

논문 2011-48SC-2-13

# 전계효과 트랜지스터(FETs)를 이용한 전하 검출형 DNA 센서에서 Debye length에 따른 검출 감도

(Sensitivity of a charge-detecting label-free DNA sensor using  
field-effect transistors (FETs) depending on the Debye length)

송 광 섭\*

(Kwang Soup Song)

## 요 약

전계효과 트랜지스터(FETs)를 이용한 전하 검출형 DNA 센서는 DNA가 가지고 있는 음전하를 중성화 시키는 양이온의 영향은 매우 중요하다. 본 논문에서는 양이온 농도에 의존하는 Debye length에 관한 연구를 통해 DNA 검출감도를 평가하였다. Debye length는 낮은 농도의 NaCl 용액에서 긴 거리를 유지하며, Debye length가 높은 용액에서 DNA가 가지고 있는 음전하는 게이트 채널에 보다 많은 영향을 미친다. 용액내 NaCl 농도가 1 mM인 버퍼 용액에서 상보적 DNA의 hybridization에 의한 전계효과 트랜지스터의 게이트 전압은 21 mV 시프트 했으며, NaCl 농도가 10 mM인 버퍼 용액에서는 7.2 mV, NaCl 농도가 100 mM인 버퍼 용액에서는 전계효과 트랜지스터의 게이트 전압이 5.1 mV 각각 시프트 하였다. 이러한 결과를 바탕으로 전계효과 트랜지스터를 이용한 전하 검출형 DNA 센서의 검출 감도는 Debye length에 의존하는 것을 규명하였다.

## Abstract

The effects of cations are very important in field-effect transistors (FETs) type DNA sensors detecting the intrinsic negative charge between single-stranded DNA and double-stranded DNA without labeling, because the intrinsic negative charge of DNA is neutralized by cations in electrolyte solution. We consider the Debye length, which depends on the concentration of cations in solution, to detect DNA hybridization based on the intrinsic negative charge of DNA. The Debye length is longer in buffer solution with a lower concentration of NaCl and the intrinsic negative charge of DNA is more effective on the channel surface in longer Debye length solution. The shifts in the gate voltage by DNA hybridization with complementary target DNA are 21 mV in 1 mM NaCl buffer solution, 7.2 mV in 10 mM NaCl buffer solution, and 5.1 mV in 100 mM NaCl buffer solution. The sensitivity of FETs to detect DNA hybridization based on charge detection without labeling depends on the Debye length.

**Keywords:** DNA sensor, FETs, label-free, charge detection, Debye length

## I. 서 론

최근, 형광체가 가지고 있는 한계점을 극복하고 측정 장비를 간소화 하고자 형광체를 사용하지 않는 label-free형 DNA 센서 개발에 관한 연구는 많이 진행

되어 왔다. 그중 특정 배열을 가지고 있는 상보적 DNA를 hybridization 전후의 전하차에 의해 검출하는 전하 검출형 DNA 센서에 관한 연구는 많은 관심을 갖고 있다<sup>[1-4]</sup>. DNA는 자체 인산염(phosphate backbone)에 의해 용액내에서 음전하를 가지고 있으며, 이러한 음전하는 용액내 양전하에 의해 스크린 되어 중성화 된다. 전하의 유효거리를 나타내는 Debye length는 전하 검출형 바이오센서에 있어 센서의 감도를 결정하는 매우 중요한 파라미터이다<sup>[5-6]</sup>. 본 논문에서는 다이아몬드 필름

\* 정회원, 금오공과대학교 전자공학부  
(School of Electronic Engineering, Kumoh National  
Institute of Technology)  
접수일자: 2011년1월20일, 수정완료일: 2011년2월22일

위에 제작한 전해질 전계효과 트랜지스터(solution-gate field-effect transistors; SGFETs)를 이용하여 전하 검출형 DNA 센서를 제작하고 Debye length에 따른 센서 감도를 평가하였다.

다이아몬드 필름은 전위장이 넓고 물리적-화학적 안정성이 우수하여 바이오센서 응용에 많은 적합성을 갖고 있다<sup>[7]</sup>. 다이아몬드 필름 위에 제작한 SGFETs는 용액내에서 동작 안정성이 뛰어나 이온 용액으로부터 트랜지스터의 게이트 채널을 보호하기 위한 보호막이 필요 없는 구조이다<sup>[8]</sup>. 이에 다이아몬드 SGFETs는 트랜지스터의 게이트 채널이 이온 용액에 직접적으로 노출되어 있어 실리콘을 이용한 ISFETs(ion sensitive field-effect transistors)대비 빠르고 감도가 높은 바이오센서를 제작할 수 있는 장점을 가지고 있다.

