Bio-CAD 를 이용한 지능형 바이오시스템 설계

한국생명공학연구원 바이오합성연구센터
윤성호 (https://sybirg.kribb.re.kr/)

1. 합성생물학과 디자인

최근 유전체 해독 기술과 유전자 합성 기술이 급속히 발전하면서 다양한 생체부품의 확보가 용이해지고, 유전체 수준에서의 유전자 조작이 가능해 짐에 따라, 인공생명체를 만들어 고부가가치의 의약용 단백질이나 백신 등을 개발하거나, 연료, 플라스틱 등의 기존석유화학제품을 생물학적으로 만들려고 하는 합성생물학(Synthetic Biology)이 크게 주목받고 있다. 합성생물학이 기존 생물공학(biotechnology)기법과 구분되는 차이점은 모델링, 시뮬레이션 기반의 디자인, 구조화 (modularization), 규격화 (standardization) 등의 보편적인 공학적(engineering) 기법을 새로운 생명체를 만들거나 기존의 생명체를 재설계(re-engineered)하는데 적용함으로써, 유용화학물질, 연료, 의약품, 진단키트 등을 보다 효율적으로 개발 및 생산할 수 있도록 하는 데 있다. 하지만, 컴퓨터를 활용한 디자인(computer aided design, CAD)을 적용한 생물공정개발은 전세계적으로 개발 초기 단계라 할 수 있다. 본 기고에서는 합성생물학에서의 CAD 기술(Bio-CAD)에 대한 최근 연구개발 동향과 이를 이용한 지능형 시스템 설계 전략에 대해 고찰하고자 한다.

2. Bio-CAD 를 이용한 합성 유기체 개발 과정

합성생물학의 중요한 특징 중 하나는 만들어질 유기체를 컴퓨터 상에서 미리 모델링하고 그 결과를 가상 시뮬레이션함으로써 최적의 생물시스템을 디자인한다는 것이다. 이러한 디자인 개념은 기존 생물학이나 생물공학에서는 거의 활용되지 않았던 것이지만, 근래 들어 유전자 합성과 유전체 조작이 용이해 지고, 다양한 분자조절 기구가 개발됨에 따라 점점 그 활용 가능성이 증대되고 있다. 모델링과 시뮬레이션은 전자공학이나 토목공학에서 이용되는 것처럼 실제로 시스템을 만들기 전에 그 시스템의 거동을 미리 예측하기 위해 이용된다. 비록, 생물시스템의 엄청난 복잡성으로 인해 전기회로 구성이나 교량건축에서처럼 정확할 수는 없지만, 모델링과 시뮬레이션은 적어도 미생물과 같은 단일 세포 시스템에 있어서는 성공적으로 이용되고 있다. 공학에서의 일반적인 제품개발 주기를 생명시스템 개발에 적용하면 **그림 1** 로 요약될 수 있다 [1]. 주어진 목적(objective)과 사양(specification)에 따라 유전자회로나 대사회로를 디자인하고 필요한 부품은 표준화된 부품 데이터베이스로부터 가져와 회로를 모델링하고, 구성된 회로를 가상으로 시뮬레이션함으로써 그 특성을 미리 예측하여 최적의 회로를 디자인한다. 디자인된 회로는 유전자합성이나 유전자조작을 통해 구현하고 실제 실험을 통해 처음에 의도한 목적과 사양을 만족하는 지 테스트하고 잘못된 점은 다시 디자인, 모델링, 시뮬레이션, 유전자합성 주기를 거쳐 보완한다.

