



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0000589
(43) 공개일자 2018년01월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/544 (2006.01) C07C 211/36 (2006.01)
C07C 229/24 (2006.01) C07C 229/26 (2006.01)
C07C 321/08 (2006.01) G01N 21/552 (2014.01)
G01N 33/543 (2006.01) G01N 33/574 (2006.01)
G01N 33/84 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/544 (2013.01)
C07C 211/36 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0078809

(22) 출원일자 2016년06월23일

심사청구일자 2016년06월23일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

양재문

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 뇌심혈관연구센터)

홍유찬

서울특별시 서대문구 연세로 50-1 연세의료원
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 천지

전체 청구항 수 : 총 14 항

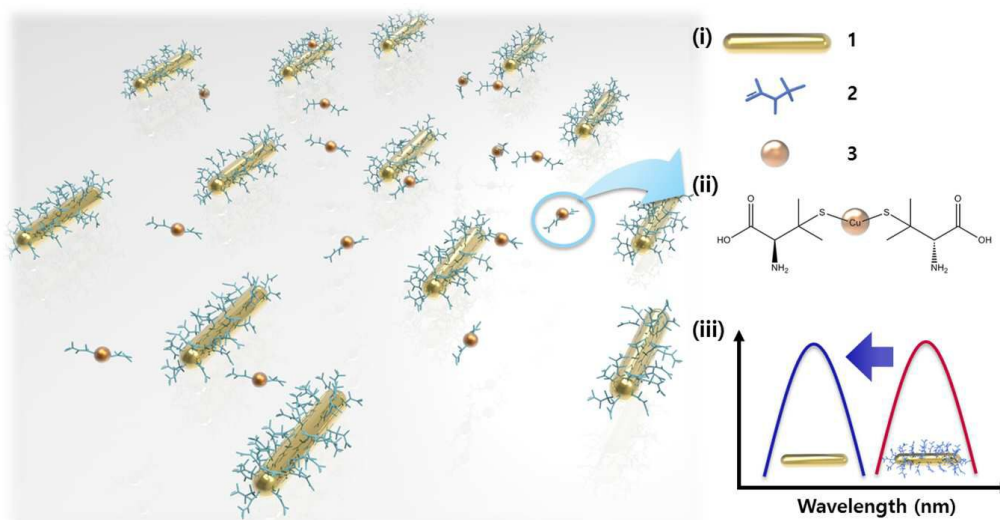
(54) 발명의 명칭 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브, 이를 이용한 이온 검출 방법 및 이온 검출 센서

(57) 요약

본 발명은 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브, 이를 이용한 이온 검출 방법 및 이온 검출 센서에 관한 것으로서, 상기 프로브는 금속 나노 구조체, 그리고 상기 금속 나노 구조체에 이온 결합되며, 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 이온 킬레이터(ion chelator)를 포함한다.

상기 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브는 종양의 미세 환경과 관련된 특이적 마커인 체내 미량의 이온의 함량 및 변화를 측정함으로써 암 발전 가능성 및 암 조기 진단이 가능하며, 상기 국소 표면 플라즈몬 공명 신호를 이용하여 이를 효율적이고 극초감도로 검지가 가능하다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C07C 229/24 (2013.01)
C07C 229/26 (2013.01)
C07C 321/08 (2013.01)
G01N 21/554 (2013.01)
G01N 33/54386 (2013.01)
G01N 33/574 (2013.01)
G01N 33/84 (2013.01)
G01N 2800/50 (2013.01)

조성재

서울특별시 동작구 사당로28길 23-4, 202호

(72) 발명자

박진성

서울특별시 성북구 종암로9나길 36, 101호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014R1A1A2059806

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 일반연구자지원사업(기본연구)

연구과제명 임상시료 기반 중앙 에너지 대사 메커니즘 이해를 통한 위암대사 실시간 영상 시스템 및
 미세환경 감지 기술 개발

기 여 율 1/2

주관기관 연세대학교

연구기간 2014.11.01 ~ 2017.04.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015R1A1A1A05027581

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 신진연구자지원사업(후속)

연구과제명 질병유발 환경 나노 독성 물질의 고감도 검출 기법 개발

기 여 율 1/2

주관기관 고려대학교

연구기간 2015.09.01 ~ 2018.08.31

명세서

청구범위

청구항 1

금속 나노 구조체, 그리고

상기 금속 나노 구조체에 이온 결합되며, 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 이온 킬레이터(ion chelator)를 포함하는

이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 금속 나노 구조체의 상기 금속은 금, 은, 구리, 알루미늄, 백금, 실리콘, 게르마늄, 이들의 합금 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 금속 나노 구조체의 형태는 원기둥, 사각기둥, 삼각기둥, 오각기둥, 육각기둥, 팔각기둥, 구, 반구, 구의 일부분, 타원구, 반타원구, 타원구의 일부분, 사각뿔, 사각쌍뿔, 사각뿔대, 삼각뿔, 삼각쌍뿔, 삼각뿔대, 원뿔, 원뿔대, 링 및 이들의 조합 형태로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

금속 나노 구조체는 금 나노 막대, 금 나노 구, 금 나노 정육면체 및 금 나노 삼각쌍뿔로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 금 나노 막대의 종횡비는 1:1 내지 10:1인 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 이온 킬레이터는 상기 검출 대상 이온에 배위결합되면 상기 금속 나노 구조체와의 이온 결합이 끊어지는 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 이온 킬레이터는 상기 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 전자 주개 치환기(electron donation group)를 포함하는 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

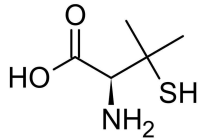
상기 전자 주개 치환기는 -SH, -NH₂, -NR₂, -OH, -OR, -NHC(O)R, -OC(O)R 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 치환기(여기서, R은 탄소수 1 내지 10의 알킬기이다)인 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 9

