



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0105612
(43) 공개일자 2016년09월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
H01L 51/00 (2006.01) H01L 27/28 (2006.01)
B82Y 10/00 (2011.01)
(52) CPC특허분류
H01L 51/0093 (2013.01)
H01L 27/28 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0028201
(22) 출원일자 2015년02월27일
심사청구일자 2015년02월27일

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
최정우
서울특별시 용산구 서빙고로 35 (2/9) 용산시티파크 103-603 (한강로3가, 용산시티파크1단지)
정용호
서울특별시 광진구 광나루로56길 29 2동 1304호 (구의동, 현대프라임아파트)
(74) 대리인
양부현

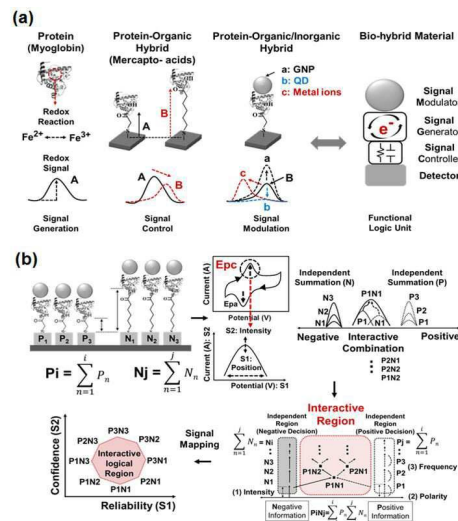
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 바이오-논리 소자

(57) 요약

본 발명은 (a) 기관; (b) 상기 기관에 결합된 유기물; 및 (c) 상기 유기물에 결합된 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질을 포함하는 바이오-논리 소자 및 이의 제조방법을 제공한다. 본 발명의 바이오-논리 소자는 유기물이 전기화학적 신호 제어 기능을 갖고, 무기입자가 전기화학적 신호 조절 기능을 가짐으로써 생체 분자의 신호를 명확하게 제어 할 수 있는바, 복잡한 논리 프로세스인 인간의 의사결정 과정을 모사할 수 있는 논리 구성을 할 수 있다. 또한, 본 발명의 바이오-논리 소자는 앞으로의 인공지능 시스템을 간단한 전자 시스템으로 구현하기 위한 강력한 대안이 될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류
B82Y 10/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

(a) 기관; (b) 상기 기관에 결합된 유기물; 및 (c) 상기 유기물에 결합된 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질을 포함하는 바이오-논리 소자.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 기관은 금속이 증착된 기관인 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 금속은 금(Au)인 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 4

제 2 항에 있어서, 상기 기관은 복수의 전극을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 유기물은 티올기(thiol group) 및 카복실기(carboxyl group)를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 상기 유기물은 상기 티올기(thiol group)를 통하여 상기 기관에 직접 고정화된 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 단백질은 금속단백질인 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 금속단백질은 마이오글로빈, 페리틴, 락토펜, 아주린, 헤모글로빈, 헤메리트린, 혈색소, 시토크롬, 철-황단백질, 루브레독신, 플라스토시아닌, 셀룰로프라스민, 탄산 탈수 효소, 비타민 B12-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, 아미노펩티다아제, β -아밀로이드단백질, 질산 환원 효소, 글루타티온과산화효소, 메탈로티오네인 또는 포스파타아제인 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 9

제 7 항에 있어서, 상기 금속단백질은 마이오글로빈, 페리틴 또는 락토페린인 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 상기 바이오-논리 소자는 상기 단백질에 결합된 무기입자를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 11

제 10 항에 있어서, 상기 무기입자는 금속 입자, 금속 산화물 입자, 합금 입자 또는 반도체 입자인 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 12

제 10 항에 있어서, 상기 무기입자는 금(Au) 나노입자, 니켈 나노입자, 망간 나노입자, 구리 나노입자, 철 나노입자, 코발트 나노입자, 산화철 나노입자 또는 퀀텀 닷(quantum dot)인 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 13

제 1 항에 있어서, 상기 바이오-논리 소자는 상기 유기물이 전기화학적 신호 제어 기능을 갖고, 상기 단백질이 전기화학적 신호 생성 기능을 갖는 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 14

제 10 항에 있어서, 상기 바이오-논리 소자는 상기 무기입자가 전기화학적 신호 조절 기능을 갖는 것을 특징으로 하는 바이오-논리 소자.

청구항 15

다음 단계를 포함하는 바이오-논리 소자의 제조방법:

- (a) 기판에 유기물을 고정화하는 단계; 및
- (b) 상기 유기물에 산화환원능을 갖는 단백질을 고정화하는 단계.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 상기 단계 (a)의 고정화는 기판의 금속과 유기물의 티올기와의 공유결합에 의한 고정화인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 17

제 15 항에 있어서, 상기 기판은 복수의 전극을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 18

제 17 항에 있어서, 상기 단계 (a) 이후 일부 전극에 음전위를 가하여 유기물을 제거하는 단계 (i) 및 상기 기판에 단계 (a)의 유기물과 상이한 유기물을 고정화하는 단계 (ii)를 포함하는 선택적 고정화 단계를 추가적으로 실시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제 15 항에 있어서, 상기 단백질에 무기입자가 고정화된 단백질인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 상기 단계 (c)의 고정화는 정전기적 결합에 의한 고정화인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 21

제 15 항에 있어서, 상기 방법은 단계 (b) 이후 상기 단백질에 무기입자를 고정화하는 단계 (c)를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 바이오-논리 소자에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 현 시대에, 생체 분자를 이용한 다양한 연구들이 바이오전자 분야에서 집중적으로 개발되었다. 단방향 신호 전송, 특정 인식 및 자발적인 자가-조립식 나노구조체 형성[1-3]과 같은 생체 재료의 고유 기능으로부터 종래 전자 플랫폼에 대한 생체 분자의 응용을 기반으로 한 시도가 동기화되었고, 그 결과 바이오-트랜지스터, 바이오-메모리 및 바이오-논리 게이트를 포함하는 다양한 개념의 바이오전자 소자가 개발되었다[4-6].

[0003] 본 발명자들은 주로 산화 환원 전위 인가 시 구조에서 금속 이온의 감소 및 산화에 의해 발생된 연속적인 아날로그 신호의 형태로 검출 가능한 금속단백질의 산화 환원 속성에 초점을 맞추고 있다[7-8]. 금속단백질의 이러한 전기화학적 신호에 기초하여, 본 발명자들은 이전 연구에서 종래의 메모리 소자의 대안적 개념으로 다양한 형태의 소자를 보고하였다[9-11]. 그러나 실용적인 기능의 구현에 잘 제어된 신호가 필수적 요소임에도 불구하고, 생체 분자의 본래의 신호를 명확하게 제어 할 수 없었기 때문에 고급 논리 프로세스의 구현에 생체 재료의 간단한 응용이 제한되었다. 따라서 신호 조작을 위한 새로운 생체 재료의 개발이 요구된다.

[0004] 최근에, 생체 물질의 기능을 향상시키고 전기적 및 전기화학적 신호를 조절하기 위하여 생체 분자와 다른 물질을 조합한 여러 가지 하이브리드 물질이 개발되어 왔다[12-14]. 생체분자에 다른 물질을 적용함으로써, 코어 성분의 구조적 변화 없이 기능이 강화되고 특성이 잘 조절되었다. 이러한 다른 종류의 물질을 조합하는 접근 방법은, 생체 물질에 기반한 실질적인 기능을 구현하기 위한 필수적인 해결책을 제공할 수 있다. 또한, 본 발명자들은 나노입자에 의한 금속단백질의 신호 향상[15] 및 무기물질을 이용한 신호 조절[16]을 포함하는 바이오-하이브리드 물질을 이용한 여러 결과를 보여주었다. 그러나 이러한 연구는 전기화학적 신호의 특이적이고 정밀한 제어가 없는 1차원 신호 조절을 갖는 제한된 기능을 보여 주었다.

[0005] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명자들은 바이오 전자 소자의 한계를 극복한 바이오-논리 소자를 개발하기 위해 노력하였다. 그 결과, 금속단백질과 기관 사이에 길이가 다른 유기물을 도입함으로써 금속단백질이 생성하는 전기화학적 신호를 제어하고, 상기 금속단백질에 무기입자를 도입하여 상기 제어된 신호를 조절함으로써 인간의 의사결정 과정을 모사할 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.
- [0007] 본 발명의 목적은 바이오-논리 소자를 제공하는 데 있다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 바이오-논리 소자의 제조방법을 제공하는 데 있다.
- [0009] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 기관; (b) 상기 기관에 결합된 유기물; 및 (c) 상기 유기물에 결합된 산화환원능(redox potential)을 갖는 단백질을 포함하는 바이오-논리소자를 제공한다.
- [0011] 본 발명자들은 바이오 전자 소자의 한계를 극복한 바이오-논리 소자를 개발하기 위해 노력하였다. 그 결과, 금속단백질과 기관 사이에 길이가 다른 유기물을 도입함으로써 금속단백질이 생성하는 전기화학적 신호를 제어하고, 상기 금속단백질에 무기입자를 도입하여 상기 제어된 신호를 조절함으로써 인간의 의사결정 과정을 모사할 수 있음을 확인하였다.
- [0012] 본 발명의 주요한 특징은 전기화학적 신호를 생성하는 금속단백질에 결합하는 전기화학적 신호를 제어할 수 있는 유기물질을 포함하는 것이다. 또한, 상기 금속단백질에 결합하는 전기화학적 신호를 조절할 수 있는 무기입자를 포함하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 바이오-논리 소자에 이용되는 기관은 바이오 소자에서 이용되는 어떠한 것도 포함한다. 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 기관은 금속, 금속 옥사이드, 유리, 세라믹, 석영, 실리콘, 반도체, Si/SiO₂ 웨이퍼, 게르마늄, 갈륨 아르세나이드, 카본, 탄소나노튜브, 폴리머, 세파로스 또는 아가로스이다. 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 기관은 실리콘 기관이고, 본 발명의 어떠한 구현예에 따르면, 상기 기관은 SiO₂를 표면에 포함하는 실리콘 기관이다.
- [0014] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 기관은 금속이 증착된 기관이다. 본 명세서의 용어 “금속이 증착”은 금속으로 기관의 표면이 코팅됨을 의미한다. 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 금속은 금(Au)이다.
- [0015] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 기관은 복수의 전극을 포함한다. 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 전극은 2-100개, 2-50개, 2-10개, 2-8개, 4-8개 또는 6개이다. 본 발명의 어떠한 구현예에 따르면, 본 발명의 유기물은 상기 전극에 개별적으로 고정화된다.
- [0016] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 유기물은 티올기(thiol group) 및 카복실기(carboxyl group)를 포함한다. 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 본 발명의 유기물은 티올기(thiol group)를 통하여 상기 기관에 직접 고정화된다. 상기 유기물은 티올기에 의해 기관에 자기-조립(self-assembly)되어 직접 고정화된다. 보다 상세하게는, 상기 유기물은 머캅토산으로 티올기(thiol group) 및 카복실기(carboxyl group)를 가지며 상기 티올기가 금속-황 결합을 통해 기관 상에 직접적으로 고정된다. 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 본 발명의 유기물은 금-황(Au-S) 결합을 통하여 상기 기관에 직접 고정화된다.
- [0017] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 유기물은 탄소의 개수가 1-30개, 1-25개, 2-20개 또는 2-16개이다. 하기 실시예에서 볼 수 있는 바와 같이, 상기 유기물의 탄소 수가 증가함에 따라 금속 전극과 단백질 간의 거

리가 증가하여 전자 전달이 지연되어 전기화학적 신호의 위치가 음의 방향으로 이동하고, 전기화학적 신호의 강도가 감소한다.

