

항체기반 바이오센서 기술개발 동향

글 _ 변재철
연세대학교 신소재공학과

1. 서론

바이오센서는 복잡한 혼합물 시료 내에서 특정분석대상물질의 농도를 측정하는 분석기기이다. 일반적인 바이오센서는 특정대상물과 선택적으로 반응하는 효소, 항체, 핵산 등의 분자인지도구와 이들이 분석대상물과 상호작용(산화환원 반응, 결합반응 등)을 일으킬때 수반되는 물리적 변화를 정량적인 전기적 신호로 변환하는 트랜스듀서로 구성된다 (Fig. 1) 이러한 바이오센서는 체액, 환경시료 등 복잡한 혼합물 시료에 대해 유사구조를 갖는 성분의 간섭을 피해 분석대상물의 농도를 측정하는 높은 선택성과 극도의 저농도 시료측정을 위한 높은 민감도의 구현이 가능한 장점을 가지고 있다 (Table 1). 예를 들어 인간의 혈액은 2000종 이상의 단백질과 100여종의 대사물질로 구성되는 복잡한 혼합물이므로 기존의 분석방법으로 특정 단백질 혹은 한가지 대사물질의 농도를 간단한 방법으로 측정하기는 매우 어렵다. 현재 의료진단에서 사용하는 혈액분석용 바이오센서는 특정분석대상물과 선택적으로 반응하는 효소, 항체, 핵산 등을 이용하여 특정 단백질 혹은 대사물질의 농도를 fg/ml 이하까지 측

정 가능한 것으로 보고하고 있다¹⁾. 바이오센서를 이용한 의료진단은 인간의 체액을 이용하여 질환의 조기진단 혹은 모니터링을 목적으로 한다. 일반적으로 혈액, 타액, 땀 등을 이용하여 질환과 관련된 단백질 혹은 대사물질(분석대상물)과 선택적으로 반응하는 효소, 항체 등을 이용하여 분석대상물의 존재유무(정성분석) 및 농도(정량분석)를 측정하여 질환진단을 수행한다. 항체는 현재 바이오센서에 사용되는 대표적인 분자인지물질이다²⁾. 일반적으로 인체의 면역계는 비자기(non-self)물질이 체내에 침입하면 이에 위해 항체를 생산하며, 외부물질(항원)과 선택적으로 결합하여 인체보호를 위한 일련의 과정을 일으키는 역할을 한다. 바이오센서는 항체가 특정물질을 항원으로 인식하여 결합을 일으키는 특성을 분자인지도구로 이용한다. 특정분석대상물에 대한 항체는 실험동물에 주입하여 생산이 가능하며, 생물유래물질이 아닌 인공유기물에 대해서도 항체를 생산할 수 있는 장점으로 인해 바이오센서의 분자인지물질로 널리 사용되고 있다. 예를 들어, 감염성 질환의 경우 세균이나 바이러스가 인체에 감염하여 발생하며 진단을 위해서는 일차감염원인 세균이나 바이러스의 단백질을 검출하고 이차적으로는 감염 후 일정시간이 경과함에 따라 인체의 면역계가 생산하는 항체 등의 단백질을 검출하여 감염여부 및 진행단계를 결정한다. 심근경색 등의 순환계 질환에 대해서는 손상된 심근에서 유리된 마이오글로빈, 트로포닌, ck-mb 등의 심근유래 단백질과 선택적으로 결합하는 항체를 이용하여 이들 단백질을 정량적으로 검출함으로써 질환을 진

Table 1. 바이오센서의 민감도

바이오센서	측정 파라미터		문헌
	측정범위 (ng/ml)	측정한계 (ng/ml)	
Capacitive biosensor	0.001-1	0.001 (fg/ml)	3)
SPR	100-10,000	20	4)
QCM	50-1,000	16	5)
Flow-injection ELISA	0-300,000	-	6)

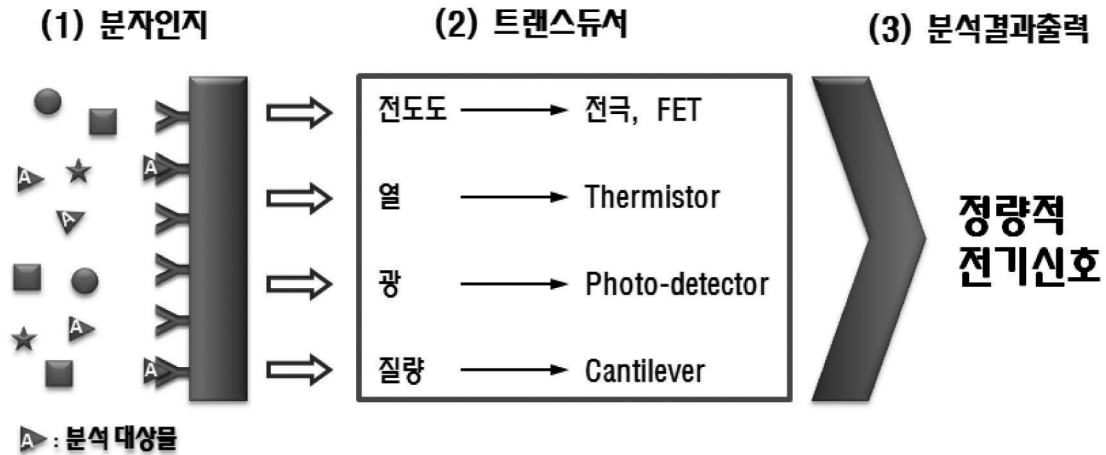


Fig. 1. 바이오센서 원리. (1) 복잡한 혼합물 내의 분석대상분자를 트랜스듀서에 고정되어 있는 분자인지도구(항체)로 인지, (2) 트랜스듀서를 이용하여 분자인지도구와의 상호작용으로 발생하는 전도도, 열량, 광, 질량 등의 물리적 변화를 정량적 전기신호로 변환, (3) 트랜스듀서의 전기신호를 분석대상물의 농도로 분석결과 최종출력한다.