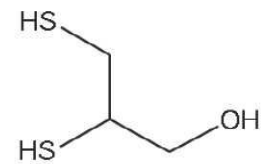
제 1 항에 있어서,

상기 금속 나노 구조체에 이온 결합되며, 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 이온 킬레이터는 하기 화학식 1 내지 7로 표시되는 화합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

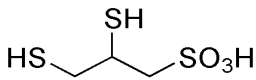
[화학식 1]



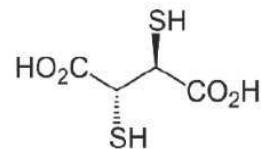
[화학식 2]



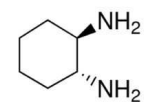
[화학식 3]



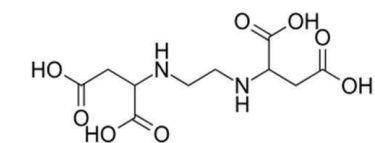
[화학식 4]



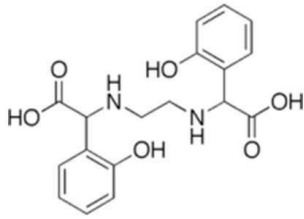
[화학식 5]



[화학식 6]



[화학식 7]



청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 검출 대상 이온은 철, 망간, 아연, 구리, 요오드, 코발트, 몰리브덴, 셀리늄, 크롬, 실리콘, 플루오르, 바나듐, 니켈, 비소, 납, 수은, 카드뮴, 칼슘, 마그네슘 및 주석으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 이온인 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 11

제 1 항에 있어서,

상기 프로브는 상기 금속 나노 구조체 100 중량부에 대하여 상기 이온 킬레이터를 1 내지 10000 중량부로 포함하는 것인 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브.

청구항 12

제 1 항에 따른 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브를 검출 대상 이온으로 처리하는 단계, 및

상기 금속 나노 구조체의 국소 표면 플라즈몬 공명 변화를 측정하는 단계

를 포함하는 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 방법.

청구항 13

제 1 항에 따른 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브,

상기 프로브에 광을 입사시키는 광원부, 그리고

상기 프로브의 국소 표면 플라즈몬 공명 변화를 측정하는 수광부

를 포함하는 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 센서.

청구항 14

제 13 항에 있어서,

상기 금속 나노 구조체는 기판 상에 형성되어 있는 것인 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 센서.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브, 이를 이용한 이온 검출 방법 및 이온 검출 센서에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 종양의 미세 환경과 관련된 특이적 마커인 체내 미량의 이온의 함량 및 변화를 측정함으로써 암 발진 가능성 및 암 조기 진단이 가능하며, 상기 국소 표면 플라즈몬 공명 신호를 이용하여 이를 효율적이고 극초감도로 검지가 가능한 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브, 이를 이용한 이온 검출 방법 및 이온 검출 센서에 관한 것이다.

배경 기술

[0001]

- [0002] 종래에 생체 시료의 검출 및 분석에 이용되는 대표적인 방법으로는 전기 영동법, 형광 분석법 등이 있다. 전기 영동법의 경우에는 재현성이 낮으며, 공장 자동화에 적합하지 않은 문제점이 있다. 또한, ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)법과 같은 형광 분석법의 경우, 형광 염료 가격 자체가 매우 비싼 편이며, 모든 생체 물질들을 균일하게 표지해야 한다는 단점이 있다. 이로 인하여 표면 플라즈몬 공명법이 대안으로 부각되고 있다.
- [0003] 금속 박막과 유전체의 경계면을 따라 진행하는 표면 전자기파를 표면 플라즈몬이라고 한다. 표면 플라즈몬 현상은 금속 박막 표면에 존재하는 전자들의 경우, 그 표면에 대하여 수직 방향으로 집단적인 진동을 양자화한 것이다. 이러한 표면 플라즈몬이 여기되는 현상을 표면 플라즈몬 공명 현상(Surface Plasmon Resonance, SPR)이라 한다. 표면 플라즈몬 공명 현상을 이용하는 SPR법은 광학적 원리를 이용하여 표지 물질 없이(non-labeling) 분자들 간의 상호작용을 측정할 수 있음과 동시에 반응의 진행상황을 실시간으로(real-time) 검출 및 분석할 수 있다.
- [0004] 최근에는 금속 박막이 아닌 금속으로 이루어진 nm 크기를 가지는 나노입자(dot 또는 particle), 나노막대(rod) 등의 금속 나노 구조체의 경우, 외부에서 입사되는 특정한 파장 영역대의 빛에 의해 전도대에 있는 전자들이 집단적으로 진동하게 되어 전기 쌍극자 특성을 띄게 된다. 그 결과, 해당 주파수 영역대의 빛을 강하게 산란 및 흡수를 하게 되는데, 이를 국소 표면 플라즈몬 공명(Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR)이라고 한다.
- [0005] LSPR의 산란과 흡수는 금속 나노 구조체의 외부 입사광 대한 흡광도 특성, 즉 표면 플라즈몬 흡수 밴드의 세기나 주파수가, 금속의 종류에 따라 다르고, 나노 입자가 놓여진 위치, 나노 입자의 크기, 모양, 입자 크기 분포에 따라 표면 플라즈몬 주파수가 민감하게 반응하는 특성을 가지고 있다. 주변 물질의 굴절률 변화에 크게 영향을 받으므로 이러한 성질들을 이용하여 생체분자 및 화학성분을 검출하는 바이오 센서 응용에 이용되고 있다.
- [0006] 그러나, 아직까지 상기 국소 표면 플라즈몬 공명 현상을 이용하여 종양의 미세 환경과 관련된 특이적 마커인 체내 미량의 이온의 함량 및 변화를 측정하고자 하는 시도는 없었다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0007] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 제2010-0026477호
(특허문헌 0002) 대한민국 공개특허 제2011-0038215호
(특허문헌 0003) 미국 공개특허 제2005/0181989호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 본 발명의 목적은 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브를 제공하는 것이다.
- [0009] 본 발명의 다른 목적은 상기 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브를 이용한 이온 검출 방법을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브를 이용한 이온 검출 센서를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 금속 나노 구조체, 그리고 상기 금속 나노 구조체에 이온 결합되며, 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 이온 킬레이터(ion chelator)를 포함하는 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브를 제공한다.
- [0012] 상기 금속 나노 구조체의 상기 금속은 금, 은, 구리, 알루미늄, 백금, 실리콘, 게르마늄, 이들의 합금 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [0013] 상기 금속 나노 구조체의 형태는 원기둥, 사각기둥, 삼각기둥, 오각기둥, 육각기둥, 팔각기둥, 구, 반구, 구의 일부분, 타원구, 반타원구, 타원구의 일부분, 사각뿔, 사각쌍뿔, 사각뿔대, 삼각뿔, 삼각쌍뿔, 삼각뿔대, 원뿔,

