

나노입자를 이용한 의학진단



조경아
고려대
전기공학과 계약교수



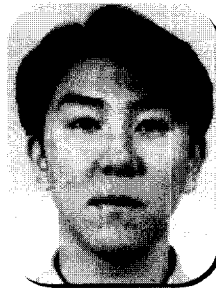
김진형
고려대
전기공학과 석사과정



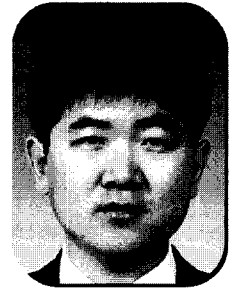
박병준
고려대
전기공학과 석사과정



이준우
고려대
전기공학과 석사과정



김현석
고려대
전기공학과 박사과정



김상식
고려대
전기공학과 교수

1. 서론

차세대 신기술로 부상하고 있는 나노바이오 기술(Nano-Bio Technology)은 10억분의 1이라는 정밀도를 바탕으로 원자나 분자를 조작해 새로운 물질을 만들고 시스템을 창조하는 나노기술(Nanotechnology : NT)과 생명현상을 연구 대상으로 하는 바이오 기술(Biotechnology : BT)이 융합된 분야이다. 근본적으로 무기물을 다루는 NT와 생명체를 다루는 BT가 융합할 수 있는 것은 BT의 궁극적인 연구대상인 DNA, RNA, 단백질의 크기가 수 나노미터로 NT의 연구대상의 크기와 동일

하다는 데에 있다. 나노바이오 기술은 크게 진단기술, 치료기술, 생체모방기술의 세 영역으로 분류할 수 있으며, 그 응용 시장은 매우 클 것으로 평가되고 있다. NT에 있어서 나노입자에 대한 연구는 지속적으로 발전되어 왔으며, 다양한 종류의 나노입자를 합성할 수 있는 방법이 알려졌을 뿐만 아니라 그 크기와 크기분포까지도 제어할 수 있게 되었다. 이러한 연구 성과에 힘입어 나노입자는 나노바이오 기술에서 핵심적인 위치를 점유하게 되었다. 여기에서는 나노입자를 이용한 의학진단 응용기술로서 면역형광법에 사용되는 반도체 나노입자, 주로 DNA 검출에 이용하는 금 나노입자, 그리고 의



료기기 조영제로 잠재력을 가지는 자성 나노입자에 대해 간단히 소개하고자 한다.

2. 면역형광법에 사용되는 반도체 나노입자

면역형광법이란 항체나 항원에 플루오레세인이나 로다민 형광색소를 표지한 물질을 사용하여 체액과 조직 등에 존재하는 항원 또는 항체를 검출하는 방법이다. 최근에는 플루오레세인이나 로다민과 같은 기존의 형광물질 대신에 반도체 나노입자(양자점)를 이용하려는 연구가 활발히 진행 중이다. 이것은 양자점이 흡수파장영역이 넓을 뿐만 아니라 대칭적이고 좁은 파장영역에서 발광이 관측되며, photobleaching (여기광에 의한 퇴색)의 측면에서도 기존의 형광물질에 비해 우수하기 때문이다. 표 1에서는 형광표지물질로써 요구되는 조건에 대해 기존에 사용되어져온 형광물질과 나노입자를 비교하고 있다 [1].

표 1. 면역형광법에서 이용되는 기존의 형광물질과 양자점(나노입자)의 물성비교.

Property	Fluorescent probe	Quantum dot probe
1 Broadband excitation	x	✓
2 Narrow bandwidth emission	x	✓
3 Emit light of high intensity	Moderate	✓
4 Available in many colours	✓	✓
5 Readily attachable to analytes	✓	Moderate
6 Resistant to quenching	x	✓
7 Photochemically stable	x	✓ ^{2,3}
8 Cheap and readily available	✓	x

경제적으로 용이하게 이용할 수 없다는 점 이외에는 나노입자가 모든 조건에 부합된다는 것을 알 수 있는데, 형광표지물질로써의 나노입자의 우수성을 보여주는 몇 가지 예를 살펴 볼 수 있다. 그림 1은 플루오레세인과 CdSe 나노입자의 흡광과 발광 특성을 비교한 것이며, 그림 2에서는 근육을 형성하는 단백질의 일종인 액틴에 표지된 플루오레세인과 CdSe 나노입자의 광안정도를 비교하고 있다