단하며 항혈전제 처치 등의 처방 등을 결정하게 된다. 이와 같이 바이오센서를 이용한 의료진단 혹은 환경모니터링을 위해서는 특정분석대상물에 대해 선택적으로 상호작용을 일으키는 분자인지도구의 개발을 필요로 하며, 높은 민감도로 분석대상물과 분자인지도구의 상호작용을 정량화하기 위한 고감도 트랜스듀서의 개발이 요구된다. 현재까지 상용 바이오센서 개발동향과 관련하여 다양한 관점의 분석이 보고되었으며, 본 동향보고서에서는 근래에 보고되고 있는 새로운 개념의 분자인지도구 및 나노신소재를 적용한 트랜스듀서 기술개발 동향에 초점을 맞추어 고찰하고자 한다.

2. 항체기반 바이오센서 기술개발 동향

2.1. 인공항체재료의 개발

바이오센서에 사용되는 분자인지재료는 분석대상물에 대해 높은 특이성을 갖추고 있어야 한다. 대표적인 분자인지재료인 효소의 경우, 분자내 활성부위(active site)에서 반응을 일으키는 분석대상물과 수소결합, 극성결합, 무극성결합 등 다양한 상호작용을 일으켜 반응을 진행시키기 위해 넘어야 하는 전이단계(transition state) 에너지를 낮추어 반응을 촉매하는 역할을 한다. 화학반응은 분

자간의 충돌에 의해 일어나며, 유효반응은 반응물의 특정부위간에 충돌이 일어나야 한다. 반응의 활성화에너지(activation energy)는 이러한 유효반응을 일으키기 위해 사용되는 에너지이며, 효소는 활성부위를 통해 반응물이 유효반응을 일으키기 좋은 환경을 제공하므로 효소를 사용하는 경우 낮은 활성화에너지를 사용한 반응의 진행이 가능하다. 항체의 경우에는 항원을 결합하는 결합부위(binding pocket)에서 효소의 활성부위와 같이 항원분자와 수소결합, 극성결합, 무극성결합 등을 통해 안정화된 항원-항체의 결합구조체를 형성한다. 이러한 항원-항체 결합 시에 나타나는 상호작용은 유전율, 굴절률, 전도성 등과 같은 물리적인 변화를 수반하며, 항체기반 바이오센서는 분자인지도구인 항체가 항원을 결합할 때 일으키는 물리적 변화를 트랜스듀서로 측정하여 항체에 결합하는 항원의 양을 측정하게 된다. 최근 개발되고 있는 항체를 대용하기 위한 분자인지재료의 특징은 기존 항체와 같은 생체물질이 아닌 고분자물질 혹은 무기물질을 사용한 분자인지재료의 개발이 두드러지는 점이다. 본 장에서는 최근 바이오센서적용을 위해 개발되고 있는 대표적인 분자인지재료에 대해 소개하고자 한다.

2.1.1. 촉매항체 (Catalytic antibodies, Abzyme)

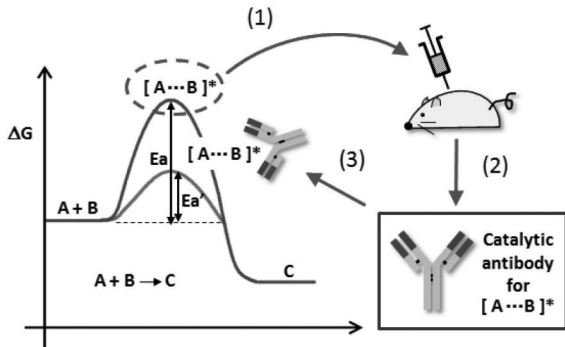


Fig. 2. 촉매항체의 제조 및 촉매반응. 반응 $A+B \rightarrow C$ 의 진행을 위해서는 전이상태(transition state)를 지나야 하며 이를 위해서는 활성화 에너지 E_a 가 필요하다. (1) 촉매항체의 제조를 위해 전이상태 구조 $[A \cdots B]^*$ 와 유사한 유기분자를 합성하여 항체생산을 위한 실험동물에 주입, (2) 생산된 촉매항체는 전이상태 구조 $[A \cdots B]^*$ 와 결합하여 상호작용을 통해 전이상태를 안정화함. (3) 안정화된 전이상태를 갖는 반응과정을 통해 낮은 활성화 에너지 E_a' 로 반응 $A+B \rightarrow C$ 가 진행되도록 반응을 촉매한다.

