폴리다이아세틸렌 기반 색변이 센서키트의 개발

Development of Polydiacetylene-Based Colorimetric Sensor Kits

정재원 · 서성백 | Jaewon Jung · Sungbaek Seo

Department of Biomaterials, Pusan National University,
1268-50, Samrangjin-ro, Samrangjin-eup, Miryang-si, Gyeongsangnam-do 50463, Koaea
E-mail: sbseo81@pusan.ac.kr

1. 서론

화학바이오센서는 전기화학적, 광학적 신호 변화 등을 통해 다양한 화학·바이오 물질들을 감지할 수 있는 센서로써, 특이적이고 민감하면서도 신속·간단하게 분석가능한 기술을 요구하고 있다.[1] 그 중에서도 비색형(colormetric) 화학바이오센서인 폴리다이아세틸렌(polydiacetylene, PDA) 기반 센서는 라벨 없이(label-free) 자체신호(self-signaling)를 증폭할 수 있고, 육안으로 색변이를 인지할 수 있기 때문에 고가 장비의 필요없이 편리하게 이용되고 있다.[2] 센서 소재로 연구되고 있는 PDA는 자기조립체(self-assembly)를 형성한 후 254 nm 파장의 UV 조사 시 다이아세틸렌 단량체(monomers)가 광중합되어 만들어진다. 이때, ene-yne polyconjugated chain에 의한 빛의 흡수로 인해 파란색을 나타낸다.[3-5] PDA는 다양한 화학·바이오물질(화학적 분석물, 바이러스, 단백질, 올리고 뉴클레오티드 등)과의 결합을 외부 자극으로 받아들여 PDA의 π-공액구조 길이와 각도의 변화를 통해 파란색에서 적색으로 색상 전환을 나타낸다.[6]

특히, 바이오센서로써의 응용을 위해 PDA 자기조립체는 수용액상에서 헤드그룹(head groups) 부분이 효과적으로 타겟물질과 결합할 수 있는 특이적인 수용체(receptors)의 역할을 할 수 있기 때문에 대부분 액체상 형태(liquid-phase sensor)로 이용한다.[7] 그러나, PDA 자기조립체는 액체상, 특히 생리학적 테스트에 이용되는 인산완충생리식염수(phosphate-buffered saline, PBS)에 불안정하고, 장기적으로 보관이 어려운 점, 휴대성이 낮은 한계점을 가진다. 반면, 고체상 형태(solid-phase)의 PDA센서는 지지체(supporter)에 PDA 자기조립체들이 고정화되어 있는 형태로써, 안정성이 높고 보관 및 휴대가 용이하여 현장진단형 검사(point-of-care-testing, POCT) 진단키트로써 사용되기에 적합하다.[8] 이런 이유로, 지금까지 Langmuir-Blodgett 필름,[9] 실리카 비드(silica beads),[10] 종이 등 다양한 고체상 지지체에 PDA의 고정화(immobilization)에 대한 시도가 이어져오고 있다. 이 중에서도 종이기반 키트형태의 센서는 간편하고 실시간 진단에 적합한 플랫폼을 제공하여서 가장 많이 사용된다.[11,12] 하지만, 현재까지 종이형태의 PDA센서는 종이와 PDA 자기조립체가 잘 결합되지 않고,[13] 광학적 신호가 약하다는 단점이 있다.[14] 본 특집에서는 키트형태의 PDA센서가 다양한 화학·바이오 타겟물질을 검출함에 있어서 센서민감도 및 선택성은 보강하면서 그 안정성과 휴대성을 향상시키는 키트의 개발을 위한 접근법에 대해 소개하기로 한다.

