번역
Lab Med Online
Vol. 3, No. 1: 62-72, January 2013
http://dx.doi.org/10.3343/lmo.2013.3.1.62

진단면역학 LMO

현장검사를 위한 다항목 면역측정법 기술의 최근 동향*

Discerning Trends in Multiplex Immunoassay Technology with Potential for Resource-Limited Settings

Julian Gordon, Gerd Michel

Foundation for Innovative New Diagnostics, Geneva, Switzerland

Background: In the search for more powerful tools for diagnoses of endemic diseases in resource-limited settings, we have been analyzing technologies with potential applicability. Increasingly, the process focuses on readily accessible bodily fluids combined with increasingly powerful multiplex capabilities to unambiguously diagnose a condition without resorting to reliance on a sophisticated reference laboratory. Although these technological advances may well have important implications for the sensitive and specific detection of disease, to date their clinical utility has not been demonstrated, especially in resource-limited settings. Furthermore, many emerging technological developments are in fields of physics or engineering, which are not readily available to or intelligible to clinicians or clinical laboratory scientists.

Content: This review provides a look at technology trends that could have applicability to high-sensitivity multiplexed immunoassays in resource-limited settings. Various technologies are explained and assessed according to potential for reaching relevant limits of cost, sensitivity, and multiplex capability. Frequently, such work is reported in technical journals not normally read by clinical scientists, and the authors make enthusiastic claims for the potential of their technology while ignoring potential pitfalls. Thus it is important to draw attention to technical hurdles that authors may not be publicizing.

Summary: Immunochromatographic assays, optical methods including those involving waveguides, electrochemical methods, magnetorestrictive methods, and field-effect transistor methods based on nanotubes, nanowires, and nanoribbons reveal possibilities as next-generation technologies.

최근, Hawkins와 Weigl은 재원이 부족한 상황에서 적용할 수 있는 검사에 대한 기준으로서 'ASSURED'라는 약어를 제시하였다: Affordable (구하기 쉬운), Sensitive (민감한), Specific (특이적인), User-friendly (사용자 친화적인), Rapid and robust (빠르고 정확한), Equipment-free (장비가 필요없는), Deliverable (상용화된) [1]. 우리는 극단의 온도/습도에 대한 안정성, 가벼운 무게, 최소한의 폐기물 및 개발도상국에서 생산할 수 있을 가능성을 위 목록에 추가하고자 한다. 또한 이 종설에서 핵산기반측정법(nucleic acid-based assay)은 다루지 않았으나, 면역측정법과 직접적으로 관련이 있는 경우에는 다항목 측정능력에 대하여 검토하였다.

효율적인 고찰을 위해서 우선 우리는 이미 알고 있는 제조사의 이름을 인터넷에서 검색하였고, 회사 웹사이트상의 출판물이나 Web of Science 온라인 데이터베이스 내의 교신용 주소 영역을 탐색하여 발견된 출판물을 검토하였다. 더욱이 저자들은 Web of Science상의 인용 빈도에 따라 중요한 보고들은 선정하였다. 예를 들어, 2011년 말까지 Patolsky 등[2]의 보고는 432회 인용되었다. 저자들은 기법 위주의 출판물에서 인용한 보고들을 조사하고, 이러한 보고들의 관련된 참고문헌을 살펴보았다. 분석 대상을 상호 검

번역: 박용정
연세대학교 의과대학 진단검사의학교실
E-mail: medic119@yuhs.ac

Received: September 28, 2012
Revision received: September 28, 2012
Accepted: October 2, 2012

This article is available from http://www.labmedonline.org
© 2013, Laboratory Medicine Online
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*본 원고는 양 잡지의 발행인 사이의 협약에 의하여 Clinical Chemistry에 실린 영문 논문을 번역하여 게재하는 것으로, 본 논문을 인용하고자 할 때는 다음과 같이 원 논문을 인용하여야 함. 원 논문의 저자 사사표기 및 기타 원고의 내용과 관련이 없는 부분은 번역 과정에서 생략하였음. 참고문헌 표기 방식은 원문 방식을 그대로 사용하였음.
원문 인용: Gordon J, Michel G. Discerning Trends in Multiplex Immunoassay Technology with Potential for Resource-Limited Setting. Clin Chem 2012; 58(4):690-8.

eISSN 2093-6338

토(peer-reviewed) 후 출판된 문헌만으로 제한하였지만, 예외로 역사적인 측면을 설명하기 위해 중요한 특허는 다루었다. 전반적인 관련분야에 대한 검토는 본 종설의 범주를 벗어나며, 상업적 개발인 경우도 기업 비밀로 보호되어 접근할 수 없으므로 누락되었을 수 있다. 또한, 검체의 종류에 따라 정해진 검체 준비와 관련된 일부 추가적인 사안들도 다루지 않았다.

우리들은 구현된 기술들의 특징을 분석하고, 이 기술들이 분류별로 현장검사(point-of-care) 상황에서 어떻게 활용될 수 있는지에 대한 객관적인 결론을 도출하고자 하였다.

1. 자가수행검사(self-performing assays)

자가수행검사는 검체를 첨가하는 과정만으로도 이후 판독이 가능한 결과를 얻는데 필요한 일련의 반응이 시작되므로 재원이 제한된 상황에서 사용될 수 있는 이상적인 도구이다. 이 영역에서 측면유동면역발색법(lateral flow immunochromatographic assay, LFIA)은 가장 잘 정립된 방법이라고 할 수 있다. 고전적인 샌드위치 형식에서는 검체가 표지항체를 용해하여 이동하고, 검체와 항체가 반응막(membrane)을 따라 함께 크로마토그래프되어(chromatographed) 포획영역에 결합하면, 표지물질이 포획된 경우에만 육안관찰이 가능한 축적물이 형성된다. 포획된 표지물질의 농도가 배경의 결합되지 않은 표지물질보다 충분히 높아 눈에 보이게 되므로 세척과정이 필요 없다. 우리들은 LFIA에 대한 광범위한 문헌고찰을 최근 출판하였는데[3], 표지물질의 종류에 따라 명확한 검출한계의 차이가 있었다. 예를 들어, 기존의 HIV 항체검사에는 모체 유래항원에 의한 간섭이 있는데, Parpia 등[4]은 신생아 발꿈치에서 세침으로 채혈한 혈액 내의 HIV p24 항원 존재여부를 결정하기 위한 소아용 검사법 개발을 위해 탄소 표지물질을 사용하였다. 이 연구자들은 약 2 pmol/L의 최소검출한계(limit of detection)를 달성하였으나, 이 결과는 단지 한가지 분석물질에 대한 것이었다. LFIA는 숙련된 검사자가 필요하지 않고 저렴한 비용으로 검사시약의 대량생산이 가능할 수 있다. 그러므로 이 검사는 재원이 제한된 상황에 적합하지만, 우리들은 재원이 제한된 상황과 반응막 제조사가 어느 정도 관련될 수 있는지에 대한 정보는 발견하지 못하였다.

Leung 등[5]은 심장 질환 위험도 표지자로서의 C-reactive protein (CRP)에 대한 바코드 형식의 반정량 분석과 심장 지방산결합단백(heart fatty acid-binding protein)을 동시 측정하여 심근경색의 조기진단을 위한 LFIA 방법을 고안하였다. 이 실험적인 검사의 임상적 유용성은 아직 정립된 바가 없고, 연구용 기술에 대한 측면만 발표되었다.

