

CCD image system을 갖는 유전체칩 분석장치를 위한 효율적인 광학시스템 설계

Effective Optical System Design for Biochip Analyzer with CCD Image System

배수진*, 강옥**

* 한국전기연구원 전자의료기기연구그룹(전화:(031)420-6189, 팩스:(031)420-6179, E-mail : sibae@keri.re.kr)

** 한국전기연구원 전자의료기기연구그룹(전화:(031)420-6175, 팩스:(031)420-6179, E-mail : ukang@keri.re.kr)

Abstract : Biochip-based diagnostic technology is an effective, time- and money- saving way. But, biochip analyzer including CCD imaging system has a complete optical system. It is one of reasons that the cost of biochip analyzer is expensive with CCD imaging system.

In this paper, We suggested the simple and effective optical system for biochip analyzer with CCD imaging system. It consists of two parts with the same structure but opposite direction. Each part consists of achromatic doublet and meniscus. Suggested optical system has less lenses than existing system and more efficiently.

Keywords : Biochip, analyzer, CCD, optical, lens

1. 서론

유전체칩을 이용한 기술은 현재 의약 개발, 작물 육종 등 여러 분야의 연구 개발에서 중요한 기술로 자리 잡고 있으며, 연구 개발용뿐만 아니라 진단용, 환경 모니터링, 식품 검사용 등 다양한 용도의 칩이 상용화되고 있다.

유전체칩을 이용하면 시간과 cost를 절감하면서도 효과적인 연구가 가능하기 때문에 현재 유전체칩에 대한 많은 관심과 활발한 연구가 진행되고 있다. 그러므로 이러한 유전체칩의 분석을 정밀하게 할 수 있는 효과적인 분석 기술을 구현하는 것이 중요하다 할 수 있다.

본 연구에서는 간단하면서도 효율적인 광학시스템을 구현을 목표로 하고 있으며 이러한 광학시스템의 대상으로 결핵의 약제 내성 진단용 칩을 이용하였다. 결핵은 박테리아인 *Mycobacterium tuberculosis*에 의해서 주로 일어나는 질병으로, WHO나 미국 CDC의 보고에 따르면, 전세계 약 60억의 인구 중에 3분의 1 가량이 결핵균에 감염되었으며, 전세계적으로 매년 800만 명의 결핵 환자가 새로 발생하고 있다. 또한, 그 중 200만 명이 사망에 이른다고 한다. 결핵의 치료법으로 지금까지 보편적으로 사용된 것은 다약물 조합법(multidrug regimen)이다. 이때, 1차 치료법으로 사용되는 Rifampin, Isoniazid, Pyrazinamide 그리고 Ethambutol이 있으며, 2차 치료법으로 사용되는 약물은 Streptomycin, Capreomycin, Kanamycin, Ethionamide, Cycloserine 그리고 Paraaminosalicylic acid (PAS) 등이 있다⁽¹⁾. 그러나, 다양한 약제에 내성을 갖

는 결핵 변종(multidrug resistant strains)이 증가하고 있으며 국내 40만 명에 달하는 결핵 환자 중 약제 내성 결핵 환자가 10% 가까이 이르고 있어 약제 내성에 대한 신속한 진단이 필요하다. 그러나 종래의 약제 내성을 갖는 결핵균을 판별하는 방법은 재담의 결핵균 배양에 기초를 한 것으로 최소한 4~6주 이상의 장시간이 걸리는 큰 단점을 갖는다.

반면, 본 연구에서 사용한 유전체칩을 이용한 진단은 가장 널리 사용되고 있는 Rifampin과 Isoniazid에 대한 내성을 결정하는 유전자인 *rpoB*의 돌연변이 여부를 검출함으로써 종래의 약제 내성을 진단하는 방법보다 효율적이며, 단시간 내에 정확한 분자 생물학적 정보를 줄 수 있다는 장점을 갖는다. 이를 위한 진단용 유전체칩을 분석하는 분석 장치의 scanning 시스템으로 CCD imaging system, confocal laser scanning system 등이 있으며, 현재는 confocal laser scanning system 방식을 많이 사용되고 있으나, 이 방식은 정밀 조절에 의한 laser scanning이 필요하고 측정 시간이 지연되며, 광의 수집 효율이 작다. 또한 각 셀의 동시 열역학 특성 및 분자의 안정성을 측정할 수 없다는 단점을 가지고 있다. 반면, CCD imaging system은 장시간 촬영을 해도 흔들림이 없어 낮은 noise level을 제공하고 빠르고 간단한 판독과 높은 해상력을 보장한다. 하지만 복잡한 렌즈 광학 시스템을 요구하기 때문에 분석 장비의 cost를 높이는 요인으로 작용한다.

