

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 (43) 공개일자	10-2011-0018743 2011년02월24일
(51)	Int. Cl.	(71)	출원인
	<i>G01N 33/551</i> (2006.01) <i>G01N 33/58</i> (2006.01)		이화여자대학교 산학협력단
(21)	출원번호	(72)	발명자
(22)	출원일자		최진호
	심사청구일자		서울특별시 강남구 압구정동 408 미성아파트 27동 301호
	없음		박대환
			대전광역시 대덕구 비래동 한신휴플러스 아파트 105동 1007호
		(74)	대리인
			문경혜, 신창준, 김익환, 홍장원, 안상희

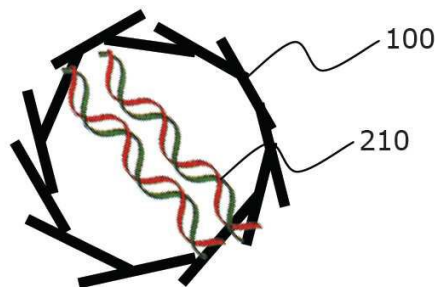
전체 청구항 수 : 총 36 항

(54) 바이오-무기 복합체, 이의 제조방법, 이를 포함하는 식별용 조성물, 및 이를 이용한 식별 시스템

(57) 요약

본 발명은 무기시트로 이루어진 입체 셀 및 DNA 등의 암호화된 정보를 함유하는 바이오분자가 상호 인력에 의해 상호 결합되어 있는 구조의 바이오-무기 복합체, 이의 제조방법, 이를 포함하는 식별용 조성물, 및 이를 이용한 개체 식별 시스템을 제공한다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

복수 개의 박편상 무기 시트로 이루어진 3차원 입체 셀; 및 상기 셀 내에 담지되는 바이오분자;로 이루어지고, 상기 셀의 내면 및 바이오분자는 정전기적 인력에 의해 상호 결합되어 있으며, 상기 바이오분자는 암호화된 정보를 함유하는, 바이오-무기 복합체(bio-inorganic composite).

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 바이오분자는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드이고, 상기 암호화된 정보는 염기서열 또는 아미노산 서열인, 바이오-무기 복합체.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 바이오분자는 10 내지 2500 bp 길이를 갖는 폴리뉴클레오티드인, 바이오-무기 복합체.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 바이오분자는 기계적 신호, 전기적 신호, 정전기적 신호 또는 광학적 신호를 발생시키는 물질과 결합되어 있는, 바이오-무기 복합체.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 입체 셀 내에 흡광 또는 발광물질이 담지되어 있거나, 또는 상기 바이오분자에 흡광 또는 발광물질이 결합되어 있는, 바이오-무기 복합체.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 상기 흡광 또는 발광물질은 CYTM Dyes, Fluorescein, Alexa Fluor[®] Dyes, Bodipy[®] Dyes, CAL Fluor[®] Dyes, Oregon Green Dyes, Oyster[®] Dyes, Rhodamine Dyes, TAMRATM Dyes, WellRED Dyes, 금 나노입자, ZnS, CdSe, CdTe 및 CdS로 이루어진 군에서 선택되는, 바이오-무기 복합체.

청구항 7

제 5 항에 있어서, 상기 흡광 또는 발광물질은 식용 흡광 또는 발광물질인, 바이오-무기 복합체.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 상기 식용 흡광 또는 발광물질은 커큐민(curcumin), 알루라 레드 (Allura red), 및 에리트로신(erythrosine) B 로 이루어진 군에서 선택되는, 바이오-무기 복합체.

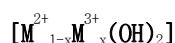
청구항 9

제 1 항에 있어서, 상기 무기시트는 양이온성 전하를 띄고, 상기 바이오분자는 음이온성 전하를 띄는, 바이오-무기 복합체.

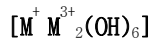
청구항 10

제 1 항에 있어서, 상기 무기시트는 하기 화학식 I 내지 화학식 IV 중 어느 하나로 표현되는 양이온성 무기시트인, 바이오-무기 복합체:

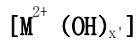
<화학식 I>



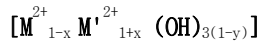
<화학식 II>



<화학식 III>



<화학식 IV>



상기에서, M^{+} 는 1가 금속 양이온을 나타내고, M^{2+} 및 M'^{2+} 는 2가 금속 양이온을 나타내며; M^{3+} 은 3가 금속 양이온을 나타내고; x는 0.01 내지 0.5의 수이며, x'는 1 초과 2 미만의 수이다.

청구항 11

제 10 항에 있어서, 상기 M^{2+} 은 마그네슘(Mg^{2+}), 니켈(Ni^{2+}), 구리(Cu^{2+}) 및 아연(Zn^{2+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되고, 상기 M^{3+} 은 알루미늄(Al^{3+}), 철(Fe^{3+}), 바나듐(V^{3+}), 티타늄(Ti^{3+}) 및 갈륨(Ga^{3+})으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 바이오-무기 복합체.

청구항 12

제 1 항에 있어서, 상기 무기시트는 길이가 1 내지 500 nm이고, 두께가 0.1 내지 50 nm인, 바이오-무기 복합체.

청구항 13

제 1 항에 있어서, 상기 3차원 입체 셀은 구형, 타원형, 또는 사각형인 바이오-무기 복합체.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 상기 3차원 입체 셀은 에스팩트비(a/b)가 1 내지 500인 바이오-무기 복합체.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 따른 바이오-무기 복합체를 제조하는 방법으로서,

- (1) 층상 구조를 갖는 무기물을 박리화하여 박편상 무기시트를 제조하는 단계; 및
- (2) 상기 박편상 무기시트 및 바이오분자를 혼합하여 바이오-무기 복합체를 형성하는 단계;를 포함하는 제조방법.

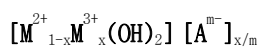
청구항 16

제 15 항에 있어서, 상기 층상 구조를 갖는 무기물은 층상 이중 수산화물(layered double hydroxide, LDH) 인 제조방법.

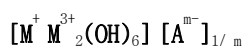
청구항 17

제 15 항에 있어서, 상기 층상구조를 갖는 무기물은 하기 화학식 1 내지 화학식 4로 표시되는 화합물 중 어느 하나인, 제조방법:

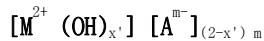
<화학식 1>



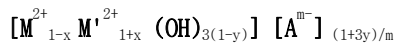
<화학식 2>



<화학식 3>



<화학식 4>



상기에서, M^{+} 는 1가 금속 양이온을 나타내고, M^{2+} 및 M'^{2+} 는 2가 금속 양이온을 나타내며; M^{3+} 은 3가 금속 양이온을 나타내고; A는 중간 음이온을 의미하고, m은 음이온의 전하수이며; x는 0.01 내지 0.5의 수이고, x'는 1 초과 2 미만의 수이다.

청구항 18

제 17 항에 있어서, 상기 M^{2+} 는 마그네슘(Mg^{2+}), 니켈(Ni^{2+}), 구리(Cu^{2+}) 및 아연(Zn^{2+})으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 M^{3+} 은 알루미늄(Al^{3+}), 철(Fe^{3+}), 바나듐(V^{3+}), 티타늄(Ti^{3+}) 및 갈륨(Ga^{3+})으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 제조방법.

청구항 19

제 17 항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물은 2가 양이온과 3가 양이온 금속염의 수용액을 염기성 물질로 공침시키고 수열반응하여 형성되는 제조방법.

청구항 20

제 15 항에 있어서, 상기 바이오분자는 10 ~ 3000 bp의 길이를 갖는 폴리뉴클레오티드인 제조방법.

청구항 21

제 15 항에 있어서, 상기 단계(1)은 증상 이중 수산화물을 포름아마이드($HCONH_2$) 용매에 분산시킴으로써 수행되는 제조방법.

청구항 22

제 15 항에 있어서, 상기 단계(2)는 박편상 무기시트가 0.01 내지 0.10 중량%의 농도로 분산된 콜로이드 용액에 바이오분자를 첨가한 후 상온에서 교반함으로써 수행되는 제조방법.

청구항 23

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 따른 바이오-무기 복합체를 포함하는 조성물.

청구항 24

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 따른 바이오-무기 복합체를 포함하는 라벨.

청구항 25

- 개체에 제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 따른 바이오-무기 복합체를 소지시키는 단계;
- 개체로부터 상기 바이오-무기 복합체의 존재를 확인하는 제 1 식별단계;
- 상기 바이오-무기 복합체 내 바이오분자의 암호화된 정보를 해독하는 제 2 식별단계; 를 포함하는 개체식별시스템.

청구항 26

제 25 항에 있어서, 상기 단계(a)는,

특정한 개체의 식별에 필요한 정보를 염기서열로 암호화한 바이오분자를 제작하는 단계;

상기 바이오분자를 포함하는 제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 따른 바이오-무기 복합체를 제조

하는 단계; 및

상기 바이오-무기 복합체를 개체에 소지시키는 단계; 를 포함하는 개체식별시스템.

청구항 27

제 25 항에 있어서, 상기 바이오-무기 복합체 내에는 흡광 또는 발광물질이 담지되어 있거나 바이오분자와 흡광 또는 발광물질이 결합되어 있고, 상기 제 1 식별단계(b)에서 바이오-무기 복합체의 존부는 흡광 또는 발광 여부를 검출할 수 있는 수단을 이용하여 수행하는 개체식별시스템.

청구항 28

제 25 항에 있어서, 상기 제 2 식별단계(c)는

- i. 개체로부터 바이오-무기 복합체를 분리하는 단계;
- ii. 바이오-무기 복합체로부터 바이오분자를 추출하는 단계; 및
- iii. 상기 추출된 바이오분자의 암호화된 정보를 해독하는 단계; 로 이루어진 개체식별시스템.

청구항 29

제 27 항에 있어서, 상기 단계(i)에서 바이오-무기 복합체는 산성 용액을 처리하여 개체로부터 분리하는 개체식별시스템.

청구항 30

제 26 항에 있어서, 상기 단계(ii)에서 바이오분자는 바이오-무기 복합체에 EDTA를 첨가하여 추출하는 개체식별시스템.

청구항 31

제 25 항에 있어서, 상기 암호화된 정보 해독은 바이오분자와 혼성화 반응을 할 수 있는 프로브가 부착된 바이오센서에 바이오분자를 반응시켜 혼성화 반응 여부를 통해 수행하는, 개체식별시스템.

청구항 32

제 31 항에 있어서, 상기 혼성화 반응 여부는 광학 이미지 검출을 통해 확인하는, 개체식별시스템

청구항 33

제 31 항에 있어서, 상기 프로브는 특정한 패턴으로 배열되어 있어서, 혼성화 반응을 통해 상기 바이오센서 상의 패턴을 검출하고, 패턴의 정보를 통해 제 2 식별단계를 수행하는, 개체식별시스템.

청구항 34

제 25 항에 있어서, 상기 바이오분자의 암호화된 유전정보를 해석하는 제 3 식별단계;를 더욱 포함하는 개체식별시스템.

청구항 35

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 따른 바이오-무기 복합체 내에 포함된 바이오분자와 혼성화 결합을 할 수 있는 프로브가 고정기질에 점적된, 바이오센서.

청구항 36

제 35 항에 있어서, 상기 바이오센서 상에 프로브가 특정한 패턴으로 배열되어 있는, 바이오센서.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 바이오-무기 복합체, 이의 제조방법, 이를 포함하는 식별용 조성물, 및 이를 이용한 식별 시스템에 관한 기술이다.

배경 기술

[0002] 일반적으로 정보/암호 코드 인식기술로 가장 많이 사용되는 것이 바코드이다. 바코드란 문자나 숫자를 흑과 백의 막대 모양 기호로 조합한 것으로, 데이터를 빠르게 입력하고 판독하기 위하여 사용된다. 바코드는 세계 상품 코드(UPC: Universal Product Code)를 따라 상품의 종류 판별, 상점의 매출정보 관리, 도서 분류, 신분 증명 등에 다양하게 이용된다.

[0003] 워터마크(Watermark)도 지폐의 진위 여부를 판별할 수 있도록 해 주는 코드체계이다. 또한, 생체인식으로는 각 개인마다 다른 지문정보를 추출하여 정보화시키는 지문인증(Finger Scan) 방식과 사람마다 고유한 특성을 가진 안구의 홍채 정보를 이용해 사람을 인식하는 홍채인식(Iris scan) 기술이 있다. 홍채인식기술은 홍채의 모양과 색깔, 망막 모세혈관의 형태소 등의 패턴을 코드화해 이를 영상신호로 바꾸어 비교, 판단하는 보안 기술이다. 그 이외에도 소형 반도체 칩을 이용해 사물의 정보와 주변 환경정보를 전송, 처리하는 비접촉식 인식시스템인 RFID(radio frequency identification) 시스템도 코드 인식 체계이다.

[0004] 코드 체계는 정보 이론의 네 단계, 1) 정보의 습득 및 기록, 2) 기록된 정보의 저장, 3) 정보의 수집 및 판독, 및 4) 판독된 정보의 표시로 이루어진다. 코드/암호 체계를 사용하는 데에 문제점은 세계적인 표준화가 이루어지지 않았고 훼손으로 인한 복제/위조로 진위 여부의 판별 및 증명에 어려움이 발생할 수 있으며 또 다른 인권 침해할 유발할 수 있다는 점이다. 현대 기술의 발달과 더불어 복제 기술의 발달은 인간복제까지 가능하게 되면서 심각한 사회적 문제를 야기시킬 수 있다.

[0005] 이러한 문제점들은 분자 수준의 기술로 극복할 수 있다. 분자 수준의 코드는 눈에 보이지 않는 미세한 사이즈로 해당 개체에 고루 담지됨으로써 쉽게 탐지되지 않는다는 장점이 있으며, 또한 특별한 장치를 통해서 복제/위조가 불가능하게 만들 수도 있다.

