



THEME 04

감염성 질환의 진단을 위한 BioMEMS 연구개발 동향

이진기 | 성균관대학교 기계공학부 조교수 | e-mail : lee.jinkee@skku.edu
변도영 | 성균관대학교 기계공학부 교수 | e-mail : dybyun@skku.edu

BioMEMS(MicroElectroMechanical System) 기술은 MEMS 기술을 바이오 분야에 적용함으로써 극소량의 체액(피·타액 등)으로 각종 진단·검사를 신속하게 처리할 수 있어, 기존 중대형 의료기기의 소형화, 고기능화 및 저렴화가 가능하게 하는 기술이다. 최근 유전자 정보가 규명되면서, 정보통신기술과 접목이 더욱 가속화되고 있고, 인간의 유전자 정보를 활용한 새로운 의약품 개발과 유전자 진단기구나 의료 시술이 눈부시게 발달하고 있다. 이 글에서는 바이오칩에서 큰 주목을 받고 있는 분야인 랩 온 어 칩, 특히 감염질환인 인플루엔자 등의 진단을 위한 연구 동향을 살펴본다.

감염병

감염병이란 세균, 바이러스, 기생충 등의 병원체가 인간이나 동물에 침입하여 그 장기에 자리 잡고 증식하는 것을 총칭하여 감염이라고 하며, 이 감염에 의한 증세의 발현을 감염증이라고 한다. 감염에는 전혀 증세가 없이 면역만 생기는 불현성 감염과, 증세가 나타나는 현성 감염이 있으며 때로는 감염증과 전염병을 동의어로도 쓰나, 전염병은 감염증 중에서도 그 전염력이 강하여 소수의 병원체로도 쉽게 감염되고 많은 사람들에게 쉽게 옮아가는 질병을 말한다. 물의 오염으로 인한 장티푸스나 이질, 공기전염에 의한 홍역·감기·디프테리아·결핵, 모기에 의한 일본뇌염과 말라리아, 성 접촉에 의한 성병 등은 흔히 볼 수 있는 전염병의 예이다.

인플루엔자(Influenza: 유행성감기)는 오소믹소바이러스과의 인플루엔자 바이러스가 유발하는 감염성 질환을 뜻하며 보통 독감이라고 부른다. 인플루엔자는 항원변이를 일으켜 면역력이 없는 인간집단에 대규모 유행을 일으킬 수 있기 때문에 국제적인 감시를

통한 대비가 필요한 공중보건학적으로 중요한 질병이다. 인플루엔자는 A, B, C형이 존재하며 B형과 C형은 A형에 비해서 숙주의 범위도 작고 유행도 잘 일어나지 않는다. 반면 인플루엔자 A형의 경우, 야생 수생 조류가 여러 종류의 인플루엔자 A의 자연 숙주 구실을 하며 종간의 전염을 통해 아주 큰 유행을 일으킬 수 있어 인플루엔자 중 가장 독력이 강하다. A형 인플루엔자 바이러스의 종류는 혈구응집소(hemagglutinin: HA)의 특성에 따라 16종(H1-H16)으로 나뉘며, 각각 뉴라미니다제(neuraminidase: NA)가 나타내는 특성에 따라 다시 9종(N1-N9)으로 구분되어 총 144 종의 아형이 존재할 수 있다. 그 중 가금류에서 고병원성 조류 인플루엔자(HPAI)를 일으키는 조류 인플루엔자 바이러스는 모두 H5형이나 H7형이며, 현재 H5N1, H5N2, H7N1, H7N2 가 대표적으로 가금류에서 조류 독감을 일으키는 바이러스 아형이다. 인플루엔자의 정보를 더 정확하게 표시하기 위해 A/Fujian/411/2002(H3N2)와 같은 형식을 사용하는데 이것은 바이러스 종류(A,B,C)/발생지역/균주번호/발생연도(바이러스 H/N세부종류)이다.

