

자기조립 단분자막을 이용한 MOSFET형 단백질 센서의 제작 및 특성

한승우 · 박근용 · 김민석 · 김홍석* · 배영석** · 최시영†

Fabrication and Characteristics of MOSFET Protein Sensor Using Nano SAMs

Seung-Woo Han, Keun-Yong Park, Min-Suk Kim, Hong-Seok Kim*,
Young-Seuk Bae**, and Sie-Young Choi†

Abstract

Protein and gene detection have been growing importance in medical diagnostics. Field effect transistor (FET) - type biosensors have many advantages such as miniaturization, standardization, and mass-production. In this work, we have fabricated metal-oxide-semiconductor (MOS) FET that operates as molecular recognitions based electronic sensor. Measurements were taken with the devices under phosphate buffered saline solution. The drain current (I_D) was decreased after forming self-assembled mono-layers (SAMs) used to capture the protein, which resulted from the negative charges of SAMs, and increased after forming protein by 11.5% at $V_G=0$ V due to the positive charges of protein.

Key Words : protein sensor, self-assembled mono-layer (SAM), MOSFET sensor

1. 서 론

최근 인간의 유전정보가 밝혀지면서 “human genomics” 시대가 도래되고^[1], 단백질의 구조 및 수용체로서의 역할이 밝혀지면서 작은 유기 분자들과 단백질 수용체 상호 간의 작용이 주목을 받기 시작하였다^[2].

이에 따라 생명의 단위체인 생체분자들과 세포들을 효율적으로 간편하게 분석하는 방법으로 바이오 칩과 같은 기술이 개발되고 있다. 바이오 칩이란 생물로부터 유래한 효소, 단백질, 항체, 유전자(DNA), 미생물, 동식물세포, 신경세포 등과 같은 생체 유기물과 반도체와 같은 무기물을 조합하여 기존의 반도체 칩 형태로 만든 소자를 말한다^[3]. 생명과학과 공학의 복합적 연구결과라 할 수 있는 바이오 칩은 바이오 산업이 탄생시킨 대표적인 결과로써 인체에 관한 정보를 해석하는 가장

빠르고 편리한 수단으로써 최근에 많은 주목을 받고 있다.

이러한 바이오 칩은 여러 가지 종류가 있으나 최근에 가장 활발히 연구가 되고 있는 것으로 DNA 칩과 단백질 칩(protein chip)을 들 수 있다. 단백질 칩은 반도체 공정기술을 이용하여 제작된 실리콘 기판 상에 단백질 물질을 고착시킨 바이오 칩이다^[3]. 단백질 칩이 필요한 이유는 DNA 정보가 생명체에서 일어나는 모든 활동을 근본적으로 지배하고 있지만 질병의 발현은 단백질 수준에서 나타난다. 그러므로 대부분의 질병에 관한 유전정보 해석은 유전자보다 단백질 수준에서 실시하여 질병의 원인을 규명하고자 노력하고 있다^[4-7].

단백질 칩을 이용하여 단백질의 결합 반응을 분석하기 위해서는 mass spectrometry, surface plasmon resonance (SPR) 등과 같은 분석 방법이 주로 사용되고 있으나, 장비가 고가이고, 측정이 까다로운 단점이 있다. 그러므로 좀 더 간편하고 값싼 새로운 측정기술 개발이 절실히 요구되고 있다^[8,9].

따라서 본 논문에서는 분자인식에 의해 동작되는 metal-oxide-semiconductor field effect transistor (MOSFET) 형태의 새로운 단백질 센서를 제작하였다. 이는

경북대학교 전자공학과(Department of Electronics, Kyungpook National University)

*경북대학교 공업화학과(Department of Industrial Chemistry, Kyungpook National University)

**경북대학교 생화학과(Department of Biochemistry, Kyungpook National University)

†Corresponding author: sychoi@ee.knu.ac.kr

(Received : December 1, 2003, Accepted : February 21, 2004)

