계명대학교 Micro Bio Techonology 연구실
Micro Bio Techonology Laboratory (MBTL)

허윤석† · 강승희 · 김민영 · 성룡 · 타파 시마 · 타파 무케시 · 강혜원 · 채혜송

계명대학교 의과대학 의용공학과

1. 서 론

계명대학교 의과대학 의용공학과 소속의 미세생체역학 연구실(Micro Bio Technology Laboratory, MBTL)은 2012년 설립된 이후, 미세유체 제어기술, 생체모사 세포배양 시스템개발, 진단바이오센서 개발 등 공학과 의학을 아우르는 융합 연구를 진행하고 있다. 연구실 인원은 2020년 현재 박사과정 2명, 전문 연구원 3명, 학부과정 다수 인원으로 구성되어 있다.

현재 MBTL은 세 가지 주제로 연구를 진행하고 있다.

1) 난관(oviduct)의 물리, 화학적 환경을 모사한 '생체모사 세포배양 시스템(in vivo like microfluidic cuture device)'의 개발
2) 인체 유래물 내의 물질대사 작용에 영향을 미치는 바이오마커(biomarker)를 검출 및 측정하기 위한 Bioassay 기술 개발
3) 항체센서(immunosensor)를 이용한 특정 물질의 검출 시스템 개발

2. 연구내용

2.1 전기화학 바이오센서(electrochemical biosensor)를 통한 진단 시스템 구축

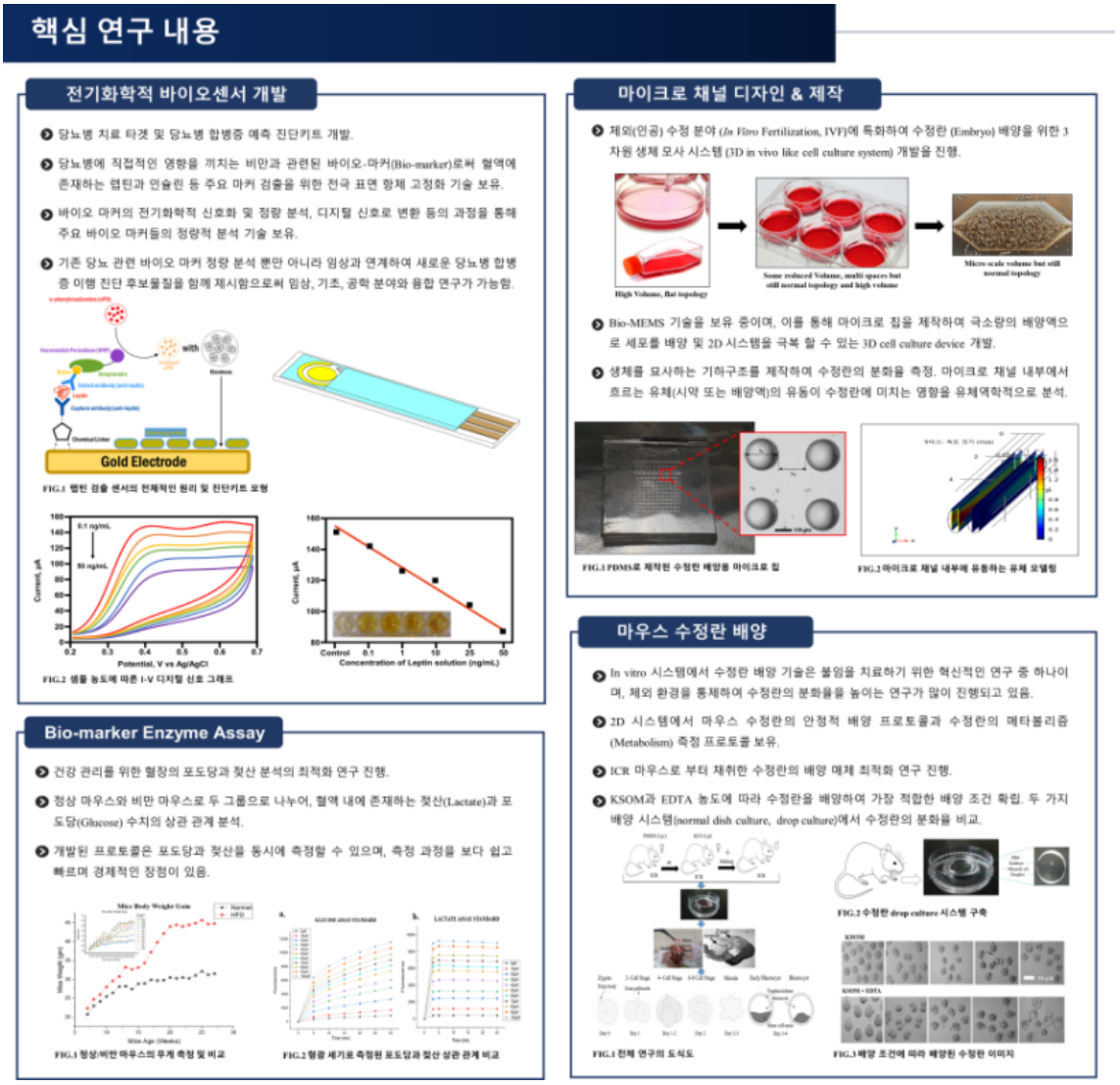
다양한 물질에 대한 검출 및 분석을 할 수 있는 바이오센서는 Lab-on-a-chip 시스템을 바탕으로 사용성과 경제성을 동시에 고려하여 생물학, 공학 등의 다양한 학문 및 산업에서 사용되어 지고 있다.

