

Fluorescence Resonance Energy Transfer 현상을 이용한 센서의 개발

홍성우 · 조원호

1. 서론

일반적으로 형광을 이용한 센서는 형광 자체의 높은 감응도로 인해 많은 장점을 지니고 있다. 그러나 형광 물질은 형광 물질의 농도, 형광 물질 주위의 pH, 극성, 온도 등의 변화, 그리고 형광 물질 자체의 광불안정성 등과 같은 요인에 크게 영향을 받는다고 알려져 있다. 따라서 이러한 요인들을 최소화하기 위한 노력 중 하나로서, excitation 혹은 emission의 형광 강도의 비의 변화를 관측하는 방법을 들 수 있다. 이러한 방법을 이용할 경우, 더욱 정밀한 측정을 할 수 있을 뿐 아니라 정량적인 분석도 가능하다는 장점이 있다. 이 때, 센서 분자는 어떤 자극이 주어졌을 때 excitation 혹은 emission 파장의 큰 이동을 보여야만 하는데, 이러한 큰 이동을 유발시킬 수 있는 방법 중 하나가 바로 fluorescence resonance energy transfer (FRET)이다.¹

FRET이란 최초에 여기된 주계(donor)의 여기된 상태의 에너지가 받게(acceptor)로 전달되는 현상을 의미한다. 주계 물질은 일반적으로 받게 물질에 비해 더 짧은 파장의 빛을 방출하게 되는데, 이때의 방출 파장은 받게의 흡수 파장과 중첩된다. 에너지 전달 속도와 효율은 주계의 방출 파장과 받게의 흡수 파장의 중첩의 정도, 주계의 양자 효율, 주계와 받게의 전이 쌍극자의 상대적인 배열 정도, 그리고 주계와 받게의 거리에 의존하게 된다. 특히, FRET의 거리 의존성을 이용하여 FRET은 주계와 받게 사이의 거리를 측정하는데 널리 사용되어 왔다. **그림 1**은 FRET 효율에 대한 주계와 받게 사이의 거리 의존성을 도시적으로 보여준다. FRET의 효율이 50%일 때의 거리를 Förster 거리라고 부르는데, 일반적으로 20에서 60 Å 정도로 알려져 있다. FRET 효율은 $E = R_0^6 / (R_0^6 + r^6)$ 와 같은 식으로 나타낼 수 있는데, 여기서 R_0 는 Förster 거리이며 r 은 주계와 받게 사이의 거리를 나타낸다. **그림 2**에서 볼 수 있듯이, 전달 효율은 r 이 R_0 보다 작을 경우 빠르게 1.0으로 증가하게 되며, 반대로 r 이 R_0 보다 클 경우 전달 효율은 빠르게 0으로 감소하게 된다. **표 1**은 대표적으로 사용되는 FRET 주계와 받게 사이의 R_0 값을 나타낸다.

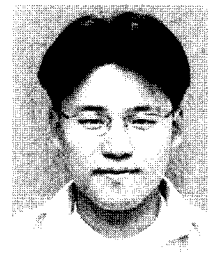
한편, Förster 거리는 단백질의 지름, 생체막의 두께, 그리고 몇 개의 작은 단위로 이루어져있는 단백질 사이의 거리와 비슷하기 때문에, 생체고분자를 연구하는데 있어서 매우 유용하다. 또한 주계와 받게 사이의 거리에 영향을 줄 수 있는 어떤 현상이 있을 때, 그러한 현상을 정량화 할 수 있다는 장점이 있다. 따라서 에너지 전달의 측

정은 예로부터 고분자의 특정 부분의 거리를 계산하거나 conformation의 변화가 이러한 거리에 미치는 효과를 분석하고자 할 때 널리 사용되어 온 방법이라고 할 수 있다.

그러나 FRET을 단지 고분자 conformation의 statics 혹은 dynamics에 활용하려는 목적 이외에도, 새로운 개념의 센서 개발에 이용하고자 하는 시도가 이루어져 왔었다. 만약 어떤 특정 조건에서 주계와 받게 사이의 거리에 큰 변화를 줄 수 있다면, 그로 인한 형광 특성의 차이를 관측할 수 있고, 이러한 현상을 이용하여 새로운 개념의 자극 응답성 센서를 개발할 수 있기 때문이다. 본고에서는 이러한 FRET 현상을 이용한 다양한 센서들에 대해서 크게 유기 형광 물질을 이용한 센서, 양자점(quantum dot)을 이용한 센서, 그리고 금 나노입자를 이용한 센서로 나누어 기술하고자 한다.

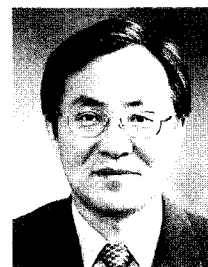
2. 유기 형광 물질을 이용한 센서

암세포의 초기 진단은 성공적인 암치료와 생존 확률의 증가에 매우



홍성우

2000 서울대학교 섬유고분자공학과(학사)
2007 서울대학교 재료공학부(박사)
2007~ 현재 University of Massachusetts Amherst (Post-Doc.)



조원호

1973 서울대학교 섬유공학과 (학사)
1975 서울대학교 섬유공학과 (석사)
1977 Polytechnic Institute of New York Polymer Science and Engineering (석사)
1979 Polytechnic Institute of New York Polymer Science and Engineering (박사)
1980~ 현재 서울대학교 재료공학부 (교수)

Development of Fluorescence Resonance Energy Transfer Sensors

서울대학교 재료공학부 (Sung Woo Hong and Won Ho Jo, School of Materials Science and Engineering, Seoul National University, San 56-1, Sillim-dong, Gwanak-gu, Seoul 151-742, Korea) e-mail: whjpoly@snu.ac.kr

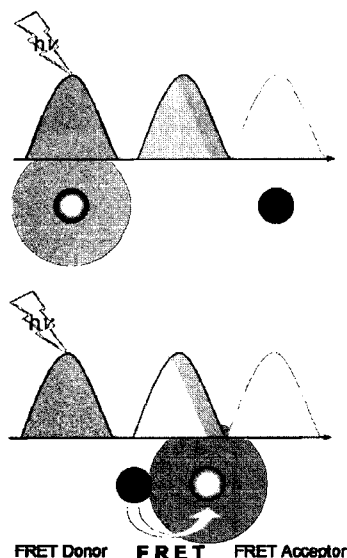


그림 1. The dependence of the distance between donor and acceptor on FRET efficiency.

