

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0039483

(43) 공개일자 2023년03월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

B82B 1/00 (2017.01) *C09K 11/02* (2006.01)
C09K 11/56 (2006.01) *G01N 33/569* (2017.01)
B82Y 20/00 (2017.01) *B82Y 40/00* (2017.01)

(52) CPC특허분류

B82B 1/00 (2013.01)
C09K 11/025 (2021.01)

(21) 출원번호 10-2021-0190186

(22) 출원일자 2021년12월28일

심사청구일자 2021년12월28일

(30) 우선권주장

1020210122705 2021년09월14일 대한민국(KR)

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김영근

서울특별시 강남구 압구정로61길 37, 72동 1109호(압구정동, 한양아파트)

부홍은

서울특별시 은평구 불광로 122-10(불광동, 북한산현대힐스테이트3차아파트)

구명석

서울특별시 성동구 마장로 137, 201동 703호(상왕십리동 텐즈힐)

(74) 대리인

특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 20 항

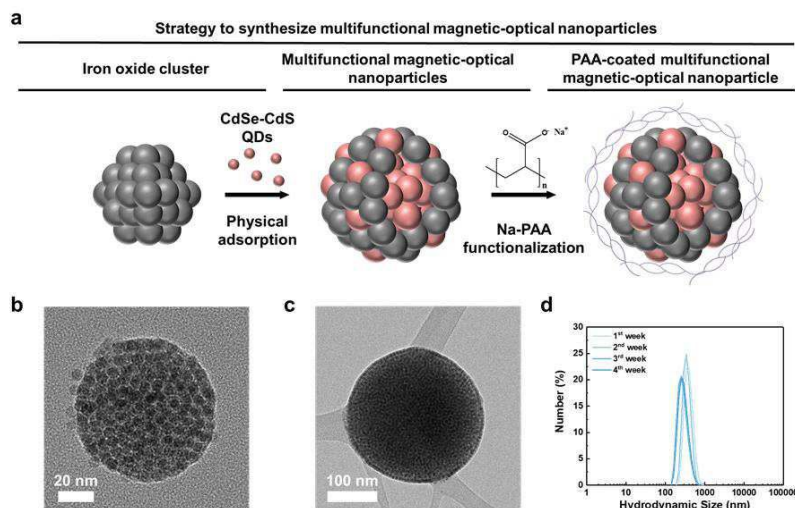
(54) 발명의 명칭 자성-광학 복합기능 나노입자

(57) 요약

본 발명은 자성-광학 복합기능 나노입자에 관한 것이다.

발명에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자는 양자점 나노입자 및 자성 나노입자로 구성되고, 또한 생체적합성 고분자로 기능화되어, 특이적으로 생체분자 또는 생체물질의 포집 및 검지를 가능하게 할 뿐만 아니라, 비색분석과 형광신호를 이용한 정량적 분석을 할 수 있도록 할 수 있다. 따라서, 본 발명의 자성-광학 복합기능 나노입자는 질병 진단 및 세포 분리와 영상 등 다양한 바이오메디컬 분야에 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C09K 11/565 (2013.01)

G01N 33/56983 (2013.01)

B82Y 20/00 (2013.01)

B82Y 40/00 (2013.01)

G01N 2333/075 (2013.01)

G01N 2333/14 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711112978
과제번호	2019R1A2C3006587
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	(이공)(유형2)중견연구(연평균연구비 2억원~4억원이내)
연구과제명	금속 및 금속산화물 기반 항암 면역치료용 복합스캐폴드 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2019.03.01 ~ 2024.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1415172276
과제번호	10080408
부처명	산업통상자원부
과제관리(전문)기관명	한국산업기술평가관리원
연구사업명	소재부품개발-패키지형사업
연구과제명	복합기능 나노입자를 활용한 고감도 체외진단 혁신기술 개발
기 여 율	1/2
과제수행기관명	(주)아모라이프사이언스
연구기간	2017.07.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

자성 나노입자를 포함하는 유상과 양이온성 계면활성제를 포함하는 수상을 혼합하여 자성 나노입자 클러스터를 제조하는 단계;

상기 자성 나노입자 클러스터를 수용성 폴리머로 코팅하는 단계; 및

상기 수용성 폴리머로 코팅된 자성 나노입자 클러스터를 포함하는 클러스터 용액 및 양자점 나노입자를 포함하는 양자점 용액을 혼합하여 자성-광학 복합기능 나노입자를 제조하는 단계를 포함하며,

상기 클러스터 용액의 용매는 양자점 용액의 용매보다 높은 극성도(Polarity Index)를 가지는 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

자성 나노입자는 FeO , Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 , NiFe_2O_4 , MnFe_2O_4 , TiO_2 , ZrO_2 , CeO_2 , Al_2O_3 및 MgO 로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 금속산화물 나노입자인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

유상의 용매는 클로로포름, 헥세인, 옥테인, 톨루엔 또는 이들의 혼합물인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

양이온 계면활성제는 DTAB(dodecyltrimethylammonium bromide), CTAB(cetyltrimethylammonium bromide) 및 TTAB(tetradecyltrimethylammonium bromide)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

수상의 용매는 물, 알코올, 아세톤, 다이메틸 설펍사이드(DMSO), 아세트산 또는 이들의 혼합물인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

자성 나노입자 클러스터의 평균 입경은 50 내지 500 nm인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

수용성 폴리머는 폴리비닐피롤리돈 및 폴리아크릴산으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

양자점 나노입자는 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴(CdSe-CdS), 셀렌화카드뮴(CdSe), 황화카드뮴(CdS), 산화아연(ZnO), 셀렌화아연(ZnSe), 황화아연(ZnS), 망간이 도핑된 황화아연(Mn-doped ZnS), 인화인듐(InP) 및 세슘리드 할라이드(CsPbBr₃, CsPbI₃) 양자점으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

양자점 나노입자는 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴(CdSe-CdS)이며,

상기 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴은 셀렌화 카드뮴 양자점을 포함하는 용액에 카드뮴 이온 전구체, 황 이온 전구체 및 안정화제를 첨가하고 반응시켜 제조한 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

안정화제는 올레일아민(OAm), 올레산(OA), 다이벤질아민 및 옥타데실아민으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 11

제 1 항에 있어서,

클러스터 용액의 용매는 에탄올, 메탄올, 아세톤, 다이메틸 설펍사이드, 또는 이들의 혼합물이고,

양자점 나노입자 용액의 용매는 클로로포름, 아이소프로판올 또는 이들의 혼합물인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 12

제 1 항에 있어서,

클러스터 용액의 용매 및 양자점 용액의 용매의 극성도 차이는 0.5 내지 2인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 13

제 1 항에 있어서,

자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 단계에서, 양자점 나노입자는 자성 나노입자 클러스터의 내부로 침투하여, 자성-광학 복합기능 나노입자가 형성되는 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서,

제조된 자성-광학 복합기능 나노입자의 크기는 100 내지 800 nm인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 15

제 1 항에 있어서,

제조된 자성-광학 복합기능 나노입자를 생체적합성 고분자로 코팅하는 단계를 추가로 포함하는 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 16

제 15 항에 있어서,

생체적합성 고분자는 상기 생체적합성 고분자의 말단에 아민기($-NH_2$), 싸이올기($-SH$), 카르복실기($-COOH$) 및 하이드록실기($-OH$)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 기능기를 포함하는 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 17

제 15 항에 있어서,

생체적합성 고분자는 폴리아크릴산(poly(acrylic acid); PAA), 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol, PEG), 폴리젓산(polylactic acid, PLA) 및 폴리글리콜산(polyglycolic acid, PGA)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함하는 것인 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법.

청구항 18

제 1 항에 따른 제조 방법에 의해 제조되고,

양자점 나노입자를 포함하는 코어; 및

자성 나노입자 및 상기 양자점 나노입자를 포함하는 셸을 포함하며,

상기 셸에서 상기 양자점 나노입자의 함량은 셸 전체 중량 대비 40% 이하인, 자성-광학 복합기능 나노입자.

청구항 19

제 18 항에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자를 포함하는 영상진단용 조성물, 분석물 검출용 키트 또는 분자진단 칩.

