

## 재조합 DNA 개념학습을 위한 교실 실험수업과 실험실 실험교육\*

유준희 · 정구홍  
(생물교육과)

### I. 서론

70년대 중반부터 급속히 발달한 유전공학은 생물학에 큰 변화를 가져왔다. 유전공학의 발달은 분자생물학 포함한 대부분의 생물연구에 새로운 장을 열게 되었을 뿐만 아니라, 그 연구산물은 현대인의 일상생활에도 중대한 영향을 주게 되었다.

유전공학의 개념은 고등학교부터 도입되며 여러 생물수업 주제가운데 어렵지만 매우 흥미있는 주제로 여겨진다. 특히 최근 많은 대중매체에서 유전공학의 관련내용을 매우 많이 다루고 있으며, 그것을 접하는 학생들도 그 원리와 과정을 이해하길 원하고 있다(유준희, 1994).

학생들은 일반적으로 생물의 여러 개념중 유전과 관련되는 개념형성에 어려움을 갖고 있다(김원숙, 1994; 최지영, 1994). 그 이유는 생물의 어느 개념보다도 추상적이고 수리적인 내용을 포함하기 때문이다. 유전학의 응용분야인 유전공학은 유전학의 이해를 바탕으로 하므로 더욱 학습하기 힘들어 하고, 교사들도 가르치기 어려워하는 부분으로 알려져 있다(최지영, 1994).

유전공학의 핵심인 DNA 재조합 기술은 한 개체의 DNA를 인위적으로 변형시켜 새로운 형질을 가진 유전자, 즉 재조합 DNA(recombinant DNA)를 만들어 내는 것이다. 일반적으로 학생들은 유전공학의 중요개념인 재조합 DNA 개념을 매우 피상적으로 생각하며, 유전공학 내용자체가 실험적인 부분과 많이 연관되어 있으므로 실제 실험을 통한 학습의 필요성이 존재한다.

그러나 실제 학교현장에서 모든 과학개념을 실험교육을 통하여 한다는 것은 사실상 불가능하다. 그 이유에는 실험기자재 및 예산의 부족, 학교수업시간의 부족, 교사의 경험의 부족, 실험재료 공급의 어려움 등 여러 가지를 들 수가 있겠다. 특

---

\* 이 논문은 '98년도 서울대학교 사범대학 발전기금 연구지원비에 의해 이루어진 것입니다.

히 재조합 DNA를 만드는 실제 실험과정은 많은 노력과 시간, 재정적 지원을 필요로 하기에 특수 과학고와 같이 시설을 갖춘 고등학교 학생들에게는 실험가능하나 일반 고등학교에서 이러한 실험을 실제 실시하기란 매우 힘든 실정이다.

그럼에도 불구하고 과학의 추상적 개념을 이해하는데 있어 실제 경험하고 탐구해보는 실험교육이 어느 방법보다도 효과적인 과학교육의 형태임(Tamir et al., 1978)은 아무도 부인할 수 없으며, 그 교육적 효과는 이미 여러 연구(Leonard, 1983; Atkinson & White, 1981)에 의하면 증명된 바 있다. 그러므로 유전공학을 이해하는 가장 좋은 방법은, 무엇보다도 실험을 통하여 재조합 DNA를 직접 만들어보는 것이라고 생각한다.

이 연구에서는 유전공학의 핵심인 재조합 DNA 개념 학습을 위하여 두 가지의 실험적 접근방식을 시도하였다. 첫째는, 간편하게 교실에서 실시할 수 있는 색종이를 이용한 모형제작을 통한 방법이고 둘째는 직접 실험실에서 유전공학과자 같이 전 실험과정을 직접 실시하는 방법이다.

이 연구를 수행하기 위하여 먼저 두 가지 접근에 필요한 실험과정들을 개발하고, 개발된 실험을 직접 학생들에게 실시 적용하였다.

첫번째의 모형제작실험은 교실에서 색종이, 풀, 가위 등을 이용하여 프라스미드 벡터를 직접 만들어보고, 가위를 이용하여 DNA를 자르며 제한효소가 어떻게 DNA에 적용하는지를 눈으로 보고, 다른 외래 유전자를 연결하면서 모형 재조합 DNA를 제작하는 것이며, 이 과정을 학생들에게 적용한 후 실험의 효과를 검증하고자 하였다.

두번째 방법으로, 실험실에서 여러 실험과정을 통해 실제의 재조합 DNA를 직접 만들어 보았다. 이 방법은 시간과 노력 재정적인 면에서 부담이 되더라도 가장 확실하게 재조합 DNA기술을 알 수 있는 길이다.

고등학교에서의 유전공학의 실습은 이미 외국에서는 많이 시도되었다. 이미 미국이나 유럽 등지에서 고등학교나 대학교 학생들을 대상으로 재조합 DNA 기술에 대한 실험 module의 개발, 실험실습 등이 1980년도 중반 이후부터 활발하게 되어왔다. 고등학교 학생들이 실험활동을 통하여 수행한 주요 내용은 프라스미드 DNA 추출, 제한효소를 이용한 DNA자르기, ligation, 형질전환의 과정들(Myers, 1988; Dixon, 1988; Minch, 1989; Wise et al., 1990)이었다. 이 실험들을 일반고등학교 학생들과 생물에 관심있는 영재아들을 대상으로 실험 한 결과 그들은 매우 훌륭하게 실험을 수행하였고 학생들의 과학적 흥미, 태도 등에 영향을 주었음을 보여주었다. 또한 실제 실험투여 뿐 아니라 실제 현장교육현장에서 적용할 수 있는 재조합 DNA기술을 위한 많은 지침과 방법들이 소개되고 있다(Geiger, 1984; Gardner, 1988; Cox, 1989; Moss, 1991a, 1991b; Harrison et al., 1992). 더불어 이 실험들을

실제로 이용할 교사집단을 대상으로 많은 workshop도 행하여졌다(Gayford, 1987; Duvall III, 1992). 그들이 주로 실험한 내용은 첫째, DNA를 제한효소를 이용하여 어떻게 자르는가? 둘째, 이 DNA조각을 어떻게 크기별로 분리시킬 수 있을까? 셋째, 형질전환이 일어났는 지의 여부를 어떻게 알 수 있을까? 등을 주제로 2주간 10개의 실험을 수행하였고 더불어 이 과학기술의 사회와의 관계(STS)와 그 역할에 대하여 토론하는 기회를 가졌다.

실험실에서 직접 실시하는 두 번째 방법의 적용은, 모든 기기들과 환경여건이 갖추어진 과학 영재학생들에게 실시하였다. 이를 위하여 기존의 방법을 안전하고 간편하게 변형한 실험교재를 개발하였고 이들을 적용하여, 그 교육적 효과를 색종이 모형의 실험결과와 비교, 분석하였다.

