(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0114732
(43) 공개일자 2010년10월26일

(51) Int. Cl.
G01N 33/553 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
C01G 11/02 (2006.01) *C01G 9/08* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0033257
(22) 출원일자 2009년04월16일
심사청구일자 2009년04월16일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
성윤모
경기 성남시 분당구 정자동 정든마을 한진아파트 604-2501
김강일
서울 강남구 삼성2동 롯데캐슬프리미어 104동 1203호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 대아

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점, 그 제조 방법 및 이를 이용하여 혈소판 유래 생산 인자의 농도를 검출하는 방법

(57) 요 약

본 발명은 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점, 그 제조 방법 및 이를 이용하여 혈소판 유래 생산 인자의 농도를 검출하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 먼저 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 합성하고, 클로로폼(chloroform)에 분산되어 있는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 바이오 물질 검출에 응용하기 위해 극성 용매에 분산될 수 있는 리간드로 표면을 치환 시키고, 혈소판 유래 생산인자(Platelet Derived Growth Factor, PDGF) 앱타머(aptamer)를 고정화 시킴으로써, 혈소판 유래 생산 이자의 농도 검출을 용이하게 하고, 검출 효율을 향상시킬 수 있도록 하는 발명에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1c



(72) 발명자

성준우

대전광역시 대덕구 오정동 210-1

오민규

서울특별시 강남구 압구정동 신현대아파트 104-605

김경우

서울특별시 강남구 논현2동 동현아파트 2동 503호

특허청구의 범위

청구항 1

혈소판 유래 생산 인자(Platelet Derived Growth Factor, PDGF) 앱타머가 표면에 고정화된 형태로 이루어지는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점은 블랙홀 켄처(Black Hole Quencher , BHQ)에 의해서 FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer) 현상이 발현되는 특성을 갖는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점은 카드뮬셀레나이드 코어에 황화아연이 쉘로 둘러싸인 구조로 이루어지는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점은 지름이 3 ~ 5nm의 크기인 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점.

청구항 5

카드뮴을 이온화시킨 제 1 용액을 형성하는 단계;

셀레늄을 이온화시킨 제 2 용액을 형성하는 단계;

상기 제 2 용액이 가열된 상태에서 상기 제 1 용액을 첨가하여 카드뮴셀레나이드 양자점이 내부에 형성된 제 3 용액을 형성하는 단계;

상기 제 3 용액을 냉각시키는 단계;

아연 및 황을 이온화시킨 제 4 용액을 형성하는 단계;

상기 제 3 용액에 상기 제 4 용액을 첨가시켜 표면에 황화아연 껍질이 형성된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점이 내부에 형성된 제 5 용액을 형성하는 단계;

상기 제 5 용액을 교반하면서 냉각시키는 단계;

상기 제 5 용액을 세척하는 공정을 통하여 얻어지는 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 버퍼용액에 분산시킨 제 6 용액을 형성하는 단계;

상기 제 6 용액에 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA), N-Hydroxy-Succinimide(NHS) 및 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide(EDC)를 첨가하여 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점의 표면의 카르복실 그룹을 활성화시키는 단계;

상기 제 6 용액을 세척하는 공정을 통하여 얻어지는 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 버퍼용액에 분산시킨 제 7 용액을 형성하는 단계;

상기 제 7 용액에 혈소판 유래 생산 인자(Platelet Derived Growth Factor, PDGF)의 바인딩 DNA를 첨가하여, 표면에 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer)가 고정화된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 형성하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 제 1 용액을 형성하는 단계는

산화 카드뮴 소스 및 스테릭 에시드(stearic acid)를 용기에 넣고 질소분위기에서 130 ~ 150℃의 온도로 가열하는 단계; 및

상기 용기에 트라이옥틸포스파인 옥사이드 및 핵사데실아민을 1:1의 비율로 첨가하고 280 ~ 310℃의 온도로 재가열하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 7

제 5 항에 있어서,

상기 제 2 용액을 형성하는 단계는

셀레늄 소스 및 트라이부틸포스파인 용액을 혼합하여 1M로 만드는 단계; 및

울트라소닉(ultrasonic)을 이용하여 셀레늄 소스를 용해시키는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 8

제 5 항에 있어서,

상기 제 3 용액을 형성하는 단계는

250 ~ 350℃의 온도 가열된 상기 제 2 용액에 상기 제 1 용액을 주사기를 이용하여 주입하고, 교반 공정을 수행하여 카드뮴셀레나이드 양자점을 형성시키는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 9

제 5 항에 있어서,

상기 제 3 용액을 냉각하는 단계는 200 ~ 220℃의 온도까지 수행하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 10

제 5 항에 있어서,

상기 제 4 용액을 형성하는 단계는

아연 및 황 소스를 트라이부틸포스파인 용액에 이온화시키는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 11

제 5 항에 있어서,

상기 제 5 용액을 형성하는 단계는

상기 제 3 용액에 상기 제 4 용액을 주입하여 카드뮴셀레나이드 양자점 표면에 항화아연 껍데기가 형성되도록 하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 12

제 5 항에 있어서,

상기 제 5 용액을 교반하면서 냉각시키는 단계는 100 ~ 120℃ 까지 냉각을 수행하고, 60분 ~ 90분 동안 교반하는 공정을 수행하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 13

제 5 항에 있어서,

상기 제 6 용액에 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA)를 첨가하는 공정은 상기 제 6 용액에 분산된 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 및 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA)의 비율이 1:3 ~ 1:5가 되도록 하고 5 ~ 7시간 동안 교반시키는 공정을 더 수행하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 14

제 5 항에 있어서,

상기 세척 공정은 클로로폼 및 메탄올을 1:1의 비율로 혼합한 용액에 상기 제 5 용액 또는 상기 제 6 용액을 넣고 원심분리기를 이용하여 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점이 분말로 얻어 질 수 있도록 하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 15

제 5 항에 있어서,

상기 세척 공정은 2 ~ 5회 수행하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 16

제 5 항에 있어서,

상기 버퍼용액은 클로로폼 또는 톨루엔을 이용하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 17

제 5 항에 있어서,

상기 표면에 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer)가 고정화된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 형성하는 단계는 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 표면의 카르복실 그룹과 상기 혈소판 유래 생산 인자(Platelet

Derived Growth Factor, PDGF)의 바인딩 DNA 표면의 아민 그룹이 커플링 리액션(coupling reaction)에 의해 고정화되도록 하는 것을 특징으로 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법.

청구항 18

제 1 항의 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer)가 고정화된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 버퍼용액에 분산시킨 제 1 용액을 형성하는 단계;

상기 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer) 10 ~ 20mer와 이종접합(hybridization)이 가능한 양만큼의 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)의 표면에 블랙홀 컨처(Black Hole Quencher; BHQ)를 고정화시키는 단계;

상기 BHQ가 고정화되어 있는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 상기 제 1 용액에 넣고 반응시켜, 상기 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer)가 고정화된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점에서 FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer) 현상이 발현되도록 하는 제 2 용액을 형성하는 단계; 및

상기 제 2 용액에 혈소판 유래 생산 인자를 첨가하면서, 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점에서 발광되는 강도를 측정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈소판 유래 생산 인자의 농도를 검출하는 방법.

