

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2020년 4월 16일 (16.04.2020)



(10) 국제공개번호

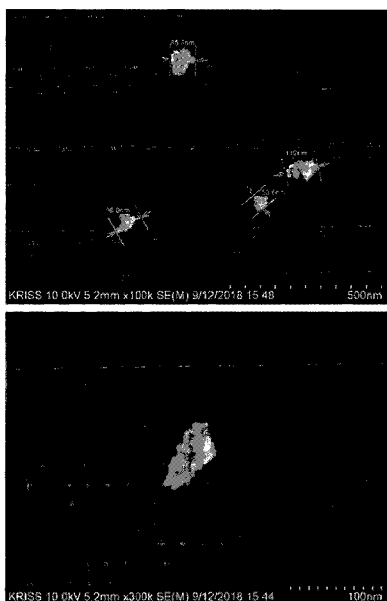
WO 2020/075880 A1

- (51) 국제특허분류: *G01N 33/543* (2006.01) *B82B 1/00* (2006.01)
G01N 21/65 (2006.01) *B82Y 30/00* (2011.01)
G01N 33/553 (2006.01) *B82Y 40/00* (2011.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2018/011875
- (22) 국제출원일: 2018년 10월 10일 (10.10.2018)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2018-0119979 2018년 10월 8일 (08.10.2018) KR
- (71) 출원인: 한국표준과학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF STANDARDS AND SCIENCE) [KR/KR]; 34113 대전시 유성구 가정로 267, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 유은아 (YOU, Eun-Ah); 34071 대전시 유성구 지족로 343, 204-701, Daejeon (KR). 김완선 (KIM, Wan-sun); 34118 대전광역시 유성구 가정로 43, 106-1601, Daejeon (KR). 이태걸 (LEE, Tae Geol); 34130 대전광역시 유성구 대덕대로 541번길 68, 103동 505호, Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 플러스 (PLUS INTERNATIONAL IP LAW FIRM); 35209 대전시 서구 한밭대로 809, 10층, Daejeon (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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, 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.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(54) Title: COMPOSITE NANOPARTICLES AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 발명의 명칭: 복합 나노입자 및 이의 제조방법

[도 4]



(57) Abstract: A method for preparing composite nanoparticles according to the present invention comprises the steps of: a) preparing a metal nanocore having a nanostar shape from a first reaction solution in which a first metal precursor is mixed in a first buffer solution; b) fixing a Raman reporter to the metal nanocore; and c) forming, from a second reaction solution in which the nanocore having the Raman reporter fixed thereto and a second metal precursor are mixed in a second buffer solution, a metal shell that covers the nanocore having the Raman reporter fixed thereto.

(57) 요약서: 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 a) 제 1 완충용액 (buffer solution) 에 제 1 금속 전구체가 혼합된 제 1 반응액으로부터 나노-별 형상의 금속 나노코어를 제조하는 단계; b) 상기 금속 나노코어에 라만 리포터를 고정하는 단계; 및 c) 제 2 완충용액에 상기 라만 리포터가 고정된 나노코어 및 제 2 금속 전구체가 혼합된 제 2 반응액으로부터 라만 리포터가 고정된 나노코어를 감싸는 금속 셸을 형성하는 단계;를 포함한다.

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 복합 나노입자 및 이의 제조방법

기술분야

- [1] 본 발명은 복합 나노입자 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 상세하게, 표면증강 라만산란 활성을 가지며 별도의 캡핑이나 전처리 없이, 직접적으로 생체 내부에 적용 가능한, 생체적합성 복합 나노입자 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] SERS(Surface-Enhanced Raman Scattering, 이하 SERS) 분광법은 금, 은 등의 금속 나노구조 표면에 분자가 흡착될 때 라만산란의 세기가 급격히 $10^6 \sim 10^8$ 배 이상 증가되는 현상을 이용한 분광법이다. 현재 아주 빠른 속도로 발전하고 있는 나노 기술과 결합하여 단 하나의 분자를 직접 측정할 수 있는 고감도의 기술로, 특히 메디컬 센서로서 긴요하게 쓰일 수 있을 것으로 많은 기대를 받고 있다.
- [3] SERS 분광법은 고선택성 및 고정보성을 갖는 측정 기술임과 동시에, 초고감도의 화학적/생물학적/생화학적 분석을 위한 강력한 분석방법임에 따라, 고감도 DNA 분석과 더불어 현재 알츠하이머 병 혹은 당뇨병 등을 비롯한 다양한 질병의 초기 진단을 수행하려는 연구가 활발히 진행되고 있다.
- [4] 나아가, SERS 분광 기반 바이오센싱 및 바이오이미징은 인-비트로(in-vitro)뿐만 아니라 인-비보(in-vivo) 분석에 매우 유용한데(KR10-1845495), 이는 수용성 및 고체상 샘플 모두를 고감도로 비파괴적으로 검출할 수 있기 때문이며, 극미량 농도의 생화학물질을 수십 마이크로미터 오더의 공간 해상도와 실시간에 이르는 시간 해상도로 검출 가능하기 때문이다.
- [5] 그러나, 인-비보 상태에서 SERS 분광에 기반한 바이오센싱이나 바이오이미징이 수행되기 위해서는, 그 자체가 핫-스팟(hot-spot)을 가지고, 라만 프루브를 포함하는 유기 구성요소가 외부로부터 안전하게 보호되며, 넓은 범위에서 LSPR(localized surface plasmon resonance) 파장의 튜닝이 가능하고, 무엇보다 생체적합성(biocompatibility)을 갖는 SERS 활성 입자의 개발이 선행되어야 한다. 또한, 인-비보 분석에 SERS 활성 입자가 실 사용되기 위해서는, 이러한 SERS 활성 입자를 단시간에 대량생산할 수 있는 기술의 개발 또한 선행되어야 한다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명의 목적은 표면증강 라만산란 활성(이하, SERS 활성)을 가지며 생체적합성을 갖는 복합 나노입자 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [7] 본 발명의 다른 목적은 라만 리포터를 포함한 유기물이 외부 환경으로부터 안정적으로 보호되는 SERS 활성 복합 나노입자 및 이의 제조방법을 제공하는

것이다.

- [8] 본 발명의 또 다른 목적은 입자 자체에 서로 상이한 2종 이상의 핫-스팟이 위치하여 현저하게 향상된 라만 산란 신호를 생성할 수 있는 SERS 활성 복합 나노입자 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [9] 본 발명의 또 다른 목적은 넓은 범위로 LSPR(localized surface plasmon resonance) 파장의 튜닝이 가능한 SERS 활성 복합 나노입자 및 이의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [10] 본 발명의 또 다른 목적은 생체적합성을 가지며 우수한 내구성 및 높은 SERS 활성을 갖는 복합 나노입자를 단시간에 대량생산할 수 있는 제조방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [11] 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 a) 제1 완충용액(buffer solution)에 제1 금속 전구체가 혼합된 제1 반응액으로부터 나노-별 형상의 금속 나노코어를 제조하는 단계; b) 금속 나노코어에 라만 리포터를 고정하는 단계; 및 c) 제2 완충용액에 라만 리포터가 고정된 나노코어 및 제2 금속 전구체가 혼합된 제2 반응액으로부터 라만 리포터가 고정된 나노코어를 감싸는 금속 셸을 형성하는 단계;를 포함한다.
- [12] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 제1 반응액 및 제2 반응액은 각각 계면활성제를 함유하지 않을 수 있다.
- [13] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 제1 완충용액의 제1 완충제(buffer agent)와 제1 금속 전구체의 몰비; 및 제1 완충용액의 pH; 중 하나 이상의 인자(factor)를 제어하여 나노코어의 형상, 크기 또는 형상과 크기를 조절할 수 있다.
- [14] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 제1 완충제의 몰수를 제1 금속 전구체의 몰수로 나눈 몰비인 R1은 200 내지 750일 수 있다.
- [15] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 제2 완충용액의 제2 완충제의 몰수를 제2 금속 전구체의 몰수로 나눈 몰비인 R2는 100 내지 400일 수 있다.
- [16] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 제1 완충용액 및 제2 완충용액은 각각 HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid), MES (4-(2-Hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid), PBS(Phosphated buffered saline), Tris(2-Amino-2hydroxymethyl propne-1,3-idol), PB(Phosphate buffer), MOPS(3-(N-morpholino)propanesulfonic acid), TAPS(3-[[1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-yl]amino]propane-1-sulfonic acid) 및 PIPES(piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid))에서 선택되는 하나 이상을 함유할 수 있다.
- [17] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 금속 전구체의

금속은 Au 또는 Ag일 수 있다.

- [18] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 c) 단계 후, d) 금속 셀에 분석대상물과 결합하는 수용체를 고정하는 단계;를 더 포함할 수 있다.
- [19] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 복합 나노입자는 생체 내부(in-vivo)용일 수 있다.
- [20] 본 발명은 상술한 제조방법으로 제조된 복합 나노입자를 포함한다.
- [21] 본 발명에 따른 복합 나노입자는 나노-별 형상의 금속 나노코어; 금속 나노코어에 고정된 라만 리포터를 포함하는 자기조립단분자막; 및 자기조립단분자막을 감싸는 금속 셀;을 포함한다.
- [22] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 복합 나노입자는 금속 셀에 의한 금속 표면을 가질 수 있다.
- [23] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 금속 나노코어는 10 내지 50nm 크기의 중심영역 및 5 내지 70nm의 크기를 가지며 중심영역으로부터 돌출되어 돌출 방향으로 축경되는 돌출부를 포함할 수 있다.
- [24] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 금속 셀은 1 내지 5nm의 평균 크기를 갖는 금속 미립자들로 이루어지며, 금속 미립자들의 응집에 의해 불규칙한 요철을 가질 수 있다.
- [25] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 복합 나노입자는 금속 셀에 고정되어 분석대상물과 결합하는 수용체를 더 포함할 수 있다.
- [26] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 복합 나노입자는 생체 내부(in-vivo)용일 수 있다.
- [27] 본 발명은 상술한 복합 나노입자를 포함하는 표면 증강 라만 산란(SERS) 나노프로브를 포함한다.

