

고고학에서 고대DNA분석기술의 응용

강일, 허동수

경애하는 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《과학기술부문에서 첨단돌파전을 힘있게 벌려야 하겠습니까.》

최근에 첨단과학기술의 빠른 발전과 함께 고고학의 연구방법에서도 커다란 변화가 일어나고있다. 실례로 고대인류와 고동식물잔해의 유전정보를 식별분류하여 인류의 진화와 이동을 비롯한 인류진화발전사과정, 초기문명과 원시사회의 기술, 사회적구조와 과거사람들이 리용하던 식량, 농업의 기원과 확산, 지난 시기의 병과 기후에 대하여 연구하고있다.[2, 6, 9-14]

고고학자들은 발굴당시에 수집한 머리칼, 피흔적, 체액, 유물과 같은 시료들에 보존되어있는 고대DNA의 분석자료를 많이 리용한다. 그리고 고동물학자들은 털코끼리와 모아와 같은 독특한 종들의 연구 그리고 그 마리수가 기후변화와 사람들의 사냥활동에 의존되는 들소와 같은 동물집단들에서 시대에 따르는 유전적다양성변화들을 추적하기 위한 연구 등에 동물화석들에서 얻은 고대DNA를 리용한다.

고고학에서 고대DNA에 대한 최초의 연구는 동물피부와 미이라표본으로부터 얻은 짧은 DNA단편을 클론화하는 방법으로 진행하였는데 이 연구는 미량의 고대시료로부터 유전 물질을 얻을수 있는 가능성을 주었다. 고고학자들은 1984년에 이미 사멸된 한종의 남아프리카 얼룩말에서 사립체DNA(mtDNA)를 추출하고 현대생물DNA와의 비교연구를 진행하여 고대 DNA를 리용할수 있다는것을 론증하였으며 중신세(지금으로부터 20Ma~17Ma) 목란속 (*Magnolia*) 식물화석에서 얻은 엽록체DNA의 *rbcl*배렬, 백악기(지금으로부터 약 135Ma~120Ma) 공룡골격에서 얻은 DNA와 호박속의 DNA 등에 대해서도 연구하였다.[15]

그후 과학자들은 1997년에 도이칠란드에서 발굴한 약 5만년전의 네안데르탈인 (Neanderthal man)화석중에서 사립체DNA단편을 분리하고 세계 각국에서 수집한 1 600건에 달하는 현대사람의 사립체DNA와 비교연구를 한 후 네안데르탈인과 현대유럽인들이 직접적인 계승관계가 없다는것을 증명하였다. 네안데르탈인연구에서의 성공은 고대DNA연구의 과학성을 실증하였을뿐만아니라 고대DNA가 초기 인류의 진화와 이동에 대한 연구에서 중대한 의의를 가진다는것을 보여주었다.[2, 3, 10]

고대시료중에 존재하는 DNA는 오랜 기간 자연조건에서 심한 손상을 받게 되는데 중요한 손상들로서는 다음의 두가지를 들수 있다. 하나는 물작용분해에 의한 염기의 탈아미노화, 탈푸린화, 탈피리미딘화로 생기는 손상이며 다른 하나는 복사선에 의한 산화적손상이나 유리라디칼손상이다. 정상세포에는 효소에 의한 수복물림새가 존재하기때문에 DNA의 안정성이 높은 수준에서 유지되지만 생물이 죽은 다음에는 세포안의 핵산이 분해되기 시작한다. 실례로 물작용분해에 의하여 염기가 없는 부위가 생기고 환경중의 수퍼옥시드라디칼 (O_2^-), 히드록시라디칼($\cdot OH$), 과산화수소(H_2O_2)와 같은 활성산소종들에 의하여 두오리사슬 DNA가 산화되어 고리형태의 단편이 생기며 데옥시리보즈도 산화되어 탄수화물고리단편이 생기게 된다. 이밖에도 고대DNA는 살아있는 세균, 진균과 곤충의 공격을 받을수 있다. 이렇게 고대DNA는 손상을 받기때문에 정확한 고대DNA를 얻을수 없다. 이러한 염기변화는 PCR과정에 부정확한 염기형성(실례로 C→T, G→A 혹은 T→C, A→G)을 초래한다. 여러가지

DNA손상에 의하여 고대DNA단편길이는 보통 100~500bp의 사이에 있으며 제일 긴것이 1 600~1 700bp이다. 그러므로 리상적으로 잘 보존된 고대DNA를 얻을수 있는 고대시료는 보통 언 진흙속시료, 호박, 마른 시체 등으로 제한되어있으며 이러한것들은 보통 미이라나 박물관에 전시된 표본들에서 찾아볼수 있다.

