

(43) 국제공개일
2010년 11월 25일 (25.11.2010)

- (51) 국제특허분류:
G01N 21/76 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2010/001214
- (22) 국제출원일: 2010년 2월 26일 (26.02.2010)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2009-0043333 2009년 5월 19일 (19.05.2009) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 연세대학교 산학협력단 (INDUSTRY ACADEMIC CO-OPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) [KR/KR]; 서울특별시 서대문구 신촌동 134 연세대학교, 120-743 Seoul (KR).
- (72) 발명자: 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 이강택 (LEE, Kang Tack) [KR/KR]; 서울특별시 영등포구 여의도동 37-2 미성아파트 C-1205, 150-795 Seoul (KR). 주상우 (JOO, Sang Woo) [KR/KR]; 서울특별시 서초구 방배본동 754 번지 105-704 호, 137-828 Seoul (KR). 이소영 (LEE, So Young) [KR/KR]; 서울특별시 서초구 방배

본동 754 번지 105-704 호, 137-828 Seoul (KR). 김태훈 (KIM, Tae Hoon) [KR/KR]; 경기도 안양시 동안구 호계 2 동 938-25, 431-082 Gyeonggi-do (KR). 이호섭 (LEE, Ho Sub) [KR/KR]; 서울특별시 도봉구 창동 쌍용아파트 111 동 203 호, 132-040 Seoul (KR). 노민호 (NOH, Min Ho) [KR/KR]; 충청남도 청양군 청양읍 읍내 3 구 천강아파트 1901 호, 345-804 Chungcheongnam-do (KR).

(74) 대리인: 특허법인 다나 (DANA PATENT LAW FIRM); 서울특별시 강남구 역삼동 648-1 BYC 빌딩 5층, 135-080 Seoul (KR).

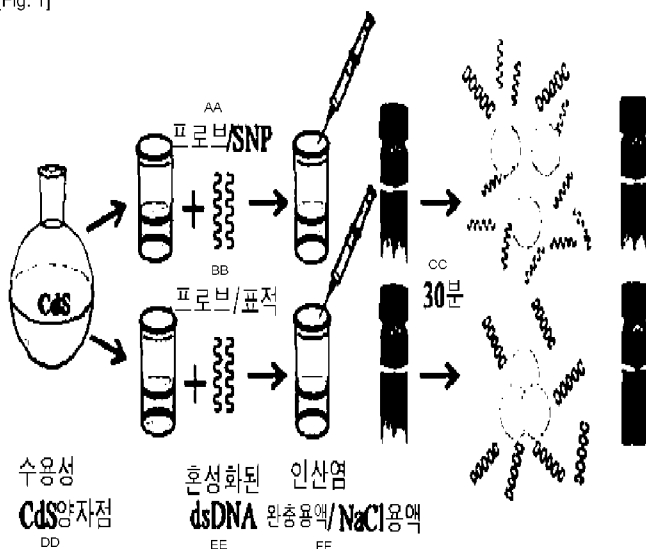
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[다음 쪽 계속]

(54) Title: METHOD FOR DETECTING TARGET SUBSTANCE USING SELECTIVE AGGREGATION OF QUANTUM DOTS

(54) 발명의 명칭 : 양자점의 선택적 응집을 이용한 표적 물질의 탐지 방법

[Fig. 1]



AA ... Probe
BB ... Probe/target
CC ... 30 minutes
DD ... Water-soluble CdS quantum dot
EE ... Hybridized dsDNA
FF ... Phosphate buffer solution/NaCl solution

(57) Abstract: The present invention relates to a method for detecting a target substance using selective aggregation of quantum dots. The present invention enables the presence of a target substance to be easily identified with the naked eye by a decrease in fluorescence, using a phenomenon whereby quantum dots selectively aggregate when the target substance is present, without pre-treatment, such as tagging a fluorescent substance to the target substance or to a probe substance and surface-processing nanoparticles. Therefore, as the method according to the present invention enables easy, rapid and low-cost detection of a target substance without using special analytical instruments, the method is very efficient. More specifically, as the method of the present invention used in analyzing single-nucleotide polymorphism in DNA enables rapid and efficient determination of the presence of single-nucleotide polymorphism by confirming that aggregation of quantum dots does not occur, the method can be usefully used in the diagnosis and treatment of genetic diseases, and biological and medical research.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



(84) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

본 발명은 양자점의 선택적 응집을 이용한 표적 물질의 탐지 방법에 관한 것이다. 본 발명에 의하면, 표적 물질이 존재할 경우 양자점이 선택적으로 응집하는 현상을 이용함으로써 표적 물질이나 탐지 물질에 형광 물질을 태깅하거나, 나노입자를 표면 처리하는 등의 전처리 없이도 형광 감소 여부에 의해 표적 물질의 존재를 육안으로 쉽게 식별할 수 있게 된다. 따라서 본 발명의 방법을 이용하면 특별한 분석 기기 없이도 저비용으로 표적 물질을 쉽고 빠르게 탐지할 수 있어 매우 효율적이다. 특히, 본 발명의 방법을 DNA 내의 단일염기다형성의 분석에 이용할 경우 양자점의 응집이 일어나지 않는 점을 확인함으로써 신속하고 효율적으로 단일염기다형성의 존재 여부를 판별할 수 있으므로, 유전 질환의 진단 및 치료, 그리고 생물학적, 의학적 연구에서 매우 유용하게 이용될 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 양자점의 선택적 응집을 이용한 표적 물질의 탐지 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 양자점의 선택적 응집을 이용한 표적 물질의 탐지 방법에 관한 것으로, 표적 물질과 탐지 물질의 결합에 따른 정전기적 인력에 의한 양자점의 선택적 응집, 또는 양자점 표면에 있는 탐지 물질과 표적 물질의 결합을 통한 cross-linking 응집 등 양자점의 선택적 응집으로 인한 발광강도의 감소를 분석함으로써 표적 물질의 존재를 육안으로 쉽게 탐지할 수 있는 양자점의 선택적 응집을 이용한 표적 물질의 탐지 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 1 내지 100nm 크기의 나노입자는 나노테크놀러지의 주요 연구 소재 중의 하나로서, 물리, 화학, 생물학, 의학 등 다양한 분야에서 여러 응용가능성을 보이고 있으며, 이를 위한 다양한 종류의 금속, 비금속, 반도체 나노입자들이 제조되고 있다.
- [3] 특히 나노입자들은 그 종류나 크기에 따라 특유의 물리화학적 혹은 광학적 특성을 나타내기 때문에 생명공학 분야를 비롯한 다양한 응용분야에서 각광을 받고 있다. 예를 들면, 수~수십 나노미터의 금 나노입자의 경우 520nm 부근에서 표면 플라즈몬 공명 파장(surface plasmon resonance band)을 나타내며, 주변의 환경이나 다른 물질의 부착여부에 따라 파장이 달라지는 특성을 갖는다. 반도체 나노입자의 경우 10nm 이내의 크기가 되면 UV에 의해 여기되어, 나노입자의 크기나 형태에 따라 다양한 가시광선 영역의 파장을 발광하는 양자점 특성을 보이게 된다. 또한, 양자점과 금나노입자에서는 형광 에너지 공명전이(Fluorescence Resonance Energy Transfer, FRET)가 일어나는 것이 알려져 있다. 따라서 이러한 특성을 이용하여 이들은 화학, 물질 과학, 생물학 및 의학 분야에서 이미징 프로브, 바이오센서, 촉매, 디스플레이 물질 및 생물학적 태깅 물질로서 사용할 수 있다.
- [4] 예를 들어, 금속 나노입자의 표면을 티올기로 개질한 프로브 DNA로 태깅하여 금속입자의 응집에 따른 광학적 특성의 변화를 통해 표적 DNA를 검출할 수 있는 방법이 보고되어 있다(K. Sato, K. Hosokawa, M. Maeda, *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 8102-8103; C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature* 1996, 382, 607-609). 그러나, 티올로 개질한 프로브를 이용한 금속 나노 입자의 표면 처리를 위해서는 이를 위한 별도의 복잡한 공정이 따로 요구되며, 특정 조건(온도 등)에서만 센싱이 되고, 태깅 반응이 비효율적일 뿐만 아니라 많은 비용이 소요된다는 단점이 있다.
- [5] 양자점을 이용한 기존의 센서의 경우 대부분 형광 공명 에너지 전이

현상(FRET: Fluorescence Resonance Energy Transfer)를 이용한 경우가 대부분이었다. FRET 현상은 양자점과 다른 물질(금 나노입자, 글루코스 등)의 거리가 가까워지면, 양자점이 전자 공여체 역할을 하면서 형광 강도(fluorescence intensity)가 감소되는 현상을 말하는 것으로, 기존의 센서들에서는 양자점이 표적 물질 또는 탐지 물질에 결합되어 있었으며, 표적 물질과 탐지 물질간의 직접적인 결합에 의해 FRET 현상이 일어남으로써 표적 물질의 존재 여부를 검출하는 방법을 이용하고 있었다. 그러나, 표적 물질이나 탐지 물질에 양자점을 태깅하는 방법은 금속 나노입자의 표면 처리와 마찬가지로 태깅 반응이 비효율적이고 시간과 비용이 많이 소모된다는 문제점이 있다.

