

생체분자막을 이용한 생물분자소자의 개발
제1부 : 효소분자 LB막을 이용한 에탄올 측정용 광학 바이오센서

최 정 우 · 배 주 연 · *지 용 · 이 원 홍
서강대학교 화학공학과, *서강대학교 전자공학과

Development of Biomolecular Device Using Biomolecular Film
Part 1: Optical Biosensor to Detect the Ethanol Using
Langmuir-Blodgett Film of Enzyme Molecules

Jeong-Woo Choi, Joo-Yun Bae, *Yong Jee and Won-Hong Lee

Department of Chemical Engineering, *Department of Electrical Engineering
Sogang University, C. P. O. Box 1142, Seoul 100-611, Korea

ABSTRACT

The fiber-optic biosensor using enzyme-immobilized Langmuir-Blodgett film is developed for the measurement of ethanol. The enzyme, alcohol dehydrogenase, is immobilized at the molecular level on the arachidic acid monolayer using Langmuir-Blodgett film technique. Based on the ordered multisubstrate mechanism, the immobilized enzyme kinetics is investigated. The optical sensing system is proposed, and sensor signal is proportional to ethanol concentration and is related with the number of enzyme layers. As the number of deposited LB film layer increases up to 20 layers, the high ethanol concentration of 45mM can be measured without the saturation of signal. Surface pressure-area isotherm is measured for the three different charged-lipids. Arachidic acid is the most suitable for the adsorption of alcohol dehydrogenase based on electrostatic force.

서 론

최근 실리콘과 같은 무기물을 이용한 전자소자의 개발은 집적화의 한계에 다다르고 있으므로 0.2 μ m 이하의 선폭을 갖는 고도의 집적화된 소자를 제작하기 위해서 분자전자소자의 개발이 이루어지고 있다. 1개의 분자가 전자소자의 기능을 수행함으로써, 기억용량의 확대와 정보전달의 기능성을 높일 수 있는 분자소자의 연구분야에서 생체물질인 단백질 등으로 구성되는 생물분자소자의 개발이 최근 이루어지고 있다. 생체분자의 정보의 전달, 에너지의 변환, 전자

전달 기능 등의 다양한 기능을 응용한 생물분자소자는 플라스틱 메모리 기능, 자기조립 기능 등의 장점에 기인하여 새로운 전자소자로서 개발되고 있다(1-3). 본 연구에서는 생물분자소자 중 가장 기본적인 소자로서 생물 단백질의 기능을 분자수준에서 재구성하는 기술을 응용하여 단백질이 분자수준에서 고정화된 생물분자 광학센서를 개발하였다. 본 연구에서 개발되는 Langmuir-Blodgett 기법으로 효소의 분자수준에서의 누적, 광응답 특성, 센서소자 구성기술은 진보된 생물분자소자인 메모리와 스위칭 소자로 쓰일 수 있는 생물분자 광전소자의 개발에 응용

된다(3).

효소는 특정기질에 대하여 촉매작용을 하며 분석하고자 하는 물질을 인식하고 반응하는 선택성을 가지는데, 이러한 효소의 특성을 이용한 센서가 바이오센서이다(4). 바이오센서는 효소가 가지고 있는 높은 선택성을 이용할 수 있고 어려운 반응 메커니즘을 효소를 사용함으로써 없앨 수 있다는 장점이 있으므로, 이에 기인한 혼합물에서 선택적으로 정확하게 반응물을 측정할 수 있다. 또한 한 소자에 여러 효소를 고정함으로써 여러 물질을 동시에 측정하는 바이오센서를 개발할 수도 있다. 효소를 이용한 바이오센서 중 광을 신호변환기로 사용하고 광섬유를 신호전달 장치로 사용한 센서가 광섬유 센서이다(5). 광신호는 자기장이나 이온, 전기장의 간섭을 피할 수 있으므로 외부의 영향없이 측정하고자 하는 물질의 미세한 양까지 측정할 수 있다. 또한 여러 다른 파장을 사용함으로써 동시에 여러 물질을 측정할 수 있으며, 소형화가 용이하다는 장점을 가지고 있다. 에탄올 센서는 발효공정, 의약품 제조공정, 또는 음료 제조공정에서 생산되는 에탄올의 양을 제어하고 분석하기 위하여 필요하다. 에탄올의 양을 측정하기 위한 분석은 FIA analysis나 amperometric electrode, field effect transistor, optoelectronic detector를 이용한다(4-6).

