

# 분묘 유적지 출토 인골에 대한 고고유전학 연구

지상현 국립문화재연구소 보존과학연구실  
정용재 한국전통문화학교 보존과학과  
서민석 국립문화재연구소 연구기획과

## I 머리말

## II 고고유전학 연구를 위한 인골의 보존

1. 우리나라의 토양 환경
2. 매장양식의 영향
3. DNA 분석이 가능한 인골

## III 무덤 출토 인골의 고고유전학 연구 방법

1. 인골의 출토와 발굴
2. 인골의 전처리 및 DNA의 추출과정
3. 고대 DNA 연구의 특수성
4. 고고유전학 연구결과와 의의
5. 출토 인골의 학제 간 연구
6. 조선시대 무덤 출토 인골 연구의 중요성

## IV 맺음말

2008

Annual Review in Cultural Heritage Studies

Vol. 41 No. 1

# 분묘 유적지 출토 인골에 대한 고고유전학 연구

지 상 현<sup>a</sup> · 정 용 재<sup>b</sup> · 서 민 석<sup>c</sup>

<sup>a</sup>국립문화재연구소 보존과학연구실 <sup>b</sup>한국전통문화대학교 보존과학과 <sup>c</sup>국립문화재연구소 연구기획과

[투고일자 : 2008. 09. 12 / 심사일자 : 2008. 09. 29 / 게재확정일자 : 2008. 10. 10]

## 국문초록

1980년대 이후 전 세계적으로 발굴지에서 출토되는 인골 분석에 대한 고고학적 중요성이 증가하면서 인골의 자연과학적 연구가 활발히 진행되고 있다. 국내에서도 출토 인골의 고고유전학 연구가 점차 활성화 되어감에 따라 고대 DNA 연구를 위한 주요 방법 및 기술적 지식의 축적이 이루어지고 있다. 인골의 보존 상태는 매장환경과 밀접하게 연관되어 있는데 국내에서 출토되는 인골, 동물 뼈 등과 같은 생물유체의 보존 상태가 좋지 못한 주요 원인은 우리나라의 토성(土性) 및 기후적인 특성 때문이다. 그러나 조선시대 회곽묘(灰槨墓)에서는 대체로 보존 상태가 좋은 인골이 출토되고 있는데, 이는 회곽의 구조적·화학적 특성에서 기인된 것이다. 이것은 묘제(墓制)와 장법(葬法)이 피장자(埋葬者)의 매장 환경을 조절함으로써 인골이 잘 보존 될 수 있음을 보여주는 좋은 사례이다. 인골의 미생물에 의한 오염, 물리·화학적 손상 등 다양한 원인은 고대 DNA 분석에 많은 영향을 미치기 때문에 이를 효과적으로 제거할 수 있는 DNA 분석법이 요구된다. 특히, 고대 DNA가 사람 DNA에 의하여 오염되지 않았음을 증명하기 위한 실험 절차가 체계적으로 검증되어야만 연구결과의 신뢰성을 확보할 수 있다. 우리나라 고대 인류의 이동과 그들의 문화를 이해하기 위하여 고대 DNA 분석과 더불어 안정동위원소를 이용한 인골의 골화학 분석 등 인골에 대한 자연과학적 분석이 종합적으로 병행되어야 한다. 더불어 출토 인골의 고고유전학 연구는 형질인류학, 고고학과 같은 인문사회학적 연구와 동시에 수행될 때 가장 좋은 양질의 결과를 얻을 수 있으며 이러한 학제 간 연구는 더욱더 활성화 되어야 한다. 본고는 출토 인골 연구의 학문적 가치와 종합연구의 필요성을 자연과학적 연구의 입장에서 강조하였다. 또한 출토 인골의 DNA 연구 방법과 그 결과를 예로 소개함으로써 고고유전학 연구에 대한 이해를 돕고자 하였다.

주제어 : 고고유전학, 출토 인골, 고대 DNA, 분묘, 형질인류학, 미토콘드리아 DNA, 회곽묘

## I. 머리말

영국의 고고학자 콜린 렌프루(Colin Renfrew) 교수는 과거 인류의 연구를 위하여 분자집단유전학(molecular population genetics) 기술의 고고학적

응용을 언급하였으며, 그는 그러한 분야를 고고유전학(archaeogenetics)이라 기술한 바 있다. 또한 1963년 생물학자 에밀 즈커캔들(Emile Zuckerkandl)과 화학자 라이너스 폴링(Linus Carl Pauling)은 고생물학(Paleontology)에 대한 유전학의 응용분야로 고유전학(paleogenetics)이라는 분야를 소개하였다(Renfrew

2000; Hey 2001; David 2007). 고고유전학과 고유전학은 모두 고고학적 유물에 대한 고대 DNA(ancient DNA) 분석법을 연구 방법으로 응용하고 있다는 점에서 공통점을 갖고 있으나 고유전학은 유전학적 입장에서 생물의 진화와 과거 생물의 특징에 대하여 연구한다고 할 수 있으며, 고고유전학은 고고학적 해석을 위한 방법으로 분자유전학적 기술과 고고학을 접목한 학문 분야로 약간의 입장 차이가 있다고 할 수 있다. 고고 유적에서 출토된 인골의 고고유전학 연구에 대한 관심은 동서양을 막론하고 증가하고 있다. 그러나 이전까지 고분(古墳)과 분묘(墳墓)의 연구는 축조양식과 부장품에 대한 고고학적 연구가 주를 이루고 있었다. 선사시대의 주요 유적지를 제외한 대부분의 고고 유적지에서 출토 되는 인골은 역사와 문화의 주체임에도 불구하고 유물에 비해 중요한 연구대상이 되지 못했다. 고고학적으로 중요한 유적지에서 발굴된 인골에 대한 관심은 대개 상징적인 의미 부여에 그치는 경우가 많았으며, 인골에 대한 체계적이고 종합적인 연구가 수행된 사례가 드물었다.