Biosite사는 반응막 기반의 비-자가수행 검사들부터 모세관 유도 자가수행검사들에 이르기까지 수년 동안 발전해 온 일련의 검사들을 Triage라는 이름으로 상용화 해왔다. 그러므로 이들 검사에 적용된 기술은 LFIA와는 다른 독자적인 면을 가지고 있다. Triage Drug Screen [6] 및 Cardiac Panel [7]은 현재 현장검사 용도로 상용화되어 이용 가능한 다항목 측정검사들이다. Triage 검사들은 표준적인 LFIA에 비하여 더 복잡한 원리를 사용한다. 초기의 전형적인 Triage Drug Screen 검사[6]의 경우, 고형상에 항약물항체를 부착하는 방식이 아닌 금 표지 약물유사체 추적자(gold-labeled drug analog tracer)를 항체에 결합시킨 경쟁적 면역측정법이 사용되었다. 검체에 약물이 존재하는 경우, 경쟁반응으로 복합체 생성이 억제되어 표지물질이 고형상에 결합하게 되며, 이 검사 방식으로 7가지의 서로 다른 약물을 동시에 측정하게 된다. 처음에는 검체와 동결건조된 시약이 일정시간 동안 well 안에서 섞인 후, 특정 위치에 약물 특이항체가 고정되어 있는 반응막을 따라 퍼지게 된다. 이후 반응막을 세척하면, 미리 설정된 역치 이상의 농도로 약물이 존재하는 경우 육안관찰이 가능한 반응선이 나타나게 된다. Biosite Triage Cardiac Panel 검사[7]는 처음 보고된 약물선별 검사[6]에 비하여 기술적으로 더 진보된 것으로 여겨지는데, 이 검사에서는 세 단계의 검사과정이 전혈이나 혈장을 첨가하는 한 단계로 줄어들었다. 검체는 여과장치를 통과하여 건조된 형광표지 항체가 포함되어 있는 반응공간으로 이동한다. 반응선별관문(reaction gate)에 의해 정해진 시간 동안 검체가 반응공간에 머무르게 되며, 반응선별관문이 검체와 접촉 후 친수성으로 변하고, 이로 인하여 반응액이 포획항체를 지나 모세관 현상에 의해 폐기 시약이 저장되는 공간으로 홈을 따라 이동하게 된다. 포획항체가 고정된 장소에서 샌드위치형 면역복합체가 형성되며, 남은 검체가 잔여 표지물질을 세척하여 제거하는 역할을 하게 된다. 검사결과는 자동 판독기를 통해 읽게 된다. 더 최근에 개발된 Triage Drug Screen 검사[8]는 Cardiac Panel 검사와 동일한 기술이 적용되었으나, 단순화한 경쟁적 면역측정법 원리를 사용한다. Triage Panel 검사들은 LFIA의 간편함과 함께 다항목 검사능력을 갖추고 있으나, 내부적으로는 복잡한 기전을 사용하고 있으므로, 재원이 제한된 환경에서 사용하기에는 고비용과 제한된 효용성으로 인하여 제약이 따를 것으로 생각된다.

2. 미세유체기반 시스템(microfluidics-based systems)

Hong 등[9]은 유체미세회로와 표면장력 장벽의 조합을 사용하여 시약의 유류와 흐름을 조절하는 미세유체 장치를 개발하였다. 하지만, 이 장치는 임상적 연관성이 있는 분석물질의 측정에 사용된 적은 없고, 두 가지 형광 표지물질을 사용하여 다항목 측정 용도에 대한 평가만 시도되었다.

두 연구진의 연구자들이 재원이 제한된 지역을 겨냥한 미세유체기반 시스템에 관하여 보고하였는데, 이들은 ELISA 정도의 분석

민감도를 달성하기 위하여 효소와 기질을 다루는 과정에서 발생하는 문제점이 없는 은-증강 금 미세입자(silver-enhanced gold nanoparticle) 표지물질을 사용하여 민감도를 개선하고자 하였다. Sia 등[10]은 저비용 전달기반(transmission-based) 검출 시스템과 미세유체 칩의 가능성에 대하여 입증하였으나, 재원이 제한된 환경에서 어떻게 검사시약을 추가할 수 있을지에 대한 해법은 제시하지 않았다. Chin 등[11]은 공기 틈새에 의해 개별 시약을 분리하여 반응액에 추가하는 방법과 주사기에 의해 생성된 진공을 사용한 검사법을 개발하였다. 이들의 보고는 실사용 현장에서 이 시스템의 성능에 관한 자료를 제공하였지만, 14종의 연속적 시약을 수기로 조절해야 하기 때문에, 아직은 검사과정에 어려움이 따를 것으로 보인다.

종이나 막을 통한 크로마토그래피법을 사용하는 저비용 미세유체 시스템을 제작하기 위하여 많은 노력이 있어왔다. 1990년에, 우리들 중 한 연구자는 액체 미세회로와 프로그램이 가능한 미세유체를 만들기 위하여 막에 장벽을 형성하는 방법을 최초로 기술한 바 있다[12]. 해당 저자들은 합성수지 위의 니트로셀룰로즈 막에 레이저 식각 장벽(laser-etching barrier)을 새겨 유체이동 경로를 만들었다. 최근에는 시약의 전달 흐름을 조절하기 위한 다양한 형태의 그물망 시스템을 만드는데 니트로셀룰로즈 기반 시스템이 사용되어 왔다[13]. 또한, 여러 종류의 분석물질 및 각기 다른 검체를 위하여 통제된 유체이동 경로와 층간 교류 구조를 갖도록 종이를 층으로 쌓아 배치하는 3차원 구조 시스템도 제작된 바 있다[14]. 하지만, 이러한 방법들[13, 14] 모두가 면역측정법에 적용될 수 있을지에 대한 자료는 제시된 바가 없다.

Melin 등[15]은 Johnson and Johnson Nordic사의 자회사인 Åmic사가 개발한 "4 castchip"이라는 주입 성형 및 양식화된 표면 원주칩(injection molded, patterned-surface pillar chip)을 막 대신 사용하여 막과 관련된 문제점들을 피하면서 유류를 조절하기 위해 고안된 측면 유류 시스템(lateral flow system)에 관하여 보고하였다. 이 시스템은 검체 영역, 반응 영역 및 흡습 영역(wicking zone)으로 구성되어 있고, 심혈관질환의 위험도 평가를 위한 표지자인 CRP와 B-type natriuretic peptide (BNP)를 동시 측정할 수 있다. 혈장 검체와 표지물질이 혼합되어 검체 영역에 이른 후, 반응액이 반응 영역에 있는 포획항체를 지나 이동하게 되고, 이후 흡습 영역에서 잉여 반응액이 제거된다. 형광 판독기(fluorescence reader)를 이용하여 반응 영역에서 발생하는 신호를 읽게 된다. CRP 분석은 경쟁적 면역측정법 원리를 통하여 이루어 지는데, 희석하지 않은 검체에 대하여 임상적으로 적절한 범위의 분석 민감도를 도출하였다. 원주 칩(pillar chip)은 원칙적으로 더 큰 규모의 대량생산이 가능하고, 막에 비하여 생산비용이 저렴하다. 이 검사법은 검체와 표지물질을 혼합하는 과정이 별도로 필요하기 때문에 재원이 부족한 상황에서 사용하기에는 제약이 있을 수 있고, 지금까지는 이 방법으로 오직 두 종류의 분석물질을 한번에 측정하는 기술만 보고되어 있다.

Doering 등[16]은 3종의 호흡기 바이러스 검출을 위한 각 검사들을 하나의 포획 막대(capture bar)에 통합한 삼중 LFIA를 보고하였다. 검출항체는 이산화규소(silica)가 도포된 미세금(nanogold)과 Oconica사에서 상용화한 특징적인 Raman 보고자(reporter)로 표지되었다. Raman 보고자는 신호 증폭을 위해 표면 증강 Raman 공명 분광(surface-enhanced Raman resonance spectroscopy)을 사용한다. 생물학적 물질이 생성하는 배경신호가 적기 때문에 적외선 영역의 단색 레이저가 광원으로 사용되었다. 이 방법은 결과 판독을 위하여 레이저와 분광계(spectrometer)가 필요하며, 임상검체를 대상으로 한 실험자료나 실험의 구체적인 내용은 아직 출판된 바 없다.

3. 광학 면역감지 시스템(optical immunosensor systems)

몇몇 연구진들이 항원항체결합을 직접 검출함으로써 표지물질이 필요없는 광학 바이오센서(optical biosensor) 시스템에 대하여 기술하였다. 표지물질의 필요성을 제거하여 측정 시스템을 단순화할 수 있는 가능성이 있으므로 이 시스템은 자가수행이 가능한 것으로 간주될 수 있다. 최근에 Gopinath가 검토한 바 있는[17] Biacore 시스템은 금박(gold film) 표면의 표면 플라스몬 공명(surface plasmon resonance)을 이용하여 굴절률의 변화를 측정한다. 이 시스템은 결합 상호작용을 측정하기 위한 용도에 다양하게 적용될 수 있는 것으로 보고되어 왔으나, 엄밀하게는 본래 연구실 사용 목적으로 고안되었다. 이 기술을 이용하여 운동 상수 및 결합상수를 결정하는 연구가 매우 많이 출판되었으며, 사용된 항체의 친화도와 직접적으로 연관되어 최소검출한계가 결정되는 것으로 알려져 있다. 비록 이 시스템이 자동화를 통하여 여러 종류의 결합 상호작용을 병렬로 대량고속 선별검사 하는데 사용될 수 있지만, 원칙적으로는 한번에 하나의 결합 상호작용만을 측정할 수 있다.

