

# DNA 컴퓨팅에서의 앵타머 구조 변환 활용 방안

김수동<sup>2</sup> 장병탁<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 컴퓨터공학부, <sup>2</sup>서울대학교 대학원 인지과학 협동과정

{sdkim, btzhang}@bi.snu.ac.kr

## Application of Structure-Switching Signaling Aptamers in DNA computing

Su Dong Kim<sup>2</sup>, Byoung-Tak Zhang<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>School of Computer Science & Engineering, Seoul National University

<sup>2</sup>Interdisciplinary Program in Cognitive Science, Seoul National University

### 요약

특정 단백질과 특이적으로 결합하는 핵산인 앵타머 (aptamer)의 존재는, DNA 기반 컴퓨팅과 단백질 기반 컴퓨팅 사이에서 가교 역할을 할 수 있다는 가능성을 고려할 때 주목할 만하다. 본고에서는 전통적인 DNA 기반 컴퓨팅 방법론의 확장으로서, 앵타머 구조 변환의 활용 방안을 제안하였다.

### 1 서론

핵산 분자 (DNA 또는 RNA)는 유전 정보의 저장, 전달, 처리 및 발현 등 다양한 생물학적 과정에서 핵심적인 역할을 담당한다 [1]. 이 측면에 주목하여, DNA 분자를 이용하여 정보처리를 하려는 분자정보처리기술이 DNA 컴퓨팅 기술이다 [2]. DNA 기반 분자 컴퓨팅은 기본적으로 DNA 염기서열에 정보를 저장하고, DNA 분자가 가진 화학적 특성을 이용하여 정보를 처리하는 연산방식이다. 원리적으로, DNA 기반 분자 컴퓨팅에서는 4 가지 염기 {A, C, G, T}로 이루어진 4-bit 연산을 수행하는 반면, 단백질 기반 분자 컴퓨팅에서는 20 가지 아미노산으로 이루어지는 20-bit 연산을 수행할 수 있다는 점에서 보다 매력적이다 [3]. 그러나 DNA에 비해 단백질은 실험적 접근이 상대적으로 어렵기 때문에 단백질 기반 분자 컴퓨팅의 구현은 아직까지 이론적 가능성 모색에 그치거나, DNA 컴퓨팅의 발전에 비하여 매우 초보적인 단계에 머물러 있으며, 그나마도 실험적 구현을 위한 방법론에서는 다양한 단백질의 일부에 지나지 않는 항체에만 전적으로 의존하고 있다 [4]. 특정 단백질과 특이적으로 결합하는 핵산인 앵타머 (aptamer)의 존재는, DNA 기반 컴퓨팅과 단백질 기반 컴퓨팅 사이에서 가교 역할을 할 수 있다는 가능성 측면에서 주목할 만하다.

앵타머 (aptamer)는 주어진 리간드 (ligand)에 특이적으로 결합하도록 최적화된 핵산으로서, 무작위 서열 라이브러리 (random sequence libraries)로부터 SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment)라는 *in vitro* 실험방법에 의해 선별된다 [5]. 주어진 조건 하의 용액 상에서 리간드 분자는 핵산 구조와 연합하여 앵타머 구조를 이루게 된다. 앵타머 서열은 오로지 주어진 리간드에만 결합하도록 진화적인 압력을 받아왔기 때문에 앵타머-리간드 복합체의 3 차 구조는 특정 리간드 인식을 위해 극도로 최적화되어 있다. 예컨대 Theophylline을 리간드로 하는 RNA 앵타머는 theophylline과는 구조상 겨우 메틸기 하나만 상이할 뿐인 caffeine에 대해 10,000 배 이상의 분해능을 지니며 [6], L-arginine을 리간드

로 삼는 RNA 앵타머는 광학 이성질체인 D-arginine에 대해 12,000 배 이상이나 친화도 차이를 나타낸다 [7]. 지금까지 세포 내 단백질들을 포함하여 다양한 종류의 리간드에 대해 앵타머가 알려져 있다. 앵타머는 리간드에 대해서만 특이적으로 높은 화학적 친화도를 가지며, *in vitro* 상의 선별이 용이할 뿐더러, 형광표지까지도 가능하다. 따라서 전통적으로 확립되어온 여러 가지 실험에서 굳건히 차지하고 있는 항체의 지위를 보다 저렴한 앵타머로 대체하려는 시도가 이루어지고 있으며, 성공 사례가 보고되고 있다 [5].

