

다양한 모양을 갖는 플라즈모닉 금 나노입자 합성 및 표면 플라즈몬 공명 바이오센서에 적용

Synthesis of Plasmonic Gold Nanoparticles with Different Shapes and
their Applications to Surface Plasmon Resonance Biosensors

이혜진 · 김수희 · 한혜연 · 김은미 | Hye Jin Lee · Suhee Kim · Hye Youn Han · Eunmi Kim

Department of Chemistry and Green-Nano Materials Research Center, Kyungpook National University,
80 Daehakro, Buk-gu, Daegu 702-701, Korea
E-mail: hyejinlee@knu.ac.kr

1. 서론

나노기술(nanotechnology)은 급속도로 성장하여 현재 모바일 IT 연구를 비롯하여 에너지, 바이오, 화학 등 다양한 분야의 과학 및 공학 연구와 산업 발전에 크게 기여하고 있다. 그 중 고분자 나노 소재를 포함한 반도체 및 금속성 나노소재 등 다양한 기능성 소재 개발이 가능한 나노 소재 연구 분야는 나노바이오의료 및 나노전자 분야 등의 나노융합 기술분야에 접목되어 전자공학, 생명과학, 의학, 환경 및 식품 분야에 이르기까지 다양한 분야에 혁신적인 변화를 일으키며 빠르게 성장하고 있다.¹⁻³ 특히 금속성 나노소재 중 금 나노입자는 바이오 칩 기반의 센서에 접목되어 의료 및 생명과학 분야에 더욱 더 활발히 활용되고 있다.⁴

칩 기반의 바이오센서는 타겟 생물질과 특이적으로 결합하는 탐침용 리간드(probe)를 글라스나 금속 박막 칩 등의 고체 표면 위에 고정하여 타겟물질에 노출하였을 때 서로간의 특이적인 결합으로 인한 검출신호를 측정하는 센서이다. 이때, probe로는 핵산, 항체, 단백질, 펩타이드, 조직 등이 활용되고 있다.⁵ 검출방법으로는 형광물질의 세기 변화,⁶ 나노자성체를 이용한 자장의 변화⁷ 등을 측정하는 방법이 주로 활용되고 있으며, 이들은 검출 신호 변화를 낼 수 있는 신호형질의 도입이 필요한 분석법으로, 사전에 타겟 물질이나 이차 탐침용 물질에 신호형질을 도입하여 활용해야 하는 단점이 있다. 이와 달리 신호 형질을 도입하지 않는 분석법도 있는데, 그 예로는 quartz crystal microbalance(QCM),⁸ atomic force microscopy(AFM),⁹ surface plasmon resonance (SPR)¹⁰ 등이 있다. 그 중 SPR은 박막 굴절계 측정 센서로, 분석시료가 금속 박막 센서표면에 고정된 probe와

Author



이혜진

1991 단국대학교 과학교육과 (학사)
1994 서강대학교 화학과 (석사)
1999 Ecole Polytechnique Federale de Lausanne 화학과 (박사)
2008-현재 경북대학교 화학과 조교수, 부교수



김수희

2008 경북대학교 화학과 (학사)
2010 경북대학교 화학과 (석사)
2014-현재 경북대학교 화학과 (박사과정)



한혜연

2013 경북대학교 화학과 (학사)
2014-현재 경북대학교 화학과 (석사과정)



김은미

2009 영남대학교 화학과 (학사)
2014-현재 경북대학교 화학과 (연구원)

특이적 반응을 하였을 때 박막표면에서 굴절률의 변화를 측정하는 방법이다. 이 방법은 타겟 물질의 농도를 측정할 수 있을 뿐 아니라 결합과 해리 과정 등을 실시간으로 검출할 수 있는 방법으로, 생명공학, 단백질학 연구, 신약 개발, 식품 및 환경과학에 이르기까지 유용하게 활용되고 있다.¹⁰ 하지만 검출한계가 약 nM 또는 sub nM 수준이어서 시료 안에 타겟 물질의 농도가 매우 낮을 경우(예: pM 이하)나 굴절률의 변화가 작은 분자의 경우 활용에 제한을 받을 수 있다.

지난 10여년 동안 SPR 검출법의 민감도 또는 검출한계를 증폭시키기 위한 다양한 연구가 이루어져왔다.¹¹⁻¹⁴ 그 중 표면에서 사이트 선택적인 효소 증폭반응을 이용하여 생물질을 검출한 연구와 우수한 광학적 성질을 띠는 금속성 나노입자 특히 금 나노입자를 융합하여 SPR 기반의 검출 신호를 증폭한 연구가 활발하게 이루어졌다. 따라서 본 논문에서는 모양과 구조에 따라 플라즈모닉 성질이 변하는 금 나노입자의 합성방법과 이들에 바이오기능성을 도입하여 SPR 기반의 바이오센서에 접목하여 센서의 성능을 극대화 한 최신 연구 동향에 대해 논의하고자 한다.

