

Biosensor 개발현황과 전망

김 의 략

계명대학교 자연과학대학

I. 서 론

센서는 동물이 가지고 있는 오감의 감각기관에 대응하여 외계의 어떤 물리량 혹은 화학량을 전기신호로 변환하여 감지하는 디바이스를 말한다. 인간의 오감에서 시각, 청각, 촉각에 해당되는 것이 역학센서이고, 후각과 미각에 대응하는 것이 화학센서이다. 그리고 화학센서중에서 후각에 대한 것이 가스센서이고, 미각에 대한 것이 액체 혹은 용액중의 성분을 감지하는 이온센서, 바이오센서이다. 특히 생체물질을 이용하여 특정대상물에 대한 선택성이 탁월하며, 감도가 예민한 바이오센서(biosensor)의 경우는 분석화학 분야에 있어서 생체내에서 생성되는 생성물질과 대사물질을 직접 측정할 수 있는 분석장치로서 주목을 끌고있다.

바이오센서의 특징은 센서의 특이성, 간편성, 미량성 그리고 측정물질을 분리하지 않고 직접 측정할 수 있다는 장점 때문에 생체관련 물질을 연구하는 기초과학 연구뿐만아니라 환경오염물질의 측정 및 감시, 의료진단, 생명공학, 식품공정, 안전방재등에 있어서 매우 중요한 역할을한다. 앞으로 바이오센서의 우수한 특성으로 미루어 볼 때 활용 가능성에 대한 기대가 매우 크고, 많은 연구가 필요하다.

II. 바이오센서의 종류와 용도

1. 종 류

바이오센서는 어떤 특정 화학 물질을 선택적으로 식별할 수 있는 기능을 가진 생체관

런 물질인 효소, 미생물, 항체, 오르가넬라, 동식물의 조직, 동물세포등을 고분자 담체(carrier)에 고정화(immobilization)하든가 또는 그대로 사용하여 만든 생물기능성막을 이용하여, 이 기능성막에서 어떤 특정물질을 선택적으로 식별하여 검지하는 포착(receptor)기능 부분과 검지된 물질의 양이나 농도가 전기 활성물질일 경우에는 전극 또는 반도체 소자로, 또 막에서 일어난 반응을 발광 반응과 연결시킬수 있는 경우에는 photon counter로, 반응열의 변화인 경우에는 thermistor로, 진동자의 진동변화는 음파검출기를 통하여 전기신호로 변화시킬 수 있는 transducer기능 부분으로 구성된다. 여러가지 화학변화를 전기신호로 변환하여 검출하는 바이오센서의 종류도 생체관련물질에 따라 효소센서, 미생물센서, 조직센서, 면역센서로 크게 나누어질 수 있고, 또 transducer기능에 따라 전극형 바이오센서, thermistor형 바이오센서, 생물화학 발광형 바이오센서, 음파를 이용한 SAW(surface acoustic wave)형 바이오센서, 반도체형 바이오센서등으로 구별된다. 그러나 이들의 구별이 뚜렷한 것이 아니라 바이오센서의 종류에 따라 포착 기능 부분과 transducer기능 부분 중 어느 한쪽 기능 부분에 중점을 두어 바이오센서가 분류된다. 즉 효소센서와 미생물센서, 면역센서, 조직센서들이 여러 가지 transducer에 결합하여 사용하기도 한다. 생체관련 물질을 포착기능 부분으로 사용하여 센서를 만든 것은 1967년 S. J. Updike와 G. P. Hicks가 효소를 이용한 전극형 효소센서를 만든 후 1970년 초반까지를 바이오센서 1세대 라면 여러가지 생체물질을 소자화한 1970년 후반까지를 제 2세대라고할 수 있다. 그리고 FET와 photo diode등 새로운 재료나 디바이스를 이용하고 있는 1980년 중반까지를 제 3세대라한다면 1980년 중반부터 고정화 기술이 발달하여 lipid bilayer membrane이나 molecular electric device에 효소를 고정하여 감도가 더욱 좋게 개선한다든가 CWE(coated-wire electrode)나 탄소섬유(carbon fiber) 전극이나 carbon paste electrode와 같이 소형화하기 위한 연구는 제 4세대라할 만큼 발전의 속도도 매우 빠르다.

