



문의 : 담당자 연락처 (02-880-4370)
연구단장/연구책임자 남좌민 교수 (02-888-6815) / 교신저자
연구단/연구진 김근석 박사과정, 오정욱 연구교수 (02-880-4370) / 공동 제1저자

초저농도 표적 유전자 진단 원천기술 개발

- 세계적인 화학분야 권위誌 *Angewandte Chemie International Edition*에 Hot Paper로 선정 -

□ 내용 및 의의

○ 서울대학교(총장 성낙인) 자연과학대학 화학부 남좌민 교수팀은 유동성 있는 생체모방 지지형 지질 이중층 (supported lipid bilayer, SLB) 위에서 DNA가 수식된 금 나노입자의 결합 및 해리 반응의 동력학적 현상을 실시간으로 분석하여 수십에서 수천 가닥 정도의 미량의 표적 유전자를 정밀하게 정량화하는 원천기술을 세계 최초로 개발하였다.

두 개의 금 나노입자 사이에서 단일 가닥의 표적 DNA가 가역적으로 혼성화하는 반응 과정을, 개개의 금 나노입자가 이합체로 결합되었다가 해리되면서 변화되는 산란 (scattering) 신호로부터 파악하였고, 이를 통해 수십 가닥의 DNA조차도 쉽게 정량할 수 있었으며 유전자 반응을 단일 가닥 수준으로 관측할 수 있는 기틀을 마련하였다. 차후 본 연구결과로부터 다양한 유전자와 관련된 질병의 조기진단 및 치료에 응용이 가능하며 탄저균 등 바이오 테러 물질의 조기 발견 또는 정밀한 유전자 수사에 도움을 줄 것으로 기대된다.

○ 본 연구진은 나노입자의 물리적 변화를 2차원 공간에서 쉽게 관측할 수 있는 플랫폼을 이용, 신호의 증폭 없이 획기적으로 기존의 검지능력을 향상시켜 수십 개의 표적 유전자가 정량 가능함을 발표하였다.

○ 서울대학교에서 개발한 본 기술은 “Associating and Dissociating Nanodimer Analysis for Quantifying Ultrasmall Amounts of DNA (결합-해리 나노이합체 분석법을 이용한 초저농도의 DNA 정량)” 라는 제명으로 화학분야 세계적 권위지인 ‘앙게반테 케미(Angewandte Chemie International Edition, IF 11.994)’誌 온라인 판에 ‘주목할 만한 논문(hot paper)’으로 선정되어 7월 10일 9시(한국시간)에 게재되었다. 본 연구성과는 앙게반테 케미 편집국에서 학계와 대중을 상대로 홍보할 만한 연구결과로 선정하여 저널에서 자체적으로 국제 언론 홍보(press release)를 하기로 했다.

○ 이번 연구는 질병 진단, 법의학적 표적 물질 검지 또는 바이오 테러 방지와 관련하여 위험을 최소화 하고 치료의 효과를 극대화하기 위해, 발생 초기 진단 및 치료 후 회복에 관련한 최적의 정보를 얻을 수 있는 기술이다. 이 시기에는 초저농도의 표적유전자 물질이 존재하기에, 검지하거나 정량 하는 것은 난제로 알려져 있다.

이처럼 초저농도의 DNA나 RNA와 같은 유전자 물질들을 검지하는 연구는 대표적으로 증합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, 이하 PCR)이 이용되지만, 효소를 이용한 증폭 방법을 사용하는 PCR은 위양성 신호(false positive signal)로 인해, 매우 낮은 농도 구간에서 표적 유전자를 정량 하기에는 굉장히 제한되어 있다. 따라서 본 연구진은 생체모방 지지형 지질 이중층 플랫폼을 사용, 표적 유전 물질을 인지하는 금 나노입자의 동력학적 분석을 통해 증폭 없이도 미세한 실제 신호(true signal)만을 찾아내어 분석 하였을 뿐 아니라 비특이적 결합(nonspecific binding)에 의한 거짓 양성 신호의 방해를 효율적으로 제거하여 초저농도에서 수십 개의 표적 유전물질만을 정밀 하고 정확하게 정량화할 수 있었다.