## II. 실시대상 및 분석방법

### 1. 실시대상

색종이를 이용한 재조합 DNA 모형제작실험은 아직 전공을 택하지 않은 서울근교의 이과계 대학교 1학년 학생 25명을 대상으로 일반생물의 유전공학수업 중 1시간을 할애하여 실시하였다. 일반 유전공학의 기본개념을 강의 후에 사전검사를 실시하였고, 재조합 DNA 모형제작 실험을 교실에서 실시한 후 다시 사후 검사, 설문조사를 실시하였다.

실험실에서의 유전공학실험의 실습은, 서울시내 1개의 과학고등학교의 과학영재아 중 생물에 관심이 있는 학생들을 모집하여 실시하였다. 아직 유전공학의 수업이 나가지않은 상태의 1학년, 2학년으로 구성된 18명의 학생을 대상으로 학교자체의 가자재를 이용하여 현장의 생물실에서 일주일간 실시하였다. 첫 날은 기본개념과 재조합 DNA의 전체내용에 대하여 강의식 수업으로 실시하였고 사전검사 후 실험준비를 직접 하였다. 다음날부터 하루에 3-4시간씩 약 18시간의 실험을 실시하였다. 모든 실험이 끝난 후 사후검사, 설문조사를 실시하였다.

### 2. 검사도구

개발된 실험교재가 학업성취도에 미치는 영향을 조사하기 위하여 재조합 DNA 개념에 대한 이해, 적용을 묻는 두개의 짝으로 구성된 30개의 문제를 작성하였다. 신뢰도는 Cronbach alpha 계수는 사전 사후검사가 0.53, 0.52를 나타내었다.

실험 후 설문조사 문항은 10개의 문항으로써 리커트 5척도 식으로 그들의 흥미, 도움정도를 표시하게 하였다. 대학생을 대상으로 하는 검사지는 약간 변형시켜 고등학생의 것보다 난이도가 높은 것을 사용하였다.

### 3. 결과분석방법

사전, 사후 검사결과를 토대로 Macintosh의 StatView를 이용하여 paired t-test, Anova를 실시하였다. 실험 후 조사한 설문조사에서는 반응빈도 수를 조사하고 평균으로 환산하였다.

## Ⅲ. 기초이론 및 실험개발

### 1. 기초이론

DNA 재조합기술에 쓰이는 주요한 개념으로 DNA를 자르는 제한효소(restriction enzyme)와 DNA를 연결하는 리가아제(ligase), 특정유전자를 담아 발현시키는 벡터(vector), 이 벡터를 받아들이는 생물체인 숙주(주로 대장균)등이 있다.

#### (1) 제한효소

DNA 재조합기술이 있을 수 있었던 가장 큰 바탕은 1970년대 박테리아에서 추출한 효소인 제한효소의 발견이라고 할 수 있다. 이 제한효소는 DNA분자의 특정 염기배열을 인식하여 자르는 일종의 DNA용 가위라고 할 수 있으며, 이를 이용하여 DNA의 특정위치를 마음대로 자를 수 있게 되었다. 제한효소는 박테리아가 외부에서 바이러스가 침투하였을 때 자신을 보호하는 방어기작의 한 방편으로써, 바이러스 DNA를 잘라 감염을 막을 수 있는 도구이다.

대부분의 제한효소는 4쌍 또는 6쌍의 DNA염기 쌍을 인지하여 자르게 되는데, 이 인지부위는 회문성(palindrome)이 있는 특징을 갖는다. 이는 특정 방향(5'→3')으로 DNA 두 가닥이 같은 염기배열을 갖는 성질이며 결국 제한효소에 의하여 잘라지게 되면 양 끝이 상보적으로 같은 한가닥(sticky ends)이 노출된다.

현재 쓰이는 제한효소의 숫자는 250여 개에 달하며 앞에서 언급한 바와 같이 대부분 상보적인 끝을 만들지만 뽕뽕한 끝(blunt ends)을 만들기도 한다.

제한효소 이름은 추출한 미생물의 종, 속명을 따서 붙였다(*EcoR* I, *BamH* I, *Hind* III....). 제한효소로 자르게 되면 두 가닥의 DNA가 엇갈려서 잘려지게 되어

서로 상보성있는 한 가닥의 DNA가 노출되게 된다. 이 상태를 이용하여 DNA 클로닝이 가능하게 되는 것이다.

## (2) 리가아제

제한효소에 의하여 잘린 DNA조각을 만나게 되면 상보적인 끝 때문에 재결합이 용이하게 되며 이때 끊어진 마지막 틈(nick)을 공유결합으로 연결해 주는 역할을 하는 것이 리가아제이다. 이는 일종의 유전공학용 풀과 같은 기능을 수행한다고 생각할 수 있으며, 1967년 리가아제를 분리한 이후 유전공학에 없어서는 안될 중요 효소로써 이용되고 있다.

## (3) 벡터

원하는 유전자의 DNA를 증폭시키기 위해서는 대장균내로 넣어 운반하는 매체가 필요하다. 이 역할을 담당하는 벡터로써 대부분 플라스미드가 그 기능을 담당하고 있다.

플라스미드는 박테리아의 쥐놈(genome) DNA가 아닌 작고 동그란 모양의 DNA로써 이는 스스로 복제할 수 있는 능력이 있어 특정 유전자를 연결하여 증폭시키며 발현을 시키기도 한다.

플라스미드 벡터의 기본조건은 스스로 복제할수 있는 복제시작점, 플라스미드를 자를수 있는 제한효소 인지자리, 형질전환 후 선별할 수 있는 선별유전자(selection marker)가 있어야 한다.

재조합 플라스미드를 만드는 방법은 특정 제한효소에 의하여 잘린 외부 유전자를, 벡터 플라스미드도 동일한 제한효소로 자른 후 리가아제를 이용하여 연결하면 쉽게 재조합 DNA를 만들 수 있다. 그 후 이 플라스미드는 대장균 내에 집어넣어서(형질전환), 형질전환된 대장균을 배양하면 증폭된 많은 수의 재조합 DNA(recombinant DNA)를 만들 수 있다. 현재 이용되고 있는 대부분의 플라스미드 벡터는 매우 잘 만들어져 있어 숙주가 가지고 있지 않은 항생제 저항력 등의 특성을 이용하여 원하는 재조합 유전자를 가진 숙주를 골라낼 수 있는 것이다. 이와 같이 동일한 유전자를 생산하는 것을 유전자 클로닝(gene cloning)이라고 한다.

## (4) 재조합 DNA 제작 순서

- ① 제한효소처리: 외래 DNA와 플라스미드 DNA를 동일한 제한효소로 자른다.  
-> 상보적 끝이 노출
- ② 혼합 및 라이게이션: 외래 DNA와 플라스미드 DNA를 섞어준 후 리가아제를 처리한다.

-> DNA끼리 서로 연결

- ③ 형질전환: 재조합 DNA를 대장균에 집어넣어 대장균을 형질전환시킨다.
- ④ 형질전환체 선별과정: 재조합 플라스미드를 가진 대장균을 선별한다.

