

Special
Thema | 나노바이오센서 / 칩

이병철 연구원
 (한국과학기술연구원 마이크로시스템연구센터)
문성욱 센터장
 (한국과학기술연구원 마이크로시스템연구센터)

1. 서론

최근 수십 년간의 급속한 과학기술 발전은 인간의 수명 연장에 도움이 되는 많은 기술을 제공하게 되었다. 불치병으로 여겨졌던 에이즈와 암의 치료 등은 첨단기술인 전자공학, 바이오기술 및 나노기술 등의 복합 기술에 의해서 가능하게 되었다. 특히 나노기술과 바이오기술의 결합인 나노바이오기술 분야는 질병의 진단, 예방 및 치료를 진일보시킬 수 있는 핵심 기술로서 선진국으로부터 많은 주목을 받고 있다.

나노바이오기술(Nano-Bio Technology)이란? 나노미터 크기의 생체 물질인 단백질과 DNA를 인간이 원하는 방향으로 검출, 조작 및 합성할 수 있는 기술이다. 이러한 나노바이오기술은 인간의 질병 및 건강 진단, 예측, 치료를 가능하게 하는 기술로써 전 세계에서 많은 투자와 연구가 활발히 진행되고 있다. 나노바이오기술의 핵심 분야는 나노생체분석, 나노바이오센서/칩, 나노생체소재 등으로 나눌 수 있다[1]. 나노생체분석은 인간의 질병 등 생체적인 원리를 규명하는 분야로써 단일세포 및 단일 단백질 등 각각의 기능 분화 및 세포 내에서의 생물 분자의 변화를 측정하여 생화학적인 메커니즘 규명과 질병 발생 규명 등의 진단, 치료 시스템 응용이라고 할 수 있다. 나노바이오센서/칩은 나노 생체분석을 위한 도구로써 단일세포 및 단일 단백질의 원리 규명, 생체 내에 단백질과 DNA 등의 상호작용 등을 나노기술로 제작한 바이오센서/칩을 이용하여 검출하거나 조작할 수 있는 도구를 제공한다. 나노생체소재는 세포와 단백질, DNA 등과 같은 생체 소재를 분자모터(Molecular Motor), 나노캡슐(Nanocapsule), 나노와이어(Nanowire), Molecular Electronics 등 새로운 기술에 적용하는 응용기술로 정의할 수 있다. 본 고에서는 나노바이오기술 중에서도 나노생체분석 및 나노생체소재의 근간을 이루고 각각의 생체 물질을 감지, 조작할 수 있는 도구를 제공하는 나노바이오센서/칩에 대한 기술분야 및 최근 연구동향에 대해서 간단히 소개하고자 한다.

2. 나노바이오센서/칩의 정의

나노바이오칩(Nano-Biochip)은 DNA, 단백질, 항체 또는 세포 등을 감지물질로 고밀도로 집적화하거나, 마이크로플루이딕 채널(Microfluidic Channel)에 나노바이오센서의 검출 및 조작원리를 이용하여 반도체칩과 같은 형태로 집적화한 생체정보 감지소자를 의미한다. 나노바이오센서(Nano-Biosensor)는 기존에 존재하지 않았던 나노기술을 응용하여 단백질과 DNA 등을 검출할 수 있는 감지물질과 신호 변환기로 구성되어 분석하고자 하는 물질을 선택적으로 감지하고 조작할 수 있는 장치로 정의될 수 있다 [2]. 위에 나와 있는 정의는 엄밀한 의미에서 분류된 것이며 실제로는 나노바이오칩과 나노바이오센서는 서로 비슷한 의미로 사용되며 여러 문헌에서 혼용되고 있다. 나노바이오센서/칩은 그림1에서와 같이 분류된다[3].

2.1 나노바이오칩(Nano-Biochip)

2.1.1 마이크로어레이 칩(Microarray Chip)

마이크로어레이 칩은 유리나 실리콘 같은 소형박막의 일정한 면적에 다양한 종류의 DNA, 단백질, 세포 등을 고밀도배열로 집적시켜 동시에 분석대상 물질을 처리하여 결합양상을 분석할 수 있는 Chip이

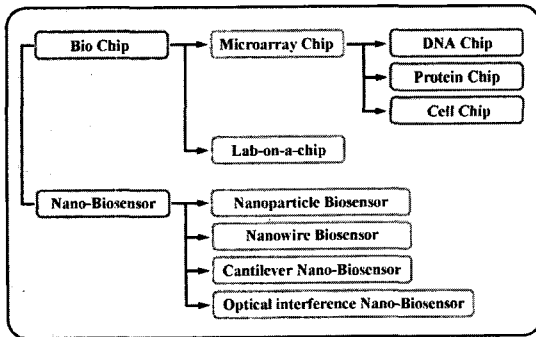


그림 1. Technique Classification of the Nano-Biosensor/Chip.

다. 현재의 나노바이오 칩은 마이크로어레이 칩 구현에 가장 주목을 받고 있으며 주된 용도는 질병진단 및 신약개발을 위한 HTS(High Throughput Screening)을 위한 것이다. 마이크로어레이 칩에서 가장 핵심이 되는 기술은 아래와 같이 정리될 수 있다.

- 칩을 형성하고 있는 기판 물질 기술
- 생명정보를 담고 있는 바이오품질(DNA, 단백질, 세포)의 합성 기술
- 바이오품질을 기판과 결합시킬 수 있는 Coating 물질 기술
- 바이오품질을 기판 위에 배열시킬 수 있는 Microarraying 기술
- 바이오칩에서 데이터를 측정할 수 있는 기술

이러한 기술을 적용하여 만들 수 있는 마이크로어레이 칩의 종류는 마이크로어레이에 집적시키는 물질에 따라 DNA 칩, 단백질 칩, 세포 칩으로 나눌 수 있으며, 각각 특징은 다음과 같다.

가. DNA 칩

DNA칩은 기존의 분자 생물학적 지식에 기계 및 전자공학의 기술이 접목되어 만들어 졌으며, 유전자 검색용으로 수십 만개의 많은 종류의 DNA를 반도체 칩 형태의 소형박막 위에 고밀도 배열형태로 고정화 시켜 놓은 것을 말한다. 이러한 마이크로어레이 칩은 1995년 미국 Stanford 대학의 생화학과에서 처음 개발되었으며 유전자 발현의 측정을 목적으로 cDNA 약 3~4천개를 약 1 cm²안에 집적화시켰다[4]. 1990년대 후반 이후부터 인간의 게놈(Genome) 염기서열의 해법을 찾기 위해 DNA 마이크로어레이 기술의 발전과 응용은 비약적인 성장을 보였으며, 현재 성숙기에 접어들어 현재 활발히 사용되고 있는 기술 분야이다. 특히 신약 개발, 생명공학, 진단분야, DNA 유전자감식 등을 위한 중요한 기술로 정착되고 있으며, 상용화되어 있는 제품을 구매하거나 원하는 목적에 맞는 마이크로어레이 칩을 주문제작을 통하여 제공받을 수 있는 수준까지 기술이 발전되어 왔다.

DNA칩은 붙이는 유전물질의 크기와 용도에 따라 cDNA Chip과 Oligonucleotide Chip으로 나누어질 수 있다. cDNA Chip은 유전자 발현 측정을 목적으로 만들어졌으며, Oligonucleotide Chip은 돌연변이 검색 등에 활용되고 있다(표1).

