

# 나노바이오테크놀로지

글 \_ 윤대성, 강지윤, 김태승\* | 한국과학기술연구원 마이크로시스템연구센터,  
\*21세기 프런티어사업 지능형마이크로시스템개발사업단  
tskim@microsystem.re.kr

## 1. 서론

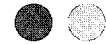
21세기에는 정보량과 처리속도가 더욱 빠르게 증가하고 바이오산업이 성장기에 진입하며 환경오염규제가 더욱 심화됨으로서 나노기술, 바이오기술, 정보통신기술은 3대 첨단기술로 주목받고 있다. 최근 나노기술을 이용한 생명과학 연구의 가능성이 제시되면서 나노기술과 생명과학기술(바이오)의 융합기술인 나노바이오테크놀로지(nano-bio technology, NBT)를 이용한 연구에 대한 국내·외 연구자들의 관심이 집중되고 있다. 나노(nano)는 10억분의 1m 크기이며 머리카락 굵기의 10만분의 1에 해당한다(Fig. 1). 나노기술은 기존의 마이크로크기의 대상물을 리소그래피 공정을 통하여 나노크기의 구조물을 생성시키는 top-down 방식과 원자와 분자 단위로 물질을 규명하고 제어하는 bottom-up 방식을 포괄하는 총괄적인 개념이다. 나노기술과 생명공학기술이 결합된 나노바이오테크놀로지는 생체고분자들이 원천적으로 가지는 나노원리와 바이오기술이 가지는 고부가가치성을 바탕으로 탄생한 새로운 핵심기술 분야이다. 앞으로 미래산업을 이끌어갈 성장동력으로의 잠재력이 커서 선진국에서는 정부에서 많은 연구비를 지원하고 있다.

나노바이오 연구는 나노 기술을 생명과학 연구에 응용하는 것과 생명현상 및 생체고분자물질을 나노기술 개발에 이용하는 것으로 정의할 수 있다.<sup>1)</sup> 첫째는 생명과학 연구를 위한 나노기술의 응용인데, 나노가공, 나노공정, 나노제어, 나노계측 등 다양한 나노기술을 생명과학 기술 개발 및 연구에 응용하는 것이다. 각종 바이오센서(biosensor)의 개발, 세포내 생체고분자물질의 기능적, 구

조적 초미세 분석을 위한 나노기술의 응용을 예로 들 수 있다. 둘째는 나노 소재 개발을 위한 생체고분자물질의 응용인데, 단백질, 당단백질 등을 이용한 나노 필터(nano filter)개발, 효소를 이용한 분자모터(molecular motor) 등 다양한 응용이 예상되고 있다. 세 번째는 나노 기술 개발을 위한 생체의 원리와 기능의 응용인데, 이온 채널 등을 이용한 나노센서의 개발 등 생체를 구성하는 물질의 다양성과 생명현상의 복잡성을 고려할 때 가장 다양하고 무한한 가능성이 있는 분야라고 생각된다. 현재 가장 산업화에 근접한 것은 DNA 칩, 단백질 칩, 세포 칩을 포함한 나노바이오센서 혹은 칩 분야이다. 본 논문에서는 나노바이오테크놀로지 중에서도 꽃이라 할 수 있는 나노바이오센서의 최근 연구동향과 산업화 동향에 대해서 다양한 예들을 통하여 조망해보고자 한다. 또한 이들을 통하여 앞으로 나노바이오센서의 전망 및 발전방향에 대해서도 토의하고자 한다.

## 2. 나노바이오센서

나노바이오센서란 생명현상의 근간이 되는 생체 고분자물질의 상호작용에 관한 연구를 수행하기 위해서 단백질, 항체, DNA, 미생물, 세포 등을 반도체, 유리기판, 나노입자 및 나노선 위에 집적화시켜 만든 생체정보 감지 소자를 말한다.<sup>2)</sup> 극미량의 시료를 초고속으로 분석하는데 매우 적절한 기술로서 칩의 표면에 선택적, 기능적으로 생체고분자 물질을 고정하는 기술과 칩의 표면에 결합된 고분자물질을 초고속으로 분석하는 기술이다. 나노바이오센서는 고정화 및 분석 대상에 따라 DNA 칩, 단



백질 칩 그리고 세포칩으로 크게 분류할 수 있다.

### 2.1 DNA 칩

DNA 칩은 사용되는 생체물질의 용도, 시스템화 정도에 따라 다양하게 분류할 수 있다. 일반적으로 DNA 마이크로어레이칩(microarray chip)과 DNA 랩온어칩(Lab-on-a-chip)으로 분류할 수 있다. 마이크로어레이칩은 대상 유전자나 단백질을 감지하기 위하여 프루브라 불리는 수천 혹은 수 만개 이상의 cDNA나 올리고뉴클레오티드를 어레이 형태로 배열시켜 부착하여 제조한 것이다. 랩온어칩은 MEMS(Micro Electro Mechanical System) 기술을 이용하여 칩 위에 미세 유체 채널(microfluidic channel)이나 미세 챔버(microchamber) 등을 만들어 생물 및 화학 시료를 가지고 시료의 분리 및 정제, 혼합, 반응, 세척, 검출 등의 일련의 작업을 하나의 칩 위에서 할 수 있게 만든 것이다. 그 결과 칩 하나가 하나의 실험실 형태가 된다는 의미에서 랩온어칩이라 명명하는 것이다. 랩온어칩은 다양한 샘플을 아주 적은 양만으로 연속적으로 분석할 수 있는 방법을 제공하여 고속 처리 분석을 가능하게 하는 장점을 가지고 있다.

