

바이오센서

†김 의 락

계명대학교 기초과학부 화학과

(접수 : 2000. 9. 28., 게재승인 : 2000. 10. 23.)

Biosensors

Ui Rak Kim†

Department of Chemistry, Keimyung University, 1000-Shyндang-Dong, Dalshyu-Ku, Daegu 704-701, Korea

(Received : 2000. 9. 28., Accepted : 2000. 10. 23.)

Intense research on biosensors has been performed in a number of different institution over the past 15 years, but relatively few commercial products have resultingly, the blood glucose sensor is a good example of a product which penetrated the market. However recently, the development of electrochemical and optical technologies has accelerated the turnover of the research as is illustrated by a rapid increase in the number of point-of-care diagnostic systems and analytical devices. Examples of such biosensors used in the fields of medical diagnostics, bioprocess control, and environmental monitoring are described, and summarized in an introduction to their characteristics, structures, and functions, given.

Key Words : Biosensor elements, Point-of-care biosensors, Biosensors for bioprocess control, Biosensors for environmental monitoring, Transducers, DNA chips

서 론

바이오센서는 생물체 내에 존재하는 생체물질 중 특정한 화학물질에 대한 우수한 인식기능을 가진 물질을 이용하여 생체 내에서의와 같은 반응을 수행함으로써 생성되는 물질을 상온 그리고 상압 하에서 직접 측정할 수 있는 장치이다. 바이오센서의 특징으로 센서의 일정한 물질에만 작용하는 반응 특이성, 간편성, 미량성 그리고 측정물질을 분리하지 않고 직접 측정할 수 있다는 장점 때문에 생체 관련 물질을 연구하는 기초과학 연구뿐만 아니라, 환경 오염물질의 측정 및 감시, 의료진단, 생명공학, 식품공정, 안전방재 등에 있어서 매우 중요한 역할을 한다(1-5). 바이오센서의 우수한 특성으로 미루어 볼 때 앞으로 활용 가능성이 매우 클 뿐만 아니라 그 종류도 다양하며 상품의 시장성도 넓으므로 많은 연구가 필요하다.

바이오센서의 원리와 종류

바이오센서는 Figure 1에서와 같이 분석물질 분자를 인식

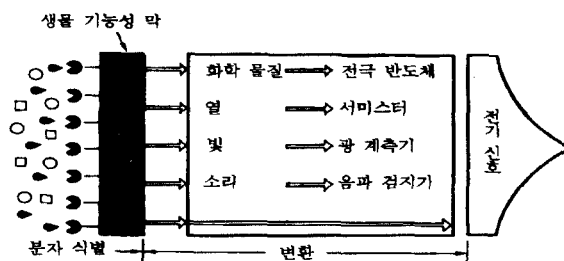


Figure 1. The concept of biosensors.

하여 검지하는 포착기능 부분 (receptor) 그리고 검지된 물질의 농도에 비례하여 측정 가능한 신호를 발생하게 하는 신호 변환기능 부분 (transducer)으로 구성되어진다. 포착 기능물질로서 어떤 특정 화학물질을 선택적으로 식별할 수 있는 기질 선택성과 반응특이성의 기능을 가진 생체물질인 효소와 이들 효소를 포함하고 있는 미생물, 오로가넬라, 동식물의 조직, 동물세포, 그리고 항원, 항체, DNA, receptor 등을 고분자 담체 (carrier) 에 고정화 (immobilization) 하든가 또는 그대로 사용하여 기능성 막을 만들고, 이 기능성 막에서 어떤 특정 물질을 선택적으로 포착한다. 이와 같이 포착된 물질의 농도는 전기활성물질일 경우에는 전극 또는 반도체소자로, 또 막에서 일어난 반응이 발광반응과 연결시킬 수 있는 경우에는 photon counter로, 반응열의 변화인 경우에는 thermistor로, 그리고 진동자의 진동변화는 음파검출기를 통하여 전기신호로 변환시킬 수 있다.

