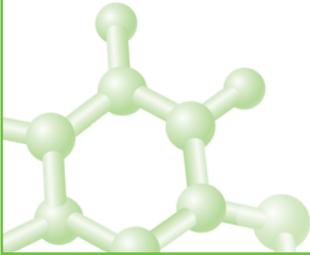


COMPOUND OF THE MONTH

고리금속화 이리듐 착체를 이용한 인광 바이오 센서



유영민 | 경희대학교 정보전자신소재공학과, odds2@khu.ac.kr

서론

형광에 기반한 분자 영상은 의생명현상의 이해와 응용에 크게 기여하고 있다. 일례로 형광 센서는 세포 내 칼슘,¹⁾ 아연²⁾ 이온의 시공간적 농도 변화에 대한 모니터링을 가능케 하여, 신호 전달 메카니즘 규명 연구에 획기적인 도약을 이루어 내었다. 그러나 형광 영상은 생체 시편이 보이는 자발광에 의한 백그라운드 노이즈를 포함하기 때문에 감도에 제한을 받는다. 실제로 생체 내에는 NAD⁺, 플라빈, 무금속 포르피린, 리포푸신, 엘라스틴 및 케라틴 등 다양한 형광 물질이 존재하여 자발광의 원인이 된다.

이러한 생체 내 형광 물질에 의한 자발광을 원천적으로 제거하는 대안으로 인광 기반 분자 영상이 제시된다. 전자의 스핀 변화를 수반하는 인광 전이는 일반적으로 매우 약하지만, 이리듐(III), 루테튬(II) 와 같은 d⁶계 전이 금속 착체에서는 스핀 궤도 결합을 통하여 상온에서도 우수한 양자 효율의 인광을 얻을 수 있다. 전이 금속 착체의 인광 수명은 수백 ns에서 수 μ s로 형광 수명보다 긴 특성을 가진다. 때문에 생체 시편의 영상 시 광여기와 시그널 검출 사이에 일정 시간의 지연 시간을 추가하게 되면 짧은 수명의 자발광을 근원적으로 제거할 수 있다. 이러한 시분해 분자 영상은 백그라운드 노이즈를 획기적으로 감소시키고 낮은 강도의 시그널을 효과적으로 이미지화할 수 있는 장점을

가지고 있다.³⁾

인광 특성 전이 금속 착체 중 시분해 분자 영상에 가장 적합한 물질은 고리금속화 이리듐(III) 착체이다. 이리듐 착체는 우수한 인광 효율 및 구조적 안정성 뿐만 아니라, 리간드의 선택적 도입과 구조 조절이 수월하여 전하, 친수/친유성 등의 물성 조율이 가능한 장점을 보유하고 있다. 무엇보다도 금속→리간드 전하이동 (metal-to-ligand charge transfer, MLCT) 전이로 특징 지워지는 리간드와 이리듐 중심 금속 간 강한 전자적 상호 결합은 리간드 조절에 의한 인광 파장, 인광 효율, 분자 내 및 분자 간 전자 전달 등 폭넓은 범위의 여기 상태 특성 제어를 가능케 한다.⁴⁻⁶⁾ 특히 100% 항간 교차 (intersystem crossing) 효율로 확보되는 삼중항 여기 상태는 다양한 광학/전기학적 응용에 적합한 여기 상태 수명과 전자 전이/전달 거동을 보이기 때문에 인광 영상 뿐만 아니라, 비선형광학, 광산화환원촉매, 태양광소자, 전기발광 등으로의 적극적으로 응용이 기대된다[그림 1].⁷⁾

이러한 기대에도 불구하고 고리금속화 이리듐 착체의 분자 영상, 특히 생체 적용을 목지한 센서로의 적용 연구는 초기 단계에 머무르고 있다. 이는 이리듐 착체의 여기 상태 광물리 거동에 대한 희박한 이해에 기인한다고 볼 수 있다. 이에 센서 응용을 위한 리간드 디자인 및 합성과 더불어, 광학, 전기화학적 특성 변화를 이해하고 이의 분자 조절 요소를 규명하는 연구가 절실히 요구된다. 이를 바탕으로 다양

한 생체 내 물질의 검출을 위한 최적화된 분자 광학적 디자인 원리를 수립하고, 나아가 의생명과학 연구로의 활용 가치가 높은 센서를 개발하는 연구는 기존 형광 기반 분자 영

상에 획기적인 대안을 제시할 수 있을 것이다.

