

신종 바이러스 감염병 팬데믹 대응을 위한 차세대 진단기술

안세희 대리 정진국제특허법률사무소
성우경 수석연구원 한국전자기술연구원 휴먼IT융합연구센터

개요

현재 전 세계적으로 신종 코로나바이러스 감염증(COVID-19 또는 SARS-CoV-2)라는 한번도 경험하지 못한 전염병의 세계적 대유행(팬데믹)에 직면하고 있음. 2020년 3월 세계보건기구가 COVID-19에 대해 팬데믹을 선언했던 이후, 지금까지 변함없이 최고등급의 유행 감염병으로 분류되어 있으며 한국에서도 매일 1천명 이상의 신규 확진자들이 발생하고 있는 4차 대유행을 겪고 있음. 백신의 개발과 보급에도 불구하고 각종 변이바이러스의 출현으로 전 세계 인류의 건강을 여전히 위협하고 있으며, 아직까지 치료제가 개발 중이라 널리 보급되지 않은 현 시점에서 COVID-19를 정확히 빠르게 진단하고, 격리 치료를 통해 확산을 방지하는 진단기술의 중요성은 아무리 강조해도 지나치지 않음. 이에, 신종 바이러스 감염병 대응을 위한 COVID-19 진단기술과 차세대 개발 진행 중인 진단기술에 대해 소개하고자 함.

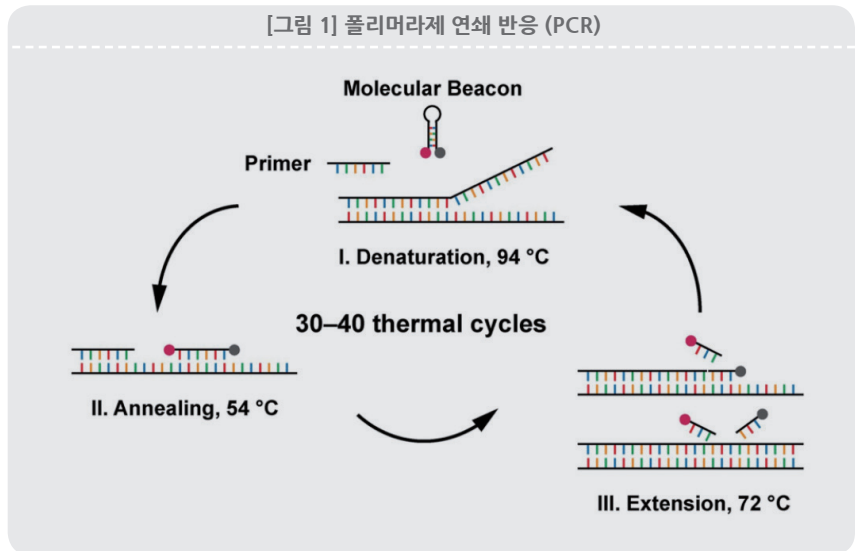
COVID-19 바이러스 진단기술의 발전 동향

바이러스 진단 기술은 COVID-19 전염병을 완화하기 위해 모든 단계에서 신속하게 감지, 조사 및 대응하는데 필수적이며, 예를 들어, SARS-CoV-2에 감염된 환자를 적시에 식별하기 위해서는 민감하고 구체적인 신속한 진단 검사가 필요함. 현재, PCR 기반의 핵산 검출 방식은 가장 표준화된 진단법이며 코로나19 진단키트는 대부분 실시간 PCR을 기반으로 하고 있음. 또한, 테스트 비용과 시간을 줄이기 위해 등온 증폭과 같은 새로운 핵산 검출 방식 및 기기가 개발되고 있으며 숙주의 항체를 검출하는 바이러스 항체 검사 및 혈청학적 검사도 개발하여 SARS-CoV-2에 대한 면역을 획득할 수 있는 집단을 추정하고 COVID-19의 역학조사를 시행하고 있음.

1. PCR 기반 핵산 검출

PCR은 효소 복제를 통해 시험관 내에서 특정영역의 핵산을 기하급수적으로 증폭하는 중요한 생화학 및 분자 생물학 기술로 특히, COVID-19 바이러스와 같은 리보핵산(RNA) 바이러스는 실시간 역전사 중합효소연쇄반응(real-time reverse transcriptase PCR; qRT-PCR) 진단법이 사용되고 있음. 현재 qRT-PCR은 바이러스 검출의 'Gold Standard'로써 COVID-19 진단을 위해 상업적으로 이용 가능한 qRT-PCR 플랫폼이 채택되고 있으며 바이러스 RNA를 직접 검출하면 환자의 증상과 면역 반응에 상관없이 코로나19를 조기 진단할 수 있음. FDA는 2020년 1월 12일 SARS-CoV-2의 유전자 서열이 공유된 이후 2020년 2월 4일 질병통제예방센터(CDC)는 패널 사용을 위해 긴급사용승인(Emergency Use Authorization, EUA)을 실행하였음.

