(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0068936
(43) 공개일자 2013년06월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G11C 11/54 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0136406
(22) 출원일자 2011년12월16일
심사청구일자 2011년12월16일

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
최정우
서울특별시 용산구 한강로3가 63-389(2/9) 용산시티파크 103-603
이택
서울특별시 동작구 상도1동 래미안상도3차아파트 316동 1403호
민준홍
경기도 성남시 수정구 복정동 경원대학교
(74) 대리인
양부현

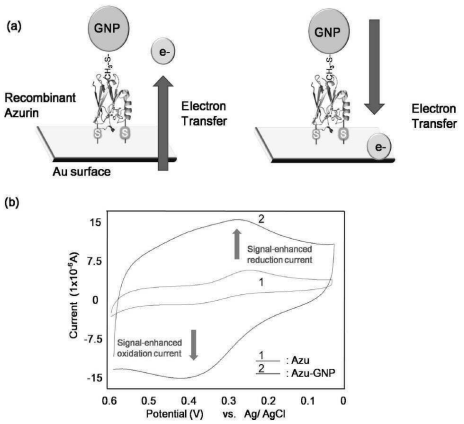
전체 청구항 수 : 총 28 항

(54) 발명의 명칭 **재조합 단백질 및 무기입자 이중층을 포함하는 바이오-메모리 디바이스**

(57) 요 약

본 발명은 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질 및 무기입자를 포함하는 이중층(heterolayer)이 기판에 고정된 바이오-메모리 디바이스에 관한 것으로, 생체분자와 기질 간의 전자전달로부터 검출되는 낮은 전류 신호를 무기 입자를 적용하여 5배 이상 확장한 바이오-메모리 디바이스를 제공한다. 본 발명의 바이오-메모리 디바이스는 단백질의 산화환원능을 이용하여 인가 전위에 따라 산화환원 상태를 조절하는 것이 가능하며, 전위를 인가하는 방식의 작동법을 제시할 수 있다. 또한, 본 발명은 생체분자가 내재한 자연계 고유의 전자 전달 원리를 정보 저장 장치를 이용하여 새로운 개념의 바이오-메모리 디바이스를 제공한다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2010-0008206
부처명	교육과학기술부
연구사업명	바이오 인터페이스 기술 개발 사업
연구과제명	생물 분자로 구성된 바이오 전자 소자 기술 개발
주관기관	서강대학교 산학협력단
연구기간	2011.04.01 ~ 2012.02.29

특허청구의 범위

청구항 1

산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질 및 무기입자를 포함하는 이중층(heterolayer)이 기판에 고정된 바이오-메모리 디바이스.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 산화환원능을 갖는 단백질은 재조합 단백질로, 시스테인 잔기가 도입되어 기판에 직접 고정화 되는 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 단백질은 금속단백질인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 금속단백질은 아주린, 헤모글로빈, 미오글로빈, 헤메리트린, 혈색소, 시토크롬, 철-황 단백질, 루브레독신, 플라스토시아닌, 페리틴, 셀룰로프라스민, 탄산 탈수 효소, 비타민 B_{12}-종속 효소, 니트로게나아제, 슈퍼옥사이드 디스뮤타제, 엽록소-포함 단백질, 칼모듈린, 글루코스-6-포스파타제, 헥소키나아제, DNA 폴리머라아제, 바나빈, 아르기나아제, 카탈라아제, 수소화 효소, 철반응요소결합단백질, 아코니타제, 우레아제, 시토크롬 산화 효소, 라케이스, 알코올 탈수소 효소, 카르복시펩티다아제, 아미노펩티디아제, β-아밀로이드단백질, 질산 환원 효소, 글루타티온과산화효소, 메탈로티오네인 또는 포스파타아제인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 상기 금속단백질은 아주린인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 무기입자는 금속 입자, 금속 산화물 입자, 합금 입자 또는 반도체 입자인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 무기입자는 금속 입자인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 무기입자는 금(Au) 입자인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 상기 금 입자의 크기는 1-100 ㎚인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 상기 이중층은 상기 단백질을 통하여 상기 기판에 고정된 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 11

제 1 항에 있어서, 상기 무기입자는 상기 단백질에 공유결합되어 있고 상기 무기입자는 상기 단백질을 통하여 상기 기판에 간접적으로 고정된 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 상기 기판은 금속, 금속 옥사이드, 유리, 세라믹, 석영, 실리콘, 반도체, Si/SiO_2 웨이퍼, 게르마늄, 갈륨 아르세나이드, 카본, 탄소나노튜브, 폴리머, 세파로스 또는 아가로스인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 13

제 10 항에 있어서, 상기 기판은 금(Au) 기판인 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 상기 바이오-메모리 디바이스는 환원 전위 및 산화 전위의 인가에 의해 작동되는 것을 특징으로 하는 바이오-메모리 디바이스.

청구항 15

다음의 단계를 포함하는 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질 및 무기입자를 포함하는 이중층(heterolayer)이 기판에 고정된 바이오-메모리 디바이스의 제조방법:

(a) 산화환원능을 갖는 단백질을 기판에 직접적으로 고정시키는 단계; 및

(b) 상기 단백질에 무기 입자를 공유결합을 통해 고정시키는 단계.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 상기 산화환원능을 갖는 단백질은 재조합 단백질로, 시스테인 잔기가 도입되어 기판에 직접 고정화 되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제 15 항에 있어서, 상기 단백질은 금속단백질인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제 17 항에 있어서, 상기 금속단백질은 아주린, 헤모글로빈, 미오글로빈, 헤메리트린, 혈색소, 시토크롬, 철-황 단백질, 루브레독신, 플라스토시아닌, 페리틴, 셀룰로프라스민, 탄산 탈수 효소, 비타민 B_{12}-종속 효소, 니트로게나아제, 슈퍼옥사이드 디스뮤타제, 엽록소-포함 단백질, 칼모듈린, 글루코스-6-포스파타제, 헥소키나아제, DNA 폴리머라아제, 바나빈, 아르기나아제, 카탈라아제, 수소화 효소, 철반응요소결합단백질, 아코니타제, 우레아제, 시토크롬 산화 효소, 라케이스, 알코올 탈수소 효소, 카르복시펩티다아제, 아미노펩티디아제, β-아밀로이드단백질, 질산 환원 효소, 글루타티온과산화효소, 메탈로티오네인 또는 포스파타아제인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제 18 항에 있어서, 상기 금속단백질은 아주린인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제 15 항에 있어서, 상기 무기입자는 금속 입자, 금속 산화물 입자 또는 반도체 입자인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

제 20 항에 있어서, 상기 무기입자는 금속 입자인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 22

제 21 항에 있어서, 상기 무기입자는 금(Au) 입자인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23

제 22 항에 있어서, 상기 금 입자의 크기는 1-100 ㎚인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

제 15 항에 있어서, 상기 이중층은 상기 단백질을 통하여 상기 기판에 고정된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

제 15 항에 있어서, 상기 무기입자는 상기 단백질에 공유결합 되어 있고 상기 무기입자는 상기 단백질을 통하여 상기 기판에 간접적으로 고정된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

제 15 항에 있어서, 상기 기판은 금속, 금속 옥사이드, 유리, 세라믹, 석영, 실리콘, 반도체, Si/SiO_2 웨이퍼, 게르마늄, 갈륨 아르세나이드, 카본, 탄소나노튜브, 폴리머, 세파로스 또는 아가로스인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 27

제 26 항에 있어서, 상기 기판은 금(Au) 기판인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 28

제 15 항에 있어서, 상기 바이오-메모리 디바이스는 환원 전위 및 산화 전위의 인가에 의해 작동되는 것을 특징으로 하는 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 재조합 단백질 및 나노입자 이중층으로 구성된 바이오-메모리 디바이스에 관한 것으로, 보다 상세하게는 재조합 아주린 및 금 나노입자로 구성된 바이오-메모리 디바이스이다.

