



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0138412
(43) 공개일자 2024년09월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01J 19/00 (2018.01)

(52) CPC특허분류
B01J 19/0046 (2013.01)

B01J 2219/00317 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0032123

(22) 출원일자 2023년03월10일

심사청구일자 2023년09월11일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

천홍구

서울특별시 송파구 올림픽로 435, 206동 2101호(신천동, 파크리오)

(74) 대리인

특허법인다나

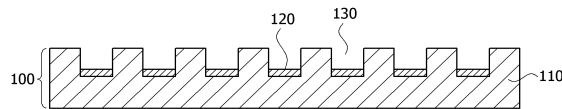
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 아토리터 방울 기반 전기화학 병렬 DNA 합성기 및 이를 이용한 DNA 합성 방법

(57) 요약

본 발명은 전기화학 DNA 합성을 위한 나노웰 어레이 및 이를 포함하는 DNA 합성 방법에 관한 것으로 나노웰 어레이를 사용하면 전기화학 기반 DNA 합성 과정에서 소모되는 시료를 줄일 수 있고, 수소 이온의 확산 또한 막아 합성 오류를 감소시킬 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

B01J 2219/00585 (2013.01)

B01J 2219/00653 (2013.01)

B01J 2219/00722 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

직경과 깊이가 각각 1 μm 미만인 복수개의 나노웰이 형성되어 있는 기판부; 및

상기 나노웰의 바닥과 수평 또는 수직으로 위치하고, 제1전극 및 제2전극을 포함하는 전극부;를 포함하는, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 DNA 합성용 나노웰 어레이는 제1전극과 제2전극 사이에 DNA 합성부를 추가로 포함하는, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 3

직경과 깊이가 각각 1 μm 미만인 복수개의 나노웰이 형성되어 있는 기판부; 및

상기 나노웰의 바닥과 수평 또는 수직으로 위치하고, 제1전극, 제2전극 및 기준전극을 포함하는 전극부;를 포함하는, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 DNA 합성용 나노웰 어레이는 제2전극과 기준전극 사이, 제2전극과 제1전극 사이 또는 제1전극과 기준전극 사이에 DNA 합성부를 추가로 포함하는, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노웰 어레이는 어레이의 상단에 위치하여 나노웰을 차단하는 커버부를 추가로 포함하는, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 커버부는 하단에 각 나노웰을 분리시키는 실링부를 추가로 포함하는, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 실링부는 테플론, 폴리디메틸실록산 PDMS(poly-dimethylsiloxane) 및 폴리에스테르로 이루어진 군에서 선택되는 재질인, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 8

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1전극 및 제2전극은 금 (Au), 알루미늄 (Al), 티타늄 (Ti), 구리 (Cu) 및 백금 (Pt)으로 이루어진 군에서 선택되는 물질로 이루어진 것인, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 전극부는 내부에 제1전극이 위치하고, 제1전극의 외부에 제2전극이 위치하는 동심원 형태인, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 10

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 전극부는 내부에 제1전극, 제1전극의 외부에 기준전극, 기준전극의 외부에 제2전극이 위치하는 동심원 형태인, DNA 합성용 나노웰 어레이.

청구항 11

DNA 합성이 일어나는 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 나노웰 어레이;

나노웰 어레이에 전원을 공급하는 전원부;

상기 나노웰 어레이에 환원물질을 포함하는 DNA 합성위치 선택용액을 공급하는 유체 공급부; 및

나노웰 어레이에 공급된 용액을 제거하는 펌프부;를 포함하는, 병렬 DNA 합성을 위한 DNA 합성기기.

청구항 12

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 나노웰 어레이를 이용한 DNA 합성 방법:

a) 나노웰 어레이에 환원물질을 포함하는 DNA 합성위치 선택용액을 공급하는 단계;

b-1) 나노웰 어레이의 전극부가 제1전극 및 제2전극을 포함하는 경우 제1전극에 제2전극 대비 제1전압과형을 인가하여 DNA 합성위치 선택용액에 수소이온을 생성하는 단계; 또는

b-2) 나노웰 어레이의 전극부가 제1전극, 제2전극 및 기준전극을 포함하는 경우 제1전극에 기준전극 대비 제1전압과형을 인가하여 DNA 합성위치 선택용액에 수소이온을 생성하는 단계; 및

c) 합성하고자 하는 뉴클레오타이드 용액을 공급하는 단계.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 a)의 DNA 합성위치 선택용액은 산화물질을 추가로 포함하는, DNA 합성 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 방법은 a) 단계 이후

상기 나노웰 어레이에 구획 용액을 공급하여 DNA 합성위치 선택용액을 나노웰에 국한시키는 단계;

상기 나노웰 어레이 상단을 커버부로 밀착시켜 DNA 합성위치 선택용액을 나노웰에 국한시키는 단계; 또는

상기 나노웰 어레이 상단을 실링부로 밀착시켜 DNA 합성위치 선택용액을 나노웰에 국한시키는 단계;를 추가로 포함하는, DNA 합성 방법.

