

## 나노 바이오 융합 단일 세포 생체 분자 측정 제어 기술

문대원\*

한국표준과학연구원

나노표면 그룹

(2004년 12월 1일 받음, 2004년 12월 15일 최종수정본 받음)

### I. 서 론

#### 1.1. 나노바이오 융합 연구의 의미

고도화된 과학 산업기술에 기반을 둔 작지만 강한 선진 문화국가라는 그림을 대한민국의 미래를 두고 그려본다는 것은 당연하다고 본다. 이러한 관점에서 과학기술 분야에서 원천고유기술의 개발은 모든 과학기술에 대한 투자의 가장 중요한 목표가 되어야 할 것이다. 일반적으로 원천기술은 장기간의 기초기반 연구를 통하여 이루어진다는 것도 모두 알고 있지만 현실적으로 그러한 성격의 투자를 장기간 지속한다는 것은 현실적으로 쉬운 일이 아니라는 것을 우리는 지난 수십년간 경험한 바 있다. 원천기술을 개발하는 또 하나의 접근 전략은 학제간 융합연구라고 본다. 지금까지 대부분의 국내 과학기술 연구는 이미 외국 선진국이 벌려놓은 큰 틀 속에서 어쩔 수 없이 늘 선진기술을 따라간다는 인식 아래에서 연구를 수행해 왔다고 볼 수 있다. 이 경우 관련 기술 분야를 구축하고 전문 인력을 육성하여 선진기술을 도입 육성하는 단계까지는 효과적이지만 최종 단계에서는 지적소유권이라는 기술 장벽을 넘지 못하거나 돌아가는 과정에서 국가의 자산으로 충분히 활용되지 못하는 경우를 피하기 어렵다. 각 전문분야간의 융합이 여러 문화 예술 분야 뿐 아니라 과학기술 분야에서도 주요한 전략개념이 되어버린 배경에는 이제는 우리도 선진기술을 단순히 따라가서 그 연구 영역에서 후발주자로서 여러 가지로 불리한 경쟁을 하는 방식을 지양하고, 다양한 융합기술 개발을 통하여 우리 나름대로의 새로운 연구영역을 개척하여 원천기술을 도출하고자 하는 국가적으로 적절한 전략 개념이 있다고 생각한다.

나노바이오 기술은 질병을 진단분석하고 또한 신약 개발을 위한 임상 검사를 빠르고 간단하게 수행할 수 있는 바이오 칩과 나노바이오 센서, 생체 화학적 특이 작용이나 자성 물질을 이용한 약물 전달시스템 등 나노 치료기술, 생체 모방 기술을 이용한 인공 조직 배양기술과 더 나아가 세포의 자가 치료 능력을 극대화 시키는 조직 공학 및 재생의학 기술, 등

을 들 수 있고 선진국에서 많은 연구가 진행되고 있고 각 기술에 대한 소개가 이미 되어있다고 생각하여 본 원고에서는 최근 시작된 나노바이오 측정제어 신기술 융합기술 개발 사업이 추구하는 새로운 나노바이오 융합 기술에 대하여 기술하고자 한다. 다양한 융합기술 개발을 통한 새로운 연구영역의 개척과 원천기술의 도출을 하고자 하는 전략 개념으로 우리는 여러 과학기술 분야 중 유난히 나노 과학기술 분야에 연구 개발 역량이 집중되어 있다는 것을 출발점으로 삼고자 한다. 세계적인 경쟁력이 있는 반도체 산업 덕분에 그 기반이 되는 나노 과학기술에 대한 집중적인 투자와 발전이 있어 온 것이 사실이다. 나노 분야의 국내 측정제어 기술은 탐침, 레이저, X선, 전자빔, 이온빔, 등을 이용하여 이미 100 nm 이하의 단일 소자의 제작에 요구되는 원자 수준이며 이는 상당한 부분 국제적으로도 선도적인 위치에 있다고 본다. 이렇게 측정된 단일 소자에 대한 원자수준의 나노 측정제어 기술을 바이오 분야에 활용하여 단일 세포에 대한 분자 수준의 측정제어 기술을 개발하여 단일 세포를 기반으로 한 새로운 바이오 연구 기술영역을 개척하고자 하는 것이다.

바이오 기술 연구개발의 주요 관심사는 유용한 생명현상에 대한 인과관계를 분자수준에서 신속히 파악하여 지적소유권을 선점하고 그로부터 배타적으로 신약을 개발하는 것인데 신약개발의 성공은 수조원대의 부가가치를 가져오기 때문에 이 분야에서의 연구개발 경쟁이 치열하게 전개되고 있다. 이러한 신약개발의 경쟁력은 이미 존재하는 생명현상을 누가 먼저 더 빠르고 정확하게 관찰, 해석하느냐에 달려있기 때문에 연구자가 사용하는 측정장비의 성능이 매우 중요한 역할을 하며 이는 이미 유전체학의 연구 분야에서 입증된 바 있다. 최근의 급속히 발전된 Proteomics, Genomics, 등 바이오 분야의 새로운 연구 영역을 살펴보면 새로운 측정기술의 개발 및 활용에 기초를 가지고 있다고 할 수 있다. 생체 내에는 수 천종의 서로 다른 단백질이 존재하고 이들과 상호작용 할 수 있는 단백질이나 리간드의 수가 각각 수 개~수 십 개에 달한다. 현재 protein 분석은 수백만 개의 세포를 시료로 하여 많은 복잡한 단계들을 거쳐서 분석되기 때문에 시료의 손실 및 미확인 단백질 발생, 미량 단백질 분석불가, 분석 가능한 단백

\*Tel: (042) 861-0609, E-mail: dwmoon@kriss.re.kr

질 수 제한, membrane 단백질 분석곤란, 각종 자동화에도 불구하고 복잡한 과정에 의한 labour-intensive한 과정을 거치기 때문에, 분석속도 감소 등의 많은 한계점들을 가지고 있다.

