

## 바이오센서

김 태 진

수원대학교 화공생명공학과

(접수 : 2007. 11. 1., 게재승인 : 2007. 12. 20.)

## Biosensor

Tai-Jin Kim

Department of Chemical and Biochemical Engineering, The University of Suwon, Kyunggi-do 445-743, Korea

(Received : 2007. 11. 1., Accepted : 2007. 12. 20.)

### 서 론

#### 필요는 발명의 어머니

우리는 생활하면서 많은 필요를 느낀다. 이러한 필요는 새로운 원리를 찾아내고 신제품을 발명하는데 원동력으로 작용한다. 생물공학과 관련하여 일상생활 및 산업활동에서 필요한 희망사항 몇 가지를 생각해 보고 그것들이 어느 정도 현실성이 있는지 살펴보자.

최근 들어 건강에 대한 관심이 부쩍 높아지고 있다. 건강 진단을 받으러 병원에 가면 혈액을 채취하여 여러 가지 기능을 검사한다. 혈액 속의 포도당의 농도, 콜레스테롤의 농도 등을 측정한다. 피를 뽑는 것을, 그것도 많은 양을 채혈하는 것을 좋아할 사람은 아무도 없다. 채혈한다는 느낌이 들지 않도록 아주 극소량을 뽑아서 여러 가지 검사를 할 수 있으면 좋을 것이다. 검사 결과를 알기 위하여 며칠 후에 병원에 다시 가야 하는 불편이 없으면 더 좋을 것이다. 이러한 희망을 해결하기 위하여 주사바늘만한 크기에 포도당, 콜레스테롤 등을 동시에 검사할 수 있는 센서가 개발되고 있다.

이러한 방법 대신 매일 아침 건강 상태를 점검할 수 있으면 금상첨화일 것이다. 이러한 요구에 따라 집에서 간단히 검사할 수 있는 방법, 예를 들면 오줌 성분을 분석할 수 있는 센서 등이 역시 개발되고 있다.

도시하수를 처리할 경우에는 생물화학적 산소요구량(BOD)을 측정하여 물의 깨끗한 정도를 나타내는 지표로 삼는다. 이 수치를 통해 하수나 폐수의 처리가 얼마나 잘 되었는지 판가름한다. 이것은 시료를 채취하여 5일 동안 산소가 소모된 정도를 측정함으로써 물 속의 유기물의 농도를 아는 방법이다. 즉 물속에 생태계를 오염시키는 유기물질이 많으면 미생물이 유기물을 분해시키는데 산소를

많이 소모하므로 BOD가 높아지게 된다. 수질의 오염정도를 알 수 있는 좋은 방법이다. 문제는 측정하는 데 5일이나 걸린다는 것이다. 처리가 잘못되어도, 수질이 나빠도 그 결과를 5일 후에나 알 수 있으니 소 잃고 외양간 고치기 식이 되기 쉽다. 순간적으로 BOD를 측정할 수 있어야 하거나 폐수 처리를 잘 할 수 있을 것이며 심하게 오염된 물로 인한 피해를 막을 수 있다. 이러한 필요에 의하여 최근 미생물의 활성을 이용하는 BOD센서가 개발되어 사용되기 시작하였다. 폐수중에 존재하는 유기물의 농도에 따라 미생물이 소모하는 산소의 양을 순간적으로 감지하는 센서를 만든 것이다.

이외에도 식품의 신선도, 병원균의 존재 여부를 그 자리에서 측정할 수 있는 센서 등이 개발되고 있다. 또 이러한 센서를 소형화하여 휴대할 수 있게 그리고 동시에 여러 가지 항목을 측정할 수 있도록 연구개발되고 있다.

#### 짧지만 눈부신 바이오센서의 역사

센서는 동물이 가지고 있는 감각기관에 대응하여 외계의 어떤 물리적 또는 화학적 양을 전기신호로 변환하여 감지하는 기기를 말한다. 인간의 오감에서 시각·청각·촉각에 해당되는 것이 역학센서이고, 후각과 미각에 대응하는 것이 화학센서이다. 화학센서 중에서 후각에 대한 것이 가스센서이고, 미각에 대한 것이 액체 혹은 용액 중의 성분을 감지하는 이온센서, 바이오센서 biosensor이다. 특히 생체 물질을 이용하여 측정 대상물에 대한 선택성이 탁월하며, 감도가 예민한 바이오센서의 경우는 분석화학 분야에 있어서 생체내의 생성물질과 대사물질을 직접 측정할 수 있는 분석장치로서 주목을 끌고 있다.