2. 본론

2.1 금 나노입자 합성 및 플라즈모닉 성질 조사

금 나노입자(GNP) 콜로이드 용액은 금 이온을 간단한 전기화학적 방법으로 환원하여 합성할 수 있으며, 크게 세가지로 분류할 수 있다. i) citrate를 이용한 환원법,¹⁵ ii) 광촉매를 이용한 환원 반응법¹⁶ 그리고 iii) seed mediated growth 합성법¹⁷⁻²¹이 있다. 위 방법으로 구형의 금 나노입자¹⁵뿐만 아니라 다각형,¹⁸ 큐브,²⁰ 삼각형,¹⁶ 별모양¹⁹ 그리고 중형비가 크거나 작은 막대모양^{17,21}의 금 나노입자 등을 합성할 수 있다. 이러한 금 나노입자는 화학적으로 매우 안정하고 바이오기능성 도입이 용이하며 크기와 모양에 따라 광학적 성질이 달라지는 특성을 가지고 있어, 바이오센싱을 비롯한 폭넓은 생명 및 의공학분야 연구에 사용되고 있다.²² 또한 금 나노입자와 유사한 파장을 갖는 광원을 사용하는 광학 분석기기(예: SPR)에 접목하여 유용하게 활용될 수 있다.^{14,22}

그림 1은 모양과 크기에 따라 가시광선 파장 영역에서 다양한 플라즈몬 밴드를 갖는 금 나노입자의 UV-vis 스펙트럼과 합성된 각각의 금 나노입자의 대표적인 transmission electron microscopy (TEM) 사진을 나타냈다.

i) 구형의 금 나노 입자를 합성하는 citrate 환원 방법은 리플릭스 환경에서 가열된 HAuCl₄ 용액에 citrate 용액을 넣어 Au³⁺ 이온을 Au로 환원하는 방법이다.¹⁵ 여기서 불균일하게 합성된 금 나노입자 콜로이드는 필터를 이용하여 제거할 수 있다. HAuCl₄ 용액과 citrate 용액의 반응 몰 비에 따라 다른 크기의 구형 나노입자($\lambda_{\max} = 520-530$ nm, $L = \sim 10-50$ nm)

가 합성될 수 있다. ii) 광촉매를 이용하여 환원하는 경우, 빛을 조사하여 금 이온의 환원반응을 유도할 수 있으며, 이를 통해 예를 들어 삼각형의 금 나노입자($\lambda_{\max} = 520$ nm, $L = \sim 40-250$ nm)를 합성할 수 있다.¹⁶ iii) seed mediated growth 방법은 계면활성제인 hexadecyltrimethylammonium bromide(CTAB)을 이용하여 금 나노입자가 성장할 수 있는 틀을 제공하고 환원제의 양을 변화시켜 다양한 중형비 및 크기와 모양을 갖는 금 나노입자를 합성하는 방법이다.¹⁷⁻²¹ 예를 들어 금 나노입자 성장을 위한 growth 용액(CTAB 용액, AgNO₃, L-ascorbic acid로 구성)에 seed 용액(HAuCl₄, 환원제인 NaBH₄, 과량의 CTAB 용액으로 구성)을 넣어 합성할 수 있다.¹⁷⁻²⁰ 만약 growth 용액에 사용되었던 L-ascorbic acid 용액의 농도는 진하게 준비하고 seed 용액을 묽힌다면 금 나노큐브($\lambda_{\max} = 535$ nm, $L = \sim 50$ nm)를 합성할 수 있으며,²⁰ 이때 L-ascorbic acid를 hydroquinone로 대체한 growth 용액에서 금 seed를 성장시킨다면 중형축의 비가 길어지며 약 1,100 nm의 플라즈몬 밴드를 갖는 금 나노막대를 합성할 수 있다.²¹ 또한 growth 용액에 L-ascorbic acid, AgNO₃와 함께 NaOH가 포함된다면 금 나노스타($\lambda_{\max} = 570, 780$ nm, $L = \sim 100$ nm)를 얻을 수 있다.¹⁹ 만약 CTAB 대신 sodium citrate를 사용한 seed 용액을 growth 용액(L-ascorbic acid와 NaOH 포함)에 넣는다면, 다각형의 금 나노입자($\lambda_{\max} =$

