

DNA 칩 제작을 위한 로봇 시스템의 개발

Development of Microarrayer for Manufacturing DNA Chip

이현동 김기대 나건영 임용표
정희원 정희원 정희원
H. D. Lee K. D. Kim K. Y. Na Y. P. Lim

ABSTRACT

This study exploits the robot system which is necessary in gene study and bio-technology industry. As well, a DNA chip, which of use has been increased recently, can be manufactured with this system. The robot consists of a device spotting DNA on the silylated slide, a well plate, a bed for fixing well plates, devices of washing and drying the pin in DNA spotting device, a distillation-water vessel, and a discharge vessel of wash water. We made the period of sticking DNA to the pin on the well plate to be 15 seconds. The spot size of DNA was set to be 0.28 mm on the average by bringing the slide into contact with pin during 1 second. If DNA is spotted in minimum space possible about 0.32mm, this system can stick about 8,100 DNA spots on the well plate with this rate. Analyzing the procedure: Movement starts, Pin washes, dries, and smears DNA on the well plate. Spotting DNA onto 12 chips took 2 minutes and 50 seconds.

Keywords : DNA chips, Microarrayer, DNA spotting, Genome project.

1. 서 론

최근 생명공학 연구에서 두 가지의 주된 원인에 의해 커다란 변화가 일고 있다. 그 하나는 DNA sequence(유전자 암호 해독기술) 정보의 양이 증가했다는 것과 다른 하나는 이를 이용한 기술이 매우 빠른 속도로 발전하고 있다는 것이다. 하루에도 수백 개 이상 밝혀지는 새로운 유전정보들이나 모든 유전 암호가 밝혀진 생물들을 기존의 방법들로 연구한다는 것은 너무나 많은 시간을 요구하기 때문이다.

이와 같은 문제점을 극복하기 위하여 아주 최근에 개발된 방법중의 하나가 바로 DNA 칩을 이용한 유전자 검색 방법이다. DNA 칩은 기계 자동화와 전자 제어 기술 등을 이용하여 적게는 수백 개부터 많게는 수십만 개의 DNA를 아주 작은 공간에 고밀도로 집어넣을 수 있게 만든 것이다.

DNA 칩의 이용방법으로는 두 개의 다른 환경에서

얻은 세포들로부터 mRNA를 추출하여 이들 mRNA를 역전사(reverse transcription) 시킬 때 각각 다른 색깔의 형광 물질을 띤 염기를 집어넣어 빨간 색(Cy5)이나 녹색(Cy3)을 띤 cDNA를 합성한 후, 두 개의 cDNA를 똑 같은 양으로 섞어서 DNA 칩에 결합시킨다. 결합이 안된 유전자들을 씻어낸 칩은 레이저 형광 스캐너에 의하여 읽혀진다. 각 유전자의 형광 정도는 그 유전자의 발현정도를 알려주는 것으로 이들 정보는 컴퓨터에 의하여 분석되고, 이렇게 하여 한 번에 많은 양의 유전정보를 검색할 수 있는 것이다.

현재 국내외적으로 사용하고 있는 DNA 칩 제작용 microarrayer로는 Cartesian社, GENETIX社, GENPAK社, BioRobotics社, AECOM社, AFFYMETRIX社, Nanogen社 등에서 시판되고 있는 로봇 시스템이며, 이들은 76 × 25mm 슬라이드 1개에 4,000개에서 많게는 130,000개의 DNA 스팟을 점착할 수 있다. 외국의 경

The article was submitted for publication in June 2003, reviewed and approved for publication by the editorial board of KSAM in October 2003. The authors are K. D. Kim, Professor, H. D. Lee, K. Y. Na Research Assistant, Agricultural Machinery Engineering, Chungnam National Univ., Daejeon, Korea. and Y. P. Lim Horticulture science. Chungnam National Univ., Daejeon, Korea. The corresponding author is H. D. Lee Dept. of Agricultural Machinery Engineering, Chungnam National Univ., Daejeon, 305-764, Korea, Fax: +82-42-821-7870. E-mail : <s_2hd@cnu.ac.kr>

우 게놈 연구 및 바이오 산업에 DNA 칩을 제작할 수 있는 로봇 시스템을 사용하고 있다. 그러나 우리나라의 경우 자동화 시스템을 비싼 가격에 외국에서 도입하여 사용하기 때문에 바이오 산업 및 연구 분야에서의 생산비가 높고, 이는 국내외적으로 생명공학의 경쟁력을 저하시키는 원인이 된다.

따라서, 본 연구에서는 유전체 연구에 필수적인 DNA 칩 제작을 위한 연구용 pin 타입 microarrayer를 개발하는데 목적을 두었으며, 그 구체적인 목적은 다음과 같다.

- 1) DNA 칩 제작용 로봇 시스템의 시작기를 설계, 제작하고,
- 2) 로봇 시스템 제어용 소프트웨어를 개발하여,
- 3) 성능 실험을 통한 시스템의 성능을 제시한다.

2. 재료 및 방법

가. 공시 재료

로봇 시스템의 성능실험에 사용된 DNA 시료는 지부계 배추의 잎에서 추출한 DNA로 cDNA library를 제

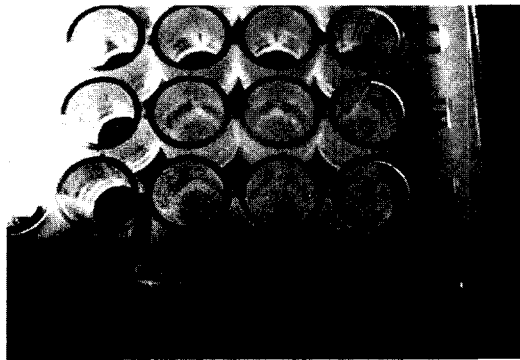


Fig. 1 The photo of DNA sample and silylated slide.

