

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0090477 (43) 공개일자 2012년08월17일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12N 15/115 (2010.01) C12Q 1/68 (2006.01) (21) 출원번호 10-2011-0010928 (22) 출원일자 2011년02월08일 심사청구일자 2011년02월08일		(71) 출원인 경희대학교 산학협력단 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스내 (서천동, 경희대학교) (72) 발명자 하상수 경기도 남양주시 도농동 부영그린타운아파트 210동 1201호 김지수 인천광역시 부평구 화랑로105번길 22, 101동 1104호 (산곡동, 선포아파트) (74) 대리인 유수미

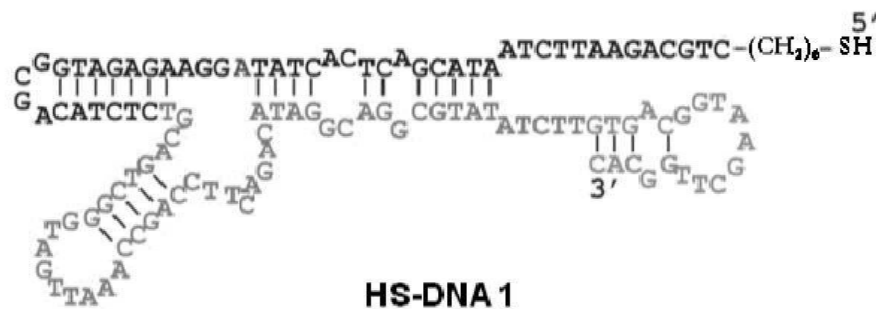
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머

(57) 요약

본 발명은 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머를 제공한다. 또한, 본 발명은 고정 지지체에 접합된, 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머를 제공한다. 또한, 본 발명은 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머를 이용하여 시료로부터 우라닐 이온을 분리하는 방법을 제공한다. 본 발명의 DNA 앵타머는 높은 특이성으로 우라닐 이온에 결합하여, 해수 등의 환경으로부터 우라늄을 효율적으로 추출할 수 있도록 한다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2009-0064333

부처명 교육과학기술부

연구사업명 신진연구지원사업

연구과제명 Accelerator mass spectrometry를 이용한 백금항암제의 개인화된 화학요법의 개발을 위한 새로운 접근법

주관기관 경희대학교 산학협력단

연구기간 2009.05.01 ~ 2012.04.30

특허청구의 범위

청구항 1

우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머.

청구항 2

제1항에 있어서, 도 1의 구조를 가진 것을 특징으로 하는 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머.

청구항 3

제1항에 있어서, 서열 번호 1의 염기 서열을 갖는 것을 특징으로 하는 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 고품 지지체에 접합된 것을 특징으로 하는 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머.

청구항 5

제4항에 있어서, 고품 지지체는 아미노폴리스티렌 수지인 것을 특징으로 하는 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머.

청구항 6

제5항에 있어서, 고품 지지체는 설폰석신이미딜 4-(*N*-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트-아미노폴리스티렌 수지인 것을 특징으로 하는 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머.

청구항 7

우라닐 이온을 함유하는 것으로 생각되는 시료와 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머를 접촉시키는 단계, 및 우라닐 이온-DNA 앵타머 착물을 분리하는 단계를 포함하는, 시료로부터 우라닐 이온을 분리하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머는 도 1의 구조를 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머는 서열 번호 1의 염기 서열을 갖는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 10

