

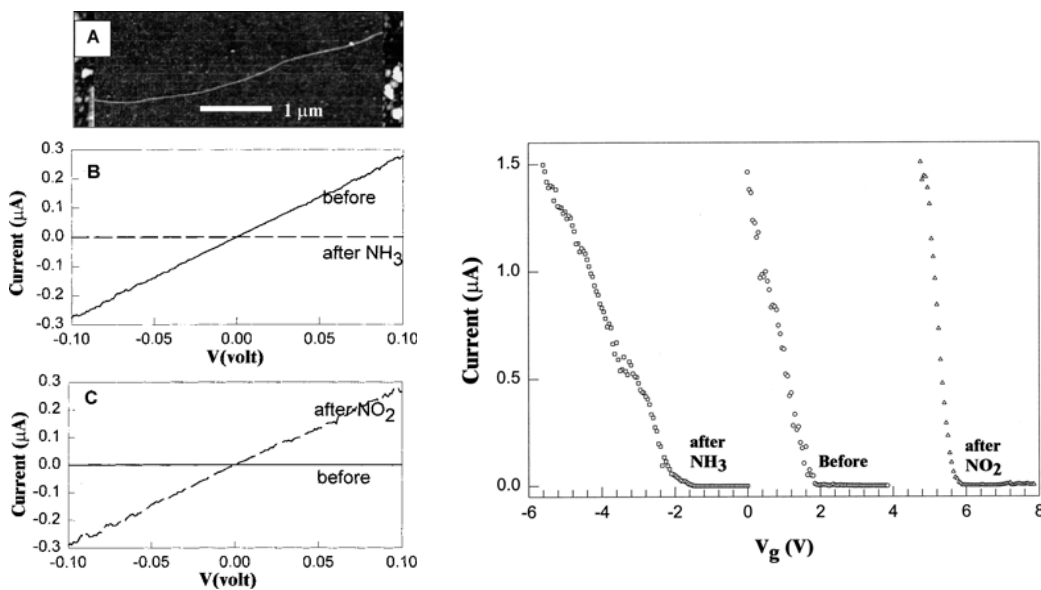
# Nanobiotechnology 최신 연구동향 6

## Nanotube- and Nanowire-based Biosensors for Label-Free Detection of Biomarkers for Cancer and Other Diseases [1-5]

최근 몇 년 동안 탄소 나노튜브(carbon nanotube; CNT)와 반도체 나노와이어(nanowire; NW)을 이용한 화학, 바이오분자 센서들에 대한 보고가 활발하게 진행되어왔다. 바이오센싱의 적용은 순수 생물학의 이해로부터 임상에 적용할 수 있는 시스템의 개발로 진행되고 있다. 궁극적인 목표는 저렴한 가격에 검출이 빠르면서 정량화가 가능한 초민감도의 센서를 개발하는 것이다[1]. CNT와 NW을 이용한 센서의 가장 큰 특징은 전기적 신호를 이용함으로써 타겟에 형광 labeling이 필요 없는 무표지검출(label-free) 시스템이라는 것이다. 이러한 특성은 초민감도의 센서 제작에 있어서 매우 중요한 요소를 차지한다. 여기서는 최근에 보고된 CNT와 NW을 이용한 몇 개의 연구결과들을 살펴보고 앞으로의 해결해야할 문제점들과 향후 전망에 대하여 알아보자.

