



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.	(45) 공고일자	2007년06월19일
G01N 33/53 (2006.01)	(11) 등록번호	10-0729147
G01N 33/573 (2006.01)	(24) 등록일자	2007년06월11일

(21) 출원번호	10-2006-0056350	(65) 공개번호
(22) 출원일자	2006년06월22일	(43) 공개일자
심사청구일자	2006년06월22일	

(73) 특허권자 고려대학교 산학협력단
 서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자 홍석인
 경기 용인시 기흥구 마북동 625번지 교동마을 현대 필그린 아파트110동
 1004호

 송민정
 서울 영등포구 대림2동 1076-4호 19/1

 윤동화
 서울 은평구 응암동 366-4호 대신 오피스텔 402호

(74) 대리인 현종철

(56) 선행기술조사문헌	
KR1020020088521 A	US20060030028 A1
US5312590 A	US5705045 A
US6402571 B1	

심사관 : 조명선

전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 고감도 바이오센서 및 이를 포함하는 복합 바이오센서

(57) 요약

고감도 바이오센서 및 이를 포함하는 복합 바이오센서가 개시된다.

본 발명에 따르는 고감도 바이오센서는

실리콘 기관의 상부에 적층되고 외부의 전원과 전기적으로 연결되는 상대전극단자부;

상기 상대전극단자부에서 일방향으로 연장되어 구비되는 상대전극배선부의 끝단에 마련되는 상대전극부;

상기 상대전극부와 대향되게 상기 실리콘 기관의 상부에 복수개의 요철의 형상으로 적층되는 작업전극부;

상기 작업전극부의 상부에 공유결합을 통하여 고정되며 특정 기질과 반응하는 소정 효소로 이루어지는 효소고정부;
 상기 작업전극부에서 일방향으로 연장되고 상기 상대전극배선부와 평행하게 구비되는 작업전극배선부;
 상기 작업전극배선부의 끝단에 마련되는 외부의 전기회로에 연결되는 작업전극단자부;

상기 상대전극배선부와 작업전극배선부의 사이에 적층되고 상기 작업전극단자부와 상대전극단자부까지 평행하게 연장되어 구비되는 기준전극배선부의 끝단에 마련되는 기준전극단자부;를 포함하는 것으로서, 간기능 이상유무를 판단할 수 있는 지표물질인 콜레스테롤과 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT) 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(AST)를 동시에 측정할 수 있기 때문에 효율적이고, 박막공정을 이용하여 소형화할 수 있으므로 일반가정용으로 사용가능한 범용성이 우수하다.

대표도

도 1

특허청구의 범위

청구항 1.

실리콘 기관의 상부에 적층되고 외부의 전원과 전기적으로 연결되는 상대전극단자부;
 상기 상대전극단자부에서 일방향으로 연장되어 구비되는 상대전극배선부의 끝단에 마련되는 상대전극부;
 상기 상대전극부와 대향되게 상기 실리콘 기관의 상부에 복수개의 요철의 형상으로 적층되는 작업전극부;
 상기 작업전극부의 상부에 공유결합을 통하여 고정되며 특정 기질과 반응하는 소정 효소로 이루어지는 효소고정부;
 상기 작업전극부에서 일방향으로 연장되고 상기 상대전극배선부와 평행하게 구비되는 작업전극배선부;
 상기 작업전극배선부의 끝단에 마련되는 외부의 전기회로에 연결되는 작업전극단자부;
 상기 상대전극배선부와 작업전극배선부의 사이에 적층되고 상기 작업전극단자부와 상대전극단자부까지 평행하게 연장되어 구비되는 기준전극배선부의 끝단에 마련되는 기준전극단자부;를 구비하는 하는 것을 특징으로 하는 고감도 바이오센서.

청구항 2.

제 1 항에 있어서,
 상기 작업전극부는 백금(Pt) 박막을 포함하는 것을 특징으로 하는 고감도 바이오센서.

청구항 3.

제 2 항에 있어서,
 상기 백금 박막의 상부에는 산화반응(oxidation)에 의하여 히드록시기(-OH)가 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 고감도 바이오센서.

청구항 4.

제 1 항에 있어서,

상기 복수개의 요철의 형상은 상기 실리콘 기관과 대응되는 형상인 것을 특징으로 하는 고감도 바이오센서.

청구항 5.

제 1 항에 있어서,

상기 소정 효소는 콜레스테롤 산화효소, 빌리루빈 산화효소 및 글루타메이트 산화효소로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 고감도 바이오센서.

청구항 6.

제 1 항에 있어서,

상기 특정 기질은 콜레스테롤, 빌리루빈 및 글루타메이트로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 고감도 바이오센서.

청구항 7.

제 1 항에 있어서,

상기 기준전극배선부의 상부에는 전기적 특성을 향상시키는 은(Ag) 또는 칼륨(K)을 포함하는 도전체가 더 적층되는 것을 특징으로 하는 고감도 바이오센서.

청구항 8.

실리콘 기관의 상부에 적층되고 외부의 전원과 전기적으로 연결되는 상대전극단자부;

상기 상대전극단자부에서 일방향으로 연장되어 구비되는 상대전극배선부의 끝단에 마련되는 상대전극부;

상기 상대전극부와 대향되게 상기 실리콘 기관의 상부에 복수개의 요철의 형상으로 적층되는 작업전극부;

상기 작업전극부의 상부에 공유결합을 통하여 고정되며 특정 기질과 반응하는 소정 효소로 이루어지는 효소고정부;

상기 작업전극부에서 일방향으로 연장되고 상기 상대전극배선부와 평행하게 구비되는 작업전극배선부;

상기 작업전극배선부의 끝단에 마련되는 외부의 전기회로에 연결되는 작업전극단자부;

상기 상대전극배선부와 작업전극배선부의 사이에 적층되고 상기 작업전극단자부와 상대전극단자부까지 평행하게 연장되어 구비되는 기준전극배선부의 끝단에 마련되는 기준전극단자부;를 포함하는 고감도 바이오센서를 복수개 포함하는 것을 특징으로 하는 복합 바이오센서.

청구항 9.

제 8 항에 있어서,

상기 복수개의 효소고정부에는 콜레스테롤 산화효소, 빌리루빈 산화효소 및 글루타메이트 산화효소가 각각 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 복합 바이오센서.

청구항 10.

제 8 항에 있어서,

상기 실리콘 기판의 상부에는 상기 복수개의 고감도 바이오센서를 밀폐하도록 덮개를 더 구비하는 것을 특징으로 하는 복합 바이오센서.

청구항 11.

제 10 항에 있어서,

상기 덮개의 하부에는 외부와 통하는 적어도 하나의 유출구 및 유입구를 포함하는 유로가 형성되고, 상기 유로는 효소고정부의 상부를 지나가는 것을 특징으로 하는 복합 바이오센서.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 고감도 바이오센서 및 이를 포함하는 복합 바이오센서에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 간기능 이상유무를 판단할 수 있는 지표물질인 콜레스테롤과 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT) 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(AST)를 동시에 측정할 수 있기 때문에 효율적이고, 박막공정을 이용하여 소형화할 수 있으므로 일반가정용으로 사용 가능한 범용성이 우수한 고감도 바이오센서 및 이를 포함하는 복합 바이오센서에 관한 것이다.

일반적으로 바이오센서의 응용분야는 크게 의료용(임상적 진단), 환경용, 식품용, 군대용, 산업용, 실험 연구용으로 나눌 수 있다. 이들 중에서 의료용은 가장 많이 바이오센서가 응용되는 분야로서, 효소가 특정 분자를 식별하는 성질을 이용하는 각종 타입의 바이오센서의 개발이 진행되고 있으며, 최근에는 당뇨병의 혈당치 센서, 유산 센서, 콜레스테롤 센서, 글루타민산 센서와 같이 다양한 생체물질을 분석하거나 진단하는 바이오센서가 시판되거나 개발 중에 있다.

