

고분자 하이드로젤을 이용한 바이오센서

고원건

1. 바이오센서

바이오센서는 특정한 물질에 대한 인식기능을 갖는 생체감지물질을 지지체에 고정화 시킨 후, 이를 전기적, 광학적 변환기(transducer)와 결합시켜 생물학적 상호작용 및 반응을 전기적 또는 광학적 신호로 바꾸어 줌으로써 분석 하고자 하는 물질을 선택적으로 감지할 수 있는 제품이다(그림 1).

생체감지물질은 분석 물질을 인식하여 신호변환기가 측정할 수 있는 신호로 전환 시킬 수 있는 생체분자로서, 특정물질과 선택적으로 반응 및 결합할 수 있는 효소, 항체, 항원, 세포, 핵산, DNA, 락틴, 호르몬리셉터(hormonereceptor) 등이 있으며, 신호변환 방법으로는 전기화학(electrochemical), 전기, 형광, 발색, SPR(surface plasmon resonance), OCM(quartz crystal microbalance), 열센서 등 다양한 물리 화학적 방법을 사용할 수 있다.

바이오센서가 기존의 센서와 구별되는 점은 생체물질의 선택적인 반응 및 결합을 이용하는 것이므로 바이오센서의 실용화에 있어서 가장 중요한 점은 생체 반응물질의 고정화 기술이라 할 수 있다. 생체물질들은 유리, 실리콘, 고분자, 금과 같은 지지체에 고정되며 고정화 방법을 크게 두 가지로 분류하면 공유결합과 같은 화학적 방법과 흡착 및 캡슐화와 같은 물리적 방법으로 나눌 수 있다. 성공적인 바이오센서 제작 및 향후 연속감지, 현장진단, 실시간 진단 등 바이오센서의 시장을 확대하기 위해서는 생체물질을 고정시키는 지지체는 생체물질이 오랜 기간 동안 활성을 유지시킬 수 있도록 안정화시켜야 하며 우수한 생체 감응을 유도하여야 한다. 본고에서는 최근 각광받고 있는 고분자 하이드로젤을 이용한 단백질, 세포와 같은 생체물질 고정화 및 이를 이용한 바이오센서에 대해 설명하고자 한다.

2. 고분자 하이드로젤

하이드로젤은 불수용성의 친수성 3차원 고분자 네트워크 구조를 가진 물질로 그림 2와 같이 수용액상에서 다량의 물을 내부에 함유하여 팽윤할 수 있는 특징을 가지고 있다. 그리고 다량의 물을 함유한 상태의 하이드로젤은 생체의 조직(tissue)과 매우 유사한 성질을 보이기 때문에 생체재료로 사용할 때 주변의 세포 또는 조직에 미치

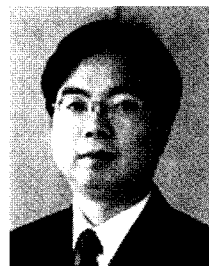
는 영향을 최소화 할 수 있다.

특히 그 안전성이 이미 입증된 poly(ethylene glycol) (PEG)을 재료로 합성한 고분자 하이드로젤은 인체 적용 시 더욱 우수한 생체적 합성을 보여 줄 수 있다. 이 밖에 하이드로젤은 고분자 네트워크 구조에 존재하는 기능성 그룹의 종류에 따라 다양한 기능을 보여주는데, 이러한 기능성 그룹을 하이드로젤에 도입시키는 방법은 하이드로젤 합성 시 사용하는 단량체의 종류를 변화시킴에 따라 손쉽게 이루어질 수 있다. 특정 하이드로젤은 도입되어지는 기능성 그룹의 종류에 따라서 온도, pH, 화학물질과 같은 외부의 화학적, 물리적 자극에 상당히 뚜렷하고 빠르게 반응하는데 이러한 하이드로젤을 지능형 고분자 하이드로젤(intelligent polymer hydrogel or smart polymer hydrogel)이라 한다. 우수한 생체적합성, 외부환경 감응성, 그리고 특정 분자 인지능력 때문에 지능형 고분자 하이드로젤은 인공장기, 약물 전달시스템(DDS), 바이오센서, 그리고 조직공학(tissue engineering)과 같은 바이오메디칼 분야에서 오래전부터 많이 사용되어지고 있다.

3. 하이드로젤을 이용한 단백질 바이오센서

최근 들어 바이오센서의 기능이 단순한 분석을 뛰어넘어 초고속 진단 및 대량검색의 기능이 강조됨에 따라 바이오센서 제조과정에서 생물학, 화학, 의학, 전자, 물리, 컴퓨터, 기계공학 등 최첨단 학문의 관련 기술이 복합적으로 융합되면서 바이오센서가 점점 마이크로에러를 이용한 바이오칩 형태로 소형화, 집적화되어 가고 있다.