- [0018] 본 발명에서 단백질은 산화환원능을 가져 전자를 수용 및 방출시킬 수 있는 단백질이면, 어떠한 것도 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 단백질은 금속 이온을 포함하는 금속단백질(metalloprotein), 플라보독신, 플라스토사이아닌(plastocyanin) 및 티오레독신 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0019] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 단백질은 금속단백질이다. 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 금속단백질은 마이오글로빈, 페리틴, 락토페린, 아주린, 헤모글로빈, 헤메리트린, 혈색소, 시토크롬, 철-황단백질, 루브레독신, 플라스토시아닌, 셀룰로프라스민, 탄산 탈수 효소, 비타민 B12-종속 효소, 니트로게나아제, 슈퍼옥사이드 디스무타제, 엽록소-포함 단백질, 칼모둘린, 글루코스-6-포스파타제, 헥소키나아제, DNA 폴리머라아제, 바나빈, 아르기나아제, 카탈라아제, 수산화 효소, 철반응요소결합단백질, 아코니타제, 우레아제, 시토크롬 산화 효소, 라케이스, 알코올 탈수소 효소, 카복시펩티다아제, 아미노펩티다아제, β -아밀로이드단백질, 질산 환원 효소, 글루타티온과산화효소, 메탈로티오네인 또는 포스파타아제이다. 본 발명의 어떠한 구현예에 따르면, 상기 금속단백질은 마이오글로빈, 페리틴 또는 락토페린이다.
- [0020] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 바이오-논리 소자는 상기 단백질에 결합된 무기입자를 추가적으로 포함한다. 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 본 발명의 무기입자는 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 Nd를 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 (M 은 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, $0 < x \leq 16$, $0 < y \leq 8$), 또는 $M_x^a M_y^b O_z$ [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 $0 \leq x \leq 16$, $0 < y \leq 16$, $0 < z \leq 8$]와 그의 다성분 혼성체로 구성된 것을 특징으로 하는 것을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 상기 무기 입자가 합금 입자일 경우, 바람직하게는 $M_x M'_y$ [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 $0 < x \leq 20$, $0 \leq y \leq 20$]와 그의 다성분 혼성체로 구성된 것을 특징으로 하는 것을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 상기 무기 입자가 반도체 입자일 경우, 바람직하게는 $M_a M'_b$ (M_a 또는 M'_b = 13족 원소, 12족 원소, 14족 원소, 15족 원소, 16족 원소 중에서 1종 이상 선택된 원소, $0 < a \leq 20$, $0 < b \leq 20$)와 그의 다성분 혼성체로 구성된 것을 특징으로 하는 것을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명의 어떠한 구현예에 따르면, 본 발명의 무기입자는 금(Au) 나노입자, 니켈 나노입자, 망간 나노입자, 구리 나노입자, 철 나노입자, 코발트 나노입자, 산화철 나노입자 또는 퀀텀 닷(quantum dot)이다.
- [0026] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 바이오-논리 소자는 상기 유기물이 전기화학적 신호 제어 기능을 갖고, 상기 단백질이 전기화학적 신호 생성 기능을 갖는다. 본 명세서에서 언급된 용어 “전기화학적 신호 제어”는 금속단백질에서 생성된 신호의 위치 및 강도를 변화시킬 수 있는 기능을 의미한다. 하기 실시예에서 입증한 바와 같이, 탄소의 개수가 2-16개인 유기물을 사용할 경우, S1값(신호 위치) 및 S2값(신호 강도)을 변화시킬 수 있는바 신호를 제어할 수 있음을 알 수 있다(도 5a). 구체적으로 유기 스페이서의 길이가 길어지게 될 경우, S1값이 음의 방향으로 이동하게 되고, S2값은 전자 전달의 지연 현상에 의해 감소하게 되는데 이는 금

속 전극과 단백질 간의 거리 증가에 따른 전자 전달 속도의 변화에 의한 현상이다.

- [0027] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 본 발명의 바이오-논리 소자는 상기 무기입자가 전기화학적 신호 조절 기능을 갖는다. 본 명세서에서 언급된 용어 “전기화학적 신호 조절”은 금속단백질에서 생성된 신호를 증폭 또는 억제시킬 수 있는 기능을 의미한다. 하기 실시예에서 입증한 바와 같이, 무기물질 중에서 전도성 나노입자(금 또는 산화철 나노입자)를 단백질 표면에 도입한 경우, 단백질의 전기화학적 신호는 증폭되고(도 5b), 반도체 나노입자(QD)를 도입한 경우 상기 신호는 억제된다(도 5c). 반도체 나노입자를 도입하는 경우, 단백질의 산화/환원에 의해 발생된 전자가 반도체 나노입자의 이중막 구조에 트랩되고, 전도성 나노입자를 도입하는 경우, 상기 나노입자가 빠른 전자 전달을 위한 매개체 역할을 하여 전도성이 증가되기 때문이다.
- [0028] 이러한 전기화학적 신호 제어, 생성 및 조절은 인간 의사 결정 과정을 모사한 논리 소자로의 적용 가능성을 제공한다. 즉, 금속단백질의 종류는 각 물질마다 고유한 특성을 지니고 있으므로 인간의 고유의 성향에 대입되며, 단백질이 동일해도 도입된 유기물이 다르면 특성이 변화되므로 이를 경험된 혹은 교육된 성향으로 대입할 수 있다. 또한, 의사결정의 방향이나 최종 결정은 주변 환경에 영향을 받을 수 있으므로 무기입자를 이에 대입할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 바이오-논리 소자는 산화환원능을 갖는 단백질에 의해 특이적인 산화 전위 및 환원 전위를 갖는다.
- [0030] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 바이오-논리 소자는 환원 전위 및 산화 전위의 인가에 의해 작동된다.
- [0031] 본 발명은 기관(예컨대, 금 기관)의 표면에 티올기가 도입된 유기물을 자기조립시키고, 상기 유기물에 금속단백질을 결합한 바이오-논리 소자는 인가되는 전압에 따라 나타나는 단백질 고유의 전자 전달 특성을 이용하여 나노 단위의 정보 저장 장치로 응용할 수 있는바 바이오 소자에 적용할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 바이오-논리 소자가 전기화학적으로 작동되는 경우, 본 발명의 바이오 프로세싱 장치는 가역적으로 변화되고 전기화학적으로 읽을 수 있는(readable) 전기화학적 장치로서, 다음과 같이 구성될 수 있다. 이 전기화학적 장치는 기관을 포함한다. 이 기관은 상술한 바와 같으며, 하기의 실시예에서는 전기적으로 대전되는 금이 표면에 증착된 기관이다. 상기 기관 상에 산화환원-활성층(redox-active layer)이 이루어진다. 본 발명에서는 산화환원 활성층으로서, 산화환원능을 가지는 금속단백질이 이용된다. 상기 산화환원 활성층은 금속단백질에 의해 일정한 전자적 상태, 예컨대 산화상태 또는 환원상태에 놓이게 된다. 상기 산화환원-활성층에 전극이 연결된다. 상기 기관 또는 전극, 또는 기관과 전극 모두에 연결된 전기장원(electric field source), 예컨대 전압공급 유니트가 본 발명의 장치에 포함된다. 이 전기장원에 의해 공급된 전압 또는 전자빔에 의해 전자의 흐름이 유도되며, 이에 의해 바이오 소자의 특성을 나타낸다.
- [0033] 따라서 전기화학적으로 본 발명의 바이오-논리 소자를 구축하는 경우, 본 발명의 디바이스는 (i) 기관, (ii) 상기 기관 상에 고정화되어 있는 유기물, (iii) 산화환원-활성층으로서 상기 기관 상에 고정화 되어 있고 산화환원능을 가지는 단백질, (iv) 상기 유기물에 연결된 전극, 및 (v) 상기 기관 및/또는 전극에 전압 또는 전자빔을 공급하는 전기장원(electric field source)을 포함한다.
- [0034] 한편, 본 발명의 바이오-논리 소자를 전기화학적으로 구현하는 구체적인 실시예를 참조하여 설명하면 다음과 같다:
- [0035] 본 발명은 전기화학적 방법으로 인가(applying) 전압을 조절, 고정된 단백질의 산화와 환원 상태를 변화시키는 것이 가능한 바이오 소자에 관한 것이다. 단백질 박막이 형성된 기관은 전해질 용액, 예컨대 HEPES 전해질 안에 배치된다. 기관은 작업 전극으로 포텐시오스택에 연결되어 작동하고 전해질 안에 기준 전극(예컨대, Ag/AgCl)과 상대 전극(예컨대, Pt)가 삽입된다. 기준 전극은 포텐시오스택이 전압을 스윙하는 경우 작업 전극의 전위 변화를 읽어내는 기준이 된다. 상대 전극은 포텐시오스택의 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 내보내

게 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.

[0036] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (a) 기관에 유기물을 고정화하는 단계; 및 (b) 상기 유기물에 산화환원능을 갖는 단백질을 고정화하는 단계를 포함하는 바이오-논리 소자의 제조방법을 제공한다.

[0037] 본 발명의 방법을 각각의 단계 별로 상세하게 설명하면 다음과 같다:

[0038] 단계 (a): 기관에 유기물을 고정화

[0039] 본 발명에 따르면, 우선 기관에 유기물을 고정한다.

[0040] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 단계 (a)의 고정화는 기관의 금속과 유기물의 티올기와의 공유결합에 의한 고정화이다.

[0041] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 본 발명의 기관은 복수의 전극을 포함한다. 본 발명의 어떠한 구현예에 따르면, 상기 단계 (a) 이후 다음 단계를 포함하는 선택적 고정화 단계를 추가적으로 실시한다: (i) 상기 기관의 복수의 전극 중 일부 전극에 음전위를 가하여 유기물을 제거하는 단계 및 (ii) 상기 기관에 단계 (a)의 유기물과 상이한 유기물을 고정화하는 단계. 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 상기 음전위는 -5.0 내지 -0.1 V, -3.0 내지 -0.5 V, -2.0 내지 -1.0 V, -1.6 내지 -1.2 V 또는 -1.4 V이다. 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 상기 음전위는 10-300초, 50-200초, 50-150초, 80-120초 또는 100초 동안 가한다. 본 발명의 어떠한 구현예에 따르면, 상기 단계 (i)의 제거는 단백질의 환원에 의한 제거이다.

[0042] 단계 (b): 유기물에 단백질을 고정화

[0043] 단계 (a) 실시 이후, 상기 유기물에 산화환원능을 갖는 단백질을 고정화한다.

[0044] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 단백질은 무기입자가 고정화된 단백질이다. 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 단계 (c)의 고정화는 정전기적 결합에 의한 고정화이다. 단백질 표면에는 많은 카르복실기(음전하)와 아민기(양전하)가 존재하고, 상기 카르복실기는 음전하인바 다른 양전하를 가진 물질과 결합을 하며, 아민기는 양전하인바 다른 음전하를 가진 물질과 결합을 할 수 있으므로 무기입자와 단백질은 이러한 양전하-음전하간의 정전기적 결합을 이용해서 결합된다.

[0045] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 본 발명의 방법은 단계 (b) 이후 상기 단백질에 무기입자를 고정화하는 단계 (c)를 추가적으로 포함한다. 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 단계 (c)의 고정화는 정전기적 결합에 의한 고정화이다.

[0046] 본 발명의 방법은 상술한 바이오-논리 소자를 제조하는 방법으로, 이 둘 사이에 공통된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여, 그 기재를 생략한다.

발명의 효과

[0047] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0048] (a) 본 발명은 바이오-논리 소자 및 이의 제조방법을 제공한다.

[0049] (b) 본 발명의 바이오-논리 소자는 유기물이 전기화학적 신호 제어 기능을 갖고, 무기입자가 전기화학적 신호 조절 기능을 가짐으로써 생체 분자의 신호를 명확하게 제어 할 수 있는바, 복잡한 논리 프로세스인 인간의 의사 결정 과정을 모사할 수 있는 논리 구성을 할 수 있다.