청구항 20

제 18 항에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자의 표면에 검출하고자 하는 분석물과 결합할 수 있는 생체분자를 기능화하는 단계;

상기 기능화된 자성-광학 복합기능 나노입자를 하나 이상의 분석물을 포함하는 시료에 노출시키는 단계; 및

광발광분광법을 이용하여 자성-광학 복합기능 나노입자에 결합된 분석물을 확인하는 단계를 포함하는 분석물을 영상화 또는 검출하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 자성 나노입자와 양자점 나노입자의 이중 나노입자들로 구성되어 자성과 광학 기능을 동시에 구현할 수 있는 클러스터형 자성-광학 복합기능 나노입자와 이의 제조방법, 및 이를 이용한 특정 물질의 검지 및 세포 영상 방법에 관한 것이다.

[0002] 보다 상세하게는, 다양한 구성의 복합기능 나노입자의 제조를 위한 플랫폼을 제공하며, 상기 자성-광학 복합기능 나노입자의 자기적 특성을 이용한 자성 분리와 자성 농축을 이용한 광학성능 개선, 그리고 생체분자 검지를 위한 프로브 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0004] 기존 체외진단 생체분자 검지법은 효소결합면역분석법(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 및 유세포 분석기(flow cytometry) 등이 사용되고 있는데, 이때 사용되는 기기는 수입제품으로 고가의 비용이 들고 분석에 많은 시간을 소요한다는 단점이 있다. 뿐만 아니라, 분석에 사용되는 유기형광체는 라이프타임이 짧고, 안정성이 떨어진다는 측면에서 검사의 오류 발생 가능성이 크다.

[0005] 이러한 문제를 해결하기 위해, 최근 검지 민감도가 높은 나노소재를 다양한 관점에서 사용하고 있다. 업컨버전 나노입자 또는 양자점을 이용하고 있으나, 상기 업컨버전 나노입자 또는 양자점은 자기적(magnetic) 특성이 있지 않기 때문에, 포집하고자 하는 생체분자 또는 단백질을 특이적으로 분리할 수 없다. 따라서 자기적 특성을 가지는 비드(bead) 사용하거나, 포집하고자 하는 특정 분자 및 단백질을 추출하는 데에 공정이 복잡하다는 단점이 있다.

[0006] 대안으로 제시되었던 금속 및 세라믹으로 이루어진 복합기능 나노입자는 그 응용성이 매우 클 것으로 기대됨에도, 단일 나노입자 내에서 균일한 자기적 특성과 광학적 특성을 동시에 가지는 것이 어려우며, 자성 나노입자가 형광 양자점의 발광 억제(quenching)를 유발한다는 점에서 그 응용성이 제한되어 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) 1. ACS Appl. Mater. Interfaces vol 10, pp 41935-41946 (2018)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 형광 신호를 지닌 양자점과 자기적 특성을 지닌 금속산화물 나노입자로 구성된 클러스터형 자성-광학 복합기능 나노입자 및 이의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0010] 또한, 본 발명은 자성-광학 복합기능 나노입자의 광학적 특성과 자성 농축을 이용한 세포 영상, 및 생체분자 또

는 생체물질 검지 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명은 자성 나노입자를 포함하는 유상과 양이온성 계면활성제를 포함하는 수상을 혼합하여 자성 나노입자 클러스터를 제조하는 단계;
- [0013] 상기 자성 나노입자 클러스터를 수용성 폴리머로 코팅하는 단계; 및
- [0014] 상기 수용성 폴리머로 코팅된 자성 나노입자 클러스터를 포함하는 클러스터 용액 및 양자점 나노입자를 포함하는 양자점 용액을 혼합하여 자성-광학 복합기능 나노입자를 제조하는 단계를 포함하며,
- [0015] 상기 클러스터 용액의 용매는 양자점 용액의 용매보다 높은 극성도(Polarity Index)를 가지는 것인, 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법을 제공한다.
- [0017] 또한, 본 발명은 전술한 제조 방법에 의해 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자를 제공한다.

발명의 효과

- [0019] 본 발명에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자는 양자점 나노입자 및 자성 나노입자로 구성되고, 또한 생체적합성 고분자로 기능화되어, 특이적으로 생체분자 또는 생체물질의 포집 및 검지를 가능하게 할 뿐만 아니라, 비색 분석과 형광신호를 이용한 정량적 분석을 할 수 있도록 한다.
- [0020] 따라서, 본 발명의 자성-광학 복합기능 나노입자는 질병 진단 및 세포 분리와 영상 등 다양한 바이오메디컬 분야에 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1에서 (a)는 양자점 나노입자와 산화철 나노입자로 구성된 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조과정 모식도를 나타낸다.
또한, (b)는 실시예 1의 (4)에서 제조된 산화철 클러스터 나노입자의 투과전자현미경(Transmission Electron Microscopy, TEM) 사진이고, (c)는 실시예 1의 (5)에서 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자의 투과전자현미경 사진이며, (d)는 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자를 동적광산란기(Dynamic Light Scattering, DLS)로 측정 한 시간에 따른 미세유체학적 크기를 나타낸다.
- 도 2에서 (a)는 실시예 1의 (c)에서 제조된 CdSe-CdS 코어-셸 양자점 나노입자의 투과전자현미경 사진, 크기 분포와 광발광분광계(photoluminescence, PL)로 측정된 형광 스펙트럼을 나타낸다. 또한, (b)는 CdSe-CdS 양자점의 X-선 회절분석법 데이터를 나타낸다.
- 도 3에서 (a)는 실시예 1의 (4)에서 제조된 산화철 클러스터의 투과전자현미경 사진과 X-선 회절분석법 데이터를 나타낸다.
또한, (b)는 실시예 1의 (5)에서 제조된 CdSe-CdS/Fe₃O₄ 구조의 자성-광학 복합기능 나노입자의 투과전자현미경과 에너지분산형 분광분석법(Energy Dispersive Spectroscopy, EDS) 사진을 나타낸다.
(c)는 산화철 클러스터와 CdSe-CdS/Fe₃O₄ 구조의 자성-광학 복합기능 나노입자의 X-선 회절분석법 데이터를 나타낸다.
(d)는 산화철 클러스터와 자성-광학 복합기능 나노입자의 진동시편자력계(Vibrating sample magnetometry, VSM)로 측정된 자성 특성 데이터를 나타낸다.
- 도 4에서 (a)는 실시예 1의 (5)에서 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자의 표면을 분석한 고분해능 TEM (High-Resolution TEM, HRTEM) 사진을 나타낸다.

또한, (b)는 자성-광학 복합기능 나노입자의 X-선 광전자 분광법(X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS) 데이터를 나타낸다.

도 5에서 (a)는 자성-광학 복합기능 나노입자에 항체를 수식하고 그에 따른 항원을 자성 농축하고 형광 검지하는 과정을 나타내는 모식도이다.

또한, (b)는 자성-광학 복합기능 나노입자를 이용하여 Adenovirus, Rotavirus, Respiratory Syncytial Virus (RSV), Influenza A/B virus, Norovirus를 정량적으로 형광검지한 데이터를 나타낸다.

