The Use of DNA Probe in Bioremediation and Environemental Biotechnology on contaminated soils
(토양의 생물학적인 처리방법에서 DNA Probe를 이용한 진단연구)

김 무 훈

삼성 엔지니어링 기술연구소 환경연구실

요 약 문

환경이 나이어린 학문 정도로 생각하는 것은 환경분야의 눈부신 발전과 연구를 모르는 데서 비롯된 오해이다. 산업화에 따른 산업재앙의 위기에 처한 환경 선진국들은 이미 막대한 재정지원을 통해서 이미 오래전부터 최신 기법들을 이용한 실험들을 성공리에 마치고 있고 또 실제 생활에 활용하고 있다. 특히 환경오염에 대한 처리방법에 있어서 미국을 비롯한 선진국들은 유전공학을 이용한 최신기법들을 연구개발하고 있으며 이것은 매우 놀랍고 고무적인 일이다 그런 의미에서, 이 글은 환경오염의 생물학적 처리복구기술에 있어서 DNA probe(DNA 탐침자)의 역할과 이 연구를 통한 미래환경발전의 전망에 대해 살펴보고자 한다.

1. 서론

1987년에 미국 테네시 주립대학의 G.S. Sayler 교수와 동료들은 오염된 토양에서 직접 토양미생물의 DNA를 추출해 내는데 성공하고 충분한 DNA염기서열을 밝혀낼 수만 있다면 환경오염을 완화시킬 수 있는 미생물의 인구분포도 및 활성도 를 알아내어 사전에 오염을 방지할 수 있다고 제안하였다. 생분해환경에서 오염물들의 생분해(biodegradation)는 존재하는 오염물들의 성질과 양에 따라, 계절적인 환경 상태, 그리고 미생물들의 분포도에 따라서 다양한 반응이 일어나는 복잡한 과정이다. 최근에 확인된 그리고 분명해지고 있는 유전공학을 이용한 접근방법들이 오염물질들을 제거하거나 생분해의 가능성을 예견해 주고 있다. 생물학적인 분자들에 의존하고 있는 미생물 검출 시스템에서, 생체량(biomass) 의 사용은 혼합미디어에서의 어떤 특정한 원소의 검출을 위한 매력적인 유전공학 방법이다. 그 중, 생물적 복원(bioremediation) 분야에서 시도되고 있는 한가지 접근 방법은 어떤 특정한 오염물질을 분해하는 특정한 미생물내에 존재하는 DNA
의 검출을 하기 위한 핵산 탐침자(nucleic acid probe)의 사용이다. 과거 10년 사이에 유독한 화학물질과 환경오염물질들의 미생물들을 이용한 분해에서 생화학적인 그리고 분자론적인 방법에 근거를 둔 새로운 지식이 개발되고 있다. 오염된 토양으로부터의 미생물 DNA의 분리는 토양에서 미생물의 역학을 연구하고 유전공학적으로 제조된 미생물의 운명을 추적하는 방법으로 아주 유용한 도구가 될 수 있다. 분해경로(Catabolic Pathway)에서 암호화된 DNA에 결합하기 위한 DNA 탐침자 (Table 1)의 사용은 특정한 오염물질들의 분해(degradation)를 위한 적절한 유전학적인 방법의 이용가능성을 결정하는데 사용될 수 있다. 이러한 종류의 측정은 오염된 토양에서 처리 방법들을 디자인 하는데 유용하게 사용될 수 있다. 어떤 특정한 핵산 탐침자들과 함께 개발이 증가되고있는 결합 핵산 탐침자들의 시스템에서의 결과관찰은 생분해를 향상시키기 위한 결과를 미리 예견할 수 있다. 혼합미디어에서 존재하는 미생물들의 기능을 결정하는 것은 시스템의 공정을 평가하는 것과 같이 오염된 토양과 물의 생분해 씨스템을 설계하기 위해 유용하게 쓰일 수 있다. 이 방법에서의 가장 큰 특징은 환경 샘플의 DNA 추출방법에서 종래에 쓰여왔

던 세포배양을 지양한다는 것이다. 왜냐하면 세포배양은 전체 미생물의 아주 작은 부분만을 획득할 수도 있는 단점을 가질 수도 있기 때문이다. 여기에서DNA의 추출과 결합방법들은 특정한 박테리아 유전자들의 발견과 내부에서 그들에게서 발견될 수 있는 기능예측을 도와준다. 이 report의 목적은 환경오염된 유기폐기물 생분해와 생물학적 처리복구 방법에 있어서 더욱 더 넓게 적용되고 있는 유전공학 기법을 이용한 분자생물학의 응용방법들을 기술한 것이다. 이러한 개발 응용방법들은 앞으로 환경에 유해한 폐기물처리 기술 개발에 있어서 더 효과적이고 예측가능한 환경문제의 해결을 가져올 수 있을 것이다.