이 분자진단방법의 진단 정확도는 면역진단방법 대비 높지만, 정교한 온도조절장치와 상대적으로 긴 소요시간을 필요로 하며 장비의 소형화와 진단시간 단축에 제약이 있어, 전문 진단설비를 갖춘 대형병원이나 임상검사실에서만 쓰일 수 있음.



2. 등온 증폭에 기반한 핵산 검출

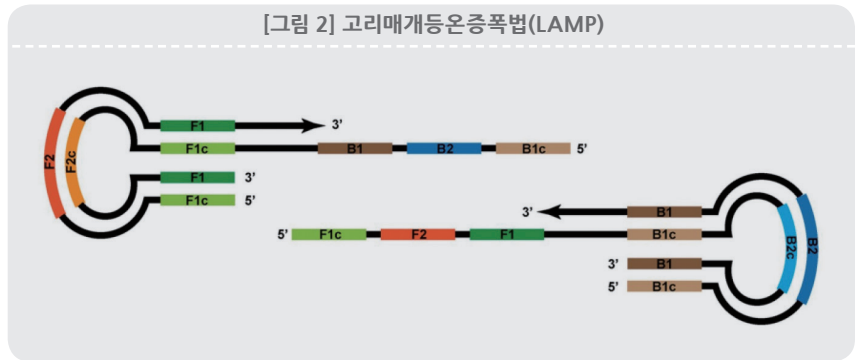
일정 범위의 온도(60~70도)에서 DNA를 증폭시키는 고리매개등온증폭(LAMP) 기술은 열 순환 과정을 단순화하고 분석 시간을 줄이기 위해 개발된 기술로 온도를 올려 이중가닥을 떨어뜨리는

과정이 없는 대신 프라이머가 이중가닥에 비집고 들어가며 고리(루프) 구조를 만들고, 여기서부터 증폭을 시작함. 고리 구조는 단일가닥으로, 여기에 다시 프라이머와 DNA중합효소가 달라붙을 수 있으며 한 번 고리 구조가 만들어지면 온도를 95도까지 올릴 필요가 없어 PCR보다 빠르게 DNA를 증폭할 수 있음.

코로나바이러스를 검출하기 위해 ‘역전사고리매개등온증폭법(RT-LAMP)’이라는 기술을 개발하였으며 RT-LAMP는 RT-PCR와 비슷하게 환자의 타액이나 코, 목구멍 등에서 검체를 채취한 후 특정 코로나19 바이러스의 유전자를 식별해 감염 여부를 판별하지만 RT-PCR가 가열과 냉각의 온도 변화를 통해 유전자를 증폭시키는 것과 달리 RT-LAMP는 섭씨 55~72도 사이의 동일한 온도에서 유전자를 증폭시켜 1시간 내 진단이 가능하다는 장점이 있음.

그러나, 이러한 장점을 가진 LAMP도 qRT-PCR의 기기를 단순화하는 열 순환기 없이 표적을 빠르게 증폭하기 때문에 바이러스 감염의 현장 진단 진단에 유망하지만 4-6개의 프라이머가 필요하기 때문에 RT-LAMP에 대한 분석 설계는 상대적으로 복잡하고 추가 최적화가 필요하다는 한계가 있음.

[그림 2] 고리매개등온증폭법(LAMP)

