

효율 향상을 위한 a-PFP과 c-PFB15을 이용한 바이오 센서 특성 분석

송수희[†] · 김원준[‡] · 강영권[‡] · 이지현[‡] · 박성수[‡] · 이근대[‡] · 진영음^{‡,*}

[†]부경대학교 물리학과

[‡]부경대학교 공업화학과

(접수 2014. 2. 26; 게재확정 2014. 4. 8)

Characterization of Biosensor with Anionic a-PFP and Cationic c-PFB15 for High Detection Sensitivity

Suhee Song[†], Wonjun Kim[‡], Yeongkwon Kang[‡], Jihyun Lee[‡], Seong Soo Park[‡],
Gun Dae Lee[‡], and Youngeup Jin^{‡,*}

[†]Department of Physics, Pukyong National University, Busan 608-739, Korea

[‡]Department of Industrial Chemistry, Pukyong National University, Busan 608-739, Korea

*E-mail addresses: yjin@pknu.ac.kr

(Received February 26, 2014; Accepted April 8, 2014)

주제어: 고분자, 수용성, 음이온 고분자

Key words: Polymer, Water soluble, Anion polymer

서 론

이중결합과 단일결합의 반복구조를 특징으로 하는 공액 고분자는 최첨단 기능성 소재로 최근 유기전자소재, 바이오 센서물질 등에서 각광받고 있는 고부가가치 신소재이다.^{1,2} 이중결합과 단일결합의 반복 구조에 기인한 공액 고분자는 가시광 영역대의 흡수 및 발광과 반도체적 전기전도성을 가지고 있어 유기발광다이오드(organic light-emitting diode, OLED),³ 유기태양전지(organic photovoltaics, OPVs),⁴ 유기트랜지스터(organic thin film transistor, OTFT)^{5,6}의 활성층으로 사용될 뿐만 아니라, 소재의 유연성, 유기합성에 의한 구조 변형의 용이함, 대량 생산 가능성 등의 장점으로 인해 미래형 유기전자소재로 연구·개발되고 있다.⁷

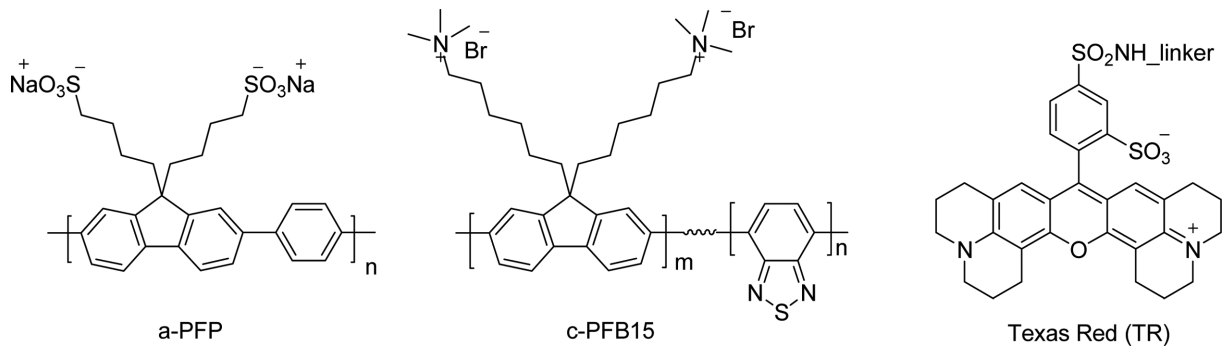
공액 고분자 전해질(Conjugated polyelectrolytes, CPs)은 광학적 또는 전자특성을 가지는 π -공액 주사슬과 극성 용매에 잘 녹는 이온성 친환기를 가진 유용한 물질이다.^{8,9} CPs는 유기 광전자 소자 및 생물학적 분석 등 다양한 분야(multi-layer light-emitting diodes, light-emitting electrochemical cells, fluorescence based biosensors)에서 많은 응용 가치를 가지고 있다.^{10,11} 공액 고분자에 수용성을 부여하고 바이오와의 접목을 통해 바이오 센서 및 바이오 이미징에 응용하려는 연구가 최근 활발히 진행되고 있다.^{12,13} 바이오 센서는 생물이 가지고 있는 기능을 이용해서 물질 특이

