

# 자성 나노다공성 세라믹 소재를 이용한 초고속/고효율 생체분자 분리 기술

글 \_ 이진형, 정봉용, 장정호  
한국세라믹기술원 미래융합세라믹본부 바이오IT융합센터

## 1. 서론

지난 2000년도에 인간의 유전자지도가 작성됨에 따라 post-genome 시대가 열린 이래, 유전자의 기능을 해석하고자 하는 연구가 가속도를 붙이며 활발히 진행되어 오고 있다. 그 결과 생물학적 연구대상도 DNA, RNA와 같은 핵산 중심의 연구에서 단백질 연구로 점차 이동하고 있으며, 단백질체학(Proteomics) 이라는 새로운 학문 영역에 대한 연구자들의 관심이 점차 증폭되고 있다.

인체의 조직에는 약 10만 종류의 단백질이 존재하는 것으로 추정되고 있는 데, 20종의 아미노산으로부터 생합성 되는 단백질 분자는 일차구조, 고차구조, 분자크기, 전하적 성질 등에 의하여 생체 내에서 다양한 기능으로 표현되어 생명체를 유지 하고 있다. 기존의 방법으로 단백질의 기능을 연구하기 위해서는 다량의 시료로부터 많은 시간과 노동력을 통해 한 종류의 단백질을 대량화하여 정제하여 왔지만, 현재 이런 공정으로는 생체 내에서 일어나는 여러 가지 형태의 단백질 상호작용 등에 관한 연구를 충족시키기에는 적합하지 못하다. 가장 중요한 인종의 하나는 기존의 단백질 정제 소재의 특성상 많은 종류의 시료를 빠른 시간에 정제하기가 어렵기 때문이다. 따라서, 차세대 단백질분리 정제 키트의 소재는 정제 속도와 다양한 응용성이라는 측면이 최우선적으로 고려되어야 할 것이다. 단백질의 분리정제는 크기, 정전기적 결합, 친화성 등의 특성에 따라 다양한 소재가 개발되어 왔으며 그 기본 소재는 연질 담체를 응용한 것이다.

연질 담체의 종류로는 크게 물리적 강도와 단백질의 비특이적 흡착성이 큰 폴리머 및 실리카 젤 계열과 담체의 강도와 단백질의 비특이적 흡착성이 낮은 아가로스, 텍스트란, 셀룰로스의 다당류계열의 담체 및 이들 다당류계열과의 혼합 연질 계열의 담체들이 단백질 분리소재로서 이용되고 있다. 그러나 열거한 담체들은 한 종류의 단백질을 대량으로 분리 정제하는 데에는 유용하지만 많은 종류의 단백질을 분리 정제하는 데에는 효과적인 방법이 아니다. 왜냐하면 현재 다양한 종류의 단백질의 기능 연구를 위해 짧은 시간에 많은 종류의 정제된 단백질이 필요하기 때문이다. 이러한 분야에 적용 가능한 정제법은 재조합 DNA 기법을 이용한 저분자 tag을 셀룰로즈나 실리카 젤과 같은 담체에 결합하여 정제에 이용하는 것이다. 즉 affinity tag라고 불리는 것이다. 이러한 affinity tag을 이용한 단백질 분리정제 소재 시스템의 특징은 1) 정제의 단순화 2) 단백질의 구조와 생물학적 활성에 미치는 영향의 최소화 3) 다양한 단백질에서 적용될 수 있다는 것 등이다. 가장 많이 사용되는 small peptide tag로는 poly-Arg, FLAG, poly-His, c-myc, S, Strep II 등이 있다. 그 밖에 용도에 따라 camodulin-binding peptide, cellulose-binding domain, DsbA, glutathion S-transferase, HAT-tag, maltose-binding protein, NusA, SBP-tag, Strep-tag, thioredoxin 등이 개발되어 왔다. 이 중에서 차세대 단백질 분리정제 소재로서 각광 받고 있는 것은 마그네틱 비드(magnetic bead)를 이용한 소재이다. 마그네틱 비드 소재의 도입은 단백질을 담체에 고정화하고 원

심력이나 중력을 통해 잔존물을 용출한 다음 적절한 완충용액을 통해 담체에 결합되어 있는 목적 단백질을 다시 원심력이나 중력을 이용하여 분리/정제하는 기존 시스템에서 분리정제 시간과 공정을 대폭 개선할 수 있다는 장점을 갖고 있기 때문에 보다 효율적이며 초고속 분리/정제를 가능하게 한다. 현재 high throughput system (HTS)을 통한 대량의 단백질 기능 연구에 필수적인 단백질 분리 정제 소재로서 평가되고 있다.

본 연구는 기존 사용공정인 실리카 맴브레인 소재와 실리카 코팅 자성비드 소재가 갖는 저속분리, 부가공정, 저효율 분리 등의 여러 단점들을 해결하기 위하여 높은 표면적을 갖는 나노다공성 세라믹 소재를 나노기공 크기는 그대로 유지한 채 나노미터 크기 수준의 입자를 제조하여 자성을 부여한 자성 나노다공성 입자(magnetic nanoporous particles) 개발에 관한 것이다. 이러한 기술을 통해, 핵산 및 단백질 등의 생체고분자를 고속/고효율로 분리하기 위한 무결림 패키징화 기반기술을 확보하고자 한다.

