



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0091388
(43) 공개일자 2025년06월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 21/65 (2006.01) G01J 3/44 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 21/658 (2013.01)

G01J 3/4412 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0180845

(22) 출원일자 2023년12월13일

심사청구일자 2023년12월13일

(71) 출원인

성균관대학교산학협력단

경기도 수원시 장안구 서부로 2066 (천천동, 성균관대학교내)

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

박진성

경기도 수원시 장안구 대평로 27, 113동 2106호 (정자동, 화서역 파크푸르지오)

박주형

경기도 용인시 기흥구 동백죽전대로527번길 34, 하우스디동백카바나 304동 1502호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인지담

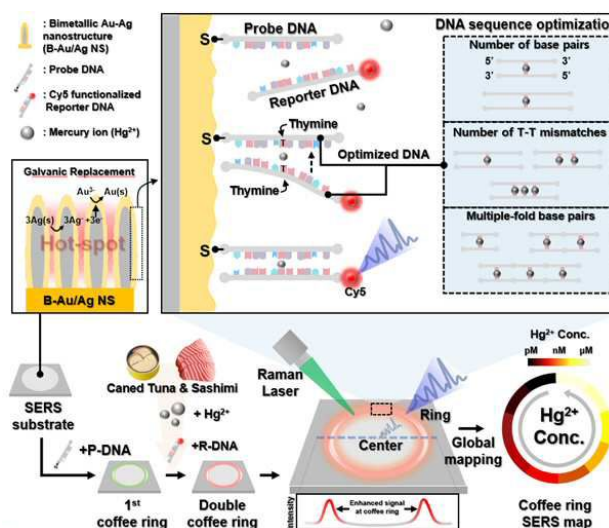
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 수은 이온 검출방법 및 검출키트

(57) 요약

본 발명은 수은 이온 검출방법 및 검출키트에 관한 것으로, SERS 기판 상에서 티민-티민 mismatch를 갖는 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 혼성화를 이용하여 수은 이온을 검출하기 위한 최적화된 조건을 수립한 것으로, 극미량의 수은 이온을 초고민감도로 검출할 수 있다. 또한, double coffee ring 효과를 이용한 CrSERS mapping 을 통해 수은 이온 농도를 정량화하는 것이 가능하다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

채경환

경기도 수원시 영통구 청명로 100, 426동 1404호
(영통동, 건영1차아파트)

나성수

서울특별시 영등포구 당산로42길 13

류준석

서울특별시 서대문구 충정로6안길 13(미군동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711182546

과제번호 2023R1A2C2004964

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)

연구과제명 수계 내 이취미/질병 유발물질 검출을 위한 현장 및 자동계측 모니터링 옴토-일렉트

로 센서 시스템 개발

기 여 율 50/100

과제수행기관명 성균관대학교

연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711179217

과제번호 00207833

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 집단연구지원

연구과제명 나노-생체유체 검사 연구단

기 여 율 50/100

과제수행기관명 고려대학교산학협력단

연구기간 2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

SERS(표면증강라만산란) 기관 상에 프로브(probe) DNA를 첨가하여 고정하는 단계;
 상기 프로브 DNA가 고정된 SERS 기관에 리포터 DNA 및 검출 대상 시료를 첨가하는 단계; 및
 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 혼성화에 따른 SERS 강도를 측정하는 단계;를 포함하는 수은 이온 검출방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA는 하나의 티민-티민 염기쌍을 형성하도록 디자인된 상보적인 염기서열을 가지는 것인, 수은 이온 검출방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 염기서열은 12 mer 내지 14 mer 길이인, 수은 이온 검출방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 리포터 DNA 는 말단에 Cyanine 5 가 결합된 것인, 수은 이온 검출방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 SERS 기관 상에 프로브 DNA 를 첨가한 후, 실온에서 건조시켜 고정화하는 단계; 및
 상기 프로브 DNA가 고정된 SERS 기관에 리포터 DNA 및 검출 대상 시료를 첨가한 후, 실온에서 건조시키는 단계;를 포함하는, 수은 이온 검출방법.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 검출 대상 시료에 수은 이온이 존재하는 경우, 프로브 DNA 및 리포터 DNA는 SERS 기관의 가장자리에 원형으로 혼성화가 이루어지고,
 상기 SERS 기관의 가장자리에 형성된 원형을 따라 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 혼성화에 따른 SERS 강도를 측정하는 단계를 포함하는, 수은 이온 검출방법.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 SERS 기관의 가장자리에 형성된 원형을 따라 맵핑(mapping) 하여 밝기 차이로 수은 이온 농도를 분석하는 단계를 더 포함하는, 수은 이온 검출방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 프로브 DNA는 SERS 기판 상에 25 μ M 내지 100 μ M 농도로 첨가되는 것인, 수은 이온 검출방법.

청구항 9

SERS 기판, 프로브 DNA, 리포터 DNA를 포함하는 수은 이온 검출 키트로서,

상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA는 하나의 티민-티민 염기쌍을 형성하도록 디자인된 상보적인 염기서열을 가지고, 12 mer 내지 14 mer 길이인, 수은 이온 검출 키트.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 리포터 DNA 는 말단에 Cyanine 5 가 결합된 것인, 수은 이온 검출키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 수은 이온 검출방법 및 검출키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 최근 산업 분야나 과학 분야에서 나노 크기의 재료의 사용이 급증되고 있으며, 이 나노 크기의 재료가 인체와 환경에 미치는 악영향이 보고되고 있다. 대표적인 중금속 나노 물질로는 수은(Mercury), 구리(Copper), 은(Silver), 알루미늄(Aluminum), 아연(Zinc), 카드뮴(Cadmium) 등으로서, 산업 분야나 과학 분야에서 광범위하게 사용되고 있다.

[0004] 수은은 특히 무기 화합물, 용액 상의 이온, 고체 등 여러 형태로 존재할 수 있으며, 이 중에서도 수용액 상의 이온 형태가 가장 안정적인 구조를 갖고 치명적인 환경오염과 인체 피해를 유발하는 물질로 알려져 있다. 따라서 다양한 조건 하에서 선택성이 높은 고감도 검출센서의 개발이 요구되고 있다.