작하여 그 중 한 크론의 plasmid DNA를 추출해서 사용하였다. DNA 칩용 슬라이드는 알데히드(aldehyde)가 코팅된 76 × 25mm 크기의 silylated 슬라이드를 사용하였다. Fig. 1에 DNA 시료 및 silylated 슬라이드를 나타내었다.

나. 하드웨어 설계

(1) 설계기준

본 로봇 시스템으로 DNA 칩을 제작할 때 DNA 스팟 크기는 0.28mm이고 DNA 스팟 중심 간격을 0.32mm로 한다면 DNA 스팟이 인접 스팟과 겹치지 않기 위해서는 위치 간격이 0.02mm 이하가 되어야 한다. 따라서 본 연구에서는 위치 정밀도의 허용 오차범위를 0.02mm로 설정하였다.

(2) 로봇 본체

본 연구에서는 silylated 슬라이드에 DNA를 고밀도로 접합시키기 위하여 3축 자유도의 직교좌표형 로봇을 설계, 제작하였다. X, Y축은 AC 서보모터와 1405 전조 볼 스크류 및 LM 가이드 등을 사용하였고, Z축은 VS DC모터 및 볼트 스크류, LM 가이드 등을 사용하여 DNA 점착 헤드가 상하 왕복운동을 할 수 있게 하였다. Fig. 2는 3축 직교좌표형 로봇 본체를, Fig. 3에는 로봇 시스템의 콘트롤러를 나타내었고, Table 1에 로봇 시스템 및 제어장치의 제원을 나타내었다.

(3) DNA 점착 헤드

DNA 점착 헤드는 시료에 녹아있는 DNA를 핀에 묻혀 silylated 슬라이드에 점착하기 위한 장치로 윗 덮개부, 윗 자석 받침대, 자석, 핀 지그, 핀부로 구성되어 있다.

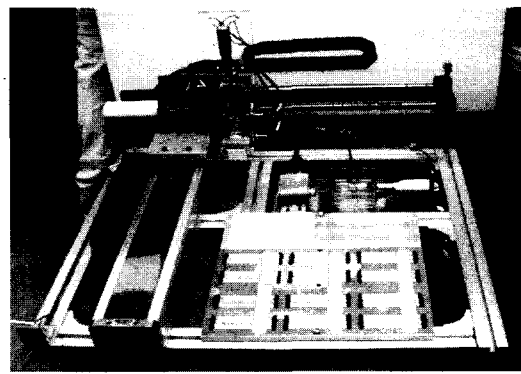


Fig. 2 The photo of the developed robot system.

Table 1 The specifications of robot system

Item	Specifications	Model	Manufacturer
AC servo motor & motor driver	100W, 100V, 200W, 100V	MSMO11A1A MSMO21A1E	Panasonic
Motor controller	2 axes controll I/O 8 channels	STP-2M(PC)	CONTEC
DC motor	rated voltage : 7.2V precision : +1mm	CA-32	CYLINOID
Water motor	a rating time : continuous AC 220V	HP-30	MEDO
Vibration brush	4W	BT-850	SB system
Compressor	0.2kW, 1.4A, 3400rpm a rated pressure : 8.5kgf/cm ²	ACP-25LT	ACE techno
PC	CPU 1.9GHz	Pentium IV	Samsung

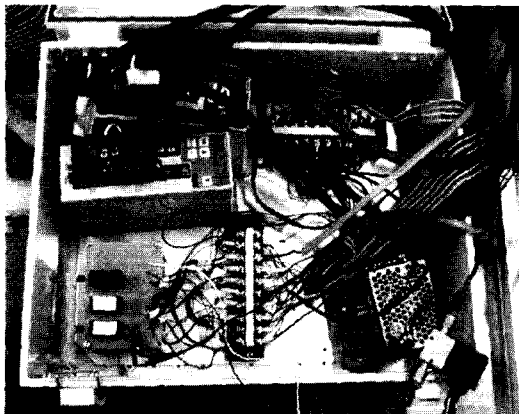


Fig. 3 The control box of the robot system.

핀부에 DNA 시료를 묻힌 후 silylated 슬라이드에 DNA를 점착 할 때 일정한 힘으로 핀부를 누를 수 있도록 자석을 사용하였고, silylated 슬라이드에 DNA를 점착 할 수 있는 핀으로 제도용 펜촉을 사용하였다. 이 핀은 끝이 두 부분으로 갈라져 있어 DNA가 녹아있는 시료를 머금고 있기에 알맞고 재질은 스프링강이다. 핀의 끝은 1 μ m 정밀도의 공구현미경으로 측정해본 결과 silylated 슬라이드 접촉부의 가로 길이가 각각 50 μ m, 세로 길이가 50 μ m이고, 갈라진 사이의 간격이 5 μ m이었다.

핀을 꽂는 핀 홀더는 자석의 영향을 받지 않도록 직경 3mm 알루미늄 봉으로 가공하여 핀에 끼웠고, 그 상단에는 회전을 방지하도록 단면이 타원형상을 갖는 황동재질의 가이드캡을 씌웠으며, 가이드캡 위에 자석을 붙혀 장치 위쪽의 자석과 반발력이 생기도록 하였다.

