(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0127443
(43) 공개일자 2010년12월06일

(51) Int. Cl.
A61B 10/00 (2006.01) *G01N 33/48* (2006.01)
G01N 21/62 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0045885
(22) 출원일자 2009년05월26일
심사청구일자 2009년05월26일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
손상욱
서울특별시 중랑구 면목동 89-57
김명곤
서울특별시 성북구 안암동5가 고려대학교 의과대학 분자생화학교실
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한양특허법인

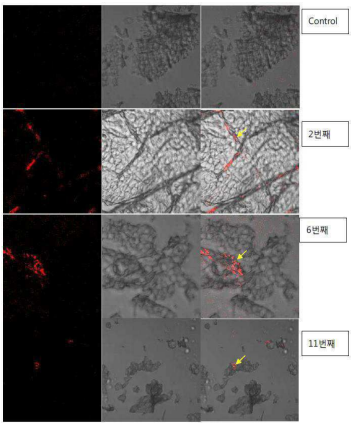
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 나노 물질의 피부 침투 평가 방법

(57) 요 약

본 발명은 1) 피부 상에 나노 물질을 도포하는 단계; 2) 나노 물질이 도포된 피부 상에 테이프를 부착하는 단계; 3) 상기 테이프를 제거하는 단계; 및 4) 상기 테이프에 부착된 나노물질을 현미경으로 관찰하는 단계를 포함하는 나노 물질의 피부 침투 평가 방법을 제공한다. 본 발명에 따른 방법은 나노 물질의 피부 침투 여부 및 피부 침투 깊이를 빠른 시간 내에 간단하고 정확하게 평가할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

최병혁

서울특별시 노원구 상계동 주공6단지 606-1509

박윤희

서울특별시 성북구 종암2동 SK아파트 102동 1901호

김지나

강원도 철원군 갈말읍 지경리 5반

정상훈

서울특별시 동대문구 제기2동 1151-9 타이거하우스 고시텔 102호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 08162나노독546

부처명 식품의약품안전청(국립독성과학원)

연구관리전문기관

연구사업명 연구용역사업

연구과제명 (2세부)나노물질의 피부독성 평가 연구

기여율

주관기관 고려대학교 의무산학협력단

연구기간 2008-03-13 ~ 2008-11-30

특허청구의 범위

청구항 1

1) 피부 상에 나노 물질을 도포하는 단계;

2) 나노 물질이 도포된 피부 상에 테이프를 부착하는 단계;

3) 상기 테이프를 제거하는 단계; 및

4) 상기 테이프에 부착된 나노물질을 현미경으로 관찰하는 단계

를 포함하는 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 3) 단계에서 제거된 테이프를 투명 기판에 부착하는 단계를 추가로 포함하는 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 1) 단계의 나노 물질이 현미경으로 식별가능한 특성을 갖는 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 나노 물질은 형광 파장값을 갖는 물질인 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 나노 물질은 퀀텀 도트(Quantum Dots)인 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 현미경은 공초점 현미경(confocal microscopy), 형광현미경 또는 라만 현미경인 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 3) 단계에서 제거된 테이프에 부착된 나노 물질을 현미경으로 식별가능하도록 표지하는 단계를 추가로 포함하는 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 표지된 나노 물질이 부착된 테이프를 투명 기판에 부착하는 단계를 추가로 포함하는 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 9

청구항 7에 있어서, 상기 표지하는 단계는 자체 형광 발현 나노 물질을 부착(labeling)함으로써 수행하고, 상기 현미경은 형광 현미경인 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 표지하는 단계는 테이프에 부착된 나노 물질을 링커(linker) 용액에 침지(deeping)하고, 에이징(aging)한 뒤 세척(washing)하고, 그 다음 아민-작용화된 퀀텀 도트 용액(Amine-functionalized QDs solution)에 침지(deeping)하여 반응시킴으로써 수행하는 것인 피부 침투 평가 방법.

청구항 11

청구항 7에 있어서, 상기 표지하는 단계는 테이프에 부착된 나노 물질을 라만 리포터(Raman reporter) 용액에 침지(deeping)하고, 에이징(aging)한 뒤 샘플을 세척함으로써 수행하고, 상기 현미경은 SERS(surface-enhanced

Raman scattering) 기술을 이용한 라만 현미경(Raman microscope)인 것인 피부 침투 평가 방법.

