

나노구조화 바이오 물질의 광전자 시스템

김영신 · 이택승

1. 서론

나노구조화 화학조립체와 바이오물질과의 결합체의 성질을 빛으로 제어하려는 연구가 나노기술과 바이오기술, 그리고 광기술의 융합차원에서 다각도로 이루어지고 있다. 본 원고에서는 이러한 분야의 연구가운데 많은 흥미로운 결과를 갖고 있는 이스라엘 Willner 교수의 연구를 중심으로 나노구조화 바이오조립체를 빛으로 제어하는 방법에 대하여 재미있는 결과를 소개하고자 한다.

분자물질, 고분자물질, 그리고 바이오물질의 화학적 또는 물리적 성질을 광자극 (photostimulation) 하는 것은 미래 광바이오전자 소자를 개발하기 위한 기본이다. 광자극 기능을 갖는 화학조립체는 광신호 기록과 증폭, 가역 바이오센서의 설계, 마이크로구조화 표면과 패터닝, 감광성 크로마토그래피 물질의 설계, 목표물 지향 치료물질 개발 등의 주요 응용범위를 갖고 있다.¹⁻³ 이를 위하여 화학조립체는 가역적 광스위치 기능을 갖고 있어야 하며, 광이성질화 고분자와^{4,5} 주인-손님 착체분자의^{6,7} 물리적 화학적 성질이 가역적으로 광조절되어야 한다. 크라운 에테르나 사이클로텍스트린과 같은 주인분자의 결합성질은 광이성질 단위와의 결합에 의하여 제어될 수 있다.⁸⁻¹⁰ 이러한 광이성질 기능의 분자수용기는 액체막과 막을 모사한 시스템을 통과하는 이온의 광활성전달의 원동력이 된다.^{11,12} 광자극에 따른 바이오물질의 높은 선택적 인식과 결합기능을 광바이오전자 소자에 응용할 수 있으며, 바이오물질, 특히 효소의 광활성화는 두가지 일반적인 방법에 의하여

일어나며, 하나가 바이오촉매의 단순환 활성화 (single-cycle activation) 작용이며, 다른 하나가 광자극에 의하여 바이오물질의 가역적 활성화-비활성화 상태를 조절하는 것이다.

단순환 광활성화 바이오물질은 광보호물질을 사용하면서 발전되었고, 목표물지향 치료물질 등에 사용될 수 있다. 효소의 가역적 광자극은 광이성질화에 따른 효소역할 금지효과와 광이성질 부분을 갖는 효소활성좌석의 개질로 완성된다. 본 원고에서는 바이오물질의 기능을 광자극시키는 방법, 즉 전극표면에



김영신

2002 충남대학교 섬유공학과 (학사)
2002~ 현재 충남대학교 섬유공학과 석사과정



이택승

1988 서울대학교 섬유공학과 (학사)
1990 서울대학교 섬유공학과 (석사)
1994 서울대학교 섬유고분자공학과 (박사)
1994~ 1995 한국과학기술연구원 (Post Doc.)
1995~ 1997 Univ. of Massachusetts Lowell (Post Doc.)
1997~ 현재 충남대학교 섬유공학과 부교수

Nanostructured Biomaterials for Optoelectronic Systems

충남대학교 섬유공학과 (Young-shin Kim and Taek Seung Lee, Department of Textile Engineering, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea) e-mail: tslee@cnu.ac.kr

서 정보처리기능을 수행하는 분자조립체의 구성에 대하여 기술하고자 한다. 이를 위하여 광활성 단위가 화학적으로 도입된 바이오품질과 생물기능을 “온-오프” 신호로 정보전달하는 바이오품질의 광활성에 대하여 설명하고자 한다. 외부의 광신호에 의한 바이오품질의 활성화, 비활성화는 광기록과 같은 양상을 보이게 되며, 광기록된 광신호의 물리적 또는 전자적 변환은 생물 광기록의 요소가 되므로, 본고에서는 주로 광스위치 기능을 갖는 바이오품질 설계와 광바이오팀자 시스템으로의 응용에 대하여 기술하고자 한다.

2. 광이성질화 부분이 도입된 단백질의 광거동

단백질 기능의 광자극은 바이오팀자에 가역적 광이성질화 부분을 공유결합시켜 얻을 수 있다. 광이성질화 단계 A에서 단백질의 활성화배열은 유지되어 바이오팀자의 촉매 기능 등이 활성화된다. 하지만 광에 의하여 또 다른 광이성질체 B가 되면 단백질 구조가 변형되어 그 활성화배열은 구조적으로 섭동된다. 결국 바이오팀자를 비활성화시켜 생물기능의 발현을 금지 (스위치 “오프” 상태)시키는 결과가 되게 한다. 이 상태에서 A 상태로의 역이성질화는 다시 생물활성구조를 재생산하여 그 활성을 “온”시키게 된다. 바이오팀자의 섭동은 각각 이성질체에

의해 유도된 입체적 또는 정전기적 변형에 의하여 영향을 받는다 (그림 1).