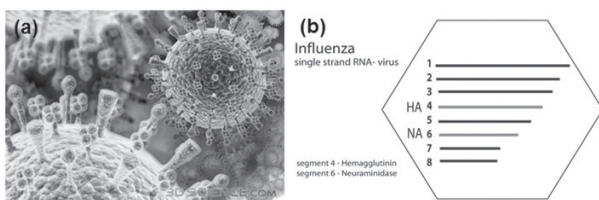


그림 1 (a) 표면 단백질의 형상을 보여주는 인플루엔자 바이러스의 개념도 (b) HA와 NA 아형 분류

인플루엔자 바이러스는 인류와 가까운 생태환경에서 주기적으로 항원의 변이를 일으키며, 매년 크고 작은 유행을 일으킨다. 항원 변이의 크기에 따라 유행과 질병의 중증도가 달라지고 항원 대변이(antigenic shift)에 따른 대유행으로 역사적으로 인류에게 많은 희생을 일으켰던 질병이다. 인플루엔자 대유행은 드물게 발생하지만, 반복적으로 일어나서 이전 100년 간 (20세기)에 여러 차례 발생한 바 있다. 1918년의 스페인 인플루엔자(H1N1), 1957년의 아시아 인플루엔자(H2N2), 1968년의 홍콩 인플루엔자(H3N2), 그리고 최근 조류 인플루엔자(H5N1)와 2009년 신종 인플루엔자(H1N1 인플루엔자 A)가 그것이다. 1918년 대 유행 때 전 세계적으로 약 4,000만~5,000만 명이 사망한 것으로 추정된다. 당시 대유행은 인류역사상 가장 치명적인 질병이었다. 이후 대유행은 그 정도가 훨씬 경미하여, 1957년과 1968년 각각 200만 명과 100만 명의 사망자가 발생했고, 2009년 총 1만 4,328명의 사망자가 발생하였다.

인플루엔자는 숙주로부터 변이를 통해 인간에게까지 영향을 줄 때 대 유행이 일어난다. 조류 인플루엔자의 경우를 보면, 조류 인플루엔자는 주로 조류를 감염시키는 다양한 인플루엔자 바이러스 대규모 집단으로 드물게는 이런 조류 바이러스는 돼지와 인간을 포함한 다른 종을 감염시킬 수도 있다. 대다수의 조류인플루엔자 바이러스는 인체감염을 일으키지 않지만 이전에 인간에서 유행하지 않은 신종 아형이 출현할 때 인플루엔자 대유행이 발생한다. 이런 이유로, 사람간

Antigenic "Shift" Pandemic Model

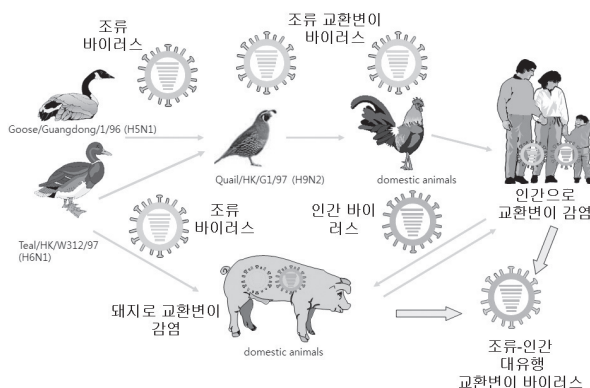


그림 2 항원 대변이(antigenic shift)에 따른 대유행 모델

전과 가능한 바이러스로 변이될 수 있는 H5N1 조류 인플루엔자 바이러스는 대유행의 잠재성이 있는 바이러스다. 일단 이런 변이가 일어나면, 더 이상 조류 바이러스에 머무르는 것이 아니라, 인체감염 인플루엔자 바이러스가 되고 인체에 대한 적응도가 높아진 신종 인플루엔자 바이러스의 출현으로 인플루엔자 대유행이 발생한다.