청구항 12

청구항 1에 있어서, 평가 과정 도중 얇은 접착력이 있는 테이프를 나노 물질이 도포된 피부 위에 덮어두는 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 13

청구항 1내지 12중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 2) 단계 내지 4) 단계를 반복함으로써 나노 물질의 침투 깊이를 측정하는 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 상기 2) 단계 내지 4) 단계를 10회 이상 반복 수행하는 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

청구항 15

청구항 13에 있어서, 상기 4) 단계 이후에 현미경으로 관찰된 나노 물질의 양을 수치화하는 단계를 추가로 포함하는 것인 나노 물질의 피부 침투 평가 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 나노 물질의 피부 침투 평가 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 나노 물질의 피부 침투 여부 및 피부 침투 깊이를 빠른 시간 내에 간단하게 평가할 수 있는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 나노 물질은 최근 들어 그 효용성으로 인하여 사회적으로 과학적으로 많은 이슈가 되고 있다. 세탁기나 세제 등에 은 나노 물질이 첨가되는 것과 같이, 실제 많은 상품들에 나노 물질이 응용되고 있으며, 그 중 형광발산(Fluorescence Emission) 값을 가지는 나노 물질은 의학계에서 새로운 진단 기술로 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나, 나노 물질이 정말 안전한가 하는 물음을 가지기 시작하면서 사회적으로도 나노 물질이 들어간 상품들의 사용권한을 두고 문제가 계속적으로 생기자 나노 물질 독성의 연구가 진행되어 왔다. 그러나, 그 연구 수준이 매우 미비한 상태이며, 특히 나노 물질의 독성을 평가할 수 있는 기준이 없어 더욱 문제가 커지고 있다.

[0003] 우리 몸의 가장 기본적인 방어 기능을 수행하는 피부는 외부환경과 감염 등에 대한 일차 방어선이고, 이것이 무너지면 각종 질환에 걸리거나 신체의 변화를 겪게 된다. 피부는 크게 표피층과 진피층으로 나눌 수 있다. 또한 이것은 각각 5개의 층, 즉 각질, 투명, 과립, 유극 및 기저와, 2개의 층, 즉 유두 및 망상으로 이루어지며, 이중 일차방어선 역할을 하는 것이 각질층(stratum corneum)이다. 만약 나노 물질이 상기 각질층을 통과하여 진피내로 이동하면, 이 일차방어가 무너진다는 것이고, 나노 물질이 혈류를 통하여 이동하여 다른 장기나 조직에서 문제를 야기할 수 있다.

[0004] 종래의 나노 물질의 피부독성 평가 방법으로서, 테이프 제거법(tape-strippping)은 나노 물질을 피부에 도포하고 일정 시간이 지난 후 테이프를 나노 물질의 도포 부위에 붙였다가 떼어내는 것을 반복하여 테이프에 묻어 나온 피부층을 액체 크로마토그래피(Liquid Chromatography)에 녹여 분석하는 방법이다. 이 테이프 제거법은 가장 바깥쪽의 피부세포를 차례로 제거하므로 그 단계별로 피부 침투(흡수)의 정도를 평가할 수 있으며, 피부 깊이에 따라 줄어드는 양도 확인이 가능하다. 그러나, 종래의 테이프 제거법은 테이프에 의하여 피부로부터 제거된 나노 물질을 액체 크로마토그래피에 의하여 분석하여야 하는데, 그 방법이 매우 까다롭고 번거로우며, 상기 분석에 소요되는 시간이 비교적 많이 필요하고, 나노 물질의 물성 또는 사이즈에 따라 피부에 침투된 나노 물질이 충분히 검출되지 않을 수 있으며, 작은 실수에도 측정값의 변화가 크다는 단점이 있다.

