

이 정 훈 광운대학교 전기공학과 부교수

| e-mail : jhlee@kw.ac.kr

유 용 경 광운대학교 전기공학과 박사후연구원

| e-mail : yongkyoung0108@gmail.com

이 글에서는 이온농도분극 현상(ICP : Ion Concentration Polarization)을 활용하여 단백질과 같은 생체물질을 농축하는 종이기반의 미세유체칩에 대하여 소개하고자 한다.

간편/응급 진단을 위한 종이기반 체외진단키트는 그 사용법의 간편함과 저렴한 가격으로 인하여 생체 물질을 검출하고 분석하는 다양한 분야에 적용되고 있다. 이와 같은 종이기반의 체외진단키트는 미세유체 제어를 통해 분석하려는 표적물질(analytes)과 수용체(receptor)의 반응을 유도하고, 두 물질의 반응을 비색 분석법(colorimetric analysis) 등을 활용하여 분석한다. 하지만 그 원리상의 한계-낮은 감도 및 감지한계- 때문에 낮은 농도를 나타내는 생체물질을 검출하는 데에는 적용이 어려운 실정이다. 이와 같은 한계를 극복하기 위한 한 가지 방법으로, 이온농도분극 현상(ICP: Ion Concentration Polarization)을 이용한 생체물질 농축에 대한 연구가 활발하게 진행되었다. 이온농도분극 현상은 미세유체 내에서 특정전하를 띠는 생체물질을 농축하기에 적합한 방법으로 알려져 있으며, 화학적인 결합 및 분리 과정없이 나노 유체의 전기적 현상을 이용한 물리적인 방법을 통해 생체물질을 손쉽게 제어할 수 있다는 장점이 있다. 이러한 장점 때문에 이온농도분극 현상을 이용한 다양한 응용 연구가 활발히 진행되었으나, 현재까지 많은 연구가 PDMS와 같은 제작이 간단한 폴리머 기반 미세유체칩 위에서 진행되어 왔다. 물론 PDMS가 쉽게 제작이 가능하고 그 응용을 입증하기 좋은 소재인 장

점이 있지만, 실제 필드에 쓰이기 위한 소자로서는 여러가지 한계를 가지고 있는게 사실이다.

최근 들어 다양한 프린팅 기술의 개발로 임신진단 키트 등을 포함한 종이기반 체외진단키트 응용을 위한 단위소자 및 기능들이 제안되고 있으며, 이를 위한 패턴 형성 기술을 그림 1에 나타내었다. 마이크로 유체, 스위치, 필터, 농축 등의 다양한 요소기술 중 핵심 기술인 농축 기능에 대한 연구가 최근 활발히 연구되고 있으며, 이 글에서는 최근 개발 중인 종이기반의 이온농도분극 농축 시스템과 그 활용에 대한 연구를 소개하고자 한다.

종이기반 이온농도분극 현상

이온농도분극 현상은 나노 크기의 채널(channel)을 가지는 유체 시스템에서 발생하는 전기동역학 현상이다. 유체에 전계를 인가하였을 때, 채널의 크기가 채널벽에 형성되는 전기 이중층(electrical double layer)의 두께와 유사한 수준으로 작아질 때 채널은 특정 전하를 띤 이온들만 통과시키며, 이때 이온농도의 변화가 발생하게 되는데 이를 이온농도분극 현상이라 한다. 이러한 이온농도 분극 현상을 적절한 압력 혹은 전기력을 이용해 제어하게 되면 특정공간에 전

하를 띤 생체분자를 모을 수 있으며, 이를 통해 전하를 띤 타겟 생체분자의 농축이 가능하게 된다. 이러한 연구는 지난 10여 년간 집중적으로 이루어졌으며, 그 결과 수십 나노미터 스케일의 나노채널 형성 기술 및 현상 관찰 등에 대한 연구가 진행되었다. 그 이후 이온농도분극현상을 유도하기 위한 소재로서 Nafion과 PDMS 을 이용한 소자들에 대한 연구가 활발히 진행되었다.