현재 선진국의 바이오칩은 대부분 DNA, RNA와 같은 핵산을 분석



고원건

1997 연세대학교 화학공학과(학사)
 1999 연세대학교 화학공학과(공학석사)
 2004 Penn State University(공학박사)
 2004~2005 Stanford University 의과대학 (Post-Doc.)
 2005~ 현재 연세대학교 화학공학과 조교수

Polymeric Hydrogels for Biosensor Application

연세대학교 화학공학과 (Won-Gun Koh, Department of Chemical Engineering, Yonsei University, Sinchon-Dong, Seodaemoon-Gu, Seoul 120-749, Korea) e-mail: wongun@yonsei.ac.kr

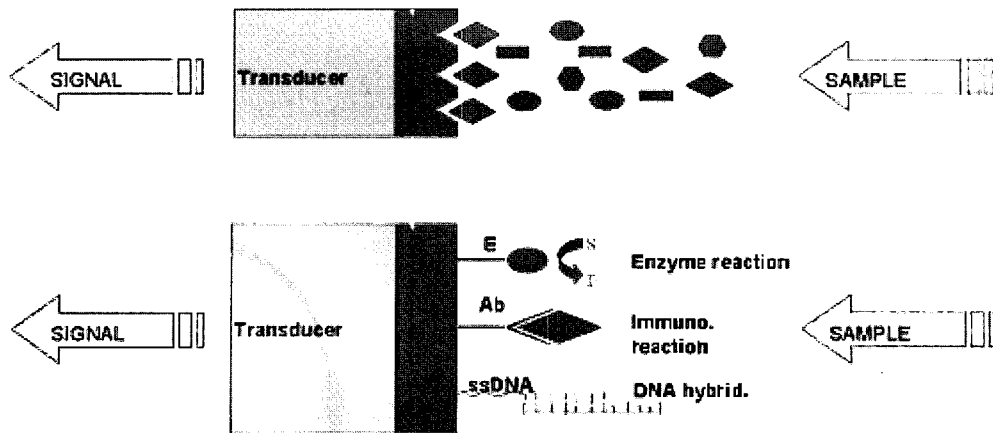


그림 1. 바이오센서의 작동 원리.

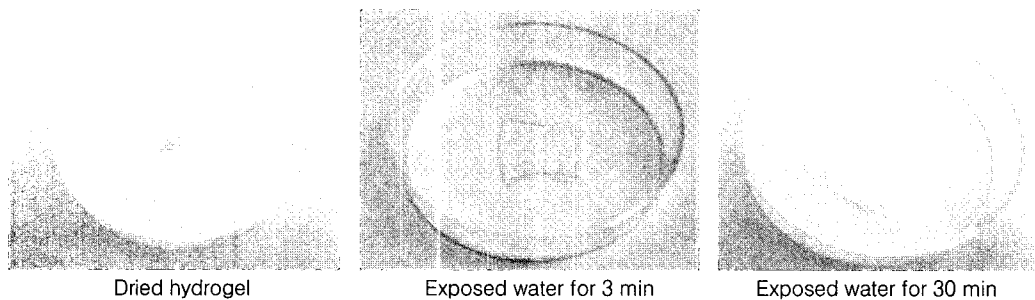


그림 2. 하이드로젤의 물에 의한 팽창.

해 인체 내 특이 질병과 질환을 알아내는 것이 주종이며, 따라서 바이오칩 시장의 대부분을 연구용 DNA칩이 차지하고 있다. 물론 DNA 정보가 생명체에서 일어나는 모든 활동을 근본적으로 지배하고 있지만 질병의 발현과 같은 대부분의 생명현상은 단백질 수준에서 일어나며 clinical diagnostic testing의 99%는 더 직접적인 결과를 알 수 있는 단백질과 저분자 물질 수준에서 일어난다. 따라서 최근에는 단백질 수준에서 생명현상을 이해하기 위한 단백질칩의 연구개발이 활발하게 이루어지고 있다. 단백질칩은 단백질만이 갖는 고도의 선택성과 칩이라는 관점에서의 초고속 대량 스크리닝 기능이 있기 때문에 단백질의 분리, 확인, 정량 및 기능 해석에 이르는 일련의 단백질 분석 작업을 칩 위에서 적은양의 샘플로 수행할 수 있다는 잠재성이 있다. 따라서 단백질칩은 질병의 원인 규명을 유전자 수준에서 단백질 수준까지 확대 규명하는 proteomics 연구 분야와 신약후보물질 발굴, 신약 효능검색 등의 신약개발 분야, 그리고 질병의 진단 및 biomarker 발굴 등의 진단 분야와 같이 생명공학, 보건의료, 제약 산업에서 광범위하게 활용될 수 있다.

단백질칩 기술은 칩의 제조와 관련된 단백질 마이크로어레이 기술과 어레이 형태로 고정화된 단백질과 반응물질과의 상호반응 정도를 정량적으로 검출하고 비교하는 분석기술로 세분할 수 있으며, 성공적인 단백질칩을 제조하기 위해서는 가장 먼저 단백질의 구조 및 기능을 유지하면서 수십에서 수천 종류에 이르는 단백질을 기판위에 어레이 형태로 집적시킨 단백질 마이크로어레이를 제조하여야 한다.

현재 국내외로 가장 널리 쓰이고 있는 단백질 마이크로어레이 제조 방법은 유리 슬라이드를 단백질과 반응하여 공유결합을 할 수 있는 작용기로 코팅한 후, DNA칩 제조에 이용되는 자동화된 스팟팅

NEWS & VIEWS

HYDROGELS

Wet or let die

Proteins are like fish in that they need water to survive — without it they lose vitality and become unable to carry out their functions. A new hydrogel material for protein microarray chips keeps the proteins wet and lively.

그림 3. 하이드로젤을 이용한 단백질 고정화의 필요성(Zhang, *Nature Materials*, 2004).

