | 175 223 | 290 319 | 362 | 73 | 152 | 235 263 309,1C 315,1C | CRS | 523d, 524d | - | |
| 17 | AM-09-46 | M7c1 | CRS | 223 | 295 319 | CRS | 73 | 146 199 | 263 315,1C | CRS | 489, 513d, 514d | - | |
| 18 | AM-09-47 | G2a1 | CRS | 223 227 | 234 278 | 362 | 73 | 152 | CRS | 390 | 489 | - | |
| 19 | AM-09-49L | Y2 | CRS | 126 | 231 311 | CRS | 73 | CRS | 263 309,1C 315,1C | CRS | 482, 523d, 524d | - | |
| 20 | AM-09-49R | D4e | CRS | 129 223 | CRS | 362 | 73 | 152 | 263 315,1C | CRS | 489 | - | |

^a All polymorphic sites are numbered according to the revised Cambridge Reference Sequence. CRS denote Cambridge Reference Sequence, and NA presents 'Not Analyzed'. The suffixes A and C indicate transversion, and d indicates a deletion.

^b ND presents 'Not Determined'.

나도 이론적으로 동일한 haplotype을 공유할 수 있기 때문에 피장자들의 정확한 혈연관계 규명을 위하여 부가적인 친연관계 분석(kinship analysis) 등의 추가 실험이 요

구된다.