예를 들면 파파인 (papain)의 라이신 잔기에 공유결합으로 4-carboxy-*trans*-azobenzene을 도입하면,¹³ 트랜스-아조벤젠이 도입된 파파인은 원래 갖고 있던 바이오팀매 활성의 80%를 유지하고, 그림 2(a)에서와 같은 가역적 광이성질 현상을 보인다. 파파인은 그림 2(b)에서와 같이 *N*- α -benzoyl-D,L-arginine-4-nitroanilide (1)의 가수분해를 가역적으로 촉진하는 촉매역할을 한다. 트랜스-아조벤젠이 도입된 파파인은 이러한 바이오팀매 활성 단백질구조를 유지하며 (1)을 가수분해한다 ($v = 2.7 \mu\text{M}/\text{min}$). 하지만 시스-아조벤젠 구조로 광이성질화하면 시스 이성질체가 단백질과 매체와의 결합을 방해하는 역할을 하게 되어 바이오팀매 비활성 상태가 되어 (1)의 가수분해를 금지한다 ($v = 1.0 \mu\text{M}/\text{min}$).

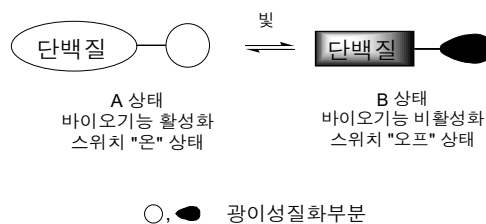


그림 1. 광이성질화에 의한 단백질의 구조변화 모델.

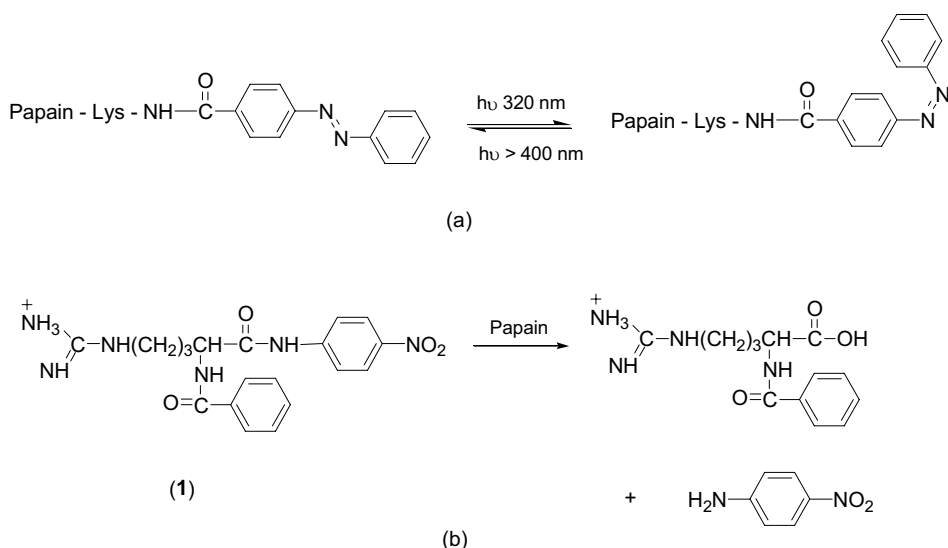


그림 2. 트랜스-아조벤젠이 도입된 파파인의 바이오팀매 활성.

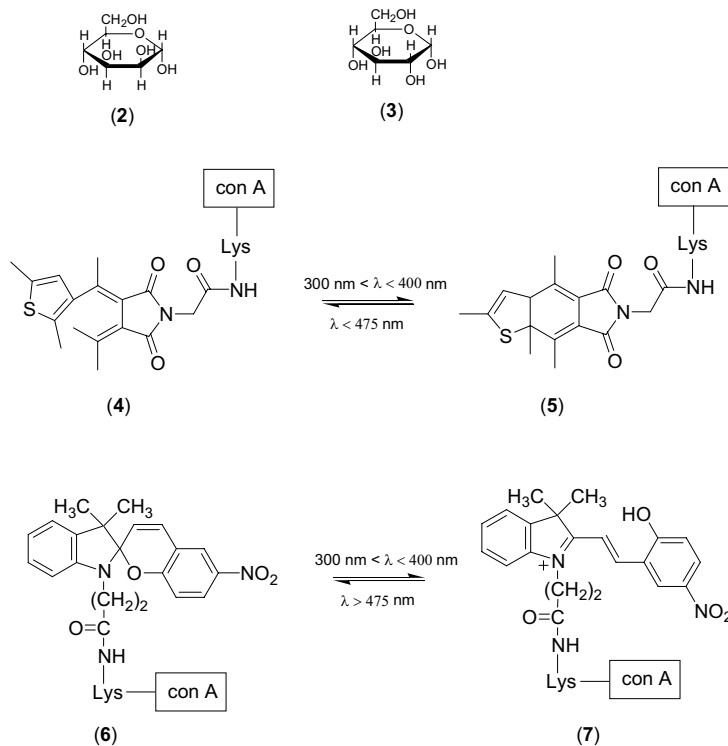


그림 3. Thiophenefulgide와 nitrospiropyran가 도입된 con A의 광이성질화.

