

# 금속 나노 입자와 공초점 레이저 현미경을 이용한 조기 암 진단 기술

이상엽, 김성용, 최정현, 주재범, 권대갑\*, 오칠환\*\*

한양대학교 응용화학과, \*KAIST 기계공학과, \*\*고려대학교 병원 피부과  
jbchoo@hanyang.ac.kr

## 1. 서론

현대 의학에서 암의 조기 진단과 치료는 여러 의학자들과 과학자들의 중요한 관심사이다. 기존의 생체 조직 분석에는 CT, PET, MRI, 초음파 등의 비침습적 (non-invasive) 물리적 영상 진단 방법이 널리 이용되어 왔으나 이러한 물리적인 영상 진단 방법만으로는 미세한 화학 구조의 변환으로 유발되는 암을 조기에 진단하는 것이 매우 어렵다. 또한, Chromatography, NMR, Mass spectrometry 등의 분석 방법을 이용하면 분자 수준의 분석이 가능하지만 시료를 용매에 녹이거나 분쇄하는 전처리 과정이 수반되어야하므로 인체 진단 분야에 적용시키기는 어려운 단점이 있다. 최근 의학 분야의 암 진단에 대한 세계적인 연구 추세는 분자 영상이나 분광 기술을 이용하여 생체 조직의 의학적 영상이나 화학적 정보를 얻는데 초점이 맞추어지고 있다.<sup>(1)</sup> 특히, 라만 분광 기술을 이용한 생체 조직 연구는 전 세계적으로 활발한 연구가 이루어지고 있는 분야이지만 국내에서 이에 대한 독자적인 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 공초점 레이저 라만 분광 기술<sup>(2)</sup>과 금속 나노 입자 응용 기술<sup>(3)</sup>을 상호보완적으로 이용하여 암을 조기에 진단하는 레이저 분광 진단 기술을 개발하고자 한다. 즉, 본 연구에서는 고감도 라만 증폭 시그널을 나타내는 라만 염료가 흡착된 기능성 나노 입자를 제조한 다음, 이 나노 프로브를 세포 내에서 발현하는 특정 단백질에 선택적으로 결합시키고 여기에 레이저를 주사하여 세포내 특정 단백질의 분포를 측정할 수 있는 고감도 바이오 광 측정 기술을 개발하였다.

## 2. 실험

### 2-1. 기능성 금속 나노 입자의 제조 및 확인

먼저 13 nm 정도의 직경을 가지는 금 나노 입자를 제조한 다음, 여기에 Raman dye Rhodamine 6G를 흡착시키고 aggregation을 방지하기 위하여 BSA로 표면을 안정화시켰다. 여기에 표면 증강 라만 효과를 극대화하기 위하여 10nm 정도로 silver staining하였다. 제작된 나노입자에 primary antibody를 conjugation 하기 위하여 antibody에 NHS-PEG-SS를 결합시켰다. 이때, NHS기는 antibody의 amine group과, SS group은 나노 입자에 각각 화학 결합을 형성하며, PEG는 spacer로서의 역할을 한다. non-specific protein 결합을 방지하고 나노 입자를 안정화시키기 위하여 이 입자는 PEG-thiol로 다시 표면 처리하였다. 제조된 금 나노 입자와 기능성 은 코팅 나노 입자는 TEM, AFM, UV/Vis 분광법, 표면 증강 라만 분광법 등을 통하여 확인하였다.

### 2-2. 세포 표면에 나노입자 고정화 및 표면 증강 라만 측정 실험

기능성 나노 입자를 이용한 표면 증강 라만 분광 스펙트럼의 표준 자료를 얻기 위하여 특정 바이오 마커 (RAS)가 발현된 암세포를 형광 양자점 (Quantum Dots)으로 표식한 다음, 이에 대한 공초점 형광

이미지를 측정하였다. RAS 단백질에 대한 공초점 형광 이미지는 동일한 암 세포의 라만 프로파일 자료에 대한 표준 이미지로 이용되었다. 암세포내에서 발현하는 단백질의 표면 증강 라만 실험은 형광 양자점과 동일한 방식으로 진행되었는데, 세포내에 존재하는 특정 단백질에 기능성 나노 입자를 표식한 다음 레이저를 주사하여 라만 염료인 R6G의 증폭된 라만 시그널을 검출함으로써 세포내의 단백질 분포도를 알 수 있었다.