DNA 칩을 제조하는 방식으로는 포토리소그래피를 이용하는 방법, 전기화학을 이용하는 방법과 가장 보편적인 방식으로 spotting하는 방법이 있다.<sup>3)</sup> 첫째로 포토리소그래피(photolithography)와 조합화학(combinatorial chemistry)을 이용하여 DNA 마이크로어레이를 만드는 방법이 있다. 올리고뉴클레오티드가 합성되는 유리의 표면은 각각의 염기들이 합성할 수 있게 보조체가 붙어 있다. 하지만 이들 보조체는 평소에는 빛에 민감한 화학물질로 덮여 있어 염기들이 합성할 수 없다. 이러한 성질을 이용하여 특별히 설계된 포토마스크를 위에 놓고 빛을 쬐이면 구멍이 나있는 곳으로 빛이 들어가 그곳에 있는 보조체의 화학물질들을 제거한다. 이렇게 화학물질이 제거된 보조체들을 가진 칩을 한가지 염기가 있는 곳에 넣으면 모든 활성화된 보조체들에 염기가 가서 합성된다. 물론 각각의 염기들도 빛에 민감한 화학물질로 덮여 있어 하나씩 밖에 합성이 안된다. 이러한 칩을 씻은 다음 다시 다르게 설계된 포토마스크를 이용하여 빛을 쬐어

주면, 그 곳에 있는 보조체나 염기들이 활성화되어 다음 염기들과 합성할 수 있게 되는 것이다. 이와 같은 반복적인 과정을 통하여 고밀도의 마이크로어레이를 제작할 수 있다 (Fig. 1(a)). 포토마스크를 사용하지 않고, MEMS 공정으로 만들어진 디지털 마이크로미러 어레이를 포토마스크의 역할을 대신하여 올리고뉴클레오티드를 직접 칩의 표면 위에 합성하는 방법이 있다. 마이크로미러가 원하는 위치에 빛을 반사시켜 포토마스크의 역할을 대신한다 (Fig. 1(b)).

또한 국소영역에서 전기화학 반응을 이용하는 방법도 있다. 개별적으로 표지된 마이크로전극 주변에 화학 반응물이 모여 있어 DNA 합성을 위한 가상의 플라스크 역할을 수행한다 (Fig. 2). 수백 혹은 수천의 서로 다른 분자들을 합성을 가능케 하는 마이크로전극 어레이를 가진 칩을 제작한다. 각각의 전극 위에는 반응물들이 쉽게 붙을 수 있는 생물친화적인 층을 형성시키고, 전기화학 반응을 이용하여 원하는 물질을 합성한다. 그 결과 포토마스크없이 고밀도의 DNA 마이크로어레이를 제작하게 되는 것이다.

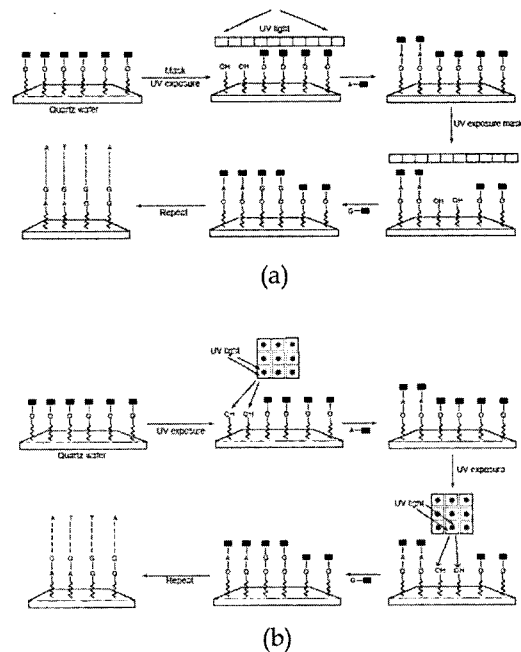


Fig. 1. 직접합성을 이용한 마이크로어레이 제조 방법: (a) 포토마스크, (b) 마이크로미러.

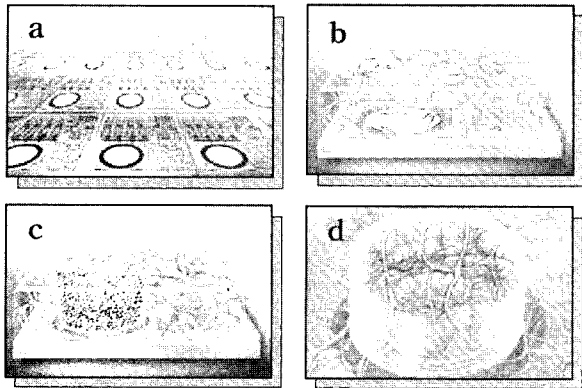


Fig. 2. 전기화학을 이용한 마이크로어레이 제조 방법: (a) Lab-on-a-chip, (b) porous reaction layer (c) virtual flask (d) DNA microarray.