[0006] 이러한 분자 수준의 코드로서 가장 적절한 것이 DNA 염기서열을 정보 단위로 사용하는 것인데, DNA 염기서열은 생물의 모든 유전 정보를 모두 담을 수 있어 정보의 집적화면에서 매우 효율적이다. 또한 전 세계적으로 통용될 수 있는 판단 기준을 갖고 있어 신뢰성이 높다. 더욱이, 모든 개체는 고유의 유전 정보를 지니고 있어 개체나 품종의 분류하는 고유 코드로써 사용하는 연구들이 활발히 진행되고 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0007] DNA 는 효소, 열, 미생물 등 외부요인에 의해 쉽게 변형, 변성 또는 파괴되어 이를 이용하는 데 한계가 있다.

[0008] 이에, 본 발명은 DNA 등과 같이 암호화된 정보를 함유하고 있는 바이오분자를 효과적으로 보존, 안정화 하여 다양한 식별용 매체에 광범위하게 사용될 수 있도록 하는 기술을 제공하고자 한다.

[0009] 또한, 이를 개체식별용 시스템에 이용하여 신속하고 정확한 개체식별을 가능하게 하는 기술을 제공하고자 한다.

과제 해결수단

[0010] 본 발명은 DNA 등과 같이 정보를 암호화할 수 있는 바이오분자를 외부환경으로부터 안정적으로 보호하고, 변성을 방지하며 장기간 유지될 수 있도록 하는 기술을 개발하고자 한다. 이를 위해, 본 발명에서는 바이오분자가 소정의 입체 셀 내에 담지된 형태의 복합체 및 이를 이용하여 개체식별을 수행하는 다양한 방법을 제

공한다.

- [0011] 본 발명의 일 측면에 따르면, 복수 개의 무기시트로 이루어진 3차원 입체 셀; 및 상기 셀 내에 담지되는 바이오분자; 로 이루어지고, 상기 셀의 내면 및 바이오분자는 정전기적 인력 등에 의해 상호 결합되어 있으며, 상기 바이오분자는 개체의 암호화된 정보를 함유하는 바이오-무기 복합체를 제공한다.
- [0012] 본 발명의 예에 따른 바이오-무기 복합체는 물리화학적 안정성이 우수한 무기시트로 이루어진 셀 내에 바이오분자를 담지함으로써 외부환경으로부터 바이오분자를 안정적으로 보존 및 보호할 수 있다. 따라서, 다양한 매체/매질에 포함시켜 사용시에도 바이오분자가 변성되는 것을 방지할 수 있다.
- [0013] 상기 바이오분자(bio-molecule)는 예를 들어, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 등을 들 수 있다.
- [0014] 용어 "폴리뉴클레오티드"는 일반적으로 비변형(non-modified) 또는 변형된(modified) RNA 또는 DNA 등의 모든 폴리리보뉴클레오티드(RNA) 또는 폴리데옥시리보뉴클레오티드(DNA)를 지칭한다. "폴리뉴클레오티드"는 단일- 또는 이중-가닥 DNA, 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물인 DNA, 단일- 및 이중-가닥 RNA, 단일- 및 이중-가닥 영역의 혼합물인 RNA, 단일- 또는 이중 가닥, 또는 단일- 및 이중 가닥 영역의 혼합물일 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하는 하이브리드 분자를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 또한, "폴리뉴클레오티드"는 RNA 또는 DNA, 또는 RNA 및 DNA 모두를 포함하는 3중 가닥 영역을 포함한다. 또한 올리고뉴클레오티드로 지칭되는 상대적으로 짧은 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 그 이외에도 인공 DNA 유사체인 PNP(Peptide Nucleic Acid), 플라스미드(Plasmid) DNA, 엔지니어드(Engineered) DNA 등도 포함된다.
- [0015] 용어 "폴리펩티드"는 둘 이상의 아미노산이 펩티드 결합 또는 변형된 펩티드 결합을 통해 결합된 펩티드 또는 단백질을 의미한다. "폴리펩티드"는 펩티드, 올리고펩티드 또는 올리고머 등의 단쇄 및 단백질 등의 장쇄를 모두 포함한다. "폴리펩티드"는 천연적 방법 또는 당업계에 공지된 화학적 변형 기술에 의해 변경된 아미노산 서열을 포함한다. 이러한 변형은 아세틸화, 아실화, ADP-라이보실화, 아미드화, 비오틴화, 플라빈의 공유 부착, 헴(heme) 부분의 공유 부착, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티딜이노시톨의 공유 부착, 가교결합, 사이클화, 디설피드 결합 형성, 탈메틸화, 공유가교의 형성, 시스틴의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, 감마-카르복실화, 글리코실화, GPI 앵커(anchor) 형성, 히드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 단백질 가수분해 가공, 포스포릴화, 프레닐화, 라세미화, 셀레오일화, 황화, 아르기닐화와 같이 아미노산의 단백질에 대한 전달-RNA 매개 첨가 및 유비퀴틴화를 포함한다.
- [0016] 또한, 상기 "박편상 무기시트"는 무기물로 이루어진 박편상 시트 형태 물질을 의미한다. 그러나, 전체가 무기물로 이루어질 필요는 없으며 플라즈마 처리를 수행하거나, 유기물질을 부착하는 등의 표면 개질이 된 형태인 경우에도 본 발명에서 정의하는 무기시트에 포함된다. 상기 "박편상"은 당업계의 일반적인 의미로 해석될 수 있으며, 예를 들어, 두께가 0.1 nm~8.0 μ m의 범위이며, 애스펙트비가 2~100 정도인 시트일 수 있다.
- [0017] 본 발명의 또 다른 일 측면에 따르면, 상기 바이오-무기 복합체를 포함하는 개체 식별용 조성물 또는 라벨을 제공한다.
- [0018] 본 명세서에서 상기 "개체"는 식별의 대상을 의미하고, 생물, 무생물을 모두 포괄하는 개념이다. 또한, '개체 식별'은 개체의 진위를 판단하는 것을 의미한다.
- [0019] 상기 개체 식별용 조성물은 개체의 식별을 위해 부가되는 조성물 또는 식별을 위한 개체 그 자체일 수 있다. 상기 전자의 예로는, 바이오-무기 복합체를 포함시킨 잉크, 도료, 코팅 조성물 등을 개체에 도포 또는 코팅하는 경우를 들 수 있다. 또한, 후자의 예로는 타 개체와의 식별을 위한 특정물질 그 자체에 바이오-무기 복합체를 포함시킨 경우를 들 수 있다.
- [0020] 이러한 식별용 조성물은 보안기술, 상품식별기술, 진위판별기술, 이력추적시스템, 위조복제 방지기술에 다양하게 적용가능하다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 일 측면에 따르면, 상기 바이오-무기 복합체의 제조방법을 제공한다. 상기 제조방법은, 층상 구조를 갖는 무기물을 박리화하여 박편상 무기시트를 제조하는 단계; 및 상기 박편상 무기시트 및 바이오분자를 혼합하여 바이오-무기 복합체를 형성하는 단계; 를 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 층상 구조를 갖는 무기물은 예를 들어, 층상 이중 수산화물일 수 있고, 이는 2가 양이온과 3가 양

이온 금속염의 수용액을 염기성 물질로 공침시키고 수열반응하여 제조될 수 있다.

[0023] 본 발명의 또 다른 일 측면에 따르면, 상기 바이오-무기 복합체를 이용한 개체식별 시스템을 제공한다. 상기 개체식별 시스템은 하기 단계들을 포함할 수 있다.

[0024] a. 개체에 상기 실시예들에 따른 바이오-무기 복합체를 소지시키는 단계;

[0025] b. 개체로부터 상기 바이오-무기 복합체의 존재를 확인하는 제 1 식별단계;

[0026] c. 상기 바이오-무기 복합체 내 바이오분자의 정보를 해독하는 제 2 식별단계.

[0027] 상기 제 1 식별단계는 예를 들어, 바이오-무기 복합체 내에 흡광 또는 발광물질이 포함되어 있거나, 바이오분자에 형광 물질이 결합되어 있고, 흡광 또는 발광물질을 검출할 수 있는 수단을 이용하여 발광 여부를 측정함으로써 수행될 수 있다.

[0028] 상기 제 2 식별단계는, 예를 들어, 개체로부터 바이오-무기 복합체를 분리하는 단계; 바이오-무기 복합체로부터 바이오분자를 추출하는 단계; 및 상기 추출된 바이오분자에 함유된 개체의 암호화된 정보를 해독하는 단계;로 이루어질 수 있다.

[0029] 상기 바이오분자의 정보 해독은 예를 들어, 상기 바이오분자와 혼성화 결합이 가능한 프로브가 점적된 바이오센서를 이용하여 수행될 수 있다.

효 과

[0030] 본 발명에 따르면, 물리화학적 안정성이 높은 바이오-무기 복합체를 개시하는 바, 외부환경에 안정한 상태를 유지할 수 있어서 실생활의 다양한 매체에 적용시킬 수 있다. 또한, 상기 바이오-무기 복합체는 소정의 개체 식별을 위한 정보를 암호화하고 있어서, 이를 해독함으로써 개체식별이 가능하다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0031] 이하, 본 발명의 이점들과 특징들 및 이를 수행하는 방법들이 하기 실시예들에 대한 상세한 설명 및 첨부된 도면들을 참조함으로써 더욱 용이하게 이해될 수 있을 것이다. 그러나, 본 발명은 많은 다양한 형태로 실시될 수 있으며, 여기서 언급한 실시예들로만 한정되어 구성되는 것은 아니다.

[0032] 또한, 본 발명의 명세서 및 청구항에 사용된 성분, 반응 조건 등의 수치를 나타내는 모든 숫자는 변형될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 상반된 언급이 없다면, 본 발명의 명세서 및 첨부된 청구항에 나타난 수적인 파라미터는 본 발명의 목적하는 바에 따라 달라질 수 있는 근사값이다.

1. 바이오-무기 복합체

[0034] 도 1에는 본 발명의 일 예에 따른 바이오-무기 복합체의 단면도가 모식적으로 도시되어 있다.

[0035] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 예에 따른 바이오-무기 복합체는 복수 개의 박편상 무기시트로 이루어진 3차원 입체 셀(100); 및 상기 셀 내에 담지되는 바이오분자(210);로 이루어져 있다.

[0036] 상기 셀(100)의 내면 및 바이오분자(210)는 정전기적 인력 등 상호인력에 의해 상호 결합되어 있으며, 상기 바이오분자(210)는 개체의 암호화된 정보를 함유한다.

[0037] 상기 상호인력은 예를 들어, 정전기적 인력, 수소결합, 반데르 발스 인력, 공유결합 등을 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[0038] 종래 DNA 등의 바이오분자는 효소, 열, 미생물 등 외부요인에 의해 쉽게 변형, 변성 또는 파괴되어 이를 이용하는 데 한계가 있었다. 그러나, 본 발명의 예시에 따른 바이오-무기 복합체는 바이오분자를 무기시트로 이루어진 담체로 캡슐화함으로써 외부환경으로부터의 영향을 효과적으로 차단할 수 있다. 예를 들어, 바이오분자에 치명적으로 작용하는 DNase I 등의 효소로부터 DNA 등의 바이오분자를 보호할 수 있으며, pH 영역 1-2 이상에서 바이오분자를 안전하게 보호할 수 있다.