유기화합물의 상태와 농도를 측정하는 것으로 반응에 의해 일어나는 신호를 전기적 또는 광학적 신호로 변환하는 소재를 의미한다. 공액 고분자 전해질은 바이오 센서 분야에 많이 적용되어 연구되었으며, 공액 고분자 전해질 기반의 센서는 단분자와 비교하여 증대된 형광 신호를 기대할 수 있다.¹⁴ 최근 고분자 내 작용기, 친수성/소수성 특성 및 전하 밀도 등을 조절하여 공액 고분자 전해질의 형광 특성을 개선하는 등 많은 연구들이 활발히 진행되어 수용성 공액 고분자 전해질을 이용한 바이오센서 및 바이오 이미징 분야 등에 대한 응용 연구가 활발하게 진행되고 있다.¹⁵⁻¹⁸

고분자를 이용한 형광 바이오센서는 고분자의 형광세기의 변화, 고분자의 형광변화 또는 고분자에서 다른 형광체로의 형광 공명 에너지 전달(fluorescence resonance energy transfer, FRET)^{19,20}을 이용한 형광변화 등이 있다. 본 논문에서는 CPs(anionic poly(9,9-bis(4'-sulfonatobutyl)fluorene-*alt*-1,4-phenylene) disodium salt(a-PFP)²⁰과 cationic poly(9,9-bis((6'-N,N,N,-trimethylammonium)hexyl)fluorene-*co*-2,1,3-benzothiadiazole) dibromide salt(85:15) (c-PFB15)^{20,21})의 형광변화 특성을 보고하였다.

결과 및 고찰

Scheme 1에서는 a-PFP, c-PFB15 그리고 Texas Red(TR)²²



Scheme 1. Structure of a-PFP, c-PFB15 and Texas Red.

의 구조를 나타내었다. a-PFP의 분자량은 103000 g/mol이고, c-PFB15은 22500 g/mol이며 물에 잘 녹는 물질이다. a-PFP은 365 nm에서 최고 흡수를 가지고 있으며, 413 nm에서 최고 발광을 나타낸다. c-PFB15은 383 nm에서 최고 흡수를 가지고 있으며, 411 nm에서 최고 발광을 나타낸다. TR는 생체고분자의 아미노기에 공유 결합한 것이 탐침으로 사용되는 형광색소의 일종이며, 형광파장은 590–630 nm을 가지고 있어 바이오센서에서 공액 고분자와 함께 사용하기 적합한 색소이다.¹⁵

Fig. 1은 a-PFP(5×10^{-8} M)의 수용액에 일정 농도의 c-PFB15을 추가한 후 형광변화를 나타내었다. 5×10^{-8} M 농도의 a-PFP수용액에 각각의 농도를 가진 c-PFB15 수용액 동일량을 추가한 후 약 10분간 교반한 후 측정하였다. c-PFB15의 농도가 증가하면 약 570 nm의 형광이 증가였으며, 약 413 nm에서의 형광은 감소하다가 다시 증가하는 것을 확인하였다. 이는 c-PFB15의 비율이 2×10^{-8} M과 3×10^{-8} M에서 a-PFP로 충분한 aggregation에 의한 에너지 전달이 일어났으며 그 이상의 농도에서는 a-PFP과 c-PFB15의 aggregation이 충분히 일어나지 않고 남은 c-PFB15의 411 nm에서의 형광이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, a-PFP과 c-PFB15을 1:2비율로 조절하는 것이 a-PFP에서 c-PFB15으로 aggregation

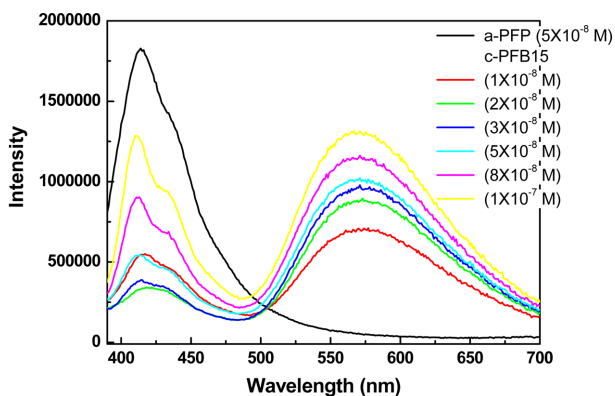


Figure 1. Absorption spectra of adding c-PFB15 in a-PFP solution (5×10^{-8} M).