효율적으로 단백질의 상호작용에 관한 정보를 얻기 위해서는 새로운 나노 바이오 기술을 이용한 초정밀, 초고속, 초복합계 분석, 실시간 분석, 공간분해능 분석 등의 특성을 가진 단일세포/생체분자 분석시스템의 개발이 필요하다. 나노분야의 경우 최근의 급격한 표면분석기술, 나노분석기술의 발전에 의하여 소자와 물질 측정 및 제어에 대한 기술 수준이 상당한 수준이며 활용하고 있는 여러 공정에 대한 기본적인 이해도 거의 되어 있고 할 수 있다. 이에 비하면 바이오 분야는 여러 생명 현상에 대한 이해 정도가 나노 분야에 비하면 상대적으로 매우 빈약하고 여러 간접적인 실험 결과와 불확실한 가설에 기반을 둔 경우가 많다. 새로운 나노바이오 측정기술을 통하여 여러 복잡한 생명 현상에 대하여 그 기본 단위인 단일 세포 차원에서 분자수준의 직접적인 측정이 가능해진다면 바이오 분야에서의 측정기술의 파급효과가 나노분야에서보다 더 높다고 할 수 있다.

## 1.2. 단일세포/생체분자 측정제어에 대한 생명산업 분야의 의미

생명체가 주변 환경에 대하여 반응을 보이고 스스로 생명을 유지해 나갈 수 있게 해주는 각종 생명 현상은 많은 단백질-단백질, 단백질-ligand, 단백질-DNA, 단백질-리셉터 등과 같은 상호작용의 network에 의한 것이다. 개개의 단백질과 상호작용할 수 있는 많은 partner 중에서 어떤 것과 얼마나 특이적으로 상호 작용 하는지의 여부가 생명 현상을 결정하는 요인이 된다. 다시 말하면 정상적인 단백질 상호작용에 의해 정상적인 생명 현상이 진행되지만 그렇지 않은 경우 각종 암을 비롯한 많은 질병 들이 발생하게 된다. 따라서 특정한 단백질이 어떤 단백질 또는 ligand와 상호 작용 하는지를 밝혀 세포내에서 단백질의 기능을 규명하는 연구는 생명 현상의 이해뿐만 아니라 병의 치료 및 진단에도 역시 중요한 부분을 차지한다.

그러나 생체 내에는 수 천종의 서로 다른 단백질이 존재하고 이들과 상호작용할 수 있는 단백질이나 ligand의 수가 각각 수 개~수 십 개에 달하므로, 효율적으로 단백질의 상호작용에 관한 정보를 얻기 위해서는 새로운 나노바이오 기술을 이용한 초정밀, 초고속, 초복합계분석, 실시간 분석, 공간분해능 분석 등의 특성을 가진 단일세포/생체분자 분석 시스템의 개발이 필요하다. 또한 생체 내에 존재하는 단백질의 양은 단백질의 종류에 따라 매우 다양하여 가장 많은 발현되는 단백질과 가장 적게 발현 되는 단백질의 비율이 약  $10^6$  에 달한다. 따라서 세포내 존재하는 단백질 전체의 상호

작용을 규명하기 위해서는 나노 측정 기술을 이용하여 세포 밖과 단일 세포 내에서 단백질의 상호 작용을 분석할 수 있는 시스템의 개발이 절실히 요구된다.

따라서 미래의 생명현상 및 임상진단 관련 과학 및 기술의 개발 수준은 개개의 생활성 분자 (DNA, RNA와 protein 등) 및 세포 개체 수준에서의 측정 및 제어가 가능하여야 하고, 살아있는 상태의 단일 세포로부터의 외부 자극에 대한 물리·화학적 대사과정에 관한 정보는 생명 및 세포간 정보생산 및 전달에 관한 원천적인 이해의 폭을 더욱 넓게 할 뿐만 아니라 각종 질환진단 및 치료를 위한 신약 개발에 있어서 필수적이다.

이와 같이 세포내의 복잡한 대사과정을 분자수준에서 일목요연하게 파악할 수 있게 하는 이러한 분석기술은 그동안 생명현상의 정적 또는 불연속적 파악을 가능하게 한 유전체학, 단백질체학의 단계를 넘어 유전자-단백질생리현상의 인과관계를 동적으로 관찰, 해석하게 하는 수준으로 커다란 기술적 진보를 이룩하게 할 수 있다. 중요한 생리활성을 갖는 생체 분자를 측정하고 검출하는 것은 단일 세포 대사연구와 같은 중요한 생물학적 주체의 탐구나 다양한 질병의 조기진단에 활용이 가능하여 바이오기술의 중요한 연구분야로 자리잡고 있으며 단일세포의 대사를 탐구하는 것은 생명현상의 이해를 통한 인류의 지적영역의 확장에 기여할 뿐 아니라, 세포단위의 근본적인 질병발현의 이해를 통한 조기진단 방법 및 치료제의 개발에 결정적인 해결책을 제시할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 나노소자를 기반으로 하여, 초고감도를 소유하고 단일분자의 측정한계를 갖는 생체분자 검출기술을 개발하면 단세포 대사와 같은 생명현상의 탐구 외에도 의료, 환경, 보건, 위생, 국방 등 다양한 기술 및 산업분야에 폭 넓게 응용될 수 있어 이 기술이 갖는 기술잠재력 및 기술적 파급효과는 실로 막대할 것으로 기대된다.

## II. 단일세포/생체분자 측정제어 주요 기술 연구 현황 소개

기존 생체분자 분석기술은 그 대부분이 수 백만개의 세포를 파괴하여 얻은 혼합 용액을 분리하여 분석하기 때문에 생명 현상의 기본이 되는 단일세포에서의 정보는 매우 제한적이다. 이러한 생체분자 분석법이 놓쳐온 많은 소중한 정보를 얻기 위하여 단일세포의 생체분자 분포 분석 및 제어 기술 개발로 이 보고서에서는 단일세포의 레이저와 이온빔을 이용한 생체분자 분포분석 및 나노가공 기술, 세포막의 단일 생체분자의 분포와 상호작용을 직접 측정하는 기술, 세포 외부 용액에서 단일 생체 분자를 측정 분석하는 나노바이오 소자 및 나노광학 기술에 대하여 간단히 소개하고자 한다

### 2.1. 레이저 응용 단일 세포 위치 제어 및 Nano Surgery 기술

#### 2.1.1 세포 및 단일분자의 위치 및 방향 제어 (분자광학핀셋)

기술적으로 광학 집게 기술은 집속된 레이저 빔의 광압을 이용하여 마이크로미터 수준 또는 그 이하의 미세 대상물을 포획하고 조작하는 기술이며 생명과학과 첨단 바이오 기술 분야의 주요한 기반 기술로 이용되며, 수 nm~수십  $\mu\text{m}$ 크기의 대상물에 대해 pN 수준의 힘을 작용시키거나 측정하고, nm 정밀도로 위치를 조작 및 제어하는데 사용된다[1].