고대DNA를 리용한 분자클론화는 두가지 결함을 가지고있다. 그중 하나는 고대DNA 자체가 장구한 기간 자연의 작용으로 분해되어있고 자체의 클론효률이 매우 낮은것이다. 다른 하나는 클론화후에 분자가 숙주내에서 어떤 추가적인 수식을 받을수 있으므로 실제 고대생물유해의 정보를 반영할수 없는것이다. 그러므로 현재 고대DNA의 분석은 보존성이 비교적 강한 특이적인 단편부분을 증폭하고 염기배열을 결정한 다음 이미 게놈자료기지에 알려진 대응하는 배열자료와 비교분석하는 방법으로 고대시료가 가지고있는 환경특이성과 시료자체의 형태학적특징들을 추리, 판단하는 방법으로 한다.

현재 DNA연구에서 비교적 많이 리용되고있는것은 길이가 363bp인 사립체DNA의 D-루프고가변I구역(Hyper variable segment I, HRV I)이다. 아시아인종연구에서 활용되는것은 이밖에도 5개 효소절단점과 1개의 9bp중복배열이 있다.[7, 11]

고고학자들이 발굴한 시료는 고대인류의 유해들이며 일반적으로는 골격과 이발화석 등인데 시료자체가 굳어진것은 연마기로 갈든가 액체질소로 파괴하여 가루상태로 만든 다음 고대DNA를 추출하고 정제하여야 한다. 표면오염은 시료표면을 1~2mm정도 깎아버린 다음 자외선조임을 하고 차아염소산나트륨으로 깨끗하게 씻는 방법으로 제거할수 있다.

이발은 고대시료중에서 DNA를 분리하는데 많이 리용되는 시료이다. 이발을 실리카겔로 싸고 이뿌리를 절단하여 이발내부에서 시료를 취하면 고대시료자체에 대한 손상과 시료 표면의 오염을 적게 할수 있으며 얻어낸 분말을 직접 DNA추출에 리용할수 있다. 시료 표면처리를 한 다음 액체질소냉동분쇄를 하여 분말을 만들어 DNA를 추출한다.

이발, 골격 등의 시료에는 칼슘이 많이 들어있으므로 보통 EDTA를 써서 칼슘을 제거한 다음 프로테아제 K를 리용하여 세포를 분해시켜 DNA를 추출한다.

DNA를 추출하기 전에 시료의 선풍성변화에 따라 시료중의 고대DNA보존상태를 평가할수 있다. 선풍성변화의 측정은 생물체내에서 단백질이 합성될 때에는 L-형아미노산이 기본으로 리용되지만 단백질대사과정이 정지되었을 때에는(실제로 사망) L-형아미노산이 소실되고 L-형아미노산과 D-형아미노산의 양이 같아지게 된다는 원리에 기초하고있다.

고대DNA의 추출에는 실리카-티오시안산구아니디늄(Silica-GuSCN)법이 많이 리용되는데 이 방법은 티오시안산구아니디늄이 DNA분해효소의 활성을 신속히 저해할뿐아니라 액체분리제로 작용하는 결과 핵산이 산화규소알갱이와 결합하였다가 비교적 높은 온도와 낮은 농도의 염용액에 의하여 세척되는 특성을 리용한것이다.

일부 연구자들은 실리카-티오시안산구아니디늄법을 리용할 때 얻어지는 고대DNA의 양이 적고 일련의 PCR반응억제효과가 커진다고 보고있다. 그러나 PCR억제효과는 프로테아제 K사용후에 이소프로필알콜을 사용하여 PCR억제제들을 침전시키면 제거할수 있다. 구체적인 실험과정에 SDS농도를 조절하거나 시료에 처리하는 EDTA의 농도, 프로테아제 K의 농도와 작용시간을 증가시키거나 시료의 부유온도를 높이고 시간을 늘이는 등 서로 다른 방법을 리용하면 고대DNA를 높은 효율로 얻을수 있다.

