

자가복제 Deoxyribozyme을 이용한 센서 디자인

임희웅⁰¹, 이승환², 양경애³, 유석인¹, 박태현², 장병탁³

서울대학교, 전기컴퓨터공학부, 바이오지능연구실², 인공지능 & 컴퓨터비전연구실¹

서울대학교, 화학생물공학부, 세포 및 미생물공학연구실³

hwlim@bi.snu.ac.kr; skulsh78@snu.ac.kr; kayang@bi.snu.ac.kr; siyoo@bi.snu.ac.kr;

thpark@plaza.snu.ac.kr; btzhang@bi.snu.ac.kr

Sensor Design Using Self-Replicating Deoxyribozyme

Hee-Woong Lim⁰¹, Seung Hwan Lee², Kyung Ae Yang³, Suk-In Yoo¹,

Tai Hyun Park², and Byoung-Tak Zhang³

Seoul National University, School of Computer Science and Engineering,

Biointelligence Lab.², Artificial Intelligence and Computer Vision Lab.¹,

Seoul National University, School of Chemical and Biological Engineering,

Cell and Microbial Engineering Lab.³

요 약

최근 DNA와 같은 생체 분자를 이용한 정보 처리 기술에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 이러한 기술의 발전은 분자 수준에서의 생화학적 정보 처리의 가능성을 보여주며, 진단 목적의 유전자 발현 정보 처리와 같은 생물학 목적의 문제 해결을 위한 새로운 방법으로 떠오르고 있다. 생체 분자 정보 처리 기술은 기존의 전자식 컴퓨터와 달리 생체 분자로 표현된 정보를 분자 수준에서 직접 처리함으로써 정보 변환 과정에서의 손실을 줄이고 효과적인 문제 해결을 가능하게 한다. Deoxyribozyme은 DNA이면서도 마치 효소와 같은 특성을 가지며 특정 서열의 DNA나 RNA 분자를 자르거나 이어 붙이는 기능을 가지고 있는 DNA 분자를 말한다. 본 논문에서는 deoxyribozyme을 이용하여 분자 정보 처리의 기본 소자 역할이 가능한 자가복제 deoxyribozyme의 개념적 모델을 제안하고, 이를 바탕으로 목표 분자를 검출하는데 사용 가능한 분자 센서를 디자인한다. 그리고 시뮬레이션을 통해 자가복제 deoxyribozyme의 복제 반응과 센서로서의 기능을 보여준다.

1. 서 론

분자 컴퓨팅 (molecular computing)은 자연계의 현상을 이용하여 새로운 정보 처리 패러다임을 만들고자 하는 자연 컴퓨팅 (natural computing)의 한 분야로서, DNA나 RNA와 같은 생체 분자를 이용하여 정보를 표현하고 처리한다. 최근 이러한 생체 분자에 기반한 정보 처리에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 특히 DNA나 RNA는 인간의 유전정보를 구성하는 물질로서, 그 분자들간의 상보성에 따른 특이적인 결합과 혼성화라는 특징, 그리고 A, T, G, C로 구성되는 염기 서열의 조합론적 다양성은 정보 표현 매체로서 활용 가능한 중요한 특징들이다[1].

DNA 분자들 간의 혼성화 반응은 분자 컴퓨팅에 있어서 가장 기본적인 연산이라 할 수 있는데 초기의 분자 알고리즘은 주로 이러한 선형적 DNA간의 단순한 혼성화와 효소를 이용한 연결(ligation)과 자르기(restriction)에 사용했다. 그러나 이러한 선형 DNA만을 이용한 분자 알고리즘은 복잡한 계산 문제에 적용되기에는 아직 한계가 있으며, 많은 연구자들은 단순한 선형 DNA를 넘

어서 DNA 타일이나 3차원 구조를 이용한 새로운 계산 방법을 연구하고 있다[2][3][4]. 또한 DNA간의 병렬적인 상호작용에 착안하여 분자 패턴의 분석 기술로서의 새로운 연산자의 개발이나 분자 학습 방법 또한 새롭게 연구되고 있다[5][6][7].