종이 기반의 이온농도분극 농축 시스템을 구현하기 위해, 크게 미세유체채널의 형성 및 나노채널의 역할을 하는 소재의 패터닝 기술이 요구된다. 종이기반 미세유체채널의 제작을 위해 소수성 왁스(wax) 패터닝 형성 기술 또는 페이퍼 커팅을 통한 채널 제작 기술이 요구되며, 소재로는 셀룰로오스(cellulose) 혹은 나이트로 셀룰로오스(nitrocellulose)가 주로 이용된다. 친수성 종이 위에 베리어(barrier)로 형성된 소수성 왁스는 프린팅 및 열처리를 통해 수로의 벽을 형성하게 되며 유체 벽의 역할을 가능하게 한다. 이러한 친수성/소수성 표면을 이용한 유체의 흐름 제어는 왁스 프린터를 통해 쉽게 구현이 가능하다. 둘째 나노채널 소재의 패터닝을 위해서는 특정 전하 이온을 통과시킬 수 있는 이온 선택성 나노 포어 소재(ion permselective nanoporous materials)를 사용하게 된다. 이를 위한 대표적 선택적 이온 투과막은 네피온(Nafion)이 사용되고 있으며, 나노포어 소재 혹은 기능을 가지고 있는 소재를 통한 다양한 투과특성 연구도 진행 중에 있다. 이러한 두 가지 기술을 조합하여 제작된 소자에 전계를 인가함으로써 이온농도분극 현상을 유도할 수 있으며, 이를 통해 다양한 생체

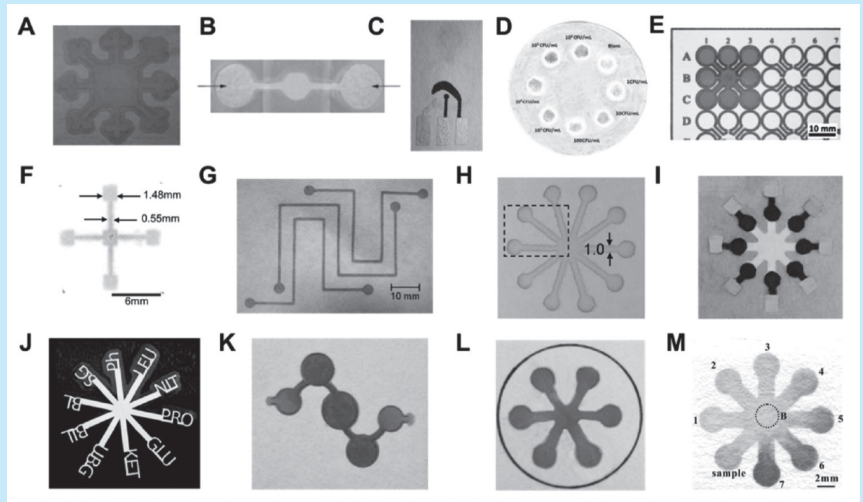


그림 1 종이 위에 형성된 2차원 패터닝 기술 : (A) 프린터를 이용한 왁스 스탬핑, (B) 왁스 디핑, (C) 스크린 프린팅된 왁스패턴 및 전극, (D) 스테인실을 이용한 왁스패턴, (E) 왁스프린팅, (F) 톨루엔을 이용한 폴리스틸렌의 잉크젯 예칭, (G) AKD의 잉크젯 프린팅, (H) 플렉소그래픽 프린팅, (I) 스크린프린팅 및 PR을 이용한 패터닝, (J) 나이프 커팅법, (K) 레이저를 이용한 커팅, (L) 기상 폴리머 증착, (M) Alkylsilane 단원자층 및 UV/O3를 이용한 표면 개질(Anal. Chem. 87, 19-41, 2015)

분자의 전처리용 농축 시스템 제작이 제안되었다.

