

최신 연구동향 ①

합성 생물학 연구를 위한 기반 기술로서의 단세포 유전체학 (single cell genomics)의 최신 동향과 고찰



연세대학교 방두희 교수

1. 개요

최근 동물 세포에 기반한 합성 생물학의 플랫폼 기술들을 적용하여, 동물 세포 유전체의 원하는 유전자를 엔지니어링 하거나, 유전자 회로를 조작하는 연구가 활발하게 진행되고 있다. 합성 생물학 기술에 근간한 동물 세포 유전체의 서열을 바꾸기 위해서는, 세포의 유전체 형을 정밀하게 단세포 수준에서 분석하는 것이 필수적인 요소기술이다. 따라서 본 연구동향에서는 단세포 유전체학의 최신 동향을 기술하고자 한다.

세포는 유전 정보를 담고 있는 생물의 생명작용의 기본적이며 핵심적인 단위체이다. 인간은 단일 세포로부터 시작하여 세포가 다양한 형태로 분화함으로써 인체를 구성하는데, 이를 위해서는 수천 번의 분화 과정을 거친다. 이러한 세포 분화 과정 중 DNA 복제 과정에서 유전적 변이가 생길 수 있어 세포 분화를 거칠 때 마다 낮은 확률로 유전적 변이가 생길 수 있다.

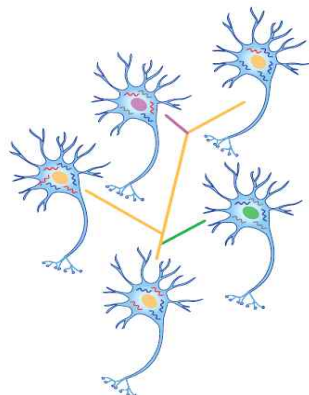


그림 출처 : Brian Owens, 'Genomics: The single life', *Nature*, 2012

그렇기 때문에 세포분화를 거치면서 동일한 세포로부터 분화된 세포들이라도 동질성 세포가 아니고 세포 분화 동안 다양한 유전 변이를 가지는 개별 세포로 분화를 하게 된다. 이러한 유전적 변이를 지니는 세포의 수가 축적이 될 경우 암이나 노화, 신체기능의 장애와 같은 다양한 형태의 질환으로 나타날 수 있다. 그러나 이러한 질환과 관련된 유전정보는 수많은 세포들이 가지고 있는 각각의 서로 다른 수많은 유전정보에 가려져 있다. 'Single cell genomics'의 경우 서로 다른 고유한 유전정보를 가지는 세포의 개별적인 분석을 수행하여, 개별 세포에 대한 생물학적 정보를 얻어내어 세포군에서 생길 수 있는 세포 간 다양성으로 인한 생물학적인 정보의 모호함을 극복하고 이를 통해 질환과의 연관성, 세포의 분화과정 및 유전자와 생명작용과의 연계를 알아낼 수 있다.

