(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0026678
(43) 공개일자 2025년02월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 27/72 (2006.01) *C12Q 1/6825* (2018.01)
C12Q 1/6883 (2018.01)
(52) CPC특허분류
G01N 27/72 (2013.01)
C12Q 1/6825 (2018.05)
(21) 출원번호 10-2023-0107902
(22) 출원일자 2023년08월17일
심사청구일자 2023년08월17일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이재범
경기도 화성시 동탄순환대로21길 54, 1331동 204호 (청계동,동탄역 센트럴 푸르지오)
곽주용
대전광역시 유성구 노은서로210번길 32, 403동 203호 (지족동,열매마을아파트4단지)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
원대규

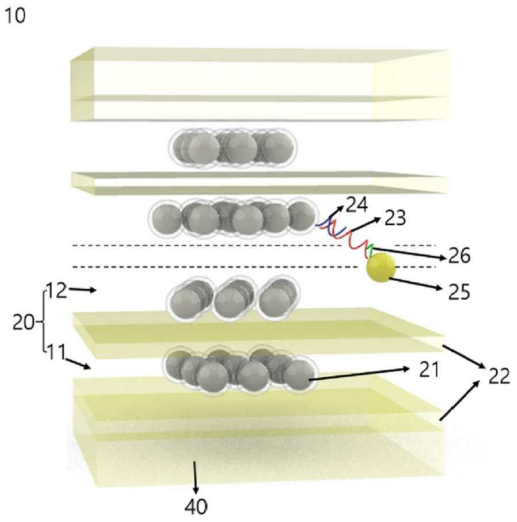
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름 및 이를 포함하는 바이오 센서**

(57) 요 약

본 발명은 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름 및 이를 포함하는 바이오 센서에 관한 것으로, 나노 입자층 상에 정렬된 자성플라즈몬 나노입자에 결합된 검출 DNA 및 유전성 난청을 나타내는 표적 DNA 간의 상보적 결합에 따른 대칭 파괴 및 그에 따른 카이랄 특성 변화를 통해 유전성 난청을 보다 용이하게 검출할 수 있는 효과가 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12Q 1/6883 (2022.01)
C12Q 2563/155 (2013.01)
(72) 발명자
박세정
광주광역시 서구 하남대로680번길 10, 511동 504호 (동천동,호반베르디움)
강효진
대전광역시 서구 계룡로536번길 9, 101동 1503호 (괴정동,한신아파트)
이재경
대전광역시 유성구 진잠로42번길 88, 101동 608호 (원내동,진잠타운아파트)
최유진
대전광역시 서구 청사서로 11, 101동 1001호 (월평동, 무지개아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711197935
과제번호 00219710
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 집단연구지원
연구과제명 유전병 특이 점돌연변이 DNA 검출 비대칭 광학/질량센서개발
기 여 율 1/3
과제수행기관명 충남대학교
연구기간 2023.06.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1415187310
과제번호 20025720
부처명 산업통상자원부
과제관리(전문)기관명 한국산업기술평가관리원
연구사업명 나노융합혁신제품기술개발사업
연구과제명 키랄성 나노구조체를 이용한 바이오 센싱 디바이스기술 개발
기 여 율 1/3
과제수행기관명 이안하이텍
연구기간 2023.04.01 ~ 2023.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1465040623
과제번호 HI22C2108000023
부처명 보건복지부
과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원
연구사업명 K-Medi융합인재양성지원사업
연구과제명 난청유발 돌연변이 DNA 감지를 위한 키랄광학 초민감센서 개발
기 여 율 1/3
과제수행기관명 충남대학교산학협력단
연구기간 2023.05.01 ~ 2024.04.30

명 세 서

청구범위

청구항 1

적어도 2층 이상의 나노 입자층 및 검출 DNA(capture DNA)를 포함하는 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름으로,

상기 나노 입자층은 상호 이격 배치되고 일방향 정렬구조를 갖는 복수의 나노입자배열체를 포함하며,

상기 적어도 2층 이상의 나노 입자층은 제1 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체를 포함하는 제1층; 및 상기 제1 방향과 다른 방향인 제2 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체를 포함하고 상기 제1층에 인접하는 제2층을 포함하며,

상기 검출 DNA는 상기 나노입자배열체에 결합되어 있는 것이며,

상기 네마틱 필름은 카이랄성(chirality)을 나타내는

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 제1 방향과 상기 제2 방향이 이루는 각도(Θ)는 0° 내지 90° 범위인

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 플라즈모닉 네마틱 필름은 상기 검출 DNA(capture DNA)와 유전성 난청을 발현시키는 표적 DNA(target DNA) 사이의 상보적 결합을 통해 유전성 난청을 검출하는

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 표적 DNA(target DNA)는 금속 나노 입자에 결합되어 있는 것인

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 금속 나노 입자에는 신호 DNA(signal DNA)가 결합되며,

상기 표적 DNA(target DNA)는 상기 신호 DNA(signal DNA)와의 상보적 결합을 통해 금속 나노 입자에 결합되는

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 제1층 및 상기 제2층 사이에 형성되는 이격층을 더 포함하는

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 네마틱 필름은 일면에 형성되는 지지층을 더 포함하며,

상기 지지층은 유리, 인듐주석산화물(Indium-Tin Oxide, ITO), 불소산화주석(Fluorine-doped Tin Oxide, FTO), 폴리(메틸메타아크릴레이트), 폴리카보네이트, 폴리(디메틸실록산) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 소재를 포함하는

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 나노입자배열체는 복수의 자성 플라즈몬 나노입자를 포함하는

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 나노입자는 코어(core); 및

상기 코어와 이종의 성분을 포함하고, 상기 코어 표면의 적어도 일부를 둘러싸는 쉘(shell)을 포함하는

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 코어 및 쉘 중 어느 하나가 자성 성분을 포함하고, 다른 하나가 금속 성분을 포함하는

유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름을 포함하는

유전성 난청 검출용 바이오 센서.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름 및 이를 포함하는 바이오 센서에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 귀는 귓바퀴와 외이도까지를 외이로 분류하고, 고막과 이소골은 중이, 그리고 달팽이관과 청신경을 내이로 분류한다. 소리는 음향학적 에너지로서 귓바퀴와 외이도를 통해 전달되어 고막을 진동시키게 된다.

[0003] 고막의 진동은 기계적인 에너지로 고막에 붙어있는 3개의 작은 뼈로 이루어진 이소골로 전달된다. 이소골의 마지막 뼈인 등골은 달팽이관에 연결되어, 달팽이관 내의 림프액으로 에너지를 전달시키게 된다. 전달된 에너지는 림프액에 파동을 일으키고, 이러한 파동에 의해 달팽이관 내에 있는 유모세포가 자극을 받게 된다. 유모세포의 움직임으로 이온변화가 일어나면서 유모세포에 붙어있는 청신경으로 신경전달물질이 전달되고, 소리 에너지는 청신경에서 전기적인 에너지 형태로 뇌까지 전달되게 된다.

[0004] 난청은 가장 흔한 감각성 질환으로, 신생아 1000명당 1명의 빈도로 나타난다. 난청은 크게 "유전성"과 "비유전성" 난청으로 나뉘는데, 그 중 50% 이상이 "유전성" 난청이다. 한편, 유전성 난청은 다시 증후군성 난청과 비증후군성 난청으로 분류되는데 그 중 30%는 여러 증상이 함께 나타나는 증후군성 난청이며, 나머지 70%가 난청 외

에 다른 증상이 함께 나타나지 않는 비증후군성 난청이다.

[0005] 비증후군성 난청의 경우 상염색체 열성유전의 양상이 약 80%를 차지하고 있으며, 약 15 내지 20%는 상염색체 우성 유전, 나머지 2% 미만이 X 염색체와 미토콘드리아에 존재하는 유전자에 의한 난청이다.

[0006] 상기 유전성 난청은 가능한 조기에 진단하고, 계속해서 관리해주는 것이 가장 중요하기 때문에, 이를 위하여 유전성 난청과 관련된 유전자에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그 중 GJB2(OMIM ID:121011) 유전자의 돌연변이가 유전성 난청의 원인이 되는 것으로 가장 널리 알려져 있다.

[0007] 이러한 유전성 난청을 예방 및 검출하기 위해서는, 태아의 DNA 검출을 통한 예방적 진단이 가장 효과적인 것으로 알려져 있으며, 대표적인 DNA 돌연변이 검출 방법 중 하나로, 단일분자형광공명에너지전달법(The single-molecule fluorescence resonance energy transfer (smFRET))이 알려져 있으나, 방사성 프로브 표지를 필수적으로 이용해야 하는 등 일부 사용에 불편이 따르는 단점이 존재하는 실정이다.

[0008] 대칭 파괴(Symmetry breaking)는 원형편광과 카이랄 나노 구조 사이의 비대칭 상호작용에 의해, 원형이색성을 변화시키는 카이랄성의 기원으로 알려져 왔다. 한편, 나노스케일의 플라즈몬 물질의 나선형 구조는 카이랄광학(chiroptical) 신호를 증폭시킬 수 있으며, 빛의 파장보다 훨씬 작은 차원을 가진 플라즈몬 나노입자는 공진 파장에서 여기될 때, 고도로 국부화된 영역에 입사 방사선을 집중시킬 수 있다. 예를 들어, 입자 나선 또는 꼬인 나노막대 스택과 같은 카이랄 기하학 구조에 플라즈몬 나노 입자를 배열하고, 플라즈몬 카이랄 반응을 유도할 수 있으며, 이 때 상기 나노구조는 원형 편광의 빛을 다르게 흡수하여 강한 원형 이색성(CD) 스펙트럼을 나타낼 수 있다.

[0009] 이에, 플라즈몬 카이랄성을 이용하는 경우, 플라즈몬 입자의 강한 흡수 특성 및 광학 회전 분산 효과로 인해 정교한 장비 없이도 효과적인 검출 효과를 나타낼 수 있는 바, 최근 플라즈몬 대칭 파괴에 따른 고유한 신호 변화를 탐지하여 새로운 센서 분야에 활용하고자 하는 연구가 지속적으로 이루어지고 있는 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) KR 10-2017-0061345 A

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명의 목적은 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름 및 이를 포함하는 바이오 센서를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 나노 입자층 상에 정렬된 자성플라즈몬 나노입자에 결합된 검출 DNA 및 유전성 난청을 나타내는 표적 DNA 간의 상보적 결합에 따른 대칭 파괴 및 그에 따른 카이랄 특성 변화를 통해 유전성 난청을 검출할 수 있는 플라즈모닉 네마틱 필름을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 실시예에 따른 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름은, 적어도 2층 이상의 나노 입자층 및 검출 DNA(capture DNA)를 포함하는 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름으로, 상기 나노 입자층은 상호 이격 배치되고 일방향 정렬구조를 갖는 복수의 나노입자배열체를 포함하며, 상기 적어도 2층 이상의 나노 입자층은 제1 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체를 포함하는 제1층; 및 상기 제1 방향과 다른 방향인 제2 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체를 포함하고 상기 제1층에 인접하는 제2층을 포함하며, 상기 검출 DNA는 상기 나노입자배열체에 결합되어 있는 것이며, 상기 네마틱 필름은 카이랄성(chirality)을 나타낼 수 있다.

[0014] 상기 제1 방향과 상기 제2 방향이 이루는 각도(Θ)는 0° 내지 90° 범위인 것이다.

[0015] 상기 플라즈모닉 네마틱 필름은 상기 검출 DNA(capture DNA)와 유전성 난청을 발현시키는 표적 DNA(target DNA) 사이의 상보적 결합을 통해 유전성 난청을 검출하는 것이다.

[0016] 상기 표적 DNA(target DNA)는 금속 나노 입자에 결합되어 있는 것이다.

[0017] 상기 금속 나노 입자에는 신호 DNA(signal DNA)가 결합되며, 상기 표적 DNA(target DNA)는 상기 신호 DNA(signal DNA)와의 상보적 결합을 통해 금속 나노 입자에 결합될 수 있다.

[0018] 상기 제1층 및 상기 제2층 사이에 형성되는 이격층을 더 포함할 수 있다.

[0019] 상기 네마틱 필름은 일면에 형성되는 지지층을 더 포함하며, 상기 지지층은 유리, 인듐주석산화물(Indium-Tin Oxide, ITO), 불소산화주석(Fluorine-doped Tin Oxide, FTO), 폴리(메틸메타아크릴레이트), 폴리카보네이트, 폴리(디메틸실록산) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 소재를 포함할 수 있다.

[0020] 상기 나노입자배열체는 복수의 자성 플라즈몬 나노입자를 포함하는 것이다.

[0021] 상기 나노입자는 코어(core); 및 상기 코어와 이종의 성분을 포함하고, 상기 코어 표면의 적어도 일부를 둘러싸는 쉘(shell)을 포함하는 것이다.

[0022] 상기 코어 및 쉘 중 어느 하나가 자성 성분을 포함하고, 다른 하나가 금속 성분을 포함하는 것이다.

[0023] 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 유전성 난청 검출용 바이오 센서는 플라즈모닉 네마틱 필름을 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0024] 본 발명은 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름 및 이를 포함하는 바이오 센서에 관한 것으로, 나노 입자층 상에 정렬된 자성플라즈몬 나노입자에 결합된 검출 DNA 및 유전성 난청을 나타내는 표적 DNA 간의 상보적 결합에 따른 대칭 파괴 및 그에 따른 카이랄 특성 변화를 통해 유전성 난청을 보다 용이하게 검출할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름을 개략적으로 도시한 사시도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 플라즈모닉 네마틱 필름의 나노 입자층을 지면에 수직한 방향에서 관측한 형상을 개략적으로 도시한 것이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 자성 플라즈몬 나노입자 및 이를 포함하는 플라즈모닉 네마틱 필름의 구조 및 광학적 특성을 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름의 검출 DNA(cDNA) 및 금속 나노입자에 결합된 표적 DNA(tDNA) 간의 상보적 결합 구조 및 그에 따른 특성을 확인한 결과이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름의 대칭 깨짐 효과(symmetry breaking)를 이용한 DNA 돌연변이 검출 특성을 확인한 결과 및 볼 발명 실시예의 cDNA 및 tDNA의 상보적 결합관계를 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름의 자기 원편광이색성(Magnetic circular dichroism, MCD)의 스펙트럼 분석 결과이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름의 임상적 DNA 검출 효과를 나타낸 것이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 임상적 tDNA 염기서열 및 상기 tDNA와 cDNA 간의 상보적 결합관계를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시예에 대하여 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다.