Gauglitz 등[18]은 반사율 분광기(reflectance spectroscopy)를 면역측정법에 적용할 수 있는 가능성에 대하여 보고하였다. 결합반응이 간섭필터 표면에서 발생하면, 고분자 결합 반응으로 인하여 간섭필터의 광학적 두께가 변화되며, 이때 시간에 따른 분광 스펙트럼의 이동을 측정하여 결합반응을 검출할 수 있다. Zavali 등[19, 20]은 백색광선 반사율 분광기를 이용하여 IgG가 항IgG 항체와 결합하는 반응을 측정하는 시스템을 보고한 바 있는데, 150 pmol/L 농도의 분석물질을 1분 이내에 검출할 수 있었다. 표지물질과 세척단계가 필요없으므로 검사과정이 매우 단순하며, 이 저자들은 탐침자(probe)를 재생하는 조건에 대해서도 기술하여 폐기물의 수를 최소화할 수 있도록 하였다. 그러나, 임상검체에 적용

http://dx.doi.org/10.3343/lmo.2013.3.1.62

한 사례나 다항목 검사 성능에 대해서는 보고된 바 없다.

ForteBio Octet은 상기 기술과 유사한 백색광 분광기를 사용하였으나[21-23], 광섬유 끝에 위치한 탐침자의 첨단에서 발생하는 내부반사를 직접 측정함으로써 검사방법을 단순화하였다. 입사광선과 반사광선 사이의 간섭은 탐침자 첨단의 생물학적 막의 광학적 두께에 영향을 받게 되는데(biolayer interferometry), 이 원리를 이용하면 파장길이의 변화를 감지하여 실시간으로 결합 반응을 측정할 수 있다. Microtiter plate상의 well 8개당 하나의 일회용 탐침자를 사용하여 8중 검사가 가능하고, 탐침자를 반응액에 담근 후 판독하는 방식이므로 시약의 첨가 과정이나 유체 시스템이 필요 없다. 또한, 결합반응이 광학적 표면에서만 측정되기 때문에 이 시스템은 검체의 기질효과에 거의 영향을 받지 않는다. 현재까지는 실험실용으로 적용되어 왔으며 임상적 적용에 대해서는 평가된 바 없다. 분광기가 필요하므로 재원이 제한된 환경에서 사용하는 데에는 제약이 따를 것으로 보인다.

Axela사는 선을 구성하는 점들이 광학 격자를 형성하는 현상에 기반하여 표지물질이 필요 없는 광학감지 체계인 dotLab 시스템을 개발하였다[24]. 레이저에 의하여 격자를 조광하고 빛이 투명 지지 매체를 통과하는 동안 총 내부 반사에 의한 회절선(diffraction pattern)이 형성된다. 회절선의 강도는 선상에 결합된 물질의 종류에 따라 변하는데, 이 선 위에 avidin이 인쇄되어 있어 사전에 만들어둔 biotin 표지면역복합체가 결합하게 된다. 검사장비는 8개의 둥근 점이 한 열을 구성하는 미세채널들로 이루어져 있어서 원칙적으로는 8중 면역측정이 가능하며, CCD 카메라(charge-coupled device camera)를 사용하여 회절선을 읽게 된다. 이 시스템은 프로그램 가능한 유체 조절장치에 의하여 통제되며, 표지물질이 필요없는 검출법에는 물론 효소 표지 신호증폭에도 선택적으로 적용할 수 있다. 이 시스템을 임상적 상황에 효과적으로 활용할 수 있는 방법은 아직 정해지지 않았다.

수년 전에, 우리들 중 한 연구자가 순간적 도파관 유도(evanescent waveguide-directed) 조광과 광산란 표지물질을 이용하여 결합반응을 검출하는 시스템을 보고한 바 있다[25, 26]. 이후 Precision Photonics사의 자회사인 MBio Diagnostics사는 형광 표지물질과 보완적인 금속 산화물 반도체 카메라 검출을 사용하는 유사한 시스템을 개발하고[27], 수기 검사법으로 HCV 및 HIV 항체 5종을 검출하는 실험을 통하여 시스템의 적용 가능성을 입증한 바 있다. 이 시스템은 저비용 검사법으로 사용될 가능성이 있으나, 현재까지 재원이 제한된 환경에 적용할 수 있을지에 대해서는 보고된 바 없다.

Phillips사의 한 연구진은 자석 미세입자가 큐벳(cuvette)의 한쪽 표면에 축적됨으로써 반대쪽 면의 총 내부 반사가 억제되어 물질을 검출할 수 있는 광자기 바이오센서(optomagnetic biosensor)를 개발하였다[28, 29]. 혈장이 큐벳에 직접 첨가되고 도파관 표면에서 발생한 면역반응이 외부의 자기장에 의해 촉진된다. 검사과정은 단일 단계로 이루어지며, 세척과정은 필요 없다. 결과는 CCD에 의해 실시간으로 판독된다. 따라서, 이 시스템은 재원이 제한된 상황에서 사용될 수 있는 많은 역량을 가지고 있으나 대량생산 가능성이나 비용에 관해서는 알려진 바 없다.

Purdue 대학의 한 연구진은 BioCD라고 명명된 회전 디스크 기술을 고안하였다[30, 31]. 이 연구진은 120 nm의 이산화 규소(silicon dioxide) 표면에서 반사된 아르곤 레이저 광의 간섭 측정 자료를 사용하였는데, 결합하는 물질에 따라 결합반응 전후의 회전 원판은 서로 다른 두께의 광학 지도를 만든다. 이 연구자들은 소수성 염료(hydrophobic ink) 고리에 의해 생성된 96-well 형식 또는 각 점을 서로 다른 용액에 반응시킬 수는 없는 25,000개 점의 배열에 대해서 기술하였다. 연구자들은 다수의 점으로부터 얻은 결과의 평균을 사용함으로써 신호대비잡음(signal to noise)이 감소하고 이에 따라 최소검출한계를 개선할 수 있다고 보고하였다. 원칙적으로 이 기술은 표지물질이 필요없는 면역감지장치이다. 전립선 특이항원(prostate-specific antigen)과 같은 분석물질에 대한 충분한 분석 민감도를 달성하기 위하여, 부피로 인해 이차항체가 표지물질처럼 작용하는 방식의 샌드위치형 측정법이 수행되었다. 비록 원칙적으로는 이 시스템이 고도의 다항목 측정법의 특성을 가지고 있지만, 원판이 표준적인 CD의 규격에 부합하지 않고, 표지물질을 사용하지 않을 수 있음에도 검사과정이 여러 단계이며, 결과 판독을 위해서 표면이 세척 및 건조되어야 하고, 예민한 광학기기와 아르곤 레이저를 사용해야 되므로, 이 방법은 재원이 한정된 상황에서 임상 검사용으로 사용하기에 적합하지 않다. Quadraspec사는 이 회전원판 시스템을 상용화하였고, 같은 연구진은 발광다이오드(light-emitting diode, LED)에 의한 빛이 현미경 대물렌즈를 거쳐 검체에 조사되고 입사광과 반사광 사이의 간섭을 이용하여 반응 층의 광학적 두께를 계산하는 방법을 적용하여 원래의 기술을 변형하였다[32]. 인접한 영상 사이의 차이를 분석하여 입사광과 반사광 간의 차이를 증폭시키는데, 이 변형된 기술은 최소검출한계에 대한 면을 절충하여 BioCD 검출 시스템을 단순화한 것이다.

