

세포 마이크로어레이의 생물학적 적용

세포 마이크로어레이(Cell Microarray)는 실질적으로 DNA 및 각종 유전자 연구에 적합한 도구로서 현재 확립되고 있는 중이다[1]. 현재 제안된 세포 마이크로어레이라는 것은 한 개의 슬라이드에 수 천 개의 확인된 DNA로 이루어져 있고 그 위에 DNA에 의해 유전 생성물을 과잉 생산 또는 저해하는 세포의 뭉침(Cell Cluster)으로 되어있다[3]. 이러한 어레이의 검출 능력을 이용하여 포유류 세포의 복잡한 유전자 표현형 염기서열을 체계적이며 효율적으로 확인 할 수 있다. 이러한 세포 마이크로 어레이를 이용하여 지금까지 잘 확립된 세포연구 방법을 융합할 수 있으며 또한 마이크로어레이로 소형화하여 다기능 그리고 고성능의 세포 생물학 분석 도구로 사용될 수 있는 방법이다[1-2].

최근의 유전학의 진보로 인해 지금까지 힘들게 느껴왔던 유전자와 그 것에 의해 합성된 유전 생성물들이 체내에서 어떻게 발현하고 그 기능이 무엇인지를 확인하는 것에 관심을 가지기 시작했다. 그러나 고성능의 질량 분석기(High-Throughput Mass Spectrometry)[4], 그리고 단백질 마이크로어레이(Protein Microarray)[5]와 같은 최신의 방법에도 불구하고, 포유류 세포에서의 유전자 기능을 분석할 수 있는 고성능의 방법은 거의 없다. 전통적인 체내에서의 유전 분석에 대한 접근은 세포에서의 DNA가 직접적으로 유전 생성물의 과잉생산 또는 억제를 통한 합성 또는 기능적인 발현으로 확인 할 수 있었다. 그러나 어레이를 이용하면 유전 생성물 수준의 생리학적인 변화에 대한 현상의 정량적인 측정이 가능하고 유전 생성물의 기능을 추론할 수 있다[1].

Ziauddin과 Sabatini는 실험적인 모델 고성능의 적용을 위해 새로운 세포 마이크로어레이(Cell-bases Microarray)를 고안했는데 이것은 유전 생성물의 체내에서 기능을 능동적으로 확인할 수 있다[3]. 이런 세포 마이크로어레이의 특징은 점들(Spot)로 이루어져 있는 것인데 이것은 기존의 DNA 칩 그리고 단백질 칩과 같은 형태이다. 그러나 세포 마이크로어레이에서는 이 점들이 특정한 유전 생성물을 발현 시키는 DNA로 되어 있고 그 위에 발현되기 위해 포유류 세포 뭉침이 더하여져 있다. cDNA가 발현벡터(Expression Vector)에서 발현되는 것을 이용하여 연구자들은 세포 마이크로어레이를 세포의 사멸(Apoptosis), 세포 유착 그리고 신호 전달과 같은 세포내의 다양한 과정에서 세포 마이크로어레이를 이용하여 유전자와 그 기능을 확인 할 수 있다. 또한 세포 마이크로어레이가 염색체의 수준으로 적용되면, 포유류 세포의 다양한 현상에 대한 연구에 도움을 줄 것으로 전망되고 있다.

Ziauddin과 Sabatini에 의한 세포 마이크로어레이의 실험적인 연구는 플라스미드(Plasmid) 발현체가 cDNA에 의한 유전자 과잉 발현을 이용하였다. 상업적으로 유용한

마이크로어레이 로봇을 이용하여 나노리터량의 cDNA 플라스미드 젤라틴 용액을 마이크로현미경 슬라이드에 인쇄하였다. 그 슬라이드를 잠시 동안 기질 트랜스펙션 시약에 노출 시킨 후 포유류 세포를 그 슬라이드 위에 넣고 다음에 그 세포들이 인쇄된 부분에 잘 안착되도록 하여 그 세포가 인쇄된 플라스미드에 의해 발현되는 것이다.

