

# 유전자 제어 및 신호 전달 네트워크 분석 기술



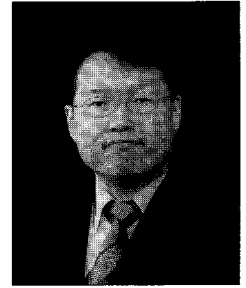
고려대학교 화공생명공학과

오민규



아주대학교 화공신소재공학부

박명준



부산대학교 화학공학과

이선구

## 1. 기술개요

1990년대 중반 이후 많은 생물의 유전체들의 염기서열이 밝혀졌고 이는 생물학 뿐 아니라 생물공학의 연구방법론에 큰 영향을 주어 세포의 생리현상 및 반응에 관한 통합적인 연구가 가능하게 되었다. 오믹스 기술로 쏟아져 나오는 고속 고용량의 다차원 데이터 획득과 그 데이터들을 효율적으로 통합 해석할 수 있는 수학적, 전산학적 기법을 동원하여 세포나 개체 혹은 그 일부를 시스템 관점에서 통합적으로 이해함으로써 생물공학 산업에서 주도적인 역할을 할 수 있을 것으로 예측된다. 이와 같이 유전정보를 토대로 생리현상에 대한 이해를 추구하는 연구 분야 중 가장 중요하고 활발히 연구되고 있는 분야는 유전자 제어 네트워크에 대한 이해이다.

유전자 제어 네트워크는 세포가 외부환경 혹은 주위의 생물학적 신호에 어떻게 반응하여 유전자의 발현을 조절하는가를 실험과 수학적 모델링 등을 이용하여 분석하는 기술을 통칭하고 있다. 유전자 제어 네트워크의 시스템 수준에서의 해석을 위해서는 동역학 특성을 분석할 수 있는 시계열 데이터의 생성이 필요하다. 아직 데이터의 품질향상, 정보의 불확실성 제거, 샘플링 숫자에 비하여 상대적으로 많은 변수 개수의 처리 문제 등 해결하여야 할 과제들이 남

아있으나 데이터의 질적 수준이 꾸준히 향상되고 있으며 실험비용 또한 점차 줄어들고 있으므로 그 실용적 기대치는 점차 높아지는 추세이다.

예를 들어 인간의 게놈은 대략 25,000개의 유전체를 포함하고 있으며, cellular signalling network는 1,543개의 신호 전달 리셉터 유전체, 518개의 kinase, 약 150개의 phosphatase를 포함하고 있다. 이러한 신호 전달 네트워크 구성 요소들의 활성도 변화로 인하여 최종적인 transcription factor (인간 게놈 중 1,850개 이상 존재하는 것으로 추정되고 있다.)의 활성 (또는 비활성)이 일어나며 세포 조절 과정에 직접적인 영향을 미치게 된다. Alternative-splicing을 고려하면 그 수는 각각 3,858개, 1,295개 및 375개의 receptor, kinases, 및 phosphatase가 존재하는 것으로 추정된다.

신호 전달 네트워크의 작용을 해독하고 구성 요소를 식별하기 위하여 다양한 실험적 기술이 꾸준히 개발되고 있다. 가장 미숙한 수준에서는 extracellular molecules의 농도 변화 및 그로 인한 표현형의 변화를 측정하게 된다. 하지만 이러한 경우 다수의 extracellular signalling events 및 intracellular responses는 여전히 black box로 남게 되는 단점이 있다. High-throughput genome sequencing을 통하여 많은 수의 intracellular signalling networks

의 'part list'가 제공되고 있으며, 최근에는 chromatin immunoprecipitation (ChIP)-chip assays와 같은 기법을 통하여 transcription factor의 결합 사이트 위치를 식별하기도 한다. 현재는 전사인자들의 상호작용 네트워크, cis-regulatory 네트워크, 전사인자와 단백질과의 네트워크 등을 분석하는 수준에 이르렀으며, 이를 균주개발과 질병치료에 응용하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

## 2. 기술의 중요성

유전체 분석기술과 각종 오믹스 기술의 발달로 세포의 전체적인 변화를 모니터링 할 수 있게 되었으며 이를 통하여 막대한 양의 생물학적 데이터를 확보할 수 있게 되었다. 하지만 이 많은 데이터들을 활용하여 세포의 생리적 활동을 예측하는 연구는 매우 느리게 진행되고 있다. High-throughput 분석 방법과 더불어 대사 모델을 이용한 전사모사는 시스템 생물학의 중요한 구성요소이다. 유전자 수준에서의 변화 또는 발효 조건의 변화가 어떻게 세포의 대사에 영향을 미치는지를 예측하는데 in silico modeling 및 전사모사의 방법이 쓰인다. 나아가 얻어진 결과는 새로운 균주 개발의 전략을 제시하는데 유용하게 쓰일 수 있다.

