

## 자기력에 의한 단백질칩

최 용성, 문 종대, 이 경섭  
동신대학교 전기공학과

### Protein Chip Using Magnetic Force

Yong-Sung Choi, Jong-Dae Moon, and Kyung-Sup Lee  
Department of Electrical Engineering, DongShin University

**Abstract :** This research describes a new constructing method of multifunctional biosensor using many kinds of biomaterials. A metal particle and an array was fabricated by photolithographic. Biomaterials were immobilized on the metal particle. The array and the particles were mixed in a buffer solution, and were arranged by magnetic force interaction and self-assembly. A quarter of total Ni dots were covered by the particles. The binding direction of the particles was controllable, and condition of particles was almost with Au surface on top. The particles were successfully arranged on the array. The biomaterial activities were detected by chemiluminescence and electrochemical methods.

**Key Words :** Multifunctional biosenso, Microfabrication technology, Self-Assembly, Particle, Chip pattern

### 1. 서 론

지금까지는 각각의 생체물질을 순차적으로 기판에 배치하여 고정화하므로, 측정대상이 한정되는 문제가 있었다<sup>1)~3)</sup>. 또한, 단일검출방법으로서 검출방법에 적합한 식별소자를 선택해야 하므로, 채널로서 이용하는 식별소자의 선택폭이 한정되었다.

따라서, 본 연구는 다종류의 생체재료를 동시에 고정화할 수 있는 방법의 개발과 광과 전기의 복합적인 검출을 할 수 있는 센서를 개발하는 것을 목적으로 하였다. 이 목적을 실현하기 위하여, 재료의 배치조작에 자기조직화의 방법을 채용하였다.

### 2. 실험방법

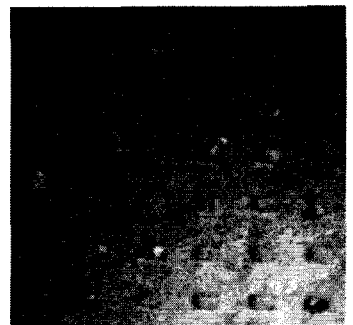
Peroxidase (POD: horseradish origin, Wako pure medicine industry)와 glucose oxidase (GOD: Wako Pure Chemical Industries)는 반응의 촉매로서 사용하였다. 효소고정화를 위하여 bead 세척용으로 수산화나트륨을 사용하였다. 효소고정화에는 볼루엔, 글루탈알데히드 (25%),  $\gamma$ -APTES를 사용하였다. 금표면을 세척에 사용하기 위한 아세톤은 전자공업용 (Kanto Chemical Co., Inc.)을 사용하였다. 도금용액은 MICROFAB Ni 100 (Japanese Electroplating Engineers of Japan Ltd.)을 사용하였다. 포토리소그래픽에 사용한 네거티브형 레지스트는 SU-8 50 (MicroChem Corp)을, 그 현상액은 SU-8 Remover (MicroChem Corp)을 사용하였다.포지티브형 레지스트는 PMER P-LA900PM (Tokyo Applied Chemical Industries, Ltd.)을 사용하였다. 그 현상액은 P-7G (Tokyo Applied Chemical Industries, Ltd.)을 사용하였고,

레지스트를 peel off하는 데는 PMER Remover PS (Tokyo applied chemistry industry)를 사용하였다. 센서 기판을 제작하기 위하여 두께 1.2~1.5mm, 76x26mm의 MICRO SLIDE GLASS (MATSUNAMI)를 사용하였다. 또한, 화학발광시약으로는 루미놀 (생화학용)를 사용하였고, 촉매가 되는 p-요드페놀, 반응의 산화제로서 과산화수소 (30% 수용액, 생화학용)를 사용하였다.

### 3. 결과 및 검토

#### 3.1 Ni dot 어레이

사진 1은 제작된 센서어레이를 나타낸다. 유리기판상에 Cr과 Al을 증착하고, SU-8을 스핀코팅한 후, photolithography로 에칭하였다. 기판에 Ni을 도금하여 Cr/Au/Ni 구조를 얻었다. 마지막으로 Ni 표면을 연마하여 매끄러운 Ni dot를 얻었다. Ni dot의 크기는  $200\mu\text{m} \times 400\mu\text{m}$ 이다. 이외에도 직경  $50\mu\text{m}$ 의 Ni dot 어레이도 제작할 수 있었다.

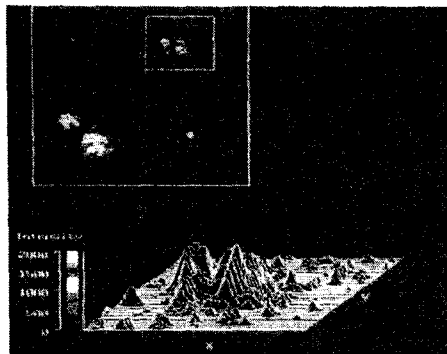


Photograph 1. SEM images of Ni dot. The layer is Cr/Au/Ni.

