

나노바이오공학 연구실

Laboratory of Nanobiotechnology

연구실 개요

나노와 바이오가 융합된 나노바이오 테크놀로지는 바이오 시스템의 난제에 대해 지금까지의 기술을 한 차원 넘어서 획기적인 해결책을 제시할 수 있는 기술로 평가 받고 있다. 하지만, 이러한 기술에는 의학, 면역학, 약학을 포함한 기본적인 지식과 신소재 공학, 물리학을 기반으로 한 미세조립 공정기술 등 복합적인 지식과 기술이 요구된다.

본 나노바이오 공학 연구실에서는 새로운 “blue ocean strategy”를 개발하고자 국내외 다양한 분야의 연구자들과의 협동연구를 활발히 진행하고 있으며, 현재 약물전달 및 혈당 측정용 마이크로니들, 나노단백질칩, 면역세포칩 개발에 연구 역량을 모으고 있다.

연구 배경

(1) 마이크로니들

기존의 분석물질검출을 위한 혈액채취 및 약물전달시스템 (Drug Delivery System) 기기는 피하주사기(hypodermic needle)로서 환자의 통증 수발 및 감염의 단점이 있었다. 이에 전세계적으로 마이크로니들(microneedle)의 관심이 증가

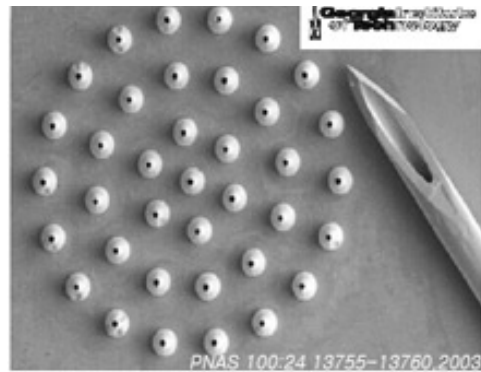


그림 1. 마이크로니들 (Georgia Institute of Technology)

되고 있으며, 연구의 활성화 및 시장의 확대가 이루어지고 있다. 마이크로니들의 모체는 모기의 아랫입술(labium)로서 무통증, 무외상 및 무감염의 피부 관통을 통한 소량의 혈액채취 및 약물전달을 목적으로 한다. 응용분야는 혈액채취를 기반으로 마이크로유체시스템(microfluidic system) 내의 센서와 융합한 uTAS (micro total analysis system) 및 transdermal drug delivery device 등이 있다.

(2) Lab on a chip, microfluidics

Microfluidics은 1mm 이하의 3차원의 채널에서 nanoliters, picoliters의 극미량 유체를 다루는 기술로서 빠

른 분석시간, 분석 비용 절감, 시약 사용량 감소 등의 이점을 갖는다. Microfluidics를 이용한 Lab on-a-chip은 silicon, glass 혹은 polymer로 이루어진 microscale의 chip에 microfluidic system을 융합시킨 진보적인 기술이다. 이는 channels, mixers, chambers, electrodes, pumps, valves를 이용하여 하나의 실험실을 초소화시켜 수 센티미터 크기의 chip위에 구현한 새로운 주목을 받는 시스템이다. 이를 통해서 시간, 비용, 노력의 절감이 가능하므로 생명공학, 의료분야, 화학분야, MEMS (micro-electro-mechanical systems)에 이르기까지 다양한 분야에 응용되고 있다.

(3) Dip-pen nanolithography (DPN)

DPN 기술은 빠른 AFM 탐침을 펜으로 사용하고 패턴을 만들고자 하는 유기분자나 생체분자를 잉크로 사용하여 기판 위에 직접 쓰는 패터닝 기술이다. AFM 탐침에 코팅된 잉크가 탐침과 표면사이에 생성된 water meniscus를 매개로 하여 고체 표면으로 이동하여 결합하게 된다. 이와 같이 DPN 기술을 이용하여 생체분자로 나노패턴을 만들게 되면 기존의 마이크로패턴 보다 더 높은 밀도를 가진 생체분자 패턴을 만드는 것이 가능해진다. 따라서 기존 마이크로 단위의 바이오센서로는 검출 할 수 없었던 생체분자가 나노패터닝을 이용한 바이오센서에서는 검출이 가능해진다. 이를 통해 DNA나 단백질등의 생체분자를 단분자 수준으로 패터닝

