

Biochip의 의학적 활용

이 원 길

경북의대 임상병리학교실

The Applications of Biochips in Biomedical Fields

Won Kil Lee, M.D.

Department of Clinical Pathology, Kyungpook National University, School of Medicine
Taegu, Korea

서 론

Biochips은 biologic chips, DNA chip 또는 microarrays라 명명되는데, 1990년대 초에 Affymetrix(Calif. USA)란 신약개발회사가 최초로 DNA microarray를 개발한 이래, 여러 연구나 검사에 이용될 수 있게 발전하고 있으나, 아직 실용화 단계에 있지 않고, 임상 검사로서 이용은 앞으로 5년 늦게는 10년 쯤 지난 후에야 가능하다는 예측이다[1].

가장 흔한 형태의 biochip은 우표나 크레딧 카드 크기의 유리판 위에 프로브(probe)인 DNA를 부착시켜서, 검체 내 표적으로 하는 여러 가지 DNA가 hybridize되는 것을 검사하는 작은 장치이다. 마치 컴퓨터 칩이 동시에 수천 가지의 연산을 수행하는 것처럼, biochip은 한 번에 수천 가지의 생물학적 반응을 수행할 수 있다. 지지체로는 유리 외에도 실리콘이나 다른 물질을 이용하기도 하며, 부착된 프로브는 1) 염기가 20 - 25 개의 짧은 DNA 인 oligonucleotides 2) mRNA에서 유래한 길이가 긴 cDNA 3) RNA 분자나 단백질이 사용되고 있으며, 프로브가 10 - 20 개 부착된 것이 있으나하면, 10만여 개의 프로브가 뿔뿔하게 부착된 것도 있다.

Biochip의 개발 배경[2]

지금까지는 유전자의 근본을 이루는 염기 adenine과

thymine (또는 uracil) 그리고 guanine과 cytosine 간에 일어나는 수소결합을 이용하여 여러 가지 유전 검사법이 개발 사용되고 있었지만, 이들 방법으로는 한 번에 수십 개 이상의 유전자를 검색하는데는 많은 어려움이 있다. 따라서 기존의 Northern blot법으로는 게놈의 모든 유전 암호가 밝혀지는 시점에 약 10만 개의 인간 유전자의 발현 정도를 측정하려면 아마도 수천 수만 번 이상을 해야 할 것이다. 이와 같은 문제점을 극복하기 위하여 개발된 방법이 바로 biochip이다. Biochip은 분자생물학적 지식에다 엄청나게 발전한 기계 및 전자공학의 기술을 접목함으로 만들어 졌다. 기계 자동화와 전자 제어 기술 등을 이용하여 적게는 수십 개부터 많게는 수십만 개의 DNA를 아주 작은 공간에 집어넣을 수 있게 됨으로써, 1995년 미국 Stanford 대학에서는 cDNA microarray chip을 만들었고, Affymetrix 회사에서는 oligonucleotide chip을 개발하게 되었다. 이 두 가지 biochip이 개발됨으로써 유전자 발현에 관한 연구는 획기적인 전기를 맞이하게 되었고, 여러 가지 다른 활용 가능성도 인정받기 시작하였다. 이 외에도 제작이나 검색 방법이 약간씩 다른 biochip들이 개발되었지만 이들 두 가지 종류와 크게 다르지 않다고 한다.

Biochip의 원리[3]

일반적으로 검체 내의 표적 DNA나 RNA를 먼저 중합효소연쇄반응 등으로 증폭시켜야 하나, Nanogen(San Diego, USA)회사는 증폭단계가 필요 없는 기술을 개발하고 있다고 한다. 증폭시킨 표적핵산을 형광 tag으로 표지하여 칩에 가한다. 프로브와 염기서열이 상보적인 핵산이 검체 내에 있다면 교잡되어 결합하고, 세척시 결합하지 않은 핵산은 씻겨나감으로 분리된다. 레이저 광선으로 결합된 핵산의 형광 tag을 자극함으로 발생

원 본 접 수 : 1999년 8월 3일

교 신 저 자 : 이 원 길

700-422 대구시 중구 동인2가 101

경북대학교 의과대학 임상병리학 교실

전화 : 053-420-5292 Fax : 053-426-3367

되는 형광을 scanning devices를 이용하여 검출한다. 이때 방출되는 형광이 양은 부착된 표적의 양과 비례하며 또, 염기서열이 완전히 일치하면, 밝은 형광으로 나타나고, 점변이처럼 염기 하나가 일치하지 않는 경우는 어둡게 나타난다. 만일 biochip을 자동 장비에 장착하면, 결과가 판독되며, 특수한 소프트웨어를 이용하여 염기 서열과 유전자 표현에 대한 자료를 분석해 주기도 한다. 진단용 검사에는 표준 가이드라인에 따라서 양성과 음성의 대조도 포함되어야 한다.