핀부를 지탱해주는 핀 지그는 6개의 핀부를 9mm 간격으로 2행 3열을 이루도록 직경 3.1mm의 구멍을 뚫어 핀 홀더가 상하운동을 할 수 있도록 하였으며, 구멍 위 끝은 핀 홀더의 가이드캡이 운동할 수 있도록 타원형상의 구멍으로 형성하여 DNA 점착시 핀부가 회전하는 것을 방지하였다.

윗 자석 받침대는 직경 3.1mm의 비관통 구멍을 핀 지그의 핀부 꽂는 구멍과 동일한 배열로 가공하여 그 속에 직경 3mm, 두께 1.5mm의 자석을 핀 홀더 위의 자석의 윗 극성과 같은 극성이 밑으로 행하게 삽입한 후 쿠션과 윗 덮개판을 차례로 올려놓고 결합시켜 자석의 이탈을 방지하였다. 이렇게 조립된 DNA 점착 헤드의 윗 부분을 핀 지그에 장착하여 DNA를 점착할 때 자석의 반발력에 의해 일정한 하중을 가할 수 있도록 하였다.

Fig. 4는 핀부를, Fig. 5는 점착 헤드 각 부분의 조립도와 구성도를 나타낸 것이다.

(4) 칩 및 웰 플레이트 고정부

웰 플레이트와 silylated 슬라이드를 고정할 수 있도록 칩 및 웰 플레이트 고정부를 제작하였다. 96/384 웰 플레이트 2개와 슬라이드 12개를 고정할 수 있도록 300 \times 300 \times 15mm 두랄루민판을 가공하여 로봇 본체에 부착하였으며, 웰 플레이트를 가로로 2개 배열하고 4 \times 3으로 12개의 silylated glass를 배열할 수 있도록 하였다. Fig. 6에 칩 및 웰 플레이트 고정부를 나타내었다.

웰 플레이트의 고정은 웰 플레이트 밑면과 측면의 경계가 고정부에 파 놓은 홈에 밀착되면서 고정되는 방법을 사용하였고, 슬라이드의 고정은 슬라이드를

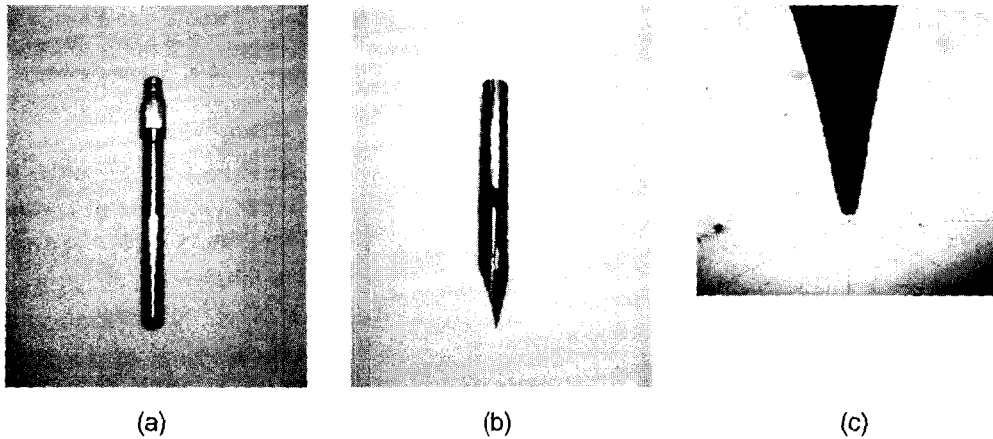


Fig. 4 The picture of pin part in DNA spotting head ; (a) pin holder, (b) pin, (c) pin zoomed.

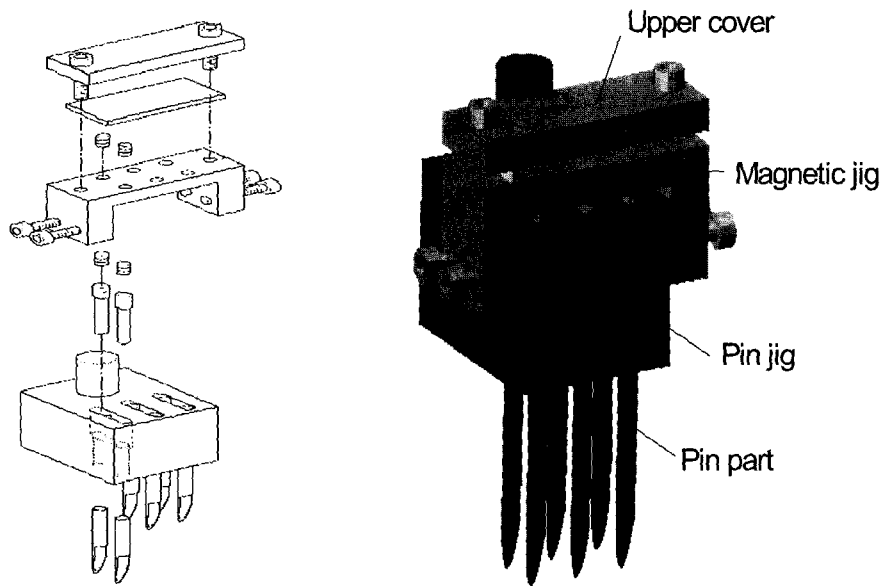


Fig. 5 The assembly and the schematic diagram of assembling DNA spotting head.

위치시킬 때 슬라이드가 놓여지는 양단 끝에 고무를 삽입시켜 고무의 조임에 의해 슬라이드가 고정되도록 설계, 제작하였다.

