

# 그래핀 기반의 FET 바이오 센서 연구 동향

성균관대학교 나노소재기반 휴먼인터페이스  
융합 연구센터 선임 연구원  
윤 옥자

# 1. 서론

- 바이오 센서는 NT-BT-IT의 융합기술을 기반으로 현장 진단을 통한 질병 예방 및 실시간 건강 상태 모니터링에 의한 종합적 의료서비스가 가능한 종합적 유비쿼터스 헬스케어에 목적을 두고 있으며 나노기술의 발전에 힘입어 급격한 발전을 하고 있다.<sup>1</sup>
- 바이오센서는 의료용 뿐만 아니라 반도체, 군사, 재료공학, 생명 공학분야등의 적용 및 응용성이 매우 크고 거대한 잠재력을 가지고 있는 기술집약적인 원천 기술이다.<sup>2</sup>
- 바이오센서는 생물감지물질 (bioreceptor)과 신호변환기 (signal transducer)로 구성되어 분석하고자 하는 물질을 선택적으로 감지할 수 있도록 되어 있고 신호변환 방법으로는 전기화학적 (electrochemical), 형광, 발색, SPR (surface plasmon resonance), FET (field-effect transistor), QCM (quartz crystal microbalance), 열센서 등 다양한 물리화학적 방법을 사용하고 있다.<sup>3</sup>
- FET 바이오 센서 개발은 저가, 고 민감도, 선택성, 소형화, 안정성 및 신뢰성 확보에 있으며 이를 극복하기 위하여 나노 선, 나노 입자, 탄소나노튜브, 그래핀 등의 나노 물질을 센서에 이용하는 연구가 보고되고 있다.<sup>2</sup>
- 본 정보는 그래핀 기반 FET 바이오 센서 연구에 대한 최근 연구 동향에 대해 기술하고자 한다.

## 2. 그래핀 기반 FET 바이오센서의 glucose와 glutamate의 실시간 검출

### ➤ Nanoelectronic biosensors based on CVD grown graphene<sup>4</sup>

-그래핀은 전기적, 물리적, 광학적 성질이 뛰어나 탄소나노튜브와 같이 바이오 센서의 전극재료로써 적합한 나노물질이므로, field-effect transistors (FETs)에 그래핀 transistor로 사용하기 위하여 CVD 합성 방법으로 큰 사이즈의 그래핀 필름을 제조하여 생체분자를 실시간 센싱(Real-time biomolecular sensing)하여 측정함.

-그래핀 필름 표면을 specific redox enzyme (glucose oxidase or glutamic dehydrogenase)으로 산화시켜 doping 효과로 인한 glucose 또는 glutamate 분자들의 감지 시 그래핀 transistor의 전기적 변화에 의해 검출하였음.

-이 연구는 그래핀이 real-time nanoelectronic biosensing하기 위한 촉망받는 잠재성을 보여주었고, 그래핀의 2D 구조, 뛰어난 전기적 성질, 세포의 부착성, 친화성 등의 성질때문에 그래핀 소자에 살아있는 세포(living cells)와 인터페이스하거나, dynamic biomolecular secretion 등의 응용성을 입증하는 연구임.

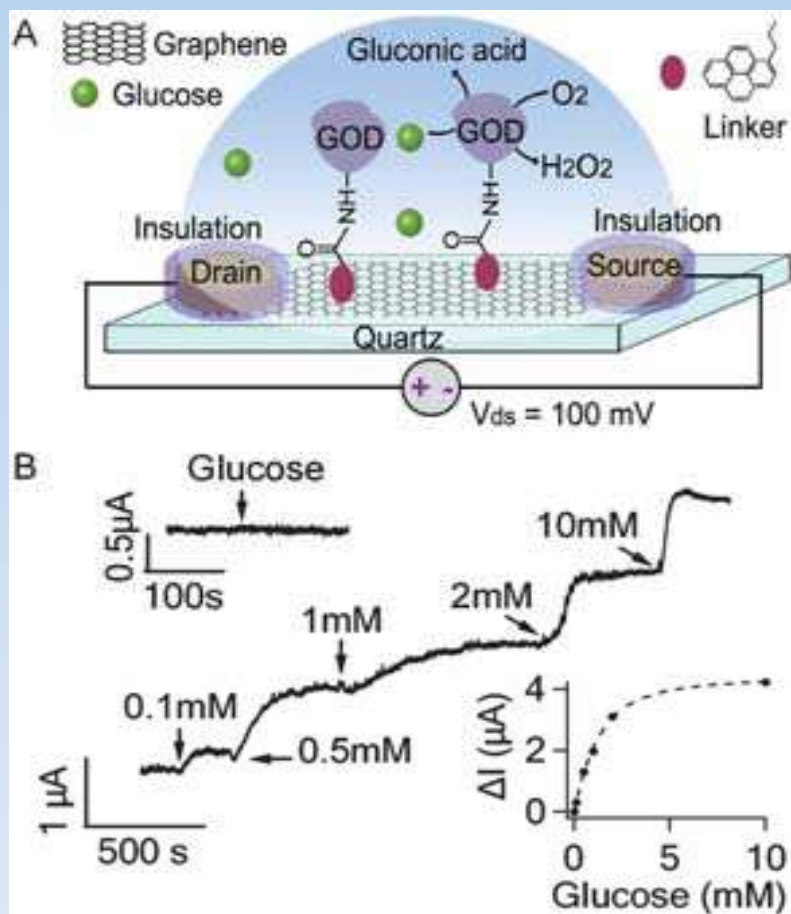


Figure 1. (a) Schematic illustration of GOD functionalized graphene FET. (b) Current responses to the addition of glucose to various concentrations. The upper inset shows that GOD free graphene FET is not responsive to 10mM glucose. The lower inset shows the response curve of the graphene FET to glucose fitted by an exponential function.

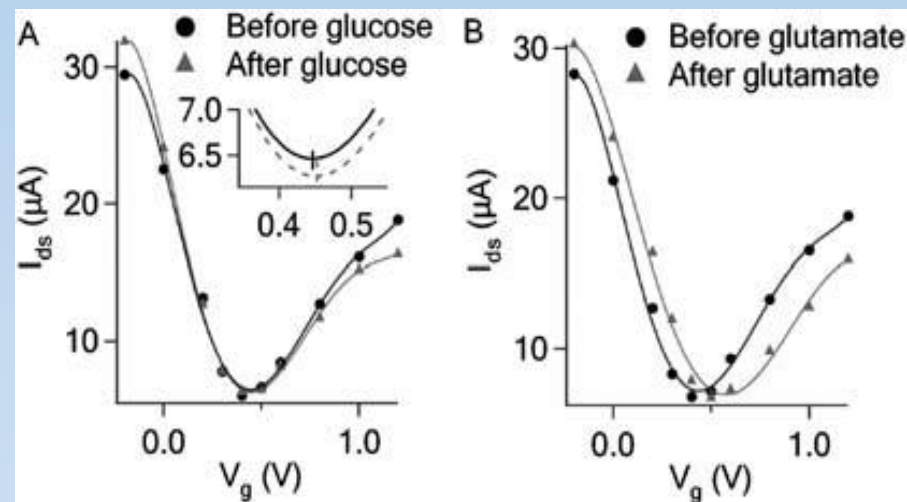


Figure 2. (a) Transfer curves before and after adding glucose (10 mM) to the GOD functionalized graphene FET. (b) Transfer curves before and after adding glutamate (1 mM) to the GluD functionalized graphene FET in the presence of 5 mM b-NAD.