Deoxyribozyme 또한 분자 컴퓨팅에 사용되는 물질 가운데 하나인데, deoxyribozyme이란 일반적인 DNA 분자이면서도 특정한 염기서열로 이루어져 마치 효소처럼 특정 DNA나 RNA의 연결이나 자르기와 같은 기능을 수행할 수 있는 분자를 말한다[8]. 이러한 deoxyribozyme은 몇몇 연구자들에 의해 Boolean 논리 게이트를 만들거나 이들을 연결하여 더 복잡한 논리 연산을 수행할 수 있는 Boolean 논리 회로를 만드는데 사용되기도 했다[9][10]. Deoxyribozyme의 효소와 같은 특성은 기존 분자 컴퓨팅 기술의 한계를 넘어 새로운 연산자, 혹은 신호처리 방법을 위한 대안으로 떠오르고 있다. 본 논문에서는 deoxyribozyme을 이용하여 자가복제가 가능한 반응 시스템을 디자인하고, 이를 이용하여 목표 분자를 검출하는 센서를 제안한다. 그리고 시뮬레이션을 통해서 자가복제 반응에서의 각 요소들의 변화를 관찰한다.

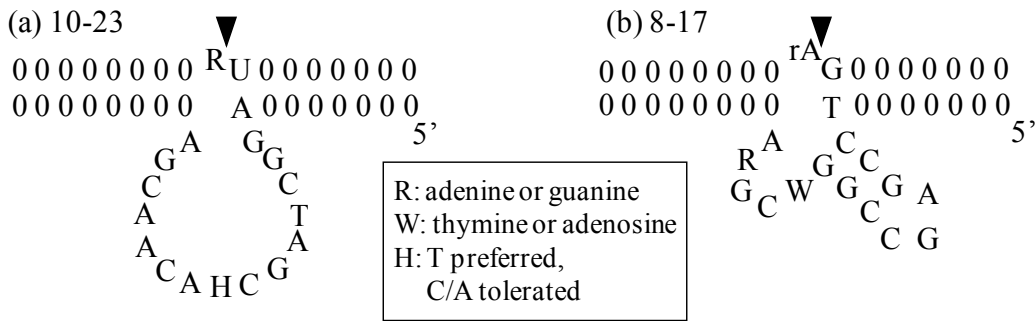


그림 3. Deoxyribozyme의 예. 다른 DNA분자를 자르는 기능을 하는 deoxyribozyme, 10-23과 8-17.

본 논문은 다음과 같이 구성되어있다. 다음 절에서는 자가복제 기능을 가진 deoxyribozyme의 개념적인 모델을 제시하고 염기 서열의 디자인 방법을 기술하며, 3절에서는 이 자가복제 deoxyribozyme을 이용하여 소량의 목표 DNA를 검출 가능한 센서 시스템을 제안한다. 그리고 4절에서는 시뮬레이션 결과를 제시하고 5절에서 결론을 맺는다.

2. 자가복제 Deoxyribozyme

DNA 가운데 특정한 염기 서열을 가진 분자의 경우 마치 효소처럼 다른 DNA를 연결하거나 자르는 기능을 수행하기도 하는데, 이러한 DNA를 deoxyribozyme이라고 한다(그림 3). 마찬가지로 RNA이면서 이러한 효소와 같은 성질을 가진 분자를 ribozyme이라고 부른다. 기존 분자 컴퓨팅에서 연산 기법으로 사용되었던 효소반응의 경우 시간이 지남에 따라 열에 의해 변성이 일어나 그 효율이 점차 떨어졌던 단점이 있는 반면, deoxyribozyme이나 ribozyme의 경우 정보를 표현하고 있는 매체와 동등한 물질로서 더 다양한 연산을 수행 가능하다. 한편 deoxyribozyme은 DNA로 분자로서 RNA보다 더 안정적인 상태에 존재하며 자연적인 소멸에 대해 더 강한 성질을 갖기 때문에 분자 정보 처리를 위한 매체로서 뛰어난 후보라 할 수 있다.

