

## 피부로 침투된 양자점 나노입자의 분포와 전자현미경 분석 시 발견되는 오스뮴산 결합물과의 구분

최기주<sup>1,2,†</sup>, 박상용<sup>1,†</sup>, 이정민<sup>1</sup>, 신현섭<sup>1</sup>, 양정은<sup>1</sup>, 이돈길<sup>1</sup>,  
Garfurjon T. Mavonov<sup>1</sup>, 이태후<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>경희대학교 한방재료가공학과, <sup>2</sup>한국기초과학지원연구원 전자현미경연구부, <sup>†</sup>공동1저자

## Distribution of the Quantum Dot Nano-particles that Penetrate Skin and Distinction of Combined Osmium Tetroxide in Electron Microscopic Analysis

Ki Ju Choi<sup>1,2,†</sup>, Sang Yong Park<sup>1,†</sup>, Jeong Min Lee<sup>1</sup>, Heon Sub Shin<sup>1</sup>,  
Jung Eun Yang<sup>1</sup>, Don Gil Lee<sup>1</sup>, Garfurjon T. Mavonov<sup>1</sup>, Tae Hoo Yi<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Oriental Medicine Material and Processing, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea

<sup>2</sup>Division of Electron Microscopic Research, Korea Basic Science Instituted, Daejeon 305-333, Korea

<sup>†</sup>These two authors contributed equally to this work

(Received December 14, 2011; Revised December 27, 2011; Accepted January 5, 2012)

### ABSTRACT

The possibility of nanoparticles (NPs) in biotechnology had been discussed by biomedical investigators. Here we report to suggest a solution and problems when using electron microscopy to determine the distribution of quantum dots (QDs) nanoparticles that penetrate skin. The results of this study showed that NPs were able to penetrate stratum corneum (SC) and sebocyte via hair follicle. However, we have found artifacts such as nanoparticles that are produced from combination of free fatty acid and osmium tetroxide during specimen preparation. It is usually difficult to identify NPs. Therefore, we tried to resolve these problems by comparing the cross-correlation image pattern that are derived from the images of sample that had been processed differently. This method can contribute to more accurate interpretation and minimal errors during the analysis using quantum dot as tracer.

**Keywords** : Cross-correlation image, Nanoparticle, Penetration, Quantum dots, Skin

### 서 론

최근 나노기술의 발전으로 이를 이용한 관련 연구와 산업이 큰 활기를 띠고 있다. 나노입자와 관련한 나노기술의 빠

른 성장은 금속성 혹은 자성의 물질을 수 나노미터 혹은 그 이하로 합성하는 것을 가능하게 하였다. 나노입자는 광범위한 적용가능성 때문에 의생물학 분야에서 세포 표식 및 표적화, 조직공학, 약물전달 및 약물 표적화, 자성 약물의 표적화, 자기공명 이미징, 분자생물학적 분석 등을 위한 목적에

\* Correspondence should be addressed to Tae-Hoo Yi, Department of Oriental Medicine Material and Processing, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea. Ph.: (031) 201-3693, Fax: (031) 204-8116, E-mail: drhoo@khu.ac.kr

사용 되고 있다(Penn et al., 2003; Gupta, 2005; Neuberger et al., 2005). 지금까지 이러한 나노물질들의 독성학적 그리고 환경적인 영향이 충분히 알려져 있지 않은 상황에서 우리는 새로운 물질들을 안전하게 사용하기 위해 나노입자들의 수명, 인체 노출경로, 나노입자가 체내에 미치는 영향, 노동자들의 위험요소 등과 같이 환경과 건강에 대한 보다 많은 이해가 요구 될 것이다(Dreher, 2004; Hoet et al., 2004; Oberdorster et al., 2005; Gwinn & Vallyathan, 2006; Nel et al., 2006; Nasterlack et al., 2008).

나노입자의 체내 흡수 경로는 일반적으로 호흡기, 피부, 소화기뿐만 아니라 의도된 주사제 혹은 약물전달시스템을 이용한 삽입제 등을 통해 유입되는 것으로 알려져 있다(Bianco et al., 2005; Lademann et al., 2007; Chen & Schluesener, 2008). 특히 피부는 신체 중량의 10% 이상을 차지하는 거대한 기관으로 외부의 환경에 항시 노출되어 있어 외부의 유해한 환경으로부터 인체를 보호하는 역할 뿐만 아니라 항상성 기작과 각종 대사 및 다양한 물질 합성 등의 매우 중요한 역할을 수행하고 있다(Matteo et al., 2009). 외부물질이 피부를 통해 침투되는 경로는 현재까지 4가지의 경로가 있다고 알려져 있으며, 이는 각질층 사이의 공간, 각질의 직접적인 통과 그리고 피부 부속기의 두 가지 경로인 모공과 한선이다(Scheuplein, 1967). 이러한 연구들의 일환으로 경피를 통한 약물의 흡수 경로를 밝히기 위해 금속성 나노입자를 이용한 분석법이 관심을 받고 있다. 이는 특정한 나노입자가 경피로 흡수되는 경로를 마이크로 혹은 나노 미터의 범위에서 가시화 시켜줄 수 있는 특징들을 갖기 때문이다. 최근 관련 연구들에서 나노 크기의 양자점(quantum dots), 산화철(iron oxide) 등을 추적자(tracer)로 이용하는 사례를 많이 볼 수 있다(Paliwal et al., 2006).

