

DNA 합성 기술의 최근 연구 동향



연세대학교 방두희 교수

1. DNA 합성 기술의 최근 연구 동향 개요

최근 개발된 DNA 마이크로어레이 합성법 및 차세대 염기서열 분석법의 개발은 유전정보 분석과정의 가속화 및 분석 결과로부터 도출된 가정의 검증과정을 가속화 하였다. 이로 인하여 최근 자연계에 존재하는 다양한 세포에 대한 유전체 정보뿐만 아니라, 인간 유전체 분석을 통한 질병관련 변이 정보까지 빠르게 분석 및 추적되고 있다. 합성 생물학 분야에서는 이렇게 추적된 정보들을 가공하여 연구자들이 원하는 형질을 갖는 단백질 생성, 유전체 교정과 합성을 통한 대사경로 조작 등 다양한 연구들이 진행되어왔다. 최근 DNA 합성 분야 연구동향 리뷰를 통해 DNA를 이용한 정보 저장 연구, 에러가 없는 고순도 DNA 올리고의 합성을 위한 기반 기술의 개발 동향, 그리고 이들을 바탕으로 한 세포의 유전체 합성에 관한 연구 동향을 리뷰하고자 한다.

2. DNA를 이용한 정보저장 연구 현황

DNA는 gram당 petabyte(10^{15})의 정보를 저장할 수 있는 높은 집적도를 가졌으며, 백 만년 이상을 에너지 없이 정보저장 가능한 높은 내구성 등으로 인해 최근 안정적인 정보 저장매체로서 관심을 받기 시작하였다 (그림 2). 즉, DNA를 이용해서 정보를 저장하고, 이를 시퀀싱을 이용하여 해독하는데, 여기에서 저장되는 정보는 생명 정보에 한정되지 않고, 책, DVD 등 전자 저장 매체가 저장하는 정보를 포괄 할 수 있다. 하지만 높은 GC 빈도를 갖는 DNA서열이나 같은 서열이 반복되는 경우(repeat sequence, homopolymer) 합성이 어렵고, 추후 정보를 복제 혹은 해독 하는 과정에서 오류가 발생할 위험이 높다. 또한 DNA 합성, PCR을 통한 정보 증폭 혹은 복제, DNA의 분해 등과 같은 과정에서 각 DNA분자들 사이에 상대적 빈도차이가 발생할 수 있다. 이를 통해 특정 정보를 갖는 DNA서열의 빈도가 적어질 경우 해당 정보를 회수하지 못하는 상황이 생길 가능성이 존재한다.

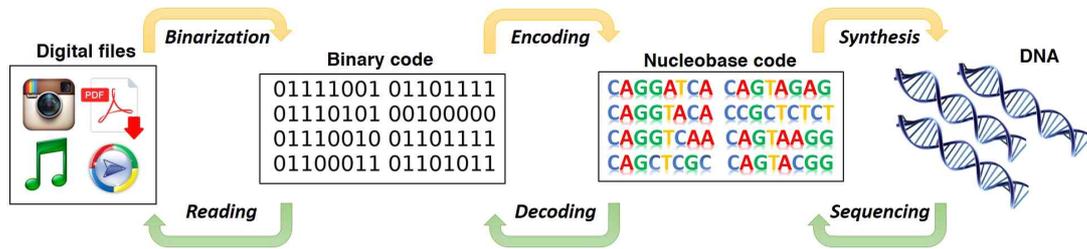


그림 2. DNA를 이용한 정보저장 및 정보 해독 모식도

최초로 보고된 DNA 정보전환 방법은 정보 저장의 물리적 밀도 측면에서 보면, 1g의 DNA를 이용해서 1.28 petabyte를 coding할 수 있었고, 2017년 3월, 가장 최근에 보고된 DNA 정보 전환 방법의 경우 1g의 DNA를 이용하여 214 petabyte의 정보를 저장할 수 있는 방법이 개발되었다[1~6] (표 1). 또한 여러 연구진에서 data의 손실이 발생하지 않도록, 정보를 반복적으로 coding하거나, RS (Read- solomon) 코드를 이용하여 손실된 정보를 복구할 수 있도록 하는 등의 방법들이 개발되었고, 이들을 이용한 DNA 저장의 안정성은 매우 높아지고 있다. 높은 DNA 합성비용(\$ 3500/Mbyte)을 고려하면 아직 DNA를 정보저장 매체로 활용하긴 이르다고 판단되지만, 최근 개발된 고효율 서열 확인된 DNA 회수기술 및 합성기술이 DNA 메모리 상용화를 앞당길 것이라 기대한다.