가. 효소센서(Enzyme sensor)

효소센서는 1967년 Updike와 Hicks가 glucose oxidase의 polyacrylamide 고정화효소와 전기화학적 디바이스를 구성하여 효소반응에서 특정의 기질과 반응시켜(기질특이성) 그때 생성 또는 소비된 전극활성물질량을 디바이스로 측정하여 효소기질의 농도를 간접적으로 계측하는 원리에 기초를 두고 있다. 기초전극으로는 암모니아전극, 이산화탄소전극, pH전극 등의 전위법(potentiometry)형과 산소전극이나 과산화수소전극 등의 전류법(amperometry)형 전극이 사용되었다. 이러한센서는 효소가 가진 기질특이성을 이용하여 측정대상물질을 선택할수 있으며 고정화효소의 특성에 따라 센서의 감도, 안전성, 응답시

바이오센서 개발의 현황과 전망

간 등이 결정된다. 고정화 효소와 전극을 조합시킨 효소센서는 효소의 기질특이성과 전기화학분석의 신속성, 간편성을 잘 이용한 센서로서 이미 임상분석, 환경계측, 발효공정제어 등에 이용되고 있다. 최근에는 많은 종류의 기질들을 동시에 측정할 수 있는 다기능 효소센서가 나왔다. 또한 효소센서에 의한 요소, 요산유기물, 당류, 지질, 항생물질 등의 측정예가 많이 발표되고 실용화되고 있다.

나. 미생물 센서(microbe sensor)

미생물은 많은 효소를 가지고 있어 효소의 생산원으로 이용하는데 분리된 효소는 온화한 조건에서도 불안정한 것이 많아 효소 대신 미생물을 살아있는 상태로 전극에 붙인 미생물 센서가 고안되었다.

미생물 세포에는 각종 효소가 들어 있으며 에너지 재생계, 보효소 재생계, 호흡대사 등의 생리기능이 집약되어 있다. 세포내 효소는 안정하므로 미생물 센서는 효소센서보다 수명이 길지만 여러가지 효소가 미생물 속에 포함되어 있으므로 측정결과와 선택성의 신뢰도가 떨어지는 단점이 있다.

미생물은 효소와 같이 고정화하여 고정된 미생물과 전기화학 디바이스로 구성되는데 이것은 미생물의 호흡활성을 지표로 하는 호흡 측정형 미생물 센서와 미생물이 대사하는 전극활성 물질을 지표로 하는 전극활성물질 측정형 미생물 센서로 나눌 수 있다. 대체로 미생물을 고정하는 담체로는 다공성 acetyl 섬유소망이나 collagen막을 이용한다.

미생물 센서는 효소센서에 비해 장기간 안정하여 발효 공업 공정이나 환경 등의 계측에 적당하며 이 중 BOD(생물학적 산소요구량;폐수의 오락지표), 에탄올 초산, 글루타민산, 암모니아, 미생물 균수 등의 센서는 실용화되어 공업 공정의 계측에 이용된다. 또 미생물 센서의 원리를 응용하여 돌연변이원이나 발암물질의 1차 screening을 할 수 있다. 공기중의 NO_x, 메탄가스, SO_x를 계측하는 미생물센서, 고정화 효소와 미생물을 이용하여 creatine, 요소등을 계측하는 혼합형센서, 혈청 중의 미생물 식별기능을 갖는 센서등 미생물 기능을 이용한 새로운 센서의 개발 연구가 활발하다.

그 예로 *Pseudomonas Fluorescens*를 이용하여 글루코오스를, *Berevibacterium lactofermentum*을 이용하여 자화당을, *Trichosporon brassiae*에 의한 초산과 알콜의 측정이다.