근래에 인골의 자연과학적 연구가 국내에서도 활성화되기 시작했다. 인골에 대한 연구가 증가하게 된 것은 발굴지에서 출토 되는 인골에 대한 고고학적 인식의 전환과 무관치 않은데, 그것은 출토 인골에 대한 자연과학적 연구에 대한 주요 연구 성과가 발표되면서 그 중요성이 강조되었기 때문이다(이규식 외 1999; 서민석 외 2003; 서민석 외 2004; 이준정 외 2006). 지난 10여 년 동안 국내에서도 고대 DNA 분석을 바탕으로 하는 고고유전학 연구가 점차 활성화 되어가고 있으며, 출토 인골의 DNA 추출법과 증폭법, 성별 결정법 등이 보고되는 등 점차 연구 경험과 기술적 지식이 향상되어가고 있다(김재현 외 2007; Park *et al.* 2007; Kim *et al.* 2008).

우리나라에서 선사시대와 고려 이전 시기의 오래된 고분에서 출토되는 인골은 드물지만, 조선시대 분묘(墳墓)에서는 다수의 인골이 출토되고 있다. 분묘에서 출토된 인골에 대한 종합적 연구는 옛사람의 성별, 연령, 질병관계, 혈연관계, 영양상태 등과 같은 개인정보의 규명과 매장양식, 결혼문화, 집단이동, 정치적 영향에 대한 공시적·통시적 비교 연구를 통해서 집단의 이동과 변화 등을 해석하고 당시 사회를 재구성하기 위한 지표가 될 수 있다(Adachi *et al.* 2004).

## II. 고고유전학 연구를 위한 인골의 보존

### 1. 우리나라의 토양 환경

우리나라 토양의 모재는 비교적 다양하나 70% 이상이 화강암, 화강편마암으로 구성되어 있기 때문에 대부분의 토양이 화강암의 풍화잔적토(殘積土, residual soils)인 사질토양(砂質土壤)이다(현병근 외 2007). 또한 우리나라에서 사람이 살기에 적합한 지역이 대부분 침식 분지인데 이는 화강암과 화강편마암의 차별침식으로 생성된 지형이다. 이러한 지질학적 특성으로 말미암아 우리나라는 인골의 출토가 많지 않는 편이다. 일반적으로 석영 모래의 비율이 높은 사질토양은 배수가 양호하나 척박한 것이 보통이며, 산성을 띠는 경향이 있다. 여름철에 집중되는 강우는 표토의 유기성분의 유실을 자주 발생시키며, 사질토양의 특성상 무기질의 용탈(溶脫) 또는 세탈(洗脫)이 잘 일어나기 때문에 토양이 약한 산성을 띠게 된다. 대부분 토양미생물(세균, 방선균 등)의 유기물 분해는 수소이온농도(pH)가 6.3-6.8인 약산성 토양에서 가장 활발하게 일어난다. 따라서 토장(土葬)된 시신은 토양 미생물에 의해서 분해되기 쉬운 환경에 놓이게 되며, 이상적인 조건에서 십 수 년 내에 모두 부패되기도 한다. 결론적으로 이러한 우리나라의 지질 및 기후의 특성은 매장 유기질 문화재의 보존성을 떨어뜨리며, 인골, 동물 뼈 등과 같은 생물유체의 보존 상태가 좋지 못한 원인이 될 수 있다. 우리나라에 비하여 석회암 지대와 동굴이 흔한 유럽에서 많은 원인(原人)이 발견되는 것은 결코 우연이 아니다. 우리나라 역시 석회암 지대가 발달한 동굴에서 선사시대 인골과 동물 뼈의 화석이 출토되었으며, 패총에서 보존 상태가 좋은 인골과 동물 뼈가 자주 발견되었는데 이것은 토성의 영향이 중요함을 보여주는 단적인 예다.

### 2. 매장양식의 영향

위에서 언급한 대로 우리나라의 토성은 피장자의 사체와 복식 등 유기물의 부패를 촉진하기 쉽다. 그러나 묘제(墓制)와 장법(葬法)이 주변 토양 환경의 영향을 최소화하거나 지속적으로 보존에 유익한 환경을 제공함으로써 인골 또는 복식을 갖춘 미라의 출토 가능

성을 높이기도 한다. 우리나라 장법은 지석, 토광, 석곽, 석실, 목곽, 목관, 회곽, 회격, 옹관 등 매장주체부에 따라 다양하게 발굴되었으나, 무덤에서 인골이 출토되는 경우는 무덤의 양식, 주변의 지질학적 특성, 축조시기에 따라서 매우 다른 양상을 보인다.

오늘날 분묘에서 발굴되는 인골은 대부분 조선시대에 쓰인 토광묘(土壙墓), 회격묘(灰隔墓), 회곽묘(灰槨墓)에서 출토된다. 특히 회격묘와 회곽묘의 경우 조선시대 만들어진 것으로 그리 오래되지 않아 보존상태가 양호한 이유도 있으나, 이보다 무덤의 하부구조의 축조 양식과 시신을 안치하는 매장주체부의 관재(棺材) 및 제작 기법이 인골의 보존과 깊은 연관이 있는 것으로 알려져 있다. 조선시대 초기에는 고려의 영향으로 왕실과 사대부의 묘가 석실(石室) 및 석곽(石槨)으로 조성되었으나 왕실의 경우 세조의 광릉(光陵)부터 회격묘가 조성되기 시작하였으며, 사대부의 경우 태종 이후부터 왕실의 중친을 중심으로 석회를 부의(賻儀)로 지급하고 회격묘 조성을 장려하기 시작하였다. 목곽을 사용하지 않고 목관을 안치시킨 회곽묘는 임진왜란 이후 널리 성행하게 되었다(김우림 2007).