	Church (2012) [1]	Goldman (2013) [2]	Grass (2015) [3]	Bornholt (2016) [4]	Blawat (2016) [5]	Erlich (2017) [6]
염기서열당정보량 (bits/nt)	1	1.58	1.78	1.58	1.6	1.98
결손에 대한 대처방안	X	반복	RS	반복	RS	Fountain
오류 수정 / 발견	X	O	O	X	O	O
정보 전체 회수 여부	X	X	O	X	O	O
물리적 정보 밀도 (Pbytes/g)	1.28	2.25	25	-	-	214

표 1. 지금까지 개발된 DNA memory 효율 평가

3. 초저가 오류 없는 DNA 합성 기술개발 현황

DNA 메모리 생성분야 뿐 아니라 유전자/유전체 합성, 유전체 엔지니어링 등 합성 생물학 전반에서 DNA가 원재료로 연구에 활용된다는 점에 있어, 서열 확인된 DNA 라이브러리의 고효율로 회수하는 기술, 즉 고효율 고순도 올리고 획득 기술의 중요성은 매우 높다고 할 수 있다. 고효율 고순도 올리고 획득 기술의 경우에는 크게 PCR 기반으로 원하는 DNA를 선택적으로 증폭하는 방법과 물리적으로 염기서열 분석이

진행된 기판에서 원하는 DNA를 회수하는 방법이 있다. 또한, 랜덤으로 합성된 올리고를 서열 분석하여 시퀀싱 기판을 하나의 DNA 마이크로 어레이화 하는 기술 또한 개발되었다.

3.1. NGS를 이용하여 서열 확인된 에러 없는 올리고들의 PCR 기반 회수 기술

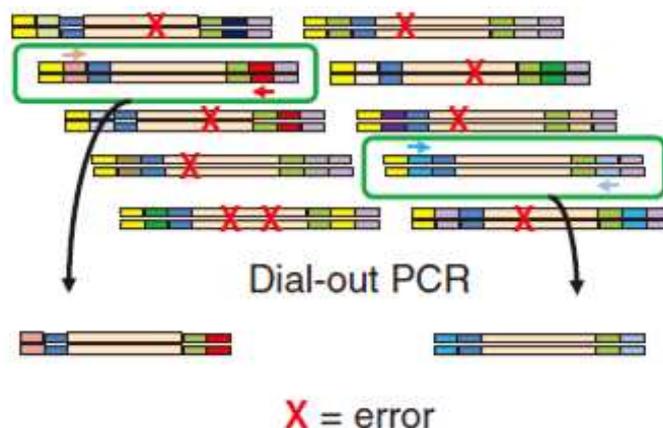


그림 3. PCR 기반 서열 확인된 올리고 회수 기술 모식도

PCR 기반 서열 확인된 올리고 회수 기술은 크게 3가지 과정을 거치게 된다. 첫 번째 과정은, 서열 확인 하고자하는 올리고 라이브러리의 양 말단에 random 서열로 이루어진 15~20nt길이의 barcode 서열을 위치시킨 뒤 차세대 시퀀싱을 서열 확인하는 과정이다. 두 번째 과정은 차세대 시퀀싱 결과에서 원하는 올리고의 양쪽 말단에 위치하는 barcode서열을 분석하는 과정이다. 이때 원하는 서열의 양쪽 말단에 위치한 barcode서열의 조합이 차세대 시퀀싱 결과에서 유일해야만 이 올리고를 선택적으로 회수할 수 있다. 마지막 과정은 분석된 barcode 서열을 PCR primer로 이용하여 원하는 서열을 선택적으로 회수하는 과정을 거친다 (그림 3). 이러한 내용은 2012년 Jay Shendure 그룹[7] 과 본 연구진[8]에서 발표한바 있다. 이 기술의 강점은 동일한 과정을 통해 현재 제공되고 있는 다양한 차세대 시퀀싱 기술에서 동일하게 활용할 수 있다는 점이다. 다만 회수하고자 하는 조각 DNA의 수가 증가할수록 회수하는데 필요한 barcode서열 또한 증가하는 단점과, 조각 DNA하나당 하나의 증폭 반응으로만 회수해야하는 특성상 올리고 회수과정이 노동 집약적이라는 한계가 존재한다.

