

면역센싱의 고도화를 위한 나노바이오기술의 적용

윤현철, 최형길 (아주대학교 생명공학과)

1. 서론

현재 생명공학(BT)분야에서는 다른 영역의 기술 분야인 나노기술(NT)이나 정보통신기술(IT)의 유용한 기법을 활용하는 융합기술(convergence technology)의 개발에 큰 노력을 경주하고 있다. 나노바이오기술이나 생물전자기술 등과 같은 융합기술은 학제간의 융합연구를 통해 창출할 수 있는 원천기술 확보를 위한 전략이며, 생명공학분야에서 최근 중점적으로 연구되고 있는 프로테오믹스(proteomics), 인간 질병의 조기진단, 신약개발, 생체 신호 전달체계의 해석 등의 분야에서 주요 연구 내용인 생체물질들의 기능 및 상호작용을 해석하는데 크게 기여할 수 있는 기술로 요망되고 있다.

이러한 융합기술이 이용되는 대표적인 분야인 바이오센서는 생체물질들 간의 상호작용을 통해 유래된 정보를 수집, 분석하기 위해 고안된 장치로서 진단, 의약, 환경, 식품 등 생명공학분야의 연구 및 산업 전반에 걸쳐 널리 사용되고 있다. 특히, 최근의 바이오센서기술은 MEMS(Micro-electro-mechanical-system)기

술, microfluidics 기술 등을 활용하는 나노바이오센서기술로 발전, 특화되고 있다. 나노바이오센서기술의 발전은 센서의 소형화, 경량화를 실현하여 사용자가 휴대하면서 원하는 생체정보를 감지할 수 있는 휴대형 센서로의 제작을 가능하게 하였다. 또한 첨단공학기술을 접목시켜 경박단소화에 의한 사용자의 편의성을 제공하고자 하는 목적에 더하여 다중측정, 대량검색 등의 기능을 구비하게 하여 신속하게 대량의 생체정보를 감지할 수 있게 한다. 이에 더하여 나노미터 크기의 생체분자들 간의 극도로 특이적인 상호인식 반응을 효과적으로 이루어지게 하는 생체 적합성 센서, 분석시간이 짧고 자동화된 센서를 통해 높은 신뢰도의 정보를 제공한다.

이러한 나노바이오센서기술의 최신 연구동향은 궁극적으로 전자, 기계, 나노기술 등이 총체적으로 결합된 어레이(array) 형태의 센서가 형성된 칩 상에서 수행되는 초소형, 고감도, 다중측정과 대량검색의 기능, 분석을 위한 시료의 분리, 인식, 검출 등의 과정을 동시에 처리하는 바이오마이크로시스템 개발의 형식으로 이루어지고 있다. 이와 같은

바이오센서가 통합된 시스템은 연구실 또는 하나의 실험을 위한 다단계 프로세스를 단일 칩 상에 마련한다는 의미로 명명된 랩온어칩(Lab-on-a-chip) 또는 μ TAS(Micro-total analysis system)의 형태로 구현되고 있으며 이는 바이오센서가 실현할 수 있는 우수한 기능과 제품으로서의 시장성 등 그 잠재 능력을 보이고 있다.

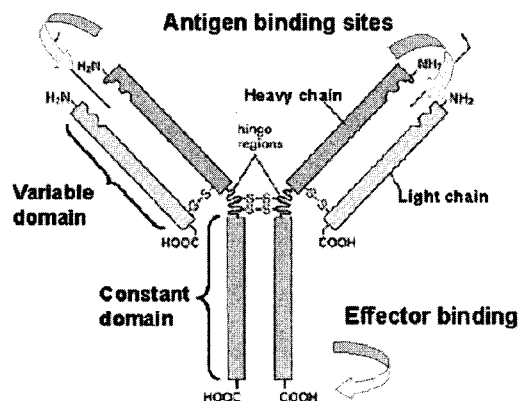
한편, 나노바이오센서를 이용하여 무엇을 분석하고자 하는가라는 문제에 있어서 가장 주목을 끌고 있는 측정분야는 진단, 신약개발, 환경 유해물질의 분석 등에 유용한 항원-항체간 (또는 리간드-리셉터간) 생체특이적 결합반응을 이용한 생체분석을 목적으로 하는 면역분석분야이다. 면역분석은 극도로 선택적으로 결합하는 항원-항체반응의 특이성을 이용하는 면역분석법의 가장 진보한 분석 장치로서 각종 암과 같은 질병의 조기진단, 신약개발, proteomics 등의 분야에서 요구되고 있는 정량적이고 신속한 면역분석을 실현할 수 있는 도구로 인식되고 있다. 면역분석 또한 microfluidics 기술과 MEMS 기술을 활용하여 기존의 면역분석법과 차별되는 생체물질의 단순한 측정을 넘어서 소형화, 안정성, 고감도, 분석 시간의 단축, 저전력의 센서 시스템인 랩온어칩 형태로의 개발이 활발히 진행되고 있다.^[1]