국내에서 인골과 미라가 출토된 분묘의 토성에 대한 이화학적 계측자료와 물리적 특성에 대한 체계적인 연구 자료가 많지 않기 때문에 인골이 출토된 분묘 또는 고분의 매장 환경에 대한 과학적 추론이 어렵다. 그러나 분명한 사실은 회격묘와 회곽묘에서 많은 인골이 잘 보존된 상태로 출토되고 있다는 점이다. 회곽은 생석회(산화칼슘), 세사, 황토를 3:1:1의 비율로 배합한 삼물(三物)을 묘광(墓壙)의 바닥과 목관의 사면에 내려 천판(天板)까지 덮도록 하여 굳히는 방식이다. 이 회곽이 여러 해 동안 단단히 굳게 되면 그 굳기와 강도가 뛰어나고 공극이 거의 없어지기 때문에 주변 나무뿌리나 곤충 등이 침입하기 어려워지며 목관 내 공기 유출입이 거의 차단된다. 삼물의 주성분인 생석회는 굳는 과정에서 부피가 증가하게 되는데 이때 세사와 황토에 의한 공극이 거의 없어져 치밀한 조직을 만든다. 이러한 치밀한 조직은 내부와 외부의 공기유통을 차단하고 미생물의 활성으로 산소가 소비되면 결국 목곽 내부는 혐기성 상태에 놓이게 된다. 지속적인 혐기성 상태는 호기성미생물(好氣性微生物)의 활동을 억제하며 전반적으로 목곽 내부의 유기물 부패를 느리게 진행되도록

하는 원인을 제공한다.

회곽의 주성분인 소석회(수산화칼슘)는 물에 대한 용해도가 대단히 낮음에도 불구하고 강한 염기성을 띠기 때문에 전반적으로 회곽 내부와 주변 토양의 성질에 영향을 미친다. 이러한 특성은 앞서 설명한 것처럼 토양미생물의 활성을 억제하기도 하며, 주변의 약산성 환경을 중화시킴으로서 흡사 회곽이 석회암 지대 또는 석회암 동굴과 같은 유사한 이화학적 환경이 조성된다고 볼 수 있다.

### 3. DNA 분석이 가능한 인골

1856년 독일에서 발견된 네안데르탈인에 대한 진화인류학적 연구는 1990년 중반까지 화석자료에 의존하여 연구되었으며, 네안데르탈인과 현생 인류와의 진화적 관계에 대해서 많은 논란이 있어 왔다. 그러나 1997년 네안데르탈인의 화석에서 미토콘드리아 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)를 복원하는데 성공했다는 연구결과가 발표되면서 네안데르탈인과 현생인류의 진화적 관계에 대한 연구가 새로운 국면을 맞게 되었다(Krings *et al.* 1997; Krings *et al.* 2000). 4만 년 전의 화석에서 DNA를 추출하여 증폭할 수 있다는 것은 DNA의 오랜 보존 가능성을 대변하는 결과로서 그만큼 DNA 분석에 의한 고고유전학 연구의 무한한 가능성을 시사하였다. 그러나 매장된 지 천 년도 안 된 뼈에서 DNA 분석이 불가능한 경우가 실험실에서는 매우 흔하게 발생한다. 출토 인골에 대한 DNA 분석은 육안으로 보존상태가 양호한 치아 또는 대퇴골의 치밀골(compact bone)을 이용하게 된다. DNA를 포함하고 있는 골세포(osteocyte)는 무기질인 수산화인회석(hydroxyapatite,  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ )과 콜라겐 단백질의 단단한 결합으로 보호되어 있으나 무기질의 광물화와 미생물에 의한 단백질의 분해가 진행된다면 골세포가 완전히 파괴되고 DNA도 대부분 분해된다(Henderson 1987). 대퇴골의 보존 상태는 골조직의 기본단위인 골공동계(haversian system) 내부의 골세포와 중심관(haversian canal)을 현미경으로 관찰함으로써 확인할 수 있다. 보존상태가 좋지 못한 뼈는 대체로 밀도가 낮고 물리적 처리에 의하여 쉽게 부서리지만, 반대로 외형적인 보존 상태가 실제 DNA의 보존 상태로 이어지지 않는 경우도 있다. 숙련된 실험

자는 뼈의 외형 관찰, 밀도, 절단면 관찰 등에 의하여 DNA 추출 가능성에 대해 어느 정도 예측이 가능하지만 미생물 DNA의 오염, 유전자 증폭을 방해하는 토양 성분, 물리·화학적 손상 등 다양한 원인이 DNA 분석에 많은 영향을 미친다(Sobel and Berger 1994).

박물관에 전시되어 있는 동물 뼈에서 사람의 DNA가 검출되는 것은 매우 흔한 일이다(Malmstrom *et al.*, 2005). 이것은 박물관에 전시되었거나 출토된 후, 개인 또는 기관에 소장되어 있는 연구용 시료가 대부분 사람의 DNA에 의하여 심각히 오염되어 있을 가능성이 매우 높다는 것을 의미한다. 따라서 이러한 시료를 이용한 분석은 각별한 주의와 오염에 대한 가능성을 충분히 염두해두고 이를 논리적으로 검증해야 연구 결과의 신뢰성 시비에 대비할 수 있다. 보통 실험자와 발굴자, 기타 밀접하게 관련된 사람들에 대한 유전자 검사를 통해서 인골의 외부 오염 여부를 비교할 수 있으나 인골의 출토 과정이 처음부터 통제되지 않는 이상 인골과 접촉한 사람들에 대한 유전 정보를 모두 확보하는 것이 거의 어렵다. 또한 이미 발굴이 끝나 전시되어 있거나 수장고에 보관되어 있는 인골에 대한 유전학적 역학조사는 거의 불가능하다는 사실을 염두해 둘 필요가 있다.

