유전자 분석 마이크로 통합 시스템 개발

DOI: 10.3938/PhiT.22.036

박병현·정재환·김용태·서태석

Development of a Fully Integrated Genetic Analysis Microsystem

Byung Hyun PARK, Jae Hwan JUNG, Yong Tae KIM and Tae Seok SEO

A fully-integrated genetic analysis microsystem incorporates all the processing steps including sample pretreatment, polymerase chain reaction, and optical/electrochemical detection in a single wafer by using lab-on-a-chip technology. Such a fully integrated system can perform a portable DNA and RNA analysis with high speed, reproducibility, and simplicity and can be applied for human forensic identification, pathogen detection, food safety testing, and pollutant environmental screening.

서 론

원시시대에서 오늘날에 이르기까지 인류는 300만 년이라는 긴 시간 동안 그들의 주변에 도사리는 생존의 위협을 극복하며 진화를 이룩하였다. 초창기에 인류의 생존을 위협했던 요인에는

짐승들의 공격과, 기후환경의 변화와 같은 외부의 물리적 위협이 주였던 반면, 인간이 진화 및 발전함에 따라 바이러스 및 박테리아 감염과 같은 화학적, 생물학적 위협으로 변화하고 있다. 특히 2009년 미국에서 발발하여 전 세계적으로 큰 경제, 사회적 피해를 끼친 신종 인플루엔자 A 바이러스(H1N1)가 바로 그 예이다. 이들은 치사율이 높으면서도 호흡기를 통한 전염성이 매우 높기 때문에 이를 조기에 진단하여 추가적 전염 및 피해를 예방하는 것이 중요하다.^[1]

현재 바이러스 검출을 위해 주로 사용되는 방법은 분자진단 방법(Molecular diagnostics)으로 질병의 원인이 되는 Bacteria, Virus 등의 핵산(Nucleic acid: DNA와 RNA 또는 그들의 변형체)을 검출하여 병의 원인 및 감염 여부를 검출하는 방법이다. 분자 진단 방법은 체액으로부터 샘플을 채취, 채취된 샘플의 유전자 추출, 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction: PCR)을 이용한 유전자의 증폭 및 분석에 이르는 4가지 단계로 구성된다. 분자진단법은 유전자 증폭과정을 거치기 때문에 극미량의 병원체에 대해서도 매우 높은 민감도 및 특이성을 갖는 정확한 진단이 가능하다. 하지만, 기존의 진단법의 수행을 위해서는 PCR 및 전기영동 등 고가의 분석 장비 및 시약을 사용하기 때문에 비용이 많이 들고, 복잡하고 전문적인 기술이 필요하기 때문에 숙련된 기술자에 의해서만 수행이 가능하다. 또한 분석 장비의 거대함으로 인해 각 생물 반응 단계의 통합이 어려워 분자 진단 과정에 샘플 오염의 가능성을 항상 내포하고 있으며, 분석 시간이 오래 걸리기 때문에 현장에서 유전자 진단을 하는 데 있어 한계를 보이고 있다.

따라서 기존의 유전자 진단 기법의 단점을 극복하고 현장에서 유전자 진단이 가능한 고효율, 고감도의 새로운 병원체 유전자 분석 시스템이 요구되고 있으며 그 대안으로 랩온어칩(Lab-on-a-chip: LOC) 기술이 각광을 받고 있다. 랩온어칩 기술은 NT, IT, BT의 융합기술의 대표적 예로 MEMS(Micro electro

저자약력

박병현 학생은 한국과학기술원 석박사통합과정으로서 2011년부터 한국과학기술원에 재학 중으로 통합형 유전자 분석 마이크로시스템 기술 개발에 참여하고 있다. (ilypbh@kaist.ac.kr)

정재환 학생은 한국과학기술원 석박사통합과정으로서 2008년부터 한국과학기술원에 재학 중으로 통합형 유전자 분석 마이크로시스템 기술 개발에 참여하고 있다. (jjaehwan@kaist.ac.kr)

김용태 학생은 한국과학기술원 박사과정으로서 2011년부터 한국과학기술원에 재학 중으로 통합형 유전자 분석 마이크로시스템 기술 개발에 참여하고 있다. (surpass7@kaist.ac.kr)

