(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0008400
(43) 공개일자 2011년01월27일

(51) Int. Cl.
B82B 1/00 (2006.01) *B82B 3/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0065741
(22) 출원일자 2009년07월20일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
피씨엘 (주)
경기 수원시 장안구 천천동 300 성균관대학교 연구2동 83421
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
이광렬
경기도 남양주시 퇴계원면 강남아파트 103동 603호
이명훈
경기도 수원시 장안구 천천동 성균관대학교 연구2동 83421호
(74) 대리인
이처영

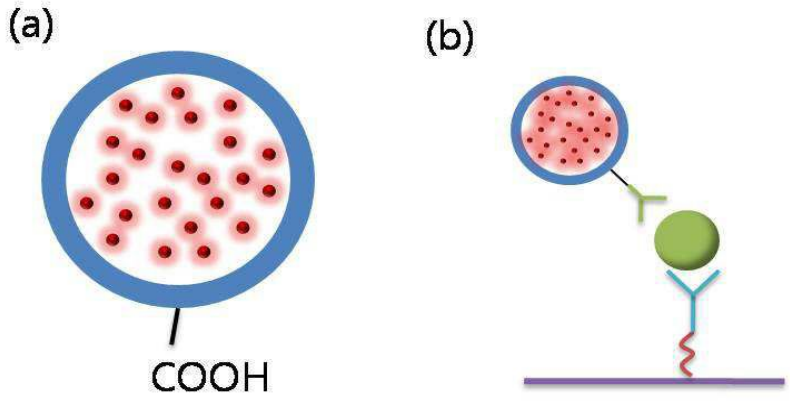
전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 코어－셸 구조의 타겟물질 표지용 나노복합체 및 이를 이용한 표지방법

(57) 요 약

본 발명은 타겟물질 표지용 나노복합체 및 이를 이용한 표지방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는, 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 일으킬 수 있는 금속나노입자, 또는 발광 유기화합물이 다수개 결합되어 있는 나노구조체와 같은 발광 나노입자를 다수 개 함유하는 코어(core); 및 타겟물질에 선택적으로 결합할 수 있는 하나 이상의 작용기를 가지는 고분자 중합체 셸(shell)을 포함하는 타겟물질 표지용 나노복합체 및 이를 이용한 표지방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 나노복합체는 극미량의 타겟물질도 특이적으로 검출해낼 수 있도록 하며, 색 또는 발광을 집중시켜 별도의 형광현미경이나 분석장치가 없이도 가시적으로 타겟물질의 존부를 검출할 수 있게 하거나 시그널을 증폭시킴으로써, 생물학적 물질의 검출, 의약 발굴 등 다양한 부분에 적용될 수 있어 매우 유용하다.

대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 일으킬 수 있는 금속나노입자 또는 발광 나노입자를 다수 개 함유하는 코어(core); 및

타겟물질에 선택적으로 결합할 수 있는 하나 이상의 작용기를 가지는 고분자 중합체 셸(shell)을 포함하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 타겟물질은 DNA, RNA, 펩티드, 단백질, 압타머, 항원, 항체, 합텐(hapten), 유기화합물 및 무기화합물로 구성된 군에서 선택된 것임을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 금속나노입자는 금속 코팅된 유전체 나노입자(dielectric nanoparticle)인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 금속코팅된 유전체 나노입자는 Au 코팅된 실리카 나노입자인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 표면 플라즈몬 공명을 일으킬 수 있는 금속은 Au, Ag, Pt, Pd, Ir, Rh, Ru, Al, Cu, Te, Bi, Pb, Fe, Ce, Mo, Nb, W, Sb, Sn, V, Mn, Ni, Co, Zn 및 Ti로 구성된 군에서 선택된 어느 하나 이상의 금속인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 금속은 Au 또는 Ag인 것임을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 금속나노입자는 Au 및 Ag로 이중 코팅된 것임을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 발광나노입자는 발광 유기화합물이 다수개 결합되어 있는 나노구조체인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 발광나노입자는 형광분자가 답지된 실리카 나노입자 또는 유기형광입자 분자가 집적된 금속산화물 나노플레이트 입자인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 타겟물질에 선택적으로 결합할 수 있는 작용기는 티올기, 설파이드기, 디설파이드기, 실란기, 카르복실기, 아민기, 알코올기, 알데히드기, 에폭시기, 티올기, 알킬할라이드기, 알킬기, 알켄기, 알킨기, 아릴기 또는 이들 중 2 이상의 작용기의 조합인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 고분자 중합체는 양친화성 블록 공중합체(amphiphilic block copolymer)인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 12

