차세대 염기서열 분석기술 (Next-generation Sequencing Technologies)

포스텍 화학공학과
정 규 열 교수

포스텍 시스템 생명공학부
신 기 원 박사과정

Introduction

기술의 발전 측면에서 새로운 기술의 개발은 그 도입 단계와 대중화 단계, 포화 단계로 나누어 볼 수 있다. 새로운 기술의 개발이 대중에 의해 유용한 것으로 판단되고 인정되어 대중화 단계에 다다르면 끊임없는 피드백으로 인해 해당 기술의 발전은 드디어 성숙 단계에 다다르고, 발전의 여지에 대한 가능성 보다는 새로운 적용의 가능성을 모색하거나 현재의 수준으로서의 적용이 안정적일 수 있도록 함으로써 그 명맥을 유지하게 된다. 하지만 새로운 필요의 증가와 현재 수준을 뛰어넘는 성능을 요하는 새로운 문제해결 방법이 필요하게 되면 어떠한 혁신적인 변화를 모색해야 한다. 염기서열 분석기술(Sequencing technology)의 경우 1977년 Sanger 등의 보고 이후 이른바 Sanger sequencing 방법이 계속 사용되어 오다가, 이를 모세관 전기영동(capillary electrophoresis)과 결합한 형태의 자동화된 기기가 1990년대 보급되기 시작하면서 Genome project를 가능하게 하였다. 현재까지 300개 이상의 organism의 genome sequencing이 완료된 상황이며, 여기에는 human genome은 물론이고, 주요한 human pathogen을 포함한 다양한 microorganism이 포함되어 있다. 이러한 상황 속에서 최근 sequencing technology 분야에서 새로운 혁신적인 발전이 이루어지고 있는데, 이러한 발전은 1990년대에 genome project를 가능하게 하였던 모세관 전기영동 기술의 도입처럼, 기존의 틀을 깨는 새로운 기술의 도입에서 유래된 것이다. 이러한 혁신이 일어나게 된 배경과 그러한 발전을 위한 시도들을 소개하고 현재 가장 강력한 차세대 염기서열 분석 기술(next-generation sequencing technology)의 후보로 지목되고 있는 기술을 소개하고자 한다.

1995년 최초의 genome sequencing이 보고된 이후, Human Genome Project (HGP)의 성공을 거쳐 여러 고처리량(high-throughput) 기술의 개발까지 유전체학(Genomics) 분야는 급속하게 변화하고 발전해 왔다. 유전체학의 발전과 함께 Single nucleotide polymorphism(SNP), copy number variations(CNV) 등의 genetic variation이 발견되었고, 이러한 genetic variation이 표현형(phenotype)의 차이와 disease condition의 직간접적인 원인이 된다는 보고가 이어지고 있다. 보통 하나의 population에서 5%이상에서 공통적으로 발견되는 genetic variation을 common variation으로 정의할 수 있는데, 이러한 common variation 외에 개체마다 다른

그림 1. Personal Genome Project의 website와 그 지지자들

양상으로 나타나는 variation의 경우도 각 개체의 표현형 및 disease condition에 큰 영향을 주는 경우가 많다. 따라서 개개인의 genome을 resequencing할 필요성이 대두되고 있으며, 이러한 필요에 의해 시작된 것이 바로 personal genome project (PGP)이다.

Personal Genome Project 는 Harvard Medical School의 George Church 등에 의해 시작된 project로서 Betty Ford, Lorenzo 등의 유명인사가 지지하고 있다 (그림 1). 이 project의 목적은 일반인 지원자들로부터 샘플을 얻어 genome을 sequencing하고 이들 자료로하여 의료적으로 유용한 정보를 얻고자 하는 것이다. 이른바 personalized medicine이 이러한 personal genome project를 통해 이루어질 수 있다는 것이 이들의 주장이다. 하지만, 현재의 sequencing 기술의 경우 한 사람의 genome을 새로 sequencing하는 비용과 시간이 만만치 않기 때문에 이러한 sequencing을 모든 사람이 필요할 때마다 할 수 있도록 하는 것은 현실적이지 않다. 시간 면에서 보면 몇 주가 걸리는 library construction 및 bacterial cloning step과 하루에 million base pair를 sequencing 할 수 있는 현재의 throughput으로는 full genome sequencing에 최소 3주 정도가 소요되고, 비용

