면역 측정방법의 개발 동향

(Recent Development in Immunoassays)

한양대학교 자연과학대학 생물학과
윤 용 달

1. 서론(Introduction)

항원-항체반응을 이용한 정량분석법은 대부분의 임상, 약학 또는 기초과학 연구의 중심축을 이루고 있다. 특히 호르몬, 지질단백, oncoprotein, 병인성항원, 특이항체 등 단백질이나 펩티드의 임상적 측정방법은 면역학적 측정방법 외에는 대안이 없을 정도이다. 이외 생리활성물질의 검정에 여러가지 크로마토그라피, 분광 또는 형광 분석 방법이 이용되고 있으나 면역학적 정량 분석법은 속도가 빠르고, 쉽게 측정할 수 있는 다양한 키트(kit)가 상업화되고, 경비가 적은 장점 때문에 거의 모든 임상 연구실에서 분석방법의 주종을 이루고 있다.

1960년대 초에 개발된 방사면역측정법(radioimmunoassay, RIA)은 고도의 정밀성(precision), 정확성(accuracy)과 감도(sensitivity)를 가지고, 또 특이적(specific) 측정 방법이라는 특징으로 생물학과 임상화학, 임상의학 분야의 연구 방법을 크게 바꾸어 놓았다. 그러나 방사선 동위원소를 사용하는데 따른 방사선 장애, 방사선 방어수단의 필요성, 방사선 폐기물의 환경오염, 방사성 표지물질 즉 추적자(tracer)의 짧은 반감기 및 방사선 분해(radiolysis) 등의 문제점들이 계속 노출됨에 따라 비방사면역측정법(nonisotopic immunoassay, NIA)의 개발이 요구되었다. 1980년대 이후 NIA 방법이 장족의 발전을 이루어 효소면역측정법(enzyme immunoassay, EIA), 형광면역측정법(fluorescent immunoassay, FIA), 섬광면역측정법(chemiluminesent immunoassay, CIA or LIA), 입자면역측정법(particle immunoassay, PIA), viroimmunoassay (VIA), metalloimmunoassay (MIA), 광분산입자계수측정법(light-scattering and particle counting immunoassays, LSIA or PCIA), biosensor method, spin lable immunoassay (SLIA) 등의 비방사면역측정법이 개발되고 정립되어 상용화되고 있어 RIA를 대치할 수 있는 수준에 이르고 있다.

본 강연은 최근의 면역학적 측정법의 변화를 분석하고, 연구방법으로서의 장단점을 제시하고 또한 분석방법을 요약 정리하여 특히 국내의 임상연구와 기초 의학 연구자들의 대처해야 할 문제점을 도출하고자 하였다.

2. 면역측정법의 구성과 명칭(Immunoassay systems and nomenclature)

면역측정법의 주요 구성은 1) 특이성이 높은 항체, 2) 측정 시료와 순수도가 같은 표준 시약(reference standard), 3) 추적자로 표지된 항원(labeled antigen)이다. 대부분의 면역학적 측정법에서 경쟁적 또는 길항적(competitive) 결합을 일으키기 위하여 정해진 양의 항체를 이용하는 "limited reagent method"와 항체를 과량 사용하여 비길항적(noncompetitive)으로 포화(saturation)시키는 "reagent excess method"로 구분한다.

먼저 길항적 측정법의 명칭을 단순화시키면, 항체 이용시에 사용하는 추적자의 종류(e.g., radio or enzyme) + 면역항체(immuno) + 측정법(assay)으로 구성되어 있다. 수용체를 사용할 때는 추적자 + 수용체(receptor) + 측정법(assay)으로 사용하고, 분석방법 개발초기에 혈액내의 결합단백질을 이용하던 길항적 단백질결합측정법(competitive protein-binding assay, CPA)는 추적자 + 운반체(transin) + 측정법(assay)으로 명칭을 사용하고 있다. 특히 추적자로서 방사선 동위원소 사용시에는 방사면역측정법(radioimmunoassay, RIA), 방사수용체법(radioreceptorasssay, RRA), 방사운반체측정법(radiotransinassay, RTA)으로 사용하고 있다.