금속성 나노입자를 이용한 대부분의 연구들은 형광현미경 또는 전자현미경을 이용하여 분석을 하게 된다. 이때 우리는 전자현미경 상에 나타난 입자들이 의도된 나노입자인지 시편준비과정에서 발생한 인공물인지를 명확히 구분해야 할 필요가 있다. 왜냐하면 생물시료의 경우 전자현미경 전처리 과정에서 대부분 오스뮴산(osmium tetroxide)을 이용한 후 고정 과정을 거치게 된다. 하나의 오스뮴산은 2개의 지질과 1차적인 결합 반응에 의해 조직의 구조를 2차 고정하는 역할을 한다. 그것은 불포화 지방산이 오스뮴산에 의해 산화되는 것으로 이해할 수 있으며, 오스뮴산은 검정색의 금속성 오스뮴으로 환원된다. 이렇게 환원된 중금속은 생물조직에 전자밀도를 높여 명암을 증가시켜 준다(Bozzola & Russell, 1998). 그러므로 세포 혹은 조직 내에 존재하는 불포화 지방산과 같은 분자들과 강한 결합을 형성하여 전자밀도가 높은 오스뮴산의 침착물을 형성할 가능성이 높아 나노입자로 오인하거나 나노입자들과 중복을 일으켜 의도한 나노입자의 정확한 위치 추적을 어렵게 만든다.

그래서 이번 연구를 통해 금속성 나노입자가 실험동물의 피부로 흡수되는 경로를 투과전자현미경으로 추적하면서 나타나는 문제점들과 해석에 있어 오인할 수 있는 점을 분석하고, 이를 해결하기 위한 방법을 제시해 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

본 실험에서 사용한 동물은 생후 5주령의 암컷 생쥐(C57BL/6)로 (주)대한바이오텍(충북, 대한민국)에서 공급받아 온도  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도 40~60% 사이의 사육조건에서 3일 동안 동일한 표준 사료와 수분을 공급하고 안정시킨 후 실험에 사용하였다.

경피침투 경로를 추적하기 위해 에테르로 마취된 생쥐의 등부분을 Clipper(#78005-140, Oster, USA)를 이용하여 털을 깎은 다음 평균 3.3 nm 크기의 양자점(Ca#694649, Sigma-aldeich, USA) 용액을 올레산(oleic acid)과 1:1로 혼합하여 각각 1분, 5분, 30분, 1시간, 6시간, 24시간 동안 피부도포 하였다. 투과전자현미경 분석을 위하여 실험부위를  $0.5 \text{ mm} \times 2.0 \text{ mm}$  크기로 세절하고, 2.5% glutaraldehyde-2% paraformaldehyde (in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)로  $4^\circ\text{C}$  상에서 두 시간 동안 전고정 후 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 5분간 3회 세척 하고, 1%  $\text{OsO}_4$  (in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4) (Ca#19100, EMS, USA)로 압조건 하에서 2시간 동안 후고정 하였다. 모든 고정이 끝난 시료는 0.1 M phosphate buffer로 5분간 3회 세척 후, 에탄올 농도 상승 순으로 탈수 과정을 거쳐, propylene oxide (Ca#20401, EMS, USA)로 치환하고 Epon812 mixture (Ca#14900, EMS, USA)로 포매한 후,  $60^\circ\text{C}$ 에서 48시간 동안 열 중합 하였다. 블록은 초박절편기(Ultracut UCT, Leica, Germany)를 이용하여  $1 \mu\text{m}$ 의 박절편을 만들어 toluidine blue (Ca#22050, EMS, USA)로 염색 후 광학현미경 상에서 관찰하고, 60 nm의 초박절편을 만든 후, 조직 내에 침투한 나노입자를 관찰하기 위해 통상적인 이중염색과정을 생략하고 투과전자현미경(H-7600, Hitachi, Japan)으로 가속전압 80 kV 상에서 관찰하였다. 또한 조직 내의 나노입자 형태의 침착물 성분을 분석하기 위해서 X선 에너지 분광분석기(EDX, Horiba, England)를 이용하여 정성 분석을 시행하였다.