일반적인 DNA칩을 만들고 검색하는 과정은 다음 그림2와 같이 정리될 수 있다[6]. 먼저 알려진 유전자나 ESTs(Expressed Sequence Tagged Sites)를 DNA 증폭 방법인 PCR(Polymerase Chain Reaction)으로 대량 합성한다. 증폭된 유전자는 분리 정제 과정을 거쳐서 고밀도로 Slide Glass 위에 Microarraying 기술을 통하여 지정한 장소에 부착한다. DNA칩을 통한 분석은 DNA칩에 형광 물질을 띤 염기를 넣어 결합시킨 후, 결합이 안된 유전자들

을 씻어낸 다음, Laser Fluorescence Scanner에 의해서 읽혀진다. 각각 유전자의 형광 정도는 그 유전자의 발현 정도를 알려주는 것으로 이들 정보는 Computer에 의하여 분석된다.

DNA 칩을 이용한 DNA 분석 시스템은 저렴하고 간편하면서도 신속한 방법을 제공하고 있어, 기존의 DNA 해독 방법들 보다 훨씬 짧은 시간에 적은 시료를 가지고 값싸게 많은 유전자를 검색할 수 있다. 이러한 DNA 칩에서 가장 중요한 기술은 프로브 DNA를 기판 위에 고밀도로 집적시키는 Microarraying 기술이다[7]. 현재 DNA 칩은 연구단계에서 벗어나 상용화 단계에 있으며 대표적인 제작 기술들의 개발 및 안정화를 통하여 많은 회사들이 제품을 제작하고 있다(표2).

표 1. Application Parts of DNA Microarray Chips[5].

cDNA Chip 활용분야	Oligonucleotide Chip 활용분야
<ul style="list-style-type: none"> 인체 유전자 기능분석 연구 산업용 유전자 재조합 동식물 및 미생물 연구 실험용 동식물 모델 연구 암 및 질병관련 유전자 진단 유전자 치료 임상병리학 동식물 검역 환경변화에 따른 생태학 연구 식품 안정성 검사 신약 개발 	<ul style="list-style-type: none"> 유전병관련 유전자 돌연변이 검색 진단 약제내성 검색진단 DNA 염기서열 분석 유전자 변이 가계도 작성 장기 이식가능 조직 검사 병원성 미생물 동정 법의학 (용의자 확인, 친자 확인 등) DNA 고고학

나. 단백질 칩

DNA 칩은 주로 세포 내에서 발현되는 mRNA를 정성 및 정량 분석함으로써 간접적으로 단백질 발현에 대한 정보를 얻을 수 있으나, 이상 단백질 생성, 단백질 변형과정의 차이, 세포 내 단백질 분포차이, 단백질 상호 작용의 이상 등으로부터 유발되는 대부분의 질병에 대한 정보를 DNA 칩으로는 얻기 어렵다. 이러한 생명현상을 표현하는 최종 매개체인 단백질에 대한 정보를 얻기 위한 방법으로 사용되고 있는 것이 단백질 칩(Protein Chip)이다. 단백질 칩은 단백질-단백질 상호작용에 의한 세포신호 기작 및 조절에 대한 이해와 효소-기질 상호작용, 리간드-약 상호작용 등에 대한 직접적으로 단백질에 대한 총체적인 정보를 제공해줄 수 있다. 단백질 분석 방법은 동적 반응뿐만 아니라 안정된 상호작용에 대한 연구에서 DNA 기반의 정보를 보완한다. 특히, 생물학적으로 DNA의 경우 mRNA의 인자 개수가 104개 인데 반하여 단백질 진단 시스템의 경우 1014개의 인자를 가지고 있어 DNA에 의한 정보를 충분히 보완하여 생물학적인 현상 분석을 가능하게 한다[8].

단백질 칩은 DNA 칩과 마찬가지로 구조와 기능이 이미 규명된 단백질들을 유리, 플라스틱과 같은 기판에 고밀도로 배열하여, 검출하고 싶은 단백질이 든 피나 눈물 등과 상호 반응하는 결과를 분석해 대상 단백질의 정보를 찾아내는 칩이다. 이러한 단백

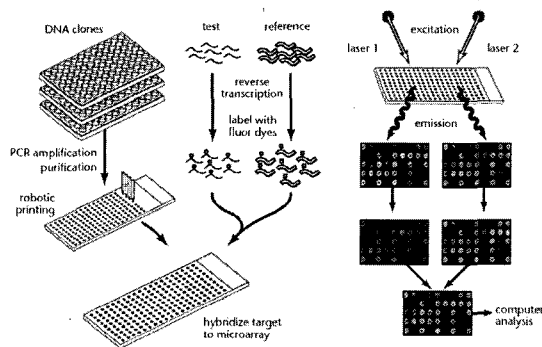


그림 2. cDNA Microarray Chip Schema.

표 2. Fabrication Methods & Companies of DNA Microarray Chips[5].

제작 기술	방법 및 특징	DNA Chip 종류	관련 회사
Pin Spotting	<p>Touch surface → Move pins → Repeat → Microarray</p>	<ul style="list-style-type: none"> • cDNA chip • Oligonucleotide chip 	<ul style="list-style-type: none"> • Beecher instruments • Biorobotics • Cartesian Technologies • Genomic Solutions • Hyseq • Incyte Genomics
Inkjet Spotting	<p>Deliver drop → Move jets → Repeat → Microarray</p>	<ul style="list-style-type: none"> • cDNA chip • Oligonucleotide chip 	<ul style="list-style-type: none"> • Cartesian Technologies • Incyte Genomics • Packard Instruments • Rosetta
Photolithography Method	<p>UV light → A → UV exposure mask → G → Microarray</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oligonucleotide chip 	<ul style="list-style-type: none"> • Affymetrix
Electrochemical Method		<ul style="list-style-type: none"> • Oligonucleotide chip 	<ul style="list-style-type: none"> • Clinical Micro Sensors • Nanogen

질 칩의 핵심 기술은 다음과 같다.

- 수십~수백 종의 단백질을 나노그램 수준으로 단백질을 미세하게 절단하는 기술
- 고밀도 배열화 및 고정화 기술
- 단백질을 검출할 수 있는 측정 기술

단백질의 구조 및 기능을 유지하면서 수많은 생체분자를 간편하게 패터닝하여 마이크로어레이 형태로 집적시킬 수 있는 기술의 핵심은 생체분자의 배향성을 분자수준에서 조절하여 생체분자의 인식

부위가 보존되어야 하며, 균일하고 안정한 생체분자의 단일층을 단백질 칩 표면에 형성시키고 생체분자 사이에 방해가 발생하지 않도록 생체분자의 밀도를 조절할 수 있도록 되어야 한다. 생체분자의 고정화 기술은 주로 분자적인 수준에서 연구 개발되고 있는데, 기본적으로 단백질을 고정화시키는 물질의 특성은 비슷하며 소수성 표면(Hydrophobic Surface), 이온교환 표면(Ion Exchange Surface), 금속 결합 표면(Metal Binding Surface) 등을 이용한다. 특히 단백질의 성질을 유지하면서 고체 표면에 고정화시키는 방법으로 Langmuir-Blodgett 법, Layer-by-layer 방법

(그림3), Self-assembled Monolayer(SAM)을 이용하는 방법 등이 이용되고 있다[9].

