

면역 형광 측정용 소형 1차원 형광스캐너의 개발연구

1-D fluorescence scanner for immunofluorescence study

김병철¹, 이윤영¹⁾, 정진하, 김재훈, 남기봉^{*}
한림대학교 물리학과, 강원도 춘천시 후평동

문정대, 장상호, 최의열
바디텍 메드(주), 강원도 춘천시 후평동

장혁재
아주대학교 의료원 순환기내과, 경기도 수원시 영통구 원천동
kbnahm@hallvm.ac.kr

유기질 시료에 의한 형광의 발광은 이미 각 측정기기 현장에서 표준화 되어 각종 정밀 측정에 사용되고 있다. 특히 근래에 관심을 끄는 분야로는 형광을 이용하여 생체의 각종 효소반응 등을 검출하는 것으로 대표적인 응용 예로는 DNA 칩을 들 수 있다. 이러한 기법의 발달과 함께 생체 단백질의 특정 효소에 대한 반응을 이용한 각종 질환 marker들의 검출에 대한 연구가 촉진되고 있다. 이러한 기법은 레이저 유발 형광 검출법의 원리를 응용하여 질병의 표지가 되는 물질을 함유한 측방유동 검정용 칩에서 표지 물질이 입사되는 레이저광에 의하여 발광되는 형광을 검출하여 분석함으로써 해당 물질의 정량적 농도 및 공간적 분포를 확인할 수 있는 측방 유동 정량 검정 방법을 기반으로 한다.

이러한 측방 유동 정량검정 결과를 판독하기 위해서는 시료의 형광 분포를 정량적으로 측정할 수 있는 장비가 소요되는데, 현재로서는 고가의 범용 DNA 스캐너를 이용하여 이 목적을 달성할 수가 있다. 본 연구에서는 이와 같은 목적을 구현할 수 있는 보급형 스캐너를 개발하는 것을 목표로 하여 개발된 스캐너의 구조 및 성능 비교결과를 제시한다.

배경

혈액 또는 뇨와 같은 생검물에 함유된 미량의 물질을 정성 또는 정량함으로써 이루어지는 새로운 진단방법과 진단기구의 개발이 지난 30여년간 빠르게 진행되었고, 현재도 빠른 속도로 발전하고 있다. 1950년대 방사선 동위원소를 이용한 방사능면역분석법(RIA)이 처음으로 도입된 이래 효소면역분석법(ELISA)이 70년대와 80년대에 개발되고 발전되었다. 현재 ELISA 면역분석법은 가장 많이 사용되고 있는 방법 중의 하나이며 의학이나 생명과학의 연구에서 필수적인 도구가 되었다. 최근에는 변형된 ELISA 분석법이 개발되었는데, 96-웰 내부에 다수의 항체를 고정화하여 한꺼번에 많은 수의 시료를 분석하는 방법도 이들 중의 하나이다.

RIA나 ELISA를 포함하는 전형적인 면역진단법에서는 대개 시료 당 한 종류의 분석물을 복잡하고, 다단계과정을 거치며, 실험실에서만 구비된 고가의 분석기기를 사용하여 정량화할 수 있다. 따라서, 이러한 시설이나 설비가 갖추어 지지 않은 소규모의 병원, 응급실, 가정, 등에서 사용하기 용이하지

¹: 바디오메드 포토닉스(주), 강원도 춘천시 후평동

않다. 이러한 약점을 보완하기 위하여 고안된 진단제품이 면역크로마토그래피 방법을 이용한 간편용 진단 키트이다. 이 키트는 카드리지 형의 홀더 내에 4 mm x 12 mm 정도의 배지에 시료를 인가하고 이 시료가 미리 배지에 분주해 둔 효소들과 반응하여 반응된 결과를 형광발광을 통하여 정량적 분석을 가능하게 할 수 있는 원리를 이용한다.

기기의 개념도

이러한 형광의 분포를 정량적으로 측정하기 위해서는 형광 유도용의 광원, 입사광과 출사광의 파장을 조절하는 필터 및 광검출기 그리고 시료를 이송하기 위한 시료구동계 등이 소요되며, 이들을 제어하기 위한 중앙처리 장치 및 결과표시/출력장치 등이 부수적으로 필요하게 된다. 그림 1은 이 중 광학계의 구조도, 그림 2는 이를 구현한 장비의 실사이다.

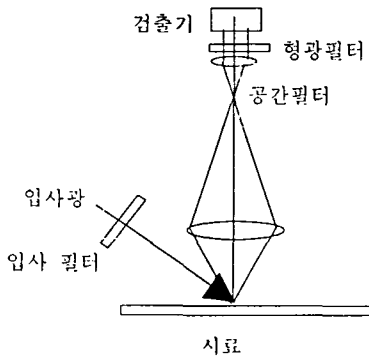


그림 1. 1차원 스캐너 광학부분

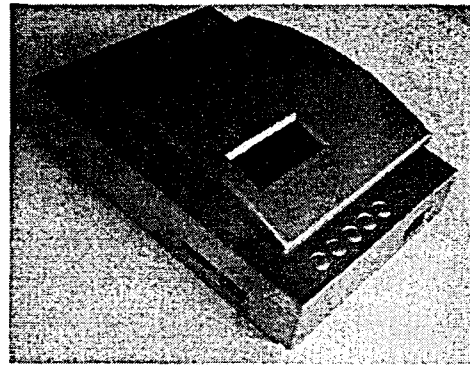
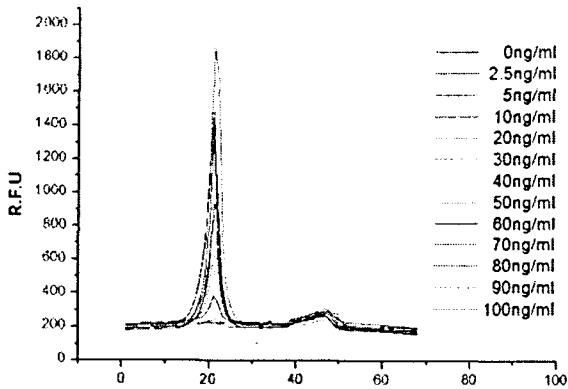


그림 2. 1차원 스캐너 외양

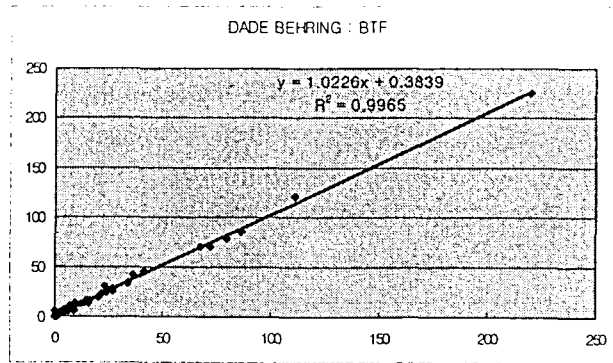
성능 비교

그림 3은 본 연구에서 개발된 스캐너의 hs-CRP 마커의 농도에 대한 응답결과를, 그리고 그림 4는 기존의 분석장비와의 성능을 비교한 것이다. 실제 검진을 위해 내원한 환자들의 혈액을 이용하여 비교 측정 한 것으로, 비교 대상 장비는 Dade Behring사의 BN-2 system으로, 수평축에 나타난 본 스캐너와 수직축에 보인 기존 기기와의 측정결과의 regression coefficient가 0.99 이상이 됨을 확인할 수 있다.



시료상 거리(mm)

시료 농도에 따른 형광의 공간적 분포.



본 스캐너와 BN-2 (수직축)의 측정 결과 비교