

X-ray scattering interferometry (XSI)를 이용한 ssDNA-SWCNT 코로나 위상의 기하학적 변화 분석

Single-walled carbon nanotube(SWCNT)의 근적외선 형광 특성의 장점을 기반으로, single-stranded DNA(ssDNA)가 결합되어 특정 반응물과 상호작용하는 코로나 위상 분자 인식(corona phase molecular recognitions; CoPhMoRe)이 최근 새로운 분자인식 기반 센서 기술로 대두되고 있다. 특히,

ssDNA는 SWCNT 표면과 강한 π -stacking으로 결합하고, 특정 단백질 첨가 시 SWCNT의 형광 변화로 CoPhMoRe를 형성하는 것이 잘 알려져 있다. 예로, a repeating motif of guanine and thymine(GT_n)-SWCNT은 신경조절제인 도파민을 선택적으로 인식하는 센서로써 개발되었다. 그러나, SWCNT 표면에서 ssDNA가 어떻게 센서 기능에 기여하는지는 불분명하였다.

최근 연구에서는 도파민 감지를 위한 SWCNT 표면의 ssDNA에 gold nanoparticle(AuNP) 태그를 부착시켜, 이로 인해 발생하는 광 간섭 패턴을 분석하였다. 연구팀은 X-ray