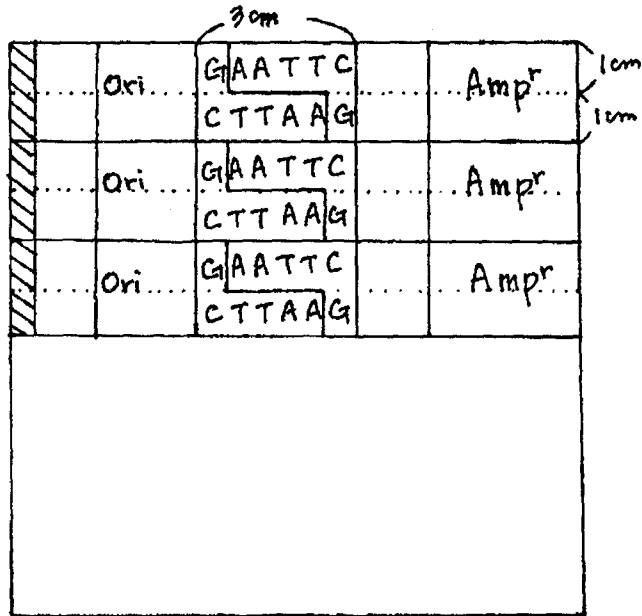
2. 실험과정

[모형 재조합 DNA 만들기]

- 재 료 : 색종이(2가지 색깔), 가위, 풀, 스카치 테이프, 자, 연필
- 방 법

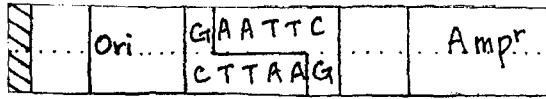
(1) 프라스미드 벡터만들기

- ① 색종이 한 번에 1cm 간격으로 두 줄의 점선과 실선을 긋는다.
- ② 띠의 중앙위치에 폭 3cm가 되게 연필로 두 개의 세로 선을 긋는다.
- ③ 그 안에 GAATTC, CTTAAG라고 쓰고 그 양옆에 복제시작점 Ori와 엠피실린분해 유전자 Amp<sup>r</sup>라고 쓴다.
- ④ 계속해서 두 개를 더 만든다.



\*참고 Ori: 복제시작점, Amp<sup>r</sup>: 엠피실린저항유전자, GAATTC: EcoR I 인지자리

⑤ 2cm 지점의 실선을 오려 다음과 같은 띠를 만든다.

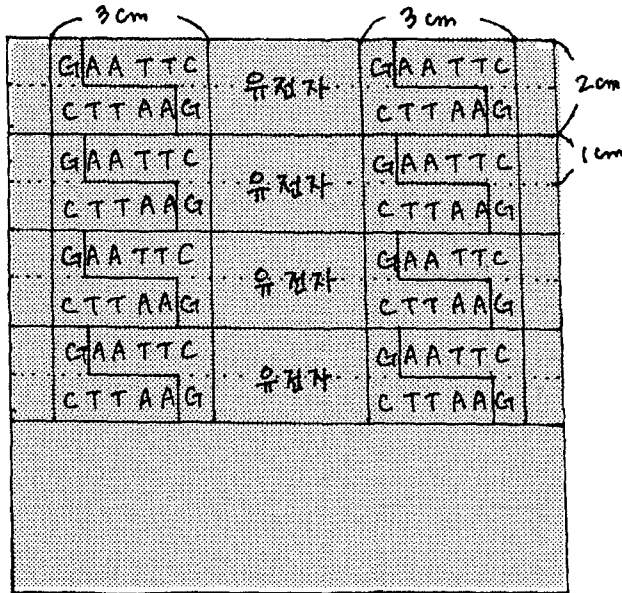


⑥ 벗금친 부분에 풀을 칠한후 둥근 고리모양의 원을 만들어 연결한다. -> 플라스미드 벡터 완성

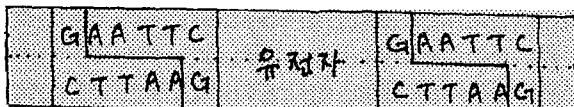
⑦ 동일한 방법으로 또 다른 플라스미드 벡터를 만든다.

(2) cloning할 외래 DNA 만들기

- ① 다른 색의 색종이 한 번에 1cm 간격으로 점선과 실선의 두 줄을 긋는다.
- ② 양끝의 적당한 두 지점에 아래와 같이 폭 3cm가 되도록 두 줄을 두 번 그어 그 내부에 GAATTC, CTTAAG EcoR I 인지부위를 적는다.
- ③ 양 제한효소자리 가운데에 자신이 클로닝시킬 유전자 이름을 적는다.
- ④ 동일한 방법으로 몇 개를 더 그린다.

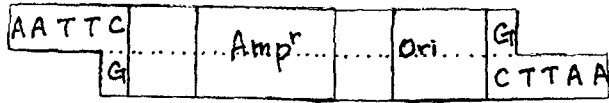


⑤ 2 cm 간격으로 잘라 띠모양의 유전자를 오려놓는다.

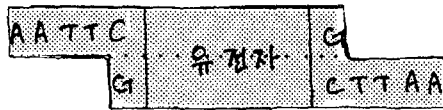


(3) 제한효소처리

- ① 가위를 이용하여 제한효소 역할을 수행한다. 먼저 플라스미드 벡터의 EcoRI 자리를 어긋나게 잘라서 한가닥의 점착성 끝(sticky end)이 나오도록 자른다.

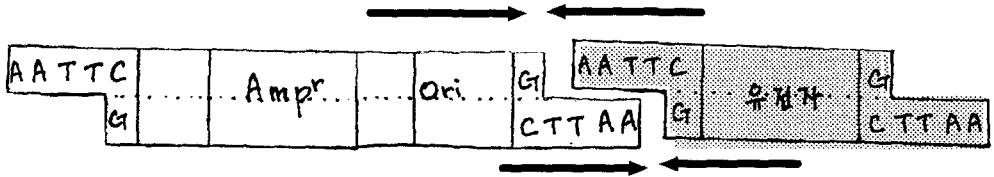


- ② 마찬가지로 외래유전자도 양끝이 AATT, TTAA의 점착성 끝이 나오도록 자른다.



(4) 라이게이션하기

- ① 선형으로 잘라진 벡터의 sticky end(AATT 또는 TTAA)를 잘라놓은 외래 DNA의 끝과 상보적으로 서로 마주 놓이게 한다.



- ② 양끝 유전자의 G와 A부위를 스카치테이프로 연결한다. : 리가아제 역할  
 ③ 바깥쪽의 양 끝 상보적 부위도 맞추어 G와 A부위도 스카치 테이프로 연결시켜 고리모양의 커진 재조합 DNA를 만든다.  
 ④ 두 개의 EcoR I 자리와 외래유전자가 끼어 들어간 연결된 고리를 완성시킨다. -> 재조합 DNA

(5) 더 생각하기: 재조합 DNA가 아닌 다른 라이게이션 산물

\* 생각의 출발: 라이게이션 반응시 반드시 벡터와 외래 유전끼리만 라이게이션 될까?