이와 같은 노력에도 불구하고, 면역분석은 그 대상물질이 생체시료에서 매우 낮은 농도로 존재하므로 검출민감도를 증폭하여야 하는 문제, 생체물질의 생리 활성을 칩 상에서 생체내의 조건을 모사하며 장기간 보존하는 문제 등 개선되어야 할 과제가 다수 남아있으며, 랩온어칩 형태의 면역분석을 개발하기

위한 센서의 표면조절기술과 신호측정 방법론의 연구가 가장 중요한 부분이다.

II. 면역센서의 원리와 이해

면역분석은 항원과 항체가 상호간의 특이성(specificity)과 친화력(affinity)에 의해 결합되는 반응에 기초하여 타겟 물질의 존재 및 농도를 신속하고 정량적으로 측정하기 위해 적절한 신호전환기(transducer)와 결합한 형태의 바이오센서를 말한다. 면역분석의 타겟이 되는 항원과 항체는 생체의 면역반응의 주요인자로서, 외부로부터 동물의 체내로 유입된 물질(항원)은 면역반응으로서 자신에 결합할 수 있는 단백질의 합성을 유도하는데 이와 같이 형성된 혈장 단백질을 항체라고 한다. 항체는 크게 5가지의 Ig(Immunoglobulin) G, A, M, D, E로 분류되며 이 중 혈청 내에서 가장 많이 존재하고 면역분석에서 주로 이용되는 항체는 IgG이다. IgG는 약 150,000 Da(Dalton)의 분자량을 가지며 그림 1에서 보듯이 IgG의 구조는 두 개의 중쇄(Heavy chain)와 경쇄(Light chain)의 쌍으로 이루어져 있으며 고유



〈그림 1〉 항체(immunoglobulin G)의 구조

의 3차원적 구조를 갖추고 있다. 중쇄와 경쇄의 아미노산서열의 보존정도에 따라 분자내의 가변영역(variable region)과 불변영역(constant region)으로 나뉜다. 가변영역의 말단에 노출된 부분에 항원을 인지하는 부위(affinity binding site)가 존재하며, 이 부위가 항체의 항원에 대한 생체특이성과 친화성을 결정하고 서로 결합하는 부위가 된다.

이와 같은 항원-항체반응을 이용한 면역분석법(immunoassay)은 매우 특이적이고 강한 친화력을 나타내는 항원-항체 결합체를 형성하는 특성과, 단일클론항체(monoclonal antibody) 제조기술과 같은 항체생산기술의 발전에 의하여 다양한 분야에서 널리 사용되고 있다. 일반적인 면역분석의 방법은 그 존재와 농도를 분석하고자 하는 항체와 결합할 수 있는 항원을 고체상에 고정시킨 후 미지 농도의 항체가 포함된 샘플과 반응시키면 항원-항체반응에 의한 결합체가 고체상에 고정된다. 여기에 실시간으로 항원-항체결합체의 존재 유무나 농도를 정량적으로 분석하기 위하여 센서신호로 전환하는 과정을 처리한다. 면역분석법은 항원-항체반응의 고도의 반응 특이성과 결합력에 기인하여 진단 및 의약 분야뿐만 아니라 유해 환경 물질의 감시에 이르기 까지 널리 이용되고 있다.

기존의 면역분석법은 항원이나 항체에 방사선물질, 발광물질 또는 형광물질을 표지하여 얻어지는 신호를 측정하는 방법과, 효소의 촉매반응에 광표지를 결합한 ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay), Western blotting 등과 같은 광학적 측정방법이 가장 많이 이용되었다. 이러한 방법들은 주로 실험실 위주의 숙련된 연구원에 의해

수행될 수 있는 복잡한 절차가 필요하고, 분석을 위한 장치가 대형, 고가이며 분석시간이 오래 소요되는 단점이 있다. 따라서 현재 연구개발되는 면역센서는 면역분석을 위한 정량적인 측정을 하면서 전술한 면역분석법의 단점들을 보완할 수 있는 소형 분석 장치의 형식으로 진화되고 있다.