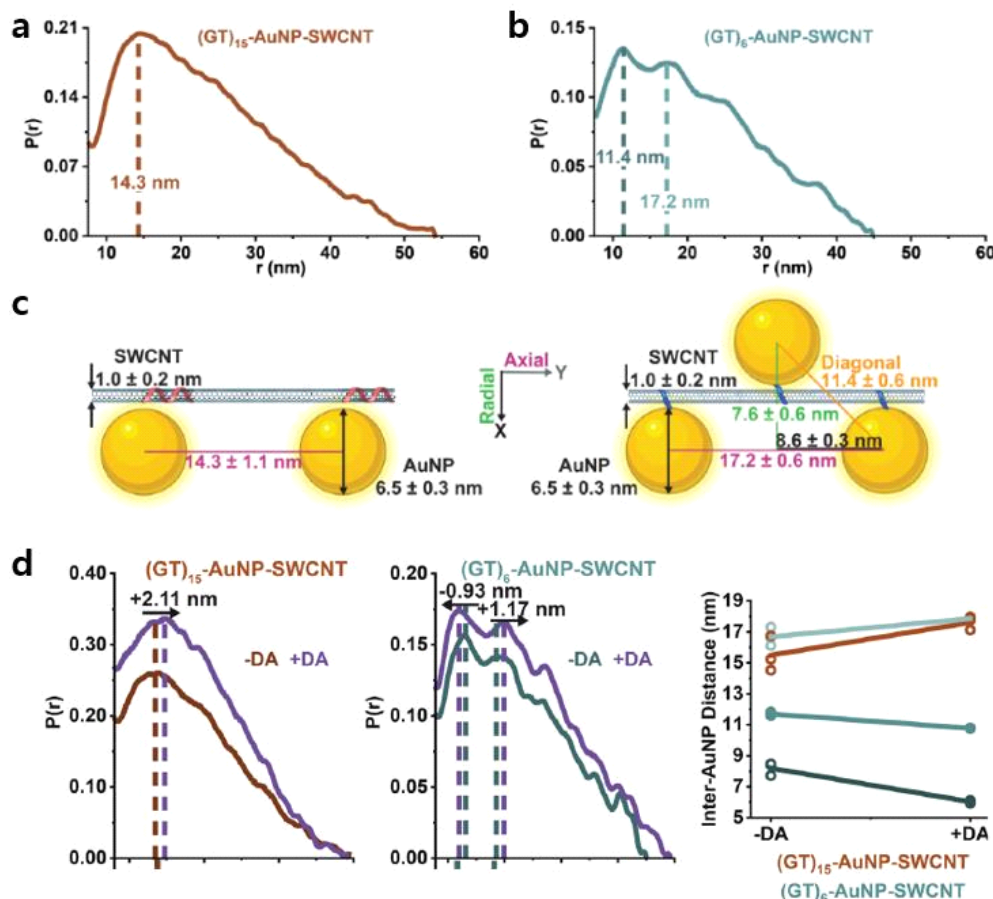


그림 1. XSI 데이터를 통한 (a) AuNP-(GT)₁₅-SWCNT와 (b) AuNP-(GT)₆-SWCNT의 쌍별 분포 함수, $P(r)$ 의 그래프, (c) $P(r)$ 함수의 분석으로 AuNP간의 상호 거리를 정규화하여 제안된 SWCNT 표면의 ssDNA의 기하학적 2D 배열의 사진, (d) 도파민 추가 시 변하는 $P(r)$ 함수의 그래프.

Scattering interferometry(XSI)를 사용하여 ssDNA가 도파민과 상호작용할 때, 기하학적으로 어떻게 변화하는지 관찰하였다. 여기서 SWCNT에 흡착하는 ssDNA로 $(GT)_n$ ($n = 6, 15$)로 두 가지를 사용하였다. 실험적으로 $(GT)_6$ 은 큰 형광 변화를 보여주었고, $(GT)_{15}$ 는 생화학 분자들이 풍부한 환경에서 더 높은 안정성을 보여주었다. Molecular dynamics (MD) 계산을 통해, $(GT)_{15}$ 의 경우 SWCNT 주위로 나선형으로 감싼 형태이고 $(GT)_6$ 은 SWCNT 주위로 링의 형태로 감싼 형태를 예측할 수 있었다 (그림 1 c). 또한, XRI 분석에서 $(GT)_{15}$ 는 AUNP 사이의 거리가 14.3 ± 1.1 nm였고 $(GT)_6$ 는 축방향으로 17.2 ± 0.6 nm, 대각선 방향으로 11.4 ± 0.6 nm였다 (그림 1a-1b). 분석물인 도파민이 첨가되었을 때 $(GT)_{15}$ 는 2.11 ± 1.0 nm 증가한 반면, $(GT)_6$ 는 축방향으로 0.59 ± 0.27 nm 이동하였고 대각선 방향으로 -0.93 ± 0.11 nm 이동하였다. 즉, SWCNT와 AuNP 간의 거리가 -0.07 ± 0.04 nm가 줄어들어 도파민이 ssDNA가 SWCNT 표면에 더 가깝게 이동하도록 한다는 것을 보여준다 (그림 1 d). 본 연구에서는 도파민이 첨가되어 $(GT)_n$ ssDNA가 축방향 확장과 대각선 방향 수축에 의해 나노센서의 형광이 증가한다고 가정하였다.

본 연구결과는 “Mapping the Morphology of DNA on Carbon Nanotubes in Solution Using X-ray Scattering Interferometry”의 제목으로 2024년 *Journal of The American Chemical Society*에 게재되었다.

◁D. J. Rosenberg *et al*, *J. Am. Chem. Soc.*, **146**, 386–398 (2024)
doi.org/10.1021/Jacs.3c09549>

SWCNT를 이용한 효소 반응의 근적외선 분석과 민감도 향상

단백질은 생물체의 중심적인 구성요소로 진단과 기초연구를

위한 중요한 바이오 마커가 된다. 특정 단백질의 진단을 위해 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 또는 western blots과 같은 효소 반응을 사용하는 기술이 있는데, 효소가 인식 부위에 결합되고 기질이 색이 있는 생성물로 변해 가시광선으로 감지하는 원리를 보인다. 해당 기술을 위해 신호를 증폭하는 전략들이 많이 개발되었지만, ELISA 또는 다른 검출 기술들은 민감도에 한계가 있었다.