†Corresponding Author : Department of Chemistry, Keimyung University, 1000-Shyндang-Dong, Dalshyu-Ku, Daegu 704-701, Korea
 Tel : +82-53-580-5181, FAX : +82-53-580-5164
 E-mail : kur@kmu.ac.kr

여러 가지 화학변화를 전기신호로 변환하여 검출하는 바이오센서의 종류도 Figure 1에 나타난 바와 같이 생체관련 물질의 기능에 따라 크게 둘로 나눌 수 있다(6,7). 첫째는, 효소 바이오센서, 미생물 바이오센서, 조직 바이오센서, 오르가넬라 바이오센서, 효소와 조직을 동시에 사용한 혼합형 센서 등과 같은 biocatalytic biosensor이다. 둘째로, 면역 바이오센서, receptor 바이오센서, DNA 바이오센서와 같은 bioaffinity biosensor로 나눌 수 있다. 또한, 신호변환(transducer) 기능에 따라 전극형 바이오센서, thermistor형 바이오센서, 생물화학 발광형 바이오센서, 반도체형 바이오센서 등으로 구별된다. 그러나, 이들의 구별이 명확한 것이 아니라 바이오센서의 종류에 따라 포착기능 부분과 신호변환기능 부분 중 어느 한쪽 기능부분에 중점을 두어 바이오센서의 종류가 분류된다.

바이오센서의 선택성과 수명은 생체물질의 특이성과 안정성에 의존하므로 생물활성표면(bioactive surface)의 제조와 활성분자의 인식기능의 보존은 바이오센서 개발에서 가장 중요한 문제이다. 센서가 갖추어야 할 요건은 감도(sensitivity)가 높고, 선택성(selectivity)이 좋고, 안정도(stability)가 커야 하는 3S와 복귀도(reversibility), 신뢰도(reliability), 재생산성(reproducibility)이 좋은 3R이 요구되며, 그 외 부대 요건으로는 사용의 간편성, 기능성, 적응성, 규격성, 보존성, 정확성이 좋아야 한다. 현재 바이오센서 기술개발의 동향은 소형화하며, 대량생산으로 가격저하를 이루어 경제성을 높이고, 일차원화(주사 센서)에서 2차원화(영상센서)로 그리고 다차원화 하고, 또 여러 가지 센서를 집적화하여 다기능화 그리고 지능화 또한 시스템화 그리고 smart 화하여 인간의 감각기능과 같은 바이오센서를 제작하려고 하고 있다.

상품화된 바이오센서

과거 15년 전에도 세계 각 국에서 바이오센서에 관하여 많은 연구를 수행하였으나 glucose biosensor 이외에는 상품화된 것이 그렇게 많지 않았다. 그러나 최근 몇 년 전부터 상품화된 바이오센서의 수가 크게 증가하였다. 특히, 포켓용 i-STAT(8), surface plasmon resonance devices(9), evanescent wave devices(10), 환경 오염 물질의 측정을 위한 생물화학적 산소요구량(BOD) 측정용 센서(11), point-of-care system(12), non-invasive sensing(13), 그리고 식품이나 음료 제조 중 glucose, sucrose, glutamate, choline의 농도를 측정 할 수 있는 바이오센서 외에 DNA 분석을 위한 차세대 바이오센서가 상품화되고 있다(14,15).