전사인자 조절 네트워크를 이해하기 위하여 다양한 수학적 모델링 기법과 통계학적 방법들이 발전하고 있다. 이 방법들은 세포의 생리현상을 이해할 수 있는 기반이 되고 나아가 바이오인포메틱스의 발전에 큰 기여를 하고 있다. 세포의 전반적인 신호전달 네트워크를 이해함으로써 암세

포의 생리 조절, 대사질환 치료, 줄기세포의 분화 조절 등 생의학 분야에도 큰 영향을 미쳐 향후 생명공학, 제약, 화학 관련 산업의 발전 속도를 증가시킬 것으로 예상된다.

장기적 안목에서 분자수준이 아닌 시스템 수준에서의 새로운 생명과학 법칙의 발견이 가능하며, 모델링 및 시뮬레이션에 의한 개체수준에서의 합성생물학이 가능할 것이다. 현재는 그 생리현상이 비교적 잘 알려진 대장균, 효모 등의 균주에서 세포 유전자 제어 네트워크의 이해가 가능해 지고 있으며, 조절 네트워크가 훨씬 복잡한 동물세포에서는 부분적인 이해를 할 수 있는 수준에 이르렀다. 이미, 독성 물질에 대한 세포 반응, 세포 성장 주기, 암세포의 전이 등에 대한 이해가 빠른 속도로 진전되고 있다.

## 3. 전사인자 조절 네트워크 구성을 위한 실험방법

2000년 MIT의 Young 그룹에 의해 처음으로 발표된 ChIP-chip 기술은 전사인자를 고정화시킨 칼럼을 이용하여 이 전사인자와 결합하는 프로모터 DNA를 분리한 다음, 이 DNA를 프로모터 부분으로 이루어진 마이크로어레이를 이용하여 빠른 시간안에 규명함으로써 특정 전사인자에 의해서 조절되는 유전자, 즉 레귤론을 밝히는 실험적인 방법이다 [그림 3.1]. Young 그룹에서는 이 기술을 이용하여 cell cycle에 관여하는 9개의 알려진 유전자 전사조절인자에 의해 조절되는 모든 레귤론, 즉 cell cycle에 관련하는 모든 유전자를 밝히는 데 이용된 바 있다. (Simon et al, 2001)

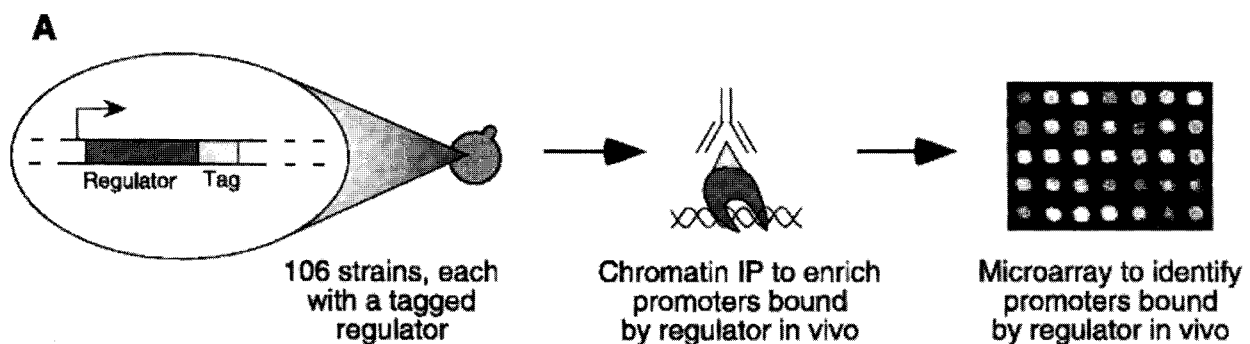


그림 3.1 ChIP-chip 개념도 (Ren et al, 2000)

표 3.1 유전자 조절 네트워크 구성을 위한 실험적 방법의 예 (Cho et al, 2007)

Type	Methods	Descriptions
In vivo	ChIP-chip	Simultaneous detection of genomic binding targets of a single DNA-binding protein using a high quality antibody
	DamID or ChIP-biotinylation	Measurement of transient regulatory interactions using a fused DNA-binding protein
	ChIP-PET or ChIP-SAGE	Utilize extensive sequencing in order to avoid biases due to differences in hybridization efficiency in conventional ChIP-chip
	ChIP-DSL	Sensitive and quantitative detection of functional sites requiring fewer cells than conventional ChIP-chip
In vitro	Protein-binding microarray	Detection of direct protein binding to a double-stranded DNA microarray
	DIP-chip	Detection of protein binding to naked genomic DNA using immunoprecipitation and microarrays
	MITOMY	Sensitive measurement of DNA binding specificities using a high-throughput microfluidic platform

이 기술은 2002년 Yeast의 모든 조절인자로 확장되어 유전자 제어 전사인자의 다른 전사인자와의 관계 및 전사인자끼리의 상호작용, 또한 공동으로 작용하는 전사조절인자들을 묶어 모듈화하는 연구로 확장되어 나가기 시작하였다. (Lee et al, 2002) 이 논문을 통하여 조절 네트워크가 구성될 수 있음이 밝혀지기 시작하였다. Young 그룹은 ChIP-chip 데이터 결과를 조절 코드 결과와 연관시켜 여러 가지 조절인자들이 결합하는 경우를 골라내고, 이와 같이 여러 조절인자들이 상호작용할 경우 특정 환경변화에서만 특이하게 조절을 일으키는 현상을 예측할 수 있음을 보였다. (Harbison et al, 2004) 이 결과는 전사인자와 DNA의 정적인 결합 데이터로부터 동적인 조절기작을 예측할 수 있게 한 의의가 있다.