- [6] 한편, 동종에 속하는 생물체 개체의 게놈에 포함된 유전자 코드는 서로 일치하지 않고, 다형성(polymorphism)으로 불리는 염기서열상의 차이가 존재한다. 다형성에는 1개 이상의 염기가 결실되거나(deletion) 삽입된 것(insertion), 특정 염기 서열이 중복된(repeat) 것 등이 알려져 있다. 하나의 염기가 또 다른 염기로 치환된 것은 단일염기다형성(Single nucleotide polymorphism, 이하 "SNP"라 약칭함)으로 명명된다.
- [7] SNP는 개인과 개인간의 DNA에 존재하는 단일 염기쌍의 차이(single base-pair variation)로 DNA 서열 다형성(polymorphism)중에서 가장 많이 존재하는 형태이다(약 1개/1kb). 이러한 SNP는 개개인의 질병에 대한 민감성 차이의 원인이 되므로, 유전질환의 진단, 치료 및 예방에 효과적으로 이용될 수 있다. 따라서, 유전자에서 개인차, 인종간 차이와 질병에 대한 민감성 차이 등을 가져오는 부분인 SNP를 빠르고 간편하게 찾아내는 방법에 대한 필요성이 제기되어 왔다.
- [8] 지금까지 SNP의 분석 방법으로 TaqMan PCR 방법, MALDI-TOF/MS(Matrix assisted laser desorption-time of flight/mass spectrometry) 방법, PCR-제한된 절편 길이 다형성 분석(PCR-restriction fragment length polymorphism analysis), 단일-가닥 형성 다형성 검출(single-strand conformation polymorphism detection), 다이테옥시 미니 염기서열 결정(dideoxy minisequencing), 올리고뉴클레오타이드 라이게이션 분석(oligonucleotide ligation assays), 대립형질 특이적 중합효소 연쇄반응(allele-specific polymerase chain reaction, 이하 "AS PCR"이라 약칭함), 라이게이즈 중합 반응(ligase chain reaction), 프라이머-요구된 뉴클레오타이드 결합 분석(primer-required nucleotide incorporation assays) 및 형광 에너지 전달-기초된 분석(fluorescence energy transfer-based assays) 등이 제시되었다(Landegren, U, M Nilsson, and P-Y Kwok., 1998, *Genome Res*, 8:769-776; Gut, I.G., 2001, *Hum Mutat*, 17:475-492; Shi, M.M., 2001, *Clin Chem*, 47:164-172). 이외에도 짧은 단일 DNA 절편의 질량을 정확하게 직접적으로 결정할 수 있는 질량 분광법(mass spectrometry)(Ross P et al., 2000, *BioTechniques*, 29:620-629)과 올리고뉴클레오타이드 마이크로어레이-기초 분석(oligonucleotide microarray-based analysis)(Wang, D.G. et al., 1998, *Science*, 280:1077-1082)도

알려져 있다. SNP를 분석하기 위한 상기 방법들은 특정 목적에 따라 상대적인 장점과 단점을 가지고 있기 때문에 어떠한 방법이 다른 방법보다 더 우월한지에 대해서는 단정적으로 말할 수 없다. 예를 들어, TaqMan PCR 방법은 PCR 반응을 사용하는 SNP 분석법으로서, 분석 단계의 수가 적으며 분석이 가장 빠르다는 이점을 지니고 있다[참조: T.Morris *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, 1996, 34, 2933., K. J. Livak *et al.*, *Genet. Anal.*, 1999, 14, 143]. 그러나, 이 방법은 1가지 종류의 SNP를 분석하기 위해 2가지 종류의 형광 표식 프로브가 필요하기 때문에, 표식 프로브 제작 비용이 높다는 단점이 있다. 다른 예로, MALDI-TOF/MS(Matrix assisted laser desorption-time of flight/mass spectrometry) 방법은 하나의 SNP 분석에 대해 전혀 표식을 필요로 하지 않으면서 하나의 프라이머를 사용하는 이점을 지니고 있지만[참조: L. A. Haff *et al.*, *Genome Res.*, 1997, 7, 378. P. Ross *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, 1998, 16, 1347], 표적 영역의 PCR 증폭, PCR 생성물의 정제, 프라이머 신장 반응, 프라이머 신장 반응 생성물의 정제, 질량 측정 샘플의 스폿팅, 질량 분석 등의 작동단계 수가 너무 많다는 단점이 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [9] 본 발명의 목적은 양자점을 이용한 표적 물질의 탐지에 있어서 태깅 반응이나 표면 처리 등의 전처리를 필요로 하지 않고, 쉽고 빠르게 표적 물질을 탐지하는 방법을 제공하는 것이다.
- [10] 특히, 본 발명은 양자점을 이용하여 단일염기다형성을 지닌 핵산을 간단하고 쉽게 탐지하는 방법을 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

- [11] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- [12] 표적 물질의 존재를 조사하고자 하는 시료를 양자점을 함유하는 용액에 첨가하는 단계; 및
- [13] 양자점의 선택적 응집을 분석하는 단계를 포함하는 표적 물질의 탐지 방법을 제공한다.
- [14]
- [15] 본 발명은 또한
- [16] 단일염기다형성을 지닌 핵산의 존재를 조사하고자 하는 시료를 탐지 물질과 혼성화시키는 단계;
- [17] 혼성화된 이중가닥 DNA를 양자점을 함유하는 용액에 가하는 단계; 및
- [18] 양자점의 선택적 응집을 분석하는 단계를 포함하는 단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지 방법을 제공한다.

발명의 효과

- [19] 본 발명에 의하면, 표적 물질의 존재 시 양자점이 선택적으로 응집하는 현상을 이용함으로써 표적 물질이나 탐지 물질에 형광 물질을 태깅하는 등의 전처리

없이도 발광강도의 감소 여부에 의해 표적 물질의 존재를 육안으로 쉽게 식별할 수 있게 된다. 따라서 본 발명의 방법을 이용하면 특별한 분석기기 없이도 저비용으로 표적 물질을 쉽고 빠르게 탐지할 수 있어 매우 효율적이다. 특히, 본 발명의 방법을 DNA 내의 단일염기다형성의 분석에 이용할 경우 양자점의 응집이 일어나지 않는 점을 확인함으로써 신속하고 효율적으로 단일염기다형성의 존재 여부를 판별할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [20] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 실험의 개요를 보여주는 개략도이다.
- [21] 도 2는 BRCA2의 SNP 탐지와 관련하여 UV 램프(365nm의 여기 파장) 하에서 1.2×10^{-3} M NaCl에서의 dsDNA의 첨가 전과 후의 용액의 사진을 나타낸 것이다.
- [22] 도 3은 BRCA2의 SNP 탐지와 관련하여 1.2×10^{-3} M NaCl에서의 dsDNA의 첨가 후의 양자점의 TEM 이미지를 나타낸 것이다.
- [23] 도 4는 BRCA2의 SNP 탐지와 관련하여 8×10^{-4} M, 1.2×10^{-3} M, 및 1.6×10^{-3} M의 NaCl 농도에서의 시간에 따른 양자점의 평균 직경의 변화를 나타낸 것이다.
- [24] 도 5는 BRCA2의 SNP 탐지와 관련하여 8×10^{-4} M, 1.2×10^{-3} M, 및 1.6×10^{-3} M의 NaCl 농도에서의 시간의 함수에 따른 제타 포텐셜에서의 변화를 나타낸 것이다.
- [25] 도 6은 BRCA2의 SNP 탐지와 관련하여 8×10^{-4} M, 1.2×10^{-3} M, 및 1.6×10^{-3} M의 NaCl 농도에서의 올리고뉴클레오타이드의 첨가 후 CdS 양자점의 발광 스펙트럼을 나타낸 것이다.
- [26] 도 7은 Sipa1의 SNP 탐지와 관련하여 UV 램프(365nm의 여기 파장) 하에서 1.2×10^{-3} M NaCl에서의 dsDNA의 첨가 전과 후의 용액의 사진을 나타낸 것이다.
- [27] 도 8은 Sipa1의 SNP 탐지와 관련하여 4×10^{-4} M, 8×10^{-4} M, 및 1.2×10^{-3} M의 NaCl 농도에서의 시간에 따른 양자점의 평균 직경의 변화를 나타낸 것이다.
- [28] 도 9는 Sipa1의 SNP 탐지와 관련하여 4×10^{-4} M, 8×10^{-4} M, 및 1.2×10^{-3} M의 NaCl 농도에서의 시간의 함수에 따른 제타 포텐셜에서의 변화를 나타낸 것이다.
- [29] 도 10은 Sipa1의 SNP 탐지와 관련하여 4×10^{-4} M, 8×10^{-4} M, 및 1.2×10^{-3} M의 NaCl 농도에서의 올리고뉴클레오타이드의 첨가 후 CdS 양자점의 발광 스펙트럼을 나타낸 것이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [30] 이하, 본 발명의 구성을 구체적으로 설명한다.
- [31] 본 발명은
- [32] 표적 물질의 존재를 조사하고자 하는 시료를 양자점을 함유하는 용액에 첨가하는 단계; 및
- [33] 양자점의 선택적 응집을 분석하는 단계를 포함하는 표적 물질의 탐지 방법에 관한 것이다.
- [34] 본 발명은 표적 물질의 존재 시 양자점의 선택적 응집이 일어나는 현상을 이용하여 표적 물질을 탐지함을 특징으로 한다.