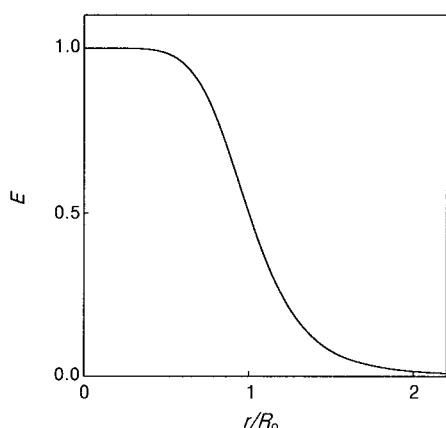


그림 2. Dependence of the energy transfer efficiency(E) on distance. R_0 is the Förster distance.

표 1. Representative Förster distances for various donor-acceptor pairs.^(1c)

Donor	Acceptor	R_0 (Å)	Donor	Acceptor	R_0 (Å)
Naphthalene	Dansyl	22	IAEDANS	IAF	46~56
Dansyl	FITC	33~41	IAF	EIA	46
Dansyl	ODR	43	BODIPY	BODIPY	57
ϵ -A	NBD	38	BPE	Cy5	72
IAF	TMR	37~50	Terbium	Rhodamine	65
Pyrene	Coumarin	39	Europium	Cy5	70
FITC	TMR	49~54	Europium	APC	90
IAEDANS	FITC	49			

Abbreviations: Dansyl, 5-dimethylamino-1-naphthalenesulfonic acid; ϵ -A, 1- N^6 -ethenoadenosine; IAF, 5-(iodoacetamido)fluorescence; FITC, fluorescein 5-isothiocyanate; IAEDANS, 5-(((2-iodoacetyl) amino)ethyl) amino) naphthalene-1-sulfonic acid; CD, carboxylfluorescein, succinimidyl ester; BODIPY, 4,4-difluoro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indaene; BPE, B-phycoerythrin; ODR, octadecyl-rhodamine; NBD, 7-notrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl; TMR, tetramethylrhodamine; EIA, 5-(iodoacetamido) eosin; TR, Texas, Red; Cy5, carboxymethylindocyanine- N -hydroxysuccinimidyl ester; APC, allophycocyanin

중요하다. 특히 외과적인 수술을 이용하지 않고, 암세포의 위치를 정확히 찾아내기 위한 노력이 최근 들어 활발히 이루어져 가고 있다. Weissleder는² FRET 현상을 이용하여 암세포의 *in vivo* imaging 을 하기 위한 연구 결과를 발표하였는데, 한 연구의 예를 들면 그림 3에 나타난 것과 같다. 아래 그림에서 나타난 센서는 poly-*L*-lysine 주쇄에 평균 92개의 poly(ethylene glycol)과 11개의 Cy 5.5 형광 염료를 가지는 구조로 되어 있으며, 개질되지 않은 44개의 lysine 은 lysine-lysine 결합을 절단하는 특정 효소에 의한 절단이 일어나는 부분이 된다. 따라서 특정 효소에 의한 절단이 일어나기 전에는 두 개의 Cy 5.5 사이의 FRET에 의한 quenching으로 인해 형광 강도가 줄어들지만, 절단이 일어나게 되면 두 Cy 5.5 사이의 거리가 멀어지게 되어 FRET 효과가 사라지게 되고, 그 결과 형광 강도가 증가하게 된다. 이러한 형광 특성을 이용함으로써 그림 4와 같이 암세포의 위치를 외과적인 수술을 이용하지 않고도 광학적으로 검출하게 되었다.

예로부터 효소는 비단 암세포와 관련된 현상 뿐만 아니라 생체 내의 활동에 있어서 중요한 인자로 작용한다고 알려져 왔었고, 그로 인해 다양한 종류의 효소에 대한 효율적인 검출을 위한 노력들이 이루어져 왔었다. 한 예로, Nagano는³ FRET 주쇄와 받개 사이에 phosphodiester를 linker에 도입하여 phosphodiesterases의 활동을 검출할 수 있는 intramolecular FRET 센서를 개발하였다. 또한 FRET 현상을 이용하여 maltose의 경세포막 이송에 관여하는 maltose binding protein을 검출하기 위한 연구가 있었으며,⁴ 그리고 당뇨병과 큰 연관성이 있는 glucose 검출을 위한 glucose 센서 개발을 위한 연구 등도 보고 되었다.⁵

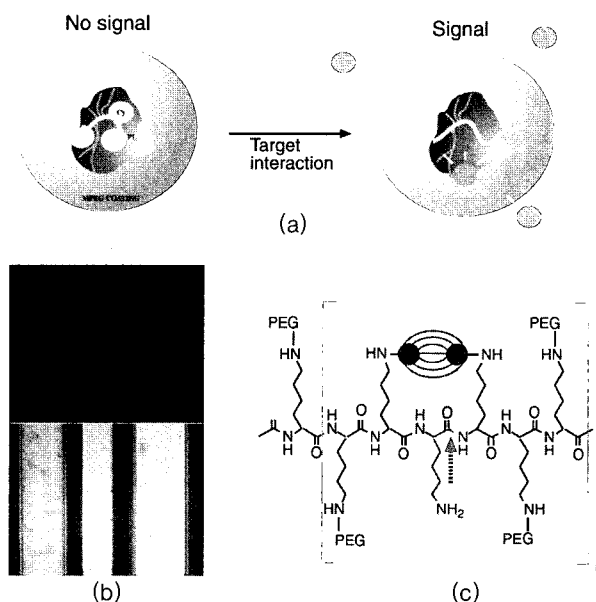


그림 3. (a) Schematic diagram of probe activation. The initial proximity of the fluorochrome molecules to each other results in signal quenching. (b) NIRF image(top) and bright light image(bottom) of nonactivated C-PGC(left) and activated probe(right). Fluorochrome concentration: 0.17 μ M. Image acquisition time: 30 s. Excitation: 670 nm, emission: 700 nm. Note the difference in signal intensity between enzyme-activated and unactivated probe. (c) Chemical structure of repeating graft copolymer segment indicating quenching of Cy and enzymatic degradation site(green arrow).^{2(a)}

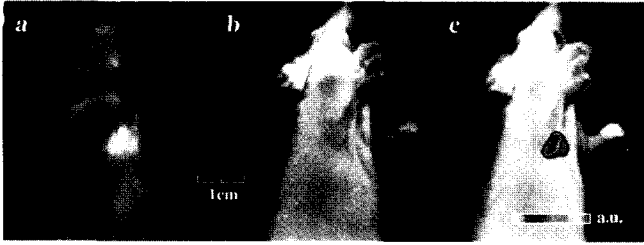


그림 4. Example of typical images involved in FRI. (a) Fluorescence image obtained from the animal. In this example the image is obtained using a cathepsin-B sensitive fluorescent probe injected in an animal implanted with a HT1080 carcinoma in the upper posterior thorax. (b) Intrinsic light image obtained without the fluorescent band-pass filter. Such images are useful to outline with greater detail the animal investigated. (c) Superposition of (a) onto (b) improves the visual result.²