다. 오르가넬라센서(organelle sensor)

세포안에 있는 오르가넬라(소포기관)는 효소 등의 집합체로 매우 기능이 집약되어 있으

므로 이를 이용하여 센서를 만들 수 있다. 예컨대 호흡기능을 가진 미토콘드리아의 전자 전달 입자 고정화막을 이용한 보효소 NADH의 측정용센서, 고정화 간장 마이크로솜 (microsome)을 이용한 SO_x센서 등도 시험적으로 만들어지고 있다.

라. 조직센서

효소 활성를 가진 동식물 조직의 절편도 기능소자로 이용할 수 있다. 소의 간 조직과 urease를 암모니아 전극에 입힌 arginine센서, glutaminase활성을 갖는 돼지의 지라조직과 암모니아전극으로된 글루타민센서, 호박의 조직과 CO₂전극으로 된 글루타민산센서, 개구리 상피조직을 이용한 sodium이온센서 등 많은 보고가 있다.

마. 면역센서(Immuno sensor)

생체의 방어기구로 알려진 면역반응은 항체에 의하여 특이적인 복합체 생성에 기인한 것으로 대단히 선택성이 높다. 아주 효과적인 항원은 단백질이나 다당류와 같은 고분자나 저분자의 물질로서 단독으로 항체를 만들수 없는 경우에도 단백질과 결합하면 항원성을 나타내어 특이적인 항체를 만들기도 한다. 항체는 전부 척추동물의 체내에서 생산되어 항원을 식별하여 결합한다. 이와 같은 항체의 항원식별 기능을 이용하면 항체 또는 항원의 측정이 가능하다.

면역센서는 비표지센서와 표지센서가 있다. 비표지 면역 센서의 원리는 그림4와 같다. 이들 센서에는 항체(항원)가 고정화막 또는 전극 표면에서 항원항체 복합체를 형성하여 이때의 물리화학변화를 전기신호변화로 검출한다. 한편 표지 면역 측정법 중에는 효소면역측정센서가 주목되는데 효소면역측정은 ① 일항체법 ②이항체법으로 나눌 수 있는데 이들 원리는 아래 그림으로부터 알 수 있다. 효소 표지 대상은 일항체법에서는 항체, 이항체법에서는 항원이다. 효소가 표지물인 경우 효소의 화학 증폭이용이 가능하므로 방사면역분석(radioimmuno assay)과 같은 정도 또는 그 이상의 고감도 측정이 가능하다.

한편 , 효소면역센서로는 glucose oxidase, 또는 peroxidase등이 사용되어지고 있으며 효소의 선택은 면역센서를 구성하는 신호변화 기구로 결정된다. 표지항체(또는 항원)는 공유결합으로 항체 또는 항원에 효소를 결합하여 만든다.

효소 면역 측정에 기초한 면역센서는 3가지로 분류된다. 즉 1)산소전극 검출방식 2)이온전극 검출방식 3)발광 검출방식이다. 항체에 효소표지시 필요에 따라 저분자 촉매에 의한 항체수식과 전기화학 luminescence를 나타내는 화합물을 표지로 하는 면역 측정법도

있다.