## 결 과

### 1. 피부로 침투된 양자점 나노입자와 오스뮴산 침착물의 전자현미경 분석

우리는 양자점 나노입자를 생쥐의 배부에 도포하여 이들이 피부를 통해 침투되는 양상을 오스뮴산 후고정 단계를

포함한 일반적인 전처리 과정을 거쳐 관찰하였다. 전자밀도가 높은 나노입자를 조직 내에서 구분하기 위해 이중염색을 생략한 결과 Fig. 1에서 보는 것처럼 각질층 최외각의 각질세포 간 공간(b), 모피지관 내부(c), 피지세포의 세포질 내부(d), 지방세포의 세포질 내부(e) 등에서 양자점으로 보이는 나노입자를 관찰할 수 있었다. 이번 실험에 사용한 양자점은 3~4 nm 크기를 갖고 있으며, 조직 내에서 관찰할 수 있는 또 다른 나노크기의 침착물들과는 쉽게 구별이 되지 않거나, 또는 섞여 있어 구분이 쉽지 않다. 따라서, 오스몐산 처리과정에 의해 나타난 나노입자 침착물이 인공형성물인지를 확인하기 위하여 이미지의 비교 분석을 수행하였다.

## 2. 피부 부위별 나노입자의 침투 양상 분석

### 1) 각질층 및 모공

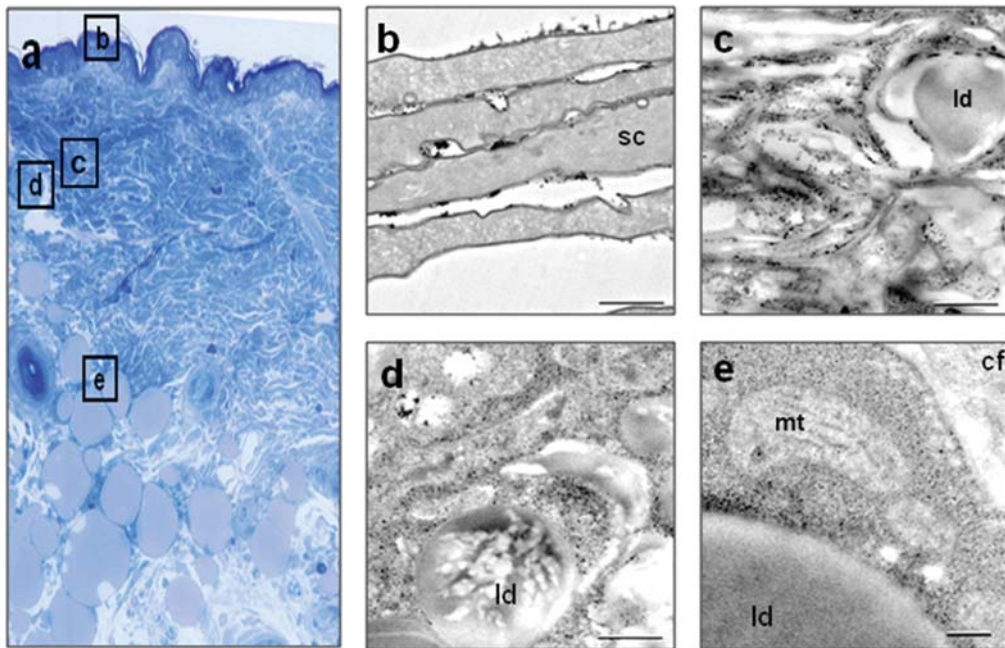
이처럼 양자점과 세포 내에서 발견되는 나노크기의 침착물들을 구별하기 위해 우리는 통상적인 투과전자현미경 전처리에 사용되는 오스몐산을 처리하지 않고, 양자점이 침투되었을 가능성이 있는 각질세포와 모낭 부분을 관찰하였다. Figs. 2, 3에서 보는 것처럼 좌측의 사진은 전자현미경으로 관찰하기 위한 부분을 참고하기 위해 틀루이딘 블루로 염색된 피부조직의 광학현미경 사진이며 사진 속의 검은색 상자로 표시된 부분은 우측의 전자현미경 사진상의 위치를 나타내기 위해 편의상 표기 하였다. 양자점을 도포하지 않고, 오

스몐산을 조직 전처리 과정에서 생략하여 관찰한 사진(OsO<sub>4</sub> free)에서는 어떠한 나노입자도 관찰할 수 없으며, 양자점을 도포하지 않고, 오스몐산의 처리 과정을 거친 후 관찰한 사진(Only OsO<sub>4</sub>)에서 세포의 형태는 명확히 관찰되나 나노입자는 관찰할 수 없었다. 하지만 양자점을 도포하고 오스몐산을 처리하지 않은 사진(OsO<sub>4</sub> free+QDs)에서는 나노입자(arrows)가 각질층 사이의 지질공간(Fig. 2)과 모낭의 큐티클 사이 공간(Fig. 3)으로 침투되어 있음을 확인하였다. 또한 양자점을 도포하고, 오스몐산 처리 과정을 거쳐 관찰한 사진(OsO<sub>4</sub>+QDs)에서도 각질층, 모낭에서 OsO<sub>4</sub> free+QDs군과 동일한 양상으로 양자점이 침투되어 있음을 관찰하였다.

