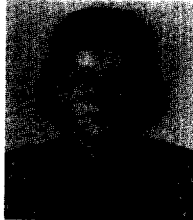


Biosensor의 원리와 국내연구현황



계명대학교 화학과 교수
인 권 식



계명대학교 화학과 강사
김 봉 원



계명대학교 화학과 강사
손 무 정

I. 서 론

화학센서(chemical sensor)는 무기이온이나 기체 뿐만 아니라 여러 가지 복잡한 유기 생화학물질(organic biochemical substances)을 신속하고 선택적으로 식별할 수 있다. 특히, 이 중에서 대부분 무기 화학종(inorganic species)의 정량을 위한 이온 선택성 전극(ion-selective electrodes, ISEs)과는 달리 생체물질(bio-materials)를 이용한 바이오센서(biosensor)는 측정대상에 대한 선택성(selectivity)이 탁월하며, 감도(sensitivity)가 예민하여 유기 생화학물질을 신속하게 직접 정량할 수 있으므로 분석화학, 환경, 의학, 생화학 및 농학 등 여러 분야에서 주목을 받고 있는 새로운 첨단장치이다.

바이오센서는 1962년 Clark와 Lyons(1) 등이 pH 전극에 효소를 고정화(immobilization)하여 glucose를 정량할 수 있다는 것을 제안한 이후, 1967년 Updike와 Hicks(2) 등이 O₂전극에 polyacrylamide gel을 이용하여 glucose oxidase를 고정화하여 glucose를 정량함으로써 개발되기 시작하였으며, Updike와 Hicks 등이 처음으로 효소전극(enzyme electrode)이라는 용어를 사용하였다.

바이오센서의 기본구조는 크게 바탕전극(base electrode), 막(membrane) 및 측정장치(transducer) 등의 세 부분으로 나눌 수 있다. 여기서는

바탕전극의 종류와 감응 메카니즘(mechanism), 바이오센서의 원리와 그 종류, 응용범위 및 국내 연구 현황에 대하여 소개하고자 한다.

II. 바이오센서의 원리

바이오센서는 생체물질을 감응막(sensing membrane)으로 하여 이를 전기화학적 디바이스(electrochemical device)에 고정시켜 대상 시료물질을 정량하는 것으로서 Fig.1과 같은 구조로 되어 있다. 생체물질로서는 효소(enzyme), 미생물(microbe, 박테리아 및 곰팡이), 항체(antibody) 혹은 항원(antigen), 동식물의 조직(tissue) 및 세포 내의 소기관(organelle) 등이 사용되며, 용액 중의 감응 대상물질은 이들 생체물질이 고정된 막(생체막, biomembrane)에 확산되어 화학반응이나 전기화학적으로 변화되어 출력신호로서 나타난다. 이 출력신호는 사용하는 바탕전극이나 출력신호를 측정하는 기기에 따라 전위차(potential) 혹은 전류(current)로써 얻어진다.

한편, Fig.2에서는 시료가 용액 중에서 생체막을 통과하여 전기화학적 탐침(base electrode)에 도달할 때까지의 과정을 나타낸 것이다. 시료 용액(bulk solution) 속이 있는 측정대상기질(substrate, S₀)은 생체물질이 고정된 막(biocatalytic layer)에 확산되어(S_L) 생체막 내의 효소(E)와 반응(효소-기질반응)하여 새로운 생성물(P_L)을

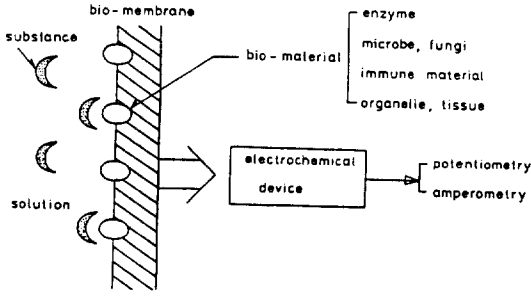


Fig. 1. Principle of biosensor.

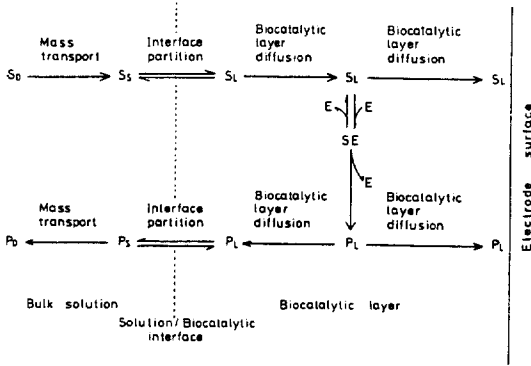


Fig. 2. Kinetic processes in biosensor response (from M.A. Arnold and G.A. Rechnitz).

만든다. 이 때 기질 (S_L)은 효소 (E)와 일부 반응하여 효소-기질 complex (SE)을 거쳐 P_L 이 되고, 일부는 그대로 바탕 전극에까지 확산되거나 다시 외부 시료용액 (bulk solution) 속으로 확산된다.