## II. 실험

### 1. 다이아몬드 SGFETs의 제작 및 특성

다결정 다이아몬드 필름은 p형 실리콘(100) 기판위에 MPCVD(microwave plasma chemical vapor deposition) 방법을 이용하여 증착하였다. 증착을 위하여 사용한 가스는 수소 가스(99.999%, 396 s.c.c.m.)와 메탄 가스(99.999%, 4 s.c.c.m.)를 사용하였으며 압력은 45 torr, 파워는 1.2 kW, 기판의 온도는 840 °C 조건하에서 12시간 동안 증착하였다. 증착된 다결정 다이아몬드 필름의 두께는 8 μm이다. 증착된 다결정 다이아몬드 필름은 수소 가스 챔버안에서 수소 처리를 진행했고, 수소 처리한 다이아몬드 필름은 불순물 주입 없어도 p형 표면전도성(10~20 kΩ/sq)을 갖는다<sup>[9]</sup>.

다이아몬드 SGFETs는 수소처리된 다결정 다이아몬드 필름위에 제작하였다. 드레인전극과 소스전극은 전해질 용액으로부터 보호하기 위하여 에폭시 처리를 하였으며, 채널 표면만 전해질 용액과 직접적으로 접촉이 이루어졌다. 제작한 다이아몬드 SGFETs의 게이트 채널 길이는 500 μm, 채널 폭은 8 mm이다.

다이아몬드 SGFETs의 게이트 채널위에 DNA를 고정하기 위한 표면처리는 암모니아가스(99.999%) 분위기에 할로젠 램프를 이용한 UV(파장 253.7 nm) 조사를 통해 이루어 졌다. UV 챔버내 암모니아가스 이외의 불순가스의 농도를 낮추기 위하여 진공배기를 5회 반복한 후 표면처리를 진행하였다. 4시간 동안 UV처리 후 SGFETs 게이트 채널 표면위 아미노기 분포는 XPS를

이용하여 분석한 결과 16%이었다<sup>[6]</sup>. 전해질 용액내에서 FETs가 동작하기 위한 게이트 전극으로 Ag/AgCl을 기준 전극으로 사용하였다.

### 2. SGFETs 게이트 표면처리 및 DNA처리 공정

본 실험을 위하여 사용한 DNA는 Sigma Genosys에서 구입한 12-mer 올리고뉴클레오타이드를 사용하였으며, 각각의 스캔스는 다음과 같다.

Probe DNA: H<sub>2</sub>N-6C-5'-TCGTGGTGGACT-3'

Target DNA: 3'-AGCACCACCTGA-5' (complementary)

그림 1에서 보는 것과 같이 프로브 DNA를 다이아몬드 게이트 채널위에 고정하기 위하여 기능성 링커(glutaraldehyde, terephthalic acid)를 사용하여 부분적으로 아미노 그룹이 있는 다이아몬드 게이트 채널를 표면처리 하였다.<sup>[10]</sup>

농도가 20 μM인 프로브 DNA 용액을 이용하여 35°C 인큐베이터 챔버 안에서 2시간 동안 게이트 채널표면위

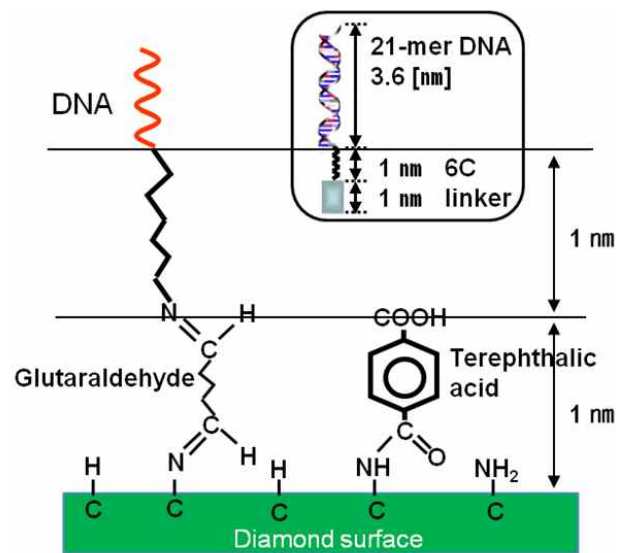


그림 1. 전해질 용액내 다이아몬드 SGFETs 게이트 채널위 표면처리한 기능성 링커(glutaraldehyde, terephthalic acid) 길이와 이들 링커를 이용한 12-mer DNA의 다이아몬드 표면위 고정