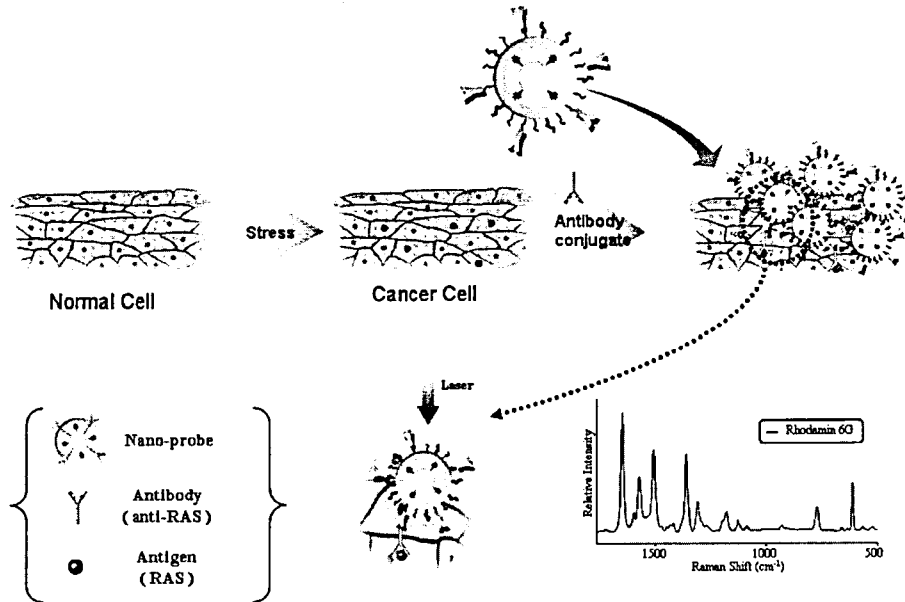


그림 1. 기능성 나노입자의 세포 고정화 및 표면 증강 라만 시그널 측정.

### 3. 결과 및 고찰

본 연구에서는 기능성 나노 입자를 이용한 표면 증강 라만 분광법을 이용하여 특정 바이오 마커 단백질의 세포 내 분포를 측정하는 새로운 개념의 광 측정 기술을 소개하였다. 본 연구에서 제조한 나노 입자는 좋은 안정성과 광학적 특성을 보여 주므로 바이오 물질의 고감도 광측정을 위한 기능성 나노 프로브로 폭넓게 이용될 수 있을 것으로 기대한다. 또한 표면 증강 라만 분광 기술을 이용하면 기존의 라만 측정 방식보다 감도를  $10^{10}$  배 이상 증폭시킬 수 있으므로 앞으로 암의 조기 진단을 위한 새로운 개념의 biophotonic tool로 이용될 수 있을 것으로 기대한다. 최근 입자의 크기에 따라 다른 형광 빛을 내는 양자점 (QDs)을 이용한 고감도 마커 검출이 널리 이용되고 있으나 in vitro, in vivo 응용을 위해서는 독성 문제가 해결하여야 할 과제로 남아있다. 본 연구에서 시도한 기능성 나노 입자는 이러한 독성 문제를 해결할 수 있으며, 표면 증강 라만 분광 기술을 이용하여 형광보다 감도를 10-100배 정도 증강시킬 수 있으므로 앞으로 분자 영상 분야나 in vivo 암 진단의 분야에 폭넓게 이용될 수 있을 것으로 기대한다.

### 참고문헌

- [1] I. H. El-Sayed, X. Huang, and M. A. El-Sayed, Nano Lett. 5, 829-834 (2005).
- [2] 최정현, 주재범, 정희일, 권대갑, 박정희, 김효진, 박상용, 오철환, Biopolymers, 77, 264-272 (2005).
- [3] N. J. Halas and J. L. West et al. Cancer Lett. 209, 171-176 (2004).

T  
E