또한, 생성된 P_L 도 역시 바탕전극이나 외부시료 용액 속으로 확산된다. 여기서 미반응된 S_L (바탕 전극에까지 확산된 기질) 측정하는 대표적인 예가 O_2 전극이며, P_L 을 측정함으로써 기질의 농도를 결정하는 예는 H_2O_2 센서와 potentiometric-based electrode를 들 수 있다.

III. 바탕전극(Base electrode)

1. Potentiometric-based electrode

Fig.3은 전위차법에 근거한 기체 감응탐침 (gas-sensing probe)의 구조를 나타낸 것으로 기준전극 (reference electrode)과 특정 이온 (H^+) 전

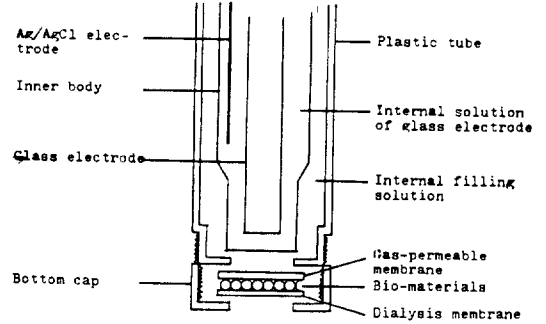
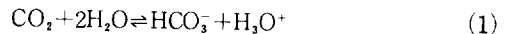


Fig. 3. Schematic diagram of a potentiometric-based biosensor.

극 및 원통형 플라스틱 튜브에 넣은 전해질 용액으로 되어 있다. 교환할 수 있는 얇은 기체 투과막 (gas-permeable membrane)이 그 관의 한쪽 끝에 붙어 있어 시료용액과 내부용액 (internal filling solution)을 갈라놓고 있다. 이 막과 투석막 (dialysis membrane) 사이에 생체물질을 넣음으로써 바이오센서를 조립할 수 있다.

생체물질에 의해 생긴 기체는 막을 통하여 내부 용액 속으로 확산되어 유리전극과 기체투과막 사이의 얇은 액체층 (liquid thin layer)에서 화학적인 평형이 이루어진다. 내부의 유리전극은 이 평형의 변화를 감지하여 생성된 기체의 농도에 비례하는 감응도를 나타낸다.

예를 들어 CO_2 와 같은 기체가 유기 생화학물질로부터 발생된 경우에 다음 반응에서 보인 바와 같이 CO_2 가 내부용액 속으로 들어가서 그 용액의 pH를 변화시킨다.



내부용액 속에 들어 있는 유리전극은 pH 변화를 검출하며, (1)식의 평형상수는 다음과 같다.

$$\frac{[HCO_3^-][H_3O^+]}{[CO_2]} = K \quad (2)$$

만약 내부 용액에 들어 있는 HCO_3^- 의 농도가 상당히 높아서 들어오는 CO_2 에 따라 그의 농도가 많이 변하지 않는다면,

$$\frac{[H_3O^+]}{[CO_2]} = \frac{K}{[HCO_3^-]} = K' \quad (3)$$

를 얻을 수 있고, 이 식은 또 다음과 같이 쓸 수 있다.

$$[H_3O^+] = K' \cdot [CO_2] \quad (4)$$

한편, hydronium ion의 Nerst 식은 다음과 같이 간단히 쓸 수 있을 것이다.

$$E = E_o + 0.0591 \log [H_3O^+] \quad (5)$$

식 (4)와 (5)로부터

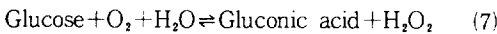
$$\begin{aligned} E &= E_o + 0.0591 \log K' \cdot [CO_2] \\ &= E_o + 0.0591 \log K' + 0.0591 \log [CO_2] \\ &= E'_o + 0.0591 \log [CO_2] \end{aligned} \quad (6)$$

와 같이 쓸 수 있으며, CO₂의 농도에 따라 전위가 결정되므로 시료용액의 농도를 측정할 수 있다.

위에서 살펴본 CO₂ 외에도 NH₃, HCN, HF, H₂S, SO₂ 및 NO₂ 기체를 측정할 수 있는 기체감응 탐침이 시판되고 있다.

2. Amperometric-based electrode

Fig.4에서는 대표적인 amperometric-based electrode를 나타내었으며, 이것은 cathode와 anode로 구성되어 있다. 예를 들어 glucose oxidase(GOD)를 전극 막에 고정시켰을 때 glucose와 O₂는 시료용액에서 polycarbonate막을 통과하여 GOD에 확산되면 다음과 같이 glucose는 산화되어 H₂O₂를 생성한다(3-5).

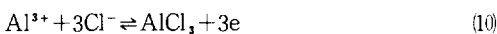


H₂O₂는 기체투과막(Cellulose-acetate membrane)을 통과하여 Pt anode 상에서 산화되므로 anode 전류가 생긴다.

한편, cathode와 anode로서 은(silver)을 사용하거나 Al anode와 Pt cathode를 사용한 O₂ 전극을 사용하였을 때에는 cathode에서 수산화이온(OH⁻)이 생성되는 다음과 같은 반응이 일어난다.



