

## Detection and Analysis of DNA Hybridization Characteristics by using Thermodynamic Method

金道均\* · 權寧守\*\*

(Do-Kyun Kim · Young-Soo Kwon)

**Abstract** - The determination of DNA hybridization reaction can apply the molecular biology research, clinic diagnostics, bioengineering, environment monitoring, food science and application area. So, the improvement of DNA hybridization detection method is very important for the determination of this hybridization reaction. Several molecular biological techniques require accurate predictions of matched versus mismatched hybridization thermodynamics, such as PCR, sequencing by hybridization, gene diagnostics and antisense oligonucleotide probes. In addition, recent developments of oligonucleotide chip arrays as means for biochemical assays and DNA sequencing requires accurate knowledge of hybridization thermodynamics and population ratios at matched and mismatched target sites. In this study, we report the characteristics of the probe and matched, mismatched target oligonucleotide hybridization reaction using thermodynamic method. Thermodynamic of 5 oligonucleotides with central and terminal mismatch sequences were obtained by measured UV-absorbance as a function of temperature. The data show that the nearest-neighbor base-pair model is adequate for predicting thermodynamics of oligonucleotides with average deviations for  $\Delta H^{\circ}$ ,  $\Delta S^{\circ}$ ,  $\Delta G_{37}^{\circ}$  and  $T_m$ , respectively.

**Key Words** : UV-absorbance, DNA hybridization, matched and mismatched sequences, thermodynamic, nearest neighbor base-pair model

### 1. 서 론

유전자는 DNA(deoxyribonucleic acid)라는 고분자 중합체 물질로 되어 있고 많은 종류의 바이러스나 파지 등은 RNA(ribonucleic acid)로 되어 있다. DNA는 그것을 구성하고 있는 뉴클레오티드(nucleotide)의 종류와 배열 순서에 따라 유전자의 종류가 결정되며 그 종류는 매우 다양하다. 즉 뉴클레오티드는 인산(PO<sub>3</sub>)-당(deoxyribose)-염기(A, G, C, T의 4염기)의 중합체로 되어 있지만 형질에 대한 유전자의 특이성, 즉 정보를 간직하고 형질을 발현시키는 것은 4가지의 염기가 지배한다.

일반적으로 형질에 대한 유전자는 수백-수천의 염기쌍으로 되어 있기 때문에 100쌍인 경우 4100 종류 이상의 염기배열, 즉 형질을 생성할 수 있다. 그러나 엄격하게 말하면 DNA 자체가 직접적으로 여러 형질을 발현하는 것이 아니고, 그것이 지니고 있는 유전정보(genetic information: 염기의 배열순서를 규정하는 암호)를 전사하여 mRNA를 만들며, 그 mRNA가 tRNA, rRNA 등의 협력으로 유전정보가 간직된 부호대로의 단백질, 효소 등을 생합성함으로써 형질이 발현된다<sup>[1]-[2]</sup>.

따라서 mRNA로부터 역전사 효소로 합성한 상보적 DNA(cDNA)나 화학적으로 합성된 일염기 올리고뉴클레오티드를 프로브로 사용하여 임의적으로 DNA hybridization을 시키면 두 종간의 진화 및 유전적 관련성 정도를 결정하거나 DNA에 존재하는 반복 염기배열의 수를 결정하는데 이용될 수 있다. 이 방법의 원리는 DNA를 고온처리하면 이중 나선 구조가 풀려서 일염기로 분리되고, 또 온도를 식히면 상보적인 DNA끼리 다시 재결합하는 DNA의 특성을 기초로 한 것이다<sup>[3]</sup>.

이런 DNA hybridization이 실험적으로 유용한 것은 프로브 DNA와 상보적인 표적 DNA만을 헤테로쌍염기(heteroduplex)로 형성시킬수 있기 때문이다. 따라서 돌연변이 등에 의해 한 염기쌍이 다른 염기쌍으로 치환되거나 염기쌍이 결실 또는 첨가되는 등의 미스매치 염기배열을 가진 표적 DNA를 찾아낼 수도 있다. 즉, 상보적 DNA와 미스매치 DNA를 정확히 예측함으로써 유전자를 질병 치료에 이용하는 유전자 치료(gene therapy) 뿐만 아니라 분자생물학, 바이오공학, 환경모니터링, 식품공학등 여러 분야에 응용이 가능할 것으로 생각된다<sup>[4]</sup>.