제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머는 고품 지지체에 접합된 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 고품 지지체는 아미노폴리스티렌 수지인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 고품 지지체는 설폰석신이미딜 4-(*N*-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트-아미노폴리스티렌 수지인 것을 특징으로 하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 금속-특이적 앵타머에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 우라닐 이온-특이적 DNA 기반 앵타머에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 물로부터 금속의 킬레이트화는 환경 보호 및 자원 회수를 위해 중요하다. 특히, 금속-특이적 킬레이팅 수지는 금속 킬레이트화에 있어서 단순한 이온 교환 수지보다 훨씬 더 효과적인데, 그 이유는 그들이 표적 금속에 대해 더 높은 선택성과 더 큰 착물화 상수를 나타내며 음용수 또는 폐수 처리 및 해수로부터 표적 금속 이온의 추출과 같은 실용적 용도에서 유용하기 때문이다. 이러한 관점에서, 우라늄은 해수에서 주로 우라닐 이온의 트리카르보나토 착물로서 전세계 원전이 약 6 만년간 사용할 수 있는 40 억 톤 가량이 약 3 ppb의 농도로 존재하므로, 우라닐 이온(UO_2^{2+})을 위한 효과적인 호스트 분자의 디자인은, IAEA(국제원자력기구)가 2008년 5월 기준으로 발표한 자료(세계 우라늄 확인매장량 474만 톤, 그리고 추정 매장량은 1055만 톤으로서 이는 연간 6.4만 톤인 세계 연간 사용량을 감안할 때 약 70 년간 사용할 수 있을 정도의 양)를 고려할 때, 해수로부터 우라늄의 선택적 추출의 경제적 중요성과 연결된다. 그러나, 우라닐 이온 결합을 위해 지금까지 개발된 시스템은 다른 금속 이온의 간섭으로 인하여 우라닐 이온에 대해 요구되는 특이성이 결핍되는 것으로 밝혀졌다. 그 결과, 크라운 에테르(crown ethers) 및 칼릭사렌(calixarenes)을 포함하는 거대환식 호스트 분자를 이용한 우라닐 이온의 선택적인 분자 인식에 대한 연구가 이루어졌으나, 이러한 거대환식 호스트 분자는 합성하기 위해 많은 노동을 요하며 고체 지지체에 접합시키기 어려운 변형 때문에 바람직하지 못하다.

[0003] 한편, 앵타머(aptamer)는 DNA, RNA, 소분자, 펩티드, 및 단백질 등에 결합할 수 있는 비-천연 발생의 구조화된 올리고뉴클레오타이드이다. 일반적으로, 앵타머는 셀렉스(SELEX)(systematic evolution of ligands by exponential enrichment)로 불리는 인 비트로(in vitro) 선택 과정에 의해 생성되며, 단백질, 소분자 등의 특이적 검출 및 표적-특이적 전달과 같은 많은 생물분석 용도에서 사용되고 있다.

[0004] 본 발명자들은 해수로부터 우라늄을 효과적으로 추출하기 위해 이용될 수 있는 우라닐 이온-특이적 물질을 찾기 위해 연구하던 중, 우라닐 이온에 높은 특이성을 가지고 결합할 수 있는 앵타머를 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

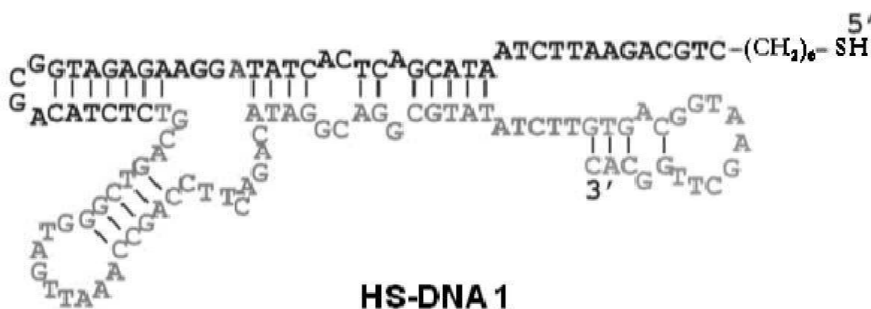
해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 우라닐 이온-특이적 DNA 기반 앵타머 및 고형 지지체에 접합된, 우라닐 이온-특이적 DNA 기반 앵타머를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0006] 또한, 본 발명은 우라닐 이온-특이적 DNA 기반 앵타머를 이용하여 우라닐 이온을 함유하는 것으로 생각되는 시료로부터 우라닐 이온을 분리하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기의 구조를 가진 우라닐 이온(UO_2^{2+})-특이적 DNA 기반 앵타머(HS-DNA 1) 및 고형 지지체에 접합된 HS-DNA 1을 제공한다.