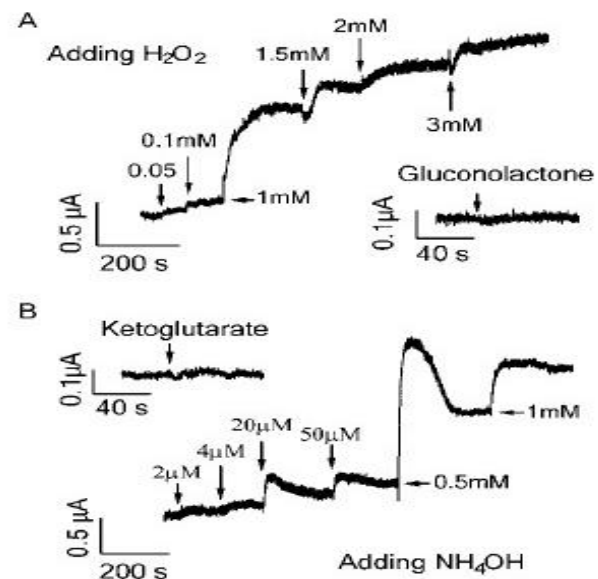


Figure 3 (a) Current responses of graphene FET to addition of products from glucose oxidation:  $H_2O_2$  and D-glucono-1,5-lactone (1 mM). (b) Current responses of graphene FET to addition of products of glutamate oxidation:  $NH_4OH$  and  $\alpha$ -ketoglutarate (1 mM).

### 3. 그래핀 기반 FET 바이오센서의 pH 및 단백질 흡착의 모니터링

#### ➤ Electrolyte-gated graphene field-effect transistors for detecting ph and protein adsorption<sup>5</sup>

-기계적 박리 (mechanical exfoliation)방법에 의하여 준비한 단층 그래핀으로 액상에 담겨져있는 GFET (electrolyte-gated graphene field-effect transistors)를 제조하여 transport behaviors 를 조사하였으며 액상에서 pH 와 단백질 (bovine serum albumin, BSA) 흡착을 전기적으로 검출함.

-BSA 흡착에 의한 그래핀 doping에 FET capacitance에 변화를 일으켜 전기적특성이 달라지며 pH 변화 또한 H<sup>+</sup>, OH<sup>-</sup> 양에 의한 charge 변화에 의한 전기 전도도 변화를 입증함.

-그래핀을 채널로 사용하였으며 용액상에서 소자의 성능이 크게 향상되었고 pH에 따른 전기 전도도와 단백질 흡착을 검출함. pH와 Dirac point의 게이트 전압은 선형 관계를 이루며 BSA와 같은 단백질 흡착에 따른 BSA의 농도 증가에 의한 전기 전도도와 mobility 변화 역시 증가함을 증명함.

-GFETs는 실시간 측정이 가능한 화학적, 생물학적 센서로써 pH 나 생체 분자 농도를 검출하기 위한 고감도 전기적 센서임을 입증함.

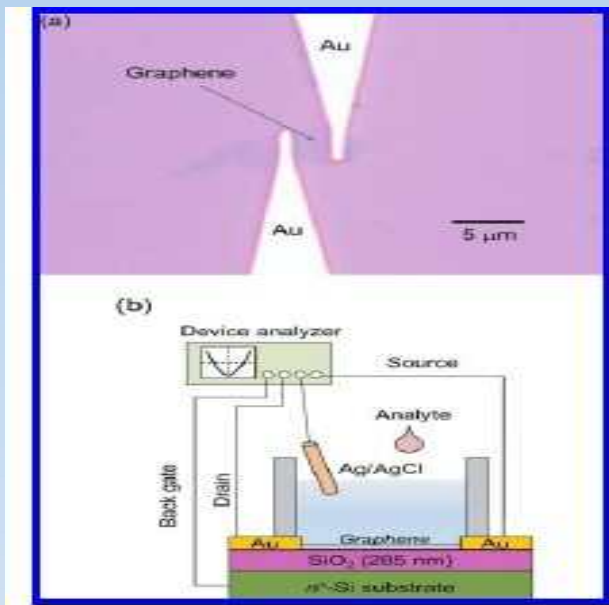


Figure 4. (a) Optical micrograph of a typical GFET. (b) Schematic illustration of the experimental setup for electrolyte-gated GFETs.

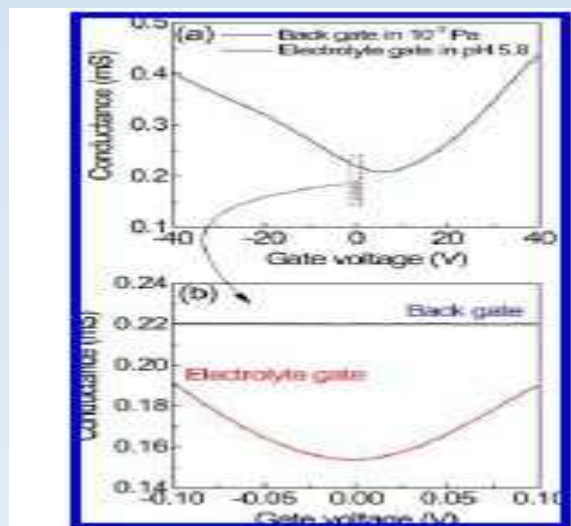


Figure 5. (a) Conductance as a function of back-gate voltage at 10<sup>-3</sup> Pa and top-gate voltage in an electrolyte at pH 5.8. (b) Enlarged view of conductance as a function of gate voltage.

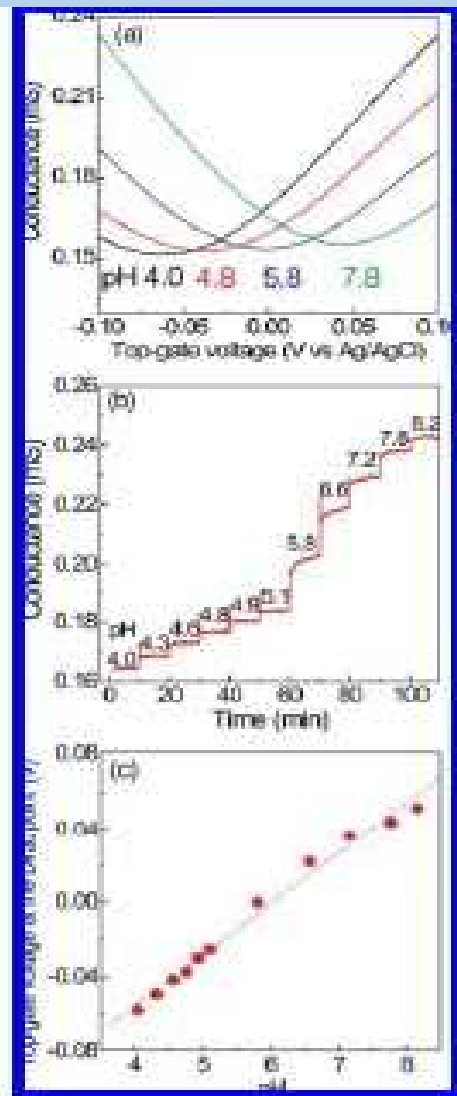


Figure 6 (a) Conductance as a function of top-gate voltage of a GFET at pH 4.0, 4.8, 5.8, and 7.8. (b) Conductance versus time data of a GFET for pH values from 4.0 to 8.2. (c) Top-gate voltage at the Dirac point as a function of pH. The dashed line is a linear fit to the data points.