(5) 핀 세척 및 건조 장치

DNA 칩을 제작할 때 핀에 묻혀 한 번 사용된 DNA는 다른 DNA를 묻히기 위해서 핀으로부터 제거되어야 한다. 이를 위해 본 연구에서는 핀에 증류수를 분사하며 진동 브러쉬로 DNA를 세척하는 장치를 개발하였다. 증류수를 분사하는 장치는 수중모터를 사용하였으며, 분사된 증류수가 핀을 세척하며 머무를 수 있도록 용기에 턱을 지게 제작하였다. 진동 브

러쉬는 직경 10mm의 회전판에 상방향으로 섬모가 박혀 있는 형태이며, 모터에 연결되어 시계 방향(CW), 반시계 방향(CCW)으로 45°씩 왕복 회전하도록 되어있으며, 이때 핀을 브러쉬 위로 지나가게 하여 브러쉬에 의해 세척될 수 있도록 하였다. 분사된 증류수는 DNA를 세척한 후 따로 분리되어 버려지게 된다.

핀 건조장치는 장치 위부분에 구멍을 내어 핀이 입출할 수 있도록 하고, 측면에서 들어오는 콤프레서에 의한 압축공기를 일정시간 핀에 분사하여 DNA를 씻고 핀에 묻은 증류수를 제거할 수 있게 하였다. 압축공기는 오일필터, 워터필터, 에어 드라이어에 의해

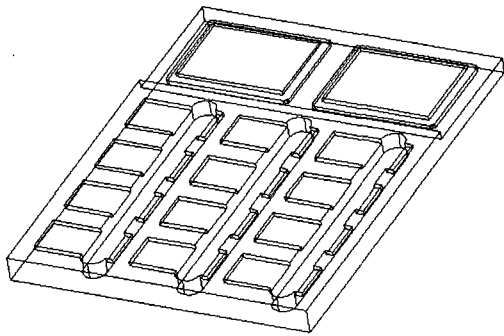


Fig. 6 The schematic diagram of bed to fix well-plates and slide glasses.

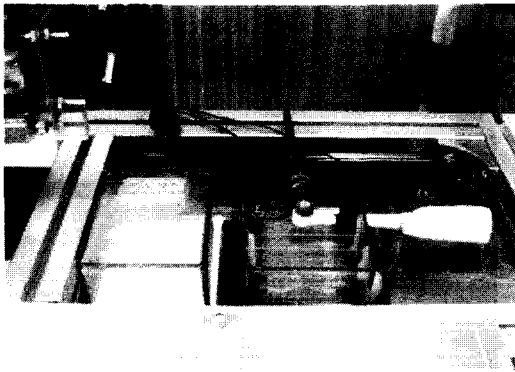


Fig. 7 The photo of device for washing and drying the pins.

Table 2 The specifications of washing and drying parts

Item	Specifications
Water motor	A rating time : continuous, AC 220V
Vibration brush	4W, DC 3V
Compressor	0.2kW, 1.4A, 3400rpm, a rated pressure : 8.5kgf/cm ²

여과되도록 하였다. Fig. 7에 핀 세척 및 건조장치를 나타내었고, Table 2에 핀 세척 및 건조장치 제원을 나타내었다.

다. 소프트웨어 설계

개발된 DNA 칩 제작을 위한 microarrayer 제어 프로그램은 Microsoft社의 Visual Basic 6.0 프로그램 언어를 사용하여 개발되었다.

먼저 시스템을 초기화하여 원점을 잡은 후 핀부분

을 세척 및 건조시킨다. 세척시에는 증류수를 분사시키며 진동 브러쉬로 핀부를 세척하는데, 이때 핀부를 미리 설정해 놓은 속도로 왕복 이동시키며 브러쉬에 의해 DNA가 세척될 수 있도록 하였다. 증류수가 묻어있는 핀부를 건조시키기 위해서 건조시스템에서 압축공기를 미리 설정해 놓은 시간동안 핀부에 분사함으로써 핀부를 건조시킨다. 핀부가 건조되면 웰 플레이트에 핀을 가져가 미리 설정해 놓은 시간동안 DNA를 핀에 머금은 후 silylated 슬라이드에 순서대로 점착한다. 12개의 silylated 슬라이드에 전부 점착이 완료되면 처음으로 돌아가 다시 세척 및 건조를 실시하고 그 다음 DNA를 silylated 슬라이드에 점착한다. 점착 위치는 전에 점착된 DNA와 미리 설정해 놓은 간격을 두고 점착한다.

프로그램 내에서 96 및 384 웰 플레이트를 선택할 수 있도록 하였으며, DNA 점착 간격 및 시스템 속도, 세척시간, 건조시간 등의 파라미터를 설정할 수 있도록 하였다.

메인 창에는 DNA 점착 간격에 따라 필요로 하는 웰 플레이트의 개수를 파악할 수 있도록 하였으며, 1개 웰 플레이트의 DNA를 전부 점착하였을 경우 메시지를 출력하여 웰 플레이트를 교환할 수 있도록 하였다. Fig. 8에 로봇 시스템의 구동 및 제어 프로그램의 흐름도를 나타내었다.

