

바이오칩 분석 장비를 위한 광학 시스템 설계

배수진, 강 옥, 허 영
한국전기연구원

Optical system design for biochip analyzer

Soo-Jin Bae, Uk Kang, Young Huh
Korea Electrotechnology Research Institute

Abstract - Biochip-based diagnostic technology is an effective, time- and money- saving way of identifying Rifampin and Isoniazid resistant tuberculosis strains.

In this paper, we suggest the optical system which is designed with the simple structure and has an appropriate specification for biochip analyzer including a CCD camera system. It consists of two parts with the same structure but opposite direction. each part is made by one lens, achromatic doublet and meniscus. We changed the working distance of the optical system and observed its characteristics.

1. 서 론

결핵은 박테리아인 *Mycobacterium tuberculosis*에 의해서 주로 일어나는 질병으로, WHO나 미국 CDC의 보고에 따르면, 전세계 약 60억의 인구 중에 3분의 1 가량이 결핵균에 감염이 되어 있다고 한다. 전세계적으로 매년 800만 명의 결핵 환자가 새로 발생하고 있으며 그 중 200만 명이 사망에 이르고 있다. 결핵의 치료법으로 지금까지 보편적으로 사용된 것은 다약물 조합법(multi-drug regimen)이다. 1차 치료법으로 사용되는 약물로는 Rifampin, Isoniazid, Pyrazinamide 그리고 Ethambutol이며 2차 치료법으로 사용되는 약물은 Streptomycin, Capreomycin, Kanamycin, Ethionamide, Cycloserine 그리고 Para-aminosalicylic acid(PAS) 등이 있다⁽¹⁾.

국내의 결핵 환자의 수도 40만명 이상에 달하며 이중 약제 내성 결핵 환자는 10% 가까이 이른다. 이전까지 항생제에 대한 내성을 갖는 결핵균을 판별하는 방법은 객담의 결핵균 배양에 기초를 한 것으로 최소한 4~6 주 이상의 장시간이 걸리는 큰 단점을 갖는다.

반면, 바이오칩을 이용한 진단은 가장 널리 사용되고 있는 Rifampin과 Isoniazid에 대한 내성을 결정하는 유전자인 *rpoB*의 돌연변이 여부를 검출함으로써 종래의 약제 내성을 진단하는 방법보다 효율적이며, 단시간 내에 정확한 분자 생물학적 정보를 줄 수 있다. 이를 위한 진단용 바이오칩을 분석하는 분석 장치의 scanning 시스템으로 CCD camera system, non-confocal laser scanning system, confocal laser scanning system으로 크게 나뉘며, 현재는 confocal laser scanning system 방식이 많이 사용되고 있으나, 정밀 조절에 의한 laser scanning이 필요하며 측정 시간이 지연되며, 광의 수집 효율이 작다. 또한 각 셀의 동시 열역학 특성 및 분자의 안정성을 측정할 수 없다는 단점을 가지고 있다. 또한 non-confocal laser scanning system은 작동이 간단하나 background artifact가 높은 단점을 지닌다. CCD camera system은 장시간 촬영을 해도 흔들림이 없어 낮은 noise level을 제공하고 빠르고 간단한 관독과 높은 해상력을 보장하지만, 복잡한 렌즈 광학 시스템을 요구하며 낮은 numerical aperture를 제공한다.

본 연구에서는 CCD camera system을 채택한 바이오

칩 분석 장비가 Rifampin과 Isoniazid에 대한 약제 내성 진단을 위한 바이오칩의 판독에 충분한 numerical aperture를 제공하면서도, 적은 수의 렌즈들로 구성되며, 구조적으로 간단한 렌즈 광학 시스템 설계를 시도하였고, 조건을 달리 하여 설계된 광학 시스템의 특성을 살펴 보았다.

2. 본 론

2.1 바이오칩 분석 장비의 광학 시스템 설계 조건과 구조적 특성

약제 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출하기 위한 바이오칩을 분석할 수 있는 분석 장비는 다음과 같은 구조를 갖는다.

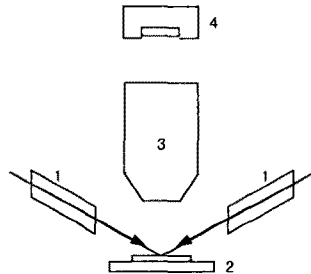


그림 1. 바이오칩 분석 장비 구조도

1: semiconductor laser, 2: biochip, 3: objective with optical filter, 4: cooled camera system

광학 시스템의 설계 조건은 object가 되는 바이오칩의 크기와 working distance, numerical aperture, 파장 등의 다양한 요소에 의존하게 된다^{(2)~(3)}.

