

나노자성복합소재 기반 차세대 바이오 에세이 기술

글_ 정종율, 윤석수*, 김철기
충남대학교 나노공학부, *안동대학교 물리학과

1. 서론

나노기술과 바이오기술이 급속하게 발달함에 따라 이를 활용한 체내 및 체외 진단, 이미징, 약물전달 등 나노·바이오·의료 융합연구가 성공적으로 수행되고 있다. 특히, 나노 기술을 이용한 차세대 바이오 에세이 연구는 최근 DNA, 세포, 바이러스, 병원균 등 다종의 생·화학적 물질을 매우 빠르고 정확하게 감지하는 저렴한 휴대용 시스템의 개발에 집중되고 있으며, 이는 차세대 바이오 분자 감지 기술이 암, 임상·유전적 질병의 조기 진단 및 현장진단(point-of-care)과 같은 유틸리티즈 진단(U-health care)시대에 부응하는 휴대화·자동화·고속화·저비용화·사용편의성 및 post-genome 시대의 요구에 맞는 대용량화·다중 감지화 요건을 충족하는 기술이기 때문이다. 차세대 바이오 에세이 기술은 의료 이외에도

생물, 국방안전, 환경모니터링, 생활바이오 및 바이오 전자산업 등 광범위한 산업 영역에 활용 가능하여 미래 삶의 질을 향상 시킬 수 있는 기반 기술을 제공하기 때문에 감도가 높으면서 휴대가 가능한 차세대 바이오에세이 기술 개발 관련 연구가 현재 전 세계적으로 활발하게 이루어지고 있다. 본 고에서는 나노복합소재를 이용한 차세대 바이오 에세이 기술과 관련하여, 나노복합체를 이용한 차세대 운반자/표지 기술과 나노복합체의 운송 및 제어 기술을 소개하고자 하며, 특히 나노자성소재를 기반으로 하는 관련 연구 결과를 소개하고자 한다.

2. 차세대 바이오 에세이 기술

바이오 에세이를 기술적인 측면에서 분류해보면 Fig. 1과 같이 크게 측면이동 크로마토그래피 바이오 에세이

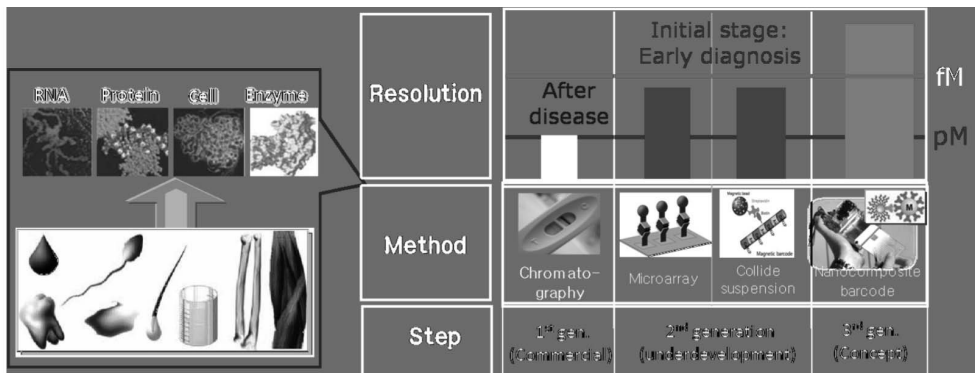


Fig. 1. 바이오 의료 체외 진단 기술 발전 단계.

*출처: Nanotechnology in Health Care, The Freedonia Group, Inc., 2007

(LFBA: lateral-flow chromatography bioassay)를 기반으로 하는 1세대 기술과 마이크로어레이칩(microarray chip) 및 현탁액(suspension)을 기반으로 하는 2세대 기술 그리고 나노복합체 및 미세유체공학을 모두 이용하는 3세대 (본 논고에서 “차세대”로 표현) 바이오 에세이 기술로 분류할 수 있다. 현재 활발하게 개발되고 있는 2세대 바이오 에세이 기술은 사용하는 플랫폼의 종류에 따라 크게 마이크로어레이칩과 Micro/Nano fluidics를 이용한 Lab-on-a-chip (LOC) 기술로 크게 나눌 수 있다. 이들은 다시 광학적, 전기적, 자기적 바이오 바코드를 이용한 label 방식과 표면플라즈몬공명(surface plasmon resonance) 등과 같이 바코드가 필요치 않는 label-free 방식으로 분류가 가능하다.

