

생물다양성과 분자마커¹⁾

송 교 홍²⁾

국립생물자원관 야생생물유전자자원센터

올해는 UN이 정한 ‘생물다양성 10년’의 첫해이다. 환경과 생물자원의 가치는 어느 것과 비교할 수 없을 정도로 귀한 자산이 되고 있으며, 국가적 차원에서 그 가치의 중요성은 점점 높아지고 있다. 환경생태적인 측면에서 보면, 단편적으로 채집과 분류가 주였던 이전과는 달리 시료의 저장과 분석, 유전자원의 다각적인 분석과 활용에까지 범위가 넓혀지고 있다.

또한 앞으로의 국가 경쟁력의 한 축으로써 그 나라에 서식하는 생물자원을 얼마나 잘 이해하며 활용할 수 있느냐에 따라 좌우된다 해도 과언이 아니다. 급속한 경제개발로 인해 생물들은 터전을 잃고 있으며 이는 급속한 멸종으로 이어진다. 이에 따라 남아 있는 자원을 보존하고 효율적으로 이용하기 위해 1992년에 생물다양성협약이 체결되었다.

생물다양성은 생물 종의 다양성을 의미할 뿐만 아니라 생물이 서식하는 생태계의 다양성을 의미하며, 생물이 지닌 유전자원의 다양성을 의미한다. 생물자원이 풍부하지 못한 우리나라의 경우 국제적인 생물자원 및 유전자원 보호를 통해 해외의 생물자원 확보와 국내 생명공학기술 발전에 큰 영향을

미칠 것이다. 머지않아 한 나라가 보유하고 있는 생물 종의 수가 곧 그 나라의 생물자원의 양과 부를 평가하는 척도가 되는 날이 올지도 모른다.

인류가 지구상에 나타난 이후로 계속해서 생물자원을 발견하여 왔고, 생존과 관련해서 분류학이 생겨나게 되었다. 형태적으로 먹을 수 있는 것과 없는 것을 구분하게 되었고, 그 중심엔 육상식물과 척추동물이 있다. 현재까지 과학적으로 알려진 종은 약 200만 종이며 그중 식물이 4분의 1 그리고 나머지가 동물로 파악되었다.

21세기에 들어와서 지구상에 모든 생물에 표준화된 DNA 분자마커를 지문처럼 부여하여 각각의 종을 식별하려는 연구가 시도되었고, 그것이 생물바코드(barcode of life)이다. 전 세계 39개국 100여개의 기관이 컨소시엄을 구성하여 데이터베이스를 만들고 있다. 국내에서는 환경부의 국립생물자원관이 총괄하여 여러 대학과 연계로 사업이 이루어지고 있다. 이 데이터베이스가 완성되면 다양한 생물에 대한 정확한 구분이 가능해져 생물자원 관리에 큰 공헌을 할 것으로 기대된다.

이처럼 종을 식별하기 위해 형태적인 분

1) Biodiversity and Molecular Markers

2) SONG, Kyo Hong, Genetic Resources Center of Wildlife, National Institute of Biological Resources,
E-mail: khsong72@korea.kr

류에서 분자생물학적인 방법으로 발전하였고, 서로 보완하며 적용되고 있다. 그렇다면 왜 분자마커가 필요하게 되었는가. 그 이유는 다음과 같다. 첫째, 분자수준에서 연구가 진행되기 전에는 혈통이나 계통관계를 살펴보기 위해 형태학적, 생리학적, 행동학적 특성 등을 이용하였으나, 분자데이터를 이용하여 DNA의 특성이나 형질 상태의 다양성 등의 유전적 정보를 제공하게 되었다. 둘째, 분자생물학적 방법은 유전학적으로 전체 생물계에 대해 철저한 검토를 할 수 있다. 분자 분석방법은 필수적인 DNA 염기서열이나 단백질에 대한 직접적인 물리적 증거를 제공할 뿐만 아니라 미소동물군에서 고래에 이르기까지 모든 생물에 대한 유전학적 연구에 적용될 수 있다. 셋째, 분자 방법은 유전적 다양성의 거의 무한한 유전자 풀에 접근할 수 있다. 인간의 경우 30억개의 게놈 지도를 완성했고, 이를 분석한 결과 2만 6천에서 4만개의 유전자가 밝혀졌다. 분자마커로 활용할 수 있는 재료가 그만큼 늘어났다