(c)는 자성-광학 복합기능 나노입자를 이용하여 뇌종양세포(U87MG 세포)를 공초점 현미경으로 영상화한 결과를 나타낸다. 이때, 파란색은 DAPI로 염색된 세포핵이고 빨간색은 자성-광학 복합기능 나노입자를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 이하, 본 발명을 구체적으로 설명한다.
- [0025] 본 발명은 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자는 (A) 자성 나노입자를 포함하는 유상과 양이온성 계면활성제를 포함하는 수상을 혼합하여 자성 나노입자 클러스터를 제조하는 단계(이하, 자성 나노입자 클러스터 제조 단계);
- [0026] (B) 상기 자성 나노입자 클러스터를 수용성 폴리머로 코팅하는 단계(이하, 자성 나노입자 클러스터 코팅 단계); 및
- [0027] (C) 상기 수용성 폴리머로 코팅된 자성 나노입자 클러스터를 포함하는 클러스터 용액 및 양자점 나노입자를 포함하는 양자점 용액을 혼합하여 자성-광학 복합기능 나노입자를 제조하는 단계(이하, 자성-광학 복합기능 나노입자 제조 단계)를 포함할 수 있다.
- [0028] 본 발명에서는 자성 나노입자를 물-기름 유화액(oil-in-water emulsion) 방식으로 클러스터를 형성한 뒤, 양자점 나노입자를 상기 클러스터 내부에 침투, 물리적으로 결합시켜 클러스터형 자성-광학 복합기능 나노입자를 제조한다. 본 발명에 따른 제조 방법에 의해 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자는 자성 농축을 이용하여 형광 신호를 향상시킬 수 있다. 또한, 향상된 형광 신호를 이용하여 생체물질을 정량적 분석과 동시에 비색분석법(colorimetric assay)을 활용하여 검지할 수 있다.
- [0030] 본 발명에서 (A) 자성 나노입자 클러스터 제조 단계는 자성 나노입자를 포함하는 유상과 양이온성 계면활성제를 포함하는 수상을 혼합하여 자성 나노입자 클러스터를 제조하는 단계이다.
- [0031] 본 발명에서, 자성 나노입자는 물-기름 유화액(oil-in-water emulsion) 방식을 통해 자성 나노입자들의 클러스터로 구성될 수 있다.
- [0032] 본 발명에서 유상은 자성 나노입자를 포함할 수 있다.
- [0033] 일 구체예에서, 자성 나노입자는 금속산화물 나노입자일 수 있으며, 상기 금속산화물은 FeO , Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , CoFe_2O_4 , NiFe_2O_4 , MnFe_2O_4 , TiO_2 , ZrO_2 , CeO_2 , Al_2O_3 및 MgO 로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다. 본 발명에서는 상기 금속산화물을 사용하여 최종 제조되는 자성-광학 복합기능 나노입자에 자성을 부여할 수 있다.
- [0034] 일 구체예에서, 자성 나노입자는 당업계의 일반적인 제조방법을 통해 제조될 수 있으며, 예를 들어, 철 이온 전구체, 용매 및 안정화제를 이용하여 합성될 수 있다. 상기 철 이온 전구체는 iron pentacarbonyl일 수 있고, 용매는 1-octadecene(ODE)일 수 있으며, 안정화제는 올레일아민(oleylamine, OAm), 올레산(oleic acid, OA) 다이벤질아민(dibenzylamine), 옥타데실아민(octadecylamine) 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 상기 합성 과정을 통해 소수성기로 코팅된 자성 나노입자가 제조될 수 있으며, 상기 자성 나노입자 각각은 소수성을 가질 수 있다.
- [0035] 일 구체예에서, 자성 나노입자의 평균 입경은 1 내지 20 nm, 또는 3 내지 17 nm일 수 있다.
- [0036] 일 구체예에서, 유상의 용매는 클로로포름, 헥세인, 옥테인, 톨루엔 또는 이들의 혼합물일 수 있다.

- [0037] 본 발명에서, 수상은 양이온성 계면활성제를 포함할 수 있다.
- [0038] 일 구체예에서, 양이온성 계면활성제는 DTAB(dodecyltrimethylammonium bromide), CTAB(cetyltrimethylammonium bromide) 및 TTAB(tetradecyltrimethylammonium bromide)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으며, 본 발명의 실시예에서는 DTAB를 사용할 수 있다.
- [0039] 일 구체예에서, 수상의 용매는 물, 알코올, 아세톤, DMSO, 아세트산 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0040] 일 구체예에서, 수상과 유상을 혼합하면, 물-기름 유화액(oil-in-water emulsion) 방식을 통해 자성 나노입자 클러스터를 형성할 수 있다. 구체적으로, 자성 나노입자 클러스터는 양이온성 계면활성제 층이 형성된 미셀 내부에 자성 나노입자의 클러스터가 위치한 형태를 가질 수 있다. 즉, 자성 나노입자의 클러스터의 표면에 양이온성 계면활성제가 코팅된 형상을 가질 수 있다. 상기 클러스터를 구성하는 각각의 자성 나노입자는 소수성을 가질 수 있다.
- [0041] 이러한 자성 나노입자 클러스터의 평균 입경은 특별히 제한되지 않으며, 예를 들어, 50 내지 500 nm, 또는 50 내지 200 nm일 수 있다. 상기 자성 나노입자 클러스터는 구형일 수 있다. 본 발명에서 용어 '구형'은 한 점에서 같은 거리에 있는 모든 점으로 이루어진 입체 모양이라는 수학적 정의의 구뿐 아니라, 외견상 둥글게 생긴 형상의 것을 모두 포괄할 수 있다.
- [0042] 본 발명에서 (B) 자성 나노입자 클러스터 코팅 단계는 단계 (A)에서 제조된 자성 나노입자 클러스터를 수용성 폴리머로 코팅하는 단계이다.
- [0043] 상기 단계는 자성 나노입자 클러스터를 포함하는 용액과 수용성 폴리머를 포함하는 용액을 혼합하여 수행할 수 있다.
- [0044] 일 구체예에서, 수용성 폴리머는 폴리비닐피롤리돈 및 폴리아크릴산으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0045] 일 구체예에서, 수용성 폴리머를 포함하는 용액의 용매는 에틸렌 글리콜(EG)일 수 있다.
- [0046] 상기 단계 (B)에서, 양이온 계면활성제는 에틸렌글리콜 등의 용매에 대한 용해도가 높아 자성 나노입자 클러스터의 표면에서 떨어 나오게 되고, 상기 자성 나노입자 클러스터에 수용성 폴리머가 코팅되게 된다. 즉, 수용성 폴리머 코팅층이 형성될 수 있다. 이에 의해 자성 나노입자 클러스터 표면은 친수성을 가지게 되며, 내부의 자성 나노입자들은 상대적으로 소수성인 상태를 가질 수 있다. .
- [0048] 본 발명에서 단계 (C)는 자성-광학 복합기능 나노입자 제조 단계로, 수용성 폴리머로 코팅된 자성 나노입자 클러스터를 포함하는 클러스터 용액 및 양자점 나노입자를 포함하는 양자점 용액을 혼합하여 자성-광학 복합기능 나노입자를 제조하는 단계이다.
- [0049] 상기 단계에서는 양자점 나노입자를 자성 나노입자 클러스터 내부에 침투 및 물리적으로 결합시켜 자성-광학 복합기능 나노입자를 제조할 수 있다.
- [0050] 일 구체예에서, 클러스터 용액은 전술한 단계 (B)의 수용성 폴리머로 코팅된 자성 나노입자 클러스터를 포함할 수 있다.
- [0051] 상기 클러스터 용액의 용매는 에탄올, 메탄올, 아세톤, 다이메틸 설펍사이드, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0052] 일 구체예에서, 양자점 용액은 양자점 나노입자를 포함할 수 있다.
- [0053] 상기 양자점 나노입자는 본 발명의 복합기능 나노입자에 광학 특성을 부여할 수 있다. 상기 양자점 나노입자로 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴(CdSe-CdS), 셀렌화카드뮴(CdSe), 황화카드뮴(CdS), 산화아연(ZnO), 셀렌화아연(ZnSe), 황화아연(ZnS) 망간이 도핑된 황화아연(Mn-doped ZnS), 인화인듐(InP) 및 세슘리드할라이드(CsPbBr₃, CsPbI₃) 양자점으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 사용할 수 있다.
- [0054] 이러한 양자점 나노입자는 당업계의 일반적인 제조방법을 통해 제조될 수 있으며, 구체적으로, 유기용매 상에서 양자점 이온 전구체, 환원제, 안정화제를 이용하여 합성될 수 있다. 이때, 양자점 이온은 아연, 황, 망간, 카드뮴, 셀레늄, 인듐, 인, 세슘, 납, 브롬 또는 아이오딘일 수 있다.

