(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0074576
(43) 공개일자 2015년07월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C01B 33/12 (2006.01) *C08G 73/02* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0162482
(22) 출원일자 2013년12월24일
심사청구일자 2013년12월24일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이택승
대전광역시 유성구 배울2로 78, 611동 2001호 (관평동,대덕테크노밸리6단지아파트)
노재국
충청남도 논산시 대화로33번길 15-3
(74) 대리인
김홍균

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **공액화 고분자 나노입자가 표면에 도입된 다성분계 실리카 입자, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 바이오센서**

(57) 요 약

본 발명은 공액화 고분자 나노입자와 실리카 서브마이크로 입자를 각각 제조한 후, 실리카 입자를 APTES로 처리하여 고분자 나노입자와 결합하여 다성분계 실리카 입자를 제조하는 방법에 관한 것이다. 상기 다성분계 실리카 입자의 표면에 폴리아르기닌을 도입하고 폴리아르기닌의 아민기와 항체의 카복실기를 반응시켜 다성분계 실리카 입자에 특정 세포와 작용할 수 있는 항체를 도입한 한다. 폴리아르기닌에 결합한 항체는 항원항체 반응으로 세포 감지에 이용한다.

상기와 같은 다성분계 실리카 입자 표면에 기능성기 도입으로 항원항체 반응을 유도, 수용액상에서 특정 바이오 물질에 대한 인지물질로 사용할 수 있으며, 화학센서 및 바이오센서로 다양하게 사용할 수 있고, 진단, 의학연구, 임상실험, 화학분석 등에 널리 사용될 수 있다.

명 세 서

청구범위

청구항 1

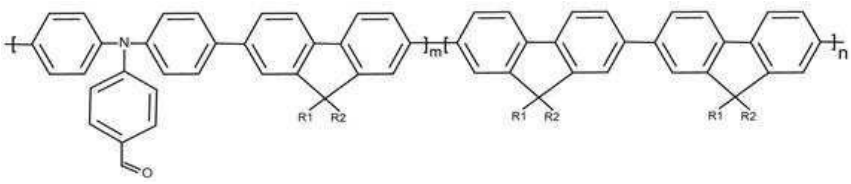
아민기가 도입된 실리카 서브마이크로 입자 표면에 공액화 고분자 화합물을 포함하는 고분자 나노입자가 부착된 다성분계 실리카 입자.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 공액화 고분자 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물인 다성분계 실리카 입자.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, R1 및 R2는 서로 동일하거나 상이하며, 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_1 내지 C_8의 알킬기이고,

m, n은 몰분율로, m은 0.05 내지 0.7의 실수이며, n은 1-m이다.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 C_1 내지 C_8의 알킬기는 서로 독립적으로 메틸, 에틸, i-프로필, n-프로필, i-부틸, n-부틸, t-부틸, n-펜틸, i-펜틸 또는 n-헥실, 헵틸 및 옥틸로 이루어진 군에서 선택된 1종인 다성분계 실리카 입자.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 공액화 고분자 화합물은 수평균 분자량이 3,000 내지 100,000인 다성분계 실리카 입자.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 다성분계 실리카 입자 표면에 폴리아르기닌이 추가로 도입된 다성분계 실리카 입자.

청구항 6

공액화 고분자 화합물을 재침전법을 이용하여 고분자 나노입자로 제조하는 단계;

실리카 서브마이크로 입자를 (3-아미노프로필)트리에톡시실란과 반응시켜 표면에 아민기가 도입된 실리카 서브마이크로 입자를 제조하는 단계;

상기 고분자 나노입자를 상호간 인력을 이용하여 상기 아민기가 도입된 실리카 서브마이크로 입자 표면에 부착하여 다성분계 실리카 입자를 제조하는 단계

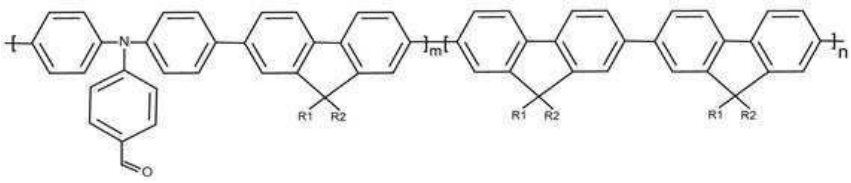
를 포함하는 다성분계 실리카 입자의 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 공액화 고분자 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물인 다성분계 실리카 입자의 제조방법.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R1 및 R2는 서로 동일하거나 상이하며, 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_1 내지 C_8의 알킬기이고,

m, n은 몰분율로, m은 0.05 내지 0.7의 실수이며, n은 1-m이다.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 다성분계 실리카 입자 표면에 상호간 인력을 이용하여 폴리아르기닌을 도입하는 단계를 더 포함하는 실리카 입자의 제조방법.