자가진단 및 의료현장용 바이오센서

상품화 된 바이오센서 중 당뇨병 환자를 위한 glucose biosensor가 가장 일찍 그리고 크게 개발되었다. 현재 미국에서는 약 800만의 당뇨병 환자가 치료를 받고 있으며 치료를 받고 있지 않는 환자도 약 800만이 되므로, 한국을 위시하여 전세계적으로 볼 때 그 수는 말할 수 없이 많다. 또한, 당뇨병 환자 치료비가 심장병과 암 치료에 사용되는 비용과 거의 비슷할 정도이다. 당뇨병 환자는 두 가지 형태로 구분된다. 첫 번째는 아이들이나 젊은 연령층의 당뇨병 환자로 췌장 속에 있는 인슐린 생산세포가 기능을 하지 못하여 인슐린 생산

능력의 상실로 항상 음식으로부터 흡수되는 glucose를 체내에서 사용할 수 있도록 식사 전에 인슐린 주사를 맞지 않으면 안되는 형태이고, 두 번째는 첫 번째 형태보다 나이가 많은 연령에서 발생하는 것으로 인슐린 생산 능력의 상실에 의한 것이 아니기 때문에 대단히 복잡하다. 그러므로 첫 번째 형태를 insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)이라 하고, 두 번째 형태를 non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM)라 한다. 두 번째 형태의 당뇨병 환자는 체내에서 glucose의 대사작용에 도움을 주는 약품을 복용하던가 식이요법에 의하여 치료한다(16,17).

당뇨병 환자의 건강은 혈당농도를 조절하는 능력에 의하여 결정되므로 당뇨병의 상태는 glucose biosensor를 이용하여 그들 자신의 혈당량을 환자들이 직접 측정하여 결정할 수 있다. 따라서 glucose 측정용 바이오센서는 일반 사람들이 쉽게 조작할 수 있고, 측정값이 정확하며, 또한 가격이 싸야 한다. 이와 같은 요구를 충족시켜 상품화된 glucose sensor는 대부분 효소반응에 기초를 두고 있으며 test strip 형태로 구성된다. 그 작용원리로서 reflectance-based methods (glucose oxidase-peroxidase optical method, glucose oxidase-organic mediator optical method, glucose oxidase-prussian blue method 등) 혹은 electrochemical methods (glucose oxidase-ferricyanide electrochemical method, glucose oxidase-ferrocene electrochemical method 등)가 주로 이용된다. Reflectance-based methods는 발색물질 형성량을 반사 분광기로 측정하여 glucose 양을 측정하는 방법으로 이를 이용한 광학적 측정용 strips는 보통 지지기, 반사기, 분석기, 그리고 시료를 분산시키는 기능을 수행하는 4층으로 구성된다. 지지기층은 얇고 딱딱한 플라스틱을 사용하며, 반사기층에는 TiO_2 , BaSO_4 , MgO , 그리고 ZnO 와 같은 산화물을 사용하고, 분석기층은 계면활성제를 첨가한 섬유나 막 혹은 종이 등이 사용된다. Electrochemical methods를 이용한 혈당량의 결정은 glucose와 같이 전기화학적으로 비활성 물질을 효소반응에 의해 전기활성물질로 전환시켜 측정하거나 그 과정에서 일어나는 전자이동을 측정함으로써 수행된다.

상품화 및 기술 동향으로써, Bayer Glucometer Encore에 사용되는 test strip에서는 효소 hexokinase가 ATP와 magnesium의 존재 하에서 glucose와 작용하여 glucose-6-phosphate를 생성시키고, 이 물질은 다시 효소 glucose-6-phosphate dehydrogenase에 의해 NAD^+ 가 NADH로 전환되는데 이용되고, 마지막으로 NADH는 diaphorase와 tetrazolium 지시약과 반응하여 갈색의 formazan을 생성한다. 이 갈색의 색조밀도는 glucose 농도와 직접적인 정비례 관계가 있다. Encore 외의 test strip 종류로 One Touch, Sure Step, Instant, Easy, Elite, Advantage, Exactech, Companion 2 그리고 Precision QID라는 제품명으로 시판되고 있다. 이들은 주로 glucose oxidase 단독이거나 혹은 peroxidase와 혼용하여 사용하고, 또한 최적화 된 발색제의 종류와 양을 첨가하며 더욱이 다른 시약을 첨가하여 향상된 조건하에서 glucose 양을 측정하도록 만들었다. 이와 같은 test strip을 이용하여 다양한 광학적 및 전기화학적 glucose meter (Table 1 내 종류와 각 성능 참조)를 만들어 시판되고 있는데, 제품명으로는 Bayer Glucometer Encore, LiftScan One Touch, Boehringer Mannheim Accu-Chek Instant, Boehringer