원뿔대, 링 및 이들의 조합 형태로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0014] 금속 나노 구조체는 금 나노 막대, 금 나노 구, 금 나노 정육면체 및 금 나노 삼각쌍뿔로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0015] 상기 금 나노 막대의 종횡비는 1:1 내지 10:1일 수 있다.

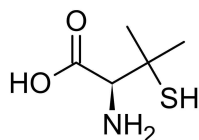
[0016] 상기 이온 킬레이터는 상기 검출 대상 이온에 배위결합되면 상기 금속 나노 구조체와의 이온 결합이 끊어지는 것일 수 있다.

[0017] 상기 이온 킬레이터는 상기 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 전자 주개 치환기(electron donation group)를 포함하는 것일 수 있다.

[0018] 상기 전자 주개 치환기는 -SH, -NH₂, -NR₂, -OH, -OR, -NHC(O)R, -OC(O)R 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 치환기(여기서, R은 탄소수 1 내지 10의 알킬기이다)일 수 있다.

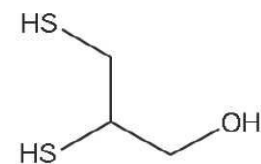
[0019] 상기 금속 나노 구조체에 이온 결합되며, 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 이온 킬레이터는 하기 화학식 1 내지 7로 표시되는 화합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0020] [화학식 1]



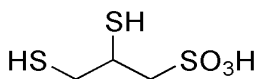
[0021]

[0022] [화학식 2]



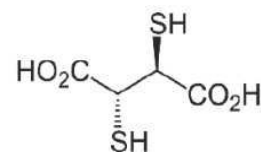
[0023]

[0024] [화학식 3]



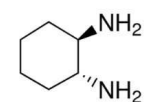
[0025]

[0026] [화학식 4]



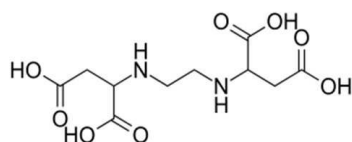
[0027]

[0028] [화학식 5]



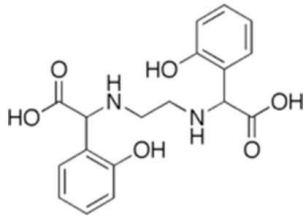
[0029]

[0030] [화학식 6]



[0031]

[0032] [화학식 7]



[0033]

[0034] 상기 검출 대상 이온은 철, 망간, 아연, 구리, 요오드, 코발트, 몰리브덴, 셀리늄, 크롬, 실리콘, 플루오르, 바나듐, 니켈, 비소, 납, 수은, 카드뮴, 칼슘, 마그네슘 및 주석으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 이온일 수 있다.

[0035] 상기 프로브는 상기 금속 나노 구조체 100 중량부에 대하여 상기 이온 킬레이터를 1 내지 10000 중량부로 포함할 수 있다.

[0036] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 상기 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브를 검출 대상 이온으로 처리하는 단계, 및 상기 금속 나노 구조체의 국소 표면 플라즈몬 공명 변화를 측정하는 단계를 포함하는 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 방법을 제공한다.

[0037] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 상기 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브, 상기 프로브에 광을 입사시키는 광원부, 그리고 상기 프로브의 국소 표면 플라즈몬 공명 변화를 측정하는 수광부를 포함하는 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 센서를 제공한다.

[0038] 상기 금속 나노 구조체는 기판 상에 형성되어 있을 수 있다.

발명의 효과

[0039] 본 발명의 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브는 종양의 미세 환경과 관련된 특이적 마커인 체내 미량의 이온의 함량 및 변화를 측정함으로써 암 발진 가능성 및 암 조기 진단이 가능하며, 상기 국소 표면 플라즈몬 공명 신호를 이용하여 이를 효율적이고 극초감도로 검지가 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0040] 도 1은 본 발명의 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 방법의 한 예시를 개략적으로 나타낸 그림이다.

도 2는 상기 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 센서를 개략적으로 나타낸 그림이다.

도 3은 제조예 1에서 제조된 금 나노 막대의 투과 전자 현미경(TEM) 사진이다.

도 4는 비교제조예 1에서 제조된 금 나노 막대의 투과 전자 현미경(TEM) 사진이다.

도 5는 제조예 1에서 제조된 물에 분산된 금 나노 막대에 대하여 흡광도 스펙트럼(absorbance spectra)를 측정한 결과이다.

도 6은 제조예 1에서 제조된 금 나노 막대가 결합된 기판에 대해서 서로 다른 굴절률을 가지는 용매의 변화에 따른 소멸 스펙트럼(extinction spectra)를 측정한 결과이다.

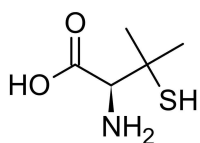
도 7은 제조예 1에서 제조된 금 나노 막대에 대하여 소멸 스펙트럼(extinction spectra) 검출 방법으로 구리 이온에 대한 민감도를 측정한 결과이다.