고대DNA추출액에는 일반적으로 PCR반응억제제들이 함유되어있으며 그 종류가 매우 다양하고 억제제성분들이 저분자일수도 있다. 이러한 PCR억제제들이 DNA와 함께 침전될수 있으므로 투석제거하는 방법, 단백질의 반응혼합액중에 소혈청단백질(BSA)을 첨가하거나 추출액을 희석하는 방법으로 이러한 종류의 억제제를 완전히 제거하거나 감소시킬수

있다. PCR산물은 2% 아가로즈겔전기영동으로 회수, 정제하고 변성을 진행한 후 자동배열 분석기로 배열을 결정한다. 염기배열을 결정한 다음에는 캠브리지표준배열(Cambridge reference sequence: CRS)[1]과 비교하여 갑작변이위치를 알아내고 그에 따라 반수체형 무리와의 비교를 통하여 정확성을 판정한다. 유전자은행을 통하여 고대인류의 사립체DNA에 존재하는 HRV I 영역 염기배열과의 공통배열을 찾아낼수도 있으며 이러한 배열의 분포 정형을 판단할수도 있다. 분석과정에 얻은 배열과 유사한 단편사이의 비교분석도 진행할수 있고 계통진화수를 작성하여 인종들사이의 상동성비교도 진행할수 있는데 이것은 인류의 기원과 진화연구에서 아주 중요한 자료로 된다. 현재 많이 리용되고있는 염기배열분석 프로그램들은 Bioedit배열분석프로그램, Clustal X상동성분석프로그램, ClusterLW 1.7배열 분석프로그램, Tree view 계통수작성프로그램, Phylip프로그램 등이다.

고고학연구에서 고대DNA연구는 고대시료에서 분리한 사립체DNA를 가지고 진행하는것이 기본으로 되어있다.[4-6] 사립체DNA는 꼬빠수가 많고 중복이 없으며 갑작 변이률이 높고 세포질유전을 하기때문에 모계유전의 특징을 잘 반영한다. 이러한 특징은 고대DNA연구에서 매우 유리하다. 사립체와 염록체DNA는 이미 잘 연구되었지만 이것은 전체 게놈DNA의 력사와 더우기는 근친생물종과 집단유전학적인 문제들을 잘 반영할수 없는 결함도 있다. 핵DNA연구가 비교적 많이 진행된것은 보통염색체와 Y염색체의 짧은 단편중복배열인 STR이다. 이 두가지 DNA의 사본수에서의 차이는 크지만 핵DNA연구에서 주목이 돌려지고있다.

현대인종에 대한 유전자분석에 기초하여 분자수준에서 인류의 기원과 진화를 연구하는것은 중요한 과학적문제이며 현대인에서 얻은 유전자정보는 고대DNA연구에 간접적으로 리용된다. 고대DNA연구과정에 얻은 결과는 이전에 연구된 고인류학과 고고학연구 결과와 모순되는 경우도 있다. 만일 고대인류의 시료에서 직접 증거를 얻으면 인류의 기원과 진화연구에서 중요한 의의를 가지게 될것이다.[8]

고고학연구에서 고대DNA의 시료자원은 다양한데 이미 완전히 사멸되어 지구상에 존재하지 않는 생물도 될수 있다. 이것을 현대생물의 DNA와 비교하여 염기배열에서 고대시료의 계통상위치를 확정하고 현대인의 DNA계보를 작성할수 있다.[4] 고대DNA의 연구에서 얻은 이미 사멸된 생물의 유전정보는 현대DNA분석을 통하여 얻을수 없는 자료들이다. 지금까지 이미 10여종의 사멸된 생물종 례하면 털코끼리, 꼭지이발코끼리, 동굴곰, 여우원숭이 등의 DNA에 대한 연구가 진행되었는데 이 생물종들의 분류와 진화적인 문제들이 해결되었다.

