



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0071327
(43) 공개일자 2024년05월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 11/14 (2020.01) C12N 1/20 (2006.01)
B82Y 30/00 (2017.01) B82Y 5/00 (2017.01)
(52) CPC특허분류
C12N 11/14 (2013.01)
C12N 1/20 (2021.05)
(21) 출원번호 10-2023-0156594
(22) 출원일자 2023년11월13일
심사청구일자 2023년11월13일
(30) 우선권주장
1020220152926 2022년11월15일 대한민국(KR)

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
강태욱
서울특별시 양천구 목동중앙로 143, 101동 406호
신용희
경기도 김포시 유현로 215, 218동 1703호
(74) 대리인
최우성

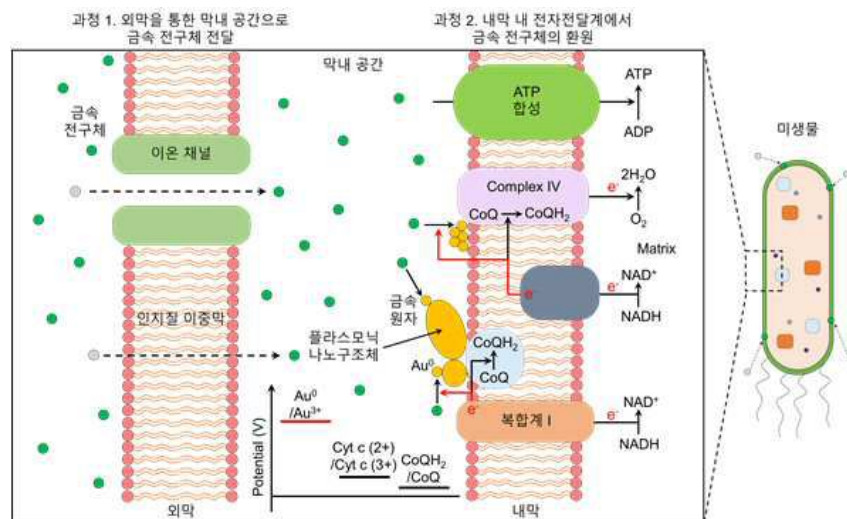
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 금속 전구체를 미생물 또는 세포소기관의 막 사이 공간에 도입시켜 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체를 제조하는 방법에 관한 것이다. 본 발명은 생물 내막의 전자 전달체를 이용함으로써, 반영구적이고, 생체 독성이 없으며, 생물 내에서 새로운 전자전달의 매개체로 활용될 수 있는 플라스모닉 나노입자를 도입하여, 생물의 대사기능을 향상에 우수한 효과를 갖는다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

B82Y 30/00 (2013.01)

B82Y 5/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711154939
과제번호	2020R1A2C3012167
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	플라스모닉 메타물질 대면적 고속전사 프린팅 공정기반 집적소자 제작 및 분자 검출

응용

기 여 율	2/3
과제수행기관명	서강대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711198532
과제번호	00259341
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	해외우수연구기관협력허브구축
연구과제명	서강-유펜 신종 감염병 테라노스틱스 융합연구센터
기 여 율	1/3
과제수행기관명	서강대학교
연구기간	2023.07.01 ~ 2028.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

금속 전구체를 미생물 또는 세포소기관의 외막 내부로 투과시키는 단계; 및

상기 외막을 투과한 금속 전구체를 상기 미생물 또는 세포소기관의 내막에 존재하는 전자전달계로 환원시키는 단계;를 포함하는, 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 금속 전구체는 Ag, Au, Cu, Pt, Al, Fe, Co, Ni, Ru, Rh 및 Pd으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상 금속의 전구체인, 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 금속 전구체는 상기 미생물 또는 세포소기관의 외막에 존재하는 포린(Porin)을 통해서 확산되거나 인지질 이중막을 투과하는 것을 특징으로 하는, 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 나노 복합체는 반영구적인 것을 특징으로 하는, 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 나노 복합체는 외막과 내막 사이 막간 공간(intermembrane space)에 위치하는 것을 특징으로 하는, 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법.

청구항 6

제1항의 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법에 있어서,

상기 투과시키는 단계 전에 상기 미생물을 배지에 배양하는 단계를 더 포함하는, 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 배지는 액체 배지인, 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 배지에 상기 금속 전구체가 용해된 금속 전구체 용액을 투여하는 단계를 더 포함하는, 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 금속 전구체 용액의 농도는 0.1 내지 100 mM인, 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법.

청구항 10

제6항에 있어서,

상기 미생물은 대장균(*Escherichia coli*)인, 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 나노 복합체의 직경은 10 내지 200 nm인, 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 미생물 내 상기 나노 복합체의 개수는 1 내지 20개인, 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 및 이의 제조방법에 대한 것이다.