제1항에 있어서, 초상자성 나노입자가 상기 코어 내부에 포함되거나 상기 셀 외피에 부착된 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 초상자성나노입자는 Iron-Oxide, Iron-Cobalt, Iron-Nickel 및 전이금속으로 구성된 군에서 선택된 금속으로 이루어진 것임을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 초상자성나노입자는 γ-Fe_2O_3 또는 Fe_3O_4인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 나노복합체의 입자크기는 50~100nm인 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체.

청구항 16

다수개의 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 일으킬 수 있는 금속나노입자 또는 발광 나노입자 함유 유기용액을 고분자 중합체 함유 극성용액에 가하여 마이크로에멀젼을 형성시키는 것을 특징으로 하는 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항의 타겟물질 표지용 나노복합체의 제조방법

청구항 17

제16항에 있어서, 다음의 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 나노복합체의 제조방법:

(a) 다수개의 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 일으킬 수 있는 금속나노입자 또는 발광 나노입자를 유기용매에 혼합하는 단계;

(b) 상기 나노입자 함유 유기용액을 양친화성 블록 공중합체(amphiphilic block copolymer) 수용액에 가하는 단

계;

(c) 상기 혼합용액을 교반하여 마이크로에멀젼을 형성시켜 코어-셀 구조의 나노복합체를 형성하는 단계; 및

(d) 상기 나노복합체가 타겟물질로의 결합을 위한 하나 이상의 작용기를 갖도록 개질시키는 단계.

청구항 18

제17항에 있어서, 초상자성나노입자를 상기 (a) 단계의 유기용매에 함께 혼합하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 초상자성나노입자를 상기 (c) 단계의 나노복합체의 외피에 부착시키는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 20

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 나노복합체를 타겟물질에 결합시키는 것을 특징으로 하는 타겟물질의 표지방법.

청구항 21

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항의 나노복합체를 포함하는 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서, 타겟물질에 특이적으로 결합하는 결합체가 상기 나노복합체의 작용기에 연결된 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 조성물.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 타겟물질에 특이적으로 결합할 수 있는 결합체는 DNA, RNA, 펩티드, 단백질, 압타머 및 항체로 구성된 군에서 선택된 것임을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 조성물.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 코어-셀 구조의 타겟물질 표지용 나노복합체 및 이를 이용한 표지방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 생체 분석 과학 및 바이오 엔지니어링에 있어서, 제노믹스 및 프로테오믹스에서의 최근의 연구는 보다 많은 시퀀스 데이터를 생산한다. 따라서, 많은 수의 생체 분자들 및 그것들의 리간드를 동시에 신속하게 스크리닝할 수 있는 새로운 기술들에 대한 수요가 있어 왔다.

[0003] 이에 샘플 내 유전자 발현 양상, 유전자 결함, 단백질 분포, 반응 양상 등을 분석하기 위하여, 바이오 칩과 같은 분석방법이 이용되고 있는데, 샘플에 프로브와 결합할 수 있는 표적 물질이 존재하는지를 알아내기 위하여, 기질 상에 고정된 프로브와 표적 물질의 결합여부를 검출할 수 있는 시스템이 필요하였다.

[0004] 현재 유전자 분석용 DNA 칩은 대부분 샘플 DNA에 형광색소를 라벨링하고, 칩 위의 프로브(probe)와 반응시킨 후 공초점 현미경(confocal microscope)이나 CCD 카메라를 사용하여 칩 표면에 남은 형광 물질을 검출하는 방법을 사용하고 있는데 (미국특허 제 6141096), 이러한 광학적인 검출법은 소형화가 어렵고, 디지털화된 출력을 볼 수 없기 때문에, 전기적인 신호로 결과를 낼 수 있는 새로운 검출법의 개발에 관하여 많은 연구가 진행 중이다.