본론

포화된 배위 구조를 가지는 고리금속화 이리듐 착체에서는 검출 대상 물질과 중심 금속 간 직접적인 상호 인식을 통한 광물리 특성 변화를 기대하기 어렵다. 때문에 이리듐 착체의 리간드에 검출 물질에 대응하는 수용기를 도입하는 디자인 원리를 따른다.

인광 아연 이온 센서

생체 내 항상성 및 생리활성 기능에 핵심 역할을 하는 아연 이온의 가역적 검출을 위해 di(2-picolyl)amine (DPA) 수용기를 선택하여 이를 이종리간드성 (heteroleptic) 이리듐 착체에 연결하였다 [그림 2].^{8,9)} 아연 이온이 결합하지 않은 상태에서는 DPA에서 MLCT 광여기 상태의 이리듐(IV) 착체로 환원성 광유발 전자전달 (photoinduced electron transfer, PeT)이 발생하여 인광 전이를 제한한다. 한편 아연 이온의 결합은 DPA의 산화 전위를 증가시켜 PeT를 억제하고 이리듐 착체 고유의 인광을 복원시켜 준다. 이러한 인광 센싱 거동의 여부는 이리듐 착체의 여기 상태 환원 전위 ($E_{red}^*(Ir)$)와 DPA의 산화 전위 ($E_{ox}(DPA)$)