광학핀셋은 현재까지 다음의 두 가지 중요한 생물학적 응용에서 매우 유용한 도구로 사용되고 있다. 바로 DNA의 물리적 특성 연구와 바이오 분자 모터의 기작 연구이며, 광학핀셋은 이러한 연구에서 생물학적 대상물에 생화학적으로 부착한 미세 유리구 또는 polystyrene bead를 포획하여 제어하게 된다. myosin[2], RNA polymerase[3], 와 같은 단백질 모터에 대해서 진행 방식, 진행 속도, 스텝 크기, 추진력 등의 기계적 특성을 측정하거나, DNA나 RNA 조각의 탄성, 구조 변화, 상전이, 파손과 관련된 힘을 정확히 측정할 수 있음이 알려져 있다. 광학 핀셋은 미세한 크기의 대상물에 대해 단순히 위치를 변화시키고 제어하는 기능에서부터, 통계물리학에 기반한 정밀계측과 컴퓨터 제어기술을 바탕으로 교정된 힘 측정과 변위 측정을 수행할 수 있으며 유전체 구나 미세 금속 입자는 물론 바이러스, 미생물, 생세포, 세포 내 기관, 등의 생물학적 대상물에 대해서도 포획이 가능하기 때문에, cell sorting을 위한 대상물의 고립 및 분류, 미생물 추적, 세포막을 비롯한 세포내 물질의 구조 변경, 미소 힘의그림 광학 핀셋을 이용하여 정렬된 극미세 알갱이 사진인가 및 측정 등의 다양한 생물학적 응용이 이루어지고 있다.

전통적인 광학 핀셋은 광 파장 크기 이상의 물체를 포획하고 제어하는 능력은 뛰어나지만, 나노미터 크기의 입자를 강한 구속력으로 제어하는 것은 그리 효과적이지 못하다. 극히 제한된 금속 입자 외에는, 일반적인 나노 입자에 대한 포획과 제어는 원리적으로 접근하기 어렵다. 최근에는 이러한 문제를 해결하기 위하여, 나노 입자의 내부 에너지 준위와 공명을 이루는 포획광을 이용해 구속력을 극대화하는 방법이 이

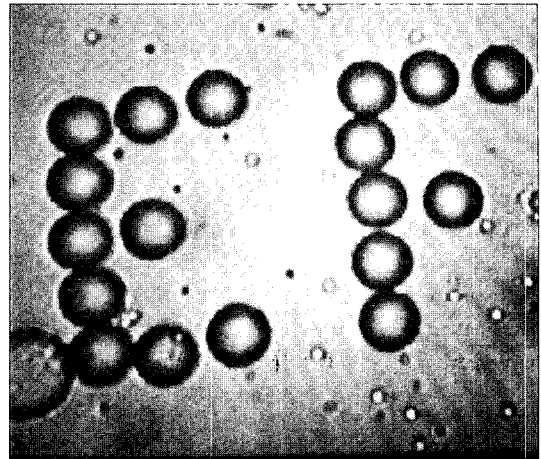


Fig. 1. 광학 핀셋을 이용하여 정렬된 극미세 알갱이 사진.

론적으로 제안되었으며[4], 입자의 크기와 모양에 따른 의존성 등도 함께 연구되고 있다. 나노 스케일의 대상체 제어를 위한 혁신적인 방법으로서, 원거리장 (far-field) 대신 근접장 (near-field) 광을 이용한 광학 집게가 L. Novotny 등에 의해 1997년에 원리적으로 제안된 바 있다[5]. 레이저 빔이 조사되는 날카로운 금속편 끝에서 발생하는 강한 국소 전기장 증대 효과를 이용하는 것으로, 매우 좁은 공간에 한정된 소멸파에 의한 포획 공간 감소, 매우 큰 전기장 변화 (field gradient)에 의한 구속력 증가, 낮은 조명광 강도 조건에 의한 광손상 위험 감소 등의 장점을 바탕으로 나노미터 크기의 유전체 입자에 대한 제어가 가능하다는 것이 수치해석 모델링을 통해 검증되었다. 이후로 나노 스케일 광학 집게의 실험적 구현과 제어 분해능 향상을 위한 많은 연구자들의 후속 연구가 계속적으로 이루어지고 있다.

#### 2.1.2. 생체 조직 광학 드릴 및 채취기술 (분자 광학끝)

LCM (Laser Capture Microdissection)이라는 방법은 미국 NIH에서 최초로 개발되고 Arcturus Engineering Inc.에서 상업화한 레이저를 응용한 미세절제술의 원형이다. 이때 CO<sub>2</sub> 레이저를 사용함으로써 최고 분해능이 40배 배율하에서 30  $\mu\text{m}$

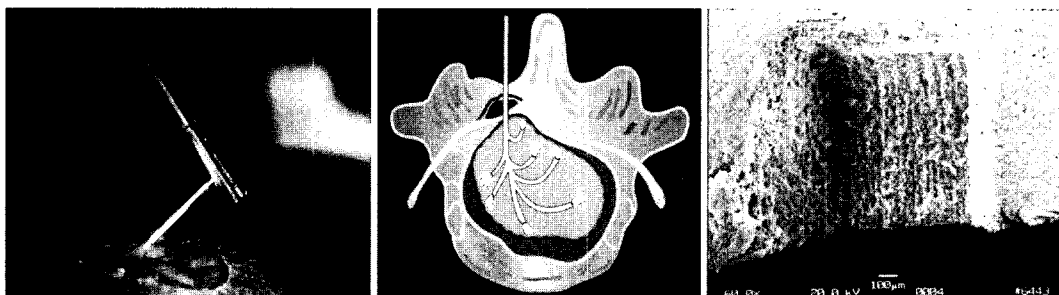


Fig. 2. 레이저를 이용하여 생체조직을 제거하는 공정 예.

