

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0085362 (43) 공개일자 2012년08월01일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) B82B 3/00 (2006.01) C09K 11/56 (2006.01)		(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울 성북구 안암동5가 1
(21) 출원번호 10-2011-0006624		(72) 발명자 김웅 서울특별시 동대문구 약령시로 25, 벽산아파트 106-1105 (제기동)
(22) 출원일자 2011년01월24일 심사청구일자 2011년01월24일		정진후 서울특별시 성북구 안암동4가 39 102호
		(74) 대리인 특허법인충현

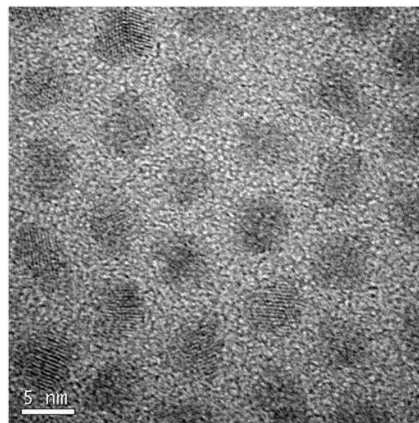
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체 및 그 제조 방법

(57) 요약

본 발명은 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점과 산화철 콜로이달 나노클러스터가 결합되어 자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체 및 그 제조방법에 관한 것으로서, 높은 자성과 수용액에서도 높은 발광효율을 나타내어 FACS와 MACS를 동시에 이용한 세포분리에 적용할 수 있다.

대표도 - 도1a



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20100002191

부처명 한국연구재단

연구사업명 (원천)미래유망파이오니아사업

연구과제명 자성천이제어와 영속발광이 가능한 복합기능 마그네틱-포토닉 나노결정 개발

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2010.03.01 ~ 2011.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체로서,

카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점과 산화철 콜로이달 나노클러스터가 S-H 결합된 것을 특징으로 하는 나노복합체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점에서 카드뮴 : 셀레늄 : 아연 : 황의 비율은 각각 0.1:0.2:4:3인 것을 특징으로 하는 나노복합체.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점과 산화철 콜로이달 나노클러스터의 결합 비율은 1:20 내지 1:40 중량비인 것을 특징으로 하는 나노복합체.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 나노복합체는 나노입자클러스터이며, 크기는 100 ~ 500 nm인 것을 특징으로 하는 나노복합체.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 나노복합체는 자성활성 세포분류기(FACS: fluorescence-activated cell sorting)와 형광활성 세포분류기(MACS: magnetic-activated cell sorting)를 동시에 이용한 세포분리에 사용되는 것을 특징으로 하는 나노복합체.

청구항 6

1) 폴리아크릴산(PAA)으로 코팅된 산화철(Fe_3O_4) 콜로이달 나노클러스터를 N-(3디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드(EDC) /N-히드록시설포숙신이미드나트륨(Sulfo-NHS) 커플링 시킨 후 시스템아민을 첨가하여 표면을 티올기로 치환하는 단계;

2) 상기 표면이 티올기로 치환된 산화철 콜로이달 나노클러스터를 용액에 분산시킨 후 카드뮴셀레나이드/황화아연(CdSe/ZnS) 나노입자 용액을 첨가하는 단계;

3) 상기 용액을 교반한 후 세척하면서 자석을 이용하여 나노클러스터를 형성시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체를 제조하는 방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 산화철(Fe_3O_4) 콜로이달 나노클러스터 용액은 1a) $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 을 에틸렌 글리콜에 첨가한 후, 폴리아크릴산과 NaAc를 혼합용액에 넣어 용해시킨 다음 200 ~ 220 °C까지 온도를 가열시킨 후에 반응시키는 단계; 1b) 상기 반응 생성물을 상온으로 냉각시킨 후 세척 및 원심분리하는 단계에 따라 제조되는 것을 특징으로 하는 자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체를 제조하는 방법.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 카드뮴셀레나이드/황화아연(CdSe/ZnS) 나노입자 용액은 2a) CdO와 $Zn(ac)_2$ 및 올레익산을 혼합한 후 가열하고, 산소와 습기를 제거하는 단계; 2b) 상기 혼합 용액에 1-옥타데센을 첨가하여 온도를 280 ~ 300 °C까지 가열한 후 셀레늄 파우더와 황이 용해되어 있는 트리옥틸포스핀 용액을 첨가하여 반응시킨 다음, 1-옥탄티올을 넣어주어 표면을 패시베이션 시켜주는 단계; 및 2c) 상기 용액을 상온으로 냉각한 후 원심분리하는 단계에 따라 제조되는 것을 특징으로 하는 자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체를 제조하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 나노복합체에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 세포분리에 유용한 자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 최근 나노입자들은 그들의 우수한 광학, 자성 특성 때문에 생의학 분야에서 빠르게 발전되고 있다. 자성나노입자의 경우 크기가 작을 경우 나타나는 초상자성 특성을 이용하여 자기공명영상(MRI), 약물 전달 시스템, 고열 요법(hyperthermia), 프로브 바이오시스템(probe biosystem) 등 생의학 분야에 넓게 적용되고 있다.