청구항 9

제5항의 다성분계 실리카 입자에 폴리아르기닌과 반응할 수 있는 항체를 도입하여 특정 항원을 가진 세포를 감지하는 바이오센서.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 세포는 SKBR-3 세포인 것을 특징으로 하는 바이오센서.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 공액화 고분자 나노입자가 표면에 도입된 다성분계 실리카 입자 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 또한, 상기 다성분계 실리카 입자를 포함하는 바이오센서 및 이를 이용하여 선택적인 세포를 감지하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 우리의 일상생활에 밀접한 관련이 있는 고분자는 기존에 인식되어 온 플라스틱, 고무와 같은 범용소재 개념을 벗어나 유기박막트랜지스터(organic thin film transistor), 유기발광소자(organic light emitting diode), 화학바이오센서(chemicalbiosensor) 등 전자 재료 및 분석화학 등과 같은 특정분야의 응용 재료로 각광 받고 있다(J. H, Burroughes, D. D. C. Bradley, A. R. Brown, R. N. Marks, K. Mackay, R. H. Friend, P. L. Burns, A. B. Holmes, Nature 347, 539-541, 1990; C. D. Dimitrakopolous, P. Malenfant, Adv. Mater. 14, 99, 2002; F. Garnier, Acc. Chem. Res. 32, 209-215, 1999; P. Peumans, A. Yakimov, S. R. Forrest, J. Appl. Phys. 93, 3693-3723, 2003).

[0003] 분석화학 분야에서 공액화 고분자의 사용은 정성적, 정량적 측면에서 많은 발전을 가져왔다. 그 이유는 환경의 변화에 따라 공액화 고분자의 기본적 특성이 변화하기 때문이다. 특히 분자나 이온인식기능을 가진 공액화 고분자가 표적을 인식하여 산화-환원의 전위차, 흡수나 발광 스펙트럼이 변화하면 센서 응용이 가능하다. 다양한 센서 응용 중에서 색변이 유도체 화합물들을 감지 및 패턴제작 등에 이용하려는 연구가 진행되고 있다. 최근 화학 및 바이오 분야 응용을 위하여 색변이, 전기화학적, 또는 광 응답을 통하여 이온을 인식할 수 있는 분자들에 대하여 많은 연구가 이루어지고 있다. 기존 형광 응답 신호의 변화를 이용한 센서재료는 감지물질을 감응함에 있어서 뛰어난 특성을 보이지만, 형광 응답 신호를 알기 위하여 추가로 기기가 필요하므로, 최근에는 사용 목적에

따라 인간의 눈으로 식별이 가능한 색변이 유도체 화합물들이 많이 연구되고 있다(A. P. De silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, Chem. Rev. 97, 1515-1566, 1997; D. Esteban-Gomez, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, J. Org. Chem. 70, 5717-5720, 2005).

[0004] 공액화 고분자 화합물을 이용하여 제조한 고분자 나노입자는 감지시약, 바이오센서, 광전자 소자용 물질들과 같은 분야에서 다기능 물질로 사용된다. 이러한 고분자 나노입자는 공액화 고분자를 설계 합성하고, 고분자 나노입자 표면처리를 통하여 요구분야에 맞게 사용될 수 있다. 고분자 나노입자는 제조하기 쉽고, 특성 조작이 간단하고, 독성도 양자점에 비교하여 현저히 낮으므로, 바이오센서로 사용하기 적합하다. 뿐만 아니라 고분자 나노입자는 높은 형광 양자수율을 가지며, 크기조절이 용이하여 많은 응용분야에 사용된다.(J. Pecher, S. mecking, Chem. Rev. 110, 6260-6279, 2010; D. Tuncel, H. V. Demir, Nanoscale, 2, 484-494, 2010; S. N. Clafton, D. A. Beattie, A. Mierczynska-Vasilev, R. G. Acres, A. C. Morgan, T. W. Kee, Langmuir, 26, 17785-17789, 2010; C. Wu, Y. Jin, T. Schneider, D. R. Burnham, P. B. Smith, D. T. Chiu, Angew. Chem. Int. Ed. 49, 9436-9440, 2010).

