

# 진단의학 도구로서의 DNA칩

## DNACHIP as a Tool for Clinical Diagnostics

김철민, 박희경

부산대학교 의과대학 생화학교실

Cheol-min Kim, Heekyung Park

Dept. of Biochemistry, College of Medicine, Pusan National University

E-mail : [kimcm@pusan.ac.kr](mailto:kimcm@pusan.ac.kr), [dnachiphk@hotmail.com](mailto:dnachiphk@hotmail.com)

### 요 약

The identification of the DNA structure as a double-stranded helix consisting of two nucleotide chain molecules was a milestone in modern molecular biology. The DNA chip technology is based on reverse hybridization that follows the principle of complementary binding of double-stranded DNA. DNA chip can be described as the deposition of defined nucleic acid sequences, probes, on a solid substrate to form a regular array of elements that are available for hybridization to complementary nucleic acids, targets. DNA chips based on cDNA clones, oligonucleotides and genomic clones have been developed for gene expression studies, genetic variation analysis and genomic changes associated with disease including cancers and genetic diseases. DNA chips for gene expression profiling can be used for functional analysis in human cells and animal models, disease-related gene studies, assessment of gene therapy, assessment of genetically modified food, and research for drug discovery. DNA chips for genetic variation detection can be used for the detection of mutations or chromosomal abnormalities in cancers, drug resistances in cancer cells or pathogenic microbes, histocompatibility analysis for transplantation, individual identification for forensic medicine, and detection and discrimination of pathogenic microbes. The DNA chip will be generalized as a useful tool in clinical diagnostics in near future. Lab-on-a-chip and informatics will facilitate the development of a variety of DNA chips for diagnostic purpose.

### 1. 서론

의학적 진단법은 과학기술의 발전과 함께 발전해왔으며, 특히 최근 1세기 동안의 발전이 그 전의 인류 역사 동안의 발전을 능가한다고 볼 수 있다. 1953년에 DNA 이중나선 구조가 밝혀진 이래로 유전 공학과 유전자 증폭기술 등 분자생물학적 기술의 발전이 있었고 지난 10여년간 진행된 유전체 분석 프로젝트(genome projects)에 의하여 인간과 다수의 병원성 미생물을 포함한 150여종의 유전체(genome) 염기서열 정보가 분석되었다(2004년 4월 현재). 이러한 분자생물학적 기술과 유전정보를 기반으로 하여 지금까지의 특정 질병에서 특정 유전자나 그 산물만을 대상으로

행해지던 단계를 넘어 한 개인이 가진 전체 유전자의 다양성을 동시에 고려하고 그 유전자들의 발현에 의한 단백질들의 기능을 입체적으로 분석하며, 인간과 병원체의 양측을 동시에 고려하여 건강과 질병을 총체적으로 이해하려는 단계로 접어들고 있다(그림 1)[4,5]. 이러한 시기에 분자유전학이 전자공학 및 컴퓨터공학과 접목되어 탄생된 작품이 바로 DNA칩이다.

### 2. DNA칩의 이론과 기술

#### 2.1 DNA칩의 원리

DNA칩의 원리는 역교잡법(reverse hybridization)에 그 기초를 두고 있다. 전통적인 교잡법인

Southern Blot Hybridization은 전기영동에 의하여 분리된 검체의 DNA를 막에 고정한 후 probe와 반응시켜 검체에 존재하는 상보적인 서열의 존재를 찾아내는 방법이다. DNA칩의 역교잡법은 알려진 유전정보를 이용하여 oligonucleotide나 cDNA로 probe를 제작하여 고정지지체에 고밀도로 부착시키고 검체속의 target (mRNA나 DNA 또는 PCR로 증폭된 DNA)에 형광물질을 부착시켜 교잡(hybridization) 반응에 의해 그 결합 양상을 정성적 및 정량적으로 분석하는 방법이다[2].

