



바이오 이미징용 형광 프로브

서울대학교 - 이지연 교수님

기술 분류	BT(LA0704. 바이오이미징)
기술 분야	질환, 종양 등 확인·진단 및 신약 개발을 위한 바이오 이미징 기술
적응증	치료 효과·진단에 이용하기 위한 임상시험 및 신약개발을 위한 약동학적 평가 적용 가능
기술 완성도 (TRL)	<input type="checkbox"/> 아이디어 단계 <input type="checkbox"/> 연구개발 진행단계 (추가실험 필요한 단계) <input checked="" type="checkbox"/> 연구개발 완료단계 (충분한 실험 데이터가 확보된 단계) <input type="checkbox"/> 전임상 단계 <input type="checkbox"/> 초기 임상(P1/2a) <input type="checkbox"/> 후기 임상(P2b/3)
관련특허	I. 인돌리지노[3,2-c]퀴놀린계 형광 프로브 (출원번호: 10-2016-0092867/등록번호: 10-1850607) - 미국 특허출원(US 15/877,872) - PCT 출원(PCT/KR2016/008059) II. 신규 나프토피란 유도체 및 이의 용도 (출원번호: 10-2020-0033261) -PCT 출원 (PCT/KR2020/003724)

01 기술 개요

기술 개요	형광 프로브 조성물 및 이를 이용한 핵산/단백질/세포 이미징 방법
기술 특성	본 기술은 형광 프로브의 바이오 이미징 용도 및 이를 이용한 바이오 이미징 방법에 관한 것으로, 환경-민감성, 형광강도, 광안정성, 핵산/단백질 결합, 세포내 투과성 등이 우수한바, 핵산/단백질 동역학, 약물-단백질 상호작용, 세포 내 단백질 이미징 등 다양한 단백질/세포의 기능 연구 및 이미징 기술에 유용하게 이용될 수 있음 1. 수용액 내 형광 안정성·강도 高

	2. 기존 시약과 거의 유사 또는 고성능을 보유하면서, 세포 손상 低
기술 적용(활용) 가능분야	'바이오 이미징용 형광 프로브' 로써 '생세포 이미징', '감광제', '센서', '신약 개발' 기술 등에 적용하여 활용될 수 있음

02 기존 기술의 문제점

- 새로운 형광 프로브의 개발은 생물 의학 연구, 특히 바이오 이미징 분야에서 매우 중요함
- 유기형광체 개발은 세포 이미징 및 단백질 기능연구에 필수적인 기술임
- 바이오 이미징을 위한 형광 프로브의 요구 특성은 강한 형광, 광 안정성, 형광의 높은 대비, 특정 파장의 빛에 형광을 발하면서 세포 내 다른 구성요소들에 의해 간섭을 받지 않는, 수용액에서 적용 가능한 형광체에 대한 개발이 필요한 실정임
- 현재 개발된 대부분의 유기형광체의 문제점은 수용액에서의 용해도가 좋지 않아 화합물 자체가 응집하거나 단백질의 응집을 초래함
- 즉 기존 형광체의 단점을 보완할 수 있는 수용액 및 버퍼 조건에서도 사용 가능하고 단백질의 응집을 일으키지 않으면서 밝기가 좋은 형광체가 필요함

[바이오 이미징에 이용되는 종래 기술]

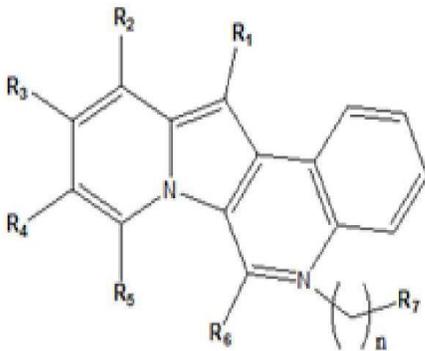
구분	양자점 (퀀텀닷, quantumdot, QD)	업컨버전나노입자 (upconversion nanoparticle, UCNP)	광음향영상 (Photoacoustic Imaging)
장점	향상된 안정성, 색순도, 형광효율 가짐	생체조직 내 투과성이 높은 근적외선 흡수하여 가시광선 영역의 형광을 방출할 수 있어, 생체 배경잡음에 의한 간섭이 최소화된 고감도 형광영상이 가능 형광강도 및 광안정성 높음	표면 상태에 따라 가시광에서 근적외선 영역까지의 변조가 가능 생체적합성, 광안정성, 생체안정성 가짐
단점	생체 내 불필요한 독성 부반응 야기	두 개의 광자를 흡수한 에너지가 하나의 큰 광자로 바뀌기 때문에 발광 효율이 매우 낮음	깊은 조직 내 잡음 제거 문제는 여전히 존재함