서태석 교수는 미국 Columbia University 공학 박사(2004)로서 University of California, Berkely에서 박사후 연구원(2005-2007)을 거쳐, 2007년부터 현재까지 한국과학기술원 생명화학공학과 부교수로 재직 중이다. (seots@kaist.ac.kr)

REFERENCES

- [1] C. Lee *et al.*, J. Korean Med. Assoc. **53**, 43 (2010).

mechanical system)나 NEMS(Nano electro mechanical system)와 같은 기술을 이용하여 시료의 희석, 혼합, 반응, 분리, 정량 등 시료의 모든 전처리 및 분석 단계를 하나의 칩 위에서 수행하도록 하는 기술을 말한다. 이처럼 손바닥만한 칩 위에서 모든 반응을 자동화시키고, 빠르게 수행할 수 있다는 특징 때문에, 샘플 전처리, PCR, 분석 시스템을 소형화시킨 연구들이 다년간 많이 진행되어 왔고, 이를 통합시킨 유전자 분석 시스템에 대한 연구도 상당히 진행되어 왔다.

이에 본 특집 기사에서는 랩온어칩 기술 기반의 통합 유전자 분석 시스템 연구에 대해서 살펴보고자 한다. 첫째로는, 분자진단에 있어 필수적인 샘플 전처리, PCR 및 검출을 수행하는 마이크로 디바이스에 대해 살펴보고, 최종적으로 3가지 기술이 집적된 통합형 유전자 분석 마이크로 시스템 개발의 연구 수준 및 동향에 대해서 기술하고자 한다.

마이크로 PCR 연구동향

유전자 분석에 있어 PCR을 통한 DNA의 증폭은 극미량의 샘플로부터 유전자를 증폭시켜 높은 민감도 및 특이성을 갖게 하기 때문에 핵산 분석에 필수적이다. PCR은 효소를 기반으로 하는 반응으로 표적 DNA의 염기 서열 중 특정 구간을 반복적으로 증폭하여 수백만 가닥의 동일한 유전 물질을 생성하는 반응으로 서로 다른 온도 구간을 반복하여 순환함으로써 진행된다. 기존의 PCR 수행을 위해서는 펠티에 효과(Peltier effect)¹⁾나 금속 블록 기반의 PCR 시스템을 사용하는데, 큰 부피의 반응량, 느린 가열·냉각율로 인해 고비용, 장시간의 문제점을 내재하고 있다. 이 같은 문제점을 극복하기 위해 MEMS 기술을 통한 소형화된 PCR 칩의 개발과 응용이 연구되고 있다. 소형화된 PCR 칩은 짧은 분석시간, 적은 시약사용, 빠른 가열·냉각율을 지닐 뿐만 아니라 여러 요소기술의 통합이 가능하며 장비 구동을 위한 동력 소모 또한 적은 장점을 지닌다.²⁾ 소형화된 PCR 칩은 일회용 칩으로 개발됨으로써 교차오염 또는 생화학적 위험을 줄일 수 있다. 일회용의 소형화된 PCR 칩을 제작하기 위해서는 우선 가격적인 측면과 PCR 성능을 고려하여 칩의 재료를 선택해야 할 필요가 있다. 실리콘과 유리 기판은 MEMS 기술을 가장 잘 응용할 수 있는 재료로 소형화된 PCR 칩을 개발하는 데 있어 많이 이용되어 왔으나 재료값이 비싸고 미세제작 공정의 고비용으로 인해 일회용의 용도로는 사용하기 어렵다는 단점이 있다. 최근 Polydimethylsiloxane (PDMS), Polymethylmethacrylate(PMMA), Polycarbonate(PC)

Fig. 1. Schematic illustrations of a microfluidic PCR chip. (A) Static PCR system. (B) Flow-through PCR system.^[3] (C) Rotary PCR system.^[4]

등과 같은 고분자 재료들이 저렴한 가격과 제작의 용이성 때문에 각광받고 있다. 그 중에서 PDMS는 소프트 리소그래피(Soft lithography)를 통해 제작을 손쉽게 할 수 있고, 투명한 광학 특성, 열 안정성으로 인해 PCR 칩의 적합한 재료로서 주목받고 있다.^[3] 제작된 PCR 칩은 크게 세 가지 온도에서 PCR을 수행하는 thermal cycling법과 한 가지 온도에서 수행하는 등온 PCR(isothermal PCR) 방법으로 유전자를 증폭하게 된다.

