

DNA Chip 기술

한양대학교 황승용

지금 전 세계에서 거세게 일고 있는 게놈(genome) 연구의 결실로 우리는 박테리아로부터 인간에 이르기까지 엄청난 수의 새로운 유전자 정보들을 가지게 되었다. 1995년에는 이러한 연구의 첫 결실로서 *Haemophilus influenzae*의 모든 게놈 염기서열이 밝혀졌다. 이것을 시작으로 지금까지 진핵생물로는 *Saccharomyces cerevisiae*(12 Mbp: 효모의 학명)와 *Caenorhabditis elegans*(97 Mbp: 선충의 일종)의 게놈 유전자 배열이 밝혀졌고 올해 안에 *Drosophila melanogaster*(120Mbp: 초파리)의 구조도 발표될 예정이다. 그리고 *Mycobacterium tuberculosis*(4.41 Mbp: 결핵의 원인균)와 같은 약 25개의 원핵생물 게놈 유전자 배열이 밝혀졌고 올해 말에는 약 20종 이상이 완성 될 예정이다(<http://www.tigr.org/tdb/mdb/mdb.html>). 이와 같이 점점 향상되고 있는 유전자 암호 해독기술(DNA sequencing)의 발달로 이들의 수는 더욱 급속히 늘어 날 것으로 예상되며 지금 약 100여 종류 이상의 생명체 게놈 연구가 진행되고 있다. 마침내 이러한 움직임이 2000년 6월경에 인간 게놈의 90% 이상을 완성한다는 계획까지 발표하게 만들었다. 즉 3,000 Mbp의 크기와 10만개에 이르는 방대한 양의 유전 정보를 가진 인간 게놈이 올해 안에 대부분 밝혀지는 것이다. 이러한 노력들은 단지 게놈 염기서열만을 알기 위해서 시작된 것이 아니라 게놈 염기서열 안에 들어 있는 유전자 암호(RNA-->단백질)를 얻는 것이 목표이다. 이렇게 얻어진 단백질들의 기능을 부여하는 작업을 functional genomics 연구라고 말할 수 있다. 결국 이러한 노력으로 얻은 게놈의 구조(structural genomics)와 기능(functional

genomics) 정보들은 생명의 신비를 밝히는데 결정적인 도움을 줄 것이고 21세기 사회전반에 걸쳐 새로운 시대를 열게 만들 것이다.

지금까지 쓰여진 대부분의 유전공학 방법들이 한 연구자가 동시에 많은 수의 유전자를 가지고 실험을 하는데 한계가 있기 때문에 post genome 시대에는 새로운 기술의 개발이 절실히 요구되고 있다. 즉 매일 엄청난 속도로 밝혀지는 새로운 유전정보들이나 모든 게놈 암호가 밝혀진 생물들을 기존의 방법들로 연구한다는 것은 너무나 많은 시간을 요구하기 때문이다. 이와 같은 문제점을 극복하여 아주 최근에 개발된 방법중의 하나가 바로 DNA chip을 이용한 유전자 검색 방법이다. 이 총설에서는 DNA chip의 정의와 종류 그리고 파급효과에 대하여 논하려 한다.

1. DNA chip이란?

DNA chip은 기존의 분자 생물학적 지식에 현대에 엄청난 발전을 한 기계 및 전자공학의 기술을 접목해서 만들어 졌다. 기계 자동화와 전자 제어 기술등을 이용하여 적게는 수백개부터 많게는 수십만개의 DNA를 아주 작은 공간에 집어넣을 수 있게 만든 것이다. 즉 DNA chip이란 유전자 검색용으로서 엄청나게 많은 종류의 DNA를 고밀도로 붙여 놓은 것을 말한다. 이러한 DNA chip이 대체할 수 있는 기존의 대표적인 유전공학방법으로는 Southern과 Northern blot, 돌연변이 검색 그리고 DNA sequencing 등이 있다. 이와 같은 방법들과 가장 큰 차이점은 동시에 최소한 수백개 이상의 유전자를 빠른 시간 안에 검색할 수 있다는 것이다. DNA chip은 붙이는 유전물질의 크기에 따라 cDNA chip과

oligonucleotide chip으로 나누어 질 수 있다. 이들 DNA chip의 이름에서도 알 수 있듯이 cDNA chip에는 최소한 500bp 이상의 유전자(full-length open leading frame 또는 EST)가 붙여져 있고, oligonucleotide chip에는 약 15~25개의 염기들로 이루어진 oligonucleotide가 붙여져 있다. 다음은 지금까지 개발된 대표적인 DNA chip의 종류와 제작 방법 등을 간략히 소개하고자 한다.