청구항 15

제12항에 있어서, 상기 방법은 b-1) 또는 b-2) 단계 이후 DNA 합성위치 선택용액을 제거하는 단계를 추가로 포함하는, DNA 합성 방법.

청구항 16

제12항에 있어서, 상기 b-1) 또는 b-2) 단계는 DNA 합성위치 선택용액에 수소이온을 생성시키면서 제2전극에서는 환원물질을 환원시키되, 환원물질의 산화환원전압이 상기 DNA 합성위치 선택용액에 존재하는 분자들 중 어느 하나가 환원되어 수산화이온을 만드는 환원전압보다 높아 DNA 합성위치 선택용액에 수산화이온은 발생되지 않는 단계인, DNA 합성 방법.

청구항 17

제12항에 있어서, 상기 방법은

d-1) 상기 b-1) 단계 이후 나노웰 어레이의 제1전극에 제2전극 대비 제2전압과형을 인가하여 제1전극 또는 제2전극에서 수산화이온을 발생시키는 단계; 또는

d-2) 상기 b-2) 단계 이후 나노웰 어레이의 제1전극에 기준전극 대비 제2전압과형을 인가하여 제1전극 또는 제2전극에서 수산화이온을 발생시키는 단계;를 추가로 포함하는, DNA 합성 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 d-1) 또는 d-2) 단계는 제1전극 또는 제2전극에서 수산화이온을 발생시키면서 수산화이온이 발생하는 전극이 아닌 나머지 전극에서는 산화물질을 산화시키되, 산화물질의 산화전압이 상기 DNA 합성위치 선택용액에 존재하는 분자들 중 어느 하나가 산화되어 수소이온을 만드는 산화전압보다 높아 상기 b-1) 또는

b-2) 단계에서 제1전압과형이 인가되었을 때에는 산화물질이 산화되지 않는 단계인, DNA 합성 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 전기화학 DNA 합성을 위한 나노웰 어레이, 상기 나노웰 어레이를 포함하는 아토리터 방울 기반 전기 화학 병렬 DNA 합성기 및 이를 이용한 DNA 합성 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 이미지와 동영상을 주로 하는 개인 소셜 네트워크 서비스 (social network service, SNS) 매체의 증가로 데이터 생성량이 매우 빠르게 증가하고 있다. 향후 AR (augmented reality), VR (virtual reality), MR (mixed reality) 기기, 그리고 홀로그램 등 3D 미디어가 보편화되면 데이터 양은 더욱 급증할 것으로 예상된다. 구체적으로 2040년 전세계적으로 저장된 데이터 양은 10^{24} 비트에서 10^{29} 비트에 달할 것으로 예상된다 (비특허문헌 1).

[0004] 현재 컴퓨터, 스마트폰 등 주요 기기의 데이터 저장 매체는 플래쉬 메모리 (flash memory)로 플래쉬 메모리는 1 pg 당 1 비트 (bit) 정도의 데이터 밀도 (data density)를 갖는다. 상기 2040년에 필요한 데이터 양에 해당하는 플래쉬 메모리를 공급하기 위해서는 10^{14} kg의 실리콘 웨이퍼가 필요하나, 2040년의 실리콘 웨이퍼 공급량은 10^8 kg 정도로 예상되어 수요에 크게 못 미친다. 또한 기존의 데이터 저장 매체는 데이터 보존 기간이 10년 내 외라는 한계가 있다.

[0005] 이에 새로운 데이터 저장 매체를 개발하기 위한 시도가 계속해서 이루어지고 있으며 이중 하나가 DNA 저장 장치이다. DNA를 저장 매체로 이용하면 기존의 저장매체의 단점인 데이터 저장 밀도를 뛰어 넘을 수 있고, 물리적인 충격에도 안정적으로 정보를 저장할 수 있다. 또한, DNA는 1 kg의 합성으로 플래쉬 메모리 10^9 kg에 해당하는 2×10^{24} 비트를 저장할 수 있어 대용량 데이터 저장에 적합하며, 특히 저장된 데이터의 보관기간이 매우 긴 장점이 있다. 그러나 DNA 합성 시 발생하는 오류는 데이터의 저장 밀도 저하 및 정보 손실을 일으켜 DNA 저장 장치의 상용화에 걸림돌로 작용하고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 1. 대한민국 공개특허 제10-2020-0078554호

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) 1. Summary report, Technology Working Group Meeting on future DNA synthesis technologies (September 14, 2017, Arlington, VA)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 상기와 같은 상황에서 본 발명자들은 전기화학 방법으로 DNA를 합성할 때 DNA의 탈보호 과정에서 수소 이온의 확산에 의한 합성 오류를 개선하고, 합성 비용을 절감하기 위한 연구를 하였고, 나노웰 내부에 전극이 존재하는 나노웰 어레이로 상기 문제점을 개선할 수 있음을 확인하였다.