[0003] 특히 많은 종류의 자성나노입자 중 산화철 나노입자는 생체적합성과 생체안정적인 면에서 FDA(Food and drug administration)의 승인을 받았기 때문에 MRI 조영제와 고열 요법 등에 실제로 사용되고 있다. 지금까지 자성나노입자들은 수열합성법(hydrothermal reaction), 열분해법(thermal decomposition), ESI합성법(electrospray synthesis), 졸-겔 합성법, 마이크로에멀전 합성법, 소노케미칼 반응(sonochemical reaction) 합성법 등 다양한 합성방법을 통해서 개발되어 왔다. 이에 다양한 방법에 따라 원하는 크기와 자기적 특성을 갖는 자성나노입자를 다양한 응용분야에 맞게 적절히 사용할 수 있게 되었다.

[0004] 최근에는 자성나노입자에 양자점 및 금, 은 나노입자를 결합시켜 생체응용분야로 사용되는 연구가 많이 진행되고 있다. 크기 조절을 통해 에너지 밴드갭을 변화시킬 수 있는 양자점 또는 금과 은 등의 금속물질의 표면 플라즈몬 공명 효과를 이용하여 사용할 수 있는 장점이 있다.

[0005] 한편 자성/광학 복합체는 종류에 따라 발광이미징, 자기공명 이미징, 자성분리, 다크 필드 이미징(dark field imaging), 표면 강화 라만 스펙트로스코피 등에 사용되고 있다. 그동안 자성나노입자를 쓰는 연구들은 실리카 코팅을 하거나 발광 특성을 갖는 나노입자들이 결합되었을 경우 자성 특성이 저하되는 경우가 많았다.

[0006] 하지만 2010년 Yadong Yin Group의 연구에 따르면 산화철 콜로이드 나노클러스터를 이용하여 조정가능한 광학특성의 금 나노셸이 싸인 초상자성 산화철 콜로이드 나노클러스터를 합성하는데 성공하였다.

[0007] 산화철 콜로이드 나노클러스터의 경우 초상자성 특성을 나타내면서도 크기의 조절이 나노단위부터 마이크로 단위까지 가능한 강한 자성특성을 갖는 장점을 가지고 있다. 또한 바이오분야에서 복합체의 크기가 마이크로 단위의 입자의 경우 치료 및 약물 전달 후 생체내에 쉽게 흡수되지 않고 체외로 방출되지만, 나노 크기의 입자의 경우 세포벽을 통과할 수 있을 정도로 작기 때문에 문제가 될 수 있다.

[0008] 현재 세포분리 측면에서 각각 광학특성을 이용한 FACS 또는 자성특성을 이용한 MACS를 이용한 분리가 많이 이루어지고 있으며 세포분리의 효율을 높이기 위해서는 FACS와 MACS의 상호보완적 이용이 필요하다. 따라서 효과적인 세포분리를 위해 MACS와 FACS에 동시에 적용가능한 자성특성 및 광학특성을 동시에 갖는 나노클러스터의 개발이 요구되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 자성활성 세포분류기(FACS: fluorescence-activated cell sorting)와 형광활성 세포분류기(MACS:

