

72-10
62
52

工學碩士學位論文

DNA Chip 제작을 위한
Microarrayer의 개발



2003年 2月

釜慶大學校 大學院

機械設計學科

金碩烈

工學碩士學位論文

DNA Chip 제작을 위한 Microarrayer의 개발

指導教授 金 相 奉

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함

2003年 2月

釜慶大學校 大學院

機械設計學科

金碩烈

金碩烈의 工學碩士 學位論文을 認准함

2002年 12月 29 日

주 심 공학박사 이 명 숙



위 원 공학박사 정 영 석



위 원 공학박사 김 상 봉



목 차

Abstract.....	1
1. 서론	2
2. 시스템의 구성	7
2.1 신호와 데이터의 흐름	9
2.2 제어 알고리즘과 Flowchart	10
2.3 컨트롤러	11
2.3.1 신호처리용 TMS320C32의 하드웨어 및 소프트웨어의 개발	11
2.3.2 스텝핑모터 드라이버	14
2.4 본체	16
2.4.1 3축 직교 로봇	16
2.4.2 Tip과 Tip holder	17
2.4.3 각종 기계장치 및 전기장치	20
2.5 Database system	22
2.5.1 데이터베이스 모델	22
2.5.1.1 파일시스템	22
2.5.1.2 계층형 모델	23
2.5.1.3 망형 모델	24
2.5.1.4 관계형 모델	25
2.5.1.5 Microarrayer system에서의 database model ..	26

2.7 제어 알고리즘 및 통합 소프트웨어 개발.....	28
3. 실험 결과 및 고찰.....	30
3.1 Spot의 특징 해석 및 분석	30
3.1.1 데이터의 화상처리	30
3.1.2 데이터 관리	31
3.1.3 데이터의 가시화 지원기능	32
3.1.4 Clustering 기능	32
3.1.5 공통 element 추출 기능	32
3.2 염료를 이용한 동작 실험.....	33
4. 결론	41
참고문헌.....	43
투고 및 발표 논문	45

Development of Microarrayer for DNA Chips

Suk-Yoel KIM

*Department of Mechanical Design, Graduate School PUKYONG
National University*

Abstract

Microarrayer makes DNA chip and microarray that contain hundreds to thousands of immobilized DNA probes on surface of a microscope slide. This paper shows the development results for a printing type of microarrayer. It realizes a typical, low-cost and efficient microarrayer for generating low density microarray. The microarrayer is developed by using a robot of three-axes perpendicular type. It is composed of a computer-controlled three-axes robot and a pen tip assembly. The key component of the arrayer is the print-head containing the tips to immobilize cDNA, genomic DNA or similar biological material on glass surface. The robot is designed to automatically collect probes from two 96-well plates with up to 32 tips at the same time. To prove the performance of the developed microarrayer, the general water types of inks such as black, blue and red. The inks are distributed at proper positions of 96 well plates and the three color inks are immobilized on the slide glass under the operation procedure. As the result of the test, it can be shown that it has sufficient performance for the production of low integrated DNA chip consisted of 96 spots within 1 cm^2 area.

1. 서론

최근의 모든 생물학적 연구의 기반은 유전자의 발견에 따른 DNA(Deoxyribonucleic acid) 수준의 여러 연구방법에 의해 괄목할만한 성장을 하였으며, 그 적용범위 또한 광범위해지고 있다. 특히 DNA의 물리화화적인 안정성, 높은 정밀도와 정확도, 미소한 양의 시료만으로도 분석이 가능하다는 점에서 유전자 분석법은 동정분야에 혁신을 일으키고 있다. 또한 유전자 분석법은 그 동정 기법으로서의 유용성뿐만 아니라, 효소나 단백질과 같은 인체 내 분자들의 진화, 구조, 기능 등의 여러 특징들을 이해하는데 매우 중요한 위치를 점하고 있다. 기존에 널리 이용되는 유전자 분석방법으로는 DNA와 DNA 사이의 결합을 이용한 southern blotting과 RNA(Ribonucleic acid)와 DNA 사이에 결합을 이용한 Northern blotting, 그리고 PCR등의 대표적인 방법이 있다^[1]. 그러나 이들 방법으로는 한번에 수십 개 이상의 유전자들을 검색하기가 어려워 질병 진단과 같이 즉각적인 분석 결과가 필요한 경우 시간 소요와 인력 소요가 불가피할 수 밖에 없다. 따라서, 이러한 문제점을 극복하기 위하여 최근에 미국과 영국을 선두로 선진 각국에서는 microarray를 이용한 DNA chip 개발을 위한 연구가 활발하다^{[2] [6]}.

DNA Chip은 Fig. 1와 같이 형광 물질 또는 방사성 동위원소로 레이블링(labeling)한 probe DNA나 RNA를 slide glass와 같은 일정 공간 안에 집적시켜놓은 형태로서 target DNA와 교잡반응(hybridization)후 관찰하면 염기 서열의 일치도에 따른 명암을 가지는 영상을 얻을 수 있으며, 이 영상을 분석하여 DNA의 발현 여부를 확인할 수 있다. DNA chip은 유전자의 기초연구는 물론 암·유전자병·당뇨병·고혈압 등 각종 질환의 유전자적 진단, 세균·바이러스 등 병원체의 신속한 검출, 개인의

유전적 형태에 따른 최적 약제의 선택 등에 널리 응용될 수 있는 새로운 차원의 분석 시스템이다. 조작이 단순하고 자동화하기에 적합하며 크기가 작아서 시약량이 적어도 되는 등 유전자 발현 검출의 대량화·고속화·저비용화에도 크게 기여할 것으로 기대되므로 선진각국에서는 여러가지 방법과 형태로 제품화에 성공하였다.

이러한 DNA Chip 시스템을 만드는 대표적인 회사로는 Telechem, Hyseq, Affymatrix, Genetic Micro 사를 들 수 있고, 이들 회사에서 만든 제품들이 2010년에는 전세계적으로 400억 달러에 이를 것으로 예상되는 세계 시장을 장악하고 있다.

하지만 국내에서는 직접 DNA Chip 시스템을 만드는 회사가 아직 없으며, 시스템 개발보다는 DNA Chip을 만들어서 판매하는 실정으로, 약 450개의 바이오벤처 회사 중 상당수가 스스로 개발한 DNA chip을 취급품목으로 내걸고 있으며, DNA chip 시스템을 개발한 사례는 없고, 현재 10여개 회사가 이를 개발중인 것으로 알려져 있다.

국내에서 개발된 DNA chip을 살펴보면 생명공학 벤처기업이자, 코스닥등록업체인 마크로젠이 기존 제품에 비해 6배 정도 많은 정보를 담고 있는 새 유전자 칩을 개발했다. '매직 2.4k'라는 이름의 이 유전자 칩에는 지금까지 전혀 알려지지 않은 500여 개의 유전자정보를 포함하여 한국인의 유전자 약 2,300여 개가 들어 있다고 한다. 또한 에스제이하이테크는 결핵균과 비결핵 마이코박테리아를 감별할수 있는 DNA칩 '아이프로브 마이코스캔 DNA칩'을 개발했다. 여기에는 결핵균 및 마이코박테리아와 연관된 질환을 진단할수 있는 관련 DNA가 집적돼 있다.

이렇게 DNA chip을 제작하는 시스템은 microarrayer만 약 1억인 고가이고, 국내에서는 개발된 사례가 아직 없어 수입에 의존하고 있다. 따라서 본 논문에서는 microarrayer를 직접 개발함으로서 DNA chip

system의 국산화를 시도하고자 한다. 또한 저집적 DNA chip 개발을 우선 목표로 하여 중소 기업체 및 연구소 등에 저가로 보급할 수 있는 system을 구성하고자 한다.

본 논문에서는 아직 국내에서는 개발된 사례가 없는 DNA chip system의 개발을 위해 3축 직교 로봇과 스테핑 모터를 이용, 저집적 microarray를 위한 효율적면서 저가인 Microarrayer를 제시한다.

2. 시스템의 구성

2.1 시스템의 원리

DNA Chip의 제작과정은 Fig. 1,2와 같이 크게 다섯 부분으로 나누어진다. 첫번째로 정제된 cDNA 또는 oligonucleotide probe는 형광물질이나 방사선동위원소를 이용하여 labelling되고, 두번째로 정제된 probe를 slide glass 표면에 microarrayer를 이용해 spotting 시킨다. 세번째로 target DNA를 slide glass에 고정되어있는 probe와 hybridization 시킨 후 세척을 한다. 네번째로 DNA scanner에서 반응된 결과의 영상과 데이터를 받아들이고, 다섯번째로 이렇게 획득된 영상의 크기, 명도, 채도등의 데이터를 통하여 우리는 target DNA의 특징을 분석할 수 있게 된다.

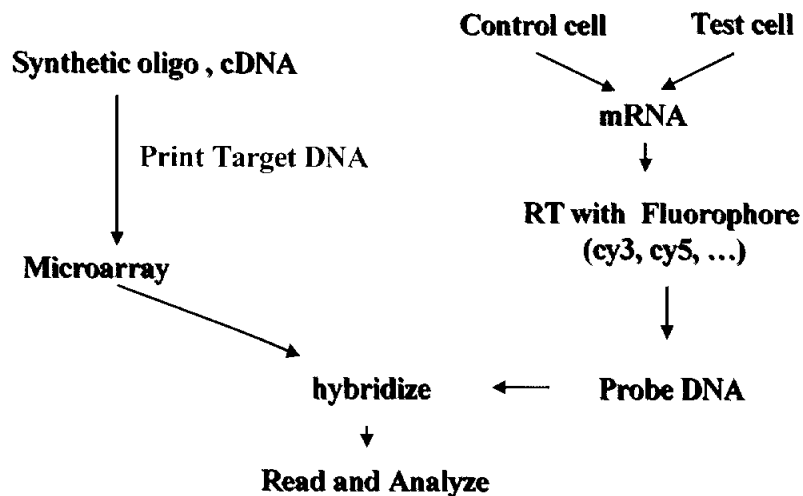


Fig. 1. Microarraying procedure for DNA chips.

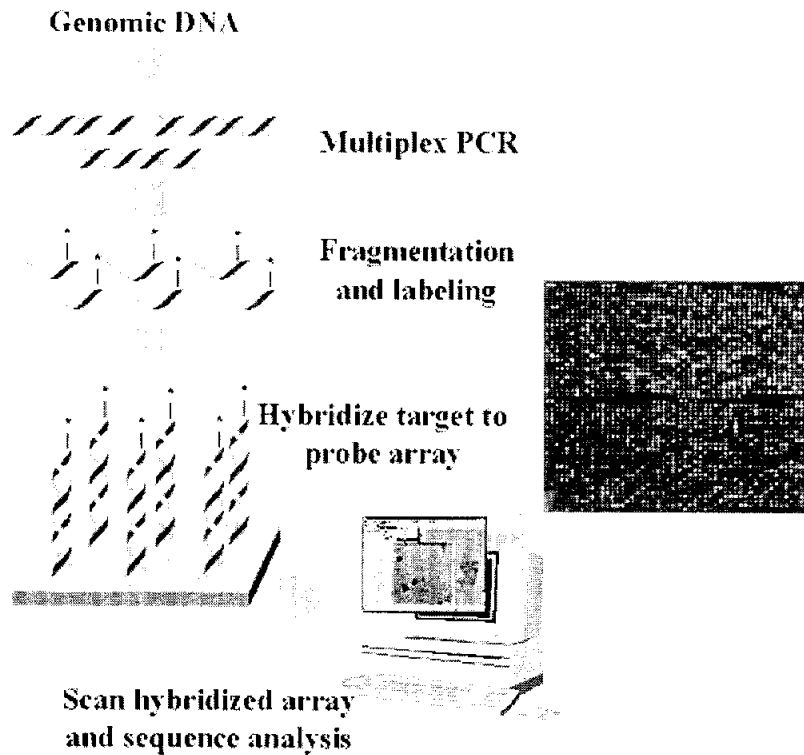


Fig. 2. Procedures of DNA typing using DNA chip.