청구항 19

제 18 항에 있어서,

상기 올리고뉴클레오타이드의 표면에 블랙홀 컨처(BHQ)를 고정화시키는 단계는 상기 올리고뉴클레오타이드가 분산되어 있는 버퍼 용액에 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA), N-Hydroxy-Succinimide(NHS), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide(EDC)를 첨가하여 상기 올리고뉴클레오타이드 표면의 카르복실 그룹을 활성화시키는 단계; 및

상기 카르복실 그룹과 상기 블랙홀 컨처(BHQ) 표면의 아민 그룹이 커플링 리액션(coupling reaction)에 의해 고정화되도록 하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈소판 유래 생산 인자의 농도를 검출하는 방법.

청구항 20

제 19 항에 있어서,

상기 BHQ가 고정화되어 있는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 상기 제 1 용액에 넣고 반응시키는 단계는 35 ~ 40℃의 온도에서, 2.5시간 ~ 3.5시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 혈소판 유래 생산 인자의 농도를 검출하는 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 독성이 없도록 표면 처리하고, 바이오물질과 쉽게 결합 할 수 있도록한 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점에 혈소판 유래 생산인자 앱타머를 고정화시키고, 이를 이용하여 농도 검출을 용이하게 할 수 있도록 하는 기술에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 최근 의약분야에서 혈액을 포함한 생체 시료를 분석하기 위한 것으로 전기화학적 바이오센서의 사용이 증가되고 있다.

[0003] 바이오센서란 측정 대상물로부터 정보를 얻을 때 생물학적 요소를 이용하거나 또는 생물학적 요소를 모방하는

것을 사용하여 색, 형광, 전기적 신호 등과 같이 인식 가능한 유용한 신호로 변환시켜주는 시스템이라 할 수 있다.

[0004] 이러한 바이오센서는 불과 몇 년 전까지만 하더라도 주로 임상적인 수요가 큰 혈당(blood glucose) 센서에 집중되었으나, 최근 분자생물학, 나노테크놀로지(NT) 및 정보통신기술(IT)의 급격한 발달로 다분야의 특성을 접목한 다양한 센서의 개발이 시도되고 있고, 단순한 생화학적 측면의 목적에 더하여 대량검색과 다중측정 또는 다중진단이라는 관점에서 많은 관심을 끌고 있다.

[0005] 바이오센서에 대한 수요가 가장 많은 분야는 알려진 바와 같이 의료부문으로, 자유로운 이동이 가능하면서 즉각적인 감지가 가능하여 의료분야에서 위험도가 높은 약품의 사용을 용이하게 하고, 중환자에 대한 신속한 진료도 가능하게 하므로, 의료분야에서 지속적인 수요 확대가 예상되고 있다.

[0006] 상기와 같이 의료분야에 적용되는 것으로는 생체 시료에 있는 특정 물질, 예컨대 혈액 중의 혈당, 콜레스테롤 등을 선택적으로 정량 분석할 수 있는 바이오센서를 들 수 있으며, 전세계 각 제조사들을 중심으로 성능 개선 및 신기술 개발을 위한 다양한 연구가 진행되고 있다.

[0007] 상기와 같은 특정 물질의 분석법은 크게 광도법(photometric method)과 전기화학법(electrochemical method)으로 나눌 수 있으며, 광도법과 전기화학법 모두 기본적으로는 특정 물질과 반응할 수 있는 산화효소를 사용한다.

[0008] 예컨대, 혈당 글루코스의 경우 광도법에서는 글루코스가 산화될 때 색의 변화를 가져오는 색소원을 사용한다. 색의 변화 정도를 광도계(photometer)를 사용하여 빛의 반사도 또는 투과도를 측정함으로써 정량화한다.

[0009] 이에 비해서 전기화학법은 글루코스가 산화될 때 산소 또는 산화된 매개체가 과산화수소 또는 환원된 매개체로 바뀌고 다시 산화되어 원래의 산화된 형태로 되돌아올 때 발생하는 전자를 전극을 이용해 흐르는 전류 형태로 측정하여 글루코스를 정량화한다.

[0010] 광도법은 일반적으로 전기화학법에 비해 측정시간이 길고, 상대적으로 많은 양의 시료를 필요로 하며, 생체 시료의 혼탁도에 기인한 측정오차 등으로 인해 중요한 생체물질을 분석하는데 어려움이 수반된다.

[0011] 따라서, 최근에는 전극을 형성한 뒤 스크린 프린팅(screen printing) 방법, 필름접착방법 등을 이용하여 분석시약이 고정되는 부분만을 노출시키고 나머지 부분을 차단시킨 상태에서 시료 내 측정 성분과 반응하는 분석시약을 노출된 부분에 도포 및 고정시키고, 혈액 등 생체 시료가 도입된 후 일정 전위를 적용하여 생체 시료 중의 특정 물질을 정량적으로 측정하는 전기화학법이 바이오센서에 많이 응용되고 있다.

[0012] 한편, 혈소판 유래 생산인자(Platelet Derived Growth Factor, PDGF)는 다양한 생산인자 중의 하나로서, 세포의 성장과 분화에 관여하는 인자이다. 그 중에서도 혈관의 생산을 촉진하는 인자로 몸 속에 암세포 또는 종양 등이 성장을 할 경우 혈소판 유래 생산인자의 비이상적인 증가를 가져오게 된다.

[0013] 따라서, 혈소판 유래 생산인자의 비 이상적인 검출은 암세포 또는 종양 등의 성장을 간접적으로 확인할 수 있기 때문에, 혈소판 유래 생산인자의 검출은 매우 중요하다고 할 수 있다.

[0014] 현재 전기화학법을 이용하여 혈소판 유래 생산인자의 농도를 측정하기 위한 센서는, 금 양자점을 통해 금 양자점의 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance, SPR) 현상을 이용하는 방법이 있다.

[0015] 그러나, 금 양자점을 제조하기 위해서는 그 비용이 많이 들어가는데 비하여, 그 측정 효율이 떨어지고 있어 혈소판 유래 생산 인자의 농도를 측정하기 위한 바이오 센서에는 그 적용이 용이하지 못한 문제가 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0016] 본 발명은 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 이용하되, 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA)를 계면활성제로 이용하여 혈소판 유래 생산 인자와 쉽게 결합할 수 있는 상태의 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점으로 형성하고, 그 표면에 혈소판 유래 생산 인자 앱타머를 고정화시킴으로써, 기존의 금 양자점을 이용한 농도를 검출하는 방법보다 더 효율적인 센서를 제공할 수 있도록 하는 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점, 그 제조 방법 및 이를 이용하여 혈소판 유래 생산 인자의 농도를 검출하는 방법을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

과제 해결수단

[0017] 본 발명에 따른 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점은 혈소판 유래 생산 인자(Platelet Derived Growth Factor, PDGF) 앱타머가 표면에 고정화된 형태로 이루어지는 것을 특징으로 한다.

