THEME 02

BioMEMS 기술을 이용한 바이오 샘플의 정량적 분석방법

김 준 원 | 포항공과대학교 기계공학과 부교수 | e-mail : joonwon@postech.ac.kr
김 호 진 | 포항공과대학교 기계공학과 통합과정 | e-mail : kekezoro@postech.ac.kr

이 글에서는 DNA, 단백질 등과 같은 생체분자(biomolecule)뿐만 아니라 세포 수준에서의 정량적 분석(quantitative analysis)을 위한 강력한 도구로서 마이크로어레이 기반의 바이오멤스 기술에 대해 소개하고자 한다.

최근 수십 년 동안 생명공학, 의료, 제약 분야 등에서의 바이오 기술(Biotechnology: BT)은 초소형전자기계시스템(Microelectromechanical systems: MEMS) 기술과의 접목을 통해 눈부신 발전을 이룩하였다. BT와 MEMS 기술을 접목한 분야를 바이오멤스(Bio-MEMS)라고 하며, MEMS 기술의 생물학적 구조체(biological structure)와 비슷한 크기 구조물의 정밀한 제작, 고민감도의 전기와 광학적 신호 전달 및 감지, 정밀한 시간과 공간 제어 능력 등을 장점으로 하여 기초생물학 연구뿐만 아니라 신약개발, 진단 등 분야에서 활발히 응용되고 있다. 대표적인 응용 예로 바이오칩 기술이 있으며, 분석하고자 하는 샘플의 종류에 따라 DNA 칩, 단백질 칩, 세포 칩 등으로 나뉜다. 최근에는 돌연 변이 유전자(mutant gene)와 복제 생물(environmental clone) 등에 의한 샘플과 다양한 합성에 의한 시약 종류의 증가로 인하여 고속대량으로 샘플들을 처리할 수 있는 능력이 필수적으로 이러한 칩들에 요구되고 있다.

이런 관점에 입각하여 초고속 스크리닝(high-throughput screening)과 마이크로어레이 기반의 기술들이 지속적으로 성장과 발전하고 있다. 초고속 스크리닝 기술에는 집속유동 분석(flow cytometry), 레이저 스캐닝(laser scanning cytometry), 모세관 전기영동(capillary electrophoresis) 등이 있으며, 그 중에서도 집속유동분석방법이 가장 성공적인 사례라 할 수 있다. 접선유동을 이용하여 유입되는 샘플들을 하나의 열로 집속한 후 개별 샘플들로부터 전기 또는 광학적 신호를 측정하는 기술로 초당 백만 개까지의 샘플 처리 능력을 가진다. 하지만, 개별적인 샘플들에 대한 공간 분해능(spatial resolution)이 떨어지기 때문에 구체적인 정보(예를 들어, 형광발현 부위(fluorescence localization))를 얻는 데 제한적이다. 이와는 달리 마이크로어레이 기반의 시스템들은 고속대량 처리의 목적으로 하나의 칩 상에 수백 개에서 수천 개 이상의 샘플들을 고정화하는 기술을 이용한다. 집속유동 방식에 비해 샘플의 처리속도는 다소 느리지만, 고정된 샘플을 측정함으로써 공간분해능이 뛰어나고 샘플로부터의 신호를 실시간, 장시간 관찰할 수 있어 분자간 상호작용, 세포의 조절 기전(cell regulating mechanisms) 등을 밝히는 데 유용한 기술이다.

최근에는 미세유체공학(microfluidics) 기술과의 접목을 통해 바이오 샘플들의 정량적 분석을 위한 차세대 플랫폼으로 많은 기대를 모으고 있다. 미세유체공학을 기반으로 한 기술들은 매우 소량(즉, 피코리터 수준)의 액체를 정밀하게 다루는 능력을 앞세워, 생물학 실험을 간소화(즉, 칩의 소형화, 샘플 및 시약 사용량의 감소, 분석 시간과 비용의 감소)함으로써 시스템

의 병렬화를 용이하게 한다. 또한, 미세유체 칩에서의 유동은 대부분 층류를 형성하기 때문에 복잡한 채널 네트워크 내 유동의 특성을 예측하고 조절하기 쉬우며, 그런 특성을 활용하여 칩 내 분석 공간들에 동일한 환경(예를 들어, 세포외 기질, 시약의 농도, 유체의 유동 속도 및 온도와 같은 물리적 환경 등)을 제공할 수 있다. 이는 샘플들을 정량적으로 특성화하는 데 매우 중요하다.

이 글에서는 바이오 샘플의 정량적 분석을 위한 강력한 도구로서 정적(static)과 동적(dynamic) 마이크로어레이 기반의 바이오멤스 기술들을 소개하고자 한다.