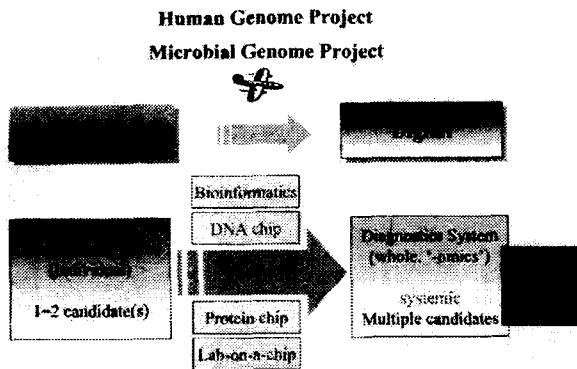


그림1. Changes of paradigm in life science

2.2 DNA칩의 종류 및 관련 용어의 정의

바이오칩(biochip)은 가장 폭넓은 개념으로 핵산을 비롯하여 단백질이나 리간드 등 다양한 생체 분자가 고정지지체에 부착되어 제작되거나 또는 반도체칩이 의료용 등으로 생체에 부착되는 경우 까지 포함할 수 있다. 따라서 DNA칩이나 단백질칩은 바이오칩의 일종이라 할 수 있다.

DNA칩은 아래에 설명될 모든 경우를 총칭하는 용어로 넓게 사용되고 있으나 협의의 DNA칩은 DNA array 또는 DNA microarray로 불리기도 하며 고정되는 핵산의 종류에 따라 cDNA칩, oligonucleotide칩(oligochip) 및 BAC칩 등으로 구분하기도 한다. 또한 지지체의 종류에 따라 반도체, 유리 또는 플라스틱 재질의 슬라이드를 지지체로 하여 핵산이 고정된 경우에 한하여 DNA칩이라는 용어를 사용한다. 이 경우 대부분은 spot 크기가 작고 고밀도이므로 DNA microarray 라고도 한다. 지지체가 나일론막인 경우에는 DNA칩이라는 용어를 사용하지 않고 단지 DNA array 라고 한다(그림 2).

2.3 DNA칩 제작

현재 DNA칩의 제작은 미리 제작된 핵산(cDNA, BAC 또는 oligonucleotide)을 지지체 표면에 공유결합반응등에 의해 고정키거나 또는 지지체 표면에 nucleotide를 하나씩 쌓아서 oligonucleotide를 합성하는 *in situ* 방법으로 제

작된다. 전자의 경우 다양한 유전자를 목적에 따라 선정하여 일반 연구실에서도 제작할 수 있다. 클론을 가지고 있는 경우에는 cDNA칩이나 BAC칩의 제작이 가능하며, oligo칩은 생물정보학적 분석에 의해 probe를 선정하여 15~70 mer 길이의 oligonucleotide를 주문 합성하여 제작할 수도 있다. 후자의 경우 photolithography 등 반도체칩 제작에 이용되는 기술을 사용하고 제작에 고가의 기기가 필요하므로 제한된 기관에서만 제작이 가능한 반면 수 십만개까지의 많은 probe를 집적하여 제작할 수 있는 장점이 있다[2].

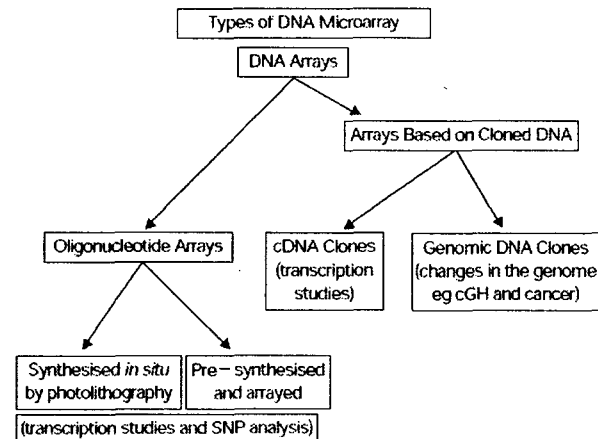


그림 2. Types of DNA microarray and their applications (Briefings in functional Genomics & Proteomics 2003:2:8)

3. DNA칩의 이용

3.1 DNA칩의 이용 분야

DNA칩을 이용한 연구 또는 진단은 유전자발현 분석(gene expression profiling)과 유전적변이검출(genetic variation detection)의 두 분야로 나눌 수 있다.