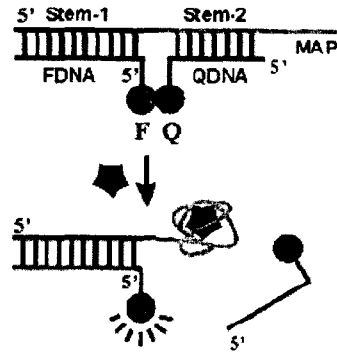
본고에서는 전통적인 DNA 기반 컴퓨팅 방법론의 확장으로서, 앵타머 구조 변환의 활용 방안을 제안하고자 한다.

### 2 앵타머-리간드 결합부위의 특징

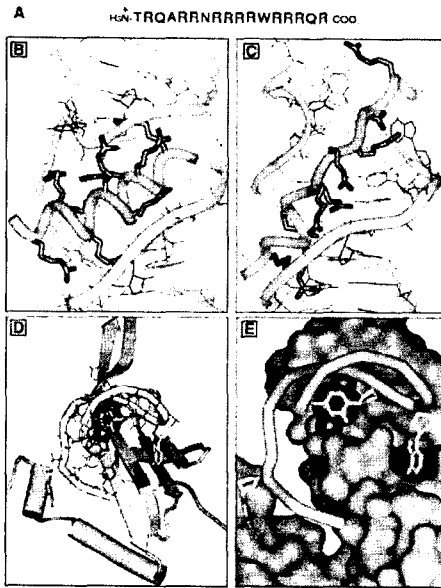
앵타머가 리간드를 특이적으로 인식할 수 있는 까닭은 리간드의 많은 부분이 핵산에 의해 둘러싸인다는 데 있다. Theophylline에 대한 앵타머는 caffeine에 붙어 있는 메틸기에 의해 초래되는 반발력 때문에, 구조적으로 theophylline과 매우 유사한 caffeine과는 결합하지 않는다 [6]. AMP에 대한 앵타머는 AMP의 adenine 염기와 수소 결합을 통해 결합하며, arginine과 citrulline에 대하여 각각의 앵타머를 구분하는 데에도 수소 결합이 중요한 요소로 작용한다 [5]. Amino-glycoside와 그 앵타머의 결합에는 정전기력 및 구조적 상보성을 이루는 수소 결합이 관련된다. 펩티드 및 단백질과 앵타머의 복합체에서는 리간드가 훨씬 더 구조적으로 복잡하므로, 구조적 상보성, 정전기력 및 수소 결합 이외에도 stacking 등 다양한 결합 요인이 함께 작용한다 [5].

단백질 리간드와 앵타머의 복합체에서 앵타머와 단백질을 구분해내는 문제는, 이들 고분자의 구조를 이루는 기본 단위와 연관되어 있다. 단백질에서는, 20 가지 아미노산의 다양성이 기질과 결합 부위 사이에서 다양한 상호 작용을 담보한다. 앵타머를 포함하는 핵산의 경우, 네 가지 염기로만 구성요소의 제한을 받기 때문에 구조적으로 임의의 리간드를 둘러싸는 형태의 가

능한 가치수에서 상대적으로 제한을 받을 수 밖에 없다. 따라서 리간드를 앵타머의 결합부위에 맞추는 문제는 완벽한 구조적 상보성을 요구하기보다는, 리간드가 앵타머 구조에 함입되는 경우에 의존하는 경향이 높다. 단백질의 경우에는 기질과 결합하는데 분자간 수소결합이 선호되는 반면, 핵산의 경우에는 염기쌍의 결합면이 평면적이므로, 앵타머-리간드 복합체에서 stacking 이 선호된다. FMN, theophylline, AMP 등과 같이 평평한 구조를 지니는 리간드와 결합하는 앵타머의 경우, 특히 stacking 이 중요하게 작용한다. 천연 핵산의 경우, 리간드와의 결합뿐만 아니라 다른 생물학적인 기능을 동시에 수행하도록 진화해 왔기 때문에, 주어진 리간드에 결합하는 단일 기능만을 수행하는 앵타머의 경우와 비교하면, 리간드에 대한 친화도 (affinity) 에서 현격한 차이를 나타낸다 [5].



