



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0098702
(43) 공개일자 2008년11월12일

(51) Int. Cl.

B82B 3/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0043866

(22) 출원일자 2007년05월07일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

한국과학기술원

대전 유성구 구성동 373-1

(72) 발명자

이상엽

대전시 유성구 전민동 464-1 엑스포아파트 212동 702호

홍원희

대전 유성구 어은동 한빛아파트 107동 1703호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이처영

전체 청구항 수 : 총 22 항

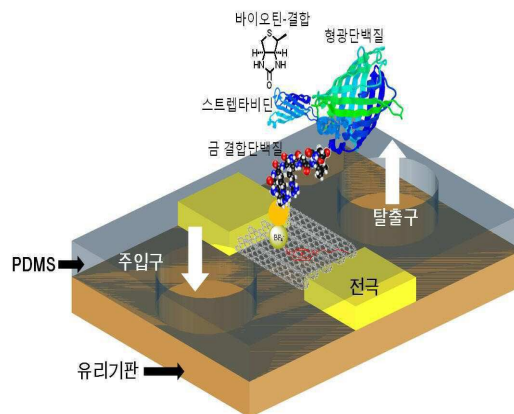
(54) 이온성 액체를 이용한 전도성 탄소나노튜브 및 이를 이용한바이오센서

(57) 요약

본 발명은 이온성 액체(ionic liquid)를 이용한 전도성 탄소나노튜브 및 이를 이용한 바이오센서에 관한 것으로, 보다 상세하게는 탄소나노튜브에 기능기의 도입과정 없이, 이온성 액체에 탄소나노튜브를 혼합한 후, 상기 혼합액을 분쇄(grinding)시켜 음이온 기를 갖는 이온성 탄소나노튜브를 제조한 다음, 상기 이온성 탄소나노튜브의 이온기에 금속 입자를 결합시켜 수득되는 전도성 탄소나노튜브 및 상기 전도성 탄소나노튜브의 금속에 표적 바이오물질과 결합하는 바이오 리셉터가 선택적으로 부착되어 있는 탄소나노튜브-바이오센서에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 고유한 탄소나노튜브의 전도성을 유지하면서 금속 입자의 균일한 도입으로 저 농도 바이오물질 및 병원성 물질을 보다 정밀하게 검출할 수 있고, 바이오 리셉터와 결합하거나 반응하는 다양한 표적 바이오물질을 금속입자에 부착하여, 한번에 대량으로 바이오 물질간 상호 반응을 전기화학적 신호를 이용하여 정확하게 검출할 수 있을 뿐만 아니라, 제조방법 또한 간단하고 친환경적이며, 저렴하여 바이오 센서로 응용가능성이 매우 크다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

박대정

대전시 서구 관저동 구봉마을아파트 819동 706호

허윤석

대전 유성구 학하동 651-40번지 (33/2)

박호석

대전 유성구 구성동 373-1번지 한국과학기술원 서
측기숙사

특허청구의 범위

청구항 1

다음의 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 전도성 탄소나노튜브의 제조방법:

- (a) 이온성 액체에 탄소나노튜브를 혼합한 다음, 상기 혼합액을 분쇄(grinding)시켜 음이온 기를 갖는 이온성 탄소나노튜브를 제조하는 단계;
- (b) 상기 이온성 탄소나노튜브에 금속을 첨가하여 탄소나노튜브의 음이온 기와 상기 금속을 결합시키는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 (a)단계의 이온성 액체와 탄소나노튜브의 중량비는 1:0.002 ~ 1:0.01인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 (b)단계의 이온성 탄소나노튜브와 금속의 중량비는 1:10 ~ 1:20인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 금속은 금(Au), 은(Ag), 백금(Pt), 실리카(Si), 철(Fe), 니켈(Ni) 및 코발트(Co)으로 구성된 그룹에서 선택되는 하나의 금속 또는 둘 이상의 합금인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 이온성 액체는 화학식 1의 화합물인 것을 특징으로 하는 방법:

화학식 1



여기서, R1은 치환 또는 비치환된 탄소 원자수 1~6개의 알킬기, R2는 치환된 탄소 원자수 1~20개의 알킬기 및, X⁻는 할로젠 원자, 테트라플루오로보레이트, 헥사플루오로포스페이트, 트리플루오로메탄설포네이트, 비스(트리플루오로메틸설포닐)이미드, 메틸설페이트, 토실레이트 및 디시안아마이드로 구성된 그룹에서 선택됨.

청구항 6

다음의 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 전도성 탄소나노튜브 필름의 제조방법:

- (a) 표면에 티올기가 노출된 기질을 제공하는 단계;
- (b) 상기 기질 표면의 티올기와 제1항의 방법에 의해 제조된 전도성 탄소나노튜브의 금속을 결합시키는 단계;
- (c) 상기 기질에 부착된 전도성 탄소나노튜브에 제1항의 방법에 의해 제조된 전도성 탄소나노튜브를 결합시켜 전도성 탄소나노튜브를 적층하는 단계;
- (d) 상기 (c) 단계를 반복하여 전도성 탄소나노튜브의 밀도를 높이는 단계.

청구항 7

제6항에 있어서, (a)단계는 탄소나노튜브를 적층시킬 기질 표면에 아미노 작용기를 노출시킨 다음, 카르복실기와 티올기를 동시에 가지는 화학물질로 처리하여, 상기 기질상의 아미노기와 상기 화학물질의 카르복실기 간에 아마이드 결합을 형성하는 것임을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 카르복실기와 티올기를 동시에 가지는 화합물은 $\text{HOOC-R}_2\text{-SH}$ (여기서, R_2 는 C_{1-20} 인 포화 탄화수소류, 불포화 탄화수소류 또는 방향족 유기기 임)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제6항에 있어서, 상기 (c) 단계는 이중 티올 작용기를 가진 링커를 이용하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 이중 티올 작용기를 가지는 링커는 $\text{HS-R}_3\text{-SH}$ (여기서, R_3 는 C_{1-20} 인 포화 탄화수소류, 불포화 탄화수소류 또는 방향족 유기기임)로 표시되는 화합물인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제6항에 있어서, 상기 기질은 원하는 위치에 전도성 탄소나노튜브를 부착하기 위하여 포토레지스트 또는 고분자 패턴이 형성되어 있는 것임을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제6항에 있어서, 상기 기질은 유리, 실리콘, 용융실리카, 플라스틱 및 PDMS로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 13

제1항의 방법에 의해 제조된 전도성 탄소나노튜브에 표적 바이오물질과 결합하거나 반응하는 바이오 리셉터를 부착시키는 것을 특징으로 하는 전도성 탄소나노튜브-바이오센서의 제조방법.

청구항 14

제6항의 방법에 의해 제조된 전도성 탄소나노튜브 필름에 표적 바이오물질과 결합하거나 반응하는 바이오 리셉터를 부착시키는 것을 특징으로 하는 전도성 탄소나노튜브-바이오센서의 제조방법.

청구항 15

제13항 또는 제14항에 있어서, 상기 바이오 리셉터는 티올기를 함유하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제13항 또는 제14항에 있어서, 상기 바이오 리셉터는 효소, 효소기질, 리간드, 아미노산, 펩티드, 단백질, 금속 결합단백질, 핵산(DNA, RNA), 지질, 코펙터 및 탄수화물로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 효소는 아세틸콜린 에스테라아제(acetylcholin esterase, AChE) 또는 포도당 산화효소(glucose oxidase, GOx)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제16항에 있어서, 상기 효소기질은 카이나제의 기질 펩티드(S^{P})인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제13항 또는 제14항에 있어서, 상기 표적 바이오물질은 효소, 단백질, 핵산, 및 상기 바이오 리셉터와 반응하는 바이오분자로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제13항의 방법에 의해 제조된 전도성 탄소나노튜브-바이오센서를 이용하는 것을 특징으로 하는 표적 바이오 물질의 검출방법.

청구항 21

제14항의 방법에 의해 제조된 전도성 탄소나노튜브-바이오센서를 이용하는 것을 특징으로 하는 표적 바이오 물질의 검출방법.

청구항 22

제20항 또는 제21항에 있어서, 검출방법은 전기적 신호를 이용하는 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<11> 발명의 분야

<12> 본 발명은 이온성 액체(ionic liquid)를 이용한 전도성 탄소나노튜브 및 이를 이용한 바이오센서에 관한 것으로, 보다 상세하게는 탄소나노튜브에 기능기의 도입과정 없이, 이온성 액체에 탄소나노튜브를 혼합한 후, 상기 혼합액을 분쇄(grinding)시켜 음이온 기를 갖는 이온성 탄소나노튜브를 제조한 다음, 상기 이온성 탄소나노튜브의 이온기에 금속 입자를 결합시켜 수득되는 전도성 탄소나노튜브 및 상기 전도성 탄소나노튜브의 금속에 표적 바이오물질과 결합하는 바이오 리셉터가 선택적으로 부착되어 있는 탄소나노튜브-바이오센서에 관한 것이다.

<13> 발명의 배경

<14> 탄소나노튜브란 지구상에 다량으로 존재하는 탄소로 이루어진 탄소 동소체로서 하나의 탄소가 다른 탄소원자와 육각형 벌집무늬로 결합되어 튜브형태를 이루고 있는 물질이며, 튜브의 직경이 나노미터(nm=10억분의 1미터) 수준으로 극히 작은 영역의 물질이다. 탄소나노튜브는 우수한 기계적 특성, 전기적 선택성, 뛰어난 전계방출 특성, 고효율의 수소저장매체 특성 등을 지니며 현존하는 물질 중 결합이 거의 없는 완벽한 신소재로 알려져 있다.