배경 기술

[0003] 세포의 기능을 유지하거나 회복시키기 위해, 전자전달계를 가지고 있어 에너지대사 기능을 수행하는 미생물과 세포소기관의 대사작용을 향상시키기 위한 연구들이 최근 들어 새롭게 진행되고 있다. 이를 위해, 산화환원 분자를 미생물이나 세포소기관의 전자전달계에 도입하려는 시도들이 있어왔다. 그러나, 이러한 산화환원 분자들의 경우 생체독성이 있고 전자전달계 일부에만 국한되며 일시적으로 기능을 향상시킨다는 문제점들이 있다.

[0004] 한편, 플라스몬(plasmon)이란 금속 내의 자유전자가 집단적으로 진동하는 현상을 말하며, 이러한 특성을 가지는 나노입자를 플라스모닉 나노입자라 한다. 이러한 플라스모닉 나노입자는 빛과 상호작용하여 전자를 방출할 수 있으며, 그 자체가 전자에 대해 높은 전도성을 가진다. 최근, 플라스모닉 나노입자를 미생물이나 세포소기관에 부착하거나, 표면에서 플라스모닉 나노입자를 합성하려는 연구들이 진행되고 있다. 그러나, 종래기술은 에너지

대사 기능을 수행하는 내막 및 전자전달계에 선택적으로 플라스모닉 나노입자를 도입할 수 없어 다수의 나노입자를 사용해야 하거나 원하는 곳에 위치시킬 수 없는 문제점들이 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 제2397454호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 예시적인 구현예들에서는, 일측면에서, 미생물-플라스모닉 나노 복합체 제조방법을 제공하고자 한다.

[0008] 본 발명의 예시적인 구현예들에서는, 다른 일측면에서, 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 예시적인 구현예들에서는, 금속 전구체를 미생물 또는 세포소기관의 외막 내부로 투과시키는 단계; 및 상기 외막을 투과한 금속 전구체를 상기 미생물 또는 세포소기관의 내막에 존재하는 전자전달계로 환원시키는 단계;를 포함하는, 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법을 제공한다.

[0011] 예시적인 일 구현예에서, 상기 상기 금속 전구체는 Ag, Au, Cu, Pt, Al, Fe, Co, Ni, Ru, Rh 및 Pd으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상 금속의 전구체일 수 있다.

[0012] 예시적인 일 구현예에서, 상기 금속 전구체는 상기 미생물 또는 세포소기관의 외막에 존재하는 포린(Porin)을 통해서 확산되거나 인지질 이중막을 투과하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0013] 예시적인 일 구현예에서, 상기 나노 복합체는 반영구적인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0014] 예시적인 일 구현예에서, 상기 나노 복합체는 외막과 내막 사이 막간 공간(intermembrane space)에 위치하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0015] 예시적인 일 구현예에서, 상기 투과시키는 단계 전에 상기 미생물을 배지에 배양하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0016] 예시적인 일 구현예에서, 상기 배지는 액체 배지일 수 있다.

[0017] 예시적인 일 구현예에서, 상기 배지에 상기 금속 전구체가 용해된 금속 전구체 용액을 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0018] 예시적인 일 구현예에서, 상기 금속 전구체 용액의 농도는 0.1 내지 100mM일 수 있다.

[0019] 예시적인 일 구현예에서, 상기 미생물은 대장균(*Escherichia coli*)일 수 있다.

[0020] 예시적인 일 구현예에서, 상기 나노 복합체의 직경은 10 내지 200 nm일 수 있다.

[0021] 예시적인 일 구현예에서, 상기 미생물 내 상기 나노 복합체의 개수는 1 내지 20개일 수 있다.

발명의 효과

[0023] 본 발명의 예시적인 구현예들의 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법으로 미생물 또는 세포소기관의 내막에 위치하는 전자전달계에서 전자를 제공받아 금속 전구체가 환원되어 플라스모닉 나노입자 복합체가 합성되므로, 막 사이 공간 내 선택적으로 플라스모닉 나노구조체를 가진 나노입자 복합체를 제

조할 수 있다.