*Fs*-Laser submicro-dissection for Human chromosome 1  
K. König et al. Optics Letters 2001 vol.26 819

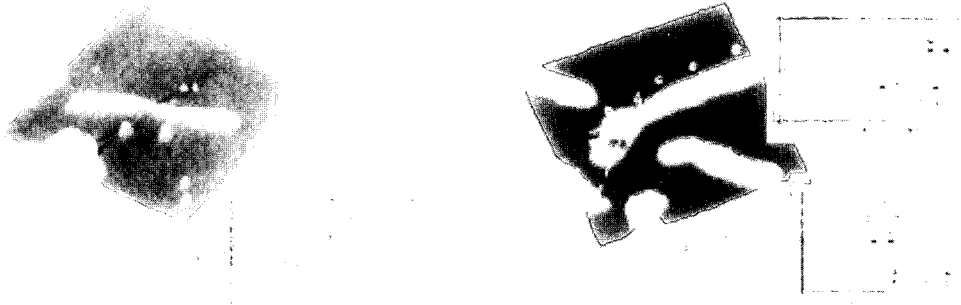


Fig. 3. 금 박막 위에 고정된 인간 염색체에 대한 펨토초 레이저 초미세 공정 결과의 AFM 이미지.

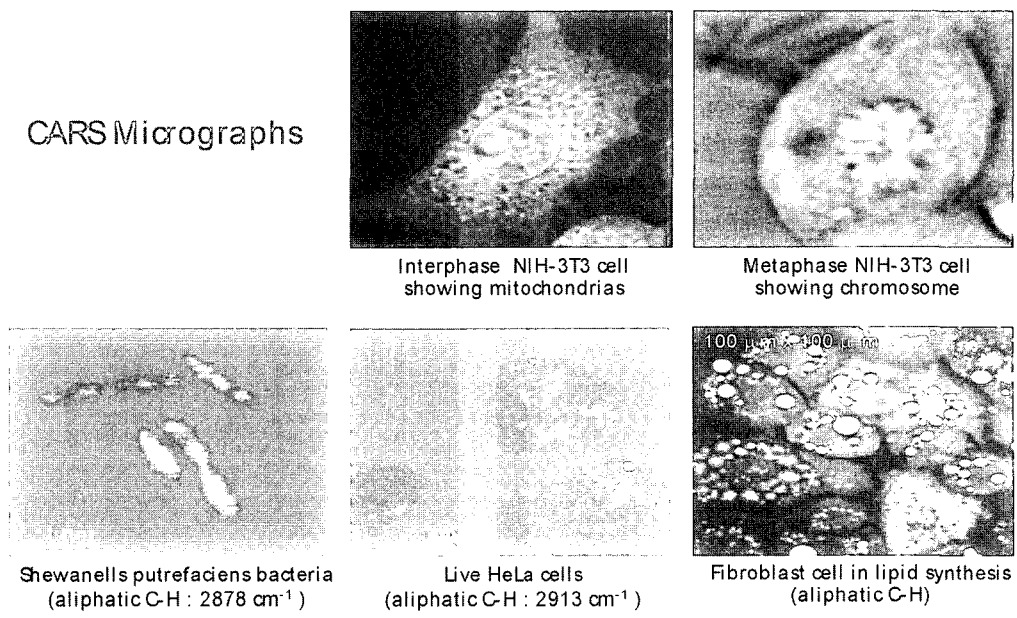


Fig. 4. 단일세포의 CARS 영상 측정 결과.

의 spot diameter로써 single cell (평균 8  $\mu\text{m}$  in diameter) 분리 및 채취하는데 적당하지 못하였음에도 불구하고 많은 연구진에서 이를 구매-활용하고 있다. 독일의 P.A.L.M Microlaser Technology AG사에서는 펄스 타입의 질소 레이저를 이용함으로써 공간적 분해능을 획기적으로 증가시켜 레이저를 이용하여 생체조직을 제거하는 공정, 예를 들면 정상 및 비정상 세포들의 분리 및 레이저 micro-tweezer법을 이용한 세포 분리를 위한 장비를 상업화하고 이를 시판 중이다.

미국에서는 Michigan 대학과 공동으로 IntraLase 사에서는 펨토초 레이저를 응용한 라식수술기를 개발하고 FDA에서 승인받고 이를 시판중이며, 일본에서는 나노기술 개발 사업의 일환으로 융합기술개발의 기반기술 확보 측면에서 펨토초레이저 관련 기술 개발 사업을 수행중이며 나노 및 마이크로미

터 수준의 첨단 물리-화학적 부품소재 공정 및 기계적 가공 기술은 나노, 바이오, 정보전자 및 환경산업 등 21세기 신산업의 혁신적인 발전을 위한 핵심전략 기술이다.

2.2. 생체분자 작용기 시공간 분해 CARS 레이저 분광분석 기술

주로 수용액 환경에 존재하는 살아있는 세포와 생활성 분자에 대해 화학적 선택성과 최소 100-nm 급 공간 분해능을 제공하기 위한 다양한 레이저 영상계측 기술 개발 노력이 꾸준히 이어지고 있고 현재 단일 세포/단일 분자 영상계측 방법으로서 가장 기본이 되고 널리 사용되는 실험실 기술이지만, 형광체를 생화학적 기능을 수행하고 있는 생활성 분자에 부착 (fluorescence tagging) 해야 하기 때문에 파생되는 많

은 문제점을 안고 있다. 특정 분자에 대한 선택적 결합 (specific binding)이 보장될 때만 유효하고, 형광체의 결합에 의해 변경된 생활성 분자가 물리, 화학, 생물학적으로 영향이 있어서는 안되며, 형광 측정과정의 광 탈색 (photo-bleaching) 이 문제점으로 보고되고 있다.

생물학적 시료에 대한 최초의 성공적인 CARS 현미경 계측 실험은 미국 Pacific Northwest National Lab의 Xie 연구그룹에 의해 시도되었으며[6], 약 0.1 mW의 안전한 평균 강도를 갖는 고반복 초고속 레이저 광원을 사용하여 3000 cm<sup>-1</sup> 근처의 화학적으로 관심이 되는 진동 분광선 영역에서 살아있는 세포를 영상화하였다. (그림 4)

**2.3. 분자분포 분석 molecular SIMS/MALDI TOFMS mapping 기술**

표준연은 80년도 중반에 이미 TOF-SIMS/ISS 장비를 자체 제작하여 SIMS 관련 기반 연구를 수행하였고 90년도 초반에는 laser ablation TOF-MS 장비를 제작하여 산화물의 분석 및 박막 성장에 대한 연구를 수행하였고 SIMS/MEIS/XPS 등 다양한 표면 및 계면 분석 장치를 이용하여 삼성, 하이닉스, 동부전자 등의 반도체 회사들에서 꼭 필요한 R&D 연구들이 한국표준과학연구원에서 지금까지 선도적으로 수행되어 왔으며 KIST에서 TOF-SIMS를 이용한 고분자 표면연구가 국내 연구진에 의해서 수행되고 있지만 단일 세포의 molecular mapping 연구는 전무하며 Proteomics 분야에서 unknown protein의 identification에 MALDI-TOF가 많이 사용되고 있지만 조직 세포나 단일 세포의 molecular mapping 연구는 전무하다.

