

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0136771
(43) 공개일자 2023년09월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/552 (2014.01) *G01N 21/31* (2006.01)
B82Y 15/00 (2017.01) *B82Y 30/00* (2017.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/554 (2013.01)
G01N 21/31 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0033122
(22) 출원일자 2022년03월17일
심사청구일자 2022년03월17일

(71) 출원인
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
하지원
울산광역시 남구 대학로 93 (무거동)
한인섭
경기도 용인시 처인구 포곡읍 석성로888번길 97-17
김근완
울산광역시 울주군 범서읍 대리2길 46, 203동 1702호(구영지구푸르지오2단지)
(74) 대리인
특허법인다나

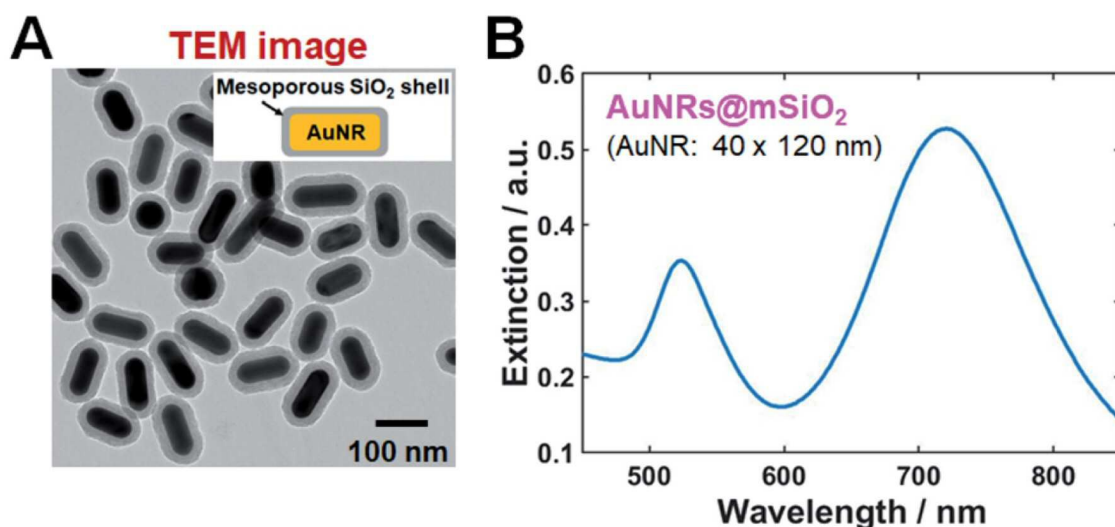
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침

(57) 요약

본 출원은 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 이방성 광학 특성, 향상된 안정성, 우수한 생체 적합성 등으로 인해 생물학적 연구에서 유망한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능 배향 탐침에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

B82Y 15/00 (2013.01)

B82Y 30/00 (2013.01)

G01N 2021/258 (2013.01)

G01N 2021/3155 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711146409

과제번호 2018R1C1B3001154

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 신진연구자지원사업

구 연구과제명 고분해능 광학현미경과 단일 입자 촉매 반응을 이용한 플라즈모닉 나노촉매 반응 연

기 여 율 1/1

과제수행기관명 울산대학교 산학협력단

연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

비등방성 모양의 금나노로드 코어 및 상기 금나노로드 코어에 코팅된 메조포러스 실리카 셸을 포함하고, 금 나노로드의 평균 길이는 100 내지 140 nm이고, 평균 너비는 30 내지 50 nm인 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
셸의 평균 두께는 15 내지 20 nm이며,
메조포러스 포어(Pore)의 평균 크기는 3 내지 10 nm인 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
자외선-가시광선 흡광 스펙트럼 측정시 금나노로드 단축방향의 집단적 전자진동에 의해 발생하는 Transverse LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance) 피크가 526 ± 50 nm에서 나타나는 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,
자외선-가시광선 흡광 스펙트럼 측정시 금나노로드 장축방향의 집단적 전자진동에 의해 발생하는 Longitudinal LSPR 피크가 723 ± 70 nm에서 나타나는 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,
금나노로드의 단일 입자 산란 스펙트럼에서 LSPR 파장이 690 내지 760 nm 사이에서 피크를 나타내는 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,
차등 간섭 대비 현미경(Differential Interference Contrast Microscopy)에서 단일 금나노로드의 회전 각도에 따라, 나노로드의 DIC 이미지 명암이 주기적으로 발생하는 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,
회전 각도에 따라 단일 금나노로드의 DIC 이미지에서, 밝은 이미지 신호 세기와 어두운 이미지 신호 세기가 주기적으로 변화하며, 명암의 신호 세기가 반상관계를 보여주는 조성물.

청구항 8

제 1 항의 구성물을 포함하는 다기능성 배향 탐침.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

금나노로드 코어의 LSPR 파장의 빛에 의한 광열 특성이 있는 다기능성 배향 탐침.

청구항 10

제 8 항에 있어서,

메조포러스 실리카 표면에 개질이 가능하고, 메조포어에 약물 탑재가 가능한 다기능성 배향 탐침.

청구항 11

제 8 항에 있어서,

금나노로드 표면에 작용기가 결합되어 바이오 센서로서 바이오 물질 탐지가 가능한 다기능성 배향 탐침.