Table 1. Performance comparison of glucose meters commercially available.

| Meter | 정맥혈액 | Hematocrit Range(%) | 최고 고도(ft) | 습도 범위 |
|---------------|------|---------------------|-----------|---------|
| Encore | Yes | 20 ~ 60 | 8,800 | <85 |
| One Touch | Yes | 25 ~ 60 | 5,280 | 0 ~ 90 |
| Sure Step | Yes | 25 ~ 65 | - | 10 ~ 80 |
| Instant | No | 30 ~ 55 | 6,000 | <85 |
| Easy | No | 30 ~ 55 | 6,000 | <85 |
| Elite | Yes | 20 ~ 60 | 8,800 | 20 ~ 80 |
| Advantage | No | 30 ~ 55 | 10,150 | <95 |
| ExacTech | Yes | 35 ~ 55 | 7,200 | 20 ~ 80 |
| Precision QID | Yes | 30 ~ 60 | 7,200 | 10 ~ 90 |

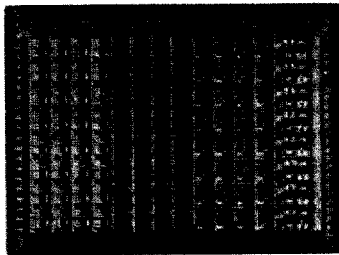


Figure 2. The 96-channel biosensor chip.

Mannheim Accu-Chek Easy, Bayer Elite, Medisense, ExacTech, ExacTech RSG, Companion 2 그리고 Precision QID가 있다. 참고로, 임상 분석에서는 혈액 외에 땀이나 침 속의 glucose의 양을 측정할 수 있지만 혈액 속의 양과의 상관관계가 각 개인에 따라 정도의 차이가 있으므로 상품화하기에는 여러 가지 어려운 점이 많다.

지난 십여 년 간 병원검사실의 역할이 현격히 중요해졌으며, 검사량도 증폭되었다. 또한 응급환자가 병원에 도착하여 혈액시료로부터 필요한 임상자료를 얻기까지 많은 시간이 소요되므로 적은 양의 피로 짧은 시간에 정확한 자료를 얻어야 하는 필요성이 커지게 되었다. 응급실, 수술실, 그리고 중환자실 등에서 신속한 검사가 요구되는 분석물질들 예를 들어, blood gas (pO₂, pH 그리고 pCO₂), 전해질 성분 (K⁺, Na⁺, Cl 그리고 Ca⁺⁺), blood glucose, blood urea nitrogen (BUN), 그리고 hematocrit 외에도 Mg⁺⁺, creatinine, lactate, bilirubin, hemoglobin, CO oximetry, 총 백혈구 수, prothrombin time을 위한 응고시험, 간 기능 시험 등을 동시에 측정할 수 있는 의료현장용 진단시스템 (point-of-care system)의 상품화를 위하여 미세제작 sensor의 개발이 필요하다. 그러므로 소형화된 multi-channel biosensor chip (Figure 2) 개발을 위한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 또한, 수 분 내에 몇 방울의 피로 여러 가지 분석물질을 동시에 측정할 수 있는 i-STAT point-of-care blood analysis system (Figure 3)과 같은 전기화학적 sensor array를 장착한 cartridge도 개발되고 있다. 이 cartridge는 자동적으로 보정되고, battery-powered hand held analyzer에 연결되어 작동한다. 미세제작 sensor에는 ISFET transducer를 이용하여 potentiometric blood gas 그리고 이온 선택성 전극이나 amperometric 전극을 이용하여 pH, glucose, penicilline, urea, K⁺, Na⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ 등 이온들을 동시에 측정할 수 있도록 연구 개발되고 있다.