바이오센서를 이용하여 특정 바이오마커(biomarker)를 측정하고 분석할 수 있으며, 이를 위해 해당 바이오마커의 특성 분석, 시료의 전처리 과정, 시료의 정량 제어 등 여러 가지 기술이 융합적으로 사용되어질 수 있다.[1] 이러한 바이오센서의 특징을 토대로, 생체역학 연구실에서는 다양한 바이오마커를 검출 분석한 가능하고, 시료의 정량 제어 및 측정 센서와 신호를 정밀 제어할 수 있는 진단 플랫폼 개발에 힘쓰고 있다. (Fig. 1)

현재 과학기술정통부 의학분야 선도연구센터사업(MRC)과 보건복지부 연구중심병원 육성사업의 일환으로 비만과 관련된 여러 가지 질환에 대한 바이오마커 발굴 및 측정에 연구를 집중하고 있다. 비만과 관련된 매개질환으로는 고혈압, 심장병, 특정 종류의 암 등이 있는데, 본 연구실에서는 당뇨와 당뇨 합병증과 관련된 여러 가지 바이오마커를 발굴하고, 그 바이오마커를 혈액 또는 체액 내에서 측정할 수 있는 항체센서(immunosensor) 기반 진단 시스템을 개발하고 있다.

본 연구실은 비만과 관련된 바이오마커인 혈액 내 렙틴(Leptin) 농도 측정을 위한 연구를 진행하고 있다. 체내에 축적된 지방세포의 양과 크기에 비례하여 혈중 렙틴의 농도가 증가한다고 알려져 있으며 비만일수록 혈중 렙틴의 농도가 높아진다.[2-3] 'ng/mL' 의 단위로 존재하는 렙틴을 측정하기 위해서 렙틴과 특이적으로 결합하는 렙틴 항체 (leptin antibody)를 사용한 바이오센서를 개발하여 혈중

† Department of Biomedical Engineering, Keimyung Univerrsity
E-mail: yunsheo@kmu.ac.kr



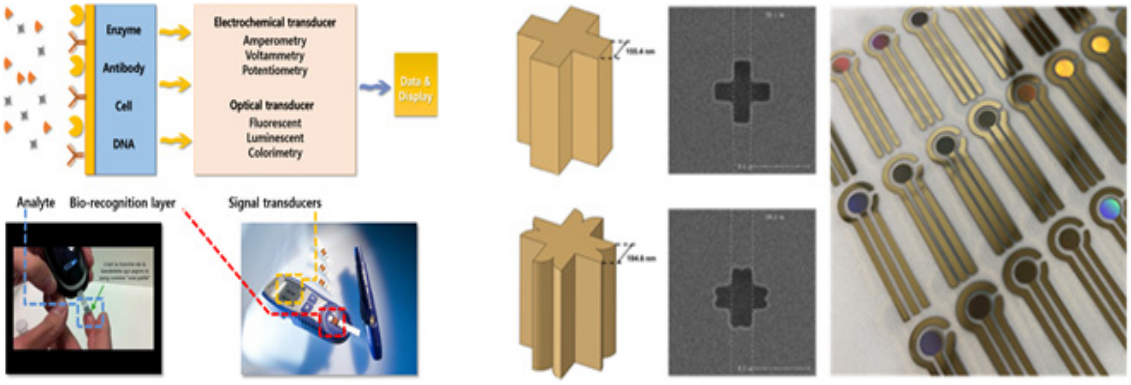


Fig. 1. 바이오센서의 개념 및 구성도(좌), 바이오센서의 금전극 모양 (gold electrode)

