

Biochip 최신 연구동향 및 응용

Peter Fitzgerald, John Lamont, Ivan Mcconnell
Randox Laboratories Ltd.(www.randox.com)

서론

생물 의학 영역에서 발전을 거듭하고 있는 microchip 산업 기술에 발맞춰 빠르고 저렴하면서도 정확한 진단을 할 수 있는 Biochip 개발에 대한 요구가 본격적으로 이루어지고 있다. 이러한 혁신적인 진단 시스템은 공학, 생화학, 물리학 및 다른 원리와 전문적으로 결합하여 짧은 시간 내에 다양한 범위에 걸쳐 많은 정보를 제공할 수 있다.

예를 들면 혈액에서 각기 다른 단백질의 검출이 가능하여 한 환자가 심장병을 앓고 있다는 정보를 제공해 주기도 하고, 또한 소변 시료에서 법적으로 금지된 약물을 검출하는데도 효용가치가 있다. Biochip 연구자들은 다양한 테스트 패널을 고안하고 있으며 이것 또한 자동화된 혈액 시료보다 넓은 범위의 진단에 적용시키기 위하여 검출방법을 개선시키고 있다. 이러한 실험 패널은 혈액내의 단백질을 구별하여 특정 상태를 나타낼 수 있게 한다. 최근 심장 질환 marker, 종양 marker 이외에도 다양한 호르몬을 검출할 수 있는 패널들이 개발되고 있다.

기술동향

진단기술은 혈액 시료 내에서 특정 질병을 나타내는 성분을 측정할 수 있는 기술이다. 이러한 테스트의 대부분은 면역분석 기술이 사용되며 환자의 혈액에서 특이 분석물질(단백질)을 포착하는 항체와 같은 생물학적 성분들에 의존하여 분석이 이루어진다. 항체와 분석물질은 화학적 복합체를 형성하고, 이 복합체를 검출시스템을 통하여 확인하고 측정한다. 오늘날의 면역분석 각각의 반응 well은 하나의 특정 분석물질에 대한 테스트를 포함한다. 즉, 한 가지 종류의 물질만을 붙여서 각각의 반응 영역이 한 가지 특정 성분의 분석물질을 실험할 수 있도록 했고 검출기는 한 번에 한 가지 반응 영역에 대해서만 감지할 수 있는 것이다.

최근 상업적으로 상용화된 란독스사의 제품은 이와 같은 면역분석 시스템을 자동화하여 높은 처리 결과를 제공하고 사용자에게 간편성을 제공한다. 기존 분석방법을 이용하여 여러 종류의 테스트를 하기 위해서는 각각의 분석 목적 성분에 따라 다른 테스트를 반복하여야 하며, 각각의 시료를 처리하는데 많은 시간이 소모되고 테스트 횟수가 증가함에 따라 많

