

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2010년 7월 1일 (01.07.2010)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2010/074450 A2

- (51) 국제특허분류:
G01N 33/53 (2006.01) C12Q 1/00 (2006.01)
G01N 33/15 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2009/007531
- (22) 국제출원일: 2009년 12월 16일 (16.12.2009)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2008-0134719 2008년 12월 26일 (26.12.2008) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 한국기초과학지원연구원 (KOREA BASIC SCIENCE INSTITUTE) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 어은동 52번지, 305-333 Daejeon (KR).
- (72) 발명자; 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 김상구 (KIM, Sang-goo) [KR/KR]; 서울시 광진구 자양동 더샵스타시티 D-1702, 143-190 Seoul (KR). 정진우 (JUNG, Jin-Woo)

[KR/KR]; 서울시 강동구 길 2동 328-14 301호, 134-810 Seoul (KR). 박찬수 (PARK, Chan-Soo) [KR/KR]; 서울시 서초구 반포동 770 반포아파트 52-302, 137-040 Seoul (KR).

(74) 대리인: 이원희 (LEE, Won-Hee); 서울시 강남구 역삼동 642-16 성지하이츠 2차 8층, 135-080 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

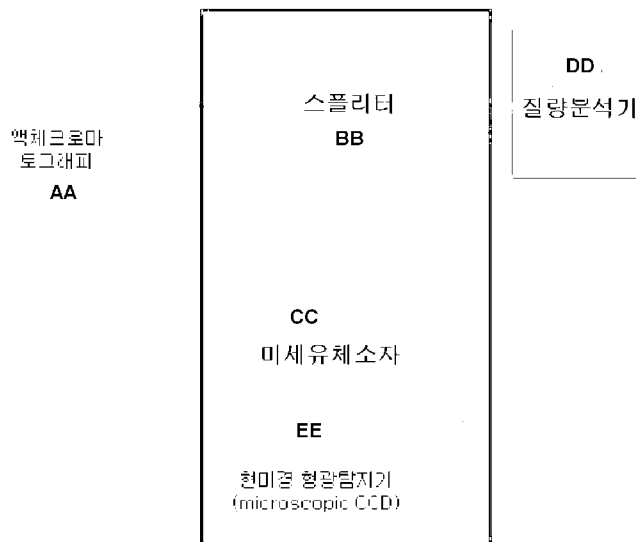
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: LC-MFR-MS-BASED METHOD AND APPARATUS FOR SCREENING A NEW DRUG CANDIDATE

(54) 발명의 명칭: L C-M F R-M S 기반 신약후보물질 스크리닝 방법 및 신약후보물질 스크리닝 장치

[Fig. 5]



(57) Abstract: The present invention relates to a method for screening a new drug candidate using a liquid chromatography/microfluidic device/mass spectrometry system, and to a liquid chromatography/microfluidic device/mass spectrometry system. The present invention involves the detection of an interaction between molecules on a real-time basis through adjustment of a micro-reaction between traces of natural material or synthesized new drug candidates and a target material (protein or cell, etc.), thus developing materials for new drug candidates at a lower cost and with high efficiency, while improving quality of life and reducing medical costs. The present invention can be valuably used in increasing new scientific technology through the convergence of nanotechnology, biotechnology, and analytical chemistry technology.

(57) 요약서: 본 발명은 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법 및 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템에 관한 것으로,

[다음 쪽 계속]

AA ... Liquid chromatography
BB ... Splitter
CC ... Microfluidic device
DD ... Mass spectrometry
EE ... Microscopic CCD

WO 2010/074450 A2



KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명에 따르면, 미량의 천연물 혹은 합성 신약후보물질과 타겟물질(단백질 또는 세포 등)과의 미세반응의 조절을 통하여 분자간의 상호작용을 실시간으로 검출할 수 있어, 저비용 및 고효율로 신약후보 물질을 개발할 수 있을 뿐만 아니라, 삶의 질 향상 및 의료비용 절감을 기대할 수 있고, 나노기술, 바이오 기술, 분석화학 기술의 융합을 통한 새로운 과학기술로 영역을 확대하는데 유용하게 사용할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: L C-M F R-MS 기반 신약후보물질 스크리닝 방법 및 신약후보물질 스크리닝 장치