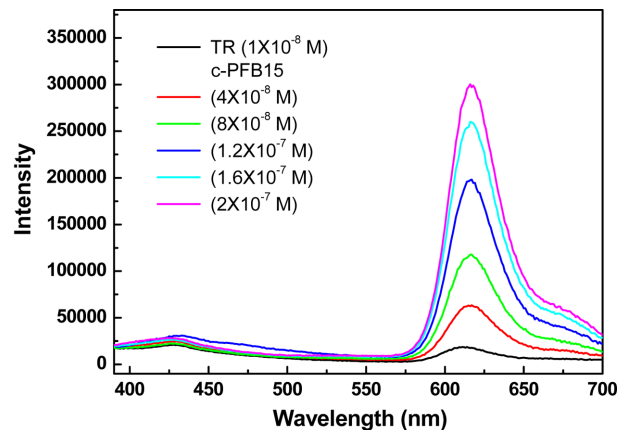


Figure 2. Absorption spectra of adding c-PFB15 in Texas Red solution (1×10^{-8} M).

에 의한 에너지 전달이 잘 일어나며 약 410 nm에서의 형광이 제거되어 색의 선택성을 높일 수 있음을 확인하였다. Fig. 2은 TR(1×10^{-8} M)을 도입한 DNA에 c-PFB15을 추가한 후 형광 변화를 확인하였다. 1×10^{-8} M 농도의 a-TR 수용액에 각각의 농도를 가진 c-PFB15 수용액 동일량을 추가한 후 약 10분간 교반한 후 측정하였다. c-PFB15의 기존의 발광인 410과 570 nm의 형광이 완전히 사라지고 TR의 형광만이 약 615 nm에서 나타났다. 일반적으로 알려진 것과 같이 공액 고분자에서 TR로 FRET이 아주 명확히 일어난다는 것을 확인할 수 있다.

1×10^{-8} M 농도의 TR 수용액에 a-PFP과 c-PFB15을 1:2 비율의 농도를 가진 수용액 동일량을 각각 따로 첨가한 후 약 10분간 교반한 후 측정하였다. Fig. 3에서는 TR(1×10^{-8} M)에 a-PFP과 c-PFB15을 1:2비율로 각각의 고분자를 추가하였을 때 TR의 전형적으로 615 nm에서 형광이 나타났으며 약 413 nm에서 a-PFP의 형광이 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 첨가하는 고분자의 분량이 증가할수록 형광의 세기도 증가하였다. 또한, a-PFP과 c-PFB15을 각각 추가하였을 때, a-PFP과 c-PFB15 각각이 TR과 상호작용

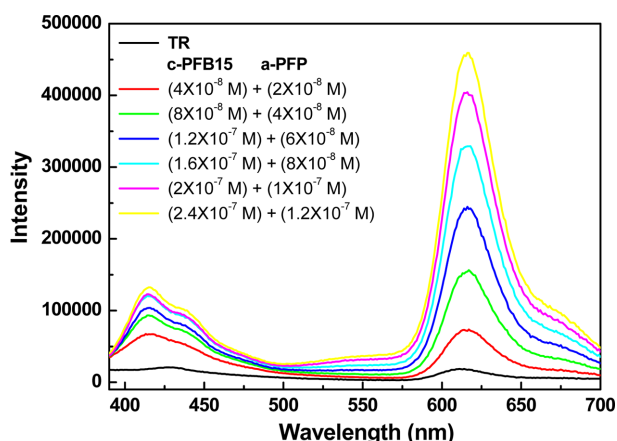


Figure 3. Absorption spectra of adding a-PFP and c-PFB15 in Texas Red solution (1×10^{-8} M).

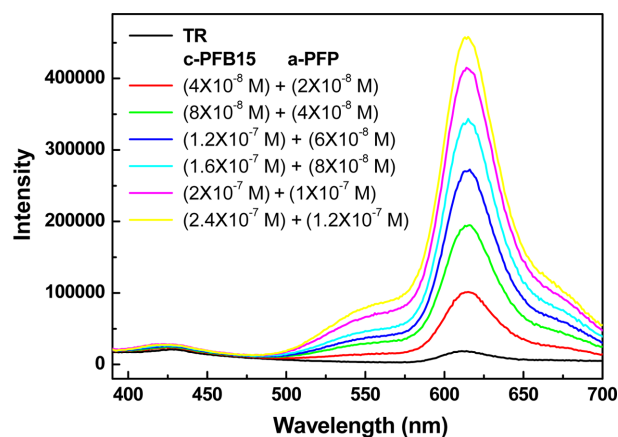


Figure 5. Absorption spectra of adding (c-PFB15:a-PFP=2:1) in DNA with Texas Red solution (1×10^{-8} M).