로봇(spotting robot)으로 단백질 용액을 유리 슬라이드 위에 마이크로 스포팅(microspotting)하여 제조하는 방법이다. 이 방법을 이용하면 비교적 쉽게 단백질 마이크로어레이를 제조할 수 있고 경제적이란 장점은 있으나, 각 spot들 사이의 교차오염 가능성이 있고, 어레이 제조시간이 길다는 단점이 있다. 마이크로 스포팅 외에 최근 들어서는 PDMS stamp를 이용한 microcontact printing(μ -CP)기법으로 단백질 마이크로어레이를 제조하는 방법이 널리 사용되고 있다. 이 방법은 비교적 짧은 시간 내에 단백질 마이크로어레이를 제조할 수 있다는 장점이 있으나, 패턴의 불규칙한 전사로 인한 결함이 자주 발생하고, 템플릿(template)이 요구되는 단점이 있다. 이러한 기존 방법들의 공통된 문제점은 단백질이 단단한 2차원적 고체표면에 결합되어 있어 단백질의 구조가 변형되기 쉽고, 공기중에서 빠르게 건조되어 활성을 잃기 쉽다는 점이다.

그림 3은 2004년 *Nature Materials*지에 실린 MIT 대학의 Zhang 박사의 글 제목이다. 재밌는 표현은 단백질은 물고기와 같아서 활성

을 유지하기 위해서는 물이 필요하며, 건조한 상태에서는 그들의 기능을 수행할 수가 없다는 것이다.

그림 4와 같이 단백질은 수용액 상태에서는 고유의 3차원 구조를 유지하면서 존재하나 **(a)** 수분이 없는 고체표면 위에 고정될 경우 그들이 가지고 있는 3차원 구조를 잃고 변형된다 **(b)**. 하지만 **(c)**와 같이 수분함유량이 높은 하이드로젤 내부에 단백질을 고정할 경우 단백질은 수용액 상태와 마찬가지로 3차원 구조를 유지하게 된다.

따라서 기존의 “dry chip” 형태의 단백질칩에서는 단백질이 유리 기판과 같은 단단한 고체표면에 고정되어 단백질이 가지고 있는 3차원 구조가 깨지거나 단백질이 기판표면에서 건조되어 활성을 잃게 되며 다량의 물을 함유할 수 있는 하이드로젤 마이크로어레이 내부에 효소와 같은 단백질을 고정하여 단백질칩을 제조할 경우 이러한 문제를 해결할 수 있다고 강조하고 있다. 하이드로젤은 주로 poly(ethylene glycol), poly(vinyl alcohol), poly(acrylamide)와 같은 합성고분자나 alginate, agarose, chitosan과 같은 천연고분자로부터 제조되고 있으며, 그 외에도 자기조립형 펩타이드나 단백질을 이용해서도 제조될 수 있다. 현재 대부분의 하이드로젤 마이크로어레이는 기존의 하이드로젤 합성방법에 포토리소그래피(photolithography), 마이크로몰딩(micromolding), 마이크로스팟팅(microspotting)과 같은 기술 미세가공기술을 결합하여 제조된다. 마이크로어레이를 구성하는 하이드로젤 구조물은 3차원 구조를 가진 나노 혹은 마이크로미

터 크기로 제조될 수 있고, 최근 들어서는 이러한 하이드로젤 구조물 내부에 단백질과 같은 생리활성물질을 탑재시켜 고밀도로 집적화된 마이크로어레이 형태의 바이오칩을 제조하고자 하는 노력들이 진행되고 있다.

Penn State Univ. Pishko 그룹과 Texas A&M Crooks 그룹에서는 poly(ethylene glycol) (PEG) 양말단에 acrylate 작용기가 결합된 PEG-diacrylate(DA)를 이용하여 하이드로젤 마이크로어레이를 제조하였다. PEG-DA는 두 개의 acrylate기를 가지므로 개시제에 의해 자유라디칼 중합이 일어날 경우 3차원 구조의 하이드로젤로 가교된다.

DMPA와 같이 UV에 의해 라디칼을 형성하는 물질을 개시제로 이용할 경우, PEG-DA 용액은 negative photoresist와 같은 성질을 가지게 되어 광개시제와 PEG-DA 용액이 코팅된 유리나 실리콘 기판을 photomasks를 이용하여 UV로 조사하게 되면 **그림 5**에 보이듯 여러 가지 모양과 크기를 지닌 3차원 구조의 하이드로젤 마이크로패턴을 제조할 수 있다.

제조된 하이드로젤 마이크로패턴의 물리/화학적 성질들은 PEG의 분자량을 변화시키면서 조절할 수 있다. 예로써 PEG 575로 제조된 하이드로젤은 수분함유량이 약 60%인 반면 PEG 20000으로 제조된 하이드로젤은 수분함유량이 95%에 이른다.

이처럼 높은 수분함유량으로 인해 효소를 비롯한 다양한 단백질이

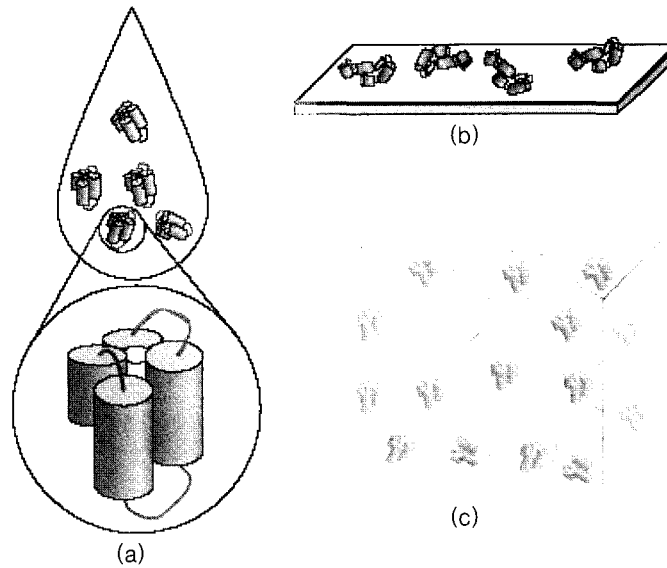


그림 4. 주위 환경에 따른 단백질의 구조 변화(Zhang, *Nature Materials*, 2004).

