

영상 소자를 사용하지 않는 새로운 표면 플라즈몬 공명 센서

이 승 기[†]

A novel surface plasmon resonance sensor without using imaging devices

Seung-Ki Lee[†]

Abstract

A novel surface plasmon resonance sensor, which can measure 2-dimensional array of immobilized ligands without using imaging devices such as CCD, has been proposed. Regular surface plasmon resonance can be directly used due to the insertion of additional layers with different thickness, on which each ligands are immobilized. Surface plasmon resonance signals are separated depending on the thickness of additional layers. The possibility of multi-sensing capability of the proposed surface plasmon resonance sensor has been verified by the modeling that is based on Fresnel reflection model.

Key Words : surface plasmon resonance, imaging, arrayed ligands, multi-sensing

1. 서 론

표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance: SPR) 측정 장치를 이용한 센서는 지난 10여년간 바이오, 의학, 화학, 박막공학 등의 다양한 분야에서 널리 사용되고 있는데, 특히 최근의 바이오 기술 및 나노 기술의 급속한 발전과 더불어 바이오 센서로서의 유용한 가능성이 입증되고 있다^[1-4]. 표면 플라즈몬 공명 기술이 바이오 센서에 유용하게 사용될 수 있는 이유는 대개 다음과 같은 두 가지로 요약된다^[1]. 우선 표면 플라즈몬 공명 바이오 센서는 센서 표면에서 발생하는 바이오 물질들의 상호 작용을 실시간으로 측정할 수 있다. 두 번째 이유는 특정 바이오 물질의 측정에 있어서 표시자(labeling or marker)를 필요로 하지 않는다는 점이다. 이러한 특징은 표면 플라즈몬 공명 바이오 센서가 갖는 특징적인 장점이라고 할 수 있으며 이러한 장점 때문에 지난 10년간 표면 플라즈몬 공명 기술을 이용한 바이오 센서에 대한 관심은 폭발적으로 증가하여 왔다.

특히 최근에는 DNA 칩이나 항원-항체 반응 등에 다양하게 응용되면서, 연구 초기의 단일 측정 형태가 아닌 멀티 센싱(multisensing)의 형태로 발전하게 되었는데, 이는 하나의 기판 위에 다양한 종류의 반응물(ligand)들이 어레이(array)의 형태로 배열되고 이것들로부터의 다수의 신호를 동시에 측정할 수 있는 측정 시스템을 의미한다. 지금까지 보고된 표면 플라즈몬 공명 멀티센싱 방법은 (1) CCD 카메라 및 신호의 처리를 위한 소프트웨어를 사용하고, (2) 어레이 형태의 반응물에 대한 이미지는 항상 고정된 입사광 파장과 주파수 조건에서만 가능하다는 공통적인 특징을 갖는다^[5]. 즉 입사광 각도 혹은 주파수가 일정한 범위 내에서 변화하며 반사광을 측정하는 형태인 일반적인 표면 플라즈몬 공명 측정 장치를 그대로 멀티센싱 방법에 적용하는 것은 불가능하다.

본 논문에서는 CCD와 같은 영상 소자를 사용하지 않는 새로운 표면 플라즈몬 공명 센서를 제안한다. 이는 기존의 일반적인 표면 플라즈몬 공명 측정 장치를 이용하여 멀티 센싱이 가능하다는 것을 의미하며 따라서 영상 소자가 아닌 일반적인 표면 플라즈몬 공명 측정 장치에서의 광 검출기(photo detector)나 스펙트로미터(spectrometer) 등을 그대로 사용할 수 있다. 제안한 방법은 다층 구조의 채널을 이용하여 각 채널의 두께 변화에 의한 신호의 분리를 통해 멀티 센싱이 가능하

단국대학교 전기공학전공 및 나노센서바이오텍 연구소 (Department of Electrical Eng. & Institute of Nanosensor and Biotechnology, Dankook Univ.)