[0027] 도면에서, 필요에 따라, 층 또는 영역을 명확하게 표현하기 위하여 일부 구성의 두께를 확대하여 나타내었다. 또한, 도면에서, 설명의 편의를 위해, 일부 층 및 영역의 두께를 과장되게 나타내었다. 명세서 전체에 걸쳐 동일 참조 부호는 동일 구성요소를 지칭한다.

[0028] 또한, 본 명세서에서 층, 막, 영역, 판 등의 부분이 다른 부분 "위에", "상에" 또는 "상부에" 있다고 할 때, 이는 다른 부분 "바로 위에" 있는 경우뿐 아니라 그 중간에 또 다른 부분이 있는 경우도 포함하는 것으로 해석된다. 어떤 부분이 다른 부분 "바로 위에" 있다고 할 때에는 중간에 다른 부분이 없는 것을 의미하는 것으로 해석한다. 또한, 층, 막, 영역, 판 등의 부분이 다른 부분 "아래에", "하에" 또는 "하부에" 있다고 할 때, 이는 다른 부분 "바로 아래에" 있는 경우뿐 아니라 그 중간에 또 다른 부분이 있는 경우도 포함하는 것으로 해석된다. 어떤 부분이 다른 부분 "바로 아래에" 있다고 할 때에는 중간에 다른 부분이 없는 것으로 해석한다.

[0029] 본 명세서에서 사용되는 용어 중, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0030] 본 명세서에서 용어 “PNF”는 본 발명 일 실시예의 플라즈모닉 네마틱 필름을 의미하며, "MagPlas NPs"은 본 발명 일 실시예에 따른 자성 플라즈몬 나노 입자를 의미하며, "AuNPs"는 일 실시예의 금속나노입자를 의미하는 것으로 정의한다. 또한, "tDNA"는 target DNA를 의미하며, "cDNA"는 capture DNA를 의미하며, "sDNA"는 signal DNA를 의미하는 것으로 정의한다.

[0031] 본 발명의 일 실시예에 따른 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름은, 적어도 2층 이상의 나노 입자층 및 검출 DNA(capture DNA)를 포함하는 유전성 난청 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름으로, 상기 나노 입자층은 상호 이격 배치되고 일방향 정렬구조를 갖는 복수의 나노입자배열체를 포함하며, 상기 적어도 2층 이상의 나노 입자층은 제1 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체를 포함하는 제1층; 및 상기 제1 방향과 다른 방향인 제2 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체를 포함하고 상기 제1층에 인접하는 제2층을 포함하며, 상기 검출 DNA는 상기 나노입자배열체에 결합되어 있는 것이며, 상기 네마틱 필름은 카이랄성(chirality)을 나타낼 수 있다.

[0032] 상기 플라즈모닉 네마틱 필름은 1차원 나노 구조의 계층적 구조, 형태 및 조성을 적용함으로써 광결정, 전기화학촉매 및 센서 응용분야 등에서, 생체 영감 기능성 나노물질로서 기능할 수 있다. 나노 적층 구조의 제조와 관련하여 종래에 알려진 방법들은 정확성 및 재현 가능성이 현저히 떨어지는 문제가 있었다. 이와 관련하여, 상기 플라즈모닉 네마틱 필름은 광학 적층체의 형태로, 특정 조성의 나노 입자로부터 유래된 나노입자배열체를 포함함으로써, 일종의 불리간드(Bouligand) 구조, 즉, 합판과 비슷한 구조들이 층을 이루며 회전 적층된 미세 구조를 포함하여 향상된 구조적 카이랄성을 나타냄과 동시에, 상기 나노입자배열체의 이격 간격 및 정렬구조가 일관성을 나타내어 종래에 비하여 정확성 및 재현 가능성이 현저히 향상된 장점을 나타낼 수 있다.

[0033] 구체적으로, 상기 플라즈모닉 네마틱 필름은 나노 입자층을 적어도 2층 이상 포함하되, 상기 나노 입자층이 포함하는 복수의 나노입자배열체가 상호 이격 배치되고 일방향 정렬 구조를 가짐과 동시에, 인접한 두 나노 입자층에 있어서 각각의 나노입자배열체의 정렬 방향이 소정의 각도를 갖는 특징을 가짐으로써 구조적 카이랄성을 나타낼 수 있다. 상기 플라즈모닉 네마틱 필름이 카이랄성을 나타낸다는 것은 구조적으로 완전한 비대칭성을 만족하는 것으로, 상기 필름의 구조 내 거울 평면을 갖지 않는 것을 의미한다. 상기 필름은 이와 같은 구조적 특징으로 인해 생성되는 카이랄성을 바탕으로, 카이랄 네마틱(chiral nematic) 표면층으로서 기능하며, 이를 필요로 하는 다양한 응용 분야에 활용될 수 있으며, 구체적으로 본 발명의 유전성 난청을 검출하는 용도로 적용될 수 있는 것이다.

[0034] 보다 구체적으로, 상기 플라즈모닉 네마틱 필름은, 검출 DNA(capture DNA, cDNA)를 포함하는 것으로, 상기 검출 DNA는 나노입자배열체와 결합되는 것이다.

[0035] 상기 검출 DNA는 유전성 난청을 발현시키는 표적 DNA(tDNA)와 염기서열의 전부 또는 일부가 상보적으로 결합될 수 있는 것으로, 상기 결합 시, 대칭 파괴 효과에 의해, 본 발명 플라즈모닉 네마틱 필름의 카이랄 특성에 변화를 야기하며, 상기 카이랄 특성의 변화를 통해 목적하는 특정 유전성 난청 유전자를 검출해낼 수 있는 것이다.

[0036] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름(10)을 개략적으로 도시한 사시도이다. 도 1을 참조할 때, 상기 플라즈모닉 네마틱 필름(10)은 적어도 2층 이상의 나노 입자층(20)을 포함한다. 도 1은 상기 네마틱 필름(10)이 4층의 나노 입자층(20)을 포함하는 경우를 일 예시로 도시한 것으로, 구체적으로는 2층의 나노 입자층(20)을 포함하는 네마틱 필름(10)이 서로 마주보게 부착되어 형성된 구조를 도시한 것이다.

[0037] 상기 나노 입자층(20)은 복수의 나노입자배열체(21)를 포함하며, 상기 복수의 나노입자배열체(21)는 하나의 나노 입자층(20) 내에서 상호 이격 배치되고 일방향의 정렬구조를 갖는다. 구체적으로, 상기 적어도 2층의 나노 입자층(20)은 제1 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체(21)를 포함하는 제1층(11)과 상기 제1방향과는 다른 방향인 제2방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체(21)를 포함하고 상기 제1층(11)에 인접하는 제2층(12)을 포함한다. 본 명세서에서 상기 '제1층(11)' 및 상기 '제2층(12)'은 상기 적어도 2층의 나노 입자층(20) 중에서 임

의의 두 층을 지칭한다. 도 1은 일 예시로서 지면 측으로부터 첫 번째 층을 제1층(11), 이와 인접한 두 번째 층을 제2층(12)으로 도시한 것이다. 즉, 상기 네마틱 필름(10)에 있어서 상기 제1층(11) 및 제2층(12)은 각각 지면 측으로부터 두 번째 층 및 세 번째 층을 지칭할 수도 있고, 이와 유사하게 지면 측으로부터 세 번째 층 및 네 번째 층을 지칭할 수도 있다.

[0038] 한편, 도 1을 참조할 때, 본 발명의 검출 DNA(cDNA)(24)는 상기 나노입자배열체(21)에 결합되어 있는 구조로, 금속 나노입자(AuNPs)(25)에 결합되어 있는 표적 DNA(tDNA)(23)와의 상보적 결합을 통해, 본 발명 플라즈모닉 네마틱 필름(10)의 대칭 파괴 및 카이랄 특성 변화를 유도할 수 있는 것이다.

[0039] 한편, 상기 제1 방향과 상기 제2 방향이 이루는 각도(Θ)는 0° 내지 90° 범위인 것이다.

[0040] 구체적으로, 도 2는 본 발명의 일 구현예에 따른 상기 플라즈모닉 네마틱 필름(10)의 나노 입자층(20)을 지면에 수직한 방향에서 관측한 형상을 개략적으로 도시한 것이다.

[0041] 구체적으로, 도 2의 a, b 및 c는 각각 지면측으로부터 1층(11), 2층(12) 및 4층의 나노 입자층(20)이 생성된 경우를 개략적으로 도시한 것이다. 일 예시로서 상기 제1층(11) 및 상기 제2층(12)이 각각 지면 측으로부터 첫 번째 층 및 두 번째 층을 지칭할 때, 상기 제1층(11)의 복수의 나노입자배열체(21)의 정렬 방향인 제1방향(a)과 상기 제2층(12)의 복수의 나노입자배열체(21)의 정렬 방향인 제2방향(b)은 소정의 각도(Θ)를 이룰 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 각도(Θ)는 $0° < \Theta < 90°$ 범위 중 어느 하나의 각도일 수 있다. 다른 측면에서 설명하면, 상기 제1층(11) 및 상기 제2층(12)이 각각 지면 측으로부터 두 번째 층 및 세 번째 층을 지칭할 때 상기 제1방향(b)과 상기 제2방향(c)이 이루는 각도(Θ)도 $0° < \Theta < 90°$ 범위 중 어느 하나의 각도일 수 있다. 상기 제1방향 및 상기 제2방향이 이와 같이 소정의 각도 범위를 이룸으로써 상기 플라즈모닉 네마틱 필름(10)이 상기 복수의 나노입자층(20)의 적층 구조에 의해 구조적 카이랄성을 나타낼 수 있는 것이다.

[0042] 상기 제1방향과 상기 제2방향이 이루는 각도(Θ)는, 예를 들어, 약 $0° < \Theta < 90°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta < 90°$, 예를 들어, 약 $10° \leq \Theta < 90°$, 예를 들어, 약 $15° \leq \Theta < 90°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta \leq 85°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta \leq 80°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta \leq 75°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta \leq 70°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta \leq 65°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta \leq 60°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta \leq 55°$, 예를 들어, 약 $5° \leq \Theta \leq 50°$, 예를 들어, 약 $10° \leq \Theta \leq 65°$, 예를 들어, 약 $10° \leq \Theta \leq 60°$, 예를 들어, 약 $10° \leq \Theta \leq 55°$, 예를 들어, 약 $10° \leq \Theta \leq 50°$ 중 어느 하나의 각도일 수 있다. 여기서 상기 제1방향과 상기 제2방향이 이루는 각도(Θ)는 예각을 기준으로 하는 값이다. 상기 제1방향과 상기 제2방향이 이루는 각도(Θ)가 적정 범위에 해당함으로써 상기 제1층(11)과 상기 제2층(12)의 결합 효과에 따라 상기 제1층(11)의 나노입자배열체(21)와 상기 제2층(12)의 나노입자배열체(21)가 이루는 기하학적 구조가 나노입자 간 플라즈몬 공명 효과 향상에 유리할 수 있으며, 이와 동시에 효과적인 비대칭성을 구현하여 전체 구조적 카이랄성 확보에 보다 유리할 수 있다. 다른 측면에서 설명하면, 상기 제1방향과 상기 제2방향이 이루는 각도(Θ)가 지나치게 작은 경우에는 구조적 비대칭성이 감소하여 카이랄성을 억제할 우려가 있고, 상기 제1방향과 상기 제2방향이 이루는 각도(Θ)가 지나치게 큰 경우에는 상기 제1층(11)과 상기 제2층(12) 사이의 결합 효과가 약화되어 플라즈몬 공명에 불리할 우려가 있다.

[0043] 도 2는 상기 복수의 나노입자층(20) 각 층의 상기 나노입자배열체(21)의 정렬 방향이 지면 측으로부터 첫 번째 층부터 마지막 층까지 순차적으로 시계 반대 방향으로 소정의 각도로 회전되도록 적층된 일 예시를 도시한 것이다. 다른 예시에서, 상기 복수의 나노입자층(20)은 각 층의 상기 나노입자배열체(21)의 정렬 방향이 지면 측으로부터 첫 번째 층부터 마지막 층까지 순차적으로 시계 방향으로 소정의 각도로 회전되도록 적층될 수 있다. 이때 전자의 적층 구조에 따른 복수의 나노입자층(20)을 포함하는 네마틱 필름(10)의 카이랄성과 후자의 적층 구조에 따른 복수의 나노입자층(20)을 포함하는 네마틱 필름(10)의 카이랄성은 상호 반대 카이랄성을 나타낼 수 있다. 다른 측면에서 설명하면, 상기 전자의 적층 구조에 따른 복수의 나노 입자층(20)을 포함하는 네마틱 필름(10)이 왼쪽 카이랄성을 나타내는 경우, 상기 후자의 적층 구조에 따른 복수의 나노 입자층(20)을 포함하는 네마틱 필름(10)이 오른쪽 카이랄성을 나타낼 수 있다. 이와 같이, 상기 복수의 나노 입자층(20) 각 층의 상기 나노입자배열체(21)의 정렬 방향의 회전 방향에 따라 상기 네마틱 필름(10)의 오른쪽 또는 왼쪽의 카이랄성을 나타낼 수 있으며, 상기 소정의 각도가 전술한 범위를 만족함으로써 플라즈몬 공명 효과와 카이랄성을 모두 우수하게 구현할 수 있는 것이다.

[0044] 일 구현예에서, 상기 네마틱 필름(10)은 상기 나노 입자층(20)을 약 2층 내지 약 10층 포함할 수 있다. 도 1은 상기 네마틱 필름(10)이 상기 나노 입자층(20)을 4층 포함하는 경우를 일 예시로서 도시한 것이다. 상기 네마틱 필름(10)이 적정 층수의 나노 입자층(20)을 포함함으로써 복수의 나노 입자층(20) 사이의 결합 효과에 의해 플

라즈몬 공명이 목적 수준으로 구현되기 유리할 수 있으며, 상기 복수의 나노 입자층(20)에 포함된 나노입자배열체(21)들의 회전 적층에 따른 기하학적 구조가 카이랄성을 목적 수준으로 구현하기에 보다 유리할 수 있다.

[0045] 일 구현예에서, 상기 나노 입자층(20)의 두께는 예를 들어, 약 100nm 내지 약 200nm, 예를 들어, 약 110nm 내지 약 200nm, 예를 들어, 약 120nm 내지 약 200nm, 예를 들어, 약 130nm 내지 약 200nm, 예를 들어, 약 110nm 내지 약 180nm, 예를 들어, 약 120nm 내지 약 180nm, 예를 들어, 약 130nm 내지 약 180nm, 예를 들어, 약 140nm 내지 약 180nm일 수 있다.