- [35] 표적 물질의 존재 시 양자점의 선택적 응집이 일어나는 현상은 표적 물질이 탐지 물질(즉, 프로브)과 결합할 경우 정전기적 안정화가 일어나 양자점에 결합하지 않는 반면, 표적 물질이 탐지 물질과 결합하지 못하는 경우 탐지 물질이 정전기적 안정화를 위해 양자점에 흡착하는 것에 기인한다. 표적 물질이 탐지 물질과 결합할 경우에는 양자점에 흡착되는 물질이 존재하지 않으므로 양자점의 선택적 응집이 일어나게 되는 반면, 표적 물질이 탐지 물질과 결합하지 못하는 경우에는 탐지 물질이 양자점에 흡착하게 되어 양자점 간의 응집이 일어나지 않는다. 따라서, 양자점의 선택적 응집을 분석함으로써 표적 물질의 존재 여부를 간단하고 쉽게 탐지할 수 있게 된다.
- [36] 또는, 양자점 표면을 표면 안정제(capping agent) 또는 탐지 물질로 기능화하여 표적 물질과의 결합을 통한 양자점의 cross-linking 응집을 통해 양자점의 선택적 응집을 분석함으로써 표적 물질의 존재 여부를 간단하고 쉽게 탐지할 수 있게 된다.
- [37]
- [38] 본 발명의 표적 물질의 탐지 방법을 단계별로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.
- [39] 제1단계는 표적 물질을 함유하는 시료를 양자점을 포함하는 용액에 가하는 단계이다.
- [40] 본 발명에 있어서, 표적 물질이란 시료 내의 존재 여부를 탐지하고자 하는 대상이 되는 물질로서, 탐지 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질을 의미한다. 한편, 탐지 물질(또는 프로브)이란 상기 표적 물질을 선택적으로 인식하여 결합할 수 있는 물질을 의미한다.
- [41] 본 발명에서 사용할 수 있는 표적 물질과 탐지 물질은 그들 간의 결합에 의해 양자점의 선택적 응집을 유도할 수 있는 것이면 어떠한 것이든 가능하다. 즉, 표적 물질의 부재 시에는 양자점의 응집이 일어나지 않으며, 표적 물질의 존재 시에만 선택적으로 양자점의 응집이 일어나도록 하는 표적 물질과 탐지 물질이라면 본 발명의 방법이 적용될 수 있다.
- [42] 한 구체예에서, 표적 물질은 핵산이고, 탐지 물질은 이에 상보적인 핵산일 수 있다.
- [43] 다른 구체예에서, 표적 물질은 중금속이고, 탐지 물질은 이러한 중금속에 의해 혼성화가 일어날 수 있는 비상보적인 DNA의 쌍일 수 있다.
- [44]
- [45] 상기 양자점은 용매에 분산되어 콜로이드 상으로 존재하는 양자점이라면 특별히 제한되지 않는다. 또한, 유기상에서 합성된 양자점의 경우에는 리간드 교환(ligand exchange)을 통해 수분산이 가능하다. 예를 들어, CdS, CdSe, CdTe, 또는 PbS 등을 단독 또는 2종 이상 사용할 수 있다.
- [46] 상기 양자점의 표면은 시료 내의 표적 물질 외에 바람직하지 못한 흡착 가능성을 배제하기 위해 표면 안정제(capping agent)를 사용하여 하이드록실기,

- 카르복실기, 또는 아민기 등의 소수성 친수성 작용기로 수식(modify)할 수 있다.
- [47] 상기 표면 안정제로는 머캅토프로피온산(MPA), 머캅토폰아세트산(MAA), 머캅토폰석신산(MSA), 디티오텐리오텐톨(DTT), 글루타티온, 히스티딘, 또는 티올-함유 실란 등을 단독 또는 2종 이상 사용할 수 있다.
- [48]
- [49] 또한, 상기 양자점을 함유하는 용액은 양자점이 물 또는 유기용매에 분산되어 있는 용액을 말하는 것으로, 상기 유기용매로, 사이클로헥산, 또는 톨루엔 등을 단독 또는 2종 이상 사용할 수 있다.
- [50]
- [51] 또한, 상기 양자점을 함유하는 용액에는 탐지 물질이 포함될 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 탐지 물질은 양자점의 표면에 결합되어 있을 수 있으나 이에 제한하지는 않는다. 이는 탐지 물질과 표적 물질 간의 결합이 특정 조건 하에서 잘 이루어지는 경우라면 양자점에 노출되기 전에 표적 물질과 접촉될 수 있기 때문이다. 이 경우 표적 물질과 탐지 물질 간의 결합은 정전기적 안정화에 따른 양자점의 선택적 응집이 일어날 수 있다. 또한, 탐지 물질이 양자점의 표면에 결합되어 있는 경우라면, 탐지 물질과 표적 물질의 결합은 양자점의 cross-linking 응집을 유발할 수 있다.
- [52] 따라서, 본 발명의 표적 물질의 탐지 방법은 탐지 물질이 양자점 표면에 결합되어 있거나, 또는 그렇지 않은 경우에도 제한없이 양자점의 선택적 응집을 통해 표적 물질의 존재 여부를 탐지할 수 있는 특징을 갖는다.
- [53] 한 구체예에서, 표적 물질은 핵산이고, 탐지 물질은 이에 상보적인 핵산일 수 있다. 상기 핵산과 이에 상보적인 핵산은 양자점에 노출하기 전에 혼성화시켜 양자점의 응집 여부를 분석하여 표적 물질의 존재 여부를 쉽게 탐지할 수 있다.
- [54] 다른 구체예에서, 표적 물질은 중금속이고, 탐지 물질은 이러한 중금속에 의해 혼성화가 일어날 수 있는 비상보적인 DNA의 쌍일 수 있다. 양자점 표면에 결합되어 있는 서로 상보적이지 않은 DNA의 쌍은 Hg^{2+} 의 존재 시 Hg^{2+} 에 의해 혼성화될 수 있다(J.-S. Lee, M. S. Han, C. A. Mirkin, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 4093-4096). 따라서 중금속이 존재할 경우 비상보적인 DNA의 쌍이 혼성화되어 양자점의 선택적 응집을 유도하게 되므로, 양자점의 선택적 응집을 분석하면 중금속의 존재를 탐지할 수 있게 된다.
- [55] 상기 탐지 물질은 전술한 바와 같이 표적 물질을 선택적으로 인식하여 결합하는 물질로 특별히 제한하지는 않는다.
- [56]
- [57] 제2단계는 표적 물질과 탐지 물질의 결합에 따른 양자점의 선택적 응집을 분석하는 단계이다.
- [58] 상기 양자점의 선택적 응집은 양자점을 함유하는 용액의 발광강도의 감소를 조사하여 분석할 수 있다. 양자점은 UV에 노출되면 입자가 발광하게 된다. 이러한 양자점의 발광은 양자 구속(quantum confinement)에 의한 것인데,

양자점의 응집이 일어날 경우 이러한 양자 구속이 없어지게 되어 발광강도의 감소가 일어나게 되며, 결국에는 입자가 침전을 형성하게 되어 양자점을 함유하는 용액은 투명해지게 된다. 그러므로 본 발명의 방법을 이용하면 특별한 분석기기 없이도 표적 물질의 존재를 육안으로 쉽게 식별해 낼 수 있게 된다.

[59] 또한, 양자점의 선택적 응집은 공지된 방법을 이용하여 양자점의 크기 또는 형태의 변화, 양자점의 결정 입자의 직경의 변화, 제타 포텐셜의 변화, 또는 UV-visible absorption spectroscopy를 조사하여 분석할 있다. 하기 실시예에서는 이에 대한 구체적인 방법을 예시적으로 보여준다.

[60]

[61] 본 발명은 또한

[62] 단일염기다형성을 지닌 핵산의 존재를 조사하고자 하는 시료를 탐지 물질과 혼성화시키는 단계;

[63] 혼성화된 이중가닥 DNA를 양자점을 함유하는 용액에 가하는 단계; 및

[64] 양자점의 선택적 응집을 분석하는 단계를 포함하는 단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지 방법에 관한 것이다.

[65] 일 구체예에서, 단일염기다형성을 지닌 핵산은 탐지 물질과 혼성화되어 이중가닥을 이룰 수 있으나 양자점에 노출될 경우 탈혼성화되면서 정전기적 안정화가 이루어지지 않아 양자점의 표면에 흡착되게 된다. 이에 따라 단일염기다형성을 지닌 핵산의 존재 시에는 양자점의 선택적 응집이 일어나지 않는 반면, 완전히 매치된 이중가닥 DNA만 존재할 경우에는 양자점의 선택적 응집이 일어나게 된다. 따라서 표적 물질의 존재시 양자점의 선택적 응집이 일어나는 경우를 설명한 상기 방법을 역으로 이용하면, 단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지는 양자점의 응집이 일어나지 않음을 확인함으로써 수행될 수 있다.

[66]

[67] 하기 실시예에서는 표적 물질이 핵산이고 탐지 물질이 이에 상보적인 프로브 핵산인 경우 표적 물질인 핵산과 단일염기다형성을 지닌 핵산을 탐지하는 방법에 대해 구체적으로 예시한다.

[68] 하기 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

발명의 실시를 위한 형태

[69] <실시예 1> BRCA2 유전자의 단일염기다형성 탐지

[70] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 실험의 개요를 보여주는 개략도이다.

[71] 먼저, Mao 등이 제시한 방법(J. Mao, J.-N. Yao, L.-N. Wang, W.-S. Liu, *J. Colloid Interface Sci.* 2007, 319, 353-356)에 따라 머캅토아세트산 안정화된 가용성 CdS 양자점을 제조하였다.

[72] 산전 생육성(prenatal viability)과 유방암 위험도와 관련이 있는 것으로 알려져

있는 BRCA2 유전자의 단일염기다형성에 대해 탐지하고자, BRCA2 (GenBank number: NM_000059)에 기초하여 단일가닥 올리고뉴클레오타이드 프로브, 그에 완전히 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드 및 단일염기다형성 돌연변이의 형성을 위해 티민 대신 구아닌으로 치환된 단일 미스매치 염기를 갖는 올리고뉴클레오타이드를 표 1과 같이 디자인하였다(Bioneer Inc.)