발명의 효과

- [28] 본 발명에 따른 복합 나노입자는 제조과정 및 제조된 직후 상태에서 계면활성제로부터 자유로워, 생체적합성을 갖는 장점이 있으며, 별도의 후처리 없이 바로 생체 내부(in-vivo)용으로는 사용 가능한 장점이 있다.
- [29] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자는 800nm 영역까지 아우르는 매우 넓은 LSPR 파장 튜닝 범위를 가져 근적외선의 조사에 의해 분석대상물의 분석이 가능한 장점이 있다.
- [30] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자는 나노-별 형상의 금속 나노코어를 포함함에 따라, 입자 그 자체에 강력한 핫-스팟이 위치하고, 금속 나노코어와 금속 셀간 균일한 크기의 나노갭(핫 스팟)이 복합 나노입자의 전 영역에 형성되고, 나아가, 금속 셀 자체 또한 표면 요철에 의한 나노갭을 가질 수 있으며, 라만 리포터가 핫-스팟인 나노갭에 위치함에 따라, 매우 우수한 라만 신호의 증강이 이루어질 수 있는 장점이 있다.

- [31] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자는 라만 리포터를 포함하는 유기 구성성분이 금속 셀에 의해 감싸여 보호되며, 라만 리포터의 두 작용기에 의해 금속 나노코어-라만 리포터의 자기조립단분자막-금속 셀이 강하게 결합되어 있음에 따라, 매우 우수한 내구성 및 물리적/화학적 안정성을 갖는 장점이 있다.
- [32] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 계면활성제의 도움 없이, 상술한 장점들을 갖는 복합 나노입자를 극히 간단한 방법으로 상온에서 단시간에 대량 생산 가능한 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [33] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 금속 나노코어를 관찰한 주사전자현미경 사진이다.
- [34] 도 2는 HEPES 완충용액에 분산된 Au 나노코어 분산액을 관찰한 광학사진이다.
- [35] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 금속 나노코어의 광 흡수도를 측정 도시한 도면이다.
- [36] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 복합 나노입자를 관찰한 주사전자현미경 사진이다.
- [37] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 복합 나노입자의 표면증강 라만산란(SERS) 스펙트럼을 도시한 도면이다.

[38]

발명의 실시를 위한 형태

- [39] 이하 첨부한 도면들을 참조하여 본 발명에 따른 복합 나노입자 및 이의 제조방법을 상세히 설명한다. 다음에 소개되는 도면들은 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 예로서 제공되는 것이다. 따라서, 본 발명은 이하 제시되는 도면들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있으며, 이하 제시되는 도면들은 본 발명의 사상을 명확히 하기 위해 과장되어 도시될 수 있다. 이때, 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명 및 첨부 도면에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다. 특별히 한정하지 않는 한 후술하는 내용에서 용액은 탈이온수를 이용한 수용액을 의미하며, 농도는 몰 농도를 의미한다.
- [40] 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 a) 제1 완충용액(buffer solution)에 제1 금속 전구체가 혼합된 제1 반응액으로부터 나노-별(nano-star) 형상의 금속 나노코어를 제조하는 단계; b) 금속 나노코어에 라만 리포터를 고정하는 단계; 및 c) 제2 완충용액에 라만 리포터가 고정된 나노코어 및 제2 금속 전구체가 혼합된 제2 반응액으로부터 라만 리포터가 고정된 나노코어를 감싸는 금속 셀을 형성하는 단계;를 포함한다.

- [41] 이때, 나노-별 형상은 단일한 중심영역 및 중심영역으로부터 돌출되어 돌출 방향으로 축경되는 하나 이상, 구체적으로 둘 이상, 보다 구체적으로 2 내지 10개, 보다 더 구체적으로 3 내지 8개의 돌출부를 포함하는 형상일 수 있다. 돌출부의 구체 형상으로 다각뿔이나 원뿔(conical)등을 들 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 금속 나노코어가 둘 이상의 돌출부를 가질 경우, 돌출부 각각의 형상이나 크기(돌출 길이)는 서로 동일하거나 상이할 수 있다. 금속 나노코어가 둘 이상의 돌출부를 가질 경우, 중심영역을 기준하여 둘 이상의 돌출부는 대칭관계를 갖거나 서로 일정 각도를 이루거나, 중심 영역의 랜덤한 위치에 돌출부가 위치할 수 있다.
- [42] 알려진 바와 같이 금속 나노입자화 및 설계된 형상화를 위해, 적절한 환원성을 제공하면서도 성장을 억제하거나 특정 방향으로의 성장을 유도하거나 및/또는 나노입자를 안정화시킬 수 있는 유기 계면활성제가 주지관용으로 사용되고 있으며, 이와 함께 유기산이 사용되거나 또는 계면활성제를 대체할 수 있는 유기산이 사용되고 있다. 그러나, 이러한 방법으로 합성된 금속 나노입자에는 생체에 해로운 유기 계면활성제 또는 유기 계면활성제와 유기산 유래 유기물이 결합되어 있다. 이에, 생체 내부(in-vivo)에 사용되기 위해서는, 생체적합성을 갖는 캡핑물질로 입자를 캡핑하거나 유기계면활성제등의 해로운 표면 작용기를 생체적합성을 갖는 다른 작용기로 치환시키는 등의 후처리 공정이 필수적으로 요구되고 있다.
- [43] 그러나, 캡핑물질을 이용한 캡핑은 SERS 분광에 기반한 바이오센싱이나 바이오이미징의 강도를 크게 감소시킬 수 있으며, 유기계면활성제를 생체적합성 작용기로 치환하고자 하는 경우 입자 성장을 억제하거나 특정방향으로 유도하기 위해서는 금속물질과 매우 강한 결합력으로 결합되는 유기계면활성제가 요구됨에 따라, 완전한 치환이 이루어지기 어려워 여전히 독성이 잔류하는 문제점이 있다.
- [44] 상술한 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 이미 생체적합성을 갖는 완충용액과 금속 전구체를 함유하는 액으로부터 금속 나노코어와 금속 셸 각각이 형성됨에 따라, 제조된 복합 나노입자가 생체에 유해한 유기 계면활성제로부터 자유로워 제조 직후 상태에서 바로 생체적합성을 가질 수 있다.
- [45] 즉, 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 별도의 후처리 없이 제조된 상태 그대로 생체에 주입될 수 있는 생체적합성을 갖는 복합 나노입자가 제조되는 장점이 있다.
- [46] 이에 따라, 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법에 있어, 제1 반응액 및 제2 반응액 각각은 계면활성제(유기계면활성제)를 함유하지 않을 수 있으며, 나아가, 제1 반응액 및 제2 반응액 각각은 계면활성제와 유기산을 모두 함유하지 않을 수 있다.
- [47] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은, 완충용액과 금속전구체를

함유하는 액을 이용한 금속 나노코어 형성, 라만 리포터 부착, 완충용액과 금속전구체를 함유하는 액을 이용한 금속 쉘 형성이라는 간단한 공정을 이용하여 복합 나노입자를 제조함에 따라, 저비용으로 단시간에 복합 나노입자를 대량생산할 수 있는 장점이 있다. 저비용으로 간단한 공정을 통해 제조 직후 생체적합성 나노입자를 대량생산할 수 있는 본 발명에 따른 제조방법은 매우 대량의 복합 나노입자가 요구되는 생체 내부 용도에 매우 적합하다.

- [48] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 라만 리포터를 포함한 유기물이 복합 나노입자의 표면에 노출되어 있지 않고, 금속 쉘에 의해 감싸여 있음에 따라, 라만 리포터를 포함한 유기물이 외부 환경으로부터 안정적으로 보호될 수 있는 장점이 있다.
- [49] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 금속 나노코어가 나노-별 형상임에 따라, 금속 나노코어 자체에 핫 스팟이 형성되어 있어, 복합 나노입자 그 자체만으로 산란 신호를 증강시킬 수 있는 장점이 있다.
- [50] 이때, 알려진 바와 같이, 핫 스팟(hot-spot)은 매우 강한 국소 전기장이 형성되며 국부적 표면 플라즈몬 공명(LSPR; localized surface plasmon resonance)이 발생하는 영역을 의미한다.
- [51] 나노입자간 또는 나노입자와 다른 구성요소간등과 같이 별개의 두 구성요소간의 핫 스팟에 의해 신호 증강이 이루어지는 경우, 두 구성요소의 나노 갭 영역이나 나노 갭 인근 영역에 분석대상물질이 위치(또는 결합)하여야 신호 증강이 이루어질 수 있다. 이러한 공간적 제약은 분석대상물질의 크기를 제한하게 되어 수 마이크로미터나 수십 마이크로미터 크기의 생화학물질의 분석을 불가하게 만든다.
- [52] 그러나, 개별적으로 독립된 상태의 단일한(single) 복합 나노입자 그 자체가 핫 스팟을 갖는 경우, 복합 나노입자와 결합하는 것만으로 신호 증강이 이루어질 수 있음에 따라, 실질적으로 분석대상물질의 크기에 제한이 없어, 생체 내부에서 다양한 생화학물질을 검출/분석하는데 매우 적합하다.
- [53] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 금속 나노코어가 나노-별 형상임에 따라, 나노-별의 구체 형상이나 크기(튀어나온 가지(branch)의 길이등을 포함함)를 조절함으로써 현저하게 넓은 범위로 LSPR 파장의 튜닝이 가능한 장점이 있다. 실질적인 일 예로, 금속 나노코어가 나노-별 형상인 경우, 구형에서는 가능하지 않은 800nm 영역대까지도 LSPR 파장의 튜닝이 이루어질 수 있다. 이러한 800nm 이상으로 튜닝 가능한 LSPR 파장은 가시광 대역이 아닌 근적외선(NIR, 780nm~1500nm) 대역의 광 조사에 의해 분석대상물의 검출 및 분석이 이루어질 수 있음을 의미할 수 있다.
- [54] 알려진 바와 같이 생화학물질을 포함한 바이오 물질에 가시광이 조사되는 경우 형광 현상이 발생할 수 있다. 형광의 세기는 라만 산란에 비해 매우 강하고, 형광이 라만 산란과 유사한 영역에서 발생하기 때문에 형광 피크에 가려 순수한

라만 스펙트럼을 얻기 어려운 문제점이 있다. 이에, 가시광이 아닌 근적외선 대역의 광조사에 의한 SERS 분석은 형광의 영향(간섭)없이 라만 스펙트럼을 취득할 수 있어 바이오 분야에 매우 유리하다.