<15> 이에, 탄소나노튜브는 각종 장치의 전자방출원(electron emitter), VFD(vacuum fluorescent display), 백색광원, FED(field emission display), 리튬이온 2차전지 전극, 수소저장 연료전지, 나노 와이어, 나노 캡슐, 나노 핀셋, AFM/STM 팁(tip), 단전자 소자, 가스센서, 의·공학용 미세부품, 고기능 복합체 등에서 무한한 응용 가능성을 보여주고 있다. 이처럼 역학적 견고성과 화학적 안정성이 뛰어나고, 반도체와 도체의 성질을 모두 띠 수 있으며, 직경이 작고 길이가 상대적으로 매우 긴 특성 때문에, 탄소나노튜브는 평판표시소자, 트랜지스터, 에너지 저장체 등의 소재로서 뛰어난 성질을 보이고, 나노 크기의 각종 전자소자로서의 응용성이 매우 크다.

<16> 최근, 탄소나노튜브의 전기적, 반도체 성질 또는 구조적으로 안정한 특성을 이용하여, 바이오물질을 고정한 탄소나노튜브의 전기화학적 변화를 통한 반응검출에 대한 연구가 이루어지고 있다(Dai, H. et al., ACC. Chem. Res., 35:1035-1044, 2002; Sotiropoulou, S. et al., Anal. Bioanal. Chem., 375:103-105, 2003; Erlanger, B.F. et al., Nano Lett., 1:465-467, 2001; Azamian, B.R. et al., JACS, 124:12664~12665, 2002). 대표적인 예로, 아비딘(avidin)-바이오틴(biotin)의 단백질-리간드 반응을 들 수 있는데, 고분자로 처리된 기질 위에 탄소나노튜브를 이용하여 채널을 형성한 다음, 전기화학적 방법을 통하여 스트렙타비딘의 결합을 측정하였다(Star, A. et al., Nano Lett., 3:459-463, 2003).

<17> 또한, 고밀도의 탄소나노튜브 멀티레이어(multilayer)를 만들어 그 위에 DNA를 부착한 다음, 상보적으로 결합하는 DNA를 검출하는 방법은 게놈분석(genotyping), 돌연변이 검색(mutation detection), 병원성 균 진단(pathogen identification) 등에 유용하다. PNA(peptide nucleic acid: DNA 유사체)를 단일벽(single walled) 탄소나노튜브에 위치 특이적으로 고정하고, 목적 DNA와 상보적으로 결합하는 것을 검출한 보고가 있고(Williams, K.A. et al., Nature, 420:761, 2001), 전기화학적 방법을 통해 올리고뉴클레오티드를 탄소나노튜브 어레이에 고정하고, 구아니딘 산화(guanidine oxidation) 방법을 통해 DNA를 검출한 예도 있으며(Li, J. et al., Nano Lett., 3:597-602, 2003), 기질 상에 화학적 연결체를 사용하여 복수의 탄소나노튜브를 배열하고 여러 종류의 리셉터를 부착하여 얻어지는 멀티채널형 바이오칩에 관한 것도 개시된 바 있으나, 전기전도도가 약

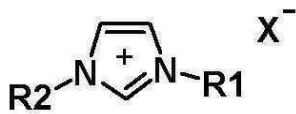
하여 정확하게 분석하기 어려운 단점이 있는 것으로 나타났다.

- <18> 한편, 탄소나노튜브를 생명공학분야에서 응용하는 사례가 최근에 많이 등장하고 있다. 글루코스 센서, 단백질의 검출, 특정 DNA 서열의 검출 (Anal. Bioanal. Chem., 375:103-105, 2003; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100(9):4984~9, 2003; Anal. Bioanal. Chem., 375:287~293, 2003) 등이 그것이다. 탄소나노튜브를 기반으로 한 다층(multilayer)에서의 생물분자 검출은 표면적이 넓고 전기전도도 성질이 우수하여 DNA와 같은 생물분자가 고정되는 양을 늘릴 수 있고, 생물분자에 대한 검출 민감도를 증대시킬 수 있다.
 - <19> 최근의 BT(biotechnology)와 NT(nanotechnology)가 결합하는 추세는 특이적으로 결합(specific binding)할 수 있는 바이오물질의 성질을 이용한 혼성 나노재료(hybrid nanomaterial)의 개발을 촉진시켰다. DNA는 원하는 위치(desired locations : 본 발명에서는 금 나노결정이 붙은 위치)에 가서 결합할 수 있는 스마트 나노와이어(smart nanowire)로 각광을 받고 있다.
 - <20> 이렇듯, 서로 다른 분야의 결합은 새로운 기술(frontier technology)을 창출하고 있다. 특히 IT(information technology), NT 및 BT의 결합은 필요불가결한 분야가 되었다. 이로부터 전기적인 검출법이라는 빠르고 정확한 디지털 정보를 바이오물질의 존재 유무와 반응성 등과 같은 아날로그 데이터 측정에 이용할 수 있게 되었다(Chen, J. et al., JACS, 122:657~660, 2000; Dahne, L. et al., JACS, 123:5431~5436, 2001).
 - <21> 현재로서는 바이오칩에서 반응결과를 검출하는 방법은 기존의 형광물질과 동위원소 등을 이용하는 방법이 가장 보편적이거나(Toriba, A. et al., Biomed. Chromatography:BMC., 17:126-132, 2003; Raj, S.U. et al., Anal. Chim.Acta, 484:1-14, 2003; Peggy, A.T. et al., J. Microbio. Meth., 53:221~233, 2003), 좀더 손쉽고 정확하게 전기적 성질을 측정할 수 있는 새로운 방법들이 시도되면서 탄소나노튜브라는 신소재의 필요성이 더욱 높아지고 있다.
 - <22> 이에, 본 발명자는 대한민국 등록특허 제0525764호에서 바이오 리셉터와 결합하거나 반응하는 다양한 표적 바이오 물질을 직접 또는 전기 화학적 신호를 이용하여 한번에 대량으로 정확하게 검출할 수 있고, 바이오물질의 특성상 액상에서 측정해야하는 특수한 상황을 극복하고 소량의 원료만으로 정확한 측정치를 얻을 수 있는 검출법을 도입하는 것이 가능한, 금속이 점재된 전도성 탄소나노튜브(탄소나노튜브) 또는 전도성 탄소나노튜브 패턴의 금속 결정에 표적 바이오 물질과 결합하는 바이오 리셉터가 선택적으로 부착되어 있는 전도성 탄소나노튜브-바이오 센서 및 그 제조방법을 개시한 바 있으나, 전도성 탄소나노튜브-바이오 센서를 제조하기 위하여 기능기를 도입하는 과정을 거쳐야 하고, 금속입자를 탄소나노튜브에 고르게 도입하기 위하여 환원제를 첨가하여야 하므로, 제조과정의 번거로움과 제조비용이 많이 드는 문제점이 있다.
 - <23> 따라서, 종래 탄소나노튜브-바이오 센서제조에 비해 간단하고 친환경적인 제조과정과 저렴한 제조비용으로 대량으로 정확하게 대상물질을 검출할 수 있고, 바이오물질의 특성상 액상에서 측정해야하는 특수한 상황을 극복하고, 소량의 원료만으로 정확한 측정치를 얻을 수 있는 검출법의 도입이 가능한 전도성 탄소나노튜브-바이오 센서의 개발이 절실하다.
- 발명이 이루고자 하는 기술적 과제**
- <24> 이에, 본 발명자들은 탄소나노튜브에 기능기의 도입과정 없이, 친환경 용매인 이온성 액체에 탄소나노튜브를 혼합한 후에, 상기 혼합액을 분쇄(grinding)하여 이온성 탄소나노튜브를 제조한 다음, 상기 이온성 탄소나노튜브에 물리적 방법으로 금 나노 입자를 균일하게 도입하여 전도성 탄소나노튜브를 제조하고, 상기 전도성 탄소나노튜브에 바이오 물질을 결합시킨 결과, 종래의 전도성 탄소나노튜브-바이오 센서에 비해 제조단계가 간단하면서, 생물분자에 대한 검출 민감도를 증대시키고, 정확히 한번에 대량으로 검출할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.
 - <25> 결국, 본 발명의 주된 목적은 탄소나노튜브의 기능기 도입과정 없이, 탄소나노튜브에 금속 입자를 점재시켜 전기 전도도가 우수한 전도성 탄소나노튜브의 제조방법을 제공하는데 있다.
 - <26> 본 발명의 다른 목적은 높은 표면밀도와 우수한 전기 전도도를 갖는 탄소나노튜브의 제조방법을 제공하는데 있다.
 - <27> 본 발명의 또 다른 목적은 전도성 탄소나노튜브 또는 전도성 탄소나노튜브의 패턴에 다양한 종류의 바이오 리셉터가 부착되어 있는 전도성 탄소나노튜브-바이오 센서의 제조방법을 제공하는데 있다.
 - <28> 본 발명의 또 다른 목적은 바이오센서를 이용하여 다양한 종류의 바이오 리셉터들에 결합하거나 반응하는 다양

한 표적 바이오 물질을 검출하는 방법을 제공하는데 있다.