[0010] 따라서, 본 발명의 목적은 전기화학 DNA 합성을 위한 나노웰 어레이, 상기 나노웰 어레이를 포함하는 DNA 합성

기기 및 상기 나노웰 어레이를 이용한 DNA 합성 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 양상은 하기 구조를 포함하는 DNA 합성용 나노웰 어레이를 제공한다:
- [0013] 직경과 깊이가 각각 1 μm 미만인 복수개의 나노웰이 형성되어 있는 기판부; 및 상기 나노웰의 바닥과 수평 또는 수직으로 위치하고, 제1전극 및 제2전극을 포함하는 전극부.
- [0014] 본 발명의 다른 양상은 하기 구조를 포함하는 DNA 합성용 나노웰 어레이를 제공한다:
- [0015] 직경과 깊이가 각각 1 μm 미만인 복수개의 나노웰이 형성되어 있는 기판부; 및 상기 나노웰의 바닥과 수평 또는 수직으로 위치하고, 제1전극, 제2전극 및 기준전극을 포함하는 전극부.
- [0016] 또한, 본 발명은 하기 구성을 포함하는 병렬 DNA 합성을 위한 DNA 합성기기를 제공한다:
- [0017] 나노웰 어레이에 전원을 공급하는 전원부;
- [0018] 상기 나노웰 어레이에 환원물질을 포함하는 DNA 합성위치 선택용액을 공급하는 유체 공급부; 및
- [0019] 나노웰 어레이에 공급된 용액을 제거하는 펌프부.
- [0020] 본 발명은 상기 나노웰 어레이를 이용한, 하기 단계를 포함하는 DNA 합성 방법을 제공한다:
- [0021] a) 나노웰 어레이에 환원물질을 포함하는 DNA 합성위치 선택용액을 공급하는 단계;
- [0022] b-1) 나노웰 어레이의 전극부가 제1전극 및 제2전극을 포함하는 경우 제1전극에 제2전극 대비 제1전압과형을 인가하여 DNA 합성위치 선택용액에 수소이온을 생성하는 단계; 또는
- [0023] b-2) 나노웰 어레이의 전극부가 제1전극, 제2전극 및 기준전극을 포함하는 경우 제1전극에 기준전극 대비 제1전압과형을 인가하여 DNA 합성위치 선택용액에 수소이온을 생성하는 단계; 및
- [0024] d) 합성하고자 하는 뉴클레오티드 용액을 공급하는 단계.

발명의 효과

- [0026] 본 발명의 일 예에 따른 DNA 합성용 나노웰 어레이를 사용하면 전기화학 기반 DNA 합성 과정에서 소모되는 시료를 줄일 수 있고, 수소 이온의 확산 또한 막아 합성 오류를 감소시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1은 본 발명의 일 예에 따른 DNA 합성용 나노웰 어레이의 단면을 보여준다.
- 도 2는 본 발명의 일 예에 따른 커버부 및 실링부가 구비된 나노웰 어레이의 단면을 보여준다.
- 도 3은 나노웰 어레이에서 두 개의 전극을 포함하는 전극부의 구조를 나노웰 상단에서 관찰한 모습을 보여준다.
- 도 4는 나노웰 어레이에서 세 개의 전극을 포함하는 전극부의 구조를 나노웰 상단에서 관찰한 모습을 보여준다.
- 도 5는 나노웰 어레이를 사용하여 DNA를 합성하는 과정을 개략적으로 보여준다.
- 도 6은 나노웰 어레이의 커버부와 실링부 사이에 압력 전달 유체를 공급하여 나노웰을 차단하는 과정을 개략적으로 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 본 발명을 용이하게 실시할 수 있도록 바람직한 실시예를 상세히 설명한다. 다만, 본 발명의 바람직한 실시예를 상세하게 설명함에 있어, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단

되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략한다. 또한, 유사한 기능 및 작용을 하는 부분에 대해서는 도면 전체에 걸쳐 동일한 부호를 사용한다. 한편, 어떤 구성요소를 '포함'한다는 것은, 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있다는 것을 의미한다.