- [0055] 일 구체예에서, 양자점 나노입자는 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴(CdSe-CdS)일 수 있다.
- [0056] 일 구체예에서, 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴(CdSe-CdS)은 셀렌화 카드뮴 양자점을 포함하는 용액에 카드뮴 이온 전구체, 황 이온 전구체 및 안정화제를 첨가하고 반응시켜 제조될 수 있다.
- [0057] 상기 셀렌화 카드뮴은 셀레늄 이온 전구체, 카드뮴 이온 전구체, 환원제, 안정화제를 이용하여 합성될 수 있다. 셀레늄 이온 전구체로 셀레늄 분말(selenium powder) 및 산화셀레늄(selenium oxide)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 사용할 수 있고, 카드뮴 이온 전구체로 카드뮴 올레이트(cadmium oleate, Cd-oleate), 산화카드뮴(cadmium oxide, CdO) 및 염화카드뮴(cadmium chloride)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 사용할 수 있다. 또한, 환원제 및 안정화제로 octadecylphosphonic acid(ODPA), trioctylphosphine oxide(TOPO) 및 trioctylphosphine(TOP)를 사용할 수 있다.
- [0058] 또한, 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴의 제조 시, 카드뮴 이온 전구체로 카드뮴 올레이트(cadmium oleate, Cd-oleate), 산화카드뮴(cadmium oxide, CdO) 및 염화카드뮴(cadmium chloride)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 사용할 수 있고, 황 이온 전구체로 1-옥탄티올(1-octanethiol), 황 분말(sulfur powder) 및 도데실 메틸탄(1-dodecanethiol)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 사용할 수 있다. 환원제와 안정화제로 다이벤질아민(dibenzylamine), 올레일아민(OAm), 올레산(OA) 및 옥타데실아민(octadecylamine)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 사용할 수 있고, 용매로 옥타데센(octadecene, ODE), 디메틸포름아미드(dimethylformamide, DMF), 및 톨루엔으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 사용할 수 있다.
- [0059] 일 구체예에서, 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴의 사용시 황화 카드뮴(CdS) 셸의 두께에 따라 발광 파장의 조절이 가능하며, 셸 형성 전구체의 총 양에 따라 특성을 조절할 수 있다.
- [0060] 또한, 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴에서 셸을 형성하는 전구체의 양은 300 nmol 내지 1500 nmol 일 수 있으며, 황화 카드뮴(CdS) 셸의 비율은 입자 전체 대비 15% 내지 60 중량% 일 수 있다.
- [0061] 일 구체예에서, 양자점 나노입자의 크기는 3 내지 15 nm일 수 있다.
- [0062] 일 구체예에서, 양자점 나노입자 용액의 용매는 클로로포름, 아이소프로판올 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0063] 상기 클러스터 용액의 용매는 양자점 용액의 용매보다 높은 극성도(Polarity Index)를 가질 수 있다. 구체적으로, 클러스터 용액의 용매 및 양자점 용액의 용매의 극성도 차이는 0.5 내지 2, 또는 1 내지 2일 수 있다. 즉, 양자점 용액은 클러스터 용액보다 더 소수성(hydrophobic) 성질을 가질 수 있다.
- [0064] 일 구체예에서, 수용성 폴리머로 코팅된 자성 나노입자 클러스터의 내부는 외부와 비교 시 소수성을 가진다. 양자점 나노입자를 친수성을 가지는 클러스터 용액에 주입하면, 상기 양자점 나노입자는 소수성 성질을 가지므로 같은 소수성 성질을 가지는 자성 나노입자 클러스터의 내부로 침투하게 된다. 이에 의해, 상기 양자점 나노입자와 비교하여 상대적으로 친수성 성질을 가지는 자성 나노입자는 표면으로 밀려나게 되며, 코어에는 양자점 나노입자가 위치하고 셸에는 자성 나노입자가 위치하는 구조의 자성-광학 복합기능 나노입자가 제조될 수 있다. 반응의 조건에 따라 양자점 나노입자는 복합기능 나노입자의 셸의 일부를 형성할 수도 있다.
- [0065] 일 구체예에서, 자성-광학 복합기능 나노입자를 구성하는 자성 나노입자 및 양자점 나노입자의 부피비는 3 : 0.1 내지 3 : 1일 수 있다.
- [0066] 일 구체예에서, 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자의 평균 입경은 100 nm 내지 800 nm일 수 있다.
- [0067] 본 발명은 (C) 자성-광학 복합기능 나노입자 제조 단계를 수행한 후에, 자성-광학 복합기능 나노입자를 생체적합성 고분자로 코팅하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0068] 상기 자성-광학 복합기능 나노입자를 생체적합성 고분자로 코팅함으로써, 자성-광학 복합기능 나노입자의 분산성을 향상시킬 수 있다. 또한, 상기 자성-광학 복합기능 나노입자의 응용에서 항체의 부착을 용이하게 수행할 수 있다.
- [0069] 일 구체예에서, 생체적합성 고분자는 상기 생체적합성 고분자 말단에 기능기를 포함할 수 있다. 상기 생체적합성 고분자 자체가 기능기를 포함할 수 있으며, 또는 상기 생체적합성 고분자의 말단에 기능기를 도입 또는 수식시킬 수 있다.
- [0070] 이러한 기능기는 아민기(-NH₂), 싸이올기(-SH), 카르복실기(-COOH) 및 하이드록실기(-OH)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다.

- [0071] 일 구체예에서, 생체적합성 고분자는 폴리아크릴산(poly(acrylic acid); PAA), 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol, PEG), 폴리젓산(polylactic acid, PLA) 및 폴리글리콜산(polyglycolic acid, PGA)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 이때, 폴리에틸렌글리콜(PEG)은 그 말단에 아민기(-NH₂), 싸이올기(-SH) 및/또는 하이드록실기(-OH)가 수식되어 있을 수 있다.
- [0073] 또한, 본 발명은 자성-광학 복합기능 나노입자에 관한 것이다. 본 발명에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자는 전술한 제조 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0074] 상기 자성-광학 복합기능 나노입자는 양자점 나노입자를 포함하는 코어; 및 자성 나노입자 및 상기 양자점 나노입자를 포함하는 셸을 포함할 수 있다. 상기 셸에서 상기 양자점 나노입자의 함량은 셸 전체 중량 대비 40 중량% 이하일 수 있다.
- [0075] 일 구체예에서, 코어는 자성-광학 복합기능 나노입자에서 양자점 나노입자로 구성된 구형 부분을 의미할 수 있다. 이때, '구형'은 한 점에서 같은 거리에 있는 모든 점으로 이루어진 입체 모양이라는 수학적 정의의 구뿐 아니라, 외견상 둥글게 생긴 형상의 것을 모두 포괄할 수 있다.
- [0076] 일 구체예에서, 셸은 구형을 감싸며, 자성 나노입자만으로 구성되거나, 또는 상기 자성 나노입자 및 양자점 나노입자로 구성될 수 있다. 상기 셸에서 양자점 나노입자의 함량은 셸의 전체 중량(100 중량%) 대비 0 내지 40 중량%, 1 내지 30 중량%, 또는 1 내지 20 중량%일 수 있다.
- [0077] 일 구체예에서, 자성-광학 복합기능 나노입자의 표면은 생체적합성 고분자로 코팅될 수 있다. 상기 생체적합성 고분자는 전술한 생체적합성 고분자일 수 있으며, 상기 생체적합성 고분자의 말단에 기능기가 형성되어 있을 수 있다. 이를 통해, 자성-광학 복합기능 나노입자의 분산성을 향상시킬 수 있으며, 상기 자성-광학 복합기능 나노입자의 응용에서 항체의 부착을 용이하게 수행할 수 있다.
- [0078] 본 발명에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자는 자성 나노입자 및 양자점 나노입자를 포함하여 자성과 광학 기능을 동시에 구현할 수 있다.
- [0079] 자성 나노입자는 형광을 소광하는 퀸처(quencher)로 작용할 수 있으므로, 자성 나노입자와 형광 소재가 인접할수록 그 효과가 크게 나타난다. 본 발명에서는 자성-광학 복합기능 나노입자의 코어 부분에 양자점 나노입자들이 묻쳐져 존재하므로, 셸 부분의 자성 나노입자와 인접하지 않은 양자점 나노입자의 비율이 높아지게 된다. 본 발명에서는 이를 통해 자성 나노입자와의 간섭을 줄일 수 있으며, 강한 형광을 나타낼 수 있다.
- [0081] 또한, 본 발명은 전술한 자성-광학 복합기능 나노입자를 포함하는 영상진단용 조성물, 분석물 검출용 키트 또는 분자진단 칩에 관한 것이다.
- [0082] 또한, 본 발명은 자성-광학 복합기능 나노입자의 표면에 검출하고자 하는 분석물과 결합할 수 있는 생체분자를 기능화하는 단계;
- [0083] 상기 기능화된 자성-광학 복합기능 나노입자를 하나 이상의 분석물을 포함하는 시료에 노출시키는 단계; 및
- [0084] 광발광분광법을 이용하여 자성-광학 복합기능 나노입자에 결합된 분석물을 확인하는 단계를 포함하는, 분석물을 영상화 또는 검출하는 방법에 관한 것이다.
- [0085] 본 발명에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자는 검출하고자 하는 분석물을 인식할 수 있는 생체분자가 기능화되어, 각종 타겟 생체분자들을 검출하는데 응용될 수 있는 프로브로 사용될 수 있다.
- [0086] 일 구체예에서, 검출하고자 하는 분석물은 아미노산, 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, 글리코프로테인, 리포프로테인, 뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오타이드, 핵산, 당, 탄수화물, 올리고사카라이드, 폴리사카라이드, 지방산, 지질, 호르몬, 대사산물, 사이토카인, 케모카인, 수용체, 신경전달물질, 항원, 알레르겐, 항체, 기질, 대사산물, 보조인자, 억제제, 약물, 약학물, 영양물, 프리온, 독소, 독물, 폭발물, 살충제, 화학무기제, 생체유해성 제제, 방사선동위원소, 비타민, 헤테로사이클릭 방향족 화합물, 발암물질, 돌연변이유발요인, 마취제, 암페타민, 바르비투레이트, 환각제, 폐기물 또는 오염물질일 수 있다. 또한, 분석물이 핵산일 경우 상기 핵산은 유전자, 바이러스 RNA 및 DNA, 박테리아 DNA, 곰팡이 DNA, 포유동물 DNA, cDNA, mRNA, RNA 및 DNA 단편, 올리고뉴클레오타이드, 합성 올리고뉴클레오타이드, 개질된 올리고뉴클레오타이드, 단일 가닥 및 이중 가닥 핵산, 자연

