

미생물 실험 진화(Microbial Laboratory Evolution)의 진화

이대희

한국생명공학연구원 바이오화학연구센터 전임연구원

진화(evolution)란 생물 집단이 여러 세대를 거치면서 유전자의 변이가 축적되어 집단 전체의 특성이 변화되고, 나아가 새로운 종의 탄생이 야기되는 과정이다. 최초 진화에 대한 이론이 제기된 이후로 많은 간접적인 증거들이 발견되고, 진화 과정에 대한 이해를 통해 진화는 생물학을 체계화하는 핵심적인 원리로서 자리잡았다. 그러나 지금까지 진화에 대한 과학적 접근법은 화석을 이용하거나 잘 보존되어 있는 특정 유전자의 서열 비교를 통한 연구로써 진화의 원리에 대한

이론의 정립에 국한되어 왔다. 이는 생명체의 진화가 장기간에 걸쳐 점진적으로 일어나는 현상으로 그 과정을 연구자가 직접 관찰하는 것이 불가능하다고 믿었기 때문이다.

지난 2009년은 찰스 다윈(Charles Darwin)의 종의 기원(On the Origin of Species by Means of Natural Selection)이 출판된 지 150년이 되는 해였다. 다윈은 진화가 현재 진행형의 매우 느린 과정으로 우리가 직접 관찰하는 것이 불가능하다고 했으나, 다윈도 필자가 이 글을 통해 소개하고자 하는 미생물 실험 진화(microbial laboratory evolution)를 알고 있었으며, 진화를 직접 관찰하는 것이 가능하리라는 것을 알고 있었던 것 같다. 다윈과 동시대에 살았던 윌리엄 댈린저(Rev. William Dallinger, 1839-1909)는 다윈의 종의 기원을 읽고 현재의 미생물 실험 진화와 동일한 연구를 수행하였다. 그는 몇 년에 걸쳐 원생동물(protozoa)을 배양기에서 키우면서 점차적으로 생육 온도를 상승시키는 연구로 원생동물의 생육온도를 화씨 73도에서 무려 153도까지 상승시켰다(그림 1). 1878년에 윌리엄 댈린저는 다윈에게 이러한 그의 연구 내용을 서한으로 보냈으며, 다윈은 매우 흥미롭고도 엄청난 결과라며 회신하였다. 윌리엄 댈린저는 빠르게 증식하는 생명체를 이용하면 진화의 과정을 인간이 관찰할 수 있다는 가능성을 이미 오래 전에 보여준 것이다.

현재 많이 이용되고 있는 미생물의 실험 진화는 기존의 진화 연구의 한계점을 극복하고자 제시된 새로운 접근법으로 실험실에서 직접 미생물을 진화시키며 관찰하는 것이다. 증식 속도가 빠른 미생물을 이용할 경우 여러 세대에 걸쳐 일어나는 진화의 과정을 실시간으로 추적이 가능해진다. 예를

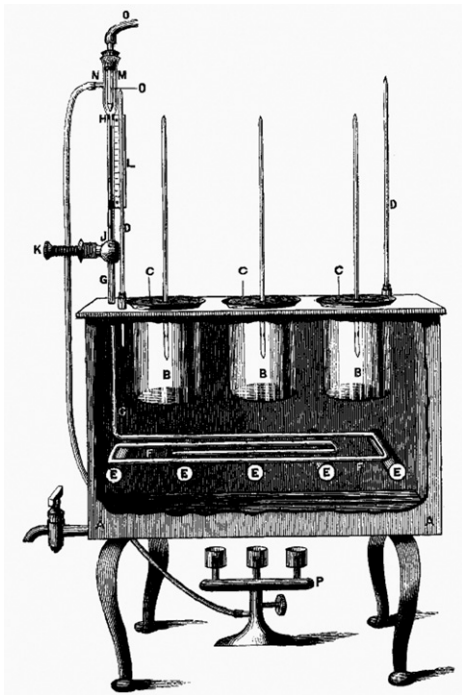


그림 1. 윌리엄 댈린저가 사용했던 원시적인 화분식 배양
(자료출처: 위키피디아)

들어 대장균의 한 세대를 20분으로 가정할 경우 1시간 안에 대장균은 3세대에 걸쳐 진화하게 된다. 인간의 한 세대를 일반적으로 30년으로 계산하게 되면 인간의 3세대에 걸친 진화를 관찰하려면 최소 90년의 시간이 필요하게 된다. 물론 미생물과 인간의 진화를 직접적으로 비교하는 것은 어려운 일이다. 그러나 진화와 관련되어 규명되지 못하고 원리로만 남아있던 숙제들이 미생물의 실험 진화를 통해 하나씩 그 증거를 찾아내고 있는 것은 틀림없는 사실이다.