[0005] 한편, Clinical Micro Sensor를 비롯한 많은 연구 기관들이 산화/환원이 쉬운 금속 화합물을 이용하여 DNA 혼성화(hybridization)를 전기화학적으로 검출하는 방법에 관하여 연구하고 있는데(미국특허 제 6096273, 6090933), 예를 들어 DNA가 혼성화되었을 때, 산화/환원이 쉬운 금속을 포함한 다른 화합물이 같이 착체(complex)를 이루게 되고, 이를 전기화학적으로 검출하는 것이다(Kusakabe, T. et al., *Anal. Chem.*, 70:4670, 1998). 그러나, 전기화학적 방법도 역시 별도의 라벨링이 필요하다는 단점은 있었다. 또한, 최근에는 나노입자(nanoparticle)를 이용하여 DNA를 검출하는 방법에 관한 연구들이 활발히 진행 중인데, 형광라벨링 된 타겟 대신에 Au 나노입자로 표지된 타겟을 사용하여 혼성화을 시킨 후, 은 염색을 하여서 이미지 분석을 하거나 (Mirkin et al., *science*, 289:1757, 2000), 전기적인 검출을 한 연구(Mirkin et al., *science*, 295:1503, 2002)가 대표적인 예라고 볼 수가 있다. 다만, 시료에서 타겟물질의 농도가 너무 낮은 경우, 상기 방법들은 시료 중의 타겟물질의 존재를 검출하는데 적절하지 않았다. 이에 시료 중 농도가 낮은 타겟물질도 효과적으로 검출할 수 있는 향상된 효율을 가지는 표지방법의 개발이 요청되었다. 아울러, 종래 나노입자들은 타겟물질을 타겟팅하는 항체와 결합하여 이미징화를 위하여 이용되었는데, 항체에 나노입자를 부착시킬 수 있도록 나노입자 표면 특성을 조절해야 하는 문제점이 있었다.

[0006] 이에, 본 발명자는 시료 중 극미량으로 존재하는 타겟물질도 효과적으로 검출해 낼 수 있으며 별도의 장치 없이도 가시적으로 타겟물질의 존재를 검출할 수 있는 새로운 타겟물질의 표지방법을 개발하고자 예의 노력한 결과, 새로운 코어-셀 구조의 나노복합체를 제조하여 이에 타겟물질을 결합시켜 표지함으로써 극미량의 물질도 효과적으로 검출해 낼 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 극미량의 생체물질이나 화합물의 검출도 가능한 검출효율을 극대화시킬 수 있는 새로운 타겟물질의 표지용 물질 및 이를 이용한 표지방법을 제공하는 데 있다.

과제 해결수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 일으킬 수 있는 금속나노입자 또는 발광 나노입자를 다수 개 함유하는 코어(core); 및

[0009] 타겟물질에 선택적으로 결합할 수 있는 하나 이상의 작용기를 가지는 고분자 중합체 셸(shell)을 포함하는 타겟물질 표지용 나노복합체를 제공한다.

[0010] 본 발명은 또한, 다수개의 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 일으킬 수 있는 금속나노입자 또는 발광 나노입자 함유 유기용액을 고분자 중합체 함유 극성용액에 가하여 마이크로에멀젼을 형성시키는 것을 특징으로 하는 상기 타겟물질 표지용 나노복합체의 제조방법을 제공한다.

[0011] 본 발명은 또한, 상기 나노복합체를 타겟물질에 결합시키는 것을 특징으로 하는 타겟물질의 표지방법을 제공한다.

[0012] 본 발명은 또한, 상기 나노복합체를 포함하는 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 조성물을 제공한다.

효 과

[0013] 본 발명은 타겟물질 표지용 나노복합체 및 이를 이용한 표지방법을 제공하는 효과가 있다. 본 발명에 따른 나노복합체는 극미량의 타겟물질도 특이적으로 검출해낼 수 있도록 하며, 색 또는 발광을 집중시켜 별도의 형광현미경이나 분석장치가 없이도 가시적으로 타겟물질의 존부를 검출할 수 있게 하거나 시그널을 증폭시킴으로써, 생물학적 물질의 검출, 의약 발굴 등 다양한 부분에 적용될 수 있어 매우 유용하다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0014] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법 은 본 기술분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[0015] 본 발명의 상세한 설명 등에서 사용되는 주요 용어의 정의는 다음과 같다.