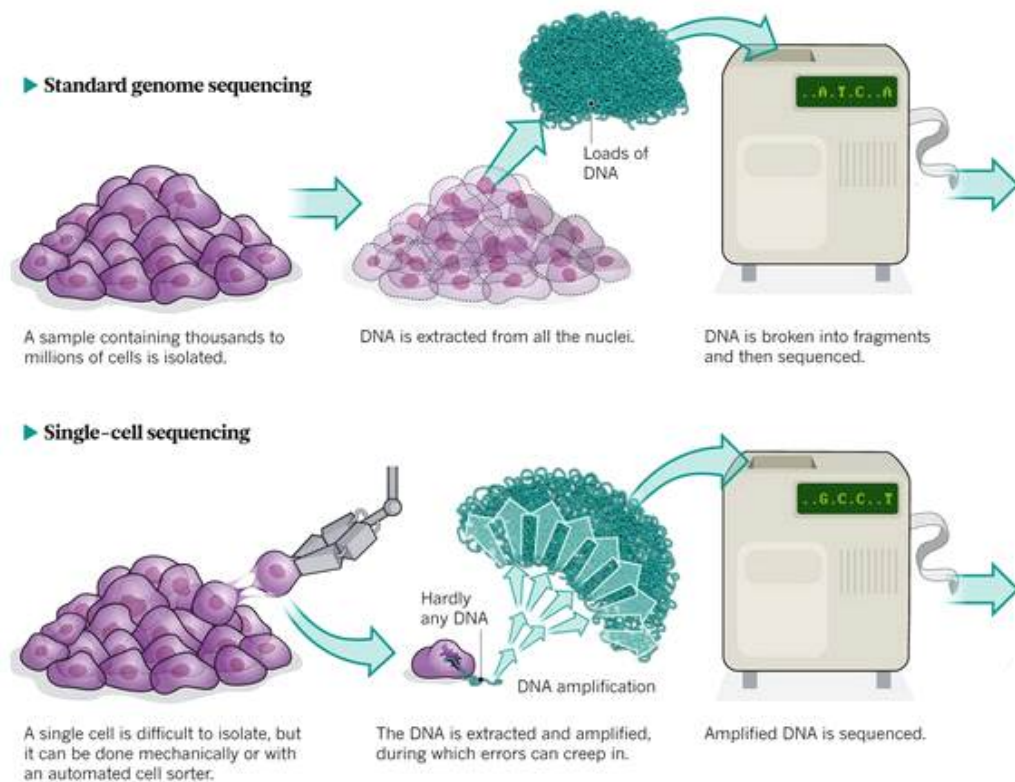


그림 출처 : James Eberwine, 'The promise of single-cell sequencing', *Nature Method*, 2014

단세포 유전체학을 위해서는 다음과 같은 기반 기술이 필요하다.

차세대 염기서열 분석법 (NGS:Next-Generation Sequencing): 염기서열 분석은 동시에 많은 수의 염기서열 분석이 불가능하다는 기존의 염기서열 분석 방법의 한계를 극복한 기술임과 동시에 수십억의 염기서열 분석이 가능하여 한 번에 많은 양의 유전정

보를 얻어낼 수 있는 기술이다.

단일 세포 분리 기술: 세포군 단위의 조직을 기반으로 한 기존 연구와 달리, 단일 세포를 분리해 내어 사용하는 것이 'single cell genomics'의 핵심기술 중 하나이다. 단일 세포를 분리해 내는 방법으로는 유전적 변이에 의한 세포의 표현 형질의 차이에 따라 형광으로 분리를 해내는 세포 자동해석 분리장치 (FACS: Fluorescence activated cell sorter)를 사용한 방법, 레이저와 현미경을 통해 특정 세포만 분리를 해내는 현미해부 (micro-dissection)와 유량 조절을 통해서 분리 하여 정량적으로 단일 세포를 분리해 내는 미세유체공학 (microfluidics) 기술 등이 있다.