- [55] 제1 완충용액의 제1 완충제(buffer agent)와 제1 금속 전구체의 몰비; 및 제1 완충용액의 pH; 중 하나 이상의 인자(factor)를 제어하여 금속 나노코어의 형상, 크기 또는 형상과 크기를 조절할 수 있다. 이때, 제1 완충용액은 pH 조절을 위해 HCl 등의 통상의 무기산, NaOH 등의 통상의 무기염기 또는 이들의 혼합물을 함유할 수 있음은 물론이다. 이러한 무기산이나 무기염기에 의한 pH 조절은 제조되는 금속 나노코어와 반응하지 않아 생체적합성을 훼손하지 않을 수 있어 유리하다.
- [56] 실질적인 일 예로, 제1 반응액에서 제1 완충제의 몰수를 제1 금속 전구체의 몰수로 나눈 몰비인 R1은 200 내지 750일 수 있다. 이러한 R1의 범위에서 나노-별 형상을 갖는 금속 나노코어가 제조될 수 있으며, 중심영역의 크기가 10 내지 50nm, 구체적으로 10 내지 40nm 수준인 나노-별 형상의 금속 나노코어가 제조될 수 있다.
- [57] 유리하게, R1은 500 내지 750일 수 있다. R1을 500 내지 750으로 제어함으로써 3개 이상의 돌출부, 구체적으로 3 내지 8개의 돌출부를 가지며 5 내지 70nm, 구체적으로 5 내지 50nm, 보다 구체적으로 10 내지 50nm 크기의 돌출부를 갖는 나노-별 형상의 금속 나노코어가 제조될 수 있다.
- [58] 또한, 200 내지 750 범위 내에서 R1을 조절함으로써 금속 나노코어의 중심 영역에서 돌출되는 돌출부(extrusion 또는 branch)의 길이를 제어할 수 있다. 보다 구체적인 일 예로, 200 내지 750 범위 내에서 R1 값을 높여 돌출부의 길이를 증가시킬 수 있다. 이때, 돌출부의 길이를 제어하여 복합 나노입자(또는 금속 나노코어)의 LSPR 파장이 제어될 수 있으며, 200 내지 750 범위 내에서 R1을 조절함으로써 600 내지 900nm로 LSPR 파장이 조절될 수 있다.
- [59] R1과 함께 또는 R1과 독립적으로(고정된 R1 하에), 제1 완충용액의 pH를 조절함으로써 금속 나노코어의 중심 영역에서 돌출되는 돌출부의 길이를 제어할 수 있다. 상세하게, 제1 완충용액의 pH는 5.0 내지 7.5일 수 있으며, 제1 완충용액의 pH를 증가시킴으로써 돌출부의 길이를 증가시킬 수 있다.
- [60] 제1 완충용액(또는 제1 완충제)은 HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid), MES(4-(2-Hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid), PBS(Phosphated buffered saline), Tris(2-Amino-2hydroxymethyl propne-1,3-idol), PB(Phosphate buffer), MOPS(3-(N-morpholino)propanesulfonic acid), TAPS(3-[[1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-yl]amino]propane-1-sulfonic acid) 및 PIPES(piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid))에서 선택되는 하나 이상을 함유할 수 있다. 이러한 완충제는 금속을 환원시키는 약한 환원제로 작용할 수 있고, 제조되는 금속 나노코어의 안정화를 위한 계면활성제가

불필요하며, 금속 나노코어의 생체적합성을 확보할 수 있다. 이때, 상술한 바와 같이, 제1 완충용액(수용액)은 pH 조절을 위한 무기산 및/또는 무기염기를 더 함유할 수 있음은 물론이다.

- [61] 제1금속 전구체의 제1 금속은 광과 상호작용에 의해 표면 플라즈몬이 발생하는 금속일 수 있다. 구체예로, 제1금속은 금, 은, 백금, 팔라듐, 니켈, 알루미늄, 구리 또는 이들의 혼합물 또는 이들의 합금등을 들 수 있다. 다만, 생체 안정성을 고려하여 제1 금속은 금 또는 은인 것이 좋다. 유리한 일 예에 따른 제1금속에 있어, 제1금속 전구체는 HAuCl_4 , HAuBr_4 , NaAuCl_4 , $\text{AuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaAuCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 또는 이들의 혼합물등과 같은 금전구체일 수 있으며, 또는, AgNO_3 등과 같은 은 전구체일 수 있으나, 본 발명이 금속 전구체의 구체 물질 종류에 의해 한정될 수 없음은 물론이다.
- [62] 보다 구체적으로, a) 단계는, 제1 완충용액에 제1금속 전구체 용액을 혼합하여 제1 반응액을 제조하고, 15 내지 40°C의 온도에서 제1 반응액을 반응시켜 금속 나노코어를 제조하는 단계를 포함할 수 있다.
- [63] 제1 완충용액에서 제1완충제의 몰 농도는 100 내지 400mM일 수 있으며, 제1금속 전구체 용액에서 제1금속 전구체의 몰 농도는 20 내지 60mM일 수 있다. 이러한 몰농도의 제1 완충용액과 제1금속 전구체 용액을 이용하는 경우 투입된 제1금속 전구체의 대부분을 금속 나노코어로 전환시킬 수 있어 유리하고 10 내지 50분의 반응시간내에 반응(금속 나노코어 합성)이 완료될 수 있어 유리하나, 제1 완충용액의 농도와 제1금속 전구체 용액의 농도가 반드시 상술한 범위로 한정되는 것은 아니다. 제1 완충용액과 제1금속 전구체 용액의 혼합시, 상술한 R1을 만족하도록 용액들이 혼합될 수 있음은 물론이다.
- [64] 제1 완충용액과 제1금속 전구체 용액의 혼합과 동시에 반응이 진행될 수 있으며, 반응은 15 내지 40°C의 온도, 구체적으로는 15 내지 35°C의 온도, 보다 구체적으로는 15 내지 25°C의 온도, 보다 더 구체적으로는 상온(21 내지 23°C)에서 수행될 수 있다. 이때, 상온은 제1 반응액에 인위적으로 열 에너지가 인가되지 않은 상태에서의 온도를 의미할 수 있음은 물론이다. 반응 시간은 금속 나노코어의 합성이 완료되기 충분한 시간이면 무방하여, 구체예로, 10 내지 50분, 보다 구체예로 20 내지 40분일 수 있으나 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.
- [65] 제1 반응액의 반응시, 필요시 선택적으로 제1 반응액의 교반이 이루어질 수 있다. 반응액을 교반하는 경우 반응 수율을 향상시킬 수 있으나, 제조되는 금속 나노코어의 형상이나 크기등은 교반 조건에 거의 영향을 받지 않는다. 교반은 500rpm 내지 1500rpm 수준이면 족하다.
- [66] 또한, a) 단계는, a1) 제1 완충용액에 제1금속 전구체 용액을 혼합하여 제1 반응액을 제조하고, 15 내지 40°C의 온도에서 제1 반응액을 반응시켜 금속 나노코어를 제조하는 단계; 및 a2) 반응이 완료된 제1 반응액을 금속 나노코어의 분산매이자 보관액으로 하여, 1 내지 10°C의 온도, 구체적으로 1 내지 5°C의

온도로 보관하는 단계;를 포함할 수 있다. 즉, a1)의 반응이 완료된 후, 반응이 완료된 제1반응액에서 금속 나노코어를 분리 회수하지 않고, 금속 나노코어를 함유하는 제1반응액 상태로 보관하되, 1 내지 10°C의 온도, 구체적으로 1 내지 5°C의 온도로 저온보관할 수 있다. 또는, 이와 달리, a) 단계는, a1) 제1 완충용액에 제1금속 전구체 용액을 혼합하여 제1 반응액을 제조하고, 15 내지 40°C의 온도에서 제1 반응액을 반응시켜 금속 나노코어를 제조하는 단계; 및 a2) 반응이 완료된 제1 반응액으로부터 금속 나노코어를 회수하고 제1 완충용액(별도의 제1 완충용액)에 분산하여 1 내지 10°C의 온도, 구체적으로 1 내지 5°C의 온도로 보관하는 단계;를 포함할 수 있다.