[0005] 실리카 입자는 바이오약품이나 광학재료와 관련하여 다양한 응용을 할 수 있는 재료적인 장점이 있다. 또한 유기 염료가 도입된 실리카 입자는 좋은 광안정성과, 밝기, 그리고 생체적합성적인 면이 우수하여 다양한 생체 실험에 큰 잠재력을 가지고 있는 물질중 하나이다(J. E. Lee, N. Lee, T. Kim, T. Hyeon, Acc. Chem. Res., 44, 893-902, 2011; W. Tan, K. Wang, X. He, X. J. Zhao, T. Drake, L. Wang, R. P. Bagwe, Medicinal Research reviews, 24, 621-638, 2004).

[0006] 최근, 실리카 입자에 형광 물질을 복합시켜 다양한 바이오센서로 사용되어 왔다. 특히 유기 염료는 생체적합성, 광안정성 그리고 뛰어난 밝기로 많이 이용되어 왔다. 이러한 유기 염료들은 실리카 입자 내부에 도입되거나 표면에 처리하는 방법 등으로 바이오센서로 사용되었다.(S. Santra, R. P. Bagwe, D. Dutta, J. T. Stanley, G. A. Walter, W. Tan, B. M. Moudgil, R. A. Mericle, Adv. Mater., 17, 2165-2169, 2005; J. Geng, J. Liu, J. Liang, H. Shi, B. Liu. Nanoscale, 5, 8593-8601, 2013)

선행기술문헌

비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Light-emitting-diodes based on conjugated polymers, J. H, Burroughes, D. D. C. Bradley, A. R. Brown, R. N. Marks, K. Mackay, R. H. Friend, P. L. Burns, A. B. Holmes, Nature, 347, 539-541, 1990

(비특허문헌 0002) Organic Thin Film Transistors for Large Area Electronics, C. D. Dimitrakopolous, P. R. L. Malenfant, Adv. Mater., 14, 99-117, 2002; Organic-Based Electronics la Carte, F. Garnier, Acc. Chem., Res. 32, 209-215, 1999

(비특허문헌 0003) Small molecular weight organic thin-film photodetectors and solar cells, P. Peumans, A. Yakimov, S. R. Forrest, J. Appl. Phys., 93, 3693-3723, 2003

(비특허문헌 0004) Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches, A. P. De silva, H. Q. N. Gunaratne, T. Gunnlaugsson, A. J. M. Huxley, C. P. McCoy, J. T. Rademacher, T. E. Rice, Chem. Rev., 97, 1515-1566, 1997

(비특허문헌 0005) Why, on Interaction of Urea-Based Receptors with Fluoride, Beautiful Colors Develop, D. Esteban-Gomez, L. Fabbrizzi, M. Licchelli, J. Org. Chem., 70, 5717-5720, 2005

(비특허문헌 0006) Nanoparticles of Conjugated Polymer, J. Pecher, S. Mecking, Chem. Rev., 110, 6260-6279, 2010

(비특허문헌 0007) Conjugated polymer nanoparticles, D. Tuncel, V. Demir, Nanoscale, 2, 484-494, 2010

(비특허문헌 0008) Ultrabright and Bioorthogonal Labeling of Cellular Targets Using Semiconducting Polymer Dots and Click Chemistry, C. Wu, Y. Jin, T. Schneider, D. R. Burnham, P. B. Smith, D. T. Chiu, Angew. Chem. Int. Ed., 49, 9436-9440, 2010

(비특허문헌 0009) Multifunctional Mesoporous Silica Nanocompsite Nanoparticles for Theranostic

Applications, J. E. Lee, N. Lee, T. Kim, T. Hyeon, Acc. Chem. Res., 44, 893-902, 2011

(비특허문헌 0010) Bionanotechnology based on silica nanoparticles, W. Tan, K. Wang, X. He, X. J. Zhao, T. Drake, L. Wang, R. P. Bagwe, Medicinal Research reviews, 24, 621-638, 2004