발명의 구성 및 작용

- <29> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은, 일 관점에서, (a) 이온성 액체에 탄소나노튜브를 혼합한 다음, 상기 혼합액을 분쇄(grinding)시켜 음이온 기를 갖는 이온성 탄소나노튜브를 제조하는 단계; (b) 상기 이온성 탄소나노튜브에 금속을 첨가하여 탄소나노튜브의 음이온 기와 상기 금속을 결합시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 전도성 탄소나노튜브의 제조방법을 제공한다.
- <30> 본 발명에 있어서, 상기 (a)단계의 이온성 액체와 탄소나노튜브의 중량비는 1:0.002 ~ 1:0.01인 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 (b)단계의 이온성 탄소나노튜브와 금속의 중량비는 1:10 ~ 1:20인 것을 특징으로 할 수 있다.
- <31> 본 발명에 있어서, 상기 금속은 금(Au), 은(Ag), 백금(Pt), 실리콘(Si), 철(Fe), 니켈(Ni) 및 코발트(Co)으로 구성된 그룹에서 선택되는 하나의 금속 또는 둘 이상의 합금인 것을 특징으로 할 수 있다.
- <32> 본 발명에 있어서, 상기 이온성 액체는 화학식 1의 화합물인 것을 특징으로 하는 방법:
- <33> [화학식 1]



- <34>
- <35> 여기서, R1은 치환 또는 비치환된 탄소 원자수 1~6개의 알킬기, R2는 치환된 탄소 원자수 1~20개의 알킬기 및, X⁻는 할로젠 원자, 테트라플루오로보레이트, 헥사플루오로포스페이트, 트리플루오로메탄설포네이트, 비스(트리플루오로메틸설포닐)이미드, 메틸설포네이트, 토실레이트 및 디시안아마이드로 구성된 그룹에서 선택할 수 있다.
- <36> 본 발명은 또한, 상기의 방법에 의해 제조된 금속이 접재되어 있는 전도성 탄소나노튜브를 제공한다.
- <37> 본 발명은, 다른 관점에서, (a) 표면에 티올기가 노출된 기질을 제공하는 단계; (b) 상기 기질 표면의 티올기와 제7항의 전도성 탄소나노튜브의 금속을 결합시키는 단계; (c) 상기 기질에 부착된 전도성 탄소나노튜브에 제7항의 다른 전도성 탄소나노튜브를 결합시켜 전도성 탄소나노튜브를 적층하는 단계; (d) 상기 (c) 단계를 반복하여 전도성 탄소나노튜브의 밀도를 높이는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 전도성 탄소나노튜브 필름의 제조방법을 제공한다.
- <38> 본 발명에 있어서, 상기 (a)단계는 탄소나노튜브를 적층시킬 기질 표면에 아미노 작용기를 노출시킨 다음, 카르복실기와 티올기를 동시에 가지는 화학물질로 처리하여, 상기 기질상의 아미노기와 상기 화학물질의 카르복실기 간에 아마이드 결합을 형성하는 것임을 특징으로 할 수 있고, 상기 카르복실기와 티올기를 동시에 가지는 화학물질은 HOOC-R₂-SH(여기서, R₂는 C₁₋₂₀인 포화 탄화수소류, 불포화 탄화수소류 또는 방향족 유기기 임)인 것을 특징으로 할 수 있다.
- <39> 본 발명에 있어서, 상기 (c) 단계는 이중 티올 작용기를 가진 링커를 이용하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 이중 티올 작용기를 가지는 링커는 HS-R₃-SH(여기서, R₃는 C₁₋₂₀인 포화 탄화수소류, 불포화 탄화수소류 또는 방향족 유기기임)로 표시되는 화학물질인 것을 특징으로 할 수 있다.
- <40> 본 발명에 있어서, 상기 기질은 원하는 위치에 전도성 탄소나노튜브를 부착하기 위하여 포토레지스트 또는 고분자 패턴이 형성되어 있는 것임을 특징으로 할 수 있고, 상기 기질은 유리, 실리콘, 용융실리카, 플라스틱 및 PDMS로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다.
- <41> 본 발명은 또한, 상기의 방법에 의해 제조되고, 기질-[CONH-R₂-S-AU-(S-R₃-S-Au-탄소나노튜브-Au)_p]_q(여기서, p와 q는 1 이상의 자연수이고, R₂와 R₃는 C₁₋₂₀인 포화 탄화수소류, 불포화 탄화수소류 또는 방향족 유기기임)의 구조를 갖는 전도성 탄소나노튜브 필름을 제공한다.
- <42> 본 발명은, 또 다른 관점에서 상기 전도성 탄소나노튜브 또는 상기 전도성 탄소나노튜브 필름에 표적 바이오물질과 결합하거나 반응하는 바이오 리셉터를 부착시키는 것을 특징으로 하는 전도성 탄소나노튜브-바이오센서를 제공한다.
- <43> 본 발명에 있어서, 상기 바이오 리셉터는 티올기를 함유하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 바이오 리셉터는

효소, 효소기질, 리간드, 아미노산, 펩티드, 단백질, 금속 결합단백질, 핵산(DNA, RNA), 지질, 코팩터 및 탄수화물로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다.

<44> 본 발명에 있어서, 상기 효소는 아세틸콜린 에스테라아제(acetylcholin esterase, AChE) 또는 포도당 산화효소(glucose oxidase, GOx)인 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 효소기질은 카이나제의 기질 펩티드(S^P)인 것을 특징으로 할 수 있다.

<45> 본 발명에 있어서, 상기 표적 바이오물질은 효소, 단백질, 핵산, 및 상기 바이오 리셉터와 반응하는 바이오분자로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다.

<46> 본 발명은, 또 다른 관점에서, 상기 전도성 탄소나노튜브-바이오센서를 이용하는 것을 특징으로 하는 표적 바이오 물질의 검출방법을 제공한다.

<47> 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

<48> **1. 금 나노결정이 접재된 탄소나노튜브제조**

<49> 도 1에 나타난 바와 같이, 본 발명은 이온성 액체를 이용하여 전도성 탄소나노튜브를 제공하고, 또한 상기 전도성 탄소나노튜브에 바이오 리셉터를 표면에 부착한 후 표적 바이오물질을 검출하는 바이오 센서를 제공한다.

<50> 이온성 액체(ionic liquid)는 소금과 같이 금속 양이온과 비금속 음이온으로 이루어진 이온성 염 화합물이 통상 800℃ 이상의 고온에서 녹는 것과 달리 100℃ 이하의 온도에서 액체로 존재하는 이온성 염을 이온성 액체라고 하고, 특히, 상온에서 액체로 존재하는 이온성 액체를 상온 이온성 액체(room temperature ionic liquid, RTIL)라 한다. 이온성 액체는 유기 양이온과 음이온으로 구성되고, 양이온으로서는 디알킬이미다졸륨, 알킬피리디늄, 4급 포스포늄 등이 있으며, 음이온으로는 NO₃⁻, BF₄⁻, PF₆⁻, AlCl₄⁻, Al₂Cl₇⁻, AcO⁻, TfO⁻ (trifluoromethanesulfonate), Tf₂N⁻(trifluoromethanesulfonylamide, (CF₃SO₂)₂N), CH₃CH(OH)CO₂⁻(L-lactate) 등이 있다. 이와 같은 이온성 액체는 비휘발성, 무독성, 비가연성 이고, 우수한 열적 안정성, 이온전도도를 지니고 있을 뿐만 아니라, 극성이 커서 무기 및 유기 금속화합물을 잘 용해시키며 넓은 온도범위에서 액체로 존재하는 독특한 특성을 가지고 있어, 촉매, 분리, 전기화학 등 광범위한 화학분야에 응용되고 있고, 이온성 액체의 물리화학적 성질은 이온성 액체를 구성하는 양이온과 음이온의 구조를 변화시킴으로써 조절이 가능하기 때문에 사용 목적에 부합하는 이온성 액체를 용이하게 합성할 수 있어 이온성 액체를 흔히 디자이너 용매(designer solvent)라고 한다.

<51> 본 발명에 있어서, 이온성 액체는 이미다졸륨, 피리디늄, 피롤리디늄 및 몰포리늄 계이고, 하기 화학식 1의 화합물인 것이 바람직하다.

<52> [화학식 1]



<53> 여기서, R1은 치환 또는 비치환된 탄소 원자수 1~6개의 알킬기, R2는 치환된 탄소 원자수 1~20개의 알킬기 및, X⁻는 할로젠 원자, 테트라플루오로보레이트, 헥사플루오로포스페이트, 트리플루오로메탄설포네이트, 비스(트리플루오로메틸설포닐)이미드, 메틸설페이트, 토실레이트 및 디시안아마이드로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있고, 바람직하게는 R1은 치환된 탄소 원자수 1~2개의 알킬기, R2는 치환된 탄소 원자수 2~16개의 알킬기 및, X⁻는 할로젠 원자, 테트라플루오로보레이트, 헥사플루오로포스페이트, 트리플루오로메탄설포네이트, 비스(트리플루오로메틸설포닐)이미드, 메틸설페이트, 토실레이트 및 디시안아마이드로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다.

<55> 또한, 본 발명에 따른 금 나노 결정이 접재된 탄소나노튜브 제조에 사용가능한 이온성 액체는 화학식 1을 기본으로 하여 양이온성(cationic ion) 및 음이온성(anionic ion) 작용기(X⁻)의 종류와 치환된 탄소 원자수 1~2개의 알킬기(R1), 치환된 탄소 원자수 2~16개의 알킬기(R2)의 조합에 의해 제조된 이온성 액체를 이용할 수 있다 (표 1).

표 1

구분	종류	
X	양이온성 이온	이미다졸륨, 피리디늄, 피롤리디늄, 몰포리늄 계
	음이온성 이온	할로겐 원자, 테트라플루오로보레이트, 헥사플루오로포스페이트, 트리플루오로메탄설포네이트, 비스(트리플루오로메틸설포닐)이미드, 메틸설포네이트, 토실레이트 및 디시안아마이드
R1	치환된 탄소 원자 수 1~2개의 알킬기	
R2	치환된 탄소 원자 수 2~16개의 알킬기	

<57> 도 2는 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브 제작과정을 나타낸 개략도로, 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브는 이온성 액체와 탄소나노튜브를 분쇄(grinding)시켜 이온성 탄소나노튜브를 제조하고, 제조된 이온성 탄소나노튜브에 금속 전구체 첨가한 다음 물리적인 방법으로 상기 이온성 탄소나노튜브의 이온기와 금속 전구체를 반응시켜 금속 입자가 점재된 전도성 탄소나노튜브를 제조한다.