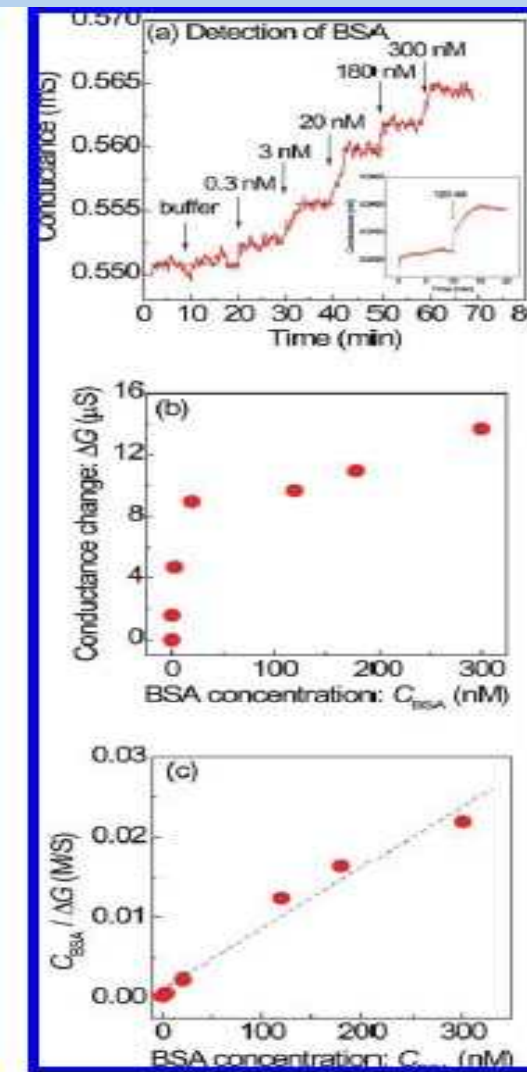


Figure 7. (a) Conductance versus time for electrical monitoring of exposure to various BSA concentrations. Dashed lines indicate the average conductance. The inset shows the time dependence of the conductance at adding the 120 nM BSA. (b) Plot of the conductance change of a GFET versus BSA concentration. (c) BSA concentration per conductance change ( $C_{BSA}/\Delta G$ ) as a function of BSA concentration.

## 4. 그래핀 기반 Label-Free FET 바이오 센서

### ➤ Label-free biosensors based on aptamer-modified graphene field-effect transistors<sup>6</sup>

-Label-free immunosensor 기반 aptamer modified graphene field-effect transistor (G-FET)에 대한 연구임.

-Immunoglobulin E (IgE) aptamers (높이: ~3nm)를 단층 그래핀 채널 위에 고정시켰고 드레인 전류 (drain current)가 IgE aptamers의 기능화에 따라 증가되었음을 확인함.

-Aptamer-modified G-FET는 IgE 단백질을 선택적으로 검출하였고 다른 다른 종류의 단백질들은 검출되지 않았음을 입증함.

-이 연구의 결과는 dissociation constant 는 47nM이었고 G-FETs가 전기적으로 생체 분자를 검출할 수 있는 label-free biological sensors 로써 생물학적 센서로 이용하기에 적합한 뛰어난 소자임을 보임.

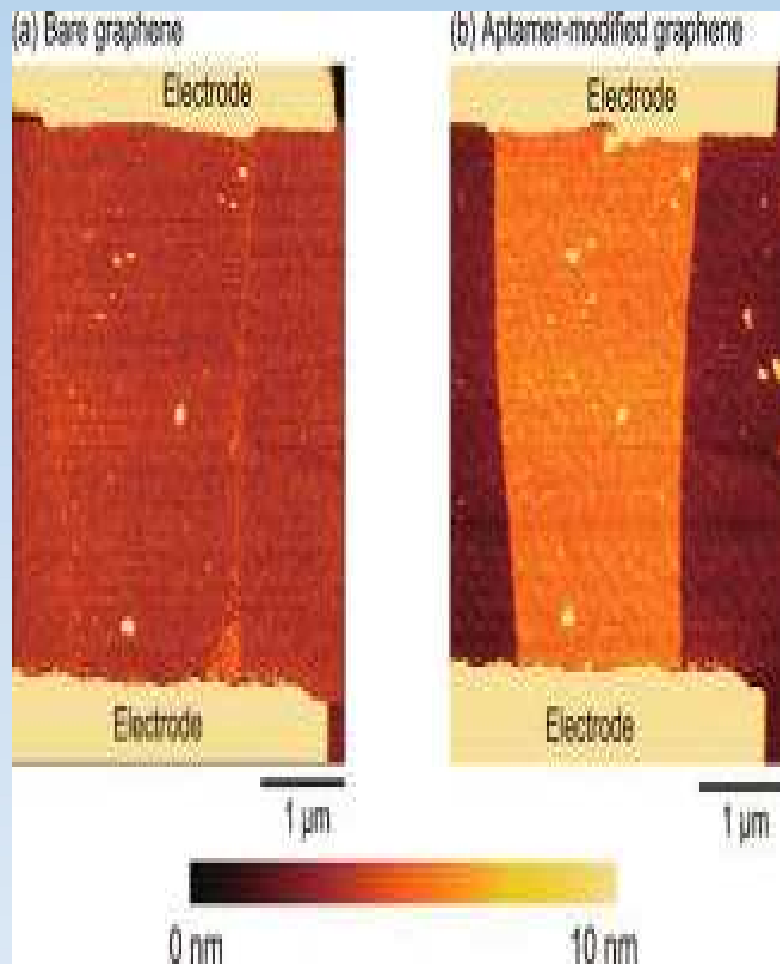


Figure 8. (a) AFM image of a G-FET with a bare graphene channel. (b) AFM image of the G-FET with an aptamer-modified graphene channel.