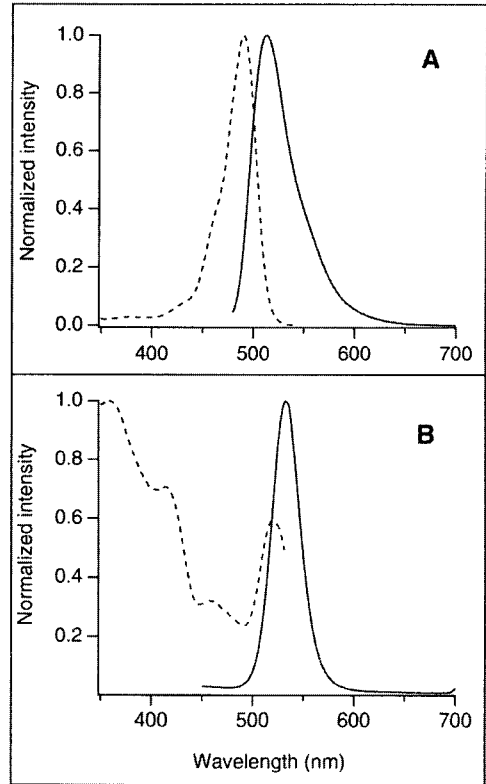


그림 1. 플루오레세인(A)과 CdSe 나노입자(B)의 흡광과 발광특성.

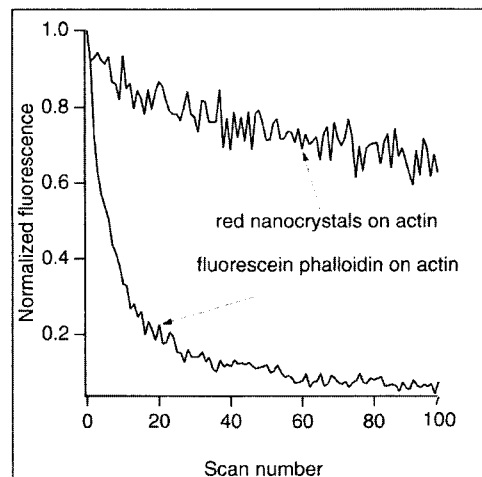


그림 2. 연속적인 스캔에 따른 액틴에 표지된 CdSe 나노입자와 플루오레세인의 발광.

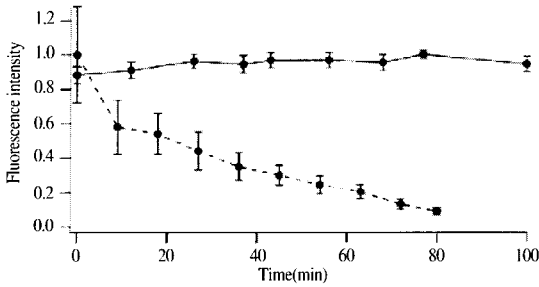


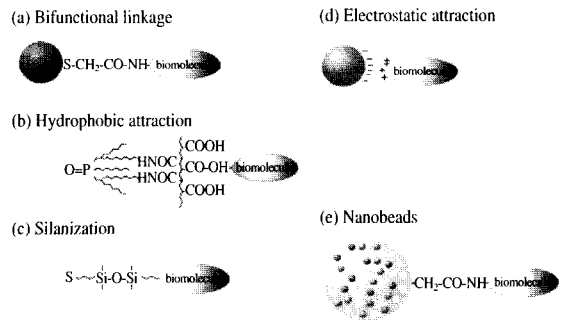
그림 3. 개구리의 수정란 할구에 동량 주사된 CdSe 나노입자(위쪽 그래프)와 로다민 그린 텍스트린(아래쪽 그래프)의 photobleaching.