Author

정재원

2019 부산대학교 바이오소재과학과 (학사)
2019-현재 부산대학교 바이오소재과학과 (석사과정)

서성백

2006 연세대학교 화학공학과 (학사)
2008 연세대학교 화학공학과 (석사)
2014 Univ. of Michigan, Macromolecular Sci. & Eng. (박사)
2017 UC Santa Barbara (박사후연구원)
2017-현재 부산대학교 바이오소재과학과 조교수

2. 본론

2.1 센서키트의 중요성

현장진단(point-of-care, POC)기기는 자원이 제한된 지역에서 질병을 감지하고 모니터링하는 큰 장점을 제공한다. 환자 근처에서 분석물질을 신속하게 감지하는데 필수적이며, 이는 더 나은 질병진단 및 관리를 용이하게 한다. 또한, 질병을 매우 초기 단계에서 진단할 수 있어서 빠른 의학적 결정이 가능하며 조기 치료 시작을 가능하게 하여 환자의 건강 결과 또한 개선할 수 있다. 이러한 현장진단형 키트를 개발하기 위해서는 다음의 몇 가지 요건을 충족시켜야 한다. (1) 저렴한 가격, (2) 민감성, (3) 특이성, (4) 신속함, (5) 고가의 진단장비에 의존하지 않는 편이성, (6) 필요한 곳까지 신속 전달이 가능할 것 등의 몇 가지 측면을 고려해야 한다.

대부분의 PDA 센서는 주로 수용액상에서 자기조립체, 예를 들면, 리포좀의 형태로 개발되었다. 하지만 수용액 상의 PDA 리포좀 센서는 복잡한 시료준비 과정과 휴대와 용이성에서 문제점이 존재한다. 이는 PDA센서의 가장 큰 장점인 장비가 필요없이 육안으로 색변이가 관찰 가능하다는 점을 활용하지 못하고, 멀리서도 원격으로 현장진단 가능한 바이오센싱 어플리케이션에 제한을 가진다. 뿐만 아니라, 열에 불안정하고, 액체상에 PDA가 분산되어 있기 때문에 응집하려는 경향이 있어 표면적과 감도가 감소하여 육안으로 색변이를 정량화 하기 어렵다.[15] 이러한 한계를 극복하기 위해 고체상 지지체에 고정화된 PDA 센서 개발에 대해 많은 연구가 진행되고 있다.[16] 고체상 지지체에 PDA를 고정화시키면 응집을 방지하고 안정성을 향상시킬 수 있다. 현재까지 시도된 다양한 형태의 PDA센서키트는 사용이 쉽고 간편하며 휴대할 수 있다는 점에서 현장진단장치로 적용되기에 적합하다.[17]

T.J. Jeon 연구팀은 Bacillus Thuringiensis(BT) HD-73 포자를 인식할 수 있는 PDA종이 스트립 센서를 개발했다. 표적 특이적 압타머(target-specific-aptamer)를 PDA에 접합시킨 후, polyvinylidene fluoride(PVDF) 종이 스트립에 코팅한 후, 리포좀 형태의 PDA 에서와 센서 민감도 차이를 비교하였다. 리포좀 형태의 PDA에서의 검출 한계는 3×10^{10} CFU/mL이였고, 종이 형태의 PDA 센서에서의 검출 한계는 3×10^{7} CFU/mL로써, 인체에 해로운 수준보다 훨씬 낮은 농도에서 검출 가능 하였다. 이와 같이, 종이 스트립에 PDA를 고정하면, 용액 상에 분산되어 있는 리포좀 형태의 PDA 보다 감도가 100배 이상 향상된 것을 확인할 수 있었다. 이 연구에서 개발한 PDA 기반 종이센서는 별도의 전원 또는 감지 장치가 필요하지 않아 언제 어디서나 타겟 물질을 검출할 수 있다. 이 종이 센서는 쉽게 제작할 수 있고, 다른 표적에 적용할 수 있으며, 민감도 또한 향상시켜 주었다(그림 1).[18]

2.2 PDA 센서키트의 개발 동향

2.2.1 고분자 필름기반 센서키트

다이아세틸렌 단량체의 양친매성 특성으로 인해 Langmuir-Blodgett(LB) 또는 Langmuir-Schaefer(LS) 필름 형태의 형성이 가능하다.[19] 최근에는 LB 필름 형태의 안정성이 떨어지는 한계점을 해결하기 위해, PDA를 poly(vinylpyrrolidone)(PVP),[20] poly(vinyl alcohol)(PVA),[21] polydimethylsiloxane(PDMS)[22] 등 다양한 고분자 매트릭스에 끼워 넣는 형태도 쓰이고 있다.