- [0031] 도 1은 본 발명의 일 예에 따른 DNA 합성용 나노웰 어레이의 단면을 보여준다. 상기 나노웰 어레이는 전기화학 기반 DNA 합성에 사용될 수 있다.
- [0032] 기존에 사용되던 전기화학 기반 DNA 합성용 어레이는 미세전극에서 DNA를 합성하는데 DMT 등의 보호기로 보호된 DNA 5' 말단을 선택적으로 탈보호시키기 위하여 해당 전극에 + 전압을 가하여 H^+ 이온을 국소적으로 발생시킨다. 그런데 H^+ 이온은 확산이 매우 빨라 단시간에 인접한 전극까지 도달하여 원하지 않는 위치의 DNA 까지 탈보호시켜 합성에 오류를 일으킬 수 있다. 본 발명은 이러한 문제를 개선하기 위해 고안되었다.
- [0033] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명의 나노웰 어레이 (100)는 직경과 깊이가 각각 $1\ \mu m$ 미만인 복수개의 나노웰 (130)이 형성되어 있는 기판부 (110); 및 상기 나노웰의 바닥과 수평 또는 수직으로 위치하는 전극부 (120)를 포함한다.
- [0034] 본 발명에서, 상기 기판부 (110)는 규소 (silicon), 질화 규소 (silicon nitride), 산화 규소 (silicon oxide), 유리 (glass) 및 석영 (quartz)으로 이루어진 군에서 선택되는 재료로 이루어질 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0035] 본 발명에서, 상기 나노웰 (130)은 기판부에 복수개가 형성되어 있으며 직경과 깊이가 각각 10 nm 이상 $1\ \mu m$ 미만일 수 있다. 상기 크기의 나노웰을 사용함으로써 나노웰의 부피를 1 아토리터 (atto-liter, 10^{-18} liter) 이하로 줄일 수 있으며, 결과적으로 나노웰 어레이에서 DNA 합성의 집적도를 크게 높이고 시료 소모를 낮출 수 있다.
- [0036] 상기 본 발명의 나노웰 어레이 (100)는 전극부(120)에 2개 또는 3개의 전극을 포함할 수 있다. 구체적으로 도 3에 도시된 바와 같이, 전극부 (120)는 제1전극 (121) 및 제2전극 (121)을 포함한다. 도 4에는 제1전극 (121), 제2전극 (121) 및 기준전극 (123)을 포함하는 전극부 (120)가 도시되어 있다.
- [0037] 상기 제1전극 (121) 및 제2전극 (121)은 금 (Au), 알루미늄 (Al), 티타늄 (Ti), 구리 (Cu) 및 백금 (Pt)으로 이루어진 군에서 선택되는 물질로 이루어질 수 있다.
- [0038] 상기 제1전극 (121) 및 제2전극 (121)은 나노웰의 바닥과 수평 또는 수직으로 위치하는데 나노웰의 바닥과 수평 일 경우 나노웰의 바닥에 접하여 위치할 수 있다. 나노웰의 바닥과 수직일 경우 나노웰의 측면에 접하여 위치하거나, 나노웰 내부의 공간에 수직으로 위치할 수 있다.
- [0039] 상기 제1전극 및 제2전극은 나노웰 내부의 용액에서 전기화학 반응을 유도하는 역할을 하며, 구체적으로는 산화 반응 및 환원반응을 유도할 수 있다. 구체적인 내용은 하기 DNA 합성 방법에서 서술한다.
- [0040] 상기 기준전극 (reference electrode) (123)은 전기화학 분야에서 통용되는 그대로의 의미이며, 구체적으로 용액 내에서 제1전극의 전압에 대한 기준점 역할을 한다.
- [0041] 기준전극 (123)은 제1전극 (121) 및 제2전극 (121)과는 다른 물질로 이루어지는 것이 바람직하며, 일 예로 Ag/AgCl 전극, 플래티넘 블랙 (Platinum black) 전극일 수 있다.
- [0042] 도 3 및 도 4는 전극부의 형태를 제시한다. 구체적으로 전극부는 내부에 제1전극이 위치하고, 제1전극의 외부에 제2전극이 위치하는 동심원 형태일 수 있다. 전극에 세 개일 때는 내부에 제1전극, 제1전극의 외부에 기준전극, 기준전극의 외부에 제2전극이 위치하는 동심원 형태일 수 있다.
- [0043] 한편, 도 3 및 도 4는 DNA 합성부 (140)의 위치를 제시한다. 도 3에 제시된 바와 같이 본 발명의 나노웰 어레이 (100)는 제1전극 (121)에서 DNA 합성이 일어나거나 또는 제1전극과 제2전극 사이에 DNA 합성부 (140)를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 도 4에 제시된 바와 같이 전극부 (120)가 세 개의 전극으로 구성될 때는 제1전극 (121)에서 DNA 합성이 일어나거나 또는 제2전극과 기준전극 사이, 제2전극과 제1전극 사이 또는 제1전극과 기준전극 사이에 DNA 합성부 (140)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0044] 상기 DNA 합성부 (140)는 전극 사이에 노출된 나노웰의 바닥면을 말하며, 규소 (silicon), 질화 규소 (silicon nitride), 산화 규소 (silicon oxide), 유리 (glass) 및 석영 (quartz)으로 이루어진 군에서 선택되는 재료로

이루어질 수 있으나 이에 제한되지 않는다.