## 2. 기술 동향

### 2.1. 생체분자 분리/정제용 키트

다양한 임상시료로부터 생체분자를 분리/추출하는 과정은 매우 중요한 공정으로서, 분리/추출 시 순도, 수율, 안정성, 방해요소 제거, 민감도, 시료간의 교차오염 등의 많은 변수들을 고려하여야 한다. 현재 다양한 분리/추출

방법들이 개발되어 상품화되어 있고, 자성비드(magnetic bead)나 실리카기질(silica matrix)을 이용한 핵산포획 기술이 발전하면서 고속처리(high-throughput) 방식의 분리/추출 및 자동화 시스템의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 대표적인 상용화 키트는 Sierra Diagnostics의 DNA/RNA Protect™, Becton Dickinson의 BD Vacutainer™, CPT™, PPT™, Medical Packaging Corporation의

Table 1. 생체분자(핵산) 추출 방법

회사	상품명	추출 시간	시료
Amersham Biosciences	GFX Genomic Blood DNA Purification Kit	30분	혈액, 구강점막 세포, 효모, 박테리아
Q-Biogene	Fast DNA/RNA Kits	30분	조직, 박테리아, 효모, 균류
BioMerieux	Nuclisens™ Isolation Kits	90분	혈청, 혈장, 전혈, 생식기 분비, 조직, 세포, 바이러스
	Nuclisens™ Extractor System	45분	혈청, 혈장, 전혈, 조직, 세포
Bio-Rad	AquaPure DNA/RNA Isolation Kits	30분	배양세포, 조직, 혈액, 박테리아
Dynal	Dynabeads® DNA DIRECT™ Universal	10분	배양세포, 임상시료, 박테리아, 균류, 조직
	Dynal MPC-auto 96	60-80분	혈액
Epicentre	MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit	60분	혈액, 배양세포, 조직, 체액, 박테리아, 효모
MBI Fementas	Genomic DNA Purification Kit	20-25분	혈액, 혈청, 배양세포, 박테리아, 조직
MoBio	UltraClean Microbial DNA/RNA Kit	30-35분	효모, 박테리아, 균류, 분변시료
Qiagen	QIAamp DNA/RNA Mini Kits	20-60분	조직, 체액, 박테리아, 기생충
	QIAamp 96 Virus Biorobot Kit	150분	체액
Roche	High Pure™ PCR Template Preparation Kit	35분	혈액, 백혈구연층, 배양 세포, 효모, 박테리아
	MAGNA Pure LC DNA Isolation Kits	60분	혈액, 조직, 배양세포, 효모

(Drug Discovery Today 자료)

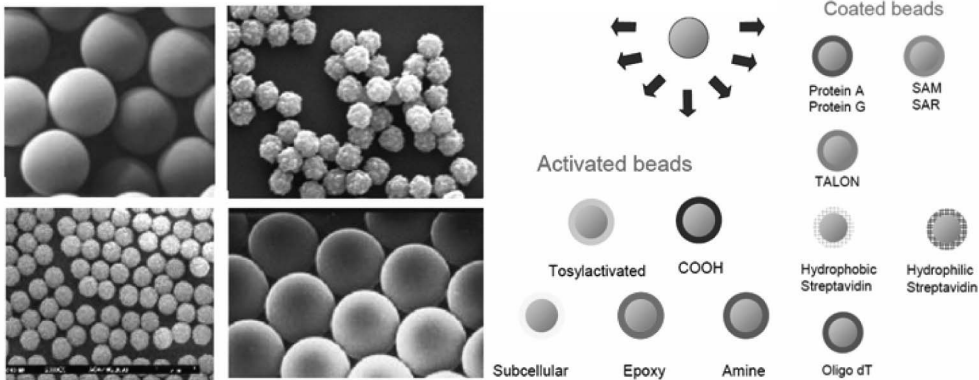


Fig. 1. 미국 Invitrogen 사에서 시판중인 Dynalbeads.

NATTM 등이 있다. 현재 대표적으로 사용되는 실리카 멤브레인 소재는 단순 물리흡착에 의한 분리/추출을 하는 것으로, 부가적으로 원심분리 및 진공장치가 필요하기 때문에 새로운 대안으로서 자성비드를 이용한 고속 분리연구가 진행되고 있다.

대표적인 연구 예를 살펴보면, 미국 Invitrogen사는 자성나노입자 표면을 화학적 작용기 및 프로틴(protein)으로 코팅한 Dynalbead 제품을 상용화 하고, 스웨덴 왕립공과대학의 M. Mohamed 교수는 super paramagnetic iron oxide nanoparticles (SPION)을 이용하여 뇌질환 생체분자의 분리/검출에 관한 연구를 진행하고 있다. 자성 나노 입자를 이용한 연구는 유럽을 중심으로 활발하게 진행되고 있는 데, 특히 덴마크 기술대학의 O. Thomas 교수는 자성나노입자 표면을 polyhistidine- tailed T4 lysozyme을 코팅하여 선택적인 단백질 분리를 하여 상용화를 진행하고 있으며, 스위스 EPFL의 H. Hoffmann 교수는 CdSe 양자점을 이용하여 형광검진 및 분리 연구를 관련 생명공학 회사와 연계하여 진행하고 있다.