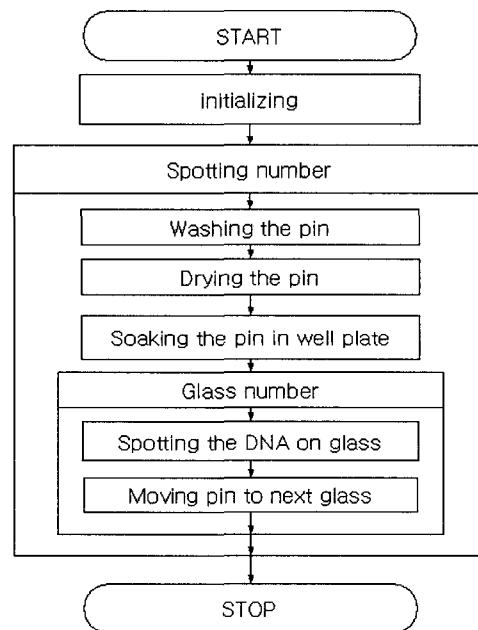


Fig. 8 Flow-chart of the developed control program.

라. 성능실험

(1) 로봇 시스템 동작 실험

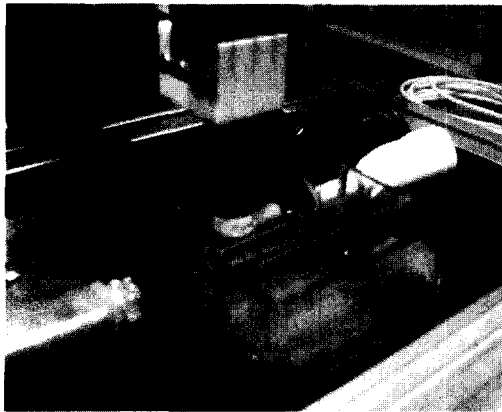
본 연구에서는 시스템의 초기화 없이 가로 세로 100mm의 정방형 가상 공간을 30mm/s로 움직여 10회, 20회, 30회씩 CW, CCW 방향으로 회전하며 왕복하는 실험을 하였고, 그때의 위치 정밀도를 X, Y축 방향에서 측정하였다. 반복 정밀도 측정을 위한 실험 장치로는 1 μ m까지 측정할 수 있는 Anritsu社(Japan)에서 제작한 모델명이 KL135A인 레이저 변위 센서를 사용하였다.

(2) 핀 세척 및 건조시간 설정

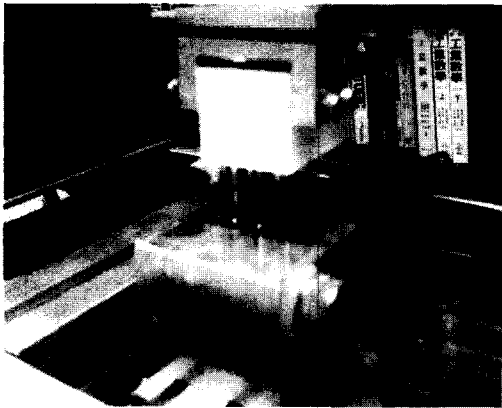
본 실험은 DNA가 묻어있는 핀을 세척하고 건조하여 다음 DNA를 점착할 때 핀의 세척 및 건조시간을

설정하는 실험을 실시하였다. 핀에 묻어있는 DNA를 세척하기 위한 최소시간과 핀에 묻어있는 증류수를 건조하기 위한 최소 시간을 각각 설정하였다. 세척시간은 핀이 진동 브러쉬를 통과하는 속도를 달리하여 핀과 브러쉬가 접촉하고 있는 시간을 조절하였다. 최초 Cy3(녹색) DNA를 silylated 슬라이드에 점착시키고 세척을 한 후 Cy5(적색) DNA를 점착하여 형광검사를 실시하여 세척이 되어있으면 빨강색, 녹색이 그대로 나타나고, 세척이 안되면 녹색자리에 다른 색상이 나타나게 된다. 이때 세척 시간을 달리하여 색상이 섞이지 않는 최소 시간을 설정하였다.

핀 건조의 경우는 8.5kgf/cm²의 압축공기를 직경 6mm의 호수를 통하여 분사시켜 핀이 완전히 건조하는 시간을 설정하였다. Fig. 9에 핀 세척 및 건조 실험을 하고 있는 모습을 나타냈다.



(a)



(b)

Fig. 9 The picture of performance test washing and drying pins ; (a) washing pins, (b) drying pins.

(3) DNA 점착 성능

개발한 로봇 시스템의 성능을 실험하고자 핀을 이용한 DNA 점착 성능을 검증하였다. aldehyde가 코팅된 슬라이드에 DNA 시료를 머금은 핀을 접촉할 경우 DNA가 슬라이드에 빨려나가는 현상이 발생한다. 따라서 우선 DNA를 묻히는 과정에서 웰 플레이트에 있는 DNA에 핀을 담그고 있는 시간을 설정하고 silylated 슬라이드에 DNA를 점착할 때 핀과 슬라이드가 접촉하고 있는 시간을 설정하여 점착된 DNA 시료의 크기를 결정하는 실험을 실시하였다.

Fig. 10은 DNA 점착 실험을 하고 있는 모습이다.

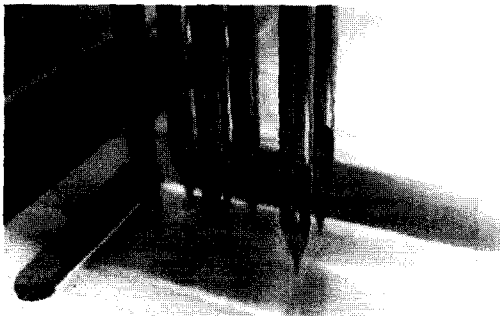
(4) DNA 칩 제작실험

본 연구에서 개발된 microarray의 성능실험을 실시하기 위하여 DNA 점 간격 0.5mm의 DNA 칩을 제작하였다. 정확한 간격을 이루며 DNA를 점착 하는지를 살펴보고, 형광검사를 통해 슬라이드에 DNA가 잘 점착되는지와 동일한 12개의 칩을 제작하여 12개의 칩이 동일한가를 검사함으로써 개발된 microarray의 성능을 검증하였다.

