

Cell-Chip의 연구개발 동향

일반적인 바이오칩(DNA칩, RNA칩, 단백질 칩 등)의 대부분은 고형기판 위에 부착물질로서 항체, DNA, 단백질 리간드 등의 사용하여 분석물질과 수용체간의 결합반응에 토대를 두어 왔다. 이에 반하여 cell chip이란 부착물질로서 cells 또는 tissues 그 자체를 사용함으로써 화학적, 생물학적 이물질에 대한 보다 복잡한 실제 cell들의 생물학적 활성의 변화, 반응 메카니즘, 이물질에 대한 반응응답 등에 대한 정확한 정보를 얻고자 하는데 그 목적이 있으며, 이는 신약의 성능 및 독성평가, 환경 모니터링, 임상 진단 등에 보다 직접적으로 활용될 수 있으리라 예측된다.

Cell chip제작에 있어서 고려되어야 할 사항은 다음과 같다. 먼저, chip의 정확성, 재현성, 성능의 결정하는 가장 중요한 인자로는 대상 cells 또는 tissues의 선택을 들 수 있다. 일반적으로 주목을 받아온 세포로는 신경세포를 들 수 있는데, 이는 일차원 즉 cells 또는 tissues의 제공자(animal, human)로부터 추출 및 in vitro에서 배양이 가능하며, 전기적 자극에 인한 흥분에 따라 활동전위가 변하는 전기생화학적 특성을 가지고 있기 때문에 마이크로 전극을 이용하여 전기적으로 분석이 가능하기 때문이다. 측정 샘플의 준비 또한 chip제작에 있어서 중요한 인자이며, 특히, chip의 응답속도와 크기는 chip안에서의 유체의 흐름특성, 수용체 결합속도, cell 신호 경로 형태에 영향을 받기 때문에 이들에 대한 근본적인 이해가 필요하다. 일반적으로 생체물질은 그 자체의 안정성이 떨어지기 때문에 cell chip에서도 또한 대상 cells 또는 tissues 자체의 안정성 향상에 대한 연구는 필수적이며 chip 신호의 안정성은 대상 cell cycle, metabolism, cell의 고정화량에 대한 제어와 깊은 관련이 있다.

DNA칩, RNA칩, 단백질칩 등과 같이 cell chip의 제작에 있어서 중요한 인자 중의 하나로 silicon, glass, plastic과 같은 고형기판 위에 대상 cells 또는 tissues의 고정화를 들 수 있는데 이는 chip 신호 변화에 중요한 영향을 미치기 때문이다. 일반적으로 사용하는 기법으로는 자기조립기법이나 micro-contact printing을 사용하며, 생체 친화적인 고분자인 alginates, collagen

등을 이용하기도 한다. cell chip의 신호의 측정은 광학적 방법 또는 전기적 방법을 사용하는 것이 일반적이며, 광학적 방법의 경우, 녹색형광단백질 (Green Fluorescent Protein, GFP)이 표시인자로 주로 사용되어 왔다. 녹색형광단백질 유전자 단편을 대상 cells 또는 tissues에 유전자 재조합 방법을 이용하여 삽입시킨 후 화학적, 생물학적 이물질에 대한 생물학적 활성의 변화, 반응 메카니즘, 이물질에 대한 반응응답에 의해 발현시켜 이를 confocal microscopy를 이용하여 분석한다. 전기적 방법은 마이크로 전극을 이용하여 대상 cells 또는 tissues의 전기생리학 특성을 감지하는 방법으로 반도체의 미세가공 기술과 결합하여 고밀도로 집적화된 cell chip을 제작하는데 많이 이용되고 있다. 마지막으로 고밀도로 선택적으로 집적화된 array제작에 따른 소프트웨어적 신호분석 시스템 개발을 들 수 있다.

Cell chip에 대한 연구는 미국을 비롯한 유럽 선진국에서 연구가 활발히 진행되고 있다. 일례로 현재 네덜란드, 노르웨이, 폴란드, 스웨덴에 위치하여 있는 6개의 연구소에서 지금까지 동물을 상대로 in vivo하게 진행되어 왔던 면역독성 평가를 형광 특성 cell chip을 이용하여 평가하고자 하는 연구가 진행되고 있다. 면역독성 평가란 인간이나 동물의 면역계의 기능을 해로운 방향으로 변형시킬 수 있는 외부물질에 대한 면역세포의 응답을 평가하는 것으로 이는 면역계에 변화를 줄 수 있는 수많은 환경오염물질에 노출되어 있는 고도로 발달된 산업사회에서 생활하고 있는 현대인에게 반드시 필요한 연구이며, 기존의 in vivo한 평가에서 in vitro하게 접근을 한다는데 그 의의가 있다. 이들은 생체 여러 조직의 세포로부터 유래하고 면역응답의 발현이나 조절 등 세포간 상호작용에 관여하는 생물활성인자인 cytokine 유전자를 이용하여, 외부 독성 이물질에 노출되었을 때 면역세포 또는 비면역 세포에서의 cytokine 유전자의 발현조절의 변화를 평가함으로써 접근하고자 하였다. 이들은 조절인자로 cytokine 유전자, 형광인자로 녹색형광단백질(GFP) 유전자를 각각 사용하고 이를 삽입시킨 포유류 cell line을 개발하고 이를 고형기판 위에 고정화하여 cell chip을 제작하였다. GFP 유전자가 삽입된 cytokine 유전자를 함유한 대상 cell line의 제작은 “gene targeting“ 방법을 사용하였으며 이는 그림 1에 나타내었다. 먼저 cytokine 유전자와 유사성이 있는 단편을 함유한 GFP 표시 벡터를 제작한 후 이를 염색체상의 cytokine 유

전자로 치환시킴으로서 제작될 수 있다.