- [67] 물을 포함한 다른 분산매가 아닌, 반응이 완료된 반응액이나 제1 완충용액을 분산매로 a1) 단계에서 제조된 금속 나노코어를 1 내지 10°C의 저온에서 보관하는 경우 수십일에 이르는 보관에도 금속 나노코어의 플라즈모닉-활성(plasmonic-active) 특성이 변화되지 않고 안정적으로 유지될 수 있어 좋다.
- [68] 이때, 상술한 바와 같이, 제1 반응액은 나노입자의 안정화와 분산성을 향상시키고 동시에 환원제 역할을 수행할 수 있는 계면활성제, 유기산 또는 계면활성제와 유기산을 함유하지 않을 수 있으며, a1) 단계는 오직 제1 완충용액과 제1금속 전구체 용액만을 이용하여 수행될 수 있다. 이와 같이, 본 발명에 따른 제조방법은 2가지 용액의 단순 혼합 및 수침분의 상온 반응에 의해 금속 나노코어가 합성될 수 있음에 따라, 금속 나노코어를 대량생산에 매우 적합하다.
- [69] a) 단계가 수행된 후, b) 금속 나노코어에 라만 리포터(Raman reporter)를 고정하는 단계가 수행될 수 있다.
- [70] 라만 리포터는 라만 활성 분자를 포함하는 유기 화합물(유기 분자)을 의미할 수 있으며, 금속 나노코어의 금속과 결합력을 가지며 라만 활성 분자를 포함하는 유기 화합물(유기 분자)을 의미할 수 있다. 라만 리포터는 기 공지된 것이며, 이 기술분야에서 널리 사용되는 것이라면 어느 것이나 제한없이 사용할 수 있다.
- [71] 라만 리포터(분자)가 금속 나노코어의 금속과 결합력을 가짐에 따라, 순수한 금속 표면이 노출되는 금속 나노코어에는 라만 리포터의 자기조립단분자막이 형성될 수 있다.
- [72] 알려진 바와 같이 유기계면활성제나 유기산을 사용하여 나노입자를 합성하는 경우, 합성된 금속 나노입자의 표면에는 매우 강한 결합력으로 유기계면활성제나 유기산 유래 유기작용기들이 결합되어 있다. 이에, 이미 강하게 결합되어 있는 표면 작용기들에 의해, 목적하는 작용기로 금속 나노입자 표면을 균일하고 완전하게 감싸기(치환하기) 어려운 문제가 있다.
- [73] 그러나, a) 단계에서 유기산이나 유기계면활성제가 배제된 상태에서, 온전하 완충용액과 금속 전구체로부터 금속 나노코어가 제조되며, 상술한 바와 같이, 완충용액 내에서 안정적으로 분산이 유지됨에 따라, 제조된 금속 나노코어는

순수하게 금속의 자체의 표면 상태를 나타낼 수 있다. 이러한 금속의 표면 상태에 의해, 금속 나노코어에 라만 리포터(금속 나노코어와 결합력을 가지며 라만 활성 분자를 포함하는 유기 화합물)가 균일하며 균질하게 자발적으로 결합하며, 나노-별이라는 요철이 심한 형상임에도, 안정적으로 라만 리포터의 자기조립단분자막이 형성될 수 있다.

- [74] 라만 활성 분자는 표면 강화 라만 활성 분자, 표면증강 공명 라만 활성 분자, 하이퍼 라만 활성 분자, 또는 코히런트 반 스토크스 라만 활성 분자를 포함할 수 있다. 라만 활성 분자는 라만 신호와 형광 신호를 동시에 갖거나, 라만 신호를 가질 수 있다.
- [75] 구체예로, 라만 활성 분자는 시아닌(cyanines), 플루오레세인(fluorescein), 로다민(rhodamine), 7-니트로벤젠-2-옥사-1,3-디아졸(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazole: NBD), 프탈산, 테레프탈산, 아이소프탈산, 크레실 패스트 바이올렛(cresyl fast violet), 크레실 블루 바이올렛(cresyl blue violet), 브릴리언트 크레실 블루(brilliant cresyl blue), 파라아미노벤조산, 에리쓰로신, 비오틴, 디옥시제닌(digoxigenin), 프탈로시아닌, 아조메틴, 크산틴, N,N-디에틸-4-(5'-아조벤조트리아졸일)-페닐아민, 아미노아크리딘, 및 이들의 조합으로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다. 시아닌의 예에는 Cy3, Cy3.5, 또는 Cy5가 포함될 수 있다. 플루오레세인의 예에는, 카복시플루오레세인(carboxyfluorescein: FAM), 6-카복시-2',4,4',5',7,7'-헥사클로로플루오레세인(6-carboxy-2',4,4',5',7,7'-hexachlorofluorescein: HEX), 6-카복시-2',4,7,7'-테트라클로로플루오레세인(6-carboxy-2',4,7,7'-tetrachlorofluorescein: TET), 5-카복시-4',5'-디클로로-2',7'-디메톡시 플루오레세인, 6-카복시-4',5'-디클로로-2',7'-디메톡시플루오레세인(6-carboxy-4',5'-dichloro-2',7'-dimethoxyfluorescein: Joe) 5-카복시-2',4',5',7'-테트라클로로플루오레세인, 5-카복시플루오레세인, 또는 석신일플루오레세인이 포함될 수 있다. 로다민의 예에는 테트라메틸로다민(tetramethylrhodamine: Tamra), 5-카복시로다민, 6-카복시로다민로다민, 6G(Rhodamine 6G: R6G), 테트라메틸 로다민 이소티올(tetramethyl rhodamine isothiol: TRIT), 술포로다민 101 산 클로라이드(sulforhodamine 101 acid chloride: Texas Red dye), 카복시-X-로다민(carboxy-X-rhodamine: Rox), 또는 로다민 B(rhodamine B)가 포함될 수 있다.
- [76] 다른 구체예로, 라만 활성 분자는 벤젠고리 형태의 라만 활성 분자일 수 있으며, 벤젠고리 형태의 라만 활성 분자는 4-Aminothiophenol(4-ATP), 4-Mercaptobenzoic acid(4-MBA), Phenyl isothiocyanate(PITC), Benzenethiol(BT), 1,4-Benzenedithiol(BDT), Biphenyl-4,4'-dithiol(BPDT), *p*-Terphenyl-4,4'-dithiol(TPDT), 4-Bromobenzenethiol(4-BBT), 4-Chlorobenzenethiol(4-CBT), 3,3'-Diethylthiatricarbocyanine iodoide(DTTC)등을 들 수 있다.
- [77] 다만, 금속 나노코어에 결합되는 라만 리포터에 의해 금속 나노코어와 금속

셀간 나노 갭(핫-스팟)이 형성됨에 따라, 보다 강한 신호 증강이 이루어지는 핫스팟 형성 측면에서 라만 리포터의 길이(크기)는 3nm 이하, 구체적으로 0.5 내지 2nm인 것이 좋다.

- [78] 또한, 라만 리포터는 라만 활성 분자를 포함하되, 제1금속과 자발적으로 결합하는 제1작용기를 갖는 것이 좋다. 더 좋게는, 제1금속과 자발적으로 결합하는 제1작용기와 제2금속(제2금속 전구체의 제2금속)과 자발적으로 결합하는 제2작용기를 갖는 것이 좋다. c) 단계에서 금속 셀이 형성됨에 따라 제2작용기는 보다 원활하고 균일한 제2금속 셀의 핵생성 장소를 제공할 수 있으며, 제2금속 셀과 라만 리포터가 고정된 금속 나노코어간의 결합력을 크게 향상시킬 수 있어 유리하다.
- [79] 작용기(제1작용기 또는 제2작용기)는 금속을 고려하여 해당 금속과 자발적으로 결합하는 것으로 알려진 작용기이면 무방하다. 실질적인 일 예로, 제1금속과 제2금속이 서로 독립적으로 금 또는 은인 경우, 작용기(제1작용기 또는 제2작용기)는 티올기(-SH), 카르복실기 (-COOH) 또는 아민기(-NH₂)등일 수 있으나, 본 발명이 작용기의 구체 종류에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [80] 제1작용기에 의해 금속 나노코어의 금속과 결합력을 갖는 라만 활성 분자가 금속 나노코어에 자발적으로 결합(고정)됨으로써 금속 나노코어에는 라만 리포터의 자기조립단분자막이 형성될 수 있다.
- [81] 이러한 자기조립단분자막의 형성은, 금속 나노코어가 나노-별 모양의 큰 이방성을 갖는 형상임에도 불구하고, 균일한 두께를 갖는 라만 리포터의 막이 금속 나노코어의 전 표면에 균질하게 형성될 수 있도록 한다.
- [82] 금속 나노코어에 라만 리포터를 고정하는 b) 단계는 a) 단계에서 제조된 금속 나노코어와 라만 리포터를 함유하는 혼합액을 제조하고 초음파 교반하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [83] 구체적으로, b) 단계는 b1) a) 단계에서 제조된 금속 나노코어와 라만 리포터의 몰농도가 0.01 내지 1nM과 10 내지 1000 μ M이 되도록 혼합하여 혼합액을 제조하는 단계; 초음파 교반하며 10 내지 30분간 상온 반응시키는 단계; 및 b4) 라만 리포터가 고정된 금속 나노코어를 분리회수하는 단계;를 포함할 수 있다. 이때, 혼합액은 수계 혼합액일 수 있으며, 혼합액은 금속 나노코어의 응집을 방지하기 위해 BSPP(Bis (p-sulfonatophenyl) phenylphosphine)등과 같은 수용성 인계 방향족화합물을 더 포함할 수 있다.
- [84] b) 단계가 수행된 후, c) 제2 완충용액에 라만 리포터가 고정된 나노코어 및 제2 금속 전구체가 혼합된 제2 반응액으로부터 라만 리포터가 고정된 나노코어를 감싸는 금속 셀을 형성하는 단계가 수행될 수 있다. 라만 리포터가 고정된 나노코어(금속 나노코어)는 라만 리포터의 자기조립단분자막이 형성된 금속 나노코어일 수 있다.
- [85] c) 단계에서, 제2 완충용액의 제2 완충제와 제2 금속 전구체의 몰비(제2 완충제의 몰수를 제2 금속 전구체의 몰수로 나눈 몰비, R2)는 100 내지 400,

종계는 200 내지 400일 수 있다. R2를 100 내지 400, 종계는 200 내지 400으로 제어함으로써, 금속 나노코어에 고정된 라만 리포터를 안정적으로 덮는 5 내지 20 nm 두께의 얇은 막 형태로 금속 셸(제2금속의 셸)을 형성할 수 있다. 이때, 제2 완충용액의 pH 6.0 내지 7.5일 수 있으며, 제2 완충용액은 pH 조절을 위해 HCl등의 통상의 무기산, NaOH등의 통상의 무기염기 또는 이들의 혼합물을 함유할 수 있음은 물론이다.