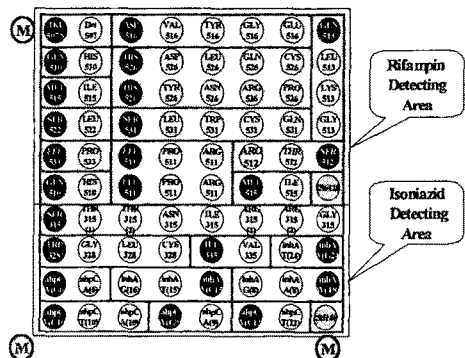


그림 2. Rifampin 과 Isoniazid에 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출하기 위한 바이오칩 구조

바이오칩에는 여러 종류가 있으나 본 논문에서는 결핵의 1차 치료법에 사용되는 Rifampin과 Isoniazid에 대해 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출을 목적으로 하며, 그 구조는 그림 2와 같다. 이는 가로로 8개의 gel cell과 세로로는 10개의 gel cell로 구성되며 위치를 참조하기 위해서 세 개의 표식자를 가지고 있다. 각 cell은 지름이 100 μ m이며 200 μ m의 공간을 가지고 위치한다⁽⁴⁾.

따라서, Rifampin과 Isoniazid에 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출하기 위한 바이오칩의 사이즈는 2.5mm \times 3.1mm로 지름이 약 4mm이다. 약간의 측정상의 여유를 두기 위해 바이오칩의 사이즈를 직경 5mm~6mm 정도로 가정하고 광학 시스템을 설계하였다.

본 논문에서 사용된 CCD camera를 가지는 바이오칩 분석 장치는 각각의 gel cell을 scanning하는 confocal laser scanning system을 갖는 바이오칩 분석 장치와는 달리, 사용되어지는 바이오칩 전체를 한번에 scanning하여야 하므로 무엇보다도 렌즈 설계에 있어서 각각의 aberration을 줄이는데 그 중점을 두어야 한다. 따라서 confocal laser scanning system에 비해 복잡한 렌즈 광학 시스템을 필요로 한다는 큰 단점을 지녔다.

그림 3은 이전의 광학 시스템으로 12개의 lens들과 filter로 구성되어 있다. 이 광학 시스템의 object 크기는 5mm, 0.5의 numerical aperture, working distance는 3mm를 갖으며 그 magnification은 $\times 1.6$ 로 설계되어져 있다. 총 길이는 72.17mm이며 object space 상에서 working distance는 3mm로 설계되어져 있다.

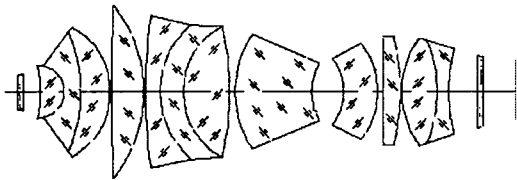


그림 3. 이전의 바이오칩 분석 장치의 광학 시스템

본 논문에서는 CCD camera system을 가지는 바이오칩 분석 장치들의 단점이 되어오던 복잡한 렌즈 광학 시스템을, 이전 시스템에 비해 더 적은 수의 렌즈와 간단한 구조를 가지면서도 aberration들을 효과적으로 제거하고 적당한 numerical aperture 제공할 수 있는 광학 시스템을 제안하고자 한다.

설계된 광학 시스템의 numerical aperture는 Rifampin과 Isoniazid에 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출하기에 충분한 값인 0.35으로 설정하였다. CCD camera 시스템의 format은 1/3"로 3.6mm \times 4.8mm의 크기이므로, objective에 의한 magnitude는 $\times 1$ 로 결정하였다.

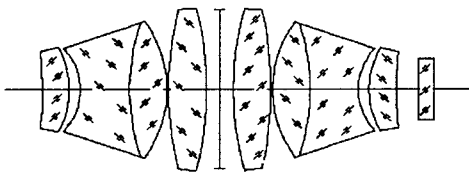


그림 4. 바이오칩 분석 장치의 광학 시스템

그림 4의 설계된 objective 광학 시스템은 반대 방향을 한 동일한 구조를 가지는 두 파트로 구성되어져 있으며, 구조적으로는 하나의 볼록 lens와 achromatic doublet, 그리고 meniscus로 간단하게 이루어져 있다. 광학 시스템에서 achromatic doublet과 하나의 볼록 lens를 통해 spherical aberration, curvature of field astigmatism을 줄일 수는 있지만 numerical aperture가 충분하지 못하게 된다. 따라서 본 논문에서는 meniscus lens를 광

학 시스템에 추가하여 설계함으로써, curvature of field and astigmatism를 더욱 더 효과적으로 제거할 수 있으며 numerical aperture도 0.35까지 증가된 광학 시스템을 이전 시스템보다 적은 개수의 렌즈와 간단한 구조만으로 설계하였다.