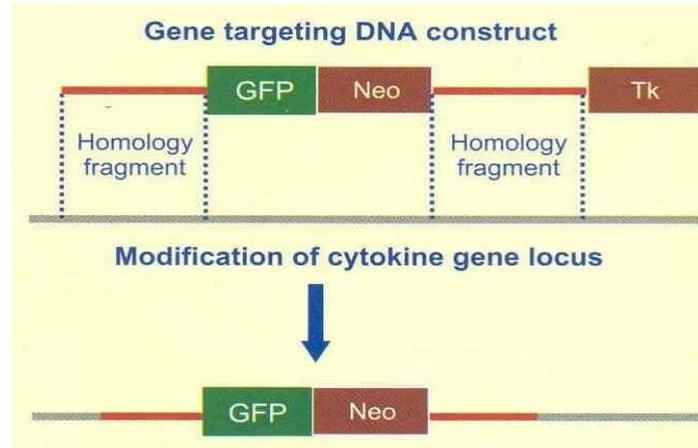


그림 1. gene targeting 모식도

위와 같은 방법으로 개발된 cell line을 이용한 형광특성 cell chip의 결과를 그림 2에 나타내었다.

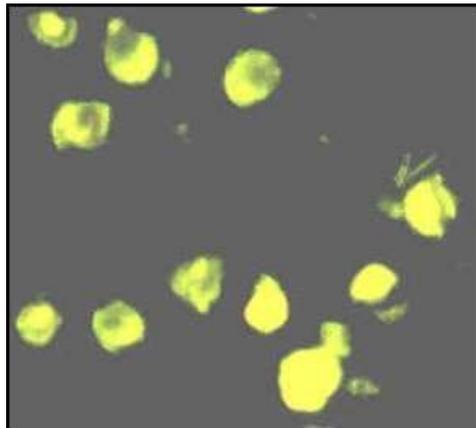


그림. 2 개발된 cell chip의 형광특성

개발된 cell line의 cytokine을 발현시킴에 따라 표시 유전자인 GFP가 발현되어 위에 나타낸 그림과 같은 결과를 나타내게 된다. 이를 이용하여 cell chip을 구성하고 면역독성 평가를 하고자 하며 현재 진행 중에 있다.

또한, 미국의 스탠포드 대학의 Gregory T. A. Kovacs 연구팀은 반도체 기술인 집적화된 CMOS cell-cartridge를 이용한 cardiomyocyte syncytia의 활동

전위를 모니터링 할 수 있는 휴대용 cell chip을 개발하였다. 이에 대한 모식도를 그림 3에 나타내었다.

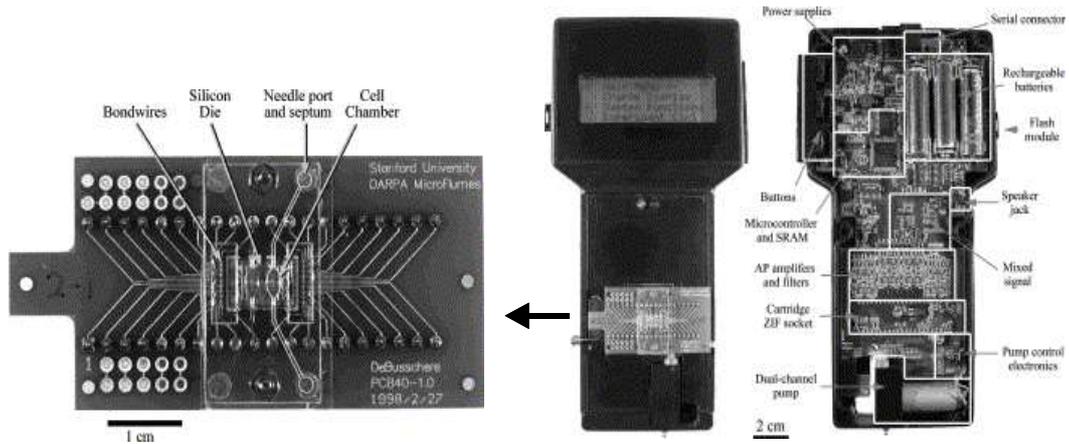


그림 3. 휴대용 cell chip의 모식도

이들은 반도체의 집적화 기술과 전기생리학의 원리를 결합시켜 고밀도로 집적화된 cardiomyocyte syncytia의 활동전위를 모니터링할 수 있는 휴대용 cell chip을 개발하였다. 전기생리학이란 생체에 대한 전기의 작용과 생체에서의 전기발생 현상을 주요대상으로 하는 생리학의 한 분야로 신체의 기관·조직의 전기적 자극에 따른 흥분에 수반하여 일어나는 활동전위를 파악함으로써 신경계 등의 기능 등이 연구된다.

스탠포드 대학의 Gregory T. A. Kovacs 연구팀이 개발한 휴대용 cell chip은 cell이 수일동안 활성을 유지할 수 있는 마이크로 크기의 glass/PDMS/silicon chamber를 포함하고 있으며, 또한 유체가 흐를 수 있는 channel, 생리학 센서, 외부조건(온도, pH 등)을 변화시킬 수 있는 조절부분을 포함하고 있는 chip으로 cardiomyocyte syncytia의 활동전위를 성공적으로 모니터링하였다. 이는 신약의 성능 및 독성평가, 환경 모니터링, 임상 진단 등에 보다 직접적으로 활용될 수 있으리라 평가된다.