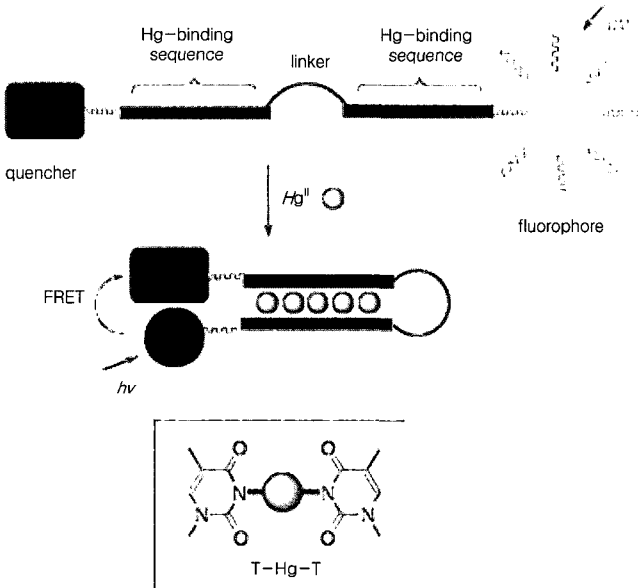


그림 5. A schematic representation of the hairpin structure induced in D_ODN_F by Hg^{II} ion-mediated T-Hg-T pair formation, which results in the quenching of fluorescence from F.⁶

한편, 환경 오염을 일으키는 중금속 물질을 검출하는 센서 개발에 FRET 현상을 이용할 수 있다. 예를 들면 수은과 결합력이 있는 oligodeoxyribonucleotide를 linker에 도입하고 각 말단에 형광 물질과 quenching 물질을 도입하여 수용액 상에서 Hg^{II} 이온을 선택적으로 검출할 수 있는 센서가 개발되었다.⁶ 그림 5에서 볼 수 있듯이, Hg^{II} 이온이 없을 때에는 센서의 형광 물질은 거리상으로 quenching 물질과 멀어지기 때문에 quenching 효과 없이 형광을 보이게 되나 Hg^{II} 이온이 첨가 되면 oligodeoxyribonucleotide와 결합이 일어남에 따라 linker가 folding이 되어 결과적으로 FRET에 의한 quenching이 일어나게 되어 형광 특성이 변하게 된다. 이러한 현상을 이용하여 효과적으로 Hg^{II} 이온을 검출할 수 있는 센서를 개발할 수 있는 가능성을 제시하였다.

또한, 고분자 특유의 coil-globule 전이 현상을 FRET 현상과 결합하여 새로운 개념의 pH 감응성 센서를 개발하고자하는 연구가 시도되었다.⁷ 그림 6에서 볼 수 있듯이, FRET 주계와 받게 사이에 pH

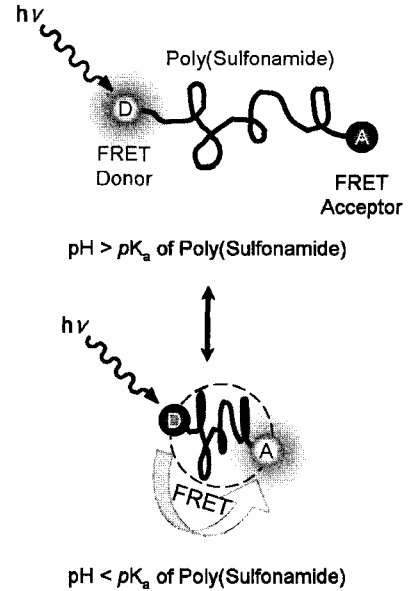


그림 6. The schematic representation of the mechanism of FRET under change of pH.

감응성 poly(sulfonamide)를 linker로 도입하게 되면, 주어진 환경의 pH 변화에 의해 고분자 linker의 coil-globule의 전이로 인한 고분자의 말단 거리가 변화하게 된다. 그 결과 FRET 주계와 받게 사이의 거리가 변화함에 따라 FRET의 급격한 on-and-off 현상으로 인한 형광 특성이 변화하게 된다. 또한, pH에 대한 가역적인 반응을 보일 뿐만 아니라 비교적 좁은 영역 내에서의 pH 변화에 대해 효율적으로 반응하기 때문에, 의학적이고 생명공학적인 응용 분야에 널리 사용될 수 있는 센서의 개발에 매우 유용한 지적 기반을 제공할 수 있을 것으로 예상된다. 현재 이러한 방법을 이용하여 pH 뿐만 아니라, 다양한 외부 자극의 변화에 대한 alarm-type의 FRET probe를 개발하고자 하는 노력이 진행되고 있다.

그리고 형광을 낼 수 있는 전도성 고분자를 FRET 센서에 도입하고자 하는 연구 또한 진행되었다. 한 예로 Bazan은,⁸ 그림 7에서 보는 바와 같이, 양이온을 띠는 전도성 고분자를 FRET 주계로 사용하고, peptide nucleic acid에 FRET 받계를 도입하여 DNA의 염기 서열을 검출을 위한 센서를 개발하였다. FRET 주계로서 iodine counterion을 포함하는 poly(9,9-bis(6'-N,N,N-trimethylammonium)-hexyl)-fluorene phenylene)을 사용하고, peptide nucleic acid에 FRET 받계로서 fluorescein을 도입하였다. DNA의 상보쌍(complementary pair)이 맞지 않을 경우에는 주계의 형광만 나타내게 되지만, DNA의 상보쌍이 맞게 되면 전도성 고분자로부터 형광 염료로의 FRET이 일어나게 되어 효과적으로 DNA의 염기 서열을 검출할 수 있게 된다. 따라서, 이러한 현상을 이용하여 유전 질병을 조기에 진단할 수 있는 하나의 방법을 제시하였다.