○ 본 연구에서 개발된 검지 기법은 결합-해리 나노이합체 분석법(Associating and Dissociating Nanodimer Analysis, ADNA) 이라고 불리는 새로운 분석법이다. 세포모방 지지형 지질 이중층 플랫폼을 이용하여 표적 DNA와 나노입자들 사이에 동력학적 거동을 분석하는 도중 4종류의 나노 이합체(nanodimer)를 발견할 수 있었고, 그 중 해리형 나노이합체(dissociating nanodimer)에서 비특이적인 결합에 의한 위양성 신호없이

표적 DNA에 의한 실제 신호만을 방출한다는 것을 발견할 수 있었다. 이 현상을 이용하여, 표적 DNA에 의해 발생하는 해리형 나노이합체의 동적인 (dynamic) 신호로부터 수십 가닥의 표적 유전자를 정확하게 정량할 수 있었다. 또한, 혈청 환경에서도 검지능력이 유지되는 것을 보임에 따라, 차후 임상적으로 활용 가능한 고신뢰성, 초고감도의 표적 유전자 검지 기술로의 발전 가능성을 제시하였다.

본 검지 기법은 기존 검지 플랫폼을 진일보 시킨 기술로, 증폭 기술의 사용 없이도 정밀하게 초저농도에서 수십 개의 표적 유전자까지도 정량할 수 있는 획기적인 기술이며, 초저농도에서 염기쌍 하나만 다른 DNA를 구별하는 단일염기 부정합 검지 (single-base mismatch detection)까지도 가능한 새로운 초고감도 유전자 검지 기술이다.

○ 본 방법은 연구자들에게 단일 유전자들의 동력학적 반응을 관측하고 정량하는 방법에서 보편적으로 사용되는 고가의 형광 장비를 활용하지 않고 비교적 저렴하며 비전문적으로도 사용이 가능한 기술을 이용하여 타겟에서 일어나는 동력학적 현상을 초고감도로 관측할 수 있는 기술이다.

또한, 각 유전자들에 대한 동력학적 분석을 통해 얻은 정보를 바탕으로, 극미량의 표적 유전자를 증폭 없이 수십 개에서 수천 개 까지 정밀하고 정확하게 검지하고 정량할 수 있는 원천기술이다. 이와 아울러 유전자 이외의 다양한 생체분자 물질에서도 동력학적 반응에 대한 분석이 손쉽게 이루어 질 수 있을 것으로 보여지며, 현재까지 바이오 마커로서 개발된 다양한 생체분자들에 관련된 정보들을 바탕으로 매우 미량의 시료에서도 관심있는 바이오 마커에 대한 분석이 가능할 것으로 보여진다.

이는 국민 보건에 위협이 되는 암 등의 다양한 질병들을 조기에 발견하여 완치율을 높이며, 2차 3차의 재발과 회복에서 오는 비용 문제를 해결하여 경제적 부담을 줄일 수 있게 할 것이다. 또한, 인류를 크게 위협하는 유행성 바이러스 및 박테리아 등을 손쉽게 스크리닝할 수 있는 헬스가드 (Health-Guard) 기술에도 본 기술을 접목시킬 예정이다.

□ 연구비 지원 프로그램

본 연구는 미래창조과학부 글로벌프론티어연구개발사업의 일환으로 추진 중인 바이오나노 헬스가드 연구단 (과제명 : 3D 조합 플라즈모닉 나노다면체 프로브 개발)의 지원과 한국연구재단 도약 연구사업의 지원을 받고 있다. 또한 미래창조과학부의 미래유망융합기술파이오니어 사업의 지원을 받았다.

연구결과

Associating and Dissociating Nanodimer Analysis for Quantifying Ultrasmall Amounts of DNA

(결합-해리 나노이합체 분석법을 이용한 초저농도의 DNA 정량)

Keunsuk Kim, Jeong-Wook Oh, Young Kwang Lee, Jiwoong Son and
Jwa-Min Nam*

(Angewandte Chemie International Edition)

유전자 검지법의 궁극적인 목적은 질병이 발생하자마자 검지하여 그들의 치료 위험을 줄이고, 완치율을 높이는 것이다. 또한 치료 후 회복 과정 중 발생 할 수 있는 재발을 정밀하고 정확하게 추적 할 수 있는 방법은 인간의 삶의 질적 향상에 큰 도움이 될 것이다. 하지만 질병 발생 초기에 생성되는 표적 유전자 물질의 양은 혈액 내에 매우 미량으로 존재하며, 이를 다른 생체물질 또는 단일 염기 서열이 다른 다양한 단일염기다형성 (single nucleotide polymorphism, SNP)과 구분해 내는 것은 인류가 극복해야 할 중요한 문제로 대두 되고 있다. 이에 본 연구에서는 생체모방형 지지형 지질 이중층 (supported lipid bilayer, SLB)의 동력학적 움직임을 표적유전자물질을 탐침 할 수 있는 금 나노입자 (Au nanoparticle)와 연결하여, 나노입자와 표적 유전 물질 사이에서 유도되는 결합 (associating)과 해리 (dissociating) 과정을 암시야 현미경 (dark-field microscopy, DFM)을 사용하여 실시간으로 관측하였고, 각 나노입자들의 산란 (scattering) 신호의 변화로부터 나노이합체들 (nanodimer)의 종류를 구분하고 분석할 수 있었다. 그 중 해리형 나노이합체 (dissociating nanodimer)에서 발생하는 신호가 거짓 양성 신호 (false positive signal)와 바탕신호의 방해신호들로부터 구별된 실제 신호 (true signal)인 것을 발견하였다. 이에 본 연구진은 해리형 나노이합체의 신호를 누적하여 수십 개에서 수천 개의 표적 유전자 물질을 정밀하게 정량화 할 수 있었으며, 수십 개의 농도에서도 표적 DNA와 단일 염기 서열의 차이를 갖는 DNA까지도 정밀하게 구분해 낼 수 있었다.