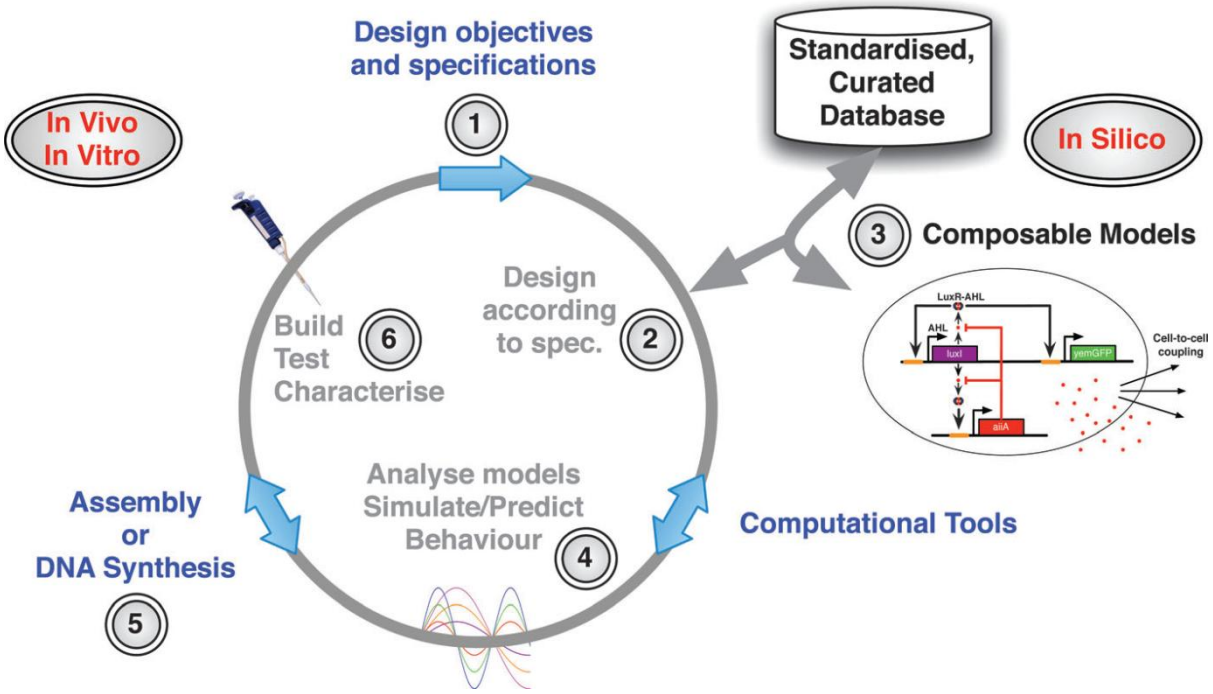


그림 1. Bio-CAD 를 이용한 합성 유기체 개발 과정. (1) 목적(objective)과 사양(specification)이 결정되면 (2) 이를 만족시킬 수 있는 유전자 회로들이 디자인된다. 표준화된 부품 데이터베이스로부터 회로 구성에 필요한 부품들과 그것들의 동특성 정보를 기반으로 하여 (3) 컴퓨터 상에서 회로를 구성한다. (4) 구성된 회로를 모델링하고 시뮬레이션함으로써 주어진 사양에 가장 잘 부합되는 회로를 선택하고, 이를 최적화시킴으로써 회로디자인을 완성시킨다. (5) 결정된 회로디자인은 유전자를 합성하거나 조합함으로써 실제로 유전자 회로를 만들고 숙주세포에 집어넣거나, 숙주세포의 유전체를 조작하여 생물시스템을 만든다. (6) 만들어진 생물시스템의 성능을 측정하고 미비점이 있다면 디자인을 개량하고 다시 유전자 합성과정을 거쳐 생물시스템을 완성시킨다. (image from [1])

3. Bio-CAD 를 이용한 유전자 회로 디자인 (Bio-CAD for synthetic genetic circuits)

지난 13 여년간의 합성생물학 연구에서 만들어진 생체시스템은 주로 디자인된 유전자 회로를 미생물에 집어넣어 특정한 행동이나 성질을 가지도록 개발되었다. 그 예로서 재설계된 미생물이 주위 균체농도를 인식하여 공간패턴 (spatial pattern)을 만들거나, 빛을 감지할 수 있게 하고, UV 에 반응하여 biofilm 을 만들거나, 자살 혹은 암세포를 죽일 수 있도록 프로그래밍 할 수 있다 [2]. 합성된 유전자 회로는 기본적으로 논리게이트(logic gate)이며, 외부신호에 따른 합성회로의 on/off 만을 구현한다. 유전자 발현을 제어(transcriptional control)하기 위한 유전자 회로는 입·출력으로 사용되는 activator, repressor 등의 전자조절인자(transcription factor)들이 붙을 수 있는 DNA binding site 만 동일하게 해 주면 쉽게 여러 종류의 유전자 회로를 연결시킬 수 있다. 또한 합성회로의 on/off 만을 조절하기 때문에 합성회로가 숙주세포에서 작동되었을 경우 숙주세포 내의 전체 대사회로나 조절회로에 미치는 영향을 고려하지 않고, 넣어 줄 합성회로만을 모델링/시뮬레이션하여 그 성능을 테스트할 수 있다 (**그림 2**). 최근 5 년간 Bio-CAD 라는 제목으로 나온 프로그램들은 주로 부품목록에서 부품을 가져오고 회로를 구성하는 과정을 가시화하고 용이하게 해 주는 용도이며 미분방정식으로 표현된 각 부품의 거동을 시뮬레이션함으로써 회로의 입출력을 예측할 수 있게 한다 [3].