**출처: 고분자 과학과 기술 제 29 권 3 호 2018.06

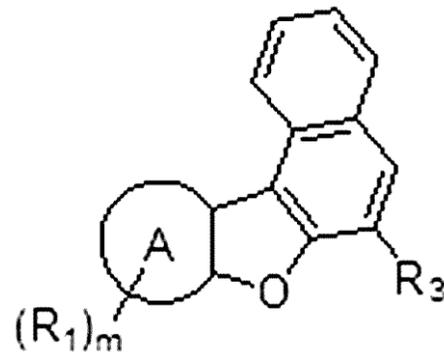
03 기존 기술 대비 우수성

- ◇ 본 기술은 수용액 내 낮은 효율을 보이던 종래 형광 프로브의 문제점을 개선한 형광 프로브를 개시하고, 이는 수용액 내에서 높은 형광성을 나타냄
- ◇ 따라서 본 기술의 형광 프로브는 수용액 및 버퍼 조건에서도 사용 가능하고, 환경-민감성, 형광강도, 광안정성, 핵산/단백질 결합, 세포내 투과성 등이 우수한 특징을 가지고 있는바, 이를 이용한 핵산, 단백질 또는 세포의 영상화(이미징) 방법 등을 제공할 수 있음

I. 본 기술의 형광 프로브



[인돌리지노[3,2-c]퀴놀린 화합물]



[나프토피란 유도체]

II. 형광 프로브의 광학특성

1. 인돌리지노[3,2-c]퀴놀린 화합물

▶ 형광 프로브 스크리닝

- 약 380-430nm 범위 내에서 최대 흡수를 보임 → 가시광선의 여기(excitation)가 가능함
- 수용액 상태에서 약 480-540nm 범위 내에서 최대 방출을 보이고, 리소솜에서는 ~600nm 최대 방출을 보임

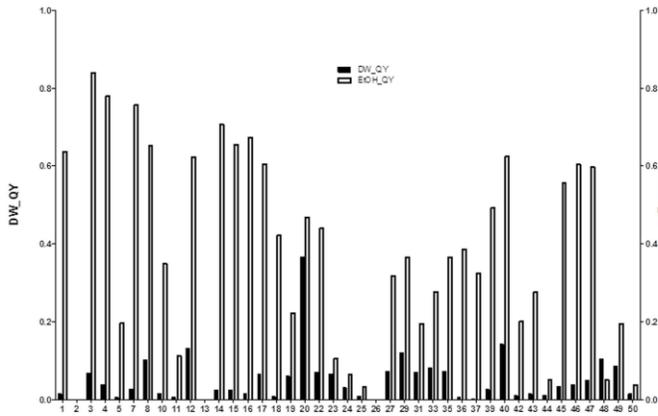
⇒ 형광체로 이용하기 적합&멀티-형광 기술을 이용한 세포 이미징에 응용될 수 있음

[형광체 조건을 가지는 화합물 스크리닝 결과]

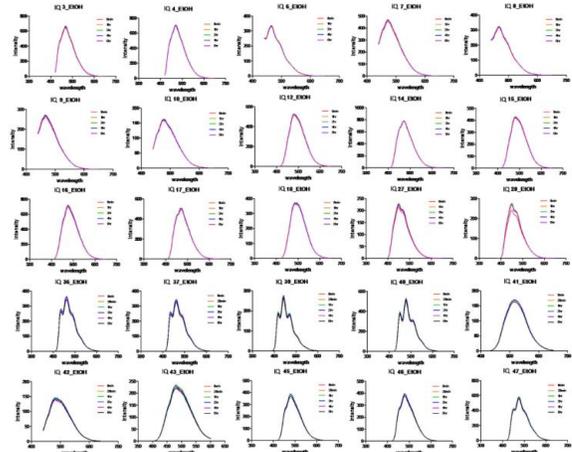
Entry #	최대 흡수파장 $\lambda_{\max \text{ ex}}(\text{nm})$	최대 방출파장 $\lambda_{\max \text{ em}}(\text{nm})^a$	형광강도 Emission Intensity ^b	상대적 형광강도 Emission Intensity _{norm}} ^c
6	430	514.5	231.3	0.99
9	399, 421	514	232.9	1.00
21	362, 383	432.5	226.5	0.97
28	362, 383	476	211.7	0.91
30	362, 383	480.5	210.7	0.90