음악산업 측면에서는 CD 기술이 이미 널리 보급되어 있고 저비용 대량생산을 실현했으므로 앞서 언급한 BioCD 시스템이 CD 기술과 유사한 회전 원판을 사용하였는데, 이후 추가적으로 회전 원판의 광학적 탐색을 면역측정법의 기본 원리로 사용하려는 몇몇 시도가 이루어져 왔다. Madrid의 한 연구진은 표준 원판을 기반으로 하는 기술을 개발한 바 있다[33-38]. 가장 최근에 개발된 기술에서는[38], 플라스틱 표면에 직접 결합된 합텐(hapten)을 사용하여 환경적으로 서로 연관되어 있는 6가지 소분자 물질을 경쟁적 면

역측정법으로 측정하였는데, 콜로이드 금 항체를 은으로 강화하여 표지물질로 사용하였으며, DVD와 함께 CD head reader를 사용하여 반응강도를 직접 결정하였다. Li 등[39]은 이미 개발되어 있는 오류검출 소프트웨어를 사용하여 사전에 음향 파일이 녹음된 변형되지 않은 원판 상에서 결합반응이 일어난 위치를 읽어내는 방법을 고안하였다. 비록 기존의 CD/DVD 기술을 사용한다는 명백한 이점은 있지만, 현재까지는 시약을 원판에 인쇄하는 과정으로 인하여 음향용 CD처럼 대량생산이 어렵고, 검사과정에 다수의 시약 처리가 필요하기 때문에 검사실 현장에 적용하기는 어려울 것으로 보인다.

아테네의 한 연구진은 모세관 내의 특정 부위에 결합반응이 일어나는 장소를 위치시키고 레이저로 조사하여 모세관 벽을 따라 형광 파장을 읽는 방식의 다항목 측정용 모세관 기반 면역감지기를 개발하였다[40-42]. 일차항체가 검체와 혼합되어 모세관을 따라 흐르게 되고, 이어서 형광표지 항체가 흐른 후 모세관을 레이저로 분석한다. 모세관을 통한 흐름을 이용하므로 검사과정의 단순화가 가능하였으나, 모세관 내의 지정된 위치에 포획탐색자를 부착하는 과정에는 아직 어려움이 있다. 같은 연구진의 구성원들은 [43, 44] 도파관 표면의 형광표지 결합 반응을 검출하기 위해 도파관을 따라 LED와 검출기를 통합한 장치를 개발하였다. 이 장치는 9개의 LED와 감지기 표면 및 단일 검출기로 구성되어 있다. 아테네 연구진은 여러 종류의 PCR 증폭산물을 동시 검출을 위해서 단일체(monolithic) 장치를 사용하였는데, 면역측정법에도 이 장치를 같은 방식으로 충분히 적용할 수 있을 것으로 보인다. 전체 장치는 표준적인 미세 가공 기술을 사용하여 제작될 수 있으며, 개발자들은 이 장치를 현장검사 시스템 용도로 사용하도록 제안하고 있다. 관련 질환에 얼마나 잘 적용할 수 있을 지와 재원이 한정된 상황에서 요구되는 범위 내의 비용으로 제작이 가능할 지에 관해서는 향후 연구에서 입증될 필요가 있을 것으로 보인다.

4. 전기화학적 방법(electrochemical methods)

전기화학적 기술이 Fraunhofer Institute에서 개발되었고 이 기술을 적용한 장치가 eBiochip사에 의하여 상용화되어 eMicro-ELISA로 명명되었다[45]. 이 장치는 다중핵산검출 및 면역측정법의 용도로 사용되어 왔으나, 모든 검사법에 효소표지 항체 결합 과정이 필요하다. 예를 들어, Quiel 등[46]은 세균 독소를 검출하기 위하여 이 장치를 사용하였다. 이 장치는 16개의 전극배열로 구성되어 있고, 각각의 전극 배열 사이에 금 성분이 맞물려있다[45]. 포획항체가 전극 상에 위치하고 있으며, 장치에는 자동화 ELISA 과정이 설정되어 있다. 효소 표지물질의 활성에 의해 전기적 활성을 갖는 산물인 p-aminophenol이 생성 및 검출되며, 이를 통하여 전극에서 산화 환원 반응이 재순환되어 결합된 산물의 양에 상응하는 전기적 신호가 생성된다. 총 검사시간은 26분이고, 유사한 기술과 비교하여 비용이 적게 들고 조작이 단순하므로 이 시스템을 현장검사나 임상검사 용도로 사용하는 것이 제안된 바 있다[47]. 이 시스템을 재원이 제한된 상황에 실제로 적용할 수 있는가에 대해서는 추가적인 검토가 필요하다.

다른 전류측정 배열 시스템(amperometric array system)이 Genefluidics사에 의해 개발되었다[48]. 해당 장치는 각각을 분리하여 다룰 수 있는 6개의 플라스틱 기반 금 도포 전극으로 구성되어 있는데, 공기압과 수압을 통해 조절되는 미세유체 시스템 내에 시약이 함유된 카트리지가 포함되어 있고, 스마트폰으로도 제어될 수도 있다. 겨자무과산화효소(horseradish peroxidase)가 면역측정법이나 핵산 교잡 측정법을 위한 표지물질로 사용된다. 효소에 의해 tetramethylbenzidine (TMB)이 환원되어 전류가 생성되고 전류측정 검출방법에 의해 판독된다. 총 검사 시간은 1시간 이내이고, 핵산 기반 측정 시스템에 대해서는 임상검증이 이루어졌다[49]. 초기의 기술은 구강암을 진단하기 위한 검사로서 타액에서 thioredoxin 및 interleukin-8과 같은 단백체 생체표지자 조합과 SAT, ODZ, interleukin-8 및 interleukin-1b 등 4종류의 mRNA 생체표지자를 검출하는데 사용되었다[50]. 이 시스템은 환자 주위에서 사용되거나 재원이 제한된 상황에 적용될 수 있는 것으로 간주되고 있지만[48], 현재까지 재원이 제한된 환경에서 수행된 검사에 관한 자료나 비용 분석 결과가 제시되지는 않았다.

Abbott사의 I-Stat은 cardiac troponin I과 같은 물질의 검출을 위한 면역측정법이 가능한 손에 들 수 있는 크기의 분석기이다. 이 시스템은 alkaline phosphatase 표지 샌드위치형 면역측정법과 전기활성 산물(electroactive product) 및 전류측정 판독을 검사원리에 적용하였다[51]. 이 장치는 상용화된 상품에 요구되는 정도의 임상적 유용성이 있는 분석 민감도를 달성하였으나, 면역측정법을 시행하기에는 재원이 부족한 상황의 경우 복잡한 검사과정과 비용으로 인하여 유용성이 떨어질 것으로 보인다. 또한 이 장치는 다항목 측정검사를 수행할 수 없는 것으로 알려져 있다.

5. 전계효과 트랜지스터 기술(field-effect transistor technology)

전계효과 트랜지스터(FET)는 원료, 배출 및 관문(source, drain, gate)의 3가지 요소(terminals)로 구성되는데, n-channel이나 p-channel 등의 FET 종류에 따라 전자나 구멍(electrons or holes) 등 한 종류의 수송체에 의해 전류가 전도된다. 관문 표면의 전하에 의해 전하나 자유상태 구멍(free holes)이 관문 아래의 기질 영역으로부터 멀어지게 되고, 이로 인해 수송체가 소모된 영역이 생기게 된다. 충분한 전하량이 존재하게 되면, 원료와 배출 부위가 전기적으로 연결되는데, 전기화학적 방법에 비하여 FET이나 이온감응

http://dx.doi.org/10.3343/lmo.2013.3.1.62

FET은 표지물질이 필요없는 장점이 있다. 이 장치는 트랜지스터에 기반을 두고 있고 트랜지스터 내부의 전류는 표면 전하에 의해 영향을 받는다. 따라서, 결합된 단백질이 충분한 전하를 띠는 경우, 결합물의 종류에 따른 전하량을 기반으로 결합반응을 직접 측정할 수 있다. 검출 원리에 이용되는 효과에 이온화 정도, 산도(pH) 등의 조건이 심각하게 영향을 줄 수 있어, 기질 효과에 취약한 단점이 있다. 추가 고려사항으로, 이 시스템은 전하의 공간적 배치에 민감하기 때문에 결합된 분자의 위치가 반응표면에서 확장되는 경우 반응의 효과가 작아진다[52]. Park 등[53]은 CRP 추적검사를 위한 용도로 이 검사법의 유용성을 보고한 바 있는데, 모든 자료가 완충액 내의 용액을 사용하여 수집되었고, 혈청이나 혈장을 검체로 사용하는 시도는 없었으며, 다항목 검사방법도 보고된 바 없다. Bian 등[54]은 hemoglobin과 hemoglobin A1c를 동시에 측정하는 FET 기반 시스템에 관하여 보고하였는데, 이들은 해당 기술을 침상 옆에서 사용할 수 있는 시스템으로 제안하였다. 그들의 보고에는 완충액으로 희석한 분석물질을 측정한 자료만 포함되었고, 환자 검체를 사용하여 수집한 자료는 제시되지 않았다.