3. 양자점을 이용한 센서

반도체 양자점은 매우 높은 강도의 형광을 방출하는 물질로서 유기 형광 물질에 비해 높은 양자 효율, 높은 흡광도, 높은 광안정성, 그리

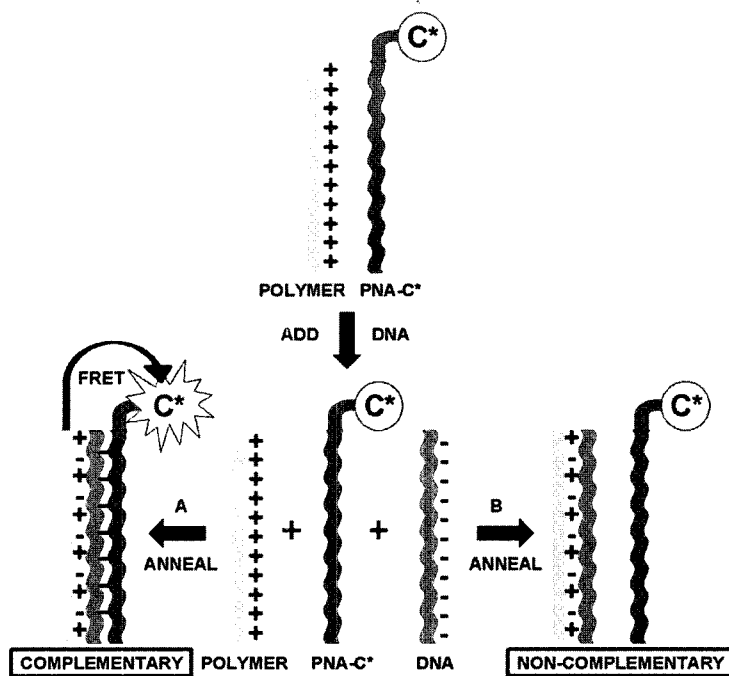


그림 7. Schematic representation for the use of a water-soluble CP with a specific PNA-C* optical reporter probe to detect a complementary ssDNA.^{7(a)}

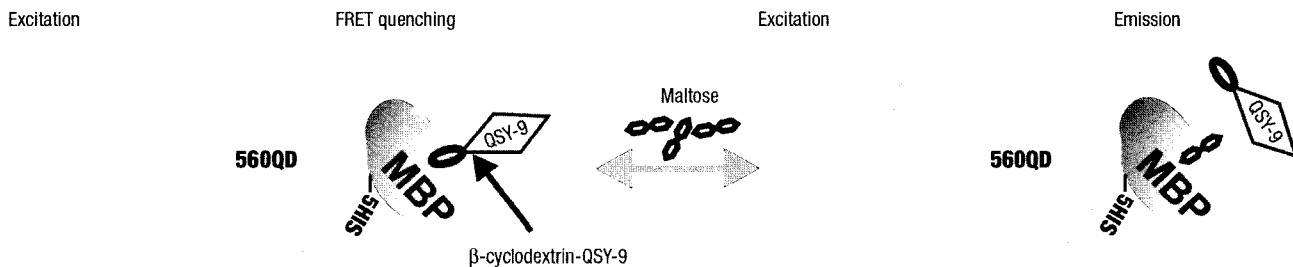


그림 8. Function and properties of the 560QD-MBP nanosensor. 560QD-MBP nanosensor function schematic. Each 560-nm-emitting QD is surrounded by an average of ~10 MBP moieties; a single MBP is shown for simplicity. Formation of QD-MBP- β -CD-QSY9(maximum absorption ~565 nm) results in quenching of QD emission. Added maltose displaces β -CD-QSY9 from the sensor assembly, resulting in an increase in direct QD emission.^{8(a)}

고 크기에 따른 형광 방출 파장 조절의 용이함 등 여러 가지 장점들을 가지고 있다고 알려져 있다. 따라서 이러한 장점들로 인해 최근 들어 양자점 기반의 센서를 개발하여 검측 및 imaging에 이용하고자하는 노력이 활발히 이루어지고 있는 추세이다. Mauro는⁹ 양자점을 FRET 주계로 사용하여 자기 조립 현상을 보이는 생체 센서를 개발하고자 하였다. 예를 들면 그림 8에서 볼 수 있듯이, 양자점 표면에 *Escherichia coli* maltose-binding protein (MBP)을 배위시킴으로써 당 (sugar) 수용체로서의 기능을 양자점에 부여하였다. 그 후, β -cyclodextrin-QSY9을 quencher로서 도입시키게 되면 FRET으로 인하여 양자점의 형광 특성이 quenching 되어 양자점 자체의 형광 강도가 감소하게 된다. 그러나 maltose가 존재하게 되면, QSY9과 자리바꿈을 함으로써 양자점과 QSY9과의 거리가 멀어지게 되고, 이로 인해 양자점의 형광이 복원되어 형광 강도가 증가하게 된다. 이러한 방법을 이용하여 양자점을 기반으로 한 새로운 hybrid 센서를 개발할

수 있다는 의미를 부여하였다.

또한, FRET 현상을 이용하여 DNA의 검측을 위한 양자점 기반의 DNA 나노센서 개발에 관한 연구가 진행되었다.¹⁰ CdSe-ZnS core-shell 양자점을 FRET 주계로 사용하고 streptavidin을 양자점에 도입하여 양자점의 표면을 개질한 후, 형광 물질인 Cy5와 biotin이 각각 말단에 달려 있는 oligonucleotide probe를 이용하여 최종 용액을 만들었다. 이 용액에 측정하고자 하는 DNA가 존재하게 되면, 그림 9에서 볼 수 있듯이, sandwich 구조의 hybrid가 생성되고, hybrid 말단의 biotin과 양자점 표면에 존재하는 streptavidin과의 결합으로 인해 FRET 현상이 나타나게 된다. 따라서 이러한 방법을 이용하여 효과적이면서도 빠르고 감도가 우수한 DNA 검측법으로 활용할 수 있음을 밝혔다.