### Ⅲ. 무덤 출토 인골의 고고유전학 연구 방법

#### 1. 인골의 출토와 발굴

우리나라에서는 인골이 출토될 경우 피장자(埋葬者)의 연고가 분명치 않거나 고고학적 중요성이 낮을 경우 대부분 이장되거나 화장되었으며, 고분이나 분묘 등 사자(死者)의 무덤을 발굴하고 피장자의 유해(遺骸)를 훼손하는 것에 대한 조심스러움 등으로 인하여 인골에 대한 분석자체가 이루어지지 못하는 경우가 많았다. 연고가 있는 무덤에서 출토된 인골과 미라는 종친과 문중의 반대에 의하여 연구 자체가 어려운 경우가 많다. 이러한 배경은 우리나라에서 인골에 대한 인류학, 자연과학적 연구가 활성화 되지 못한 요인 가운데 하나이다.

인골이 출토되면 완전히 노출하고 실측할 때까지 외부 공기와 접촉한 채로 방치되는데, 이때에 발굴자에 의한 DNA 오염, 외부 미생물에 의한 오염, 공기접촉에 의한 산화, 갑작스런 건조, 일교차, 습도의 변화, 강수의 영향 등으로 인골은 손상되기 매우 취약한 상태에 놓이게 된다. 따라서 외부와의 접촉을 최대한 줄이면서 안전하게 보관 및 분석될 수 있도록 신속하고 정확하게 절차에 따라 인골의 수습이 이루어질 필요성이 있다(지상현 외 2007). 출토된 인골에 대한 형태학적 연구는 외형적 보존이 최우선시 되나 골화학 분석 및 고고유전학 분석을 위해서는 뼈 내부에 있는 단백질과 DNA의 보존이 절대적으로 중요하다. 따라서 인골이 출토되었을 때의 초기 대응은 인골이 담고 있는 정보를 분석하는데 많은 영향을 미친다고 볼 수 있다. DNA 분석에 필요한 부위(대퇴골 또는 치아)는 발굴 초기에 투명한 멸균 비닐봉투에 보관하여 조심스럽게 이동·건조·보관함으로써 발굴 이후에 발생할 수 있는 2차 오염을 사전에 예방할 필요가 있다. 그러나 실제 발굴현장은 실험자가 생각하는 것보다 훨씬 더 출토 인골의 보존에 불리한 환경이 많다. 인골이 출토된다 하더라도 묘광 내부가 진흙으로 덮여 있는 경우가 많아 인골을 노출시키기까지 상당한 시간이 소요되는 경우가 많고 발굴 도중 강수에 의해 침수되기도 한다. 게다가 인골이 노출된 후에도 수습이 이루어지기까지 출토 유물에 대한 처리 절차에 시간이 걸리기 때문에 발굴된 후 인골의 상태가 더욱 더 악화되는 것을 최소화해야 한다.

#### 2. 인골의 전처리 및 DNA의 추출과정

인골의 전처리는 토양의 제거, 표면 미생물의 제거, 사람 DNA에 의한 오염 제거 등의 목적을 갖는다. 발굴된 인골은 최대한 접촉하는 사람이 적어야하며, 현장에서 별도의 전처리나 수세과정 없이 실험실까지 이동시키는 것이 바람직하다. 대부분의 인골은 상온에서 보관되는데, 30~40%의 습도와 약간 서늘한 정도의 상태에서 보관되어야 하며, 인골의 관리는 반드시 통제된 공간에서 제한된 연구자에 의해 이루어져야한다.

인골의 보존 상태에 따라 차이가 있지만, 보통 mtDNA의 과변이지역(hyper-variable region, HVR)을 실패 없이 1~2회 증폭하여 실험하는데 소요되

는 골편의 양은 500mg 미만이다. 이는 상태가 양호한 대퇴골의 치밀골을 기준으로 한 것이며, 이 부분을 5 cm×2cm의 크기로 절단 할 경우 5~10g의 양을 확보할 수 있다. 만약 mtDNA에 비해 잔존량이 더 적은 성염색체 또는 상동염색체 DNA를 분석한다면, 더 많은 시료량이 필요할 것이다. DNA를 추출하기에 앞서 인골 표면의 오염물질을 물리적으로 제거해 주는 작업이 반드시 필요하다. 보통 일회용 사포 또는 치과용 연마기를 이용하여 골편의 안쪽과 바깥쪽 표면을 약 1~2mm 정도 제거하는데, 이는 미생물, 토양, 외부 오염원과 접촉한 부분에 대한 최소한의 물리적 제거 과정이다. 토양 불순물, 미생물, 오염된 DNA를 제거하기 위하여 차아염소산나트륨(NaClO), 수산화나트륨(NaOH)등의 강한 염기성 시약이나 염산(HCl)과 같은 강한 산성 시약을 처리하기도 한다. 그러나 이와 같은 시약처리는 처리 시간 및 세척 과정 등을 적절히 조절하지 못할 경우 뼈 속에 남아 있는 고유의 DNA까지 손상되어 오히려 좋지 않은 결과를 초래할 수 있기 때문에 처리에 있어 각별한 주의를 기울여야 한다. 끝으로 모든 전처리 마지막 단계에서 표면에 남아 있을지 모르는 DNA 오염 물질을 파괴하기 위하여 자외선을 조사함으로써 DNA 추출 이전의 전처리를 완료한다.

오랜 기간 땅 속에 매장되어 있던 인골은 자연스럽게 토양성분에 의하여 오염된다. 특히 토양 속에 다량 존재하는 부식산(humic acid), 진흙(clay), 장석(feldspar), 석영(quartz) 등은 DNA와 강한 결합력을 보이는데(Lorenz and Wackernagel 1994) 이러한 토양 성분이 추출과정에서 효과적으로 제거되지 못할 경우 DNA의 증폭 반응이 저해될 수 있다. 출토 인골 DNA의 순수 분리 방법으로는 페놀 추출법과 실리카 추출법 등이 주로 사용되고 있으며, 경우에 따라 두 방법을 상호 보완적으로 혼용하기도 한다. 특히 2007년 Rohland는 기존의 실리카 추출법을 변형함으로써 DNA 증폭을 저해하는 부식산과 콜라겐 유도 물질을 더 효과적으로 제거할 수 있는 추출법을 보고하였고, 최근에는 네안데르탈인 화석의 mtDNA 분석에 적용하였다(Rohland *et al.* 2007; Green *et al.* 2008). 이 방법은 최근 우리나라 연구진에 의하여 더욱더 개선되었다(Kim *et al.* 2008).