바. 반도체형 바이오센서

반도체형 바이오센서는 FET센서가 그 대표적인 것으로 FET센서란 전장효과에 의존하는 트랜지스터의 일종으로서 외부로부터 어떤 물리량 또는 화학량을 표착하여 전기적 신호로 변환하여 검지하는 기능을 가진 디바이스이다. 그 중에서도 특히 화학적 감지기능을 가지는 FET센서를 CHEM FET(chemically sensitive FET)라고 한다. 즉 CHEM FET는 어떤 화학센서와 IGFET(Insulated Gate FET)를 집적한 것이다. 이 FET센서는 대체로 반도체 집적회로 제조 공정 기법을 이용하여 만들게 됨으로, 대단히 정교하여 극소형 및 초경량으로 일시에 대량생산이 가능하다. 그리고 전장효과를 이용하므로 감지소자의 입력 임피던스는 대단히 크고 출력 임피던스는 비교적 작은 장점을 가지고 있으며 아주 작고 정교하여 감지 반응이 빨라서 생체내와 생체의 측정에 대단히 유리한 조건을 갖추고 있다. 또 이 FET센서에는 기체, 이온, 압력, 습도, 온도등을 감지하는 센서뿐만 아니라 효소, glucose, 요소등 중요 생성물을 감지하는 ENFET(Enzyme FET)가 있다. 이것은 ISFET(Ion sensitive FET)형 전기화학적 소자의 감지막 위에 고정화 효소막을 형성시킨 것으로 이런 소자의 동작원리는 다음과 같은 단계로 진행된다.

- ①기질이 고정화 효소막으로 확산해 들어 간다.
- ②효소-촉매반응을 일으켜 기질이 분해한다.
- ③product가 전극의 감지막 표면까지 확산된다.
- ④전극 표면에서 감지된다.

사. Thermistor형 바이오센서

화학반응에서는 반드시 열의 주고 받음이 수반된다. 따라서 생체 촉매반응으로 생기는 반응열을 지표로하여 특정 물질을 계측할 수 있다. 즉, 효소반응, 면역반응, 미생물반응, 등으로 생기는 열변화에 착안하여 물질을 측정하는 바이오센서 개발이 가능한데, 이 바이오센서는 주로 고정화 효소 Thermistor로 구성되므로 효소 Thermistor라고 한다.

효소를 Thermistor소자에 직접고정화하는 경우도 있으나 고정화 효소 column과 Thermistor를 분리하는 방법이 일반적이다. 효소 반응에서 생기는 온도 변화는 기질농도, 효소 발생에 따라 다르지만 대략 0.01℃ 정도로, 이것을 정확하게 측정하기 위하여는 10⁻⁴℃ 이하의 온도변화를 정확하게 알 수 있는 Thermistor가 필요하다. 예를 들면 효소를 아미

노화 다공성 입자(80-12 mesh; 공형 50-2000Å) 등에 고정화시켜 column(0.7-1ml 용적)에 채워 사용할 수 있다. 이 바이오센서에는 디바이스의 항온성이 중요하며 10-3°C 정도의 정밀도로 제어해야 한다.

일반적으로 Thermistor를 한개만 사용하는 항온조의 온도변화를 없애려 할 때는 두개의 thermistor를, 한개만 사용하는 항온조의 온도변화를 없애려 할 때는 두개의 thermistor를 고정화효소 column 앞 뒤에 설치한다. 또 효소 column에 다른 단백질의 비특이적 흡착이 생기면 열변화가 일어나 정확한 효소반응의 열변화를 측정할 수 없다. 이 경우에는 대조 column을 병렬로 설치하여 고정화효소를 채워 시료액을 통과시키면 효소반응은 일어나지 않고 비특이적 흡착은 일어나므로 이 column의 출구에 thermistor를 설치하여 흡착에 기인한 열변화를 제거할 수 있다. 이 디바이스의 문제점은 생물화학반응에 의하여 생성되는 아주 작은 열변화를 감도 좋게 측정해야 하는 점으로 이 때문에 복합효소를 사용하여 변화를 증폭하기도 한다.

효소 thermistor는 효소활성의 측정, 기질류의 측정, 면역반응에 의한 항원 또는 항체의 측정 등에 사용할 수 있다. 이 중 글루코스 및 요소를 측정하는 디바이스는 임상화학분석에 시험적으로 이용되고 있다. 이 센서의 원리는 모든 생물화학적 반응에 적용할 수 있어 고성능 thermistor의 개발과 함께 앞으로의 발전이 기대된다.