그러나 현실적으로는 특정 성분만을 검출하는 단일 기능을 가진 바이오센서만으로는 다양하고 복잡한 생체물질을 분석하는데에는 문제가 있다. 즉, 어느 하나의 질병에 대해서 하나의 특정 물질만이 반응하는 것이 아니므로, 질병에 관련되는 지표물질들을 되도록 많이 검출하는 것이 임상적으로 더 적합한 요구라고 볼 수 있다.

또한, 종래의 바이오센서는 광을 이용한 분광학적 방법(spectrophotometric method)을 이용하고 있다. 그러나, 이런 방법들은 특정한 생체물질에 대한 감도가 낮은 문제가 있을 뿐만 아니라, 더욱이 가장 큰 문제는 분광학적인 광시스템장비가 고가라는 것이다. 따라서, 일반 가정용과 같은 범용성을 갖지 못한다.

또한, 상술한 감도가 낮고 비싼 문제점을 해결하고자 최근에는 전기화학적 방법으로 생체물질을 검출하는 바이오센서들이 개발되고 있다. 예를 들면, 대한민국등록특허공보 제0166939호에서는 글루타메이트 산화효소를 이용하여 글루타메이트-파이루베이트 트랜스 아미네이즈(GPT) 및 글루타메이트-옥살로아세테이트 트랜스 아미네이즈(GOT)를 동시에 측정할 수 있는 바이오센서를 공개하고 있으나, 이는 전도성 고분자에 글루타메이트 산화효소를 물리적으로 고정하는 기술로서

그 제조공정이 단순하다는 잇점은 있지만, 바이어센서에 효소를 고정화시킬 수 있는 전극 면적이 작아서 소형화가 어려울 뿐만 아니라 더욱이 효소들의 배향성이 좋지 않기때문에 전류의 흐름이 원활하지 않은 문제점이 있었다. 다시 말하면, 상기 바이오센서의 감도가 떨어져 신호(signal)인지 잡음(noise)인지 구별이 어려운 문제가 있었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

따라서, 본 발명이 이루고자 하는 첫번째 기술적 과제는 간기능 이상유무를 판단할 수 있는 지표물질인 콜레스테롤과 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT) 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(AST)를 동시에 측정할 수 있기 때문에 효율적이고, 박막공정을 이용하여 소형화할 수 있으므로 일반가정용으로 사용가능한 범용성이 우수한 센서를 제공하는 것이다.

또한, 본 발명에 이루고자 하는 두번째 기술적 과제는 간기능 이상유무를 판단할 수 있는 지표물질인 콜레스테롤과 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제를 동시에 측정할 수 있기 때문에 효율적이고, 박막공정을 이용하여 소형화할 수 있으므로 일반가정용으로 사용가능한 범용성이 우수한 고감도 바이오센서를 제공하는 것이다.

발명의 구성

본 발명은 상기 첫번째 기술적 과제를 달성하기 위하여

실리콘 기판의 상부에 적층되고 외부의 전원과 전기적으로 연결되는 상대전극단자부;

상기 상대전극단자부에서 일방향으로 연장되어 구비되는 상대전극배선부의 끝단에 마련되는 상대전극부;

상기 상대전극부와 대향되게 상기 실리콘 기판의 상부에 복수개의 요철의 형상으로 적층되는 작업전극부;

상기 작업전극부의 상부에 공유결합을 통하여 고정되며 특정 기질과 반응하는 소정 효소로 이루어지는 효소고정부;

상기 작업전극부에서 일방향으로 연장되고 상기 상대전극배선부와 평행하게 구비되는 작업전극배선부;

상기 작업전극배선부의 끝단에 마련되는 외부의 전기회로에 연결되는 작업전극단자부;

상기 상대전극배선부와 작업전극배선부의 사이에 적층되고 상기 작업전극단자부와 상대전극단자부까지 평행하게 연장되어 구비되는 기준전극배선부의 끝단에 마련되는 기준전극단자부;를 포함하는 것을 특징으로 하는 고감도 바이오센서를 제공한다.

본 발명의 바람직한 일 실시예에 의하면, 상기 작업전극부는 백금(Pt) 박막을 포함하는 것일 수 있다.

또한, 상기 백금 박막의 상부에는 산화반응(oxidation)에 의하여 히드록시기(-OH)가 결합되어 있을 수 있다.

아울러, 상기 복수개의 요철의 형상은 상기 실리콘 기판과 대응되는 형상일 수 있다.

또한, 상기 소정 효소는 글루타메이트 산화효소, 콜레스테롤 산화효소 및 빌리루빈 산화효소로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

아울러, 상기 특정 기질은 콜레스테롤, 빌리루빈 및 글루타메이트로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

또한, 상기 기준전극배선부의 상부에는 전기적 특성을 향상시키는 은(Ag) 또는 칼륨(K)을 포함하는 도전체가 더 적층될 수 있다.

한편, 본 발명은 상기 두번째 기술적 과제를 달성하기 위하여,

실리콘 기판의 상부에 적층되고 외부의 전원과 전기적으로 연결되는 상대전극단자부;

상기 상대전극단자부에서 일방향으로 연장되어 구비되는 상대전극배선부의 끝단에 마련되는 상대전극부;

상기 상대전극부와 대향되게 상기 실리콘 기관의 상부에 복수개의 요철의 형상으로 적층되는 작업전극부;

상기 작업전극부의 상부에 공유결합을 통하여 고정되며 특정 기질과 반응하는 소정 효소로 이루어지는 효소고정부;

상기 작업전극부에서 일방향으로 연장되고 상기 상대전극배선부와 평행하게 구비되는 작업전극배선부;

상기 작업전극배선부의 끝단에 마련되는 외부의 전기회로에 연결되는 작업전극단자부;

상기 상대전극배선부와 작업전극배선부의 사이에 적층되고 상기 작업전극단자부와 상대전극단자부까지 평행하게 연장되어 구비되는 기준전극배선부의 끝단에 마련되는 기준전극단자부;를 포함하는 고감도 바이오센서를 복수개 포함하는 것을 특징으로 하는 복합 바이오센서를 제공한다.

또한, 상기 복수개의 효소고정부에는 콜레스테롤 산화효소, 빌리루빈 산화효소 및 글루타메이트 산화효소가 각각 결합되어 있을 수 있다.

아울러, 상기 실리콘 기관의 상부에는 상기 복수개의 고감도 바이오센서를 밀폐하도록 덮개를 더 구비할 수 있다.

또한, 상기 덮개의 하부에는 외부와 통하는 적어도 하나의 유출구 및 유입구를 포함하는 유로가 형성되고, 상기 유로는 효소고정부의 상부를 지나가는 것일 수 있다.

이하, 본 발명의 바람직한 실시예를 첨부도면에 의거하여 상세히 설명하기로 한다.

그러나, 다음에 예시하는 본 발명의 실시예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 다음에 상술하는 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당 업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위하여 제공되어지는 것이다. 도면에서 막 또는 영역들의 크기 또는 두께는 명세서의 명확성을 위하여 과장되어진 것이다.