일본 오사카대학의 아마모토 교수는 초음파 환원 나노 입자를 이용하여 15종의 아미노산을 자기분리에 의해 선택적으로 분리하는 결과를 보고하였다.

## 2.2. 자동화 및 다중분리 분석 시스템 개발

자동화 분리/정제 시스템은 생물정보학(bioinformatics), 컴퓨터과학, 분석법의 소형화(miniaturization) 기술 등이 통합되면서 빠른 속도로 발전하고 있으며, 생체분자의 추출, 증폭, 확인의 전 과정을 자동화 방식으로 수행할 수 있다. Gen-Probe의 TIGRIS DTS(Direct Tube Sampling) system은 미식약청의 승인을 받은 최초의 자동화 시스템으로 표적포획, 증폭, 확인, 검사결과 출력 과정이 자동화 되어 있고, Neisseria gonorrhoeae와 Chlamydia trachomatis의 검사를 수행할 수 있다. Roche Molecular Systems의 COBAS Amplicor analyzer와 Cepheid의 GeneXpert system, IQuum Inc.의 Liat(Lab-in-a-tube) analyzer 등도 PCR 기반의 자동화 시스템이다. 다중분석 시스템의 요구는 인체질환이 하나의 유전자 이상이라기보다 여러 유전자의 문제로 인해 발병되는 경우가 훨씬 많기 때문에 일회

검사에 여러 개의 유전자를 확인할 수 있다면 진단의 정확성과 유용성을 향상시킬 수 있으므로, 민감도와 재현성을 높혀 진단에 적용 할 수 있는 다중분석(multiplex assay) 플랫폼에 대한 요구가 증가되고 있다. DNA microarray와 비드(bead)기반의 기술이 가장 대표적인 다중분석 방법이다. 그 동안 분리/진단에 적용할 수 있는

Table 2. 세계시장을 선도하는 주요생산 업체

업체명	생산품목과 주요 특징
Roche	○ Reche는 Boehringer Mannheim의 바이오센서 기술을 흡수하여 1998년 Reche Diagnostics을 설립후 Reche의 마케팅 능력과 Boehringer의 기술력의 결합에 의해 분리/정제용 칩기술 개발.
Abbott	○ ExacTech, WalMart ReliOn, Precision QID, PCx, Medisense Sof-Tact, Precision XtraTM 등
Affymetrix	○ Photolithography 기술을 이용하여 정해진 서열의 올리고 뉴클레오타이드 어레이를 칩 표면에서 합성 ○ Genechip 시스템을 개발하여 1996년부터 판매 시작 ○ 최근 500K oligonucleotide 마이크로어레이 시판
Telechem	○ 2004년 가장 저렴한 형광 스캐너 SpotLight™ 출시(10µm resolution, \$18,500, two color) ○ 범용적 DNA칩 기술인 Next Generation Screening™ 기술 개발
Applied Biosystems	○ 유전적 이형체와 연관된 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 분석에 활용되는 NanoChip 개발
Caliper & AgilentTech	○ Agilent Technologies사의 분석기기 및 소프트웨어 제작 기술과 Caliper Technologies사의 마이크로 칩 제작기술을 합쳐 단백질의 크기와 농도를 한번에 자동 분석할 수 있는 Proein 200 Labchip kit 개발 및 시판
Agilent technologies	○ Agilent 2100 Bioanalyzer™을 1999년 출시 ○ 2005년 마이크로플루이딕스 전기영동 장치 신제품 5100 ALP 출시. 5.5Cm²칩으로 6,000개 시료 분석. ○ LabChip®/MS : Mass와 연결된 LOC 칩
SUPERIOR MicorPowders(SMP)	○ plasma spray deposition (batch process) ○ single and comolex multi-phase composite: Pt/C
NanoPowder Industres	○ MCP 공정 ○ 염분해법 ○ Ag, Au, Ni, Cu, Ag/Pd, Ag/Au, Ni/Cu, Ni/Al
NanoPowder Enterprises	○ 습식화합법 ○ 연소화염화합증기증축법 ○ Li-이온 2차전지 전극용(Li <sub>4</sub> Ti <sub>5</sub> O <sub>12</sub> , LiMnO <sub>2</sub> , LiVOx, Sn-based 복합재), Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , MgO, TiO <sub>2</sub> , SnO <sub>2</sub> , Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , CeO <sub>2</sub> , Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , WC/Co
Tetronics	○ Single plasma torch(혹연전극), twin torch ○ ZnO, AlN, Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> , SiC, Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> /SiC, MgO, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , ZrO <sub>2</sub> , Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , ZrO <sub>2</sub> /Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , ZrO <sub>2</sub> /MgO, TiO <sub>2</sub> , ZrSiO <sub>4</sub> , CaCl <sub>2</sub> , C, Al, (Mg, Zn, Pb, Sn)
TAL Materials	○ 화염용사열분해(flame spry pyrolysis, FSP) ○ 고체산화물 연료전지용, 촉매기술용, 포도토 활용용, 특수세라믹
Advanced Materials & Nanopowder Industries (APMaterials)	○ Sodium flame and Encapsulation(SFE) ○ 금속(Al, Be, Co, Hf, Mo 등), 세라믹(AlN, NbB <sub>2</sub> , TiB <sub>2</sub> , WC, B <sub>4</sub> C, TiC 등)