[0016] 본원에서, "코어-셸(core-shell)" 구조란 무기나노물질 또는 무기-유기 하이브리드 물질이 코어로서 내부에 존재하고, 고분자 중합체가 외피, 즉 셸(shell)로서 상기 코어를 둘러싸고 있는 구조를 의미한다.

[0017] 본원에서 "표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance; SPR)"이란, 금과 같은 금속에서 나타나는 광전자효과로서 특정 파장의 광이 금속에 조사되면 대부분의 광에너지가 자유전자로 전이되는 공명현상이 일어나게 되고, 그 결과로서 표면파가 생길 때 나타나는 현상을 SPR이라고 부른다. 표면 플라즈몬의 흡수 파장은 금속 종류, 금속 입자의 크기, 코팅여부 및 코팅물질의 유전상수에 따라 파장 전이가 나타나는데, 표면 플라즈몬 흡수 피크의 위치는 잘 알려진 미공명요건(Mie resonance condition)에 의해 예측할 수 있다.

[0018] 본원에서 "초상자성 물질"이란 외부 자기장이 가해지지 않은 상태에서는 열적운동에 의해 자화가 사라지는 반면, 외부 자기장이 가해진 경우 유도되는 자화의 정도가 상자성체에 비해 매우 큰 물질로 임계자장에서는 강자성체와 유사하게 자기포화현상을 나타내는 물질이다. 일반적으로 강자성체가 단자구정도의 크기로 작아지는 경우, 초상자성체로 상전이 되는데, 이러한 단자구의 크기는 물질에 따라 차이가 있으나 대략적으로 수 나노미터에서 수백 나노미터 정도의 지름을 갖는 것으로 보고되고 있다. 이에 본원에서 "초상자성나노입자"는 나노크기로 잘게 부수어지어 초상자성 성질을 가지는 나노입자를 포함한다.

[0019] 본 발명은 극미량의 타겟물질도 특이적으로 검출해낼수 있도록 표지 효율을 향상시킨 새로운 구조의 나노복합체에 관한 것으로, 본 발명은 일 관점에서, 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 일으킬 수 있는 금속나노입자 또는 발광 나노입자를 다수 개 함유하는 코어(core); 및 타겟물질에 선택적으로 결합할 수 있는 하나 이상의 작용기를 가지는 고분자 중합체 셸(shell)을 포함하는 타겟물질 표지용 나노복합체에 관한 것이다. 도 1(a)는 본 발명에 따른 나노복합체의 일 실시예의 개략도이다.

[0020] 본 발명에 따른 나노복합체는 20~500nm, 더욱 바람직하게는 50~100nm의 직경을 가지는 것을 특징으로 하는데, 상기에서 입자의 크기가 20nm 미만이면 다수개의 나노입자를 함유하기 어렵고, 500nm 초과이면 수용액상 분산이 어려운 문제점이 있다.

[0021] 본 발명에 있어서, 표지의 목적이 되는 타겟물질로는 DNA, RNA, 펩티드, 단백질, 항원, 항체, 합텐(hapten), 유기화합물 또는 무기화합물 등을 들 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이때, 검출 목적인 분석물 이외에 상기 분석물 검출을 위하여 사용되는 DNA, RNA, 펩티드, 단백질, 항체, 압타머 등도 표지를 위한 타겟물질이 될 수 있다.

[0022] 본 발명은 다수개, 즉, 수개 내지 수천개, 바람직하게는 수십 내지 수백개의 나노입자를 하나의 셸 내로 집적하여 매우 낮은 농도의 타겟물질도 특이적으로 육안으로도 검출할 수 있게 하는 특징이 있다. 이때, 상기 셸 내로 집적되는 코어를 구성하는 나노입자는 SPR을 일으킬 수 있는 금속나노입자 또는 발광 나노입자를 사용한다.