렙틴 농도를 측정하고 있으며, 또한 해당 센서의 정확도와 신뢰성은 상용 측정법 (ELISA; enzyme-linked immunosor ent assay)과 비교하여 도출하였다. (Fig. 2)

또한 비만매개질환인 당뇨와 관련된 바이오마커로서 인슐린(insulin) 정량 측정에 연구력을 집중하고 있다. 당뇨병 환자의 경우, 인슐린 저항성(Insulin resistance)을 나타내는 데 인슐린 저항성 지수를 기위해서는 혈중 인슐린의 정확한 측정이 필요하다. 이를 위해 인슐린과 특이적으로 결합하는 인슐린 항체를 활용하여 바이오센서를 구성하였고, 혈중 인슐린 농도를 신속하고 정확하게 측정할 수 있는 진단시스템 개발 및 상용화에 매진하고 있다. (Fig. 3)

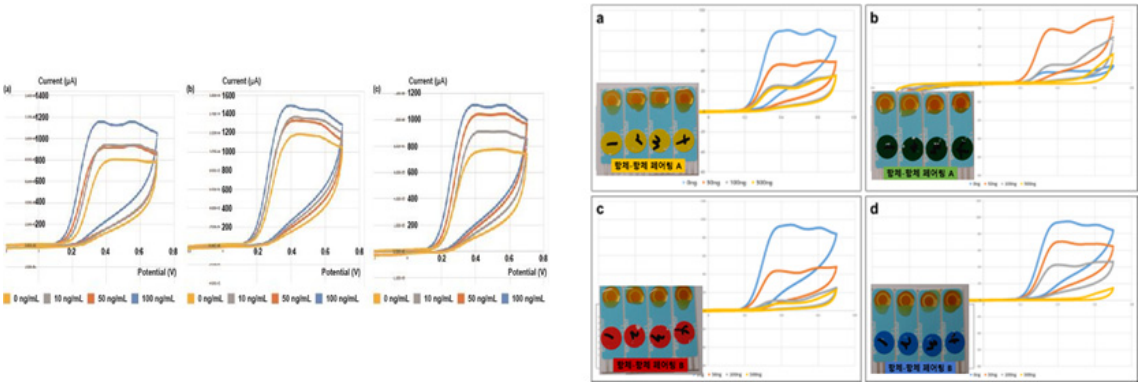


Fig. 2. 바이오센서를 통하여 특정 바이오마커를 측정한 결과. CV(cyclic voltammetry)로 일정 범위의 전압(potential)에서 전류값(current)가 어떤 변화를 나타내는지를 확인