① 유전자발현분석(gene expression profiling)

DNA에 저장된 유전정보는 동시에 모두 발현되는 것이 아니라 개체나 세포의 분화 발달과 성장과정에서 환경과의 상호작용에 의해 조절을 받아서 적절한 조직세포에서 적절한 시기에 필요한 유전자만을 적절한 양만큼 발현시켜 기능을 하게 된다[6,7]. 유전자발현분석용 DNA칩에 의하여 유전자 발현 여부와 유전자 상호간의 관계를 입체적으로 이해함으로써 세포와 개체의 실제 기능 분석이 가능하다(표 1). 프로브의 종류에 따라 cDNA칩과 oligo칩으로 제작이 가능하다.

② 유전적변이 검출(genetic variation detection)  
모든 생명체는 고유의 유전정보를 서로 다른 염

기서열의 구성이라는 형태로 가지고 있으며 한 종 내에서 개체간의 차이도 염기서열의 차이에 기인한다. 또한 한 개체 내에서의 특정세포의 돌연변이는 유전질환이나 암을 초래하기도 한다. 병원성 세균이나 바이러스의 돌연변이는 치료제나 숙주의 면역기능에 대한 저항 또는 내성을 획득하게 하기도 한다. 이러한 염기서열의 다양성이나 변이를 검출하기 위하여 유전적변이검출용 DNA칩(oligo칩과 BAC칩)이 이용된다(표 1).

	유전자 발현 확인용 DNA칩	유전적 변이 검출용 DNA칩
종류	cDNA칩, oligo칩	oligo칩, BAC칩
용도	<ul style="list-style-type: none"> <li>인체세포, 실험동물, 또는 미생물에서의 유전자 기능분석 연구</li> <li>암 및 질병관련 유전자의 연구 및 진단</li> <li>유전자 치료의 평가</li> <li>유전자변형 식품 안전성 검사 및 검역</li> <li>환자 또는 약물에 대한 세포의 반응을 이용한 신약개발 연구</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>암이나 유전병에서의 유전자 변이 진단 (다세대연변이, 메틸화 및 염색체이상)</li> <li>암세포의 항암제내성 진단</li> <li>유전적 다양성을 이용한 이식적합성 검사 또는 세포치료 적합성 검사</li> <li>개인식별을 이용한 용의자확인 및 친자 감별 등 법의학적인 이용</li> <li>병원성미생물 동정 및 약제내성 검출</li> </ul>

표 1. DNA 칩의 종류별 용도

3.2 진단의학에서의 DNA칩의 이용

DNA칩이 진단적으로 이용되는 분야는 질병 연구와 관련된 기초 연구분야와 치료제 개발 분야 및 진단키트 개발 분야로 나눌 수 있다.

기초 연구분야로는 유전자발현분석용 DNA칩을 이용하여 암특이적 발현 유전자를 찾고자 하는 암 연구분야가 대표적으로서 백혈병에서는 유전자 발현양상의 차이로 병리조직학적 분류와 일치하는 분석 결과도 보고되고 있고, 염색체 이상을 동반한 경우에 특이적인 유전자 발현양상을 보이는 경우도 있으며, DNA칩을 이용한 진단과 예후 추정이 가능하다는 보고도 있다.

치료제의 개발에 있어서는 DNA칩의 응용은 매우 다양하다. 그중 DNA칩을 이용한 조직 세포의 특이적 발현 유전자는 조직 세포 특이적 치료약물의 표적분자가 될 수 있으므로 약물 개발의 단서를 제공하며, 특정 세포에서의 약물에 대한 반응으로서 유전자 발현의 패턴은 그 약물의 효능과 부작용의 가능성을 예측하게 한다[2,3].