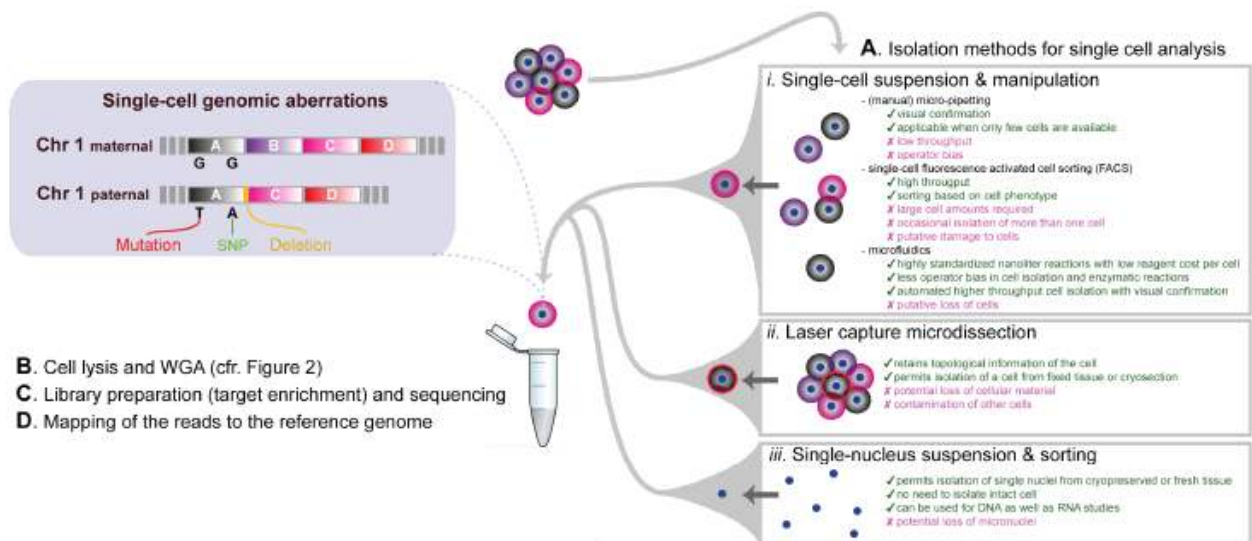


그림 출처 : Iain C. Macaulay, 'Single Cell Genomics : Advances and Future Perspectives', *Plos Genetics*, 2014

2. 연구의 필요성

기존의 질병과 유전적 변이의 상관관계를 밝혀내는 연구들의 경우 많은 세포로 이루어진 조직단위에서 유전적 변이를 찾아내는 방향으로 이루어졌다. 모든 세포는 동일한 유전적 형태를 가진다는 전제하에 이루어 졌으나, 최근 이러한 가정이 잘못 되었으며 조직안의 대다수의 세포는 질환과 관련이 없고 몇몇 특정 세포가 가지고 있는 변이가 질환과 관련이 있다는 것이 밝혀졌다. 따라서 정확한 질병의 진단과 치료에 single cell genomics를 기반으로 한 접근 방법의 필요성이 대두되었다. Single cell genomics는 암과 세포의 유전자 변이와 연관성은 물론, 숨어있는 희귀한 유전자 변이로 인해 발생하는 질병과의 연결고리를 세포 단위에서 관찰하여 명확하게 밝힘으로써 세포의 분화 과정에 대한 연구 및 정확한 질병 원인 규명에 따른 치료약 개발 등에 큰 역할을 할 수 있다.

3. 연구현황

최근, Single cell genomics는 세포에 생긴 유전 변이로 인한 질병과 세포 분화에 따른 변이의 전개 양상을 밝히고 있으며, 인간의 생애 주기 동안 유전체의 변화와 관련된 놀라운 발견들이 single cell genomics 기술이 소개 된 이후로 이루어져 왔다. 또한, Single cell을 이용한 게놈 스케일의 분석을 통하여 인간 염색체의 감수분열 과정에서 일어나는 염색체 이형성을 알아내고 있다. 최근에는 암의 발달 및 진행 과정에 대한 연구를 위해 암 세포를 단일 세포 단계로 분리한 후, 분리 된 단일 세포의 염기서열 분석을 수행하여, 이 과정에서 방광암, 신장암, 간암 등에서 암을 유발하는 특정 유전자 변이들도 발견을 할 수 있었다. DNA 마이크로어레이, SNP-어레이, 차세대 염기서열 분석법과 같은 시퀀싱 분야와 생물정보학 분야가 발전을 하면서 다양한 형태의 single cell 분석이 이루어졌다. 이러한, Single-cell genomics의 등장은 임상분야에서 최첨단 응용이 가능해 졌는데, 그 예로, single cell 기술을 적용하여 체외수정을 통해 착상을 유도하는 시험관아기기술의 적합성을 판단하는 기준 설정이 가능해지고 있다.

하지만, 현재 차세대염기서열 분석법을 위해서는 일정 양 이상의 DNA양이 필요로 하며, 인간의 cell 1개의 경우 평균적으로 7pg의 DNA양을 가지고 있으므로 시퀀싱 분석을 위해서는 PCR (Polymerase chain reaction)이나 MDA (Multiple displacement amplification)와 같은 DNA 증폭 방법으로 DNA 양을 증폭 하는 과정이 불가피하다는 어려운 점이 있다. 따라서 단일 세포로부터 시작하여 순수하게 고유한 단일 세포의 유전체 정보를 얻어내는 것은 불가능하고 어느 정도 데이터의 편향성이 포함될 가능성이 있다. 특히 유전자의 발현정도에 따라 나타나는 단위반복 변이의 경우에는 DNA 증폭 방법에 따라 결과가 매우 다르게 나타나기 때문에 적절한 방법을 적용하는 것이 세포의 변이를 찾아내는데 매우 중요하다.