단백질의 결합성질에 대한 광자극의 또 다른 예는 α -D-mannopyranose (2)와 α -D-glucopyranose (3)를 선택적으로 결합하는 렉틴의 하나인 concanavalin A (con A)에서 볼 수 있다.^{14,15} 이 단백질에 광이성질성을 갖는 thiophenefulgide와 nitrospiropyran을 도입하였다 (그림 3). Thiophenefulgide가 도입된 con A는 hexatriene 상태 (4)와 환화상태 (5)간 가역적 광이성질현상을 보인다. Nitrospiropyran이 도입된 con A (6)은 가시광 조사에 의하여 merocyanine형 이성질체 (7)가 된다. 이 두가지 광이성질화 단백질의 결합성질은 광에 의하여 제어되며, 이성질체 (5)는 (2)에 대한 강한 친화력을 갖고 있지만 (4)가 되면 이 친화력은 사라지게 된다. 같은 예로 nitrospiropyran-con A (6)은 (2)와 (3)에 강한 결합력을 보이지만 그의 merocyanine 유도체 (7)은 이에 대한 낮은 결합력을 보인다.

이러한 모든 광스위치 바이오물질은 광이성질체의 도입과 스위칭 효율간의 적절한 균형이 유지되어야 한다. 낮은 도입률은 비교적 낮은 효율을 야기하며, 높은 도입률은 두가지 이성질체 모두를 비활성화시키기도 한다.



그림 4. 전극 부착 광전자분자가 광자극에 의하여 전자적 변환하는 모형.

3. 분자광전자 표면

산화환원 활성-비활성 상태가 가역적으로 광이성질화되는 물질은 광전자 기억소자의 제작에 응용될 수 있다. 이러한 분자를 전극표면에 부착하면 계면의 전자전달기능(산화환원활성)을 광이성질화에 의하여 광제어할 수 있으며, 이에 따른 광정보를 전기적으로 변환하여 화학적 생물정보로 바꿀 수 있다 (그림 4).

산화환원 효소의 광자극은 기록된 광신호를 전극 계면과의 전기작용에 의하여 전류응답으로 변환시킬 수 있다. 기록된 광신호의 전류변환은 광스위치 물질로 nitrospiropyran이 도입된 glucose oxidase

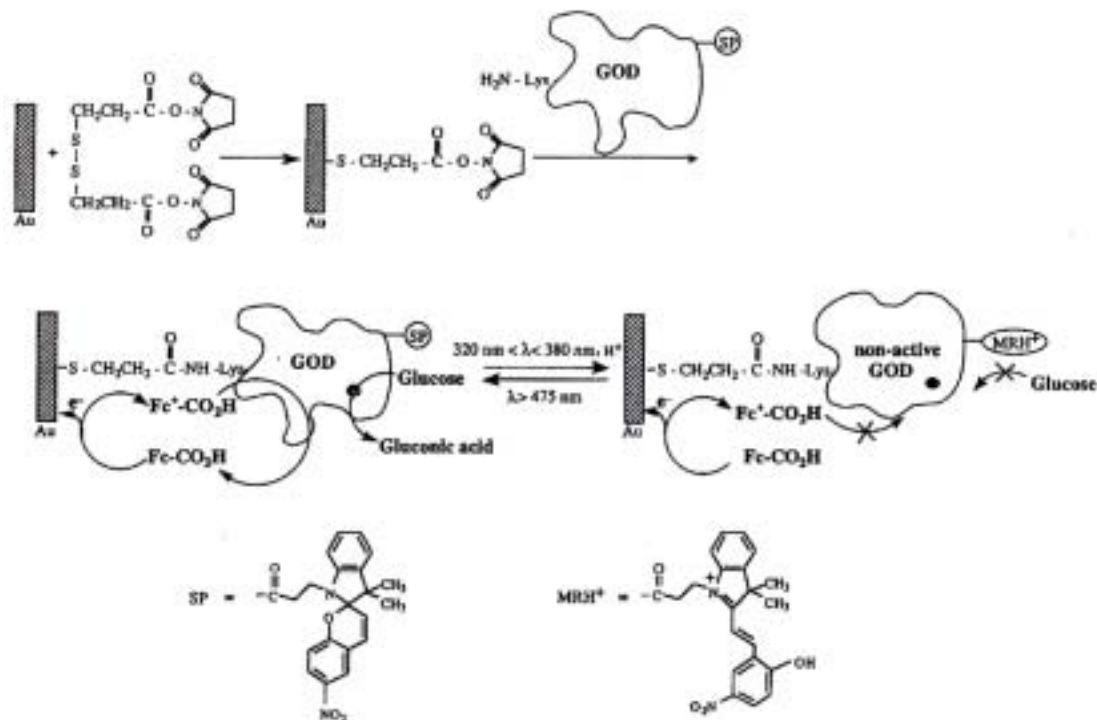


그림 5. 금 전극상 광이성질화 SP-GOD의 조립과 두가지 이성질화 전자바이오촉매 변화에 의한 효소의 글루코스 산화 작용.