### 1. Nanotube Molecular Wires as Chemical Sensors [2]

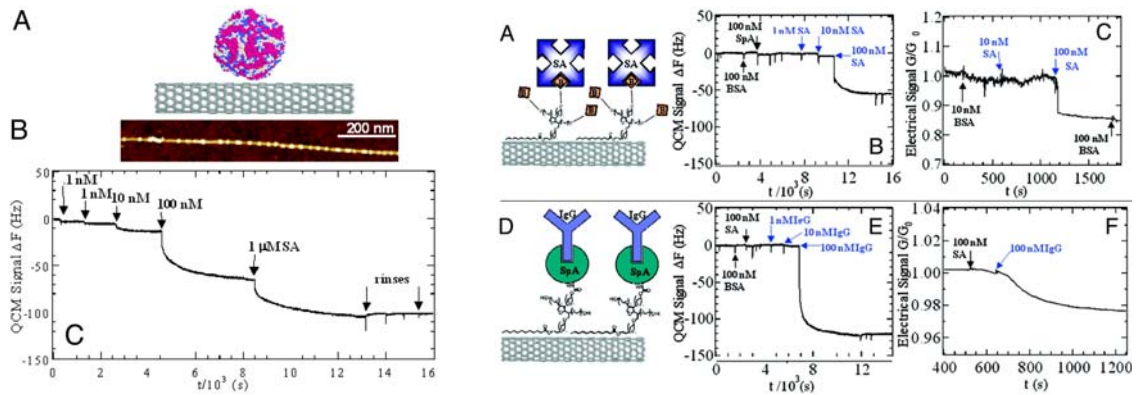
반도체 single-walled carbon nanotubes(SWNTs)을 이용하여 암모니아( $\text{NH}_3$ )와 이산화질소( $\text{NO}_2$ ) 가스를 검출한 결과를 살펴보자. 왼쪽 그림 A는 SWNT가 전극 사이에 잘 연결되어 있음을 확인한 atomic force microscopy(AFM) 이미지이다. SWNT의 지름이 약 1.8nm이고 전극은 20nm Ni에 60nm 금이 코팅되어 있다. 이런 SWNT 전극 센서에  $\text{NH}_3$ 와  $\text{NO}_2$ 를 반응시킨 후 측정된 전압-전류 그래프(back-gate voltage 4V)가 그림 B와 C이다.



NH<sub>3</sub> 가스의 경우에는 컨덕턴스(conductance)를 100배 정도 감소시키는데 반하여 NO<sub>2</sub>는 약 1000배 정도 증가시키는 것을 확인할 수 있다. 오른쪽 그림은 순수한 SWNT 전극과 두 종류의 가스를 반응하였을 경우 SWNT 전극의 gate voltage(Vg)에 따른 전류를 나타낸 그래프이다. 순수한 p-type SWNT는 양전압의 Vg에서 컨덕턴스가 약 1000배 감소하는 특성을 보였고 NH<sub>3</sub> 가스는 -2V에서 NO<sub>2</sub> 가스는 6V에서 컨덕턴스가 감소하는 것을 알 수 있다. 이러한 경향은 NH<sub>3</sub> 가스노출은 Fermi level로부터 나노튜브의 valence band를 멀어지게 하는데 반하여 NO<sub>2</sub> 가스노출은 Fermi level을 나노튜브의 valence band 근처로 이동시키기 때문이다.

## 2. Noncovalent Functionalization of CNT for Highly Specific Electronic Biosensors [3]

단백질은 CNT에 nonsepecific binding(NSB)을 하는 경향이 있다. 아래 왼쪽 그림 A는 단백질이 CNT 표면에 NSB에 의하여 결합된 모습의 개략도이고 그림 B는 AFM을 이용하여 분석한 결과로써 밝게 보이는 점들이 단백질이 흡착되어 있는 것이다. 그림 C는 quartz crystal microbalance(QCM)를 이용하여 streptavidin(SA)의 농도에 따른 NSB에 의한 진동수 변화를 측정된 결과이다. SA가 NSB에 의하여 CNT에 결합하는 것을 확인할 수 있고 세척 실험을 통하여 NSB에 의한 결합이 떨어지지 않고 CNT에 계속 남아 있음을 확인할 수 있다.