본 논문에서는 UV-흡광도를 이용하여 열역학법에 의한 DNA hybridization을 측정하였으며, 최근접 염기대 모델(nearest neighbor base-pair model)을 이용하여 얻은 상보적 및 각 미스매치 올리고뉴클레오티드의 반응 특성과 비교 분석한 결과를 서술하였다. 이 결과를 바탕으로 상보적 및 각 미스매치 올리고뉴클레오티드는 열역학적으로 차이가 있음을 확인하였으며, DNA칩 마이크로어레이나 전기화학적 방법을

\*正會員 : 東亞大學校 電氣工學科 博士修了

\*\*正會員 : 東亞大學校 電氣工學科 教授 · 工博

接受日字 : 2001年 12月 28日

最終完了 : 2002年 4月 3日

이용한 DNA 센서 개발의 기초 자료로 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

2. 실험 원리

2.1 분광광도기를 이용한 올리고뉴클레오타드의 DNA hybridization 측정 원리

쌍염기 올리고뉴클레오타드의 DNA hybridization 측정은 분광광도기(spectrophotometer)를 사용해서 분광학적으로 측정하는 것이 가능하다. 올리고뉴클레오타드는 염기 평면에 대해  $\pi \rightarrow \pi^*$  천이를 위해 260nm 근처의 자외선광을 강하게 흡수하는 성질을 가지고 있다. 따라서 260nm 및 280nm에 대한 각 염기의 흡광 계수를 구할 수 있다. 이 흡광 계수를 이용함으로써 수용액중의 올리고뉴클레오타드 농도를 결정하는 것이 가능하다.

올리고뉴클레오타드의 DNA hybridization 측정은 담색효과(hypochromicity)라고 하는 올리고뉴클레오타드 특유의 성질을 이용한다. 쌍염기 올리고뉴클레오타드(AB)는 측정 온도를 올릴수록 일염기 올리고뉴클레오타드로 해리되며, 고온이 되면 완전히 일염기 올리고뉴클레오타드의 상태(A+B)로 된다. 이런 쌍염기 올리고뉴클레오타드의 해리 정도를 260nm의 흡광도(absorbance)의 온도변화를 측정하면 온도가 상승함에 따라 일염기로 용해하고 있는 정도가 흡광도의 증가로 관측할 수 있다. 통상적으로 승온 온도는  $1.0^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$  또는  $0.5^{\circ}\text{Cmin}^{-1}$ 으로 측정한다. 이 흡광도의 온도 변화는 그림 1과 같이 비선형 곡선을 그리며, 높은 협동효과를 나타낸다. 쌍염기 올리고뉴클레오타드의 DNA hybridization은 이 곡선(용해곡선; melting curve)으로부터 아래 식을 이용해서 구한다<sup>[5]</sup>. 즉, 전농도( $C_t$ )일 때의 쌍염기 올리고뉴클레오타드가 반정도 일염기 올리고뉴클레오타드로 해리되었을 때의 온도를 용해온도( $T_m$ ; melting temperature)라고 부르며, 식 (1)의 관계식을 이용하기 위해 용해온도와 전농도의 관계식 (2)이 도입되어진다.

$$\Delta G^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T\Delta S^{\circ} \tag{1}$$

$$T_m^{-1} = \frac{2.303R \log(C_t/n) + \Delta S^{\circ}}{\Delta H^{\circ}} \tag{2}$$

여기서,  $\Delta H^{\circ}$ 와  $\Delta S^{\circ}$ 는 올리고뉴클레오타드의 쌍염기 형성의 엔탈피(enthalpy) 변화 및 엔트로피(entropy) 변화이고,  $\Delta G^{\circ}$ 는 온도  $T$ 에 대한 올리고뉴클레오타드의 쌍염기 형성의 자유 에너지 변화이다.  $R$ 은 기본 상수( $R=1.987\text{cal/molK}$ ),  $n$ 은 자기보상염기배열(self-complementary sequence)의 경우는 1, 비자기보상염기배열(non-self-complementary sequence)의 경우는 4가 되는 상수이다.