(비특허문헌 0011) Synthesis and Characterization of Fluorescent, Radio-Opaque, and Paramagnetic Silica Nanoparticles for Multimodal Bioimaging Applications, S. Santra, R. P. Bagwe, D. Dutta, J. T. Stanley, G. A. Walter, W. Tan, B. M. Moudgil, R. A. Mericle, Adv. Mater., 17, 2165-2169, 2005

(비특허문헌 0012) A general approach to prepare conjugated polymer dot embedded silica nanoparticles with a SiO2@CP@SiO2 structure for targeted HER2-positive cellular imaging, J. Geng, J. Liu, J. Liang, H. Shi, B. Liu. Nanoscale, 5, 8593-8601, 2013

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 공액화 고분자 나노입자가 표면에 도입된 다성분계 실리카 입자 및 이의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

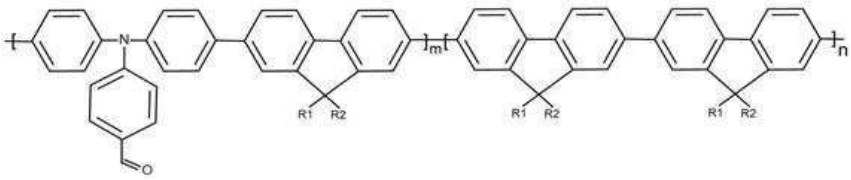
[0009] 또한, 본 발명은 상기 다성분계 실리카 입자를 포함하는 바이오센서 및 상기 바이오센서를 이용하여 특정 세포를 감지하는 방법을 제공하는 것도 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기한 목적을 달성하기 위해 본 발명은, 아민기가 도입된 실리카 서브마이크로 입자 표면에 공액화 고분자 화합물을 포함하는 고분자 나노입자가 부착된 다성분계 실리카 입자를 제공한다.

[0011] 여기서, 상기 공액화 고분자 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물인 것이 바람직하다.

화학식 1

[0012] 

[0013] 상기 화학식 1에서, R1 및 R2는 서로 동일하거나 상이하며, 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_1 내지 C_8의 알킬기이고,

[0014] m, n은 몰분율로, m은 0.05 내지 0.7의 실수이며, n은 1-m이다.

[0015] 여기서, 상기 C_1 내지 C_8의 알킬기는 서로 독립적으로 메틸, 에틸, i-프로필, n-프로필, i-부틸, n-부틸, t-부틸, n-펜틸, i-펜틸 또는 n-헥실, 헵틸 및 옥틸로 이루어진 군에서 선택된 1종인 것이 바람직하다.

[0016] 또한, 상기 공액화 고분자 화합물은 수평균 분자량이 3,000 내지 100,000인 것이 바람직하다.

[0017] 또한, 본 발명은 상기 다성분계 실리카 입자 표면에 폴리아르기닌이 추가로 도입된 다성분계 실리카 입자를 제공한다.

[0018] 또한, 본 발명은 공액화 고분자 화합물을 재침전법을 이용하여 고분자 나노입자로 제조하는 단계; 실리카 서브마이크로 입자를 (3-아미노프로필)트리에톡시실란((3-aminopropyl)triethoxysilane)과 반응시켜 표면에 아민기가 도입된 실리카 서브마이크로 입자를 제조하는 단계; 및 상기 고분자 나노입자를 상호간 인력을 이용하여 상기 아민기가 도입된 실리카 서브마이크로 입자 표면에 부착하여 다성분계 실리카 입자를 제조하는 단계를 포함

하는 다성분계 실리카 입자의 제조방법을 제공한다.

[0019] 또한, 본 발명은 상기 다성분계 실리카 입자 표면에 상호간 인력을 이용하여 폴리아르기닌을 도입하는 단계를 더 포함하는 다성분계 실리카 입자의 제조방법을 제공한다.

[0020] 아울러, 본 발명은 상기 폴리아르기닌이 추가로 도입된 다성분계 실리카 입자에 폴리아르기닌과 반응할 수 있는 항체를 도입하여 특정 항원을 가진 세포를 감지하는 바이오센서를 제공한다.

[0021] 여기서, 상기 세포는 SKBR-3인 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0022] 본 발명에 따른 공액화 고분자 나노입자를 APTES가 처리된 실리카 입자의 표면에 도입한 후, 이러한 다성분계 실리카 입자의 표면에 폴리아르기닌을 도입하여 수용액상에서 특정 바이오물질에 대한 인지 물질로 사용할 수 있으며, 화학센서 및 바이오센서로 다양하게 사용할 수 있고, 복잡한 방법이 아닌 간단한 방법으로 다성분계 실리카 입자를 제조할 수 있어 진단, 의학연구, 임상실험, 화학분석 등에 널리 사용될 수 있다.