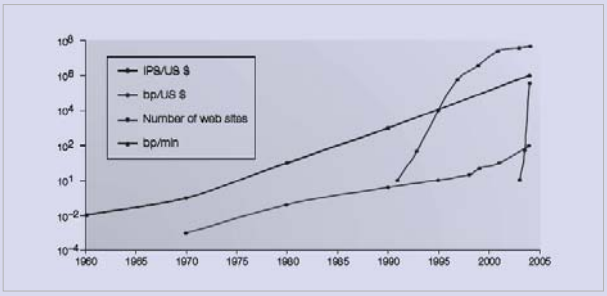

그림 2. Computer processor의 1$ 당 성능 증가 곡선, sequencing 속도 (1$ 당), Website의 수 등 (지수적 증가)

면에서 보면 약 $700,000 정도가 소요된다. 그렇다면 어느 정도의 비용과 시간이면 현실적으로 sequencing 기술의 활용이 가능해질지에 대한 많은 논의가 있어왔다. 결론적으로 $1,000의 비용에 수일 내로 genome sequencing이 가능해진다면, personal genome의 시대가 가능하지 않겠냐는 것이 전문가들의 전망이다. 이러한 목표가 현실적으로 달성 가능한지에 대한 의문이 있을 수 있지만, technology의 발전 속도는 선형적이라기 보다는 지수적이기 때문에 (Moore's Law) 그 비용이나 속도 면에서 지수적인 발전을 거듭하게 되면 10년 내에 $1,000 genome의 시대가 열릴 것이라는 전망이 조심스럽게 나오고 있는 상황이다(그림 2).

Alternative Sequencing Technologies

최근, genome sequencing에 드는 비용과 시간을 모두 줄이기 위해 여러 가지 시도들이 있어 왔다. 첫 번째로는 microfabrication을 이용하여 현재 sequencing에 주로 사용되는 capillary electrophoresis를 miniaturization한 형태의 시도를 통하여 sequencing의 속도와 비용을 낮추기 위한 노력이 있었고, 두 번째로는 microarray technology를 기반으로 하여 oligonucleotide와의 hybridization을 통한 sequencing 기술이 소개된 바 있으며, 마지막으로는 sequencing by synthesis라고 불리기도하는 방법으로 mononucleotide를 하나씩 붙이면서 그때 나오는 signal을 물리화학적으로 검출하는 cycle을 반복하는 방법이 있다 (cyclic sequencing).