가능성만 제기되었던 두 방법은 2004년 12월을 기점으로 현실화되기 시작하였다. 2004년 12월과 2005년 1월에 美식약청은 DNA microarray 칩인 Roche Molecular System의 AmpliChip CYP450 genotyping test와 DNA microarray 기기 플랫폼인 Affymetrix Inc.의 GeneChip System 3000Dx를 CYP2D6와 CYP2C19의 다형성을 확인하는 용도로 승인하였다. 2003년 Roche는 Class I ASR로 판매하려 했으나 美식약청의 OVID(Office of In Vitro Diagnostic Evaluation and Safety)는 AmpliChip이 너무 복잡하다는 이유로 거절하였는데 이는 美식약청의 방향을 제시한 것으로 볼 수 있다. Roche는 2008년이면 AmpliChip으로 1억 달러 이상의 소득을 올릴 것으로 추정하고 있다. 또한 2005년 5월 9일 美식약청은 DNA 기반의 혈액검사인 bioscience Corporation의 Tag-It Cystic Fibrosis 키트를 낭포성 섬유증(cystic fibrosis) 진단의 보조수단으로 CFTR의 유전자변이를 확인하는 용도로 승인하였다. 이와 같은 계기로 인해 약물대사나 특정질환과 관련된 유전자변이를 검출하기 위한 다중분석 시스템의 개발은 엄청난 진전을 보일 것으로 기대된다.

### 2.3. 현 기술의 문제점

현재 핵산/단백질을 분리/정제하는 장비 및 기술들의 개발은 궁극적으로 어떤 시료(피, 소변, 대변, 가래, 침, 조직 세포, 공기, 물, 머리카락)든지 사람의 도움이 없이 DNA를 자동적으로 분리/정제하는 것을 목표로 하고 있다. DNA의 분석을 위해서는 DNA의 분리, 증폭, 검출의 세 단계를 거쳐서 이루어지고 있으며 각각의 단계를 자동화하는 장비는 많이 출시되고 있지만 세 단계를 동시에 수행하는 것은 현재 출시되고 있지 않다. 이러한 기술들이 임상에 적용하기 어려웠던 중요한 이유는 자동화가 완전히 이루어지지 않아 전문 연구자의 손이 많이 필요했기 때문이다. 소형화 및 자동화에 있어서 가장 걸림돌은 시료로부터 핵산/단백질을 분리하는 단계이다.

몇몇 장비(Gen probe사의 Tigris 제품과 Cepheid사의 GeneXpert 제품)가 출시되어 기존의 핵산 장치의 대형화에 비해서는 소형이며 다양한 생물시료로부터 핵산의 분리가 자동적으로 이루어져 60분 이내에 목적 핵산을 분

리/정제할 수는 있다고 하지만, 동시 분석 수가 10 종류 이하로 크게 제한된다는 점과 아직까지 장비의 부피가 크기 때문에 상용화에 큰 어려움을 갖고 있다. 따라서 핵심소재의 기술개발에 따른 자동화 및 소형화를 이루기 위해서는 고밀도 집적 패키지 기술이 병행되어야 한다. 또한 지금까지 비드 형태의 경우 세라믹 입자 및 고분자 입자 기술은 소개 되었으나, 나노 다공을 갖는 금속산화물 입자를 나노크기로 제어하는 기술과 자성을 부여하는 기술은 아직 상용화 되지 않은 대동기의 원천적 기술이라는 요인을 갖고 있다. 또한 나노세공체 상용화 회사 중 가장 선두 그룹인 일본의 Fuji sylisia에서는 비드 형태의 나노 세공 실리카를 독자적인 방법으로 개발하여 기본 Granule 형에서 문제점으로 되어 있는 기계적 물성의 한계성, 입자분포의 문제 및 유동성을 획기적으로 개선한 연구를 진행하고 있어서 경쟁력 확보차원에서 기술개발의 시급성 또한 부담으로 작용하고 있다.