### 3. 고대 DNA 연구의 특수성

오래된 사람의 뼈에서 DNA를 분석하는 것은 두 가지 큰 제약이 따른다. 첫 번째는 뼈에 보존되어 있는 DNA량이 극히 적을 뿐만 아니라 많이 손상되어 있다는 점이고 또 하나의 문제는 인골의 발굴현장과 실험실에서 일어날 수 있는 사람 DNA의 오염이다.

DNA는 4개의 염기, 아데닌(adenine, A), 티민(thymine, T), 구아닌(guanine, G), 시토신(cytosine, C)로 구성되어 있다. 인골에서 추출한 DNA를 DNA 증합효소에 의하여 증폭하여 염기서열을 분석했을 때 CG → TA의 염기치환이 자주 발생하는 것으로 알려져 있다. 이는 오래된 시료의 DNA에서 나타나는 흔한 손상 결과로서 시토신이 가수분해에 의해 탈아미노화(deamination)되어 우라실(uracil, U)로 치환되면서 발생한다. 이 우라실은 증합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) 과정에서 DNA 증합효소에 의하여 본래의 시토신과 상보적으로 결합하는 구아닌이 아닌 티민으로 인식됨으로써 염기서열(nucleotide sequence)이 뒤바뀌는 문제가 발생하게 된다. 따라서 PCR 증폭을 하기 전에 DNA 추출물에 uracil-N-glycosylase(UNG)를 처리하여 변형된 우라실을 인위적으로 분해하거나 PCR 산물을 클로닝(cloning)하여 이를 보정한다. 고대 DNA의 다른 특징은 DNA 자체가 매우 작은 절편으로 쪼개져 있다는 점이다. 따라서 DNA를 증폭하기 위해서는 가급적 작은 크기로 나누어 여러 번 증폭해야만 성공확률을 높일 수 있다.

위와 같은 DNA의 손상 문제는 고대 DNA 자체가 갖는 문제로서 예측가능하고 기술적인 대응이 가능하다. 그러나 십 수 년 된 인골부터 수만 년 전 네안데르탈인의 DNA 연구에 이르기까지 사람 DNA에 의한 오염(contemporary human DNA contamination) 문제는 이 분야의 연구자들을 가장 곤혹스럽게 하고 있다. 출토 인골의 발굴부터 DNA 분석과 최종 결론에 이르기까지 고대 DNA 연구절차의 대부분은 이 오염에 대한 실험적, 논리적 대응이다. 이 문제는 생각보다 매우 심각하며, 이를 해결하기 위한 검증 방법이 출토 인골에 대한 DNA 분석의 가장 어려운 부분이다. 오염의 예방, 진단, 극복을 위한 실험적 가이드라인과 논리적 해결 방안은 이미 오래전부터 이 분야의 화두였으며, 고대 DNA 연구의 저명한 권위자인 스반테 파보

(Svante Pääbo) 박사와 알렌 쿠퍼(Alan Cooper) 박사에게 의해 제시된 연구 기준이 일반적으로 사용되고 있다(Pääbo *et al.* 2004; Willerslev and Cooper 2005).

#### 4. 고고유전학 연구결과와 의의

출토 인골에 대한 고고유전학 연구 범위는 매장양식, 개체 수, 지역, 시대, 발굴지의 고고학적 의의에 따라서 다양하게 설정될 수 있다. 우리나라에서 연구된 출토 인골에 대한 대부분의 DNA 분석 연구는 피장자의 성별과 개인 식별, 합장자(合葬者)의 관계 집단 매장지의 혈연관계(kinship)를 규명하려는 수준에 머무르고 있다. 그러나 이것이 출토 인골에 대한 고고유전학적 DNA 분석의 한계이거나 연구자의 인식 수준을 의미하는 것은 아니다.

2004년 일본 연구자에 의한 출토 인골 mtDNA 분석 연구는 고고유전학 연구에 대한 좋은 본보기이다. 일본 에도시대 중 후반기(18세기 초 - 19세기 중반) 유적으로서 일본 동북부 지역에 위치하고 있는 하나타이(Hanatai)는 댐 건설공사에 앞서 유적발굴조사가 수행되었으며, 4개 공동묘지에서 45개체의 인골이 출토되었다(Adachi *et al.* 2004). 이 가운데 30개체의 mtDNA 분석을 통해 haplogroup이 결정되었으며, 모계 계통(母系系統, maternal line)에 대한 시공간적인 분석이 수행되었다. 하나타이 30개체 출토 인골에서 나타나는 mtDNA haplogroup은 현대 한국인과 중국인 일본인에게서 공통적으로 많은 분포를 보이는 haplogroup D4형이 43.3%의 높은 비율을 차지하는 것으로 나타났다. 그런데 저자는 하나타이 4지점의 묘지에서 출토된 인골의 모계 계통이 묘지 조성 시기(18세기 초, 18세기 말, 19세기 중반)에 따라 눈에 띄게 변화했다는 사실을 밝혀냈다. 저자는 이러한 변화의 원인으로 다음 두 가지 가능성에 대하여 면밀히 검토하였다. 먼저 저자는 당시 유행했던 결혼풍습(marriage system)인 이족부처제(異族夫妻制, exogamous patrilineal marriage system)의 영향일지 모른다는 가정을 하였다. 왜냐하면 에도시대에 대한 기록에서 당시 일본 중부지방의 결혼 풍습이 신부가 다른 마을에서 사는 신랑·측 집안으로 와서 함께 사는 이족부처제였으며, 이혼과 재혼이 빈번하였다고 기록되어 있