Probe를 고정시키기 위한 이상적인 지지물은 probe를 지지물 표면에 효과적으로 결합시키고, 검체와 probe간의 확실한 교잡반응을 보장한다^[7]. 보통 사용되는 membrane 형태의 지지물은 nitrocellulose와 charged nylon이지만, microarray 제작에 있어서 고유 형광성(inherent fluorescence)이 적은 유리를 이용하는 것이 대부분이다^[8].

기존의 cDNA chip과 본 연구에서 시도한 oligonucleotide chip의 가장 큰 차이점은 chip에 완전한 유전자 (full-length ORF) 대신에 17~35mer를 심은 것이다. cDNA chip에는 길이가 긴 ds-DNA (평균 1.0 kb)의 phosphate group이 poly-L-lysine과 결합하여 유리막위에 붙는다. 대부분의 ds-DNA는 일부분만 유리막위에 붙기 때문에 나머지 부분들이 자유롭게 probe와 결합할 수 있는 것이다. 하지만

single stranded oligonucleotide는 전체적으로 poly-L-lysine과 결합할 가능성이 높으므로 probe가 붙을 수 있는 상보적인 sequence가 없게 된다. 이와 같은 문제점을 해결하여 oligonucleotide들을 자유롭게 probe와 결합할 수 있게 기존의 poly-L-lysine이 coating된 유리 slide가 효과가 없어서 silylated된 유리 slide를 사용하였다. 이 기술은 Fig. 3와 같이 silylate된 유리 slide에 aldehyde group이 있어서 amine group을 인위적으로 붙인 DNA와 쉽게 imine bond를 형성하는 원리를 이용한 것이다.

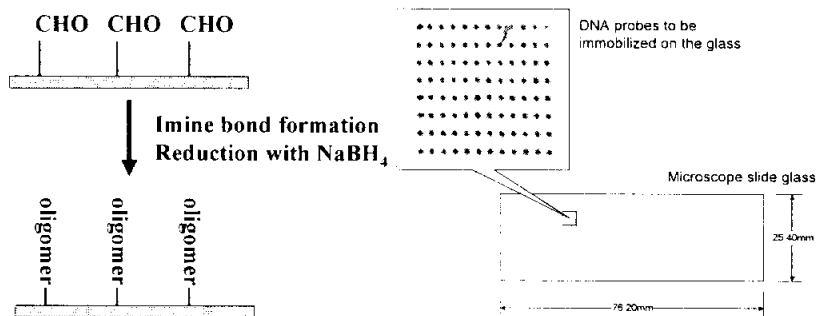


Fig. 3. Principal of bonding the probe on glass surface. Fig. 4. Schematic representation of the microarray.

Fig. 4은 현미경용 slide glass를 이용한 cDNA microarray의 형상을 보인다. 유리표면에 미세배열기에 의해 spotting 된 cDNA probe는 Fig. 1의 수순에 의해 검체의 DNA나 RNA와 결합하게 된다.

2.2 시스템의 구성

Microarrayer는 Fig. 5.6과 같이 직교형태의 삼축로봇과 펜 형태의 tip의 구성물을 제어할수 있는 DSP(Digital Signal Processor), 그리고 컴퓨터로 구성되어진다. tip의 머리부분은 일정한 양의 probe DNA를 흡수할 수 있도록 구성되어져야 하고, tip의 끝은 동일한 크기의 spot들을 슬라이드 글라스의 표면에 병렬로 배열한다. Z축의 움직임에서 슬라이드 글라스와 부딪히는 힘을 감소하는 방법은 중력을 이용하는데 tip의 윗부분의 크기를 크게 함으로서 중력에 의한 원위치 이동을 한다. 물 세척과 건조부는 팁의 세척에 맞도록 설계되었다. 건조부는 팁의 끝을 건조시키기 위해 사용되어지는데 컴프레서를 이용하여 팁 주변의 물기를 제거하고, 건조시킨다. Probe를 담고 있는 96 well plate는 두개가 놓여지고, 총 192개의 probe를 찍어낼 수 있도록 설계되었으며, 총 6장의 슬라이드 글라스를 제작할 수 있도록 구성이 되어 있다.

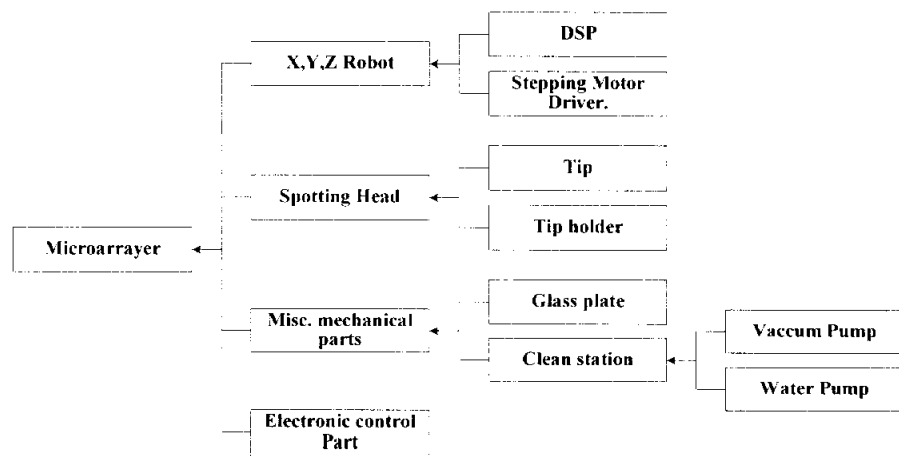


Fig. 5. Hardware configuration of the developed microarrayer.

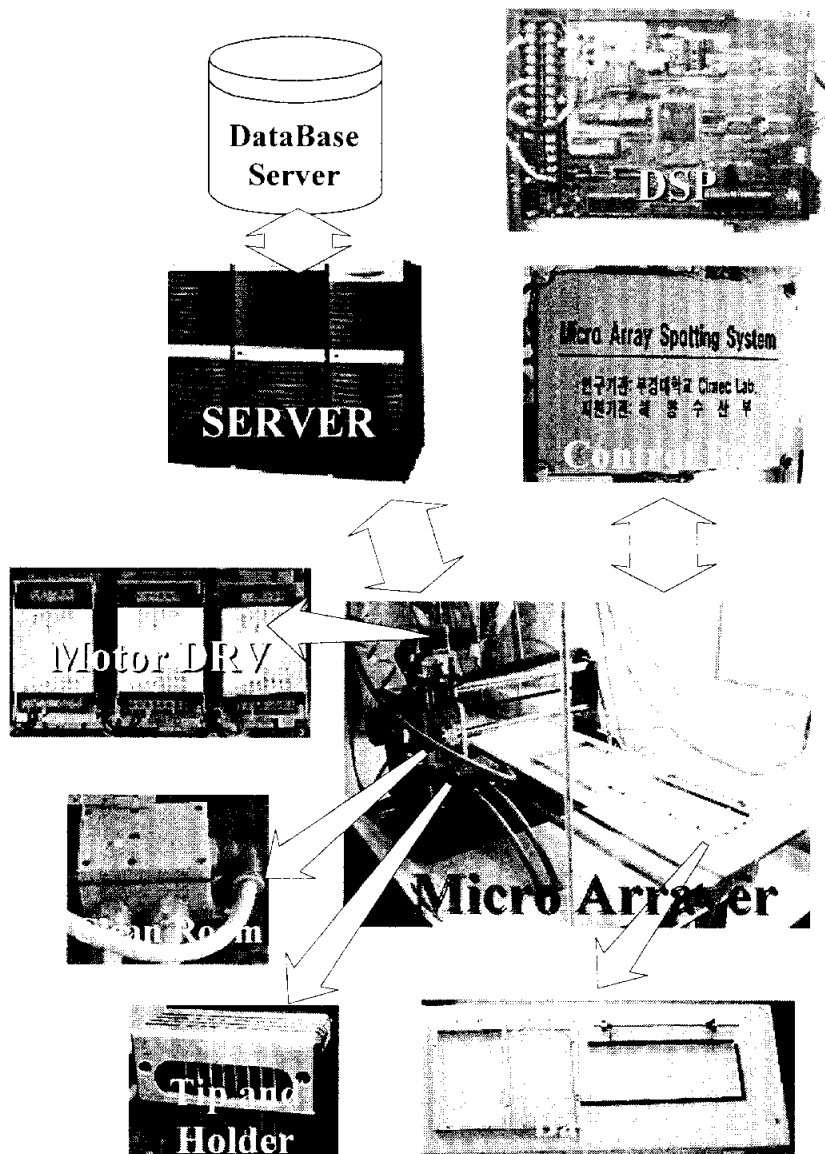


Fig. 6. General view of microarrayer system.

2.3 신호와 데이터의 흐름

Fig. 7은 cDNA 정보 데이터, 3축로봇의 구동 데이터, 그리고 모니터

링 데이터 이렇게 세가지 신호의 흐름을 보여주고 있다. 시스템이 운전 되전에 96-well plate의 cDNA 데이터는 읽히거나 입력후 저장이 된다. 그리고 이 데이터는 동일한 작업을 반복 수행을 하거나 동일한 실험을 다시 수행할 경우와 hybridization 이후 분석을 하는데 사용되어진다. 사용자가 운전 파라미터들을 결정한 이후에 운전 신호(파라미터, 시작 신호)는 DSP(Digital Signal Processor)로 전달되어진다. DSP는 파라미터를 이용한 운전 알고리즘에 따라서 위치, 속도, 가속도, 펄스, 정역회전, 물/진공 펌프용 계전기구동 등의 신호를 연산한다.

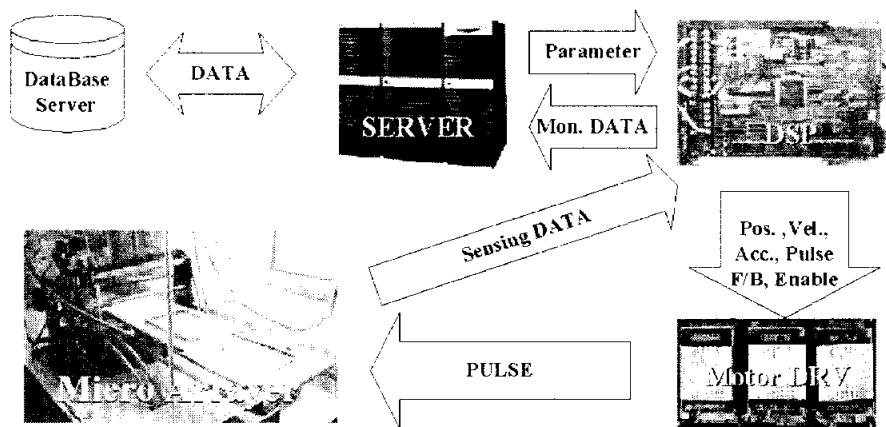


Fig. 7. The flow of signals and data.

동작을 하는 동안 microarrayer는 동작위치 한계점과, Z축의 위치, 비상스위치, 초기화스위치, 그리고 초기위치용 포토센서의 값들을 받아들인다. 이 데이터들은 DSP로 보내지고 DSP는 이 데이터들을 모니터링 PC로 보내어 현재 시스템의 상태를 모니터링한다.

2.4 제어 알고리즘과 Flowchart

신호와 데이터의 흐름에 기초하여 제어 알고리즘은 설계되어진다.

Fig. 8에서 왼쪽 부분은 PC에서의 연산을 그리고 오른쪽은 DSP에서의 연산 알고리즘을 보여주고 있다. 처음 모니터링 PC와 DSP가 연결된 이후 파라미터들은 DSP내의 SRAM으로 보내진다. DSP는 자신이 가지고 있는 데이터들을 연산해서 구동을 위한 파라미터들을 만들고 이 정보들을 모터 드라이버에 보내면서 microarray는 구동을 하게 된다.