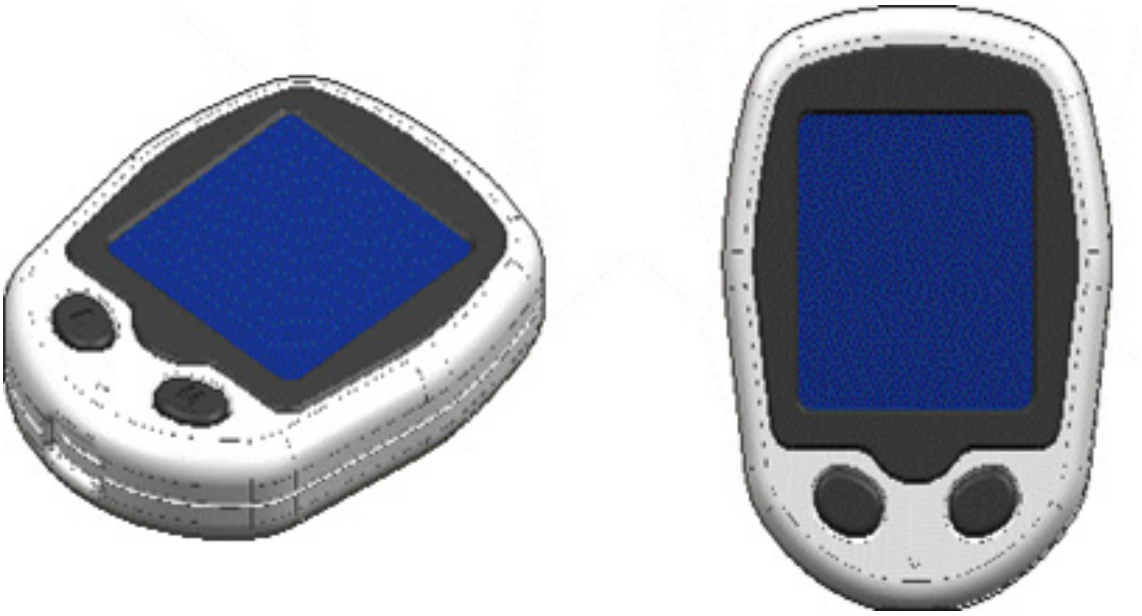


Fig. 3. 특정 바이오마커의 측정을 위한 상업용 다중 바이오마커 진단용 측정기의 모식도

2.2 난임 극복을 위한 수정란-세포 공배양 (co-culture) 플랫폼 구성

체외수정은 체내에서 채취한 수정란을 체외에서 생산하는 기술을 말하며 체내 수정란 생산에 비하여 시간과 장소에 대한 제약을 받지 않기 때문에 불임 치료와 같은 치료 목적으로도 이용할 수 있다.[4] 체외수정은 온도, 산소, pH 등 여러 가지 다양한 물리 화학적 작용에 의해 체내에서 생산되는 수정란에 비해 생산 효율이 낮은 단점이 있다.[5] 이러한 장애물을 보완하기 위해서 본 연구실은 미세유체 시스템을 이용한 '간접 유동 모델' 확립하여 난임 극복에 필요한 연구를 진행하고 있다. (Fig. 4)

수정란이 잘 자라기 위해서는 체내와 유사한 배양의 조건을 필요하다. 그래서 생체 내의 체세포를 얻어 공배양을 진행하는 연구가 진행되고 있다. 체내와 유사한 환경을 제공하여 배세포 분할률을 증가시키는 동시에 난할(cleavage)의 분할률을 감소시켜 배반포(Blastocyst) 발달율을 상승시킬 수 있다. 체외 배양 시스템(in vitro culture system)을 체내 환경과 유사하게 모사하기 위해 3차원 생체모사 시스템 개발 진행하고 있으며, 수정란 배양 및 분화율을 측정하여 수정란에 미치는 영향을 유체학적으로 해석하고 있다. (Fig. 5)

위 시스템을 통한 수정란의 분화율을 촉진시키는 물리적 화학적 메카니즘을 연구하여 체외수정 및 난임 극복을 위한 문제 해결 접근방법을 제시하고자 한다.[6-7]

2.3 혈중 Glucose-Lactate(글루코오스-락테이트) 농도 측정으로 수정란의 대사활동 측정 시스템 개발

글루코오스와 락테이트는 각 종 질병의 바이오마커로 사용되고 있으며, 특히 당뇨와 당뇨로 매개되는 질병의 대표적인 바이오마커로 사용되고 있다.[7] 글루코오스는 대부분의 동물이 가장 중요하게 사용하는 에너지원으로, 그 농도는 여러 가지 호르몬(인슐린, 글루카곤 등)으로 유지된다. 글루코오스의 농도를 확인하는 것은 건강상태를 확인하는 것과 동일하며, 여러 가지 물질의 복합적인 활동으로 글루코오스의 농도가 결정된다. 따라서 이러한 신체의 복합적인 활동 중 하나라도 문제가 생기면 바로 글루코오스 농도가 지속적으로 변하게 되어, 건강상태를 직간접적으로 확인할 수 있는