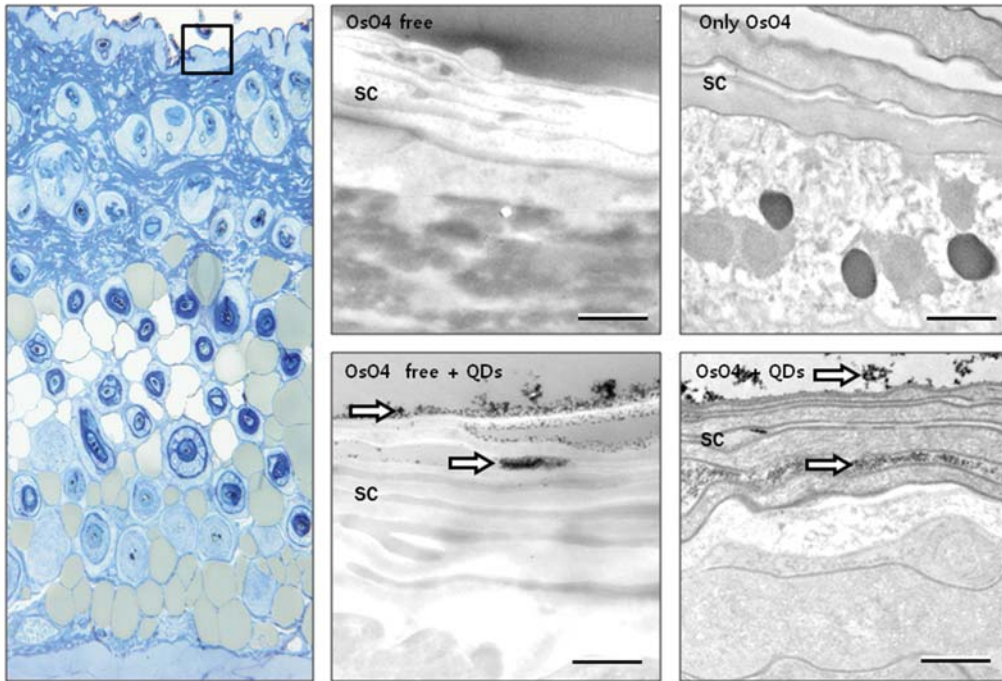
### 2) 지방세포와 피지세포

반면 Fig. 4에서 보는 것처럼 지방세포(Fig. 4)의 내부에서 관찰되는 나노입자들은 양자점이 아님을 확인할 수 있다. 이는 사진에서 동일 위치의 각기 다른 처리 조건을 비교해서 알 수 있듯이 양자점을 도포하고 오스몐산 전처리를 생략한 사진(OsO<sub>4</sub> free+QDs)에서 나노입자가 발견되지 않은 점으로 보아 오스몐산을 처리한 군(Only OsO<sub>4</sub>, OsO<sub>4</sub>+QDs)에서 발견된 나노입자들은 양자점이 아님을 판별할 수 있다.

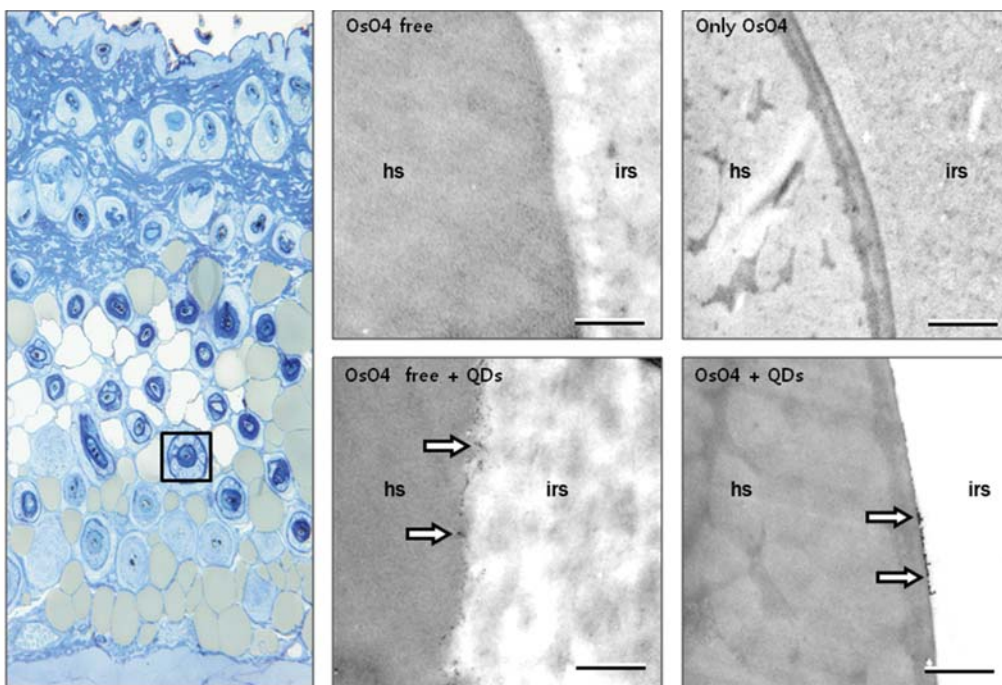
하지만 Fig. 5에서 보이는 피지세포의 경우 양자점을 도포하고 오스몐산 전처리를 생략한 사진(OsO<sub>4</sub> free+QDs)과 양자점을 도포하지 않고 오스몐산을 처리한 군(Only OsO<sub>4</sub>)에서 동시에 나노입자들이 관찰되는 것은 양자점이 실제 침투