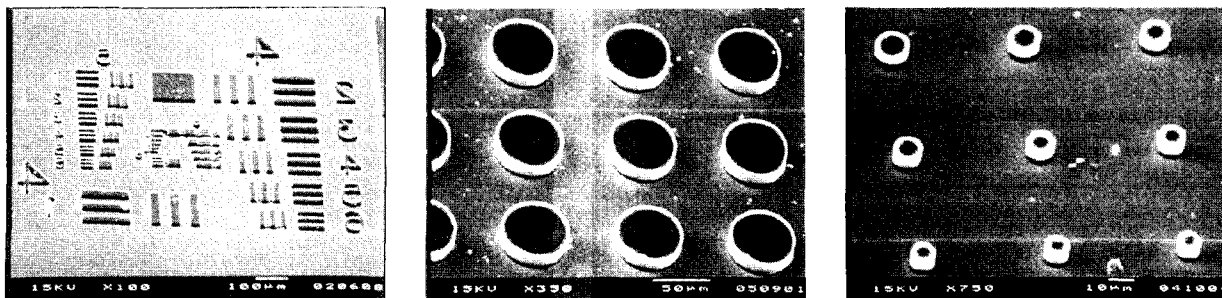


그림 5. Photolithography를 이용해 제조된 PEG 하이드로젤 마이크로패턴.

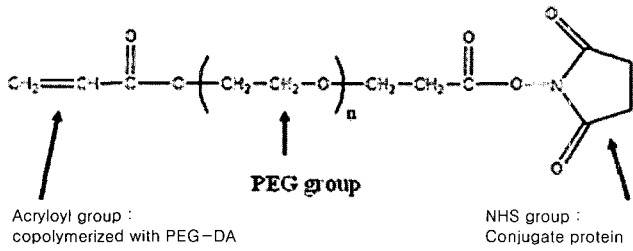


그림 6. Acryloyl-PEG-NHS를 이용한 효소 고정화 방법.

하이드로젤 내부에 구조 및 활성을 유지한 채 고정될 수 있다. 효소를 포함하는 하이드로젤 마이크로어레이는 PEG-DA, 광개시제 용액에 효소용액을 첨가한 전구용액을 포토마스크를 통해 광가교시켜 제조한다. 이때 효소는 가교가 일어나면서 물리적으로 하이드로젤 내부에 고정되는데, 이러한 물리적 encapsulation의 문제는 시간이 지남에 따라 효소가 하이드로젤 내부에서 확산되어 빠져나온다는 점이다. 이를 극복하기 위해 물리적 encapsulation에 acryloyl-PEG-N-hydroxysuccinimide(acryloyl-PEG-NHS)와 같은 bifunctional linker를 이용해 화학적 고정화 방법을 결합시킬 수 있다. 이 경우 효소와 같은 단백질은 한쪽의 NHS 그룹과 결합하고, 다른 쪽 아크릴 그룹은 라디칼 중합에 참여하여 PEG 하이드로젤에 화학적으로 결합하여 아래 그림과 같이 효소가 하이드로젤 chain에 화학적으로 결합된 채 하이드로젤 내부에 고정된다(그림 6).

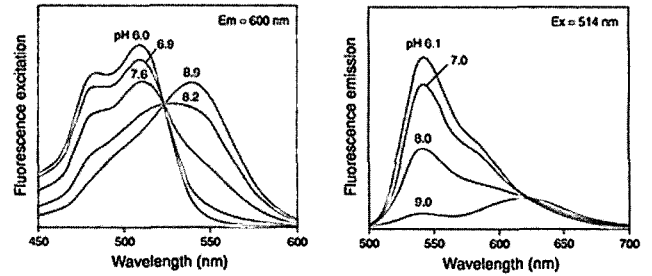
하이드로젤의 투명한 특성은 다양한 광학적 분석방법을 가능하게 하는데, 효소가 결합된 하이드로젤에 형광물질을 첨가할 경우 하이드로젤 내부에서 일어나는 생화학 반응을 감지할 수 있게 된다.

Pishko 그룹은 하이드로젤 마이크로어레이에 고정된 여러 가지 효소들과 기질들의 반응을 SNAFL을 이용해서 분석하였다. SNAFL은 pH 민감성 형광물질로서 산성과 염기성 조건에서 다른 excitation 및 emission peak를 지니므로 dual emission과 dual excitation 성질을 가지고 있다. 즉, 그림 7(a)에서 보듯이 pH 8 이하에서는 510 nm과 545 nm에서 최적의 excitation 및 emission 스펙트럼을 보이나, pH 8 이상에서는 최적의 excitation 및 emission이 각각 545 nm와 645 nm으로 이동하게 된다. 이때 두 가지 emission intensity의 비율(545 nm에서의 intensity/645 nm에서의 intensity)을 pH에 따라 측정할 경우, 그림 7(b)에서 보듯이 emission 비율이 pH에 선형적으로 변화하는 것을 알 수 있었다. 그림 8은 하이드로젤에 고정된 SNAFL의 pH에 따른 형광변화를 보여주고 있다.