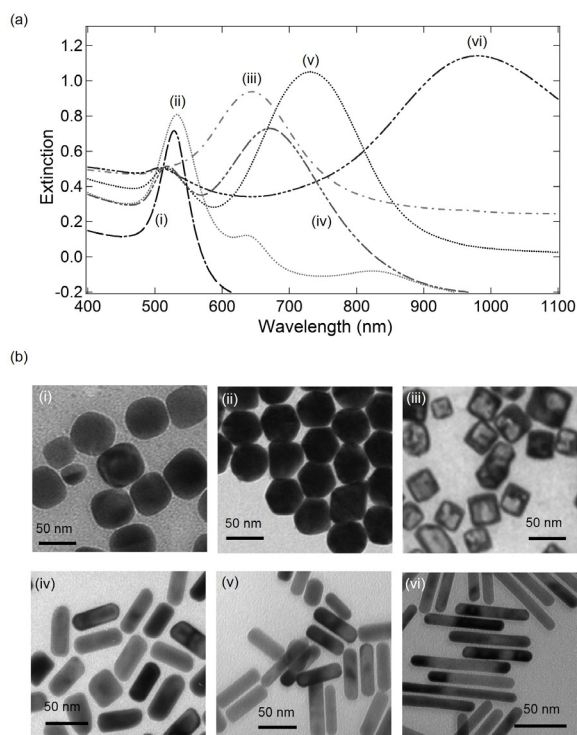


그림 1. (a) A series of UV-vis spectra for different shapes and sizes of gold nanoparticles and (b) the corresponding TEM images of each nanoparticles. (i) Gold nanocubes, (ii) polyhedral gold nanoparticles, (iii) gold nanocages, (iv-vi) gold nanorods with different axis ratios.

표 1. Different Strategies to Functionalize Gold Nanoparticles with Biomolecules Alongside a List of Examples for SPR Based Biosensing in Conjunction with Different Types of Biofunctionalized Gold Nanoparticles

Measurement methods	Types of conjugation methods for GNPs	Types of GNPs	Biomolecules for conjugation	Target biomolecules	Ref
SPR	Covalent linking chemistry (EDC/NHS)	Sphere	Biotin	Cholera toxin	31
		Rod	Anti-Transferrin	Transferrin	33
		Rod, cage polyhedral	Anti-Thrombin	Thrombin	30
		Cube	Anti-BNP	BNP	35
		Polyhedral	Anti-Human IgG	Human IgG	28
	Neutravidin-biotin	Sphere	Neutravidin-biotinylated anti-CEA	Carcinoembryonic antigen (CEA)	37
	Thiol attachment	Sphere	DNA Anti-cMb	IgE, thrombin, Cardiac myoglobin	51, 38, 52
	Physiosorption	Sphere	Anti-PSA	Prostate-specific antigen (PSA)	26
		Rod	Anti-TNF α	Tumor necrosis factor alpha (TNF α)	25
LSPR	Covalent linking chemistry (EDC/NHS)	Sphere	Anti-CRP	C-reactive protein (CRP)	32
	Covalent linking chemistry (glutaraldehyde/NaCNBH ₃ coupling)	Nanostar	Anti-PSA	PSA	40
	Covalent linking chemistry (linker: ATPMS/NHS)	Sphere	Biotin	Streptavidin	41
	Physiosorption	Sphere	Anti-Biotin	Biotin	24
	NTA-Ni(II)-histidine chemistry	Sphere	Decahistidine-tagged IFNAR2	IFN α 2	36
SPR imaging	Thiol attachment	Sphere	DNA	DNA	50, 53
	Streptavidin-biotin	Sphere	Streptavidin- Biotinylated DNA	DNA	36

530 nm, $L = \sim 50$ nm)¹⁸를 만들 수 있다. 금 나노케이지를 합성할 경우, 두 종류의 금속을 사용하는데 우선, 은 나노큐브를 합성하고 그 표면에 금을 입힌다. 그리고 갈바닉 변환방법으로 은 나노큐브를 녹여내면 속이 빈 금 나노케이지($\lambda_{\max} = 640$ nm, $L = \sim 40$ nm)가 완성될 수 있다.²³

2.2 금 나노입자에 바이오기능성 도입 방법

앞서 언급하였듯이 금 나노입자는 우수한 광학적 성질을 가지며, 표면에 흡탈착 시 큰 굴절률 차이를 나타내고, 화학적, 생물학적으로 안정적이다. 특히 금 나노입자의 특성에 바이오기능성을 도입하고 SPR에 접목하여 그 감도를 증폭시키는 “나노입자 증대형의 SPR 분석법”이 최근 활발하게 개발되고 있는 추세이다.¹⁴ 이러한 나노입자 증대형 바이오센서의 성능을 향상시키기 위해 우수한 바이오기능성을 가지는 나노입자를 합성하는게 매우 중요하며, 지난 10여 년간 바이오물질을 금 나노입자 표면에 고정하기 위한 다양한 노력이 개발되었다. 물리적인 흡착법에 의해 고정하는 방법²⁴⁻²⁶ 및 다양한 cross-linker 화합물을 이용하여 공유결합시키는 방법²⁷⁻³⁵이 있다. 이와 함께 금 입자와 바이오물질에 각각