- ① 라이게이션 반응은 순전히 분자의 충돌에 의한 우연이므로 다른 분자의 라이게이션 반응이 많이 일어날 수 있다.



- ② 가장 많이 라이게이션 되는 분자는 열린 선형분자가 스스로 다시 붙어 환형으로 돌아가는 셀프 라이게이션반응(self ligation)이다. 셀프라이게이션 반응결과 만들어지는 분자무엇일까?

: 원래의 환형의 플라스미드 벡터와 환형의 외래유전자이다.

- ③ 재조합 DNA분자로서 만들어지는 분자는 벡터 + 외래유전자의 조합 외에 어떤 것이 있을까?

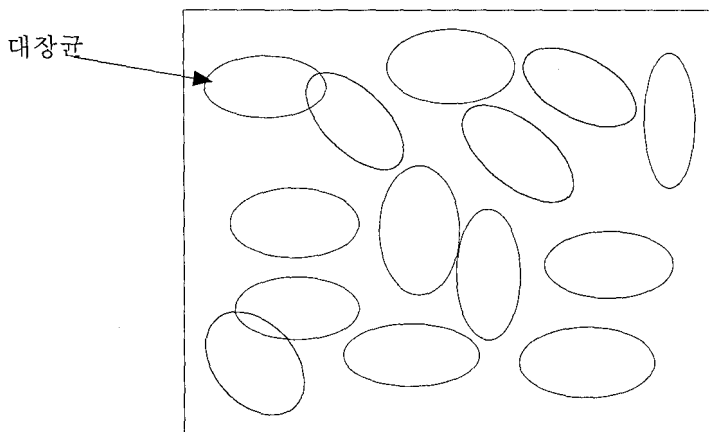
: 벡터 + 벡터, 외래유전자 + 외래유전자 등 수없이 많은 조합이 나올 수 있다.

- ④ 실시해보기

실제 이를 실험으로 알기 위해서는 제한효소로 자른 모형 외래유전자 여러개와 벡터유전자를 종이 박스에 같이 섞어놓고 눈을 감고 조별로 두 개의 분자를 선택하게 한다. 선택된 두 개의 분자를 서로 연결하여 만들어지는 다양한 재조합 유전자들을 체험한다.

(6) 심화실험: 형질전환

- ① 안쓰는 달력 흰 부위를 이용하여 매직으로 외래유전자들을 집어넣을 대장균을 그려보자. 단 대장균의 크기는 재조합 DNA보다 큰 크기로 그린다.



- ② 모형 라이게이션 반응한 여러 재조합 유전자들을 무작위로 종이위에 뿌려보자.

- ③ 어느 대장균이 재조합 DNA가 들어갔는가?

- ④ 대장균에 항생물질 엠포실린을 처리하면 어떤 대장균이 살아남을까?

-> 반드시 벡터플라스미드가 들어간 유전자만이 대장균을 엠포실린에서

구할 수 있다.

-> 즉 셀프라이게이션한 벡터와 재조합 프라스미드가 들어간 대장균만이 살아날 수 있다.

-> 외래 유전자끼리만 연결된 것은 그 골격에 프라스미드가 없으므로 대장균 내부에서 복제도 안되고 또한 옴피실린에 대장균은 죽게된다.

⑤ 살아나서 새로운 유전자를 얻어 형질전환된 대장균을 도화지위에서 골라 보자.

⑥ 재조합 DNA를 대량으로 증폭하기 위해서는 어떻게 해야할까?

-> 선별된 대장균을 액체배지에서 키우면 다량의 유전자를 얻을 수 있다.

[실�험실 실험을 통한 재조합 DNA만들기]

(1) 프라스미드의 추출 및 자르기

- 기 구 : 소형원심분리기(microfuge), 피펫맨(pipetman); (p200, p20), 항온기, 교반기(shaker), 볼텍스(voltex), 1.5ml 튜브, 팁(tip), 피펫,
- 재 료 : GET 용액(50mM glucose, 25mM Tris-cl(pH 8), 10mM EDTA(pH 8)), K-acetate 용액(5M potassium acetate 60ml, glycial acetic acid 11.5 ml, H<sub>2</sub>O 28.5ml), 10% SDS, 1N NaOH, TE 용액(10mM Tris-cl, 1mM EDTA (pH 8)), 2XYT 배지(yeast extract 1g, Bacto-trypton 1.6g, NaCl 0.5g/100ml), 클로로포름/아이소아밀알콜(chloroform/isoamylalcohol)=50/1 용액, 옴피실린(ampicillin)용액 (50mg/ml), 여러 제한효소 (*EcoR* I or *Bam* HI or *Hind* III)와 그 완충용액

• 방 법

A. plasmid의 분리

- ① 2XYT 배지에 옴피실린(ampicillin)을 100μg/ml되게 넣은후 대장균을 접종하여 하룻밤 37℃, 200rpm에서 배양한다.
- ② 1.5ml 튜브에 배양액을 가득 붓고 30초간 원심분리한다.
- ③ 배양액을 따라버리고 휴지로 남은 물기를 닦은 후 GET용액을 150μl 넣고 강하게 볼텍스(voltex)한다.(박테리아가 완전히 풀어져야 함)
- ④ 0.2N NaOH/1% SDS용액을 200μl 넣고 손으로 가볍게 위 아래로 3-4번 흔들어 준다. (이때 배양액이 맑아 지는 것을 확인해야 함)
  - \* 이때 0.2N NaOH/1% SDS용액은 사용 직전 새로 만들어 사용하여야 하며 그 방법은 10% SDS : 1N NaOH : 멸균수=1:2:7의 비율로 섞어 희석하면 됨.
- ⑤ 냉장실에 보관한 차가운 K-acetate용액을 용균된 튜브에 150μl 넣고 손으로 세게 흔든다.(하얀 침전물이 생기는 것을 확인한다)

- ⑥ 12000rpm에서 10분간 원심분리한다.
- ⑦ 상층액을 새 튜브에 가만히 따라 옮긴다(이때 건더기가 들어가지 않게 한다)
- ⑧ 상층액과 동량(약 400 $\mu$ l)의 클로로포름/아이소아밀알콜(chloroform/isoamylalcohol)을 넣고 강하게 30초간 볼텍스(vortex)한다.(손에 묻지 않게 조심하고 화기에 닿지 않도록 한다)
- ⑨ 3-5 분간 원심분리한다.(중간층에 단백질층이 없어질 때까지 반복)
- ⑩ 상층액을 팁을 이용하여 새 튜브로 옮기고 그 2배 부피의 에탄올을 넣고 섞는다.(이때 chloroform층을 팁이 건드리지 않도록 주의한다.)
- ⑪ 10 분간 원심분리하고 에탄올을 버리고 하얀 침전물을 건조시킨다.
- ⑫ 20 $\mu$ l TE용액에 DNA를 녹인다.