청구항 12

제 8 항에 있어서,

편광의 각도에 따라 금나노로드의 명암 신호 세기 및 명암 이미지가 주기적으로 변화하는 특성을 이용하여 3차원 공간상 배향 측정이 가능한 다기능성 배향 탐침.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 이방성 광학 특성, 향상된 안정성, 우수한 생체 적합성 등으로 인해 생물학적 연구에서 유망한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능 배향 탐침에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 플라스몬 금 나노로드(AuNR)는 국소 표면 플라스몬 공명(LSPR) 효과, 표면 변형 등에 기인할 수 있는 독특한 형상 유도 광학 특성으로 인해 다양한 생물 의학 분야에 적용되고 있다. 예를 들어, 금 나노로드는 고효율의 광열 전환, 광열 유도 약물 방출의 활성화 향상을 위한 화학 요법 치료의 국소 열 발생기로서, 광선 요법에 사용되고 있다.

[0004] 그러나, 이러한 생물 의학 응용 분야에 대한 장점에도 불구하고 씨드 매개 성장 방식에 사용되는 고독성 세틸트리메틸암모늄 브로마이드 (CTAB) 이중충으로 인하여 금 나노로드를 직접 사용하기는 어렵다. 그래서, 생체 적합성을 향상시키기 위해 금 나노로드의 표면 기능화가 필수적이며, 이러한 방법에 대한 지속적인 연구가 필요한 시점이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 이방성 광학 특성, 향상된 안정성, 우수한 생체 적합성 등으로 인해 생물학적 연구에서 유망한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능 배향 탐침을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0008] 본 출원의 일 측면은 다기능성 배향 탐침용 조성물에 관한 것이다.
- [0009] 일 예시에서, 상기 조성물은 비등방성 모양의 금나노로드 코어 및 상기 금나노로드 코어에 코팅된 메조포러스 실리카 셸을 포함하고, 금 나노로드의 평균 길이는 100 내지 140 nm이고, 평균 너비는 30 내지 50 nm이다.
- [0010] 일 예시에서, 셸의 평균 두께는 15 내지 20 nm이며, 메조포러스 포어(Pore)의 평균 크기는 3 내지 10 nm이다.
- [0011] 일 예시에서, 자외선-가시광선 흡광 스펙트럼 측정시 금나노로드 단축방향의 집단적 전자진동에 의해 발생하는 Transverse LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance) 피크가 526 ± 50 nm에서 나타날 수 있다.
- [0012] 일 예시에서, 자외선-가시광선 흡광 스펙트럼 측정시 금나노로드 장축방향의 집단적 전자진동에 의해 발생하는 Longitudinal LSPR 피크가 723 ± 70 nm에서 나타날 수 있다.
- [0013] 일 예시에서, 금나노로드의 단일 입자 산란 스펙트럼에서 LSPR 파장이 690 내지 760 nm 사이에서 피크를 나타낼 수 있다.
- [0014] 일 예시에서, 차등 간섭 대비 현미경(Differential Interference Contrast Microscopy)에서 단일 금나노로드의 회전 각도에 따라, 나노로드의 DIC 이미지 명암이 주기적으로 발생할 수 있다.
- [0015] 일 예시에서, 회전 각도에 따라 단일 금나노로드의 DIC 이미지에서, 밝은 이미지 신호 세기와 어두운 이미지 신호 세기가 주기적으로 변화며, 명암의 신호 세기가 반상관계를 보여줄 수 있다.
- [0016] 본 출원의 다른 측면은 다기능성 배향 탐침에 관한 것이다.
- [0017] 일 예시에서, 전술한 조성물을 포함하는 다기능성 배향 탐침이다.
- [0018] 일 예시에서, 금나노로드 코어의 LSPR 파장의 빛에 의한 광열 특성이 있다.
- [0019] 일 예시에서, 메조포러스 실리카 표면에 개질이 가능하고, 메조포어에 약물 탑재가 가능하다.
- [0020] 일 예시에서, 금나노로드 표면에 작용기가 결합되어 바이오 센서로서 바이오 물질 탐지가 가능하다.
- [0021] 일 예시에서, 편광의 각도에 따라 금나노로드의 명암 신호 세기 및 명암 이미지가 주기적으로 변화하는 특성을 이용하여 3차원 공간상 배향 측정이 가능하다.

발명의 효과

- [0023] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침을 제공할 수 있다.
- [0024] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 광학 이방성이 우수한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침을 제공할 수 있다.
- [0025] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 안정성이 우수한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침을 제공할 수 있다.
- [0026] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 생체 적합성이 우수한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침을 제공할 수 있다.
- [0027] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 국부 열 발생기 역할을 할 수 있는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노

로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침을 제공할 수 있다.

[0028] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 약물 탐제가 가능한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침을 제공할 수 있다.

[0029] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 바이오 센서로서 역할을 할 수 있는 가능한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 포함하는 다기능성 배향 탐침을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0031] 도 1a는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 TEM 이미지이다.

도 1b는 물에 분산된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 자외선-가시광선 소멸 스펙트럼 결과 그래프이다.

도 2a는 2종의 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 DF 산란 이미지이다.

도 2b는 2종의 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 단일 입자 산란 스펙트럼 결과 그래프이다.

도 3a는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 DIC 이미지이다.

도 3b는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 단일 입자 산란 스펙트럼 결과 그래프이다.

도 3c는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 전체 DIC 이미지 세트이다.

도 4a는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 규화된 DIC 강도에 대한 결과 그래프이다.

