

Ex Vivo Raman Spectroscopy Measurement of a Mouse Model of Alzheimer's Disease

Kwanhwi Ko¹, Younghee Seo², Seongmin Im¹, Hongki Lee^{1,3}, Ji Young Park², Won Seok Chang², and Donghyun Kim^{1†}

¹School of Electrical and Electronic Engineering, College of Engineering, Yonsei University, Seoul 03722, Korea

²Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, College of Medicine, Yonsei University, Seoul 03722 Korea

³Department of Electrical and Computer Engineering, University of California at San Diego, San Diego, CA 92093, USA

(Received October 6, 2022; Revised October 20, 2022; Accepted October 21, 2022)

Raman spectroscopy is an optical technique that can identify molecules in a label-free manner, and is therefore heavily investigated in various areas ranging from biomedical engineering to materials science. Probe-based Raman spectroscopy can perform minimally invasive chemical analysis, and thus has potential as a real-time diagnostic tool during surgery. In this study, Raman experimentation was calibrated by examining the Raman shifts with respect to the concentrations of chemical substances. Raman signal characteristics, targeted for normal mice and cerebral tissues of the 5xFAD dementia mutant model with accumulated amyloid beta plaques, were measured and analyzed to explore the possibility of diagnosis of Alzheimer's disease. The application to the diagnosis of dementia was cross-validated by measuring Raman signals of amyloid beta. The results suggest the potential of Raman spectroscopy as a diagnostic tool that may be useful in various areas of application.

Keywords: Biosensor, Neurodegenerative disease, Raman spectroscopy

OCIS codes: (170.5660) Raman spectroscopy; (170.6510) Spectroscopy, tissue diagnostics

라만 기반 치매 모델의 뇌조직 분광 특성 측정

고관휘¹ · 서영희² · 임성민¹ · 이흥기^{1,3} · 박지영² · 장원석² · 김동현^{1†}

¹연세대학교 공과대학 전기전자공학부

☎ 03722 서울특별시 서대문구 연세로 50

²연세대학교 의과대학 신경외과학교실

☎ 03722 서울특별시 서대문구 연세로 50

³캘리포니아 주립대학 전기컴퓨터공학과

☎ 92093 San Diego, CA, USA

(2022년 10월 6일 받음, 2022년 10월 20일 수정본 받음, 2022년 10월 21일 게재 확정)

비탄성적 산란에 의한 빛의 방출 현상을 이용한 라만 분광법 기술은 무표지 방식으로 분자를 식별하는 기술로 바이오 의학 및 재료 산업에 이르기까지 다양한 분야에서 연구되고 있다. 광프로브 기반 라만 분광기는 국소 부위의 화학 분석을 최소 침습 방식으로 측정할 수 있어 수술 중 실시간 진단 기술로 적용할 수 있는 가능성을 내포하고 있다. 본 연구에서는 화학 물질의 농도별 변화에 따른 라만 신호의 변화를 살펴보기 위해 실험 장치의 캘리브레이션을 진행하였으며, 정상 쥐와 아밀로이드 베타 플라크가 축적된 5xFAD 치매성 돌연변이 모델의 대뇌 조직을 대상으로 라만 신호 특성을 측정 및 비교 분석하여 알츠하이머씨 병의 진단을 위한 가능성을 탐구하였다. 또한 대표적인 치매 원인 물질인 아밀로이드 베타에 대한 라만 신호 측정을 병행하여 치매 진단에 대한 적용을 교차 검증하였다. 본 라만 분광법 연구를 통해 치매 진단에 있어 기존

†Corresponding author: kimd@yonsei.ac.kr, ORCID: 0000-0003-1960-0527

Color versions of one or more of the figures in this paper are available online.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

문진 검사 및 뇌 영상 진단을 대체하여 정밀하게 판별할 수 있는 하나의 진단 지표로서의 가능성을 보았으며, 추후 뇌신경계뿐만 아니라 인체의 다양한 장기 및 질병에 적용시켜 물리·공학·화학 등 다양한 연구분야에서의 원천기술로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

Keywords: 바이오센서, 퇴행성 뇌질환, 라만 분광

OCIS codes: (170.5660) Raman spectroscopy; (170.6510) Spectroscopy, tissue diagnostics

I. 서 론

라만 산란은 빛이 산란될 때 비탄성적 에너지 전이가 일어나며 입사광과 상이한 빛이 산란되어 나오는 현상을 가리킨다. 이때 산란광과 입사광의 파장 차이는 산란을 일으키는 분자의 종류와 진동 모드 등에 따라 다르게 나타난다. 라만 산란은 산란체의 분자 특성을 비침습적으로 측정할 수 있다는 장점 때문에 다양한 생체 분자 및 조직의 측정에 응용되고 있으며 바이오 의료 분야뿐만 아니라 예술, 고고학 등의 분야로도 적용 분야를 넓히고 있다. 기술적인 측면에서는 점스캔이 아닌 선스캔을 이용하여 라만 영상 측정에 소요되는 시간을 줄이거나, 플라스모닉스 기반의 고해상도 라만 영상 연구 등이 수행되었다^[1-3].