형광검사 방법으로는, 5 μ M의 SYTO 61 농축액을 10mM의 Tris-HCl pH 7과 1mM EDTA의 혼합액(TE)으로 1:100 희석시킨 dye(염색약)에 DNA가 점착되어 있는 슬라이드를 상온에서 5분간 담궈놓고 꺼낸 다음, 슬라이드를 다시 TE로 1회 씻는다. 그 다음 3차 증류수와 에탄올을 1회씩 차례로 이용하여 씻은 후 슬라이드를 완전히 건조시키고 532nm 파장의 레이저 스캐너로 읽어들었다.⁷⁾ 형광검사에 사용된 microarray 레이저 스캐너로는 Axon Instruments社의 GenePix 4000B를 사용하였다.



(a)



(b)

Fig. 10 The picture of performance test spotting DNA ; (a) sucking DNA in well-plate, (b) DNA spotting on slide.

Fig. 11은 성능실험을 하고 있는 모습을 나타냈고, Fig. 12은 본 시스템으로 제작된 DNA 칩을 통한 DNA 형광검사를 하고 있는 모습이다. Table 3에 레이저 스캐너의 사양을 나타내었다.

Table 3 The specifications of laser scanner used in fluorescent test

Item	Specifications
Resolution($\mu\text{m}/\text{pixel}$)	5 to 100 in 10 μm intervals
Laser choices(nm)	532
Scan speed per channel(min)	5
Focus(μm)	Adjustable between -50 and 200 in 1 μm steps
Detector, dynamic range	PMT, 16-bit

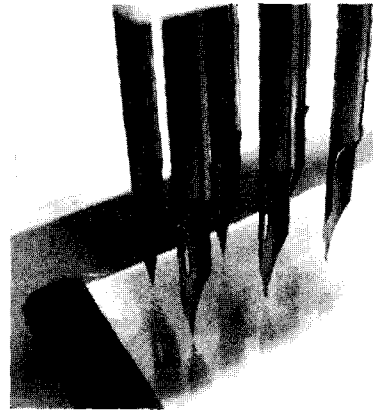


Fig. 11 The picture of making DNA chip in performance test.

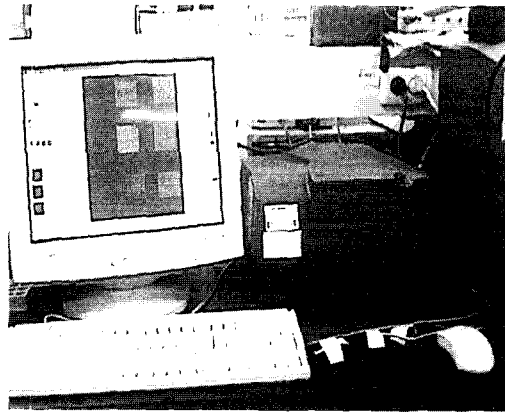


Fig. 12 The picture of fluorescent test of DNA chip made.

3. 결과 및 고찰

가. 로봇 시스템 동작 실험

로봇 시스템의 위치 정밀도를 측정된 결과는 Table 4와 같고, 각 측정위치에서의 반복에 의한 편차는 전 구간에서 $14\mu\text{m}$ 이내로 나타났다. 반복횟수에 상관없이 오차가 고르게 나타났으며, 이 오차는 인접 DNA 스팟과의 겹침 최소 간격 $20\mu\text{m}$ 보다 작은 수치이므로 본 로봇 시스템은 목표한 작업을 수행하는데 적절하다고 사료되었다.

나. 핀 세척 및 건조시간 설정

DNA를 핀에서 씻기 위한 최소 세척시간은 1mm/s 로 핀부를 이동할 때, 즉 핀과 브러쉬와의 접

Table 4 The results of repeatability test

Moving direct	Measuring direct	Repeat No.	Repeatability error(μm)	Moving direct	Measuring direct	Repeat No.	Repeatability error(μm)
CW	X	10	14	CCW	X	10	10
		20	6			20	9
		30	9			30	13
	Y	10	5		Y	10	8
		20	11			20	8
		30	11			30	11

Table 5 The results of performance test for washing and drying pins ; (a) washing test, (b) drying test

(a)					(b)									
Pins moving speed (mm/s)	Pins and brush contacting times (sec)	Pins drying time (sec)	Washing success (5 times)					Pins moving speed (mm/s)	Pins drying time (sec)	Drying success (5 times)				
			○	○	○	○	○			○	○	○	○	○
0.50	20	40	○	○	○	○	○	1.00	40	○	○	○	○	○
1.00	10	40	○	○	○	○	○	1.00	30	○	○	○	○	○
1.50	7	40	○	○	×	○	○	1.00	20	×	○	×	○	○
2.00	5	40	○	×	×	○	×	1.00	15	×	×	×	×	×

○ : true, × : false

측시간이 10초일 때 Cy3, Cy5가 섞이지 않아 최소 세척시간으로 설정되었고, 8.5kgf/cm²의 압축공기를 30초 이상 분사하였을 때 핀이 건조되는 것으로 나타났다. Fig. 13 및 Table 5에 핀 세척 및 건조시간 설정결과를 나타내었다.