본 연구에서는 CCD imaging system을 채택한 유전체칩 분석 장비가 Rifampin과 Isoniazid에 대한 약제 내성 진단을 위한 유전체칩을 판독하는데 있어서 충

분한 numerical aperture를 제공하면서도, 적은 수의 렌즈들로 구성되며, 구조적으로 간단한 렌즈 광학 시스템 설계를 시도하였고, 조건을 달리 하면서 설계된 광학 시스템의 특성을 살펴보았다.

2. 광학 시스템 설계 조건과 구현

2.1 유전체칩 분석 장비 구성

본 연구에서 구성한 CCD imaging system을 갖는 유전체칩 분석 장비는 다음과 같은 구조를 갖는다. 그림 1과 같이 측면에서 광을 조사하는 방식은 beam splitter나 dichroic mirror 이용한 Z축 방향 광을 조사하는 방식과는 달리 excited light의 경로가 emitted fluorescence의 경로가 다르기 때문에 optical noise를 줄일 수 있는 장점을 갖는다.

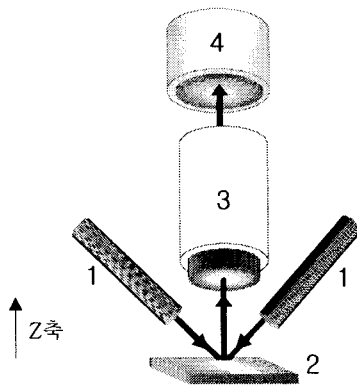


그림 1. 유전체칩 분석 장비 구성도

1-semiconductor laser, 2-biochip, 3-objective with cutoff filter, 4-CCD imaging system

2.2 광학 시스템 설계 조건

광학 시스템의 설계 조건은 object가 되는 유전체칩의 크기와 working distance, numerical aperture, 파장 등의 다양한 요소에 의존하게 된다⁽²⁾⁻⁽³⁾.

유전체칩에는 여러 종류가 있으나 본 논문에서는 결핵의 1차 치료법에 사용되는 Rifampin과 Isoniazid에 대해 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출을 목적으로 하며, 그 구조는 그림 2와 같다. 이는 가로로 8개의 gel cell과 세로로는 10개의 gel cell로 구성되며, 위치를 참조하기 위해서 세 개의 표식자를 가지고 있다. 각 gell cell의 지름은 100 μ m의 크기를 가지며 200 μ m의 공간을 가지고 일정한 간격으로 배열되어있다⁽⁴⁾. Cy5에 의해 표시된 탐침(Probe)과의 target DNA와의 hybridization에 의해 Rifampin과 Isoniazid에 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출하게 되며 전체 유전체칩의 사이즈는 2.5mm \times 3.1mm로 지름이 약 4mm이다. 측정상의 여유를 두기 위해 유전체칩의 사이즈를 직경 5mm~6mm 정도로 가정하고 광학 시스템을 설계하였다.

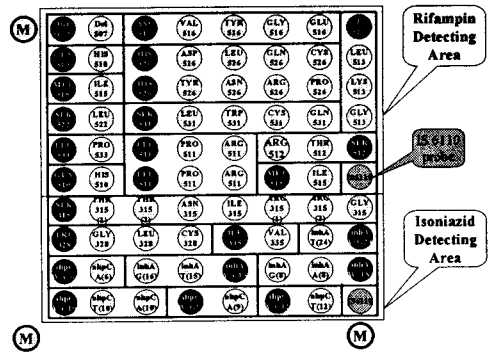


그림 2. Rifampin 과 Isoniazid에 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출하기 위한 유전체칩 구조

CCD imaging system으로 구성된 유전체칩 분석 장치는 각각의 gel cell을 scanning하는 confocal laser scanning system과는 달리 사용되어지는 유전체칩 전체를 한번에 scanning하여야 하므로 광학 시스템이 더 복잡해질 수밖에 없으며, 광학 설계하는 데 있어서 각각의 aberration을 줄이는데 그 중점을 두어야 한다.

2.3 광학 시스템 구현

그림 3은 종전의 광학 시스템으로 12개의 lens와 emission filter로 구성되어 있다. 이 광학 시스템의 object 크기는 5mm, 0.5의 numerical aperture, working distance는 3mm로 그 magnification은 $\times 1.6$ 이 되도록 설계되어져 있다. 이때에 광학시스템의 총 길이는 72.17 mm이었으며 복잡한 구성을 갖었다.