마이크로어레이 바이오칩은 바이오 물질 감지 센서를 2차원 형태로 배열하여 표적 분자를 감지하는 형태이다. 바이오물질 감지 센서는 바이오 분석 시스템의 근간이 되는 핵심 기술로서, 나노기술을 활용한 대표적인 바이오 센서에는 FET(field-effect transistor) 센서, CNT (carbon nano tube) 센서, GMR (Giant Magnetoresistance) 센서 등이 있으며, 마이크로어레이칩 방식의 바이오에세이는 상기의 각 센서를 어레이 형태로 제작한 후 센서 어레이에 검지 바이오분자를 고정화 시켜두고 표적 바이오분자가 검지바이오 분자와 결합 시 발생하는 신호 변화를 감지하게 된다. 현재 바이오센서 관련 연구들은 한 쌍의 검지-표적 바이오분자 결합만 센서 위에 형성되어도 감지가 가능한 단 분자 분해능의 초고감도 센서 개발에 많은 연구가 집중되고 있다.

마이크로어레이칩 기술이 검지 바이오분자를 2차원 센서 어레이 위에 고정화 한 것과 달리 여러 종류의 검지 바이오분자를 바코드 된 입자들에 부착하여 한꺼번에 액체 속에 섞어 넣어 만든 현탁액(suspension)을 기반으로 하는 바이오 에세이 방법들도 연구되고 있다. 이 기술은 액체 속에서 검지와 표적 바이오분자 결합 반응이 일어나기 때문에 검지 바이오분자가 칩 위에 고정된 플랫폼을 사용하는 기술보다 검지-표적 바이오분자가 결합이 일어날 확률이 높아 보다 짧은 시간에 정확도가 높은 테스트를 할 수 있는 장점을 가지고 있다. 특히 이 기술은 일반

적으로 다른 기술들이 대용량 (High-Throughput Assay, HTA)이나 높은 다중검지 (High-Contents Assay, HCA) 성능 중 하나에만 장점을 보이는 것에 비해 두 가지를 동시에 실현할 수 있다는 장점을 지니고 있다 (HTA: 1,000 test/day 이상, HCA: 100 plex/test 이상). 그러나 현재 바코드 된 검지 바이오분자 현탁액을 이용하는 이러한 기술들은 검지 바이오분자의 코드와 표적 바이오분자의 라벨을 모두 광학적 방법으로 감지하기 때문에 근본적으로 고분해능 바이오분자 검출에 한계가 있으며, 복잡한 광학 시스템이나 이미지 분석 소프트웨어를 필요로 하기 때문에 시스템의 소형화 및 가격을 낮추는 면에서 내재적 한계를 가지고 있다.

NIST-NCI (National Cancer Institute) 보고서에 의하면 1 fM 분해능이 암 및 감염성 질환 조기진단의 결정적인 분해능이 될 것으로 예상되고 있으며, 따라서 현재 개념 정립 단계인 차세대 바이오 에세이 기술에 요구되어지는 성능으로는 i) 1 fM 이상의 분해능, ii) 미세유체역학에 바탕을 둔 사용의 편의성 및 휴대성, iii) 초고속/다중 검지 능력 등을 들 수 있다. 즉, 차세대 바이오 에세이는 다기능 나노복합표지 기반 분자 이송/표지 및 분석기능을 가져야 하며, 유전적 임상학적 질병의 조기진단을 위해 다중분자의 1 fM 표적 분해능의 초고감도를 가져야 한다. 본 고에서는 차세대 바이오 에세이 관련 다양한 요소 기술 중 바이오물질을 고정하여 이송하는 대용량 다중 운반자/표지 기술 및 바이오물질의 분리/운송/위치 제어를 위한 바이오 구조체 제어 기술을 소개하고자 한다.