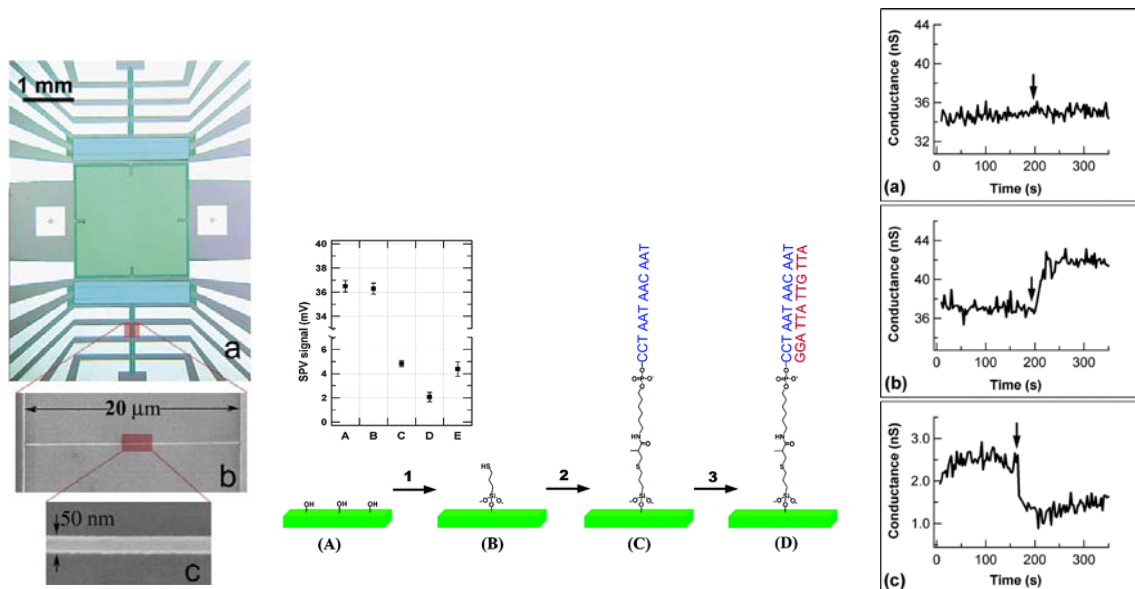
이러한 NSB에 의한 단백질 결합을 극복하기 위하여 poly(ethylenedoxide)(PEO)를 CNT 표면에 도입하였다. 이러한 과정은 NSB를 제거할 뿐만 아니라 타겟 단백질과 특정 반응을 하는 항체를 표면에 고정화할 수 있다. 오른쪽 A 그림은 바이오틴이 있는 PEO로 CNT 표면을 바꾸어 주면 SA만을 검출할 수 있는 센서로 사용할 수 있음을 보여준다. 그림 B는 실제 다양한 단백질을 이용하여 QCM을 측정된 결과이다. 대조군 단백질들(bovine serum albumin; BSA, staphylococcal protein A; SpA)에서는 변화가 없고 100nM SA에서만 변화가 있는 것을 확인할 수 있다. 이는 특정 단백질 상호작용을 검출할 수 있음을 보여주는 것이다. 그림 C는 컨덕턴스 결과로써 B에서와 동일한 경향의 결과를 보여준다.

그림 D는 PEO 표면에 단백질 SpA를 도입하면 IgG를 검출할 수 있음을 보여준다.

실제 측정 결과가 그림 E와 F이다. 대조군 단백질들(BSA, SA)에서는 변화가 없고 IgG에서만 변화 측정이 가능함을 알 수 있다. 이러한 방법을 이용한 단백질 검출의 한계는 약 1nM 정도였다.