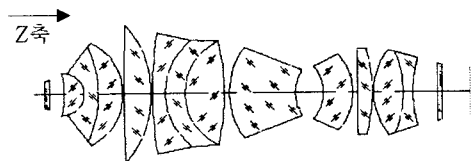


그림 3. 종래의 광학 시스템

본 논문에서는 CCD imaging system을 가지는 유전체칩 분석 장치들의 단점이 되어오던 복잡한 렌즈 광학 시스템을 이전 시스템에 비해 더 적은 수의 렌즈와 간단한 구조를 가지면서도 aberration들을 효과적으로 제거하고 적당한 numerical aperture 제공할 수 있는 광학 시스템을 제안하고자 한다.

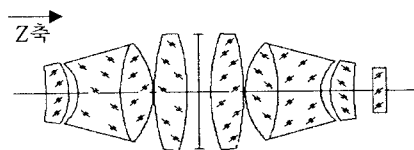


그림 4. 제안된 광학 시스템

제안된 광학 시스템의 numerical aperture는 Rifa-mpin과 Isoniazid에 내성을 갖는 돌연변이 여부를 검출하기에 충분한 값인 0.35으로 실험적으로 결정하였다. 사용된 CCD camera의 format은 1/3"로 3.6mm×4.8mm, 직경 6mm의 크기이므로 magnitude는 ×1로 하여 설계하였다.

그림 4의 광학 시스템은 반대 방향을 한 동일한 구조를 가지는 두 파트로 구성되어 있으며, 각 파트는 single lens와 achromatic doublet, 그리고 meniscus로 간단하게 이루어져 있다. achromatic doublet과 single 블록 lens의 구성으로 spherical aberration, curvature of field astigmatism을 줄일 수는 있지만 numerical aperture가 충분치 못하다. 그러나 간단하게 meniscus lens를 첨가하여 설계함으로써, curvature of field and astigmatism을 더욱 더 효과적으로 제거할 수 있으면서도 측정 조건을 만족시키는 numerical aperture를 갖도록 할 수 있었다. 또한 서로 반대 방향을 가지는 동일한 파트를 구성함으로써 제거하기 힘든 coma와 distortion 등의 aberration을 구조적으로 쉽게 제거할 수 있는 장점을 지닌다.

3. 광학 시스템 특성 및 성능 비교

image는 그림 1의 유전체칩 분석 장비 구성도에서 기호 4에 해당하는 CCD imaging system의 light-sensitive layer로 투영된다. 이 때 image plane에서의 각 point의 aberration 정도를 파악할 수 있는 spot diagram을 통해 광학 시스템의 특성 및 성능을 비교할 수 있다.

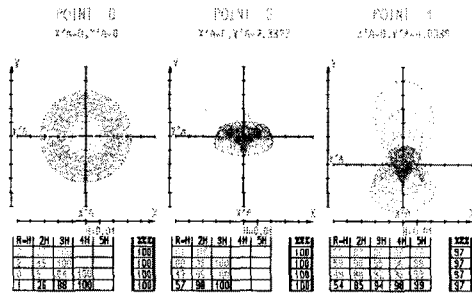
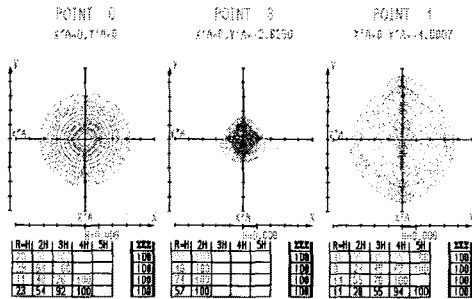
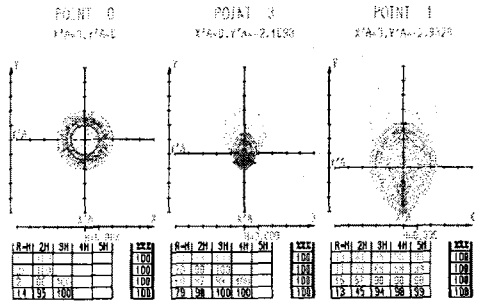


