광간섭 바이오센서를 이용한 환경독성물질(bisphenol A)의 검출을 위한 biochip의 연구

김춘일, 임성혁, 김수영, 정제윤, 김병우
성균관대학교 화학공학과

A Study on the developement of an interferometric biochip to sense environmental endocrine disruptor(bisphenol A)

Chun-Il Kim, Sung Hyuk Lim, Soo Young Kim, Jea-Yoon Chung, and Byung-Woo Kim
*D*epartment of Chemical Engineering, Sungkyunkwan University

서론

산업 발전과 함께 면역기능을 약화시키고 imposex현상을 일으키는 환경독성물질들이 커다란 환경문제로 대두되었다(1, 2). 이에 따라 미량의 오염물질을 짧은 시간에 감지할 수 있는 센서의 개발이 필요하게 되었다. 현재 다공성 실리콘(PS)은 표면특성을 이용하여 enzymes 고정화, DNA fragments, antibodies 등에 사용되고 있으며 센서로 사용하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다(3).

본 실험에서는 유전자 재조합 균주 *E. coli* GW1030는 외부오염물질에 대한 DNA damage 발생시 대응효소로서 β-galactosidase를 분비하며, 이 β-galactosidase의 생성량을 분석함으로써 환경독성물질로 널리 알려진 물질들을 정량적으로 검출할 수 있을 것으로 예상된다(4).

따라서 재조합 *E. coli*의 SOS 제어시스템을 통한 β-galactosidase 생성량을 분석함으로써, 환경독성물질으로 널리 알려진 bisphenol A를 검출하고, 다공성 실리콘을 이용한 biochip에서 β-galactosidase의 농도 변화에 따른 광간섭 변화를 측정함으로서 미량의 β-galactosidase를 짧은 시간에 검출하고자한다. 나아가서 기존의 생물학적 방법으로는 비교분석 할 수 없었던 극저준위의 β-galactosidase를 검출 할 수 있는 biochip의 제작에 그 목적이 있다.

본론

다공성 실리콘은 화학적 전기 화학적 식각에 의해서 얻어질 수 있으며, 이때 기공의 형태나 다공성 층의 구조는 가해지는 전류밀도, 에칭용액의 농도, 도핑농도등에 따라 변화한다. 다공성 실리콘은 enzymes, DNA fragments, antibodies 와 같은 다양한 biomolecules 가 고정될 수 있는 넓은 내부면적을 가지고 있다.

다공성 실리콘에서 나타나는 Fabry-Perot fringe 패턴에서 일어나는 변화는 다공성 실리콘에 검출대상물질을 고정시킬 수 있는 recognition group과 검출물질간의 binding에 의한 굴절율 변화에 의해서 일어나며, biomolecule을 높은 감도로서 검출할 수 있는 수단으로 사용될 수 있다. 다공성 실리콘에서의 백색광에 의한 반사는 다공성 실리콘 막의 유효광학두께(effective optical thickness)에 관계된 간섭 패턴을 나타낸다. effective optical thickness는 thickness L과 굴절율 n의 곱으로서, 다음과 같이 나타낸다(5).

$$m\lambda = 2nL$$

여기서 m은 fring order이고 λ는 빛의 파장이다.

반사 간섭 스펙트럼은 다공성 실리콘의 구조내의 굴절율에 아주 민감하다. pore내에 고정된 인식그룹과 검출물질의 상호작용은 나노결정의 반도체의 굴절율의 변화를 일으킴으로써 fringe pattern의 이동을 야기시키며, 이러한 fringe pattern의 변화를 통하여 검출하고자 하는 물질을 정량화 할 수 있다.
만들어진 wafer는 teflon 재질의 식각기 내부에서 HF/EtOH (1:1, v/v)혼합용액으로 45초간 양극식각 하였다. 식각이 진행되는 동안 DC density는 50 mA/cm^2 정도로 유지하였으며, pore의 깊이를 고르게 하기위해 UV light (254 nm)를 조사하였다. β-galactosidase (Sigma Aldrich, grade VI 5,000 units)를 다양한 농도로 희석시킨 sample을 layer 표면에 30분간 방치 후 질소를 불어넣어 건조하였으며 CCD detector (S2000, Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida, U.S.A.)를 사용하여 광간섭효과를 관찰하였다.
각 sample의 측정이 끝나면 증류수와 EtOH을 사용하여 잔류효소를 최대한 제거하였고 probe의 광원을 제외한 광침투를 방지하기위해 암상자에서 실험을 진행하였다.