[2]. CdSe 나노입자는 플루오레세인에 비해 넓은 파장영역에서 광을 흡수하며, 최대 발광피크의 10%에서는 67 nm의 피크폭을 가져 (반치폭 : 32 nm) 100 nm의 피크폭을 보이는 플루오레세인 (반치폭: 45nm)에 비해 형광표지물질로써의 우수성을 보여주고 있다. 액틴에 표지된 플루오레세인의 경우는 연속적인 스캔에 따라 형광의 세기가 급격히 감소하지만, CdSe 나노입자의 경우는 비교적 완만하게 감소하는 것을 보여준다.

그림 3에서는 개구리의 수정란 할구에 로다민 그린 텍스트린 (RG-D)와 CdSe 나노입자를 같은 양 주사하였을 때 시간에 따른 photobleaching을 보여주고 있다 [3]. 그림 3에서도 볼 수 있듯이 기존의 형광물질보다는 나노입자가 형광표지물질로써 우수하다는 것을 알 수 있다.

대부분의 구성성분이 물인 생체계에서 나노입자가 이용되기 위해서 갖추어야 할 전제조건은 친수성이어야 한다는 점이다. 일반적으로 나노입자를 합성할 때 이용되는 trioctylphosphine (TOP)나 trioctylphosphine (TOPO)와 같은 유기 리간드는 소수성이기 때문에 나노입자 합성시 이러한 리간드를 사용하게 되면 생체계에 이용할 수 없게 된다. 따라서 생체계에서 이용될 수 있는 친수성 나노입자는 mercaptoacetic acid나 mercaptopropionic acid와 같은 캡핑물질을 사용하여 합성하는 방법이 연구되고 있다 [4, 5]. 친수성 물질로 캡핑

된 나노입자는 생체분자와 결합되어 의학진단에 응용되는데 현재는 그림 4와 같이 알려진 생접합 (bioconjugation) 방법이 알려져 있다 [6]. 그림 4에서 (a)는 mercaptoacetic acid와 같은 두개의 작용기를 갖는 리간드를 이용하여 양자점과 생체분자를 접합시키는 방법이고, (b)는 친수성 나노입자를 합성하는 동시에 생접합을 시키는 방법으로, TOPO로 캡핑되어진 나노입자를 소수성 결합을 이용하여 변형된 acrylic acid polymer에 결합시키는 방법이다. 또한, (c)는 mercaptosilane 화합물을 이용하여 나노입자를 생접합시키는 방법이며 (d)는 음전하를 띠고 있는 나노입자와 양전하를 띠고 있는 생체분자를 정전기적 상호작용을 이용하여 생접합시키는 방법이다. (e)는 고분자 microbead 안에 나노입자를 병합시키는 방법으로 생체분자의 광학적인 부호화 (optical coding)에 응용되는 기술이다.



Current Opinion in Biotechnology

그림 4. 생접합 (bioconjugation) 방법의 모식도.

나노입자가 의학진단에 응용되기 위해서는 앞서 기술한 바와 같이 나노입자의 친수성화와 생접합이 필요한데, 이것은 생접합이 된 후에야 나노입자는 생체물질과 결합할 수 있기 때문이다. 또한, 나노입자는 생접합된 후에야 세포 (cell)안으로 들어갈 수 있다고 알려져 있는데, 이것은 배양된 HeLa 세포



(암 환자 상피세포에서 얻은 종양세포)에 대한 실험을 통해 알 수 있다 (그림 5)[5]. (A)에서 보는 것처럼 mercaptoacetic acid로만 캡핑된 CdSe/ZnS 나노입자와 함께 배양된 HeLa 세포에서는 약한 세포의 자기형광만으로 이미지가 보일 뿐 세포 안에서는 나노입자를 발견할 수 없지만, (B)와 같이 철과 결합하는 단백질인 transferrin으로 생접합된 나노입자의 경우는 수용체를 매개로 하는 내포작용 (receptor-mediated endocytosis), 즉 세포자체가 물질을 도입하는 과정을 통해

나노입자가 HeLa 세포내에 도입되어 나노입자의 형광이 세포내에서 관측된다. 고감도 면역분석법에 대해 나노입자가 적합하게 이용될 수 있다는 결과가 그림 6으로 설명되어 진다. 면역글로불린 G (Ig G)로 생접합된 나노입자가 각각 bovine serum albumin (BSA)과 다중클론 항체 (polyclonal antibody)와 함께 배양될 때, 다중클론 항체는 면역글로불린의 항원과 결합하는 부위에 결합하게 되어 나노입자들의 응집이 일어나게 되지만, BSA의 경우는 나노입자들이 특별히 결합하는 부위가 없어