▶ 용액 내 화합물의 형광수율 평가 및 광안정성 평가

- 수용매보다 에탄올에서 형광수율이 크게 증가함
 - 에탄올에서 광안정성이 높음
- ⇒ 화합물의 수용액 내 형광 안정성이 높음, 용해도 개선 형광 프로브



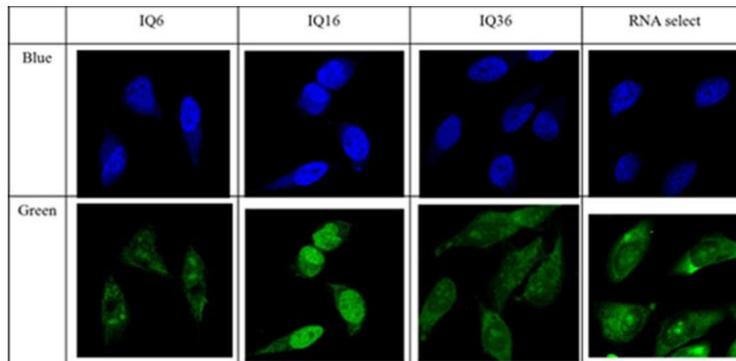
[수용매 또는 에탄올에서의 형광수율]



[수용매 또는 에탄올에서의 광안정성]

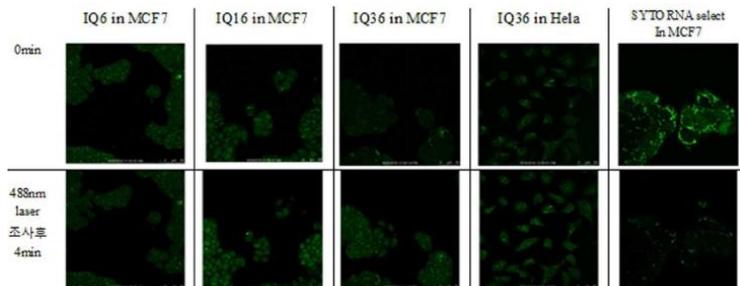
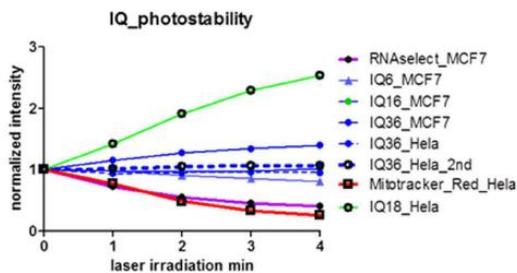
▶ 기존 개발 시약과의 성능 비교

- 시판되고 있는 시약과 비교하여 세포 투과성 우수 & DAPI 와 유사하게 염색하나, 생세포에서 핵을 녹색 형광으로 이미징 할 수 있음
- ⇒ 시판 시약과 유사 또는 고성능을 확인



[인돌리지노[3,2-c]퀴놀린 화합물에 대하여 세포 투과성을 기존 염색 시약인 DAPI 와의 costaining 을 통하여 확인한 결과]

- 시판되고 있는 시약과 비교하여 RNA 염색을 유사한 양상으로 염색하면서 형광 안정성은 보다 우수
- ⇒ 시판 시약보다 고성능을 확인



[인돌리지노[3,2-c]퀴놀린 화합물에 대하여 형광 안정성을 기존 염색 시약인 Syto RNAselect 또는 Mitotracker 와의 비교 결과]