본 연구에서는 기본적인 생물분자소자로써 바이오센서와 광섬유 센서의 장점을 결합시킨 에탄올 측정용 광섬유 바이오센서를 개발하고자 한다. 광섬유 바이오센서는 최근에 급진적으로 발달한 광섬유기술과 레이저 기술에 힘입어 큰 발전을 보이고 있으며, 측정하고자 하는 물질에 대한 높은 선택성을 가지는 생물학적인 특성과 분석하고자 하는 물질의 물리화학적 변화를 민감하게 측정하는 광학적인 특성을 결합시킨 형태이다. 즉, 광섬유 바이오센서는 전기화학적 바이오센서의 기술을 확장시킨 형태로서 측정하고자 하는 물질의 화학반응과 생화학반응을 이용하여 광학적 변화를 발생시켜 이를 측정하는 것이다. 광섬유 바이오센서는 극미량 성분의 선택적 측정이 가능하고, 동시에 여러 성분을 측정할 수 있으며 소형화가 가능하다는 장점을 가지고 있다.

본 연구에서는 효소를 고정화시키는 방법으로 Langmuir-Blodgett(LB)기법을 사용한다. LB기법은 매우 작은 박막으로 이루어진 지질막이 생체막의 골격을 형성하고 있는 원리에 근거하여 고체표면 위에 초박막의 분자를 누적시키는 기법이다. 친수기, 소수기를 동시에 가지고 있는 양친매성 물질을 수면

위에 전개시키면 친수기는 수면쪽으로, 소수기는 공기쪽으로 분자배열이 이루어진다. 여기서 생성된 단분자막을 barrier를 이용하여 일정한 압력으로 압축하여 분자간의 거리를 좁힘으로써 분자막은 액체상태에서 분자가 잘 정렬된 고체상태(ordered solid-like arrangement)의 단분자막을 만든다. 이러한 과정으로 생성된 고체상태의 단분자막을 친수성 또는 소수성으로 처리된 기판을 단분자막에 수직 또는 수평으로 이동시켜 기판 위에 누적시킨 기법이다(7). LB기법을 이용하면 생체물질을 고체기판에 전개시킬 수 있으므로 특정기질에 대하여 반응하는 효소와 같이 생체 단백질의 특성에 영향을 주지 않고 분자수준에서 고정화하는데 이용될 수 있다. 최근 LB기법을 이용한 효소의 고정화는 전기적 화학센서에 응용한 예가 보고되고 있다(8-10). LB기법을 이용하면 고체표면 위에 초박막의 형성이 가능하고 고도로 정렬된 분자배열을 얻을 수 있으며, 분자위치의 자기조립 및 배양성 위치에 따라 극미소의 가공과 비용절감을 할 수 있다. 또한 상온, 상압에서의 막제조와 생체막과 유사성질의 막을 제조할 수 있다는 장점이 있다. 따라서 센서 제작시 LB기법을 이용하여 생체물질로 분자수준의 박막을 제조하면 극미량의 측정물질의 검출이 가능할 뿐 아니라 누적층수를 조절함으로써 고농도의 측정물질에서 센서의 출력신호가 포화되는 것을 피할 수 있다는 장점이 있다.

본 연구에서는 에탄올의 양을 측정하기 위하여 LB기법에 의해 분자수준에서 막이 누적된 alcohol dehydrogenase(ADH)를 이용한 광섬유 바이오센서를 개발하였다. LB기법으로 누적된 glucose oxidase 효소분자막을 응용한 전기화학센서는 개발되어 보고된 바가 있으나(8-9), LB기법으로 누적된 ADH 효소분자막의 사용과 광바이오센서에서 효소분자막의 사용은 본 연구가 처음이라 사료된다.

본 연구에서 개발되는 센서의 반응원리는 nicotiamide adenine dinucleotide(NAD)가 효소인 ADH의 활성화 작용에 의해 알코올과 반응하여 알데히드와 nicotiamide adenine denucleotide reduced form(NADH)가 생성되는 반응을 이용하는 것이다. 이 반응에서 생성된 NADH는 형광을 띠는 물질로 340nm대의 파장에서 여기되어 460nm대의 형광을 방출한다. 그러므로 NADH 형광을 측정함으로써, 에탄올의 농도와 비례하는 NADH의 양을 구할 수 있다. 본 연구에서는 반응으로 인해 생긴 NADH의 형광을 광섬유센서로 에탄올의 농도를 측정하며, 고정화된 ADH 촉매작용에 대한 반응속도