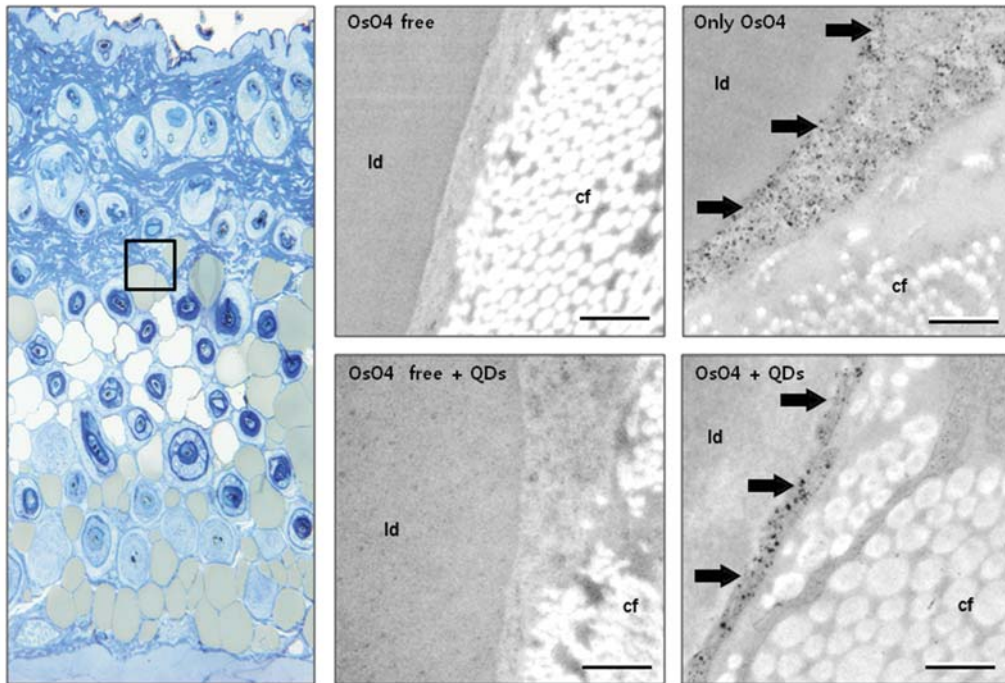
**Fig. 1.** Assessment of penetration of quantum dots in topical application treated skin with transmission electron microscopy. (a) The light microscopic image on the left shows each part in skin with the lower magnification. Nano-sized particles (electron-dense spots) were observed in electron micrograph in stratum corneum (b), pilosebaceous duct (c), sebocyte (d) and adipocyte (e). sc: stratum corneum, ld: lipid droplet, cf: collagen fiber, mt: mitochondria. Scale bar=1  $\mu$ m.