- [0045] 본 발명의 나노웰 어레이 (100)는 도 2에 도시된 바와 같이 어레이의 상단에 위치하여 나노웰을 차단하는 커버부 (150) 및/또는 각 나노웰을 분리시키는 실링부 (160)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0046] 도 2에서 실링부 (160)는 커버부 (150)의 하단에 접하여 있으나, 도 6에 제시된 것처럼 유체가 흐를 수 있도록 커버부와 분리하여 존재할 수도 있다.
- [0047] 상기 커버부 (150)는 규소 (silicon), 질화 규소 (silicon nitride), 산화 규소 (silicon oxide), 유리 (glass) 및 석영 (quartz)으로 이루어진 군에서 선택되는 재료로 이루어질 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0048] 상기 실링부 (160)는 테플론, 폴리디메틸실록산 PDMS(poly-dimethylsiloxane) 및 폴리에스테르로 이루어진 군에서 선택되는 재료로 이루어질 수 있으며, 폴리에스테르 재료의 일 예로는 Mylar[®] 폴리에스테르 필름이 있다.
- [0049] 상기 커버부 (150)는 나노웰 어레이 (100)의 상단에 밀착하여 어레이에 공급된 용액을 나노웰 (130) 내부에 국한시키거나, DNA 합성 시에 한 나노웰에서 발생한 수소 이온이 다른 나노웰로 차단하는 것을 막는 역할을 한다.
- [0050] 실링부 (160) 또한 커버부 (150)와 유사한 기능을 수행한다. 추가적으로 실링부 (160)는 커버부 (150)보다 유연한 재료로 이루어져 있으므로 커버부와 실링부 사이에 유체를 공급하여 실링부를 팽창시킴으로써 각 나노웰에 용액을 극소부피의 방울로 구획시킬 수 있다. 구체적인 예는 도 6에 도시되어 있다.
- [0051] 도 5는 본 발명의 나노웰 어레이를 사용하여 DNA를 합성하는 방법을 개략적으로 보여준다. 상기 방법은 하기 과정을 포함한다:
- [0052] a) 나노웰 어레이에 환원물질을 포함하는 DNA 합성위치 선택용액을 공급하는 단계;
- [0053] b-1) 나노웰 어레이의 전극부가 제1전극 및 제2전극을 포함하는 경우 제1전극에 제2전극 대비 제1전압과형을 인가하여 DNA 합성위치 선택용액에 수소이온을 생성하는 단계; 또는
- [0054] b-2) 나노웰 어레이의 전극부가 제1전극, 제2전극 및 기준전극을 포함하는 경우 제1전극에 기준전극 대비 제1전압과형을 인가하여 DNA 합성위치 선택용액에 수소이온을 생성하는 단계; 및
- [0055] c) 합성하고자 하는 뉴클레오타이드 용액을 공급하는 단계.
- [0056] 상기 방법은 나노웰 어레이에 환원물질을 포함하는 DNA 합성위치 선택용액을 공급하는 단계로 시작한다. 상기 공급은 나노웰 어레이와 연결된 미세유체관을 통해 이루어질 수 있다.
- [0057] 본 발명에서, 용어 'DNA 합성위치 선택용액'이란 DNA 합성 과정에서 원하는 위치에서만 DNA를 합성하는데 필요한 환원물질이 용해되어 있는 용액을 지칭한다. 사용될 수 있는 환원물질에는 Co^{3+} , $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, Ce^{4+} 등이 있으나 이에 한정되지 않는다. 상기 환원물질은 제1전극에서 H^+ 를 만드는 동안 제2전극에서 OH^- 가 발생하기 전에 환원되는 물질이며, 나노웰 안의 H^+ 를 증가시켜 DNA 5' 말단의 보호기가 제거될 수 있게 한다.
- [0058] 본 발명에서, 상기 a)의 DNA 합성위치 선택용액은 산화물질을 추가로 포함할 수 있다. DNA의 5' 말단을 노출시키는 물질로 사용될 수 있는 산화물질에는 K, Ca 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 상기 산화물질은 전압 인가에 의해 수소 이온을 발생시키거나 및/또는 OH^- 가 발생하는 동안 H^+ 이 발생되지 않도록 산화되는 물질이다.
- [0059] 상기와 같은 환원물질 및 산화물질을 사용하는 것은 DNA 커플링 후 세척을 위해 커버부를 열게 되면 나노웰 내부에 있던 H^+ 가 인접 나노웰에 들어가 영향을 줄 수 있어 이를 방지하기 위함이다.
- [0060] 구체적으로 제2전압과형을 가하여 나노웰 내부에 OH^- 를 발생시킬 수 있으면 H^+ 와 만나 중화가 된다. DNA 합성위치 선택용액에 이미 포함되었던 환원물질이 다 소진된 경우라면, 제1전압과형을 일정시간 이상 유지하고 있어도 OH^- 가 발생할 것이지만, 여전히 H^+ 가 발생할 수 있다. 따라서 제2전압과형은 제1전압과형에 비하여 더 큰 전압인 것이 바람직하다. 이 때 OH^- 가 발생하더라도 H^+ 도 함께 발생한다면 무의미하므로, 산화물질이 더 포함된다면 더 높은 전압에서는 산화되기 시작해 H^+ 가 발생하더라도 그 비율이 떨어져서 결과적으로 OH^- 발생량이 더 많아 나노웰 내부를 중화시킬 수 있다.
- [0061] DNA 합성위치 선택용액에 환원물질만 포함되는 경우, 합성 중인 DNA 말단에 붙은 보호기 (protection group)는 전압 인가에 의해 직접 떨어져 나갈 수 있다.