2. 나프토피란 유도체

▶ 용해도 개선 형광 프로브

- 에탄올에 용해되었을 때와 고체 상태에서 모두 높은 형광성을 나타냄

⇒ 용해도 개선된 형광 프로브 도출

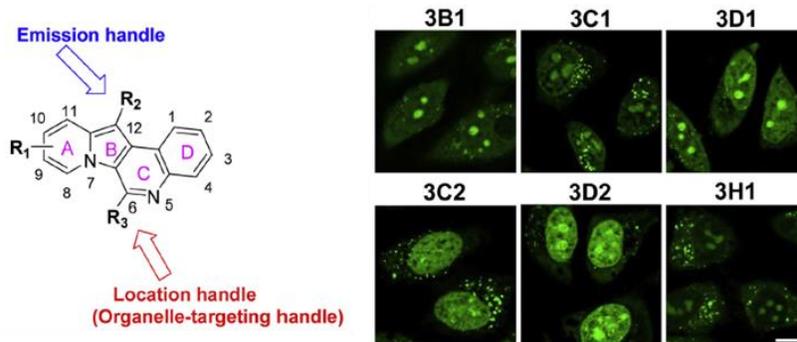
[에탄올 용해되었을 때와 고체 상태에서의 광학특성]

화합물	EtOH			고체		
	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	Φ_F (Solution)	λ_{abs} (nm)	λ_{em} (nm)	Φ_F (Solid, %)
6NP-8 2{1,6}	308	393.5	0.78	367	408	19.67
6NP-7 2{1,8}	332	385.5	0.63	372	422	22.15
6NP-12 2{4,3}	342	404.5	0.66	370	434	16.33
6NP-13 2{4,12}	355	424.5	0.72	373	437	1.54

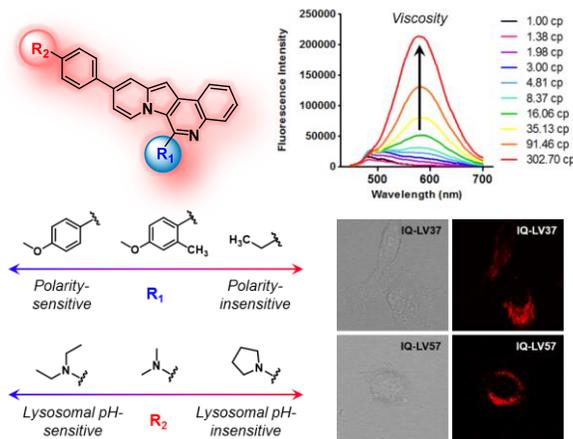
III. 형광 프로브의 용도

1) 생세포 이미징 (live cell imaging)

- 본 기술의 인돌리지노[3,2-c]퀴놀린 화합물은 생세포에서 DNA, RNA 및 리소좀을 표적으로하는 소기관-특이적 형광 프로브로 사용될 수 있음을 확인함

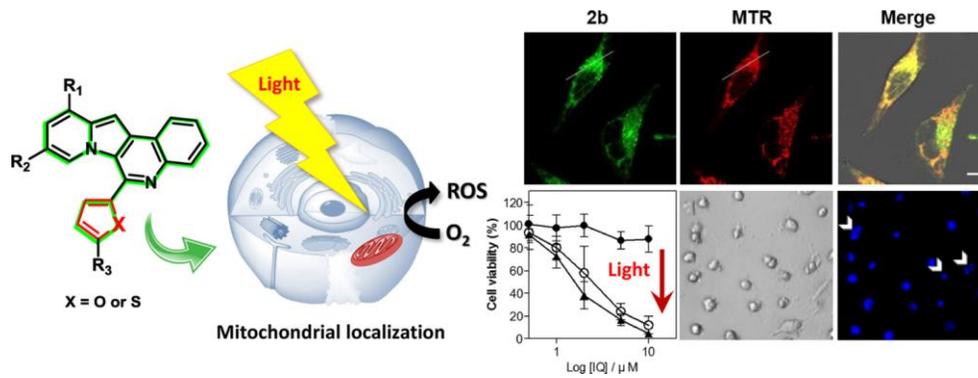


- 본 기술의 인돌리지노[3,2-c]퀴놀린 화합물은 pH 및 점도에 따라 다른 발현이 나타나고, 이를 이용한 리소좀의 자가 포식 과정 또한 추적 가능함