1. Thermal cycling PCR

소형화된 PCR 칩에서 thermal cycling을 통한 유전자 증폭은 크게 비유동 PCR과 연속흐름 PCR의 방법으로 구분된다. 비유동 PCR 방식은 PCR 반응이 일어날 수 있는 고정화된 마이크로 챔버와 이 챔버의 온도를 조절할 수 있는 소형화된 온도 가열부를 칩 내에 집적시켜 유전자를 증폭할 수 있다. 이 소형화된 온도 장치는 PCR의 변성, 접합, 신장 3단계에 필요한 온도를 제공하고, 나노리터 단위의 반응 챔버부에서 적은 양의 샘플로 PCR을 수행하기 때문에, 신속하고 효과적인 유전자 증폭이 가능하다. 한편, 연속흐름 PCR 방식은 PCR 용액을 고정된 3가지 온도 영역에 흘려주면서 DNA를 증폭하는 방식으로 비유동 방식과 비교하여 빠른 온도 조절이 가능하며, 각각의 온도 영역에서의 반응 시간은 미세유체 채널의 길이를 조절하거나 유속을 제어함으로써 통제가 가능하다.

최근에는, 위의 두 가지 PCR 방식을 결합한 로터리 PCR 장치가 소개되었는데 이는 PDMS를 이용하여 비유동 방식의 PCR 칩을 제작 후에, 제작된 칩을 PCR 수행을 위한 온도가

REFERENCES

- [2] C. Zhang *et al.*, Nucleic Acids Research **13**, 4223 (2007).
- [3] S. Park *et al.*, Biotechnology Advances **29**, 830 (2011).
- [4] J. H. Jung *et al.*, Lab Chip **12**, 1598 (2012).

1) Peltier effect: 1834년 J. C. A. 펠티에가 발견하였으며 두 종류의 금속을 접속하여 전류가 흐를 때 두 금속의 접합부에서 열의 발생 또는 흡수가 일어나는 열전현상을 말한다.

Fig. 2. Micro isothermal amplification system (NASBA).^[7]

설정되어 있는 가열판 위를 순차적으로 회전시킴으로써 특정 유전자를 증폭시키는 기술이다. (그림 1)^[3,4]

2. Isothermal PCR

Thermal cycling PCR법은 변성, 접합, 신장의 세 가지의 온도 단계를 정확하게 맞춰 이루어지는 일련의 반응이기 때문에 정확한 온도 구배를 위해서는 고가의 장비가 필요하다. 이를 극복하기 위해 등온 PCR법이 개발되었는데, 등온 PCR법은 위에서 설명한 thermal cycling법과 달리 일정한 온도에서 변성, 접합, 신장이 가능하기 때문에 thermal cycling법보다 증폭시간을 단축할 수 있으며, 등온 유지가 가능한 저가의 장비에서도 수행할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 따라서, 장비의 소형화에 유리하며 연구실이나 검출 현장 등의 장소에 구애 받지 않고 적용될 수 있다.^[5,6]

최근 랩온어칩(LOC) 또는 미세종합분석시스템(micro-total-analysis-system: μ TAS) 기술로 등온 PCR을 마이크로 칩상에서 구현하려는 연구들이 많이 진행되고 있다. 마이크로 칩 기반의 등온 PCR은 나노리터 수준의 시료의 양을 사용하기 때문에 기존의 등온 PCR법보다 경제적이며 빠르고 간편하게 유전자 분석을 수행할 수 있다. 또한 여러 개의 샘플을 동시에 분석이 가능할 뿐만 아니라, 온도구배에 민감하지 않으므로 다양한 칩 재질을 선택할 수 있다. 따라서 등온 PCR법은 유전자 분석의 현장검사(POC test: point-of-care)에 가장 적합한 방법이라고 할 수 있다.