[0018] 아울러, 본 발명에 따른 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점 제조 방법은 카드뮴을 이온화시킨 제 1 용액을 형성하는 단계와, 셀레늄을 이온화시킨 제 2 용액을 형성하는 단계와, 상기 제 2 용액이 가열된 상태에서 상기 제 1 용액을 첨가하여 카드뮴셀레나이드 양자점이 내부에 형성된 제 3 용액을 형성하는 단계와, 상기 제 3 용액을 냉각시키는 단계와, 아연 및 황을 이온화시킨 제 4 용액을 형성하는 단계와, 상기 제 3 용액에 상기 제 4 용액을 첨가시켜 표면에 황화아연 껍질이 형성된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점이 내부에 형성된 제 5 용액을 형성하는 단계와, 상기 제 5 용액을 교반하면서 냉각시키는 단계와, 상기 제 5 용액을 세척하는 공정을 통하여 얻어지는 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 버퍼용액에 분산시킨 제 6 용액을 형성하는 단계와, 상기 제 6 용액에 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA), N-Hydroxy-Succinimide(NHS) 및 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide(EDC)를 첨가하여 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점의 표면의 카르복실 그룹을 활성화시키는 단계와, 상기 제 6 용액을 세척하는 공정을 통하여 얻어지는 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 버퍼용액에 분산시킨 제 7 용액을 형성하는 단계와, 상기 제 7 용액에 혈소판 유래 생산 인자(Platelet Derived Growth Factor, 이하 PDGF)의 바인딩 DNA를 첨가하여, 표면에 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer)가 고정화된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 형성하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0019] 아울러, 본 발명에 따른 혈소판 유래 생산 인자의 농도를 검출하는 방법은 상술한 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer)가 고정화된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 버퍼용액에 분산시킨 제 1 용액을 형성하는 단계와, 상기 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer) 10 ~ 20mer와 이종접합(hybridization)이 가능한 양만큼의 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)의 표면에 블랙홀 컨처(Black Hole Quencher, 이하 BHQ)를 고정화시키는 단계와, 상기 BHQ가 고정화되어 있는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 상기 제 1 용액에 넣고 반응시켜, 상기 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer)가 고정화된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점에서 FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer) 현상이 발현되도록 하는 제 2 용액을 형성하는 단계 및 상기 제 2 용액에 혈소판 유래 생산 인자를 첨가하면서, 상기 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점에서 발광되는 강도를 측정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

효 과

[0020] 본 발명은 혈소판 유래 생산 인자의 농도 측정이 용이하면서도, 제조가 용이한 CdSe/ZnS 양자점 및 그의 제조방법을 제공한다. 특히, 제조된 CdSe/ZnS 양자점을 극성용매에 분산이 될 수 있도록 리간드 치환 시키고, 이렇게 치환된 친수성 양자점에 혈소판 유래 생산인자 앱타머를 고정시키고, BHQ를 이용하여 이종교잡(hybridization) 시켜서 FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer) 현상을 발현시키는 방법은 혈소판 유래 생산인자의 농도를 측정하는 방법을 간소화 시킬 수 있고, 종래의 전기화학 방법 보다 효율적인 측정이 가능하도록 하는 효과를 제공한다. 아울러, 본 발명에 따른 앱타머 고정 방법은 혈소판 유래 생산인자 뿐만 아니라 다른 바이오 물질들에도 동일하게 적용시킬 수 있도록 하고, 그 검출 효율도 향상시킬 수 있는 효과를 제공한다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0021] 본 발명에서는, 카드뮴셀레나이드/황화아연(이하 CdSe/ZnS) 양자점에 빛을 쪼여준 후 방출되는 빛의 파장 및 강도를 이용하여 혈소판 유래 생산인자(Platelet Derived Growth Factor, PDGF)의 농도를 측정한다.

[0022] 여기서, CdSe/ZnS는 1.74 eV의 전자띠 간격을 가지는 물질로 생체라벨(label) 및 전기화학적 응용분야에서 이용가치가 높다. CdSe/ZnS 분말의 크기가 작아짐에 따라 양자구속효과(quantum confinement effect)가 일어나는데, 이를 이용하면 모든 가시광선 대의 빛을 얻을 수 있으므로, 농도 측정이 용이하다. 이때, 양자구속효과란 보어반경보다 작은 크기의 나노분말에서 나타나는 현상으로 보어반경보다 큰 물질의 경우 물질의 파장이 물질과 외부의 경계면까지의 구간에서 한 번의 굴절을 일으키지만, 보어반경보다 작은 물질에서는 물질의 파장

이 경계면까지의 거리보다 커짐에 따라 파장의 진동수보다 작아지는 현상을 말한다. 이 현상에 의해 물질의 파장은 청색이동을 일으키게 된다.

[0023] CdSe 양자점은 발광특성이 산화아연 등에 비해 월등히 좋지만 바이오적으로 이용할 경우 카드뮴(Cd)이라는 중금속 때문에, 생체적으로 이용이 제한될 수 있다. 따라서, 본 발명에서는 황화아연(ZnS)으로 껍질을 입혀 안정성을 향상시키면서도, 그 발광특성을 증가시킬 수 있도록 한다.

[0024] 이와 같은 구조의 카드뮴셀레나이드/황화아연 코어-쉘(CdSe/ZnS core-shell) 양자점에서는, 양자점의 표면에 있는 댕글링본드(dangling bond)를 ZnS이 가시광이 아닌 자외선이나 열로 발생되는 결함 레벨(defect level)을 제거해 주기 때문에 발광효율이 극대화 될 수 있는 것이다.

[0025] 본 발명에서는 상술한 원리를 이용하여 혈소판 유래 생산인자(Platelet Derived Growth Factor, PDGF)의 농도를 검출하기 위한 방법으로 CdSe/ZnS 양자점을 이용한다.

[0026] 이를 위한 방법으로 먼저, CdSe/ZnS 양자점에 블랙홀 컨처(Black Hole Quencher; BHQ)를 고정화시킨 후 FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer) 현상을 이용한다. 여기서, CdSe/ZnS 양자점은 FRET 현상의 발현을 위한 전자 주개로서의 역할을 하고, BHQ는 전자 받개로서의 역할을 한다.

[0027] CdSe/ZnS 양자점과 BHQ의 거리가 가까이 있을 경우, CdSe/ZnS 양자점에 들어온 빛 에너지에 의하여 들뜬 전자가 방출되고, 그 전자를 BHQ가 받아 FRET 현상이 발생되고 CdSe/ZnS 양자점에서의 발광 강도가 떨어지는 것이다.

[0028] 이러한 상태에서, DNA 앱타머(aptamer)를 CdSe/ZnS 양자점에 고정화시킬 경우 DNA 타겟(target) 물질의 유무에 따라 단일 가닥의 DNA(single-stranded DNA)가 이중 가닥의 DNA(double-stranded DNA)로 배좌 변화(conformational change)가 일어나게 된다. 이러한, 배좌 변화에 따라서 CdSe/ZnS 양자점과 BHQ의 거리가 변화하게 되는데, 이 거리의 차이에 따라서 발광 강도의 차이가 발생하므로, 이를 이용하면 DNA의 농도 변화를 용이하게 측정할 수 있는 것이다.

[0029] 이하 본 발명에 따른 실시예들의 구체적인 사항들에 대해 첨부된 도면들을 참조하여 상세히 설명하면 다음과 같다.

[0030] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다. 명세서 전체에 걸쳐 동일 참조 부호는 동일 구성요소를 지칭한다.

[0031] 먼저, CdSe/ZnS의 합성은 트라이옥틸포스파인 옥사이드(Tri-n-octylphosphine oxide; TOPO), 트라이부틸포스파인(Tri-butylphosphine; TBP) 및 헥사데실아민(Hexadecylamine; HDA)을 계면활성제와 용매로서 사용하여 소수성을 지닌 CdSe/ZnS 양자점을 합성한다.

[0032] 산화 카드뮴(CdO) 소스 및 스테릭 에시드(stearic acid)를 용기에 넣고 질소분위기에서 130 ~ 150℃의 온도로 가열하여 투명한 용액을 얻는다.

[0033] 다음에는, 용기에 형성된 투명한 용액에 안정화제로 트라이옥틸포스파인 옥사이드 및 핵사데실아민을 1:1의 비율로 첨가하고 280 ~ 310℃의 온도로 재가열하여 카드뮴을 이온화시킨 제 1 용액을 형성한다.