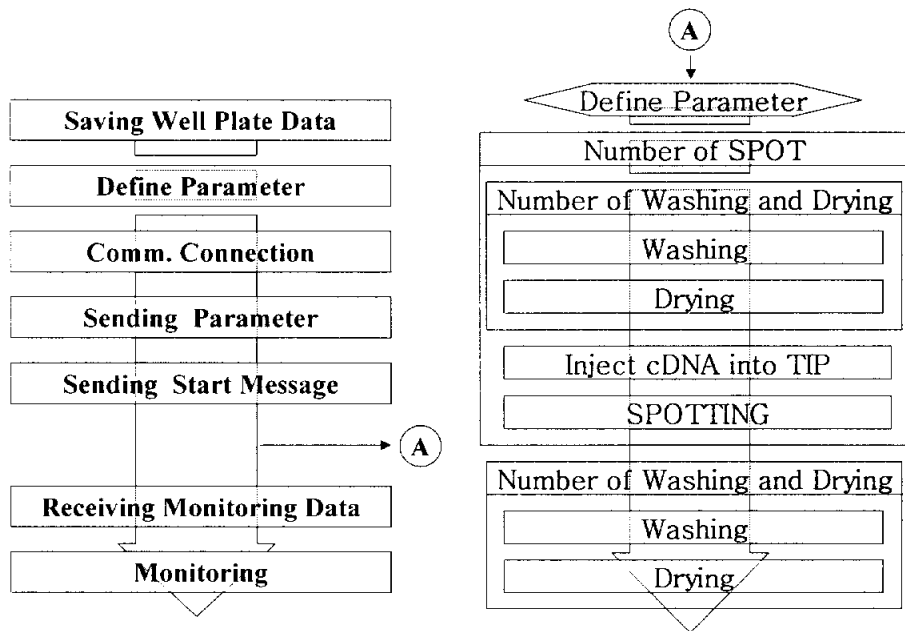


Fig. 8. The flowchart of microarraying procedure.

2.5 컨트롤러

2.5.1 신호처리용 TMS320C32의 하드웨어 및 소프트웨어의 개발

본 연구에서 사용할 신호처리기의 메인 프로세서는 고성능 32비트 부동소수점 방식의 범용 DSP 마이크로프로세서 소자인 TMS320C32를 이용한다. 본 DSP는 디지털 신호처리 분야에서 실시간으로 매우

빠른 연산을 수행할 수 있도록 개발된 마이크로프로세서이다. Table 1은 TMS320C32의 기능 및 특징을 나타내고 있다.

Table 1. Functions and features of TMS320C32

Index	Functions and features
Summary	· 16-/32-bit Integer and 32-/40-bit floating-point operations · Modified harbard structure(three-internal bus, one-external bus)
Operating speed	· The three medels(40/50/60MHz) acording to clock frequency · 2 clock per cycle · In the 60MHz, operating speed : 30 MIPS, 60 MFLOPS, 330 MOPS
Memory	· Two 256 32-bit single-cycle, dual-Access on-chip RAM blocks · Enhanced external memory interface that supports 8-/16-/32-bit-wide external RAM for data access · Program execution from 16-/32-bit-wide external RAM
Internal structure	· Eight extended-precision registers · Parallel arithmetic logic unit (ALU) and multiplier execution in a Single Cycle · 32bit barrel shifer · Two address generators with eight auxiliary registers and two auxiliary register arithmetic units (ARAUs)
I/O	· One serial port · Two 32-bit timers · Two-channel direct memory access (DMA) coprocessor with configurable priorities

TMS320C32의 내부에는 2개의 DMA(Direct Memory Access) 제어기, 2개의 32비트 타이머, 1개의 직렬통신 포트, 3개의 버스 제어 레지스터(bus control register) 등의 내부 주변 장치가 위치한다. 그러나 본 시스템에서는 온도와 습도센서에서 아날로그 신호를 입력받아 디지털 신호로 변환할 수 있는 기능과, 또한 RS-232C 및 RS-485 통신,

Ethernet 통신이 가능하도록 전용 신호처리를 개발해야 하므로 주변 회로를 직접 설계할 필요가 있다.

Microarrayer는 독립적으로 모니터링 PC에서 벗어나서 DSP로 인하여 움직여져야 하기 때문에 DSP내에는 microarrayer를 구동하기 위한 많은 정보들을 저장해야 하므로 큰 메모리가 필요하다. 또 정밀한 위치 컨트롤이 필요하고 실시간적인 모니터링을 위해서 본 시스템에서는 DSP를 사용하였다.

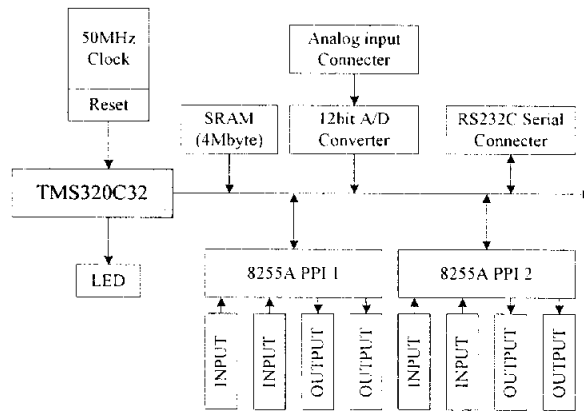


Fig. 9. Composition of TMS320C32 hardware.

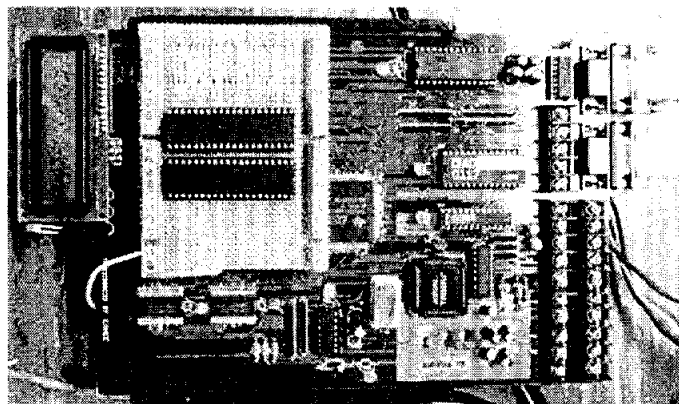


Photo. 1 DSP(Digital Signal Processor) board

Fig. 9과 Photo. 1은 12bit A/D컨버터, RS232C 시리얼 포트, 그리고 두 대의 8255APPI와 외부메모리 4SRAM(4Mbyte)을 탑재하고 있는 DSP보드를 보여준다.

Table. 2에서는 I/O 포트의 신호 연결 상태를 보여준다.

Table 2. The signals of input/output port

Input		Output	
Contents	No.	Contents	No
Limit switch	6	Control signal for stepping motor	9
Photo sensor	3		
Power switch	1		
Reset switch	1	Water pump	1
Pause switch	1	Vacuum pump	1
Distance sensor	1	Buzzer	1

2.5.2 스테핑 모터 드라이버

Microarrayer의 주 구동장치로서 스테핑 모터는 사용된다. 스테핑모터는 제어가 용이하고 정밀성 등의 많은 장점을 가지고 있다. 이 모터는 펄스로서 일정 각도로 움직인다. Table 3에서는 microarrayer에 사용된 스테핑 모터와 모터 드라이버의 사양을 보여주고 있다.

Table 3. The specification of stepping motor and motor driver

Stepping motor		Stepping motor driver	
Contents	Units	Contents	Units
Number of phases	2phase	Maximum input frequency	40kHz
Step angle	1.8°		
Input Voltage	12V	Maximum voltage	46V
Current	0.4A	Maximum current	6A
Holding torque	3.2kgf · cm		

스테핑모터 드라이버의 회로는 스텝모터 드라이버 (L297)와 dual bridge driver(L298), 보호회로(PC847, diod), 기준전압회로로 구성된다. PCB board는 Photo. 2에서 보이고, Photo. 3은 Microarrayer에 부착된 스텝모터 드라이버를 보여준다.

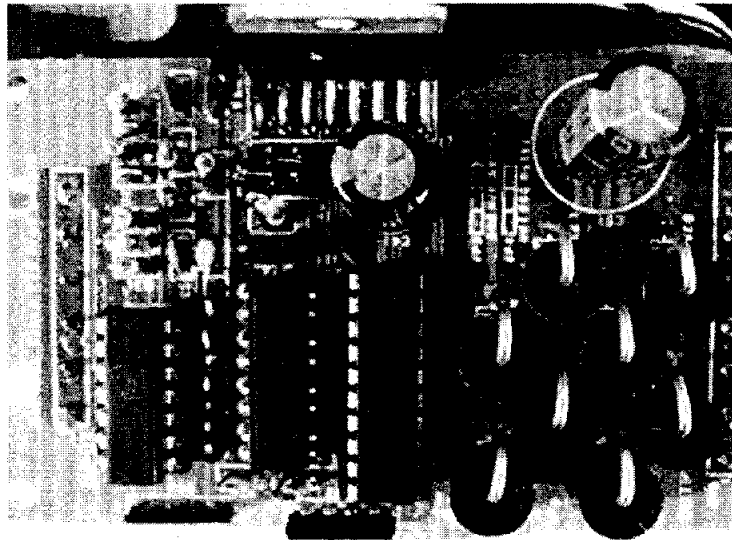


Photo 2. PCB board of stepping motor driver

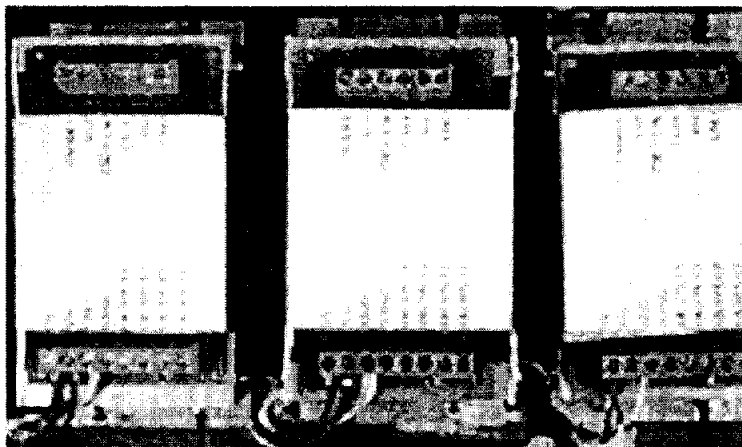


Photo 3. Installed stepping motor driver in microarrayer

2.6 본체

2.6.1 3축 직교 로봇

Microarrayer는 3축 직교형태의 로봇으로 개발한다. 모든 요소들을 결합한 형태는 Photo. 4와 같다.

로봇의 각축에는 초기위치를 잡을 포토 센서가 설치되어있다. 초기 위치 설정은 3번의 감속 단계를 가짐으로서 정확한 위치를 잡는다. Base plate에는 2개의 96Well-plate가 장착되어서 총 192개의 spot를 할 수 있고, 테스트용 슬라이드 글라스를 포함 총 7개의 슬라이드 글라스가 놓여진다.

이는 소규모 연구소에서 사용하기에 용이하도록 구성되었다.

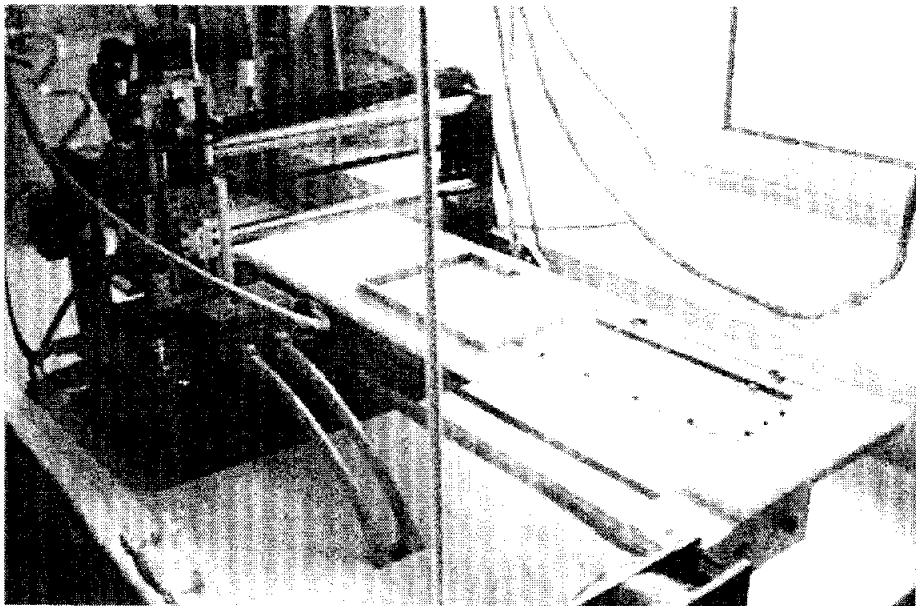


Photo 4. The developed microarrayer

2.6.2 Tip 과 Tip holder

Tip 과 Tip holder는 microarrayer의 핵심기술중의 하나로서 실제 유리막에 probe를 고정시키는 역할을 하며, 설계시 안정된 spot의 크기와 상태를 얻고, 액체 상태의 probe 용액에 잠겨있는 시간에 상관없이 일정한 양을 흡수할 수 있도록 해야 한다. Fig. 10은 pin type tip의 모식도로서, tip이 원추형이므로 그 끝의 강도를 유지할 수 있는 재질을 이용해야 한다. 또한 대칭형의 spot을 얻기 위해서는 tip이 평행하게 유지되어야 한다.