최근 연구에서는 SWCNT의 CoPhMoRe를 이용하여 효소 반응의 신호를 증폭시키는 것을 보여주었다. ELISA와 western blot의 많은 유색 효소 기질과 생성물이 SWCNT 소수성 표면과 상호작용할 것이라고 가정하였다. 이 가정을 검증하기 위해, SWCNT를 phospholipid-polyethylene glycol (PEG-PL)과 다른 핵산들과 혼합하였다. 여기서, 효소로 horseradish peroxidase(HRP)를 사용하였고 기질을 o-, p-phenylenediamine(OPD 그리고 PPD), 그리고 각각의 생성물로 2,3-diaminophenazine과 Bandrowsk's base(BB)를 선택하였다. 10 μ m의 기질과 생성물을 넣었을 때, PPD의 경우, $(G_2T)_{10}$ -SWCNT에서 형광이 164% 증가하였고 그 생성물인 BB의 경우, PEG-PL-SWCNT에서 형광이 -87%까지 감소하였다(그림 2). PEG-PL-SWCNT의 경우 생성물인 BB만 형광 변화를 일으켰지만 DNA-SWCNT는 기질인 PPD와 생성물인 BB 모두에 반응을 일으켰고 PEG-PL-SWCNT 보다 민감했다. PPD의 경우 2.5 nM보다 클 때 센싱이 되었고, BB의 경우 50 nM 이상 영역에서 반응이 관찰되었다. 연구팀은 해당 비선형 센서 기반의 신호 증폭 및 변환 (Sensor-based Signal Amplification and Translation; SENSAT)은 흡착 기반의 이론적 모델에서 관찰된 신호와 일치하고, 신호를 증폭하고 근적외선 신호로 변환함으로써 생화학적 분석의 민감도를 높이는 데 사용할 수 있다고 밝혔다.

본 연구결과는 “Signal Amplification and Near-Infrared translation of Enzymatic Reaction by Nanosensors”의 제목으로

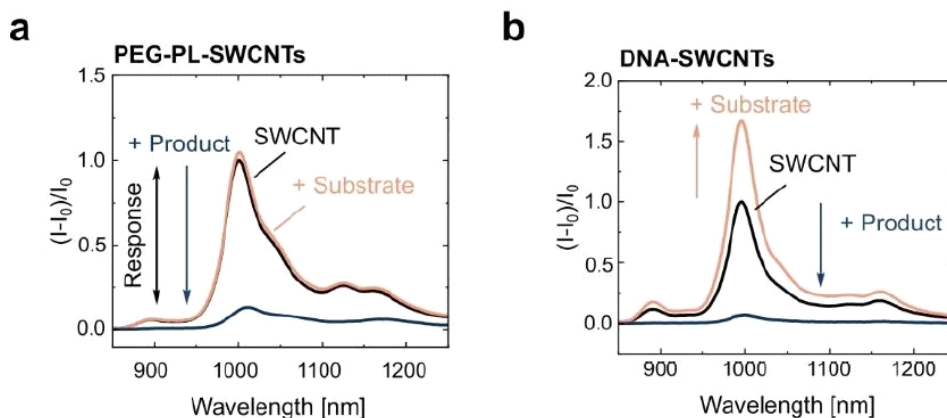


그림 2. 기질인 PPD와 생성물이 BB가 각각 혼합되었을 때의 (a) PEG-PL-SWCNT와 (b) $(G_2T)_{10}$ -SWCNT의 형광 변화.

2024년 *Angewandte Chemie*에 게재되었다.

◁J.T. Metternich *et al*, *Angew. Chem Int. Ed*, e202316965 (2024)
doi.org/10.1002/anie.202316965>

구아닌 양자결합을 역 이용한 SWCNT 근적외선 센서의 안정화 기술 개발

SWCNT와 핵산 분자 표면간 강한 π -stacking을 이용하여 연구자들은 안정적인 ssDNA-SWCNT 분산액을 개발해왔다. 하지만, ssDNA-SWCNT는 SWCNT의 카이랄성과 핵산의 길이와 서열, 온도나 이온 농도에 크게 의존하기 때문에, 코로나 상에서의 SWCNT의 결합 디자인 물을 복잡하게 만들고 근적외선 형광신호를 크게 제한한다.