[0008]

[0009] 본 발명의 우라닐 이온-특이적 DNA-기반 앵타머는 5'-CTGCA GAATT CTAAT ACGAC TCACT ATAGG AAGAG ATGGC GACAT CTCTG CAGTC GGGTA GTTAA ACCGA CCTTC AGACA TAGGC AGGCG TATAT CTTGT GACGG TAAGC TTGGC AC-3'(서열

번호 1)의 염기 서열을 가지며, 최근에 보고된(Liu *et al.*, *PNAS*, **2007**, *104*, 2056-2061) 인비트로-선별 우라닐 이온-특이적 촉매 DNA(또는 간단히 DNA자임)에 기반한 우라닐 이온을 위한 촉매 센서의 변경에 의해 제조되었다.

[0010] 상기 문헌에 보고된 우라닐 이온-특이적 센서는 3' 켄처(quencher)를 가진 DNA 효소 스트랜드 및 중앙의 리보뉴클레오티드 아데노신(riboA) 및 각각 3'과 5' 말단의 형광단 및 켄처를 가진 DNA 기질로 구성된 반면, 본 발명의 5'-티올-함유 DNA 앵타머는 보고된 우라닐 이온-특이적 DNA자임 내의 riboA가 데옥시리보뉴클레오티드 아데노신으로 대체되었다. 상기 문헌의 우라닐 이온-특이적 촉매 센서는 우라닐 이온이 결합할 경우 중앙의 리보뉴클레오티드 아데노신 부위에서 절단됨을 특징으로 하는 반면, 본 발명의 우라닐 이온-특이적 DNA 기반 앵타머는 우라닐 이온에 특이적으로 결합하여 우라닐 이온을 주위 환경으로부터 분리해내는 것이 목적이므로, 우라닐 이온과의 결합에 의해 절단되지 않도록 중앙의 리보뉴클레오티드 아데노신 부위를 데옥시리보뉴클레오티드 아데노신으로 대체하였다.

[0011] 본 발명의 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머인 HS-DNA 1은 5' 말단에 티올기를 가진 프라이머와 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 이용하여 제조하였다. 투석 케이싱(컷오프 분자량 10,000)에 함유된 앵타머 용액을 금속 이온을 함유한 용액(우라닐 아세테이트 (2.1 μ M), NaHCO_3 (21 mM), 및 HEPES (0.1 M), pH 8.01)에 대해 평형화시켰으며, 여기서 NaHCO_3 는 pH 8.01에서 우라닐 이온의 가용화를 촉진하여, 용액에서 우라닐 이온이 $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ 로서 주로 존재하도록 하기 위해 첨가되었다. 구매가능한 투석 케이싱(Slide-A-Lyzer Dialysis Cassettes, Thermo, Bellefonte, PA)을 이용하여 삼투압으로 인한 농도 변화를 최소화하였다. 평형화가 이루어진 후 투석 케이싱 밖의 금속 이온의 농도를 유도 결합 플라즈마 질량 분광분석법(ICP-MS)에 의해 측정하여, 앵타머 HS-DNA 1에 결합된 금속 이온의 양을 계산하였다. 도 1의 그래프는 $[\text{UO}_2^{2+}]_0$ 에 등가인 $[\text{HS-DNA 1}]_0$ 에서 교차하는 두 직선으로 이루어지며, 이것은 앵타머가 우라닐 이온과 1:1 유형 착물을 형성함을 보여준다. 중요하게는, 본 발명자들은 우라닐 이온 결합 전과 후에 음이온-교환 컬럼을 이용한 HPLC 실험을 실시한 결과, 보고된 UO_2^{2+} -특이적 센서와 달리, 본 발명의 HS-DNA 1은 우라닐 이온 결합에 의해 자기 절단이 야기되지 않음을 발견하였다. 즉, 본 발명의 우라닐 이온-특이적 DNA-기반 앵타머는 우라닐 이온에 대한 고도의 민감성과 높은 선택성으로 인해 우라닐 이온에 매우 강하고 선택적으로 결합하는 한편, 우라닐 이온의 결합에 의해 절단되지 않으므로 우라닐 이온의 분리에 유용하게 이용될 수 있다.