면역센서의 목적 물질인 항체 등은 전혈(whole blood), 혈청(serum), 소변(urine) 등과 같은 생체시료에서 매우 낮은 농도로 존재하기 때문에, 면역센서는 여타 물질을 검출하는 바이오센서 기술보다 센서의 검출 한계 면에서 훨씬 뛰어난 고감도의 신호화 기술을 갖추어야 한다. 또한 항체나 단백질과 같은 단백질은 외부환경의 변화에 쉽게 구조가 변화되기 때문에 항원이나 항체의 인식부위가 변질되어 고유의 생체인식 기능을 잃어버리기 쉽다. 고체상에서 분석을 해야 하는 면역센서의 여건상 이러한 생체물질들의 활성을 유지할 수 있는 생체 적합성 센서표면의 제작과, 검출 한계를 높일 수 있는 생체물질의 고정화 기술, 생체인식반응을 정량화된 신호로 전환하는 측정 방법론의 확보 등의 관점에서 활발한 연구가 이루어지고 있다.

III. 나노바이오 면역센서의 연구동향

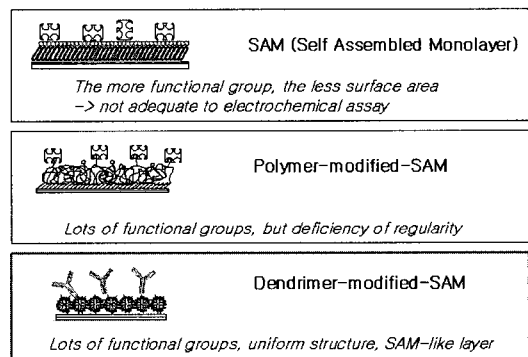
1. 표면 고정화기술(Surface immobilization)

생체물질을 센서 표면에 효율적으로 고정화하기 위한 전략들은 높은 밀도로 목적 물질을 고정하는 방법, 생체물질의 생리 활성을 유지할 수 있는 안전성, 일단 고정화된 생체물질의 반응성을 극대화하는 분자배향성,

비특이적 결합의 최소화 등의 관점에서 연구가 진행되고 있다. 면역센서의 표면은 항원-항체간의 결합반응을 효과적으로 이끌어낼 수 있도록 제작되어야 한다. 면역센서의 센서막은 주로 금속이나 실리콘, 유리와 같은 고체 기판상에 상향식(bottom-up) 방법으로 형성된다. 단백질과 같은 생체물질은 직접적으로 흡착하였을 경우 본래의 3차원적 구조를 유지하지 못하고 활성을 상실하는 것으로 알려져 있다. 생체물질의 고정화 방법으로 다양한 결합력을 응용한 방법이 소개되었으나 현재 면역센서의 센서표면형성에 대표적으로 사용되고 있는 방법은 자기조립단분자막(SAM, Self-assembled monolayer)을 이용하는 방법이다.〈그림 2〉 한 예로 증착된 금 시편의 표면에 alkanethiol 류의 화학물질은 순식간에 흡착되면서 소수성상호작용 등을 통하여 분자적으로 매우 균일한 단일막을 형성한다. 고체 기판에 자기조립 단분자막을 형성하는 방법은 막을 형성하는 물질의 용액에 고체 기판을 수 시간 동안 담지하는 과정만으로 매우 간단하게 형성시킬 수 있다. 이때 센서표면으로 노출되는 alkanethiol의 말단 부분에 생체분자를 고정하기 위한 작용기를 부여할 수 있다. 사용되는 분자의 종류에 의해 말단 작용기와 막의 두께를 조절할 수 있어 생체물질을 그 특성에 따라 고정화할 수 있고, 고체 기판과의 사이의 수 나노미터의 거리를 두어 직접흡착에 의하여 단백질이 변질되는 현상을 최소화할 수 있다. 그러나 alkanethiol을 이용한 SAM은 매우 조밀한 밀도로 고체 기판에 막을 형성시키므로 3차원적 구조를 지닌 거대분자인 단백질은 결합부위가 표면에 접근하는데 구조적 장애(steric

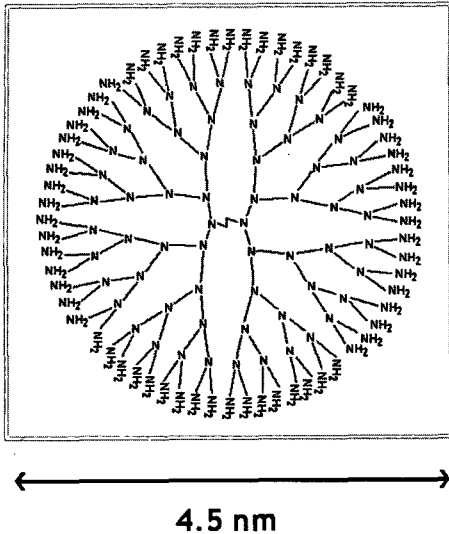
hindrance)를 받기 쉽다. 또한 조밀한 SAM은 전기화학식 측정 방법에서 필수적인 전기활성물질의 투과를 저해하고 전극계면에서 전자 hopping에 방해가 되므로 신호의 크기 면에서 불리한 단점을 보인다.