[그림 2] 구조 변환이 가능한 형광표지-앵타머 설계



[그림 1] RNA 앵타머에 의한 펩티드 및 단백질 인식

- (a) R (arginine) 이 자주 나타나는 펩티드 서열 부위
- (b) HIV-1 Rev 단백질 및 RNA 앵타머의 결합.
- (c) RNA 앵타머의 펼쳐진 groove 에  $\alpha$ -나선구조 결합.
- (d 및 e) 박테리오파지 MS2 표면 단백질  $\beta$ -sheet 및 RNA 앵타머의 결합.

### 3 앵타머-리간드 결합을 활용한 DNA 컴퓨팅의 확장

앵타머는 리간드와 특이적으로 결합할 수 있는 특성을 활용하여 의료 진단과 생명공학 분야에서 주로 활용되고 있다 [5]. 본고에서는 앵타머가 단백질과 특이적으로 결합할 수 있을 뿐만 아니라 형광표지까지도 가능하는 점을 응용하여 DNA 컴퓨팅의 확장에 적용하는 사례를 제시하고자 한다.

DNA 앵타머 분자는 서로 다른 두 가지 구조를 취할 수 있다. 첫째는 앵타머 서열과 상보적인 DNA 서열과 결합하여 DNA 이중나선 구조를 이루는 형태이고, 둘째는 앵타머와 특이적으로 결합하는 리간드와 결합하여 3 차원 구조물을 형성하는 경우이다. 따라서 DNA 앵타머 분자는 리간드 존재 여부에 따라 DNA 복합물 구조에서 DNA-리간드 결합물 구조로 변환될 수 있다. DNA-리간드 결합물의 형성을 확인하기 위해서, 틀 (MAP) 을 제공하는 DNA 앵타머 서열 일부분에 상보적인 서열을 지니는 DNA 분자 말단을 형광물질 (fluorophore) 로 표시할 수 있으며 (FDNA), 이에 인접하는 상보적인 DNA 서열에는 형광감쇄물질 (quencher) 을 결합시켜 둘 수 있다 (QDNA). 리간드가 존재하지 않을 경우, stem 을 이루는 DNA 앵타머에 FDNA 및 QDNA 가 결합하므로, 형광물질과 형광감쇄물질이 가까이 접근하여 형광감쇄현상이 일어난다 [8]. 단백질 리간드에 대한 DNA 앵타머의 친화도 ( $K_d$ ) 는 보통 nM 범위 또는 그 이하이다 [표 1] [5]. 그러므로 리간드가 주어진 경우, 앵타머-QDNA 복합체보다는 앵타머-리간드 복합체의 친화력이 높으므로, QDNA 가 분리된다. 따라서, 형광감쇄물질에 의해 가려져 있던 형광물질이 노출되어 형광 발현이 증가하게 된다 [그림 2] [8].

리간드	핵산	친화도 $K_d$ [ $\mu$ M]
Theophylline	RNA	~ 0.3
FMN	RNA	~ 0.5
AMP	DNA	~ 6
	RNA	~ 10
Arginine	DNA	~ 125
	RNA	~ 60
Citrulline	RNA	~ 65
HIV-1 Rev peptide	RNA	~ 0.004
HTLV-1 Rex peptide	RNA	~0.025
MS2 coat protein	RNA	ND
Thrombin	DNA	~0.025

[표 1] 핵산 앵타머의 다양한 리간드별 친화도 ( $K_d$ )

이 방법의 타당성 및 실현가능성을 담보하기 위한 전제로서, 첫째, 리간드가 주어진 경우 때 앵타머의 리간드 결합부위가 실제로 구조 변환을 겪는지 여부와, 둘째, 구조 변환으로 인하여 형광물질의 형광 발현 측면에 측정 가능한 변화가 나타나는지 여부가 실험적으로 검증되어야 한다. 최근 이러한 사실을 뒷받침하는 연구 결과가 보고되었다 [9].