[0050] (c) 본 발명의 바이오-논리 소자는 앞으로의 인공지능 시스템을 간단한 전자 시스템으로 구현하기 위한 강력한 대안이 될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0051]

도 1a는 본 발명의 바이오-논리 소자의 구성 및 이의 전기화학적 신호를 나타낸다. 단백질(protein): 단백질의 신호 생성 원리(금속이온의 이온가 변화에 의해 신호 발생). 단백질-유기물 하이브리드(Protein-organic hybrid): 기관과 단백질 사이의 거리 조절에 따라 신호를 제어할 수 있음. 단백질-유기물/무기물 하이브리드(protein-organic/inorganic hybrid): 단백질-유기물 하이브리드에 의하여 제어된 신호는 2차적으로 단백질 위에 무기입자를 도입하면 다양한 형태로 조절 가능. 바이오-하이브리드 물질(bio-hybrid material): 로직 단위의 각 요소별 명칭 및 역할(무기입자: 신호 조절자/단백질: 신호 생성자/유기물: 신호 제어자/신호 검출기)

도 1b는 본 발명의 바이오-논리 소자 및 이의 인간 의사결정 적용 원리를 나타낸다. 좌측 상단은 6개의 전극을 가진 멀티 소자의 3개 전극에는 유기물 A를 다음 3개 전극에는 유기물 B를 선택적으로 고정화하고, 그 위에 동일한 단백질을 고정화한 논리 소자를 나타낸다. 상기 논리 소자의 경우 유기물이 상이한 전극은 다른 신호를 내게 된다. 중간 상단은 사이클릭볼타모그램의 윗부분(Epc) 부분을 변수로 잡아 S1, S2를 정의 내림을 나타낸다. 우측 상단은 각 3개씩의 전극을 각각 P와 N으로 명명한 경우, 각 조합에 따라 변화하는 신호를 나타낸다. 여기서 조합은 PIN3의 경우 P 종류 전극 1개와, N 종류 전극 3개를 결합시킨 신호를 의미한다. 즉, P1/P2/P3는 모두 동일한 신호를 내고, N1/N2/N3 역시 모두 동일한 신호를 내지만 P와 N은 신호가 다르므로, P끼리 결합을 하게 되면 신호의 위치는 같고 강도만 증가하게 되나, P와 N을 조합시키게 되면 위치가 조합에 따라 변함을 보여준다. 상기 신호의 모든 조합을 지도로 나타내면 좌측 하단의 영역이 만들어진다. 우측 하단은 동일 신호만 결합된 영역은 독립 영역으로, 2종류의 신호가 조합된 신호는 상호적인 영역으로 정의를 내린 것을 나타낸다.

도 2는 본 발명의 바이오-전자 디바이스 디자인을 나타낸다(R: 저항, C: 전기 용량).

도 3은 본 발명의 티올-금 결합의 환원적 제거를 이용한 선택적 고정화 과정을 나타낸다.

도 4a는 금과 황 사이의 공유결합의 환원적 절단을 위한 연속적 음전위 적용에 따른 I-V 그래프를 나타낸다.

도 4b는 환원적 제거 이전 금 표면에 고정화된 2MAA/마이오글로빈의 사이클릭볼타모그램을 나타낸다.

도 4c는 100초 동안 -1.4 V의 음전위 적용 후 사이클릭볼타모그램을 나타낸다.

도 4d는 시간 변화에 따른 로다민 B의 환원적 제거에 의한 형광 변화를 나타낸다.

도 5a는 유기 스페이서 길이에 의하여 금 표면에 고정화된 마이오글로빈의 S1 및 S2값의 변화를 나타낸다.

도 5b는 무기 나노입자의 적용에 의하여 고정화된 마이오글로빈의 전기화학적 신호가 변화함을 나타낸다.

도 5c는 QD 도입에 의한 신호 변화를 나타낸다.

도 5d는 GNP 및 QD 적용에 의한 전하량의 변동을 크로노콜론법 결과를 나타낸다.

도 6은 이상적인 가역적 반응과 비교한 전자 전달 지연에 의한 피크값 이동과 관련된 이론적 현상을 나타낸다.

도 7은 무기입자에 따른 사이클릭볼타모그램을 나타낸다. 도 7a는 마이오글로빈만의 신호와 비교하여 벌크-패턴화된 전극을 이용한 경우 다양한 금속 이온의 사이클릭볼타모그램이다. 도 7b-7d는 벌크-패턴화된 전극에 칼슘/칼륨/나트륨 이온 농도를 달리했을 경우의 사이클릭볼타모그램이다.

도 8a는 인간의 의사결정 과정의 개념적 구조(좌) 및 의사결정 과정과 연관되어 정의된 영역 및 파라미터를 나타낸다.

도 8b는 독립 영역의 구현으로서의 2MAA, 3MPA 및 6MHA에 고정화된 마이오글로빈의 산술적인 신호 증가를 나타낸다.

도 8c는 2MAA 및 3MPA 상의 마이오글로빈의 합쳐진 신호에 의한 환원 피크의 조합(PIN1) 을 나타낸다.

도 9는 두 유기 스페이서의 비율에 따른 고정화된 마이오글로빈의 신호 변화를 나타낸다.

도 10a는 TP값에 따른 상호적인 논리 영역의 변화를 나타낸다.

도 10b 및 10c는 긍정 및 부정 인풋 신호의 조합에 의하여 얻은 신호의 변화이다. 점선은 중간값을 나타내고, 정규화된 값 1 및 0은 완전한 긍정 및 부정을 각각 나타낸다(P: 긍정, N: 부정). PIN1 근처의 검정 화살표 및 점선 화살표는 각각 부정 및 긍정 인풋이 더해진 경우의 신호 변화이다. 도 10b는 2MAA(P) 및 3MPA(N) 스페이

서 세트를 이용한 균형잡힌 소자이다. 도 10c는 3MPA(P) 및 6MHA(N) 스페이서 세트를 이용한 치우친 소자이다.

도 10d는 동일한 2MAA/3MPA 스페이서에서 금속단백질 변화에 따른 상호적인 논리 영역의 변화를 나타낸다.

도 11a는 나노입자 적용에 따른 상호적인 논리 영역의 변화를 나타낸다.

도 11b는 금속 이온의 조합에 따른 마이크로-패턴화된 전극을 이용한 상호적인 논리 영역의 변화를 나타낸다.

도 11c는 금속 이온의 조합에 따른 마이크로-패턴화된 전극의 용액 내 전해질 이온의 적용에 따른 상호적인 논리 영역의 변화를 나타낸다.

도 12a는 인풋 조합이 P1N1, P1N3, P3N1 및 P3N3인 경우 명확한 경향을 갖는 12명의 결정 변화를 나타낸다.

도 12b는 인풋 조합이 P1N2, P2N1, P2N3 및 P3N2인 경우 애매모호한 경향을 갖는 사람의 결정 변화를 나타낸다.

점선 십자로 나타내지는 평균값은 색칠 영역의 모든 결과를 이용하여 맞춰졌다.

도 13a는 개인의 상호적인 논리 결과의 평균값을 이용한 기준 경향의 정의를 나타낸다. 도 13b는 S2값의 범위를 이용한 주관적 경향의 정의를 나타낸다. 도 13c는 12명의 성향을 정의한 것이다.

도 14는 1차 방정식으로 나타낸 그룹 결정에 대한 예측 모델이다. 모든 점은 평균값으로 맞춰진 것이며, 점선은 계산된 1차 방정식이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0052] 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.

[0053] 실시예

[0054] 실험재료 및 실험방법

[0055] 실험재료

[0056] 말 심장에서 추출한 마이오글로빈(myoglobin: 내부의 철 이온을 이용해 근육에 산소를 전달하는 단백질), 페리틴(ferritin) 및 락토페린(lactoferrin)을 시그마社(Sigma-Aldrich, 미국)에서 구입하였고, 2-머캅토 아세트산(2MAA: 2-mercapto acetic acid), 3-머캅토 프로피온산(3MPA: 3-mercaptopropionic acid), 6-머캅토 헥사노익산(6MHA: 6-mercaptohexanoic acid), 8-머캅토 옥타노익산(8MOA: 8-mercaptooctanoic acid), 11-머캅토 데카노익산(11MUA: 11-mercaptoundecanoic acid), 16-머캅토 헥사데카노익산(16MHA: 16-mercaptohexadecanoic acid), 시스테인 하이드로클로라이드(cysteamine hydrochloride), 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필) 카르보디이미드(EDC: 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide), N-히드록시석신이미드(NHS: N-Hydroxysuccinimide) 및 로다민 B(rhodamine B)과 같은 화합물도 시그마社에서 구매하였다. 감광액(photoresist, Su-8 2), 현상액 및 박리액(remover, PG)은 마이크로캡社(Microchem, 미국)에서 구매하였다. 10 mM HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) 완충액이 전해질로 사용되었는데, 염산과 수산화나트륨을 이용하여 pH 7.0으로 적정하였다. DI(Distilled and deionized) 물(저항값 > 18 MΩ)은 Mili-Q 시스템으로 제작하였으며, 모든 실험과 기판 세척은 이를 이용하였다.

[0057] 무기물질 준비

[0058] 무기물질을 단백질에 결합시키기 위하여 표면에 2MAA 또는 (3-아미노프로필)트리에톡시실란(APTES: (3-Aminopropyl)triethoxysilane)를 캐핑시켜 작용기를 부착하였다. 유기물을 10 nm/30 nm 직경의 금 나노입자(GNP)는 초기에 PBS에 녹아 있는데, 표면에 캐핑된 물질을 분리하기 위해서, 원심분리를 이용하여 메탄올로 교체하였다. 이후, 300 μl 2MAA를 1 mL GNP 용액에 첨가한 후, 12시간 동안 반응 시켰다. 그 다음, 순수한 메탄올로 3회 이상 세척하여 반응하지 않은 2MAA를 제거하였다. 이후, 메탄올에 녹아있는 2MAA로 캐핑된 GNP는 최종적으로 원심분리를 통해 버퍼를 HEPES로 교체하였고, 이를 이용해 실험을 진행하였다. 초기 톨루엔에 녹아있는 1 mL QD(quantum dot)을 메탄올을 이용한 침전법을 이용해 용매를 클로로포름으로 교체하고, 300 μl 2MAA를 추가하여 24시간 동안 반응하여 QD 표면 캐핑 물질을 2MAA로 교체하였다. 반응이 끝난 후에 메탄올을

이용하여 3회 이상 원심분리를 이용해 세척하였으며, 최종적으로 HEPES 버퍼에 2MAA가 캐핑된 QD 용액을 제작하였고 이를 이용해 실험을 진행하였다. 산화철 나노입자(IONPs)는 초기에 pH 11의 DI 물에 잘 녹여서, APTES와 6시간 이상 반응을 시켰다. 산화철 나노입자는 자석에 붙기 때문에 자기장을 이용하여 3회 이상 DI 물에 세척하여 최종적으로 APTES가 캐핑된 산화철 나노입자를 제작하였다. 제작한 나노입자는 사용 전 초음파 처리를 이용해 잘 분산시켰으며, 5℃에서 3시간 동안 정전기적 결합을 이용해 단백질 위에 고정화시켰다. 금속 이온과 관련해서는, DI 물에 50 mM의 농도로 염화니켈(II)(Nickel(II) chloride), 황산망간(II)(Manganese(II) sulfate), 황산구리(II)(Copper(II) sulfate), 염화철(II)(Iron(II) chloride) 및 염화코발트(II)(Cobalt(II) chloride) 용액을 제작하였고, 상기 금속이온은 5℃에서 3시간 동안 단백질과 반응시켜 결합시켰으며, 고정화 후에는 DI 물로 충분히 세척하여 잔여물을 제거하였다.