이러한 성공에도 불구하고 ChIP-chip 기술은 다음과 같은 몇 가지 한계를 가지고 있다.

- 1) 전사조절인자와 DNA가 결합한다는 것이 반드시 조절을 일으킨다고 볼 수는 없다. 따라서, 이 기술은 상당한 양의 false-positive를 발생시킨다.
- 2) ChIP-chip 유전자 발현을 활성화 시키는지 억제시키는지에 대한 정보를 주지는 않으므로 각각의 유전자에 대한 더 많은 정보가 요구된다.
- 3) 프로모터 부분을 가진 마이크로어레이를 만드는 데 소요되는 비용이 너무 높아, 현재 효모, 인간 세포 등 몇몇 샘플에 국한되어 사용되고 있다.

ChIP-chip방법 이외에도 유전자 조절 네트워크를 구성

하기 위한 다양한 방법들이 시도되었으며 이를 정리하면 <표 3.1>와 같다.

#### 4. 신호전달 네트워크의 분석을 위한 수학적 접근 방법

신호 전달 네트워크의 재구성 범위: 신호 전달 네트워크 재구성은 세 가지 방식으로 구성 가능하다 [그림 3.2a번 참조]. 첫 번째 방식은 네트워크에서 'nodes'의 복잡한 연결을 재구성하는 것이다. 이러한 재구성에는 관련 요소와 반응을 나열하고 정리하는 것을 포함하고 있다. 두 번째 접근 방식은 신호 전달 입력과 출력을 연결하는 선형 'pathways'를 형성하는 것이다. 세 번째 접근은 신호 전달 'modules'를 식별하는 것이다. 이러한 모듈은 현상학적 이유로 인하여 어떠한 조건하에서 함께 작용하는 여러 구성 요소와 단백질들의 그룹으로 구성되어 있다. 특히 최근에는 신호 전달 네트워크를 모듈을 사용하여 재구성하고자 하는 관심이 크게 증가하고 있다.

신호 전달 네트워크의 세부 수준 결정: 신호 전달 네트워크의 재구성에 있어서 세부 수준은 획득 가능한 데이터의 양에 의하여 결정된다. 재구성은 간단한 형태의 연결 (예를 들어 NF- $\kappa$ B와 I $\kappa$ B의 결합) 또는 보다 높은 수준의 상관관계, 즉 신호 입력과 출력 사이에 추가의 반응중간체가 포함되는 수준으로 이루어 질 수 있다 [그림 3.2b번 참조]. 다음

으로 cause-and-effect 상관관계를 정의하고 이들 관계를 기반으로 하여 scale, 상관관계 actors 및 시간 상수 등을 할당하여 동력학적 상관관계를 확립하는 것이 중요하다. 또

한 신호 전달 네트워크 구성 요소들 간에 발생하는 생화학적 변화를 정확히 표현하기 위하여 화학 양론 계수 재구성을 사용하기도 한다[그림 3.2c번 참조].