<58> 본 발명에 따른 이온성 액체와 탄소나노튜브의 중량비는 1:0.002 ~ 1:0.01인 것이 바람직하고, 이온성 액체와 탄소나노튜브의 분쇄(grinding) 시간은 15분 ~ 2시간인 것이 바람직하다. 이는 분쇄 시간이 길어질수록 분산 효과가 커지나 2시간 이상의 경우 이온성 액체의 흡착이 더 이상 발생하지 않기 때문이다.

<59> 상기와 같이 이온성 액체에서 분쇄된 탄소나노튜브(이온성 탄소나노튜브)는 금속 입자를 고르게 탄소나노튜브 벽에 분포시키기 위하여 탄소나노튜브 벽에 붙어 있지 않은 과량의 이온성 액체를 세척과정을 통해서 제거한다. 세척과정에서 사용되는 용매는 특별히 한정되어 있지 않고, 이온성 액체와 상용성이 있으면서 탄소나노튜브 벽에 붙어 있는 이온성 액체를 제거시키지 않는 용매를 선택 사용하는 것이 바람직하다. 만약 90% 이상의 이온성 액체가 탄소나노튜브 벽에 흡착되었을 경우에는 더 이상의 세척과정을 거치지 않는 것이 바람직하다.

<60> 본 발명에서 사용되는 '점재(dot)'란 용어는 탄소나노튜브에 금속이 점 모양으로 결합되는 것으로 정의된다.

<61> 본 발명에 있어서, 금속 전구체는 HAuCl₄, HAuCl₄·3H₂O, HAuBr₄, AuCl₄K, AuCl₄Na, AuBr₄K, AuBr₄Na 등과 같은 금 입자이고, 상기 금 입자 이외에도 은(Ag) 입자, 백금(Pt) 입자, 실리카(Si) 입자, 철(Fe) 입자, 니켈(Ni) 입자, 코발트(Co) 입자 등도 사용될 수 있고, 이온성 탄소나노튜브(이온성 액체/탄소나노튜브)와 금속 전구체의 중량비는 1:10 ~ 1:20이다.

<62> 본 발명에 따른 금속이 점재된 전도성 탄소나노튜브는 상기 금속 전구체에 이온성 액체에 분쇄되어 이온성을 가지는 탄소나노튜브를 첨가한 후 초음파 처리를 하여 금속전구체와 탄소나노튜브의 음이온을 반응시켜 금속 핵부위(metal nucleation site)를 생성하고, 이온 추출반응(ion extraction reaction)을 이용하여 금속 입자를 환원시켜 제조한다.

<63> 본 발명을 통해 이온성 액체와 탄소나노튜브를 분쇄시킴과 동시에 기능기가 도입되고, 분쇄된 탄소나노튜브에 흡착된 이온성 액체의 음이온을 핵 부위(nucleation site)로 이용하여 초음파 처리에 의해 크기와 양이 조절된 금속 입자를 균일하게 탄소나노튜브에 도입함으로써 금속입자가 점재된 전도성 탄소나노튜브를 제조할 수 있을 뿐만 아니라, 청정용매인 이온성 액체를 이용하므로써, 탄소나노튜브를 분산시키면서 기능기를 도입하는 과정에서 탄소나노튜브의 구조를 깨뜨리거나 전자 특성을 잃어버리는 문제점을 해결할 수 있어 전기 전도성이 우수한 전도성 탄소나노튜브를 친환경적으로 제조할 수 있다.

<64> **2. 기질 위에 멀티채널 타입(multichannel type)의 탄소나노튜브 패턴형성**

<65> 유리, 실리콘웨이퍼, 플라스틱 등의 기질에 탄소나노튜브를 일정부분 고정시키기 위해서는 액상에서 오랫동안 견딜 수 있는 패턴을 형성할 필요가 있다. 기질에 패턴을 형성하는 방법은 두 가지가 있다. 첫째는 음성감광제를 이용하여 탄소나노튜브를 적층할 부분을 제거하고, 탄소나노튜브를 적층 시킨 후, 나머지 감광막을 제거하는 방법이고, 둘째는 탄소나노튜브를 적층할 부분을 포토리소그래피(photolithography)를 이용하여 고분자 기질을 식각함으로써 형성할 수 있다.

<66> 구체적인 공정과정을 보면 첫째 음성감광막을 이용하는 방법으로 SU-8(Dowcorning co.)과 같은 감광막을 입혀 포토리소그래피 공정을 이용하여 일정부분만 제거하여 탄소나노튜브를 증착시키고 증착 후에 나머지 부분의 감광막을 제거하는 식의 반도체 공정의 가장 일반적인 방법을 사용할 수 있다.

<67> 두 번째는 실리콘기판 위에 감광막(photoresist film)을 스핀코팅하고, 일정모양의 마스크(mask)를 사용하여 노

광(expose)한 후, 현상하여 포토리소그래피 공정을 통한 일차적인 패턴을 실리콘 기판 위에 형성한다. 여기에 액상고분자를 부어 50℃에서 1시간 정도만 반 가교시킨 후, 반 가교된 반액상고분자 위에서 포토리소그래피 공정을 한번 더 수행한다. 감광막이 제거된 부분에 피라니아 액(황산 : 질산 = 3 : 1)이나 왕수(황산 : 과산화수소 = 10 : 1) 등으로 식각(etching)하여 특정부분의 고분자를 제거하고, 나머지 감광막을 제거한다. 이렇게 형성된 반가교 고분자를 70℃에서 2시간 동안 완전히 가교(curing)시킨다. 가교된 고분자를 실리콘기판에서 탈착시켜 코로나 방전을 통해 표면에 친수성(hydrophilicity)기를 형성하여 깨끗한 실리콘기판에 붙이면 일정 모양만이 노출되는 실리콘기판이 형성되어 화학적 탄소나노튜브 증착시 용액에서 원하는 부분만 증착시킬 수 있다.

<68> 상기에 서술한 바에 의하면 패턴을 형성하는데 있어서는 일정모양을 형성하는 것이 가장 중요한 것으로 다른 방법에는 일정모양의 스탬프를 먼저 실리콘기판에 놓고 액상의 고분자를 부어 굳히는 방법이 있으며 좀더 거시적으로는 굳은 고분자판에서 물리적인 방법으로 일정 부분만 제거할 수 있다. 이렇게 하여 고분자 마스크가 형성될 수 있다.

<69> 현존하는 탄소나노튜브를 이용한 바이오칩의 경우, 탄소나노튜브를 일정부분에서 성장시켜 전기적, 광학적 결과를 측정하였으나, 본 발명에서는 탄소나노튜브를 원하는 위치에 부착 또는 증착시킬 수 있다는 장점을 가진다.

<70> 상기에서 서술한 바와 같이 탄소나노튜브가 배열된 기질에 부착된 바이오물질을 전기적으로 검출하기 위해서는 액상을 유지해야 하는데, 이때 필요한 상판은 수 μ m ~ 수mm의 유체가 포함될 공간을 확보해 두어야 한다. 여기에 사용할 수 있는 기판은 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS), PMMA(polymethylmethacrylate), PC(polycarbonate), PE(polyethylene), PP(polypropylene), PS(polystyrene) 등과 같은 다양한 고분자 재료가 이용될 수 있다.

<71> 본 발명에 있어서, 탄소나노튜브는 각각 전하가 인가될 수 있도록 적어도 하나의 전도성 나노와이어(nanowires)를 통해 전원에 연결될 수 있으며, 여기서 전도성 나노와이어는 종래기술을 이용하여 단일원자로 형성할 수 있으며(Science, 275:1896-97, 1997), 전도성 금속으로 일정한 패턴을 형성한 후 이온 주입(implantation)이나 스퍼터링(sputtering)을 이용하여 전류가 흐를 수 있는 도선을 증착시킬 수 있다.

<72> **3. 기질 상에 탄소나노튜브를 적층하여 탄소나노튜브 필름을 형성하는 방법**

<73> 본 발명에서는 유리, 실리콘 웨이퍼, 플라스틱 등의 기질 상에 고분자나 포토레지스트 패턴을 형성한 다음, 상기 패턴을 마스크로 하여 아미노알킬옥시실란을 표면에 고정하여 아미노기를 기질 표면에 노출시키는 방법을 사용하였다. 상기 아미노알킬옥시실란으로는 아미노프로필트리에톡시실란을 사용하는 것이 바람직하다.

<74> 상기 아미노기가 고정된 표면에 티올 작용기를 노출시키기 위하여, 상기 아미노기를 HOOC-R₂-SH(여기서, R₂는 C₁₋₂₀인 포화탄화수소류, 불포화탄화수소류 또는 방향족 유기기임)와 같은 티올 작용기와 카르복실 작용기를 동시에 가진 화학물질의 카르복실 작용기와 아미드 결합으로 연결시킨다. 결국, 기질 표면에 티올기가 노출된 '기질-CONH-R₂-SH' 형태의 구조가 형성된다.

<75> 이때, 상기 아미드 결합의 커플링제로 DCC, HATU, HBTU, HAPyU, HAMDU, HBMDU 등과 베이스(base)로써 DIEA, TMP, NMI 등을 사용하는 것이 바람직하다. 또한 물을 용매로 사용할 때 커플링제로서 EDC를, 커플링 보조제로서 NHS, NHSS 등을 사용하는 것이 바람직하다.

