

최신 기술동향

한국생명공학연구원 시스템미생물연구센터 윤성호 ● moncher@kribb.re.kr

1. Phenotype Microarray (PM) Technology

Phenotype MicroArray (PM)는 한 유기체의 수천개 cellular phenotype을 정성적, 정량적으로 한꺼번에 측정할 수 기술로서, 미생물 동정 kit로 유명한 Biolog사에서 개발되었다. DNA microarray 개발로 인해 transcriptomics가, 2D GEL과 mass spectrometry로 인해 proteomics가 등장하였다 하면, PM은 phenomics를 가능하게 한다. 세포에 외부자극을 주었을 때, DNA microarray와 proteomics 기술은 세포 내 유전자와 단백질의 발현패턴을 관찰하여 genetic regulation에 대한 정보를 제공하고 세포의 거동을 추정하지만, PM은 세포의 거동 자체를 관찰하게 한다.

PM 실험은 크게 PM microplates, incubation chamber, 분석 프로그램의 장비를 필요로 한다 (그림). PM microplate는 서로 다른 화학물질이 각 well에 coating되어 있는 96 well plate이다.

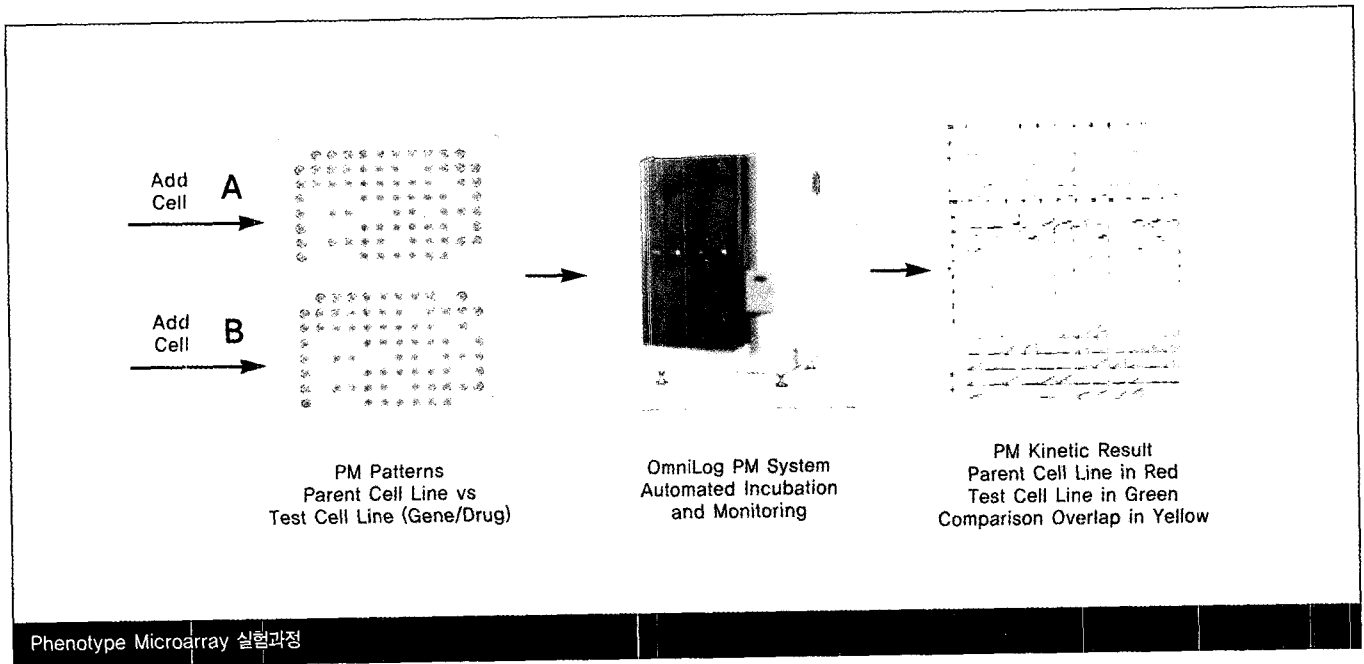
예를 들어 대장균 실험에서는 모두 20종류의 PM microplate 들이 사용되는데, 1,2번 plate는 다양한 종류의 탄소원 (e.g. glucose, succinic acid, glycerol)이, 3번 plate에는 질소원 (e.g. ammonia, glutamic acid), 4번 plate에는 인, 황 등이 포함되어 있으며, 9번 plate에는 다양한 농도의 salt로 인한 삼투압, 10번 plate에는 서로 다른 pH 환경을 제공한다. 또한 11~20번 plate에는 다양한 종류의 항생제, inhibitor등이 여러 농도로 포함되어 있어 균주의 항생제 내성 등을 관찰할 수 있다.