뿐만 아니라, 양자점을 이용하여 수용액 내의 pH를 검측할 수 있는 FRET 센서를 개발하고자하는 노력도 있었다.¹¹ 그림 10에서 볼 수

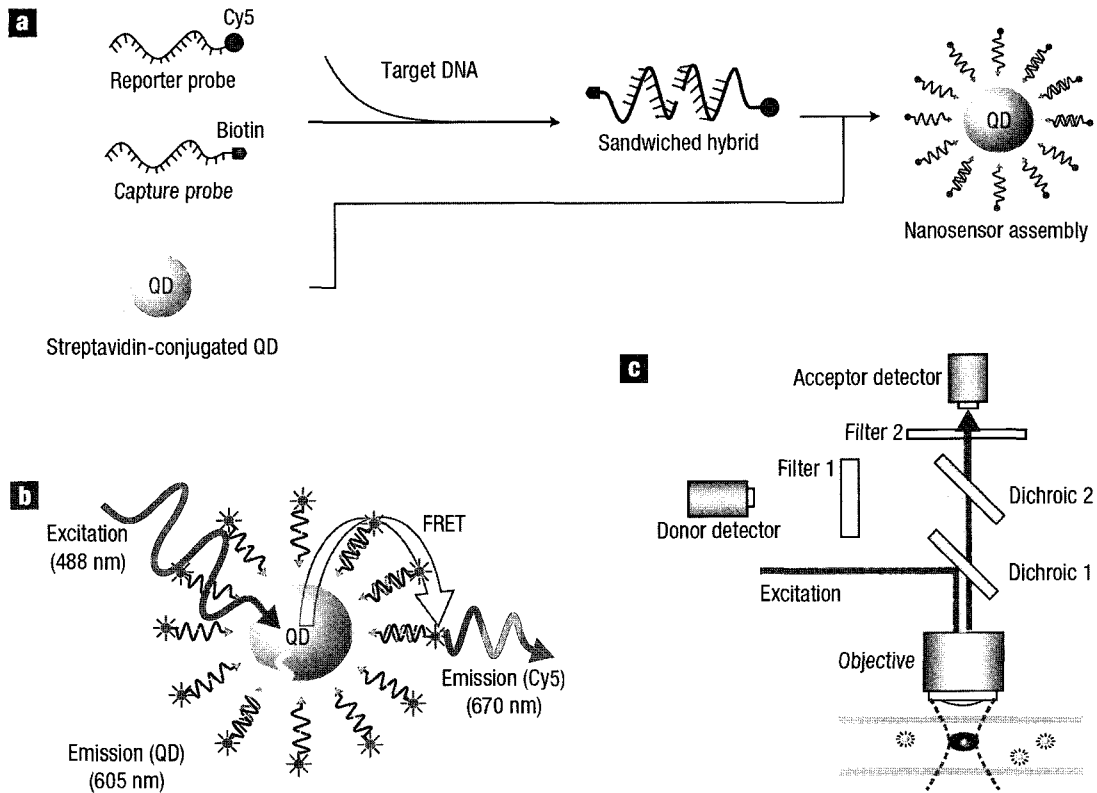


그림 9. Schematic of single-QD-based DNA nanosensors. (a) Conceptual scheme showing the formation of a nanosensor assembly in the presence of targets. (b) Fluorescence emission from Cy5 on illumination on QD caused by FRET between Cy5 acceptors and a QD donor in a nanosensor assembly. (c) Experimental setup.¹⁰

있듯이, CdSe-ZnS core-shell 양자점에 trioctylphosphine oxide ligand를 도입하고 poly(acrylic acid)로 표면을 개질한 후, 최종적으로 squaraine 염료를 FRET 받게로서 도입하였다. 이렇게 제조된 센서는 위에서 언급한 센서들의 경우처럼 FRET 주계와 받계의 거리 인자를 이용하여 FRET 효율을 조절하는 것이 아니라, FRET 받계가 되는 squaraine의 흡수 영역이 pH에 따라 달라지는 점을 이용하여 최종적인 FRET 효율을 조절하고자 하였다. 이를 이용하여 효과적으로 pH 변화를 측정함으로써 새로운 pH 센서를 제조하였다.

앞에서도 언급 했듯이 양자점은 유기 형광 물질에 비해 여러 가지 장점들이 있기 때문에, *in vivo* imaging을 위한 센서 개발에 있어서도 널리 이용되고 있는 추세이다.¹² 그러나 유기 형광 물질에 비하여 많은 장점을 가지고 있는 양자점 자체도 이를 여기 시키기 위해서는 외부에서 형광을 일으킬 수 있는 공급원이 필요하게 되는데, 이로 인해 자체 형광 발현으로 인한 배경 효과가 발생하게 된다. 또한, *in vivo* 에서 응용을 할 때 표면이 아닌 깊은 부분까지 양자점을 여기시킬 수 있는 빛이 도달하기 않는다는 단점들도 많이 제기 되었다. 따라서 외부로부터의 여기 없이 자체 발광을 할 수 있는 새로운 개념이 등장하게 되었는데, 그 중 하나로 bioluminescence resonance energy transfer(BRET)을 들 수 있다. BRET은 FRET과 유사한 방식의 에너지 전달 현상으로서, 차이점은 앞서서도 간단히 언급했듯이 주계의 형광 방출 에너지가 주계 효소의 촉매로 인한 화학 반응을 통해서 얻게 된다는 점이다. 무엇보다 이러한 방법을 이용하게 되면 기존의 통념과는 달리 양자점을 FRET 받계로 사용할 수 있다는 장점을 지니게 된다. 한 예로서, Rao는¹³ 양자점에 형광을 낼 수 있는 단백질인

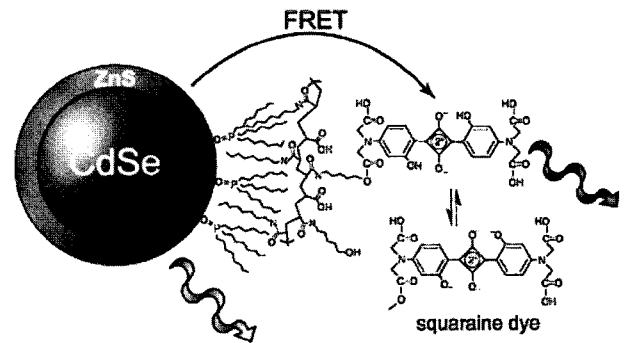


그림 10. A sensor constructed from a colloidal CdSe NC that is overcoated with an outer layer of ZnS. The native phosphine oxide ligands are encapsulated with an amphiphilic polymer upon which a pH-sensitive squaraine dye is conjugated. Upon excitation, the CdSe/ZnS nanocrystal may either fluoresce or transfer energy to the squaraine dye. The FRET efficiency is modulated by the environment as the dye's absorption profile is a function of pH. Consequently, the ratio of NC to dye emission becomes a function of environmental variables.¹¹

Renilla reniformis luciferase(Luc8)를 표면에 도입하였다. **그림 11**에서 볼 수 있듯이, 이렇게 합성된 센서에 Luc8에 기질로 작용하는 coelenterazine이 존재하게 되면, Luc8는 형광 방출을 하게 되고, 이로 인해 비로서 양자점으로서의 에너지 전달이 일어나게 된다. 또한 이때 양자점로부터 방출되는 파장은 적색에서 근적외선 영역이기 때문에 세포나 동물의 피부 깊숙한 곳에서부터의 신호를 검출할 수 있다