[0034] 그 다음에는, 셀레늄 소스 및 트라이부틸포스파인 용액을 혼합하여 1M로 만든 후 울트라소닉(ultrasonic)을 이용하여 셀레늄 소스를 용해시켜 제 2 용액을 형성한다.

[0035] 그 다음에는, 250 ~ 350℃의 온도로 가열된 제 2 용액에 상기 제 1 용액을 주사기를 이용하여 주입하고, 교반공정을 수행하여 용액 내에 카드뮴셀레나이드 양자점이 형성되도록 한다. 이때, 주사기를 이용하여 주입하는 속도는 2초 이내로 하는 것이 바람직하다.

[0036] 그 다음에는, 카드뮴셀레나이드 양자점을 포함하는 용액을 제 3 용액이라 하고, 제 3 용액을 200 ~ 220℃의 온

도까지 냉각한다.

[0037] 그 다음에는, 아연 및 황 소스를 트라이부틸포스파인 용액에 이온화시킨 제 4 용액을 제 3 용액과 별도로 준비한다.

[0038] 그 다음에는, 제 3 용액에 상기 제 4 용액을 주입하여 카드뮴셀레나이드 양자점 표면에 황화아연 껍데기가 형성되도록 한다. 이때, 제 4 용액을 주입하는 속도는 황화아연 분말이 합성되지 않고 카드뮴셀레나이드 양자점 표면에 껍데기만 형성될 수 있는 속도로 가능한 한 천천히 주입하는 것이 바람직하다.

[0039] 그 다음에는, 상기와 같은 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 포함하는 용액을 제 5 용액이라 하고, 제 5 용액을 100 ~ 150℃의 온도까지 냉각하면서, 60분 ~ 90분 동안 교반하는 공정을 수행한다.

[0040] 이와 같이 형성된 CdSe/ZnS 양자점은 카드뮴셀레나이드(CdSe) 양자점 표면에 형성된 황화아연(ZnS) 껍데기를 포함하는 코어-쉘 구조를 가진다. 이때, 황화아연(ZnS) 껍데기의 표면은 트라이옥틸포스파인 옥사이드(TOPO) 리간드가 형성되며, 이로 인하여 CdSe/ZnS 양자점은 소수성을 지닌 CdSe/ZnS 양자점이 된다.

[0041] 따라서, 본 발명에서는 바이오센서로서의 활용을 위하여 합성된 소수성의 CdSe/ZnS 양자점을 멀캡토 아세닉 에시드(MAA)로 표면을 치환시켜 친수성의 양자점으로 형성한다.

[0042] 본 발명에서는, 멀캡토 아세닉 에시드(MAA)을 치환시키기 전 단계로 먼저 세척 공정을 수행한다.

[0043] 상기 제 5 용액에 클로로폼 및 메탄올을 1:1의 비율로 혼합한 용액을 넣고 원심분리기를 이용하여 CdSe/ZnS 양자점이 세척되면서 용액 내에 분말로 가라앉을 수 있도록 한다.

[0044] 이와 같은 공정을 2 ~ 5회 더 수행하여 CdSe/ZnS 양자점을 세척한 후 클로로폼 또는 톨루엔 용액으로 이루어지는 버퍼용액에 CdSe/ZnS 양자점을 분산시킨다.

[0045] 그 다음에는, 세척된 CdSe/ZnS 양자점이 혼합된 버퍼용액을 제 6 용액이라 하고, 제 6 용액에 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA)를 첨가한다. 이때, CdSe/ZnS 양자점 및 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA)의 비율이 1:3 ~ 1:5가 되도록 하고 5 ~ 7시간 동안 교반시킨다.

[0046] 여기서, 멀캡토 아세닉 에시드(MAA)가 황화아연의 표면에 결합된 이유는 두 가지 메커니즘으로 규명된다.

[0047] 한 가지는 황화아연 표면의 하이드록실 그룹(-OH)과 멀캡토 아세닉 에시드(MAA) 결합 안에 있는 카르복실 그룹(-COOH)과의 탈수반응에 의한 결합이고, 또 다른 하나는 황화아연 표면에 있는 아연(Zn) 원자와 멀캡토 아세닉 에시드(MAA) 안에 있는 Thiloate 그룹속에 속해 있는 황(S)이 매우 친숙(affinity)하기 때문이다.

[0048] 이러한 두 가지 이유들로 인해 멀캡토 아세닉 에시드(MAA)가 황화아연 표면에 잘 치환되어 친수성을 가지는 CdSe/ZnS 양자점이 형성되는 것이다. 아울러, 후속의 혈소판 유래 생산인자 앱타머 고정화를 위하여, 멀캡토 아세닉 에시드(MAA)과 N-Hydroxy-Succinimide(NHS) 및 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide(EDC)를 더 첨가하여 CdSe/ZnS 양자점 표면의 카르복실 그룹을 활성화 시킨다.

[0049] 그 다음에는, 친수성을 가지고, 표면의 카르복실 그룹이 활성화된 CdSe/ZnS 양자점을 포함하는 제 6 용액에 클로로폼 및 메탄올을 첨가하고, 상술한 세정 공정과 같이 원심분리기를 이용하여 CdSe/ZnS 양자점이 세척되면서 용액 내에 분말로 가라앉을 수 있도록 한다. 다음에는, 상기와 같은 세척 공정을 2 ~ 5회 더 형성하면서 분말로 얻어지는 CdSe/ZnS 양자점을 클로로폼 또는 톨루엔으로 이루어지는 버퍼 용액에 분산시킨 제 7 용액을 형성한다.

[0050] 그 다음에는, 제 7 용액에 혈소판 유래 생산인자(Platelet Derived Growth Factor, PDGF) 바인딩 DNA를 첨가하여 혈소판 유래 생산인자 앱타머가 표면에 고정화된 CdSe/ZnS 양자점이 형성되도록 한다. 이때, CdSe/ZnS 양자점 표면의 카르복실 그룹과 혈소판 유래 생산 인자의 바인딩 DNA 표면의 아민 그룹이 커플링 리액션(coupling reaction)에 의해 고정화되도록 하는 것이 바람직하다.

[0051] 마지막으로 제 7 용액에 대하여 세척 공정을 더 수행하여 혈소판 유래 생산인자 앱타머가 표면에 고정화된 CdSe/ZnS 양자점 주변에 잔류하는 불순물들을 완전히 제거한다.

[0052] 본 발명은 상술한 바와 같이 제조된 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 이용하여 혈소판 유래 생산인자의 농도를 검출하는 센서로 이용한다. 본 발명에 따른 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점을 버퍼용액에 분산시킨 후, 용액에 혈소판 유래 생산인자의 농도를 일정하게 증가시켜 떨어뜨리면, 농도에 따라서 카드뮴셀레나이드/황화아연 양자점에 광학적 변화가 나타나게 된다. 이러한 광학적 변화를 광루미네선스(photoluminescence)라고 하며, 그 광루미네선스의 변화를 측정하면 농도 수치를 정확하게 검출할 수 있다.

[0053] 여기서, 광루미네선스란 포토루미네선스라고도 하며 루미네센스란 물질이 빛이나 전기, 방사선 등의 에너지를 흡수하여 여기(勵起)상태가 되고, 그것이 바닥상태로 돌아갈 때 흡수한 에너지를 빛으로서 방출하는 현상을 말한다.