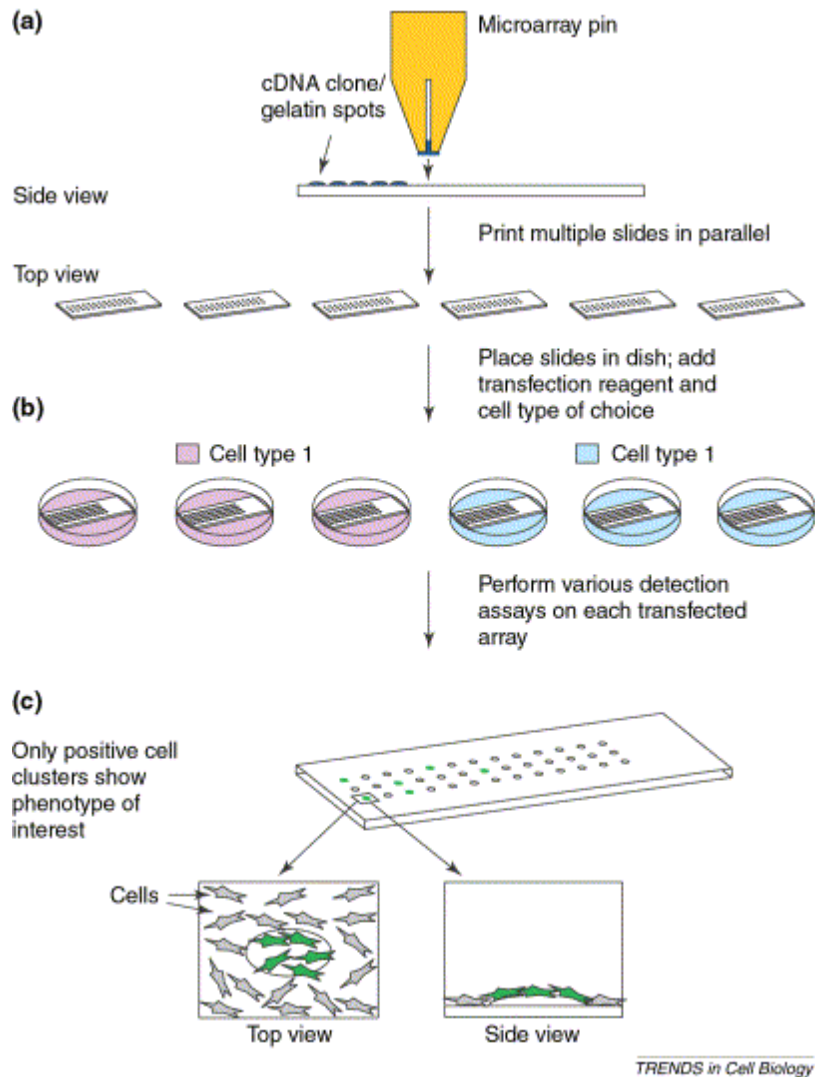


그림 1 세포 마이크로어레이 제작과정과 분석과정

그 세포 마이크로어레이의 배열 및 세포의 안정을 위해 몇 일 동안 배양하고 그 세포들이 각각의 슬라이드에 융합되도록 한다. 각각의 인쇄된 점은 30에서 80개 정도의 발현된 세포의 뭉침으로 구성되었었고 그 점에서는 활동적으로 확인된 유전 생성물을 과잉 발현하였다. 즉, cDNA가 있는 점에서는 집단적으로 발현된 세포가 그리고 그 외에서는 발현되지 않은 배경 세포로 구성된 살아 있는 마이크로어레이를 구성할 수 있었다.