[73] 표 1

올리고뉴클레오타이드	서열
표적	5' -AAA GGG CTT CTG ATT-3'
프로브	5' -AAT CAG AAG CCC TTT-3'
SNP	5' -AAA GGG CTT CTG ATG-3'

[74]

[75] pH 7의 0.15M NaCl/0.1M 포스페이트 완충용액 중에서 표적 DNA 또는 SNP DNA(0.2mM, 2 μ l)와 프로브(0.2mM, 2 μ l)를 각각 혼성화시킨 후, 혼성화가 이루어진 dsDNA(0.1mM, 4 μ l)를 1.3mL의 CdS 양자점을 함유하는 현탁액에 가했다. 그 후, 0.59mL의 멸균수와 0.1mL의 동일 완충용액을 가하여 갑작스러운 응집을 방지하였다. 완전히 매치된 쌍을 갖는 dsDNA가 선택적 응집을 야기하는 최적의 염 농도를 찾기 위해 NaCl의 양을 조정하였다. 최종적으로, 8 $\times 10^{-4}$ M, 1.2 $\times 10^{-3}$ M, 및 1.6 $\times 10^{-3}$ M의 농도를 갖는 NaCl 용액을 가하였다.

[76] 이중가닥 DNA 첨가 시 양자점의 응집은 UV 램프의 조사를 통해 육안으로, 그리고 투과 전자 현미경(TEM), 준탄성광산란(quasi-elastic light scattering, QELS), 제타 포텐셜(zeta potential) 및 발광 측정을 통해 관찰하였다. TEM (JEOL JEM-2100)을 이용하여 CdS 양자점의 형태를 관찰하였으며, QELS 및 제타 포텐셜 측정을 위해 Malvern Nano-ZS 기기로 입자의 유체역학 반경(hydrodynamic radius) 및 표면 포텐셜을 관찰하였다. CdS 양자점의 발광 스펙트럼은 PerkinElmer LS 50 발광 스펙트로미터를 이용하여 수득하였다.

[77] 도 2는 UV 램프(365nm의 여기 파장) 하에서 1.2 $\times 10^{-3}$ M NaCl에서의 dsDNA의 첨가 전과 후의 용액의 사진을 보여준다[DNA 첨가 후 a) 10분, b) 20분, c) 30분; i) ssDNA(프로브), ii) dsDNA(SNP), iii) dsDNA(표적 DNA)]. DNA의 첨가 후, 색상 변화는 모든 경우에서 최초 30분 동안 무시해도 될 만큼 크지 않았다. 흥미롭게도 dsDNA 첨가 30분 후, 완전하게 매치된 쌍을 갖는 dsDNA를 함유하는 현탁액에서만 색상의 유의한 표백이 실질적으로 일어나 발광강도가 감소되었으며, 이는 대규모의 양자점 응집에 기인하는 것으로 보인다.

[78] 도 3은 1.2 $\times 10^{-3}$ M NaCl에서의 dsDNA의 첨가 후의 양자점의 TEM 이미지를 보여준다. 각각의 TEM 사진 속의 삽입 이미지는 CdS 양자점의 격자구조를 보여준다. 도 3a에서 볼 수 있는 바와 같이, 단일염기가 미스매치된 쌍을 갖는 dsDNA의 경우에서, 크기와 형태의 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 그러나, 도

3b에서 볼 수 있는 바와 같이, 완전히 매치된 서열을 갖는 dsDNA의 첨가 후, CdS 양자점의 크기와 형태는 유의한 변화를 나타냈다. 이는 완전하게 매치된 서열을 갖는 dsDNA의 첨가가 CdS 양자점의 응집을 야기함을 나타낸다.

- [79] 양자점의 선택적인 응집 양상을 조사하고자, QELS를 응집 과정의 모니터를 위해 사용하였다. 도 4에서 볼 수 있는 바와 같이, $8 \times 10^{-4} \text{ M}$ NaCl에서, 나노결정의 평균 직경은 모든 경우에서 어떠한 유의한 증가도 나타내지 않았다[a) $8 \times 10^{-4} \text{ M}$; b) $1.2 \times 10^{-3} \text{ M}$; c) $1.6 \times 10^{-3} \text{ M}$]. 이는 $8 \times 10^{-4} \text{ M}$ NaCl의 첨가에 의해 야기되는 현탁액의 이온강도에서의 증가가 정전기적 반발력을 차단하고 CdS 나노결정의 응집을 유도하기에는 불충분함을 나타낸다. $1.6 \times 10^{-3} \text{ M}$ 의 NaCl 농도에서는 모든 경우에서 평균 직경에서의 유의한 증가가 발견되었으며, 이는 높은 이온강도가 CdS 나노결정의 불안정화와 응집을 야기했음을 제시한다. 유의한 응집은 $1.2 \times 10^{-3} \text{ M}$ 에서 완전히 매치된 dsDNA에 대해서만 배타적으로 관찰되었다. 이는 dsDNA는 정전기적 반발을 막는 전해질로서 작용하는 음으로 하전된 포스페이트 백본을 갖는 안정한 이중나선 구조를 갖고 있는 반면, 단일 염기 미스매치를 갖는 dsDNA는 탈혼성화를 나타내며, 정전기적 안정화를 위해 양자점의 표면에 흡착되기 때문이다. 상기 결과는 $1.2 \times 10^{-3} \text{ M}$ 에서 프로브와 SNP DNA를 갖는 현탁액의 콜로이달 안정성을 설명해 주며, 이는 제타 포텐셜 측정에 의해 확인된다.

- [80] 도 5는 세 가지 상이한 NaCl 농도에서의 시간의 함수에 따른 제타 포텐셜에서의 변화를 보여준다. 비변형된 CdS 양자점의 제타 포텐셜의 값은 -51.6 mV 로 측정되었다. $8 \times 10^{-4} \text{ M}$ NaCl에서, 모든 시료는 제타 포텐셜에서 무시할만한 수준의 변화를 보였는데, 이는 CdS 현탁액의 안정성이 전해질이나 ssDNA의 첨가에 영향을 받지 않았음을 의미한다. $1.6 \times 10^{-3} \text{ M}$ NaCl에서, 모든 샘플에서 감소된 정전기적 반발력과 CdS 양자점의 응집을 이끄는 제타 포텐셜의 유의한 증가(ca. -30 mV)가 관찰되었다. $1.2 \times 10^{-3} \text{ M}$ NaCl에서, 오직 완전히 매치된 dsDNA를 갖는 시료에서 제타 포텐셜의 증가가 보였는데, 이는 dsDNA가 입자 표면에 흡착되지 않고, 정전기적 반발력을 차단하는 전해질로서 작용했기 때문이다. 제타 포텐셜의 측정은 낮은 콜로이드 안정성에 기인한 완전히 매치된 dsDNA의 선택적 응집을 확인해준다.

- [81] 도 6은 $8 \times 10^{-4} \text{ M}$, $1.2 \times 10^{-3} \text{ M}$, 및 $1.6 \times 10^{-3} \text{ M}$ 의 상이한 NaCl 농도에서의 올리고뉴클레오타이드의 첨가 후 CdS 양자점의 발광 스펙트럼을 보여준다. DNA의 첨가 후, 모든 경우에서 $8 \times 10^{-4} \text{ M}$ 에서의 발광강도에서의 감소는 무시할만했던 반면, $1.6 \times 10^{-3} \text{ M}$ 에서는 발광 강도에서의 유의한 감소가 모든 경우에서 관찰되었다. 따라서, 이들 농도에서 ssDNA 또는 단일염기 미스매치된 쌍을 갖는 dsDNA로부터 완전히 매치된 서열을 식별해 낼 수는 없었다. 그러나, $1.2 \times 10^{-3} \text{ M}$ 에서는 완전히 매치된 서열을 갖는 dsDNA에 대해서만 30분 후 발광에서의 유의한 감소를 관찰할 수 있었으며, 이는 CdS 양자점의 선택적인 응집에 기인한 것이다. 또한, 입자 크기가 증가함에 따라 발광 피크 최대값이 더

긴 파장으로(530으로부터 570 nm으로) 이동했다.

[82]

[83] <실시예 2> Sip1의 단일염기다형성 탐지

[84] 상기의 결과로부터 또 다른 유전자에서 재확인하기 위해, 전이 과정과 관련되는 Sip1(signal-induced proliferation-associated gene 1)을 이용하여 유사한 실험을 수행하였다.

[85] 마우스 Sip1 서열(GenBank number: NM_011379)에 기초하여, 단일가닥 올리고뉴클레오타이드 프로브, 그에 완전히 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드, 및 단일염기다형성 돌연변이를 위해 구아닌 대신 아데닌으로 치환된 단일 미스매치 염기를 갖는 올리고뉴클레오타이드를 표 2와 같이 디자인하였다(Bioneer Inc.). 이후 과정은 위와 동일하게 진행하였다.

[86] 표 2

올리고뉴클레오타이드	서열
표적	5' -GCT GCC CAG ATG CTG-3'
프로브	5' -CAG CAT CTG GGC AGC-3'
SNP	5' -ACT GCC CAG ATG CTG-3'

[87] 도 7 내지 10에서 보여주고 있는 결과는 CdS 양자점의 선택적인 응집에 기초한 SNP 탐지가 다른 유형의 DNA 서열에도 잘 적용될 수 있음을 확인해 준다.