생체관련 물질을 포착 기능 부분으로 사용하여 센서를 만든 것은 1967년 엡다이크와 히스가 효소를 이용한 전극형 효소센서를 만든 후 1970년 초반까지를 바이오센서 제 1세대라 하면 여러 가지 생체 기능 물질을 소자화한 1970년 후반까지를 제2세대라 할 수 있다. 그리고 FET (Field Effect Transistor)와 포토 다이오드 photodiode 등 새로운 재료나 기기를 이용하고 있는 1980년 중반까지를 제 3세대

† Corresponding Author : Department of Chemical and Biochemical Engineering, The University of Suwon, Kyunggi-do 445-743, Korea

Tel : +82-31-222-6166, Fax : +82-31-223-0017

E-mail : tjkim@suwon.ac.kr

라 한다면, 1980년 중반부터 고정화 기술이 발달하여 이중 지질막이나 분자전기장기에 효소를 고정하여 감도를 더욱 좋게 개선한다던가, CWE (coated-wire electrode)나 탄소섬유 carbon fiber 전극이나 탄소전극과 같이 소형화하기 위한 연구는 제 4세대라 할 만큼 발전의 속도도 매우 빠르다. 이 분야에 대한 연구는 한국센서학회와 경북대학교의 센서기술연구소를 중심으로 수행되고 있다.

산업계에서는 센서 기술 연구 조합을 통해 최근 이뤄지고 있으나, 시장 규모가 작고 다품종인지라 대부분 수입에 의존하고 있어서 국내의 기술수준은 극히 낙후된 실정이다.

바이오센서의 특징은 센서의 특이성, 간편성, 미량성 그리고 측정물질을 분리하지 않고 직접 측정할 수 있다는 장점 때문에 생체관련 물질을 연구하는 기초과학 연구 뿐만 아니라, 환경오염 물질의 측정 및 감시, 의료진단, 생물공학, 식품공학, 산업안전 등에 있어서 매우 중요한 역할을 한다. 앞으로 바이오센서의 우수한 특성으로 미루어 볼 때 활용 가능성에 대한 기대가 매우 크지만 국내에는 이 분야의 전문 인력이 제한적이므로 향후 많은 연구가 필요하다.

### 바이오센서의 종류

바이오센서는 어떤 특정 화학물질을 선택적으로 식별할 수 있는 기능을 가진 생체 관련물질인 효소, 미생물, 항체, 오르가넬라, 동식물의 조직, 동물세포 등을 고분자 담체 carrier에 고정화하거나 그대로 사용하여 만든 생물기능성막을 이용하여, 이 기능성막에서 어떤 특정 물질을 선택적으로 식별하여 검지하는 포착 receptor 기능 부분과 검지된 물질의 양이나 농도가 전기활성 물질일 경우에는 전극 또는 반도체소자로, 또 막에서 일어난 반응을 발광 반응과 연결시킬 수 있는 경우에는 양자계수기로, 반응열의 변화인 경우에는 서미스터로, 전동자의 진동 변화는 음파검출기를 통하여 전기신호로 변화시킬 수 있는 변환기 기능 부분으로 각각 구성된다. 여러 가지 화학 변화를 전기신호로 변환하여 검출하는 바이오센서의 종류도 생체관련 물질에 따라 효소센서, 미생물센서, 조직센서, 면역센서로 크게 나누어질 수 있다. 또 변환기 기능에 따라 전극형 바이오센서, 서미스터형 바이오센서, 생물화학 발광형 바이오센서, 음파를 이용한 SAW (Surface Acoustic Wave)형 바이오센서, 반도체형 바이오센서 등으로 구별된다.