이 때 전자는 염화이온(Cl⁻)을 포함하는 전해질 용액내에서 anode의 반응에 의해서 공급된다. 즉,



이것은 O₂의 소비량을 측정하는 위의 예와는 달리 O₂의 양을 직접 측정함으로써 폐수 중의 생화학적 산소요구량(biochemical oxygen demand,

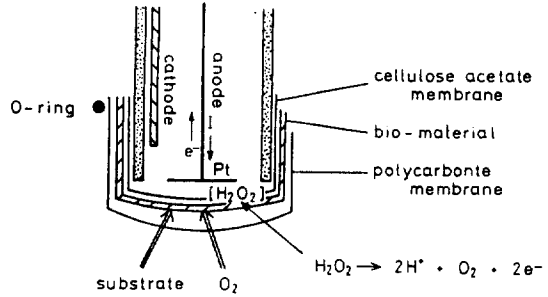


Fig. 4. Schematic diagram of an amperometric biosensor.

BOD)의 측정 등과 같이 여러 분야에서 응용될 수 있다.

IV. 바이오센서의 종류 및 특성

바이오센서는 이용되는 생체관련물질에 따라 분류되는데 현재까지 실용화되어 있거나 활발히 연구되어 있는 센서로는 효소센서(enzyme sensor), 미생물센서(microbe sensor), 면역센서(immuno sensor), 세포내의 소기관 및 조직센서(organelle and tissue) 등이 있다.

Table 1에서는 바이오센서를 만드는데 사용되는 transducer와 생체물질을 나타내었으며, 이들은 서로 조합하여 여러가지 바이오센서를 개발할 수 있다.

이러한 바이오센서의 특성은 고정화막 즉, 생체막의 특성에 의해 지배된다. 따라서 생체촉매나 생체물질의 기능을 잃지 않도록 고정화시키는 방법이 매우 중요하다.

현재 각종 고정화법이 개발되어 있으며, 이들의 고정화법은 Fig.5와 같다.

비수용성 막 담체에 효소를 공유결합시켜 고정화시키는 공유결합법(covalent linkage), 효소를 가교제(cross-linking agent)에 서로 가교화해서 막을 형성하게 하는 가교결합법(covalent cross-linkage), 생체물질을 고분자 matrix로 형성된 막 중에 포괄시키는 포괄법(entrapment), 생체물질을 담체막 중에 흡착고정시키는 흡착법(adsorption) 및 고분자캡슐(capsule)로 둘러싸는 미세캡슐법(microencapsulation) 등이 있다(Fig.5)(6, 7).

Table 1. Components that may be used to construct a biosensor.

Bio-materials	Transducers
Microbes	Potentiometric
Tissue	Amperometric
Cells	Conductimetric
Organelles	Impedimetric
Membranes	Optical
Enzymes	Calorimetric
Enzyme components	Acoustic
Receptors	Mechanical
Antibodies	Molecular electronic
Nucleic acids	
Organic molecules	

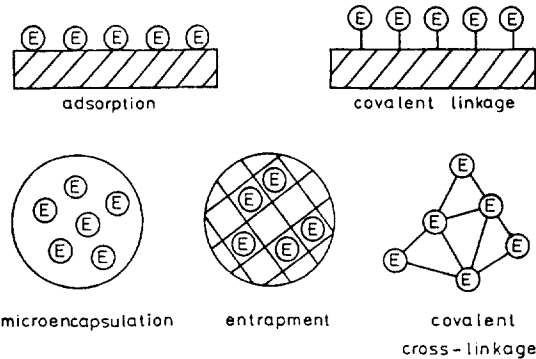


Fig. 5. Immobilization methods of bio-material (from R.K. Kobos).

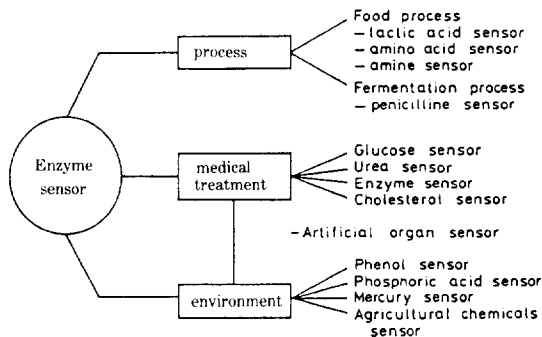


Fig. 6. Application fields of enzyme sensor.

1. 효소센서(Enzyme Sensor)

효소는 생체 내의 반응을 촉매하는 단백질이며, 어떤 특이한 물질(기질)과만 선택적으로 반응하고

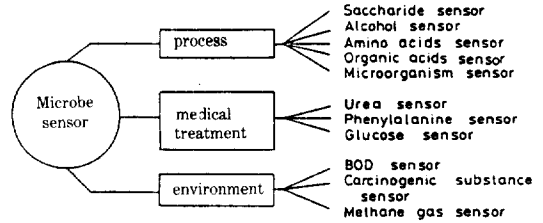


Fig. 7. Application field of microbe sensor.