[0059] 소자 설계 및 제작

[0060] 멀티 소자는 공통으로 사용되는 카운터 전극과, 6개의 개별 작업 전극(working electrode) 간의 거리를 4 μm 로 제작하였다(저항표시: $R_{G1, G2, G3, G4, G5, G6}$). 각 작업 전극의 저항값의 총합은 2개의 영역(전해질(electrolyte)에 잠기는 부분 및 공기중에 노출되는 부분) 저항의 총합으로 계산하였다: 1) 전기화학 셀 내부에 위치하여 전해질과 접촉되는 내부영역: 빨간 점선으로 표시($R_{S1, S2, S3, S4, S5, S6}$), 2) 공기 중에 접촉되는 외부영역($R_{L1, L2, L3, L4, L5, L6}$). 동일한 두께로 동일한 물질이 표면에 증착되어 있다면, 저항값은 오직 길이의 함수로 결정된다($R=f(L)$, $R=\rho L/A$, 저항=밀도*길이/단면적). 따라서, 6개의 작업 전극은 지그재그 패턴을 이용해서 동일한 길이로 설계 및 제작되었다. 전극 위에 고정화된 단백질의 산화/환원 특성은 각 전극의 저항값을 동일하게 설정하였으므로, 전극 특성과 개별적으로 전기 용량(capacitance)으로 표현될 수 있으며($C_{1, 2, 3, 4, 5, 6}$), 6개의 전극은 패드의 끝부분에 제작된 공동 작업 전극과의 스위칭에 의해서 전극 조합을 조절하였다(도 2). 표면에 열로 산화시켜 제작한 SiO_2 를 가지고 있는 실리콘 기판은 70℃의 피라냐 용액(piranha solution, 황산:과산화수소, 5:1 (v/v)%)에 10분 동안 반응시켜 세척하였고, 200℃에서 20분 동안 구워 표면의 수산기를 제거하였다. 멀티 전극은 기존의 포토리소그래피의 전형적인 리프트 오프 공정을 이용해 제작을 하였는데, 먼저 Su-8 2 음성 감광액을 3000 rpm으로 스핀 코팅하고, 얼라이너(aligner)를 이용해 노광 과정을 진행한 후 현상하였다. 이후 집착층으로 5 nm의 크롬층을 증착하고, 연속적으로 50 nm의 금을 증착하였다. 리프트 오프(lift-off) 과정은 70℃의 박리액 PG 용액에 2시간 동안 반응시켜 진행하였으며, 역시 피라냐 용액을 이용하여 표면을 세척하였다. 제작된 멀티 전극 위에 400 μl PDMS 패턴을 이용하여 전기화학 반응을 위한 셀을 부착하였다.

[0061] 선택적 고정화 과정

[0062] 유기 스페이서는 에탄올에 녹여 1 mM의 농도로 준비하였으며, 상온에서 상기 용액에 멀티 전극을 담겨 고정화를 진행하였다. 유기물의 끝부분에 있는 티올(Thiol) 그룹이 금과 반응하여 고정화가 되게 되는데, 선택적 고정화 프로세스는 이 티올 그룹의 환원에 의한 제거 반응을 이용해 진행하였다. 금 표면과 티올그룹의 황(-S)의 공유 결합은 결합 에너지가 높긴 하지만[20], 전기화학적 방법에 의한 환원에 의해 쉽게 제거 된다[17-19]. 먼저, 6개의 전극을 가지고 있는 멀티 전극을 한 종류의 머캅토산을 이용한 자기조립(self-assembly) 과정을 이용해 고정화하였다(6개의 전극에 모두 같은 종류의 유기물 고정화). 6개의 전극 중에서 선택적으로 해당 전극에 음전위를 가해 주게 될 경우에, 표면에 고정화된 유기물이 제거될 수 있으며, 이를 이용해 6개의 전극 중에서 3개의 전극에만 전위를 가해서 표면에 고정화된 물질을 제거하였다. 이 과정이 끝난 후 다른 종류의 머캅토산 용액에 멀티 전극을 담그게 될 경우 제거된 표면에만 해당 물질이 고정화가 되어 최종적으로 2종류의 유기물이 각각 3개의 전극에 고정화된 멀티 전극을 제작할 수 있었다. 상기 단계는 원하는 유기물 전극 조성을 얻을 때까지 반복할 수 있다(예컨대, 2개 전극: 유기물 A, 2개 전극: 유기물 B, 2개 전극: 유기물 c). 마지막으로, pH 7.0의 HEPES 버퍼에 준비된 0.2 mg/ml 단백질을 표면에 고정화한다(5℃ 3시간)(도 3). 단백질을 이용한 모든 실험은 고정화를 한 후 즉시 측정을 하였으며, 보관이 필요한 경우에는 단백질의 비활성화나 오염을 막기 위해서 5℃에서 보관하였다.

[0063] 환원적 제거를 위한 전위는 전기화학적 포텐시오스탯(Electrochemical potentiostat, CHI-660, CH Instruments, Inc., 미국)을 이용해 생성하였다. 금 전극 위에 고정화된 물질의 산화/환원 특성은 사이클릭 볼타메트리(CV: cyclic voltammetry)를 이용해 확인하였다. 패턴닝된 금 작업 전극, Pt 와이어, 포화 NaCl

내 Ag/AgCl(3M) 전극을 전기화학 시스템상의 작업 전극, 상대 전극(counter electrode), 기준 전극(reference electrode)으로 사용하였다. 멀티 전극을 이용한 모든 전기화학 측정은 pH 7.0의 10 mM HEPES 버퍼에서 스캔 속도 50 mV/s로 진행하였다. 가해주는 전위 범위는 0.5 V 내지 -0.2 V였으며, 전기화학 셀의 전해질의 양은 300 μ l였다. 본 실험의 사이클릭볼타모그램(Cyclic voltammogram)은 30 사이클 이상으로 먼저 측정을 하여 안정화 과정을 거친 후 최종적으로 측정하였다. 선택적 고정화 과정은 또한 형광 현미경(DMLB 100s, Leica Microsystems, 독일)을 이용해서 확인하였다. 초기에 피라냐 용액을 이용해 세척한 기판을 DI 물을 이용해 준비한 1 mM 시스테아민(cysteamine, 한쪽은 티올, 다른 한쪽은 아민) 용액에 담궈서 금과 티올 간의 반응을 이용해 고정화시키고, 그 위에 EDC/NHS 커플링 반응을 이용해 2시간동안 로다민 B(10 mM)와 반응을 시켰다. 따라서 최종적으로 금 전극에만 형광물질이 고정화된 패턴을 제작하였으며, 음전위를 가함에 따라 형광이 줄어드는 현상을 이용해서, 표면에 고정화된 물질의 환원적 제거를 간접적으로 확인하였다(도 4).

[0064] 실험결과

[0065] 유기물과 무기물을 이용한 단백질의 신호조작

[0066] 산화/환원 신호를 직접적으로 제어하기 위해서, 마이오글로빈을 다양한 유기 스페이서(2MAA, 3MPA, 6MHA, 8MOA, 11MUA, 및 16MHA, 앞의 숫자는 탄소의 개수) 위에 각각 고정화시켰다. 도 5a는 탄소의 개수가 2-16개인 유기물을 사용할 경우, S1값 및 S2값이 각각 달라지는 것을 나타내고 있다. 모든 결과값은 직접적인 비교를 위해서, 1과 0 사이의 값으로 표준화 시켰다. 유기 스페이서의 길이가 길어지게 될 경우, S1값이 음의 방향으로 이동하게 되고, S2값은 전자 전달의 지연 현상에 의해 감소하게 된다. 이는 금속 전극과 단백질 간의 거리 증가에 따른 전자 전달 속도의 변화에 의한 현상이다[21-22].

[0067] 유기물에 의해 제어된 단백질의 전기화학 신호를 무기물을 도입함으로써, 다시 한 번 조절할 수 있다. 본 발명자들은 본 발명에서 단백질과 직접 결합할 수 있는 여러 이온들, 나노입자 및 전해질 이온을 신호 조절자로 도입해서 해당 현상을 구현하였다. 무기물질 중에서 나노입자(금/산화철 나노입자)를 단백질 표면에 도입한 경우, 단백질의 전기화학 신호는 증폭되거나(전도성 나노입자(금/산화철), 도 5b), 억제된다(반도체 나노입자, QD, 도 5c). 이러한 나노입자 도입에 따른 신호 변화 현상은 전자 트래핑과 전자 전달의 강화로 설명할 수 있다. 코어-셸 구조(이중막 구조)의 반도체 나노입자인 QD를 도입하는 경우에는, 단백질의 산화/환원에 의해 발생된 전자가 QD의 이중막 구조에 트랩되는 현상이 발생할 수 있으며, 이는 반도체 물질간의 밴드 갭(band gap) 차이에 의해 발생하는 히스테리시스(hysteresis) 현상과 유사하다고 할 수 있다[23-24].

[0068] GNP와 같은 전도성 나노입자를 사용해서 신호를 증폭하는 기작은 본 발명자들의 지난 연구에서도 발표된 바 있다[15]. 이 현상은 전도성이 증가됨으로써 발생하는 빠른 전자 전달 속도와 산화/환원 반응에 관여하는 단백질의 수량 증가에 의한 것으로 그 이론적인 메커니즘은 도 6에 설명되어 있다. 이상적인 가역적 반응의 산화/환원 전위의 위치는 같은 반면에($E_{pc}=E_{pa}$), 실제 산화/환원 반응의 피크값은 여러 외부 요소에 의한 전자 전달의 지연으로 차이를 나타내게 되고 ΔE_p 값(E_{pc} 와 E_{pa} 의 차이)이 증가되게 된다(좌우로 벌어짐). 이 이론에 의한 결과값은 도 5b에 표시되어 있다. ΔE_p 값은 금 나노입자의 도입에 따라 감소하게 되며, 이는 금 나노입자가 빠른 전자 전달을 위한 매개체 역할을 하는 것으로 볼 수 있다. 이 현상은 가해진 전위에 의한 표면 전하량을 측정하는 크로노쿨로메트리(Chronocoulometry)로 확인할 수 있다(도 5d). 충전/방전 곡선은 모두 유사하게 수렴되지만, 금 나노입자가 도입된 마이오글로빈의 절대적인 전하량은 마이오글로빈만 존재할 때의 전하량 대비해서 상당히 증가한 것을 확인할 수 있다. 하지만 QD가 도입된 마이오글로빈의 총 전하량은 연속해서 증가하며, 충전된 전하는 금 나노입자가 도입된 경우 대비해서 매우 느리게 방전이 된다. 이 결과는 전자전달 능력을 강화시키는 금 나노입자와 대비해서 QD가 생성된 전자를 트래핑하는 것으로 판단할 수 있다.

[0069] 정전기적 결합을 이용해서 금속 이온을 단백질과 결합했을 때, 산화/환원 신호의 위치와 강도는 도입된 금속 이온의 종류에 따라서 변하게 되는데, 이는 도입된 금속 이온이 스스로의 이온가 변화에 의한 산화/환원 반응을 진행하기 때문이다(도 7a). 또한, 고정화된 단백질의 산화/환원 신호는 전해질 내부의 이온 농도에 의해서도 영향을 받는데, 이는 전도성 나노입자를 도입했을 경우와 동일한 메커니즘으로 설명할 수 있다(도 7b-d).

[0070] 논리 정의와 기본적인 기능 확인

[0071] 신호제어와 관련된 상기의 결과들을 바탕으로 해서, 본 발명자들은 인간의 의사결정 과정을 모사한 인공적인 하드웨어 타입의 논리 소자를 제작하였다. 중요한 개념적인 컨셉은 입력 정보에 덧붙여 “인간의 고유한/경험된

성향”과 “주변 환경”에 의한 영향을 논리 소자에 반영하는 것이었다. 인간의 의사결정 과정을 살펴보면, 입력된 정보의 성격, 강도, 횟수 뿐만 아니라, 각 개인의 고유한 성향이나 그 결정을 하는 과정에서의 주변 환경 등에 영향을 받기 때문이다(도 8a 좌측). 본 발명자들은 인간의 의사결정 과정을 2가지 다른 영역을 이용하여 정의 내렸다. 1) 독립된 부정/긍정의 영역으로, 동일한 성격의 입력신호만 받았을 경우, 2) 상호적인 영역으로, 부정과 긍정의 두 종류의 신호를 모두 받아서 혼재되는 영역으로, 이 영역은 각 개인의 고유한 성향, 경험으로 만들어진 성향(tendency polarity, TP 값으로 정의 내림) 및 환경의 영향을 받게 된다(도 8a 우측). 결정의 임계치(두 종류의 정보를 계속받다가, 어느 순간 최종 결정을 내리는 순간) 역시 결정의 신뢰도를 확보하기 위해 정의내렸다. 그러므로 일정의 임계치 아래에서는 어떤 부정/긍정적인 생각을 가지고 있기는 하지만 실제로 아직 결정을 내리지는 않는 모호한 영역이 존재하게 된다. 하지만 일정 임계치 이상으로 가게 되면, “그렇다” 또는 “아니다”라는 최종 결정을 내리게 된다. 만약에 최종결정을 내릴 수 있을 만큼 입력 신호가 충분하다면, 우리는 어떤 결정을 얼마만큼의 신뢰도와 확신을 갖는 값으로 최종으로 내리게 된다. 즉 최종으로 “그렇다”라고 했다고 하더라도, 상황에 따라서 완벽한 “그렇다”도(높은 신뢰도/확신) 존재하고, 그냥 마지못해서 하는 “그렇다”(낮은 신뢰도/확신)도 역시 존재하게 되며, 이는 입력 신호의 성격뿐만 아니라, 각 개인의 성향(부정적 또는 긍정적)이나 환경에 의해서 영향을 받게 된다.