인플루엔자의 기존 진단기법

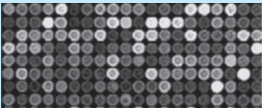
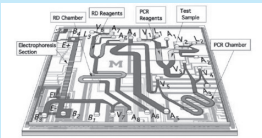
현재 진단검사의 바이러스를 직접 검출하는 기법과 바이러스에 대한 면역반응을 이용한 기법이 주를 이루고 있다. 그러므로 진단검사로는 바이러스의 항원-항체반응을 통한 검출법과 바이러스 핵산의 반응을 이용한 법으로 크게 구분할 수 있다.

항원의 검출 : 신속진단키트와 면역형광법

신속항원검사법은 인플루엔자 바이러스의 뉴클레오단백질을 항원으로 발견하는 검사법으로 30분 이내에 검사 결과를 얻을 수 있다. 면역크로마토그래피(immunochromatography) 기법과 나노 메탈을 이용한 신속진단 키트는 신속한 판별이 가능하고 또한 전문



표 1 현재 사용 중인 여러 가지 인플루엔자 진단 기기의 특성

테스트 형태	휴대여부	반응속도	특정성	모니터링	신호증폭	열 사이클
<p>테스트 형태</p> 	+	+	-	단백질	-	-
<p>역전사 실시간 PCR</p> 	-	-	+	유전자	+	+
<p>올리고뉴클레오티드 어레이 (Oligonucleotide arrays)</p> 	-	-	+	유전자	+	+
<p>PCR 마이크로칩</p> 	+	-	+	유전자	+	+
검출기기 요구성능	+	+	+	유전자	+	-

적 인력이 필요하지 않으나, 사용자의 육안으로 판별하기 때문에 객관적인 데이터를 얻기가 어려우며 데이터 축적에 어려움이 있다. 또한 신속항원검사법으로 인플루엔자 A가 양성으로 나왔을 때 인플루엔자 A의 아류형(subtype)까지 구분할 수는 없다. 신속항원 검사법의 민감도는 10~70%로 보고되고 있고 음성결과가 나온다 하더라도 위음성을 고려하면 인플루엔자 감염을 배제하기는 어렵다. 면역형광법은 1~4시간 정도의 검사 시간으로 검체에 있는 호흡기 상피 세포 침전물에 인플루엔자 바이러스 특이항체로 염색하여 바이러스를 감지하는 진단방법이다. 면역형광법 또한 인플루엔자 A와 B를 구분할 수 있지만 인플루엔자 A의 아류형까지 구분하기 어렵다. 신속항원 검사법에

비해서는 높은 민감도를 가지고 있으나 기존의 제품에 사용되는 FITC 등의 일반적인 형광 물질은 빛에 노출 시 형광 활성이 저하되고 반감기가 짧아지며 불안정한 특성을 갖고 있어 검사나 보관 시에도 빛에 노출되는 것을 최대한 방지해야 하는 등 취급이 까다롭다.

핵산 반응 : 역전사 중합연쇄반응

역전사 중합연쇄반응(RT-PCR: Reverse Transcriptase-polymerase Chain Reaction)에서는 RNA가 먼저 역전사 효소에 의해 역전사되어 cDNA를 만들고, 만들어진 cDNA가 기존의 중합연쇄반응이나 실시간 중합연쇄반응을 통해 증폭하는 방법이다. 인플루엔자의 검출을 위해서는 일반 역전사중합효소연쇄반

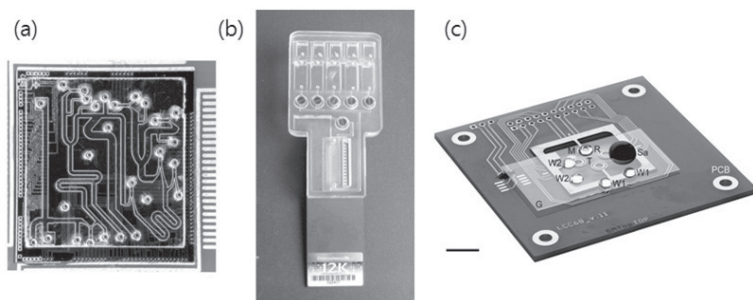


그림 3 (a) 2005년 미시간대학의 Mark A. Burns 그룹의 집적화된 유전자 분석 소자(genetic analysis device), (b) CombiMatrix 사의 마이크로 유체 어레이 소자, (c) 2007년 Juergen Pipper 등의 액적을 제어하여 H5N1 인플루엔자 (A/chicken/Hubei/327/2004)를 검출한 BioMEMS 소자