또한 서로 반대 방향을 가지는 동일하게 설계된 구조는 제거하기 힘든 coma와 distortion 등과 같은 aberration들을 이전 광학 시스템에 비해 구조적으로 쉽게 제거하도록 하는 장점을 지닌다.

2.2 바이오칩 분석 장비의 광학 시스템 특성 및 성능

광학 시스템은 광학 설계 구조와 object 크기, numerical aperture, working distance 등과 같은 조건에 의해 그 특성이 달라지게 된다. 본 연구에서는 앞에서 설명한 것과 같이 object 크기는 5~6mm, magnification은 CCD camera system format 1/3"에 맞춰 $\times 1$, numerical aperture은 0.35로 설정하고, 그림 4와 동일한 구조로 working distance 조건을 15mm, 12mm, 6mm 등으로 바꾸어 가며 설계한 후 그 특성을 살펴보았다.

luminescence 빛에 의한 object의 image는 그림 1의 바이오칩 분석 장비 구성도에서 기호 4에 해당하는 CCD array의 light-sensitive layer로 투영된다. 이 때 object를 지나는 빛이 CCD array의 light-sensitive layer에 투영되는 contour 정도로 image의 각 point에서의 종합적인 aberration 정도를 파악할 수 있으며, 이에 대한 simulation을 통해 광학 시스템의 특성 및 성능을 비교해 보았다.

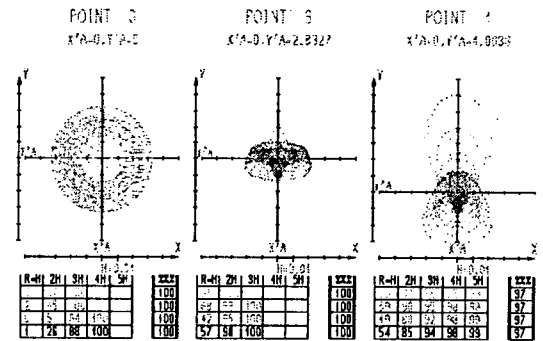
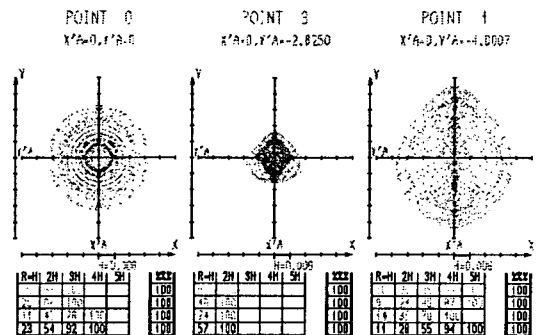
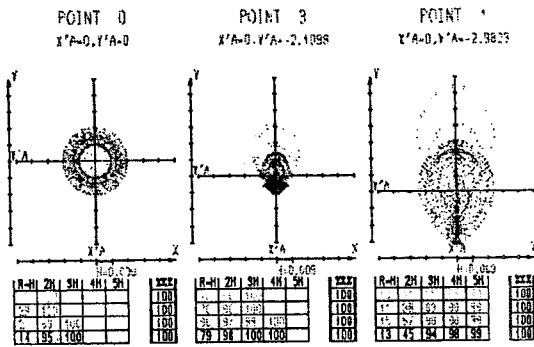


그림 5. 이전의 바이오칩 분석 장치 광학 시스템의 분포도

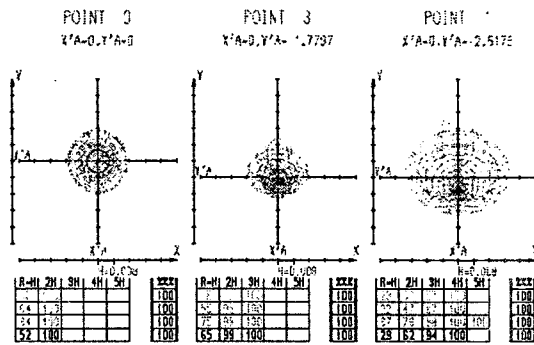
그림 5는 이전에 설계되었던 바이오칩 분석 장치의 광학 시스템의 각 image point에서의 contour의 분포도를 나타낸 것이다.



(a) working distance가 15mm일 경우



(b) working distance가 12.2mm일 경우



(c) working distance가 6mm일 경우

그림 6. 바이오칩 분석 장치의 광학 시스템

그림 6의 (a)와 (b)의 object 크기는 6mm, numerical aperture는 0.35로 설정하고 working distance를 15mm와 12.2mm로 정하였을 때의 광학 시스템의 특성을 나타낸 것이다. 각각의 광학 시스템 길이는 69.6mm와 72.6mm이다. 그림 6의 (c)는 object 크기를 5mm, numerical aperture는 0.35이고 working distance를 6mm로 설계했을 경우이다.

