

Graphene의 최신 연구동향 3

DNA Sensors

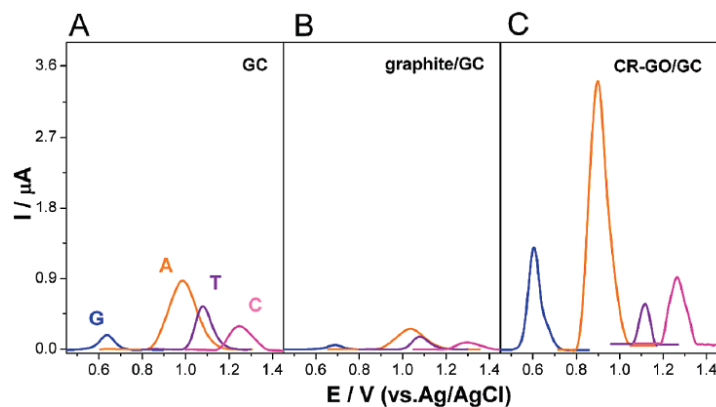
실제 의학 진단에서 사용되기 위한 DNA 센서는 다음과 같은 특성을 가져야 한다. 감도가 우수하고 선택적이며 빠르고 가능한 저렴한 분석할 수 있어야 한다[1]. 이러한 목적에 적합한 후보 중 하나가 그래핀이다. 최근에 보고된 그래핀을 이용한 DNA 검출 결과를 살펴보자.

1. 화학적으로 환원된 산화그래핀 이용[2]

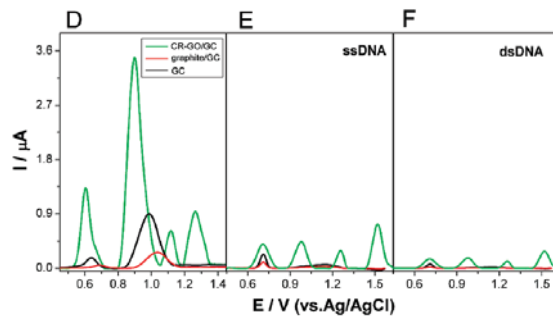
(Chemically reduced graphene oxide (CR-GO))

전기화학 센서[3]와 바이오센서로 CR-GO modified glassy carbon (CR-GO/GC) electrode가 이용될 수 있다. 이 전극은 흑연/GC, GC 전극들과 비교하였을 때 네 개의 DNA 염기들(A, T, G, C)에 대한 매우 증가된 전기화학적 활성으로 인하여 single-stranded single-stranded DNA (ssDNA)와 double-stranded DNA (dsDNA)에서 각 염기들을 검출 하는데 매우 우수하다. 이러한 특성은 짧은 oligomers에 대한 single-nucleotide polymorphism (SNP) 사이트를 검출할 수 있게 해 줌으로써 어떠한 hybridization 또는 labeling 과정이 필요 없게 된다.

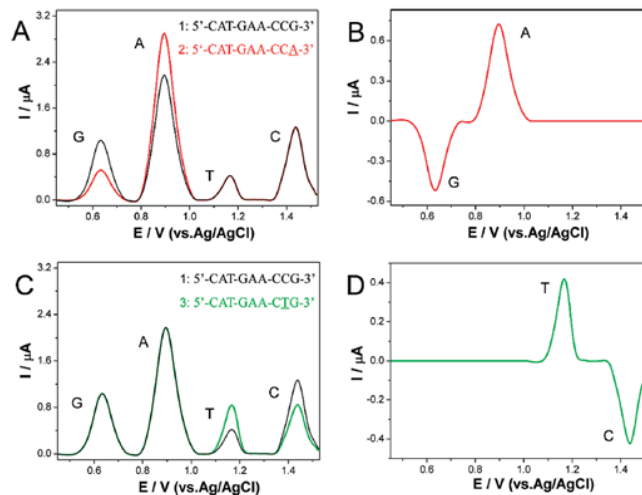
CR-GO/GC 전극을 이용하여 실제 DNA를 검출한 결과가 아래의 그림이다. 그림 A, B, C는 pH = 7.0에서 네 가지 염기들에 대한 GC전극, 흑연/GC 전극, CR-GO/GC 전극에서 differential pulse voltammograms (DPVs)의 결과를 보여준다. GC 전극과 비교했을 때 흑연/GC 전극에서는 전류가 감소하고 CR-GO/GC 전극에서는 전류의 세기가 증가하는 것을 확인할 수 있다. 이러한 원인은 다음과 같다. 흑연은 전자의 이동을 방해하는 역할을 하고 CR-GO 필름은 전자가 더 쉽게 흐를 수 있도록 도와주는 역할을 해주기 때문이다. 이러한 결과는 전기화학적 활성 증가를 의미하며 이는 네 가지 염기들이 혼합되어 있는 상태에서도 각 염기들에 대한 차이를 검출하는데 적용할 수 있음을 의미한다.