배 경 기 술

[0002] 호흡, 순차적 전자전달 및 광합성과 같은 생물의 행동, 기작 및 본질적인 개념을 이해하기 위해 생체분자의 전기화학적 특성은 연구되어왔다.[1] 전자전달은 전자전달 바이오칩, 바이오센서 및 생체전자장치(bioelectronics)와 같은 다양한 활용 가능성으로 널리 연구된다. 예컨대, Woolley는 세포에서 항암 물질의 전기화학적 특성을 관찰하였다.[2] 또한, 살아있는 세포를 세포 내의 전기활성부와 전극 간의 전자전달 및 전자 세포 기질 임피던스(impedance) 감지와 같은 전기화학적 조건에서 연구하였다.[3-6] 더욱이, 전기화학은 효소, 항체, 핵산, 펩타이드 핵산 및 앱타머(aptamers)를 이용하여 바이오센서로 적용할 수 있다.[7-10] 생물 전기화학은 또한 전기화학-기반 생체전자장치의 개발을 위한 기초가 될 수 있으며, 단백질, DNA, 세포 및 다른 유기체와 같이 살아있는 유기체로부터 전기화학적 신호를 검출할 수 있다.[11-14]

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 본 발명자들은 단백질 분자의 전자 움직임을 조절하는 전기화학적 시스템에 기반한 바이오-메모리 디바이스를 개발하고자 하였다. 특히, “쓰기(Write)" 및 ” 지우기(Erase)"와 같은 메모리 장치의 특성을 나타낼 수 있는 디바이스로부터 전위 인가 시, 나타나는 신호를 확장시키기 위하여 연구 노력하였다. 그 결과, 산화환원능을 가지며 기판에 직접적으로 고정화되어 자기 조립막(self-assembled monolayer: SAM)을 형성할 수 있도록 시스테인 잔기가 도입된 재조합 단백질에 상기 재조합 단백질과 공유결합 되어 기판에 간접적으로 고정화된 무기입자를 포함하는 이중층(heterolayer)을 갖는 바이오-메모리 디바이스의 경우, 효과적으로 확장된 신호를 제공할 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

[0004] 따라서, 본 발명의 목적은 바이오-메모리 디바이스를 제공하는데 있다.

[0005] 본 발명의 다른 목적은 바이오-메모리 디바이스의 제조방법을 제공하는데 있다.

[0006] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질 및 무기입자를 포함하는

이중층(heterolayer)이 기판에 고정된 바이오-메모리 디바이스를 제공한다.

[0008] 본 발명자들은 단백질 분자의 전자 움직임을 조절하는 전기화학적 시스템에 기반한 바이오-메모리 디바이스를 개발하고자 하였다. 특히, “쓰기(Write)" 및 ” 지우기(Erase)"와 같은 메모리 장치의 특성을 나타낼 수 있는 디바이스로부터 전위 인가 시, 나타나는 신호를 확장시키기 위하여 연구 노력하였다. 그 결과, 산화환원능을 가지며 기판에 직접적으로 고정화되어 자기 조립막(self-assembled monolayer: SAM)을 형성할 수 있도록 시스테인 잔기가 도입된 재조합 단백질에 상기 재조합 단백질과 공유결합 되어 기판에 간접적으로 고정화된 무기입자를 포함하는 이중층(heterolayer)을 갖는 바이오-메모리 디바이스의 경우, 효과적으로 확장된 신호를 제공할 수 있음을 확인하였다.

[0009] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 단백질은 산화환원능을 가지는 재조합 단백질이고, 상기 재조합 단백질의 N-말단 또는 C-말단에는 시스테인 잔기가 도입되어 있으며, 상기 도입된 시스테인 잔기의 티올기를 통하여 상기 재조합 단백질이 기판에 직접 고정화된다.

[0010] 본 발명의 또 다른 특징 중 하나는, 메모리 소자로 이용되는 생체분자로서 산화환원능이 있는 단백질로 이용하였고 이 단백질의 N-말단 또는 C-말단에 시스테인 잔기를 도입시켜 기판 상에서 안정된 SAM(self-assembled layer, 자기조립막)을 형성하도록 한다는 것이다. 도입된 시스테인 잔기는 티올기를 통하여 기판, 바람직하게는 금속 기판, 보다 바람직하게는 금(Au) 기판 상에 우수한 배향성(orientation)으로 안정된 막을 형성하도록 한다.

[0011] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 재조합 단백질에 도입된 시스테인 잔기의 수는 2-10개이다. 만일, 도입된 시스테인 잔기의 수가 2개 미만, 즉 1개인 경우에는 앵커링(anchoring) 부위로서의 시스테인 잔기의 기능의 크게 감소한다. 만일, 시스테인 잔기의 수가 10개를 초과하는 경우에는 도입된 시스테인 사이에 다이설파이드 결합을 형성하여 재조합 단백질을 정제하기 어려울 뿐만 아니라, 앵커링(anchoring) 부위로서의 시스테인 잔기의 기능의 크게 감소한다.

[0012] 본 발명의 보다 바람직한 구현예에 따르면, 재조합 단백질에 도입되는 시스테인 잔기의 수는 2-3개이고, 가장 바람직하게는 2개이다.

[0013] 도입된 시스테인의 티올기를 통한 단백질의 고정화는 본 명세서에서 직접 고정화 방법(direct immobilization)으로 표현되어 있다. 용어 “직접 고정화”는 다른 링커의 도움 없이 단백질 내에 있는 분자를 통하여 단백질이 직접 기판에 고정화되는 것을 의미한다.

[0014] 이러한 직접 고정화를 통하여, 전자 전달 과정의 불필요한 저항층을 줄일 수 있다는 이점이 있으며 고정화능 또한 주어진 조건에서 최대화할 수 있는 장점이 있다.

[0015] 단백질을 기판에 고정화 하는 기술로서, 현재 가장 많이 이용되는 것은 링커를 이용하는 것이다. 그러나, 이 방법은 (ⅰ) 지나치게 많은 공정을 필요로 하고, (ii) 낮은 고정화율을 나타내며, (iii) 링커층의 차단효과(insulating effect)를 초래한다는 단점이 있다.

[0016] 본 발명의 직접 고정화 방법을 이용하는 경우에는 이러한 종래기술의 문제점을 해결할 수 있다.

[0017] 본 발명에서 메모리 소자로 이용되는 재조합 단백질은 산화환원능을 가져 전자를 수용 및 방출시킬 수 있는 단백질이면, 어떠한 것도 포함한다. 예를 들어, 본 발명에 적합한 재조합 단백질은 금속 이온을 포함하는 금속단백질(metalloprotein), 플라보독신, 플라스토사이아닌(plastocyanin) 및 티오레독신 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0018] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명에 이용되는 산화환원능을 갖는 재조합 단백질은 금속 이온을 포함하는 금속단백질(metalloprotein)이고, 보다 바람직하게는 아주린, 헤모글로빈, 미오글로빈, 헤메리트린, 혈색소, 시토크롬, 철-황단백질, 루브레독신, 플라스토시아닌, 페리틴, 셀룰로프라스민, 탄산 탈수 효소, 비타민 B_{12}-종속 효소, 니트로게나아제, 슈퍼옥사이드 디스뮤타제, 엽록소-포함 단백질, 칼모듈린, 글루코스-6-포스파타제, 헥소키나아제, DNA 폴리메라아제, 바나빈, 아르기나아제, 카탈라아제, 수소화 효소, 철반응요소결합단백질, 아코니타제, 우레아제, 시토크롬 산화 효소, 라케이스, 알코올 탈수소 효소, 카르복시펩티다아제, 아미노펩티디아제, β-아밀로이드단백질, 질산 환원 효소, 글루타티온과산화효소, 메탈로티오네인 또는 포스파타아제를 포함하며, 보다 더 바람직하게는 아주린, 사이토크롬 a, 사이토크롬 b 또는 사이토크롬 c이고, 가장 바람직하게는

아주린이다.

[0019] 본 발명의 다른 특징 중 하나는, 상기 기판에 결합된 상기 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질과 공유결합을 통해 무기 입자를 고정하고 상기 무기 입자는 기판과 간접적으로 연결되도록 한다. 따라서, 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질 및 무기입자를 포함하는 이중층(heterolayer)이 기판에 고정된 바이오-메모리 디바이스를 완성한다.

[0020] 바람직하게는, 본 발명의 바이오-메모리 디바이스를 구성하는 무기 입자는 금속 입자, 금속 산화물 입자, 합금 입자 또는 반도체 입자이다.