본 연구에서는 퇴행성 뇌질환 모델 조직의 라만 분광 특성 측정 결과를 보고하고자 한다. 퇴행성 뇌질환이란 뇌세포의 점차적 사멸로 인하여 발생하는 질병을 가리키며 대표적인 예로 알츠하이머, 파킨슨, 루게릭, 헌팅턴씨 병 등이 있다. 이러한 질환의 공통점은 증상의 일상적 진전을 인지하기 쉽지 않다는 것으로, 예를 들면 알츠하이머씨 병의 경우 정량적인 진단이 쉽지 않고 주로 환자에 대한 설문문을 통하여 그 발생 및 진행을 추정하고 있는 것이 현실이다. 따라서, 라만 측정을 이용한 퇴행성 뇌질환 마커 검출 및 분석이 가능하다면 정량적인 측면에서 퇴행성 뇌질환의 진행을 상대적으로 쉽게 측정 또는 이해할 수 있을 것이라는 이유로 본 연구를 진행하게 되었다.

라만 분광 기술을 이용한 생체 분자의 측정은, 생체 분자 어레이 및 세포에 대한 측정뿐만 아니라 생체 조직에 대해서도 광범위한 상황을 상정하여 연구되어 왔다. 퇴행성 뇌질환의 경우에도(비교적 최근 들어 시도되고 있기는 하나) 라만 기술을 이용한 연구의 예외라고 할 수 없다. 알츠하이머씨 병으로만 국한하더라도 라만 기술의 비침습성을 살리기 위하여 혈청(blood serum) 및 눈의 수정체에서 뇌질환 마커인 아밀로이드 베타(amyloid beta, $A\beta$)를 검출하거나^[4,5] 침 또는 척수액에서 측정된 라만 데이터에 기계학습을 적용하여 검출 특성을 개선하기 위한 연구 등이 진행되었다^[6,7]. 일반적으로 신호의 세기가 작은 라만 측정법의 문제를 극복하기 위하여 표면증강 라만분광법(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)을 이용한 연구가 시도되었다^[8,9]. 이때 SERS는 분자가 거친 금속 표면에 흡착될 때 라만 산란의 강도가 커지는 현상으로, 표면플라스몬의 국소화를 통하여 유도되는 것으로 알려

져 있다^[10]. 표면플라스몬은 금속 나노구조에 의하여 국소화가 가능하며 다양한 분자반응 측정에 응용된 바 있다^[11-16]. 라만 분광 기술 응용과 관련하여 생체 조직의 체외(*in vitro* 혹은 *ex vivo*) 측정을 넘어 생체 내(*in vivo*) 측정을 위한 연구 역시 일찍부터 시작되었으며, 빛의 투과 깊이(penetration depth)의 한계 때문에 주로 뇌종양 관련 분야에 한하여 다소 제한적으로 적용되고 있으나, 수술적인 방법 등과의 결합을 통하여 다양한 방향으로 발전하고 있는 것도 사실이다^[17,18].

본 연구에서는 알츠하이머씨 병의 마우스 모델을 이용한 바이오마커의 라만 특성 측정을 수행하였다. 알츠하이머씨 병의 진단을 위한 바이오마커로는 $A\beta$, 타우(tau) 단백질, 신경섬유(neurofilament), 신경의 에놀라제(enolase)와 같은 효소, monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)과 같은 케모카인 등 다양한 물질이 고려되고 있다^[19]. 특히, 알츠하이머씨 병에서 $A\beta$ 의 상관성은 많은 연구를 통하여 잘 알려져 있으며, 알츠하이머씨 병을 앓고 있는 환자들의 뇌에서 발견되는 아밀로이드 플라크를 이루는 물질이기도 하다^[20,21]. 일반적으로 뇌세포에 세포독성을 가진 잘못 접힌 $A\beta$ 소중합체(oligomer)의 연쇄반응을 통하여 프리온 감염과 유사한 병변을 보이며^[22], $A\beta$ 의 축적은 알츠하이머씨 병의 발병 초기에 시작되는 것으로 알려져 있다^[23]. 따라서 본 연구 팀은 $A\beta$ 를 알츠하이머씨 병의 유의미한 마커로 사용하여 국소 부위의 최소 침습적 측정 장치인 광프로브 기반 라만 분광기를 통해 실시간 치매 병변부 진단 분야의 근간이 될 수 있는 연구를 하고자 하였다. 이러한 바이오마커의 라만 분광 특성에 대해서는 연구결과에서 서술하였다.

II. 측정 방법 및 재료

2.1. 라만 측정 셋업

그림 1(a)는 실험 장치 모식도를 보여준다. 안정화된 532 nm 레이저 광원을 사용하였고, 렌즈와 거울 광학계 및 빔 스플리터를 통과시킨 레이저 광을 광섬유에 커플링하여, XY 스테이지를 사용해 측정 위치를 고정시킨 조직 샘플에 입사시켰다. 실험 수행에 사용한 광섬유는 200 μm 직경 코어의 NA = 0.22 개구수, 2 m 길이의 스텝인덱스 다중모드 광섬유(FG200UEA; Thorlabs, NJ, USA)를 기반으로 한 광섬유 번들이다.