3.2. 차세대 시퀀싱 기판에서 물리적으로 회수

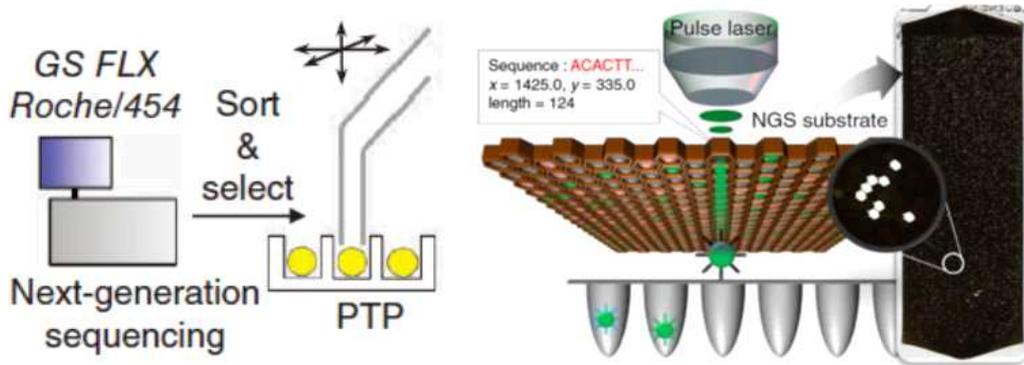


그림 4. 파이펫(좌) 및 레이저 광학 역학(우) 기반 서열 확인된 DNA회수 모식도

2010년 George Church 그룹[9] 및 2015년 권성훈 교수 연구진[10]은 Roche사의 454 차세대 시퀀싱 플랫폼에서 원하는 서열을 갖는 DNA를 물리적으로 회수할 수 있는 기술을 개발하였다. 454 차세대 시퀀싱 기술은 하나의 비드(bead)에 하나의 DNA서열을 위치시킨 뒤, 각각의 비드를 시퀀싱 기판에 존재하는 각각의 공간(well)에서 염기서열을 분석하게 된다. 이 두 그룹은 염기서열 확인과정이 진행된 시퀀싱 기판에서 미세한 파이펫을 이용해서 물리적으로 이동시키거나 laser를 이용한 광학 역학적(optomechanical) 방법을 이용해서 비드를 회수할 수 있는 방법을 개발하였다(그림 4).

이러한 방법은 한번 장비가 설치되면 간단한 조작을 통해 자동으로 사용자가 원하는 DNA서열들을 자유롭게 회수하는 것이 가능하다. 예를 들어 다양한 DNA서열을 하나씩 따로 회수하거나, 하나의 공간에 모두 회수하는 것 모두 가능하다. 다만 이러한 장비를 구축하는데 많은 비용이 소모되고, 454 차세대 시퀀싱 플랫폼에서만 작동한다는 단점이 존재한다.

3.3. random 올리고를 이용한 차세대 DNA 마이크로 어레이 합성 기술

지금까지의 DNA 합성 방식은 원하는 서열을 합성한 뒤 염기서열을 확인해서 정확하게 합성된 분자를 선별하는 방식이었다. 하지만 최근 수백만 가지 oligo의 scale에 정제되어있는 DNA 마이크로 어레이 합성기술과는 달리, 차세대 시퀀싱 기술을 수억 가지 이상의 DNA서열을 한 번의 차세대 시퀀싱 과정을 통해 분석이 가능하다. 본 연구진은 이러한 현상에 착안하여 random 서열을 갖는 올리고를 차세대 시퀀싱 진행할 경우, 현재 구현된 DNA 마이크로어레이 합성법 보다 더 높은 집적도를 갖는 DNA 마이크로어레이를 합성 가능할 것으로 가정하였다[11] (그림 5). 이 기술의 경우 아직 다양한 차세대 시퀀싱 플랫폼에서 효율적으로 서열 확인된 올리고를 회수 가능

한 기술이 존재하지 않아 효과적으로 활용할 수 없지만, 시퀀싱 플랫폼이 생성할 수 있는 data의 양에 맞춰서 랜덤 서열의 길이를 조절하는 단순한 방식을 통해 DNA 마이크로어레이에서 생성되는 library의 size를 조절하는 것이 가능하다는 장점이 존재한다. 역시 시퀀싱 기판 (flow-cell)로부터 직접적으로 서열확인된 올리고를 물리적으로 회수하는 기술이 요소 기술이 될 것이다.