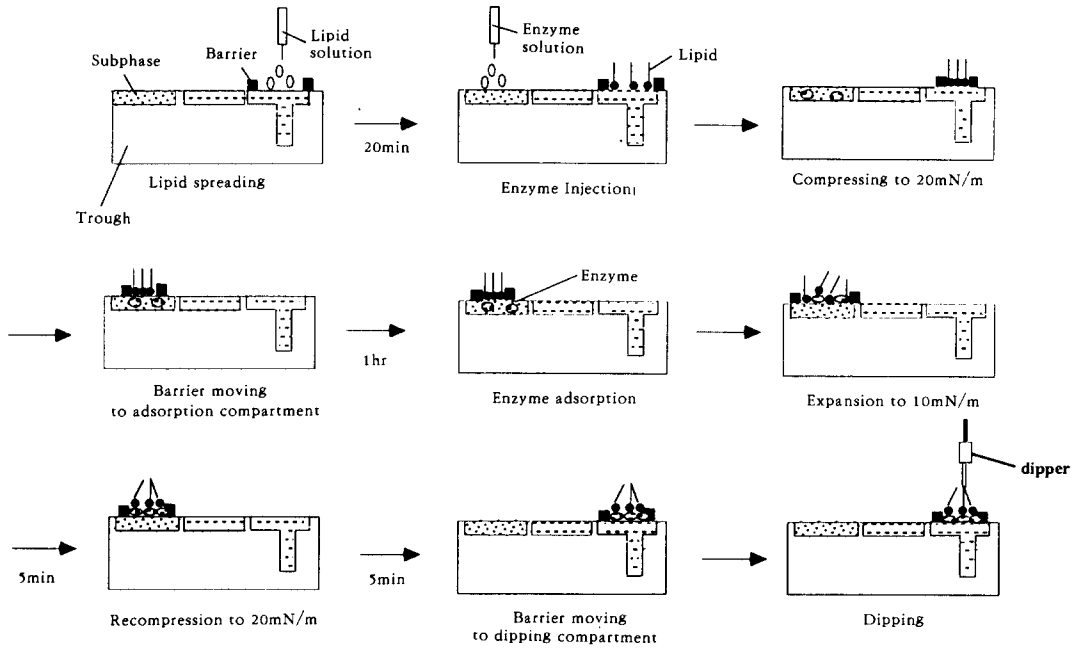


Fig. 1. The preparation of enzyme-molecular film.

식을 조사하고, subphase에서의 지질 단분자막의 전하의 성질이 ADH의 흡착도에 미치는 영향에 대하여 검토한다.

재료 및 방법

시 약

본 실험에서 쓰인 효소는 370unit/mg의 활성을 가지는 있는 alcohol dehydrogenase(EC 1.1.1.1)로 Sigma Chemical Co.(U. S. A.)에서 구입하였으며, 효소를 고정화하는 물질로 stearytrimethylammonium chloide는 Tokyo Kasei Chemical(Japan)에서, arachidic acid methyl ester와 arachidic acid는 Sigma Chemical Co.(U. S. A.)에서 구입하였다.

효소 고정화

효소 고정화를 위한 subphase로는 1M의 NaOH 용액을 이용하여 pH 7.0으로 맞춘 1mM의 HEPES buffer를 사용한다. subphase 위에 전개되어 효소를 흡착시켜 단분자막을 형성할 지질인 arachidic acid, stearytrimethylammonium chloride와 arachidic acid methyl eater는 모두 클로로포름에 용해시켜 1mM

의 지질용액을 만들어 사용한다. 이때 stearytrimethylammonium chloride는 그 자체만으로 단분자막을 형성하지 못하므로 arachidic acid methyl eater와 1:4(molar ratio)로 혼합한다(8). 단분자막을 누적시킬 기관으로는 quartz를 사용하였으며 본 연구에서는 누적시킬 물질이 효소이므로 기관의 표면을 소수처리하였다. 기관의 소수처리는 0.2%의 n-octadecyltrichlorosilane toluene 용액에 30분 동안 담근 후, 순수한 toluene 용액으로 헹구어 vacuum oven에서 10분간 건조시킨다. 효소는 앞에서 준비한 subphase 용액에 용해시켜 사용한다.