또 하나의 주요 표면개질재료인 고분자(linear or branched polymer)를 이용한 고정화 기술은 매우 많은 수의 기능기를 갖고 있는 폴리머를 통해 센서막을 형성함으로써 단일막에 비해 생체물질을 훨씬 많이 고정시킬 수 있는 장점을 갖는다. 그러나 폴리머는 합성하는 과정에서 동일 분자량을 유지하기 힘들어 크거나 반응부위가 불규칙한 표면을 형성하는 단점이 있다. 따라서 분자레벨에서 재현성 있는 센서막의 표면을 조성하기가 어렵다.〈그림 2〉



〈그림 2〉 자기조립을 이용한 나노바이오센서 표면 개질 기술

따라서 표면에 많은 작용기를 갖고 있고, 구조적 저해를 최소화하면서 분자적 규칙성이 있는 센서막을 형성할 수 있는 방법의 연구가 시도되었다. 이러한 관점에서 도입된 물질인 덴드리머(dendrimer)는 그림 3에서 나타난 것과 같이 2차원적 구조로 그려졌지만,



(그림 3) 4세대 poly(amidoamine)(PAMAM) 덴드리머의 화학구조

실제로는 구형으로 퍼진 모양을 하고 있는 수지상의 3차원적 구조를 갖고 있다. 이와 같은 구조적 특성으로 인하여 많은 수의 반응기를 갖는 폴리머의 장점과, 합성과정에서 단계별로 합성, 정제가 가능하여 단일한 구조와 고유의 분자량을 갖는 장점을 동시에 나타낸다. 이 중에서도 구조적 특성과 반응기의 밀도가 적합한 4 세대의 폴리아미도아민(PAMAM, polyamidoamine) 덴드리머를 사용한 센서막의 형성과 이를 사용한 전기화학식 바이오센서가 연구되었다.^[2,5,6] 4 세대 PAMAM 덴드리머는 14,215 Da의 분자량을 갖고 크기가 약 4.5 nm이며 말단에 64개의 아민반응기(amine group)를 갖고 있다. SAM 형성방법과 마찬가지로 쉽게 덴드리머의 단일막을 형성할 수 있고 나노미터 크기의 3차원적 구조는 단백질과 같은 생체분자와 유사한 크기로 고체 기판과의 거리를 유지하게 되어 단백질의 안정성을 유지하면서 구조적 저해현상을 줄여 고정화 수준을 높게 하였다. 또한 4 세

대 PAMAM 덴드리머의 사용은 가장 단백질을 고밀도로 고정화 할 수 있는 조건, 즉 생체물질의 고정화에 필요한 다수의 아민기를 부여하면서 동시에 단백질의 결합에 방해가 될 정도로 너무 밀집하지 않은 간격을 갖게 한다. 또한 덴드리머는 내부가 비어있는 구조로 되어있어 전기화학식 면역센서에서 SAM과 같은 조밀한 막의 사용이 제한되는 문제인 전기활성물질의 투과를 자유롭게 하였다. 이와 같이 덴드리머를 이용한 생체막 형성법은 고밀도의 생체물질을 고정화하면서 균일한 막을 형성하므로 재현성을 확보하고 특히, 전기화학식 면역센서의 신호의 감도를 크게 하는 등의 장점으로 센서의 표면 고정화기술로 유용하게 적용되고 있다.

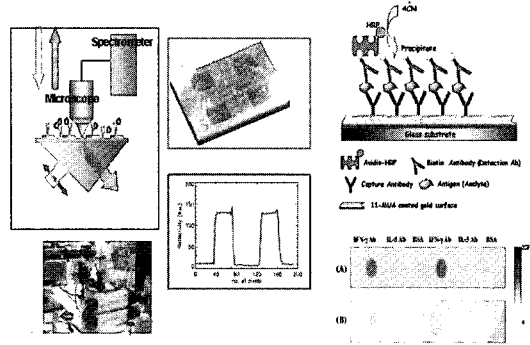
2. 측정 방법론

면역센서의 실현을 위하여는 항원-항체반응의 이벤트를 전기화학(electrochemical), 광학(optical), 열(thermal), 또는 역학적(mechanical)으로 감지하여 인식 가능하고 정량화가 용이한 신호로 전환하는 transducer 기술이 대단히 중요하다. Transducer의 측정 원리에 따라 전기화학식, 광학식, 압전식 면역센서 등이 개발되고 있다.