결과 및 고찰

1) Silicon wafer를 HF/EtOH (1:1, v/v)혼합용액에서 45초간 양극식각 하여 실험에 적합한 porous silicon layer를 얻을 수 있었다.
2) Porous silicon layer의 기능화
(2-pyridyldithiopropionamido butyl)dimethylmethoxysilane을 이용하여 표면을 기능화하였다. 합성한 precursor는 H^1 NMR spectroscope를 이용하여 확인하였고, 기능화 후 FT-IR을 통하여 기능화 여부를 확인하였다.

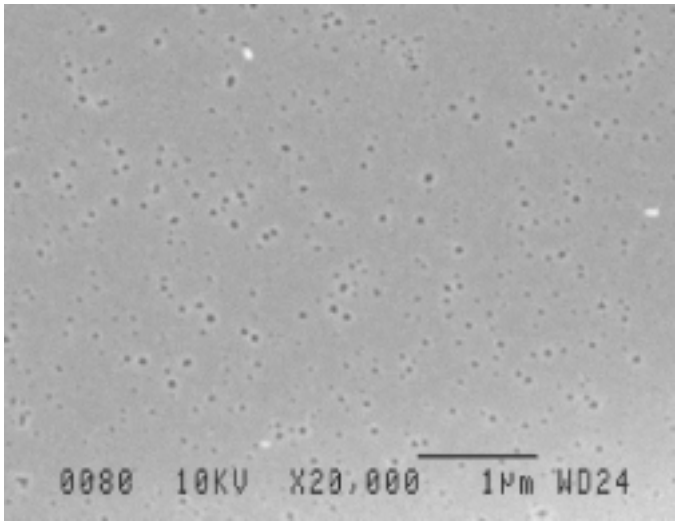
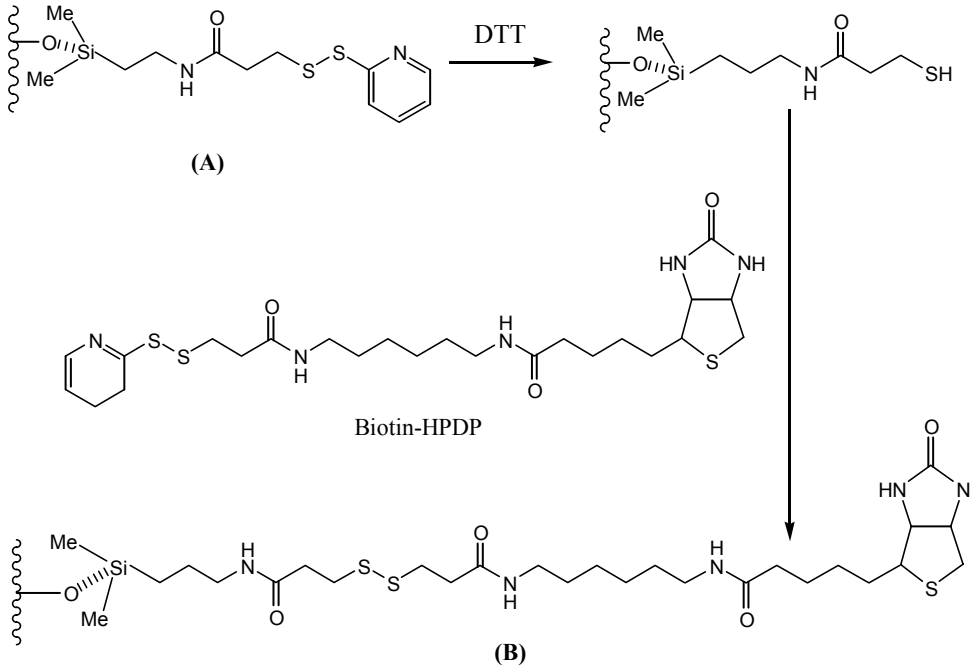
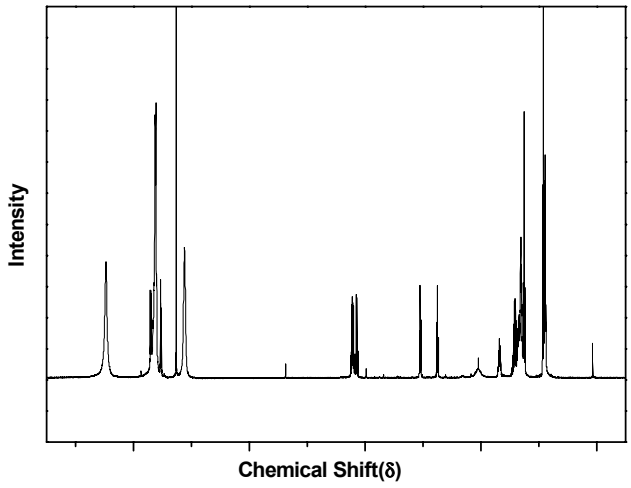
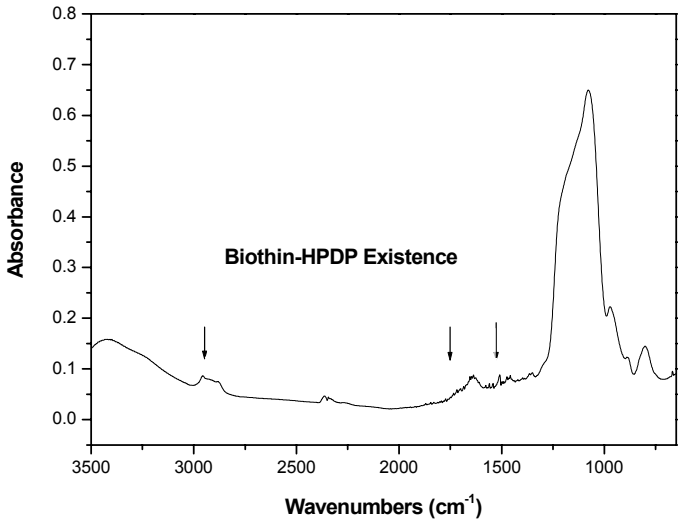


Fig.. 1. SEM image of the etched surface of a Si wafer





(A) H^1 NMR spectroscope of (2-pyridyldithiopropionamidopropyl)trimethoxysilane as a first precursor



(C) FT-IR of functionalizde porous silicon wafer

Reference

1. Bryan GW, Gibbs PE (1991) Impact of low concentrations of tributyltin on marine organisms, In: Newman MC, McIntosh AW eds. *Metal Ecotoxicology: Concepts and Applications*. Lewis Pub. Inc, Michigan, USA
2. Jobling S, Nolan M, Tyler CR, Brighty G, Sumpter JP (1998) Widespread sexual disruption in wild fish. *Environ. Sci. Technol*. 32: 2498-2506
3. Vollmer, A. C., Belkin, S., Smulski, D R., Van-Dyk, T. K., and LaRossa, R. A.: *Appl. Environ. Microbiol.,* 63, 2566(1997).
4. US EPA, 40 CFR(Code of Federal Regulation) Part 180. Environmental Protection Agency, U. S. A (1996).
5. Victor s.-y. Lin, Kianoush Motesharei, Keiki-Pua S. Dancil, Michael J. Sailor, M. Reza Ghadiri, *Science*, 278, 840-843(1997).