응, 실시간 역전사 중합효소연쇄반응(real-time reverse transcriptase PCR: rRT-PCR), 다중 역전사중합효소연쇄반응(multiplex RT-PCR) 등의 핵산 검사를 통하여 검사하고 있고, 이중 rRT-PCR이 많이 이용되고 있다 실시간 PCR 기법을 이용한 진단은 면역적 기법을 이용한 진단에 비해 감염여부의 정확도가 높은 반면, 다양한 실험 기자재 및 장비가 필요하여 장소의 제약이 있으며 고도로 훈련된 인력이 필요하다. PCR은 예민도가 매우 높은 검사법으로서, 실험실 내에서 검체간 교차오염을 주의하여야 한다.

인플루엔자 진단을 위한 BioMEMS 기술

최근 들어 사용자의 기기에 대한 요구조건과 민감도 향상을 위해 BioMEMS 기술을 이용한 기술이 개발되어가고 있다. 사용자는 일반 항목으로 조작의 간편성, 짧은 전처리시간, 낮은 구매가격, 이동성을 요구하고 있으며 기능 항목으로 높은 감도, 안정적인 정량성, 동시 다성분 분석, 그리고 측정 데이터의 저장 및 추적성 확보 등을 요구한다. 따라서 위와 같은 요구사항을 만족시키기 위해 마이크로칩을 통한 검출기법, 특히 빠르고 정확한 검출을 위해서 다양한 연구가 진행되고 있다.

표 1에서 보여주는 것과 같이 면역크로마토그래피 멤브레인 기술의 경우에는 빠른 신속키트로서 많이 보급되어 있으나 낮은 민감도를 가지고 있다. 그리고 기존의 rRT-PCR기술을 사용하는 기기의 경우에는 휴대용 기기로의 전환에 어려운 점이 있다.

BioMEMS 기술을 이용하여 분석하는 기술을 연구한 것은 2005년부터이다. 2005년 미시간 대학의 M.A. Burns 그룹은 집적화된 유전자분석 어레이 소자를 개발하였다. 이 마이크로 기기는 PCR 및 RD 반응과 겔 전기영동(gel electrophoresis)을 통해 검출하고자 하는 DNA의 존재 유무를 판독한다. 이 기기를 통하여 690bp의 A/LA/1/87 인플루엔자로부터 복제, 생산된 HA1 RNA를 35차례 thermal cycling(약 22분 간)시켜 증폭하고, 약 10분 간의 RD 반응으로 통해 145bp와 545bp 두 가지로 잘라 분해하였다. 그 후, 분해된 두 개의 dsDNA를 전기영동을 통해서 분석함으로써 인플루엔자의 존재를 확인할 수 있었다. 이 방법은 특정 인플루엔자가 효소에 의해 분해되는 요소의 길이를 알고 있을 때만 검출이 가능한 기법이나, 마이크로 칩을 개발해 냈다는 점은 큰 의미가 있다. 2006년에는 Combi Matrix Corp.에서 인플루엔자 A의 아류형 특정(identification)과 시퀀싱(sequencing)을 할 수 있는 마이크로칩 소자가 개발되었다. 이는 약 1만 2,000개의 DNA 어레이가 집적된 카트리지를 삽입하여 작동하게 된다. 이 경우에는 마이크로유체 기술과 어레이 기술의 접목을 통해서 자동화를 이루었으나 시료전처리와 분석 등의 방법이 마이크로어레이의 틀을 넘지 못하므로 오랜 시간과 실제 상용상의 불편함으로 인해 휴대화에는 어려움이 있다. 2007년 Juergen Pipper 등은 마이크로유체 채널이 아닌 액적을 이용하여 H5N1 인플루엔자(A/chicken/Hubei/327/2004)를 검



