



이성온 | 한국과학기술연구원 선임연구원 | e-mail : solee@kist.re.kr

최근의 생명공학기술(Biotechnology, BT)은 정보통신기술(Information Technology, IT)을 떼고 생각할 수 없을 정도로 IT는 BT에 있어서 매우 중요한 역할을 하고 있다. BT에서 가장 중요한 전통적 툴 중 하나인 현미경도 그 예외가 아니다. 기존의 샘플을 눈으로만 관찰하는 단순 현미경이 아니라, 여러 생명 현상들을 생체 내에서 추적하고 실시간 분석을 해주는 첨단 현미경기술에서의 IT는 그 역할을 점점 더 강화하고 있다. 이 글에서는 생체현미경기술(Intravital Microscopy)에서 문제점을 극복하는 데 IT 기술이 어떻게 사용되고 있는지 살펴보기로 한다.

주지하다시피 광학 현미경은 생명 현상 연구에 있어서 빼놓고 생각할 수 없는 매우 중요한 툴이다. 최근 들어서는 다양한 바이오마커(Biomarker) 물질의 개발과 더불어 다중광양자현미경(Multiphoton Microscopes) 같은 공초점 현미경(Confocal Microscope)이 개발되면서 현미경의 역할은 점점 더 커지고 있다. 공초점 현미경은 기존의 단순 확대 현미경과 달리 조직 내를 투과하여 일정 평면을 많이 스캔할 수 있는 장점을 지닌다. 이러한 투과 특성은 관찰을 위해 샘플을 기존처럼 매우 얇게 절단할 필요가 없다는 것을 의미한다. 많게는 수백마이크로까지 투과하여 관찰을 할 수가 있다. 한편, 이와 더불어 다양한 형광 바이오 마커들이 개발되고 있다. 바이오 마커란 예를 들어 특정 단백질과 결합하여 특정 영역의 형광을 내서 지표로 사용할 수 있는 물질을 말한다. 특정 암세포에 결합하는 형광 바이오 마커를 형광 현미경과 결합하여 사용하면, 그 암의 전이 및 확장과정을 세포 및 그 이하 수준으로 관찰하는 것이 가능하다.

생체현미경기술을 이용하면 위에서 예를 든 암세포의 전이현상을 가공된 샘플 환경이 아닌 실제의 동물 모델에서 살아있는 상태로 연속적으로 관찰, 실험하는 것이 가능하다. 암을 유발하도록 유전자를 조작

하거나 실제 암세포를 소동물에 투입하여 암을 만든 후, 생체 내에서 전이 과정 연속적으로 오랜 기간 동안 살펴보거나 치료제를 투입하여 치료효과를 추적하기도 한다. 세포수준의 관찰을 위해 현미경을 사용하여 관찰을 하는데, 이처럼 생체 내에서 일어나는 현상을 현미경으로 관찰하려는 관련 기술을 통칭해 생체현미경기술이라고 한다. 생체현미경기술은 21세기를 바꿀 신기술로 선정된 바 있는 분자 이미징(Molecular Imaging)의 중요한 툴을 제공한다. 이런 생체현미경 기술에서 IT 융합기술이 사용되어 기존에 어렵고 불가능했던 일들이 쉽게 가능해지고 있다.

생체현미경기술

생체현미경기술(Intravital Microscopy)이란, 현미경을 이용하여 살아있는 생체 내의 현상을 관찰하는 관련 기술을 일컫는다. 간단히 말해, 생쥐의 몸 안에서 일어나는 현상을 보기 위해 직접 생쥐 몸 안에 현미경을 갖다 대고 관찰하는 것이다. 이를 위해, 특정 세포나 조직을 염색해주는 바이오 마커, 조직 내까지 침투해서 보여줄 수 있는 공초점 현미경, 그 밖에 여러 필요한 기술이 필요하다. 살아있는 생체는 기존의 배양