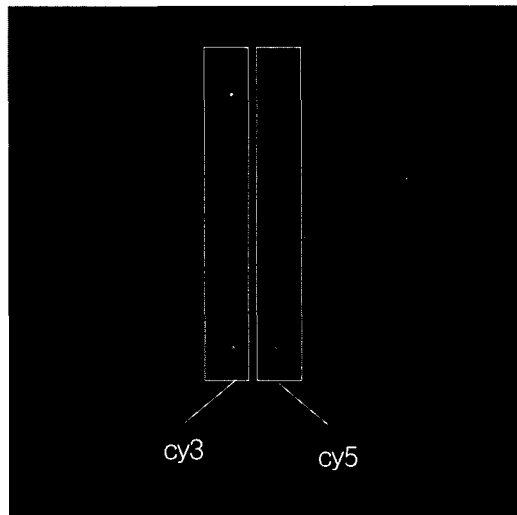


Fig. 13 The example of results of performance test for washing pins.

다. DNA 점착성능

점착된 점들의 간격을 1mm로 설정하여 나타낸 결과 ±5 μm 의 오차를 나타내어 오차가 시스템 정밀도 내에 들기 때문에 DNA의 점착 위치는 정확한 것으로 사료된다.

Aldehyde로 표면처리한 silylated 슬라이드에 DNA를 머금은 핀을 접촉하는 시간을 달리하며 접촉시켜 점착된 DNA의 크기를 조사해본 결과 1초로 설정했을 때 크기가 가장 일정하게 DNA를 점착하였다.

웰 플레이트에서 DNA 시료를 핀에 묻힐 때 묻히는 시간에 따라 DNA를 점착할 수 있는 슬라이드 수가 결정된다. 이는 모세관 현상에 의하여 핀에 DNA가 빨리 올라가는 현상을 의미하며 시간에 따라 그 양이 결정된다. 따라서 DNA 크기가 가장 일정하게 찍혔던 슬라이드와 핀과의 접촉시간을 1초로 설정한 후 웰 플레이트에서 DNA를 묻히는 시간을 달리 하였을 때 점의 크기가 변하지 않게 점착할 수 있는 최대 슬라이드 수를 조사하였다. 조사 결과 웰 플레이트에서 DNA를 묻히는 시간은 최소 10초 이상은 되어야 한다는 결과가 나타났다.

또한, 점착된 DNA의 형태를 살펴보면, 핀의 슬라이드 접촉부 형상이 타원형인데 반해 점착된 점의

Table 6 The results of test spotting DNA ; (a) spot size according to contacting time of pin and slide, (b) a number of successive spotting slides according to contacting time of DNA and pins in well plate

(a)

Contacting time of pin on slide (sec)	Spot size (mm)			
	Average	S.D.	Max.	Min.
0.25	0.08	0.04	0.14	0.02
0.5	0.16	0.04	0.21	0.13
0.75	0.21	0.03	0.24	0.18
1.00	0.28	0.02	0.30	0.26
1.25	0.34	0.04	0.39	0.29

(b)

Contacting time of DNA and pins in well-plate (sec)	Possible No. of spotting slides without spot size change (EA)
4	under 7
7	under 9
10	12
13	12

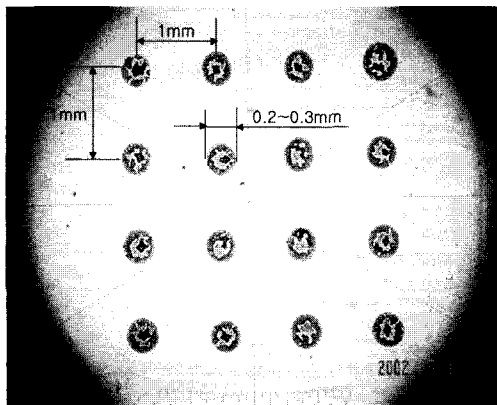


Fig. 14 The result of test spotting DNA.

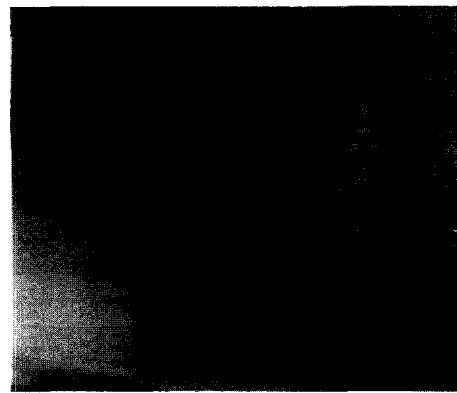
형상은 원형으로 나타났는데 이는 DNA 시료 방울이 원형이 되려는 성질 때문인 것으로 사료된다.

Fig. 14 및 Table 6에 DNA 점착 실험결과를 나타내었다.

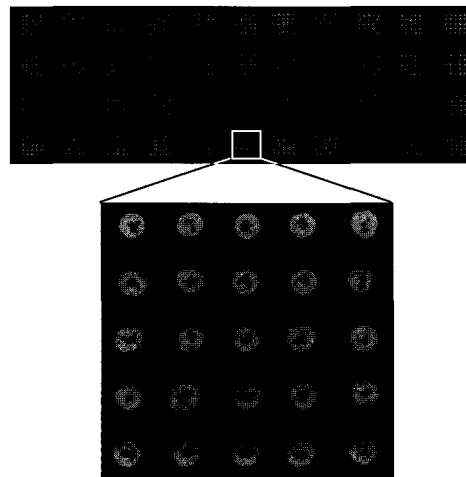
라. DNA 칩 제작실험

칩 제작결과를 Fig. 15에 나타내었다. 칩 제작실험 결과 12개의 동일한 칩이 생성되었으며, 제작된 칩을 형광검사를 통해 DNA가 칩에 잘 점착되는지를 검사해본 결과 DNA 점착성능이 우수한 것으로 나타났으나, 점착된 DNA 형상의 원형도를 계산한 결과 평균 91%의 원형도를 나타내었다.

