

1A2) Pb^{2+} 선택성 DNAzyme과 마이크로유체 시스템을 이용한 소형화된 Pb^{2+} 센서의 개발

Miniaturized Lead Sensor Based on a Lead Specific Catalytic DNAzyme in a Nanocapillary Interconnected Microfluidic Device

장인형

삼성전기 생산기술연구소

1. 서론

Pb^{2+} 은 독성 물질 중 하나로 낮은 농도로 존재하더라도 환경에 축적되어 동식물에 큰 피해를 입히는 것으로 보고되어 왔다. Pb^{2+} 의 치명적인 영향에 대한 관심이 높아지면서 Pb^{2+} 오염의 관리를 위한 새로운 규정들이 제정되고 있다. 1990년 Clean Air Act Amendment에서 미국 EPA는 Pb^{2+} 이 부유 오염원으로 존재할 경우 건강과 환경에 치명적인 영향을 미친다며 Pb^{2+} 를 "Air Toxic"으로 지정하였다. DOD 4715에서는 Pb^{2+} 을 함유한 탄약을 사용하는 사격장 주위의 지하수와 토양 등의 환경에 대해 고수준의 관리와 모니터링이 필요하다고 지정하였다. 또한 미국 EPA에서는 Pb^{2+} 의 환경 축적성 때문에 이를 Great Water Program의 주 관리 원소로 지정하기도 하였다. 기존의 산업 현장에서 작업자의 건강을 위해 고농도에서 감시되었던 Pb^{2+} 분석이 최근 생태계 및 서식처의 잠재적인 피해를 모니터링하는 방식으로 변화되면서 광범위한 모니터링을 위한 감도 높고 유용한 분석방법의 개발이 요구되고 있다. 분석 장비의 소형화(Miniaturization)는 시스템의 가격, 휴대 가능성과 분석 스피드면에서 최근 환경 분석을 위해 선호되고 있다. 마이크로유체 시스템과 바이오센서는 그 대표적인 예이다.

본 발표에서는 Pb^{2+} 선택성 바이오센서와 마이크로유체 시스템을 결합한 소형화된 Pb^{2+} 센서의 개발, 분석방법 최적화, 감응 농도범위, 검출한계와 환경시료에 응용 예 등에 대해 소개한다.

2. 연구 방법

본 연구에서 사용되어진 마이크로유체 시스템의 채널 형태, 구성과 제작 방법에 대해서는 Bohn et al.에 의해 이미 보고되었다 (Kuo, T.C., 2003). 그림 1에 보인바와 같이 본 시스템은 PDMS에 만들어진 동일한 두개의 마이크로 칩들이 나노 캐필러리 어레이 접합부(Nano Capillary Array Interconnect: NAI)의 양쪽으로 마주하는 구조를 가지며 NAI는 200 nm 공극을 갖는 PCTE 멤브레인을 사용하였다.

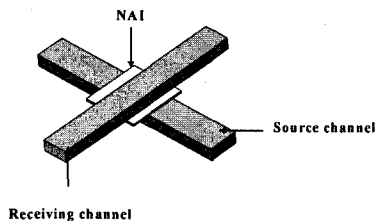


Fig. 1. Schematic of a three-dimensional nanocapillary array interconnect (NAI) gateable microfluidic device. The crossed channels are identical with 50 μ m width, 30 μ m depth, and 14-mm length.

시스템 내에서의 유체의 흐름은 각 채널 말단의 reservoir에 Pt 전극을 담그고 전기장을 걸어 조절한다. 두 마이크로 칩 사이에 삽입된 PCTE 멤브레인은 두 용액의 서로 섞임을 방지할 뿐 아니라 용액의 이동을 조절하는 전기적 게이트로 작용한다.

Pb^{2+} 선택성 DNAzyme의 합성법과 성질은 Lu et al에 의해 이미 보고된 바 있다 (Liu, J., 2003).

DNAzyme은 5' 말단에 형광체 (FAM: 6-Carboxyfluorescein)와 3' 말단에 소광체 (Dabcyl: 4-(4'-dimethylaminophenylazo)benzoic acid)를 갖는 기질과 3' 말단에 Dabcyl을 갖는 효소부로 구성되어 있다. 기질이 효소와 접합 (hybridization)되면 기질의 FAM은 인접한 내부 또는 외부의 Dabcyl에 의해 소광된다. Pb^{2+} 의 존재하에서 이 기질은 RNA 염기 부분에서 분해되며 Dabcyl로부터 분리된 FAM은 Pb^{2+} 의 농도에 비례하여 형광을 낸다.