(기질특이성), 상온, 상압의 조건에서 특정한 반응만을 촉매한다(반응 특이성). 따라서 검지대상을 기질로 하는 효소를 막에 고정화하고, 그 효소가 촉매하는 반응에 따라 생성 또는 소비되는 물질을 전기화학 전극으로 감지하면 기질을 특이적으로 선택하는 효소센서가 된다. 그러나, 효소에 따라 특정한 화학물질을 선택적으로 측정할 수 있지만, 번잡한 조작과 시간이 필요한 단점이 있다.

효소센서에는 글루코오스센서(1-5), 알코올센서(8), 아미노산센서(9, 10) 및 유기산센서(11) 등이 있다.

우리들의 혈액속에는 일정농도의 글루코오스가 포함되어 있으며, 당뇨병에는 이 농도가 상승하여 나타난다. 따라서 당뇨병 환자에 대한 임상검사로써 혈액, 오줌속의 글루코오스 농도의 측정이 필요하기 때문에 이 용도에 글루코오스 산화반응을 특이적으로 촉매하는 효소(**glucose oxidase, GOD**)를 사용한 글루코오스센서가 발표되었다.

또한, 알코올을 산화해서 아세트알데히드를 생성하는 반응을 촉매하는 **alcohol oxidase**와 산소 및 과산화수소 전극을 합하여 알코올센서가 개발되었다. 또, 효소를 이용한 미량 아미노산과 비타민 등의 정량에 이용되는 아미노산 및 유기산센서도 개발 중이다. 그러나, 효소를 고정화시키는 방법의 어려움 때문에 간편하고 쉬운 방법의 연구가 계속되고 있다.

Table 2는 효소전극의 특성을 요약한 것이다.

바이오센서 중 실용화가 가장 빨랐던 효소센서 중 글루코오스센서가 시판되기 시작한 것은 1970년대 후반으로서 비교적 역사가 짧다. 그러나, 활용 가능성이 넓다는 이유로 일본, 미국, 프랑스 등 생물 및 의료과학이 발전한 대부분의 선진 외국에서는 바이오센서를 생산 및 시판하고 있다.

Table 2. Biosensors using enzymes.

Substrate	Enzyme	Electrode	Method of immobilization	Concentration range (M) ^a
Urea	Urease (E.C. 3.5.1.5)	Monovalent cation	Gel entrapment	$5 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-1}$
		NH ₃ gas sensing	Covalently bound	$1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-2}$
		CO ₂ gas sensing	Covalently bound	$1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-2}$
		pH	Gel or dialysis membrane entrapment	$5 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-3}$
Glucose	Glucose oxidase (E.C. 1.1.3.4)	H ₂ O ₂	Covalently bound	$1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-2}$
	Glucose oxidase (E.C. 1.1.3.4)	pH	Gel entrapment	$1 \times 10^{-3} \sim 1 \times 10^{-1}$
Amygdalin	-glucosidase (E.C. 3.2.1.21)	Cyanide	Gel entrapment	$1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-3}$
Penicillin	Penicillinase (E.C. 3.5.2.6)	pH	Gel entrapment	$1 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-2}$
		pH	Dialysis membrane entrapment	$1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-2}$
L-Amino acids	L-Amino acid oxidase (E.C. 1.4.3.2)	Monovalent cation	Dialysis membrane entrapment	$1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-2}$
D-Amino acids	D-Amino acid oxidase (E.C. 1.4.3.3)	Monovalent cation	Dialysis membrane entrapment	$1 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-2}$
L-Glutamine	Glutaminase (E.C. 3.5.1.2)	Monovalent cation	Dialysis membrane entrapment	$1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-1}$
L-Phenylalanine	L-Amino acid oxidase	Ammonium ion	Covalently bound	$1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-2}$
L-Tyrosine	Tyrosine decarboxylase (E.C. 4.1.1.25)	CO ₂ gas sensing	Dialysis membrane entrapment	$1 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-2}$
	Phenylalanine decarboxylase (E.C. 4.1.1.1.53)	CO ₂ sensing	Covalently bound	$2.5 \times 10^{-3} \sim 1.5 \times 10^{-2}$
L-Asparagine	Asparaginase (E.C. 3.5.1.1)	Monovalent cation	Gel entrapment	$5 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-2}$
		NH ₃ gas sensing	Covalently bound	$8 \times 10^{-5} \sim 8 \times 10^{-3}$
L-Lysine	Lysine decarboxylase (E.C. 4.1.1.18)	CO ₂ gas sensing	Covalently bound	$1 \times 10^{-4} \sim 2 \times 10^{-3}$
L-Glutamate	Glutamate dehydrogenase (E.C. 1.4.1.2)	Monovalent cation	Dialysis membrane entrapment	$1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3}$
	Glutamate decarboxylase (E.C. 4.1.1.15)	CO ₂ gas sensing	Covalently bound	$7 \times 10^{-4} \sim 7 \times 10^{-3}$
5'-AMP	AMP deaminase (E.C. 3.5.4.6)	NH ₃ gas sensing	Dialysis membrane entrapment	$8 \times 10^{-5} \sim 1.5 \times 10^{-2}$
Uric acid	Uricase (E.C. 1.7.3.3)	CO ₂ gas sensing	Adsorption and dialysis membrane entrapment	$1 \times 10^{-4} \sim 2.5 \times 10^{-3}$

국내에서는 주로 학교 및 병원에서 기초의학연구 및 임상검사용이 대부분이며, 현재로서의 활용에는 그리 많지 않다. 특히 식품발효나 환경오염 측정분야에서의 응용은 바이오센서에 대한 인식이 미흡하고 국내 생산량이 없기 때문에 극히 미미한 실정이다.