[0012] 한편, 우라닐 이온에 결합 후 우라닐 이온-앵타머 착물의 분리를 용이하게 하기 위하여 앵타머를 고형 지지체와 접합시켰다. 고형 지지체에 접합된 앵타머인 앵타머-SMCC-PS는 도 3의 도식에 따라, 고체 지지체로 사용된 아미노폴리스티렌(아미노PS) 수지 (폴리스티렌-코-비닐벤질아민-코-다이비닐벤젠, 메쉬: 100~200, 1.0 mmol N/g 수지, Sigma)의 변형에 의해 제조하였다. 합성 단계 동안 아미노PS에 첨가된 설포-SMCC (설포석신 이미딜 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카르복실레이트, Sigma)의 양은 과량의 설포-SMCC에 의해 공격받도록 노출된 아미노기의 5 mol%였다. 수지와 접합된 HS-DNA 1의 양은 대략 2.65nmol/g 수지로 추정되었으며, 즉, 0.265 mol%의 아미노기가 HS-DNA 1에 공유적으로 부착되었다.

[0013] 앵타머-SMCC-PS에 결합될 수 있는 우라닐 이온의 양은 고정된 양의 앵타머-SMCC-PS를 이용하여 측정하였다 (도 4). 대략 20 mg의 변경된 수지를 우라닐 아세테이트, NaHCO_3 (21 mM), 및 HEPES (0.1 M)의 용액 1 mL(pH 8.01)에 현탁시키고, 혼합물을 25° C에서 100 rpm의 속도로 2일 동안 진탕시켰다. 여과에 의해 수집된 비드를 3시간에 걸쳐 버퍼 용액 (0.55 M NaCl, HEPES 0.01 M, pH 8.01; 1 mL)으로 3회 세척하여, 단순 흡착을 통해 수지에 의해 결합되었을 수 있는 $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ 를 제거하였다. ICP-MS로 확인할 때, NaCl로 3회 처리하는 것은 느슨하게 결합된 우라늄 종의 제거에 충분하였다. 비드를 증류수(2 mL)로 세 번 더 세척한 후, 그들을 1 N HCl 수용액 (2 mL)으로 세척하였다. HCl 처리에 의해 방출된 우라닐 이온의 양은 ICP-MS에 의해 측정하였다. 리간드 결합 실험의 분석은 질량 작용의 법칙으로 불리는 간단한 모델에 기초할 수 있다. 점유율(Fractional occupancy) 또는 결합 계수는 하기 식 1에 기재된 대로 우라닐 이온에 결합되는 모든 수용체의 분획으로 정의될 수 있으며, pH 8.01에서 21 mM 바이카르보네이트 이온의 존재하에서 약 84.6 fM의 검출 한계 상수

(K_d^{app}) 의 추정이 가능하다(도 4).