도 1은 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르는 고감도 바이오센서의 일부를 확대한 사시도이다. 도 1을 참조하면, 본 발명에 따르는 고감도 바이오센서는 실리콘 기관(130)의 상부에 형성된 상대전극단자부(124), 상기 상대전극단자부에서 일방향으로 연장되어 구비되는 상대전극배선부(122)의 끝단에 마련되는 상대전극부(120), 상기 상대전극부와 대향되게 상기 실리콘기관의 상부에 복수개의 요철의 형상으로 적층되는 작업전극부(106), 상기 작업전극부(106)의 상부에 공유결합을 통하여 고정되며 특정 기질과 반응하는 소정 효소로 이루어지는 효소고정부(100), 상기 작업전극부에서 일방향으로 연장되고 상기 상대전극배선부(122)와 평행하게 구비되는 작업전극배선부(102), 상기 작업전극배선부의 끝단에 마련되는 외부의 전기회로에 연결되는 작업전극단자부(104), 상기 상대전극배선부와 작업전극배선부의 사이에 적층되고 상기 작업전극단자부와 상대전극단자부까지 평행하게 연장되어 구비되는 기준전극배선부(112)의 끝단에 마련되는 기준전극단자부(114) 및 상기 기준전극배선부(112)의 타단에 형성되는 기준전극부(110)를 포함하는 것을 특징으로 한다.

상기 상대전극부(120), 상대전극배선부(122) 및 상대전극단자부(124)는 전기적으로 일체를 이루도록 형성되는 방법이라면 특별하게 제한할 필요는 없으나, 바람직하게는 진공증착법을 이용할 수 있다. 예를 들면, 백금(Pt)을 타겟(target)으로 하여 스퍼터(sputter)하는 방법을 이용할 수 있다.

한편, 상기 상대전극부(120)와 대향되게 상기 실리콘기관(130)의 상부에 복수개의 요철의 형상으로 적층되는 작업전극부(106)는 당업계에서 통상적으로 사용하는 도체인 한 특별하게 제한하는 것은 아니나, 바람직하게는 백금을 사용할 수 있다. 상기 작업전극부를 형성하는 방법은 상술한 바와 같이 스퍼터를 이용할 수 있다. 여기서, 백금으로 작업전극부(106)를 형성하는 경우에는 상기 실리콘기관(130)과의 부착성의 향상을 위하여 티타늄(Ti)과 같은 물질로써 버퍼층(미도시)을 더 구비할 수 있다. 아울러, 상기 실리콘 기관(130)의 상부에 산화층(미도시)을 더 구비하여 그 상부에 적층되는 상대전극부 및 기준전극배선부와와의 부착력을 향상시킬 수 있다.

또한, 상기 작업전극부(106)는 복수개의 요철의 형상으로 구비되는데, 이는 상기 작업전극부(106)의 표면적을 증가시킬 수 있는 범위 내에서 여타의 방법을 이용하여 형성할 수 있다. 예를 들면, 상기 작업전극부의 하부에 위치한 실리콘기관의 표면에 복수개의 요철을 미리 형성할 수 있는데, 더욱 상세하게는 후술한다.

또한, 상기 작업전극부의 상부에는 효소고정부(100)가 배치된다. 상기 효소고정부는 특정 기질(substrate)에 대하여 화학 반응을 할 수 있다. 여기서 상기 화학반응은 이른바 효소-기질 반응으로서 특정 기질에는 특정 효소가 결합하여 상기 기질이 화학반응을 할 수 있음을 의미한다. 상기 효소고정부(100)는 소정 효소로 이루어지는데, 바람직하게는 콜레스테롤 산화효소, 빌리루빈 산화효소 및 글루타메이트 산화효소로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다. 또한, 상기 특정 기질은 콜레스테롤, 빌리루빈, 글루타메이트로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다. 여기서, 상기 콜레스테롤 산화효소는 콜레스테롤 기질과 반응하고, 빌리루빈 산화효소는 빌리루빈과 반응하며, 글루타메이트 산화효소는 알라닌과 아스파테이트 기질에서 생성되는 글루타메이트를 산화시키는데, 상기 소정 효소와 특정 기질에 대하여 더욱 상세하게는 후술한다.

한편, 상기 상대전극배선부(122)와 작업전극배선부(102)의 사이에 적층되고 상기 작업전극단자부(104)와 상대전극단자부(124)까지 평행하게 연장되어 구비되는 기준전극배선부(112)가 형성되어 있다. 상기 기준전극배선부(112)는 3-전극계(3-electrode system)에서 기준전극의 일부이다. 또한, 상기 기준전극배선부의 일 단에는 기준전극단자부(114)가 마련되어 외부의 전기회로에 연결된다. 여기서, 상기 외부의 전기회로라 함은 효소-기질 반응의 결과로서 생성되는 과산화수소(H_2O_2)에 의하여 작업전극부에 전자(e^-)를 공급받아 통전될 수 있는 폐회로를 의미하는데, 예를 들면, 전류-전압 측정 장치일 수 있다.

상기 기준전극배선부의 타단에는 기준전극부(110)가 마련될 수 있다. 상기 기준전극부(110)는 상술한 효소고정부(100) 또는 상대전극부(120)와 전류가 흐를 수 있는 경로(path)를 감소시킬 수 있는 범위 내에서 도 1에 나타난 형상에 한정되는 것은 아니다.

한편, 도 2는 본 발명의 다른 실시예에 의한 고감도 바이오센서를 도 1의 A-B 선을 따라 절취한 부분절개단면도이다. 도 2를 참조하면, 본 발명에 따르는 고감도 바이오센서는 실리콘 기판(200), 상기 실리콘 기판(200) 상부에 적층되는 상대전극부(220) 및 기준전극배선부(230)를 포함하는 구조인데, 이에 관한 상세한 설명은 도 1에서 상술한 바와 같이 여기서는 생략한다. 다만, 상기 실리콘 기판(200)의 상부에는 상대전극부 및 기준전극배선부와는 부작력 향상을 위하여 산화층(미도시)이 구비될 수 있다.

또한, 상기 실리콘기판의 일부분에 복수개의 요철부(240)가 형성되어 있고, 상기 요철부의 상부로 작업전극부(250) 및 효소고정부(260)가 순차적으로 적층된다.

상기 실리콘 기판상의 복수개의 요철부(240)는 강산인 전해질에 의하여 형성될 수 있다. 상기 강산은 당업계에서 통상 사용하는 것인 한 특별하게 제한할 필요는 없으나, 바람직하게는 불산(HF 수용액)을 사용할 수 있다. 상기 전해질을 복수개의 요철부가 형성될 부분에만 배치시키고 실리콘기판을 일 전극으로 하고 전해질에 타 전극을 침지하여 소정 전압을 인가함으로써 상기 복수개의 요철부가 생성된다. 이는 일종의 전기분해의 원리를 이용하는 것이다. 여기서, 상기 전해질을 복수개의 요철부가 형성될 영역에만 배치시키는 방법은 특별하게 한정할 것은 아니나, 상기 전해질에 부식되지 않는 물질을 상기 복수개의 요철부가 형성될 영역이외의 영역에 적층하여 전해질에 의하여 침식되지 않는 방법이 바람직하다. 예를 들면, 폴리이미드(polyimide)를 상기 복수개의 요철부가 형성될 영역이외의 영역에 적층하고 건조한 이후에 상기 전해질에 실리콘기판을 침지하여 소정 전압을 인가할 수 있다.

또한, 상기 복수개의 요철부(240)의 상부에는 작업전극부(250)가 형성된다. 상기 작업전극부(250)는 효소고정부(260)에서 전자(e^-)를 전달받아 외부의 전기회로로 전류를 공급한다. 또한, 상기 작업전극부(250)는 복수개의 요철의 형상으로 구비되는데, 이는 상기 작업전극부의 표면적을 증가시킬 수 있는 범위 내에서 여타의 방법을 이용하여 형성할 수 있다. 예를 들면, 진공증착법을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 백금(Pt)을 타겟(target)으로 하여 스퍼터(sputter)할 수 있다. 또한, 상기 작업전극부(250)의 하부에는 이산화규소로 이루어진 산화층(미도시)이 더 개재되어 상기 작업전극부(250)과 실리콘기판의 요철부(240)와의 부작력을 향상시킬 수 있다.