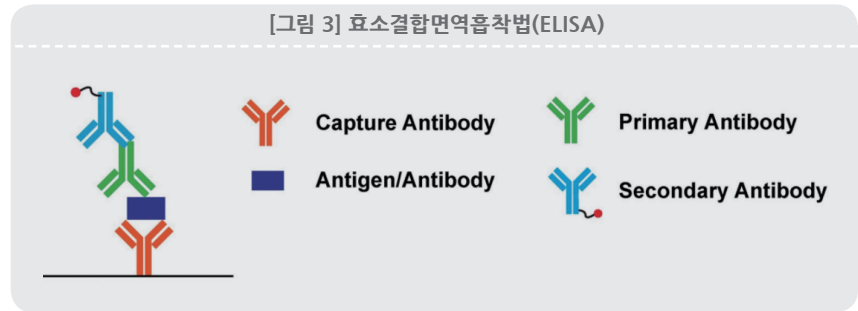


3. 바이러스 항원에 기초한 면역학적 검사

뉴클레오캡시드(nucleocapsid, N) 단백질은 코로나바이러스에서 가장 풍부한 단백질이며 SARS-CoV 검출을 위한 진단 마커로 사용할 수 있고, 비인두 흡인물, 소변 및 대변 등에서 검출이 가능함. 바이러스 항원은 면역조직화학(IHC) 및 효소 결합 면역흡착 분석(ELISA)과 같은 일반적인 단백질 검출 기술로 검출할 수 있으며 특히 ELISA는 비용 효율성과 작동 용이성으로 인해 실험실 단백질 검출에 널리 사용되고 있음.

바이러스 항원 검사는 qRT-PCR 시스템을 사용할 수 없을 때 경제적이고 편리한 진단 방법을 제공하지만 위양성 (False-positive) 및 위음성 (False-negative)이 높아 특이도 및 민감도가 낮다는 한계점이 있음. 2020년 5월 8일 형광면역분석을 기반으로 한 코로나19 항원검사(Quidel Corporation, San Diego, CA)가 FDA의 EUA 승인을 받았음.

[그림 3] 효소결합면역흡착법(ELISA)



4. 항원/항체에 기초한 현장검사

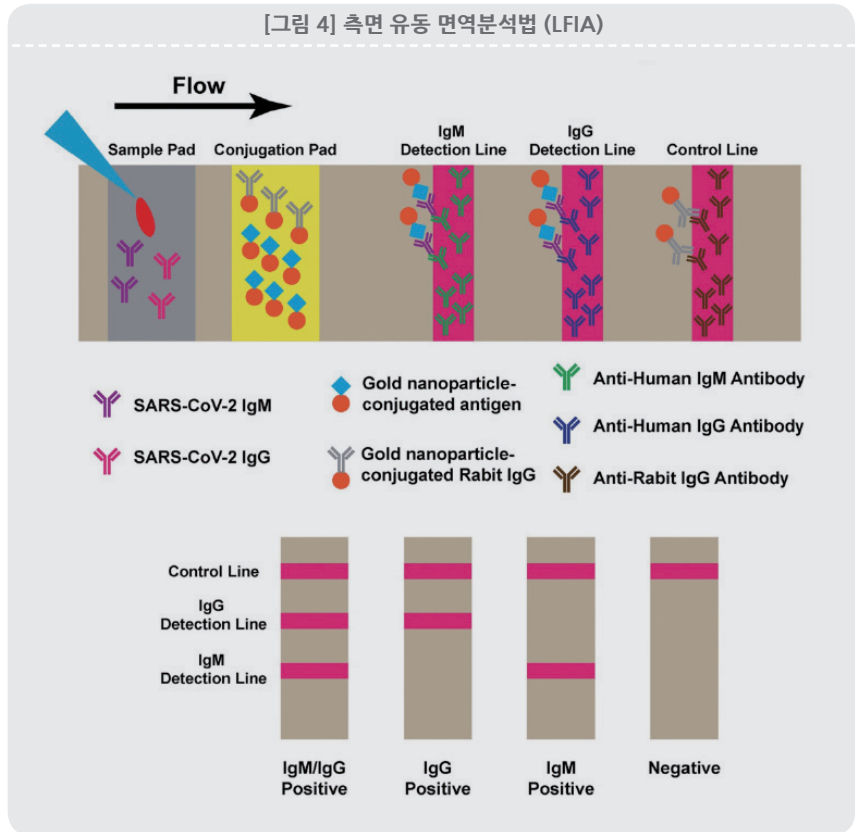
혈청학적 검사(Serological Test)는 항원의 단백질 또는 체내에서 생성된 항원에 대한 항체를 측정하는 방식으로 일반적으로 혈액에서 IgM 및 IgG를 검출하며 스파이크 단백질과 뉴클레오펙시드 단백질은 코로나바이러스 혈청학적 검사를 위한 가장 일반적인 면역원임.

