

기획특집 - 나노바이오센서기술 개발

유전자 진단 나노바이오 센서 기술

박 현 규[†]

한국과학기술원 생명화학공학과

Nanobiosensor Technology for Genetic Diagnosis

Hyun Gyu Park[†]

Department of Chemical and Biomolecular Engineering, KAIST

Abstract: 유전자 진단 기술은, 바이오센서 분야에 있어서도 가장 파급효과가 크고 막대한 응용 가능성을 가진 분야일 뿐 아니라 전체 생명공학 기술에 있어서도 21세기의 가장 유망한 기술 분야로 손꼽히고 있다. 본 글에서는, 대표적인 나노바이오센서 기술의 하나인 DNA chip을 유전자 진단에 응용하는 기술 분야에 대해서 소개하고자 한다. 먼저 DNA chip을 형성하는 핵심적인 요소기술과 용도 등에 대해서 개괄적으로 소개하고 DNA chip을 유전자 진단에 응용하는 구체적인 연구 사례에 대해서 설명하고자 한다. 특히 본 저자가 최근 연구하고 있는 소아 당뇨병의 일종인 MODY 발병 유전자 변이를 진단하는 DNA chip에 대해서 구체적으로 소개될 것이다.

Keywords: DNA chip, MODY, BRCA, Genetic diagnosis, Mutation detection

1. 서 언

대표적인 나노바이오 센서의 하나인 DNA chip은, 고체 기질 위에 붙여 놓은 capture probe DNA와 검색하고자 하는 target probe DNA 사이의 선택적인 혼성화(hybridization) 통해서 샘플 내의 특정 DNA sequence의 존재 유무나 target DNA의 염기서열 등의 유전 정보를 얻기 위해서, 일반적으로 많은 종류의 DNA를 고밀도로 붙여 놓은 chip을 말한다. DNA는 염기서열이 상보적인 것끼리(A와 T 그리고 G와 C) 결합하려는 성질이 있는데, DNA chip은 이러한 혼성화 반응의 유무와 정도를 통해서 유전 정보를 얻는 것이다. DNA chip의 가장 큰 장점은 기존에 사용하던 유전 공학적인 방법인 Southern과 Northern blot, 돌연변이 검색, 그리고 DNA sequencing 방법

들보다 훨씬 짧은 시간에 적은 시료를 가지고 많은 유전자를 검색할 수 있다는 것이다.

2. DNA Chip System의 요소기술

DNA chip을 형성하는 첫 단계는 어떤 content의 유전자를 심을 것인가를 결정하는 것이다. 특정 질병을 진단하는 DNA chip을 제작하고자 한다면, 그 질병의 발병 유무나 발병 가능성과 연관성이 있는 유전 정보를 확보하고 그 유전 정보를 가장 효과적이고 정확하게 제공해줄 수 있는 capture probe DNA들을 설계해야 한다. 다시 말해서, 실제로 DNA chip 상에 고정화될 DNA들을 결정하는 것이다. 가령, 유방암에 관련된 유전자 변이를 진단하는 칩을 제작하기 위해서는 유방암 관련 유전자인 BRCA1과 BRCA2의 유전자 변이를 확인할 수 있는 capture probe들을 고정화시켜야

[†] 주저자 (E-mail: hgpark@kaist.ac.kr)