[0046] 상기 플라즈모닉 네마틱 필름은 상기 검출 DNA(capture DNA)와 유전성 난청을 발현시키는 표적 DNA(target DNA) 사이의 상보적 결합을 통해 유전성 난청을 검출하는 것이다.

[0047] 구체적으로, 본 발명은 전 세계적으로 돌연변이 발현이 가장 많이 일어나는 GJB2 유전자의 점 돌연변이를 표적으로 하는 표적 DNA 검출용 플라즈모닉 네마틱 필름에 대한 것으로, 상기 검출 DNA 및 표적 DNA 간의 상보적 결합에 따라 야기되는 대칭 파괴 및 카이랄 특성의 변화를 확인하여 유전성 난청을 검출할 수 있는 것이다.

[0048] 구체적으로, 상기 검출 DNA는 표적 DNA(tDNA)(23)인 GJB2 유전자에서 점 돌연변이의 발현이 많이 나타나는 20개의 시퀀스와 상보적 결합이 가능한 염기서열을 포함할 수 있다.

[0049] 구체적으로, 상기 검출 DNA(capture DNA)는 서열번호 1 또는 2의 염기서열을 포함하는 것이며, 상기 표적 DNA(target DNA)는 서열번호 3, 4, 5 및 6으로 이루어진 군으로부터 선택되는 염기서열을 포함할 수 있다.

[0050] 한편, 도 4d는 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 나노 입자층(20)의 주사전자현미경 (Scanning Electron Microscope, SEM) 사진과 광학현미경(Optical Microscope, OM)사진을 게재한 것으로, 도 4d의 왼쪽사진은 임의의 하나의 상기 나노 입자층(20)에 대하여 지면에 수직한 방향에서 측정한 OM 사진이고, 오른쪽 사진은 하나의 상기 나노 입자층(20)에 대하여 지면에 수직한 방향에서 측정한 SEM 사진이다.

[0051] 상기 도 4d를 참조할 때, 상기 나노 입자층(20)은 복수의 나노입자배열체(21)를 포함하고, 상기 복수의 나노입자배열체(21)는 상호 이격 배치되며 일방향 정렬 구조를 갖는다. 한편, 상기 복수의 나노입자배열체(21)는 인접한 두 나노입자배열체(21) 사이의 이격 거리가 약 500nm 내지 약 1000nm일 수 있다. 상기 복수의 나노입자배열체(21)가 상호 이와 같은 범위로 이격 배치됨으로써 이들이 일방향 정렬 구조를 이루는 특징과 상기 복수의 나노 입자층(20)들의 정렬 방향이 소정의 각도를 이루는 특징이 조합되어 상기 네마틱 필름(10)에 향상된 카이랄성을 부여하기 유리할 수 있다. 다른 측면에서 설명하면, 상기 복수의 나노입자배열체(21) 사이의 이격 거리가 지나치게 가깝거나 지나치게 멀면 상기 복수의 나노입자배열체(21)가 일방향 정렬되고, 상기 복수의 나노입자층(20)들의 정렬 방향이 소정의 각도를 이루도록 적층되더라도 카이랄성이 목적 수준으로 나타나지 않을 우려가 있다.

[0052] 도 4d의 오른쪽 사진을 참조할 때, 상기 나노입자배열체(21)는 복수의 나노입자를 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 나노입자배열체(21)는 복수의 나노입자가 군집을 이루면서 소정의 방향으로 정렬되어 있는 배열체(21)를 의미할 수 있다. 상기 나노입자는 소정의 구조 및 형상을 갖고, 소정의 조성을 포함함으로써 상기 플라즈모닉 네마틱 필름(10)의 카이랄성 및 광학적 특성을 목적 수준으로 구현하는 데 보다 유리할 수 있다.

[0053] 상기 나노입자배열체는 복수의 자성 플라즈몬 입자를 포함할 수 있다.

[0054] 플라즈몬(Plasmon)이란 금속 내부의 자유 전자들이 집단적으로 진동하는 현상을 의미한다. 금속 나노 입자의 경우, 플라즈몬이 표면에 국부적으로 존재할 수 있는데, 이를 표면 플라즈몬(Surface Plasmon)이라고 지칭할 수 있다. 금속 나노입자가 가시광선에서 근적외선에 이르는 영역의 빛의 전기장과 만나는 경우 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance, SPR)에 의해 광흡수가 일어나 선명한 색을 띠게 된다. 상기 자성 플라즈몬 입자는 자성을 띠는 플라즈몬 입자로서, 자성에 의해 자기장 내에 소정의 배열로 정렬될 수 있고, 이와 동시에 플라즈몬 현상에 의해 색을 띨 수 있다. 상기 나노입자가 이러한 자성 플라즈몬 입자를 포함함으로써 이로부터 유래된 상기 나노입자배열체가 일방향 정렬 구조를 형성함과 동시에 상기 플라즈모닉 네마틱 필름이 우수한 광학적 특성을 나타낼 수 있다.

[0055] 한편, 상기 자성 플라즈몬 입자는 자기장 인가에 의한 배열 가변성을 가질 수 있다. 여기서, 상기 '자기장 인가에 의한 배열 가변성'이란 상기 자성 플라즈몬 입자에 자기장이 인가되는 경우, 인가된 자기장에 따라 상기 자성 플라즈몬 입자가 소정의 배열로 정렬되는 특성의 의미한다. 이러한 자기장 인가에 의한 배열 가변성을 바탕으로, 상기 나노입자는 자기장 인가라는 비교적 단순한 수단에 의하여 이를 구성으로 하면서 일방향 정렬 구조를 갖는 상기 복수의 나노입자배열체를 형성할 수 있다.

[0056] 한편, 본 발명 플라즈모닉 네마틱 필름에 포함되는 검출 DNA는 나노입자배열체(21)에 결합되는 것으로, 보다 구체적으로는 상기 자성 플라즈몬 나노입자에 결합될 수 있다.

[0057] 즉, 상기 검출 DNA(cDNA)(24)는 상기 자성 플라즈몬 나노입자(MagPlas NPs)와 결합되어 복합체(MagPlas NPs-cDNA)를 형성할 수 있는 것이다.

[0058] 한편, 상기 표적 DNA(target DNA)는 금속 나노 입자에 결합되어 있는 것이다.

[0059] 구체적으로, 상기 검출 DNA(cDNA) (24)와 상보적으로 결합하는 상기 표적 DNA(tDNA) (23)는 금속 나노 입자(AuNPs)(25)와 결합되어 복합체(AuNPs-tDNA)를 형성할 수 있다.

[0060] 즉, 상기 "MagPlas NPs-cDNA" 및 "AuNPs-tDNA"의 각 복합체에 포함된 cDNA(24) 및 tDNA(23) 간의 상보적 결합을 통해, 플라즈닉 네마틱 필름의 대칭 파괴 및 카이랄 특성의 변화를 유도할 수 있는 것이다.

[0061] 구체적으로, 상기 금속 나노 입자는 금(Au) 나노 입자인 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니며, 대칭 파괴 및 카이랄 특성 변화 분석에 적용할 수 있는 금속 나노 입자인 한 특별히 제한되는 것은 아니다.

[0062] 상기 금속 나노 입자에는 신호 DNA(signal DNA)가 결합되며, 상기 표적 DNA(target DNA)는 상기 신호 DNA(signal DNA)와의 상보적 결합을 통해 금속 나노 입자에 결합될 수 있다.

[0063] 구체적으로, 도 1 및 도 8을 참조하면, 상기 금속 나노 입자(AuNP)(25)는 신호 DNA(sDNA)(26)가 결합될 수 있으며, 상기 신호 DNA(sDNA)(26)가 상기 tDNA(23)의 일부 염기서열과 상보적으로 결합함을 통해, 검출 DNA(cDNA)(24) 및 표적 DNA(tDNA) (23) 간의 결합 및 그에 따른 카이랄 특성 변화 신호를 나타내도록 할 수 있다.

[0064] 즉, 상기 표적 DNA(tDNA)는 금속 나노 입자에 직접 결합되거나, 또는 금속 나노 입자에 결합된 신호 DNA(sDNA)와의 상보적 결합을 통해 금속 나노 입자에 간접적으로 결합될 수도 있는 것이다.

[0065] 상기 나노입자는 코어(core); 및 상기 코어와 이종의 성분을 포함하고, 상기 코어 표면의 적어도 일부를 둘러싸는 쉘(shell)을 포함하는 것이다.

[0066] 구체적으로, 상기 쉘은 상기 코어 표면의 일부를 둘러싼 하프-쉘(half-shell) 구조일 수도 있으며, 상기 쉘이 실질적으로 코어의 표면 전체를 둘러싼 구조일 수도 있다. 한편, 상기 쉘이 상기 코어의 성분과 이종의 성분을 포함한다는 것은, 상호 모든 성분이 상이한 경우뿐만 아니라, 일부 동일한 성분을 포함하더라도 전체 조성이 상이한 경우를 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

[0067] 상기 코어 및 쉘 중 어느 하나가 자성 성분을 포함하고, 다른 하나가 금속 성분을 포함하는 것이다.

[0068] 자성 성분을 포함하는 코어와 금속 성분을 포함하는 쉘; 또는 자성 성분을 포함하는 쉘과 금속 성분을 포함하는 코어의 조합을 통하여, 상기 자성 플라즈몬 입자의 자기장 인가에 의한 배열 가변성이 즉각적이고 빠르게 구현될 수 있으며, 목적하는 색상의 발현 등에 있어서 기술적 이점을 확보하기에 유리할 수 있다.

[0069] 상기 금속 성분은, 예를 들어, 은(Ag), 금(Au), 백금(Pt), 구리(Cu), 팔라듐(Pd), 이리듐(iridium), 오스뮴(osmium), 로듐(rhodium), 루테늄(ruthenium), 니켈(Ni), 코발트(Co), 철(Fe), 망간(Mn), 크롬(Cr), 바나듐(V), 티타늄(Ti), 알루미늄(Al), 아연(Zn), 카드뮴(Cd) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함할 수 있다.

[0070] 상기 자성 성분은, 예를 들어, 산화철(Fe_3O_4), 산화니켈(NiO), 산화코발트(Co_3O_4), 철(Fe), 니켈(Ni), 코발트(Co) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함할 수 있다.

[0071] 일 구현예에서, 상기 코어(core)는 은(Ag), 금(Au), 백금(Pt), 구리(Cu), 팔라듐(Pd), 이리듐(iridium), 오스뮴(osmium), 로듐(rhodium), 루테늄(ruthenium), 니켈(Ni), 코발트(Co), 철(Fe), 망간(Mn), 크롬(Cr), 바나듐(V), 티타늄(Ti), 알루미늄(Al), 아연(Zn), 카드뮴(Cd) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함하고, 상기 쉘(shell)은 산화철(Fe_3O_4), 산화니켈(NiO), 산화코발트(Co_3O_4), 철(Fe), 니켈(Ni), 코발트(Co) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함할 수 있다.

[0072] 다른 구현예에서, 상기 코어(core)는 산화철(Fe_3O_4), 산화니켈(NiO), 산화코발트(Co_3O_4), 철(Fe), 니켈(Ni), 코발트(Co) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함하고, 상기 쉘(shell)은 은(Ag), 금(Au), 백금(Pt), 구리(Cu), 팔라듐(Pd), 이리듐(iridium), 오스뮴(osmium), 로듐(rhodium), 루테늄(ruthenium), 니켈

(Ni), 코발트(Co), 철(Fe), 망간(Mn), 크롬(Cr), 바나듐(V), 티타늄(Ti), 알루미늄(Al), 아연(Zn), 카드뮴(Cd) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함할 수 있다.

[0073] 한편, 본 발명의 플라즈모닉 네마틱 필름은 상기 제1층 및 제2층 사이에 형성되는 이격층을 더 포함할 수 있다.

[0074] 상기 이격층(22)은 상기 복수의 나노 입자층의 층 간격을 적절하게 확보해주는 역할을 할 수 있다. 또한, 상기 이격층(22)은 상기 복수의 나노 입자층의 형성 과정에서 하나의 나노 입자층을 형성하는 공정이 이미 형성된 다른 하나의 나노 입자층의 변화를 야기하는 것을 효과적으로 방지하는 역할을 수행할 수 있다. 또한, 상기 이격층(22)을 통하여 상기 네마틱 필름의 두께를 적절히 조절할 수 있고, 상기 필름의 용도 활용성을 향상시키기에 보다 유리할 수 있다.

[0075] 일 구현예에서, 상기 이격층(22)은 폴리디알릴디메틸암모늄클로라이드(PDDA, polydiallyldimethylammonium chloride), 폴리아믹산(poly(amic acid)), 폴리(알릴아민하이드로클로라이드)(PAH, poly(allylamine hydrochloride)), 폴리에틸렌이민(PEI, polyethyleneimine), 폴리-L-리신(PLL, poly-L-lysine), 폴리아크릴산(PAA, poly(acrylic acid), 폴리스티렌설포네이트(PSS, polystyrenesulfonate), 폴리비닐설페이트(PVS, Poly(vinylsulfate)), 덱스트란설페이트(DS, Dextran sulfate) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함할 수 있다. 이와 같은 종류의 성분을 적용함으로써 상기 이격층(22)의 전술한 역할 및 기능을 향상시키기에 보다 유리할 수 있다.

[0076] 한편, 도 1을 참조할 때, 상기 나노입자층(20)은 바탕재를 더 포함할 수 있다. 상기 바탕재는 상기 나노 입자층(20) 내에 배치된 상기 나노입자배열체(21)의 배열 구조를 확고히 지지하는 역할을 수행할 수 있다. 또한, 상기 바탕재는 상기 복수의 나노 입자층(20) 사이의 계면 부착성을 향상시키는 역할을 수행할 수 있다. 또한, 상기 바탕재는 상기 나노 입자층(20)이 적절한 두께감을 갖도록 할 수 있다.

[0077] 일 구현예에서, 상기 바탕재는 폴리디알릴디메틸암모늄클로라이드(PDDA, polydiallyldimethylammonium chloride), 폴리아믹산(poly(amic acid)), 폴리(알릴아민하이드로클로라이드)(PAH, poly(allylamine hydrochloride)), 폴리에틸렌이민(PEI, polyethyleneimine), 폴리-L-리신(PLL, poly-L-lysine), 폴리아크릴산(PAA, poly(acrylic acid), 폴리스티렌설포네이트(PSS, polystyrenesulfonate), 폴리비닐설페이트(PVS, Poly(vinylsulfate)), 덱스트란설페이트(DS, Dextran sulfate) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함할 수 있다. 상기 바탕재가 이와 같은 성분을 포함함으로써 전술한 역할 및 기능을 향상시키기에 보다 유리할 수 있다.