효소센서의 응용분야를 Fig.6에 나타내었다.

2. 미생물센서(Microbe Sensor)

효소는 주로 미생물로부터 추출, 정제하고 있으나, 단백질이기 때문에 불안정하고 추출단계에서

활성을 잃을 수 있으며, 고가의 경비가 소요된다. 그러나, 미생물은 자체 효소반응을 이용한 화학반응계를 가졌기 때문에 미생물을 막에 고정화하여 전기화학장치와 조합시켜 사용하는 것이 미생물센서이다.

화학반응은 효소에 비하여 복잡하며, 원칙적으로는 미생물의 호흡활성을 검출하는 호흡활성 측정형과 미생물의 대사작용으로 생성하는 전기활성 측정으로 대별된다. 생존 그대로의 미생물은 당류 및 단백질과 아미노산 등을 섭취하면 호흡활성이

Table 3. Characteristics of microbe sensor.

Substances	Bacteria	Electrode	Stability (day)	Response time (mins)	Measuring concentration range (mg/l)
Glucose	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	O ₂	14	10	5-2 × 10
Ethanol	<i>Trichosporon brassicae</i>	O ₂	30	10	5-3 × 10
Glutamic acid	<i>Escherichia coli</i>	CO ₂	20	5	10-8 × 10 ²
Lysine	<i>Escherichia coli</i>	CO ₂	14	5	10-10 ²
Glutamine	<i>Sarcina flava</i>	NH ₃	14	5	20-10 ³
Arginine	<i>Streptococcus faecium</i>	NH ₃	20	10	10-170
Aspartic acid	<i>Bacterium cadaveris</i>	NH ₃	10	5	5 × 10 ⁻¹⁻⁹⁰
Nicotinic acid	<i>Lactobacillus arabinosus</i>	pH	30	60	10 ⁻²⁻⁵
BOD	<i>Trichosporon cutaheum</i>	O ₂	30	10	5-3 × 10
Vitamin B ₁₂	<i>Escherichia coli</i>	O ₂	24	4	5.1 × 10 ^{-2-2.25 × 10⁻¹}

Table 4. Characteristics of domestic microbe sensor.

Substances	Bacteria	Gas-sensor	Linear range (M)	Slope (mV/decade)
urea	<i>Proteus vulgaris</i>	CO ₂	7.0 × 10 ^{-4-5.0 × 10⁻²}	45
urea	<i>Proteus vulgaris</i>	NH ₃	3.0 × 10 ^{-4-7.0 × 10⁻²}	59.1
L-asparagine	<i>Proteus vulgaris</i>	NH ₃	3.0 × 10 ^{-4-3.0 × 10⁻²}	52-55
L-leucine	<i>Proteus vulgaris</i>	NH ₃	5.0 × 10 ^{-5-1.0 × 10⁻²}	47-51
DL-phenylalanine	<i>Proteus vulgaris</i>	NH ₃	3.0 × 10 ^{-4-1.0 × 10⁻²}	40-43
L-methionine	<i>Proteus vulgaris</i>	NH ₃	7.0 × 10 ^{-4-3.0 × 10⁻²}	53
L-asparagine	<i>Proteus vulgaris</i>	CO ₂	5.0 × 10 ^{-4-3.0 × 10⁻²}	28
L-leucine	<i>Proteus mirabilis</i>	NH ₃	3.0 × 10 ^{-4-1.0 × 10⁻²}	46
urea	<i>Proteus mirabilis</i>	CO ₂	7.0 × 10 ^{-4-3.0 × 10⁻²}	46
L-asparagine	<i>Proteus mirabilis</i>	NH ₃	1.0 × 10 ^{-2-9.0 × 10⁻⁵}	57.5-58.9
L-alanine	<i>Proteus vulgaris</i>	NH ₃	1.0 × 10 ^{-4-1.0 × 10⁻²}	40
L-glutamine	<i>Proteus vulgaris</i>	NH ₃	5.0 × 10 ^{-5-1.0 × 10⁻³}	30
L-arginine	<i>Proteus vulgaris</i>	NH ₃	1.0 × 10 ^{-4-3.0 × 10⁻²}	52-55
cytosine	<i>Proteus mirabilis</i>	NH ₃	1.0 × 10 ^{-3-5.0 × 10⁻²}	45-48

증대되어 미생물막을 셀룰로우스 투시막을 띄워서 미생물센서를 만들어 사용한다.