다음 그림의 D는 세 가지 전극에서 네 개의 염기들에 대한 전류를 나타낸 것이다. CR-GO/GC 전극만이 네 가지 염기들에 대하여 효율적으로 검출할 수 있다는 것이다. 다른 두 전극은 각 전극들이 겹치는 부분들이 존재하여 네 염기를 선택적으로 검출할 수가 없다. 그림 E, F는 ssDNA와 dsDNA 용액에서 세 전극에 대한 전류를 측정된 결과이다. 이 중에서 CR-GO/GC 전극만이 효과적으로 분리된 높은 전류 신호를 준다는 것을 알 수 있다. 이러한 증가된 전기화학적 활성은 CR-GO/GC 전극이 single-sheet nature, high conductivity, large surface area, antifouling properties, high electron transfer kinetics 등과 같은 특성을 갖기 때문이다.

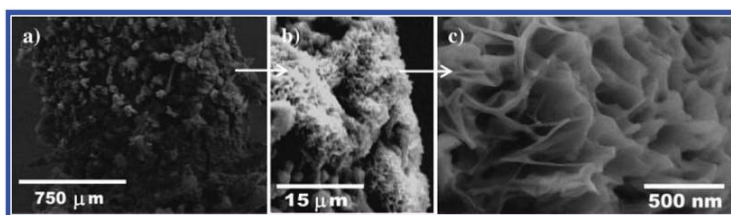


SNP는 인간 지놈에서 유전자 변형의 가장 풍부한 형태이다. 위의 특성을 갖는 CR-GO/GC 전극을 SNP 검출에 적용한 결과가 아래 그림이다. 사용된 DNA는 p52 유전자의 codon 248 중에 포함된 wild-type oligonucleotide 1 (5' -CAT-GAA-CCG-3')이다. SNP 검출 가능한지를 알아보려고 single-base mismatch oligonucleotides 2 (5' -CAT-GAA-CCA-3')와 3 (5' -CAT-GAA-CTG-3')이 사용되었다. G → A 돌연변이는 그림 A에 보이는 것처럼 A, G 염기들의 신호의 차이로 명백하게 구분될 수 있다. 또한, 그림 C에서 G → A 돌연변이도 T, C 염기들의 전류 차이로 구분이 가능하다. 그림 B, D는 wild-type oligonucleotide 1과 oligonucleotides 2, 3과의 차이를 나타낸 것이다. 이러한 과정은 hybridization과 labeling이 없으므로 매우 유용하게 DNA 검출에 이용될 수 있다.

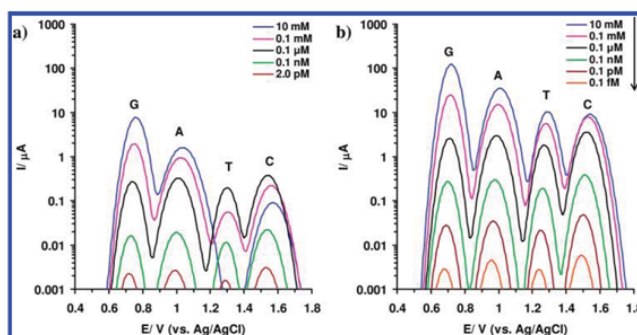


2. Graphene Oxide Nanowalls 이용[4]

매우 날카로운 엣지와 수직 방향성을 갖는 graphene oxide nanowall (GONWs)이 EDP(electrophoretic deposition)에 의하여 흑연 전극에 증착되었다. 환원된 graphene nanowalls (RGNWs)를 얻기 위하여 합성된 GONWs이 하이dra진에 의하여 환원되었다. 이렇게 제작된 RGNW 전극은 큰 표면적과 edge-plane defects를 가지며 differential pulse voltammetry (DPV)를 이용하여 네 가지 염기에 대한 single DNA 수준의 검출한계를 갖는 ultra-high-resolution의 전기화학 바이오센서에 적용될 수 있다. 아래의 그림은 흑연 전극에 EPD 방법에 의하여 얻어진 GONWs의 scanning electron microscope (SEM) 이미지이다. a 그림은 GONWs가 증착된 흑연 전극으로 표면이 균일하게 코팅된 것을 보여준다. 확대된 b 그림을 통하여 흑연 전극 대부분이 커버되었다는 것을 확인할 수 있다. 더 확대된 c 그림은 매우 날카로운 엣지(115 nm 두께)와 표면적이 매우 큰 구조의 GONWs morphology를 보여준다. 이러한 수직 배향성은 표면에 평행하게 증착된 graphene nanoflakes 보다 더 큰 표면 활성을 제공함으로써 독특한 전기화학적 물성을 제공할 수 있다.

