



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0114932
(43) 공개일자 2013년10월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/53 (2006.01) G01N 33/553 (2006.01)

B82Y 15/00 (2011.01)

(21) 출원번호 10-2012-0037370

(22) 출원일자 2012년04월10일

심사청구일자 2012년04월10일

(71) 출원인

서강대학교산학협력단

서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)

(72) 발명자

최정우

서울특별시 용산구 한강로3가 63-389(2/9) 용산 시티파크 103-603

안정희

서울특별시 금천구 시흥동 839-29

오병근

서울특별시 마포구 성산동 666 월드컵아이파크 106-1506

(74) 대리인

양부현

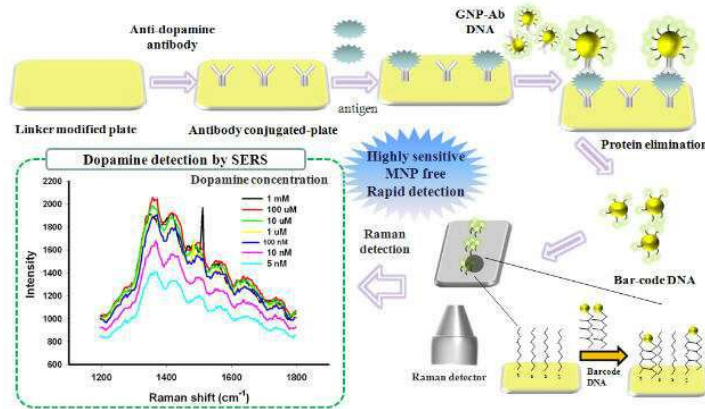
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 신경전달-관련 물질 검출용 센서

(57) 요약

본 발명은 신경전달-관련 물질 검출용 센서에 관한 것으로, (a) 신경전달-관련 물질에 대한 제1항체가 결합된 마이크로어레이 칩 판; (b) 상기 신경전달-관련 물질과 동일한 신경전달-관련 물질에 대한 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자; 및 (c) 상기 바코드 DNA에 상보적인 서열을 갖는 상보적 DNA가 표면 상에 고정화 된 금속 나노 패턴을 갖는 금속 나노 기판을 포함하는 신경전달-관련 물질 검출용 센서를 제공한다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2011-0004558
부처명	교육과학기술부
연구사업명	일반연구자 지원사업
연구과제명	신경 전달 물질을 검출하기 위한 나노 바코드 DNA 센서의 개발
주관기관	서강대학교 산학협력단
연구기간	2011.05.01 ~ 2012.04.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	201143008
부처명	지식경제부
연구사업명	전략기술인력사업
연구과제명	융합바이오 인력양성사업
주관기관	서강대학교 산학협력단
연구기간	2011.09.01 ~ 2012.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

다음을 포함하는 신경전달-관련 물질 검출용 센서:

- (a) 신경전달-관련 물질에 대한 제1항체가 결합된 마이크로어레이 칩 판;
- (b) 상기 신경전달-관련 물질과 동일한 신경전달-관련 물질에 대한 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자; 및
- (c) 상기 바코드 DNA에 상보적인 서열을 갖는 상보적 DNA가 표면 상에 고정화 된 금속 나노 패턴을 갖는 금속 나노 기관.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 신경전달-관련 물질은 도파민(dopamine), 티로신 수산화효소(Tyrosine Hydroxylase), 아드레날린(adrenaline), 노르아드레날린(noradrenaline), 글루타메이트(glutamate), 시로토닌(serotonin), γ -아미노부티르산(γ -Aminobutyric acid), 아세틸콜린(acetylcholine), DOPA 디카르복실라아제(Dihydroxyphenylalanine decarboxylase), 방향족 L-아미노 디카르복실라아제(Aromatic L-amino decarboxylase), 도파민 β -수산화효소(Dopamine β -hydroxylase) 또는 페닐에탄올아민 N-메틸트랜스퍼라아제(Phenylethanolamine N-methyltransferase)인 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 신경전달-관련 물질은 도파민 또는 티로신 수산화효소(Tyrosine Hydroxylase)인 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 바코드 DNA의 서열은 서열목록 제1서열 또는 제3서열인 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 상보적 DNA는 서열목록 제2서열 또는 서열목록 제4서열인 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 금속은 금, 은, 바륨, 크롬, 코발트, 망간, 철, 니켈, 구리, 아연, 니오븀, 팔라듐, 백금, 터븀, 가돌리늄, 디스프로슘, 홀뮴, 에르븀, 사마륨 및 네오디뮴으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 금속인 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 금속은 금(Au) 또는 은(Ag)인 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 8

다음의 단계를 포함하는 신경전달-관련 물질 검출방법:

- (a) (i) 신경전달물질 제1항체가 결합된 마이크로어레이 칩 판 및 (ii) 신경전달-관련 물질과 동일한 신경전달-관련 물질에 대한 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자에 분석하고자 하는 시료를 접촉시키는 단계;
- (b) 상기 단계 (a)의 결과물로부터 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자를 분리시키는 단계;
- (c) 상기 분리된 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자를 상보적 DNA가 고정화된 금 나노 패턴을 갖는 기관에 접촉시키는 단계; 및
- (d) 상기 바코드 DNA 및 상기 상보적 DNA의 혼성화 여부를 분석하는 단계.

청구항 9

상기 제 8 항에 있어서, 상기 단계 (b)의 분리는 프로테아제(protease) K를 처리하여 실시하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

상기 제 8 항에 있어서, 상기 단계 (e)의 결합체의 분석은 라만 분광계를 이용하여 혼성화 여부를 검출하는 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 신경전달-관련 물질 검출용 센서에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 도파민은 카테콜아민군에 속하는 물질로 동물의 체내에서 중요한 생리적 역할을 담당한다. 도파민은 아민기와 연결된 카테콜 구조로 구성되어 디하이드록시페닐알라닌(dihydroxyphenylalanine) 구조를 갖는다. 뇌에서, 도파민은 신경세포에서 분비되어 다른 신경세포로 전달되는 신경전달물질이다. 인간 뇌는 D1, D2, D3, D4, 및 D5로 구성된 5가지 유형의 도파민 수용체를 갖는다. 도파민은 흑질, 복측 피개부를 포함하는 뇌의 몇몇 영역에서 제조된다. 도파민은 심박동수 및 혈압을 증가시키는 기능을 하는 교감신경시스템에 작용하는 정맥 약물로서 이용될 수 있다. 그러나, 도파민은 혈액 뇌관문을 통과할 수 없기 때문에 약물로서 중추신경계에 직접적으로 영향을 줄 수 없다.

[0003] 티로신 수산화효소(Tyrosine Hydroxylase; TH)는 중추신경계 및 말초신경계에서 카테콜아민의 합성경로 중 첫 번째 효소이면서 속도조절효소이다. 티로신 수산화효소는 흑색질, 복측피개영역, 시상하부, 후 신경구의 도파민성 뉴런 및 청반 및 외측피개개의 비아드레날린성 뉴런 및 뇌간의 아드레날린성 뉴런에서 발현된다. 장력부전 운동 및 탄도 운동과 관련된 심한 축성 저혈압 및 운동기능 감퇴증을 갖는 어린이에서 뇌척수액 신경전달물질 및 DNA 분석 후 티로신 수산화효소의 결핍으로 진단한다.

[0004] 기존의 신경전달 물질은 액체크로마토그래피, ELISA 방법 등에 의해서 측정 하였다. 특히 체액에서 미량으로 존재하기 때문에 검출 민감도를 향상 시킬 필요가 요구된다.

[0005] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

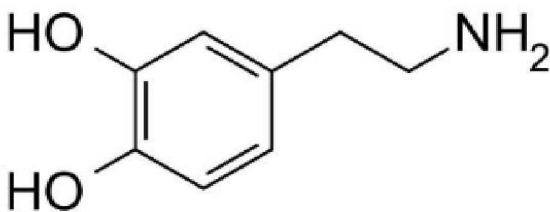
발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명자들은 파킨슨병과 같은 뇌질환을 예방하기 위해 고감도의 신경전달-관련 물질을 검출용 센서를 개발하고자 노력하였다. 그 결과 종래의 ELISA(Enzyme-linked Immunosorbent Assay) 또는 액체크로마토그래피 방법과 비교하여 용이한 검출 방법 및 우수한 민감도(sensitivity)를 갖는 신경전달-관련 물질 검출용 센서를 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.
- [0007] 따라서, 본 발명의 목적은 신속하고 검출 민감도를 향상시킨 신경전달-관련 물질 검출용 센서를 제공하는 데 있다.
- [0008] 본 발명의 다른 목적은 신경전달-관련 물질 검출방법을 제공하는 데 있다.
- [0009] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