[0005] 따라서, 당기술분야에서는 나노 물질이 피부에 침투 또는 흡수되는지 여부 및 피부 표면으로부터 어느 정도의 깊이까지 침투 또는 흡수되는지를 단시간 내에 보다 간단하고, 보다 정확하게 측정할 수 있는 방법의 개발이 요

구되고 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0006] 전술한 종래 기술의 문제를 해결하기 위하여, 본 발명은 나노 물질의 피부 침투 여부 및 피부 침투 깊이를 빠른 시간 내에 간단하고 정확하게 평가할 수 있는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

[0008] 1) 피부 상에 나노 물질을 도포하는 단계;

[0009] 2) 나노 물질이 도포된 피부 상에 테이프를 부착하는 단계;

[0010] 3) 상기 테이프를 제거하는 단계; 및

[0011] 4) 상기 테이프에 부착된 나노물질을 현미경으로 관찰하는 단계

[0012] 를 포함하는 나노 물질의 피부 침투 평가 방법을 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 실시상태에 따르면, 상기 3) 단계에서 제거된 테이프를 투명 기판에 부착하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0014] 본 발명의 일 실시상태에 따르면, 상기 3) 단계에서 제거된 테이프에 부착된 나노 물질을 현미경으로 식별가능하도록 표지하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0015] 본 발명의 일 실시상태에 따르면, 상기 1) 단계의 나노 물질이 현미경으로 식별가능한 특성을 갖는 것일 수 있다. 예컨대, 상기 현미경은 공초점 현미경으로서, 상기 나노 물질은 퀀텀 도트(Quantum Dots)를 포함한 형광 파장값을 갖는 물질일 수 있다.

효 과

[0016] 기존의 평가법은 나노물질에 노출된 피부 조직을 직접 생검(biopsy) 하여 전자현미경으로 평가하여야 하지만, 이는 검사시에 통증을 유발하고 검사 후에 피부에 흉터를 남기는 문제 등이 있으며, 또한 종래의 테이프 제거법인 테이프에 묻어 있는 나노물질을 용매로 추출하여 크로마토그래피(chromatography) 등으로 검출하는 것은 나노 물질의 크기가 너무 작고 피부 각질층으로 투과되는 양이 매우 제한적이므로 검출이 어려웠다. 그러나, 본 발명에 따르면, 일차방어에 중요한 각질층을 나노물질이 침투(흡수)하는지에 대하여, 종래의 테이프 제거법과 같이 액체 크로마토그래피 분석을 하여야 하는 번거로움 없이, 테이프를 이용하여 추출된 나노 물질을 바로 그리고 직접적으로 현미경 영상을 통하여 확인 및 평가할 수 있고, 그 평가 결과 또한 종래기술에 비하여 정확하고 평가 조건에 따른 편차가 적은 이점이 있다. 따라서, 본 발명은 나노 물질의 피부 침투 여부 및 피부 침투 깊이를 빠른 시간 내에 간단하고 정확하게 평가할 수 있는 방법을 제공할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0017] 이하에서 본 발명에 대하여 상세히 설명한다.

[0018] 본 발명에 따른 나노 물질의 피부 침투 평가 방법은

[0019] 1) 피부 상에 나노 물질을 도포하는 단계;

[0020] 2) 나노 물질이 도포된 피부 상에 테이프를 부착하는 단계;

[0021] 3) 상기 테이프를 제거하는 단계; 및

[0022] 4) 상기 테이프에 부착된 나노물질을 현미경으로 관찰하는 단계

[0023] 를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0024] 본 발명에 따른 방법에 있어서, 상기 1) 단계는 피부 상에 나노 물질을 도포하는 단계이다.

[0025] 상기 1) 단계의 나노 물질은 현미경으로 식별가능한 특성을 갖는 것일 수 있다. 예컨대, 상기 현미경은 공초점 현미경으로서, 상기 나노 물질은 퀀텀 도트(Quantum Dots)를 포함한 형광 파장값을 갖는 물질일 수 있다. 상기 형광 파장값은 상기 물질의 고유 특성일 수도 있으며, 인위적인 방법으로 나노 물질에 부여된 특성일 수도 있다.

[0026] 상기 퀀텀 도트는 일반적으로 100~100,000 개의 반도체원자로부터 만들어지는 10 nm 이하의 미결정으로, 일반 형광 염료나 형광 단백질에 비해 넓은 흡수 파장 대역을 가지면서 안정적인 발광특성을 보이며, 입자의 크기 및 조성에 따라 가시광선에서 근적외선 영역이 이르는 다양한 발광 특성을 가지므로 특정 유전자나 단백질, 암세포 등에 대한 형광 표지자로서 바이오 이미징, 약물 전달 시스템 등 넓은 범위에서 그 응용이 보고되고 있다. 이와 같이, 피부 침투 평가 대상이 되는 나노 물질 자체가 형광 나노 물질의 경우 추가의 표지 단계 없이 테이프에 의하여 제거된 나노 물질을 바로 관찰할 수 있다는 점에서 가장 쉽고 편리하다.