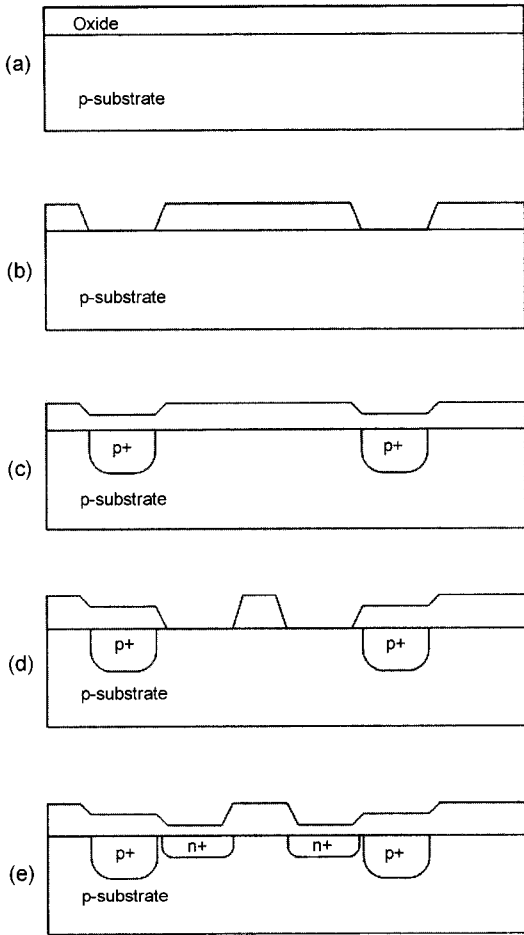


그림 1. 단백질 센서의 공정순서도
Fig. 1. The fabrication sequence of the protein chip.

반도체 공정기술을 이용함으로써 저렴한 가격으로 소형의 고집적화 된 센서의 대량생산이 가능한 장점을 가지고 있다. 따라서 기존의 mass spectrometry, SPR 등과 같은 방법을 대체 할 수 있을 것으로 기대된다.

2. 실험

그림 1에 소자제작을 위한 웨이퍼 공정 순서도를 나타내었다. 센서를 제작하기 위하여 표준 MOS 공정을 사용하였으며 공정순서에 따라 소자제작 과정을 다음과 같이 나타내었다.

(a) 저항률이 10-20 Ωcm인 (100)방향의 웨이퍼를 초기 세척한 후 50분간 wet O₂ 분위기, 1100°C에서 5000 Å 두께의 필드 산화막을 성장시켰다.

(b) wet etching을 통해서 p+이 형성될 부분의 산화

막을 제거하였다.

(c) PBF 액체소스를 스핀 코팅 한 후 dry O₂ 분위기 1050°C에서 25분간 pre-deposition을 하였고, BSG를 에칭 후에 wet O₂ 분위기, 1100°C에서 30분간 확산(drive-in) 하여 p+을 형성하였다. 이것은 원하지 않는 영역에 채널이 형성되는 것을 막기 위해서이다.

(d) wet etching을 통해서 n+이 형성될 부분의 산화막을 제거하였다.

(e) P₂O₅ 액체소스를 스핀 코팅 한 후 dry O₂ 분위기 1050°C에서 25분간 pre-deposition을 하였고, PSG를 에칭 후에 wet O₂ 분위기 1100°C에서 30분간 확산(drive-in)하여 n+을 형성하였다.

(f) 양질의 게이트 산화막을 형성시키기 위해서 필드 산화막을 제거하였다.

(g) 1100°C dry O₂ 분위기에서 60분간 진행하여 게이트 산화막을 1000 Å 형성하였다.

(h) 소오스/드레인 및 기판의 접촉영역의 산화막을 제거했다.

(i) Au와 접합을 좋게하기 위하여 NiCr을 100 Å을 증착한 후 Au를 500 Å을 열 증착방법을 이용하여 증착하였다.

(j) 기준전극으로 사용할 Pt를 증착하기 위해서 100 Å 두께의 티타늄(Ti)을 먼저 증착하였다. 티타늄 위에 500 Å의 Pt를 스퍼터링 법으로 증착하였다.

센서의 크기는 2.5 mm × 8.8 mm이고, 게이트의 크기는 50 μm × 2500 μm이다. 이렇게 하여 제작된 단백질 센서의 모든 측정은 인산완충용액(PBS : phosphate buffered saline) 용액 속에서 이루어져야 한다. 따라서 특수 제작된 알루미늄이나 기판 위에 센서를 고정시키고 와이어 본딩(wire bonding)을 한 후 실리콘 러버(silicon rubber)를 사용하여 그림 2와 같이 소자를 절연시켰다.