- [86] c) 단계에서 형성되는 금속 셸은 나노코어에 고정된 라만 리포터에 의해 금속 나노코어와 나노 갭을 형성함에 따라, 점이나 선 형태가 아닌 금속 나노코어의 표면에 대응한 형상의 면 형태로 핫 스팟이 형성되어 보다 강한 라만 산란 신호를 획득할 수 있는 장점이 있다. 또한, 라만 리포터의 자기조립단분자막에 의해 나노 갭의 크기가 결정됨에 따라, 단지 설계된 적절한 크기를 갖는 라만 리포터로 자기조립단분자막을 형성함으로써, 나노-별 전 영역에서 균일하고 정밀하게 나노 갭의 크기가 제어될 수 있다.
- [87] 또한, R2를 100 내지 400, 종계는 200 내지 400으로 제어함으로써, 1 내지 5nm의 평균 크기를 갖는 금속(제2금속) 미립자들로 이루어지며, 금속 미립자들의 응집에 의해 불규칙한 요철을 갖는 금속 셸을 형성할 수 있다.
- [88] 1 내지 5nm의 평균 크기를 갖는 극히 미세한 금속 미립자들은, 라만 리포터, 구체적으로 자기조립단분자막을 사이에 두고 이방성이 큰 형상을 갖는 나노코어를 안정적으로 치밀하게 감싸면서도 얇은 금속 셸이 형성될 수 있어 유리하다. 또한, 금속 미립자들간의 응집 및 응집에 의한 불규칙한 요철은 나노 별 형상의 금속 나노코어에 의한 핫 스팟, 금속 나노코어와 금속 셸의 나노갭에 의한 핫 스팟과 함께, 셸의 표면 자체에 핫 스팟을 형성할 수 있어 신호 증강에 보다 유리하다.
- [89] 제2 완충용액(또는 제2 완충제)은 제1 완충용액과 독립적으로, HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid), MES (4-(2-Hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid), PBS(Phosphated buffered saline), Tris(2-Amino-2hydroxymethyl propne-1,3-idol), PB(Phosphate buffer), MOPS(3-(N-morpholino)propanesulfonic acid), TAPS(3-[[1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-yl]amino]propane-1-sulfonic acid) 및 PIPES(piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid))에서 선택되는 하나 이상을 함유할 수 있다. 이러한 완충제는 금속을 환원시키는 약한 환원제로 작용할 수 있고, 제조되는 복합 나노입자의 안정화를 위한 계면활성제가 불필요하며, 복합 나노입자(금속 셸이 형성된 라만 리포터 고정 금속 나노코어)의 생체적합성을 확보할 수 있다.
- [90] 제2금속 전구체의 제2 금속 또한 광과 상호작용에 의해 표면 플라즈몬이 발생하는 금속일 수 있으며, 제2금속은 금, 은, 백금, 팔라듐, 니켈, 알루미늄, 구리 또는 이들의 혼합물 또는 이들의 합금등을 들 수 있다. 다만, 생체 안정성을 고려하여 제2 금속은 제1 금속과 독립적으로 금 또는 은인 것이 좋다. 유리한 일

- 예에 따른 제2금속에 있어, 제2금속 전구체는 HAuCl_4 , HAuBr_4 , NaAuCl_4 , $\text{AuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaAuCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 또는 이들의 혼합물등과 같은 금전구체일 수 있으며, 또는, AgNO_3 등과 같은 은 전구체일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [91] 보다 구체적으로, c) 단계는, 제2 완충용액, 제2금속 전구체 용액 및 라만 리포터가 고정된 금속 나노코어 분산액을 혼합하여 제2 반응액을 제조하고, 15 내지 40°C의 온도, 유리하게는 상온에서 제2 반응액을 20분 이내, 구체적으로는 10분 이내, 보다 구체적으로는 5 내지 10분동안 반응시켜 금속 셸을 제조하는 단계를 포함할 수 있다. 이때, 반응시 격렬한 교반이 수행될 수 있으며, 반응의 종료는 제2 반응액에 과량의 물을 첨가함으로써 이루어질 수 있다.
- [92] 제2 완충용액에서 제2완충제의 몰 농도는 50 내지 200mM일 수 있으며, 제2금속 전구체 용액에서 제2금속 전구체의 몰 농도는 1 내지 20mM일 수 있고, 라만 리포터가 고정된 금속 나노코어 분산액에서 금속 나노코어의 몰 농도는 0.01 내지 0.5nM일 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [93] 제2 완충용액과 제2금속 전구체 용액은 상술한 R2를 만족하도록 혼합될 수 있으며, 금속 나노코어 분산액은 제2금속 전구체 : 금속 나노코어의 몰비가 1 : 1×10^{-7} 내지 1×10^{-5} 이 되도록 혼합될 수 있다. 이때, 금속 나노코어(들)에 균일하게 금속 셸이 형성될 수 있도록, 제2금속 전구체 용액과 금속 나노코어 분산액이 먼저 혼합된 후에 제2 완충용액이 혼합될 수 있다.
- [94] 상세하게, c) 단계는, c1) 제2금속 전구체 용액과 금속 나노코어 분산액을 혼합하여 전구체-나노코어 혼합액을 제조하는 단계; c2) 전구체-나노코어 혼합액에 제2 완충용액을 혼합하여 제2반응액을 제조하고 15 내지 40°C의 온도, 유리하게는 상온에서 제2 반응액을 20분 이내로 반응시켜 복합 나노입자를 제조하는 단계; 및 c3) 제조된 복합 나노입자를 분리회수하고 회수된 복합 나노입자를 제2 완충용액(별도의 제2완충용액)에 투입하여, 1 내지 10°C의 온도, 구체적으로 1 내지 5°C의 온도로 보관하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [95] c) 단계에 의해, 금속 나노코어, 금속 나노코어를 감싸는 라만 리포터의 자기조립단분자막, 자기조립단분자막을 감싸는 금속 셸을 포함하는 복합 나노입자가 제조될 수 있으며, 평균 150nm 이하의 크기(동일 부피의 구 환산 지름), 구체적으로 평균 100nm이하의 크기, 실질적으로 40 내지 100nm, 보다 실질적으로 60 내지 100nm, 보다 더 실질적으로 65 내지 80nm 크기의 복합 나노입자가 제조될 수 있다.
- [96] 본 발명의 일 실시예에 따른 복합 나노입자의 제조방법은 c) 단계 후, d) 금속 셸에 분석대상물과 결합(특이적으로 결합)하는 수용체를 고정하는 단계;를 더 포함할 수 있다. d) 단계는 제조된 복합 나노입자 분산액에 수용체를 혼합하여 수행될 수 있으며, 수용체 별로 알려진 프로토콜에 따라 고정이 수행될 수 있음은 물론이다.
- [97] 수용체는 분석대상물과 효소-기질, 항원-항체, 단백질-단백질 또는 DNA간의 상보적 결합하는 것으로 알려진 어떠한 물질이든 무방하다. 이때, 수용체는 금속

셀의 제2금속과 자발적으로 결합하는 작용기(일 예로, 티올기, 카르복실기 또는 아민기등)를 포함할 수 있으며, 작용기에 의해 금속 셀에 자발적으로 결합된 상태일 수 있다.