유전자 분석을 위한 DNA 칩의 경우에는 극미량의 특정 유전자를 PCR 방법으로 증폭하여 분석 가능한 양을 제공할 수 있었으나, 단백질의 경우 절대량을 증폭시키는 기술이 불가능하여 측정 기술이 매우 중요하다. 이러한 측정 기술은 나노그램 수준의 단백질을 검출하고 정량화하기 위해서 정밀도가 매우 높은 방법들이 요구되며, 단백질 칩을 자동으로 대량 고속으로 측정, 분석이 가능해야 한다. 초기에 단백질 칩은 전기영동법(Electrophoresis Method)에 의해서 측정이 되었으나, 낮은 재현성, 알칼리성 단백질과 고분자 단백질의 낮은 분해능, 불안정한 자동화 등의 한계점으로 MALDI(Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization), SELDI(Surface Enhanced Laser Desorption /Ionization)-TOF(Time of Flight) 질량분석법이나 SPR 법을 적용하여 고속 정밀 측정이 가능해졌다. TOF 질량분석법은 시료에서 탈착 이온화된 생체분자나 단백질에 일정 에너지를 가한 후, 이미 알고 있는 거리를 날아가는데 걸리는 시간을 측정하여 분자량을 결정하는 방법이다. 단백질 칩의 경우 현재 SELDI-TOF 질량분석법(그림4)이 주로 사용되고 있으며, 특별한 레이블 단계 없이 직접 분리, 검출, 분석이 가능하기 때문에 정밀 대량 측정이 가능하다[11]. 현재 가장 많이 연구되고

있는 SPR(Surface Plasmon Resonance)법은 광이 두 매질의 경계면에서 전반사 될 때 계면에 있는 금속층 전자들에 의한 표면 플라즈몬의 진동이 계면 근처의 유전상수에 의해 영향을 받아 유전층의 두께나 굴절률 변화에 민감하게 반응하는 현상을 이용한 측정 기술이다. 단백질 칩의 경우, 계면에 위치한 분자들의 상호작용의 결과로 주어지는 유전상수의 변화와 관련된 공명각 변화를 통해 분자인식 유무를 정밀하게 검출할 수 있다[12].

단백질 칩은 세포 또는 조직을 구성하는 단백질을 대상으로 하여 단백질의 상대적인 양을 훼손하지 않고 대량으로 정밀하게 분석하여 단백질의 기능을 연구하는 프로테오믹스 연구에 응용될 수 있다. 또한 새로운 의약품이나 생리활성 물질의 성공적인 개발을 위해 수많은 시편들 중에서 특정 생체분자와 특이적으로 작용하는 후보 물질을 대량으로 신속하게 탐색할 수 있는 고속탐색 시스템 구축을 가능하게 하여 신약 개발에도 단백질 칩이 활용되고 있다.

다. 세포 칩

세포칩이란 세포생물학, 세포생리학, 신약 개발 등에서 필요한 세포들이 정보(세포의 이송, 유전자 주입, 배양, 분화, 이온채널에 관한 연구들)에 대해서 연구할 수 있는 Hardware Platform을 의미한다. 세포 마이크로어레이(Cell Microarray)는 실질적으로 DNA 및 각종 유전자 연구에 적합한 도구로서 현재 확립되고 있다. 현재 제안된 세포 마이크로어레이라는 것은 한 개의 슬라이드에 수천 개의 확인된 DNA로 이루어져 있고, 그 위에 DNA에 의해 유전 생성물을 과잉생산 또는 저해하는 세포의 뭉침(Cell Cluster)으로 되어 있다. 이러한 세포 마이크로어레이만으로는 세포들의 정보를 알 수가 없으며, 세포 샘플링, 세포트랩핑과 소팅, 세포처리 및 분석을 가능하게 하는 Lab-on-a-Chip 유형으로 진화되고 있다.

세포칩 연구는 세계적으로 비교적 초기 단계에 있는 연구분야라 할 수 있다. 미국 Whitehead Institute의 Sabatini 팀이 선두 그룹으로서 2001년 Nature지에 'Transfected-Cell Microarrays'에 대한 연구결과를 발표한 바 있다[13]. 그림6에서 보면, 200

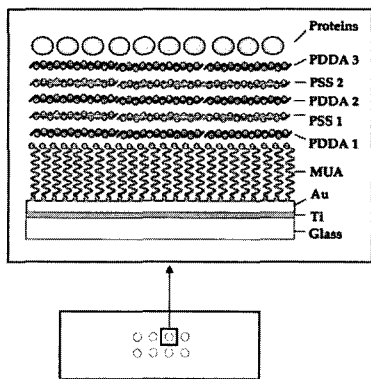


그림 3. An Example of Protein Immobilization Method (Layer-by-layer Method)[10].

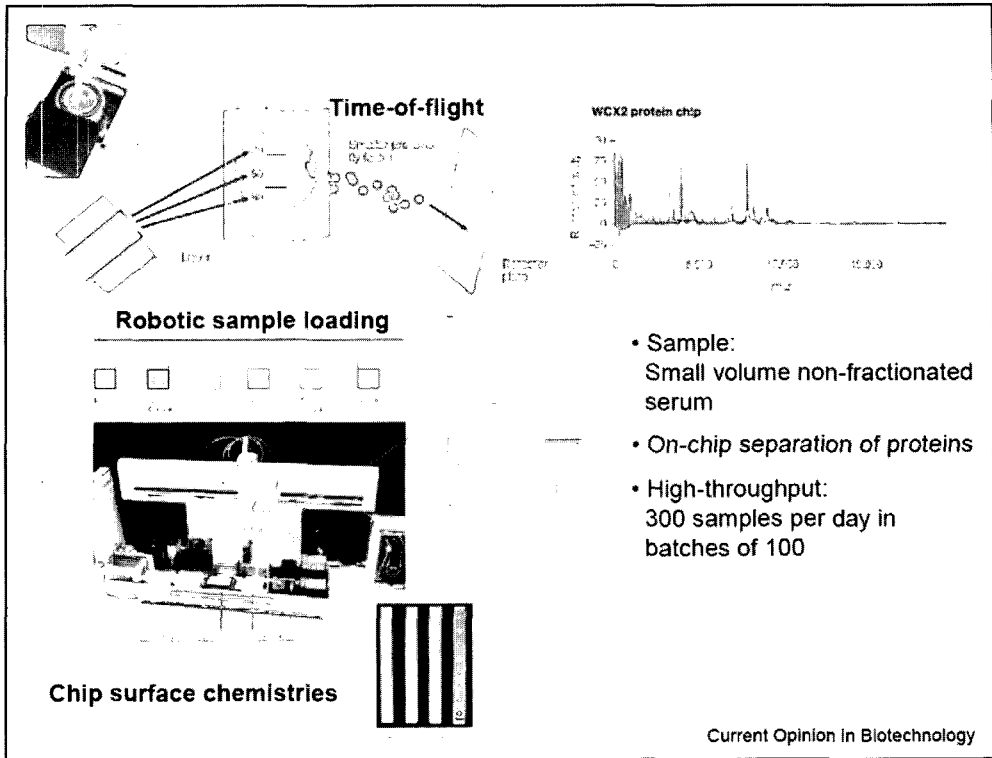


그림 4. Surface-Enhanced Laser Desorption and Ionization(SELDI) Technology.

개의 cDNA를 젤라틴과 혼합하여 슬라이드 글라스에 마이크로어레이로 어레이를 만든 후, Cell Line을 흘려 동물세포배양을 하여 Transfected-cell Microarray를 형성한다. 발현된 단백질에 의해 나타나는 세포의 Phenotype을 관찰하는 것에 의해 단백질의 특성 분석이 가능하다(그림5).