기 때문이었다. 그러나 이러한 결혼풍습이 하나타이에 나타나는 모계의 변화를 뒷받침할 수 있는 증거가 되지 못함을 mtDNA haplogroup의 역학관계로서 설명하였다. 조성 시기 별로 나타난 mtDNA haplogroup 공통 유형 간의 조상 - 후손 관계가 대부분 성립하지 않았으며(조상형으로 추정되는 인골이 남자이거나 어린아이임), 후대에 나타나지 않고 갑자기 단절된 모계 변이형이 많았는데 이것은 이족부처제와 같은 전통적인 결혼풍습 결과로 볼 수 없었다. 두 번째로 저자는 심한 기근으로 인한 급격한 인구 통계학적 변화를 모계 계통형 변화의 주요 요인으로 지적하였다. 18세기 초 - 19세기 중반 일본의 동북부에 심한 기근이 반복되었다. 당시 일본의 동북부에서는 약 30만 명에 이르는 사람들이 굶어죽는 등 식량을 구하기 위하여 많은 이주민과 난민이 발생하였다. 따라서 이 시기에 일본의 급격한 인구통계학상의 변화가 일어났는데 이러한 사실은 일본의 역사적 기록으로 잘 남아 있다. 저자는 하나타이가 당시 기근으로 혼란한 일본 동북부의 시대적 배경과 밀접하게 연관되어 있었을 가능성이 높다고 가정하였으며, mtDNA haplogroup으로 확인된 하나타이의 인구통계학상의 변화는 이족부처제와 같은 전통적인 결혼풍습에 의한 것이라기보다 기근 이후에 나타나는 집단의 대체효과에 의하여 더 잘 설명될 수 있다고 결론짓고 있다.

위의 연구 사례는 18세기 하나타이 공동묘지 출토 인골의 mtDNA 분석 결과가 당시 사회상 연구에 어떻게 투영되는지 잘 보여주고 있다. 이 연구에서 출토 인골의 성별, 사망연령, 병력 등에 대한 형질인류학적 정보와 당시 문헌사료, 무덤 조성시기에 대한 고고학적 정보가 mtDNA 연구결과를 해석하는데 중요한 배경이 되고 있다.

#### 5. 출토 인골의 학제 간 연구

고고유전학 연구는 형질인류학과 고인류학, 고고학 자료에 의하여 인골 연구의 접근방식과 결과 해석에 대한 새로운 아이디어를 얻는 경우가 많다. DNA 분석에 의한 현대인의 집단유전학 연구에 있어서도 연구 집단의 역사, 거주 지역의 지리적 특징, 사회적 관습, 다른 집단과의 관계 등의 요인을 개체군의 유전학적 특징과 연결하여 해석하고 있으며, 이러한 연구 결

과는 인류학에서 많이 응용되고 있다. 따라서 출토 인골에 대한 고고유전학 연구도 마찬가지로 고고학과 형질인류학 분야에서 연구된 자료의 중요성이 크다. 출토 인골에 대한 연구 목적과 방향은 학문 분야마다 관점의 차이가 있다. 그러나 그 차이는 인골에 대하여 다양한 정보가 양산되는 긍정적인 면으로 작용한다. 완주 은하리 고분 출토 인골을 대상으로 이루어진 『DNA 분석을 통한 백제 매장 양식의 일 연구』는 백제 시대 고분의 매장 양식과 피장자 간의 친연관계를 규명하기 위하여 고고학, 체질인류학, 분자생물학, 생물정보학 등의 학제 간 공동 연구를 수행한 것으로 의의가 크다(이준정 외 2006). 또한 양주에서 출토된 소년 미라를 연구한 『조선시대 회곽묘 출토 미라 연구에 대한 회고와 전망』은 고고학, 형질인류학, 법의학, 분자생물학, 영상의학, 질병의학 등 다양한 학문분야에 의한 미라 연구의 가능성을 보여주었다(김명주 2005).

조선시대 분묘, 특히 회곽묘에서는 피장자가 미라로 출토되거나 보존상태가 양호한 인골이 출토되는 사례가 많고 다양한 유기질 문화재가 보존되어 있기 때문에 고고학, 형질인류학, 민속학, 미술사, 복식사 등의 인문학 분야와 고고유전학, 고병리학, 분석화학, 보존과학 등 다양한 자연과학 분야의 종합연구가 필요하다. 2007년의 『考古織物 I 제주고씨 선산분묘 출토 복식 연구』는 충청남도 금산군 제원면 수당리에서 출토된 진주강씨의 회곽묘에서 출토된 유기질 유물에 대한 종합연구 결과를 수록하였다. 당시 미라로 출토된 피장자의 인골과 생체조직을 취하지 않고 복식에서 수습된 체모(體毛)와 고름에서 추출한 DNA를 이용하여 간접적으로 피장자의 mtDNA를 복원하기 위한 고고유전학 연구를 수행하였으며, 적삼에 묻은 오염물에 대한 DNA 분석을 통하여 매장환경을 추측할 수 있는 미생물을 동정하여 보고하였다(국립부여문화재연구소 2007).

#### 6. 조선시대 무덤 출토 인골 연구의 중요성

조선시대 분묘 가운데 특히 회곽묘는 회곽 내부로 토사 유입이 거의 없기 때문에 회곽을 개봉시킨 이후 대체로 신속하게 인골을 수습할 수 있다. 발굴현장에서 분석용 시료를 멸균된 봉투에 안전하게 보관할 수 있다면, 오염 논란을 최소화하고 전체적인 분석 결과에 신뢰성을 담보할 수 있다. 과거 조선시대 분묘의 조사는

고고학적 관심사의 주변에 있었기 때문에 출토 인골에 대한 자연과학적 분석은 거의 이루어지지 않았다. 그러나 조선시대 출토 인골은 뼈의 상태가 대단히 양호한 경우가 많고 대규모로 출토되는 사례가 많기 때문에 집단유전학적인 연구에 적합하다. 조선시대 가족제도와 사회상에 대한 자료는 이전 시기보다 풍부하지만, 당시 생활문화, 집단의 이동, 지역적 특색 등에 대한 자연과학적 연구가 전무한 만큼 조선시대 분묘에 대한 고고유전학 연구는 흥미로운 연구결과로 나타날 것이 기대된다. 500여 년의 조선시대는 한반도 역사에서 결코 적지 않은 부분을 차지하며, 우리 민족의 근원과도 닿아 있을 가능성이 높다. 과거 인류의 유전적 계통형을 규명하기 위해서는 반드시 현대인에 대한 충분한 연구와 자료의 축적이 뒷받침되어야 하며, 조선시대 출토 인골에 대한 고고유전학 연구는 한반도 고대 인류의 이동과 계통형을 규명하는데 중요한 징검다리 역할을 할 것으로 사료된다.