(A) **(B)**

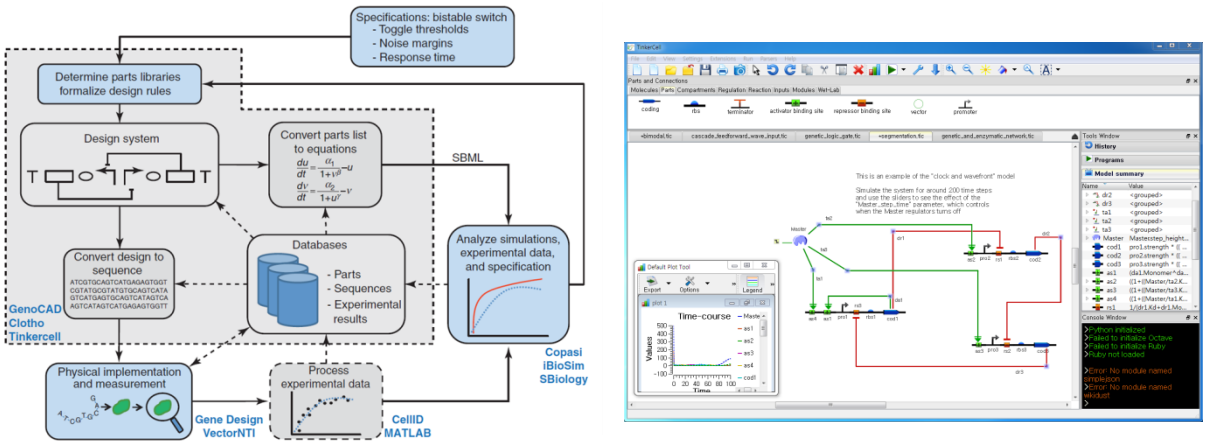
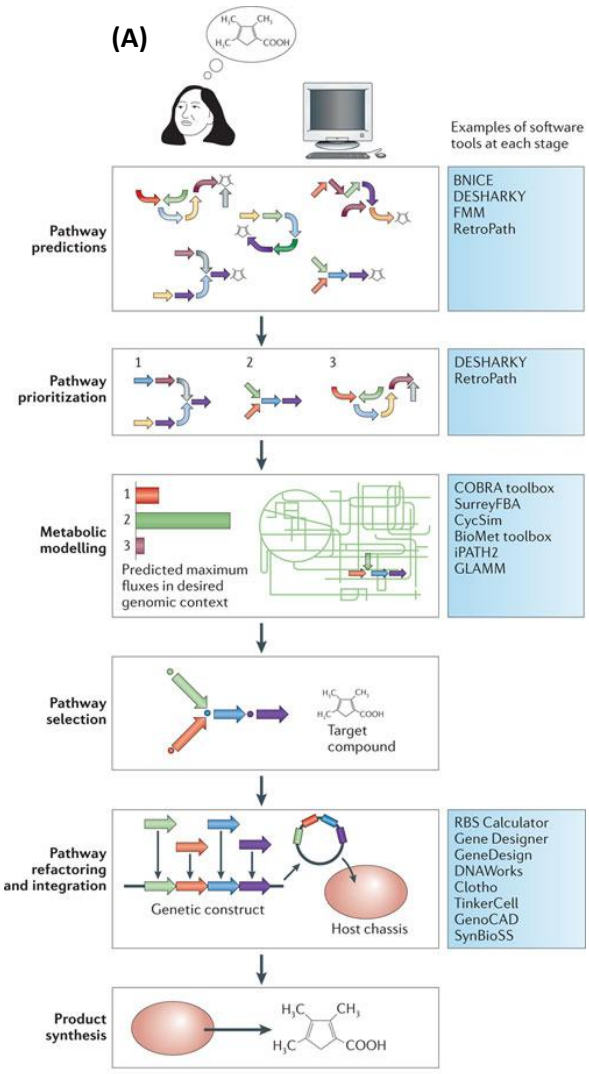