3. 결과 및 고찰

그림 2는 시스템 내에서의 Pb^{2+} 시료와 DNAzyme의 반응 형광 이미지 (a-f)를 보여준다.

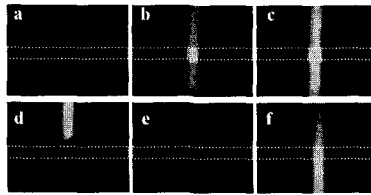


Fig. 2. Temporal sequence of fluorescence image series at the intersection of crossed microchannels.

수평의 Source 채널에는 $1 \mu M Pb^{2+}$ 용액을 채우고 수직의 Receiving 채널에는 $2.5 \mu M$ 의 DNAzyme 용액을 채운다. 그림 2a는 바탕 형광값을 보이는 것이며 수평 채널은 점선으로 표시하였다. On 상태에서는 (그림 2a-c) 수평채널의 Pb^{2+} 가 멤브레인을 통과하여 DNAzyme이 채워진 수직 채널로, Ground를 향해 이동함을 보여준다. 전압을 걸어주면 바로 DNAzyme의 분해반응이 일어나며 (b) 평형에 이를때까지 (c) 형광이 증가한다. Off 상태에서는 Pb^{2+} 의 주입이 중지되며 음전하를 띠는 분해된 DNA가 양극을 향해 이동하며 (d) 채널이 새로운 DNAzyme으로 채워진다 (e). 그림 2f는 다시 On 상태로 전환하여 Pb^{2+} 를 반복 주입한 이미지를 보인다. 그림 3은 주입되는 Pb^{2+} 용액의 농도에 따른 형광세기를 나타낸다.

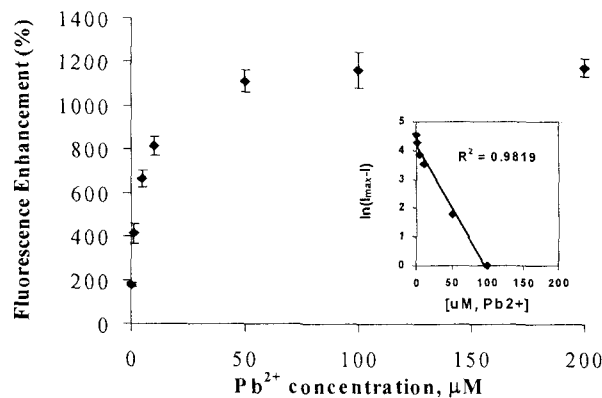


Fig. 3. Plot of fluorescence enhancement as a function of lead ion concentration from 0.1 to 200 μM .

실험은 위의 이미지 포집 실험과 동일하게 진행하였다. 각각의 데이터는 온-, 오프- 상태를 반복하여 바탕선에서 증가하는 형광값의 백분율을 나타내며 4회 반복 측정의 평균값이다. 본 시스템은 $100 nM$ 에서 $200 \mu M$ 농도의 납에 대해 우수한 상관성 ($R^2=0.98$)을 갖으며 감응함을 보여준다. $50 nM Pb^{2+}$ 의 반복 측정으로 얻은 검출한계는 $11 nM$ 이다.

위에서 제시된 바와 같이 개발된 Pb^{2+} 센서는 환경시료 분석에 충분한 감응영역과 검출한계를 가지며 환경시료중의 미량 Pb^{2+} 검출을 위한 정확하고 간편한 방법을 제공한다.

참 고 문 헌

- Kuo, T.-C., Cannon, D. M., Jr, Shannon, M. A., Bohn, P. W., Sweedler, J. V. (2003) Hybrid three-dimensional nanofluidic/microfluidic devices using molecular gates, *Sens. Actuators, A* Vol. 102
- Liu, J., Lu, Y. (2003) Improving fluorescent DNAzyme biosensors by combining inter- and intramolecular quenchers. *Anal. Chem.* Vol. 75