

## 나노입자를 이용한 유전자 진단 기술

이 경 복 (한국기초과학지원연구원 글라이코믹스팀)

**21세기** 최대의 질병인 암이 유전자 변이에 기인한 질병이라는 점을 고려할 때 특정 DNA 서열의 고효율 탐지는 암 연구, 암 진단 및 치료제 효과의 모니터링에 있어 중요한 역할을 담당할 것으로 기대된다. 일반적으로 DNA 마이크로어레이(microarrays)가 돌연변이 유전자 탐지 기술에 있어 유용한 도구이지만, 여러 가지 기술적 제약으로 인해 암 관련 유전자 돌연변이를 효과적으로 빠르고, 간편하게, 저렴한 방법으로 탐지하기 위해서는 새로운 기술의 개발이 요구되고 있다.

최근 Northwestern University 화학과 교수인 Chad

A. Mirkin 연구진은 나노입자를 이용한 바이오바코드를 개발하여 특정 DNA 서열의 고효율 탐지를 위하여 연구를 활발히 진행하고 있다. 예를 들면, 금 나노입자 표면에 두개의 서로 다른 염기서열 DNA를 붙여준 후 이들 두 개의 DNA 서열과 결합할 수 있는 target DNA와 hybridization시켜 나노입자 용액의 색 변화를 통한 target DNA를 검출하는 기술을 보고하였다 (그림 1). 본 방법은 염기서열의 mismatch에 기인한 녹는점( $T_m$ ) 변화를 측정하여 single base-pair mismatch와 perfectly matched target oligonucleotide를 구분할 수 있을 뿐만 아니라 빠르고 쉬운 방법으로 값비싼 광학적 장치가 필요하지 않다.

또한 최근 연구진의 결과에 따르면 한 번에 하나의 돌연변이 유전자만을 탐지할 수 있었던 기존의 방식에서 나아가 네 개의 상이한 DNA 서열을 동시에 탐지하고 구별하는 복합 바코드 시스템(multiplexed barcode system)을 개발하였다 (그림 2).

용액 내에 존재하는 서로 다른 네 개의 바이러스 유전자(HVB: hepatitis B virus surface antigen gene, small pox VV: variola virus, EV: ebola virus, HIV: human immunodeficiency virus)를 검출하고자, 금 나노입자와 자성 마이크로입자 표면에 각각의 바이러스 유전자의 일부분과 서로 hybridization이 가능한 염기서열 DNA를 붙여주어 프로브를 제작하였다. 여기서 특이한 점은, 금 나노입자 표면에 존재하는 바코드 DNA로 일부는 바이러스 유전자와 결합을 하지만 나머지 부분은 일반적 염기서열을 도입하여 탐

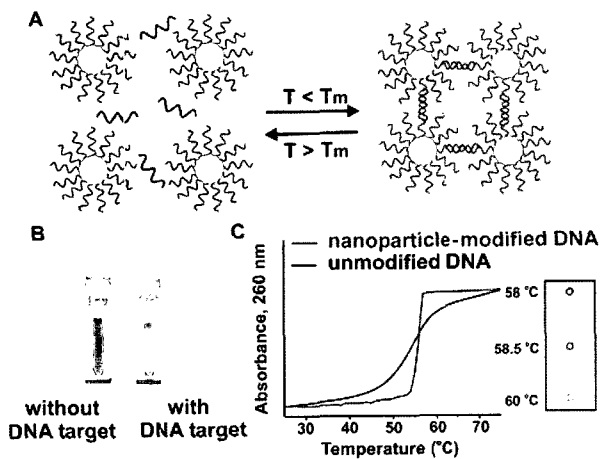


그림 1. (A) DNA가 붙어있는 금 나노입자를 이용한 특정 유전자 검출방법. (B) target DNA와의 반응을 통한 금 나노입자 용액의 색변화(반응 전 빨강, 반응 후 보라). (C) 금 나노입자 용액의 온도에 따른 자외선 흡광도 변화 (R. Elghanian et al. Science 277: 1078 (1997)).