(GOD)를 사용하여 얻을 수 있다.^{16,17} 광이성질화 nitrospiropyran flavoenzyme GOD (SP-GOD)를 금 전극에 단층으로 자기조립하면, 이 단층은 가역적 광이성질성을 갖게 되고 여기에 빛을 조사하면 protonated merocyanine이 도입된 효소 단층 (MRH⁺-GOD)이 된다 (그림 5). 전자전달 중간체로 ferrocene carboxylic acid를 도입하면 SP-GOD 단층과 전극계면간 전자의동이 가능하다. 이를 통하여 바이오 전자촉매에 의한 글루코스의 산화가 진행되어 전자촉매 양전류를 측정할 수 있다 (그림 6). MRH⁺-GOD 단층 상태로 광이성질화하면 효소는 비활성화되어 글루코스의 바이오 전자촉매에 의한 산화는 금지된다. 그림 6의 작은 그림은 SP-GOD 형태와 MRH⁺-GOD 형태간 순환적 광스위치 효과에 따른 전극의 전류응답의 가역성을 보여준다.

이상과 같은 방법은 광이성질화 단위에 의한 바이오물질의 불규칙적인 도입때문에 단백질 위치로부터 멀리 도입되면 활성화석의 미세환경구조를 섭동시키기 곤란해지는 단점이 있다. 그 결과 불완전한 광스위치 성질이 관찰되기도 한다. 따라서 산화 환원 단백질에 광이성질화 단위의 좌석을 고정시키

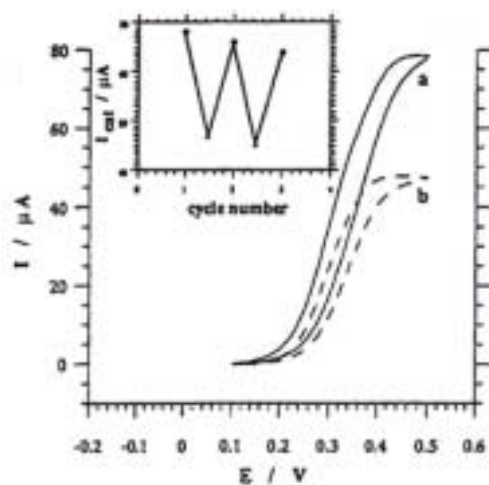


그림 6. (a) SP-GOD (320 nm < λ < 380 nm 빛 조사)와 (b) MRH⁺-GOD (λ > 475 nm)가 있을 때 광자극화 전자바이오 촉매에 의한 글루코스 (2.5×10⁻² M)의 산화. 작은 그림 : SP-GOD 상태 (●)와 MRH⁺-GOD 상태 (▲)간 효소단층이 광이성질화하여 광신호를 순환적 전기신호로 변환하는 그림.