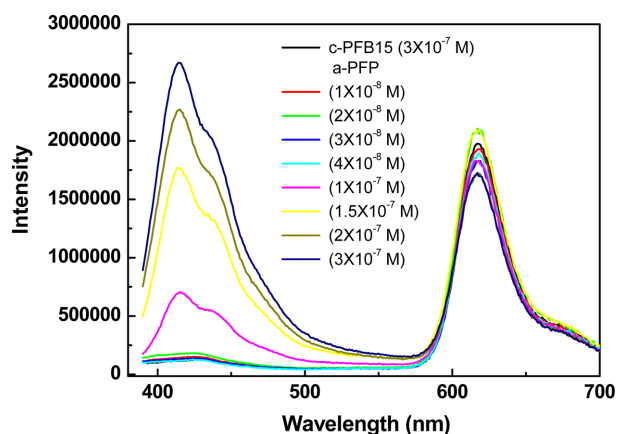


Figure 4. Absorption spectra of adding a-PFP in c-PFB15 and Texas Red solution (1×10^{-8} M).

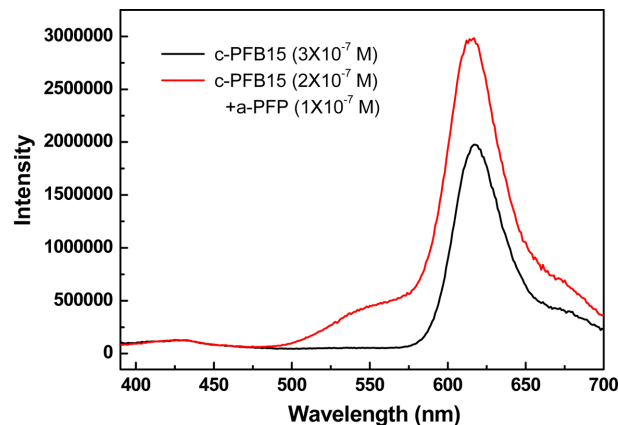


Figure 6. Absorption spectra of adding c-PFB15 or (c-PFB15:a-PFP=2:1) in DNA with Texas Red solution (1×10^{-8} M).

을 하는 경우와, a-PFP과 c-PFB15이 상호작용을 한 후 TR과 상호작용을 하는 경우가 생길 수 있다. a-PFP과 TR만이 상호작용을 하며, a-PFP에서 TR로 에너지 전달이 일어날수 없어 413 nm에서의 형광이 나타나게 된다. Fig. 4에서는 TR(1×10^{-8} M)과 c-PFB15(3×10^{-7} M)을 충분히 교반시킨 후, a-PFP을 추가하여 형광을 나타내었다. 1×10^{-8} M 농도의 TR 수용액 10 ml에 3×10^{-7} M의 c-PFB15 수용액 10 ml을 첨가하여 1시간 동안 교반시킨 후, 각각의 농도를 가진 a-PFP 수용액 10 ml를 추가하여 약 10분간 교반한 후 형광을 측정하였다. a-PFP(4×10^{-8} M)까지 추가할 때에는 충분히 에너지 전달이 일어났지만 그 이상에서는 일정량만이 에너지 전달이 일어나고 나머지 부분은 a-PFP 고유의 형광을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

a-PFP과 c-PFB15을 1:2비율의 농도를 가진 수용액 동일 양을 각각을 약 1시간 동안 교반시킨 후, 이 혼합액 20 ml을 1×10^{-8} M 농도의 TR 수용액 10 ml에 추가하여 약 10분

간 교반시킨 후 형광을 측정하였다. Fig. 5에서는 a-PFP과 c-PFB15 1:2비율의 고분자를 먼저 충분히 교반을 한 후 TR(1×10^{-8} M)에 첨가하였을 때에는 약 615 nm에서만 형광이 나타난 것을 확인할 수 있었다. 이는 a-PFP의 에너지가 c-PFB15으로 충분히 이동을 한 후 TR을 만나 FRET이 일어났다는 것을 의미한다. a-PFP과 c-PFB15을 각각 TR에 추가하였을 경우에는 각각의 고분자들이 TR로 에너지 전달이 일어나면서 a-PFP의 형광이 남아있는 반면 충분히 교반을 한 후 TR에 추가를 하면 a-PFP과 c-PFB15이 파이-파이 상호작용(π - π interactions)에 의하여 고분자간의 거리가 훨씬 가까워져서 먼저 a-PFP에서 c-PFB15로 에너지 전달이 일어난 다음 c-PFB15에서 TR로 에너지 전달이 일어나기 때문에 깨끗한 615 nm에서의 단일 형광을 얻을 수 있다. Fig. 6에서 보는 것과 같이 TR(1×10^{-8} M)에 같은 양의 고분자를 추가하여도 a-PFP과 c-PFB15을 1:2로 추가하였을 때 훨씬 높은 형광을 나타내는 것을 확인하였

다. 이는 단일로 c-PFB15을 사용하는 경우보다 높은 형광 효율을 보이는 것을 확인하였다.