Jianyong Yua 연구팀은 PDA 헤드그룹에 pentaehtylene glycol(5EG)를 작용기로 하여 Pb^{2+}를 검출하는 비색센서를 개발했다. 이 PDA 센서는 전기방사(electrospun) polyacrylonitrile

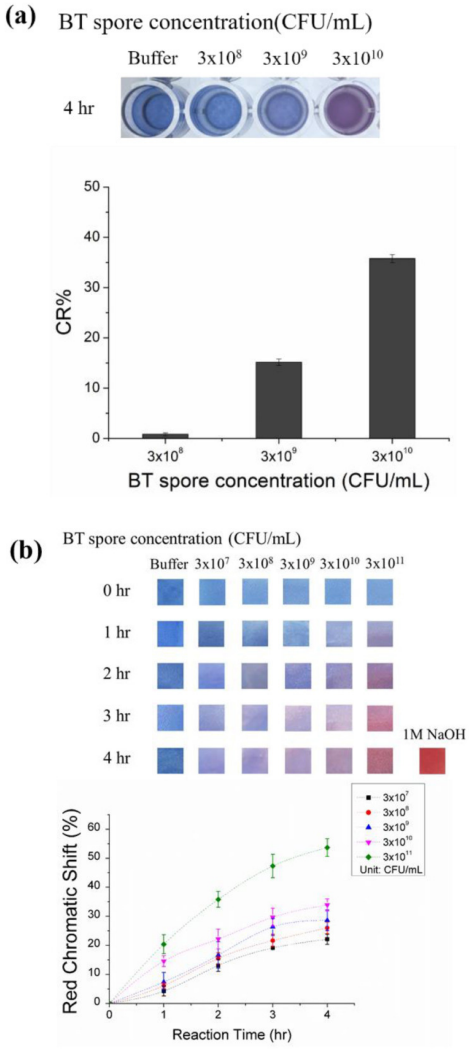

그림 1. BT 포자 농도에 따른 (a) PDA-앱타머 리포좀의 색변이 반응, (b) PDA-앱타머 종이 스트립의 색변이 반응.[18]

나노섬유막(nanofibrous membrane, PAN NFM)에 내장시킨 스트립의 형태로, 전기방사 나노섬유의 비표면적이 넓고, 섬유간 기공의 크기가 작으며, 상호연결성이 좋은 점을 이용하여,[23-25] PDA가 매트릭스에 더 잘 고정될 수 있어서 안정성과 감도를 증가시켰다(그림 2).[26]

Wenwu Cao 연구팀은 휘발성 유기화합물(Volatile Organic Compounds, VOCs)을 감지하기 위해 화학적 안정성과 광학적 투과율이 좋은 graphene을 지지체로써, PDA를 고정화시킨 필름을 개발하였다. 이 PDA/graphene 센서는 그래핀 시트(sheets)의 넓은 표면적에 PDA 초분자(supramolecules)가 효율적으로 잘 정렬될 수 있어서 기체분자의 흡수영역을 증폭시킬 수 있다. 또한 그래핀은 투명하기 때문에 그래핀 시트에 고정된 PDA 필름의 색 변화를 분광법(UV-vis 범위에서)을 통해 효율적으로 감지할 수 있으며 기계적·화학적 안정성도 우수하여 낮은 농도의 VOC도 감지할 수 있다(그림 3).[27]

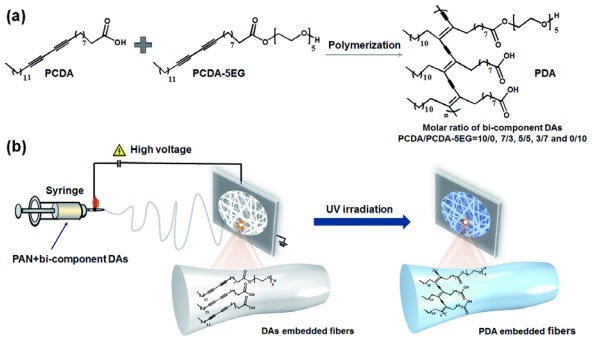

그림 2. (a) PCDA 및 PCDA-5EG의 자가 조립 및 중합, (b) PDA가 삽입된 PAN NFM 제조 과정.[26]