#### 효소센서

효소센서는 1967년 업다이크와 히스가 포도당 산화효소 (Glucose Oxidase)의 폴리아크릴아미드 polyacrylamide 고정화막을 클라크형 (Clark Type) 산소전극에 붙여 포도당 측정을 한 것이 처음으로, 고정화효소와 전기화학적 기기를 구성하여 효소반응에서 특성의 기질과 반응시켜 그때 생성 또는 소비된 전극활성 물질량을 기기로 측정하여 효소 기질의 농도를 간접적으로 측정하는 원리에 기초를 두고 있다. 기초전극으로는 암모니아 전극, 이산화탄소 전극, pH전극 등의 전위측정형과 산소전극이나 과산화수소 전극

등의 전류측정형이 있으며 고정화효소의 특징에 따라 센서의 감도, 안정성, 응답 시간 등이 결정된다. 고정화효소와 전극을 조합시킨 효소센서는 효소의 기질 특이성과 전기화학 분석의 신속성, 간편성을 잘 이용한 센서로서 이미 임상분석, 환경계측, 발효공정 제어 등에 측정할 수 있는 다기능 효소센서가 나왔다. 또한 효소센서에 의한 요소, 요산, 유기물, 당류, 지질, 항상물질 등의 측정 예가 많이 발표되고 실용화되고 있다.

#### 미생물센서

미생물은 많은 효소를 가지고 있어 효소의 생산원으로 이용하는데 분리된 효소는 온화한 조건에서도 불안정한 것이 많아 효소 대신 미생물을 살아 있는 상태로 전극에 붙인 미생물센서가 고안되었다. 미생물 세포에는 각종 효소가 들어있으며 에너지 재생계, 조효소 재생계, 호흡대사 등의 생리 기능이 집약되어 있다. 세포내 효소는 안정하므로 미생물센서는 효소센서보다 수명이 길지만 여러 가지 효소가 미생물 속에 포함되어 있으므로 측정 결과와 선택성의 신뢰도가 떨어지는 단점이 있다.

미생물을 효소와 같이 고정화하여 고정화 미생물과 전기화학 기기로 구성되는데, 이것은 미생물의 호흡 활성을 지표로 하는 호흡 측정형 미생물센서와 미생물이 대사하는 전극활성 물질을 지표로 하는 전극활성 물질 측정형 미생물센서로 나눌 수 있다. 대체로 미생물을 고정하는 담체로는 다공성 섬유소막이나 콜라겐막을 이용한다.

미생물센서는 효소센서에 비해 장기간 안정하여 발효공업 공정이나 환경 등의 계측에 적합하며 이중 BOD, 에탄올, 초산, 글루타민산, 암모니아, 미생물 균수 등의 센서는 실용화되어 공업공정의 계측에 이용된다. 또 미생물센서의 원리를 응용하여 돌연변이원이나 발암물질의 일차 검사를 할 수 있다. 공기중의 질소화합물, 메탄가스, 황화합물을 측정하는 미생물센서, 고정화효소와 미생물을 이용하여 크레아틴, 요소 등을 측정하는 혼합형 센서, 혈청 중의 미생물 식별 기능을 갖는 센서 등 미생물 기능을 이용한 새로운 센서의 개발 연구가 활발하다. 그 예로 수도모나스 플루오레스스를 이용하여 포도당을, 브레비박테리움 락토펜텀을 이용하여 자화당을 트리코스포론 브라시에에 의한 초산과 알콜의 측정이다.

#### 면역센서

생체의 방어기구로 알려진 면역반응은 항체에 의하여 특이적인 복합 생성에 기인한 것으로 선택성이 대단히 높다. 효과적인 항원은 단백질이나 다당류와 같은 고분자이나, 저분자의 물질로서 단독으로 항체를 만들 수 없는 경우에도 단백질과 결합하면 항원성을 나타내어 특이적인 항체를 만들기도 한다. 항체는 전부 척추동물의 체내에서 생산되어 항원을 식별하며 결합반응을 보인다. 이와 같은 항체의 항원 식별 기능을 이용하면 항체 또는 항원의 측정이 가능하다.

면역센서는 비표지센서와 표지센서가 있다. 이들 센서에는 항체 (항원)가 고정화막 또는 전극표면에서 항원항체 복합체를 형성하며 이때의 물리화학 변화를 전기신호 변

화로 검출한다.

한편 표지 면역 측정법 중에는 효소면역 측정센서가 주목되는데 효소면역 측정을 일항체법과 이항체법으로 나눌 수 있다. 효소 표지대상은 일항체법에서는 항체, 이항체법에서는 항원이다. 효소가 표지물인 경우 효소의 화학 증폭 이용이 가능하므로 방사면역분석과 같은 정도 또는 그 이상의 고감도 측정이 가능하다.

한편, 효소면역 센서로는 포도당 산화효소, 또는 과산화수소등이 사용되고 있으며 효소의 선택은 면역센서를 구성하는 신호변화 기구로 결정된다. 표지항체(또는 항원)는 공유결합으로 항체 또는 항원에 효소를 결합하여 만든다.