<76> 도 3에서 나타난 바와 같이, 금 입자가 점재된 전도성 탄소나노튜브는 티올 작용기가 노출된 기질, '기질-CONH-X-SH'에 결합시킨다. 이때 기질 표면의 티올 작용기와 탄소나노튜브에 점재된 금 결정 사이에 Au-S 링크가 형성되어 기질 상에 탄소나노튜브가 결합하게 되어 '기질-CONH-X-S-Au-탄소나노튜브-Au' 형태의 구조가 형성된다(도 3a).

<77> 다음으로, 기질에 선택적으로 부착된 탄소나노튜브에 점재되어 있는 금과 이중 티올 작용기를 가진 링커인 HS-R₃-SH로 표시되는 화학물질을 반응시키고, 금이 점재된 전도성 탄소나노튜브를 상기 링커의 다른 한쪽 티올 작용기와 반응시킨다. 이 반응으로 '기질-[CONH-X-S-Au-탄소나노튜브-Au-S-R₃-S-Au-탄소나노튜브-Au]' 형태의 구조가 형성된다 (도 3b).

<78> 그 다음으로, 금이 점재된 전도성 탄소나노튜브와 상기 이중 티올 작용기를 가진 화학물질과의 화학반응을 반복적으로 수행하여 표면에 전도성 탄소나노튜브의 표면밀도를 높인다. 최종적으로 '기질-[CONH-X-S-Au-탄소나노튜브-Au-(S-R₃-S-Au-탄소나노튜브-Au)_p]_q'의 구조를 갖는 전도성 탄소나노튜브 패턴 또는 전도성 탄소나노튜브 필

름이 형성된다(도 3c, 도 3d). 여기서 p와 q는 1이상의 자연수이다.

<79> **4. 금 입자가 접재된 전도성 탄소나노튜브에 바이오 리셉터를 결합하는 방법**

<80> 바이오 리셉터(receptor)는 표적 바이오물질과 결합하거나 반응하는 물질로서, 상기 결합 또는 반응을 검출할 수 있는 프로브 역할을 하는 물질이 바람직하다. 이러한 바이오 리셉터로는 핵산(nucleic acids), 단백질(proteins), 펩티드(peptides), 아미노산(amino acids), 리간드(ligands), 효소 기질(enzyme substrates), 코펙터(cofactors) 등이 있다. 본 발명에 있어서, 표적 바이오물질은 리셉터와 결합하거나 반응하여 검출되는 표적 역할을 할 수 있는 물질로서, 단백질, 핵산, 또는 기타 바이오 분자가 있다.

<81> 도 4는 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브 표면의 금 입자와 결합하거나 반응하는 작용기를 지닌 다양한 리셉터가 부착된 후, 다양한 종류의 표적 바이오 물질들과 선택적으로 상호작용하는 것을 나타낸 개략도로, 1은 단백질-단백질의 상호작용을 나타내고, 2는 단백질-리간드 상호작용을 나타내며, 3은 바이오 리셉터 중에서 올리고뉴클레오티드를 나타내는 것으로, 각각은 표적 바이오물질과 반응할 수 있는 바이오 리셉터를 나타낸다. 4~7은 상기 바이오 리셉터와 반응할 수 있는 표적 바이오물질을 나타내는 것으로, 4는 항원-항체 혹은 효소 반응과 같은 단백질 반응물질을 나타내고, 5는 단백질-리간드 반응물질을 나타내며, 6은 전도성 탄소나노튜브의 금속에 고정된 상기 올리고뉴클레오티드와 혼성화 반응을 할 수 있는 상보적 핵산을 나타내고, 7은 반응성이 없는 일반 바이오물질을 나타낸다.

<82> 도 5는 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브에 티올 작용기 또는 금 결합단백질과 융합된 형태의 AChE를 고정시킨 전도성 탄소나노튜브-효소 복합체를 이용하여 농약의 저해작용을 검출하는 것을 나타낸 개략도로, 본 발명은 탄소나노튜브위에 고정된 효소를 이용하여 기질을 반응 물질로 전환하는 효소반응에 의해 발생하는 전자의 이동을 유도시켜 효소반응을 측정할 수 있고 또한, 아세틸콜린의 가수분해반응을 유도하는 AChE가 유기인계 혹은 카바메이트계 농약에 의해 활성을 저해받게 되는데 이온 및 전자의 이동도 함께 저해받게 되므로 저해 정도를 측정하는 방법을 이용하여 잔류농약 센서로서 이용할 수 있다.

<83> 도 6은 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브에 티올 작용기 또는 금 결합단백질과 융합된 형태의 GOx를 고정시킨 전도성 탄소나노튜브-효소 복합체를 이용한 바이오센서를 나타낸 개략도로, 상기 바이오 센서는 탄소나노튜브 위에 고정된 효소를 이용하여 기질을 산화시키는 반응에 의해 발생하는 이온/전자의 이동을 유도시켜 산화환원반응을 측정하여, 모든 산화 및 환원에 관여하는 효소반응에 적용할 수 있고, 이때 발생하는 산화력 및 환원력에 의해 이온 및 전자의 이동을 전기화학적으로 신호를 변화하여 센서로서 활용할 수 있다.

<84> 도 7은 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브에 티올 작용기 또는 금 결합단백질과 융합된 형태의 카이나제의 기질 펩티드를 고정시킨 전도성 탄소나노튜브-펩티드 기질 복합체를 이용한 바이오센서를 나타낸 개략도이다. 상기 바이오 센서는 탄소나노튜브위에 고정된 기질펩티드를 이용한 다양한 카이나제 효소반응에 의한 인산화 반응에 적용하여 생긴 이온/전자의 이동을 유도시켜 탄소나노튜브의 전기화학적 변화를 측정할 수 있다.

<85> 본 발명에 따른 바이오 리셉터와 바이오물질 간의 반응 검출방법으로는 내장형 검출 시스템으로서 당업계에 잘 알려진 전기적 검출법, 공진법(resonance) 또는 형광체를 이용한 방법 등을 사용할 수 있다. 전기적 신호에 의해 검출하는 방법을 사용하는 것이 바람직하며, 이 경우 바이오 리셉터와 표적 바이오물질의 반응시 탄소나노튜브에서 발생하는 미세한 전위차의 변화를 적당한 회로를 통해 모니터링하여 검출할 수 있다.

<86> **5. 결합 검출 시스템**

<87> 바이오센서의 전기적 특성 측정용도의 프로브 스테이션과 바이오센서에서 발생하는 형광물질을 검출하는 형광 현미경을 이용하여 반응결과를 측정할 수 있다. 또한, 반응물에 방사선 동위원소를 부착시켜 반응 후, 일정면에서 계측기를 이용하여 방사선을 측정하는 기존의 방법을 이용할 수도 있다.

<88> 본 발명에서는 탄소나노튜브의 민감한 전기적 성질을 활용한다는 취지에서, 상기 방법 중 전기적인 성질을 이용한 방법을 구체화하였다. 바이오물질의 특성상 액상에서 측정해야하는 경우가 많으므로, 본 발명에서는 액상에서 탄소나노튜브의 전기적 수치를 계측하는데 초점을 맞추었다. 탄소나노튜브의 표면에 부착된 바이오물질의 이온농도를 측정하기 위하여 본 발명에서는 세 가지 방법을 이용하였다. 구체적으로는 탄소나노튜브 표면에 카이나제 효소의 기질펩티드가 결합되어 있는 도 7에 따른 탄소나노튜브-Au-기질펩티드 복합체를 카이나제 효소반응에 적용하여 상기 반응결과로 발생하는 이온농도는 하기 3가지 방법으로 측정하는 것이 가능하다.

<89> 첫 번째는 특수 용질을 이용하여 산화환원반응을 유도한 후 포텐티오스탯(potentio stat)과 같은 장비를 사용하여 측정하는 것이고, 두 번째는 축전기의 개념을 사용하여 축전관 내부의 이온량을 전기적 조절을 통

해 측정하는 것이며, 세 번째는 대전체의 원리를 이용하여 주변의 이온의 세기에 따라 대전판의 박막이 벌어지는 정도를 측정하는 것이다.

<90> 첫 번째의 산화환원반응은 현재 보편화된 전기화학적 검출법으로, 사이클릭 볼타메트리(cyclic voltametry)와 포텐티오메트리(potentiometry) 그리고 암페로메트리(amperometry) 등을 이용한 장치(Potentiostat/Galvanostat, Ametech co.)를 사용하여, 탄소나노튜브에 연결된 도선과 바이오물질을 감싸고 있는 특정 용질을 포함한 액체에 전극을 담귀 반응 전후의 결과를 측정하는 것이다.

<91> 두 번째의 축전기의 원리를 이용한 이온의 농도측정은, 탄소나노튜브가 부착된 기질위에 액체를 사이에 두고 백금이나 금으로 형성된 새로운 기질을 제작하여 전극을 연결하고, 진동전극을 전해질이 포함된 용액에 담귀 직류와 교류를 적당히 조절함으로써 용액에 생성되는 진동을 측정할 수 있다.

<92> 세 번째의 대전판 원리를 이용하는 방법은, 고분자로 덮은 칩에 대전박막을 쫓아 박막이 벌어지는 정도를 게이지를 통해 측정하는 것이다.

<93> 여기서 전해질과 전류의 관계는 "전해질 수용액의 농도 \propto 전류의 세기" 이다. 즉 탄소나노튜브 표면에 생긴 반응물의 이온농도에 따른 전해질의 농도분포가 전류의 세기에 비례하므로 아래쪽 기작에서 형성된 이온의 농도를 측정할 수 있다.