이러한 deoxyribozyme을 정보처리 소자로서 이용하기 위한 시도로서 알로스터릭(allosteric)한 특성을 첨가하여 특정 입력 DNA 분자가 존재 여부에 따라 효소 특성이 활성화 되도록 하여 Boolean 논리 게이트와 논리 회로가 개발된 바 있다[9][10]. 뿐만 아니라, 효소 특성을 이용하여 다양한 반응 시스템이 개발된 바 있는데, 연결 기능을 기반으로 하여 상호 복제가 가능한 deoxyribozyme과 ribozyme, 그리고 자가 복제가 가능한 ribozyme을 그 예로 들 수 있다[11][12][13].

본 논문에서는 목표 분자 자르기 기능을 이용하여 목표 인식 도메인을 적절히 디자인 함으로서 자가 복제가 가능한 deoxyribozyme을 설계하는 방법론을 제시한다. 이 시스템에서 deoxyribozyme은 활성(active) 상태인 D_A 와 비활성(inactive) 상태인 D_I 두 가지 상태를 가질 수 있다. D_A 와 D_I 는 공통적으로 촉매 효과를 발휘하는 촉매핵

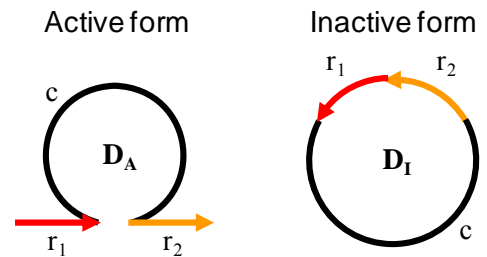


그림 1. 자가 복제 가능 deoxyribozyme. D_A 는 자르기 성질이 활성화 되어있는 선형 deoxyribozyme이고 D_I 는 비활성화 되어있는 고리모양. r_1 과 r_2 가 각각 자신과 상보적이 되도록 디자인 한다.

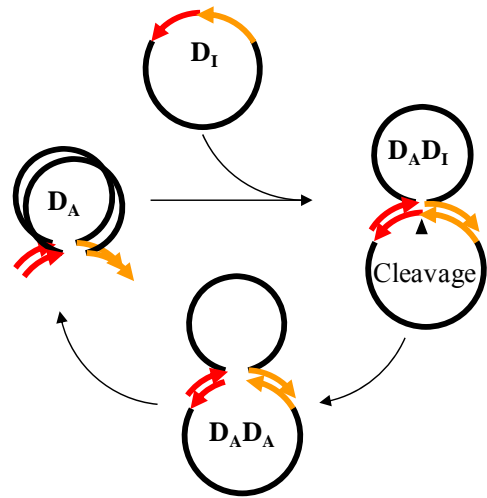


그림 2. 자가복제 사이클. D_A 와 D_I 가 동시에 존재할 경우 D_A 가 D_I 의 고리를 끊어 D_A 로 활성화시키는 사이클이 반복된다.

(catalytic core) c 도메인과 목표 DNA를 인지하는 인지 도메인 r_1, r_2 로 이루어져 있고 동일한 염기서열로 구성되어있으며, D_A 의 경우 선형 구조로서 자르기 성질이 활성화 되어있는 반면 D_I 의 경우 양 끝이 서로 연결된 고리 구조로서 자르기 성질이 억제된 상태이다 (그림 1). 여기에서 목표 인지 도메인인 r_1 과 r_2 를 자가-상보적으로 (self-complementary) 디자인 할 경우 그림 2에서 볼 수