[0005] 수은 검출용 고감도 센서의 일례로 최근에는 광학센서, 특히 형광센서 개발이 보고되고 있다. 수은 이온과 선택적으로 결합할 수 있는 화합물에 형광 감응부위를 도입하여 선택적이고 민감성이 높은 고감도 형광감응 화학센서를 개시하고 있다. 그러나 검출 하한을 낮추는 데 한계가 있으며, 신호 변환 단계에서 표시물질(labeling)인 형광물질을 도입해야만 하므로 label-free의 직접적인 검출과 photo-bleaching 현상을 극복하지 못한 문제점이 있다.

[0006] 이에, 다양한 환경에서 수은 이온을 선택적으로 고감도로 검출할 수 있는 기술 개발이 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 중국특허 CN116678867A

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 수은 이온 검출방법을 제공하는 것이다.

[0010] 또한, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 수은 이온 검출키트를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 기술적 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명의 일실시예는 SERS(표면증강라만산란) 기관 상에 프로브(probe) DNA를 첨가하여 고정하는 단계; 상기 프로브 DNA가 고정된 SERS 기관에 리포터 DNA 및 검출 대상 시료를 첨가하는 단계; 및 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 혼성화에 따른 SERS 강도를 측정하는 단계;를 포함하는 수은 이온 검출방법을 제공한다.

[0015] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA는 하나의 티민-티민 염기쌍을 형성하도록 디자인된 상보적인 염기서열을 가지는 것일 수 있다.

[0016] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 염기서열은 12 mer 내지 14 mer 길이일 수 있다.

[0017] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 리포터 DNA 는 말단에 Cyanine 5 가 결합된 것일 수 있다.

[0018] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 SERS 기관 상에 프로브 DNA 를 첨가한 후, 실온에서 건조시켜 고정화하는 단계; 및 상기 프로브 DNA가 고정된 SERS 기관에 리포터 DNA 및 검출 대상 시료를 첨가한 후, 실온에서 건조시키는 단계;를 포함하는 것일 수 있다.

[0019] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 검출 대상 시료에 수은 이온이 존재하는 경우, 프로브 DNA 및 리포터 DNA는 SERS 기관의 가장자리에 원형으로 혼성화가 이루어지고, 상기 SERS 기관의 가장자리에 형성된 원형을 따라 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 혼성화에 따른 SERS 강도를 측정하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0020] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 SERS 기관의 가장자리에 형성된 원형을 따라 맵핑(mapping) 하여 밝기 차이로 수은 이온 농도를 분석하는 단계를 더 포함하는 것일 수 있다.

[0021] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 프로브 DNA는 SERS 기관 상에 25 μ M 내지 100 μ M 농도로 첨가되는 것일 수 있다.

[0022] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명의 다른 실시예는 SERS 기관, 프로브 DNA, 리포터 DNA를 포함하는 수은 이온 검출 키트로서, 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA는 하나의 티민-티민 염기쌍을 형성하도록 디자인된 상보적인 염기서열을 가지고, 12 mer 내지 14 mer 길이인, 수은 이온 검출 키트를 제공한다.

[0023] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 리포터 DNA 는 말단에 Cyanine 5 가 결합된 것일 수 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명은 수은 이온 검출방법 및 검출키트에 관한 것으로, SERS 기관 상에서 티민-티민 mismatch를 갖는 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 혼성화를 이용하여 수은 이온을 검출하기 위한 최적화된 조건을 수립한 것으로, 극미량의 수은 이온을 초고민감도로 검출할 수 있다. 또한, double coffee ring 효과를 이용한 CrSERS mapping 을 통해 수은 이온 농도를 정량화하는 것이 가능하다.

[0027] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 수은 이온 검출 방법을 나타낸 모식도이다.

도 2는 Melting curve 기반 수은 검출용 DNA sequence를 설계하는 과정을 나타낸 것이다. DNA 길이, DNA mismatch 개수, 연속된 DNA sequence의 개수에 따른 최적화.

도 3은 DNA 길이 및 mismatch 개수에 따른 melting temperature 차이를 확인한 것으로 3a) DNA base pair 개수를 변화시키며 얻은 수은 이온 여부에 대한 melting temperature 차이, 3b) T-T mismatch 개수에 따른 melting temperature.

도 4는 반복되는 DNA sequence의 개수를 변화시키며 얻은 수은 이온 여부에 대한 melting temperature를 나타낸 것이다.

도 5는 Double coffee ring effect의 최적화 과정을 나타낸 것이다.

도6은 Double coffee ring effect 효과를 확인한 것으로, 6a) I 과 IV에서의 line profile 결과, 6b-6c) 각 조건별 중심부와 가장자리 SERS intensity 차이.

도 7은 프로브 DNA 기능화의 최적화 결과를 나타낸 것이다. 7a-7b) 프로브 DNA 농도별 최적화, 7c-7d) 기능화 시간별 최적화 결과.

도 8은 수은 이온 농도에 따른 1404cm^{-1} 에서의 SERS intensity 차이를 나타내 것이다(CrSERS map, SERS 스펙트럼).

도 9a-9c는 분자동역학을 이용한 최적화된 DNA와 타 중금속 이온간 선택성 결과를 나타낸 것이다. 도 9d-9f는 실험적인 선택성 결과로 1404cm^{-1} 에서의 SERS intensity 차이를 나타낸 것이다(CrSERS map, SERS 스펙트럼).

도 10은 수돗물 및 식수환경에서 수은 이온 검출 결과를 나타낸 것이다(CrSERS map, SERS 스펙트럼). 10a-10c) 수돗물, 10d-10f) 식수.

도 11은 참치캔 및 참치회에서 수은 이온 검출 결과를 나타낸 것이다(CrSERS map, SERS 스펙트럼). 11a-11c) 참치캔, 11d-11f) 참치회.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0032] 본 발명은 수은 이온 검출방법에 관한 것이다.

[0033] 본 발명의 방법은 SERS(표면증강라만산란) 기관 상에 프로브(probe) DNA를 첨가하여 고정하는 단계; 상기 프로브 DNA가 고정된 SERS 기관에 리포터 DNA 및 검출 대상 시료를 첨가하는 단계; 및 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA의 혼성화에 따른 SERS 강도를 측정하는 단계;를 포함한다.