AM-09-28, AM-09-37, AM-09-38, AM-09-49는 부부합장묘로서 전통적인 매장방식에 의하면 피장

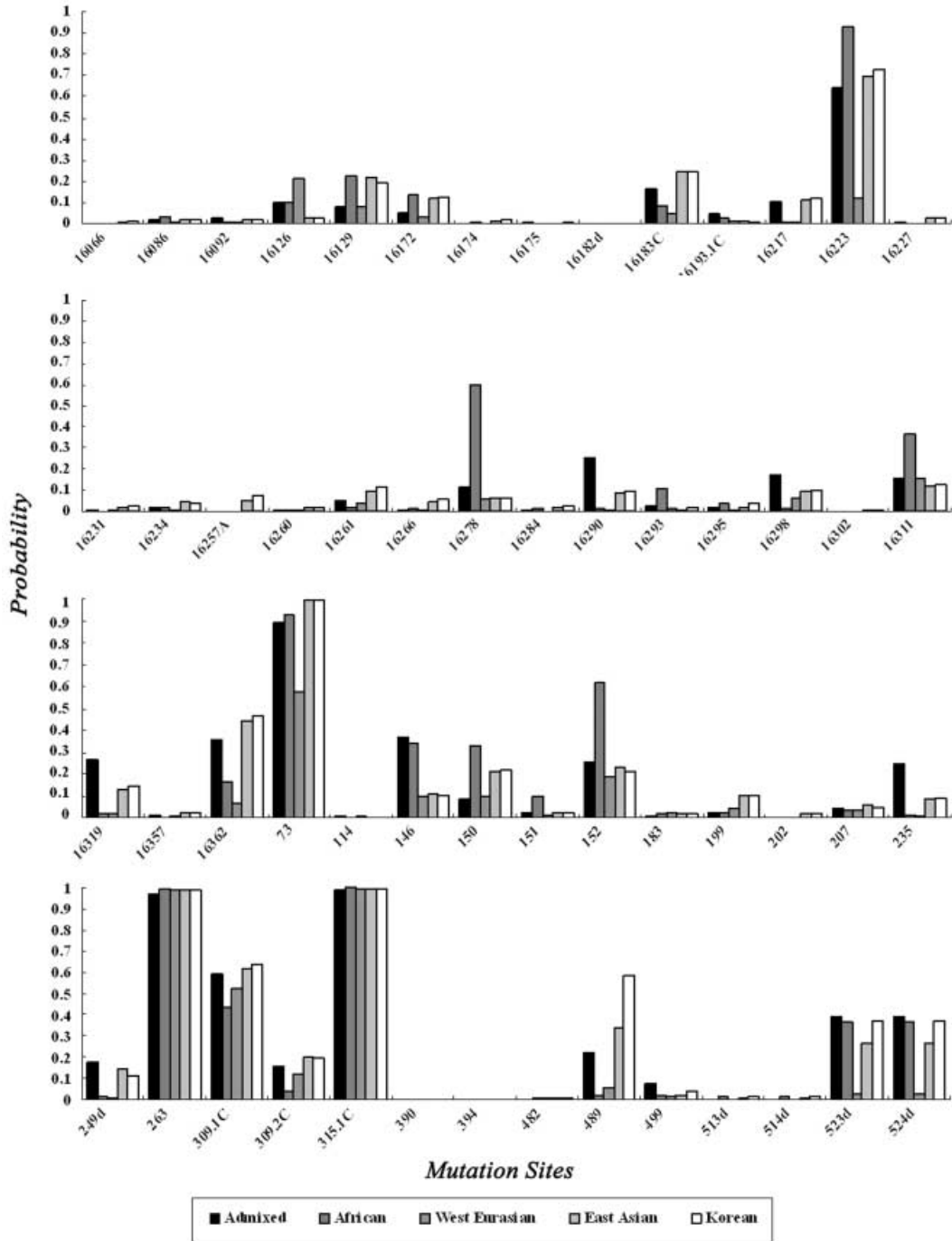


Figure 6. Probability of nucleotide change in mtDNA HVR from 20 individuals.

자를 기준으로 왼편이 여성, 오른편이 남성인 것으로 볼 수 있다. 이들 부부간 mtDNA의 haplogroup은 모두 서로 다른 양상을 나타내었다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, 이는 모계를 기준으로 당시 근친혼이 이루어지지 않았음을 의미하며, 집단의 규모를 짐작할 수는 없으나 유전적 다양성이 높아 배우자와 동일한 haplogroup을 공유할 가능성이 낮을 경우 이와 같은 양상이 나타날 수 있다 (Figure 7).

4. 결론

아산 명암리 출토 인골 20개체에 대한 mtDNA 변이형 분석결과 매우 다양한 haplotype과 haplogroup이 동정되었으나, 지역집단만의 유전적 특이성을 관찰할 수 없었다. 이 결과는 대체로 현대 한국인의 경향과 일치하지만, 수백 년 전 소규모 지역 집단을 대상으로 한 연구 결과임을 고려할 때, 무작위로 추출된 현대 한국인의 mtDNA 분석 결과와 동일하게 해석될 수 없다. 아산 명