- [98] 분석대상물은 생물(바이러스를 포함함) 또는 비생물 유래 물질일 수 있다. 생물 유래 물질은 세포 성분을 포함할 수 있다. 구체적으로, 분석대상물은 병변 특이성을 갖는 병변 표지 생체물질, 병원체, 단백질, 핵산, 당, 약물등을 포함할 수 있다.
- [99] 분석대상물은 생체 내부(in-vivo)에 위치할 수 있으며, 생체 내부에서 검출될 수 있다. 즉, 상술한 복합 나노입자는 생체 내부(in-vivo)용일 수 있으며, 생체 주입용일 수 있다.
- [100] 이와 달리 분석대상물은 생체 외부에 위치할 수 있으며, 생체 외부에서 검출될 수 있다. 즉, 상술한 복합 나노입자는 생체 외부(in-vitro)용일 수 있다. 이때, 분석대상물은 혈액, 뇨, 점막 탈리물, 타액, 체액, 조직, 생검물 또는 이들의 조합등을 포함하는 시료의 형태일 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [101] 본 발명은 상술한 제조방법으로 제조된 복합 나노입자를 포함한다.
- [102] 이하, 본 발명에 따른 복합 나노입자를 상술한다. 이때, 복합 나노입자에서 금속 나노코어, 나노-별 형상, 라만 리포터, 자기조립단분자막, 금속 셀, 분석대상물, 수용체등은 앞서 복합 나노입자의 제조방법에서 상술한 바와 유사 내지 동일하다. 이에, 본 발명에 따른 복합 나노입자는 앞서 복합 나노입자의 제조방법에서 상술한 모든 내용을 포함한다.
- [103] 본 발명에 따른 복합 나노입자는 나노-별 형상의 금속 나노코어; 금속 나노코어에 고정된 라만 리포터를 포함하는 자기조립단분자막; 및 자기조립단분자막을 감싸는 금속 셀;을 포함한다. 본 발명에 따른 복합 나노입자는 계면활성제를 함유하지 않을 수 있다. 즉, 본 발명에 따른 복합 나노입자는 제조 과정 및 제조된 후 상태에서 유기계면활성제로부터 자유로워, 우수한 생체적합성을 가질 수 있다.
- [104] 본 발명에 따른 복합 나노입자는 나노-별 형상의 금속 나노코어를 포함할 수 있다.
- [105] 나노-별 형상의 나노코어는 중심영역의 크기가 10 내지 50nm, 구체적으로 10 내지 40nm 수준이며, 중심영역으로부터 돌출되어 돌출 방향으로 축경되는 5 내지 70nm, 구체적으로 5 내지 50nm, 보다 구체적으로 10 내지 50nm 크기 수준인 돌출부를 가질 수 있다. 실질적인 일 예로, 나노코어는 3개 이상의 돌출부, 구체적으로 3 내지 8개의 돌출부를 가질 수 있다.
- [106] 복합 나노입자가 나노-별 형상의 나노코어를 포함함에 따라, 복합 나노입자 자체가 핫-스팟을 가질 수 있다. 이에 의해 복합 나노입자 자체로 라만 신호 증강이 이루어질 수 있으며, 분석대상물의 크기 제한이 없고, 나노-별의 크기 및 구체 형상에 의해 LSPR 파장이 용이하게 튜닝될 수 있으며, 그 튜닝 범위가

800nm 영역에 이르도록 넓은 장점이 있다. 800nm 영역에 이르는 LSPR 파장은, 근적외선 조사에 의한 분석대상물의 라만 분석(SERS 분석)이 이루어질 수 있음을 의미한다.

- [107] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자는 나노코어가 나노-별이라는 매우 이방성이 큰 복잡한 형상임에도, 라만 리포터가 자기조립단분자막 형태로 나노코어에 고정되어 있음에 따라, 전 영역에서 균일하고 안정적인 SERS 활성을 나타낼 수 있는 장점이 있다. 또한, 라만 리포터가 핫 스팟에 위치함에 따라 우수한 라만 신호의 증강이 이루어질 수 있다.
- [108] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자는, 자기조립단분자막이 금속 셀에 의해 감싸여 보호됨에 따라, 물리적/화학적으로 취약한 유기 구성성분(라만 리포터)이 외부 환경으로부터 안정적으로 보호되는 장점이 있다.
- [109] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자는 라만 리포터가 제1금속(금속 나노코어)과 자발적으로 결합하는 제1작용기와 제2금속(금속 셀)과 자발적으로 결합하는 제2작용기를 가짐에 따라, 나노코어-자기조립단분자막-금속 셀간 매우 강한 결합을 가져 우수한 내구성과 안정성을 갖는 장점이 있다.
- [110] 또한, 본 발명에 따른 복합 나노입자는 라만 리포터가 자기조립단분자막 형태로 나노코어에 고정됨에 따라, 금속 셀과 나노코어간 자기조립단분자막의 두께(라만 리포터의 크기에 상응)에 해당하는 균일한 크기의 나노갭(핫 스팟)이 형성되어, 보다 큰 라만 신호의 증강이 이루어질 수 있다.
- [111] 라만 리포터의 작용기(제2작용기)에 의해 자기조립단분자막과 결합된 상태인 금속 셀은 1 내지 5nm의 평균 크기를 갖는 금속 미립자들로 이루어질 수 있으며, 금속 셀은 금속 미립자들의 응집에 의해 형성된 불규칙한 요철을 포함할 수 있다. 금속 셀의 물질인 제 2금속이 플라즈몬 활성을 가짐에 따라, 금속 미립자들의 응집 그 자체 및 금속 미립자간 응집에 의한 요철 구조 또한 라만 신호를 증강하는 핫 스팟으로 작용할 수 있다.
- [112] 복합 나노입자는 금속 셀에 고정되어 분석대상물과 결합하는 수용체를 더 포함할 수 있으며, 수용체는 금속 셀에 자발적으로 결합하는 작용기를 포함할 수 있다. 분석대상물과 특이적으로 결합하는 수용체에 의해 분석대상물이 라만 분광(SERS 분광)에 의해 분석 및 검출될 수 있으며, 나아가, 생체 내부에서 센싱이나 바이오이미징이 이루어질 수 있다.
- [113] 상술한 복합 나노입자는 생체 내부용이거나 생체 외부용일 수 있으며, 생체 내부용인 경우 복합 나노입자가 생체적합성을 가짐에 따라, 별도의 캡핑이나 표면 작용기 치환등이 불필요하며 복합 나노입자 자체가 바로 생체에 주입될 수 있다.
- [114] 본 발명은 상술한 제조방법으로 제조된 복합 나노입자를 포함하는 SERS 나노프로브를 포함한다.
- [115] 본 발명은 상술한 복합 나노입자를 포함하는 SERS 나노프로브를 포함한다.
- [116] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 금속 나노코어를 관찰한

주사전자현미경 사진이다.

- [117] 상세하게, 도 1의 금속 나노코어는 40mM 농도의 HAuCl_4 용액 500 μL 와 140mM 농도의 HEPES 완충용액(pH=7.2) 100mL을 혼합($R_1=700$)하고 상온에서 1000rpm으로 30분간 교반하여 제조한 것이다. 제조된 금속 나노코어는 관찰이나 후속되는 라만 리포터 고정 전까지 140mM 농도의 HEPES 완충용액에 4°C의 온도로 보관되었다.
- [118] 도 1에서 알 수 있듯이, 나노-별 형상의 Au 나노코어가 제조됨을 확인할 수 있으며, 중심 영역의 크기가 약 30nm이고, 돌출부의 길이가 약 20-30nm인 나노-별 형상의 Au 나노코어가 제조됨을 알 수 있다.
- [119] 도 2는 HEPES 완충용액에 보관된 Au 나노코어를 관찰한 광학사진으로, 도 2에서 알 수 있듯이, 별도의 계면활성제나 유기 분산제등의 도움 없이도 안정적으로 Au 나노코어의 분산이 유지되는 것을 확인할 수 있다.
- [120] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 금속 나노코어의 광 흡수도를 측정 도시한 도면이다. 도 3의 샘플들에서 $R_{[\text{HEPES}/\text{Au}]}=700(\text{pH } 7.2)$ 는 도 1의 나노코어와 동일한 방법으로 제조하되 R_1 이 700이고 HEPES 완충용액의 pH가 7.2인 조건에서 제조된 Au 나노코어를, $R_{[\text{HEPES}/\text{Au}]}=500(\text{pH } 7.2)$ 는 도 1의 나노코어와 동일한 방법으로 제조하되 R_1 이 500이고 HEPES 완충용액의 pH가 7.2인 조건에서 제조된 Au 나노코어를, $R_{[\text{HEPES}/\text{Au}]}=500(\text{pH } 5.2)$ 는 도 1의 나노코어와 동일한 방법으로 제조하되 R_1 이 500이고 HEPES 완충용액의 pH가 5.2인 조건에서 제조된 Au 나노코어를 의미한다.
- [121] 주사전자현미경 관찰을 통해, R_1 과 완충 용액의 pH에 따라 나노-별의 돌출부의 길이가 달라지며, R_1 이 커질수록, 또한, pH가 높아질수록 보다 잘 발달된 돌출부를 갖는 나노-별 형상의 Au 나노코어가 제조됨을 확인하였다.
- [122] 도 3을 통해, 중심 영역에서 돌출된 돌출부에 의해 핫-스팟이 형성됨에 따라, 이러한 돌출부의 발달 정도에 따라 LSPR 파장이 튜닝됨을 확인할 수 있으며, 돌출부가 잘 발달될수록 LSPR 파장이 장파장으로 이동함을 확인할 수 있다. 또한, $R_{[\text{HEPES}/\text{Au}]}=700(\text{pH } 7.2)$ 샘플에서 확인할 수 있듯이, LSPR 파장의 튜닝이 근적외선 영역까지 가능함을 알 수 있다.
- [123] 도 4는 Au 나노코어에 라만 리포터의 자기조립단분자막을 형성한 후, 다시 HEPES 완충용액과 금 전구체 용액을 이용하여 Au 셸을 형성하여 제조된 복합 나노입자를 관찰한 주사전자현미경 사진이다.
- [124] 상세하게, 원심분리(8000rpm, 10분)로 Au 나노코어($R_{[\text{HEPES}/\text{Au}]}=700(\text{pH } 7.2)$ 샘플)를 반응액에서 회수하고, 1mM BSPP(Bis(p-sulfonatophenyl)phenylphosphine dihydrate dipotassium salt) 용액 4mL와 혼합하고 10분동안 초음파처리하여 0.1nM 몰농도의 Au 나노코어 분산액을 제조하였다. Au 나노코어 분산액 4mL와 10mM 몰농도의 BDT(1,4-benzenedithiol) 200 μL 와 혼합하고 10분동안 초음파처리한 후, 6000rpm으로 10분간 원심분리하여 라만리포터인 BDT의 자기조립단분자막이 형성된 Au 나노코어를 회수하였다. 회수된 자기조립단분자막이 형성된 Au

나노코어를 4mL의 탈이온수에 분산(0.1nM 몰농도)시키고, 분산액에 10mM HAuCl_4 100 μL 와 pH7.2의 100mM HEPES 완충용액 3mL를 투입하고 10분간 교반하여 도 4의 복합 나노입자를 제조하였다. 이때, R2는 300이었다.