2. DNA chip의 종류와 활용도

2.1 DNA chip 제작 방법에 의한 분류

DNA chip은 제작하는 방법에 따라 크게 4가지로 나눌 수 있다. 이들의 특징과 관련 정보는 아래 표 1에 요약하였다.

표 1 DNA chip 제작 기술 분류

제작 기술	특징	chip 종류	관련 회사
Pin microarray	핀을 이용한 micro dotting	cDNA & oligonucleotide	Boecher Instruments Biorobotics Cartesian Technologies Genomic Solutions Genetic Microsystems Hyscq Incyte Pharmaceuticals Molecular Dynamics
Inkjet	Inkjet 원리를 이용한 micro dropping	cDNA & oligonucleotide	Cartesian Technologies Incyte Pharmaceuticals Packard Instruments Rosetta
Photolithography	Photolithography를 이용한 oligonucleotide 직접 합성	oligonucleotide	Affymetrix
Electronic array	전기를 이용한 oligonucleotide addressing	oligonucleotide	Clinical Micro Sensors Nanogen

2.1.1 Pin microarray chip

Pin microarray chip은 1995년 미국 Stanford 대학의 생화학과에서 처음 개발되었으며 약 2 ~

3천개의 유전자를 약 1 cm² 안에 붙일 수 있다 (<http://cmgm.stanford.edu/~pbrown/>). 처음에는 유전자 발현 측정을 목적으로 cDNA를 붙여 놓은 chip을 만들었기 때문에 cDNA microarray chip이라고 불렸지만 지금은 돌연변이를 검색할 수 있도록 oligonucleotide를 같은 방법으로 붙인 chip도 개발되었다. 그러면 간략히 어떻게 cDNA microarray chip을 만들고 검색하는 과정을 살펴보기로 하자(그림 1)[1].

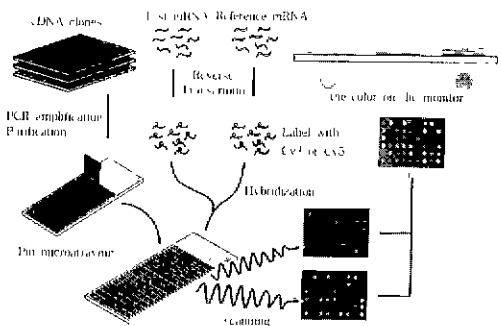


그림 1 cDNA microarray chip 생산 및 검색

먼저 알려진 유전자나 EST를 PCR 방법으로 증폭한다. 증폭된 유전자는 분리정제 과정을 거쳐서 96-well 이나 384-well plate에 담아진다. 고밀도로 이들 유전자를 현미경용 glass slide위에 심는 역할은 특별히 제작된 microarrayer라는 기계가 담당한다. DNA microarrayer의 원리는 XYZ plotter와 비슷하며 미세하게 제작된 pin이 DNA를 plate로부터 담아서 glass slide로 computer가 지정한 똑같은 장소에 옮기는 것이다. 이렇게 개발된 cDNA microarray chip은 두 가지 다른 환경에서 발현되는 독특한 유전자들을 분석하는데 엄청난 도움이 된다. 수천개 이상의 유전자 발현변이를 단 한번의 실험으로 검색할 수 있는 것이다. 실험과정을 살펴보면 그림 1에서 보는 것과 같이 먼저 두 개의 다른 환경에서 얻은 세포들로부터 mRNA를 추출한다. 이들 mRNA를 역전사(reverse transcription)시킬 때 각각 다른 색깔의 형광 물질을 띤 염기를 집어넣어 빨간색(Cy5)이나 녹색(Cy3)을 띤 cDNA를 합성한다. 이와같이 합성된 두 개의 cDNA를

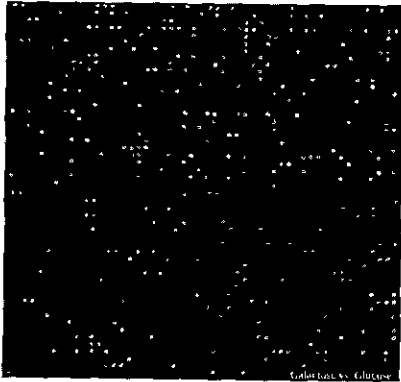


그림 2 유전자 발현 검색 결과

똑 같은 양으로 섞어서 하나의 cDNA microarray chip에 결합시킨다. 결합이 안된 유 scanner에 의하여 읽혀진다. 각각 유전자의 형광 전자들을 쬐어낸 chip은 laser fluorescence 정도는 그 유전자의 발현정도를 알려주는 것으로 이들 정보는 computer에 의하여 분석되어 진다.