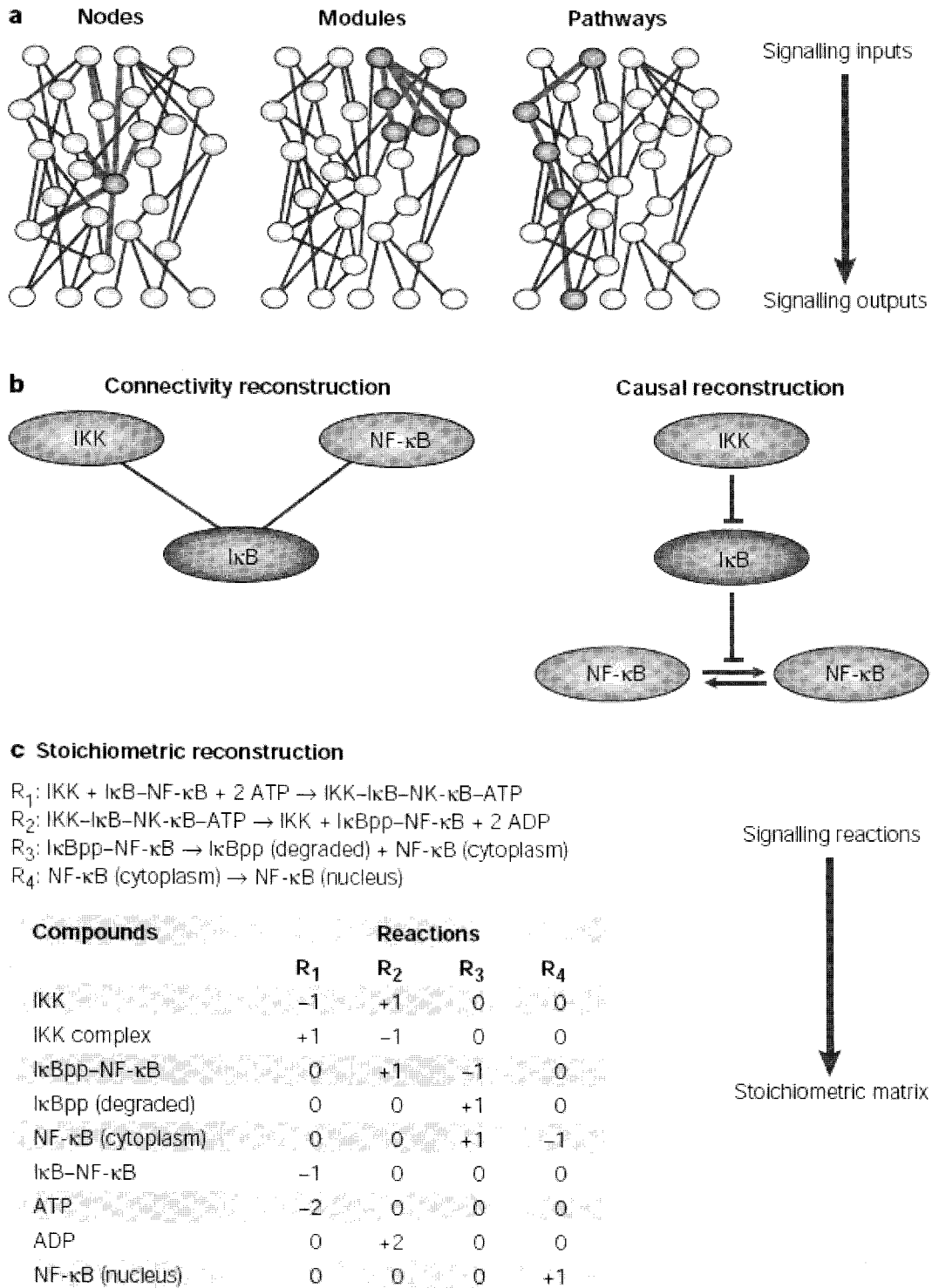


그림 3.2 신호 전달 네트워크의 재구성의 예 (Papin et al., 2005).

대규모 신호 전달 네트워크는 매우 복잡하여 체계적인 해석을 위하여 시스템 공학에서 사용되는 다소 수학적 기법들을 사용하게 되는데, 크게 structural analysis와 dynamic analysis로 분류된다.

1) Structural network analysis: 이 방법은 파라미터에 대한 정보를 필요로 하지 않는 특징을 갖는데, 네트워크 구성 요소들 간의 기능적 상관관계의 여부를 중심으로 connectivity reconstruction을 주로 수행한다. 이러한 과정에서 글로벌 네트워크의 구조 및 각 단백질의 기능적 특징에 대한 다양한 가정을 제시하게 된다. 또한 모듈 수준에서의 분석에서도 다양한 가정을 제시하는데, 효모의 신호 전달 단백질에 대한 clustering analysis를 통하여 여러 개의 신호 전달 families로 그룹화한 사례가 보고되어 있다. 개별 단백질의 기능과 관련하여 spectral analysis를 수행하여 효모의 proteome에서 중요한 기능적 역할을 맡는 단백질-단백질 상호작용을 정의하기도 한다.

2) Dynamic analysis: 관련된 동력학적 파라미터 값을 알고 있을 경우 동특성 해석을 수행할 수 있다. 첫 단계로서 신호 전달 과정과 관련된 시간 스케일을 추정할 수 있으며, 결과에 따라 signalling activities와 signalling responses로 구분하여 진행된다. 신호 전달 활동은 일반적으로 매우 빠르게 일어나는데, 대부분의 단백질의 형태 변화, kinase/phosphatase 반응, 확산에 의한 신호 전달 물질의 물리적 이동 등이 수백분의 일 초에서 수초에 걸쳐 일어나는 것을 예로 들 수 있다. 반면, 신호 전달 응답은 다양한 timescale에 걸쳐 일어난다. 예를 들어 transcriptional events, cellular growth 및 리셉터의 internalization은 수 분 또는 그 이상을 필요로 한다. 이와 같은 timescale에 대한 구분은 dynamic network analysis를 위한 중요한 단계로서 보다 면밀한 분석이 가능하도록 모델의 간략화를 수행하도록 도와준다.

일반적으로 동력학적 파라미터를 얻기 어려우므로 dynamic analysis는 작은 신호 전달 네트워크의 원인 및 양론적 재구성에서 주로 수행된다[그림 3.3 참조]. 하지만 이

러한 작은 크기의 네트워크에 대한 해석으로부터 복잡한 네트워크의 성질을 해석할 수 있는데, 대표적인 것으로 피드백 루프에 의한 bistable behavior의 형성을 들 수 있다.