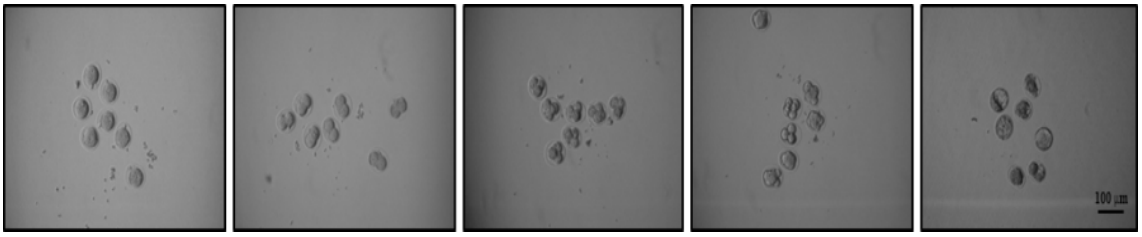


Fig. 4. 배양조건에 따른 수정란의 분화 양상

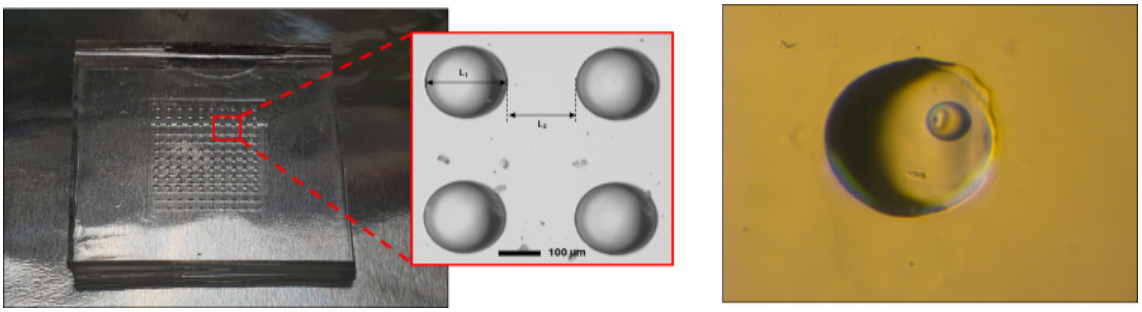


Fig. 5. PDMS로 제작된 수정란 배양용 마이크로칩(좌), 3D 마이크로 채널 내 미세입자(우)

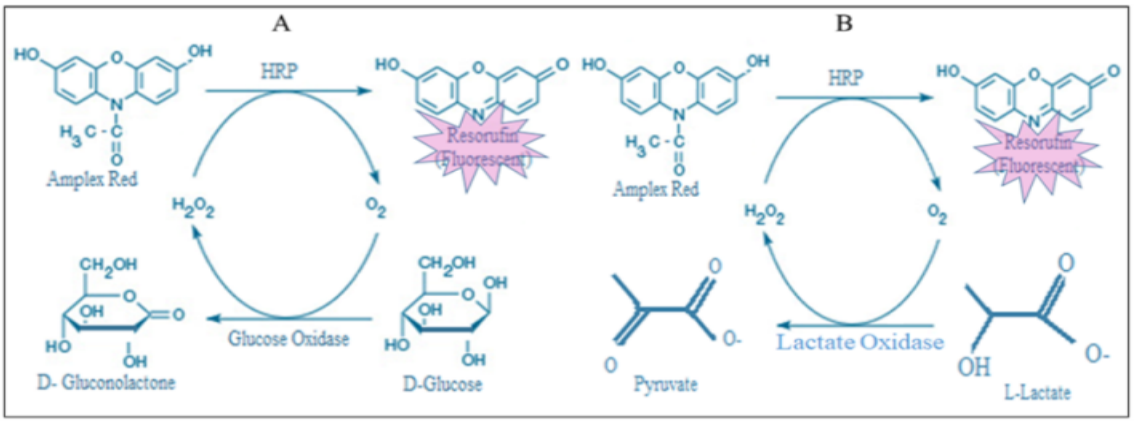


Fig. 6. 형광측정법을 이용한 글루코오스와 락테이트 검출 방법에 대한 모식도

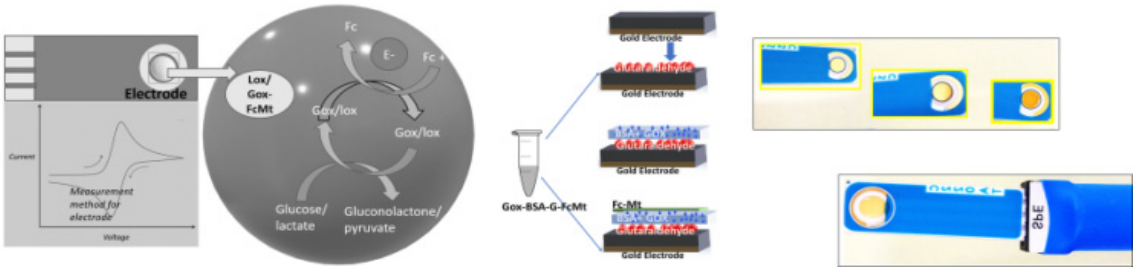


Fig. 7. Glucose oxidase를 이용한 글루코오스 측정용 효소 센서의 모식도(좌), 탄소 전극 상에서 구성된 효소 센서의 평판도(중), 실제 실험에 사용한 전극의 모습(우)