이는 기존에 매우 미량의 표적 유전자 물질을 검지하는 분야에 새로운 방향을 제시 할 수 있었으며, 다른 바이오마커의 생체분자들에서도 적용이 가능 할 것으로 보여진다.

화학과(부)장 ①인

추천교수 ①인

추천교수 ①인

용 어 설 명

1. 지지형 지질 이중층 (Supported Lipid Bilayer, SLB)

- 친수성과 소수성 부분으로 구성되어 있는 지질분자가 지지형 위의 수용액에서 지질분자의 친수성 부분이 수상에 접하여 소수성 부분이 소수결합으로 평행하게 배열한 이분자막인 생체막과 유사한 구조이다.

2. 나노입자 (Nanoparticle)

- 주로 1-100 나노미터 사이의 직경을 가진 초미세 입자.

3. 산란 (Scattering)

- 빛이 어떤 매질을 통과할 때 빛의 일부가 진행 방향에서 이탈해 다른 방향으로 진행하는 현상을 산란이라고 하며, 산란된 빛은 원래의 에너지를 그대로 가지고 있기도 하지만 원래 빛의 에너지보다 작거나 많은 에너지를 가진 경우도 있다. 산란된 빛 중 원래의 에너지를 그대로 유지하면서 산란되는 과정을 레일리 산란 (Rayleigh scattering), 에너지를 잃거나 얻으면서 산란되는 과정을 라만 산란 (Raman scattering) 이라고 하며, 이 산란광은 물질의 고유 특성으로 분자의 분자 구조를 추론할 수 있다. 라만 산란 신호로부터 얻어지는 분야의 고유진동수로부터 분자의 화학적 정체(identity)나 상태를 알 수 있다.

4. 암시야 현미경 (Dark-Field Microscopy, DFM)

- 표본내의 굴절률이 서로 다른 구조의 계면에서 산란하는 빛만으로 상을 맺는 현미경으로, 산란 신호의 변화를 관찰 할 수 있게 해주는 현미경.

5. 결합 (Asscciating)

- 나노입자들의 결합.

6. 해리 (Dissociating)

- 나노입자들의 분리.

7. 나노이합체(Nanodimer)

- 2개의 나노입자들의 결합체.

8. 해리형 나노이합체 (Dissociating nanodimer)

- 관측시간 내에 결합 (associating)을 거쳐 나노이합체가 (nanodimer) 형성되고, 일정시간의 체류 시간 (residence time)을 거친 후 해리 (dissociating)되는 나노이합체의 형태.

9. 위양성 신호 또는 거짓 양성 신호 (False positive signal)

- 통계상 실제로는 음성인데 결과로는 양성으로 나오는 신호.

10. 단일염기다형성 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)

- 유전자의 염기서열에서 하나의 염기서열 (A, T, G, C)의 차이를 보이는 유전적 변화 또는 변이.