magnetic-activated cell sorting)에 동시에 적용될 수 있어 세포분리에 유용한 자성 및 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체 및 그 제조 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명은 자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체로서, 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점과 산화철 콜로이달 나노클러스터가 S-H 결합된 것을 특징으로 하는 나노복합체를 제공한다.
- [0011] 본 발명에 따른 나노복합체에서 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점의 카드뮴 : 셀레늄 : 아연 : 황의 비율은 각각 0.1:0.2:4:3인 것이 바람직하다. 이 조성에서 양자점의 발광 효율이 가장 높은 것으로 판단된다.
- [0012] 또한 본 발명에 따른 나노복합체에서 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점과 산화철 콜로이달 나노클러스터의 결합 비율은 1:20 내지 1:40 중량비인 것이 바람직하다. 이러한 중량비는 양자점이 산화철 나노클러스터 표면에 균일하게 코팅되었을 경우 나타난다.
- [0013] 또한 본 발명에 따른 나노복합체는 나노입자클러스터이며, 크기는 100 ~ 500 nm인 것이 바람직하다. 클러스터의 크기가 너무 작으면 특정 세포들이 비선택적으로 나노 입자를 세포 안쪽으로 삼키는 현상이 발생하며, 이렇게 되면 정상적인 세포를 분리할 수 없게 된다. 따라서 본 발명과 같이 100 ~ 500 nm 정도의 크기가 입자가 세포 분리에 바람직하다. 또한 단순히 Fe_3O_4 의 크기만 증가시킬 경우 강자성체가 되어 산화철 입자들이 서로 붙어버리는 현상이 발생하므로 Fe_3O_4 작은 입자들이 뭉친 클러스터 형태가 바람직하다.
- [0014] 본 발명에 따른 나노복합체는 자성과 발광 특성을 모두 갖기 때문에 자성활성 세포분류기(FACS: fluorescence-activated cell sorting)와 형광활성 세포분류기(MACS: magnetic-activated cell sorting)를 동시에 이용한 세포분리에 사용할 수 있다.
- [0015] 본 발명은
- [0016] 1) 폴리아크릴산(PAA)으로 코팅된 산화철(Fe_3O_4) 콜로이달 나노클러스터를 N-(3디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드(EDC) /N-히드록시설포숙신이미드나트륨(Sulfo-NHS) 커플링 시킨 후 시스템아민을 첨가하여 표면을 티올기로 치환하는 단계;
- [0017] 2) 상기 표면이 티올기로 치환된 산화철 콜로이달 나노클러스터를 용액에 분산시킨 후 카드뮴셀레나이드/황화아연(CdSe/ZnS) 나노입자 용액을 첨가하는 단계;
- [0018] 3) 상기 용액을 교반한 후 세척하면서 자석을 이용하여 나노클러스터를 형성시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 자성 특성과 발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체를 제조하는 방법을 제공한다.
- [0019] 이 때, 산화철(Fe_3O_4) 콜로이달 나노클러스터 용액은 1a) $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 을 에틸렌 글리콜에 첨가한 후, 폴리(아크릴산)과 NaAc를 혼합용액에 넣어 용해시킨 다음 200 ~ 220 °C까지 온도를 가열시킨 후에 반응시키는 단계; 1b) 상기 반응 생성물을 상온으로 냉각시킨 후 세척 및 원심분리하는 단계에 따라 제조될 수 있다.
- [0020] 또한 카드뮴셀레나이드/황화아연(CdSe/ZnS) 나노입자 용액은 2a) CdO와 $Zn(ac)_2$ 및 올레익산을 혼합한 후 가열하고, 산소와 습기를 제거하는 단계; 2b) 상기 혼합 용액에 1-옥타데센을 첨가하여 온도를 280 ~ 300 °C까지 가열한 후 셀레늄 파우더와 황이 용해되어 있는 트리옥틸포스핀 용액을 첨가하여 반응시킨 다음, 1-옥탄티올을 넣어주어 표면을 패시베이션 시켜주는 단계; 및 2c) 상기 용액을 상온으로 냉각한 후 원심분리하는 단계에 따라 제조될 수 있다.

발명의 효과

- [0021] 본 발명에 따른 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점과 산화철 콜로이달 나노클러스터 결합된 나노복합체는 MACS와 FACS를 동시에 진행시킬 수 있어 세포분리의 효율을 증가시킬 수 있다. 본 발명은 산화철 콜로이달 나노클러스터를 이용하여 일반 나노입자 보다 자성 특성을 강화시켰으며, 광학특성은 양자점을 이용하여 유기염료를 이용한 복합체보다 광화학 파괴가 잘 일어나지 않으며 특정 파장에서 민감하게 흡수/발광할 수 있게 하였다. 이에 따라 본 발명에 따른 나노복합체는 높은 자성을 가지며 수용액에서도 높은 발광효율을 나타내어 FACS와 MACS를 동시에 이용한 세포분리에 적용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0022]

도 1a CdSe/ZnS 나노입자의 TEM 이미지이다.

도 1b는 CdSe/ZnS 나노입자의 전자 회절(SAED)을 나타낸다.

도 1c는 CdSe/ZnS 나노입자대한 격자이미지이다.

도 1d는 바이얼(vial) 속에 나노결정이 클로로포름에 분산되어 있는 사진이다.

도 2a는 산화철 나노클러스터의 SEM 이미지로서, 클러스터의 크기는 200~400nm를 나타내고 있다.

도 2b는 산화철 나노클러스터의 고해상도 TEM 이미지이다.

도 2c는 산화철 나노클러스터의 저해상도 TEM 이미지 이다.

도 2d는 산화철 나노클러스터를 진동시료형자력계(vibrating sample magnetometer, VSM)로 측정한 그래프이다.

도 3a는 본 발명에 따라 합성된 나노복합체의 SEM 이미지이다.

도 3b는 고해상도 TEM 이미지에서의 격자 분석 결과이다.

도 3c는 CdSe/ZnS나노입자의 격자구조를 나타낸다.

도 3d는 산화철의 격자구조를 나타낸다.

도 4a는 본 발명에 따라 합성된 나노복합체의 공초점 레이저 현미경(Confocal Laser Scanning Microscope)의 이미지이다.

도 4b 이미지는 STEM-EDS에 대한 맵핑 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023]

이하 실시예 및 도면을 통해 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

[0024]

본 발명에 따른 나노복합체는 자성 특성 및 발광 특성을 모두 갖는 것이 특징이며, 세로 분리 과정에 이용하기에 적합하다. 보다 구체적으로 본 발명에 따른 나노복합체는 자성과 발광 특성을 모두 갖기 때문에 자성활성 세포분류기(FACS: fluorescence-activated cell sorting)와 형광활성 세포분류기(MACS: magnetic-activated cell sorting)를 동시에 이용한 세포분리에 사용할 수 있다.