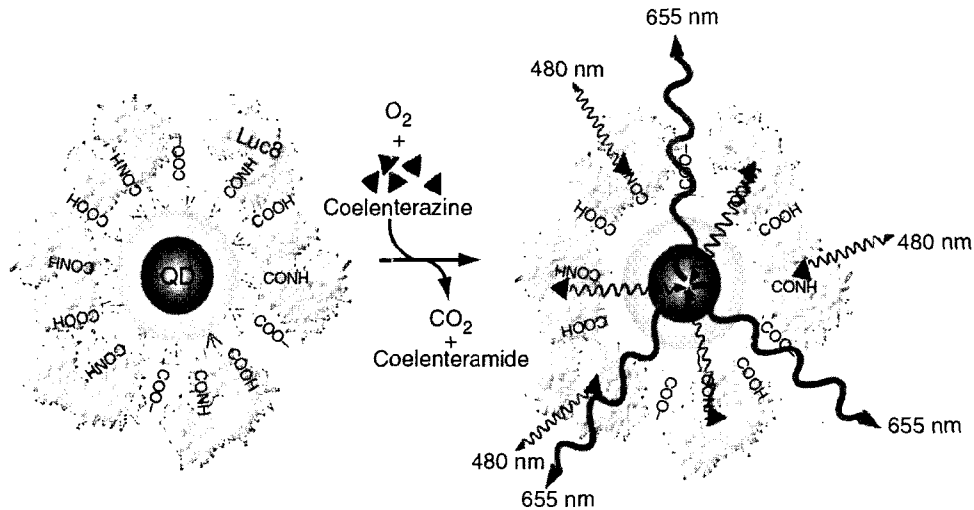


그림 11. A schematic of a quantum dot that is covalently coupled to a BERT donor, Luc8. The bioluminescence energy of Luc8-catalyzed oxidation of coelenterazine is transferred to the quantum dots, resulting in quantum dot emission.¹³

는 장점을 지니게 된다. 따라서 위에서 언급한 여러 가지 장점들로 인해서 multiplex *in vivo* imaging을 할 수 있는 센서 개발에 큰 도움을 주었다는 평가를 받고 있다. 그리고 **그림 12**와 같이, 화학발광 물질을 주계로 양자점을 받개로 사용하는 chemiluminescence resonance energy transfer (CRET)을 기반으로 한 센서도 개발되었다.¹⁴ CRET 역시 BRET과 마찬가지로, 외부의 빛의 공급 없이 형광 기질의 산화로 인해 발생하는 현상으로서, 위의 경우에는 horseradish peroxidase (HRP)의 촉매 반응으로 인한 luminol/hydrogen peroxide 화학발광을 이용한 CRET이다. 촉매로 작용하는 HRP를 양자점에 도입하고, 화학발광 주계인 luminol은 직접적으로 연결되어 있지 않지만, HRP가 연속적으로 luminol/hydrogen peroxide 촉매 반응을 함으로써 에너지 전달이 효과적으로 일어나고 있다. 이러한 시스템은 BRET과 마찬가지로 세포나 세포 조직의 imaging probe로 널리 활용될 수 있다는 가능성을 보여주고 있다. 또한, 양자점에 bovine serum albumin(BSA)이 연결되어 있고 HRP가 BSA antibody (anti-BSA)로 연결되어 있을 경우, anti-BSA-HRP가 BSA-양자점에 달라 붙어 CRET을 유도할 수 있게 되는데, 이러한 시스템은 비경쟁과 경쟁 관계의 immunoassay에 잠재적으로 쓰일 수 있다고 알려져 있다.

4. 금 나노입자를 이용한 센서

금 나노입자는 매우 높은 흡광계수를 가지고 있을 뿐만 아니라, 일반적으로 사용되는 에너지 주계의 방출 파장의 대부분과 중첩이 되는 넓은 흡수 파장을 가지고 있기에 quencher로서 많은 관심을 받아 왔다.¹⁵ 특히 양자점과 금 나노입자를 이용한 센서에 대한 연구가 많이 이루어져 왔는데, 그 한 응용 분야로서 DNA 검측에 활용된 경우를 들 수 있다.¹⁶ **그림 13**에서 볼 수 있듯이, 양자점에 single stranded DNA(ssDNA)를, 그리고 금 나노입자에도 ssDNA를 각각 도입하였다. 이 때, 양자점-ssDNA와 금 나노입자-ssDNA가 서로 상보 짝을 이루지 못할 경우에는 양자점과 금 나노입자의 거리가 어느

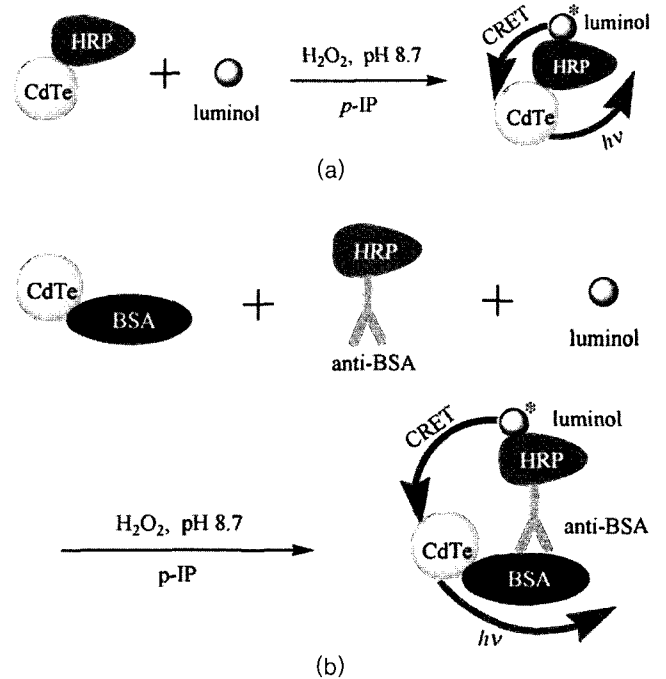


그림 12. (a) Schematic illustration of CRET based on luminol donors and HRP-labeled CdTe QD accepters, (b) Schematic illustration of CRET for luminol donors and QD accepters based on the immunoreaction of QD-BSA and anti-BSA-HRP.¹⁴

정도 멀어지게 되어 양자점의 형광 강도의 큰 변화가 생기지 않지만, 상보 짝을 이루게 되면 양자점과 금 나노입자 사이의 거리가 감소하게 된다. 결과적으로 FRET에 의한 quenching 현상이 발생하게 되므로 DNA 검측에 효과적으로 이용할 수 있다는 연구 결과가 보고 되었다.