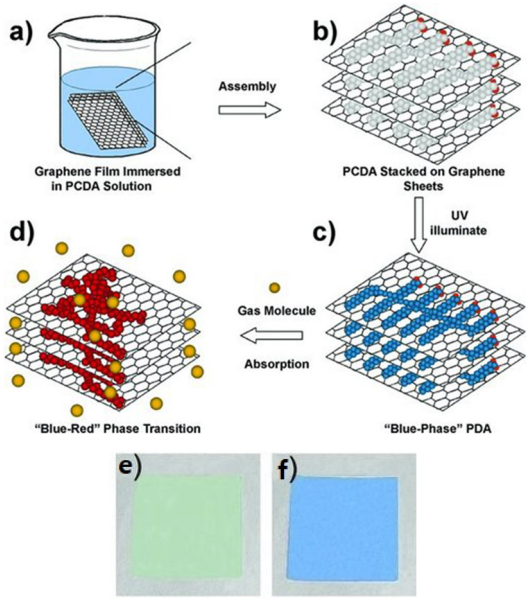

그림 3. (a) 복합 필름의 제조 과정, (b) PDA필름의 중합 전, (c) 중합 후, (d) VOC 증기에 노출 후, (e) PDA필름의 중합 전 사진, (f) 중합 후 사진.[27]

2.2.2 종이기반 센서키트

일부 PDA 센서는 스트립과 같은 간단한 종이형태에 만들어지지만 여전히 종이형 PDA센서는 PDA 리포좀과 잘 결합되지 않고 드롭 캐스팅(drop-casted)된 다이아세틸렌 단량체 형태와 결합한다.[28-31] 그렇기 때문에 많은 양의 헤드그룹이 PDA 필름 내부에 묻혀 타겟물질을 포착하는데 효율성이 떨어진다. 이러한 문제점을 극복하고자 H. S. Jung 그룹은 PDA 리포좀을 물리적으로 흡착시킨 어레이(array) 유형의 미세 유체 종이 기반 분석 장치(μPAD)를 개발했다.[32] μPAD는 다양한 분석물을 검출하기 위해 한 방울의 표적 샘플만을 필요로 하는 간단하고 휴대 가능한 플랫폼으로서 많은 이점을 제공하는 빠르고 저렴한 형태의 키트이다.[33] 이 도트 어레이 μPAD는 왁스 프린팅 방법으로 제작되었으며, PDA 리포좀은 그림 4a와 같이 μPAD 위에 고정되었다. μPAD 위에 PDA 리포좀 용액을 로드하였을 때 물이 증발함에 따라 지질 간의 소수성 상호작용이 약화되고, 물 분자에 의한 차폐 효과가 감소하여 지질과 종이 매트릭스 간의 상호작용이 강화되어 패킹의 섭동이 유발되었다. 그래서 일정량의 물을 보존할 수 있도록 polyvinyl alcohol(PVA)과 같은 친수성 고분자를 첨가함으로써, PDA 리포좀이 종이 매트릭스에 안정적으로 고정화될 수 있음을 입증했다. 그로 인해 네오마이신(Neomycin)에 민감한 PDA-PIP_2 리포좀과 결합하여 네오 마이신을 검출하는 μPAD PDA 센서를 제작하였다(그림 4).[32]

또한, 최근에는 기존 잉크젯 프린팅을 사용하여 PDA를 종이에 코팅할 수 있음이 입증되었다.[34] 잉크젯 인쇄를 PDA에 적용하는 것은 맞춤형 디자인이나 패턴을 가진 유연하고 저렴하며 가벼운 PDA 기반 종이 센서 시스템을 생성하는데 사용할 수 있기 때문에 유리하다. PDA 기반 수 변색 센서를 기존 스마트 폰 시스템과 통합하여 액체 및 증기상에