- [0062] DNA 합성위치 선택용액에 산화물질과 환원물질이 포함되는 경우, 합성 중인 DNA 말단에 붙은 보호기 (protection group)는 전압 인가에 의해 직접 떨어져 나갈 수 있고, 생성된 수소 이온 (H^+)에 의해 보호기가 제거될 수도 있다.
- [0063] 상기 방법은 a) 단계 이후에
- [0064] 상기 나노웰 어레이에 구획 용액을 공급하여 DNA 합성위치 선택용액을 나노웰에 국한시키는 단계;
- [0065] 상기 나노웰 어레이 상단을 커버부로 밀착시켜 DNA 합성위치 선택용액을 나노웰에 국한시키는 단계; 또는
- [0066] 상기 나노웰 어레이 상단을 실링부로 밀착시켜 DNA 합성위치 선택용액을 나노웰에 국한시키는 단계;를 추가로 포함할 수 있다.
- [0067] 상기 방법은 d) 단계 이후 DNA 보호기를 포함하는 용액을 공급하는 단계 및 나노웰 어레이를 세척하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0068] 이 추가의 단계는 DNA 합성위치 선택용액을 각각의 나노웰에 국한시킴으로써 DNA 합성위치 선택용액에서 생성된 수소 이온이 다른 나노웰로 확산되는 것을 막는 단계이다. 본 단계는 상기 기재한 것처럼 나노웰 어레이의 상단을 커버부 또는 실링부로 밀착하거나, 커버부와 실링부 사이에 유체를 공급하여 실링부를 팽창시킴으로써 수행될 수 있다.
- [0069] 상기 구획 용액 (partitioning solution)은 나노웰의 내부 표면과는 접촉각이 90도 이상이고, 나노웰 내부를 제외한 기판 표면과는 접촉각이 90도 이하인 것이 바람직하다. 반대로 DNA 합성위치 선택용액은 나노웰의 내부 표면과 접촉각이 90도 이하인 것이 바람직하다.
- [0070] 구획 용액과 DNA 합성위치 선택용액의 접촉각이 달라 두 용액은 섞이지 않으므로 구획 용액이 DNA 합성위치 선택용액을 나노웰에 국한시킬 수 있다.
- [0071] 상기 DNA 합성위치 선택용액은 커플링이 끝난 DNA의 5' 말단에 결합할 수 있는 보호기 (DNA 합성위치 선택물질)을 추가로 포함할 수 있다. 이 보호기는 DNA 합성 효율에 영향을 주는 2가 양이온 또는 수소 이온과 결합할 수 있다. 또한, 상기 DNA 합성위치 선택용액은 제1전압과형에 의하여 2가 양이온을 발생시키는 분자를 추가로 포함할 수 있다. 상기 2가 양이온은 Co^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} 군에서 선택될 수 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0073] 한편, 상기 b-1) 또는 b-2) 단계는 DNA 합성위치 선택용액에 수소 이온을 생성시키면서 제2전극에서는 환원물질을 환원시키되, 환원물질의 산화환원전압이 상기 DNA 합성위치 선택용액에 존재하는 분자들 중 어느 하나가 환원되어 수산화이온을 만드는 환원전압보다 높아 DNA 합성위치 선택용액에 수산화이온은 발생되지 않는 단계일 수 있다.
- [0074] DNA 합성위치 선택용액에 수소 이온이 생성되면서 환원물질에서 수산화이온이 생성된다면 수소 이온이 중화되어 DNA 탈보호 작용이 이루어지지 않으므로 본 발명자들은 해당 단계를 수산화이온은 발생하지 않게 고안하였다.
- [0076] 본 발명의 DNA 합성 방법은 단계 b) 이후
- [0077] d-1) 상기 b-1) 단계 이후 나노웰 어레이의 제1전극에 제2전극 대비 제2전압과형을 인가하여 제1전극 또는 제2전극에서 수산화이온을 발생시키는 단계; 또는
- [0078] d-2) 상기 b-2) 단계 이후 나노웰 어레이의 제1전극에 기준전극 대비 제2전압과형을 인가하여 제1전극 또는 제2전극에서 수산화이온을 발생시키는 단계;를 추가로 포함할 수 있다.
- [0079] 상기 d-1), d-2)라는 기재는 각 단계를 구분하기 위한 표시일 뿐 각 단계의 순서를 지칭하는 것은 아니다.
- [0080] 본 d-1), d-2) 단계는 b-1), b-2) 단계에서 수소 이온을 발생시켜 원하는 위치에 DNA가 커플링될 수 있도록 한 후 수소 이온이 다른 나노웰로 확산하는 것을 막기 위해 수산화이온을 발생시키는 단계이다.
- [0081] 본 발명의 DNA 합성 방법은 d-1), d-2) 단계 이후 DNA 합성위치 선택용액을 제거하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 제거는 미세유체관을 통한 석션 등의 방법으로 이루어질 수 있으며, DNA 합성위치 선택용액을 완전히 제거하기 위해 나노웰 어레이를 세척하는 과정을 수행할 수도 있다.