광학식 측정법은 면역분석에서 가장 널리 사용되는 방법으로 주로 방사선물질, 발광물질이나 형광물질 등을 항원이나 항체에 표지하여 항원-항체반응 이후 적절한 수광소자를 이용하여 표지 물질로부터 도출되는 빛의 세기를 측정한다. 광학식 방법은 표지를 해야 하는 과정이 필요하고 분석 장치가 크고 고가인 단점이 있다.

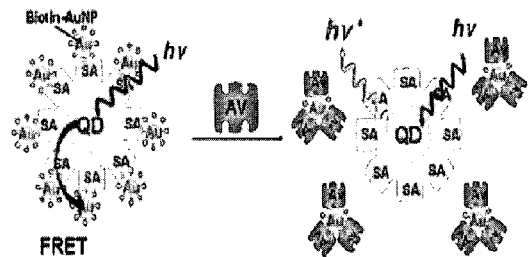
광학식 방법 중 하나인 표면 플라즈몬 공명(Surface plasmon resonance, SPR)을 이용한 바이오센서는 금속박막 상에서 발생하는 전자들의 진동현상을 광학적 방법으로 유도하는데, 금속박막 표면근처에서 일어나는 항원-항체반응의 전후로의 변화는 프리즘을 이용하여 광원의 입사각과 반사각과의 차로 측정된다. Biacore 시스템과 같이 금 전극 상에 생체물질을 반응시켜 그 변화를 매우 민감하고 정량적 수치로 측정할 수 있으며 약 1 ng/mm²의 분해능을 나타내는 것으로 알려져 있다. 또한 SPR 방법은 생체인식반응의 변화를 실시간으로 분석하고 항원이나 항체에 표지 물질을 사용하지 않는다는 큰 장점을 갖고 있다. 또한 최근에는 SPR을 이용한 imaging 시스템(SPR-Microscopy, SPRM)이 개발되어 자기조립단분자막이 형성된 어레이 칩 표면으로부터 이차원의 이미지를 표지 물질 없이 영상화하였으며 sub-nanometer의 두께변화를 측정할 수 있었다.^[3] 이에 더하여 SPRM으로부터 HRP(horseradish peroxidase) 효소를 이용한 면역침전반응법을 통해 바이러스에 대한 면역물질인 Interferon- γ (IFN- γ)의 검출을 목적으로 하는 항원-항체반응의 측정을 시도하여 측정 결과를 이미지화 할 수 있었으며 1 ng/mL 까지 증가된 검출 한계를 얻었다.^[3] <그림 4>

최근에는 우수한 광학적 특성을 갖고 있는 quantum dot(QD)과 금 나노입자(gold nanoparticle) 사이의 FRET(Fluorescence resonance energy transfer) 현상을 이용하여 streptavidin과 biotin 간의 상호인식반응에 대한 저해 분석법(Inhibition assay)이 개발되었다.^[4] 그림 5에 나타나있는 바와 같이 QD-



<그림 4> 2D-SPRM 장치구성과 Interferon- γ (IFN- γ)의 면역센싱

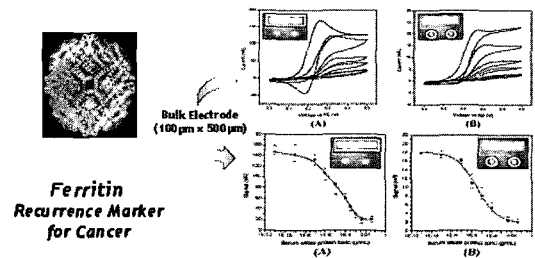
streptavidin의 결합체와 biotin-금 나노입자(AuNP)의 결합체는 streptavidin과 biotin 간의 상호작용으로 결합된다. 이때 QD를 여기시키는 빛 에너지를 공급하였을 경우 근접한 금 나노입자로의 에너지 전이가 일어나 FRET이 관찰된다. 여기에 검출타겟물질로서 avidin이 포함된 용액을 처리하면 QD-streptavidin 결합체와 서로 경쟁하여 우세한 농도로 존재하는 avidin에 의해 QD에 결합되었던 금 나노입자-*biotin* 결합체는 분리되어 avidin과 결합하게 된다. 따라서 QD-streptavidin 결합체의 주변에 금 나노입자가 존재하지 않게 되면 위와 동일한 여기광원을 조사했을 시 FRET이 억제되어 QD는 고유의 광학적 특성을 띄게 된다.<그림 5>