<94> 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

<95> **실시예 1: 금(Au) 입자가 점재된 전도성 탄소나노튜브의 제조**

<96> 이온성 액체인 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate 484mg과 탄소나노튜브 1mg을 혼합하고 상기 혼합물에 20분간 분쇄시킨 다음, 이온성 액체에서 분쇄된 상기 탄소나노튜브에 존재하는 과량의 이온성 액체를 제거하기 위하여 증류수로 상기 탄소나노튜브를 10여 차례 세척하였다. 과량의 이온성 액체가 제거된 상기 이온성 탄소나노튜브는 60℃의 온도로 2일 동안 진공 건조시켜 이온성 탄소나노튜브를 제조하였다. 상기 방법으로 제조된 이온성 탄소나노튜브 1mg을 $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 5.32mg과 $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ (부피비 3/1) 4ml의 혼합 용액에 첨가 후, 30초 동안 초음파 처리를 하였다. 초음파 처리된 상기 탄소나노튜브를 24시간 동안 진공 건조시켜 평균 직경이 3nm인 금 나노입자가 탄소나노튜브 벽에 점재된 전도성 탄소나노튜브를 제조하였다.

<97> 도 8의 (a)는 전술한 바와 같은 방법으로 제조된 금 입자가 점재된 전도성 탄소나노튜브를 TEM(transmission electron microscope)의해 분석한 투과전자현미경사진으로, 3~5nm 크기의 금 나노 입자가 균일하게 탄소나노튜브 벽에 도입되었음을 확인할 수 있었고, 도 8의 (b)는 고배율로 확대 관찰한 HR-TEM(high resolution-TEM) 사진으로, 상기 사진에서 측정된 격자(lattice)의 규칙적인 d-스페이싱(d-spacing)은 $2.36 \pm 0.02 \text{ \AA}$ 이었다. 이는 금의 {111}평면에 대한 문헌상의 값(2.355Å)과 거의 일치하는 값이다(Powder Diffraction Data File 38-1364, Inorganic Phases, JCPDS International Centre for Diffraction Data, Swathmore, PA, 199).

<98> **실시예 2: 금이 점재된 탄소나노튜브의 패턴 제작**

<99> 실리콘기판 위에 감광막(photoresist film)을 스핀코팅하고, 일정모양의 마스크(mask)를 사용하여 노광(expose)한 후, 현상하여 포토리소그래피 공정을 통한 일차적인 패턴을 실리콘 기판 위에 형성하였다. 여기에 액상고분자를 부어 50℃에서 1시간 정도만 반 가교시킨 후, 반 가교된 반액상고분자 위에서 포토리소그래피 공정을 한번 더 수행하였다. 감광막이 제거된 부분에 피라니아 액(황산 : 질산 = 3 : 1)으로 식각(etching)하여 특정부분의 고분자를 제거하고, 나머지 감광막을 제거하였다. 이렇게 형성된 반가교 고분자를 70℃에서 2시간 동안 완전히 가교(curing)시킨 후, 가교된 고분자를 실리콘기판에서 탈착시켜 코로나 방전을 통해 표면에 친수성(hydrophilicity)기를 형성하여 깨끗한 실리콘기판에 붙이면 일정 모양만이 노출되는 실리콘기판이 형성되어 탄소나노튜브 증착시 용액에서 원하는 부분만 증착시키도록 하였다.

<100> 상기 실리콘 기판의 패턴을 마스크로 하여 아미노프로필트리에톡시실란을 표면에 고정하여 아미노기를 기질 표면에 노출시켜 사용하였으나, 시판중인 아민으로 표면 처리된 기질을 구입하여 사용하는 것도 가능하다.

<101> 상기 아미노기가 고정된 표면에 티올 작용기를 노출시키기 위하여, 상기 아미노기를 $\text{HOOC-R}_2\text{-SH}$ 와 같은 티올 작용기와 카르복실 작용기를 동시에 가진 화학물질의 카르복실 작용기와 아미드 결합으로 연결시켜서, 기질 표면에 티올기가 노출된 '기질-CONH-R₂-SH' 형태의 구조가 형성되도록 하였다. 이때, 상기 아미드 결합의 커플링제

로 EDC를, 커플링 보조제로서 NHS를 사용하였다. 또한, 반응시 용매로서는 물을 사용하였다. 이후, 기질 표면의 티올 작용기와 탄소나노튜브에 접재된 금 결정 사이에 Au-S 링크가 형성되도록 하여 기질상에 탄소나노튜브를 결합시킨 다음, 기질에 선택적으로 부착된 탄소나노튜브에 접재된 금과 이중 티올 작용기를 가진 링커인 HS-R₃-SH로 표시되는 화학물질(1,4-butanedithiol)을 반응시키고, 금이 접재된 전도성 탄소나노튜브를 상기 링커의 다른 한쪽 티올 작용기와 반응시켰다. 이 반응을 반복적으로 수행하여, 표면에 전도성 탄소나노튜브의 표면밀도를 높일 수 있었다. 최종적으로 제조된 전도성 탄소나노튜브 패턴에 대한 투과전자현미경 사진을 도 9와 같이 나타내었다.

<102> 실시예 3: 금이 접재된 탄소나노튜브 패턴에서의 바이오 센싱 측정

<103> 실시예 1에서 제조된 금 입자가 접재된 전도성 탄소나노튜브가 패턴화된 칩에서 전도도를 측정하고, 상기 전도성 탄소나노튜브가 패턴화된 칩에 금 결합 단백질과 스트렙타비딘 융합단백질을 부착시킨 후에도 전도도를 측정하여 바이오 리셉터와 반응물질의 반응을 유도한 후 각각의 과정에서 전도도를 측정하였다.

<104> 실험결과, 도 10에 나타난 바와 같이, 금 결합단백질과 스트렙타비딘 융합단백질이 부착된 후 전도도의 감소폭이 크게 나타났다. 이것은 바이오 리셉터가 부착되면 저항값이 높아지는 것을 의미한다. 또한, 스트렙타비딘에 결합하는 표적바이오 물질인 바이오틴-퍼옥시다아제(biotin-HRP)을 결합하였을 경우에는 전도도 역시 바이오 리셉터가 부착된 것보다 더 전도도가 감소하는 것으로 나타났다. 이것 역시 저항값의 증가를 의미하는 것으로, 전도성 탄소나노튜브를 이용한 바이오센서로서 활용될 수 있음을 나타내고 있고, 금 입자가 접재된 탄소나노튜브가 그렇지 않은 탄소나노튜브보다 전도도가 2배 이상 높아졌기 때문에 상기 전도성 탄소나노튜브가 전기화학센서로 활용될 수 있음을 알 수 있다. 여기서, 전도도는 저항값의 역수를 나타내는 수치로서 전류값을 전압치로 나눈 값으로, 본 결과에서는 mS(S/1000)로 나타내었다.

발명의 효과

<105> 이상에서 상세히 설명한 바와 같이, 본 발명은 탄소나노튜브의 기능기 도입과정 없이, 금속 입자를 접재하여 전기 전도도가 우수한 탄소나노튜브 및 그 제조방법을 제공하는데 효과가 있다. 본 발명에 따르면, 고유한 탄소나노튜브의 전도성을 유지하면서 금속 입자의 균일한 도입으로 저 농도 바이오물질 및 병원성 물질을 보다 정밀하게 검출할 수 있고, 바이오 리셉터와 결합하거나 반응하는 다양한 표적 바이오 물질을 금속입자에 부착하여, 한번에 대량으로 바이오 물질간 상호 반응을 전기화학적 신호를 이용하여 정확하게 검출할 수 있을 뿐만 아니라, 제조방법 또한 간단하고 친환경적이며, 저렴하여 바이오 센서로 응용가능성이 매우 크다.