샘플에서 생성된 광 신호는 동일한 광섬유 번들을 통해 다시 수집된다. 받아들인 산란광을 빔 스플리터를 사용해 분리

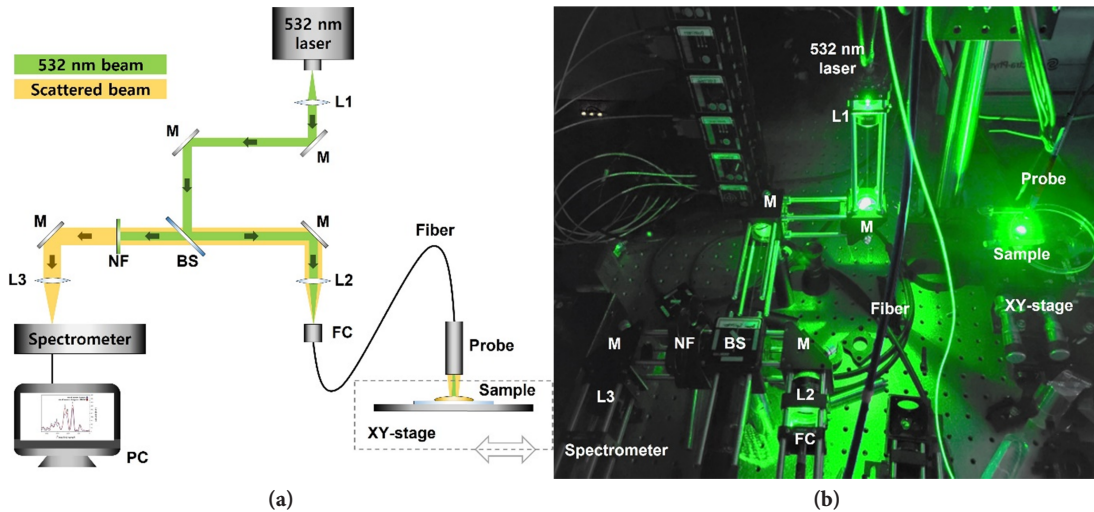


Fig. 1. Experimental set-up for Raman spectroscopy using a fiber-optic probe. (a) Schematic view. (b) Photograph of the Raman spectroscopy set-up. M, mirror; BS, beam splitter; L, lens; FC, fiber collimator; NF, notch filter.

한 후, 노치 필터를 통과시켜 레일리 산란에 의한 532 nm 대역 광을 필터링하였다. 이후 라만 분광기(QEPro-Raman; Ocean Optics, FL, USA)에 입력시켜 라만 산란광을 수집하였다. 그림 1(b)는 실험 장치의 실제 디지털 사진이다.

2.2. 알츠하이머 마우스 모델 및 조직의 준비

본 연구에서는 정상 쥐 모델 B6SJL/J (male, 25-30 g)와 유전적으로 $A\beta$ 가 축적되는 5xFAD (familial Alzheimer disease) 유전자 변형 쥐 모델(male, 25-30 g)을 이용하여 실험을 진행하였다. 모든 동물 실험은 국립보건원 실험동물의 관리 및 사용에 관한 지침에 따라 수행되었으며 연세대학교 기관 동물 관리 및 사용 위원회(IACUC 번호: 2021-0113)의 승인을 받았다. 5xFAD 마우스는 5개의 AD 돌연변이를 발현하여, $A\beta$ 플라크를 축적 및 증가시킨다. Swedish (KM670/671NL), Florida (I716V), London (V717I) 돌연변이가 APP 유전자에 도입되었고, M146L, L286V 돌연변이가 PS1 유전자에 도입되었다. 본 모델의 유전형 분석은 출생 3주차에 ear punch를 사용하여 DNA를 획득 후 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)으로 진행하였다. 이를 통해 PS1과 APP가 동시에 발현되는 개체를 5xFAD 모델이라고 판단하였다. 이는 그림 2(a)에서 확인할 수 있다.

실험에서는 $A\beta$ 플라크가 축적된 6개월령의 마우스를 사용하였으며[그림 2(b)], 라만 촬영을 위해 동물들은 희생하여 샘플링하였다. Ketamine cocktail (ketamine 60 mg/kg, rompun 5 mg/kg, acepromazine 1 mg/kg)로 복강 마취시킨 후 뇌를 적출하고, 적출한 뇌를 brain matrix에 위치시킨 후 1 mm 두께로 coronal section 한다(그림 3). Section된 조직들은 인공 뇌척수액(artificial cerebrospinal fluid, ACSF)에 담아 실험 전까지 보관하였다.

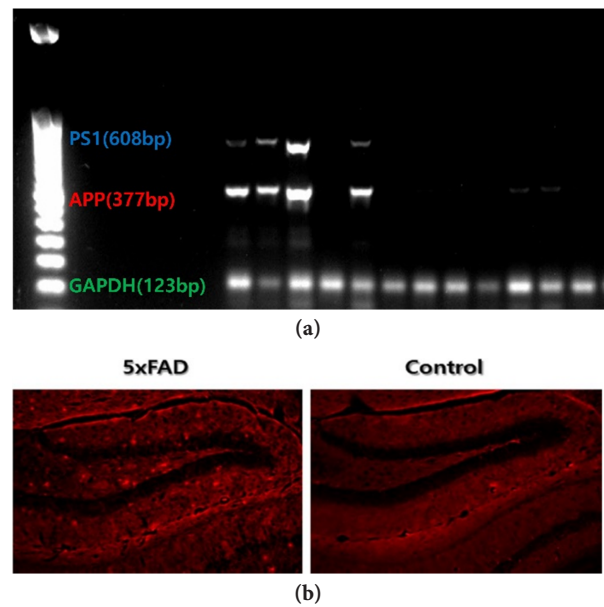


Fig. 2. Confirmation of dementia expression in mouse models. (a) Polymerase chain reaction (PCR) result of 5xFAD (familial Alzheimer disease). (b) Immunohistochemical staining of 6E10 (anti- β -Amyloid) in control and 5xFAD group.