도 8은 제조예 1에서 제조된 금 나노 막대에 대하여 소멸 스펙트럼(extinction spectra) 검출 방법으로 구리 이온에 대한 선택성을 측정한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

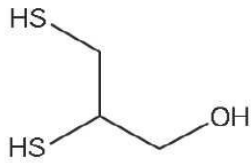
[0041] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 특정 실시예를 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

- [0042] 본 발명의 일 실시예에 따른 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브는 금속 나노 구조체, 그리고 상기 금속 나노 구조체에 이온 결합되며, 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 이온 킬레이터(ion chelator)를 포함한다.
- [0043] 상기 금속 나노 구조체의 재질, 형태 또는 크기에 따라서 플라즈몬 밴드 파장 영역이 달라지며 이에 따라 측정 감도 또한 달라질 수 있다. 따라서, 검출하고자 하는 이온의 종류에 따라서 상기 금속 나노 구조체의 재질, 형태 또는 크기를 적절하게 조절할 수 있다.
- [0044] 상기 금속 나노 구조체의 재질은 상기 국소 표면 플라즈몬 공명(Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR) 현상을 일으킬 수 있는 물질이면 본 발명에서 제한 없이 사용 가능하고, 일 예를 들면 금, 은, 구리, 알루미늄, 백금, 실리콘, 게르마늄, 이들의 합금 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 등을 사용할 수 있다.
- [0045] 또한, 상기 금속 나노 구조체의 형태는 상기 국소 표면 플라즈몬 공명 현상을 일으킬 수 있는 형태이면 본 발명에서 제한이 없고, 일 예를 들면 원기둥, 사각기둥, 삼각기둥, 오각기둥, 육각기둥, 팔각기둥, 구, 반구, 구의 일부분, 타원구, 반타원구, 타원구의 일부분, 사각뿔, 사각쌍뿔, 사각뿔대, 삼각뿔, 삼각쌍뿔, 삼각뿔대, 원뿔, 원뿔대, 링 및 이들의 조합 형태로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 등일 수 있다.
- [0046] 더욱 구체적으로 일 예를 들면, 상기 금속 나노 구조체는 금 나노 막대, 금 나노 구, 금 나노 정육면체 및 금 나노 삼각쌍뿔로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [0047] 이때, 상기 금속 나노 구조체가 100 nm 내지 150 nm, 110 nm 내지 140 nm, 또는 125 nm 내지 135 nm의 범위의 높이를 갖고 60 nm 내지 70 nm, 50 nm 내지 60 nm 또는 35 nm 내지 45 nm의 범위의 직경을 갖는 나노 막대인 경우, 플라즈몬 밴드 파장 영역이 길어져 측정 감도를 높일 수 있다.
- [0048] 이에 따라, 상기 금 나노 막대의 종횡비는 장축:단축의 길이비가 1:1 내지 10:1, 1:1 내지 8:1, 1:1 내지 6:1, 1:1 내지 5:1, 1:1 내지 4:1 또는 1:1 내지 3:1일 수 있다. 상기 금 나노 막대의 종횡비가 3:1 이상인 경우에는 흡광도 최고값이 650 nm 내지 1000 nm에서 형성되므로, 물에 대한 흡광도가 낮아 생체내에서도 이온의 검출 효율을 높일 수 있다.
- [0049] 한편, 상기 금속 나노 구조체 표면에는 이온 킬레이터(ion chelator)가 이온 결합된다.
- [0050] 상기 이온 킬레이터는 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는데, 상기 이온 킬레이터가 상기 검출 대상 이온에 배위결합되면, 상기 이온 킬레이터와 상기 금속 나노 구조체와의 이온 결합이 끊어지고, 상기 이온 킬레이터는 상기 금속 나노 구조체로부터 떨어져 나온다. 따라서, 상기 이온 킬레이터로는 상기 금속 나노 구조체에 이온 결합할 수 있으면서, 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있고, 상기 검출 대상 이온에 배위결합되면 상기 금속 나노 구조체로부터 떨어져 나올 수 있는 것이면 어느 것이나 사용 가능하다. 즉, 상기 이온 킬레이터는 상기 금속 나노 구조체 보다는 상기 검출 대상 이온에 대한 친화성이 더 높은 물질을 사용할 수 있다.
- [0051] 이를 위하여 상기 이온 킬레이터는 상기 검출 대상 이온에 배위결합할 수 있는 전자 주개 치환기(electron donation group)를 포함할 수 있다. 상기 전자 주개 치환기는 -SH, -NH₂, -NR₂, -OH, -OR, -NHC(O)R, -OC(O)R 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 치환기(여기서, R은 탄소수 1 내지 10의 알킬기이다)일 수 있고, 상기 검출 대상 이온의 종류에 따라서 상기 전자 주개 치환기의 종류를 적절하게 선택할 수 있다.
- [0052] 보다 구체적으로 예시하면, 상기 이온 킬레이터는 하기 화학식 1 내지 7로 표시되는 화합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [0053] [화학식 1]



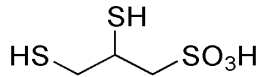
[0054]

[0055] [화학식 2]



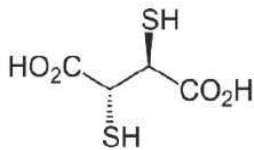
[0056]

[0057] [화학식 3]



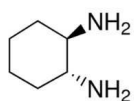
[0058]

[0059] [화학식 4]



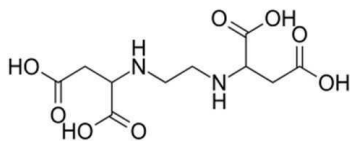
[0060]

[0061] [화학식 5]



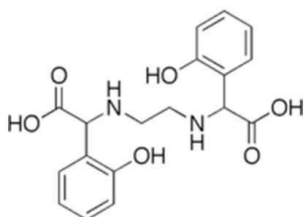
[0062]

[0063] [화학식 6]



[0064]

[0065] [화학식 7]



[0066]

[0067] 상기 검출 대상 이온은 철, 망간, 아연, 구리, 요오드, 코발트, 몰리브덴, 셀리늄, 크롬, 실리콘, 플루오르, 바나듐, 니켈, 비소 및 주석으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 이온일 수 있는데, 상기한 바와 같이 상기 검출 대상 이온의 종류에 따라서 상기 이온 킬레이터의 종류를 적절하게 선택할 수 있다.