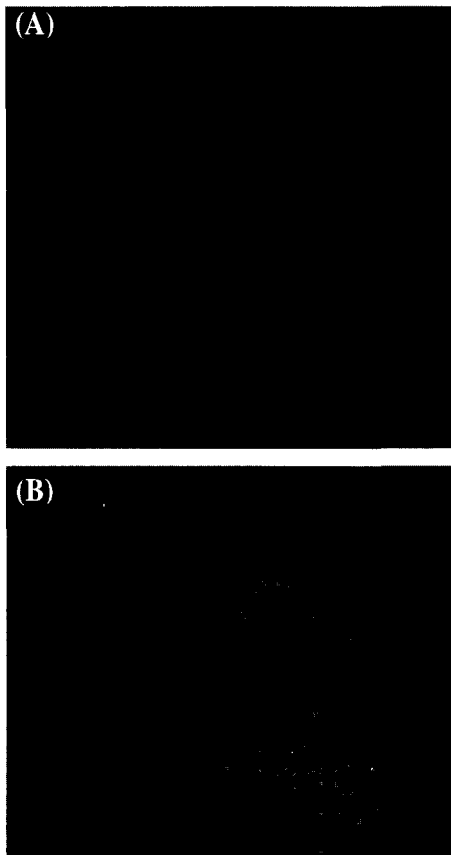


그림 5. (A) mercaptoacetic acid로만 캡핑된 CdSe/ZnS 나노입자와 함께 배양된 HeLa 세포의 형광이미지
(B) transferrin으로 생접합된 CdSe/ZnS 나노입자와 함께 배양된 HeLa 세포의 형광이미지.

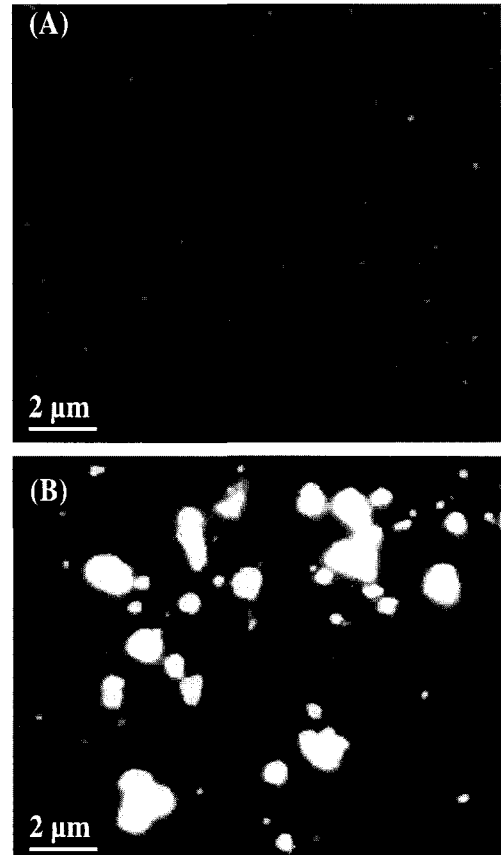


그림 6. (A) bovine serum albumin과 면역글로불린 G (Ig G)로 생접합된 CdSe/ZnS 나노입자가 함께 배양되었을 때의 형광 이미지 (B) 다중클론항체와 Ig G로 생접합된 CdSe/ZnS 나노입자가 함께 배양되었을 때의 형광 이미지.

응집되지 않는 것을 알 수가 있다. 즉, 면역분자들을 나노입자에 생접합시키면 항원, 항체 특이성을 가지게 되어 의학진단에 광범위하게 사용될 수 있으리라 여겨진다.