최근 연구에서는 구아닌의 양자 결합을 사용하여 SWCNT에 공유결합 하여 더욱 안정한 센서를 개발하였다. 앵커 서열로 구아닌이 포함된 (GT)₁₅를 사용하였고 포획 서열로는 구아닌이 없는 (T)₂₀를 사용하였다. SWCNT는 ssDNA와 비공유 기능화되었고, 5 μ m와 18 μ m 농도의 Rose Bengal (RB)로 처리한 뒤 녹색 빛을 조사하였다. 이 때 발생한 단일항 산소가 구아닌의 양자결합을 일으켰다. 구아닌의 양자 결합이 없거나

구아닌 양자 결합 밀도가 낮은 SWCNT에 상보적인 핵산인 (A)₂₀를 첨가하였을 때는 SWCNT 형광이 약간 감소하였지만, 구아닌 양자 결합 밀도가 높은 SWCNT에 첨가하였을 때는 SWCNT 형광이 크게 감소하였다 (그림 3). 또한 포획 서열에 따른 형광의 차이를 분석하기 위해 6, 10, 및 20개의 염기를 가진 포획 서열과 함께 (G^dT)₂₀T_x-SWCNT를 관찰하였다. 이 때, 6개 염기의 포획 서열을 가진 SWCNT에는 안정적으로 이중가닥이 형성되지 않았고, 10개 염기의 포획 서열을 가진 SWCNT는 형광 변화가 감소하고 시간 의존적 변화를 보였다. 이 구아닌의 양자결합을 통해 특정 DNA를 SWCNT에 고정 시킴으로써, 비특이적 이동을 줄이고 형광 신호 변화의 민감도와 안정도를 높일 수 있을 것으로 기대한다.

본 연구결과는 “Near-Infrared Fluorescent Biosensors Based on Covalent DNA Anchors”의 제목으로 2023년 *Journal of The American Chemical Society*에 게재되었다.

◁J. T. Metternich *et al*, *J. Am Chem Soc*, **145**, 14776–14783 (2023)
doi.org/10.1021/Jacs.3c03336>

<이승주, email: sonsky99@g.skku.edu>

<조수연, email: sooyeonc@skku.edu>

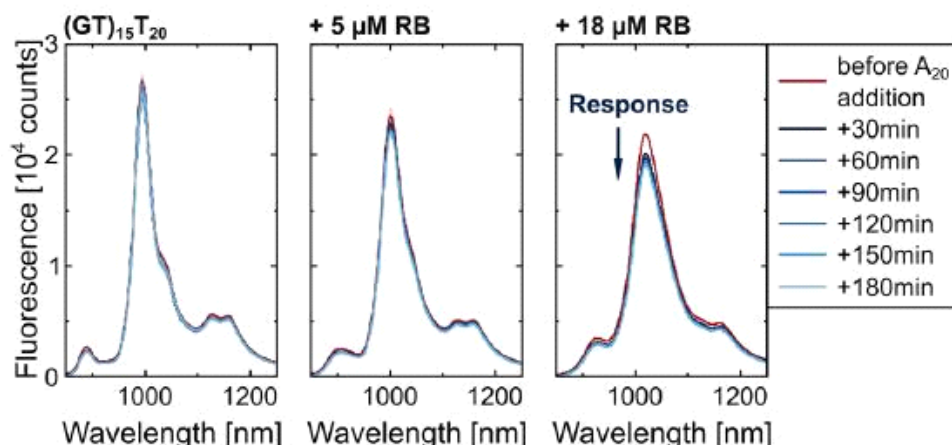


그림 3. 구아닌 양자 결합이 없는 (GT)₁₅T₂₀-SWCNT, 양자 결합 밀도가 낮은 (GT)₁₅T₂₀-SWCNT와 양자 결합 밀도가 높은 (G^dT)₁₅T₂₀-SWCNT의 A₂₀를 첨가한 후 시간에 따른 형광 변화 그래프.