<그림 5> QD(quantum dot)와 금 나노입자(AuNP)사이의 FRET을 이용한 생체 상호인식반응의 저해식 분석법

QCM(quartz crystal microbalance)은 압전 수정진동자의 진동수의 변화를 감지하는 방식으로 기체상 흡착의 측정목적으로 널리 이용되어 왔다. 근래에 들어 수정 진동자상에 코팅된 금 전극을 생체막으로 개질하여 항원-항체 결합반응을 수행하는 면역센서로 개발되었다. 기술적 발전에 의하여 수용액상에서 일어나는 항원-항체결합에 의해 발생하는 공명 진동수 신호를 정밀하게 측정할 수 있게 되었다. 이 방법은 SPR과 함께 표지 물질을 사용하지 않고 실시간으로 면역분석이 가능한 장점이 있으나 비특이적 결합에 의한 신호의 간섭현상이 크기 때문에 검출 한계 면에서 아직 개선되어야 할 부분이 많다. 보다 실용적인 면역센서의 개발관점에서 전기화학식 면역센서의 신호화 기법이 중요하다. 전기화학식 면역센서는 항원-항체 결합반응을 전기적 성질의 변화로 수치화하는 방식으로 amperometric, potentiometric, conductimetric 기술 등을 사용한다. 일반적으로 항원이나 항체에 표지된 산화환원효소에 의해 촉매되는 산화환원반응으로부터 생성되거나 소비되는 전자의 양을 측정하는 amperometric 센서가 흔히 사용되어왔다. 기질의 변환을 촉매하는 효소반응을 이용하므로 표지된 항원이나 항체의 결합체 수보다 크게 증폭되는 전기적 신호를 얻는 장점이 있으나 광학적 측정법에 비해 민감도가 떨어지고 효소를 표지하는 과정이 필요하다는 단점이 있다. 전기화학식 면역센서는 소형화, 수치화하기 쉽고 빠른 분석이 가능하며 융합 기술의 적용이 용이하여 현재의 기술로서 랩 온어칩 형태의 센서개발에 쉽게 응용 가능한 측정방법으로 여겨지고 있다.

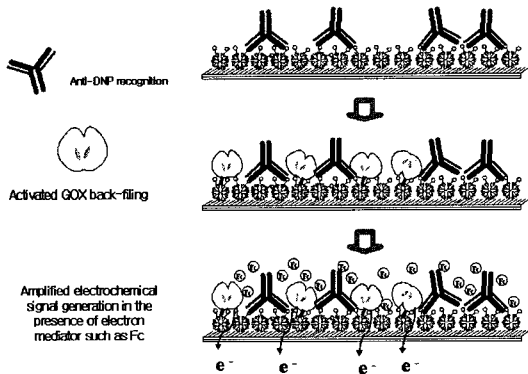
이러한 전기화학식 면역센서의 한계인 감도를 높이기 위한 방법이 연구되고 있는데, 이러한 방법 중에서 HRP로 표지된 이차 항체를 이용하여 HRP로부터 생기는 생성물이 전극 표면에 침전체를 형성하여 전극 표면적을 줄여 전기활성 물질의 신호가 줄어드는 방법이 소개된바 있다[5]. 특히 이 방법은 침전체의 형성이 즉각적이고 불용성이어서 microfluidics와 결합된 형식의 면역센싱 랩 온어칩의 개발과 어레이를 이용한 다중측정(multiplexed chip)에 응용성이 높은 방법이다. 같은 방법으로 암 병변의 재발에 밀접한 지표 물질인 페리틴(ferritin)의 측정에 사용된 미소 전극의 사진과 센서로부터 측정된 페리틴 농도 대비 신호의 검량곡선을 나타내었다. <그림 6>



<그림 6> 효소 면역침전 분석법에 의한 전기화학식 면역센서

또한 전기화학식 면역분석의 단점으로 지적되었던 효소의 표식 과정이 생략된 방법론이 개발되었는데, 전극표면에 고정화된 리간드(ligand)에 목적하는 항체를 반응시킨 후 남은 표면에 전기화학적 신호를 생성할 수 있는 효소인 포도당 산화효소(glucose oxidase, GOX)를 공유결합으로 고정시켜, 목적 항체의 농도를 측정하는 시스템을 개발하였고 이를 후면-층진 분석법으로 명명하였