- [0039] 따라서, 바이오분자의 저장, 전달이 용이하고, 바이오분자의 변성 또는 변형을 방지할 수 있다. 더욱이, 본 발명의 실시예에 따른 복합체는 복수 개의 무기시트가 조합되어 입체 셀(100)을 형성하고 있으므로 크기 조절이 용이하다. 따라서, 내부에 담지되는 바이오분자(210)의 길이나 크기에 제한을 받지 않으며, 거대 바이오분자를 효과적으로 함유할 수 있다는 장점이 있다.
- [0040] 바이오분자
- [0041] 상기 바이오분자(210)는 예를 들어, DNA, RNA, PNA 등의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 또한, 본 발명에서, 상기 바이오분자는 암호화된 정보를 함유하고 있는 바, 암호화된 정보는 염기서열 또는 아미노산 서열의 형태일 수 있다. 이에, 스테가노그래피 등과 같이 염기서열을 코드화하고, 서열해독을 통해 암호화된 정보를 해독할 수 있다. 염기서열의 코드화는 예를 들어, DNA 염기서열 A, T, C, G 중의 한 개가 코드의 단위가 되며 염기서열을 다양하게 조합하여 길이에 관계없이 코드화할 수 있다. 이러한 바이오분자는 복제, 위조, 변조 등이 불가능한 암호화가 가능하고 고유 정보, 암호를 고집적화할 수 있다.
- [0042] 상기 바이오분자의 크기는 특별히 제한되지 않는다. 이는, 입체 셀이 복수 개의 무기시트로 이루어져 있어서 셀 크기를 용이하게 조절할 수 있기 때문이다.
- [0043] 상기 바이오분자는 예를 들어, 10 내지 3000 bp 길이를 갖는 폴리뉴클레오티드, 또는 1000 bp 이상의 길이를 갖는 거대 폴리뉴클레오티드일 수 있다. 또 다른 측면에서, 상기 바이오분자는 예를 들어 5 내지 1000 kDa 의 크기를 갖는 것일 수 있다.
- [0044] 또한, 흡광 또는 발광물질 등의 거대분자가 결합된 형태의 폴리뉴클레오티드와 같이 부피가 큰 바이오분자 역시 제한되지 않는다. 참고로, DNA의 경우 1 bp가 0.34 nm이므로 1500 bp 의 길이는 510 nm이며, 10 bp 이하의 길이는 선택성이 없을 수 있다.
- [0045] 상기 바이오분자의 함량은 특별히 제한되지 않지만, 상기 바이오분자의 중량이 무기시트의 중량에 비해 10 배 이상 높다면 100% 캡슐화를 이루기 어려워 부분적으로 외부 환경에 노출될 수 있으므로, 상기 무기시트 전체 중량을 기준으로 약 0.1 내지 300배일 수 있다.
- [0046] 하나의 예에서, 상기 바이오분자는 기계적 신호, 전기적 신호, 정전기적 신호 또는 광학적 신호를 발생시키는 물질과 결합되어 있을 수 있다. 이 경우, 상기 신호를 감지함으로써 바이오분자의 존재를 파악할 수 있다. 따라서, 바이오분자의 존재를 통해 개체의 진위 또는 식별이 가능할 수 있다.
- [0047] 상기 소정의 신호를 발생시키는 물질은 특별히 제한되지 않으며, 광학적 신호를 발생시키는 흡광 또는 발광물질 등을 들 수 있다.
- [0048] 이에, 하나의 예에서, 바이오-무기 복합체에는 흡광 또는 발광물질이 포함되어 있을 수 있다. 이와 관련하여 도 2에는 본 발명의 또 다른 하나의 실시예에 따라 흡광 또는 발광물질이 포함된 바이오-무기 복합체의 단면도가 모식적으로 도시되어 있다.
- [0049] 도 2를 참조하면, 무기시트로 이루어진 셀(100) 내에 제 1 흡광/발광 물질(221, 231)과 제 2 흡광/발광 물질(222, 232)이 각각 5' 말단에 결합되어 있는 이중가닥 DNA (220, 230)들이 담지되어 있다.
- [0050] 이와 같이, 흡광 또는 발광 물질(221, 231, 222, 232)이 포함된 경우에는 흡광 또는 발광 여부를 검출함으로써 개체로부터 본 발명의 예에 따른 바이오-무기 복합체를 소지하고 있는지 여부를 확인할 수 있다. 또한, 바이오분자(220, 230)의 암호화된 정보 해독시 분자 센서 요소 또는 프로브의 결합 여부 등을 확인하는 역할을 수행할 수도 있다.
- [0051] 상기 흡광 또는 발광 물질(221, 231, 222, 232)의 첨가 형태는 특별히 제한되지 않으며 예를 들어, 상기 입체 셀 내에 단순히 담지되어 있거나, 또는 도 2에서와 같이 상기 바이오분자에 결합된 형태로 포함될 수 있다.
- [0052] 상기 바이오분자(220, 230)와 흡광 또는 발광물질(221, 231, 222, 232)이 상호 결합된 경우, 바이오분자와 발광 물질은 직접 결합되어 있는 경우 및 스페이서, 연결체(Spacer arm) 등을 이용한 간접 결합되어 있는 경우를 모두 포함한다.

[0053] 상기 스페이서는 바이오분자의 혼성화에 영향을 주지 않고 바이오분자와 흡광 또는 발광물질을 연결할 수 있는 분자일 수 있다. 예를 들어, C-3 링커(linker), C-6 링커, C-6 TFA 링커, C-5 아미노 변형기(amino modifier), C-12 링커, 아미노 dT C2 링커, 아미노 dT C6 링커, 5' 티올(Thiol) C-2 링커, 5' 티올 C-6 링커, 5' 티올 C-6 S-S 등을 들 수 있다.

[0054] 이와 같이, 흡광 또는 발광물질이 바이오분자와 결합되어 있는 경우, 흡광 또는 발광물질은 그 자체로 바이오분자의 암호화된 정보 코드로서 이용될 수 있다. 예를 들어, 형광체 한 개가 코드의 단위가 되며 서로 다른 구조/색상의 형광체를 조합하여 개수를 조절하여 다양한 코드 디자인이 가능하다.

[0055] 상기 흡광 또는 발광물질은 온도, pH 변화, 열 등의 외부조건으로부터 안정적이라면 특별히 제한되지 않으며, 유기계 흡광 또는 발광물질 또는 무기계 흡광 또는 발광물질을 모두 포함한다.

[0056] 상기 시판 유기계 흡광 또는 발광물질의 예로는 CYTM Dyes, Fluorescein, Alexa Fluor[®] Dyes, Bodipy[®] Dyes, CAL Fluor[®] Dyes, Oregon Green Dyes, Oyster[®] Dyes, Rhodamine Dyes, TAMRATM Dyes, WellRED Dyes 등을 들 수 있다. 또한, 상기 무기계 형광체는 금 나노입자, ZnS, CdSe, CdTe, CdS, 이들의 혼합물 또는 복합체 등을 들 수 있다.

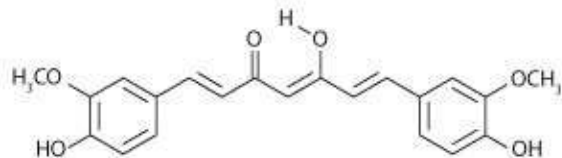
[0057] 하나의 예에서, 상기 흡광 또는 발광물질은 식용(edible) 흡광 또는 발광물질일 수 있다.

[0058] 또한, 상기 식용 흡광 또는 발광물질은 예를 들어, 커큐민(curcumin), 알루라 레드 AC (Allura Red AC, FD&C Red No.40), 타르트라진 (FD&C Yellow No. 5), 인디고틴 (FD&C Blue No.2), 에리트로신 (erythrosine, FD&C Red No.3), 선셋 옐로우 (FD&C Yellow No. 6) 등을 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[0059] 이와 같이 식용 물질을 사용하는 경우에는 농산물, 축산물, 수산물 등 인체에 섭취되는 개체에 적용되는 경우에도 위해하지 않으므로 안전성을 확보할 수 있다는 장점이 있다.

[0060] 상기 식용 물질은 입체 셀 내부에 담지되는 바, 바이오분자와 물리적으로 접촉되거나 화학적으로 결합될 수 있다.

[0061] 예를 들어, 상기 커큐민은 1,7-비스(4-하이드록시-3-메톡시페닐)-1,6-헵타디엔-3,5-디온으로서, 하기 화학식(I)의 구조를 가지며, DNA 등의 바이오분자와 공유결합이 가능한 물질이다.



[0062]

[0063] 이 외에도 상기 흡광 또는 발광 물질은 예를 들어, 엽록소, 특히 엽록소 a 및 b, 박테리아 엽록소; 로즈 벵갈(rose bengal); 메틸렌 블루; Zn 프탈로사이아닌; 포피린, 특히 헤마토포피린, 유로포피린, 및 테트라페닐포피린 및 Zn, Al, Si, Sn, 프탈로사이아닌의 그의 복합체와, Zn, Al, Si, Sn 및 커큐민(Curcumin)과의 복합체; 클로린, 특히 박테리알클로린; 리보플라빈; 빌리루빈; 커큐민; EDTA; 다이에틸렌트라이아민 펜타아세트산 (DEPTA); NTA; EHDP; 에틸렌다이아민 테트라(메틸렌포스폰산); 다이에틸렌트라이아민 펜타(메틸렌포스폰산) 등을 들 수 있다. 이들은 약 380 내지 약 700 nm의 파장의 가시광을 흡수할 수 있는 바 가시광에 의해 활성화될 수 있다.

[0064] 또 다른 예에서, 상기 흡광 또는 발광물질은 자연광이나 조명 등의 아래에서는 발광하지 않거나 발광 정도를 인식할 수 없지만, 자외선 등의 특정 광원의 아래에서는 인식가능한 발광 특성을 나타내는 물질일 수 있다.

[0065] 예를 들어, 자외선 하에서 가시광 영역의 발광을 나타내는 발광 물질을 들 수 있다. 이러한 흡광 또는 발광물질은, 피렌 유도체, 카포스치릴 유도체, 지벤조오키사조틸 유도체, 티아졸(thiazole) 유도체, 이미다졸(imidazole) 유도체, 벤조 이미다졸(benzo imidazole) 유도체, 이미다졸린(imidazoline) 유도체, 피라졸린 유도체, 벤지딘(benzidine) 유도체, 스틸벤(stilbene) 유도체, 디술폰산 유도체, 나프탈이미드 유도체 등을 들 수 있고, 단독으로 또는 2 종 이상을 혼합하여 이용할 수 있다.

[0066] 3차원 입체 셀

[0067] 상기 3차원 입체 셀은 복수 개의 박편상 무기시트로 이루어져 있다. 상기 무기시트들은 내면에 결합되는 바이오분자와 결합되어 있고, 무기시트들 상호 간은 물리적 흡착, 수소결합, 정전기적 인력 등에 의해 결합되어 있다. 따라서, 안정적으로 입체 형태를 유지할 수 있다.

[0068] 상기 무기시트는 예를 들어, 양이온성 점토 또는 음이온성 점토 성분으로 이루어질 수 있다.

[0069] 하나의 예에서, 상기 무기시트는 양이온성 전하를 띄고, 상기 바이오분자는 음이온성 전하를 띄는 것일 수 있다.

[0070] 상기 양이온성 전하를 띄는 무기시트는 예를 들어, 하기 화학식 I 내지 화학식 IV 중 어느 하나로 표현되는 양이온성 무기시트일 수 있다.

[0071] <화학식 I>



[0073] <화학식 II>



[0075] <화학식 III>



[0077] <화학식 IV>



[0079] 상기에서, M^+ 는 1가 금속 양이온을 나타내고, M^{2+} 및 M'^{2+} 는 2가 금속 양이온을 나타내며; M^{3+} 은 3가 금속 양이온을 나타내고, x 는 0.01 내지 0.5의 수이고, x' 는 1 초과 2 미만의 수이다.

[0080] 하나의 예에서, 상기 M^{2+} 은 마그네슘(Mg^{2+}), 칼슘(Ca^{2+}), 코발트(Co^{2+}), 니켈(Ni^{2+}), 구리(Cu^{2+}) 및 아연(Zn^{2+})으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0081] 또한, 상기 M^{3+} 은 알루미늄(Al^{3+}), 크롬(Cr^{3+}), 철(Fe^{3+}), 인듐(In^{3+}), 바나듐(V^{3+}), 티타늄(Ti^{3+}) 및 갈륨(Ga^{3+})으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0082] 상기 화학식 I의 조성을 갖는 무기물의 구체적인 예로는 $Mg_{0.6-0.7}Al_{0.3-0.4}(OH)_2$ 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0083] 상기 화학식 I 내지 화학식 IV 중 어느 하나로 표현되는 무기시트는 x 또는 x' 의 양전하를 띄는 바, DNA, RNA 등과 같이 음전하를 띄는 바이오분자와 정전기적 인력으로 결합될 수 있다.

[0084] 또한, 이러한 무기시트는 pH 4이하에서 인산 완충용액 등의 산성 완충용액으로 처리시 서서히 녹으므로 바이오분자 만을 용이하게 추출할 수 있다는 장점이 있다.

[0085] 상기 무기시트는 나노 사이즈일 수 있는 바, 예를 들어, 길이가 1 내지 500 nm이고, 두께가 0.1 내지 50 nm일 수 있다. 본 명세서에서, 용어 '나노', '나노 사이즈'는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 10000 나노미터(nm) 이하의 직경 또는 길이를 갖는 입자 또는 복합체를 의미한다. 또한, 용어 '마이크로', '마이크로 사이즈'는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 10000 nm 초과와 직경 또는 길이를 갖는 입자 또는 복합체를 의미한다.

[0086] 이러한 나노 사이즈의 2차원 무기시트 복수 개가 상호 결합되어 3차원의 입체 셀을 형성한다. 따라서, 무기 시트의 형상, 개수, 크기 등을 조절함으로써 입체 셀의 형상, 크기를 용이하게 조절할 수 있다.

[0087] 상기 입체 셀의 형상은 특별히 제한되지 않으며, 내부에 담지된 바이오분자의 형상에 대응하는 형상을 가질 수 있다. 예를 들어, 구형, 타원형, 사각형 등 다양한 형태일 수 있다.

[0088] 하나의 예에서, 상기 입체 셀은 구형일 수 있으며, 예를 들어, 에스펙트비(a/b)가 1 내지 500일 수 있다. 상기 입체 셀의 크기는 바이오분자의 부피에 대략 대응하는 바, 수 나노미터 내지 수백 마이크로미터일 수 있다.

[0089] 본 발명의 예시에 따른 바이오-무기 복합체는 필요에 따라 표면개질, 코팅 등을 통해 임의의 매체에서 우수한 분산성을 확보할 수 있다. 이에, 적용 분야를 확장하고 장기적/항구적으로 안정성을 유지할 수 있다.

[0090] 2. 바이오-무기 복합체의 제조방법

[0091] 본 발명은 또한 상기 바이오-무기 복합체를 제조하는 방법을 제공한다. 하나의 예에서, 상기 바이오-무기 복합체의 제조방법은 하기 단계들을 포함할 수 있다.

[0092] (1) 층상 구조를 갖는 무기물을 박리화하여 박편상 무기시트를 제조하는 단계; 및

[0093] (2) 상기 박편상 무기시트 및 바이오분자를 혼합하여 바이오-무기 복합체를 형성하는 단계.

[0094] 상기 단계(1)에서, 층상 구조를 갖는 무기물은 예를 들어, 층상형 금속 수산화물일 수 있다. 이는 약 염기성 또는 중성의 무기 화합물로서 생체 독성이나 피부 자극 등의 부작용이 없는 생체 친화성이 우수한 물질로서, 예를 들어, 하기 화학식 1 내지 화학식 4로 표시되는 화합물들 중 어느 하나일 수 있다.

[0095] <화학식 1>



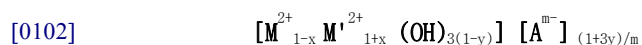
[0097] <화학식 2>



[0099] <화학식 3>



[0101] <화학식 4>



[0103] 상기에서, M^+ 는 1가 금속 양이온을 나타내고, M^{2+} 및 M'^{2+} 는 2가 금속 양이온을 나타내며; M^{3+} 은 3가 금속 양이온을 나타내고; A는 층간 음이온을 의미한다. m은 음이온의 전하수이며; x는 0.01 내지 0.5의 수이고, x' 는 1 초과 2 미만의 수이며, y는 1 이하의 수이다.