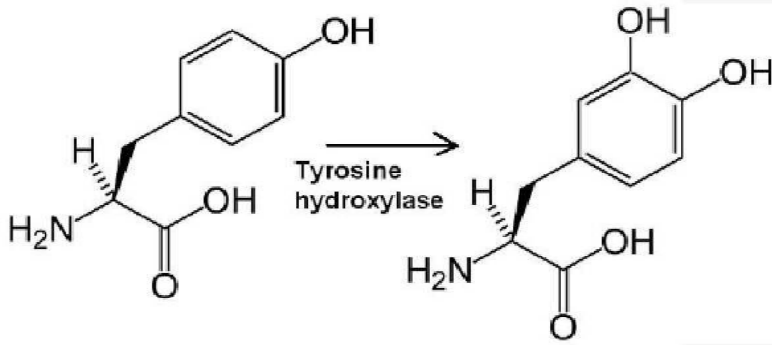
과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 다음을 포함하는 신경전달-관련 물질 검출용 센서를 제공한다:
- [0011] (a) 신경전달-관련 물질에 대한 제1항체가 결합된 마이크로어레이 칩 판;
- [0012] (b) 상기 신경전달-관련 물질과 동일한 신경전달-관련 물질에 대한 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자; 및
- [0013] (c) 상기 바코드 DNA에 상보적인 서열을 갖는 상보적 DNA가 표면 상에 고정화 된 금속 나노 패턴을 갖는 금속 나노 기관.
- [0014] 본 발명자들은 파킨슨병과 같은 뇌질환을 예방하기 위해 고감도의 신경전달-관련 물질을 검출용 센서를 개발하고자 노력하였다. 그 결과 종래의 ELISA 또는 액체크로마토그래피 방법과 비교하여 용이한 검출 방법 및 우수한 민감도(sensitivity)를 갖는 신경전달-관련 물질 검출용 센서를 개발하였다.
- [0015] 본 명세서에서, 용어 ‘신경전달-관련 물질’은 바람직하게는, 도파민(dopamine), 티로신 수산화효소(Tyrosine Hydroxylase), 아드레날린(adrenaline), 노르아드레날린(noradrenaline), 글루타메이트(glutamate), 시로토닌(serotonin), γ -아미노부티르산(γ -Aminobutyric acid), 아세틸콜린(acetylcholine), DOPA 디카르복실라아제(Dihydroxyphenylalanine decarboxylase), 방향족 L-아미노 디카르복실라아제(Aromatic L-amino decarboxylase), 도파민 β -수산화효소(Dopamine β -hydroxylase) 또는 페닐에탄올아민 N-메틸트랜스퍼라아제(Phenylethanolamine N-methyltransferase)이고, 보다 바람직하게는, 도파민 또는 티로신 수산화효소(Tyrosine Hydroxylase)이다.
- [0016] 상기 도파민은 카테콜아민 패밀리의 하나로, 뇌의 신경세포에서 분비된 신경전달물질로 다른 신경세포에 신호를 전달하는 역할을 하며, 도파민의 구조는 다음과 같다:



- [0017]
- [0018] 상기 티로신 수산화효소는 아미노산 L-티로신을 L-3,4-디하이드록시페닐알라닌(L-3,4-dihydroxyphenylalanine;

L-DOPA)로 전환하는 반응을 촉매한다. 상기 L-3,4-디하이드록시페닐알라닌은 노르아드레날린(노르에피네프린) 및 아드레날린(에피네프린)의 전구체인 도파민의 전구체이며, 반응식은 다음과 같다:



[0019]

[0020] 본 발명의 주요한 구성 중 하나는 신경전달-관련 물질에 대한 제1항체가 결합된 마이크로어레이 칩 판이다. 상기 마이크로어레이 칩 판은 신경전달-관련 물질과 특이적으로 결합하는 제1항체가 결합된 형태이다.

[0021] 본 발명의 마이크로어레이는 당업계에서 통상적으로 이용하는 DNA 또는 RNA가 기관 상에 고정화된 형태가 아닌 항체를 고정화한 마이크로어레이이다. 바람직한 기관은 적합한 견고성 또는 반-견고성 지지체로서, 예컨대, 막, 필터, 칩, 슬라이드, 웨이퍼, 파이버, 자기성 비드 또는 비자기성 비드, 겔, 튜빙, 플레이트, 고분자, 미소 입자 및 모세관을 포함한다.

[0022] 본 발명에서 이용될 수 있는 항체는 신경전달-관련 물질에 특이적으로 결합하는 폴리클로날 또는 모노클로날 항체이며, 바람직하게는 모노클로날 항체이다. 상기 항체는 완전한 항체 형태뿐만 아니라 항체 분자의 항원 결합 단편을 포함한다. 본 발명의 신경전달-관련 물질에 대한 항체는 당업계에서 통상적으로 실시되는 방법들, 예를 들어, 융합 방법(Kohler and Milstein, *European Journal of Immunology*, 6:511-519(1976)), 재조합 DNA 방법(미국 특허 제4,816,56호) 또는 파아지 항체 라이브러리 방법(Clackson et al, *Nature*, 352:624-628(1991)) 및 Marks et al, *J. Mol. Biol.*, 222:58, 1-597(1991))에 의해 제조될 수 있다. 항체 제조에 대한 일반적인 과정은 Harlow, E. and Lane, D. *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, New York, 1999; Zola, H., *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1984; 및 Coligan, *CURRENT PROTOCOLS IN IMMUNOLOGY*, Wiley/Greene, NY, 1991에 상세하게 기재되어 있으며, 상기 문헌들은 본 명세서에 참조로서 삽입된다. 예를 들어, 단일클론 항체를 생산하는 하이브리도마 세포의 제조는 불사멸화 세포주를 항체-생산 림프구와 융합시켜 이루어지며, 이 과정에 필요한 기술은 당업자에게 잘 알려져 있으며 용이하게 실시할 수 있다. 폴리클로날 항체는 시르투인 단백질 항원을 적합한 동물에게 주사하고, 이 동물로부터 항혈청을 수집한 다음, 공지의 친화성(affinity) 기술을 이용하여 항혈청으로부터 항체를 분리하여 얻을 수 있다.

[0023] 완전한 항체는 2개의 전체 길이의 경쇄 및 2개의 전체 길이의 중쇄를 가지는 구조이며 각각의 경쇄는 중쇄와 다이설파이드 결합으로 연결되어 있다. 중쇄 불변 영역은 감마(γ), 뮤(μ), 알파(α), 델타(δ) 및 엡실론(ϵ) 타입을 가지고 서브클래스로 감마1(γ 1), 감마2(γ 2), 감마3(γ 3), 감마4(γ 4), 알파1(α 1) 및 알파2(α 2)를 가진다. 경쇄의 불변영역은 카파(κ) 및 람다(λ) 타입을 가진다 (Cellular and Molecular Immunology, Wonsiewicz, M. J., Ed., Chapter 45, pp. 41-50, W. B. Saunders Co. Philadelphia, PA(1991); Nisonoff, A., Introduction to Molecular Immunology, 2nd Ed., Chapter 4, pp. 45-65, sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA (1984)).

[0024] 항체 분자의 항원 결합 단편이란 항원 결합 기능을 보유하고 있는 단편을 의미하며, Fab, F(ab'), F(ab')₂ 및 Fv를 포함한다. 항체 단편 중 Fab는 경쇄 및 중쇄의 가변영역과 경쇄의 불변 영역 및 중쇄의 첫 번째 불변 영역(C_{H1})을 가지는 구조로 1개의 항원 결합 부위를 가진다. Fab'는 중쇄 C_{H1} 도메인의 C-말단에 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 힌지 영역(hinge region)을 가진다는 점에서 Fab와 차이가 있다. F(ab')₂ 항체는 Fab'의 힌지 영역의 시스테인 잔기가 다이설파이드 결합을 이루면서 생성된다. Fv는 중쇄 가변부위 및 경쇄 가변부위만을 가지고 있는 최소의 항체조각으로 Fv 단편을 생성하는 재조합 기술은 PCT 국제 공개특허출원 WO 88/10649, WO 88/106630, WO 88/07085, WO 88/07086 및 WO 88/09344에 개시되어 있다. 이중쇄 Fv(two-chain Fv)는 비공유 결합으로 중쇄 가변부위와 경쇄 가변부위가 연결되어 있고 단쇄 Fv(single-chain Fv)는 일반적으로 펩타이드 링커를 통하여 중쇄의 가변 영역과 단쇄의 가변 영역이 공유 결합으로 연결되거나 또는 C-말단에서

바로 연결되어 있어서 이중쇄 Fv와 같이 다이머와 같은 구조를 이룰 수 있다. 이러한 항체 단편은 단백질 가수 분해 효소를 이용해서 얻을 수 있고(예를 들어, 전체 항체를 파파인으로 제한 절단하면 Fab를 얻을 수 있고 펩 신으로 절단하면 F(ab')₂ 단편을 얻을 수 있다), 바람직하게는 유전자 재조합 기술을 통하여 제작할 수 있다.

[0025] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 신경전달-관련 물질에 대한 제1항체가 결합된 마이크로어레이 칩 판을 제조하기 위해, 마이크로어레이 칩 판과 항체를 결합하기 위한 반응을 실시한다.

[0026] 본 발명의 주요한 구성 중 하나는 상기 신경전달-관련 물질과 동일한 신경전달-관련 물질에 대한 제2항체 및 바 코드 DNA가 결합된 금 나노입자이다. 상기 제2항체는 제1항체와 동일한 신경전달-관련 물질에 대하여 특이적으로 결합하며, 상기 제1항체 및 제2항체가 결합하는 신경전달-관련 물질의 에피토프(epitope)는 상이하다.

[0027] 상기 바코드 DNA는 상기 신경전달-관련 물질의 핵산서열을 기초로 디자인한 10-100개의 염기로 구성된 핵산서열로, 바람직하게는 서열목록 제1서열 또는 제3서열이다. 상기 서열목록 제1서열은 도파민에 특이적인 바코드 DNA이고, 상기 서열목록 제3서열은 티로신 수산화효소에 특이적인 바코드 DNA이다.