아. 생물학 발광형 바이오센서

발광을 수반하는 생물화학반응은 이전부터 잘 알려져 있었다. 이러한 발광은 외부 에너지를 필요로 하지 않고 효소화학적 여기 (excitation)에 의하여 일어나는 점을 이용, 미량의 생체성분 분석법을 고안한 것이다.

과산화수소와 luminol에 어떤 금속이온, 금속착체, 금속효소 등을 작용시키면 발광이어난다. 이때 과산화수소는 각종 oxidation 반응으로 생성되는 것으로, oxidase 반응에서 luminol을 공존시켜 발광하면, 이것을 지표로 기질류나 oxidase 활성 측정이 가능하다. 이 원리에 따라 글루코스, 노산, cholesterol, L-amino acids, hypoxantin 등의 분석이 가능하며 고정화 glucose oxidase나 고정화 urease를 이용한 biosensor가 개발되었다. 또 glucose oxidase와 peroxidase를 같이 고정시킨 발광막을 이용하여 글루코스의 극미량 분석도 시도되었다.

더욱 최근에는 생물화학 발광현상을 이용한 면역분석법이 시도되고 있다. 즉 peroxidase를 표시제로 biotin, thyroxine, testosterone, cortisol, immuno globulin 등의 정량, 또 작은 분자량의 hemin을 표시제로 하여 생물화학 발광을 이용한 촉매면역 분석법

바이오센서 개발의 현황과 전망

이 생체 혈청 albumin(HSA:Human Serum Albumin)이나 β_2 -microglobulin 등의 분석이 행해지고 있다.

발광현상은 과산화물의 분해에 따른 것, 전자이동에 의한 것, 여기산소에 의한 것이 가능하며, 이들을 이용한 새로운 분석 system의 개발도 가능할 것이다.

이상 발광분석법에 대하여 대충 말했으나 바이오센서라고 할 수 있는 것은 아직적이다. 그러나 분석법의 감도는 전극형 바이오센서보다 높아 광 fiber 등의 광응용 시스템 기술의 진보와 관련하여 초미량 생체분석의 분석이 기대된다.

자. SAW(Surface Acoustic Wave)

표면질량의 변화가 공명진동자의 진동수와 직접 관계가 있다는 것을 1959년 Sauerbray가 밝힌 이래 1964년 W.H. King이 석영진동자를 이용하여 여러가지 가스센서를 만들고 Okahata는 다이중층으로 피복한 piezoelctric crystal 전극으로 새로운 바이오센서의 장을 열었다.

2. 용 도

지금까지 개발된 각종 바이오센서는 기초분석기, 환경오염 물질의 측정 및 감시, 생명공학, 식품공정, 안전방재, 의료진단용으로 널리 사용되고 있기 때문에 그 용도를 다 기술할 수 없으므로 의료진단용으로 사용되어지는 바이오센서의 용도를 여기에 소개하고자 한다.

가. 임상검사용 바이오센서

임상검사는 생리 기능검사와 검체검사로 나누며 근년에는 임상검사의 정보가 더욱 더 중요하게 되어 검사의 다양화, 대량처리 그리고 신속처리가 필요하다. 이를 위하여 센서기술의 적극적 도입이 필요하다. 혈액이나 오줌등 검체검사에 이용되는 바이오센서는 다음과 같다.

1) 유기물(당, cholesterol, 중성 기질, phospholipid, 요소, 요산, phenylalanine등): 효소센서, 미생물센서, 효소-미생물 혼합형센서, 효소 thermistor, 발광효소센서, 오르가넬라센서 등이 있는데 이중 효소센서의 실용화가 많다.

2) Hormon(Insulin, hCG, T₄등) : 면역센서, 효소면역센서, 효소면역 thermistor, 발광면

역 thermistor, bioaffinity 센서 등 기본적으로 면역 측정의 원리를 이용한 센서가 많다.