[0054] 광루미네선스는 빛에 의한 여기로 생기는 루미네센스로 일반적으로 자극광(조사광)의 파장과 같거나, 그보다 긴 파장의 빛이 나온다. 발광중심이 직접 빛을 흡수하여 여기되어 발광하는 경우와, 빛의 흡수로 말미암아 생긴 캐리어가 발광 중심에 포착되어 발광하는 경우가 있다. 따라서, 본 발명에서는 상술한 광루미네선스를 측정하는 광루미네선스 스펙트럼을 이용하여 혈소판 유래 생산인자의 농도를 정확하게 측정할 수 있다.

[0055] 도 1a 내지 도 1c는 본 발명에 따른 PDGF 의 농도 검출 과정을 나타낸 개략도들이다.

[0056] 도 1a를 참조하면, 소수성의 CdSe/ZnS 양자점을 친수성으로 표면을 치환 한 후, 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머(PDGF binding aptamer)를 고정화 시킨다.

[0057] 다음에는, 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머(PDGF binding aptamer)에 블랙홀 컨처(Black hol quencher; BHQ)를 고정화시킨다. 이때, 블랙홀 컨처는 혈소판 유래 생산 인자 앱타머(aptamer) 10 ~ 20mer와 이종접합(hybridization)이 가능한 양만큼의 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)의 표면에 고정화시키는 것이 바람직하다. 10mer 미만과 이종접합될 경우 블랙홀 컨처의 고정화가 충분하게 이루어지지 않아서 FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer) 현상이 발생하지 않게되어 측정결과를 명확하게 확인하지 못하는 결과를 얻을 수 있고, 20mer 초과량과 이종접합될 경우 측정자체가 어려워지는 문제가 발생할 수 있다.

[0058] 여기서, 올리고뉴클레오타이드의 표면에 블랙홀 컨처(BHQ)를 고정화시키는 공정은 상술한 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머를 고정화시키는 과정과 동일하게 수행한다. 올리고뉴클레오타이드가 분산되어 있는 버퍼용액에 멀캡토 아세닉 에시드(Mercapto Arsenic Acid; MAA), N-Hydroxy-Succinimide(NHS) 및 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide(EDC)를 첨가하여 올리고뉴클레오타이드 표면의 카르복실 그룹을 활성화시키고, 카르복실 그룹과 블랙홀 컨처(BHQ) 표면의 아민 그룹이 커플링 리액션(coupling reaction)에 의해 고정화되도록 하는 것이다.

[0059] 다음으로, 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머가 고정화된 CdSe/ZnS 양자점이 분산되어 있는 용액에, BHQ가 고정화되어 있는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 용액에 넣고 35 ~ 40℃의 온도에서, 2.5시간 ~ 3.5시간 동안 반응시켜, 혈소판 유래 생산 인자의 농도가 용이하게 검출될 수 있도록 한다.

[0060] 도 1b를 참조하면, 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머에 고정화된 BHQ에 의해서 FRET 현상이 발현(ON)되어 CdSe/ZnS 양자점에서의 발광 강도가 오프(OFF) 상태로 된다.

[0061] 도 1c를 참조하면, 상기 오프 상태의 CdSe/ZnS 양자점에 혈소판 유래 생산인자를 반응시켜 FRET 현상이 억제(OFF)가 되도록 하고, CdSe/ZnS 양자점에서는 다시 발광 강도가 온(ON) 상태로 복원되는 것을 알 수 있다.

[0062] 여기서, 상기 도 1b에서의 이종 접합을 가지고 있는 BHQ 보다 전체 CdSe/ZnS 양자점과 이종 접합을 할 수 있는 혈소판 유래 생산인자의 결합이 더 유리하기 때문에, BHQ를 떼어내고 혈소판 유래 생산인자가 CdSe/ZnS 양자점과 이종 접합 하게 된다. 따라서, BHQ가 CdSe/ZnS 양자점에서 떨어져 멀어짐에 따라 FRET 현상이 억제되고 CdSe/ZnS 양자점에서의 발광 강도가 다시 복원이 되게 되는 것이다.

[0063] 이하에서는 본 발명의 일 실시예에 따른 CdSe/ZnS 양자점 및 이를 이용하여 혈소판 유래 성장 인자의 농도를 검

출하는 방법을 제시하기로 한다. 다만, 여기에 기재되지 않은 내용은 이 기술 분야에서 숙련된 자이면 충분히 기술적으로 유추할 수 있는 것이므로 그 설명을 생략한다.

[0064] **실시예**

[0065] 제 1 용액은 CdO와 Stearic acid를 섞어 150 ℃로 가열하여 Cd을 이온화 시킨 뒤, 여기에 트라이옥틸포스파인 옥사이드와 핵사데실아민을 같은 양 넣어 300 ℃로 가열한다.

[0066] 다음으로, 제 2 용액은 Se과 트라이옥틸포스파인을 섞어 Se을 이온화 시킨다. 다음에는, 제 2 용액을 300℃로 가열시킨 후, 제 1 용액을 빨리 넣어 온도가 떨어지도록 하여 CdSe 양자점의 핵을 생성시킨다. 이때, 냉각 온도를 220℃까지 설정하여 CdSe 양자점의 핵을 성장 시킨다.

[0067] 그 다음으로, 제 3 용액은 CdSe 양자점의 핵에 껍질을 형성하기 위한 소스로 Zn과 S 를 트라이옥틸포스파인에 이온화 시켜 형성한다. 이때, 제 3 용액을 CdSe 양자점이 형성되어 있는 용액에 한 방울씩 떨어뜨리면서 110℃까지 냉각한 후, 결정성의 증가를 위해 90분간 유지시켜 준다.

[0068] 그 다음으로, CdSe/ZnS 양자점이 형성되어 있는 용액내에 클로로폼과 메탄올을 1:1 비율로 섞고, 원심분리기를 이용하여 CdSe/ZnS 양자점이 분말형태로 가라앉도록 한다.

[0069] 그 다음으로, 상기와 같은 세척 공정을 5회 실시한 후 CdSe/ZnS 양자점이 분말을 다시 클로로폼 버퍼 용액에 분산을 시킨다.

[0070] 그 다음으로, 버퍼 용액에 CdSe/ZnS 양자점이 분말 대 머캡토 아세틱 에시드 의 중량비율이 1:5 이 되도록 머캡토 아세틱 에시드를 넣고 스터링 시켜 극성용매에 녹는 CdSe/ZnS 양자점을 형성한다.

[0071] 그 다음으로, 친수성 CdSe/ZnS 양자점을 상기 세척 공정과 동일하게 수행한 후 다시 버퍼 용액에 분산시키고, NHS와 EDC를 각각 1M의 농도로 넣고 준비된 혈소판 유래 생산인자 바인딩 DNA와 반응시켜 친수성 CdSe/ZnS 양자점에 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머를 고정시키고, 마지막으로 세척도 상기와 동일하게 한다.

[0072] 그 다음으로, FRET 현상의 발현을 위하여 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머와 15mer 만큼의 이종접합이 가능한 올리고뉴클레오타이드의 표면에 BHQ를 고정시키고, 이것을 위의 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머가 고정되어 있는 CdSe/ZnS 양자점 용액과 3시간동안 37.5 ℃에서 반응시킨다. 이와 같이, CdSe/ZnS 양자점과 BHQ 사이에서 발생하는 FRET 현상은 CdSe/ZnS 양자점에서의 발광 강도를 감소시킨다.

[0073] 그 다음에는, 농도별로 준비된 혈소판 유래 생산인자를 FRET 현상이 발현된 용액에 떨어뜨려 반응시키고, 그에 따라 발생하는 발광 강도를 측정한다.