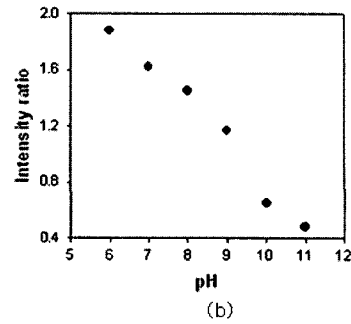
그림 8에서 보듯이 pH 5의 버퍼용액과 반응 시 SNAFL은 강한 연두색, 약한 붉은색을 나타내나 pH 12에서는 emission peak가 이동하여 강한 빨간색, 약한 연두색을 띠게 되는 것을 확인할 수 있었다.

많은 효소들이 기질과 반응하여 pH 변화를 일으키는데 그 대표적인 예가 glucose oxidase, urease, alkaline phosphatase 등이다. Glucose oxidase와 alkaline phosphatase의 경우 각각 glucose 및 *p*-nitrophenylphosphate(pNPP)와 반응하여 gluconic acid와 phosphoric acid를 생성하여 주변 pH를 낮추고, urease의 경우 urea와 반응하여 NH₃⁺를 생성하여 주변 pH를 높이므로 결과적으로 pH 민감성 형광물질인 SNAFL의 emission intensity의 비율 변화를 일으키므로 그것을 측정하여 타겟물질을 감지할 수 있다.

Crooks 그룹은 Amplex Red라는 시약을 이용해 글루코오스 농



(a)



(b)

그림 7. SNAFL의 excitation 및 emission 스펙트럼(a)과 pH에 따른 emission intensity의 비율변화(b).

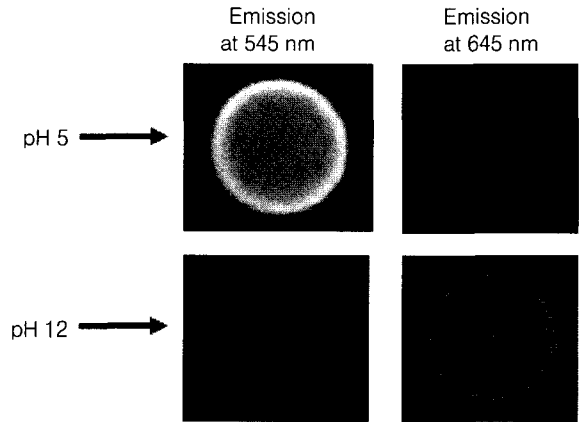


그림 8. 하이드로젤에 고정된 SNAFL의 pH에 따른 광학적 특성 변화.

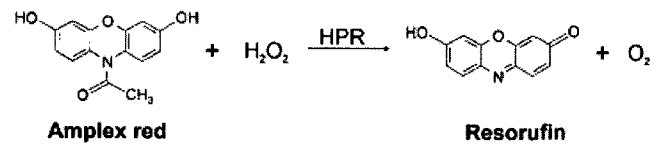


그림 9. Amplex red와 H₂O₂의 반응.

도를 미세유체시스템 내부에 제조된 하이드로젤을 이용해서 감지하였다. 그림 9와 같이 horseradish peroxidase (HRP)의 존재하에 Amplex Red는 H₂O₂와 1 : 1로 반응하여 resorufin이라는 붉은색의 형광산화물을 생성한다. 글루코오스와 glucose oxidase가 반응할 경우 H₂O₂가 생성되므로, 글루코오스 농도가 높을수록 더 많은 H₂O₂가 생성되어 resorufin의 방출 강도가 더 강해지게 되며, 미세채널을 이용할 경우 한 번에 여러 농도의 글루코오스를 측정할 수 있다(그림 10).

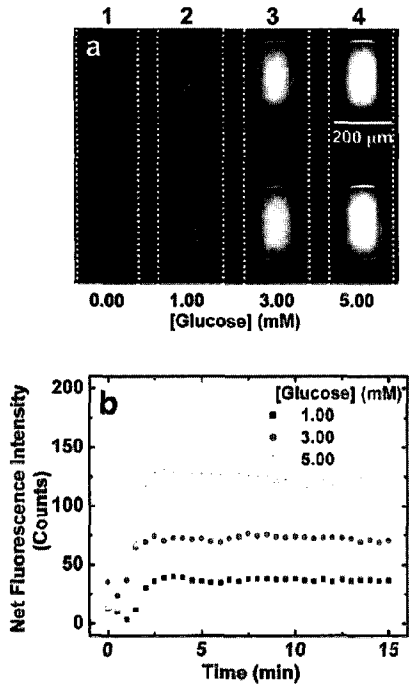


그림 10. 미세유체시스템과 결합된 하이드로젤 마이크로어레이를 이용한 글루코오스 센서.

4. 하이드로젤을 이용한 세포센서 시스템

세포센서(cell-based biosensor)는 살아있는 세포를 생체감지 물질(biorecognition molecule)로 이용하여 다양한 계측대상물질(analyte)들을 검출할 수 있는 바이오센서로서 초고속 신약 진단(high-throughput drug screening) 시스템이나 생화학 무기 및 병원균의 검출에 대한 잠재적 응용 가능성으로 인해 최근 들어 동물세포를 이용한 바이오센서를 중심으로 활발한 연구가 진행되고 있다. 세포센서는 센서에 고정화된 세포들이 신약과 같은 분석물질과 반응한 후 생기는 세포의 여러 가지 대사작용(metabolism) 및 생존력(viability)의 변화를 전기화학 혹은 광학적인 방법으로 검출 및 분석하게 된다.