2.3. 데이터 처리

상대적으로 아주 작은 크기의 라만 산란광을 분석하기 위해 다회 측정된 데이터에 대한 평균 스펙트럼을 취한 후, 노이즈 제거를 위해 사비츠키-골레이 평활화 필터(Savitzky-Golay smoothing filter)를 사용하였다. 라만 스펙트럼 비교를 용이하게 하기 위해 baseline correction 알고리즘을 사용하여 스펙트럼의 기준선을 이동시켜 신호 잡음을 줄이도록 하였다. 모든 스펙트럼 데이터의 분석은 OriginPro와 MATLAB을 통

해 이루어졌다.

또한 실험 장치의 신호대 잡음비를 평가하기 위하여 Horiba Scientific에서 정의한 first standard deviation signal to noise ratio formula (FSD SNR method)를 사용하였으며, 이는 식 (1)과 같다.

$$SNR = \frac{S}{N} = \frac{S_{peak} - S_{noise}}{\sqrt{S_{noise}}} \quad (1)$$

여기서, S_{peak} 는 측정된 쥐 대뇌 조직의 주요 라만 신호 피크들 중 가장 낮은 세기의 지점의 신호 세기이며, S_{noise} 는 잡음 신호의 가장 높은 세기를 가진 파장 대역의 신호 세기이다.

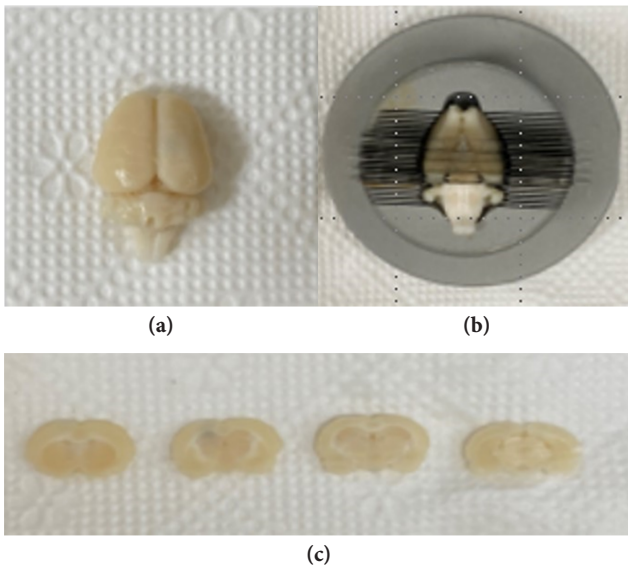


Fig. 3. Preparation of slice samples of mouse cerebral tissue. (a) Mouse brain. (b) Mouse matrix section. (c) Sectioned brain.

III. 연구결과 및 분석

3.1. 아세톤 수용액 기반 캘리브레이션

그림 4(a)는 본 연구에 사용된 라만 신호 측정 장치의 캘리브레이션을 위해 측정된 아세톤 수용액의 농도별 라만 스펙트럼 변화 그래프이다. 각 스펙트럼은 100회씩 촬영되어 데이터 처리 과정을 거쳤다. 787, 1,427, 1,705, 2,923 cm^{-1} 파장 대역에서 아세톤의 대표적인 라만 시프트들을 확인할 수 있었으며, 이는 이전에 발표된 문헌과 잘 일치한다^[24,25]. 또한 수용액 농도 변화에 따라 이러한 라만 신호의 세기가 비례하여 변화하는 양상을 확인할 수 있다. 신호의 강도와 용액 상의 아세톤 농도 간의 상관성을 보기 위해 상대적으로 가장 강도가 강한 2,923 cm^{-1} 피크의 신호 강도를 서로 비교하였고, 이를 그림 4(b)의 그래프에 도시하였다. 아세톤 용액의 농도가 20, 40, 60, 80, 100%로 증가함에 따라 각각 2,923 cm^{-1} 피크의 신호 강도는 15.87, 24.25, 36.44, 53.05, 63.36 cps로 증가하였으며 수정된 결정계수(adjusted R-squared) R^2 값이 0.98로, 높은 적합도의 선형성을 띠는 것을 확인하였다.

이와 반대로, OH 작용기에 영향받는 3,416 cm^{-1} 파장 대역의 라만 시프트는 아세톤 농도가 낮음에 따라, 곧 물의 비율이 늘어남에 따라 피크의 강도가 증가한다. 3,416 cm^{-1} 피크의 신호 강도는 아세톤 농도가 증가함에 따라 9.22, 6.32, 5.98, 4.43, 0.42로 감소하였고, $R^2 = 0.89$ 로 선형성을 띤다. 곧, 본 실험 장치에서 실험 샘플 내 특정 분자의 비율은 해당 물질을 특정할 수 있는 라만 신호 강도와 선형적이며, 이 결과를 통해 생체 질병 진단 분야에서의 라만 신호 강도 비율에 따른 질병 진척도의 정량적 판독 가능성을 엿볼 수 있다.