[0024] 본 발명의 예시적인 구현예들의 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법으로 제조된 나노 복합체는 생체 독성이 없으며, 반영구적인 사용이 가능하고, 상기 나노 복합체가 도입된 생물 또는 세포의 새로운 전자전달의 매개체로의 활용이 가능하고, 대사 작용 향상 효과가 우수하다. 이러한 나노 복합체는 생체의학, 생체촉매, 및 에너지 분야 등 다양한 분야에 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 본 발명의 예시적인 일 구현예에 따른 나노 복합체 제조에 대한 개략도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에서 있어서, LB 액체 배지에 살아있는 미생물, 죽어 있는 미생물, 및 PBS 완충액에 살아있는 미생물에 각각 금속 전구체를 주입한 후 채취한 각 미생물(대장균)의 주사전자현미경 이미지이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에서 있어서, LB 액체 배지에 살아있는 미생물, 죽어 있는 미생물, 및 PBS 완충액에 살아있는 미생물에 각각 금속 전구체를 주입한 경우에서 나노입자가 형성된 미생물의 빈도를 분석 결과이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에서 있어서, 전자전달계를 가지고 있는 미생물에 금속 전구체를 도입한 후 시간에 따른 미생물 용액의 사진과 그 흡광도를 측정한 결과이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에서 있어서, 전자전달계를 가지고 있는 미생물에 금속 전구체를 도입한 후 시간에 따라 측정한 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 주사전자현미경 이미지이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에서 있어서, 미생물의 내막과 전자전달계에서 플라스모닉 나노입자를 형성하여 제조된 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 주사전자현미경 이미지이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에서 있어서, 본 발명의 나노입자가 형성된 미생물 절편 샘플의 투과전자현미경 이미지이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에서 있어서, LB 액체 배지 또는 PBS 완충액의 살아있는 미생물에 금속 전구체를 주입한 경우의 암시야 산란 이미지 및 LB 액체 배지의 살아있는 미생물에 금속 전구체를 주입하지 않은 경우의 암시야 산란 이미지이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에서 있어서, (a) 주입한 금속 전구체 농도를 변화했을 때 채취한 미생물의 주사전자현미경 이미지, (b) 주입한 금속 전구체 농도에 따른 미생물 내 나노입자 크기 변화 결과, (c) 주입한 금속 전구체 농도에 따른 미생물 내 나노입자 수 변화 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0028] 일 측면에서, 본 발명은 금속 전구체를 미생물 또는 세포소기관의 외막 내부로 투과시키는 단계; 및 상기 외막을 투과한 금속 전구체를 상기 미생물 또는 세포소기관의 내막에 존재하는 전자전달계로 환원시키는 단계;를 포함하는, 미생물-플라스모닉 또는 세포소기관-플라스모닉 나노 복합체 제조방법을 제공한다.

[0029] 도 1은 본 발명의 일 구현예에 있어서, 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조 과정을 나타내는 개략도이다.

[0030] 도 1에 도시된 바와 같이, 용해된 금속 전구체(metal precursor)는 미생물 외막에 존재하는 친수성 물질의 확산을 위한 비특이적 기공 역할을 수행하는 단백질인 포린(porin)에 의해 또는 인지질 이중막의 호핑(hopping) 기작을 통해서 외막과 내막 사이의 막간 공간으로 확산된다. 이때, 막간 공간에 있는 금속 이온은 환원 전위가 전자전달계에 존재하는 금속 복합체 및 단백질과 같은 전자 수용체의 환원 전위보다 높기 때문에 내막에 존재하는 전자전달계로부터 우선적으로 전자를 공급받게 된다. 결과적으로 금속 이온은 금속 핵으로 환원되고 이 과정이 반복되어 나노입자 또는 나노 복합체로 성장할 수 있다.