[†]Corresponding author: skilee@dku.edu

(Received : May 27, 2006, Accepted : September 10, 2006)

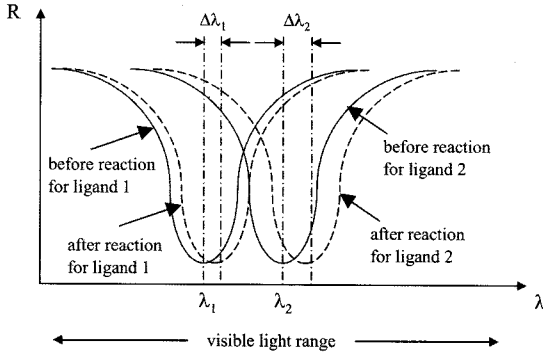


그림 1. 파장 조절법에서 서로 다른 두 개의 반응물로부터의 표면 플라즈몬 공명 신호
 Fig. 1. Surface plasmon resonance signals from two different ligands in wavelength modulation.

며 이를 프레넬 반사 모델(Fresnel reflection model)⁶⁾을 이용하여 검증한다.

2. 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱

일반적인 표면 플라즈몬 공명 센서에서는 광 검출기나 스펙트럼미터를 사용하고 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱에서는 영상 소자를 사용한다. 이 두 가지를 비교하기 위해 먼저 파장 조절법(wavelength modulation)에서 CCD를 사용하는 경우를 고려해 보도록 한다. 그림 1은 파장 조절법에서의 출력 신호의 한 예이다. 서로 다른 두 개의 반응물로부터 신호가 나오고 이때의 표면 플라즈몬 공명 파장을 각각 λ_1 , λ_2 라 하자. CCD 카메라를 통해 얻게 되는 상은 각 반응물 표면에서 반사된 백색광이므로 두 개의 반응물로부터의 신호의 밝기는 거의 구분이 되지 않는다. 반응액(analyte)을 흘려서 반응물과 반응이 일어난 후의 신호의 변화를 그림 1의 점선으로 표시된 결과라고 가정하면, 반응물 1의 공명 파장은 $\Delta\lambda_1$ 만큼, 반응물 2의 공명 파장은 $\Delta\lambda_2$ 만큼 이동하였음을 알 수 있다. 그러나 이러한 표면 플라즈몬 공명 파장의 변화는, 가시광선 파장 영역 전체를 포함하는 백색광을 사용하여 측정하고 있으므로 CCD 상에서의 밝기의 변화로 나타나지는 않는다. 따라서 이러한 방법으로는 서로 다른 반응물로부터의 신호는 물론 동일 반응물의 반응 전, 후의 결과도 분리해서 관찰하기 어렵다.

다음으로는 각도 조절법(angle modulation)에서 CCD 카메라를 사용하는 경우를 고려해 본다. 각도 조절법에서는 반응이 일어나기 전에 입사되는 빛의 입사 각도를 일정 범위에서 변화시키고, 반응이 일어난 후 동일

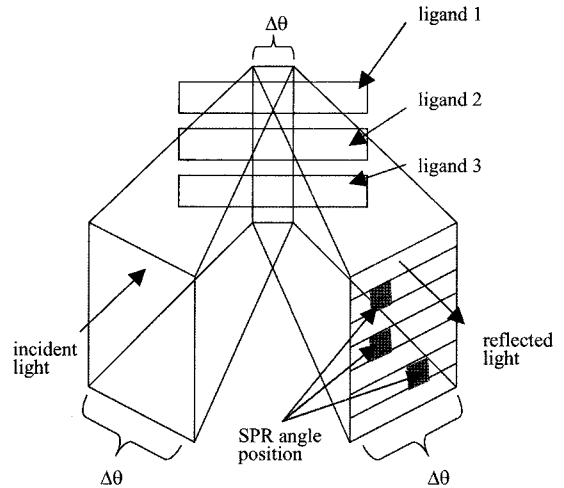


그림 2. 수정된 각도 조절법 표면 플라즈몬 공명법.
 Fig. 2. Modified angle modulation surface plasmon resonance.