그림 3은 self-assembled mono-layer(SAM)이 단백질

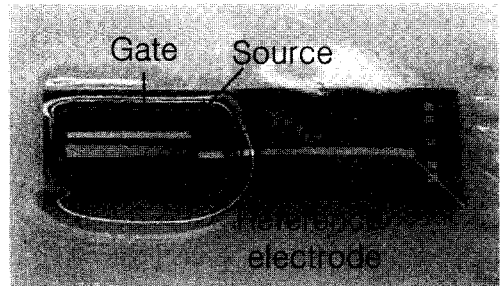


그림 2. 제작된 단백질 센서의 패키징 사진
Fig. 2. Fabricated MOSFET type protein sensor mounted on a standard package.

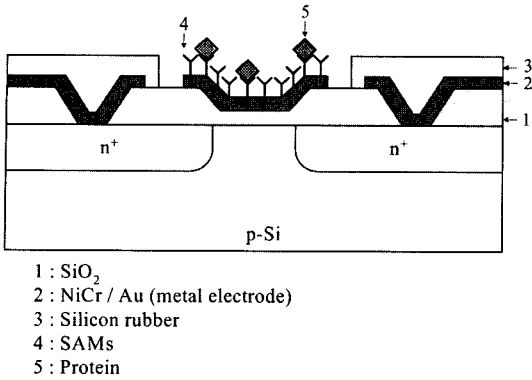


그림 3. 단백질센서의 형성 개략도

Fig. 3. Schematic diagram of protein sensor.

과 결합되어 있는 모식도이다. SAMs의 반응기 티올(SH) 분자의 자발적인 화학흡착에 의해 Au 표면에 흡착이 되고^[10,11], 이렇게 흡착된 SAMs의 작용기의 전하와 단백질의 전하가 쿨롱의 힘에 의해 서로 결합하게 된다. 이때 MOSFET의 게이트 전압을 변화시켜 식 (1)에서와 같이 드레인 전류(I_D)를 변화시키게 된다. 이러한 변화는 센서의 응답 신호로 해석될 수 있다.

$$I_D = \frac{\mu_n C_{ox} Z}{2 L} [2(V_G - V_T)V_D - V_D^2] \quad (1)$$

그림 4에서 Au 표면에 형성된 SAMs는 자발적이고 규칙적으로 잘 정렬된 유기분자 막이며, SAMs는 반응기와 알칸사슬 그리고 작용기로 구성된 나노 크기의 분자막이다. SAMs의 반응기(SH)와 Au가 잘 붙는 특성을 이용하여, MOSFET의 게이트 sensing막으로 Au를 사용하여 SAMs를 형성하였다. 형성은 (-) 전하를 가지고 있는 11-Mercapto-undecanoic acid 1 mM 속에 24시간 동안 담그어 두었다. 이때, buffer로는 ethanol-water-acetic acid (85/10/5, v/v)를 사용하였다.

단백질은 모든 생물체의 몸을 구성하는 고분자화합물이면서 20종류의 천연아미노산들의 연결체이다. 20종류의 아미노산 중에 Lysine(lys-K), Arginine(arg-R), Histidine(his-H)는 그림 5에서와 같이 (+) 전하를 가지고 있다. SAMs가 형성된 센서를 0.5 mM, 리보솜(Ribosomal) L41 단백질 용액 속에 넣어 24시간 뒤에 측정을 하였다. 이 단백질의 아미노산 서열은 MRKWRKRRMRRLKRKRMRQRSK이고 분자량은 3456 [Da]이다. 여기서 Lysine, Arginine은 이 단백질의 아미노산 중에 68% 포함되어 있어 이 단백질은 전체적으로 (+) 전하를 가진다.