DNA 칩 제작시 가장 많이 이용되는 방법은 spotting 법이다. 고체(유리, 플라스틱 등) 표면에 올리고뉴클레오타이드나 cDNA를 직접 고정화시키는 방법은 접촉식과 비접촉식으로 나눌 수 있다(Fig. 3). 접촉식은 미세하게 제작된 핀을 이용하여 DNA를 표면에 심는 것으로, 핀의 형태에 따라 solid pin, split pin, capillary tube, pin & ring으로 나눌 수 있다. 이렇게 미세하게 제작된 핀이 DNA를 plate에서 담아 컴퓨터가 지정한 똑같은 장소에 옮기는 것이다. 비접촉식은 inkjet 원리를 이용하는 것으로, pin 대신에 computer inkjet printer에 쓰이는 것과 같은 원리의 카트리지를 사용한다는 것이 다르다. 각각의 카트리지 안에 DNA가 들어 있어서 전기적인 힘으로 DNA를

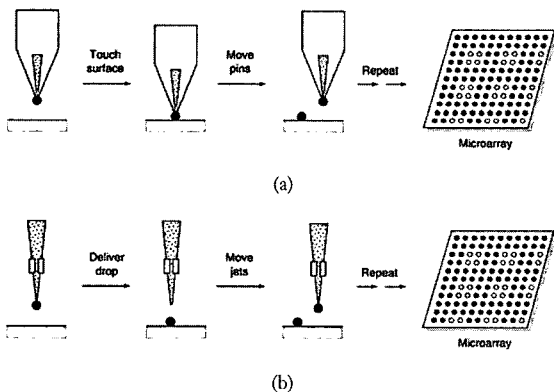


Fig. 3. 스팟팅을 이용한 마이크로어레이 제작: (a) 접촉식 (b) 비접촉식.

고형체 위에 뿌리게 되는 것이다. 뿌리는 방법에 따라 thermal, solenoid 그리고 piezoelectric의 3가지 방법이 있다. 이 기술의 장점은 DNA를 칩 표면에 닿지 않고 뿌릴 수 있기 때문에 정량의 DNA가 붙어 있는 많은 수의 칩을 생산할 수 있다는 것이다.

DNA 칩 중에서 상용화에 성공한 예는 Affymetrix사를 들 수 있다. 최근 Affymetrix사는 Fig. 4에 나타난 바와 같이 포토리소그래피 기술을 사용하여 수 만개의 다른 염기들을 하나의 유리 위에서 직접 합성하여 칩을 제작하였다.<sup>4)</sup> 유리의 표면은 각각의 염기들이 합성될 수 있게 linker가 붙어 있는데 이들 linker 끝에는 빛에 의해 제거되는 화학물질이 있다. 이러한 성질을 이용하여 마스크를 놓고 빛을 쬐면 빛을 받는 부분에 있는 화학물질들이 선택적으로 제거된다. 이렇게 말단의 화학물질이 제거된 linker들은 염기를 만나면 결합한다. 다른 모양으로 설계된 포토마스크를 이용하여 위의 과정을 반복하여 올리고 어레이를 제작하였다. Affymetrix는 이 기술을 이용하여 1.28 cm<sup>2</sup> 안에 600000 종류의 올리고가 심긴 칩을 만들 수 있었으며, 유전자 발현 검색용 칩 뿐만 아니라 암 관련 유전자인 p53과 BRCA1을 가진 칩, 에이즈 원인인 HIV의 종류를 판별하는 칩 그리고 SNP 측정용 칩 등을 생산하고 있다.

최근 들어 많이 사용 빈도가 높아진 cDNA 칩<sup>5)</sup>은

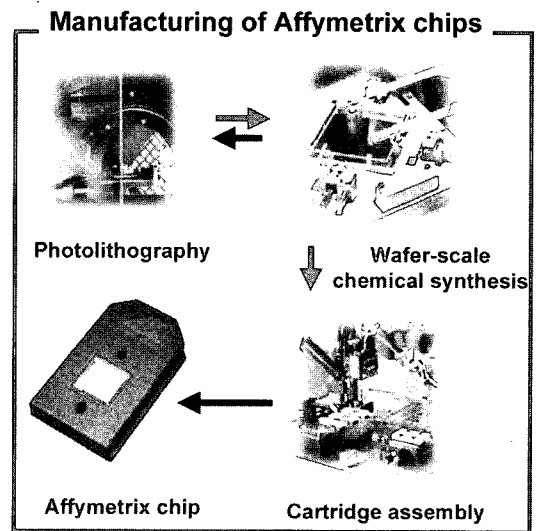


Fig. 4. Affymetrix 칩의 제조 공정.

1995년 미국 스탠포드 대학 생화학에서 처음 개발되었으며 약 2-3천 개의 유전자를 1 cm<sup>2</sup> 안에 붙일 수 있다. cDNA는 다음과 같은 과정으로 만들어진다. 먼저 모든 가능한 유전자들의 위치를 파악한다. 이들 유전자들의 시작과 끝 부분에 PCR을 하기 위해 필요한 염기들인 합성 개시물질을 컴퓨터를 이용하여 찾아낸다. 그리고 합성기를 이용하여 합성된 합성개시물질을 이용 유전자 DNA로부터 유전자를 증폭시킨다. 증폭된 유전자들은 Fig. 1과 3에서 보는 바와 같이 포토리소그래피, spotting 등을 이용하여 칩을 제조한다. 각각의 유리슬라이드는 poly L-lysine 등으로 처리되어 있기 때문에 유전자들과 결합할 수 있다. 이렇게 개발된 cDNA 칩은 두 가지 다른 환경에서 발현되는 독특한 유전자들을 분석하는데 큰 도움이 된다. 수 천 개 이상의 유전자 발현변이를 단 한번의 실험으로 검색할 수 있는 것이다.