칩을 제작하는데 소요되는 시간은 시스템 원점에서 이동시작, 핀 세척 및 건조, 웰 플레이트에서의 DNA 문힘, 12개의 칩에 DNA 점착 등의 일련의 과정을 2분 50초 동안 수행하였다. 최소 점 간격 0.32mm로 DNA를 점착할 경우 8,100여 개의 DNA를 점착할 수 있었다.



(a)



(b)

Fig. 15 The results of DNA chip manufactured by robot system developed ; (a) photo, (b) fluorescent image for inspection.

4. 요약 및 결론

외국의 경우 계통 연구 및 바이오 산업에 DNA 칩을 제작할 수 있는 로봇 시스템을싼 가격에 사용하고 있으나, 우리나라의 경우 자동화 시스템을 비싼 가격에 외국에서 도입하여 사용하기 때문에 바이오 산업 및 연구 분야에서의 생산비가 높을 뿐만 아니라 국내외적으로 생명공학의 경쟁력을 저하시키는 원인이 된다. 따라서, 본 연구에서는 유전체 연구에 필수적인 DNA 칩 제작을 위한 연구용 pin 타입 microarrayer를 개발하였으며, 그 구체적인 연구결과는 다음과 같다.

1) DNA 칩 제작을 위한 연구용 pin 타입 microarrayer를 개발하였으며, 3축 직교좌표형 로봇 본체, DNA를 묻혀 silylated 슬라이드에 점착하는 DNA 점착 헤드, 칩 및 웰 플레이트 고정부, 핀을 세척 및 건조하는 세척 및 건조장치 등으로 시스템을 구성하였으며, 본 로봇의 위치정밀도 오차는 14 μm 이내로 나타났다.

2) DNA 점착 헤드는 DNA 점착시 제도용 펜촉을 사용하도록 설계 제작하였으며, 슬라이드에 DNA를 점착할 때는 핀이 일정한 힘으로 슬라이드를 누르며 점착할 수 있도록 자석의 반발력을 이용하였다.

3) DNA 점착 헤드 핀의 세척을 위하여 증류수 분사 및 진동 브러시를 이용하였으며 세척실험 결과, 핀을 1mm/s로 이동시키며 브러시를 통과하도록 하는 방법이 세척효과가 높은 것으로 나타났으며, 핀 건조 실험결과는 8.5kgf/cm²의 압축공기를 30초 동안 핀에 분사하였을 때 핀이 건조되는 것으로 나타났다.

4) 본 로봇 시스템을 이용하여 DNA를 12장의 슬라이드에 모두 점착시키기 위하여 웰 플레이트에서 핀이 DNA를 묻히는 실험을 실시한 결과, 10초 이상 핀에 DNA를 묻혔을 때 슬라이드 12장을 모두 찍는 것으로 나타났으며, 슬라이드에 핀이 1초간 접촉할 때의 DNA 스팟의 크기는 평균 280 μm 가 되는 것으로 나타났다. 최소 점 간격을 0.32mm로 설정한 후

DNA를 점착해 본 결과 최대 8,100여 점의 DNA 스팟을 한 슬라이드에 점착할 수 있는 것으로 나타났다.

5) microarrayer부는 12장의 동일 DNA 칩을 생성하기 위해 핀의 세척, 건조, DNA를 묻히는 과정 및 DNA 점착 등의 한 과정을 2분 50초 동안 수행할 수 있는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

1. 이상엽, 윤성호, 임근배, 조윤경. 2000. Genomics와 DNA chip. News & Information for chemical engineering. Vol. 18(3):307-311.
2. 이성우. 2000. DNA 칩의 최근동향. 공학교육과 기술. Vol. 7(3):53-56.
3. 이현동, 김기대, 임용표, 김찬수. 2002. 유전자 검색을 위한 DNA chip 제작용 로봇 시스템의 개발 (I) - 국내외 연구동향 -. 한국농업기계학회 2002년 동계학술대회 논문집 Vol. 7(1):407-412.
4. 이현동, 김기대, 김찬수, 김성환, 나진영, 임용표. 2002. 유전자 검색을 위한 DNA chip 제작용 로봇 시스템의 개발(II) - 로봇 시스템 성능실험 -. 한국농업기계학회 2002년 동계학술대회 논문집 Vol. 7(2):333-338.
5. Brown, T. A. 1987. Gene Cloning. Chapman & hall.
6. Cheung, V. G., M. Morley, F. Aguilar, A. Massimi, R. Kucherlapati and G. Childs. 1999. Making and reading microarrays. Nat. Gen. 21:15-19.
7. Huibin, Y. etc. 2001. An evaluation of the performance of cDNA microarrays for detecting changes in global mRNA expression. Nucleic Acids Research Vol. 29(8).
8. Yoon, S. H., J. G. Choi and S. Y. Lee. 2000. Development of DNA chip microarrayer. J. Microbiol. Biotechnol. Vol. 10(1):21-26.