효소를 포함한 지질의 단분자막은 Nima Tech. (England)에서 구입한 multicompartment trough를 이용하여 제조한다(11). 이 trough에 subphase를 채우고 준비한 지질용액을 정해진 compartment에 분산시킨 후, 20분을 방치하여 용매가 휘발되고 순수한 지질 단분자막이 형성되도록 한다. 효소용액을 다른 compartment에 주입한다. 형성된 지질의 단분자막을 표면압 20mN/m로 압축시킨 후 barrier를 움직여 효소용액이 주입된 compartment로 지질의 단분자막을 이동시켜 효소가 지질의 단분자막에 흡착될 수 있도록 1시간을 방치하여 둔다. 그 후 효

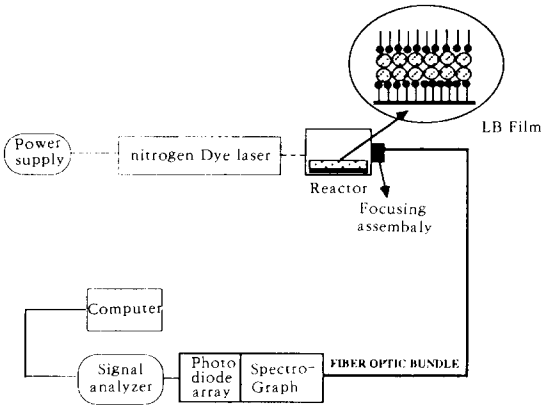


Fig. 2. The configuration of fiber-optic biosensor.

소가 흡착된 지질의 단분자막을 10mN/m로 팽창시킨 후 다시 20mN/m로 재압축시킨다. 그리고 효소가 흡착된 지질의 단분자막을 지질용액을 분산시킨 compartment로 다시 이동시킨다. Dipper에 소수처리한 기관을 고정시킨 후 5mm/min의 dipping speed로 효소가 흡착된 지질의 단분자막을 기관에 누적시킨다(Fig. 1).

효소 반응속도식

에탄올은 ADH의 촉매작용하에 NAD와 반응하여 알데히드와 NADH를 형성한다. 반응은 식(1)과 같다. 반응으로 인하여 생성된 NADH는 340nm대 파장의 에너지를 흡수하여 여기되었다가 460nm대 파장의 에너지로 에너지 준위가 떨어지면서 형광을 방출하게 된다. 고정화된 ADH를 이용하여 반응에 대한 촉매작용을 알아보기 위하여 Langmuir-Blodgett 기법에 의하여 기관에 고정화된 20층의 LB막을 pH 8.8의 phosphate buffer에 NAD와 에탄올을 혼합하여 반응을 시킨다. 이 실험은 25mM과 7.5mM의 NAD를 사용하여 수행한다. alcohol dehydrogenase의 촉매작용에 의하여 생성된 NADH의 초기 생성속도는 자외선 분광 광도계(Shimadzu, Japan)를 이용하여 340nm대의 파장에서 반응으로 인해 생성된 NADH의 흡광도를 측정하였다.

ADH



광섬유 바이오센서의 설계

고정화된 ADH의 작용으로 생긴 NADH의 형광을 측정함으로써 에탄올의 농도를 측정하는 실험장

치는 Fig. 2와 같다. NADH의 형광을 측정하기 위하여 사용된 광섬유 바이오센서는 광원 부분, 광전달 부분, 반응 부분, 광검측 부분의 4부분으로 이루어져 있다. 광원으로 사용한 nitrogen dye laser (Laser Science Inc., U. S. A.)에서 나온 광은 ADH가 고정화된 기관을 포함하고 있는 반응부분으로 들어가 에탄올과 NAD의 반응으로 생성된 NADH를 여기시키고 NADH의 에너지 준위가 떨어지면서 방출한 형광은 광섬유다발(Oriel Co., U. S. A.)를 통하여 photodiode array(Oriel Co., U. S. A.)로 구성된 광검측부분으로 전달된다. 광검측 부분에서는 입력된 형광을 전기적인 신호로 전환시켜 출력시키고 컴퓨터는 검측부분에서 출력된 데이터를 저장하게 된다.

π -A Isotherm

ADH의 흡착도에 대한 지질의 표면전하가 주는 영향을 알아 보기 위하여 순수한 지질의 단분자막과 ADH가 흡착된 지질의 단분자막의 surface pressure(π)-area(A) isotherm을 구한다. 먼저 alcohol dehydrogenase를 고정화시키는 적당한 지질을 알아보기 위하여 arachidic acid, arachidic acid methyl ester와 stearytrimethylammonium chloride를 클로로포름에 용해시켜 지질용액을 만든다. 각각의 용액은 중성의 subphase에서 다른 전하를 띠게 된다. arachidic acid와 steaytrimethylammonium chloride, arachidic acid methyl ester는 각각 음의 전하, 양의 전하, 중성을 띠게 된다.