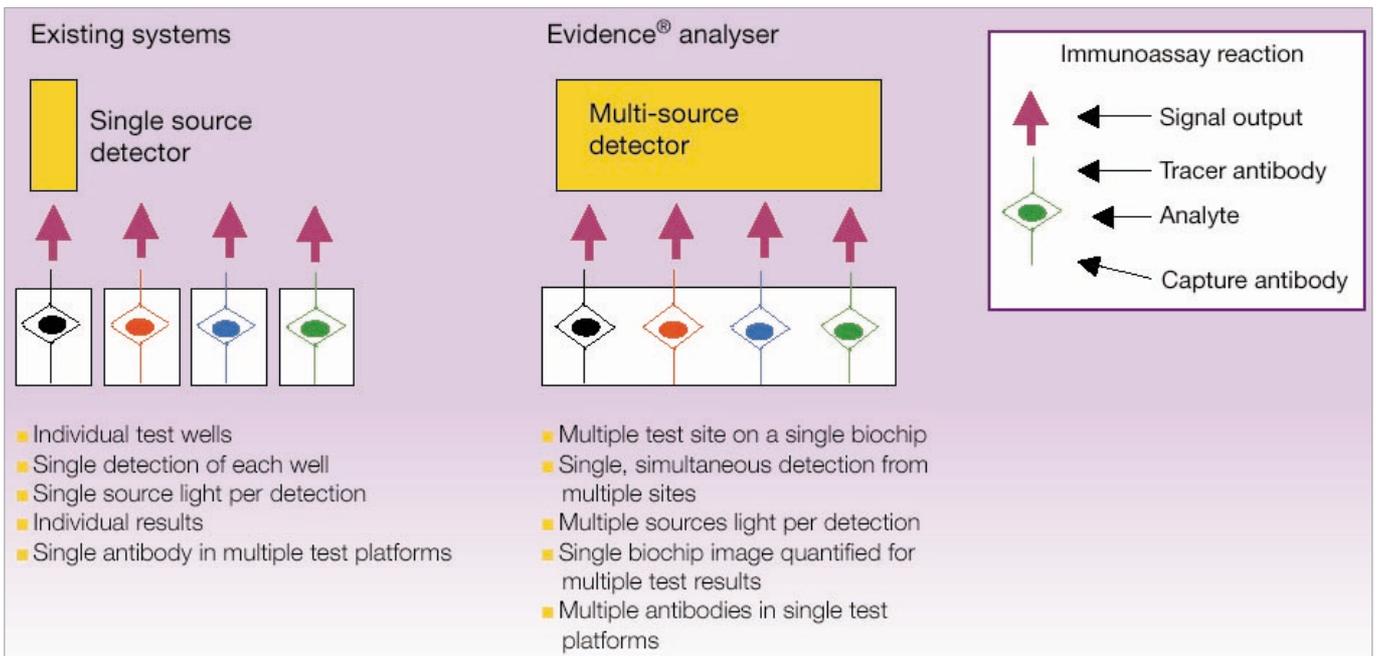


그림 1. 기존 면역분석 시스템과 새로운 분석방법 비교

은 환자 혈액이 요구된다. 자동화된 시스템은 하나의 Biochip에 다중의 항체를 고정화한 chip이다. 각각의 반응 사이트는 특이항체를 가지고 있으며 시료 안에 있는 특이 단백질을 검출할 수 있다. 환자 시료를 적용하면 자발적으로 결합이 일어나게 되며, 그 결과는 CCD 카메라(charge-coupled device)로 측정한다. 이 과정은 Biochip 표면에서 일어나는 다중의 결합물을 자발적으로 측정할 수 있게 하며 여러가지 테스트를 동시에 수행할 수 있게 한다.



그림 2. Biochip

Biochip 개발 및 생산

Biochip 표면은 화학적으로 비활성이었으나, 최근에는 biochip 표면을 규소화 반응을 통해 화학적으로 활성화시켜 표면이 소수성을 가져 연결물질이 부착될 수 있는 기관이 개발되었다. 연결물질은 ‘닻(anchor)’ 과 같은 기능을 하게 되며 항체나 항원 또는 핵산 등과 같은 포획물질에 부착하게 된다. 기본적으로 연결물질은 biochip 표면상에서 포획물질과의 공유결합을 유도한다. 이 반응은 아주 강력한 결합으로 테스트과정에서 수반되는 세척과정 동안에도 제거되지 않는다. 생물학적인 성질을 가지는 ligand를 고정화하는 작업은 정확성을 필요로 하고 biochip 표면의 정확한 위치에 고정되어야 한다. 하나의 biochip에 있는 테스트 영역의 수는 패널에 따라 다양하다.

Biochip 개발에서 마이크로유체 분주시스템의 자동화 또한 새로이 요구되어 지는 기술 중의 하나이다. 이는 자발적으로 지정된 위치에 10 nl씩 다양한 ligand들을 분주하는 기술을 의미한다. 그 후 chip 표면을 건조시키고 최적의 온도와 습도에서 chip의 보관 능력을 증대시키는 등 ligand를 안정화시키는 작업이 진행 되면, 생물학적인 기능을 할 수 있게 준비된 biochip이 생산되는 것이다. 세계 최초로 란독스에서 상용화된 단백질 칩 제조 시설이 가동되고 있으며 매년 이천 만개 이상의 biochip 생산이 이루어지고 있다.

Biochip이 실제적으로 유용성을 가지기 위해서는 혈액 시료 내의 특정 성분에 반응하는 biochip 상의 테스트 영역을 감지할 수 있어야 한다. 양성 결과는 화학적 반응으로 화학 발광되고 다양한 분석기기를 통하여 이를 정량적으로 측정하는 것이다. 란독스의 biochip array기술은 화학발광을 이용하며 감지되는 빛을 증폭시켜 고감도 검출이 가능하도록 고안한 것으로, chip 표면 각 영역에서 빛을 감지하고 이미지로 전환하여 정량한다.