미생물을 이용한 실험 진화가 갖는 또 다른 장점은 실험 진화를 진행하면서 미생물을 동결보존하여 저장한 조상균주와 후손균주의 직접적인 비교를 통해 동일한 환경에 대한 적응도를 정량적으로 비교할 수 있다는 것이다. 이는 미생물만이 갖는 고유의 특징으로 우리가 흔히 연구실에서 미생물을 보존하는 방법으로 진화를 통해 얻어지는 각 세대별 균주들의 확보가 가능해지는 것이다. 이를 통해 동결보존된 조상균주를 다시 배양하면 진화가 종료된 시점의 후손균주와 직접적으로 비교할 수 있게 된다. 최근에는 각종 오믹스(omics) 기법과 차세대 염기서열 분석/해독(next-generation sequencing technology, NGS) 기법을 통해 체계적이고 논리적인 비교가 가능해졌다.

또한, 미생물을 이용한 실험 진화는 작은 플라스크 안에서 엄청난 개체수의 미생물을 배양할 수 있어 개체 수준이 아니라 집단(population) 수준에서의 진화 과정을 관찰할 수도 있다. 이는 사회적 동물인 인간과 마찬가지로 미생물도 개체 간의 상호작용을 통해 진화하고 있으며, 생물 사이의 상호작용인 공생, 기생 등의 관계 규명에도 미생물의 집단 진화 연구가 이용되고 있다.

앞서 언급했듯이 미생물 실험 진화 연구는 유전체의 돌연변이를 빠르고 정확하게 검출할 수 있는 차세대 염기서열 분석 기술의 개발로 가속화되고 있다. 과거 산업적으로 유용한 물질을 생산하는 재조합 미생물도 적응 진화(adaptive evolution)을 통해 특정 생육 조건에서 유용물질의 생산을 증가시키려는 연구가 많이 진행되었었다. 그러나 당시에는 유용물질의 생산이 증가된 미생물의 형질(phenotype)에 대

한 그 원인을 찾을 수 있는 기술이 극히 제한적이었다. 그러나 현재 우리는 미생물의 유전체를 합성하고 수 시간 내에 미생물의 유전체를 해독할 수 있는 시대에 살고 있다. 이제 우리가 특정 형질로 진화된 미생물의 유전형(genotype)을 얼마든지 쉽게 알아낼 수 있게 된 것이다. 일례로 영국의 John E. Walker (MRC Mitochondrial Biology Unit in Cambridge)는 1996년에 막 단백질(membrane protein)을 일반 대장균보다 더 우수하게 생산하면서도 막 단백질의 발현으로 인한 독성을 극복한 변이 대장균을 발견하였다. 대장균 C41, C43로 잘 알려진 일명 Walker strain은 현재 상업적으로 판매되고 있으며, 막 단백질을 연구하는 많은 연구자들에 의해 애용되고 있다. Walker strain은 아주 짧은 시간 안에 세포 내에서 발현되는 막 단백질의 독성을 극복하여 진화된 대장균이다. 최근에 이러한 Walker strain의 유전체를 NGS로 분석하여 그 형질에 대한 원인이 되는 유전체 변이를 찾는 연구가 진행되었다. 이로써 Walker strain이 갖는 형질은 많은 연구자들이 이용하는 다양한 종류의 대장균에 도입이 가능해진 것이다.

NGS와 더불어 미생물의 인실리코 대사 모델(in silico metabolic model)의 발달로 미생물의 실험 진화는 더욱 그 빛을 발하고 있다. 약 15년 전에 처음 등장한 유전체 수준의 인실리코 대사 모델(genome-scale metabolic in silico model)은 초기에 특정 생육 조건에서의 최적 생육 속도를 예측하는 데 이용되었다. 그 예측값을 실제 실험을 통해 측정된 값과 비교했을 때 대부분의 에너지원(substrate)에 대해 비교적 정확하게 일치하였으나, 모든 에너지원(substrate)에 대해서 그런 것은 아니었다. 그래서 미생물은 인실리코 모델이 예측한 생육 속도로 특정 에너지원에서 생육할 수 있는 잠재적 능력이 있으나, 그 에너지원에 대해 적응하여 진화하지 못했기 때문에 최적의 생육을 할 수 없을 것이라는 가설이 등장하게 된다. 이러한 가설은 대장균의 인실리코 모델을 최초로 개발한 Bernhard O. Palsson 교수(University of California, San Diego)에 의해 증명되었다. 예를 들어 대장균은 탄소원으로 포도당(glucose)을 잘 이용하지만, 글리