그리고 양자점과 금 나노입자 사이의 FRET 효율을 기초로 하여 inhibition 분석에 활용할 수 있는 센서를 개발하고자 하는 연구도 보고 되었다.¹⁷ 일반적으로 잘 알려진 streptavidin(SA)과 biotin의 상

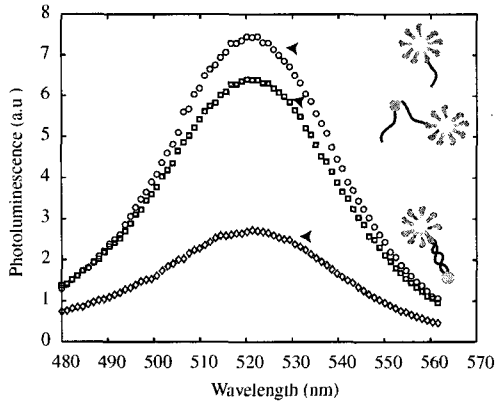
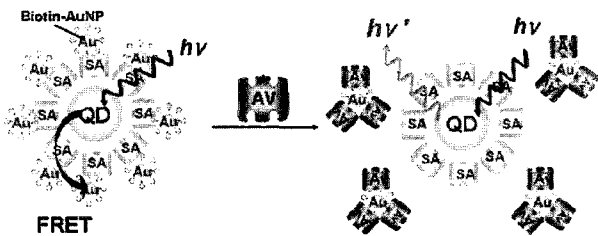


그림 13. Emission spectrum of a solution of ssDNA-Qdots(circle), a mixture ssDNA-Qdots and ssDNA Au with no complementarity between the ssDNA(square), and Qdot-dsDNA-Au complexes(diamond).^{16(a)}



^a SA denotes the streptavidin immobilized on the surface of QDs, and Av is the externally added avidin.

그림 14. Schematic Illustration of Inhibition Assay Method Based on the PL Quenching of SA-QDs by Biotin-AuNPs^{a, 17}

호 결합을 기초로 하여, 양자점에는 SA를 도입하고, 금 나노입자에는 biotin을 도입하였다. **그림 14**에서 볼 수 있듯이, SA-양자점과 biotin-금 나노입자가 결합되게 되면 금 나노입자로 인해 효과적으로 양자점의 형광 강도가 줄어드는 것을 알 수 있다. 그러나, avidin이 추가적으로 도입이 되면, 금 나노입자가 양자점으로부터 떨어져 나가게 되어 FRET 효율이 감소함에 따라 양자점의 형광 강도가 증가하는 된다. 따라서 이러한 system을 이용하면, 생체고분자 사이의 특정 상호작용을 억제하는 물질의 분석에 많은 도움이 될 것으로 예상된다.

또한, 환경과 인간의 건강에 위협을 주는 중금속 물질들을 검출하기 위해 금 나노입자의 quenching 현상을 이용한 센서에 관한 연구가 진행되고 있다. 한 예로서, 수용액 상의 Hg^{II} 이온의 검출을 위한 센서 개발을 들 수 있다.¹⁸ 먼저 rhodamine B(RB)의 자기 흡착 현상을 이용하여 RB를 금 나노입자 표면에 도입을 하게 되면, **그림 15**에서 볼 수 있듯이 FRET으로 인한 quenching으로 인해 RB 형광이 거의 나타나지 않는 것을 알 수 있다. 그러나, Hg^{II} 이온이 첨가되면, 금속 이온과 RB가 서로 결합함으로써 최종적으로 RB가 금 나노입자로부터 떨어져 나가게 되어 RB 고유의 형광이 복원되는 것을 볼 수 있다. 따라서 이러한 접근 방식을 활용하게 되면, 수용액 상으로 된 시료의 Hg^{II}의 농도를 빠르게 검출할 수 있는 실용적인 나노센서 개발에 많은 도움이 될 것으로 예상된다.

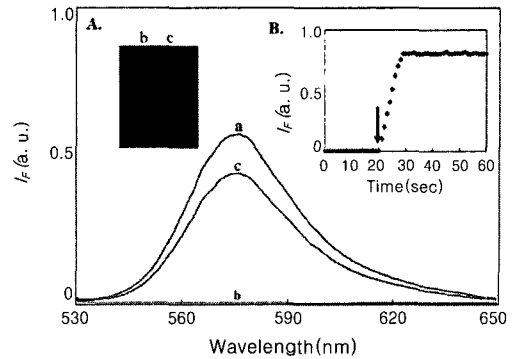


그림 15. Fluorescence spectra of solutions of (a) RB and (b), (c) RB-AuNPs in the (b) absence and (c) presence of Hg(II) (100 μ M). The concentrations of the AuNPs and RB were 3.0 nM and 1.0 μ M, respectively. Inset A: Fluorescence photographs of RB-AuNPs in the (b) absence and (c) presence of Hg(II) (100 μ M). Inset B: Time course measurement of fluorescence intensity(575 nm) for RB-AuNP upon the addition of Hg(II)(100 μ M). The arrow indicates the initial time of adding Hg(II). Buffer: 5 mM sodium tetraborate, pH 9.0. Excitation wavelength: 510 nm. The fluorescence intensities (I_f) are plotted in arbitrary units (au).¹⁸

5. 결론

지금까지 FRET 현상을 이용한 센서의 원리와 개발 동향을 크게 유기 형광 물질, 양자점, 그리고 금 나노입자에 대해서 간략히 짚어 보았다. FRET 센서는 생체 및 환경 분야에 이미 널리 활용되고 있고, 무한한 잠재적 가능성으로 인해 활발히 연구되고 있는 추세이다. 그 한 예로, molecular imaging은 2003년 technology review지에 따르면 세계를 변화시킬 수 있는 떠오르는 10대 기술 중에 하나로 자리매김할 만큼 그 중요성이 더해가고 있는 실정이다. 따라서 향후 국내의 센서 개발이 국제적 수준으로 발돋움하기 위해서는 화학, 재료, 고분자공학 뿐 아니라, 더 나아가 물리, 약학, 의학 간의 활발한 연구가 필수적이라 생각한다.

참고문헌

- (a) D. Rendell, *Fluorescence and Phosphorescence Spectroscopy*, John Wiley & Sons, London, 1987. (b) R. M. Clegg, *Fluorescence Imaging Spectroscopy and Microscopy*, John Wiley & Sons, New York, 1996. (c) I. A. Hemmila, *Applications of Fluorescence in Immunoassays*, John Wiley & Sons, New York, 1991. (d) J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd ed.*, Plenum, New York, 1999. (e) W. B. van der Meer, G. Coker III, and S.-Y. Chen, *Resonance energy Transfer, Theory and Data*, VCH, Weinheim, 1994.
- (a) R. Weissleder, C.-H. Tung, U. Mahmood, and A. Bogdanov, Jr. *Nat. Biotech.*, **17**, 375 (1999). (b) R. Weissleder, A. Moore, U. Mahmood, R. Bhorade, H. Benveniste, E. A. Chiocca, and J. P. Basilion, *Nat. Med.*, **6**, 351 (2000). (c) C. Bremer, C.-H. Tung, and R. Weissleder, *Nat. Med.*, **7**, 743 (2001). (d) U. Mahmood, C.-H. Tung, A. Bogdanov, Jr., and R. Weissleder, *Radiology*, **213**, 866 (1999). (e) C.-H. Tung, U. Mahmood, S.