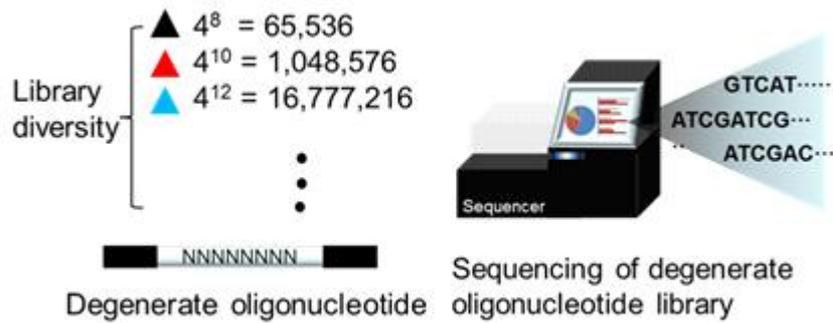


그림 5. random 올리고와 차세대 시퀀싱을 이용한 DNA마이크로어레이 합성 기술 모식도

4. 유전체 합성분야의 근황

하나의 염기서열만 변화하더라도 발현하고자하는 단백질의 성질, 심지어는 세포 생존에 치명적일 수 있기 때문에 오류 없이 합성된 올리고의 효율적인 확보는 유전자/유전체 합성을 진행하는데 있어 가장 중요한 요소 중 하나이다. 2010년에 인공유전체를 합성하여 생존시키는데 성공한 J. Craig Venter Institute를 필두로 다양한 연구진이 유전체 합성을 현재 추진 중에 있고, 2016년 6월에는 인간 유전체 합성을 기획하기 위한 비공개 모임이 진행된바 있다.

4.1. 최소 인공 유전체 합성

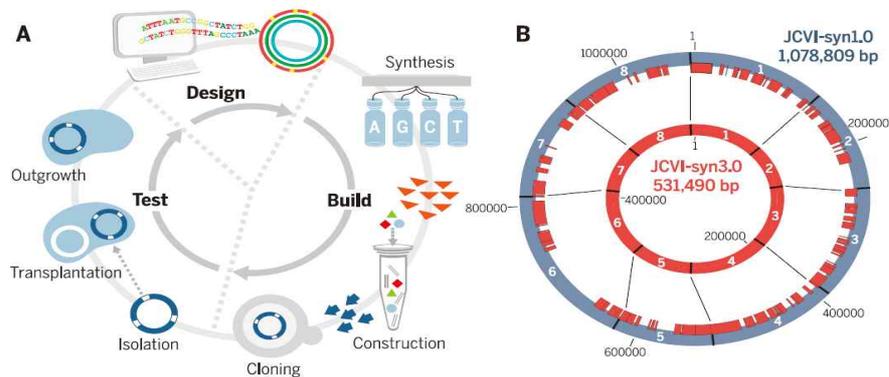


그림 6. JCVI-syn3.0 합성 과정 모식도

2016년 3월, J. Craig Venter Institute에서는 단 473개 유전자만으로 생존할 수 있는 첫 번째 인공 균주를 생성하였고, 이를 JCVI-syn3.0이라 명명하였다[12] (그림 6,7). 이 연구진은 그들이 2010년에 합성 및 발표한 *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 인공 균주 서열을 기준으로 생명활동에 필수적인 유전자만을 갖는 균주 서열을 디자인 한 뒤 화학적으로 합성된 조각올리고로부터 순차적인 assemble 과정을 통해 유전체 서열을 합성하였다.

이러한 인공균주 생성과정은 현재 학계에 보고된 세포 생존에 필수적인 유전자들의 정보가 충분하지 않았기 때문에 여러 번의 시행착오를 거쳐서 진행되었다. 이 연구진은 우선 유전체에 transposon을 이용한 필수 유전자 선별과정을 진행하였다. 하지만 이 과정을 통해서는 세포 생존에 필수적인 기능을 담당하는 유전자의 수가 2개 이상일 경우에는 각각의 유전자가 필수적이지 않다는 결론이 도출 될 가능성이 존재하였다. 그래서 이들은 최소 유전체를 갖는 유전체 서열을 여러 조각으로 나누어서 합성한 뒤 JCVI-syn1.0 인공 균주에 일부 도입하고, 거기서 생존한 균주에 다시 transposon을 이용한 필수 유전자 선별과정을 거치는 cycle을 거쳐서 최소 유전체를 갖는 인공 균주를 생성할 수 있었다. 이들은 생성된 균주가 갖는 유전자들의 기능을 분석하였는데 그중 약 17%에 해당하는 유전자들의 기능을 확인할 수 없었다. 이 결과는 아직까지 밝혀지지 않은 세포 생존에 필수적인 기능이 존재할 수 있다는 가능성을 시사한다.