한편, 상기 작업전극부(250)의 상부에는 효소고정부(260)가 배치된다. 상기 효소고정부는 특정 기질과 효소-기질 반응을 할 수 있는데, 콜레스테롤 산화효소, 빌리루빈 산화효소 및 글루타메이트 산화효소로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로 이루어질 수 있다. 또한, 상기 특정 기질은 콜레스테롤, 빌리루빈 및 글루타메이트로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다. 여기서, 알라닌 아미노트랜스퍼라제(aminotransferase) 또는 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(aminotransferase)는 인간의 혈액(blood)속에 존재하는 효소로서 본 발명에 따르는 바이오센서와 직접 반응하는 것이 아니라, 알라닌 아미노트랜스퍼라제(aminotransferase) 또는 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(aminotransferase)에 의한 아미노기전이반응(transamination)에 의하여 생성되는 글루타메이트 기질이 글루타메이트 산화효소와 반응하게 된

다. 이를 더 상세하게 설명하면, 본 발명에 의한 고감도 바이오센서의 효소고정부(260)에 환자에게서 채취한 혈액을 소정 농도의 알라닌 또는 아스파테이트 및 α -키토글루타레이트(α -ketoglutarate)와 함께 공급하면 혈액속에 존재하는 알라닌 아미노트랜스퍼라제(aminotransferase) 또는 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(aminotransferase)에 의하여 알라닌 또는 아세테이트의 아미노기($-\text{NH}_2$)를 α -키토글루타레이트(α -ketoglutarate)에 결합시킨다. 이 과정에서 α -키토글루타레이트(α -ketoglutarate)는 물(H_2O) 한 분자를 내어 놓으며 글루타메이트가 생성된다. 따라서, 생성된 글루타메이트 기질이 상술한 효소고정부의 글루타메이트 산화효소와 반응하게 되는 것이다.

또한, 상기 효소고정부(260)에는 소정 효소가 고정되는데, 작업전극부(250)에 직접 상기 효소를 결합시킬 수 없기 때문에 산화반응, 실란화반응(규소결합화), 이민생성반응 및 특정효소에 의한 이민생성반응을 순차적으로 거치면서 효소고정부가 형성되는 것이다. 상기 효소고정부(260)를 형성하는 방법에 대하여 구체적인 설명을 위하여 도 3을 참조하면, 먼저 작업전극부(250)를 산화시킬 필요가 있다. 바람직하게는 크롬산($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)과 질산(HNO_3)을 혼합한 용액에 의하여 작업전극부가 산화반응을 한다. 따라서, 상기 작업전극부(250)의 산화된 표면에는 히드록시기($-\text{OH}$)가 결합된 형상이 된다. 상기 히드록시기는 반응을 잘하는 기능기(functional group)로서, 3-아미노프로필-트리에톡시실란(3-aminopropyl-triethoxysilane : APTES)과 반응하여 상기 작업전극(250)의 상부에 실란층을 형성하는 실란화반응을 한다. 여기서, 실란층이라 함은 규소(Si)를 포함하고 있는 층을 의미한다. 이어서, 글루타르알데하이드(glutaraldehyde)를 반응시킴으로써 상기 글루타르알데하이드의 하나의 알데히드와 상기 실란층의 아미노기가 이민생성반응을 통하여 이민결합을 형성한다. 다음으로, 상기 글루타르알데하이드의 다른 하나의 알데히드기와 효소고정부를 이루는 소정 효소(도면상 E로 표시)의 아미노기가 이민생성반응을 통하여 이민결합을 하게 된다. 따라서, 상술한 바와 같이 형성된 효소고정부는 배향성이 우수하여 후에 공급되는 특정 기질과 반응을 효율적으로 하게 된다.

또한, 상기 효소고정부에 고정되어 있는 효소는 특정 기질과 반응하여 과산화수소(H_2O_2)를 생성하게 되고 상기 과산화수소가 작업전극부에 전자를 내어주며 산화된다. 이를 더욱 상세하게 설명하기 위하여 도 4를 참조한다. 도 4는 본 발명의 다른 실시예에 따르는 바이오센서의 작용에 대하여 간의 이상 표지자인 콜레스테롤(Cholesterol) 기질이 효소고정부의 효소(ChOx)와 반응하는 형상을 모식적으로 나타낸 그림이다. 도 4를 참조하면, 상기 콜레스테롤(Cholesterol) 기질이 콜레스테롤 산화효소(ChOx)와 효소-기질 반응을 하여 과산화수소(H_2O_2)를 발생시키고, 상기 과산화수소가 작업전극부에 전자(e^-)를 전달하면서 산화되는 것을 알 수 있다. 여기서, 콜레스테롤을 예를 들어 설명하였으나, 이외에도 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제 검출 과정에서 생성되는 글루타메이트 중 어느 하나도 역시 각각에 대응되는 효소고정부의 소정 효소와 효소-기질 반응에 의하여 과산화수소를 발생시키고, 상기 과산화수소가 산화되며 전자(e^-)를 작업전극부에 전달하는 원리는 동일하게 적용된다.

한편, 도 5는 본 발명의 다른 실시예에 따르는 고감도 바이오센서의 기준전극부를 나타내는 그림이다. 도 5를 참조하면, 본 발명에 따르는 고감도 바이오센서는 실리콘 기관(300), 상기 실리콘 기관 상부에 적층되는 상대전극부(320) 및 기준전극배선부(330)를 포함하는 구조인데, 이에 관한 상세한 설명은 도 2에 대하여 상술한 바와 같이 여기서는 생략한다. 다만, 상기 실리콘 기관(300)의 상부에는 부착력 향상을 위하여 산화층(미도시)을 더 구비할 수 있음은 상술한 바이다.

또한, 상기 실리콘기관의 일부분에 복수개의 요철부(340)가 형성되어 있고, 상기 요철부의 상부로 작업전극부(350) 및 효소고정부(360)가 순차적으로 적층되어 있는데, 이에 관하여도 도 2에서 설명한 부분과 중복되어 상세한 설명은 생략한다.

또한, 상기 기준전극배선부(330)의 상부에 보조전극부(332)가 형성되어 있음을 볼 수 있다. 상기 보조전극부(332)는 본 발명에 의한 바이오센서는 마이크로 암페어(μA) 내지 미리 암페어(mA)의 약한 전류이기 때문에 바이오센서와 외부회로를 연결할 경우에 접촉저항이 증가하면 노이즈(noise)가 커질 수 있다. 따라서, 상기 접촉저항치를 감소시키기 위하여 구비된다. 아울러, 상기 보조전극부(332)는 기준전극배선부(330)와 물리적 부착력이 우수한 물질인 한 특별하게 제한할 것은 아니나, 바람직하게는 은(Ag), 염화은(AgCl), 칼륨(K) 및 염화칼륨(KCl)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다. 아울러, 상기 보조전극부(332)를 형성하는 방법은 당업계에서 통상 사용하는 것인 한 특별하게 한정할 것은 아니다.