[0104] 상기 2가 금속 양이온은 예를 들어, Mg^{2+} , Ca^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , 또는 Zn^{2+} 등을 들 수 있고, 상기 3가 금속 양이온은 예를 들어 Al^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Ga^{3+} , In^{3+} , V^{3+} , 또는 Ti^{3+} 등을 들 수 있다.

[0105] 상기 음이온으로는 예를 들어, CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , F^- , Cl^- , OH^- , 기타 음이온종 등을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0106] 상기 화학식 1의 층상형 금속 수산화물(LMH; Layered Metal Hydroxide)을 통상 층상 이중 수산화물(Layered Double Hydroxide, LDH)라고 한다. 구체적인 예에서, $Mg_{0.6-0.7}Al_{0.3-0.4} (OH)_2 \cdot (CO_3)_{0.1-0.2}$, 또는 $Mg_2Al(OH)_6(NO_3)$ 등을 들 수 있다.

[0107] 또한, 상기 화학식 3의 화합물의 예로는 $Zn_5(OH)_8(NO_3)_2$ 또는 $Zn_3(OH)_4A_2$ (여기서, A 은 상기에서 정의된

바와 같다)로 표시되는 아연 염기성염(Zinc Basic Salt, ZBS) 등을 들 수 있다.

[0108] 이러한 층상 구조를 갖는 무기물은 다양한 방법으로 제조될 수 있는 바, 예를 들어, 상기 화학식 1의 층상 이중 수산화물은 2가 양이온과 3가 양이온 금속염의 수용액을 염기성 물질로 공침시키고 수열반응하여 제조될 수 있다. 상기 염기성 물질은 예를 들어 수산화나트륨(NaOH) 또는 암모니아(NH₃) 등을 들 수 있다.

[0109] 상기 공침 반응시 반응용액의 pH는 5 ~ 12 또는, 6 ~ 9일 수 있다. 상기 반응용액의 pH가 5 미만이거나 12 를 초과하는 경우에는 층상 이중 수산화물이 아니라 단일 이중층 수산화염 또는 금속 산화염이 생성되는 문제가 있다.

[0110] 또한, 상기 공침반응은 공기 중 이산화탄소에 의해 탄산 이온(CO₃²⁻)이 생성되는 것을 방지하기 위해 질 소기체 또는 불활성 기체를 연속적으로 투입하여 불활성 분위기에서 수행될 수 있다.

[0111] 상기 공침반응시 금속 이온의 농도, 금속 이온의 비율, 적정 속도, 총 반응 시간 등의 조건에 따라서 원하는 조성, 입형 및 입도를 지니는 입자로 얻어낼 수 있다.

[0112] 상기 단계(1)에서 층상 구조를 갖는 무기물을 박리화하는 방법은 특별히 제한되지 않으며 예를 들어, 이온 교환 방법이나 특정한 용매를 사용하는 방법을 들 수 있다. 상기 이온 교환 방식은 예를 들어, 층상 이중 수산화물의 층간에 존재하는 질산(NO₃⁻), 염화(Cl⁻), 탄산(CO₃²⁻) 등의 음이온을 긴 탄소사슬의 음이온성 이온으로 치환하는 방식일 들 수 있다.

[0113] 또한, 부탄올 등의 유기용매를 사용하는 방법, 포름아마이드(Formamide; HCONH₂)를 용매로 사용하는 방법을 들 수 있다.

[0114] 상기 포름아마이드는 층상 이중 수산화물의 층간에 존재하는 층간수(H₂O)와 강한 수소 결합을 함으로써 층 사이에 삽입되고 층간의 사이를 팽창시켜 판상 격자를 낱장으로 쪼갤 수 있다(Chem. Mater., 2005, 17, 4386.). 이와 같이 포름아마이드를 이용하는 경우 순간적으로 박리가 일어남으로써 신속하게 반응을 진행시킬 수 있다. 또한, 상기 포름아마이드를 이용한 박리화 방법은 별도의 온도를 가해주지 않아도 박리화 상태를 유지할 수 있다는 장점이 있다. 구체적인 예에서, Mg₂Al(OH)₆(NO₃)를 포름아마이드에 0.05% 농도로 분산시켜 질소 분위기 하에서 25℃에서 교반하면 박리화됨으로써 박편상의 무기시트가 된다.

[0115] 상기 포름아마이드 내에서 박리된 2차원 무기시트의 농도는 0.01 내지 0.5 중량%일 수 있다. 상기 2차원 무기시트의 농도가 0.5 중량% 이상일 경우 단일층으로 박리화되지 않은 층상 이중 수산화물이 존재할 수 있다.

[0116] 상기 박리화 여부는 빛을 조사하면 미립자에 의해 산란되는 틴들현상(Tyndall phenomenon)으로 확인할 수 있다.

[0117] 상기 단계(2)는 박편상 무기시트 및 바이오분자를 혼합하여 바이오-무기 복합체를 형성하는 단계로서, 상기 박편상 무기시트와 바이오분자가 반대전하를 띠므로써 정전기적 인력을 통해 상호 결합될 수 있다. 예를 들어, 양이온성 전하를 띠는 무기시트와 음이온성 인산기를 갖는 DNA는 강한 정전기적 인력에 의한 자가조립(self-assembly)을 통해 상호결합되면서 DNA가 무기시트에 의해 캡슐화될 수 있다.

[0118] 상기 바이오분자의 양은 2차원 무기시트의 전체 중량을 기준으로 약 0.1 내지 10배의 중량비일 수 있다. 상기 바이오분자의 중량이 무기시트의 10배를 초과하는 경우 바이오분자를 완벽하게 캡슐화시키지 못하여 바이오분자의 일부가 외부환경에 노출될 수 있다. 하나의 예에서, 상기 바이오분자: 박리된 무기시트는 0.1: 10 ~ 10: 1 또는 1: 1 ~ 2: 1의 질량비일 수 있다. 또한, 0.5: 1 ~ 2: 1의 부피비일 수 있다.

[0119] 본 발명의 예시와 같이, LDH 등과 같이 층상구조를 갖는 무기물을 박리화-재조합(Exfoliation-Reassembling)하여 무기공동 안에 바이오분자를 삽입하는 경우 외부 환경으로부터 안정화된 바이오-무기 복합체를 제조할 수 있다. 또한, 재조합 단계가 매우 단시간 내에 이루어짐으로써 공정 효율이 높다.

[0120] 3. 바이오-무기 복합체를 포함하는 식별용 조성물

[0121] 상기 예시된 바이오-무기 복합체는 암호화된 정보를 포함하고 있다. 이에, 본 발명은 상기 바이오-무

기 복합체를 포함하는 식별용 조성물을 제공한다. 상기 식별용 조성물은 예를 들어, 보안기술, 상품식별기술, 진위판별기술, 이력추적시스템, 위조복제 방지기술 등 개체식별이 활용되는 분야에 사용될 수 있는 각종 조성물을 모두 포함한다.

[0122] 구체적인 예에서, ID카드, 여권 등 위조 및 복제가 쉬운 보안 제품; 진품, 명품 등 도난 위험이 있는 고가 제품; 제품 이력이 조작 및 둔갑할 수 있는 유통과정에서 품질 관리가 필요한 제품; 등 다양한 매개체에 포함, 분산 또는 도포되는 조성물을 들 수 있다.

[0123] 예를 들어, 본 발명의 조성물을 보안 제품의 제조를 위한 기기감응물질(Machine readable materials), 미세추적물질(Micro tracer), 주화용 신소재, 위·변조 방지용 특수 잉크·안료·페인트·도료 등에 혼합하고 분산시켜 사용하는 방법; 특수 인쇄 보안용지, 제지용 특수 섬유, 고내구성지(Durable papers)에 직접 삽입하는 방법; 이외 물리적·화학적 흡착으로 적절하게 개체 및 포장지에 직접 도포하는 방법; 등으로 표시하여 사용할 수 있다.

[0124] 하나의 예에서, 상기 식별용 조성물은 상기 바이오-무기 복합체를 포함하는 잉크, 도료, 페인트, 코팅제 등을 들 수 있다. 상기 조성물은 필요에 따라, 안료, 분산제, 계면활성제, 용매 등을 더욱 포함할 수 있다.

[0125] 상기 안료는 예를 들어, 아조안료(예를 들면, 아조 레이크(azo rake), 불용성 아조 안료, 축합 아조 안료 등을 포함한다), 다환식 안료(예를 들면, 프탈로시아닌(phthalocyanine) 안료, 페릴렌 안료, 페리논 안료, 안트라퀴논(anthraquinone) 안료, 퀴나크리돈(quinacridone) 안료, 티오 인디고(thio indigo) 안료, 이소인돌리논(isoindolinone) 안료, 니트로(nitro) 안료, 니트로소(nitroso) 안료, 아닐린 블랙(aniline black) 등의 유기 안료; 카본 블랙 (예를 들면, furnace 블랙, 서멀 램프 블랙, 아세틸렌 블랙, 채널 블랙 등), 금속 산화물, 금속 유화물, 금속염 분말 등의 무기안료; 실리카, 탄산칼슘, 활석(talc) 등의 안료 등을 이용할 수 있다.

[0126] 구체적인 예로는, C.I.안료 옐로 74, 93, 109, 110, 128, 138, 150, 151, 154, 155, 180, 185; C.I. 안료 레드 122, 202, 209; C.I.안료 바이올렛 19; C.I.안료 블루 15:3, 15:4, 60; C.I. 안료 그린 7(프탈로시아닌 그린), 10(그린 골드), 36, 37; C.I. 안료 브라운 3, 5, 25, 26; C.I.안료 오렌지 1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 34, 36, 38 등을 들 수 있다.

[0127] 상기 안료 분산제는, 예를 들면, 폴리비닐 알코올류; 폴리비닐 피롤리돈류; 폴리 아크릴산, 아크릴산-아크릴 니트릴 공중합체, 아크릴산 칼륨-아크릴 니트릴 공중합체, 초산비닐-아크릴산 에스테르 공중합체, 아크릴산-아크릴산 알킬 에스테르 공중합체 등의 아크릴계 수지; 스티렌-아크릴산 공중합체, 스티렌-메타크릴산 공중합체, 스티렌-메타크릴산-아크릴산 알킬 에스테르 공중합체, 스티렌- α -메틸스티렌-아크릴산 공중합체, 스티렌- α -메틸 스티렌-아크릴산-아크릴산 알킬 에스테르 공중합체 등의 스티렌-아크릴 수지; 스티렌-말레인산 공중합체; 스티렌-무수 말레인산 공중합체; 비닐 나프탈렌-아크릴산 공중합체; 비닐 나프탈렌-말레인산 공중합체; 초산비닐-에틸렌 공중합체, 초산비닐-지방산 비닐 에틸렌 공중합체, 초산비닐-말레인산 에스테르 공중합체, 초산비닐-크로톤산 공중합체, 초산비닐-아크릴산 공중합체 등의 초산비닐계 공중합체; 젤라틴, 카제인, 알부민 등의 단백질류; 아라비아 고무 등의 천연 고무류; 사보닌 등의 글루코시드 류; 알긴산 및 알긴산 프로필렌 글리콜 에스테르, 알긴산암모늄 등의 알긴산 유도체; 메틸 셀룰로오스, 히드록시 에틸 셀룰로오스, 에틸 히드록시 셀룰로오스 등의 셀룰로오스 유도체 등을 들 수 있고, 이러한 1종을 단독으로 또는 2종 이상을 혼합하여 이용할 수 있다.

[0128] 상기 계면활성제로는, 조성물의 매체에의 침투성을 높일 수 있는 것으로서, 양성 계면활성제 및 비이온 계면활성제를 들 수 있다. 계면활성제의 함유량은, 조성물의 전체 함량에 대해 0.3~2 중량%일 수 있다.

[0129] 상기 계면활성제의 중 아세틸렌 글리콜계 계면활성제는 화질, 토출 안정성 등이 우수하다. 시판 아세틸렌 글리콜계 계면활성제로는, 사피놀 82, 104, 440, 465, 485, 또는 TG(Air Products and Chemicals. Inc.), 올핀 STG, 올핀 E1010 (상품명)(이상, 닛신 화학사제) 등을 들 수 있다. 실리콘(silicone)계 계면활성제도 이용할 수 있다. 시판 실리콘계 계면활성제로는, BYK347, 348 등을 들 수 있다.

[0130] 상기 수용성 유기용제는, 조성물에 포함되는 각종 성분의 용해성의 향상, 또는 잉크젯 인쇄 등에 있어서 토출 안정성의 향상 등에 유용한 것을 이용할 수 있다. 예를 들어, 에틸렌 글리콜, 디에틸렌글리콜, 트리에틸렌 글리콜, 테트라 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 디프로필렌 글리콜, 트리프로필렌 글리콜, 1, 3-프로필렌 글리콜, 이소프로필렌 글리콜, 이소부틸렌 글리콜, 1,4-부탄디올, 1,3-부탄디올, 1,5-펜탄디올, 1,6-헥산디올, 글리세린, 메소에리스리톨, 펜타에리스리톨, 2-피콜리돈, 에탄올, 메탄올, 부타놀, 프로판올, 이소프로판올

등의 탄소수 1-4의 알킬 알코올류, 에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르, 에틸렌 글리콜 모노부틸 에테르, 에틸렌 글리콜 모노메틸 에테르 아세테이트, 디에틸렌글리콜 모노메틸 에테르, 1-메틸-1-메톡시 부타놀, 프로필렌 글리콜 모노메틸 에테르 등의 글리콜 에테르류, 포름아미드, 아세트아미드, 디메틸 설펝사이드, 소르비톨, 소르비탄, 설펝 포란 등을 들 수 있고, 이러한 1종을 단독으로 또는 2종 이상을 혼합하여 이용할 수 있다. 수용성 유기용제는 조성물의 총 함량에 대해 1~30 중량%로 포함될 수 있다.