### 3. Sequence-Specific Label-Free DNA Sensors Based on Silicon Nanowires [4]

SiNW 표면에 probe DNA를 공유결합을 통하여 도입한 후에 DNA 검출에 이용하면 높은 민감도를 가지는 센서를 제작할 수 있다. 아래의 맨 왼쪽 그림은 DNA 검출을 하기 위한 전극 모양(현미경과 SEM 이미지)으로 SiNW가 전극 사이에 잘 연결되어 있음을 알 수 있다. 가운데 그림은 probe DNA를 도입하여 타겟 DNA를 반응시키는 과정을 보여준다. 먼저 SiNW 표면에 플라즈마 처리를 통하여 수산화기를 도입한 후에 3-mercaptopropyltrimethoxysilane(MPS)을 self-assembly한다(과정 1). 기판의 가장 밖에 존재하는 thiol기와 반응하기 위하여 acrylic phosphoramidite 로 개질된 probe DNA를 도입한다(과정 2). 마지막으로 타겟 DNA(12mer)를 반응(과정 3)시켜서 각 과정에서의 surface photovoltage(SPV)를 측정한다. SPV 측정 데이터의 A-C는 과정 1-3 단계에서 측정한 결과이다. 즉, 플라즈마 처리된 기판, MPS 처리된 기판과 probe DNA가 결합된 기판의 결과이다. C에서 probe DNA가 결합함으로써 신호가 크게 감소하는 것을 볼 수 있다. D는 20pM 타겟 DNA의 결과이고 E는 20pM noncomplementary DNA(12mer 중에 1mer mismatch)의 결과이다. 두 DNA간의 전도도 차이를 쉽게 검출할 수 있으며 noncomplementary DNA는 background 이상의 값을 나타내지 않았다.



맨 오른쪽 그림은 컨덕턴스 측정 결과로 (a)는 25pM의 noncomplementary DNA 반응 결과로써 노이즈 레벨 이상의 변화를 발생시키지 않았다. 그림 (b)는 p-type SiNW의 25pM의 타겟 DNA의 결과이다. 음극을 띄는 DNA의 결합에 의하여 컨덕

턴스가 증가하는 것을 볼 수 있다. 그림 (c)는 n-type SiNW를 이용한 타겟 DNA의 결과로써 컨덕턴스가 감소하는 것을 알 수 있다. 이러한 컨덕턴스의 변화에 걸리는 시간이 1-2분으로 매우 빠르기 때문에 재현성 문제만 해결된다면 다양한 곳에서 응용 가능할 것이라 생각된다.

실험에 사용된 DNA의 sequence들은 다음과 같다.

Probe DNA: 5'-acrylic phosphoramidite-CCT AAT AAC AAT-3'

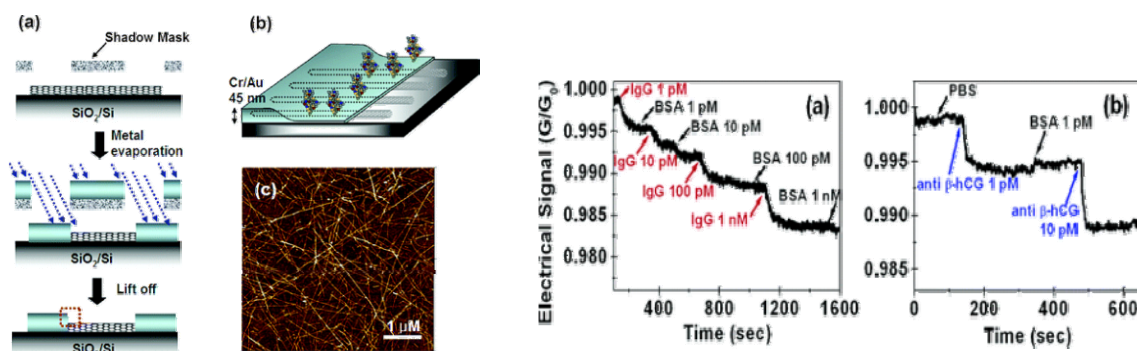
Target DNA: 5'ATT GTT ATT AGG-3'

Noncomplementary DNA: 5'-ATT GTT ACT AGG-3'

지금까지 살펴본 CNT와 NW들은 양자점이나 나노파티클들과 비교하면 표면을 개질하는 것이 현재까지는 용이하지 않다. 그러나 이러한 단점에도 불구하고 매우 빠른 실시간 검출을 할 수 있다는 장점이 있다. 따라서 활발하게 진행되고 있는 나노튜브/NW의 정렬 기술, 마이크로 전자장치에 직접 기술 및 표면 개질 기술들의 발전은 나노튜브와 NW 시스템을 이용한 나노-바이오 진단의 실용화에 크게 이바지 할 것이다.

