

## Covalent Binding of DNA onto Glass Support for the Construction of Genosensor

정우성, 백세환

고려대학교 생명공학원, 바이오센서 시스템공학 연구실  
전화 (02)3290-3438, Fax (02)923-9923

### Abstract

Genosensor technology utilizes a patterned array of DNA molecules immobilized on solid supports for biomedical analysis. The detection capability of the sensor depended mainly on the way the capture probes are attached to the support as well as the sequence. We compared two different coupling methods currently used to covalently graft DNA molecules onto a glass surface.

### 서론

유전자센서 기술은 특정 병원균의 탐지, 유전병 검사 그리고 암 조기검사와 같은 biomedical analysis에 응용되고 있다.<sup>1)</sup> DNA를 고정화시키는 방법은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데 photolithography에서와 같이 표면에 염기를 하나씩 쌓아 가는 방법과 DNA strand 분자자체를 표면에 고정화시키는 방법이다. Solid support로써 glass는 porous membrane이나 gel pad보다는 고정화시킬 수 있는 단위 투영면적당 DNA양은 작지만 pore 내로의 internal diffusion이 필요 없기 때문에 고정화된 probe에 대한 target DNA의 접근이 용이하다는 장점이 있다.<sup>3)</sup> 본 실험에서는 전기화학발광 (electro-chemiluminescence, ECL) 신호발생방법을 이용한 유전자센서 시스템 개발에 앞서 DNA 고정화에 대한 기초실험을 수행하였다.

### 재료 및 방법

DNA 고정화모체로 선택된 slide glass 표면은  $H_2O_2$ 와  $H_2SO_4$  혼합용액을 이용하여 세척되었고 3-aminopropyltrimethoxysilane (APTS)을 처리하여 표면을 amination 시켰다.<sup>2)</sup> 이 slide에 glutaraldehyde (GA)를 처리하여 aldehyde group을 부여시켰다. Target DNA는  $NH_2$ -primer와 biotin-primer를 이용하여 PCR 증폭을 시켰고 이 PCR product를 위에서와 같이 처리된 glass 표면에 고정화시켰다. 고정화된 DNA의 확인을 위해 분자상의 biotin과 용액 내의 streptoavidin (SA) 혹은 SA-horseradish peroxidase (HRP) 중합체의 결합반응을 이용하였고 신호발생은 효소기질 (tetramethyl benzidine) 반응을 통해 얻었다.

## 결과 및 토의

Glass 표면에 다른 농도로 고정화된 DNA 농도를 대표하는 신호발색의 변화를 측정하였다 (Fig. 1). 측정을 위해 SA-biotin 결합반응을 이용하였는데 1) SA-HRP 중합체를 사용한 검출방법과 2) SA와 biotinylated HRP를 순차적으로

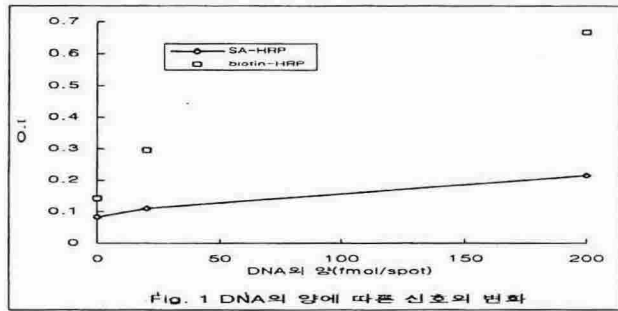


Fig. 1 DNA의 양에 따른 신호의 변화

로 반응시킨 검출 방법을 비교한 결과 2)의 검출방법에서 3배 정도의 증폭된 신호를 보였다. 이러한 결과는 1)의 방법은 DNA에 표지된 biotin과 SA-HRP의 반응이고 2)의 방법은 DNA에 표지된 biotin과 결합한 SA 그리고 biotin-HRP의 순차적 반응이므로 기질과 반응할 수 있는 HRP의 양이 2)의 방법이 더 많기 때문이다. 효소를 이용한 검출방법이외에도 ruthenium (Ru)을 이용한 광학검출방법을 이용할 수 있다. 이 광학적 방법은 Ru과 TPA (tripropylamine)의 산화-환원 반응을 통해 나오는 빛을 광학탐지기 (photomultiplier tube, charge-coupled device, photodiode 등)를 이용하여 검출하는 방법이다. 이를 위해 접합된 DNA 분자의 두 strand 사이에 Ru을 intercalation시키는 방법을 사용한다. 이 방법은 신호의 증폭 효과를 나타내고 궁극적으로 광학적 유전자센서 시스템의 제작에 응용될 예정이다.

## 요약

유전자센서 기술은 biomedical analysis를 위해 일반적으로 고체 상에 고정화된 DNA 분자를 이용한다. 이 센서의 검출능력은 주로 capture probe의 서열뿐만 아니라 oligonucleotide의 고체 상에 고정화 방법에 달려있다. 본 연구에서는 glass 표면에 DNA 분자를 고정화시키는 두 가지 다른 방법을 비교하였고 유전자센서의 구성에 대해 검토하였다.

## 참고문헌

1. H.berney, "A DNA diagnostic biosensor: development, characterisation and performance" (2000), Sensors and Actuators B, 68, 100-108
2. Nathalie Zammateo, "Comparison between Different Strategies of Covalent Attachment of DNA to Glass Surfaces to Build DNA Microarrays" (2000), Anal. Biochem., 280, 143-150
3. Yu-Hui Rogers, "Immobilization of Oligonucleotides onto a Glass Support via Disulfide Bonds : A Method for Preparation of DNA Microarrays" (1999), Anal. Biochem., 266, 23-30