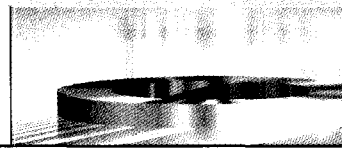


# 캔틸레버형 나노-바이오 융합 측정 기술



글 · 최 인 목/한국표준과학연구원 질량힘그룹,  
 선임연구원  
 e-mail · mookin@kriss.re.kr  
 우 삼 용/한국표준과학연구원 질량힘그룹,  
 책임연구원

이 글에서는 나노-바이오 융합 측정 기술의 하나로 각광받고 있는 캔틸레버를 이용한 나노-바이오 센서 기술 및 미래 전망에 대해 살펴보고, 고감도 생체분자 감지기술에 대해 소개한다.

1981년 Binnig에 의해 STM(Scanning Tunneling Microscope)이 제안된 이후 최근 SPM(Scanning Probe Microscope)이 나노기술 분야에서 크게 발전하였으며 나노 표면 형상 및 특성 측정에 국한되지 않고 나노 크기의 가공, 생화학현상 분석, 정보저장 등 응용분야가 크게 확대되고 있다. 특히 SPM 기술을 기반으로 하는 나노 힘 측정이 나노-바이오 산업 중 의료 측정/분석 분야에 많이 이루어지고 있으며 이러한 기술의 중심에는 캔틸레버(cantilever)가 널리 활용되고 있다. 이와 관련하여 고감도 측정을 통한 정확한 분석을 위해 미세 스프링 상수를 갖는 MEMS(Micro Electro Mechanical Systemes) 공정을 이용한 캔틸레버 설계 및 제작 연구가 활발히 이루어지고 있다. 이와 동시에 캔틸레버 평가 연구와 함께 캔틸레버 기반의 측정/분석 기술 연구 등이 활발히 진행되고 있다.

대표적인 SPM 중 하나인 AFM(Atomic Force Microscope) 등에서 사용되고 있는 캔틸레버는 나노 표면의 3차원 형상을 얻기 위해 탐침과 표면분자 사이의 반데르발스 힘(Van Der Waals Force)을 이용하기 때문에 탐침의 형상은 영상정보에 매우 중요하게 되고, 선명한 정보를 얻기 위해 CNT 등을 부착한 다양한 캔틸레버들이 소개되고 있다. AFM 기반 측정에서는 캔틸레버의 스프링상수를 작게 하여 작은 힘이라도 큰 변형을 얻

을 수 있기 때문에 분해능을 크게 향상시킬 수 있으며, 동시에 높은 공진주파수를 얻을 수 있기 때문에 외란에 강한 측정이 가능하다. 나노 표면의 3차원 형상 측정 이외의 응용분야에서는 탐침과 샘플 사이의 결합력/작용력을 측정하고 이를 기반으로 해석하기 때문에 캔틸레버 스프링상수 값 자체가 매우 중요하게 된다.

교정된 캔틸레버를 이용한 응용분야 중에서도 요즘 각광받고 있는 것이 생체분자의 기능을 이해하고 고감도로 생체분자를 검출하기 위한 바이오센서 기술이다. 바이오센서 기술은 고부가가치 나노-바이오산업 중 의료진단 분야의 하나로써 항원-항체반응, DNA & 단백질 분석, 박테리아 검출 등에 사용되며, 이러한 의학 측정/분석분야는 전체 나노-바이오 산업의 60% 가량을 차지하고 있다. 이 중에

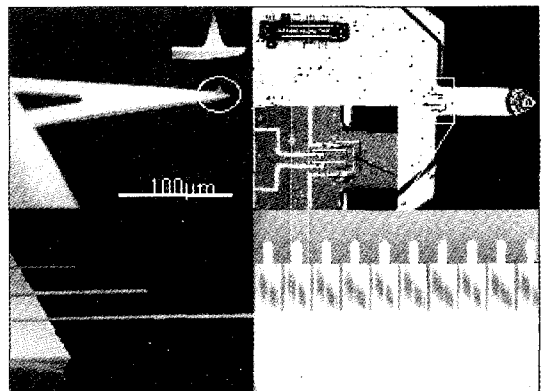
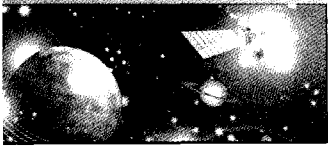