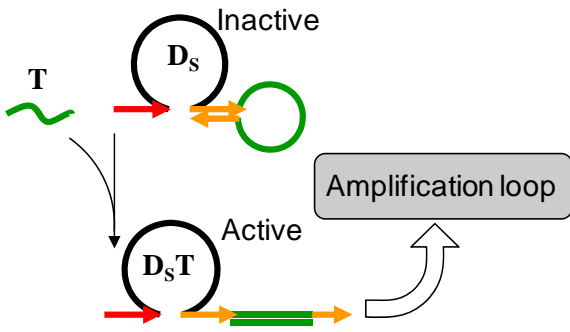


그림 4. 자가복제 deoxyribozyme을 이용한 센서 디자인. 앞서 디자인한 자가복제 사이클을 신호 증폭을 위한 소자로 사용하고, 여기에 목표 분자 T를 알로스터릭 요소 (allosteric factor)로 가지는 센서 deoxyribozyme D_S를 추가한다. D_S는 초기에 비활성화된 상태로 존재하다가 T와 결합하여 활성 상태로 전환되고 D_I를 D_A로 변화시키는 사이클을 시작한다.

있는 바와 같이 D_A는 D_I에 결합하여 연결된 고리를 잘라내어 활성화된 상태로 만들도록 할 수 있다. 다음은 자가-상보적인 염기 서열의 예를 보여준다.



3. 센서 디자인

앞서 기술한 자가복제 사이클은 비활성 상태의 D_I만 존재할 경우 반응이 시작되지 시작될 수 없고, D_I를 활성화시킬 수 있는 deoxyribozyme (D_A를 포함하여)이 소량이라도 존재할 경우 사이클이 시작될 수 있으며 점차 가속화 되어 D_I가 모두 활성화 될 때까지 진행된다. 이러한 반응은 일종의 신호 증폭 과정으로 볼 수 있으며, 목표 분자를 인지함으로써 사이클을 시작할 수 있는 요소를 첨가하면 소량의 목표 분자도 검출해 낼 수 있는 센서로서의 역할을 수행할 수 있다.

이를 위하여 목표 분자와 결합함으로써 활성화 되는 센서 deoxyribozyme D_S를 도입한다. D_S는 [9]와 [10]에서도 사용된 바 있는 알로스터릭 deoxyribozyme으로서 그림 4에서 보는 바와 같이 평소에는 목표 분자 인지 도메인 중 하나가 가지-고리 구조 (stem-loop structure)를 형성함으로써 자르기 성질이 억제되어 있다. 이 가지-고리 구조에서 고리 부분의 염기 서열은 검출하고자 하는 T의 염기 서열과 상보적인 서열로서, T가 존재하지 않을 경우 가지-고리 구조를 유지함으로써 D_S가 D_I에 결합할 수가 없다. 만일 소량의 T라도 존재한다면 이 고리 부분 결합하여 가지 부분이 열리게 되고 D_S가 D_I에 결합하기 위한 인지 도메인이 활성화 되어 자르기 성질이 활성화되며, 결과적으로 자가복제 사이클을 시작하게 된다. 이러한 센서 시스템은 크게 목표 분자를 검출하기 위한

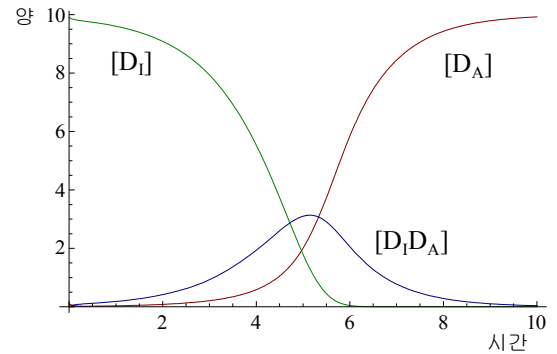
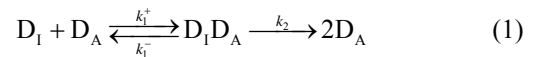