효소(enzyme)나 항체(antibody)를 이용한 바이오센서와는 달리 세포센서는 특정한 한 물질과만 반응하는 특이성은 없으나 세포들의 신진대사 및 생존력의 변화를 모니터링 함으로서 다양한 물질들을 고감도로 검출할 수 있으며, 생명체의 가장 기본단위인 살아있는 세포를 이용함으로써 독성물질, 병원균, 신약 등과 같은 개체대상물질들에 대한 분석적인 정보 외에도 그들이 실제 생명체의 생리현상에 미치는 영향에 대한 정보를 제공해 줄 있다. 따라서 세포센서는 독물학(toxicology) 및 신약의 효능을 평가하는데 있어 실제 동물을 이용한 값비싼 임상실험의 필요성을 최소화시킬 수 있는 잠재력을 지니고 있다.

현재까지 세포센서를 이용한 대부분의 분석은 96 well plate 혹은 384 well plate 와 같이 보다 고밀도로 집적화된 well plate 포맷을 이용해 행하여져 오고 있으나, 최근 들어서는 바이오칩 연구가 활발히 이루어지면서 세포센서 또한 마이크로어레이를 이용한 바이오칩 형태로 제조하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 마이크로어

이 형태의 세포센서를 제조하기 위해 가장 먼저 선행되어야 할 연구는 세포의 상태를 모니터링할 수 있도록 각각의 세포들을 마이크로미터 크기의 개별적인 공간에 정확하게 고정시키는 것인데, 이를 위해 많은 연구들이 “cell patterning”이라는 분야에서 행하여지고 있다.

Cell patterning은 마이크로미터 수준으로 여러 세포들을 특정한 위치에 고정시켜 패턴닝된 세포 어레이를 만드는 작업으로서 세포-세포, 세포-표면, 세포-매트릭스 사이의 상호작용과 같은 기본적인 세포생물학을 연구하는데 필요한 모델 시스템을 제공해줄 수 있을 뿐만 아니라 세포센서를 제조하는데도 필요한 기술이다. 이러한 마이크로패턴닝된 세포 어레이는 기존의 MEMS(micro electro mechanical system)기술을 바이오/의료분야의 needs에 맞게 적용하여 제조되는데 현재까지는 금속이나 플라스틱과 같은 2차원 표면을 photolithography와 soft lithography를 이용하여 마이크로패턴닝한 후 패턴닝된 표면 위에서 세포의 선택적 부착(adhesion) 및 성장(growth)을 제어하여 세포 어레이를 만드는 방법이 가장 널리 사용되고 있다. 하지만 이러한 2차원 시스템에서는 non-adherent 세포들을 고정화시키기가 어렵다는 단점이 있다. 또한 세포들이 실제 동물 신체 내에서는 2차원 표면이 아닌 단백질, 다당류 등을 포함한 extracellular matrix(ECM)로 구성된 3차원 구조의 하이드로젤 내부에 고정되어 성장하므로, 2차원 시스템에 고정된 세포들은 실제와는 다른 부자연스러운 환경에 존재하게 된다.

예를 들어 그림 11과 같이 2차원 배양 혹은 세포의 크기보다 훨씬 더 큰 기공구조에서는 세포막의 일부 리셉터만이 바인딩하여 세포가 납작하게 spreading 되지만 하이드로젤의 나노기공 구조는 세포의 크기보다 큰 기공 구조에 비해 세포막 리셉터들에게 더 많은 바인딩 사이트를 제공하여 세포가 3차원적으로 spreading 할 수 있게 해준다.

따라서 2차원 시스템에 고정된 세포들의 신약과 같은 개체대상물질과의 반응은 실제 신체 내에 존재하는 세포들의 반응과는 크게 다를 수 있어 부정확한 정보를 제공해 주게 될 가능성이 매우 높아진다. 최근 들어 하이드로젤을 이용한 세포배양 시스템 개발이 MIT, 콜로라도 대학 등을 중심으로 활발히 이루어지고 있으며, 3차원 배양을 위한 펩타이드 하이드로젤이 BD Bioscience에서 “PuraMatrix”라는 이름으로 상용화되었다. 3차원 하이드로젤을 이용할 경우 2차원 배양시스템에서 중앙세포와 같이 비정상적으로 증식하던 human

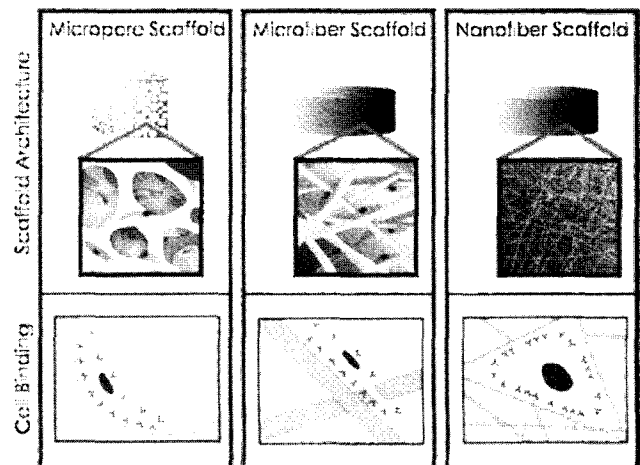


그림 11. Scaffold에 따른 세포의 adhesion 및 spreading.