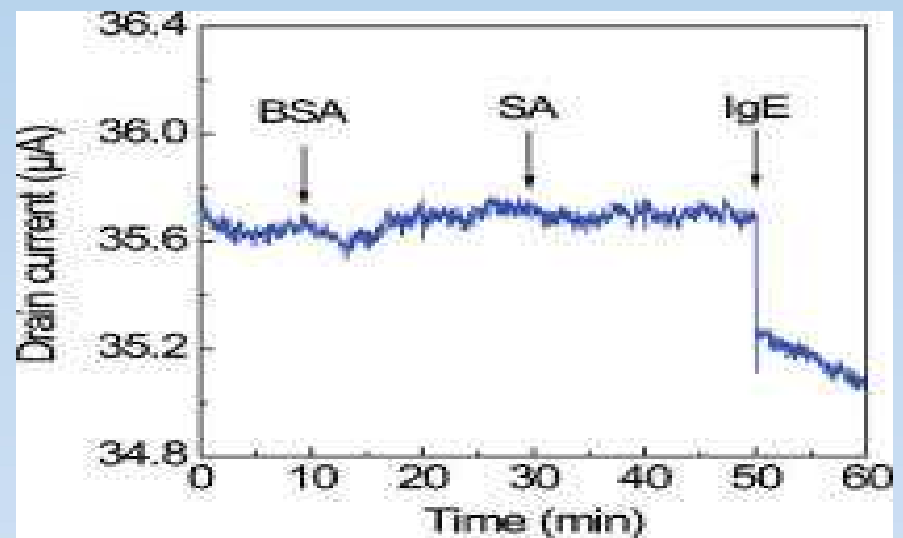


Figure 9. Time course of ID for an aptamer-modified G-FET. At 10, 30, and 50 min, respectively, BSA and SA (nontarget proteins) and IgE (the target protein) were injected into the aptamer-modified graphene channel.

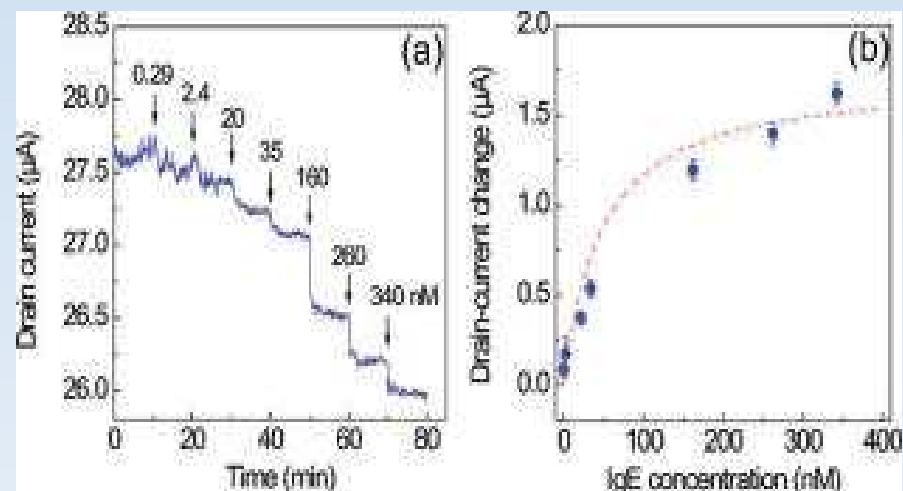


Figure 10. (a) Time course of ID for an aptamer-modified G-FET. At 10 min intervals, various concentrations of IgE were injected. (b) Change in drain current vs IgE concentration. The red dashed curve shows a fit to the Langmuir adsorption isotherm with  $KD = 47$  nM.



## 5. 그래핀 기반 FET 바이오 센서의 화학적, 생물학적 센싱

### ➤ Chemical and biosensing applications based on graphene field-effect transistors<sup>7</sup>

-그래핀은 micro-mechanical 절단 방법으로 단층 그래핀을 제조하여 graphene Field-Effect Transistors(G-FETs) 기반 화학적, 생물학적 센서로의 응용을 보고함.

-액상 pH의 변화는 0.025의 최소 검출 한계 (lowest detection limit (signal/noise=3))를 가지고 검출되었고  $I_D$ 는 protein 농도에 의존함을 보였으며 BSA농도에 따른  $I_D$ 변화는 Langmuir 흡착 등온식에 잘 맞았음을 입증함.

-또한 G-FETs의 등전점 (isoelectric point) 때문에 생체분자의 다른 전하 형태를 분명하게 검출하였음.

-G-FETs는 고 감도 화학적, 생물학적 센서로써 뛰어난 소자임을 입증하였고 앞으로 선택적으로 protein sensing을 시도할 예정임.

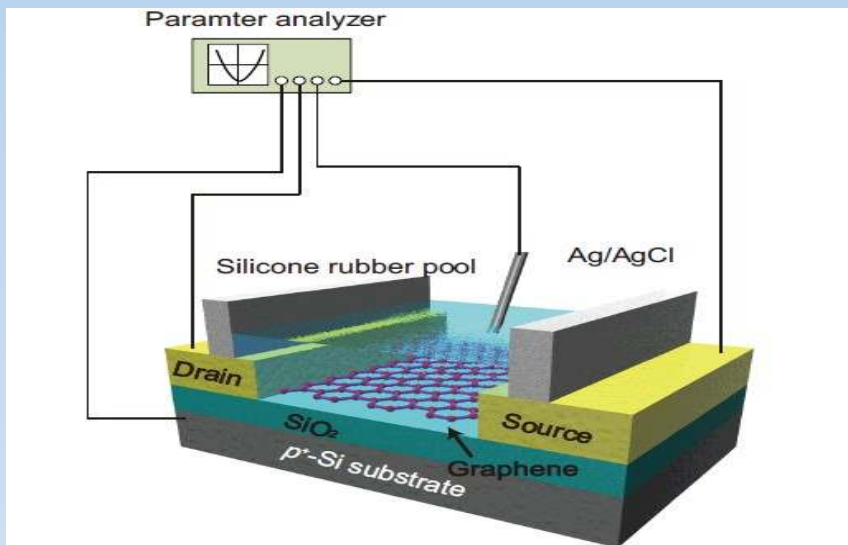


Figure 11. Schematic illustration of experimental setup with G-FETs.

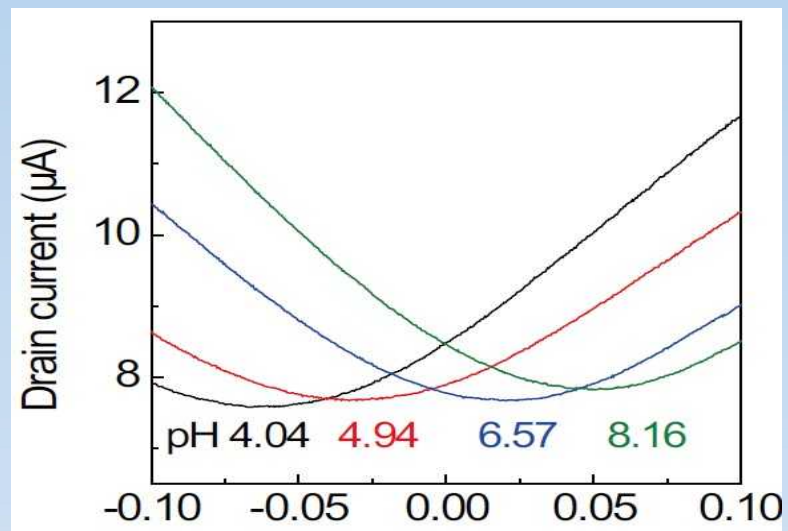


Figure 13. ID as a function of top-gate voltage of a G-FET at pH 4.04, 4.94, 6.57 and 8.16.