한편, 도 6은 본 발명의 다른 실시예에 따르는 복합 바이오센서를 구현한 도면이다. 도 6을 참조하면, 실리콘기관의 상부에 네개의 고감도 바이오센서가 형성되어 있음을 볼 수 있다. 상기 고감도 바이오센서 각각은 전술한 바와 같은 특징을 가지고 있는데, 각각의 고감도 바이오센서는 효소고정부(410,420,430,440), 작업전극단자부(414,424,434,444), 기준전극단자부(416,426,436,446) 및 상대전극단자부(412,422,432,442)를 포함하고 있으며, 여타의 특징에 관하여는 상술한 바와 동일 또는 유사하여 생략한다. 다만, 상기 각각의 고감도 바이오센서의 효소고정부(410,420,430,440)에 고정되는 효소는

서로 다를 수 있다. 예를 들면, 사용된 효소가 콜레스테롤 산화효소, 빌리루빈 산화효소 및 글루타메이트 산화효소로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나로서 다를 수 있다는 것이다. 이러한 구성을 통하여 동시에 간기능의 지표물질인 콜레스테롤, 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제를 검출할 수 있게 된다.

또한, 상기 고감도 바이오센서의 상부에는 덮개를 더 구비할 수 있다. 도 7은 본 발명의 다른 실시예에 따르는 고감도 바이오센서의 단면도이다. 도 7을 참조하면, 상기 고감도 바이오센서(700)는 실리콘 기판(702), 상대전극, 기준전극, 작업전극 등을 포함하고 있는데, 이에 관한 설명은 상술한 바와 같아 생략하고, 기타의 특징을 설명한다. 여기서, 효소고정부(710,720,730,740)가 구비되어 있다. 상기 효소고정부(710,720,730,740)에는 콜레스테롤 산화효소, 빌리루빈 산화효소 및 글루타메이트 산화효소가 적어도 하나씩 구비되어, 인간의 간 기능 이상유무의 표시자인 콜레스테롤, 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제를 동시에 측정할 수 있다.

한편, 상기 효소고정부의 상부로는 덮개(760)가 구비되어 있음을 볼 수 있다. 상기 덮개(760)는 그 하부에 유로(750)가 형성되어 있고, 실리콘 기판(702)상의 효소고정부(710,720,730,740)의 상부를 지나간다. 또한, 상기 유로(750)는 양끝이 연장되어 덮개(760)를 상하방향으로 관통하는 유입구(748) 및 유출구(752)를 구비한다. 상기 유출입구(748,752)를 통하여 외부에서 본 발명의 고감도 바이오센서에 인간의 혈액을 주입할 수도 있고, 제거할 수도 있다. 상술한 바와 같은 본 발명에 따르는 복합 바이오센서를 제작하여 도 13에 나타내었다.

이하, 바람직한 실시예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명하지만, 본 발명이 이에 의해 제한되는 것은 아니다.

실시예 1

1-(1) 전극의 형성 및 실리콘 기판상에 복수개의 요철부 형성

비저항 14~17Ω/cm(결정면 100), p형 실리콘기판을 준비하여 포토레지스트를 적층하고 상대전극부, 기준전극부 및 작업전극부가 패터닝된 노광마스크를 이용하여 노광하고 현상하여 상기 상대전극부, 기준전극부 및 작업전극부가 형성된 패턴을 얻었다. 상기 패턴된 면에 티타늄과 백금을 순차적으로 진공증착하였다. 여기서, 이용된 진공증착조건은 티타늄 200Å, 백금 2000Å의 두께로 적층하였으며, 실리콘기판의 온도 100℃, 진공도 2×10^{-5} mbar이었다. 다음으로, 현상된 포토레지스트를 제거하고 폴리이미드를 스핀코팅하여 건조하고, 효소고정부가 형성될 영역의 폴리이미드를 제거하였다. 효소고정부가 형성될 영역에 불산(HF 16.6%, 에탄올 49.8%, 증류수 33.2%)을 전해질로 하고 상기 실리콘기판을 양극으로, 상기 백금을 상대전극으로 하여 전류밀도 6 mA/cm²에서 10분 동안 전압을 인가하여 실리콘기판상 복수개의 요철을 형성하였다.

1-(2) 작업전극부의 형성

상기 실리콘 기판상에 복수개의 요철이 형성된 영역에 티타늄 200Å, 백금 2000Å의 두께를 가진 박막을 순차적으로 적층하였다. 여기서 상기 티타늄은 실리콘기판과 백금 사이의 부착력을 향상시키기 위한 것으로 사용되었다.

1-(3) 효소고정부의 형성

상기 기판상에 복수개의 요철이 형성된 영역에 백금 박막이 형성된 면을 크롬산(K₂Cr₂O₇) 5중량%, 질산(HNO₃) 15중량%의 혼합 용액에 약 80℃, 2시간 동안 침지하여 백금 박막을 산화시키고, 증류수로 행군 후 N₂ gas로 건조시켰다. 여기서, 상기 백금의 표면에는 히드록시기(-OH)기가 생성되었다. 다음으로, 온도 약 37℃인 3-아미노프로필-트리에톡시실란(3-aminopropyl-triethoxysilane : APTES) 2 중량%용액에 1시간 동안 상기 백금 박막을 침지하여 그 표면의 히드록시기와 실란화반응을 시켜서 실란층을 형성하고, 이를 증류수로 행군 후 N₂ gas로 건조시켰다. 다음으로, 온도 120℃에서 30분 동안 건조하였다. 다음으로, 상기 실란층의 상부로 글루타르알데히드 수용액(glutaraldehyde solution : 25 중량%)의 증기를 1시간 동안 노출시켜서 3-아미노프로필-트리에톡시실란의 아미노기와 글루타르알데히드의 하나의 알데히드기와 이민생성반응을 진행시킨 후 증류수로 행구고 건조시켰다. 다음으로, 상기 실란층의 상부로 콜레스테롤 산화효소가 희석된 인산완충용액(phosphate buffer solution)에 24시간 동안 접촉하게 하여 콜레스테롤 산화효소의 아미노기와 실란층의 글루타르알데히드의 또 다른 알데히드기와 이민생성반응을 하도록 하여 상기 글루타메이트 산화효소를 고정하여 고감도 바이오센서를 제작하였다.

실시예 2

상기 실시예 1-(3)에서 상기 실란층의 상부로 콜레스테롤 산화효소를 사용하는 대신에 빌리루빈 산화효소를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하여 고감도 바이오센서를 제작하였다.

실시예 3

상기 실시예 1-(3)에서 상기 실란층의 상부로 콜레스테롤 산화효소를 사용하는 대신에 글루타메이트 산화효소를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하여 고감도 바이오센서를 제작하였다.

시험예 1

표면적의 증가 확인

도 8은 실시예 1-(1)에서 제조된 복수개의 요철부가 구비된 실리콘 기판의 주사전자현미경사진(SEM)이다. 도 8을 참조하면, 실리콘 기판의 상부에 복수개의 요철부가 기공(pore)의 형태로 조밀하게 많이 형성되어 있음을 볼 수 있다. 이러한 조밀한 기공들에 의하여 상기 복수개의 요철부는 비표면적이 매우 커지게 되며, 복수개의 요철부는 효소고정부가 형성될 영역의 하부에 배치되는데, 효소고정부에 고정된 콜레스테롤 산화효소, 빌리루빈 산화효소 및 글루타메이트 산화효소들이 더 많은 기질들과 반응할 수 있게 된다.

시험예 2

감도(sensitivity) 측정

작업전극과 기준전극 사이의 전류감도의 측정을 위하여 특정 기질을 포함하는 전해질용액으로서 인산완충용액을 사용하고, 본 발명에 따르는 고감도 바이오센서에 상대전극과 기준전극에 인가한 전압은 +0.6 V로 고정하였다. 도 9는 실시예 1에 의하여 제조된 바이오센서에 콜레스테롤의 양을 순차적으로 증가시키며 작업전극과 기준전극단자부에 흐르는 전류를 농도에 따라 측정한 그래프이다. 도 9를 참조하면, 콜레스테롤 기질을 포함하는 인산완충용액을 1 ~ 50 mM 농도로 순차적으로 가했을 때 선형적으로 0.2656 $\mu\text{A}/\text{mM}$ 의 감도를 나타냄을 알 수 있다.