산업상 이용가능성

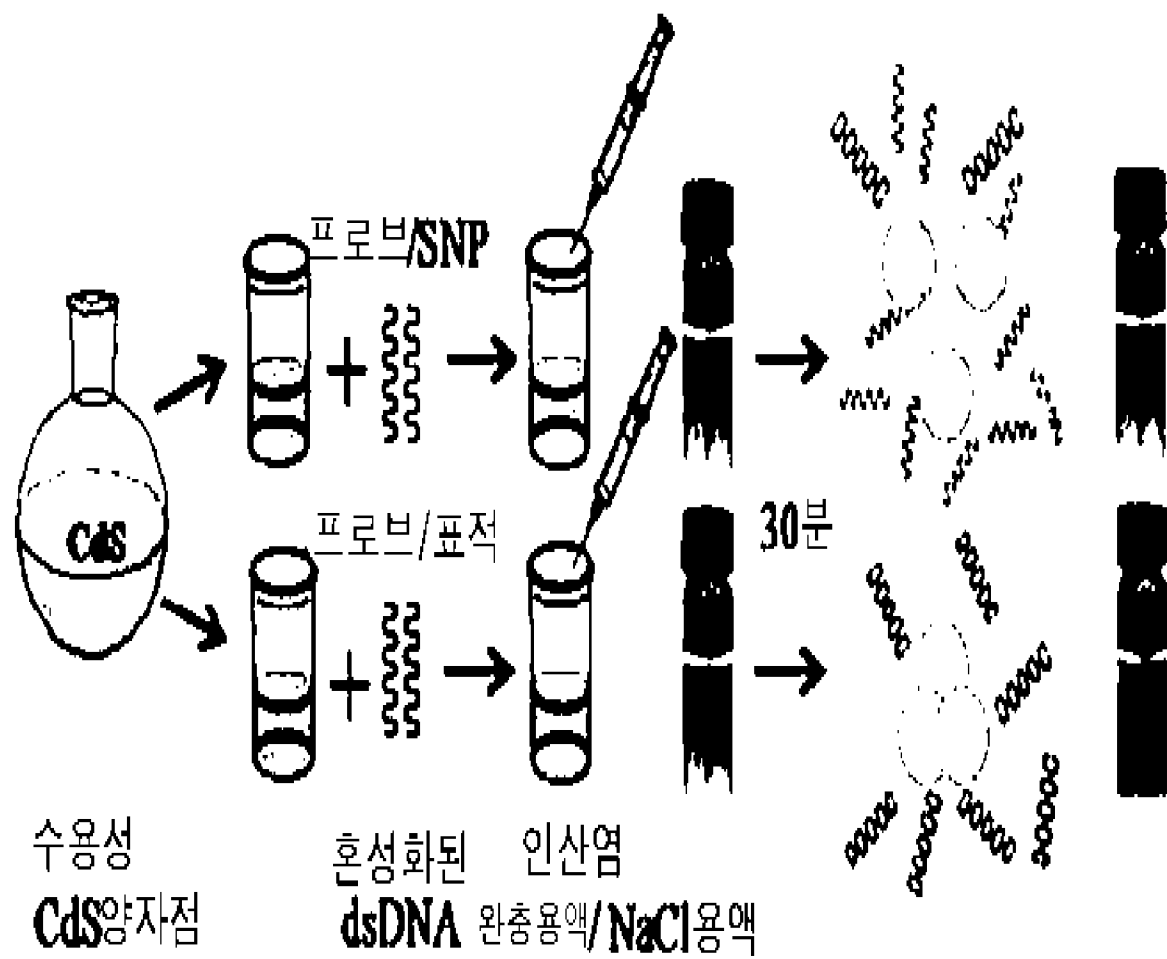
[88] 본 발명은 신속하고 효율적으로 단일염기다형성의 존재 여부를 판별할 수 있으므로, 유전 질환의 진단 및 치료, 그리고 생물학적, 의학적 연구에서 매우 유용하게 이용될 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] 표적 물질의 존재를 조사하고자 하는 시료를 양자점을 함유하는 용액에 첨가하는 단계; 및
양자점의 선택적 응집을 분석하는 단계를 포함하는 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
표적 물질이 핵산 또는 중금속 이온인 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
양자점은 CdS, CdSe, CdTe 및 PbS로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상인 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
양자점의 표면은 하이드록실기, 카르복실기 및 아민기로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 기능기로 수식(modify) 되어 있는 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 5] 제1항에 있어서,
양자점을 함유하는 용액은 양자점이 물 또는 유기용매에 분산되어 있는 것인 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
양자점을 함유하는 용액이 탐지 물질을 포함하는 것인 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 7] 제6항에 있어서,
탐지 물질이 양자점의 표면에 결합되어 있는 것인 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
양자점의 선택적 응집의 분석은 양자점을 함유하는 용액의 발광강도의 감소를 조사하는 것인 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 9] 제1항에 있어서,
양자점의 선택적 응집의 분석은 양자점의 크기 또는 형태의 변화, 양자점의 결정 입자의 직경의 변화, 제타 포텐셜의 변화, 또는 UV-visible absorption spectroscopy를 조사하는 것인 표적 물질의 탐지 방법.
- [청구항 10] 단일염기다형성을 지닌 핵산의 존재를 조사하고자 하는 시료를 탐지 물질과 혼성화시키는 단계;
혼성화된 이중가닥 DNA를 양자점을 함유하는 용액에 가하는 단계; 및
양자점의 선택적 응집을 분석하는 단계를 포함하는 단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지 방법.

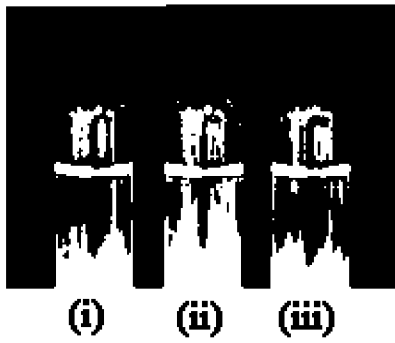
- [청구항 11] 제10항에 있어서,
양자점은 CdS, CdSe, CdTe 및 PbS로 이루어진 그룹으로부터
선택된 하나 이상인 단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지 방법.
- [청구항 12] 제10항에 있어서,
양자점의 표면은 하이드록실기, 카르복실기 및 아민기로 이루어진
군으로부터 선택된 하나 이상의 기능기로 수식(modify) 되어 있는
단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지 방법.
- [청구항 13] 제10항에 있어서,
양자점을 함유하는 용액은 양자점이 물 또는 유기용매에 분산되어
있는 것인 단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지 방법.
- [청구항 14] 제10항에 있어서,
양자점의 선택적 응집의 분석은 양자점의 응집이 관찰되지 않음을
확인하는 것인 단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지 방법.
- [청구항 15] 제10항에 있어서,
양자점의 선택적 응집의 분석은 양자점의 크기 또는 형태의 변화,
양자점의 결정 입자의 직경의 변화, 제타 포텐셜의 변화, 또는
UV-visible absorption spectroscopy를 조사하는 것인
단일염기다형성을 지닌 핵산의 탐지 방법.

[Fig. 1]



[Fig. 2]

a)



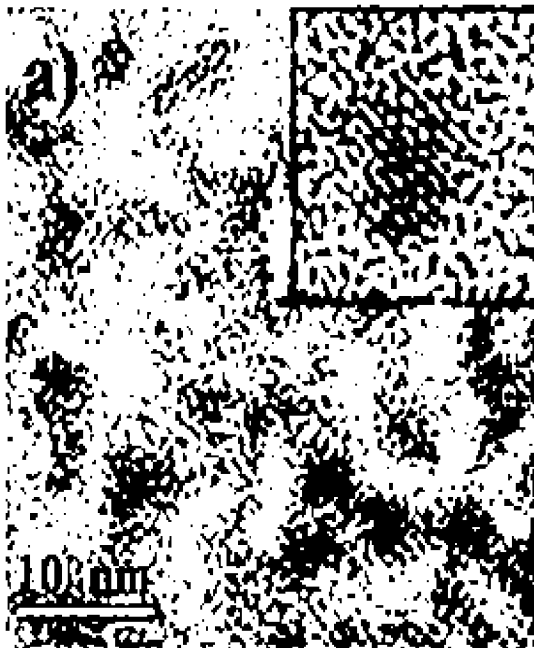
b)