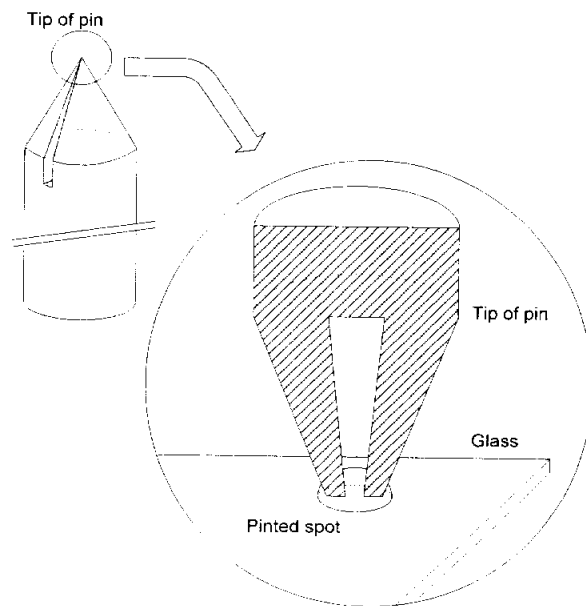


Fig. 10. Schematic representation of spotting pin and its tip.

Fig. 11는 spotting의 원리를 나타낸 것으로, 이때 고려해야 할 기계적인 설계 조건으로 상태(1)에서 상태(2)로 천이되는 순간에 Z축 이동기구의 충격이 흡수되어야 한다. 또한 상태(2)에서 상태(3)으로 옮겨갈 때

는 곧바로 압력이 해제되면 Z축 운동에 의한 진동이 전달되므로 어느 정도의 압력을 가해야만 한다. 그리고 실용적으로 볼 때 1개의 tip으로 chip을 제작한다면 생산성이 떨어지므로 다수개의 tip을 동시에 spotting할 수 있어야 하며, 이때 각각의 tip의 성능이 동일해야 한다.

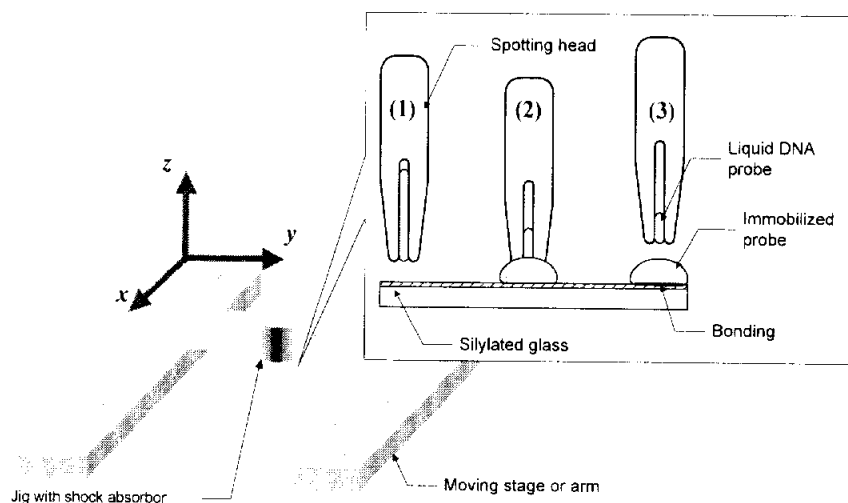


Fig. 11. Spotting mechanism using the pen tip.

DNA probe를 균일한 양으로 흡수할 수 있도록 tip의 머리부분을 그 Photo. 5와 같이 구성되어야하고, 일정한 spot의 상태를 얻기 위해서 그 끝을 glass 표면과 평행이 되도록 하였다. Tip의 끝이 표면에 접촉하는 순간에 Z축 이송기구의 충격이 흡수할 수 있도록 Tip의 머리부분을 크게 하고 Tip과 Tip holder를 정밀 가공하여 충격에 의한 슬라이딩이 이루어지는 간단한 감쇄기효과를 가질 수 있다. 이는 동시에 spotting 직후 진동억제를 위한 가압작용을 한다. Tip의 끝 간격과 끝단 면적이 가장 큰 영향을 미치는데 본 연구에서 사용한 Tip은 Arrayit사의 Chip Maker4를 사용한다. Table 4는 ChipMaker4의 특성을 보여준다.

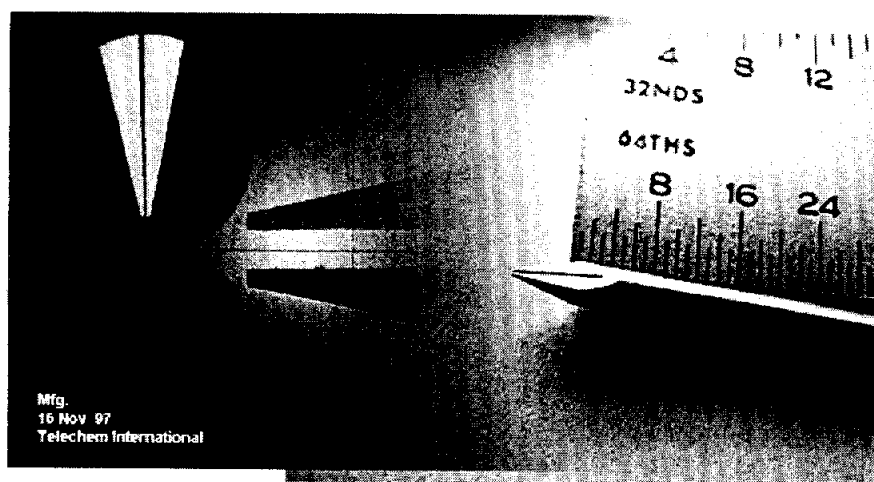


Photo 5. The shape of ChipMaker4 in the microarrayer

Table 4. The specification of ChipMaker4

Contents	Units
Catalog number	CMP2
Spot diameter(μm)	120-130
Uptake volume($\mu\ell$)	0.25
Minimum spot spacing(μm)	120
Delivery volume(n ℓ)	0.6
Maximum subgrid per pin(spots)	36 $\times$ 36
Density(spots./ cm^2)	6,350
Maximum number of spots(18mm $\times$ 72mm)	82,944

Photo 6 에서 Tip holder는 총 32개의 Tip을 탑재할 수 있고, 정밀 가공으로 슬라이딩 효과에 용이하도록 하여야 하고, tip이 임의로 회전하지 못하도록 만들어져야 한다.

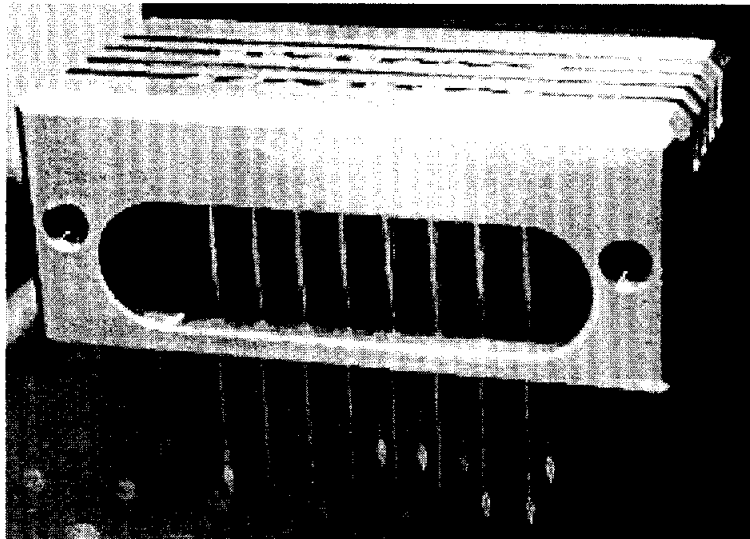


Photo 6. The shape of tip holder in the microarrayer

2.6.3 각종 기계장치 및 전기장치

Photo. 7에서 세척장치와 건조기는 microarray에 있어서 필수적이며, 본 연구에서는 하나의 모듈로 통합하여 구성함으로써 제작과 작업 시간을 단축시킬 수 있었다. Silylated glass와 액체 DNA probe를 저장할 96well을 plate 고정시킬 장치와 tip 끝에 남아있는 DNA probe나 이 물질을 제거할 세척 장치와 이에 연결된 진공 펌프와 유체 펌프를 제어할 전장부가 필요하다. 깨끗한 세척을 위하여 사용자가 세척의 횟수를 파라미터로 넣을 수 있고, 이를 통해 세척이 가능하다. 강화 플라스틱으로 제작하여 사용상의 편리함과 견고함을 동시에 만족시키고 설계 변경에도 용이하도록 한다. Photo. 8에서 Slide glass와 96-well plate는 간단한 스프링 압력 기구에 의해 편리하게 착탈이 가능하다.

Probe를 고정시키는 데에는 시스템이 있는 룸의 온도와 습도가 아주 중요한 역할을 한다. 따라서 온습도 센서를 부착하고 그 데이터를 획득해서 가습기와 히터를 구동시킨다.

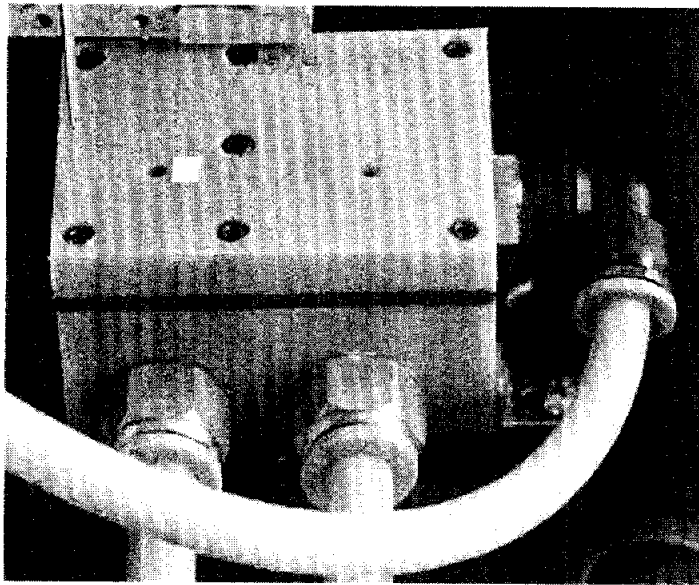


Photo 7. The shape of clean station

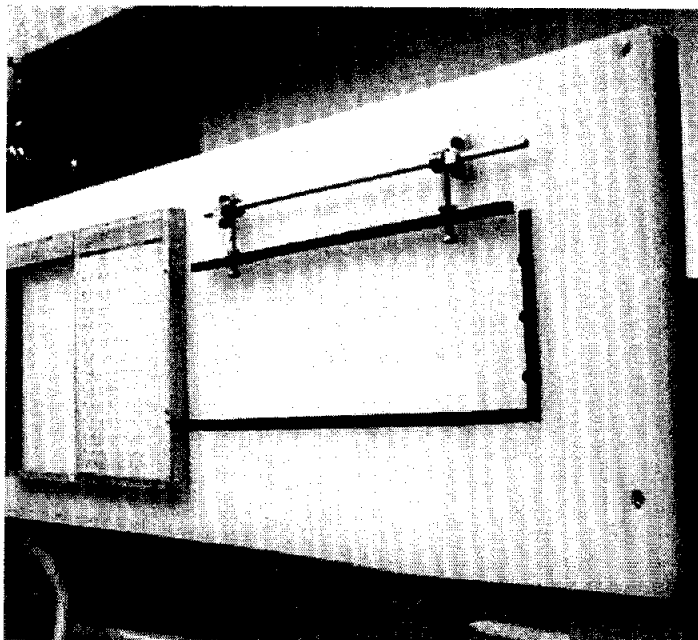


Photo 8. The shape of base plate

2.7 Database system

데이터베이스의 역사는 데이터를 좀 더 효율적으로 사용하기 위한 데이터베이스 구축 방법 발전사이다. 이러한 데이터베이스 구축 방법을 데이터베이스 모델이라고 한다. 데이터베이스를 구축함에 있어서 데이터베이스 모델의 이해는 반드시 요구되어진다. 현재까지 대두된 대표적인 세 가지 모델로는 계층형, 망형, 그리고 관계형이 있으며, 지금 이 순간에도 새로운 방법이 연구, 실험되고 있다. 그 대표적인 예가 바로 객체 지향형이다. 현재 가장 많이 사용되어지고 있는 데이터베이스는 관계형 모델이다. 하지만 단순한 데이터베이스 모델에서는 관계형 데이터베이스 모델은 크기만 더할 뿐 도움이 되지 않는다.