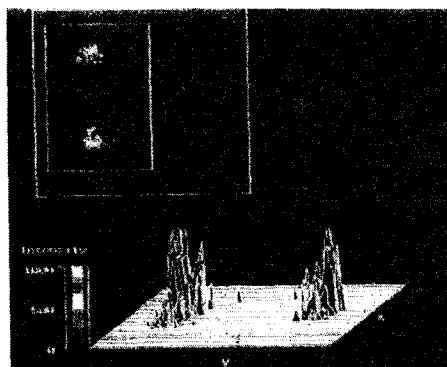
#### 3.2 효소고정화의 검토

그림 1은 1mM 루미놀 5ml, 0.13mM 파라요드페놀 1ml, 1mM 과산화수소 0.2ml의 혼합용액중에 페록시다제를 고정화한 효소를 넣고, 루미놀발광을 2차원고감도화학발광계측시스템으로 측정한 결과이다. pH7.5, 8.0, 8.5

의 3종류를 조사하였다. pH7.5에서 발광은 일어나지 않았고, pH8.0, 8.5에서 발광이 측정되었으나 pH8.0에서 보다 높은 발광이 얻어졌다. 이 때문에 이후의 루미놀발광을 이용한 실험은 pH8.0에서 실시하였다.

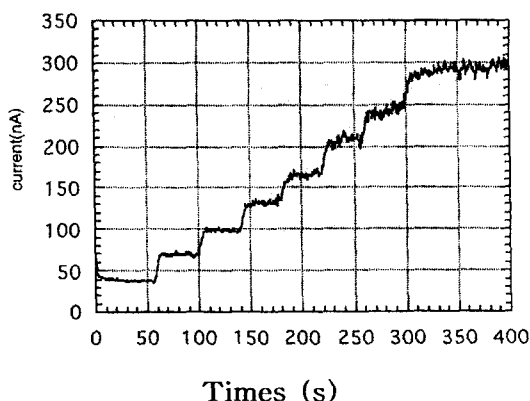


(a)



(b)

**Figure 1.** Luminescence intensities of HRP-immobilized beads. The reaction solution was a mixture of 1mM luminol, 1mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 20mM phosphate buffer pH8.0 (a) or pH8.5 (b).



**Figure 2.** Response curve of the electrode on the chip against the sequential addition of hydrogen peroxide.

### 3.3 센서전극에 의한 환원전위 측정

그림 2는 제작된 센서를 50mM, 100ml 인산완충 용액 중에 담구고, 100mM의 과산화수소를 40초간격으로 0.5ml

씩 가하면서 산화환원전류값을 클로노암페로메트리로 측정된 결과이다. 이 결과로부터 본 연구에서 제작된 센서칩을 이용하여 과산화수소의 농도측정이 가능함을 알았다. 이 센서칩의 챔버내에서 과산화수소가 생성되는 반응이 일어나면 전기신호로서 검출될 수 있음을 알았다. 글루코스인 GOD에 의한 촉매반응에서 과산화수소가 생성됨을 알 수 있다. 따라서, GOD를 고정화한 bead를 센서인 챔버내에 배치하면, 글루코스의 전기화학적 검출이 가능하다.

## 4. 결 론

본 논문에서는 집적형바이오센서 구축에 있어서 미소담체의 제작, 기판의 제작 및 기판에 미소담체의 배치를 검토하였다. 포토리소그래피에 의하여 미소담체를 제작하고, 이것을 기판에 배치하였다. 전기화학적 반응을 일으킬 수 있는 담체를 급속으로 하여 센서구축을 시도하였다. 담체의 기판에의 배치는 담체와 기판을 강자성체 재료로 제작하고, 기판측을 자화시킴으로서 실현시켰다. 유리 bead에 티올기와 EDC 및 NHS를 통해서 효소를 고정화할 수 있었다. 또한, 이 고정화된 효소가 촉매반응으로 해서 사용할 수 있음을 루미놀발광에 의하여 확인하였다. 효소 bead를 고정화하고 각각의 센서챔버에 배치하여 반응의 상호작용이 일어나지 않았으므로, 각각 챔버에서 독립된 반응계를 만들 수 있었다. 이것을 집적형바이오센서에 응용할 수 있음을 알았다.

## 감사의 글

“본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R08-2003-000-10312-0) 지원으로 수행되었음.”

## [참 고 문 헌]

- [1] David R. Baselt, Gil U. Lee, Mohan Natesan, Steven W. Metzger, Paul E. Sheehan, Richard J. Colton, “A biosensor based on magnetoresistance technology”, *Biosensors & Bioelectronics*, **13**, 731-739, 1998.
- [2] Karri L. Michael, Laura C. Taylor, Sandra L. Schultz, and David R. Walt, “Randomly Ordered Addressable High-Density Optical Sensor Array”, *Anal. Chem.*, **70**, 1242-1248, 1998.
- [3] A. Terfort, N. Bowden and G.M. Whitesides, “Three-dimensional self-assembly of millimeter-scale components”, *Nature*, 1997, **386**, 162-164.