등온 PCR법에는 nucleic acid sequence based amplification(NASBA), Loop-mediated isothermal amplification(LAMP), Rolling circle amplification(RCA), helicase-dependent amplification(HDA), 그리고 strand displacement amplification(SDA) 등의 방법이 있다.^[7] 각 방법은 사용되는 효소나 증폭되는 온도 조건들이 다르지만, 각기 최적화된 하나의 온도에서 효과적으로

Fig. 3. Centrifugal microdevice for sample pretreatment based on a solid phase extraction.^[9]

증폭이 일어나며 많은 연구자들에 의해 마이크로 칩 상에서 구현되었다. 그림 2는 NASBA를 이용한 마이크로 등온 PCR 시스템이다. 온도구배가 필요없기 때문에 칩과 단순한 온도제어 시스템만으로 휴대성이 높은 시스템을 구축할 수 있다.

샘플 전처리 마이크로소자 연구동향

효과적인 유전자 진단을 위해서는 사람이나 동물의 세포에서부터 DNA/RNA를 추출하는 과정, 즉 샘플 전처리 과정이 필요하다. 채취한 샘플 내에는 표적으로 하는 DNA/RNA 외에도 유전자 증폭을 방해하는 여러 요소들이 존재하므로 성공적인 진단을 위해서는 순수한 DNA/RNA 추출 과정이 필수적이다. 샘플 전처리는 DNA/RNA와 포획수단과의 결합, 정제, 그리고 추출의 세 가지 단계를 거쳐야 하며, DNA/RNA 추출 효율, 순도나 오염 등과 같은 문제를 고려해서 진행해야 한다. 대표적인 샘플 전처리 방법으로 실리카겔(silica gel)이나 자성 입자(magnetic bead)를 이용한 고상추출(Solid phase extraction) 방법이 있으며 이를 기반으로 한 샘플 전처리 키트들이 많이 출시되어 있다. 하지만 그동안 샘플 전처리 기술은 마이크로 시스템에서의 연구가 활발히 이루어지지 않아 통합형 유전자 진단 시스템의 개발에 걸림돌이 되어왔지만, 최근 랩온어칩 기술을 기반으로 한 샘플 전처리 기술이 많이 연구되고 있으며 이를 기반으로 한 통합형 유전자 진단 시스템의 개발도 활발히 이루어지고 있다.^[8]

REFERENCES

- [5] N. Notomi, *et al.*, Nucleic Acids Res. **28**, E63 (2000).
- [6] R. Suzuki, *et al.*, J. Virol. Methods. **132**, 216 (2006).
- [7] P. J. Asiello, *et al.*, Lab Chip **11**, 1420 (2011).
- [8] O. Lazcka, *et al.*, Biosens. Bioelectrons. **22**, 1205 (2007).
- [9] B. H. Park, *et al.*, Lab Chip **11**, 1420 (2011).

Fig. 4. Sample pretreatment microdevice based on a solid phase extraction using magnetic nanoparticles. A schematic view (top) and a photo image (bottom).

1. 졸겔 법(sol-gel process)

그림 3은 마이크로 칩 안에 졸겔 법(sol-gel process)을 이용하여 실리카 마이크로 입자를 형성시키고 회전력에 따라 용액들을 실리카 입자로 흐르게 하였다. 마이크로 채널의 넓이와 깊이에 따라 용액이 흐르게 되는 회전력이 달라지므로 이를 조절하여 RNA 샘플 용액, 정제 용액, 추출 용액을 순서대로 흘려 샘플 전처리를 실시하였다. 모든 용액을 마이크로 칩 위에 주입한 후 단순히 회전력만을 제어함으로써 순수한 바이러스 RNA를 추출할 수 있으며, 5분만에 고속으로 샘플 전처리 과정을 수행할 수 있다는 장점이 있다.