• Microelectrophoretic sequencing

Microelectrophoretic sequencing은 기존의 Sanger method와 모세관 전기영동에 기반한 sequencing 방법의

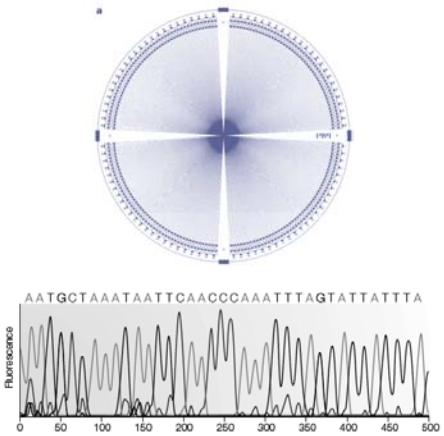

그림 3. Microelectrophoretic sequencing

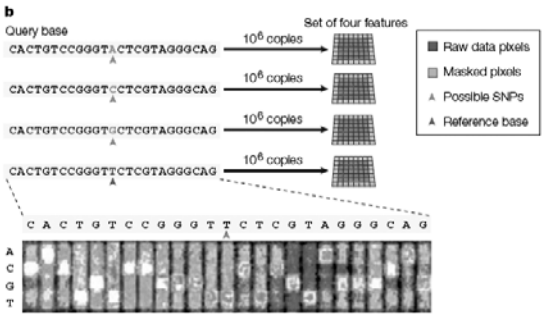

그림 4. Example of sequencing by hybridizations

소형화(miniature version)라고 할 수 있다. (그림 3)은 384개의 capillary를 microfabrication하여 집적한 기판으로 parallel하게 384개의 DNA fragment를 sequencing할 수 있다. 기존 방법의 연장선상이기 때문에 약 600~800bp 정도를 하나의 모세관(capillary)에서 sequencing할 수 있다. Sequencing 속도의 경우 single run에 걸리는 시간이 십여 분에서 수 분으로 단축되었다. 하지만 그 비용과 속도 면에서 아직 가야 할 길이 멀다고 할 수 있으며, 현재 $100,000 정도에 genome sequencing을 할 수 있는 수준이다. 대표 그룹으로는 Mathies group과 Whitehead BioMEMS laboratory가 있다.

• Sequencing by hybridization

Sequencing by hybridization 기술은 기존의 microarray 기술을 sequencing에 활용한 것으로 크게 두 가지 방식으로 분류할 수 있다. 첫 번째는 sequencing하고자 하는 target sequence를 기판 위에 고정하고, oligonucleotide를 binding하여 binding efficiency의 차이로 sequencing을 해나가는 방식이다. 예를 들면 7bp의 oligonucleotide를 serial한 hybridization을 통해서 붙여나가는 방식으로 해당 sequence를 reference sequence와 비교해 볼 수 있다. 두 번째 방식은 immobilized nucleotide probe에 sequencing target을 붙이는 방식인데 (그림 4) 이 방법을 통해 우세한 binding을 보이는 probe의 sequence를 읽을 수 있어 SNP 검출이 가능하다. 하지만 이 두 방식 모두 기본적으로 probe design의 문제와 microarray 방식이 갖는 non-specific binding 문제가 있어 그 적용이 제한적이다. 한편, 이러한 접근 방법을 사용하는 그룹으로는 microarray company로 널리 알려진 Affymatrix 사와 Perlegen 사가 대표적이다.

• Cyclic sequencing – massively parallel sequencing

Cyclic sequencing 방법은 공간적으로 구분된 DNA fragment에 여러 cycle의 enzymatic manipulation을 통해 sequence를 읽어내는 기술이다. 이 방법의 특징은 bacterial clone을 만드는 대신 sigle DNA fragment를 공간적으로 분리하여 in situ로 증폭하고(clonal amplification), sequencing을 해낸다는 것이다. 이때, 수십 만개의 fragment를 동시에 읽어내기 때문에 massively parallel sequencing 방법으로 불리기도 한다. 기본적으로는 sequencing by synthesis 방법이며, mono 혹은 dinucleotide를 순차적으로 붙여가면서 signal을 얻는 방법을 사용한다(그림 5). 이러한 multiplexing 능력과 bacterial clone을 만드는 시간을 절약할 수 있고, 작은 양의 sample로도 sequencing이 가능하여 차세대 염기서열 분석기술의 가장 유력한 후보이다. 실제로 "next-generation sequencing technology"라는 용어가 이 방법을 이용한 기술을 가리키는 고유명사처럼 받아들여지기도 한다. 따라서, 앞선 두 가지의 접근보다 이 방법에 대해 더 자세하게 소개하고자 한다.

The Next-generation Sequencing Technology

Clonal Amplification Techniques

기존의 sequencing 방법은 DNA fragment library를 분리,

증폭하기 위해 bacterial clone을 만드는 과정을 필요로 한다. 각각의 single DNA fragment는 Bacterial artificial chromosome(BAC)이라고 불리는 수백 kbp의 insert size를 가지는 vector에 의해 E. coli에 transforming되고, transformant를 plating으로 selection 및 separation하여, single DNA fragment로부터 유래된 bacterial clone을 cell growth를 통해 증폭시키게 된다. 이러한 bacterial clone을 만들기 위한 과정은 2~3주 가량 소요되기 때문에 새로운 organism 혹은 개체를 sequencing하는데 가장 결정적인 rate-limiting step이다. 따라서 이 과정에 드는 시간, 노동력, 비용을 획기적으로 줄이기 위한 새로운 기술에 대한 요구가 있어 왔고, 최근에 개발된 emulsion PCR과 polony PCR 등이 이러한 bacterial clone-free한 clonal amplification을 가능하게 해주었다.