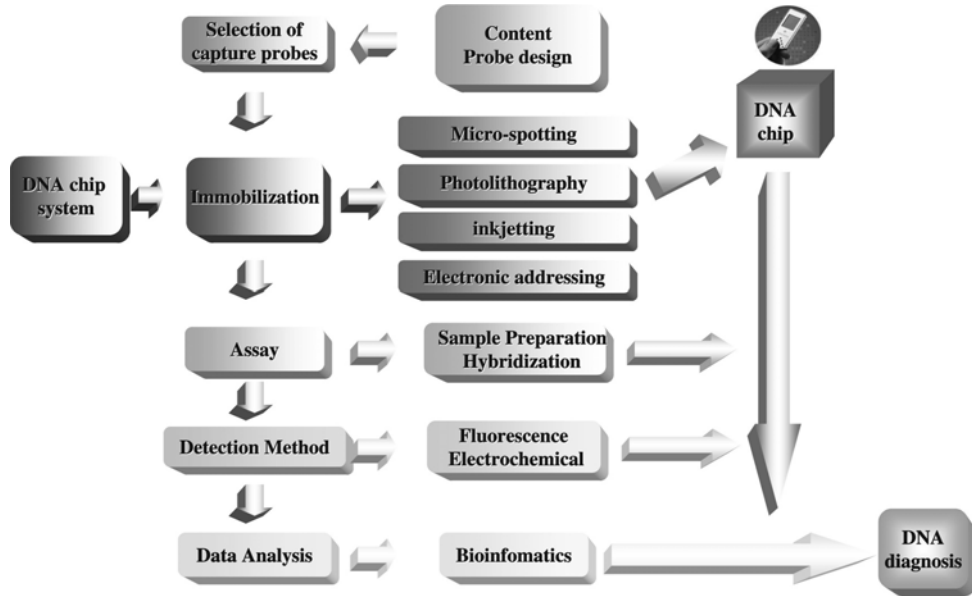


Figure 1. DNA chip 구성 요소기술.

한다. DNA chip 상에 올라갈 capture probe DNA들이 결정되면, 다음 단계는 이들을 합성 등의 방법을 이용하여 확보한 후에, DNA chip에 고정화시키는 것이다. 고정화 방식은 크게 micro-spotting과 리소그래피 방식 두 가지로 구분할 수 있는데, 현재 국내에서는 주로 micro-spotting 방식을 이용하고 있다.

유전 정보를 얻고자 하는 target probe sample을 준비하는 것이 다음 단계이다. 암을 유발하는 유전자 변이를 진단하는 DNA chip을 예로 들면, 암 환자로 의심되는 사람의 혈액 등으로부터 DNA를 추출, 증폭하여 chip상에 고정화된 capture probe DNA와 상보적인 결합을 할 수 있도록 만들어야 한다. 또는 특정 세균의 감염여부를 진단하는 chip을 위한 target sample은 감염세균이 주로 존재할 것으로 예상되는 액물(타액, 소변, 전립선액, 질 세척액 등) 채취하여 DNA를 추출, 증폭하여 준비한다.

Target probe DNA와 capture probe DNA 간의 상보적인 결합의 여부를 정확하고 민감하게 감지할 수 있는 detection 기술 또한 매우 중요한 요소 기술 중의 하나인데, 현재 형

광물질을 target DNA에 미리 결합시킨 후, 형광 scanner로 감지하는 방법이 가장 널리 사용되고 있다. 각 위치의 spot이 서로 다른 형광 세기를 나타내고 이러한 각각의 형광 세기가 그 위치에 해당하는 특정 DNA의 유무, 또는 발현정도에 대한 정보를 제공하는 것이다.

DNA chip에서는, 한 가지의 유전 정보에 대해서 여러 spot의 검출 결과가 조합되어 정보를 제공하는 경우가 대부분이고, 또한 서로 다른 많은 종류의 DNA가 고밀도로 고정화되어 있는 경우가 일반적이므로 검출 결과를 통상 컴퓨터 프로그램의 도움으로 분석하게 되며 이 단계를 담당하는 기술이 Bioinformatics 기술이다. 이상과 같은 5가지의 핵심 요소 기술이 효율적으로 접목되어 전체 DNA chip 기술을 형성한다(Figure 1).