세포 마이크로어레이의 중요한 응용분야는 신약 발굴의 병목해소와 기능 지놈믹스 연구를 들 수 있다. 약리활성을 나타내는 물질이 표적 단백질에 제대로 기능을 나타내는 것과 마찬가지로 인체 내 타 단백질에 대한 부반응이 일어나지 말아야 하는 것이 매우 중요하다. 이러한 약리활성에 대한 연구로 Cornell Univ.의 Xu 팀은 미생물 세포의 Rapamycine의 Drug Target을 분석하기 위한 S. Cerevisiae High-density Cell Microarrays에 대한 연구결과를 발표하였다[14].

이러한 세포 마이크로어레이는 단백질 칩에 비해 안정성이 높으며, 전사 후 Modification이 일어난 단백질의 특성을 분석할 수 있어 막 단백질 (Membrane Protein)의 마이크로어레이 형성이 용이한 장점이 있으나, 발현된 세포의 Phenotype이 in Vivo 유전자 기능과는 다른 현상을 보일 수 있으며, Transfected-cell Line이 한정된다는 단점을 가지고 있다. 이러한 단점을 보완하고 극복함으로써 신약 개발 및 단백질 칩의 새로운 대안이 될 수 있을 것이다.

2.1.2 랩온어칩(Lab-on-a-chip)

마이크로어레이칩의 경우 신약개발과 같은 실험실부터 가정에서 사용할 수 있는 단순 자가진단키트까지 넓은 범위에서 사용할 수 있으나, 생체물질의 전처리에서 분석까지 일반적인 용도의 수요를 충족

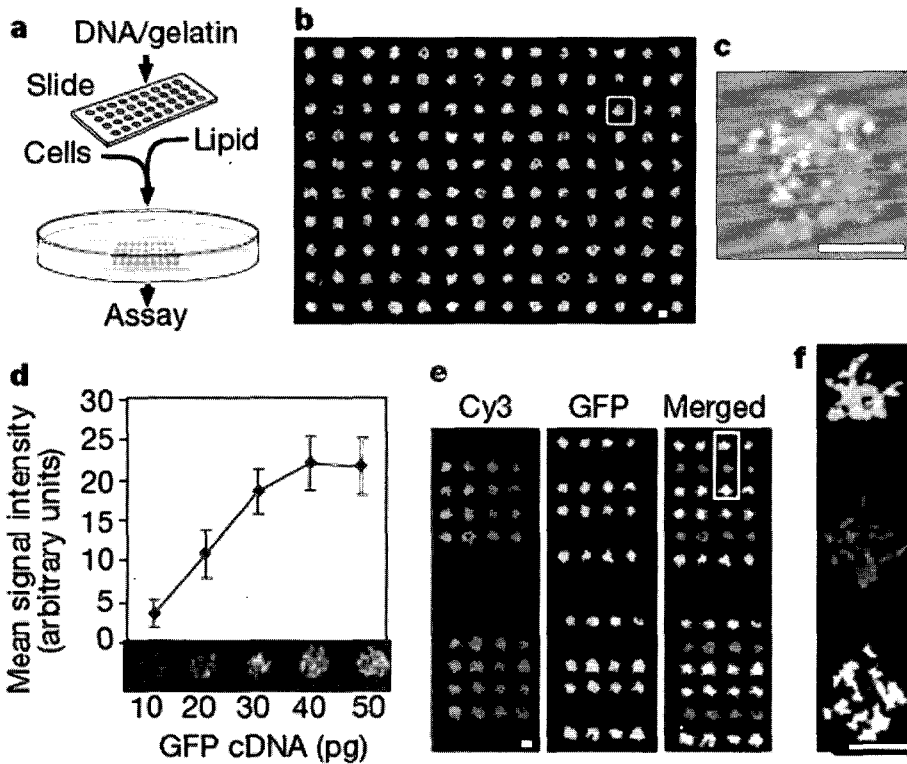


그림 5. Well-less Transfection of Plasmid DNAs in Defined Areas of a Lawn of Mammalian Cells[13].

시키기에는 불가능하다. 감지 물질과 프루브의 반응을 실험실의 큰 장비를 통하여 검출하고 분석하는 마이크로어레이칩과는 달리, 랩온어칩은 하나의 칩상에서 생체물질의 분리, 정제, 혼합, Labeling 및 증폭 등의 모든 전처리 과정과 생체물질의 검출, 세척 및 분석까지 기존 실험실에서 행해졌던 모든 공정이 칩 위의 실험실(Lab-on-a-chip)에서 이루어질 수 있도록 한 것이다(그림6).

이러한 랩온어칩 개념은 1979년에 지름 5 cm의 실리콘 웨이퍼 위에서 초소형 가스크로마토그래피(Gas Chromatography)를 개발함으로써 처음 이루어졌으나 성능상의 문제로 실용화되지 못했다. 1990년대에 들어 여러 연구 그룹이 랩온어칩형 분석 시스템 구현을 실현하기 위한 연구를 했으며, 기체상 분리법 보다 액상 분리방법이 유리하다는 인식을 가지게 되어 마이크로프루이딕(Microfluidic) 분야가

발전하게 되었다. 특히, 현재 최근 개발동향은 미세유로(Microfluidic) 제작과 관련된 MEMS(MicroElectroMechanical System) 기술을 기존의 분석기술에 접목시켜 모든 구성요소를 소형화(Miniaturization)와 집적화(Integration) 시키려는 추세이다. 기존의 생물 및 생명공학 기술이 고가의 Macro Scale 의 장비들을 MEMS 기술을 응용하여 미소구조의 검색 장비로 발전시켜 저가, 소형화 및 집적화로 의료종사자의 도움 없이도 일반인들이 손쉽게 널리 사용할 수 있어 나노바이오칩의 보편화에 기여할 수 있을 것이다.

랩온어칩 구현은 MEMS 기술의 발전으로 실현이 가능하여졌으며, 반도체 재료 및 반도체 기술인 사진노광기술(Photolithography) 및 식각 기술(Etching)의 발전에 의해 단순성, 휴대성, 저가성 등의 특성을 만족해 가고 있다. 특히, 랩온어칩은 혈액,

체세포 등의 출발 시료를 채취하거나 재배하는 데서 시작하여 혼합을 위한 혼합기, 세척 및 Labeling을 위한 마이크로펌프 및 밸브, 시료의 선택을 위한 장치, 세포벽을 용해하기 위한 Cell Lysis 장치, 세포내 구성 물질 등의 시료 분리 장치 및 감지, 검출을 위한 분석 장치를 만들 수 있는 요소 기술과 모든 요소를 집적할 수 있는 집적화 기술 연구가 필요하다(그림 7)[15].

현재 랩온어칩 분야는 활발히 연구가 진행이 되고 있으며, 학문 분야가 융합 되면서 다양한 시도가 이루어지고 있다. 더불어 상용화에 앞장 서고 있는 미국에서는 여러 가지 상용화 제품이 출시되고 있다. 미국의 캘리퍼/에질런트(Caliper & Agilent)社(www.calipertech.com)는 LabChip™이라는 상품을 판매하고 있으며, 아클라라(Aclara)社(www.aclara.com)는 플라스틱을 이용한 미세 유체

통로를 가진 Labcard™를 판매하고 있다. 또한 자이로스(Gyros)社(www.gyros.com)는 원심력을 이용한 LabCD™를 고안하여 상품화에 앞장서고 있다(그림 8).