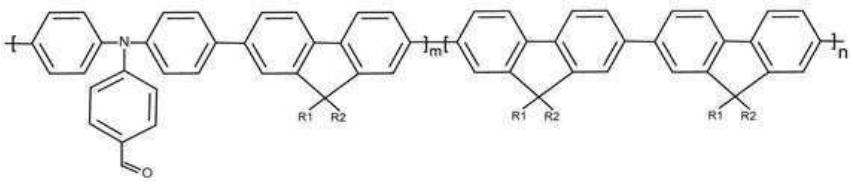
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하, 본 발명을 설명한다.

[0024] 본 발명은 아민기가 도입된 실리카 서브마이크로 입자 표면에 공액화 고분자 화합물을 포함하는 고분자 나노입자가 부착된 다성분계 실리카 입자를 제공한다.

[0025] 여기서, 상기 공액화 고분자 화합물은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물인 것이 바람직하나, 이에 한정되지 않는다.

[0026] [화학식 1]

[0027] 

[0028] 상기 화학식 1에서, R1 및 R2는 서로 동일하거나 상이하며, 각각 독립적으로 직쇄 또는 분지쇄의 C_1 내지 C_8의 알킬기이고;

[0029] m, n은 몰분율로, m은 0.05 내지 0.7의 실수이고, n은 1-m이다.

[0030] 상기 R_1과 R_2는 각각 메틸, 에틸, i-프로필, n-프로필, i-부틸, n-부틸, t-부틸, n-펜틸, i-펜틸, n-헥실, 헵틸 및 옥틸로 이루어진 군에서 선택된 1종일 수 있다.

[0031] 또한, 상기 공액화 고분자 화합물의 분자량은 특별히 한정되지 않으나, 수평균 분자량(Mn)으로 3,000 내지 100,000이 바람직하며, 그 용도에 요구되는 특성에 따라 그 범위를 적절히 조절하여 사용할 수 있다.

[0032] 그러나, 본 발명에서 사용하는 공액화 고분자는 상기 화학식 1에 국한되는 것은 아니며, 소수성을 갖는 어떤 공액화 고분자도 사용할 수 있다.

[0033] 본 발명에서 사용한 공액화 고분자 화합물과 이러한 공액화 고분자 화합물을 사용하여 제조한 공액화 고분자 나노입자는 본 발명자에 의하여 출원된 대한민국 특허 출원번호 10-2012-0106850에 기재되어 있다.

[0034] 또한, 본 발명은 상기 다성분계 실리카 입자 표면에 폴리아르기닌을 추가로 도입한 다성분계 실리카 입자를 제공한다.

[0035] 상기 다성분계 실리카 입자는 다양한 방법으로 제조될 수 있다.

[0036] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 공액화 고분자 화합물을 재침전법을 이용하여 고분자 나노입자로 제조하는 단계; 실리카 서브마이크로 입자를 (3-amonopropyl)triethoxysilane과 반응시켜 표면에 아민기가 도입된 실리카 서브마이크로 입자를 제조하는 단계; 및 상기 고분자 나노입자를 상호간 인력을 이용하여 상기 아민기가 도입된

실리카 서브마이크로 입자 표면에 부착하여 다성분계 실리카 입자를 제조하는 단계로 제조될 수 있다.

[0037] 여기서, 상기 다성분계 실리카 입자 표면에 상호간 인력을 이용하여 폴리아르기닌을 도입하는 단계를 추가로 더 포함할 수 있다.

[0038] 구체적으로 설명하면, 상기 공액화 고분자 화합물로 고분자 나노입자를 제조한 후, 상기 공액화 고분자 나노입자와 APTES가 처리된 실리카 서브마이크로 입자간 상호간 인력에 의하여 결합하여 다성분계 실리카 입자를 제조한다.

[0039] 이후, 상기 다성분계 실리카 입자를 수용액상에서 폴리아르기닌과 반응시켜 상호간 인력에 의하여 다성분계 실리카 입자의 표면에 폴리아르기닌을 도입한다.