특히, 측면 유동 면역분석법 (lateral flow immunoassay, LFIA)은 항원을 검출하는 방법과 항체를 검출하는 방법으로 나눌 수 있으며, 항원검사법은 ELISA의 Sandwich 법과 원리적으로 동일하며 항체는 SARS-CoV-2 바이러스의 감염 후에도 일정기간 동안 인체 내에 존재함으로 현재(현성) 감염 뿐만 아니라, 환자의 회복 상태 추정하거나, 치료 효과, 역학 조사, 백신의 유용성 등을 평가하는데 사용될 수 있음.

이 검사법은 과정이 단순하고, 고가의 검사 장비가 필요하지 않으며, 항원 또는 항체의 존재 여부를 빠른 시간(15분 이내) 내에 알 수 있기 때문에 현장검사법(point-of care test, POCT)으로써 최적의 검사법이 될 수 있으나 항원 현장검사는 무증상 감염자에 대한 민감도가 떨어지고 항체 현장검사는 감염 초기의 진단이 어렵다는 문제가 있음.

FDA는 2020년 4월 1일 SARS-COV-2 IgG/IgM 검사(Cellex, Research Triangle Park, NC)에 대한 EUA를 발행한 바 있음.

[그림 4] 측면 유동 면역분석법 (LFIA)

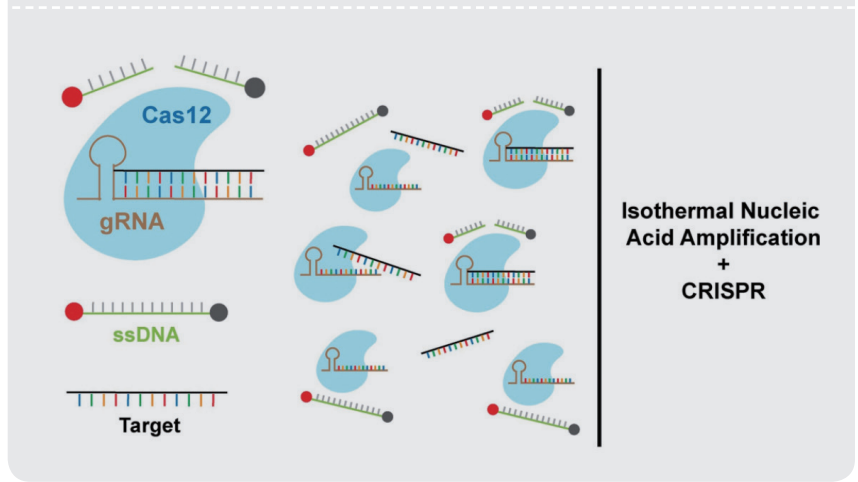


5. 크리스퍼(CRISPR) 유전자 가위 기반 진단기술

PCR을 이용한 기존 분자진단법의 대안으로 크리스퍼(CRISPR) 유전자 가위 기술을 이용한 진단 기술이 차세대 유망기술로 손꼽히고 있으며, 미국 신생 바이오벤처인 셉록바이오사이언스가 개발한 유전자가위를 이용한 기술인 SHERLOCK (Specific High-Sensitivity Enzymatic Reporter UnLOCKing)이 대표적임.

유전자가위는 유전정보를 담고 있는 리보핵산(RNA)을 잘라낼 수 있으며 잘라낸 RNA에 형광물질을 달아 놓은 뒤 코로나19 바이러스를 인식했을 때 이 RNA를 자르도록 조건을 설정해두면 코로나19 바이러스가 있을 때만 형광물질이 떨어져 나가는 방식으로 진단키트를 만들 수 있음. 즉, 크리스퍼 유전자 가위가 코로나19 바이러스를 식별할 경우 이 유전자를 절단하도록 하는 동시에 형광 분자 신호를 생성하도록 만들어 감염 여부를 판별할 수 있는 기술로 우수한 분석 감도와 민감도를 가져 임상 진단에서 위양성 및 위음성을 최소화 할 수 있기 때문에 높은 관심과 기대를 받고 있음.

[그림 5] CRISPR(Clustered regularly interspaced short palindromic repeats) 기반 검출



🏥 현재 개발 중인 COVID-19 첨단 진단기술 동향

COVID-19 위기에서 알 수 있듯이 현재 바이러스 진단 기술의 가용성, 속도 및 정확성은 글로벌 전염병에 대한 신속한 대응을 위해 여전히 제한적이며, 기존 방법보다 빠르고, 간단하고, 저렴하고, 정확한 진단 방식을 수립하기 위해 시스템 생물학, 나노생명공학, 생체 광자학 등 다양한 분야에서 새로운 접근법을 통한 진단기술의 개발이 이루어지고 있음.