촉매항체는 촉매역할을 할 수 있는 항체를 뜻하며, 실제로는 특정반응의 전이단계(transition state)와 유사한 구조를 갖는 분자를 설계하여 유기합성한 후, 실험동물에 항원으로 주입하여 제조한 항체이다⁷⁾. 일반적으로 자연계에서 발견되는 효소는 특정 반응물에 대해서 반응을 높은 효율로 촉매하는 역할을 하지만, 다른 유사 반응물에 대해서는 전혀 반응을 촉매하지 않는 높은 선택성을 장점으로 가지고 있으므로 공업적으로 요구되는 유사반응에 대해서 사용이 어려운 단점을 동시에 가지고 있다. 항체의 경우, 생체 내에 비자기(non-self)성 물질이 침입하면 이를 결합하는 항체가 면역계에서 만들어지는 특성이 있으므로 전이상태 유사구조를 합성하여 주입하면 이를 인지하는 촉매항체를 제조가 가능하다. 반응물이 전이상태(transition state)에 도달하면 촉매항체의 결합부위(binding pocket)내에서 상호작용을 통해 결합반응을 일으켜 반응의 전이상태 안정화를 유도하여 낮은 활성화에너지로 반응을 진행할 수 있으므로, 촉매항체는 해당반응에 대해 촉매로 역할을 수행한다 (Fig. 2). 일례로 인체의 흥분신호는 신경말단에서 분비되는 신경전달물질인 도파민의 작용으로 전달된다. 이후 도파민은 전단신경에 흡수되어 흥분신호전달이 종료된다. 코카인은 분비된 도

파민의 흡수를 막아 도파민의 지속적인 작용으로 흥분신호가 신경을 통해 지속적으로 전달되게 하는 역할을 한다. 앞서의 방법대로 코카인을 분해하는 반응의 전이단계에 해당하는 분자를 합성하고 이를 항원으로 하는 촉매효소를 제조하여 코카인 중독자들에게 투약하는 경우 실제 코카인의 분해를 통해 코카인 중독자의 면역치료가 가능성이 보고되어 있다⁸⁾. 촉매항체를 이용한 바이오센서는 분자인지를 일으키는 반응물이 촉매항체와 결합하여 에너지를 분산하거나 산화환원 반응을 통해 전자전달을 일으키는 물리적 변화를 트랜스듀서를 통해 감지하는 방법으로 구성이 가능하다⁹⁾. 이와 같이, 촉매항체는 특정반응의 촉매가 필요할 때 인공효소를 인위적인 방법으로 개발할 수 있는 가능성을 제시하고 있다는 점에서 높은 응용가능성을 가지고 있다. 현실적으로 의료진단 및 환경모니터링을 위한 촉매항체의 바이오센서 적용을 위해서는 적합한 전이상태 구조를 유기합성하고, 이에 대한 단일클론 항체를 제조가 요구되므로 아직까지 개발과정이 어려운 문제점을 가지고 있다.

2.1.2. 분자 임프린트 기술 (Molecular imprinting)

높은 선택성으로 분자인지를 일으키는 효소, 항체, 핵산 등은 생체유래물질이므로 바이오센서 적용을 위해 트랜스듀서의 표면에 고정할 경우 장기보존이 어렵고, 고정후 활성이 낮아지는 등 안정성에 문제점이 제기되어 왔다. 또한 생산을 위해서는 실험동물 등 생체를 이용해야 하므로 대량생산과 일정한 품질유지가 어려운 단점이 있다. 또한, 항체는 생체를 이용하여 제조되므로, 독극물 및 환경오염물질 등에 대해서는 제조가 어려운 문제를 가지고 있다. 분자 임프린트는 고분자를 이용하여 항체와 같이 특정분자를 결합하는 분자인지물질을 인공적으로 합성하는 방법이다. 앞서 기술한 바와 같이 항체의 결합부위(binding pocket)에서 항원을 결합하는 상호작용은 수소결합, 극성결합, 무극성결합 등 항원과 항체에 존재하는 화학기능기간의 상호작용에 의한 것이다. 분자임프린트 기술에서는 항원을 고분자의 단량체와 혼합한 후 중합반응을 통해 항원을 둘러싸는 고분자물질을 중합하고, 이후 항원에 해당하는 물질을 분리하여 고분자에 항

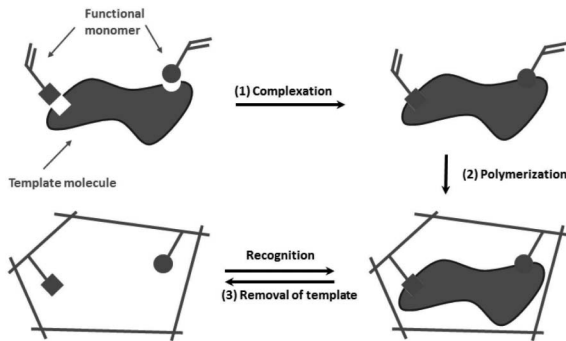


Fig. 3. 임프린트 합성방법. (1) 원본분자(template)와 고분자 단량체를 혼합하여 상호작용 유도, (2) 고분자 중합반응 진행, (3) 고분자 내에 결합되어 있는 원본분자 제거하면 합성된 임프린트는 원본분자에 대해 분자인지능력을 가진다.

원분자 자리를 찍어내는(임프린트) 방법이다 (Fig. 3) 이러한 임프린트 부위는 이후 항원과 결합시 화학기능기간 상호작용을 통해 안정한 항원-임프린트 결합체를 형성하여 항체와 같은 결합반응을 나타내게 된다¹⁰⁾. 높은 선택성을 갖는 임프린트의 제조를 위해서는 사용되는 고분자의 단량체의 적합한 선정이 요구되며, 일반적으로 단일종이 아닌 여러 단량체를 혼합한 후 중합을 유도하여 항원과의 화학기능기간 상호작용 가능성을 높여주는 방법이 사용된다. 이와 같은 임프린트 방법은 실험동물 등 생체조건 없이 항체와 같이 높은 선택성을 갖는 분자인지물질을 인공적으로 합성할 수 있는 장점을 가지고 있다. 최근에는 바이오센서에 본격적용하기 위해 요구되는 단백질과 같은 고분자물질을 항원으로 한 임프린트에 대한 연구가 진행되고 있다. 일례로 혈장내의 페리틴(ferritin)