[0027] 그러나, 자체 형광 성질이 없는 나노 물질의 경우에도 다른 장비를 사용하거나 퀀텀 도트(quantum dot)와 같은 자체 형광 나노 물질을 부착(labeling)하여 검출할 수 있다. 이와 같은 부착(labeling)은 상기 나노 물질을 피부 도포 전에도 할 수 있으나, 피부에의 독성을 방지하고, 나노 물질의 피부 침투 정도 및 깊이의 측정결과에 미치는 영향을 배제하기 위하여 상기 3) 단계의 테이프 제거 후 상기 4) 단계의 현미경 관찰 전에 수행하는 것이 바람직하다.

[0028] 상기 나노 물질이란 입경이 1nm 내지 500nm, 바람직하게는 1nm 내지 100nm인 물질을 의미하며, 그 종류에 특별히 한정되지 않고, 유기물, 무기물 또는 유무기 착물일 수도 있다.

[0029] 상기 피부는 인간, 개, 고양이, 돼지 등을 포함한 모든 포유류의 피부일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0030] 상기 나노 물질은 용매에 희석하여 피부에 도포할 수 있으며, 이 때 희석 농도나 용매의 종류는 나노 입자의 종류와 그 사용 용도에 따라 당업자가 결정할 수 있다. 예컨대, 나노 물질을 PBS 또는 D/W에 희석하여 사용할 수 있다.

[0031] 상기 나노 물질은 예컨대 10 ~ 100 μl의 양으로 피부에 도포될 수 있다.

[0032] 상기 1) 단계에 있어서, 나노 물질의 도포 시에 도포의 범위가 너무 넓으면 그 침투 평가가 넓어진 범위만큼 양이 퍼지는 것과 같으므로 도포 범위의 규정이 중요하다. 나노 물질의 도포 시에 그 범위는 한정적으로 실험을 행하는 연구자 내에서 정할 수 있다. 예컨대, 상기 나노 물질의 2.5 cm X 2.5 cm의 피부 면적에 도포할 수 있으나, 이에 의하여 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명에 있어서, 평가 과정 도중 피부에 사용하는 얇은 접착력이 있는 테이프를 나노 물질이 도포된 피부 위에 덮어둠으로써 나노 물질이 넓게 퍼지는 것을 막고 액체의 기화 현상 역시 막을 수 있다. 그러나, 이와 같은 과정을 필수적인 것은 아니다.

[0034] 상기 나노 물질의 도포 후 실험에 따라 나노 물질이 피부로 침투할 수 있는 시간을 조정할 수 있다. 본 발명에 따른 방법의 수행자는 연구 계획 평가 목적 및 평가 대상에 따라 나노 물질의 침투 시간을 결정할 수 있으며, 예컨대 수 시간에서 수 일간의 경과를 평가할 수 있다.

[0035] 본 발명에 따른 방법에 있어서, 상기 2) 단계는 나노 물질이 도포된 피부 상에 테이프를 부착하는 단계이고, 상기 3) 단계는 상기 테이프를 제거하는 단계이다. 상기 2) 단계 및 3) 단계에서는 테이프를 동일한 압력으로 부착하였다가 제거하는 것이 바람직하다. 이와 같이 하는 경우 피부 세포 및 나노 물질이 압력 내에서의 테이프에 묻고 제거되므로 실험의 정확도를 높일 수 있다. 예컨대, 기계를 이용하여 같은 힘으로 테이프를 붙였다 떼었다를 반복하는 것이 바람직하다. 또한, 기계가 없을 시에는 롤러(roller)를 사용하여 일정한 압력으로 테이프가 부착되도록 하고, 같은 실험자가 모든 실험에서 동일한 속도로 천천히 제거하도록 함으로써 최대한 실험 환경을 맞추도록 하는 것이 바람직하다. 이 때 상기 3) 단계에서의 제거는 롤러(roller) 등을 이용하여 테이프가 부착한 후 바로 수행할 수 있으나, 연구 계획, 평가 목적 및 평가 대상 물질에 따라 부착 후 제거 전까지의 시간을 조정할 수 있다.