그림 2에서는 본 연구원이 제작한 약 2,500개의 다른 효모 유전자들 가진 cDNA microarray chip을 가지고 2% galactose와 glucose에서 각각 따로 자란 효모들의 유전자 발현을 비교해 본 것이다[2]. 이 흑백그림에서는 구별이 안되지만 녹색을 띠는 점들은 이 유전자들이 galactose가 주어진 환경에서만 발현되는 것임을 보여주고 빨간색을 띠는 점들은 glucose가 주어진 환경에만 발현되는 유전자들을 나타낸다. 그리고 노란색 점들은 녹색과 빨간색의 보색에 의하여 나타난 것으로 이 유전자들은 두 환경에서 서로 비슷한 양이 발현되는 것을 알 수 있다. 이 방법으로 1:50,000의 빈도로 발현하는 유전자까지 검색할 수 있다.

이와 같은 방법은 인간의 새로운 암 유발 유전자를 찾을 때나 진단에도 널리 사용할 수 있다. 미국에서 진행되고 있는 CGAP(cancer genome anatomy project)에서도 이 cDNA microarray chip 기술을 사용하여 암 관련 유전자들의 발현 정보를 모으고 있다. 이와 같이 암 세포에만 특별히 발현되는 유전자는 이 암이 생성되는데 이 유전자가 어떠한 역할을 담당했다는 것을 의미하며 이들은 그 암의 진단을 할 때도 많은 도움을 줄 것이다. 이와 같은 암 연구 이의

에도 각각 다른 장기로부터 얻은 세포들의 유전자 발현 정도를 알아냄으로서 생명의 신비를 좀 더 분명하게 밝힐 수도 있을 것이다. 한마디로 요약해서 인간의 유전자 발현 청사진을 얻는 것이다. 이 청사진을 이용하면 이때까지 볼 수 없었던 유전자들간의 복잡한 연결 고리들을 한결 쉽게 풀 수 있을 것이다.

2.1.2 Inkjet microarray chip

Inkjet 원리를 이용하여 DNA chip을 만드는 방법은 위에서 설명한 microarray chip과 거의 비슷하다. 다만 pin 대신에 computer inkjet printer에서 쓰이는 것과 같은 원리의 cartridge를 사용한다는 것이 다르다. 각각의 cartridge 안에는 유전자가 들어 있어서 전기적인 힘으로서 유전자를 고형체 위에 뿌리게 되는 것이다. 지금까지 뿌리는 방법에 따라서 thermal, solenoid 그리고 piezoelectric의 3가지 방법이 있다. 이 기술들의 장점은 유전자를 전기적으로 chip 표면에 닿지 않고 뿌릴 수 있기 때문에 정량의 유전자가 붙어 있는 많은 수의 chip을 생산할 수 있다는 것이다.

2.1.3 Photolithograph chip

미국의 silicon valley에 있는 Affymetrix라는 회사는 computer 산업계에서 computer chip을 만들기 위해서 쓰는 photolithography라는 기술을 사용하여 수십만개의 다른 염기(nucleotide)들을 하나의 유리위에 직접 합성하는데 성공하였다(<http://www.affymetrix.com/>). '아마도 이 기술은 20세기를 대표하는 computer 산업과 21 세기를 대표할 생명공학 산업의 절묘한 결합이라 할 수 있다. Affymetrix는 이 기술을 사용하여 1.28 cm² 안에 400,000개의 다른 oligonucleotide를 가진 chip을 만들 수 있게 되었다. 각각의 oligonucleotide들은 15~25개의 염기로 이루어져 있다.