[0023] 상기 SPR을 일으킬 수 있는 금속나노입자는 Au, Ag, Pt, Pd, Ir, Rh, Ru, Al, Cu, Te, Bi, Pb, Fe, Ce, Mo, Nb, W, Sb, Sn, V, Mn, Ni, Co, Zn 및 Ti로 구성된 군에서 선택된 어느 하나 이상의 금속을 사용할 수 있다. 이 중, Ag은 가장 예리한 SPR 공명 피크를 보이며, Au는 우수한 안정성을 나타내는바, 본 발명에 따른 표지를 위하여 바람직하다. 특히, 금(Au) 나노입자는 용액중에 분산되었을 때 입자의 사이즈에 따라서 흡수스펙트럼에서 서로 다른 최대 흡수파장을 지닌다. 예를 들면 약 13nm의 지름을 지니는 금 나노입자가 수용액 상태에서 잘 분산되었을 때는 약 530nm의 최대흡수파장을 가지며 용액은 붉은빛을 띠게 된다. 그러나 입자가 모여서 응집(aggregation)되었을 때는 최대흡수파장이 장파장으로 이동하게 되고 용액의 색은 푸른 빛을 띠게 된다. 한편,

Ag의 경우 동일 크기일 때 Au보다 SPR 신호가 4배 더 크다고 알려져 있으며, 응집되는 경우 회색의 어두운 색을 띠게 된다. 따라서, 이를 고분자 중합체 셀 내로 응집시킴으로써, 가시적인 색을 띠게 되는바, 이를 코어로 포함한 나노복합체를 타겟물질에 결합시킴으로써, 극미량의 생체 물질도 검출해 낼 수 있게 한다.

[0024] 이때, 상기 금속은 표면 플라즈몬 공명을 일으킬 수 있는 금속으로, 이의 결합으로 인하여 표면 플라즈몬 공명 스펙트럼의 변화를 가져오게 된다. 따라서, 스펙트럼 분석기를 이용하여 이를 측정할 수 있다. 이때 바람직하게는 다수개의 금(Au) 코팅된 초상자성나노입자를 이용함으로써, 별도의 스펙트럼 분석기 없이도 상기와 같은 금 나노입자의 aggregation에 따른 가시적인 색변화(푸른 빛)을 확인할 수 있다. 또한, 은(Ag)의 경우에도 다수개의 은 나노입자가 aggregation되는 경우 가시적으로 회색빛을 확인할 수 있다. 이때, 더욱 바람직하게는, 표면 안정성이 높은 금(Au)로 초상자성나노입자를 코팅한 다음, 가장 예리한 SPR 공명 피크를 나타내는 Ag로 환원하여 Au 및 Ag로 이중 코팅하여 SPR 스펙트럼 분석 효율을 향상시킬 수 있다. 또한, 이러한 이중코팅시 가시적으로도 aggregaton에 따른 색변화도 더 진해짐(검은 색)을 확인할 수 있다.

[0025] 한편, 상기 스펙트럼 또는 색 변화 측정 이외에, 전기화학적 시그널을 측정함으로써, 타겟물질의 존재여부를 검출할 수 있다. 본 기술이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가지는 당업자는, 본 발명에 따른 나노복합체의 코어를 다수개의 SPR을 일으킬 수 있는 금속나노입자로 구성한 경우, 전기화학적 시그널을 측정하기 위하여 통상적으로 알려진 전기화학적 시그널 측정방법을 수행할 수 있다. 즉, 전극사이에 위치시켜 전극 사이를 흐르지 않던 전류가 금속나노입자, 바람직하게는 금(Au) 입자를 통하여 흐르게 하여 전기적인 시그널을 검출하거나, 금속나노입자의 촉매반응을 이용하여 전기화학적인 시그널을 검출할 수 있다. 따라서, SPR에 의한 시그널을 측정할 수 있는 검출장치이면, 본 발명에 따른 타겟물질 표지용 나노복합체의 확인을 위하여 이용될 수 있음은 자명할 것이다.

[0026] 또한, 상기 SPR을 일으킬 수 있는 금속나노입자는 바람직하게는, SPR을 일으킬 수 있는 금속 코팅된 유전체 나노입자(dielectric nanoparticle)인 것을 특징으로 할 수 있다. 이는 내부에 유전체 코어(dielectric core)를 가지는 것으로서, 유전체 코어로서는 실리카, 산화철, Hydroxy Apatite 고분자 등을 사용할 수 있으나, 바람직하게는 금(Au) 코팅된 실리카 나노입자인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0027] 상기와 같은 SPR을 일으킬 수 있는 금속 코팅된 유전체 나노입자(dielectric nanoparticle)로 표지한 경우, 마찬가지로 금속의 응집으로 인한 가시적인 색을 확인하거나, 전기화학적 시그널 검출장치를 이용하여 시그널을 측정함으로써, 본 발명에 따른 타겟물질 표지용 나노복합체를 확인할 수 있다.