B. 제한효소를 이용한 플라스미드(plasmid) DNA자르기

- ① 자르고자 하는 DNA용액(5 $\mu$ l), 완충용액(2 $\mu$ l), 제한효소(0.5 $\mu$ l), 멸균수( X $\mu$ l, X= 20-75)를 섞어 총 20 $\mu$ l되게 한다.
- ② 37 $^{\circ}$ C 항온기에서 2시간이상 반응시킨다.(DNA량이 많거나 깨끗하지 못하여 잘 잘리지 않으면 하룻밤 반응해도 무관)

(2) DNA의 전기영동과 DNA 라이게이션

- 기 구 : 전기영동장치, 전원공급장치(power supply), 50XTAE용액(242g Tris-c l, 57.1g glycial acetic acid, 100ml 0.5M EDTA(pH 8)/1000ml), 팁 (tip), 피펫맨(pipetman), 1.5ml 튜브
- 재 료 : loading 염색약(bromophenol blue 0.25%, xylene cyanol 0.25%, glyce- rol 30%), DNA 용액(프라미드 DNA, 제한효소로 자른 후 DNA용액), 메틸렌블루 0.3 % 용액, 리가아제, 아가로즈

• 방 법

A. 아가로즈 젤(Agarose gel) 만들기

- ① 1x TAE용액으로 희석하여 20ml에 아가로즈를 0.8%(0.16g)되게 넣는다.
- ② 열을 가하여 완전 용해시킨다.
- ③ 뜨거운 용액을 식힌 후 젤을 굳히는 판에 붓는다.
- ④ 콤(comb)을 꽂고 식을 때까지 기다린다(굳으면 콤을 살짝 빼어 사용).

B. 전기영동하기

- ① 젤을 꺼내어 전기영동장치에 올려놓은 후 1X TAE 용액을 부어 젤이 살짝 잠기게 한다.

② 파라필름 조각(없으면 비닐조각)에 DNA loading 염색약을 2μl씩 떨구고 DNA용액을 2μl, 4μl, 6μl씩 넣은 후 최종 부피가 12μl되게 하여 멸균수를 섞은 후, 각각을 팁이 완충용액에 잠기게 하여 웰(well)들에 가만히 집어 넣는다.

\* 제한효소로 자른 프라스미드 용액은 일부용액(약 1/5)만을 전기영동하며 확인할 때는 자르지 않은 것과 나란히 전기영동하여 비교하여 본다.

- ③ 전기영동 장치에 젤의 면쪽이 +극이 되도록 전원공급장치(power supply)에 연결시킨다.
- ④ 100V하에서 약 20-30분간 전기영동 시킨다.(loading 염색약의 아랫쪽 파란색이 젤에서 빠지지 않을 때까지 실시한다).

C. DNA 염색하기

- ① 페트리디쉬에 물 20ml을 넣고 메틸렌블루 400μl 넣는다.
- ② 전기영동이 끝난 젤을 꺼내어 메틸렌블루용액에 넣어 10분간 염색한다.
- ③ 물로 젤을 꺼내어 탈염색한다.(약 10분)

D. DNA 라이게이션(ligation)

- ① 선형의 잘려진 프라스미드 벡터와 동일한 제한효소로 미리 잘려진 DNA 조각을, DNA 수량 비율이 벡터와 클로닝할 DNA가 1:3이 되게 섞는다.
- ② 반응물을 섞은 튜브에 5X 라이게이션 완충용액을 4μl넣고 나머지를 최종 부피가 20μl되게 멸균수를 넣는다.
- ③ 16°C에서 4시간이상 반응시킨다.(하룻밤 반응해도 됨)

(3) 형질전환 준비세포만들기 & 형질전환

- 기 구 : 소형원심분리기(microfuge), 피펫맨(pipettman), 광학밀도측정기(spectrophotometer), 250ml 삼각 플라스크, 얼음, 형질전환용액(TSS용액:10% PEG(3000 or 8000), 5% DMSO, 50mM MgCl<sub>2</sub> /LB), 37°C 교반기(shaker), 알콜 램프, 삼각밀대, 1.5ml 튜브, 팁(tip)
- 재 료 : 하룻밤 배양한 숙주 대장균, LB액체배지(yeast extract 0.5g, Bactotrypton 1g, NaCl 1g/100ml), 엠프실린 평판배지(1.6% 아가),
- 방 법

A. 형질전환 준비세포(competent cell)만들기

- ① 250ml 삼각플라스크에 20-30ml의 LB액체배지를 넣고 그 배지에 배지의 1/100부피의 하룻밤 배양된 대장균 숙주를 접종시킨다(100-300μl).

- ② 교반기에서 약 1.5-2시간을 배양한다.
- ③ 30 분전에 미리 작동시켜놓은 광학밀도측정기(spectrophotometer)를 이용하여 O.D.를 측정한다.
- ④ O.D.600의 값이 0.3-0.5에 오면 1.5ml 튜브에 배양액 1ml를 넣고 20초간 원심분리한다.
- ⑤ 상층액은 버리고 100 $\mu$ l의 TSS용액을 넣고 볼텍스하여 대장균을 잘 풀어준다.
- ⑥ 얼음에 튜브를 보관하였다가 형질전환에 사용한다.

**B. 형질전환시키기**

- ① 형질전환 시키고자하는 DNA용액의 일부(1/10-1/5)를 취하여 형질전환 준비세포(competent cell)에 넣고 잘 섞은 후 얼음에서 30분간 둔다.  
(DNA용액을 1, 1/10, 1/100로 희석한 것과 멸균수로 대조군을 삼는다.)
- ② 얼음에서 튜브를 꺼내어 37 $^{\circ}$ C 교반기에서 30분간 배양한다.
- ③ 하룻밤전에 항온기에 미리 넣어둔 옴피실린 고체배지를 꺼내어 100 $\mu$ l의 형질전환시킬 용액을 평판배지에 붓는다.
- ④ 삼각밀대를 불에 달구어 멸균시킨 후 식히고 배지위의 용액을 골고루 밀어준다.
- ⑤ 플레이트를 뒤집지 않고 그대로 37 $^{\circ}$ C 항온기에 하룻밤 배양시킨다.
- ⑥ 다음날 플레이트에 나타난 콜로니를 대조군과 비교하여 관찰한다.

**(4) 재조합 DNA의 선별**

- 기 구 : 1.5ml 튜브, 팀, 37 $^{\circ}$ C 항온기
- 재 료 : LB/옴피실린배지, 멸균된 이쑤시게, 맥콩키 평판배지(Macconkey agar plate), 1M IPTG

**• 방 법**

**A. 재조합 DNA선별 방법(pUC DNA를 이용하였을 때)**

- ① 형질전환시 옴피실린이 들어간 맥콩키(Macconkey)배지를 이용하여 DNA 용액과 함께 IPTG용액을 4 $\mu$ l 넣고 밀대로 밀어 깔아준다.
- ② 하룻밤 배양 후 하얀색을 띠는(대부분은 붉은색) 콜로니를 선별한다.