3. 당뇨병 진단 DNA Chip

유전자 진단을 위한 DNA chip은 크게 세 가지 정도로 그 용도를 구분할 수 있다. 첫째

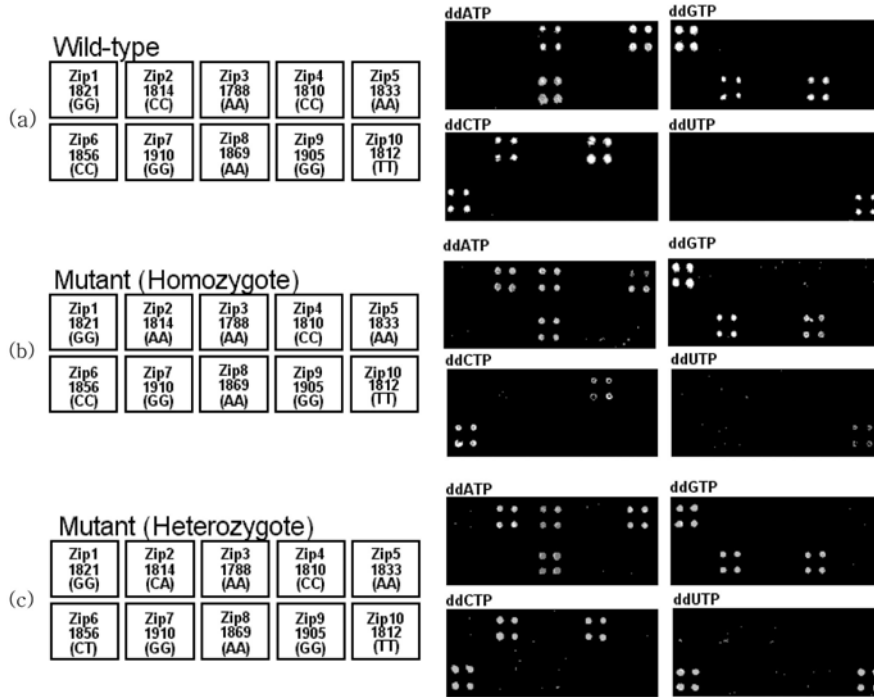


Figure 2. 당뇨병 관련 유전자 변이 진단칩 (a) 정상인 샘플(homozygote) (b) 유전자 변이 샘플(homozygote) (c) 유전자 변이 샘플(heterozygote).

는 유전자 내의 염기서열을 진단하는 것으로, 통상 SNP 분석이나 유전자의 변이 유무를 진단하는데 사용된다. 둘째는 단백질의 발현정도를 분석하기 위한 칩으로 특정 질병과 연관이 있는 단백질 마커 등을 연구하는데 널리 사용된다. 마지막 세 번째는 특정 감염 여부를 진단하는 칩으로 검사 샘플 내에서 감염균 유전자의 존재 유무로 감염여부를 진단한다.

본 글에서는, 본인이 최근 개발한 당뇨병 관련 유전자 변이의 유무를 진단하는 칩을 개발한 예를 소개하겠다. Type II 당뇨병은 대부분 중년 이상의 나이에서 발병되지만, 서구인 type II 당뇨병 환자의 2~5%를 차지하는 MODY (Maturity onset diabetes of the young)는 25세 이하의 젊은 나이에서 발병되는 것이 특징이다. MODY에는 여러 가지 subtype이 밝혀져 있는데 MODY3가 가장 빈번히 발견되고 있다. MODY3는 HNF-1 α (hepatocyte nuclear

factor) 유전자 상에 특정 유전자 변이가 있을 때 발병하는 것으로 밝혀졌다. 본 연구팀은 이러한 HNF-1 α 유전자 변이를 진단하는 유전자 칩의 개발에 대한 연구를 해왔으며 최근에는 single base extension 기술과 zip-code 방식의 칩을 사용하여 효과적으로 유전자 변이를 진단하는 기술을 개발하였다.

Figure 2의 결과에서 알 수 있듯이, 왼쪽의 유전자 염기 형태가 오른쪽의 결과 이미지에서 모두 일치되게 진단되었다. 즉, 유전자 이상이 없는 정상인의 샘플에서 분리한 유전자는 모두 정상 유전자 진단 결과(Figure 2(a)) 나왔으며 homozygote 유전자 변이 샘플과(Figure 2(b)) heterozygote MODY 환자 샘플의(Figure 2(c)) 결과 모두 원래 유전자와 일치하는 진단 결과를 보여주고 있다.