한편 비길항적 포화방법은 추적자를 중간에 넣어 사용하고 있다. 즉 면역 방사측정법(immunoradiometric assay, IRMA), 면역형광측정법(immunofluorometric assay, IFMA), 면역효소측정법(immunoenzymometric assay, IEMA) 등으로 사용하고 있다(Freytag et al., 1984). 그러나 한편으로 항체에 추적자를 결합시켜 사용하는 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)의 경우에는 EIA와 IEMA에 모두 사용함으로서 명칭으로 인한 방법론의 이해에 혼동을 주고 있다.

3. 면역측정법의 사용시약(Immunoassay reagents).

면역측정방법에서 사용하는 주요 시약은 결합단백질(항체, 수용체, 결합단백질), 추적자(labels), 그리고 결합형과 유리형을 분리하는 분리하는 분리방법용 물질로 구성되며 이들을 조사하여 정리하였다.

A. 결합단백질(Binding protein)

1) 생체내 결합단백질 : 면역 글로불린이 아닌 결합단백질(nonimmunoglobulin binding protein)로서 코티졸 결합단백질(cortisol-binding protein), 수용체, 렉틴(lectin) 등을 들 수 있는데 이들을 항체처럼 이용하는 것이다.

2) 다가항체(Polyclonal antibody, PcAb) : 1980년대초 이후 최근에도 몇 가지 호르몬의 경

우 아직까지도 다가항체를 사용하고 있는데, 항체 생산에는 주로 토끼를 사용하고 있다. 많은 키트(kit) 공급 회사들에서는 아직도 염소나 양을 사용하여 항체를 생산하며 새 종류(Avians)에서 생산된 다가항체는 알의 난황(yolk) 에 축적되기 때문에 아직도 사용가치가 있다.

3) 단가항체(Monoclonal antibody, McAb) : McAb의 생산에는 hybridoma technology가 사용된다. 단가 항체의 생산과 보급은 1990년대 이후 대형회사에 의해 상업화되면서 크게 늘었으며, 상호교차도(specificity) 역시 크게 개선되고 있다. 두개의 항체를 생산하는 hybridoma line을 융합시켜 만든 bispecific McAb, anti-idiotypic antibody 등 특이한 항체, 두 종의 교잡항체(inter-specific chimeric antibody)들은 hybridoma technology에 의해서만 가능함으로 최근에는 McAb 생산이 주를 이루고 있다. 더욱이 최근에는 recombinant DNA technology가 크게 발달하여, 단구역 항체(single-domain Ab), Fab-like protein, hybrid protein, Ag-binding site와 특이한 효소 활성도(specific enzyme activity)를 동시에 가지는 hybrid protein의 항체 생산이 가능하게 되었다.

4) 항체 절편 및 복합체(Antibody fragments and complex) : Ig들은 보체(complement)와 Fc결합을 하고, 식세포 Fc 수용체, 포도상 구균 단백질 A (staphylococcyl protein A), 박테리아 등과 Fc부위가 결합하며, 류마티스 인자와 결합하는 기능이 다양한 단백질이다. IgG 의 이런 특성을 면역측정법에 이용하고 있으나 대개의 경우에는 Fc binding site를 immobilization에 사용하고 있다. 또 Ishikawa 등 (1989)은 Fab의 free SH기에 maleimide를 이용하여 효소를 부착시킴으로서 매우 높은 특이반응(specific activity)을 일으키게 하고, 비특이적 반응을 감소시킴으로서 0.02afommole/tube의 고감도 면역측정방법을 개발하였다.

5) 수용체 단백질 : 항체 대신으로 사용하는 단백질들에는 특히 연구용으로 많이 개발되고 있는데 lectin-antibody sandwich IA는 hyptoglobulin이나 α-fetoprotein의 여러가지 glycated form 의 측정에 이용된다. Oncomycin들은 박테리아의 acyl-D-alanyl-D-alanin과 결합함으로 길항적 수용체 측정법(competitive receptor assay), 또 수용체-항체 샌드위치측정법(recptor-antibody sandwich assay)으로 개발하여 사용하고 있다.