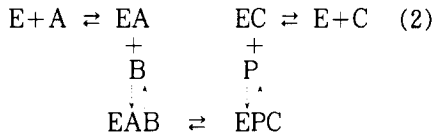
Langmuir-Blodgett trough에 pH 7.0으로 맞춘 HEPES buffer를 채우고 정해진 compartment에 준비한 지질용액을 분산시키고 용매를 휘발시켜 지질의 단분자막이 형성되도록 20분을 방치하여 둔다. 지질의 단분자막이 형성되면 barrier를 움직여 단분자막이 붕괴되는 압력까지 압축시켜 순수한 지질만의 단분자막에 대한 π -A isotherm을 구한다. ADH가 흡착되어 있는 지질 단분자막의 π -A isotherm를 구하기 위하여 순수한 지질만의 단분자막을 형성할 때와 마찬가지로 지질 용액을 정해진 compartment에 뿌리고 20분을 방치하여 둔다. 그리고 subphase와 같은 pH 7.0의 HEPES buffer에 효소를 용해시켜 만든 효소용액을 지질용액을 분산시킨 compartment와 다른 compartment에 주입시킨다. 형성된 지질만의 단분자막을 barrier를 움직여 20mN/m의 압력으로 압축시킨후 효소를 주입시킨 compartment로 이동시켜 효소가 지질의 단분자막에 흡착이 되도록 1시간을 방치하여 둔다. 효소가 흡착된 지질

의 단분자막이 형성이 되면 10mN/m으로 팽창시킨다. 이 상태에서 barrier를 움직여 효소가 흡착된 지질의 단분자막이 붕괴될 때까지 압축시켜 효소가 고정화된 지질 단분자막의 π -A isotherm을 얻는다. 이러한 실험을 중성의 subphase에서 각기 다른 전하를 띠는 세 가지 지질에 대하여 반복실험한다.

결과 및 고찰

효소 속도반응식

ADH의 촉매작용은 식(2)에서와 같이 NAD와 에탄올의 2가지 기질을 가지는 ordered multisubstrate mechanism을 따른다. ADH에 NAD가 결합이 되면 효소 자체의 구조적인 변화가 일어나서 에탄올의 결합이 이루어질 수 있는 형태로 바뀌게 되며, 이 상태가 되면 에탄올이 결합하여 ADH에 NAD와 에탄올이 동시에 결합되어 있는 삼원복합체가 형성된다(12). 앞에서 형성된 삼원복합체는 ADH에 NADH와 아세트알데히드가 결합되어 있는 삼원복합체로 전환된다. 이 전환속도가 해리반응만큼 빠르므로 전체 반응속도에 대하여 정상상태의 가정이 적용될 수 있다(13). 따라서 ADH의 반응속도식은 식(3)으로 표현할 수 있다.



여기서 E는 alcohol dehydrogenase, A는 NAD, P는 acetaldehyde, C는 NADH이며 B는 ethanol이다.

$$\frac{V}{V_{max}} = \frac{C_A C_B}{K_{ia} K_{mB} + K_{mB} C_A + K_{mA} C_B + C_A C_B} \quad (3)$$

여기서 K_{ia} 는 ADH에 대한 NAD의 해리상수, K_{mA} 는 포화 에탄올 농도하에서 $V = V_{max}/2$ 일 때의 NAD의 농도, K_{mB} 는 포화 NAD 농도하에서 $V = V_{max}/2$ 일 때의 에탄올의 농도, C_A 는 NAD의 농도이며 C_B 는 에탄올의 농도이다.

효소 고정화막을 구성하는 경우에 막 자체의 두께가 매우 얇고 반응 속도가 매우 빠르면 반응물이 막으로 확산되는 영향을 무시할 수 있다(14). 본 연구에서 사용된 효소막의 누적층수는 20층으로서 ellipsometry로 측정된 평균 추정두께는 800 Å 정도였다. 따라서 효소막의 두께가 대단히 얇고 반응속

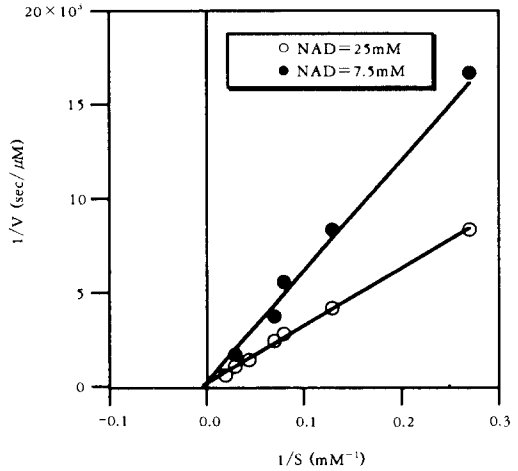


Fig. 3. The reciprocal plot of experimental data of ADH reaction.