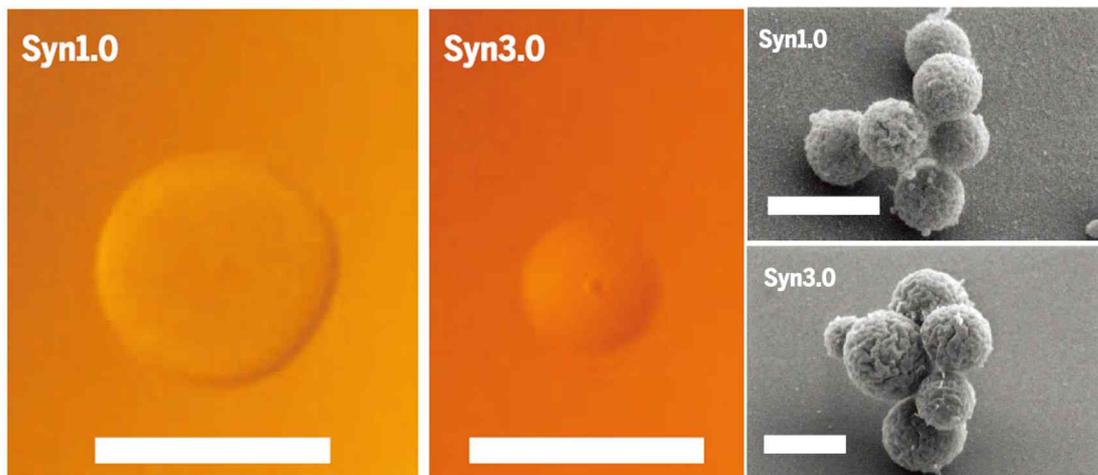


그림 7. JCVI 인공 균주

4.2. Sc2.0 : 인공 효모 유전체 합성 프로젝트

2017년 3월, Jef Boeke 교수를 중심으로하는 Sc2.0 컨소시움에서 Science지에 7 개의 논문을 동시에 출판하면서 완성된 형태의 인공 효모 유전체 서열인 Sc2.0을 공개하였고, 현재까지의 효모 유전체 합성 과정을 공개하였다[13~19]. 이들은 전 세계

다양한 연구그룹들의 공동연구를 통해 지금까지 6.5개의 효모 염색체를 합성하는데 성공하였다. 또한, 현재 2.5개의 인공 효모 염색체가 도입된 균주를 생성하였다(그림 8).

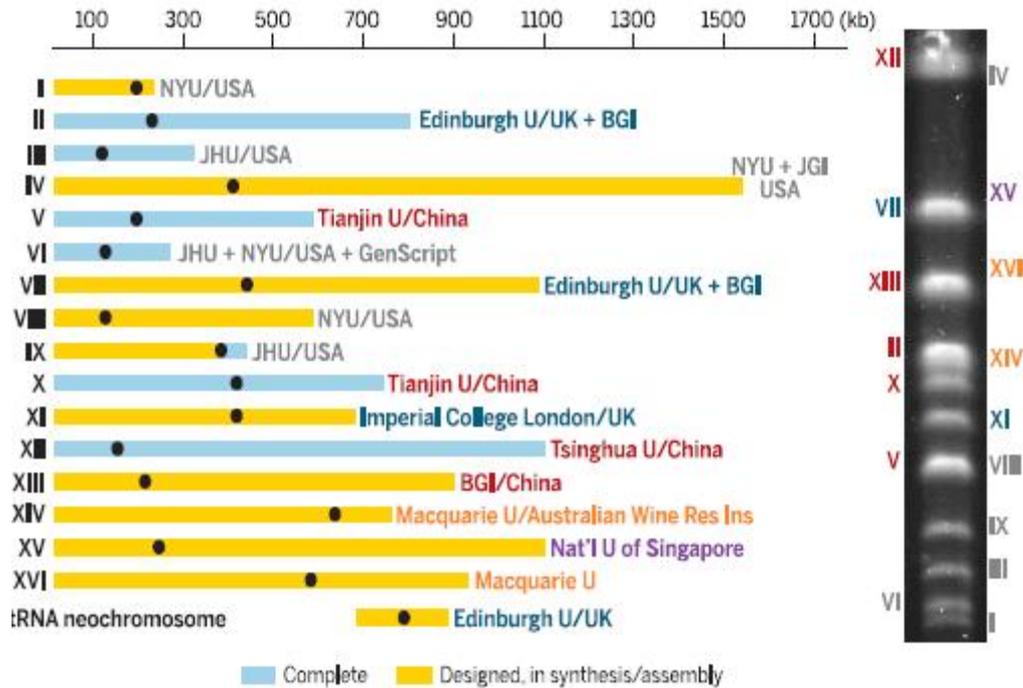


그림 8. Sc2.0 합성 현황

이들은 Sc2.0서열을 디자인 하면서 그들의 목적에 맞게 유전체 서열을 일부 수정하였다. 우선 유전체 내부에서 사용되는 빈도가 적었던 TAG 종결 codon을 TAA 종결 codon으로 수정하였다. 또한 intron서열이나 반복서열들을 제거하였고, transfer RNA(tRNA) 유전자들은 이들이 인공적으로 새로 만들어준 유전체(neo-염색체)로 재배치되었다. 이 과정으로 인해 Sc2.0서열의 크기는 야생의 효모 유전체에 비해 8% 줄어든 크기를 갖는다.

