

MEMS를 활용한 바이오융합 분야 소개

한국전자통신연구원 BT융합연구부 바이오MEMS연구팀 정문연 팀장

1. 연구실 소개

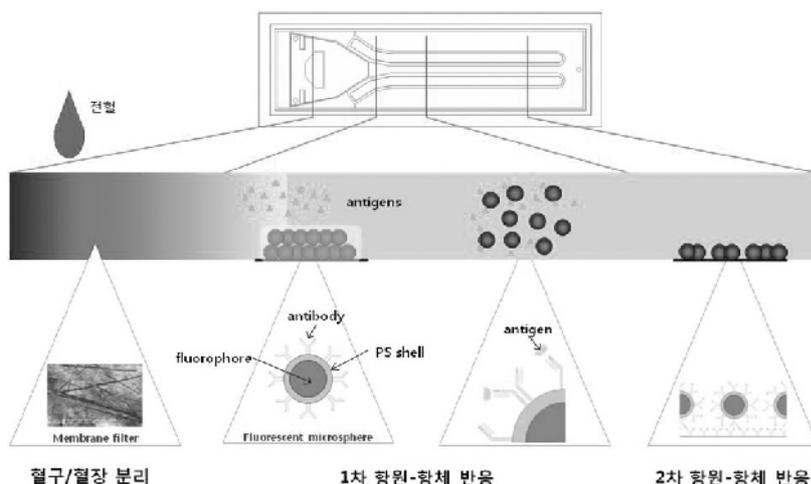
바이오MEMS팀은 정확성, 신뢰성, 빠른 진단이 가능한 상 업용 플라스틱 바이오칩을 제작하는 업무를 수행하고 있다. 나노/바이오/미세유체제어기술을 융합하여 급성 심근 경색증 표지단백질 3종 (CKMB, cTn-I, Myoglobin)을 수 ng/ml 수준으로 10 분 이내에 동시에 검출하는 바이오칩을 제작하고 있다. 1회용 플라스틱 칩으로 1,000 원 이하 까지 생산이 가능하여 국가 의료비경감에 기여할 것이다. Microfluidics channel 상에서 나노입자내에 FRET 현상을 구현함으로써 고감도 바이오센서칩을 실현한다. 그 외 바이오MEMS팀에서는 바이러스를 진단하는 DNA Lab. On a Chip, 고밀도 DNA Microarray 칩, SPR 센서 등 바이오칩 분야의 원천기술을 개발하는 업무를 수행하고 있다.

2. 주요연구내용

급성심근경색증 진단 바이오칩

의학적으로 AMI 진단은 WHO 기준, 가슴통증 20분 이상

지속, 심전도의 급격한 변화, 심근효소의 증가들이며, 이중 2가지 이상이 부합되는 경우로 진단 할 수 있다. 우리 연구 팀에서는 마이크로플루이딕스 칩에 3종의 심근표지단백질 (CKMB, cTn-I, Myoglobin)을 각각의 항체를 이용하여 진단하는 칩을 제작하고 있다. 마이크로플루이딕스 칩은 특수 플라스틱 재질을 정밀사출성형작업에 의해 제작되고 있다. 마이크로플루이딕스 칩의 구성요소들은, 혈액(whole blood) 주입구, 혈액중 혈구를 거르고 혈장(plasma_성분만)을 99%이상 투과하는 나노섬유로 구성된 필터, fluorescence resonance energy transfer(FRET)현상을 일으키는 프탈로시아닌계 형광체를 과량함유하는 폴리스타이렌 나노비드(bead)에 고정된 3종의 항체가 제 1차 항원-항체 반응을 일으키는 반응챔버, 비특이적 반응을 최소화하는 물질로 코팅된 마이크로 채널, 제 1차 항원-항체 반응 후 마이크로채널을 따라 이동하는 나노비드를 캡춰함에 의해 제 2차 항원-항체 반응이 일어나는 영역, 그리고 캡춰항체에 의해 붙잡힌 나노비드속의 형광체를 여기시키는 레이저 다이오드 및 여기된 형광을 전류값으로 변환하는 포토다이오드등으로 구성된다. 우리 연구실에서 개발되고 있는 심근 경색증 진단 칩의 감도는 cTn-I의 cut-off 값인 0.1 ng/ml을 검출할 수 있다.