[0021] 상기 무기 입자가 금속 입자인 경우, 바람직하게는 1족 금속 원소, 2족 금속 원소, 전이 금속 원소, 12족 금속 원소, 13족 금속 원소, 란탄족 또는 악티늄족 금속이며 보다 바람직하게는 Ba, Cr, Co, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Nb, Pd, Ag, Pt, Au, Tb, Gd, Dy, Ho, Er, Sm, 및 Nd을 포함하고 이의 다성분 혼성체로 구성된 것을 특징으로 하는 것을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 상기 무기 입자가 금속 산화물 입자인 경우, 바람직하게는 M_xO_y(M은 Ba, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Nb, Pd, Ag, Pt, 및 Au로 구성된 군으로부터 선택되는 전이 금속, 또는 Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Sm 및 Nd로 구성된 군으로부터 선택되는 란탄족 또는 악티늄족 금속, $0<x\leq16$, $0<y\leq8$), 또는 $M^a_xM^b_yO_z$[M^a = 1족 금속 원소, 2족 금속 원소, 13족 금속 원소, 14족 금속 원소, 15족 원소, 16족 원소, 전이 금속 원소, 란탄족 및 악티늄족 원소로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상의 금속 M^b = Ba, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Nb, Pd, Ag, Pt, 및 Au로 구성된 군으로부터 선택되는 전이 금속, 또는 Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Sm 및 Nd로 구성된 군으로부터 선택되는 란탄족 또는 악티늄족 금속 원소로부터 선택되는 1종 이상의 금속 $0\leq x\leq16$, $0<y\leq16$, $0<z\leq8$]와 그의 다성분 혼성체로 구성된 것을 특징으로 하는 것을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0023] 상기 무기 입자가 합금 입자일 경우, 바람직하게는 $M_xM'_y$ [M_x = Ba, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Nb, Pd, Ag, Pt, 및 Au로 구성된 군으로부터 선택되는 전이 금속 원소, 그리고 Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Sm 및 Nd로 구성된 군으로부터 선택되는 란탄족 및 악티늄 족 원소에서 선택되는 1종 이상의 원소 M'_y = 1족 금속 원소, 2족 금속 원소, 13족 원소, 14족 원소, 15족 원소, 16족 원소, 전이금속, 그리고 란탄족 및 악티늄족 원소로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상의 금속 $0<x\leq20$, $0\leq y\leq20$]와 그의 다성분 혼성체로 구성된 것을 특징으로 하는 것을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0024] 상기 무기 입자가 반도체 입자일 경우, 바람직하게는 $M_aM'_b$(M_a 또는 M'_b = 13족 원소, 12족 원소, 14족 원소, 15족 원소, 16족 원소 중에서 1종 이상 선택된 원소, $0<a\leq20$, $0<b\leq20$)와 그의 다성분 혼성체로 구성된 것을 특징으로 하는 것을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0025] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상기 무기입자는 금속 입자이고, 보다 바람직하게는 금(Au) 입자이다.

[0026] 바람직하게는, 상기 금 입자의 크기는 1-100 ㎚이고, 보다 바람직하게는 1-50 ㎚이며, 가장 바람직하게는 1-10 ㎚이다.

[0027] 본 발명의 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질 및 무기입자를 포함하는 상기 이중층(heterolayer)은 상기 단백질을 통하여 상기 기판에 고정된다. 바람직하게는, 상기 무기입자는 상기 단백질에 공유결합 되어 있고 상기 무기입자는 상기 단백질을 통하여 상기 기판에 간접적으로 고정된다.

[0028] 본 발명의 바이오-메모리 디바이스에 이용되는 기판은 메모리 디바이스에서 이용되는 어떠한 것도 포함한다. 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 기판은 금속, 금속 옥사이드, 유리, 세라믹, 석영, 실리콘, 반도체, Si/SiO_2 웨이퍼, 게르마늄, 갈륨 아르세나이드, 카본, 탄소나노튜브, 폴리머, 세파로스 또는 아가로스이고, 보다 더 바람직하게는 금속이며, 가장 바람직하게는 금(Au) 기판이다.

[0029] 본 명세서에서 사용되는 용어 “금 기판”은 금으로 표면 코팅된 기판을 포괄하는 의미를 갖는다.

[0030] 기판 상에 시스테인 변형 단백질 및 무기입자를 고정화 하는 방법을 구체적인 일 실시예를 참조하여 설명하면

다음과 같다:

[0031] 우선, 기판, 바람직하게는 금 기판을 고온에서 어닐링 하고, 피라나 용액을 이용하여 세척한다. 이어, 금 기판에 단백질을 상기 기판의 표면에 뿌리고 단백질이 기판 상에서 SAM을 형성하도록 방치하여 단백질이 고정된 기판을 얻는다. 수득한 단백질이 고정된 기판을 1-옥타데칸티올(1-octadecanthiol) 용액에 침지하고 무기 입자를 포함하는 용액을 떨어뜨려 무기입자와 단백질을 결합시킨다.

[0032] 바람직하게는, 본 발명의 바이오-메모리 디바이스는 환원 전위 및 산화 전위의 인가에 의해 작동된다.

[0033] 본 발명은 기판, 바람직하게는 금 기판의 표면에 티올기, 즉 시스테인 잔기가 도입된 단백질 분자를 자기조립시키고, 무기입자를 단백질에 공유결합하여 연결한 바이오-메모리 디바이스는 인가되는 전압에 따라 나타나는 단백질 고유의 전자 전달 특성을 이용하여 나노 단위의 정보 저장 장치로 응용할 수 있음을 특징으로 한다.

[0034] 본 발명의 단백질 기반 바이오-메모리 디바이스가 전기적으로 작동되는 경우, 본 발명의 메모리 디바이스는 가역적으로 변화되고 전기적으로 읽을 수 있는(readable) 전기적 장치로서, 다음과 같이 구성될 수 있다. 이 전기적 장치는 기판을 포함한다. 이 기판은 상술한 바와 같으며, 하기의 실시예에서는 전기적으로 대전되는 금 표면 코팅된 기판이다. 상기 기판 상에 산화환원-활성층(redox-active layer)이 이루어진다. 본 발명에서는 산화환원 활성층으로서, 산화환원능을 가지는 시스테인 도입된 재조합 단백질의 SAM이 이용된다. 상기 산화환원 활성층은 재조합 단백질에 의해 일정한 전자적 상태, 예컨대 산화상태 또는 환원상태에 놓이게 된다. 상기 산화환원-활성층에 전극이 연결된다. 상기 기판또는 전극, 또는 기판과 전극 모두에 연결된 전기장원(electric field source), 예컨대 전압공급 유니트가 본 발명의 디바이스에 포함된다. 이 전기장원에 의해 공급된 전압 또는 전자빔에 의해 전자의 흐름이 유도되며, 이에 의해 메모리 특성을 나타낸다.

[0035] 따라서 전기적으로 본 발명의 메모리 디바이스를 구축하는 경우, 본 발명의 디바이스는 (ⅰ) 기판, (ii) 산화환원-활성층으로서 상기 기판 상에 고정화 되어 있고 산화환원능을 가지는 시스테인 도입된 재조합 단백질의 SAM, (iii) 상기 산화환원-활성층에 연결된 전극, 및 (iv) 상기 기판 및/또는 전극에 전압 또는 전자빔을 공급하는 전기장원(electric field source)을 포함한다.