[0031] 예시적인 일 구현예에서, 상기 금속 전구체는 Ag, Au, Cu, Pt, Al, Fe, Co, Ni, Ru, Rh 및 Pd으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상 금속의 전구체일 수 있다. 또한, 예를 들어, 상기 금속 전구체는 HAuCl_4 , $\text{Au}(\text{C}_5\text{H}_5\text{O}_2)_3$, AgNO_3 , H_2PtCl_6 , H_2PtCl_4 , K_2PtCl_6 , K_2PtCl_4 , $\text{Pt}(\text{C}_5\text{H}_5\text{O}_2)_2$, 또는 K_2PdCl_4 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0032] 예시적인 일 구현예에서, 상기 미생물 또는 세포소기관은 내막에 전자전달계를 갖는 것이면 제한 없이 포함될 수 있다.
- [0033] 예시적인 일 구현예에서, 상기 금속 전구체를 미생물 또는 세포소기관의 외막 내부로 투과시키는 단계;는 금속 전구체가 미생물 또는 세포소기관의 외막 내부로 투과될 수 있는 당업계 모든 공지의 방법을 제한없이 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 상기 금속 전구체를 용액에 용해시키고, 미생물 또는 세포소기관이 담지된 배지나 용액에 상기 금속 전구체 용액을 혼합함으로써 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0034] 예시적인 일 구현예에서, 상기 금속 전구체는 상기 미생물 또는 세포소기관의 외막에 존재하는 포린(Porin)을 통해서 확산되거나 인지질 이중막을 투과하는 것을 특징으로 하는 것일 수 있다. 상기 포린은 세포막을 가로질러 분자가 확산될 수 있는 구멍 역할을 하는 수송 단백질을 말한다. 또한, 중성상태의 상기 금속 전구체는 인지질 이중막을 투과할 수 있으며, 구체적으로, 호핑(hopping) 기작을 통해 투과할 수도 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0035] 예시적인 일 구현예에서, 상기 나노 복합체는 반영구적인 것을 특징으로 하는 것일 수 있다. 미생물과 세포소기관에 존재하는 내막의 전자전달계가 활성화 되어 있는 한, 본 발명의 나노 복합체의 형성이 가능하므로, 전자전달계를 환원제로 하여 상기 금속 전구체의 직접 환원을 통해 반영구적인 플라스모닉 나노 복합체를 제조할 수 있다.
- [0036] 예시적인 일 구현예에서, 상기 나노 복합체는 외막과 내막 사이 막간 공간(intermembrane space)에 위치하는 것을 특징으로 하는 것일 수 있다.
- [0037] 예시적인 일 구현예의 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 제조방법에서, 상기 투과시키는 단계 전에 상기 미생물을 배지에 배양하는 단계를 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 배지는 상기 미생물을 배양할 수 있으면 당업계 통상의 방법으로 제조된 모든 배지를 포함할 수 있다.
- [0038] 예시적인 일 구현예에서, 상기 배지는 액체 배지일 수 있다. 예를 들어, 상기 액체 배지는 LB(Luria-Bertani broth) 배지일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0039] 예시적인 일 구현예에서, 상기 배지에 상기 금속 전구체가 용해된 금속 전구체 용액을 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 금속 전구체 용액은 당업계 통상의 방법으로 금속 전구체를 용액에 용해시킬 수 있는 것이라면 당업계 공지된 방법을 제한 없이 포함하여 제조될 수 있다.
- [0040] 예시적인 일 구현예에서, 상기 금속 전구체 용액의 농도는 0.1 내지 100 mM일 수 있다. 예를 들어, 상기 금속 전구체 용액의 농도는 0.1 mM 이상, 0.12 mM 이상, 0.14 mM 이상, 0.16 mM 이상, 0.18 mM 이상, 0.2 mM 이상, 0.22 mM 이상 또는 0.24 mM 이상일 수 있다. 또한, 100 mM 이하, 80 mM 이하, 60 mM 이하, 50 mM 이하, 40 mM 이하, 30 mM 이하, 20 mM 이하, 15 mM 이하, 10 mM 이하, 8 mM 이하 또는 6 mM 이하일 수 있다.
- [0041] 예시적인 일 구현예에서, 상기 미생물은 대장균(*Escherichia coli*)일 수 있다.
- [0042] 예시적인 일 구현예에서, 상기 나노 복합체의 직경은 10 내지 200 nm일 수 있다. 예를 들어, 상기 나노 복합체의 직경은 10 nm 이상, 14 nm 이상, 16 nm 이상, 18 nm 이상, 20 nm 이상, 22 nm 이상, 24 nm 이상 또는 26 nm 이상일 수 있다. 또한 200 nm 이하, 190 nm 이하, 180 nm 이하, 170 nm 이하, 160 nm 이하, 150 nm 이하, 140 nm 이하, 130 nm 이하 또는 120 nm 이하일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0043] 예시적인 일 구현예에서, 상기 미생물 내 상기 나노 복합체의 개수는 1 내지 20개일 수 있다. 예를 들어, 상기 미생물 내 상기 나노 복합체의 개수는 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상 또는 4개 이상일 수 있다. 또한, 20개 이하, 15개 이하, 10개 이하, 8개 이하 또는 6개 이하일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0045] 이하, 실시예 등을 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 청구범위에 기재된 기술적 사상과 실질적으로 동일한 구성을 갖고 동일한 작용 효과를 이루는 것은 어떠한 것이라도 본 발명의 기술적 범위에 포함된다.