[그림 1] 급성심근경색증 진단 바이오칩의 레이아웃 및 기능적 설명도

DNA Lab On a Chip

랩온어칩(Lab On a Chip)은 다양한 샘플을 아주 적은 양만으로 분리, 정제, 혼합, 반응, 세척, 및 검출 등의 다양한 반응들이 연속적으로 일어나 시료를 분석할 수 있는 방법을 제공하여 고속처리 및 분석을 가능케 한다.

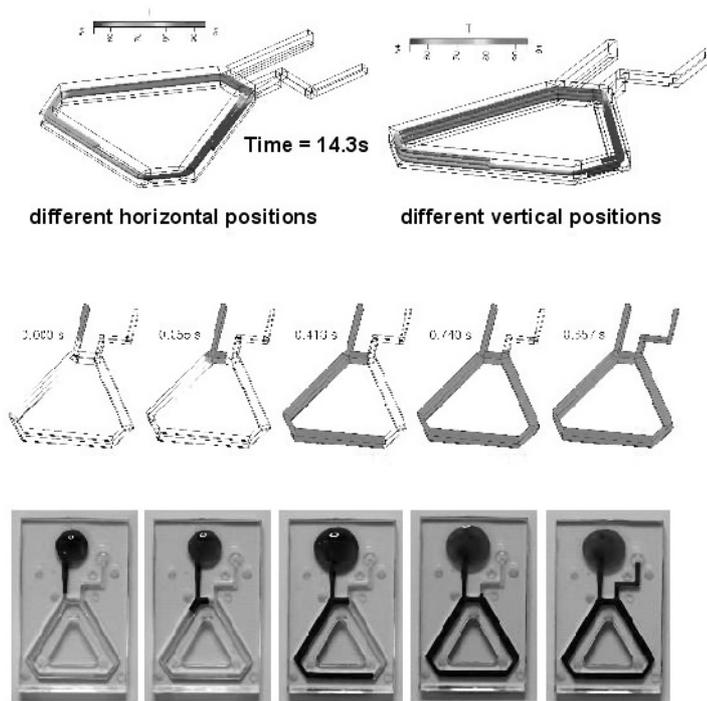
이러한 방법으로 인해 진단용 의료기기의 경우도 기존 NC막 기반의 Rapid Kit 중심에서 보다 정밀하고 복합적인 분석이 가능한 랩온어칩과 바이오센서를 이용한 진단 시장으로 발전하고 있다. 또한 바이오칩 분야 중 DNA칩이나 단백질칩 그리고 셀칩의 경우 고가의 외부 분석기와 실험을 위한 전문 인력을 필요로 하기 때문에 가정이나 응급실과 같은 현장에서 POCT(point of care testing)개념의 진단을 할 수 없다는 단점을 가지고 있다. 그러므로 비전문가나 환자 자신이 손쉽게 사용할 수 있는 POCT 개념의 진단용 랩온어칩 기술이 개발 되어야 한다.

우리 연구실의 바이러스 검출용 DNA Lab On a Chip의 구성요소중 PCR칩의 핵심기능은 시간단축이다.

일반적인 PCR 장치는 30 분에서 1시간정도의 PCR시간을 요한다. 그러나, DNA Lab On a Chip의 속성상 PCR시간을 가능한 단축하는 것이 중요하다. 우리가 개발한 PCR칩의 재질은 폴리머칩으로 구성된다. PCR을 위한 세가지 온도 구간 구분을 위해 삼각형의 링형태의 채널이 형성되어 있다. 3개의 온도구간에 의한 대류현상을 이용하여 외부의 힘이 인가되지 않고서도 3개의 온도구간을 회전하면서 PCR이 이루어지게 된다. 칩 제작을 위해 사출성형, UV 접착제를 이용하여 채널을 형성하며 입출구 및 모세관유동을 정지시키는 정지밸브를 구성하였다.

채널 설계를 위한 전산모사, 각 구간에서의 온도변화 양상과 유동 시간 설계, 샘플을 삼각형 링 형태의 채널에 충전시키는 과정을 전산모사 결과와 실험결과를 비교하는 실험, 공기 층에 의한 샘플 막힘이 없이 잘 충전되는 기술을 개발하고 있다.