streptavidin이나 neutravidin 또는 avidin과 biotin을 컨쥬게이션하여 이들간의 강한 결합력을 이용하여 기능성을 도입하는 방법이 활용되기도 한다.^{36,37} 표 1은 다양한 모양과 크기의 금 나노입자에 서로 다른 종류의 생물질을 도입하는 표면고정화 방법들과 이를 SPR 기반 분석법에 응용한 최근 연구 결과물을 정리한 것이다. 예를 들어 Tothill 연구팀은 금 나노입자에 prostate-specific antigen 항체(anti-PSA)를 단순 흡착법에 의해 코팅하고, 탐침용 anti-PSA를 고정한 SPR 칩에 PSA와 함께 순차적으로 결합시켜 PSA 농도를 SPR로 분석하였다.²⁶ Feng 연구팀은 thrombin을 검출하기 위해 thrombin과 잘 결합하는 두 개의 서로 다른 서열을 갖는 DNA 앵타머를 활용하였다. 그 중 하나의 앵타머 말단을 SH로 처리하여 금 나노입자에 직접 고정하고 다른 서열의 앵타머로 SPR용 칩을 제작하였다. SPR 칩에 순차적으로 thrombin과 금 나노입자를 흘려주어 표면센드위치복합체를 형성함으로써 thrombin을 고감도로 검출하였다.³⁸ Spoto 연구팀은 금 나노입자에 streptavidin을 흡착시켜 biotin 말단기를 갖는 DNA를 결합시킨 후 이를 SPR imaging 분석법에 적용하여 genomic DNA를 검출한 결과를 보고하였다.³⁶ Piehler

연구팀은 trisnitrilotriacetic acid 기능을 도입한 polylysine과 polyethylene glycol로 구성된 copolymer를 금 나노입자에 고정화한 후 Ni(II) 존재하에 polyhistidine으로 tagging된 단백질을 결합시켰다. 이 방법을 이용하여 금 나노입자에 interferon 리셉터의 subunit인 IFNAR2를 코팅한 후 IFN α 2 리간드가 결합하는 것을 localized SPR (LSPR)로 검출하였다.³⁹

이외에도 금 나노입자에 바이오물질을 공유결합시킬 수 있는 다양한 cross-linker 화합물^{27-35,40,41}을 이용하여 좀 더 안정한 나노바이오컨쥬게이트를 합성할 수 있는데, 그 중 1-ethyl-3-(3dimethylaminopropyl)-carbodiimide/N-hydroxysuccinimide(EDC/NHS)가 보편적으로 활용되고 있다. 즉, EDC/NHS를 이용하여 금 나노입자 표면에 자가조립된 carboxylic acid 말단기와 바이오물질에 존재하는 아민기를 공유결합시킬 수 있다. 본 연구실에서도 EDC/NHS를 이용하여 여러가지 모양의 금 나노입자(큐브, 막대, 구형, 다각형 등에 바이오기능성을 도입하였으며, 이를 SPR에 융합시키는 방법을 통해 IgE, thrombin, B-type natriuretic peptide (BNP) 등을 고감도로 검출하는데 적용하였다.^{27,30,34,35} Wu 연구팀은 금 나노입자에 3-aminopropyl-trimethoxysilane (ATPMS)를 이용하여 아민 기능을 고정하고, NHS로 컨쥬게이션된 biotin을 공유결합시켜 LSPR에 적용함으로써 streptavidin의 농도를 측정하는데 활용하였다.⁴¹

이러한 금 나노입자를 센싱 플랫폼에 융합하기 위해서는 금 나노입자에 코팅된 바이오물질의 존재 및 활성도의 여부를 확인하는 것이 필수적이다. 이것은 간단히 UV-vis 분광법을 통해 확인할 수 있다. 그림 2는 EDC/NHS를 이용하여 다각형의 금 나노입자와 금 나노막대에 각각 앵타머와 항체를 도입하였을 때 UV-vis 스펙트럼 변화를 나타낸 것이다. 항체 내에 더 많은 가시광선 발색단이 내재되어 있어 앵타머(약 30 bases) DNA보다 항체(MW: 약 150 kDa)를 코팅한 경우, 가시광선 영역에서 최대파장 값이 장파장으로 더 많이 이동한 것을 볼 수 있다.

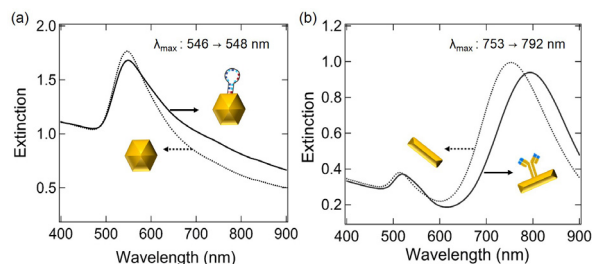


그림 2. Representative UV-vis spectra of (a) polyhedral gold nanoparticles and (b) gold nanorod solutions. In each case, dotted and solid lines were the nanoparticles before and after coating with biomolecules, respectively. DNA and antibody were used in (a) and (b), respectively.