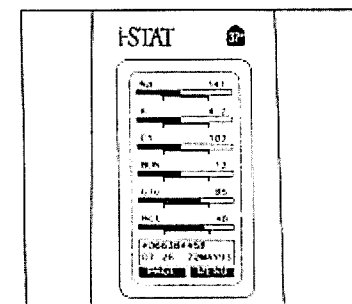
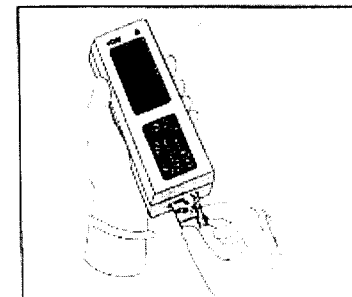
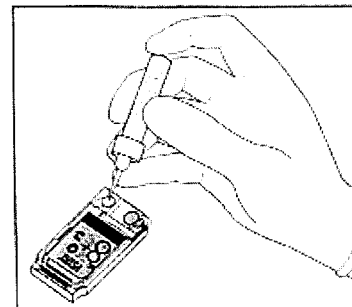


Figure 3. i-STAT system comprising a hand-held blood analyzer and single-use cartridge with microfabricated sensors.

생물공정 및 환경 감시용 바이오센서

생물공정 감시를 위한 바이오센서의 응용으로는 식음료 및 식품공업 공정에서 생성되는 glucose, sucrose, lactate, lactose, ethanol, methanol, glutamate 그리고 choline 측정에 바이오센서가 이용되고 있다. 상품으로는 Analox Micro-Stat analyzers, Biology Institute, Universal Sensors, Toyo Joso, Eppendorf사의 제품들이 시판되고 있다. 환경오염 감시용으로는 생물화학적 산소요구량 (BOD) 측정을 위한 기구가 가장 많이 연구되었고 그 결과로써 상품화되었다. 환경오염 물질의 측정이

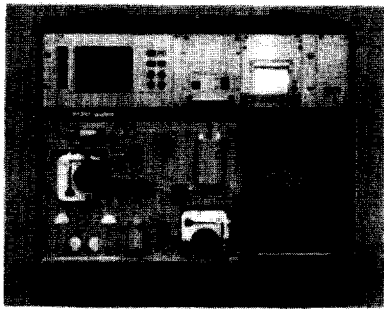


Figure 4. A typical BOD biosensor system (BODypoint). Reprinted by courtesy of Aucoteam GmbH, Berlin.

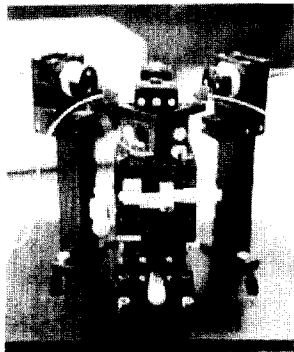


Figure 5. A laboratory sensing device based on SPR.

실험실에서는 평균 소요가격이 130\$에서 200\$이지만 바이오센서를 이용하면 불과 1\$에서 15\$내의 가격으로 측정이 가능하며, 소요시간도 바이오센서를 사용하지 않을 경우 최소한 5일 이상의 시간이 소요되었던 측정시간이 10분 이내로 단축되었다. 처음으로 상품화된 것은 미생물 BOD sensor로써 1983년 Nisshin Denki 회사제품이었고 그 후 독일회사인 Aucoteam GmbH 회사제품인 BODypoint (Figure 4), PGW GmbH 회사 제품인 BSB modul, Dr. Bruno Lange GmbH 제품인 ARAS가 출시되었다.