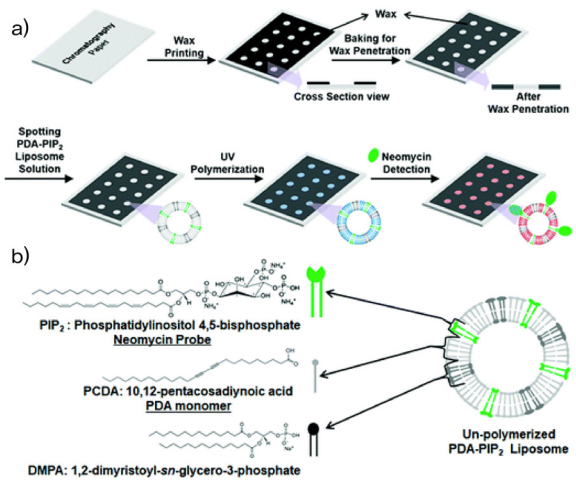

그림 4. (a) μPAD 제조의 개략도, (b) 네오 마이신 민감성 PDA-PIP2 PDA 리포좀 제조.[32]

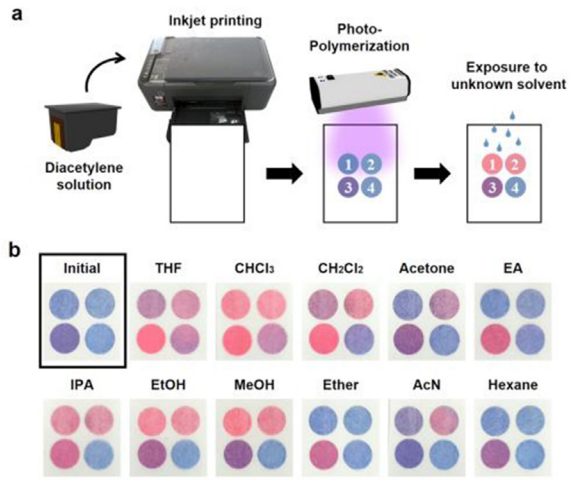

그림 5. (a) 4개의 PDA가 각각 inkjet에 로드되고, KENT paper에 정렬되어 인쇄됨, (b) 각각의 PDA와 용매가 반응하여 색변이를 일으킴.36

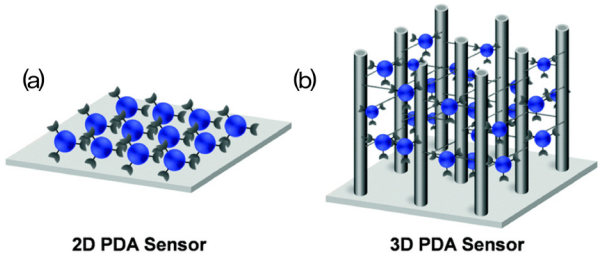

그림 6. (a) 2D와 (b) 현대의 3D PDA 센서의 모식도.[37]

서 VOC를 감지하기위한 PDA의 유연성과 정확성을 단순화하고 개선하기위한 새로운 조합(combinatorial)전략을 고안했다. 이 접근 방식은 PDA 센서 라이브러리를 사용하여 다른 용매에 대해 서로 다른 비색 반응을 표시한다. 센서 어레이가 용매에 노출되면 4 개의 PDA의 색상 변화가 동시에 발생한다. 마지막으로 스마트 폰 카메라와 스마트 폰 앱을 사용하여 용매를 식별할 수 있다(그림 5).[35]