Oligonucleotide가 합성되는 과정을 살펴보면 chip의 표면은 각각의 염기들이 합성할 수 있게 보조체가 붙어 있다(그림 3)[3]. 하지만 이들 보조체는 평소에 빛에 민감한 화학 물질로 덮여 있어 염기들이 합성할 수 없다. 이러한 성질을 이용하여 특별히 설계된 photomask를 위에 놓고 빛을 쬐이면 구멍이 나있는 곳으로 빛이 들어가

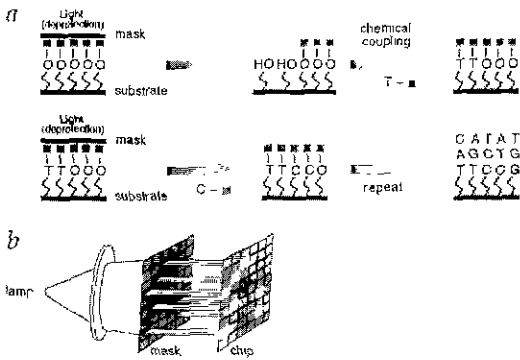


그림 3 Photolithography

그곳에 있는 보조체의 화학물질들을 제거한다. 이렇게 화학물질이 제거된 보조체들을 가진 chip을 한가지 염기가 있는 곳에 넣으면 모든 활성화된 보조체들에 염기가 가서 합성된다. 물론 각각의 염기들도 빛에 민감한 화학물질로 덮여 있어 한 개씩밖에 합성이 안된다. 이러한 chip을 씻은 다음 다시 다르게 설계된 photomask를 이용하여 빛을 쏘여 주면 그곳에 있는 보조체나 염기들이 활성화되어 다음 염기들과 합성할 수 있게 되는 것이다. 이와같은 반복적인 과정을 통하여 400,000개의 다른 25mer(25개의 염기를 가진 oligonucleotide)를 약 100 cycle 안에 합성할 수 있다.

앞에서 설명한 cDNA microarray chip과 이 oligonucleotide chip의 다른 점은 chip에 긴 가닥의 유전자 대신에 25mer를 심은 것이다. 이와 같은 차이점 때문에 유전자 발현을 검색하는데 쓰이는 oligonucleotide chip을 만들 때 유전자의 어떤 부분을 선택하여 합성하느냐가 아주 중요하다. 평균 20개의 25mer들이 하나의 유전자를 대표하여 선택된다. 또한 각각의 결합 온도 (annealing temperature)가 서로 비슷해야 한다. 가장 중요한 것은 이들 25mer들이 전체 게놈에서 유일해야 한다는 것이다. 만약에 중복되어 있다면 결과를 해석할 수 없게 되기 때문이다. 이와 같은 조건 때문에 전체 게놈의 염기 서열이 밝혀진 생물의 chip을 만드는 것이 가장 수월하다. 다만 한 유전자를 대표하는 20개 25mer의 밝기 정도가 그 유전자의 발현 정도를 대표하는 것이 다르다. 이 chip을 이용하여 1:300,000의 빈

도로 발현하는 유전자도 검색할 수 있다. 이 oligonucleotide chip도 cDNA microarray chip과 마찬가지로 한 환경에만 발현하는 유전자를 찾을 수 있을 뿐만 아니라 발현 정도까지도 알 수 있다. 또한 Affymetrix oligonucleotide chip은 하나의 염기서열만 틀려도 결합을 하지 않는 성질을 이용하여 한 염기에 생긴 돌연 변이 (point mutation)까지도 찾아낼 수 있다. 지금 Affymetrix 회사에서는 앞에서 설명한 유전자 발현 검색용 chip뿐만 아니라 암 관련 유전자인 p53와 BRCA1을 가진 chip, AIDS의 원인인 HIV의 종류도 알 수 있는 chip, 그리고 SNP (single nucleotide polymorphism) 측정용 chip 등을 생산하고 있다.