2.3 SPR 기본원리

표면플라즈몬공명법(SPR)은 표면에서의 변화에 민감한 광학기반 측정법으로 금 또는 은 등의 금속 박막과 유전물질 경계면에서 생성되는 collective 전자 밀도의 진동에 의한 표면전자기파의 공명현상에 기본 원리를 두고 있다.^{42,43} SPR 분석기기를 간단하게 도시화한 그림 3a를 보면, 크게 광원, 편광기, 프리즘/금 박막 칩/흐름셀 어셈블리, 필터 및 검출기로 구성되어 있다. 편광기를 통해 p-편극화된 빛이 금 박막 칩 뒷면에서 조사될 때 금 박막과 흐름셀 안의 유전물질 경계면에서 표면전자기파가 형성된다.^{42,43} 이 때 조사한 빛의 특정 각도(SPR 각)에서 시료 안에 유전체가 금속박막 표면층에 흡탈착되는 정도에 따라 질량이 증감하거나 유전체 물질의 구조 변화로 인해 SPR 각이 크게 바뀌어 굴절률이 변하는 것을 측정하는 방법이다(그림 3b). 이를 테면 그림 3c와 같이 타겟 단백질과 상호결합하는 DNA-aptamer를 고정한 금 박막 칩에 타겟을 주입하였을 때 타겟 단백질이 aptamer와 결합함에 따라 굴절률이 증가하는 것을 볼 수 있다. 즉, 실시간으로 측정하고자 하는 타겟의 흡탈착을 모니터링할 수 있는 유용한 *in-situ* 분석법이다. 또한 금 박막 칩에 원하는 타겟과 잘 결합할 수 있는 다양한 종류의 probe를 도입할 수 있어 다기능성, 타겟 맞춤형 등의 분석 센서로 전환할 수 있다.

SPR 분석법은 사용하는 빛의 파장과 입사각 등을 변화시키는 방법에 따라 i) Biacore 제품을 비롯하여 전 세계적으로 많은 회사들이 입사각에 따라 굴절률 차이를 측정하는 scanning angle SPR,⁴² ii) 파장을 변화시키면서 굴절률 차이를 측정하는 FT-SPR,⁴⁴ iii) 마이크로어레이 형태로 다양한 탐침용 물

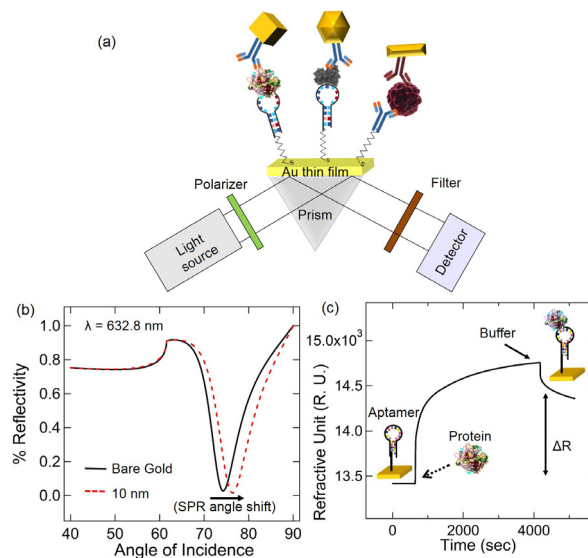


그림 3. (a) Simplified schematic of surface plasmon resonance set-up, (b) Plots of % reflectivity as a function of changes of incidence angle, (c) An example of SPR sensorgram for the adsorption of proteins onto aptamer modified surfaces.

질을 금 박막 표면에 일정한 배열로 고정하고 시료물질이 흡탈착할 때 변화되는 굴절률 양을 CCD로 영상화할 수 있는 SPR imaging 방법으로 분류할 수 있다.⁴⁵ 평평한 금 박막 칩을 활용한 위 세가지 SPR 방법과는 달리 nm 크기의 금속 구조에서 형성된 국소적인 표면 플라즈몬 현상에 기반을 둔 LSPR도 있다.⁴⁶ 이때 금속 나노구조는 nm 사이즈의 패턴으로 표면을 공정하거나, 평평한 표면 위에 나노물질을 흡착시켜 제작할 수 있다.⁴⁶ 현재 이러한 SPR 분석법은 비단 생물질 간의 결합력 측정이나 검출뿐 아니라, 고분자를 포함한 화학물질의 흡탈착과 효소반응 및 광화학적 반응 등을 측정하는 연구에까지 다양하게 활용되고 있다.^{13,42,43,46}

2.4 금 나노입자 증대형 SPR 바이오센서 개발 및 응용

앞서 언급한 바와 같이, SPR 분석법은 많은 장점을 가진 분석법이다. 하지만, 모든 물질은 고유한 굴절률(refractive index)을 가지고 있기 때문에 원하지 않는 물질이 SPR 칩 표면에 비특이적으로 흡탈착할 경우에 SPR 신호를 크게 변화시킬 수 있으며, 아울러 칩 또는 표면 기반의 다른 분석법^{6,47} (예: 형광 측정법, 전기화학 측정법 등)에 비해 다소 감도가 떨어지기 때문에 정확·정밀도가 중요시 되는 실제 시료 분석 시 여전히 어려운 점이 많다. 이를 극복하기 위한 방법으로 사이트 선택적인 표면효소반응을 SPR 분석법에 융합하여 생물질 분석에서의 감도와 선택성을 증대시킨 결과가 보고된 바 있다.^{11,12} 효소반응뿐 아니라 다양한 플라즈몬성질을 갖는 금 나노입자를 적용하여 SPR 분석법의 검출 감도를 증폭시킨 “나노입자증대형 SPR 바이오센서”가 다수 발표되었다.¹⁴ 이와 더불어 효소 증폭 반응과 바이오기능성이 도입된 나노입자를 이중으로 활용하여 SPR 바이오센서의 감도를 더욱 증폭시킨 결과도 발표되었다.⁴⁸ 본 세션에서는 바이오기능성 금 나노입자를 SPR 바이오센서에 적용하여 단백질, 핵산, 질병진단용 바이오마커 등을 검출한 예에 대해 다루고자 한다.