바이오센서에 응용될 수 있는 트랜스듀서 기술

상품화된 바이오센서 기술의 발전은 또한 트랜스듀서 분야에서도 괄목할 만 하다. 특히 별도의 표지물질 사용하지 않고 고체-액체 계면에서의 생물반응현상을 감지할 수 있는 surface plasmon resonance (SPR)와 evanescent wave를 이용한 광학적 측정기술들이 바이오센서에 적용되고 있다. 광학적 표면 감지 기술인 SPR은 여러 분야에서 다양하게 적용되고 있는데, 그 예로는 bio-kinetics 연구 그리고 immuno-sensing 과 geno-sensing 등 바이오센서 분야 외에도 SPR 현미경, 굴절률 측정, SPR 편광, 박막특성 조사, light modulation 흡광도, bulk liquid measurement, 가스 검출 등의 연구에도 응용된다. Figure 5에 나타나 바와 같이 SPR probe는 sensor 표면 부근의 굴절률 변화를 측정하여 검지물질의 양을 측정하는 방법으로 1982년부터 Pharmacia Biosensor사가 sensor의 감도와 선택성을 증가시키기 위하여 광 물리학과 생화학 기술을 적용한 SPR 장치를 상용화하였다. 그 결과로써 BIACORE AB series를 개발하여 생화학 물질간의 affinity, kinetics, mechanism, stoichiometry, thermodynamics, concentration 측정

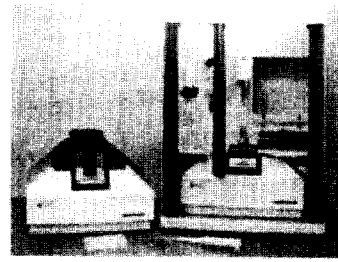


Figure 6. IAsys[®] Biosensor system based on evanescent wave measurement.

연구에 사용되고 있다. 그 외에도 TEXAS Instrument사에서는 SPR sensor들을 집적화하여 상품화하고 있다.

Evanescent wave 측정을 이용하여 optical biosensor와 acoustic biosensor들이 제작되고 있으며, 그 응용으로써 항원-항체 상호작용, 단백질-단백질, 단백질-핵산, 단백질-지방, DNA-DNA 등의 상호작용력의 측정이 가능하여 protein-cell, protein-membrane, cell-cell, 약품들 간의 상호작용력 연구에 사용되고 있다. 상품화된 것으로는 Artificial Sensor Instrument의 제품 BIOS-1, Affinity Sensors Ltd 제품 IAsys (Figure 6), Intersens Instruments사의 IBIS, 그리고 BIACORE AB사와 Piscataway사의 공동 개발제품인 BIACORE 2000, BIACORE 과 BIALite들이 대표적이며 BIACORE 3000도 개발되었다.

차세대 바이오센서로서의 DNA Chip

최근에, DNA 분석을 위한 차세대 바이오센서가 상품화되고 있는데 이들 DNA chips (or genosensors)는 다음과 같이 두 부류로 분류된다. 첫째 부류로써, 단일가닥의 표적 DNA와 접합 상보성이 있도록 cellular mRNA로부터 유도된 complementary DNA (cDNA)를 대략 1 μ m 크기의 유리판 위에 고정화시킨 microarray를 제작하고 이와 같은 DNA chip 상에 표적 DNA를 형광으로 표지한 단일가닥 probe DNA를 반응시켜 탐지한다. 두 번째 부류는 화학적으로 합성된 oligonucleotide를 chip 상에 고정화하여 고정적 microarray를 제작하고 fluorophore로 표지된 단일가닥 DNA sample을 접합반응시킨 후 각 array element의 분석치를 측정하여 computer로 hybridization data를 얻는 방법이다. 이와 같은 DNA chip 기술은 유전자 발견, 유전자 발현의 검지, BRCA 1 압, AIDS을 일으키는 HIV-1, 유전성 용혈성 빈혈성분, 지중해 빈혈 (β -Thalassemia) 낭종성의 섬유조직 증식 돌연변이의 검출, 그리고 유전자 지도작성 등에 응용된다. 이와 같은 DNA chip 기술을 응용하여 Affymetrix사의 HIV와 p53 유전자 돌연변이 측정용 GeneChip, Hyseq사의 HyChip[™], Synteni사의 유전자 발현 microarray 분석용 GEM[™], Nanogen사의 automated programmable electronic matrix, 그리고 Molecular Dynamics 등이 상품화되고 있다.