[0047] **실시예**

- [0048] 1. 플라스모닉 나노 복합체의 제조 및 형성 여부 확인
- [0049] (1) 실험방법
- [0050] 2mM 농도의 금속 전구체($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 용액을 살아있는 미생물(대장균)이 분산되어 있는 LB 또는 PBS 액체 배지에 주입하였다. 금속 전구체를 주입하고 일정 시간이 지난 뒤 각 미생물들을 채취하였다.
- [0052] (2) 실험 결과의 해석 방법
- [0053] 금속 전구체(예를 들어, $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 용액을 살아있는 미생물(예를 들어, 대장균)이 분산되어 있는 LB 액체 배지에 주입할 때, 미생물은 세포호흡을 통해 내막의 전자전달계가 활성화되어 있는 상태이다.
- [0054] 대조 실험으로써, 죽어 있는 미생물이 분산되어 있는 LB 액체 배지 및 살아있는 미생물이 분산되어 있는 PBS 완충액에 금속 전구체를 주입한다. 이 경우, 미생물의 세포호흡이 이루어지지 않아 내막의 전자전달계가 활성화되지 않은 상태로 해석된다.
- [0056] (3) 실험 결과
- [0057] 1) 나노입자 형성 여부의 확인
- [0058] 24시간 뒤, 살아있는 세포가 LB 액체배지에 분산되어 있을 때 (즉, 전자전달계가 호흡을 통해 작동하는 조건)에 서만 나노입자가 합성되었음을 주사전자현미경으로 확인하였다. 이에 반해, LB 액체배지의 죽은 대장균과 PBS 완충액의 살아있는 대장균의 경우 (즉, 전자전달계가 활성화되지 않은 경우), 대장균 내에서 나노입자가 관찰되지 않았다(도 2).
- [0059] 2) 나노입자 형성 여부의 빈도 분석
- [0060] 24시간 뒤, 각 미생물 샘플에서 나노입자가 형성된 미생물의 수를 정량적으로 분석해보았을 때, 세포호흡을 하고 있는 경우, 관찰된 미생물의 75% 이상에서 나노입자가 발견되었다. 이에 반해, 세포호흡이 일어나지 않을 때, 나노입자는 30% 미만의 미생물에서만 관찰됨을 알 수 있었다(도 3).
- [0061] 3) 시간에 따른 미생물 용액의 흡광도 분석
- [0062] 금속 전구체를 도입하고 시간이 지남에 따라 미생물이 포함된 용액의 색이 변하고(도 4 위), 상기 용액의 흡광도를 자외선-가시광선 분광기를 사용하여 측정하였을 때 시간에 따라 흡광도가 변화함을 확인할 수 있다(도 4 아래). 이를 통해, 시간에 따라 미생물에서 플라스모닉 나노입자가 형성되고 있는 것을 알 수 있다(도 4).
- [0063] 4) 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 확인
- [0064] 미생물에 금속 전구체를 도입하고 시간에 따라 미생물을 샘플링하여 주사전자현미경을 측정한 결과, 미생물의 막내 공간에서만 선택적으로 플라스모닉 나노입자가 형성되고 시간에 따라 크기가 커지는 것을 확인할 수 있었다(도 5).
- [0065] 또한, 금속 전구체를 도입하고 24시간 후 미생물을 샘플링하여 주사전자현미경으로 분석한 결과, 미생물에서만 선택적으로 플라스모닉 나노입자가 형성된 미생물-플라스모닉 나노 복합체가 제조된 것을 확인할 수 있다(도 6).
- [0067] 2. 미생물 내 플라스모닉 나노 복합체의 위치 관찰
- [0068] (1) 실험 방법
- [0069] 나노입자가 전자전달계로부터 전자를 공급받아 환원되고 나노 복합체로 성장한다면, 미생물의 외막과 내막 사이의 막간 공간에서만 선택적으로 존재하고 있어야 하므로, 이를 확인하는 실험을 진행하였다.
- [0070] 나노입자가 형성된 미생물을 글루타르알데히드로 고정한 후 마이크로톰으로 절단하여 50 내지 70 nm 두께의 얇은 절편으로 만들고, 이 절편된 샘플을 투과전자현미경을 통해 측정하였다.

[0072] (2) 실험 결과

[0073] 막 무결성을 유지하면서 내막과 외막 사이의 막간 공간에 나노입자가 존재하고 있는 것을 분명하게 확인할 수 있었다(도 7).

[0075] 3. 단일 미생물 수준에서의 플라스모닉 나노 복합체 형성 여부 확인

[0076] (1) 실험 방법

[0077] 미생물에서 나노 복합체의 형성을 단일 미생물 수준에서 실시간으로 관찰하기 위하여, 대장균이 고정된 유리 기판에 금속 전구체 용액을 흘려주면서 암시야 산란 현미경으로 단일 미생물을 시간에 따라 관찰하였다.

[0079] (2) 실험 결과

[0080] 금속 전구체를 첨가하기 전의 암시야 이미지에서 대장균에 해당하는 희미한 녹색 산란점이 관찰되었다. 금속 전구체가 포함된 LB 액체 배지를 흘려준 후 산란 색이 녹색에서 황록색으로 점차 변하였고 시간이 지남에 따라 그 세기가 증가함을 확인할 수 있었다(도 8).

[0081] 따라서, 이러한 결과는 나노입자의 형성을 보여주는 것이며, 대조적으로 탄소원과 금 전구체가 없으면 색 변화는 관찰되지 않고, 세기 역시 거의 변하지 않음을 확인 할 수 있었다(도 8).