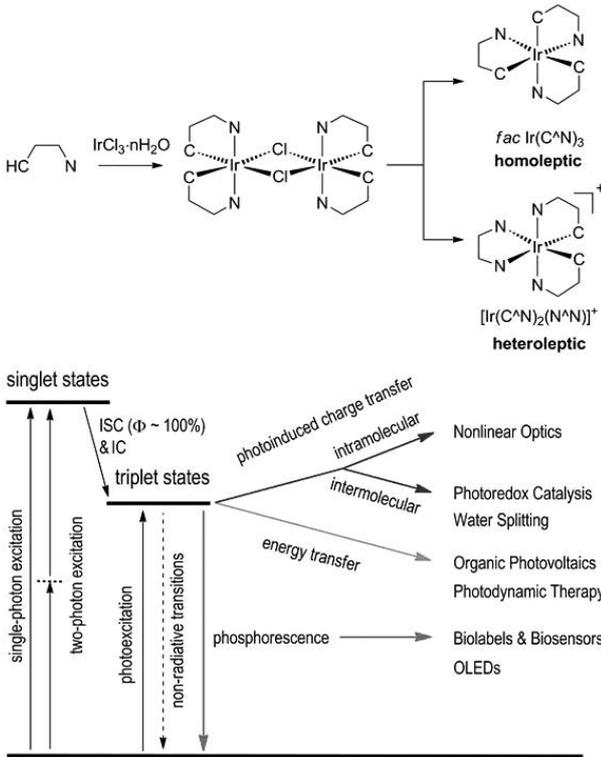


그림 1. 고리금속화 이리듐 착체의 합성 및 광물리화학 거동⁷⁾

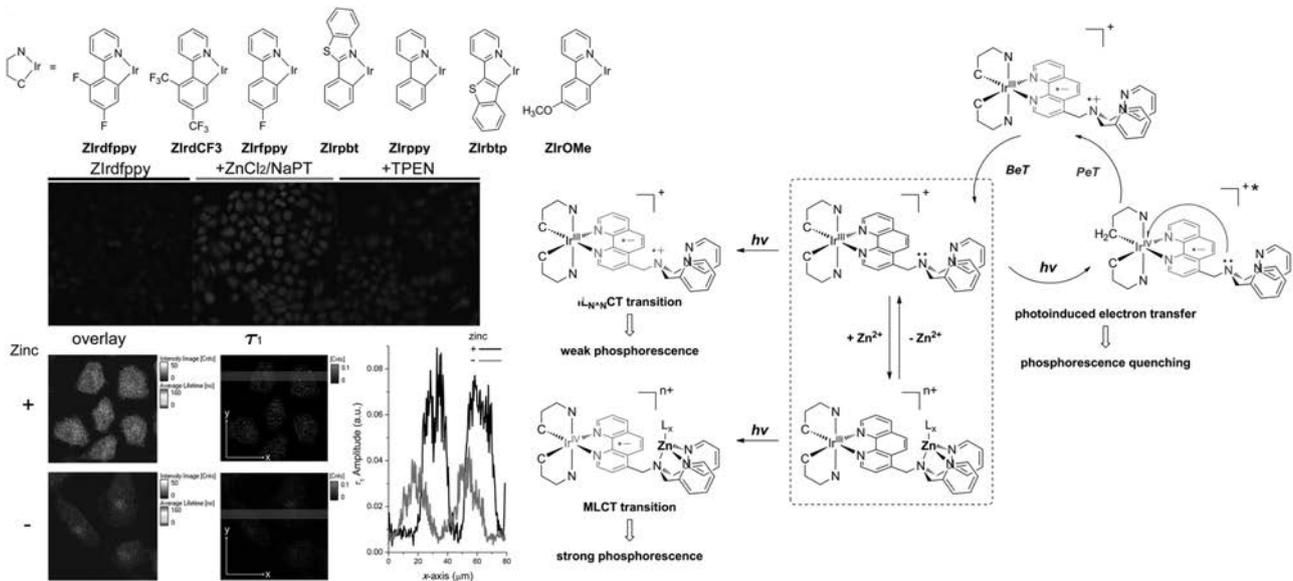


그림 2. 고리금속화 이리듐 착체 기반 여기 상태 광유도 전자 전달을 이용한 아연 센서^{8,9)}

의 차이에 의하여 결정되며, 나아가 인광 강도 증진의 정도는 $E^*_{red}(Ir)$ 와 $E_{ox}(DPA)$ 로 표현되는 PeT의 자유 에너지 차이 ($-\Delta G_{PeT}$, $-\Delta G_{PeT} = e \cdot [E_{ox}(DPA) - E^*_{red}(Ir)]$) 에 비례한다. 여기서 $E^*_{red}(Ir)$ 는 이리듐 착체의 바닥 상태 환원 전위와 삼중항 상태 에너지에 의해 결정된다. 이 두 분자 변수는 고리금속화 리간드 구조 변화(그림 2)를 통해 조절 가능하며, PeT에 의한 인광 거동 변화와 리간드 구조의 상관성을 정량적으로 해석 가능하게 하였다.⁹⁾ 실험을 통하여 PeT가 마커스 노말 (Marcus-normal) 구간에서 일어나며, 아연 이온에 의한 인광 변화에 DPA가 도입된 리간드의 내부리간드 전하이동 (intraligand charge-transfer, ILCT) 전이 상태가 추가적으로 관여함을 규명하였다.⁸⁾ 또한 삼중항 MLCT 상태를 결정하는 리간드의 위치가 PeT에 끼치는 영향이 없음을 발견하였고, 이를 통해 리간드 내 라디칼 음이온이 PeT 간의 쿨롱 장벽 (Coulombic barrier)으로 작용하지 않음을 알 수 있었다.

인광 센서는 pH 7.4 버퍼 (50 mM HEPES, 100 mM KCl) 용액에서 아연 이온 검출 능력을 유지하며, 우수한 아연 이온 선택성과 해마, 철헤장 내 자유 아연 이온 검출에 적합한 해리 상수 (K_d)를 보인다. 또한 pK_a 값이 4.5로 낮아 생체 내 pH 변화에 의한 시그널 왜곡을 피할 수 있다. 나아가 HeLa, A549 등 다양한 세포의 자유 아연 이온 검출에 효과적으로 쓰일 수 있다. 특히 인광 시그널은 세포 내 아연 이온 농도 변화에 가역적인 변화를 보이며, 기존 형광

아연 센서에 비해 우수한 광안정성을 가진다. 인광 센서의 시분해 영상을 구현하기 위해 발광 수명 영상 현미경을 이용하여, 세포 영상의 자발광을 분리하고 아연에 의한 인광 시그널 변화를 구분해 낼 수 있었다.⁸⁾