## 3. 생체분자 분리용 자성 나노다공성 입자 소재 개발

### 3.1. 크기 및 자성세기 제어형 실리카 코팅 자성 나노입자

자성 나노입자는 여러 가지 방법으로 합성할 수 있으나 본 연구에서는 마그네타이트(magnetite)를 대상으로 합성하였다. 또한, 실리카 코팅을 위하여 전구체인 TEOS(tetraethyl orthosilicates)의 농도를 10~50mM까지 변화시켜 가면서 실리카 코팅막의 두께를 조절하였으며, TEOS의 농도가 적을수록 코팅막의 두께가 작아졌고, 농도가 진할수록 코팅막의 두께가 증가하여 전체 입자의 크기가 증가하였다. 또한 실리카 코팅 유무의 확인과 자성나노입자 두께가 실리카층에 의해 얼마나 증가되었는지 TEM image로 관찰하였다(Fig. 2). 자성나노입자(a)는 8~10nm 정도의 균일한 입자 크기를 가지고 있는 것으로 확인되었다. (b)의 이미지는 세척을 제대로 하지 않은 실리카 코팅된 자성나노입자로 입자와 입자 사이에 불순물이 섞여 있는것을 볼 수 있었다. 입자들의 분산성 또한 뛰어나다는 것을 알 수 있었고, 실리카 코팅한 자성

나노입자의 크기는 TEOS의 molar ratio가 증가할수록, 즉 (c)~(f) 커질수록 10mM 당 약 10nm 정도의 두께로 증가하였다. TEOS의 양을 조절함으로써 silica 코팅층의 두께 제어는 물론 나노입자의 크기 또한 제어할 수 있게 되었다. High dilution method에 의해 자성나노입자의 나노입자의 크기를 제어하였고 입자의 크기별로 각각 90%이상의 높은 수득률을 얻었다.(Fig. 3)

자성 나노입자 연구에서 중요한 것은 입자가 갖고 있는 자성의 세기를 제어하는 것이다. 본 연구에서는 실리카가 코팅되지 않은 마그네타이트 및 실리카가 코팅된 자성 나노입자를 가지고 VSM (Vibrational Sample Magnetometer)을 이용하여 자화율을 측정하였다. 실리카 전구체의 몰농도에 따른 자화율 측정 결과, 몰농도에 따른 자화율과 비표면적은 비례관계에 있으며 크기와는 반

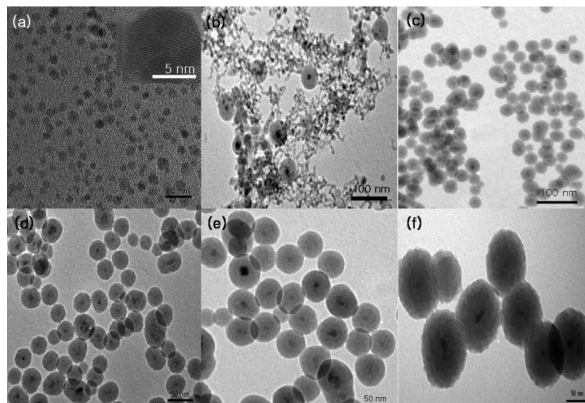


Fig. 2. TEM images of magnetite and silica coated magnetic nanoparticles with molar ratios.

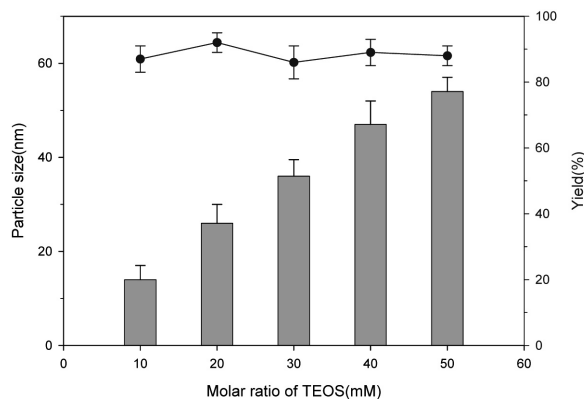


Fig. 3. Production yields of silica coated magnetic nanoparticles with molar ratios.

비례 관계에 있다. Fig. 4는 자화율 측정을 보여주는데, ①은 자성나노입자의 자화율 및 자화곡선을 보여주며 ②, ③, ④, ⑤, ⑥는 실리카가 코팅된 자성 나노입자의 자화곡선을 나타내고 있다. 또한 실리카 코팅 전후의 자화율 변화를 살펴보면, Ms의 값이 63.73 > 61.42 > 52.83 > 45.48 > 37.91 > 33.87 emu/g의 크기를 가지는 것으로 나타났다. 이는 코팅 되지 않은 자성 나노입자의 고유 자화율에서 실리카 층으로 코팅이 두껍게 되면서 감소하게 되는 것으로 해석 되며, 전체적으로 값이 작은 이유는 크기가 나노화되면서 갖는 현상에 기인한다. 또한 heating run 과 cooling run이 같아서 super-paramagnetic의 성질을 유지하는 것을 볼 수 있다.