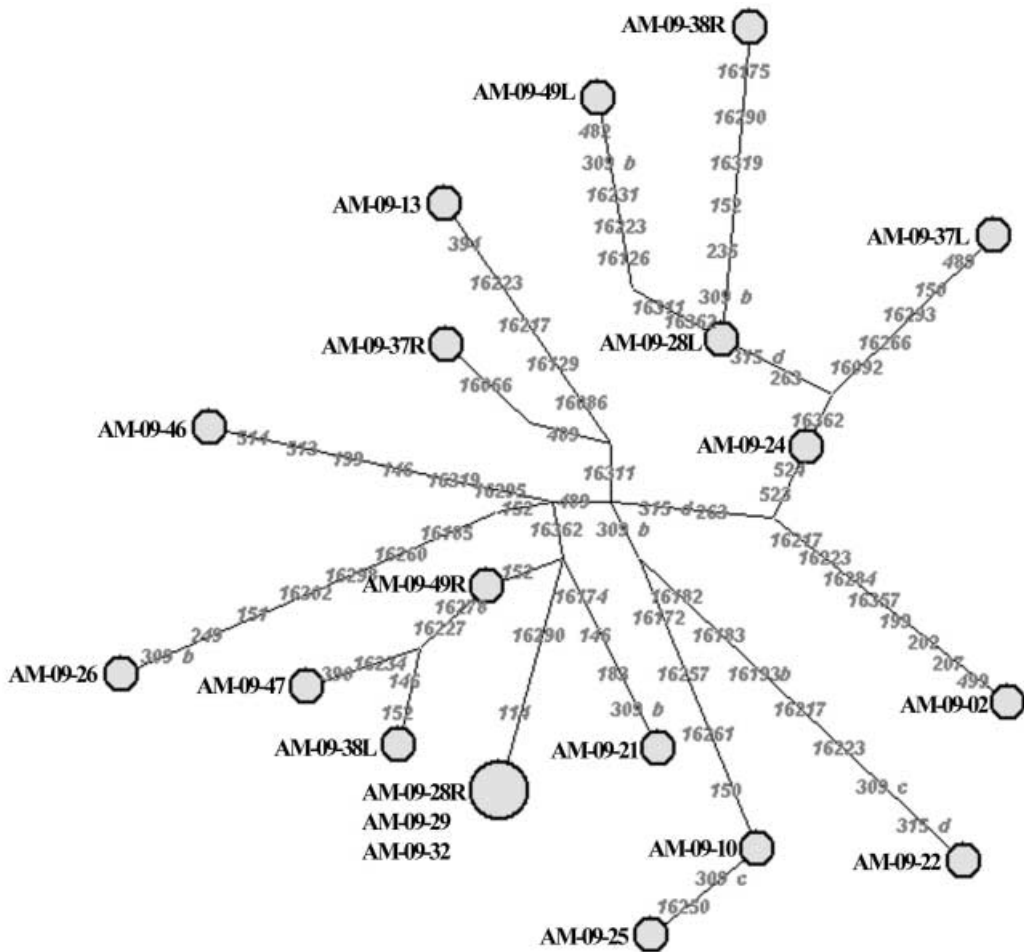


Figure 7. Phylogenetic networks of 20 individuals HVR sequences. Circle areas are haplotype frequencies. Links represent positions of nucleotide changes at the HVR of mtDNA.

암리 주변은 낮은 저지성 구릉지대로서 많은 발굴 조사를 통해 이 일대에서 신석기, 청동기 등의 선사시대 유적부터 조선시대 유적들이 집중적으로 분포하고 있다는 것이 밝혀졌다. 이것은 아산 명암리 유적이 위치하는 탕정면 일대 선사시대부터 오늘날까지 인간이 생활하기에 좋은 환경이었다는 것을 의미한다. 천안, 아산 등 명암리가 속해 있던 주변은 과거 오랜 세월동안 이 지역의 생활문화의 중심지 역할을 수행하고 있었을 가능성이 높고, 따라서 개체군의 이주와 정착이 빈번했을 것으로 추측된다. 즉 아산 명암리는 고립지역이 아닌 개방형 지대로서 비교적 개체군이 크고 유전적 다양성이 전반적으로 높았을 것으로 판단된다. 비록 본 연구에서 분석된 인골 20개체의 mtDNA가 당시 아산 명암리의 모계 유전자 풀(maternal gene pool)을 대표한다고 할 수 없으나 아산 명암리 일대의 지리적 특성과 고고학적 성과는 매우 오래전부터 이 지역에서 활발한 인간 활동이 있었음을 증명해주고 있다^{19,20}. 이러한 경향은 명암리에서 출토된 인골의 mtDNA 유형의 다양성과 깊은 연관이 있을 가능성이 높다.

사 사

본 연구는 2008년도 국립문화재연구소 박사후 연수와 정 지원사업에 의해 이루어졌다.