단일 세포의 SIMS mapping 기술은 최근 5년 동안에 처음으로 시도되고있는 최첨단 측정분야로, 이론적으로는 LMIG (Liquid Metal Ion Gun)인 25 keV Ga<sup>+</sup> FIB (Focused Ion Beam) 이온빔을 이용하면 molecular weight이 수천 Dalton 인 분자 분포를 100 nm 정도의 공간분해능으로 측정이 가능하지만 높은 감도를 얻기 위하여 빔 직경이 수백 nm인 이온빔을 사용하며 단일 세포 metabolism 연구를 하기 위해서는 생체분자이온 yield의 획기적인 증가가 요구된다. 나노바이오 융합 기술 개발의 일환으로 현재 상용 장비의 한계인 Au cluster 이온원의 성능을 월등히 능가하는 C<sub>60</sub> focused ion beam을 개발하여 단일 세포/ 생체 분자 질량 분석 기술을 개발하고 있다. 최근 Ga<sup>+</sup> 이온에 의한 단일세포 SIMS imaging 결과를 이용하여 세포 융합점에서 세포막의 생체 분자 조성구조가 다르다는 것을 보여주는 bio-SIMS 연구 결과가 미국 Pennsylvania State Univ.의 Winograd 교수에 의해 발표되었다[7]. (그림 5).

Proteomics 분야에서 protein의 identification에 중요 분석 기술로 사용되는 MALDI-TOFMS 기술을 세포 조직 (tissue) 안에 존재하는 질량이 수천에서 십만 Dalton 정도의 protein 이나 peptide 이온의 화학적 이차원 공간분포 측정에 활용하여 암 조직 (tissue) 등을 연구하고 있으며 (그림 6 참조) 레이저빔으로 공간분해능은 현재 1 μm 정도까지 얻을 수 있지만 높은 감도를 얻기 위하여 실제 측정 시는 수십 μm를 사용하며, 20 Hz repetition rate을 가진 레이저를 사용하기 때문에 몇 시간의 측정이 요구되기 때문에 공간분해능이 수백 nm 정도는 되고 측정시간을 획기적으로 줄일 수 있는 기술 개발이 요구된다.

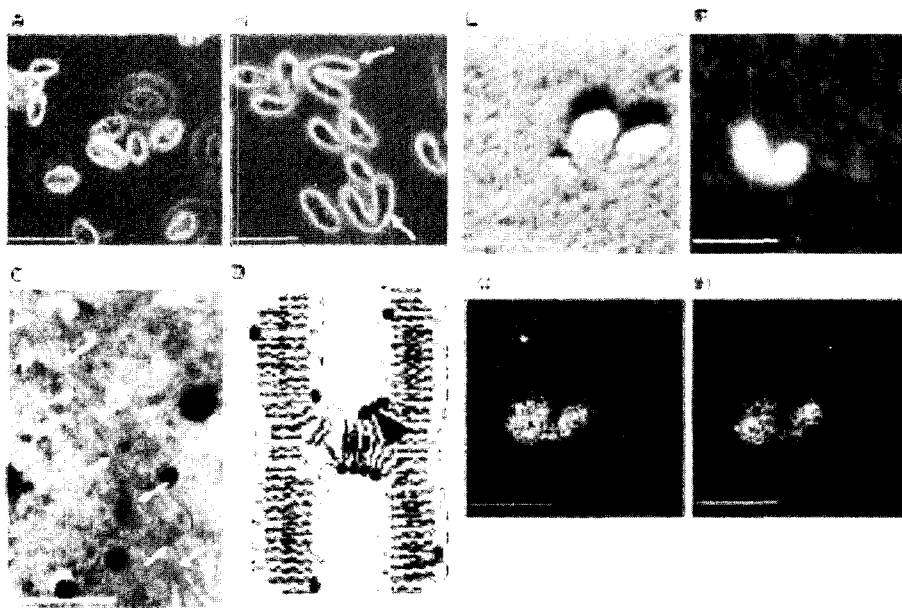


Fig. 5. Tetrahymena 세포의 SIMS image 결과 (G,H).

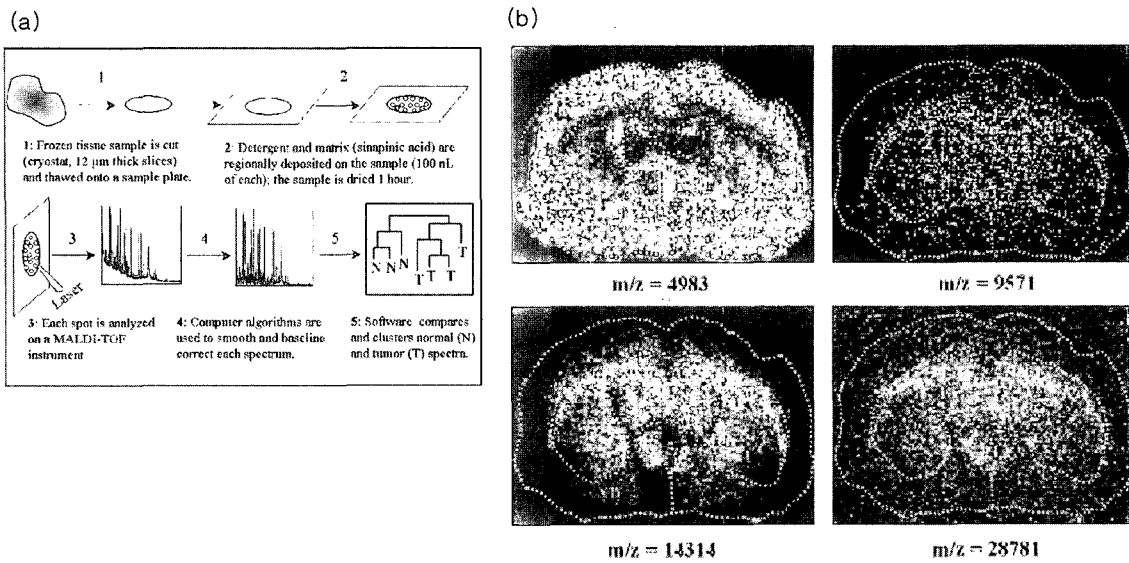


Fig. 6. (a) Human tumor에서 단백질 biomarker를 찾기 위한 2-D mapping MALDI-MS 과정 (b) Rat brain section의 MALDI-TOFMS mapping data (10x7 mm size; 100 μm step; 5 h acquisition time).