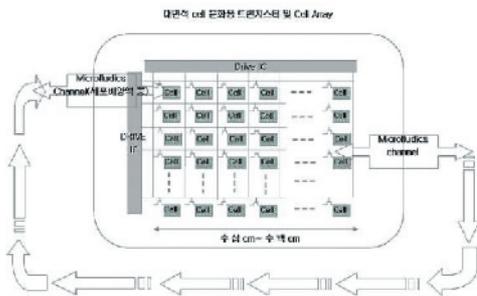
우리 연구실은 인간 유전자의 일종인 BRCA-1을 이용하여 5분내에 안정적으로 PCR이 가능한 칩 및 HIV를 실시간, 현장에서 진단할 수 있는 PCR칩도 개발 중이다.



[그림 2] 자연대류 PCR칩의 simulation 및 PCR칩

줄기세포 분화

줄기세포 분화는 growth factor, cytokine과 같은 생물학적 인자와 stretch, compression, shear stress 등과 같은 기계적인 인자에 의하여 영향을 받는 것으로 알려져 있으며 최근 들어 stretch, compression 등과 같은 생물리학적 자극 외에 저자극강도 초음파 자극 (low intensity ultrasound), BioMEMS 등에 의한 기계적인 자극이 줄기세포 분화에 관여하고 있다는 연구결과들이 보고되고 있다. 우리 연구실은 정밀한 기계적 자극을 BIOMEMS기술을 이용한 새로운 형태의 자극기를 이용하여 세포 치료 및 조직공학 연구에 필요한 중간엽 및 배아 줄기 세포의 증식 및 분화 유도에 적용하는 연구를 진행 중에 있다. MEMS 기술에 기반을 둔 세포 분화 자극기는 줄기 세포 분화의 본질적 기전을 연구하는 데 기여하여 세포분화 메커니즘을 연구하는데 주요 도구로 활용될 수 있다. MEMS기반 초소형 세포 조작기 및 자극기를 이용한 줄기세포의 분화 연구 내용은 세계적으로 아직 초기 단계의 시도가 이루어지고 있어 아직은 초보 단계이지만 우리연구실의 새로운 연구영역으로 내다보고 있다.

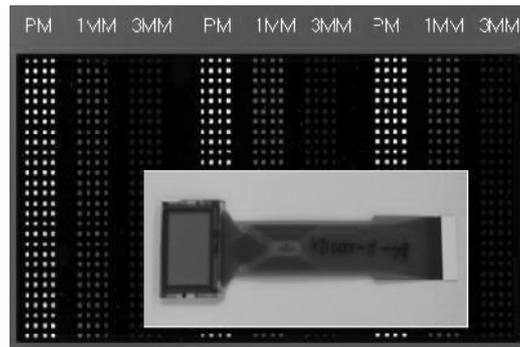


[그림 3] 수 천개의 각각 다른 형태 및 다른 크기의 기계적 자극을 인가할 수 있고 동시에 한 번에 스캐닝 할 수 있는 세포칩 어레이 구성도

DNA Microarray

Affymetrix사(미국)와 같은 고가의 반도체포토마스크법에 의한 DNA Microarray제작법의 대안으로 생산단가를 줄이기 위해 DMD(digital micromirror device)를 프로그래머

블 포토마스크로 채택하여 기술개발을 해온 NimbleGen, Febit 등 마이크로어레이 제작 분야의 후발 업체가 있다. 우리는 디스플레이에 사용되어 온 LCD를 채택하여 DNA Microarray를 제작하여 일종의 programmable포토마스크를 개발하여 DNA Microarray칩을 개발하고 있다. DMD보다 대면적으로 칩 제작이 가능하며 DMD와 유사한 콘트라스트를 가진 LCD를 포토마스크로 사용하여 가격 경쟁력을 높이고, Affymetrix 보다 칩 단가를 1/100단축으로 생산성의 획기적 증대가 기대되고 있다. 기술적 내용을 살펴보면, UV 조사에 의해 DNA 모노머들이 순차적으로 하나씩 photosynthesis되어가는 과정을 100여 번 반복하여 25base의 올리고머를 직경 수 um의 spot을 1024 x 768 어레이로 형성 가능하게 한다. 이 방법은 LCD 각 화소의 liquid crystal의 UV 광량 조절 간편성 및 우수한 콘트라스트 특성을 바탕으로 수십~수 십만 화소를 각각 화소 별 구동 가능, 즉 프로그래머블 구동이 가능하므로 종래의 고정된 패턴들의 집합체인 반도체 포토마스크가 100여장이나 필요한데 비해 단 1장의 LCD패널로 DNA Microarray를 제작 할 수 있다.