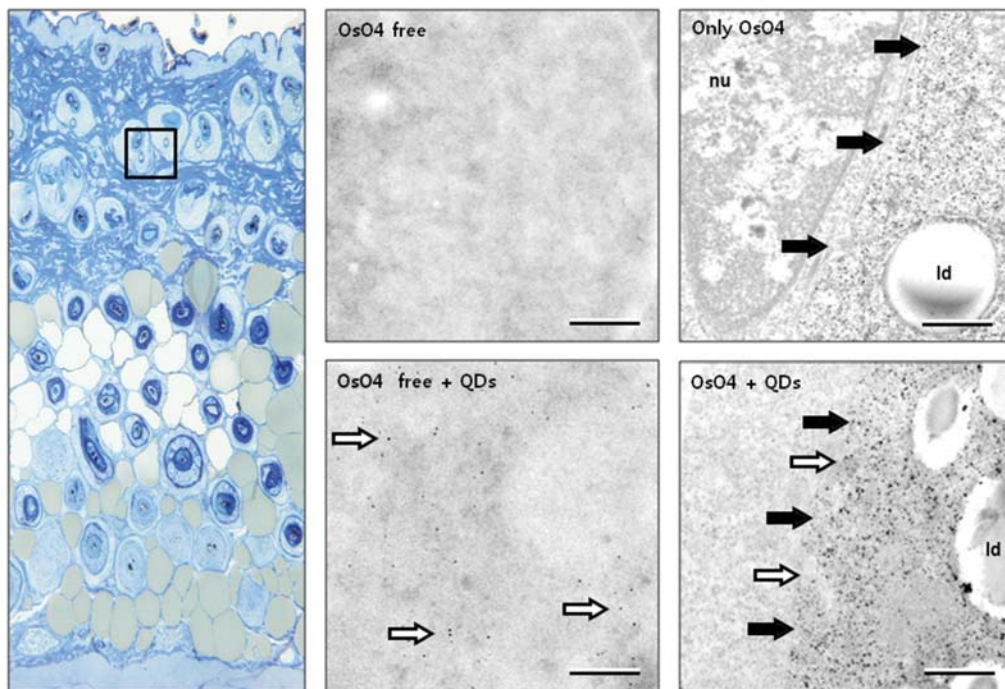
**Fig. 2.** Transmission electron micrographs of stratum corneum (SC) after topical application of quantum dots for 5 minute. Open arrows in micrograph shows that QDs are uniformly distributed in localized pockets of the extracellular domains of the SC. TEM images confirmed the presence of QDs within intercellular spaces of the SC seen as an electron-dense region in the image (OsO<sub>4</sub> free+QDs, OsO<sub>4</sub>+QDs). OsO<sub>4</sub> free : No treatment with quantum dot and OsO<sub>4</sub>, Only OsO<sub>4</sub> : Treatment with only OsO<sub>4</sub>, OsO<sub>4</sub> free+QDs : Treatment with only quantum dots, OsO<sub>4</sub>+QDs : Treatment with quantum dots and OsO<sub>4</sub>, sc: stratum corneum. Scale bar=1  $\mu$ m.



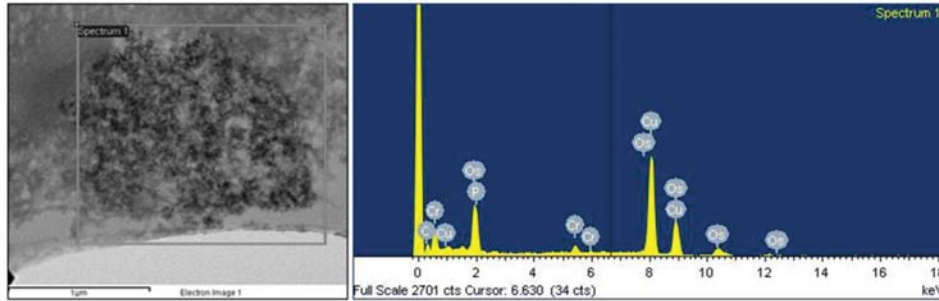
**Fig. 3.** Transmission electron micrographs of hair follicle after topical application of quantum dots for 5 minute. Open arrows in micrograph shows that QDs are uniformly distributed in localized pockets of the intercellular domains between hair shaft (hs) and inner root sheath (irs). TEM images confirmed the presence of QDs within intercellular spaces between hair shaft and inner root sheath seen as an electron-dense region in the image (OsO<sub>4</sub> free+QDs, OsO<sub>4</sub>+QDs). OsO<sub>4</sub> free : No treatment with quantum dot and OsO<sub>4</sub>, Only OsO<sub>4</sub> : Treatment with only OsO<sub>4</sub>, OsO<sub>4</sub> free+QDs : Treatment with only quantum dots, OsO<sub>4</sub>+QDs : Treatment with quantum dots and OsO<sub>4</sub>, hs: hair shaft, irs: inner root sheath. Scale bar=1  $\mu$ m.



**Fig. 4.** Transmission electron micrographs of adipocyte in subcutaneous fat layer after topical application of quantum dots for 5 minute. Closed arrows in micrograph shows that nano-sized osmium compounds are uniformly distributed in localized pockets of the intracellular domains of the adipocyte. TEM images confirmed the absence of QDs within intercellular spaces of adipocyte in the image (OsO<sub>4</sub> free+QDs). OsO<sub>4</sub> free : No treatment with quantum dot and OsO<sub>4</sub>, Only OsO<sub>4</sub> : Treatment with only OsO<sub>4</sub>, OsO<sub>4</sub> free+QDs : Treatment with only quantum dots, OsO<sub>4</sub>+QDs : Treatment with quantum dots and OsO<sub>4</sub>, ld: lipid droplet, cf: collagen fiber. Scale bar=1 μm.



**Fig. 5.** Transmission electron micrographs of sebocyte in dermis after topical application of quantum dots for 30 minute. Closed arrows and open arrows in micrograph shows that mixed nano-sized osmium compounds and QDs are uniformly distributed in localized pockets of the intracellular domains of the sebocyte. TEM images confirmed the presence of both osmium compounds and QDs within intracellular spaces of sebocyte in the image (OsO<sub>4</sub>+QDs). OsO<sub>4</sub> free : No treatment with quantum dot and OsO<sub>4</sub>, Only OsO<sub>4</sub> : Treatment with only OsO<sub>4</sub>, OsO<sub>4</sub> free+QDs : Treatment with only quantum dots, OsO<sub>4</sub>+QDs : Treatment with quantum dots and OsO<sub>4</sub>, ld: lipid droplet, nu: nucleus. Scale bar=1 μm.