그림 1 다양한 형태의 캔틸레버



서 캔틸레버를 이용한 바이오센서는 용액이나 가스에 포함되어 있는 생체분자를 검출하고 생체분자간의 결합력을 측정하는 기술로서, 특정한 분자 및 세포를 검출하기 위해 이와 상호 반응하여 결합하는 분자 및 소재로 코팅된 캔틸레버를 이용하는 기술이다. 이러한 기술은 코팅된 캔틸레버 위에서 결합(hybridization)되는 생체분자들이 표면 응력(surface stress)을 발생시켜 유도되는 캔틸레버의 변위를 이용하거나 생체분자가 표면에 결합되기 전후의 유효질량 변화에 의해 발생하는 공진주파수 변화를 이용하는 방법 등으로 크게 나눌 수 있다.

결합된 생체분자에 의해 캔틸레버의 물리적 특성변화를 일으키고, 이를 변위센서에 의해 감지하여 생체 분자의 유무 및 농도 등을 분석하는 방법은 일정한 수 이상의 많은 생체분자들을 필요로 하기 때문에 고감도 센서를 만들기 어렵다. 센서의 감도를 향상시키기 위해서는 캔틸레버의 스프링상수를 매우 작게 하거나, 캔틸레버의 변위검출 감도를 크게 높일 필요가 있지만 주변의 환경변화 등에 의해 한계를 갖는다. 이런 한계를 극복하고 감도를 획기적으로 향상시키기 위해 캔틸레버에 작용하는 힘을 증폭시키는 방법에 대한 연구가 진행 중이다.

이 글에서는 나노바이오 센서로서의 캔틸레버의 측정 기술 현황과 이를 위해 필요한 캔틸레버 설계 및 제작기술들에 대해 알아보기로 한다.

### 캔틸레버 기반의 나노바이오 센서

생체분자를 고감도로 검출하기 위한 연구가 활발히 이루어지고 있는 가운데 캔틸레버 기반의 생체/화학분자 검출기술이 크게 발전하

고 있다. 캔틸레버는 분자 사이의 작은 힘에 의해서도 변형이 발생하기 때문에 분자 상호간 작용을 이해하고 분석하는 데 효율적인 도구로 인식되고 있다.

캔틸레버 기반의 센서는 다른 바이오 센서와 마찬가지로 항원-항체 사이의 관계와 같이 분석하고자 하는 생체분자가 반대되는 개념의 상보성을 갖는 특정한 생체분자와 결합한다는 특성을 이용한다. 따라서 암세포와 같이 검출하고자 하는 특정한 생체분자와 상보성을 갖는 생체분자를 캔틸레버에 코팅하고, 혈액 등의 샘플과 반응시켜 특정한 세포의 유무 검출 혹은 농도 등을 검출하여 병의 상태 및 진행 정도 등을 진단하는 데 이용할 수 있을 것으로 기대되고 있다. 검출하고자 하는 다양한 생체분자들을 마이크로 유체 채널(microfluidic channel)을 이용해 어레이(array) 형태의 캔틸레버에 고정(immobilization)시키게 되면 샘플 내의 다양한 생체분자 검출이 가능할 뿐만 아니라 의약진단 및 DNA 분석 등 복합진단/측정이 가능하게 되며, 또한 코팅되지 않은 기존 캔틸레버를 이용해 드리프트 등을 크게 감소시킴으로써 측정 분해능을 크게 향상시킬 수 있다.

검출하고자 하는 생체분자와 상호보완 관계에 있는 생체분자를 캔틸레버에 고정시키기 위해서 금(Au) 박막을 이용한다. 금에 생체분자를 고정시키는 방법은 잘 특성화(characterization)되어 있기 때문에 널리 활용되고 있으며, DNA 등과 같은 생체분자 끝에 티올 분자(Thiol molecule)를 붙이게 되면 금과 반응하여 쉽게 고정할 수 있다.