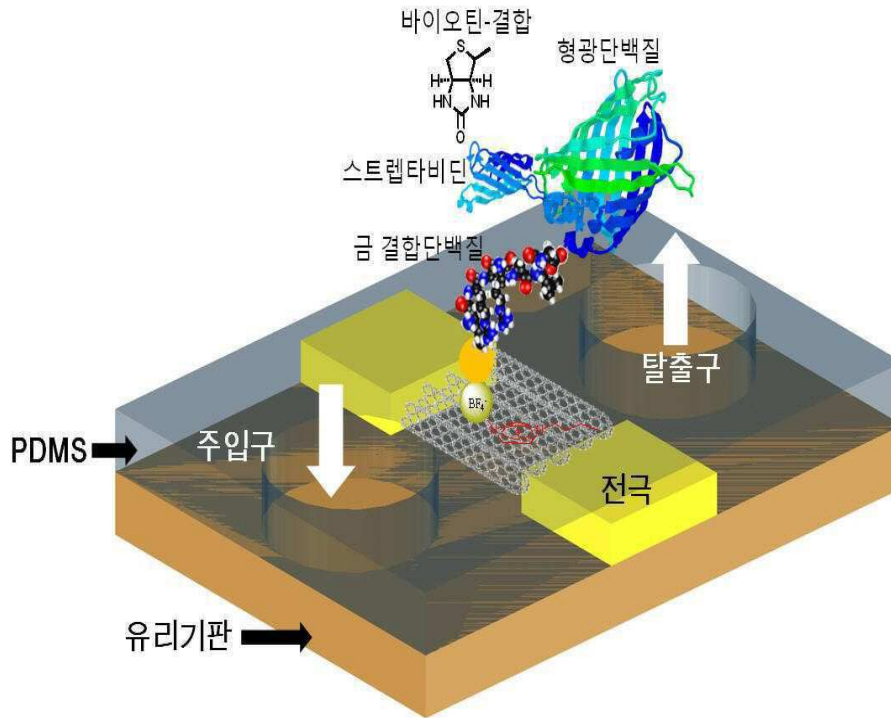
도면의 간단한 설명

- <1>** 도 1은 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브에 바이오 리셉터를 표면에 부착한 후 표적 바이오물질을 검출하는 것을 나타낸 개략도이다.
- <2>** 도 2는 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브 제작과정을 나타낸 개략도이다.
- <3>** 도 3은 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브 패턴의 집적화 과정을 보여주는 공정도로, (a)는 패턴이 형성된 기질 표면에 티올기(-SH)를 노출시키고, 금 입자가 접재된 탄소나노튜브 단층을 고정하는 개략도이고, (b)는 상기 (a)에서 형성된 탄소나노튜브 단층에 두개의 티올기를 가지는 화학물질을 이용하여 또 다른 금 입자가 접재된 탄소나노튜브를 고정하는 개략도이며, (c)는 상기(b)의 방법을 반복하여 표면에 금 입자가 접재된 탄소나노튜브의 표면 밀도를 높이는 것을 나타낸 개략도 이고, (d)는 상기 (c)의 방법을 반복하여 금 입자가 접재된 탄소나노튜브를 고밀도로 적층하는 방법을 보여주는 개략도이다.
- <4>** 도 4는 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브 표면의 금 입자와 결합하거나 반응하는 작용기를 지닌 다양한 리셉터가 부착된 후, 다양한 종류의 표적 바이오 물질들과 선택적으로 상호작용하는 것을 나타낸 개략도이다.
- <5>** 도 5는 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브에 티올 작용기 또는 금 결합단백질과 융합된 형태의 AChE를 고정시킨 전도성 탄소나노튜브-효소 복합체를 이용하여 농약의 저해작용을 검출하는 것을 나타낸 개략도이다.
- <6>** 도 6은 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브에 티올 작용기 또는 금 결합단백질과 융합된 형태의 GOx를 고정시킨 전도성 탄소나노튜브-효소 복합체를 이용한 바이오센서를 나타낸 개략도이다.
- <7>** 도 7은 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브에 티올 작용기 또는 금 결합단백질과 융합된 형태의 카이나제의 기질 펩티드를 고정시킨 전도성 탄소나노튜브-펩티드 기질 복합체를 이용한 바이오센서를 나타낸 개략도이다.

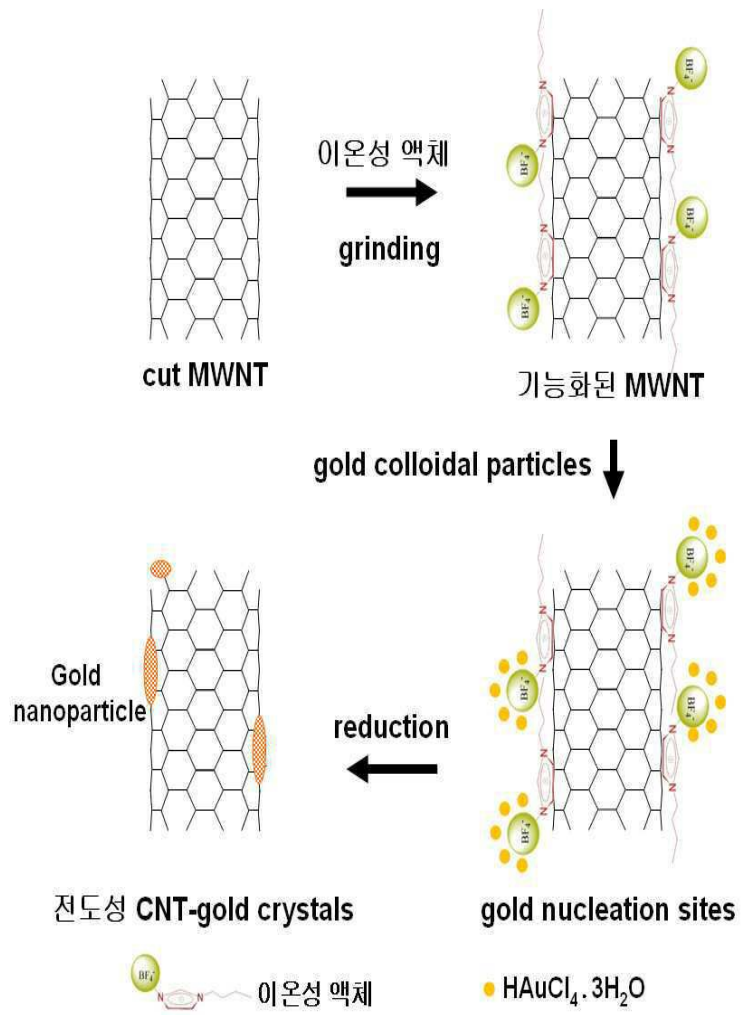
- <8> 도 8은 본 발명에 따른 금 입자가 점재된 탄소나노튜브 투과전자현미경사진(TEM)으로, (a)는 금 입자가 점재된 탄소나노튜브 TEM 사진이고, (b)는 상기 (a)를 고배율로 확대 관찰한 HR-TEM 사진이다.
- <9> 도 9는 본 발명에 따른 실리카 기질 상의 탄소나노튜브 패턴을 보여주는 투과전자현미경 사진이다.
- <10> 도 10은 본 발명에 따른 전도성 탄소나노튜브에 바이오 리셉터와 반응물질의 반응 유도한 후 각각의 과정에서 전도성을 측정한 그래프이다.