고 할 수 있다. 넷째, 진화의 증거인 상사로부터 상동을 구분할 수 있다. 수렴진화(convergent evolution), 분지진화(divergent evolution) 그리고 평행진화(parallel evolution)의 기작에서와 같이 다른 조상에서 나온 후손들이 유사한 적응성을 보여 비슷한 형태를 갖는 경우, 같은 조상으로부터 다른 형태나 적응을 보이거나 공통된 유전자 풀을 가지고 있어서 같은 형질 또는 적응성을 보이는 경우에 분자마커를 활용해 실마리를 풀 수 있다. 다섯째, 분자 데이터들은 측정 차이에 대한 척도를 제공한다. 분석한 자료에 대한 피드백이 빠르고 객관적으로 판단할 수 있도록 도와준다. 마지막으로 분자적 접근방법은 도전적이며 흥미를 유발하도록 한다. 현재에도 계속해서 마커가 개발 중이며, 관련논문들도 계속해서 증가하는 추세이다. 이러한 이점에도 불구하고 분자마커를 활용하기 위해서는 상당한 숙련이 필요하고 비용 문제는 풀어야 할 과제이다.

대표적인 분자마커의 기능은 유사종 사이

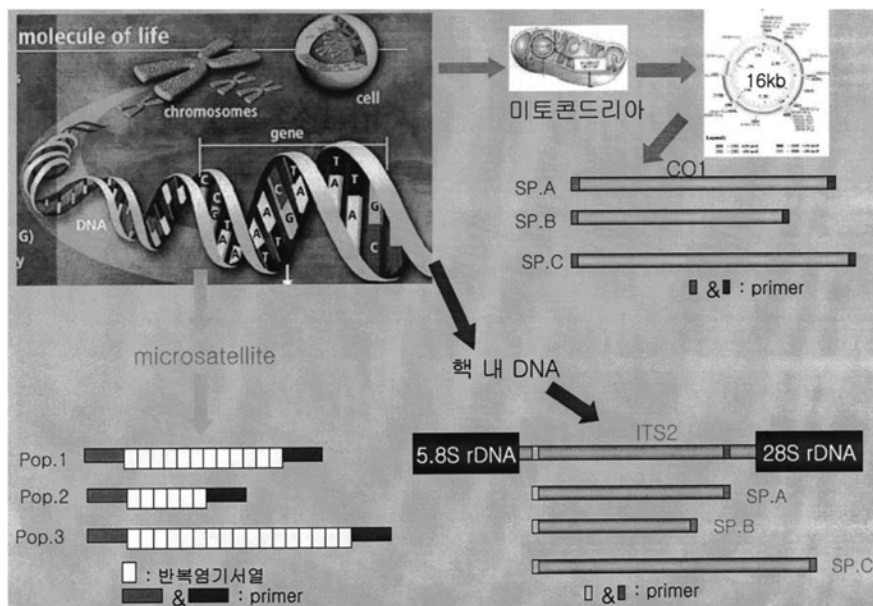


그림 1. 식별용 분자마커의 유전자 위치 및 특성.

나 군집내에서 식별용으로 사용된다. 각각의 생물들로부터 미토콘드리아나 핵 내 DNA에서 유전자의 위치를 확인하고 특성을 파악하여 비교 평가하게 된다. 대표적인 분자마커들은 그림 1에서 보는 바와 같이 미토콘드리아의 cytochrome oxidase 1(CO1), 핵리보솜 DNA의 internal transcribed spacer (ITS)과 microsatellite 등이다.

공통적으로 적용할 수 있는 프라이머를 사용하여 각 종들 간의 유전자 길이의 차이나 개체군 간의 반복서열의 횟수를 비교하여 식별할 수 있다.

식별용으로 사용시 종간이나 개체군 내와 같이 하위 카테고리뿐 아니라 상위 카테고리인 목(order) 이상의 수준에서도 사용이 가능하다. 예를 들어 핵리보솜 DNA의 18S는 상위 카테고리인 목 수준에서 계 수준까지 가능하며, 미토콘드리아의 control region의 경우 종과 집단에서 식별이 가능하다(표 1). 간략한 분자마커 개발과정은 다음과 같다.

대상종에 대해 특정 유전자의 염기서열을 밝히기 위해 우선 대상표본으로부터 total genomic DNA를 추출한다. PCR 증폭을 위한 primer를 제작하고 최적화된 조건으로부터 유전자를 증폭한다. 염기서열이 결정되면 분석 프로그램을 이용하여 기존에 알려진 동물군의 유전자와도 개별적인 배열을 통해 종들 상호간에 계통 유연 관계를 살펴본다. 또한 두 유전자 부위들에 포함되어 있는 다양한 분자진화학적 정보들을 밝힌다(그림 2).