종이 기반 미세유체칩은 제작이 간단하며 가격이 저렴하고 휴대성(portability)이 좋으며 특히 유저가 쉽게 사용이 가능하다는 장점이 있다. 그뿐만 아니라 셀룰로오스 기반의 섬유 네트워크(fibril network)가 형성되어 있어서, 외부의 유체 제어 시스템 없이도 모세관 현상(capillary force)을 이용하여 미세유체소자의 유동(fluid flow)을 제어할 수 있기 때문에 실린지 펌프 등의 외부 동력이 필요하지 않다는 장점이 있다. 미세유체칩에서 유동 제어는 이온농도분극 현상에서 농축 플러그의 제어뿐만 아니라 높은 농축비(preconcentration factor)를 획득하는 데 있어서 가장 중요한 요소 중 하나이다. 이를 위해 다양한 연구가 진행 중에 있으며, 대표적인 예로 흡착패드의 유무를 들 수 있다. 흡착패드를 사용하지 않을 경우에는 유체의 흐름이 일정하지 않고, 이에 따라 실제 시간에 대한 농축 특성이 저하됨을 확인할 수 있었다. 또한, 흡착패드가 없는 경우 낮은 농축비를 나타내기 때문

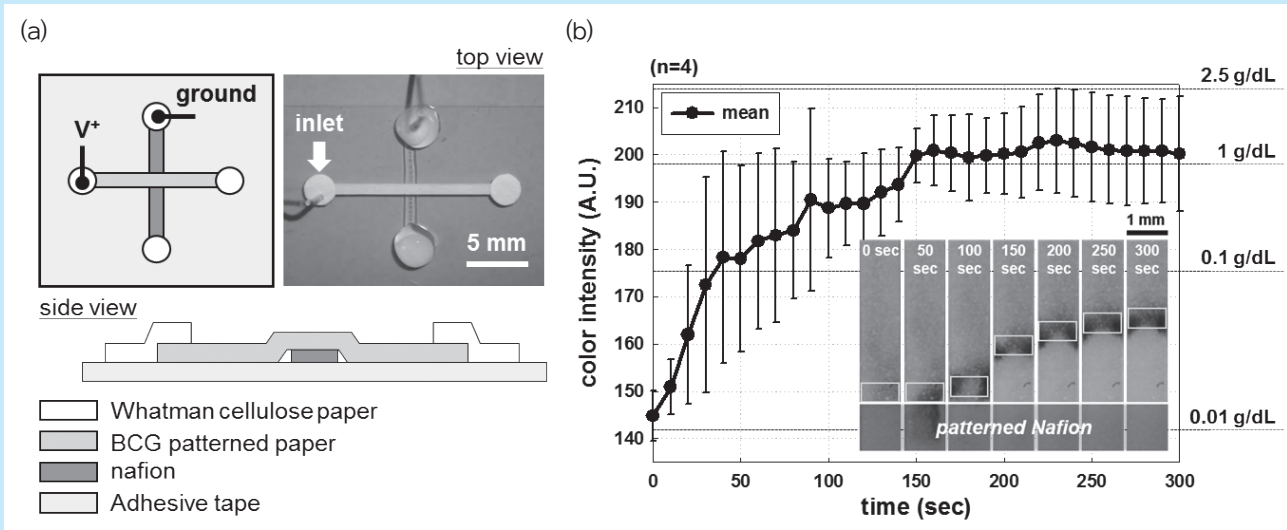


그림 2 브로모크레졸 그린 비색 분석법을 활용한 알부민 농축과 검출 ; (a) 알부민 농축과 검출을 위한 구성도와 사진, (b) 알부민 농축과 검출 비색 분석법과 그 사진.(출처: S.I.Han, K.S.Hwang, R.Kwak, J.H.Lee, Lab on a Chip 16, p2219-2227, 2016)

에 제외진단 키트에 적용하기에 적합하지 않다. 흡착 패드는 간단한 구성요소이지만 실제 에세이에 적용함으로써 정확한 에세이가 가능함이 입증되었다. 결과적으로 종이기반 미세유체소자의 유동을 제어하기 위하여 셀룰로오스 종이로 이루어진 흡착패드를 활용할 경우, 농축 플러그의 위치 제어가 크게 향상되며 이를 통해 500배 이상의 샘플 농축비를 획득할 수 있음이 보고되었다.