Top-down 방식의 나노바이오센서의 전형적인 예는 Metrogenix 사의 flow thru chip<sup>®</sup> 이다.(Fig. 5) 이 칩은 통상의 유리기판에 1-2 마이크로 수준 of 극 미세 홀가공을 하여 5백만개/cm<sup>2</sup>의 밀도로 컬럼이 형성되어 있다. spotting을 이용하여 dot을 형성시킬 경우 컬럼을 통하여 고정화가 일어남으로 고정화 밀도를 혁신적으로 증진시킬 수 있었다. 미세홀기판에 GAPDH, IL2, beta-actin, TNF-alpha의 유전자의 특이 서열을 갖는 올리고를 probe로 사용하여 spotting하여 어레이 칩을 제작하였다. chemiluminescence 검지를 위하여 타겟 DNA의 5'에 biotin으로 표지가 되었으며 여기에 streptavidin-horseradish peroxidase가 부착되어 검지가 이루어진다. 에세이 결과 평판슬라이드 글라스에 비해서 flow thru chip이 100배 이상의 형광강도를 나타내었다. 타겟과 반응 시 spot들의 형광강도의 상대 표준편차는 8.1% 이었으며, 250 amol의 검출한계를 확보하였다.

나노입자 및 nano wire 등을 이용한 DNA 센서도 활발히 연구가 진행되고 있다. 특히 상용화에 근접하면서도 극 저농도의 DNA의 검지에 성공한 Mirkin 그룹이 이 분야의 선도그룹이다. 이 그룹은 금 나노입자를 매개체로 사용하였으며, DNA target을 형광을 이용한 방법, colorimetric 방법, 전기화학적 방법 등 다양한 방법을

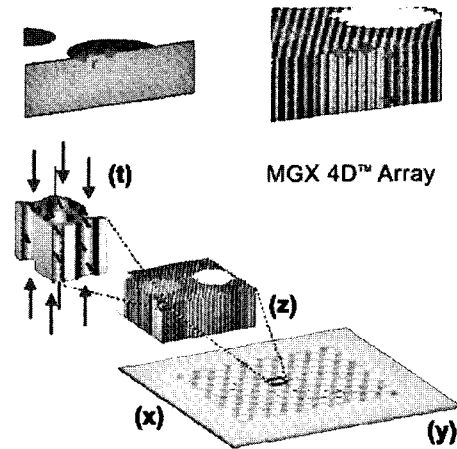


Fig. 5. Metrogenix사의 flow thru chip의 개념도

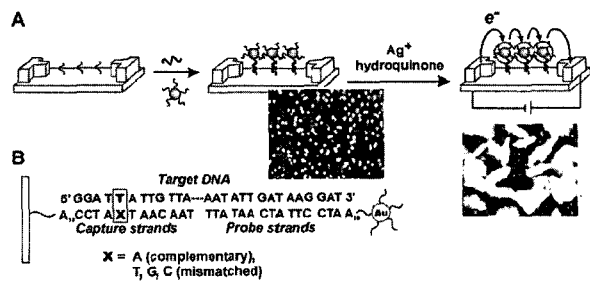


Fig. 6. 나노 금입자를 이용한 DNA의 전기화학적 검지방법.

이용하여 zepto molar 수준의 극 저 농도의 검지에 성공하였다. 전기화학적 방법의 예는 Fig. 6에 보여진 바와 같다. 미세 전극사이에 20 micron 갭이 존재하며 여기에 DNA probe가 고정화된다. 여기에 저 농도의 타겟과 반응을 한 후 타겟의 잔여 염기 서열에 나노입자-DNA 복합체가 반응을 하여 부착이 된다. 반응이 완료된 시편을 질산은 용액에 담그면 나노금입자가 핵생성 자리로 작용하여 거대한 입자가 석출된다. 은입자가 성장함에 따라 마이크로 갭을 매우면서 전기전도 경로를 형성하게 되어 전기전도도가 증가하게 된다. 이 방법을 이용하여 500 femto molar의 저 농도 DNA용량으로 100000:1의 point mutation selectivity를 확보하였다.

## 2.2 단백질 칩

단백질 칩은 특정 단백질과 반응할 수 있는 수 십에서 수 천 종류의 단백질이나 리간드 등을 기판 혹은 나노선

의 표면에 부착시킨 후 이들과 특이적으로 상호 반응하는 생체 고분자의 존재 또는 기능 및 역할을 형광, 광학, 전기화학, 기계적 측정 등과 같은 여러 가지 방법을 이용하여 분석하는 센서와 시스템을 총괄한 통합개념이다.<sup>1)</sup> 통상 세포를 구성하는 단백질의 수가 백만개 이상일 것으로 예상되고 있기 때문에 단백질 칩은 단백질체 연구, 신약개발을 위한 스크리닝, 단백질의 특성 분석 등 다양한 응용분야를 가지고 있다. 특히, 질병의 경우는 DNA 칩으로는 많은 한계가 있어서 단백질 칩이 질병진단에 가장 이상적인 도구이며, 앞으로 대중적인 진단수단이 될 것으로 예상된다.

단백질 칩에서 가장 중요한 부분은 단백질 칩의 표면 고정화 부분이다. 단백질 칩의 표면은 초미량의 특정 생물학적 물질에 대하여 선택적인 인지기능을 바탕으로 분석대상물질을 인식하고 이로부터 감지 가능한 신호를 발생시키는 부분이다. 따라서 단백질 probe가 선호방향으로 우선 배향이 되는 것이 중요하며, 무엇보다도 화학반응을 통하여 고정화된 후 probe의 활성도의 저하가 적어야 할 필요가 있다. 센서 개발에 문제점으로 대두되고 있는 비특이적인 단백질의 결합, 고정화에 따른 활성도 상실, 단백질 결합의 분석 등의 기술적 어려움을 해결하는 연구가 단백질 칩 개발의 성패를 좌우하고 있다.