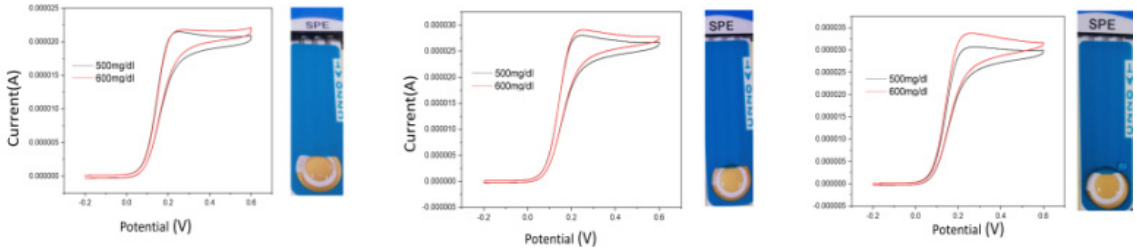


Fig. 8. 전기화학적 실험방법 및 측정법을 이용한 글루코오스와 락테이트 농도의 측정(글루코오스와 락테이트를 500 mg/mL, 600 mg/dL로 설정하고, 신호는 Voltammetry로 측정)

지표가 된다. 락테이트는 해당과정 (Glycolysis)의 최종산물로서 글루코오스와 함께 중요한 바이오 마커로 사용되어 질 수 있다.[8] 정상적인 해당과정이 진행되는 생물체는 글루코오스를 소비하여 락테이트를 생성한다. 즉, 글루코오스와 락테이트의 농도를 일정한 주기로 측정을 할 수 있다면 해당 생물체의 대사활동을 측정할 수 있고, 결과적으로 수정란에 적용시킬 수 있다면, 수정란의 건강상태를 실시간으로 확인할 수 있다.[9-10] 건강한 수정란의 선택은 분화율과 직결되고, 높은 분화율은 체외 수정시술의 성공 확률을 높일 수 있다.

현재 연구실은 두 가지 방법(형광물질, 전기화학 측정법)을 통하여 글루코오스와 락테이트의 농도를 측정하고 있다. (Fig. 6)

첫 번째로, Amplex Red라고 하는 형광물질을 사용한 프로토콜이 있다. 글루코오스와 글루코스산

화효소(Glucose oxdiase)가 반응을 하여 과산화수소 (H_2O_2)를 발생하고, 발생한 과산화수소 농도에 비례하여 두 번째 효소인 HRP (Horse Radish Peroxidase)의 작용으로 Amplex Red와 1:1 반응하여 특정 파장대의 형광을 띄는 물질인 Resorufin을 생성한다. 이 Resorufin 이 내는 형광의 광도를 측정하여 글루코오스 농도를 측정한다. (Fig. 6)

두 번째 방법은 전기화학 측정법으로 전자의 신호를 측정한다. 글루코오스의 농도가 증가하면, glucose oxidase와 반응할 가능성이 높아져 더 많은 전자가 발생하는 원리를 이용한다. 해당 프로토콜은 potassium ferrocynide라고 하는 전자매개체(electron mediator)를 사용하여 반응을 조절한다. 그리고 전자의 양상은 CV(cyclic voltamme try) 측정법으로 측정한다. (Fig. 7)

두 가지 측정방법 모두 일정한 정확도와 신뢰도를 나타내었으며, 글루코오스와 락테이트 모두 일정한 농도에서 일정한 전류값과 형광값을 나타내는 것을 확인하였다. 이를 바탕으로 측정프로토콜 개선 및 상용화를 위한 연구를 지속적으로 하고 있다. (Fig. 8)

3. 연구실 소개

본 연구실은 2012년 9월 연구책임자의 부임과 함께 설립된 이후 다양한 정부과제를 수행해 왔으며 현재 진행되고 있는 주요 정부과제는 다음과 같다.