2.7.1 데이터베이스 모델¹⁹⁾

• 파일 시스템

데이터베이스에 대한 그 첫 번째 이론이 정립되지 않은 때에 요구되는 정보의 저장은 앞에서 말한 개인 전화번호부의 기록과 다를 바가 없었으며, 다듬어지지 않은 데이터를 그대로 컴퓨터에 저장하는 파일 저장에 지나지 않았다. 이렇게 파일들을 저장한 시스템을 파일 시스템이라 불렀으며, 이는 현재의 데이터베이스의 기본이 되었다. 앞서 말한 바와 같이 데이터베이스는 기존의 정보 저장 방식의 개선 및 연구에 의해서 발전되어 왔다. 즉, 파일 시스템을 그대로 이용하는 형태인 SAM 파일 및 안정성과 추상적인 레벨을 추가한 시스템으로 발전하게 된 것이다. 역사적으로 보면 데이터베이스의 시초는 파일 시스템이라고 볼 수 있다. 비록 파일 시스템과 데이터베이스가 서로 비교 대상이 되고 시스템을 극복하기 위해서 데이터베이스가 탄생했지

만 결국 시스템으로부터 시작된 것이다. SAM, ISAM 등이 그예이다.

• 계층형 모델

파일 시스템은 단순히 데이터를 저장한 하나의 파일일 뿐이며, 그 파일 안에 저장된 데이터가 그 자체로서의 독립성을 잃게 된다. 또한 같은 종류의 데이터가 여러 번 반복하여 입력되는 문제점을 가지고 있었다. 계층형 모델은 Rockwell IBM에서 개발되어 1960년대에 주로 IBM에서 사용되었으며, 파일 시스템이 가지고 있던 문제인 각 데이터의 독립성을 보장하고 반복되는 데이터의 입력을 막아 주게 되었다. 즉, 계층형모델은 데이터의 전체적 구조를 고려하여 데이터를 입력하는 파일 시스템이 아닌 데이터베이스 모델로 자리하게 되었다. 계층형 데이터베이스는 1969년 아폴로 우주선의 수많은 부품은 관리하기 위해서 개발되고 쓰였으며, 그 구조가 완제품으로부터 단계별로 부품이 나열되는 형태(현대의 생산, 제조 시스템에서 BOM이라 불리는 구조)를 가지기 때문에 부품 관리 같은 부문에서 최적이지만 다른 부분의 응용은 매우 힘든 구조이기도 하다. (Fig. 12)

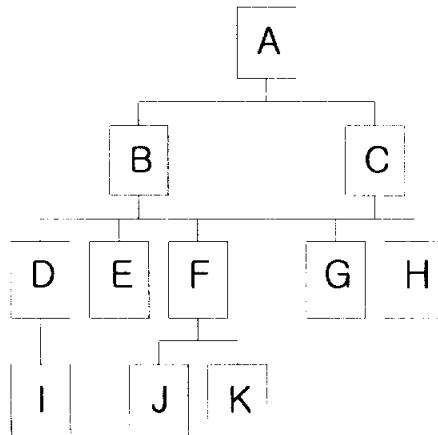


Fig. 12. Sample of class model.

• 망형모델

계층형 모델은 각 데이터 간의 관계를 고려하지 않고 만들어졌기 때문에 데이터를 저장하고 있는 데이터 구조를 바꾸게 되면 그 데이터를 얻어내는 방법 또한 바뀌어야 하는 문제점을 드러내었고, 복잡하고 다양한 데이터를 간의 상호 관계를 정의 할 수 없는 한계를 가지고 있었다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 1970년대 초 CODASYL의 DBTG보고서에서 망형 모델을 소개하였으며, 이와 비슷한 제안이 ANSI/SPARC 보고서에도 실렸다. 이 제안은 네트워크형 데이터베이스를 제안한 것이며, 이것을 기반으로 한 제품들이 1970년에 개발되었다. 이 형태의 데이터베이스는 계층형 데이터베이스의 변형이라 볼 수 있으며 망형의 구조를 가지고 있다. 망형 데이터베이스 모델은 포인터를 사용하여 계층형 모델에서 구현하지 못한 각 데이터 간의 관계를 명시하였으며, 데이터 정의 언어와 데이터 조작 언어를 구분하여 데이터의 독립성을 더욱 보장하게 되었다. 하지만 각 데이터 간의 관계가 너무 복잡하여 얽히게 되어 응용프로그램 개발자는 데이터베이스 내부의 구조를 먼저 파악해야 하는 단점을 가지고 있었다. 즉, 데이터 내부의 구조적 독립성이 결여되어 있었다.(Fig. 13)

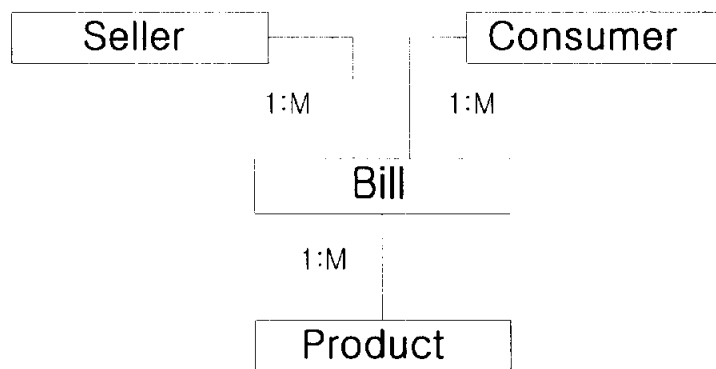


Fig. 13. Sample of network model.

• 관계형 모델

1970년 Dr.E.F.Codd 는 “대규모 공유 데이터 뱅크용 관계형 데이터 모델”이라는 제목의 논문을 발표하였다. 이는 관계형 데이터베이스 모델의 모태가 되었으며, 망형 모델에서 구현하지 못한 완벽한 데이터의 독립성과 구조적 독립성 그리고 확장성을 구현하기에 이르렀다. 즉, 관계형 데이터베이스 모델의 근본 목적은 데이터베이스의 구조를 그대로 유지하면서 데이터 그 자체만이 변할 수 있는 데이터베이스 설계에 있었으며, 그 구성은 2차원 테이블로 이루어지고, 각 데이터 간의 관계는 동일 선상의 칼럼에 의해 정의 된다. 이러한 관계형 데이터베이스가 1980년 대 이후 가장 각광 받는 데이터베이스가 되었다. 1970년 후반에 들어서서 관계형 데이터베이스 및 객체 데이터베이스 네트워크 데이터베이스에 대한 연구가 활발히 이루어졌으며, 또한 이시기에 질의어에 대한 소개와 연구가 이루어졌다. IBM 1970년 후반에 SQL 언어를 기본으로 하는 데이터베이스를 개발 착수하여 1981년에 SQL/DS란 제품을 만들어 발표했다. 이보다 앞서 현재의 오라클사인 Relational Software사도 SQL을 탑재한 제품을 시장에 발표하였다. 1980년대 이르러 관계형 데이터베이스는 실질적인 데이터베이스 표준이 되었으며, SQL도 1986년 ANSI 표준안으로 공식적인 표준이 마련되었다. SQL은 SQL-89에 이어 SQL-92가 현재 표준으로 대부분의 데이터베이스에 지원 되어 쓰이고 있으며, 객체형 자료를 위한 차세대 SQL인 SQL3이 가장 최신의 SQL이다. 1980년대 후반에 이르러 컴퓨팅 환경에 있어서 객체 중심 바람이 불면서 객체형 데이터베이스가 시장에 선을 보였으나 큰 호응을 얻지 못하였다. 1990년대 초반에 UniSQL사에서 UniSQL이 나오으로써 객체형 DB와 관계형DB의 통합이 이루어졌다. 현재 UniSQL은 SQL3을 완벽히 지원하

는 1996년 발표된 UniSQL 3.5 버전이 있다. 또한 1997년 후반에 발표된 오라클 8은 객체형 데이터를 지원하는 초대형 객체형 데이터베이스이며, 인포믹스사는 “일러스트라”라는 멀티미디어 데이터를 지원하는 제품을 내놓고 있으며, 사이베이스 또한 객체 관계형 버전인 버전 11.5를 발표하였다. 바야흐로 데이터베이스는 복잡한 데이터를 수용하고 인터넷과 관련된 기술이 접목되면서 객체 관계형 데이터베이스로 이동중이며, 그 대표적인 예로써 오라클 8i와 MS-SQL을 들 수 있다. (Fig. 14)

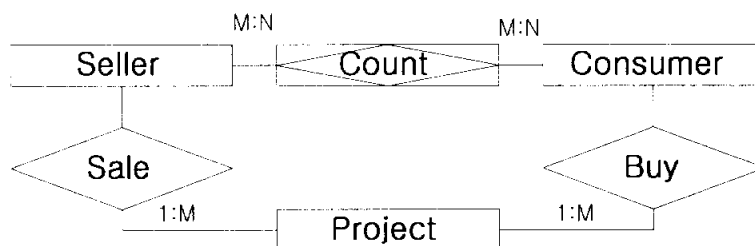


Fig. 14. Sample of relational model.

• Microarray system에서의 database model

본 시스템에서는 데이터베이스 시스템을 쓸 정도의 방대한 데이터베이스가 필요가 없다. 따라서 Microsoft Access를 사용하고, 테이블간의 관계를 가지는 관계형 모델을 사용하였다. 테이블은 작업에 관련한 파라미터와 probe에 대한 정보를 가지고 있는 테이블로 구성되어지고 (Fig. 15) 이는 workname이란 키를 가지고 연결된다(Fig. 16). 이 테이블은 microarrayer 뿐만 아니라 이후에 개발되어지고 사용되어지는 DNA Scanner 뿐만 아니라 Analysis 프로그램에서도 사용되어진다.

Workname 테이블은 작업에 대한 파라미터들을 저장하는 테이블로 작동을 하기 이전에 파라미터들을 확인하고 수정후 DSP 로 전송을 한다.

Rhabeto 테이블은 작업에 해당하여 생성이 되는 테이블인데 이는 probe들에 대한 정보를 저장하고, 해석을 하는데 사용이 되어진다. 또한 이 정보들은 지적재산에 관련이 되어있으므로 보안에 신경을 써야한다.

필드 이름	데이터 형식	설명
Index	숫자	
Virus	텍스트	
Start	숫자	
Length	숫자	
Tm	숫자	
GC	숫자	
Seq	텍스트	
ProbeName	텍스트	
CodeProtein	텍스트	
Memo	텍스트	
workname	텍스트	

필드 이름	데이터 형식	설명
WorkName	텍스트	
WorkDate	날짜/시간	
A	텍스트	
B	텍스트	
C	텍스트	
D	텍스트	
E	텍스트	
F	텍스트	
G	텍스트	
H	텍스트	
I	텍스트	
J	텍스트	
K	텍스트	
L	텍스트	
M	텍스트	
N	텍스트	
O	텍스트	
P	텍스트	
Q	텍스트	
R	텍스트	
S	텍스트	
T	텍스트	
U	텍스트	
V	텍스트	

필드 속성	
일반 조회	
필드 크기	정수(Long)
형식	
소수 자릿수	자동
입력 마스크	
편집	
가분할	
유효성 검사 규칙	
유효성 검사 메시지	
필수	예
인덱스	아니오

필드 속성	
일반 조회	
필드 크기	50
형식	
입력 시스템 모드	한글
입력 마스크	
편집	
가분할	
유효성 검사 규칙	
유효성 검사 메시지	
필수	아니오
변 문자열 허용	아니오
인덱스	예(동적 가능)
유니코드 압축	예

Fig. 15. The database table of microarrayer.