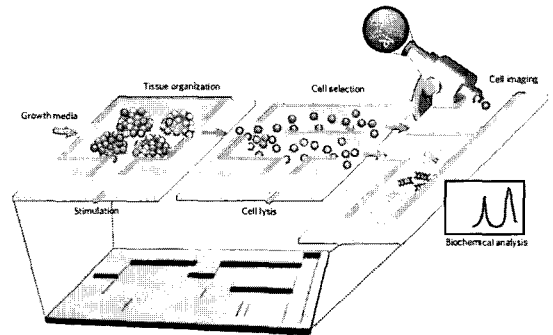


그림 6. Illustration of Lab-on-a-chip.

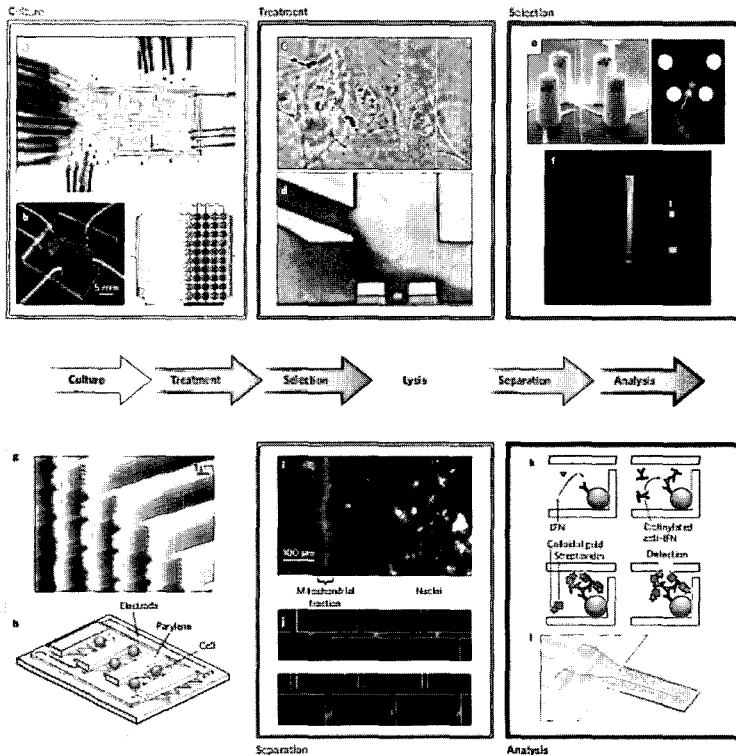


그림 7. Microsystems Enabling Cell-based Assays from Cell Culture to Biochemical Analysis[15].

2.2 나노바이오센서(Nano-Biosensor)

2.2.1 나노입자 바이오센서(Nanoparticle Biosensor)

나노입자를 바이오센서에 응용하는 기술은 최근 가장 활발하게 연구되는 분야 중의 하나로서, 크게 바이오칩의 표면으로 활용하는 것과 측정을 위한 표지물질로 이용되는 것으로 나눌 수 있다. 바이오칩 표면으로 활용하는 기술은 생체물질을 나노바이오칩에 고정화시키는 단계에서 바이오칩의 표면에 나노입자를 이용하여 고정화를 시킴으로써 생체물질의 고정화되는 양을 정량적으로 알 수 있는 기술이다. 이러한 바이오칩 표면에 대표적으로 응용되고 있는 나노입자 바이오센서는 Localized Surface Plsmon 현상을 이용하는 것이다[16](그림9).

나노입자를 표지물질로 이용하는 기술은 바이오칩에서 사용하고 있는 대부분의 형광물질 이용 기술을 대체할 수 있는 기술며 흡광, 형광, 라만 등 다양한 측정방식에 활용될 수 있다. 형광물질은 어느 정도 시간이 지나면 형광을 나타내는 정도가 떨어져 오랜 기간의 실시간 감지가 불가능하게 된다. 이러한 경우 나노입자를 사용하게 되면 나노입자는 입자의 크기에 따라 특정한 파장을 흡수 방출하므로 매우 안정하게 생체물질을 감지할 수 있으며, 기기의 도움 없이 눈으로 확인할 수 있는 장점을 가지고 있다. 금, 은 나노입자를 SPR, SERS(Surface-Enhanced Raman Scattering) 증폭용 표지물질로 사용한 예가 최근 발표된 바 있다[17-18].

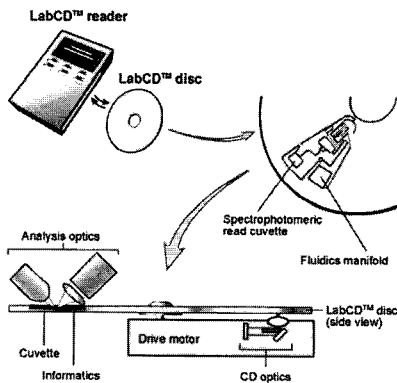


그림 8. Illustrations of LabCD™ systems.

또 다른 나노입자 바이오센서의 응용으로 FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer) 방법에 의한 바이오센서를 들 수 있다. FRET은 Donor 물질이 외부의 자극에 의해서 Excitation이 되면 Donor와 공진할 수 있는 Acceptor 물질에 에너지를 넘겨줘 Acceptor가 Excitation되는 원리를 말한다. Acceptor의 경우, Donor와 일정한 거리로 결합되어 공진을 하지 않으면 외부의 자극에 의해서는 Excitation 될 수 없으므로 단백질 상호작용을 검출할 수 있는 바이오센서의 역할을 한다. 최근 이러한 Donor와 Acceptor를 나노입자를 활용하는 연구가 진행되고 있다[19].

나노입자는 현재 공정의 안정화 및 상업화가 활발히 진행되고 있지만 나노입자 바이오센서로서 상용화되기 위해서는 재현성있는 센서와 어레이 형성 기술이 필요하다.

2.2.2 나노와이어 바이오센서(Nanowire Biosensor)

나노와이어 바이오센서의 센싱 원리는 기존의 반도체 트랜지스터의 전계 효과와 매우 유사하게 동작하는 나노와이어 전계효과 트랜지스터(Nanowire Field-effect Transistor)를 이용하는 것이다. 기존의 반도체 트랜지스터의 경우 소스에서 드레인 사이의 전류통로인 채널(Channel)을 게이트 전압에 의하여 형성하고 제어함에 따라 전류를 제어하는 것과 마찬가지로 Nanowire FET의 경우에도 Nanowire의 채널(Channel)에 게이트를 형성하여 게이트 전압에 의해서 Nanowire에 흐르는 전류를 제어하는 원리이다(그림10). 게이트에 마이너스 전압을 가할 경우 채널에 전공들이 모여 전류를 더 잘 통하게 하여 전도도(Conductance)가 증가하게 되고, 플러스 전압을 가하면 채널에 전자들이 모여 전자의 흐름인 전류를 방해하여 전도도가 감소하게 된다.

이러한 원리를 이용하여, Nanomix의 Alexander Star는 탄소나노튜브(Carbon Nanotube)를 채널로 사용하여 나노바이오센서를 만들었다[21]. 탄소나노튜브의 반도체적인 성질을 이용하여 그 위에 PEI/PEG 폴리머(Polymer)를 절연체로 사용하고 게이트 물질로는 Streptavidin과 결합할 수 있는 Biotin을 사용하였다(그림11). 단백질 검출을 위한 나노바

로 기술을 이용하여 회로와 집적할 수 있어 부가적인 장치의 필요 없이 시스템으로 집적할 수 있는 장점을 가진다. 또한 배열형태로 구현하기 쉬워 신약 개발에 필요한 High-Throughput System 구현을 용이하게 할 수 있다. 하지만 나노와이어 바이오센서의 검출 원리와 성능은 여러 연구결과를 통하여 검증이 되었으나, 상업화를 위한 재현성 확보 등의 문제가 해결되어야 하는 단점을 가지고 있다.