다[6]. 이 방법은 항체보다 더 안정적인 효소가 신호 발생의 주체로서 작용하기 때문에 항체의 결합반응 이후 외부의 조건에 의해 항체가 탈락되더라도 공유결합에 의하여 고정된 GOX는 표면에 남아 있어 신호를 얻는데 매우 안정적이며, 표식이 필요 없는 방법으로 큰 장점을 갖고 있다. <그림 7>

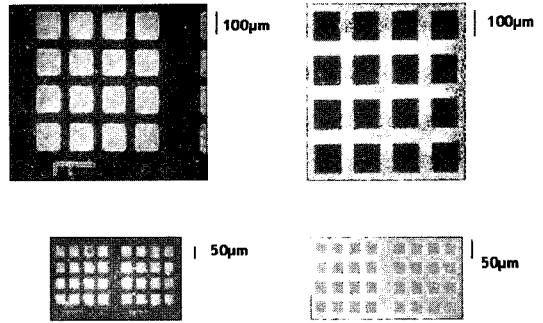


<그림 7> 후면-충진 분석법에 의한 전기화학식 면역센서

3. 면역센싱용 랩온어칩

최근 면역센서의 의미는 단순한 측정용 도구의 의미를 넘어 다중측정과 대량검색의 기능을 갖춘 다기능의 분석 시스템, 생체분석을 위한 많은 과정을 동시에 처리할 수 있는 랩온어칩 또는 μ TAS의 개념으로 전이되고 있다. 이를 위하여는 생체분자의 마이크로어레이를 제작하는 기술과 생체시료의 준비, 이송, 처리를 조절하는 microfluidics 기술의 확보가 관건이 된다.

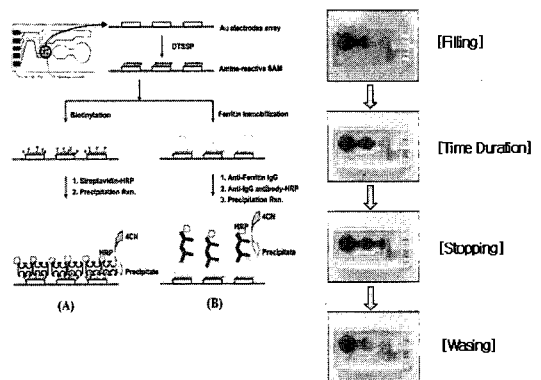
그림 8은 어레이타입의 패턴 전극의 제작을 쉽게 하는 방법으로서 microcontact printing 기법을 이용하여 형성된 수십마이크로미터 크기의 센서어레이를 보여주고 있다. 이 방법은 반도체 식각공정을 이용하여 원하는 주형



<그림 8> Microcontact printing에 의하여 패턴을 형성한 어레이타입의 전극

을 제작하고 여기에 polydimethylsiloxane (PDMS)과 같은 엘라스토머를 주입하여 유연성이 있는 스탬프를 만들고 원하는 생체막을 묻혀 전사하는 방식으로 이용된다.

목적하는 면역센서용의 랩온어칩을 개발하기 위해서는 혈액, 혈청과 같은 분석 용액이 적절하게 칩 상의 원하는 구획으로 제어되는 microfluidics 기술과 극소량의 샘플로부터 면역반응을 고감도로 검출할 수 있는 센싱 기술, 그리고 생체 적합성 미세가공기술이 핵심이 되며 이러한 기술의 통합이 요구된다. 그림 9에는 이와 같은 관점에서 개발된 바 있는 페리틴 면역센싱용 랩온어칩의 모식도와



<그림 9> 전기화학식 측정법을 이용한 microfluidic 면역센서

운용단계의 사진을 나타내었다.¹⁷⁾

신호화의 관점에서 볼 때, 미소 제작된 대부분의 센서들은 전극과 전극사이의 거리가 대단히 근접해 있기 때문에 서로간의 신호의 간섭 현상이 일어나기가 쉬운데, 이러한 문제점을 최소화하는 신호화 방법으로 전술한 면역침전반응법을 이용한 전기화학적 측정 방식이 면역센싱 랩온어칩에 채택되었다. 이 방법을 통하여, 어레이 전극 상호간의 간섭 현상이 없고 면역분석을 위한 반응의 종결이 후 세척 과정과 같은 유체의 흐름의 변화에 크게 영향을 받지 않는 장점을 확인하였다.