## IV. 맺음말

최근 독일 막스플랑크 진화인류학연구소(Max-Planck Institute for Evolutionary Anthropology, MPI)의 스반테 파보(Svante Pääbo) 박사 그룹은 대량 염기서열 분석법(High-Throughput Sequencing)을 이용하여 약 3만8천년 전의 네안데르탈인(Neandertal man)의 mtDNA 염기서열을 완전히 해독하는데 성공하였다(Green *et al.* 2008). 이미 네안데르탈인 mtDNA의 과변이지역(hyper-variable region, HVR)에 대한 부분적인 염기서열을 현생인류와 비교함으로써 네안데르탈인이 현생인류와 다른 종임은 증명되었으나(Krings *et al.* 1997; Krings *et al.* 1999; Krings *et al.* 2000; Serre *et al.* 2004), 이번 연구 결과는 네안데르탈인과 현생 인류의 유전적 차이를 보다 명확히 분석할 수 있는 전기를 마련한 것으로 평가되고 있다. 고대 DNA 분석을 통한 네안데르탈인의 연구는 대표적인 고고유전학 연구로서 4만년 된 뼈로부터 생물의 DNA 복원이 가능하다는 것을 증명하였다. 그러나 정작 파보박사는 사람 DNA 오염 문제의 심각



성으로 인하여 출토 인골에 대한 DNA 분석 연구를 수행하고 있지 않으며, 유럽의 멸종 동물과 네안데르탈인에 대한 연구를 중점적으로 수행하고 있다. 그러나 네안데르탈인의 연구결과 역시 사람 DNA의 오염과 결과의 신뢰성 논란에서 자유롭지 못한 설정이다 (Wall and Kim 2007).

오래된 뼈에서 DNA를 추출하고 이를 증폭하여 염기서열을 분석하기 위한 연구는 많은 제약과 실험적 한계를 뛰어넘어야 하며, 무엇보다도 한정된 시료의 양으로 말미암아 모든 실험과정과 분석을 효율적으로 진행해야하는 어려움이 있으나 이러한 기술적 한계는 점진적으로 개선되어가고 있다(Hofreiter *et al.* 2001; Pääbo *et al.* 2004; Rohland and Hofreiter 2007). 특히 고대 인류의 이동과 그들의 문화를 이해하기 위하여 인골의 DNA 뿐만 아니라 골화학 분석과 형질인류학 분석이 동시에 수행될 경우 기대 이상의 고고학적 정보와 자연과학적 데이터를 확보할 수 있다. 우리나라 유적지에서 인골이 출토되는 일이 드물고 설령 발견된다 하더라도 전반적인 자연과학적 연구를 수행할 수 있을 정도의 양호한 상태의 인골은 매우 제한적이기 때문에 학문 분야 간 협력에 의한 효율적인 연구가 더욱더 절실하다. 우리나라에서 고대 DNA를 이용한 고고유전학 연구는 이제 시작단계에 있으나 가까운 장래에 좋은 연구 성과가 나올 것으로 기대된다.

## 사사

본 연구는 문화재청 국립문화재연구소의 지원을 받아 2008년도 문화재보존기술개발연구(R&D)사업의 일환으로 이루어졌다.

## 참고문헌

- 국립부여문화재연구소, 2007, 『考古織物 I 제주도 씨 선산분묘 출토 복식 연구』
- 김명주, 2006, 『조선시대 灰槨墓 출토 미라 연구에 대한 回顧와 展望』 東洋學, 40:139-159.
- 김우림, 2007, 『서울·경기지역의 조선시대 사대부 묘제 연구』 고려대학교대학원.
- 김재현, 김기정, 아리오나 톡럼, 전은희, 이민수, 조연옥,가와치멧학과수령, 민나영, 최지혜, 다스제백 투맹, 김근철, 노맹석, 박기원, 박애자, 유권중, 김종대, 이광호, 정상인, 이원복, 김경용, 2007, 『Y haplogroup 결정요소인 biallelic marker RPS4Y DNA를 이용한 몽골 출토 옛사람뼈의 성별』 대한해부학회지, 40:359-366.
- 서민석, 이규식, 2004, 『경산 임당동 및 사천 늑도 출토 인골의 유전자 분석』 보존과학연구, 25:47-74.
- 서민석, 정용재, 이규식, 박기원, 2003, 『시흥 목감동 출토 인골의 미토콘드리아 DNA와 STR의 유전적 특징』 보존과학연구, 24:153-168.
- 이규식, 정용재, 한성희, 이명희, 한면수, 최동호, 1999, 『출토 인골 유전자 분석』 보존과학연구, 20:5-19.
- 이준정, 김종일, 최철희, 한영희, 이세민, 조유복, 하대룡, 김상인, 김승옥, 이승태, 2006, 『DNA 분석을 통한 백제 매장 양식의 일 연구』 韓國考古學報, 61:70-91.
- 지상현, 서민석, 2007, 『고대 DNA의 분석과 검증』 문화재, 40:387-411.
- 현병근, 정석재, 손연규, 임상규, 송관철, 2007, 『Soil Taxonomy: 토양분류체계와 우리나라의 토양 특성』 한국수자원학회 학술발표회 논문집, 7:84-88.
- Adachi, N., Umetsu, K., Takigawa, W., , Sakuue, K., 2004, Phylogenetic analysis of the human ancient mitochondrial DNA. J. Archaeol. Sci., 31: 1339-1348.
- David A.L., 2007, Ancestral sequence reconstruction. Oxford University Press.
- Henderson, J., 1987, Factors determining the state of preservation of human remains. In