2.1. 다기능 나노 복합체 운반자/표지 기술

차세대 바이오 에세이용 센서로는 CNT 및 Si 나노선 FET, GMR, UV spectrometer 센서 기술을 들 수 있는데, 이들은 기본적으로 전기, 화학, 자기 및 광 특성을 감지한다. 따라서 차세대 복합 표지는 이들 특성을 가지고 있을 뿐만 아니라 생체 친화적 이어야 한다. 현재 실험실 및 상업화된 진단용 표지는 금입자 (Gold nanoparticle), 광입자 (Optical nanoparticle (ONP)), 자성입자 (Magnetic nanoparticle (MNP)) 등 단일 특성의 표지가 사용되고 있으며, 이를 바코드화 하는 경우 분해능 및 대용량화에

절대적으로 유리한 강점이 있다. 차세대 바이오 에세이에 사용할 운반자/표지 특성은 크게 세 가지 정도로 요약할 수 있다. 첫째, 미세유체공학에 이용하기 적합하여야 하며, 둘째, Encoding bit 수가 크고, 셋째, 기록/판독의 용이성 및 정확성이다. 전 세계적으로 많은 그룹들이 형광, 분광, 전기, 자기 등의 다양한 성질을 이용하여 차세대 바이오에세이용 운반자/표지를 개발하고 있으며, 이 중에서 광학적인 방법의 대용량, 다중검지 표지 기술은 현재 일반적으로 널리 사용되는 기술로 미국 MIT, 영국 Southhamton 대학, 벨기에 Ghent 대학, 미국의 펜실베니아 주립대 등이 활발하게 연구를 진행하고 있다. 또한 앞에서 언급한 다양한 종류의 운반자/표지 기술 중에 나노선을 기반으로 하는 표지 기술은 바이오 에세이 기술뿐 아니라 고속분리를 위한 다공성 세라믹 소재로의 응용 가능성으로 많은 관심을 끌고 있다. 본 연구에서는 여러 가지 운반자/표지의 재료 중에서 차세대 바이오 에세이에 사용이 가능한 자성 특성을 가지는 복합 소재 특히 복합 구조 자성 나노선을 소개하고자 한다.

복합 구조 자성 나노선은 polycarbonate membrane 및 anodic aluminum oxide (AAO) 등의 다공성 나노형판에 Au와 강자성 재료를 교대로 도금하여 제작하였다. Fig. 2(a)는 polycarbonate 형판에 경자성 CoNiP를 전기도금한 후 화학적 방법으로 polycarbonate를 녹여 얻은 나노선을 보여준다. 제작된 나노선에 대한 vibrating sample magnetometer (VSM) 측정을 통해 약 3.4 μm 길이의 나

노선의 경우 나노선의 방향에 관계없이 약 500 Oe의 보자력 (Hc) 값을 가진 경자성 특성을 가지는 것을 확인할 수 있었다. 나노선 제작을 위한 전기도금은 3전극 potentiostat 방식에서 제어 하였고, 비자성 금속과 경자성 금속 다층 구조는 형판 내 기공의 도금용액을 번갈아 교체하며 도금을 진행하였다. 이때 도금시간을 조절하여 각 층간의 길이를 조절할 수 있다. 다층구조 나노선을 형판 속에 증착완료 후 형판을 KOH, ClOH 등의 용매 속에 넣어 형판을 녹여 제거하고, 침전시킨 나노선에 버퍼용액을 부어 비자성/경자성 다층구조로 바코드 된 나노선 현탁액을 얻을 수 있었다. Fig. 2(b)는 다층구조 나노선을 이용하여 제작한 (010101)의 바코드 기록정보를 보여주고 있으며, Fig. 2(c)는 Au 부분에 Thiol 표면 처리하여 초록형광 단백질 고착실험을 한 결과를 confocal microscope을 이용하여 확인한 결과이다. 형광사진 및 mass spectrometer 실험을 통해 다층 구조 자성 나노선의 Au 영역에 형광 단백질이 고착된 것을 확인할 수 있다.

2.2. 자성기반 나노-바이오구조체 운송제어 기술

차세대 바이오 에세이 기술의 실용화를 위해서는 미세유체공학(microfluidics)을 기반으로 하는 바이오 구조체의 제어 기술이 필수적이다. 바이오 구조체의 제어 기술은 일반적으로 자성기반 기술과 비자성 기반 기술로 나눌 수 있으며, 비자성 기반은 미세유체역학 및 브라운 운