출한 논문을 발표하였다. 이 연구에서 viral RNA의 분리, 정제, 전처리 농축을 droplet을 제어하여 수행하며 viral RNA의 양이 기존기술에 비해 500배 늘었다고 발표했다. 상용화되어 있는 검출기술에 비하여 4.4배 빠르고 20~50배 저렴하다고 논문에서 밝혔다. 위와 같은 기술은 BioMEMS의 고집적화를 통하여 적은양의 제어, 증폭, 분석 등을 하지만, 열 사이클 PCR 기술을 포함하여 반응의 속도가 느린 단점이 있다. 따라서 최근에는 검출 속도를 증가시키기 위해서는 열 사이클을 사용하지 않는 기술이 요구되며 현재 연구 개발이 진행 중에 있다.

가장 최근인 2012년 브라운 대학의 애눅헤이 트리패씨(Anubhav Tripathi)그룹은 SMART(A Simple Method for Amplifying RNA targets)를 개발하였다. 이는 열사이클을 사용하지 않는 NASBA(nucleic acid sequence-based amplification) 증폭법을 이용하며 바

이러스 RNA의 유무를 판별하는 방법이다.

지금까지 인플루엔자의 종류와 발현하는 경로, 기존의 분석기기와 BioMEMS 분석기기에 대한 연구를 간략히 다루어 보았다. 앞서 언급한 대로 감염병은 인간이 살아가면서 계속적으로 접하고 유전자 변이를 통해 다양한 경로로 발현되는 것을 감안한다면 인류가 존재하는 한 계속해서 연구되어야 할 주제이다. 최근에는 학문의 고유분야보다는 여러 가지 학문들이 서로 유기적으로 융합되어 활발한 교류와 연구가 수행되고 있기 때문에 더욱 효과적인 감염병의 진단을 위해 기계공학 도에게 유체역학, 전달현상 등의 분야뿐 아니라 재료, 화공, 생물, 화학, 물리 등의 타학문의 이해가 요구된다. 더 나아가 BioMEMS 분야는 현재의 진단기기 영역 뿐 아니라 환경, 생체모사, 마이크로 생체, 뇌과학 등 더 포괄적인 융합연구가 이루어질 것이다.



기계용어해설

접선 키(Tangent Key)

키 홈을 축의 접선 방향으로 내어 서로 반대 방향의 구배를 가진 2개의 키를 짝지은 것으로, 플라이 휠과 같이 무거운 물건이나 급격한 속도변화가 있는 부분을 강력하게 체결하는 방법의 일종.

크로스형 가스터빈(Cross-Compound Gas Turbine)

고압 압축기를 저압 터빈에서, 저압 압축기를 고압 터빈에서 구동시켜 가스 터빈의 성능을 높이는 형식의 일종.

유성 기어(Planetary Gear)

맞물리는 1쌍의 기어 한쪽은 고정되어 있고, 다른 쪽은 이와 맞물린 상태로 그 주위를 회전하는 기구의 기어 전동장치.

플라스마 아크법(Plasma Arc Process)

기계적, 전기적으로 수축된 플라스마 기둥을 지닌 아크가 발생하는 고밀도의 열로 용접, 절단 등을 하는 방법.

탄탈륨(Tantalum)

강과 비슷한 광택이 나는 금속으로 비중은 16.6이며 산, 알칼리에 침식되지 않고, 전구의 코일선, 도가니, 전극, 내열강의 첨가물 등으로 쓰이는 희유원소의 일종. 원소기호 Ta.

태코제너레이터(Tachometer Generator)

측정하고자 하는 구동축에 발전기를 장착하고, 발전기에서 발생한 전력을 측정하여 축의 회전수를 측정하는데 쓰이는 속도계용 발전기.