[0131] 이 외에도, 디에탄올아민, 트리에탄올아민 등의 pH 조정제, 글루코스 등의 당류(잉크젯에 있어서 노즐 로딩 방지제), 방부제, 점도 조정제, 소포제, 자외선 흡수제, 산화 방지제 등이 더욱 포함될 수 있다.

[0132] 또 다른 측면에서, 상기 바이오-무기 복합체는 소정의 라벨 형태로 포함될 수 있다. 바이오-무기 복합체의 첨가 형태는 특별히 제한되지 않는 바, 예를 들어, 상기 바이오-무기 복합체를 포함하는 조성물을 라벨에 도포하는 방법, 상기 라벨의 제조시 바이오-무기 복합체 자체를 첨가하는 방법, 라벨에 바이오-무기 복합체를 인쇄하는 방법 등을 들 수 있다. 예를 들어, ① 용매에 분산하여 라벨에 도포하는 방법, ② 종이 등의 상품 제조시 직접 첨가하는 방법, ③ 라벨 인쇄용 잉크, 도료 등에 혼합하여 사용하는 방법 등을 모두 포함한다.

[0133] 4. 바이오-무기 복합체를 이용한 식별시스템

[0134] 본 발명은 상기 바이오-무기 복합체를 이용한 개체식별시스템을 제공한다. 이와 관련하여, 도 3에는 본 발명의 일 예에 따른 개체 식별시스템의 순서도가 모식적으로 도시되어 있는 바 이를 참조하여 이하 구체적으로 살펴본다.

[0135] 하나의 예에서, 상기 개체식별시스템은 하기 단계들을 포함할 수 있다.

[0136] a. 개체에 상기 바이오-무기 복합체를 소지시키는 단계(S3);

[0137] b. 개체로부터 상기 바이오-무기 복합체의 존부를 확인하는 제 1 식별단계(S4);

[0138] c. 상기 바이오-무기 복합체 내 바이오분자의 정보를 해독하는 제 2 식별단계(S6).

[0139] 상기 제 1 식별단계(S4)에서, 바이오-무기 복합체가 존재한다고 판명되는 경우에는 제 2 식별단계(S6)를 수행하고, 상기 단계(S6)에서 바이오-무기 복합체가 존재하지 않는다고 판명되는 경우에는 식별하고자 하는 개체가 위조인 것으로 판단할 수 있다.

[0140] 본 발명의 실시예에서는, 바이오분자에 암호화된 정보를 포함시키고 이를 해독함으로써 개체식별을 수행하고, 2 단계의 식별단계를 거침으로써 개체식별의 신뢰성 및 식별력이 높다. 또한, 각각의 식별단계를 용이하고 신속하게 수행할 수 있으므로 진위 판별, 이력 추적 등의 시스템에 적용시 접근성이 매우 높은 시스템으로 구축될 수 있다.

[0141] 상기 단계(S3)는 식별하고자 하는 개체에 바이오-무기 복합체를 소지시키는 단계인 바, 상기 단계 이전에 바이오-무기 복합체 내에 개체 식별을 위한 정보를 바이오-무기 복합체 내에 담지되는 바이오분자에 암호화한다. 이에, 단계(S3)는 하기 단계들로 이루어질 수 있다.

[0142] 특정한 개체의 식별에 필요한 정보를 염기서열로 암호화한 바이오분자를 제작하는 단계(S1);

[0143] 상기 바이오분자를 포함하는 바이오-무기 복합체를 제조하는 단계(S2);

[0144] 상기 바이오-무기 복합체를 개체에 소지시키는 단계(S3).

[0145] 상기 바이오분자에 정보를 암호화하는 방법은 예를 들어, 특정한 개체의 인증에 필요한 정보를 염기서열로 암호화하는 방안을 들 수 있다.

[0146] 또한, 상기 바이오-무기 복합체를 개체에 소지시키는 방법은 예를 들어, 바이오-무기 복합체 자체를 개체에 부가하는 방법, 또는 바이오-무기 복합체를 소정의 조성물이나 라벨 형태 등 다양한 식별용 매체(medium)에 부가한 후 이러한 매체를 개체에 부가하는 방법 등 다양할 수 있으며 특별히 제한되지 않는다.

[0147] 상기 제 1 식별단계(S4)에서, 바이오-무기 복합체의 존부를 확인하는 것은 특별히 제한되지 않으며 예를 들어, 상기 바이오-무기 복합체 내에는 흡광 또는 발광물질이 담지되어 있거나 바이오분자와 흡광 또는 발광물질이 결합되어 있고, 상기 제 1 식별단계에서 바이오-무기 복합체의 존부는 흡광 또는 발광물질의 존부를 검출할 수 있는 수단을 이용하여 발광 여부 검출을 통해 수행할 수 있다.

- [0148] 상기 제 2 식별단계(S6)는 바이오-무기 복합체 내 바이오분자의 정보를 해독하는 단계로서, 상기 바이오분자 내에는 암호화된 정보가 함유되어 있으므로 바이오분자를 분리하여 암호화된 정보를 해독할 수 있다.
- [0149] 하나의 바람직한 예에서, 상기 제 2 식별단계(S6)는 하기 단계들로 이루어질 수 있다.
- [0150] i. 개체로부터 바이오-무기 복합체를 분리하는 단계; 및/또는
- [0151] ii. 바이오-무기 복합체로부터 바이오분자를 추출하는 단계(S5);
- [0152] iii. 상기 추출된 바이오분자에 함유된 개체의 암호화된 정보를 해독하는 단계(S6).
- [0153] 상기 단계(i)에서 바이오-무기 복합체를 분리하는 방법은 특별히 제한되지 않으며, 개체가 바이오-무기 복합체를 소지하는 형태에 따라 다를 수 있다.
- [0154] 하나의 예에서, 상기 바이오-무기 복합체는 pH 4~5 이하의 산성 완충 용액을 사용하여 약 30분 내지 6시간 동안 용해시킴으로써 분리될 수 있다. 상기 산성 용액은 예를 들어, 인산 완충용액, 질산, 염산 등을 들 수 있다.
- [0155] 상기 단계(ii)에서 바이오-무기 복합체로부터 바이오분자를 추출하는 방법은 예를 들어, 바이오-무기 복합체에 EDTA(Ethylene diamine tetra acetic acid)를 첨가하여 무기시트를 제거함으로써 추출할 수 있다.
- [0156] 상기 EDTA는 금속 양이온과 강하게 결합하여 킬레이트 화합물을 형성하는 물질이다. 따라서, 입체 셀을 이루는 무기시트와 킬레이트를 형성시킴으로써 무기시트를 제거하여 내부에 담지된 바이오분자를 변형 또는 변형시키지 않고 안전하게 추출할 수 있다.
- [0157] 한편, 바이오분자가 이중 가닥 폴리뉴클레오티드인 경우 상기 단계(ii) 이후에 단일 가닥 형태로 만드는 단계를 추가로 거칠 수 있다. 상기 단일가닥으로 만드는 단계는 예를 들어, 뉴클레아제가 없는 하이브리드 버퍼(SSC, SDS 등)에 첨가하여 40 ~ 100℃에서 열을 가하여 수행될 수 있다.
- [0158] 상기 제 2 식별단계(S6)에서 바이오분자 내 함유된 정보를 해독하는 방법은 특별히 제한되지 않으며, 공지의 다양한 바이오분자 분석기를 이용하여 수행될 수 있다.
- [0159] 또한, 염기서열 또는 아미노산 형태의 정보인 경우 바이오분자 자체의 서열을 분석함으로써 해독할 수도 있고, 상기 바이오분자의 서열과 혼성화 결합을 할 수 있는 프로브를 이용하여 수행될 수도 있다.
- [0160] 구체적인 예에서, 상기 바이오분자는 염기서열의 형태로 암호화된 유전정보를 포함하는 폴리뉴클레오티드이고, 상기 바이오분자의 염기서열에 상보적인 염기서열을 갖는 프로브와 혼성화 반응을 통해 암호화된 유전정보를 해석할 수 있다.
- [0161] 상기 바이오분자와 혼성화 반응을 할 수 있는 프로브는 바이오센서의 형태로 제공될 수 있으며, 바이오분자를 반응시켜 혼성화 반응 여부를 통해 수행될 수 있다.
- [0162] 하나의 예에서, 상기 바이오센서에는 프로브가 특정한 패턴으로 배열되어 있을 수 있고, 혼성화 반응을 통해 바이오센서 상에 특정한 패턴이 발현되는지 여부를 파악하여 개체의 2차 식별을 수행할 수 있다.
- [0163] 상기에서 혼성화 반응 여부 및/또는 패턴의 발현 여부는 예를 들어, 형광 이미지 검출을 통해 수행될 수 있다.
- [0164] 예를 들어, 상기 바이오-무기 복합체 내 바이오분자 및/또는 프로브에 형광물질이 부착되어 있는 경우 혼성화 반응이 이루어졌을 때 형광을 발현하므로 형광 검출기를 이용하여 용이하게 판단할 수 있다.
- [0165] 이에 예를 들어, 형광 이미지를 통해 검출된 패턴이 미리 설정한 프로브의 패턴과 일치하는 경우에는 개체가 위조가 아니라고 판단할 수 있다. 상기 혼성화는 순식간에 수행될 수 있으며, 혼성화 즉시 형광 신호가 방출되는 바, 광학 이미지를 즉각적으로 획득할 수 있다. 이에, 형광 이미지를 육안으로 인식, 확인함으로써 정보의 일치 여부를 즉시 판단할 수 있다.
- [0166] 따라서, 형광 이미지 또는 패턴의 검출을 통해 개체식별을 수행하는 경우 정보 코드를 신속/정확하게 검출 및 판독하고 고유 정보를 이미지화시킴으로써 누구나 육안으로 식별하고 동일성 여부를 직감으로 판단할 수 있다.
- [0167] 경우에 따라, 상기 혼성화 반응 후 바이오센서를 세척하여 혼성화되지 않은 미반응 바이오분자를 제거

하는 단계를 추가로 거칠 수 있다.

[0168] 하나의 예에서, 상기 제 2 식별단계(S6)를 거친 후 상기 바이오분자의 암호화된 유전정보를 해석하는 제 3 식별단계(d)를 더욱 포함할 수 있다.

[0169] 상기 제 3 식별단계(d)는 예를 들어, 바이오분자 내 서열을 해석하는 단계일 수 있다. 이러한 서열 해석은 예를 들어, 폴리뉴클레오티드 등의 바이오분자를 PCR 방법 등을 이용하여 서열을 분석한 후 서열의 암호를 해독함으로써 수행할 수 있다.

[0170] 본 발명에 따른 개체식별시스템을 이용하는 경우, 개체식별의 신뢰성, 신속성, 정확성을 확보하여 복제, 위조로 야기되는 심각한 사회 문제를 해결할 수 있는 실용적이고 대중적인 보안 시스템, 정보 시스템을 마련할 수 있다.

[0171] 본 발명의 예시에 따른 식별 시스템은 다양한 매체에 적용될 수 있는 바, 예를 들어, 신분증, 스마트카드, 여권, 특수 인쇄물, 지폐, 주화, 국새, 인장 등 위, 변조의 위험성이 도사리는 보안 제품과 그림, 도자기, 서예 작품, 공예품, 조각품, 고서, 귀중본, 박물관 소장품 등의 복제와 도난의 다중 위협을 받는 예술품, 고가의 반지, 목걸이, 시계, 악기, 장인(匠人)작품 등 소유자의 확인이 필요한 물품, 뺑소니 사고, 오페수 방출 등 사건/사고 가해자의 신원 파악과 광우병, 조류 독감 등 질병의 원인자 추적, 그리고 유통과정에서 원산지, 생산자, 수확시기, 유통기한 표시 등의 제품 이력이 조작되어 엉터리로 둔갑된 가전제품, 식품, 농/축/수산물, 유기농 제품 등의 품질관리 등에 적용할 수 있다.

[0172] 5. 바이오센서

[0173] 본 발명은 또한, 상기 개체식별용 시스템에 사용되는 바이오센서를 제공한다. 상기 바이오센서는 본 발명에 예시된 바이오-무기 복합체 내 바이오분자와 혼성화 결합을 하는 프로브를 포함하는 소자로서, 마이크로레이(Microarray), 마이크로플루이딕스(Microfluidics) 형태 등을 들 수 있다.

[0174] 하나의 예에서, 상기 바이오센서는 바이오-무기 복합체 내에 포함된 바이오분자와 혼성화 결합을 할 수 있는 프로브가 고정기질에 점적된 소자일 수 있다. 상기 바이오분자는 예를 들어, 염기서열로 암호화된 유전정보를 포함하는 폴리뉴클레오티드 또는 아미노산 서열로 암호화된 유전정보를 포함하는 폴리펩티드일 수 있다. 이 경우, 상기 프로브는 상기 폴리뉴클레오티드의 염기서열에 상보적인 염기서열을 갖는 프로브 또는 상기 폴리펩티드에 상보적인 아미노산 서열을 갖는 프로브일 수 있다.

[0175] 상기 소자에서, 바이오분자, 프로브, 및 상기 바이오분자와 혼성화결합을 하지 않는 프로브를 적절히 조합하여 패턴화할 수 있다. 이에, 바이오분자와 프로브의 혼성화 결합시 패턴의 형상을 검출함으로써 개체식별에 이용될 수 있다. 예를 들어, 상기 프로브 또는 바이오분자에 형광물질이 부착되어 있는 경우, 혼성화 반응시 형광물질의 검출을 통해 패턴을 분석할 수 있다.