[0074] 이 실시를 농도별로 실시하고 그에 따른 CdSe/ZnS 양자점에서의 발광 강도의 복원을 혈소판 유래 생산인자의 농도로서 측정하였으며, 그 결과는 하기 도 5 및 도 6에 나타내었다.

[0075] **비교예**

[0076] 상기 실시예에서 혈소판 유래 생산인자 대신에 상피세포성장인자(Epidermal Growth Factor; EGF)를 측정에 사용한다는 것을 제외하고는 상기 실시예와 동일하며, 그 결과는 하기 도 7에 나타내었다.

[0077] **특성분석**

[0078] 상기와 같이 본 발명에 따라 제조된 CdSe/ZnS 양자점에 대하여 투과전자현미경(TEM)사진 결과는 하기 도 2에 나타내었으며, XRD 결과는 하기 도 3에 나타내었고, UV-visible에 따른 PL 분석 결과는 하기 도 4에 나타내었다.

[0079] 도 2는 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점을 투과전자현미경(TEM)으로 촬영한 평면 사진이다.

[0080] 도 2를 참조하면, 본 발명에 따라 제조된 CdSe/ZnS 양자점의 크기가 5nm 이하 이고, 격자점이 선명하게 보이는 것을 확인 할 수 있다. 이에 따라 결정성의 정도가 매우 높다는 것을 알 수 있다. 또한, CdSe/ZnS 양자점들은

모두 구형의 모양을 가지고 있음을 알 수 있다.

[0081] 도 3은 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점의 XRD 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

[0082] 도 3을 참조하면, 본 발명에 따라 제조된 CdSe/ZnS 양자점이 나노크기로 제조되어 인접한 픽(peak)들은 겹쳐지는 것을 볼 수 있다. 특히, ZnS 껍질을 형성함에 따라 ZnS이 CdSe에 압축응력을 가하여 픽(peak)의 위치가 Tow-theta의 양의 방향으로 옮겨가는 것을 확인 할 수 있다. 또한, 분석을 통하여 제조된 분말이 wurzite 구조를 가지고 있음을 알 수 있다.

[0083] 도 4는 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점과 BHQ 각각의 형광과 흡광 스펙트라(spectra)를 나타낸 그래프이다.

[0084] 도 4를 참조하면, FRET 현상의 발현을 위한 전자주개로서 CdSe/ZnS 양자점의 발광도(CdSe/ZnS QDs Fluorescence)가, 전자받개로서 BHQ의 흡광도(Black hole quencher UV-vis. Absorbance)와 거의 대부분 겹치고 있음을 알 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 혈소판 유래 생산인자 농도의 검출 효율을 극대화 시킬 수 있다.

[0085] 도 5는 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점에 PDGF를 반응시킨 경우 농도에 따른 발광 강도변화를 나타낸 그래프이다.

[0086] 도 5를 참조하면, 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점과 BHQ를 이용하여 FRET 현상을 발현시키고, 혈소판 유래 생산인자가 혈소판 유래 생산인자 바인딩 앱타머(PDGF binding aptamer)에 결합되도록 하여 FRET 현상의 복원을 통한 발광 강도변화를 측정하였다. 혈소판 유래 생산인자의 농도(PDGF concentration)가 0nM 에서 1.6nM까지 증가함에 따라서 측정한 발광 강도 또한 증가되는 것을 알 수 있다. 아울러, 이때의 보정된 기울기(R^2)는 0.9875로 농도에 따른 발광 강도가 정비례에 가깝게 변화하는 것을 알 수 있다.

[0087] 도 6은 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점에 PDGF를 반응시킨 경우 나타나는 발광 강도변화를 나타낸 그래프이다.

[0088] 도 6은 위에서 준비된 FRET 현상이 발현된 용액에 혈소판 유래 생산인자를 반응시켜 BHQ가 떨어져나감에 따른 CdSe/ZnS 양자점의 발광강도의 복원을 나타낸다. 그래프에서 볼 수 있듯이, PDGF의 검출한계가 0.4 nM까지로 매우 민감하게 검출이 가능함을 알 수 있다.

[0089] 그래프 내의 (a)는 BHQ를 CdSe/ZnS 양자점에 고정화하기 전의 것이다. 이때는 일반적인 CdSe/ZnS 양자점의 상태로 높은 발광강도를 보여주고 있다. (b)는 BHQ를 고정화 시킨 후, PDGF를 반응시키지 않은 경우를 나타낸 것으로, CdSe/ZnS 양자점에 고정화된 BHQ에 의해 CdSe/ZnS 양자점의 발광이 현저하게 감소된 것을 보여주고 있다. (c) 내지 (f)는 BHQ가 고정화된 CdSe/ZnS 양자점에 각각 0.4nM, 0.8nM, 1.2nM, 1.6nM 농도의 PDGF를 반응시킨 경우를 나타낸 것이다. PDGF의 농도가 증가하면서 PDGF 바인딩 앱타머와 반응을 함에 따라 BHQ가 CdSe/ZnS 양자점으로부터 분리되게 되므로, FRET 현상이 감소하게 되고, CdSe/ZnS 양자점의 발광이 다시 증가하게 되는 것을 알 수 있다.

[0090] 도 7은 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점에 EGF를 반응시킨 경우 나타나는 발광 강도변화를 나타낸 그래프로, 상기 비교예에 따라서, PDGF가 아닌 상피세포성장인자(EGF)라는 타겟(target)을 반응시킨 경우를 나타낸 것이다.

[0091] 도 7은 본 발명에 따른 혈소판 유래 생산인자 농도 측정 센서의 선택성을 증명하기 위한 실시의 자료로서 혈소판 유래 생산인자 대신에, 상피세포성장인자로 위의 실시를 반복한 자료로 혈소판 유래 생산인자가 혈소판 유래 생산인자와의 반응에서와는 달리 상피세포 성장인자와의 반응에서는 FRET 현상의 억제가 되지 않음을 볼 수 있고 이것은 제조된 센서의 높은 선택성을 증명한다.

[0092] 이 그래프 내의 (a)는 상기 도 6의 (a)의 경우와 동일하게 BHQ를 고정화시키기 전의 상태를 나타낸 것이고, (b)는 BHQ를 고정화시킨 CdSe/ZnS 양자점에 EGF를 반응시키지 않은 경우를 나타낸 것으로 발광강도가 역시 현저하게 떨어지는 것을 나타낸다.

[0093] 다음으로, (c) 내지 (e)까지의 경우 각각 0.4nM, 0.8nM, 1.2nM 농도의 EGF를 반응시킨 CdSe/ZnS 양자점을 나타

내는데, PDGF가 아닌 EGF를 반응을 시키면 PDGF 바인딩 앱타머와 반응을 하지 않아, BHQ가 CdSe/ZnS 양자점으로부터 분리되지 않고 따라서 FRET현상의 감소를 볼 수 없음을 알 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점이 PDGF에 대하여 높은 선택성(selectivity)을 가지고 있음을 확인할 수 있다.

[0094] 상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점 및 그의 제조방법은 CdSe/ZnS 양자점을 극성용매에 분산이 될 수 있도록 리간드 치환 시키고, 이렇게 치환된 친수성 양자점에 혈소판 유래 생산인자 앱타머를 고정시키고, BHQ를 이용하여 이종교잡시켜서 FRET 현상을 발현시키도록 한다. 이와 같은 방법은 혈소판 유래 생산인자의 농도를 측정하는 방법을 간소화 시킬 수 있고, 종래의 전기화학 방법 보다 효율적인 측정이 가능하도록 한다.