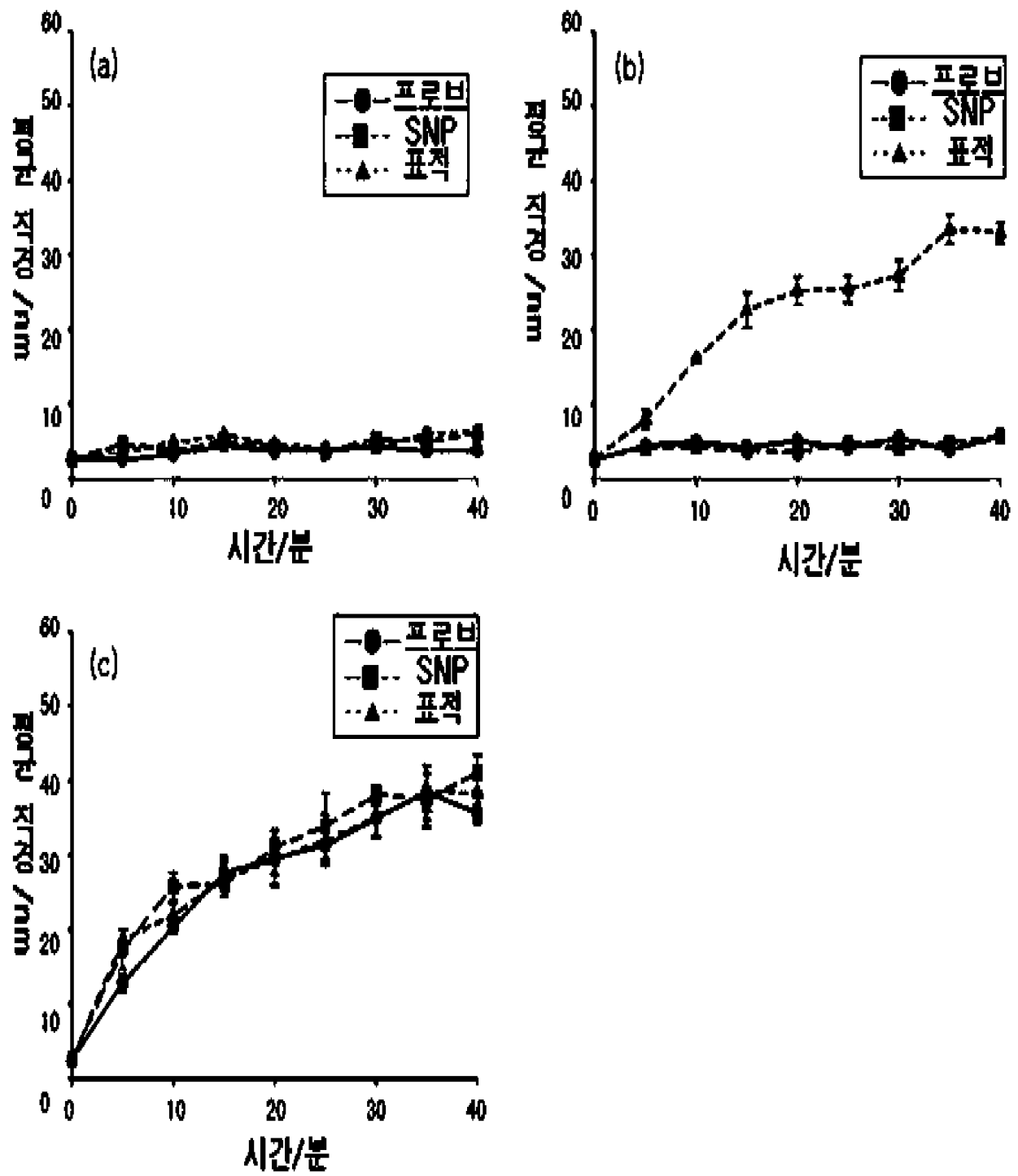
c)



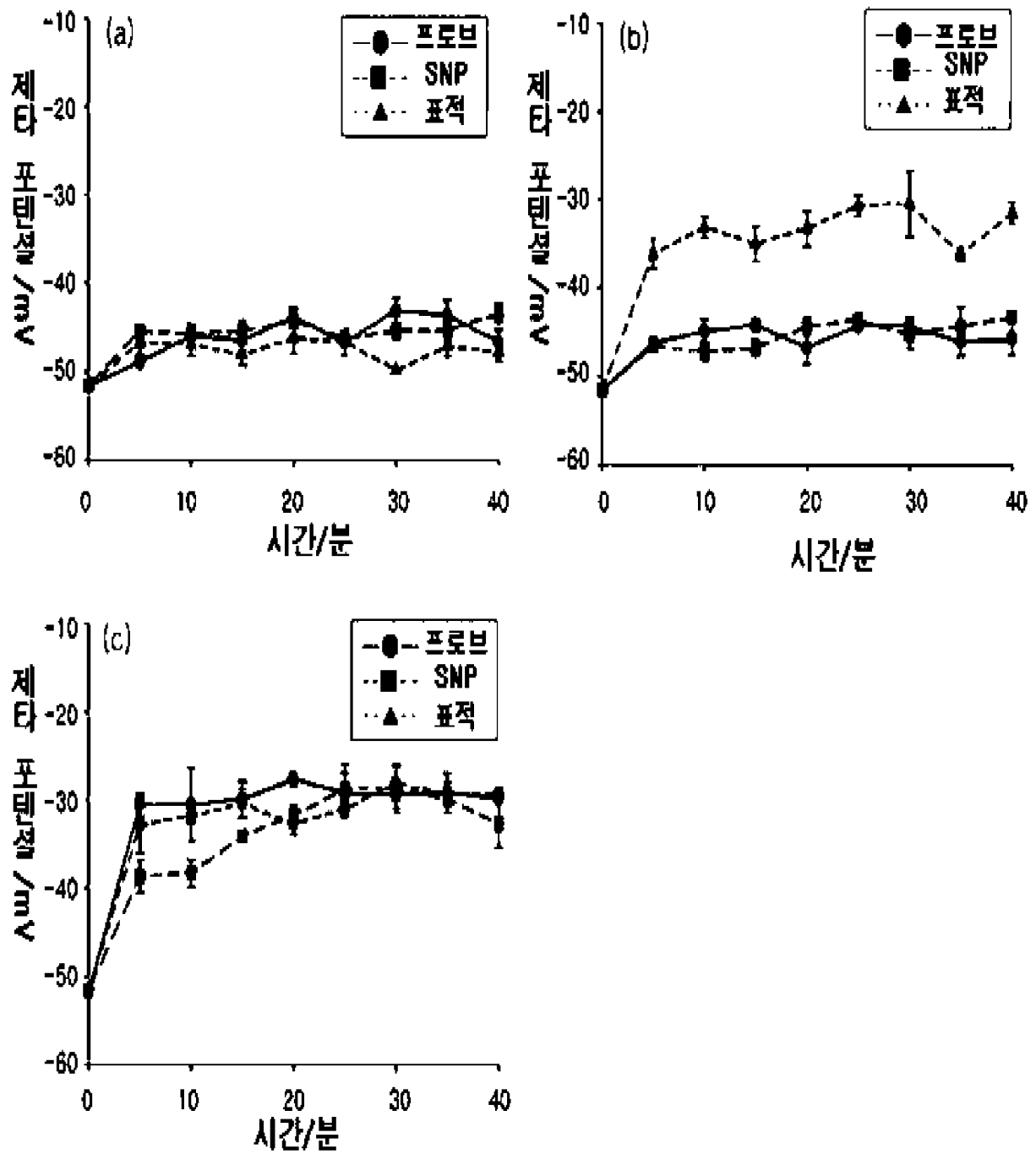
[Fig. 3]



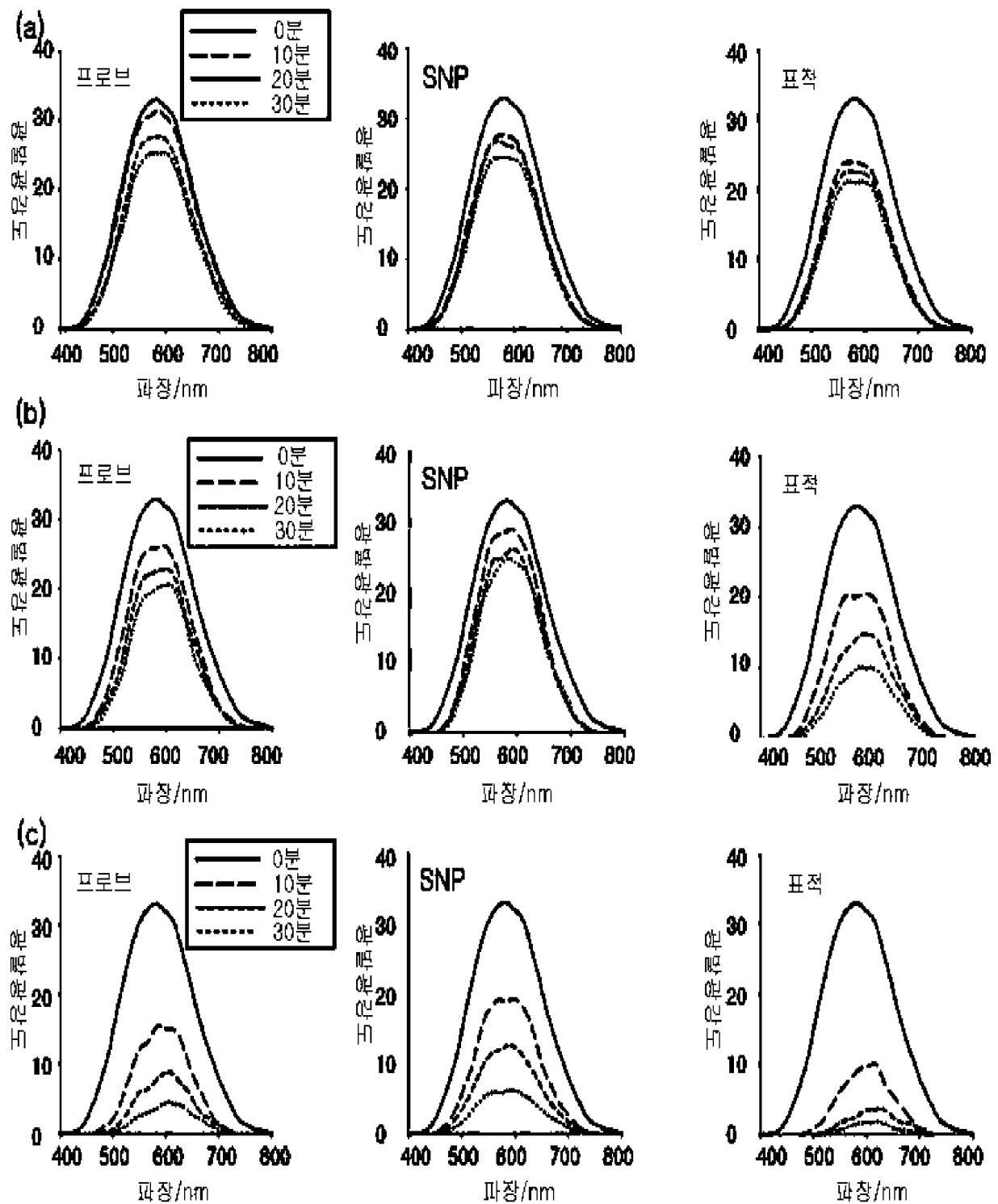
[Fig. 4]