2.2.3 캔티레버 나노바이오센서

마이크로 캔티레버에 대한 연구는 매우 오래 전부터 진행되어 왔으며 최근에는 물체의 표면을 원자 단위까지 측정할 수 있는 Scanning Force Microscopy(SFM) 또는 Atomic Force Microscopy(AFM)으로 응용되고 있다. 이러한 캔티레버는 다양한 응용분야가 있으나, 특히 바이오센서와 캐미컬 센서로 많은 연구가 이루어지고 있다. 캔티레버 나노바이오센서의 센싱 원리는 정적 변위 모드(Static Deflection Mode)를 이용한 센싱 방법, 동적 공진 모드(Dynamic Resonance Mode)를 이용한 센싱 방법 및 이중박막 물질을 사용해서 감지하는 방법이 있다 [23](그림13).

정적 변위 모드를 이용한 방법(그림13A)은 캔티레버 표면 위에 가해지는 힘을 캔티레버의 휘어지는 정도와 스프링 상수, Young's Modulus 등으로 변위

로 변환시키는 원리를 적용한 것이다[24]. 2000년도에 IBM에서는 이러한 정적 변위 모드를 이용한 캔티레버 나노바이오센서를 이용해서 cDNA의 Hybridization을 측정하였고 Protein A-Immunoglobulin의 상호작용에 대해서 감지할 수 있음을 보였다. 이러한 캔티레버 나노바이오센서는 어레이 타입으로 집적화 하기 매우 쉬운 장점을 지니고 있다.

동적 공진 모드를 이용한 방법(그림13B)은 캔티레버에 압전 및 공진 특성이 우수한 PZT 막을 이용하여 캔티레버 박막 위의 분자의 개수와 무게 등에 따라 공진주파수의 변화를 감지하는 원리이다. 이러한

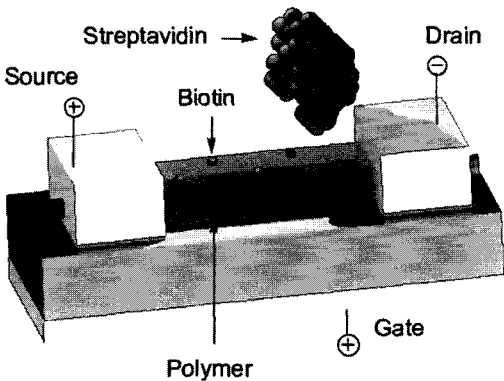
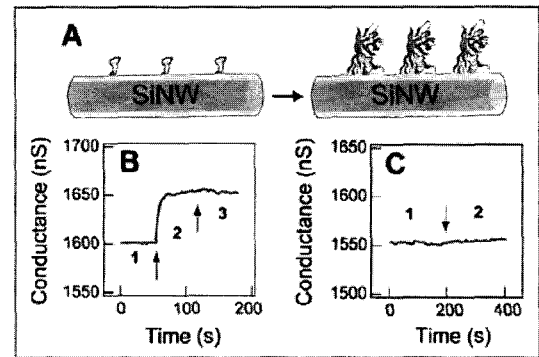
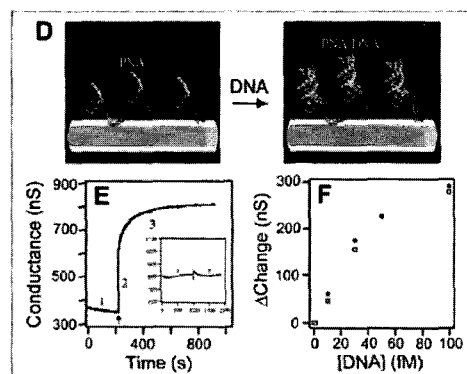


그림 11. Schematic of the Nanotube Field Effect Transistor(NTFET).



(a)



(b)

그림 12. Real-time Detection of Protein and DNA by Nanowire FET.

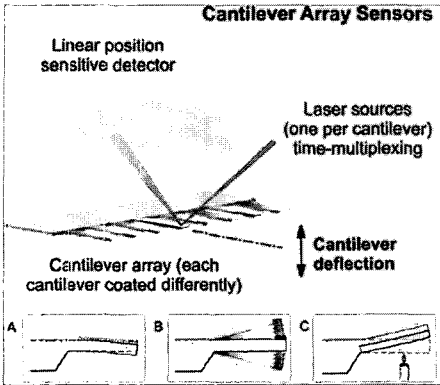


그림 13. Basic Readout Operation with Laser Sources and Cantilever Sensor Operating Mode : (a) Static Deflection Mode, (b) Dynamic Resonance Mode, and (c) Bimetallic Heat Mode.

압전막을 이용한 캔티레버 형태의 바이오센서 응용은 미국 U. of Minnesota의 Polla 교수 그룹에서 Affymetrix社와 공동연구에 의해 진행되고 있으나 아직 성과가 미미하며, 오히려 본 저자가 속한 연구 그룹을 포함한 국내연구진에 의하여 잠재력을 입증 받고 있는 실정이다[25].

마지막 방법인 이중 박막 물질을 이용해서 검지하는 방법(그림13C)은 캔티레버의 선팡창 계수 차이에 의한 검지방범이다. 주로 온도를 검지하는 방법으로 온도 차이에 따라서 팽창되는 캔티레버의 물질 차이가 생겨나게 되고 이런 차이가 캔티레버를 아래 또는 위로 휘어지게 하여 변위를 만들어 빛으로 감지를 할 수 있게 한다.

캔티레버 나노바이오센서는 기체 상태로 감지를 가능하게 할 뿐만 아니라 액체 상태의 사료에 대한 분석을 가능하게 하는 많은 응용분야를 가지고 있다. 특히 기체 상태의 바이오 센서 및 화학 센서로 응용되는 전자코(Electronic Nose)는 국방 및 안보에 관련된 분야에서 활발한 연구가 진행되고 있다. 또한 정량적인 분석을 가능하게 하므로 캔티레버 나노바이오센서는 나노바이오칩과 같이 상보적으로 사용될 가능성이 높은 센서 중에 하나이다.

2.2.4 광간섭 나노바이오센서

광간섭을 이용한 나노바이오센서 원리는 가장 오래 전부터 연구가 되어 왔으며, 정밀도면에서는 다른 센서 원리에 비해 가장 우수하다. 광간섭을 이용한 나노바이오센서는 빛의 보강, 상쇄 간섭의 간섭 무늬를 이용한 방법, 광간섭에 의한 위상(Phase) 차이를 감지하는 방법 등이 있으나 그 기본 원리는 빛의 흡수율 또는 굴절율(Reflective Index)의 차이를 감지하는 원리이다. 광간섭을 이용한 나노바이오센서의 종류는 표3에 정리되어 있으며, 각각의 감지 한계도 정리되어있다[26].