[0095] 아울러, 본 발명에 따른 앱타머 고정 방법은 혈소판 유래 생산인자 뿐만 아니라 다른 바이오 물질들에도 동일하게 적용시킬 수 있고, 그 검출 효율도 향상시킬 수 있다.

[0096] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예들을 설명하였으나, 본 발명은 상기 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 제조될 수 있으며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면의 간단한 설명

[0097] 도 1a 내지 도 1c는 본 발명에 따른 PDGF 의 농도 검출 과정을 나타낸 개략도들.

[0098] 도 2는 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점을 투과전자현미경(TEM)으로 촬영한 평면 사진.

[0099] 도 3은 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점의 XRD 분석 결과를 나타낸 그래프.

[0100] 도 4는 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점과 BHQ 각각의 형광과 흡광 스펙트라(spectra)를 나타낸 그래프.

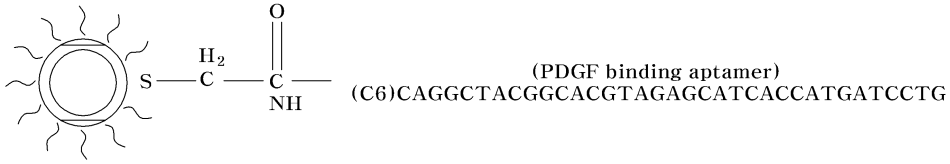
[0101] 도 5는 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점에 PDGF를 반응시킨 경우 농도에 따른 발광 강도변화를 나타낸 그래프.

[0102] 도 6은 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점에 PDGF를 반응시킨 경우 나타나는 발광 강도변화를 나타낸 그래프.

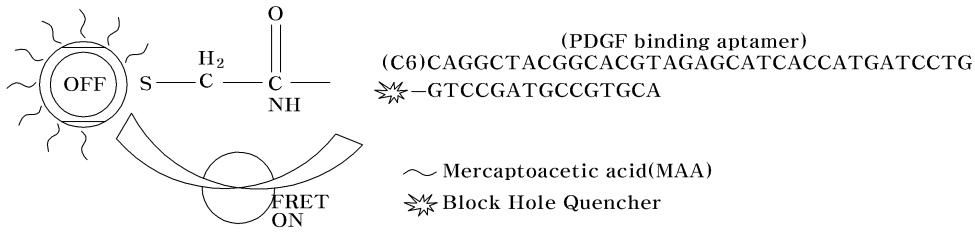
[0103] 도 7은 본 발명에 따른 CdSe/ZnS 양자점에 EGF를 반응시킨 경우 나타나는 발광 강도변화를 나타낸 그래프.

도면

도면1a



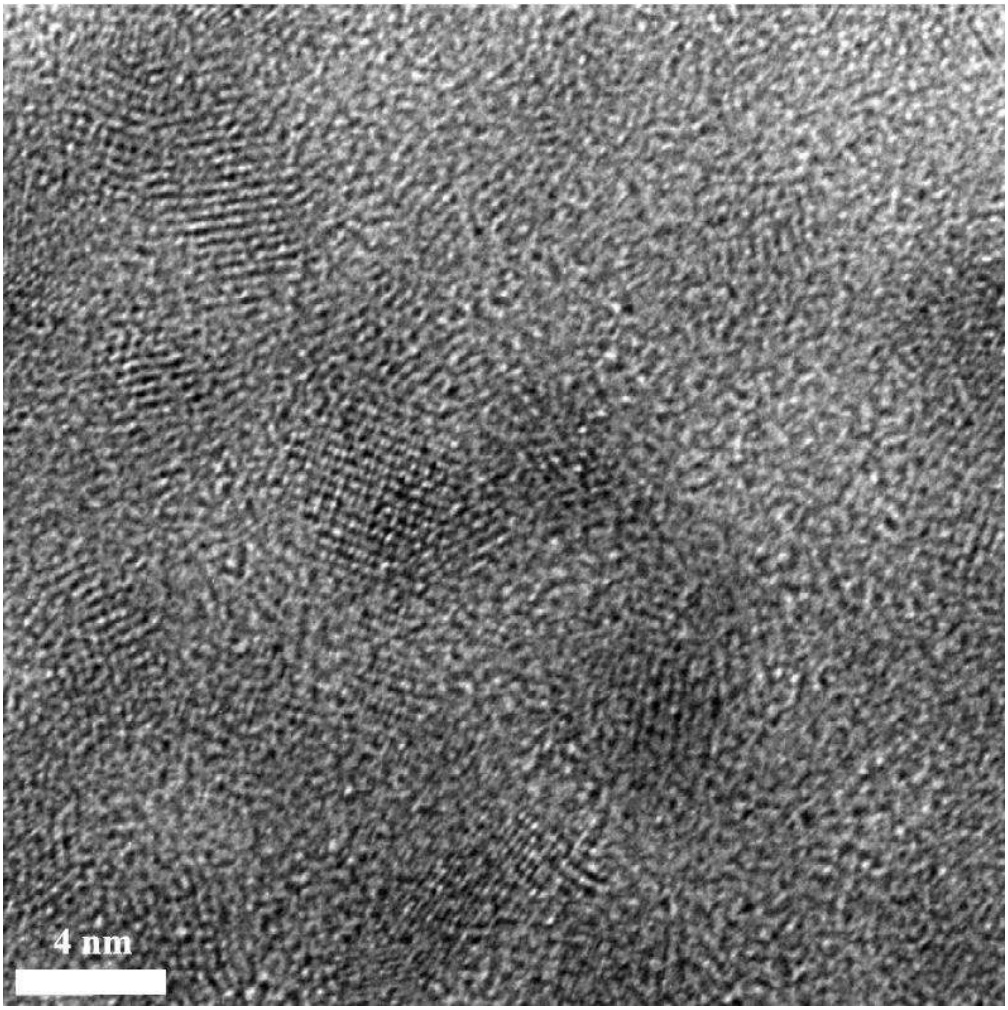
도면1b


OFF
S
H2
C
C
O
NH
(PDGF binding aptamer)
(C6)CAGGCTACGGCACGTAGAGCATCACCATGATCCTG
—GTCCGATGCCGTGCA
FRET
ON
Mercaptoacetic acid(MAA)
Block Hole Quencher