[그림 4] LCD를 이용한 DNA Microarray 및 LCD 패널

표면 플라즈몬 공명 (Surface plasmon resonance, SPR) 바이오센서

유전체-금속의 경계 면에서 운동하는 자유전자는 주위의 유전체 환경, 즉 굴절률, 두께 및 매질의 광학적 특성에 매

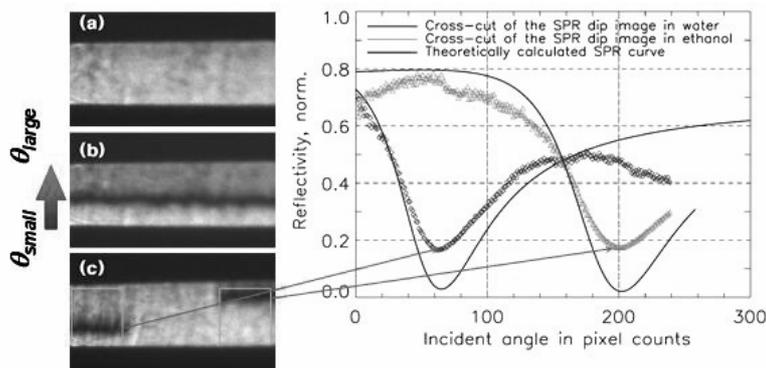
우 민감한 변화를 보인다. 표면 플라즈몬 (surface plasmon) 공명은 외부로부터 주어진 에너지에 대해 그 매질의 유전특성과 파장, 각도 등의 외부변수에 따라 특정 조건에서 만족하는 공명조건이 있으며, 따라서 금속 표면에 흡착되는 생체분자의 양을 시간에 따라 정량적으로 기능할 수 있는 유용한 수단이 된다.

바이오MEMS팀에서는 현재까지 분자들의 상호작용을 실시간으로 측정할 수 있는 파장 및 각도 분해형 SPR센서, 다채널 SPR이미지센서 (SPR Imager), 표면 플라즈몬 강화 형광센서 (SP-enhanced fluorescence sensor), 그리고 플라스틱 (cyclo-olefin copolymer)을 재질로 하는 일회용 SPR칩 및 이를 이용한 각도 분해형 (angle-resolved) SPR 이미지 센서를 개발하였다. 그리고 이를 이용하여 단분자막(self-assembled monolayer, SAM)의 두께 측정 및 항원-항체의 결합 정도를 정량적으로 측정할 수 있음을 성공적으로 보였다. 현재는 이 원리를 금속 나노

입자로 확장하여, 기존의 형광체의 신호세기를 더욱 증폭시키는 연구를 수행하고 있다.

3. 향후 연구방향 및 전망

바이오MEMS연구팀은, 현재 혈액중의 극미량의 바이오마커 단백질을 1회용 플라스틱 바이오칩상에 고정된 항체를 이용하여 심근경색증, 암 등 질병을 진단할 수 있는 연구, 초고속 PCR칩을 이용한 바이러스 진단용 DNA Lab. On a Chip 연구, 기계적 자극을 인가하여 줄기세포의 연골화 분화 촉진 연구, SPR를 이용한 진단 연구, DNA Microarray 제작방법 연구 등을 진행해 오고 있다. 향후 우리 바이오MEMS연구팀은 현재의 연구내용을 심화시켜 그 완성도를 높혀 궁극적으로는 상용화 가능한 진단칩이 될 수 있도록 추가적인 연구를 진행할 계획이다.



[그림 5] 플라스틱 (COC) SPR칩과 단색광 광학계를 이용한 유체 시료의 SPR 이미지 및 SPR 흡수도 곡선 비교