실 험

모든 화학 물질은 알드리치로부터 구입하여 사용하였다. ¹H NMR은 Varian Unity 400 MHz을 사용하였으며 UV-vis 흡수는 Shimadzu UV-2401 PC diode array spectrometer을 이용하여 측정하였다. 형광은 Xenon lamp를 광 소스로 가지는 PTI Quantum Master fluorometer을 사용하였다. Oligonucleotide (ssDNA-TR: 50-TR-ATC TTG ACT ATG TGG GTG CT, 20-base oligonucleotide)은 Genscript Corp.에서 구입하였으며 DNA 형광 농도는 200 mL quartz cuvette를 사용하여 260 nm에서 흡광시켜 측정되었다.

결 론

형광 공명 에너지 전달특성을 가진 공액 고분자 전해질의 바이오 센서로의 특성을 확인을 위한 다양한 실험을 진행하였다. 많이 사용되고 있는 cationic 공액 고분자 전해질 물질에 aionic 공액 고분자 전해질을 도입함으로써 더욱 높은 선택성 및 효율을 나타낸다는 것을 확인할 수 있었다. aionic 공액 고분자 전해질을 이용한 바이오 센서 개발의 가능성을 확인할 수 있었으며, 선택성을 높이는 간단한 방법을 제안할 수 있었다.

Acknowledgment. 이 논문은 2011학년도 부경대학교의 지원을 받아 수행된 연구임(PK-2011-58(C-D-2011-0074)).

REFERENCES

- Song, S.; Jin, Y.; Kim, S. H.; Moon, J.; Kim, K.; Kim, J. Y.; Park, S. H.; Lee, K.; Suh, H. *Macromolecules* **2008**, *41*, 7296.
- Kim, B.; Jung, I. H.; Kang, M.; Shim, H. K.; Woo, H. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 3133.
- Jin, Y.; Jee, J.; Kim, K.; Kim, J.; Song, S.; Park, S. H.; Lee, K.; Suh, H. *Polymer* **2007**, *48*, 1541.
- Song, S.; Jin, Y.; Park, S. H.; Cho, S.; Kim, I.; Lee, K.; Heeger, A. J.; Suh, H. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 6517.
- Cho, S.; Seo, J. H.; Kim, S. H.; Song, S.; Jin, Y.; Lee, K.; Suh, H.; Heeger, A. J. *Appl. Phys. Lett.* **2008**, *93*, 263301.
- Brgi, L.; Turbiez, M.; Pfeiffer, R.; Bienewald, F.; Kirner, H.-J.; Winnewisser, C. *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 2217.
- Forrest, S. R. *Nature* **2004**, *428*, 911.
- Kim, B.; Jung, I. H.; Kang, M.; Shim, H. K.; Woo, H. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 3133.
- Garcia, A.; Jin, Y.; Brzezinski, J. Z.; Nguyen, T. Q. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 22309.
- Lin, C. Y.; Garcia, A.; Zalar, P.; Brzezinski, J. Z.; Nguyen, T. Q. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 15786.
- Pace, G.; Tu, G.; Fratini, E.; Massip, S.; Huck, W. T. S.; Baglioni, P.; Friend, R. H. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 2073.
- Feng, G.; Liang, J.; Liu, B. *Macromol. Rapid Commun.* **2013**, *34*, 705.
- Pu, K. Y.; Cai, L.; Liu, B. *Macromolecules* **2009**, *42*, 5933.
- Zhou, Q.; Swager, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7017.
- Liu, B.; Bazan, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1188.
- Pu, K. Y.; Fang, Z.; Liu, B. *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 1321.
- Kang, M.; Nag, O. K.; Hwang, S.; Kim, I.; Yang, H.; Kyhm, K.; Woo, H. Y. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 15482.
- Kang, M.; Nag, O. K.; Nayak, R. R.; Hwang, S.; Suh, H.; Woo, H. Y. *Macromolecules* **2009**, *42*, 2708.
- He, F.; Feng, F.; Wang, S.; Li, Y.; Zhu, D. *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 3702.
- Jin, Y.; Yang, R.; Suh, H.; Woo, H. Y. *Macromol. Rapid Commun.* **2008**, *29*, 1398.
- Yang, R. Q.; Garcia, A.; Korystov, D.; Mikhailovsky, A.; Bazan, G. C.; Nguyen, T. Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16532.
- Liu, B.; Bazan, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1942.