Table 1 Examples of nucleic acid probes used in environmental samples.

Target	Probe
4-CB-degrading scrains	pSS50
Naphthatene-mineralizing strains	NAH-7
Gram-negarive mercury-resistant strains	mer operon
Bacillus subtilus	Cloned fragment of 23 S tRNA
Rhizobium	R. trifolii chromosome
Nitrogen-fixing strains	nif K.D.H genes from Klebsiella prieumoniae
CO_2-fixing strains	Ribuiose bishphosphate carboxylase gene

2. 본 론

다양한 환경오염물질을 위한 환경미생물들의 분해능력들은 현재 빠른 속도로 밝혀지고 있다. 일반적으로 분해능력을 가지고 있는 미생물들은 batch 혹은 static한 세균의 배양으로부터 얻어진다. 그러나, 아래 Table 2에서 보는 바와 같이, batch 첨가(enrichment)기술은 순수한 혹은 혼합 분해배양을 위한 적어도 6개의 기본적인 방법들 중의 하나에 불과하다.

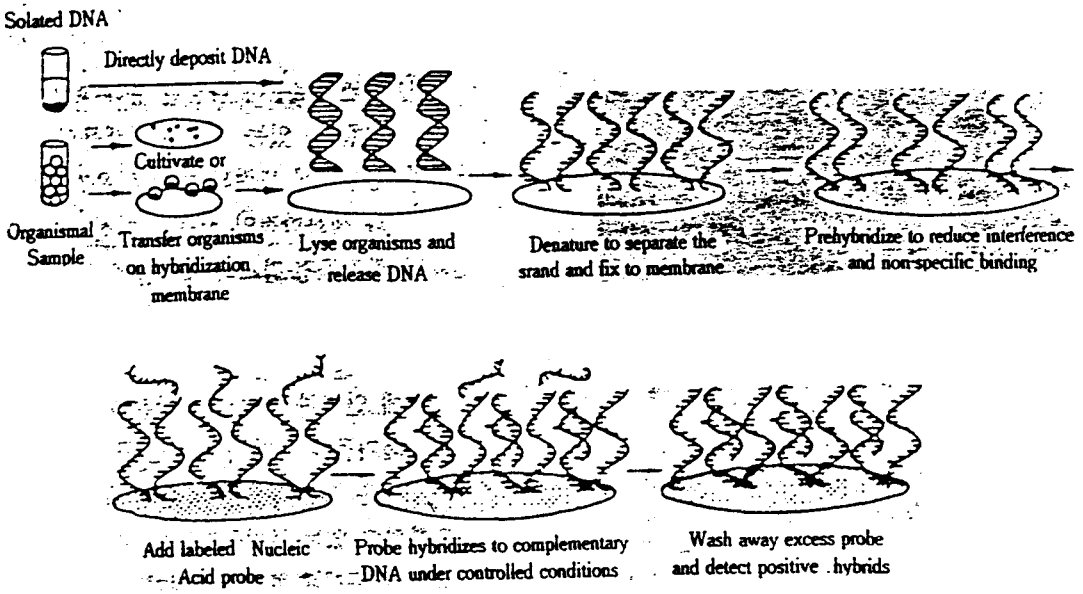
Table 2. General approaches in microbial strain development and improvement for degradation of hazardous waste.

Approach	Candidate microbes recovered
Batch enrichment	Pure and mixed cuitures capable of growth on specifle contaminants
Chemostat seiection	Selection of high efficiency pure or mixed cuitures for specific contaminants
Gene probe seiection	Pure cultures with biodegradative pathways reiated to existing organisms. but with perhaps greater yersatility and fitness
Plasmid assisted mulecular breeding	Pure cultures with new biodegradative pathways
Plasmid expansion of catobolic pathway	Pure cultures with broadened range of biodegradation
Genetic engineering and pathway construction	Pure cultures with new and broaden ranges or more efficient and controilable degradation

분해능력이 있는 유전질의 회수(isolation)와 능력향상을 통한 응용기술들은 주로 생체 내에서(in vivo) 혹은 시험관 내에서(in vitro)의 개발 혹은 분해능력이 있는 유전질의 선택 그리고 유전공학적으로 제조된 유전질들을 위한 유전자 조합 기술들과 조화를 이룬다. 그리고 이러한 기술들은 화학물질의 분해 혹은 새로운 분해능력을 가지고 있는 유기체들을 나타낼 수 있다. 유전 탐침자

방법(gene probe method)은 현재 환경으로부터 유기체를 회수하는데 아주 성공적으로 사용되고 있다. 그리고 유전탐침자 방법에 의해 회수(recovered)된 유기체들은 이미 존재하고 있는 유기체들과 마찬가지로 환경오염물들을 분해할 수 있는 경로를 가지고 있고, 또한 더 많은 다양성도 가지고 있다. State-of-art 측정에서 오염물질을 분해할 수 있는 능력을 소유하고 있는 생분해 미생물 군집들을 이용한 최근의 기술은 핵산분해와 유전자 탐침기술(gene probe technology)이다. DNA 탐침 추적자 기술은 이화능력이 있는 유전자들을 포함하고 있는 분해 박테리아의 colony 혹은 금속저항능력이 있는 유전자들을 검출하고 정량화하는데 사용하였다. 유전탐침자를 이용하고 있는 colony 결합방법들은 이 기술의 실제적용되고 있는 방법이다.