식 1

$$\text{Fractional Occupancy} = \frac{[\text{Ligand}]}{[\text{Ligand}] + K_d}$$

그러나, 우라닐 이온의 불용성 킬레이팅제의 경우, 우라닐 착물의 형성 상수(K_f)는 고체 표면에서의 기체 흡착을 위한 랑뮈르 등온선을 이용한 유추에 의해 정확하게 k_{ad}/k_{de} (식 2)로 표현될 수 있다. 우라닐 착물(UO_2^{2+} ?BS)을 형성하기 위한 결합 부위(BS)에 의한 우라닐 이온의 착물형성은 후속 결합과 독립적임이, 랑뮈르 등온선을 이용한 유추에 의해 추가로 가정될 수 있다. K_f 가 매우 클 때 착물형성되지 않은 우라닐 이온의 평형 농도로부터 직접 K_f 를 측정하는 것은 가능하지 않다. 대신, K_f 는 하기 식 2와 식 4의 평형 과정의 조합인 식 3에 의해 나타난 교환 반응을 위한 평형 상수($K_{ex} = k_1/k_{-1}$)를 측정함으로써 간접적으로 추정될 수 있으며, 그 이유는 K_f 가 K_{ex} 및 K_f^{carb} ($10^{21.54}$)로부터 계산될 수 있기 때문이다. 하기 식에서, $[\text{BS}]$, $[\text{BS}]_0$, 및 $[\text{UO}_2^{2+}\text{BS}]$ 는 BS 및 UO_2^{2+} ?BS가 용해되는 것으로 가정될 때 얻을 수 있는 BS의 농도, BS의 처음에 첨가된 농도, 및 UO_2^{2+} ?BS의 농도를 각각 나타낸다. 우라닐 이온의 처음 첨가된 농도는 $[\text{UO}_2^{2+}]_0$ 로 표현된다. $[\text{HCO}_3^-] \gg [\text{UO}_2^{2+}]_0$ 의 조건하에서 실험적으로 측정된 $[\text{UO}_2^{2+}\text{BS}]$ 로부터, 그리고 측정에 이용된 $[\text{CO}_3^{2-}]$, $[\text{UO}_2^{2+}]_0$, 및 $[\text{BS}]_0$ 의 값으로부터, K_{ex} 의 값은, $[\text{HCO}_3^-]$ 이 $[\text{HCO}_3^-]_0$ 와 근사할 수 있다는 가정을 기초로 하기 식 5에서 계산될 수 있다. pH 8.10 및 25° C에서 21 mM 바이카르보네이트 이온의 존재하에서 앵타머-SMCC-PS를 위한 $\log K_f$ 의 값은 22.9 ± 1.2 였다. K_d^{app} 와 K_f 의 추정치 사이의 차이는 저농도의 $[\text{UO}_2^{2+}]_0$ 에서 ICP-MS의 상대적으로 열등한 민감성에 의해 야기된 실험 오차로 인한 것으로 생각된다.

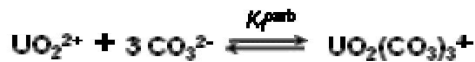
식 2



식 3



식 4



식 5

$$K_{ex} = \frac{([\text{BS}]_0 - [\text{UO}_2^{2+}\cdot\text{BS}]) ([\text{UO}_2^{2+}]_0 - [\text{UO}_2^{2+}\cdot\text{BS}])}{[\text{UO}_2^{2+}\cdot\text{BS}] [\text{CO}_3^{2-}]^3}$$

경제적 용이성을 만족하기 위해서는 하루에 수지 1 그램 당 500 mg 이상의 우라늄의 추출이 필요한 것으로 알려져 있다. 또한, 킬레이팅제는 여러번 재순환되어야 한다. 오늘날까지, 이러한 기준을 충족하는 어떤 우라닐 킬레이팅제도 고안되지 않았다. 본 발명의 결과는 수지의 표면 상의 HS-DNA 1의 mol%를 증가시키기 위하여, 앵타머-SMCC-PS 수지에서 DNA 앵타머의 함량을 상승시키는 것이 필요하지만, 높은 $\log K_f$ 값 및 DNA의 안정성으로 인하여 본 발명의 DNA 앵타머가 해수 등으로부터 우라늄의 추출에 요구되는 경제적 기준을 충족시킬

수 있음을 잘 보여준다.

- [0026] 또한, 본 발명은 우라닐 이온-특이적 DNA 기반 앵타머를 이용하여, 우라닐 이온을 함유하는 것으로 생각되는 시료로부터 우라닐 이온을 분리하는 방법을 제공한다.
- [0027] 본 발명의 방법은 우라닐 이온에 특이적으로 결합하는 임의의 DNA 기반 앵타머를 이용할 수 있으며, 특히 상기한 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머인 HS-DNA 1를 이용하여 우라닐 이온을 효과적으로 분리할 수 있다.
- [0028] 본 발명의 방법은 우라닐 이온을 함유하는 것으로 생각되는 시료와 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머를 접촉시키는 단계, 및 우라닐 이온-DNA 앵타머 착물을 분리하는 단계를 포함한다.
- [0029] 본 발명의 방법에 있어서 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머는 우라닐 이온과 결합한 후 착물의 분리를 용이하게 하기 위하여, 고정 지지체에 접합된 형태인 것이 보다 바람직하다.