[0078] 구현예에서, 상기 이격층(22)과 상기 바탕재는 상호 반대 전하를 갖는 성분으로부터 유래될 수 있다. 구체적으로, 상기 이격층(22)이 양(+)전하를 갖는 성분으로부터 유래되고 상기 바탕재가 음(-)전하를 갖는 성분으로부터 유래되거나; 상기 이격층(22)이 음(-)전하를 갖는 성분으로부터 유래되고 상기 바탕재가 양(+)전하를 갖는 성분으로부터 유래될 수 있다. 상기 이격층(22) 및 상기 바탕재에 상호 반대 전하를 갖는 성분을 원료로 적용함으로써 상기 플라즈모닉 네마틱 필름(10)의 제조 과정에서 상기 이격층(22)과 상기 나노입자층(20) 사이의 정전기 상호 작용을 통해 층간 계면 부착성을 우수하게 확보할 수 있으며, 상기 나노입자배열체(21)의 정렬 구조가 효과적으로 고정되어 상기 복수의 나노 입자층(20)의 회전 적층에 따른 카이랄성이 정교하게 구현되기 유리할 수 있다.

[0079] 일 구현예에서, 상기 이격층(22)은 양(+)전하를 갖는 폴리머(polymer)로부터 유래되고, 상기 바탕재는 음(-)전하를 갖는 폴리머로부터 유래될 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 양(+)전하를 갖는 폴리머는 폴리디알릴디메틸암모늄클로라이드(PDDA), 폴리(알릴아민하이드로클로라이드)(PAH), 폴리에틸렌이민(PEI), 폴리-L-리신(PLL) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함하고, 상기 음(-)전하를 갖는 폴리머는 폴리아믹산, 폴리아크릴산(PAA), 폴리스티렌설포네이트(PSS), 폴리비닐설페이트(PVS), 덱스트란설페이트(DS) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함할 수 있다.

[0080] 상기 네마틱 필름은 일면에 형성되는 지지층을 더 포함하며, 상기 지지층은 유리, 인듐주석산화물(Indium-Tin Oxide, ITO), 불소산화주석(Fluorine-doped Tin Oxide, FTO), 폴리(메틸메타아크릴레이트), 폴리카보네이트, 폴리(디메틸실록산) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 소재를 포함할 수 있다.

[0081] 상기 지지층(40)은 상기 플라즈모닉 네마틱 필름을 구조적으로 지지하는 역할을 하는 것으로, 지지층(40)이 상기 예시한 성분을 포함함으로써, 상기 플라즈모닉 네마틱 필름에 의한 구조적 카이랄성과 광학적 특성을 저해하지 않으면서, 상기 필름 자체의 구조적 강성을 부여할 수 있는 장점이 있다.

[0082] 일 구현예에서, 상기 지지층(40)은 음(-)전하를 갖도록 대전된 유리로부터 유래되고, 상기 이격층(22)은 양(+)

전하를 갖는 폴리머(polymer)로부터 유래될 수 있다. 보다 구체적으로, 상기 지지층(40)은 표면에 실리콘옥사이드(SiO^-) 이온이 노출되도록 처리된 유리로부터 유래될 수 있다. 또한, 상기 이격층(22)에 적용되는 양(+) 전하를 갖는 폴리머는 폴리디알릴디메틸암모늄클로라이드(PDDA), 폴리(알릴아민하이드로클로라이드)(PAH), 폴리에틸렌이민(PEI), 폴리-L-리신(PLL) 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나를 포함할 수 있다.

[0083] 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 유전성 난청 검출용 바이오 센서는 상기 플라즈모닉 네마틱 필름을 포함할 수 있다.

[0084] 구체적으로, 상기 플라즈모닉 네마틱 필름은, 상호 이격 배치되고 일방향 정렬 구조를 갖는 복수의 나노입자배열체를 포함하는 나노 입자층을 적용하고, 상기 복수의 나노 입자층을 적층함에 있어서 각 층의 나노입자배열체의 정렬 방향이 소정의 각도를 이루도록 회전 적층하는 구조를 적용함으로써 구조적 카이랄성 및 우수한 광학적 특성을 동시에 확보할 수 있다.

[0085] 더 나아가, 상기 나노입자배열체, 보다 구체적으로는 상기 나노입자배열체에 포함된 자성 플라즈몬 나노입자에 결합되어 있는 검출 DNA(cDNA)(24)가 유전성 난청을 발현시키는 표적 DNA(tDNA)(23)와 상보적 결합하여 유도되는 대칭 파괴 및 그에 따른 카이랄 특성의 변화를 통해, 유전성 난청과 관련된 DNA를 검출해낼 수 있는 바이오센서로 이용할 수 있는 것이다.

[0086] **실험 준비**

[0087] 구연산($C_6H_8O_7$), 아세트산나트륨(CH_3COONa, NaAc), 질산철($Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$), 질산은($AgNO_3$), 에틸렌글리콜(EG, $HOCH_2CH_2OH$), 폴리-디알릴디메틸암모늄클로라이드(poly(diallyldimethyl ammonium chloride, PDDA), 폴리-아크릴산(Poly(acrylic acid), PAA), 구연산염 완충액 중 30nm 금 나노입자 안정화 현탁액, N-hydroxysuccinimide (NHS) 및 1-ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)-carbodiimide (EDAC)은 Sigma-Aldrich Co., Ltd로부터 구매하였다.

[0088] Probe DNA, target DNA 1, target DNA 2, DNA 3, DNA 4, DNA 5은 대전의 Genotech Co.,Ltd.에서 합성하여 사용하였다.

[0089] 자성 플라즈몬 나노입자(MagPlas NPs) 용액의 제조에는 탈이온수(DI) (>18 $M\Omega cm^{-1}$)를 사용하였으며, 상보적 결합(conjugation)의 실험에는 pH 7.4 조건의 희석된 0.01M의 Phosphate buffer (PBS) 용액을 사용하였다.

[0090] 한편, 임상 tDNA(clinical tDNA)는 분당서울대학교병원으로부터 공급받아 이용하였으며, SB774-1362, NC62 및 SB195-380 은 GSMDE(gasdermin E) gene으로부터 발현된 것을 이용하였다. DFNA 5로 알려진 GSMDE 유전자는 상염색체 우성 무증상성 난청 질환과 관련된 유전자 중 하나이다. 한편, SB 965-1613 유전자는 SLC26A4 유전자로부터 발현되었다. 상기 SLC26A4 유전자는 상염색체 열성 질환인 증후군성 난청의 가장 흔한 형태인 펜드레드 증후군과 관련된 유전자에 해당한다. SB 965-1613는 해당 Exon에서 염기 하나가 A에서 G로 변형되어 발생되는 돌연변이에 해당한다.

[0091] **분석방법**

[0092] UV-Vis 분광법(Evolution 220, Thermo Scientific, Waltham, MA)을 사용하여 제조된 나노입자의 흡수 스펙트럼을 분석하였다. 한편, 주사 전자 현미경 이미지는 CNU Chemistry Core Facility(대한민국 대전)에서 전계 방출 주사 전자 현미경(FESEM S-4700, Hitachi, Tokyo, Japan)을 사용하여 획득하였다. 또한, 원편광 이색성 분광법(CD, J-1500, Jasco Inc. Japan)을 사용하여 샘플의 카이랄성을 분석했으며, 이 때, CD 스케일은 200mdeg/0.1dOD/0.1dOD, digital integration time(D.I.T)은 32ms, 대역폭은 1.0nm로 설정되었다. 데이터 피치는 0.5nm로 결정되었고, 스캐닝 속도는 100nm/min로 설정하였다.

[0094] **제조예**

[0095] **자성 플라즈몬 나노입자(MagPlas $Ag@Fe_3O_4$ NPs)의 제조**

[0096] 44.0mmol의 질산철($Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$)을 40mL의 에틸렌글리콜($C_2H_4(OH)_2$)과 혼합하였다. 그 다음, 상기 혼합 용액에 35 mmol의 무수 아세트산나트륨(CH_3COONa) 및 0.59mmol의 질산은($AgNO_3$)을 첨가한 후, 모든 반응물이 완전히 용해될 때까지 교반하였다. 이후, 혼합물을 Teflon-lined autoclave에 넣은 후, 210℃ 에서 4시간 동안 유지하였

다. 이후, 25℃로 냉각한 후 검은색 분말(파우더)을 수득하여 탈이온수 및 에탄올로 세척한 다음, 60℃의 진공 오븐에서 24시간 동안 건조하였다.

[0097] 콜로이드 용액의 안정성을 높이기 위해, 상기 파우더 분말을 탈이온수 등의 극성 용매에 분산시키기 위해 입자 표면에 친수성 기능기를 부착하는 표면 전처리 단계를 진행하였다. 구체적으로, 입자 합성 단계에서 형성된 파우더 형태의 나노입자($Ag@Fe_3O_4$) 1mg과 구연산 9mg/mL^{-1} 을 1mL의 탈이온수(DI water)에 넣고, 초음파 탐침(VCX 500, Sonics & Materials Inc., Newtown, CT, USA)을 사용하여 2시간 동안 5초 온/오프 주기로 초음파 처리한 후, 탈이온수로 세척하여 안정화된 구연산염으로 코팅된 나노입자인 $Ag@Fe_3O_4$ 나노입자를 수득하였다. 이는 은(Ag)을 포함하는 코어(core) 및 산화철(Fe_3O_4)을 포함하는 쉘(Shell)을 구비한 구형의 코어-쉘 입자로서, 상기 쉘(Shell)이 실질적으로 상기 코어(Core)의 표면 전체를 둘러싼 구조의 자성 플라즈몬 입자를 제조하였다.

[0098] 상기 은(Ag) 코어(Core)의 직경과 산화철(Fe_3O_4) 쉘(Shell)의 두께는 고해상도 투과 전자 현미경(HR-TEM, JEM-3010, JEOL, Tokyo, Japan) 및 TEM(H-7600, Hitachi, Tokyo, Japan)을 사용하여 측정되었다. 한편, 카이롭티컬(chiroptical) 특성은 원형 이색성 분광광도계(J-1500; Jasco, Tokyo, Japan)를 사용하여 특성화되었다.

[0099] 한편, 도 3a 내지 3c는 각각 상기 방법으로 제조된 자성 플라즈몬 나노입자의 SEM, TEM 및 XRD 값을 나타낸 것으로, 코어-쉘 구조의 나노입자를 확인할 수 있다.

[0100] **검출 DNA 가 결합된 자성 플라즈몬 나노입자(MagPlas NPs)의 제조**

[0101] POU3F4 DNA (5'-NH_2-C_6-GCACCGTAGATGTCAAAGGC-3')를 probe DNA(검출 DNA, cDNA)로 이용하고, 카르보디이미드 반응(carbodiimide reaction)을 이용하여 제조하였다.

[0102] 자성 플라즈몬 나노입자의 계면활성제로 사용된 구연산을 활성화시키기 위해, 100mM의 N-hydroxy succinimide(NHS) 및 100mM의 1-ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl) carbodiimide가 포함된 가교 시약을 함유한 용액 20ul (EDAC)를 500 uL의 상기 자성 플라즈몬 나노입자 용액에 첨가한 후, 30분 동안 유지하였다. 이후, 10pmol의 상기 probe DNA를 용액에 첨가하고, 진탕 배양기에서 5시간 동안 배양하였다. 이후, 탈이온수 및 0.01M PBS 용액으로 세척하여 probe DNA가 결합된 자성 플라즈몬 나노입자를 제조하였다.

[0103] **표적 DNA가 결합된 금 나노입자(Au NPs)의 제조**

[0104] 표적 DNA(target DNA)를 금 나노입자(Au NPs)에 결합시키기 위해, 동결-해동 방법을 이용하였다.

[0105] 40 uL, 30nm의 금 나노입자 용액을 원심분리하고, citrate 완충액을 0.01M PBS 완충액으로 교체하였다. DTT-free target DNA 3'-CGTGGCATCTACAGTTTCCG-$(CH_2)_6$-SH-5' 10 pmol을 세척된 40uL의 금 나노입자 용액에 첨가하고 혼합용액을 -21℃에서 동결시켰다. 2시간 후, tDNA가 포함된 금 나노입자 용액을 실온에서 해동시켰다. tDNA가 결합된 금 나노입자 용액을 2회 원심분리(5000rpm 20분)하고, 미반응 tDNA를 제거하기 위해 40uL의 0.01M PBS 용액으로 세척하였다.

[0106] 한편, 자성 플라즈몬 나노입자에 결합된 probe DNA 및 tDNA의 상보적 결합을 유도하기 위해, 상기 제조된 네마틱 필름을 100uL의 상기 금 나노입자 용액과 37℃에서 5시간 동안 반응시켰다. 반응 후 기판(네마틱 필름)을 탈이온수 및 0.01M PBS 용액으로 세척하고, N_2 가스로 건조하였다.

[0107] 한편, DNA 3, 4 및 5도 상기와 동일한 방법으로 금 나노입자(Au NPs)에 결합된다.

[0108] 한편, 본 발명의 구체적인 실시예에서 이용된 각 DNA의 염기서열은 하기 표 1과 같다.

표 1

[0109]

DNA	DNA sequence	서열번호
검출 DNA	5′ -NH_2-C_6-GCACCGTAGATGTCAAAGGC-3′	1
	5'-NH_2-ACGGTCTATCTATCGCGTCGC-3'	2
표적 DNA 1	3′ -CGT GGC ATC TAC AGT TTC CG-$(CH_2)_6$-SH-5′	3
표적 DNA 2 (1 change)	3′ -CGT G**C**C ATC TAC AGT TTC CG-$(CH_2)_6$-SH-5′	4
표적 DNA 3 (4 change)	3′ -CGT G**CT GA**C TAC AGT TTC CG-$(CH_2)_6$-SH-5′	5
표적 DNA 4 (noncognate)	3'-CCTTGATCCTCTAGCCTTTTTTTTT-$(CH_2)_6$-SH-5'	6

신호 DNA(sDNA)	3'-AAAAAAA-SH-5'	7

[0111] **플라즈모닉 네마틱 필름의 제조**

[0112] 카이랄 네마틱 구조를 생성하고, 광학 현상을 관찰하기 위해, layer by layer 방법을 이용하였다. 구체적으로, 하나의 플라즈모닉 네마틱 필름 구조를 제조하기 위해서는 총 2개의 지지층(유리 기판)을 이용하였다.