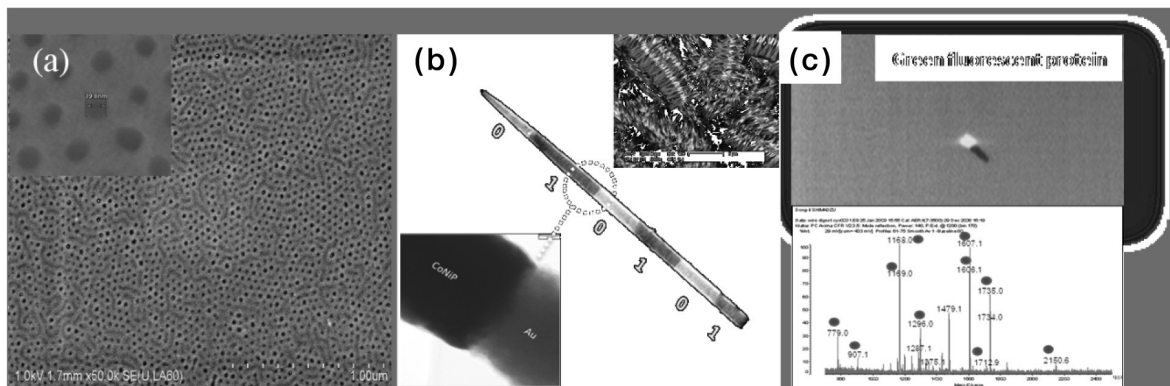


Fig. 2. (a) 복합구조 나노선 제작에 사용된 polycarbonate template, (b) 제작된 다층 CoNiP/Au 나노선 바코드 SEM 사진 및 (c) 초록 형광 단백질 부착 confocal microscope 결과 (단백질 부착에 대한 mass spectrometer 결과).

동에 기초한다. 자성 기반 나노구조체 제어 기술은 다시 단순 외부자기장 및 field gradient를 이용하는 방법과 MNP 또는 클러스터 비드를 표지/운반자로 하여 외부자기장을 통해 나노구조체의 운송을 제어하는 기술로 나눌 수 있다. 1980년대까지는 단순 외부 자기장을 이용하여 물속 세포분리 및 정제, 원유 정제, 수유시 세포 및 박테리아를 포함하는 병원균, 바이오 분자 분리 등에 연구가 집중되었으나, 1990년대 이후 MNP를 운반자로 하여 생체과학 및 진단 기술 즉, 생체 세포에서 활동 중인 세포 위치, 운동학, 분자 상호작용 연구에 필요한 세포 tweezing, 국소 세포에만 영향을 주는 유도 약물/병원균 전달 (guided drug/pathogen delivery), 바이오 칩 운용에서 반응 챔버 및 플랫폼에서 분자 조작 등의 연구가 수행되고 있다. 자성 나노바이오 구조체를 표지/운반자로 이용한

자성미세유체공학 기술은 Fig. 3에 나타난 것처럼 바이오 분자 분리/정제 및 위치화 (separation, purification and positioning), 이송, translocation 및 탐지뿐만 아니라 분자 tweezing 등에 직접적으로 이용할 수 있는 장점이 있다. 자성 미세유체공학을 이용한 바이오에세이의 장점을 Fig. 3에 나타내었다.

나노바이오 구조체의 능동 제어를 위하여 본 연구에서는 나노구조자성체 및 자성 물질의 다양한 패턴 배열을 이용한 자기경로 바이오 구조체 능동 제어 기술을 연구하였다. 자기경로 바이오 구조체 제어 기술이란 강자성체로 이루어진 박막을 패턴 제조 기술을 이용하여 일정한 배열을 만드는 것으로, 패턴의 배열에 따라서 자성 입자의 운동을 제어할 수 있는 기술이다. 이를 위해 본 연구에서는 자기 경로를 제작하고 자기 경로를 구성하는 강자성 재료 및 자기 경로 구조를 최적화하여 효과적인 자기입자의 능동 제어가 가능하도록 하였다. 먼저 타원형의 자성구조체 배열을 만들기 위해 본 연구에서는 강자성 NiFe 박막을 스퍼터링으로 증착한 후 광 리소그래피 방법으로 단축 2 μm , 장축 6 μm 의 타원체 배열을 제조 하였다. Fig. 4는 스퍼터링으로 증착된 20 nm 두께의 NiFe 박막으로 제작된 자기경로 요소의 SEM 사진 및 VSM 측정 결과이다. VSM 측정 결과에서 볼 수 있듯이 박막인 경우 보자력 4 Oe, 포화자기장은 10 Oe 이고, 타원 패턴 후에는 장축 포화 자기장은 70 Oe, 단축 포화 자기장은 150 Oe로서 100 Oe 정도의 회전 자기장이 경로 요소에 이방성 자화를 유발할 수 있는 최적의 자기장임을 알 수 있다.