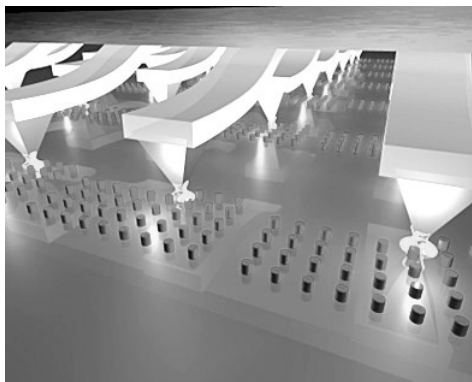


그림 2. Dip pen nanolithography (Nanoink 사)

하여 생체분자의 특성 및 생체분자 사이의 상호작용 등 다양한 생명과학 관련분야에 응용될 수 있는 길이 열리게 된다.

연구 현황

(1) 혈당 측정용 마이크로니들 개발

혈액채취를 통한 분석물질 검출(blood sampling) 및 체내 약물전달(drug delivery)은 모든 질병 치료의 기본이며, 일상적으로 밀리미터 크기를 가지는 피하주사침(hypodermic needle)을 사용한다. 피하주사침은 현존하는 약물전달수단 중 유일하게 피부관통을 통한 고효율의 약물전달 효과를 가지며 그 이용방법이 다양하지만, 환자에게 통증과 육체적 외상은 물론 정신적 외상의 거부감을 주기 때문에 새로운 무통증 혈액채취 및 약물전달을 가능하게 하는 마이크로니들(microneedle)에 대한 개발 필요성이 전 세계적으로 증가되고 있다. 기존 DRIE, LIGA의 미세전자기계시스템(MEMS) 기술 기반으로 제작된 마이크로니들은 공정기술에 따라 그 재료 및 외형이 다양하지만, 근본적으로 피부관통 후 혈관까지의 접근성이 용이할 정도의 길이 (1,500 μm)까지 제작되지 못하기 때문에 그 용도가 제한적이었다.

이에 본 연구실에서는 새롭게 제안한 드로잉 제작방법을 통하여 길이의 한계를 극복하고, 금속 소재로서 안전성을 확보한 높은 종횡비의 중공형 금속 마이크로니들(ultra-high-aspect-ratio hollow metallic microneedle)을 제작하였으며, 혈액채취 및 체내약물전달의 소자로서 이용하고 있다.

드로잉 방법으로 제작된 마이크로니들의 외형은 길이 2,000 μm , 내경 30 μm , 외경 70 μm , 두께 20 μm 를 가지며, 그 외관이 모기의 아랫입술과 유사하여 현존하는 마이크로니들 중 가장 이상적인 형태를 가진다. 또한 피부를 관통하기 위한 강도 (insert force: 0.06 N) 이상의 물리적 성질을 가지고 있으며, 마이크로니들이 부착된 주사기를 이용하여



그림 3. 마이크로니들을 이용한 혈액샘플링 및 약물전달 모식도 (지능형마이크로시스템개발사업단)

당뇨쥐에 인슐린을 삽입한 결과, 일반 인슐린 주사기의 약물 전달 효율과 유사하였다.

이 밖에도 소량의 성장 호르몬, 백신 및 단백질 치료제의 효과적인 약물전달 및 분석물질 검출을 위한 혈액채취가 가능하며, 마이크로 액츄에이터(micro actuator), 마이크로 센서(micro sensor) 등의 마이크로 기기들과의 호환으로 마이크로 통합 분석 시스템(μ TAS)을 발전시킬 수 있다.