[0176] 이러한 패턴화는, 1) 다양한 형식의 다중 형광 검출 신호, 2) 미리 설정한 부위(Spot)의 검출 여부를 통한 판독, 3) 특이하게 디자인한 광학 이미지를 통한 육안 인식, 4) 개체의 고유 정보와 의미가 상통하는 특유한 상징(Symbol)/로고(Logo)/상표(Trademark) 이미지의 구현 등의 방대한 방법으로 수행될 수 있다.

[0177] 상기 바이오센서는 유리 슬라이드 등의 고정기질 표면에 프로브를 집적, 배열하여 제조될 수 있다. 이러한 형태의 바이오센서는 신속하게 바이오분자 내 코드를 검색하고 정확하게 검출할 수 있어서, 기존의 PCR 기술을 효과적으로 대체할 수 있는 획기적인 방법이다.

[0178] 상기 고정기질은 광학 검출을 허용하며 신호 방출을 간섭하지 않는 소재라면 특별히 제한되지 않으며, 예를 들어, 가소성 물질, 세라믹, 유리, 폴리스티렌, 메틸스티렌, 아크릴 중합체, 상자성 물질, 토리아 솔, 탄소 그래파이트, 이산화탄, 라텍스 또는 가교-결합된 텍스트란 예컨대 세파로스, 셀룰로스, 나일론, 가교 결합된 마이셀(micelle), 테프론(Teflon) 등을 들 수 있다.

[0179] 상기 고정기질의 표면 또는 프로브는 부착을 용이하게 하기 위해 개질될 수 있다. 예를 들어, 상기 아미노기, 카르복시기, 옥소기 및 티올기 등의 반응성 작용기 또는 링커 분자를 포함하도록 개질될 수 있다. 구체적인 예에서, 유리 슬라이드는 알데하이드(-CHO) 등으로 표면개질될 수 있고, 상기 프로브는 말단에 아민(NH₂)이 부착될 수 있다.

[0180] 상기 프로브가 점적된 스왑은 아주 높은 밀도, 높은 밀도, 중간 밀도, 낮은 밀도 또는 아주 낮은 밀도

로 제조될 수 있다. 아주 높은-밀도 바이오센서의 범위는 약 10,000,000 내지 약 2,000,000,000 개의 스팟을 갖는다. 높은-밀도 바이오센서의 범위는 약 100,000 내지 약 10,000,000 개의 스팟을 갖는다. 중간 밀도 바이오센서는 약 10,000 내지 약 50,000 개의 스팟을 갖는다. 낮은-밀도 바이오센서는 일반적으로 10,000 개 미만의 스팟을 갖는다. 아주 낮은-밀도 바이오센서는 1,000 개 미만의 스팟을 갖는다.

[0181] 프로브 스팟들은 패턴, 즉 규칙적인 디자인 또는 구성을 포함하거나, 또는 랜덤하게 분포될 수 있다. 규칙적인 패턴 스팟들은 X-Y좌표 평면상에 지정되도록 사용될 수 있다.

[0182] 따라서 상기 바이오센서는 바이오분자가 혼성화되는 위치를 사전에 임의로 디자인하여 판독 결과가 광학 그래픽 이미지로 판독될 수 있다. 이에, 디자인한 패턴 이미지와 혼성화 반응에 의한 광학 그래픽 이미지가 일치하는지 여부를 통해 개체식별을 수행할 수 있다.

[0183] 상기 바이오센서는 정확하고 신속하게 염기서열 등의 바이오분자내 암호화된 정보를 분석하여 사전에 부여한 정보/암호와 일치하는 경우에 생물학적 신호가 광학 신호로 전환되어 발신하는 다중 컬러 이미지 코드의 역할을 할 뿐만 아니라, 그 판독 정보를 부가 설명 없이도 누구나 쉽고 간단하게 육안으로 인식하여 일치 여부를 직감적으로 판별할 수 있다.

[0184] 이하, 본 발명의 실시예에 따라 본 발명을 상술한다.

[0185] X-선 회절(X-Ray Diffraction: XRD) 분석

[0186] - 시료의 전처리: 고체 분말 형태의 시료로 건조한 상태로 측정

[0187] - 측정기기: X선 회절기, Rigaku, D/Max 2200

[0188] - 측정 회절각 범위: 20~70도

[0189] 제타 전위(Zeta Potential)

[0190] - 시료의 전처리: 시료를 0.05% 농도로 각각의 용매에 분산시킨 후 측정

[0191] - 측정기기: 제타 전위 측정기, Marvern instruments, Zetasizer Nano ZS

[0192] 적외선 분광법(Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy)

[0193] - 시료의 전처리: KBr 과 혼합시켜 디스크 형태로 압축한 후 측정

[0194] - 측정기기: 적외선 분광기, Jasco, Jasco FT/IR-6100

[0195] - 측정 주파수 범위: 400~4000 cm^{-1}

[0196] 전기영동(Electrophoresis)

[0197] - 시료의 전처리: 각 과정에서의 조건에 따라 전처리

[0198] - 전기영동 조건: 5% 아가로스 젤에서 TBE(Tris Boric EDTA) 버퍼 용액을 사용하여 5 v/cm 전압으로 전기영동

[0199] - 측정기기: UV transilluminator, (주)GenDix, Bips, 2-D Fluorescence scanner, Amersham Biosciences, Typhoon 9400

[0200] 마이크로어레이 분석(Microarray analysis)

[0201] - 시료의 전처리: 각 과정의 조건에 따라 하이브리드 소자로 검출 후 스캔

- [0202] - 측정기기: 마이크로어레이 스캐너(Microarray scanner), Molecular Devices, GenePix 4000B
- [0203] [제조예 1] LDH의 형성
- [0204] 공침과 수열합성을 통하여 100 nm 크기의 LDH를 형성하였다. 0.3 M $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.15 M $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 를 탄산 이온(CO_3^{2-})이 제거된 3차 증류수에 녹이고, pH가 10 내지 11이 될 때까지 0.5 M NaOH로 적정한 후, 상온에서 30분간 강하게 교반하여 LDH 를 얻었다.
- [0205] 공침된 LDH를 수열합성 용기에 넣고 100°C에서 12 시간 동안 교반한 후, 원심분리기로 분리하며 세척 과정을 통해 미반응 염을 제거하여 100 nm의 균일한 크기의 LDH를 얻었다. 전 과정은 공기 중의 이산화탄소에 의한 탄산 이온(CO_3^{2-}) 생성을 방지하기 위하여 질소 분위기하에서 진행하였다.
- [0206] [제조예 2] 박편상 무기시트의 제조
- [0207] 상기 제조예 1에서 합성한 LDH를 포름아마이드에 0.05 중량%로 분산시켜, 상온에서 질소 분위기를 유지 하며 2일간 강하게 교반하여 박리화된 LDH 무기시트를 얻었다.
- [0208] [실시예 1] DNA-LDH 복합체 합성
- [0209] LDH 무기시트 콜로이드 용액에 50 내지 2500 bp 크기의 이중가닥 청어 DNA(Herring testis DNA)를 1:1 의 중량 비율로 혼합하여 상온에서 1시간 교반시켰다. 반응이 끝난 후 원심분리기로 분리하며 세척과정을 통해 과량의 DNA를 완전히 제거하여 DNA-LDH 복합체를 얻었다. 전 과정은 공기 중의 이산화탄소에 의한 탄산 이온(CO_3^{2-}) 생성을 방지하기 위하여 질소 분위기하에서 진행하였다.
- [0210] [제조예 3] 형광 DNA 제조
- [0211] 녹색 형광체인 시아닌 3가 부착되고, 35 bp 길이의 서열번호 1 [5'-(Cy3)ATTCGG ACG CTC ATC ATT CTG GTG TGG CTG CTG GC-3']로 기재되는 단일가닥 형광 DNA(Cy3-A); 및
- [0212] 적색 형광체인 시아닌 5가 부착되고, 서열번호 1에 상보적인, 서열번호 2[5'-(Cy5)GCC AGC AGC CAC ACC AGA ATG ATG AGC GTC CGA AT-3']로 기재되는 단일가닥 형광 DNA(Cy5-B)를 디자인한다.
- [0213] 상기 디자인 한 단일가닥 형광 DNA를 Integrated DNA Technologies(미국)에 의뢰하여 합성하였다.
- [0214] 이때, 각각의 단일가닥 형광 DNA는 헤어핀 루프(Hairpin loops)나 자가 이량체(Self dimer)가 형성되지 않도록 제조되었다. 단일가닥 형광 DNA를 각각 STE 버퍼(10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 50 nM NaCl, 1 mM EDTA)에 용해시켜 같은 농도로 섞은 후, 94°C에서 2분간 가열한 후 상온에서 천천히 식힘으로써 35 bp 크기의 이중가닥 형광 DNA를 합성되었다.
- [0215] [실시예 2] 형광 DNA-LDH 복합체 합성
- [0216] LDH 무기시트 콜로이드 용액에 제조예 3에서 제조된 이중가닥 DNA를 1:0.75의 중량 비율로 혼합하여 상 온에서 1시간 교반시켰다. 반응이 끝난 후 원심분리기로 분리하며 세척과정을 통해 과량의 DNA를 완전히 제거 하여 코어-셸 형태의 형광 DNA-LDH 복합체를 얻었다. 전 과정은 공기 중의 이산화탄소에 의한 탄산 이온(CO_3^{2-}) 생성을 방지하기 위하여 질소 분위기하에서 진행하였다.
- [0217] [실험예 1] DNA-LDH 복합체의 X선 회절 분석
- [0218] 상기 제조예 1에 따른 LDH, 상기 실시예 1에 따른 DNA-LDH 복합체 및 상기 실시예 2에 따른 형광 DNA-

LDH 복합체의 형태를 확인하기 위하여 X 선회절 분석을 수행하였다. 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0219] 도 4의 (a)에서 알 수 있는 바와 같이, 상기 제조예 1에 따른 LDH의 층간 간격은 0.79 nm로 질산 이온(NO₃⁻)이 삽입되어 있는 전형적인 층상구조임을 확인하였다.

[0220] 도 4의 (b)와 (c)에서 알 수 있는 바와 같이, 상기 실시예 1에 따른 DNA-LDH 복합체와 상기 실시예 2에 따른 형광 DNA-LDH 복합체는 2 θ <15 $^{\circ}$ 인 저각에서의 회절이 없으므로, 층상 구조의 복합체가 아닌 무정형임을 알 수 있다.

[0221] [실험예 2] DNA-LDH 복합체의 형성 확인

[0222] 상기 실시예 2에서 제조한 형광 DNA-LDH 복합체를 자외선 스펙트로미터(Perkin Elmer Lambda 35, 미국)로 확인하였다. 그 결과를 각각 도 5에 나타내었다.

[0223] 도 5에 따르면, 형광 DNA-LDH 복합체의 흡광 피크(도 6의 c 참조)는 형광 DNA의 흡광 피크(도 6의 b 참조) 및 LDH의 흡광 피크(도 6의 a 참조)를 모두 나타내고 있는 바, 형광체가 표지된 DNA가 LDH 무기시트로 이루어진 셀 내에 담지되었음을 알 수 있다.

[0224] [실험예 3] DNA-LDH 복합체의 투과 전자 현미경 분석

[0225] 상기 제조예 1에 따른 LDH, 상기 실시예 1에 따른 DNA-LDH 복합체 및 상기 실시예 2에 따른 형광 DNA-LDH 복합체의 형상 및 결정 구조를 미세하게 확인하기 위하여 투과 전자 현미경(JEOL JEM-2000EXII, 일본) 분석을 수행하였다. 각각의 시편을 예폭시 수지에 고정하여 50 nm 두께로 절단하여 특정한 염색 과정 없이 관찰하였다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0226] 도 6의 (a)에 나타난 바와 같이, 상기 제조예 1에 따른 LDH는 약 100 nm의 균일한 크기의 육각 형상의 입자이며, 층간 간격은 약 0.8 nm로 질산 이온(NO₃⁻)이 삽입되어 있는 LDH임을 확인하였다.

[0227] 도 6의 (b)에서 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에 따른 DNA-LDH 복합체는 박편상 LDH 무기시트가 무질서하게 거대한 길이의 DNA를 담지하여 카드의 집(House of card) 형태에 가까운 무정형 구조의 수 μ m 크기 DNA-LDH 복합체가 형성되었음을 알 수 있다.

[0228] 도 6의 (c)에서 나타난 바와 같이, 상기 실시예 2에 따른 형광-DNA-LDH 복합체 역시 박리된 약 10 nm 두께의 LDH가 재조합되면서 DNA가 내부에 담지된 약 150 nm 크기의 DNA-LDH 복합체가 형성되었음을 알 수 있다.

[0229] [실험예 4] DNA-LDH 복합체의 안정성 평가 실험

[0230] 상기 실시예 1 및 2에서 복합체 내 DNA의 안정성을 알아보기 위해 하기의 실험을 수행하였다.

[0231] DNA-LDH 복합체 및 형광 DNA-LDH 복합체를 각각 TE(Tris-EDTA) 완충용액에 분산시키고, DNA 분해효소인 DNase I와 반응 완충용액을 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 그리고 중단 완충용액(50 mM EDTA) 20 μ l를 첨가하여 70 $^{\circ}$ C에서 10분간 인큐베이션한 후, 원심 분리하여 효소와 완충용액을 제거하였다. 효소반응이 끝난 후에 pH 4의 염산 완충용액에 분산시키고, 상온에서 5시간 동안 용해시켜 DNA를 추출한 후, 1% 또는 5% 아가로스 젤에서 전기영동하였다. 자외선 및 광학 이미지 분석기(Typhoon 9400, 미국)로 스캔하여 전기영동 이미지를 수득하였고, 이를 도 7에 나타내었다.