적 및 합성핵산일 수 있다.

[0087] 일 구체예에서, 분석물을 인식할 수 있는, 본 발명에 따른 복합기능 나노입자의 표면에 결합될 수 있는 생체분자는 항체, 항체 단편, 유전조작 항체, 단일쇄항체, 수용체 단백질, 결합 단백질, 효소, 억제제 단백질, 렉틴, 세포 유착 단백질, 올리고뉴클레오타이드, 폴리뉴클레오타이드, 핵산 또는 압타머일 수 있다

[0088] 발명에 따른 자성-광학 복합기능 나노입자를 사용한 광발광분광법은 상기 복합기능 나노입자의 구조에 의해 더 강한 신호 세기를 나타낼 수 있어, 분석물의 양이 적은 경우에도 검출이 가능해질 수 있다. 또한, 자성 특성을 이용하여 자성-광학 복합기능 나노입자와 결합한 분석물의 자성 분리가 가능하며 매우 초고감도 생체 분자 분석법에 사용될 수 있으며, 체외 진단과 영상화 기술로도 매우 유용하다.

[0090] 이하, 실시예를 통해 본 발명을 보다 구체적으로 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오직 본 발명을 쉽게 설명하기 위함이며, 본 발명 범위가 제시된 실시예에 국한되지 않는다는 것은 자명하다.

[0092] 실시예

[0093] 실시예 1. 자성-광학 복합기능 나노입자 제조

[0094] (1) 자철석(magnetite, Fe_3O_4) 나노입자 합성

[0095] 산화철(iron oxide), 구체적으로 자철석(magnetite, Fe_3O_4) 나노입자는 열분해 방법을 통해 합성하였다.

[0096] 반응에서 iron pentacarbonyl($\text{Fe}(\text{CO})_5$)는 철 이온 전구체로, 1-octadecene(ODE)는 용매로, oleic acid(OA)는 안정화제로 사용하였다.

[0097] ODE 20 mL에 OA 1.5 mL을 3구 플라스크에 넣은 후, 자기적 교반(magnetic stirring)을 해주면서 5 분 동안 100 °C까지 빠르게 가열하였다. 용액 온도가 100°C 도달하면 $\text{Fe}(\text{CO})_5$ 0.4 mL를 주입 후 20 분 동안 온도를 유지하였다. 이후 10 분 동안 180°C까지 가열 후 1 시간 동안 온도를 추가로 유지하였다. 마지막 단계로, 자기적 교반을 위한 장비를 제거한 후 질소(N_2) 분위기에서 용액을 10 분 동안 295°C까지 가열하고 1 시간 동안 반응을 진행하였다. 냉각시킨 후, 아세톤을 이용해서 세척하고, 클로로포름 10 mL에 분산시켰다(자철석 나노입자 용액 제조).

[0099] (2) 셀렌화 카드뮴 양자점 합성

[0100] 셀렌화 카드뮴(CdSe) 양자점은 고온 주입(hot-injection) 합성법을 통해 합성하였다.

[0101] 반응에서 cadmium oxide(CdO)를 카드뮴 이온 전구체로, selenium powder를 셀레늄 이온 전구체로, octadecylphosphonic acid(ODPA), trioctylphosphine oxide(TOPO) 및 trioctylphosphine(TOP)는 환원제 겸 안정화제로 각각 사용하였다.

[0102] selenium powder 120 mg과 TOP 1 mL을 각각 바이알에 온도를 높이면서 자기적 교반하고, 동반하여 투명한 용액이 될 때까지 혼합하였다(Se-TOP 전구체 용액 제조).

[0103] 3구 플라스크에 CdO 120 mg, ODPA 560 mg 및 TOPO 6 g을 넣은 후 진공 환경에서 150°C까지 5 분 동안 가열 후 1 시간 동안 유지시켰다. 이후 질소 분위기로 전환하여 380°C까지 10 분 동안 가열하였다. 용액이 360°C 도달하면 TOP 4 mL를 주입하고, 380°C에서 미리 준비해둔 Se-TOP 전구체 용액을 주입하였다. 3분 동안 반응을 진행 후 빠르게 냉각시켰다. 이후, 아세톤을 이용해서 세척하고, 클로로포름 10 mL에 분산시켰다(셀렌화 카드뮴 양자점 용액 제조).

[0105] (3) 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴 양자점 나노입자

[0106] 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴(CdSe-CdS) 코어-셸 양자점 나노입자를 합성하였다.

[0107] 반응에서, 전술한 (2)에서 제조된 CdSe 양자점을 바탕으로, oleylamine(OAm)과 OA를 안정화제로, cadmium

oleate(Cd-oleate)와 1-octanethiol은 이온 전구체로, ODE는 용매로 사용하였다.

[0108] 클로로포름에 분산된 CdSe 500 nmol, OAm 10 mL, ODE 10 mL를 3구 플라스크에 넣고, 상온에서 1 시간 동안 진공 분위기를 조성하였다. 그리고 진공 환경에서 120℃까지 5 분 동안 빠르게 가열 후 20 분 동안 유지하여 남은 수분과 클로로포름을 증발시켰다. 이후 질소를 주입하면서 310℃까지 10 분 동안 가열하였다. 수용액 온도가 240℃에 도달하면 전구체 주입을 시작하였다. ODE를 사용하여 Cd-oleate 0.1 M, 1-octanethiol 0.12 M의 농도로 맞추고, 각각 1.5 mL씩 매 10 분마다 주입하였다. 그리고 매 1 시간마다 OA 1 mL를 주입하여 셀 형성 반응 안정화를 하였다. 주입하는 횟수를 조절하여 황화 카드뮴 셀의 두께를 조절할 수 있다. 마지막 전구체 용액 주입 후 OA 1 mL 주입하여 1 시간 동안 310℃에서 반응을 유지하였다. 냉각시킨 후, 헥세인과 아세톤을 이용해서 세척하고, 50 μM 농도에 맞추어 클로로포름에 분산시켰다(셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴 양자점 나노입자 용액 제조).