(2) 면역세포칩 개발

세포 부착 분자 E-selectin과 ICAM-1을 통한 면역세포와 내피세포간의 결합은 염증 반응과 암전이에 있어서 중요한 현상으로 많은 연구가 이루어지고 있다. 본 연구실에서는 내피세포 (HUVEC)를 마이크로플루이드 채널에 배양시키고 세포 부착 분자인 E-selectin과 ICAM-1을 발현시키기 위해 종양괴사인자-알파(TNF- α)로 처리함으로써 마이크로플루이드 채널에 염증모방시스템을 구현하였다. 이러한 생체모방 시스템을 이용하여 면역세포의 상태에 따라 내피세포의 결합이 달라짐을 확인하였다. 즉, 자가면역에 의해서 활성화 된 T 세포를 갖는 전신성 홍반성 낭창 (Systemic Lupus Erythematosus, SLE) 환자의 경우 정상인에 비하여 많은 T 세포와 내피세포의 결합이 일어나는 것을 확인하였다. 이 시스템은 생체와 유사한 환경에서 T 세포와 내피세포와의 결합을 측정할 수 있기 때문에 T 세포의 결합에 영향을 줄 수 있는 약물을 효과적으로 검출할 수 있는 장점을 가

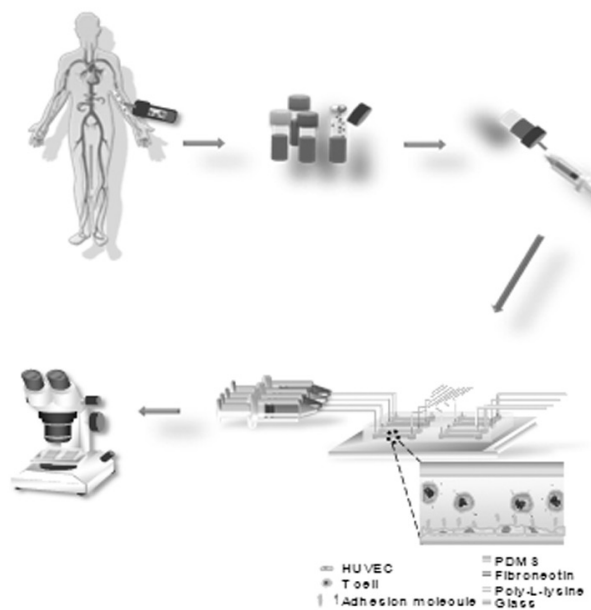


그림 4. 면역세포칩을 이용한 약물 스크리닝 개념도

진다. 본 연구실에서는 면역세포칩 연구를 바탕으로 응용 기술을 개발하는 방향으로 목표를 두고 있다.

(3) 나노단백질 칩 (Nano-protein chip) 개발

작은 수의 생체분자에 의한 상호작용을 측정하기 위해서는 작은 수의 분자만을 효과적으로 고정화 시키는 기술이 필요하다. 1990년대 말 생체분자 나노패터닝 기술이 개발된 후 dip-pen nanolithography (DPN), e-beam lithography

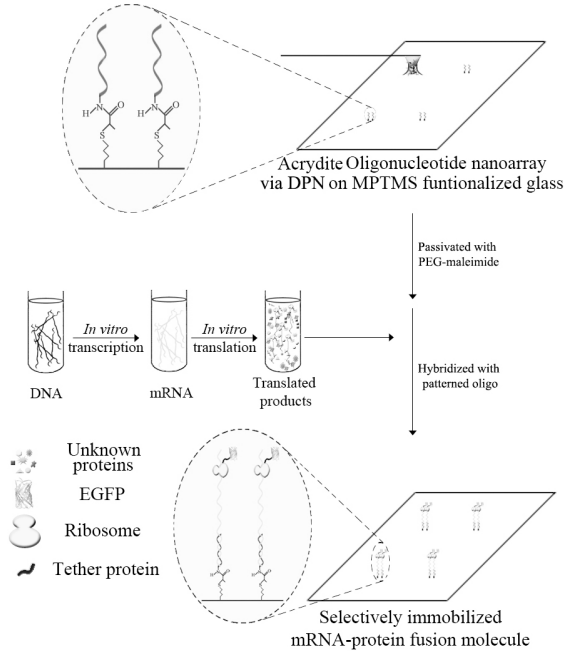


그림 5. 유전정보를 이용한 나노단백질 칩의 제작 방법

등 다양한 나노 기술을 이용하여 여러 종류의 생체분자가 나노패터닝 되어 왔다. 이 중 DPN는 화학적으로 modified된 원자 현미경 (atomic force microscopy:AFM) 의 탐침에 유기분자나 생체분자를 “잉크”로 사용하여 고체표면위에 직접 쓰는 기술로서, 사용이 간편하고 쉽게 나노패턴을 만들 수 있는 장점 때문에 지금까지 유기분자뿐만 아니라 DNA나 단백질 등 생체분자들이 잉크로 사용되어 패턴이 만들어져 왔다. 하지만 단백질과 같은 생체분자의 활성을 유지하면서 패턴을 제작하기 위해서는 어떤 화학적 반응을 사용하여 고정할 지가 중요하다. 또한 정제된 단백질을 사용하여 패턴을 제작해야 하기 때문에 많은 시간과 비용이 소모된다.