[Fig. 5]

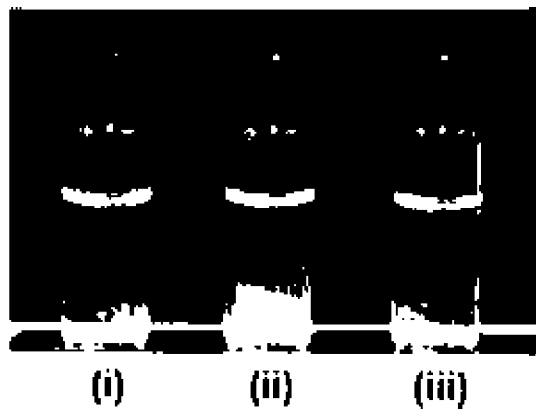


[Fig. 6]

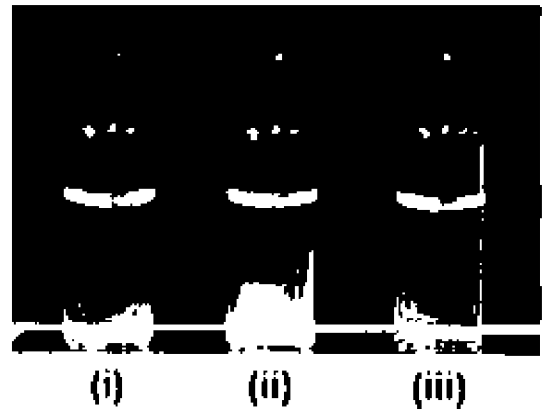


[Fig. 7]

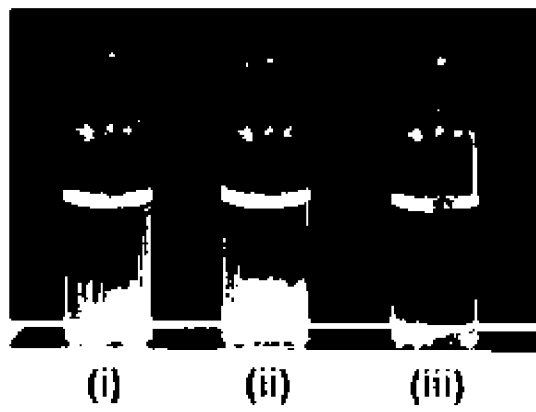
a)



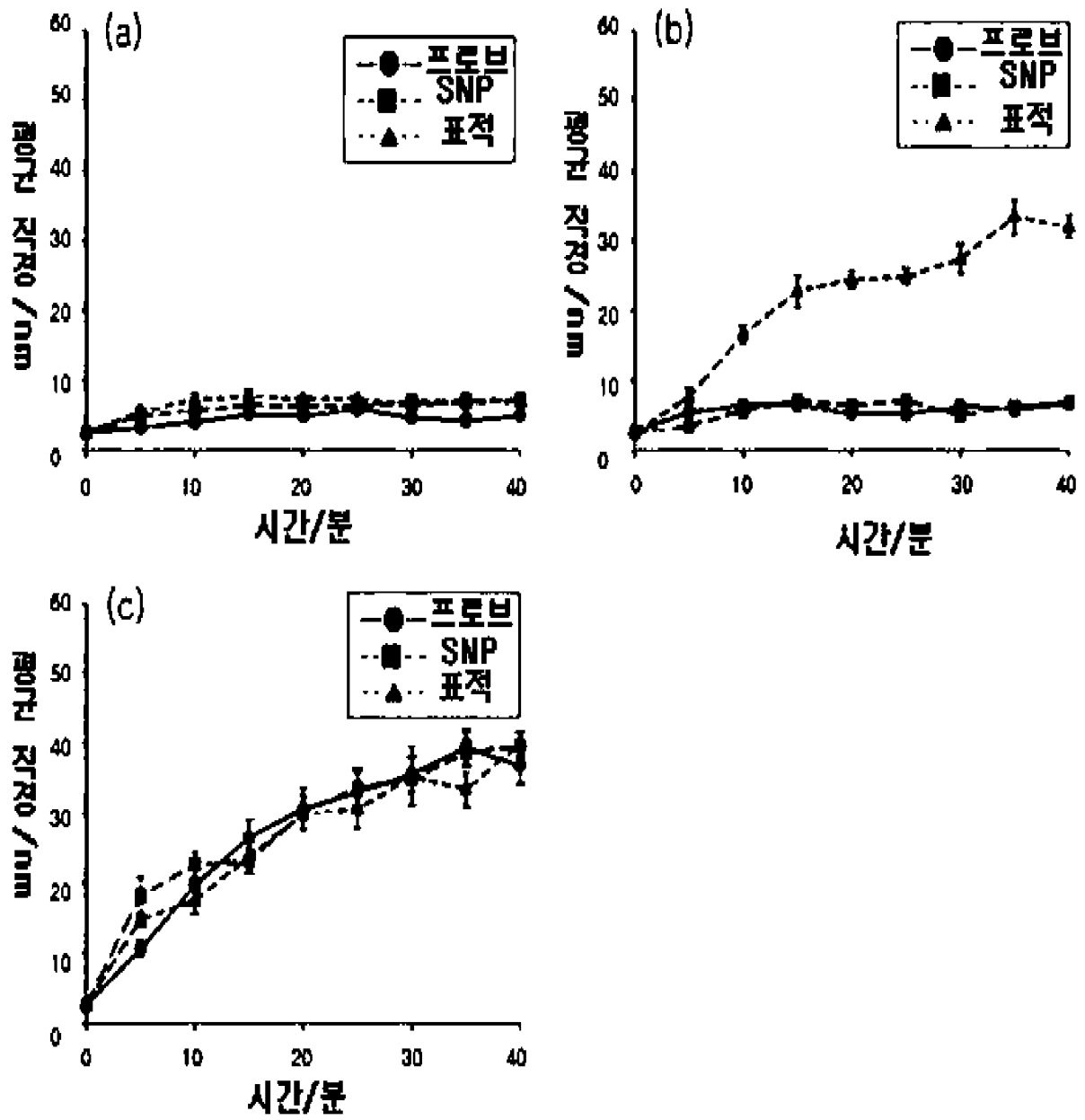
b)



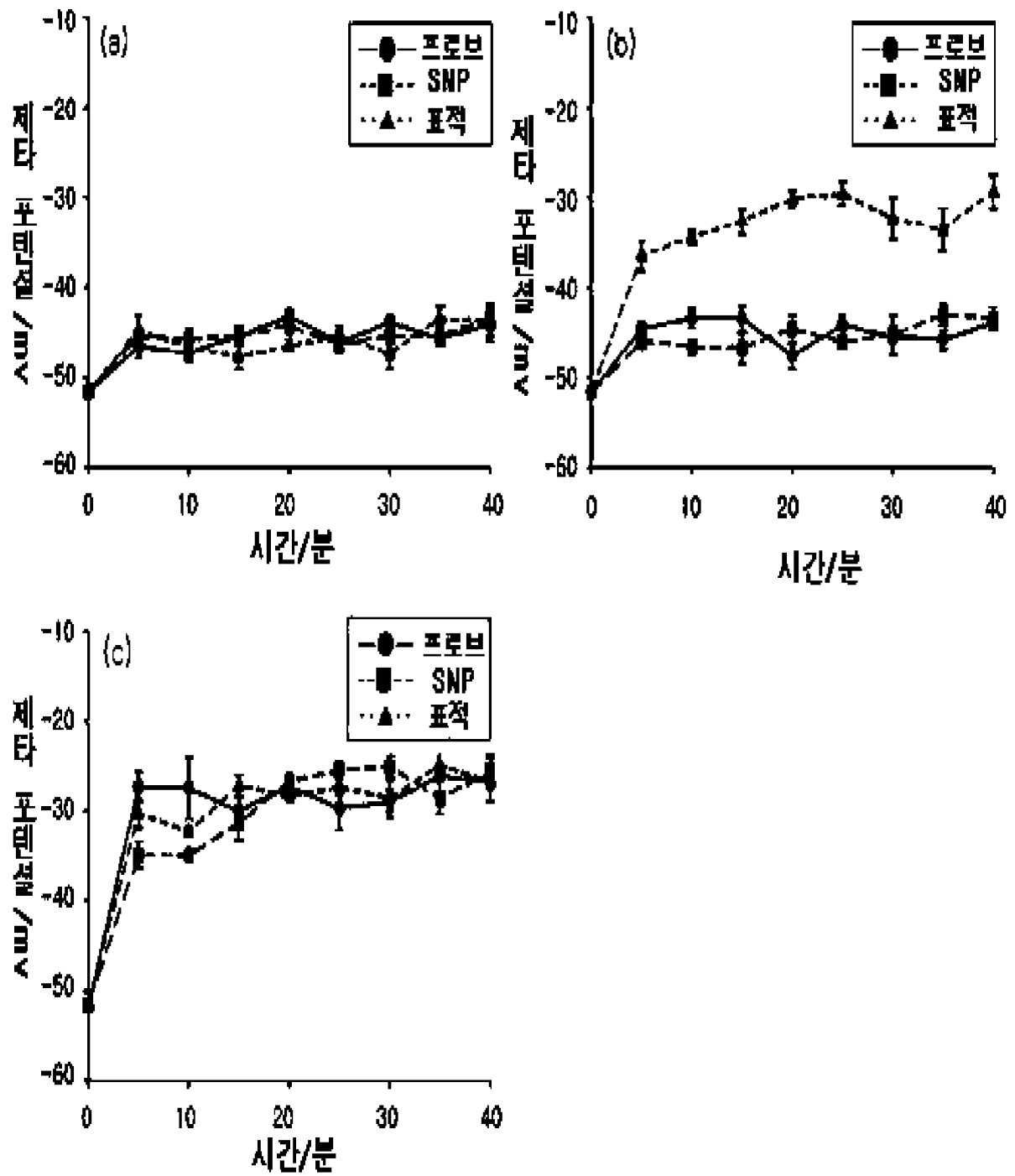
c)