2. 자성 입자(magnetic bead) 기반 샘플 전처리

샘플 전처리에 있어서 가장 손쉽게 사용되는 방법 중 하나로 자성 입자를 이용한 방법이 있다. 보통 자성입자에 실리카 물질을 처리하여 DNA/RNA가 붙을 수 있게 환경을 조성한 뒤 외부의 자석을 이용하여 세포로부터 DNA/RNA만 손쉽게 분리하는 방식으로 이루어진다. 그림 4는 자성입자를 이용한 샘플 전처리 시스템을 보여준다. 자성입자는 용해액에 의해 분리된 DNA와 결합하여 흐르다가, 자석에 의해 정제 용액과 추출 용액의 흐름을 차례대로 지나게 되면서 최종적으로 샘플 전처리가 이루어진다. 이는 DNA

Fig. 5. (A) Overall layout of the 96-lane DNA sequencing micro-channel plate (MCP). (B) Vertical cut-away of the MCP. (C) Expanded view of the injector. Each doublet features two sample reservoirs and common cathode and waste reservoirs. The arm from the sample to the separation channel is $85\ \mu\text{m}$ wide, and the arm from the waste to the separation channel is $300\ \mu\text{m}$ wide. The separation channel connecting the central anode and cathode is $200\ \mu\text{m}$ wide. (D) Expanded view of the hyperturn region. The turns are symmetrically tapered with a tapering length of $100\ \mu\text{m}$, a turn channel width of $65\ \mu\text{m}$, and a radius of curvature of $250\ \mu\text{m}$.^[11]

정제 및 추출이 통합된 자동화 전처리 시스템으로 샘플의 오염 가능성이 적고 빠른 시간 안에 샘플 전처리가 가능하다.^[10]

검출용 마이크로 소자 연구동향

현장에서 사용가능한 통합 유전자 분석 시스템을 구축하기 위해선 샘플 전처리와 PCR을 통해 얻어진 증폭된 유전자를 최종적으로 검출하는 시스템이 필요하다. 기존의 검출부는 레이저를 통한 형광 검출 및 Agarose gel에 전압을 가하는 전기영동법과 같이 거대하고 복잡한 시스템을 사용했기 때문에, 마이크로 칩에 검출부를 통합시키는 것은 쉽지 않은 일이었다. 하지만, 최근 모세관 전기영동, 마이크로 어레이, 면역크로마토그래픽 스트립과 같이 증폭된 유전자를 소형화된 시스템에서 검출할 수 있는 방법들이 고안되었고, 이를 마이크로 칩 내부로 소형화시킨 연구들이 등장하기 시작했다.

1. 모세관 전기영동(Capillary electrophoresis)

미세제조(microfabrication) 기술의 발전에 따라 기존의 전기영동분석 기술이 소형화되어 마이크로 칩에 적용할 수 있게 되었다. 모세관 전기영동법은 형광염료가 표지된 DNA를 겔이 채워진 모세관에 주입한 뒤 전기장을 걸어줄 때, 모세관을 따라 DNA의 이동속도를 이용한 분석방법이다. 각기 다른 크기의

REFERENCES

- [10] M. Karle, *et al.*, Lab Chip **10**, 3284 (2010).
- [11] B. M. Paegel *et al.*, PNAS **99**, 574 (2002).

Fig. 6. (A) The layout of the arraying machine. (B) Two-color fluorescent scan of a 1.8-cm $\times$ 1.8-cm yeast array of λ clones of yeast genomic DNA.

DNA는 각자의 분자량에 따라 다른 속도로 모세관을 흐르게 되어 크기가 다른 DNA가 서로 분리된다. 이렇게 분리된 DNA는 모세관의 말단 부분에서 형광신호를 공초점현미경을 통해 검출하게 된다. 모세관 전기영동 칩은 보통 십자모양(+)으로 되어 있으며 일반적인 전기영동법에 비해 분리 채널의 길이가 짧아 빠른 샘플 분석이 가능하고 모세관의 넓이가 좁아 나노리터 단위의 양의 샘플로도 높은 증폭산물 분리 효율의 장점을 갖는다.

2. 마이크로어레이(Microarray)

마이크로어레이는 DNA의 혼성화를 이용하여 병원균의 유전자를 검출하는 방법으로 미세제조 기술을 통해 다수의 특정 병원균에 상보적인 DNA 염기순서를 갖는 올리고핵산 탐침을 좁은 면적의 칩 위에 집적시켜, 다량의 병원균 검출을 가능하도록 하는 기술이다. 마이크로어레이 칩은 다수의 형광 패턴을 형성하여 다중검출을 필요로 하는 분야에 유용한 기술이나 검출 시 혼성화가 이루어지는 시간이 길고 고감도의 형광스캐너와 분석법을 필요로 하는 단점을 지니고 있다.