**Fig. 6.** Energy dispersive X-ray (EDX) analysis of particles that are estimated to be osmium tetroxide compounds. Electron micrograph of  $\text{OsO}_4$  stained skin sections (left) and EDX graph (right). Most of the particles showed the values of osmium.

하였으나 오스뮴산에 의한 침착물과 중복되어 관찰된다는 것( $\text{OsO}_4 + \text{QDs}$ )을 확인할 수 있다.

### 3) 지방세포와 피지세포에서의 나노 인공 형성물

이처럼 양자점이 아닌 나노입자들이 일부 세포내에서 발견 되는 것은 오스뮴산 처리 과정에 의한 세포 내 침착물임을 비교사진을 통하여 확인 할 수 있었다. 즉 양자점을 도포하지 않음에도 불구하고 세포 내 나노 입자가 관찰된 지방세포와 피지세포(Figs. 4, 5)의 공통점은 오스뮴산을 처리한 군의 사진(Only  $\text{OsO}_4$ )에서 전자밀도가 높은 나노입자들이 관찰 되었는데, 이 두 세포 모두 세포질 내에 불포화 지방산의 함유가 높은 세포들이라는 것이다. 또한 TEM상에서 EDX분석을 통하여 양자점을 도포하지 않은 실험군에서 관찰되는 나노입자가 대부분 오스뮴 성분으로 구성되어 있음을 확인 하였다(Fig. 6).

## 고 찰

우리는 이번 연구를 통하여 피부에 도포한 양자점 나노입자는 피부 손상이 없는 정상의 동물모델에서 최외각의 각질층으로부터 2~3층 깊이까지 각질세포 사이의 지질 공간을 통해 침투되며, 모공을 통해 피지세포의 세포질 내부까지 침투됨을 관찰하였다. 이는 기존의 연구자들에 의해 밝혀져 있는 나노입자의 경피 흡수에 대한 결과와도 일치되는 부분이었다. 하지만 우리는 나노입자를 이용한 피부침투 실험에서 나타나는 문제점과 이를 효과적으로 해결할 수 있는 방법론적인 결과를 제시 하는데 초점을 두었다.

생체 조직에서 나노입자를 이용한 침투 연구 시 발생할 수 있는 문제점은 침투되는 조직의 부위에 따라 의도하지 않은 인공산물이 생성된다는 점이다. 이러한 인공산물의 의도적으로 침투시키고자 하는 나노입자와의 명확한 구분이 어려울 경우 결과 해석에 있어 오류를 범하거나 데이터의 오차를 발생시키는 원인이 될 수 있다. 이번 연구 과정 중 양자점 나노입자를 도포하지 않은 대조군에서 지방세포와

피지세포 등 자유지방산의 함량이 높은 세포 내부에 전자밀도가 높은 나노입자들이 관찰되는 것을 발견하고(Fig. 1), 이러한 나노입자가 세포 내 존재하는 자유 지방산이 시료 전처리 과정에서 오스뮴산의 결합에 의해 나타날 수 있다는 점을 문헌을 통해(Frasca et al., 1965; Bozzola & Russell, 1998; Dalila et al., 2009) 인지하고, EDX 분석을 통하여 실제 오스뮴산에 의한 결합물임을 확인 할 수 있었다(Fig. 6).

피부로 침투된 양자점 나노입자와 오스뮴산 처리에 의해 생성된 나노입자를 명확히 구분하기 위해 양자점과 오스뮴산 모두 처리하지 않은 군, 양자점 도포 없이 오스뮴산을 처리한 군, 양자점 도포 후 오스뮴산 처리 과정을 생략한 군, 양자점과 오스뮴산 모두 처리한 군의 4가지 처리 방법에 의한 동일 부위를 비교 하므로 실제 침투된 양자점 나노입자의 진위를 판별하고 분포를 확인하였다.

이러한 방법을 이용하면 Biancamaria et al.(2007)의 연구에서처럼 침투된 나노입자를 성분분석법에 의존하지 않고서도 의도한 나노입자의 피부침투 유무와 위치를 정확히 구분해 낼 수 있으며, Paliwal et al.(2006)의 연구에서처럼 나노입자의 침투 양상을 표피의 각질층과 과립층에 한정하지 않고 보다 다양한 영역에서의 침투 유무를 검증해 볼 수도 있을 것이다.