도가 매우 빠르므로 확산의 영향을 무시할 수 있다. NAD가 7.5mM과 25mM의 두 경우에 대한 1/V versus 1/B를 도해하여 보면 Fig. 3과 같다. NAD 농도 변화에 대한 실험결과는 직선으로 표현되며, 두 직선이 교차함으로 제시된 ordered multisubstrate mechanism이 효소막에서의 반응을 잘 묘사함을 알 수 있다. Y축의 절편과 1/A를 도해하여 V_{max} 와 K_{mA} 값을 구하고 기울기와 1/A를 도해하여 K_{mB} 를 구한다. V_{max} 는 0.011M/sec, K_{mA} 는 9.009mM, K_{mB} 는 200mM으로 계산되었다.

센서응답의 분석

에탄올 농도 변화에 대해 stearytrimethylammonium chloride를 사용하여 기관에 고정화시킨 ADH의 촉매작용으로 생성된 NADH의 형광을 설계된 센서로 측정하였다. 본 반응은 액상에서의 반응이며, 에탄올의 농도 변화와 기관 위에 누적된 LB막의 누적층수에 따른 센서의 출력신호는 Fig. 4와 같다. 센서의 출력신호는 에탄올 농도에 비례하여 증가함을 알 수 있었다. 또한 센서의 출력신호는 기관에 누적된 LB막의 누적층수와도 관련이 있음을 알 수 있었다. 에탄올 농도가 20mM에서 45mM의 범위에서는 LB막의 누적층수가 2층인 경우에 센서의 출력신호가 포화되는데 비하여 20층인 경우에는 센서의 출력신호가 선형으로 나타남을 알 수 있었다. 또한 LB막의 누적층수가 작아질수록 센서의 출력신호가 선형을 나타내는 에탄올의 범위는 줄어들음을 볼 수 있

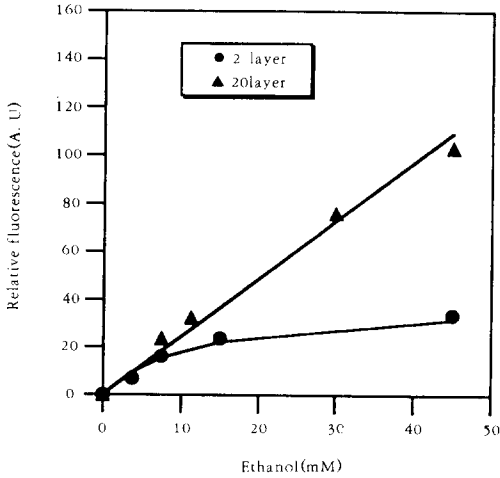


Fig. 4. Sensor signal of fiber-optic ethanol sensor.

었다. 이와 같이 LB막의 누적층수에 따라서 센서의 출력신호가 변하는 이유는 LB막의 누적층수가 증가할수록 고정화된 ADH의 양이 증가하기 때문이다. 따라서 주어진 반응시간과 에탄올 농도에서의 ADH의 촉매작용은 기관에 고정화된 ADH의 양에 직접적으로 관련이 있게 된다. 이러한 결과로 볼 때 높은 농도의 에탄올의 양을 측정하고자 할 때에는 센서의 반응부분에 있는 LB막의 누적층수를 증가시킴으로써 센서응답 농도범위를 증가시켜 에탄올의 양을 측정할 수 있음을 알 수 있었다.