[0068] 예를 들면, 상기 화학식 1로 표시되는 (2S)-2-아미노-3-메틸-3-설파닐-부타노익 애시드((2S)-2-amino-3-methyl-3-sulfanyl-butanoic acid, D-penicillamine)는 구리 이온의 검출에 바람직하게 사용될 수 있고, 상기 화학식 2로 표시되는 2,3-디설파닐프로판-1-올(2,3-Disulfanylpropan-1-ol, Dimercaprol or British anti-Lewisite, BAL)는 납 이온의 검출에 바람직하게 사용될 수 있고, 상기 화학식 3으로 표시되는 2,3-디머캡토-1-프로판설폰익 애시드(2,3-Dimercapto-1-propanesulfonic acid, DMPS)는 수은 이온의 검출에 바람직하게 사용될 수 있고, 상기 화학식 4로 표시되는 메조-2,3-디머캡토석시닉 애시드(meso-2,3-dimercaptosuccinic acid, DMSA)는 납, 수은, 카드뮴 등의 중금속 이온의 검출에 바람직하게 사용될 수 있고, 상기 화학식 5로 표시되는 1,2-디아미노시클로헥산-N,N,N',N'-테트라아세트릭 애시드(1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetic acid, CDTA)는 칼슘, 구리, 철, 마그네슘 등의 다양한 이온의 검출에 바람직하게 사용될 수 있고, 상기 화학식 6으로

표시되는 에틸렌디아민-N,N'-디석시닉 애시드(Ethylenediamine-N,N'-disuccinic acid, EDDS)는 철 이온의 검출에 바람직하게 사용될 수 있고, 상기 화학식 7로 표시되는 에틸렌디아민-N,N'-비스(2-히드록시페닐아세트릭 애시드)(ethylenediamine-N,N'-bis(2-hydroxyphenylacetic acid), EDDHA)는 철 이온의 검출에 바람직하게 사용될 수 있다.

- [0069] 상기 프로브는 상기 금속 나노 구조체 100 중량부에 대하여 상기 이온 킬레이터를 1 내지 10000 중량부로 포함할 수 있고, 바람직하게 100 내지 1000 중량부로 포함할 수 있다. 상기 이온 킬레이터의 함량이 상기 금속 나노 구조체 100 중량부에 대하여 1 중량부 미만인 경우 검출 대상 이온과의 결합을 위한 이온 킬레이터의 함량이 현저히 낮아짐으로 인해서 이온 검출 한계 농도가 높아질 수 있고, 10000 중량부를 초과하는 경우 비특이적으로 기관에 결합된 이온 킬레이터에 의해 검출 대상 이온이 상기 금속 나노 구조체 외의 부분에 결합하게 됨에 따라 검출 신호가 올바르게 나오지 않게 도출될 가능성이 커질 수 있다.
- [0070] 한편, 상기 금속 나노 구조체는 상기 이온 킬레이터 이외에 다른 유기 기능성 분자와 결합되어 있을 수 있다. 상기 유기 기능성 분자는 금속 나노 구조체를 안정화시킬 수 있는 유기성 표면안정제 또는 계면활성제 등일 수 있다.
- [0071] 예를 들어, 상기 표면안정제는 양친매성 화합물일 수 있고, 구체적으로, 폴리비닐알코올(PVA), 폴리에틸렌글리콜, 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드, 소듐 도데실 설페이트 및 폴리에틸렌 글라이콜 솔비탄 모노리트 계열 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상을 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0072] 상기 계면활성제는 알킬 트라이메틸암모늄 할라이드(alkyl trimethylammonium halide)를 포함하는 양이온 계면활성제; 올레산(oleic acid), 라우르산(lauric acid), 또는 도데실산(dodecyl acid)과 같은 포화 또는 불포화 지방산; 트리옥틸포스핀 옥사이드(trioctylphosphine oxide: TOPO), 트리옥틸포스핀(trioctylphosphine: TOP) 또는 트리부틸포스핀(tributylphosphine)과 같은 트리알킬포스핀; 트리알킬포스핀옥사이드, 올레익아민(oleic amine), 트리옥틸아민(trioctylamine) 또는 옥틸아민(octylamine)과 같은 알킬아민(alkyl amine); 알킬티올(alkyl thiol)을 포함하는 중성 계면활성제; 또는, 소듐 알킬 설페이트(sodium alkyl sulfate) 또는 소듐 알킬 포스페이트(sodium alkyl phosphate)를 포함하는 음이온 계면활성제를 사용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0073] 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 방법은 상기 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브를 검출 대상 이온으로 처리하는 단계 및 상기 금속 나노 구조체의 국소 표면 플라즈몬 공명 변화를 측정하는 단계를 포함한다.
- [0074] 한편, 생체 내 미량 원소는 항산화 효소의 구성 성분으로서 암 세포의 산화환원 작용에 큰 역할을 한다. 특히, 구리 이온의 암 세포 주변 상에서의 농도가 높은 경우, 암 세포가 보다 빨리 확산(proliferation)되고, 아연 이온의 농도에 따라 그 활동성이 달라지는 전이유발효소(matrix metalloproteinase: MMP) 군은 암 세포의 침습(invasion)에 결정적인 영향을 끼칠 수 있다. 또한, 상기 구리 이온(Cu^{2+})은 전자전달, 산소 운반에 관여하여 월슨병, 중양의 성장 촉진할 수 있고, 이의 결핍 시 빈혈, 뼈와 관절 손상, 백반증, 성장 장애, 당 및 지질 대사 이상이 발생할 수 있다.
- [0075] 이러한 생체 내 미량 원소의 검출은 현재까지 대부분 흡광 혹은 형광 등의 광학 성질을 이용하여 검출해 내고 있는 상황이며, 이러한 검출 방법의 경우 민감도 및 안정성이 떨어진다는 단점이 있다.
- [0076] 그러나, 본 발명의 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 방법을 이용하면, 단분자 수준의 미량 원소의 체내 함량 및 그 변화를 표적 검출할 수 있고, 상기 국소 표면 플라즈몬 공명 신호를 이용하여 이를 효율적이고 극초감도로 검지할 수 있다.
- [0077] 즉, 상기 이온 킬레이터가 표면에 결합된 금속 나노 구조체를 상기 검출 대상 이온으로 처리하면, 상기 금속 나노 구조체의 표면에 결합되어 있던 상기 이온 킬레이터가 상기 검출 대상 이온에 배위결합(chelating)하게 되고, 상기 금속 나노 구조체 표면에 결합되어 있던 상기 이온 킬레이터를 잃어감에 따라 상기 금속 나노 구조체의 국소 표면 플라즈몬 공명 신호가 변화하게 되고 이를 측정함으로써 검출 대상 이온을 검출할 수 있다.
- [0078] 도 1은 상기 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 방법의 한 예를 개략적으로 나타낸 그림이다.
- [0079] 상기 도 1을 참고하면, 상기 D-페니실라민(2)이 표면에 결합된 금속 나노 막대(1)를 상기 검출 대상 이온인 구리 이온(3)으로 처리하면(i), 상기 금속 나노 막대(1)의 표면에 결합되어 있던 상기 D-페니실라민(2)이 상기 구리 이온(3)에 배위결합하게 되고(ii), 상기 금속 나노 막대(1) 표면에 결합되어 있던 상기 D-페니실라민(2)을