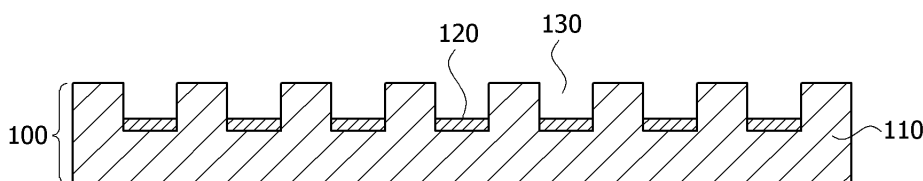
- [0082] 본 DNA 합성 방법에 대한 설명에서, 제1전압과형, 제2전압과형은 전극에 인가되는 전압의 순서를 지칭하며, 직류전압일 수도 있고, 두 개 이상의 전압 값 사이를 선형으로 또는 단계적(step)으로 오가는 것일 수 있다
- [0083] 한편, 상기에서는 전기화학 방법에 기반한 DNA 합성 방법을 설명하였으나, 본 발명의 나노웰 어레이는 DNA 중합 효소를 이용한 DNA 합성에도 이용될 수 있다. 이 경우, 상기 기재하였듯이 DNA 합성위치 선택용액에는 제1전압과형에 의하여 2가 양이온을 발생시키는 분자가 포함된다.
- [0085] 본 발명은 또한 하기를 포함하는 DNA 합성기기를 제공한다:
- [0086] 나노웰 어레이;
- [0087] 나노웰 어레이에 전원을 공급하는 전원부;
- [0088] 상기 나노웰 어레이에 환원물질을 포함하는 DNA 합성위치 선택용액을 공급하는 유체 공급부; 및
- [0089] 나노웰 어레이에 공급된 용액을 제거하는 펌프부.
- [0090] 나노웰 어레이 및 DNA 합성위치 선택용액은 상기 기재한 바와 동일한 의미이다.
- [0091] 본 발명에서, 상기 전원부는 active matrix CMOS (complementary metal-oxide-semiconductor) 회로로 구성될 수 있다.
- [0092] 상기 유체 공급부는 산화물질 및 환원물질을 포함하는 DNA 합성위치 선택용액을 공급할 수 있다.
- [0093] 상기 DNA 합성기기는 나노웰 어레이와 유체 공급부, 나노웰 어레이와 펌프부를 연결하는 유체관을 추가로 포함할 수 있다.

부호의 설명

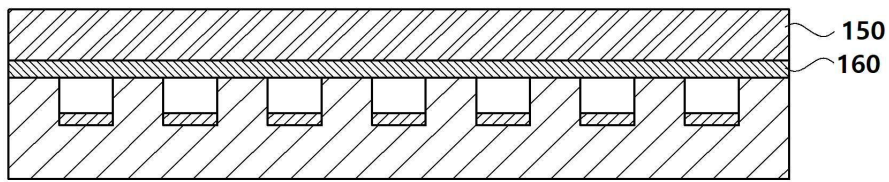
- [0095] 100: 나노웰 어레이;
- 110: 기판부;
- 120: 전극부;
- 121: 제1전극;
- 122: 제2전극;
- 123: 기준전극;
- 130: 나노웰;
- 140: DNA 합성부;
- 150: 커버부;
- 160: 실링부.