### 3.2. 실리카 코팅 자성 나노입자를 이용한 DNA 분리

DNA와 binding 된 아미노 실란 그룹이 치환된 자성 나노입자를 TEM과 EDX으로 분석해 본 결과를 Fig. 5으로 나타내었다. (a)는 합성한 자성나노입자 image이고 이것을 확대한 것이 (b)이다. 그리고 (c)는 DNA와 교반시킨 나노입자 이미지이고 이것을 확대시킨 것이 (d)이다. (c) image를 자세히 보면 (a)와는 다르게 실리카 코팅 층 위에 얼룩 같은 층이 보여지는데 이것이 DNA라고 확증할 수 없기 때문에 EDX 분석을 수행하였다. 3가지 포인트에서 EDX 분석을 하였다(Fig. 6). 첫 번째 포인트는 아무런 것도 존재하지 않는 곳에서 분석하였는데 예

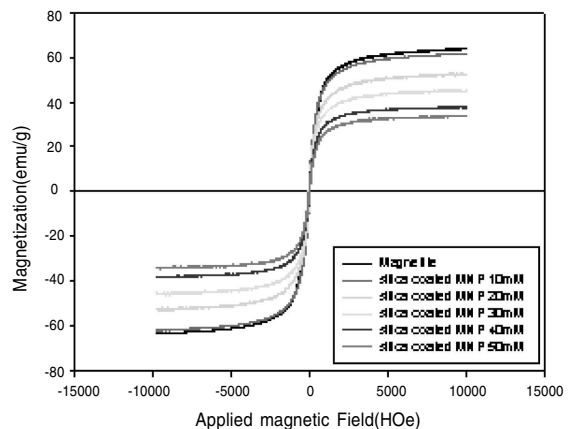


Fig. 4. Magnetic hysteresis curves as function of molar concentration of TEOS at RT.

상대로 DNA의 P원소가 존재하지 않았다. 두 번째 포인트는 자성나노입자쪽으로 분석해 보았다. 그 결과 P원소가 50% 정도 검출 되었는데, DNA 말단에 있는 phos-

phate 그룹의 P원소가 검출된 것으로 보아 DNA가 있다는 것을 확인 하였다.

자성 나노입자에 DNA가 얼마나 결합되어있는지를 확인하기 위해 DNA 말단에 Cyanine 5를 합성하여 이 합성한 DNA-CY5로 흡착시킨 자성 나노입자를 confocal microscopy로 분석하였다. Cyanine 5는 Excitation 파장이 650nm이며 Emission 파장이 668 nm을 가진다. 용액 상태에서는 blue 색을 띄지만 confocal image에서는 반대로 red 색을 띤다. Confocal image를 보면 결합력을 증진시키기 위하여 도입한 아민의 수에 따라 (Monoamine, Diamine, Triamine 순으로) red intensity가 커지는 것을 볼 수 있는데, 이는 red 색이 진하면 진할수록 기능성 자성 나노입자와 DNA와의 흡착이 높다는 것을 뜻한다.

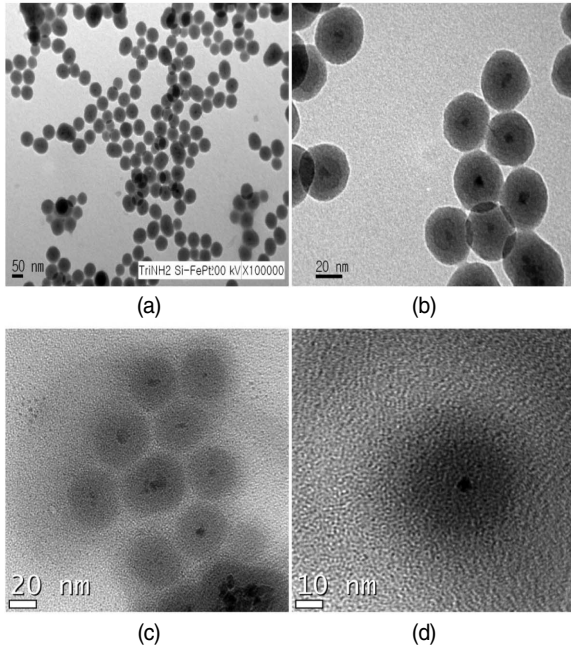


Fig. 5. TEM images with/without DNA bound: (a) and (b) are Si-MNPs, and (c) and (d) are DNA bound Si-MNPs.

### 3.3. 자성 나노다공성 입자 소재

다공성 물질은 내부의 높은 표면적으로 인하여 촉매나 흡착 담체로서 많이 응용되고 있다. 이러한 다공성 물질은 기공의 크기에 따라 2nm 이하의 미세다공성(microporous), 2~50nm의 메조다공성(mesoporous), 50nm 이상의 매크로다공성(macroporous)으로 분류된다. 1992년 Mobile사의 연구진에 의해 M41군이라고 명명된 일련의