단백질을 선택적으로 결합하는 임프린트를 제조하여 전극에 고정한 후 페리틴단백질이 결합하면 일어나는 전극상의 임피던스의 변화를 측정하여 결합된 페리틴단백질의 양을 측정하는 바이오센서가 최근 보고되었다¹¹⁾. 현재까지 임프린트 방법은 고분자 중합 후 항원으로 사용된 물질의 제거과정이 필요하고 높은 선택성의 상호작용을 효과적으로 확보하기 위해 비교적 저분자의 유기분자를 항원으로 사용하는 경우에 적용되어 왔다. 또한, 특정구조의 항원에 대해 높은 선택성을 갖는 임프린트 제조를 위해 필요한 적합한 고분자 단량체의 조성을 예측하기 위한 연구가 여전히 진행 중인 상황이다. 이와 같은 제조상의 문제점이 보강되면 분자 임프린트 기술은 기존의 생체유래 분자인지물질을 대체할 수 있는 강력한 후보로 평가되고 있다.

2.1.3. 압타머 (Aptamer)

압타머 (Aptamer)는 그 자체로 안정된 삼차구조를 가지면서 표적분자에 높은 친화성과 특이성으로 결합할 수 있는 특징을 가진 단일가닥 핵산 (DNA, RNA 또는 변형핵산)으로 “fitting”의 의미를 가지는 라틴어 “aptus”에서 그 어원이 유래했다. 압타머는 1990년에 Colorado 대학의 Larry Gold 연구팀에 의해 SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment)라는 압타머 발굴 기술이 처음 개발된 이후¹²⁾, 저분자 유기물, 펩타이드, 막 단백질까지 다양한 표적분자에 결합할 수 있는 많은 압타머들이 계속해서 발굴되어 왔다. 압타머는

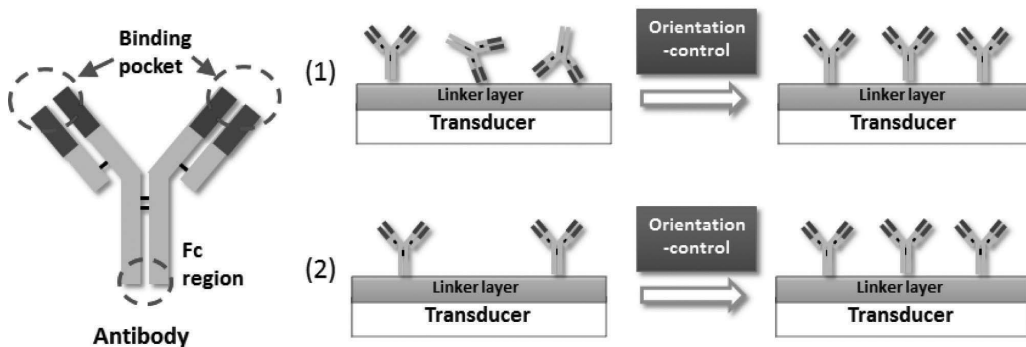


Fig. 4. 바이오센서의 감도향상을 위한 항체고정 개선. (1) 항체배향조절, (2) 항체표면밀도조절.

고유의 높은 친화성 (보통 pM 수준)과 특이성으로 표적 분자에 결합할 수 있다는 특성 때문에 자주 단일 항체와 비교가 되고, 특별히 “chemical antibody”라고도 불리는 만큼 대체항체로서의 가능성도 매우 높다. 먼저 압타머의 장점들을 살펴보면 다음과 같다¹⁾. 항체는 분자 구조가 크기 때문에 (~150 kDa) 생산하는데 어려움이 있고 변형 (modification) 또한 용이하지 못한 반면, 압타머는 약 20~60 mer 정도 길이의 핵산으로 구성되어 있는 작은 분자 구조이고, 여러 필요한 변형이 용이한 장점을 가지고 있다²⁾. 압타머는 항체에 비해 안정성이 매우 높다. 단백질이나 항체 의약품의 경우 실온에서 보관이나 운반이 불가능하지만 압타머는 가능하고, 심지어 멸균 후에도 기능을 유지할 수 있으며, 만약 변성 (denaturation)이 되더라도 다시 짧은 시간에 재생 (regeneration)이 가능하기 때문에 특히 장시간 또 반복사용이 요구되는 진단용으로의 응용이 매우 용이하다³⁾. 항체의 경우 동물이나 세포를 이용하여 만들기 때문에 생산하는데 많은 시간과 비용이 요구되며, 또한 만든 시기에 따라 가능성이 달라질 가능성도 있다 (batch to batch variation). 하지만 압타머는 화학적 합성방법을 이용하기 때문에 단시간에 적은 비용으로 생산이 가능하고, batch to batch variation이 거의 없으며 또한 고순도의 정제과정이 매우 용이하여 생산적인 측면에서 탁월한 장점을 갖고 있다⁴⁾. 항체나 다른 의약품 단백질의 경우에 쉽게 나타나는 생체내 면역 거부반응이 거의 일어나지 않는 것으로 알려져 있으며, 이는 치료용으로의 개발연구에 매우 중요한 장점이 될 수 있다⁵⁾. 항체를 만들기 어려운 독소 (toxin), 복잡한 단백질 복합체 또는 당과 단백질 복합체에 대한 압타머를 만들 수 있으며, 또한 새로운 물질에 대한 결합 물질로의 변형이 용이하여 (flexibility) 새로운 압타머 발굴에 활발히 응용될 수 있다. 이와 같은 압타머는 항체를 이용하는 전기화학센서 및 광학센서에 두루 활용이 가능하다³⁾.