올리고뉴클레오타드의 각 농도에서의 용해곡선으로부터 각각의 용해온도를 구할 수 있으며, 식 (2)의  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_t/n)$ 의 플롯(plot)을 그래프로 나타내면 직선이 얻어진다. 이 그래프의 기울기는  $2.303R/\Delta H^{\circ}$ , 절편은  $\Delta S^{\circ}/\Delta H^{\circ}$ 와 같이 된다. 이들 식으로부터  $\Delta H^{\circ}$  및  $\Delta S^{\circ}$ 의 값이 구해지며, 식 (2-3)으로부터  $25^{\circ}\text{C}$ 와  $37^{\circ}\text{C}$ 에서의  $\Delta G_{25}^{\circ}$ 와  $\Delta G_{37}^{\circ}$ 의 값을 얻을 수 있다. 여기서,  $\Delta H^{\circ}$  및  $\Delta S^{\circ}$ 은 올리고뉴클레오타드 농도

및 온도에 의존하지 않는 값으로 가정한다. 이 방법으로 각 열역학적량을 구할 때는 적어도 100배 이상의 올리고뉴클레오타드 농도 범위에서 5개 이상의 농도 포인트가 필요한 것으로 알려져 있으며, 이 측정에는 비교적 수작업이 필요하지만  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_t/n)$ 의 그래프로부터 얻어진 열역학적량은 신뢰성이 있는 값이다.

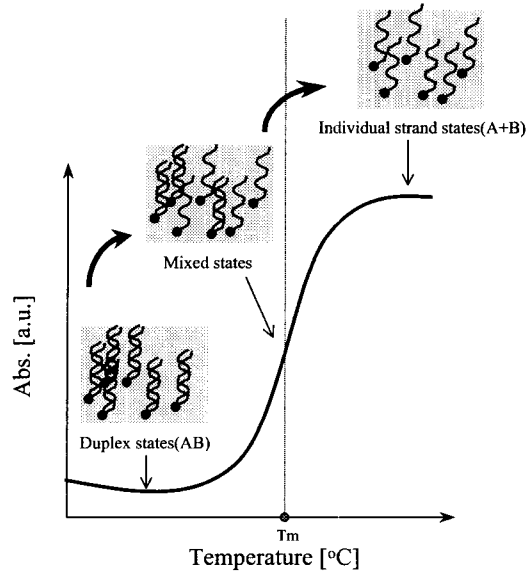


그림 1 온도에 따른 쌍염기 올리고뉴클레오타드의 용해곡선  
Fig. 1 Melting curve graph of duplex oligonucleotide according to temperature

표 1 DNA/DNA에 대한 최근접 염기대 파라미터

Table 1 Nearest-neighbor base-pair thermodynamic parameter for DNA/DNA

최근접 염기대	$\Delta H^{\circ}$ (kcal/mol)	$\Delta S^{\circ}$ (cal/mol · K)	$\Delta G_{37}^{\circ}$ (kcal/mol)
AA/TT	-8.0	-21.9	-1.2
AT/TA	-5.6	-15.2	-0.9
TA/AT	-6.6	-18.4	-0.9
CA/GT	-8.2	-21.0	-1.7
GT/CA	-6.6	-16.4	-1.5
CT/GA	-8.8	-23.5	-1.5
GA/CT	-9.4	-25.5	-1.5
CG/GC	-11.8	-29.0	-2.8
GC/CG	-10.5	-26.4	-2.3
GG/CC	-10.9	-28.4	-2.1
initiation value	0.6	-9.0	3.4
symmetry correction	0.0	-1.4	0.4

## 2.2 최근접 염기대 모델과 파라메터

실험적 방법이외에 좀더 간단하고 정밀하게 올리고뉴클레오티드의 안정성을 예측할 수 있는 방법이 개발되고 있다. 이것이 바로 최근접 염기대 모델이다. 이 모델은 “올리고뉴클레오티드의 염기대 생성에 가장 영향을 주는 것은 이미 생성되어 있는 근접한 염기대이다” 라는 사실을 토대로 구성되어 있다. 즉, 쌍염기 올리고뉴클레오티드의 DNA hybridization은 염기배열에 의존하기 때문이 아니라 근접한 염기의 종류만을 고려해야 한다는 방법이다.