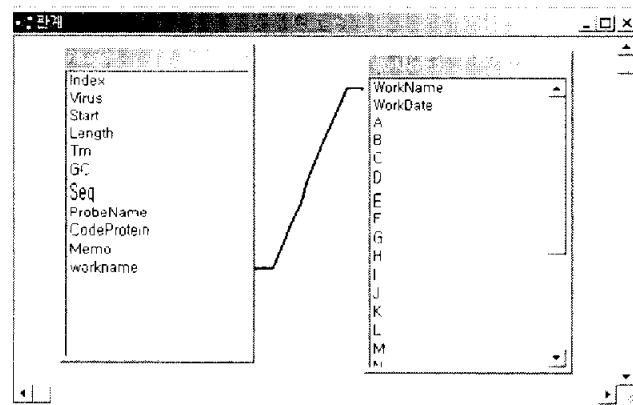


Fig. 16. The relational diagram of tables.

2.8 제어 알고리즘 및 통합 소프트웨어 개발

Microarrayer 프로그램은 컨트롤러적인 요소와 모니터링 요소 두 가지로 크게 구분 된다. 컨트롤러적인 요소는 microarrayer가 구동될 때 구동에 필요한 파라미터들을 저장하고 전송하는 기능을 가지고 있으며, 모니터링 요소는 현재 구동되고 있는 상태를 모니터링하고, 진행시간과 남은 작업시간, 그리고 시스템의 온도/습도를 디스플레이 한다.

프로그램이 시작되면 작업의 보안을 위해서 로그인 창이 뜬다. 로그인 창에서는 인가받은 사람만이 프로그램을 사용할 수 있다.

프로그램은 DNA Chip의 시작부터 끝까지 모두 관리할 수 있도록 통합프로그램으로 구성되고 첫 화면에서 어떠한 작업을 할 것인지를 선택하는 창이 뜬다(Fig. 17).

사용자가 요청하는 작업이 시작되면 하고자 하는 작업을 생성하고, 작업하고자 하는 probe의 정보와 microarrayer를 작동하는 파라미터들을 전송한다(Fig. 18). 작동이 시작되면 현재의 상태를 모니터링하고 작업이 종료가 되면 사용자에게 알려준다(Fig. 19).

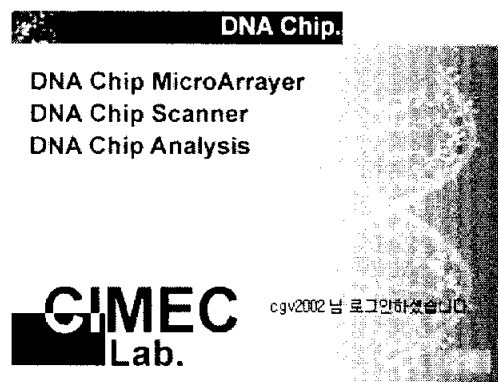


Fig. 17. Login screen of integrated management software for microarrayer.

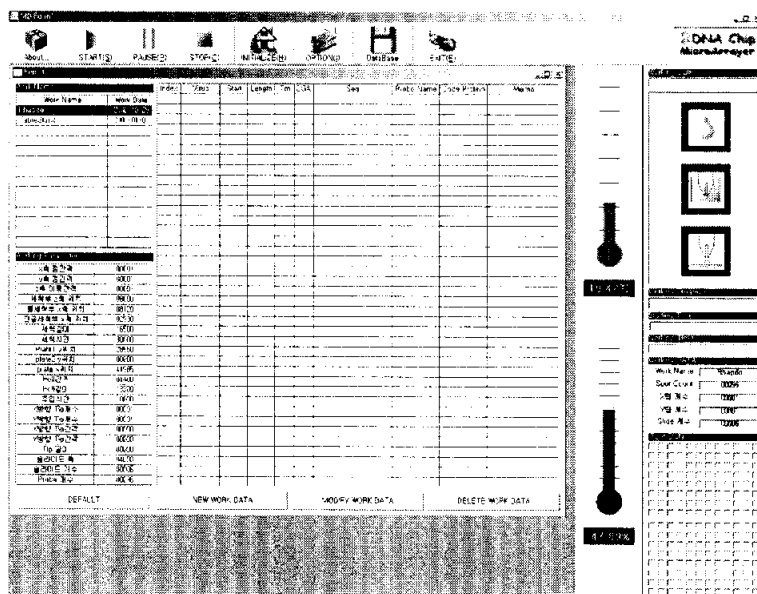


Fig. 18. The loading and saving screen of parameter.

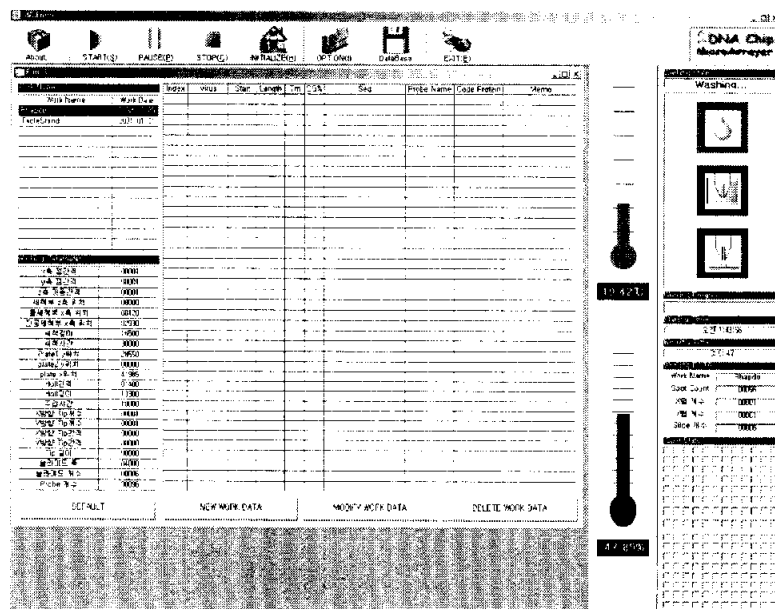


Fig. 19. Login screen of integrated management software.

3. 실험 결과 및 고찰

3.1 Spot의 특징 해석 및 분석^[10]

J.DeRisi 등과 microarray 연구로 유명한 Stanford 대학의 P.Brown 관계자들은, 그들이 개발한 microarray가 너무 고가가 되는 것을 안타까워하며 스스로 연구자가 array를 만들 수 있도록 그 제작법을 전용의 software ArrayMaker까지 포함해서 Web 페이지 상에 완전공개하고 있다.^[11] 그것이 MGuide라고 불리는 것이다. 또한 동그룹에서는 array를 완성시킨 후의 실험에 필요한 일련의 software도 공개하고 있다. 그것이 화상분석용 software ScanAlyze(Stanford 대학의 M.Eisen가 제작), database software AMAD(Another Microarray Database:제작은 M.Eisen,M. Diehn, P.Sprllman, J.DeRisi), 데이터 해석 software Cluster Tree View (M.Eisen 제작: soft 명은 변경될 예정)이다. 이것들을 토대로, 우선 전체의 흐름을 종합해 보면 그림 20과 같다.

3.1절에서 보여지는 해석 및 분석방법은 DNA scanning 이후에 받아들여진 정보를 분석하는 일련의 과정이다. 따라서, 본 연구에서는 microarray의 제작과 실험에 관련한 연구이므로 특징 해석 및 분석에 대해서는 소개만 하고, 이 논문에서의 실험결과는 획득된 화상의 픽셀수를 판단, spot의 크기를 산출하고 유효성을 분석하고자 한다.

3.1.1 데이터의 화상처리

우선, transcription 실험에서는 한 번에 수 천 개의 spot data를 얻기 때문에 이것들을 가능한 한 자동적으로 발현강도의 데이터로 변환

하는 기능이 필요하다. 대량의 spot이 도중에 다르게 인식되지 않도록 spot 강도가 약해지거나 spot의 위치와 상태가 아주 작게라도 바뀌어 지거나 뒤틀려 있다 할지라도 자동적으로 조절해서 인식해준다면 대단히 효과적일 것이라고 판단된다.

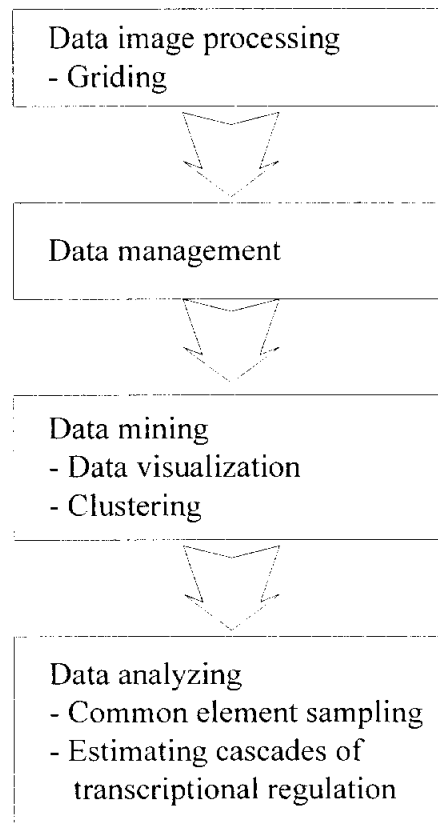


Fig. 20. The function of transcriptome informatics.

3.1.2 데이터 관리

실험결과로 얻어진 데이터는 컴퓨터상으로 처리해야하고, 데이터양이 증가하면 Excel(Microsoft 사) 등과 같은 형식으로 데이터를 관리하는 것이 불가능하게 된다. 따라서 데이터를 효율적으로 관리하기 위하여 데이터베이스를 통하여 관리한다.

3.1.3 데이터의 가시화 지원기능

Transcription 실험에서 서로 다른 조건에서 수천개의 유전자 발현 상황이 어떻게 변하는가를 모니터한다. 예를 들면 정상조직과 병변조직을 비교하는 것으로, 발현량이 크게 변하는 유전자(군)를 검출할 수가 있다. 발현량의 크기 [크게 변하여 있는가]의 판단을 실제로 눈으로 보고 하는 것이 좋기 때문에 이 작업을 지원하는 software는 데이터의 시각화에 전념하고 있다. 또한 눈에 익힌 spot의 유전자 정보를 재빨리 표시해 주는 기능이 있으면 실험상황을 파악하기 쉽게 된다.

3.1.4 Clustering 기능

Transcription 실험의 다른 사용방법으로써 동시에 제어되고 있는 (co-regulated) 유전자 중에 기능이 이미 알려진 유전자가 있으면 나머지 유전자의 관련된 기능을 갖고 있는 가능성이 높고, 유전자의 스크린에 도움이 된다. 그러기 위해서 실험계에 무엇인가인가의 외적변화를 부여한 후라든가 어느 생물학적 과정이 진행되고 있을 때의 유전자의 발현강도의 데이터를 확보하여 변화의 패턴이 닮아있는 것을 선별해 낸다. 이 과정에서 crystallling이라고 하는 기술이 이용된다.

3.1.5 공통 element 추출기능

마지막 단계로 이것은 Transcriptome 본연의 의의라고 생각되지만, 여러 가지 (특히 전사인자의 파괴나 과잉 발현등) 조건하에서의 유전자의 반응을 집적하는 것으로, 실험계의 전사제어 네트워크 명백히 하고 싶다. 그러나 이것에 관해서는 아직 연구단계에 있으며, 일반인이 사용할 수 있는 software는 아니다. 다만, 같은 전사인자에 의하여 조절되고 있다고 생각되는 유전자군의 상류 배열로부터 전사인자의 인식배열을 추출하는 프로그램은 몇 개가 발표되어 있다.