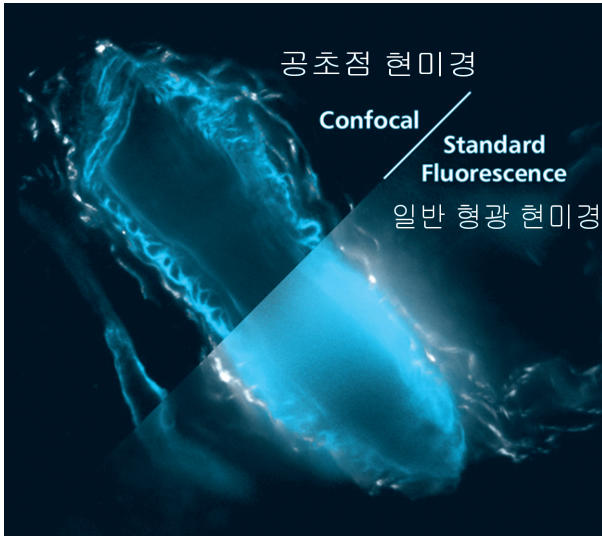


그림 1 뉴론(빨강)과 멤브레인(초록) 이미지, 공초점 현미경(위)과 일반 형광 현미경(아래)의 영상 비교 예: 공초점의 경우 특정 평면만을 스캔하므로 영상이 뚜렷하고 초점이 맞지 않아 생기는 블러링이 최소화 된다.
from <http://glinda.lrsm.upenn.edu/~weeks/confocal/>)

된 샘플 환경에 비해 당연히 가장 실제와 같은 이상적인 실험환경을 제공한다. 이러한 자연적인 환경은 실험의 정확도를 비교할 수 없이 높일 뿐만 아니라 기존에 관찰이 불가능했던 다양한 현상들을 보이게 해주으로써 여러 과학적 발견으로 이루어질 수 있다.

생체현미경기술은 현미경이 1800년대 초부터 시도되었다고 알려져 있으나, 실제로 생체 현미경 기술이 제대로 역할을 하며 중요성이 인식되기 시작한 것은 공초점 현미경 (Confocal Microscopes)과 초록 형광 단백질(Green Fluorescent Protein, GFP)이 나온 뒤인 1990년대부터이다.

생체현미경기술은 그 자체가 융합 연구의 총합체이기도 하다. 생체현미경의 핵심기술은 현미경의 핵심을 이루는 광학 기술, 특정 분자를 잘 관찰할 수 있게 해주는 바이오 마커를 개발하는 생화학 기술, 많은 양의 영상을 효율적으로 분류, 분석하게 해주는 컴퓨터 처리 기술이다.

생체 움직임으로 인한 생체현미경의 어려움

생체현미경기술을 이용 실제 생체 내에서 관찰을 할 때 몇 가지 현실적인 어려움이 있다. 접근성 문제, 투과깊이의 제한, 움직임 문제 등이 대표적으로 알려진 어려움이다.

접근성 문제란, 관찰 부분이 신체 내부의 깊은 곳에 있을 경우 접근시키기 어려운 문제이다. 피부와 같은 곳은 접근성 문제가 없으나 내장 기관인 경우 최소 절개수술(Minimum invasive surgery)을 통해 장기를 외부로 돌출시켜야 하는 문제가 생긴다. 실험 대상 기관이 깊숙이 위치한 장기인 경우 이러한 과정에서 어려움이 따르거나 관찰 대상에 무리를 주게 된다. 최근 이러한 접근성 문제를 해결하기 위해 매우 얇은 바늘과 같은 대물렌즈 등이 개발되기 하였으며, 파이버옵틱스(Fiber optics)를 이용한 초소형 현미경이 개발되기도 하였다.

투과 깊이의 제한은 X레이 등과는 달리 광학현미경의 경우 투과할 수 있는 한계가 수백 마이크로 정도에 이른다는 점이다. 따라서 조직 속 깊은 곳에서 일어나는 것은 별도의 절개 수술 등이 필요한데, 이 과정에서 원치 않는 효과가 생길 수 있으므로 유의해야 한다.

움직임 문제는 장기의 움직임으로 인한 관찰의 어려움이다. 신체의 장기 대부분은 호흡, 심장박동, 장운동 등의 영향으로 움직이게 된다. 현미경은 고배율 관찰을 하는 기구이므로 고배율로 보았을 때 이러한 미세한 움직임은 관찰을 거의 불가능하게 할 정도로 매우 크게 보인다. 예를 들어 폐와 심장의 경우 움직임이 매우 크고 빨라 아주 최근까지도 관찰을 하는 것이 불가능했다. 극단적인 예는 생쥐를 마취상태가 아닌 깨어있는 상태에서 뇌를 관찰 하려는 시도이다. 뇌과학자들이 운동과 뇌의 관계를 찾기 위해 이러한 시도를 하는데, 이 경우 생쥐의 움직임을 제한하지 않으므로 움직임이 매우 커서 기존 방식으로는