### 반도체형 바이오센서

반도체형 바이오센서는 FET센서가 그 대표적이다. FET 센서란 전장효과에 의존하는 트랜지스터의 일종이다. 외부로부터 어떤 물리량 또는 화학량을 포착하여 전기적 신호로 변환하여 검지하는 기능을 가지고 있다. 그중에서도 특히 화학적 감지기능을 가지는 FET센서를 CHEMFET (Chemically Sensitive FET)라고 한다. 즉 CHEMFET는 어떤 화학센서와 IGFET (Insulated Gate FET)를 집적한 것이다. 이 FET센서는 대체로 반도체 집적회로 제조공정 기법을 이용하여 만들게 되므로, 대단히 정교하여 극소형 및 초경량으로 일시에 대량생산이 가능하다. 전장효과를 이용하므로 감지소자의 입력 임피던스는 대단히 크고 출력 임피던스는 비교적 작은 장점을 가지고 있으며 아주 작고 정교하며 감지반응이 빨라서 생체내와 생체외 측정에 대단히 유리한 조건을 갖추고 있다. 또 이 FET센서에는 기체, 이온, 압력, 습도, 온도 등을 감지하는 센서 뿐만 아니라 효소, 포도당, 요소 등 중요 생성물질을 감지하는 ENFET (Enzyme FET)가 있다.

### 서미스터형 바이오센서

화학반응에서는 반드시 열의 주고받음이 수반된다. 따라서 생체 촉매반응으로 생기는 반응열을 지표로 하여 특정 물질을 계측할 수 있다. 즉, 효소반응, 면역반응, 미생물반응 등에서 생기는 열변화에 착안하여 물질을 측정하는 바이오센서 개발이 가능하다. 이 바이오센서는 주로 고정화 효소와 온도 변화에 따라 저항이 달라지는 서미스터로 구성되므로 효소 서미스터라고 한다.

효소를 서미스터 소자에 직접 고정화하는 경우도 있으나 고정화효소 컬럼과 서미스터를 분리하는 방법이 일반적이다. 효소반응에서 생기는 온도 변화는 기질농도, 효소활성에 따라 다르지만 대략 0.01°C 정도이다. 이것을 정확하게 측정하기 위해서는 10-4°C 이하의 아미노화 다공성 입자 (80~120 mesh; 공형 50~2000 Å)등에 고정화시켜 컬럼 (0.7~1 ml 용적)에 채워 사용할 수 있다. 이 바이오센서에는 기기의 항온성이 중요하며 10-3°C 정도의 정밀도로 제어해야 한다.

일반적으로 서미스터를 한 개만 사용하나 항온조의 온도 변화를 없애려 할 때는 두개의 서미스터를 고정화효소 컬럼 앞뒤에 설치한다. 또 효소 컬럼에 다른 단백질의 비특이적 흡착이 생기면 열변화가 일어나 정확한 효소반응

의 열변화를 측정할 수 없다. 이 경우에는 대조 컬럼을 병렬로 설치하여 고정화 효소를 채워 시료약을 통과시키면 효소반응은 일어나지 않고 비특이적 흡착은 일어나므로 이 컬럼의 출구에 서미스터를 설치하여 흡착에 기인한 열변화를 제거할 수 있다. 이 기기의 문제점은 생물화학반응에 의하여 생성되는 아주 작은 열변화를 감도 좋게 측정해야 하는 점 때문에 복합효소를 사용하여 열변화를 증폭하기도 한다.

효소 서미스터는 효소활성의 측정, 기질류의 측정, 면역반응에 의한 항원 또는 항체의 측정 등에 사용할 수 있다. 포도당 및 요소를 계측하는 기기는 임상화학 분석에 시험적으로 이용되고 있다. 이 센서의 원리는 모든 생물화학반응에 적용할 수 있어 고성능 서미스터의 개발과 함께 앞으로 많은 발전이 기대 된다.

### 생물화학 발광형 바이오센서

발광을 수반하는 생물화학반응은 이전부터 잘 알려져 있었다. 이러한 발광은 외부에너지를 필요로 하지 않고 효소화학적 여기 excitation에 의하여 일어나는 점을 이용, 미량의 생체성분 분석법을 고안한 것이다.

과산화수소와 루미놀에 어떤 금속이온, 금속착제, 금속 효소등을 작용시키면 발광이 일어난다. 이때 과산화수소는 각종 산화효소 반응으로 생성되는 것으로, 효소 반응에서 루미놀을 공존시켜 발광하면, 이것을 지표로 기질류나 산화효소활성 측정이 가능하다.