[0025]

본 발명에 따른 나노복합체는 나노입자의 클러스터로서, 클러스터의 크기는 약 200 - 400 nm 이다. 종래에 수 nm ~ 수십 nm 의 크기의 나노입자 클러스터가 보고된 적이 있으나, 본 발명에 따른 크기의 클러스터를 형성했다는 보고는 없었다. 또한 클러스터의 크기가 너무 작으면 특정 세포들이 비선택적으로 나노 입자를 세포 안쪽으로 삼키는 현상이 발생하며, 이렇게 되면 정상적인 세포를 분리할 수 없게 되므로 세포가 삼키지 못하도록 본 발명자는 크기가 큰 입자를 만들었다.

[0026]

또한 단순히 Fe_3O_4 의 크기만 증가시킬 경우 강자성체가 되어 산화철 입자들이 서로 붙어버리는 현상이 발생하므로 Fe_3O_4 작은 입자들이 뭉친 클러스터 형태로 합성하였다.

[0027]

이하 실시예를 통해 본 발명을 보다 구체적으로 설명한다. 그러나 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 실시예에 한정되는 것으로 해석되지 않아야 한다.

[0028]

실시예

[0029]

칼슘 옥사이드(CdO , =99.99%), 징크 아세테이트($Zn(ac)_2$, 99.99%), 셀레늄 파우더(99.99%), 황(99.998%), 철(III) 클로라이드 헥사하이드레이트($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 97%), 폴리(아크릴산)(PAA, Average $M_w \sim 1,800$), 소듐 아세테이트($NaAc$, =99.0%), N-(3디메틸아미노프로필)-N'-에틸카르보디이미드 하이드로클로라이드(EDC), N-히드록시실

포속신이미드 나트륨염(Sulfo-NHS, =98.5%), 시스테아민(~95%), 올레익산 (=99%), 1옥타데센(90%), 트리옥틸포스핀(TOP, 90%), 1옥탄티올(98.5+%), 에틸렌 글리콜(99.8%), 클로로포름(=99%), 인산염버퍼용액(PBS, 1.0 M, pH 7.4)은 Sigma-Aldrich사에서 구입하였고, 에탄올(99.9%)은 J. T. Baker에서 구입하였으며 모두 추가 정제 없이 사용하였다.

[0030] **실시예 1: 카드뮴 셀레나이드/황화아연(CdSe/ZnS) 코어셸 양자점의 제조**

[0031] 13mg(0.01mmol)의 CdO과 732mg(4mmol)의 $Zn(ac)_2$, 5mL의 올레익산을 100mL의 삼구플라스크에 넣고 150℃까지 가열하며, 30분 동안 질소 버블링(Bubbling)을 통해 산소와 습기를 제거하였다. 이어서, 질소분위기의 혼합 분산 용액에 15mL의 1-옥타데센을 넣어준 후 온도를 300℃까지 올려준다. 이때 용액은 노란빛의 투명한 용액이 형성된다.

[0032] 그리고 16mg(0.2mmol)의 셀레늄 파우더와 96mg(3mmol)의 황이 용해되어 있는 2mL의 트리옥틸포스핀 용액을 삼구플라스크에 신속히 넣어주고 8분간 반응시킨다. 시간이 지난 후 온도를 올려준 후에 1-옥탄티올을 넣어주어 생성물의 표면과 강한 결합을 통해 표면을 패시베이션 시켜준다.

[0033] 온도를 상온으로 냉각시킨 후에 15mL의 에탄올을 넣어준 다음 4000rpm의 속도로 10분간 원심분리를 실시한다. 상층액을 버리고 침전물을 클로로포름 10mL에 분산시킨 후 30mL의 에탄올을 넣어주고 4000rpm의 속도로 10분간 원심분리기를 진행하면서 세척과정을 3번 진행한 후에 30mL의 클로로포름에 분산시킨다.

[0034] **실시예 2: 산화철(Fe_3O_4) 콜로이달 나노클러스터의 제조**

[0035] 0.675 g(2.5mmol)의 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 을 에틸렌 글리콜 25mL에 넣은 후에 주황색의 투명한 용액이 될 때까지 기다린 후 720mg의 폴리(아크릴산)과 2.16g의 NaAc를 혼합용액에 넣어준다. 초음파를 통해 충분히 고체상태의 시약을 용해시킨 후에 35mL 용량의 스테인레스-스틸 오토클레이브에 넣고 퍼니스(Furnace)를 통해 220℃까지 온도를 가열시킨 후에 4시간 동안 반응시킨다. 생성물을 상온으로 떨어뜨리고 20mL의 증류수와 20mL의 에탄올을 넣어준 후에 4000rpm의 속도로 10분간 원심분리기를 진행한다. 침전물을 남기고 상층액을 버린 후에 40mL의 증류수를 넣어준 후에 4000rpm의 속도로 10분간 원심분리기를 진행하여 반응하지 않은 불순물들을 제거해준 다음 30mL의 pH 7.4의 인산염버퍼용액에 분산시킨다.