한 범위에서 각도를 변화시키는 방법이다. 따라서 이 방법은 반응을 실시간으로 측정하기에는 적합하지 않다. 이에 비해 그림 2와 같은 수정된 각도 조절법(modified angle modulation)에서는 입사광이 일정 범위의 입사 각도를 가질 수 있도록 광학계를 구성함으로써 각도 조절을 위한 회전의 필요성을 배제하였다. 즉, 그림 2와 같이 다수의 반응물로부터의 신호를 동시에 측정하는 것이 가능하다. 현재 Biacore[®] 등에서 상용화하여 판매하는 표면 플라즈몬 공명 센서에는 이러한 방법을 사용하고 있다⁷⁾. 그러나 이 방법이 각도 조절법에 비해 좀 더 개선된 방법이지만, 여전히 측정항상을 정량화된 데이터로 변환하기 위한 소프트웨어를 필요로 하므로 반응을 실시간으로 측정하기에는 적합하지 않다.

이러한 문제점을 때문에 일반적으로 CCD를 사용하는 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱에서는 입사광의 입사 각도와 파장을 변화시키지 않고 일정한 값으로 고정하여 측정한다⁸⁾. 그러나 여기에는 또 다른 문제점이 존재한다. 그림 3은 입사 각도와 파장을 고정한 멀티 센싱 방법의 문제점을 설명하기 위한 그림으로써 기본적으로 파장 조절법의 전형적인 측정 결과와 동일하다. 그림에는 반응물 1과 반응물 2로부터의 신호가 반응 전, 후로 나뉘어져 표시되어 있다. 일반적인 파장 조절법에 해당하는 결과이므로 입사광의 입사 각도는 고정되어 있는 상태이고, 이제 멀티 센싱을 위하여 입사 파장이 λ_{01} 로 고정되어 있다고 가정해 보자. 이는 우리가 오직 파장 λ_{01} 에서의 반사광의 강도의 변화만을 관찰

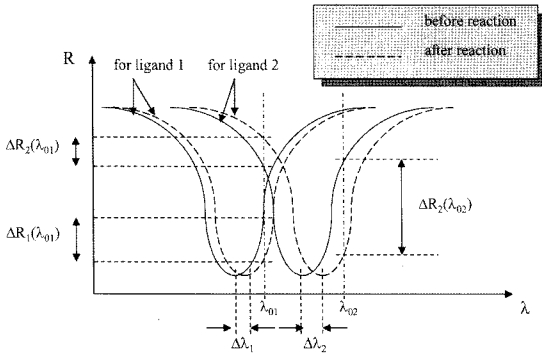


그림 3. 고정된 파장과 입사 각도 조건에서 서로 다른 두 개의 반응물에 대한 표면 플라즈몬 공명 신호
 Fig. 3. Surface plasmon resonance signals from two different ligands under the condition of the fixed wavelength and incident angle.

할 수 있음을 의미한다. 따라서 반응물과 반응액이 서로 반응을 일으키면 반응물 1과 반응물 2에서의 반사광 강도의 변화는 그림 3에서 볼 수 있듯이 각각 $\Delta R_1(\lambda_{01})$ 과 $\Delta R_2(\lambda_{01})$ 으로 나타난다. 그러나 반응 전, 후에 따른 표면 플라즈몬 공명 파장의 변화는 반응물 1과 반응물 2에서 각각 $\Delta\lambda_1$ 과 $\Delta\lambda_2$ 에 해당한다. 이러한 공명 파장의 변화는 센서 표면에서의 반응물의 굴절률 (refractive index) 변화에 기인한 것이며, 측정 결과는 이러한 굴절률 변화를 정확하게 표현할 수 있어야 한다. 그림 3에 나타난 측정 결과 중 $\Delta R_1(\lambda_{01})$ 값은 출력 신호의 선형 변화 영역 내에 위치하므로 이러한 굴절률 변화의 값을 나타내고 있다고 해석할 수 있다. 그러나 선형 영역에 위치하지 않은 $\Delta R_2(\lambda_{01})$ 값은 굴절률 변화를 정확하게 표현한다고 할 수 없다. 반응물 2에 대해서도 공명 파장의 변화에 해당하는 반사광 강도의 변화를 선형 영역에서 측정한다면 $\Delta R_2(\lambda_{02})$ 정도로 나타나야 정확한 측정이라고 할 수 있을 것이다.

이러한 문제점이 발생하는 이유는, 현재의 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱 방법에서는 입사광의 입사 각도와 파장을 고정하기 때문이며 이는 현재 사용하고 있는 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱의 한계라고 할 수 있다.