그림 6의 측정장치를 이용하여 드레인 전류(I_D)를

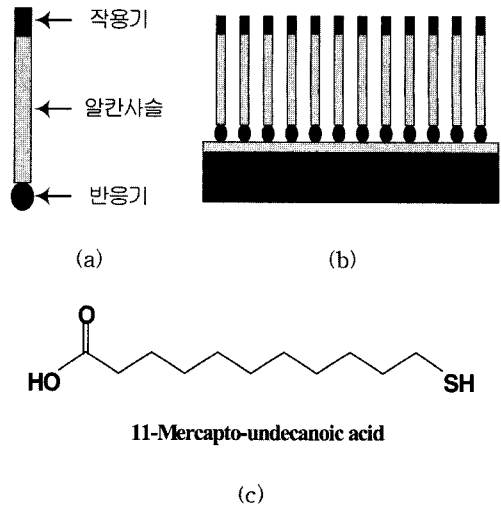


그림 4. Au 표면에 정렬된 유기분자막

(a) SAMs 제조에 이용되는 분자의 구조, (b) Au 위에 제조된 SAMs, (c) 11-Mercapto-undecanoic acid의 구조

Fig. 4. Self-assembled monolayers on Au surface.

(a) structure of molecule used fabricated SAMs, (b) SAMs of self-assembled on Au surface, and (c) structure of 11-Mercapto-undecanoic acid.

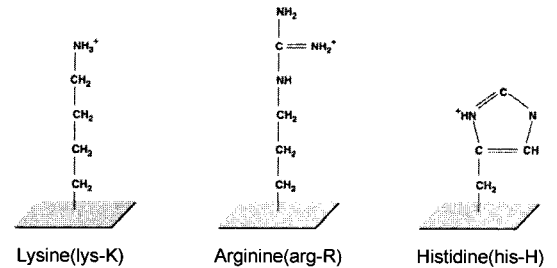


그림 5. (+) 전하를 가지는 아미노산

Fig. 5. Positively charged amino acids.

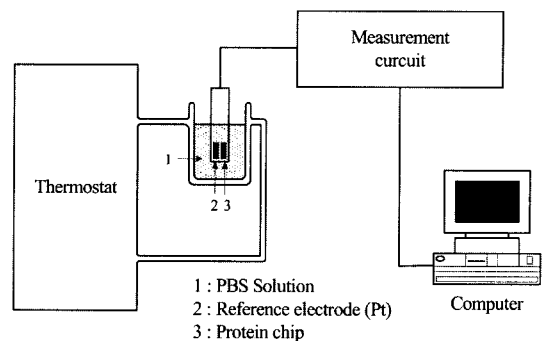


그림 6. 측정장치의 개략도

Fig. 6. The schematic diagram of measuring system.

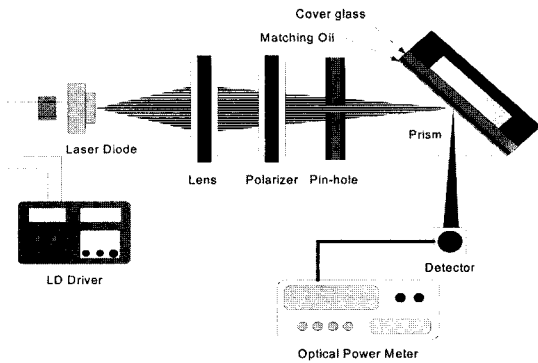


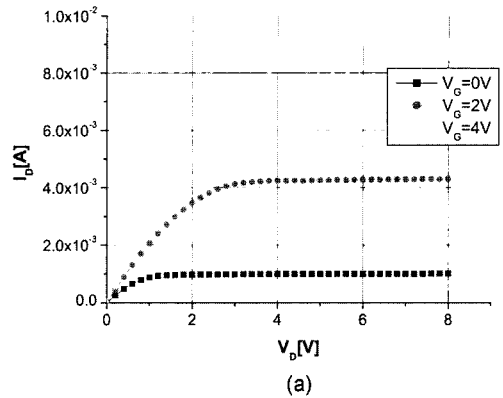
그림 7. Kretschmann 방법의 센서 시스템의 계략도
Fig. 7. The schematic diagram of the Kretschmann configuration.

측정하였다. 모든 측정은 PBS 용액 속에서 안정된 전류레벨을 확인한 후에 이루어졌다. SAMs와 단백질이 형성될 때 마다 측정된 데이터를 비교하였다. SAMs를 형성 후, de-ionized (DI) water로 3차례 센서를 세정한 후에 측정을 하였고, 단백질을 형성 후에는 PBS 용액을 이용하여 역시 3차례 세정 후에 측정을 하였다.