FET 장치는 측정 규모를 줄임으로써 민감도를 증가시킬 수 있는 장점이 있는데, FET 기능을 갖는 미세선(nanowire)을 사용한 장치가 Patolsky 등에 의해 보고된 바 있다[2]. 이 장치는 원료와 배출 사이가 2 μm 간격인 규소 미세섬유로 구성되어 있고, 이로써 계산상으로는 단일 바이러스 개체의 결합 반응 수준까지 측정할 수 있다. 같은 연구진[55]은 암 표지자인 prostate-specific antigen, carcinoembryonic antigen 및 mucin-1을 검사할 수 있는 다항목 검사 시스템 또한 보고한 바 있다. 하지만, 모든 과정에서 희석된 완충액을 사용하여 측정이 수행되었고, 걸러진 염소 혈청을 혼주하여 실제 검체에 대한 효과를 제어하였다. 따라서, 표지물질을 사용하지 않는 매우 단순하고 정교하며 민감한 시스템으로서의 가능성에도 불구하고, 임상검체의 이온 함량과 pH에 관한 문제점은 아직 해결되지 않은 상태이다. Gong [56]은 전기영동을 적용하고 시스템에 교류전기장을 공급하여 분석물질을 미세섬유에 집중시킴으로써 민감도를 더욱 증가시킬 수 있었다. 그는 prostate-specific antigen 측정을 모형 시스템으로 하여, 최소검출한계를 1 fmol/L에서 1 amol/L로 개선하였다. 이러한 낮은 최소검출한계는 저이온강도 완충액으로 희석한 순수 단백질을 사용하여 달성되었으며, 임상검체를 사용한 자료 수집은 시도된 바 없다.

원칙적으로 나노규모(nanoscale)의 장치는 매우 낮은 비용으로 대량 생산이 가능하다. 현재까지 몇 가지 FET 장치[2, 55, 56]에 적용된 제조 방법들이 보고되어 있는데[57], 미세 섬유는 액상에서 7단계를 거쳐 따로 제조되고 9단계를 거쳐 최종 장치에 통합된다. 그러므로 이러한 다단계 생산으로 인하여 나노규모 장치를 저렴하게 대량 생산할 수 있는 가능성에 제한이 있을 수 있다.

탄소 미세관(nanotube)이 미세섬유의 대체물로 제안되기도 하였는데, 미세섬유보다 크기가 작아서 민감도를 더 높일 가능성이 있다[58]. 또한, Briman 등[59]은 트랜지스터 대신 미세관으로 이루어진 망을 전기용량 장치로 사용하여 저이온강도 조건을 유지할 필요가 없는 방법도 시도하였다. 이 연구자들은 송아지 혈청에서 1 μg/L 정도로 낮은 prostate-specific antigen을 측정할 수 있는 가능성을 입증하였다.

미세섬유나 미세띠(nanoribbon)에 대한 대체 제조방법도 보고된 바 있는데, 이 방법들은 화학적 합성 이후 칩으로 합성물을 옮기는 방법이 아닌 직접 선을 위에서 아래로 평판 인쇄하는 방식을 적용하였다. Stern 등[60]은 절연판 상의 규소 표면에 선택적으로 식각(eching)한 사다리꼴 구획을 이용하여 미세섬유를 제조하였다. Biotin화된 표면에 streptavidin이 결합하는 모형 체계와 함께 미세섬유를 선택적으로 기능화(functionalization)하는 조건이 보고되었는데, 이를 통해 10 fmol/L 농도까지 유의한 전기적 반응이 관찰되었고, 게다가 IgG와 항IgG 항체의 결합을 이용하여 100 fmol/L 농도도 검출하였다. 비록 이 시스템은 대규모 저비용 제조에 적합할 수 있으나, 해당 연구자들은 저이온강도 완충액을 사용하여 수행한 단일물질측정 검사만을 보고하였고, 임상검체에 대한 자료는 제시하지 않았다. 또한, Elfstrom 등[61]도 미세띠를 사용하여 avidin biotin 결합을 검출할 수 있음을 실험적으로 입증하였으나, 검출한계는 1 pmol/L이었다.

Chua 등[62]은 군집 당 5개의 미세선으로 이루어진 군집 36개로 구성된 다중화가 가능한 수직(top-down) 미세제조 시스템을 제조하였으나, 다항목 검사에 대한 평가는 시도하지 않았다. 그들은 저이온강도 조건에서 1 fg/mL의 cardiac tropinin I이나 희석하지 않은 혈청에서 30 fg/mL 농도의 최소검출한계를 달성하였다. 하지만, 사용된 혈청은 사전에 탈염된(desalted) 것이었으며, 검체 탈염 과정이 필요하므로 재원이 제한된 상황에서는 제약이 따를 것으로 보인다.

미세선의 사용에 대한 대안적인 접근으로 관문 아래의 원료와 배출전극 사이에 미세간극(nanogap)을 도입하는 방법이 있다. 미세간극 내의 전기용량은 원료와 배출 사이의 전류에 영향을 끼친다. 이 장치는 쌍전기변조(dielectricmodulated) FET으로 불리는데[63], avidin biotin 결합에 응용할 수 있음이 입증된 바 있다. 표준적인 이온선택적 FET의 경우처럼, 이 방법은 결합된 물질에 따른 전하의 차이에 영향을 받지 않는다. 이후 이 기술은 단일 간극 대신 두 개의 간극을 사용하여 개량되었고, 6×6 배열로 제조되었다. 다항목 측정은 시도되지 않았으나, 이 배열방법은 평균을 사용하여 결과 통계를 개선하는데 적용되었다. 이산화규소(silica) 결합단백을 이용한 연결을 통하여 조류독감 바이러스 AIa 항원이 선택적으로 간극에 결합한 후, AIa 특이 항체가 결합되고 전기적 측정

이전에 장치를 건조시킨다. 최소검출한계는 제시되지 않았으며 임상검체를 분석하려는 시도도 이루어지지 않았다. 그러므로 이 장치가 현장검사 상황에 사용될 수 있을 것으로 보고되기는 하였지만, 이는 아직은 매우 예비적인 결과로 보인다.

6. 거대 자기저항 감지 기술(giant magnetoresistive sensor technology)

거대 자기저항(giant magnetoresistive, GMR) 감지 원리는 자기장 내 전자 회전의 재편성에 기반한다. 양자 상태(quantum state)로 인하여 자기장의 작은 변화가 큰 폭의 전기저항 감소로 이어지기 때문에 '거대'로 명명되었다. 이 원리는 컴퓨터 하드디스크의 자료저장 기술로 오랜 기간 동안 사용되어 왔다. Srinivasan 등[65]은 GMR 기반의 감지기를 개발했으며, 이 연구자들은 13 nm 정도로 작은 크기의 균일한 자기 미세입자 표지물질(magnetic nanoparticle label)이 필요함을 강조하였고, 미세입자는 정육면체 형태이어야 한다. 이 저자들은 interleukin-6 검사를 위한 샌드위치형 면역측정 시스템을 개발하였고, 2×10^{6} 분자 수준의 최소검출한계와 농도-반응의 직선성을 입증하였다. 이후 연구에서, 같은 연구진은 경쟁적 면역측정 방식을 사용하여 여과과정을 거치지 않은 사람 혈청 내의 interleukin-6를 50 fmol/L 정도로 낮은 농도까지 검출하였다[66]. 컴퓨터 저장소 용도의 GMR 장치가 대량 생산될 수 있는 점을 감안할 때, 이러한 감지기를 저비용으로 대량 생산할 수 있을 것으로 생각되지만, 검사과정 중 각 결합 반응 이후 철저한 세척과정이 필요하다.

앞서 언급한 광학적 방법과 더불어[28, 29], Philips사의 연구진은 300 nm 크기의 자기입자(magnetic particle)를 적용한 GMR 시스템을 보고한 바 있다[67]. 이 연구진은 완충액 내의 부갑상선 호르몬을 picomole/L 농도까지 검출하였다. 이 측정법은 세척과정이 필요없는 신속한 한 단계 반응을 적용하였으나, 임상검체에 대한 자료는 제시된 바 없다.