[0028] 한편, 상기 발광나노입자는 발광 유기화합물이 다수개 결합되어 있는 나노구조체인 것을 특징으로 할 수 있으며, 보다 상세하게는 형광분자가 답지된 실리카 나노입자 또는 유기형광입자 분자가 집적된 금속산화물 (예를 들어, 희토류 산화물) 나노플레이트 입자인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0029] 발광나노입자의 경우, 바람직하게는 수배 내지 수만개의 형광분자를 답지하거나 또는 집적한 것을 특징으로 할 수 있는데, 이용될 수 있는 유기형광물질은 제한되는 것은 아니나, 특히 로다민 B 이소티오시아네이트(RhodamineB isothiocyanate, RITC) 또는 플루오레세인 이소티오시아네이트(Fluoresceine isothiocyanate, FITC)인 것이 바람직하나, 일반적으로 사용되는 유기형광물질이라면 제한되지 않고 사용될 수 있다. 또한, 알렉사 플루오르(Alexa Fluor), 로다민 레드-X(RhodamineRed-X), 텍사스 레드(Texas Red), 테트라메틸로다민(Tetramethylrhodamine), 캐스캐이드 블루(Cascade Blue), DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole), 쿠마린류(Coumarine) 또는 루시퍼 옐로우(Lucifer Yellow) 등과 같이 화학적으로 변형된 유기형광물질도 사용될 수 있다.

[0030] 이때, 형광분자의 금속산화물 나노입자(나노플레이트)로의 집적은 일반적으로 알려진 고정방법에 의하여 수행될 수 있는데, 일례로 금속산화물 나노입자 표면에 강하게 결합할 수 있는 작용기를 통하여 금속산화물 나노입자 표면에 리간드 형태로 고정될 수 있다. 이때, 작용기로는 알데히드기, 아민기, 티올기, 설파이드기, 디설파이드기, 실란기, 카르복실기, 알코올기, 에폭시기, 티올기, 알킬할라이드기, 알킬기, 알켄기, 알킨기, 아릴기 등 또는 이들의 조합을 이용할 수 있으며, 먼저 유기형광분자 등 형광분자에 상기 작용기를 부착한 다음, 이를 통하여 금속산화물 나노입자 표면에 형광분자를 리간드 형태로 고정시킨다.

[0031] 수 개 내지 수만개의 발광나노입자의 나노복합체의 코아로의 집적은, 강력한 형광세기를 제공하므로 낮은 농도의 타겟물질도 용이하게 검출해 낼 수 있도록 한다. 상기 발광나노입자의 시그널은 통상적인 방법에 따라 형광계(fluorimeter) 또는 형광 현미경 등을 이용하여 측정될 수 있다

[0032] 한편, 상기와 같은 다수개의 나노입자를 함유하는 코어는 타겟물질에 선택적으로 결합할 수 있는 하나 이상의

작용기를 가지는 고분자 중합체 셀(shell)에 의해 둘러싸이는데, 이때, 바람직하게는 상기 고분자 중합체는 양친화성 블록 공중합체(amphiphilic block copolymer)을 이용하여 마이크로에멀젼 방법으로 제조 시 간단하게 제조될 수 있도록 하여 경제성을 높이고, 제조된 나노복합체가 수용액 분산성이 매우 우수하도록 할 수 있다.

[0033] 본 발명에 따른 나노복합체의 타겟물질로의 결합은 상기 나노복합체의 셀 상의 하나 이상의 작용기에 의하여 이루어지는 데, 작용기로는 이로 한정되는 것은 아니나, 바람직하게는 상기 타겟물질에 선택적으로 결합할 수 있는 작용기는 티올기, 설파이드기, 디설파이드기, 실란기, 카르복실기, 아민기, 알코올기, 알데히드기, 에폭시기, 티올기, 알킬할라이드기, 알킬기, 알켄기, 알킨기, 아릴기 또는 이들 중 2이상의 작용기의 조합을 사용할 수 있다. 이러한 작용기는 나노복합체의 표면에 다수로 존재할 수 있으며, 이로 한정되는 것은 아니나 상기 나노복합체의 표면에 수 내지 수천 개가 존재할 수 있다.

