

나노-바이오 진단의 향후 전망

지금까지 나노-바이오 진단에 대한 최신연구 동향에 대하여 알아보았다. 특히 바이오물질 중에서 많은 연구가 진행된 것은 DNA와 단백질에 대한 연구들이다. 표 1은 DNA를 복잡한 PCR를 사용하지 않고서 검출할 수 있는 방법들로 사용된 DNA 종류와 검출한계를 나타낸 것이다. 표 2는 단백질 검출에 이용된 연구 방법들로 사용된 타겟 물질, 이용한 방법, 단백질이 포함된 용액 등을 보여준다[1].

Table 1. Detection Limits of Nucleic Acid Assays^a

	assay	ss DNA	PCR products	genomic DNA
nanostructure-based methods	colorimetric ²⁹ (cross-linked Au nanoparticles)	~10 nM		
	colorimetric ³⁶ (non-cross-linked Au nanoparticles)	60 nM		
	magnetic relaxation ⁹⁷ (iron oxide nanoparticles)	20 pM		
	electrochemical ⁹⁶ (nanoparticles)	270 pM		
	scanometric ^{35,66,67} (Au nanoparticles with Ag amplification)	50 fM	100 aM ^b	200 fM
	Raman spectroscopy ⁹⁸ (Au nanoparticles with Ag amplification)	~1 fM		
	electrical ⁹⁸ (Au nanoparticles with Ag amplification)	500 fM		
	electrical ⁹⁹ (Si nanowire)	10 fM		
	electrical ¹⁰⁰ (carbon nanotube)	54 aM		
	resonant light-scattering ⁶¹⁻⁶⁶ (metal nanoparticles)	170 fM ^b		33 fM
	fluorescence ⁵⁶ (ZnS and CdSe quantum dots)	2 nM		
	surface plasmon resonance ⁴¹ (Au nanoparticles)	10 pM		
	quartz crystal microbalance ⁶⁴ (Au nanoparticles)	~1 fM		
	laser diffraction ⁴² (Au nanoparticles)	~50 fM		
	fluorescence ⁴⁵ (fluorescent nanoparticles)	~1 fM		
	other non-enzymatic based methods	bio-bar-code amplification ⁷¹ (Au nanoparticles with Ag amplification)	500 zM	
fluorescence ³⁵ (molecular fluorophores)			~600 fM ^b	
fluorescence (dendrimer amplification) ¹³⁴			2.5 μg	
	electrochemical amplification ¹³⁶ (electroactive reporter molecules)	100 aM		

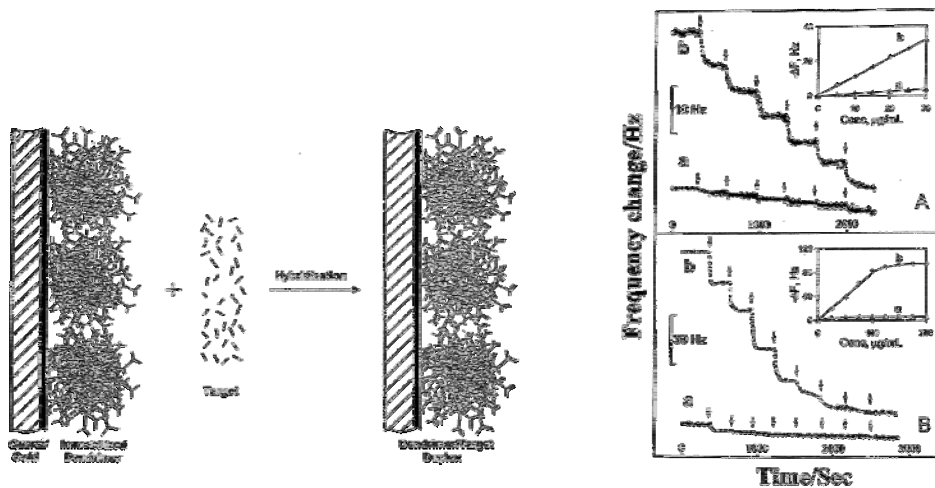
^a Detection limits can vary based on target length and sequence; therefore, it is difficult to compare assays without testing them using identical targets and conditions. ^b Values taken from ref 34.

Table 2. Detection Limits of Protein Assays

	assay	target	protein in saline	protein in serum
nanostructure-based methods	optical ⁷² (Au nanoshells)	rabbit IgG	0.88 ng/mL (~4.4 pM) ^a	0.88 ng/mL (~4.4 pM) ^a
	optical ⁷⁴ (Au nanoparticles)	IgE and IgG1	~20 nM	
	magnetic relaxation ⁹⁸ (iron oxide nanoparticles)	adenovirus (ADV) and herpes simplex virus (HSV)	100 ADV/ 100 μL	50 HSV/ 100 μL
	scanometric ⁷⁹ (Au nanoparticles with Ag amplification)	mouse IgG	200 pM	
	Raman ⁸² (Au nanoparticles with Raman labels)	prostate-specific antigen		30 fM
	surface plasmon resonance ^{83,84} (triangular Ag particles on surfaces)	streptavidin(S A) and anti-biotin (AB)	~1 pM SA and ~700 pM AB	
	electrical ¹¹⁰ (single-walled carbon nanotubes)	10E3 antibody to U1A RNA splicing factor	~1 nM	
	electrical ³⁰ (Si nanowires)	streptavidin	10 pM	
molecular fluorophore methods	bio-bar-code amplification ⁷⁵ (Au nanoparticles with Ag amplification)	prostate-specific antigen	30 aM (3 aM) ^b	(30 aM) ^b
	enzyme-linked immunosorbent assay	various	pM range	pM range
electrochemical methods	electrochemical amplification ¹³⁷ (oligonucleotide reporter molecules)	IgG	13 fM	
enzyme-based amplification methods	immuno-PCR ⁷⁶	bovine serum albumin	2 fM	
	rolling circle amplification ⁷⁷	prostate-specific antigen	3 fM	

^a Reported in ng/mL; authors converted to molar concentration for ease of comparison. ^b These values are the lower limits when PCR is used to amplify the bar-code DNA prior to scanometric detection of bar codes.