진단키트로서의 DNA칩은 국내의 경우 많은 바이오벤처가 진단용 oligo칩 개발하여 일부 시판되고 있다. 이러한 제품으로는 결핵 및 비결핵마이크로 박테리아 감염진단칩, 항결핵제내성진단칩, HPV 유전형 감별진단칩, HBV 약제내성진단칩, 당뇨병(MODY) 진단칩과 암관련 유전자의 메틸화 여부 검출칩 등이 있다. 항결핵제내성진단칩의 경우 주요 약제에 대한 결핵균의 내성 여부를 최대 90%까지 진단이 가능하다(그림 3). 또한 일

부 기업에서는 oligo칩 이미지를 자동으로 분석하여 보고해 주는 지능형 진단 프로그램을 구비한 경우도 있어 임상 의사가 쉽게 이용할 수 있도록 하고 있다.

향후 개인의 질병감수성 여부를 판정할 수 있을 정도로 자료가 축적되면 개인의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP) 보유 패턴 조사에 의한 개인의 질병 감수성의 예측이 기대되는 분야이며, 이는 유전성 질환과 증양 및 개인의 행동과 지적 능력에 관계되는 분야까지 확대될 것으로 예상된다. 또한 약물대사에 관련된 SNP 보유 패턴 조사는 개인의 치료약물의 대사 속도를 예측하게 하여 질병에 대한 치료제의 종류와 용량까지 이에 맞춰 처방하는 맞춤의학의 시대가 도래할 것을 예측하게 하고 있다. 마지막으로 BAC칩은 probe로 큰 크기(수십 kb)의 BAC 클론을 사용하며, 염색체 수준에서의 결실(deletion)이나 중복(duplication) 또는 증폭(amplification) 진단에 이용하는 CGH(comparative genome hybridization)를 microarray로 제작한 것이다 (그림 4)[1,10].

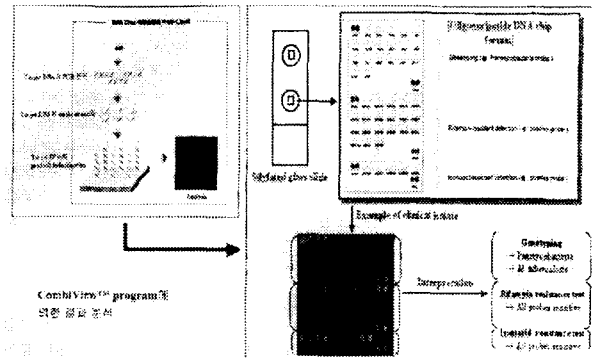


그림 3. Diagnostic Oligo chip for Drug resistant M. tuberculosis

4. 진단의학의 미래와 DNA칩

진단의학은 의학의 여러 요소 가운데에서 건강을 유지하고 질병시에는 정확하고 적절한 치료를 위해서 정확한 정보를 제공하는 필수적인 기반 요소이다. 최근의 진단의학은 미세기계공학의 발달에 힘입어 진단기기가 점점 소형화되고 있으며 Lab-on-a chip과 나노기술에 의해 양극단으로 발전하여 한 방향은 이동성이 있는 간편한 진단 기기들의 출현이며, 또 다른 방향은 하나의 기기에 의해 대부분의 검사가 가능한 집적화(integration)라고 생각한다[8,9,11]. 이와 함께 정보기술의 발달은 다양한 진단기로부터 나오는 결과들을 정리하여 보고할 뿐만 아니라 지능형 의사결정시스템에 의하여 의사를 보조하며, 원격

지간의 자료 공유를 통하여 보다 양질의 정보를 유지할 수 있게 함으로서 의료 수준의 향상을 가져올 것으로 본다. 이러한 과정에서 기존의 진단 의학이 새로운 모습으로 변해가는 과정에 필수적인 역할을 하는 기술이 DNA칩이라는 것이다. 즉, 유전정보의 처리결과인 표현형(phenotype)에 의존하던 기존 진단법들이 이미 존재하는 유전정보 자체를 분석하는 방식으로 전환됨으로써 진단 시간 단축과 함께 보다 정확한 진단이 가능해지고, 기존의 아날로그 방식의 검사결과들이 디지털화되어 보고되는 과정에서 ATGC라는 4진법 수학에 기초를 두고 있는 유전정보 자체의 가공에 의한 진단법인 DNA칩은 그 중심에 설 수 밖에 없다는 것이다.