DNA/DNA 및 RNA/RNA의 최근접 염기대 파라메터에 대해서는 Breslauer 및 Freier에 의해 1986년에 보고되었으며, 그 후 여러 연구 그룹에 의해 새로운 최근접 염기대 파라메터가 구해졌다. 특히 DNA/DNA의 안정성 예측법은 PCR 프라이머 영역의 선정 등에 유효하기 때문에 정밀도가 높은 파라메터가 필요하다. 그래서 정밀도가 높은 DNA/DNA의 파라메터를 찾기 위한 연구가 계속 진행되고 있으며 최근에 정밀도가 높은 파라메터가 발표되고 있다<sup>[6]</sup>. 표 1에 DNA/DNA의 최근접 염기대 파라메터를 나타내었다.

## 3. 시료 및 실험 방법

### 3.1 시료

본 연구에 사용된 모든 올리고뉴클레오티드는 0.2 μM 스케일의 이중나선 DNA를 일본 Nissinbo에 위탁 합성 및 HPLC 정제하여 사용하였다. 각 올리고뉴클레오티드의 염기배열은 표 2에 나타내었다. 염기배열중 밀출된 부분은 미스매치 염기배열을 나타낸다. 미스매치 올리고뉴클레오티드 MR-2와 MR-3은 중앙 부분과 말단부분에 한 개씩의 미스매치 염기배열을 가졌으며, 미스매치 올리고뉴클레오티드 MR-22와 MR-33은 중앙 부분과 말단부분에 두 개씩의 미스매치 염기배열을 가졌다. 이 미스매치 올리고뉴클레오티드를 사용하여 미스매치 염기배열의 위치 및 개수가 DNA hybridization에 어떤 영향을 미치는지를 알아볼 수 있다.

표 2 프로브 및 각 표적 올리고뉴클레오티드의 염기배열  
Table 2 Sequences of probe and target oligonucleotide

oligonucleotide	base sequence
probe (PB-1)	5' TGCAGAGTGGTATAACTG 3'
complementary (CR-1)	5' CAGTTATACCACTCTGCA 3'
Mismatching 1 (MR-1)	5' <u>GGTTTCCATGACAACGGG</u> 3'
Mismatching 2 (MR-2)	5' CAGTTAT <u>G</u> CCACTCTGCA 3'
Mismatching 3 (MR-2)	5' CAGTTATACCACTCTG <u>C</u> G 3'
Mismatching 22 (MR-22)	5' CAGTTATAG <u>G</u> ACTCTGCA 3'
Mismatching 33 (MR-33)	5' CAGTTATACCACTCTG <u>G</u> G 3'

모든 올리고뉴클레오티드는 파우더 형식으로 제공되었으며 TE 완충액(10mM Tris, 1mM EDTA, pH7.4)에 의해 100 μM의 농도로 용해해서 사용하였다. 또한 모든 올리고뉴클레오티드의 농도는 수용성 완충액(10mM Tris-HCl, 0.2M NaCl, pH 7.9)에 의해 0.1nM부터 10 μM까지 조정되었으며, 사용하지 않을 경우는 -20℃의 상태에서 보관하였다.

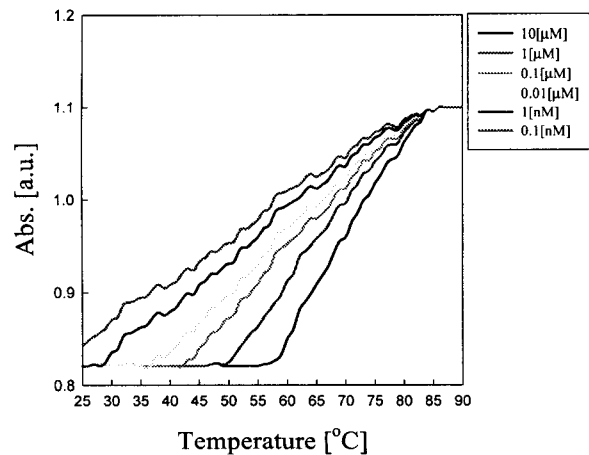
### 3.2 실험 방법

UV흡광도 및 온도의 프로파일(melting curves)은 DU 640 UV-vis spectrophotometer (BECKMAN, USA)를 사용하여 측정하였다. 열역학법에 의한 실험을 위해 모든 올리고뉴클레오티드는 수용성 완충액(10mM Tris-HCl, 0.2M NaCl, pH 7.9)을 이용하여 0.1nM~10 μM 농도의 샘플로 각각 제작하였다. 실험전에 모든 샘플은 5분동안 실온에서 90℃까지 가열시킨 후, 실온까지 다시 천천히 냉각시켜 프로브 올리고뉴클레오티드와 표적 올리고뉴클레오티드를 쌍염기의 형태가 되도록 hybridization시켰다.