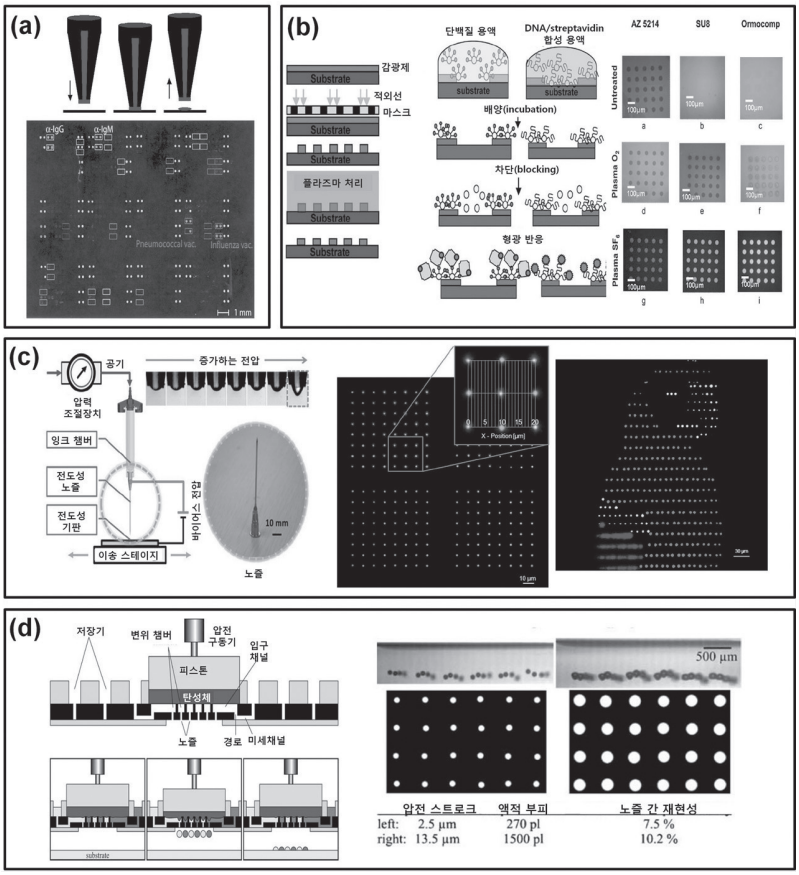

그림 1 정적 마이크로어레이의 예
(a) 미세접촉인쇄 기법을 통해 제작된 자가항체 마이크로어레이 (b) 포토리소그라피를 통해 제작된 마이크로어레이 (c) 전기수역학 프린팅 시스템. 서브 마이크론 크기 샘플들로 구성된 마이크로어레이 (d) 병렬화된 분주시스템를 통해 제작된 다중 샘플 마이크로어레이

정적 마이크로어레이

정적 마이크로어레이란 고체상의 평면 위에 생체분자(bio molecules) 또는 화학물질(chemicals) 등이 미세 점(micro spot)의 형태로 배열된 것을 지칭하며, 크게 미세접촉인쇄(micro contact printing), 포토리소그라피(photo lithography), 미세분주(micro dispensing) 기술 등을 활용하여 제작할 수 있다.

미세접촉인쇄 기법은 MEMS 기술을 통해 제작된 구조물을 주형으로 사용하여 다양한 샘플들을 고체표면상에 접촉시켜 복제하는 기술이다. 그림 1(a)는 미세핀 형태의 노즐을 가지는 다수의 프린트헤드를 활용하여 제작된 자가항원(autoantigen)어레이로, 인간 또는 동물의 혈청 속 이미 알려진 자가항체(auto antibody)와의 자가면역 반응(autoimmune response)을 관찰하였다. 다수의 자가항원 및 혈청을 극소량만 사용함으로써 저비용의 자가항체 진단 가능성과 아직까지 알려지지 않은 많은 자가면역 반응과 관련된 현상을 규명하기 위한 도구로서 소개되었다.(WH Robinson 등, Nat. Med. 2002, 8:295-301 논문에서 인용)

다른 방법으로는 포토리소그라피를 통해 제작된 미세구조물 상에 단백질이나 DNA 등을 선택적으로 코팅하는 기술이 있으며, 미세접촉인쇄 기법에 비해 월등히 높은 균일도(uniformity)와 함께 고밀도(high-