이와 같이 특정한 생체분자가 캔틸레버 위에 코팅된 상보적인 생체분자와 결합하게 되면 두 가지 물리적인 변화를 발생시킨다. 하나는 결합된 인접 분자상호간의 척력으로 인



한 표면응력을 이용하는 것이고, 다른 하나는 캔틸레버의 유효질량 변화에 의한 공진주파수(resonant frequency) 변화를 이용하는 것이다.

### 표면응력

표면응력 변화를 이용하는 대표적인 바이오센서의 예로서 IBM Zurich 연구소에서 후각센서로 개발 중인 캔틸레버 기반 단백질 검출 기술을 들 수 있다. 다양한 단백질들로 코팅된 캔틸레버 어레이의 변위를 검출하기 위하여 AFM과 같이 광학레버(optical lever) 검출 방식을 사용하였다. DNA, 단백질 등과 같은 생체분자들은 일반적으로 '-'의 전기적 특성을 갖기 때문에 캔틸레버 위에 고정된 상보적인 생체분자와 결합되어 서로 인접하게 되면 생체분자들 사이에 척력이 발생하게 되고 이것이 표면응력을 발생시킨다. 표면응력의 근원이 생체분자가 갖는 전하량에 의한 것이기 때문에 전체 전하량(net charge)이 큰 생체분자일수록 큰 표면응력을 발생시켜 전하량이 작은 생체분자보다 상대적으로 검출이 쉽다. 표면응력이 캔틸레버 위에 결합되는 생체분자의 수와 고유의 전하량에 비례하기 때문에 생체분자가 흡착(adsorption)되는 과정과 탈착(desorption)되는 과정은 서로 반대되는 현상을 보여주게 된다.

표면응력을 이용할 경우 샘플의 농도에 따라 두 가지 형태의 신호 검출을 통해 특성을 분석할 수 있다. 생체분자가 캔틸레버 위의 상보적인 생체분자와 결합하는 속도를 나타내는 흡착률(adsorption rate)과 정상상태에서의 결합된 생체분자 수에 의한 최대 표면응력이다. 다시 말해 농도가 높을수록 흡착률이 크기 때문에 변형이 일어나는 속도가 빠르고 최대 표면응력 또한 증가하게 되어 캔티레

버의 최대변위가 증가하게 된다. 이것은 Langmuir isotherm 모델에 의해 해석될 수 있는 양으로 여기서 최대 표면응력은 생체분자의 캔틸레버 표면 위 흡착 정도(surface coverage)와 관련되어 있다.

표면응력을 이용하는 경우 특정분자만이 캔틸레버 위에 흡착되지 않고 다양한 생체분자가 붙게 되는 NSB(Non-Specific Binding) 문제가 중요하게 작용한다. 이러한 영향을 최소화하기 위해 생체분자가 코팅되지 않은 기준 캔틸레버를 사용하게 된다. 기준 캔틸레버는 용액이 캔틸레버에 도달하면서 발생하는 외란 및 열적 잡음 등을 효과적으로 제거할 수 있게 된다.

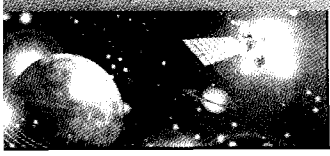
이렇게 생체분자의 결합에 의해 발생하는 표면응력을 이용하는 방법은 고유의 전하량에 의해 분해능이 제한되고 NSB 문제를 해결하기 힘들며, 변위를 측정하기 위해 광을 이용할 경우 비투과성 용액에서는 활용이 힘든 단점들이 있다.

### 공진주파수

표면응력에 의한 생체분자의 경우 캔틸레버의 스프링상수를 작게 해야 하는 동시에 신호 검출 시 외란을 제거할 필요가 있다. 그러나 캔틸레버 위에 결합된 생체분자의 양을 검출하기 위해 전체 유효질량 변화에 의한 공진주