Stanford 대학의 한 연구진은 50 nm 크기의 자기입자를 바탕으로 GMR 시스템을 개발하였다. Hall 등[68]은 이 시스템이 최적화된 전기적 검출 시스템을 갖추었고 64개 단위의 배열을 사용하여 세가지 물질을 동시에 측정할 수 있다고 보고하였다. 또한, 이 저자들은 온도 변화를 보정하는 방법을 사용하여 개선된 재연성을 입증하기도 하였다[69]. 그들은 감지기에 비하여 자기력으로 조절되는 입자의 이점이 없음을 밝혔고, 완충액 내의 분석물질에 대하여 5 fmol/L의 최소검출한계를 입증하였다. 비록 비용, 생산성, 사용편이성 등의 사항들은 검토기준에 포함되지 않았으나, Hall 등[68]의 보고는 GMR 검출 시스템의 특징에 관해 유용한 문헌검토 내용을 제시하고 있다.

7. 일반적인 고려사항

다양한 방면의 기술이 Table 1에 요약되어 있다. LFIA는 적절한 표지물질을 선택하는 경우 고 민감도를 구현할 수 있는 가능성이 있고, 현재 선호되는 방법이다. 인도나 중국과 같은 개발도상국에서 생산이 이루어지고 있기는 하지만, 우리들이 아는 바로는 재원이 제한된 국가에 생산 기술이 전수된 상황은 아니다. 광학 바이오센서는 진정한 딥스틱(dipstick) 검사형태로 개발될 가능성이 있어 매력적인 기술이지만, 반사율 분광 측정방식은 검출한계가 10^{-10} mol/L 범위까지로 제한되어 있는 것으로 여겨진다. 분광계의 필요성이 장애물로 여겨질 수 있음에도, 향후에 매우 단순하고 저렴한 분광계 생산을 위한 기술의 진보가 이루어질 가능성을 배제할 수 없을 것이다. CD 기술의 도입은 큰 이득을 가져올 것으로 기대되지 않는다. 전기화학적 방법은 더 높은 분석 민감도를 구현할 수 있으나, 전기활성 생성물의 생산을 위한 효소면역측정법에 탑재된(on-board) 시약이 필요하므로, 다항목 검사로서는 제한이 있는 것은 물론 비용도 추가되고 검사과정도 복잡해질 것이다. 향후 전자장비의 저비용 생산이 가능할 수 있고 심지어 휴대 전화 기술도 적용될 수 있을 것으로 보인다. 변형된 FET 기술은 이례적인 고민감도를 실현할 수 있고, 미세제조화로 대규모 저비용 생산이 가능할 수 있지만, 태생적으로 염(salt) 이온에 영향을 많이 받는 것은 치명적인 약점일 수 있다. GMR 기술은 다항목 검사능력과 함께 극도의 고민감도를 달성할 수 있도록 최적화될 수 있을지 모르지만, 아직까지는 온도에 민감한 점이 해결해야 할 과제일 수 있다. 요약하면, 다수의 흥미로운 기술들이 출현하고 있지만, 대부분은 각각 한 종류 또는 다른 종류의 단점을 가지고 있으며, 현재는 LFIA가 선호되는 방법으로 남아 있다.

요 약

배경: 재원이 제한된 상황에서 풍토병 진단을 위한 보다 강력한 도구를 찾기 위하여, 저자들은 현재 적용 가능한 기술들을 분석해 보았다. 정확한 표준검사실에 의존함으로써 발생하는 손실 없이, 확실한 진단을 위해 점점 더 강력해지고 있는 다항목 검사능력과 더불어 이미 체액 분석에 사용될 수 있는 방법을 중점으로 분석하였다. 민감하고 특이적으로 질병을 발견하기 위해 이러한 기술적 진보가 중요한 의미를 가질 수 있으나, 현재까지 특히 재원이 제한된 상황 하에서 이 기술들의 임상적 유용성은 입증되지 않았다. 게다가, 많은 새로운 기술 개발이 물리학이나 제조업 분야에서 이루어지고 있어 임상의사나 임상검사실의 연구자들이 사용하거나 쉽게 이해할 수 있는 실정은 아니다.

내용: 이 문헌고찰은 재원이 제한된 상황에서 고민감도 다항목 면역측정법으로 사용될 가능성이 있는 기술의 추세에 관한 견해를

http://dx.doi.org/10.3343/lmo.2013.3.1.62

Table 1. Summary of reports of immunoassays with detection limit information

Technology	LOD[a]	Multiplex[b]	Reference
Diffusion driven			
LFIA	2×10^{-12} mol/L	1	Parpia et al. [4]
LFIA	6×10^{-10} mol/L	2	Leung et al. [5]
Triage "Ascend"	3×10^{-7} to 6×10^{-6}	7	Buechler et al. [6]
Triage, fluorescent energy transfer	10^{-10} to 10^{-11} mol/L	3	Buechler et al. [7]
Pillar chip	3×10^{-13} mol/L	2	Melin et al. [15]
Microfluidic			
Silver-enhanced gold	10^{-10}	3	Sia et al. [10]
Silver-enhanced gold		7	Chin et al. [11]
Optical biosensors			
LFIA SERS[c] readout	4×10^{-10} mol/L	3	Doering et al. [16]
Reflectance spectroscopy interferometry	1.5×10^{-10} mol/L	1	Zavali et al. [19]
Octet	4×10^{-10} mol/L	8	Abdiche et al. [22]
Diffraction grating array	6×10^{-11} mol/L	8	Cleverley et al. [24]
Mag manipulation and OWG mag particles scatter	3×10^{-12} to 2.5×10^{-13} mol/L	5	Bruls et al. [28]
Optomagnetic OWG, mag particles scatter	10^{-12} mol/L	4	Dittmer et al. [29]
Interferometry with spots on spinning disk	2×10^{-12} mol/L	12,500	Wang et al. [30]
Interferometry with spots on spinning disk	1.5×10^{-10} mol/L	96	Wang et al. [31]
Interferometry with microscope, dried read	2×10^{-12} mol/L	128	Zhao et al. [32]
Fluorescence label scanned capillary OWG	7×10^{-9} to 7×10^{-12} mol/L	3	Petrou et al. [41]
Fluorogenic label scanned capillary OWG	3×10^{-8} to 7×10^{-9} mol/L	2	Niotis et al. [42]
Monolithic device, OWG, Au-Ag label	2×10^{-14} mol/L	3	Petrou et al. [44]
CD Platform			
EIA Au.Ag label, standard CD reader	2×10^{-9} to 10^{-10} mol/L	2,500	Morais et al. [33]
EIA on CD	10^{-10} mol/L	300,000	Morais et al. [34]
EIA Au.Ag label, standard CD reader, custom detector	2×10^{-11} mol/L	320	Tamarit-Lopez et al. [35]
EIA Au.Ag label, standard CD reader	10^{-9} to 5×10^{-9} mol/L	400	Morais et al. [36]
Dual polarization interferometry	10^{-10} to 3×10^{-10} mol/L	64	Tamarit-Lopez et al. [37]
Au.Ag enhanced label, CD reader	3×10^{-9} to 3×10^{-10} mol/L	4,800	Tamarit-Lopez et al. [38]
Au.Ag enhanced label, CD reader off-shelf software	2×10^{-10} mol/L	5	Li et al. [39]
Electrochemical			
eMicrolisa and electroactive product	4×10^{-10} mol/L	8	Elsholz et al. [45]
eMicrolisa and electroactive product	4×10^{-11} mol/L	2	Quiel et al. [46]
EIA and electroactive product	6×101 mol/L	12	Gau and Wong [50]
EIA and electroactive product	10^{-12} mol/L	1	Apple et al. [51]
Field effect			
FET	5×10^{-7} mol/L	1	Park et al. [53]
FET	2×10^{-7} to 3×10^{-6} mol/L	2	Bian et al. [54]
Nanowire	5×10^{-16} to 2×10^{-15} mol/L	3	Zheng et al. [55]
Nanowires	10^{-16} mol/L	2	Patolsky et al. [2]
Nanowire	10^{-15} mol/L	1	Gong [56]
Nanowire	2×10^{-15} mol/L	1	Patolsky et al. [57]
Nanotube	3×10^{-12} mol/L	1	Briman et al. [59]
Nanowire	10^{-14} mol/L	1	Stern et al. [60]
Nanoribbon	10^{-12} mol/L	1	Elfstrom et al. [61]
Nanowire	10^{-15} to 3×10^{-14} mol/L	1	Chua et al. [62]
Nanogap	10^{-7} mol/L	1	Im et al. [64]
Spintronics			
GMR	10^{-12} mol/L	1	Srinivasan et al. [65]
GMR	4×10^{-12} mol/L	1	Li et al. [66]
GMR and mag manipulation	10^{-12} mol/L	1	Dittmer et al. [67]
GMR	5×10^{-15} mol/L	64	Hall et al. [68]

[a]Limits of detection (LOD), converted to common unit of molarity from original, and rounded off to nearest integer. Values may be approximate and derived from the lowest value reported, not necessarily a complete statistical analysis. Determinations may be on pure substances in diluent with no information on sample matrix effects. Ranges are given for publications reporting more than 1 analyte; [b]Not always based on actual number of simultaneous analytes, but may be a potential value based on the number of sites available in the device; [c]SERS, surface-enhanced Raman spectroscopy; OWG, optical waveguide; EIA, enzyme immunoassay.