[표 1] 개발 중인 COVID-19 첨단 진단 기술 동향

진단기기	개발자	분석물/시료	검출 방법	플랫폼	상태
CARMEN-Cas13a (Combinatorial Arrayed Reactions for Multiplexed Evaluation of Nucleic Acids)	Broad Institute, Harvard University	증폭된 핵산 /혈장, 비강 또는 인후 면봉	모든 테스트 샘플과 검출 시약은 단일 피펫팅 단계에서 한 쌍의 색상으로 구분된 나노리터 수준의 액적 형태로 모아져 어레이에 도입됨. 표적 핵산의 검출은 Cas13a 활성화, reporter RNA 절단 및 형광 신호의 생성을 초래하며 8시간 이내로 검출됨	177,840개의 마이크로웰을 포함하는 마이크로어레이 칩	최소 10개의 게놈 시퀀스가 있는 169개의 인간 바이러스 병원체를 동시에 탐지하기 위해 고안됨; 최근 170번째인 SARS-CoV-2를 탐지하기 위해 CRISPR RNA(crRNA) 시퀀스를 추가함
CRISPR-Chip	Cardea Bio	증폭되지 않은 핵산 /Buccal면봉	표면에 촉매적으로 비활성화된 Cas9 효소와 guide RNA (gRNA)를 고정화하여 표준 전자 신호 구성 요소인 graphene field-effect transistor (gFET)를 기능화함. 테스트에 타겟 시퀀스가 있으면 장치의 전기적 특성을 변조하고 전기적 신호를 생성함.	gFET-휴대용 디지털 계측기	Duchenne 근이영양증을 유발하는 유전적 돌연변이 감지 등 질병 관련 돌연변이를 검출하기 위해 고안됨; ;SARS-CoV-2 탐지를 위해 개발 중

진단기기	개발자	분석물/시료	검출 방법	플랫폼	상태
VIRRION (virus capture with rapid Raman spectroscopy detection and identification)	Pennsylvania State University	전체 바이러스/ 비인두 면봉; 호기 버전 개발 중	라만 분광법을 사용하여 비표지식(Label-free) 비파괴 광학 검출과 결합된 샘플에 존재하는 바이러스의 신속한 크기 기반 농축을 위한 탄소나노튜브 기반 어레이	라만 분광법 신호를 향상시키기 위해 금 나노 입자가 첨가된 N-doped CNT 어레이를 포함하는 칩	조류 인플루엔자 A 바이러스 서브타입 및 호흡기 감염이 있는 사람의 샘플로 검증됨; SARS- CoV-2 탐지를 위한 개발 중
CRISPR-Cas13 기반 전기화학 미세유체 센서	University of Freiburg, Germany	증폭되지 않은 핵산 / 혈청	Cas13a가 표적에 결합하면 Cas13a는 표지된 reporter RNA 서열의 절단을 매개함. 표지된 reporter RNA는 항체에 연결된 후, 글루코스 퍼옥시다제에 결합됨. 포도당이 미세유체 전기화학 셀에 도입되면 과산화수소가 생성되어 존재하는 표적 RNA의 양을 간접적으로 측정함	폴리이미드 기판에 적층된 건식 필름 포토레지스트 층은 과산화수소를 측정하는 전기화학적 셀이 함유되어 시료 내 표적 분석물질의 양에 반비례하여 생성됨	혈청의 낮은 농도에서 microRNA를 검출하는 것으로 입증됨 ;SARS-CoV-2 탐지를 위한 개발 중
Convat 광학 바이오센서	Catalan Institute of Nanoscience and Nanotech- nology (Barcelona, Spain) and collaborators	현장진단검사(POCT) 형식의 항원 및 다중화 형식의 증폭되지 않은 핵산 / 비강 또는 타액 면봉	bimodal waveguide interferometer device (BiMW); 항체 또는 상보적 핵산 가닥과 같은 감지 요소에 결합된 분석 물질과 상호 작용할 때 단일 광파의 두 가지 모드 사이에서 발생하는 간섭을 감지	태블릿 제어하에 휴대용 25 × 15 × 25cm 상자에 통합되는 모든 계측기	원래 병원 내 세균성 병원체를 탐지하기 위해 개발되었음; 현재는 SARS- CoV-2 탐지에 개발중
Dual functional plasmonic photothermal biosensor	Swiss Federal Laboratories for Material Science and Technology, Swiss Federal Institute of Technology in Zurich (ETH Zürich)	비증폭된 비표지식 핵산 / 바이오에어로졸	국소 표면 플라즈몬 공명 및 플라즈몬 광열을 사용하여 금 나노 입자에 고정된 상보적 DNA 서열을 가진 바이러스 RNA 혼성화로 6-10분 내에 광학적 검출	상보적인 DNA 서열로 기능화된 유리기판위 금나노섬	합성 샘플의 수동 입력을 사용한 SARS-CoV-2 검출 시연; 개발 중인 바이오 에어로졸에서 바이러스를 감지하는 버전
FET 바이오센서	한국기초과학 연구원(청주)	전처리가 필요 없는 항원 / 비인두 면봉	그래핀 기반 초고감도 전계효과트랜지스터(FET: Field- Effect Transistor) 바이오센서로 환자 검체 처리 과정 없이 바이러스 검출	반도체 분석기에 연결된 gFET	SARS-CoV-2 탐지 시연
FemtoSpot COVID-19 신속 탐지 테스트	Nano DiagnosisX	항바이러스 IgG 및 M 항체 / 치료하지 않은 혈액 한 방울	낮은 농도에서 항체 또는 질병 바이오마커를 검출하기 위해 전자 증폭을 사용하는 환자 자가 혈청 검사	나노리본(nanoribbon) 기반 FET의 전도도 변화	원래 심장 바이오마커의 검출을 위해 개발되었으나, COVID-19 테스트 개발 중
COVID-19 바이오센서	University of Utah	바이러스 항원/타액	바이러스 항원에 결합하기 위해 표면 고정화된 올리고뉴클레오타이드 앵타머를 사용. 신속한 1분 테스트 가능	전기 저항의 변화	원래 Zika 바이러스 탐지용으로 개발됨 ; COVID-19 테스트 개발 중
One-step COVID-19 test	Northwestern University, Stemloop	바이러스 핵산/비강 또는 타액 면봉	primer-free CRISPR 등은 증폭을 사용하여 아토몰 수준의 감도로 주변 온도에서 핵산 검출	1시간 이내에 형광 판독	원래 환경 오염 물질을 감지하기 위해 개발됨; COVID-19 테스트 개발 중