이러한 광간섭을 이용한 나노바이오센서는 집적화를 위해서 평판화된 광도파로를 사용하고 있다. 이러한 광도파로는 복층 박막으로 형성되어 코어재료에 집속된 빛이 양쪽 클래딩 막에 의한 내부 전반사에 의해서 광의 손실이 없이 전파되는 구조이다. 양쪽 클래딩 물질이 고정된 광도파로는 빛을 손실 없이 전파되어질 수 있지만 클래딩의 물질이 변화하게 되면 소멸전계(Evanescent Field)가 변화하여 유효굴절률이 변화하게 된다(그림14). 광간섭 나노바이오센서는 클래딩 물질에 바이오물질을 부착시켜 유효굴절률을 변화시킨다. 이러한 유효굴절률의 변화는 빛의 위상(Phase) 및 세기를 변화시켜 바이오물질의 검출 및 감지를 가능하게 한다.

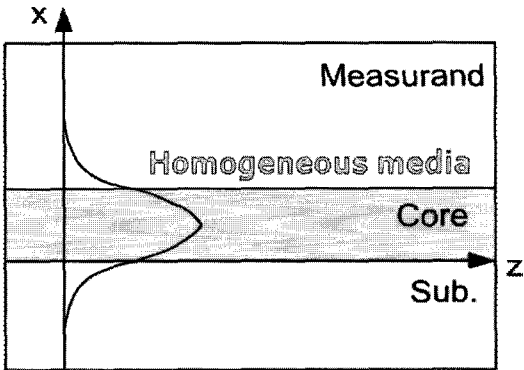
Mach-Zehnder 간섭계를 이용한 광간섭 나노바이오센서는 감지한계가 가장 뛰어난 센서로서 가장 많은 연구가 이루어졌다(그림15). 하나의 광원을 두 개의 광도파로를 이용하여 두 개의 동일 광으로 나

표 3. Comparison of Sensitivities for Different Integrated Optical Biosensors.

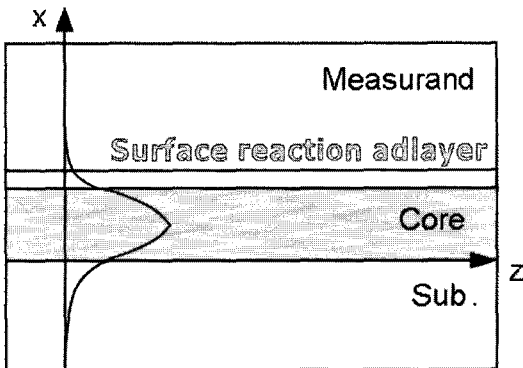
Sensing principle	Limit of detection(pg/mm ²)
• SPR	2-5
• Waveguide-SPR	2
• Resonant mirror	5
• Grating coupler	1-10
• MZI	0.1
• Differential mode interferometer	1
• Young interferometer	0.7
• Reflectometric interference spectroscopy(RIFS)	1-5

는다. 하나의 광도파로를 Reference로 이용하고 다른 하나의 광도파로에 바이오물질을 인가한 클레이딩층을 만들어 놓은 후 서로 상호작용을 할 수 있는 바이오물질을 인가하면 소멸전계(Evanescent Field)의 변화로 인하여 광의 세기와 위상을 변조시킬 수가 있다. 이렇게 변조된 광의 세기와 위상을 최종적으로 Reference 광과 합쳐주므로 결론적으로 위상 차이를 감지함으로써 바이오물질의 상호작용을 감지할 수 있다.

이러한 광도파형 나노바이오센서는 현재 신약개발의 붐과 맞물려 간접계형 광도파로 혹은 Evanescent Field를 이용한 형광 여기 방식의



(a)



(b)

그림 14. Operation Principle of Waveguide Biosensors.

Microarray 형으로 주목 받고 있는 실정이다. 미국의 Zeptosens社(www.zeptosens.com)는 평판 광도파로를 이용한 형광여기방식의 Micro-array를 개발 중에 있다. 이 방식은 칩 상에 형성된 Grating을 통하여 광을 광도파로 내부로 입사시킨 후 광도파로의 Evanescent Field에 의하여 광도파로 표면에 형광 표지된 바이오 분자를 여기 시킴으로써 발현되는 형광을 CCD로 검지하는 방식이다(그림16). 이러한 광도파로를 통한 Evanescent Field를 이용할 경우 보통 일반적인 방식의 마이크로 어레이에 비해서 기판의 반사 및 용액상의 Unbound Molecule에 의한 잡음을 상당히 줄일 수 있어 신호 대 잡음비를 200배 이상 증가시킬 수 있으며, 실시간 감지가 가능한 장점을 가지는 바이오센서를 개발하였다.

스페인의 F. Prieto 그룹은 집적 Mach-Zehnder Interferometer를 제작하여 a-hSA/HSA의 항원/항

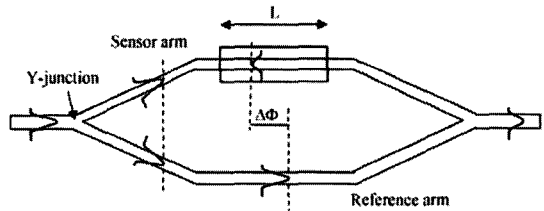


그림 15. Schematic Concept of Mach-Zehnder Interferometer.

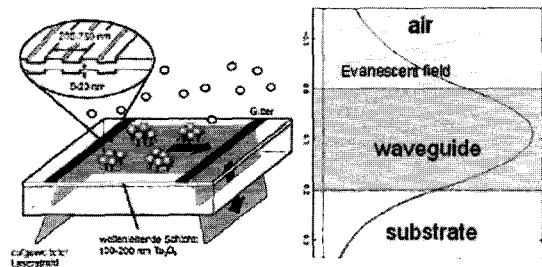


그림 16. Detection Scheme of Waveguide Type Protein Micro-array.

체반응을 검지하는데 이용하였다[27]. 기판으로 Si를 이용하였으며 Cladding 재료는 SiNx이고 광도파 재질은 SiOx를 이용하였다. 항원고정화 시에는 16π rad 정도의 위상이 변화하였으며 항체 Assay시에는 약 4π rad 정도의 위상이 변화하였다. 이 방법은 Bio Assay 시 큰 위상차가 발생하기 때문에 Sensitivity 측면에서 큰 장점이 있다.

이러한 광도파 방식의 바이오센서는 광통신의 발전과 더불어 광도파 이론 및 광도파로 형성 기술에 대한 정립이 매우 잘되어 있어 현재 바이오 응용에 많은 연구가 활발히 진행이 되고 있다.

3. 맺음 말

나노바이오기술은 나노기술과 바이오기술을 근간으로 기존의 물리, 화학, 재료, 반도체, 기계 등의 여러 학문을 포괄적으로 응용하는 융합기술로서, 유전자 감식, 질병 진단 칩, 당뇨측정 및 치료칩, 약물 전달 시스템, 신약 개발 등 실로 그 활용분야가 매우 광범위하다. 현재 가장 상용화되어 있는 분야는 DNA 칩으로서 유전 질환, 인간의 게놈 지도, 유전자 검색으로 인한 범인 감식 및 친자 확인 등 응용 가능성이 있으나 완벽한 질병 치료에는 이론적으로 한계를 가지고 있다. 이러한 질병 치료를 위해서는 단백질 칩의 프로테오믹스 연구 분야를 응용한 상호 단백질 작용의 분석이 반드시 필요하다. 하지만 단백질 칩은 현재 단백질의 선택적/방향성 고정화 문제, 비 특이적 결합 등의 난관이 있으나 근 시일 내에 해결될 것으로 전망된다. 또한 in Vitro 상태가 아닌 in Vivo 상태에서 직접 세포 내에 각 단백질의 상호작용을 분석하려는 노력도 세포 칩의 연구로 인해 발전되고 있다. 이러한 나노바이오칩과 더불어 나노바이오센서의 발달은 나노리터의 시료 등을 정밀하고 고속으로 검출할 수 있는 도구를 확보하는 역할을 하여 나노바이오칩과 함께 집적화를 통한 랩온어칩의 구현을 앞당기는 역할을 하고 있다. 이러한 기술적 발전으로 신약 개발을 위한 스크리닝 및 질병 조기 진단을 가능하게 하여 인류사회에 많은 공헌을 할 수 있을 것이며, 가까운 미래에는 무병장수의 길이 열릴 수 있는 실마리를 제공할 수 있게 될 것이다.