생체물질 농축과 비색 분석

일반적인 제외진단키트들은 가시광선 영역의 비색 분석법을 사용한다. 이는 육안으로 용이하게 관별할 수 있다는 장점이 있으나, 낮은 감도 및 정량분석의 어렵다는 단점이 있다. 기존의 이온분극현상을 이용한 생체물질 농축은 실험실 단계에서 형광 분석법을 주로 사용해 왔다. 최근 들어 전기적인 소자와의 결합을 통한 모니터링에 대한 연구도 진행 중에 있으나, 아직 연구결과는 초기단계이다. 따라서 이온분극현상을 이용한 소자를 종이 기반의 비색 분석법으로 응

용하기 위해서는 이에 맞는 실험 설계 및 가능성 실험이 전제되어야 한다. 이러한 접근을 위한 단계적 실험 방법은 다음과 같다.

먼저, 종이기반 미세유체칩에서 생체물질을 농축하기 위하여, 단백질로 알려진 알부민(albumin)을 형광표지(FITC : Fluorescein Isothiocyanate)를 부착하고 그 농축비를 형광 이미지를 통하여 분석하게 된다. 이는 우선 형광분석을 통해 종이기반 농축시스템이 정량적으로 얼마만큼의 특성을 갖는지를 분석하기 위함이다. 이러한 실험을 통해 알부민의 농도가 약 400초 이내에 300배 이상까지 도달하는 것을 확인하였다. 둘째, 알부민을 모델로 한 비색법 모델을 설계하였다. 알부민의 농축을 비색 분석법으로 분석하기 위해 브로모크레졸 그린(BCG : Bromocresol Green)을 도입하였으며, 이를 통해 알부민의 정량을 색 농도(color intensity) 분석을 통해 가능하게 하였다. 이는 알부민과 브로모크레졸 그린이가 반응하면 색이 변하는 것을 원리로 하는데, 이는 두 물질이 반응하게 되면 pH가 변하게 되고 이는 종이 기반 미세유체칩의 색을 변화를 유도함을 기반으로 한다. 브로모

크레졸 그린과 알부민이 반응하면 그림 2(b)의 사진과 같이 파란색의 농도가 달라지게 되고 이를 색분석하여 알부민의 농도를 유추할 수 있다. 이러한 색분석 방법으로 본 연구팀은 300초 이내에 약 100배 이상의 알부민이 농축됨을 색농도를 통해 확인할 수 있었다. 이러한 농축기술 및 비색분석을 통한 마커 분석 플랫폼은 추후 다양한 응용의 체외진단키트로의 적용이 가능할 것으로 기대한다.

배터리를 활용한 저전력 농축

간편/응급 진단을 위한 체외진단 키트의 목적은 장소와 시간에 영향을 받지 않고 사용할 수 있음에 있다. 이온농도분극 기반 농축 소자의 체외진단 키트 적용에 있어서 핵심기술은 기존의 측방유동분석법(LFA : lateral flow assay)이나 래피드킷(rapid kit)의 휴대성을 유지하면서 값싸게 기능을 구현하는 데 그 목표가 있다. 이를 위해 최소한의 재료 및 비용으로 기능을 구현함이 핵심이며, 기존의 높은 파워 및 전압의 사용을 낮추는 기술이 전제되어야 한다. 이온농도분극은 필수적으로 전원이 필요하며, 보통 100V 이상의 전압을 통한 결과가 발표되었다. 따라서 LFA에의 적용을 위한 우선 과제는 동작전압을 낮추고 또한 소비전력을 낮추는 데 있다. 특히 상용화 배터리 수준으로 파워 및 전압을 낮출 수 있다면 휴대성을 보장할 수 있으며, 가격 경쟁력 또한 확보 가능하다.