Fig 2. Gene probe detection technology for biodegradative organisms: molecular mechanism of DNA hybridization(Doctoral dissertation, M.H. Kim, 1994)



최근에, 개개의 미생물 인구의 배양없이 생분해할 수 있는 유전자들의 활동성과 빈번도를 정량화시키기 위해 환경으로부터 직접 DNA와 RNA를 추출하는 기술이 개발되고 있다. 그러한 기술들은 현재 환경 혹은 공학적으로 제조된 폐기물 처리 시스템의 분석을 할 수 있도록 도와준다. 화학적으로 오염된 manufactured 가스 공장 토양으로부터의 DNA 추출과 나프탈렌 이화 유전자들과 함께 사용되고 있는 유전자 probe 결합기술로부터 DNA 추출은 복잡한 화학물질로 오염되어 있는 환경내에서도 이 기술을 적용할 수 있다는 것을 보여준다. Bioluminescent 보고자 기술은 분해유전질 performance의 개선이 아닌, 특정한 화학물의 존재하에서, 그것의 생이용도(bioavailability), 분해도를 알아보기 위한 in situ 측정기술의 개발을 보여주고 있는 유전공학의 한 예이다.

3. 결론 및 고찰

환경오염으로 야기된 유해폐기물 처리에 있어서 분자생물학으로부터의 지식과 기술을 이용한 응용가능한 분야들은 수없이 많다. 지금 현재의 생물학적 처리복구 방법기술과 in situ 처리기술에서의 가능성이 많은 개선분야들은 다음과 같이 기대된다.: 자연으로부터 더욱 더 다양한 유해 폐기물들을 분해시킬 수 있는 novel 미생물들의 선택과 회수, 생분해에 관련된 미생물 strain의 생화학적인 성능과 다양성 개선, 환경공정 감시와 조건을 위한 미생물 유전질과 기술 개발. 위에 언급한 가능성이 많은 개선분야들은 주로 유해폐기물의 유기 구성물로 구성되어 있다. 그러나, 많은 연구가들에 의한 금속들과 방사선원소들을 포함하고 있는 유기물질들의 저항력,변형 그리고 sequestering도 또한 인식되어야 할 것이다.현재, 분자생물학을 이용한 기술들은 임상진단에 신호를 주는 진단할 수 있는 그리고 공정감시와 조절기술의 환경유전학 분야를 제공해주고 있다. 그리고 21세기에는 환경 혹은 폐기물처리공정이 생분해에 유전적으로 적합하고 그 환경에 이 유전자들이 이용될 수 있다면 본질/진단의 능력을 보유(envision)하는데 더욱 용이할 것이다. 이러한 정보와 함께, 필요한 생분해 유전자의 도입, induction 그리고 이 유전자들의 조절이 가능한 방법(protocol)의 발견이 가능할 것이다. 공정 분석, 적정 그리고 조절 기술이 오염물의 생이용도(bioavailability)의 예언(prediction)을 제공하는데 이용될 것으로 보이고 생물학적 처리복구 방법과 최종공정 performance에도 사용되는 특정변수들에도 이용될 것으로 보인다. 그러므로, 유해폐기물 처리를 위한 유전공학을 이용한 방법이 21세기의 환경문제 해결에 결정적인 역할을 할 날도 그리 멀지 않다고 보여진다.

참고 문헌

1) Clesceri, L.S. 1993. " The use of nucleic acid probes and other molecular tools in the functional analysis of microorganisms in soil and water" in Ecotoxicology Monitoring, Ed. M. Richardson. VCH published limited. Cambridge, United Kingdom

2) Kim. M.H. and L.S. Clesceri. 1993. The application of molecular tools in bioremediation of contaminated soils. Proccedings of the third KSEA conference. SUNY at Buffalo, NY.

3) Kim. M.H. 1994. Doctoral Dissertation "Microbial characterization for the assessment of the bioremediation of contaminated soils" Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, NY.

4) Kim. M.H. and L.S. Clesceri. 1994 Factors affecting the recovery of microbial DNA and validation of hybridization quality. Proceedings of the 49th Industrial Waste Conference. Purdue Univ, IN. 49:71-78

5) Ogram, A., G.S. Sayler. and T.Barkay. 1988. DNA extraction and purification from sediments. J. Microbiol. Methods. 7:57-66