• Emulsion PCR

Emulsion PCR은 genome DNA를 fragmentation하여 얻은 DNA library를 공간적으로 separation하여 emulsion 안에서 증폭하게 함으로써 각각의 single fragment에 대한 clonal amplification을 가능하게 한 것이다(그림 6). 기름 성분에 continuous stirring이 이루어지는 가운데, PCR reagent, 한쪽 PCR primer가 표면에 수식된 microbead, DNA library 등이 포함된 aqueous phase를 dropwise로 떨어뜨려주게 되면 single DNA fragment와 single microbead 그리고 PCR reagent가 포함된 emulsion이 만들어 지게 되고, thermocycling을 통해 PCR을 진행하게 된다. 그렇게 되면 bead에 한쪽 primer가 고정된 상태이기 때문에 bead의 surface에 증폭된 DNA fragment가 PCR을 통해 수식되게 된다. 이때 하나의 bead에는 single DNA fragment에서 유래한 DNA만이 수식된다. 이렇게 증폭된 signal을 포함한 microbead는 microfabricated well이나 sequencing을 위한 기판 위에 고정되어 sequencing reaction에 이용될 수 있다.

• Polony PCR

Polony PCR은 oil-water phase separation 대신 polyacrylamide gel을 이용하여 single DNA fragment를 separation하고 그 자리에서 PCR을 하는 기술이다(그림 7). Gel 내에서 PCR reaction이 in situ로 진행되며, polyacrylamide gel이 DNA fragment의 diffusion을 막아주기 때문에 각각의 single DNA fragment가 micron-scale의 colony를 만들게 되고(polony), 이 polony들이 개별적으로 동시에 sequencing에 활용될 수 있다.

Three Commercialized Platforms

Emulsion PCR과 polony PCR 등과 같은 bacterial clone-free 방법의 도입과 이러한 amplified된 clone을 효과적으로 동시에 sequencing하는 기술의 급속한 발전으로 인해 최근의 학문적 사회적 요구에 부응하며 3개의 major 회사에서 next-generation sequencing technology를 활용한 system을 개발하여 출시하였다. 첫 번째로는 2004년 Roche사에서 454 Cooperation 사와 손잡고, 454 GS FLS sequencer를 출시하였고, 2006년과 2007년에 각각 Illumina 사의 Genome Analyzer와, Applied Biosystems 사의 SOLiD가 차례로 출시되었다. 세 가지의 platform 모두 공통적으로 bacterium-free한 clonal amplification 기술과 cyclic한 massively parallel sequencing 기술을 이용한다는 공통점이 있다.

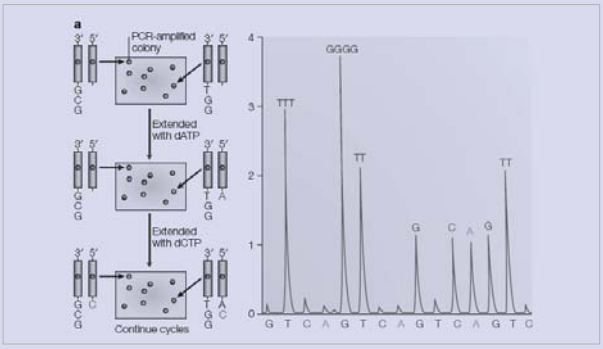

그림 5. Cyclic sequencing (massively parallel sequencing)의 원리

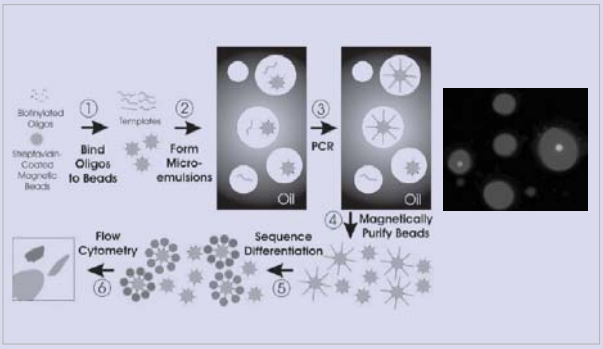

그림 6. Emulsion PCR의 과정 (좌), single microbead(red, green)를 포함한 emulsion(blue) (우)