B. 추적자(Labels)

면역측정법에서 어떤 추적자를 사용하는가는 그 물질의 특이도(specific activity), 표지방법(labeling)의 이용성, endpoint determination이 용이한가? 생물학적 유해(hazard)는 없는가? 측정방법으로 만들기 용이한가? 또는 생체 내 간섭물질의 영향은 없는가 등에 따라 좌우된다.

1) 측정의 특이도(Specific activity) : 추적자로 이용되는데 있어서 중요하게 고려할 사항은 측정의 특이성을 높여서 측정의 한계를 최대한 낮추는 것이다. 그러므로 측정치로 만드는 주요

분획(fraction for detection)과 이 분획이 증폭되기 쉬운가(degree of amplification) 또는 측정효율(efficiency of detection)이 높은가에 따라 적정한 추적자가 사용되어 왔다. 최근 추적자로 사용되는 물질의 종류도 크게 발달하여 10가지 이상이 되고 있다. 1) 방사선 동위원소(radioisotopes,RI), 2) 효소, 3) 형광물질, 4) 리간드, 5) 섬광물질, 6) 입자(particle), 7) vesicles, 8) 박테리아, 9) 메탈, 10) spin-label, 11) laser light scattering, 12) free radicals 등을 들 수 있다.

1960~1980년대 초 방사선동위원소(RI)는 약 60%가 이용되었으나, 1990년대에는 약 25%이하로 줄고있다. RIA와 IRMA에서 RI의 사용은 감도를 높이기 위해 3H(β-counter) 대신 125I의 감마카운터가 주로 사용되어 왔다. 형광(fluorescent)이나 섬광(luminescent) 추적자는 약 5~15% 정도 사용되어왔으나 최근 lantanide ion-chelator, acrinidium ester가 EIA와 접목되어 측정감도를 높임으로서 25~35% 선을 유지하며, 1990년대에는 크게 신장되고 있다.

2) 효소: EIA에 사용할 효소의 선택에는 1)효소의 turnover number, 2)효소의 순수도, 3)검체에서의 간접효과가 없는 것, 4)결합시 유리한 작용기의 분포, 5)측정감도가 높은 것, 6)효소의 값이 쌀 것, 7)homogeneous assay에 이용하기 쉬운 것 등이 고려대상이 된다. 한편 효소면역측정법에 추적자로 이용되는 효소는 horseradish peroxidase(hrPOX)가 50%선을 넘고 있고 alkaline phosphatase(Alk P)가 약 25%선을 넘게 사용되고 있다.

3) 효소활성의 증폭측정법(Amplification methods of enzymic assays): 효소를 추적자로 이용할 경우 매우 다양한 효소가 이용될 수 있다. 이 경우 측정감도가 매우 낮다. 이는 대부분 비색계(colorimetry)가 signal로 수치화 되는 범위가 좁기 때문이다. 그러나 형광분석기(fluorometry) 섬광분석기(luminometry)를 사용하면 보다 정밀하고 감도가 높은 측정방법이 개발될 수 있다.

4) 간접표지법(indirect labeling): 측정법에서 마지막 결과를 1차 특이항체(primary specific antibody)를 사용하지 않고 2차항체(secondary antibody)에 표지하여 사용하는 경우를 들 수 있다. 분석물질 또는 호르몬을 지지체에 부착시킨 양의 항체(SAb)와 결합시키고 다시 토끼의 항체(RAb)로 재결합(sp SAb-**Ag**-RAb)시킨 후, 토끼의 IgG와 Fc부위에 대한 염소의 항체(GAb)를 표지하여 반응시킨다(sp-SAb-**Ag**-RAb-**GAb**-^{125}**I**). 또는 sp-Ab-**hPTH(1-84)**-Ab- hPTH (53-84)-^{125}**I** 결합등 1차 또는 2차 표지항체를 이용하여 sandwich 방법으로 개발함으로써 측정의 질을 높이고 있다.