미생물센서에는 당(12, 13), 알코올(14), 유기산(15) 및 아미노산센서(16-18) 등이 있다. 글루코오스만 산화하는 *Pseudomonas fluorescens* 를 칼라겐 막 속에 고정화하고, 산소전극 위에 부착된 글루코오스센서가 개발되었으며, 이 센서는 효소를 이용할 때와 큰 차이가 없다.

또한, *Trichosporon brassicae* 는 에탄올을 산화하므로 다공성 아세틸 셀룰로우스 막상에 흡착 고정화하여 산소 전극에 부착하고, 미생물막을 다

고성 테프론막으로 입혀서 알코올센서를 개발하여 에탄올의 검출이 가능하다.

미생물센서는 효소센서에 이어 실용화가 활발하며, BOD 측정용의 미생물센서는 단 시간에 하천이나 폐수의 유기물 오염도 측정이 가능하다(19). 이밖에도 발효공업계측에도 사용되며, 장래에는 의료분야에 더 많이 이용될 것이다.

Fig.7은 미생물센서의 응용분야를 나타낸 것이다.

외국에서 개발된 미생물센서의 종류와 특징을 Table 3에 나타내었다.

한편, 국내의 경우 바이오센서에 관련된 연구를 수행하는 곳은 계명대학교, 과학기술원, 경북대학교 등에서 몇 분이 연구를 하고 있으나, 그 인력층이 매우 얇다.

국내 바이오센서의 선두주자인 계명대학교의 미생물센서 연구내용 및 연구결과를 Table 4에 나타내었다.

3. 면역센서 (Immuno-Sensor)

효소는 적절한 조건에서 특정한 물질(기질)과만 선택적으로 촉매반응을 하며, 기질과 보조효소나 저해물질도 선택적으로 식별이 가능하다.

특히, 면역반응은 항체와 항원의 특이한 작용의 형성을 기본으로 삼고 있으므로, 이 반응을 이용함으로써 항원이나 항체의 선택적 식별이 가능하여 특히 임상화학분야에 이용도가 높다.

Fig.8에서 도시된 항체막을 효소(catalase)가 표지(label)된 항원과 비표지(unlabel) 항원의 혼합물과 결합시키면 경쟁반응(competative reaction)이 일어나서 항원과 항체가 결합한다. 일정량의 효소를 사용하면 항원의 농도에 따라 표지된 항원과 비표지된 항원 사이의 비율이 항체에 결합한 이들 혼합물의 비율과 같아진다. 즉, 항원의 농도가 낮으면 표지된 항원이 항체에 더 많이 결합하고, 항원의 농도가 높으면 상대적으로 비표지된 항원이 더 많이 결합한다. 이 항체-항원-효소막(antibody-antigen-catalase membrane)을 O₂ 전극에 부착하고, 3% H₂O₂ 용액에 담그면 Fig.8에서 보는 바와 같이 O₂가 발생되어 전극에 감응된다. 표지된 항원이 많으면, 즉, 항원의 농도가 낮으면 O₂의 발생이 상대적으로 많아져서 O₂전극의 cathode에는 많은 전류가 흐르고, 비표지된 항원이 많으면, 즉, 항원의 농도가 높으면 그 반대이다(20).

이외에도 사용하는 바탕전극에 따라 효소의 종류도 여러가지를 이용할 수 있다(21, 22).

이와 같은 면역센서를 이용하여 임신진단(20) 및 theophylline(23), steroid(22) 및 digoxin(23)의 정량에 대한 연구가 있었으며, 이외에도 여러 가지 전기화학장치와 전기화학적으로 활성인 종(electrochemical active species)를 이용한 면역센서도 연구되었다.

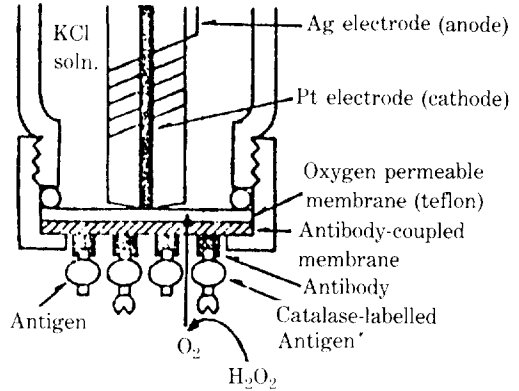
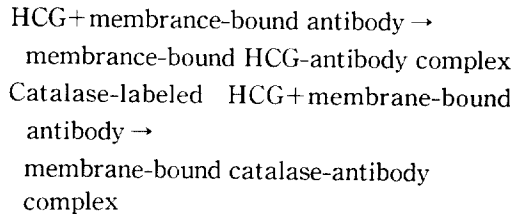


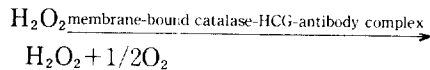
Fig. 8. Schematic representation of the enzyme-immunoelectrode and its mode of action

실제로 임부의 임신여부를 진단하는 HCG (Human Chorionic Gonadotropin)의 정량을 위한 반응경로는 다음과 같다(20).