가장 보편적인 단백질 칩은 화학적으로 처리된 기판위에 단백질 프루브를 어레이형으로 spotting한 어레이칩이다. 이 칩은 형광스캐너를 이용하여 형광으로 결합여부를 판단하며 다른 방식에 비해 단순하고 편리하기 때문에 널리 사용되는 방법이다. 단백질 어레이 칩 분야에서 선도그룹은 Schreiber 그룹<sup>2)</sup>이다. 이 연구팀은 화학적으로 표면 처리된 유리 기판 위에 protein G, p50, FRB 단백질을 집적화시키고 상호작용하는 단백질을 기존의 array scanner를 이용하여 성공적으로 분석하였다. 이 연구는 처음으로 10,000 개가 넘는 spot을 가진 단백질 칩을 분석한 것이며 단백질 칩 기술 개발에 촉진제가 되었다.(Fig. 7) Snyder 그룹에서는 효모로부터 5,800 개의 단백질을 정제하여 유리 기판에 집적화 시킨 후 단백질의 활성도를 비교분석한 바 있다. 최근에는 calixcrown이라는 새로운 linker로 표면 처리된 유기기판을 사용하

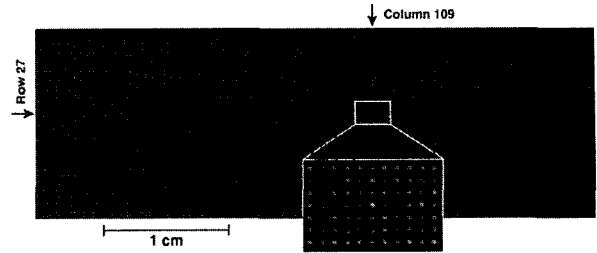


Fig. 7. 10,800 개의 단백질 프루브가 집적된 어레이칩.

여 integrin-extracellular matrix 단백질의 상호작용을 형광으로 분석하였다.

스위스 회사인 Zeptosens는 planar waveguide 기술을 이용하여 high throughput의 micro ELISA Arrays를 구현하였다.<sup>3)</sup> 유리기판 위에 SiNx, TaOx 박막을 증착하여 광도파로를 형성한 후 spotting을 통하여 형광검지형 단백질 micro-array chip을 개발하였다.(Fig. 8) 이 칩은 굴절율이 높은 SiNx, TaOx 박막을 이용함으로써 evanescent field가 cladding 밖으로 충분히 영향을 미치지도록 설계되어 있다. 또한 광 입사를 측면의 grating을 통하여 입사가 되므로 기존의 스캐너를 이용한 micro-array 방식에 비하여 광원에 의한 노이즈 증가를 걱정할 필요가 없다. ZeptoMARK<sup>TM</sup>라는 protein array 기술은 개개의 well안에 350 종의 단백질을 array 시킬 수 있고 96 well plate 형태로도 사용할 수 있게 모듈 형태로 되어있다. Fig. 8에서와 같이 background 신호를 줄이고 S/N(signal to noise) 비율도 100배 이상 향상시켜 감도를 크게 높일 수 있는 기술로 평가되고 있다.

나노입자 혹은 나노선을 이용한 단백질 센서의 응용의

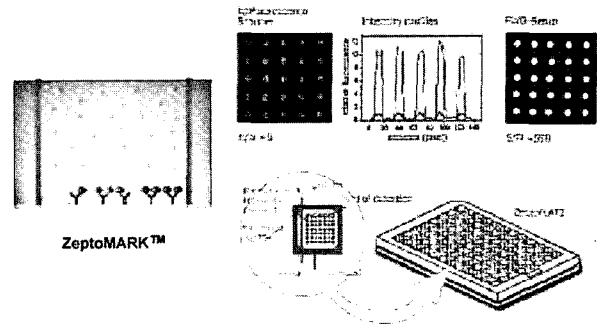


Fig. 8. ZeptoMARK<sup>TM</sup> 기술.

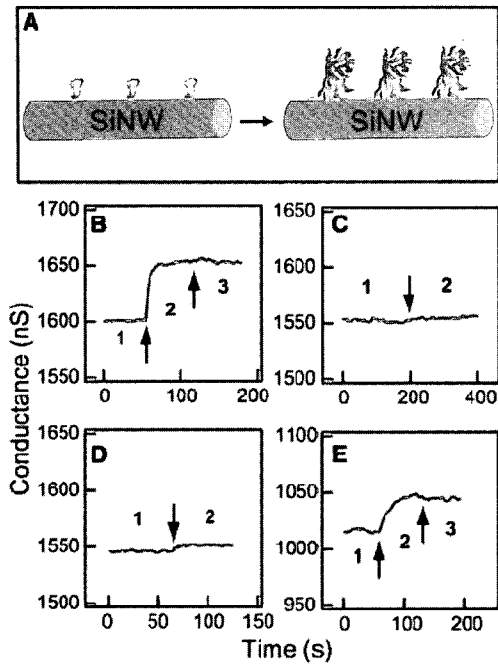


Fig. 9. 나노선 바이오센서의 biotin-stryptavidin binding의 검지.

