

바이오나노 전자 코

<https://doi.org/10.5757/vacmac.5.1.9>

김경호, 오윤광, 권오석

BionanoElectronic Nose

Kyung-Ho Kim, Yun-Kwang Oh, Oh-Seok Kwon

Electronic nose has been developed for detection of various hazardous molecules, especially vapor organic compounds (VOCs), by adsorption and desorption phenomenon. However, although conventional electronic noses have provided many advantages such as simple detection and high sensitivity, they still need advanced technologies for selective specificity in real samples. In this review, we provide bionanoelectronic noses with natural receptors for selective odorant detection. This review includes from fabrication of natural receptors and conducting nanomaterials to bioelectronic noses. We also discussed their perspective applications for the future at the conclusion.

서론

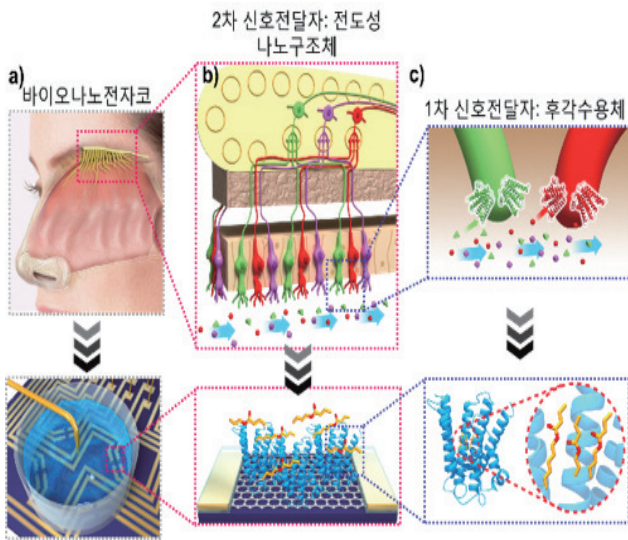
1987년에 처음 등장한 ‘전자코 (Electronic nose)’는 냄새 분자와 어레이 타입의 고분자 물질간의 물리적 특성(흡·탈착)에 기반하여 휘발성 유기 화합물(Vapor Organic Compounds: VOCs)들을 측정하는 기술로 현재 그 중 일부가 상업화되어 있다. 전자코는 휘발성 유기 화합물에 민감한 장점이 있지만, 반면에 센서의 특이성

측면에서 단점을 가지고 있다. 특히, 반도체 산화물 기반의 전자 코는 상대적으로 분자의 크기가 큰 냄새 분자들을 선택적으로 모니터링 하는데 한계를 가지고 있어, 이를 대체하기 위한 다양한 연구들이 진행되어 왔다. 그 결과 포유류 세포나 후각 수용체와 같은 생체 물질을 기반으로 하는 바이오나노 전자코(Bionanoelectronic Nose)가 개발되었다.

바이오나노 전자코는 기존 전자코와는 근본적으로 다른 접근 방법으로, 생물학적 후각 메커니즘에 기초하여 후각 신호 감지부, 후각 수용체 및 후각 세포 등을 이용하는 1차 신호 전달자(Primary transducer)와 1차 신호를 증폭하는 다양한 전도성 나노소자로 구성된 2차 신호 전달자(Secondary transducer), 트랜지스터,로 구분이 된다 (그림 1). 1차 신호 전달자, 후각 수용체는 탄소 한 개의 차이를 가지는 냄새 분자들을 정확하게 구분이 가능하며, 특히, 액상 및 기상의 냄새 분자를 모두 구분할 수 있다. 본 연구는 1998년 Gopel 등에 의해 최초로 소개되었으며[1], 그 후 후각 수용체 또는 부분적으로 정제된 후각 수용체를 함유하는 막 단백질들을 기반으로 하는 바이오나노 전자코가 연구되었다. 최근에는 2개 이상의 막 단백질 후각 수용체들로 이루어진 다중 바이오나노 전자코 (multiplexed bioelectronic nose)가 소개되어, 산업화 된다면 현장에서 빠르고 간편하게 그리고 동시에 냄새 분자 감지가 가능하게 되었다.