#### 4 결론 및 고찰

앵타머와 리간드의 친화도가 높은 경우 (Thrombin 을 리간드로 갖는 앵타머) 와는 달리, 친화도가 낮은 경우 (ATP 를 리간드로 갖는 앵타머) 는 앵타머-QDNA 복합체에 비해 앵타머-ATP 복합체의 형성이 많이 이루어진다고 예상하기 어렵다. 이러한 경우에는, 리간드의 농도를 훨씬 높이는 방법을 적용할 수 있다 [8]. 각 앵타머에 대하여 적절한 리간드의 농도를 결정하는 문제는 실제 풍부한 실험 자료를 바탕으로 하여 확립되어야 할 부분이다.

DNA 는 비교적 쉽게 구할 수 있으며, 화학물질로서는 보기에 매우 안정적 구조를 지니고 있다. 다양한 리간드에 대하여 극히 특이적으로 반응하는 현상을 활용하여 DNA 앵타머를 확보할 수 있다. DNA 앵타머 분자 말단에 형광물질을 표지하는 간단한 조작만으로도 DNA 앵타머와 리간드 사이에서 특이적인 결합이 이루어지는지를 형광 발현 변화를 통하여 확인할 수 있다 [8].

본고에서 제시된 개념은, DNA-DNA hybridization 위주의 전통적인 DNA 컴퓨팅 방법론 [10] 에 간단히 형광물질을 추가하는 방법을 덧붙임으로써, DNA 컴퓨팅의 외연을 단백질 컴퓨팅으로 확장시킬 잠재력을 지니고 있다. 리간드로서 기능할 단백질은 기본적으로 20 가지 아미노산의 조합으로 구성되어 있으므로, n 개 아미노산으로 이루어진 단백질 분자의 정보저장능력이 이론적으로  $20^n$  만큼이나 된다는 사실은 주목할 만 하다.

향후 연구로 지금까지 제안된 바이오펜자 컴퓨팅 방법론을 실험을 통해 실제로 구현할 예정이다.

#### 감사의 글

본 연구는 NRL, BrainTech, MEC 과제에 의해 지원되었음. 이 연구를 위해 연구장비를 지원하고 공간을 제공한 서울대학교 컴퓨터연구소에 감사드립니다.

#### 참고문헌

[1] C. Tuerk & L. Gold (1994), Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase, *Science*, 249, 505-510.  
 [2] 장병탁, 분자정보처리기술, *전자공학회지*, 29 (3), pp. 270 -277, 2002.  
 [3] M. S. Balan *et al.* (2002), Peptide computing II *Universality and Complexity*, 7<sup>th</sup> International Workshop on DNA-Based Computers, DNA7, pp. 290-299.  
 [4] A. O. Tarakanov, *et al.* (2003) Immuno-

computing: Principles and Applications, Berlin: Springer Verlag.  
 [5] T. Hermann & D. J. Patel (2000), Adaptive Recognition by Nucleic Acid Aptamers, *Science*, 287, 820-825.  
 [6] R. D. Jenison *et al.* (1994), High-resolution molecular discrimination by RNA, *Science*, 263, 1425-1429.  
 [7] A. Geiger *et al.* (1996), RNA aptamers that bind L-arginine with sub-micromolar dissociation constants and high enantio-selectivity, *Nucleic Acid Res.*, 24, 1029-1036.  
 [8] R. Nutiu & Y. Li (2003), Structure-Switching Signaling Aptamers, *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 4771-4778.  
 [9] S. Jhaveri *et al.* (2000), Designed Signaling Aptamers that Transduce Molecular Recognition to Changes in Fluorescence Intensity, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 2469-2473.  
 [10] J. Reif (2002), Computing. Successes and Challenges. *Science*, 296, 478-479.