도면

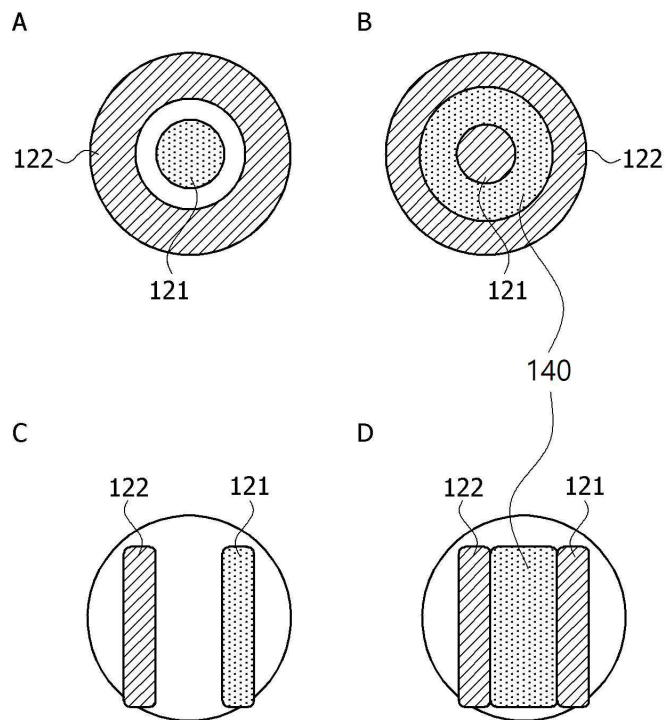
도면1



도면2

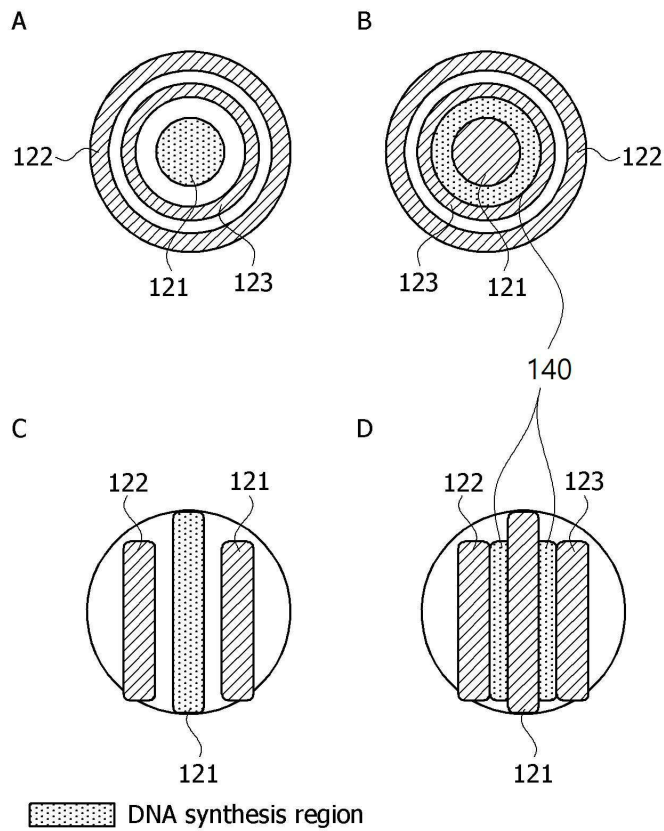


도면3

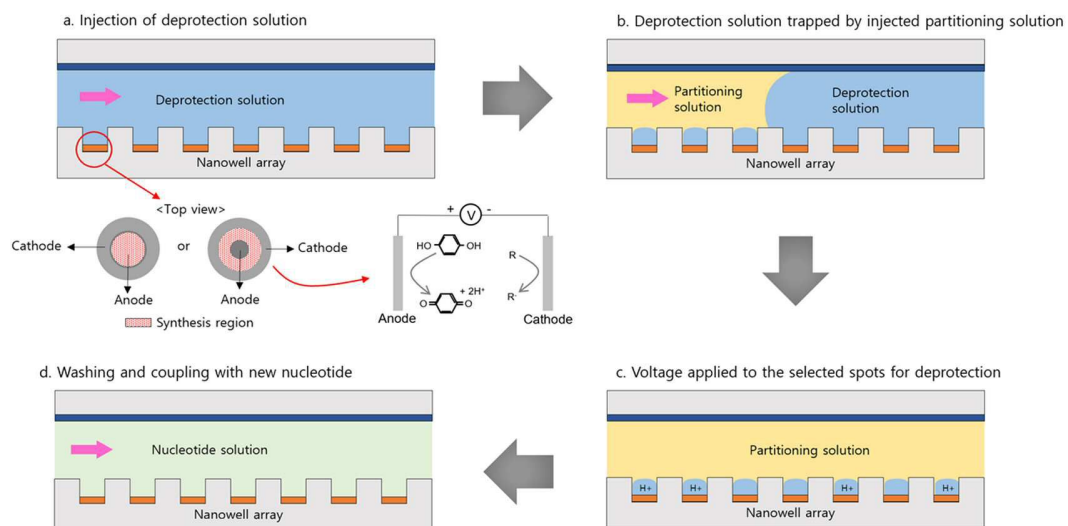


 DNA synthesis region

도면4



도면5



도면6