[0036] **실시예 3: 카드뮴 셀레나이드/황화아연(CdSe/ZnS) 나노입자와 Fe_3O_4 콜로이달 나노클러스터의 결합**

[0037] 0.1mmol의 EDC와 0.1mmol의 Sulfo-NHS를 PBS용액에 분산되어 있는 Fe_3O_4 콜로이달 나노클러스터 0.1mL에 넣어준 후에 초음파 상태에서 15분간 유지시킨다. 그 후에 0.1mmol의 시스테아민을 용액에 넣어준 후에 2시간동안 상온에서 초음파를 가해주며 커플링을 진행시킨 다음에 에탄올과 증류수를 이용하여 세척한다.

[0038] 티올기로 표면이 치환된 산화철 콜로이달 나노클러스터를 3mL의 증류수에 분산시킨 후에 클로로포름에 분산되어 있는 CdSe/ZnS 나노입자 용액 3mL를 넣어주어 2개의 층으로 분리된 용액을 만들어준다. (2시간 동안 층이 분리된 용액을 교반하며 유지시킨다. 영구자석을 이용하여 자석에 달라붙는 부분만 남기고 남은 용액은 버린 후 증류수와 클로로포름을 번갈아 흘려주며 반응하지 않은 CdSe/ZnS 나노입자를 제거하며 광학/자성 특성을 동시에 갖는 나노클러스터를 형성시킨다.

[0039] **실험예: 발광 특성 및 자성 특성 확인**

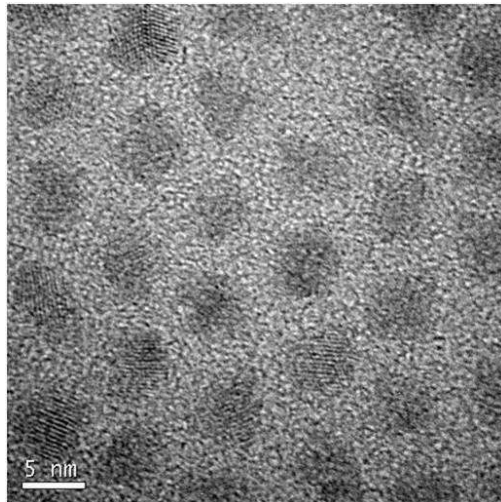
[0040] 상기 실시예에 따라 양자점과 자성 나노클러스터의 합성과 EDC/sulfo-NHS 커플링과정, S-H 화학반응을 이용하여 자성 특성과 발광 특성이 모두 우수한 나노복합체를 형성하였다. 녹색 발광을 보여주며 양자효율이 높은 나노입자 양자점은 작은 크기의 카드뮴 셀레나이드 코어와 황화아연 셸을 통해서 이루어진다. 카드뮴 셀레나이드는 수용액에서 셀레늄의 산화가 잘 일어나는 특성 때문에 양자효율이 현저히 떨어지는 반면 황화아연 셸 형성시켜주었을 경우 Type-I 코어-셸 구조의 양자우물구조를 통해 양자효율을 증가시켜주는 동시에 표면의 패시베이션을 통해 셀레늄의 산화도 막을 수 있어 수용액상에서 발광효과가 현저히 떨어지는 것을 막을 수 있다.