[0034] 상기 SERS 는 물질 고유의 라만 스펙트럼을 분석하여 미상의 물질을 검출 및 식별할 수 있도록 라만 스펙트럼 신호를 증폭시키는 것으로서, SERS 기관은 극미세 나노입자 또는 나노구조가 기관 위에 배열된 형태로, 나노구조를 이용하여 전기장을 강화시키고, 이를 통해, 라만 스펙트럼 신호를 강화할 수 있도록 제조된 공지된 SERS 기관을 제한없이 사용할 수 있으며, 예를 들어, B-Au/Ag NS SERS 기관일 수 있다.

[0035] 상기 프로브 DNA는 SERS 기관 상에 고정되는 것으로, 고정하는 방법은 공지된 방법으로 공지된 수단을 사용하여 수행될 수 있으며, 예를 들어, 기관 표면에 프로브 DNA를 포함하는 용액을 $25\mu\text{M}$ 내지 $100\mu\text{M}$ 또는 $40\mu\text{M}$ 내지 $60\mu\text{M}$ 농도로 첨가하여 수행되는 것일 수 있다.

[0036] 상기 프로브 DNA는 예를 들어, 12 mer 내지 14 mer, 바람직하게는 13mer의 길이일 수 있다.

[0037] 상기 리포터 DNA는 프로브 DNA와 하나의 티민-티민 염기쌍을 형성하도록 디자인된 상보적인 염기서열을 가지는 것으로서, 예를 들어, 12mer 내지 14mer, 바람직하게는 13 mer의 길이일 수 있다.

[0038] 상기 리포터 DNA 는 말단에 Cyanine 5 가 결합된 것일 수 있고, 수은 이온 존재 하에 프로브 DNA 와 리포터 DNA 가 혼성화되는 경우, Cyanine 5로부터 형광 신호가 방출되어 SERS 강도 측정을 통해 수은 이온 존재여부를 확인할 수 있다.

- [0039] 상기 검출 대상 시료는 수은 이온이 존재할 것으로 예상되는 시료라면 제한되지 않으며, 예를 들어, 물, 식품 등을 포함하고, 더욱 구체적으로는 수돗물, 식수, 참치회, 참치캔 등일 수 있다.
- [0040] 본 발명은 SERS 기판 상에 프로브 DNA 를 고정하는 단계에서 프로브 DNA를 첨가한 후, 실온에서 건조시키는 것 일 수 있다.
- [0041] 또한, 상기 프로브 DNA가 고정된 SERS 기판에 리포터 DNA 및 검출 대상 시료를 첨가한 후, 실온에서 건조시키는 것일 수 있다.
- [0042] 상기 실온 건조를 수행하는 경우, 먼저 프로브 DNA가 SERS 기판의 가장자리에 원형으로 고정되고, 리포터 DNA 첨가하는 경우, 리포터 DNA도 가장자리로 이동하여 프로브 DNA와 가장자리에 원형으로 혼성화가 이루어질 수 있다. 이러한 두번의 자연 건조를 통한 double coffee ring 효과는 각 DNA를 가장자리에 원형으로 농축시킬 수 있으므로, 기판 전체에 고르게 분산된 형태 대비 민감도를 향상시킬 수 있다.
- [0043] 또한, 상기 SERS 기판의 가장자리에 형성된 원형을 따라 맵핑(mapping) 하여 밝기 차이로 수은 이온 농도를 분석할 수 있어 직관적이며, 정량화가 가능하고 측정시간이 단축되는 효과가 있다.
- [0045] 본 발명은 수은 이온 검출 키트에 관한 것이다.
- [0046] 본 발명의 키트는 SERS 기판, 프로브 DNA, 리포터 DNA를 포함하고, 상기 프로브 DNA 및 리포터 DNA는 하나의 티민-티민 염기쌍을 형성하도록 디자인된 상보적인 염기서열을 가지고, 12 mer 내지 14 mer 길이이다.
- [0047] SERS 기판, 프로브 DNA, 리포터 DNA에 관하여는 전술한 바와 같다.
- [0049] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명하기 위해 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다.
- [0051] 1. Melting curve 기반 DNA sequence 최적화
- [0052] DNA sequence의 길이가 길면 수은 이온이 존재하지 않아도 혼성화가 일어나고, 반대로 길이가 짧으면 수은 이온이 존재하여도 반발력으로 인해 혼성화가 일어나지 않는다. 따라서 DNA의 base pair의 개수 최적화가 중요하다.
- [0053] 구체적으로, DNA sequence 내에서 T-T mismatch의 개수가 증가하면 혼성화 시 높은 결합력을 예상하지만 반대로 반발력도 증가하기 때문에 최적화가 중요하다. 또한, 연속되는 DNA sequence의 개수를 최적화하여 수은 이온과 DNA가 안정적으로 결합하는 구조를 최적화하였다.
- [0054] 이를 위해 Melting curve 기반으로 하여 수은 이온 여부에 따른 DNA melting temperature 차이로 결합력을 분석하였다.
- [0055] T-T mismatch는 1개로 고정 후, DNA base pair 개수(DNA base pair: 11-15 mer)에 따른 melting temperature 차이 분석을 진행하였다. 또한, 단일 DNA sequence 내에서 T-T mismatch 개수(T-T mismatch: 1-3개 및 full match)에 따른 결합력 분석을 진행하였다. 또한, 동일 sequence가 반복되는 DNA 구조(one fold, two fold, three fold)에 따른 결합력 분석을 진행하였다(도 2, 표 1 내지 3).