[125] 도 4에서 알 수 있듯이 돌출부를 포함한 나노-별의 전 영역이 응집에 의해 표면 요철을 형성하는 Au 미립자들에 의해 안정적으로 둘러싸이며 울퉁불퉁한 표면을 갖는 팝콘 형태의 복합 나노입자가 제조됨을 알 수 있다. 또한, 도 4의 하부 고배율 주사전자현미경 관찰 사진을 통해, 수 나노미터 수준의 Au 미립자들이 응집되며 불규칙적인 표면 요철을 형성함을 알 수 있다.

[126] 도 5는 제조된 복합 나노입자(도 4의 샘플)의 표면증강 라만산란(SERS) 스펙트럼을 도시한 도면이다. SERS 스펙트럼은 마이크로 라만시스템(Horiba)을 이용하여 514nm, 633nm 또는 785nm의 광을 복합 나노입자에 조사하여 취득하였다.

[127] 도 5에서 알 수 있듯이, 근적외선 대역인 785nm 광에 의해 매우 강한 라만 산란 신호가 얻어짐을 확인할 수 있으며, 1100 cm^{-1} 영역 근처와 1550 cm^{-1} 영역 근처에서 관찰되는 강한 라만 신호는 라만 리포터(DBT) 고유의 SERS 신호와 일치함을 알 수 있다.

[128] 이상과 같이 본 발명에서는 특정된 사항들과 한정된 실시예 및 도면에 의해 설명되었으나 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다.

[129] 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니되며, 후술하는 특허청구범위뿐 아니라 이 특허청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 것들은 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

[130]

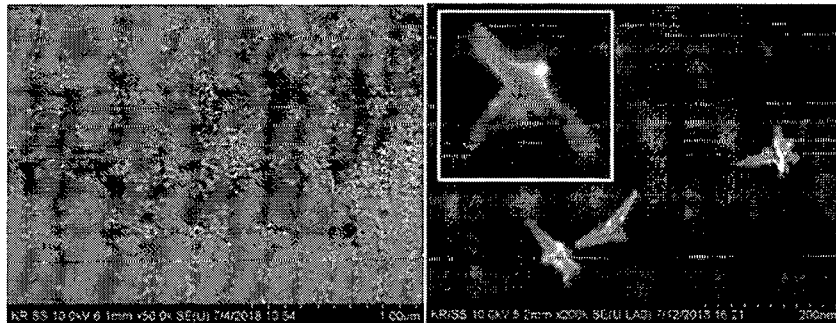
청구범위

- [청구항 1] a) 제1 완충용액(buffer solution)에 제1 금속 전구체가 혼합된 제1 반응액으로부터 나노-별 형상의 금속 나노코어를 제조하는 단계;
b) 금속 나노코어에 라만 리포터를 고정하는 단계; 및
c) 제2 완충용액에 상기 라만 리포터가 고정된 나노코어 및 제2 금속 전구체가 혼합된 제2 반응액으로부터 라만 리포터가 고정된 나노코어를 감싸는 금속 셸을 형성하는 단계;
를 포함하는 복합 나노입자의 제조방법.
- [청구항 2] 제 1항에 있어서,
상기 제1 반응액 및 제2 반응액은 각각 계면활성제를 함유하지 않는 복합 나노입자의 제조방법.
- [청구항 3] 제 1항에 있어서,
상기 제1 완충용액의 제1 완충제(buffer agent)와 상기 제1 금속 전구체의 몰비; 및 상기 제1 완충용액의 pH; 중 하나 이상의 인자(factor)를 제어하여 나노코어의 형상, 크기 또는 형상과 크기를 조절하는 복합 나노입자의 제조방법.
- [청구항 4] 제 3항에 있어서,
상기 제1 완충제의 몰수를 상기 제1 금속 전구체의 몰수로 나눈 몰비인 R1은 200 내지 750인 복합 나노입자의 제조방법.
- [청구항 5] 제 1항에 있어서,
상기 제2 완충용액의 제2 완충제의 몰수를 상기 제2 금속 전구체의 몰수로 나눈 몰비인 R2는 100 내지 400인 복합 나노입자의 제조방법.
- [청구항 6] 제 1항에 있어서,
상기 제1 완충용액 및 제2 완충용액은 각각
HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid), MES
(4-(2-Hydroxyethyl)piperazine-1-ethanesulfonic acid), PBS(Phosphated buffered saline), Tris(2-Amino-2hydroxymethyl propne-1,3-idol),
PB(Phosphate buffer), MOPS(3-(N-morpholino)propanesulfonic acid),
TAPS(3-[[1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-yl]amino]propane-1-sulfonic acid) 및 PIPES(piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid))에서
선택되는 하나 이상을 함유하는 복합 나노입자의 제조방법.
- [청구항 7] 제 1항에 있어서,
상기 금속 전구체의 금속은 Au 또는 Ag인 복합 나노입자의 제조방법.
- [청구항 8] 제 1항에 있어서,
c) 단계 후,
d) 상기 금속 셸에 분석대상물과 결합하는 수용체를 고정하는 단계;를 더
포함하는 복합 나노입자의 제조방법.

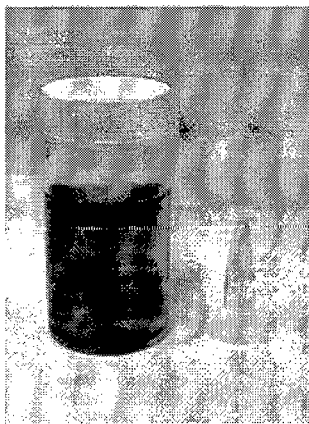
- [청구항 9] 제 1항에 있어서,
상기 복합 나노입자는 생체 내부(in-vivo)용인 복합 나노입자의 제조방법.
- [청구항 10] 제 1항 내지 제 9항 중 어느 한 항에 따른 복합 나노입자의 제조방법으로
제조된 복합 나노입자.
- [청구항 11] 나노-별 형상의 금속 나노코어;
상기 금속 나노코어에 고정된 라만 리포터를 포함하는
자기조립단분자막; 및
상기 자기조립단분자막을 감싸는 금속 셸;
을 포함하는 복합 나노입자.
- [청구항 12] 제 11항에 있어서,
상기 복합 나노입자는 금속 셸에 의한 금속 표면을 갖는 복합 나노입자.
- [청구항 13] 제 11항에 있어서,
상기 금속 나노코어는 10 내지 50nm 크기의 중심영역 및 5 내지 70nm의
크기를 가지며 상기 중심영역으로부터 돌출되어 돌출 방향으로 축경되는
돌출부를 포함하는 복합 나노입자.
- [청구항 14] 제 11항에 있어서,
상기 금속 셸은 1 내지 5nm의 평균 크기를 갖는 금속 미립자들로
이루어지며, 상기 금속 미립자들의 응집에 의해 불규칙한 요철을
형성하는 복합 나노입자.
- [청구항 15] 제 11항에 있어서,
상기 복합 나노입자는 상기 금속 셸에 고정되어 분석대상물과 결합하는
수용체를 더 포함하는 복합 나노입자.
- [청구항 16] 제 11항에 있어서,
상기 복합 나노입자는 생체 내부(in-vivo)용인 복합 나노입자.
- [청구항 17] 제 11항 내지 제 16항 중 어느 한 항에 따른 복합 나노입자를 포함하는
표면 증강 라만 산란(SERS) 나노프로브.