**B. 2차 확인과정**

- ① 하얀색 콜로니를 옴피실린 액체 배지에서 하룻밤(6 시간 이상) 배양한다.
- ② 프라스미드 추출하여 그 크기를 비교함으로써 재조합 DNA여부를 결정짓는다.

## IV. 실험 결과 및 논의

색종이를 이용한 재조합 DNA 만들기는 일반생물을 배우는 대학교 1학년 학생들에게 적용하여 보았으며, 실험실에서 직접 실시해 보는 과정은 과학고의 학생들에게 적용하여 그 효과 및 적용가능성을 탐색해 보았다. 개발한 실험교재를 이용하여 이를 직접 실시, 적용한 결과는 다음과 같다.

## 1. 교실에서 색종이를 이용한 재조합 DNA 만들기

일반생물수업중에 유전공학내용을 배우면서 교실에서 간단히 실험을 투여할 수 있었다. 그들이 보인 사진, 사후 성취도는 다음 표 1과 같다.

〈표 1〉 대학교 1학년 비전공학생들의 과학 성취도

	학생수	평균점수	표준편차	표준오차
사전점수	25명	47점	19.6	3.9
사후점수	25명	53점	14.3	2.8

성취결과를 보면 매우 낮은 점수를 기록하였다. 생물을 전공하는 학생도 아니고 성적에 결부되지 않음을 알고 성의 없게 봄도 작용했으리라 생각한다. 그들 성적을 이용하여 paired t-test를 하여 사전 사후 검사의 유의미한 증가 여부를 검증하였다. 표 2를 보면 probability가 0.1로 약 90%의 신뢰도를 나타내었다. 보통 사용하는 95%의 신뢰도로 검증하면 큰 증가가 없음을 나타내는 값이다. 이는 아마도 검사지의 난이도를 대학생용으로 높이면서, 사후 검사지의 난이도가 사전검사보다 높아지면서 큰 유의미한 증가가 없도록 작용한 듯 하다.

〈표 2〉 대학교 1학년 비전공 학생들의 사전, 사후 결과의 paired t-test

자유도	표준편차	표준오차	t-value	2-tail prob.
24	17.8	3.6	1.69	0.10*

\* 10 % 유의수준

표 1에서 보는 바와 같이 실험실시 후 약간의 평균점수의 상승이 있었으나 크게 유의미한 증가가 아니어서, 이들을 성취도 따라 두 그룹으로 분류하여 그 효과를

알아보았다. 각 개인의 점수를 각각 비교하여 보니 사전점수 50점 이상의 그룹과 그 미만의 그룹에 실험효과에 차이가 있어 이들을 상위그룹과 하위그룹으로 구분하여 성취도와 t-test를 실시하였다. 그 결과는 표 3과 같다.

<표 3> 대학교 1학년 비전공 학생 상위, 하위 그룹의 과학 성취도

	인원수	사전점수	사후점수
상위그룹	11명	63점	56점
하위그룹	14명	34점	51점

상위와 하위그룹으로 구분하여 점수를 조사하니 현저히 다른 양상을 나타내었다 상위그룹학생들은 오히려 점수가 하향되었고 하위그룹만 향상되었음을 보여주고 있다. 그 점을 논의하여보면 특히 여러문항중 고난이도의 문제에 있어서 사후 문제지의 난이도가 사전검사에 비하여 그 난이도가 상승되었다는 점을 들 수 있다. 그래서 상위그룹학생들이 사전검사에서 난이도가 높은 문항에서 하위그룹과의 차이를 나타내었으나 사후결과에서는 두 그룹모두 문제를 해결하지 못하여 결과적으로 하위그룹만 성적이 향상된 결과를 나타낸것으로 사료된다. 그룹간의 paired t-test를 한 결과는 표 4와 같다.

<표 4> 대학교 1학년 비전공 학생들의 그룹별 사전, 사후 결과의 paired t-test

	자유도	표준편차	표준오차	t-value	2-tail prob.
상위그룹	10	14.2	4.2	1.67	0.12
하위그룹	13	12.8	3.4	4.81	0.00***

\*\*\* 1 % 유의수준

t-test의 결과를 보면 하위그룹은 거의 99%의 신뢰도를 가지고 점수가 향상되었음을 보여주고 있으나 상위그룹은 차이가 없음을 나타내고 있다. 이 결과가 의미하는 바는 실험조작을 통한 개념의 학습은 특히 하위그룹의 학생들에게 유의미한 도움을 주고 있음을 나타내고 있다. 즉 상위그룹 학생들은 사전검사를 하기 전에 실시되는 수업식 개념설명으로도 이미 많은 이해가 이루어지고 있음을 나타내며, 하위그룹의 학생들의 경우는 단순개념설명으로 이해안가는 부분이 실험을 통하여 이해증진되고 있음을 시사한다. 이는 실험실습이 지능이 높은 학생들보다는 학습부진아들에게 효과가 더 있음을 보이는 MaDermott의 (1982)연구와 일치하는 결과이다. 실험실시 후 개인의 실험의 흥미도와 도움정도를 물었을 때의 결과는 다음과 같다.

〈표 5〉 대학교 1학년 비전공학생들의 실험 후 설문결과  
질문 1. 실험이 흥미 있었습니까? <5척도>

	5(매우흥미)	4(흥미)	3(보통)	2(흥미없음)	1(매우없음)	평균척도
전체학생	3(12%)	13(52%)	8(32%)	1(4%)	0	3.7
상위그룹	3(27%)	4(36%)	3(27%)	1(9%)	0	3.8
하위그룹	0(0%)	9(64%)	5(35%)	0(0%)	0(0%)	3.6

질문 2. 실험이 유전공학의 전반적 이해에 도움이 되었습니까? <5척도>

	5(매우도움)	4(도움)	3(보통)	2(도움없음)	1(매우없음)	평균척도
전체학생	4(16%)	14(56%)	5(28%)	2(4%)	0(0%)	3.8
상위그룹	2(18%)	6(54%)	2(8%)	1(9%)	0(0%)	3.8
하위그룹	2(14%)	8(57%)	3(21%)	1(7%)	0(0%)	3.8

흥미정도를 묻는 질문에서는 전체학생, 상위그룹, 하위그룹간의 차이가 크게 없었고 일반적으로 평균보다 높은 흥미를 나타내었다. 그런데 여기서 특이할 만한 점은, 가장 큰 흥미를 나타내는 척도 5의 값을 나타낸 12%의 학생들이 모두 상위그룹에 속하고 있음이 주목할 점이다. 이점은 매우 큰 지적 호기심을 가지는 학생들이 학업성취도가 높은 그룹에 포함되어 있음을 나타내고, 또한 이러한 그들의 지적 호기심이 성취도에 좋은 영향을 미치고 있는 것으로 생각된다.