그림 5와 6에서 spot의 축 단위는 각각 0.01, 0.006, 0.009와 0.008이며, 분포도 아래의 table에서 각 spot의 크기를 알 수 있다. 이 spot들은 object를 지나는 빛이 CCD array의 light-sensitive layer에 투영되는 contour 정도로 image의 각 point에서의 종합적인 aberration의 분포도를 나타내기 때문에 그 크기가 작을수록 좋은 성능을 나타낸다고 할 수 있다.

이전 광학 시스템과 본 논문에서의 광학 시스템에서의 working distance를 비교해보면, 이전 구조에서는 objective 내부가 동일한 구조로 이루어지지 않았고, filter가 따로 설계되어 있다. 그러나 본 논문의 구조에서는 objective 내부가 두 개의 동일한 구조를 가지면서, 3mm의 두께를 갖는 filter가 working distance와 유사한 길이로 떨어진 image plane 내에 위치해야 하기 때문에 filter의 두께와 image plane까지의 거리에는 어느 정도의 공간을 확보하도록 설계되어야 한다. filter의 두께가 3mm로 이 길이 이상의 working distance를 갖아야 하기 때문에 본 논문에서는 최소 6mm로 설정하였다.

그림 6의 (a), (b)와 (c)의 table을 통해 spot 크기를 서로 비교해 보면, working distance가 작을수록 더 좋은 특성을 나타내는 것을 table을 통해 확인할 수 있다. 그러나 그림 5의 이전 광학 시스템은 3mm의 working distance로 본 논문에서 설계된 값보다 짧음에도 불구하고 성능이 논문에서 설계된 광학 시스템의 컴퓨터 시뮬레이션 결과보다 우수하지 못하였다. 각 image point에서의 contour의 분포도의 비교에서만 아니라 구조적인 면에서도 본 논문에서 제안된 광학 시스템의 성능의 우

수성을 파악할 수 있었다. 이전의 광학 시스템은 복잡한 광학 구조와 12개의 렌즈를 포함하고 있는 반면, 제안된 광학 시스템은 동일한 렌즈들로 방향이 다른 두 개의 파트를 8개의 렌즈만으로 설계되었고, 컴퓨터 시뮬레이션 결과를 통해서 그 성능은 더욱 향상된 것을 확인할 수 있었다.

3. 결 론

바이오칩에 의한 병원성 세균의 신속하고 정확하며 저렴하고 간편한 유전자형 동정법의 개발은 현재 실시되고 있는 고전적인 배양 및 생화학적 검사법들을 전면 대체할 수 있으므로, 진단용 바이오칩 분석 장비는 종래의 약제 내성을 진단하는 방법보다 효율적으로 사용될 수 있다.

전 세계 약 60억의 인구 중에 3분의 1 가량이 결핵균에 감염되어 있고, 그 중의 10% 가량은 약제에 내성을 가지고 있다. 따라서, 바이오칩을 이용한 결핵의 1차 치료법에 사용되는 Rifampin과 Isoniazid 등에 대해 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출할 수 있는 분석 장치의 개발은 큰 의의를 가진다.

Cooled CCD camera system을 포함한 바이오칩 분석 장치는 연구자에게 빠르고 정확하고 신뢰할 만한 결과를 제공할 수 있다. 기존의 CCD camera system은 수차를 줄이기 위해 복잡한 렌즈 구조를 가지고 있다. 본 논문에서는 기존 시스템의 단점을 개선하기 위해 두 개의 동일한 구조로 이루어지면서, 렌즈의 개수도 감소시키는 등, 복잡도를 향상 시킨 광학 시스템을 설계 하였으며 컴퓨터 시뮬레이션을 통해 기존 시스템보다 우수한 성능을 나타냄을 확인하였다.

[참 고 문 헌]

- [1] Iseman M., "Treatment of multidrug-resistant tuberculosis.", *N Engl J Med*, 329, 784-91, 1993
- [2] I. Ya. Barskii, A. P. Grammatin, and A. V. Ivanov, "Wide-field Luminescence microscopes for analyzing biological microchips", *The optical Society of America, J. Opt. Technol.* 65(11), November 1998
- [3] G. V. Papayan, L. S. Agronskin, "Instruments for analytical microscopy.", *Opt. Zh.* 60. No. 12, 16, 1993. [*Sov. J. Opt. Technol.* 60, 836, 1993]
- [4] K. R. Khrapko, Yu. P. Lysov, A. A. Khorlin et al., "A method for DNA sequencing by hybridization with oligonucleotide matrix.", *J. DNA Sequencing and Mapping* 1, 375, 1991