

Optochemical nanosensor PEBBLES: photonic explorers for bioanalysis with biologically localized embedding

김범상 (홍익대학교 화학공학과)

본 내용은 Sarah M Buck, Yong-Eun Lee Koo, Ed Park, Hao Xu, Martin A Philbert, Murphy A Brasuel and Raoul Kopelman, 'Optical nanosensor PEBBLES: photonic explorers for biologically localized embedding', Current Opinion in Chemical Biology, 8, 540-546 (2004)에서 발췌한 내용입니다.

서론

세포 연구분야에서는 세포의 일상적인 거동에 영향을 주지 않으면서 세포 내부의 여러 가지 요소를 정확하게 측정하고 관찰을 할 수 있는 '조용한 관찰자'를 필요로 한다. 세포의 화학적 형상화를 위하여 현재까지 널리 사용되고 있는 방법인 염료 탐침(probe)은 세포에 대한 물리적인 손상은 최소화할 수 있으나 염료와 세포간의 화학적인 간섭(단백질 결합, 독성 등)이 문제가 되고 있고, 광섬유를 이용한 화학적 센서는 세포를 센서의 화학적 간섭으로부터 보호할 수는 있으나 센서의 삽입시 상대적으로 큰 센서의 부피때문에 세포에 심각한 물리적 손상을 가져온다. PEBBLE 센서는 염료 탐침과 광섬유 센서의 장점을 결합한 것으로 화학적으로 그리고 물리적으로 비침습(non-invasive) 센서이다.

PEBBLE 센서는 20~100 nm의 나노 크기를 갖는 센서로 측정물질에 감응하는 염료와 기준 염료를 생물학적으로 비활성인 매트릭스로 감싸서 생물학적 환경에서 사용할 수 있도록 특별하게 고안되었다. PEBBLE는 나노 수준의 작은 크기 때문에 세포에 물리적인 손상을 최소화할 수 있고 염료가 비활성인 매트릭스 내부에 존

재하기 때문에 세포와 염료간의 화학적 간섭을 피할 수 있다. PEBBLE 센서는 다양한 검출 요구에 따라 polyacrylamide, polydecylmethacrylate(PDMA), sol-gel, originally modified silicates (ormosils)의 네 가지 종류의 매트릭스를 사용하여 제작된다. Polyacrylamide 매트릭스는 친수성 염료에 적합하고, PDMA 매트릭스는 소수성 염료에 적합하다. 그리고 sol-gel과 ormosils는 친수성, 소수성 염료 모두에 사용할 수 있다. 이 밖에도 매트릭스의 추가적이 개질을 통하여 향상된 신호처리와 표적지향 전달이 가능한 PEBBLE 센서를 제작할 수 있다.

PEBBLE의 설계

다양한 종류의 PEBBLE 센서가 제작되고 있지만 기본적인 감지 기구 (sensing scheme)는 유사하다. 측정물질이 매트릭스를 통과하여 확산되어서 매트릭스 내부에 존재하는 감응물질과 상호작용을 하고 그 결과에 의해서 감응물질의 형광이 변화한다. 대부분의 PEBBLE 센서는 기준 염료와 감응 염료를 포함하는데, 두 염료들의 형광세기의 비(ratio)를 계산하면 불특정 간섭과 들뜸 세기의 변화에 의한 형광 데이터의 왜곡을 제거할 수 있다. 따라서 가역성, 감도(sensitivity), 선택도(selectivity), 반응시간 등을 모두 고려하여 ratiometric quality를 사용할 수 있도록 PEBBLE 센서의 기준 염료와 감응 염료를 선택하여야 한다.

대부분의 PEBBLE 센서들이 일반적으로 에멀전 기법을 이용하여 제작되지만, 매트릭스의 종류에 따라서 개별적인 제작법이 존재한다. Polyacrylamide PEBBLE 센서의 경우 단량체, 염료, 그리고 계면활성제를 혼합한 후 중합을 시켜서 센서를 제작한다. 염료 분자는 중합과정에서 매트릭스 내부에 물리적으로 고정된다. PDMA PEBBLE 센서의 경우는 감응물질이 없는 소수성 상태에서 중합된다. PDMA PEBBLE을 합성할 때는 입체적 안정화제로 poly(ethylene glycol)(PEG)을 사용하는데 PEG를 사용하지 않는 경우, 입자의 크기가 10~50 μm 정도로 커지고 크기 분

포가 일정치 않게된다. 일단 PDMA 입자를 합성한 후, 내부에 감응물질인 염료를 도입하기 위하여 염료를 포함한 THF/H₂O와 같은 극성 용액에서 매트릭스를 팽윤시킨다. 염료와 PDMA 입자는 소수성이기 때문에 극성 용매에 의해 염료가 팽윤된 PDMA 입자로 이동하여 PDMA PEBBLE 센서가 완성된다. 센서가 완성된 후 남겨진 THF/H₂O 용액에서 염료가 발견되지 않는 것으로 염료가 PDMA 입자 내부로 모두 이동한다는 사실을 확인할 수 있다. Sol-gel PEBBLE은 tetramethyl orthosilicate와 PEG의 trans-esterification, hydroxylation, condensation 과정을 통하여 합성되는데 내부에 생체분자를 포함시킬 수 있으며, 생체적합성을 향상시키기 위하여 PEG를 사용한다. Sol-gel PEBBLE의 변형인 ormosil PEBBLE은 두 단계로 합성된다. 우선 phenyltrimethoxysilane을 산성 환경에서 가수분해하고 이어서 염기성 환경에서 silane을 condensing하여 나노입자의 코어(core)를 형성한다. 나노입자 코어는 methyltrimethoxysilane을 전구체로 하는 다른 ormosil 층으로 코팅되는데 감응물질은 두번째 층이 형성되기 바로 직전에 ormosil PEBBLE에 도입된다.

측정물질의 형광 표시기(fluorescent indicator)에 대한 선택도가 매우 작은 경우에는 ion-correlation 방식을 이용한 PEBBLE 센서를 이용한다. 예를 들어 친수성 K(칼륨) 표시기는 Na(나트륨)의 농도가 매우 높은 곳에서는 작동하지 않고, 반대로 Na 표시기는 K의 농도가 매우 높은 곳에서는 작동하지 않는다. 따라서 Na 농도에 대한 K 농도가 매우 큰 세포 내부 또는 K 농도에 대한 Na 농도가 매우 큰 세포 외부에 사용되는 PEBBLE 센서는 ion-correlation 방식을 사용한다. Ion correlation PEBBLE 센서에는 선택도가 매우 높고 광학적으로 조용한 ionophore와 리포터 역할을 하는 chromoionophore를 사용한다. 양이온 성분을 감지하는 센서의 경우, 측정하고자 하는 양이온 성분은 ionophore와 결합하고 동시에 PEBBLE 내부를 전기적으로 중성인 상태로 유지하기 위하여 양이온과 교환된 양성자가 PEBBLE 내부의 국부 pH를 변화시킨다. 이러한 pH 변화는 pH에 반응하는 형광물질인

chromoionphore에 의해 감지된다. 때때로 친유성(lipophilic) 물질을 첨가하여 양이온 성분의 결합에 의하여 주위로부터 PEBBLE 내부로 음이온이 이동되는 것을 막고 매트릭스의 이온세기를 일정하게 유지하기도 한다.