그림 2. 유전자 회로 디자인. (**A**) Genetic design automation (GDA) 개략도 및 관련 소프트웨어 (파란색 글자) (image from [3]). 지금까지의 Bio-CAD 프로그램은 주로 회색부분을 수행하고 있으며, 그 예로 (**B**) TinkerCell[4]이 있다 (screen capture).

4. Bio-CAD 를 이용한 대사회로 디자인 (Bio-CAD for synthetic biochemical pathways)

유전자회로와는 달리, 대사회로의 입·출력에 해당하는 대사물(metabolite)은 대부분 직접적으로 유전자 발현 조절에 관여하지 않기 때문에, 상이한 대사경로의 연결 및 대사흐름의 제어(metabolic control)는 훨씬 복잡한 조절 메카니즘을 요구하게 된다 [5]. 따라서 종래의 대사공학에서는 대사경로상의 효소의 발현 수준을 제어하기 보다는 특정 효소에 관련된 유전자를 과발현(over-expression)하거나 없애버리는 (knock-out) 방법을 주로 사용하였다. 하지만 이러한 방법은 대부분의 경우 전체 대사과정의 불균형을 가져와 예상치 못한 대사물의 과량축적이나 균체성장 저하 등의 부작용을 야기시킨다 [6]. 따라서 세포에 유독한 (toxic) 중간 대사물의 축적을 막고 목적 대사물로의 대사흐름 (metabolic flux)을 최대화하기 위해서는 목적 대사경로상의 효소들의 발현량을 균형있게 맞추어야 한다. 일반적으로 의약용 단백질과 같은 외래 단백질을 과량발현하기 위해서는 복잡한 유전자 발현 조절이 요구되지는 않지만, 외래 대사산물을 만들기 위해서는 많은 외래 유전자와 숙주의 유전자들로 구성된 대사회로를 재구성해야 하고 이들의 효소 발현 정도를 정확히 제어하여야 목적 화학물질로의 대사흐름을 최적화할 수 있다.

따라서 합성대사회로를 디자인하는 것은 일반적인 유전자회로 디자인보다 훨씬 어렵고 많은 기술적 난제를 해결해야 하기 때문에 그 과정 또한 복잡하다. 목적물질이 정해지면 이를 생합성할 수 있는 생합성 경로를 대사회로 데이터베이스로부터 구성하고, 각 대사회로들을 숙주의 대사네트워크에 집어넣었을 시의 숙주의 생산능을 가상으로 시뮬레이션함으로써 가장 좋은 생산능을 가져올 생합성 경로를 선택한다 (**그림 3A**) [7]. 목적물을 대량생산하기 위해서는 도입할 대사회로 뿐만 아니라 숙주의 전체 대사네트워크도 최적화시켜 하며, 가상시뮬레이션과 오믹스 분석을 통해 제거/증폭시킬 유전자를 찾는다 (**그림 3B**) [8].