• Roche (454) GS FLX Sequencer

2004년도에 가장 처음 출시된 454 sequencer는 "pyrosequencing"이라는 원리에 기반한 기술이다. Pyrosequencing이란 DNA polymerase가 nucleotide monomer를 붙일 때 생성되는 pyrophosphate를 detection 함으로써 sequence를 읽어내는 기술이다(그림 8). Pyrophosphate가 release되면서 adenonsine 5' phosphosulfate(APS)를 adenosine triphosphate(ATP)로 바꾸는 반응이 sulfurylase에 의해 일어나고, 이때 생성된 ATP는 luciferin이 oxyluciferin이 되면서 빛이 발생하는 luciferase에 의한 반응을 가능하게 한다. 따라서 이 반응에서 방출되는 light signal은 single nucleotide의 extension이 이루어졌다는 것을 알게 해주는 역할을 할 수 있게 된다. 이때 single nucleotide가 아닌 여러 개의 nucleotide가 extension되면 light signal의 intensity가 증가하게 되어 하나의 base의 반복이 있는 경우에도 sequencing이 가능하다. 454 sequencer는 clonal amplification을 위해 emulsion PCR을 사용하며, 이 과정을 통해 증폭된 DNA fragment로 수식된 microbead는 microfabrication을 통해 마련된 picoliter의 reactor에 loading된다. 이때 하나의 reactor에 한 개의 bead만 loading 될 수 있도록 reactor의 반경이 최적화 되어 있으며 DNA bead외에 active한 sulfurylase와 luciferase가 수식된 packing bead가 reactor 안에 같이 loading되어 sequencing reaction을 돕게 된다. 하나의 reactor에서 나온 signal은 single DNA fragment로부터 유래한 signal이며 이를 통하여 집적된 picoliter reactor로부터 parallel한 sequencing process가 가능한 것이다. 이 platform은 40~50milion개의 sequence를 동시에 측정할 수 있으며, 이를 통하여 100Mbp를 한번의 run을 통해 읽어낼 수 있다. 하나의 sequence에 대한 read length는 다른 platform에 비해 다소 긴 200bp이나 전체 처리량은 다른 두 개의 platform에 비해 떨어진다.

• Illumina Genome Analyzer

Illumina 사에서 2006년 출시한 Genome Analyzer는 본래 Solexa 사의 1G Genome Analyzer로 알려진 platform의 후속 version으로써 Illumina 사가 next-generation sequencer 시장에 뛰어들기 위해 전략적으로 Solexa 사를 매입하여 출시한 것이다. 이 방법은 다른 두 방법과 달리 clonal amplification에 emulsion PCR 대신 bridge amplification 방법을 이용한다(그림 9). Genomic DNA를 fragmentation 시킨 후 adaptor oligonucleotide를 ligation 시킨 후 이를 glass flow cell의 표면에 흘려주게 되면, 표면에 고정되어 있는 primer(adaptor sequence와 complementary)에 hybridization하게 된다. 이 상태에서 PCR reagent가 존재하는 상황에서 thermocycling을 해주게 되면 주변의 표면에 존재하는 free primer에 고정된 DNA fragment가 구부러지면서 다른 쪽 끝의 adaptor가 annealing할 수 있어 증폭이 이루어진다. 적절한 dilution을 통해서 최초의 single DNA fragment가 공간적으로 잘 분리되어 있었다면 최초의 single DNA fragment로부터 유래한 cluster가 형성되고 이 cluster는 하나의 single DNA fragment의 clone 들이다. 이렇게 clonal amplification으로 cluster가 만들어지면 adapter sequence에 specific한 sequencing primer와