[0028] 본 발명에서 이용되는 핵산 서열은 상기 언급된 서열 이외에 상기 핵산 서열에 대하여 실질적인 동일성을 나타내는 핵산 서열도 포함하는 것으로 해석된다. 상기의 실질적인 동일성은, 본 발명의 핵산 서열과 임의의 다른 서열을 최대한 대응되도록 열라인하고, 당업계에서 통상적으로 이용되는 알고리즘을 이용하여 열라인된 서열을 분석한 경우에, 최소 80%의 상동성, 보다 바람직하게는 최소 90%의 상동성, 가장 바람직하게는 최소 95%의 상동성을 나타내는 핵산 서열을 의미한다. 서열비교를 위한 열라인먼트 방법은 당업계에 공지되어 있다. 열라인먼트에 대한 다양한 방법 및 알고리즘은 Smith and Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482(1981); Needleman and Wunsch, *J. Mol. Bio.* 48:443(1970); Pearson and Lipman, *Methods in Mol. Biol.* 24: 307-31(1988); Higgins and Sharp, *Gene* 73:237-44(1988); Higgins and Sharp, *CABIOS* 5:151-3(1989); Corpet et al., *Nuc. Acids Res.* 16:10881-90(1988); Huang et al., *Comp. Appl. BioSci.* 8:155-65(1992) and Pearson et al., *Meth. Mol. Biol.* 24:307-31(1994)에 개시되어 있다. NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-10(1990))은 NCBI (National Center for Biological Information) 등에서 접근 가능하며, 인터넷 상에서 blastp, blastm, blastx, tblastn and tblastx와 같은 서열 분석 프로그램과 연동되어 이용할 수 있다. BLSAT는 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>에서 접속 가능하다. 이 프로그램을 이용한 서열 상동성 비교 방법은 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/blast_help.html에서 확인할 수 있다.

[0029] 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 상기 바코드 DNA의 말단에 티올기를 합성하여 금 나노입자에 결합한다. 티올기가 결합된 바코드 DNA와 금 나노입자를 pH 8의 버퍼에서 상온, 30분 동안 반응하고 이에 도파민(또는 티로신 수산화효소)의 항체를 첨가하여 4℃에서 16시간 동안 진동시키면서 반응한다.

[0030] 본 발명의 주요한 구성 중 하나는 상기 바코드 DNA에 상보적인 서열을 갖는 상보적 DNA가 표면 상에 고정화 된 금속 나노 패턴을 갖는 금속 나노 기관이다.

[0031] 상기 금속 나노 기관 상에 고정화 되는 상보적 DNA는 상기 바코드 DNA에 대하여 상보적(complementary)인 서열이다. 바람직하게는 상기 상보적 DNA는 서열목록 제2서열 또는 서열목록 제4서열이다.

[0032] 바람직한 구현예에 따르면, 상기 상보적 DNA의 5' 위치에 티올기를 합성하여 금속 나노 기관에 고정화한다.

[0033] 본 발명의 금속 나노 기관을 구성할 수 있는 금속은 바람직하게는, 금(Au), 은(Ag), 바륨(Ba), 크롬(Cr), 코발트(Co), 망간(Mn), 철(Fe), 니켈(Ni), 구리(Cu), 아연(Zn), 니오븀(Nb), 팔라듐(Pd), 백금(Pt), 테르븀(Tb), 가돌리늄(Gd), 디스프로슘(Dy), 홀름(Ho), 에르븀(Er), 사마륨(Sm) 및 네오디뮴(Nd)으로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 금속이고, 보다 바람직하게는, 금 또는 은이다.

[0034] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다음의 단계를 포함하는 신경전달-관련 물질 검출방법을 제공한다:

[0035] (a) (i) 신경전달물질 제1항체가 결합된 마이크로어레이 칩 판 및 (ii) 신경전달-관련 물질과 동일한 신경전달-관련 물질에 대한 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자에 분석하고자 하는 시료를 접촉시키는 단계;

[0036] (b) 상기 단계 (a)의 결과물로부터 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자를 분리시키는 단계;

[0037] (c) 상기 분리된 제2항체 및 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자를 상보적 DNA가 고정화된 금 나노 패턴을 갖는 기관에 접촉시키는 단계; 및

- [0038] (d) 상기 바코드 DNA 및 상기 상보적 DNA의 혼성화 여부를 분석하는 단계.
- [0039] 본 발명의 방법은 상기 신경전달-관련 물질 검출용 센서를 이용하기 때문에, 이 둘 사이에 공통된 내용은 본 명세서의 과도한 복잡성을 피하기 위하여, 그 기재를 생략한다.
- [0040] 본 발명의 신경전달-관련 물질 검출방법에 적용될 수 있는 시료는 세포생물학적 및 임상학적 시료를 모두 포함한다.
- [0041] 본 발명의 상기 제1항체가 결합된 마이크로어레이 칩 판-신경전달 관련 물질-금 나노입자 복합체로부터 바코드 DNA-결합된 금 나노입자를 분리하기 위해, 세린 프로테아제(Serine proteases, 예컨대, 프로테아제 K), 트레오닌 프로테아제(Threonine proteases), 시스테인 프로테아제(Cysteine proteases), 아스파테이트(Aspartate proteases), 메탈로프로테아제(Metalloproteases) 또는 글루탐산 프로테아제(Glutamic acid proteases)를 처리하여 실시할 수 있으며, 바람직하게는, 프로테아제(protease) K를 처리하여 실시한다.
- [0042] 상기 바코드 DNA에 상보적인 서열을 갖는 상보적 DNA가 표면 상에 고정화 된 금속 나노 패턴을 갖는 금속 나노 기관에 상기 바코드 DNA-결합된 금 나노입자를 접촉하여 바코드 DNA 및 상기 상보적 DNA의 혼성화 여부를 분석하기 위해, 바람직하게는, 표면 증강라만(Raman) 분광계를 이용하여 실시한다.

발명의 효과

- [0043] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:
- [0044] (a) 본 발명은 신경전달-관련 물질 검출용 센서를 제공한다.
- [0045] (b) 본 발명은 종래의 PCR 방법과 비교하여 고도의 민감도를 갖는 신경전달-관련 물질 검출용 센서를 제공한다.
- [0046] (c) 본 발명은 다양한 신경전달-관련 물질에 대해 특이적인 결과를 갖는 검출용 센서를 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0047] 도 1은 신경 전달 물질을 검출하기 위한 센서 칩 제작도를 나타낸다.
- 도 2은 나노 다공성 알루미늄을 이용한 나노패턴 기술을 도식화하여 보여준다.
- 도 3는 알루미늄 마스트의 동공을 SEM(Scanning Electron Microscope) 이미지로 보여준다.
- 도 4은 금(Au) 나노 기관의 SEM 이미지를 보여준다.
- 도 5는 금 나노 기관을 SERS(Surface Enhanced Raman Spectroscopy) 측정하여 나타낸 그래프이다.
- 도 6은 은(Ag) 나노 기관의 SEM 이미지를 보여준다.
- 도 7는 금 나노 기관을 SERS 측정하여 나타낸 그래프이다.
- 도 8은 금 나노 기관 상에 고정된 도파민의 상보적 DNA의 흡광도 그래프를 나타낸다.
- 도 9은 금 나노 기관 상에 고정된 도파민의 상보적 DNA의 라만 피크를 나타낸다.
- 도 10는 은 나노 기관 상에 고정된 도파민의 상보적 DNA의 라만 피크를 나타낸다.
- 도 11은 금 나노 기관 상에 고정된 티로신 수산화효소의 상보적 DNA의 라만 피크를 나타낸다.
- 도 12은 은 나노 기관 상에 고정된 티로신 수산화효소의 상보적 DNA의 라만 피크를 나타낸다.
- 도 13a 및 도 13b는 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자의 흡광도를 나타낸다. 도 13a는 바코드 DNA가 결합되지 않은 금 나노입자이고, 도 13b는 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자이다.
- 도 14는 항체가 결합된 항체 기관-도파민-금 나노입자 복합체에 프로테아제 K를 처리한 후 결합된 바코드 DNA를 SERS 분석한 결과이다.
- 도 15은 금속 나노 기관 상에 고정된 상보적 DNA와 자성입자-신경전달 관련 물질-금 나노입자 복합체로부터 분

리한 바코드 DNA가 결합된 금속 나노 기관의 SEM 이미지를 보여준다.

도 16은 티로신 수산화효소의 농도에 따른 SERS 피크의 변화를 보여준다. 티로신 수산화효소의 농도가 증가할수록 SERS 피크도 증가됨을 보여준다.

도 17는 금 나노 기관 상에 결합된 상보적 또는 비상보적 DNA에 바코드 DNA의 결합 시 라만 피크를 보여준다.

도 18은 신경전달 물질검출용 DNA 센서 칩 제작도로 시료 준비 단계에서 혈액주입구와 항체 주입구, 버퍼 용액 주입구로 구성하며 1차 항체가 결합된 microarray 칩 구성과, 상기 바코드 DNA 및 상기 상보적 DNA의 혼성화 여부를 분석하는 단계를 걸쳐 신경전달 검출용 센서칩을 구성하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0049] 실시예

[0050] 실험재료 및 방법

[0051] DNA 센서 제작을 위한 나노 기관 제작

[0052] 나노패턴 기관의 제작은 나노 다공성 알루미늄을 이용하여 금을 열 증착을 시킨 후 다시 금을 전기 도금 시켜 알루미늄을 녹여내면 균일한 나노로드가 형성된 기관을 얻는 방법으로 각각 크기별로 70 nm, 90 nm의 금과 은 나노 패턴을 제작하였다(도 1).