그림 5. Deoxyribozyme의 자가복제 반응에서의 양적 변화 그래프. 반응 초기 소량의 D_A와 다량의 D_I가 존재하지만 시간이 지남에 따라 둘이 결합하여 D_ID_A를 형성하고 다시 D_A로 변환 되는 과정이 반복되어 결국 모든 분자가 D_A로 전환된다. (파라미터 값: $k_1^+=1$, $k_1^-=0.01$, $k_2=1$, $c=10$, $\alpha=0.1$)

부분과 신호 증폭을 위한 자가복제 사이클로 나누어서 생각할 있으며, 중요한 것은 목표 분자의 검출부분과 신호 증폭 부분의 디자인을 분리해서 생각할 수 있다는 점이다. 그림 4에서 보여주는 것은 목표 분자가 DNA나 RNA와 같은 핵산 (nucleic acid) 분자인 경우를 보여주고 있지만, 목표 분자는 여기에 그치지 않고 단백질을 검출하기 위해 압타머[14] 도메인을 고리부분에 적용할 수 있듯이 알로스터릭한 deoxyribozyme을 제작할 수 있는 어떠한 시스템도 적용 가능하다는 것이다.

4. 시뮬레이션 및 고찰

여기에서는 컴퓨터 시뮬레이션을 통해서 앞서 제안한 자가복제 사이클 반응에서 각 분자들의 양적 변화를 관찰하고 검증한다. 자가복제 사이클은 다음과 같은 반응식으로 나타낼 수 있다.



k_1^+ , k_1^- , k_2 는 각 반응들의 속도 상수이다. 또한 D_I와 D_A 간의 결합은 상보성에 따른 결합으로서 $k_1^+ \gg k_1^-$ 을 가정할 수 있다. 그리고 반응에서 어떤 분자 X의 농도를 [X]라 할 때 이 복제 반응은 다음과 같은 미분 방정식으로 나타낼 수 있다.

$$\frac{d[D_I D_A]}{dt} = k_1^+[D_I][D_A] - k_1^-[D_I D_A] - k_2[D_I D_A],$$

$$\frac{d[D_A]}{dt} = k_1^-[D_I D_A] + 2k_2[D_I D_A] - k_1^+[D_I][D_A], \quad (2)$$

$$\frac{d[D_I]}{dt} = k_1^-[D_I D_A] - k_1^+[D_I][D_A].$$

D_I 는 D_A 에 의해서 D_A 로 변환되고 손실이 없다고 가정했을 때, D_I , D_A , $D_I D_A$ 의 전체 양은 항상 보존된다. 그리고 반응의 시작 시점에 다량의 D_I 와 소량의 D_A 만이 존재하고 둘의 결합체인 $D_I D_A$ 는 존재하지 않는다고 가정한다. 따라서 다음과 같은 질량 보존 식과 초기 조건을 설정할 수 있다.

$$\begin{aligned} [D_I] + [D_A] + 2[D_I D_A] &= c, \\ [D_A]_0 &= a, [D_I D_A]_0 = 0. \end{aligned} \quad (3)$$

그림 5는 컴퓨터 시뮬레이션을 통해서 수식 (2)를 풀어 얻어낸 결과로서, 자가복제 반응에서 시간의 흐름에 따라 각 분자들의 양이 변하는 양상을 보여준다. 초기에 소량으로 존재하는 D_A 가 다량으로 존재하는 D_I 와 결합하여 중간 생성물인 $D_A D_I$ 를 만들어내고 D_I 를 D_A 로 전환시킨 다음 다시 D_I 에 결합하는 사이클이 반복되어 결국 모든 분자들이 D_A 로 바뀌는 모습을 보여준다. 만일 반응의 시작시점에 D_A 가 전혀 존재하지 않는다면($[D_A]_0=0$) 이러한 자가복제 사이클이 일어나지 않고 시스템은 초기와 같이 D_I 만 존재하는 상태로 존재할 것이다. 이와 같은 특성을 이용하여 목표 분자를 인지함으로써 활성을 갖게 되는 알로스터릭 deoxyribozyme을 첨가함으로써 소량의 목표도 검출해 낼 수 있는 센서를 만들어 낼 수 있는 것이다.