그림 2 캔틸레버형 단백질 센서, IBM 연구소



파수 변화를 이용하는 방법을 사용하게 되면 상대적으로 신호 검출이 쉽기 때문에 많이 시도되고 있다. 이 경우 캔틸레버의 전체 유효 질량에 비해 결합되는 생체분자에 의한 질량 변화를 증가시켜야 감도를 향상시킬 수 있다. 따라서 공진주파수 변화에 의해 결합된 생체분자를 검출하기 위해서는 캔틸레버의 두께를 감소시켜야 할 필요가 있으며 또한 주파수 변화율을 측정하기 때문에 기본 공진주파수를 증가시킬수록 감도를 향상시킬 수 있다. 일반적으로 압전소자 구동을 통해 캔틸레버에 진동을 여기(excitation)하기 때문에 캔틸레버 기반의 공진주파수형 검출 방식에서는 표면응력 변화를 이용할 경우에 발생하는 NSB 문제가 크게 줄어든다. 그러나 효율적인 진동인가를 위해 압전소자와 일체형으로 캔틸레버를 제작하기 때문에 두께를 감소시키기 힘들다. 또한 용액 속에 분해되어 있는 생체분자를 검출하기 때문에 Q-factor가 작아지며 감도 또한 줄어들기 때문에 이를 제이기 설계를 통해 개선하는 연구가 필요하다.

주사탐침형 정보저장장치의 경우 캔틸레버의 구동과 변위측정이 동시에 가능한 일체형 프로브를 사용하고 있다. 이것은 원리상 캔틸레버 기반 나노바이오 센서의 공진주파수형에 직접 적용이 가능하지만 이러한 소자를 사용할 경우 생체분자 검출에 적합한 설계기술

이 추가되어야 한다. 측정 감도만 고려한다면 표면응력 변화를 이용하는 경우보다 분해능이 떨어지기 때문에 공진주파수를 이용하는 경우는 크기가 큰 생체분자 검출에 주로 사용되지만, 측정시 발생하는 오차 요인들의 영향이 상대적으로 작다. 마찬가지로 캔틸레버의 변위를 광학 방식으로 할 경우 비투과성 용액에서는 사용이 힘들다.

### 힘 증폭형 고감도 센서

캔틸레버에 작용하는 표면응력 변화 혹은 공진주파수 변화 등을 이용할 경우 많은 생체분자의 결합을 필요로 하기 때문에 고감도 센서를 제작하기 힘들다. 치명적인 바이러스나 세균의 경우 농도가 아주 미세하더라도 치명적일 수 있기 때문에 감도를 크게 향상시킬 필요가 있다. 이를 해결하기 위해 NRL (Naval Research Laboratory)에 의해 제안된 FABS(Force Amplified Biological Sensor) 개념이 등장하였다. NRL에서는 생체분자의 상호작용력을 이용하는 대신에 자기입자(magnetic bead)를 사용하여 캔틸레버에 작용하는 힘을 증폭하여 감도를 크게 향상시켰다. FABS는 캔틸레버 위에 상보적인 생체분자를 고정시킬 뿐 아니라 자기입자에도 생체분자를 고정시키게 된다. 이 때 분석하고자 하는 Analyte가 자기입자에 고정된 생체분자와 캔틸레버 위에 고정된 생체분자 사이에 동시에 결합되어 자기입자가 캔틸레버에 연결되는 형태가 된다. 이때 캔틸레버와 자기입자는 서로 같은 생체분자로 코팅되어 있기 때문에 Analyte가 없다면 자기입자는 캔틸레버 위에 붙지 않는다. 자기입자가 캔틸레버에 연결되면 외부 자기장을 발생시켜 수직 방향에 힘을 가하여 캔틸레버의 변위를 크게 증폭시킬 수 있다. 자기

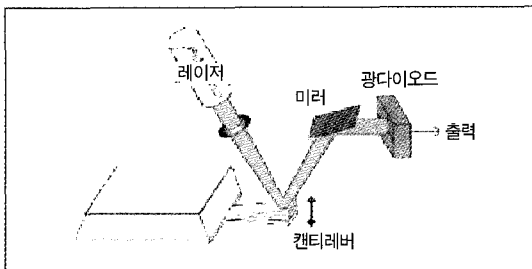
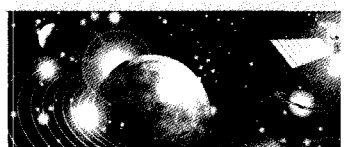


그림 3 공진주파수형 개념도(Cornell)