π -A Isotherm

π -A isotherm을 통하여 ADH가 지질의 단분자막에 흡착된 후 변한 LB막의 특성변화를 알아볼 수 있으며, 중성의 subphase 표면에서 떠는 전하가 ADH의 흡착도에 끼치는 영향도 알아볼 수 있다. 세 가지 종류의 지질, 즉 arachidic acid, arachidic acid methyl ester, stearytrimethylammonium chloride의 단분자막과 ADH가 흡착된 지질의 단분자막의 π -A isotherm을 비교하여 본 결과는 Fig. 5a, b, c와 같다. 순수지질 단분자막과 효소가 고정화된 단분자막의 π -A isotherm을 비교하면, 액체상태와 고체상태의 단분자막의 명확한 구분이 사라지고 임계면적이 증가하였다. 순수 지질의 단분자막의 경우에 표면압이 0일 때 한 분자가 차지하는 임계면적은 효소가 흡착된 지질의 단분자막의 경우 한 분자가 차지하는 임계면적보다 작음을 알 수 있었다. arachidic acid의 경우 순수지질의 단분자막과 효소가 흡착

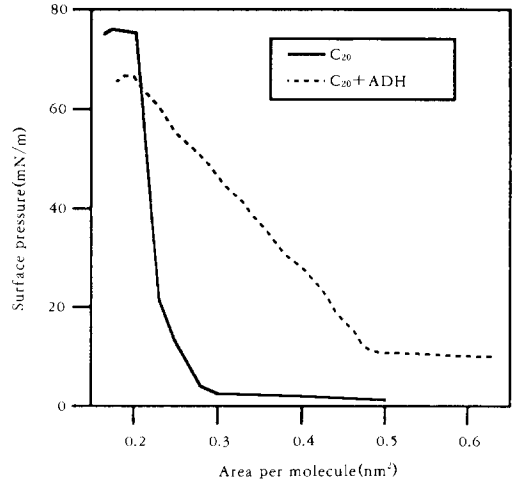


Fig. 5(a). π -A isotherm of arachidic acid and ADH-arachidic acid monolayer.

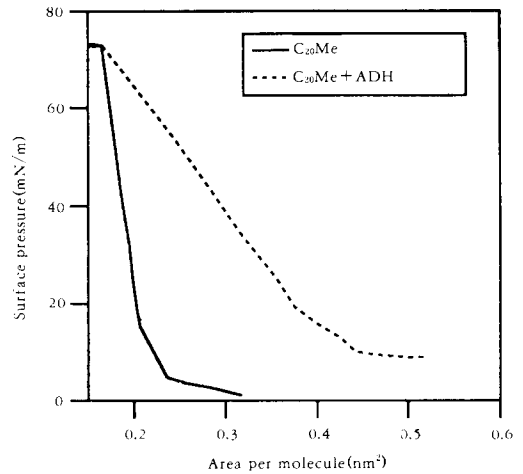


Fig. 5(b). π -A isotherm of arachidic acid methyl ester and ADH-arachidic acid methyl ester monolayer.

된 지질의 단분자막의 한 분자가 차지하는 임계면적은 각각 25 \AA^2 , 52 \AA^2 이며 stearytrimethylammonium chloride는 23 \AA^2 , 42 \AA^2 , arachidic acid methyl ester는 24 \AA^2 , 45 \AA^2 이다. 이러한 결과는 ADH가 순수지질의 단분자막에 흡착할 때 지질과 지질 분자 사이로 ADH의 분자가 들어감으로써 분자당 차지하는 면적이 늘어난 것으로 생각할 수 있다. 또한 중성의 subphase에서 음의 전하를 띠는 arachidic acid

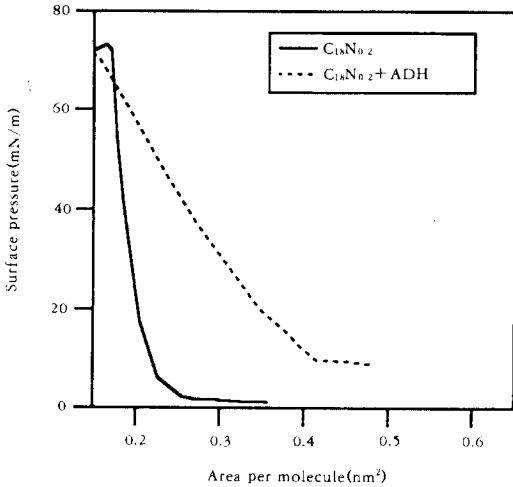


Fig. 5(c). π -A isotherm of stearytrimethylammonium chloride and ADH-stearytrimethylammonium chloride monolayer.