1998년 Natan 연구그룹이 구형의 금 나노입자를 SPR에 접목시켜 DNA를 고감도로 검출할 수 있음⁴⁹을 보고한 이후로 많은 연구자들이 구형의 금 나노입자 외에도 각양각색의 금 나노입자에 바이오기능성을 도입하여 SPR, LSPR 및 SPR imaging에 적용함으로써 고감도의 바이오센서를 개발하여 왔다(표 1).

예를 들어 SPR의 경우 Homola 연구팀³⁷은 나노입자 증대형 SPR로 단백질을 검출할 때 사용되는 나노입자의 크기가 센서 감도에 미치는 효과를 밝히기 위해 타겟 단백질로 carcinoembryonic antigen(CEA)을 선정하고, anti-CEA로 구성된 SPR칩 표면에 CEA와 이차항체로 코팅된 구형의 나노입자를 주입하여 샌드위치 복합체를 형성하여 SPR 신호변화를 측정하였다. 이 때 구형의 금 나노입자는 neutravidin

으로 먼저 코팅하고, biotin으로 컨쥬게이션된 이차항체를 결합시켜 바이오기능성 나노입자를 만들어 사용하였다. 그 결과, 금 나노입자의 크기가 커질수록 표면밀도가 증가하여 SPR 신호가 커짐과 동시에 입체적 방해효과가 작용함을 밝혔으며, 검출 신호 증대를 위해서는 나노입자의 크기 조절이 중요하다는 것을 보고하였다. 또한, Cheng 연구팀은 cholera toxin(CT)을 검출하기 위하여 지질층으로 구성된 SPR용 칩에 CT, biotin으로 컨쥬게이션된 anti-CT와 avidin 및 biotin으로 코팅된 금 나노입자를 순차적으로 흘려주어 표면 샌드위치를 형성함으로써 약 160 aM 농도의 CT를 검출한 결과를 발표하였다.³¹

LSPR을 활용한 예로, Van Duyne 연구팀에서는 은 나노프리즘 패턴을 갖는 표면에 biotin을 고정하고, antibiotin을 컨쥬게이션한 20 nm의 금 나노입자를 흘려주어 반응시켰을 때 금 나노입자를 사용하지 않았을 때 보다 약 200배 향상된 biotin-antibiotin 결합상수와 400% 이상 LSPR 민감도 향상 효과가 있음을 보여주었다.²⁴ 그리고 Kang 연구팀은 anodic aluminum oxide(AAO) template를 이용하여 Ni과 Au로 구성된 LSPR용 나노표면을 제작하고 C-reactive protein (CRP) 결합용 항체를 고정한 다음, CRP를 반응시킨 후 10 nm의 금 나노입자에 이차항체를 컨쥬게이션하여 주입한 결과 약 100 ag/mL의 CRP를 검출할 수 있었다.³²

SPR imaging 분석법으로도 금 나노입자를 이용한 감도 증폭 효과를 보여준 연구 결과가 다수 보고되었다.^{36,48,50} 그 예로 Corn 연구팀은 SPR imaging용 DNA칩 표면에서 RNA transcription 반응과 DNA로 코팅된 금 나노입자를 순차적으로 반응시켜 약 1 fM 농도의 DNA를 검출하였다.⁵⁰ 반면에, Spoto 연구팀은 화학적 처리가 된 금 표면에 peptide nucleic acids를 고정하고 이에 상보서열을 갖는 DNA 타겟을 hybridization한 후 polymer chain reaction과 DNA로 코팅된 금 나노입자를 도입하여 타겟 DNA를 41 zM까지 측정된 결과를 보고하였다.³⁶

그림 4는 본 연구실에서 최근 발표한 금 나노입자 증대형 SPR 분석법 중 금 나노입자 증대형 SPR 분석법 중 금 나노입자 증대형 SPR 분석법

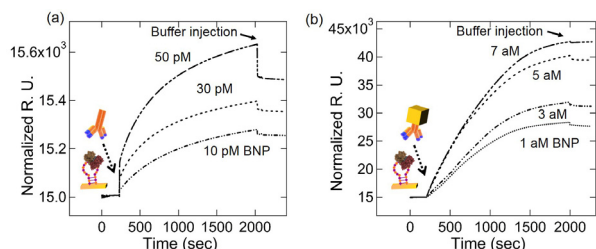


그림 4. SPR sensorgrams for different BNP concentrations using (a) anti-BNP and (b) nanocube-antiBNP conjugates with BNP aptamer on a thin gold film.³⁵ Reproduced with permission of *Analytical Chemistry*.³⁵ Copyright (2014) American Chemical Society.