한 염색체를 한 번의 반응을 통해 인공적으로 합성된 유전체로 교체 하는 과정은 아직까지 성공확률이 적기 때문에, 이들은 순차적으로 염색체를 치환하는 방식을 통해 인공 염색체를 생성하였다(그림 9). 이 과정에서 이 연구진은 일부 인공 유전체 서열을 갖는 세포가 생존하지 못하거나, 야생의 효모 세포에 비해 눈에 띄는 다른 형질이 발견될 경우 해당 서열을 원래 서열로 되돌려 주는 방식으로 시행착오를 겪어가면서 염색체를 합성해나갔다. 현재 그들이 개발한 유전체 합성 단가는 약 US \$ 0.10/bp으로, 디자인 소프트웨어 및 올리고 합성 기술의 발전에 따라 그 비용은 더

줄어들 것으로 보인다.

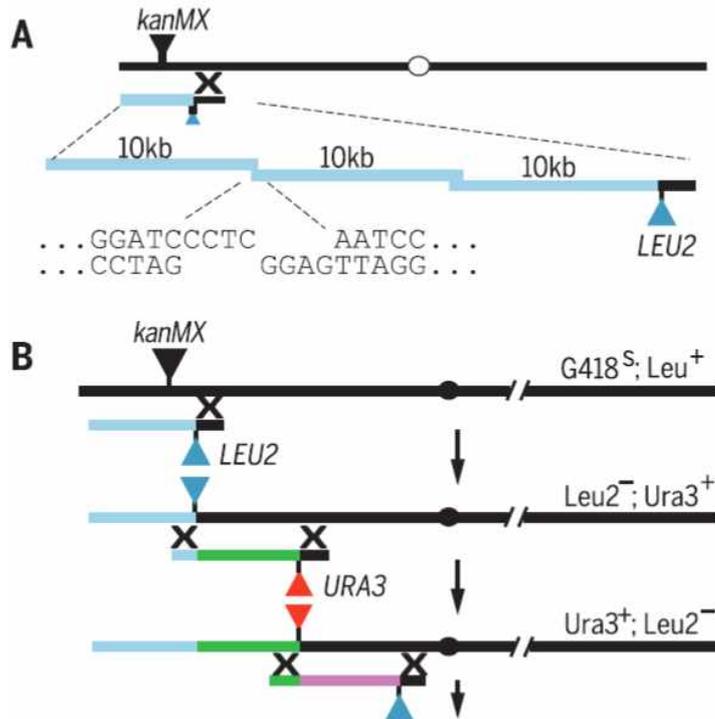


그림 9. 인공 효모 염색체 합성 모식도

4.3. Human Genome Write 프로젝트

2016년 6월, 보스턴의 하버드 의과 대학에서 저명한 합성생물학 연구진들이 인간 유전체 서열을 합성하기 위한 Human Genome Project-Write (HGP-write)를 논의하기 위해 모임을 가졌다[20]. 인간의 유전체 서열을 합성한다는 발상은 윤리적, 법적, 사회적으로 광범위한 영향을 미칠 수 있기 때문에 아직 구체적인 내용이 공개되지 않았지만 이들은 HGP-write를 진행하면서 얻는 기술 및 실험정보를 바탕으로 DNA의 대량 제작 및 세포에서의 활성 테스트 비용을 감축하는 것을 목표로 하고 있다. 지금까지 알려진 정보를 바탕으로 다양한 인공 유전체를 합성한 뒤 세포 활성을 확인하는 과정(learning by building)을 통해 유전체에 대한 현재 우리의 이해도를 확인할 수 있고, 지금까지의 방법으로는 알아낼 수 없었던 수많은 새로운 정보들을 획득할 수 있다.



그림 10. 당시 하버드 의과 대학 HGP-write 모임 관련 기사

이러한 프로젝트를 통해 인공 유전체를 생성하는데 성공할 경우, 기존보다 저렴한 배지에서 생존 가능한 인간 세포 혹은 바이러스 감염에 내성을 갖는 인간세포를 제작하는 것이 가능하다. 이러한 균주는 다양한 생물학적 연구 및 제약생산 등에 널리 활용하는 것이 가능하다. 하지만 일각에서는 큰 유전자 서열을 만들기 위한 도구를 개발하는 것은 중요하지만, 새로운 인간형 유전체를 만드는 것은 윤리적 도덕적으로 문제가 될 수 있다는 입장도 존재한다.