최근에는 CdTe/CdSe 나노입자가 종양세포 진단에 사용된 예가 보고 되었는데[7], 이 연구에 따르면 감시 림프절 (sentinel lymph node)에 나노입자가 부착할 수 있도록 생접합 시키고 그 나노입자를 체내에 주입시키면, 그 림프절에 부착된 나노입자의 형광으로부터 종양세포의 존재를 탐식하여 제거할 수 있다고 한다. 감시 림프절은 종양이 있는 부위에서 림프액이 나가는 길을 따라 첫 번째에 있는 림프절로, 이것은 종양제거 수술 행방에 도움을 주기 때문에 이 림프절을 찾는 일이 외과적으로 중요하다. 고도의 외과수련을 필요로 하는 기술인 감시 림프절을 찾는 작업에 나노입자를 이용하게 되면 보다 용이하게 감시 림프절을 찾을 수 있어 외과분야에서도 나노입자의 도입은 유용하리라 여겨진다.

3. DNA 검출에 이용되는 금 나노입자

DNA를 검출하는 방법은 크게 레이저 유발형광법 (laser induced fluorescence)과 전기적인 신호를 이용하는 방법으로 나눌 수 있다. 현재 가장 많이 사용되고 있는 검출방법은 레이저 유발 형광법인데 이 방법은 한 번에 여러 대상을 검출할 수 있다는 장점을 가지지만, 탐식자 (target probe)에 형광물질을 붙이는 과정이 필요하고, 장비들이 고가라는 단점이 있다. 일반적으로 레이저 유발 형광법에서 사용되고 있는 dye로는 Cy 3나 Cy 5가 있다. 레이저 유발 형광법으로 DNA를 검출하는 방법에 이용되고 있는 금 나노입자는 최근에 여러 감염성 질환을 찾아내는 새로운 방법에 이용되었는데 [8], 이 방법에서 사용된 탐식자는 13 nm의 금 나노입자에 여러 감염성 질환 바이러스를 감지할 수 있는 DNA 한 가닥에 Raman dye를 표지하여 고안되었다(그림 7). 감염성 질환 바이러스가 테스트 하는 칩 (chip)에 존재하면, 탐식자는 칩상의 적절한 지점에서 결합하고 칩에 부착되어진 여분의 이온들을 제거하기 위해 칩은 세척되어진다. 레이저

가 은(Ag)으로 코팅된 금 나노입자를 따라 스캔되면 탐식자로부터의 신호가 기록되어 특이적인 유전적 지문 (fingerprint)이 각 질환 바이러스에 따라 나타나게 된다. 이때 사용된 은은 금 나노입자의 전기장 형성을 강화하고자 하는 목적으로 이용되었다. 그림 8에서 A는 은을 이용한 신호 강화후의 스캐너 이미지이며 B는 각 Raman dye에 해당하는 분광 이미지이다. HVA (A형 간염 바이러스)는 Cy3으로, HVB (B형 간염 바이러스)는 Tamra로, HIV (에이즈 바이러스)는 Texas-Red로, EV (에볼라 바이러스)는 Cy3.5로, VV (우두 바이러스)는 Rhodamine 6G로, 그리고 BA (탄저균 바이러스)는 Cy5로 각각 해당하는 Raman dye를 표지시켜 행해진 여덟 개의 독립적인 샘플에 대한 실험 결과이다. 만약에 DNA간의 이종교배 (cross hybridization)가 발생할 경우 단일 색을 이용한 방법으로 이를 분간하기가 어려우나, 본 방법과 같이 다중 색을 이용한 방법으로는 가능하며, 20 펨토 몰농도까지 분해능이 가능하다고 보고 되었다. 이 방법은 민감도, 선택성, 속도면에서 기존의 질환 감식 방법을 능가하며 보다 다양한 신호를 제공할 수 있으리라 여겨진다.

최근에는 탐식자에 형광물질을 붙이는 과정 없이 미세전극과 금 나노입자를 이용하여 전기적인 방법

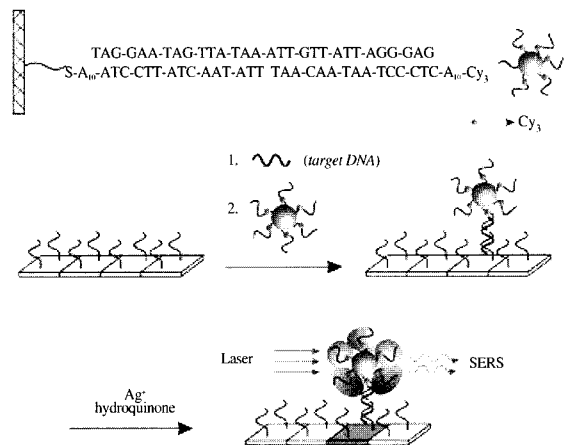


그림 7. DNA 다중 검출을 위한 실험의 모식도.