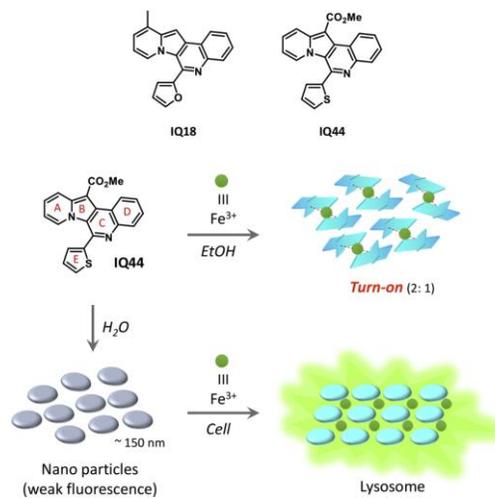
2) 감광제 (photosensitizers)

: 광역학적 항암 활성을 위한 새로운 종류의 감광제로 사용 가능



3) 선택적 검출 (sensor)

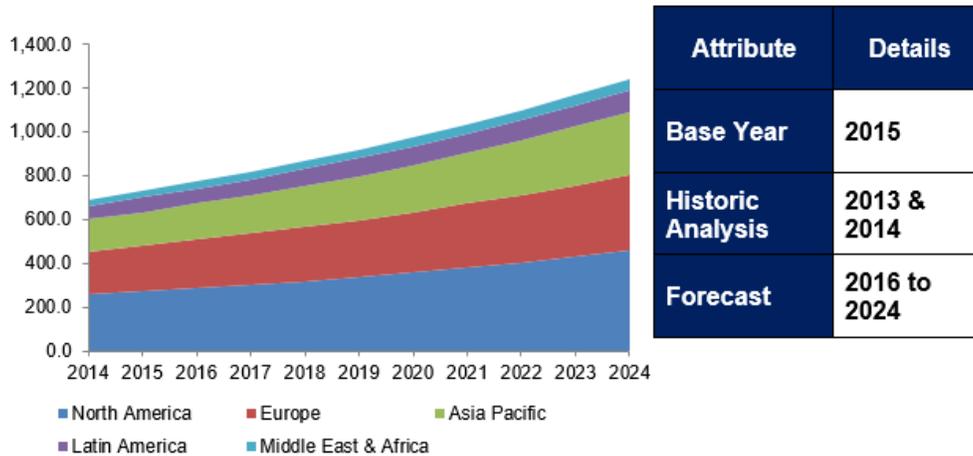
: 생세포 내 Fe³⁺의 선택적 검출을 위한 새로운 종류의 턴온(turn-on) 형광 프로브로 사용 가능



04 시장 현황

◇ 바이오 이미징 시장 전망

Global Bio Imaging Market, By Region, 2014 - 2024 (USD Million)



**출처: AMERI RESEARCH INC, 2017.03.29

- 글로벌 바이오 이미징 시장의 가치는 2015 년 22 억 달러로 2015 년과 2024 년 사이 **연평균 16.4 %** 성장하여 **2024년에는 80 억 달러의 매출을 기록**할 것으로 예상됨
- 생체 영상은 살아있는 물체 또는 시스템의 비 침습적으로 시각화 된 생물학적 과정의 가장 진보된 형태임
- 바이오 이미징은 초고해상도, 2 광자 형광 여기 현미경법, 광표백 후 형광 회복 / 재분포 (FRAP)를 포함하여 최근에 많은 기술의 발전이 있고, 이미지 처리 방법에 대한 중요성도 함께 높아지고 있음
- 정확한 진단에 대한 요구로 바이오 이미징 진단 센터의 수가 증가는 바이오 이미징 기술 산업이 확대될 수 있는 원동력이 될 것임
- 또한 고령화, 생활 습관 질환, 암 발병이 증가함에 따라 지속적인 진단 및 조기 진단에 대한 수요가 증가하고 있는바, 특히 분자 이미징 기술의 연구는 바이오 이미징 시장을 주도 할 것으로 예상됨
- 최근 알약 카메라와 같은 기술의 개발로, 병원 내의 시스템 설계 개선 및 네트워크와 세계 각지에 위치한 의사들이 바이오 이미징 산업에 대한 수요가 증가될 것으로 기대되며, 향후 바이오 인포매틱스와 헬스케어 IT의 발전으로 바이오 이미징 사용이 증가될 전망임

05 기술 문의처

구분	기관명	담당자	직급	연락처	e-mail
연구자	서울대학교	이지연	교수	02-880-2471	jyleut@snu.ac.kr
기술권리자	서울대학교 산학협력단	박지영	변리사	02-880-2038	jypat@snu.ac.kr