인광 구리 이온 센서

DPA와 이리듐 착체 간 PeT는 리간드 구조 조절을 통하여 제어 가능하다. 그림 3의 이리듐 착체는 산화 전위가 작은 2-벤조[b]티에닐-2-피리딘화 (2-benzo[b]thienyl-2-pyridinate, btp) 리간드를 포함하여, DPA로부터 PeT를 억제한다. 이 때 이중의 2-페닐피리딘화 (2-phenylpyridinate, ppy) 고리금속화 리간드를 함께 도입하게 되면 btp와 ppy, 두 리간드로부터 녹색과 적색의 인광이 동시에 관측된다.¹⁰⁾

녹색과 적색의 이중 인광 중 적색 인광은 상자성 구리(II) 이온과 DPA의 결합에 의해 선택적으로 소광된다. 이러한 선별적 소광 현상은 여기 상태 이리듐 착체에서 형성된 btp 리간드의 라디칼 음이온에서 구리(II) 이온으로의 PeT에 의한 것으로 추정된다. ‘광여기 파장 × 인광 파장’ 및 ‘인광 수명 × 인광 파장’ 스캐닝을 통하여 구리(II) 이온에 의한 녹색 대비 적색의 인광비 변화가 인광 강도 뿐만 아니라 인광 수명에도 존재함을 확인하였다. 이는 구리(II) 이온 센서가 다중 시그널링을 가능케 하며, 때문에 구리(II) 이온의 고신뢰성 정량 검출에 사용될 수 있음을 보여준다. 이리