고 개질시키면, 완전한 기록 광신호의 전류변환이 이

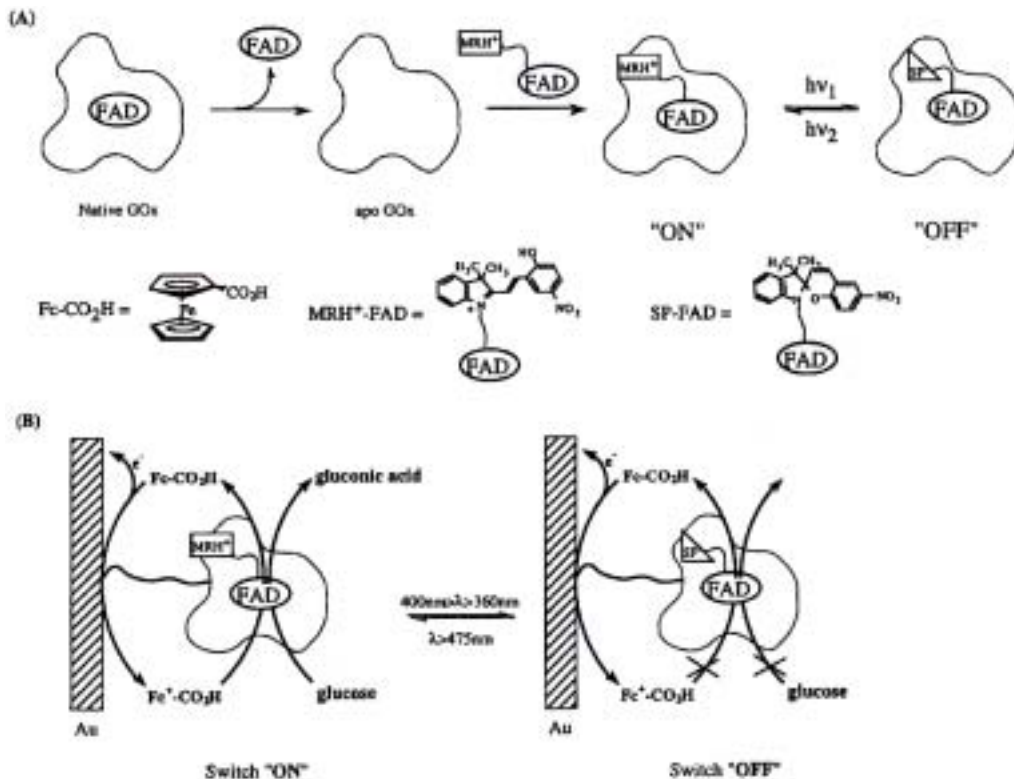


그림 7. (A) Apo-glucose oxidase와 광이성질화 nitrospyran-FAD 조효소의 재구성 (B) 금 전극에 조립된 SP-FAD와 재구성된 GOD과 광활성 단층에 의하여 기록된 광신호의 광스위칭기능 전기변환.

루어져 “온-오프” 광스위치 효소가 만들어진다.¹⁸ Flavoenzyme GOD에서 FAD 조효소를 추출해 apo-GOD를 만들고, 이 apo-GOD를 반합성 nitrospyran-FAD 조효소와 재구성하여 **그림 7 (A)**와 같은 광이성질화 GOD를 제조한다. 이 광이성질화 GOD 효소를 **그림 7(B)**와 같이 금 전극에 단층으로 조립하면, 이 효소전극은 기록 광신호를 가역적 전기화학신호로 변환하기 위한 활성 바이오 계면역할을 하게 된다.

SP-FAD-GOD 단층은 전자전달체, ferrocene carboxylic acid, FAD 산화환원 좌석을 봉쇄하여 전자전달을 막는다. 그 결과 바이오전자 촉매 역할에 의한 글루코스의 산화가 금지되어 이 시스템의 전기화학 응답은 0이 된다 (스위치 “오프”상태). 이 단층을 광이성질화하여 merocyanine 형태인 MRH⁺-FAD-GOD로 변환시키면 전자전달체와 FAD-산화환원 좌석간 전기적 접촉이 일어나 글루코스의 산화가 발생하고, 결국 효소전극에는 전류신호가 나타나게 된다 (스위치 “온”상태). 이러한 SP-FAD와

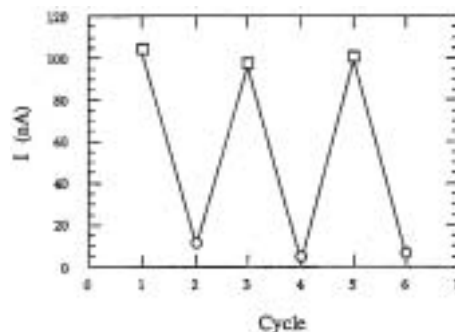


그림 8. MRH⁺-GOD (□)와 SP-GOD (○) 존재에서 광이성질화 GOD 단층에 의해 기록된 광신호 순환.

MRH⁺-FAD-GOD 상태간의 가역적 광이성질화에 의하여 글루코스의 바이오전기 촉매에 의한 산화화 활성-비활성 상태로 순환하게 된다 (**그림 8**).

그림 9는 금 전극 위 cystamine 단층에 자기조립된 phenoxynaphthacene quinone 단층에 대한 내용이다.¹⁹ 그림 내 1a 단층 경우, 곡선 a에서 보듯이 불규칙적 배향과 덜 밀집된 배열 때문에 cyclic volt-

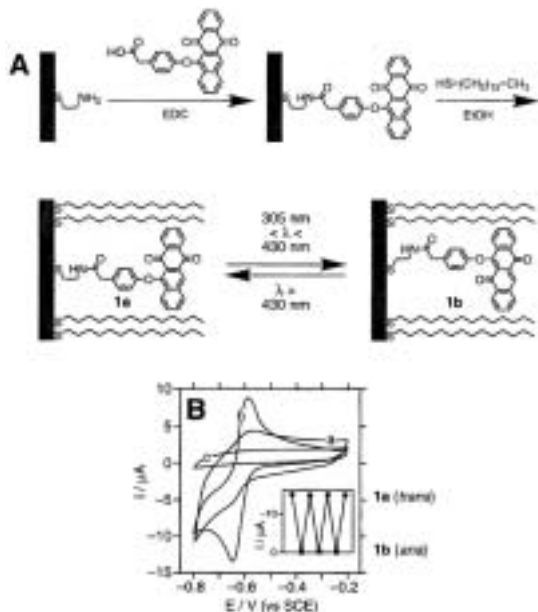


그림 9. (A) 금 전극위에 phenoxynaphthacene quinone/tetradecanethiol 혼합 단층의 조립. (B) 트랜스-퀴논 단층 (1a)의 CV (a) tetradecanethiol로 고정화하기 전 (b) tetradecanethiol로 고정화한 후 (c) ana-퀴논 상태로 광이성질화 후. 작은 그림: 가역적 광이성질화에 의한 음극 피크 전류의 스위칭 효과.