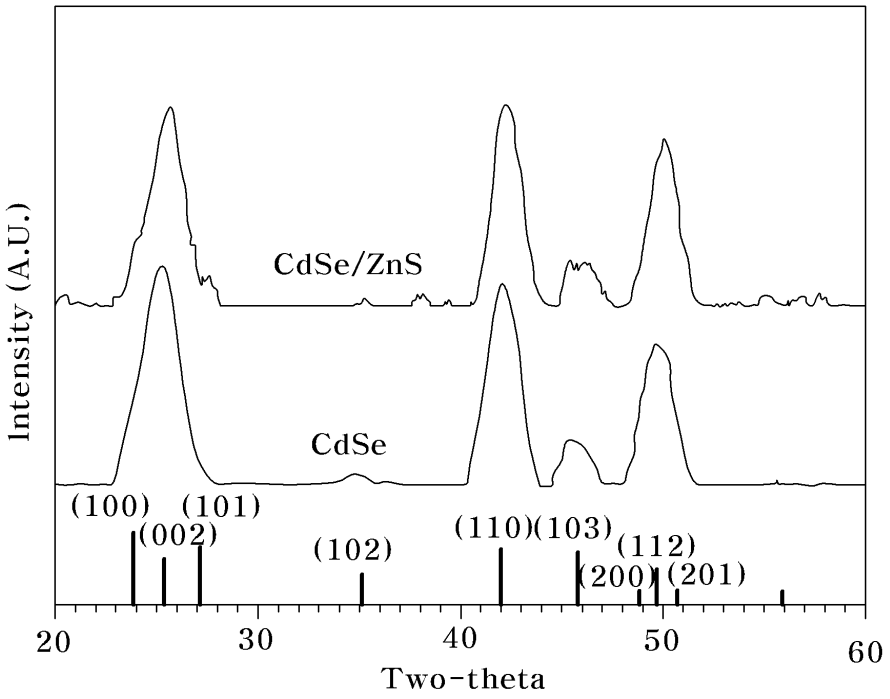
도면1c


ON
S
H2
C
C
O
NH
(PDGF binding aptamer)
(C6)CAGGCTACGGCACGTAGAGCATCACCATGATCCTG
PDGF
GTCCGATGCCGTGCA
FRET
OFF

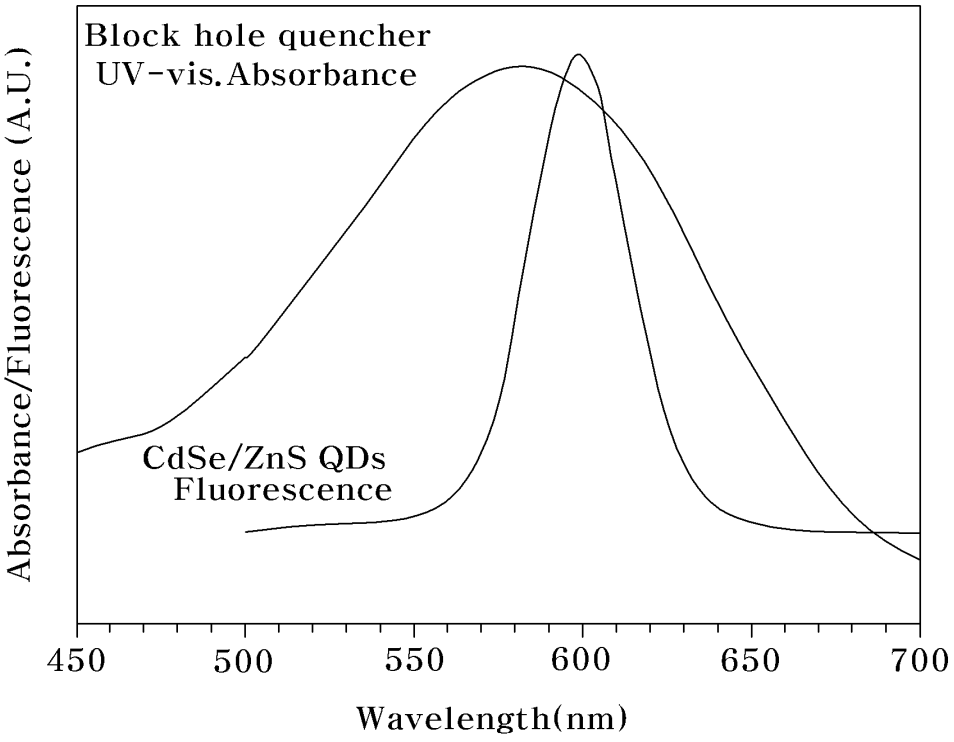
도면2



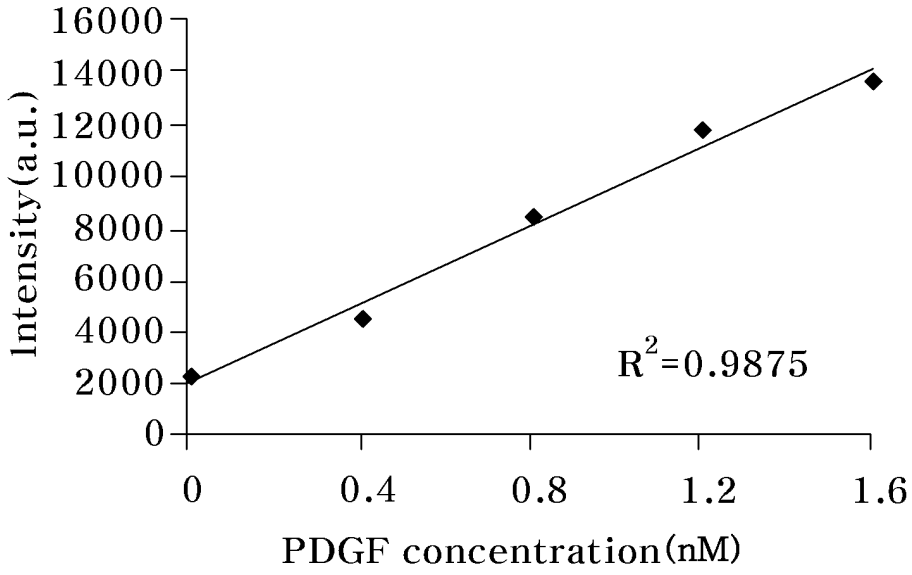
도면3


Intensity (A.U.)
CdSe/ZnS
CdSe
(100)
(101)
(002)
(102)
(110)(103)
(112)
(200)
(201)
20
30
40
50
60
Two-theta

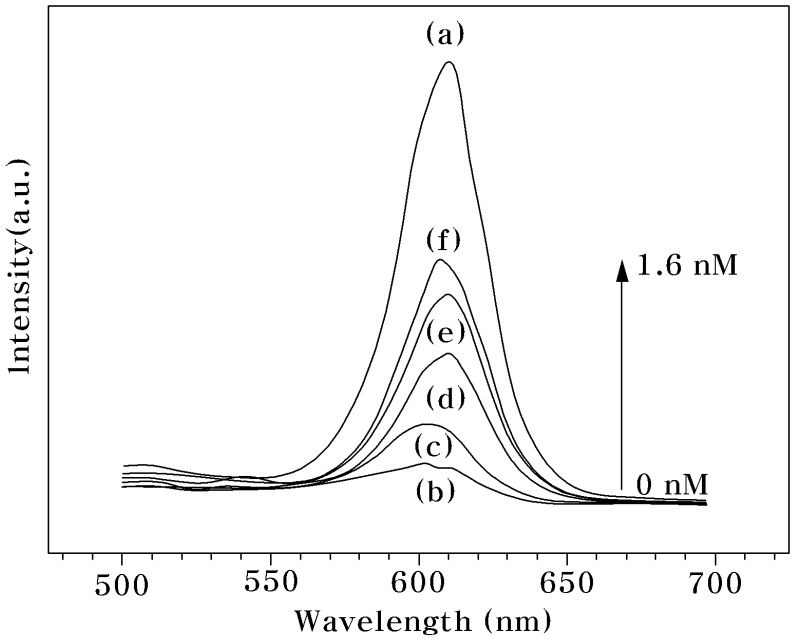
도면4


Block hole quencher
UV-vis.Absorbance
CdSe/ZnS QDs
Fluorescence
Absorbance/Fluorescence (A.U.)
450
500
550
600
650
700
Wavelength(nm)

도면5


16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
Intensity(a.u.)
0
0.4
0.8
1.2
1.6
PDGF concentration(nM)
R2=0.9875

도면6


(a)
(f)
(e)
(d)
(c)
(b)
1.6 nM
0 nM
Intensity(a.u.)
500
550
600
650
700
Wavelength (nm)

도면7