대표적인 예는 하버드 대학의 Lieber 그룹을 들 수 있다.<sup>10)</sup> Boron으로 도핑된 실리콘 나노선을 마이크로 전극사이에 부착하여 화학센서와 단백질센서를 개발하였다. 아민그룹으로 치환된 나노선의 경우 우수한 pH특성을 나타내었다. dynamic range가 2-9 사이로 넓은 범위의 pH의 변화를 검지할 수 있었다. 단백질센서로의 응용가능성을 확인하기 위해서 나노선을 biotin으로 표면처리를 하여 biotin-stryptavidin의 ligand-receptor binding을 검지하였다. Fig. 9에서 보여지는 바와 같이 250 nM의 stryptavidin을 첨가할 시 전도도가 급격히 증가함을 알 수 있다. 이는 p형의 나노선에 음전하로 대전된 단백질이 결합하므로서 전기전도도가 증가한 것으로 판단된다. 이 그룹에서 제작된 나노선 단백질센서는 10 pM 정도의 검출한계까지 검지가 가능한 것으로 판명되었다. 나노입자 및 나노선을 이용한 바이오센서는 검출성능은 여러 연구결과를 통하여 검증이 되었으나, 상업화를 위해서는 소자의 재현성 확보, 어레이화 등의 문제가 시급히 해결되어야 한다.

### 2.3 세포칩

세포칩이란 세포생물학, 세포생리학, 신약개발 등에서 필요한 세포들이 정보 (세포의 이송, 유전자주입, 배양, 분화, 이온채널에 관한 연구들)에 대해서 연구할 수 있는 hardware platform을 의미함. 세포칩은 그 방식에 따라서 세포 마이크로어레이와 마이크로유체에 의해서 조작이 되는 microfluidic 형으로 나뉜다. 세포 마이크로어레이(Cell Microarray)는 실질적으로 DNA 및 각종 유전자 연구에 적합한 도구로서 현재 개념이 정립되어 가는 분야이다. 현재 제안된 세포 마이크로어레이라는 것은 한 개의 슬라이드에 수 천 개의 확인된 DNA로 이루어져 있고 그 위에 DNA에 의해 유전 생성물을 과잉 생산 또는 저해하는 세포의 뭉침(Cell Cluster)으로 되어 있다. 세포 마이크로어레이 연구는 세계적으로 비교적 초기단계이며 미국 Whitehead Institute의 Sabatini 팀이 선두그룹으로서 2001년 Nature지에 ‘Transfected-Cell Microarrays’에 대한 연구결과를 발표하였다.<sup>11)</sup> cDNA/젤라틴 혼합물을 마이크로어레이로 어레이를 만든 후, cell line을 흘려 transfected-cell microarray를 형성하고, 발현된 단백질에 의해 나타나는 세포의 phenotype을 관찰하여 단백질의 특성을 분석하였다.(Fig. 10)

세포마이크로어레이는 단백질칩에 비해 안정성이 높으며, 전사 후 modification이 일어난 단백질의 특성을

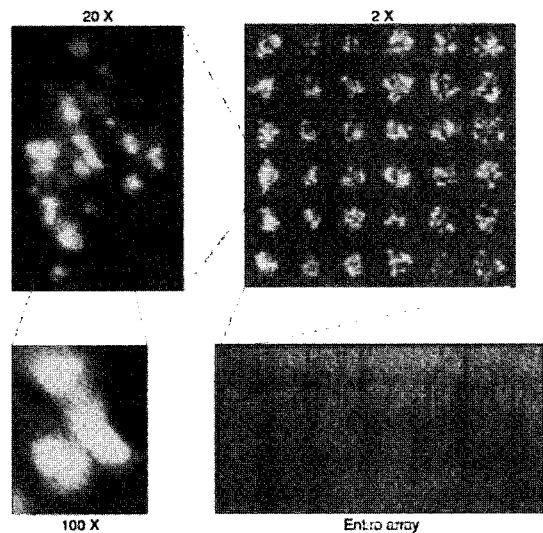


Fig. 10. 형광단백질이 발현된 세포어레이의 스캐너 이미지.

볼 수 있어 단백질 칩으로 구현하기 어려운 막 단백질(membrane protein)의 마이크로어레이 형성이 용이하다는 장점이 있다. 또한 cDNA의 동정이 불필요하고, 소형화가 가능하며, 고정화된 cDNA의 안정성이 높아 high-throughput 분석이 가능하다. 단점으로는 발현된 세포의 phenotype이 in vivo 유전자 기능과는 다를 수 있고, transfectable cell line이 한정되어 있는 점이다. 여러 가지 관련된 한계점들이 극복될 경우 향후 세포마이크로어레이는 신약개발 비용을 획기적으로 감소시키고, 단백질칩의 새로운 대안적 방법으로 사용되며, 인체 질병진단 신기술로 활용될 수 있는 유용한 기술이 될 것이다.

Microfluidic 세포분석 칩은 세포샘플링, 세포트랩핑과 소팅, 세포처리 그리고 세포분석과 같은 4가지 과정을 순차적으로 칩 내부에서 수행하는데 목적이 있다.<sup>12)</sup> 초창기에는 각각의 과정을 단일 칩에서 구현하는 칩이 연구되었으나 최근에는 위 기능들이 통합된 Lab-on-a-chip 유형의 칩들이 주목을 받고 있다. 현재 가장 활발히 연구가 진행되고 있는 분야는 electroporation/electrofusion과 단일세포분석분야이다.