Biochip 내의 여러가지 반응 부위에서 나오는 빛의 부분적인 차이를 동시에 검출하기 위하여 항공우주기술에 사용되는 기술을 응용하여 수초 내

에 여러 개의 발광을 정량 가능하도록 하였으며 CCD 카메라를 이용하여 chip 표면의 빛을 이미지로 잡아내기 위하여, 빛 영역이 chip 표면에 직접적으로 비교 가능한 격자 형식으로 array되게 설계하였다. 이것은 biochip 위의 특정한 위치에 대한 signal이 직접적인 지도 작성을 할 수 있게 하고 각각의 분리된 테스트 영역에 대한 signal 정량을 가능하게 한다. CCD에 대한 전하의 형태는 그 상황에서의 빛의 패턴에 따르며 픽셀 컬럼으로 변환되고 비트맵 형식의 이미지로 저장한다. 이렇게 한 세트의 픽셀로 이미지를 묶어 이미지의 특정 포인트에 대응시킨다. 각각의 픽셀은 밝기 정도에 따라 X와 Y의 조합으로 묶여진다. 이미지를 처리하는 소프트웨어는 데이터를 수학적으로 나누어 CCD 카메라로부터 출력을 극대화한다. 이 과정은 또한 이미지의 background를 제거시켜 신호 대 background 비율을 극대화한다.

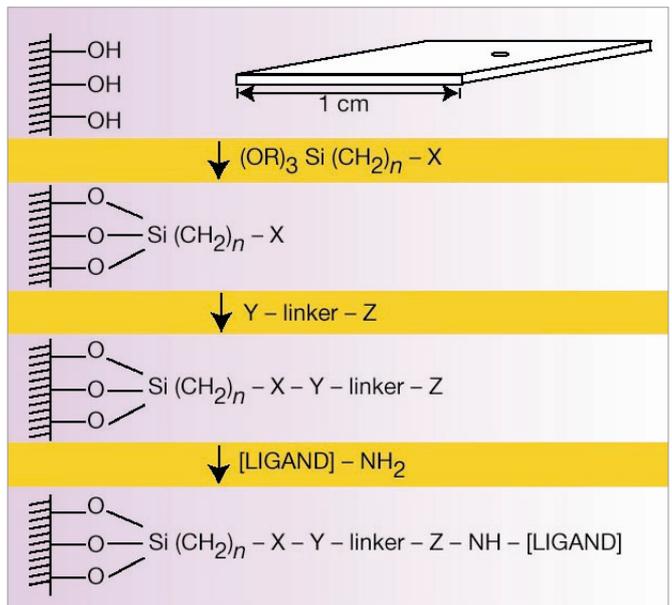


그림 3. 바이오칩 표면에서 규소화 반응을 통한 리간드의 결합

자동화(Automation)

임상 실험실에서 biochip을 응용하기 위해서는, 분석방법이 완전히 자동화되어 대용량 처리가 가능하고, 사용하기 편리해야 한다. 란독스사의 biochip 분석장비는 테스트할 패널을 선택하여 패널안에 각각의 테스트에 대한 보정을 한다. 그리하여 환자 시료에서 각각의 분석 목적 성분에 대해 정확한 정량을 가능하게 한다. Biochip은 3×3개의 캐리어에 보관되며 분석장비를 통한 분석이 가능하며, 시간당 최대 3,600 테스트까지 가능하다. 이 biochip 시스템은 다른 진단용 분석기와 달리 실험자의 요구에 따라 변형이 가능하다. 또한 biochip 시스템은 초기에 선택되지 않은 결과 보고까지 가능하다. 임상 검사자들은 잠정적인 결과를 검토한 후 특정한 안전에 대해 정확성을 위하여 다른 분석을 하기도 한다. 이러한 경우 환자에게 2번째 채혈로 다른 테스트를 거쳐야하는데 이때 초기 분석때와 다른 수치가 나올 수 있다. 이와 같은 실험상의 오차를 줄이기 위하여 biochip 분석장비는 테스트가 요청되던 요청되지 않던 관계없이 각각의 분리된 테스트 영역으로부터 빛의 출력을 스냅 샷으로 기록한다. 그 후에 분석이 의뢰되면 데이터를 자동적으로 불러내어 계산하고 결과를 보고하게 된다.