3. 새로운 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱

현재의 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱 방법과는 달리 CCD 카메라와 같은 영상 소자를 사용하지 않고 입사광의 입사 각도 및 파장을 고정하지 않는, 즉 일반적인 표면 플라즈몬 공명 측정 장치를 이용하는 멀티 센

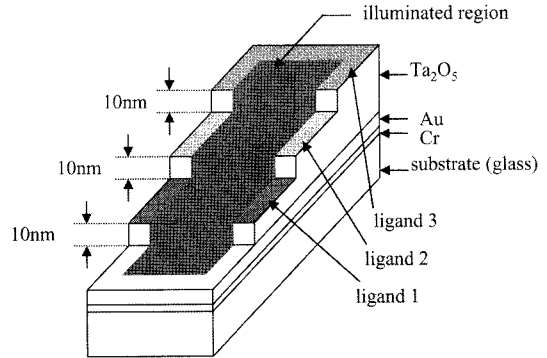


그림 4. 다층 구조로 분리된 새로운 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱의 구조
 Fig. 4. The structure of the novel surface plasmon resonance multisensing separated by multichannel.

싱 방법을 제안하였다. 이는 센서 표면에 서로 다른 두께를 갖는 다층 구조를 형성하고 각 층 위에 서로 다른 반응물을 고정화(immobilization)함으로써 가능해진다.

그림 4는 새로운 표면 플라즈몬 공명 멀티 센싱 센서의 구조를 나타내고 있다. 유리 기판 위에 크롬(2 nm)과 금(50 nm)이 증착되어 있고 이 위에 부가적인 층으로써 Ta_2O_5 가 서로 다른 두께(10, 20, 30 nm)로 증착되어 있다. 그리고 서로 다른 박막층 위에 서로 다른 반응물(반응물 1, 2, 3)들이 각각 고정화 되어 있다. 이와 같이 서로 다른 반응물을 서로 다른 두께를 갖는 각 층 위에 고정화 하는 이유는, 각 반응물로부터의 반사광이 서로 충분히 분리되어져 동시에 측정이 가능하도록 하기 위함이다. 즉 반응물 1, 2, 3과 금 표면 상에 백색광인 입사광이 조사되고 일반적인 파장 조절법에 의해 각 반응물들로부터의 반사광을 측정할 때에, 각 반응물들로부터 나타나는 신호의 표면 플라즈몬 공명 파장은 각 반응물의 굴절률에 따라 다르게 나타난다. 그러나 일반적으로 바이오 센서 등에 사용되는 반응물들의 굴절률 변화 범위는 그리 크지 않기 때문에 각 반응물들로부터의 표면 플라즈몬 공명 파장 역시 큰 차이가 나지 않는다. 이는 다수의 반응물들로부터의 신호가 분리되지 않고 나타남을 의미하며 따라서 멀티 센싱이 불가능해진다. 그러나 그림 4에 나타난 바와 같이 각 반응물들을 서로 다른 두께를 갖는 부가층 위에 고정화하면 부가층의 두께 변화 효과에 의해 각 반응물들로부터의 표면 플라즈몬 공명 파장이 서로 분리되어 다수의 반응물들을 동시에 측정하는 멀티 센싱이 가능해진다. 즉 CCD와 같은 영상 소자를 사용하지 않고 일반적인 표면 플라즈몬 공명 측정 장치를 이용하여 새로운 멀티 센싱 소자를 만드는 것이 가능하다.