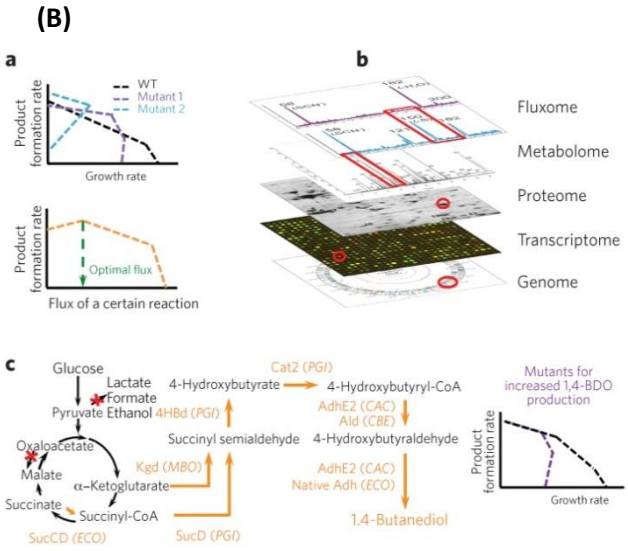


그림 3. 대사 회로 디자인. (**A**) 신규 대사경로를 도입한 균주 최적화 과정과 관련 소프트웨어 (image from [7]) (**B**) 생산균주의 대사네트워크 최적화 과정. 생산균주의 대사네트워크가 목적생산물을 최대로 생산하도록 변형시키기 위해 제거·증폭시킬 유전자를 찾는다. 이를 위해 최적화 기법을 이용한 가상 시뮬레이션을 수행하고 (a) 다중 오믹스 정보를 분석한다 (b). 그 예로서 대사회로를 조작하면 (X: 제거, →: 증폭) 대장균에서 1,4-Butanediol 을 과량 생산할 수 있다. (image from [8])

5. 지능형 바이오시스템 설계를 위한 Bio-CAD 개발 전략

본문에서 지능형 바이오시스템을 디자인하기 위해 CAD 기술이 어떻게 이용될 수 있고, 발전되고 있는가를 간단히 살펴보았다. 합성생물학이 기존 생물공학과 크게 차별화되는 것 중 하나는 생명시스템을 컴퓨터 상에서 디자인하고 테스트하여 시행착오를 최소화시킬 수 있다는 것이다. 유기체를 디자인할 수 있다는 것은 변형되거나 새로 만들어질 유기체가 어떻게 거동할 수 있는 지를 실제로 만들기 전에 알 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 Bio-CAD 는 단순히 합성회로를 사용자가 손쉽게 구성할 수 있는 인터페이스를 제공하는 것이 아니라, 구성된 합성회로가 실제로 구현되었을 경우, 합성유기체에 어떤 영향을 미치는가 하는 예측기술이 그 핵심을 이룬다. 지금까지 합성생물학에서 주로 만들어온 합성회로는 유전자회로의 on/off 를 구현하는 간단한 논리게이트라 할 수 있으며, 이를 위한 Bio-CAD 프로그램들도 간단한 그래픽 인터페이스라 할 수 있다.

하지만, 재생 가능한 자원인 바이오매스로부터 석유자원을 대체할 수 있도록 바이오 연료(biofuel)나 화학물질(biorefinery)을 대량생산하기 위해서는 생체내 조절/대사네트워크를 최적화시켜야 한다. 이를 위한 선행 기술로서 반드시 필요한 것은 유전체, 전사체, 단백체, 대사체들이 서로 엄청나게 복잡하게 얽혀 있는 생체 내 네트워크를 모델링하고 시뮬레이션할

수 있는 예측기술이다. 따라서 시스템생물학에서의 성과는 필수적으로 Bio-CAD 기술에 접목되어야 하며 [9, 10], 최근에 나온 전체 시스템 수준에서의 가상세포 연구 [11]는 그 가능성을 증폭시키고 있다. 향후 지능형 바이오시스템 설계를 위해서는 유전체 및 유전체 발현 정보 (다중 오믹스) 처리 기술과 통합 기술, 그리고 이를 기반으로 하는 바이오시스템 네트워크 분석 및 예측기술을 개발하고 이를 Bio-CAD 에 응용하는 연구가 이루어져야 할 것이다 (**그림 4**).