없어감에 따라 상기 금속 나노 막대(1)의 국소 표면 플라즈몬 공명 신호가 변화하게 되고(iii), 이를 측정함으로써 구리 이온(3)을 검출할 수 있다.

[0080] 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 센서는 상기 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브, 상기 프로브에 광을 입사시키는 광원부, 그리고 상기 프로브의 국소 표면 플라즈몬 공명 변화를 측정하는 수광부를 포함한다.

[0081] 도 2는 상기 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 센서를 개략적으로 나타낸 그림이다.

[0082] 상기 도 2를 참고하면, 상기 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 센서(100)는 상기 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브(10), 상기 프로브에 광을 입사시키는 광원부(20), 그리고 상기 프로브의 국소 표면 플라즈몬 공명 변화를 측정하는 수광부(30)를 포함한다.

[0083] 한편, 상기 프로브(10)는 금속 나노 구조체가 결합된 LSPR 기판에 결합된 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 프로브(10)를 기판에 효과적으로 결합하기 위해서, 금속 나노 구조체를 유기성 표면 안정제 또는 계면활성제 등의 유기 기능성 분자로 개질시킨 후, 기판에 아민기를 도입시켜 상기 개질된 금속 나노 구조체를 기판에 결합한 후, 상기 프로브(10)를 상기 금속 나노 구조체가 결합된 기판에 결합하여 LSPR 기판을 제조할 수 있다.

[0084] 구체적으로, 상기 금속 나노 구조체를 상기 기판에 결합시키기 위한 유기 기능성 분자로 SH-PEG-COOH를 예로 들 수 있다. 상기 SH-PEG-COOH는 COOH와 NH_2 그룹간의 정전기적 결합에 의해 상기 금속 나노 구조체가 상기 기판에 강하게 결합될 수 있도록 한다. 한편, 상기 SH-PEG-COOH를 대신할 수 있는 물질로는, 상기 SH-PEG-COOH의 한쪽 말단은 용액 상에서 상기 금속 나노 구조체에 잘 결합될 수 있도록 하는 -SH 이외에 카테콜, 아민 또는 수산화기로 대체될 수 있고, 다른 한쪽 말단은 정전기적으로 (+) 전하로 이루어진 아민기에 결합 가능한 (-) 전하로 이루어진 잔기를 가진 치환기로 대체될 수 있다.

[0085] 상기 유기 기능성 분자는 상기 금속 나노 구조체 100 중량부에 대하여 10 내지 1000 중량부로 사용될 수 있다. 상기 유기 기능성 분자의 함량이 10 중량부 미만인 경우 상기 금속 나노 구조체를 포함하는 용액 내에서 상기 금속 나노 구조체가 뭉치게 되어(aggregated) 제대로 된 기판을 형성할 수 없을 수 있고, 1000 중량부를 초과하는 경우 불필요한 정제 과정이 수반되어야 하고, 추후에 상기 이온 키레이터가 결합되지 못하는 문제가 발생할 수도 있다.

[0086] 상기 기판은 유리, 플라스틱, 금속, 실리콘, 석영, 알루미늄, 산화물 결정 또는 이들의 혼합물로 이루어질 수 있다. 예를 들어, 상기 플라스틱은 PMMA, PC, COC 등 일수 있고, 상기 금속은 니켈, 알루미늄, 철 또는 구리일 수 있으며, 상기 산화물 결정은 SiO_2 , TiO_2 , Ta_2O_5 또는 Al_2O_3 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0087] 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.

[0088] [제조예]

[0089] (제조예 1: D-페니실라민이 결합된 금 나노 막대의 제조)

[0090] 국소 표면 플라즈몬 공명을 일으키기 위한 기판은 텅게유리에 금 나노 막대를 부착시킨 후, D-페니실라민을 결합시켜 제작하였다.