이 후 모든 실험은 260nm의 파장대에서 1℃/min의 heating rate로 측정되었다. 온도가 올라가는 동안 260nm의 파장대에서의 흡광도는 계속 기록되었으며 쌍염기가 해리되는 용해곡선을 구하였다. 올리고뉴클레오티드의 각 농도에서의 용해곡선으로부터 각각의 용해온도를 구할 수 있으며, 식 (2)의  $T_m^1$  vs.  $\log(C_i/n)$ 의 플롯(plot)을 그래프로 나타내면 직선이 얻어진다. 이 그래프의 기울기는  $2.303R/\Delta H^0$ , 절편은  $\Delta S^0/H^0$ 와 같이 된다. 이들 식으로부터  $\Delta H^0$  및  $\Delta S^0$ 의 값이 구해지며, 식 (1)로부터 25℃와 37℃에서의  $\Delta G_{25}^0$ 와  $\Delta G_{37}^0$ 의 값을 얻을 수 있다.

## 4. 결과 및 검토

표 2에 나타낸 올리고뉴클레오티드 중 프로브(PB-1)와 상보적(CR-1) 올리고뉴클레오티드의 온도에 대한 UV-absorbance를 여러 농도로 측정하여 용해곡선을 얻었으며 그 결과를 그림 2 (a)에 나타내었다. 이 결과에 의해 구해진 각 농도에 대한 용해온도를 표 3에 정리하여 나타내었다.



(a)

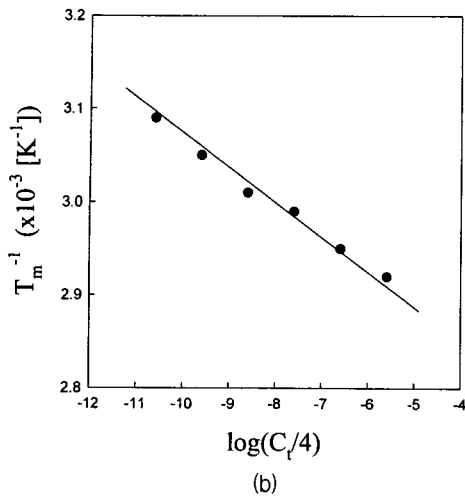


그림 2 프로브와 상보적 표적 올리고뉴클레오타이드에 대한 용해곡선 및  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$  플롯 그래프  
(a) 용해곡선

(b)  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$  플롯 그래프

Fig. 2 Melting curves and  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$  plots for probe and complementary oligonucleotide  
(a) Melting curves  
(b)  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$  plots

그림 2 (a)로부터  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$ 을 플롯(plot)한 그래프를 그림 2 (b)에 나타내었다. 그림 2 (b)와 같이  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$ 을 플롯(plot)한 그래프는 직선을 나타내며, 이 그래프의 기울기와 절편으로부터 최근접 염기대 파라미터  $\Delta H^0$  (-137.9kcal/mol) 및  $\Delta S^0$  (-377.3cal/mol · K)를 구할 수 있었다. 또한 식 (1)로부터 37°C에서의  $\Delta G_{37}^0$  (-20.6kcal/mol)의 값을 얻을 수 있었다. 그 결과는 표 4에 정리하여 나타내었다.

프로브와 상보적 올리고뉴클레오타이드의 최근접 염기대 파라미터를 최근접 염기대 모델에 의한 계산법으로 예측할 수도 있다. 즉, 이 올리고뉴클레오타이드의 쌍염기는 아래의 식처럼 표현할 수 있다.

$$5' \text{ CAGTTATACCACTCTGCA } 3' / 3' \text{ GTCAATATGGT GAGACGT } 5' = \text{initiation} + \text{symmetry} + 4 \times (\text{CA/GT}) + 3 \times (\text{CT/GA}) + 3 \times (\text{GT/CA}) + 2 \times (\text{TA/AT}) + \text{AA/TT} + \text{AT/TA} + \text{GG/CC} + \text{GA/CT} + \text{GC/CG} \quad (3)$$

식 (3)에 의해 표현된 쌍염기 올리고뉴클레오타이드의 엔트로피 변화인  $\Delta S^0$ 는 표 1의  $\Delta S^0$ 값을 참고해서 구하면 아래의 식처럼 표현할 수 있다.