Fig. 1. The treatment of biofunctional molecules on the channel surface of diamond SGFETs and the lengths of biofunctional molecules in electrolyte solution. We immobilized single-stranded DNA (12-mer) on the partially aminated groups via biofunctional molecules (glutaraldehyde, terephthalic acid).

에 프로브 DNA를 고정시켰으며 버퍼용액을 이용하여 고정되지 않고 남아 있는 DNA를 제거하였다. 프로브 DNA와 상보적 타겟 DNA의 hybridization은 DNA 농도가 100 nM인 용액을 이용하여 40°C 인큐베이터 챔버 안에서 1시간 동안 진행하였다. 프로브 DNA 고정때와 마찬가지로 게이트 채널표면에 남아 있는 타겟 DNA는 워싱 버퍼용액을 이용하여 제거하였다.

### 3. 센서 감도 평가

DNA 고정 전후 및 hybridization 전후 센서 감도평가는 인산염버퍼용액(PBS, pH 7.4) 내에서 NaCl 농도 (1 mM, 10 mM, 100mM)를 변화하여 소자특성 ( $I_{DS}-V_{DS}$ ,  $I_{DS}-V_{GS}$ ) 평가를 통해 이루어졌다.

그림 2에서처럼 DNA 음전하는 용액내 양이온( $Na^+$ )과 상호 작용에 의해 Debye length( $\kappa^{-1}$ )에 지수 함수적으로 감소한다. 만약, DNA가 게이트 채널표면으로 부터 거리를 두고 고정되어 있어 Debye length를 초과한다면 DNA가 가지고 있는 음전하는 용액내 양이온에 의해 중성화 될 것이다. 그리고 이런 중성화에 의해 DNA 자체 음전하는 p형 전도성을 갖는 다이아몬드 게이트 채널에 미치는 영향은 미비할 것이다. Debye length변화에 따른 전하 검출형 DNA 센서 감도는 시프트되는 게이트 전압( $\Delta V_{GS}$ )으로 나타내었다.

센서 감도평가를 위해 사용한 인산염버퍼용액은 NaCl과  $NaH_2PO_4$ (10 mM)를 용해시켜 제작하였으며,

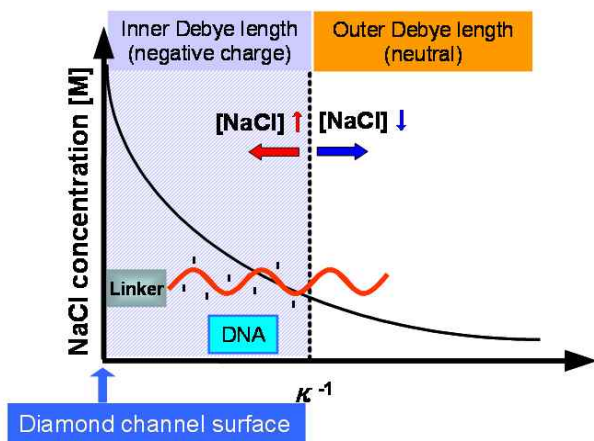


그림 2. 1:1로 용해되는 NaCl의 Graham 방정식 (1)을 이용한 Debye length

Fig. 2. The Debye length in aqueous solutions can be determined by the Graham equation, which is simplified for 1:1 electrolyte solutions (NaCl), presented as shown in equation 1.