고고학이 발생한 후 고대인류의 질그릇류문화유적에 대하여 자세히 연구되기 시작 하였으나 이 시기 고고학자들은 일반적으로 기타 종류의 유물 특히 생물유해(시체)의 연구 가치를 대수롭지 않게 여기였으며 그에 관심을 두지 않았다. 고대DNA와 고고학적인 연구 결과의 결합은 동식물과 사람의 유해중의 DNA연구를 통하여 당대 사람들의 생산, 생활 수준, 고대인류의 내적정보와 가족족보의 일반적관계에 대한 자료들을 알수 있게 하였으며 당대사회의 특성과 현대인류사이의 관계를 판단할수 있게 하였다. 또한 태고시기의 인류의 진화와 이동에 대한 주요한 실마리들을 알수 있게 하였다. 그밖에 사람과 동물의 배설물에 대한 DNA분석을 진행하여 당시 사람들이 어떤 동물과 식물종을 식용으로 리용하였는가를 료해할수 있었으며 고대인들의 음식물종류, 병상태와 생태환경 등 다방면적인 정보를 얻을수 있게 하였다.

고고학자들은 동식물의 유해와 지층 등에 보존된 고대DNA분석을 통하여 고대생물의 종류, 수량 및 진화관계 등의 유용한 정보를 알수 있었으며 앞으로 고대환경을 연구할수

있는 조건을 마련하였다.

고고학에서 고대DNA연구는 앞으로 우리에게 지난 시기에 발생한 질병들에 대하여 알려주고 작물의 재배와 집짐승의 기원과 진화를 비롯하여 고대농업에 대한 많은 유익한 자료들을 제공하여줄것이다.

참 고 문 헌

- [1] R. M. Andrews et al.; Nat. Genet., 23, 2, 147, 1999.
- [2] H. A. Burbano et al.; Science, 328, 723, 2010.
- [3] R. E. Green et al.; Cell, 134, 3, 416, 2008.
- [4] T. Kivisild et al.; Mol. Biol. Evol., 19, 10, 1737, 2002.
- [5] Q. P. Kong et al.; Hum. Mol. Genet., 15, 13, 2076, 2006.
- [6] J. Krause et al.; Curr. Biol., 20, 3, 231, 2010.
- [7] T. Melton et al.; Am. J. Hum. Genet., 57, 2, 403, 1995.
- [8] N. Patterson et al.; Genetics, 192, 3, 1065, 2012.
- [10] E. Trinkaus; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104, 18, 7367, 2007.
- [11] Y. G. Yao et al.; Am. J. Hum. Genet., 70, 3, 635, 2002.
- [12] G. Felix et al.; Molecular Ecology, 22, 3433, 2013.
- [13] R. Daniel et al.; Nature, DOI:10.1038 22335, 2017.
- [14] R. Kostovaa et al.; Journal of Archaeological Science, Reports 29, 1, 2020.
- [15] 徐知 等; 古DNA及其考古学意义, 第十届中国古脊椎动物学学术年会, 143~153, 2006.

주체110(2021)년 4월 5일 원고접수

Application of the Techniques for Ancient DNA Analysis in Archaeology

Kang Il, Ho Tong Su

The techniques for ancient DNA analysis were introducing in the study for evolution and development of human such as origin and migration of human, early civilization, techniques in ancient social, foods of human, origin and spread of agriculture, disease and climate in past. This review summarized the history of ancient DNA research, the principal and method of techniques for ancient DNA analysis, and the origin of human by ancient DNA analysis. Techniques for ancient DNA analysis evaluate the relative relation of human species by genetic information of ancient human and classify ancient plant remains. The earliest ancient DNAs were studied by cloning method of short fragments from animal skins and mummy samples. Samples from archaeological research were ancient human remains, usually skeleton and teeth fossil. Therefore ancient DNA was extracted and purified by different method from one applied in modern samples. Ancient DNA sequencing is not different from common one. Today most of ancient DNA researches were mainly performed by mitochondrial DNA isolated from ancient samples. Nuclear DNA researches used relative widely are STR, short repeat sequence in autosome and Y chromosome.

Keywords: ancient DNA, DNA sequencing, evolution