1) 한국연구재단, 계명대학교 의과대학 기초의과학연구센터(MRC) (2014.08.～2021.02.)
2) 한국연구재단, 기본연구 (2020.06.～2020.02.)
3) 보건복지부, 계명대학교 동산병원 연구중심병원 육성사업(R&D) (2018.09.～2025.02.)

다양한 연구과제의 재정적 지원 아래 전문 연구원 3명, 박사과정 대학원생 2명, 그리고 학부 연구생 다수로 연구실이 이뤄져 있다. 설립 초기 연구실 세팅에 주력을 해 왔다면 앞으로의 연구실 방향은 기 구축된 연구시설 및 연구인력을 바탕으로 연구분야의 집중 및 전문화에 보다 주력하고 있으며, 또한 연구 분야의 트렌드 변화에 발맞추고자 우수한 대학원생 및 연구원 유치에 많은 노력을 기울이고 있다. 본 연구실은 또한 계명대학교 동산병원, 외부 산업체와 공동연구를 활발히 하고 있으며 다양한 연구시설과 공간을 자유롭게 이용할 수 있는 장점을 가지고 있다. 이러한 장점을 살려 의공학분야 융합연구를 선도하는 연구실이 되기 위해 오늘도 열심히 노력하고 있다.

현재 MBTL은 유체현상의 해석 및 바이오센서 제작하고 있습니다. 다양한 문제들을 폭넓은 이해를 통하여 연구를 수행하고 있습니다. 계명대학교 동산병원의 도움을 받아 실제 임상적으로 사용 및 활용될 수 있는 바이오센서를 제작하는 것을 최우선 목표로 하고 있습니다. 실제 임상적으로 활용이 되기 위해서는 폭넓고 집중적인 연구가 필요하다. 그동안 전기화학과 유체공학의 관점에서 문제를 해결하는 노력을 하고 있었지만, 임상적으로 바이오센서를 사용하기 위해서는 좀 더 시스템(system)적이고 보다 복합적인 관점이 필요하다. 유체역학과 바이오센서를 비롯하여 해당 연구와 관련된 문의나 질문은 yunseho@kmu.ac.kr (허윤석 교수) 혹은 ryong_s@kmu.ac.kr (성룡 연구원)으로 연락을 부탁드립니다.

4. 연구실

This research was supported by the National Research Foundation (NRF) of Korea, funded by the Korean Government (MSIT)(No. 2020R1F1A1 066348).

5. 참고문헌

1) Elif Burcu, Bahadir, Mustafa Kemal Sezginturk Electrochemical biosensor for hormon analysis ***Biosensor and Bioelec tronics*** 2015 Sep;69(62-71)
2) JH Lee, DR Reed and RA price. Leptin resistance is associased with extream obesity and aggregates in famillies. ***International Journal of Obesity*** 2001 Apl;25(1471-1473)

3) Irene Ojeda, Maria Moreno-Guzman A disposable electrochemical immunosensor for the determination of leptin in serum and breast milk. ***Analyst*** 2013 Jun;2(138), 4205-4212
4) Feng HL, Wen XH, Presser SC. Effect of different co-culture systems in early human embryo development. ***Hum Reprod.*** 1996 Jul;11(7):1525-8.
5) Quinn P: Use of co-culture with cumulus cells insemination medium in human in vitro fertilization(IVF). ***J Assist Reprod Genet*** 1994, 5, 270-7.
6) Heo, Y. S., Cabrera, L.M, Bormann, C.L., Shah , C.T., Takayama, S., Smith, G.D., "Dynamic microfunnel culture enhances embryo development and pregnancy rates" ***Human Reproduction***, 2010; 25(3):613-22
7) Matsuura K., Improved development of mouse and human embryos using a tilting embryo culture system, ***Reprod Biomed Online***. 2010 Mar;20(3):303-4.
8) JB Hurley, KJ Lindsay, J Du Glucose, lactate, and shuttling of metabolites in vertebrate retinas ***Journal of neuroscience research***, 2015 Mar93(7); 2147-2151
9) G Jobst, I Moser, M Varahram, P Svasek Thin-Film Microbiosensors for Glucose–Lactate Monitoring ***Anal. Chem.*** 1996 Jun;68(19) 3173-3179
10) AF Revzin, K Sirkar, A Simonian, MV Pishko Glucose, lactate, and pyruvate biosensor arrays based on redox polymer/oxidoreductase nanocomposite thin-films deposited on photolithographi cally patterned gold microelectrodes ***Sensors and Actuators B,*** 2002 81(2-3);359-368