5. 결 론

본 논문에서 우리는 자가복제가 가능한 deoxyribozyme을 디자인 하는 방법론을 제시하였고 이를 이용하여 목표 분자를 검출해 낼 수 있는 효과적인 센서를 제안하였다. 그리고 컴퓨터 시뮬레이션을 통해 이러한 자가복제 사이클에서 각 요소 분자들의 양적 변화를 관찰하였다. 이러한 자가복제 deoxyribozyme을 디자인함에 있어서 목표 인지 도메인의 디자인은 중요한 문제이다. 자가상보적인 염기서열을 디자인하되 deoxyribozyme의 활성을 저해하지 않도록 하는 것이 중요하며, 이를 위한 염기 서열 디자인 틀이 개발 중이다. 그리고 바이오-랩 실험을 통해 실제 시험관 내에서의 구현을 통한 검증 또한 앞으로의 과제라 하겠다.

감사의 글

본 연구는 교육인적자원부 BK21-IT 및 산업자원부 차세대 신기술 개발 사업의 분자 진화 컴퓨팅(MEC) 과제에 의하여 일부 지원되었다. 또한 이 연구를 위해 장비를 지원하고 공간을 제공한 서울대학교 컴퓨터연구소에도 감사 드린다.

6. 참고문헌

- [1] G. Păun, G. Rozenberg and A. Salomaa, DNA Computing: New Computing Paradigms. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1998.
- [2] N. C. Seeman, "DNA in a material world," *Nature*, vol. 421, pp. 427-431, 2003.
- [3] A. P. Mills Jr., "Gene expression profiling diagnosis through DNA molecular computation," *Trends Biotechnol.*, vol. 20, pp. 137-140, 2002.
- [4] Y. Benenson, B. Gil, U. Ben-Dor, R. Adar and E. Shapiro, "An autonomous molecular computer for logical control of gene expression," *Nature*, vol. 429, pp. 423-429, 2004.
- [5] 임희웅, 유석인, 장병탁, "Thermodynamics-based weight encoding methods for improving reliability of biomolecular perceptrons", 정보과학회논문지: 소프트웨어 및 응용, vol. 34(12), pp 1056-1064, 2007.
- [6] H.-W. Lim, J. Y. Lee, S. N. Kim, S.-I. Yoo, T. H. Park, and B.-T. Zhang, "DNA-Based Perceptron and Its Application to Binary Classification of Gene Expression," in *Proc. Tenth Int. Meeting on DNA Based Comput.*, pp. 439, 2004.
- [7] B.-T. Zhang, "Hypernetworks: a molecular evolutionary architecture for cognitive learning and memory," *IEEE Comput. Intell. Mag.*, vol. 3, pp. 49-63, 2008.
- [8] G. M. Emilsson and R. R. Breaker, "Deoxyribozymes: new activities and new applications," *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 59, pp. 596-607, 2002.
- [9] M. N. Stojanovic and D. Stefanovic, "A deoxyribozyme-based molecular automaton," *Nat. Biotech.*, vol. 21, pp. 1069-1074, 2003.
- [10] J. Macdonald et al., "Medium scale integration of molecular logic gates in an automaton," *Nano Lett.*, vol. 6, pp. 2598 -2603, 2006.
- [11] M. Levy and A. D. Ellington, "Exponential growth by cross-catalytic cleavage of deoxyribozymogens," *Proc. Nat. Acad. Sci.*, vol. 100, pp.6416-6421, 2003.
- [12] N. Paul and G. F. Joyce, "A self-replicating ligase ribozyme," *Proc. Nat. Acad. Sci.*, vol. 99, pp. 12733-12740, 2002.
- [13] D.-E. Kim and G. F. Joyce, "Cross-Catalytic Replication of an RNA Ligase Ribozyme," *Chem. Biol.*, vol. 11, pp. 1505-1512, 2004.
- [14] S. Klussmann, *The Aptamer Handbook: Functional Oligonucleotides and Their Applications*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006.