[0091] 금 나노 막대는 씨앗 성장 방식(seed-mediated growth method)으로 제조하였다. 먼저, 씨앗 용액은 60 °C의 온도로 가열시킨 0.1 M 농도의 세틸트리메틸암모늄 브롬화물(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB) 7.5 mL에 순서대로 0.01 M 농도의 염화금($HAuCl_4$) 0.25 mL, 0.01 M 농도의 수소화붕소나트륨($NaBH_4$) 0.6 mL을 넣은 뒤 2 분간 자석 교반을 시킨 후, 3시간 동안 화학숙성시켰다. 상기 씨앗 용액이 완성되면 0.1 M 농도의 세틸트리메틸암모늄 브롬화물(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB) 9.5 mL를 자석 교반 시키면서 0.01 M 농도의 은질산염($AgNO_3$) 80 μ L, 0.01 M 농도의 염화금($HAuCl_4$) 0.5 mL, 0.01 M 농도의 아스코르브 산(L-Ascorbic acid) 55 μ L, 완성된 씨앗 용액 12 μ L를 순서대로 넣은 후 10 초가 지난 후 자석 교반을 멈춘 뒤 30 분 동안 화학숙성시켰다. 화학숙성이 끝난 용액은 15,000 rpm으로 30 분간 원심분리를 시켜 잔여 시약을 제거한 후 최종 산물을 원하는 용매에 재분산시켰다. 재분산된 금 나노 막대에 SH-PEG-COOH를 용액 1 mL 당 10 mg 씩 넣어 2 시간 동안 교반시킨 후 48 시간 동안 화학숙성시켰다. 화학숙성이 끝난 용액은 15,000 rpm으로 30 분간 원심분리를 시켜

잔여 시약을 제거한 후 재 분산이 될 때까지 초음파분산기를 이용하여 분산시켜 금 나노 막대 시약을 제조하였다.

[0092] 한편, 텃개유리를 과산화수소=3:1 인 피라냐 용액으로 세척한 뒤, 24 well 에서 1 mL의 에탄올 기반의 10 % 3-아미노프로필트리에톡시실레인(3-aminopropyltriethoxysilane) 용액과 4 시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 텃개유리는 에탄올과 3차 증류수를 번갈아 가면서 3회 세척하였다.

[0093] 위에서 제작된 텃개유리와 0.5 mL의 금 나노 막대 용액을 24 well에서 4 시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 기판을 3차 증류수로 세척한 뒤, 24 well에서 1 μ M 농도의 D-페니실아민 1 mL와 4 시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 기판을 3차 증류수로 세척한 뒤 건조시켜 기판을 제조하였다.

[0094] 상기 제조된 D-페니실라민이 결합된 금 나노 막대의 투과 전자 현미경(TEM) 사진을 도 3에 나타내었다.

[0095] **(비교제조예 1: 세틸트리메틸암모늄 브롬화물이 코팅된 금 나노 막대의 제조)**

[0096] 시드 성장법(seed-mediated growth method)을 이용하여 세틸트리메틸암모늄 브롬화물이 코팅된 금 나노 막대(CTAB-AuNRs)를 제조하였다.

[0097] 상기 제조된 CTAB-AuNRs의 투과 전자 현미경(TEM) 사진을 도 4에 나타내었다.

[0098] **[실시예]**

[0099] **(실시예 1: 금 나노 막대의 Absorbance spectra 측정)**

[0100] 상기 제조예 1에서 제조된 물에 분산된 금 나노 막대에 대하여 흡광도 스펙트럼(Absorbance spectra)를 측정하였고, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0101] 상기 도 5를 참고하면, 무처리 표면의 금 나노 막대에 비해서 PEG가 결합된 금 나노 막대의 경우에 흡광 피크(peak)가 더 뾰족해진 것을 알 수 있는데, 이를 통해 PEG가 무처리 표면의 금 나노 막대의 표면에 잘 결합되어 있음을 확인할 수 있다.

[0102] **(실시예 2: 용매에 따른 금 나노 막대의 extinction spectra 측정)**

[0103] 상기 제조예 1에서 제조된 금 나노 막대가 결합된 기판에 대해서 서로 다른 굴절률을 가지는 용매의 변화에 따른 소멸 스펙트럼(extinction spectra)를 측정하였고, 그 결과를 하기 도 6에 나타내었다.

[0104] 상기 도 6을 참고하면, 용매의 굴절률이 증가함에 따라 소멸 스펙트럼의 피크(peak)에 해당하는 파장이 적색-천이(red-shift)되는 현상을 관찰할 수 있었고(도 6의 위 그래프), 이를 통해 용매의 굴절률을 소멸 스펙트럼의 피크(peak) 파장에 대한 그래프로 나타낸 결과(도 6의 아래 그래프), 주변 용매의 굴절률 변화에 따라 소멸 스펙트럼의 피크(peak) 파장이 선형적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 이는 제조된 금 나노 막대 기판의 민감도가 우수하여 낮은 농도의 생체 분자까지도 검출하기에 적합함을 의미한다.

[0105] **(실시예 3: 구리 이온에 대한 민감도 측정)**

[0106] 상기 제조예 1에서 제조된 금 나노 막대에 대하여 소멸 스펙트럼(extinction spectra) 검출 방법으로 구리 이온에 대한 민감도를 측정하였고, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0107] 상기 도 7을 참고하면, 1×10^{-12} M(1 fM)의 농도까지 구리 이온 검출이 가능함을 알 수 있다.

[0108] **(실시예 4: 구리 이온에 대한 선택성 측정)**

[0109] 상기 제조예 1에서 제조된 금 나노 막대에 대하여 소멸 스펙트럼(extinction spectra) 검출 방법으로 구리 이온에 대한 선택성을 측정하였고, 그 결과를 도 8에 나타내었다.

[0110] 상기 도 8을 참고하면, 구리 이온에 대한 선택성이 높음을 알 수 있다.