breast epithelial cell이 정상적으로 성장하여 전형적인 가슴조직을 형성한다고 보고되었으며, embryonic stem cell의 경우 3차원 배양 시스템에서 훨씬 더 효과적으로 분화된다는 사실이 보고되었다. MIT의 Bhatia, Langer 그룹 및 PennState Pishko 그룹에서는 3차원 구조의 하이드로젤 마이크로패턴 내부에 세포를 고정하는 즉, cell encapsulation 기술과 미세가공기술을 결합하여 새로운 cell patterning 방법을 개발하여 세포센서로의 응용 가능성을 연구하였다. 세포를 포함한 하이드로젤 마이크로패턴을 제조하기 위해서는 acrylated PEG과 광개시제를 포함하고 있는 수용액에 세포를 첨가하고, 이 용액을 이용해 실리콘과 같은 기판 표면을 코팅한 후, photomask를 통하여 UV를 비춘다. 이때 UV에 의한 자유라디칼 중합(free radical polymerization)에 의한 가교 및 gelation이 일어나면서 하이드로젤이 제조되고 그와 동시에 세포들이 자연스럽게 3차원 구조의 하이드로젤 내부에 고정되고, 최종적으로 가교가 일어나지 않은 부분을 제거함으로써 원하는 세포패턴을 얻게 된다(그림 12).

그림 13은 이러한 방법으로 제조된 원통형 구조의 하이드로젤 마이크로패턴을 보여준다. 그림 13(a)는 지름이 600 μm 인 하이드로젤 마이크로패턴 내부에 고정된 세포들의 광학현미경 사진이며, 그림 13(b)는 세포를 함유하고 있는 지름 50 μm 의 하이드로젤 마이크로패턴을 보여주는 SEM 사진이다. PEG 하이드로젤의 투명한 특성으로 하이드로젤 내부에 고정된 세포는 광학현미경으로 관찰이

가능하다. SEM으로는 하이드로젤 내부에 세포의 존재 유무를 확인할 방법이 없으나 그림 13(b)에서 보듯이 형광현미경으로 세포의 유무를 확인할 수 있었다. 세포를 포함하고 있는 하이드로젤 마이크로패턴은 미세유체채널 내부에서도 제조될 수 있으며, 그림 13(c)은 PDMS로 제조된 미세유체채널에 세포를 포함하고 있는 하이드로젤의 제조 과정을 보여준다.

이와 같이 세포를 3차원 구조의 하이드로젤 내부에 고정시킬 때 가장 중요한 점은 UV에 의한 가교과정 동안 세포가 생존력 및 기능을 유지하고 있어야 한다는 점이다. 세포의 생존력은 다양한 방법에 의해 측정될 수 있는데, 그중 한 방법이 Live/Dead Viability/Cytotoxicity fluorescence assay이다. 이 assay는 SYTO 10과 Dead Red라는 두 가지 형광물질을 이용하는데, 형광현미경으로 관찰 시에 죽은 세포는 빨간색으로 살아 있는 세포는 녹색으로 나타나게 된다. 그림 14(a)는 600 μm 지름을 가진 하이드로젤 내부에 세포들을 고정시킨 후 행한 Live/Dead fluorescent viability assay를 보여주는 그림이다. 그림에서 보이듯이 대부분의 세포들이 하이드로젤 제조 후에도 생존력을 유지하고 있음을 알 수 있다. 그림 14(b)는 이러한 viability assay를 이용하여 독성물질을 검출하는 예를 보여준다. 이 경우 하이드로젤 내부에 고정된 세포를 sodium azide 용액과 반응시킨 후 세포의 생존력을 확인해 보았는데, 그림 14(b)에 보이듯이 sodium azide에 의해 대부분의 세포가 하이드로젤 내부

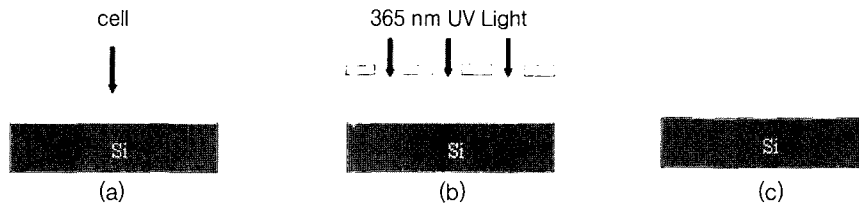


그림 12. 세포를 함유하고 있는 하이드로젤 마이크로패턴 제조 과정.