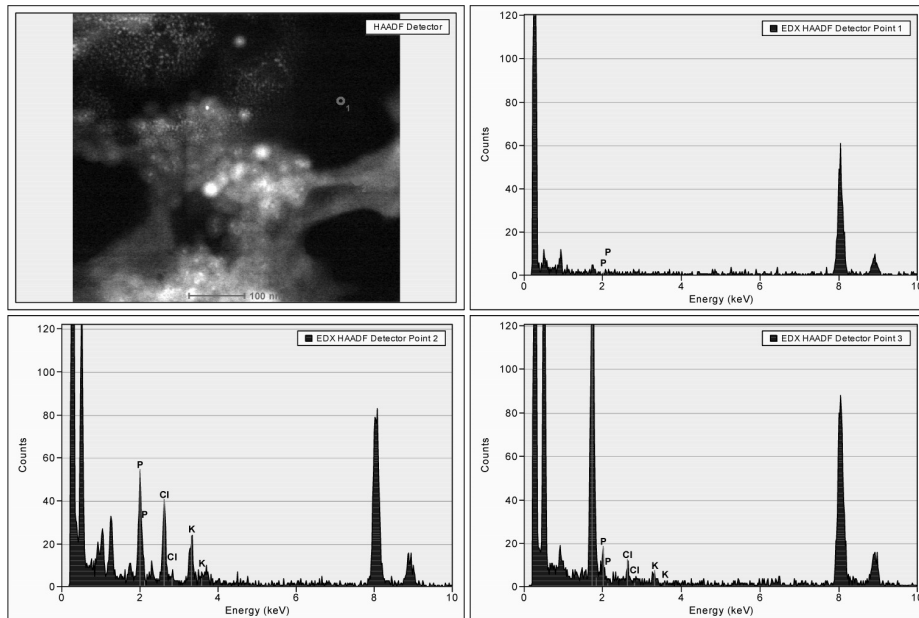


Fig. 6. EDX analysis of human DNA with Si-MNPs.

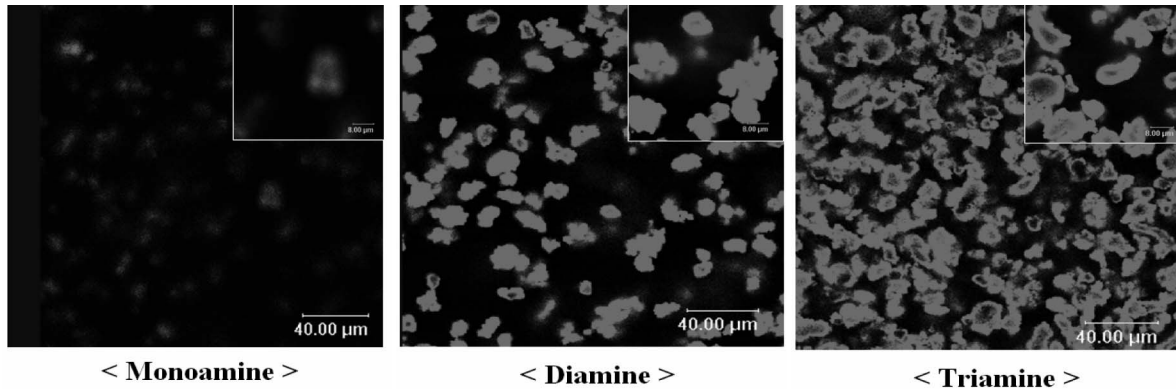


Fig. 7. Confocal images of human DNA-CY5 with amino-functionalized Si-MNPs.

Mesoporous 물질, MCM-41과 MCM-48의 합성이 발표되었고 또한 Santa Barbara의 연구원들도 독립적으로 MCM-41과 유사한 층상 물질로부터 SBA-15라고 명명된 Mesoporous 물질을 합성하였다. 이들 물질들은 기공의 크기가 2~10nm 사이에서 균일한 직경과 높은 표면적(700~1500m<sup>2</sup>/g)과 화학적, 열적 안정성을 지니고 있으며 다공성 분자체 물질들은 균일한 크기의 미세 기공이 규칙적으로 배열되어 있기 때문에 분자 레벨의 물질들을 선택적으로 분리 및 흡착 시킬 수 있다. 그리고 분자를 기공 내에 제어할 수 있는 큰 장점이 있기 때문에 화학 반응에서의 촉매 역할 및 촉매의 담체 역할로 널리 사용되었다. 이 외에도 MSU, FSM 등 다른 계열의 메조포러스 물질 합성법을 들 수 있다. 대부분의 메조포러스 물질은 마이크로 스케일의 입자 크기를 가지고 있는데 최근 연구에서는 규칙적으로 배열되고 입자의 형상도 제어가 가능한 메조포러스 실리카 나노입자를 합성하였다. 아이오와 주립대의 Victor Lin 교수는 MCM-41 합성방법에 기초를 두어 3가지 이상의 계면활성제를 이용하여 Sol-gel 합성으로 나노 사이즈의 메조포러스 실리카 나노입자를 제조하였다. 그러나, 합성 공정이 어렵고 수득율이 매우 낮기 때문에 양산화시에 많은 어려움이 있다.

이러한 문제점을 해결하고자, 본 연구에서는 비교적 어려운 고온에서의 합성보다 상온에서의 합성을 통하여 빠르고 체계적으로 정렬된 나노입자를 얻는 방법으로 금속염 첨가법을 개발 하였다. 이 방법은 메조포러스 구조를 형성할 때에 금속염을 첨가하여 마이크로 크기의 마

이셀 도메인에 금속이온을 착화(complexation) 시킨 후 금속이온의 안정화도를 이용하여 하소(calcination) 시나 노크기로 전환하는 공정으로 메조포러스 실리카 나노입자를 제조한 후 자성 소재의 균일함침 기술을 이용하여 자성 나노다공성 입자 소재 연구를 수행하고 있다.