3.2 염료를 이용한 동작 실험

본 논문을 통해 개발된 microarrayer 시제품의 성능을 시험하기 위해 먼저 값싸고 가시적으로 확인이 간편한 염료(일반 수성 잉크)를 이용하였다. 즉, 96 well plate에 잉크를 넣고, 모든 작동을 시험하였다. Photo. 9는 실제 spotting한 microarray의 한 예로서 총 spot의 개수는 96(12×8)개이다. Tip과 3축 로봇의 특성상 지금의 결과 이상의 고집적을 만들수는 있으나 Rhabdo 바이러스의 DNA Chip을 만드는 것을 목적으로 실험을 하였다. Rhabdo virus는 실험한 결과 총 96개의 oligonucleotide로 정제되었다. 따라서 본 실험에서는 96개의 저집적 DNA Chip을 실험하였다.

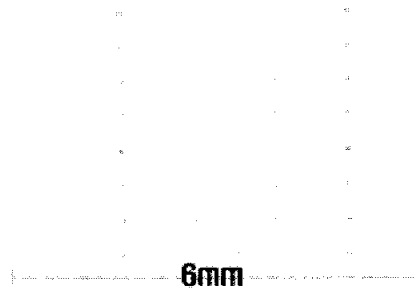


Photo 9. An example of microarray
printed by developed arrayer

Table. 5은 실제 spotting의 결과로 보이는 제원을 나타낸다.

Table 5. Spotting specs of the developed microarrayer

Contents		Units
Spotting	Size [mm^2]	0.01304
	Pitch [μm]	500
	Velocity [spot/sec]	11
	Integration ratio [EA/cm^2]	1,536

실험결과를 영상 처리해서 점의 크기를 식별하려 하였지만 점의 크기가 너무 작아서 육안으로도 식별하기 힘들고, 슬라이드 글라스에 의한 빛의 굴절로 인하여 잔상과 잉크의 분리가 힘들었다. 그래서 Photo. 10의 제작한 테스트용 Tip을 사용하였다. 테스트용 Tip을 사용하여 얻어진 결과는 Photo. 11과 같다.

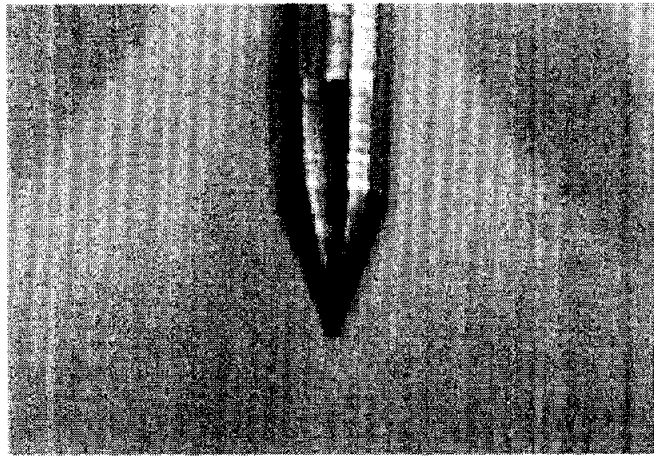


Photo 10. The tip for test

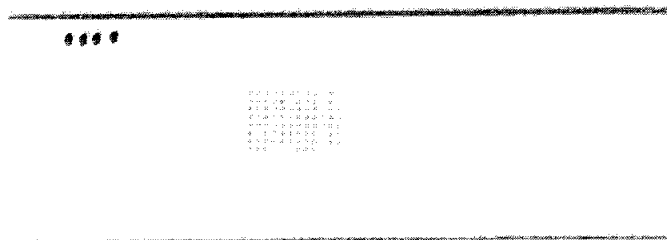


Photo 11. An example of microarray printed by test tip

Photo. 11에서 잉크가 찍힌 부분을 gray level 로 변환하고 이진화 한 후 확대 시킨 모습은 Fig. 21와 같다.

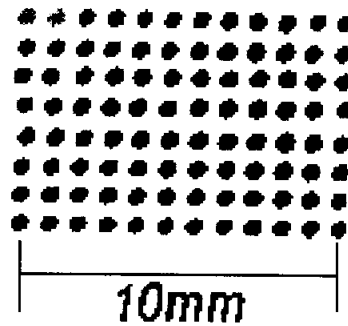


Fig. 21. The shape of image after processing.

여기서 얻어진 각 점들의 픽셀 크기는 Table. 6 과 같이 보여진다.

Table 6. The number of pixels at each spot

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	36	40	38	36	42	40	35	39	40	34	38	32
2	33	38	36	37	41	37	37	37	37	37	38	33
3	34	31	40	38	39	39	35	39	38	34	37	34
4	35	29	43	40	34	40	38	34	37	38	31	31
5	32	35	45	41	32	44	39	32	39	35	36	37
6	32	35	43	37	37	43	38	34	40	38	33	35
7	35	36	36	39	39	38	40	35	37	36	33	36
8	37	34	33	38	41	35	38	35	32	34	34	32

얻어진 픽셀의 값들에 대하여 분석을 위해서는 통계적인 연산이 필요하다. 이미지를 분석하기 위해서 먼저 기본통계의 결과로 평균, 표준편차 분산, 최빈값, 중앙값, 최소값, 최대값 등의 데이터를 획득한다.

Table 7. The result of interpreting descriptive statistics

Contents	Units	Contents	Units
Mean	36.60417	Skewness	0.180599
Standard error	0.32528	Range	16
Median	37	Minimum	29
Mode	37	Maximum	45
Standard deviation	3.187076	Sum	3514
Dispersion	10.15746	Number	96
Kurtosis	-0.14636	Confidence level(95.0%)	0.645761

데이터를 통해서 도수분포와 히스토그램을 구할 수 있고, 이를 통해서 가장 빈도수가 높은 수를 구할 수 있고, 픽셀수의 분포를 알수 있다. 도수분포표에서 가장 높은 빈도를 차지하는 픽셀은 37과 38이다.(Table 8, Fig. 22)

Table 8. The frequency distribution

No. of pixel	Frequency	No. of pixel	Frequency
32	7	39	8
33	5	40	8
34	10	41	3
35	11	42	1
36	8	43	3
37	13	44	1
38	13	45	1

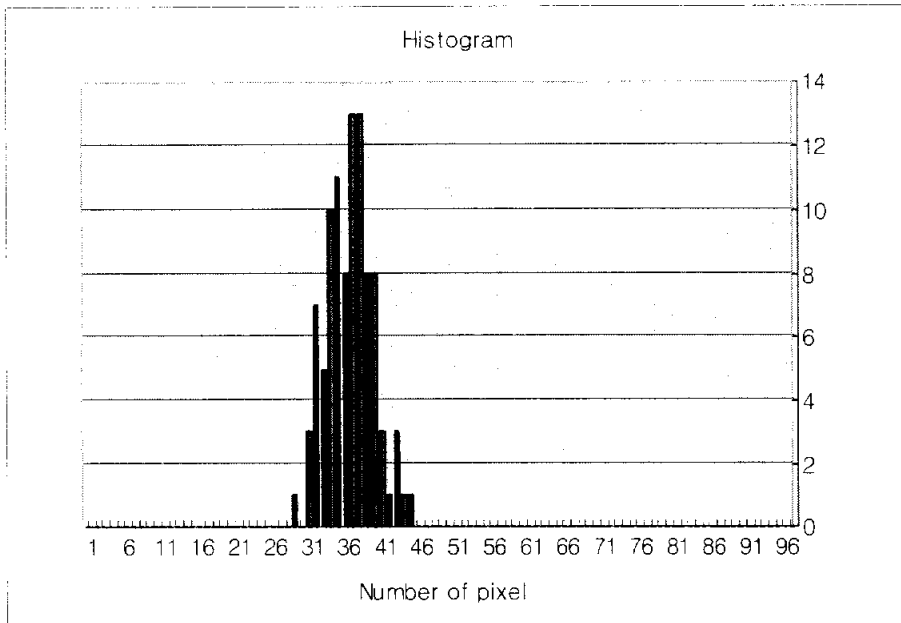


Fig. 22. The histogram.

또한 정규분포를 spot 크기의 과정을 모형화 하고, 랜덤 표본의 평균 값들의 변동성을 나타낸다. 정규밀도함수는 곡선 아래 면적은 총 1이고 곡선 아래 면적의부분이 확률로 해석이 된다.

정규밀도함수 $f(x)$

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{(x-m)^2}{2\sigma^2}} \quad (1)$$

확률변수 Z 가 a, b 구간에 속할 확률 $P(a \leq Z \leq b)$

$$P(a \leq Z \leq b) = \int_a^b f(x) dx \quad (2)$$

이다. 이 확률은 a, b 구간에서의 면적과 같다.

본 실험에서의 (1)식을 이용한 정규분포 곡선은 Fig. 23와 같다.

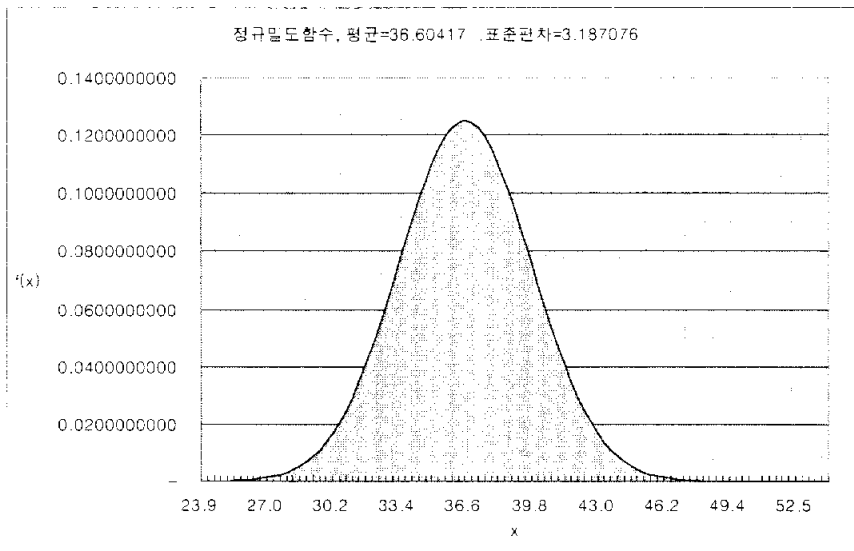


Fig. 23. The graph of normal distribution.

Spot 크기의 분석은 먼저 Spot 크기의 표준 크기와 최대 그리고 최소 크기를 구하고 픽셀수와와의 비율로서 판단하고자 한다.

영상 관독에서는 크기의 비율로서 spot 크기가 균등한지를 판단한다. 따라서 본 실험에서 사용한 ChipMaker4를 기준으로 하여 판단하면, 표준 지름과 최대, 최소 지름은 아래와 같다.

$$S_{ave} = 125 \mu m \quad (3)$$

$$S_{max} = 130 \mu m \quad (4)$$

$$S_{min} = 120 \mu m \quad (5)$$

도수분포에서 픽셀수 Q_{ave} 가 37과 38인 경우가 가장 높은 빈도를 보이므로, 최소픽셀수 Q_{min} 를 구할 때에는 37을 최대픽셀수 Q_{max} 를 구할 때에는 38을 사용하면 (6)식과 같다.

$$\frac{\pi\left(\frac{S_{ave}}{2}\right)^2}{Q_{ave}} = \frac{\pi\left(\frac{S_{min}}{2}\right)^2}{Q_{min}} = \frac{\pi\left(\frac{S_{max}}{2}\right)^2}{Q_{max}} \quad (6)$$

(6)식에서 Q_{min}, Q_{max} 를 구하면

$$\begin{aligned} Q_{min} &= \frac{Q_{ave}\pi\left(\frac{S_{min}}{2}\right)^2}{\pi\left(\frac{S_{ave}}{2}\right)^2} = \frac{Q_{ave}S_{min}^2}{S_{ave}^2} \\ &= \frac{37 \times 120^2}{125^2} = 34.0992 \doteq 34 \end{aligned} \quad (7)$$

$$\begin{aligned} Q_{max} &= \frac{Q_{ave}\pi\left(\frac{S_{max}}{2}\right)^2}{\pi\left(\frac{S_{ave}}{2}\right)^2} = \frac{Q_{ave}S_{max}^2}{S_{ave}^2} \\ &= \frac{38 \times 130^2}{125^2} = 41.1008 \doteq 41 \end{aligned} \quad (8)$$

식(2)에서 a, b의 구간을 Q_{min}, Q_{max} 로 두고 확률을 구하면

$$P(Q_{min} \leq Z \leq Q_{max}) = \int_{Q_{min}}^{Q_{max}} f(x) dx \quad (9)$$

식 (9)은 구간 Q_{min}, Q_{max} 사이의 누적 확률과 동일하다.