+ 결론

COVID-19 팬데믹을 겪으면서, 팬데믹 발생 시 각 국가의 경제·사회에 미치는 타격이 매우 크다는 것을 실감했으며 특히, 심각한 기후위기로 인한 돌연변이 바이러스의 급증은 또다른 신종바이러스 감염병의 위협에 여전히 노출되어 있음을 의미함.

따라서, 이에 대응하기 위해서는 백신, 진단, 치료제의 개발이 무엇보다 중요하며 그 중에서도 치료제와 백신 개발에 앞서 초기단계에서 신속하고 정확한 진단과 추적을 통해 전파 속도를 최대한 늦추는 것이 중요함.

특히, 정확한 바이러스 탐지는 COVID-19 대유행을 억제하기 위한 출발점이며 임상적 특성 등 감염병 관련 정보 공유와 검체, 병원체 등 실물자원의 빠른 확보 및 공유가 무엇보다 중요함. 신규 감염병 발생 시, 바이러스의 특성을 정확히 파악하여 새로운 진단 플랫폼 개발 못지않게, 기존 진단기술을 맞춤형으로 적극 활용하여 세계적 유행병과의 싸움에서 더 빠른 스크리닝 접근 방식을 확보하는 것도 효율적인 대안이 될 수 있을 것으로 사료됨.

< 참고자료 >

1. 신종감염병 위기대응 기술 (진단, 치료, 백신) 김주원·여창민 KISTEP 기술동향브리프 2020-05호
2. SAGE Journals; Advances in Viral Diagnostic Technologies for Combating COVID-19 and Future Pandemics ; August 24, 2020 ; SAGE Journals Review Article
3. COVID-19 spurs wave of innovative diagnostics; Nature Biotechnology volume 38, pages769-772 (2020);

Writer

안세희 경진국제특허법률사무소, 대리

Reviewer

성우경 한국전자기술연구원 휴먼IT융합연구센터, 수석연구원

BIO ECONOMY BRIEF

발행 : 2021년 11월 | 발행인 : 고한승 | 발행처 : 한국바이오협회 한국바이오경제연구센터
 13488 경기도 성남시 분당구 대왕판교로 700 (삼평동, 코리아바이오파크) C동 1층, www.koreabio.or.kr
 * 관련 문의 : 한국바이오협회 한국바이오경제연구센터 e-mail : Koreabio1@koreabio.org