입자에 가해지는 힘은 자기입자에 의한 캔틸레버로의 안정적인 힘 전달을 위해 생체분자와 Analyte의 결합력보다는 작아야 한다. FABS는 자기입자에 의해 힘이 크게 증폭되기 때문에 자기입자를 캔틸레버와 연결시키는 데 필요한 Analyte만으로도 검출이 가능하다. 이러한 고감도 생체 분자 검출 기술은 감도가 매우 높기는 하지만 streptavidin과 biotin의 경우와 같이 분석하고자 하는 analyte의 결합지점이 최소한 두 개 이상이어야 한다는 단점을 갖는다. 따라서 일반적으로 결합지점이 하나인 항원-항체 반응 해석 등에는 활용하기 힘들다. 또한 Analyte가 캔틸레버와 자기입자 사이에서 결합되어야 하기 때문에 감도를 높이기 위해서는 캔틸레버의 단면적을 크게 설계해야 하며 자기입자

의 수를 증가시켜야 한다. FABS의 경우 외부자기장을 변화시켜 결합된 자기입자에 동적 힘을 가하여 검출을 하게 되면 센서의 드리프트 문제와 NSB 문제를 크게 줄일 수 있다. 이러한 고감도 센서는 치명적인 바이러스 검출에 활용될 수 있고 또한 세포물질대사와 같이 아주 작은 양의 샘플만을 취할 수밖에 없을 경우 활용이 기대된다.

### 캔틸레버 제작과 평가

생체분자 검출 감도를 향상시키기 위해서는 캔틸레버의 변위검출 감도를 향상시켜야 할 뿐만 아니라 스프링 상수를 작게 설계/제작해야 한다. 캔틸레버의 변위 검출을 위해 나노바이오 센서의 경우에도 기존 AFM과 같이 광학레버(optical lever)방식을 사용하지만 복잡한 광학소자 및 이의 정렬을 필요로 하기 때문에, 다수의 캔틸레버가 결합된 어레이 형태를 가질 경우 시스템 구성이 용이치 않다. 이러한 문제 때문에 광학레버 방식대신 사용이 간편한 압저항형(piezo-resistive) 캔틸레버 제작 및 응용연구가 활발히 진행 중이다. 압저항형 캔틸레버는 변형에 의한 격자간 에너지의 변화를 통해 저항변화를 이용하는 방식으로 광학레버방식보다 분해능은 다소 떨어지지만 MEMS공정을 통해 캔틸레버 위에 쉽게 압저항을 삽입 및 증착시킴으로써 캔틸레버의 변형 및 주파수를 동시에 검출할 수 있다. 압저항형 변위 검출 방식과 캔틸레버 어레이를 이용할 경우 칩(chip)화된 저가의 나노바이오 센서로서의 활용이 가능하다. 최근 이러한 방식의 연구가 주목받고 있지만, 분해능이 낮고 또한 전기적 상태의 용액에서의 잡음 문제 때문에 감도를 높이기 위해 해결해야 할 문제가 많다.

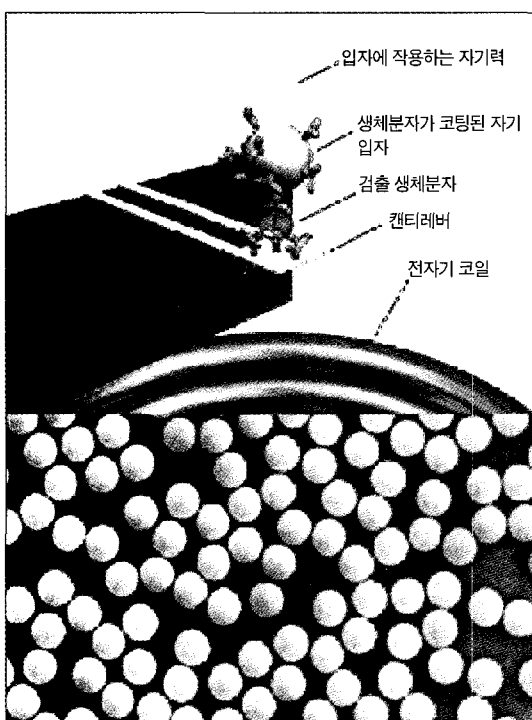


그림 4 자기입자를 이용한 FABS 개념도(NRL, 미국)