지금까지 소개된 상품화된 바이오센서는 지면관계상 가장 대표적인 것만 기술하였다.

요 약

바이오센서의 구조와 기능 그리고 종류에 대해 소개하였

다. 이 분야의 연구가 과거 15년간 각국에서 경쟁적으로 연구하였으나 glucose sensor가 상품화되었을 뿐 연구결과를 상품화한 것은 극히 적은 수였다. 그러나 최근 몇 년간 특히 포켓용 i-STAT point-of-care system의 도입 그리고 surface plasmon resonance와 evanescent wave 측정장치의 출현으로 상품화된 바이오센서의 수가 크게 증가하는 추세에 있다. 이들 중 의료임상과 생물공학 그리고 환경오염 측정용으로 응용되고 있는 몇 가지 상품에 대하여 약술하였다.

REFERENCES

- Scheller, F. W., Schubert, F. and Fedrowitz, J.(1996), *Frontiers in Biosensorics*, vol. I and II, Birkhauser, Berlin.
- Eggins, Brian R. (1996), *Biosensors: an Introduction*, John Wiley & Sons and B.G. Teubner publishers, Stuttgart.
- Mastrangelo, C.H. (1997), *Adhesion-Related Failure Mechanisms in Micromechanical Devices*, Trib. Lett. 3, 223
- Janata J, Josowicz M, Vanysek P, and DeVaney DM.(1998) chemical sensors, *Anal Chem.* 70: 179R-208R
- Rogers, KR (1998), *Biosensor technology for environmental measurement*. In: Meyers RA, editor, *Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*, John Wiley & Sons, New York, p755-768
- Ursula E, and Keller, S (1998), *Chemical Sensors and Biosensors of Medical and Biological Applications*. Wiley-VCH, Weinheim. New York.
- Cass, A. E. G., (1990) *Biosensors*, IRL Press, Oxford,
- Erikson, K. A. and Wilding, P (1993) Evaluation of a novel point of care system, the i-STAT portable clinical analyzer, *Clin. Chem.* 39, 283-287
- Karlson, R. Michaelsson, A., and Mattsson, L. (1991), *Kinetic analysis of monoclonal antibody-antigen interactions with new biosensor based analytical system. J. Immunol. Methods* 145, 229-240
- Fattinger, ch. Mangold, C. Heming, M. Danielzik, B, and Otto, J. (1994) Affinity sensing using ultracompact wave guiding films, in *Biosensors '94 Abstract* (3rd World Congress on Biosensors).
- Szweda, R and Renneberg, R. (1994) Rapid BOD measurement with the Medingen BOD module, *Biosens. Bioelectron*, 9, ix - x .
- Thiebe, L., Vinci, K., and Gardner, J.(1993) Point-of care testing: improving day-stay services. *Nurs. Manage.*, 24, 54 ~ 56
- Kayashina, S., Ari, T., Mikuchi, M, and Sato, N. (1991) Noninvasive transcutaneous approach to glucose monitoring. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 38, 752-757
- Watts, H. J., Yeung, D., and Parkes, H. (1995) Real-time detection and quantification of DNA hybridization by an optical biosensor *Anal. Chem.* 67(23) 4283-4289
- Hamm, J., (1996). Characterization of antibody-binding RNAs selected from structurally constrained libraries, *Nucl. Acids Res.* 24(12), 2220-2227
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (1996) Lifetime benefits and costs of intensive therapy as practiced in the diabetes control and complication trial. *JAMA*, 276, 1409-1415
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group, (1993) The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 329(14) 977-986
- Parker, D. R. and Hiar, C. E. (1995) Performance of Glucometer Elite and Glucometer Encore at altitude, *Clin. Chem.* 41(6) s185