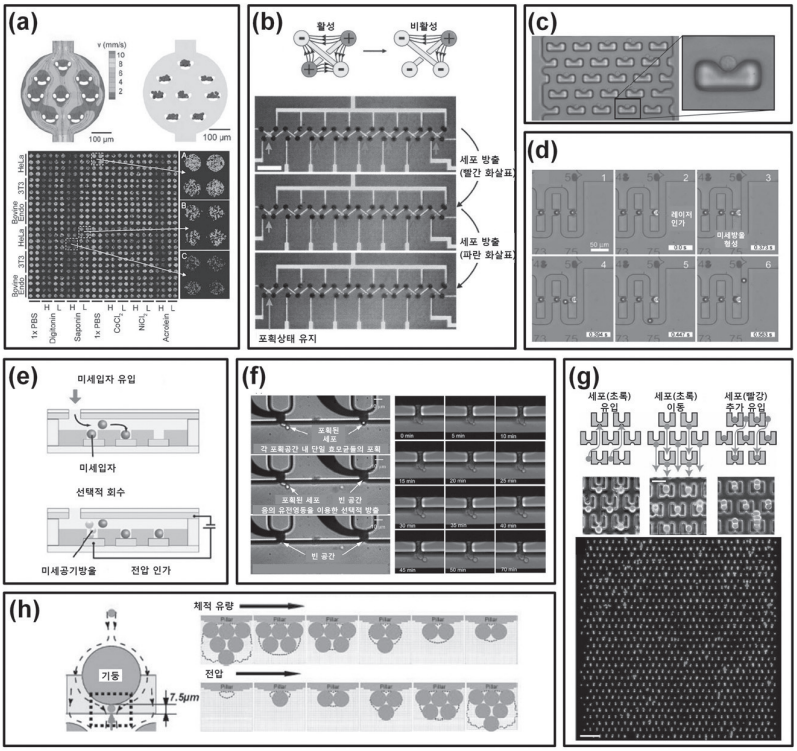

그림 2 동적 마이크로어레이의 예
(a) 다중 세포독성 시험 기술 (b) 유전영동 기반의 사중극 포획 장치를 이용한 기술 (c) 동적 단일세포 배양기술 (d) 동유체력과 미세공기방울을 이용한 기술 (e) 마이크로웰과 미세공기방울을 이용한 기술 (f) 유전영동과 흡입력을 이용한 기술 (g) 세포 페어링과 융합 기술 (h) 유전영동과 정체점을 이용한 기술

density)의 어레이 제작이 가능하다(그림 1(b)). 단백질 결합 분석법(protein binding assay)을 통해 다양한 포토감광제로 구성된 미세구조물에 SF6 가스로 표면처리하였을 때, 유리표면 대비 단백질 흡수율(absorption)이 최대 40배 이상 나옴을 확인하였다.(A. Malainou 등, Biosensors and Bioelectronics 2012, 34:273-281 논문에서 인용)

최근, 미세분주 시스템들을 이용하여 마이크로어레이를 제작하려는 연구들이 활발히 진행되고 있다. 이와 같은 기술들은 별도의 주형이나 마스크 없이 자유롭게 평면 상에 샘플을 패터닝 할 수 있어 맞춤형 제작이 용이하다. 특히, 전기수역학프린팅(electrohydrodynamic jet printing)시스템은 기존 분주시스템들(압전구동, 열구동 등)의 한계였던 수십 마이크론 수준의 해상도를 넘어서 서브 마이크론 수준의 고해상도와 함께 고정밀 분주 기술을 선보임으로써 마이크로어레이 칩의 소형화를 더욱 가속화시켰다. 또한, 다수의 프린트헤드를 활용하여 하나의 칩 상에 다양한 샘플을 분주할 수 있음을 보였다(그림 3(c), JU Park 등, Nat. Materials, 2007, 6:782-789; E Sutanto 등, J. Micromech.Microeng. 2012, 22:045008 논문들에서 인용). 다수 샘플의 패터닝 기술은 한 번의 스크리닝에 많은 정보를 얻을 수 있기 때문에 매우 유용하다. 그림 4(d)는 압전소자(piezo material)의 이동에 의해 그 아래에 탄성 층이 변형되어 노즐 끝단의 샘플들을 밀어내는 방식으로 분주하는 시스템으로서 각 노즐은 다른 샘플들로 채워질 수 있어 빠른 시간 내에 다수의 샘플을 칩 상에 효과적으로 분주할 수 있다.(CP Steinert 등, Biomed. Microdevices, 2009, 11:755-761 논문에서 인용)

동적 마이크로어레이

고체상의 평면이 아닌 마이크로비드와 같은 이동체를 기질(substrate)로 하여 생체분자 및 화학물질을 고정화한 것으로 정적 마이크로어레이와 구분화할 수 있으며, 상대적으로 고 표면적-체적 비를 가져 반응속도, 감지 민감도가 증가한다. 세포 기반의 어레이 역