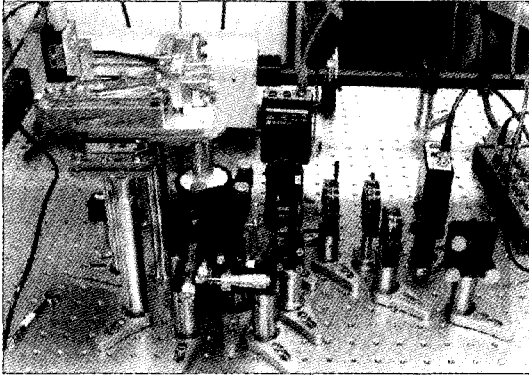
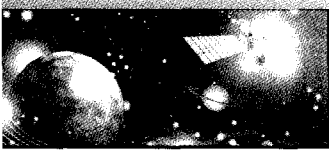


그림 5 나노 힘 표준기(한국표준과학연구원)

또한 표면응력 변화형 센서나 FABS의 경우 캔틸레버의 스프링상수가 직접적으로 감도에 영향을 주게 되므로 스프링상수의 정확한 평가가 있어야 센서의 정량화가 가능하다. 캔틸레버에 작용하는 나노 힘은 변위를 측정하고 이를 스프링상수에 의해 힘으로 변환하기 때문에 스프링상수에 대한 정보는 무척 중요하다. 캔틸레버의 스프링 상수는 기본적으로 캔틸레버의 형상에 의해 이론적으로 결정되지만 캔틸레버의 두께 측정 및 마이크로 영역에서의 Young's Modulus 등을 결정하는 데 어려움이 있기 때문에 이론적인 계산에 의해 주어지는 스프링상수는 오차가 매우 크다. 따라서 제조사에서 제공되거나 직접 제작되는 캔틸레버의 경우 스프링상수가 정확히 평가되어야 할 필요가 있고 이를 위한 다양한 스프링상수 평가방법들이 제안되고 있다. 캔틸레버 위에 미소 질량을 첨부한 후 고유진동수 변화를 이용하는 방법, 감쇠효과(damping effect)를 이용하는 방법, 기존 캔틸레버와 비교하는 방법 등이 제시되고 있다. 하지만 이러한 방법들은 나노 힘에 대한 표준이 없고 평가 오차가 크기 때문에 스프링상수의 대략적인 값만을 얻을 수 있어 여전히 큰 오

차를 수반하게 된다. 캔틸레버에 작용하는 힘을 정확하게 알 수 없다면 나노 힘을 기반으로 하는 바이오센서 검출 정확도 및 정량화에 문제를 야기 시킨다. 한국표준과학연구소에서는 캔틸레버의 스프링상수를 평가하기 위해 정전기력을 기반으로하는 나노 힘 표준기와 평가에 적합한 나노 힘 평가장치를 개발하고 있다. 확립된 나노 힘 표준에 의해 소급될 경우 정확한 캔틸레버 스프링상수로부터 생체분자 사이에 작용하는 여러 가지 현상을 정확히 규명하는 것이 가능하다.

### 맺음말

위와 같은 기술들을 이용하기 위해 압저항 캔틸레버의 변형과 주파수 변화 특성 분석을 통한 생체분자의 분석기술 기반 구축된다면, DNA 복제, 단백질 합성, 신약 개발 등에서 크게 활용이 기대될 뿐만 아니라 화학적 반응도 측정을 통한 품질공정제어로의 응용 또한 가능하다.

나노바이오 센서분야는 의료진단 및 신약개발에 필수적으로서 고부가가치 상품의 개발이 가능할 뿐만 아니라 무한한 시장성 때문에 선진그룹들간의 특허경쟁이 치열한 분야로서 원천기술의 확보가 시급하다. 위와 같이 특정한 생화학 분자로 코팅된 캔틸레버의 변형을 self sensing하는 제품의 경우 고가의 경쟁력 있는 상품으로 경제적 파급효과 또한 지대할 것으로 기대된다. 소량의 진단시약만을 필요로 하며 간단히 교체가 가능한 진단 Kit화가 이루어진다면 AFM 장비와 소모성 캔틸레버의 역할이 분리된 것처럼 바이오 센싱 장비와 소모성 진단 kit로 발전하여 다양한 응용이 가능할 것이다.