[0113] 구체적으로, 2개의 슬라이드 유리 기판(20 x 20 x 0.7㎜, Duran Inc., United States)을 에탄올 및 탈이온수로 세척하고, N_2 가스를 이용하여 건조하였다. 유리 기판을 건조시킨 후, 기판의 표면에 O_2 플라즈마를 처리함으로써, 표면에 음전하를 띈 수산기가 형성되도록 하였다. 한편, 상기 음전하를 띄는 유리 기판을 0.2 중량 %의 폴리디알릴디메틸암모늄클로라이드(PDDA) 수용액에 15분 동안 침지하여, 양(+)으로 대전된 폴리머층을 이격층으로 증착하였다. 이후, 기판을 탈이온수로 세척하고 N_2 가스로 건조시켰다.

[0114] 이후 건조된 기판을 25mT 강도의 두 개의 네오디뮴 자석(50 X 10 X 2㎜^{3}, 0.2T) 사이에 놓고 각 기판의 이격층 상에 300ug/ml의 상기 제조예에서 제조된 나노입자 (MagPlas NP)를 떨어뜨리고, 5.5(±0.5)mT 강도의 자기장을 인가한 후, 대기 조건에서 밤새 건조하여 제1 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체를 포함하는 제1 나노입자층을 제조하였다.

[0115] 상기 제1 나노입자층이 형성된 중간체를 탈이온수로 세척하여 느슨하게 결합된 나노 입자를 제거한 후, 0.2 중량%의 폴리아크릴산(PAA) 수용액에 침지하여 음(-) 전하로 대전된 바탕재를 상기 복수의 나노입자배열체 사이 이격 공간에 채웠다.

[0116] 이어서, 0.2중량%의 폴리디알릴디메틸암모늄클로라이드(PDDA) 수용액에 15분 동안 침지하여 양(+)으로 대전된 폴리머층을 이격층으로 증착하였다. 이후, 상기 제조예의 나노 입자를 상기 이격층 상에 떨어뜨리고, 자기장을 인가하였다. 이 때, 상기 자기장은 상기 복수의 나노입자들이 제1 방향과 시계방향 회전으로 20° 회전된 각도를 이루는 제2 방향으로 정렬되도록 방향을 조절하여 인가되었다. 이후 대기 조건에서 건조하여 제1 방향과 시계방향으로 20° 회전된 각도를 이루는 제2 방향으로 정렬된 복수의 나노입자배열체를 포함하는 제2 나노입자층을 제조하였다. 이로써 총 2 층의 나노입자층을 포함하는 적층체를 제조하였다.

[0117] 한편, 상기 회전 방향과 반대 방향으로 회전을 갖는 카이랄 특성을 구현하기 위해서는, 각 시계 반대 방향으로 20° 회전된 각도를 이루도록 조절함으로써 제조할 수 있다. 이를 통해, 20° 의 스큐각을 갖는 4층 구조를 만들 수 있으며, 자석 사이에 놓이는 기판의 각도를 변경하여 상기 스큐각을 변경할 수 있다.

[0118] 한편, DNA가 결합된 자성플라즈몬 나노입자(DNA-conjugated MagPlas NPs) 300ug/ml를 자석 사이에 놓인 기판에 떨어뜨려 입자를 완전히 정렬하였다.

[0119] 마지막으로, 제조된 두 개의 적층체(기판)를 0.01M PBS 용액으로 세척한 후, N_2가스를 이용하여 건조한 후, CD 스펙트럼을 측정하기 위해, 두 개의 다층기판을 마주보게 겹친 후, 0.01M PBS 용액을 이용하여 두 기판을 흡착시킴으로써 본 발명의 네마틱 필름을 제조하였다.

[0120] 구체적으로, 도 3d는 서로 다른 2개의 지지층(substrate, α, β)인 유리 기판 상에 적어도 2층 이상의 나노 입자층을 증착시키는 것을 모식화한 것으로, α 지지층 및 β 지지층 각각은 서로 반대 방향으로 Θ 각도를 형성하여 회전하며 각 나노 입자층이 증착되는 것을 확인할 수 있다.

[0122] **실험 결과**

[0123] **검출 DNA(cDNA) 및 표적 DNA(tDNA) 간 상보적 결합에 따른 카이랄 특성 변화 확인**

[0124] 본 발명의 플라즈모닉 네마틱 필름에 포함된 검출 DNA(cDNA) 및 유전성 난청을 발현시키는 표적 DNA(tDNA) 간의 상보적 결합은 플라즈모닉 네마틱 필름이 나타내는 자체적인 카이랄 특성에 추가적인 비대칭 상호작용(additional asymmetric interaction)을 야기하고, 결과적으로 전체 chiroptical 특성에 영향을 미치게 되며, 이러한 카이랄성의 변화를 통해해 유전성 난청을 검출할 수 있는 것이다.

[0125] 구체적으로, 도 3e의 오른쪽 도면은 플라즈모닉 네마틱 필름과 원형 편광(CPL)의 광학 비대칭(I_{asy}) 및 추가 비대칭(I'_{asy}) 상호작용을 나타내는 것으로, 회색 배열은 플라즈모닉 네마틱 필름의 일부를 나타내고, 노란색 입자는 금속 나노 입자와 결합된 target DNA를 나타낸다.

[0126] 구체적으로, CD 분광 분석에서, 원편광 이색성 변화(ΔCD)에 대한 전체 비대칭 상호작용($I_{total\ asy}$)은 I_{asy} 및 I'_{asy}의 합과 같다.

[0127] 또한, 플라즈모닉 네마틱 필름에서 AuNP의 흡착 또는 결합은 표적 DNA(target DNA) 및 검출 DNA(cDNA)간의 상보적 결합에 의해 유도되는 것으로, 구체적으로, DNA 이중 나선 구조의 일측성 카이랄 신호는 상기 네마틱 필름의 자성 플라즈몬 나노입자와 상기 금 나노입자(Au NP) 사이의 핫스팟에서 강화될 수 있는 것이다.

[0128] 보다 구체적으로는 상기 결합에 따라, 플라즈모닉 네마틱 필름의 카이랄 특성에 추가적인 광학 활성이 나타나게 되고, 이를 통해 전체 카이랄 특성을 변화시키는 것이다.

[0129] 한편, 상기 전체 비대칭 상호작용($I_{total\ asy}$)은 하기 식 1을 만족할 수 있다:

[0130] [식 1]

$$I_{total} = I_{asy} + I'_{asy}$$

[0131]

[0132] 여기서,

[0133] I_{total}은 플라즈모닉 네마틱 필름의 전체 비대칭 상호작용 효과를 의미하며,

[0134] I_{asy}는 플라즈모닉 네마틱 필름의 비대칭 효과를 의미하고, I'_{asy}는 상기 cDNA 및 tDNA의 상보적 결합에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름의 추가적인 비대칭 효과를 의미한다.

[0135] 한편, 상기 I_{asy}는 플라즈모닉 네마틱 필름에 포함된 나노 입자층의 수(X_1)에 비례하며, 상기 I'_{asy}는 $X_2(X_3+X_4)$에 비례하는 것으로, 상기 X_2, X_3 및 X_4는 각각 tDNA, 금 나노입자(AuNP) 및 DNA 돌연변이의 존재와 관련된 변수를 의미한다.

[0136] **검출 DNA(cDNA) 및 유전성 난청 표적 DNA(tDNA) 간의 상보적 결합에 따른 특성 확인**

[0137] 도 4a는 표적 DNA(tDNA)와 금속(Au) 나노 입자 간의 결합 및 검출 DNA(cDNA)와 자성 플라즈몬 나노입자 간의 결합을 각각 모식화한 것이다.

[0138] 구체적으로, 도 4a를 참조하면, 자성 플라즈몬 나노입자 및 검출 DNA 사이의 결합 (MagPlas NP-cDNA, i)은 N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC)/N-hydroxysulfosuccinimide(NHS)를 통해 결합되었다. 한편, 금속 나노입자와 표적 DNA와의 결합(Au NPs-tDNA, ii) 은 sulfur binding을 통해 결합되었다.

[0139] 한편, 도 4b는 표적 DNA(tDNA)가 결합된 금속(Au) 나노 입자 10^{-4} 내지 10 pmol의 흡수 스펙트럼을 나타낸 것으로, 상기 도 4b를 참조하면, reference로 이용된 Au:tDNA=1:3 의 비율에서 3.32×10^{-10} M Au-tDNA 의 흡광도는 농도에 따라 선형성을 나타냄을 확인하였다.

[0140] 한편, 도 4c는 결합 과정에서의 소멸 스펙트럼을 나타내는 것으로, 이를 참조하면, 403nm, 531 nm 및 650 nm의 영역에서 특징적인 피크를 확인할 수 있다. 구체적으로, 403nm의 피크는 Fe_3O_4의 Mie 산란에 의한 것이며, 605nm의 피크는 Ag 코어의 국부적인 표면 플라즈몬 공명과 관련된 것을 의미한다. 한편, 531 nm에서의 강한 흡수 피크는 국소화된 표면 플라즈몬 공명에서 비롯된 것임을 유추할 수 있다.

[0141] 구체적으로, 각 나노입자 및 tDNA 또는 cDNA와의 결합 및 tDNA와 cDNA의 상보적 결합에 따른 효과로, 상기 각 특징적인 흡수 피크는 약간 이동한 것을 확인할 수 있다. 즉, 이러한 소멸 스펙트럼(extinction spectra) 값의

변화는 각 cDNA 및 tDNA 각각의 광학 특성 및 cDNA와 tDNA 간 상보적인 DNA 결합에서 Ag 및 AuNP의 플라즈몬 밴드와의 상호작용의 결과인 것이다.

[0142] 한편, 본 발명의 플라즈모닉 네마틱 필름의 유전성 난청에 대한 카이랄 광학 검출(chiroptical sensing) 효과를 확인하였습니다.

[0143] 구체적으로, 도 4d 및 4e는 본 발명의 상기 나노 입자층의 주사전자현미경(scanning Electron Microscope, SEM) 사진 및 광학현미경(Optical Microscope, OM) 사진으로, 각각 단일층 및 이중층을 형성했을 때를 확인한 것이다.

[0144] 구체적으로, 첫 번째 나노 입자층은 나노입자배열체의 각도(Θ)가 0° 내지 90° 범위인 것을 의미하며, 상기 첫 번째 나노 입자층의 상면에 형성되는 두 번째 나노 입자층의 나노입자배열체의 각도는 반대 각도(-Θ), 즉, 0° 내지 -90° 범위일 수 있다.

[0145] 한편, 도 4f는 각각 단일 나노 입자층의 non-polarized, transversal 및 longitudinal mode에서의 정규화된 UV-vis 흡광 스펙트럼에 관한 것으로, 두 개의 특징적인 피크인 λ_S 및 λ_D를 확인할 수 있다. longitudinal mode의 λ_D 피크는 비편광 모드로부터 눈에 띄는 적색편이를 나타내었으며, 구체적으로 636 nm 에서 650nm로 편이되었다.

[0146] 또한, 상기 제조된 두개의 지지층을 0° 내지 90° 범위의 각도(Θ)를 나타내도록 서로 마주보게 부착하였다. 이때, 상기 지지층은 최소 1층 이상의 나노 입자층을 포함하는 것이다. 구체적으로, 도 4g는 각각 단일층의 나노 입자층을 포함하는 필름(1 layer), 상기 단일층의 나노 입자층을 포함하는 필름이 서로 마주보도록 부착되어 이중층의 나노 입자층을 포함하는 필름(2 layer) 및 이중층의 나노 입자층을 포함하는 플라즈모닉 필름이 서로 마주보도록 부착된 플라즈모닉 네마틱 필름(2+2 layer) 의 소멸(소광) 스펙트럼을 나타낸 것이다.

[0147] 상기 도 4g에 따르면, 나노 입자층의 레이어 수가 증가함에 따라 두 피크의 강도는 비례하여 증가함을 확인할 수 있다.

[0148] 한편, 도 4h는 본 발명의 플라즈모닉 네마틱 필름에 포함되는 나노 입자층의 수에 따른 CD spectra를 확인한 것이며, 도 4i는 플라즈모닉 네마틱 필름에 포함되는 2 이상의 나노 입자층에 포함되는 각 나노입자배열체 방향 사이의 각도(Θ)에 따른 CD spectra 값을 확인한 것이다.

[0149] 상기 도 4h 및 4i에 따르면, 본 발명 플라즈모닉 네마틱 필름에 포함되는 나노 입자층의 수가 증가할수록 카이랄 강도가 증가함을 확인할 수 있다. 또한, 상기 플라즈모닉 네마틱 필름은 0° 내지 30° 의 범위에서 오른손 방향(RH)의 카이랄성을 나타내며, -30° 내지 0° 각도의 범위에서 왼손 방향(LH)의 카이랄성을 나타내는 것을 확인하였다. 보다 구체적으로, 20° 의 각도에서 가장 높은 CD 스펙트럼의 강도를 나타냄을 확인하였다. 즉, 20° 의 각도를 이루도록 본 발명의 필름을 제조할 경우, 가장 우수한 카이랄성을 나타낼 수 있으며, 이를 통해 유전성 난청 DNA 검출 효과 또한 민감하게 관찰할 수 있는 것이다.

[0150] **플라즈모닉 네마틱 필름의 대칭깨짐 효과(symmetry breaking)에 의한 DNA 돌연변이 검출 특성 확인**

[0151] 도 5a는 자성 플라즈몬 나노입자와 결합된 cDNA(i)및 금속 나노 입자에 결합된 tDNA(ii)를 모식화 한 것이며, 도 5b 및 c는 각각 상기 cDNA 및 tDNA의 상보적 결합의 전/후의 SEM 사진 이미지를 나타낸 것이다.

[0152] 한편, 도 5d는 일 실시예의 플라즈모닉 네마틱 필름 및 상기 필름에 10 pmol의 AuNPs-tDNA(ii)이 결합된 경우의 흡수 스펙트럼을 나타낸 것이다. 한편, 도 5e는 상기 플라즈모닉 네마틱 필름 및 상기 필름에 단순 금속 나노입자(AuNPs)가 결합된 경우의 흡수 스펙트럼을 나타낸 것이다.

[0153] 한편, 도 5의 오른쪽 그림은 본 발명 cDNA 및 tDNA 사이의 상보적 결합관계를 나타낸 것으로, cDNA와 tDNA 1은 완전하게 상보적으로 결합됨을 확인할 수 있으며, cDNA 와 tDNA 2는 5%의 단일염기쌍 불일치를 나타내었다. 한편, cDNA 와 tDNA 3은 4개의 염기쌍 불일치(20%)를 나타내었으며, cDNA 와 tDNA 4는 12개의 염기쌍 불일치(60%)를 나타냄을 확인하였다.