의학적 활용

연구의 수단 : 최근 몇 년 동안 연구 실험실에서 사용한 결과 기존의 실험방법에 비해 우수함이 증명되었다. 유전자의 세포 내에서의 역할을 확인하는 연구분야인 게놈 기능의 연구가 왕성한 분야로서 1996년에는 인간 미토콘드리아의 전체 염기서열을 분석하기 위하여 13.5만개의 oligonucleotides를 포함한 biochip을 고안 사용하였다는 보고가 있다.

제약회사에서는 신약의 유전적 혹은 생리적 효과를 확인할 목적으로, 약에 노출된 세포와 노출되지 않은 정상 세포에서 추출한 m-RNA를 각각 다른 색깔의 형광 표지자로 표지시키고 두 검체를 동시에 biochip에 적용한 후, 색깔을 스캔하여 비교함으로써 약제에 의해 작동되거나, 작동되지 않는 유전자의 유형을 알게 되고, 약제의 작용 방식을 상세하게 알 수 있다.

환자의 진단과 치료의 수단 : biochips은 주치의가 직접 검사할 수 있을 정도로 간편하다. 주로 유전자 검사, 암 진단, 감염병 원인 검출에 이용할 수 있도록 개발되고 있다. 인간 게놈 계획의 성과로 유전자 검사의 종류와 다양성이 급격하게 증대됨으로써 앞으로는 현재의 질병 상태를 검출하는 많은 검사가 유전자 검사로 교체될 것이라 한다. 예를 들면, 유전자의 결함으로 콜레스테롤 치가 높아지기 때문에 현재의 콜레스테롤 검사는 돌연변이나 다형성을 선별하는 검사로 교체된다. 따라서 치료도 특수한 유전자의 결함을 표적으로 하게 된다.

인간 질병과 유전자의 관련성은 대부분 복잡하기 때문에 한 가지의 유전자의 특수한 변화보다는 대부분의 유전자의 변이로 나타난다. 따라서 유전자 전체를 분석하여야 하기 때문에, 현재의 검사수기로는 유전자의 결함을 선별하기가 무척 어려우나, 특수하게 고안된 biochip을 이용하면 쉽게 할 수 있다고 한다. 예를 들면, 유방과 난소암에 감수성 유전자 *BRCA1*의 변이를 biochip으로 조사하여, 유방암의 가족력이 있는 경우는 50-60%에서 변이를 보였으나, 일반인 중에는 2-3%만이 보였다고 하며 또, 1996년 *BRCA1*의 어떠한 변이도 확인할 수 있도록 특수하게 고안된 biochip을 사용하

여, 유전자 하나는 변이가 있고, 다른 하나는 정상인, 즉 잠종 변이보유자도 증명할 수 있었다고 한다.

biochips은 질병의 유전자 표지의 선별 검사를 신속하고 쉽게 할 수 있음으로 주치의가 적절한 치료적 접근을 하는데 있어 기존의 방법보다 빨리 할 수 있다. 증상이 나타나기 전에 질병을 검출할 수 있어, 조기에 치료를 시작함으로써 환자의 생존 기회를 개선할 수 있다고 한다. 한 환자에 있어서 여러 가지 다른 치료 방법을 결정하는데 있어서도 biochip으로 얻은 유전 정보에 의거해 결정을 내릴 수 있다.

감염병의 진단에도 유용하다. 1995년에는 *Haemophilus influenzae*의 모든 게놈 염기서열이 밝혀졌으며, 이것을 시작으로 지금까지 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Mycobacterium tuberculosis*같은 20개 이상의 미생물 게놈 유전자 배열이 밝혀졌고, 앞으로 점점 향상되고 있는 유전자 암호 해독기술의 발달로 이들의 수는 더욱 급속히 늘어날 것이라고 한다.