- [0041] 상기 실시예를 통해 유기용매에서 60 ~ 80 %, 수용액 상에서 15 ~ 25 %의 양자효율을 나타내는 양자점을 합성하였으며, 나노결정에 대하여 고해상도 투과전자현미경(high resolution transmission electron microscopy, HR-TEM) 분석을 수행하였다.
- [0042] 도 1a 분리된 형태의 다수의 나노결정에 대한 TEM 이미지이다. 도 1b는 결정도가 높은 큐빅 상의 나노결정에 대한 선택된 면적에서의 전자 회절(selected area electron diffraction, SAED)을 나타낸다. 도 1c는 나노결정에 대한 TEM 이미지이다. 도 1d는 바이얼(vial) 속에 나노결정이 클로로포름에 분산되어 있는 사진이다. 왼쪽과 오른쪽의 사진은 각각 UV-Lamp를 이용하여 365nm 파장의 빛을 가하기 전, 후의 이미지이며 녹색 발광을 함을 확인할 수 있었다. 자성 콜로이달 나노클러스터는 Yadong Yin 연구팀의 실험을 수정하여 사용하였다. 생의학적인 용이 가능한 다기능 복합나노입자의 형성을 위해서 PAA로 코팅된 수용성 자성 나노클러스터를 합성하였다. 폴리아크릴산(PAA)을 계면활성제로 이용한 합성을 통해 리간드를 치환하지 않고도 수용성 나노입자를 합성하였으며 제타 포텐셜(Zeta Potential) 값이 -49 mV를 나타내어 좋은 안정성을 보였으며, 산(acid)기를 이용하여 양자점과의 결합시에 용이하게 고안되었다.
- [0043] 도 2a의 SEM 이미지에서 보여지는 것과 같이 클러스터의 크기는 200~400nm를 나타내고 있었다. 각 나노입자는 도 2b의 고해상도 TEM이미지에서 보이는 바와 같이 초상자성 특성을 갖는 6nm의 크기이며, (220) 격자 프린지(Lattice Fringe)가 명확하게 관찰되었다. 도 2d의 그래프는 진동시료형자력계(vibrating sample magnetometer, VSM)로 측정한 자료이며 포화자화 값은 약 84emu/g이며 잔류자화값은 0인 초상자성 특성을 나타낸다. 자성 나노클러스터의 크기가 마이크로 단위이므로 치료 및 약물 전달 후 생체내에 쉽게 흡수되지 않고 체외로 방출될 수 있다는 점이 장점이 될 수 있다.
- [0044] 이렇게 합성된 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점과 산화철 콜로이달 나노클러스터를 이용하여 자성/발광 특성을 동시에 갖는 나노복합체의 형성을 위한 결합을 실행하였다. 폴리아크릴산(PAA)으로 코팅된 산화철 콜로이달 나노클러스터의 표면의 산(acid)기를 이용하여 EDC/sulfo-NHS 커플링을 시켰으며, 아미드 결합을 형성시키기 위해서 시스테아민(Cysteamine)을 이용하여 S-H기로 표면 처리된 산화철 콜로이달 나노클러스터를 형성하였다.
- [0045] 자성 나노클러스터의 표면에 S-H기가 존재하기 때문에 유기용매에 분산되어 있는 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어셸 양자점과의 S-H 화학반응을 이용한 결합을 시도하였다. 이와 같이 결합된 자성 및 발광 특성을 갖는 광학 나노복합체의 합성을 확인하기 위해 분석을 시도하였다.
- [0046] 도 3a는 상기 실시예에 따라 합성된 나노복합체의 SEM 이미지이다. 실험 중 양자점이 각각의 산화철 입자에 결합되지 않고 응집이 일어났을 경우 이미지 상의 경계가 모호해 짐을 확인할 수 있었다. 단일 나노클러스터에 양자점이 결합되었을 경우에는 도 3a와 같이 각각의 경계면이 뚜렷하게 나타남을 확인하였다. 도 3b는 고해상도 TEM 이미지에서의 격자 분석을 통하여 결합된 산화철 나노클러스터와 양자점 나노입자의 분리를 시도하였다. 도 3b에서 얻은 FET(fast-Fourier transform)이미지를 이용하여 격자에 맞게 마스킹을 시도한 이후에 Inverse FFT를 시도하였다. 그리하여 도 3c에서 보이는 격자구조는 도 3b에서 양자점의 위치를 나타내는 것이며 도 3d에서는 산화철의 격자구조를 나타낸다. 형성되어 있는 산화철 콜로이달 나노클러스터의 표면에 양자점이 결합된 구조이기 때문에 도 3c에서는 온전한 격자들이 많이 보이는 반면에 도 3d에서는 양자점의 간섭을 통해 사이사이에 보이는 격자들이 많게 된다. 나노복합체의 양자효율이 떨어지는 것을 확인하기 위하여 공초점 레이저 현미경에 대한 확인을 진행하였다.
- [0047] 도 4a에 나와있는 이미지가 복합체들의 각각의 녹색 발광을 나타내고 있다. 스케일 바에 의하면 각각의 나노복합체는 400nm정도의 크기를 나타내고 있으며 75%의 수득율을 얻는 것으로 보여지고 있다. 세척과정에서 영구자석을 사용하여 분리해 낸 생성물을 결과로 공초점 레이저 현미경 확인을 하였으므로 자성과 발광 특성을 동시에 갖는 것을 확인하였다. 또한 도 4b 이미지는 STEM-EDS에 대한 맵핑 결과로 카드뮴셀레나이드/황화아연의 선구체에 대한 비율이 카드뮴 : 셀레늄 : 아연 : 황 = 0.1 : 0.2 : 4 : 3 인점을 감안하여 철, 아연, 황에 대해서만 실시하였다. 그 결과 철, 아연, 황이 나노클러스터의 전체에 고루 퍼져있음을 확인할 수 있었다. 또한 철의 비율이 상대적으로 아연과 황보다 높은 것을 감안하였을 때 철의 맵핑 결과가 다른 것 보다 더 진하게 나타남을 알 수 있었다.
- [0048] 종합하면, SEM을 이용한 각각의 나노클러스터에 대한 복합체 형성 확인하였으며 고해상도TEM 이미지의 격자분석과 STEM-EDS 맵핑을 통한 고른 복합체 형성에 대한 확인하였다. 공초점 레이저 현미경을 통한 발광특성 유지와