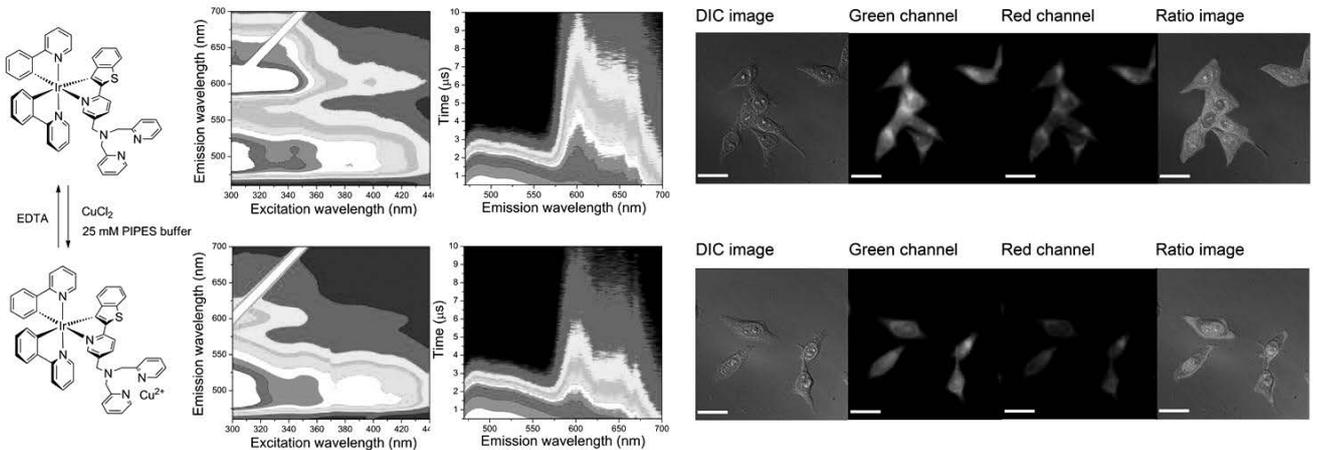


그림 3. 고리금속화 이리듐 착체 기반 인광비 변화를 이용한 구리 이온 센서¹⁰⁾

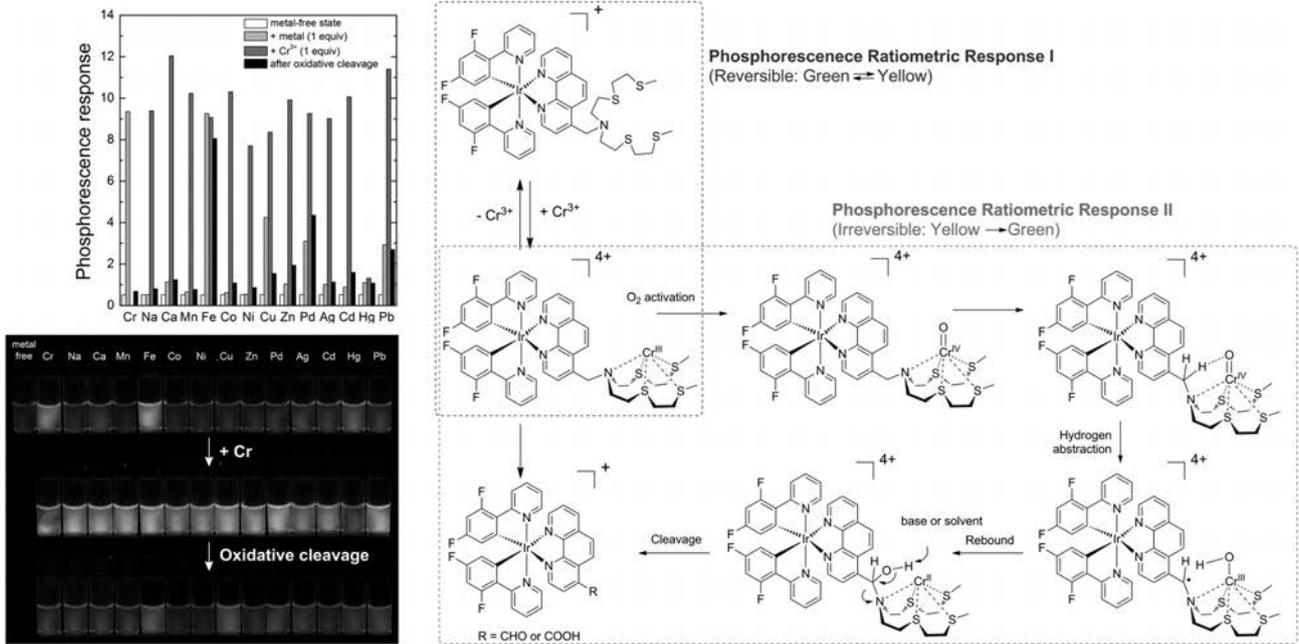


그림 4. 고리금속화 이리듐 착체 기반 여기 상태 광유도 전자 전달 및 생체 모방형 산화 반응을 이용한 크롬 이온 센서¹¹⁾

한 다중 인광비 변화는 가역적이며 H⁺에 의해 변하지 않고, 매우 우수한 구리(II) 이온 선택성을 보인다. 나아가 인광 센서의 기능성은 HeLa 세포 내 구리(II) 이온 농도의 매핑 및 미지 시료 내 구리(II) 이온의 정량화를 통해 입증되었다.¹⁰⁾

인광 크롬 이온 센서

친산소 금속 이온의 검출은 생체 내 산화 현상을 규명하는 연구에 핵심적인 필요 조건이다. 인광 이리듐 착체에 티오에테르 (thioether) 기를 포함하는 수용기를 도입하여, 친산소 전이 금속 이온 센서를 개발할 수 있다.¹¹⁾ [그림 4]의 인광 센서는 크롬(III) 이온에 가역적으로 결합하여 인광 강도 증진 현상을 보이며, 이는 앞서 언급한 인광 아연 센서의 경우와 같이 크롬(III) 이온 결합에 의한 수용기의 PeT와 ILCT 전이 억제로 설명 가능하다. 크롬(III) 이온의 전하는 MLCT 전이 상태의 에너지에 영향을 주어 녹색에서 황색으로의 인광색 변화를 추가적으로 유발한다. 한편, 크롬(III) 이온이 결합된 이리듐 착체를 산소에 노출시키면 인광색이 황색에서 녹색으로 회복된다. 이는 크롬(III) 이온의 탈배위에서 기인하는 것이 아니며, 산소 분자 활성화

에 의하여 생성된 강산화 특성의 크롬(IV)=O 종이 이리듐 착체와 ‘크롬-수용기’ 사이의 결합을 산화시키기 때문일 것으로 추정된다[그림 4]. 실제로 EPR 및 ESI-MS 스펙트럼 분석을 통해 산소와의 반응 후 로우 스핀 (low spin) 크롬(II) 종이 수용기와 함께 분리된 것을 확인할 수 있었다.¹¹⁾

결국 인광 크롬(III) 이온 센서는 두 단계의 인광비 변화를 보이며, 크롬(III) 이온에 우수한 선택성을 보인다. 이러한 특성을 이용하여 망간, 철, 코발트, 니켈, 구리 이온 등 여러 친산소 특성 전이 금속 이온이 존재하는 조건에서도 크롬(III) 이온을 성공적으로 검출할 수 있었다.