[0036] 상기 테이프로는 당기술분야에 알려져 있는 것을 사용할 수 있으며, 일반적으로 시판되는 투명 스카치 테이프를 사용할 수도 있다.

[0037] 본 발명에 있어서, 상기 3) 단계에서 제거된 테이프를 투명 기판에 부착하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 투명 기판은 유리 기판, 플라스틱 기판일 수 있다. 본 발명에서는 테이프를 편평한 투명 기판에 부착함으로

써 형광 현미경으로 검출 시에 문제될 수 있는 형광 백그라운드(background)(pseudo- 또는 auto-fluorescence)의 발생을 제거할 수 있다.

[0038] 투명 기판은 매우 투명하고, 특히 자체 형광 발현의 특성이 있는 물질이 함유되어 있지 않는 것이 바람직하다. 투명 기판의 투과도는 50% 이상, 바람직하게는 70% 이상, 더욱 바람직하게는 85% 이상인 것이 좋다. 투명 기판의 두께는 얇을수록 바람직하고, 예컨대 0.5 cm 이하인 것이 바람직하다. 또한, 투명기판의 표면은 고르고 평편한 것이 바람직하다.

[0039] 본 발명에 있어서, 상기 3) 단계에서 제거된 테이프에 부착된 나노 물질을 현미경으로 식별가능하도록 표지하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이와 같이 나노 물질을 테이프를 이용하여 떼어낸 후 표지하는 경우, 피부 도포 전에 표지하는 것에 비하여 피부 독성을 피할 수 있고, 표지 물질이 나노 물질의 피부 침투 여부 및 침투 깊이의 측정 결과에 영향을 미치는 것을 방지하여 측정치의 정확도를 높일 수 있다.

[0040] 본 발명의 일 실시상태에 따르면, 자체 형광 성질이 없는 나노 물질의 경우, 퀀텀 도트(quantum dot)과 같은 자체 형광 발현 나노 물질을 부착(labeling)함으로써 하여 형광 현미경으로 검출할 수 있다. 구체적인 예로서, 나노 물질이 부착된 테이프를 링커(linker) 용액에 침지(deeping)하고, 에이징(aging)한 뒤 샘플을 꺼내 세척(washing)하고, 그 다음 아민-작용화된 퀀텀 도트 용액(Amine-functionalized QDs solution)에 침지(deeping)하여 반응시키는 방법을 이용할 수 있다. 이와 같이 표지한 샘플을 꺼내 형광 현미경(Fluorescence microscope)을 이용하여 검출할 수 있다.

[0041] 여기서, 상기 링커 용액으로는 검출하고자 하는 나노 입자와 표지하는 퀀텀 도트와 모두 결합할 수 있는 화합물을 포함하는 용액이면 좋고, 그 종류는 특별히 한정되지 않는다. 예컨대, 링커 용액으로서 티올(thiol)기와 카복실산(carboxylic acid)기를 갖는 화합물, 예컨데 12-머캅토도데카노산(12-Mercaptododecanoic acid)의 용액을 사용할 수 있다. 이 경우 나노 입자와 링커의 티올기가 공유결합하고, 링커의 카복실산기와 퀀텀 도트의 아민기가 정전기적 인력(electrostatic interaction)에 의하여 결합된다. 보다 선택적인(selective) 결합을 위해서는 링커와 표지자인 퀀텀 도트를 EDC/NHS 커플링(coupling)으로 결합시킬 수도 있다. 상기 링커 용액의 농도는 목적에 따라 당업자가 결정할 수 있다.

[0042] 본 발명의 또 하나의 실시상태에 따르면, 나노 물질이 부착된 테이프를 라만 리포터(Raman reporter) 용액에 침지(deeping)하고, 에이징(aging)한 뒤 샘플을 꺼내 세척한다. 이와 같이 표지한 나노 물질의 양은 SERS(surface-enhanced Raman scattering) 기술을 이용하여 라만 현미경(Raman microscope)으로 검출할 수 있다. 상기 라만 리포터(Raman reporter)로는 당업자가 목적에 따라 선택할 수 있으며, 예컨대 멜라카이트 그린 이소티오시아네이트(Malachite Green Isothiocyanate)를 사용할 수 있다. 멜라카이트 그린 이소티오시아네이트는 금, 은과 같은 금속 나노 입자와 공유결합성을 가질 수 있다. 그러나, 본 발명의 범위가 상기 예시한 표지 방법들에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0043] 본 발명에 따른 방법에 있어서, 상기 4) 단계는 상기 테이프에 부착된 나노 물질을 현미경으로 관찰하는 단계이다.