[0053] 잘 배열된 알루미늄 마스크는 순도 99.99%의 100 μm 두께를 갖는 알루미늄을 이용하여 2단계 양극산화과정을 통해 제조하였다. 첫 번째 양극산화는 2개의 전극시스템을 사용하여 알루미늄을 양극으로 사용하고 백금전극을 음극으로 사용하여 0.3 M 옥살산 전해질 용액에서 40 V 전압을 인가하였으며, 양극 산화 동안 온도는 4℃를 유지하였다.

[0054] 첫 번째 양극 산화 후 두 번째 양극산화를 실시하였다. 양끝이 뚫려 있는 구조의 알루미늄 마스크의 배리어층을 녹여내고 동공의 직경을 크게 하기 위해 0.4 M 인산 및 0.2 M 크롬산을 이용하여 65 ℃에서 5시간 처리하였다. 알루미늄 층을 분리하기 위해 2차 양극산화 과정을 5 중량% 인산 용액에서 30 ℃에서 15분 동안 실시하여 알루미늄 마스크를 제조하였다. 제조된 알루미늄 마스크를 ITO(Indium Tin Oxide)판에 부착 후 금 증착하였다. 증착 후 60-70 nm 일정한 패턴의 금나노 기관을 제조하였다. 나노 기관의 이미지를 SEM(scanning electron microscope)으로 관찰하였다.

[0055] DNA 제작

[0056] 도파민을 검출하기 위해, 도파민 바코드 DNA(5'-CCACACTGCCG-GATGTGGATTTAACCTTTCAGCAAATGTCTT-(A)₁₀-(CH₂)₃-SH-3'), 상보적 DNA(5'-SH-AAG ACA TTT GCT GAA AGG TTA AAT CCA CAT CCG GCA GTG TGG-3') 및 PCR을 위해 정방향 프라이머(5'-AAG ACA TTT GCT GAA AGG TTA AAT CCA CAT-3') 및 역방향 프라이머(5'-ATG TGG ATT TAA CCT TTC AGC AAA TGT CTT-3')를 제조하였다.

[0057] 티로신 수산화효소(Tyrosine Hydroxylase; TH)를 검출하기 위해, 티로신 바코드 DNA(5'-TTT GGG GAA CAC CGT GGA GGG GCA TAG CAT CTC -(A)₁₀-(CH₂)₃-SH-3'), 상보적 DNA(5'-SH-AAA CCC CTT GTG GCA CCT CGT ATC GTA-3') 및 PCR을 위한 정방향 프라이머(5'-GAT GGA TGC CTC ATT GGG G-3') 및 역방향 프라이머(5'-GCA GCT CCA GGC CCC CCA GC -3')를 제조하였다.

[0058] 신경전달 물질 항체가 결합된 금 자기조립 마이크로어레이 판 제작

[0059] 금 자기조립 단분자막 층에 아민, 카르복실기 및 알데히드기를 갖는 커플링 시약으로 MUA(Mercaptoundecanoic Acid)를 사용하고 NHS:EDC(N-Hydroxysuccinimide:ethyl(dimethylaminopropyl) carbodiimide) 용액을 이용하여

아마이드 결합을 형성한 후 1차 도파민 항체(abcam, 모노클로날, 미국)를 결합시켜 안정적으로 항체가 결합된 마이크로어레이 칩을 제작하였다.

[0060] 바코드 DNA 결합된 금 나노입자에 제2항체 결합

[0061] 티올기가 결합된 올리고 바코드 DNA를 50 μl 0.1M 트리스 버퍼에 녹이고 0.1 N DDT(Dichlorodiphenyltrichloroethane, pH 5.2) 용액을 50 μl 첨가 후 60°C에서 30 분동안 처리하였다. 에틸 아세테이트(ethyl acetate) 용액을 넣고 혼합 후 원심분리 하여 상층액을 버리고 다시 에틸아세테이트 용액을 첨가하는 방법을 3 반복 처리하였다. 후드 내에서 30분 동안 건조하였다. 또한 금 콜로이드 용액(나노입자 60 nm) 1 ml를 취해서 원심분리 후 400 μl PBS 용액에 재분주하였다. DDT 처리한 올리고 DNA 바코드를 PBS가 담긴 금나노 콜로이드 용액에 첨가 한 후 4°C 온도에서 2시간동안 반응하여 결합시키고 도파민 제2항체를 넣고 4°C 온도에서 16 시간 진동 시키면서 금 나노입자에 올리고뉴클레오타이드 및 제2항체 도파민을 결합하였다. 티올기를 갖는 올리고뉴클레오타이드 및 항체가 결합된 금 나노입자가 있는 용액에 바코드 DNA를 첨가하고 실온에서 4시간 정치시킨 후, 원심분리 하여 침전된 금 나노입자를 수득하여, PBS에 현탁하여 4°C에서 저장하면서 실험에 이용하였다.

[0062] 바코드 DNA를 통한 SERS(Surface-Enhanced Raman Scattering) 측정

[0063] 제1항체가 결합된 금 자기 조립 마이크로어레이 판에 신경전달 물질을 농도별로 결합 시킨 후 금 나노입자-바코드 DNA-제2항체가 결합된 복합체를 샌드위치 방법에 의해서 제1항체-항원-제2항체의 결합을 유도 하였다. 프로테아제 K 1 μl , 0.5 M EDTA, 0.1 M 트리스 버퍼를 이용하여 50°C에서 1시간동안 처리한 후 금 나노입자-바코드 DNA를 분리하고 원심분리 하여 바코드 DNA의 분리를 확인하였다. 상보적 DNA가 결합된 금 나노 기관에 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자를 결합을 유도하기 위해서 4°C에서 16시간동안 처리한 후 기관에 있는 상보적 DNA와 바코드 DNA 복합체를 표면증강라만 분광계로 이용하여 신경 전달 물질의 농도에 따른 상보적 DNA 결합이 증가됨을 확인하였다.

[0064] 라만 분광계(NTEGRA spectra, NTMDT, 러시아)로 최대 스캐닝 범위는 XYZ 100 μm X100 μm X6이다. 라만 분광계의 해상도를 XY 플레인(plane) 200 μm 으로 측정하였으며 레이저 파장은 785 nm으로, 스캔 속도는 10 s이고, 스캔 범위는 0-3000 cm^{-1} 로 기록하였다. 라만의 산란 과정은 분자의 진동 전위 변화를 일으킨다. 하지만 적외선 분광법에서와 같이 직접적으로 진동에너지를 측정 할 수 없고 산란되는 빛이 레일리 산란과 비교하여 얼마만큼 에너지를 잃었는가. 혹은 얻었는가를 관찰함으로써 진동에너지를 측정하는 것으로 알려져 있다. 따라서 라만 분광계의 파장에 따른 피크 값을 관찰하였다.

[0065] 결과

[0066] 나노 기관 제작

[0067] ITO 판에 알루미늄 마스크를 나노 패턴의 과정은 도 1과 같다: 금을 증착하기 전에 알루미늄 마스크의 SEM 이미지가(도 3). 알루미늄 마스크의 동공을 측정한 결과, 71-74 nm 사이즈의 직경을 나타내었다. 이러한 결과는 일차 양극산화 과정에서 크기가 결정 되어지는 것으로 생각된다. 나노 다공성 알루미늄 마스크 준비 과정은 마스크의 두께를 얇게 제조하는 것과 알루미나 배리어 층을 완전히 녹이는 것이 매우 중요하다.

[0068] 0.3 M 옥살산용액에서 40 V의 산화 과정을 가하여 양극산화를 실시 할 때 알루미나 피막의 성장률은 2.9 m/hr이었다. 그러나 첫 번째 양극산화에서 나타난 알루미나의 표면이 불규칙하므로 에칭(etching) 과정을 통해 표면을 매끄럽게 제조하였다. 또한 2차 양극산화 과정에서 육각형 밀집 모양의 셀이 매우 규칙적인 배열 상태가 됨을 확인하였다.

[0069] 금 또는 은을 증착 후 마스크 제거 과정을 통해 금 나노 패턴이 규칙적으로 배열된 나노 어레이 판을 확인 할 수 있었다. 금이 증착된 나노 금 나노 어레이는 직경이 70 mean $\pm$ 5 nm이고 높이가 45 $\pm$ 5 nm의 패턴 모양을 확인하였다(도 4). 또한 라만으로 측정하여 금이 장착된 금 나노 어레이의 금 나노 피크를 확인하였다(도 5). 라만 쉬프트(cm^{-1})에서 1240 cm^{-1} , 1362 cm^{-1} 및 1418 cm^{-1} 에서 금 피크를 보여주었다.