한편, 도 10은 실시예 2에 의하여 제조된 바이오센서에 빌리루빈의 양을 순차적으로 증가시키며 작업전극과 기준전극단자부에 흐르는 전류를 농도에 따라 측정한 그래프이다. 도 10을 참조하면, 빌리루빈을 0.002 ~ 0.02 mM 농도로 순차적으로 가했을 때 선형적으로 0.15354 mA/mM의 감도를 가짐을 알 수 있다.

또한, 도 11은 실시예 3에 의하여 제조된 바이오센서에 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT)의 양을 순차적으로 증가시키며 작업전극과 기준전극단자부에 흐르는 전류를 농도에 따라 측정한 그래프이다. 도 11을 참조하면, 알라닌 아미노트랜스퍼라제를 1.3 ~ 250 U/L의 범위로 가하면서 알라닌과 알파-키토글루타레이트(α -ketoglutarate)를 함께 가하여, 글루타메이트를 생성한 결과, 바이오센서에 0.13698 $\mu\text{A}/(\text{U}/\text{L})$ 의 감도로 측정됨을 알 수 있다. 또한 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(ALT)의 경우에는 도 12를 통하여 알 수 있듯이, 0.45439 $\mu\text{A}/(\text{U}/\text{L})$ 의 감도를 가짐을 알 수 있다. 이러한 결과를 통하여 알 수 있는 바와 같이, 나노 암페어(nA) 스케일의 매우 낮은 감도로 측정되던 종래의 바이오센서와는 달리 본 발명에 따르는 고감도 바이오센서는 마이크로 암페어(μA) 스케일의 감도로 측정되어 혈중 콜레스테롤, 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제의 양이 소량이라 하더라도 정확한 수치를 알 수 있는 우수한 감도를 가짐을 알 수 있다.

발명의 효과

본 발명에 따르는 고감도 바이오센서는 간기능 이상유무를 판단할 수 있는 지표물질인 콜레스테롤과 빌리루빈, 알라닌 아미노트랜스퍼라제 및 아스파테이트 트랜스퍼라제를 동시에 측정할 수 있기 때문에 효율적이고, 박막공정을 이용하여 소형화할 수 있으므로 일반가정용으로 사용가능한 범용성이 우수한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명의 바람직한 일실시예에 따르는 고감도 바이오센서의 일부를 확대한 사시도이다.

도 2는 본 발명의 다른 실시예에 의한 고감도 바이오센서를 도 1의 A-B 선을 따라 절취한 부분절개단면도이다.

도 3은 본 발명의 다른 실시예에 따르는 고감도 바이오센서의 효소고정부가 형성되는 원리를 나타낸 그림이다.

도 4는 본 발명의 다른 실시예에 따르는 고감도 바이오센서의 작용을 모식적으로 나타낸 그림이다.

도 5는 본 발명의 다른 실시예에 따르는 고감도 바이오센서의 기준전극부를 나타내는 그림이다.

도 6은 본 발명의 다른 실시예에 따르는 복합 바이오센서를 구현한 도면이다.

도 7은 본 발명의 다른 실시예에 따르는 복합 바이오센서의 단면도이다

도 8은 실시예 1-(1)에서 제조된 복수개의 요철부가 구비된 실리콘 기판의 주사전자현미경사진(SEM)이다.

도 9는 실시예 1에 의하여 제조된 바이오센서에 콜레스테롤의 양을 순차적으로 증가시키며 작업전극과 기준전극단자부에 흐르는 전류를 농도에 따라 측정한 그래프이다.

도 10은 실시예 2에 의하여 제조된 바이오센서에 빌리루빈의 양을 순차적으로 증가시키며 작업전극과 기준전극단자부에 흐르는 전류를 농도에 따라 측정한 그래프이다.

도 11은 실시예3에 의하여 제조된 바이오센서에 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT)의 양을 순차적으로 증가시키며 작업전극과 기준전극단자부에 흐르는 전류를 농도에 따라 측정한 그래프이다.

도 12는 실시예 3에 의하여 제조된 바이오센서에 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(ALT)의 양을 순차적으로 증가시키며 작업전극과 기준전극단자부에 흐르는 전류를 농도에 따라 측정한 그래프이다.

도 13은 본 발명의 다른 실시예에 의한 복합 바이오센서를 실제로 제작한 사진이다.