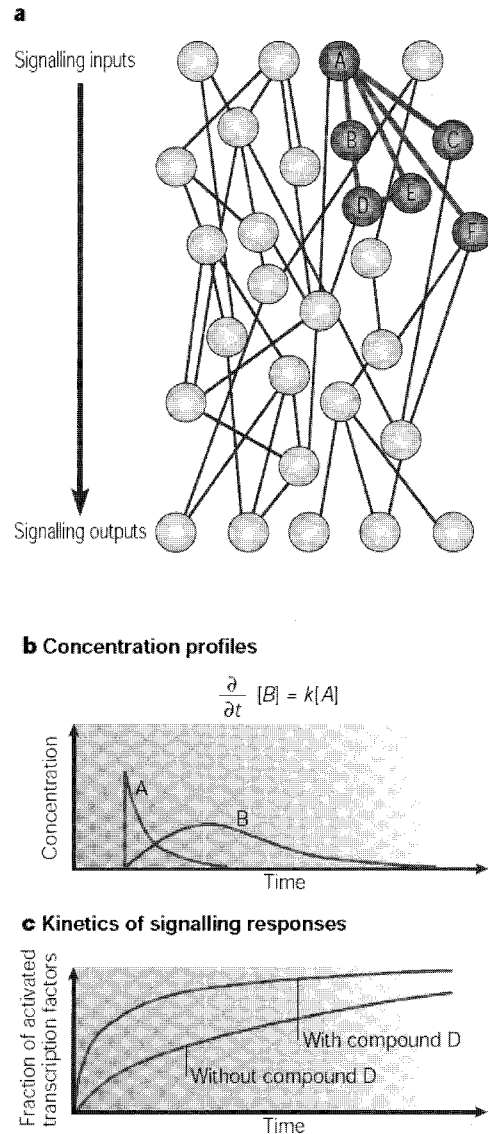


그림 3.3 Cellular signalling network의 dynamic analysis, 전체 신호 전달 네트워크의 일부분에 대하여 파라미터에 대한 충분한 정보가 있을 경우 복잡하고 다양한 농도 변화 과정을 모델링하고 그 효과를 연구할 수 있다. (Papin et al., 2005).

데이터 기반 모델링의 목적은 데이터 공간으로부터 수학적으로 최적의 차원을 정의하고 이를 통하여 새로운 정량적 예측을 얻는데 있다. 하지만 예측 성능뿐 아니라 생물

학적 식견을 벗어나지 않고 균형을 잘 맞추으로써 데이터 기반 모델의 유용성을 극대화 할 수 있다(표 3.2).

### 5. 수학적 모델을 이용한 유전자 조절 네트워크 구성

UCLA의 Liao 그룹은 2003년 Network Component Analysis라는 방법을 통하여 유전자 조절 네트워크 분석을 시도하였다(그림 3.4). 이 방법은 기존의 실험적인 데이터와 문헌조사 결과를 토대로 전사인자와 유전자들 사이에 연결을 미리 조사 한 다음 유전자 발현정보를 토대로 이를 확인 및 업데이트 하는 수학적 방식이다. 이 방법은 ChIP-chip 방법에서 한 발 나아가 전사인자들의 DNA 결합 뿐 아니라 활성의 시간에 따른 변화를 예상할 수 있다는 면에서 매우 유용하다고 할 수 있다. 이 기술은 효모, 대장균의 생리변화를 전체적으로 조망하는 데 이용되었고, Glycerol kinase 유전자 변형의 질병이 미치는 생리현상의 변화를 알아내는 성과를 올린 바 있다.

Microarray와 ChIP-chip data가 전체 게놈 규모에서의 전사인자 조절 네트워크의 식별을 도와줄 방대한 자료를 포함 하고 있지만 이러한 자료 들은 상당히 잡음이 있으며 이와 대조적으로 생의학 분야의 문헌에서 우리는 많은

증거화된 전사인자와 타겟 유전자들의 분자 레벨에서 설명되는 결합 관계를 발견 할 수 있다. 그러나 이렇게 산발적으로 일어나는 지식들은 단지 네트워크의 단면들만을 볼 수 있는 지식을 제공하는 한계점이 있었는데 UCLA 대학의 Li 그룹에서 2005년도 수정된 인자의 분석 접근을 추진하여 이러한 한계를 넘고자 하였다. Li 그룹의 알고리즘은 증거화된 전사인자와 유전자 연결로 시작되며 그것은 high-throughput 자료를 사용하여 네트워크의 배열 예측 단계와 연결 강도 예측 단계를 수렴할 때 까지 반복한다는 특징이 있다. 그들은 보통 성장 조건과 스트레스 환경하의 조건에서 성장하는 효모의 두 개의 종합적인 조절 네트워크를 구했다.