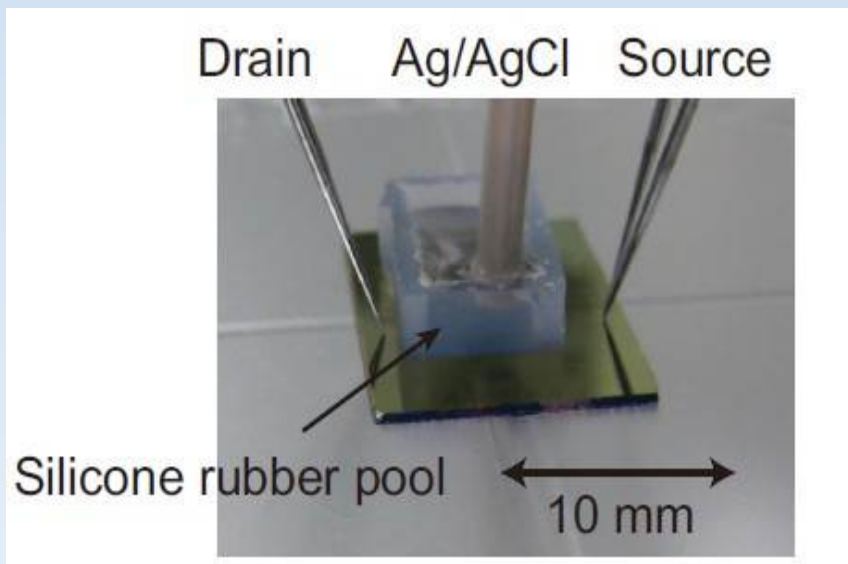


Figure 12. Photograph of experimental setup with a G-FET.

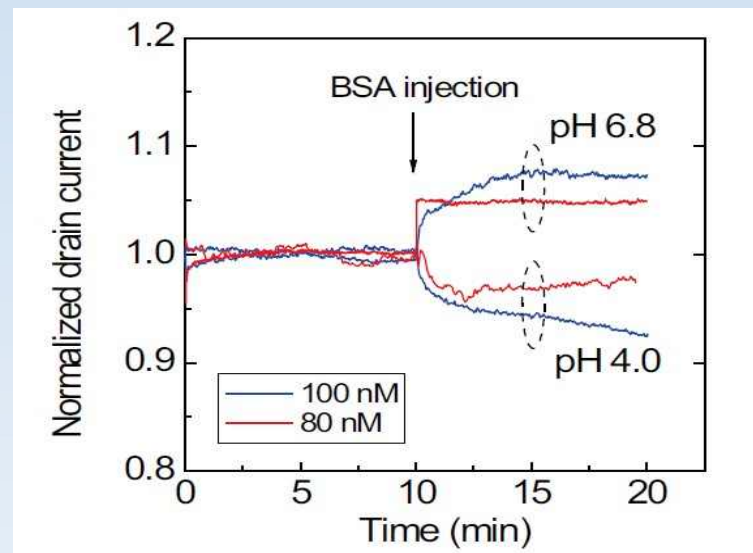


Figure 14. Time course of normalized ID for G-FETs at  $V_D$  and  $V_{TGS}$  of 0.1 and  $-0.1$  V, respectively, in 10-mM phthalate and phosphate buffer solution. Red (blue) lines indicate that 80 (100) nM BSA was added at 10 min.

## 6. 그래핀 기반 FET 바이오 센서의 Sensor Arrays

### ➤ Research article cell proliferation tracking using graphene sensor arrays<sup>8</sup>

- 이 연구는 독창적인 label-free graphene sensor array 기술 개발로 검출 방법은 그래핀 FET devices를 변형하여 세포 배양 용액의 영양 구성 성분 변화를 모니터링함.
- 배양 용액 안에 있는 Escherichia coli 의 microdispensing을 통하여 세포가 증식하면서 각각의 sensor arrays 위에 정확하게 위치하도록 하는 것이 가능함.
- 박테리아 증식을 촉진하는데 사용되는 영양액의 농도 변화를 모니터링하기 위하여 label-free 하면서 재사용이 가능한 sensor array의 가능성을 보여줬으며 농도 변화는 전기화학적 센싱 방법에 의하여 분석되었고 전기전도도의 변화는 용액환경에서 검출됨.
- Graphene Sensor Arrays는 그래핀 FET device, sample dosing, initial electrical characterisation으로 구성되어있고 초소형화, 진단과 drug development protocols의 소요 시간 단축등 뛰어난 성능을 보여주고 있음.

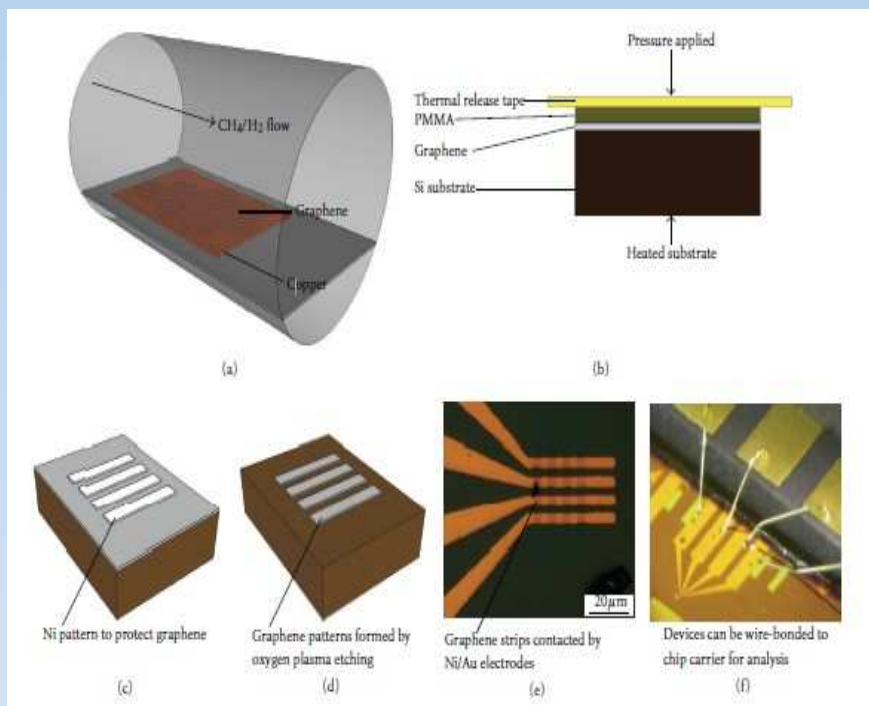


Figure 15. Production and microfabrication of graphene. (a) CVD growth of graphene on copper foil in a tube furnace, (b) graphene is attached to SiO<sub>2</sub>/Si by attaching to a support layer of PMMA and thermal-release tape and transferring by a combination of heat and pressure, (c) after transfer to SiO<sub>2</sub>/Si substrate, a Ni protection layer is patterned on the graphene, (d) oxygen plasma removes the unprotected graphene and the Nickel is subsequently removed by HCl etching. (e) shows the contacted graphene strips and (f) shows