ammogram (CV)의 산화환원 곡선이 잘 정의되지 않고 있다. 1a가 치환된 전극을 $C_{14}H_{29}SH$ 로 처리하면 구조의 “고정화 (stiffening)”가 일어나 전극에서 가역적 산화환원 효과와 유사한 곡선이 나타난다 (곡선 b). 1b 상태로 광이성질화 후 전극에서는 곡선 c가 나타나는데, 이는 이 포텐셜 범위에서 산화환원에 비활성임을 의미한다. 1a와 1b 상태간 단층의 광이성질화에 의하여 산화환원-활성과 비활성 상태간 가역적인 변환전류를 재현할 수 있다 (그림 9(B)의 작은 그림).

전기화학 응답신호를 증폭시키려면 응답부위를 전자전달 cascade와 결합시켜야 한다. 이 방법에서 단일분자의 이성질화 현상은 전기화학과정을 통하여 증폭신호가 된다. 그림 10(A)에서 보이는 $C_{14}H_{29}SH$ 와 1a로 구성된 혼합단층은 절연층이 되므로, 전극에서 용액으로 전자전달은 1이 중간 릴레이로 역할할때만 가능하다.

전기화학적으로 활성인 트랜스 (1a) 상태에서 산화환원-활성단위로부터 전자전달이 가능하여 용해된 물질의 환원이 이루어진다. 산화환원 단위가 ana (1b)형으로 이성질화하면 더 이상 산화환원 활

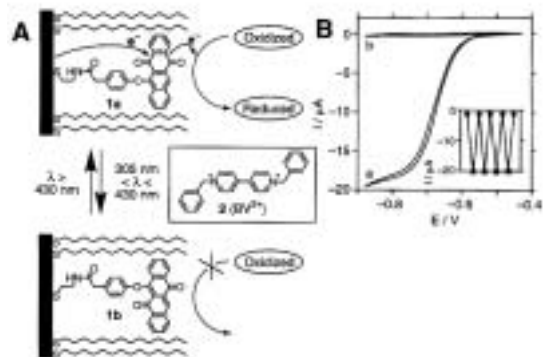


그림 10. (A) 혼합 단층의 전기화학 신호를 증폭시키기 위한 디벤질 비올로젠 (2)의 사용. (B) 디벤질 비올로젠이 있는 전극의 CV (1 mM) (a) 트랜스-퀴논 상태 (b) ana-퀴논 상태.

성이 없어져 전자전달 cascade가 봉쇄되고 전기화학신호의 발생도 멈춘다. 전기화학 응답을 광신호로 증폭시키는 것은 전자 릴레이로 BV²⁺ (2)를 도입하면 수행할 수 있다. BV²⁺의 환원전위는 SCE에 대하여 $E = -0.58$ V이며 1a의 pH 7.5에서 형식 환원전위는 SCE에 대하여 $E = -0.65$ V이다. 산화환원 단위간 전위차이에 의하여 전자활성 1a 단층에 의한 BV²⁺의 환원이 일어나 전자전달 cascade가 일어나게 된다. 변환전류는 전자 릴레이가 존재하게 되면 약 10배 정도 향상된다. 그림 10(B)는 BV²⁺ 존재에서 1 상태 (곡선 a)와 1b 상태 (곡선 b)의 CV이다. 1a 상태에서 전극에는 전자촉매에 의한 전류가 있지만, 단층의 이성질화에 의하여 1b 상태가 되면 배경전류 (곡선 b)만이 존재하는 것으로 미루어 BV²⁺로의 직접적인 전자전달은 일어나지 않는 것으로 보인다.

4. “광지령” 표면 (“Photocommand” Surface)

“광지령” 표면은 용액상태 물질과 서로 다른 상호작용을 보이는 서로 다른 상태의 광이성질화 계면으로 정의한다 (그림 11). 즉, 이러한 차이 때문에 전극과 산화환원종의 회합과 탈착이 조절되며, 결국 계면 전자전달특성을 광제어할 수 있게 된다. 이와 유사한 효과는 산화환원 활성물질이 한가지 광이성질체와만 결합하는 표면에서 관찰된다.^{20,21}

전극에 음전하를 갖고 있는 단층은 양전하와 음전하가 있는 매질과 전기화학 반응을 구별한다. 따

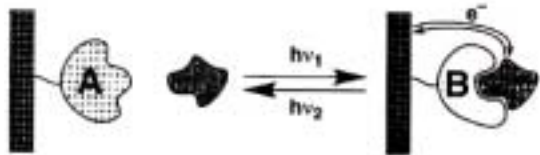


그림 11. “광지령 표면”의 모델.