도면

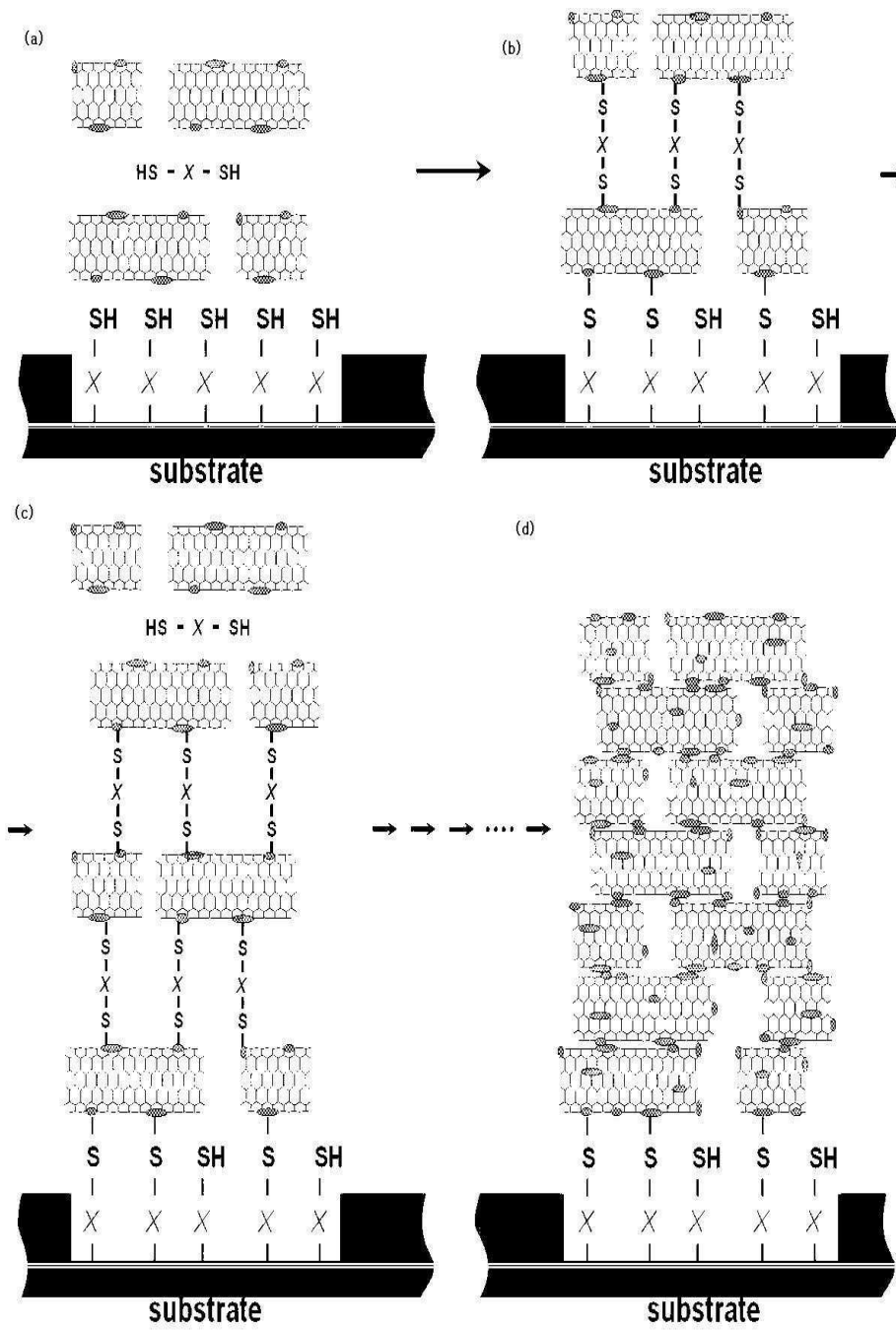
도면1



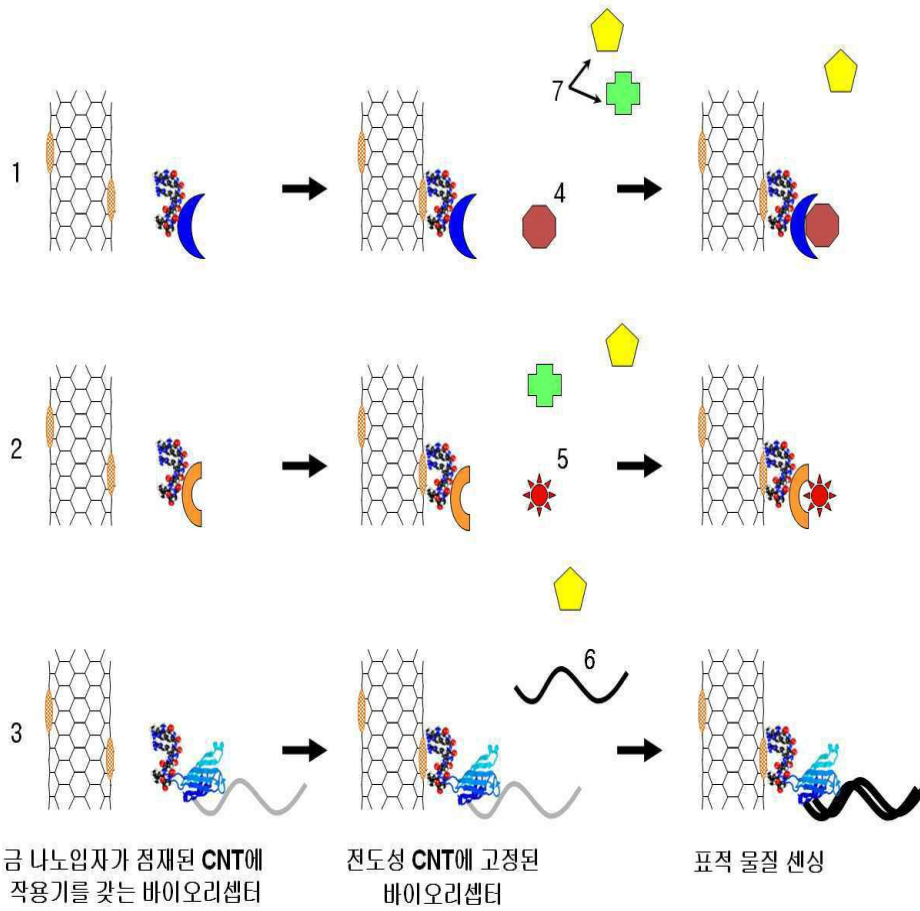
도면2



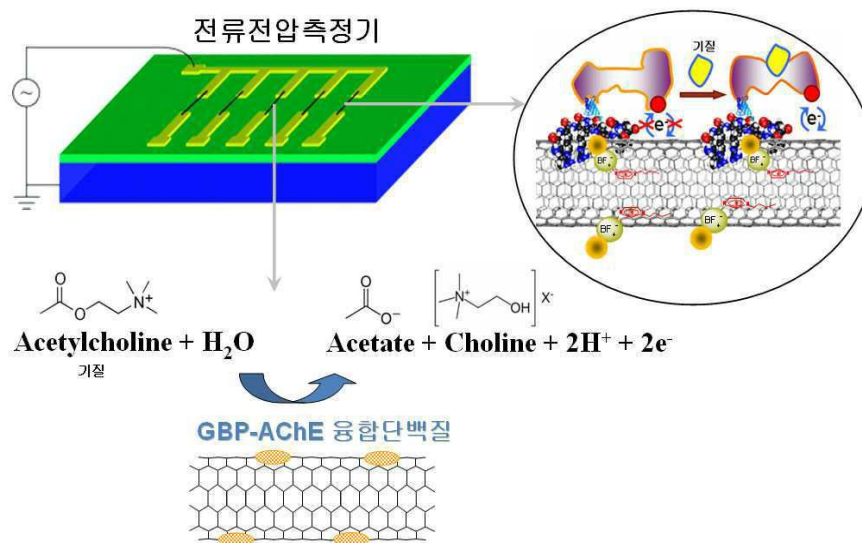
도면3



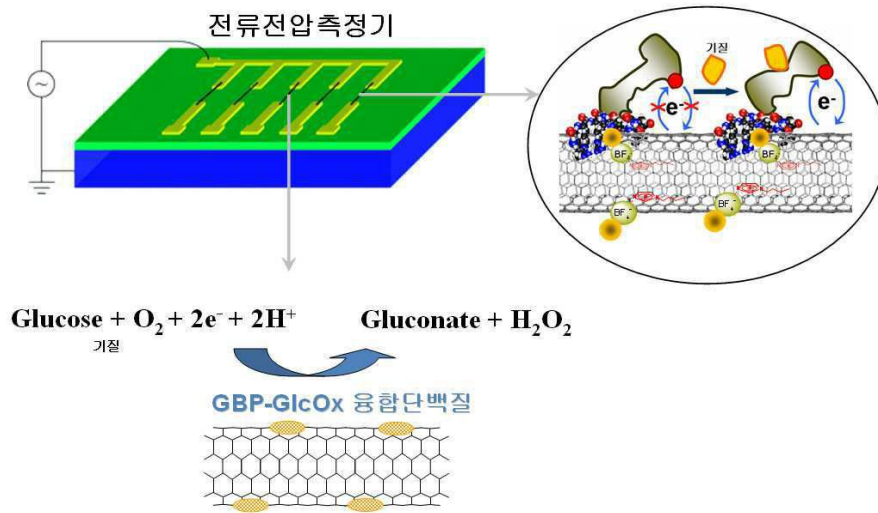
도면4



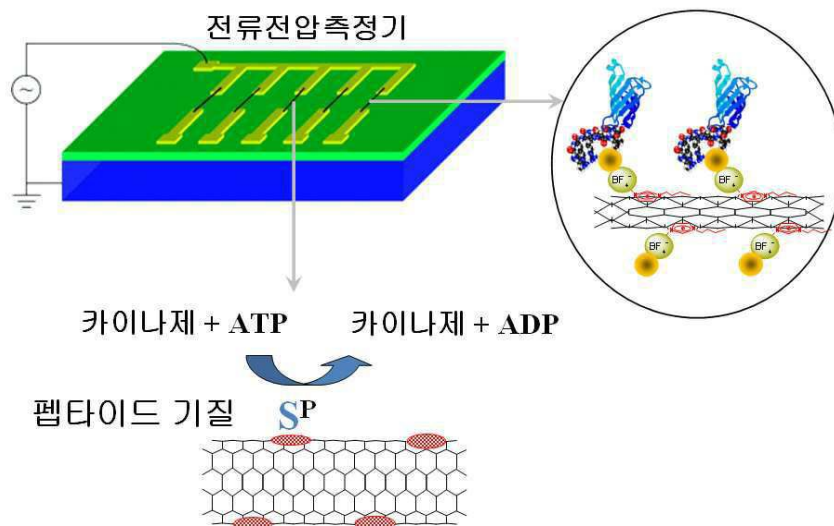
도면5



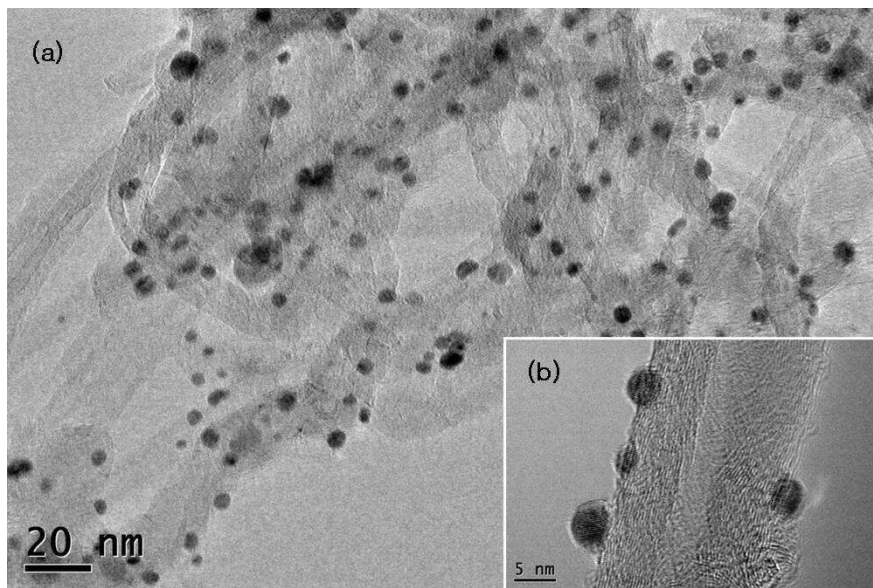
도면6



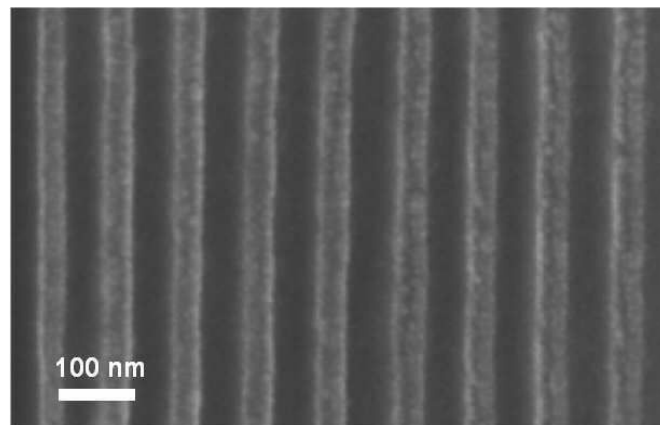
도면7



도면8



도면9



도면10