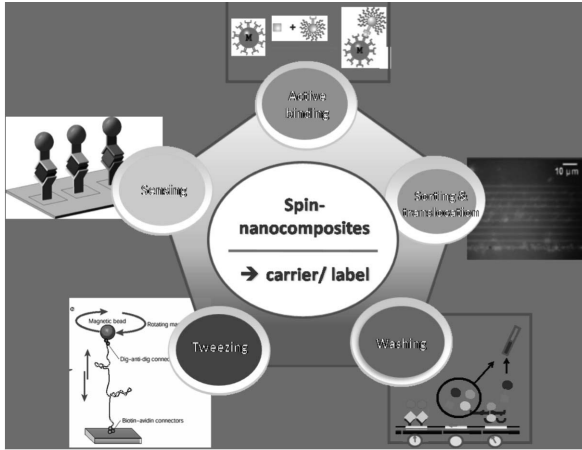


Fig. 3. 자성 미세유체공학을 이용한 바이오에세이의 장점.

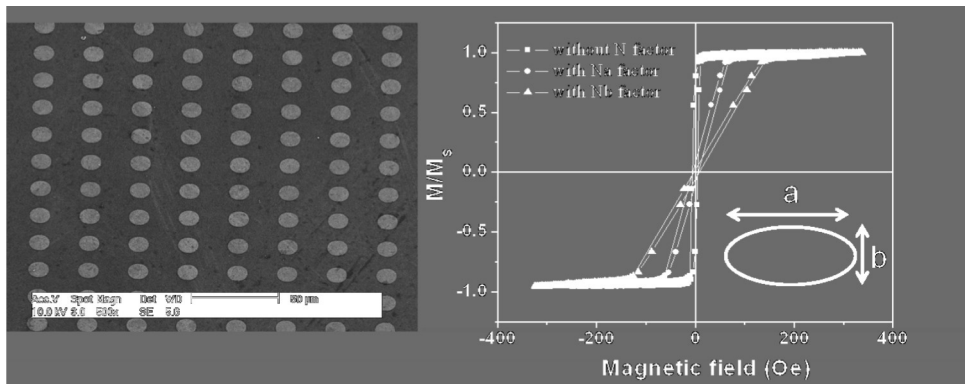


Fig. 4. 강자성 NiFe 박막으로 제작된 타원형 자기경로 요소 SEM 사진 및 VSM 자기특성 곡선.



나노바이오 구조체 이송 실험을 위해 2.8 μm 직경의 자기입자에 초록 형광 단백질을 고착 시켰으며 (Fig. 5(a)), 이 용액을 제작된 자기경로에 두고 100 Oe의 회전 자기장을 사용하여 바이오구조체 이송 실험을 수행하였다. 먼저 타원형 자성 패턴을 Fig. 5(b)와 같이 지그재그 형태로 배열한 자기 경로를 제작한 후 바이오 구조체의 이송을 실험하였다. 이 경우 같은 회전자기장하에서 자기경로의 위, 아래에 따라 자기입자가 서로 반대방향으로 운동하는 것을 확인할 수 있었으며, 이를 이용하여 바이오 구조체의 병진 운동의 제어가 가능함을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 또한 좌우 운동의 독립적인 능동 제어를 위해 기존의 타원 패턴을 개량하여 halfcut 형태의 강자성 패턴을 제작하였으며 (Fig. 5(c)), 이를 이용하여 시계방향의 자기장 회전에 대해 좌측으로, 반시계방향의 회전에 대해 우측으로 자기입자를 독립적으로 능동 제어가 가능함을 확인하였다.

자기경로를 이용한 바이오구조체 능동 제어 기술은 차세대 바이오 에세이의 감지 성능의 향상에도 이용이 가능하다. 예를 들어, 어레이센서의 크기가 수 μm 이더라도 바이오 분자 결합 반응이 일어나는 반응 챔버 크기는 일반적으로 mm 크기이다. 따라서 mm 크기의 반응 챔버에서 μm 크기의 센서까지 바이오구조체를 효과적으로 집적시키는 기술은 차세대 바이오 에세이 기술 개발에 매우 중요한 요소 기술이 된다. 본 연구에서는 먼저 대면적에 분산된 바이오 분자를 센서 표면으로 이송시킬 수 있도록 20개의 자기 경로로 구성된 자기 경로를 제작하여

시험중에 있다.