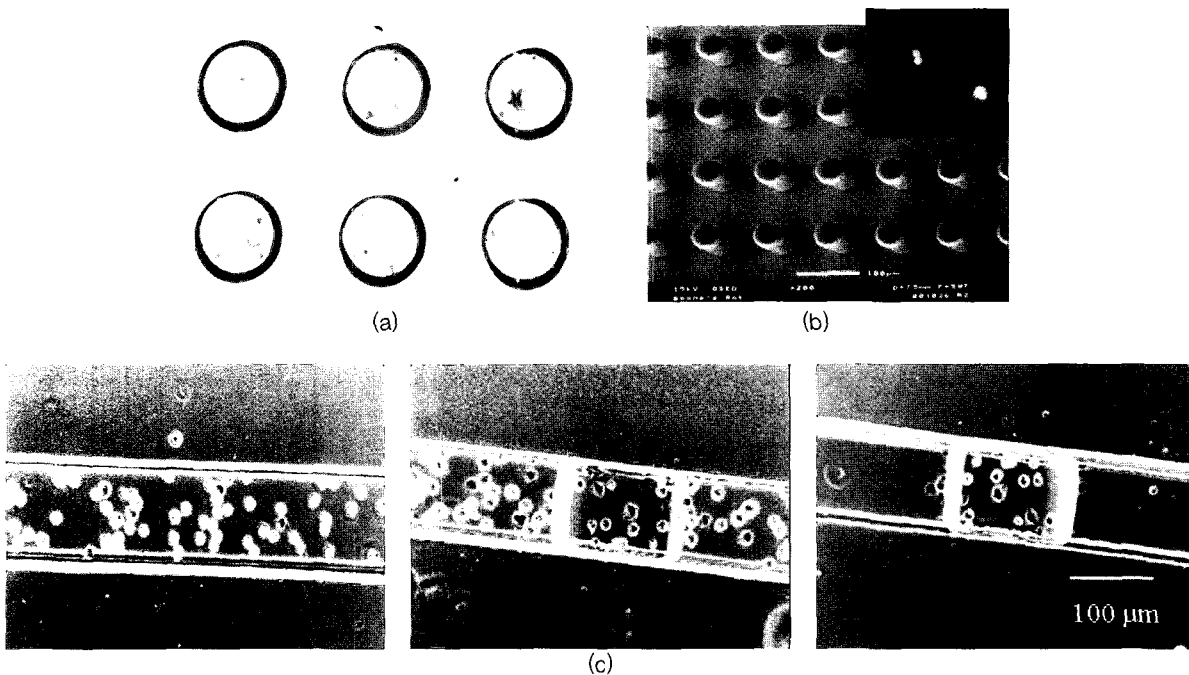
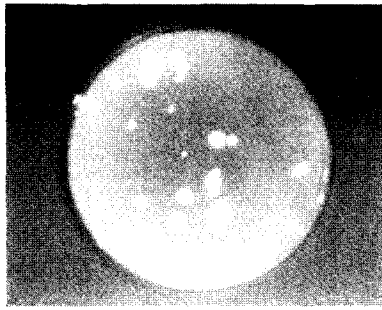
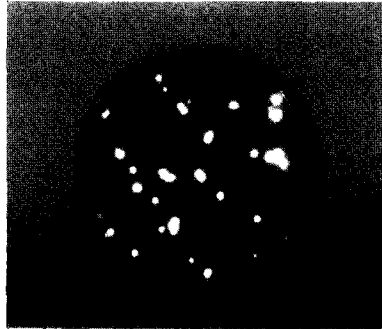


그림 13. 하이드로젤 마이크로패턴 내부에 고정화된 동물세포.



(a)



(b)

그림 14. 하이드로젤 마이크로어레이에 고정된 세포의 viability 테스트.

에서 죽어 있음을 알 수 있다. 즉, 어떤 물질과의 반응에 따른 세포의 생존력 변화를 이용해 그 물질의 독성 및 인체에 미치는 영향을 다양한 assay를 이용해 확인할 수 있다. 이와 같은 시스템은 다양한 분석 시스템에 적용될 수 있으며, 최근 들어서는 신약 검진 시스템에 적용하고자 하는 노력이 활발히 일어나고 있다. 예를 들어 제약회사가 신규 항암제를 개발하고자 한다고 생각하자. 한 가지 약을 만들기 위해서는 엄청나게 많은 양의 신약 후보군이 제조되기 때문에 이들의 효용성을 일일이 다 동물실험을 통해 증명하기란 쉽지 않다. 동물실험의 전 단계로써 칩 위에 암세포를 포함한 여러 세포가 고정된 어레이를 제조하고 신약 후보 물질을 미세유체채널을 통해 주입시킨 후,

세포의 viability를 측정하여 1차적으로 신약후보들을 스크리닝 할 수 있다면(이상적인 경우 항암제는 암세포만 죽이고 다른 건강한 세포에는 최소한의 영향만을 줘야함) 값비싸고 노동/시간 소비적인 동물실험을 최소화 할 수 있을 것이다.

5. 맺음말

기존의 하이드로젤 연구가 주로 약물전달과 조직공학에 초점이 맞추어져 있었으나, 최근 들어서는 마이크로/나노 가공 기술과 결합하여 Bio-MEMs, 미세중합분석시스템(μ -TAS)을 이용한 바이오센서 등으로 그 응용범위를 더욱 넓혀가고 있는 시점에서 본고에서는 고분자 하이드로젤을 이용한 바이오센서에 대해 단백질 및 세포칩 위주로 간략하게 소개하였다. 이 글에서는 주로 광학적 방법을 이용한 분석 기술에 초점이 맞춰져 있으나 전도성 물질을 하이드로젤에 결합시켜 전기화학적으로 분석하는 방법 또한 널리 개발되고 있다. 앞으로 의학, 공학, 생명과학 등 다른 여러 학문들 간의 효율적인 협동연구에 의해 고분자 하이드로젤의 응용은 더욱 활발해질 것으로 기대되어 진다.

참고문헌

1. A. Revzin, R. J. Russell, V. K. Yadavalli, W. Koh, C. Deister, D. D. Hile, M. B. Mellott, and M. V. Pishko, *Langmuir*, **17**, 5440 (2001).
2. W. Koh, A. Revzin, and M. V. Pishko, *Langmuir*, **18**, 2459 (2002)
3. V. A. Liu and S. N. Bhatia, *Biomedical Microdevices*, **4**, 257 (2002).
4. W. Zhan, G. H. Seong, and R. M. Crooks, *Analytical Chemistry*, **74**, 4647 (2002).
5. S. Zhang, *Nature Materials*, **3**, 7 (2004).
6. J. Heo and R. M. Crooks, *Analytical Chemistry*, **77**, 6843 (2005).