$$\Delta S^0 = (-9.0) + (-1.4) + 4 \times (-21.0) + 3 \times (-23.5) + 3 \times (-16.4) + 2 \times (-18.6) + (-21.9) + (-15.2) + (-28.4) + (-25.5) + (-26.4) = -376.9 \text{ cal/mol} \cdot \text{K} \quad (4)$$

여기서, initiation값은 쌍염기가 처음 형성할 때의 엔트로피 변화의 보정값이며, symmetry값은 자기상보적 올리고뉴클레오타이드에 의한 쌍염기 형성의 엔트로피 변화의 보정값이다. 이와 같은 방법에 의해 구해진 쌍염기 형성의 엔탈피 변화  $\Delta H^0$ 의 값은 -138.0kcal/mol이었다. 또한 37°C에서의 자유 에너지 변화  $\Delta G_{37}^0$ 의 값은 식 (1)에 의해 -21.0kcal/mol이었다.

최근접 염기대 모델 계산법에 의해 구해진 각 최근접 염기대 파라미터값은 그림 2 (b)의  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$ 을 플롯(plot)한 그래프에서 구한 파라미터값과 거의 일치하고 있다(표 4, 5 참조). 따라서 UV 흡광도를 이용한 열역학법에 의해 DNA hybridization 현상을 분석하는 것이 가능하며, 최근접 염기대 모델 계산법으로도 DNA hybridization 현상을 예측하는 것이 가능하다는 것을 알 수 있다.

표 2에 나타낸 올리고뉴클레오타이드 중 프로브(PB-1)와 중앙 부분과 말단 부분에 미스매치 염기배열을 가진 미스매치(MR-2~MR-33) 올리고뉴클레오타이드의 온도에 대한 UV-absorbance를 1pM~10μM 범위의 농도로 측정하여 용해곡선을 얻었다. 이 결과에 의해 각 농도에 대한 용해온도를 구할 수 있었으며, 각 미스매치 올리고뉴클레오타이드의 여러 농도에서의 용해온도를 표 3에 정리하여 나타내었다.

표 3 상보적 및 각 미스매치 올리고뉴클레오타이드의 여러 농도에서의 용해온도

Table 3 Melting temperature of complementary and each mismatches oligonucleotide as to concentration

농도	용 해 온 도 (°C)				
	CR-1	MR-2	MR-3	MR-22	MR-33
10 μM	70	66	67	60	65
1 μM	66	62	63	55	61
0.1 μM	62	58	59	51	56
0.01 μM	59	54	56	46	52
1nM	55	50	52	42	48
0.1nM	51	47	49	38	44

각 미스매치 올리고뉴클레오타이드의 용해곡선으로부터  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$ 을 플롯(plot)한 그래프를 그림 3에 나타내었다. 그림 2와 같이  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$ 을 플롯(plot)한 그래프는 직선을 나타내며, 이 그래프의 기울기와 절편으로부터 각 미스매치 올리고뉴클레오타이드에 대한 최근접 염기대 파라미터  $\Delta H^0$  및  $\Delta S^0$ 를 구할 수 있었다. 또한 식 (1)으로부터 37°C에서의  $\Delta G_{37}^0$ 의 값을 얻을 수 있었다. 그 결과는 표 4에 정리하여 나타내었다.

프로브와 각 미스매치 올리고뉴클레오타이드의 최근접 염기대 파라미터를 상보적 올리고뉴클레오타이드의 경우와 같이 최근접 염기대 모델에 의한 계산법으로 예측할 수

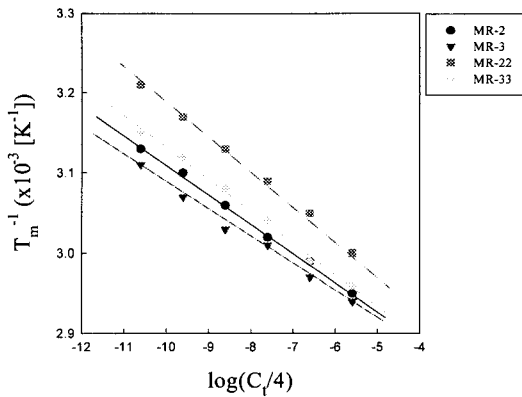


그림 3 프로브와 각 미스매치 표적 올리고뉴클레오티드에 대한 용해곡선 및  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$  플롯 그래프