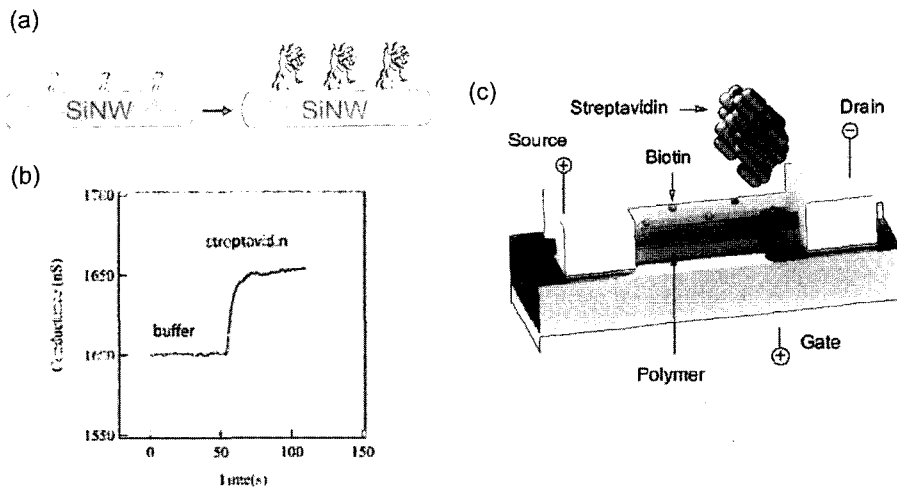


Fig. 7. 나노선 및 나노튜브를 이용한 생체분자 검출. (a) 바이오틴이 결합된 Si 나노선에 streptavidin이 결합하는 모습. (b) 전도특성의 변화. (c) 탄소나노튜브를 이용한 검출.

#### 2.4. 나노 소자기반 생체 분자 검출기술

나노선을 이용한 생체분자 감지는 Harvard 대학교의 Lieber 교수 연구진에서 가능성이 검증되었으며, 나노선 대신에 탄소나노튜브를 이용한 연구도 Nanomix 라는 회사에서 진행되어 연구 결과를 2003년에 발표한 바 있다. 나노선 응용 소자는 bottom-up 방식의 제작을 요하므로 집적과 패키징에 있어서는 기술적 어려움이 다른 소자에 비해 크지만 다양한 물질 나노선의 합성이 가능함이 보고 되고 있으므로, top-down 방식에 따르는 물질의 제약이 작아 biocompatibility 문제의 해결을 통해 in-vivo 감지 기술로의 응용 가능성이 높은 기술이다.

2001년도에 Harvard 대학교의 Lieber 교수 연구그룹에서는 실리콘 나노선에 biotin을 붙이고 여기에 streptavidin이 결합할 때 나노선 양단의 전기전도성의 변화를 확인하여 전기적인 방식으로 생체분자의 검출이 가능함을 보고하였다. 동일 그룹에서는 최근의 연구를 통해 전립선 암 인자의 농도에 따른 전도도 변화를 측정하여 생체분자의 정량이 가능함을 보여 주었으며, 그 측정 한계는 약  $10^{-15}$  M에 이르는 것으로 발표하였다[8,9].

이와 비슷한 개념의 소자를 통해 DNA를 매우 높은 감도로 측정하는 것도 가능하다. Northwestern 대학교의 Chad A. Mirkin 교수 그룹에서는 두개의 금속 전극 사이에

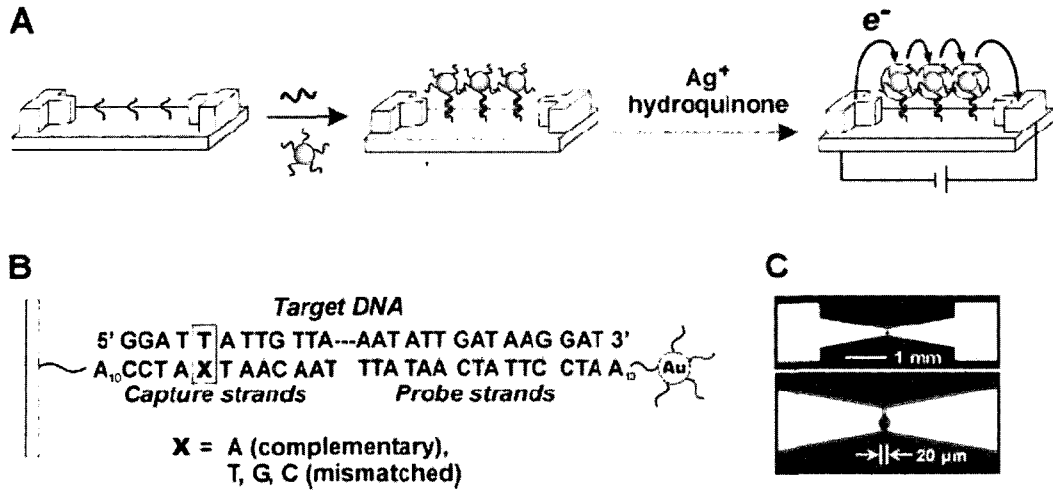


Fig. 8. (a) DNA의 전기적 감지 개념도. (b) 실험에 사용된 DNA 염기서열. (c) 측정용소자의 광학현미경 사진.

single stranded DNA를 배치하고 DNA와 금 나노입자의 결합체를 이용하여 시료중의 DNA를 전기적으로 감지하는데 성공하였다[10]. (그림 8) 이들은 측정하고자하는 DNA와 소자표면 및 금 나노입자 표면에 부착된 DNA가 결합함에 따라 금 나노입자가 전극사이에 배치되게 되는 것을 이용하여 전도도의 변화를 관측하는 방법을 이용하였다. 우선 금 나노입자가 전극 사이에 고정되면 금 나노입자 표면에는 은을 성장시켜 나노입자 사이의 간격을 줄여 전도도가 좋아지게 하였다. 곧, 이러한 과정을 통해 전도도가 변화할 때 시료 중에는 감지대상 DNA가 존재한다고 할 수 있는데 이러한 방법으로 500 fM 정도의 낮은 농도의 DNA도 검출이 가능하다고 보고하였다.