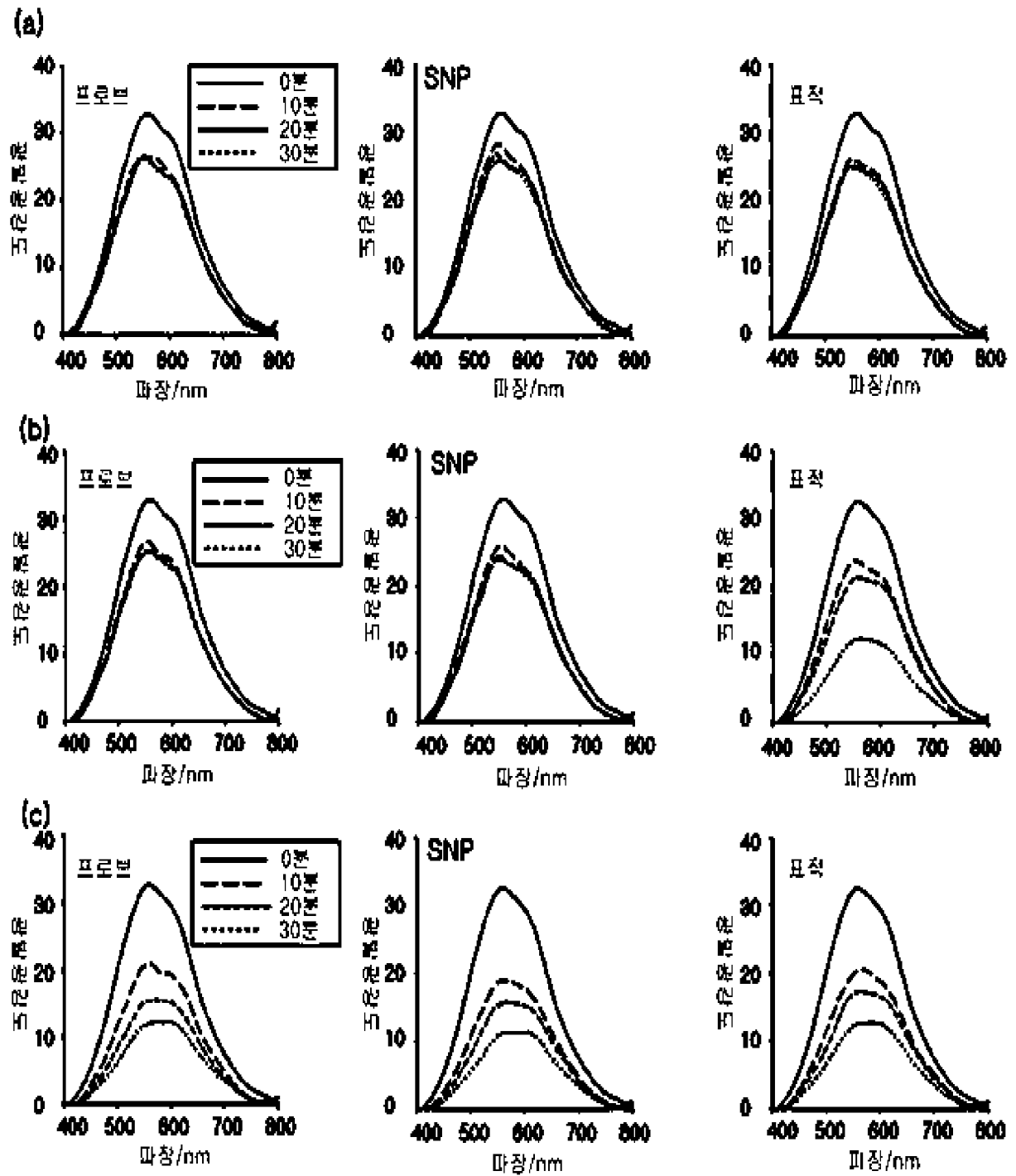
[Fig. 8]



[Fig. 9]



[Fig. 10]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2010/001214**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****G01N 21/76(2006.01)i, C12Q 1/68(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 21/76; NotA vai/lable; G01N 33/53; G01N 33/68; C09K 11/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: quantum dot, coherence, target

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2005-065081 A2 (EMORY UNIVERSITY et al.) 21 July 2005 See claims 42 to 44	1-15
A	KR 10-0883547 B1 (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 13 February 2009 See claims 11 to 13	1-15
A	KR 10-0678285 B1 (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.) 02 February 2007 See claims 9 to 12	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 SEPTEMBER 2010 (30.09.2010)

Date of mailing of the international search report

30 SEPTEMBER 2010 (30.09.2010)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2010/001214

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
WO 2005-065081 A2	21.07.2005	AU 2004-311589 A1	21.07.2005
		AU 2004-311589 A1	21.07.2005
		CA 2551130-A1	21.07.2005
		CN 101421623 A	29.04.2009
		CN 101421623 A	29.04.2009
		EP 1696784 A2	06.09.2006
		JP 2007-524663 A	30.08.2007
		JP 2007-524663 T	30.08.2007
		JP 2007-524663 T	30.08.2007
		US 2005-0136258 A1	23.06.2005
		US 2005-136258 A1	23.06.2005
		WO 2005-065081 A2	21.07.2005
		WO 2005-065081 A3	30.04.2009
		WO 2005-065081 A3	21.07.2005
KR 10-0883547 B1	13.02.2009	NONE	
KR 10-0678285 B1	02.02.2007	JP 2006-199963 A	03.08.2006
		US 2006-0157686 A1	20.07.2006

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) G01N 21/76(2006.01)i, C12Q 1/68(2006.01)i														
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) G01N 21/76; NotA vai/lable; G01N 33/53; G01N 33/68; C09K 11/08 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 양자점, 응집, 표적														
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>WO 2005-065081 A2 (EMORY UNIVERSITY 외 2명) 2005.07.21 청구항 제42항 내지 제44항 참조</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-0883547 B1 (한국과학기술원) 2009.02.13 청구항 제11항 내지 제13항 참조</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-0678285 B1 (삼성전자주식회사) 2007.02.02 청구항 제9항 내지 제12항 참조</td> <td>1-15</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	A	WO 2005-065081 A2 (EMORY UNIVERSITY 외 2명) 2005.07.21 청구항 제42항 내지 제44항 참조	1-15	A	KR 10-0883547 B1 (한국과학기술원) 2009.02.13 청구항 제11항 내지 제13항 참조	1-15	A	KR 10-0678285 B1 (삼성전자주식회사) 2007.02.02 청구항 제9항 내지 제12항 참조	1-15
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항												
A	WO 2005-065081 A2 (EMORY UNIVERSITY 외 2명) 2005.07.21 청구항 제42항 내지 제44항 참조	1-15												
A	KR 10-0883547 B1 (한국과학기술원) 2009.02.13 청구항 제11항 내지 제13항 참조	1-15												
A	KR 10-0678285 B1 (삼성전자주식회사) 2007.02.02 청구항 제9항 내지 제12항 참조	1-15												
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.														
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌														
국제조사의 실제 완료일 2010년 09월 30일 (30.09.2010)		국제조사보고서 발송일 2010년 09월 30일 (30.09.2010)												
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 선사로 139, 정부대전청사 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 심재만 전화번호 82-42-481-5747 												

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
WO 2005-065081 A2	2005.07.21	AU 2004-311589 A1 AU 2004-311589 A1 CA 2551130-A1 CN 101421623 A CN 101421623 A EP 1696784 A2 JP 2007-524663 A JP 2007-524663 T JP 2007-524663 T US 2005-0136258 A1 US 2005-136258 A1 WO 2005-065081 A2 WO 2005-065081 A3 WO 2005-065081 A3	2005.07.21 2005.07.21 2005.07.21 2009.04.29 2009.04.29 2006.09.06 2007.08.30 2007.08.30 2007.08.30 2005.06.23 2005.06.23 2005.07.21 2009.04.30 2005.07.21
KR 10-0883547 B1	2009.02.13	없음	
KR 10-0678285 B1	2007.02.02	JP 2006-199963 A US 2006-0157686 A1	2006.08.03 2006.07.20