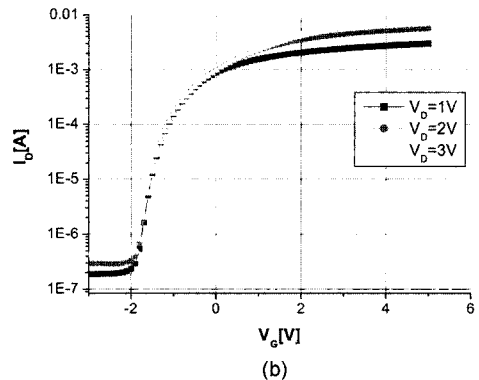
새로운 형태의 단백질 센서를 검증하기 위해서 표면 플라즈몬 공명(SPR : surface plasmon resonance)센서를 이용하였다. 이 센서의 동작원리는 입사광의 입사각 변화에 따른 공명점의 이동을 관찰하여 미량의 화학적, 생물학적 물질을 감지하는 방법이다¹²⁾. 가장 대표적인 입사각 가변형 센서의 시스템은 그림 7와 같은 구조로 되어 있다. 광원은 파장 632.8 nm의 레이저 다이오드를 사용하였고, 파장 광원을 TM 모드 편광으로 만들어 주기 위해 편광기를 사용하였다. 편광된 입사광은 직각 프리즘에 입사되고, 프리즘 아래에 Au가 500 Å 진공 증착된 커버글라스가 놓여진다. 이 과정에서 프리즘과 커버글라스 사이에 공기층에 의한 굴절률 차가 발생하므로 이를 제거하기 위해 매칭 오일을 주입하여 굴절률 차를 최소화하였다. 이렇게 구성된 센서 감지부는 입사각의 변화를 주며 입사광의 강도에 대한 반사강도를 광 검출기를 이용하여 측정하였다. 측정은 Au, SAMs와 단백질 막의 형성 후에 각각 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

그림 8은 본 실험에서 사용한 MOSFET의 전류-전압 특성을 보여준다. 측정용액은 PBS 용액을 사용하였으며, 전형적인 MOSFET의 특성을 보여줌으로써 제작한



(a)



(b)

그림 8. MOSFET형 단백질 센서의 전기적 특성 (a) 전류-전압 ID-VD 특성, (b) 전류-전압 ID-VG 특성

Fig. 8. Electrical characteristic of the MOSFET protein chip. (a) ID-VD characteristic and (b) ID-VG characteristic.

MOSFET이 정상적으로 동작함을 확인 할 수 있다. (a)는 VG를 0 V~4 V까지 2 V씩 증가시키기에 따른 ID-VD 특성을 나타내고 있다. 공핍형으로 설계하였기 때문에 게이트 전압이 0 V일 때도 ID가 1 mA 흐르는 것을 확인 할 수 있었다. (b)는 게이트 전압을 변화시키면서 VD를 1 V~3 V까지 1 V씩 증가시키기에 따른 ID-VG 특성을 로그눈으로 나타내었다. W/L 비는 50으로 설계를 하여 off전류는 약 10⁻⁷ A, on전류는 약 10⁻³ A 정도로 각각 흐르는 것을 확인할 수 있었다.

MOSFET의 게이트 금속(Au) 위에 SAMs가 형성되어있고, 여기에 전하를 가진 단백질이 흡착되면, MOSFET의 게이트 전압을 변화시켜 ID를 변화시키게 된다. 이러한 변화는 센서의 응답 신호로 해석될 수 있다. 측정결과를 그림 9(a)에 나타내었다. SAMs와 단백질 막이 각각 형성될 때 VG를 0 V~4 V까지 2 V씩 증가시키기에 따른 각각의 ID-VD 특성을 비교하였다. 이때 SAMs가 형성되면 (-) 전하를 가지고 있는 SAMs에 의해 ID