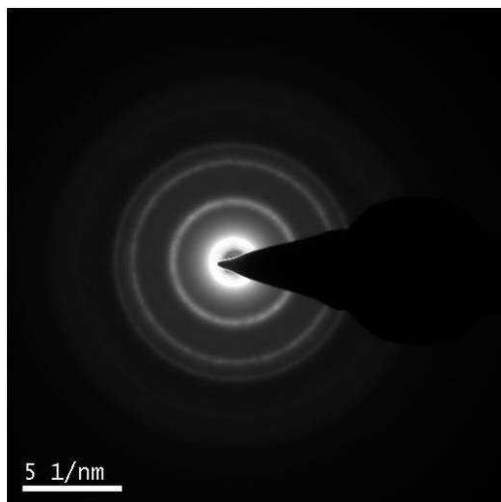
영구자석을 통한 자성 특성 유지에 대한 확인을 통해서 광학/자성 특성을 동시에 갖는 복합 나노클러스터가 성공적으로 합성되었음을 알 수 있었다. 이번 결과를 통해 세포분리에서 MACS와 FACS를 동시에 적용시켜서 사용할 수 있는 조건의 나노 복합체를 합성하였다. 또한 기존의 물질보다 자성 특성면에서는 콜로이달 나노클러스터를 사용함으로써 자성의 특성을 강화시키고 유기염료를 사용하지 않고 양자점을 사용하였음에도 수용액상에서도 좋은 발광 특성을 나타내었다. 앞으로 생의학 분야의 많은 응용이 예상되는 바이다.

