

고선택적 수용체 성능평가를 위한 수정질량 마이크로 밸런스 센서 시스템

Quartz crystal microbalance sensor system for performance evaluation of high selective receptor

정현진* · 신윤희* · 임시형†

Hyunjin Jung, Yoonhyuk Shin and Si-Hyung Lim

1. 서 론

폭발물이나 휘발성 유기 화합물을 검출해 낼 수 있는 초 소형 기계 구조물은 높은 응답 특성과 민감도를 가질수록 검출대상에 대한 선택성이 낮아지는 단점을 가지고 있다. 그 한계를 극복하기 위해 검출하고자 하는 물질을 선택적으로 검출할 수 있는 물질이 개발되고 있다.

본 논문에서는 수정 결정에 압력과 전압을 주어 구조의 기계적인 공진 점에 해당하는 주파수를 측정하여 수 나노그램의 변화까지 측정할 수 있는 공진형 압전 센서인 QCM(Quartz Crystal Microbalance)을 이용하여 수용체의 선택성 실험을 진행하였다. 선택성 실험은 phage display 방식으로 스크리닝 된 DNT에 선택적으로 반응하는 peptide(DNT binding peptide)를 이용하였다. 그리고 선택성 실험을 진행하기 위해 QCM과 peptide에 가장 적합하게 사용 될 수 있는 용액을 찾는 실험과 peptide의 흡습 실험을 함께 실시하였다.

2. 본 론

2.1 Peptide의 습도 실험

DNT에 선택적으로 반응하는 특정 시퀀스(sequence)를 가진 peptide의 습도 실험을 실시하였다. 기존의 실험을 통해 peptide 코팅 시 습도를 포집해 peptide를 활성화 시키는 목적으로 사용 되었던 OEG(Oligo Ethylene Glycol)가 습도 포집을 많이 하지 못하는 것을 파악하였다. 그리하여 이번 peptide 습도 실험은 peptide를 OEG를 코팅하지 않고 gold 표면에 직접 코팅을 하였을 때 peptide 시퀀스 마지막에 자리하고 있는 시스틴기(cysteine)의 황이 골드와 반응하여 표면에 코팅이 되어 있는 지를 확인하고 더불어

peptide만을 사용하였을 때의 흡습정도 확인하기 위해 실시하였다. 코팅은 NaOH, DI water, HCl로 gold 표면을 washing 한 뒤 1 mM의 peptide에서 12 시간 동안 이뤄졌다. (Fig. 1. (b)) 습도 실험은 가스 발생기를 이용하여 습도 제어를 구현하였고 캐리어 가스는 N₂를 사용하였으며 유속은 200 sccm으로 일정하게 유지 시켜주었다.

Fig. 2의 습도 실험 결과에서 보여 지는 것처럼 gold 면에 peptide만 코팅 하였을 때 최대 주파수는 습도가 78% 일 때 약 420 Hz 정도 변하는 것을 확인 할 수 있었다. 이는 기존의 OEG와 peptide를 함께 코팅하였을 때의 최대 주파수인 약 45 Hz보다 약 9.3 배 증가한 수치로서 gold 표면에 시스틴기를 이용한 코팅이 잘 이루어지고 있을 뿐만 아니라 OEG를 이용하였을 때 보다 더 많은 코팅 효과를 볼 수 있음을 나타낸다.

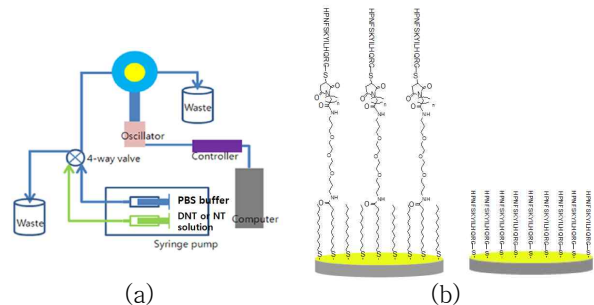


Fig. 1. (a) Experimental setup of QCM , (b) Coating peptide with OEG and without OEG on gold surface

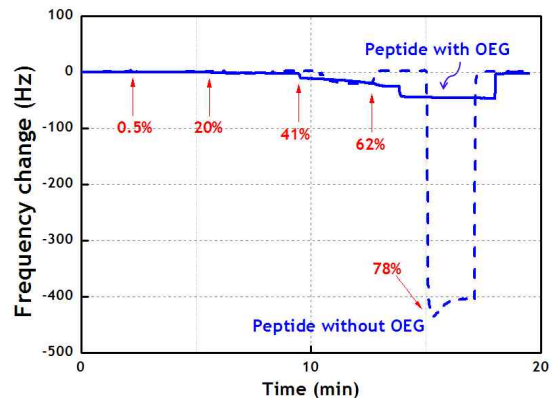


Fig. 2. Humidity responses for DNT specific peptide.

† 임시형; 국민대학교 기계시스템공학부
E-mail : shlim@kookmin.ac.kr
Tel : (02) 910-4672

* 국민대학교 기계설계학과 대학원

2.2 PBS buffer를 이용한 안정화 실험

새롭게 실험에 도입된 PBS buffer는 peptide를 코팅할 때 용제로 쓰이는 완충용액으로써 선택성 실험 시 적합한 buffer 인지 알아보기 위해 기존에 실험에 사용하였던 에탄올의 안정화 도달 정도를 비교하는 실험을 실시하였다. Fig. 1. (b)에서와 같이 peptide 흡도 실험 때와 동일하게 QCM sensor chip의 gold 면에 peptide(DNT-BP)를 바로 코팅하여 사용하였다. 각각의 실험은 PBS buffer(pH 7.2)와 에탄올 20 mL 씩을 사용하여 Fig. 1. (a)의 QCM 실험 장치 중 실린지 펌프 한쪽에 한가지의 용액을 연결하여 따로 실시하였고 유속 0.05 sccm, 실내습도 19 %, 실내온도 23 °C의 실험 조건에서 70 분 동안 실시하였다.