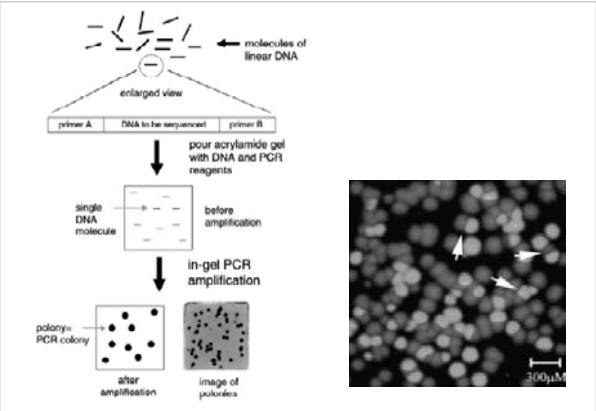

그림 7. Polony PCR의 과정 (좌)과 polony의 fluorescent image (우)

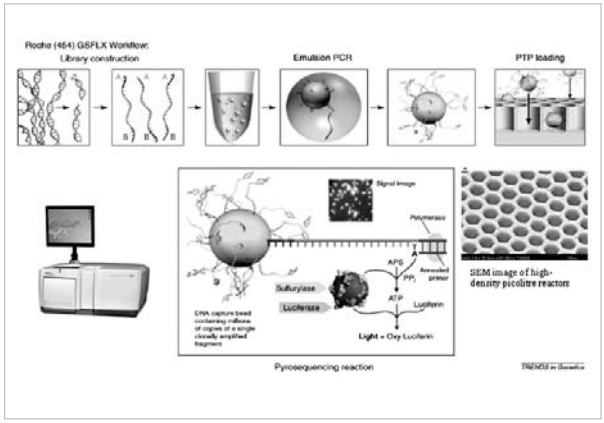

그림 8. 454 sequencer의 workflow

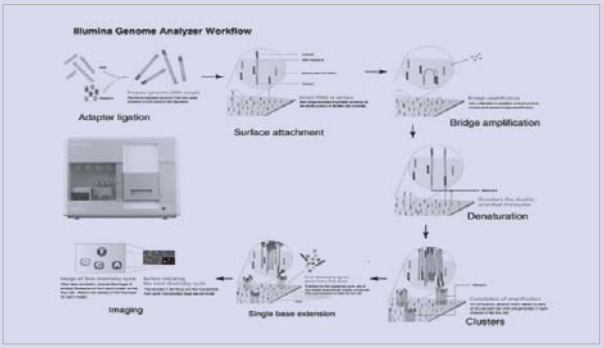

그림 9. Illumina Genome Analyzer의 Workflow

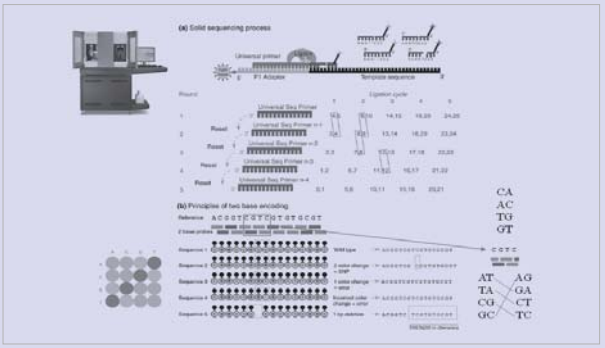

그림 10. ABI SOLiD Sequencer의 ligation based sequencing process와 2-base encoding system

sequencing reagent를 통해 cyclic한 sequencing step이 시작될 준비가 된 것이다. 이때 DNA polymerase가 붙여나가는 nucleotide의 3' -OH는 chemically inactive한 상태로 한 cycle에 하나의 nucleotide만 붙일 수 있도록 modified 되어 있다. 각각의 nucleotide에는 adenosine, guanine, thymine, cytosine 각각을 indentify할 수 있도록 다른 색의 형광 tag이 수식되어 있으며, 하나의 cycle이 끝나면 형광 tag을 제거하고 다음 nucleotide를 붙일 수 있도록 화학적 처리를 함으로써 다음 cycle을 준비하게 된다. 이 방법으로 읽을 수 있는 sequence의 길이는 32bp~40bp이며 한번의 run을 통해 총 130Mbp의 sequence를 읽어낼 수 있다.