Debye length를 계산하기 위하여 단지 NaCl 농도만을 고려하였다. 그 이유는 NaCl의 용해도가  $NaH_2PO_4$ 에 비해 높으며 1:1로 용해되기 때문이다. 용액내에서 Debye length는 Graham 방정식으로 표현되며 1:1로 용해되는 NaCl은 식 1로 나타내어진다<sup>[11]</sup>.

$$\kappa^{-1} = \frac{0.304}{\sqrt{[NaCl][M]}} [nm] \quad (1)$$

NaCl 농도에 따른 Debye length 변화와 전하검출의 관계를 조사하기 위하여 본 논문에서는 NaCl 농도가 다른 3개의 인산염버퍼용액(1 mM, 10mM, 100 mM)을 사용하였다. 식 (1)을 이용하여 각각의 NaCl 농도에 따른 각각의 Debye length 길이는 NaCl 농도가 1 mM 일 때 9.1 nm, 10 mM인 경우 3.6 nm, 그리고 NaCl 농도가 100 mM인 경우 0.3 nm이다. 프로브 DNA를 게이트 채널위에 고정하기 위하여 사용한 2종류의 기능성 링커 길이는 약 1 nm이다. 본 논문에서 사용한 프로브 DNA의 아미노기는 6개 탄소 원자를 통해 DNA에 연결되므로 6개 탄소의 길이는 1 nm이고, DNA는 12-mer DNA 이므로 핵산의 길이는 3.6 nm이다. 따라서, 프로브 DNA가 막대기처럼 게이트 채널표면위에 뿔뿔하게 서서 고정되어 있다면, 12-mer 프로브 DNA의 12번째 음전하는 게이트 채널로부터 5.6 nm 떨어져 있게 된다<sup>[12]</sup>. 그림 2에서처럼 DNA 음전하가 Debye length내에 존재한다면 DNA가 가지고 있는 음전하는 중성화되지 않고 그 전하를 유지할 수 있게 된다. 반면, DNA 음전하가 Debye length를 벗어난다면 음전하는 주변 양이온에 의해 중성화 될 것이다.

### III. 결과 및 토의

프로브 DNA고정 후 NaCl농도가 각각 다른 인산염 버퍼용액에서 감도 평가를 진행하였다. 트랜지스터의 드레인-소스 전압( $V_{DS}=-0.1 V$ )을 고정하고, 드레인-소스 전류( $I_{DS}=-10 \mu A$ )를 일정 값으로 유지하기 위한 게이트 전압 변화( $\Delta V_{GS}$ )로 평가를 진행하였다. 프로브 DNA가 게이트 채널에 고정되고 그 음전하가 용액내 양이온 ( $Na^+$ )에 의해 중성화 되지 않았다면, 게이트 채널 표면위 고정된 DNA의 음전하 영향으로 p형 전도성을 갖는 다이아몬드 SGFETs의 채널 전도성은 증가할 것이다. 그리고, 드레인-소스 전류를 유지하기 위한 게이트 전압은 양의 방향으로 시프트 할 것이며 시프트

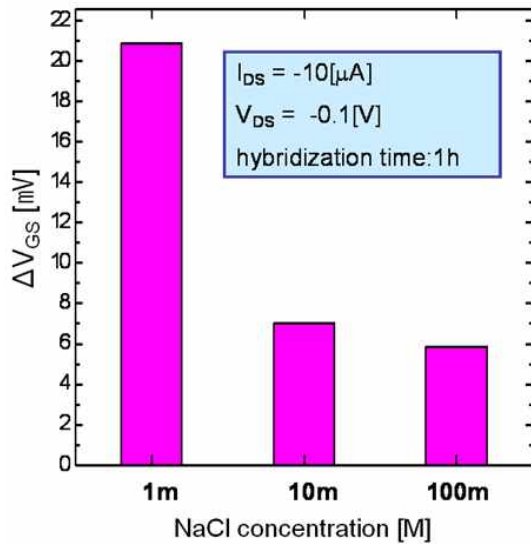


그림 3. NaCl 농도에 따른 상보적 DNA hybridization 후 게이트 전압( $\Delta V_{GS}$ ) 변화

Fig. 3. Shifted gate voltage ( $\Delta V_{GS}$ ) by complementary target DNA hybridization depending on NaCl concentration.

전압의 크기는 NaCl 농도에 따른 Debye length에 비례할 것이다. 그러나, 본 논문의 실험결과 프로브 DNA만 고정된 single-stranded DNA 경우 Debye length의 영향이 미비하였다. 이는 single-stranded DNA의 경우 유연성이 높아 Debye length 영향이 작기 때문으로 판단된다<sup>[12]</sup>.