와 중성을 띠는 arachidic acid methyl ester, 양의 전하를 띠는 stearytrimethylammonium chlorid의 세 경우를 비교하여 보면 arachidic acid의 경우에 표면압이 0일 때 갖는 분자당 임계면적이 가장 큼을 알 수 있었다. 이러한 결과는 효소가 흡착될 때 효소 분자와 지질분자 사이에 작용하는 정전기력으로 설명할 수 있다. 즉, 사용한 alcohol dehydrogenase의 electrostatic point가 8.08(15)이므로 효소의 흡착이 일어나는 중성의 subphase 표면에서 양의 전하를 띠게 된다. 따라서 중성의 subphase에서 음의 전하를 띠는 arachidic acid와 양의 전하를 띠는 ADH 사이에는, 음의 전하를 띠는 stearytrimethylammonium chloride나 중성을 띠는 arachidic acid methyl ester에 비하여 강한 정전기력이 작용하게 된다. 따라서 효소의 흡착이 일어날 때 지질 단분자막의 지질분자와 효소분자 사이의 정전기력이 효소의 흡착도를 결정하는 중요한 요소임을 알 수 있었다. π -A isotherm과 분자당 임계면적을 고려할 때 양의 전하를 띠는 ADH에 대하여 고정화를 위한 최적의 지질막은 음의 전하를 띠는 arachidic acid로 판명되었다.

요 약

본 연구에서는 LB기법에 의하여 분자수준으로 고정화된 효소를 이용하여 에탄올의 양을 측정하는 광

섬유 바이오센서가 개발되었다. ADH는 arachidic acid의 단분자막에 LB기법으로 고정화된다. 센서의 출력신호를 분석하기 위하여 고정화된 ADH의 효소 반응은 ordered multisubstrate mechanism을 이용하여 검토되었다. 광학 측정 시스템이 제시되었으며, 센서의 출력신호는 에탄올의 농도에 비례하여 증가하며 LB막에 누적된 누적층수와 관련이 있음을 알 수 있었다. LB막의 누적된 누적층수를 20층으로 증가하면 센서의 신호출력 범위가 확장되어 45mM의 고농도 에탄올도 측정할 수 있었다. 순수지질의 단분자막과 효소가 흡착된 지질의 단분자막의 π -A isotherm은 중성의 subphase에서 각기 다른 전하를 띠는 세 가지 종류의 지질에 대하여 조사되었다. ADH의 흡착도가 가장 우수한 지질은 arachidic acid이며 이는 중성의 subphase에서 양의 전하를 띠는 ADH 분자와 음극의 전하를 띠는 arachidic acid 분자 사이에 작용하는 정전기력에 기인한 것이다.

감 사

이 논문은 1993년도 한국학술진흥재단의 대학부설연구소 연구과제 연구비에 의하여 연구되었음.

참고 문헌

1. T. Kaminuma and G. Matsumoto (1991), *Biocomputers*, p. 107, Chapman and Hall, London.
2. C. Nicolini (1990), *Towards the Biochip*, (C. Nicolini ed) p. 1, World Scientific, Singapore.
3. 최정우, 이원홍 (1993), *생물화공*, 7, 50.
4. M. S. Adel-Latif and G. G. Guidbault (1990), *Biosensor Technology: Fundamentals and Applications* (R. P. Buck, W. E. Hatfield, M. Umama and E. F. Brown, eds), 285, Marcel Dekker, N. Y.
5. R. P. Buck, W. E. Hatfield, M. Umama and E. F. Bowaden (1990), *Biosensor Technology*, p. 71, Marcel Dekker, N. Y.
6. A. Ulman (1991), *An Introduction to Ultrathin Organic Films*, Academic Press, N. Y.
7. G. Roberts (1990), *Langmuir-Blodgett Films*, Plenum Press, N. Y.
8. M. Sriyudthsak, H. Yamagishi and T.

- Moriizumi (1988), *Thin Solid Films*, **160**, 463.
9. T. Morizumi (1988), *Thin Solid Films*, **160**, 413.
 10. T. Tasuma, H. Tsuzuki, Y. Okawa, S. Yoshida and T. Watanabe (1991), *Thin Solid Films*, **202**, 145.
 11. P. Formherz (1975), *Rev. Sci. Instrum.*, **46**, 1380.
 12. K. Dalziel (1975), *The Enzyme*, 3rd ed., Vol. **11**, p. 40, Academic Press, N. Y.
 13. I. H. Segel (1976), *Biochemical Calculations*, 2nd ed., p. 293, Wiley, N. Y.
 14. Anton Moser (1988), *Bioprocess Technology*, p. 175, Springer-Verlag N. Y.
 15. D. Righetti, G. Tudor and K. EK (1981), *J. Chrom.*, **220**, 115.