- [0070] 또한, 은을 장착한 나노 기관의 직경은 30 ± 5 nm이고 높이는 45 ± 5 nm의 패턴 모양을 확인하였다(도 6). 또한 라만으로 은 나노 기관을 측정된 결과, 라만 974 cm^{-1} , 1125 cm^{-1} 과 1244 cm^{-1} 에서 기존에 보고된 은 나노 피크와 같은 피크값을 보여주었다(도 7).
- [0071] 이러한 결과는 금 및 은의 기존 연구에서 보고된 라만 피크와 비교하여 본 발명에서 나노 기관에 금 또는 은이 잘 장착된 것을 확인하였다.
- [0072] *ITO 기관에 상보적인 DNA 결합의 확인*
- [0073] 도파민 상보적 DNA는 5' 위치에 티올기를 붙여서 합성하였다. 0.1 N DTT(Dithiothreitol) 처리 후 에틸 아세테이트 용액으로 처리하여 염을 제거한 후 금 나노 기관 및 은 나노 기관에 장착하였다. 금 나노 기관 및 은 나노 기관에 상보적 DNA가 기관에 장착된 것을 UV(Ultraviolet)로 확인한 결과 253 nm에서 DNA 피크가 증가된 것을 확인 할 수 있었다(도 8). 또한 라만으로 측정된 결과에서도 상보적 DNA가 금 나노 기관 및 은 나노 기관에 장착되어 피크값을 보여주었다(도9).
- [0074] 도파민 상보적 DNA는 5'-SH-AAG ACA TTT GCT GAA AGG TTA AAT CCA CAT CCG GCA GTG TGG-3' 로 금 나노 기관에 잘 붙게 하기 위해서 5에 티올기를 붙여주었다. 상보적 DNA의 라만 피크에서 134 cm^{-1} 피크가 가장 높게 측정되었다. 또한 672 cm^{-1} 에서 구아닌(Guanine;G) 피크가 검출되었고, 725 cm^{-1} 에서는 아데닌(adenine; A) 피크가 검출되었으며, 1078 cm^{-1} 에서는 티민(Thymine; T) 및 시토신(cytosine; C) 피크가 검출되었고, 1314 cm^{-1} 에서는 아데닌 피크가 검출되었으며, 1482 cm^{-1} 에서 아데닌, 티민 및 시토신 피크가 검출되었다. 그 외 805 cm^{-1} 및 857 cm^{-1} 에서도 피크값을 보여주었다(도 9).
- [0075] 그러나 은 나노 기관에 장착된 상보적 DNA는 다른 값을 보여주었다. 동일한 DNA이지만 어떤 기관에 결합되는 것에 따라 다소 차이를 나타내었다. 672 cm^{-1} 에서 구아닌 피크가 검출되었고, 785 cm^{-1} 에서는 아데닌 피크가 검출되었으며, 1101 cm^{-1} 에서는 티민 및 시토신이 검출되었고, 1315 cm^{-1} 에서는 아데닌 피크가 검출되었으며, 1244 cm^{-1} DNA 라만 피크값이 검출되었다(도 10).
- [0076] 도파민 생합성 과정에 관여되는 제한 효소로 파킨스 병 유발 시 도파민이 감소되면 티로신 수산화효소도 같이 감소된다고 보고된다. 본 발명에서 티로신 수산화효소의 바코드 DNA 및 상보적 DNA를 제작하였다. 금 기관에 티로신 수산화효소를 고정하고 라만 피크를 확인한 결과, 티로신 수산화효소의 DNA는 도파민의 DNA와 다른 라만 피크를 나타내었다(도 11). 티로신 수산화효소 DNA의 라만 피크는 672 cm^{-1} 에서 구아닌 피크가 검출되었고, 720 cm^{-1} 에서 아데닌 피크, 785 cm^{-1} 에서 티민 피크 및 시토신 피크가 검출되었으며, 1257 cm^{-1} 에서는 금 피크를 확인하였다. 또한, 1478 cm^{-1} 에서는 아데닌, 티민 및 시토신 피크가 검출되었고, 1578 cm^{-1} 에서 아데닌 피크가 검출되었으며, 160 cm^{-1} , 228 cm^{-1} 및 306 cm^{-1} 에서도 피크값이 검출되었다.
- [0077] 티로신 수산화효소의 상보적 DNA는 5'-SH-AAA CCC CTT GTG GCA CCT CGT ATC GTA -3' 로 5' 에 티올기를 붙여 합성하였다. 도파민 상보적 DNA 및 티로신 수산화효소 상보적 DNA의 라만 피크를 관찰한 결과, 도파민 상보적 DNA는 672 cm^{-1} 에서 특이적 피크값을 보여 주었으나, ATGC 염기 값은 두 개의 DNA에서 공통적으로 검출되었다. 기존의 보고에서는 염기 서열의 사이즈 차이에 따른 피크값의 변화는 관찰 되었으나 이 두 개의 DNA 사이즈는 차이가 없음에도 불구하고 라만 피크값의 변화를 관찰 할 수 있었다.
- [0078] 또한, 은 나노 기관에 고정된 티로신 수산화효소 상보적 DNA의 라만 결과를 도 12에 나타내었다. 은 기관에 고정된 티로신 수산화효소 상보적 DNA는 금 나노 기관과 비교하여 라만 신호가 상당히 증가된 것을 확인 할 수 있었다. 은 나노에서 티로신 수산화효소 상보적 DNA는 716 cm^{-1} 에서 아데닌 피크가 검출되었고, 786 cm^{-1} 에서 티민 및 시토신 피크가 검출되었으며, 1250 cm^{-1} 에서는 금 피크를 검출하였다. 또한 1478 cm^{-1} 에서는 아데닌, 티민 및 시토신 피크가 검출되었고 1578 cm^{-1} 에서 아데닌 피크는 금 나노 기관과 동일한 피크값을 보여주었다. 1138 cm^{-1} 및 1093 cm^{-1} 에서 금 기관에서 관찰되지 않은 피크값을 보여주었다.

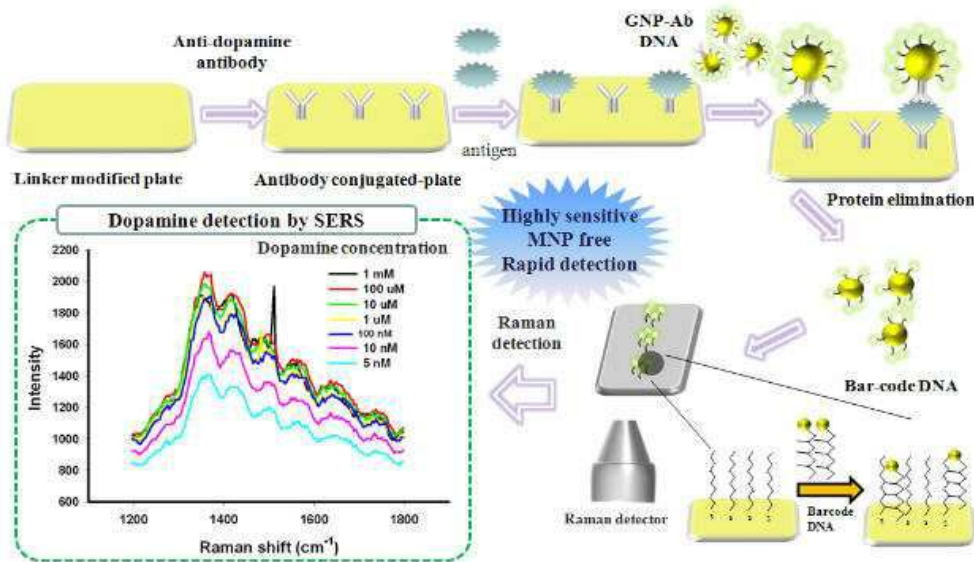
- [0079] 금 나노입자와 바코드 DNA의 결합
- [0080] 금 나노입자에 DNA가 결합된 것을 확인하기 위해 UV 분광계로 분석한 결과, 금 입자만 입는 경우 520 nm에서만 피크 값을 나타내었다(도 13a). 일반적으로 금 입자관의 전기적 진동에 의해 금 나노입자내의 자유 전자가 파장 520 nm 근처에서 진동하기 때문에 흡수된 광 피크가 관찰되었다. 또한, 금 나노입자에 바코드 DNA 결합을 확인한 결과, 결합에 의해 260 nm에서 흡수 흡광도 피크를 확인 할 수 있었다. 260 nm에서의 흡수 흡광도 피크를 통해 금 나노입자에 올리고뉴클레오타이드가 잘 결합된 것을 확인하였다(도 13b). 금 나노입자에 바코드 DNA의 결합력을 평가한 결과, 0.8 OD DNA 정도로, 충분히 금 나노입자에 결합된 것을 확인하였다. 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자는 직경은 $65 \text{ mean} \pm 5 \text{ nm}$ 로 측정되었다. 또한 바코드 DNA의 양에 따른 SERS 라만 값에서 도 17과 같이 농도가 증가함에 따라 라만 피크의 값도 증가하였다.
- [0081] DNA 센서의 제작
- [0082] 금나노 기관에 바코드 DNA와 항체를 결합 후 항원의 결합을 유도하였다. 이때 항원의 농도에 따른 항체 결합은 항원의 농도에 비례하며 상보적 DNA가 결합된 나노 기관에서 바코드 DNA가 결합된 금 나노입자만 결합하게 된다. 이때 비-상보적 반응을 보이는 것은 상보적 DNA가 결합된 기관의 SERS 피크와 유사하지만 바코드 DNA가 결합된 곳에서는 뚜렷한 SERS 라만 피크를 확인 할 수 있었다. 도 14와 같이 상보적 반응을 보인 DNA와 비 상보적 반응을 보인 DNA를 표면 증강라만 분광계의 라만 신호 차이에 따른 신호의 변화를 확인한 결과 상보적 DNA 결합을 갖는 기관의 라만 피크에서 672 cm^{-1} 에서 구아닌 피크가 검출되었고, 720 cm^{-1} 에서 아데닌 피크, 785 cm^{-1} 에서 티민 및 시토신 피크가 검출되었으며, 1478 cm^{-1} 에서는 아데닌, 티민 및 시토신 피크가 검출되었고 1578 cm^{-1} 에서 아데닌 피크가 검출되었다. 비-상보적 DNA 반응을 보인 기관에서는 금 나노기관과 유사한 피크양상을 보여주었다.
- [0083] 결합된 바코드 DNA의 SERS 분석
- [0084] 금 나노입자에 항체를 결합 후 농도가 다른 항원을 처리하고 프로테아제 K를 이용하여 단백질을 제거하였다. 바코드 DNA를 추출한 후 상보적 DNA가 결합된 금 나노 기관에 결합하였다. 항원의 농도에 따라 바코드 DNA의 양도 달라짐을 SERS를 통해 라만 피크의 변화를 확인 할 수 있었다(도 14). 도 15은 금속 나노 기관 상에 고정된 상보적 DNA와 자성입자-신경전달 관련 물질-금 나노입자 복합체로부터 분리한 바코드 DNA가 결합된 금속 나노 기관의 SEM 이미지를 나타낸다. 특히 티로신 수산화효소는 627 cm^{-1} 은 페닐알라닌, 740 cm^{-1} 은 트립토판의 인돌기, 810 cm^{-1} 은 O-P-O 구조체, 941 cm^{-1} 은 C-C 구조의 알파-헬릭스, 1001 cm^{-1} 및 1033 cm^{-1} 은 페닐알라닌이며 1204 cm^{-1} 은 페닐알라닌 및 티로신을 나타내며 1270 cm^{-1} 는 아마이드 III 베타-쉬트이고, 1340 cm^{-1} 은 C-H 복합체이며 1640 cm^{-1} 는 아마이드 II 피크로 확인되었다. 또한 129 cm^{-1} , 474 cm^{-1} , 603 cm^{-1} , 1088 cm^{-1} , 1110 cm^{-1} , 1133 cm^{-1} , 1288 cm^{-1} , 1310 cm^{-1} 및 1388 cm^{-1} 에서 라만 피크가 높게 나타났다(도 16).
- [0085] 일반적으로 DNA는 아데닌, 티민, 구아닌 및 시토신 염기와 관련된 라만 피크보다 단백질에 관련된 라만 피크의 값이 관찰되었다. 이상의 결과에 의해서 프로테아제 K 처리 후에도 금 나노입자에 항체-항원이 잔존하기 때문에 단백질 라만 피크가 검출되었다.
- [0086] 항원(티로신 수산화효소)의 농도가 0.156 ng/ml , 0.312 ng/ml 및 0.625 ng/ml 로 처리 한 후 바코드 DNA를 SERS 측정한 결과, 129 cm^{-1} 및 474 cm^{-1} 의 라만 피크값이 증가된 결과를 보여주었다. C-C 구조를 나타내는 941 cm^{-1} 이 티로신 수산화효소 농도에 따라 증가된 피크 양상을 나타내었다.
- [0087] 또한 777 cm^{-1} 티민 및 시토신 핵산의 구조가 관찰 되었고, 1209 cm^{-1} 에서 티민 및 아데닌을 확인하였으며, 1242 cm^{-1} 에서 아데닌 및 티민과 관련된 SERS 라만피크를 확인하였다(도 17).
- [0088] 이상의 연구 결과에서 보듯, 상보적 결합을 지닌 DNA의 SERS 피크는 매우 낮은 농도에서도 도파민과 티로신 수