3.2. 생체 조직 실험 결과

생체 조직에 대한 실험 장치의 사용을 위해 우선 1 mm 두

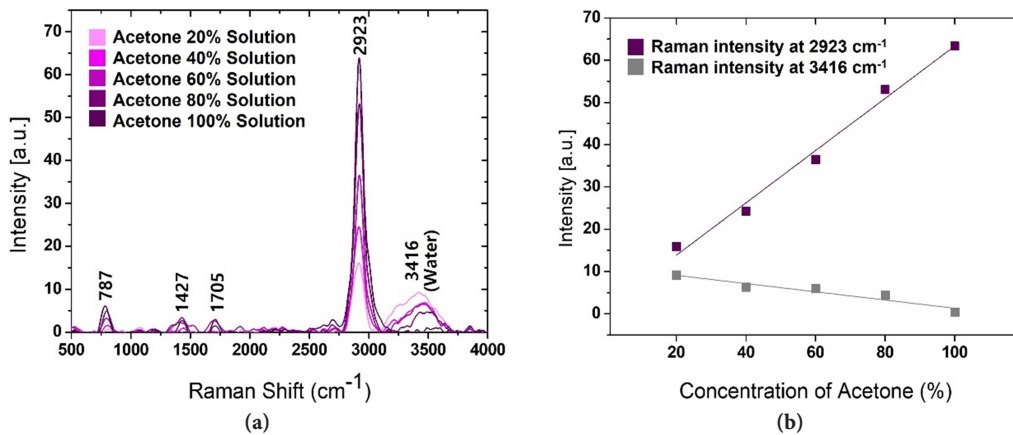


Fig. 4. System calibration through Raman signal measurement for acetone. (a) Raman spectra with respect to the concentration of acetone in aqueous solution using excitation wavelength of 532 nm. (b) Comparison of Raman signal intensities at 2,923 cm^{-1} (purple) and 3,416 cm^{-1} (gray) peaks of acetone solutions with varying concentrations.

계로 슬라이스된 정상 쥐 모델 대뇌 조직의 피질(cortex) 부위를 측정하였으며, 그림 5와 같이 라만 스펙트럼을 확인하였다. 이전에 발표된 문헌을 바탕으로 스펙트럼을 해석할 시, 532 nm 광원이 대뇌 조직의 화학 결합 및 구성 물질과

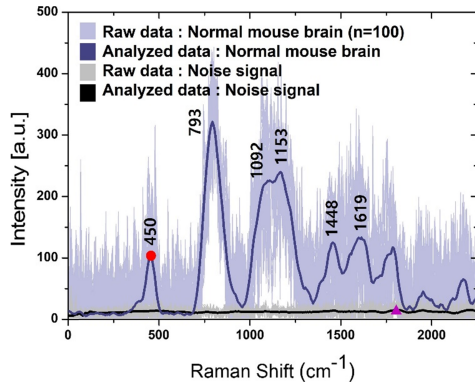


Fig. 5. Measured Raman shift. Raman signal measurement of normal mouse brain and noise signal allows estimation of signal-to-noise ratio (SNR).

Table 1. Raman bands with the assignment observed in the tissue spectra for 532-nm excitation

Raman shift (cm ⁻¹)	Assignment
450	Cholesterol
793	Nucleic acids
1,092	vs(PO2): DNA, phospholipids
1,153	vs(PO2): DNA vs(COC): Glycogen
1,448	δ(CH2/CH3): Proteins δ(CH2): Lipids, cholesterol, phospholipids
1,619	Amide I: α-helix/random coil ν(CC): Lipids

공명을 보인 주된 라만 시프트는 450, 793, 1,092, 1,153, 1,448, 1,619 cm⁻¹이며, 이에 해당하는 라만 시프트 정보는 표 1에 정리하였다^[26,27].

또한 생체 조직 측정에서의 신호대잡음비를 평가하기 위하여 아무 샘플도 없는 잡음 신호와 정상 쥐 대뇌 조직의 라만 신호를 측정하여 비교하였다. 쥐 대뇌 슬라이스 샘플의 주요 라만 신호 피크들 중 가장 낮은 세기의 지점(빨간색 점)의 신호 세기인 S_{peak} 는 107.31 cps이며, 잡음 신호의 가장 높은 세기 지점(보라색 세모)의 신호 세기 S_{noise} 는 24.88 cps이다. 이를 FSD SNR method 식 (1)로 계산하면 본 실험 장치의 SNR은 약 16.53임을 알 수 있다.

그림 6(a)에서는 유전자 변형을 통해 Aβ 플라크가 축적된 6개월령의 5xFAD 모델의 대뇌 조직 라만 신호를 측정하여 그림 5에서 측정한 정상 쥐 대뇌 조직 스펙트럼과 비교하였다. 결과적으로 5xFAD 치매 모델의 라만 신호는 793, 1,003, 1,153, 1,536 cm⁻¹ 라만 시프트에서 정상 쥐 대뇌 조직의 스펙트럼과 비교하여 확인한 피크 강도 증가를 보였다. 이는 문헌에 따라 핵산 및 카로티노이드 구성요소인 베타 카로틴, 루테인에 따른 신호 증가로 추측할 수 있고, 이를 표 2에 정리하였다^[27,28]. 본 결과는 정상 조직과 마찬가지로 치매 모델의 대뇌 슬라이스 조직의 피질 부위로 위치를 고정하고 측정한

Table 2. Raman bands with increased intensity compared to the normal model observed in the brain tissue spectra of the 5xFED transgenic mouse model