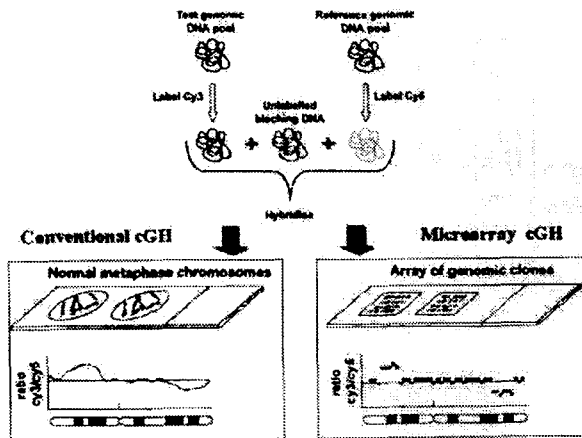


그림 4. Conventional and Microarray CGH (Briefings in Functional Genomics & Proteomics 2003:2:38)

2002년에 완성된 국가과학기술지도(national technology road map)에 의하면 진단용 DNA칩 기술은 2006년까지 핵심기술 개발이 완료될 것이며, 실용화가 함께 진행될 것으로 분석하고 있다 [12]. 즉, DNA칩은 미래가 아닌 현재의 우리가 가까이 와있는 진단 기술로서 이를 보다 빨리 완성하고 실용화하는 것은 바로 우리 손에 달려 있다. 연구 개발자와 임상에서 실제 환자를 위하여 애쓰고 있는 의사들이 힘을 모아서 실용화를 앞당겨서 세계적인 경쟁력이 있는 제품을 창출해 내는 것이 지금 우리 손으로 해야 할 일 것이다.

## 6. 참고문헌

[1] Affara, N.A. "Resource and hardware options for microarray based experimentation." Briefings in Functional genomics and Proteomics, Vol. 2, pp.7 - 20, 2003  
 [2] Geschwind, D.H., "DNA microarrays :

Translation of the genome from laboratory to clinic.", Lancet Neurol, Vol. 2, pp. 275-282, 2003.

[3] Howbrook, D.N., van der Valk A.M., O'Shaughnessy M.C., Sarker D.K., Baker S.C., Lloyd A.W., "Developments in microarray technologies.", Drug Discov Today, Vol. 15, pp. 642-651, 2003.

[4] Huang, S.H., Triche T, Jong A.Y., "Infectomics : genomics and proteomics of microbial infections.", Funct Integr Genomics, Vol. 1, pp. 331-344, 2002.

[5] Bryant P.A., Venter D, Robins-Browne R, Curtis N., "Chips with everything: DNA microarrays in infectious diseases", Lancet Infect Dis. Vol. 4, pp 100-11. 2004

[6] Livesey, F.J., "Strategies for microarray analysis of limiting amounts of RNA.", Briefings in Functional genomics and Proteomics, Vol. 2, pp. 31-36, 2003.

[7] Lyons, P., "Advances in spotted microarray resources for expression profiling.", Briefings in Functional genomics and Proteomics, Vol. 2, pp. 21-30, 2003.

[8] McGlennen, R.C., "Miniaturization technologies for molecular diagnostics.", Clin Chem, Vol. 47, pp. 393-402, 2001.

[9] Paolo, F, Saul S, Larry J.K., "Molecular diagnostics : hurdles for clinical implementation.", Trends in Molecular Medicine, Vol. 8, pp. 264-266, 2002.

[10] Snijders A.M., Pinkel D, Albertson D.G., et al., "Current status and future prospects of array-based comparative genomic hybridization.", Briefings in Functional genomics and Proteomics, Vol. 2, pp. 37-45, 2003.

[11] Wang J., "From DNA biosensors to gene chips." Nucleic Acids Res, Vol. 15, pp. 3011-3016, 2000.

[12] DNA CHIP 기술개발' 산업자원부 차세대신기술 연구기획사

<본 내용은 대한의사협회지 46권 11호 1016-1024에 게재된 내용을 재편집한것입니다.>