[0040] 상기 다성분계 실리카 입자에 폴리아르기닌을 표면처리하여 폴리아르기닌의 아민기와 항체의 카르복실기가 쉽게 반응될 수 있으며, 상기 항체와 작용하는 항원을 포함하는 특정 세포를 보다 정확하게 검출할 수 있다.

[0041] 이러한 폴리아르기닌이 도입된 다성분계 실리카 입자는 폴리아르기닌과 반응할 수 있는 항체를 도입하여 특정 항원을 가진 세포를 감지하는 바이오센서로 이용될 수 있다.

[0042] 상기 바이오센서의 제조방법은 특별히 한정되지 않으나, 상기 다성분계 실리카 입자 표면의 폴리아르기닌에 특정 세포의 항원과 항원항체 반응을 일으킬 수 있는 항체를 수용액상에서 반응시켜 제조할 수 있다.

[0043] 본 발명에서는 상기 항체로 neu 펩타이드를 사용하였다.

[0044] 상기와 같이 제조된 바이오센서는 세포 중에서, 상기 neu 펩타이드와 결합성이 있는 세포(SKBR-3)만을 선택적으로 인지하게 된다.

[0045] 구체적으로 설명하면, 표면에 항체(neu 펩타이드)가 결합된 다성분계 실리카 입자를 SKBR-3 세포에 배양시키면, neu 펩타이드의 항원이 SKBR-3 표면에 결합하게 된다. 이후, 세포의 식세포 작용에 의하여 SKBR-3 세포질 내로 다성분계 실리카 입자가 들어가게 된다. 세포질에 들어간 다성분계 실리카 입자의 형광 강도의 측정을 통하여 상기 세포를 감지할 수 있게 된다.

[0046] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니며, 다른 분자 구조의 공액화 고분자 나노입자를 상호간 인력을 통하여 실리카 서브마이크로 입자의 표면에 도입할 수 있는 모든 방법에 적용할 수 있다. 또한, 특정 바이오물질과 결합할 수 있는 폴리아르기닌을 다성분계 실리카 입자에 표면처리하게 되면 단백질-리간드 상호작용, 항원-항체 상호작용 등을 통하여 특정 세포 및 바이오물질을 감지하는데 적용할 수 있다.

[0047] **[실시예 1] 표면에 폴리아르기닌이 도입된 다성분계 실리카 입자의 제조**

[0048] **<단계 1> 알데하이드기를 포함한 공액화 고분자 화합물의 제조(화학식 1 R1=R2=-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)**

[0049] 4-(비스(4-브로모페닐)아미노)벤즈알데하이드 0.215 g (0.5 mmol)과 2,7-다이브로모-9,9-다이옥틸-9-플루오렌 0.274 g (0.5 mmol)과 9,9-다이옥틸플루오렌-2,7-다이보로닉엑시드 비스(1,3-프로페인다이올)에스터 0.670 g (1.2 mmol)과 그리고 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 촉매 0.047 g (0.04 mmol)을 습기가 제거된 8 mL의 톨루엔과 4 mL의 2M K_2CO_3의 혼합용액에 용해시키고 90℃에서 40시간동안 환류하였다. 반응 후 상온으로 냉각하고 메탄올에 부어 석출시킨 다음 석출물을 여과하였다. 여과하여 얻어진 석출물은 수평균 분자량이 10,000이상인 공액화 고분자 화합물을 얻었다. 이를 원소분석 한 결과 m은 50%의 몰분율을 차지하는 것을 알 수 있었다.

[0050] ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ =9.8(1H, 알데하이드기), 7.7~6.6(30H, 방향족), 4.2~3.7(12H, 알킬기), 3.7~3.3(36H,알킬기), 3.0~2.6(24H, 알킬기), 2.1~1.7(12H, 알킬기), 1.6~1.0(18H, 알킬기) ppm

[0051] **<단계 2> 알데하이드기를 포함한 공액화 고분자 화합물을 이용한 고분자 나노입자의 제조**

[0052] 상기 <단계 1>에서 제조한 공액화 고분자 화합물을 1 mg/mL의 농도로 THF에 녹이고, 상기 용액 1 mL를 음파처리하에서 12 mL의 3차 증류수가 담긴 비커에 빠르게 주사기로 주입하여 원 모양의 고분자 나노입자가 제조하였다. 상기의 방법을 통하여 만들어진 고분자 나노입자를 전자현미경으로 분석한 결과, 농도에 따라 약 30-50 nm의 크

기를 가지는 것을 확인할 수 있었다.