발명의 효과

- [0030] 본 발명의 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머는 우라닐 이온에 대해 높은 특이성으로 결합하며 우라닐 이온의 결합에 의해 절단되지 않음으로써, 해수 등과 같은 환경에서 여러가지 다른 금속 이온의 간섭에 영향을 받지 않고 높은 효율로 우라닐 이온을 분리할 수 있도록 하여, 기존의 우라늄 획득 방법에 비하여 저렴한 비용으로 보다 효과적으로 우라늄 획득을 가능하게 한다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 우라닐 이온-특이적 DNA 앵타머 HS-DNA 1의 구조를 보여준다.
- 도 2는 HS-DNA 1이 우라닐 이온과 1:1 타입 착물을 형성함을 보여주는 HS-DNA 1의 우라닐 이온 결합 실험 결과이다.
- 도 3은 앵타머-SMCC-PS 수지의 합성 도식을 보여준다.
- 도 4는 우라닐 이온에 대한 앵타머-SMCC-PS 수지의 겔보기 해리 상수와 형성 상수가 21 mM 바이카르보네이트 이온의 존재하에서 각각 84.6 fM 및 $10^{(22.9 \pm 1.2)}$ 임을 보여주는, 앵타머-SMCC-PS 수지의 우라닐 이온 결합 실험 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 이하에서 실험예를 통해 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 하기 실험예는 본 발명을 예시하기 위한 것이며, 어떤 방식으로든 본 발명을 제한하는 것으로 이해되어서는 안된다.

- [0033] 실험예 1. HS-DNA 1의 제조

- [0034] 시약은 판매사로부터 구입하였으며, 추가 정제없이 사용하였으며, 모든 실험을 위해 이중 증류수를 사용하였다. 아미노폴리스티렌은 인비트로젠 (Carlsbad, CA)으로부터 구입하였으며 머크사로부터 구입한 우라닐 아세테이트 디하이드레이트 ($\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 99.0%)를 추가 정제없이 우라닐 이온 공급원으로 사용하였다. 사용된 가교결합제는 설포석신이미딜 4-(*N*-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카르복실레이트 (설포-SMCC, Sigma)였다. DNA 및 우라늄 농도는 Agilent 8453 UV/Vis 분광광도계를 이용한 260 nm에서의 흡광도에 의해 그리고 PerkinElmer ELAN6100 모델을 이용한 ICP-MS에 의해 각각 측정하였다.

- [0035] HS-DNA 1 (5'-HS-(CH_2)₆-CTGCA GAATT CTAAT ACGAC TCACT ATAGG AAGAG ATGGC GACAT CTCTG CAGTC GGGTA GTTAA ACCGA CCTTC AGACA TAGGC AGGCG TATAT CTTGT GACGG TAAGC TTGGC AC-3')는 15 mer 프라이머 (5'-HS-(CH_2)₆-CTGCA GAATT CTAAT-3')(서열 번호 2) 및 5'-말단에 T7 프로모터 서열을 함유한 117 mer 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 이용하여 합성하였으며, 둘 모두 Integrated DNA Technologies로부터 구입하였다.