인광 플루오르 이온 센서

수용기 구조에 대한 정보가 축적된 금속 이온 센서과 달리 음이온의 선택적인 검출을 위한 센서의 구현은 간단하지 않다. 플루오르 이온 (F⁻)의 경우 붕소의 비어 있는 p-오비탈과 강한 결합을 형성한다.¹²⁾ 때문에 디메틸붕소 (dimesitylboryl) 과 같이 입체 장애를 수반하는 수용기를 이용하여 플루오르 이온의 선택적 검출이 가능하다. 디메틸붕소 기를 ppy 고리금속화 리간드에 도입하면 붕소 기

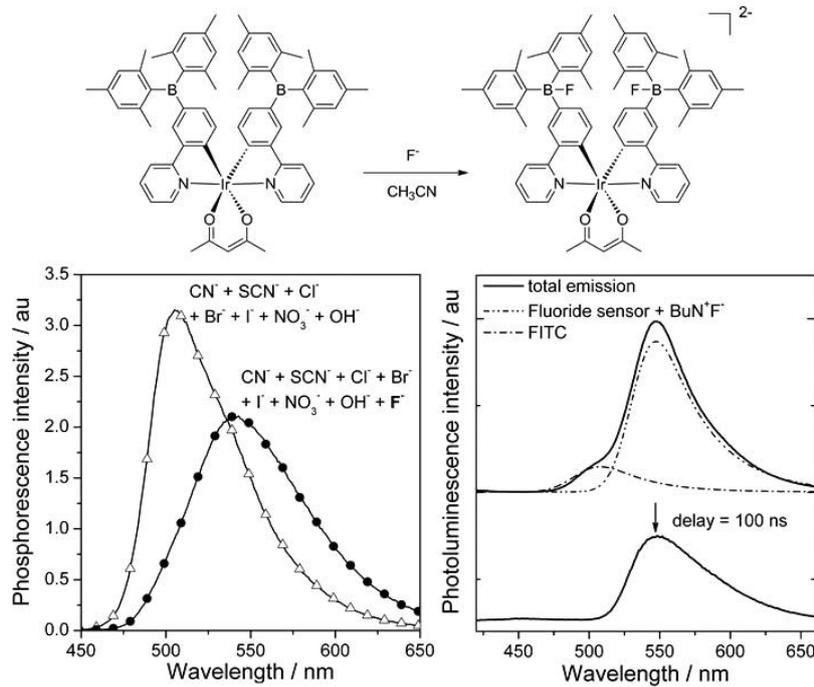


그림 5. 고리금속화 이리듐 착체 기반 플루오르 이온 센서

에 의한 전자 당김 효과에 의해 이리듐 착체로부터 청색 인광이 발현된다.¹³⁾ 반면 플루오르 이온과 붕소 기의 결합은 이러한 효과를 억제하여 청색 인광을 황적색으로 변화시킨다(그림 5). 이와 같은 인광 강도비 변화는 높은 신뢰도로 플루오르 이온을 검출할 수 있게 한다.

한편 인광 센서의 시분해 검출 능력을 보이기 위하여 센서 용액에 녹색 형광 물질인 FITC를 첨가하였다. 센서 용액의 정상 상태 광발광 스펙트럼은 센서의 인광과 FITC의 형광이 중첩되어 플루오르 이온 검출 능력을 저하시킨다. 그러나 100 ns의 지연 시간을 도입하여 얻은 시분해 스펙

트럼에는 짧은 발광 수명의 FITC 형광이 선택적으로 배제된다. 따라서 형광 불순물이 존재하는 시료에서도 우수한 감도의 플루오르 이온 검출을 구현할 수 있었다.