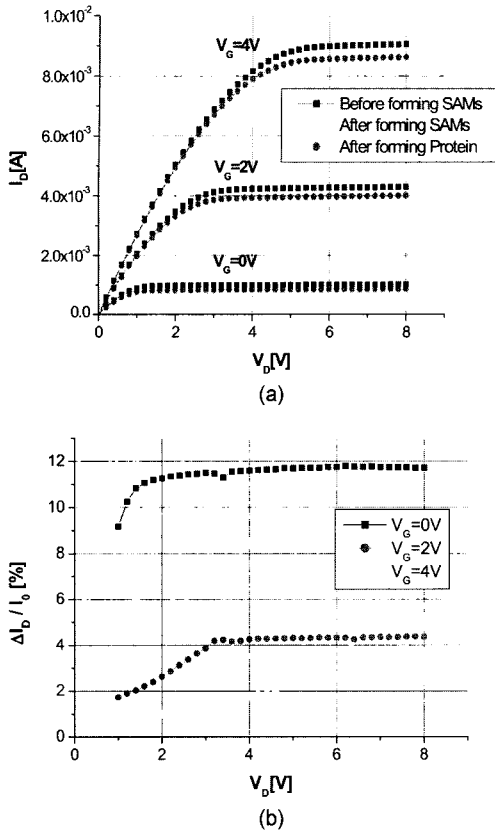


그림 9. SAMs와 단백질 막의 형성시 특성변화
(a) ID-VD 특성변화, (b) 정규화한 특성
Fig. 9. Characteristic variation after forming SAMs and protein. (a) ID-VD characteristic and (b) Normalization.

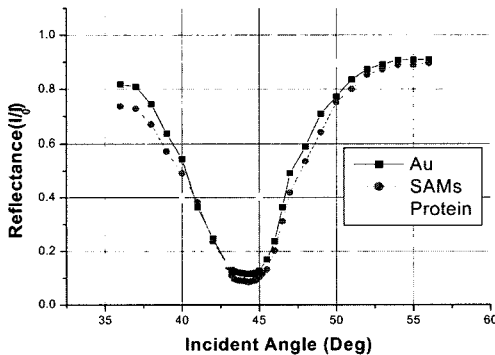


그림 10. SAMs와 단백질 막의 형성시 공명각 변화
Fig. 10. The change of resonant angle with forming SAMs and protein.

한 것과 같이 단백질의 (+)전하에 의한 게이트 전압의 변화로 드레인 전류가 증가함을 알 수 있다. 그림 9 (b)는 $\{I_{D(Protein)} - I_{D(No-Protein)}\} / I_{D(No-Protein)}$ 으로 정규화 한 결과이다. 여기서는 $V_G = 0V$ 일 때 단백질의 형성 후 I_D 가 11.5% 증가하였다. V_G 값이 작을수록 드레인 전압에 대한 전류의 변화가 큰 것을 확인할 수 있다.

그림 10에서 SPR 측정결과를 나타내었다. 건조상태에서 측정하였으며 Au, SAMs 막의 형성 후, 단백질 막의 형성 후 결과를 비교하였다. Au의 경우는 공명점이 44.2°, SAMs 막을 형성 후에는 44.3°, 그리고 단백질 막을 형성 후에는 42.2°로 공명점이 이동하였다. 이러한 결과로부터 SAMs에 단백질이 흡착되어 것을 확인할 수 있었다.

4. 결 론

분자인식에 의해 동작되는 MOSFET형 단백질 센서를 표준 MOS공정을 응용하여 제조하였다. 센서의 크기는 $2.5\text{ mm} \times 8.8\text{ mm}$ 이고, 게이트의 크기는 $50\text{ }\mu\text{m} \times 2500\text{ }\mu\text{m}$ 이다. 제작된 단백질 센서를 PBS용액 속에서 측정하기 위해 특수 제작된 알루미늄 기판 위에 센서를 고정시키고 와이어 본딩(wire bonding)을 한 후 실리콘 러버(silicon rubber)를 사용하여 소자를 절연시켰다. 그리고 SAMs와 단백질 막을 형성하기 전과후의 ID전류를 측정하였다. (-) 전하를 가지고 있는 SAMs를 형성 후에는 $V_G = 0V$ 일 때, I_D 가 감소되는 것을 확인할 수 있었고, (+) 전하를 가지는 단백질은 $V_G = 0V$ 일 때, I_D 가 11.5% 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 단백질에 의한 결과인지를 검증하기 위해 SPR을 이용하여 측정해 보았다. 그 결과 공명점이 2.1° 감소하여 단백질이 흡착되어 있음을 확인하였다.