대표적인 분자마커 외에 어떠한 것들이 있는지 살펴보면, 미토콘드리아 DNA, AFLP (amplified fragment length polymorphism), 마이크로새틀라이트, single nucleotide polymorphism(SNP), DNA sequencing 등이 있다.

각각의 마커들의 특징에 대해 살펴보면 다음과 같다. 미토콘드리아 DNA는 동물과 식물의 진핵세포 안에 존재하면서 호흡을 수행하고 에너지를 생성하는 세포 내 소기관

표 1. 핵리보솜과 미토콘드리아 DNA 분자마커와 유전자부위의 적용 범위

	Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Population
Nuclear rDNA								
SSU (16-18S)	—————				-----			
LSU (23-28S)			—————		-----			
5.8S	—————				-----			
IGS							—————	
ITS						—————	—————	
MtDNA								
rDNA								
12S		—————			-----			
16S					-----			
Protein								
Coding genes								
ND1				—————	-----			
ND2				—————	-----			
COI				—————	-----			
COII				—————	-----			
Cytb				—————	-----			
Control region							—————	
Gene arrangement	-----	—————			-----			

The bold lines indicate mainly applicable categorical levels of each molecular marker or gene region while the dot lines indicate less frequently applicable categorical levels.

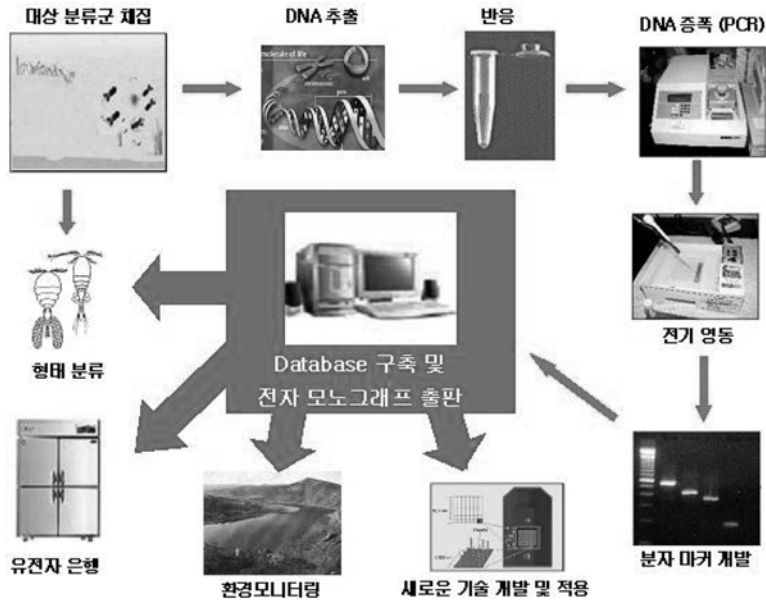


그림 2. 분자마커 개발과정.

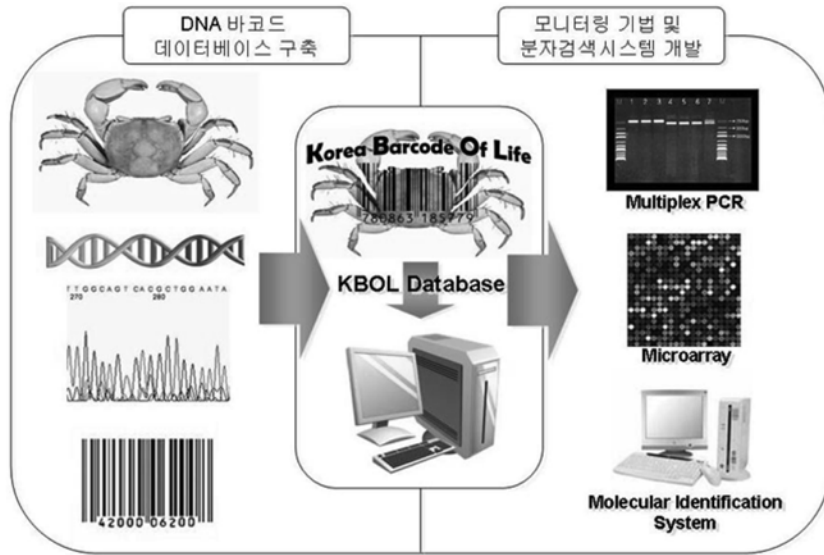


그림 3. DNA 바코드 개요도.