참고문헌

1. Church GM, Gao Y, Kosuri S. Next-generation digital information storage in DNA. *Science*. 2012 Sep 28;337(6102):1628.
2. Goldman N, Bertone P, Chen S, Dessimoz C, LeProust EM, Sipos B, Birney E. Towards practical, high-capacity, low-maintenance information storage in synthesized DNA. *Nature*. 2013 Feb 7;494(7435):77-80.
3. Grass RN, Heckel R, Puddu M, Paunescu D, Stark WJ. Robust chemical preservation of digital information on DNA in silica with error-correcting codes. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2015 Feb 16;54(8):2552-5.
4. J. Bornholt et al., in Proceedings of the Twenty-First International Conference on Architectural Support for Programming Languages and Operating Systems (Association for Computing Machinery, 2016), pp. 637-649.
5. Meinolf Blawat, Klaus Gaedkea, Ingo Hütter, Xiao-Ming Chena, Brian Turczyk, Samuel Inversob, Benjamin W. Pruitt, George M. Church. Forward Error Correction for DNA Data Storage. *Procedia Comput. Sci*. 80, 1011-1022.

6. Erlich Y, Zielinski D. DNA Fountain enables a robust and efficient storage architecture. *Science*. 2017 Mar 3;355(6328):950-954.
7. Schwartz JJ, Lee C, Shendure J. Accurate gene synthesis with tag-directed retrieval of sequence-verified DNA molecules. *Nat Methods*. 2012 Sep;9(9):913-5
8. Kim H, Han H, Ahn J, Lee J, Cho N, Jang H, Kim H, Kwon S, Bang D. 'Shotgun DNA synthesis' for the high-throughput construction of large DNA molecules. *Nucleic Acids Res*. 2012 Oct;40(18):e140.
9. Matzas M, Stähler PF, Kefer N, Siebelt N, Boisguérin V, Leonard JT, Keller A, Stähler CF, Häberle P, Gharizadeh B, Babrzadeh F, Church GM. High-fidelity gene synthesis by retrieval of sequence-verified DNA identified using high-throughput pyrosequencing. *Nat Biotechnol*. 2010 Dec;28(12):1291-4.
10. Lee H, Kim H, Kim S, Ryu T, Kim H, Bang D, Kwon S. A high-throughput optomechanical retrieval method for sequence-verified clonal DNA from the NGS platform. *Nat Commun*. 2015 Feb 2;6:6073.
11. Hwang B, Bang D. Toward a new paradigm of DNA writing using a massively parallel sequencing platform and degenerate oligonucleotide. *Sci Rep*. 2016 Nov 23;6:37176.
12. Clyde A, Hutchison III, Ray-Yuan Chuang, Vladimir N. Noskov, Nancy Assad-Garcia, Thomas J. Deerinck, Mark H. Ellisman, John Gill, Krishna Kannan, Bogumil J. Karas, Li Ma, James F. Pelletier, Zhi-Qing Qi, R. Alexander Richter, Elizabeth A. Strychalski, Lijie Sun, Yo Suzuki, Billyana Tsvetanova, KimS.Wise, Hamilton O. Smith, John I. Glass, Chuck Merryman, Daniel G. Gibson, J. Craig Venter. Design and synthesis of a minimal bacterial genome. *Science*. 2016 Mar 25;351(6280).
13. Mercy G, Mozziconacci J, Scolari VF, Yang K, Zhao G, Thierry A, Luo Y, Mitchell LA, Shen M, Shen Y, Walker R, Zhang W, Wu Y, Xie ZX, Luo Z, Cai Y, Dai J, Yang H, Yuan YJ, Boeke JD, Bader JS, Muller H, Koszul R. 3D organization of synthetic and scrambled chromosomes. *Science*. 2017 Mar 10;355(6329).
14. Xie ZX, Li BZ, Mitchell LA, Wu Y, Qi X, Jin Z, Jia B, Wang X, Zeng BX, Liu HM, Wu XL, Feng Q, Zhang WZ, Liu W, Ding MZ, Li X, Zhao GR, Qiao JJ, Cheng JS, Zhao M, Kuang Z, Wang X, Martin JA, Stracquadanio