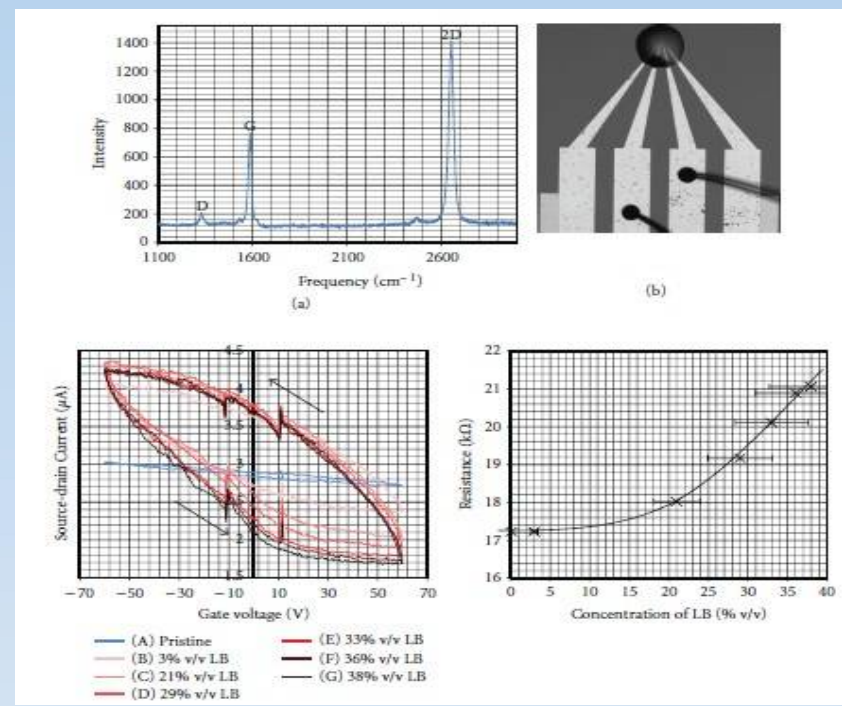
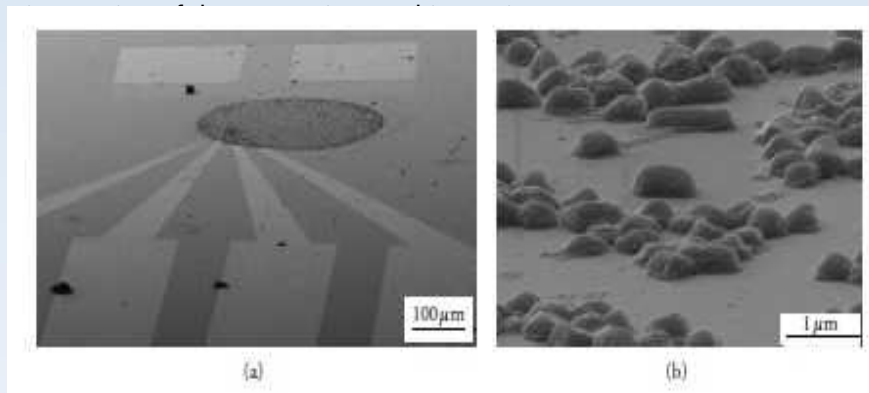


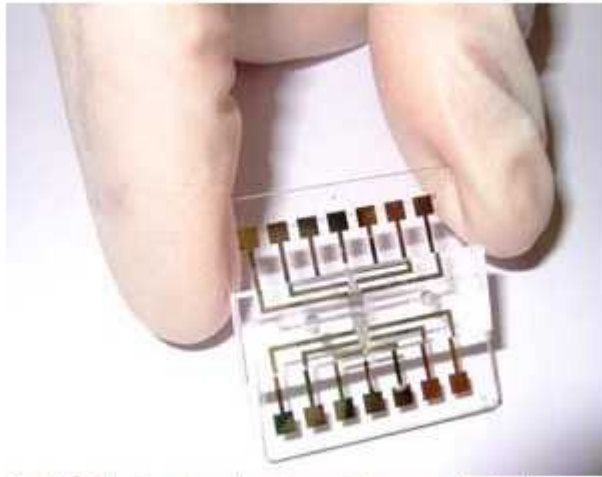
Figure 16. (a) Example of the Raman spectrum of CVD-grown graphene after transfer. (b) Controlled deposition of small volumes of LB/glycerol medium is shown to be accurate by optical microscopy. (c) The p-type behaviour of the pristine graphene is observed, and a clear increase in hysteresis is noted upon measurement of LB. A shift in gate dependency with LB concentration is also noted. The glycerol is added to reduce droplet evaporation and is maintained at the same concentration in each case. (d) A change in resistance with LB concentration is noted using two-probe measurements on the graphene FET.

Figure 17. Microdispensing of 50% LB/25% glycerol medium containing *E. coli* shows it is feasible to guide proliferation to the graphene sensor region. (a) An SEM image shows the graphene sensor and contacts at 80° tilt with a dense circular pattern of adhered bacteria fixed using a dehydration protocol and shown in (b) at a higher magnification.

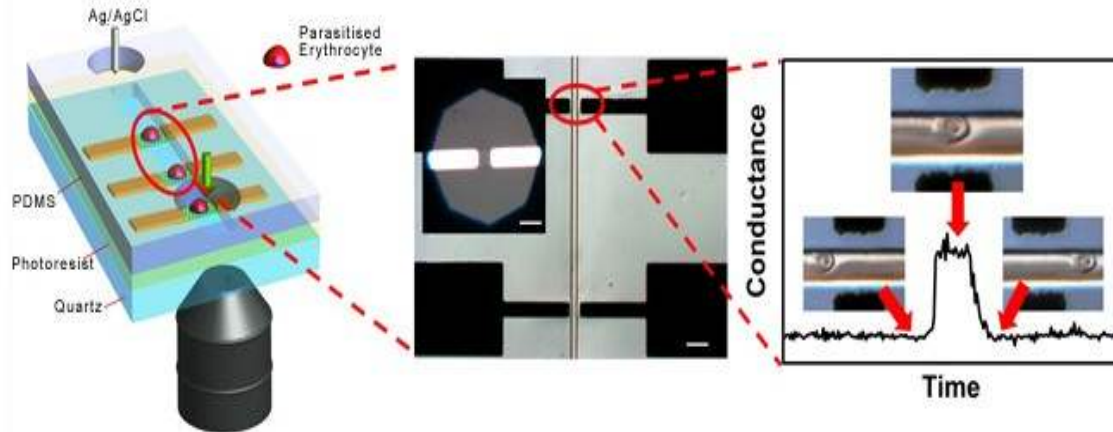
## 7. Microfluidic Channel에서의 그래핀 기반 FET 바이오

### ➤ Flow sensing of single cell by graphene transistor in a microfluidic channel<sup>9</sup>

- 그래핀의 전기적인 성질은 국소적인 유전체 환경에 의해서나 long-range charge scatterers로부터 일어나는 정전기적 힘 (electrostatic forces)에 영향을 받아 세포의 표면전하 밀도에 민감함.
- 세포하나 수준의 말라리아에 감염된 적혈구를 "flow catch-release" 감지를 위하여 microfluidic 유동세포계측방법을 이용한 직접화된 그래핀 transistor array를 개발함.
- 말라리아에 감염된 적혈구 세포는 세포막 표면에 감염된 기생충에 의해 단백질이 생성되고 그 결과 membrane 'knobs' 이 발생하여 endothelial CD36 receptors로 기능화한 그래핀에 membrane 'knobs' 이 감지되므로써 말라리아에 감염된 적혈구 세포를 선택적으로 잡아냄.
- 말라리아에 감염된 적혈구 세포는 그래핀의 전도도에서 고감도 전기용량 변화 (high sensitive capacitively coupled changes)에 의하여 그래핀의 전도도 변화를 유도함.
- Microfluidic channel안에 있는 그래핀 transistors를 통한 혈액 흐름속에서 감염된 세포를 통계적으로 계산할 수 있어 임상에서 진단응용으로 큰 기대가 됨.