- Boddington, A., A.N. Garland, and R.C. Janaway (eds), *Death, Decay, and Reconstruction*, pp43–54. Manchester: Manchester University Press.
- Hey, J., 2001, Let us appreciate evolving genes. *Evolution*, 55:2369–2370.
  - Hofreiter, M., Serre, D., Poinar, H.N., Kuch, M., Pääbo S., 2001, Ancient DNA. *Nature Rev. Genet.*, 2:353–359.
  - Kim, K.Y., Kim, E.J., Togloom, A., Cho, Y.O., Lee, M.S., Lkhagvasuren, G., Choi, J.H., Tumen, D., Park, A.J., Kim, K.C., Park, K.W., Kim, J.H., Noh M., Yoo, K.J. Lee, K.H., 2008, Technical note: Improved ancient DNA purification for PCR using ion-exchange columns. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 136:114–121.
  - Krings, M., Capelli, C., Tschentscher, F., Geisert, H., Meyer, S., von Haeseler, A., Grossschmidt, K., Possnert, G., Paunovic, M., and Pääbo, S., 2000, A view of Neandertal genetic diversity. *Nat. Genet.*, 26:144–146.
  - Krings, M., Geisert, H., Schmitz, R.W., Krainitzki, H., and Pääbo, S., 1999, DNA sequence of the mitochondrial hypervariable region II from the neandertal type specimen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96:5581–5585.
  - Krings, M., Stone, A., Schmitz, R.W., Krainitzki, H., Stoneking, M., and Pääbo, S., 1997, Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell*, 90:19–30.
  - Lorenz M.G., Wackernagel W., 1994, Bacterial transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol. Rev.*, 58:563–602.
  - Malmstrom H., Stora J., Dalen L., Holmlund G., Gotherstrom A., 2005, 'Extensive human DNA contamination in extracts from ancient dog bones and teeth', *Mol. Biol. Evol.*, 22:2040–2047.
  - Pääbo S., Poinar, H., Serre, D., Jaenicke-Despres, V., Hebler, J., Rohland, N., Kuch, M., Krause, J., Vigilant, L., Hofreiter, M., 2004, Genetic analyses from ancient DNA. *Annu. Rev. Genet.*, 38:645–679.
  - Park, M.J., Lee, H.Y., Chung, U., Kang, S.C., Shin, K.J., 2006, Y-STR analysis of degraded DNA using reduced-size amplicons. *Int. J. Legal. Med.*, 121:152–157.
  - Renfrew, C., Boyle, K., 2000, *Archaeogenetics: DNA and the population prehistory of europe*. Cambridge: McDonald Institute for Archaeological Research.
  - Rohland, N., Hofreiter, M., 2007, Ancient DNA extraction from bones and teeth. 2007, *Nature*, 2:1756–1762.
  - Serre, D., Langaney, A., Chech, M., Teschler-Nicola, M., Paunovic, M., Mennecier, P., Hofreiter, M., Possnert, G., and Paabo, S., 2004, No evidence of Neandertal mtDNA contribution to early modern humans. *PLoS Biol.*, 2:313–317.
  - Sobel, H., Berger, R., 1994. AMS studies on selected proteins of bone in archaeology. In the 15th International Radiocarbon Conference, Book of Abstracts, Glasgow.
  - Wall, J.D., Kim, S.K., 2007, Inconsistencies in Neanderthal Genomic DNA Sequences. *PLoS Genet.*, 3:175.
  - Willerslev, E., Cooper, A., 2005, Ancient DNA. *Proc. Biol Sci.*, 272:3–16.

# Archaeogenetic Research of Excavated Human Bones from the Ancient Tombs

Jee, Sang Hyun<sup>a</sup> · Chung, Yong Jae<sup>b</sup> · Seo, Min Seok<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Conservation Science Division, National Research Institute of Cultural Heritage

<sup>b</sup>Department of Conservation Science, The Korean National University of Cultural Heritage

<sup>c</sup>Research Planning Division, National Research Institute of Cultural Heritage

[Received : 12 September 2008 / Revised : 29 September 2008 / Accepted : 10 October 2008]

## Abstract

The paleogenetic analysis has become an increasingly important subject of archaeological, anthropological, biological as well as public interest. Recently, scientific research for human skeletal remains was more activated because of increasing awareness of the valuable archaeological information by the ancient DNA analysis. State of preservation of organic remains vary in different soil and burying environmental condition. Almost all available tissue disappear to analysis ancient DNA of bone in acidic soil caused by climate and geological features in Korea. Many preserved human remains excavated in the 'Heogwakmyo' (lime-layered tomb of Chosun Dynasty Period) is able to explain through the relationship between burial conditions and bone survival form the burial method and ceremony. Ancient DNA analysis of excavated human bone form ancient tomb requires to remove contaminants such as microorganism's DNA and soil components that affect authentic results. Particularly, contamination control of contemporary human DNA is major serious problem and should verified by criteria of authenticity. In order to understand migration and culture of ancient population, when possible, ancient DNA studies needs to go abreast both radiocarbon and stable isotope studies because the dietary inferences will suggest ancient subsistence and settlement patterns. Also when the paleogenetic research supported with the arts and humanities research such as physical anthropology and archaeology, more valuable ancient genetic information is providing a unique results about evolutionary and population genetics studies to reconstruct the past.

**Keywords** : archaeogenetics, excavated human bone, ancient DNA, tomb, physical anthropology, mitochondrial DNA, Heogwakmyo