참고 문헌

- [1] H. K. Park, and B. H. Chung, "Nanobiotechnology," Korean Chem. Eng. Res., 44(1), p. 10, 2006.
- [2] D. S. Yoon, J. Y. Kang, and T. S. Kim, "Nanobiotechnology," Ceramist, 8(4), p. 54, 2005.
- [3] "Biochip, Biosensor and BioMEMS technology," KRIBB BIO WATCH ISSUE, 2005.
- [4] M. Schena, D. Shalon, R. W. Davis, and P. O. Brown, "Quantitative Monitoring of Gene Expression Patterns with a Complementary DNA Microarray," Science, 270, p. 467, 1995.
- [5] B. S. Bae, "포퓰 MicroBioLab, Biochip," Micro to Macro Review, 63, p. 64(<http://m2m.icm.re.kr>)
- [6] D. J. Duggan, M. Bittner, Y. Chen, P. Meltzer, and J. M. Trent, "Expression Profiling Using cDNA Microarrays," Nature Genetics, 21, p. 10, 1999.
- [7] J. H. Park, J. Y. Kang, T. S. Kim, and D. S. Yoon, "21C Blue Ocean 'Biochip'," Electronic Parts & Components, 12, p. 64, 2005.
- [8] P. Parlickova, E. M. Schmider, and H. Hug, "Advances in Recombinant Antibody Microarrays," Clinica Chimica Acta, 343, p. 17, 2004.
- [9] G. K. Zhavnerko, and K.-S. Ha, in Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology, J. A. Schwarz, C. Contescu, and K. Putyera, (2004, Maecel Dekker, Inc.)
- [10] S.-J. Yi, J. S. Yuk, S.-H. Jung, G. K. Zhavnerko, Y.-M. Kim, and K.-S. Ha, "Investigation of Selective Protein Immobilization on Charged Protein Array by Wavelength Interrogation-based SPR Sensor," Mol. Cells, 15(3), p. 333, 2003.
- [11] E. F. Petricoin, and L. A. Liotta, "SELDI-TOF-based Serum Proteomic Pattern Diagnostics for Early Detection of Cancer," Current Opinion in Biotechnology, 15, p. 24, 2004.
- [12] K. Nakatani, S. Sando, and I. Saito, "Scanning of Guanine-Guanine Mismatches in DNA by Synthetic Ligands using Surface Plasmon Resonance," Nature Biotechnology, 19, p. 51, 2001.
- [13] J. Ziauddin, and D. M. Sabatini, "Microarrays of Cells Expressing Defined cDNAs," Nature, 411, p. 107, 2001.
- [14] C. W. Xu, "High-Density Cell Microarrays for Parallel Functional Determinations," Genome Research, 12, p. 482, 2002.

[15] J. El-Ali, P. K. Sorger, and K. F. Jensen, "Cells on Chips," *Nature*, 442, p. 403, 2006.

[16] N. Nath, and A. Chilkoti, "A Colorimetric Gold Nanoparticle Sensor to Interrogate Biomolecular Interactions in Real Time on a Surface," *Anal. Chem.*, 74, p. 504, 2002.

[17] L. He, M. D. Musick, S. R. Nicewarner, F. G. Salinas, S. J. Benkovic, M. J. Natan, and C. D. Keating, "Colloidal Au-Enhanced Surface Plasmon Resonance for Ultrasensitive Detection of DNA Hybridization," *J. Am. Chem. Soc.*, 122(38), p. 9071, 2000.

[18] Y. W. Charles Cao, R. Jin, and C. A. Mirkin, "Nanoparticles with Raman Spectroscopic Fingerprints for DNA and RNA Detection," *Science*, 297(5586), p. 1536, 2002.

[19] A. R. Clapp, I. L. Medintz, J. M. Mauro, B. R. Fisher, M. G. Bawendi, and H. Mattoussi, "Fluorescence Resonance Energy Transfer Between Quantum Dot Donors and Dye-Labeled Protein Acceptors," *J. Am. Chem. Soc.*, 126, p. 301, 2004.

[20] A. Star, J.-C. P. Gabriel, K. Bradley, and G. Gruner, "Electronic Detection of Specific Protein Binding Using Nanotube FET Devices," *Nano Letters*, 3(4), p. 459, 2003.

[21] G. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W. U. Wang, and C. M. Lieber, "Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays," *Nature Biotechnology*, 23(10), p. 1294, 2005.

[22] F. Patolsky, and C. M. Lieber, "Nanowire nanosensors," *Materials Today*, 8(4), p. 20, 2005.

[23] H. P. Lang, M. Hegner, and C. Gerber, "Cantilever array sensors," *Materials Today*, 8(4), p. 30, 2005.

[24] J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. Rothuizen, P. Vettiger, E. Meyer, H.-J. Guntherodt, C. Gerber, and J. K. Gimzewski, "Translating Biomolecular Recognition into Nanomechanics," *Science*, 288, 316~318(2000)

[25] J. H. Lee, K. S. Hwang, J. Park, K. H. Yoon, D. S. Yoon, T. S. Kim, "Immunoassay of prostate-specific antigen(PSA) using resonant frequency shift of piezoelectric nanomechanical microcantilever," *Biosens. Bioelectr.*, 20, p. 2157, 2005.

[26] L. M. Lechuga, F. Prieto, B. Sepulveda, in *Optical Sensors: Industrial environmental and diagnostic applications*, R. Narayanaswamy, O. S. Wolfbeis,

(2004, Springer)

[27] F. Prieto, B. Sepulveda, A. Calle, A. Llobera, C. Dominguez, L. M. Lechuga, "Intergrated Mach-Zehnder Interferometer Based on ARROW Structures for Biosensor Applications," *Sensors and Actuators B*, 92, p. 151, 2003.

저|자|약|력



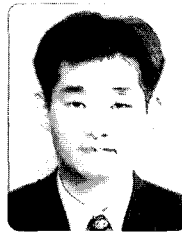
성 명 : 이병철

◆ 학 력

- 1999년 고려대 전기전자전파공학부 공학사
- 2003년 KAIST 전기전산학과 공학석사

◆ 경 력

- 2003년 KAIST 전기전산학과 3DMEMS Lab. 위촉연구원
- 2005년 - 현재 KIST 마이크로시스템연구센터 연구원



성 명 : 문성욱

◆ 학 력

- 1986년 연세대 금속공학과 공학사
- 1988년 연세대 대학원 금속공학과 공학석사
- 1988년 연세대 대학원 금속공학과 공학박사

◆ 경 력

- 1989년 - 1995년 KIST 정보전자연구부 연구원
- 1995년 - 1996년 Rutherford Appleton Lab. MMT 방문연구원
- 1996년 - 1997년 Appleton Lab. CMF 초창연구원
- 1997년 - 2003년 KIST 마이크로시스템연구센터 선임연구원
- 2003년 - 현재 KIST 마이크로시스템연구센터 책임연구원, 센터장