[0083] 4. 미생물-플라스모닉 나노 복합체의 특성 연구

[0084] (1) 실험 방법

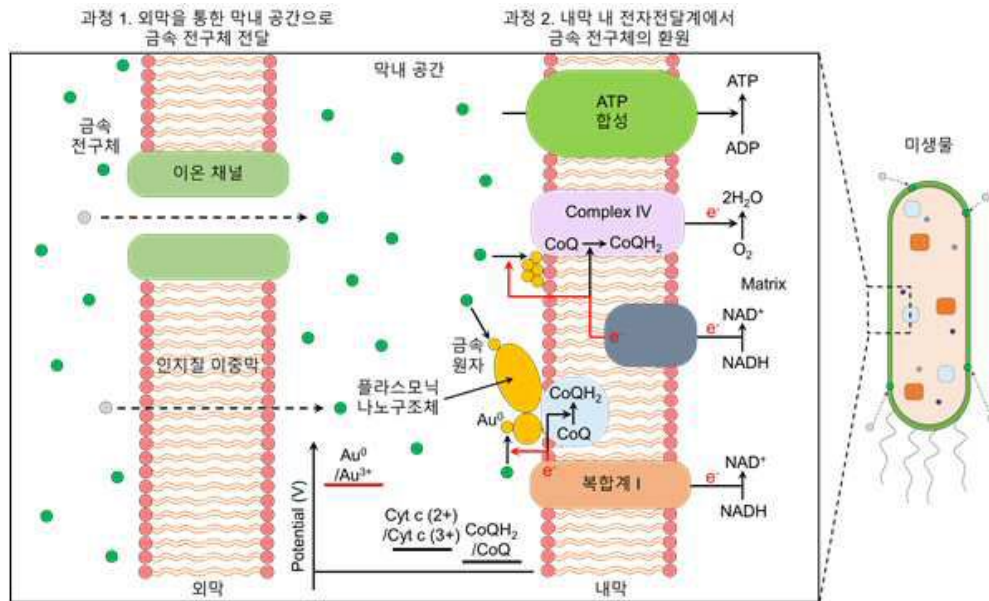
[0085] 미생물의 전자전달계 근처에 형성된 나노입자의 크기를 제어하기 위해, 금속 전구체의 농도를 0.25 mM내지 5 mM로 변경하면서 나노 복합체의 합성을 진행하였다.

[0087] (2) 실험 결과

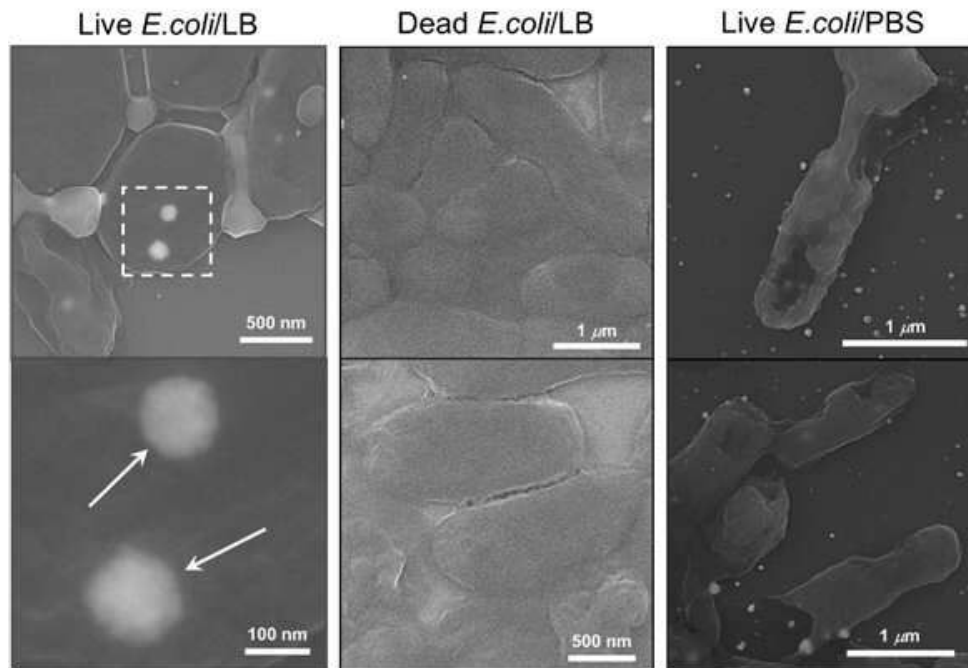
[0088] 전구체 농도가 0.25에서 5 mM로 증가할 때, 평균 최대 및 최소 길이는 각각 28 및 32 nm에서 82 및 113 nm로 커짐을 확인할 수 있었으며, 대장균 내 금 나노입자의 수를 측정해본 결과, 낮은 농도에서는 평균적으로 2개의 입자가 존재하였고 농도가 1 mM 이상인 경우 평균적으로 4개에서 5개의 입자가 형성된다는 것을 확인할 수 있었다(도 9).