[0232] 도 7의 (a)에서, 상기 실시예 1에서 제조한 DNA-LDH 복합체에서 DNA가 효소환경에 안정화되었음을 확인할 수 있었다.

[0233] 도 7의 (b)에서, 상기 실시예 2에서 제조한 DNA-LDH 복합체에서 입체적으로 거대한 형광체가 부착된 DNA가 효소 환경에서 안정적으로 보호되었음이 자외선 이미지(도 7b의 왼쪽 패널) 및 광학 이미지에서 확인되었다(도 7b의 오른쪽 패널). 확인할 수 있었다.

[0234] 이에, 본 발명에 따른 DNA-LDH 복합체는 길이 및 구조에 관계없이 거대한 크기의 DNA를 캡슐화할 수 있고 외부 환경에 대한 안정성을 획득하여, DNA 등의 바이오분자의 보관, 전달 및 그 기능을 증가시키는 것을 알

수 있다.

[0235] [실시예 3] DNA-LDH 복합체 함유 개체식별용 잉크

[0236] 실시예 2에서 제조한 DNA-LDH 복합체 1중량%를 흑색 스탬프 잉크(Shachihata사, 일본)에 첨가하여 분산시켜 개체식별용 잉크를 얻었다. 순수한 스탬프 잉크와 개체식별용 잉크를 유리 슬라이드에 'S' 문자로 각각 날인하고, 광학 스캐너(Typhoon 9400, 미국)로 이미지를 스캔하였다.

[0237] 그 결과, 순수한 잉크로 날인한 'S'는 형광물질을 포함하지 않았고(도 8), 개체식별용 잉크로 날인한 'S'는 녹색과 적색 형광체가 병합된 황색 'S' 이미지를 나타내는 것을 확인하였다(도 9). 이에, 상기 황색 'S' 이미지의 검출을 통해, 입체 셀을 제거하지 않은 상태에서 DNA-LDH 복합체를 1차 판독할 수 있는 것을 확인하였다.

[0238] [실시예 4] 바이오센서

[0239] 실시예 2의 단일가닥 형광 DNA Cy3-A 및 Cy5-B에 각각 상보적인 염기서열을 갖고, 5' 말단에 아민이 부착된 12개의 티민을 포함하는, 47 bp 길이의 탐침 DNA 서열번호 3으로 기재되는 프로브 A' 및 서열번호 4로 기재되는 프로브 B'를 제조하였다.

[0240] - 프로브 A': 5'-NH₂-TTTTTTTTTTTTT GCC AGC AGC CAC ACC AGA ATG ATG AGC GTC CGA AT-3'(서열번호 3)

[0241] - 프로브 B': 5'-NH₂-TTTTTTTTTTTTT ATT CGG ACG CTC ATC ATT CTG GTG TGG CTG CTG GC-3'(서열번호 4)

[0242] 유리 슬라이드 표면을 알데하이드로 개질한 후, 49 mm²의 면적에 총 144개(가로 12 X 세로 12)의 스팟(spot)을 점적함으로써 바이오센서를 제작하였다. 이때, 하나의 스팟에는 한 종류의 탐침 DNA를 이용하였고, 상기 두 종류의 탐침 DNA의 스팟 위치를 적절히 조절함으로써, 판독된 이미지가 녹색 바탕에 적색의 'S' 그래픽이 되도록 디자인하였다.

[0243] [실험예 5] 형광 DNA 코드 판독

[0244] 상기 실시예 3에서 제조한 개체식별용 잉크가 'S'자로 날인된 유리 슬라이드에 산성 완충 용액(pH 4)을 상온에서 5시간 동안 처리한 후, EDTA를 처리함으로써 순수한 형광 DNA만을 추출하였다.

[0245] 상기 추출한 형광 DNA 5 µg을 뉴클레아제가 없는 혼성화 완충용액에 용해시킨 후, 95℃에서 5분간 가열함으로써 단일가닥 형광 DNA로 만들었다.

[0246] 실시예 4에서 제조한 바이오센서에 상기 단일가닥 형광 DNA가 포함된 용액 15 µl를 올려서 1초 동안 혼성화 반응을 진행한 후, 곧바로 1 내지 3차 세척을 하였다. 상기 세척된 바이오센서를 건조한 뒤, 광학 스캐너(Molecular Devices GenePix 4200B, 미국)로 이미지를 스캔하였다.

[0247] 그 결과, 도 10에 나타난 바와 같이 바이오-무기 복합체로부터 형광 DNA를 추출하여 바이오센서로 판독한 광학 이미지로 녹색 바탕에 적색의 'S' 그래픽을 획득함으로써, 신속·정확하게 형광 DNA 코드를 판독할 수 있었다.

[0248] 이에 본 발명의 개체식별시스템은 진위 판별 및 이력 추적 등에 있어서 접근성이 높은 식별 시스템으로 구축될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0249] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 DNA-LDH 복합체의 단면도이다;

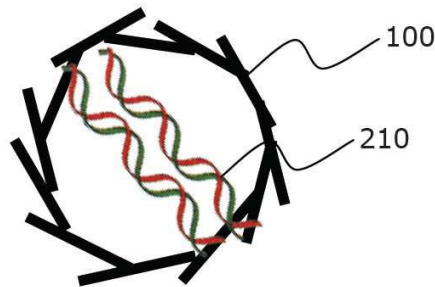
[0250] 도 2는 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 형광 DNA-LDH 복합체의 단면도이다;

[0251] 도 3은 본 발명의 일 예에 따른 개체식별 시스템의 순서도이다;

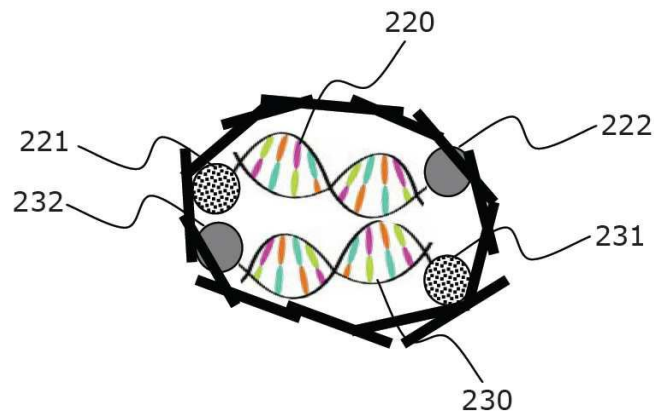
- [0252] 도 4는 실험예 1에서 DNA-LDH 복합체의 X선 회절분석 결과이다(a: 제조예 1의 LDH, b: 실시예 1의 DNA-LDH 복합체, c: 실시예 2의 형광 DNA-LDH 복합체);
- [0253] 도 5는 실험예 2에서 형광 DNA-LDH 복합체의 자외선 스펙트럼 결과를 나타낸 도이다(a: LDH 무기시트, b: 형광 DNA, c: 형광 DNA-LDH 복합체);
- [0254] 도 6은 실험예 3에서 DNA-LDH 복합체의 투과 전자 현미경 이미지이다(a: 제조예 1에 따른 LDH, b: 실시예 1의 DNA-LDH 복합체, c: 실시예 2의 형광 DNA-LDH 복합체);
- [0255] 도 7은 실험예 4에서 DNA-LDH 복합체 내 DNA의 안정성 평가 실험 결과를 나타낸 전기영동 이미지이다(a: 실시예 1의 DNA-LDH 복합체(lane 1: 100 bp 마커, lane 2: 50-2500 bp DNA 비교군, lane 3: 실험예 4), b: 실시예 2의 형광 DNA-LDH 복합체(lane 1: 5 bp 마커, lane 2: 35 bp DNA 비교군, lane 3: 실험예 4));
- [0256] 도 8은 실시예 3에서 순수한 잉크로 날인한 'S'의 이미지이다 (a: 사진, b: 광학 이미지);
- [0257] 도 9는 형광 DNA-LDH 복합체가 함유된 개체식별용 잉크로 날인한 'S'의 이미지이다(a: 사진, b: 광학 이미지);
- [0258] 도 10은 실험예 10에서 바이오센서의 광학 스캐너 이미지 결과이다.