[0036] 실험예 2. aminoPS 수지와 접합된 DNA-기반 애플타머의 제조

[0037] HS-DNA **1**을 이용하여 효과적인 고정 우라노필(uranophile)을 구축하기 위하여, DNA 앵타머를 고형 지지체에 도입하여, 도 3의 도식에 나타난 대로 앵타머-SMCC-PS를 생성하였다. 앵타머-SMCC-PS는 도 3의 도식에 따라, 고형 지지체로 사용된 아미노폴리스티렌 (aminoPS) 수지 (폴리스티렌-코-비닐벤질아민-코-다이비닐벤젠, 메쉬: 100~200, 1.0 mmol *N* /그램 수지, Sigma)의 변형에 의해 제조하였다. 합성 단계 동안 아미노PS에 첨가된 설포-SMCC (설포석신이미딜 4-(*N*-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카르복실레이트, Sigma)의 양은 (Zhang *et al.*, *Org. Lett.* **2001**, 3, 275-278; Derfus *et al.*, *Bioconjug. Chem.* **2007**, 18, 1391-1396)과량의 설포-SMCC에 의해 공격받도록 노출되는 아미노기의 5 mol %였다. 수지와 접합된 HS-DNA **1**의 양은 대략 2.65 nmol/g 수지로 측정되었으며, 즉, 0.265 mol%의 아미노기가 HS-DNA **1**에 공유적으로 부착되었다.

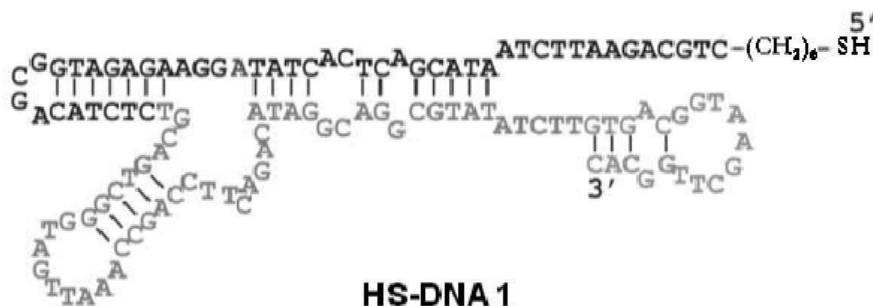
[0038] 실험예 3. 우라닐 이온 결합 실험

[0039] 앵타머-SMCC-PS에 결합될 수 있는 우라닐 이온의 양은 고정량의 앵타머-SMCC-PS에서 측정하였다 (도 4). 대략 20 mg의 변형 수지를 1 ml의 우라닐 아세테이트 용액, NaHCO_3 (21 mM), 및 HEPES (0.1 M) (pH 8.01)에 현탁시켰다. 혼합물을 2일 동안 50 X g, 25° C에서 진탕시켰다. 여과에 의해 수집된 비드를 3시간에 걸쳐 버퍼 용액 (0.55 M NaCl, HEPES 0.01 M, pH 8.01; 1 ml)으로 3회 세척하여, 단순 흡착에 의해 수지에 결합되었을 수 있는 $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ 를 제거하였다. ICP-MS에 의해 확인할 때, 느슨하게 결합된 우라늄 화학종의 제거를 위해서는 NaCl로 3회 처리하는 것으로 충분했다. 비드를 증류수 (2 ml)로 3회 더 세척한 후, 비드를 1 N HCl 수용액 (2 ml)으로 세척하였다. HCl 처리에 의해 방출된 우라닐 이온의 양을 ICP-MS에 의해 측정하였다.