표 1

DNA name	Sequences (5' → 3')
Case I	
11 mer probe DNA	C TAA G T A ATG A
11 mer reporter DNA	T CAT T T C TTA G
12 mer probe DNA	C TAA G T A ATG AG
12 mer reporter DNA	CT CAT T T C TTA G
*13 mer probe DNA	Thiol C6 - CTC ATT T CT TAG G
*13 mer reporter DNA	Cy5 -CCT AAG T AA TGA G
14 mer probe DNA	CC TAA G T A ATG AGA
14 mer reporter DNA	TCT CAT T T C TTA GG
15 mer probe DNA	ACC TAA G T A ATG AGA
15 mer reporter DNA	TCT CAT T T C TTA GGT

[0057]

표 2

DNA name	Sequences (5' → 3')
Case II	
Full match probe DNA	CTC ATT T CT TAG G
Full match reporter DNA	CCT AAG AAA TGA G
Two mismatch probe DNA	CTC ATC T T GTA GG
Two mismatch reporter DNA	CC TAC T T GA TGA G
Three mismatch probe DNA	CTC AG T TT GTA GG
Three mismatch reporter DNA	CC TAC T TT C TGA G

[0059]

표 3

DNA name	Sequences (5' → 3')
Case III	
Two-fold probe DNA	CTC ATT TCT TAG G CTC ATT TCT TAG G
Two-fold reporter DNA	CCT AAG TAA TGA G CCT AAG TAA TGA G
Three-fold probe DNA	CTC ATT TCT TAG G CTC ATT TCT TAG G CTC ATT TCT TAG G
Three-fold reporter DNA	CCT AAG TAA TGA G CCT AAG TAA TGA G CCT AAG TAA TGA G

[0061]

[0062]

그 결과, DNA 간 반발력을 최소화하면서 수은 이온의 유무에 대해서 결합력 차이가 높은 길이는 13 mer로 최적화되었다. DNA sequence 내 T-T mismatch 개수는 one mismatch가 two 및 three mismatch와 비교하여 높은 melting temperature를 보였고, full match와 유사한 결과를 얻어, 결합력이 우수함을 알 수 있었다(도 3).

[0063]

또한, One-fold가 two-fold 및 three-fold에 비해서 수은 이온 유무에 따른 melting temperature 차이가 큰 것을 알 수 있었다. One-fold가 다른 것에 비해서 intensity 차이 및 peak temperature 차이도 크기 때문에 우수한 것을 알 수 있고, three-fold의 경우 peak가 뭉개진 것으로 보아, 반발력이 증가하여 혼성화가 이루어지지 않은 것으로 추측되었다(도 4).

[0064]

결과적으로 단일 DNA sequence에 13 mer 및 one-mismatch가 DNA간 반발력을 최소화하며, 수은 이온의 여부에 따른 melting temperature 차이가 가장 많이 나는 조건임을 확인하였다.

[0066]

2. Double coffee ring effect 최적화

[0067]

Double coffee ring effect를 검증 및 최적화하여 센서의 성능을 극대화하였다. Probe DNA 기능화 및 DNA 혼성화 시, 각각의 건조 과정에서 온도에 따라 4가지 경우를 비교하였다. 40℃에서 2시간 동안 건조된 시료를 disk라고 하고, 실온(25℃)에서 건조된 시료는 coffee ring으로 표기하였다. disk는 고온에서 고속으로 droplet을 건조시켜 시료가 고르게 분산된 상태를 의미한다. I : disk, II : Reporter coffee ring, III : Probe coffee ring, IV : Double coffee ring의 4가지 경우로 분류하였다(도 5 및 표 4).

표 4

	Probe DNA 기능화	Cy5 tagged Reporter DNA 혼성화
I	40℃	40℃
II	40℃	실온(25℃)
III	실온(25℃)	40℃
IV	실온(25℃)	실온(25℃)

[0069]

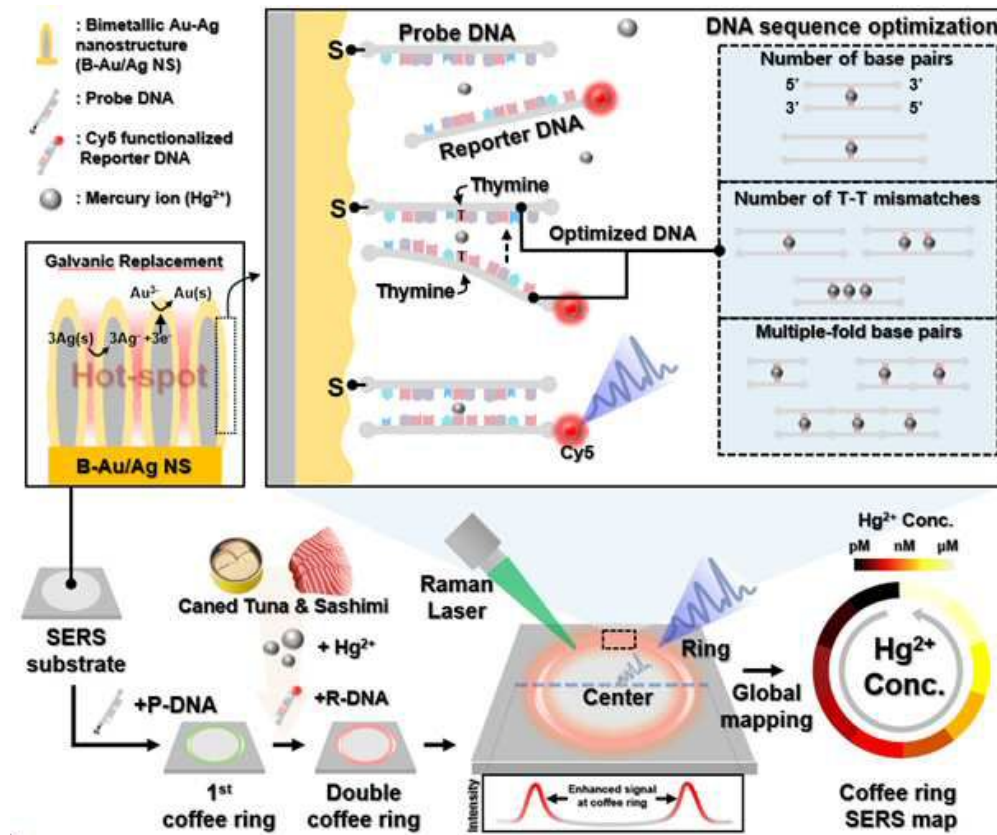
[0070]

그 결과, Case I-IV의 경우를 종합하였을 때, IV의 가장자리 부분에서 높은 SERS intensity를 보였다. III이 II보다 ring에서 높은 SERS intensity를 보이는 이유는 Probe DNA에 의해 1차적으로 형성된 coffee ring은 가장자리 친수성 표면이 강해서 Reporter DNA가 빠르게 건조되면서 가장자리로 이동하기 때문인 것으로 추측되었다. I의 경우 40℃에서 고온건조하여 혼성화 및 기능화 시 반응시간 부족에 기인한 것으로 사료되고, II의 경우는 DNA 혼성화 시간은 가능하였기 때문에 I보다 높은 ring 부분 intensity를 보이는 것으로 사료된다(도 6).