으로, 핵 DNA와 달리 모계로만 후손에 전달되고, 핵 DNA보다 10배 가량 빨리 돌연변이가 일어나기 때문에 혈통조사 및 개인이나 개체 식별에 많이 쓰인다. 생물바코드 (barcode of life)는 지구상 모든 생물에 표

준화된 DNA 분자마커를 지문처럼 부여하여 각각의 종을 식별하려는 것으로서, 전 세계 39개국 100여개 기관이 컨소시엄을 구성하여 데이터베이스를 만들고 있다(그림 3). 이 데이터베이스가 완성되면 다양한 생물에 대

한 정확한 구분이 가능하여 생물자원의 관리 및 유통에 일대 혁신이 이루어질 것으로 예상된다. 이를 위해 사용하는 유전자는 CO1이다. 생물종의 진화연구에 많이 활용되며, 이들의 단백질체는 동식물 세포 내에 존재하는 여러 종의 산화·환원효소 중의 하나로 세포호흡에 중요한 역할을 한다.

또 다른 마커인 “AFLP”는 두 개의 제한 효소로 잘려진 DNA 단편에 의해 만들어진 혼합된 조각들로부터 제한 절편들을 선택적으로 증폭하게 된다. 주로 집단유전학적 연구나 계통지리학적 분석에 사용된다.

새틀라이트 DNA는 게놈 내에 있는 반복적인 DNA의 지역을 말한다. 미니새틀라이트는 5개에서 많게는 64개의 염기가 반복적으로 나타나며 수 천 염기쌍의 길이로 존재하고, 마이크로새틀라이트는 1개에서 5개의 염기가 반복적으로 나타나며 약 200 염기쌍 이하의 길이로 나타난다. PCR을 기반으로 한 마커인 마이크로새틀라이트는 높은 다형성으로 인해 현재 방법들 중에 가장 인기있고 파워풀한 방법이다. 1980년 후반에 발견되었고, 대부분의 식물과 동물(인간을 포함한)의 핵게놈 전반에 걸쳐 풍부하게 산재되어 있는 것이 확인되었다. 쉽고 정교하며 자동화되어 있기 때문에 집단유전학 연구에서 많이 사용되고 있다.

SNP는 특이적인 염기쌍 변이이며 대부분의 게놈에 풍부하다(인간에서는 약 150만 개가 알려져 있다). 이 방법은 마이크로 어레이나 마이크로 칩 기술과 접목하여 유전자 발현 패턴의 분석연구에 광범위하게 사용되고 있다.

DNA sequencing은 초기에 계통학의 일환으로 분자마커를 개발하기 위해 사용되어 왔다. 염기서열 정보는 2003년을 전후로 115,000개의 분류군에서 거의 2천 5백만 염기서열을 GenBank에 저장하고 있다.

그 외에도 많은 분자마커가 존재하고 있으며, 많은 실험실에서 여전히 분자마커 개발에 힘쓰고 있다. 시대적으로 보면 면역학적인 방법, 단백질 전기영동 그리고 DNA 수준으로 진화되어 왔다. 최근에는 AFLP, RAPD, SSCP, SINES, SNP, STR(microsatellite) 등과 같이 PCR을 베이스로 한 방법들이 개발되고 있다. DNA 염기서열 방법은 1970년대 중반이후로 사용되어 왔으나 최근에 자동화 시스템의 개발과 PCR과 결합하면서 정보의 양이 증가하여왔다.

분자마커의 개발과 더불어 국내에 서식하고 있는 주요 생물자원을 탐색·발굴하여 정리, 보관, 분양함으로써 생물자원의 지속 가능한 이용을 할 수 있도록 분자마커의 역할이 커지고 있으며, 생물들의 효율적인 이용을 위해서는 이들의 서식처와 주변서식환경과 같은 기초 생태학적인 자료도 함께 연구되어야 하는데 이와 같은 정보는 신약개발 및 천연생리활성물질을 찾는 연구자들에게는 매우 중요한 정보로 이용될 것이다. 또한 유용한 종들의 식물 표본이 기본적으로 보관되는 것은 물론 이들의 미래 유전자원으로서의 이용도를 고려하여 중요종에서는 genomic DNA를 동시에 추출·보관·관리하여 이들 DNA 또한 의학 등 각종 응용생물학 분야에서 효율적으로 사용될 것이다.

향후에는 여러 가지 용도의 분자마커를 직접 연구하고 개발하여 분자마커의 정보를 필요로 하는 연구자를 지원하여 생물·환경생태분야에 획기적인 공헌을 할 것이라 여겨진다. 육상, 담수, 해양에서 살고 있는 다양한 생물자원을 보존하면서 이용하기 위해서는 이들을 하나하나씩 형태적으로 동정하여 모니터링 하는 것은 한계가 있기 때문에 미래에는 분자마커를 이용한 분자검색시스템을 활용하는 시대가 올 것이다.