이를 위해 우선적인 접근 방법이 낮은 전압원에서 높은 전계를 얻기 위한 소자의 구조 도출이며, 전극 사이의 거리를 좁히는 방법이 제안되었다. 하지만 이러한 고려만으로는 농축 처리되는 샘플의 절대량이 작다는 단점이 있으며, 처리 용량을 유지하면서 동작전압을 낮추는 노력이 요구된다. 이를 위해 최적화 하는 디자인 및 프로토콜이 요구되며 최근 9V 이하의 낮은 전압원을 이용하여 농축 가능성이 발표되었다(그림 3). 알카라인 9V 상용건전지를 이용하여

42mW(25.2J)의 전력을 사용하여 25배의 농축비를 확인하였다. 이는 LFA 기반이나 래피드킷 기반의 전처리 시스템으로의 응용가능성을 보여준 결과이다. 수십 mW 수준의 파워는 종이 배터리 등으로 매우싼 전원을 통해 구현 가능함을 보여주고 있으며, 수십원 이내의 추가 비용을 통해 전처리 시스템의 구성이 가능함을 또한 보여주고 있다.

체외진단키트와 종이기반 이온농도분극 농축 활용

일반적으로 체외진단키트는 측방유동분석법을 활용하여 체액에 존재하는 생체물질을 분석한다. 생체물질을 분석하기 위한 측방유동분석법은 다음과 같은 구조를 가진다. 체액을 보관하고 공급하는 샘플패드(sample pad), 1차항체가 고정되어 있는 골드 나노입자가 존재하는 컨주게이티드 패드(conjugated pad), 2차항체가 고정되어 있는 테스트 라인(test line), 대조군 확인을 위한 콘트롤 라인(control line), 모세관 현상을 이용하여 체액을 공급하여 주는 흡수 패드(absorbent pad)와 지지대로 구성되어 있다. 체외진단키트의 흡수 패드에 의하여 지속적인 유동으로 인하여 이온농도분극 농축 플러그의 효율적인 위치제어와 유동의 제어가 필수적이다. 재현성의 확보를 위한 디자인은 실제 응용에 있어 핵심이며 농축 플러그의 위치제어를 위하여 두 개의 이온농도분극현상을 이용함을 통해 최적화함을 보여주었다. 쌍으로 이루어진 농축 시스템(dual gate preconcentrator)을 활용하여 depletion force와 2차 농축플러그의 힘의 균형을 유도하여 농축 플러그의 효율적인 위치제어가 가능하다. 또한 흡수 패드에서 발생하는 지속적인 유동을 제어하기 위하여 컨주게이트 패드를 다리(bridge)처럼 활용하여 유동이 필요한 경우에만 연결을 하여 생체물질의 농축에 영향을 최소화할 수 있는 디자인이 제안되었다.(그림 3)