시 이에 속한다고 할 수 있다. 그림 2(a)는 576개의 미세챔버를 가지는 미세유체 칩으로, 각 챔버는 세포 포획 체를 통해 동일한 수의 세포를 수집한다. 행 방향으로 다양한 종류의 세포를 주입하고 열 방향으로 다양한 종류의 독소(toxin)를 농도별로 주입함으로써 하나의 칩상에서 다중의 세포 독성시험(cell cytotoxicity screening)을 하는 데 성공하였다.(Z Wang 등, Lab Chip, 2007, 7:740-745 논문에서 인용)

하지만, 최근에는 동형 세포 내에서도 세포간 이질성이 드러나면서, 집단 측정(bulk measurement)보다는 단일 세포 수준에서 분자 표지(molecular signature)를 측정하는 기술이 필요하게 되었다. 그림 2(b)는 유전영동(dielectrophoresis) 기반의 단일 세포 포획기술을 보여준다. 사중극(quadrupole) 포획장치를 이용하여 연속 유동(continuous flow)상태에서 장시간 세포를 포획함으로써 인간 전골수성 백혈병(HL-60) 세포의 칼세인(calcein)에 대한 동적 반응을 관찰하였다. 또한, 어레이 수준으로 세포를 포획하고 표적 세포들의 선택적인 회수 기능을 보여줌으로써, 동적 마이크로어레이의 장점을 극대화하였다. 하지만, 신뢰성을 가지는 정량적 분석을 위해 고밀도의 어레이가 요구되며, 이때 외부 신호와의 연결을 위한 전기 패드 수의 증가로 인해 칩의 크기가 커지기 때문에 그 수가 제한된다.

반면에 동유체력 기반의 반투성(semipermeable) 구조물의 포획장치로의 활용은 하나의 미세유체 칩에 고밀도의 포획장치 직접화(integration)를 용이하게 하였으며(그림 2(c), DD Carlo 등, Lab Chip, 2006, 6:1445-1449 논문에서 인용), 포획장치 아래에 패터닝된 전극에 레이저로 줄 가열하는 것에 의해 유발된 미세공기방울을 이용하여 표적 미세입자들의 선택적인 방출 기능도 구현하였다(그림 2(d), WH Tan and S Takeuchi, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 104:1146-1151 논문에서 인용). 또한, 동일한 방출 메커니즘에 마이크로웰 구조를 포획장치로 사용하여 상대적으로 고밀도의 어레이를 구현하였다.(그림 2(e), T Kurakazu 등, Sensors and Actuators B, 2011, 159:229-233 논문에서 인용)

그림 2(f)는 양의 유전영동과 흡입력을 결합한 접촉 방식의 포획 기술로 수 마이크론 크기의 비드 및 효모세포(yeast cell)를 단일 수준으로 포획한 후 성장시키면서 발아(budding) 과정을 관찰하였고, 음의 유전영동을 이용하여 선택적으로 방출하였다.(Z Zhu 등, Lab Chip, 2012, 12:906-915 논문에서 인용)

비드 및 세포 페어링(pairing)과 관련된 연구도 분자, 세포간 상호작용(cell-cell communication)을 밝혀냄으로써 단일 세포 분석과 더불어 복잡한 생물학적 시스템을 이해하는 데 있어 매우 중요한 분야이다. 또한, 신뢰성을 가지는 정량적 분석을 위해서 어레이 구조는 반드시 수반되어야 한다. 그림 2(g)는 미세유체 칩을 이용하여 이형(heterotypic) 세포들간 페어링에 성공함으로써 고효율의 세포융합 기술을 소개하였다(AM Skelley, Nat. Methods 2009, 6:147-152 논문에서 인용). 그리고 정체점(stagnation point)과 유전영동을 이용하여 임의의 수의 비드들을 조작하는 기술도 개발되었다.(그림 2(h), HH Cui and KM Lim, Langmuir, 2009, 25:3336-3339 논문에서 인용)

지금까지 소개된 것처럼 마이크로어레이 기반의 바이오멤스 기술들이 바이오 샘플들을 정량적으로 분석하기 위한 도구로 잠재적 가능성을 보였다. 앞으로 마이크로어레이 시스템의 소형화, 자동화, 병렬화에 더욱 초점을 맞춘다면 질적, 양적, 비용적 효율 상승을 통해 복잡한 생물학적 시스템 내 현상들을 밝혀내는 것은 물론, 신약 개발 및 질병 진단 등을 위한 강력한 도구로 활용될 것으로 기대한다.