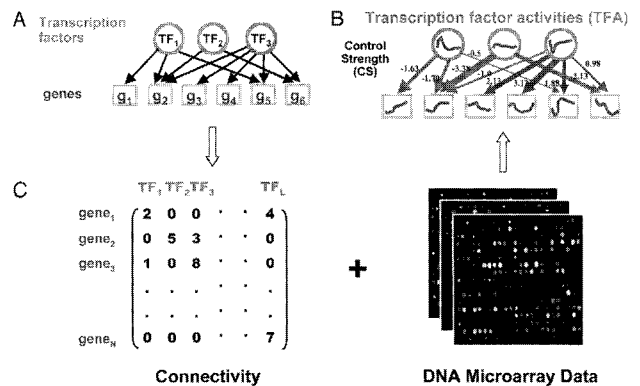


그림 3.4 Network Component Analysis 개념도 (Liao et al, 2003)

표 3.2 데이터 기반 모델링 기법의 비교 (Janes & Yaffe, 2006)

Table 1 | Comparison of data-driven modelling approaches

Data-driven model	Model subtype	Optimal dimensions	Strengths	Weaknesses
Clustering	Hierarchical	Dendrogram 'branches'	Simple and unbiased; entire dendrogram can be scanned for assembly of clusters	Clusters must be assembled pairwise; some clusters might lack biological relevance; dendrogram does not simplify the data set
Clustering	k-means	Centroids	Clusters are assembled in groups; allows user to specify an expected number of biological classes; centroids provide a simplified representation of the data set	Requires user to specify initial number of centroids and their starting positions; some centroids might lack biological relevance
Principal components analysis (PCA)		Principal components	Simple and unbiased; scores and loadings vectors provide simplified representations of the data set	Cannot pose a hypothetical relationship within the data set; some principal components might lack biological relevance
Partial least squares (PLS)	Classification	Principal components	Allows user to specify an expected set of biological classes without the need for additional data	Class predictions are inherently qualitative; principal components might lack biological relevance when classes are too distantly related to the independent variables
PLS	Prediction	Principal components	Allows user to pose a biological hypothesis; predictions are quantitative	Often requires an additional data set of dependent measurements; assumes a linear relationship between independent and dependent variables

Tsing Hwa 대학의 Wu 그룹은 앞서 언급된 방법들과는 다르게 조절인자와 그것의 결합 타겟 사이의 time-lagged 상관관계를 사용하여 조절인자의 타겟을 식별하는 방법을 발전 시켰다. 이론적 근거는 조절인자가 조절 타겟과는 high time-lagged 상관관계를 가지며, 조절인자가 아닌 타겟과는 low time-lagged 상관관계를 가진 다는 것이며, Time-lagged 상관 관계 분석법은 유전자들 사이의 직접적인 관계와 인과율을 추론 할 수 있다. 또한 중심 탄소의 대사과정의 네트워크의 개조와 Synechocystis sp의 네트워크의 유전자 상호작용에 사용되어 왔다. 그러므로 time-lagged 상관관계 분석은 결합된 타겟이 조절인자의 조절에 의한 결합인지 아닌지를 식별하는데 사용될수 있는 잠재력이 있다. UCSD의 Ideker 그룹은 ChIP-chip, 유전체 발현 정보 등을 모두 도입하여 probabilistic model을 만들어 유전자 제어 네트워크를 구성하였다. 이 모델을 통하여 다양한 high-throughput 실험결과들을 하나로 묶어 보다 정밀한 모델을 만들 수 있음을 보여주었다. 또한 이 모델을 이용하여 전사인자들 사이의 상호작용을 더욱 정확히 예측할 수 있었다. (Workman et al, 2007)

### 6. 유전자 조절 네트워크의 산업적 응용

유전자 제어 네트워크의 첫 번째 목적은 세포내의 생리 현상 조절에 대한 이해이다. 하지만 이 네트워크에 대한 이해는 미생물을 이용해 바이오에너지, 바이오화학, 바이오 의약품을 생산하는 대사공학에도 큰 영향을 주고 있다. 대사공학의 주된 연구방향은 목적 대사형질을 강화하는 특정 유전자의 발굴과 교란이지만 목적 대사형질이 하나의 유전자의 교란에 의해서 얻어질 수 없는 경우(예를 들면 에탄올 내성) 다수의 유전자를 동시에 또한 매우 정교하게 조절된 방식으로 교란시켜야 한다.

미국 MIT 화학공학과의 Greg Stephanopoulos 교수는 최근에 유전체 수준의 유전자 발현 교란시스템인 global Transcriptional Machinery Engineering (gTME)을 이용하여 다수의 특정 유전자를 동시에 발현하는 방법을 개발하였다(그림 3.5). Stephanopoulos 교수 연구진은 gTME 기

술을 재조합 효모에 도입하여 spt15라는 전사인자를 교란 시킴으로써 에탄올의 수율과 생산성을 향상시킨 연구결과를 최근 발표했다. gTME은 RNA polymerase의 recruiting 단백질에 무작위 돌연변이를 일으킴으로써 세포내 모든 유전자의 발현을 조절하는 기술이다. 이들 연구그룹은 gTME 기술을 이용하여 대장균에서 tyrosine 생산량을 증가시키는 데에도 성공한 바 있다.