[0036] 한편, 본 발명의 바이오-메모리 디바이스를 전기화학적으로 구현하는 구체적인 실시예를 참조하여 설명하면 다음과 같다:

[0037] 본 발명은 전기화학적 방법으로 인가(applying) 전압을 조절, 고정된 단백질의 산화와 환원 상태를 변화시키는 것이 가능한 정보 저장 디바이스에 관한 것이다. 단백질 박막이 형성된 기판은 전해질 용액, 예컨대 HEPES 전해질 안에 배치된다. 기판은 작업 전극으로 포텐티오스탯에 연결되어 작동하고 전해질 안에 레퍼런스 전극(예컨대, Ag/AgCl)과 카운터 전극(예컨대, Pt)가 삽입된다. 레퍼런스 전극은 포텐티오스탯이 전압을 스윕하는 경우 작업 전극의 전위 변화를 읽어내는 기준이 된다. 카운터 전극은 포텐티오스탯의 전위 조절에 의해 전자가 흐르게 되는 통로다. 이와 같은 3 전극 시스템은 전기화학에서 가장 많이 구성하는 시스템 중의 하나인 것으로 알려져 있다. 상기 간단한 전기화학 시스템에서 순환전류전압법을 통해 간단한 전압-전류 곡선을 얻는다. 개회로 전위란 아무런 전압을 가하지 않은, 일종의 회로가 끊어져 있는 상태에서 단백질 박막의 고유 특성과 전해질의 고유 특성에 의해 일정 전위 차가 형성되게 되고 구성된 시스템이 자연적으로 평형에 이르는 특정 전위를 가지게 된다는 것을 의미한다. 상기 원리를 역으로 이용하면 한 시스템의 개회로 전위를 알고 있을 때 개회로 전위를 시스템에 인가하면 시스템을 인위적으로 평형 상태에 근접하게 만들 수 있게 된다. 이를 구체적으로 설명하면 단백질 박막에 특정 환원 전위가 인가되어 단백질이 전해질로부터 전자를 받아 환원 되었을 경우, 여기에 개회로 전위를 인가하면 단백질 박막이 본래의 자연적 평형 상태로 돌아가면서 흘러 들어갔던 여분의 전자를 내보내게 된다는 것을 의미한다. 반대로 단백질 박막이 전자를 내보내며 산화되었던 경우에 있어서도 개회로 전위가 인가되면 흘러나왔던 전자들이 다시 흘러 들어가면서 본래의 전위 상태로 돌아가게 된다. 즉 개회로 전위는 단백질 박막의 산화환원 상태를 읽어내는 역할을 하게 되는 것이다.

[0038] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 바이오-메모리 디바이스는 아주린 단백질 단일층이 기판에 고정된 형태과 비교하여, 아주린 단백질 및 금 나노입자를 기판에 고정된 형태의 바이오-메모리 디바이스는 5배 이상의 산화환원 전류를 나타낸다(도 1b).

[0039] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 단계를 포함하는 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질 및 무기입자를 포함하는 이중층(heterolayer)이 기판에 고정된 바이오-메모리 디바이스의 제조방법:

[0040] (a) 산화환원능을 갖는 단백질을 기판에 직접적으로 고정시키는 단계; 및

[0041] (b) 상기 단백질에 무기 입자를 공유결합을 통해 고정시키는 단계.

[0042] 본 발명의 방법은 상기 바이오-메모리 디바이스와 유사하기 때문에, 이 둘 사이에 공통된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여, 그 기재를 생략한다.

발명의 효과

[0043] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0044] (a) 본 발명은 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질 및 무기입자를 포함하는 이중층(heterolayer)이 기판에 고정된 바이오-메모리 디바이스를 제공한다.

[0045] (b) 본 발명은 생체분자와 기질 간의 전자전달로부터 검출되는 낮은 전류 신호를 무기 입자를 적용하여 5배 이상 확장한 바이오-메모리 디바이스를 제공한다.

[0046] (c) 본 발명은 단백질의 산화환원능을 이용하여 인가 전위에 따라 산화환원 상태를 조절하는 것이 가능하며, 전위를 인가하는 방식의 작동법을 제시할 수 있다.

[0047] (d) 본 발명은 생체분자가 내재한 자연계 고유의 전자 전달 원리를 정보 저장 장치를 이용하여 새로운 개념의 바이오-메모리 디바이스를 제공 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0048] 도 1a는 기본적인 재조합 아주린/금 나노입자 이중층 및 금 표면 간의 전자전달기작의 도식을 보여준다. 도 1b는 재조합 아주린 및 재조합 아주린/GNP(Gold Nanoparticle; GNP: 5nm) 이중층의 순환 전압전류법(Cyclic Voltammetry; CV) 나타낸다.

도 2는 다양한 재조합 아주린/금 나노입자의 산화전위 및 환원전위를 나타낸다. 도 2a는 재조합 아주린/금 나노입자(5 nm)의 산화전위 및 환원전위로 각각 432.11 ㎷ 및 263.74 ㎷를 나타낸다. 도 2b는 재조합 아주린/금 나노입자(10 nm)의 산화 및 환원 전위로 각각 470.15 ㎷ 및 264.77 ㎷를 나타낸다. 도 2c는 재조합 아주린/금 나노입자(20 nm)의 산화 및 환원 전위로 각각 472.22 ㎷ 및 351.06 ㎷를 나타낸다. 도 2d는 재조합 아주린/금 나노입자(40 nm)의 산화 및 환원 전위로 각각 457.89 ㎷ 및 358.91 ㎷를 나타낸다. 도 2e는 재조합 아주린/금 나노입자(60 nm)의 산화 및 환원 전위로 각각 442.17 ㎷ 및 288.53 ㎷를 나타낸다. 도 2f는 다양한 재조합 아주린/금 나노입자 이중층(5 nm, 10 nm, 20 nm, 40 nm 및 60 nm)의 산화 및 환원 전위를 정리한 그래프이다.

도 3은 재조합 아주린/금 나노입자 이중층의 순환 전압전류를 측정한 결과를 나타낸다. 도 3a는 20-30 nm의 불규칙한 모양의 고정화된 아주린 층의 표면 지형을 나타내며, 도 3b는 금 나노입자의 흡착을 나타내는 결과이다. 도 3c는 금 기판 위의 재조합 아주린 및 재조합 아주린 조작된-금 표면 위의 금 나노입자 자기-조립에 대한 각도 변위 간의 비교 결과를 나타낸다.

도 4는 크로노전류법을 통해 재조합 아주린/금 나노입자 이중층을 기반으로 한 바이오-메모리의 신호-확장된 2-상 바이오-메모리 기능을 나타낸다. 도 4a는 인가된 전위의 도표를 나타내며, 도 4b는 산화 전위(432.11 ㎷) 및 환원 전위(236.74 ㎷)를 반복적으로 인가하였을 때, 제조된 전극으로부터 전류의 유입 및 유출이 안정함을 나타내는 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0050] **실시예**

[0051] **실험 재료 및 방법**

[0052] *실험재료*

[0053] 금(Au) 기질(Au 50 ㎚/Cr 2 ㎚/SiO_2 웨이퍼스(wafers))은 G-mek(대한민국)사로부터 구입하여 전기화학적 실험 및 원자력 현미경(Atomic Force Microscopy; AFM) 분석에 사용하였다. Pt 카운터 전극 및 레퍼런스 전극은 BAS(미국)사로부터 구매하였다. 재조합 아주린(azurin)은 *E.coli* DE3에서 발현시켜 정제하였다.[25] 금 나노입자는 BBI 인터내셔널(영국)로부터 구매하였다. 1-옥타에칸티올(1-Octadecanethiol, $CH_3(CH_2)_{17}SH$; ODT)은 시그마알드리치사(미국)로부터 구매하였다. HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) 수용액은 시그마알드리치(미국)사로부터 구매하여, 전해액버퍼로 사용하였다. 증류 및 탈염(distilled and deionized; DI)수로 기질을 세척하였다.

[0054] *슈도모나스 애루지노사 아주린의 유전적 조작*

[0055] 서브클로닝을 위해 이스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*) DH5α를 사용하였다. 블루 쿠퍼 단백질 아주린을 코딩하는 유전자를 *슈도모나스 애루지노사*의 지노믹 DNA로부터 PCR을 이용하여 증폭하였다. 정방향 프라이머는 Nco I 제한효소 사이트를 포함하며, 역방향 프라이머는 BamH I 제한효소 사이트를 포함하도록 디자인하였다. PCR 반응산물은 DNA 정제 키트(QIAZEN, 미국)를 이용하여 정제한 후, Nco I 및 BamH I(New England Biolabs, 영국)의 두 제한효소로 분해하였다. 분해된 DNA 프래그먼트를 미리 Nco I 및 BamH I 제한효소 처리한 pET-21a(+) 벡터(노바젠, 독일)에 라이게이션 키트(다카라, 일본)을 이용하여 라이게이션 하였다. Azu Cys F 및 Azu Cus R 프라이머는 부위특이적 돌연변이 유도되게 디자인하여, AA에서 TGC로 Lys92Cys(K92C)이 되게 제조하였다. 부위특이적 돌연변이를 이용하여 아주린 유전자의 돌연변이 하였다.