배양액에 포함된 tetrazolium dye는 세포호흡 과정에서 환원되어 무색에서 보라색으로 변하게 되며 세포성장시간에 따라 colorimeter로 정량하게 된다. OmniLog라는 incubator겸 detector 장비 안에 PM microplate 들이 장착되어 세포 성장 시간에 따른 색깔 변화가 기록되고, 분석 프로그램을 이용하여 각 well마다 세포 성장 곡

선을 그릴 수 있다. OmniLog system은 40개 이상의 PM microplate가 장착될 수 있어 한 균주당 20개의 96 well plate 씩, 즉, 두 균주 (보통 비교균주와 실험균주)를 한번에 실험할 수 있다. 두 균주의 세포성장곡선을 비교하기 위해 보통 비교균주의 성장곡선을 빨간색으로 처리하고 실험균주의 성장곡선을 녹색으로 처리하여 두 이미지를 합치게 되는데, 이는 spotting 방식의 DNA microarray 이미지를 연상시킨다. 즉, 세포성장곡선면적 중 겹치는 부분은 노란색을, 비교균주가 더 자란 부분은 빨간색, 실험균주가 더 자란 부분은 녹색이 된다.

2. 사용유기

미국 Biolog사의 한국 파트너인 인성 크로마텍(주)에서 국내에 PM 기술을 보급하기 위해 2005년 봄에 OmniLog 기계를 한국생명공학연구원 에 세달 정도 전시하였었다. 이때가 마침



Biolog사의 Phenotype Microarray (PM) Technology

우리 실험실에서 *E. coli* B strain의 genome sequencing을 하던 중이었고 관련된 functional study도 계획 중이었던 터라, *E. coli* B strain과 *E. coli* K-12의 phenotype을 비교 실험할 수 있었다. 처음에는 균주를 키워 96 well plate에 점점만 하는 간단한 실험이라 생각해서 인성 크로마텍에서 제공한 프로토콜대로 실험을 하였는데 예상과는 전혀 다른 엉뚱한 실험결과를 얻었다.

이유는 20개 microplate에는 서로 다른 화학 물질의 사용여부를 측정하기 위해서 서로 다른 점종액을 사용해야 하고 그에 따른 점종방식도 달라야 하는데 우리가 제공받은 프로토콜은 너무나도 간단하였다. 따라서 우리는 PM기술을 개발한 Bochner 박사와 여러 번의 이메일 교환을 통해 구체적인 실험방법을 얻게 되었고 PM 실험을 성공리에 수행할 수 있었다. 우리가 실험한 PM data는 BioLog에서 분석해 주지 않아 BioLog에서 제공한 분석 프로그램을 이용하였는데, 프로그램 인터페이스와 사용방법이 다소 조잡하긴 하지만 PM 분석에는 충분하였다. 모두 5번의 반복 실험을 하였고 그 중 4번의 실험 결과는 매우 유사하였다.

PM 실험에서 *E. coli* B와 K-12의 차이점은 많은 경우 두 균주의 서열 차이로 설명할 수 있었으며 현재 논문작성 중이다. 물론 많은 논문을 읽고 생물정보학적 유전자 분석 작업이 필요하지만, DNA microarray 실험 분석보다는 보다 직관적인 해석이 가능하였다. 보통 DNA microarray 실험은 너무나도 방대한 유전자 발현정보와 유전자들간의 상호연관성, 그리고 그로부터 phenotype을 유추해야 하기 때문에 결과를 분석하다보면 그야말로 늪에 빠진다는 느낌이 강했는데, PM 실험은 phenotype을 알고, 관련된 유전자들을 찾아 나가는 식으로 분석이

진행되어 보다 체계적인 분석이 가능하였다.

본인이 알기로 현재 국내에서는 OmniLog를 구매할 곳이 없어 PM 실험을 하기 위해서는 미국 Biolog사에 균주를 보내 데이터를 받는 방법 밖에는 없다. 현재 PM 기술은 호기성 박테리아와 곰팡이류의 몇몇 균주들에만 적용될 수 있으며, 혐기성 박테리아 및 mammalian cell도 개발 중이라 하니 자신이 실험할 균주의 PM 실험 가능여부를 미리 확인하여야 할 것이다. 현재 PM 기술은 주로 유전자 조작된 균주의 확인 및 phenotype 분석에 이용되고 있으나, 점차 신약물질의 성능평가와 독성 실험, 생산 배지 개발 등 많은 분야에 적용되리라 예상된다.

Biolog Phenotype MicroArrays™ Technology that opens up the cell

Metabolism and Gene Function

- Functional genomics
- Metabolic pathway analysis and regulation

Drug Discovery and Toxicology

- On-target and off-target effects
- Mechanism of action (MOA)
- Structure activity relationships (SARS)

Bioprocess Improvement

- Cell culture and media optimization
- Quality control of cell lines

Phenotype MicroArray™ Patterns

OmniLog® PM Systems

Comparison of Kinetic Phenotypes



서울시 양천구 신정 2동 89-106 (우)158-849 (TEL) 02-2644-1991 (FAX) 02-2644-1996 / 02-2644-2478
 [대전사무소] TEL)042-822-2944 FAX)042-822-2945 [대구사무소] TEL)053-951-6414 FAX)053-951-6415
 [부산사무소] TEL)051-331-0795 FAX)051-331-0796 Homepage: www.insung.net e-mail: is@insung.net