참고문헌

1. Cann, R.L., Stoneking, M., Wilson, A.C., "Mitochondrial DNA and human evolution" *Nature*, 325, p31-36, (1987).
2. Larsen, C.S., *Bioarchaeology: interpreting behavior from the human skeleton*, Cambridge University Press, (1997).
3. Buikstra, J., Beck, L., *Bioarchaeology: the Contextual Analysis of Human Remains*, Elsevier, (2006).
4. Malhi, R.S., Kemp, B.M., Eshleman, J.A., Cybulski, J., Smith, D.G., Cousins, S., Harry, H., "Mitochondrial haplogroup M discovered in prehistoric North Americans" *Journal of Archaeological Science*, 34, p642-648, (2007).
5. Adachi, N., Umetsu, K., Takigawa, W., Sakuue, K., "Phylogenetic analysis of the human ancient mitochondrial DNA" *Journal of Archaeological Science*, 31, p1339-1348, (2004).
6. 이준정, 김종일, 최철희, 한영희, 이세민, 조유복, 하대룡, 김상인, 김승옥, 이승태, "DNA 분석을 통한 백제 매장 양식의 일 연구" *韓國考古學報*, 61, p70-91, (2006).
7. 이규식, 정용재, 한성희, 이명희, 한면수, 최동호, "출토 인골 유전자 분석" *보존과학연구*, 20, p5-19, (1999).
8. 서민석, 정용재, 이규식, 박기원, "시흥 목감동 출토 인골의 미토콘드리아 DNA와 STR의 유전적 특징" *보존과학연구*, 24, p153-168, (2003).
9. 서민석, 이규식, "경산 입당동 및 사천 늑도 출토 인골의 유전자 분석" *보존과학연구*, 25, p47-74, (2004).
10. Hofreiter, M., Serre, D., Poinar, H.N., Kuch, M., Pääbo, S., "Ancient DNA" *Nature Reviews Genetics*, 2, p353-359, (2001).
11. Rohland, N., Hofreiter, M., "Ancient DNA extraction from bones and teeth" *Nature*, 2(7), p1756-1762, (2007).
12. Andrews, R.M., Kubacka, I., Chinnery, P.F., Lightowlers, R.N., Turnbull, D.M., Howell, N., "Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA" *Nature Genetics*, 23, p147, (1999).
13. Pääbo, S., Poinar, H., Serre, D., Jaenicke-Despres, V., Hebler, J., Rohland, N., Kuch, M., Krause, J., Vigilant, L., Hofreiter, M., "Genetic analyses from ancient DNA" *Annual Review of Genetic*, 38, p645-679, (2004).

14. Hedges, R.E.M., "Bone diagenesis: an overview of processes" *Archaeometry*, 44(3), p319-328, (2002).
 15. 김우림, "서울·경기지역의 조선시대 사대부 묘제 연구" *고려대학교대학원*, (2007).
 16. Hagelberg, E., Sykes, B., Hedges, R., "Ancient bone DNA amplified" *Nature*, 342, p485, (1989).
 17. Lee, H.Y., Yoo, J.E., Park, M.J., Chung, U., Shin, K.J., "Mitochondrial DNA control region sequences in Koreans: identification of useful variable sites and phylogenetic analysis for mtDNA data quality control" *International Journal of Legal Medicine*, 120(1), p5-14, (2006).
 18. Tanaka, M., Cabrera, V.M., Gonzalez, A.M., Larruga, J.M., Takeyasu, T., Fuku, N., Guo, L.J., Hirose, R., Fujita, Y., Kurata, M., Shinoda, K., Umetsu, K., Yamada, Y., Oshida, Y., Sato, Y., Hattori, N., Mizuno, Y., Arai, Y., Hirose, N., Ohta, S., Ogawa, O., Tanaka, Y., Kawamori, R., Shamoto-Nagai, M., Maruyama, W., Shimokata, H., Suzuki, R., Shimodaira, H., "Mitochondrial genome variation in eastern Asia and the peopling of Japan" *Genome Research*, 14, p1832-1850, (2004).
 19. 충청문화재연구원, "아산명암리 유적" (재)충청매장문화재연구원 문화유적 조사보고 제34집, (2003).
 20. 충남대학교박물관, "아산 테크노콤플렉스 지방산업단지 조성부지 내 아산 명암리 유적" 약보고서, (2001).
-