2.1.4. 항체배향 조절기술 (Orientation control)

항체는 2개의 긴가닥(heavy chain)과 2개의 짧은가닥(light chain)으로 이루어진 단백질이며, 대표적인 항체인 immunoglobulin G (IgG)의 경우 분자량이 150 KDa인

고분자물질이다. 항체의 3차원구조는 Y자형태를 가지고 있으며, Y자형태의 가지의 끝부분에는 항원을 결합하는 두 개의 결합부위(binding pocket)가 자리하고 있다. 항체의 결합부위는 전체구조에 비해 작은 부피를 차지하고 있으며, 항체의 가지의 끝에 국부적으로 존재하고 있다. 이러한 구조를 갖는 항체를 트랜스듀서의 표면에 고정할 경우, 통계적으로 항원을 인식하는 결합부위가 시료방향으로 노출되는 구조를 가지는 활성항체의 비율은 20% 이내인 것으로 알려져 있다. 따라서, 바이오센서의 민감도를 높이기 위해서는 같은 수의 항체가 고정되는 경우 1) 항원을 결합할 수 있는 활성 배향의 항체비율을 높이거나 (배향조절), 2) 트랜스듀서의 표면에 고정하는 항체의 분자수를 늘이는 방법(표면밀도조절)이 사용된다 (Fig. 4). 세포나 세균, 바이러스의 경우, 외막표면에 존재하는 단백질을 살펴보면 일단 유전자가 발현되면 100% 동일한 배향과 구조로 단백질이 형성되는 특징을 가지고 있다. 최근 항체의 배향조절을 위해 Y자 형태의 항체구조 끝가지 (Fc 부위)와 선택적으로 결합하는 단백질인 Z-domain을 사용하여 측정의 민감도를 향상시키는 방법이 보고되고 있다. 일례로 간염바이러스의 표면에 Z-domain을 발현시킨 후, 항체를 결합시켜 배향을 조절한 논문이 보고되었다. 이 논문에서는 표면적을 넓히기 위해 나노선을 배열시킨 표면에 Z-domain을 발현하는 바이러스를 흡착시키고, 심근경색 진단용 바이오마커인 트로포닌에 대한 항체를 고정하는 경우 배향조절 및 표면밀도향상의 효과로 민감도가 fg/ml 이하까지 향상됨을 보고하였다⁴⁾. 유사한 연구결과로 Z-domain을 대장균의 표면에 발현시킨 후 대장균의 외막을 분리하여 트랜스듀서의 표면에 옮겨 항체의 배향조절을 구현한 논문이 보고되었다⁵⁾. 이와 같은 대장균 외막에 발현된 Z-domain을 적용한 바이오센서의 경우 항체의 배향조절 이전과 비교할 때 민감도가 200배 이상 향상이 가능함을 보고하였다. 이와 같은 항체의 배향조절 기술은 이미 산업화가 진행되어 안정적인 생산기술이 마련되어 있는 기존의 항체를 이용하여 바이오센서의 민감도를 크게 향상시키는 기술이므로 의료진단 및 환경모니터링 등 각종 바이오센서의 응용분야에 넓은 활용이 가능할 것으로 기대된다.



2.2. 고감도 트랜스듀서 개발

바이오센서의 트랜스듀서는 분자인지부분에서 일어나는 분석대상물과의 상호작용으로 발생하는 물리적 변화를 정량적인 전기신호로 변환하는 도구이다. 분자인지물질의 경우 유사한 구조와 성질을 갖는 분석대상물에 대해 높은 선택성을 갖는 것이 요구되며, 트랜스듀서의 경우 높은 민감도, 넓은 측정범위, 재현성, 측정한계 등의 측정 파라미터가 주요 고려사항이다. 향체를 이용하는 경우 분석대상물과의 상호작용으로 발생하는 물리적 변화는 유전율, 임피던스와 같은 전기적 변화, 굴절률 변화와 같은 광학적 변화, 질량변화, 결합에너지의 유출로 인한 온도변화 등으로 다양하며, 적용되는 물리적 변화는 트랜스듀서를 제작하는 센서기술 및 새로운 측정원리의 적용 등을 통해 다양하게 선택되어 왔다. 본 장에서는 향체를 이용하여 사용되는 트랜스듀서에 대해 고찰하고자 한다.

2.2.1. 전기적 트랜스듀서

종래의 전기적 트랜스듀서는 전기화학을 기반으로 하여 산화환원 반응에서 발생하는 전류를 측정하는 암페로메트리, 특정이온이 이온선택성 전극에 흡착시 발생하는 전기신호를 측정하는 포텐시오메트리 등이 잘 알려져 있다. 일반적으로 향원-향체의 결합에 의해 직접적으로 발생하는 전기적 변화는 캐패시턴스, 전도도, 임피던스 등이 있으며, 기존의 암페로메트리와 포텐시오메트리 등으로는 직접적인 측정이 어렵다. 현재까지 알려진 향원-향체 반응의 전기적 변화를 측정하기 위해 보고된 전기적 트랜스듀서는 3-전극기반의 전기화학을 이용하는 방법과 FET 등 반도체소자를 이용하는 방법으로 구분된다. 전기화학을 이용하는 방법으로는 향원-향체의 결합반응으로 인해 발생하는 유전율의 변화를 캐패시턴스 변화 혹은 임피던스 변화로 측정하는 방법이 보고되어 있다⁶¹⁷. 두 방법 모두 전극을 절연한 후 주기적으로 펄스를 가해 향원이 결합하기 전과 후의 방전특성 변화 및 임피던스의 변화를 전극으로부터 측정하는 방법이다. 이러한 전기화학 기반의 전기적 측정방법은 매우 높은 민감도와 측정한계를 가지고 있는 것으로 보고되고 있으며 (Table 1), 전극의 제조 및 측정 재현성 확보가 핵심사항으로 알