[0056] *재조합 아주린 치환체의 발현 및 정제*

[0057] 아주린 유전자를 포함하는 플라스미드를 *E.coli* BL21(DE3)에 형질전환 하였다. 형질전환주를 50 ㎎/㎖ 앰피실린을 포함하는 LB 배지 1 L가 든 쉐이킹 플라스크에서 37℃로 OD 0.6까지 배양하였다. IPTG(isopropyl β-$_D$-thiogalactopyranoside)를 최종 농도 0.839 mM이 되게 첨가하여 발현을 유도하였다. 형질전환된 세포를 37℃에서 16시간 동안 추가적으로 배양하였다. 5000 g로 4℃, 15분 동안 원심분리하여 세포를 수확하였다. 세포 페이스트를 수크로오스 버퍼(20% 수크로오스, 0.3 M Tris-HCl, pH 8.1 및 1 mM EDTA)에 부유하고, 삼투압 충격(0.5 mM $MgCl_2$)을 주었다. pH를 3.0까지 감소시켜 오염 단백질을 주변 세포질로부터 침전하여 아주린이 포함된 상층액을 수득하였다. 아포-아주린 및 시스테인-도입 아포-아주린 분획(각각의 일루션 pH= 4.6 및 4.8)을 pH 4.0-6.0의 농도구획(50 mM 초산나트륨)을 갖는 CM 셀룰로오즈 이온-교환 컬럼으로 분리하였다.

[0058] *재조합 아주린/GNP(Gold Nanoparticle) 이중층의 제조*

[0059] 샘플 준비를 위해, 금 기판 표면의 먼지 및 유기물을 제거하기 위해 피란하 용액(30 부피% H_2O_2 및 70부피% H_2SO_4)을 이용하여 65℃에서 5분 동안 세척하였다. 기질을 세척한 후, 에탄올 및 탈염수로 반복세척하고 N_2 가스 하에 건조하였다. 준비한 0.1 ㎎/㎖ 시스테인-조작된 아주린 수용액의 20 ㎕를 시스테인 잔기를 통해 금 표면에 직접 고정화하기 위해 금 표면에 6시간 동안 정치하였다. 재조합 아주린/GNP(Gold Nanoparticle) 이중층을 제조하기 위해, 재조합 아주린 고정된 금 기판을 0.1 mM 1-옥타데칸티올 용액에 6시간 동안 침지하였다. 0.1 ㎎/㎖ 금 나노입자 용액 20 ㎕를 재조합 아주린 자기-조립 기질에 6시간 동안 담궜다. 이러한 과정은 25℃의 습도 챔버에서 진행하였다.[19,25,26]

[0060] *아주린 및 아주린/금 나노입자 이중층의 표면 조사*

[0061] 아주린 및 아주린/금 나노입자의 표면 지형을 원자력 현미경(Digital instruments Nanoscope(R) Ⅳ, 미국)으로 확인하였다. 원자력 현미경은 포스포로어스(phosphorous, n-type doped Si) 팁(스프링 거리 20-80 N/m 및 공명주파수 범위 230-305 ㎑)를 사용하여 탭핑(tapping) 모드에서 수행하였다. 이미징 시, 2.0 ㎐의 주사율을 사용하였다. 모든 이미지는 400 ㎚×400 ㎚의 스캔사이즈이다.

[0062] 바이오필름을 조사하기 위해, 표면 플라스몬 공명(Surface Plasmon Resonance; SPR, MultiskopTM, 독일)에 He-Ne 레이저(632.8 nm) 빔을 장착하였다. 글라스 프리즘(BK7, n=1.5168)을 금 표면에 코팅하고, 금과 프리즘 사이에 공기 및 방울을 감소시키기 위해 오일을 처리하였다. 표면 플라스몬 공명에 크레취만(Kretchmann's) ATR(Attenuated Total Reflectance) 연결기를 사용하였다. 반사된 빔 강도를 광전자증배관(Photo Multiplier Tube; PMT) 검출기로 관찰하였다. 이러한 기기를 이용하여, 총 내부 반사의 효과를 유의하게 조절할 수 있었다. 작동 각도 변위(operating angle shift)는 38″ 내지 50″ 로 다양화하였다.

[0063] *아주린 및 아주린/금 나노입자 이중층의 전기화학적 실험*

[0064] 본 시스템은 작동 전극, 상대 전극 및 기준 전극으로 구성된 종래의 3 전극 시스템이다. 제작된 칩을 작동 전극으로 사용하였다. Pt 상대 전극 및 Ag/AgCl 기준 전극은 BAS(미국)으로부터 구매하였다. 전기화학적 실험은 CHI660A 전기화학 워크스테이션(CH 인스트루먼트, 미국)으로 수행하였다. 모든 전기화학적 실험은 HEPES 버퍼 용액에서 수행하였다.

[0065] **실험결과**

[0066] *재조합 아주린/GNP 이중층의 산화환원 전류*

[0067] 도 1a는 기본적인 재조합 아주린/금 나노입자 이중층 및 금 표면 간의 전자전달기작의 도식을 보여주며, 도 1b는 재조합 아주린 및 재조합 아주린/GNP(Gold Nanoparticle; GNP: 5nm) 이중층의 순환 전압전류법(Cyclic Voltammetry; CV) 나타낸다. 재조합 아주린/GNP 이중층의 산화환원 전류는 재조합 아주린 단일층보다 5배 이상 향상되었다.[5] 이는, 재조합 아주린/GNP 산화환원 전류는 금 표면의 재조합 아주린 자기-조립과 비교하여 상당히 높은 결과이다.

[0068] 본 연구에서, 5 가지의 재조합 아주린/금 나노입자 이중층(5 nm, 10 nm, 20 nm, 40 nm 및 60 nm)의 산화환원 특성을 측정하였다. 각 재조합 아주린/금 나노입자의 전기화학적 특성을 조사하기 위하여 실험을 진행하였다. 환원전위 및 산화전위를 측정하고, 신호확장 전류로서 메모리기능의 수행을 확인하기 위해 실시하였다. 그와 관련하여, 각 고정화된 재조합 아주린/금 나노입자 이중층의 순환 전압전류를 측정하였다(도 3). 모든 재조합 아주린/금 나노입자 이중층 샘플의 산화환원능을 조사하였다. 재조합 아주린/금 나노입자(5 nm)의 산화전위 및 환원전위는 각각 432.11 mV 및 263.74 mV이다. 재조합 아주린/금 나노입자(10 nm)의 산화 및 환원 전위는 470.15 mV 및 264.77 mV이다. 재조합 아주린/금 나노입자(20 nm)의 경우에는, 산화 및 환원 전위는 472.22 mV 및 351.06 mV이다. 재조합 아주린/금 나노입자(40 nm)의 산화 및 환원 전위는 457.89 mV 및 358.91 mV이다. 마지막으로, 재조합 아주린/금 나노입자(60 nm)의 산화 및 환원 전위는 442.17 mV 및 288.53 mV이다. 이러한 결과를 도 2a 내지 도 2g에 나타내었다.

[0069] *금 나노입자의 크기에 따른 산화환원 전류*

[0070] 다양한 재조합 아주린/금 나노입자 이중층(5 nm, 10 nm, 20 nm, 40 nm 및 60 nm)의 산화 및 환원 전위를 도 2f에 나타내었다. 도 2f의 양(+)의 그래프는 환원 전류를, 음(-)의 그래프는 산화 전류를 나타낸다. 재조합 아주린/금 나노입자(5 nm)의 산화 전류 및 환원 전류는 13.40±2.09 ㎂이고, 산화전위는 -19.82±1.56 ㎂이다. 재조합 아주린/금 나노입자 층(10 nm)의 환원 전위는 9.61±0.72 ㎂이고 산화 전류는 -16.24±2.27 ㎂이다. 재조합 아주린/금 나노입자(20 nm)의 환원 및 산화 전류는 10.43±1.16 ㎂ 및 -16.71±2.27 ㎂이다. 재조합 아주린/금 나노입자(40 nm)의 환원 및 산화 전류는 15.98±1.13 ㎂ 및 -27.4±3.14 ㎂이다. 마지막으로, 재조합 아주린/금 나노입자(60 nm)의 환원 및 산화 전류는 28.8±2.31 ㎂ 및 -25.7±2.78 ㎂이다.