5) 형광물질: 형광물질 즉 fluorescent isothiocyanate(FTC), rhodamine, umbelliferon 등을 추적자로 사용하여 형광분석기로 측정한다. 효소를 추적자로 결합시킨 FTC항체를 사용하거나, bispecific McAb를 이용하여 FTC와 horseradish peroxidase(hrPOX)를 양쪽에 부착시키기도 한다. 형광면역측정법(fluorescence immunoassay, FIA)에 사용되는 형광(fluorescence)은 자연섬광

또는 발광(luminescence)의 한 종류이다. 섬광(luminescence)은 전기적 여기상태에서 에너지 발산으로 생기는 빛으로 에너지원에 따라 여러 가지로 나눈다. 즉 방사선(β 또는 γ선)에 의해 여기되는 방사섬광(radioluminescence), 화학반응에 의한 화학섬광(chemiluminescence), 생체계의 효소에 의한 생물섬광(bioluminescence), 열에 의한 열섬광(thermal luminiscence), neon 빛 등과 같은 전기섬광(electroluminescence), 적외선(infrared)·가시광선(visible light) 또는 자외선(ultraviolet light)에 의해 광량자에서 나오는 형광(fluorescence, short-life time emission) 또는 광섬광(photoluminescence, long-life time emssion) 등이 있다.

6) 화학 및 생물섬광물질(Chemiluminescent and bioluminescent tracers): 최근 luminol, isoluminol, amino butyl-ethyl isoluminol(ABEI) 등 많은 화학섬광 추적자가 찾아지고 또 화학적으로 합성되어 왔다. 최근 10여년간 이들의 섬광 또는 발광원리가 밝혀지고, 이를 이용한 섬광면역측정법(chemiluminescent IA, CIA or LIA 또는 bioluminescent IA, BIA) 방법들이 개발되어 왔다. 이들은 이미 RIA를 대체할 수 있는 정도로 발전되고, 실제로 상업화되었다.

7) 기타 : 고형물질, 합성 vesicle을 1차표지항체로 이용하기도 한다. 비록 최근에는 이러한 방법이 많이 사용되지는 않는다 하더라도 고려할 가치는 충분하다. 예를 들어 slide pregnancy test등 latex particle을 이용한 방법 등이 이에 속한다.

8) 시그날의 증폭(Enhanced method of signal) : 최근에는 최종 시그날의 측정도가 높은 물질을 이용하는데, 최종복합체(sp-Ab-**Ag**-biotin-streptavidin)에 acridinium ester를 부착시키면 서너배의 높은 시그날을 얻게 된다.

9) 측정물질의 유해성 : 방사면역측정법에 비하여 비방사면역측정법(NIA)는 방사선 장해는 없지만 다른 위험이 내포되어 있음을 간과해서는 안된다. 즉 NIA의 표지물질들은 암유발원(carcinogenicity), 또는 기형유발원(teratogenicity), 일반적인 독성(general toxicity)을 나타낸다는 것을 유의해야 한다.

C. 결합형과 유리형의 분리(Separation system)

RIA에서 결합형(antibody-bound form)과 유리형(free form)의 분리에는 dextran-coated charcoal(DCC)로 유리형을 흡착(adsorbing)시키거나 2차 항체를 이용하여 결합형을 침전시키고, 원심분리시키는 방법을 써왔으며 아직까지 이 방법은 경제성때문에 많이 사용되고 있으나 최근에는 리간드나 항체를 고형지지체(solid phase, sp-)에 부착시켜 사용하는 방법이 주종을 이루고 있다(표4). 최근 분리하지 않는 직접측정법(direct or homologous IA)이 20%이상으로 증가하는 추세이다. 그러나 pmol수준의 측정법에는 solid phase 방법이 70%이상 주로 사용되고 있다.