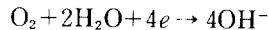
(1) Immunochemical reaction



(2) Enzymatic reaction



(3) Electrochemical reaction (cathode reaction)



지금까지 발표된 면역센서는 각각의 시료에 따라 감응막을 따로 제조하여야하는 단점이 있으며, 국내에서는 전혀 연구되고 있지 않는 미개척분야이다.

4. 조직 및 오르가넬라 센서

효소, 미생물, 면역센서 외에 생체의 조직이나 오르가넬라(고도의 기능이 집약된 분자집합체)를 센서에 이용하는 연구가 진행되고 있다. 오르가넬라를 이용할 경우, 종래의 단일효소나 복합효소로의 측정이 가능하며 안정된 상태로 사용할 수 있다.

Table 5에서처럼 오르가넬라센서에는 미토콘드리아의 전자전달계를 이용한 미토콘드리아센서

Table 5. Characteristics of various organelle and tissue sensors.

Sensors	Bio-materials	Base electrode	Stability (days)	Response time (min)	Measuring concentration range (M)
Glutamine	Porcine kidney	NH ₃	28	5-7	2×10 ⁻² -5×10 ⁻⁵
			30	7	6.7×10 ⁻³ -6.0×10 ⁻⁵
Adenosine	Mitochondria	NH ₃	10	6-7	5.6×10 ⁻³ -1.0×10 ⁻⁴
			-	11	1.9×10 ⁻⁵
Glutamate	Yellow squash	CO ₂	7	10	1.2×10 ⁻² -2×10 ⁻⁴
H ₂ O ₂	Bovine liver	O ₂	8	1	10 ⁻⁵
Guanine	Rabbit liver	NH ₃	7 mounths	2-3	1.0×10 ⁻² -1.12×10 ⁻⁵
Tyrosine	Sugar beet	O ₂	8	5-10	30-900 M/l
Cysteine	Cucumber leaves	NH ₃	-	-	10 ⁻⁵
Urea	Jack bean meal	NH ₃	3 mounths	0.5-6	1.5×10 ⁻³ -3.4×10 ⁻⁵
Dopamine	Banana	O ₂	-	30-40 sec	0.2×1.2 mM

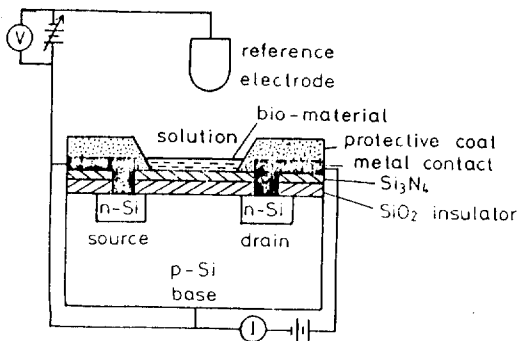


Fig. 9. Schematic diagram of bio-FET.

(24), 동·식물의 조직을 이용하면 불안정한 효소를 막 상태로 안정하게 장시간 사용할 수 있는 장점이 있으므로 특히, 소의 간조직(25), 돼지의 신장조직(26)을 이용하여 arginine, glutamine에 응용하기도 하였고, 호박의 중과피를 탄산가스 전극의 가스투과막 표면에 부착하여 글루타민산센서를 구성한 식물조직센서가 보고되었다(27).

한편, 곰팡이에도 효소가 있다고 보고됨에 따라 곰팡이를 이용한 센서가 계명대학교에서 개발 중이며, 이 센서가 개발되면 국내의적으로 획기적인 계기가 될 것이다.

5. ISFET를 이용한 바이오센서(Bio-FET)

각종 트랜스듀서 중에서도 반도체 이온센서의 하나인 이온감응성 전계효과 트랜지스터 (ISFET, Ion Selective Field Effect Transistor)는 반도체

체 제조기술에 의하여 미세가공이 가능하고 다종류의 성분을 동시에 측정할 수 있다. 또한 이온 감응막을 얇게 하여 응답시간을 매우 빠르게 하고, 대량생산에 의하여 값싼 센서로 공급할 수 있는 장점 때문에 특히 관심을 끌고 있는 분야이다. 이러한 ISFET와 고정화 효소막을 조합시킨 바이오센서(bio-FET)가 개발 중이다.

Fig.9는 biochemical FET(bio-FET)를 나타낸 것이다.

트랜지스터의 윗부분에 절연체인 SiO₂층과 Si₃N₄층이 있는데, 이 층은 이온을 통과하지 못하게 하고, 전기적인 안정도를 증가시키기 위한 것이다. 오른쪽 전원은 드레인과 소오스 사이에 일정한 전위차를 유지시키고, 전류계는 소오스와 드레인 사이에 흐르는 전류를 측정한다(베이스로부터의 전류는 없다). 베이스는 소오스와 같은 전위로 유지되고, 이들은 시료용액에 있는 기준전극(Ag-AgCl)에 연결되어 있다.

국내에서의 bio-FET는 경북대학교와 계명대학교에서 개발 중에 있다.