이처럼 유전자 서열을 알고 있는 광범위한 병원균들의 유전자 물질을 심어 놓은 일회용 biochip으로는 DNA에 기초한 동정이 가능하며, 환자의 검체 내에 있는 미지 미생물을 동정하는데 걸리는 시간을 환자가 외래에 방문해 있는 동안에 끝낼 정도로 감소[4]시킬 수 있다. 원인 병원체를 즉시 동정함으로써 주치의가 가장 적절한 치료를 한번만에 선택할 수 있다. 예를 들면, 항산균이나, 진균은 배양 및 동정하는데 수주가 소요되나 biochip으로는 수분만에 동정할 수도 있다고 한다.

병원균의 항균제 내 유전자의 유무를 검출함으로써 주치의가 효과가 없는 항균제의 처방을 피하게 할 수 있고, 심각해지고 있는 항균제 내성문제를 줄일 수 있다. 위의 두 가지를 합친 결핵균 및 비결핵성 항산균의 동정과 *rpoB*를 동시에 검출하는 biochip에 대한 보고[5]도 있다.

Clinical Micro Sensor(CMS; Calif, USA)은 공혈자의 선별 검사로서 HIV, HBV, HCV 및 CMV를 동시에 검출할 수 있도록 biochip을 고안하였다.

장 점

Biochip 기술은 이 자체가 목적이 아니고 우리가 도달하려는 곳을 보다 저렴한 가격으로 저렴하게, 훨씬 적은 실패로도 더 빠르게 도달할 수 있는 수단이다. 현재의 유전자 검사는 노력이 많이 들고, 시간이 많이 걸리므로 자동화 과정으로 개선되어야 하는데, biochip이 자동화의 한가지 방법[6]이 된다.

가장 큰 장점 중의 하나가 동시에 다른 많은 유전자 변이를 찾는 방법을 제공함으로써 세포 하나, 피 한 방울로써 더 많은 정보를 알 수 있으며, 많은 결과를 산생함으로써 정보를 얻는데 필요한 시간도 줄일 수 있다.

Nanogen은 암과 관련된 유전자를 연구할 DNA biochip을 고안했는데, 다른 biochip과는 달리 전극을 사용하여 음전기를 띄고 있는 DNA 검체를 끌어당겨 교잡 속도를 증가시킬 수 있었다 하며, 그 외의 용도로는 전하에 의하여 세균과 세포를 분리시키기도 한다.

현재의 1-5일 걸리는 젤을 쓰는 유전자 검사를 개선할 수 있고, 1994년부터 biochip의 개발로 검체 처리, 화학반응 및 유전자 선별 검사 수행을 하는 일련의 현재 방법을 대체하고 있으며, 이들 과정을 통합한 작은 장치로써 유전자 검사를 할 수 있다고 한다.

검사 가능한 수를 증가시키고, 검사에 필요한 시간은 감소시킴으로써 검사의 내용이 충실하고 비용 효율면이 좋은 검사를 시행할 수 있다.

Biochip을 이용한 기구를 사용함으로써 임상적으로 유용한데, CMS 회사가 biochip을 판독하는 기기를 손으로 들 수 있을 정도로 작게 개발하여 주치의가 환자의 침상결이나 외래에서 바로 사용하게 하였기에 가검물을 검사실에 보낼 필요가 없고 의사는 즉시 결과를 알 수 있다.

해결해야 할 것

연구와 진단에 장점이 있음에도 biochip 제조원들은 여러 가지 해결해야 할 문제점들과 싸워야 한다.

첫째, 많은 biochip들이 아직은 개발단계에 있다.

둘째, 기술상의 결점으로서 양성 결과의 형광을 배경의 형광과 구별하기 힘든 경우가 간혹 있다.

셋째, 진단 목적으로 사용하기 위하여서는 임상 시험을 거쳐야 하고, 표준 진단검사를 교체하기 전에 법적인 승인을 획득해야 한다. 중합효소연쇄반응이 10년 전에 개발되었으나, 대부분의 키트는 아직도 미국 FDA 승인을 받지 못하였다.

넷째, 생산하는데 비용이 비싸다.

다섯째, 미국의 경우 보험 인정여부

여섯째, 유전자 검사와 관련된 윤리적인 문제로서

1) 아직 적절한 치료법이 없는 질병상태를 확인할 수 있는 검사가 많이 있으며,

2) 검사의 장점과 한계 및 결과의 의미를 환자에게 적절하게 설명해줄 수 있는 유전자 카운셀링을 위한 자원이 더 필요하며,

3) 환자의 유전정보를 고용이나 보험 목적으로는 이용하지 못하게 하는 법률을 제정

일곱째, biochip을 만드는 기술이나 작동하는데 이용되는 기술들의 특허[7]에 따른 문제

1) 여러 유전자가 특허: microarrays에 이용된 유전자는 특허가 있는데, 검사하기를 원한다면 사용 면허를 얻어야만 한다.