[0072] 동일한 신호만이 입력되었을 경우의 산술적인 신호 증가는 도 8b에 표시하였다. 멀티 전극에 존재하는 6개의 전극 모두에 동일한 물질이 고정화 되어있고, 전극의 산술적인 증가에 따른 신호변화를 측정한 것이다. 이 결과는 각 전극에 고정화되어 있는 마이오글로빈의 신호가 전극 수의 산술적인 증가에 의해서 안정적으로 검출됨을 보여주며, 이 결과는 도 8a 우측의 독립 영역을 나타내는데 사용될 수 있다. 상호적인 논리 영역의 경우에는 서로 다른 신호가 합쳐진 형태의 단일 신호를 구현해야만 했다. 즉, 긍정과 부정의 2가지 신호를 합쳐서 단일 신호로 구현해내야만 했다. 도 8c는 2개의 서로 다른 신호(P1: 마이오글로빈/2MAA의 신호, N1: 마이오글로빈/3MPA)가 하나의 신호로 합쳐지는 현상을 나타내고 있다. (P1N1으로 정의) 최종 신호의 위치와 강도는 이러한 2종류의 신호(P,N)을 제어함으로써 조절할 수 있다. 도 9에서 보듯이, 2MAA/6MHA 세트를 사용할 경우에는, 최종으로 합쳐진 신호의 위치가 한 전극 위에 2가지 유기물의 고정화 비율에 따라서 조정됨을 확인할 수 있다. 이러한 서로 다른 두 신호의 결합에 의한 신호 위치/강도 조절 현상을 이용하여 본 실험에서 논리를 구현하였다. 이 때, 단백질의 종류는 각 물질마다 고유한 특성을 지니고 있으므로, 인간의 고유의 성향에 대입을 하였으며, 단백질이 동일해도 도입된 유기물이 다르면 특성이 변화되므로 이를 경험된 혹은 교육된 성향으로 대입하였다.

[0073] 생체복합체를 이용한 논리 구성

[0074] 우리는 개별적인 유기 스페이서 세트를 이용해서 경험된 성향을 표현하기 위해서 TP(Tendency Polarity)라는 변수를 정의 내렸다. 이 TP값은 2종류의 유기 스페이서를 사용해서 측정한 단백질의 초기 신호 강도의 비를 나타낸다(N1/P1). 즉, 어떤 2종류의 유기 스페이서 세트를 사용했을 경우에, 두 종류의 신호 강도의 초기 비율을 나타내며, TP값이 1과 가까우면, P와 N값의 신호 강도가 비슷한 것을 나타내고, TP 값이 작아지면, P값이 N값 보다 더 큰 것을 나타낸다. 앞서 도 5a에서 설명했듯이, 단백질의 산화/환원 신호는 유기 스페이서의 길이로 조절을 할 수가 있다. 도 10a는 여러가지 유기 스페이서 세트로 완성된, 여러 상호적인 논리 영역의 전체적인 개요를 나타낸다. 상기 영역의 위치가 개인적인 성향을 나타내며(부정적/긍정적), 상기 영역의 크기는 결정의 유연성을 나타낸다. 본 발명자들은 상대적인 비교를 위해서, 독립 영역의 결과값을 이용해서 모든 결과값을 1과 0 사이의 값으로 표준화 하였으며, 도 8a에서 나타냈듯이, 신뢰도(절대 부정: -100%, 절대 긍정: 100%)와 확신(0-100%)이라는 2가지 변수를 다시 정의 내렸다. 어떤 논리 과정에 있어 인간의 경험된 성향을 표현하기 위해서, 본 발명자들은 2종류의 소자를 고안하였다. 하나는 균형잡힌(balanced) 소자(TP=0.8), 도 10a의 더 어두운 영역, 2MAA/3MPA 세트)이며, 다른 하나는 치우친(one-sided) 소자(TP=0.5, 도 10a의 더 밝은 영역, 3MPA/6MHA 세트)이다. 균형잡힌 소자의 상호적인 논리 영역은 도 10b에 나타나 있으며, 최종 신호의 위치는 P와 N에 비슷하게 영향을 받는다. 따라서 이 영역은 좌/우측의 절대적인 P와 N 영역의 중간에 위치하게 된다. 치우친 소자의 결과는 도 10c에 표현되어 있다. 예상한 것처럼, TP값이 작을 경우에는, 한쪽으로 치우친 결과값에 의해 영역이 한쪽으로 치우쳐서 나타나게 되고, 이는 P 값에 의해 최종 결과값이 주도적으로 영향을 받게 된다는 것을 의미한다. 즉 긍정의 신호를 하나 받았다면, 부정의 신호가 2개 혹은 3개 입력되더라도, 최종 신호의 위치는 P쪽에 있다는 의미이다(긍정적인 성향). 또는, 부정의 신호만 2개 혹은 3개를 받아서 부정쪽에 결정의 성향이 위치하다가, 긍정의 신호 하나로 최종 성향이 바뀔 수 있다는 것이다. 도 10b와 10c는 동일한 인풋 정보(P와 N의 입력 횟수 비율)가 입력되더라도 성향별로 결과값이 큰 차이를 보인다는 것을 나

타낸다. 또한, 균형잡힌 소자를 예로 들면, 2P1N(P 2개, N1개의 입력)의 경우 최종 결과값을 3P값과 비교해서 88%의 긍정에 79%의 신뢰도로 표현할 수 있다. 이러한 결과는 아날로그적인 결정과정과 관련된 “경험된 성향”을 전자소자로 표현해 낼 수 있음을 나타낸다.

[0075] 도 10d는 다른 종류의 단백질을 사용했을 경우의(유기 스페이서 세트는 동일하게 사용, 2MAA/3MPA) 상호적인 논리 영역의 변화를 나타낸다. 예상한 것처럼, 다른 종류의 단백질은 서로 다른 결과값을 나타낸다. 우리는 이렇게 단백질의 종류를 “고유의 성향”으로 정의내렸다. 따라서 주변 환경 요소를 동일하게 설정하더라도 단백질의 종류에 따라 서로 다른 결과값을 낼 수 있고, 이는 각 개인이 타고난 고유의 성향으로 대입할 수 있는 것이다. 예를 들어, 우리가 마이오글로빈(중도적) 대신에 락토페린을 신호 생성자로 선택하게 될 경우, 부정적인 성향을 대입할 수 있다. 또한, 페리틴을 사용했을 경우 기본적인 영역의 위치가 위쪽에 있으므로 결정에 대한 확신이 높은 성향(보다 적은 인풋 정보로 최종 결정에 도달, 기본 임계치가 낮음)으로 대입할 수 있다.

[0076] 고유의 성향과 경험된 성향으로 어떤 의사결정 과정에 있다고 할 때, 의사결정의 방향이나 최종 결정은 주변 환경에 영향을 받을 수 있다. 그러므로 본 발명자들은 이러한 환경적인 효과를 앞서 설명한 것처럼 무기물을 도입해서 구현하였다. 환경이 바뀌면(나노입자를 도입, 도 11a) 원래 영역 대비해서 상호적인 논리 영역이 변화하게 되는데, 금 나노입자를 도입하면 영역의 좌우폭이 좁아지고(결정의 변동폭이 좁아짐, 결정에 대한 확신도 증가), 산화철 나노입자를 도입하면 상호적인 논리 영역이 보다 더 균형이 잡히게 된다. 때때로, 우리는 환경적인 영향에 의해 결정과정을 포기하게 되는 경우도 생기는데 이는 QD를 도입하면 쉽게 구현할 수 있다. 앞서 도 5c에서 볼 수 있는 바와 같이 QD를 도입하게 되면 산화/환원 신호가 사라지게 되며, 이는 신호가 리셋되어 결정의 성향이나 신뢰도가 초기화되게 된다. 이러한 결과는 환경에 의한 영향성을 소자를 이용해 구현한 결과로 볼 수 있으며, 금속 이온(도 11b)과 전해질 내의 이온 농도(도 11c)를 이용해 동일한 결과를 또한 얻을 수 있었다.

[0077] 그룹의 의사 결정 과정의 구현

[0078] 앞서 보여준 상호적인 논리 영역의 개별적인 값들을 이용하여, 임계치를 도입하게 될 경우에는 어떤 사건의 의사결정과 관련된 과정을 표현할 수 있다. 도 8a에서 보듯이, 우리의 개념적인 예증에서 의사결정 과정은, 긍정/부정에 대한 생각 혹은 성향은 존재하지만 아직 결정을 내리지 못한 모호한 영역을 가지고 있다. 디지털적인 논리에서 1과 0으로 대변되는 “그렇다”와 “아니다”가 있는 부분과 대비되는 사항이다. 이러한 접근법은 굉장히 복잡한 상황에서의 상대적이고 모호한 논리 과정을 표현해내는데 이점을 제공한다. 본 실험에서 제안하는 소자를 이용하면, 개인의 고유의/경험된 성향과 환경 영향성을 함께 표현할 수 있는 논리 표현형(Phenotype)을 구현할 수 있다. 실질적인 응용으로, 이러한 인공적인 소자를 이용해서 어떤 그룹의 의사 결정 과정을 모사하였다.

[0079] 도 12는 서로 다른 성향을 갖는 임의의 12명의 사람으로 이루어진 그룹의 개별적인 결정 과정을 나타내고 있다. 각 개인의 성향에 대한 정의는 상호적인 논리 영역의 평균값과, 각 영역의 변동폭을 이용해서 정의 내렸다(도 13). 입력 신호의 합은 6개로 정의 내렸으며, TP값은 1이 될 수 없으므로(유기물 세트 구성을 위해서 서로 다른 종류의 유기물을 사용해야 하는데, 도 8b에서 보듯이 각각 신호의 크기가 다르다) 기본적인 성향은 약간 긍정적이며, 이는 도 12a의 P1N1과 P3N3에서 확인 할 수 있다. 1개의 부정, 1개의 긍정 신호가 입력되었을 경우에(P1N1, 33% 입력, 도 12a 검은색 영역) 6명의 사람은 긍정이라고 생각하며, 5명의 사람은 부정으로 생각한다. 하지만 어느 누구도 최종 결정을 내리지 않는다(임계치는 50%). 이제 더 많은 정보가 입력이 되면(P1N3=좌측 영역, P3N1=우측 영역), 모든 사람이 각각 부정적이거나 긍정적인 생각을 하고, 신뢰도는 올라가게 된다. 그러나 대부분은 최종 결정을 하지만, 일부는 아직 결정을 못하고 있다.

[0080] 모든 정보가 입력되는 P3N3가 되게 되면, 모든 사람들이 결정을 하게 되는데, 이 때 긍정/부정의 결정을 내리는 비율은 P1N1 일 때와 큰 차이가 없게 된다. 즉 입력되는 긍정/부정 신호의 비율이 같다면, 최종 결정의 향방도 비슷하게 된다. 그러나 긍정/부정의 비율이 비슷한 경우(P1N2, P2N1, P2N3, P3N2)의 경우, 결정의 분포가 모호하게 된다. 도 12b의 P1N2와 P2N1을 보게 되면, 대부분의 사람이 최종 결정을 하기 위한 임계치에 다다르지 못했지만 일부는 결정을 하게 되고, 또한 대부분의 사람들이 긍정 혹은 부정의 성향을 가지고 있지만 일부는 반대 성향을 가지고 있다. P2N3와 P3N2의 경우도 마찬가지이다. 모든 사람이 결정을 하지만, 일부 사람은 반대 성향을 가지는 분포를 보이게 된다. 실제 현실에서의 이런 상황이 될 경우 주로 투표를 통해 그룹의 의사 결정을 정하게 되는데, P3N2를 보게 되면, 83% “그렇다”와 17%의 “아니다”로 최종 결정은 “그렇다”라는 것을 유추할 수 있다. 이 결과는 그룹의 의사결정에 관련된 결정 과정의 분포를 전자소자를 이용해 표현해

낸 결과라고 할 수 있으며, 이러한 가상의 표현 도구를 이용하게 되면 초기 성향을 분석하여 최종 결과를 유추해낼 수 있는 예측 모델이 가능하게 된다(도 14). 점은 각 영역의 평균값을 이용해 계산한 값이며, 피팅을 하게 될 경우 각 영역별로 1차 방정식이 도출되어 사각형을 그릴 수 있게 된다. 이는 제한된 정보를 가지고도 대부분의 결과값을 예측할 수 있음을 의미한다.