[0110] (4) 산화철 클러스터 입자

[0111] 산화철 입자는 물-기름 유화액 형성 방법을 이용해 클러스터로 형성하였다.

[0112] 반응에서, 클로로포름, H₂O, ethylene glycol(EG)을 용매로, dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB)를 계면활성제로, polyvinylpyrrolidone (PVP, Mw: 29,000 Da)를 안정화제로 사용하였다.

[0113] DTAB 8 mg이 첨가된 H₂O 2 mL와 전술한 (1)에서 제조된 Fe₃O₄ 나노입자 용액 2 mL를 플라스크에 넣은 후 초음파 분산기를 사용하여 섞어주었다. 이후 상온에서 클로로포름이 모두 증발할 때까지 세이킹을 행하였다. 상기 용액을 PVP 2 mM 농도로 맞춘 EG 3 mL에 넣고 2시간 동안 상온에서 세이킹을 행하여 표면을 수용성 폴리머인 PVP로 코팅하였다. 이후 에탄올을 이용해서 세척하고 에탄올 5 mL에 분산시켰다(산화철 클러스터 입자 용액 제조).

[0115] (5) 클러스터형 양자점/산화철 자성-광학 복합기능 나노입자

[0116] 클러스터형 양자점/산화철(CdSe-CdS/Fe₃O₄) 자성-광학 복합기능 나노입자는 산화철 클러스터 나노입자와 CdSe-CdS 양자점 나노입자를 결합한 구조를 가진다.

[0117] 반응에서, H₂O, 클로로포름, 에탄올을 용매로, polyvinylpyrrolidone (PVP, Mw: 29,000 Da)를 안정화제로, Sodium poly(acrylic acid) (Na-PAA, Mw: 2,100 Da)를 안정화제 및 카복시기(-COOH) 전구체로 사용하였다.

[0118] (4)에서 제조된 산화철 클러스터 입자 용액 3 mL를 바이알에 넣은 후 (3)에서 제조된 셀렌화 카드뮴-황화 카드뮴 양자점 나노입자 용액 1 mL를 넣고 클로로포름 4 mL를 추가로 주입하여 10 분 동안 세이킹을 진행하였다. CdSe-CdS 양자점은 산화철 클러스터의 내부로 침투하며 전체적인 자성-광학 복합기능 나노입자의 크기가 성장하였다. 그리고 에탄올을 이용하여 세척한 후, 안정화를 위해 PVP 0.4 mM 농도의 에탄올에서 세이킹을 30 분 동안 진행하였다. 이후, 물로 세척을 진행하고 물 5 mL에 분산시켰다.

[0119] 이후, 수용액 상에서의 분산성과 항체 부착을 위해 20 mg/mL 농도의 Na-PAA 5 mL를 주입하여 자성-광학 복합기능 나노입자 코팅을 20 분 동안 진행하였다. 이후 H₂O를 이용하여 세척하고 H₂O 8 mL에 분산시켰다.

[0121] 실험예 1. 자성-광학 복합기능 나노입자의 물리적 특성

[0122] 도 1에서 (a)는 양자점 나노입자와 산화철 나노입자로 구성된 자성-광학 복합기능 나노입자의 제조과정 모식도를 나타낸다.

[0123] 또한, (b)는 실시예 1의 (4)에서 제조된 산화철 클러스터 나노입자의 투과전자현미경(TEM) 사진이고, (c)는 실시예 1의 (5)에서 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자의 투과전자현미경 사진이며, (d)는 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자를 동적광산란기(DLS)로 측정된 시간에 따른 미세유체학적 크기를 나타낸다.

[0124] 도 1에 나타난 바와 같이, 본 발명에 의해 100 내지 800 nm 크기의 자성-광학 복합기능 나노입자가 합성되며, 자성 클러스터 나노입자에 양자점 입자들이 물리적으로 흡착한 것을 확인할 수 있다.

[0125] 또한, 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자를 PAA로 코팅하여, 상기 자성-광학 복합기능 나노입자가 수용액상에

서 분산성을 가지고, 시간이 지나도 그 구조가 안정한 것을 확인할 수 있다.

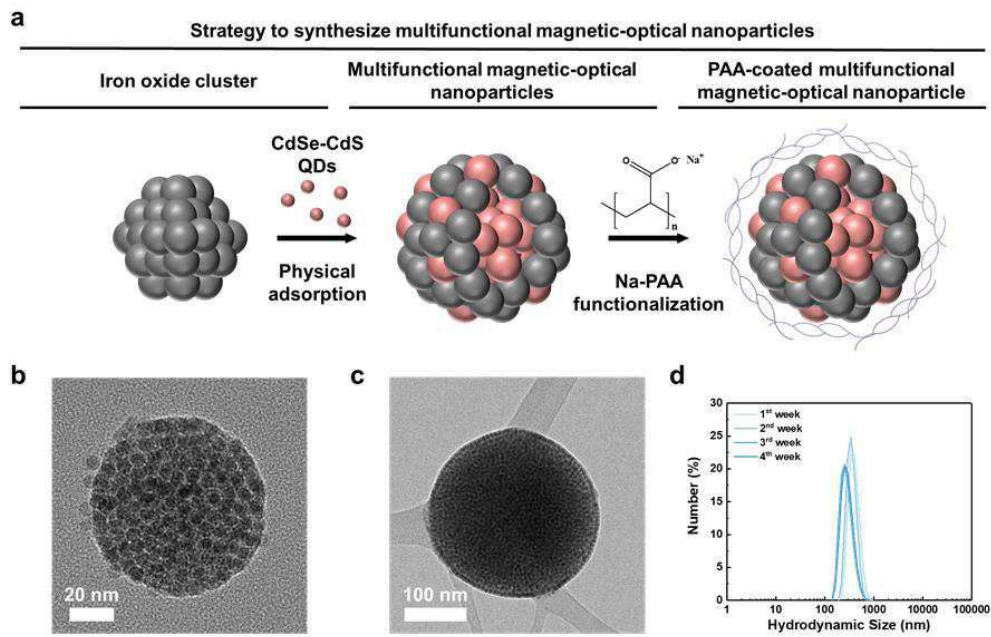
- [0127] 도 2에서 (a)는 실시예 1의 (c)에서 제조된 CdSe-CdS 코어-셸 양자점 나노입자의 투과전자현미경 사진, 크기 분포와 광발광분광계(photoluminescence, PL)로 측정한 형광 스펙트럼을 나타낸다. 또한, 도 2의 (b)는 CdSe-CdS 양자점의 X-선 회절분석법 데이터를 나타낸다.
- [0128] 상기 광발광분광계를 이용하여 발광세기를 측정할 수 있으며, 이때, 여기파장은 365 nm로 하였다.
- [0129] 도 2에 나타난 바와 같이, 본 발명에 의해 620 nm와 570 nm에서 발광 파장을 나타내는 2 종류의 양자점을 제조하였음을 확인할 수 있다. 특히, 본 발명에서는 황화 카드뮴(CdS) 셸의 두께에 따라 발광 파장의 조절이 가능하며, 셸 형성 전구체의 총 양에 따라 특성이 변화할 수 있다. 또한, X-선 회절분석기법을 기반으로 셀렌화-카드뮴과 황화-카드뮴의 2 θ 위치가 본 발명에서 합성한 양자점의 X-선 회절 데이터와 일치하는 것을 확인할 수 있으며, 이를 통해, 황화 카드뮴-셀렌화 카드뮴 양자점이 제조되었음을 확인할 수 있다.
- [0131] 도 3에서 (a)는 실시예 1의 (4)에서 제조된 산화철 클러스터의 투과전자현미경 사진과 X-선 회절분석법 데이터를 나타낸다.
- [0132] (b)는 실시예 1의 (5)에서 제조된 CdSe-CdS/Fe₃O₄ 구조의 자성-광학 복합기능 나노입자의 투과전자현미경과 에너지분산형 분광분석법(EDS) 사진을 나타낸다.
- [0133] (c)는 산화철 클러스터와 CdSe-CdS/Fe₃O₄ 구조의 자성-광학 복합기능 나노입자의 X-선 회절분석법 데이터를 나타낸다.
- [0134] 또한, (d)는 산화철 클러스터와 자성-광학 복합기능 나노입자의 진동시편자력계(VSM)로 측정한 자성 특성 데이터를 나타낸다.
- [0135] 도 3에 나타난 바와 같이, 자성-광학 복합기능 나노입자는 셸 영역에 자성 나노입자가 위치하며, 내부 영역에 양자점 나노입자가 존재하는 것을 확인할 수 있다. 또한, X-선 회절 데이터에서의 2 θ 위치로 산화철 나노입자와 양자점 나노입자의 존재를 확인할 수 있으며, VSM을 측정하여 자성-광학 복합기능 나노입자는 16 emu/g 포화자화를 가지고 잔류자화와 보자력이 0임을 확인할 수 있다.
- [0137] 또한, 도 4에서 (a)는 실시예 1의 (5)에서 제조된 자성-광학 복합기능 나노입자의 표면을 분석한 고분해능 TEM(HRTEM) 사진을 나타낸다.
- [0138] (b)는 자성-광학 복합기능 나노입자의 X-선 광전자 분광법(XPS) 데이터를 나타낸다.
- [0139] 도 4에 나타난 바와 같이, 고분해능 TEM으로 결정면을 분석 결과, 양자점 나노입자와 산화철 나노입자가 자성-광학 복합기능 나노입자의 표면에 위치하는 것을 확인할 수 있다. 또한, XPS 데이터에 기반하여 표면에 양자점과 산화철 나노입자의 존재를 확인할 수 있다. 추가적으로, O 1s와 C 1s의 결합 에너지를 확인하여 표면에 PAA 코팅을 형성한 것을 확인할 수 있다.
- [0141] **실험예 2. 자성-광학 복합기능 나노입자를 활용한 바이러스 항원 검지 및 세포 영상**
- [0142] 실시예 1에서 제조한 카복시기로 기능화된 자성-광학 복합기능 나노입자 1 mL에 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride(EDC) (20 mM) 용액 0.1 mL, sulfo-N-hydroxysulfosuccinimide(NHS) (20 mM) 용액 0.1 mL를 혼합한 후 최소 30 분 이상 셰이킹하여 반응을 진행하였다. 그리고 Phosphate Buffer Saline(PBS)로 세척하고, PBS 1 mL에 분산시켰다.
- [0143] 이후, 각 나노입자 용액에 Adenovirus, Rotavirus, 호흡기융합바이러스(Respiratory syncytial virus, RSV), Influenza A/B virus, Norovirus의 항체 용액(0.1 mg/mL) 0.1 mL을 넣어 스티어링을 최소 1시간 동안 진행하였다. 그리고 PBS를 이용하여 세척 및 1 mL로 분산하였다.
- [0144] PBS에 용해된 소혈청알부민(bovine serum albumin, BSA) 1% 1 mL을 상기 용액에 넣은 후 추가로 60분 동안 세