[0071] 결과에 따르면, 산화환원능 전류의 차이는 금 나노입자의 크기에 따라 나타나는 것이다. 재조합 아주린/금 나노입자(5 nm)의 경우, 재조합 아주린 사이즈가 약 4-5 nm이기 때문에, 단 하나의 재조합 아주린만이 금 나노입자에 붙게 된다. 그러나, 금 나노입자의 사이즈가 10 nm로 증가할 경우, 산화환원 전류는 5 nm 금 나노입자와 비교하여 감소하였다. 이러한 현상은 아주린과 금 나노입자 간의 전자의 저해(hindrance) 때문이다. 금 나노입자의 사이즈가 60 nm로 증가한 경우, 산화환원 전류는 증가하였다. 이러한 산화환원 전류는 금 나노입자와 직접적으로 관련된다. 결과적으로, 최적의 금 나노입자 사이즈는 5 nm이다.

[0072] *재조합 아주린/금 나노입자의 표면 조사*

[0073] 제조된 재조합 아주린/금 나노입자 표면을 원자력 현미경으로 촬영하여 재조합 아주린/금 나노입자(5 ㎚)의 고정화를 조사하였다. 도 3a는 20-30 ㎚의 불규칙한 모양의 고정화된 아주린 층의 표면 지형을 나타낸다. 도 3b는 금 나노입자의 흡착을 나타낸다. 도 3b는 10-15 ㎚의 분자크기 범위 내에 무리진 재조합 아주린-고정된 표면에 형성된 구형입자를 보여준다. 이러한 지형의 다양함은 금 기판에 금 나노입자/재조합 아주린의 중요한 결합임을 말해준다. 표면 플라스몬 공명(Surface Plasmon Resonance; SPR)은 제조된 필름의 표면에 고정화된 단백질 분자를 측정하고 관찰하기 위해 이용되어 왔다. 따라서, 개발한 표면의 표면 플라스몬 공명 특성은 재조합 아주린 및 금 나노입자 간의 상호작용을 조사하기 위해 관찰하였다. 금 기판 위의 재조합 아주린 및 재조합 아주린 조작된-금 표면 위의 금 나노입자 자기-조립에 대한 각도 변위 간의 비교를 도 3c에 나타내었다. 각도 변위(43.011±0.021 내지 43.172±0.034)는 금 기판 위에 재조합 아주린 자기-조립 후에 관찰되었다. 또한, 이는 금 나노입자가 재조합 아주린 조작된-금 표면 위에 고정화된 후에 43.011±0.021부터 43.254±0.048까지의 각도 변위는 중요하다. 이러한 결과는 금 나노입자가 재조합 아주린을 통해 금 표면 위에 성공적으로 자기-조립된 것을 말해준다. 금 표면 위의 고정화된 재조합 아주린 및 그 위에 자기-조립된 금 나노입자의 각도 변위는 각각 0.172 및 0.254이다. 그러므로, 표면 플라스몬 공명 및 원자력 현미경을 통해 재조합 아주린/금 나노입자는 금 기판 위에 성공적으로 자기-조립된 것을 확인하였다.

[0074] *신호-확장 메모리 조사*

[0075] 본 발명의 디바이스의 신호-확장 메모리 수행능력을 평가하는데 크로노전류법(Chronoamperometry; CA)을 사용하였다. 크로노전류법은 작동 전극의 전위를 반복적으로 인가하고 작동 전극의 인가 전위로부터 유도전류를 시간에 따라 관찰하는 전기화학적 방법이다. 이러한 접근 방법을 통해, 이전의 순환전압전류법으로 구한 산화 전위 및 환원 전위를 재조합 아주린에 인가하였다. 산화 전위 단계는 '읽기' 기능으로써, 외부 기질로부터 재조합 아주린으로 전하를 전달한다. 환원 전위의 도입은 재조합 아주린 분자로부터 전하가 전달되는 것을 유도한다. 그러므로, 이러한 시스템을 이용하여, 2-상 바이오-메모리를 제작하였다. 정해진 구역 안에 더 많은 전하를 저장하기 위해, 재조합 아주린 고정화된 금 기판에 금 나노입자를 도입하였다. 432.11 ㎷의 산화 전위 및 236.74 ㎷의 환원전위를 재조합 아주린/금 나노입자 전극에 반복적으로 인가하였다. 확장된-유도 전류를 관찰하고 작동 전극에 고정화된 재조합 아주린과 비교하였다. 산화 전위 및 환원 전위의 인가에 의한 전류 신호 변화는 '1' 및 '0'의 정보값(information value)으로 사용될 수 있다.

[0076] 도 4a는 인가된 전위의 도표를 나타낸다. 도 4b는 산화 전위(432.11 ㎷) 및 환원 전위(236.74 ㎷)를 반복적으로 인가하였을 때, 제조된 전극으로부터 전류의 유입 및 유출이 안정함을 나타낸다. 재조합 아주린 고정된 전극의 경우, 이에 대한 전류 반응은 도 4b의 곡선 1과 같이 2-상 메모리로 나타난다. 그러나, 재조합 아주린/금 나노입자 고정된 전극의 경우 전류 신호는 도 4b의 곡선 2에 나타나있듯이, 재조합 아주린 고정된 전극과 비교하여 보다 향상되었다. 이러한 전류값을 이용하여, 재조합 아주린 층 및 재조합 아주린/금 나노입자 이중층의 저장된 전하를 다음의 공식을 통해 산출하였다:

[0077] $Q=\int idt$

[0078] '쓰기' 또는 '지우기'에 의한 재조합 아주린 및 재조합 아주린/금 나노입자 안에 저장된 전하의 양은 크로노전류법에 나타난 전류로부터 산출하였다. 재조합 아주린 단일층 및 재조합 아주린/금 나노입자 이중층의 전하된 전류는 각각 대략 1.1413 μC 및 4.503 μC로 계산하였다. 이러한 결과는 재조합 아주린 단일층과 비교하여, 재조합 아주린/금 나노입자 이중층에 더 많은 전하가 저장됨을 설명한다. 재조합 아주린 및 금 나노입자 간의 상호작용으로부터 3.3617 μC의 전하된 전자가 유래된다. 이러한 결과는 바이오-메모리 디바이스에 있어 신호 효소를 확장하는데 금 나노입자가 중요하다는 것을 확실히 설명한다.

[0079] 본 발명에서, 신호-확장 바이오-메모리 디바이스는 정해진 구역 안에 더 많은 전하를 저장하기 위해 개발하였다. 목적을 달성하기 위해, 금 기판 위에 시스테인-조작된 아주린/금 나노입자 이중층을 제조하였다. 원자력 현미경 및 표면 플라스몬 공명 결과에 기초하여, 재조합 아주린/금 나노입자 이중층이 성공적으로 제조됨을 확인하였다. 순환 전류전압법 결과는 재조합 아주린 단일층과 비교하여 다양한 재조합 아주린/금 나노입자 이중층은 확장된 산화환원 전류를 가짐을 설명한다. 같은 조건에서 크로노전류법을 통해 신호-확장 바이오-메모리 기능을 확인하였다. 그러므로, 본 연구에서 새로운 방식의 생체분자 메모리 시스템을 개발하였다.

또한, 본 발명의 바이오-메모리 디바이스는 실리콘-기반 메모리 디바이스를 효과적으로 대체 할 수 있으며 나노 규모의 메모리 기능을 수행할 수 있다.

[0080] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0081] **참조 문헌**

[0082] [1] P.N. Bartlett in Bioelectrochemistry: Fundamentals, Experimental Techniques and Applications, 1st ed.,Wiley, Chichester, West Sussex, UK 2008,pp.3.38.