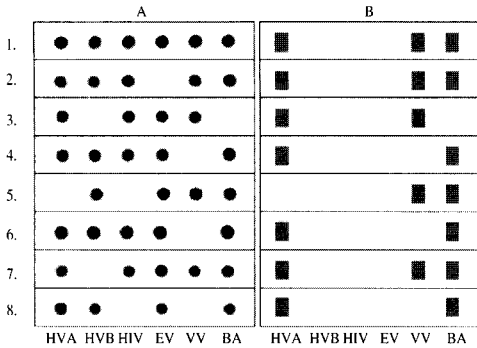


그림 8. 여러 감염성 바이러스의 검출 예 A: 은을 이용한 신호 강화후의 스캐너 이미지, B: 각 Raman dye에 해당하는 분광 이미지.

으로 DNA를 검출하는 방법도 개발되었다 [9]. 그림 9에서와 같이 먼저 20 μ m의 간격을 두고 미세전극을 만든 기판에 표적 DNA와 결합하는 올리고뉴클레오티드를 결합시키고, 이 기판을 금 나노입자와 표적 DNA가 포함된 용액에 넣으면 유전자 사이에 결합 반응이 일어나게 된다. 반응이 끝나면 은이 함유된 용액으로 처리하여 금 나노입자에 은을 코팅시키면 입자의 크기가 커지면서 전극사이에 존재했던 간격이 메워지게 되어 결과적으로 전류가 흐르는 상태까지 된다. 또 완전하게 일치하는 유전자만을 가려내기 위해서 염농도를 변화시키는 방법도 도입되었는데, 이 방법은 기존의 열처리 방법을 대신한 것으로 보다 간단하며 고온의 상태를 거치지 않기 때문에 시료에 안정적이라는 장점이 있다. 이 연구에서는 DNA 염기서열 모델로 탄저병 치사인자 (anthrax lethal factor)가 이용되었는데, 기존의 방법보다도 선택성에 있어서 10만배 정도나 우수한 것으로 확인되었다. 이 기술은 정확도와 경제적인 면에 있어서 장점이 있기 때문에 기존의 DNA 검출 기술을 대체할 수 있으리라 예상된다.

4. 조영제로서의 자성 나노입자

자기적 성질을 가지고 있는 나노입자들은 진단영상의학에서 영상의 질을 향상시킬 수 있는 조영제

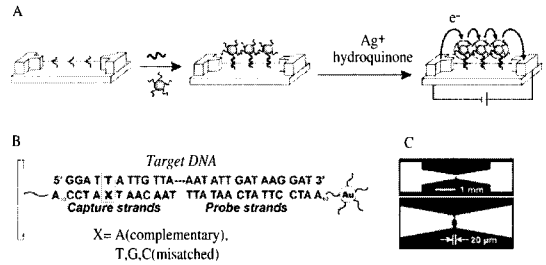


그림 9. 금 나노입자와 미세전극을 이용하여 DNA를 검출하는 전기적 방법의 모식도.