[0044] 상기 나노 물질을 관찰할 수 있는 현미경의 종류로는 공초점 현미경(confocal microscopy), 형광현미경, 라만 현미경 등이 있다.

[0045] 공초점 현미경은 레이저(laser)에서 조사된 일정파장의 빛이 시료에 닿고 그에 의해서 여기(excitation)되어 발산(emission)되는 빛이 공초점 조리개(confocal aperture)를 통과하여 검출기(detector)에 닿는 원리를 이용한다. 이것은 초점이 맞지 않는 발산 광(emission light)을 공초점 조리개(confocal aperture, iris, pinhole)라는 조리개를 통하여 차단시키므로, 초점이 일치하는 부분의 빛만을 검출기(detector)가 받아들여 콘트라스트(contrast) 차이를 증가시킴으로 전체적인 해상력(resolution)의 향상을 나타나게 된다. 이로서 광원을 통한 형광 값의 3차원 이미지(image) 구성이 용이하다.

[0046] 본 발명에 따른 방법은 상기 4) 단계 이후에 현미경으로 관찰된 나노 물질의 양을 수치화하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0047] 예컨대, 도 2에 도시한 바와 같이, 제거되는 테이프의 숫자와 제거되는 각질층의 두께를 고려하여 투과 윤곽도(penetration profile)를 도식화할 수도 있다.

[0048] 본 발명에 따른 방법은 상기 2) 단계 내지 4) 단계를 나노 물질이 검출되지 않을 때까지 반복함으로써 나노 물질의 침투 깊이를 측정할 수도 있다. 반복 횟수는 실험에 맞게 결정하되, 각질층 아래로의 침투력을 확인하기

위해 10회 이상은 수행하는 것이 바람직하다. 상기 단계들은 나노 물질이 검출되지 않을 때까지 반복 수행하는 것이므로, 반복 횟수의 상한은 제한되지 않는다.

[0049] 본 발명에 따르면, 나노 물질이 피부를 침투할 수 있는지에 대해 간단히 현미경 상에서 빠르고 쉽게 확인할 수 있다. 특히, 나노 물질에 노출된 환경에서 행하여지는 산업 현장에 나노 물질의 노출이 있는지, 나노 물질에 노출되는 산업에 종사하거나 직접적으로 접촉하는 사람들, 또는 나노 물질이 함유된 제품에 피부가 단기 혹은 장기간 접촉하는 경우 나노물질의 피부 침투 정도를 빠르고 쉽게 확인할 수 있다. 또한 시중에 판매되는 나노 물질이 들어 있는 용품이 피부 침투가 이루어지는 지에 대하여 간단히 빠르게 확인할 수 있다.

[0050] 실시예

[0051] 형광 나노물질인 Quantum Dot(QD)565-COOH (Qdot® ITK™ Carboxyl Quantum Dots, invitrogen.co, 원 농도 8uM)를 10배 희석하여 피실험자의 팔 안쪽(2.5 cm X 2.5 cm의 피부 면적)에 20ul를 분주하였다. 그 후 피부에 사용하는 얇은 접착력이 있는 테이프를 이용하여 넓게 퍼지지 않도록 주의하여 덮었다. 4시간 후에 테이프 제거법(tape-stripping)으로 피부세포를 떼어내어 현미경 슬라이드 글라스에 붙였다. 각질층 아래로의 침투력을 확인하기 위해, 테이프의 부착 및 제거를 12회 수행하였으며, 2번째, 6번째 그리고 11번째의 공초점 현미경 영상을 확인하고, 그 결과를 도 1에 나타내었다. control은 오른쪽 팔 안쪽에 나노 물질의 도포 없이 전술한 실험을 적용한 결과이다.