려져 있다. 반도체 소자를 이용한 향원-향체의 결합반응의 측정은 반도체 공정기술의 발달과 더불어 다양한 형태로 바이오센서에 적용되어 왔다. 하버드의 찰스리버 그룹에 의한 나노선을 이용하여 향원-향체반응을 통한 전도도 변화로 암진단용 바이오마커의 고감도 측정을 보고된 이래¹⁸, 각종 나노선, 탄소나노튜브 등 나노물질을 반도체 소자에 적용하여 감도를 증가시킨 반도체 소자기반의 바이오센서가 다양하게 보고되었다. 또한 나노갭 전극을 FET상에 구현하여 나노갭전극에서 일어나는 극소량의 향원-향체반응의 측정을 통해 민감도와 측정한계 향상이 보고되었다¹⁹. 이러한 반도체 소자 기반의 바이오센서는 측정시 소자를 건조해야하는 문제 등이 제기되고 있으나, 반도체 공정을 통한 대량생산이 가능하며 높은 소자간 재현성이 보장되는 장점으로 고집적화를 통한 다중측정이 가능하여 가까운 미래에 향원-향체반응을 기반으로 한 바이오센서의 전기적 트랜스듀서로 주종을 이루게 될 전망이다.

2.2.2. 광학적 트랜스듀서

광학 트랜스듀서를 이용한 바이오센서는 형광 및 발광 반응을 측정하는 형태로 개발이 시작되었으며, 높은 민감도와 시료용액과 비접촉식 측정이 가능하여 널리 사용되어 왔다. 향원-향체반응의 경우, 결합반응을 통해 형광 및 발광 혹은 발색변화를 일으키는 직접적인 광반응이 일어나지 않으므로 기존의 형광, 발광을 측정하는 방식을 사용하기 위해서는 형광표지향체 혹은 발광용 효소를 이용한 부가적인 반응을 수행해야 한다. 향원-향체반응을 통해 나타나는 직접적인 광학적인 변화는 굴절률의 변화이며, 이를 전기적 신호로 변환하기 위해 다양한 광학적 트랜스듀서가 사용되어 왔다. 대표적으로는 표면플라스몬 공명(surface plasmon resonance, SPR) 트랜스듀서가 널리 사용되었으며 상용화에도 성공하였다. 이 방법은 향원-향체간의 결합반응을 실시간으로 측정가능하다는 장점으로 결합량 뿐 아니라 결합상수 등의 향원-향체결합과 관련된 측정 파라미터의 산출에 최적임을 보여 주었다. 그러나, 기존 SPR 바이오센서는 의뢰진단 및 환경모니터링에 사용하기 위해 요구되는 민감도와 측정한

계를 만족시키지 못하였으며 측정 파라미터의 향상을 위해 형광, 금속입자 등을 사용한 신호증폭 방법이 보고되고 있다. 또한, SPR 바이오센서와 같은 소산파(evanescent field) 내에서의 항원-항체반응의 측정이 가능한 광학적인 방법으로는 광화이버 및 판상구조체를 광도파로(wave guide)로 사용하여 유효굴절을 변화에 따른 반사광의 위상변화를 측정하는 인터페어로메트리(laser interferometry), 나노격자 기반의 바이오센서 등이 알려져 있다. SPR 바이오센서와 관련해서 소형화된 광학계 및 반도체 소자형태의 SPR 칩 등이 속속 개발되는 추세에 있어 광학을 이용한 항체 기반의 바이오센서로 활용이 크게 기대된다²⁰⁾.

2.2.3. 질량감지 트랜스듀서

압전물질을 사용하여 항원-항체의 결합에 따른 질량변화를 감지하는 질량감지형 트랜스듀서는 압전체에 파동을 일으키는 유형의 트랜스듀서와 캔틸레버로 구분된다. 압전체에 파동을 일으키는 유형의 트랜스듀서는 사용되는 파형의 유형에 따라 quartz crystal microbalance (QCM), surface acoustic wave (SAW), flexural plate wave (FPW) 등으로 구분되며, 일반적인 구조는 항체가 고정되는 압전체와 파형을 만들어내는 전극으로 구성된다. 이러한 압전체를 사용한 트랜스듀서는 공진주파수에 따라 진동을 일으키며 항원의 결합에 따른 표면질량의 증가에 따라 공진주파수가 정량적으로 감소하게 되며 이를 측정하여 항원의 결합여부 및 결합량을 측정하는 방식의 바이오센서이다. 사용되는 주파수와 압전체의 두께 및 물질성에 따라 측정감도와 측정한계가 결정되는 특징을 가지고 있으며, 비교적 소형의 기기구성이 가능하고 물리화학적으로 견고한 센서의 특성으로 인해 다양한 형태의 항체기반의 바이오센서로 개발이 보고되고 있다. 또다른 압전물질을 기반으로 한 질량감지 트랜스듀서인 캔틸레버는 스위스 바젤대학 Arntz 연구팀과 IBM 쥐리히 연구소의 연구진들이 혈액 내 단백질을 검출하기 위하여 캔틸레버 어레이를 최초로 만들어 바이오센서로 응용이 가능함을 보고하였다²¹⁾. 이후 다양한 형태의 캔틸레버가 보고되었으며 기본적으로는 앞서의 압전트랜스듀서와 같

이 공진주파수로 진동하는 캔틸레버에 항원이 결합하는 경우 발생하는 공진주파수의 변화를 통해 항원의 결합량을 측정한다. 이와 같은 캔틸레버는 단백질의 경우 아토그램 이하까지 측정이 가능한 것으로 보고되고 있다. 이러한 압전물질을 기반으로 한 질량감지형 트랜스듀서의 경우, 반도체공정을 이용하여 고집적화를 진행하고 있으며, 의료진단 및 환경모니터링을 위한 항체기반의 바이오센서 뿐 아니라 전자코(electric nose)의 개발 등을 위한 다중검출용 센서로 개발이 진행중에 있다^{22,23)}.