#### 4. Network Single-Walled Carbon Nanotube-Field Effect Transistors with Increased Schottky Contact Area for Highly Sensitive Biosensor Applications [5]

SWNT를 이용한 field effect transistors(FET)에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. Schottky contact area를 증가시킴으로써 민감도를 약 1000배까지 향상시킬 수 있는 연구결과가 보고되었다. 다음 왼쪽 그림의 A는 SWNT를 chemical vapor deposition(CVD)로 성장시킨 후에 shadow mask를 이용하여 schottky contact area를 증가시키는 과정을 보여준다. 그림 C는 1.7nm 지름의 SWNT들이 네트워크로 연결된 AFM이미지이다. 이러한 전극을 이용하여 특정 단백질들의 상호작용(SpA (probe)-IgG (target) and (b) hCG (probe)-anti-hCG (target))을 측정할 것이 오른쪽 그림이다.



사용된 단백질은 protein A (SpA, derived from *Staphylococcus aureus*), mouse antibody a-hCG (anti-hCG), human chorionic gonadotropin (hCG), and rabbit immunoglobulin G (IgG)였다. Probe 단백질을 고정화한 후에 Tween 20 (0.05 wt

% in PBS solution)을 이용하여 빈 공간을 채운다. 이렇게 함으로써 NSB을 감소시킬 수 있다. 실험결과로부터 특정 상호작용 단백질에서만 컨덕턴스의 변화가 관찰되었고 대조군들(PBS buffer, Bovine serum albumin(BSA))에서는 변화가 관찰되지 않았다. 특히 검출한계가 1pM로 향상되었는데 이는 이전에 보고된 SWNT 시스템보다 약 1000배 증가한 것이다.

## 5. Outlook

NT와 NW로 제작된 센서가 보고되었을 때만해도 곧 상업화가 되어 실생활에 적용될 수 있을 것이라 많은 사람들이 생각했다. 하지만 그러한 생각은 너무 이른 것으로 판별되었다. 현재, 가스센서의 상업적 적용은 단기간(수년)에 가능하리라 생각되지만 바이오기술에의 적용에는 아직 해결해야 할 것들이 있다. 첫째, 현재까지 보고된 모든 NW와 NT 디바이스들은 직접 연구자들에 의해 제작된 것이기 때문에 비싸고 시간이 많이 소모되었다. 따라서 이런 시스템 생산에 이용될 수 대량생산 공정의 개발이 필수적이다. 둘째는 NW와 NT 센서어레이가 작동하기 위한 나노전자공학, 마이크로플루이딕스(microfluidics), 화학, 생물의 통합에 대한 개발이다. 이러한 문제점의 해결이 쉬운 과정은 아니지만 기술 진보의 빠른 과정을 통하여 앞으로 실현될 것을 확신한다.

## References

- [1] Mirkin, C. A. and Miemeyer, C. M., *Nanobiotechnology II: More Concepts and Applications*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2007.
- [2] Kong, J., Franklin, N. R., Zhou, C., Chapline, M. G., Peng, S., Cho, K., and Dai, H., "Nanotube Molecular Wires as Chemical Sensors," *Science* **287**, 622, 2000.
- [3] Chen, R. J., Bangsaruntip, S., Drouvalakis, K. A., Kam, N. W. S., Shim, M. Li, Y., Kim, W., Utz, P. J., and Dai, H., "Noncovalent functionalization of carbon nanotubes for highly specific electronic biosensors," *PNAS* **100**, 4984, 2003.
- [4] Li, Z., Chen, Y., Li, X., Kamins, T. I., Nauka, K., and Williams, R. S., "Sequence-Specific Label-Free DNA Sensors Based on Silicon Nanowires," *Nano Lett.* **4**, 245, 2004.
- [5] Byon, H. R. and Choi, H. C., "Network Single-Walled Carbon Nanotube-Field Effect Transistors (SWNT-FETs) with Increased Schottky Contact Area for Highly Sensitive Biosensor Applications," *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 2188, 2006.