2) 특정 진단검사의 독점문제(한 검사실만이 진단 검사를 한다는 것은 위험한 일이다.)

여러 회사의 여러 가지 시도

여러 회사들이 싸고 신뢰성 있고, 사용하기 쉬운 biochip을 고안하기 위한 많은 신기술 개발에 참여하고 있다. Incyte Pharmaceuticals(Calif, USA)는 세계 최대의 유전자 서열 데이터 베이스를 보유하고 있는 회사로서, microarrays를 개발하려고 하고 있다.

현미경적인 구멍을 통하여 DNA 프로브가 슬라이드 글라스 위에 프린트되게 펜을 사용하는 기술을 "DNA printing"이라 한다. Incyte가 주로 신약개발에 이용할 수 있는 microarray를 대량으로 생산할 수 있는 기술을 개선하고 있고, Incyte의 microarray는 500에서 5,000염기 길이의 DNA 1만조각을 심은 microarray를 보유하고 있으며, 10만 개의 인간의 유전자를 포함하는 DNA 조각으로 된 10개의 칩을 set으로 만들어 신약 개발목적으로 하는 회사에 팔고 있다. 연구필요에 따른 어떤 biochip도 재단하여 만들 수 있으며 여러 가지 다양한 목적에 사용할 수 있는 "universal chip"을 만들려 하고 있다는데, 이것이 경제적으로 더 유리하다. 데이터가 풍부하게 공급됨으로써 이를 처리 분석하는 문제는 microarray 결과를 통합하는 소프트웨어를 개발하여 해결할 수 있다.

CMS는 감염병 진단에 필요한 biochip과 손으로 들 수 있는 크기의 판독 기구를 개발하고 있다. 혈청, 혈장 혹은 전혈 등의 검체로 HIV를 검출하게 고안된 biochip으로 검체 내에 어떤 HIV 핵산이라도 프로브와 hybridize된다. 프로브에 hybridize되면, 철 유도체 화합물인 ferrocenes을 함유한 다른 프로브와 결합하여 HIV 표적 핵산이 동시에 라벨이 된다. 판독 기구의 버튼을 눌러 biochip에 전류를 흐르게 하면, 전압은 프로브에 있는 ferrocenes에서 전자를 잃게 하며, 방출된 전자는 분자 전선을 통과하게 되고, 판독기는 만들어진 전류를 검출하는데, 결과는 수분 이내에 판독기의 스크린에 나타난다. 전류가 있으면 양성, 전류가 부족하면 음성 결과이다.

2000년에는 기초 및 임상 연구용이 준비될 것이고, 빠르면 앞으로 수년내, 즉 2002-2003년까지는 HIV, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* 및 다른 감염인자들의 biochip이 개발완료되어 임상검사실에서 사용이 가능하게 되면 유용한 도구가 될 것이다.

결 론

장차 biochip 시대가 열리게 되었는데, biochip은 첫째, 인간 게놈의 비밀을 규명하는데, 둘째 건강과 질병에서 유전자의 역할을 이해하는데, 셋째로, 새로운 약제의 발견을 촉진하는데 이용될 수 있다.

임상 검사로서는 한마디로 현재 환자 곁에서 실시하고 있는 혈당 검사처럼 병의 원인인 유전자 결함이나

감염 인자를 즉시 밝혀 줄 수 있게 하는 환자의 진단과 치료에 있어 중요한 도구라고 할 수 있다

참 고 문 헌

1. Friedrich MJ. *New chip on the block : the arrival of bio-chip technology. Laboratory Medicine. 1999;30:180-8.*
2. 황승용. DNA chip의 최근 개발 현황과 미래. <http://genechip.co.kr>
3. Mithchell PS, Hersing DH. *Current trends in molecular microbiology Laboratory Medicine. 1999;30:263-70.*
4. Falkow S, Tompkins LS. *The application of molecular biology to medical bacteriology: yesterday, today and tomorrow. ASM News. 1999;65:317-21.*
5. Della-Latta P. *The mycobacteriology milestones: journey to the new millennium. Laboratory Medicine. 1999;30:408-17.*
6. Yox SB. *The laboratory on a chip : the future of miniaturization and automation. Laboratory Medicine. 1999;30:456-61.*
7. Paxton A. *Gene patents push labs to their limits. CAP Today. 1999;13:1:30-9.*