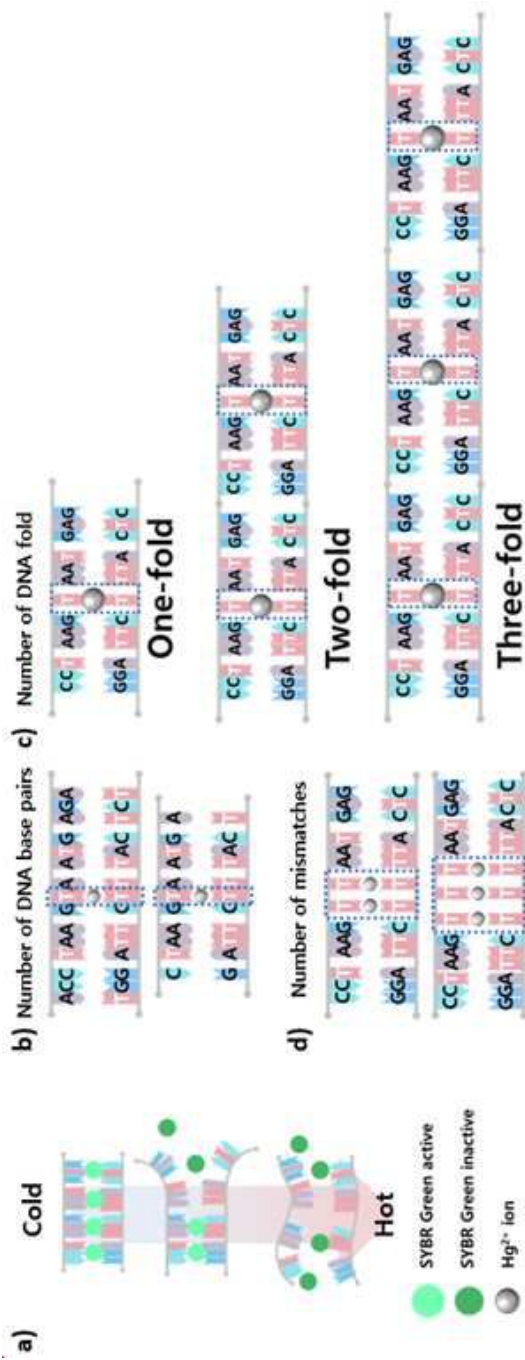
- [0071] 따라서 이를 기반으로 SERS 기판 표면에 가장자리를 원형으로 mapping하는 Coffee ring SERS map(CrSERS mapSERS map)을 도입하였다.
- [0073] 3. Probe DNA 기능화 최적화
- [0074] SERS 기판 표면에 최대한 많은 Probe DNA가 고정되는 것이 중요하고, 수은 이온을 검출하는데 밀접한 관계를 가지고 있어 Probe DNA의 농도 및 반응시간을 최적화하였다.
- [0075] 그 결과, Probe DNA는 50 μM 농도에서 최적 SERS intensity를 보였다. 50 μM 보다 높은 농도에서는 Probe DNA의 밀도가 높아지면서 DNA 골격 부분에 존재하는 인산기로 인해 발생하는 정전기적 반발력 때문에 고정이 어려운 것을 알 수 있었다.
- [0076] 또한, Probe DNA의 기능화 시간은 120분에서 포화되는 SERS intensity를 보였다. 120분 초과 시에는 용액이 완전 건조가 되어 DNA에 손상을 줄 수 있다(도 7).
- [0078] 4. CrSERS map을 통한 수은 이온 검출 한계 및 선택성 확인
- [0079] 최적화된 DNA sequence 및 Double coffee ring effect 조건을 기반으로 수은 이온의 농도별로 검출하였다. Reporter DNA 끝단에 결합된 Cyanine 5의 SERS peak intensity(1404 cm^{-1})를 측정하고 intensity 차이를 분석하였다.
- [0080] 최적화된 조건을 기반으로 100 μM 부터 1 pM까지 수은 이온을 검출가능하였다. Three sigma rule에 의한 검출한계는 208.71 fM로 결정되었다. 또한, CrSERS map을 통해 직관적이고 빠른 데이터 분석이 가능하였고 color bar를 통해 농도 분포를 확인할 수 있었다(도 8).
- [0081] 수은 이온 외 2가 중금속으로 선택성 실험을 진행하고, 분자동역학 시뮬레이션으로 결합에너지를 분석하여 선택성 실험을 검증하였다.
- [0082] 분자동역학 시뮬레이션을 통해 최적화된 DNA의 선택성을 타 2가 중금속 이온들을 대상으로 분석하였고, 수은 이온 대비 5.06 % 이하의 결합에너지를 가져 높은 선택성을 보였다. 시뮬레이션 결과를 실험적으로 검증하였고, CrSERS map에서는 수은 이온과 타 이온들 간 명백한 색 차이를 보이는 것을 알 수 있었다. 또한, 수은 이온 대비 타 중금속 이온이 8.02 % 이하의 SERS intensity를 가져 시뮬레이션 결과를 입증하였다(도 9).
- [0084] 5. 실제 환경에서의 수은 이온 검출 실험
- [0085] 실험실 환경뿐만 아니라 실제 환경에서의 수은 이온 검출 실험도 다양하게 진행하였다(도 10).
- [0086] 인간이 수은 이온을 섭취할 확률이 높은 수돗물과 식수 환경에서 수은 이온을 검출하였다. 수돗물, 식수를 베이스로 하여 수은 이온을 농도별로 용액을 제작 후 앞선 방법과 동일하게 분석하였다.
- [0087] 그 결과, 수돗물 및 식수 모두 100 μM - 1 pM의 농도의 수은 이온을 검출할 수 있었으며, three sigma rule 기준 검출한계는 각각 553.18 fM과 950.16 fM로 결정되었다. CrSERS map의 밝기는 수은 이온 농도에 해당하여 직관적으로 수은 이온 농도를 확인할 수 있었다(도 11).
- [0088] 또한, 인간이 수은 이온을 자주 섭취하는 경로 중 하나인 참치회 및 참치캔에서 수은 이온을 검출하였다. 참치회 및 참치캔에서 기름을 제거하고, 3차 증류수와 함께 믹서기로 연마 후 필터링 후 수은 이온을 농도별로 스핀코팅하여 검출 실험을 진행하였다.
- [0089] 참치회, 참치캔에서 각각 100 nM-100 μM , 10 nM-100 μM 농도의 수은 이온을 검출할 수 있었고, three sigma rule 기준 검출한계는 각각 79.06 nM과 9.87 nM로 결정되었다. CrSERS map의 밝기는 수은 이온 농도에 해당하여 직관적으로 수은 이온 농도를 확인할 수 있었다(도 12).