[0154] 상기 도 5a를 참조할 때, 상기 (i) 및 (ii) 사이의 상보적인 DNA 결합은 본 발명 플라즈모닉 네마틱 필름의 추가 대칭 깨짐(I'_{asy})을 야기하고, 이를 통한 카이랄 특성의 변화를 확인함으로써, 본 발명이 목적하는 유전성 난청 DNA를 검출할 수 있는 것이다.

[0155] 한편, 상기 금속 나노 입자에 결합된 tDNA(ii) 용액을 37℃에서 5시간 동안 자성 플라즈몬 나노입자와 결합된

cDNA(i)와 혼성화시키기 위해, 상기 제조예의 두 지지층(substrate α 및 β)에 로딩하였다. 그 결과, 도 5b 및 c를 참고할 때 금속 나노 입자에 결합된 tDNA(ii)는 플라즈몬 나노입자와 결합된 cDNA(i)와 혼성화된 것을 확인할 수 있으며, 혼성화된 복합체의 흡광도 스펙트럼은 (ii)의 농도에 따라 선형적으로 증가하는 것을 확인하였다.

[0156] 구체적으로, 도 5d 및 e를 참고할 때, 상기 tDNA와 결합된 플라즈모닉 네마틱 필름은 세척 단계 이후에도 여전히 높은 흡수 스펙트럼을 나타내는 것을 확인할 수 있는 반면, tDNA가 없는 금속 나노 입자(Au NP)와 혼성화된 네마틱 필름의 경우, 혼성화에 따라 흡광도가 약간 증가한 효과를 나타내었으나, 세척 후 상기 효과는 재차 소멸한 것을 확인하였다.

[0157] 즉, 이를 통해, 본 발명 네마틱 필름에 포함된 검출 DNA(cDNA)와 표적 DNA(t DNA) 사이에 상보적인 결합이 형성되고, 이에 따른 플라즈모닉 네마틱 필름의 추가 대칭 깨짐(I'_{asy}) 및 카이랄 특성의 변화를 나타낸다는 것을 확인할 수 있다.

[0158] 도 5f는 상기 검출 DNA(c DNA) 및 표적 DNA(t DNA) 가 상보적으로 결합된 이중 나선 DNA의 CD 스펙트럼을 나타낸 것으로, tDNA는 상기 표 1의 4종류의 tDNA1 내지 4를 이용한 것이다.

[0159] 한편, 도 5g는 10pmol의 금속 나노 입자에 결합된 tDNA (Au NPs-tDNA)와 결합된 본 발명 플라즈모닉 네마틱 필름의 CD 스펙스럼을 나타낸 것으로, 여기서 600nm 부근의 전형적인 노치(notch)는 λ_{dip}으로 표시하였다. 반면, 도 5h는 금속 나노 입자와 결합되지 않은 단독 tDNA와 결합된 본 발명의 상기 네마틱 필름의 CD 스펙트럼을 나타낸 것이다.

[0160] 도 5i는 상기 λ_{dip}의 파장 편이를 상대적으로 비교한 막대 그래프에 해당한다.

[0161] 상기 도 5f를 참조하면, 각 DNA(cDNA 및 tDNA 1 내지 4)가 결합된 이중 나선 구조의 카이랄 광학 특성을 확인하기 위한 원형편광이색성(circular dichroism, CD) 측정 결과, 상기 각 돌연변이된 tDNA 1 내지 4는 CD 스펙트럼을 통해 명확하게 구별할 수 없음을 확인하였다.

[0162] 이에, DNA 돌연변이에 의해 변화된 전체 카이랄 광학 신호는 본 발명인 플라즈모닉 네마틱 필름과 결합될 경우 보다 향상될 것으로 예측할 수 있다.

[0163] 구체적으로, 도 5g를 참조할 때, 금속 나노 입자에 결합된 tDNA (Au NPs-tDNA)에 의한 추가적 비대칭 광-물질 상호작용(I_{asy}')을 통해 플라즈모닉 네마틱 필름의 카이랄 광학 특성이 조절된 것을 확인할 수 있으며, 보다 구체적으로는, 600nm(λ_{dip}) 및 700nm(λ_{peak}) 파장에서 청색 이동에 의해 독특한 CD 스펙트럼의 변화를 확인할 수 있다.

[0164] 이는 플라즈모닉 네마틱 필름의 재형성 및 cDNA-AuNP의 선택적 결합으로부터 야기되는 추가적인 비대칭 광-물질 상호작용과 관련된 것이라 할 것이다.

[0165] 반면, 도 5h를 참조할 때, 금속 나노입자(AuNP)가 없는 경우의 cDNA 및 tDNA의 상보적인 결합은 파장 이동을 나타내지 않은 것을 확인할 수 있다.

[0166] 즉, 상기 결과를 통해, 이중 나선 DNA의 신호는 자성플라즈몬 나노 입자(MagPlas NP) 및 금속 나노입자(AuNP)사이의 핫스팟에 존재할 때 증폭될 수 있음을 의미한다 할 것이다.

[0167] 한편, 도 5i를 참조하면, 플라즈모닉 네마틱 필름과 tDNA1의 결합의 경우, LH 및 RH 구조 모두에서 13 nm의 λ_{dip} 이동을 나타낸 것을 확인할 수 있다. tDNA 2 내지 4와 비교할 때, $\Delta\lambda_{dip}$은 sequence matching ratio에 따라 5 내지 8 nm인 것으로 확인되었으며, 대부분 tDNA 1의 λ_{dip} 이동값보다 작았다.

[0168] 보다 구체적으로, 염기서열 일치율이 각각 80% 및 45%인 tDNA 3 및 tDNA 4와 비교할 때, 염기서열 일치율이 95%인 tDNA 2의 경우, 보다 더 파장 변화가 큰 것을 확인할 수 있으며, 염기서열 일치율이 가장 낮은 tDNA4가 가장 낮은 파장 변화를 나타내어, tDNA가 존재하지 않는 AuNP의 경우와 매우 유사한 값을 나타내는 것을 확인할 수 있다.

[0169] 이를 종합할 때, 플라즈모닉 네마틱 필름 시스템의 자성 플라즈몬 나노 입자(MagPlas NPs) 및 금속 나노 입자(AuNPs) 사이의 핫스팟에서, cDNA와 tDNA 간의 추가 비대칭 상호작용(I'asy)은 상기 cDNA와 4종류의 서로 다른 tDNA 간의 DNA sequence matching ratio에 따라 서로 다르다는 것을 확인할 수 있는 것으로, 이를 통해, 본 실

시예의 플라즈모닉 네마틱 필름은 서로 다른 각 tDNA를 감도 높게 구별할 수 있다는 것을 의미한다고 할 것이다.

[0170] **플라즈모닉 네마틱 필름의 자기원편광이색성(Magnetic circular dichroism, MCD)의 스펙트럼 분석**

[0171] 추가적인 비대칭 광-물질 상호작용(I_{asy}+I'_{asy})을 이용한 본 발명 DNA 센싱 효과는 자기원편광이색성(MCD)의 분석을 통해서도 확인되었다.

[0172] 구체적으로, 도 6a는 플라즈모닉 네마틱 필름에서, 원편광(circularly polarized light, CPL)과 MCD의 외부 자기장 사이의 비대칭 광-물질 상호 작용에 의한 광학 활성의 기원을 나타낸 것이다.

[0173] 한편, 도 6b는 자기장이 없는 조건에서 광학 유리 기판에 300 μg ml^{-1} μg/ml의 자성 플라즈몬 나노 입자(MagPlas NPs)를 증착한 필름 (non-PNF)에 대해 자기 광학 활성을 비교한 결과로, 도면 상 (ii)는 non-PNF 구조로, 검출 DNA(cDNA)가 결합된 자성 플라즈몬 나노 입자가 배열되어 있는 것을 의미하며, (iv)는 상기 필름에 포함된 검출 DNA(cDNA)가 AuNPs-tDNA와 상보적으로 결합된 상태를 나타낸다.

[0174] 상기 도 6b를 참조하면, 외부 자기장(B)의 방향에 관계없이 300 내지 800nm의 범위에서, 대부분 대칭 스펙트럼을 나타내는 것을 확인할 수 있다. 또한, AuNPs-tDNA와 상보적 결합된 non-PNF 또한 동일한 파장 범위에서 대칭 스펙트럼을 나타낸 것을 확인할 수 있다.

[0175] 이는, 자성 플라즈몬 나노 입자가 일정 방향성 없이 불규칙하게 증착됨에 따라, 대칭 구조도 비대칭 구조도 아닌 non-PNF가 자기 광학 활성을 유도할 수 없기 때문인 것으로, 이는 대칭 파괴 또는 추가적인 비대칭 광-물질 상호작용과 관련된 것이다.

[0176] 즉, 본 발명의 실시예에 따라 자기장 조건에서 제조된 PNF는 비대칭 구조를 나타낼 수 있으며, 대칭 파괴 또는 추가적인 비대칭 광-물질 상호작용을 통해 목적하는 DNA 검출 효과를 나타낼 수 있음을 유추할 수 있다.

[0177] 구체적으로, 도 6c 및 6d는 각각 LH 및 RH 구조의 본 발명 일 실시예의 플라즈모닉 네마틱 필름의 외부 자기장 방향에 따른 MCD 스펙트럼에 대한 측정 결과로, 300 μg ml^{-1}의 자성 플라즈몬 나노입자(MagPlas NPs)로 구성된 플라즈모닉 네마틱 필름(PNF)의 경우 자기장 위치에 따른 비대칭 전자 전이 효과로 인해, 600 내지 800 nm 범위에서 비대칭 상호작용(I_{asy})을 나타냄을 확인하였다.

[0178] 또한, 카이랄 구조와 관계없이 대칭성을 나타내는 461nm의 날카로운 피크는 대칭 패러데이 효과에 의한 것임을 알 수 있다.

[0179] 도 6e 및 6f는 본 발명 일 실시예의 플라즈모닉 네마틱 필름(PNF)이 10 pmol의 AuNPs-tDNA 복합체와 상보적 결합되기 전/후의 MCD 스펙트럼을 나타낸 것이며, 도 6g 및 6h는 상기 PNF가 태아 임상 DNA(fetal clinical DNA)와 상보적 결합되기 전/후의 MCD 스펙트럼을 나타낸 것이다.

[0180] 상기 도 6e 및 6f에 따르면, 본 발명의 상기 PNF에 포함된 cDNA가 AuNPs-tDNA (iv)와 상보적 결합할 경우, 727nm에서 비대칭적인 날카로운 피크가 나타남을 확인할 수 있으며, 상기 피크의 강도는 상보적 결합 전과 비교하여 약 3배 증가한 것을 확인하였다.

[0181] 마찬가지로, 상기 도 6g 및 6h에 의하면, 태아 임상 DNA(fetal clinical DNA)를 포함하는 PNF 또한 추가적인 비대칭 상호작용이 관찰되는 것을 확인할 수 있다.

[0182] 특히, tDNA와 결합 후, LH 및 RH 구조의 PNF 모두, 결합 전과 비교하여 720 nm에서 더 강한 비대칭 상호작용 피크가 나타나는 것을 확인하였다.

[0183] **플라즈모닉 네마틱 필름의 임상적 DNA 검출 효과 확인**

[0184] 분당 서울대학교병원으로부터 얻는 4개의 서로 다른 임상 DNA 샘플(SB774, NC62, SB195 및 SB965)(도 8)을 이용하여, 본 발명의 플라즈모닉 네마틱 필름(PNF)의 추가 비대칭(I'_{asy}) 효과에 의한 특정 DNA 검출 효과를 확인하였다(도 7).

[0185] 도 8을 참조할 때, SB774는 exon에서 4개의 ATAG의 특정 서열이 중복되어 발생한 돌연변이에 해당하고, NC62는 난청과 관련이 없는 정상 대조군 tDNA에 해당한다. 한편, SB195는 intron에 3개의 염기쌍이 결실된 돌연변이에 해당하며, SB965는 상기 3개의 tDNA와는 다른 종류의 유전자로, cDNA와 상보적인 불일치(mismatching) 결합을

유도하는 DNA이다.

[0186] 한편, SB774 및 신호 DNA(signal DNA, 3'-AAAAAAA-SH-5')와 상보적으로 결합할 수 있는 검출 DNA (cDNA, 5'-NH_2-ACGGTCTATCTATCGCGTCGC-3')는 대전의 Genotech Co. Ltd. 에서 합성하여 이용하였다. 구체적으로, 상기 각각의 tDNA는 금속 나노 입자(AuNPs)에 접합된 신호 DNA(sDNA)와 상보적으로 결합할 수 있으며, 이를 통해, 서로 다른 임상 샘플에 대한 센싱 효과를 나타낼 수 있는 것이다.

[0187] 구체적으로, tDNA의 반복 사이트를 검출해내기 위해, cDNA를 자성 플라즈몬 나노입자에 접합하였으며, tDNA와의 직접 결합을 위한 신호 프로브의 역할을 하도록 하기 위한 신호 DNA(sDNA)는 금속 나노입자(AuNP)에 접합하였다.

[0188] 상기 도 7a 및 도 8에 따르면, cDNA를 포함하는 플라즈모닉 네마틱 필름에 포함된 cDNA, tDNA 및 금속 나노 입자에 결합된 sDNA 간의 상보적 결합(sandwich binding)을 통해, 추가 비대칭 상호작용(I'_{asy})을 유도할 수 있으며, 이를 통해 CD 스펙트럼에서 원형이색성 변화(ΔCD)에 대한 전체 비대칭 상호작용이 I_{asy} + I'_{asy}에서 비롯되었음을 확인할 수 있다.

[0189] 구체적으로, 도 7b에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 PNF 시스템에 의할 경우, tDNA와 결합 시 CD 스펙트럼의 파장 변이(λ_{dip})가 유발됨을 확인하였으며, 이를 통해 난청 환자에서 발견되는 DNA인 SB774 tDNA를 매우 낮은 농도(1,534 nm/μl)에서도 명확하게 검출할 수 있음을 확인하였다. 특히, 623nm에서 607nm로의 현저한 파장 이동을 확인할 수 있으며, 이는 SB774와의 상보적 결합에서 플라즈모닉 네마틱 필름(PNF) 및 Au 입자 사이의 대칭 파괴 효과와 관련되어 있음을 의미하는 것이다.

[0190] 한편, 도 7c는 4종류 임상 DNA 샘플(1,534 pg/μl)을 사용한 선택성 실험결과로, PNF의 cDNA와 완벽하게 상보적인 결합을 나타내는 SB774 tDNA는 약 17nm의 파장 이동을 나타낸 반면, 루프 또는 미스매칭을 나타내는 다른 3종류의 tDNA는 2 내지 5 nm의 파장 이동을 나타냄을 확인하였다.