3. 면역 크로마토그래픽 스트립

면역 크로마토그래픽 스트립을 이용한 검출 방법은 특별한 검출 기기나 값비싼 장비가 필요없이 타겟 유전자를 발색 검출하는 방법으로, 일반적으로 의학적 진단(medical diagnosis)이나 현장진단(Point-of-care testing), 자가 진단(home testing) 등에 널리 쓰이고 있다. 이 기술은 다공성 종이 또는 소결된 고분자 내에 모세혈관상(capillary bed)을 따라 유체가 전달되는 현상을 응용하여 개발되었다. 면역크로마토그래픽 스트립은 자연스럽게 유체를 전달할 수 있는 용량을 지니고 있는데 첫 번째 구성요소인 완충액 주입 패드(buffer loading pad)는 스폰지와 같이 많은 양의 완충액을 함유할 수 있으며 흡수된 완충액은 조금씩 두 번째 구성요소인 결합 패드(conjugation pad)로 이동하게 되는데 이 결합 패드에는 PCR에 의해 증폭된 DNA가 반응할 수 있는 나노 입자(주로 항체가 결합되어 있는 금 나노입자를 사용)들이 존재하여 증폭된 DNA와 결합을

Fig. 7. (A) The structure and reaction mechanism of an immunochromatographic strip. (B) Detection sensitivity of the immunochromatographic strip by using the serially diluted viral RNA templates from 1.72 ng to 17.2 fg.^[13]

하게 된다. 이후 검출을 위해 나노 입자와 결합된 DNA는 생체분자가 고정화되어 있는 다공성 종이막으로 흘러 들어가 포획됨으로써 발색 검출이 가능하다. 또한 면역 크로마토그래픽 스트립의 정상작동 여부를 확인하기 위해 결합 패드의 나노입자와 특이적인 반응을 하는 물질을 다공성 종이막에 고정화하여 컨트롤 실험을 수행할 수 있다.^[12]

통합형 유전자 분석 마이크로 시스템 연구 동향

이번 장에서는 앞에서 살펴본 PCR, 샘플 전처리, 검출의 3가지 요소 기술을 모두 결합시킨 통합형 유전자 분석 마이크로 시스템의 연구 동향에 대해서 기술하고자 한다. 통합형 유전자 분석 시스템 연구의 목적은 현장에서 얻은 생체 샘플의 유전자 분석을 제한된 마이크로 공간에서 수행을 하는 데 있다. 이와 같이 제한된 공간에서의 유전자 분석은 샘플을 처리하는 과정에서 염려되는 샘플의 오염을 방지할 수 있고, 본래 샘플의 생물학적 상태 및 특정 유전자 발현 등을 정확히 파악할 수 있다. 현재 통합형 유전자 분석 마이크로 시스템 연구는

REFERENCES

- [12] D. Shalon *et al.*, Genome Res. **6**, 639 (1996).
- [13] Y. T. Kim *et al.*, Biosens. Bioelectron **32**, 88 (2012).

Fig. 8. Images of a microfluidic genetic analysis system. (a) Domains for DNA extraction (yellow), PCR amplification (red), injection (green), and separation (blue). (b) Schematic of a flow control region. Valves are shown as open rectangles. V1 separates the SPE and PCR domains. V2 and V5 are the inlet valves for the pumping injection, V3 is the diaphragm valve, and V4 is an outlet valve. (c) Device loaded into the manifold. (d) Images of the domain for DNA extraction. (e) PCR chamber. (f) the capillary electrophoretic separation channel.^[14]

샘플 전처리-PCR 통합 시스템, PCR-검출 통합 시스템의 단계별 통합에 대한 연구로부터 시작되어 샘플 전처리-PCR-검출이 모두 통합된 유전자 분석 마이크로 시스템에 대한 연구로 확장되고 있다. 이들의 온전한 통합을 위해서는 샘플을 각각의 단계 사이에서 운송시키는 구동력이 매우 중요한데, 크게 압력 (pressure), 전기력(electric force), 원심력(centrifugal force)의 3가지 구동력에 의해서 수행되는 통합형 유전자 분석 시스템들이 보고되고 있다. 따라서 구동력에 따른 각각의 통합 유전자 분석 마이크로 시스템에 대해서 살펴보고 특징을 기술하고자 한다.