제시하고 있다. 제한된 비용과 민감도 및 다항목 검사능력 측면에서의 활용 가능성에 따라 다양한 기술을 설명하고 평가하였다. 이러한 기술에 대한 연구들은 임상 연구자들이 흔히 구독하는 학술지가 아닌 기술적인 내용을 다루는 잡지에 빈번하게 보고되었고, 보고자들은 가능한 단점들은 무시한 채, 그들이 개발한 기술의 가능성을 위주로 기술의 유용성을 주장해왔다. 그러므로 연구자들이 공개하지 않았을지도 모르는 기술적인 단점에 관심을 갖는 것이 중요하다.

요점: 면역발색측정법들, 도파관과 관련된 기술을 포함한 광학적 방법들, 전기화학적 방법들, 자기력제한적 방법들, 미세관이나 미세선 또는 미세띠에 기반한 전계효과 트랜지스터 방법들이 차세대 검사 기술로서 유용하게 사용될 가능성이 있다.

참고문헌

1. Hawkins KR, Weigl BH. Microfluidic diagnostics for low-resource settings. In: Becker H, Wang W, eds. Microfluidics, bioMEMs, and medical Microsystems VIII. Vol. 7593. Bellingham (WA): SPIE;2010. p 75930L1-15.
2. Patolsky F, Zheng GF, Hayden O, Lakadamyali M, Zhuang XW, Lieber CM. Electrical detection of single viruses. Proc Natl Acad Sci U S A 2004;101:14017-22.
3. Gordon J, Michel G. Analytical sensitivity limits for lateral flow immunoassays. Clin Chem 2008;54:1250-1.
4. Parpia ZA, Elghanian R, Nabatiyan A, Hardie DR, Kelso DM. P24 antigen rapid test for diagnosis of acute pediatric HIV infection. J Acquir Immune Defic Syndr 2010;55:413-9.
5. Leung WM, Chan CP, Leung MF, Renneberg R, Lehmann K, Renneberg I, et al. Novel "digitalstyle" rapid test simultaneously detecting heart attack and predicting cardiovascular disease risk. Anal Lett 2005;38:423-39.
6. Buechler KF, Moi S, Noar B, McGrath D, Villela J, Clancy M, et al. Simultaneous detection of 7 drugs of abuse by the Triage(tm) panel for drugs of abuse. Clin Chem 1992;38:1678-84.
7. Buechler KF, McPherson P, Anderberg J, Lesefko S, Nakamura K, Briggs J, et al. Triage (r) point of care quantitative immunoassay system. J Clin Ligand Assay 1999;22:208-13.
8. Biosite triage TOX drug screen [product insert]. 2007.
9. Hong JW, Chung KH, Yoon HC. Fluorescence affinity sensing by using a self-contained fluid manoeuvring microfluidic chip. Analyst 2008;133:499.
10. Sia SK, Linder V, Parviz BA, Siegel A, Whitesides GM. An integrated approach to a portable and low-cost immunoassay for resource-poor settings. Angew Chem Int Ed Engl 2004;43:498-502.
11. Chin CD, Laksanasopin T, Cheung YK, Steinmiller D, Linder V, Parsa H, et al. Microfluidics-based diagnostics of infectious diseases in the developing world. Nat Med 2011;17:1015-U138.
12. Ching S, Gordon J, McMahon ME, inventors. Abbott Laboratories, assignee. Chromatographic test strips for determining ligands or receptors. US patent 4,960,691. 1990 Oct 2.
13. Fu EL, Ramsey S, Kauffman P, Lutz B, Yager P. Transport in two-dimensional paper networks. Microfluid Nanofluidics 2011;10:29-35.
14. Martinez AW, Phillips ST, Whitesides GM. Threedimensional microfluidic devices fabricated in layered paper and tape. Proc Natl Acad Sci U S A 2008;105:19606-11.
15. Melin J, Rundstrom G, Peterson C, Bakker J, MacCraith BD, Read M, et al. A multiplexed point-of-care assay for C-reactive protein and N-terminal pro-brain natriuretic peptide. Anal Biochem 2011;409:7-13.
16. Doering WE, Piotti ME, Natan MJ, Freeman RG. Sers as a foundation for nanoscale, optically detected biological labels. Adv Mater 2007;19:3100-8.
17. Gopinath SCB. Biosensing applications of surface plasmon resonance-based biacore technology. Sens Actuator B-Chem 2010;150:722-33.
18. Gauglitz G, Brecht A, Kraus G, Nahm W. Chem and biochemical sensors based on interferometry at thin (multi-)layers. Sens Actuator B-Chem 1993;11:21-7.
19. Zavali M, Petrou PS, Goustouridis D, Raptis I, Misiakos K, Kakabakos SE. A regenerable flowthrough affinity sensor for label-free detection of proteins and DNA. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2010;878:237-42.
20. Zavali M, Petrou PS, Kakabakos SE, Kitsara M, Raptis I, Beltsios K, et al. Label-free kinetic study of biomolecular interactions by white light reflectance spectroscopy. Micro Nano Lett 2006;1:94-8.
21. Concepcion J, Witte K, Wartchow C, Choo S, Yao DF, Persson H, et al. Label-free detection of biomolecular interactions using biolayer interferometry for kinetic characterization. Comb Chem High T Scr 2009;12:791-800.
22. Abdiche Y, Malashock D, Pinkerton A, Pons J. Determining kinetics and affinities of protein interactions using a parallel real-time label-free biosensor, the octet. Anal Biochem 2008;377:209-17.
23. Abdiche YN, Malashock DS, Pinkerton A, Pons J. Exploring blocking assays using octet, proteon, and biacore biosensors. Anal Biochem 2009;386:172-80.
24. Cleverley S, Chen I, Houle JF. Label-free and amplified quantitation of