[0053] **<단계 3> APTES 처리된 실리카 서브마이크로 입자의 제조**

[0054] 1 mL의 테트라에틸 오소실리케이트를 10 mL의 에탄올에 초음파 분해 하에서 첨가한다. 5분 후, 25 % 암모니움 하이드록사이드와 10 mL의 에탄올을 반응물에 첨가한다. 50분 동안 초음파 분해 욕에서 반응시킨 후, 물과 에탄올로 세척 후 회수한다. 약 200 nm 크기의 회수한 실리카 서브마이크로 입자 1 g에 APTES 2 wt%를 첨가하고 1시간동안 130℃에서 반응한다. 반응 후, 메탄올로 세척하고 원심분리기를 이용하여 회수하여, APTES 처리된 실리카 서브마이크로 입자를 수득하였다.

[0055] **<단계 4> APTES 처리된 실리카 입자 표면에 공액화 고분자 나노입자를 도입한 다성분계 실리카 입자의 제조**

[0056] 상기 <단계 2>에서 제조한 초음파 분해 욕에 있는 공액화 고분자 나노입자 수분산액 10 mL에 상기 <단계 3>에서 제조한 APTES가 처리된 실리카 입자(0.01 g/mL) 분산액 1 mL를 주입한 후, 4시간동안 초음파 분해 욕에서 방치한다. 반응 후, 원심분리기를 이용하여 세척 및 회수를 하여 APTES 처리된 실리카 입자 표면에 공액화 고분자 나노입자를 도입한 다성분계 실리카 입자를 수득하였다.

[0057] **<단계 5> 다성분계 실리카 입자의 표면에 폴리아르기닌의 도입**

[0058] 상기 <단계 4>에서 제조한 다성분계 실리카 입자의 표면에 폴리아르기닌을 도입하기 위하여, 초음파 분해 욕에 있는 다성분계 실리카 입자 수분산액 8 mL에 폴리아르기닌(1 mg/mL)의 2 mL를 주입한 후 2시간 동안 초음파 분해 욕에서 반응시킨다. 원심분리기를 이용하여 수세 및 회수를 하여 표면에 폴리아르기닌이 도입된 다성분계 실리카 입자를 수득하였다.

[0059] **[실시예 2] 다성분계 실리카 입자의 표면에 도입된 폴리아르기닌에 항체인 neu 펩타이드의 도입**

[0060] 40 mg 1-Ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]carbodiimide hydrochloride(EDC)와 9.7 mg N-Hydroxysuccinimide(NHS)를 증류수 4 mL에 녹인 후, 30분 동안 반응한다. 완전히 녹인 후, neu(c-18) 항체(200 g/mL) 용액 200㎕ 를 넣고 1시간 동안 반응한다. 상기 반응물을 실시예 1에서 제조한 폴리아르기닌이 도입된 다성분계 실리카 입자 분산액에 넣고 4시간 동안 반응한다. 이후, 원심분리기를 이용하여 수세하고 회수하였다.

[0061] **[실험예 1] 항체가 도입된 다성분계 실리카 입자를 이용하여 SKBR-3 세포 감지 센서로의 성능 평가**

[0062] 상기 실시예 2에서 제조한 neu 펩타이드가 도입된 다성분계 실리카 입자 20㎕를 SKBR-3 세포에 37℃에서 같이 배양시킨 후, 2, 6, 그리고 24시간이 경과하고, 세포내 형광 사진을 통해 감지하였다.

[0063] 형광 사진을 통하여 확인한 결과, 다성분계 실리카 입자가 항원항체 반응에 의해 SKBR-3의 세포질 내에 잘 들어가서 형광을 내는 것을 확인하였다.

[0064] **[실험비교예 1] 항체가 도입된 다성분계 실리카 입자의 다른 세포에 대한 감지 성능 평가**

[0065] 상기 실시예 2에서 제조한 neu 항체가 도입된 다성분계 실리카 입자 20㎕를 MDA-MB-231 세포에 37℃에서 같이 배양시킨 후, 2, 6, 그리고 24시간이 경과한 후의 세포내 형광을 측정하였다. 형광 사진을 확인한 결과, 항원항체 반응이 잘 일어나지 않아서 다성분계 실리카 입자가 MDA-MB-231 세포의 세포질 내에 잘 들어가지 않는 것을 확인하였다.