도면

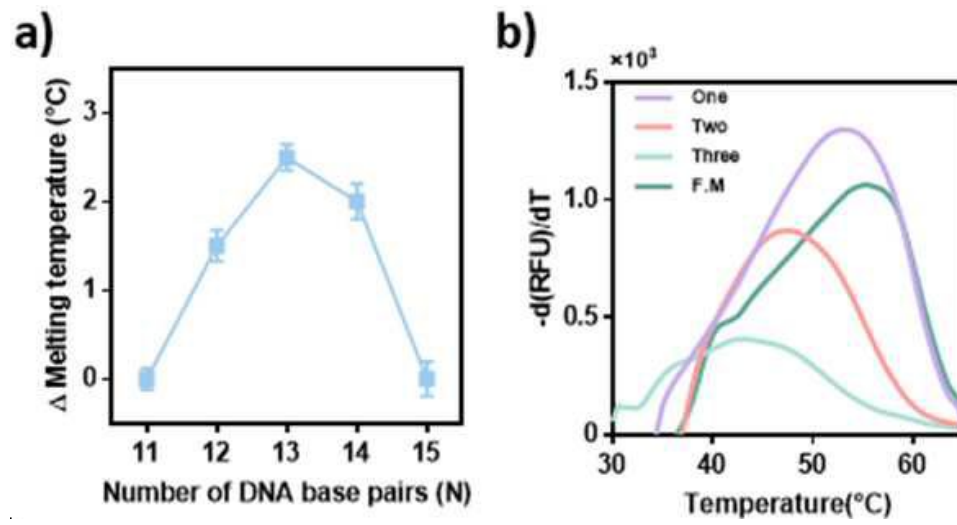
도면1



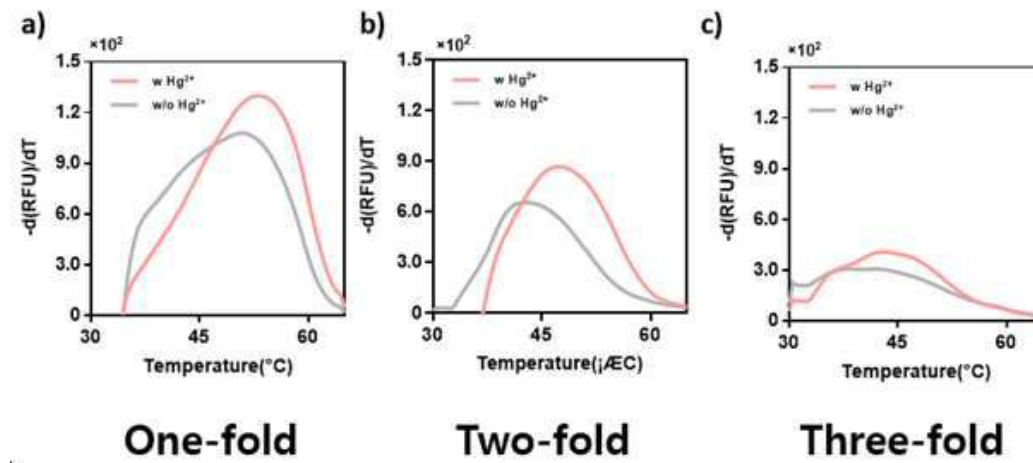
도면2



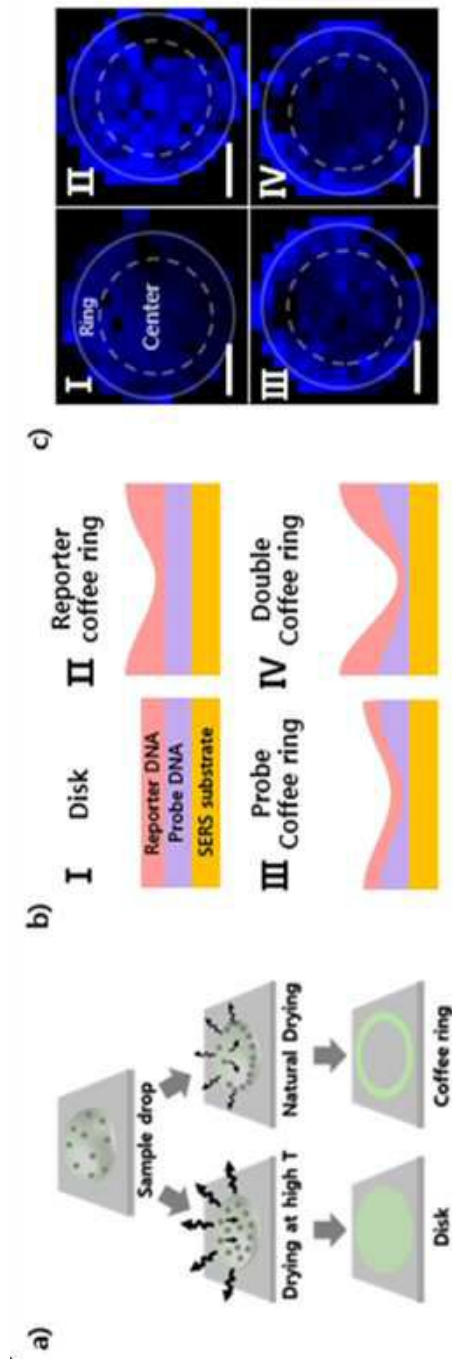