도 4b는 배향 각도 Φ 의 함수로서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 계산된 DIC 편광 이방성 P에 대한 그래프이다.

도 5a는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 이미지이다.

도 5b는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 연속적인 DIC 이미지이다.

도 5c는 시간함수에 따른 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드에 대한 DIC 편광 이방성 P에 대한 그래프이다.

도 6a는 살아있는 세포막에 결합된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 캡처된 DIC 이미지이다.

도 6b는 시간의 함수로 동적으로 변경되는 DIC 이미지 패턴은 20개 연속 프레임 이미지이다.

도 6c는 시간의 함수로서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드에 대한 DIC 편광 이방성 P에 대한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0032] 본 출원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 출원에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 구성요소 등이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 구성요소 등이 존재하지 않거나 부가될 수 없음을 의미하는 것은 아니다.

[0033] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0034] 본 출원에서 용어 "나노"는 나노 미터(nm) 단위의 크기를 의미할 수 있고, 예를 들어, 1 내지 1,000 nm의 크기를 의미할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 명세서에서 용어 "나노 입자"는 나노 미터(nm) 단위의 평균 입경을 갖는 입자를 의미할 수 있고, 예를 들어, 1 내지 1,000 nm의 평균입경을 갖는 입자를 의미할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0035] 본 출원의 일 실시예에 따른 조성물 비등방성 모양의 금나노로드 코어 및 상기 금나노로드 코어에 코팅된 메조포러스 실리카 쉼을 포함한다. 금 나노로드의 평균 길이는 100 내지 140 nm이고, 평균 너비는 30 내지 50 nm이다. 또한, 쉼의 평균 두께는 15 내지 20 nm이며, 메조포러스 포어(Pore)의 평균 크기는 3 내지 10 nm이다.
- [0036] 특히, 외선-가시광선 흡광 스펙트럼 측정시 금나노로드 단축방향의 집단적 전자진동에 의해 발생하는 Transverse LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance) 피크가 526 ± 50 nm에서 나타나고, 반면에, 자외선-가시광선 흡광 스펙트럼 측정시 금나노로드 장축방향의 집단적 전자진동에 의해 발생하는 Longitudinal LSPR 피크가 723 ± 70 nm에서 나타난다.
- [0037] 그리고, 금나노로드의 단일 입자 산란 스펙트럼에서 LSPR 파장이 690 내지 760 nm 사이에서 피크를 나타낼 수 있다.
- [0038] 또한, 차등 간섭 대비 현미경(Differential Interference Contrast Microscopy)에서 단일 금나노로드의 회전 각도에 따라, 나노로드의 DIC 이미지 명암이 주기적으로 발생할 수 있다.
- [0039] 또한, 회전 각도에 따라 단일 금나노로드의 DIC 이미지에서, 밝은 이미지 신호 세기와 어두운 이미지 신호 세기가 주기적으로 변화하며, 명암의 신호 세기가 반상관계를 보여줄 수 있다.
- [0041] 본 출원에서 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드의 광학 특성은 암시야 및 DIC(Differential Interference Contrast) 현미경으로 특성화된다. 또한, 편광 의존적이고, 주기적인 DIC 이미지 및 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드의 강도를 국소화된 표면 플라즈몬 공명 파장에서 제시하고, 동적 생물학적 환경에서 다기능 방향 프로브로서의 용도를 제공하고자 한다. 또한 HeLa 세포막에서 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드의 실시간 회전 운동을 밀리초 시간 분해능으로 추적하였고, 전반적으로 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드는 배향 탐침과 광선 요법을 위한 국부 열 발생기 역할을 할 수 있는 금나노로드 코어와 뛰어난 적재 능력으로 인해 화학 요법의 저장소로서의 역할을 수행할 수 있음을 확인하였다.
- [0042] 또한, 금 나노로드는 dark field(DF) 편광 현미경, 광열 헤테로다인 이미징(photothermal heterodyne imaging, PHI), 차등 간섭 대비(differential interference contrast, DIC) 편광 이방성, 및 총 내부 반사(total internal reflection, TIR) 산란 현미경으로 포함한 편광 기반 광학 기술에 적용할 수 있다. 본 출원의 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드는 생물학적 연구에서 다기능 광학 탐침에 적용할 수 있다. 그러나 다기능 배향 탐침에 대한 기술은 동적 생물학적 환경 분야에서는 제한적이다.
- [0043] DF 현미경과 같은 산란 기반 방법은 빛을 산란시키는 세포 구성 요소 등으로부터 금 나노로드를 식별하는 데 어려움이 있다. 이와 관련하여 간섭 기반 DIC 현미경은 생물학적 환경에서 금 나노로드의 회전 운동을 조사하는 데 더 적합하다.
- [0044] 본 출원에서는 예를 들어, DF 및 DIC 현미경에서 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드의 광학적 특성을 조사하는 것을 목표로 하고, LSPR 파장에서 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드의 DIC 이미지 패턴 및 강도에 대한 편광의 영향을 확인하고 동적 생물학적 환경에서 다기능 배향 탐침의 DIC 현미경에서의 활용을 제공하고자 한다.
- [0046] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 출원의 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드와 이를 포함하는 다기능성 배향 탐침을 상세히 설명한다. 다만, 첨부된 도면은 예시적인 것으로, 본 출원의 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드와 이를 포함하는 다기능성 배향 탐침의 범위가 첨부된 도면에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 이하, 실험예를 통하여 본 출원을 보다 상세히 설명한다.
- [0049] **[실험예]**
- [0050] **[샘플 제작]**
- [0051] 메조포러스 실리카 쉼 코팅된 단일 금 나노로드 용액을 18.2MU 순수로 적절한 농도로 희석한 다음 실온에서 15 분 동안 초음파 처리하였다. 미리 세척된 유리 슬라이드에 용액을 스핀캐스팅하여 샘플을 제작하였고 22mmx22mm