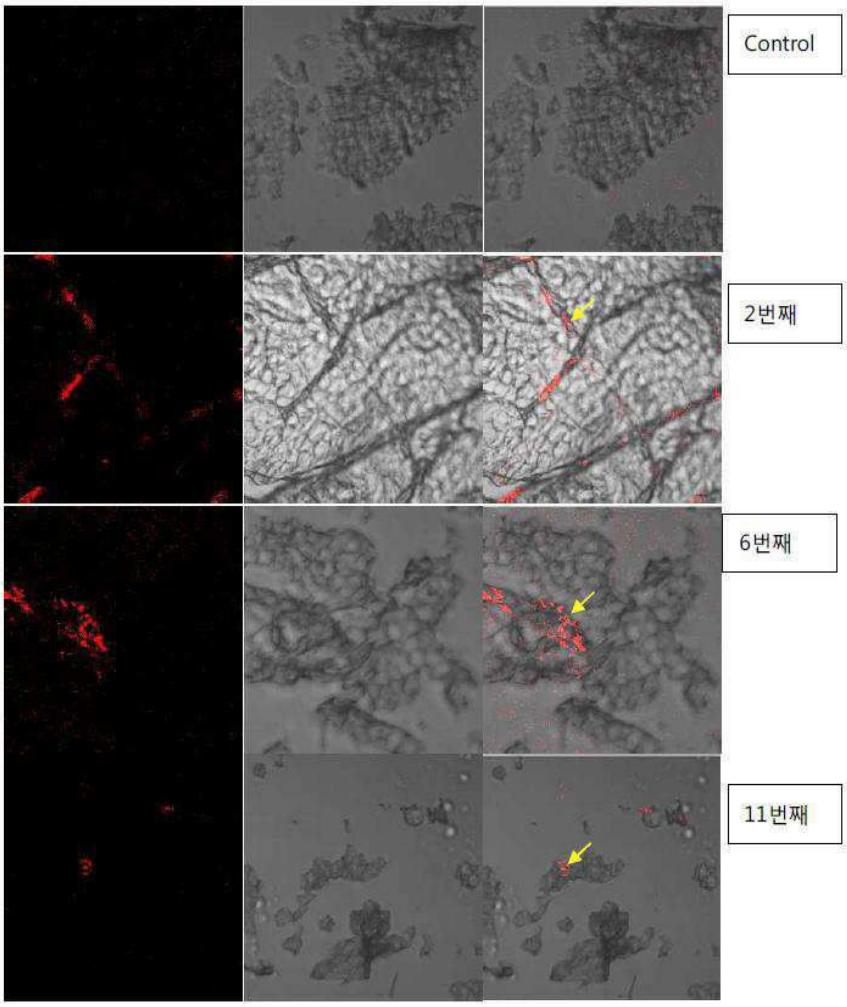
도면의 간단한 설명

[0052] 도 1은 실시예에 따른 테이프 제거법을 이용한 인간 피부 침투 공초점 현미경 영상이다.

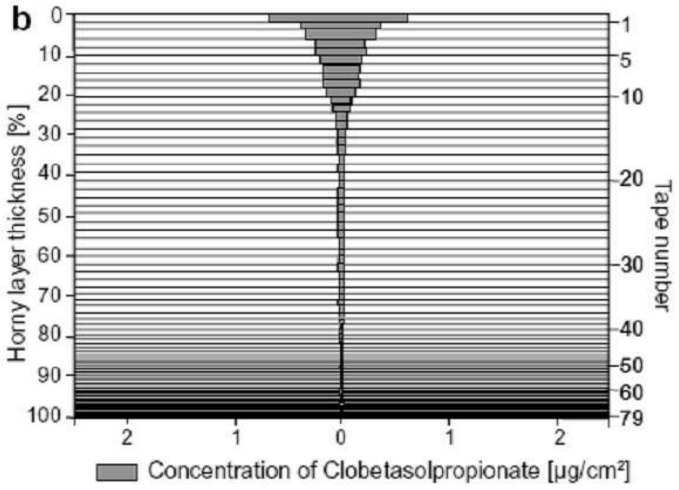
[0053] 도 2는 스테로이드의 일종인 클로베타졸(clobetasol)의 투과 윤곽도(penetration profile)를 예시한 것이다.

도면

도면1


Control
2번째
6번째
11번째

도면2


b
Horny layer thickness [%]
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
Tape number
1
5
10
20
30
40
50
60
79
2
1
0
1
2
Concentration of Clobetasolpropionate [μg/cm²]