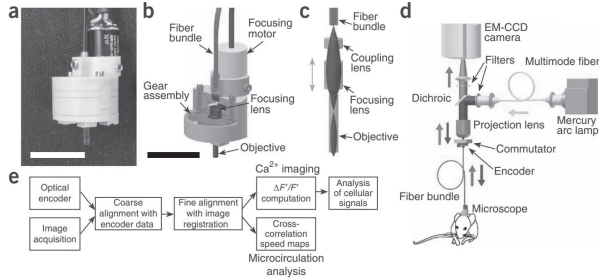


그림 2 깨어 움직이는 생쥐 뇌 이미징을 위한 초소형 형광 현미경 (a) 개발된 초소형 현미경 (b) 컴퓨터 도면 및 단면도 (c) 광학부분의 도면 (d) 조명 및 집광장치 포함 개념도 (e) 이미지 정렬 및 분석을 위한 플로 차트, 스케일바는 1cm(출처 : Flusberg et al, 2006)

관찰하는 것은 불가능하다. 다음 절에서는 이러한 움직임으로 인한 문제점들을 IT 융합기술을 이용해 어떻게 해결해 나아가고 있는지 예를 중심으로 살펴보기로 하자.

IT 융합기술로 해결된 생체현미경 적용의 문제점 예

브레인 이미징(Brain Imaging)

기존의 현미경으로는 살아 자유로이 움직이는 쥐의 뇌 활동을 관찰하는 것은 불가능했다. 현미경으로는 쥐를 따라다니며 이미징 할 수가 없기 때문이다. 미국 스탠포드 대학의 Schnitzer 교수 연구팀은 융합 기술을 이용하여 초소형(1.1g)의 부착형 현미경을 개발함으로써 이러한 문제를 해결하였다. 광학 기술, MEMS, 집적회로 기술, 영상처리 기술 등을 융합하여 초소형의 부착형 형광 현미경을 개발하는 데 성공하였다. 개발된 현미경은 무게 1.1g의 초소형으로 어른 생쥐의 머리에 부착될 수 있다. 이를 이용하여 자유롭게 움직이는 생쥐의 뇌 안에서의 뇌활동을 관찰(Ca²⁺)하는데 성공하였다.(그림 2)

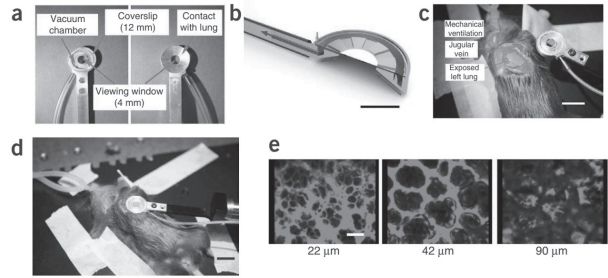


그림 3 폐 이미징을 위한 실험장치 (a) 흡입 고정 장치 (b) 흡입 원도의 단면 도면 - 빨간색, 파란색 화살표는 공기의 흐름, 스케일바 5mm (c) 이미징을 위한 수술준비, 스케일바 10mm (d) 실제 흡입 원도우 적용 사진, 스케일바 10mm (e) 해당 깊이에서의 모세혈관 및 폐포의 이미지, 스케일바 50 micron (출처 : Looney et al, 2011)

폐 이미징

호흡을 담당하는 폐는 생체 현미경 기술을 적용하는 데 어려움이 많았다. 간과 신장과 같은 장기는 움직임이 폐에 비해 적고 조직이 비교적 단단하여 기계적 고정이 가능하지만, 폐는 움직임이 매우 크고, 생명유지를 위해 호흡을 제한하기 어려우며, 또한 기계적 접촉에 조직이 쉽게 손상되어 고정을 하는 것이 어려웠다.

2011년에 Looney 등은 공장에서 깨지기 쉬운 물건 등을 들어 올릴 때 사용하는 진공 흡입 방식에 착안하여 폐를 살짝 들어 올려 고정하는 소형 기계장치를 개발하였다. 이를 이용하여 폐를 커버 글라스에 고정하여 이미징 하는 데 성공하였다.(그림 3)

심장 이미징

생쥐의 심장은 사람에 비해 5~10배 정도 빠르게 된다. 마취되었을 경우 1분에 약 300번 정도 박동친다. 또한 바로 뒤에 위치한 폐의 움직임이 전달돼 심장도 함께 움직이게 된다. 심근세포 자신의 움직임과 호흡으로 인한 움직임이 더 해져, 고배율 현미경에서 심장을 관찰이 거의 불가능하였다. 기계적 고정은 심근 경