이 원리에 따라 포도당, 요산, 콜레스테롤, L-아미노산 하이포크산틴 등의 분석이 가능하여 고정화 포도당 산화효소나 고정화 우레아제를 이용한 바이오센서가 개발되었다. 또 포도당 산화효소와 과산화효소를 함께 고정시킨 발광막을 이용하여 포도당의 극미량 분석도 시도되었다.

최근에는 생물화학 발광현상을 이용한 면역분석법의 개발이 시도되고 있다. 즉, 과산화효소를 표시제로 비오틴, 테스토스테론, 코티졸, 면역 글로부린 등의 정량, 또 작은 분자량의 헤민을 표시제로 하여 생물화학 발광을 이용한 촉매면역 분석법이 생겨 혈청 알부민 (HSA: Human Serum Albumin)이나  $\beta$ 2-마니크로글로부린 등의 분석이 행해지고 있다.

발광현상은 과산화물의 분해에 따른 것, 전자이동에 의한 것, 여기산소에 의한 것이 가능하며, 이들을 이용한 새로운 분석 체계의 개발도 가능할 것이다.

이상 발광분석법에 대하여 대충 살펴보았으나 바이오센서라고 할 수 있는 것은 아직 적다. 그러나 분석법의 감도는 전극형 바이오센서보다 높아 광섬유 등의 광응용 시스템 기술의 진보와 관련하여 초미량 생체분석이 기대된다.

### 바이오센서의 구조

바이오센서는 어떤 특정 물질을 선택적으로 식별할 수 있는 기능을 가진 생체관련 물질인 효소, 미생물, 항체, 항원, 오르가넬라, 동식물의 조직, 동물세포 등을 Fig. 1에 표기한 바와 같이 고분자 담체 carrier에 고정화하든가 그대

로 사용하여 만든 생물 기능성막을 이용하여, 이 기능성막에서 어떤 특정물질을 선택적으로 식별하여 검지하는 포착 receptor 기능 부분과 검지된 물질의 양이나 농도가 전기활성 물질일 경우에는 전극, 반도체소자 (FET), 광학시스템, 음파, 서미스터 등을 통하여 전기신호로 변화시킬 수 있는 변환기 기능 부분으로 구성되어 여러 가지 화학 변화를 거쳐 전기신호로 변환하여 검출된다.

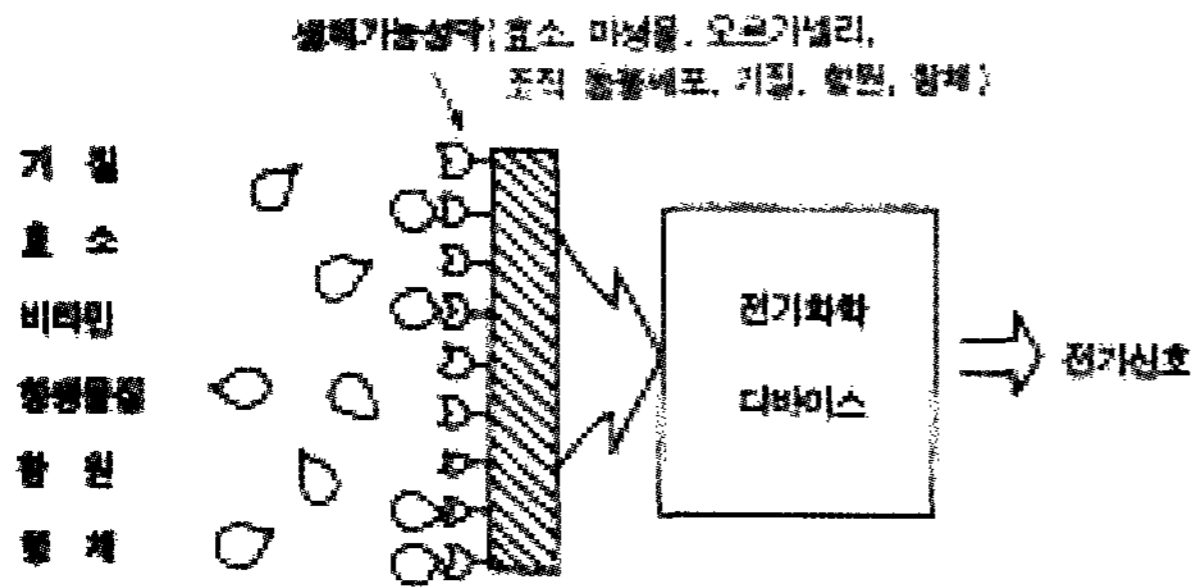


Figure 1. 바이오센서의 측정 원리.