산화효소에 대한 농도에 따른 피크의 변화를 관찰 할 수 있었다. 이러한 결과에 의해 바코드 DNA를 이용한 DNA센서는 질환 진단에 매우 유용하게 이용될 것으로 보인다.

[0089] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

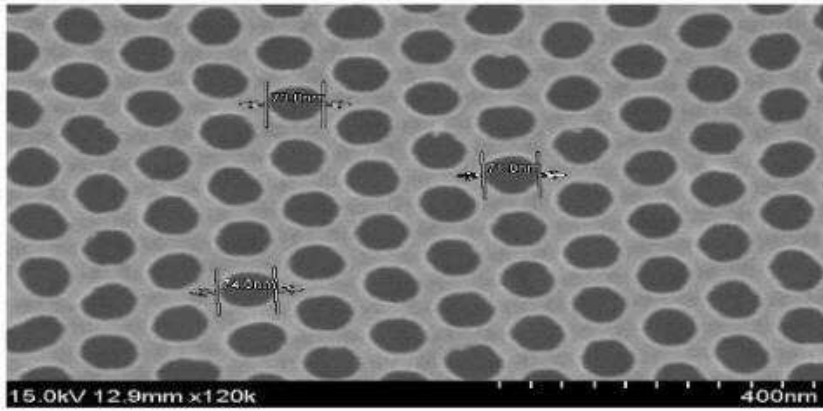
도면1



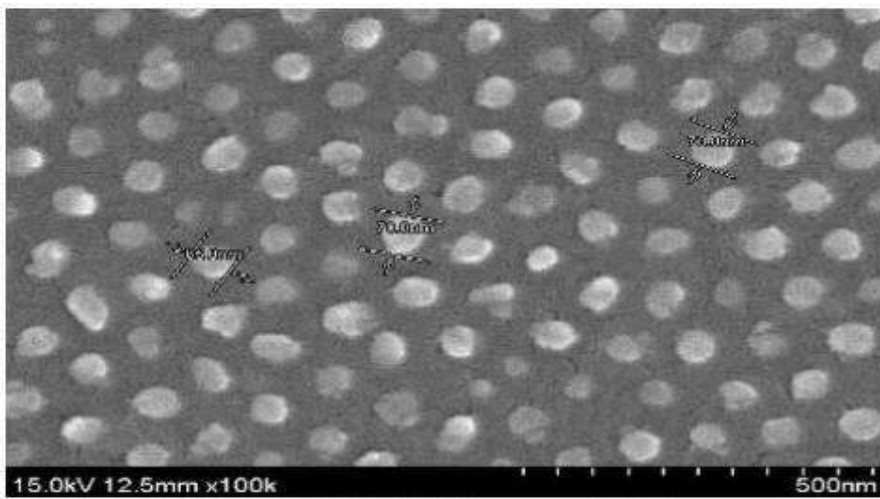
도면2



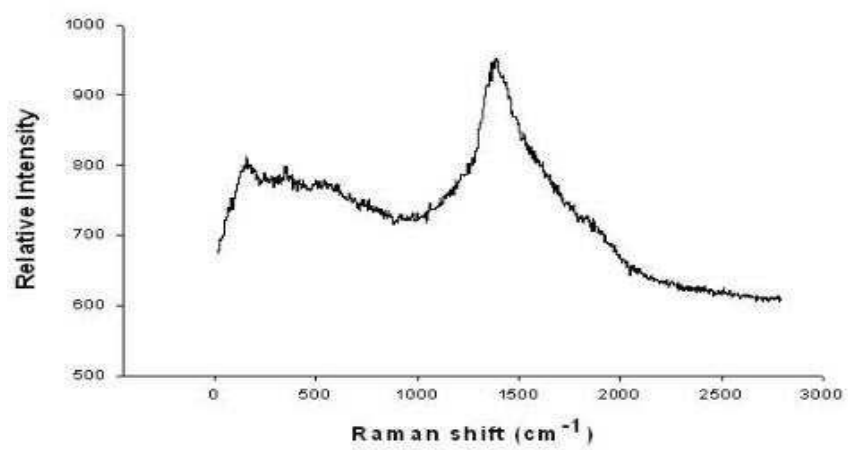
도면3



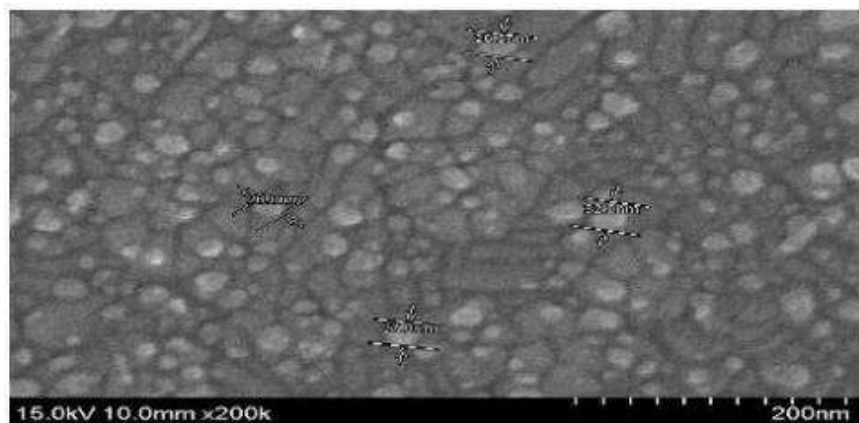
도면4



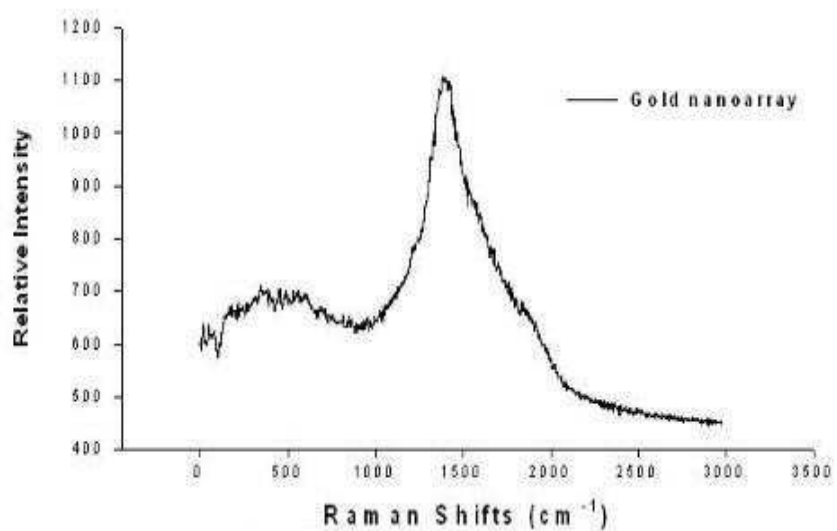
도면5



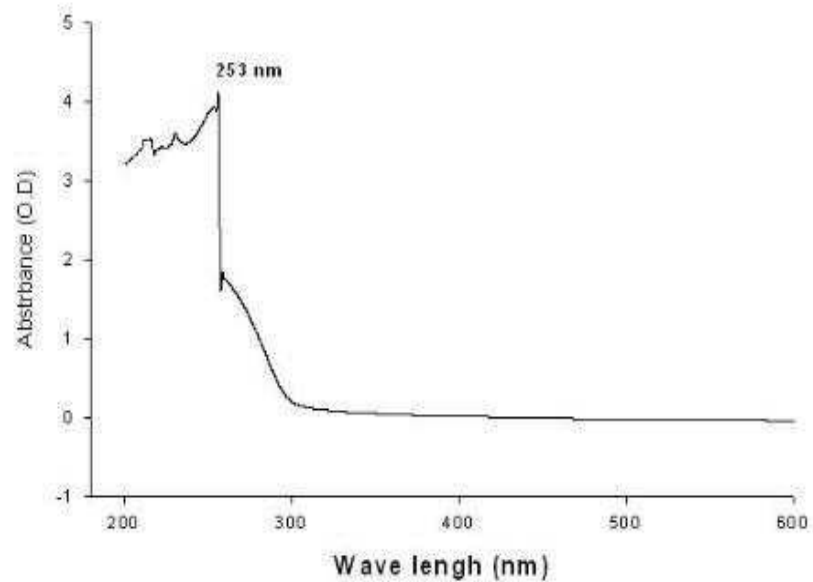
도면6



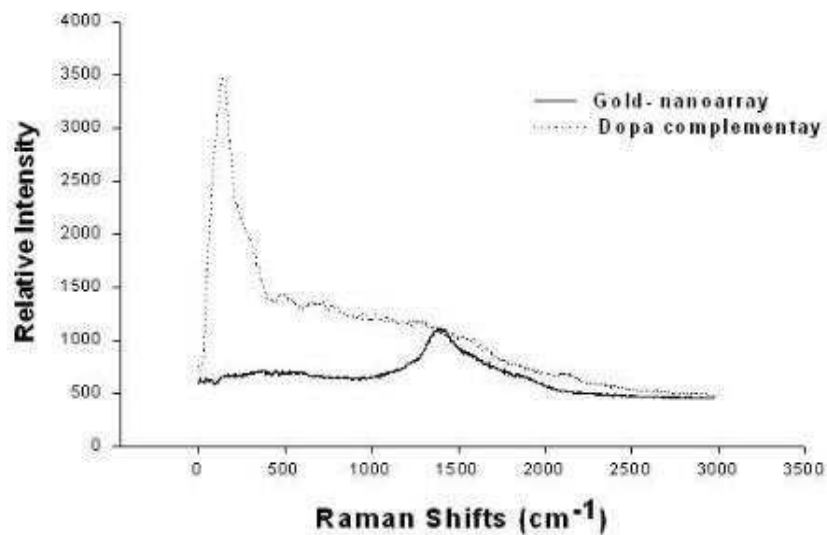
도면7



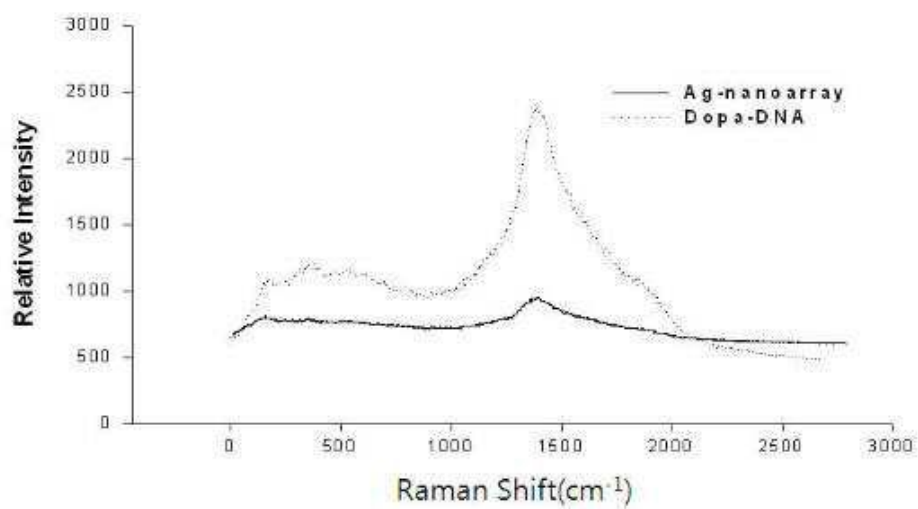
도면8