1. 압력 구동 통합형 유전자 분석 마이크로 시스템

압력 구동 통합형 유전자 분석 시스템은 샘플 전처리-PCR 및 PCR-검출 통합 시스템에서, 샘플 전처리-PCR-검출 통합 시스템^[14]에 이르기까지 앞서 소개한 요소 기술들을 다양한 형태로 결합시켜 왔다. 압력 구동 방식의 장점은 신축성 있는 PDMS에 압력을 가하여 microvalve, pump 및 mixer 기능을 갖는 다양한 구조물을 형성할 수 있기 때문에 샘플의 수송 및 운반을 정확하게 조절하는 것이 가능하고, 외부의 컴퓨터로 가압 세기 및 시간을 프로그래밍시켜 자동 제어가 가능하기 때문에 이는 샘플 전처리부, PCR부, 검출부를 통합시키는 마이

크로 디바이스를 만드는 데 있어 매우 효과적이다. 그림 8에서 PDMS에 압력을 가하여 구동시키는 microvalve를 통해 샘플의 운반을 제어하고, 각각의 요소 기술을 통합시킨 마이크로 디바이스를 확인할 수 있다. 특히 Landers 그룹^[14]은 syringe pump와 PDMS 기반의 microvalve를 이용하여 샘플 전처리, PCR, 검출에 이르는 전 과정을 30분 이내에 수행하는 것이 가능함을 보였다. 그러나 압력 구동 통합형 유전자 분석 마이크로 시스템의 구축을 위해서는, 압력을 줄 수 있는 외부의 pump, microvalve 구성을 위한 다층형 칩 제작 및 복잡한 tube 라인들이 필요하고 이를 제어할 수 있는 컴퓨터가 요구된다. 이는 고가 및 복잡한 칩 제작 공정을 요구하게 되고, 데이터의 재현성을 떨어뜨릴 가능성이 있으며, 현장에서 사용가능한 유전자 진단 시스템을 구축함에 있어 극복해야 할 문제로 남아 있다.

2. 전기력 구동 통합형 유전자 분석 마이크로 시스템

전기력 구동 기반 시스템의 가장 큰 특징은 외부의 기계적 펌프 없이 전기력만으로 유체를 운송시킬 수 있다는 점이다. 또한 전기력에 의한 유체의 이동은 기존의 압력에 의한 유체의 이동에서 생기는 속도 구배 현상 없이 동일한 속도로 유체를 이동시킬 수 있으며, 이는 운송시 발생할 수 있는 유체의 손실을 방지할 수 있다. 이런 전기력 구동 기반 시스템은 앞서 언급한 장점과 간단하고 소형화된 전극만 있으면 작동될 수 있다는 장점 때문에 마이크로 채널 내에서 DNA/RNA를 검출하는 모세관 전기영동 시스템과 같은 검출 시스템 개발이 보고되어 왔다. 최근에는 모세관 전기영동 시스템뿐만 아니라, 샘플 전처리부터 PCR 및 검출 시스템이 통합된 유전자 분석 마이크로 시스템이 보고되고 있다.^[15] Haswell 그룹은 전극을 마이크로 칩 내부에 제작하고 프로그래밍된 전압을 가하여 샘플을 이동시켜 샘플 전처리, PCR 및 모세관 전기영동을 하나의 시스템에서 수행했다. 그러나 값 비싼 전극 제작 비용 및 고전압에 의한 마이크로 버블의 발생은 유체의 흐름을 방해할 수 있다. 또한 전압의 인가 시간 동안 유체의 pH 변화로 인한 조성 변화, 휴대용 장치에서 고전압을 줄 수 없다는 점은 극복해야 할 문제로 남아 있다.

3. 원심력 구동 통합형 유전자 분석 마이크로 시스템

원심력 구동 기반 시스템은 앞서 설명한 구동력과는 다르게

REFERENCES

- [14] C. J. Easley *et al.*, PNAS **103**, 19272 (2006).
- [15] K. J. Shaw *et al.*, Lab Chip **11**, 443 (2011).