도면

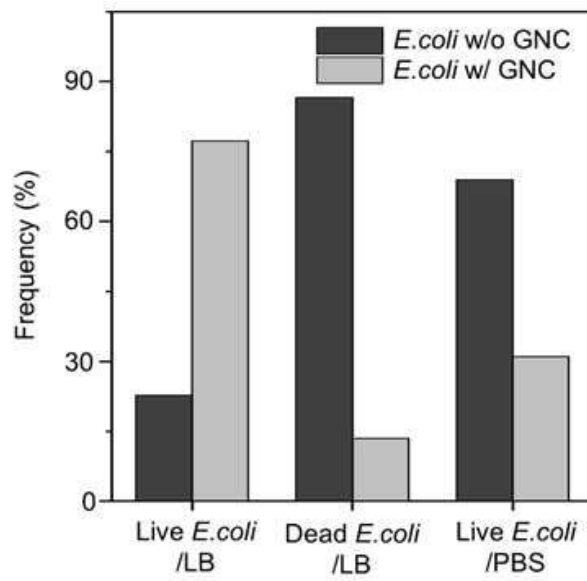
도면1



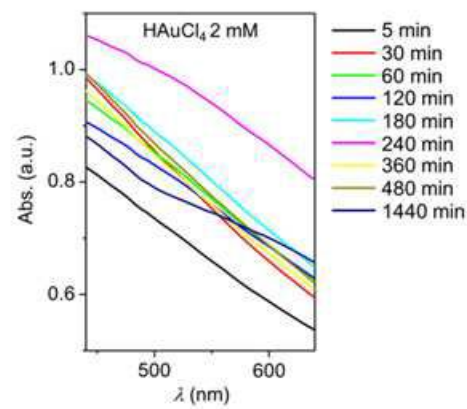
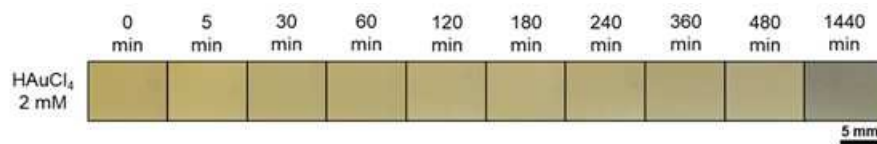
도면2