나노산업의 발달은 이를 이용한 응용 연구 분야의 발전을 가속화 시켜가고, 나노입자를 이용한 다양한 연구들이 진행될 수 있는 기반을 만들어 가고 있다. 이번 연구의 결과는 나노입자를 이용한 경피흡수 연구뿐만 아니라 이를 이용한 다양한 응용연구에서 보다 신뢰성 있고 정확한 전자현미경적 분석 결과를 얻기 위한 방법론적인 측면에서 매우 유용하게 활용 될 수 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Biancamaria B, Maria GE, Felica L, Michela I, Raimondo P, Arturo LQ: Penetration of metallic nanoparticles in human full-thickness skin. *J Invest Dermatol* 127 : 1701-1712, 2007.

- Bianco A, Kostarelos K, Prato M: Applications of carbon nanotubes in drug delivery. *Curr Opin Chem Biol* 9 : 674-679, 2005.
- Bozzola JJ, Russel LD: *Electron Microscopy*, 2nd Edition, Jones & Bartlett Learning, London, 1998.
- Chen X, Schluesener HJ: Nanosilver: a nanoparticle in medical application. *Toxicol Lett* 176 : 1-12, 2008.
- Dalila B, Santiago S, Bjorn J, Martin S, Peter S: Chemical analysis of osmium tetroxide staining in adipose tissue using imaging ToF-SIMS. *Histochem Cell Biol* 132 : 105-115, 2009.
- Dreher KL: Health and environmental impact of nanotechnology: toxicological assessment of manufactured nanoparticles. *Toxicol Sci* 77 : 3-5, 2004.
- Frasca JM, Auerbach O, Parks VR, Jamieson JD: Electron microscopic observations of the bronchial epithelium of dogs. *Exp Mol Pathol* 9 : 363-379, 1968.
- Gupta AK, Gupta M: Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials* 26 : 3995-4021, 2005.
- Gwinn MR, Vallyathan V: Nanoparticles: health effects pros and cons. *Environ Health Perspect* 114 : 1818-1825, 2006.
- Hoet PM, Bruske HI, Salata OV: Nanoparticles known and unknown health risks. *J Nanobiotechnol* 2 : 12, 2004.
- Lademann J, Richter H, Teichmann A, Otberg N, Blume U, Luengo J, Wei B, Schaefer UF, Lehr CM, Wepf R, Sterry W: Nanoparticles an efficient carrier for drug delivery into the hair follicles. *Eur J Pharm Biopharm* 66 : 59-164, 2007.
- Matteo C, Massimo B, Giovanni M, Gianpiero A, Caterina Z, Chiara F: Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. *Int Arch Occup Environ Health* 82 : 1043-1055, 2009.
- Nasterlack M, Zober A, Oberlinner C: Considerations on occupational medical surveillance in employees handling nanoparticles. *Int Arch Occup Environ Health* 81 : 721-726, 2008.
- Nel A, Xia T, Maler L, Li N: Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311 : 622-627, 2006.
- Neuberger T, Schopf B, Hofmann H, Hofmann M, Rechenberg B: Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system. *J Magn Magn Mat* 293 : 483-496, 2005.
- Oberdorster G, Oberdorsters E, Oberdorster J: Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 113 : 823-839, 2005.
- Paliwal S, Gopinathan KM, Mitragotri S: Low-Frequency Sonophoresis: ultrastructural basis for stratum corneum permeability assessed using quantum dots. *J Invest Dermatol* 126 : 1095-1101, 2006.
- Penn SG, He L, Natan MJ: Nanoparticles for bioanalysis. *Curr Opin Chem Biol* 7 : 609-615, 2003.
- Russell LD, Burguet S: Ultrastructure of leydig cells as revealed by secondary tissue treatment with a ferrocyanide: osmium mixture. *Tissue and cell* 9 : 99-112, 1978.
- Scheuplein RJ: Mechanisms of percutaneous absorption: Transient diffusion and the relative importance of various routes of skin penetration. *J Invest Dermatol* 48 : 79-88, 1967.

#### < 국문초록 >

나노입자의 가능성은 의생물학 분야의 연구자들에 의해 열띤 토론이 되어지고 있다. 우리는 일종의 추적자인 양자점 (quantum dots)을 이용하여 피부로 침투된 나노입자의 분포를 전자현미경으로 확인하는 과정에서 나타나는 문제점과 이를 해결하기 위한 방법을 제안해 보고자 하였다. 나노입자는 피부의 각질층과 모공을 통한 일부 피지세포 내부까지 침투되는 것을 확인하였다. 이 과정에서 오스뮴산이 세포 내 지방산과의 결합에 의해 나노입자 형태의 축적물이 생성되는 것을 확인할 수 있었고, 이것은 의도한 나노입자(양자점)의 분포를 확인하는데 간섭을 주는 요인이 되는 문제점을 발견하였다. 이를 해결하기 위해, 양자점과 오스뮴산을 달리 처리하는 방법을 통하여 각각의 사진에서 나타나는 나노입자의 진위 여부를 비교하므로 의도한 나노입자의 정확한 분포를 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 의생물 분야에서 생체 내 나노입자의 분포를 확인하기 위한 연구 시 오차를 감소시키고, 보다 정확한 분석을 제공할 수 있을 것으로 기대해 본다.