Fig. 9. Photograph of the integrated genetic analysis system composed of the microfluidic device, a Peltier element, an electrical connections and touchscreen control panel.^[15]

검출이 모두 통합된 유전자 분석 시스템을 나타낸 것이다. 샘플 전처리를 위해 실리카 입자가 패키징된 샘플 전처리부, PCR을 수행할 수 있는 PCR부 그리고 광학 신호를 검출할 수 있는 검출 센서를 회전 시스템에 통합시켜 회전을 통한 원심력으로 모든 반응을 순차적으로 제어하였고 유전자 분석의 모든 반응을 30분 이내에 수행하는 데 성공하였다.^[16] 현장 응용을 극대화하기 위해 다중 분석 시스템으로의 확장이 진행되고 있으며, 앞서 언급한 등은 PCR 기술과 결합한다면, 보다 간소하고 고효율의 유전자 분석 시스템으로 발전할 수 있을 것으로 기대하고 있다.

결론

앞서 살펴본 바와 같이, 많은 연구자들은 랩온어칩 기술을 이용해 샘플 전처리, PCR, 검출부가 하나의 칩 안에 통합된 유전자 분석 마이크로 시스템 제작에 심혈을 기울여 왔다. 분자진단의 요소기술을 마이크로 시스템에 구현시키는 것으로부터 시작해 모든 요소기술을 통합시키는 유전자 분석 시스템에 이르기까지 많은 연구 결과물이 보고되었고, 실

Fig. 10. a) Image of the fully integrated Rotary Genetic Analyzer. b) A disposable plastic PCR microchip. c) A Rotary stage. d) A servo-motor. e) A fluorescence detector. f) A thermal block: top view (top), RTD(middle), film heater (bottom).^[16]

복잡한 tube 라인 및 값비싼 외부 장치 없이, 회전시킬 수 있는 모터와 플라스틱 재질의 원형 마이크로 디바이스만으로 손쉽게 구축할 수 있다. 최근에는 Micro-milling 기술과 같은 마이크로 제작 기술의 발달로 인해 플라스틱에 유체 운송 채널, valve 시스템을 손쉽게 구축할 수 있고, 회전력의 속도 및 방향과 마이크로 채널 디자인을 통해 유체의 혼합, 분배, 이동을 제어할 수 있다. 또한 원형의 디스크 내에 대칭형으로 동일한 디자인을 갖는 마이크로 채널들을 제작할 수 있어, 한 번에 동일한 반응을 동시 수행할 수 있다는 장점이 있다. 이처럼 별도의 복잡한 장비 없이 회전력과 마이크로 채널의 디자인을 통해서 유체의 움직임을 제어하는 원심력 구동 방식은 많은 연구진들에게서 휴대용 현장 진단 통합 유전자 분석 마이크로 시스템을 구현하는 적합한 시스템으로 주목을 받고 있다. 본 연구팀에서는 이런 원심력 구동 기반 시스템을 바탕으로 현장 응답형 통합 유전자 분석 시스템을 개발해왔다. 그림 10은 본 연구팀에서 개발한 원심력 기반의 샘플 전처리, PCR 및 광학

제로 압력, 전기력, 원심력과 같은 구동력 기반의 통합형 유전자 분석 시스템은 샘플로부터 유전자 분석을 30분 이내에 성공적으로 수행하였다. 현재 이 연구 분야는 성숙기에 접어들어 미국을 중심으로 상용화 제품이 출시되고 있으며, 향후 더 많은 제품들이 유전자 진단 분야에 주도권을 차지하기 위한 경쟁에 돌입할 것으로 예상된다. 보다 진일보된 마이크로 칩 제작의 경제성 확보, 구동기기의 소형화 및 이동성, 유전자 분석의 재현성 향상을 이룬다면, 통합형 유전자 현장 분석 시스템 시장에서 경쟁력 우위를 확보할 수 있을 것이며, 이러한 차세대 유전자 분석 시스템을 이용한 바이러스 조기 진단, 헬스자 진단, 법의학, 친자확인, 특용작물 분석, 농수산물 이력추적 등 새롭게 변화될 우리 사회의 미래상을 상상해 본다.

REFERENCES

- [16] J. H. Jung et al., in *Proceedings 16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences* (μ TAS 2012), Okinawa, Japan (2012), pp. 1966-1968.