Raman shift (cm ⁻¹)	Assignment
793	Nucleic acids
1,003	Beta-carotene, lutein
1,153	Beta-carotene, lutein
1,536	Beta-carotene, lutein

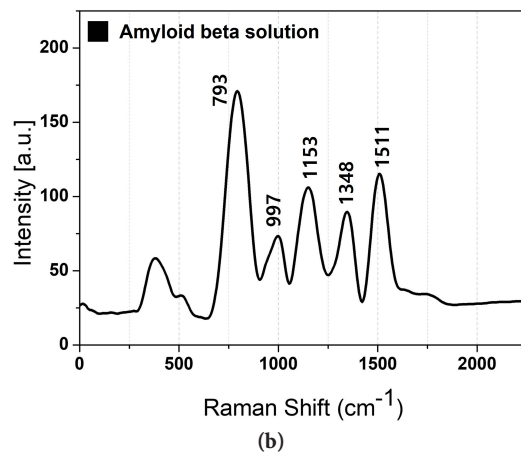
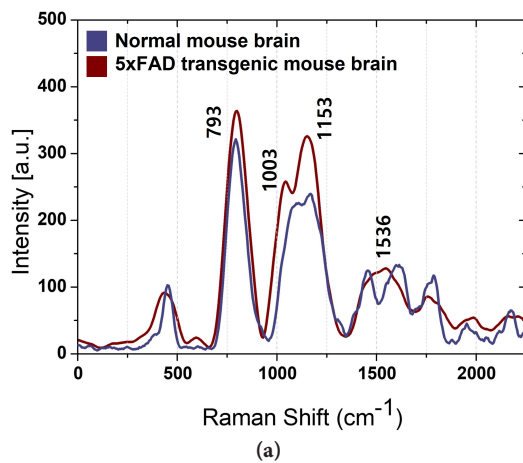


Fig. 6. Comparison of Raman spectra between normal mouse cerebral tissue and amyloid beta accumulated mouse cerebral tissue and measurement of Raman spectrum of amyloid beta solution. (a) Raman signals in normal mouse brain (blue) and 5xFAD transgenic mouse brain (red). (b) Raman spectrum of amyloid beta solution.

것이다.

추후 연구를 통하여 동일 조직에서 측정 위치를 달리했을 때의 부위별 $A\beta$ 축적 정도에 따른 라만 신호의 변화를 확인한다면 조금 더 신뢰성 있는 결과를 얻을 수 있을 것이며, 축적된 데이터에 대한 기계학습 알고리즘의 적용을 통해 SNR을 향상시킬 수 있을 것으로 사료된다^[29].

또한 결과를 교차 검증하기 위하여 순수한 $A\beta$ 용액의 라만 신호를 50회 측정하였다. 그 결과로 그림 6(b)의 $A\beta$ 용액의 스펙트럼은 793, 997, 1,153, 1,348, 1,511 cm^{-1} 파장 대역에서 뚜렷한 라만 피크를 보였다. 이는 정상 대뇌 조직에 비해 치매 모델 조직의 신호 증강이 일어난 그림 6(a)의 793, 1,003, 1,153, 1,536 cm^{-1} 피크와 근사한 시프트 지점을 보이며, 이를 해석하자면 정상 모델의 793 cm^{-1} 피크가 $A\beta$ 의 동일 피크에 영향받아 같은 파장대역에서 신호증강된 것으로 보인다. 또한 정상 모델의 1,092, 1,153 cm^{-1} 피크가 $A\beta$ 의 997, 1,153 cm^{-1} 피크에 영향받아 1,003, 1,153 cm^{-1} 피크로 나타난 것으로 보인다. 또한 1,448, 1,619 cm^{-1} 파장 대역의 정상 조직 피크가 $A\beta$ 의 1,348, 1,511 cm^{-1} 피크에 의해 상대적으로 평탄화된 1,536 cm^{-1} 피크로 합쳐져 나타난다. 곧 그림 6(a)의 치매 모델의 신호 증강에 $A\beta$ 물질의 구성 물질의 비탄성적 산란이 큰 영향을 미쳐 이루어졌음을 추측하는 것이 가능하다.

IV. 결 론

본 연구에서는 광프로브 기반 라만 분광법 기술을 이용해 퇴행성 뇌질환 동물모델의 원인 물질인 $A\beta$ 에 대한 라만 분자 영상 신호를 분석하였다. 실험 장치의 캘리브레이션을 위해 진행한 그림 4의 아세톤의 농도별 측정 결과와 그 선형성 상관 관계에서 보았듯, 라만 장치는 신호 강도의 비교를 통해 질병의 진척도를 판별할 수 있는 근거로 쓰일 수 있는 가능성을 내포하고 있다. 알츠하이머 환자의 뇌내 $A\beta$ 축적은 알츠하이머씨 병의 발병 초기에 시작되므로 병변 부위 $A\beta$ 의 양은 곧 치매 환자의 질병 심각도와 연결된다. 추후 후속 연구로서 $A\beta$ 의 축적 정도에 따른 라만 신호의 증강을 통해 $A\beta$ 물질의 정량적 판별 방법을 정립한다면, 퇴행성 뇌질환의 진척도 진단에서 다소 개략적인 방식이었던 기존의 문진 검사 및 뇌 영상 진단을 대체하여 정밀하게 판별할 수 있는 하나의 진단 지표로서 적용할 수 있을 것이다.