Fig. 3  $T_m^{-1}$  vs.  $\log(C_i/n)$  plots for probe and each mismatches oligonucleotide

표 4 UV-흡광도 실험에 의해 구해진 각 표적 올리고뉴클레오티드의 최근접 염기대 파라미터

Table 4 Experimental thermodynamic parameter of each target oligonucleotide

Materials	$\Delta H^{\circ}$ (kcal/mol)	$\Delta S^{\circ}$ (cal/mol · K)	$\Delta G_{37}^{\circ}$ (kcal/mol)
CR-1	-137.9	-377.3	-20.6
MR-2	-126.9	-348.5	-18.83
MR-3	-134.4	-369.8	-19.76
MR-22	-108.9	-301.7	-15.34
MR-33	-120.2	-329.8	-18.01

표 5 최근접 염기대 모델법에 의해 구해진 각 표적 올리고 뉴클레오티드의 최근접 염기대 파라미터

Table 5 Thermodynamic parameter predicted by the Nearest-neighbor base-pair model method

Materials	$\Delta H^{\circ}$ (kcal/mol)	$\Delta S^{\circ}$ (cal/mol · K)	$\Delta G_{37}^{\circ}$ (kcal/mol)
CR-1	-138.0	-376.9	-21.0
MR-2	-126.9	-347.2	-19.14
MR-3	-134.4	-369.5	-19.77
MR-22	-108.8	-301.5	-14.82
MR-33	-119.3	-329.3	-17.68

있다. 각 미스매치 올리고뉴클레오티드의 엔트로피 변화인  $\Delta S^{\circ}$ 도 표 1의  $\Delta S^{\circ}$ 값을 참고해서 구할 수 있었다. 이와 같은 방법에 의해 구해진 쌍염기 형성의 엔탈피 변화  $\Delta H^{\circ}$ 값과 식 (1)에 의해 구해진 37°C에서의 자유에너지 변화  $\Delta G_{37}^{\circ}$ 의 값은 표 5에 정리하여 나타내었다.

그림 4에 상보적 및 각 미스매치 올리고뉴클레오티드의 37°C에서의 자유에너지 변화  $\Delta G_{37}^{\circ}$  값을 비교하여 나타내었다. 여기서  $\Delta G_{37}^{\circ}$  값이 음의 부호를 가진다는 것은 열역학적으로 반응이 일어날 때, 자유에너지를 외부에 내어놓는다는 것을 의미한다. 즉, 외부의 열에너지에 의해 자유에너지가 증가하는 방향으로 반응이 일어날 수 있는 것이다. 따라서  $\Delta G_{37}^{\circ}$  값이 음의 방향으로 갈수록 염기배열은 안정화하여 쌍염기 상태를 유지하며, 양의 방향으로 갈수록 외부의 열에너지에 의해 쌍염기가 일염기로 해리되기가 쉽다. 그림 4의 결과를 비교해보면 상보적 올리고뉴클레오티드가 각 미스매치 올리고뉴클레오티드에 비해 가장 안정한 상태를 나타내고 있으며, DNA hybridization 가장 일어나기 쉽다는 것을 알 수 있다.

미스매치 올리고뉴클레오티드 MR-2와 MR-3를 이용하여 미스매치 염기배열의 위치에 대한  $\Delta G_{37}^{\circ}$  값을 비교해 보면, 미스매치 염기배열이 말단부 위치하는 경우가 더 안정한 상태를 나타내고 있다. 역으로 해석하면, 미스매치 염기배열이 중앙부에 위치할수록 DNA hybridization이 어렵다는 것을 알 수 있다.

다음 미스매치 올리고뉴클레오티드 MR-2와 MR-22 혹은 MR-3와 MR-33를 이용하여 미스매치 염기배열의 개수에 대한  $\Delta G_{37}^{\circ}$  값을 비교해 보면, 미스매치 염기배열의 개수가 적을수록 더 안정한 상태를 나타내고 있으며, 미스매치 염기배열의 개수가 많을수록 DNA hybridization이 어렵다는 것을 알 수 있다.