도면

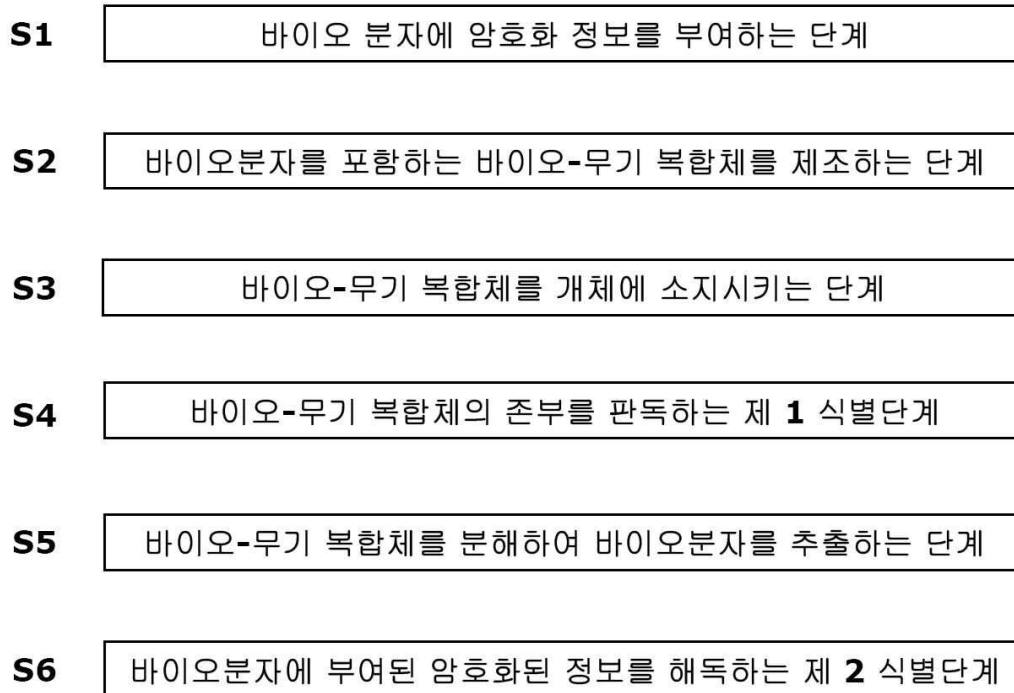
도면1



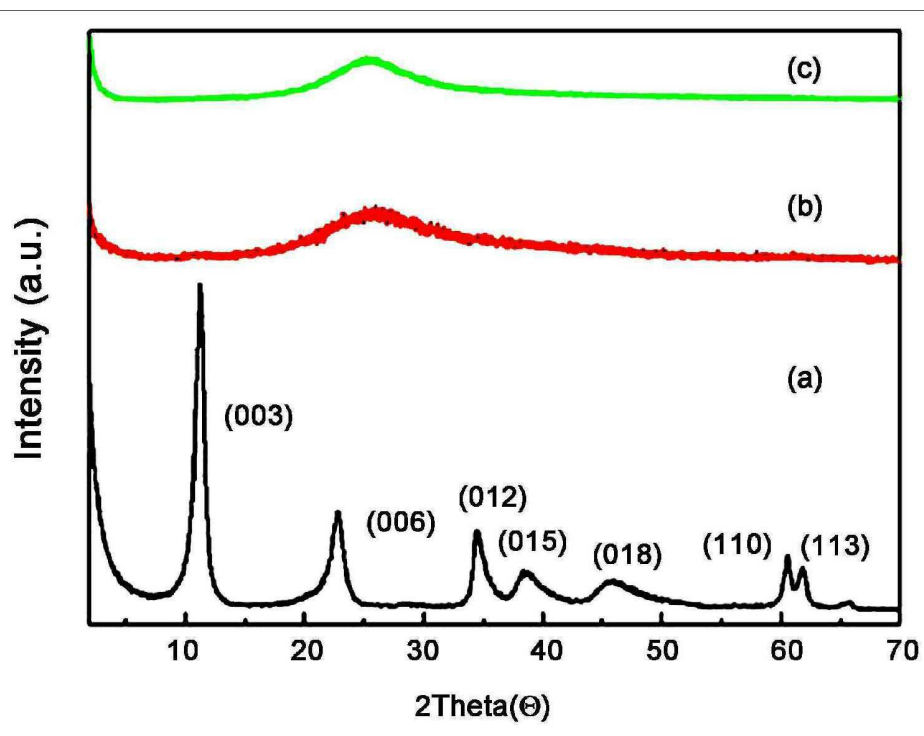
도면2



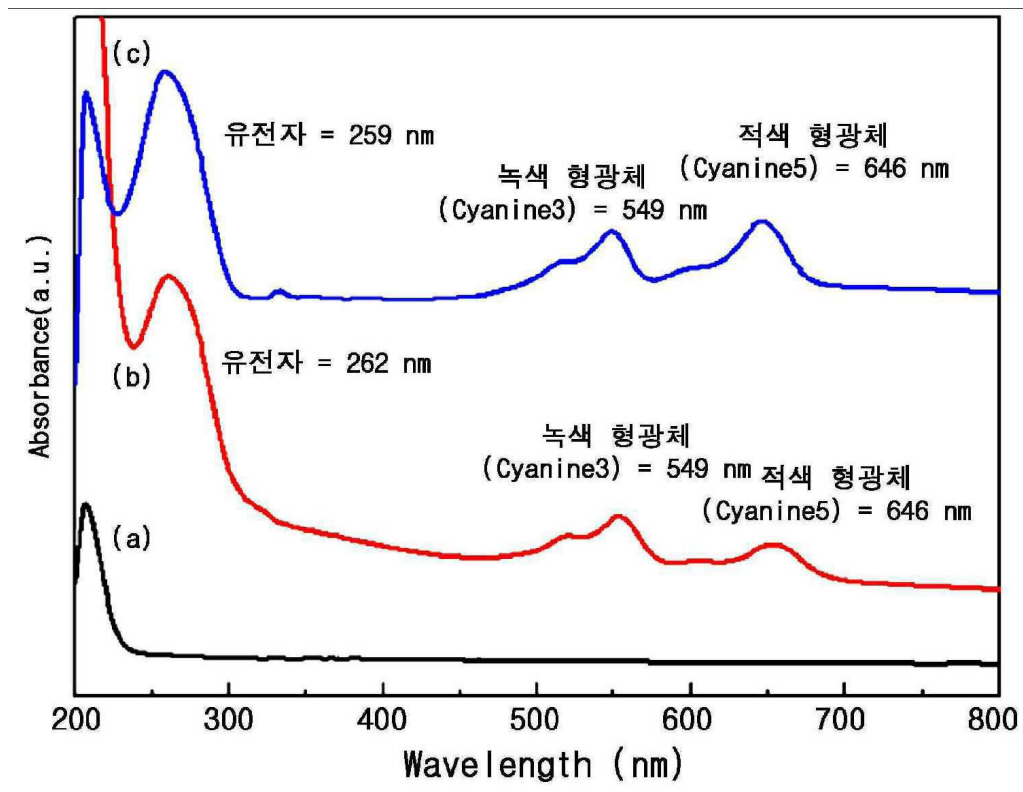
도면3



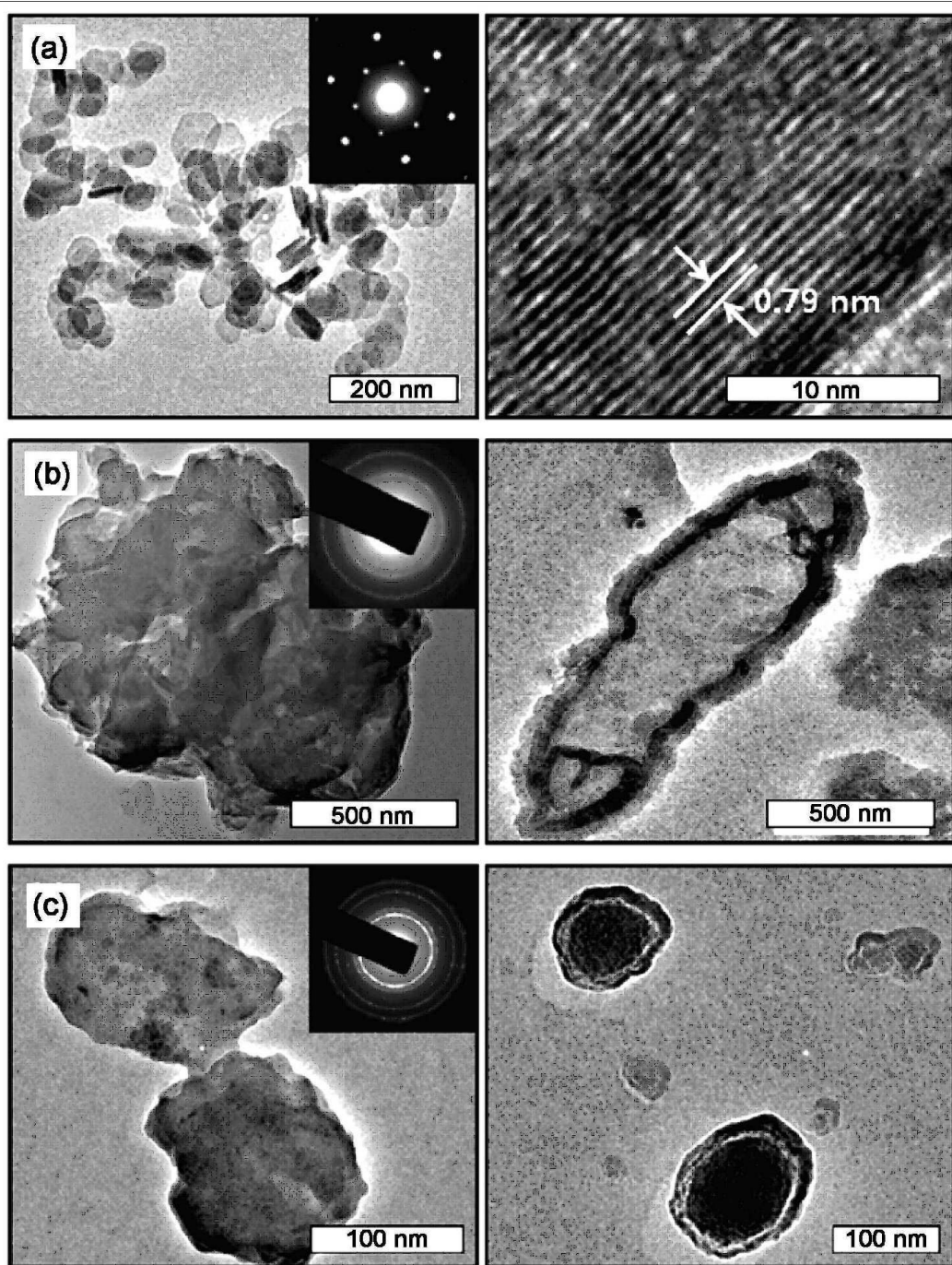
도면4



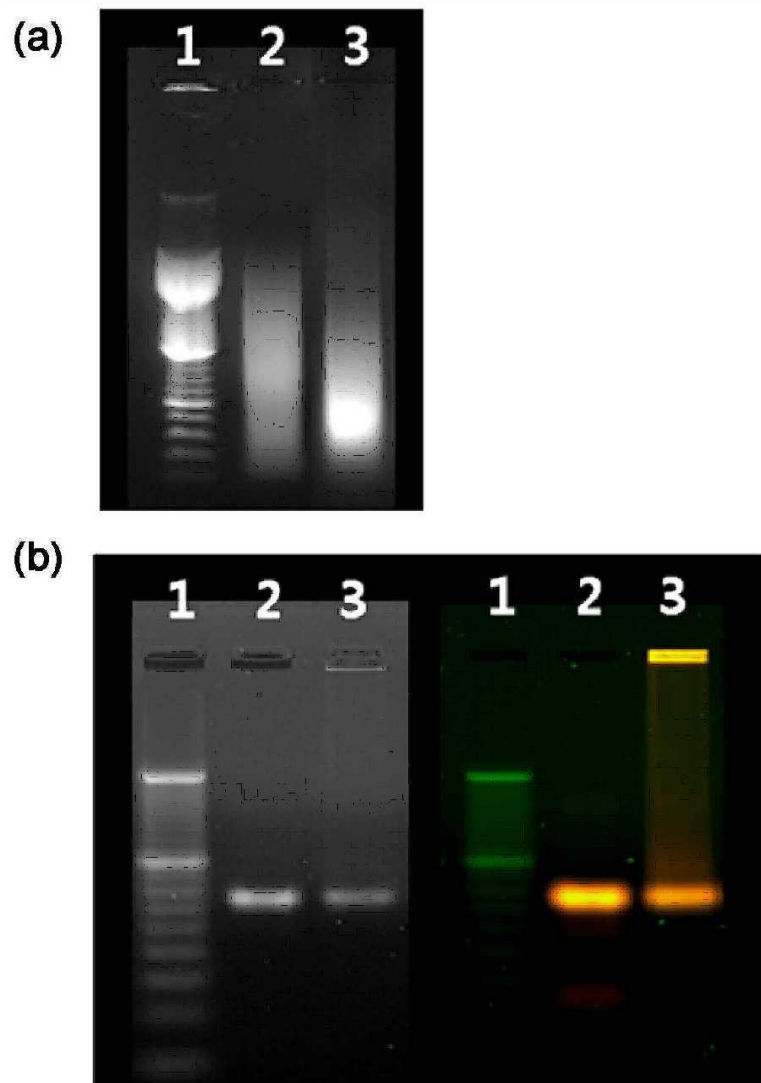
도면5



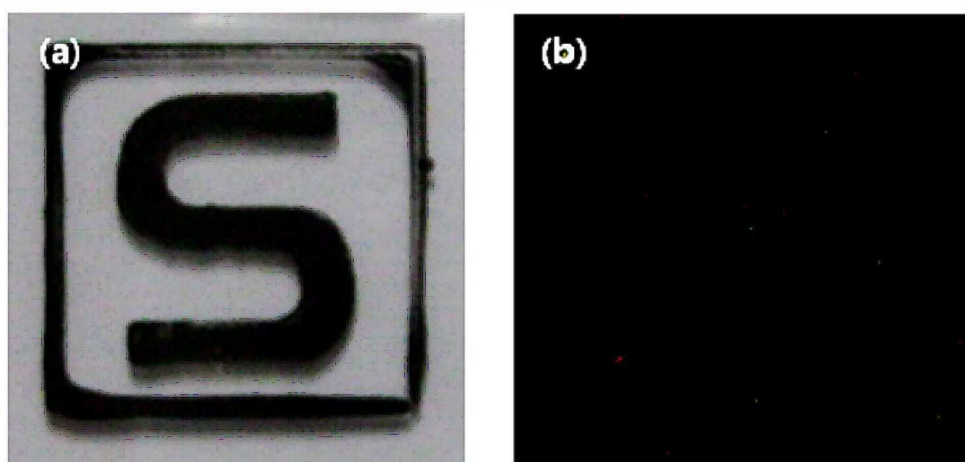
도면6



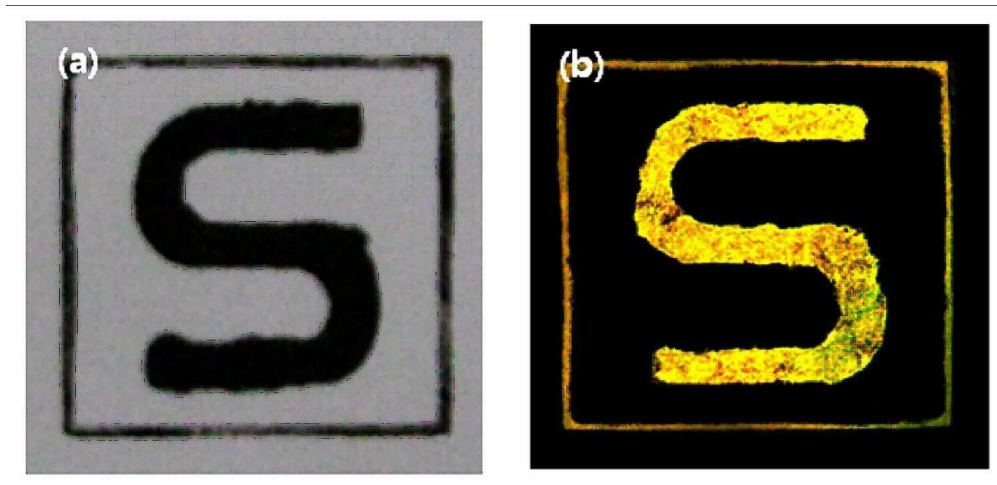
도면7



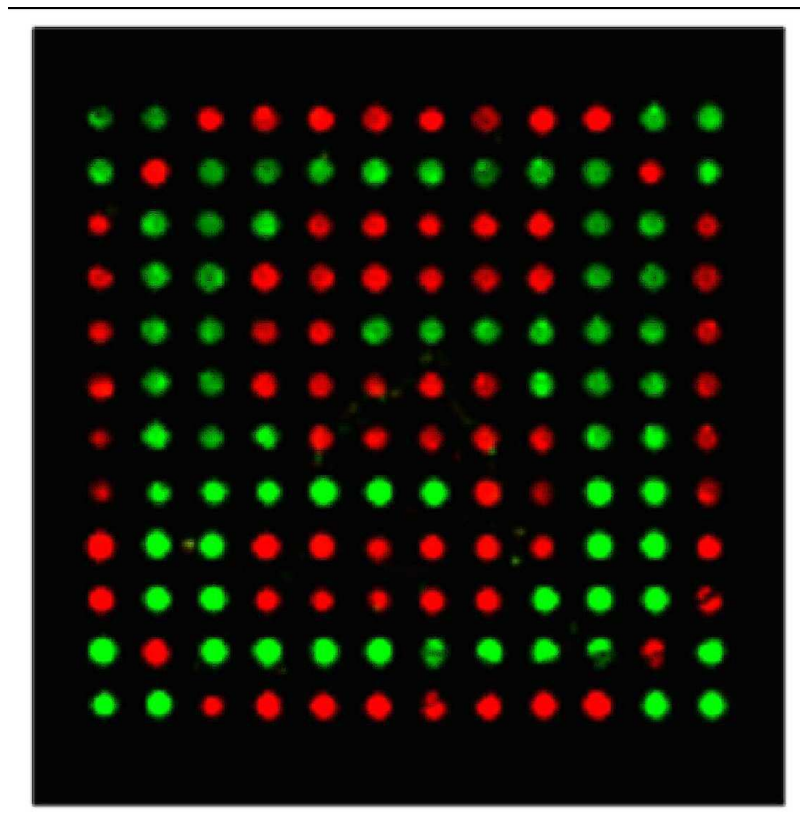
도면8



도면9



도면10



서열 목록

- <110> Ewha Womans University Foundation for Corporate Collaboration
- <120> Bio-Inorganic Composite, Process for Prepare the Same,

Composition for Identification Containing the Same, and
Identification System Using the Same

<160> 4

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Example DNA 1

<400> 1

attcggacgc tcattcattct ggtgtggctg ctggc

35

<210> 2

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Example DNA 2

<400> 2

gccagcagcc acaccagaat gatgagcgtc cgaat

35

<210> 3

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Example Probe 1

<400> 3

tttttttttt ttgccagcag ccacaccaga atgatgagcg tccgaat

47

<210> 4
<211> 47
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Example Probe 2

<400> 4
ttttttttt ttattcggac gctcatcatt ctggtgtggc tgctggc

47