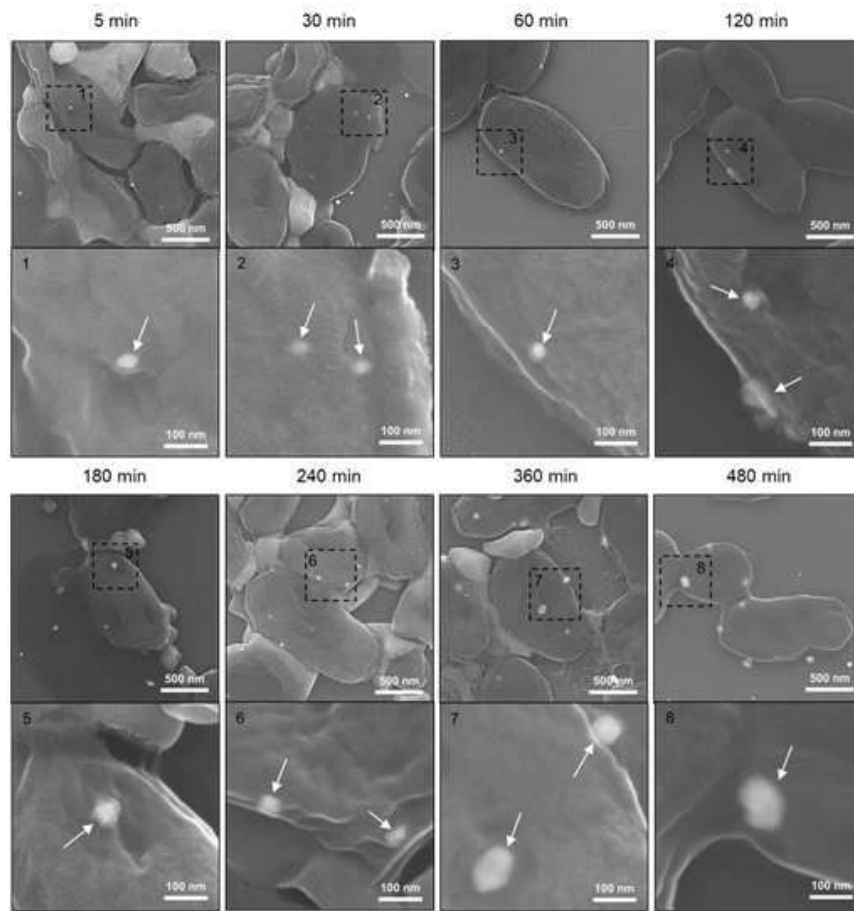
도면3



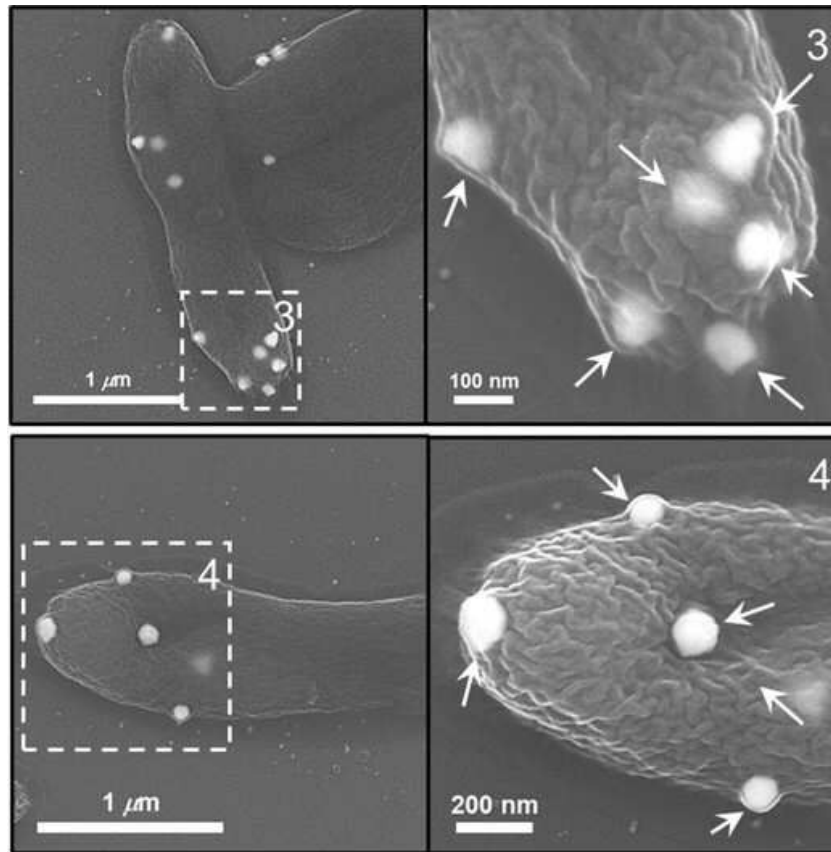
도면4



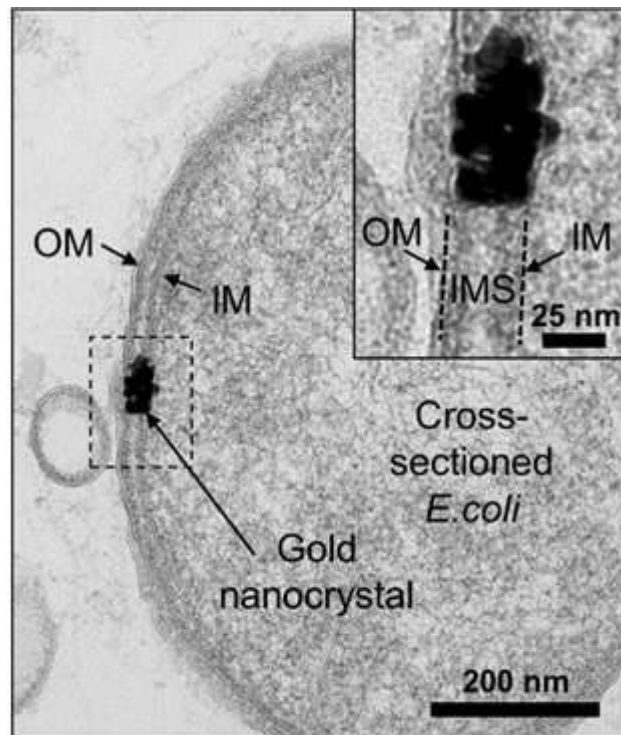
도면5



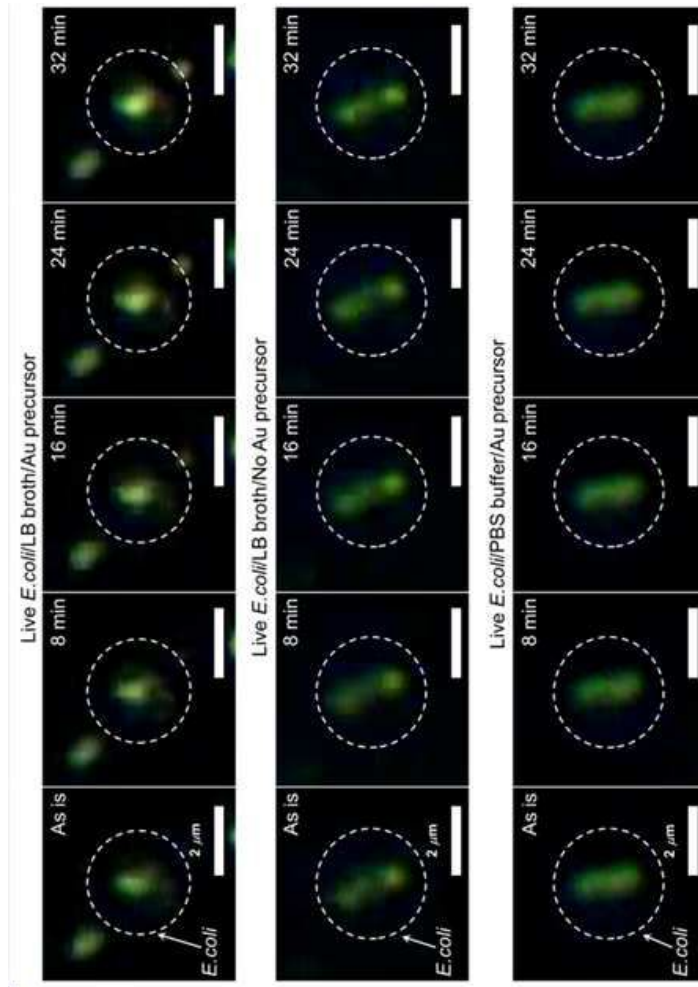
도면6



도면7



도면8



도면9