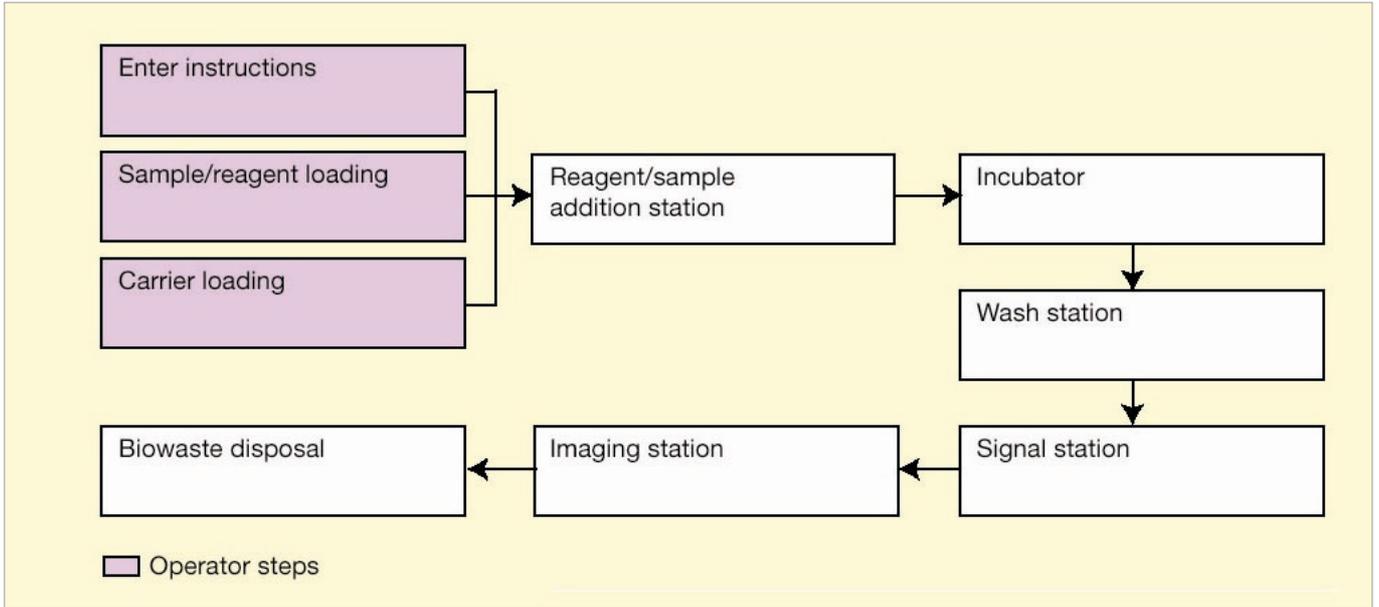


그림 4. Biochip 분석장비의 작동 단계

Biochip의 응용

Biochip은 다양한 진단분야에 응용이 가능한데, 그 중 하나로 초기 심장 질환 검사를 들 수 있다. 매년 백만 명의 환자들이 가슴부위의 고통을 호소하면서 병원에 입원한다. 이러한 환자들의 반 이상이 증후군을 앓고 있으며 그것은 심장 상태와 무관하며, 삼분의 일은 상대적으로 덜 심각한 문제를 가지는 반면 나머지는 급성 심근경색이나 심장마비로 진단되는 경우가 허다하다. 심장마비는 심장근육의 손상을 포함하며 적절한 생화학 marker를 통해 검출할 수 있다. 그러나 심근경색증을 가지는 환자의 3%가 이 사실을 간과하고 병원으로부터 책임을 떠넘기고 있고, 임상의들은 질환의 원인이 심장질환이 아님을 확인할 때까지 심장병 환자가 아닌 사람들까지 병원에 남아있게 하는 경우가 빈번히 발생한다. 이에 biochip은 많은 진단분야에 응용할 수 있고 다양한 유용성을 나타낼 것이다.

[다양한 약물 테스트]

한 조사에 의하면 연구자들은 가슴의 통증을 호소하는 25% 환자만이 정확한 진단이 되고, 나머지 75% 환자는 더 정확한 진단 절차를 거쳐 그들의 임상적인 상태를 확인해야 한다. 부가적인 생화학 marker를 조사하는 것은 더욱 정확한 환자 진단에 기여할 수 있고 또한 비용 절감의 효과를 볼 수 있다. 예를 들어 최근에 Wales의 연구를 보면 심장질환 진단을 위해 새로운 'troponin' 검사를 한 결과 6개월 동안 적어도 22,000파운드에 해당하는 비용을 절감할 수 있었다. 이는 정확한 병인을 밝히기 위한 병원체류 기간의 축소에 의한 것이다. 새로운 'troponin' 테스트는 심장에 특이적으로 혈액 내에서 troponin과 결합하는 여러 개의 단백질 수치를 측정하는 것으로 심장발작의 조기 진단을 위한 최적 표준물질이다. 그러나 troponin은 심장병을 포착할 수 있는 여러 개의 생물학적 marker 중의 하나일 뿐으로, 권위 있는 기관들은 심장병의 marker들을 조합하여 빠르고 정확하고 폭넓게 진단에 이용하고 있다. 란독스의 Biochip은 이러한 새로운 marker들을 array하여 진단 시에 특이성과 정확도를 높일 수 있게 하였고, 동시에 다중 약물 스크리닝과 9군의 약물 검사가 가능하다. 또한