〈저자 약력〉

- 권오석 저자는 2013년 서울대학교 공학박사 학위를 받았으며, 2013~2015년까지 MIT, Yale 대학교 포스닥 과정을 거쳐, 현재 한국생명공학연구원 위해요소감지 BNT연구단 선임연구원으로 재직 중이다. (oskwon7799@gmail.com)
- 김경호 저자는 2013년 동의대학교 화학공학과를 졸업하고, 2014~2016년 한국화학연구원 연구원으로 재직하고, 현재 한국생명공학연구원/전남대학교 학연과정(석사)생으로 근무하고 있다. (doublekh0119@kribb.re.kr)
- 오윤광 저자는 2016년 충북대학교 생화학과 석사학위를 받았으며, 현재 한국생명공학연구원/고려대학교 화공생명공학과 학연과정(박사)생으로 근무하고 있다. (oyk0213@kribb.re.kr)

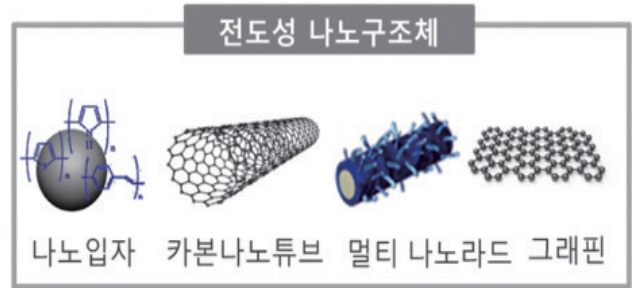


[Fig. 1] 2가지 이상의 후각 수용체가 포함된 바이오나노 전자코 모식도.

이러한 바이오 나노 소자에 사용되는 전기 트랜지스터 (transducer)로는 전도성 고분자, 나노입자, 나노 튜브, 카본나노라드, 그래핀과 같은 전도성 나노 구조체 (그림 2)가 있으며, 특정 냄새 분자와의 선택적 상호작용으로 인한 화학적 변화를 전기적 신호로 변환하여 감지를 한다. 특히, 반도체 소자와 나노재료 사이의 접합 형태로 이루어진 전계 효과 트랜지스터(field-effect transistor: FET) 기반의 바이오 나노 센서는 소형화, 대량생산, 단분자 분석, 실시간 관찰이 가능하다는 장점을 가지고 있다.

1차 신호 전달자는 바이오나노 전자코의 선택도를 담당하는 부분으로 냄새 분자를 인지하는 생물학적 부분이다. 후각 기능을 모사하는 센서를 개발하기 위해 후각 수용체를 이용하는 연구들이 이루어지면서 후각 수용체 막 단백질, 인공 후각 세포, 후각 나노베시클 및 후각 펩타이드 등 다양한 형태로 제작된 후각 수용체를 이용한 연구가 많이 이루어 지고 있다.

후각 수용체 막 단백질(Olfactory Receptor Protein)은 세포막을 일곱 번 통과하는 7-transmembrane 구조로 되어 있으며, G-protein과 연결되어 세포막에 삽입되어 그 구조를 유지한다. 바이오나노 전자코 구현을 위해 후각 수용체 단백질의 이종 세포계(heterologous expression system)에서의 발현이 필요하지만, 막 단백질(membrane protein)인 후각 수용체의 특성상 다양한 발현 시스템을 이용한 많은 연구에도 불구하고 발



[Fig. 2] 나노 바이오센서의 전기 트랜지스터로 사용되는 전도성 나노 구조체.

현 효율이 상당히 낮다. 후각 수용체는 동물 세포 표면에 발현하는 방법이 일반적이지만, 대장균에서 대량의 후각 수용체 발현이 가능하다. 후각 수용체는 genomic DNA로부터 PCR을 통하여 증폭된 후 발현 벡터에 삽입한다. 동물 세포에서 세포막 표면에 후각 수용체 단백질이 올바르게 삽입될 수 있도록 시각 세포 로돕신의 신호서열(signal sequence)인 rho-tag을 후각 수용체의 N 말단에 삽입 하였다. 후각 수용체는 N 말단에 신호서열이 존재하지 않아 이종 세포계(heterologous cell system)에서 발현 시 세포막 발현이 불가능하다. 따라서 로돕신 신호 서열을 이용함으로써 세포막 표면에서 발현율이 높고 세포막 표면에 효과적인 전위(translocation)가 가능하다. 후각 수용체를 영구적으로 세포막에 발현하기 위해 G418이라는 선별마커를 포함하는 배지에서 2~3주 동안 배양한 후 생존한 세포를 선별한 후, 면역학적 방법(immunocytochemical method) 및 웨스턴 블롯(western blot)을 이용하여 후각 수용체 단백질의 발현을 확인하는 등 후각 기능 세포 제조가 가능하였다. 대장균 시스템의 경우, 후각 수용체를 포함하는 발현 벡터로 대장균을 형질 전환한 후, IPTG처리를 통하여 발현을 유도(induction)하였다. 발현이 유도된 세포를 수확하여 초음파 분쇄(sonication)한 후 후각 수용체를 포함하는 불용성 부분(insoluble fraction)을 수획하여 단백질 기반의 바이오나노 전자코 개발에 이용한다.