개발된 센서의 재료는 폴리머를 사용하여 경제성을 고려하였고, 그 상판은 PDMS로 하판은 poly(methyl methacrylate)(PMMA)를 사용하였다. PDMS 상판에는 샘플이송을 위한 채널과 생체반응을 위한 챔버가 조성되었고, 전기화학적 면역센서의 전극들은 PMMA 하판에 패턴 되어졌다. 샘플의 이송을 위한 구동력은 capillary 힘에 의해 이루어지며 따라서 전력의 소비가 없는 장점이 있다. 각각의 시료의 투입, 반응, 검출 등의 과정을 외부펌프가 없는 상태에서 제어하기 위하여 microfluidics설계단계에서 많은 노력이 필요하였다. 결과적으로 유체의 흐름과 속도를 제어하게 되었고, 특히 생화학적 반응을 수행하기 위한 구획에서 타이밍을 제어할 수 있었다. 패턴된 금 전극상에 biotin과 페리틴을 고정화하여 streptavidin과 항페리틴 혈청의 생체인식반응을 검출하였으며, 정량신호는 면역침전반응법에 의해 전기화학적 신호로 계측되었다. 이와 같은 microfluidics 장치를 기반으로 하는 랩온어칩의 개발은 원하는 미소 구조를 제작할 수 있는 기술, 표면 개질,

시료의 분리, 반응, 검출 등의 통합 기술, 고감도의 신호화 방법론, 분석 시간의 단축 등의 관점에서 아직까지 많은 기술 개발을 필요로 하고 있다.

IV. 결론

면역센싱의 연구분야는 생물공학, 분석화학, 의공학, 의용전자공학 등의 어느 한 분야에 속하는 기술이 아닌 복합학문의 분야이며, 또한 위의 어느 세부분야가 주도적 역할을 할 수도 없는 학제간융합의 기술분야이다. 따라서 관련 학문분야의 연구자들 간의 의사소통으로 시작하여 세부기술의 개발을 위한 전문기술의 교류 그리고 통합적인 공동연구가 필수적이다. 이 논문을 통하여 관심 있는 연구자들과 의사소통을 시작할 수 있는, 그리고 관련연구팀과 기술교류를 할 수 있는 계기가 되기를 기대한다.

감사

이 논문의 자료조사는 구원장학재단의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

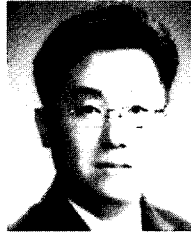
참고 문헌

- [1] Adam Bange, H. Brian Halsall and William R. Heineman, Microfluidic immunosensor systems, Biosens. Bioelectron., 20, 2488-2503, 2005.
- [2] Hyun C. Yoon and Hak-Sung Kim, Bioelectrocatalyzed signal amplification for

affinity interactions at chemically modified electrodes, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 9, 107-111, 2004.

- [3] Hyeon-Bong Pyo, Yong-Beom Shin, Min-Gon Kim and Hyun C. Yoon, Multichannel surface plasmon resonance imaging and analysis of micropatterned self-assembled monolayers and protein affinity interactions, *Langmuir*, 21, 166-171, 2005.
- [4] Eunkeu Oh, Mi-Young Hong, Dohoon Lee, Sung-Hun Nam, Hyun C. Yoon, and Hak-Sung Kim, Inhibition assay of biomolecules based on fluorescence resonance energy transfer (FRET) between quantum dots and gold nanoparticles, *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 3270-3271, 2005.
- [5] Hyun C. Yoon, Haesik Yang and Sang Yo Byun, Ferritin immunosensing on microfabricated electrodes based on the integration of immunoprecipitation and electrochemical signaling reactions, *Anal. Sci.*, 20, 1249-1253, 2004.
- [6] Byoung Yeon Won, Hyoung Gil Choi, Kong Hwan Kim, Sang Yo Byun, Hak-Sung Kim and Hyun C. Yoon, Bioelectrocatalytic signaling from immunosensors with back-filling immobilization of glucose oxidase on the biorecognition surfaces, *Biotechnol. Bioeng.*, 89, 815-821, 2005.
- [7] Jong Soo Ko, Hyun C. Yoon, Haesik Yang, Hyeon-Bong Pyo, Kwang Hyo Chung, Sung Jin Kim and Youn Tae Kim, A polymer-based microfluidic device for immunosensing biochips, *Lab on a Chip*, 3, 106-113, 2003.

저자소개



윤 현 철

2001년 -2003년 한국전자통신연구원 BioMEMS팀
선임연구원
2003년 - 현재 아주대학교 생명공학과 조교수
주관심 분야 바이오센서, 나노바이오기술



최 형 길

2004년 아주대학교 생명공학과 (학사)
2004년 - 현재 아주대학교 생명공학과 (석사과정)
주관심 분야 바이오센서