[0191] 이는 제조예에서의 세척 단계 후, 상기 루프 구조가 cDNA 및 tDNA 간의 불완전한 결합에 영향을 미친 것으로 추론할 수 있다.

[0192] 한편, 시토신이 결실된 GJB2 c.235delC 변이체(GJB2)는 상염색체 열성 비증후군성 난청 및 청각 신경병증 스펙트럼 장애와 관련이 있으며, SLC26A4 유전자의 아데닌이 구아닌으로 치환된 H723R c.2168A>G 돌연변이(SLC)는 전형적인 유아기 감각신경성 난청 및 펜드레드 증후군과 관련된다. 이에, 도 7f에 따르면, 돌연변이 되지 않은 DNA보다 점 돌연변이가 발생한 DNA 샘플(SLC, GJB2)에서 더 높은 수준의 파장 이동을 나타내는 것을 확인하였다.

[0194] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.

부호의 설명

[0195] 10: 플라즈모닉 네마틱 필름

20: 나노 입자층

11: 제1층

12: 제2층

21: 나노입자배열체

22: 이격층

23: 표적 DNA(tDNA)

24: 검출 DNA(cDNA)

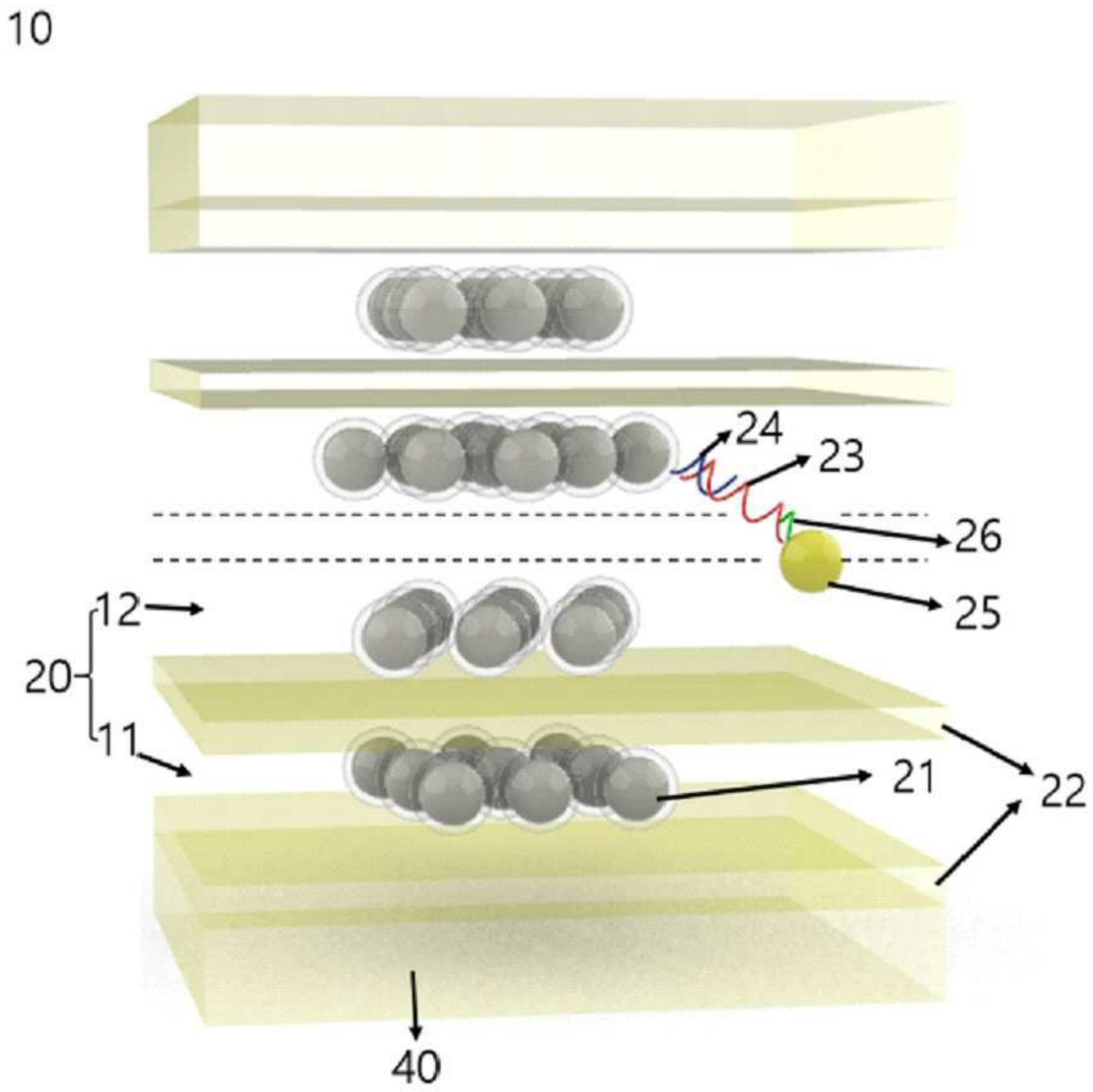
25: 금속 나노 입자

26: 신호 DNA(sDNA)

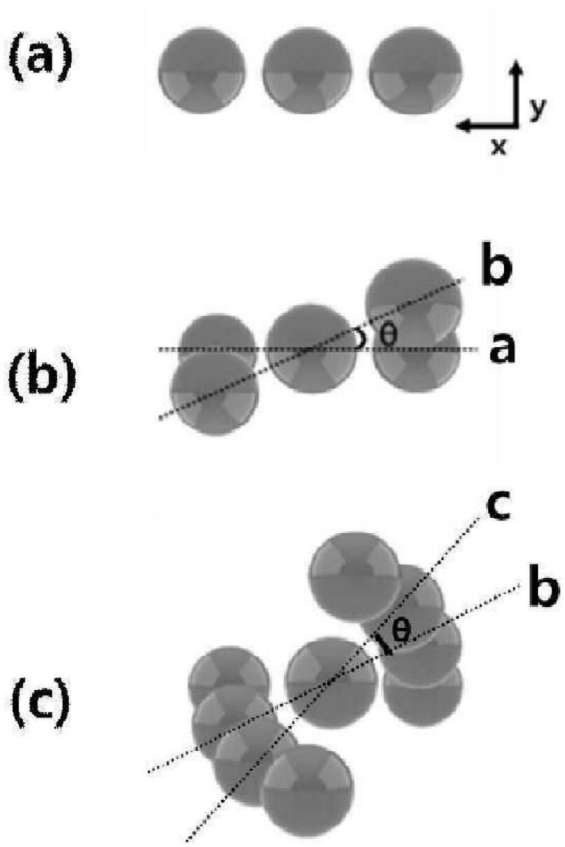
40: 지지층

도면

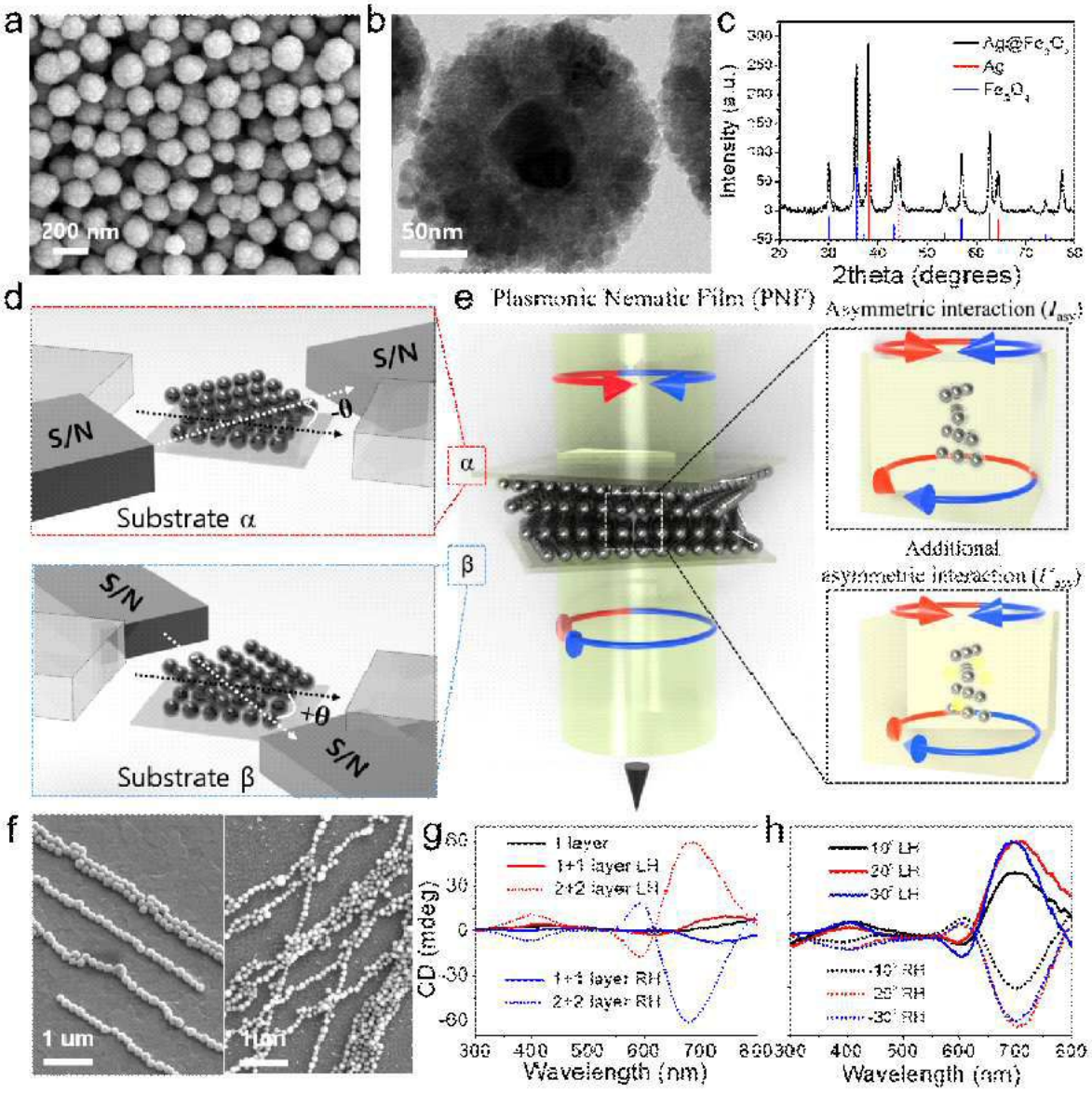
도면1



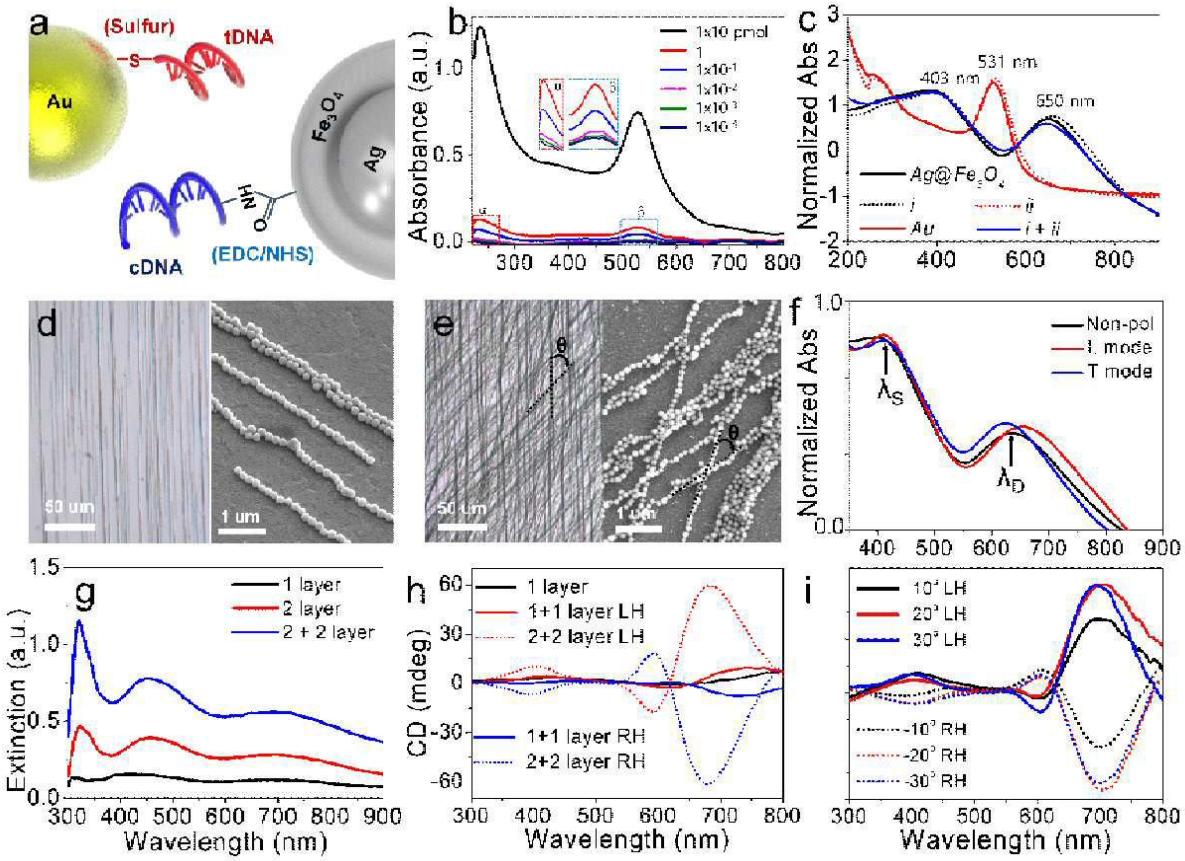
도면2



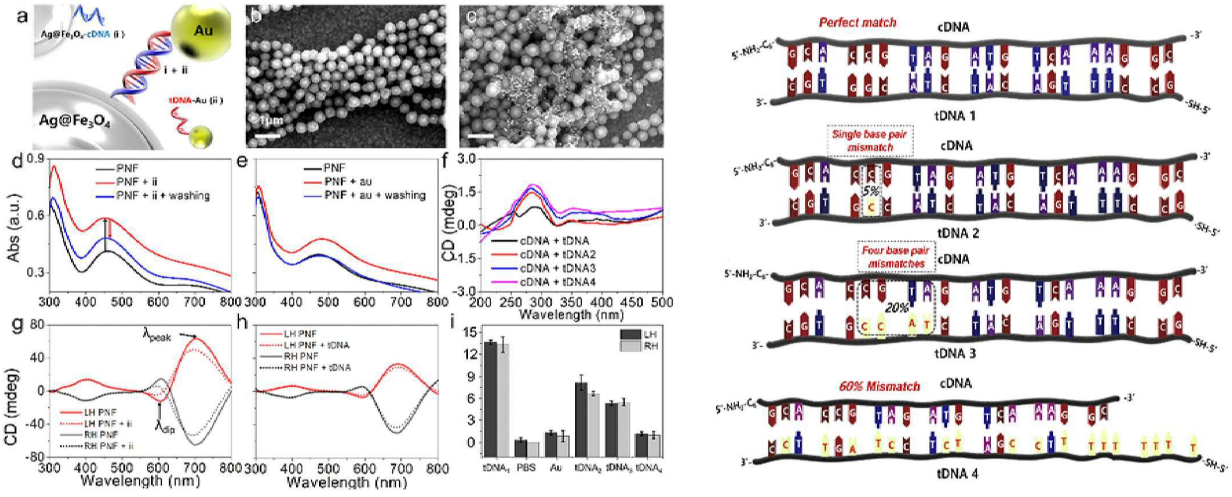
도면3


a
200 nm
b
50nm
c
Ag@Fe3O4
Ag
Fe3O4
Intensity (a.u.)
2theta (degrees)
d
S/N
S/N
-θ
Substrate α
α
β
S/N
+θ
S/N
Substrate β
e
Plasmonic Nematic Film (PNF)
Asymmetric interaction (Iasy)
Additional
asymmetric interaction (I'asy)
f
1 um
1 um
g
1 layer
1+1 layer LH
2+2 layer LH
1+1 layer RH
2+2 layer RH
CD (mdeg)
Wavelength (nm)
h
10° LH
20° LH
30° LH
-10° RH
-20° RH
-30° RH
Wavelength (nm)