실험의 도움 정도를 묻는 질문에는 대부분 70% 이상이 도움을 받았음을 나타내고 있고, 그룹간에 유의미한 차이는 크게 보이지 않음을 나타내고 있다.

모형을 이용하여 재조합 DNA를 만드는 방법은 수업시간에 유전공학의 개념전달과 함께 1시간 정도 시간을 할애하면, 복잡한 도구와 재원을 들이지 않고도 누구나 쉽게 실시할 수 있는 잇점을 갖는다.

모형 재조합 DNA 만들기의 실험과정은 학교여건을 고려한 실제 실험 대처용으로 쓰일수 있다고 생각하며, 직접 실시를 해본 학생들의 대부분이 개념이해에 도움을 받았다고 응답한 것이 그 실례가 될 수 있다.

색종이를 통한 모형제작 방법은, 재조합 DNA기술의 과정을 직접 실험하는 것도 매우 중요하지만 모형을 제작해 보면, 직접 눈으로 보면서 가위로 자르고 붙이며 조작하기에 실증적인 개념전달에 도움을 줄 수 있으리라 생각한다. 특히 재조합



DNA의 제작과정은 분자수준에서 일어나는 일이기에 실험을 하였다더라도 그 제작 과정을 직접 눈으로 목격하기는 불가능한 일이기에 직접 손으로 만드는 색종이 모형실험이 유효하리라 사료된다.

## 2. 실험실에서의 재조합 DNA 실험

사전, 사후 성적에 대한 t-test결과에 따르면 실험실습에 의하여 재조합 DNA개념에 대한 성취도의 측면에서 유의한 증가가 있었음을 보여주고 있다(표 6, 7). 사전검사 전에 이미 재조합 DNA 형성과정에 대한 자세한 설명과 개념소개가 있었으므로 사전 검사의 결과를 보면 개념의 적용측면의 문항에서 변별력을 보였고 이미 비교적 높은 성취도(74점)를 내었다. 사후검사 후 결과를 보면 16명중 6명이 한 문항도 틀리지 않음으로써 많은 학생들이 거의 완벽한 이해수준으로 향상되었음을 보이고 있다. 이는 실험실습이 개념의 이해를 넘어선 적용, 종합하는 면에서 유의미한 학습효과를 보임을 나타내고 있다

또한 사전, 사후검사의 결과를 남녀별로 분석해보면 실험처치에 의한 성취도의 증가량에 유의미한 차이가 있는 것으로 보였다(F= 5.18, p=0.04). 즉 여학생집단이 남학생집단 비하여 실험투여에 의하여 유의미한 증가를 보이고 있었다. 실험결과 여학생이 남학생에 비하여 실험처치에 의하여 학업성취도 증가에 민감하게 반응함을 보여주고 있다. 이 결과는 실험실습이 투여가 남학생들에 비하여 여학생들에게 더욱 필요함을 보여준다.

〈표 6〉 과학고등학교 학생들의 과학 성취도(유준희 외, 1994)

	학생수	평균점수	표준 편차	표준오차
사전검사	16명	74점	17.8	4.6
사후검사	16명	90점	12.6	3.2

〈표 7〉 과학고등학교 학생들의 사전, 사후 결과의 paired t-test

자유도	표준편차	표준오차	t-value	2-tail prob.
15	19.2	5.0	3.2	0.007***

\*\*\* 1 % 유의수준

실험의 흥미정도를 묻는 질문에 1명을 제외하고 매우 강하게 흥미를 느꼈음을 보이고 있다(표 8). 유전의 본체인 DNA를 다루며 그것이 유전물질임을 알아나가는 과정을 체험하는 일은, 매우 소중한 경험이고 과학하는 기쁨을 느낄 수 있을 것이다. 실험 수행자가 매우 흥미있었다는 점은 무엇보다도 과학에 대한 태도에 있어 큰 영향을 주었으리라 생각된다. 미국의 생물영재아를 대상(17명)으로 실험한 결과 그들의 그 코스에 대한 흥미에 대한 평점은 10점 만점에 8.9(Dixon, 1988)였는데 우리나라 학생들은 5점 만점에 4.9을 나타내 더욱 열의있고 재미있었음을 보여주고 있다.

〈표 8〉 과학고등학교 학생들의 실험 후 설문결과(유준희 외, 1994)

질문 1. 재조합 DNA 실험이 흥미 있었습니까? <5척도>

척도	5(매우도움)	4(도움)	3(보통)	2(도움없음)	1(매우없음)	평균척도
빈도수(%)	17(94%)	1(6%)	0	0	0	4.9

질문 2. 유전공학의 전반적인 이해에 도움이 되었습니까?

척도	5(매우도움)	4(도움)	3(보통)	2(도움없음)	1(매우없음)	평균척도
빈도수(%)	12(66%)	5(28%)	1(6%)	0	0	4.6

실험의 도움정도를 묻는 질문에 대부분의 학생들이 강하게 도움이 되었음을 보여주고 있다. 이는 실험실습이 실제적인 재조합 DNA개념과 잘 연결되었음을 나타내고 있다. 즉 피상적으로 생각하던 유전공학의 여러 개념들이 확실히 이해되고 있음을 보여주고 있다.

재조합 DNA에 관한 여러 실험은 현행 여건하의 우리나라 고등학교에서 직접 실시하기는 쉬운일이 아니다. 일반고등학교에서 재조합 DNA에 관한 실험실의 직접적 실험을 원활히 실시하기 위해서는 시중에 많은 kit가 저렴하게 개발되어야 고등학교에서도 간편하게 이용할 수 있으리라 생각한다. 이미 미국등지에서 고등학교나 대학생들을 대상으로 만든 재조합 DNA 실험 kit가 매우 효율적으로 이용되었다고 보고하고 있다(Harrison et al., 1992).

또한 이러한 실습이 이루어지게 하기 위해서는 이 실험들을 실습시킬 중등교사의 훈련과 자질이 가장 큰 문제가 될 수 있다. 실험실 활동을 잘하기 위해서는 무

엇보다도 학생들이 기본적인 조작기술을 터득하고 있어야 한다. 이 같은 기술을 학생들에게 가르치기 위해서는 교사 자신이 이를 숙지하고 있어야 하고 실험수업을 계획하기에 앞서 교사는 필요한 기술과 주의사항을 파악하고 있어야 하기 때문이다(Chang et al., 1987). 그러므로 중등교사를 위한 훈련( Duvall, 1992)과 실험지침이 학생들을 위한 교육자료의 개발과 더불어 반드시 병행되어야 하는 것이다.