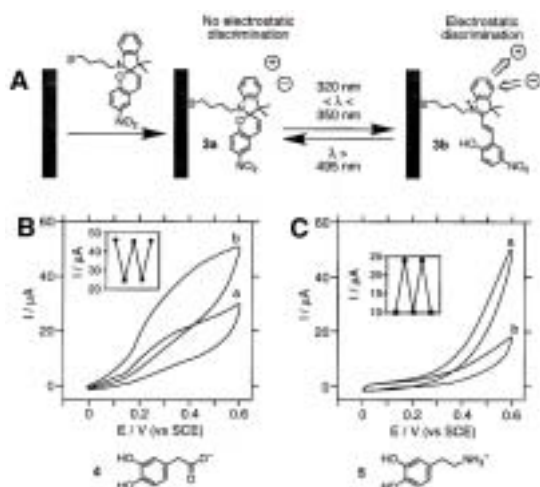


그림 12. (A) nitrospiropyran 단층의 조립과 광스위칭 상태. (B) 4가 0.5 mM 존재할 때 (C) 5가 0.5 mM 존재할 때 3a 상태 (a) 에서와 3b 상태 (b)에서 광이성질화 전극의 CV.

라서 전하가 다른 상태의 이성질 단위로부터 지령 계면을 구성할 수 있다. 금전극에 nitrospiropyran 유도체를 조립하면 (그림 12(A)),²² nitrospiropyran 단층 (3a)는 중성이고 pH 7.0에서 이 단층을 광이성질화하면 3b를 얻게 된다. pH 7.0에서 (4)를 산화하면 그림 12(B)에서와 같이 3a와 3b 상태에서 전기화학 산화의 CV를 보여주며, 3a와 3b 간 광이성질화에 따라 그림 12(B)의 작은 그림처럼 전극의 전류응답이 낮은 값과 높은 값을 순환하는 것을 보여준다. 양전하가 있는 5의 존재에서는 전류신호 방향이 역전되어 그림 12(C)와 같은 CV가 얻어지게 된다.

Nitrospiropyran/protonated nitromerocyanine (SP/MRH⁺) 단층도 “지령표면”으로 작용하여 산화 환원-활성 단백질의 전기적 접촉을 조절할 수 있다. 그림 13에서 피리딘티올과 6a로 혼합구성된 단층은 cytochrome c (Cyt c)의 계면 전기화학 성질을 제어하는 “광지령” 성질을 갖는다.²³ 이 광이성질 단위가 “지령”기능을 가지며 피리딘티올 단층은 Cyt c와 전극간의 전기접촉을 증진시키는 역할을 한다.

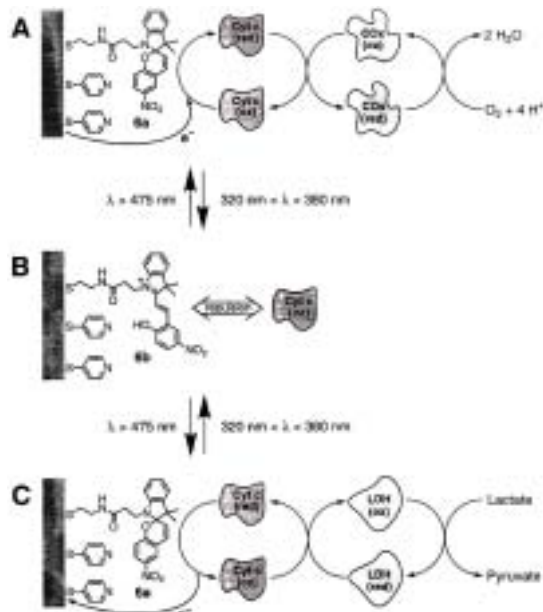


그림 13. Cyt c와 6a/피리딘 혼합 단층에서 (A) COx에 의한 O₂의 환원과 (C) LDH에 의한 락테이트의 산화와 광스위칭 작용의 커플링. (B) 양이온성 merocyanine 상태 (6b)에 전극이 있을 때 척력이 작용하여 바이오전자촉매 역할을 하지 못한다.

계면에서 Cyt c의 산화환원 활성은 그림 13(A)와 같은 헤모단백질의 커플링이나 그림 13(C)와 같은 lactate의 pyruvate로 산화가 가능하게 한다. 이러한 광이성질화기가 양전하를 갖는 merocyanine 상태 (6b)가 되면, Cyt c의 양전하가 전극표면에서 반발되어 헤모단백질과 전극간 전기접촉이 봉쇄된다 (그림 13(B)). Cyt c와 전극의 광스위칭 접촉을 그림 14(A)에서 CV로 보여준다. 접촉된 헤모단백질은 가역 산화환원과 유사한 거동을 보이며, 배제된 단백질은 산화환원 활성이 없다. 전기적으로 활성인 Cyt c (SP 단층)을 cytochrome oxidase (COx)에 의한 산소의 환원과 커플링시키면 그림 14(B)의 곡선 a와 같은 전류가 흐르며, 비활성화 Cyt c (MRH⁺ 단층)은 바이오촉매 역할을 금지시킨다 (그림 14(B), 곡선 b). 그림 14(A, B)의 작은 그림들처럼 SP와 MRH⁺ 상태를 광조사에 의해 유도시키면 Cyt c의 산화환원 응답과 산소의 환원을 “온”과 “오프”상태로 표현할 수 있다.