(contrast agent)로 연구되어 지고 있다. 진단영상의학에서 이용되고 있는 기법중에서 자기공명영상 (magnetic resonance imaging: MRI)법은 인체에 해가 없는 자장 (magnetic field)과 비전리 방사선인 라디오파를 이용한다. MRI는 인체의 80%를 차지하는 수분의 주요 성분인 수소 원자핵에 핵자기공명현상을 일으켜 원자핵의 밀도 및 물리화학적 특성을 영상화 한 것으로서, 다른 영상기법에 비해 입체적 영상이 가능하고, 해부학적 구조뿐만 아니라 분자구조의 구별도 가능하다는 장점이 있다. 이러한 MRI에 대한 조영제로 연구되어 지고 있는 자성 나노입자는 인체에 유해하기 때문에 그 나노입자의 표면을 생체 친화성 물질로 캡슐화하여 이용하려는 연구가 행해지고 있다 [10]. 그림 10에서는 산화철 나노입자를 생체 친화성 물질인 Poly (D, L lactide-co-glycolide)(PLGA)로 캡슐화시키는 과정과 MRI 영상에 있어서의 산화철 나노입자의 영향을 보여주고 있다. 그림 10 (b)와 (c)는 산화철 나노입자와 PLGA 매트릭스안에 삽입되어져 있는 산화철 나노입자에 대한 투과 전자 현미경 사진이며, (c)에서 보여지는 검은 도메인들이 PLGA안에 존재하는 산화철 나노입자를 나타낸다. (d)에서는 캡슐화된 나노입자의 크기에 따른 자기화율(magnetic susceptibility)의 변화를 보여주는데, 입자 크기가 작을수록 더 큰 자기화율을 갖는다는 것을 알 수 있다. (e)와 (f)는 토끼에 캡슐화된 자성나노입자를 주입하기 전과 후의 토끼 신장에 대한 MRI로, 자성나노입자가 MRI 조영제로써 우

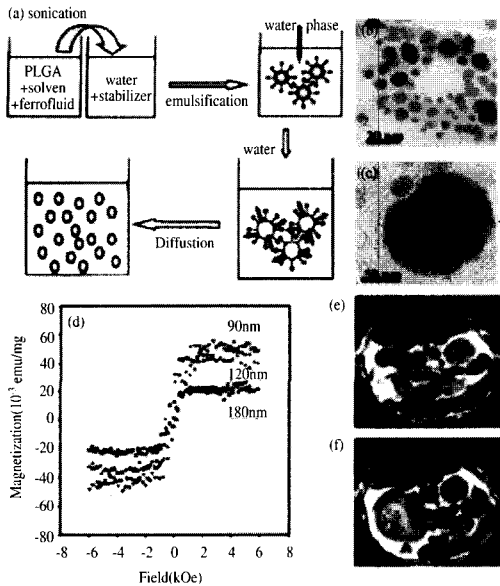


그림 10. (a) 산화철 나노입자를 PLGA로 캡슐화하는 방법 (b) 산화철 나노입자의 투과 전자 현미경 사진 (c) PLGA안에 주입된 산화철 나노입자의 투과 전자 현미경 사진 (d) 산화철 나노입자의 크기에 따른 자기화율 (e) 산화철 나노입자가 주입되기 전의 토끼 신장 MRI (f) 산화철 나노입자가 주입된 후의 토끼 신장 MRI.

수하다는 점을 보여주는 결과이다.

5. 결론

나노바이오 기술에 있어서 나노입자가 응용 될 수 있는 분야는 위에서 소개한 의학진단에만 국한 되는 것이 아니다. 오히려 치료분야와 생체모방기술에서 나노입자 도입의 필요성이 증대되고 있다. 나노입자는 우리가 원하는 특정부위에만 직접적으로 약물을 전달할 수 있기 때문에 다른 신체조직에서 일어날 수 있는 약의 부작용을 제거 할 수 있리라 여겨진다. 또, 신체에서 수용하고 거부 반응이 없는 이식성 물질을 개발하는 데 생리활성 조직으

로 코팅된 나노입자가 이용된다면, 자연스럽게 신체조직과 인공조직을 결합시킬 수 있을 것이다.

나노입자는 나노바이오 기술발전에 크게 이바지 하리라 여겨지지만, 신체에 대한 유해성 여부에 대해서는 아직 확실한 결과를 얻지 못하고 있는 상황이다. 따라서 임상학적으로 나노입자를 체내에 투입하여 연구하는 경우에는 나노입자의 독성에 대해 신중하게 고려해야 할 것이다.