4. 최근 발달된 면역측정법의 종류(Kinds of developed immunoassays)

면역측정법을 구분하는 주요 기준은 서너가지가 된다. 1) 항체를 일정량 정해진 만큼만 사용하는가(limited assay) 또는 과량을 사용하는가(excess assay), 2) 추적자(labeled or tracer)를 항체에 부착시켰는가(antibody-labeled) 또는 항원 즉 표지물질에 부착시켰는가(antigen-labeled), 3) 반응종결(end-point)을 측정하는가, 또한 4)항체와 결합한 결합형(antibody-bound form)과 유리형(free form)을 분리하는가의 여부에 의한 구분이다.

Gosling(1990)은 이에따라 측정법을 6 가지로 구분하였는 데 이는 다음과 같다.

A. 제1군 측정법 : 항원(antigen)이나 합텐(hapten), 즉 분석물질(analyte)을 표지물질(labeled ligand)로 만들어 사용하는 경우로 RIA방법과 동일한 원리를 이용한다.

B. 제2군 측정법 : 항체에 방사선 물질 또는 추적자를 표지시킨 후 합텐이나 항원을 경쟁적으로 결합시킨다(labeled-antibody reagent-limited assay).

C. 제3군 측정법 : 입자 응집-(particle agglutination IA), 입자계수-(particle-counting IA), 혼탁도-(turbidometric IA) 또는 비탁도(nephelometric IA) 면역측정법, 그리고 침전면역측정법(precipitation IA)등을 들 수 있다. 일반적으로 반응 후 면역복합체(immune complexes; (Ab-**Ag**)n or (Ab-**Ag**)n를 정량하는 방법으로 추적자를 결합시키기 어려울 경우에 이용된다.

D. 제 4군 측정법 : 이 방법으로 분류될 수 있는 측정 방법은 주 시약 중 하나를 과량으로 사용한다. 예로 샌드위치 측정법(sandwich assay)으로 불리는 IRMA, IFMA, ICMA와 대부분의 ELISA 방법들이다.

E. 제 5군 측정법 : 특수한 항체나 수용체의 정량에 쓰이는 방법들이다. 대개의 경우 호르몬을 고형지지체(solid phase, sp)에 부착시키고 검시용 혈청을 희석하여 반응시킨다. 그리고 부착된 또는 포획된(captured) 항체(sp-**Ag**-Ab)을 결합시켜 재반응시킴으로써 (sp-**Ag**-Ig1-Ab-enzyme)을 만든다. 즉 항체 포획(antibody capture) 원리를 이용하여 비특이적 항체의 간섭 효과를 감소시키고 있다.

F. 제 6군 측정법 : 이 방법은 추적자가 부착된 호르몬을 사용하고, 결합된 호르몬에 의한 신호(signal)를 측정함으로써 결합형과 유리형을 분리하지 않아도 된다. 그러므로 비분리-(separation free) 또는 동질-면역측정법(homogeneous IA, Homa)이라 칭한다.

5. 면역 측정법의 개발 동향
(Interesting developments and refinements of immunoassays)

A. 이중측정법(Dual assays) : 두 가지 이상의 성분을 동시에 검출할 수 있는 측정법은 임상적으로 유용할 것이 자명하다. 특히 multichannel scintillation counter를 이용하여 두 가지 방사선을 측정하는 방법을 예로 들면 ^{125}I과 ^{131}I을 이용하여 triiodothyronine(T3)와 thyroxin(T4)을 측정하는 방법이다. FSH나 LH를 ^{125}I와 ^{57}Co을 이용하여, 동시에 측정하는 방법이다.

B. 측정기술의 형식 변형(Advanced assay formulation) : Formulation은 측정하는 방법상, 순서상의 조성을 말한다. 이는 측정 물질의 특성, 상태, 농도 등에 따라 바뀌게 된다. Microtitre well을 사용할 때 가장 효과적으로 빨리 많은 시료를 처리할 수 있다. 그러므로 상업성을 고려할 때 측정의 reliability가 높은 것, 사용자가 쉽고 간편하게 사용할 수 있고, 시간을 단축할 수 있고, 자동화하기 쉽고, 또 가격이 저렴한 일반적인 기구를 사용하도록 개발한다.