이를 Excel의 누적확률을 구해주는 함수 Normdist를 사용하면 다음과 같이 구해진다.

$$P(Q_{min} \leq Z \leq Q_{max}) = 0.704922 \quad (10)$$

지금까지의 연산들을 종합하고, excel2000을 이용한 결과를 정리하면 Table. 9과 같다.

Table 9. The result of interval probability

Minimum diameter	120
Maximum diameter	130
Standard diameter	125
Maximum frequency pixel	37,38
Minimum pixel	34.0992
Maximum pixel	41.1008
$P(\min. \leq X \leq \max.)$	0.70492

(10)의 결과는 통계적인 계산으로 볼 때 최대 최소구간의 spot 들이 전 영역의 70% 안에 들어간다는 것이다.

이 실험에서는 실험을 하는 Tip영상이 아닌 임의로 가공된 Tip을 사용하였다는 점과 획득된 영상을 처리하는 동안 슬라이드 두께로 인한 노이즈와 detector에 있는 렌즈의 구면, 그리고 조명의 영향과 픽셀수를 줄이기 위한 영상 축소로 인해서 데이터가 많이 변질되었다는 것을 고려한다면 70%라는 결과는 시스템의 유효성을 충분히 검증한다고 판단된다.

실험결과 현재 1cm² 내에 96개의 spot을 구성하는 저집적 DNA chip을 제작하는 용도로써는 충분한 성능을 가짐을 알 수 있다.

4 . 결 론

본 논문에서는 DNA Chip을 만들기 위한 저가형 Microarrayer의 하드웨어 및 소프트웨어를 개발하였다.

Microarrayer는 인체의 유전자 정보를 해석하는 도구인 만큼 정밀도와 집적도가 중요한 요인이다. 이러한 요인들을 충족시키기 위해서 정밀 가공된 Tip과 Tip holder, 스테핑모터 그리고 DSP를 이용하여 3축 직교 로봇 제어하는 시스템을 개발하였다. 그리고 DNA Chip을 제작하기 위한 반드시 필요한 요소인 clean station, base plate를 설계하고, 제작하였다.

실험 중에 야기치 못했던 환경적인 요인(온도, 습도, 농도등)들에 인하여 실패를 많이 했으나 문헌과 직접 사용하는 회사를 통하여 정보를 얻음으로 적정 조건을 찾을 수 있었다.

제작된 microarrayer를 이용하여 실험을 한 결과 1cm²안에 192개의 oligonucleotide을 찍을 수 있는 저집적 DNA Chip 제작용 microarrayer가 최초의 목적이었으나, 실험 결과 약 8배의 oligonucleotide를 찍을 수 있는 성능을 보여줬다.

따라서 본 실험에서 개발한 microarrayer가 중소 규모의 연구소에 사용되고, 실험하는 데는 아무 문제가 없다는 것이 확인할 수 있었다.

DNA Chip system은 microarrayer뿐 아니라, 실험된 데이터를 관독하고 해석할 DNA scanner 와 analysis 프로그램의 개발도 아주 중요하다. Microarrayer 및 DNA scanner와 analysis 프로그램의 경우 1억이 넘는 고가임을 감안할 때 개발한 microarrayer가 DNA Chip 연

구에 큰 도움을 줄 것이라 예상이 된다.

Microarrayer 연구뿐만 아니라 실험된 DNA Chip의 데이터를 획득하고 이를 분석할 수 있는 DNA chip scanner와 analysis program 의 개발이 앞으로 과제이다.

참 고 문 헌

1. Purves, W. K., G. H. Origins, H. C. Heller and D. Sadava. 1998. Life, "The Science of Biology, 5ed.", Sinauer associated, Inc.
2. Lim, Y. S., B. Y. Kang, E. J. Kim, S. H. Kim, S. Y. Hwang and T. S. Kim. 1998. Potentiation of antigen-specific, "Th1 immune responses by multiple DNA vaccination with an ovalbumin/interferon- hybrid construct. Immunol.", 94, 135~141.
3. Lashkari, D. A., J. L. DeRisi, J. H. McCusker, A. F. Namath, C. Gentile, S. Y. Hwang, P. O. Brown and R. W. Davis. 1997. "Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis." Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 94, 13057~13062.
4. Kim, T. S., S. Y. Hwang and G. S. Yoo. 1997. "Covalent linkage of IL-12 and ovalbumin confines the effects of IL-12 to ovalbumin-specific immune responses. Arch. Pharm. Res.", 20, 396~403.
5. Owczarek, C. M., S. Y. Hwang, K. A. Holland, L. M. Gulluyan, M. Tavarria, B. Weaver, N. C. Reich, I. Kola and P. J. Hertzog. 1997. "Cloning and characterization of soluble and transmembrane isoforms of a novel component of the murine type I interferon receptor, IFNAR 2. J. Biol. Chemi.", 272, 23865~23870.
6. Holland, K. A., C. M. Owczarek, S. Y. Hwang, M. J. Tymms, S. N. Constantinescu, L. M. Pfeffer, I. Kola and P. J. Hertzog.

1997. "A type I interferon signaling factor, ISF21, encoded on chromosome 21 is distinct from receptor components and their down-regulation and is necessary for transcriptional activation of inteferon-regulated genes. J. Biol. Chem.", 272, 21045~21051.
7. Cheung, V. G., M. Morley, F. Aguilar, A. Massimi, R. Kucherlapti and G. childs. 1999. "Making and reading microarrays. Nature genetics.", 21, 15~19.
 8. Duggan, D. J., M. Bittner, Y. Chen, P. Meltzer and J. M. Trent. 1999. "Expression profiling using cDNA microarrays. Nature genetics.", 21, 10~14.
 9. Oracle bible ver 8.x, 영진출판사, 홍준호외 3명 공저, 1999
 10. ゲノム 機能研究 プロトコール, 本家三, 田中利男, 2000
 11. <http://cmgm.stanford.edu/pbrown/>

투고 및 발표 논문

I. 투고논문

1. S.B. Kim, N.S. Jeong, S.Y. Kim and M.S. Lee, "Development of a Microarrayer for DNA Chips", J. Fish. Sci. Tech. 5(1), pp.36-42, 2002

II. 발표논문

1. 김상봉, 강병철, 김석열, 김정호, 이명숙, "DNA chip 제작용 미세 배열기의 개발", 한국정밀공학회 '99년도 춘계 학술 대회 논문집, pp.789-793, 1999.5
2. 김석열, 박성재, 이영환, 김성민, 김상봉, "생산라인의 실시간 종합 모니터링 시스템과 응용 프로그램의 개발", ICCAS 2001, International Conference on Control, Automation and Systems, pp.2307-2310, Jeju, 2001.10
3. S.Y. Kim, S.W. Kim C. Bae and S.B. Kim, "Development of a Computer Integrated Management System for Hospitals", ASIAR(Asian Symposium on Industrial Automation and Robotics) 2001, Bangkok, Thailand, pp.139-143, 2001. 5
4. 이영환, 김석열, 김성욱, 정남수, 김상봉, "DB를 연동한 저가형 디지털 내시경의 개발", ICCAS 2001, International Conference on Control, Automation and Systems, pp.1935-1938, Jeju, 2001.10

5. Suk-Yoel Kim, Ji-Hee Kang, Myung Suk Lee, Sang-Bong Kim,
"DEVELOPMENT OF MICROARRAYER FOR DNA CHIPS"
Proceedings of the 18th Conference on Science and Technology,
Electrical Engineering, pp. 171-180, Vietnam National University,
HCM City, April, 2002.

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 항상 지켜보면서 충고와 조언을 아끼지 않으시면 지도해 주신 지도 교수님이신 김상봉 교수님께 진심으로 머리숙여 감사 드립니다. 항상 부족함이 많은 저에게 학문과 인생을 가르쳐 주셨으며 어려울 때마다 격려와 질책을 아끼지 않으셨던 지도 교수님께 다시 한번 진심어린 마음으로 감사를 올립니다. 그리고, 항상 따뜻한 마음과 사랑을 아끼지 않으셨던 연구실 선배님 후배님 모두의 어머니이신 사모님께 이렇게 지면을 통해서나마 감사 드립니다. 논문 심사 과정에서 따끔한 질책과 아울러 격려를 아끼지 않으셨던 이명숙 교수님과 정영석 교수님께 다시 한번 감사드립니다. 그리고, 학부 및 대학원을 진학하기까지 학문의 기초를 지도해 주셨던 모든 교수님들과 학교생활을 가르쳐주고 이끌어주셨던 동문, 동아리, 학과 선후배님들께 감사드립니다.

모든 생활에서 항상 힘과 용기가 되어주신 CIMEC연구실 선배님 이신 신민생 교수님, 이진우 선생님, 김환성 교수님, 안휘웅 교수님, 이충환 교수님께 감사드리며 학교에 계시면서 항상 물신양면으로 도움을 주신 김학경 선생님, 서진호 선배님, 감병오 선배님, 이근유 선배님께 감사드리고, 본 연구가 이루어지는데 뒤에서 많은 도움을 주신 강병철 선배님, 박준형 선배님, 김홍수 선배님께 진심으로 고개숙여 감사드립니다. 또한 졸업을 하셨어도 꾸준히 연구실을 찾아주시고 격려를 아끼지 않으셨던 정남수 선배님, 박순설 선배님, 유휘룡선배님, 전봉환 선배님, 김성민 선배님, 김진호 선배님, 김진철 선배님, 김동규 선배님, 이재동 선배님, 정상권 선배님께 정말 감사드리고, 먼저 사회에 나가서도 많은 도움을 준 전양배님께 감사드립니다. 그리고, CIMEC 연구실에서 박사과정을 마치고 돌아가신 Tien 선생님과 아직

연구실에서 유학중이신 허철 선생님, Hieu, Lam, Dung, Kim께도 감사 드립니다. 그리고 제가 어려울 때나 기쁠때 항상 함께 해준 동기인 박성재님, 신승목님, 이원기님, 이영환님께도 감사드리고, 같이 대학원에 들어와 항상 도움을 주신 김성욱님의 앞날에 밝은 빛이 가득 하길 바랍니다. 부족한 저에게 많은 도움을 주신 CIMEC 후배님인 여찬수님, 이재용님, 김영규님, 김정기님, 곽영훈님, 김상찬님, 마성진님, 이숙례님, 김대원님, 김형중님, 배상현님 정준호님께도 고마운 마음을 전합니다. 그리고 군복무중인 2000학번, 2001학번 후배님들 제대하는 날까지 몸 건강히 잘 지내시길 바랍니다.

본 연구가 있기에 주위에서 많은 도움을 주시고 함께 수고해주신 CIMEC연구실의 김상봉 교수님, 임재성님, 이희숙님과 미생물학과 일반미생물 실험실에 이명숙 교수님, 강지희 선배님, 김영주님, 이지선님, 박미주님 어병학과 어병예방학연구실에 박수일 교수님, 김수미 선배님, 홍미주님께 진심으로 감사의 말씀을 전하고, 앞으로 하시는 일 더욱 잘 되시길 기원합니다.

저를 낳아주시고 지금까지 뒷바라지 해주시느라 고생하신 아버지, 어머니의 은혜에 깊은 감사 드리고, 항상 옆에서 큰힘이 되어준 김숙자 누나와 이태희 자형께도 많은 감사 드립니다. 그리고 멀리서 일하느라 고생하고 있는 동생 남현이에게도 고마운 마음을 전합니다. 또 멀리 있지만 나를 지켜봐주고 아껴주고 많은 힘을 안겨준 최희정님께 정말 감사드립니다.

항상 저를 걱정해주시는 모든분께 멀리서나마 행복을 빕니다.

2003 년 1 월 6 일 김 석 열