The NUS-designed graphene transistor can detect malaria-infected red blood cells



Schematic illustration of an array of graphene transistors in a microfluidic channel through which cells flow. Specific binding between proteins on positively charged knobs of infected red blood cells and receptors coated on graphene induces a distinct conductance change. Conductance returns to baseline value when infected cell exits the graphene channel.

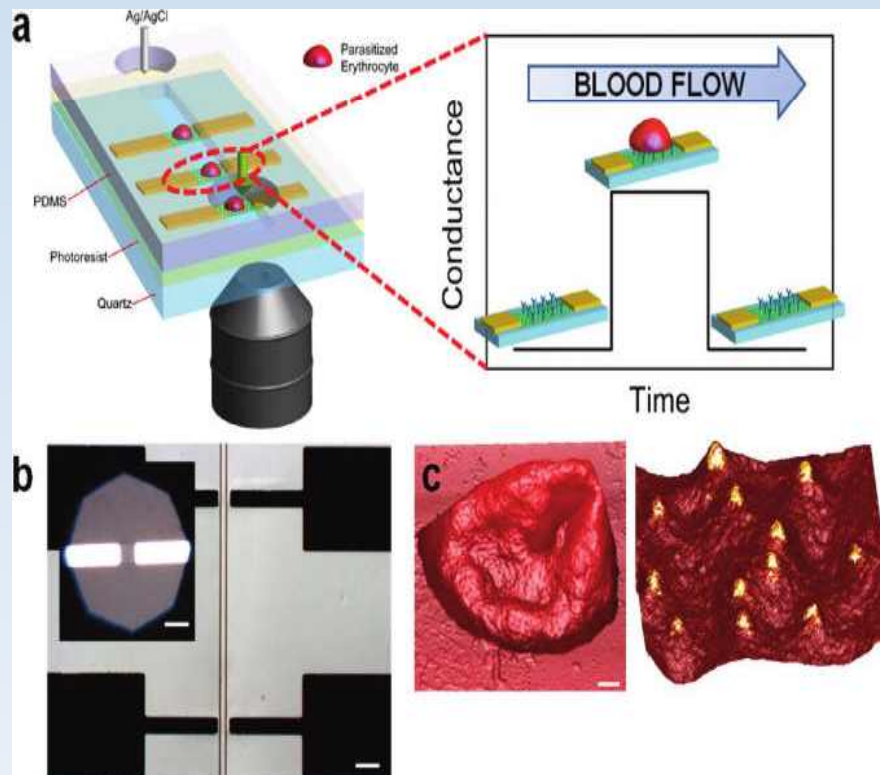


Figure 18. Graphene-based detection of single *Plasmodium falciparum*-infected erythrocyte (PE). (a) (Left) Schematic illustration of an array of graphene transistors on quartz. The electrodes are protected by a SU-8 photoresist that conveniently acts as the side wall for the microfluidic channel through which cells flow. (Right) Specific binding between ligands located on positively charged membrane knobs of parasitized erythrocyte and CD36 receptors on graphene channel produces a distinct conductance change. Conductance returns to baseline value when parasitized erythrocyte exits the graphene channel. (b) DIC image of independent graphene transistors with SU-8/PDMS microfluidic channel. Inset shows the etched graphene strip between source and drain electrodes. Scale bar is 30  $\mu\text{m}$ . (c) Three-dimensional AFM images of (left) parasitized erythrocyte (scale bar is 1  $\mu\text{m}$ ) and (right) 3D height plot of the surface of parasitized erythrocyte revealing protruding knobs which overlaid with adhesion maps of knob ligands (PfEMP1) using CD36-functionalized AFM tip (yellow regions).

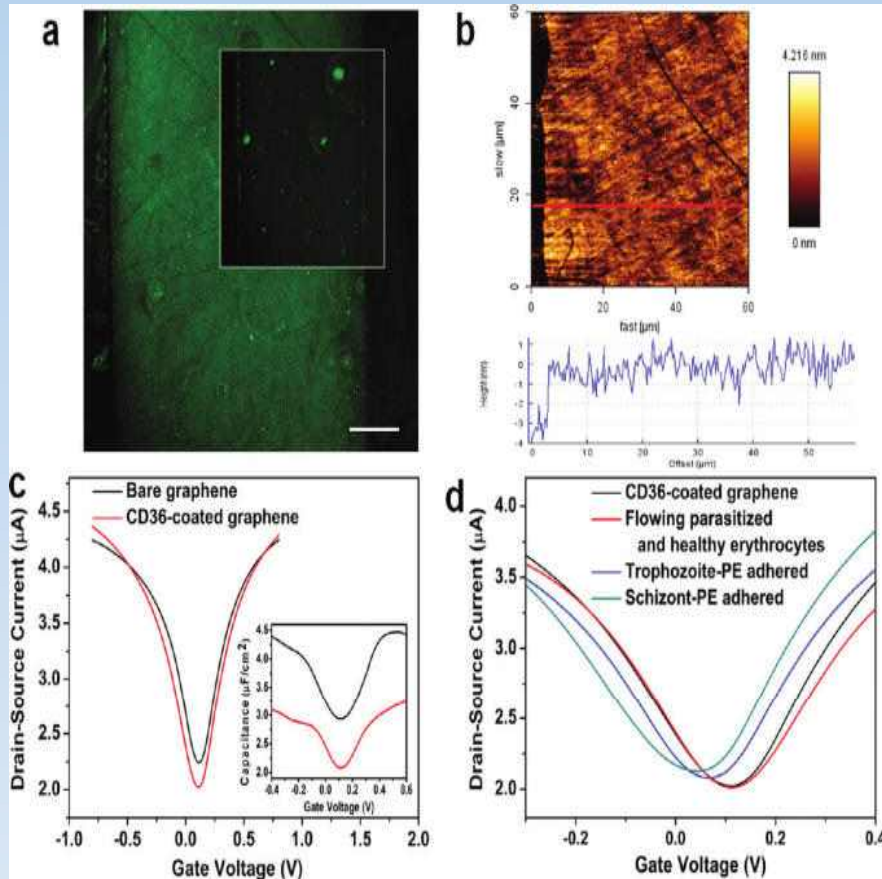


Figure 19. Characterization and PE detection of CD36-functionalized graphene transistor. (a) CD36 coupled with FITC-conjugated CD36 antibody on graphene (inset) shows significant fluorescence quenching as compared to that on quartz. Scale bar is  $100 \mu\text{m}$ . (b) AFM image and height profile of CD36 coupled with FITC-conjugated CD36 antibody on graphene shows a combined protein height of  $\sim 3 \text{ nm}$ . (c) Device performance for graphene and CD36-functionalized graphene gated in culture medium. Inset shows the corresponding capacitance-voltage measurements. Device channel length and width are  $10$  and  $20 \mu\text{m}$ , respectively. (d)  $I_{ds}V_g$  curves shows distinct shifts in charge neutrality point when PE adhered onto CD36-functionalized graphene channel. The increase in the width of the minimum conductivity plateau upon PE adhesion is also evident.