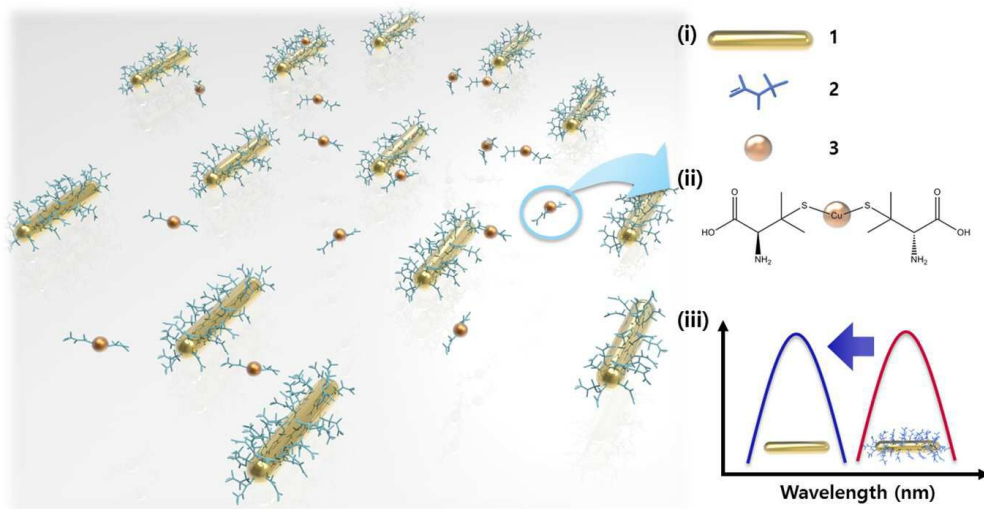
[0111] 상기 본 발명은 전술한 실시예 및 첨부된 도면에 의해 한정되는 것이 아니고, 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 여러 가지 치환, 변형 및 변경이 가능하다는 것이 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명백할 것이다.

부호의 설명

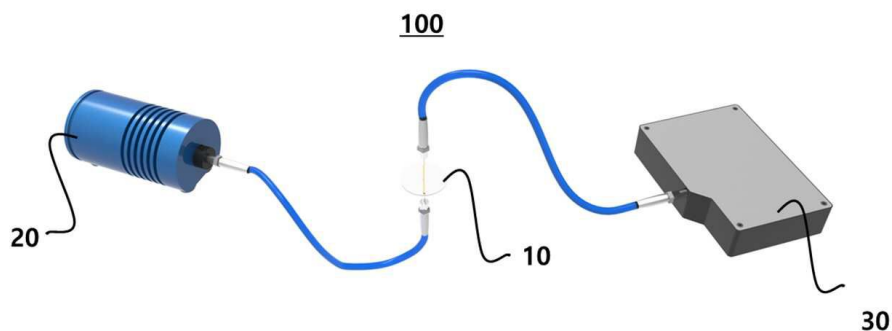
[0112] 1: 금속 나노 막대
2: D-페니실라민
3: 구리 이온
100: 국소 표면 플라즈몬 공명을 이용한 이온 검출 센서
10: 이온 검출을 위한 국소 표면 플라즈몬 공명 센서용 프로브
20: 광원부
30: 수광부

도면

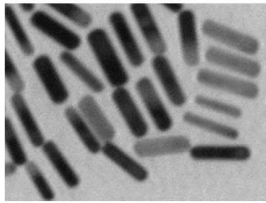
도면1



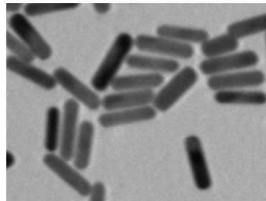
도면2



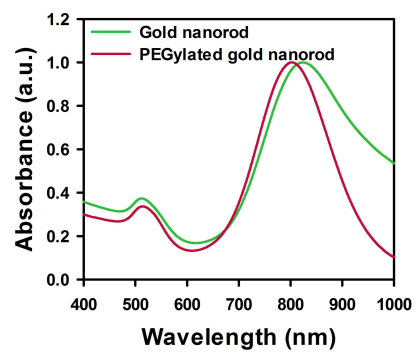
도면3



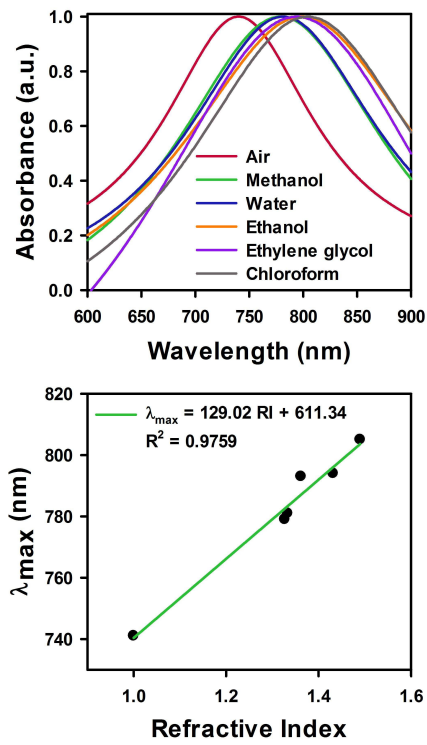
도면4



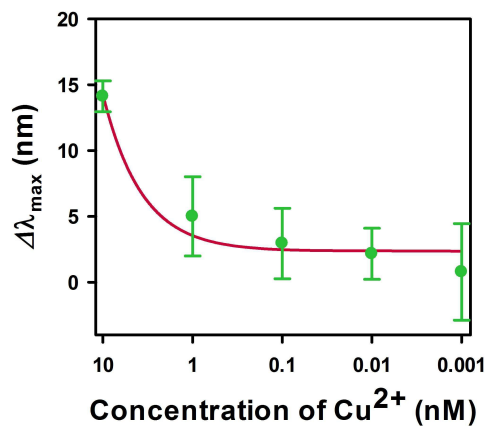
도면5



도면6



도면7



도면8