- G, Yang K, Bai X, Zhao J, Hu ML, Lin QH, Zhang WQ, Shen MH, Chen S, Su W, Wang EX, Guo R, Zhai F, Guo XJ, Du HX, Zhu JQ, Song TQ, Dai JJ, Li FF, Jiang GZ, Han SL, Liu SY, Yu ZC, Yang XN, Chen K, Hu C, Li DS, Jia N, Liu Y, Wang LT, Wang S, Wei XT, Fu MQ, Qu LM, Xin SY, Liu T, Tian KR, Li XN, Zhang JH, Song LX, Liu JG, Lv JF, Xu H, Tao R, Wang Y, Zhang TT, Deng YX, Wang YR, Li T, Ye GX, Xu XR, Xia ZB, Zhang W, Yang SL, Liu YL, Ding WQ, Liu ZN, Zhu JQ, Liu NZ, Walker R, Luo Y, Wang Y, Shen Y, Yang H, Cai Y, Ma PS, Zhang CT, Bader JS, Boeke JD, Yuan YJ. "Perfect" designer chromosome V and behavior of a ring derivative. *Science*. 2017 Mar 10;355(6329).
15. Wu Y, Li BZ, Zhao M, Mitchell LA, Xie ZX, Lin QH, Wang X, Xiao WH, Wang Y, Zhou X, Liu H, Li X, Ding MZ, Liu D, Zhang L, Liu BL, Wu XL, Li FF, Dong XT, Jia B, Zhang WZ, Jiang GZ, Liu Y, Bai X, Song TQ, Chen Y, Zhou SJ, Zhu RY, Gao F, Kuang Z, Wang X, Shen M, Yang K, Stracquadanio G, Richardson SM, Lin Y, Wang L, Walker R, Luo Y, Ma PS, Yang H, Cai Y, Dai J, Bader JS, Boeke JD, Yuan YJ. Bug mapping and fitness testing of chemically synthesized chromosome X. *Science*. 2017 Mar 10;355(6329).
16. Shen Y, Wang Y, Chen T, Gao F, Gong J, Abramczyk D, Walker R, Zhao H, Chen S, Liu W, Luo Y, Müller CA, Paul-Dubois-Taine A, Alver B, Stracquadanio G, Mitchell LA, Luo Z, Fan Y, Zhou B, Wen B, Tan F, Wang Y, Zi J, Xie Z, Li B, Yang K, Richardson SM, Jiang H, French CE, Nieduszynski CA, Koszul R, Marston AL, Yuan Y, Wang J, Bader JS, Dai J, Boeke JD, Xu X, Cai Y, Yang H. Deep functional analysis of synII, a 770-kilobase synthetic yeast chromosome. *Science*. 2017 Mar 10;355(6329).
17. Mitchell LA, Wang A, Stracquadanio G, Kuang Z, Wang X, Yang K, Richardson S, Martin JA, Zhao Y, Walker R, Luo Y, Dai H, Dong K, Tang Z, Yang Y, Cai Y, Heguy A, Ueberheide B, Fenyö D, Dai J, Bader JS, Boeke JD. Synthesis, debugging, and effects of synthetic chromosome consolidation: synVI and beyond. *Science*. 2017 Mar 10;355(6329).
18. Zhang W, Zhao G, Luo Z, Lin Y, Wang L, Guo Y, Wang A, Jiang S, Jiang Q, Gong J, Wang Y, Hou S, Huang J, Li T, Qin Y, Dong J, Qin Q, Zhang J, Zou X, He X, Zhao L, Xiao Y, Xu M, Cheng E, Huang N, Zhou T, Shen Y, Walker R, Luo Y, Kuang Z, Mitchell LA, Yang K, Richardson

- SM, Wu Y, Li BZ, Yuan YJ, Yang H, Lin J, Chen GQ, Wu Q, Bader JS, Cai Y, Boeke JD, Dai J. Engineering the ribosomal DNA in a megabase synthetic chromosome. *Science*. 2017 Mar 10:355(6329).
19. Richardson SM, Mitchell LA, Stracquadanio G, Yang K, Dymond JS, DiCarlo JE, Lee D, Huang CL, Chandrasegaran S, Cai Y, Boeke JD, Bader JS. Design of a synthetic yeast genome. *Science*. 2017 Mar 10:355(6329):1040-1044.
20. Boeke JD, Church G, Hessel A, Kelley NJ, Arkin A, Cai Y, Carlson R, Chakravarti A, Cornish VW, Holt L, Isaacs FJ, Kuiken T, Lajoie M, Lessor T, Lunshof J, Maurano MT, Mitchell LA, Rine J, Rosser S, Sanjana NE, Silver PA, Valle D, Wang H, Way JC, Yang L. GENOME ENGINEERING. The Genome Project-Write. *Science*. 2016 Jul 8:353(6295):126-7