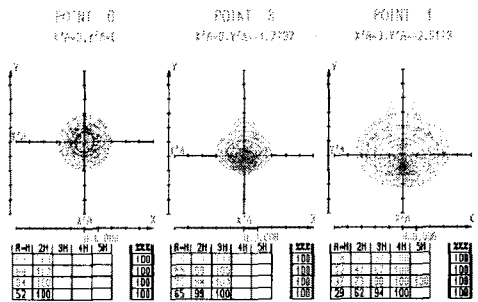
그림 5. 종래의 광학 시스템의 spot diagram



(a) working distance가 15mm일 경우



(b) working distance가 12mm일 경우



(c) working distance가 6mm일 경우

그림 6. 제안된 광학 시스템의 spot diagram

그림 5는 이전에 설계되었던 유전체칩 분석 장치의 광학 시스템의 image plane에서의 spot diagram이고 그림 6은 새롭게 제안된 광학 시스템의 구성으로 working distance를 15mm, 12mm, 6mm으로 바꾸었을 때의 결과이며 각각의 광학 시스템 길이는 69.6mm와 72.6mm이었다.

이전의 광학 시스템 구조에서는 objective 내부가 동일한 구조로 이루어지지 않았고, cutoff filter가 objective 외부에 따로 설계되어 있다. 그러나 본 논문의 구조에서는 objective 내부가 두 개의 동일한 구조를 가지면서, 3mm의 두께를 갖는 filter를 포함하고 있기 때문에 filter의 두께와 image plane까지의 거리는 어느 정도의 공간이 확보되어야 했다. 따라서 filter의 두께인 3mm 이상의 working distance를 갖아야 하기 때문에 본 논문에서는 6mm의 조건으로 설계했다.

그림 5와 6에서 spot의 축 단위는 각각 0.01, 0.006, 0.009와 0.008이며, spot diagram 아래의 energy table에서 각 spot의 크기를 알 수 있다. 각 point에서의 spot 크기는 image plane에서 aberration 정도를 가늠할 수 있도록 하며 그 크기가 작을수록 좋은 성능을 나타낸다고 할 수 있다. 그림 6의 (a), (b), (c)를 비교해보면 working distance가 가까울수록 aberration이 점차 제거되고 있는 것을 알 수 있다. 즉 성능이 개선되고 있다고 할 수 있다. 그러나 그림 5의 이전 광학 시스템은 3mm의 working distance로 본 논문에서 설계

된 값보다 짧음에도 불구하고 성능 면에서는 우수하지 못함을 확인하였다. spot diagram의 비교에서뿐만 아니라 구조적인 면에서도 본 논문에서 제안된 광학 시스템의 성능의 우수성을 파악할 수 있다. 이전의 광학 시스템은 복잡한 광학 구성과 12개의 렌즈를 포함하고 있는 반면, 제안된 광학 시스템은 동일한 렌즈 구성을 이루는, 단지 방향이 다른 두개의 파트로 이루어지며 8개의 렌즈와 1개의 cutoff filter로 개수에서도 간단한 구성으로 구현할 수 있는 특징을 갖는다.

4. 결 론

간편, 신속, 정확하면서 저렴한 유전체칩은 현재 실시되고 있는 고전적인 배양 및 생화학적 검사법보다 여러 면에서 효율적으로 사용될 수 있어 종래의 진단 방법들을 전면적으로 대체할 수 있을 것으로 예상된다. 이러한 상황에서 유전체칩의 분석을 가능하도록 하는 유전체칩 분석 장치에 대한 연구는 중요한 의의를 갖는다. 현재 사용되고 있는 방법 중 CCD imaging system은 연구자에게 빠르고 정확하고 신뢰할 만한 결과를 제공함에도 불구하고 복잡한 광학 시스템의 구성으로 인해 연구의 제약을 받아왔다. 따라서 본 논문에서 제안된 기존의 많은 렌즈들로 구성된 기존의 복잡한 광학 시스템의 구조적인 단점을 개선하고 복잡도를 향상시키면서도 성능을 개선시킨 광학 시스템을 구현한데에 그 의의가 있다고 할 수 있다.

[참 고 문 헌]

- [1] Iseman M., "Treatment of multidrug-resistant tuberculosis.", N Engl J Med, 329, 784-91, 1993
- [2] I. Ya. Barskiĭ, A. P. Grammatin, and A. V. Ivanov, "Wide-field Luminescence microscopes for analyzing biological microchips", The optical Society of America, J. Opt. Technol. 65(11), November 1998
- [3] G. V. Papayan, L. S. Agronskin, "Instruments for analytical microscopy.", Opt. Zh. 60. No. 12, 16, 1993. [Sov. J. Opt. Technol. 60. 836, 1993]
- [4] K. R. Khrapko, Yu. P. Lysov, A. A. Khorlin et al., "A method for DNA sequencing by hybridization with oligonucleotide matrix.", J. DNA Sequencing and Mapping 1, 375, 1991