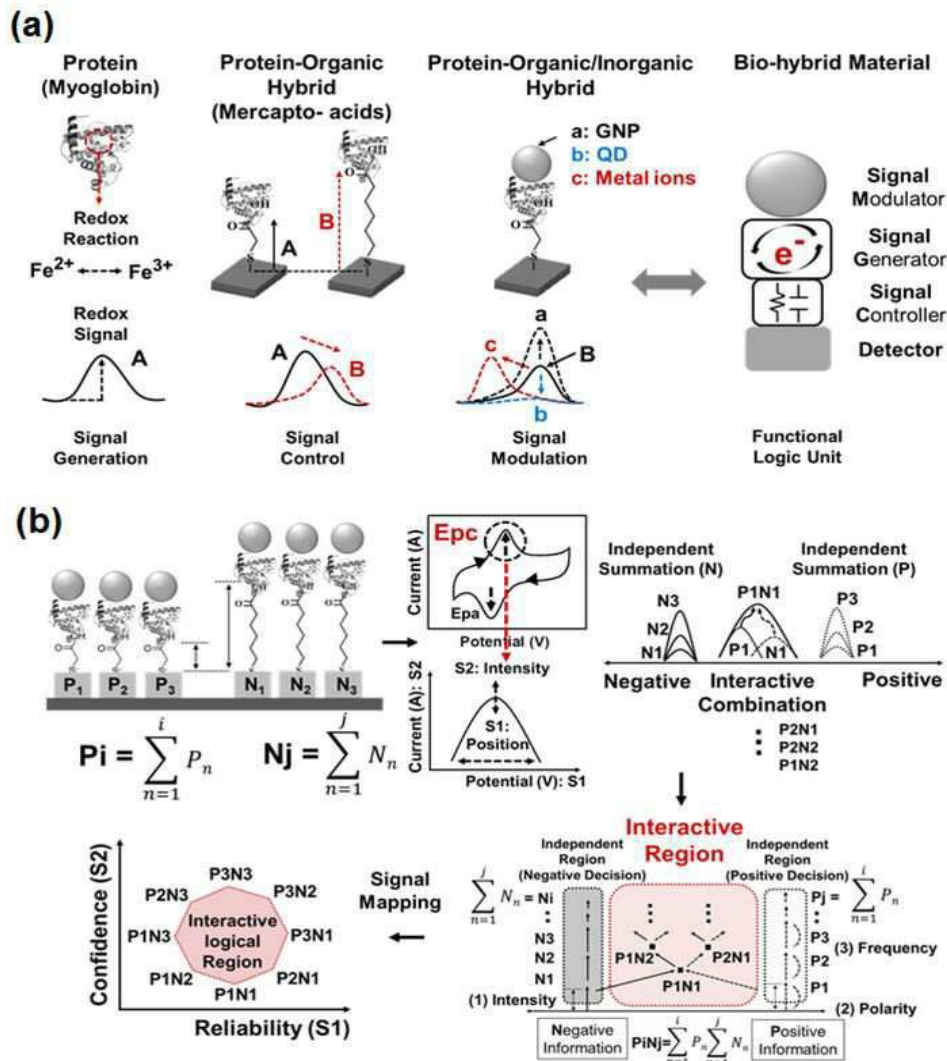
[0081] **참고문헌**

- [0082] [1] Tao Y, Lin Y, Ren J, Qu X. Self-assembled, functionalized graphene and DNA as a universal platform for colorimetric assays. *Biomaterials* 2013;34:4810-4817.
- [0083] [2] Tang H, Wang Q, Xie Q, Zhang Y, Tan L, Yao S. Enzymatically biocatalytic precipitates amplified antibody-antigen interaction for super low level immunoassay: An investigation combined surface plasmon resonance with electrochemistry. *Biosens Bioelectron* 2007;23:668-674.
- [0084] [3] Cha TG, Pan J, Chen H. Salgado, J, Li X, Mao C, Choi JH. A synthetic DNA motor that transports nanoparticles along carbon nanotubes. *Nat Nanotechnol* 2014;9:39-43.
- [0085] [4] Maruccio G, Biasco A, Visconti P, Bramanti A, Pompa PP, Calabi F, Cingolani R, Rinaldi R, Corni S, Felice RD, Molinari E, Verbeet MP, Canters GW. Towards Protein Field-Effect Transistors: Report and Model of a Prototype. *Adv Mater* 2005;17:816-822.
- [0086] [5] Lee T, Min J, Kim SU, Choi JW. Multifunctional 4-bit biomemory chip consisting of recombinant azurin variants. *Biomaterials* 2011;32:3815-3821.
- [0087] [6] Miyamoto T, Razavi S, DeRose R, Inoue T. Synthesizing Biomolecule-Based Boolean Logic Gates. *ACS Synth Biol* 2013;2:72-82.
- [0088] [7] Xie Y, Hu N, Liu H. Bioelectrocatalytic reactivity of myoglobin in layer-by-layer films assembled with triblock copolymer Pluronic F127. *J Electroanal Chem* 2009;630:63-68.
- [0089] [8] Zhang HM, Li NQ. The direct electrochemistry of myoglobin at a dl-homocysteine self-assembled gold electrode. *Bioelectrochemistry* 2001;53:97-101.
- [0090] [9] Choi JW, Oh BK, Min J, Kim YJ. Protein-Based Biomemory Device Consisting of the Cysteine-Modified Azurin. *Appl Phys Lett* 2007;91:263902.
- [0091] [10] Lee T, Kim SU, Min J, Choi JW. Multilevel Biomemory Device Consisting of Recombinant Azurin/Cytochrome c. *Adv Mater* 2010;22:510-514.
- [0092] [11] Kim SU, Yagati AK, Min J, Choi JW. Nanoscale protein-based memory device composed of recombinant azurin. *Biomaterials* 2010;31:1293-1298.
- [0093] [12] Tang D, Su B, Tang J, Ren J, Chen G. Nanoparticle-based sandwich electrochemical immunoassay for carbohydrate antigen 125 with signal enhancement using enzyme-coated nanometer-sized enzyme-doped silica beads. *Anal Chem* 2010;82:1527-1534.
- [0094] [13] Cai C, Chen J. Direct electron transfer and bioelectrocatalysis of hemoglobin at a carbon nanotube electrode. *Anal Biochem* 2004;325:285-292.
- [0095] [14] Escosura-Muniz A, Mekoci A. Nanoparticle based enhancement of electrochemical DNA hybridization signal using nanoporous electrodes. *Chem Commun* 2010;46:9007-9009.
- [0096] [15] Lee T, Yoo SY, Chung YH, Min J, Choi JW. Signal enhancement of electrochemical biomemory device composed of recombinant azurin/gold nanoparticle. *Electroanal* 2011;23:2023-2029
- [0097] [16] Lee T, Yagati AK, Min J, Choi JW. Bioprocessing Device Composed of Protein/DNA/Inorganic Material Hybrid. *Adv Funct Mater* 2014;24(12):1781-1789.
- [0098] [17] Pesika NS, Stebe KJ, Searson PC. Kinetics of Desorption of Alkanethiolates on Gold. *Langmuir* 2006;22:3474-3476.

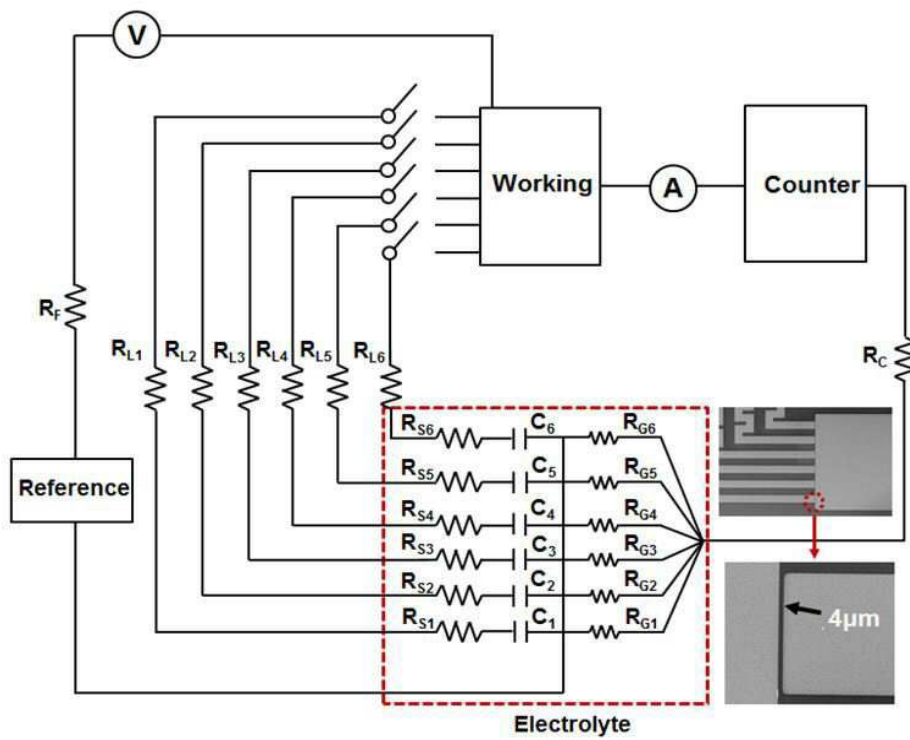
- [0099] [18] Wang J, Rivas G, Jiang M, Zhang X. Electrochemically Induced Release of DNA from Gold Ultramicroelectrodes. *Langmuir* 1999;15:6541-6545.
- [0100] [19] Yang DF, Wilde CP, Morin M. Studies of the Electrochemical Removal and Efficient Re-formation of a Monolayer of Hexadecanethiol Self-Assembled at an Au(111) Single Crystal in Aqueous Solutions. *Langmuir* 1997;13:243-249.
- [0101] [20] Mali P, Bhattacharjee N, Searson PC. Electrochemically Programmed Release of Biomolecules and Nanoparticles. *Nano Lett* 2006;6:1250-1253.
- [0102] [21] Tanimura R, Hill MG, Margoliash E, Niki K, Ohno H, Gray HB. Active carboxylic acid-terminated alkanethiol self-assembled monolayers on gold bead electrodes for immobilization of cytochromes c. *Electrochem Solid-State Lett* 2002;5:E67-E70.
- [0103] [22] Chung YH, Lee T, Min J, Choi JW. Investigation of the redox property of a metalloprotein layer self-assembled on various chemical linkers. *Colloid Surface B* 2011;87:36-41.
- [0104] [23] Pal A, Srivastava S, Gupta R, Sapra S. Electron transfer from CdSe-ZnS core-shell quantum dots to cobalt(III) complexes. *Phys Chem Chem Phys* 2013;15:15888-15895.
- [0105] [24] Reiss P, Protie`re M, Li L. Core/Shell Semiconductor Nanocrystals. *Small* 2009;5:154-168.
- [0106] 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.