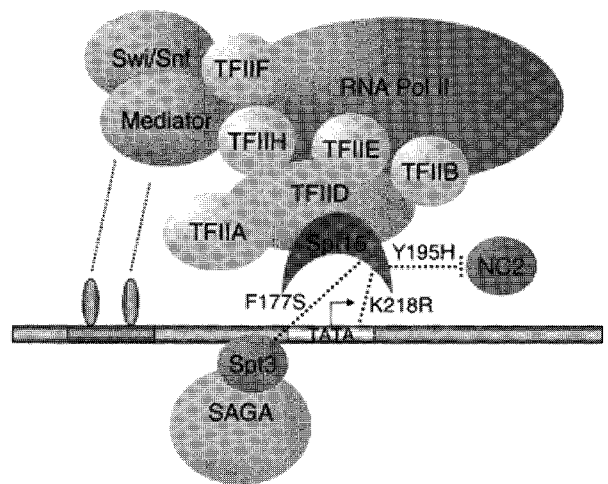


그림 3.5 MIT 연구진에서 gTME 기술을 적용시킨 효모의 RNA polymerase 구조 (Alper et al., 2006)

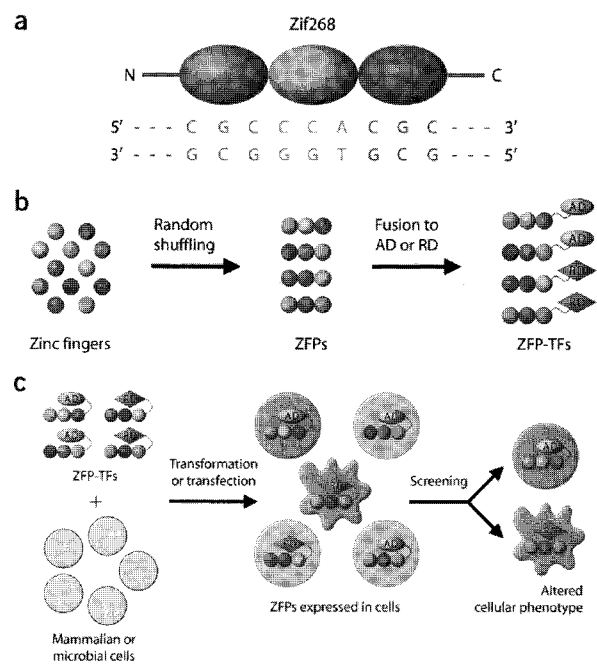


그림 3.6 Zinc finger 도메인을 이용한 인공전사 인자 구축의 도식도 (Park et al., 2003)

한국의 툴젠사에서 Gene Grip 방법을 이용하여 고온내성 대장균 균주를 개발한 결과가 최근 보고되었는데, 이는 MIT 연구진의 gTME 기술과 매우 유사한 기술로서 다량의 유전자의 교란에 의해서 획득 가능한 대사형질의 개발에 매우 유용한 기술이다[그림 3.6]. 보다 자세하게 Gene Grip 기술을 소개하면 DNA 결합(sequence specific DNA binding) 특성을 보이는 Zinc finger protein을 이용한 one-hybrid 방식의 transcriptional effector를 효모내 유전자의 global perturbation에 사용한다.

이와 같이 만들어진 ATF library는 다양한 유전자의 발현을 교란시킬 수 있는데, 제작된 ATF library를 이용해 효모에서 thermo-tolerant phenotype, drug resistance phenotype, 그리고 osmotic-shock resistant phenotype을 보이는 균주들이 성공적으로 유도됨이 보고된 바 있다.

## 7. 결론

21세기 에너지의 부족과 온실가스의 영향으로 인하여 더 많은 산업이 바이오 시스템에 의존하게 될 전망이다. 이러한 상황에서 생물공학 산업의 효율을 높일 수 있는 네트워크 연구는 산업의 경쟁력을 높이는 필수적인 기술로서 자리잡게 될 전망이다. 유전자 제어 네트워크의 구성으로 전사인자와 유전자의 상호작용, 전사인자 사이의 작용, 전사인자와 단백질들의 상호작용 등 더욱 복잡한 세포내의 기작을 찾아낼 수 있어, 생물공학 분야에서는 조절이 필요한 타겟 유전자 혹은 대사경로를 더욱 빠르고 쉽게 찾아낼 수 있을 것이며 생물의학 분야에서는 암 등 질환을 더욱 빠르

고 정확하게 진단/치료할 수 있는 시대가 도래 할 것으로 전망된다.