[0034] 본 발명에 있어서, 추가적으로 초상자성 나노입자가 상기 코어 내부에 포함되거나 상기 셀 외피에 부착되어 본 발명에 따른 나노복합체가 타겟과 결합이 용이하게 할 수 있다. 상기 초상자성나노입자는 Iron-Oxide, Iron-Cobalt, Iron-Nickel 및 전이금속으로 구성된 군에서 선택된 금속으로 이루어진 것임을 특징으로 할 수 있는데, 바람직하게는 γ-Fe_2O_3 또는 Fe_3O_4을 이용할 수 있다.

[0035] 상기와 같은 본 발명에 따른 타겟물질 표지용 나노복합체는 마이크로에멀젼 방법에 의하여 제조될 수 있는데, 제조된 나노복합체는 일반적으로 편구 모양을 갖으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 완전히 둥근 것보다는, 많은 용도에서 바람직한 타원형 또는 관-유사 모양일 수 있다. 외피는 본 나노복합체를 만드는 방법과 조화되는 어떠한 두께일 수 있으나, 표지를 위한 본 발명의 용도를 위하여 비교적 얇은 외피가 일반적으로 바람직하다.

[0036] 본 발명에 따른 나노복합체는 보다 구체적으로는 다음의 단계를 포함하는 방법에 의하여 제조될 수 있다:

[0037] (a) 다수개의 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance: SPR)을 일으킬 수 있는 금속나노입자 또는 발광 나노입자를 유기용매에 혼합하는 단계;

[0038] (b) 상기 나노입자 함유 유기용액을 양친화성 블록 공중합체(amphiphilic block copolymer) 수용액에 가하는 단계;

[0039] (c) 상기 혼합용액을 교반하여 마이크로에멀젼을 형성시켜 코어-셀 구조의 나노복합체를 형성하는 단계; 및

[0040] (d) 상기 나노복합체가 타겟물질로의 결합을 위한 하나 이상의 작용기를 갖도록 개질시키는 단계.

[0041] 먼저, 유기용매상에 SPR을 일으키는 금속나노입자 또는 발광 나노입자를 혼합하는데, 나노입자를 콜로이드 상으로 분산시킬 수 있는 유기용매는 약한 극성이 있는 것이면 특별히 제한되지 않으며, 예컨대, 디클로로메탄, 톨루엔, 아니솔, 클로로포름 또는 디클로로벤젠을 사용할 수 있다.

[0042] 그 다음, 상기 나노입자 함유 유기용액을 양친화성 블록 공중합체 수용액에 가하고, 혼합용액을 교반하여 코어-셀 구조체를 형성하게 된다. 양친화성 블록 공중합체를 함유한 용액은 극성용매를 이용하는데, 물의 경우 비싸지 않고 쉽게 이용할 수 있으며, 비독성이며, 취급과 저장이 용이하고 많은 다른 침전 반응과 친화성이며, 많은 비극성 용제와 혼합할 수 없으므로 이를 이용함이 바람직하다.

[0043] 통상적인 마이크로에멀젼 방법에서는 극성 및 비극성 액체의 계면에서 표면장력을 감소화시키고 마이크로에멀젼을 형성하기 위하여 계면활성제를 요하나, 본 발명에서는 양친화성 블록 공중합체를 이용하는바, 별도의 계면활성제를 요하지 않는다. 또한, 마이크로에멀젼 방법으로 제조 시 간단하게 제조될 수 있도록 하여 경제성을 높이고, 제조된 나노복합체가 수용액 분산성이 매우 우수하도록 하였다.