5. 결론

이상과 같이 바이오향물질을 화학물질과 자기조립

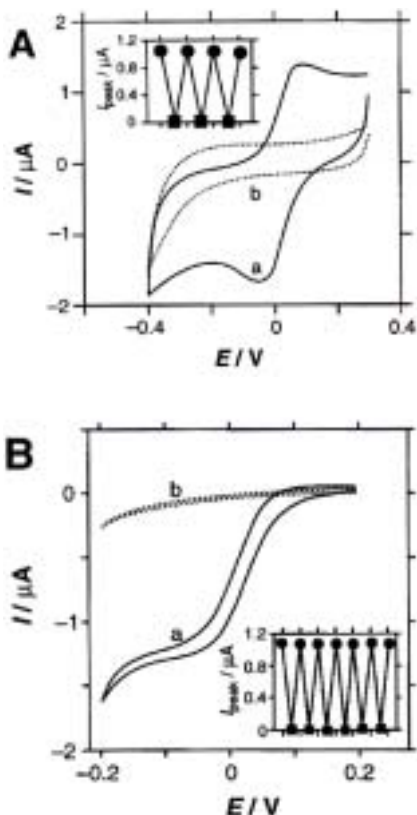


그림 14. 6a 상태(a)에서와 6b 상태(b)에서 6a/b와 피리딘 단층을 갖는 혼합 전극에서 Cyt c (0.1 mM)의 CV 응답 (A)과 CO_x (1 μM)와 O_2 가 있는 같은 시스템에서 CV 응답 (B). 작은 그림 : 광이성질화에 의하여 spiropyran과 merocyanine 상태를 순환하는 스위치 거동.

하고 바이오물질의 생물활성 기능을 빛으로 제어하는 연구에 대하여 알아보았다. 이러한 기능을 갖는 표면은 정보처리 단위로 활용의 범위를 확대할 수 있고, 자극에 활성인 분자조립체에 기계적 부분을 도입하여 작은 신호에 작동하는 모터, 펌프 등에 사용가능함을 예상하고 있다. 미래의 과학기술은 BT와 NT 등의 융합기술이 주류를 형성할 것으로 전망되고 있는 만큼 다양한 융합기술의 연구가 시도되어 이를 바탕으로 전기, 전자, 통신, 의료기기 등 큰 부가가치를 갖는 산업의 발전이 기대된다.

참고문헌

1. I. Willner and S. Rubin, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **35**, 367 (1996).

2. N. Hampp, C. Bräuchle, and D. Oesterhelt, *Bio-phys. J.*, **58**, 83 (1990).
3. I. Willner and B. Willner, in "Bioorganic Photo Chemistry", ed. by H. Morrison, vol. 2, p. 1, Wiley, New York, 1993.
4. M. Irie, *Adv. Polym. Sci.*, **94**, 27 (1990).
5. C. B. McArdle Ed., "Applied Polymer Systems", Blackie, Glasgow, 1992.
6. S. Shinkai and O. Manabe, *Top. Curr. Chem.*, **121**, 67 (1984).
7. S. Shinkai, *Pure Appl. Chem.*, **59**, 425 (1987).
8. S. Shinkai, T. Nakaji, Y. Nishida, T. Ogawa, and O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 5860, (1980).
9. J. D. Winkler, K. Deshayes, and B. Shao, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 769 (1989).
10. A. Ueno, K. Takahashi, and T. Osa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 94 (1981).
11. S. Shinkai, T. Minami, T. Kusano, and O. Manabe, *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 1967 (1982).
12. T. Shimidzu and M. Yoshikawa, *J. Membr. Sci.*, **13**, 1 (1983).
13. I. Willner, S. Rubin, and A. Riklin, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 3321 (1991).
14. I. Willner, S. Rubin, J. Wonner, F. Effenberger, and P. Bäuerle, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 3150 (1992).
15. I. Willner, S. Rubin, and Y. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 4937 (1993).
16. M. Lion-Dagan, E. Katz, and I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 7913 (1994).
17. I. Willner, R. Blonder, E. Katz, A. Stocker, and A. F. Bückmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 6518 (1995).
18. I. Willner, R. Blonder, E. Katz, A. Stocker, and A. F. Bückmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 5310 (1996).
19. A. Doron, M. Portnoy, M. Lion-Dagan, E. Katz, and I. Willner, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 8937 (1996).
20. M. Lahav, K. T. Ranjit, E. Katz, and I. Willner, *Chem. Commun.*, 259 (1997).
21. M. Lahav, K. T. Ranjit, E. Katz, and I. Willner, *Isr. J. Chem.*, **37**, 185 (1997).
22. A. Doron, E. Katz, G. Tao, and I. Willner, *Langmuir*, **13**, 1783 (1997).
23. I. Willner, M. Lion-Dagan, S. Marx-Tibbon, and E. Katz, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 6581 (1995).