참고 문헌

- [1] Andrew J. Sutherland, *Curr. Opin. Solid. State. Mat. Sci.*, Vol. 6, p. 365, 2002.
- [2] Marcel Bruchez, Jr., Mario Moronne, Peter Gin, Shimon Weiss, and A. Paul Alivisatos, *Science*, Vol. 281, p. 2013, 1998.
- [3] Benoit Dubertret, Paris Skourides, David J. Norris, Vincent Noireaux, Ali H. Brivanlou, and Albert Libchaber, *Science*, Vol. 298, p. 1759, 2002.
- [4] Gregory P. Mitchell, Chad A. Mirkin, and Robert L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 121, p. 8122, 1999.
- [5] Warren C. W. Chan and Shuming Nie, *Science*, Vol. 281, p. 2016, 1998.
- [6] Warren C. W. Chan, Dustin J. Maxwell, Xiaohu Gao, Robert E. Bailey, and Mingyoung Han, and Shuming Nie, *Curr. Opin. Biotechnol.*, Vol. 13, p. 40, 2002.
- [7] Sungjee Kim, Yong Taik Lim, Edward G Soltesz, Alec M De Grand, Jaihyoung Lee, Akira Nakayama, J. Anthony Parker, Tomislav Mihaljevic, Rita G. Laurence, Delphine M. Dor, Lawrence H. Cohn, Monugi G. Bawendi, and John V. Frangioni, *Nat. Biotechnol.*, Vol. 22, p. 93, 2004.
- [8] YunWie Charles Cao, Rongchao Jin, Chad A. Mirkin, *Science*, Vol. 297, p. 1536, 2002.
- [9] So-Jung Park, T. Andrew Taton, and Chad A. Mirkin, *Science*, Vol. 295, p. 1503, 2002.
- [10] Seung-Jun Lee, Jong-Ryul Jeong, Sung-Chul Shin, Jin-Chul Kim, Young-Hwan Chang, Yong-Min Chang, and Jong-Duk Kim, will be printed in *J. Magn. Magn. Mater.*



· 저 · 자 · 약 · 력 ·

성명 : 조경아

◆ 학력

- 1993년 성신여대 화학과 이학사
- 1995년 성신여대 대학원 화학과 이학석사
- 2000년 동경대 화학과 이학박사

◆ 경력

- 2002년 1월 - 현재 고려대 전기공학과 계약교수

성명 : 이준우

◆ 학력

- 2001년 고려대 화공생명공학과 공학사
- 현재 고려대 대학원 전기공학과 석사과정

성명 : 김현석

◆ 학력

- 1999년 고려대 물리학과 이학사
- 2001년 고려대 대학원 물리학과 이학석사
- 현재 고려대 대학원 전기공학과 박사과정

성명 : 김진형

◆ 학력

- 2003년 2월 중앙대 전기공학과 공학사
- 현재 고려대 대학원 전기공학과 석사과정

성명 : 김상식

◆ 학력

- 1985년 고려대 물리학과 이학사
- 1987년 고려대 대학원 물리학과 이학석사
- 1996년 Columbia Univ. 응용물리학 이학박사

◆ 경력

- 1996년 - 1999년 Univ. of Illinois at Urbana-Champaign 전기공학과 연구원
- 1999년 - 현재 고려대 전기공학과 교수

성명 : 박병준

◆ 학력

- 2004년 고려대 전기전자전파 공학부 공학사
- 현재 고려대 대학원 전기공학과 석사과정

■ 알려드립니다. ■

안녕하십니까? 편집위원장을 맡고 있는 김태완입니다.

회원님들의 많은 관심과 협조로 학회의 논문지 및 학회지가 순조롭게 발간되고 있습니다. 회원님들의 귀한 연구 결과를 논문으로 투고하여 주시고 학회활동에 적극적으로 참여, 협조해 주신데 대하여 진심으로 감사드립니다.

지난 해에는 회원님들이 우수한 논문을 많이 투고하여 주시어 최종 '계재가' 판정을 받으신 이후에 3~4개월 이상 기다라는 불편이 있어, 이를 해소하는 차원에서 정규발행 이외에 12월에는 특별호(16권 12S호) 25편을 발행한 바 있습니다. 또한 2004년도부터는 계재논문 수를 20편(긴급논문 포함)으로 증편 발행하여 투고하신 논문이 원하시는 때에 계재가 가능토록 하였습니다. 이에 올해에도 회원님들의 많은 논문 투고를 다시 한번 간곡히 부탁드립니다. 투고된 모든 논문이 기일 내에 심사가 완료되도록 노력하겠으며, 연구 활동하시는 데 지장이 없도록 최선을 다하겠습니다. 회원님들의 건승하심과 가정에 행운이 가득하시길 기원합니다.

한국전기전자재료학회
편집위원회 위원장 김 태 완