No 1.5 커버슬립으로 덮었다. 유리 표면의 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 농도를 $1 \mu\text{m}^{-2}$ 이하로 제어하여, 단일 입자 특성화를 용이하게 하고 입자간 LSPR 결합을 최소화하였다. 구조적 특성은 투과전자현미경(TEM; H-8100, HITACHI, JAPAN)과 주사전자현미경(SEM; JSM-6500, JEOL, JAPAN)을 사용하여 확인하였다. 자궁경부암 세포주인 HeLa-WT는 한국 세포주 은행(서울, 한국)에서 구입하였고, 태아 소 혈청(FBS)은 SigmaAldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Sartorius Arium®Pro 초순수 시스템을 사용하여 탈이온수(18.2MU cm)를 제작하였다.

[0052] [셀 제작]

[0053] HeLa 세포를 세포 배양 플라스크에 넣고 세포 배양 인큐베이터(37 도, 5% CO₂)에서 10% FBS가 보충된 세포 배양 배지에서 24시간 동안 배양하였다. 계대 배양을 위해 200mL의 세포 현탁액을 $22 \times 22 \text{mm}^2$ No 1.5 폴리-L-라이신 코팅된 커버슬립(Corning, NY)에 옮기고, 페트리 접시에 보관한 다음 1시간 동안 배양하여 커버슬립에 부착할 세포를 준비하였다. 커버슬립을 10% FBS 보충제를 함유한 세포 배양 배지 1.5mL로 덮고 페트리 접시를 인큐베이터에 24시간 동안 두었다.

[0054] [DF 현미경 검사 및 분광학]

[0055] DF 현미경 검사는 Nikon 도립 현미경(ECLIPSE Ti-U)을 사용하여 측정하였다. DF 모드에서 Nikon Plan Fluor 100x0.5-1.3 oil iris 대물렌즈와 Nikon DF 콘덴서를 사용하였다. Andor iXonEM + CCD 카메라(iXon Ultra 897)를 사용하여, Image J를 사용하여 분석된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 DF 이미지를 기록하였다. DF 산란 스펙트럼은 Andor 분광계(SHAMROCK 303i, SR-303I-A) 및 Andor CCD 카메라(Newton DU920P-OE)를 사용하여 측정 및 캡처하였다. 스캐닝 단계는 샘플을 원하는 위치로 이동하여 스펙트럼 측정을 위한 대물렌즈에서 선택한 위치에서 산란된 빛만 수집하였다. 산란된 빛은 분광계의 입구로 향하고 격자(300 l mm^{-1})에 의해 분산되고 Newton CCD 카메라에 의해 관측되었다. 배경은 입자가 없는 영역에서 측정되었다. 데이터 분석은 특별히 설계된 MATLAB 프로그램으로 수행하였다.

[0056] [차동 간섭 대조 현미경 검사]

[0057] DIC 현미경 검사는 2개의 Normarski 프리즘, 2개의 편광판 및 1/4 파장판을 포함하는 Nikon 도립 현미경(ECLIPSE Ti-U)을 사용하여 수행되었다. 샘플은 오일 침지 콘덴서(Numerical Aperture(NA) = 1.4)를 통해 조명되었다. 샘플을 통과한 신호는 Plan Apo oil-immersion 대물렌즈(100, NA = 1.4)를 사용하여 수집되었다. Thorlabs(Newton, NJ, USA)에서 720 nm 중심 범위(최대 반값의 전체 폭, 5 nm)를 갖는 대역 통과 필터를 얻었고 샘플을 조명하기 위해 현미경의 빔 경로에 삽입하였다. 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드에 대해 단계당 스테이지 10° 을 회전시켜 720nm 여기에서 회전 연구를 수행하였다. 고정된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드는 스테이지가 회전함에 따라 다른 방향으로 배치되었다. Andor iXon^{EM} + CCD 카메라를 사용하여, 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 상세한 DIC 이미지를 기록하였으며, Image J를 사용하여 분석하였다.

[0059] [평가 1]

[0060] 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 TEM 이미지를 도 1a에 도시한다. 도 1a에 도시한 바와 같이 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 평균 길이와 너비는 각각 120 nm 및 40 nm였다.

[0061] 물에 분산된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 자외선-가시광선 소멸 스펙트럼을 측정하여 그 결과그래프를 도 1b에 도시한다. 도 1b에 도시한 바와 같이, transverse 및 longitudinal LSPR 피크가 각각 526 및 723 nm에서 관찰되었다. 또한, 실리카 셸의 두께는 약 18 nm였다.