peptide(BNP)를 aM 농도까지 검출한 예를 나타낸 것이다.³⁵ 먼저 균일한 크기를 갖는 금 나노큐브에 BNP항체를 EDC/NHS 화학으로 고정하고, SPR용 금 박막 칩 위에 BNP에 특이적으로 결합하는 BNP애타머로 고정한 후 BNP를 흘려주어 칩 표면에 애타머/BNP/항체-나노큐브 샌드위치 복합체를 형성함으로써 BNP 검출감도를 증대시켰다. 그림에서 보듯이 금 나노큐브를 이용하지 않고 애타머/BNP/항체 샌드위치 복합체를 형성한 경우 pM 농도의 BNP를 검출할 수 있는 반면, 나노큐브를 접목함으로써 1 aM까지 측정할 수 있었다.³⁵ 본 연구팀은 금 나노큐브 뿐만 아니라, 금 나노막대, 다각형의 금 나노입자, 금 나노케이지에도 바이오기능성을 도입하여 SPR에 융합함으로써 다양한 단백질을 고감도로 검출할 수 있었다.^{27,30} 더 나아가서 한 종류의 나노입자가 아니라 두 가지의 서로 다른 모양의 바이오기능성 금 나노입자를 SPR에 융합하여 aM 미만의 단백질 농도를 측정할 예도 최근 발표하였다.³⁴

3. 결론

본 특집에서는 우수한 광학적 성질을 띠면서 높은 표면 밀도로 굴절률을 크게 변화시킬 수 있는 다양한 금 나노입자에 바이오기능성을 도입하여 SPR 분석법에 적용할 경우, 고감도로 생물질(예: 단백질)을 검출할 수 있는 방법에 대해 논하였다. 특히 바이오기능성을 갖는 금 나노물질을 접목시켜 샌드위치 복합체를 형성할 경우 시료를 신호형질로 레이블링하지 않아도 된다는 SPR 고유의 장점을 살릴 수 있으며, 한 가지 타겟 물질에 대해 두 가지의 리간드를 동시에 사용함으로써 분석법의 선택성을 넓힐 수 있다는 추가적인 장점이 있다. 이러한 장점으로 인해 감도 및 선택성이 극대화된 금 나노입자 증폭형의 SPR 분석법은 생명공학을 비롯한 의학진단, 식품과학 및 환경과학분야에 이르기까지 다방면에 활용 가능하다. 하지만, 나노입자 증폭형 SPR을 실제 시료 분석에 적용하기 위해서는 이들 나노입자의 사용으로 야기되는 비특이적 검출 신호와 실제 시료 안에 존재하는 다양한 방해물질의 비특이적 신호를 감소시킬 수 있는 방안이 적극적으로 활용되어야 할 것이다.

감사의 글

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (2013R1A1A2A10005267).

참고문헌

1. S. K. Sahoo, S. Parveen, and J. J. Panda, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, **3**, 20 (2007).
2. B. D. Briggs and M. R. Knecht, *J. Phys. Chem. Lett.*, **3**, 405 (2012).
3. C. Szakal, S. M. Roberts, P. Westerhoff, A. Bartholomaeus, N. Buck, I. Illuminato, R. Canady, and M. Rogers, *ACS Nano*, **8**, 3128 (2014).
4. H. Jans and Q. Huo, *Chem. Soc. Rev.*, **41**, 2849 (2012).
5. L. Y. Yeo, H. Chang, P. P. Y. Chan, and J. R. Friend, *Small*, **7**, 12 (2011).
6. G. Ryu, J. Huang, O. Hofmann, C. A. Walshe, J. Y. Y. Sze, G. D. McClean, A. Mosley, S. J. Rattle, J. C. deMello, A. J. deMello, and D. D. C. Brandley, *Lab Chip*, **11**, 1664 (2011).
7. J. Llandro, J. J. Palfreyman, A. Ionescu, and C. H. Barnes, *Med. Biol. Eng. Comput.*, **48**, 977 (2010).
8. M. Liess, B. Petersen, H. Wolf, and E. Prohaska, *Anal. Chem.*, **74**, 4488 (2002).
9. A. Nayak and K. A. Suresh, *J. Phys. Chem. B*, **113**, 3669 (2009).
10. J. Homola, *Chem. Rev.*, **108**, 462 (2008).
11. H. J. Lee, A. W. Wark, and R. M. Corn, *Langmuir*, **22**, 5241 (2006).
12. H. J. Lee, A. W. Wark, and R. M. Corn, *Analyst*, **133**, 975 (2008).
13. K. E. Fong and L. L. Yung, *Nanoscale*, **5**, 12043 (2013).
14. S. Zeng, D. Baillargeat, H. Ho, and K. Yong, *Chem. Soc. Rev.*, **43**, 3426 (2014).
15. K. C. Grabar, R. G. Freeman, M. B. Hommer, and M. J. Natan, *Anal. Chem.*, **67**, 735 (1995).
16. A. Miranda, E. Malheiro, E. Skiba, P. Quaresma, P. A. Carvalho, P. Eaton, B. Castro, J. A. Shelnutt, and E. Pereira, *Nanoscale*, **2**, 2209 (2010).
17. B. Nikoobakht and M. A. El-sayed, *Chem. Mater.*, **15**, 1957 (2003).
18. T. K. Sau and C. J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 8648 (2004).
19. C. L. Nehl, H. Liao, and J. H. Hafner, *Nano Lett.*, **6**, 683 (2006).
20. X. Wu, T. Ming, X. Wang, P. Wang, J. Wang, and J. Chen, *ACS Nano*, **4**, 113 (2010).
21. L. Vigderman and E. Zubarev, *Chem. Mater.*, **25**, 1450 (2013).
22. M. Daniel and D. Astruc, *Chem. Rev.*, **104**, 293 (2004).
23. S. E. Skrabalak, L. Au, X. Li, and Y. Xia, *Nat. Protocols*, **2**, 2182 (2007).
24. W. P. Hall, S. N. Ngatia, and R. P. Van Duyne, *J. Phys. Chem. C*, **115**, 1410 (2011).
25. W. Law, K. Yong, A. Baev, and P. N. Prasad, *ACS Nano*, **5**, 4858 (2011).
26. Y. Uludag and I. E. Tothill, *Anal. Chem.*, **84**, 5898 (2012).
27. H. R. Sim, A. W. Wark, and H. J. Lee, *Analyst*, **135**, 2528 (2010).
28. J. Wang, D. Song, L. Wang, H. Zhang, H. Zhang, and Y. Sun, *Sens. Actuators, B*, **157**, 547 (2011).
29. E. J. Kim, B. H. Chung, and H. J. Lee, *Anal. Chem.*, **84**, 10091 (2012).
30. M. J. Kwon, J. Lee, A. W. Wark, and H. J. Lee, *Anal. Chem.*, **84**, 1702 (2012).