< 도면의 주요부호에 대한 설명>

100, 260, 360, 410, 420, 43, 440 : 효소고정부

102 : 작업전극 배선부

104, 414, 424, 434, 444 : 작업전극 단자부

106, 250, 350 : 작업전극부

110 : 기준전극부

112, 230, 330 : 기준전극 배선부

114, 416, 426, 436, 446 : 기준전극 단자부

120, 220, 320 : 상대전극부

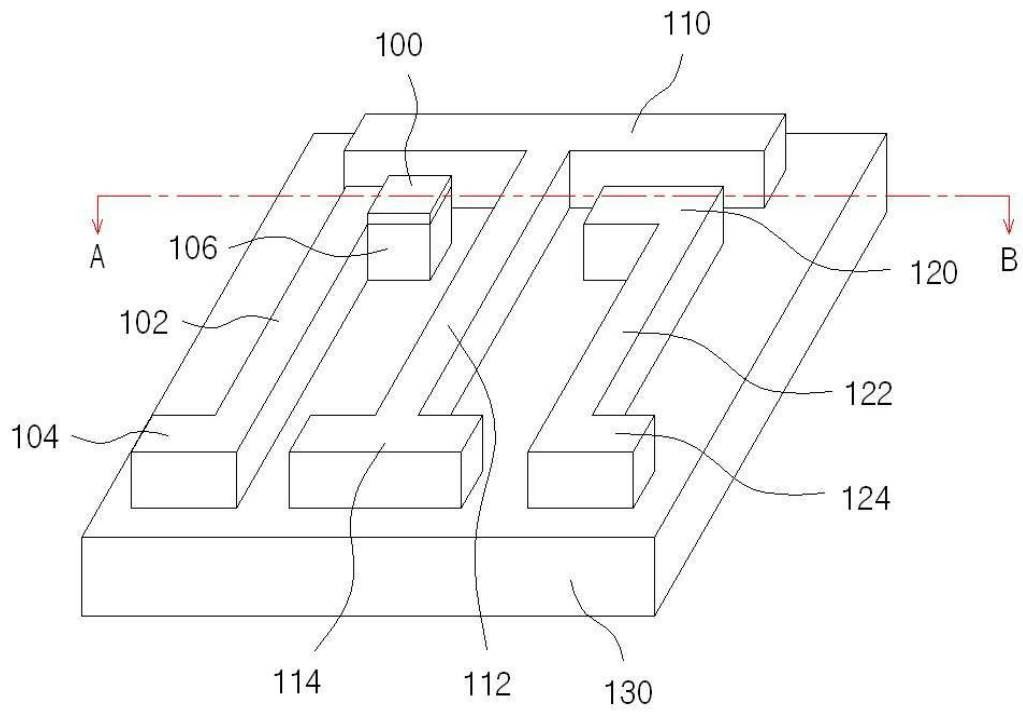
122 : 상대전극 배선부

124, 412, 422, 432, 442 : 상대전극 단자부

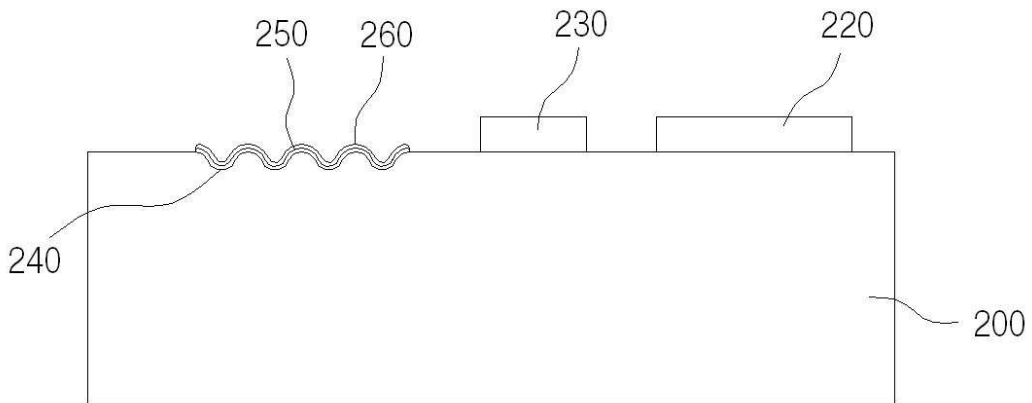
130, 200, 300, 702 : 실리콘 기판

도면

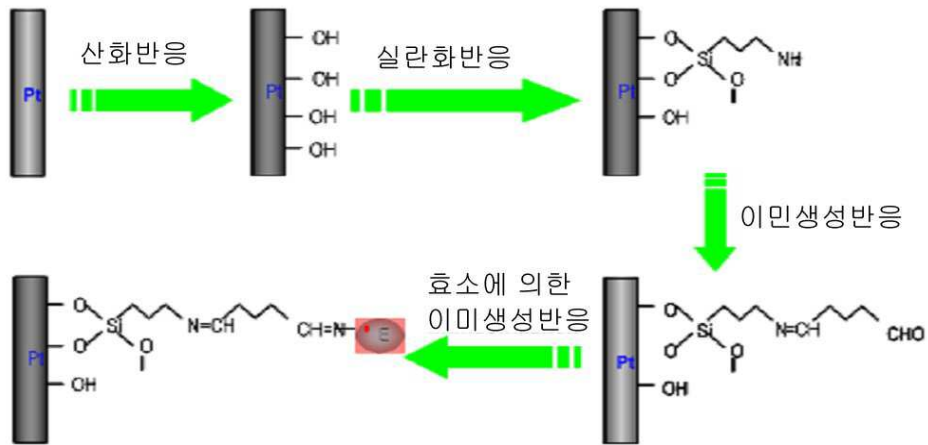
도면1