정상 쥐 뇌 조직과 $A\beta$ 플라크가 축적된 6개월령 5xFAD 치매 모델 뇌 조직의 라만 신호는 4개 라만 피크에서 확인한 피크 강도 증가를 보였다. 또한 해당 라만 시프트들이 $A\beta$ 용액의 라만 신호의 시프트 위치와 근사하게 일치하는 것을 확인하였으며, 이를 통해 본 연구의 조직 샘플들 간 신호 강도 차이에 $A\beta$ 가 큰 영향을 미쳤음을 짐작할 수 있다. 후속 연구를 통

해 라만 측정 장치를 개선하여 더 높은 해상도로 측정하면 세세하게 나뉜 피크를 관찰함으로써 치매 조직의 라만 신호에 미치는 $A\beta$ 의 영향력을 더 명확하게 검증할 수 있을 것이다.

본 연구에서 사용한 쥐 모델의 생체의 조직 샘플 이후, 생체 내 쥐 조직의 측정 및 인간 치매 조직에 대한 광프로브 기반 라만 분광법 연구를 진행하면, 수술 중 실시간 국소 부위의 아밀로이드 플라크 타겟팅을 통한 질병의 진단 등에 쓰일 수 있는 새로운 의료기기의 기반 기술이 될 수 있을 것이다. 더 나아가 비단 뇌신경계뿐만 아니라 인체의 다양한 장기 및 질병에 조직 종류 판별의 도구로 적용시킴으로써 물리·공학·화학 등 다양한 연구분야에서의 원천기술로 활용할 수 있을 것이다.

재정지원

산업통상자원부 한국산업기술진흥원 산업기술혁신사업-국 제공동기술개발사업(P048000064); 한국연구재단 기초연구실육성사업(2022R1A4A2000748); 범부처전주기의료기기연구개발사업단 범부처전주기의료기기연구개발사업(RS-2020-KD000088, RS-2020-KD000103).

이해상충

저자는 본 논문과 관련된 어떠한 이해충돌 사항도 없었음을 밝힌다.

데이터 가용성

본 연구의 결과 분석 및 생성된 데이터는 모두 본 논문 내 명시되어 있으며 공공의 이용이 가능하다. 데이터에 접근하거나 사용하고자 하는 이는 저자에게 타당한 이유를 밝히고 허가를 득해 사용 가능하다.

References

1. M. Okada, N. I. Smith, A. F. Palonpon, H. Endo, S. Kawata, M. Sodeoka, and K. Fujita, "Label-free Raman observation of cytochrome c dynamics during apoptosis," *Proc. Natl. Acad. Sci.* **109**, 28-32 (2012).
2. H. Lee, K. Kang, K. Mochizuki, C. Lee, K.-A. Toh, S. A. Lee, K. Fujita, and D. Kim, "Surface plasmon localization-based super-resolved Raman microscopy," *Nano Lett.* **20**, 8951-8958 (2020).
3. H. Lee, H. Yoo, G. Moon, K.-A. Toh, K. Mochizuki, K. Fujita, and D. Kim, "Super-resolved Raman microscopy using random structured light illumination: concept and feasibility," *J. Chem. Phys.* **155**, 144202 (2021).
4. M. Paraskevaidi, C. L. M. Morais, D. E. Halliwell, D. M. A. Mann, D. Allsop, P. L. Martin-Hirsch, and F. L. Martin, "Raman