2.5. 나노 광학 slit을 이용한 단일 생체분자 분석 방법 개발

인간게놈프로젝트의 완성에 따라 DNA에 대한 관심이 더욱 높아지고 있다. 특히, 질병의 유무와 이에 대한 조기 진단의 가능성을 가지고 있으므로, DNA를 이용한 다양한 연구가 전 세계적으로 이루어지고 있다. 그러나 이러한 DNA에 대한 연구는 다수 분자들에 의한 평균적인 특성(ensemble average)을 분석에 국한되어져 있으며, single DNA에 대한 물리적, 구조적 분석 다양한 방법을 통해서 진행되고 있으나, 아직 초기 단계에 있다. 이러한 single DNA 분석은 기존의 방식과는 달리, 증폭 과정 없이 극소량의 시료를 분석할 수 있는 장점을 가진다. 예를 들면, 환자에서 추출된 혈액에서는 극소량의 DNA 샘플만을 얻을 수 있다. DNA 경우에 보편적으로 PCR (polymerase chain reaction)을 통하여 그 수를 107~109 배 정도 증폭시켜서 분석한다. 그러나, PCR 증폭 과정 자체가 까다로운 과정이며, 비특이적 증폭(non-specific amplification)에 의해서 예상치 못한 결과를 얻을 수 있다. single

molecule의 측정은 이러한 증폭 과정의 문제점을 배제할 수 있다.

사람이 가지고 있는 DNA를 길게 늘리면 상당히 길어진다. 그러나 실제적으로 생물학 분야에서 의미있는 DNA는 수십~수백 nm 정도이다. 일반적으로 사용되는 대물렌즈에 의한 분해능(R)은  $R = 0.6\lambda / N.A.$  이고, 높은 N.A.를 가지는 대물렌즈의 경우도 0.3 mm 까지의 분해능만을 얻을 수 있다. 따라서 DNA에 대한 보다 정밀한 분석을 위해서는 더욱 높은 분해능이 요구된다.

한 파장보다 작은 크기의 hole 혹은 slit에 빛을 비출 경우, 비취진 hole과 slit의 반대편에서는 evanescent wave가 형성된다. 즉, 비취진 빛은 hole과 slit을 통과하지 않고, 근처에 국소화된 전자기파인 근접장을 형성하게 된다. 이렇게 형성된 근접장은 거의 hole과 slit의 크기 정도의 분해능을 가진다. 따라서 나노 크기의 hole이나 slit을 이용하여 광학적으로도 달할 수 없는 파장 이하의 분해능을 얻을 수 있다. 그리고 이는 DNA 분자를 보다 높은 분해능으로 분석할 수 있는 가능성을 열어준다. 이러한 나노 hole 혹은 slit을 이용한 근접장은 기존의 NSOM에서와 같이 근접장을 이용하여 분석한다는 점에서 동일하다. 그러나 NSOM은 일정한 영역을 scanning하기 때문에 single molecule의 측정에 비효율적이다. 반면, 나노 hole과 slit은 마이크로 채널에서 구현할 수 있으며, 이를 통해서 single DNA를 더욱 간단한 방법으로 분석할 수 있다.

그러나 한 파장보다 작은 크기의 hole과 slit을 통과하는 빛의 투과 효율은 아주 낮다. Hans Bethe에 따르면 전기 쌍극자 근사에 의하여 투과 효율은 파장 크기 대비 구멍 반지름의 4승으로 주어진다. 투과 효율은 대략 [11]. 이는 많은 나노 광학 실험들이 작은 신호 때문에 어려움을 겪는 이유를

말해준다. 예를 들어 빛이 파장보다 10배 작은 구멍을 통과 하려면 그 효율은 고작 10-4에 달하여 나노 광학, 근접장 연구 및 광 lithography에서 모두 넘기 어려운 장벽의 역할을 하고 있다.

최근에 전 세계적으로 이러한 파장 한계에 따른 빛의 투과 효율을 극복하는 대안으로 나노 hole array나 나노 hole 혹은 slit 주위에 나노 구조를 patterning하여 투과 효율을 높이는 방법이 연구되고 있다. 1998년에 Ebbesen 등은 [12] 금속에 나노 hole을 주기적으로 뚫어놓은 구조에서 파장이 구멍의 크기보다 10배 이상인 경우라도 특정 파장에서 투과율이 수 %에 달할 수 있다는 것을 보였다. 또한 하나의 나노 hole 혹은 slit 주위에 특정한 주기로 나노 patterning을 할 경우에도, 투과 효율이 증가할 뿐만 아니라, 일정한 방향성도 가지고 있다[13]는 것을 보였다. 이러한 현상은 공간적인 분해능을 확보하면서 투과 효율 증가에 따른 많은 광량을 얻을 수 있는 방법을 제시하였다.

나노 slit을 이용한 광학적 현상의 연구를 위해서 기본적으로 나노 형태의 구조물을 제작할 수 있는 nano fabrication 기술이 선행되어야 한다. 현재 나노 slit과 나노 patterning은 금, 은, 알루미늄과 같은 전도성이 좋은 금속으로 구현되며, 일반적인 광학 lithography를 통해서 구현될 수 없으므로 photoresistor를 electron beam lithography로 patterning 한 후, ion milling을 통해 제작하거나, focused ion beam (FIB)을 이용하여 직접적으로 patterning을 하는 방법들이 있다. 이러한 방법들을 통해서 수십~수백 나노미터 수준의 patterning을 구현할 수 있다.