결론

상온 인광 특성을 분자 영상에 효과적으로 이용하는 분자군으로 고리금속화 이리듐 착체를 선택하였다. 이리듐 착체를 바탕으로 생체 내 Zn(II), 구리(II) 이온 뿐만 아니라 플루오르 이온 및 친산소 특성 전이 금속인 크롬(III) 이

유영민 Youngmin You



- 서울대학교 응용화학부, 학사 (1997-2001)
- 서울대학교 응용화학부, 석사 (2001-2003)
- 서울대학교 재료공학부, 박사 (2003-2007)
- 서울대학교 재료공학부, 박사후연구원 (2007-2008)
- Massachusetts Institute of Technology, Postdoctoral Fellow (2009-2010)
- 이화여자대학교 바이오융합과학과, 연구교수 (2010-2012)
- 한국과학기술연구원, 선임연구원 (2012-2013)
- 경희대학교 정보전자신소재공학과, 조교수 (2013-현재)

온의 인광 검출을 위한 센서들을 개발하였다. 특히 고리금속화 리간드의 구조 조절을 통하여 인광 시그널링의 메카니즘과 이를 지배하는 분자 인자를 규명하였다. 고리금속화 이리듐 착체의 용이한 구조 조절과 폭넓은 광학/전기화학적

특성 조율 능력은 여기 상태 전자 전달, 인광 등의 다양한 전이를 제어하는데 요긴하게 사용될 수 있다. 이러한 확장성을 바탕으로 금속 이온 뿐만 아니라 음이온 등 다양한 생체 내 물질의 검출을 위한 인광 센서 개발이 기대된다. 

참고문헌

1. Gryniewicz, G.; Poenie, M.; Tsien, R. Y. *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 3440-3450.
2. Huang, Z.; Lippard, S. J. *Method Enzymol.* **2012**, *505*, 445-468.
3. Montgomery, C. P.; Murray, B. S.; New, E. J.; Pal, R.; Parker, D. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 925-937.
4. You, Y.; Park, S. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12438-12439.
5. You, Y.; Park, S. Y. *Dalton Trans.* **2009**, 1267-1282.
6. Chi, Y.; Chou, P.-T. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 638-655.
7. You, Y.; Nam, W. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 7061-7084.
8. You, Y.; Lee, S.; Kim, T.; Ohkubo, K.; Chae, W.-S.; Fukuzumi, S.; Jhon, G.-J.; Nam, W.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 18328-18342.
9. Woo, H.; Cho, S.; Han, Y.; Chae, W.-S.; Ahn, D.-R.; You, Y.; Nam, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 4771-4787.
10. You, Y.; Han, Y.; Lee, Y.-M.; Park, S. Y.; Nam, W.; Lippard, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11488-11491.
11. Han, Y.; You, Y.; Lee, Y.-M.; Nam, W. *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 2748-2754.
12. Yamaguchi, S.; Shirasaka, T.; Akiyama, S.; Tamao, K.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8816-8817.
13. You, Y.; Park, S. Y. *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 3820-3826.

화학전공 학위 인증제



점점 더 어려워지는 취업의 벽... 인증제를 넘자!

화학 교과목의 심화된 학업성취를 대한화학회가 인증해 드립니다.
인증서는 기업체 혹은 국공립 연구기관의 취업 또는 진학 시 활용될 수 있을 것입니다.

인증제란?

화학전공 및 관련학과의 현 교과과정 범위 안에서 다양한 전공교과목을 심도있게 학습하여 취업 또는 진학 시 화학전공자에게 기대되는 전문 지식과 실험 능력을 충실히 습득하도록 하기위해 학업성취도를 대한화학회가 인증해 주는 제도입니다.

일반화학 관련 교과목을 제외한 화학전공 교과목 55학점 (물리화학 분야 6학점, 유기화학 분야 6학점, 무기화학 분야 3학점, 분석화학 분야 3학점 이상과 화학전공 실험 교과목 8학점 또는 4교과목 이상)을 상회하는 학점을 이수한 화학 및 화학 관련 전공/학과 졸업(예정)자를 심사하여 대한화학회에서 화학전공 학위 인증을 하여 드립니다. 학위인증을 받는 것은 취업과 진학시에 심화된 화학분야의 학업성취도를 인정받는 기준으로 활용될 수 있을 것입니다.

2013년 인증 일정

- 1차 : 서류 접수 - 1월 3일~31일 / 인증 통보 및 학위 인증서 교부 : 3월 중
 - 2차 : 서류 접수 - 7월 1일~31일 / 인증 통보 및 학위 인증서 교부 : 9월 중
- 제출서류 : 전학년 성적증명서, 졸업(예정) 증명서, 전공교과목 이수표 (대한화학회 양식)
자세한 사항은 대한화학회 홈페이지를 참조하십시오. <http://www.kcsnet.or.kr/>