이킹을 하여 남은 반응기를 블락킹(blocking)하였다. 그리고 PBS를 이용하여 세척 후 Tris-HCl buffer (0.01 M, pH 8.5)에 용해된 BSA 0.2% 1 mL에 분산하였다.

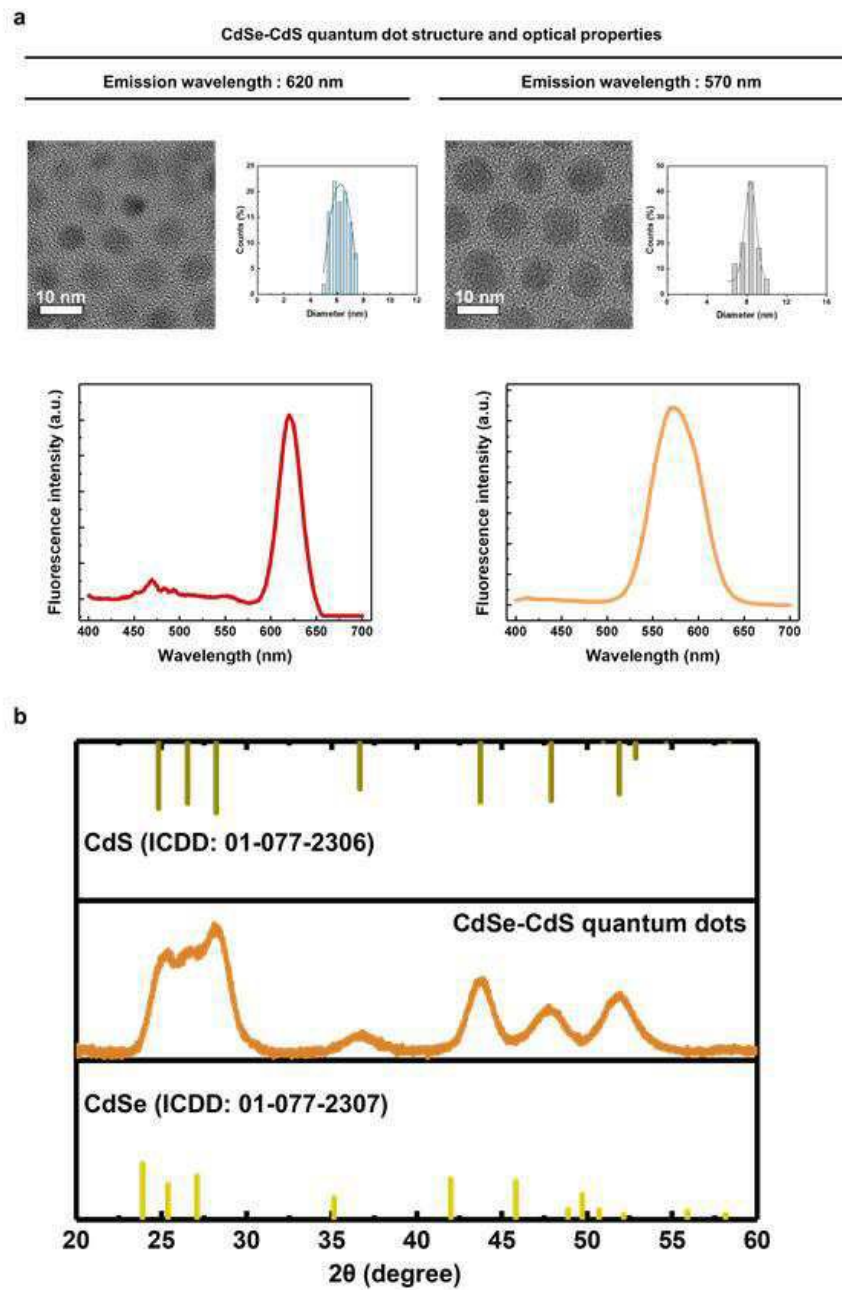
- [0145] 상기 Adenovirus, Rotavirus, RSV, Influenza A/B virus, Norovirus 항체로 표면기능화된 자성-광학 복합기능 나노입자 각각의 용액의 농도를 1/10으로 낮추고, 최소 2 μ L의 자성-광학 복합기능 나노입자 용액을 해당하는 바이러스 항원 50 μ L와 96 웰 플레이트(96 well plate)에서 섞은 후에 항체 기능화된 나이트로셀룰로스 멤브레인(nitrocellulose membrane)과 최소 10 분간 반응시켰으며, 추가로 10분 동안 rapid buffer를 흘려주어 비특이적 결합을 최소화하였다. 그리고 형광진단 기기에 넣어 검지하였다.
- [0146] 자성을 이용한 항원 농축 실험은 다음과 같이 진행하였다. 상기 Adenovirus, Rotavirus 항체로 표면기능화된 복합기능 나노입자 용액의 농도를 1/10으로 낮추고 최소 20 μ L의 복합기능 클러스터 나노입자 용액을 해당하는 바이러스 항원 500 μ L와 마이크로튜브에 넣은 후 피펫팅(pipeting)하여 반응시킨다. 그리고 영구자석을 마이크로튜브 하단에 위치시켜 10분간 자성 농축을 진행한 후, 상층액을 제거하고 50 μ L의 rapid buffer에 재분산한다. 이를 96 웰 플레이트로 옮긴 후, 항체 기능화된 나이트로셀룰로스 멤브레인과 최소 10분간 반응시켰으며, 추가로 10분 동안 rapid buffer를 이용하여 비특이적 결합을 최소화하였다. 그리고 형광진단 기기에 넣어 검지하였다.
- [0147] 또한 카복시기 기능화된 자성-광학 복합기능 나노입자를 U87MG 세포와 1시간 동안 배양(incubation)하고, 고정(fixation)하였다. 그리고 DAPI(4 '6-diamidino-2-phenylidole)를 이용하여 세포핵 염색을 진행하였으며, 공초점 레이저 주사현미경(Confocal Microscopy)으로 측정하였다.
- [0149] 도 5에서 (a)는 자성-광학 복합기능 나노입자에 항체를 수식하고 그에 따른 항원을 자성 농축하고 형광 검지하는 과정을 나타내는 모식도이다.
- [0150] (b)는 자성-광학 복합기능 나노입자를 이용하여 Adenovirus, Rotavirus, RSV, Influenza A/B virus, Norovirus를 정량적으로 형광검지한 데이터를 나타낸다.
- [0151] 또한, (c)는 자성-광학 복합기능 나노입자를 이용하여 뇌종양세포(U87MG 세포)를 공초점 현미경으로 영상화한 결과를 나타낸다. 이때, 파란색은 DAPI로 염색된 세포핵이고 빨간색은 자성-광학 복합기능 나노입자를 나타낸다.
- [0152] 도 5(b)를 통해, 감염 농도에 따라 형광세기가 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있으며, 자성 농축 시 저농도 항원에서의 형광 세기가 농축을 진행하지 않은 샘플에 비하여 증가한 것을 확인할 수 있다. 또한, 도 (c)를 통해, 파란색으로 염색된 세포핵 주변에 빨간색 자성-광학 복합기능 나노입자가 분포되어 세포 이미징이 가능한 것을 확인할 수 있다.