• Applied Biosystems SOLiD Sequencer

2007년 가장 늦게 출시된 ABI 사의 SOLiD sequencer는 DNA ligase를 이용한 독특한 sequencing 방법을 이용한다. Clonal amplification 방법으로는 emulsion PCR 과정을 통하여 microbead에 수식된 sigle DNA fragment에서 유래한 clone을 얻게 되고, microbead를 glass slide의 표면에 covalently 붙인다. Sequencing 과정은 4가지 색의 형광 dye로 수식된 8bp의 oligonuceotide가 sequential하게 ligation 되고 각각의 경우 형광을 detection하게 되어 signal을 검출한 후 6~8번째 base 부분은 cleavage step을 통해 제거된다. 이때, 형광 tag도 함께 제거된다. Ligation 되는 8-mer는 semi-degeneracy를 갖는데 첫 번째와 두 번째 혹은 네 번째와 다섯 번째 base만 정해져 있고 나머지는 random하게 제작되어 있다. 따라서 각 cycle을 통해 첫 번째 두 번째 혹은 네 번째 다섯 번째의 sequence를 읽을 수 있게 된다. 이러한 과정을 universal primer의 binding을 shifting하면서 해주게 되면 (그림 10)과 같이 전체의 sequence를 읽을 수 있게 되는데, 이때 각 형광 signal이 두 개의 sequence 정보를 알려주게 되어 sequencing 과정 내에서 한 번 filtering된 정보를 얻을 수 있다. 이러한 2-base encoding system이 이 platform의 최대 장점이며 정확한 sequencing readout을 주는 기반이 된다. 한편, dinucleotide의 coding을 4가지 색으로만 하는데도 sequence를 읽어낼 수 있는 것은 sequencing을 0th position부터 시작하기 때문인데 0th position은 adapter sequence의 일부로 알려진 sequence이므로 이 sequence가 결정되면 그 다음 sequence가 결정되고 차례로 형광 정보로부터 sequence를 결정해 나갈 수 있다. (그림 10) ABI SOLiD의 평균 read length는 25~35 bp이며, 한번의 run을 통해 3~4Gbp를 읽어낼 수 있다. 보통 한번의 run은 5일 정도가 소요된다고 한다.

Comparison of the Three Platforms

앞서 소개한 세 가지 platform을 비교해 보면, 우선 clonal amplification 방법은 454 sequencer 와 SOLiD sequencer가 emulsion PCR 방법을 이용한다는 공통점이 있으며, Illumina Genome Analyzer만 on-glass에서 "bridge amplification" 방법을 이용하고 있다. Sequencing chemistry는 454 sequencer, Illumina Genome Analyzer, SOLiD가 각각 pyrosequencing, polymerase-based sequencing-by-synthesis, ligation-based sequencing을 채택하고 있다. 각각 single DNA fragment에 대한 "read length"는 250bp, 32~40bp, 35bp로 pyrosequencing chemistry가 가장 좋은 성능을 나타내었다. 하지만

pyrosequencing의 경우 sequencing을 진행할 reactor가 필요한데, 합성되는 nucleotide나 oligomer에 형광 tag이 달린 것이 아니기 때문에 각각의 clone으로부터 나오는 signal을 분리하기 위한 구획이 필요하기 때문이다. 따라서 다른 sequencing 방법에 비해 run 당 sequence read가 1/10 수준으로 꽤 낮은 편이다. Run 당 전체 sequence read 면에서는 sequence 자체에 형광 tag을 단 Illumina Genome Analyzer나 SOLiD의 경우 Gbp 수준의 sequencing이 한 번의 run으로 가능한데, SOLiD의 경우 먼저 clonal amplification을 하고 glass slide에 clone들을 올리는 반면, Illumina의 경우 on-glass에서 clone을 만들기 때문에 SOLiD의 경우가 multiplexing ability 면에서 조금 앞서는 것 같다. 한편, SOLiD의 ligation-based sequencing chemistry는 one-base encoding system을 사용하는 타사의 sequencing chemistry와 구분된다. Two-base encoding system은 sequencing process 내에서 sequencing position의 shifting을 통해 각각의 round가 다른 round를 통해 validation되기 때문에 one-base encoding system에 비해 원리상 더 정확하다. 물론 아직 출시된 지 얼마 안되어 sequence data와 실제 정확도에 대한 정보는 아직 많지 않은 상황이지만, ABI 사 자체에서 출시 시기를 늦추면서도 가장 주력했던 부분이 정확도라고 선전하고 있어서 정확도 면에서는 SOLiD가 가장 앞선다고 조심스럽게 결론 내릴 수 있다. 비용 면에서는 한 번의 run에 드는 비용이 454, Illumina가 비슷하고, SOLiD가 두 배 정도이며, run 당 sequence read의 차이로 인해 Mbp 당 비용면에서는 SOLiD와 Illumina가 비슷한 수준이고, 454 sequencer가 10배 이상 비싸다.