지금까지 두 가지 실험 접근방법을 통한 결과를 비교해보았다. 예상한대로 실험실에서 실시한 접근방법에서 더욱 큰 성과가 있음을 아무도 부인할 수 없었다. 특히 실험실 실험의 적용대상이 과학영재학생인 과학고의 지원학생들을 대상으로 실시한 것이므로 다른 적용대상과는 상대적으로 비교할 수 없으리라 생각한다. 실험 후 설문결과에 있어서도 일반 대학교 1학년학생들은 3.6-3.7의 평균보다 약간 높은 호응도를 보인 반면 과학고 학생들은 평균척도 4.6- 4.9의 절대적인 지지를 보내고 있음을 보아도 알 수 있다.

유전공학원리의 학습은 대학생들도 수업교재만 가지고 접근하면 어려워하는 피상적 내용이다. 그러므로 재조합 DNA 기술을 학습할 시는 반드시 그 개념과 연결되는 실험을 권고하고 싶다. 그 내용은 학교의 실험실 사정과 시간여유, 재정 등을 고려하여 모형 재조합 DNA를 만들든지, 아니면 여건이 허락하면 제시된 실험실 실험 중에서 일부 실험, 예를 들면 프라스미드 분리, 자르기와 전기영동까지만 실시해도 개념이해에 매우 큰 도움과 흥미유발을 시키리라 생각한다. 물론 교실에서의 모형을 통한 실험이 실험실교육을 능가할 수는 없다. 그러나 그 효율면을 생각하면, 아무런 장비없이 실시할 수 있는 모형제작실험은 시간도 20배 이상 절약할 있고 시설이 미약한 일반 모든 학교에서 실시할 수 있는 큰 강점을 지닌다.

또한 실제 실험실 실험을 실시하더라도 실험실 실험전에, 개념학습시 재조합 DNA 모형제작을 함께 실시하면, 재조합 DNA에 관한 확실한 개념전달에 도움을 주리라 생각한다. 실제실험을 실시하여도 재조합 DNA를 제작하는 과정은 조그만 튜브내, 분자수준 안에서 진행되는 일이므로, 그 원리를 정확히 이해했다고 확인할 수 없는 점이 실험실 교육의 맹점이기 때문이다. 그러나 무엇보다도 모형실험을 실시하게되면 그 과정이 가시화 되므로 그 원리를 어느 실습보다 정확히 알 수 있으리라 생각한다.

마지막으로 모든 유전공학 부분의 학습시 학교의 여건, 시간 등을 고려하여 반드시 모형제작과 실험실 실습 중 한가지를 선택하여 학생들에게 실시할 것을 권고하며, 만약 너무 수업시간이 촉박할 경우는 약 10분만이라도 할애하여, 교사가 모형 재조합 DNA 만드는 과정을 교단 앞에서 시범만 보이더라도 큰 도움이 될 수 있으리라 사료된다.

참 고 문 헌

- 김원숙. (1994) Retinoic acid가 양서류배의 체축과 체절형성에 미치는 영향 및 배 발생 학습을 위한 실험개발. 박사학위논문. 서울대학교.
- 유준희.(1994) 벼에서 DNA imbibition에 의한 유전자 도입과 재조합 DNA에 대한 실험교재의 개발. 박사학위논문. 서울대학교
- 유준희, 정구홍 (1994) 과학영재아를 대상으로 한 DNA 재조합기술. 한국생물교육 학회지 22(2), 1-9
- 장남기 외(1987) 탐구과학교육론. 교육과학사
- 최지영. (1994) 아메바의 S-adenosylmethionine synthetase에 대한 분자생물학적인 연구 및 유전자 재조합 기술과 단일 클론 항체형성에 관한 학습비디오 자료의 개발연구. 박사학위논문. 서울대학교.
- Atkinson, E. P. and White, R. T. (1981) Influence of practical work on test performance. *Research in Science Education* 11, 87-93
- Cox, F. E. G.(1989) Molecular biology in schools, higher education and afterwards. *Journal of Biological Education* 23, 9-11
- Dixon, L.(1988) Teaching recombinant DNA technology in high school biology course. *The American Biology Teacher* 50, 368-373
- Duvall III, J.(1992) Recombinant DNA for teachers. *The American Biology Teacher* 54, 284-285
- Gardner, A. M.(1988) Biotechnology in 3 days. *The American Biology Teacher* 50, 446-448
- Gayford, C.(1987) Biotechnology 13-18: In service training for teachers. *Journal of biological education*, 21, 281-287
- Geiger, I. R.(1984) Genetic Engineering- An introduction to two special ABT issue. *The American Biology Teacher* 46, 365-372
- Harrison, J., Simpson, J. and Harrison T.(1992) Enhancing understanding of recombinant DNA technology. *Journal of Biological Education* 26, 300-306
- Minch, J. M.(1989) Are high school students ready for recombinant DNA. *Journal of chemical education* 66, 64-65
- Moss, R.(1991a) Genetic Transformation of bacteria. *The American Biology Teacher* 53, 179-180

- Moss, R.(1991b) Simple and safe genetic DNA isolation. *The American Biology Teacher* 51, 428-429
- Myers, R.(1988) Recombinant DNA Technology in High School Biology Laboratory. *The American Biology Teacher* 50, 43-45
- Tamir, P., Penick, J.E. and Lunetta, V. N.(1982) Cognitive preference and creativity: an exploratory study. *Journal of Research in Science Teaching* 19, 123-131
- Wise, D. L., Buonopane, R. A. and Blackman, D. C.(1990) Introducing application of Biotechnology to high school student. *Chemical Engineering Education* 158-163

<Abstract>

## Two Experimental Approaches to the Study of Recombinant DNA: A Model Construction Experiment in a Classroom and a Laboratory Experiment

Yoo, Junhi · Jung, Guhung

(Department of Biology Education, Seoul National University)

In this study, two experimental approaches, one simply carried out in a classroom and the other in a laboratory, have been conducted to teach the concept of recombinant DNA. The experiment in a classroom was a simple process of model construction of recombinant DNA using colored papers and was applied to university freshmen for only one hour. Through the activity, the students generally showed a little increase in understanding recombinant DNA. They were classified into two groups such as higher and lower group according to their achievements, and there was a significant increase in a lower group ( $p=0.000$ ). This result showed that the model construction experiment helped the lower group students learn recombinant DNA.

In the next experiment, recombinant DNA technology was applied to scientifically gifted high school students with developed laboratory teaching materials. The result showed that they successfully performed all experiments. Through laboratory activities they showed a significant increase in understanding the concepts of genetic engineering ( $p=0.007$ ). In the survey of questionnaire, they reported to be strongly influenced on their intellectual inquiry and interest of biology through the laboratory activities of recombinant DNA technology.

In this study, the laboratory experiment showed a higher significant increase in their achievements than the model construction one in a classroom did. However, the model construction process was very efficient because it was inexpensive and needed only a little time. Finally, this study suggested that at

least one experiment of the two approaches should be applied to the students for learning the recombinant DNA in a biology class, considering the financial condition of school, laboratory equipments and time schedules.