도면

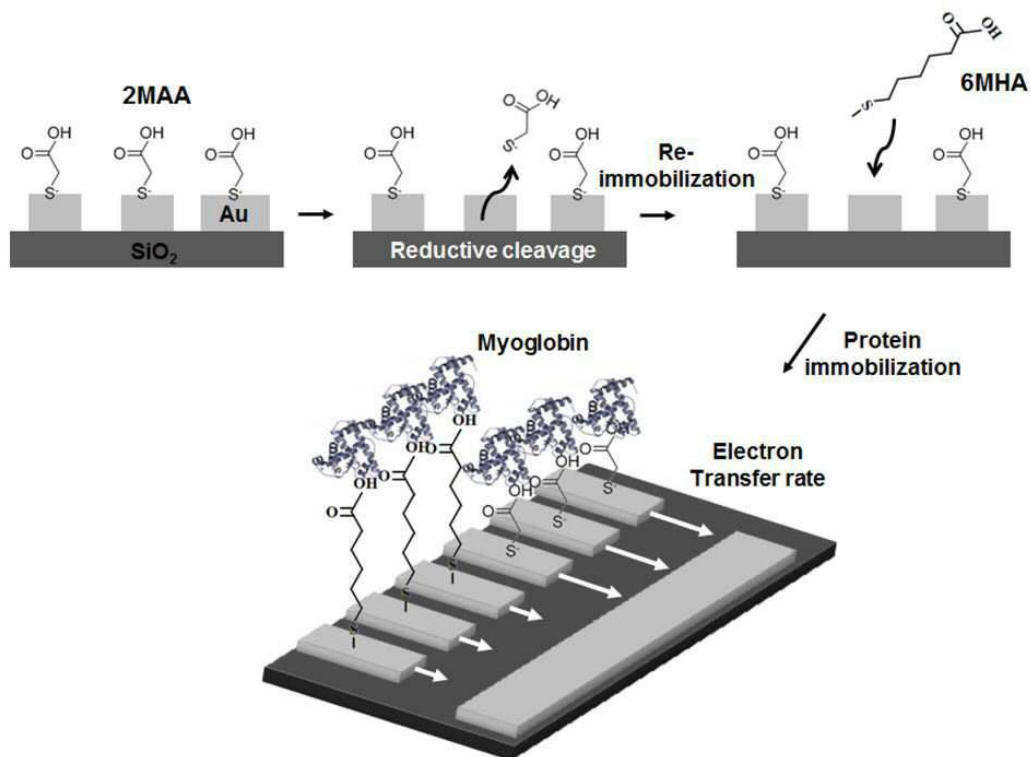
도면1



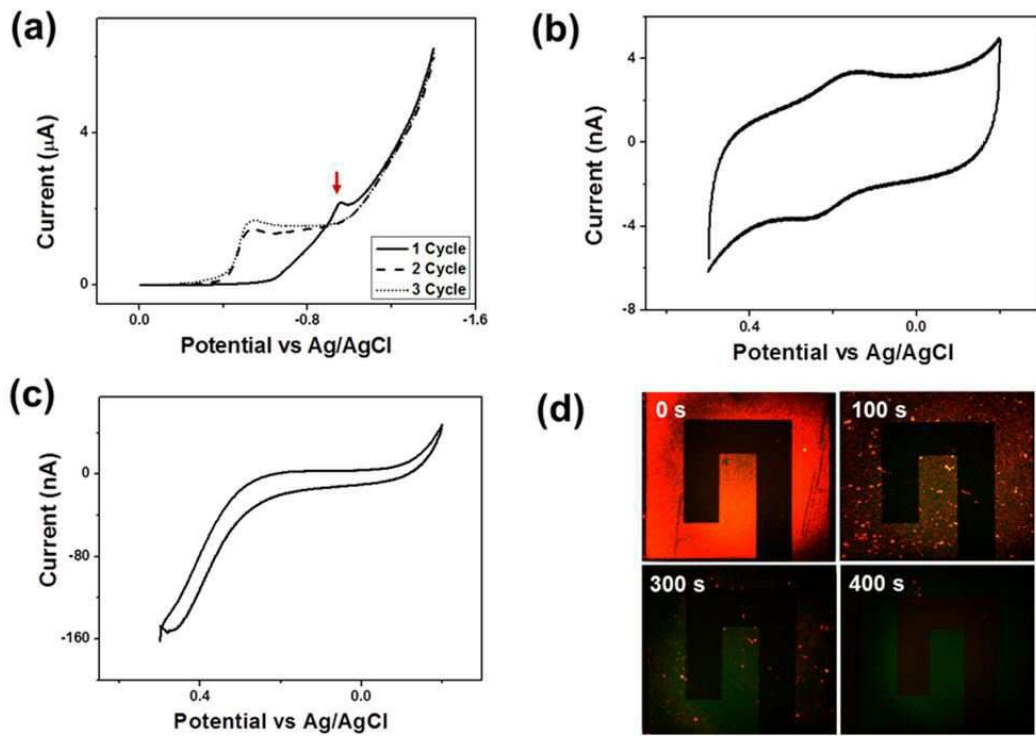
도면2



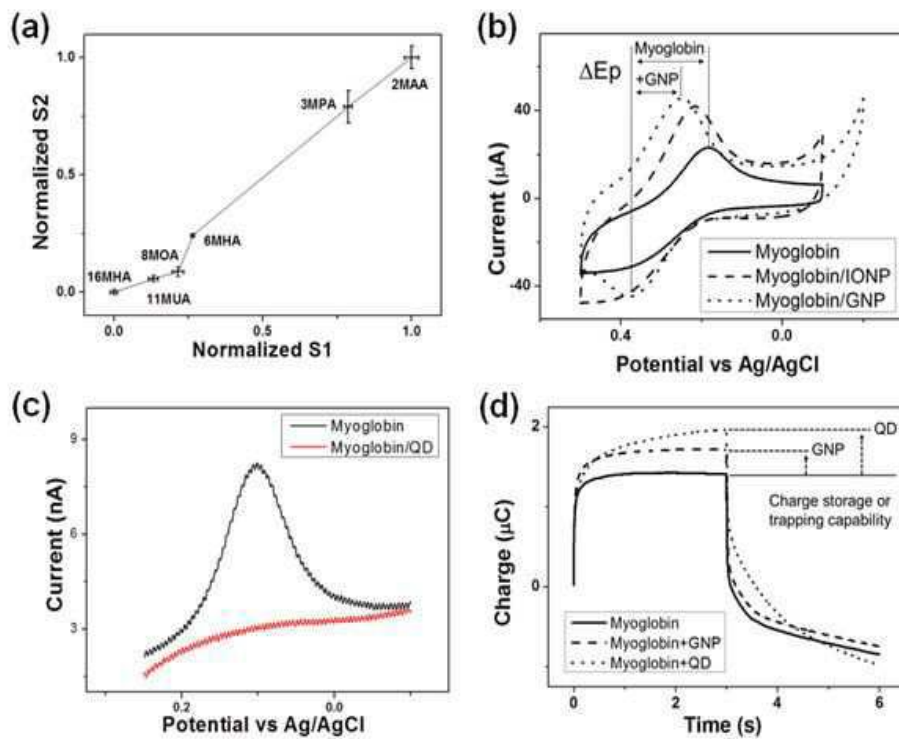
도면3



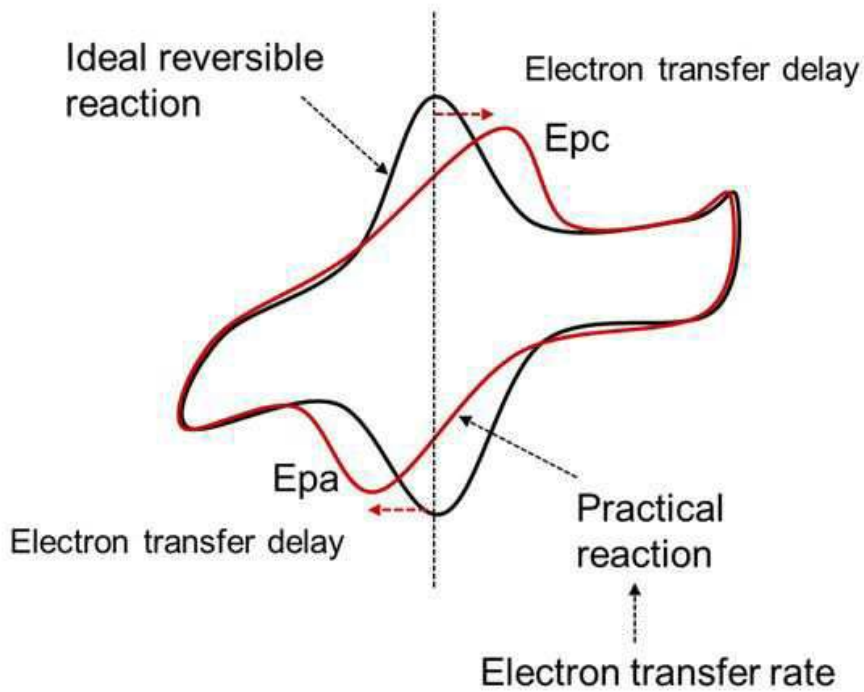
도면4



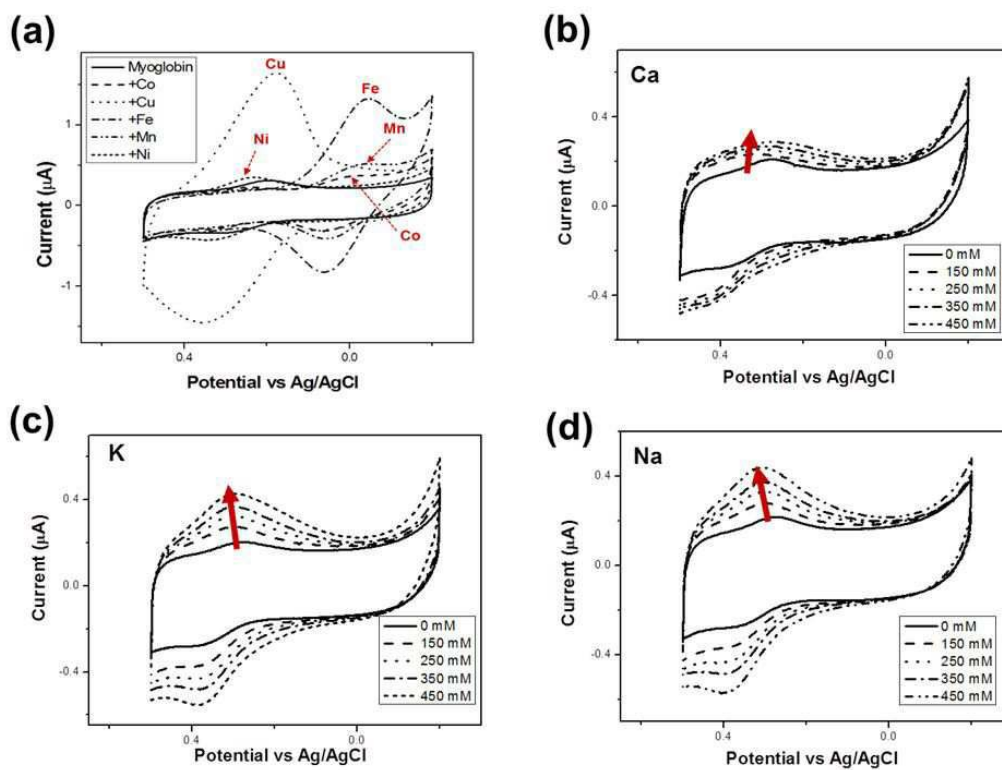
도면5



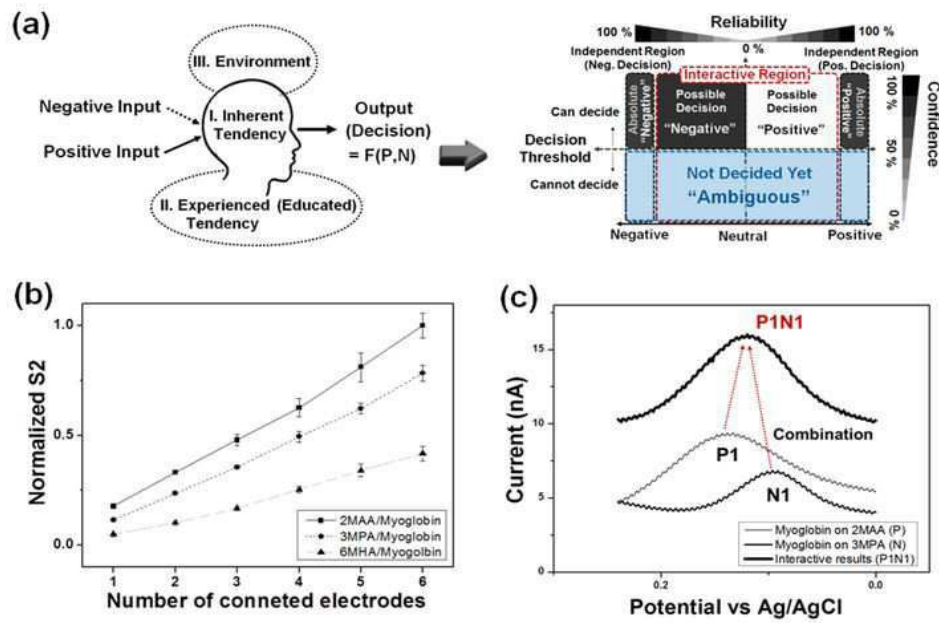