C. Novel homogeneous assay system : Homogeneous IA homasystem은 치료용 약품 및 비단백질성 호르몬이 μmol/L를 변동할 때 측정하는 방법이나, 최근에는 측정한계를 낮추면서 단백질호르몬에도 응용하며, 보다 쉽게 그리고 자동화시키는 방법들이 속속 발표되고 있다.

D. Immunosensor : Analytical sensor를 사용하면 여러가지 장점이 있는 측정법이 개발된다. 체외나 체내의 농도의 동력학적 변화를 알 수 있고, 장기간에 걸쳐 측정이 가능하며, 검체가 혼탁하거나 색소를 많이 가지고 있는 경우에도 가능하고, 비용이 적게 들여 간편하게 측정할 수 있는 장점이 있다.

E. Free analyte assays : 생체 내 호르몬은 대부분 결합단백질에 얽혀있고 유리형만이 생물학적 활성을 갖는다고 잘 알려져 왔다. 그러므로 이들을 측정하는 방법의 개발이 임상적으로 중요하다. 유리형 호르몬을 측정하는 가장 일반적인 방법은 투석법(dialysis), 초여과법(ultrafiltration), 레진흡착법(resin adsorption) 등이다(Nelson and Tomeri,1988; Yoon et al.,1989). 최근에는 one-step labeled-hormone-analogue가 개발되고 있으며 결합단백질, 알부민 등이 측정에 미치는 영향을 연구하고 있으므로 곧 큰 진전이 있을 것으로 판단된다.

6. 면역측정법의 평가와 정립(Immunoassay Optimization and Validation)

A. 일반적인 고려 사항

일반적으로 항원-항체 반응은 화학 동력학적 법칙(chemical kinetics)과 질량작용 법칙(mass action equations)에 따르며, 항체의 친화력(antibody affinity) 산정에도 이 법칙들이 적용된다.

또한 standard curve fitting assay의 정립(optimization), 새로운 측정법의 개발 등에도 필수적으로 이용된다. 한편 측정의 질을 높이고, 우수한 결과를 유지하고, 측정치의 타당성을 검증받기 위해서는 측정결과 처리(immunoassay data processing)의 합리성과 정도관리(quality control)의 적절한 사용이 필수적이다.

B. 측정의 한계(Detection limit)

1) 길항적 측정방법(Competitive assays): Jackson and Ekins(1986)에 의하면 ^{125}I-competitive RIA의 경우 평형 계수(equilibrium association constant)는 10^{10}L/mol로 이론적인 측정의 최소치(theoretical minimun detection limit, TMDL)은 10^{12}mol/L(2pmol/L)이다.

2) 과포화적 측정법(Reagent-excess assays) : 이론적으로 가장 낮은 측정한계를 만들 수 있다. 대개의 경우 attomoles (0.4 amol/100μL well, 0.02 amol/tube) 수준이나 실질적인 측정한계는 측정법에 따라 차이가 있다.