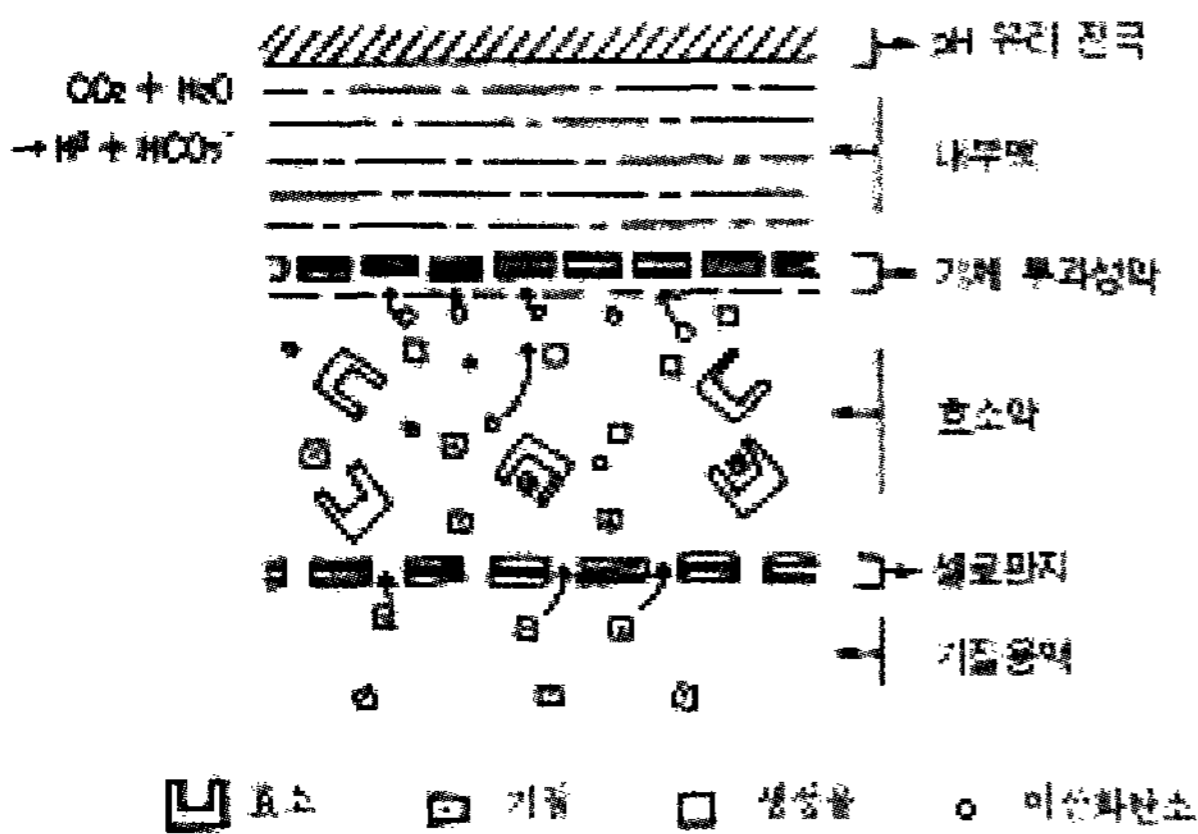


Figure 2. 효소센서의 측정 원리.

효소는 특정 기질과 반응하여 (기질특이성) 온전한 조건에서 복잡한 생체반응을 효율성 있게 진척시키나 용액 상태로는 불안정하며 한 번밖에 사용할 수 없다는 단점이 있다. 이 문제는 효소고정화 기술에 의하여 반복 사용이 가능하게 되었다. Fig. 2에 서술한 효소센서의 기초전극으로는 암모니아 전극, 이산화탄소 전극, pH 전극 등의 전위법 potentiometry과 산소 전극이나 과산화수소 전극 등의 전류법 amperometry 전극이 존재한다.