이를 위하여서는 high-throughput 데이터의 빠른 확보와 함께 이들 데이터의 체계적인 분류 및 데이터베이스의 개발이 필요하다. 또한 최근에 중요시 되고 있는 각 신호 전달 경로들 간의 상호작용을 만족할 만한 수준으로 묘사할 수 있는 네트워크 재구성 기술이 필요하다. 이와 함께 방대한 정보를 포함하고 있는 재구성 신호 전달 네트워크에서 시스템의 기능을 정확히 예측하고 나아가 추가 실험을 위한 제안이 가능하도록 효과적인 해석 기술을 확보하는 것이 중요하다. 이를 위하여 개발되는 package는 static (혹은 정상상태)와 dynamic simulation이 모두 가능하여야 하며, 대형 시스템이 갖는 차수의 불균일성 문제 (ill-conditioning)를 방지하기 위한 auto-scaling 기능 등 다양한 편집 기능이 포함되어야 한다. 또한 deterministic 및 stochastic 민감도해석이 모두 가능하도록 하는 등 강력한 수학적 해석툴 들이 함께 통합되어 있고 새로운 tool의 추가가 손쉽게 이루어지도록 표준화 과정이 동반되어야 할 것이다.

또한, 이렇게 개발된 유전자 제어 네트워크를 이용하여 지식기반으로 제어 네트워크를 이용하는 합성생물학의 발달과 제어 네트워크를 무작위로 교란시키는 실험적 방법의 발달은 산업용 미생물의 개발에 새로운 방법론을 제공하게 될 것이다. 이 방법들은 한두가지 유전자를 조절하는 것이 아닌 시스템을 진화시키는 방법을 통하여 미생물 개발을 가능하게 할 것이며 이는 향후 산업자원 생산용 균주개발에 응용되어 생물공학 공정의 효율 증대에 큰 효과를 줄 것으로 기대된다.



## 8. 참고문헌

- 1) Alper, H., J. Moxley, E. Nevoigt, G. R. Fink, and G. Stephanopoulos. 2006. Engineering yeast transcription machinery for improved ethanol tolerance and production. *Science* 314, 1565–1568.
- 2) Cho, B. K., P. Charusanti, M. J. Herrgard, and B. O. Palsson. 2007. Microbial regulatory and metabolic networks. *Curr Opin Biotechnol* 18, 360–364.
- 3) Harbison, C.T., Gordon, D.B., Lee, T.I., Rinaldi, N.J., Macisaac, K.D., Danford, T.W., Hannett, N.M., Tagne, J.B., Reynolds, D.B., Yoo, J., Jennings, E.G., Zeitlinger, J., Pokholok, D.K., Kellis, M., Rolfe, P.A., Takusagawa, K.T., Lander, E.S., Gifford, D.K., Fraenkel, E., Young, R.A. 2004. Transcriptional regulatory code of a eukaryotic genome. *Nature* 431, 99–104.
- 4) Janes, K. A. and Yaffe, M. B., Data-driven modelling of signal-transduction networks. *Nat. Reviews Mol. Cell. Biol.*, 2006, 7, 820–828.
- 5) Lee, T.I., Rinaldi, N.J., Robert, F., Odom, D.T., Bar-Joseph, Z., Gerber, G.K., Hannett, N.M., Harbison, C.T., Thompson, C.M., Simon, I., Zeitlinger, J., Jennings, E.G., Murray, H.L., Gordon, D.B., Ren, B., Wyrick, J.J., Tagne, J.B., Volkert, T.L., Fraenkel, E., Gifford, D.K., Young, R.A. 2002. Transcriptional regulatory networks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 298, 799–804.
- 6) Liao, J. C., R. Boscolo, Y. L. Yang, L. M. Tran, C. Sabatti, and V. P. Roychowdhury. 2003. Network component analysis: reconstruction of regulatory signals in biological systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 15522–15527.
- 7) Papin, J. A., Hunter, T., Palsson, B. O. and Subramaniam, S. Reconstruction of cellular signalling networks and analysis of their properties. *Nat. Reviews Mol. Cell. Biol.*, 2005, 6, 99–111.
- 8) Park, K. S., Lee, D. K., Lee, H., Lee, Y., Jang, Y. S., Kim, Y. H., Yang, H. Y., Lee, S. I., Seol, W. and Kim, J. S Phenotypic alteration of eukaryotic cells using randomized libraries of artificial transcription factors. *Nat Biotechnol* 21, 1208–1214.
- 9) Ren, B., Robert, F., Wyrick, J.J., Aparicio, O., Jennings, E.G., Simon, I., Zeitlinger, J., Schreiber, J., Hannett, N., Kanin, E., Volkert, T.L., Wilson, C.J., Bell, S.P., Young, R.A. 2000. Genome-wide location and function of DNA binding proteins. *Science* 290, 2306–2309.
- 10) Sauro, H.M. & Kholodenko, B.N. Quantitative analysis of signaling networks. *Prog Biophys Mol Biol* 86, 5–43.
- 11) Simon, I., Barnett, J., Hannett, N., Harbison, C.T., Rinaldi, N.J., Volkert, T.L., Wyrick, J.J., Zeitlinger, J., Gifford, D.K., Jaakkola, T.S., Young, R.A. 2001. Serial regulation of transcriptional regulators in the yeast cell cycle. *Cell* 106, 697–708.
- 12) Workman, C. T., H. C. Mak, S. McCuine, J. B. Tagne, M. Agarwal, O. Ozier, T. J. Begley, L. D. Samson, and T. Ideker. 2006. A systems approach to mapping DNA damage response pathways. *Science* 312:1054–9.