- Bredow, and R. Weissleder, *Cancer Res.*, **60**, 4953 (2000). (f) R. Weissleder, and U. Mahmood, *Radiology*, **219**, 316 (2001). (g) C. Bremer, S. Bredow, U. Mahmood, R. Weissleder, and C.-H. Tung, *Radiology*, **221**, 523 (2001). (h) U. Mahmood, C.-H. Tung, Y. Tang, and R. Weissleder, *Radiology*, **224**, 446 (2002). (i) V. Ntziachristos, C. Bremer, and R. Weissleder, *Eur. Radiol.*, **13**, 196 (2003).
3. (a) Y. Kawanishi, K. Kikuchi, H. Takakusa, S. Mizukami, Y. Urano, T. Higuchi, and T. Nagano, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **39**, 3438 (2000). (b) H. Takakusa, K. Kikuch, Y. Urano, S. Sakamoto, K. Yamaguchi, and T. Nagano, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 1653 (2002).
 4. I. L. Medintz, E. R. Goldman, M. E. Lassman, and J. M. Mauro, *Bioconjugate Chem.*, **14**, 909 (2003).
 5. S. Chinnayelka and M. J. McShane, *Biomacromolecules*, **5**, 1657 (2004).
 6. A. Ono and H. Togashi, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 4300 (2004).
 7. (a) S. W. Hong, K. H. Kim, J. Huh, C.-H. Ahn, and W. H. Jo, *Chem. Mater.*, **17**, 6213 (2005). (b) S. W. Hong, C.-H. Ahn, J. Huh, and W. H. Jo, *Macromolecules*, **39**, 7694 (2006).
 8. (a) B. S. Gaylord, A. J. Heeger, and G. C. Bazan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 10954 (2002). (b) B. S. Gaylord, A. J. Heeger, and G. C. Bazan, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 896 (2003). (c) S. W. B. Liu, B. S. Gaylord, and G. C. Bazan, *Adv. Fct. Mater.*, **13**, 463 (2003). (d) S. Wang, J. W. Hong, and G. C. Bazan, *Org. Lett.*, **7**, 1907 (2005).
 9. (a) I. L. Medintz, A. R. Clapp, H. Mattoussi, E. R. Goldman, B. Fisher, and J. M. Mauro, *Nat. Mater.*, **2**, 630 (2003). (b) I. L. Medintz, S. A. Trammell, H. Mattoussi, and J. M. Rauro, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 30 (2004).
 10. C.-Y. Zhang, H.-C. Yeh, M. T. Kuroki, and T.-H. Wang, *Nat. Mater.*, **4**, 826 (2005).
 11. P. T. Snee, R. C. Somers, G. Nair, J. P. Zimmer, M. G. Bawendi, and D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 13320 (2006).
 12. (a) B. Dubertret, P. Skourides, D. J. Norris, V. Noireaux, A. H. Brivanlou, and A. Libchaber, *Science*, **298**, 1759 (2002). (b) X. Wu, H. Liu, J. Liu, K. N. Haley, J. A. Treadway, J. P. Larson, N. Ge, F. Peale, and M. P. Bruchez, *Nat. Biotech.*, **21**, 41 (2003). (c) J. K. Jaiswal, H. Mattoussi, J. M. Mauro, S. M. Simon, *Nat. Biotech.*, **21**, 47 (2003). (d) D. R. Larson, W. R. Zipfel, R. M. Williams, S. W. Clark, M. P. Bruchez, F. W. Wise, and W. W. Webb, *Science*, **300**, 1434 (2003).
 13. (a) M.-K. So, C. Xu, A. M. Loening, S. S. Gambhir, and J. Rao, *Nat. Biotech.*, **24**, 339 (2006). (b) H. Yao, Y. Zhang, F. Xiao, Z. Xia, and J. Rao, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, 4346 (2007).
 14. X. Huang, L. Li, H. Qian, C. Dong, and J. Ren, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 5140 (2006).
 15. (a) E. Dulkeith, A. C. Morteani, T. Niedereichholz, T. A. Klar, J. Feldmann, S. A. Levi, F. C. J. M. Van Veggel, D. N. Reinhoudt, M. Möller, and D. I. Gittins, *Phys. Rev. Lett.*, **89**, 203002 (2002). (b) P. K. Sudeep, B. I. Ipe, K. G. Thomas, M. V. George, S. Barazzouk, S. Hotchandani, and P. V. Kamat, *Nano Lett.*, **2**, 29 (2002). (c) C. Fan, S. Wang, J. W. Hong, G. C. Bazan, K. W. Plaxco, and A. J. Heeger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 6297 (2003). (d) H. Li and L. J. Rothberg, *Anal. Chem.*, **76**, 5414 (2004). (e) P. Anger, P. Bharadwaj, and L. Novotny, *Phys. Rev. Lett.*, **96**, 113002 (2006). (f) F. Cannone, G. Chirico, A. R. Bizzarri, and S. Cannistraro, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 16491 (2006). (g) G. Schneider, G. Decher, N. Nerambourg, R. Praho, M. H. V. Werts, and M. Blanchard-Desce, *Nano Lett.*, **6**, 530 (2006). (h) T. L. Jennings, M. P. Singh, and G. F. Strouse, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 5462 (2006). (i) N. Nerambourg, M. H. V. Werts, M. Charlot, M. Blanchard-Desce, *Langmuir*, **23**, 5563 (2007).
 16. (a) Z. Gueroui and A. Libchaber, *Phys. Rev. Lett.*, **93**, 166108 (2004). (b) L. Dyadyusha, H. Yin, S. Jaiswal, T. Brown, J. J. Baumberg, F. P. Booy, and T. Melvin, *Chem. Commun.*, 3201 (2005).
 17. E. Ho, M.-Y. Hong, D. Lee, S.-H. Nam, H. C. Yoon, and H.-S Kim, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 3270 (2005).
 18. C.-C. Huang and H.-T. Chang, *Anal. Chem.*, **78**, 8332 (2006).