[0063] [평가 2]

[0064] 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 산란 특성을 확인하기 위해 단일 입자 측정을 수행하고 DF 산란 현미경 및 분광법에서 평균화 효과를 제거하였다. 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드는 DF 현미경 하에서 높은 NA 오일 콘덴서를 사용하여 밀접하게 집중한 무작위 편광 백색광으로 조명되었다 유리 슬라이드에 증착된 2종의 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 DF 산란 이미지를 도 2a에 도시한다. 또한,

단일 입자 산란 스펙트럼 결과그래프를 도 2b에 도시한다. 단일 입자 산란 스펙트럼에서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 LSPR 파장은 690-760 nm에서 나타났으며, 이는 입자 크기의 불균일성에 기인한 것일 수 있다.

[0065] DIC 현미경 검사법은 살아있는 세포에서 나노사이즈 탐침의 프로브 방향 및 회전 운동을 확인하는데 적합하다. DIC 현미경은 Nomarski 프리즘의 광축을 따라 전단 거리로 분리된 두 개의 상호 직교 편광 빔 사이의 광학 경로 차이를 해결하여, 높은 처리량 기능을 유지하면서 주변 세포 구성 요소의 산란광에 둔감하게 만든다. 따라서 DIC 현미경 기반 단일 입자 회전 추적 기술은 살아있는 세포의 회전 역학 연구에 효과적으로 사용된다.

[0067] [평가 3]

[0068] 또한, 유리 슬라이드에 고정된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 광학적 특성을 세로 LSPR 파장에 가까운 720nm 여기에서 DIC 현미경으로 조사하였다. 720 nm에서 유리 슬라이드에서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 DIC 이미지를 도 3a에 도시한다. 또한, 실리카 셸 내부의 금 나노로드 코어의 방향은 도 3a의 삽도에 도시된 바와 같이 금 나노로드의 세로축과 dark 축 사이의 배향각으로 정의된다. 배향 각도는 bright 축을 향해 반시계 방향으로 증가하였다. 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 다른 DIC 이미지 패턴은 유리 슬라이드의 공간 배향을 통해 확인할 수 있다. 즉, 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드에서는 밝은 편광 축($\phi = 90^\circ$, 파란색 화살표)에 평행하게 정렬되었기 때문에 밝은 이미지 패턴이 관찰된 반면 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드에서는 어두운 이미지 패턴이 관찰되었다. 따라서 DIC 현미경은 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 배향 종속 DIC 이미지 패턴을 높은 대비와 감도로 관찰할 수 있게 한다. 도 3a에서 노란색 사각형으로 강조 표시된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 산란 스펙트럼은 응집체가 아닌 단일 나노 입자임을 확인하기 위해 구했으며, 그 결과 그래프를 도 3b에 도시한다. 측정된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 세로 LSPR 피크는 720nm에서 나타났으며, 이는 도 2b의 단일 입자 스펙트럼과 일치함을 확인할 수 있었다. 편광 의존 DIC 이미징은, 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드를 다른 배향으로 위치시키기 위해 단계당 스테이지 10° 을 회전시켜 720 nm의 여기에서 고정된 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드에 대해 수행하였다. 10° 의 간격으로 0° 에서 180° 까지의 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 전체 DIC 이미지 세트를 도 3c에 도시한다. 이미지 패턴은 회전 각도의 함수로 주기적으로 변경된다.

[0070] [평가 4]

[0071] 두 개의 밝은(파란색) 및 어두운(빨간색) 편광 방향에 대한 AuNR3@mSiO2의 정규화된 DIC 강도를 도 4a에 도시한다. 도 4a에서 회전 각도의 함수로 표시되며, 이를 통해 편광 의존성을 확인할 수 있다. 스테이지가 회전함에 따라, DIC 밝은(빨간색) 및 어두운(파란색) 강도 곡선은 반상관계가 나타난다. 즉, 밝은 강도의 증가는 어두운 강도의 감소를 동반하고, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 이러한 편광에 민감하고, 주기적인 DIC 이미지 및 단일 AuNRs@mSiO2의 강도를 통하여, 단일 AuNRs@mSiO2의 공간 배향이 DIC 현미경 및 편광 이방성을 통해 결정될 수 있음을 확인할 수 있다.

[0072] 절대적 강도 대신 강도 비율을 사용하는 DIC 편광 이방성은 강도 불안정성으로부터 영향을 덜 받아, 보다 정확하고 재현 가능하며 신뢰할 수 있도록 각도를 측정할 수 있다. DIC 편광 이방성 P는 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 단일 DIC 이미지의 밝은 강도와 어두운 강도로부터 하기 관계식 1을 통해 산출할 수 있다.

[0073] [관계식 1]

$$P = \frac{I_{B,N} - I_{D,N}}{I_{B,N} + I_{D,N}}$$

[0074] 여기서, $I_{B,N}$ 및 $I_{D,N}$ 은 각각 정규화된 밝은 강도 및 어두운 강도이다.

[0075]

[0076] 배향 각도 ϕ 의 함수로서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 계산된 DIC 편광 이방성 P는 도 4b

에 도시한다. DIC 편광 이방성 P 는 배향에 따라 -1 과 $+1$ 의 최소값과 최대값 사이에서 진동한다. 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드가 밝은 축에 평행하게 정렬되었을 때 P 는 최대값 $+1$ 에 도달한다. 관계식 1에서 얻은 실험적 P 값은 계산된 P 값과 잘 일치하여, DIC 편광 이방성이 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드의 배향 각도를 정확하게 측정할 수 있음을 확인하였다. DIC 편광 이방성 P 는 하기 관계식 2와 같이 배향 각도 ϕ 와 관련될 수 있다.