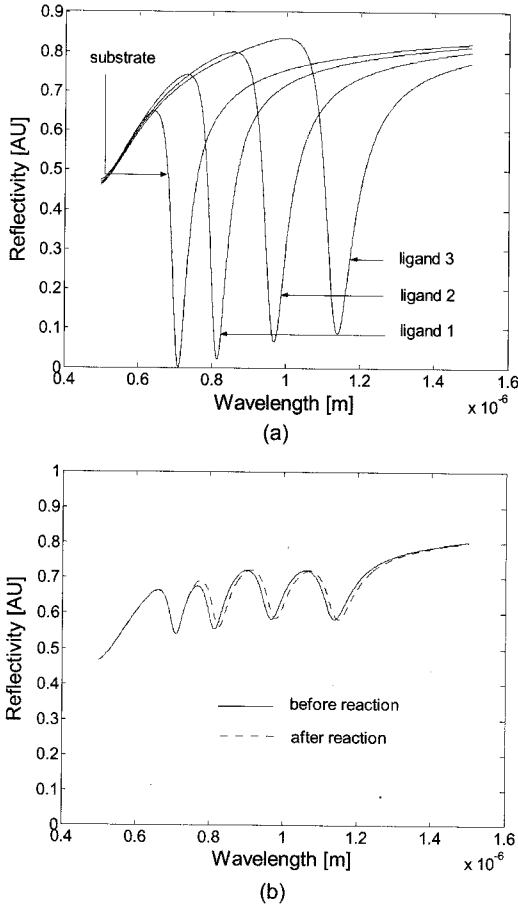


그림 5. 그림 4 구조의 표면 플라즈몬 공명 측정에 대한 계산 결과: (a) 3개의 반응물을 독립적으로 측정, (b) 3개의 반응물을 동시에 측정
 Fig. 5. Calculated results for surface plasmon resonance measurement with the configuration shown in Fig. 4: (a) independently measured three ligands, (b) simultaneously measured three ligands.

4. 프레넬 반사 모델을 이용한 모델링 결과

그림 5는 본 논문에서 제안한 새로운 표면 플라즈몬 공명 멀티 센서에 대한 계산 결과를 나타낸 그림이다. 계산은 프레넬 반사 모델을 이용하였으며 그림 4의 구조에 대하여 계산을 수행하였다.

계산에 사용한 상세한 구조는 다음과 같다. 먼저 기판은 0.5 mm의 두께를 갖는 유리 기판을 사용하고 이 위에 2 nm 두께의 크롬과 50 nm 두께의 금을 순차적으로 증착한다. 그림 4와 같이 각각 10, 20, 30 nm의 두께를 갖는 Ta₂O₅ 층을 패터닝하고 이 위에 서로 다른 세 종류의 반응물을 고정화한다. 이때 반응물의 두

표 1. 계산에 사용한 파라미터 값
 Table 1. Used parameters in calculation.

구조	Ta ₂ O ₅ 상에 반응물	
	반응 전	반응 후
기판	그림 4	
채널		
#1	ligand 1 (10 nm) / Ta ₂ O ₅ (10 nm)	
#2	ligand 2 (10 nm) / Ta ₂ O ₅ (20 nm)	
#3	ligand 3 (10 nm) / Ta ₂ O ₅ (30 nm)	
굴절률		
ligand 1	1.40	1.45
ligand 2	1.55	1.60
ligand 3	1.70	1.75
기판	1.334	1.334
계산 결과	그림 5(b) 실선	그림 5(b) 점선

께는 모두 10 nm로 일정하다. 입사광은 이 세 종류의 반응물과 금 표면 상에 동일 면적 비율로 조사되는 것으로 한다. 각 반응물의 굴절률은 각각 1.40, 1.55, 1.70인 것으로 가정하고 반응액을 흘려서 반응이 일어나면 각각의 굴절률이 1.40에서 1.45로, 1.55에서 1.60으로, 1.70에서 1.75로 변화한다고 가정하였다. 계산에 사용한 상세한 파라미터 값들은 표 1에 정리하였다.

그림 5의 (a)는 반응이 일어나기 전의 각 영역으로부터의 반사광 신호를 계산한 결과이다. 금 표면으로부터의 신호는 물론 세 개의 서로 다른 반응물들로부터의 신호도 공명 파장이 확실하게 분리되어 나타나고 있음을 알 수 있다. 일반적으로 이 계산에 사용한 굴절률 값 정도의 범위에서는 이와 같이 신호가 서로 분리되지 않고 공명 파장들이 서로 매우 근접해서 나타나게 되는데, 그림 5(a)의 결과는 다층 구조로 삽입한 부가층의 역할이 멀티 센싱을 가능하게 해 줌을 보여주는 결과라고 할 수 있다. 실제로 스펙트로미터 등을 통해 우리가 관찰하게 되는 반사광은 그림 5(a)의 형태가 아니라 이러한 모든 반사광 신호들이 중첩된 형태이다. 따라서 표면 플라즈몬 공명 파장이 서로 구분되지 않고 모두 합해진 형태로 나타나는 현상이 더욱 증가한다. 이에 비해 그림 5(b)는 그림 5(a)에서 나타난 모든 신호들을 면적비를 고려하여 중첩한 결과로써 여전히 신호의 분리가 명확하게 나타나고 있음을 알 수 있다. 또한 반응액을 흘려주어 반응물과 반응액 사이에 반응이 발생하고 이에 따라 반응물의 굴절률이 변화하게 되는 경우에도 그림에서 알 수 있듯이 표면 플라즈몬 공명 파장의 변화를 모든 신호에 대해 구분하여 읽을