유효기간이 짧은 약물이나 새로운 구성 성분을 가지는 약물들의 한계성 테스트도 응용 가능하다.

이와 같은 자동화된 시스템으로 몇 천개의 시료를 단시간에 스크리닝 가능하고, 많은 수의 테스트를 조합함으로써, 한 시료 내에 넓은 범위의 약물 대사를 감지할 수 있고 잘못된 양성반응을 감소시킬 수 있어, 검사 시에 들어가는 비용을 절감할 수 있다.

[종양 marker]

최근에 영국 정부는 병리 서비스의 현대화라는 기조를 내걸고 기술을 극도로 향상시켜 국립보건서비스센터의 기능을 향상시키려 하고 있다. Biochip 기술은 위장암, 난소암, 유방암 등과 같은 종양 모니터링 패널을 제공하고 전립선암을 찾아내는데 까지도 유연성을 제공한다. Biochip의 대용량 처리능력은 정부의 의도나 큰 위험성을 가지는 개인의 질병을 넓은 범위에서 검출할 수 있다는 필요성과 잘 부합한다. 더 나은 진단 정보를 위해 또한 정확한 진단을 통해 환자의 결과를 개선시킬 수 있으며, 비용의 절감 효과를 창출할 수 있다.

결론

영국의 의학위원회는 biochip에 기초한 진단을 증가시켜야 한다고 말하고 있으며 임상 초기에 테스트가 좀 더 자주 이루어져야 한다고 말하고 있다. 많은 연구자들은 biochip 기술을 이용한 진단방법이 적은 수의 테스트를 하는 현재의 진단방법과 상이하게 상당한 비용절감 효과를 가져올 수 있다는 사실을 밝혀내었다. 결과적으로 biochip을 이용한 진단방법은 현재 존재하고 있는 임상 실험실의 기기들에 비해 빠르고, 비용 절감의 효과를 주어 큰 효용성으로 다가갈 수 있는 대안 기술이 될 것으로 기대된다.

evidence investigator™

TaKaRa Code

EV3602

*biochip array technology
for research & clinical
applications*

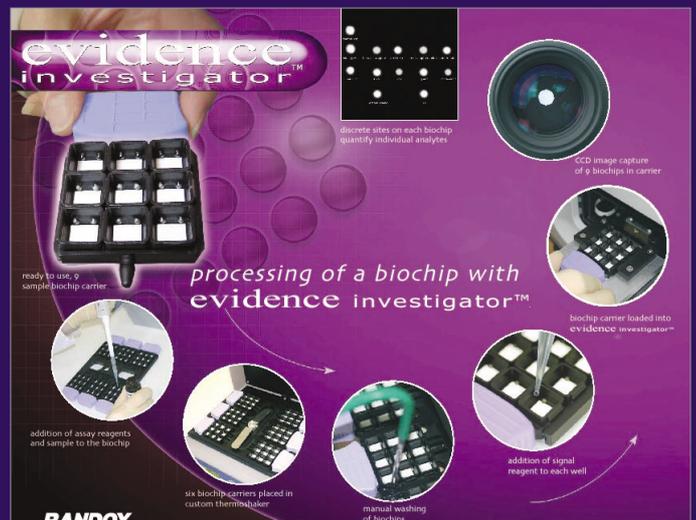


[Supplied Panels]

- Drugs of Abuse Array
- Tumour Monitoring Array
- Allergen specific IgE*
- Growth Promoter Drug Residue Array*
- Adhesion Molecule Array*
- Antibiotic Drug Residues Array*
- Anaemia Array*
- Tumour PSA Array
- Colorectal Cancer DNA Array*
- Customised biochips*
- Cardiac Array
- Cytokines & Growth Factors Array
- Fertility Array
- Total Thyroid Array
- Free Thyroid Array
- Cardiovascular Disease DNA Array*
- Future Developments

*under development

RANDOX



evidence investigator™ workflow