【도면】

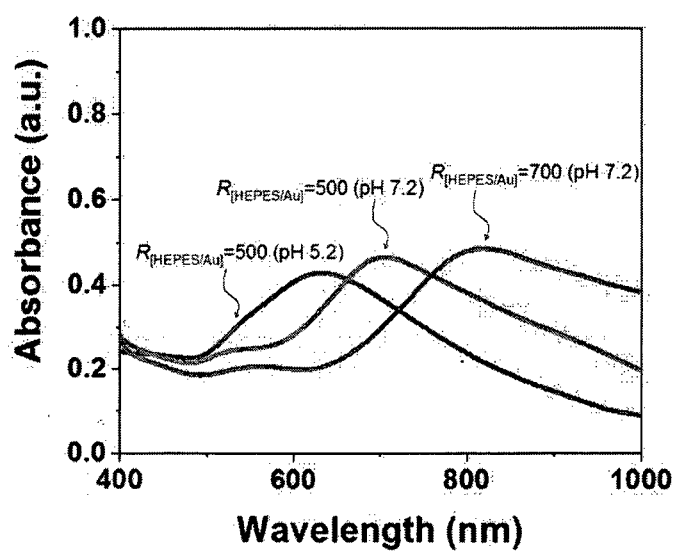
【도 1】



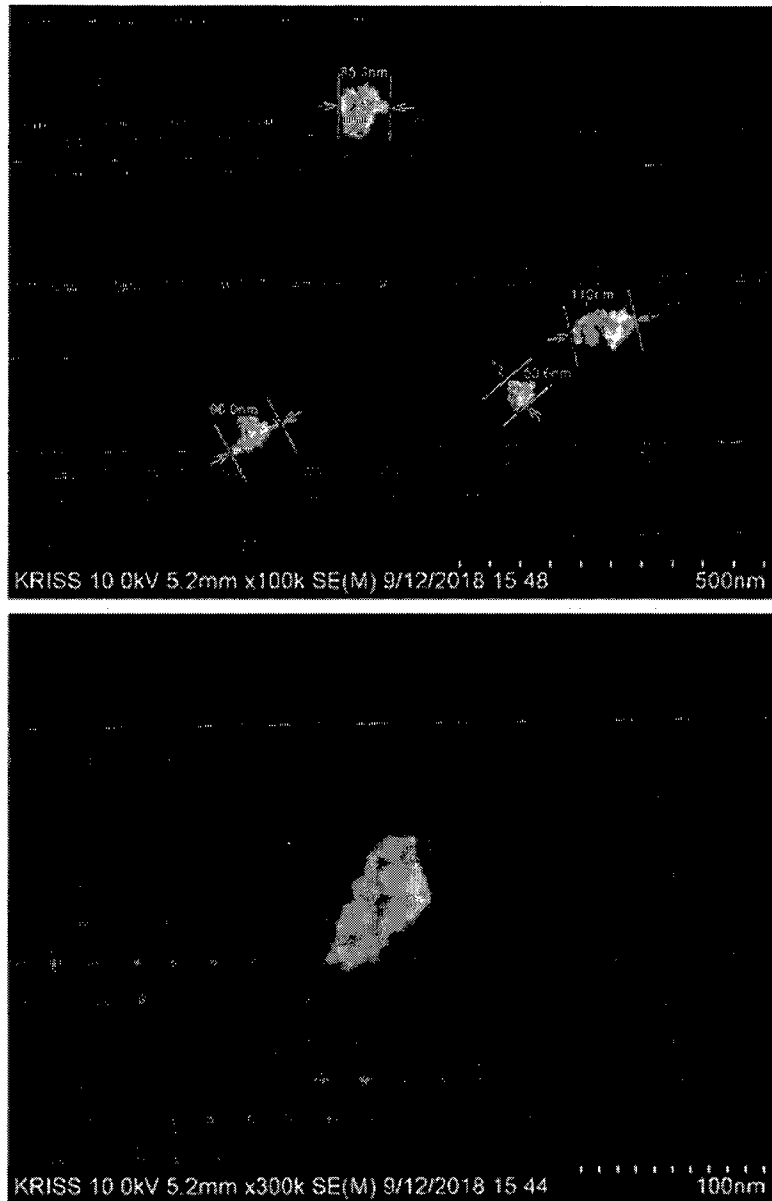
【도 2】



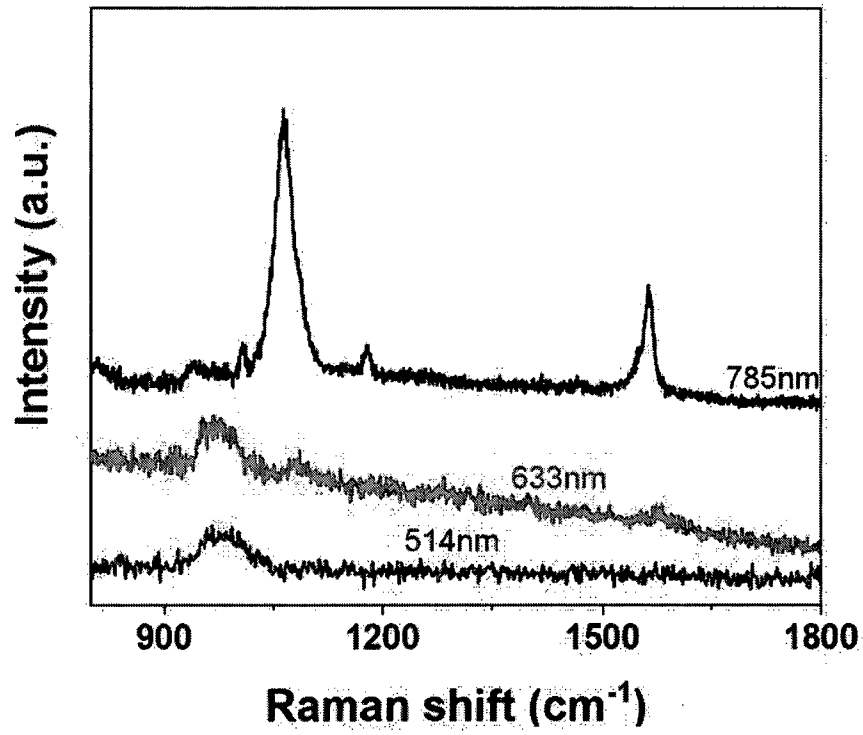
【도 3】



【도 4】



【도 5】



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/011875

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/543(2006.01)i, G01N 21/65(2006.01)i, G01N 33/553(2006.01)i, B82B 1/00(2006.01)i, B82Y 30/00(2011.01)n, B82Y 40/00(2011.01)n

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 33/543; B82B 1/00; G01N 21/65; G01N 27/26; G01N 33/52; G01N 33/553; B82Y 30/00; B82Y 40/00

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: nano, particle, raman, core, shell

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	XU, S. et al. Preparation of Au-Ag core-shell nanoparticles and application of bimetallic sandwich in surface-enhanced Raman scattering (SERS). Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2005, vols. 257-258, pages 313-317 See abstract.	1-17
Y	KR 10-1486697 B1 (KNU-INDUSTRY COOPERATION FOUNDATION et al.) 30 January 2015 See claims 1, 9, 13-14; paragraphs [0021], [0033], [0038], [0044].	1-17
Y	KR 10-2014-0101980 A (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) 21 August 2014 See paragraph [0080].	11-17
A	ZHANG, Y. et al. Gold and silver nanoparticle monomers are non-SERS-active: a negative experimental study with silica-encapsulated Raman-reporter-coated metal colloids. 2015, Physical Chemistry Chemical Physics. vol. 17, pages 21120-21126 See the entire document.	1-17
A	JP 2012-008144 A (EMORY UNIV.) 12 January 2012 See the entire document.	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 08 JULY 2019 (08.07.2019)	Date of mailing of the international search report 08 JULY 2019 (08.07.2019)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/011875

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2016-0057710 A (KOREA INSTITUTE OF MACHINERY & MATERIALS) 24 May 2016 See the entire document.	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2018/011875

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-1486697 B1	30/01/2015	None	
KR 10-2014-0101980 A	21/08/2014	KR 10-1493588 B1	16/02/2015
JP 2012-008144 A	12/01/2012	AU 2004-308238 A1	14/07/2005
		AU 2004-308238 B2	10/12/2009
		CA 2536266 A1	14/07/2005
		CA 2536266 C	15/10/2013
		EP 1660320 A2	31/05/2006
		EP 1660320 B1	29/05/2013
		JP 2007-502716 A	15/02/2007
		JP 5244312 B2	24/07/2013
		US 2009-0140206 A1	04/06/2009
		US 7588827 B2	15/09/2009
		WO 2005-062741 A2	14/07/2005
		WO 2005-062741 A3	02/03/2006
KR 10-2016-0057710 A	24/05/2016	KR 10-1695335 B1	11/01/2017

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 33/543(2006.01)i, G01N 21/65(2006.01)i, G01N 33/553(2006.01)i, B82B 1/00(2006.01)i, B82Y 30/00(2011.01)n, B82Y 40/00(2011.01)n

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 33/543; B82B 1/00; G01N 21/65; G01N 27/26; G01N 33/52; G01N 33/553; B82Y 30/00; B82Y 40/00

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: 나노, 입자, 라만, 코어, 셸

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	XU, S. 등, "Preparation of Au-Ag coreshell nanoparticles and application of bimetallic sandwich in surface-enhanced Raman scattering (SERS)", Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects., 2005, 제257-258권, 페이지 313-317 초록 참조.	1-17
Y	KR 10-1486697 B1 (강원대학교산학협력단 등) 2015.01.30 청구항 1, 9, 13-14; 단락 [0021], [0033], [0038], [0044] 참조.	1-17
Y	KR 10-2014-0101980 A (서울대학교산학협력단) 2014.08.21 단락 [0080] 참조.	11-17
A	ZHANG, Y. 등, "Gold and silver nanoparticle monomers are non-SERS-active: a negative experimental study with silica-encapsulated Raman-reporter-coated metal colloids", 2015, Physical Chemistry Chemical Physics, 제17권, 페이지 21120-21126 전체 문헌 참조.	1-17
A	JP 2012-008144 A (EMORY UNIV.) 2012.01.12 전체 문헌 참조.	1-17

☒ 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

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2019년 07월 08일 (08.07.2019)

국제조사보고서 발송일

2019년 07월 08일 (08.07.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



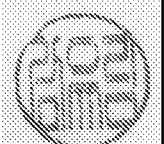
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

감유림

전화번호 +82-42-481-3516



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2016-0057710 A (한국기계연구원) 2016.05.24 전체 문헌 참조.	1-17

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-1486697 B1	2015/01/30	없음	
KR 10-2014-0101980 A	2014/08/21	KR 10-1493588 B1	2015/02/16
JP 2012-008144 A	2012/01/12	AU 2004-308238 A1	2005/07/14
		AU 2004-308238 B2	2009/12/10
		CA 2536266 A1	2005/07/14
		CA 2536266 C	2013/10/15
		EP 1660320 A2	2006/05/31
		EP 1660320 B1	2013/05/29
		JP 2007-502716 A	2007/02/15
		JP 5244312 B2	2013/07/24
		US 2009-0140206 A1	2009/06/04
		US 7588827 B2	2009/09/15
		WO 2005-062741 A2	2005/07/14
		WO 2005-062741 A3	2006/03/02
KR 10-2016-0057710 A	2016/05/24	KR 10-1695335 B1	2017/01/11