3. 맺음말

세계 유수의 Think Tank인 미국 RAND 전략연구소는 '2020년 기술혁명 보고서' 에서 2020년도에 기술적으로 구현이 가능하고, 시장적 요구가 클 것으로 예측되는 16대 응용분야를 선정하였는데, 이중에서 'Rapid Bioassay' 분야와 'Improved Diagnostic and Surgical Method' 분야를 가장 큰 시장적 수요가 예상되는 6대 분야로 분류하였다. 이 보고서는 미국, 캐나다, 독일, 이스라엘, 호주, 일본과 더불어 대한민국이 과학기술의 역량과 구동력이 높으며, 상기 분야의 기술적응에 따른 법적, 사회적, 공공적 장애요소가 비교적 적은 국가로 분류하고 있다. 또한, 현재 1 fM 수준의 유전적 임상학적 질병의 조기진단을 위해 단일 표적분자 분해능을 가지는 차세대 초고감도 다중검지 기술은 전 세계적으로 아직 연구·개발단계에 머무르고 있음으로 차세대 바이오 에세이에 필요한 필수 요소기술의 확보가 시급히 요구되며, 이를 위해 다양한 분야의 긴밀한 융합 연구에 연구 역량이 집중되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 소재원천 기술개발사업 및 교육과학기술부/한국연구재단 World Class University (WCU) 사업의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. D.C. Pregibon et al., *Science*, **315** 1393-96 (2007).
2. C. Lee et al., *Science*, **310** 1793-96 (2005).
3. By Jun Zhou et al., *Adv. Mater.*, **18** 2432-35 (2006).
4. K. Braeckmans et al., *Nature Mater.*, **2** 169-73 (2003).
5. D. Gershon, *Nature*, **416** 885-91 (2000).
6. G. MacBeath et al., *Science*, **289** 1760-63 (2000).
7. D.B. Allison et al., *Nature Reviews Genetics*, **7** 55-65 (2006).
8. G. S. Galitonov et al., *Optics Express*, **14** 1382-87 (2006).

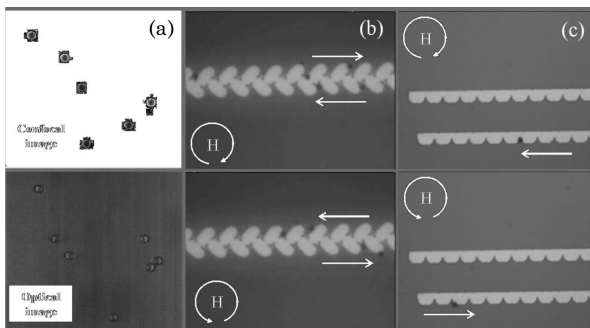


Fig. 5. (a) 초록 단백질 고착된 자기입자 운반 구조체, (b) 타원 패턴 자기경로에 의한 바이오 구조체의 병진 운동, (c) 좌우 운동의 독립적 능동 제어 가능한 자기경로

9. S. Ashok Kumar et al., *Analytical Letters*, **41** 141-58 (2008).
 10. X.W.Sun et al., *J. Mater. Sci. Technol.*, **24** 649-56 (2008).
 11. YL Wu et al., *Nanotechnology*, **19** 345605 (2008).
 12. Qun Dong et al., *J. Am. Ceram. Soc.*, **90** 376-80 (2007).
 13. Aliaksandr V. Kachynski et al., *J. Phys. Chem., C* **112** 10721-24 (2008).

●● 김철기



- 1983 서울대학교 물리교육 학사
- 1986 KAIST 물리학과, 석사
- 1989 KAIST 물리학과, 박사
- 1989.10-1996.2 한국표준과학연구원
- 1996.3-2001. 2 선문대학교, 조교수, 부교수
- 2001.3-현재 충남대학교, 부교수, 교수
- 2009. 1 충남대학교 ReCAMP (ERC) 소장
- 2008. 8 충남대학교 나노바이오 융합기술연
구소 소장

●● 윤석수



- 1990 KAIST 물리학과, 박사
- 1990-1991 쌍용중앙연구소, 선임연구원
- 1994-1995 King's College(London), Post
Doc.
- 1991-현재 안동대학교 물리학과 교수

●● 정종율



- 2002 KAIST 물리학과, 박사
- 2003-2005 KAIST 물리학과, 연구조교수
- 2006-2007 Cambridge University, Visiting
Academic
- 2008-현재 충남대학교 재료공학과, 조교수