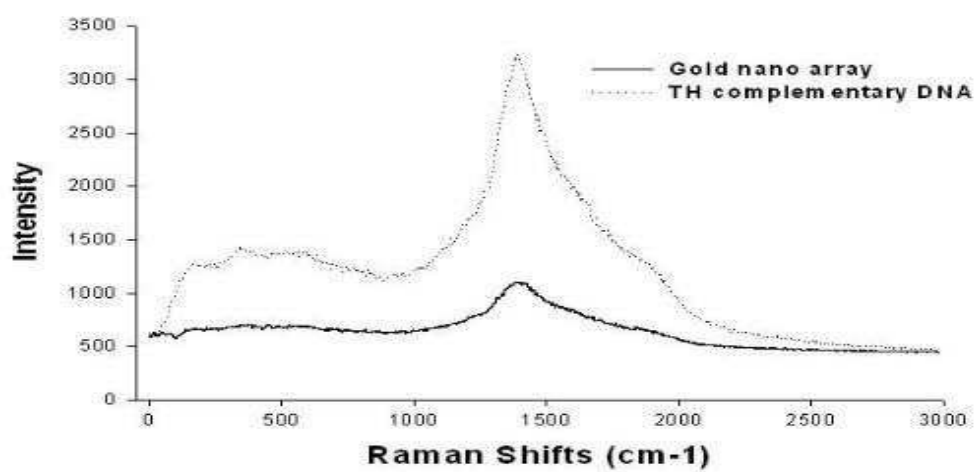
도면9



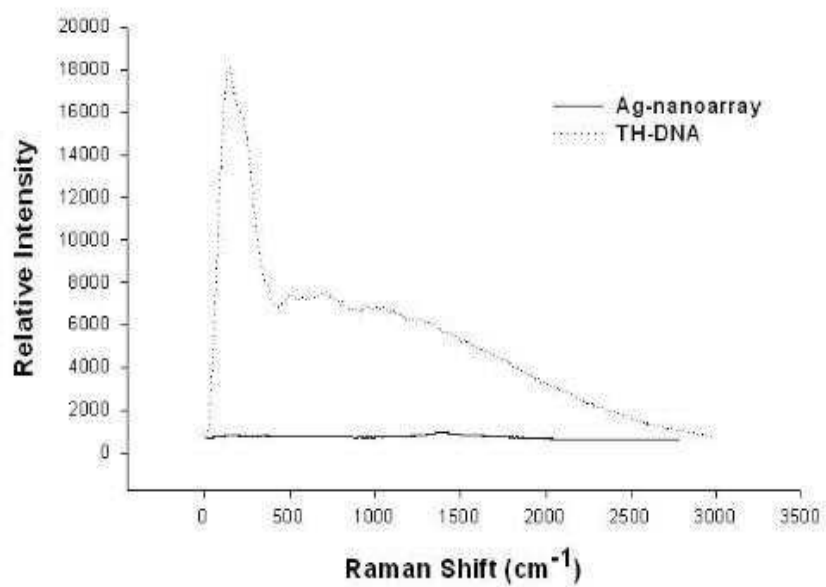
도면10



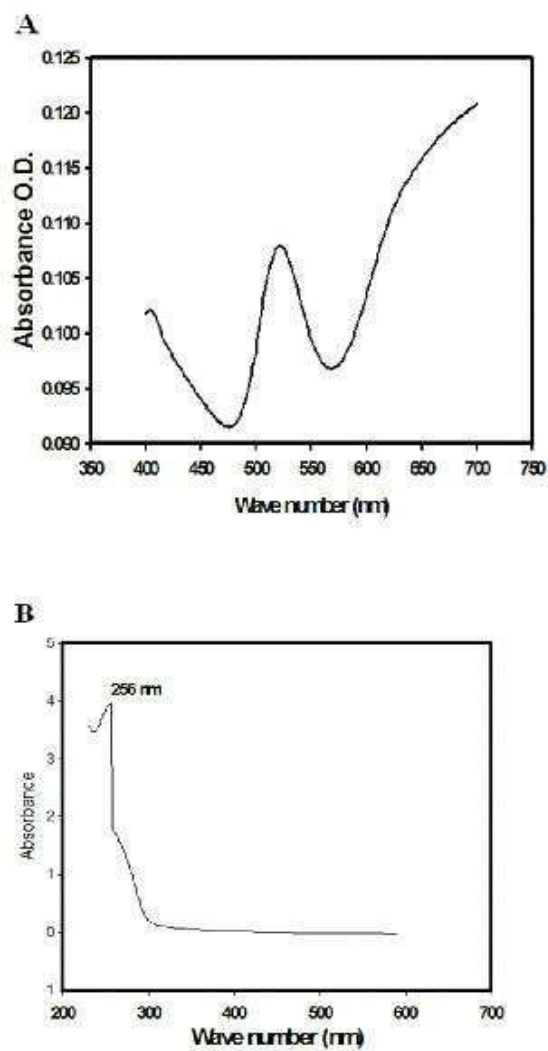
도면11



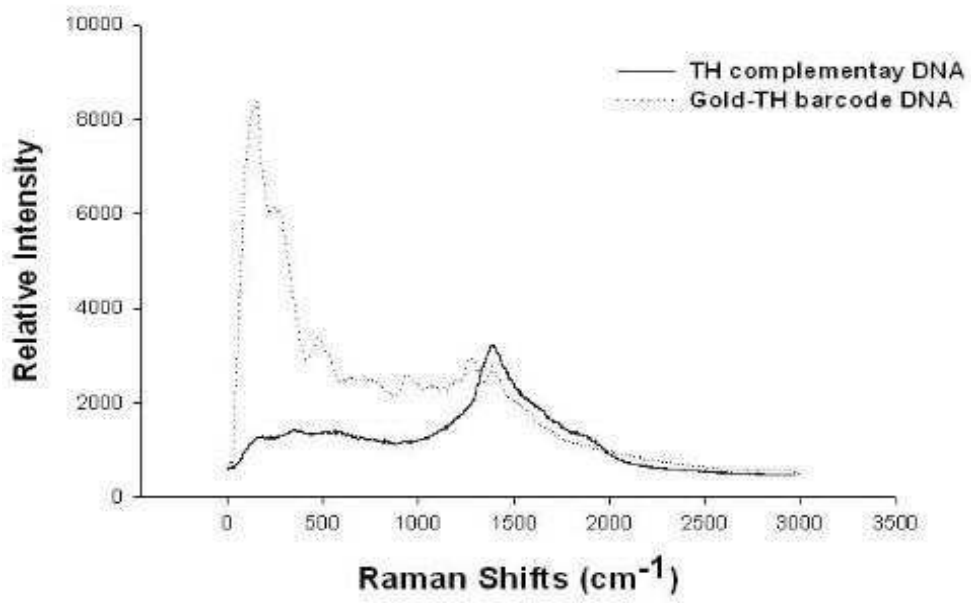
도면12



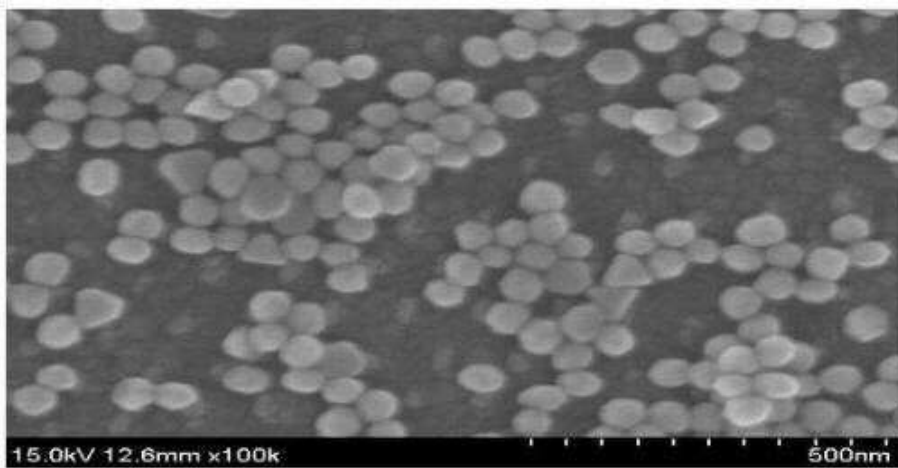
도면13



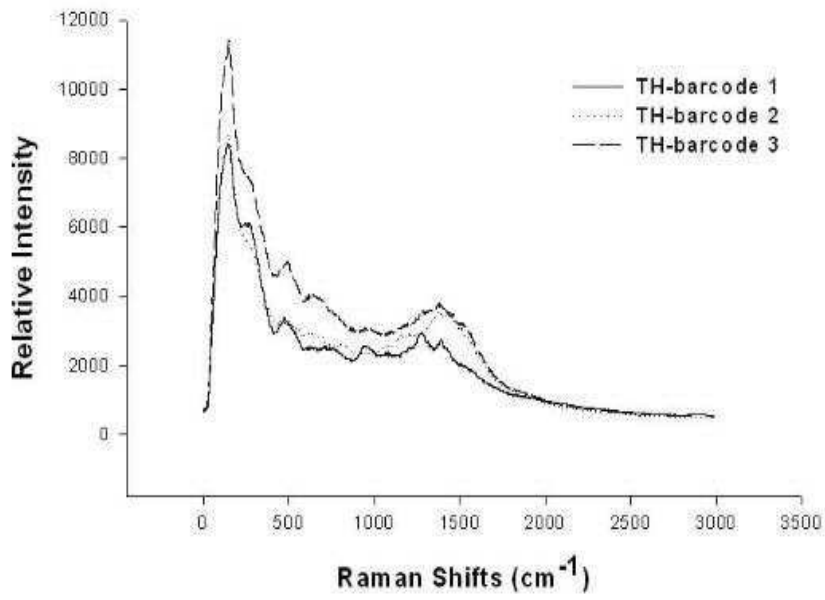
도면14



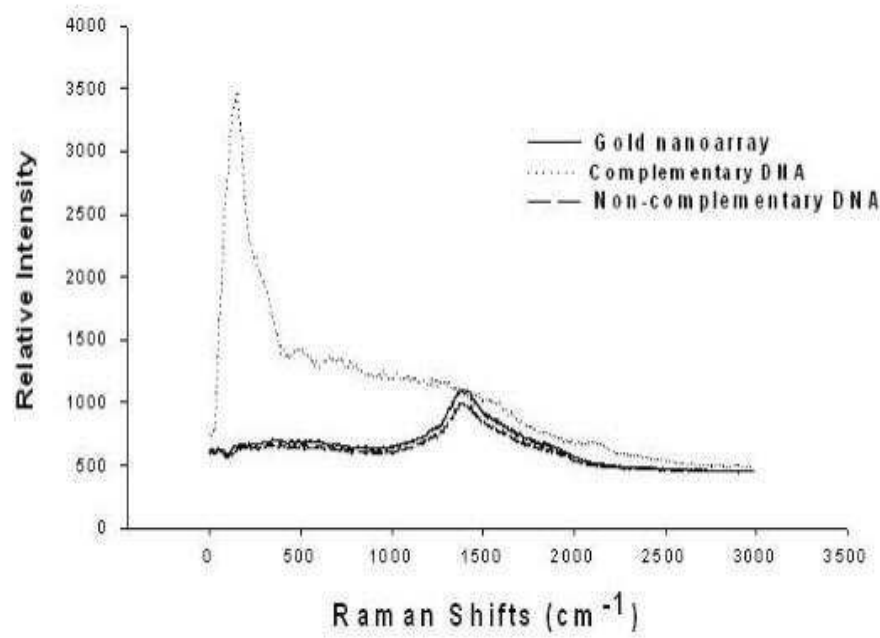
도면15



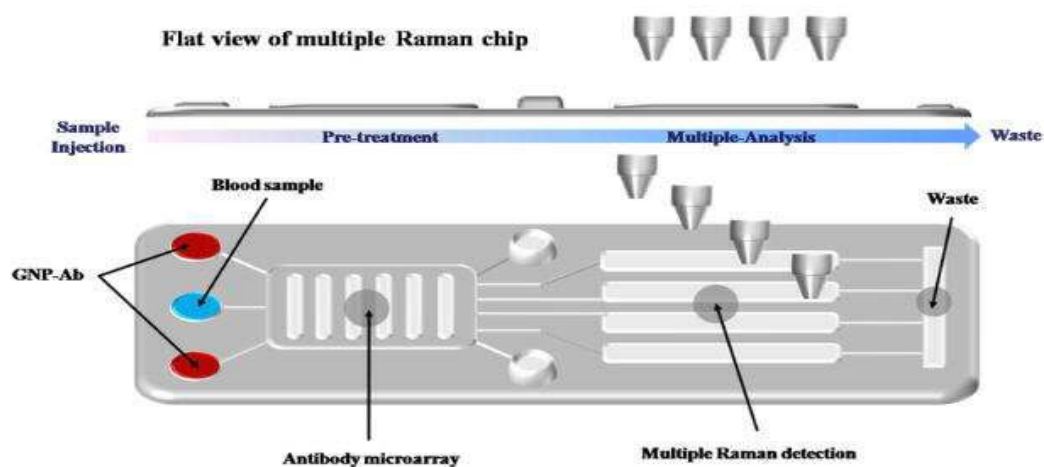
도면16



도면17



도면18



서열 목록

<110> Industry-University Cooperation Foundation Sogang University

<120> Devices for Detecting Neurotransmission-related substance

<130> PN120175

<160> 4

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 42

<212> DNA

<213> dopamine barcode DNA

<400> 1

ccacactgcc ggatgtggat ttaacctttc agcaaatgtc tt 42

<210> 2

<211> 42

<212> DNA

<213> dopamine complementary DNA

<400> 2

aagacatttg ctgaaagggtt aaatccacat ccggcagtggt gg 42

<210> 3

<211> 33

<212> DNA

<213> tyrosine hydroxylase barcode DNA

<400> 3

tttggggaac accgtggagg ggcatagcat ctc 33

<210> 4

<211> 27

<212> DNA

<213> tyrosine hydroxylase complementary DNA

<400> 4

aaacccttg tggcacctcg ttcgta

27