앞에서 언급한 것과 같이 선진 외국에서의 바이오센서에 대한 연구는 활발하다. 특히 효소센서와 미생물센서는 실용적인 장치가 시판되고 있으며, 소형화, 고감도화, 고기능화를 목표로 연구가 진행되고 있다. 이러한 것을 실현하는 유력한 방법으로써 반도체 직접회로 기술을 적극적으로 도입

하는 것이며, 대표적인 예가 bio-FET 이다. 절연체로 쓰인 Si_3N_4 피막은 그 자체가 H^+ 에 민감하다는 것이 알려져 있는데, 이것은 H^+ 외의 이온교환반응이 분명히 일어난다고 볼 수 있다. FET의 pH 감응도를 이용하여 여기에 여러 가지 생체물질을 사용하면 바이오센서로서 작용하며, 실제로 많은 연구가 진행되었으며, 현재에도 진행되고 있다 (28-29).

국내 바이오센서는 시작단계이다. 따라서 보다 효율적인 연구 수행이 필요하며, 빠른 시간 내에 선진국 수준에 도달하기 위한 가스센서의 국내개발이 제일 시급하다. 또한, 생체물질을 고정화시키는 막의 개발과 장기간 사용할 수 있는 고정화 기법의 개발 및 bio-FET의 개발이 필요하다.

앞으로 바이오센서의 연구가 더욱 활발하며, 세계적으로 센서의 선두주자가 되기 위해서 센서관련자 모두가 힘을 모아야 할 것이다.

인용문헌

- Clark, L.C., Jr. and Lyons, C., *Ann. NY. Acad. Sci.*, **102**, 29 (1962).
- Updike, S.J. and Hicks, G.P., *Nature*, **214**, 786 (1967).
- Guilbault, G.G. and Lubrano, G.J., *Anal. Chim. Acta*, **64**, 439 (1973).
- Nagy, G., Von Storp, L.H. and Guilbault, G.G., *Anal. Chim. Acta*, **66**, 443 (1973).
- Lubrano, G.J. and Guilbault, G.G., *Anal. Chim. Acta*, **97**, 229 (1978).
- Chang, T.M.S., ed., in *Biomedical Applications of Immobilized Enzymes and Proteins*, Vol.1, Plenum Press, New York (1977).
- Mosbach, K., ed., in *Methods of Enzymology*, Vol.44, Academic Press, New York (1976).
- Mascini, M. and Palleschi, G., *Anal. Chim. Acta*, **100**, 215 (1978).
- Johansson, G., Edstrom, K. and Ogren, L., *Anal. Chim. Acta*, **86**, 55 (1976).
- Ngo, T.T., *Can. J. Biochem.*, **54**, 62 (1975).
- Kawashima, T. and Rechnitz, G.A., *Anal. Chim. Acta*, **83**, 9 (1976).
- Hikuma, M., Obana, H., Yasuda, T., Karube, I. and Suzuki, S., *Enzyme Microb. Technol.*, **2**, 234 (1980).
- Mascini, M. and Memoli, A., *Anal. Chim. Acta*, **205**, 182 (1986).
- Hikuma, M., Kubo, T., Yasuda, T., Karube, I. and Suzuki, S., *Biotechnol. Bioeng.*, **21**, 1845 (1979).
- Hikuma, M., Kubo, T., Yasuda, T., Karube, I. and Suzuki, S., *Anal. Chim. Acta*, **109**, 33 (1979).
- Rechnitz, G.A., Kobos, R.K., Riechel, S.J. and Gebauer, C.R., *Anal. Chim. Acta*, **94**, 357 (1977).
- 인권식, 손무정, 대한화학회지, **32**(5), 422 (1988).
- Kobos, R.K., Rechnitz, G.A., *Anal. Lett.*, **10**(10), 751 (1977).
- Riedel, K., Renneberg, R., Kuhn, M. and Scheller, F., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **28**, 316 (1988).
- Aizawa, M., Morioka, A., Suzuki, S. and Nagamura, Y., *Anal. Biochem.*, **94**, 22 (1979).
- Fonong, T. and Rechnitz, G.A., *Anal. Biochem.*, *Anal. Chem.*, **56**, 2586 (1984).
- Gebauer, C.R. and Rechnitz, G.A., *Anal. Biochem.*, **124**, 338 (1982).
- Keating, M.Y. and Rechnitz, G.A., *Anal. Chem.*, **56**, 80 (1984).
- Arnold, M.A. and Rechnitz, G.A., *Anal. Chem.*, **52**, 1170 (1980).
- Rechnitz, G.A., Arnold, M.A. and Meyerhoff, M.E., *Nature*, **278**, 466 (1979).
- Arnold, M.A. and Rechnitz, G.A., *Anal. Chim. Acta*, **113**, 351 (1980).
- Kuriyama, S. and Rechnitz, G.A., *Anal. Chim. Acta*, **131**, 91 (1981).
- Caras, S.D. and Janata, J., *Anal. Chem.*, **52**, 1935 (1980).
- Guilbault, G.G., *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **7**, 85 (1982).