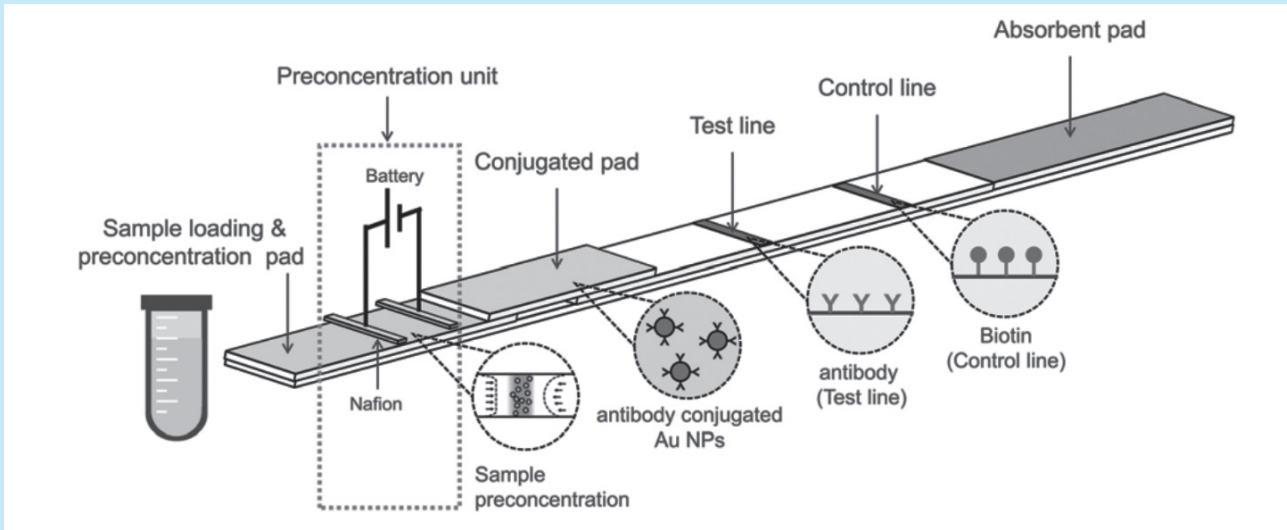


그림 3 이온농도분극 농축 유닛이 결합된 LFA.(출처: C.Kim, Y.K.Yoo, S.I.Han, J.Lee, D.Lee, K.Lee, K.S.Hwang, K.H.Lee, S.Chung, J.H.Lee Lab on a Chip 17, p2451-2458, 2017)

범용적으로 사용되는 측방유동분석 방법으로 임신 진단키트가 있으며, 이는 임신부의 소변에서 β -hCG(β -human chorionic gonadotropin)를 검출하고 이를 분석하여 임신여부를 확인하는 방법이다. β -hCG는 임신진단뿐만 아니라 신체의 악성종양이나 염증에 의해서도 소변 내의 β -hCG의 농도가 변하는 것으로 알려져 있으며, 질병진단의 방법으로도 사용될 수 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 우선적인 LFA에의 접근을 위해 본 연구팀은 임신진단키트를 활용하여 소변 내의 β -hCG의 농도를 정밀하게 분석하기 위한 플랫폼 및 스마트폰을 이용한 비색 분석방법을 제안하였다. 플랫폼은 농축 기능을 수행하는 유닛이 핵심이며, 대중적으로 많이 사용되는 상용 건전지의 9V 전압으로 소변에 존재하는 β -hCG를 농축하고 이를 순차적으로 임신진단키트에 전달하였을 경우에, 약 15배 이상의 β -hCG의 농축을 확인할 수 있었다. 또한 이와 같은 방법을 활용해서 임신진단키트의 검출한계를 약 2.69배 향상시킬 수 있었으며, β -hCG에 대한 민감도에 대한 선형성 또한 약 26% 정도 증가하였다. β -hCG의 농도를 구

분하기 위한 비색 분석법은 고성능의 광학카메라를 사용하지 않고, 스마트폰의 카메라를 활용하여 채도 (saturation value; chroma) 분석을 통하여 검지할 수 있다.

맺음말

이온농도분극 현상은 그 현상으로뿐만 아니라 그 응용에 있어서도 중요성이 크게 대두되고 있다. 이러한 나노유체기술의 상용 소자 적용을 위해서는 소재 개발 및 실제 적용이 매우 중요하다. 따라서 래피드 키트의 핵심인 빠르고 정확한 진단, 고감도, 그리고 가격 경쟁력까지 고려되어야 한다. 농축기능의 전처리 시스템 개발을 위해 현재 종이 기반으로 그 가능성이 입증되는 단계이며, 이후 후속 연구들이 진행 중에 있다. 이를 통해 혈액, 땀, 침, 소변 등에 존재하는 유의미한 마커 및 바이러스/박테리아 검진 등에 적용이 가능할 것으로 기대되며, 특히 싼 가격의 센서 플랫폼과 IoT/빅데이터의 결합은 바이오 분야에 큰 패러다임의 변화를 가져올 수 있을 것으로 기대한다.