- 3) 항생물질(Cephalosporon, penicillin 등) : 효소센서, 미생물센서 등
- 4) 효소활성(GOT, GOP) : 효소센서, lectin 센서 등
- 5) 단백질, 항체, peptide(혈청알부민, IgG, AFP 등) : 면역센서, 효소면역센서, 효소면역 thermistor, 발광면역센서 등.
- 6) 변이원성 물질 : 미생물센서 등
- 7) 미생물세포 : 균계수 센서, 면역센서
- 8) 혈액세포(limp구 등) : 면역센서
- 9) 혈액형 : 면역센서
- 10) bioassay(비타민 B₁, 니코틴산, nystatin, phenylalanine 등) : 미생물 센서, 균계수 센서.
- 11) 혈액응고 : 혈액응고 전기화학 sensing

바이오센서는 저분자 유기물 측정용으로 많이 실용화 되었다. 글루코스용 효소센서는 응답시간(98% 응답)이 10초 이내로 되고 연속 사용의 수명도 수천회 이상 측정하게 되었다. 그러나 불안정한 효소를 장기간 안정화 하는 데는 문제가 많다. 여러 항목을 동시 측정할 수 있는 장치, 여러 기능을 가진 효소센서 등 시스템의 개량도 시도되고 있다.

저분자 유기물용 미생물센서의 연구개발은 발효공정 계측을 목적으로 실용화 되었다. 임상검사용 미생물센서, 효소미생물, 혼합형 센서도 크게 발달되었다. 효소 thermistor나 발광효소센서 등은 위에서 말한 센서류와는 측정계가 다르나 각각 특성이 있으며 효소 FET 등 새로운 디바이스도 연구되고 있다.

Hormon, peptide, 단백질 등의 바이오센서 개발은 중요한 과제이며, 세포측정이 중요함에 따라 미생물 세포 또는 혈액세포 측정용 바이오센서가 개발되고 있다.

나. 생체내 probe형 바이오센서

검체검사와는 달리, 생체내 상태(in vivo)의 측정에는 아래와 같은 센서가 응용된다.

1) 삽입형 microsensor : catheter 끝에 매달아 장기 probe로 하기도 하고, 침상형 microsensor로서 직접 생체조직이나 세포내에 삽입한다.

2) 매몰형 microsensor : 오랫동안 몸안에 있어야 하므로 생체내 친화력이 있어야 한다.

3) Capsule 탑재형 microsensor : 각종 센서를 탑재하여 체내정보를 telemeter 방식으로 전송하는 의용 capsule에 사용된다.

이들 probe형 센서는 측정대상 생체의 상태를 교란시키지 않아야 하므로 생체적합성

바이오센서 개발의 현황과 전망

체료가 필요하다. 또 생체외에서 정상적으로 움직이는 센서도 생체내에서는 여러 환경인자로 동작이 억제되는 것이 많다. 즉 생체환경에서의 동작특성검토가 중요하다.

삽입형 microsensor의 대표적인 예로 유리 모세관형을 들 수 있다. 세포내 삽입전극으로 유리 모세관형 전극은 옛날부터 사용되어 왔으나 최근에는 아래와 같이 microsensor가 연구되고 있다.

- ① 중성 ionophore (이온원)를 내부액으로 한 유리 모세관형 이온센서
- ② FET의 gate 부위에, 위에서 말한 이온센서를 접속시킨 유리 모세관형 ISFET
- ③ Carbon fiber를 유리모세관 안에 넣는 아주 작은 전극
- ④ ①또는 ②의 이온센서를 기본으로 한 유리 모세관형 효소센서

유리박막이온센서의 미소화도 연구화 되어 1mm ϕ 또는 그이하의 것이 실용화되고 있으며 Clack형 효소센서도 미소화 되고 있다. 이들과는 별도로 반도체 재료를 이용한 미소화가 기대를 모은다. 즉 catheter끝에 단 γ HFET센서나 CO₂ FET센서는 이미 실용화 단계에 있다. 원래 이들 FET 센서는 미소화 및 집적화가 가능한 것이 특성이므로 효소 FET센서에도 이용되고있다.