[관계식 2]

$$\phi = \arccos \left(\sqrt{\frac{A - \sqrt{A^2 - 2A}}{2}} \right), \quad P < 0$$

$$\phi = \arccos \left(\sqrt{\frac{A + \sqrt{A^2 - 2A}}{2}} \right), \quad P > 0$$

A 는 $(P-1)/P$ 로 정의된다. 따라서, 배향 각도 ϕ 는 측정된 DIC 편광 이방성 P 로부터 얻을 수 있다.

메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드와 비교하기 위해 스테이지를 10° 씩 회전하여 응집체의 DIC 이미지를 추가로 얻었다. 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드와 달리 DIC 이미지 패턴과 응집체의 강도는 회전 각도의 함수로 주기적으로 변경되지 않았다. 따라서, 응집체의 경우 편광 의존 DIC 이미지와 강도를 관찰할 수 없었다.

[평가 5]

DIC 편광 이방성을 사용하여 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드의 빠른 회전 역학을 실시간으로 추적할 수 있는지 테스트하였다. 따라서 검증을 위한 모델 시스템으로 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드를 선택하여, 유리 슬라이드에서 회전시켰다. 일부 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드가 비특이적 결합을 통해 유리 슬라이드에 부착되었고(도 5), 빠른 회전 운동을 확인하였다. 도 5c에 도시된 바와 같이, 실험적 P 값은 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드의 배향에 따라 -1 과 $+1$ 사이에서 시간에 따라 무작위로 변경되었다. 따라서 DIC 편광 이방성이 빠른 회전 운동에서 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드의 배향 각도를 결정하는 데 사용될 수 있음을 입증하였다.

[평가 6]

메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드가 DIC 현미경하의 동적 생물학적 환경에서 고대비 다기능 배향 탐침으로 사용될 수 있는지 확인하였다. 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드는 생물학적 응용 분야에서 효율적인 약물 전달 담체로 사용될 수 있다. 살아있는 세포막에서 개별 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드의 회전 및 전사 역학을 추적하면, 약물 전달 메커니즘 및 세포 내이입과 같은 기타 세포 과정을 더 잘 이해할 수 있다. 따라서, 살아있는 세포막에서 회전하는 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드를, 동적 생물학적 시스템에서 다기능 배향 탐침으로서의 사용을 확인하기 위한 모델 시스템으로 사용하였다.

표면 결합 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드의 회전 운동은 DIC 현미경으로 100ms의 시간 분해능으로 기록하였다. 이미지 플리커에서 알 수 있듯이 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드는 처음 HeLa 세포막에 떨어졌을 때 빠르게 회전하였다. 살아있는 세포막에 결합된 메조포러스 실리카 셀 코팅된 단일 금 나노로드의 캡처된 DIC 이미지를 도 6a에 도시한다. 시간의 함수로 동적으로 변경되는 DIC 이미지 패턴은 20개 연속 프레임을 도 6b에 도시한다. 이 20개의 이미지에 대한 DIC 편광 이방성 P 값은 도 6c에 도시한 바와 같이 -1 과 $+1$ 사이에서 무작위로 분포되었다. 상기 결과를 통해 DIC 현미경에서 배향 탐침으로서 단일 메조포러스 실리카

셸 코팅된 단일 금 나노로드의 활용성을 확인할 수 있었고, DIC 편광 이방성이 동적 생물학적 프로세스 동안 실시간 배향을 정확하게 결정할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[0090] 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드는 생물학적 연구에서 배향 탐침으로서, 일반적으로 사용되는 금 나노입자(실리카 셸 없음)에 비해 두 가지 주요 이점을 제공할 수 있다. 첫째, 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드는 금 나노입자 탐침 프로브에 비해 기능이 추가되었기 때문에 다기능 배향 프로브로 사용할 수 있다. 예를 들어, 약물 전달 시스템의 메조포러스 실리카 셸은 우수한 로딩 용량, 감소된 독성 및 향상된 안정성을 제공할 수 있다. 둘째, 도 5에 도시한 바와 같이, 실리카 셸 내부의 금 코어는 생물학적 시스템에서 광선 요법을 유도하기 위한 배향 탐침 및 국소 열 발생기로 사용될 수 있다. 따라서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드는 다양한 생물 의학 연구에서 다기능 배향 탐침으로 사용할 수 있음을 확인할 수 있었다.

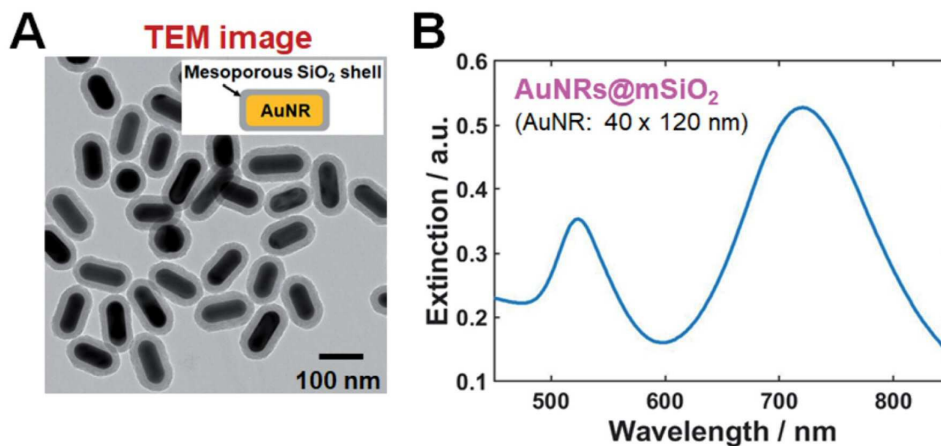
[0092] [결과]