게이트 채널에 고정된 프로브 DNA와 상보적 타겟 DNA를 이용하여 hybridization을 진행하였다. Hybridization 완료 후 프로브 DNA 고정시와 동일한 방법으로 NaCl 농도가 각각 다른 인산염버퍼용액에서 상보적 타겟 DNA와 hybridization에 따른 감도 평가를 게이트 전압의 변화( $\Delta V_{GS}$ )로 진행하였다.

그림 3에서 보는 것과 같이 NaCl 농도에 의해 Debye length가 변하고 그에 따라 시프트되는 게이트 전압( $\Delta V_{GS}$ ) 크기가 변화한다. NaCl 농도가 낮으면 Debye length가 길어지고 그에 따라 상대적으로 게이트 채널로부터 멀리 떨어진 DNA의 음전하가 인산염버퍼용액 내 양이온에 의해 중성화 되지 않고 게이트 채널에 영향을 미치기 때문에 NaCl 농도가 낮을수록 시프트되는 게이트 전압의 크기가 크다고 판단된다.

Graham 방정식을 이용하여 다이아몬드 게이트 채널 위 hybridization된 DNA 밀도를 계산하면  $3 \times 10^{12}$  strand/cm<sup>2</sup>이다<sup>[6]</sup>. 이러한 DNA 밀도는 상대적으로 매우 높은 것으로 높은 밀도에서는 hybridization된 DNA의

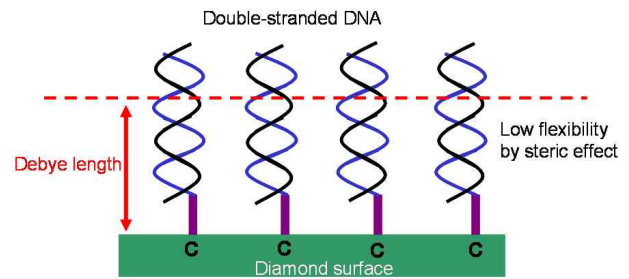


그림 4. Hybridized된 DNA의 용액내 도해. Hybridized된 DNA는 용액내에서 다이아몬드 표면위 수직으로 고정되어 있다고 가정

Fig. 4. Schematic diagram of hybridized DNA in solution. We consider the hybridized DNA to stand perpendicularly like a rod.

유연성이 떨어진다. 그림 4와 같이 hybridization 밀도가 높아 유연성이 부족한 DNA는 막대기처럼 게이트 채널위에 반듯하게 서게 된다. NaCl 농도가 1 mM인 인산염버퍼용액에서 Debye length는 9.1 nm이며 다이아몬드 게이트 채널표면에서 DNA의 12번째 음전하는 5.6 nm 떨어져 있어 음전하는 Debye length내에 위치하게 된다. Debye length내에 위치하는 DNA의 12번째 음전하는 용액내 양이온에 의해 중성화 되지 않고 게이트 채널표면에 영향을 주어 채널 표면내 홀이 증가하며 증가된 홀에 의해서 게이트 전압은 양의 방향으로 시프트( $\Delta V_{GS}$ ) 하게 된다. NaCl 농도가 10 mM, 100 mM인 인산염버퍼용액에서는 Debye length가 각각 3.6 nm, 0.3 nm로 hybridization된 DNA길이 보다 짧다. 이로 인해 그림 1에서처럼 DNA의 음전하가 부분적으로 Debye length 밖에 위치하고 용액내 양이온에 의해 부분적으로 DNA 음전하가 중성화 된다. DNA의 음전하가 부분적으로 중성화되면 음전하에 의한 게이트 채널표면의 홀 증가가 감소하며 양의 방향으로 시프트 하는 게이트 전압 크기는 상대적으로 감소한다. NaCl 농도가 높아질수록 Debye length는 감소하게 되고 시프트되는 게이트 전압도( $\Delta V_{GS}$ ) 감소하게 된다. 따라서, 전하 검출형 DNA 센서에서 특정 DNA의 hybridization을 검출하기 위해서는 측정하는 버퍼용액의 NaCl 농도를 조절하여 Debye length를 최적화 하는 것이 매우 중요하다.