도면3



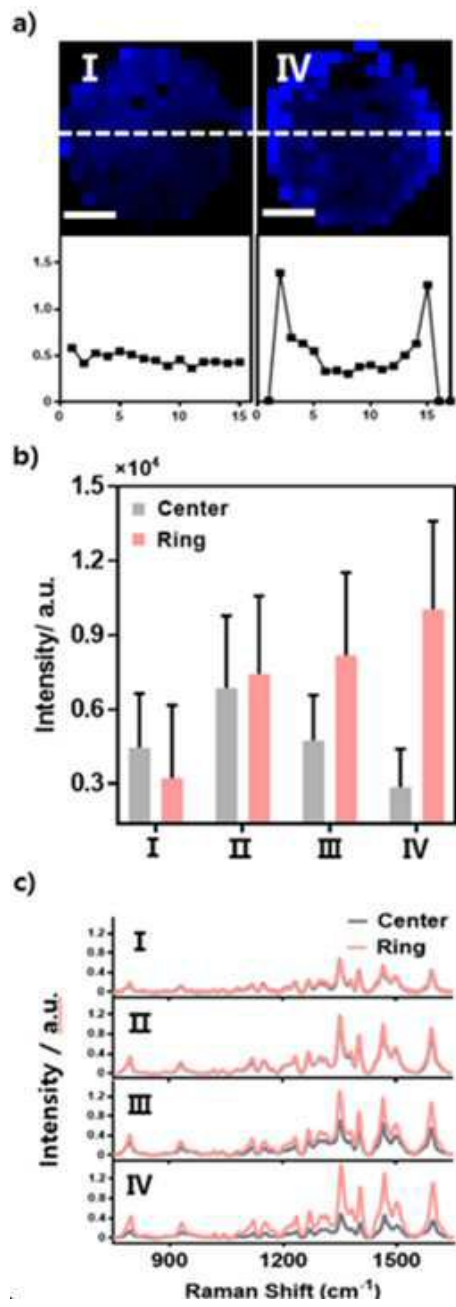
도면4



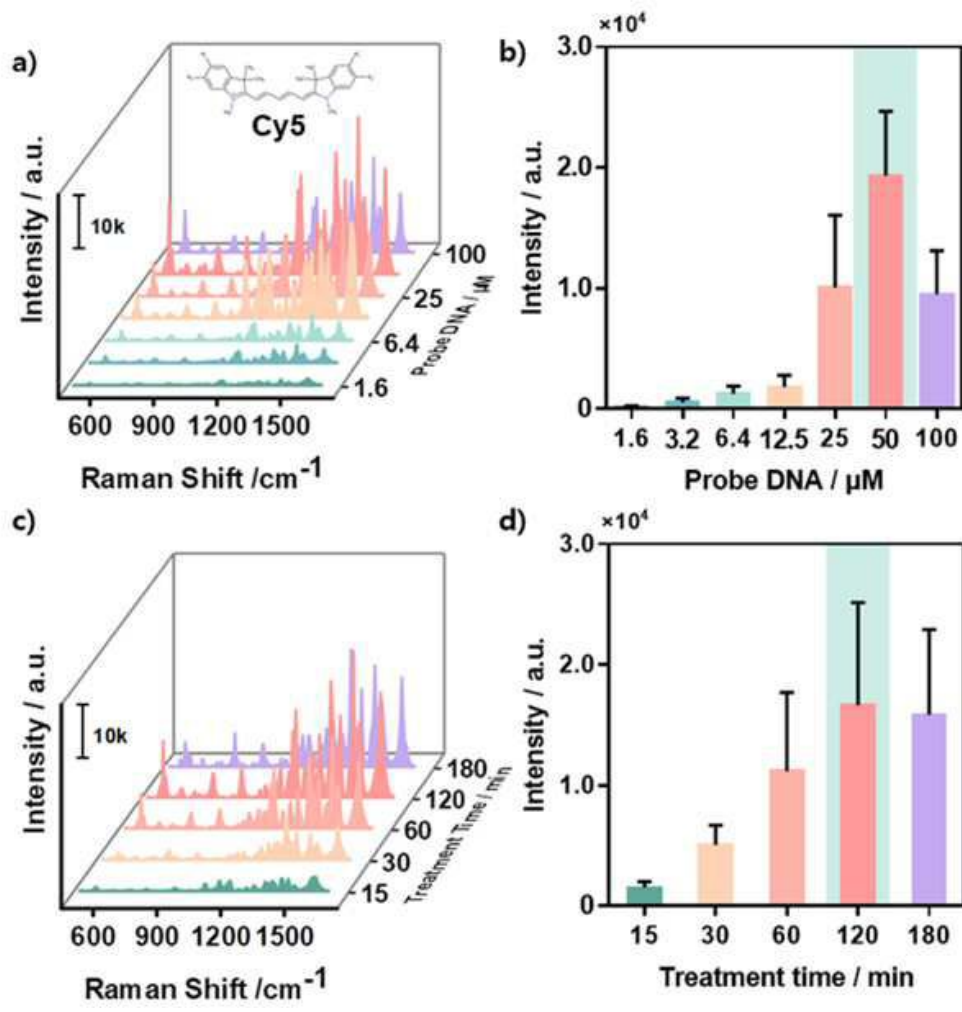
도면5



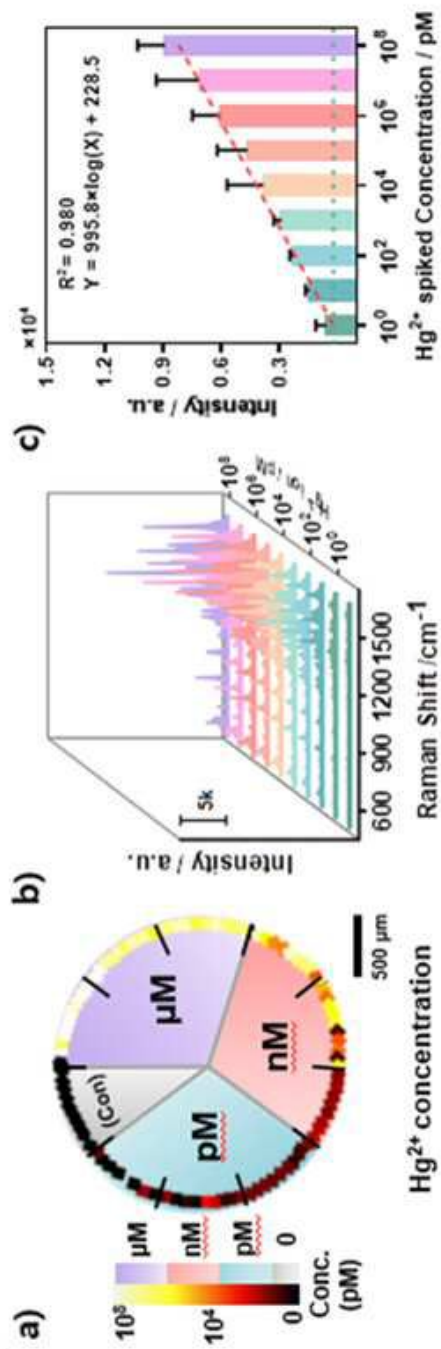