- spectroscopy to diagnose Alzheimer's disease and dementia with lewy bodies in blood," *ACS Chem. Neurosci.* **9**, 2786-2794 (2018).
5. R. Michael, C. Otto, A. Lenferink, E. Gelpi, G. A. Montenegro, J. Rosandić, F. Tresserra, R. I. Barraquer, and G. F. Vrensen, "Absence of amyloid-beta in lenses of Alzheimer patients: a confocal Raman microspectroscopic study," *Exp. Eye Res.* **119**, 44-53 (2014).
 6. N. M. Ralbovsky, L. Halámková, K. Wall, C. Anderson-Hanley, and I. K. Lednev, "Screening for Alzheimer's disease using saliva: a new approach based on machine learning and Raman hyperspectroscopy," *J. Alzheimer's Dis.* **71**, 1351-1359 (2019).
 7. E. Ryzhikova, N. M. Ralbovsky, V. Sikirzhyski, O. Kazakov, L. Halamkova, J. Quinn, E. A. Zimmerman, and I. K. Lednev, "Raman spectroscopy and machine learning for biomedical applications: Alzheimer's disease diagnosis based on the analysis of cerebrospinal fluid," *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **248**, 119188 (2021).
 8. C. Carlomagno, M. Cabinio, S. Picciolini, A. Gualerzi, F. Baglio, and M. Bedoni, "SERS-based biosensor for Alzheimer disease evaluation through the fast analysis of human serum," *J. Biophotonics* **13**, e201960033 (2020).
 9. R. Prucek, A. Panáček, Ž. Gajdová, R. Večeřová, L. Kvítek, J. Gallo, and M. Kolář, "Specific detection of *Staphylococcus aureus* infection and marker for Alzheimer disease by surface enhanced Raman spectroscopy using silver and gold nanoparticle-coated magnetic polystyrene beads," *Sci. Rep.* **11**, 6240 (2021).
 10. K. A. Willets and R. P. Van Duyne, "Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing," *Annu. Rev. Phys. Chem.* **58**, 267-297 (2007).
 11. K. Kim, J.-W. Choi, K. Ma, R. Lee, K.-H. Yoo, C.-O. Yun, and D. Kim, "Nanoinlands-based random activation of fluorescence for visualizing endocytotic internalization of adenovirus," *Small* **6**, 1293-1299 (2010).
 12. K. Kim, J. Yajima, Y. Oh, W. Lee, S. Oowada, T. Nishizaka, and D. Kim, "Nanoscale localization sampling based on nano-antenna arrays for super-resolution imaging of fluorescent monomers on sliding microtubules," *Small* **8**, 892-900 (2012).
 13. W. Lee, Y. Kinoshita, Y. Oh, N. Mikami, H. Yang, M. Miyata, T. Nishizaka, and D. Kim, "Three-dimensional superlocalization imaging of gliding *Mycoplasma mobile* by extraordinary light transmission through arrayed nanoholes," *ACS Nano* **9**, 10896-10908 (2015).
 14. K. Kim, W. Lee, K. Chung, H. Lee, T. Son, Y. Oh, Y.-F. Xiao, D. H. Kim, and D. Kim, "Molecular overlap with optical near-fields based on plasmonic nanolithography for ultrasensitive label-free detection by light-matter colocalization," *Biosens. Bioelectron.* **96**, 89-98 (2017).
 15. T. Son, D. Lee, C. Lee, G. Moon, G. E. Ha, H. Lee, H. Kwak, E. Cheong, and D. Kim, "Superlocalized three-dimensional live imaging of mitochondrial dynamics in neurons using plasmonic nanohole arrays," *ACS Nano* **13**, 3063-3074 (2019).
 16. H. Lee, W. J. Rhee, G. Moon, S. Im, T. Son, J.-S. Shin, and D. Kim, "Plasmon-enhanced fluorescence correlation spectroscopy for super-localized detection of nanoscale subcellular dynamics," *Biosens. Bioelectron.* **184**, 113219 (2021).
 17. M. Kirsch, G. Schackert, R. Salzer, and C. Krafft, "Raman spectroscopic imaging for in vivo detection of cerebral brain metastases," *Anal. Bioanal. Chem.* **398**, 1707-1713 (2010).
 18. M. Jermyn, K. Mok, J. Mercier, J. Desroches, J. Pichette, K. Saint-Arnaud, L. Bernstein, M. C. Guiot, K. Petrecca, and F. Leblond, "Intraoperative brain cancer detection with Raman spectroscopy in humans," *Sci. Transl. Med.* **7**, 274ra19 (2015).
 19. K. Hrubyšová, M. Fousková, L. Habartová, Z. Fišar, R. Jiráček, J. Raboch, and V. Setnička, "Search for biomarkers of Alzheimer's disease: Recent insights, current challenges and future prospects," *Clin. Biochem.* **72**, 39-51 (2019).
 20. W. G. Tharp and I. N. Sarkar, "Origins of amyloid- β ," *BMC Genom.* **14**, 290 (2013).
 21. S. Sadigh-Eteghad, B. Sabermarouf, A. Majidi, M. Talebi, M. Farhoudi, and J. Mahmoudi, "Amyloid-beta: a crucial factor in Alzheimer's disease," *Med. Princ. Pract.* **24**, 1-10 (2015).
 22. C. Haass and D. J. Selkoe, "Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 101-112 (2007).
 23. F. Panza, M. Lozupone, G. Logroscino, and B. P. Imbimbo, "A critical appraisal of amyloid- β -targeting therapies for Alzheimer disease," *Nat. Rev. Neurol.* **15**, 73-88 (2019).
 24. C. S. Garcia, M. N. Abedin, S. K. Sharm, A. K. Misra, S. Ismail, U. Singh, T. F. Refaat, H. E. Ali, and S. Sandford, "Remote pulsed laser Raman spectroscopy system for detecting water, ice, and hydrous minerals," *Proc. SPIE* **6302**, 630215 (2006).
 25. M. J. Egan, S. K. Sharma, and T. E. Acosta-Maeda, "Modified spatial heterodyne Raman spectrometer for remote-sensing analysis of organics," *Proc. SPIE* **10779**, 107790L (2018).
 26. K. Maquelin, C. Kirschner, L. P. Choo-Smith, N. van den Braak, H. P. Endtz, D. Naumann, and G. J. Puppels, "Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy," *J. Microbiol. Methods* **51**, 255-271 (2002).
 27. E. Staniszewska-Slezak, K. Malek, and M. Baranska, "Complementary analysis of tissue homogenates composition obtained by Vis and NIR laser excitations and Raman spectroscopy," *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **147**, 245-256 (2015).
 28. B. Lochocki, B. D. C. Boon, S. R. Verheul, L. Zada, J. J. M. Hoozemans, F. Ariese, and J. F. de Boer, "Multimodal, label-free fluorescence and Raman imaging of amyloid deposits in snap-frozen Alzheimer's disease human brain tissue," *Commun. Biol.* **4**, 474 (2021).
 29. G. Moon, J. Lee, H. Lee, H. Yoo, K. Ko, S. Im, and D. Kim, "Machine learning and its applications for plasmonics in biology," *Cell Rep. Phys. Sci.* **3**, 101042 (2022).