도면

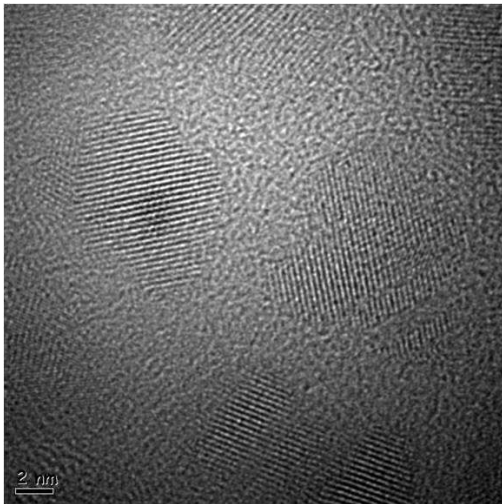
도면1a



도면1b



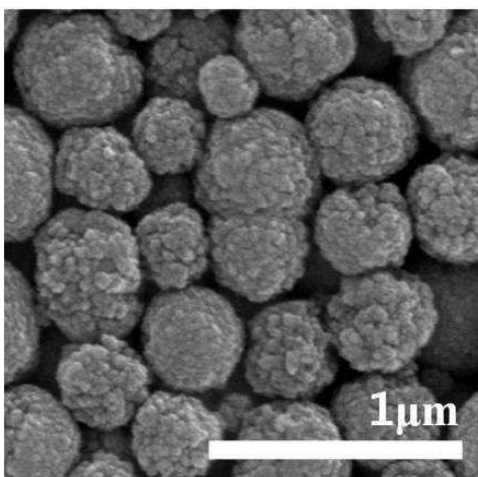
도면1c



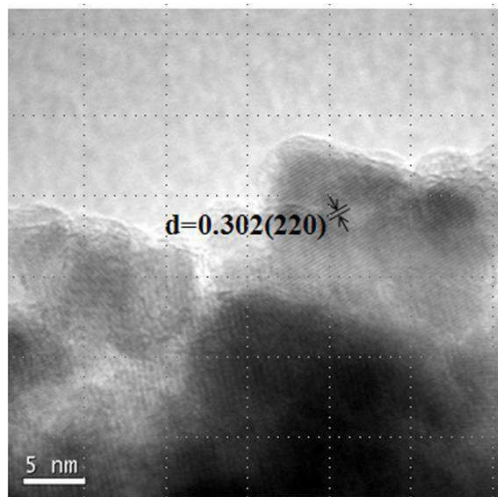
도면1d



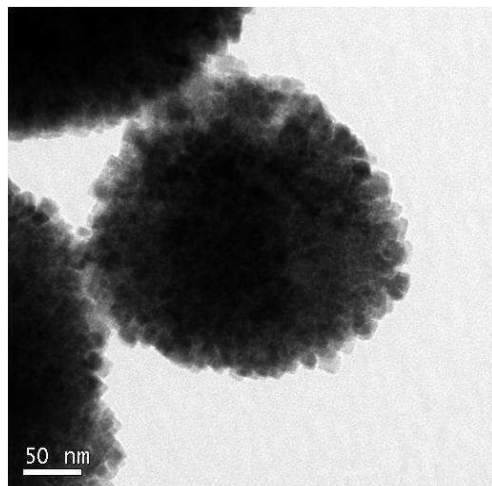
도면2a



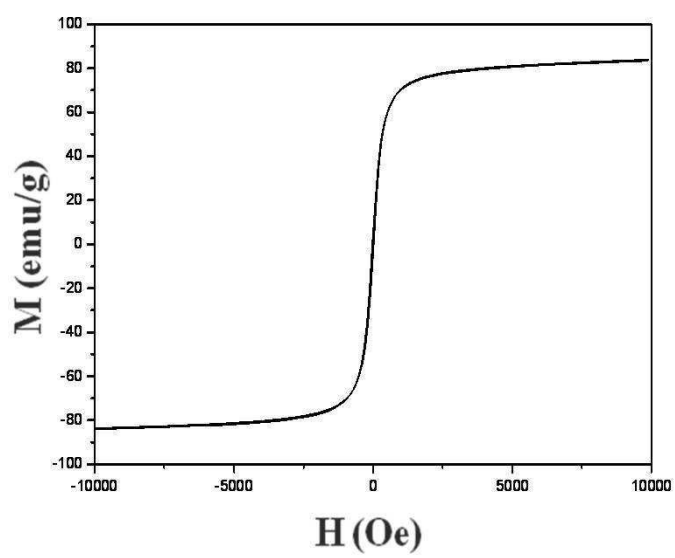
도면2b



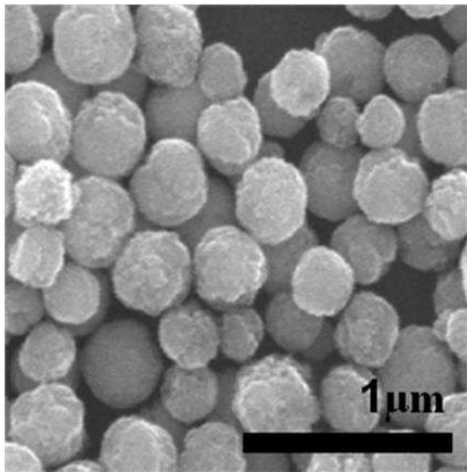
도면2c



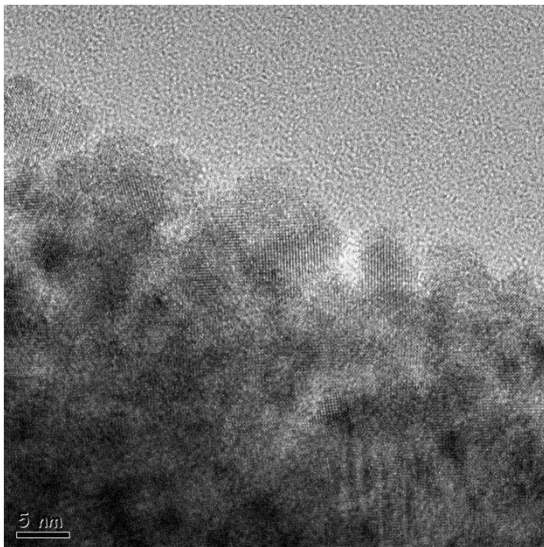
도면2d



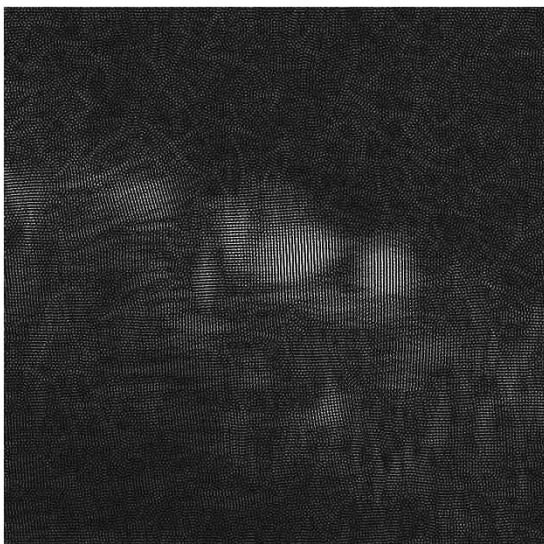
도면3a



도면3b



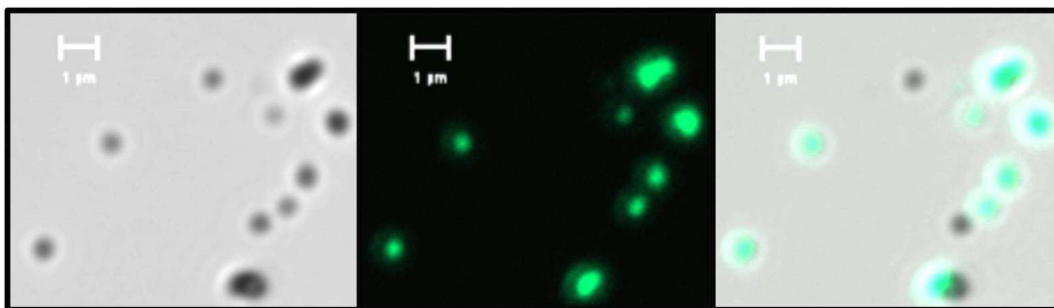
도면3c



도면3d



도면4a



도면4b