인공 후각 세포의 막에 발현된 후각 수용체는 냄새 물질과 결합하여 세포 내에 발생하는 신호 전달이 일어나며, 세포가 가지는 고유의 이온 채널을 통해 세포 내로 칼슘 이온의 유입이 일어난다. 이러한 칼슘의 유입을 칼슘 이미징 어세이(calcium imaging assay) 방법을 이용하여 측정하거나 cAMP response element(CRE) 리포터 어세이 및 막 전위 어세이(membrane potential assay)

를 통해서 측정함으로써, 인공 후각 세포의 냄새 분자에 대한 반응뿐 아니라 냄새의 농도에 따른 반응의 정도를 확인할 수 있다.

본론

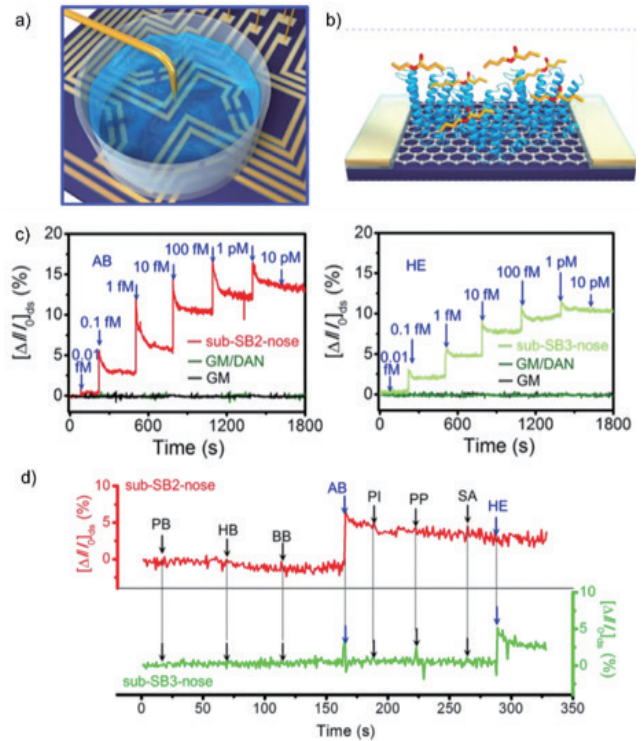
후각 나노베지클-카본나노튜브기반의 바이오나노 전자코

폐암의 바이오 마커 헵탈알(heptanal)은 정상인 보다 폐암 환자의 혈액에서 더 많이 존재하는데, 헵탈알에 특이적으로 결합하는 후각 나노베지클(Olfactory nanovesicle)이 기능화된 카본나노튜브 전계효과 트랜지스터가 개발되었다. 이는 HEK-293 세포에서 30 가지 유형의 human olfactory receptor (hOR)를 과 발현시킴으로써 인공 후각 세포 라이브러리를 만들어 헵탈알과 특이적으로 결합하는 인공 후각 수용체 OR1J2를 채택하였으며, 이를 나노베지클 형태로 재조합 하였다. 카본나노튜브기반의 바이오나노 전자코는 건강한 사람의 혈액과 폐암 환자의 혈액을 구별하기에 충분한 수준인 1×10^{-14} M 농도에서 헵탈알을 선택적으로 검출 할 수 있었고, 실제 실험에서 전처리 과정 없이 인간의 혈장으로부터 극히 적은 헵탈알의 양을 검출하는데 성공하였다.