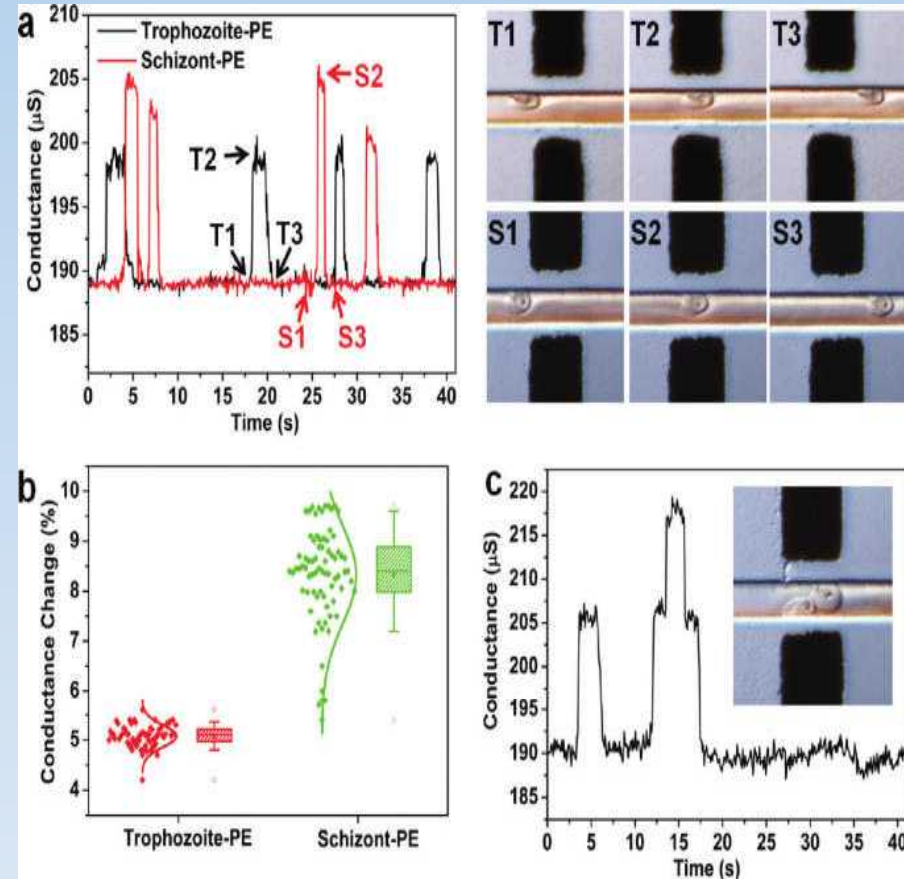


Figure 20. Parasite differentiation. (a) Conductance-time plots for (early to mid) trophozoite-PE and schizont-PE measured at  $V_g = 0.1 \text{ V}$  and corresponding DIC images on the right. Device channel length and width is  $8$  and  $15 \mu\text{m}$ , respectively. (b) Box plots of percentage conductance changes for trophozoite-PE and schizont-PE. The top and bottom of the box denote 75th and 25th percentiles of the population, respectively, while the top and bottom whiskers denote 90th and 10th percentiles, respectively. Maximum and minimum values are denoted by open squares. Gaussian distribution of the raw data points is shown. (c) Conductance-time plot for the occupation of  $2$  schizont-PE shows distinct conductance rise which corresponds to single schizont-PE.

## 4. 결론

- ▶ 그래핀은 같은 탄소 나노물질인 탄소나노튜브와 비교하여 저가비용, 높은 표면적, 고 순도 (Hummers method에 의하여 제조된 그래핀은 촉매 나노입자가 없음), 분산성, 두께 및 크기제어, 투명성 제어, safety 및 제조과정이 쉽다는 장점을 가지고 있어 탄소 물질의 electrocatalytic effects를 연구하기에 훌륭하다<sup>10</sup>.
- ▶ 그래핀과 같은 나노물질을 이용한 FET 바이오 센서는 저가 제작비용, 고감도, 생체 분자와 결합가능한 넓은 표면적, 실시간 측정, 소형화, 측정시간 단축, 안정성 및 신뢰성 확보등 많은 장점이 있고 앞으로 flexible FET based biosensor device를 제작하기에 뛰어난 소재임을 확인할 수 있다.
- ▶ 그래핀의 biocompatibility, stability,  $\pi$ - $\pi$  결합에 의한 표면 기능화등에 의한 선택적 생체분자 인식이 뛰어나 그래핀 기반 FET 바이오 센서개발은 고 부가가치를 창출하는 기술이며 화학적, 생물학적 바이오 센서로의 다양한 응용이 기대된다.



## 5. 참고문헌

1. 이정오, "애타머 및 FET 기바의 multiplexing 진단" , NEWS & INFORMATION FOR CHEMICAL ENGINEERS, 26 (2006).
2. 최철종, "나노바이오센서 연구 동향" , 나노세라믹스 연구 및 산업화 현황, 14 (2011) 44-49.
3. KT 종합기술원 기술전략실 기술전략담당, "U-헬스케어 확산의 도화선 바이오센서(Bio Sensor)" , 2010 1-5.
4. Y. Huang, X. Dong, Y. Shi, C. M. Li, L.-J. Li, P. Chen, "Nanoelectronic biosensors based on CVD grown graphene" *Nanoscale* 2 (2010) 1485–88.
5. Y. Ohno, K. Maehashi, Y. Yamashiro, K. Matsumoto, "Electrolyte-gated graphene field-effect transistors for detecting ph and protein adsorption" *Nano Lett.* 9(2009) 3318-22.
6. Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, "Label-free biosensors based on aptamer-modified graphene field-effect transistors" *J. AM. CHEM. SOC.* 132 (2010) 18012–3.
7. Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, "Chemical and biosensing applications based on graphene field-effect transistors (physics and applications of graphene – experiments)" Sergey Mikhailov (Ed.), ISBN: 978-953-307-217-3, InTech, 2011 510-524.
8. R. Daly, S. Kumar, G. Lukacs, K. Lee, A. Weidlich, M. Hegner, G. S. Duesberg , " Cell proliferation tracking using graphene sensor arrays" *Journal of Sensors*, 2012 (2011) 1-7.
9. P. K. Ang, A. Li, M. Jaiswal, Y. Wang, H. W. Hou, J. T. L. Thong, C. T. Lim, K. P. Loh, "Flow sensing of single cell by graphene transistor in a microfluidic channel" *Nano Lett.* 11(2011) 5240–46.
10. Y. Shao, J. Wang, H. Wu, J. Liu, I. A. Aksay, Y. Lin, "Graphene based electrochemical sensors and biosensors: A review" *Electroanalysis* 22 (2010) 1027 – 36.