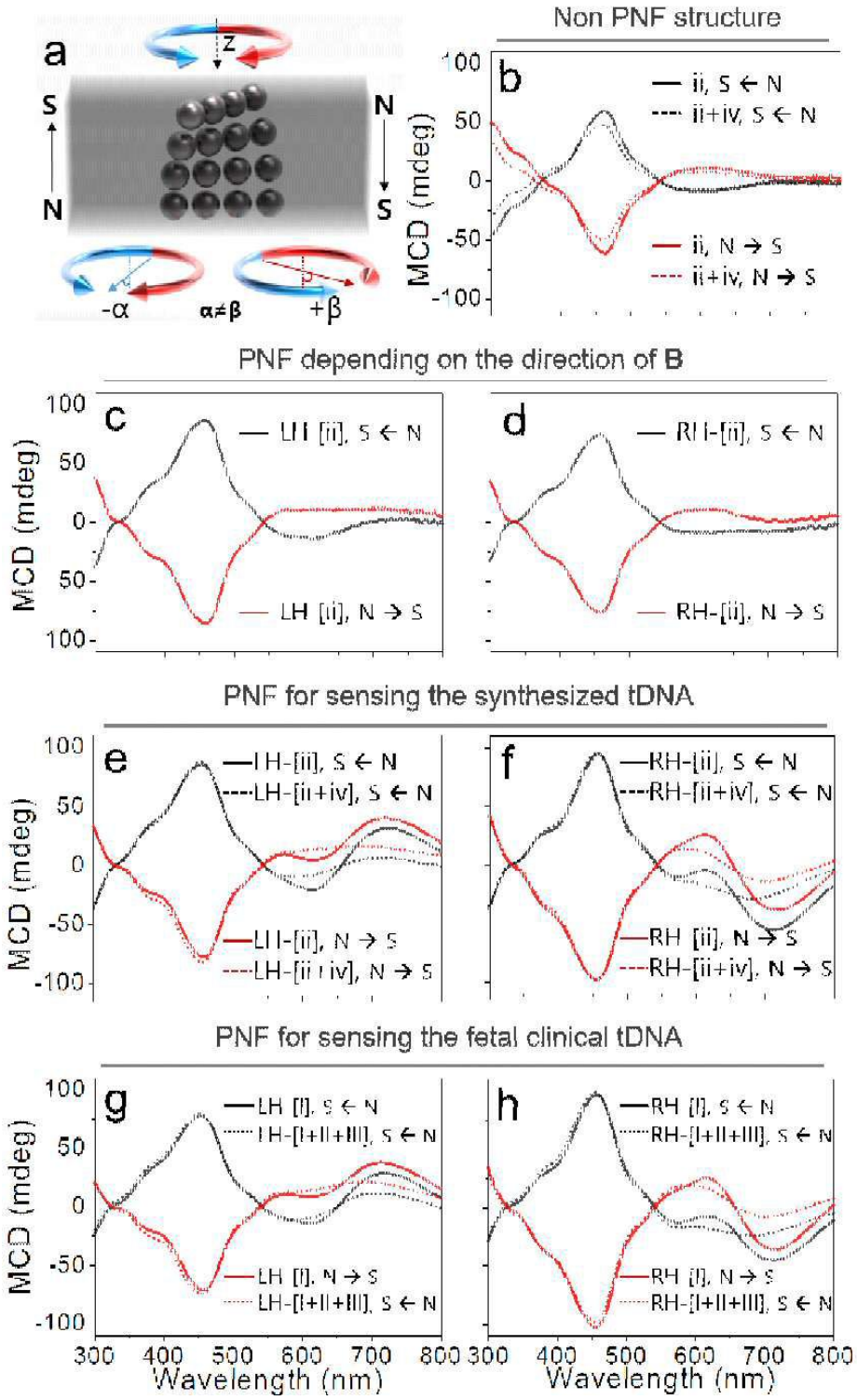
도면4


a
(Sulfur)
tDNA
Au
Fe3O4
Ag
cDNA
(EDC/NHS)
b
Absorbance (a.u.)
1x10 pmol
1
1x10-1
1x10-2
1x10-3
1x10-4
c
Normalized Abs
403 nm
531 nm
650 nm
Ag@Fe3O4
i
ii
Au
i + ii
d
50 um
1 um
e
θ
50 um
1 um
f
Normalized Abs
Non-pol
⊥ mode
T mode
λS
λD
g
Extinction (a.u.)
1 layer
2 layer
2 + 2 layer
Wavelength (nm)
h
CD (mdeg)
1 layer
1+1 layer LH
2+2 layer LH
1+1 layer RH
2+2 layer RH
Wavelength (nm)
i
10° LH
20° LH
30° LH
-10° RH
-20° RH
-30° RH
Wavelength (nm)

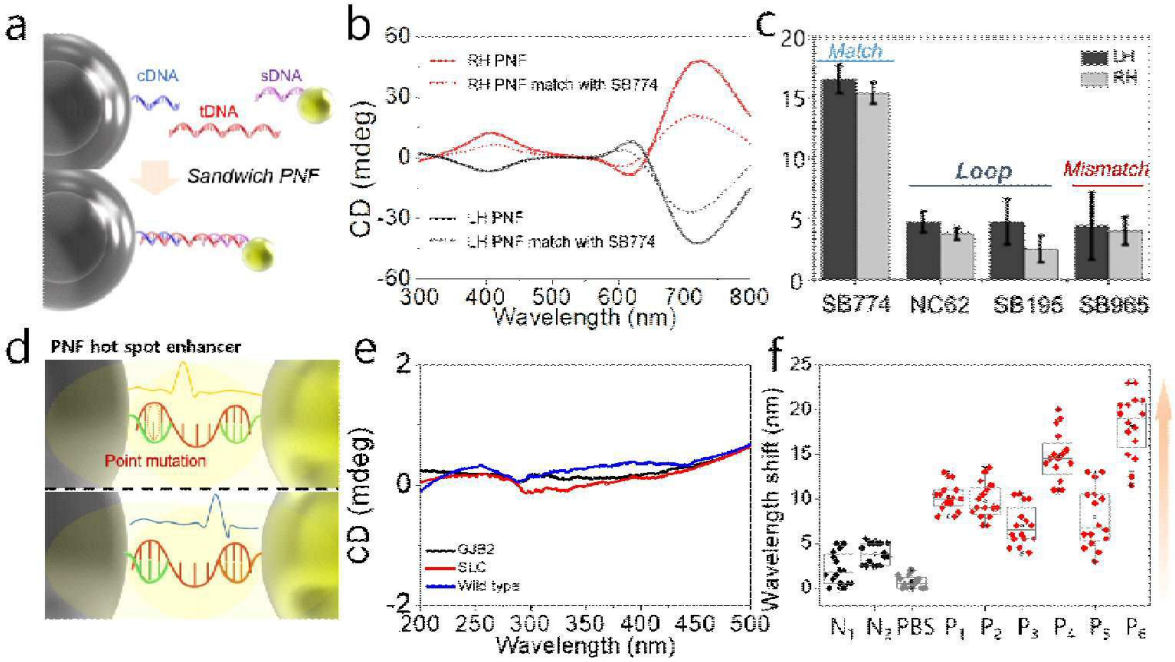
도면5


a
Ag@Fe3O4-cDNA (i)
Au
i + ii
tDNA-Au (ii)
Ag@Fe3O4
b
1μm
c
d
Abs (a.u.)
PNF
PNF + ii
PNF + ii + washing
e
PNF
PNF + au
PNF + au + washing
f
CD (mdeg)
cDNA + tDNA
cDNA + tDNA2
cDNA + tDNA3
cDNA + tDNA4
Wavelength (nm)
g
CD (mdeg)
λpeak
λdip
LH PNF
LH PNF + ii
RH PNF
RH PNF + ii
Wavelength (nm)
h
LH PNF
LH PNF + tDNA
RH PNF
RH PNF + tDNA
Wavelength (nm)
i
LH
RH
tDNA1
PBS
Au
tDNA2
tDNA3
tDNA4
Perfect match
cDNA
tDNA 1
Single base pair mismatch
5%
tDNA 2
Four base pair mismatches
20%
tDNA 3
60% Mismatch
tDNA 4

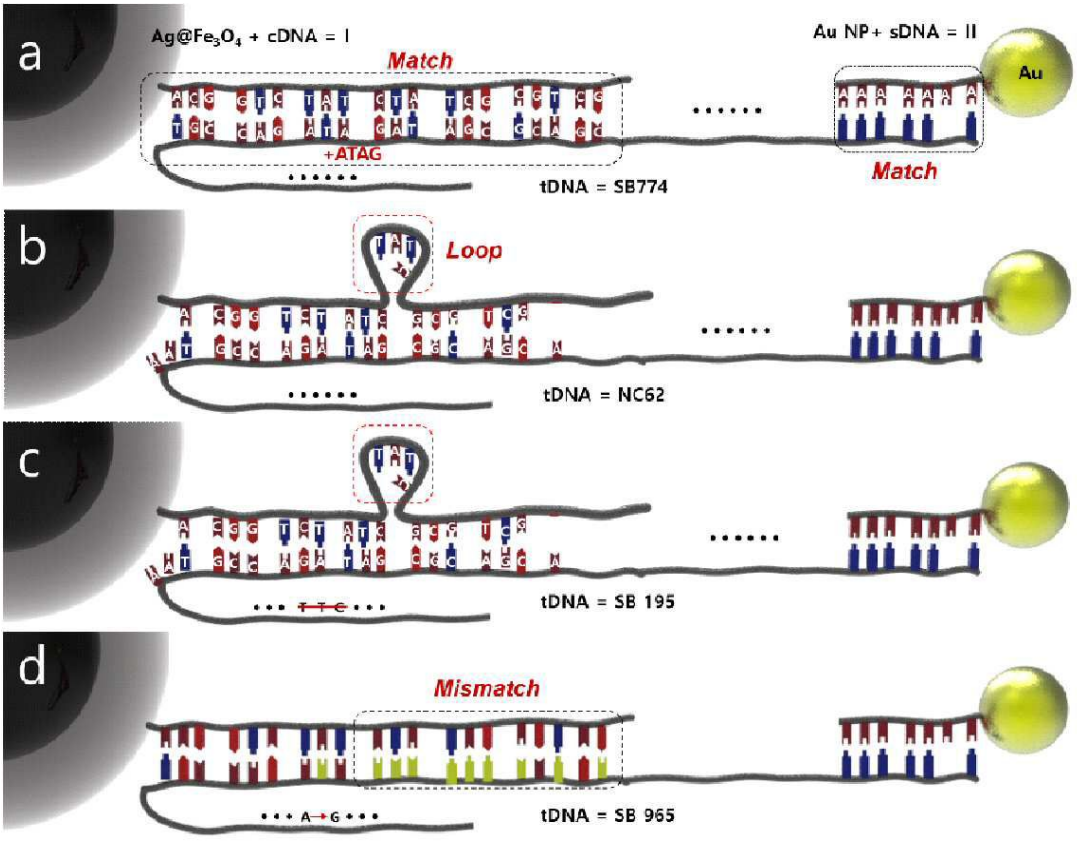
도면6


a
z
S
N
N
S
-α
α≠β
+β
Non PNF structure
b
ii, S ← N
ii+iv, S ← N
ii, N → S
ii+iv, N → S
MCD (mdeg)
PNF depending on the direction of B
c
LH [ii], S ← N
LH [ii], N → S
d
RH-[ii], S ← N
RH-[ii], N → S
PNF for sensing the synthesized tDNA
e
LH-[ii], S ← N
LH-[ii+iv], S ← N
LH-[ii], N → S
LH-[ii+iv], N → S
f
RH-[ii], S ← N
RH-[ii+iv], S ← N
RH-[ii], N → S
RH-[ii+iv], N → S
PNF for sensing the fetal clinical tDNA
g
LH [I], S ← N
LH-[I+II+III], S ← N
LH [I], N → S
LH-[I+II+III], S ← N
h
RH [I], S ← N
RH-[I+II+III], S ← N
RH [I], N → S
RH-[I+II+III], S ← N
Wavelength (nm)
Wavelength (nm)

도면7


a
cDNA
sDNA
tDNA
Sandwich PNF
b
RH PNF
RH PNF match with SB774
LH PNF
LH PNF match with SB774
CD (mdeg)
Wavelength (nm)
c
Match
Loop
Mismatch
LH
RH
SB774
NC62
SB195
SB965
d
PNF hot spot enhancer
Point mutation
e
GJB2
SLC
Wild type
CD (mdeg)
Wavelength (nm)
f
Wavelength shift (nm)
N1 N2 PBS P1 P2 P3 P4 P5 P6

도면8


a
Ag@Fe3O4 + cDNA = I
Match
+ATAG
tDNA = SB774
Au NP+ sDNA = II
Au
Match
b
Loop
tDNA = NC62
c
tDNA = SB 195
d
Mismatch
tDNA = SB 965