수 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 본 논문에서 제안한 표면 플라즈몬 공명 센서가 다수의 서로 다른 반응물들로부터의 반사광 신호를, 일반적인 표면 플라즈몬 공명 측정 장치를 이용하여 동시에 실시간으로 측정하는 멀티 센싱 소자로 사용할 수 있음을 의미한다.

5. 결 론

기존의 표면 플라즈몬 멀티 센싱 방법과는 달리 CCD와 같은 영상 소자를 사용하지 않고 일반적인 표면 플라즈몬 공명 측정 장치를 그대로 사용하는 새로운 표면 플라즈몬 공명 센서를 제안하고 그 성능을 프레넬 반사 모델을 이용하여 검증하였다. 새로운 표면 플라즈몬 공명 센서는 센서 표면에 서로 다른 두께를 갖는 부가층을 형성하고 그 위에 서로 다른 반응물들을 고정화함으로써, 부가층의 두께 변화 효과에 의해 각 반응물들로부터의 공명 파장이 분리되는 현상을 이용한다. 이를 이용하면 서로 다른 반응물들을 일반적인 표면 플라즈몬 공명 측정 장치를 이용하여 동시에 실시간으로 측정하는 것이 가능하다. 프레넬 반사 모델을 이용한 계산 결과는 이러한 멀티 센싱의 가능성을 명확하게 입증하였으며 이는 본 논문에서 제안한 새로운 표면 플라즈몬 공명 센서가 어레이 형태의 반응물들을 동시에 실시간으로 측정하는 최근의 바이오 관련 연구에 직접 응용될 수 있음을 보여주는 것은 물론 향후 다양한 응용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 2005학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

참고 문헌

- [1] V. Silin and A. Plant, "Biotechnological applications of surface plasmon resonance", *Tibtech*, vol. 15, no. 9, pp. 353-359, September, 1997.
- [2] R. L. Rich and D. G. Myszka, "Survey of the year 2001 commercial optical biosensor literature", *J. of Molecular Recognition*, vol. 15, pp. 352-376, 2002.
- [3] B. Liedberg, C. Nylander, and I. Lundstrom, "Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing", *Sensors and Actuators*, vol. 4, pp. 299-304, 1983.
- [4] J. Kyle, "Planar substrate surface plasmon resonance probe with multivariate calibration", Ph. D. dissertation, University of Washington, 1996.
- [5] G. Steiner, "Surface plasmon resonance imaging", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 379, no. 5, pp. 328-331, 2004.
- [6] C. Jung, "Surface plasmon resonance light modulators using electro-optic polymers", Ph. D. dissertation, University of Washington, 1994.
- [7] K. Nagata and H. Handa (ed.), *Real-time analysis of biomolecular interactions*, pp. 23-29, Springer, 2000.



이 승 기 (李 承 起)

- 1963년 5월 15일생
- 1986년 서울대학교 전기공학과 졸업 (공학사)
- 1988년 동 대학원 전기공학과 졸업 (공학석사)
- 1992년 동 대학원 전기공학과 졸업 (공학박사)
- 1992년~1993년 일본 동북(東北)대학교 기계전자공학과 특별연구원(JSPS fellow)
- 1994년~1996년 단국대학교 전기공학과 전임강사
- 1996년~2000년 단국대학교 전기공학과 조교수
- 2000년~2005년 단국대학교 전기전자컴퓨터공학부 부교수
- 2006년~현재 단국대학교 전기공학전공 교수
- 2003년~2004년 미국 Univ. of Washington 기계공학과 방문교수