#### 4. 결론

국내 단백질 분리정제 키트 소재 관련 바이오 관련 산업의 경쟁력은 선진국 대비 약 60% 정도 수준이라고 볼 수 있다. 또한, 산업은행의 조사에 의하면 국내 바이오 관련 산업의 선진국과의 기술격차는 분야에 따라 2~4년 정도인 것으로 나타났으며 특히 원천기술 부족이 심각한 것으로 지적된 바 있다. 그러나 세계 바이오 관련산업의 경쟁구조가 고착되지 않은 상태에서 이러한 기술 격차 해소는 노력 여하에 따라 충분히 가능할 것으로 판단된다. 이와 관련하여 최근 일부 국내 기업들의 벤처 마인드로서 단백질 분리정제 관련 분야에 대한 참여는 고무적인 현상을 보이며 향후엔 지속적으로 늘어날 전망이다.

이러한 시대적 요구사항을 포함하여, 본 기술개발에서는 나노미터 수준에서 크기 및 자성 세기를 제어하는 자성나노입자를 합성하였고, 실리카 전구체의 농도를 조절하여 실리카 코팅막의 두께를 제어 하였다. 개발된 기능성 자성 나노입자를 이용하여 human DNA 분리 정제 실험의 정량적 평가 기술을 확립하였으며, 신규 원천성을 갖는 자성 나노다공성 입자 소재를 개발하고 있다. 현

재, 개발된 소재원천기술들의 국내외 특허 출원(한국, 미국, 유럽)을 통한 지적재산권을 확보하였을 뿐만 아니라 보다 세련된 실험조건 정립에 힘을 기울여, 기존의 상용화되어 있는 산화철 형태의 자성나노비드를 대체할 수 있는 원천성이 확보된 자성 분리용 소재 개발에 관한 연구를 집중하고자 한다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 소재원천기술개발사업으로 진행중이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. W. Stober, A. Fink, and E. J. Bohn, "Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Size Range," *J. Colloid and Interface Sci.*, **26** 62-9 (1968).
2. T. Yoon, J. S. Kim, B. G. Kim, K. N. Yu, M.Cho, and Jin-Kyu Lee, "Multifunctional Nanoparticles Possessing A Magnetic Motor Effect for Drug or Gene Delivery," *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44** 1068-71 (2005).
3. M. E. Park, K. H. Kang, K. J. Kim, and J. H. Chang, "High Efficient DNA Purification with Organosilanes Grafted Nanoparticles," *Solid State Phenomena*, **124** 903-6 (2007).
4. S. A. Iakovenko, A. S. Trifonov, M. Giersig, A.

- Manedov, D. K. Nagesha, V. V. Hanin, and N. A. Soldatov, "One- and Two-Dimensional Arrays of Magnetic Nanoparticles by the Langmuir-Blodgett Technique," *Adv. Mater.*, **11** 388-92 (1999).
5. K. H. Kang, J. Choi, J. H. Nam, S. C. Lee, K. J. Kim, S.W. Lee, and J. H. Chang, "Preparation and Characterization of Functionalized Silica Coated Magnetic Nanoparticles as a DNA Separator," *J. Phys. Chem. B* **113** 536-43 (2009).
6. A. Ulman, "Modifying the Surface Properties of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles through A Sol-Gel Approach," *Chem. Rev.*, **96** 1533-54 (1996).
7. Y. Lu, Y. Yin, B. T. Mayers, and Y. Xia, "Modifying the Surface Properties of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles through A Sol-Gel Approach," *Nano Lett.*, **2** 183-6 (2002).
8. M. A. Correa-Duarte, M. Giersig, N. A. Kotov, and L. M. Liz-Marzan, "Control of Packing Order of Self-Assembled Monolayers of Magnetite Nanoparticles with and without SiO<sub>2</sub>," *Langmuir*, **14** 6430-5 (1998).
9. Kros, M. Gerritsen, V. S. I. Sprakel, N. A. J. M. Sommer-dijk, J. A. Jansen, and R. J. M. Nolte, "Silica-based Hybrid Materials as Biocompatible Coatings for Glucose Sensors," *Sens. Actuators B*, **81** 68-75 (2001).
10. Y. Shchipunov, "Sol-gel-derived Biomaterials of Silica and Carrageenans," *J. Colloid and Interface. Sci.*, **268** 68-76 (2003).

이진형



- 2007년 광주과학기술원 환경공학과 (박사)
- 2007년-2008년 나노엔텍 선행기술팀
- 2009년-현재 한국세라믹기술원 미래융합 세라믹본부 바이오IT융합센터

정봉용



- 2001년 인하대학교 금속공학과 (박사)
- 2001년-2004년 캐나다 McGill 대학교 재료공학과 Postdoc/JRA
- 2005년-2007년 코리아타타늄(주) 연구소장
- 2007년-현재 한국세라믹기술원 미래융합 세라믹본부 바이오IT융합센터

장정호



- 2001년 충북대학교 화학과 (박사)
- 1999년-2002년 미국 Pacific Northwest National Laboratory
- 2002년-현재 한국세라믹기술원 미래융합 세라믹본부 바이오IT융합센터장