미생물센서는 고정화 미생물과 전기화학 기기로 구성된다. 이것은 미생물의 호흡활성 물질을 지표로 하는 호흡측정형 미생물센서(Fig. 3)와 미생물이 대사하는 전극활성 물질을 지표로 하는 전극 활성물질 측정형 미생물센서(Fig. 4)로 나눌 수 있다.

미생물 고정화는 효소와 같은 방법으로 하는데 이 경우 담체로 사용할 수 있는 것은 다공성 섬유소막이나 콜라겐막 등이 사용된다(Fig. 5). 항체는 대응하는 항원을 식별할 수 있는 생체분자로서 항체를 이용한 면역 측정은 광범위하게 이용되고 있다.

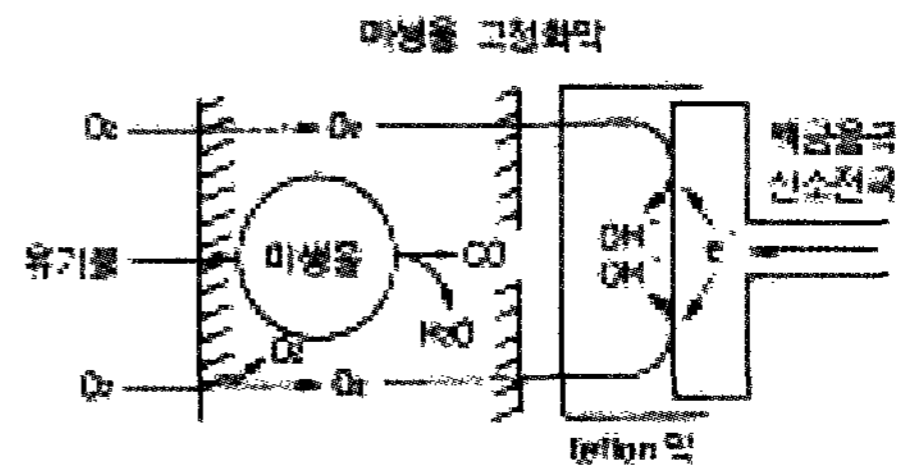


Figure 3. 호흡활성 측정형 미생물센서.

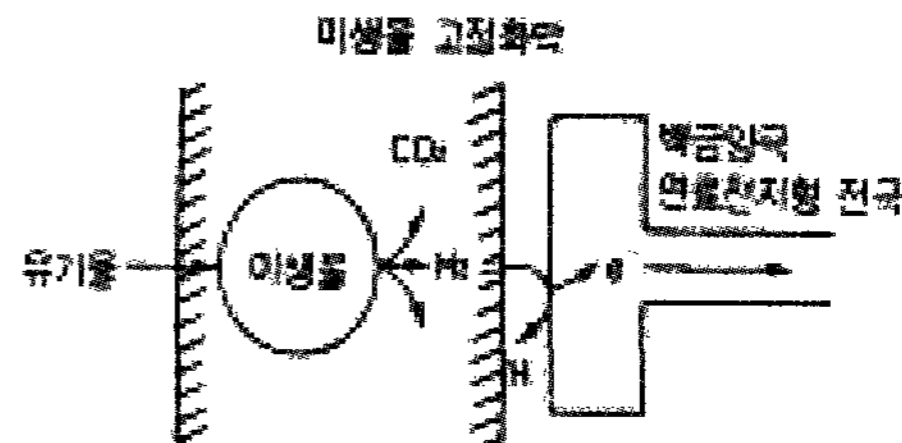


Figure 4. 전극활성 물질측정형 미생물센서.