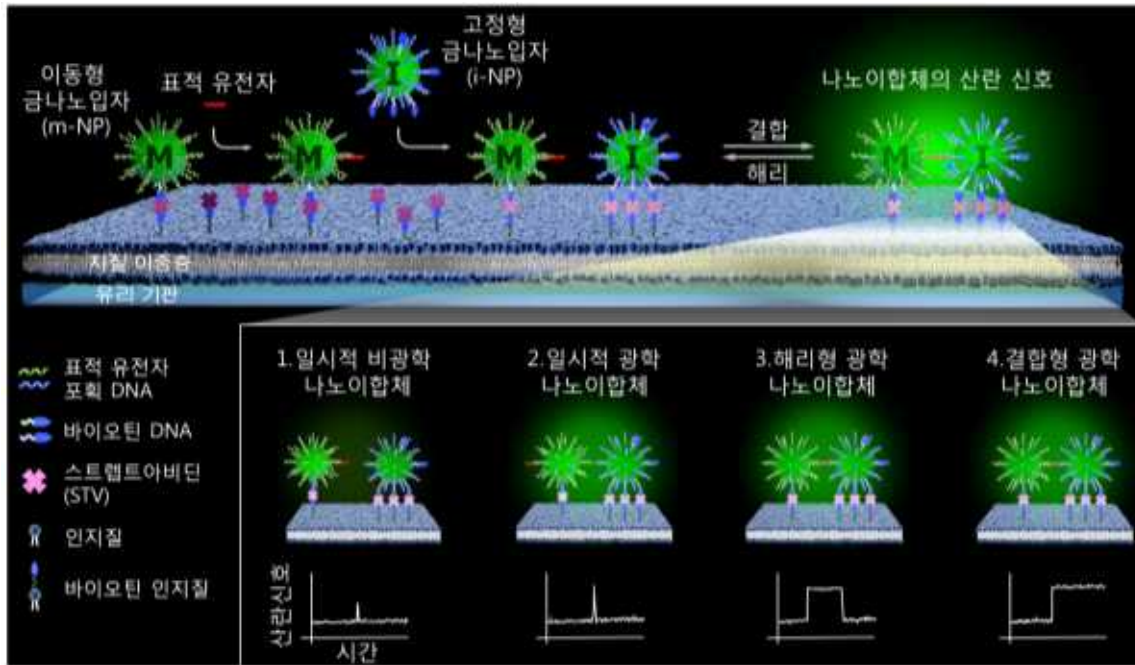
11. 중합효소 연쇄 반응 (polymerase chain reaction, PCR)

- PCR로 약기. 극소량의 유전자를 인위적으로 처리하여 다량으로 증식시키는 유전자 증폭기술. DNA 중합효소가 프라이머 (primer)를 이용하지 않으면 DNA 합성 개시되지 않는 성질을 이용하여 떨어져 있는 DNA의 2점 사이를 결합시키는 프라이머를 사용하여 증폭시키는 반응방법인데, 미량의 DNA를 검출 가능한 양까지 증폭시키거나 염색체 전체의 DNA에서 특정 영역만을 증폭시켜 조사하는 데 유효하다.

출처: [네이버 지식백과], [생명과학대사전] 및 [위키백과]

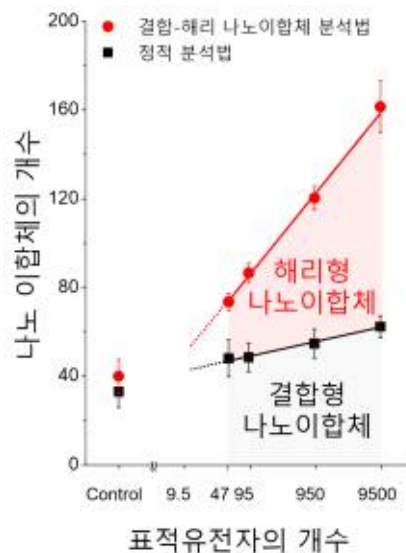
그림 설명

결합-해리 나노이합체 유전자 검지법 개념도 1



DNA와 나노입자의 동력학적 반응을 정밀하게 관측하는 모식도와 이를 통해 발견된 4종류의 나노이합체.

결합-해리 나노이합체 유전자 검지법 개념도 2



표적 유전자에서 유도된 해리형 나노이합체 (dissociating nanodimer)의 분석을 통해 수십 개의 표적 유전 물질의 정량화가 가능하다는 도식화된 개념도.

연구자 이력사항

1. 인적사항

- 소 속 : 서울대학교 화학부 교수
- 전 화 : 02-888-6815
- E-mail : jmnam@snu.ac.kr



2. 학력

- 1992 - 1996 한양대학교 학사
- 1998 - 2000 한양대학교 석사
- 2000 - 2004 미국 Northwestern University 박사

3. 경력사항

- 2004 - 2005 미국 UC Berkeley 화학과 (박사후 과정)
- 2006 - 2010 서울대학교 화학부 조교수
- 2010 - 2015 서울대학교 화학부 부교수
- 2015 - 현재 서울대학교 화학부 정교수

4. 기타 정보

- 미국 전국 대학 발명대회 대학원 부문 1등 (미국 발명가 명예의 전당 및 특허청 주최): 자세한 사항은 <http://www.invent.org/collegiate/> (2004)
- 미국 화학회 Victor K. LaMer Award 수상 (2006)
- 교육과학기술부 연구개발 사업 기초연구 우수성과상 (2010)
- 대한화학회 젊은 무기화학자상 (2012)
- 대통령 젊은 과학자상 (한국과학기술 한림원) (2012)
- 일본화학회 Distinguished Lectureship Award (2013)
- 미래창조과학부 Outstanding Researcher Award (2015)