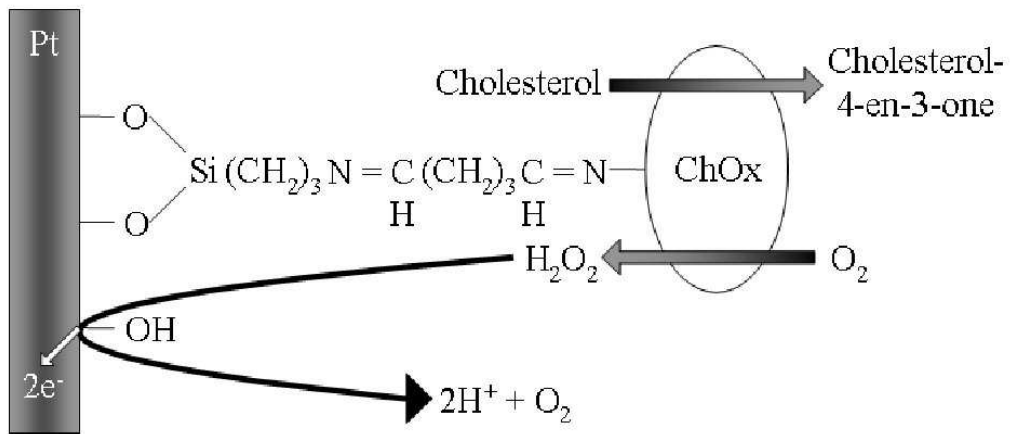
도면2



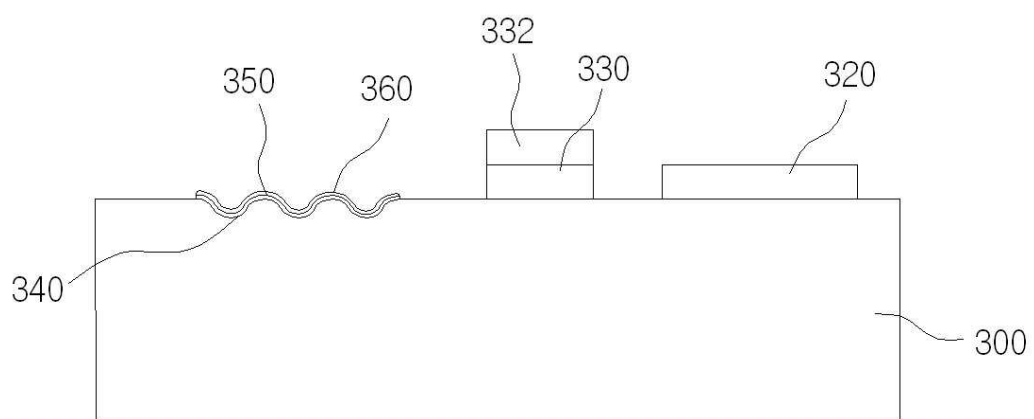
도면3



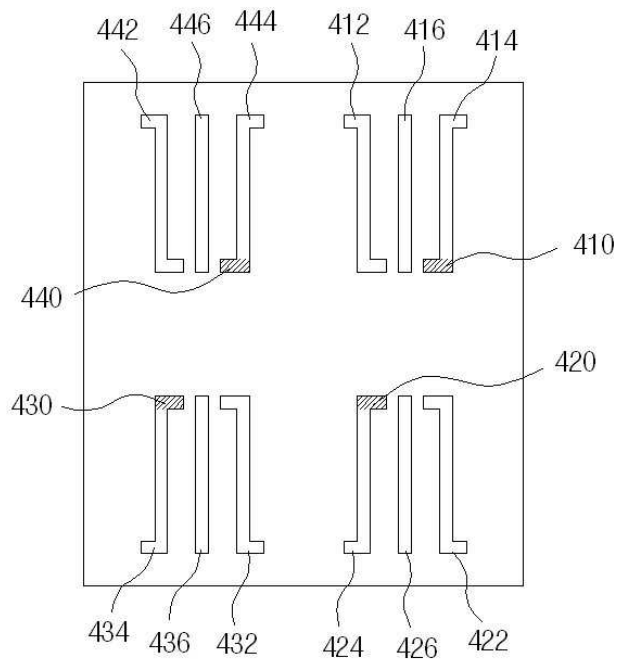
도면4



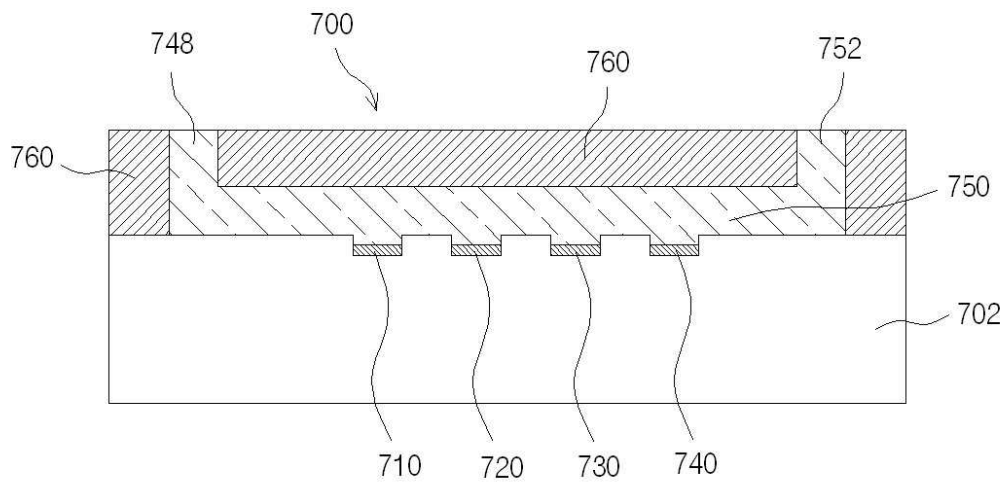
도면5



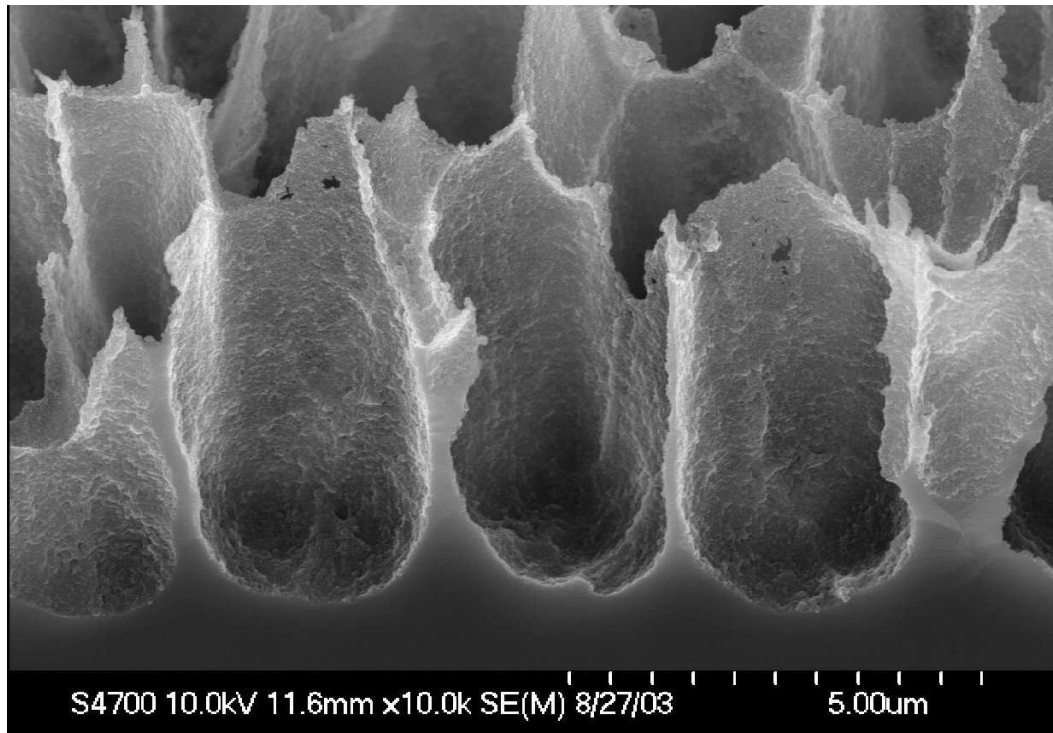
도면6



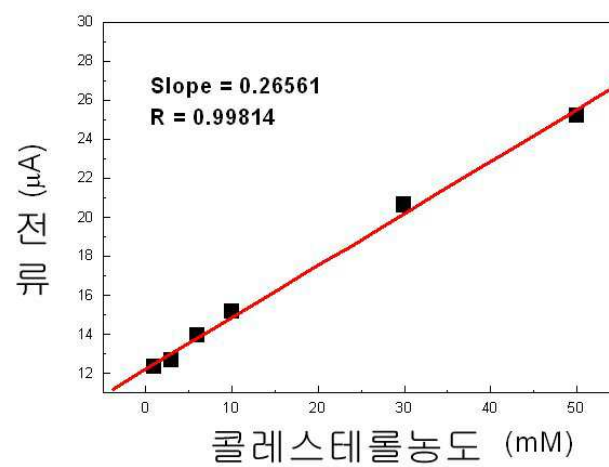
도면7



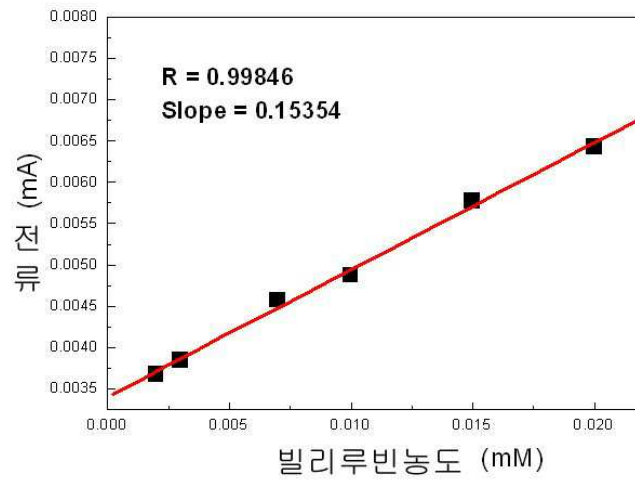
도면8



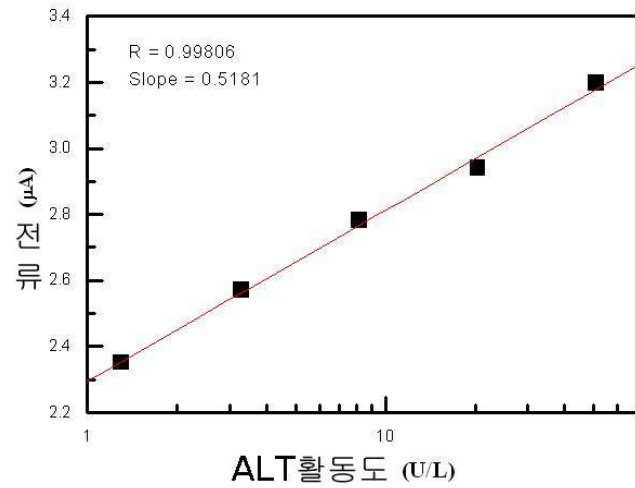
도면9



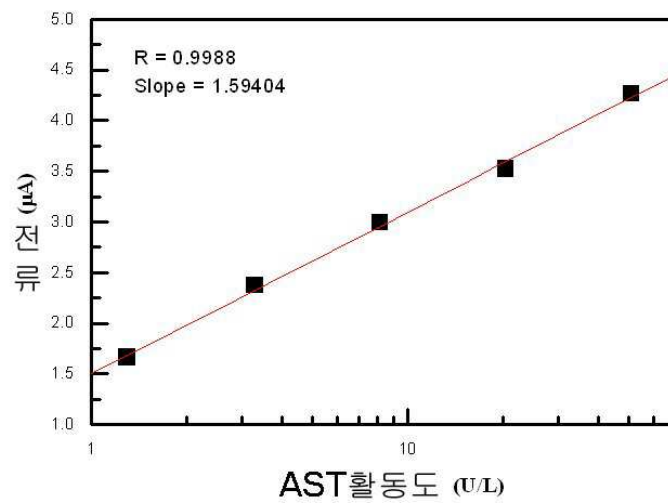
도면10



도면11



도면12



도면13