도면6



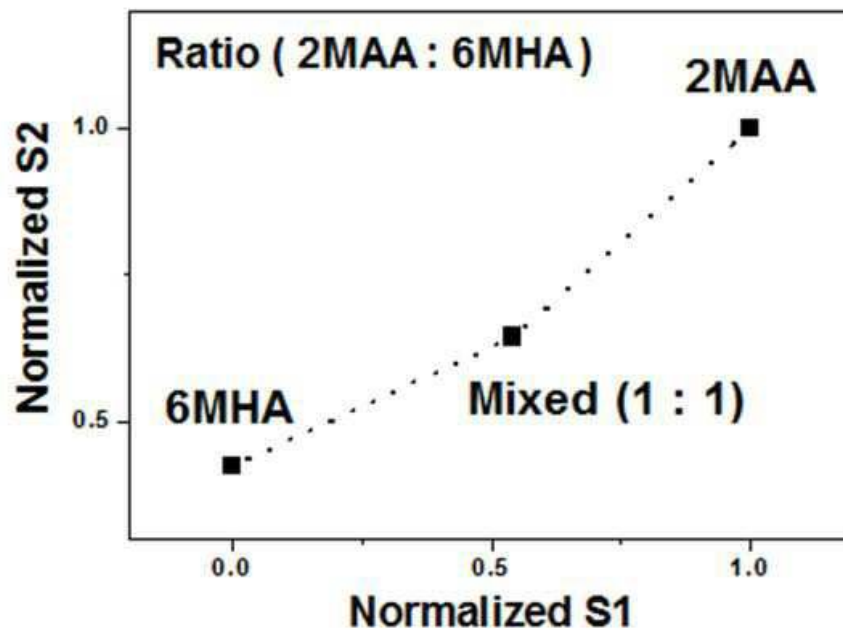
도면7



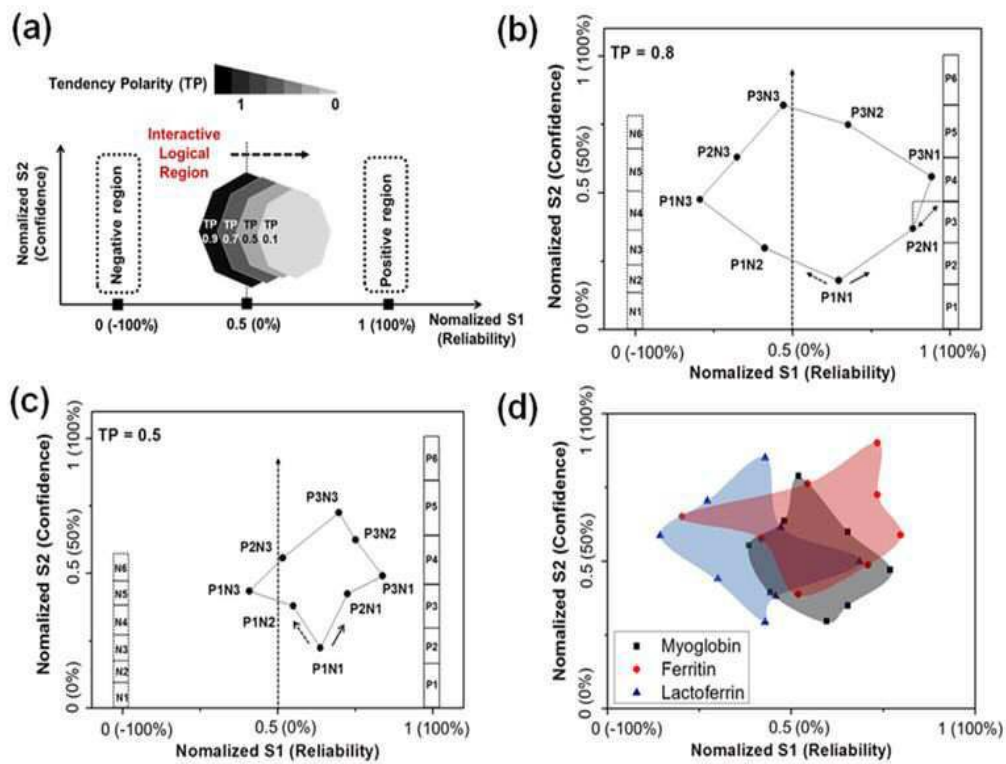
도면8



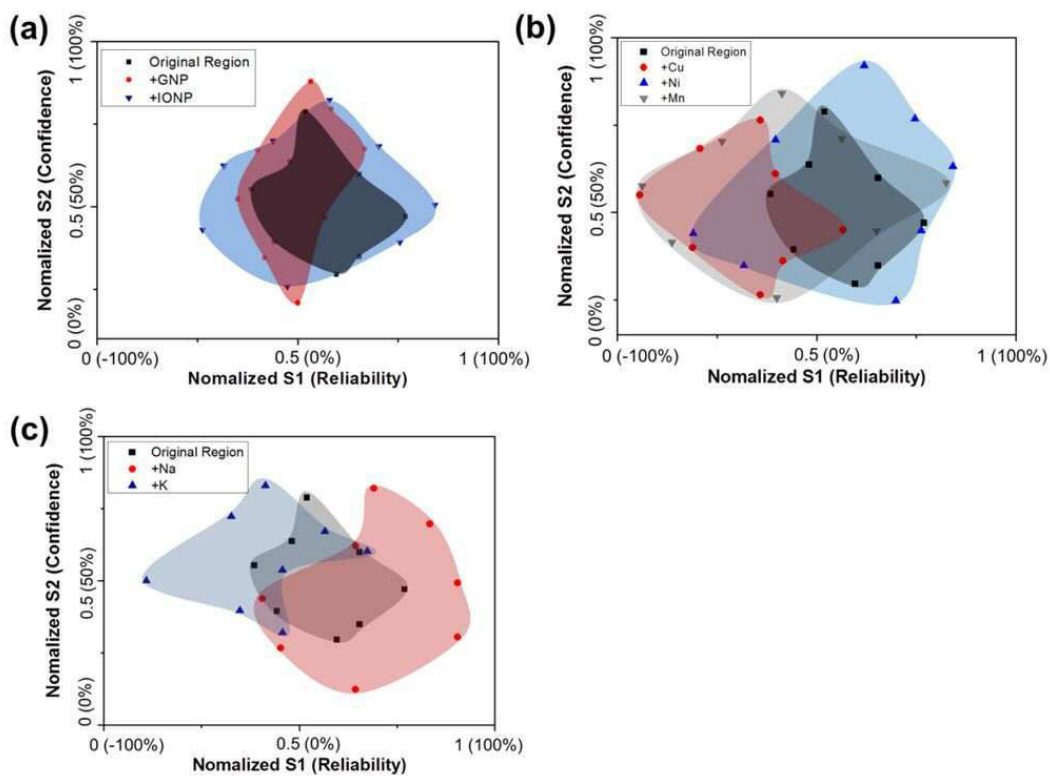
도면9



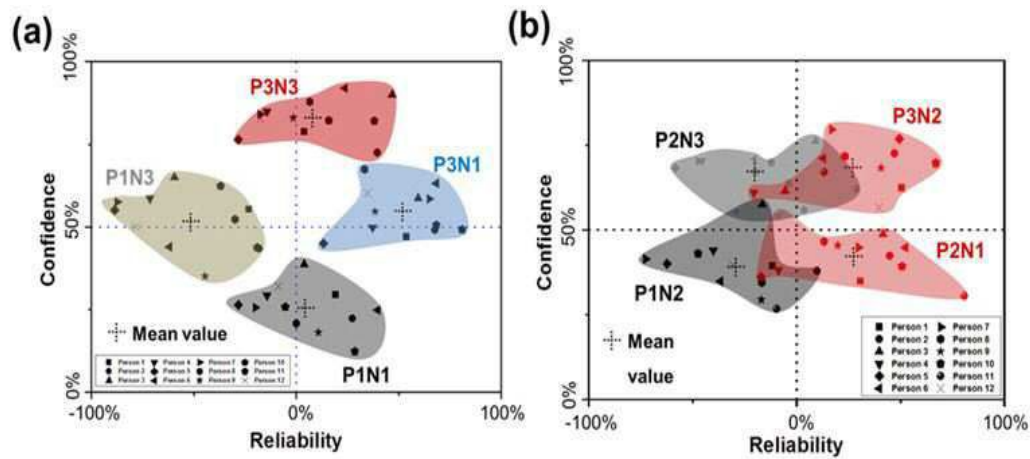
도면10



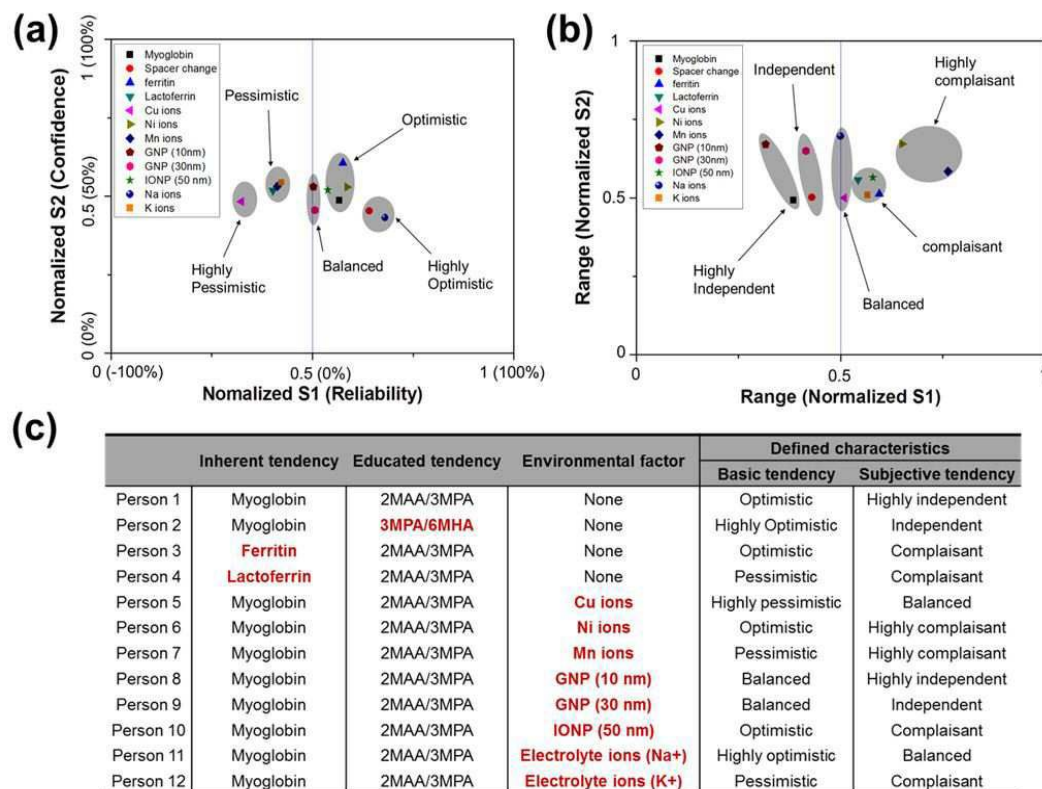
도면11



도면12



도면13



도면14