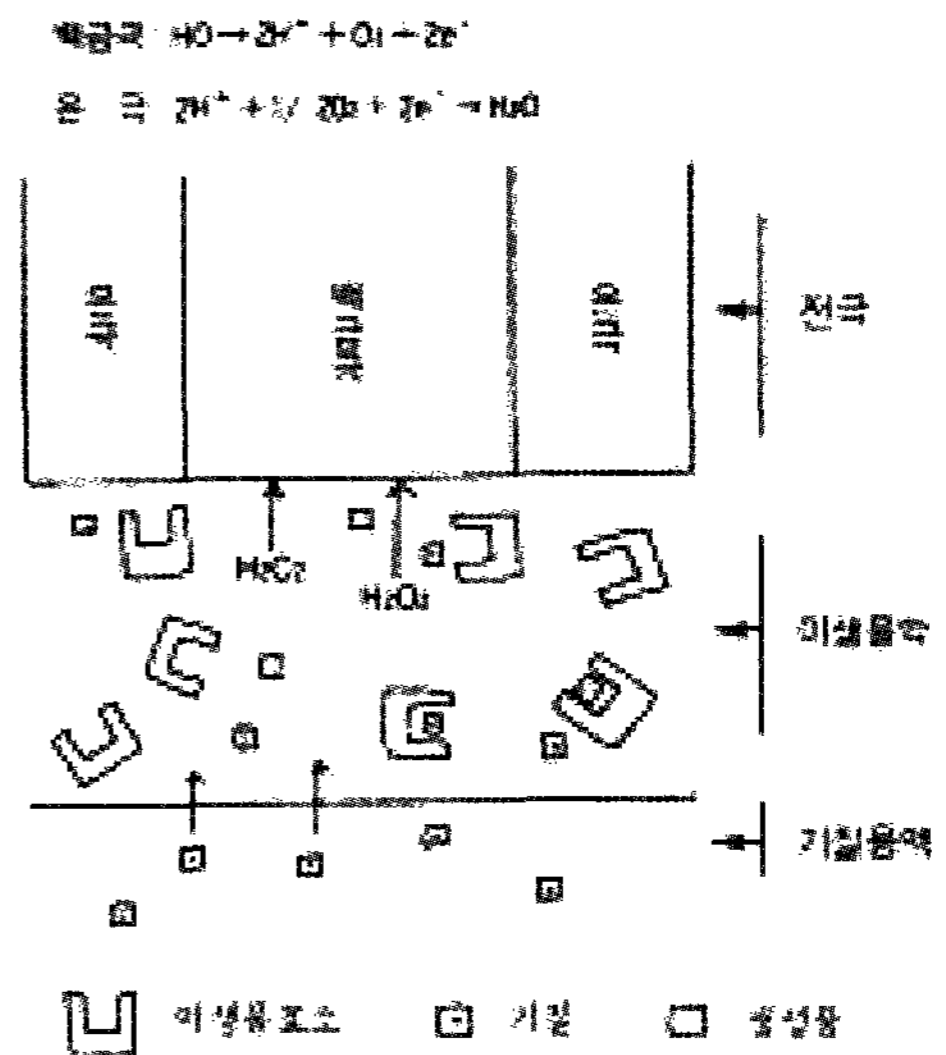


Figure 5. 미생물센서의 측정 원리.

### 바이오센서의 전망

바이오센서의 개발의 시급히 요구되는 분야는 물리적 면에서 온도·압력·회전속도·거품·기체유속·액체유속 등이 있고, 화학적면에서 pH, 용존산소량 및 이산화탄소량 측정용 바이오센서를 들 수 있다. 한편, 점차적으로 개발의 중요성이 인지되는 바이오센서는, 탁도 및 점도 측정용이고, 또한 각종 흡광계 등이다. 이밖에 환원 및 산화전위 측정용, 특정 이온 및 효소 측정용 등을 들 수 있다.

바이오센서에 있어서 중요한 것은 기능면에서는 선택적이면서도 고감도의 화학 성분 인식 기능이고, 구조면에서는 소량, 경량화 및 복합화이다. 실용면에서는 안정성, 내환경성 등이 중요한 인자이다. 이와 같은 요인들을 더욱

개선하기 위하여 새로운 소재나 설계기술을 개발해야 한다.

국제적인 학문 추세가 생물공학, 유전공학 등 생명공학에 관심이 급증하는 데 비례하는 경향이라 볼 수 있다. 미국, 일본이 이 분야에 크게 관심을 가지고 연구와 개발에 대량 투자를 하고 있으므로, 국내에서도 이들과 경쟁할 수 있는 연구와 개발에 투자를 하여야 하며, 선진국의 추세로 미루어 보아 바이오센서 개발의 장래와 전망은 밝다고 할 수 있다.

최근 들어서 당뇨병 환자의 혈당 측정용 분야와 음주 운전 측정용 알코올 센서가 각광을 받고 있다. 시장 규모가 있으면서도 해당 기술만 보유한다면 충분히 상업적 장점을 갖고 있는 것이 곧 바이오 센서 분야이다. 특히, 부품소재 분야가 취약한 현실에 비하여 국내에 뛰어난 생물공학자들이 많으므로 Fusion Technology로서 유능한 연구팀을 구성하여 바이오 센서를 개발한다면 많은 도전성과 가능성을 갖고 있는 분야라 할 수 있다.