Electroporation은 DNA 분자를 고전압 펄스를 이용하여 챔버 안에서 세포 안으로 이송시키는 조작을 의미하며 기존의 복잡한 유전자주입방식을 대체할 수 있는 중요한 기술로 평가받고 있다. electroporation을 flow형의 마이크로칩을 이용하여 수행할 경우 타깃세포의 양에 제한이 없다는 점이 있고, 고전압에 의한 위험이 없다는 점이 장점으로 부각된다. Lin 등은 상하판에 미세 금전극이 증착된 고분자칩을 개발하였다.(Fig. 11) 매우 적은 전압을 이용하여 reporter gene을 Huh-7 세포에 연속적으로 주입하는데 성공하였다.<sup>13)</sup> Rubinsky 등은 세포들을 개별적으로 유전자 주입이 가능한 미세칩을 개발하였다.<sup>14)</sup> 칩은 질화실리콘막과 반투명의 두개의 다결정실리콘으로 만들어진 삼층으로 구성된 소자로서 각 층 사이는 미세 챔버이며 총 2개로 이루어져 있으며 각 챔버는 미세구멍을 통하여 연결되어 있다. 한 챔버 내에 세포가 존재하며 챔버 사이의 구멍에서 세포가 캡쳐되어 미세전극에 의해서 유전자의 주입이 수행된다. 일반적으로 cell fusion에 사용되는 방식은 화학물질, focused laser, 펄스형의 전기

장(electrofusion) 등이 있다. electrofusion은 마이크로칩에서 적용이 용이하고, 효율이 높고, 재현성이 높기 때문에 많이 채택되고 있는 방식이다. electrofusion을 수행하기 위해서는 fusion chamber에서 세포현탁액이 저전압, 고주파 교류전기장을 이용하여 physical contact으로 이동시킨 후 짧은 고주파 펄스를 가하여 접촉된 세포를 electrofusion 시킨다. Stromberg 등은 미세유체칩 상에서 세포 쌍들을 electrofusion 하는데 성공하였다.<sup>15)</sup> 이 기술은 장래에 hybridomas, 클로닝, 유전자발현 연구에 중요한 도구로 사용될 것으로 예상된다.

최근의 마이크로유체시스템의 발전으로 단일세포 혹은 소량의 세포를 인터페이스하거나 분석하는 것이 가능해졌다. 단일세포분석 분야에서 가장 중요한 위치를 차지하고 있는 것은 ion channel 연구분야이다.<sup>12)</sup> 인간의 생리학에서 이온채널의 역할을 이해하기 위해서 또한 이를 이용하여 새로운 치료법을 개발하는데 있어서 매우 중요한 분야이다. 현재 사용되고 있는 측정방법은 몇 가지 결점을 가지고 있다. 패치 클램프와 같은 전기적 측정방법은 이온채널에 대하여 정확한 정보를 제공해 주지만, 매우 느리고, 자동화하기 어렵다. binding assay 방법은 레이블된 프루브가 필요하며 기능적인 정보는 제공하지 않고, ion-flux 방법은 방사성동위원소의 사용이 필요하

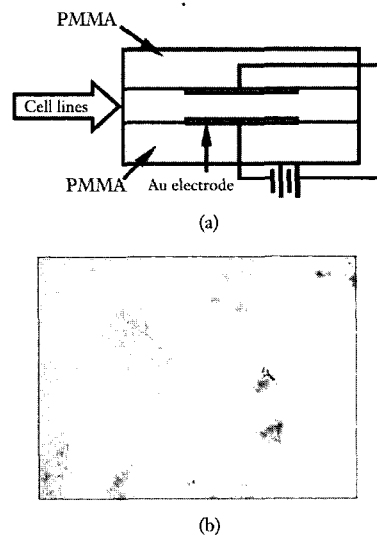
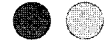


Fig. 11. (a) electroporation chip의 개념도 (b) electroporation된 세포영상.



다. 형광법은 자동화된 시스템에서 기능정보를 제공하지만, 신호 대 잡음비가 떨어지고, 많은 수의 세포를 사용해야 하는 단점이 있다. 마이크로 유체칩을 기반으로 하는 패치 클램핑 혹은 형광법은 위의 약점들을 보완한 것으로 최근 들어서 각광을 받고 있는 분야이다.

칩기반의 패치클램핑은 전통적인 패치전극을 실리콘 혹은 유리기판위의 평평한 미세전극으로 대체를 한 구조를 갖는다. 이 구조는 어레이 형이 가능하여 HTS 분석도 가능하다는 장점이 있다. Schmidt 등은 평행한 절연의 실리콘 다이아프램으로 구성된 패치클램프소자를 개발하였다.<sup>16)</sup> 마이크로 크기의 기공을 이용하여 gigaohm seal 을 수 초 안에 얻는데 성공하였다. 칩 기반 이온채널연구의 또 다른 방향은 형광을 이용하는 것이다. Farinas 등은 단일 세포의 세포막의 전위차를 측정할 수 있는 마이크로 유체칩을 개발하였다.<sup>17)</sup> 측정은 멤브레인의 depolarization 혹은 hyperpolarization에 의해서 DiBAC4와 Syto 62에서 나오는 형광을 관찰하였다. 이 유형의 칩은 HTS의 구현이 가능하고 출발물질의 소비를 극소화할 수 있다는 장점이 있다.