본인은 MODY 관련 유전자 변이 진단 칩 외에도 유방암 및 난소암의 유전적 원인이 되는

(genetic susceptibility gene) BRCA1과 BRCA2 유전자 변이를 진단하는 칩 또한 개발하고 있다. 유방암의 7%, 난소암의 10%가 대략 이 유전자들의 돌연변이와 관련이 있는 것으로 알려지고 있다. 이들 두 유전자 중에 돌연변이가 있을 경우, 일생동안 유방암 발생률이 56~87%까지 올라가고, 난소암의 발생률도 일반인의 10배 이상으로 올라간다. 또한 유방암, 난소암의 재발율을 증가시키며, 전립선암, 대장암 등 기타 암들에 대한 질병민감도를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 그러나 BRCA1과 BRCA2의 큰 유전자 사이즈와 원인 돌연변이의 heterogeneity 때문에 통상적인 염기서열분석을 통한 원인돌연변이 검출이 어렵고 많은 비용을 필요로 한다. 따라서 DNA chip을 이용한 진단이 훌륭한 대안이 될 수 있을 것으로 기대된다.

4. 결 론

21세기의 첨단 연구 분야로 부각되고 있는 나노 바이오 센서 기술 분야에서 가장 유망한 분야를 꼽는다면 유전자 진단 분야가 될 것이고 이를 위한 도구는 단연 'DNA chip'이 될 것이다. DNA chip 기술은 다수의 DNA를 일괄적으로 해석하고 분석할 수 있는 가장 효과적인 수단으로 여겨지고 있어 향후 유전자 진단 용도로 그 수요가 폭발적으로 늘어날 것으로 예상된다.

DNA chip은 화학, 생물학, 전자공학 그리고 미세유체역학 등의 여러 가지 고도의 기술을 종합적으로 구사함으로써 비로소 가능한 기술 분야이다. 이렇게 여러 가지 학문을 종합적으로 활용하는 DNA chip 분야에 있어서 공업화학자는 여러 가지 측면에서 크게 기여할 수 있는 강점을 가지고 있다. 특히 DNA 고정화 기술 등에 공업화학 관련 전문가들이 많은 관심을 가지고 기술적인 기여를 할 수 있기를 바란다.



참 고 문 헌

1. 박현규, 지홍석, 임성춘, 장호남, "DNA chip 과 고정화 기술", 화학공학회지, **40**, 281 (2002).
2. H. G. Park, "Nanoparticle-based detection technology for DNA analysis", *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, **8**, 221 (2003).
3. J. Y. Song, H. G. Park, S.-O. Jung, and J. C. Park, "Diagnosis of HNF-1 α mutations on a PNA zip-code microarray by single base extension", *Nucleic Acids Research*, **33**, e19 (2005).
4. S.-C. Yim, H. G. Park, H. N. Chang, and D.-Y. Cho, "Array based mutation detection of BRCA1 using direct probe/target hybridization", *Analytical Biochemistry*, **337**, 332 (2005).
5. H. G. Park, H. O. Ham, K. H. Kim, and N. Huh, "Oligonucleotide chip for the diagnosis of HNF-1 mutations" *Biosensors and Bioelectronics*, **21**, 637 (2005).
6. H. G. Park, J. Y. Song, K. H. Park, and M. H. Kim, "Fluorescence-based assay formats and signal amplification strategies for DNA microarray", *Chemical Engineering Science*, **61**, 954 (2006).

✧ 저 자 소개



박 현 규

1986~1990 B.S. : KAIST, 화학공학과
 1990~1992 M.S. : KAIST, 화학공학과
 1992~1996 Ph.D. : KAIST, 화학공학과
 1996~2002 삼성종합기술원, 책임연구원
 2002~현재 KAIST, 생명화학공학과, 조교수, 부교수