2.2.4. 열량변화감지 트랜스듀서

항체의 경우에는 항원을 결합하는 결합부위(binding pocket)가 효소의 활성부위와 같이 항원분자와 수소결합, 극성결합, 무극성결합 등을 통한 상호작용을 일으키며 항원-항체의 결합구조체를 형성하게 된다. 이러한 항원-항체의 결합을 통해 안정화된 결합체를 이루게 되며 안정화 에너지는 외부로 방출되어 주변의 온도를 상승시킨다. 효소의 반응물 결합 및 항체의 항원결합으로 인한 온도의 측정을 위해서는 일반적으로 1000분의 1도를 측정이 요구되는 것으로 알려져 있으며 외부온도의 변화로 인해 측정이 매우 어려운 것으로 알려져 있다. 최근 isothermal titration calorimetry라는 방법을 통해 항원-항체의 결합에 따른 열량을 온도변로화를 측정하여 결합시에 발생하는 엔탈피, 엔트로피, 깃스에너지 변화 등을 측정하는 방법이 보고되고 있다²⁴⁾. 이 방법은 열용량을 알고 있는 두개의 반응조에 항체를 고정한 후 양을 알고 있는 항원을 반복적으로 주입한 후, 두개의 반응조에서 발생하는 열량의 차이를 측정하여 엔탈피의 변화를 측정하는 방법으로 엔트로피, 깃스에너지 등을 동시에 계산할 수 있다. 이와 같은 열량변화감지 트랜스듀서는 항원-항체의 결합에 의한 직접적인 물리적 변화를 측정가능하고 열역학적인 파라미터를 얻어내어 결합상수 및 결합에 따른 구조변화 등을 예측가능하다는 점에서 넓은 활용성을 가진다. 이와 같은 열역학에 기반한 열량변화감지 트랜스듀서는 통계적인 반응에 기반한 열역학의 특성상 10¹⁰ 개 이상의 분자반응을 요구하므로 마이크로 물이상의 항체고정이 필요하며 고정된 항체의 10배 이상에 해당하는



항원의 농도가 필요하므로 현실적으로 의료진단과 환경 모니터링을 위한 바이오센서에 적용은 어려운 실정이다. 항원-항체의 결합을 측정하는 직접적인 방법이라는 장점으로 높은 응용가능성을 가지고 있으며, 마이크로 플루이딕 기술의 발전과 나노물질들을 이용한 민감한 온도센서의 개발 등이 속속 보고되고 있어 가까운 미래에 의료진단 및 환경모니터링을 위한 열량변화감지 트랜스듀서의 바이오센서 적용이 기대된다.

3. 맺음말

매년 개발되는 새로운 기술을 기반으로 바이오센서 시장은 지속적인 성장을 거듭하고 있다. 한국전자통신연구소(ETRI)의 동향보고서에 의하면 바이오센서는 2006년 50억 달러에서 연평균 성장률 12.6%의 가파른 성장세를 지속하여 2013년에는 105억 달러의 세계시장규모를 가질 것으로 추정되고 있다. 특히 의료진단과 관련된 휴대형 바이오센서는 전체 바이오센서의 47%를 점유하고 있으며 2013년 연평균 성장률 11%로 세계시장규모는 50억 달러에 이를 것으로 전망되고 있다. 살펴본 바와 같이 바이오센서는 분자인지재료와 트랜스듀서 기술을 결합하여 가능하다. 나노선과 같은 신소재를 기반으로 한 트랜스듀서는 활용범위를 크게 확장시키고 있으며, 기존의 생체유래의 분자인지도구 역시 고분자 및 무기재료를 이용한 신소재로 혁신이 진행 중에 있다. 이와 같은 바이오센서의 발전은 의료진단 및 환경모니터링과 같은 높은 경제적인 가치를 가진 응용분야에 활용이 가능하기 때문에 더욱 가속화될 전망이다. 근래에 바이오센서 분야의 연구가 응용 및 실용화 중심으로 옮겨가는 현상을 보면서 기초과학의 발전을 통한 원천기술개발의 중요성을 다시금 강조하고 싶다. 바이오센서는 대표적인 융합학문으로 새로운 바이오센서의 개발과 관련된 원천기술은 타 학문분야의 기초기술에서 도입되어 왔음은 구구한 설명이 필요하지 않은 주지의 사실이다. 물리, 화학, 생물 등 기초과학에 기반을 둔 원천기술 연구를 통해 기존의 틀을 과감히 깨고 바이오센서기술의 새로운 패러다임을 제시하는 원천연구가 국내 연구진에 의해 구현되기를 기대한다.