2.1.4 Electronic array DNA chip

DNA가 (-) 전하를 띠는 성질을 이용하여 chip의 표면에 있는 특정 위치에 (+) 전기를 넣어서 그 위치에 원하는 유전자를 붙게 만드는 방법이다. 이와 같은 원리를 이용한 chip이 미국의 Nanogen에서 개발되었고 지금은 10,000개의 DNA를 이러한 방법으로 붙일 수 있는 chip을 개발중이다(<http://www.nanogen.com/>). 이 기술의 장점은 이와 같은 electronic addressing 뿐만 아니라 전기를 이용하여 target DNA를 원하는 특정 위치에 끌어드림으로서 결합 시간을 단축할 수 있다는 것이다. 또한 전기적인 힘을 이용하여 정상 DNA와 하나의 염기가 다른 DNA를 떨어뜨릴 수 있는 장점도 있다. 최근에는 지금까지 보통 수주가 걸리던 DNA 감식 작업을 병행현장에서 수초만에 끝낼 수 있도록 미국 법무부 산하 연구기관인 국립 사법 연구소 (NIJ)가 Nanogen chip을 1-2년안에 모든 경찰 차에 도입하겠다고 발표하였다. 아직까지 Nanogen chip의 검색은 형광 물질을 이용하고 있지만 Clinical Micro Sensors라는 회사에서는 아주 획기적으로 검색과정도 전기 신호로서 측정하는 기술을 개발하였다(<http://www.micro-sensor.com/>). 그럼으로서 고가의 laser scanner 대신 손으로 들고 다닐 수 있는 저가의 측정장비를 사용하게 만들었다. 이러한 DNA chip은 앞으로 더욱 더 폭 넓게 여러 가지 영역에서 쓰여 지리라 예상되고 있다.

2.2 DNA chip 활용 분야

유전자 발현을 검색하는 데에는 cDNA chip이나 oligonucleotide chip이 기존의 방법들보다도 모두 뛰어나다. 일단 많은 수의 유전자들을 한번에 검색한다는 데에 그 의미가 있는 것이다. 앞에서 밝힌 것과 같이 oligonucleotide chip은 또한 돌연변이 검색에도 사용될 수 있다. 그러므로 이 두 가지의 DNA chip들은 돌연변이 검색, 병의 진단 또는 유전자 발현 청사진을 만드는데 많은 기여를 할 것이다. 아래 표 2에서는 이들 DNA chip의 사용 가능 분야들을 간략히 요약하였다.

표 2 DNA chip 활용분야

cDNA chip 활용 가능 분야	Oligonucleotide chip 활용 가능 분야
인체 유전자 기능분석 연구	암관련 유전자 돌연변이 검색진단
산업용 유전자 제조합 동식물 및 미생물 연구	유전병관련 유전자 돌연변이 검색진단
실험용 동식물 모델 연구	약제내성 검색진단
암 및 질병관련 유전자 진단	DNA 임기서열 분석
유전자 치료	유전자 변이 가계도 작성
임상 병리학	장기 이식가능 조직 검사
동식물 검역	병원성 미생물 동정
환경변화에 따른 생태학 연구	법의학 (용의자확인, 친자 확인 등..)
식품 안전성 검사	DNA 고고학
신약개발	

위의 표에서 보는 것과 같이 DNA chip을 이용하여 게놈 차원에서의 유전자 기능과 변화를 알아내는 것은 과학 기술적인 측면뿐만 아니라 인류의 건강과 생명의 신비를 해석하는데 아주 중요하다. 이러한 지식은 신약 개발이나 유전자 치료 등에도 많은 기여를 할 것이다. 또한 인류의 건강을 위해서는 인간 유전자 기능 검색뿐만 아니라 많은 인간 질병의 원인이 되고 있는 미생물들의 동정을 검색하는 것도 아주 중요하다. 이미 많은 질병관련 미생물들의 게놈이 밝혀져 있으며, 앞으로도 계속해서 밝혀질 것이다. 이렇게 밝혀진 염기서열을 통한 연구는 계속될 것이고 연구 진행의 결과로 미생물의 유전자 검색 또한 손쉽게 이루어질 수 있을 것이다. 병원성 미생물의 빠르고 정확한 검색방법의 개발은 임상 의사의

가 적절한 판단과 치료를 하는데 결정적인 기여를 할 수 있을 것이다. 또한 이러한 DNA chip은 병원뿐만 아니라 동식물 및 식품 검역소, 환경 오염 등에도 쓰여 질 수 있다. 또한 사람의 ID, 친자확인, 장기 이식 가능 조직의 검사 등에도 DNA chip은 널리 쓰이게 될 것이다. 이들 기술이 DNA chip에 사용 가능한 이유는 모든 사람들이 각자 조금씩 다른 DNA 구조를 가지고 있기 때문이다. 이와 같이 가까운 미래에 DNA chip은 우리의 생활 구석구석에 파고들어 우리의 삶을 보다 윤택하게 만들 것이다.