[0083] [2] D.E.Woolley,L.C.Tetiow,D.J. Adlam,D. Gearey,R.D. Eden,T.H.Ward,T.D. Allen, Exp. Cell. Res. 2002, 273, 65.

[0084] [3]H.N.Li,Y.X.Ci,J.Feng,K. Cheng,S.Fu,D.B.Wang, Bioelectrochem. Bioenerg. 1999, 48, 171.

[0085] [4] C. Xiao,B. Lachance,G. Sunahara,J.H.T. Luong, Anal. Chem. 2002, 74, 5748. [5] C. Xiao,J.H.T. Luong, Biotechnol. Prog. 2003, 19, 1000.

[0086] [6] S. Arndt,J. Seebach, K. Psathaki, H.J. Galla,J.Wegener, Biosens. Bioelectron. 2004, 19, 583.

[0087] [7] K. Kerman, M. Kobayashi, E. Tamiya, Measure. Sci. Tech. 2004, 15, R1.

[0088] [8] J.Wang, Biosens. Bioelectron. 2006, 21, 1887.

[0089] [9] K. Kerman, M. Vestergaard, N. Nagatani, Y. Takamura, E. Tamiya,Anal. Chem. 2006, 8, 2182.

[0090] [10] A. Bini, M. Minunni, S. Tombelli, S. Centi, M. Mascini, Anal. Chem. 2007, 79, 3016.

[0091] [11] J. Newman, A.P.F.Turner, Biosens. Bioelectron. 2005, 20, 2435.

[0092] [12] K. Kerman M. Vestergaard, E. Tamiya, “Methods in Biotechnology” in lectrochemical Biosensors (Ed: A. Rasooly), Humana Press, USA, in press.

[0093] [13] S. Centi, S. Tombelli, M. Minnuni, M. Mascini, Anal.Chem. 2007, 79, 466.

[0094] [14] F. A. Armstrong, in Bioelectrochemistry (Ed: G.S. Wilson), Wiley-VCH,Weinheim2002,pp. 11. 29.

[0095] [15] J.-W. Choi,B.-K. Oh,J. Min,Y.J. Kim, Appl. Phys. Lett. 2007, 91, 263902.

[0096] [16] T. Lee,S. -U. Kim,J. Min,J.-W. Choi, Adv. Mater. 2010, 22, 510.

[0097] [17] T. Lee,J. Min,S.-U. Kim,J.-W. Choi, Biomaterials 2011, 32, 3815.

[0098] [18] T. Lee,W.A. El-Said,J. Min,J.-W. Choi, Biosens. Bioelectron. 2011, 26, 2304.

[0099] [19] S.-U. Kim, A. K. Yagati, J. Min, J.-W. Choi, Biomterials 2010, 31, 1293.

[0100] [20] M. Aubin-Tam, K. Hamad-Schifferli, Biomed. Mater. 2008, 034001.

[0101] [21] P.S.Jensen,Q. Chi,J. Zhang,J. Ulstrup, J. Phys. Chem. C 2009, 113, 13993.

[0102] [22] J.Min,T.Lee,S.-M.Oh,H.Kim,J.-W. Choi, Bioetchnol. Bioprocess Eng. 2010, 5, 30.

[0103] [23] P.S.Jensen,Q. Chi,F.B. Grumsen,J.M. Abad, A. Horsewell, D.J. Schiffrin,J. Ulstrup, J. Phys. Chem. C 2007, 111, 6124.

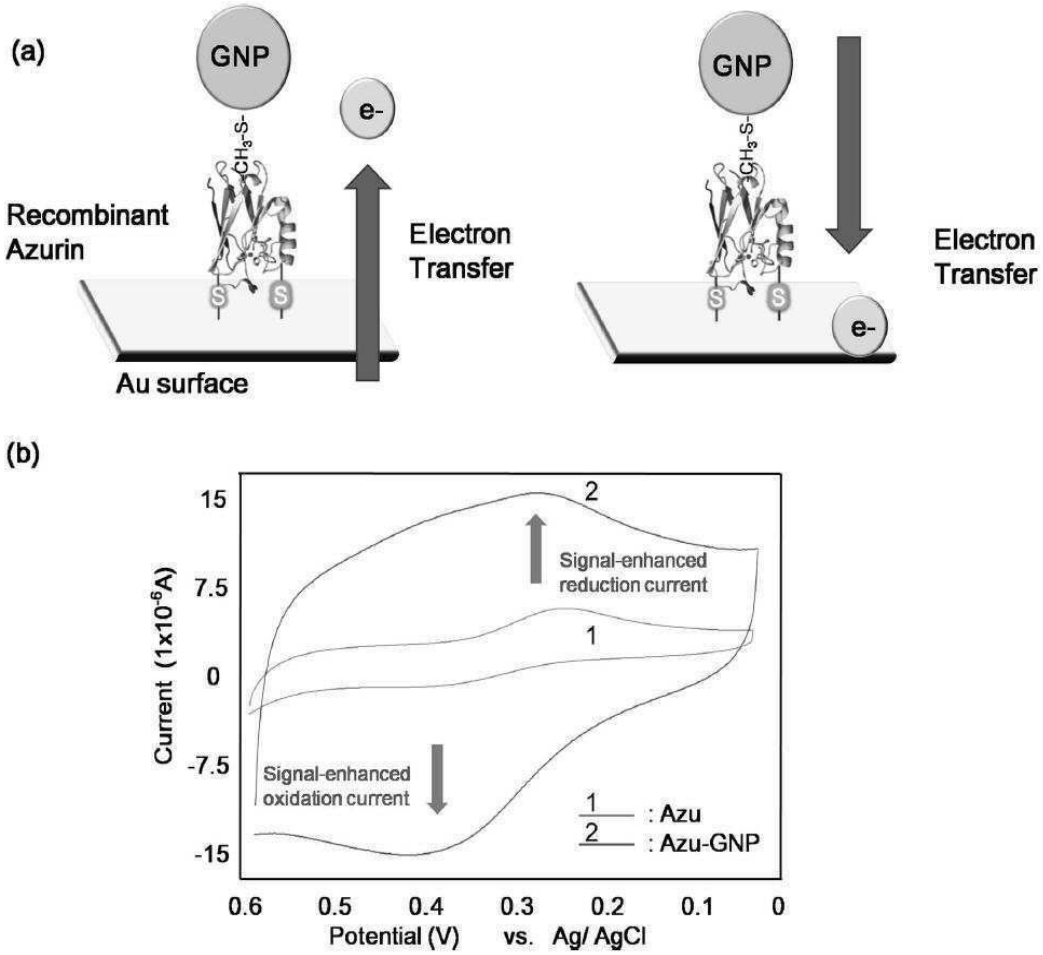
[0104] [24] M. Bixon, B. Giese, S. Wessely, T. Langenbacher, M.E. Michel-Beyerle,J.Jortner, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 11713.

[0105] [25] J. Min,S.-U. Kim,Y.J. Kim,C.-H.Yea,J.-W. Choi, J. Nanosci. Nanotechnol. 2008, 8, 4982.