[0093] 진술한 바와 같이, DF 및 DIC 현미경하에서 LSPR 파장에서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 광학적 특성과 동적 생물학적 시스템에서 배향 탐침의 적용에 대하여 검토하였다. 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드는 높은 콘트라스트와 감도로 LSPR 파장에서 편광에 민감한 주기적인 DIC 이미지와 강도를 보여주었습니다. DIC 현미경으로 살아있는 세포막에서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 회전 운동을 실시간으로 추적하여 다기능 배향 탐침으로서 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 기능을 확인하였다. 여기에 제시된 결과는 광선 요법을 위한 배향 탐침 및 국부 열 발생기 역할을 할 수 있는 금 나노로드 코어와 메조포러스 실리카 셸의 결합된 효과로 인해 다기능 방향 탐침 개발을 위한 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드의 역할을 설명하였다. 더불어, 메조포러스 실리카 셸 코팅된 단일 금 나노로드는 탁월한 로딩 용량으로 인해 많은 생물학적 응용 분야에서 효율적인 약물 담체로 사용될 수 있다.

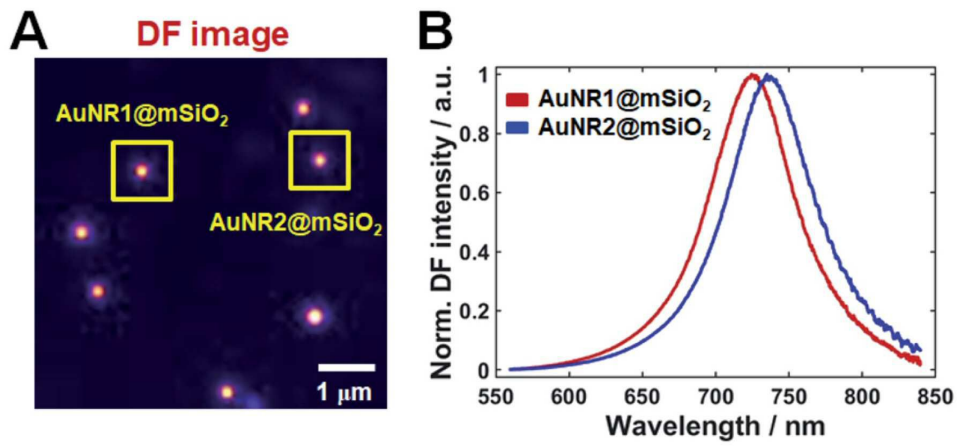
[0095] 상기에서는 본 출원의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하였지만, 해당 기술 분야의 숙련된 당업자는 하기의 특허 청구 범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 출원을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