Fig. 3. 에서는 60 분이 흐른 후의 에탄올과 PBS buffer의 안정화 상태를 10 분 동안 측정된 결과를 보여준다. 에탄올은 60 분이 흐른 뒤에도 정상상태를 잡지 못하고 주파수가 약 2 Hz 정도 감소 하고 있다. 그에 반해 PBS buffer는 변화 폭이 0.5 Hz 내외이고 정상상태에 도달한 것으로 간주 할 수 있다. 이는 물이 대부분을 차지하고 있는 PBS buffer의 비열 (1 cal/g·°C)보다 에탄올의 비열 (0.58 cal/g·°C)이 낮기 때문에 액상에서 온도에 민감하게 반응하는 QCM 에 영향을 미친 것으로 보인다.

2.3 PBS buffer를 이용한 peptide의 선택성 실험

DNT binding peptide의 DNT(2,4-dinitrotoluene) 분자 검출 실험을 실시 하였다. 검출 대상은 선택성 비교를 위해 0.55 mM(30mg/30mL : DNT 기준)의 2,4-dinitrotoluene과 nitrotoluene 두가지를 사용하였고 안정화 실험과 동일한 실험 조건(실내습도 19 %, 실내 온도 23 °C)에서 90 분 동안 실행하였다. Fig. 1. (a) 의 QCM 실험 장치와 같이 실린지 펌프에 PBS buffer와 각각의 검출대상이 녹아 있는 solution을 20 mL씩 설치하였다. 먼저 PBS buffer를 4 way valve를 이용해 QCM에 2 ~ 3 mL 정도 흘려 주어 정상 상태에 도달했을 때 valve를 조작해 solution으로 바꾸어 peptide와 반응 할 수 있도록 하였다.

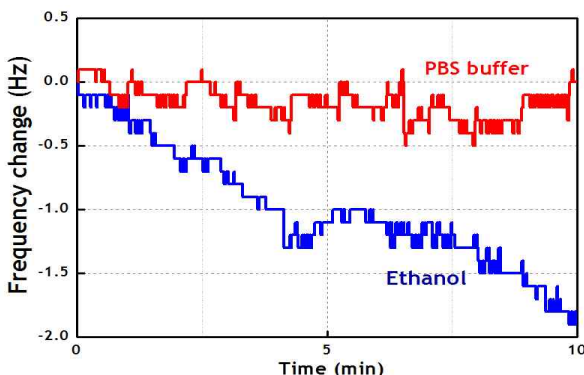


Fig. 3. Stabilization comparison between PBS buffer and ethanol solutions.

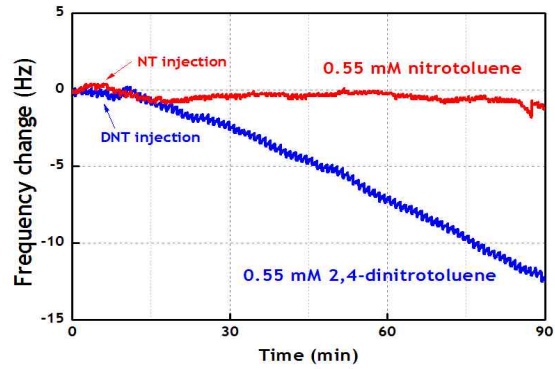


Fig. 4. Selectivity comparison between 0.55 mM 2,4-dinitrotoluene and nitrotoluene in PBS buffer solutions.

Fig. 4. 는 2,4-dinitrotoluene 과 nitrotoluene의 반응 결과를 나타낸 그래프 이다. 실험 결과는 검출 대상이 녹아있는 solution으로 바꾸어 준 후 90 분이 경과했을 때를 기준으로 측정 하였다. 그래프에 보여 지는 것처럼 QCM을 이용한 peptide의 2,4-dinitrotoluene의 검출에 의한 공진 주파수 변화는 약 12 Hz이고 같은 시점에서 nitrotoluene은 공진 주파수가 약 1 Hz 변한 것을 알 수 있다. 이 결과로 DNT binding peptide는 2,4-dinitrotoluene에 대해 nitrotoluene 보다 약 12 배 가량 높은 선택성을 가지고 있음을 알 수 있다.

3. 결 론

본 연구에서는 DNT를 선택적으로 검출 할 수 있는 DNT binding peptide를 QCM을 이용하여 흡도 실험과 용액에 따른 안정화 실험, PBS buffer를 이용한 DNT 분자 검출 실험을 진행하였다. 안정화 실험을 통해 에탄올과 같이 비열이 낮은 용액보다는 비교적 비열이 높은 용액을 사용해야 온도에 민감하게 반응하는 QCM 시스템에 적합함을 알 수 있었다. DNT 선택성 실험 결과에서는 PBS buffer를 사용함으로써 0.55 mM의 DNT를 NT보다 12 배의 선택성으로 검출 할 수 있음을 확인 할 수 있었다.

후 기

본 연구는 민군겸용기술개발사업 및 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단-신기술융합형 성장동력사업(No.20090313)의 지원을 받아 수행된 연구임.