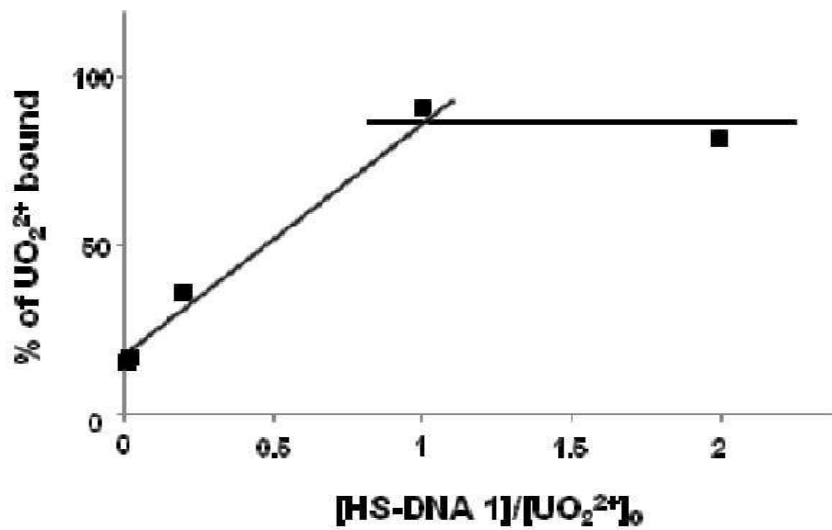
[0040] 그 결과, 약 0.63 마이크로그램의 우라늄이 1 g의 수지에 착물화될 수 있음이 밝혀졌으며, 이것은 수지에 도입된 모든 DNA 앵타머가 우라닐 이온에 강하게 결합할 수 있음을 입증한다. 수지의 우라닐 착물을 위한 겔보 기 해리 상수(K_d^{app}) 및 형성 상수(K_f)는, pH 8.01에서 21 mM 바이카르보네이트 이온의 존재하에서, 약 84.6 fM의 K_d^{app} 와 약 22.9 ± 1.2 의 $\log K_f$ 가 얻어졌다. 이러한 본 발명의 결과는 앵타머-함유 수지의 변경이 우라닐-결합 능력을 개선시켜, 해수로부터 우라늄의 경제적 회수를 가능하게 할 것임을 제안한다.

도면

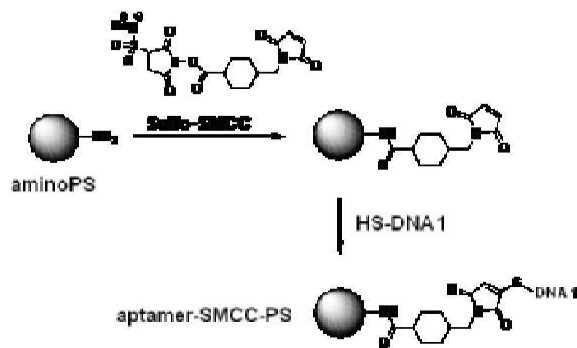
도면1



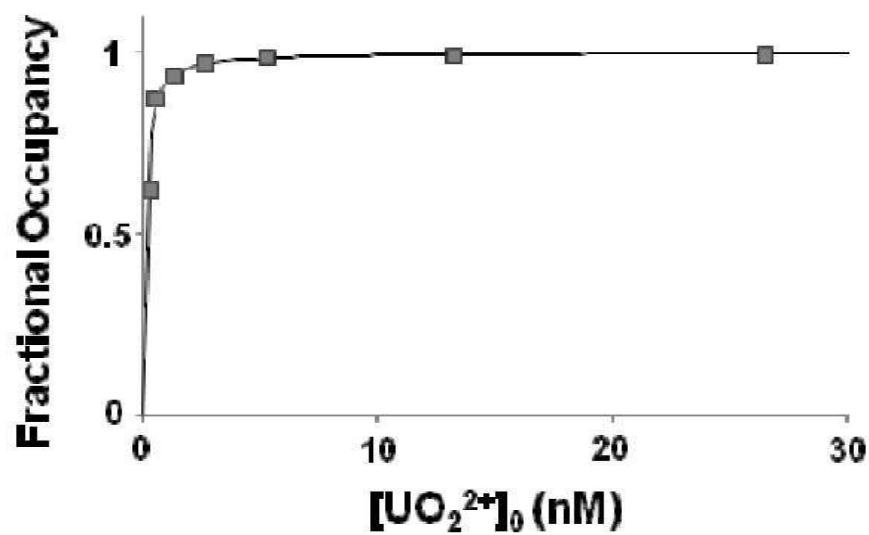
도면2



도면3



도면4



서열 목록

<110> UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY

<120> DNA aptamer specific for uranyl ion

<160> 2

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 117

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> aptamer

<400> 1

ctgcagaatt ctaatacgac tcactatagg aagagatggc gacatctctg cagtcgggta 60

gttaaaccga ccttcagaca taggcaggcg tatatcttgt gacggtaagc ttggcac 117

<210> 2

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 2

ctgcagaatt ctaat 15