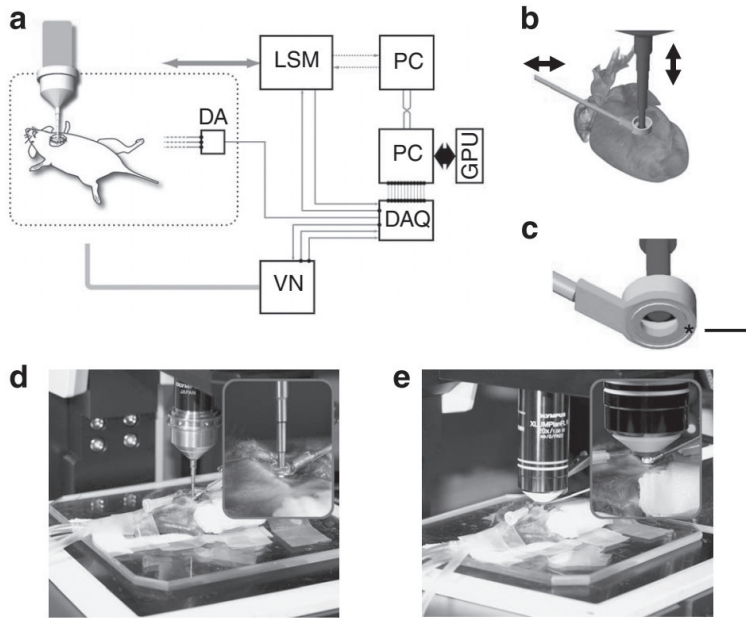


그림 4 심장 이미징을 위한 실험 셋업 (a) DA 차동엠펜, DAQ 데이터 획득 카드, GPU 그래픽처리 유닛, LSM 레이저스캐닝현미경, VN 인공호흡장치, DAQ를 통해 ECG 및 폐의 압력 시그널을 측정 움직임이 최소화된 부분을 영상 내에서 찾아줌 (b, c) 움직임 안정화 장치 (d, e) 실제 실험 모습(출처 : Lee et al, 2012)

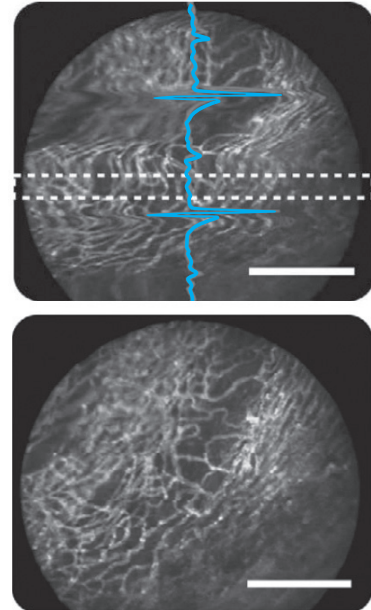


그림 5 고배율 관찰 시 나타나는 영상왜곡 (좌)을 생체신호를 이용한 영상처리를 이용하여 왜곡없는 영상으로 복원함 (우). 스케일바 200 μ m(출처 : Lee et al, 2012)

색을 유발하여 관찰 대상에 치명적이므로 이 또한 매우 어려웠다. 이런 이유로 생체 현미경 기술을 적용하기에 현실적으로 가장 어려운 장기가 심장이라고 알려져 있었다.

최근에 Lee 등은 IT 융합기술을 이용 심장 이미징에 성공하였다. 심장을 무리한 힘을 가하지 않고 잡아주는 정밀기계장치와 심전도등 바이오 시그널을 처리하는 신호 처리 기술, 영상을 빠르게 복원해주는 영상처리 기술을 융합하여 심장 이미징 기술을 개발한 것이다. 심장을 무리 없이 고정시키기 위해서 FDA를 승인을 얻은 수술용 접착제가 사용되었다. 이를 이용 압력을 가함이 없이 심장을 고정하므로 압력 방식으로 생길 수 있는 심장의 무리를 최소화 하였다. 움직임을 최소로 만든 후 남아있는 움직임은 영상처리로 제거되었다. ‘게이팅’ 기법을 이용하여 심

장의 움직임이 최소가 될 때를 찾아내 이때 얻어진 영상만을 재조합하여 하나의 왜곡 없는 영상을 재구성해낸다. 바이오 시그널 처리 및 영상조합을 실시간으로 하기 위해 GPU(Graphic Processing Unit)를 도입하여 사용하였다.(그림 4, 5)

BT 연구에 있어 빼놓을 수 없는 장치인 현미경에서 어떻게 IT 융합기술이 문제점을 해결하고 있는지 최근의 몇 가지 예를 통해 살펴보았다. 이 밖에도 뇌의 신경세포의 활동 지도를 작성하기 위한 영상 분석이라든지 수많은 세포의 진행 상태를 판단하기 위한 영상처리 및 통계 분석 등 여러 IT-BT 융합 결과들이 네이처와 같은 주요 저널에 소개되고 있다. IT 기술은 이제 BT에서 빼고 생각할 수 없이 중요한 틀이 되었다. 융합연구는 이제 선택이 아닌 필수인 셈이다.