http://dx.doi.org/10.3343/lmo.2013.3.1.62

proteins in complex mixtures using diffractive optics technology. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2010;878:264 -70.
25. Stimpson DI, Hoijer JV, Hsieh WT, Jou C, Gordon J, Theriault T, et al. Real-time detection of DNA hybridization and melting on oligonucleotide arrays by using optical-wave guides. Proc Natl Acad Sci U S A 1995;92:6379-83.
26. Stimpson DI, Gordon J, Hoijer JV, inventors. Abbott Laboratories, assignee. Light scattering optical waveguide method for detecting specific binding events. US Patent 5599668. 1992 Sept 2.
27. Myatt CJ, Delaney M, Todorof K, Heil J, Givens M, Schooley RT, et al. Low-cost, multiplexed biosensor for disease diagnosis. In: Fauchet PM, ed. Frontiers in pathogen detection: from nanosensors to systems. Vol. 7167. Bellingham (WA): SPIE, 2009:716703-1-9.
28. Bruls DM, Evers TH, Kahlman JAH, van Lankvelt PJW, Ovsyanko M, Pelssers EGM, et al. Rapid integrated biosensor for multiplexed immunoassays based on actuated magnetic nanoparticles. Lab Chip 2009;9:3504-10.
29. Dittmer WU, Evers TH, Hardeman WM, Huijnen W, Kamps R, de Kievit P, et al. Rapid, high sensitivity, point-of-care test for cardiac troponin based on optomagnetic biosensor. Clin Chim Acta 2010;411:868-73.
30. Wang XF, Zhao M, Nolte DD. Prostate-specific antigen immunoassays on the BioCD. Anal Bioanal Chem 2009;393:1151-6.
31. Wang XF, Zhao M, Nolte DD, Ratliff TL. Prostate specific antigen detection in patient sera by fluorescence-free BioCD protein array. Biosens Bioelectron 2011;26:1871-5.
32. Zhao M, Wang XF, Lawrence GM, Espinoza P, Nolte DD. Molecular interferometric imaging for biosensor applications. IEEE J Sel Top Quant 2007;13:1680-90.
33. Morais S, Carrascosa J, Mira D, Puchades R, Maquieira A. Microimmunoanalysis on standard compact discs to determine low abundant compounds. Anal Chem 2007;79:7628-35.
34. Morais S, Tamarit-López J, Carrascosa J, Puchades R, Maquieira Á. Analytical prospect of compact disk technology in immunosensing. Anal Bioanal Chem 2008;391:2837-44.
35. Tamaritlopez J, Morais S, Puchades R, Maquieira A. Use of polystyrene spin-coated compact discs for microimmunoassaying. Anal Chim Acta 2008;609:120-30.
36. Morais S, Tortajada-Genaro LA, Arnandis-Chover T, Puchades R, Maquieira A. Multiplexed microimmunoassays on a digital versatile disk. Anal Chem 2009;81:5646-54.
37. Tamarit-Lopez J, Morais S, Banuls MJ, Puchades R, Maquieira A. Development of hapten-linked microimmunoassays on polycarbonate discs. Anal Chem 2010;82:1954-63.
38. Tamarit-Lopez J, Morais S, Puchades R, Maquieira A. Direct hapten-linked multiplexed immunoassays on polycarbonate surface. Biosens Bioelectron 2011;26:2694-8.
39. Li YC, Ou LML, Yu HZ. Digitized molecular diagnostics: reading disk-based bioassays with standard computer drives. Anal Chem 2008;80:8216-23.
40. Mastichiadis C, Niotis A, Petrou P, Kakabakos S, Misiakos K. Capillary-based immunoassays, immunosensors and DNA sensors: steps towards integration and multi-analysis. Trends Analyt Chem 2008;27:771-84.
41. Petrou PS, Kakabakos SE, Christofidis I, Argitis P, Misiakos K. Multianalyte capillary immunosensor for the determination of hormones in human serum samples. Biosens Bioelectron 2002;17:261-8.
42. Niotis AE, Mastichiadis C, Petrou PS, Christofidis I, Kakabakos SE, Siafaka-Kapadai A, et al. Dual-cardiac marker capillary waveguide fluoroimmunosensor based on tyramide signal amplification. Anal Bioanal Chem 2009;396:1187-96.
43. Misiakos K, Petrou PS, Kakabakos SE, Yannoukakos D, Contopanagos H, Knoll T, et al. Fully integrated monolithic optoelectronic transducer for real-time protein and DNA detection: the NEMOSLAB approach. Biosens Bioelectron 2010;26:1528 -35.
44. Petrou PS, Kakabakos SE, Misiakos K. Silicon optocouplers for biosensing. Int J Nanotechnol 2009;6:4-17.
45. Elsholz B, Wörl R, Blohm L, Albers J, Feucht H, Grunwald T, et al. Automated detection and quantitation of bacterial RNA by using electrical microarrays. Anal Chem 2006;78:4794-802.
46. Quiel A, Jurgen B, Piechotta G, Le Foll AP, Ziebandt AK, Kohler C, et al. Electrical protein array chips for the detection of staphylococcal virulence factors. Appl Microbiol Biot 2010;85:1619-27.
47. Elsholz B, Nitsche A, Achenbach J, Ellerbrok H, Blohm L, Albers J, et al. Electrical microarrays for highly sensitive detection of multiplex PCR products from biological agents. Biosens Bioelectron 2009;24:1737-43.
48. Lawi W, Wiita C, Snyder ST, Wei F, Wong D, Wong PK, et al. A microfluidic cartridge system for multiplexed clinical analysis. JALA 2009;14:407-12.
49. Liao JC, Mastali M, Gau V, Suchard MA, Moller AK, Bruckner DA, et al. Use of electrochemical DNA biosensors for rapid molecular identification of uropathogens in clinical urine specimens. J Clin Microbiol 2006;44:561-70.

50. Gau V, Wong D. Oral fluid nanosensor test (OFNASET) with advanced electrochemical-based molecular analysis platform. Ann N Y Acad Sci 2007;1098:401-10.
51. Apple FS, Murakami MM, Christenson RH, Campbell JL, Miller CJ, Hock KG, et al. Analytical performance of the i-STAT cardiac troponin I assay. Clin Chim Acta 2004;345:123-7.
52. Lee C-S, Kim SK, Kim M. Ion-sensitive field-effect transistor for biological sensing. Sensors 2009;9:7111-31.
53. Park HJ, Kim SK, Park K, Yil SY, Chung JW, Chung BH, et al. Monitoring of c-reactive protein using ion sensitive field effect transistor biosensor. Sens Lett 2010;8:233-7.
54. Bian C, Tong JH, Sun JZ, Zhang H, Xue QN, Xia SH. A field effect transistor (FET)-based immunosensor for detection of HbA1c and Hb. Biomed Microdevices 2011;13:345-52.
55. Zheng GF, Patolsky F, Cui Y, Wang WU, Lieber CM. Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays. Nat Biotechnol 2005;23:1294-301.
56. Gong JR. Label-free attomolar detection of proteins using integrated nanoelectronic and electrokinetic devices. Small 2010;6:967-73.
57. Patolsky F, Zheng GF, Lieber CM. Fabrication of silicon nanowire devices for ultrasensitive, labelfree, real-time detection of biological and chemical species. Nat Protoc 2006;1:1711-24.
58. Gruner G. Carbon nanotube transistors for biosensing applications. Anal Bioanal Chem 2006;384:322-35.
59. Briman M, Artukovic E, Zhang L, Chia D, Goodglick L, Gruner G. Direct electronic detection of prostate-specific antigen in serum. Small 2007;3:758-62.
60. Stern E, Klemic JF, Routenberg DA, Wyrembak PN, Turner-Evans DB, Hamilton AD, et al. Labelfree immunodetection with CMOS-compatible semiconducting nanowires. Nature 2007;445:519-22.
61. Elfström N, Karlström AE, Linnros J. Silicon nanoribbons for electrical detection of biomolecules. Nano Lett 2008;8:945-9.
62. Chua JH, Chee RE, Agarwal A, Wong SM, Zhang GJ. Label-free electrical detection of cardiac biomarker with complementary metal-oxide semiconductor-compatible silicon nanowire sensor arrays. Anal Chem 2009;81:6266-71.
63. Im HS, Huang XJ, Gu B, Choi YK. A dielectricmodulated field-effect transistor for biosensing. Nat Nanotechnol 2007;2:430-4.
64. Im M, Ahn JH, Han JW, Park TJ, Lee SY, Choi YK. Development of a point-of-care testing platform with a nanogap-embedded separated doublegate field effect transistor array and its readout system for detection of avian influenza. IEEE Sens J 2011;11:351-60.
65. Srinivasan B, Li Y, Jing Y, Xu Y, Yao X, Xing C, et al. A detection system based on giant magnetoresistive sensors and high-moment magnetic nanoparticles demonstrates zeptomole sensitivity: potential for personalized medicine. Angew Chem Int Ed Engl 2009;48:2764-7.
66. Li YP, Srinivasan B, Jing Y, Yao XF, Hugger MA, Wang JP, et al. Nanomagnetic competition assay for low-abundance protein biomarker quantification in unprocessed human sera. J Am Chem Soc 2010;132:4388-92.
67. Dittmer WU, de Kievit P, Prins MWJ, Vissers JLM, Mersch MEC, Martens M. Sensitive and rapid immunoassay for parathyroid hormone using magnetic particle labels and magnetic actuation. J Immunol Methods 2008;338:40-6.
68. Hall DA, Gaster RS, Lin T, Osterfeld SJ, Han S, Murmann B, et al. GMR biosensor arrays: a system perspective. Biosens Bioelectron 2010;25:2051-7.
69. Hall DA, Gaster RS, Osterfeld SJ, Murmann B, Wang SX. GMR biosensor arrays: correction techniques for reproducibility and enhanced sensitivity. Biosens Bioelectron 2010;25:2177- 81.

http://dx.doi.org/10.3343/lmo.2013.3.1.62