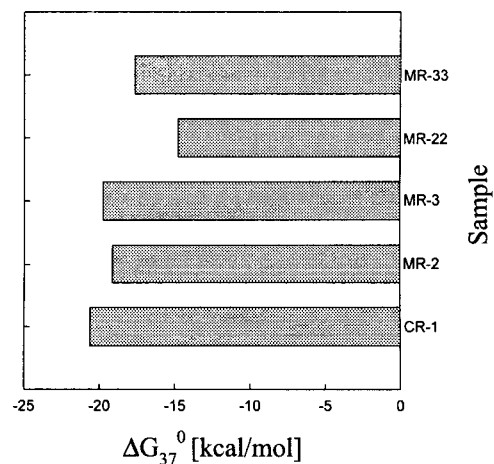


그림 4 상보적 및 각 미스매치 올리고뉴클레오티드의 37°C에서의 자유에너지 변화  $\Delta G_{37}^{\circ}$  값을 비교

Fig. 4 Free energy comparison at 37°C of complementary and each mismatches oligonucleotide

#### 4. 결 론

UV 흡광도를 이용한 열역학법 및 최근접 염기대 모델에 의해 상보적 및 각 미스매치 올리고뉴클레오티드의 DNA hybridization 현상을 분석하는 것이 가능했으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 상보적 올리고뉴클레오티드가 각 미스매치 올리고뉴클레오티드에 비해 가장 안정한 상태를 나타내고 있으며, DNA hybridization 가장 일어나기 쉽다는 것을 알 수 있었다.
- 2) 미스매치 올리고뉴클레오티드 MR-2와 MR-3를 이용하여 미스매치 염기배열의 위치에 대한  $\Delta G_{37}^{\circ}$  값을 비교해 보면, 미스매치 염기배열이 말단부 위치하는 경우가 더 안정한 상태를 나타내고 있다. 역으로 해석하면, 미스매치 염기배열이 중앙부에 위치할수록 DNA hybridization이 어렵다는 것을 알 수 있었다.
- 3) 미스매치 올리고뉴클레오티드 MR-2와 MR-22 혹은 MR-3와 MR-33를 이용하여 미스매치 염기배열의 개수에 대한  $\Delta G_{37}^{\circ}$  값을 비교해 보면, 미스매치 염기배열의 개수가 적을수록 더 안정한 상태를 나타내고 있으며, 미스매치 염기배열의 개수가 많을수록 DNA hybridization이 어렵다는 것을 알 수 있었다.

#### 감사의 글

본 연구는 학술진흥재단 신진연구인력연구비 (과제번호 : E046) 및 한국과학재단 지정 동아대학교 지능형통합항만관리연구센터의 지원에 의해서 수행되었기에 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

- [1] J. D. Watson, F. H. C. Crick, "Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid", Nature, vol. 171, pp.737-738, 1953
- [2] J. D. Watson, F. H. C. Crick, "Genetic implications of the structure of deoxyribose nucleic acid", Nature, vol. 171, p.964, 1953
- [3] H. R. Wilson, "The double helix and all that", Trends Biochem. Sci., vol. 13, pp.275-278, 1988
- [4] Benjamin Lewin, "GENES V", Oxford University Press and Cell Press, 1994, pp.89-90
- [5] Hatim T., Allawi and John SantaLucia, Jr., "Thermodynamics and NMR of Internal G·T Mismatches in DNA", Biochemistry, vol. 36, pp.10581-10594, 1997

- [6] N. Sugimoto, S. Nakano, M. Yoneyama, "Thermodynamics-structure relationship of single mismatches in RNA/DNA duplexes", Biochemistry, vol. 39, pp.11270-11281, 2000

### 저 자 소 개



#### 김도균 (金道均)

1971년 3월 25일생. 1996년 동아대학교 전기공학과 졸업. 1998년 동 대학원 전기공학과 졸업 (석사). 2001년 동 대학원 전기공학과 박사과정 수료. 현재 동아대학교 지능형통합항만관리연구센터 상임 연구원

Tel : 051-200-6742, Fax : 051-200-7743  
E-mail : kdk-mail@hanmail.net



#### 권영수 (權寧守)

1950년 1월 17일생. 1973년 영남대학교 전기공학과 졸업. 1983년~1988년 일본 동경공업대 대학원 전기·전자공학과 졸업 (공학박사). 1990년, 1992년, 1994년 동경공업대 객원연구원. 현재 동아대학교 전기공학과 교수

Tel : 051-200-7738, Fax : 051-200-7743  
E-mail : yskwon@mail.donga.ac.kr