도면

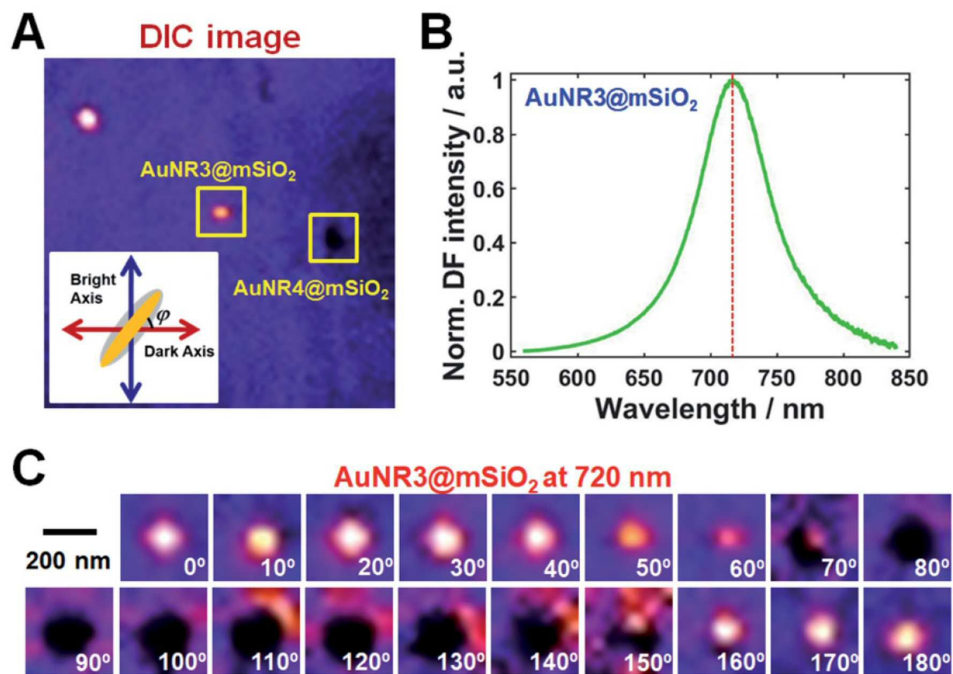
도면1



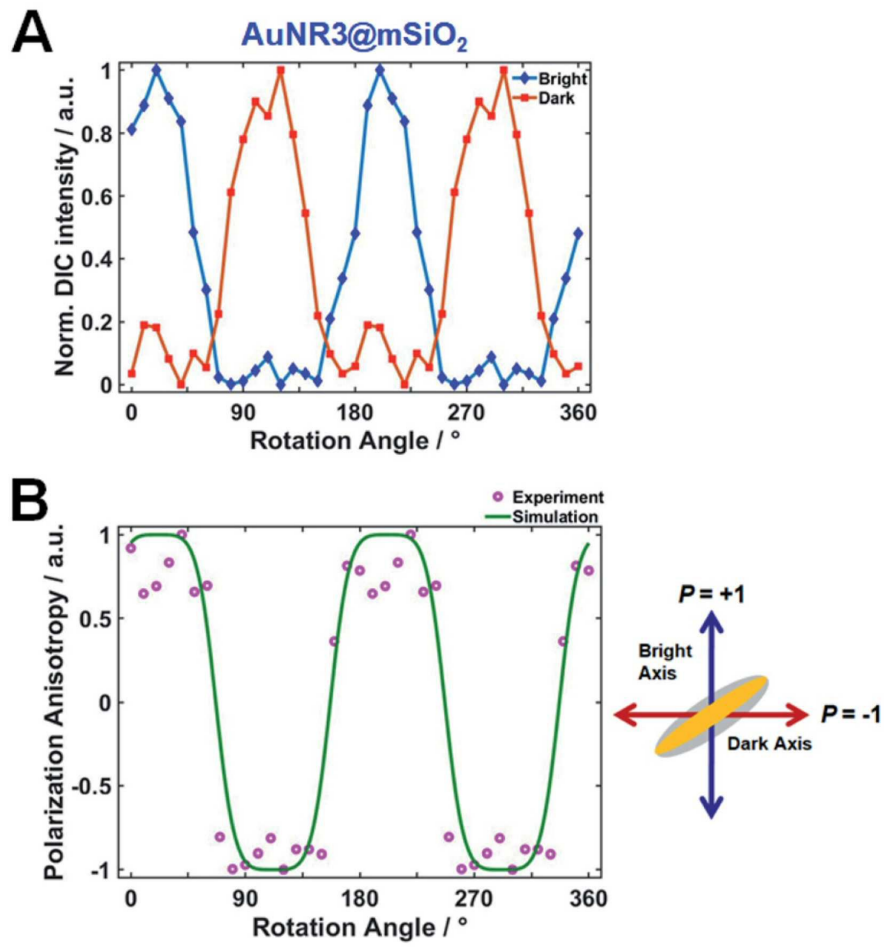
도면2



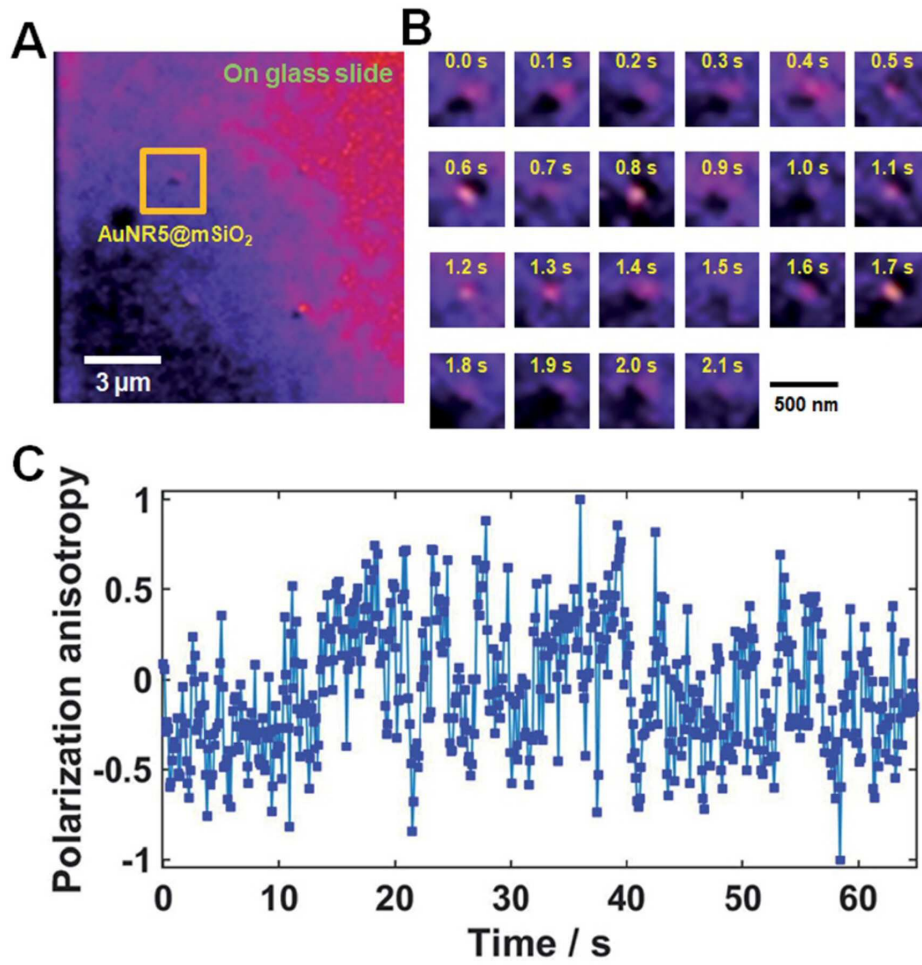
도면3



도면4



도면5



도면6