인간 후각 리셉터 기반의 그래핀 기반의 바이오나노 전자 코

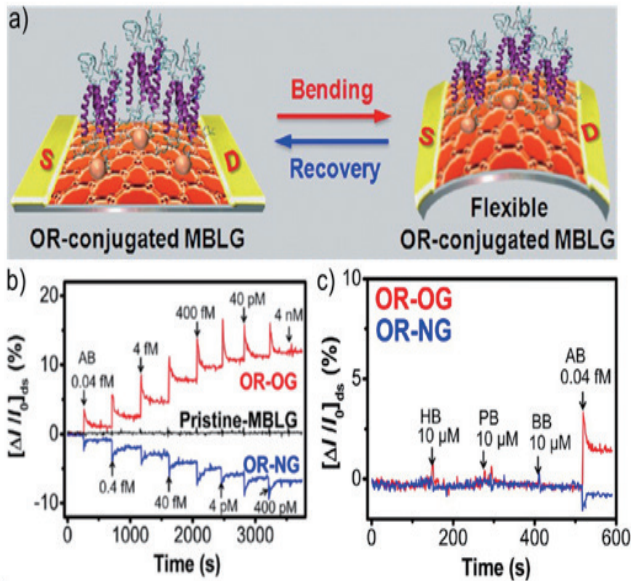
서울대학교 장정식 교수 연구팀에 의해서 인간 후각 모사 수용체를 나노 소자의 채널에 고정하여, 다양한 냄새 분자를 검출할 수 있는 그래핀 마이크로 패턴 기반의 다중 진단 바이오나노 전자 코가 개발되었다. 이 연구는 미세전자전기 시스템(micro electromechanical system: MEMS) 공정을 통해 그래핀을 마이크로 패턴하여 한 소자 내에 여러 개의 채널을 형성하였고 (그림 3a), 각 채널마다 다른 냄새 분자를 검출 할 수 있도록 표면처리를 통해 각각의 후각 수용체(hOR2AG1, hOR3A1)를 고정화했다 (그림 3b). 이 센서에서 각 후각 수용체 별 검출 한계는 0.1 fM이며, 이는 훈련된 인간의 후각과 거의 흡사한 검출 결과이다 (그림 3c). 또한, 다양한 냄새 물질에 대해서도 높은 선택성을 보여 주었다 (그림 3d).

펩타이드 후각 리셉터-카본나노튜브 기반의 바이오나노 전자 코



[Fig. 3] (a) 그래핀 기반의 다중 검출용 바이오나노 전자 코 모식도. (b) 냄새 분자-후각 수용체 간의 반응 모식도. (c) 실시간 냄새 분자 농도에 따른 전기 신호 변화 그래프 (왼쪽은 아밀부틸레이트, 오른쪽은 헬리오날). (d) 다중 검출용 바이오나노 전자 코의 선택성 그래프 (프로필 부틸레이트, 헬실 부틸레이트, 부틸 부틸레이트, 피페로날, 페닐 프로판올 그리고 사프롤; 1 μ M, 아밀 부틸레이트 그리고 헬리오날; 0.1 fM).

서울대학교 박태현 교수 연구팀은 최근에 부패된 해산물에서 생성되는 트리메틸아민 (trimethylamine: TMA)의 양을 측정함으로써 실시간으로 해산 식품의 품질을 결정할 수 있는 펩타이드 리셉터-카본나노튜브 기반의 바이오나노 전자 코가 개발하였다.[7] 본 바이오나노 전자코는 트리메틸아민을 선택적으로 인식 할 수 있는 후각 수용체 유도 펩타이드를 활용하였다. 구체적으로, 자극성 암모니아의 검출을 위해 후각 리셉터 펩타이드(NQLSNLSFSDL)를 사용하였고, 후각 리셉터 펩타이드는 C 말단 방향족 고리로 카본나노튜브 위에 고정화되었다. 후각 리셉터 펩타이드 층은 카본나노튜브 채널에 매우 근접한 트리메틸아민 분자를 선택적으로 흡수하여 탁월한 선택성으로 10 fM의 낮은 농도에서 트리메틸아민을 즉각 검출 하였다. 또한 실제 부패된 해산물 샘플에서 생성된 트리메틸아민은 전처리 과정 없이 검출하는데 성



[Fig. 4] (a) 플렉시블 후각 수용체-그래핀 기반 바이오나노 전자코 모식도. (b) 실시간 아밀부틸레이트 농도에 따른 민감도 (0.04 fM ~ 4 nM). (c) 센서의 선택성 (해실 부틸레이트, HB; 프로필 부틸레이트, PB; 부틸 부틸레이트, BB) and 목표 냄새 물질 (아밀 부틸레이트, AB).