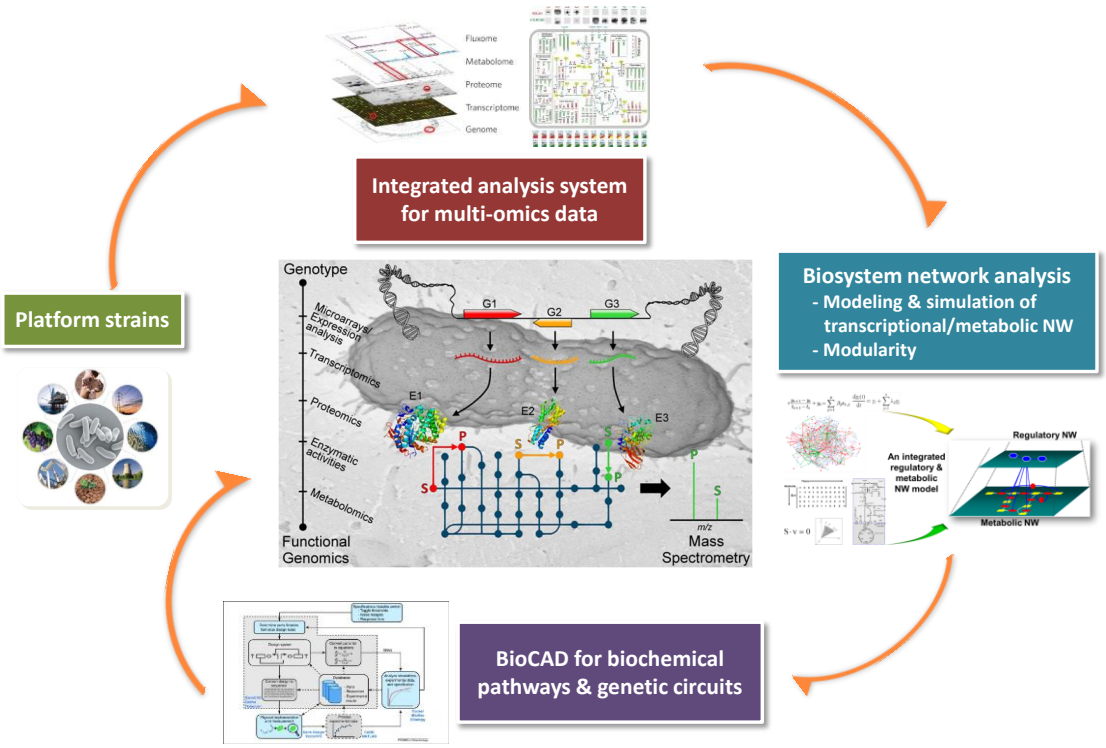


그림 4. 지능형 바이오시스템 정보 분석 및 설계를 위한 Bio-CAD 기술 개발.

(본 기고는 교육과학기술부의 재원으로 (재)바이오합성연구단(글로벌프론티어)의 지원을 받아 수행되었으며 (2011-0031952) 이에 감사드립니다.)

[참고문헌]

1. MacDonald JT, Barnes C, Kitney RI, Freemont PS, Stan GB: **Computational design approaches and tools for synthetic biology**. *Integrative biology : quantitative biosciences from nano to macro* 2011, **3**(2):97-108.
2. Voigt CA: **Genetic parts to program bacteria**. *Curr Opin Biotechnol* 2006, **17**(5):548-557.
3. Lux MW, Bramlett BW, Ball DA, Peccoud J: **Genetic design automation: engineering fantasy or scientific renewal?** *Trends in biotechnology* 2012, **30**(2):120-126.
4. Chandran D, Bergmann FT, Sauro HM: **TinkerCell: modular CAD tool for synthetic biology**. *Journal of biological engineering* 2009, **3**:19.
5. Michalodimitrakis K, Isalan M: **Engineering prokaryotic gene circuits**. *FEMS Microbiol Rev* 2009, **33**(1):27-37.
6. Keasling JD: **Synthetic biology for synthetic chemistry**. *ACS Chem Biol* 2008, **3**(1):64-76.

7. Medema MH, van Raaphorst R, Takano E, Breitling R: **Computational tools for the synthetic design of biochemical pathways**. *Nature reviews Microbiology* 2012, **10**(3):191-202.
8. Lee JW, Na D, Park JM, Lee J, Choi S, Lee SY: **Systems metabolic engineering of microorganisms for natural and non-natural chemicals**. *Nature chemical biology* 2012, **8**(6):536-546.
9. Mukhopadhyay A, Redding AM, Rutherford BJ, Keasling JD: **Importance of systems biology in engineering microbes for biofuel production**. *Current opinion in biotechnology* 2008, **19**(3):228-234.
10. Smolke CD, Silver PA: **Informing biological design by integration of systems and synthetic biology**. *Cell* 2011, **144**(6):855-859.
11. Karr JR, Sanghvi JC, Macklin DN, Gutschow MV, Jacobs JM, Bolival B, Jr., Assad-Garcia N, Glass JI, Covert MW: **A whole-cell computational model predicts phenotype from genotype**. *Cell* 2012, **150**(2):389-401.