

표면 플라즈몬 공명 타원 계측장치를 이용한 바이오 물질 접합특성연구

Study on Binding Characteristics of Biomaterials Using Surface Plasmon Resonance Ellipsometer

원종명, 신기량, 조은경*, 이홍원*, 조재홍*, 제갈원**, 조용재**, 조현모**

안동대학교 물리학과, 한남대학교 물리학과*, 한국표준과학연구원 나노바이오융합연구단**

wjm@anuis.andong.ac.kr

표면플라즈몬 공명(SPR) 측정법은 형광물질의 부착 없이 실시간 바이오 물질의 접합동특성을 측정할 수 있는 장점이 있다. 그러나 저분자 물질의 경우 고감도 측정기술이 필요하며 센서 표면에서 일어나는 비특이적인 접합 억제, 버퍼용액의 굴절률 보정 등의 연구가 요구된다. 최근 reflectometry 방법보다 박막두께 측정 분해능에서 더욱 민감한 감응도를 가진 ellipsometry 기술을 나노바이오 연구에 접목하는 연구가 활발히 수행되고 있다. 본 연구에서는 표면플라즈몬 공명 타원계측기술(SPR ellipsometry)을 이용한 바이오 물질의 접합특성을 연구하였다.

본 실험에서 사용한 표면플라즈몬 공명 타원계측기는 광원으로 632.8 nm의 He-Ne 레이저를 사용하였으며 간섭계를 장착하여 beam 경로를 정렬하였고 선형 편광된 beam이 금박막이 증착된 프리즘에 반사되어 analyzer를 통과해 광검출기에 입사하는 시스템을 갖추고 있다.

전통적인 표면플라즈몬 공명 측정장치에서는 최소반사율을 나타내는 각도의 이동을 측정하여 바이오 접합 동특성을 측정하지만 표면플라즈몬 공명 타원계측기술에서는 p-파와 s-파의 반사계수 크기의 비와 두 파의 위상차를 동시에 측정할 수 있다. 타원 계측 방정식에서 복소반사계수비 ρ 는 p-파와 s-파에 대

한 반사계수(r_s, r_p)의 비이며 $\rho = \frac{r_s}{r_p} = \tan \psi e^{i\Delta}$ 로 표시할 수 있고, 진폭과 관련된 타원계측상수 ψ 는 표면플라즈몬 공명 각도 변화와 같은 정보를 주지만 위상 변화 Δ 는 최적의 표면플라즈몬 공명 조건에서 민감하게 변하게 된다. 이 민감한 변화를 이용하면 바이오 물질의 표면접합특성을 실시간으로 고감도 측정이 가능하게 되어 저분자 물질 등이 대상 단백질에 접합할 때 위상측정이 더 좋은 특성을 나타낼 수 있다.

본 실험에서는 50 nm 정도의 금박막이 증착된 SF10 프리즘을 사용하였으며 금박막 위에 자기조립 단분자막(SAM)을 형성시키고 Sulfo-NHS-LC-biotin을 올린 다음 다채널 미세유로장치에 결합시킨 후 여러 농도의 streptavidin을 센서표면에 고정(immobilization)시켜 저분자 물질의 접합특성을 측정하였다. 센서표면에 고정된 streptavidin에 저분자 물질로 사용된 Sulfo-NHS-LC-biotin을 여러 농도로 버퍼용액에 용해시켜 미세유로를 통해 흘렸을 때 streptavidin과의 비특이적, 특이적 접합 특성을 조사하였다.

특히 각 시료에 대한 특이적 반응만을 측정하기 위해 비특이적 접합을 억제할 수 있는 ethanolamine 이나 BSA를 사용하였으며 두 물질 사이에서 일어나는 비특이적 접합이 억제되는 것을 확인 할 수 있었

다.