2.2.3 3차원 구조(3D) 센서키트

최근에 보고된 또 다른 키트형태의 PDA기반센서는 PDA 칩이 표적 자극에 노출될 때 적색 형광 신호가 모니터링된다. 그러나 대부분의 PDA 기반 센서 칩은 2차원(2D) 구조로 포맷되었으며 이로 인해 PDA 센서 칩의 감도와 관련된 본질적인 한계가 생겼다. 예를 들어, 최초의 PDA 기반 마이크로 어레이 센서 칩을 설명하는 이전 보고서에서 센서 칩의 감지 한계는 PDA-시클로덱스트린 상호 작용이 모델 시스템으로 사용될 때 밀리몰 농도 범위에 있었다. 2D 형식과 관련된 본질적인 한계를 극복하기 위해 3차원 네트워크(3D) PDA 센서 시스템이 개발되었는데, 3D 네트워크 나노구조에 PDA 소포의 고정화가 폴리머의 감도를 크게 증가시킬 수 있음을 보여준다. 3D 네트워크 센서 매트릭스로 2D 시스템에 비해 3차 감도 향상이 관찰되었다. 그림 6에 묘사된 바와 같이, 3D 센서 매트릭스에 존재하는 고정된 PDA 소포의 증가된 수와 큰 자유 부피가 감도 향상의 핵심이다(그림 6).[36]

3. 결론

PDA는 형광 물질 부착이 따로 필요없이 실험절차가 간편하고 빠르며, 외부 자극에 의해 파란색에서 적색으로 색변이를 일으켜 그 변화를 바로 눈으로 확인할 수 있다는 점에서 센서로서 사용하기에 적합한 고분자 소재이다. 이런 장점에 더해, 고체상에 고정화시킴으로써 안정적이고, 휴대성이 높은 점에서 더 관심을 받고 있다. 하지만, 온도나 pH와 같은 외부자극에 민감하고, 리포좀 형태에서 보다 신호 민감도가 강하지 않다는 점에서 여전히 한계점을 겪고 있다. 민감도를 높이기 위해 감지하고자 하는 물질과 복합체를 형성할 수 있는 물질을 PDA 분자 표면에 코팅하거나 첨가해줌으로써 자극 반응성을 더 향상시키기도 하고, PDA 분자가 고체 기판 표면에 더 잘 고정될 수 있도록 하는 연구들도 많이 진행되고 있다. 본 특집에서 언급한 바와 같이 현재까지 다양한 연구들로 액체상 PDA기반 바이오센서의 한계를 극복하는데 시도가 지속적으로 이루어지고 있다.

참고문헌

1. H. Nakamura and I. Karube *Anal., Bioanal. Chem.*, **377**, 446 (2003).
2. C. Wang, Z. Ma, and Z. Su, *Sens. Actuators B Chem.*, **113**, 510 (2006).
3. M. Wenzel and G. H. Atkinson, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 6123 (1989).
4. D. N. Batchelder, S. D. Evans, T. L. Freeman, L. Haussling, H. Ringsdorf, and H. Wolf, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 1050 (1994).
5. Y. K. Jung, C. Jung, and H. G. Park, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **8**, 15684 (2016).
6. D. H. Charych, Q. Cheng, A. Reichert, G. Kuziemko, M. Storh, J. O. Nagy, W. Spevak, and R. C. Stevens, *Chem. Biol.*, **3**, 113 (1996).
7. D. H. Kang, K. Kim, Y. Son, P.-S. Chang, J. Kim, and H.-S. Jung, *The Analyst*, **143**, 4623 (2018).
8. X. Qian, and B. Städler, *Chem. Mater.*, **31**, 1196 (2019).
9. K. Kuriyama, H. Kikuchi, and T. Kajiyama, *Langmuir*, **14**, 1130 (1998).
10. M. C. Lim, Y. J. Shin, T. J. Jeon, H. Y. Kim, and Y. R. Kim, *Anal. Bioanal. Chem.*, **400**, 777 (2011).
11. A. K. Yetisen, M. S. Akram, and C. R. Lowe, *Lab Chip*, **13**,