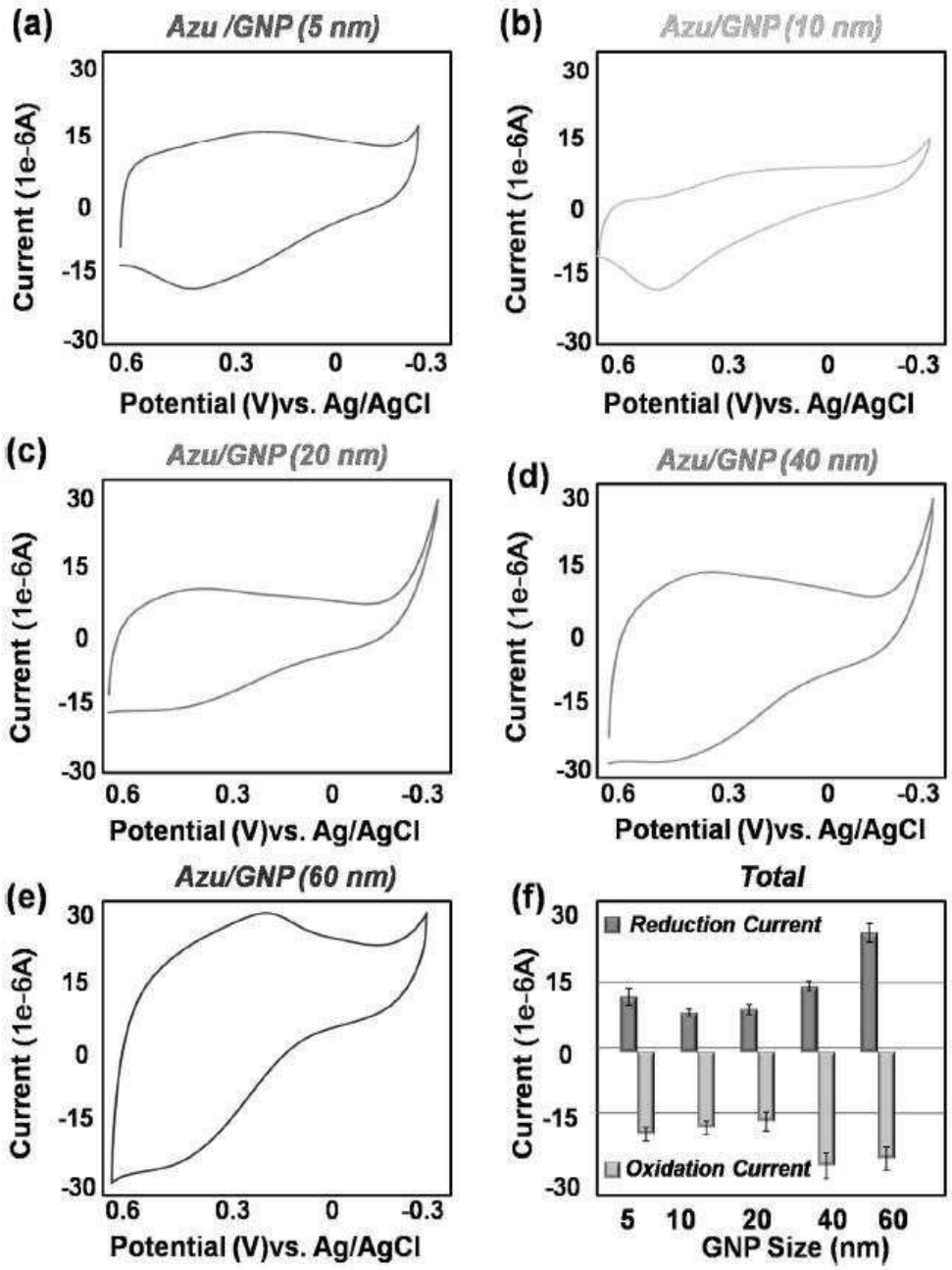
[0106] [26] T. Lee,S. -U. Kim,J. -H. Lee,J. Min,J.-W. Choi, J. Nanosci. Nanotechnol. 2009, 9, 7136.

도면

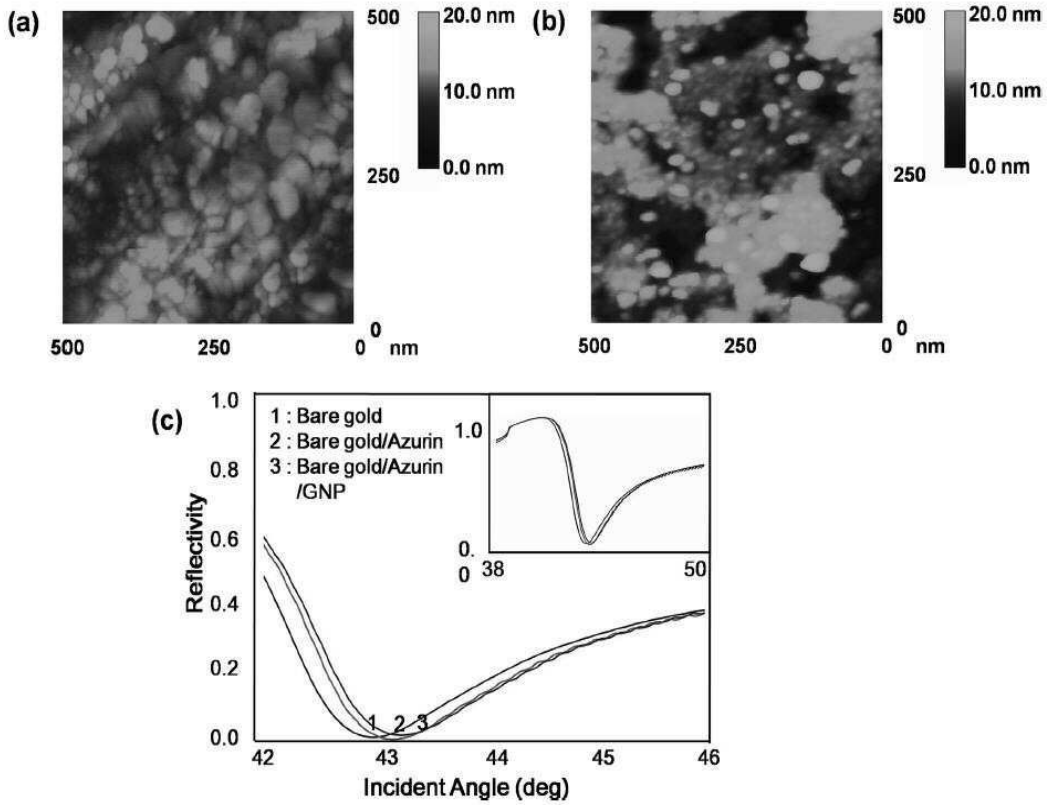
도면1



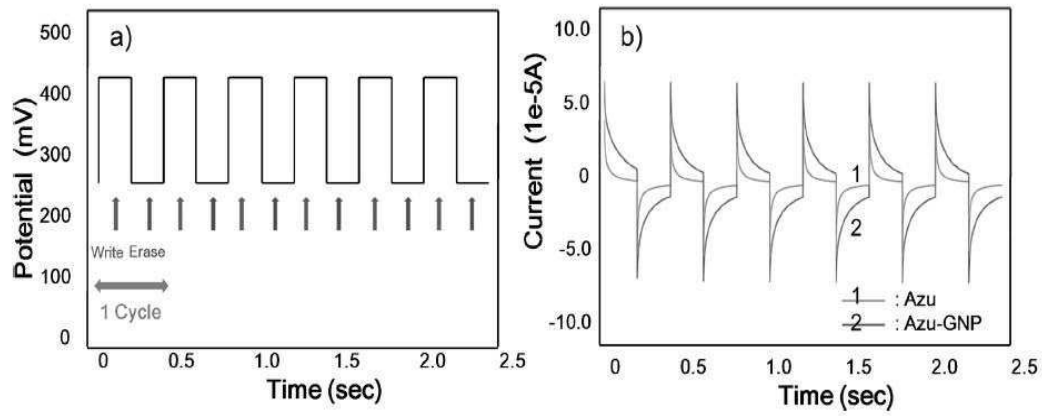
도면2


(a)
Azu /GNP (5 nm)
(b)
Azu/GNP (10 nm)
(c)
Azu/GNP (20 nm)
(d)
Azu/GNP (40 nm)
(e)
Azu/GNP (60 nm)
(f)
Total
Current (1e-6A)
30
15
0
-15
-30
0.6
0.3
0
-0.3
Potential (V)vs. Ag/AgCl
Reduction Current
Oxidation Current
5
10
20
40
60
GNP Size (nm)

도면3


(a)
500
250
0
nm
20.0 nm
10.0 nm
0.0 nm
(b)
500
250
0
nm
20.0 nm
10.0 nm
0.0 nm
(c)
1 : Bare gold
2 : Bare gold/Azurin
3 : Bare gold/Azurin /GNP
Reflectivity
Incident Angle (deg)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
42
43
44
45
46
1
2
3
38
50

도면4


a)
Potential (mV)
Write Erase
1 Cycle
Time (sec)
b)
Current (1e-5A)
1 : Azu
2 : Azu-GNP
Time (sec)