### 3. 맺음말

나노바이오기술은 나노기술과 바이오기술의 접목된 융합기술로서, 나노바이오칩 개발, 생체분자의 이미징, 약물전달시스템, 분자모터 등 실로 그 응용가능성이 매우 크다. 현재 가장 상업화에 근접한 분야는 나노바이오 칩 분야이다. DNA 칩 등은 유전질환 및 유전자검색에 그 응용가능성이 있으나 실제로 유전자 수준에서 판명이 가능한 질병의 수가 한계에 있으므로 단백질 칩에 비해서 그 사용범위가 제한된다고 하겠다. 단백질 칩은 포스트 게놈시대에 대표적인 핵심기술이나 단백질의 선택적/방향성 고정화 문제, 시간에 따른 활성도의 저하 문제 등이 난관으로 작용하고 있으나 근 시일 내에 해결될 것으로 전망된다. 이와함께 초정밀 단백질 칩 제작기술 및 에세이 분석기술 등의 개발에 많은 관심이 집중이 되고 있다. 단백질 칩은 단백질 체의 연구, 신약개발을 위한 스크리닝, 단백질의 특성 분석 등 매우 다양한 응용분야

를 가지고 있다. 특히, 질병의 진단에 가장 적절한 방법으로 생각되고 있다. 이외에 세포칩, 나노약물전달시스템, 나노모터 등은 개념은 검증이 되었으나 실제 상업화에는 상당한 시일이 소요될 것으로 예상된다.

### 참고문헌

1. 하권수, 육종설, 나노바이오기술과 단백질칩, *생화학·분자생물학소식*, **11**, 9 (2004).
2. F. W. Scheller, U. Wollenberger, A. Warsinke, F. Lisdat, Research and development in biosensors, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **12**, 35 (2001).
3. 임근배, 윤대성, MEMS 기술과 차세대 생물산업, *전자공학회지*, **28**(3) 301 (2001).
4. <http://www.affymetrix.com>
5. O. P. Kallioniemi, cDNA and tissue microarray technologies for high-throughput molecular oncology research, *Nature Genetics*, **23**, 24 (1999).
6. B. J. Cheek, A. B. Steel, M. P. Torres, Y. Y. Yu, H. Yang, Chemiluminescence detection for hybridization assays on the flow-thru chip, a three dimensional microchannel biochip, *Anal. Chem.*, **73**, 5777 (2001).
7. S. J. Park, T. A. Taton, C. A. Mirkin, Array based electrical detection of DNA with nanoparticle probes, *Science*, **295**, 1503 (2002).
8. G. MacBeath and S. L. Schreiber, Printing proteins as microarrays for high-throughput function determination, *Science*, **289**, 1760 (2000).
9. M. Pawlak, E. Schick, M. A. Bopp, M. J. Schneider, P. Oroszian, M. Ehrat, Zeptosens' protein microarrays: A novel high performance microarray platform for low abundance protein analysis, *Proteomics*, **2**, 383 (2002).
10. Y. Cui, Q. Wei, H. K. Park, C. M. Lieber, Nanowire nanosensor for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species, *Science*, **293**, 1289 (2001).
11. J. Ziauddin, D. M. Sabatini, Microarrays of cells expressing defined cDNAs, *Nature*, **411**, 107 (2001).
12. H. Andersson, A. van den Berg, Microfluidic device for cellomics: a review, *Sens. Actuat. B* **92** 315 (2003).
13. Y. Lin, C. Jen, M. Huang, C. Wu, X. Lin, Electroporation microchip for continuous gene transfection, *Sens. Actuat. B* **79** 137 (2001).
14. Y. Huang, B. Rubinsky, Microfabricated electroporation chip for single cell membrane permeabilization, *Sens. Actuat.*, **89** 242 (2001).
15. A. Stromberg, A. Karlsson, F. Ryttsen, M. Davidson,



D. Chiu, O. Orwar, Microfluidic device for combinatorial fusion of liposomes and cells, *Anal. Chem.* **73** 126 (2002).

16. C. Schmidt, M. Mayer, H. Vogel, A chip based biosensor for the functional analysis of single ion chan-

nels, *Angew. Chem. Int.* **39** 3139 (2000).

17. J. Farinas, A. Chow, G. Wada, A microfluidic device for measuring cellular membrane poteintial, *Anal. Biochem.*, **295** 138 (2001).

●● 윤대성



- 1991년 연세대학교 세라믹공학과 (학사)
- 1996년 KAIST 재료공학과 (박사)
- 1999-2000년 미국 펜실바니아 대학 재료공학과, Post Doc
- 1995-1996년 삼성전자 메모리사업부, 전임 연구원
- 1996-2003년 삼성종합기술원, 전문연구원
- 2003-현재 KIST 마이크로시스템센터, 선임 연구원

●● 강지윤



- 1990년 서울대학교 기계설계학과 (학사)
- 1992년 서울대학교 기계설계학과 (석사)
- 1997년 서울대학교 기계설계학과 (박사)
- 1997-2001 삼성종합기술원, 전문연구원
- 2002-2003 미국 신시내티 대학 전기 및 컴퓨터공학부, Post Doc
- 2001-현재 KIST, 선임연구원

●● 김태송



- 1982년 연세대학교 세라믹공학과 (학사)
- 1984년 KAIST 재료공학과 (석사)
- 1993년 KASIT 재료공학과 (박사)
- 1984-1989 대우통신 광통신 사업부
- 1994-2000 KIST, 선임연구원
- 1997-1998 미국 미네소타대학 전기 및 컴퓨터공학부, POST Doc
- 2000- 현재 KIST, 책임연구원
- 2000-2004 KIST 마이크로시스템연구센터, 센터장
- 2004-현재 지능형마이크로시스템 사업단, 단장