2210 (2013).
12. M. A. Hidayat, D. A. Maharani, D. A. Purwanto, B. Kuswandi, and M. Yuwono, *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **9**, 255 (2020).
13. C. Zhou, T. You, H. Jang, H. Ryu, E.-S. Lee, M.-H. Oh, and T.-J. Jeon, *Sensors.*, **11**, 3124 (2020).
14. C. H. Park, J. P. Kim, S. W. Lee, N. L. Jeon, P. J. Yoo, and S. J. Sim, *Adv. Funct. Mater.*, **23**, 3703 (2009).
15. S. Seo, A. Shanker, M. Kwon, and J. Kim, "Functional polydiacetylene liposomes as self-signaling and signal amplifying bio- and chemical sensor and sensor array" in *Liposomes in analytical methodologies*, K. A. Edwards, editor, Pan Stanford Publishing Pte Ltd., Singapore, p 167 (2016).
16. J. T. Wen, K. Bohorquez, and H. Tsutsui, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **232**, 313 (2016).
17. S. U. Son, S. B. Seo, S. Jang, J. Choi, J. Lim, D. K. Lee, and E.-K. Lim, *Sens. Actuators B Chem.*, **291**, 257 (2019).
18. C. Zhou, T. You, H. Jang, H. Ryu, E.-S. Lee, M.-H. Oh, and T.-J. Jeon, *Sensors*, **11**, 3124 (2020).
19. G. Yang, W. Hu, H. Xia, G. Zou, and Q. Zhang, *J. Mater. Chem. A Mater*, **37,**15560 (2014).
20. Y. Gu, W. Cao, L. Zhu, D. Chen, and M. Jiang, *Macromolecules.*, **41,** 2299 (2008).
21. J. M. Kim, Y. B. Lee, S. K. Chae, and D. J. Ahn, *Adv. Funct. Mater.*, **16**, 2103 (2006).
22. H. Jiang, Y. L. Wang, Q. Ye, G. Zou, W. Su, and Q. J. Zhang, Sens. Actuators B Chem. **143**, 789 (2010).
23. B. Ding, Y. Si, X. Wang, J. Yu, L. Feng, and G. Sun, *J. Mater. Chem.*, **21**, 13345 (2011).
24. Y. Li, Y. Si, X. Wang, B. Ding, G. Sun, G. Zheng, W. Luo, and J. Yu, *Biosens. Bioelectron.*, **48**, 244 (2013).
25. K. S. Jeon, R. Nirmala, R. Navamathavan, and H. Y. Kim, *Ceram. Int.*, **39,** 8199 (2013).
26. Y. Li, L. Wang, X. Yin, B. Ding, G. Sun, T. Ke, and J. Yu, *J. Mater. Chem. A*, **2**, 18304 (2014).
27. X. Wang, X. Sun, P. A. Hu, J. Zhang, L. Wang, W. Feng, and W. Cao, *Adv. Funct. Mater.*, **23**, 6044 (2013).
28. J. T. Wen, K. Bohorquez, and H. Tsutsui, *Sens. Actuators, B*, **232**, 313 (2016).
29. T. Eaidkong, R. Mungkarndee, C. Phollookin, G. Tumcharern, M. Sukwattanasinitt, and S. Wacharasindhu, *J. Mater. Chem.*, **22**, 5970 (2012).
30. B. Yoon, I. S. Park, H. Shin, H. J. Park, C. W. Lee, and J. M. Kim, *Macromol. Rapid Commun.*, **34**, 731 (2013).
31. H. K. Park, S. J. Chung, H. G. Park, J. H. Cho, M. Kim and B. H. Chung, *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 480 (2008).
32. D. H. Kang, K. Kim, Y. Son, P.-S. Chang, J. Kim, and H.-S. Jung, *The Analyst*, **143**, 4623 (2019).
33. T. Lam, J.P. Devadhasan, R. Howse, and J. Kim, *Sci Rep.*, **7**, 1188 (2017).
34. D.-H. Park, J. P. Devadhasan, J.-M. Heo, W. Jeong, Y. H. Yoo, B. J. Park, and J.-M. Kim, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **10**, 5014 (2018).
35. B. Yoon, S. Lee, and J.-M. Kim, *Chem. Soc. Rev.,* **38**, 1958 (2009).
36. S. Lee, J. Lee, D. W. Lee, J. M. Kim, and H. Lee, *Chem. Commun.*, **52**, 926 (2018).