공하였다.

플렉시블 후각 수용체-그래핀 기반 바이오나노 전자코

플렉시블 디바이스는 착용이 용이하여 다양한 응용이 가능하다. 최근에 후각 수용체-그래핀 기반의 플렉시블 바이오나노 전자코 개발이 소개되었다. 이는 아밀 부틸레이트를 검출하기 위하여 인간 후각 수용체인 2AG1을 그래핀에 고정하였다. 또한, 플렉시블 기판을 구현하기 위하여 유연한 고분자 기판을 활용함으로써 구부러짐에도 손상이 없는 바이오나노 전자코를 제작하였다 (그림 4a). 더 나아가, 바이오나노 전자코의 성능을 향상시키기 위하여 그래핀 표면을 산소와 암모니아 가스로 각각 플라즈마 처리하였으며, 이들은 각자 p- 및 n- 형태의 트랜지스터 성격으로 변화되는 것을 관찰하였다. 플라즈마 처리된 그래핀 기반 바이오나노 전자코의 검출 한계는 0.04 fM였으며 (그림 4b), 높은 농도의 비 타겟 냄새 분자와의 선택성 실험에 있어서도 아밀 부틸레이트를 선택적으로 검출하는 것으로 확인 할 수 있었다 (그림 4c).

결론

지금까지 바이오나노 전자코를 구성하고 있는 후각 리셉터와 전도성 나노구조체 제조 및 특성에 관해서 고찰을 하였으며, 특히 이들을 결합하여 다양한 바이오나노 전자코를 제조하는 방법에 관하여 살펴보았다. 이렇게 제조된 바이오나노 전자코는 향후 식품 및 향수와 관련된 산업에 활용이 될 것이며, 더 나아가 질병 진단에도 활용이 될 것으로 사료된다. 특히, 한번에 다양한 냄새를 검출 및 통계 분석이 가능하다면 이는 후각 표준화에도 활용이 될 것으로 사료된다.

References

- [1] Gopel, W.; Ziegler, C.; Breer, H.; Schild, D.; Apfelbach, R.; Joerges, J.; Malaka, R. Bioelectronic noses: A status report. *Biosens. Bioelectron.* 1998, 13, 479-493.
- [2] Park, C. S.; Yoon H.; Kwon, O. S. Graphene-based nanoelectronic biosensors. *J. Ind. Eng. Chem.* 2016, 38, 13-22.
- [3] Park, C. S.; Lee C.; Kwon, O. S. conducting polymer based nanobiosensors. *Polymers* 2016, 8, 13-22.
- [4] Lee, J.Y., KO, H.J., Lee, S.H., and Park, T.H. Cell-based measurement of odorant molecules using surface plasmon resonance. *Enzyme Microb. Technol.* 2006, 3, 39, 375-380.
- [5] Lim, J.H., Park, J., Oh, E.H., Ko, H.J., Hong, S., and Park, T.H. Nanovesicle-Based Bioelectronic Nose for the Diagnosis of Lung Cancer from Human Blood. *Adv. Healthc. Mater.* 2014, 3, 360-366.
- [6] Kwon, O. S.; Song, H. S.; Park, S. J.; Lee, S. H.; An, J. H.; Park, J. W.; Yang, H.; Yoon, H.; Ban, J.; Park, T. H.; Jang, J. An Ultrasensitive, Selective, Multiplexed Superbioelectronic Nose That Mimics the Human Sense of Smell. *Nano Lett.* 2015, 15, 6559-6567.
- [7] Lim, J. H., Park, J., Ahn, J. H., Jin, H. J., Hong, S., and Park, T. H. A peptide receptor-based bioelectronic nose for the real-time determination of seafood quality. *Biosens. Bioelectron.* 2013, 39, 244-249.
- [8] Park, S. J.; Kwon, O. S.; Lee, S. H.; Song, H. S.; Park, T. H.; Jang, J. Ultrasensitive Flexible Graphene Based Field-Effect Transistor (FET)-Type Bioelectronic Nose. *Nano Lett.* 2012, 12, 5082-5090.