3. 결론

2000년 중반에 거의 완성될 인간 게놈프로젝트의 다음 목표는 바로 우리가 가진 유전자들의 기능이 무엇인가를 밝히는 것이다. 이 과정에서 필수적인 작업은 바로 게놈 차원에서의 유전자 발현 검색이다. 바로 이 작업을 수행할 DNA chip은 가까운 장래에 우리에게 게놈차원의 유전자 발현 청사진을 제공함으로써 과학 기술적인 측면뿐만 아니라 인류의 건강과 생명의 신비를 해석하는데 결정적인 기여를 할 것이다. 또한 인간의 질병이나 암과 관련된 하나 이상의 돌연변이들을 동시에 검색할 수 있는 시대도 열게 될 것이다. 그림 4는 바로 DNA chip이 가져올 21세기 초의 우리의 생활상을 토정비결에 비유하여 만들어 본 것이다. 이와 같은 일이 현실로 빨리 다가오기 위해서는 bioinformatics(생물정보학)의 발달이 가장 시급하다. 엄청나게 쏟아지는 유전 정보들의 효율적인 관리가 필요한 것이다. DNA chip으로 생산된 결과들을 금광에 비유한다면

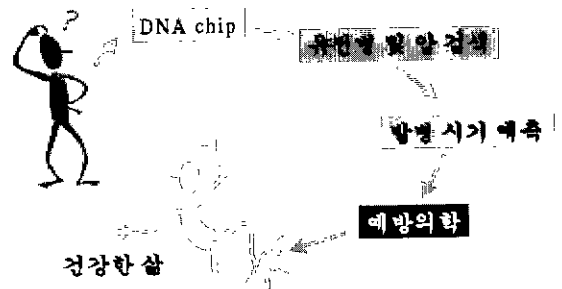


그림 4 DNA 토정비결

표 3 DNA chip 분석 Software

분석 Software
ArrayMaker, ScanAlyze, Cluster, Xcluster, TreeView, Stanford Microarray DB, GeneChip Analysis Suite, GeneChip LIMS, GeneChip Data Mining Tool, GeneSight, Genesight, Microarray Project, cDNA DB, EPODB, RNA Abundance DB, LifeArray, Expressionist, GeneExpress, ArrayExpress, ExpressDB, Gene Expression Omnibus, Resolver, GeneSpring, Array Explorer, SSBM, GXD, ChipDB, CyberT, EPCLUST, Data Explorer, JMA viewer, ArrayScout, SeqArray, GenePixPro, ArrayVision, IPLab MicroArray Suite, GeneX, maxd, AMAD, GenomeXtools

bioinformatics는 바로 그 금을 얻기 위한 중요한 도구가 될 것이다. 최근에는 DNA chip의 결과만을 분석하기 위한 많은 수의 software들이 만들어져서 엄청난 양의 data를 분석하고 있다 (표 3). 그리고 최근에 소개된 laboratory on a chip 개념이 DNA chip과 결합하면 더욱더 빠르고 정확한 정보들을 얻을 수 있을 것이다. 처음 게놈연구를 시작할 때 많은 사람들은 인간의 모든 유전자가 밝혀지더라도 그들의 모든 성질을 밝히는 데는 100년 이상이 걸릴 것이라고 추측했다. 하지만 이 DNA chip과 같은 기술의 개발로 이 시간은 많이 단축되리라고 생각한다. 그럼으로 가까운 미래에 우리는 유전정보 청사진을 가지고 모든 암과 유전병을 정복할 수 있는 시대를 맞이할 것이다.

참고문헌

[1] Duggan D. J., Bittner M., Chen Y., Meltzer P and Trent J. M. (1999) Expression profiling using cDNA microarrays, Nat. Genet. Supp. 21: 10-14.

[2] Lashkari D. A., DeRisi J. L., McCusker J. H., Namath A .F., Gentile C., Hwang S. Y., Brown P. O. and Davis R. W. (1997) Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis, Proc Natl Acad Sci U S A 94(24). 13057-13062.

[3] Lipshutz R J., Fodor S. P A., Gingeras T. R. and Lockhart D. J. (1999) High density synthetic oligonucleotide arrays, Nat. Genet. Supp. 21: 20-24.

황 승 용



1989 한양대학교 생화학파 B.Sc
 1990 호주 Monash대학교 생화학파 M.Sc Prelim.
 1995 호주 Monash대학교 분자유전학 Ph.D
 1996~1997 8 미국 Stanford대학교 생화학파 Post-doc
 1997 9~현재 한양대학교 생화학 및 분자생물학과 조교수

E-mail syhwang@mail.hanyang.ac.kr