이러한, Single cell genomics 분야에서 중요한 쟁점 중 하나는 다양한 세포가 뒤섞인 조직을 이용한 연구를 기반으로 만들어진 시퀀싱 분석 프로그램을 single cell genomics에 맞게 개발하는 것이다. 차세대염기서열 분석법과 같은 많은 시퀀싱 데이터를 만들어 낼 수 있는 기술과 다양한 유전학을 위한 프로그램들이 비약적인 발전을 이루면서 시퀀스 데이터의 높은 GC% 등과 같은 극단적인 구성요소로 인해 사용 불가능 하였던 시퀀스데이터들에 대해 프로그래밍 적으로 보완하는 것이 가능해지고 있다. 또한 사용가능한 시퀀싱 데이터가 많아지면서 발견된 변이에 대한 정확도와 변이를 찾아내는 분해능을 높여 주었다. 또한, single cell genomics가 적용될 수 있는 세포 형태 등을 알아내기 위해 DNA의 전사 정도의 특징을 통하여 세포의 형태나 세포의 상태를 분류하는 분석 프로그램이 개발되고 있다.

그리고 이렇게 개발된 프로그램들의 역량을 보기위하여 단일 세포 분석에서 나온 데이터에 대한 확인 및 보증 작업, 최종사용자들을 위한 번역작업과 더불어 기술적 문제를 해결하기 위한 분석 프로그램들의 업데이트가 꾸준히 이루어지고 있다. 또한 여러 single cell genomics 분야에 적용하기 위해 다양한 분석 프로그램이 손쉽게 사용될 수 있도록 배포되고 있다.

현재 개발 중인 Single cell genomics 관련 기술은 다음과 같다. 단일 세포의 편향된 데이터가 포함되지 않도록 시퀀스 데이터를 얻는 기술, 단일 세포에서 단백질 활성의 관찰을 가능하게 하는 바이오센서 개발, 그리고 뇌의 여러 개별 단일 세포 단위에서 전기적 신호에 따른 정보를 동시에 읽어 들일 수 있는 기술 등의 개발이 이루어지고 있는 상황이다. 임상적으로도 single cell genomics를 도입한 기술을 개발 중인데, 암이나 결핵 환자의 면역 세포 상태를 통한 조기 진단 플랫폼 개발과 서로 다른 사람의 뇌, 심장, 후각, 태반 등 다양한 세포를 이용한 단일 세포 분석을 통해 각 인체 장기별로 세포들이 갖는 유전자의 발현 정도를 알아보는 프로젝트 등이 진행 중에 있다.

4. 고찰

최근에 Single cell genomics를 통해서 기존의 '한 개인의 모든 세포는 동질한 유전체를 지닌다.'라는 전제조건이 잘못되었음이 최근에 밝혀지고 있음에 따라 질병 및 인체 내에서 일어나는 다양한 생명작용에 대한 정밀하고 정확한 연관관계의 규명 및 이해를 위해서는 단일 세포 단계의 연구가 필요한 단계이고 더 다양하고 많은 데이터의 축적이 필요하다.

기존의 1000 genome project와 같이 single cell project를 통해서 개개인의 다양한 종류의 조직에서 다양한 유전체를 지니는 세포의 전적, 생물학적 정보를 얻어내어 인간 전체에서 일어나는 상호작용들을 알아내고, 개개인의 단일세포를 이용하여 인간이 가지고 있는 모든 유전자와 질병이나 생명작용과의 연관성에 관한 통합 데이터 유전지도를 통해 개인의 잠재적인 질환의 진단을 통한 예방과 치료를 할 수 있고 개별 유전자의 변이와 질병과의 연관성에 대한 윤곽을 잡을 수 있는 큰 기틀을 마련할 수 있을 것으로 기대 된다.

결론적으로, 최근 몇 년간 유전학 분야에서 전 세계적으로 많은 기술과 방법이 개발이 되었고 이에 따라 단일 세포 단위에서 유전체와 전사체에 대한 정확하고 다양한 분석이 가능하게 되었다. 이러한 단세포 유전체학의 다양한 기반 기술들은 향후 합성 생물학 연구에도 꾸준히 도입될 것으로 기대된다.