따라서 MOSFET형 단백질 센서가 단백질의 결합 반응을 분석하는데 주로 사용되는 mass spectrometry, surface plasmon resonance (SPR) 등과 같은 방법을 대체할 수 있을 것으로 기대되며, 센서의 표면에 생체 친화물질을 고정화하고 항체를 결합시켜 면역센서로 응용이 가능할 것으로 생각된다. 그리고 질병의 원인 규명을 유전자 수준에서 단백질 수준까지 확대하여 규명하는 proteomics 분야와 진단용 바이오 센서 분야에 널리 활용될 것으로 예상된다.

감사의 글

이 연구는 2003년도 대구광역시 지원 경북대 나노과학 기술연구단 지원사업으로 연구되었음.

가 감소함을 확인할 수 있다. 하지만, 단백질의 형성 후에는 I_D 가 증가하였다. 이는 앞의 반응원리에서 언급

참고 문헌

[1] Thomas A. Hemphill, "Preemptive Patenting, Human Genomics, and the US Biotechnology Sector: Balancing Intellectual Property Rights with Societal Welfare", *Technology in Society*, vol. 25, issue 3, pp. 337-349 August 2003.

[2] Minsu Lee, Won Gun An, and Jae-Ho Kim, "A Model Study of Artificial Linker System Using Self-assembled Calix[4]arene Derivative Monolayers for Protein Immobilization", *Materials Science and Engineering: C*, In Press, Corrected Proof, Available online 31 October 2003.

[3] 전자부품연구원, "Bio chip의 산업동향", 2003. 6 pp. 1-8.

[4] James J. Storhoff, and Sudhakar S. Marla, and Paul Bao, "Gold Nanoparticle-based Detection of Genomic DNA Targets on Microarrays Using a Novel Optical Detection System", *Biosensors and Bioelectronics*, In Press, Corrected Proof, Available online 23 October 2003.

[5] <http://www.nrl.navy.mil/content.php?P=02REVI EW65>.

[6] <http://www.in2gen.com/business/busi02.htm>.

[7] Tibor Hianik, Victor Gajdos, and Roland Krivanek, "Amperometric Detection of DNA Hybridization on a Gold Surface Depends on the Orientation of Oligonucleotide Chains", *Bioelectrochemistry*, vol. 53, pp. 199-204, 2001.

[8] Jeremy H. Lakey and Elaine M. Raggett, "Measuring Protein-protein Interactions", *Current Opinion in Structural Biology*, vol. 8, issue 1, pp. 119-123, February 1998.

[9] B. Liendberg and I. Lundstrom, "Principles of Biosensing with an Extended Coupling Matrix and Surface Plasmon Resonance", *Sensors and Actuator*, vol. B 11, pp. 63-72, 1993.

[10] Takao Ishida and Shin'ichi Yamamoto, "Evidence for Cleavage of Disulfides in the Self-Assembled Monolayer on Au(111)", *Langmuir*, vol. 13, no. 13, June 25, 1997.

[11] Shintaro Fujii, Uichi Akiba, and Masamichi Fujihara, "Geometry for Self-Assembling of Spherical Hydrocarbon Cages with Methane Thiulates on Au(111)", *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, pp. 13629-13636, March 17, 2002

[12] Kazuhiko Ideta and Tsuyoshi Arakawa, "Surface Plasmon Resonance Study for the Detection of Some Chemical Species", *Sensors and Actuator*, vol. B 13-14, pp. 384-386, 1993.



한 승 우

- 1974년 12월 29일생
- 2002년 경일대학교 전자정보공학과 졸업 (공학사)
- 현 경북대학교 대학원 전자공학과 석사과정

박 근 용

- [센서학회지 제9권 제3호] 논문 2000-9-3-08 p. 55 참조

김 민 석

- 1976년 5월 23일생
- 2003년 제주대학교 전자공학과 졸업 (공학사)
- 현 경북대학교 대학원 전자공학과 석사과정

김 흥 석

- 서울대학교 화학교육과 (이학사)
- 한국 과학 기술원 화학과 (이학석사)
- University of California, San Diego (이학박사)
- 현 경북대학교 공업화학과 교수

배 영 석

- 일본 동경대학 (이학박사)
- 현 경북대학교 생화학과 교수

최 시 영

- 1972년 경북대학교 전자공학과 (공학사)
- 1974년 경북대학교 전자공학과 (공학석사)
- 1986년 日本 東北大學 (공학박사)
- 현 경북대학교 전자 전기 공학부 교수