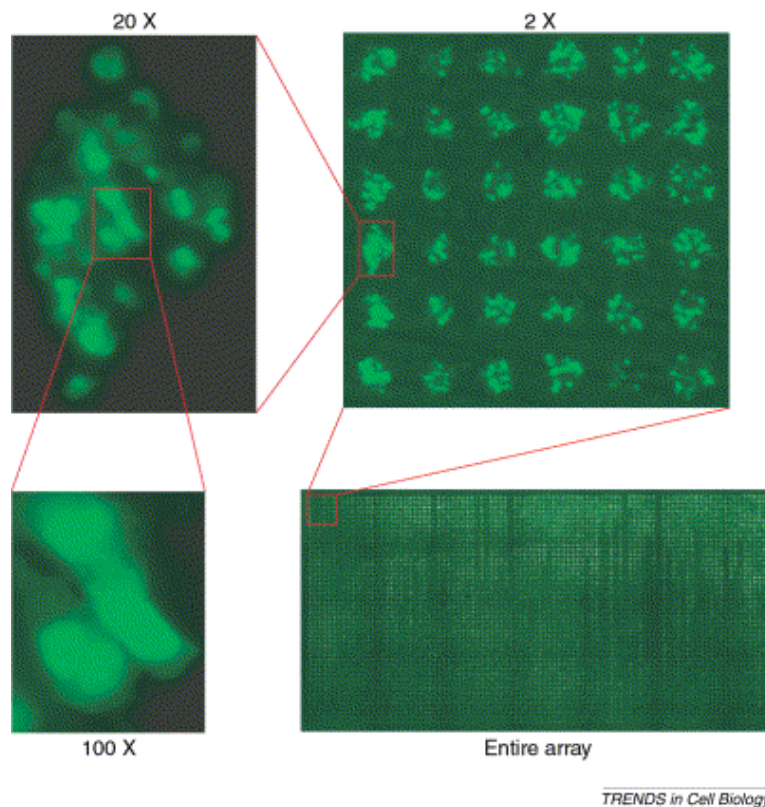


그림 2 녹색 형광 단백을 생산한 약 5000 세포 뭉침의 확대 이미지

분석에 있어서 관심 있는 세포의 특성을 발현하는 cDNA를 실시간 확인하기 위해서는 살아 있는 세포 뭉침이 단백질 발현 또는 칼슘 플럭스와 같이 세포 현상처럼 시각적이어야 한다. 더불어 어레이는 고정되어야 하고 면역 형광 검사, 합성, 화학적 발광 또는 방사선 사진과 같이 세포와 그 것이 자라는 슬라이드와의 양립할 수 있는 기술에 의해 세포 뭉침은 고정 되고 확인 할 수 있어야 한다. 큰 범위의 적용에서는 수 천 개의 세포 뭉침의 확인이 필요한데 이것은 형광 스캐너(Fluorescent scanner)에 의해 전체 어레이 범위를 확인이 가능하다. 단백질 위치 측정과 같이 자동화된 마이크로 현미경으로 인하여 하위 세포적 표현형의 시각화가 가능해지고 높은 분해능력으로 각각의 세포 뭉침의 높은 결합요구를 만족시킨다. 이러한 높은 해상도의 이미지는 결합으로 전체 어레이의 자세한 이미지가 된다. 그림 2는 녹색 형광 단백질을 생산한 약 5000개의 세포 뭉침이 다양한 확대 비를 보여준다.

이러한 마이크로어레이 플랫폼은 몇 가지의 장점이 있다. 하나의 세포 마이크로어레이에 이웃한 세포는 전형적으로 400마이크로 미터 이하로 384 플레이트보다 약 200 배 이상으로 집적시킬 수 있다. 슬라이드에 배열함으로 인간 유전자 전체가 하나의 마

이크로티터 플레이트(Microtiter plate) 보다 작게 만들어 발현될 수도 있다. 소형화는 또 다른 하나의 특징으로 단지 작은 양의 단백질 세포 라인(Cell Line) 또는 생물학적 시료로 많은 유전자 어레이가 가능하고 크기로도 경제적이다. 더 나아가 세포 마이크로어레이는 다양한 면으로 잘 적용될 수 있는데, 그 것은 수백의 어레이가 하나의 작은 원료 플레이트로부터 대량생산이 가능하기 때문이다. 또한 인쇄된 cDNA는 수 개월 동안 안정적으로 어레이를 보관하고 또한 필요시 쉽게 세포 마이크로어레이로 변환할 수 있다. 마지막으로 수 천 개의 세포 뭉침으로 인해 반복적인 노동을 최소화할 수 있다.

참고 문헌

1. Cell-biological applications of transfected-cell microarrays, Randy Z. Wu, Steve N. Bailey and David M. Sabatini, *Trends in Cell Biology* **12** (2002), pp. 485-488,
2. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray., M. Schena *et al.*, *Science* **270** (1995), pp. 467470.
3. Microarrays of cells expressing defined cDNAs., J. Ziauddin and D.M. Sabatini, *Nature* **411** (2001), pp. 107110.
4. Rapid quantitative measurements of proteomes by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, R.D. Smith *et al.*, *Electrophoresis* **22** (2001), pp. 16521668.
5. Global analysis of protein activities using proteome chips, H. Zhu *et al.*, *Science* **293** (2001), pp. 21012105.