31. Y. Liu and Q. Cheng, *Anal. Chem.*, **84**, 3179 (2012).
32. S. Yeom, M. Han, B. Kang, K. Kim, H. Yuan, N. Eum, and S. Kang, *Sens. Actuators, B*, **177**, 376 (2013).
33. J. Zhang, Y. Sun, B. Xu, H. Zhang, Y. Gao, H. Zhang, and D. Song, *Biosensors & Bioelectronics*, **45**, 230 (2013).
34. S. H. Baek, A. W. Wark, and H. J. Lee, *Anal. Chem.*, **86**, 9824 (2014).
35. H. R. Jang, A. W. Wark, S. H. Baek, B. H. Chung, and H. J. Lee, *Anal. Chem.*, **86**, 814 (2014).
36. R. D'Agata, R. Corradini, C. Ferretti, L. Zanolli, M. Gatti, R. Marchelli, and G. Spoto, *Biosensors & Bioelectronics*, **25**, 2095 (2010).
37. T. Springer, M. L. Ermini, B. Spackova, J. Jablonku, and J. Homola, *Anal. Chem.*, **86**, 10350 (2014).
38. Y. Bai, F. Feng, L. Zhao, C. Wang, H. Wang, M. Tian, J. Qin, Y. Duan, and X. He, *Biosensors & Bioelectronics*, **47**, 265 (2013).
39. M. Bhagawati, C. You, and J. Piehler, *Anal. Chem.*, **85**, 9564 (2013).
40. L. Rodriguez-Lorenzo, R. Rica, R. A. Alvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzan, and M. M. Stevens, *Nat. Materials*, **11**, 604 (2012).
41. F. Chen, W. Fei, L. Sun, Q. Li, J. Di, and Y. Wu, *Sens. Actuators, B*, **191**, 337 (2014).
42. J. Homola, S. S. Yee, and G. Gauglitz, *Sens. Actuators, B*, **54**, 3 (1999).
43. R. B. M. Schasfoort and A. J. Tudos, *Handbook of Surface Plasmon Resonance*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge (2008).
44. R. M. Corn and S. C. Weibel, *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, J. Chalmers and P. R. Griffiths, Editors, John Wiley & Sons, Chichester, **2**, 1057 (2006).
45. J. M. Brockman, B. P. Nelson, and R. M. Corn, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **51**, 41 (2000).
46. K. M. Mayer and J. H. Hafner, *Chem. Rev.*, **111**, 3828 (2011).
47. M. Hervas, M. A. Lopez, and A. Escarpa, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **31**, 2012 (2012).
48. S. Fang, H. J. Lee, A. W. Wark, and R. M. Corn, *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 14044 (2006).
49. L. A. Lyon, M. D. Musick, and M. J. Natan, *Anal. Chem.*, **70**, 5177 (1998).
50. I. E. Sendroiu, L. K. Gifford, A. Luptak, and R. M. Corn, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 4271 (2011).
51. J. Wang, A. Munir, Z. Li, and H. S. Zhou, *Biosensors & Bioelectronics*, **25**, 124 (2009).
52. O. V. Gnedenko, Y. V. Mezentshev, A. A. Molnar, A. V. Lisitsa, A. S. Ivanov, and A. I. Archakov, *Analytica Chimica Acta*, **759**, 105 (2013).
53. L. K. Gifford, I. E. Sendroiu, R. M. Corn, and A. Luptak, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 9265 (2010).