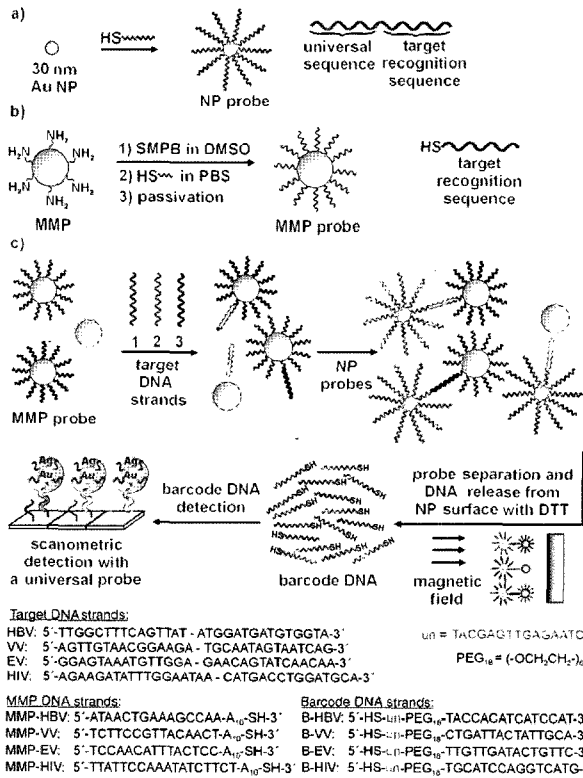


그림 2. DNA 검출용 복합 바이오바코드 시스템. a) 금 나노입자 프로브 제작법. b) 자성 마이크로입자 프로브 제작법. c) 바이오바코드 분석 및 scanometric 검출과정 (S. I. Stoeva et al. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45:3303 (2006)).

지 및 판독기능을 수행하도록 하였다. 금 나노입자 프로브와 자성 마이크로 프로브를 바이러스 유전자와 hybridization 시켜 자석을 이용하여 금 나노입자 프로브를 용액 내에서 분리시킨 후, 금 나노입자 표면에 존재하는 바코드 DNA를 DTT로 처리하여 분리시켰다. 이렇게 분리된 바코드 DNA는 유리 기판에

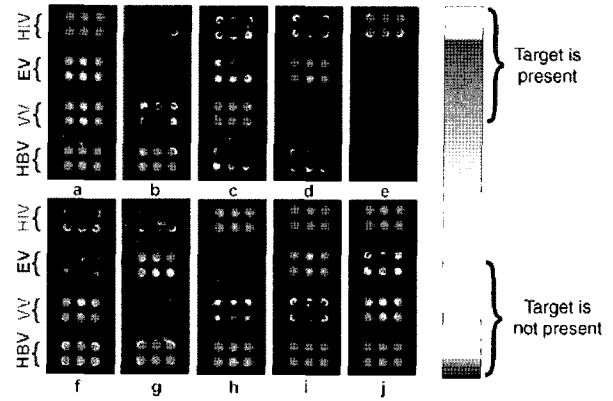


그림 3. 금 나노입자 프로브에서 분리된 바코드 DNA의 검출 사진. a) 모든 target; b) HBV; c) VV; d) EV; e) HIV; f) HBV와 VV; g) HBV와 EV; h) HBV와 HIV; i) HBV, EV, 그리고 HIV; j) HBV, VV, 그리고 HIV 코드 마이크로어레이 유리기판.

미리 준비된 코드 DNA와 hybridization 시켜 검출하였다. 검출한도를 높이고자 바코드 DNA 말단에 존재하는 티올기에 금 나노입자를 결합시킨 후 은을 electroless deposition시켜 신호증폭 효과를 주었다.

연구진은 위 방법을 통하여 바이러스 유전자 혼합물에서 네 개의 바이러스 바코드 DNA 시료를 성공적으로 분리하여 확인할 수 있었다. 실험결과 저 농도의 target DNA를 확인하기 위해서 유전자 증폭 기술(polymerase chain reaction)과 같은 증폭과정 없이도 쉽게 검출이 가능함을 보여주었으며, 수십억 개의 상이한 바이오바코드 서열을 제조할 수 있기 때문에 무수한 유전자 변이의 탐지 및 확인을 위한 분석 시스템으로 확장될 수 있다고 연구진은 밝히고 있다.