도면

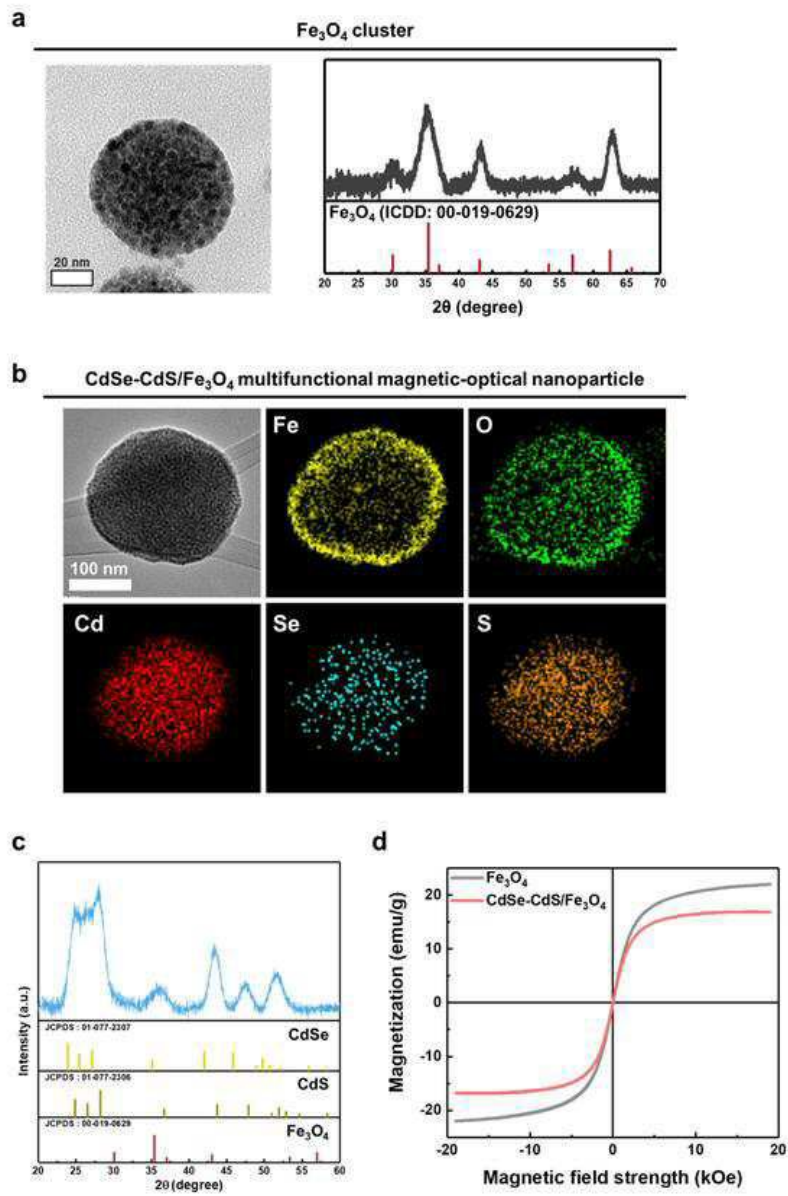
도면1



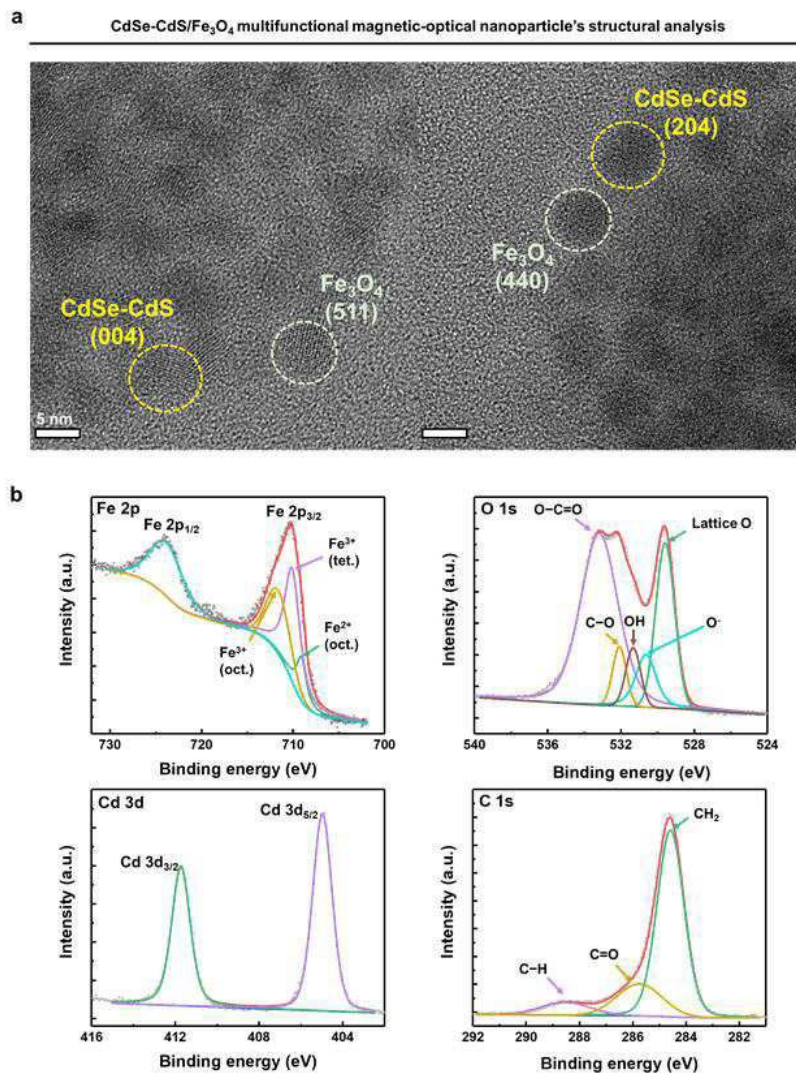
도면2



도면3



도면4



도면5