이와 같은 고감도 고분해능의 나노 광학 기술은 microfluidics 기술과 합쳐져 single DNA 측정을 구현할 수 있다. microfluidics 기술은 MEMS를 이용하여 제작된 마이크로 크기의 채널에서 유체의 조절을 통하여 극소량의 샘플을 정확하게 조절하여 이동하는 기술로 현재 차세대 기술로 각광받고 있다. 본 과제에서는 앞에서 설명한 나노 광학과 마이크로 채널에서의 유체 제어를 통하여, single DNA를 측정하고자 한다. MEMS 기술을 이용하여 마이크로 채널을 제작하고, 제작된 마이크로 채널위에 반사율이 높은 금속으로 나노 slit을 제작한다. 이렇게 나노 slit을 가진 마이크로 채널에 형광체가 달려있는 single DNA를 흘린다. 나노 slit에 의해서 형성된 근접장에 의해서 single DNA에 있는 형광체가 발광을 하고, 이 형광을 측정함으로써 single DNA를 측정할 수 있다. 이러한 측정을 통해서 single DNA에 대한 구조적인 형태를 파악할 수 있다.

1998년의 Nature 논문 이후 그 당시 New Jersey의 NEC에 있던 Ebbesen 그룹은 관련된 수 많은 논문을 발표한 후 2002년에 Science지에 Bull's eye 구조에 관하여 재미있는 논

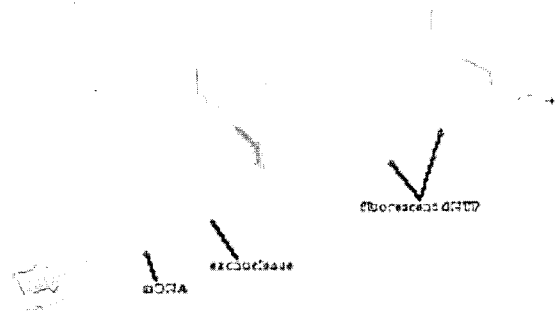


Fig. 10. 나노 광학 슬릿을 이용한 단일 DNA 분석기술 개략도.

문을 발표하였다[13]. 이 구조는 기존의 Ebbesen 구조와는 달리 빛을 가운데로 집적해주는 구조를 가지고 있다. 이를 통하여 매우 센 빛을 파장보다 더 작은 한 점에 집속할 수 있었다는 것이 이 논문의 핵심이다. 또 최근에 Ebbesen의 플라즈몬 나노 구조가 일종의 나노-waveguide로서 생물 물리의 single molecule 분광학에도 매우 유용하게 쓰일 수 있다는 것이 Cornell 그룹에 의하여 발표되었다. 현재 플라즈몬 나노 구조를 나노 lithography에 이용하려는 기초연구가 Caltech의 Atwater 그룹에서 시행되고 있다. 프랑스에서는 Fabrice Vallee 그룹이 금속 나노 공에 대하여 최근 몇 년간 연구해왔으며, Ebbesen이 Pasteur 연구소로 이적하면서 금속에 나노 구조를 만드는 focused ion beam을 NEC로부터 가져가, 탄소 나노 튜브 연구와 병행하여 본격적인 나노광학을 시작할 움직임이다. 또한 Purdue, MIT를 중심으로 하는 플라즈몬의 localization을 이용하고자 하는 움직임이 감지되고 있다. 독일 베를린의 Max-Born 연구소에서는 플라즈몬이 근접장에서 어떤 패턴을 그리는가에 대한 연구가 진행되고 있다. 특히 플라즈몬 계는 펨토와 나노가 만날 수 있는 좋은 구조라는 것에 착안하여 최근 독일 Muenchen의 Jochen Feldmann 그룹에서는 단플라즈몬 계에서의 펨토초 시간영역 damping 효과를 연구하고 있다. 이처럼 최근 세계는 표면 플라즈몬 나노 광학과 관련하여 매우 발 빠르게 움직이고 있으며 레이저를 이용한 접근도 이미 시작되고 있다.

### III. 결 론

반도체 산업을 지원하기 위하여 발전된 나노과학을 바이오 분야에도 잘 적용시킨다면 짧은 시간 안에 선진국과의 기술 격차를 충분히 줄일 수 있는 융합기술개발이 가능하다고 보며 수많은 세포들을 사용하는 labour-intensive한 분석에서 고도의 측정장비를 이용한 단일세포 연구로의 전환이 요구된다. 기술발전의 추이로 보아 BT 연구개발 기술은 단일세포 내 생화학물질 변동 추적 기술로 집중될 것으로 보이며, 따



라서 아직 기술격차가 크지 않은 시점에서 집중적인 연구개발을 통해 이와 같이 중요한 기술 분야에서 선진국을 추월할 수 있는 전기를 마련해야 한다고 본다. 향후 급성장이 기대되는 바이오시장에서 나노기술을 바탕으로 하는 첨단측정기술 및 이를 활용한 바이오 진단, 질병기작 연구 및 신 치료법 개발, 신약 스크리닝 기술, 조기 질병 진단기술, 등 신개념 바이오기술은 post 반도체시대에 국가의 핵심분야로 자리잡을 가능성이 매우 높다.

### 감사의 글

나노바이오 측정 제어 사업은 과기부/산자부의 신기술 융합 사업에 의해 지원을 받았으며 이 글의 많은 자료는 표준연의 정세채, 윤완수, 이태걸, 서울대의 김대식 박사의 도움을 받았음을 밝혀둔다.

### 참고 문헌

1. S. M. Block, Nature **360**(6403), 493(1992).
2. S. M. Block, Nature **378**, 132(1995).
3. M. D. Wang, et al., Science **292**, 902(1998).
4. T. Iida, et al. Phys. Rev. Lett. **90**, 057-403(2003).
5. L. Novotny, et al., Phys. Rev. Lett. **79**, 645(1997).
6. A. Zumbusch, et al., Phys. Rev. Lett. **82**, 4142(1999).
7. G. O. Sara, C. T. Van Bell, Nicholas Winograd, Andrew G. Ewing, Science, **305**, 71(2004).
8. Y. Q. Cui, H. P. Wei, and C. M. Lieber, Science **293**, 1289 (2001).
9. <http://cyclotron.aps.org/weblectures/biology-physics/lieber/real/>.
10. S.-J. Park, T. A. Taton, and C. A. Mirkin, Science **295**, 1503 (2002).
11. Hans Bethe, Physical Review **66**, 163-182(1944).
12. Ebbesen et al., Nature, **391**, 667(1998).
13. Ebbesen et al., Science, **297**, 820(2002).