이러한 문제를 해결하기 위해 본 실험실에서는 유전정보를 사용한 단백질 어레이 방법을 개발해왔다. 먼저 glass 기판 위에 acrylamide를 코팅한 뒤 DPN 기술을 통해 complementary sequence 나노 패턴을 제작한다. 그 후 리보솜 (ribosome)을 linker로 사용하여 단백질과 mRNA를 결합시킨 뒤 mRNA 말단과 complementary sequence간의 hybridization을 통해 단백질을 기판 위에 고정시킨다.

이 때 모든 과정은 In vitro 상에서 단백질의 정제과정을 거치지 않고 이루어진다.

【대표논문】

- Hyungil Jung, Ho Geun Yoon, Woo Jun Park, Cheol Choi, David B. Wilson, Dong Hoon Shin, and Young Jun Kim, Effect of sodium hydroxide treatment of bacterial cellulose on cellulase activity *Cellulose*, 15, (3), 465-471 (2008)
- Kyung Hee Kim, Jung Dong Kim, Young Jun Kim, Seong Ho Kang, Seung Yong Jung, and Hyungil Jung, “Protein Immobilization without Purification via Dip-Pen Nanolithography” *Small*, 4, (8), 1089-1094 (2008)
- Jung Dong Kim, Dae-Gyun Ahn, Jong-Won Oh, Woojun Park, Hyungil Jung, “Ribosome Display and Dip-Pen Nanolithography for Novel Fabrication of Protein Nanoarrays” *Advanced Materials*, 20, (17), 3349-3353 (2008)
- Hyojung Kim, Bora Kim, Hyuk Kim, Soojong Um, Joodong Lee, Heechang Ryoo, and Hyungil Jung, “Synthesis and In Vitro Biological Activity of Retinyl Retinoate, a Novel Hybrid Retinoid Derivative” *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, (12), 6387-6393 (2008)
- Hyojung Kim, Bora Kim, Soojong Um, Sungku Ahn, Namsoo Kim, SeungJoo Kang, Jonggu Kang, Gaejong Lee, Hyuk Kim, Joodong Lee, Heechang Ryoo, and Hyungil Jung, “Retinyl retinoate as cosmetic anti-aging ingredients: new hybrid retinoid derivatives” *피부장벽학회지*, 10, (1), 26-33 (2008)
- Seungah Lee, Shinae Lee, Young-Ho Ko, Hyungil Jung, PhD, Jung Dong Kim, Joon Myong Song, Jaebum Choo, Seong Kug Eo, Seong-Ho Kang, “Quantitative analysis of human serum leptin using a nanoarray protein chip based on singlemolecule sandwich immunoassay”, *Talanta*, 78, (2), 608-612 (2009)
- Seungah Lee, Nam-Pyo Cho, Jung Dong Kim, Hyungil Jung, Seong Ho Kang, “An Ultra-Sensitive Nanoarray Chip based on Single-Molecule Sandwich Immunoassay and TIRFM for Protein Detection in Biologic Fluids”, *Analyst*, 134, (5), 933-938, (2009)



저 자 | 약 | 력



정형일 연구책임자

1987 - 1993 연세대학교 식품공학과, 학사
1993 - 1995 연세대학교 식품생물공학과, 석사
1995 - 2002 Cornell University, Dept. of Biological & Environmental Engineering, Ph.D.
2002 - 2004 California Institute of Technology, Post-Doc.
2004 - 현재 연세대학교 생명공학과, 교수

연 | 구 | 진 | 구 | 성

교 수: 정형일
박사과정: 이광
통합과정: 김성규, 김정동, 김미루, 이창열
석사과정: 문원강, 신민경