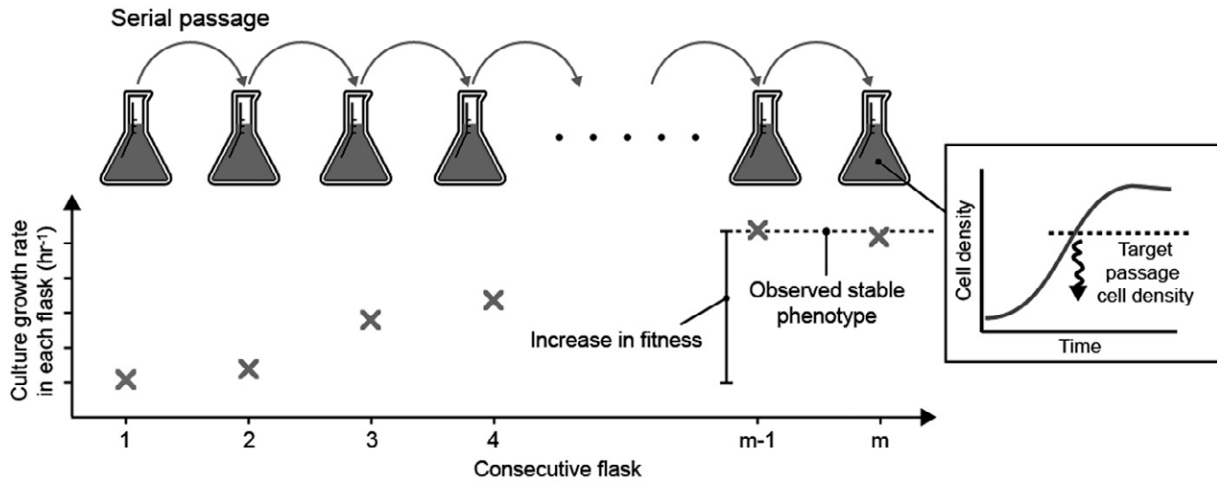


그림 2. 연속적인 회분식 배양을 통한 미생물의 실험 진화

세올(glycerol)은 그렇지 못하다. 포도당을 이용하여 생육하는 대장균의 최적 생육 속도를 인실리코 모델은 비교적 정확하게 예측하였으나, 글리세롤의 경우는 아니었다. 그러나 대장균을 글리세롤을 탄소원으로 하여 약 1,000세대에 걸쳐 실험 진화시킨 결과 인실리코 모델에서 예측하는 최적의 생육속도를 나타내었다.

실험 진화는 선택압(selection pressure)의 종류에 따라 다양한 형질로 진화시킬 수 있으며, 배양 방법도 연속적인 회분식 배양(serial passage)과 연속배양(chemostat) 등이 이용되고 있다. 현재까지 대장균의 경우 연속적인 회분식 배양법이 선호되고 있으며(그림 2), 효모의 경우 연속배양을 통한 실험 진화 연구가 많이 수행되고 있다. 또한 진화시키는 기간에 따라 단기간 진화와 장기간 진화로 구분되기도 한다. 현재까지의 실험 진화의 대부분은 단기간 진화에 속하며, 일반적으로 500 ~ 2,000세대(대장균 이용 시 2-6 개월)에 걸쳐 이루어지게 된다. 장기간 진화의 대표적인 예는 미국의 Richard E. Lenski 교수(Michigan State University)가 수행하고 있는 대장균의 진화이다. 그는 1988년부터 대장균을 이용하여 연속적인 회분식 배양법으로 장기간의 실험 진화를 현재까지도 진행하고 있으며, 그 세대 수가 이미 50,000을 넘어선 지 오래다. Lenski 교수는 자신만이 갖고 있는 장

기간 진화된 대장균을 최근의 NGS 기법을 통해 재해석하여 많은 흥미로운 결과들을 발표하고 있다. 국내에서는 연세대학교 김지현 교수팀이 과거 Lenski 교수와 국제공동연구를 통해 약 4만세대 동안 배양해 온 대장균의 유전체를 분석하여 유전체 진화 경로의 수수께끼를 푸는 데 중요한 단서를 제시한 바 있다.

미생물의 실험 진화는 다양한 연구 분야에 응용될 수 있는 근간 연구로서 일례로 전세계적으로 활발히 연구되고 있는 바이오에너지 분야에도 적용 가능하다. 미국 James C. Liao 교수(University of California, Los Angeles)는 실험 진화를 이용하여 대장균의 이소부탄올(isobutanol) 내성을 향상시킨 결과를 발표한 바 있으며, 진용수 교수(University of Illinois, Urbana)는 대사공학과 실험 진화를 접목하여 효모의 자일로스(xylose) 이용 능력을 향상시킨 바 있다. 또한, 미생물이 인간을 비롯한 동물의 몸 속으로 들어와 각종 병원성 미생물로 진화하는 메커니즘을 규명하는 연구가 활발히 진행 중에 있으며, 인류의 건강을 위협하는 병원성 미생물의 발생 과정을 실험 진화를 통해 규명하여 백신, 신약 개발 등에 접목시키려는 연구도 활발히 진행 중에 있다. 미생물을 이용한 실험 진화는 현재도 진화 중이다.