참고문헌

1. B. Mattiasson, K. Teeparuksapun, and M. Hedstrom, "Immunochemical Binding Assays for Detection and Quantification of Trace Impurities in Biotechnological Production", *Trends in Biotechnology*, **28** 20-27 (2011).
2. P.B. Lippa, L.J. Sokoll, and D.W. Chan, "Immunosensors Principles and Applications to Clinical Chemistry", *Clinica Chimica Acta*, **314** 1-26 (2001).
3. W. Limbut, M. Hedström, P. Thavarungkul, P. Kanatharana, and B. Mattiasson, "Capacitive Biosensor for Detection of Endotoxin", *Anal. Bioanal. Chem.*, **389** 517-25 (2007).
4. K. Nakamoto, R.K. Kurita, N. Sekioka, and O. Niwa, "Simultaneous On-chip Surface Plasmon Resonance Measurement of Disease Marker Protein and Small Metabolite Combined with Immuno-and Enzymatic Reactions", *Chem. Lett.*, **37** 698-99 (2008).
5. C.W. Tsai and K. Hsieh, "QCM-based Immunosensor for The Detection of Ochratoxin A", *Anal. Lett.*, **40** 1979-91 (2007).
6. M. Wan, Y. Wang, S. Rabideau, R. Moreadith, J. Schrimsher, and G. Conn, "An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Host Cell Protein Contaminants in Recombinant PEGylated Staphylokinase Mutant SY161", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **255** 953-63 (2002).
7. O. Kristensen, D.G. Vassilyev, F. Tanaka, K. Morikawa, and I. Fujii, "A Structural Basis for Transition-State Stabilization in Antibody-Catalyzed Hydrolysis: Crystal Structures of An Abzyme at 1.8 Å Resolution", *J. Molecular Biology*, **281** 501-11 (1998).
8. D.W. Landry. "Immunotherapy for Cocaine Addiction", *Sci. Am.* **276** 42-45 (1997).
9. D. Phichith, S. Bun, S. Padiolleau-Lefèvre, S. Banh, D.Thomas, A. Friboulet, and B. Avalle, "Mutational and Inhibitory Analysis of a Catalytic Antibody. Implication for Drug Discovery", *Molecular Immunology*, **47** 348-56 (2009).
10. G. Vlatakis, L.I. Andersson, R. Muller, and K. Mosbach, "Drug Assay Using Antibody Mimics Made by Molecular Imprinting", *Nature*, **361** 645-47 (1993).
11. D. Cai, L. Ren, H. Zhao, C. Xu, L. Zhang, Y. Yu, H. Wang, Y. Lan, M.F. Roberts, J.H. Chuang, M. J. Naughton, Z. Ren, and T.C. Chiles, "A Molecular-Imprint Nanosensor for Ultrasensitive Detection of Proteins", *Nature Nanotechnology*, **5** 597-601 (2010).

12. A.D. Ellington and J.W. Szostak, "In Vitro Selection of RNA Molecules that Bind Specific Ligands", *Nature*, **346** 818-22 (1990).
13. 장승훈, 정기준, "압타머 (Aptamer) 개발의 최근 연구 동향", 한국미생물 생명공학회 e-생물산업, **22** [3] 4-15.
14. J.S. Park, M.K. Cho, E.J. Lee, K.Y. Ahn, K.E. Lee, J.H. Jung, Y.J. Cho, S.S. Han, Y.K. Kim. and J.w. Lee., "A Highly Sensitive and Selective Diagnostic Assay Based on Virus Nanoparticles", *Nature Nanotechnology*, **4** 259-64 (2009).
15. J. Jose, J.W. Chung, B.J. Jeon, R.M. Maas, C.H. Nam, and J.C. Pyunc, "E.coli with Autodisplayed Z-Domain of Protein A for Signal Amplification of SPR Biosensor", *Biosensors and Bioelectronics*, **24** 1324-29 (2009).
16. C. Berggren, B. Bjarnason, and G. Johansson, "An Immunological Interleukine-6 Capacitive Biosensor Using Perturbation with a Potentiostatic Step", *Biosensors & Bioelectronics*, **13** 1061-68 (1998).
17. M. Riepl, V.M. Mirsky, I. Novotny, V. Tvarozek, V. Rehacekb, and O.S. Wolfbeis, "Optimization of Capacitive Affinity Sensors: Drift Suppression and Signal Amplification", *Analytica Chimica Acta.*, **392** 77-84 (1999).
18. G. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W.U. Wang, and C.M. Lieber, "Multiplexed Electrical Detection of Cancer Markers with Nanowire Sensor Arrays", *Nature Biotech.*, **23** 1294-301 (2005).
19. H. Im, X.J. Huang, B.S. Gu, and Y.K. Cho, "A Dielectric-Modulated Field-effect Transistor for Biosensing", *Nature Nanotechnology*, **5** 430-34 (2007).
20. A. Abbas et al., "New Trends in Instrumental Design for Surface Plasmon Resonance-based Biosensors", *Biosensors and Bioelectronics*, **26** 1815-24 (2011).
21. Y. Amtz, J.D. Seelig, H.P. Lang, J. Zhang, P. Hunziker, J.-P. Ramseyer, E. Meyer, M. Hegner, and Ch. Gerber, "Label-free Protein Assay on a Nanomechanical Cantilever Array", *Nature Nanotechnology*, **14** 86-90 (2003).
22. M.I.R. Gaso, C. March-Iborra, Á.I. Montoya-Baides, and A. Arnau-Vives, "Surface Generated Acoustic Wave Biosensors for The Detection of Pathogens: A Review", *Sensors*, **9** 5740-69 (2009).
23. G. Richard and K. Bailey-Hill, "Mimicking Nature's noses: From Receptor Deorphaning to Olfactory Biosensing", *Progress in Neurobiology*, **93** 270-96 (2011).
24. L. Wadso and F.G. Galindo, "Isothermal Calorimetry for Biological Applications in Food Science and Technology", *Food Control.*, **20** 956-61 (2009).

●● 변재철



- 1992년 서울대학교 화학과 이학사
- 1995년 서울대학교 화학과 이학석사
- 2001년 독일 잘란트대/프라운호퍼 의공학 연구소 이학박사
- 2001년-2007년 KIST 유럽연구소 바이오센서 팀장
- 2007년-현재 연세대학교 신소재공학과 부교수