C. 간섭(Interference) :

일반적으로 측정 결과에 영향을 미치는 요소를 몇 가지 들어보면 첫째로 측정용 완충용액에 들어 있는 matrix protein의 간섭효과이다. 그리고 완충용액의 ionic strength나 pH가 호르몬-항체결합에 영향을 준다. 이러한 간섭을 없애기 위해 완충액 내 protective protein이나 detergent를 처리하면 혈청단백질에 의한 간섭효과를 줄일 수 있다. 또한 Fc 부분이 없는 항체를 만들어 사용하면 비특이적 반응(non-specific binding) 을 크게 줄일 수 있다. 일반적으로 bovine serum albumin (BSA) 같은 불활성 단백질(inert protein)이 첨가되어야 하는 것으로 알고 있으나 실제로 본인의 경우도 실험과정에서 이러한 단백질이 불필요하며, 때로는 측정의 질을 떨어트리는 결과를 가지고 있다. 그리고 항체를 결합시킨 solid-phase surface의 unoccupied site를 block시키지 않는다는 보고가 BSA가 불필요하다는 타당성을 입증하고 있다(Mohammad and Esen,1989). Heterophilic antibody는 시료내 또는 환자의 혈청 및 혈장내 면역글로불린과 반응하며, 다른 동물의 항체에서도 같은 효과가 있음을 기억해야 한다. 그리고 보체(complement)나 rheumatoid factors, lysozyme 또는 효소가 시료내 존재하여 측정의 질을 나쁘게 한다는 점, 즉 간섭효과를 나타낸다는 점을 고려해야 한다.

7. 정도 관리(Quality Control)

1980-1988년간 영국의 Univ. Edinburgh가 UKEAS에 의해 실시한 혈청내 pituitary gonadotropin (GTH) 측정의 정도관리 연구 결과에 의하면, 영국내 177개 호르몬 실험실의 결과

within-method의 geometric CV (GCV)는 10% 정도인데 비하여, between-laboratory의 GCV는 20-30%라고 보고하였다. 위의 결과에서 상위와 하위 5%에 있는 결과를 제외시킨 점을 고려하면, between-laboratory result를 비교하는데 큰 문제점이 있다는 것을 알 수 있으며 실험실 내 정도관리가 매우 중요하다는 것을 알 수 있다. 특히 국내의 임상연구실이 중요하게 고려할 사항의 하나이다.

WHO가 주관한 QC program은 한 국가의 결과를 서로 믿고 전 세계적으로 통용될 수 있는 측정 결과를 얻어내려는 노력의 일환이었다. 즉 각종 측정법에 사용되는 시약과 추적자의 labeling 방법을 통일하여 균일화하고, 각 실험실의 측정기기의 측정오차를 줄이고, 세계적으로 공통인 표준시약(reference and calibration material)을 제공하여 표준 방법과 비교하여 정도관리를 유지시키는 방법과 routine assay에서 변이가 큰 것을 조절하는 방법상의 노력이었다. 실험실상의 문제점의 몇 가지는 측정 기기의 정밀도와 측정 효율의 유지노력(counting efficiency), 측정치의 계산(computer programming & method), 기록상의 clerical error, specimen의 기록상 문제점과 시료의 바뀜 그리고 측정용 시약의 준비과정의 잘못 등을 들 수 있다. 실험실외의 문제점으로 시료를 채취하고, 보관하고 이를 실험실로 운반하는 과정에서의 문제점 등을 들 수 있다. 즉 측정 전까지 혈액의 수분이 증발되거나 습기에 노출되거나, 측정물질을 흡착시키거나 파괴시킬 수 있는 용기에 보관하기도 하고, 온도가 상승되어 측정물질이 생체액에서 자연 분해되거나, 오염물질 또는 병균 침입으로 변질되는 것들을 들 수 있다. 아울러 강한 빛이나 형광, UV에 노출시키는 일도 허다하다. 따라서 면역측정법의 정도관리 계획이 잘 조정되고 유지되지 않는 한 within-laboratory CV와 between-laboratory CV 등은 높아지고, 측정치의 질은 저하될 수 밖에 없다.

이러한 호르몬 연구실에서의 QC의 문제점과 고려사항을 WHO가 1976년에 정리하여 보급한 일이 있으며 이는 아직까지 중요한 지침서가 되고 있다. 그러므로 국내에 전무한 QC program을 전담할 수 있는 과학자의 교육과 지원이 필요하다고 하겠다. 또한 거의 모든 선진국들이 자신의 연구 결과의 질을 향상시키기 위하여 매년 학회에서 지원하는 Training program을 실시하고 있다는 점을 참고하여 국내에서도 적어도 1주일 이상의 훈련 과정이 매년 실시되어야 한다고 사료된다.