그림 1은 본 연구에서 사용하고 있는 표면플라즈몬 공명 타원계측 장치를 보여주며 그림 2는 자기조립 단분자막 위에 Sulfo-NHS-LC-biotin을 올린 후 여러 농도의 streptavidin을 표면에 고정시킬 때 농도에 따른 streptavidin의 접합특성을 나타낸다. 그림 3은 그림 2의 센서표면에 고정된 4 $\mu\text{g/ml}$ 의 streptavidin에 저분자 물질인 Sulfo-NHS-LC-biotin을 저농도부터 순차적으로 버퍼용액에 용해시켜 접합특성을 조사한 결과이며 농도에 따른 타원계측 위상각(Δ)의 변화를 보여준다.

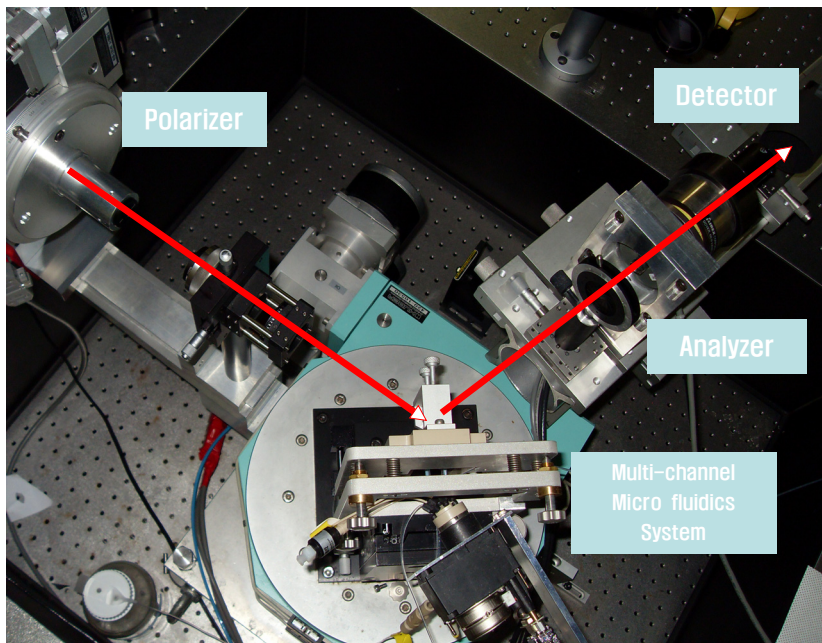


그림 1. 표면 플라즈몬 공명 타원계측기(SPR Ellipsometer)

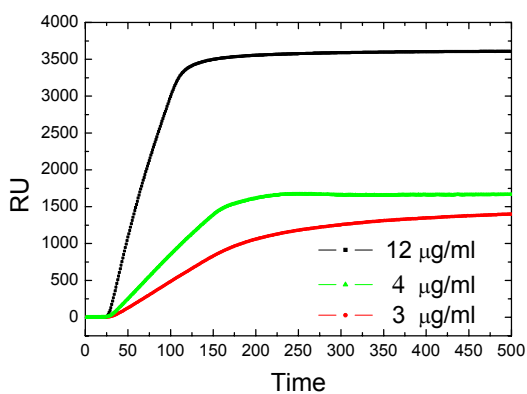


그림 2. 센서 표면에 고정된 streptavidin의 농도에 따른 표면플라즈몬 공명각(RU)의 변화

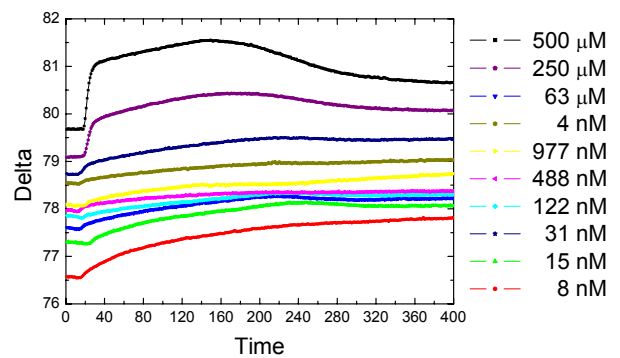


그림 3. Sulfo-NHS-LC-biotin의 농도에 따른 타원계측 위상각(Δ)의 변화