도면6



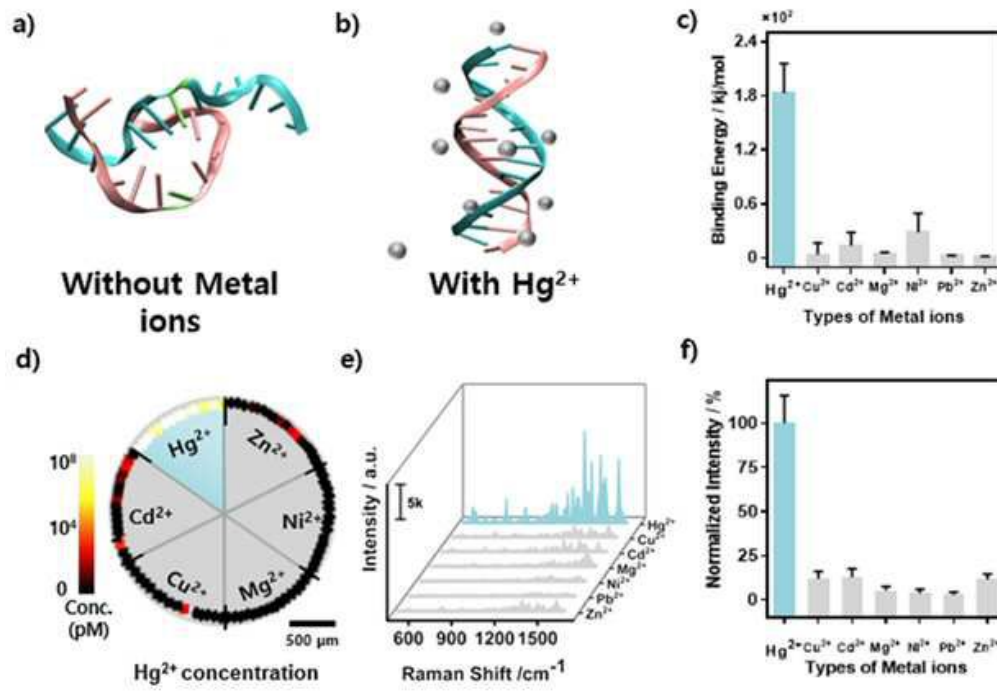
도면7



도면8



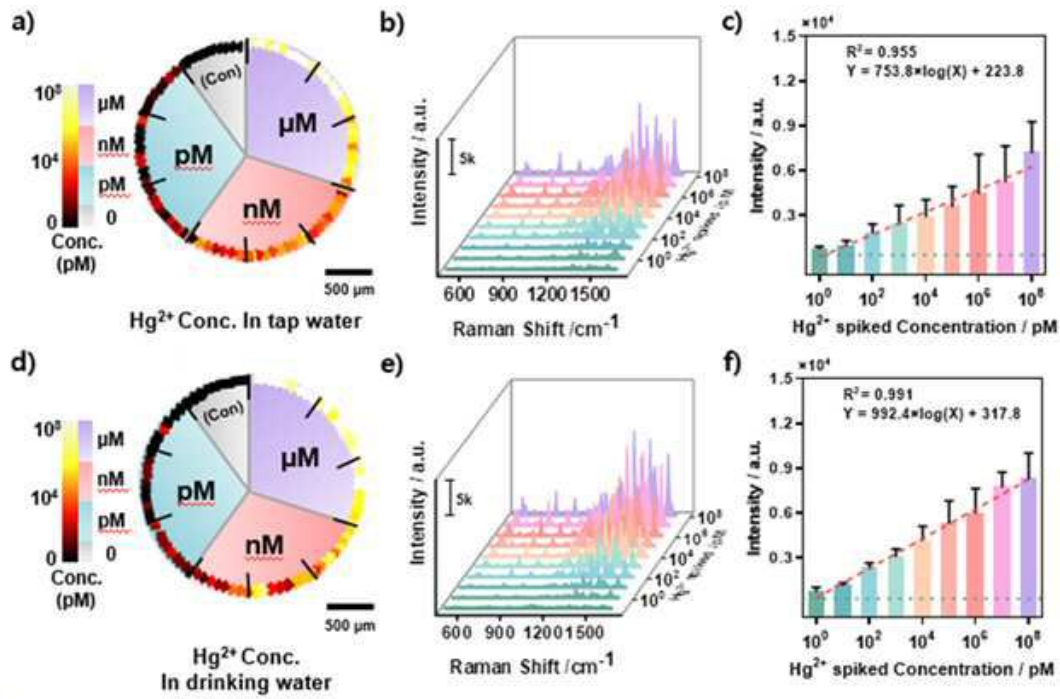
도면9



도면10



도면11



도면12