한편, 그 자체가 나노구조체인 덴드리머(dendrimer)와 전기화학적 태그(tag)를 이용하여 형광물질을 기반으로 하는 어세이(assay)를 대체하고 또한 검출한계를 증가시키기 위한 연구들도 진행되었다. 특히, 덴드리머는 타겟 물질과 결합할 수 있는 label의 수를 증가시키기 위한 방법으로 사용되어 왔다. 일반적인 분자형광 probe를 대신하여 약 250개의 형광물질을 포함한 덴드리머를 사용한 경우 형광어세이의 선택도가 약 16배 정도 증가함이 보고되었다[2]. 다음 그림은 석영/금 기판에 덴드리머를 고정화 한 후에 타겟과 반응시켜 duplex을 형성하는 과정(왼쪽)과 실제 DNA를 이용하여 분석한 결과(오른쪽)이다. 오른쪽 그림 A, B는 타겟의 농도를 변화시킨 것이다 (A; 5 $\mu\text{g/mL}$, B; 25 $\mu\text{g/mL}$). a와 b는 덴드리머를 사용하지 않은 것과 사용한 것의 결과이다. 이로로부터 알 수 있는 것은 진동수 변화가 덴드리머를 사용한 경우가 훨씬 크다(민감도 10배 이상)는 것과 사용한 타겟의 농도와 진동수 변화가 비례한다는 것이다[3]. 이러한 덴드리머의 사용은 선택도를 증가시킬 수 있는 장점이 있지만 추가적으로 복잡한 합성과정이 필요하다는 단점을 가진다.



전기화학적 어세이는 가격이 저렴하고 단순하기 때문에 바이오 물질 검출을 위한 매력적인 방법이다. 전기적 활성을 띄는 분자들로 코팅된 마이크로비드를 이용하여 타겟 물질을 인지했을 때 전기화학적 신호를 분석함으로써 검출한계를 증가시키는 방법이 보고되었다[4]. 먼저 자성 비드에 probe 물질을 부착하고 타겟 물질이 label 되어 있는 마이크로비드로 hybridization을 시킨다. 그런 다음 자석을 이용하여 결합된 자성 비드-DNA-마이크로비드를 분리한 후, chronopotentiometer를 이용하면 전기적 신호로부터 DNA를 검출할 수 있다. 이 방법의 검출 한계는 약 100 aM로 지금까지 보고된 전기화학적 어세이들에 비하여 매우 우수하였다.

간접적으로 단백질의 검출한계를 증가시킬 수 있는 방법은 DNA가 부착되어 있는 타겟 단백질을 이용하는 것이다. 검출 후에 PCR을 통하여 DNA를 증폭함으로써 검출한계를 증가시킬 수 있고 ELISA 방법보다 높은 민감도를 가진다. 이러한 방법

을 immuno-PCR이라 한다. 하지만, PCR은 매우 복잡하기 때문에 단순하고 이용자가 사용하기 간편한 ELISA 방법이 많이 사용되고 있다. 단백질을 검출하기 위하여 NP를 기초로 한 bio-bar-code 방법은 PCR 방법을 사용하지 않고서도 ELISA 방법보다 약 10^6 배 정도 높은 민감도를 가진다.

나노구조를 기초로 한 어세이들은 conventional 어세이들과 비교하여 매우 높은 선택도와 민감도 및 실용성을 가진다. 하지만, 현재까지 연구된 DNA와 단백질들은 대부분이 합성된 single-strand DNA이거나 상업적으로 이용가능한 단백질 시료들이었으며 몇몇 연구들만이 genomic DNA와 환자혈청에 있는 단백질을 이용한 것이었다. 높은 background와 경쟁 타겟들이 존재하는 매우 복잡한 환경 아래에서도 원하는 물질만을 검출하기 위해서는 매우 높은 선택성과 민감도를 가지는 어세이가 요구되며 계속된 연구를 통하여 이러한 인자들이 최적화 된다면 바이오물질의 검출이 실험실 수준을 뛰어 넘어 실제 검출이 필요한 현장에서 사용될 수 있는 어레이가 개발될 수 있을 것이다.

또한, 이러한 어레이들은 가격과 복잡성이 용인될 수 있는 범위에 있어야 하고 단순하면서도 시료의 조작이 간단해야만 할 것이다. 이들의 개발을 위한 나노-바이오 진단 분야의 발전 방향은 화학자, 의학자, 생물학자 및 재료, 기계, 화학공학자 등 나노-바이오 진단에 관계된 많은 연구자들의 협동 연구에 의한 계속된 혁신을 요구하고 있다.

References

- [1] Rosi, N. L. and Mirkin, C. A., "Nanostructures in Biodiagnostics", *Chem. Rev.*, **105**, 1547, 2005.
- [2] Stears, R. L., Getts, R. C., and Gullans, S. R., "A novel, sensitive detection system for high-density microarrays using dendrimer technology," *Physiol. Genomics*, **3**, 93, 2000.
- [3] Wang, J., and Jiang, M., "Dendritic Nucleic Acid Probes for DNA Biosensors," *J. Am. Chem.*, **120**, 8281, 1999.
- [4] Wang, J., Polsky, R., Merkoci, A., and Turner, K. L., "Electroactive Beads for Ultrasensitive DNA Detection", *Langmuir*, **19**, 989, 2003.