[0044] 양친화성 블록 공중합체는, 하나의 세그먼트 A와 하나의 세그먼트 B만으로 이루어진 양태(디블록 공중합체(A-B) 또는 하나의 세그먼트 A와 이의 양 말단에 결합되어 있는 두 개의 세그먼트 B로 이루어진 양태(트리블록 공중합체 B-A-B)이거나, 몇개의 세그먼트 B가 하나의 세그먼트 A에 부착되어 있는 복합형 구조[물론, 이는 하나 또는 두개의 말단 세그먼트 B를 추가로 함유할 수 있다; 복합형 블록 공중합체 A(-B)r]일 수 있으며, 이때 세그먼트 A와 세그먼트 B는 상술한 바와 같고, r은 2 초과의 값을 갖고, 세그먼트 A와 세그먼트 B는 직접 결합 또는 상술한 가교원에 의해 연결될 수 있으며, 세그먼트 A, 바람직하게는 세그먼트 B의 일부 또는 전부는 가교결합성 그룹, 특히 가교결합성 C-C 이중결합을 가질 수 있다.

[0045] 다른 양태에서, 본원 발명의 양친화성 블록 공중합체는 하나의 세그먼트 B와 이의 양 말단에 결합되어 있는 두 개의 세그먼트 A로 이루어지거나[트리블록 공중합체 A-B-A], 몇 개의 세그먼트 A가 하나의 세그먼트 B에 부착되

어 있는 복합형 구조[물론, 이는 하나 또는 두개의 말단 세그먼트 A를 추가로 함유할 수 있다; 복합형 블록 공중합체 B(-A)r]일 수 있다.

[0046] 이들 공중합체는 예를 들면 상술한 디블록, 삼블록 또는 복합형 블록 공중합체 A-B, B-A-B 또는 $A(-B)_r${여기서, 세그먼트 A와 세그먼트 B는, 예를 들면, 카보닐, 카보네이트, 에스테르, 아미드, 우레아 또는 우레탄 작용성 그룹에 의해, 또는 특히 가교원 -X-R*-X-(여기서, X는 상술한 작용성 그룹이고, R*은, 예를 들면, 탄소수 20 이하의 2가 지방족, 지환족, 방향족 또는 아르지방족 그룹(예: 직쇄 또는 측쇄 C6-C10-알킬렌); 각각 치환되지 않거나 메틸 그룹 1 내지 3개에 의해 치환된 사이클로헥실렌-메틸렌 또는 사이클로헥실렌-메틸렌-사이클로헥실렌; 또는 치환되지 않거나 메틸로 치환된 페닐렌 또는 페닐렌-메틸렌-페닐렌이다]에 의해 연결된다}이다. 특히 바람직한 공중합체는 -NH-C(O)-NH-R*-NH-C(O)-NH- 또는 -O-C(O)-NH-R*-NH-C(O)-O-(여기서, R*은 각각 위에서 정의한 바와 같다)이다.

[0047] 상기와 같이 마이크로에멀젼 방법을 이용하여 형성된 나노복합체는 타겟물질로의 결합을 위한 하나 이상의 작용기를 갖도록 개질될 수 있으며, 작용기로는 이로 한정되는 것은 아니나, 바람직하게는 상기 타겟물질에 선택적으로 결합할 수 있는 작용기는 티올기, 설파이드기, 디설파이드기, 실란기, 카르복실기, 아민기, 알코올기, 알데히드기, 에폭시기, 티올기, 알킬할라이드기, 알킬기, 알켄기, 알킨기, 아릴기 또는 이들 중 2이상의 작용기의 조합을 사용할 수 있다.

[0048] 본 발명에 따른 나노복합체의 타겟물질로의 결합은 상기 나노복합체의 셀 상의 하나 이상의 작용기에 의하여 이루어지는 데, 직접 타겟물질로 결합되거나 DNA, RNA, 단백질, 압타머 및 항체 등과 같은 타겟물질에 특이적으로 결합할 수 있는 결합체를 상기 작용기에 연결하여 분석물을 표지하여 검출할 수 있다(도 1(b)).

[0049] 따라서, 본 발명은 다른 관점에서, 상기 나노복합체를 포함하는 것을 특징으로 하는 타겟물질 표지용 조성물 및 상기 나노복합체를 타겟물질에 결합시키는 것을 특징으로 하는 타겟물질의 표지방법을 제공한다.

[0050] 이상으로 본 발명의 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0051] 도 1은 본 발명에 따른 타겟물질 표지용 나노복합체(a) 및 표지방법(b)의 예시도이다.

도면

도면1