#### IV. 결 론

본 논문에서는 다이아몬드 전해질 전계효과 트랜지스터를 이용하여 전하 검출형 DNA 센서를 제작하였으

며, 전하 검출형 DNA 센서에서의 감도를 높이기 위해서는 측정하는 버퍼용액의 NaCl 농도를 조절하여 Debye length를 확보하는 것이 중요하다는 것을 규명하였다.

최근 많이 시도하고 있는 SNPs(single nucleotide polymorphisms)를 전하검출 방법을 통해 검출하기 위해서는 NaCl 농도를 통한 Debye length 조절이 매우 중요할 것으로 생각된다. 향후 연구과제로는 Debye length를 최적화 하여 다이아몬드 SGFETs를 이용한 전하 검출형 SNPs 검출 방법에 대하여 진행할 예정이다.

### 참 고 문 헌

- [1] 서화일, 손병기 “ISFET 바이오센서에서의 적용을 위한 신호처리회로의 개발과 그들의 단일칩 집적설계” 전자공학회논문지, 제28권 A편, 제 1호 46-51쪽, 1991년 1월.
- [2] F. Uslu, S. Ingebrandt, D. Mayer, S. Bocker-Meffert, M. Odenthal, A. Offenhausser, “Label-free fully electronic nucleic acid detection system based on a field-effect transistor device,” *Biosen. & Bioele.*, Vol. 19, no. 12, pp. 1723-1731, Jul. 2004.
- [3] A. Poghossian, A. Cherstvy, S. Ingebrandt, A. Offenhausser, M. J. Schoning, “Possibilities and limitations of label-free detection of DNA hybridization with field-effect-based devices,” *Sens. and Act. B*, Vol. 111-112, no. 11, pp. 470-480, Nov. 2005.
- [4] 임신일 “바이오 메디칼용 칩 회로 설계 기술” 전자공학회지, 제37권, 제10호, 48-62쪽, 2010년 10월.
- [5] O. Mondain-Monval, F. Leal-Calderon, J. Philip, J. Bibette, “Depletion forces in the presence of electrostatic double layer repulsion,” *Phys. Rev. Lett.*, Vol. 75, no. 18, pp. 3364-3367, Oct. 1995.
- [6] K. S. Song, G. J. Zhang, Y. Nakamura, K. Furukawa, T. Hiraki, J. H. Yang, T. Funatsu, I. Ohodomari, H. Kawarada, “Label-free DNA sensors using ultrasensitive diamond field-effect transistors in solution,” *Physical Review E*, Vol. 74, no. 4, pp. 041919-041925, Oct. 2006.
- [7] K. S. Song, T. Hiraki, H. Umezawa and H. Kawarada, “Miniaturized diamond field effect transistors for application in biosensors in electrolyte solution,” *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 90, no. 6, pp. 063901-063903, Feb. 2007.
- [8] K. S. Song, T. Sakai, H. Kanazawa, Y. Araki, H. Umezawa, M. Tachiki, H. Kawarada, “Cl<sup>-</sup> sensitive biosensor used electrolyte-solution-gate diamond FETs,” *Biosen. & Bioele.*, Vol. 19, no. 2, pp. 137-140, Nov. 2003.
- [9] M.I. Landstrass, K.V. Ravi, “Resistivity of chemical vapor deposited diamond films,” *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 55, no. 10, pp. 975-977, Jul. 1989.
- [10] J. H. Yang, K. S. Song, M. Degawa, Y. Sasaki, I. Ohodomari, and H. Kawarada, “Characterization of hybridization efficiency on partially aminated diamond by aromatic compounds,” *Langmuir*, Vol. 22, no. 26, pp. 11245-11250 Jul. 2006.
- [11] B. S. Gaylord, A. J. Heeger, G. C. Bazan, “DNA hybridization detection with water-soluble conjugated polymers and chromophore-labeled single-stranded DNA,” *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 125, no. 4, pp. 896-900 Jan. 2003.
- [12] K. A. Melzak, C. S. Sherwood, R. F. B. Turner, C. A. Haynes, “Driving forces for DNA adsorption to silica in perchlorate solutions,” *J. Colloid and Interface science* Vol. 181, no. 2, pp. 635-644, Aug. 1996.

### 저 자 소 개



송 광 섭(정회원)

1998년 홍익대학교 전기공학과  
학사

2000년 홍익대학교 전기공학과  
석사

2005년 와세다대학교  
전기전자공학부 박사

<주관심분야 : 바이오센서, 영상센서, 의용센서>