Concluding Remark

2000년대에 들어서면서 Human Genome Project의 성공으로 대변되던 1990년대의 Genetics는 새로운 문제와 만나게 되었다. 바로 Genetic Variation의 문제인데 이를 통해 sequence-based genome characterization이 필요하게 되었고, 이에 따라 "$1,000 genome", "Personal Genome Project" 등의 movement가 시작되었다. 이러한 학문적, 사회적 요구는 기존의 sequencing technology로는 충족시킬 수 없는 것이었기 때문에 여러 연구 그룹과, commercial company들에서 alternative technology에 대한 연구가 활발히 진행되었고, 불과 몇 년 안에 3개의 major company에서 상용화된 next-generation sequencing system을 출시하기에 이르렀다. 이러한 급속한 technological quantum leap은 기존의 microarray 기술 등으로 축적된 imaging to data process에 대한 knowhow나 microfabrication, microbead를 DNA, active enzyme으로 수식할 수 있는 기술, 고용량의 computer memory와 processing ability, DNA fragment의 alignment를 통한 sequence reconstruction algorism 등의 여러 기술의 집적이 하나로 모아졌기 때문에 가능했던 것이다. 몇 주가 걸리던 DNA library construction 및 bacterial cloning 과정은 단 몇 시간의 PCR amplification으로 대체되고, 96개의 capillary array에서 이루어지던 parallel sequencing은 수십만 개의 clone을 동시에 sequencing할 수 있는 방법으로 대체되었다. 이제는 몇 주가 아닌 몇 일 내에 Gbp 단위의 sequence를 읽을 수 있게 되었으며, human genome의 size가 3 Gbp 정도라고 했을 때, 한 번의 run으로 genome을 sequencing할 수 있는 수준에 이르렀다. 아직 그 비용 면에서 $1,000 genome의 시대의 도래를 말하는 것은 시기상조이나 기기의 보급과 대중화에 따른 가격의 인하가 이루어지면 수년 내에 $1,000 genome 시대가 도래할 수 있다는 조심스러운 추측을 해볼 수 있다. 물론 아직 이들 platform은 검증 단계이며, repetitive sequence에 대한 정확도가 떨어지는 등의 기술적 한계가 지적되고 있지만, "next-generation"으로서의 이들 platform의 위상에는 변함이 없다. Genetics의 흐름이 next-generation으로의 변화로 이어질 것이라는 것도 이러한 technology의 약진에 의한 것이며, 이제는 몇몇 marker에 의존하는 genetics가 아닌 genome sequence 전체에 기반한 genetics로의 흐름이 이미 시작되고 있다. 바야흐로 진정한 Genomics의 시대가 도래하고 있다고 해도 과언이 아닐 것이다.

〈참고문헌〉

J. Shendure et al., Advanced sequencing technologies:methods and goals, Nat Rev Genet (2004) 5:335-344

E. R. Mardis, The impact of next-generation sequencing technology on genetics, Trends in Genetics (2008) 24(3):133-141

Y. Rogers and J. C. Venter, Massively parallel sequencing, Nature (2005) 437:326-327

D. Dressman et al., Transforming single DNA molecules into fluorescent magnetic particles for detection and enumeration of genetic variations, PNAS (2003) 100(15):8817-8822

M. Margulies et al., Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors, Nature (2005) 437:376-380