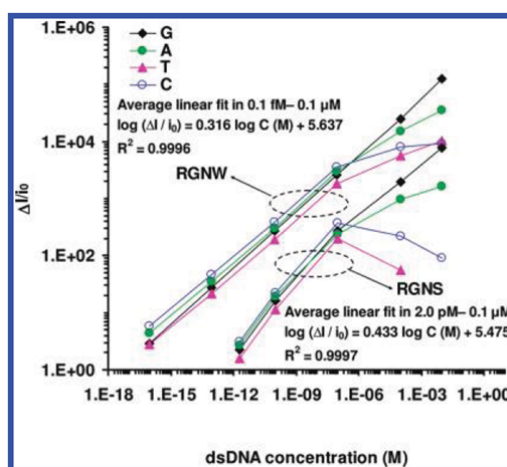


RGNWs 전극과 reduced graphene nanosheet (RGNS)전극을 이용하여 다양한 농도의 네 가지 염기에 대한 전류 측정 결과가 아래 그림이다. 그림 a는 RGNS 전극에 대한 결과로써 다양한 농도의 dsDNA에서 네 가지 염기들에 대한 전류 피크를 보여주고 있다. 그런데 농도에 대한 전류 의존 관계가 작은 농도 범위에서만 성립한다. 즉, dsDNA 10 mM에서 T 염기에 대한 전류 피크가 사라지게 되고 0.1 uM에서 C, T 염기의 전류 세기가 0.1 mM에서의 전류 세기보다 크게 나타나므로 이 영역에서 검출이 불가능하다. 이에 반하여 RGNWs 전극은 저농도에서 고농도까지 (0.1 fM~10 mM) 농도와 전류 피크가 의존관계이다.



RGNWs 전극의 저농도에서 검출 가능한 것은 high surface porosity와 전자의 이동을 증가시켜주는 edge-plane defects 때문이다.

아래의 그림은 RGNWs 전극과 RGNS 전극에서 네 가지 염기들의 농도에 대한 의존성을 보여준다. RGNS 전극은 2.0 pM에서 0.1 uM의 영역에서만 농도와 전류간의 linearity를 갖는다. 2.0 pM 보다 낮은 농도와 10 uM 보다 높은 농도에서는 의존성을 찾을 수 없다. 반면에 RGNWs 전극에서는 네 가지 염기 모두에서 저농도에서 고농도까지 전류와 linearity를 보여준다. 이러한 결과는 RGNWs 전극이 고감도의 DNA 센서에 적용될 수 있음을 알려준다.



실제 RGNWs 전극을 이용한 검출한계는 9.4 zM (~5 dsDNA/mL)을 결과를 나타내었다. 즉, 1 mL에 다섯 개의 dsDNA가 존재하는 것을 검출할 수 있다는 것이다. 또한, SNP 검출 한계는 20 zM (~10 dsDNA/mL)을 나타내었다. 이러한 결과는 RGNWs 전극이 초고감도의 전기화학 DNA 센서[5]에 적용될 수 있음을 보여준다.

References

- [1] T. Kuila, S. Bose, P. Khanra, A. K. Mishra, N. H. Kim, and J. H. Lee, "Recent advances in graphene-based biosensors," *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 4637, 2009.
- [2] M. Shou, Y. Zhai, and S. Dong, A. K. Geim, "Electrochemical Sensing and Biosensing Platform Based on Chemically Reduced Graphene Oxide," *Anal. Chem.*, 81, 5603, 2009.
- [3] Y. Shai, J. Wang, H. Wu, J. Liu, I. A. Aksay, and Y. Lin, "Graphene Based Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review," *Electroanalysis*, 22, 1027, 2010.

- [4] O. Akhavan, E. Ghaderi, and R. Rahighi, "Toward Single-DNA Electrochemical Biosensing by Graphene Nanowalls," *ACS NANO*, 6, 2904, 2012.
- [5] M. S. Artiles, C. S. Rout, and T. S. Fisher, "Graphene-based hybrid materials and devices for biosensing," *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 1352, 2011.