기술분야

- [1] 본 발명은 LC-MFR-MS 기반 신약후보물질 스크리닝 방법 및 신약후보물질 스크리닝 장치에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 신약개발은 신약물질 스크리닝, 전임상, 임상 1, 2, 3상 및 상품화 등의 긴 과정으로 이루어져 있기 때문에 5년 이상의 개발 기간과 10억불 이상의 개발 및 임상비용을 필요로 하는 것으로 알려져 있다. 하지만 일단 약효와 안정성이 증명되면 블록버스터 신약으로 수조원의 가치가 보장된다(도 1 참조). 대부분의 신약후보물질은 전임상과 임상 실험과정 중에 안정성, 독성 등의 문제로 탈락되는 경우가 많기 때문에 신약개발의 비용과 시간을 절약하기 위해서는 상용화 가능성이 낮은 물질이나 독성을 내포하고 있는 약물을 초기에 탈락시켜야 한다.

[4]

- [5] 상기와 같은 문제를 해결하기 위하여, 일반적으로 신약후보물질의 스크리닝을 수행할 수 있다. 신약후보물질의 스크리닝 방법으로는 인비트로 에세이(*in-vitro* assay) 방법과 세포를 이용한 방법(*cell-based assay*)이 사용되는데 특정 유전자와 질병과의 상관성이 입증된 단백질에 작용하는 저분자 화합물을 발굴하는 것이 보편적인 방법이다. 이에, 새로운 신약개발에 필요한 신약후보물질을 최대한 많이 확보하기 위해서는 보다 빠르고 효율적인 스크리닝 기술이 요구된다.

[6]

- [7] 최근에는 신약개발연구의 영역이 합성 신약에서 천연물 신약으로 확대되고 있다. 식물이나 해양 미생물 등에서 얻을 수 있는 천연물 신약은 합성 의약품보다 장기간 복용했을 때 부작용이 없다는 장점이 있다.

- [8] 이에 천연물을 이용한 신약이 신약개발의 인프라가 부족한 우리나라에서 새로운 블루오션 사업으로 각광받기 시작하고 있다. 또한 합성 신약의 기본물질을 천연물 추출물에서 시작할 수도 있다. 신약물질의 약 25%가 독성 실험에서 실패하기 때문에 천연물을 이용하는 경우에 독성을 갖지 않을 확률이 합성 의약품보다 낮다. 상기와 같은 이유로 천연물 신약들의 상업화가 꾸준히 보고되고 있으며, 정부와 과학계도 천연물 신약개발 촉진법 등을 제정하여 신약발굴을 장려하고 있다. 천연물은 미량의 후보 물질이 다른 화합물과 혼합되어 있는 경우가 많기 때문에 반응물질만 분리 정제하는 방법을 스크리닝 방법에 포함시킬 수 있으면 개발 시간을 단축시킬 수 있다.

[9]

[10] 천연 추출물에서 신약후보물질을 찾아내기 위해서는 분리된 후보물질과 단백질 등의 발병관련 단백질과의 상호작용 여부를 확인해야 한다.

[11] 단백질과 같은 생체 물질과 분리된 후보 물질의 상호작용은 이들의 반응에 따른 발광공명전이(Bioluminescence Resonance Energy Transfer, 이하 "BRET"), 형광공명전이(Fluorescence Resonance Energy Transfer, 이하 "FRET"), 형광편광(Fluorescence Polarization, 이하 "FP") 등의 에너지 전이 원리를 응용하여 감식할 수 있다. 상기 방법은 세포나 단백질 변화를 비교적 신속하고 정확하게 관찰할 수 있기 때문에 이들과 반응할 수 있는 신약물질의 스크리닝에 이용된다.

[12]

[13] BRET는 반딧불에서 추출한 루시페린(luciferin)을 발광 공명체로 이용하여 분자들이 가까이 접근할 때, 즉, 공여체 분자와 수용체 물질간의 공명에너지가 전달될 때 분자간의 반응을 검출할 수 있다.

[14] FRET는 분자간의 상호작용에서 공명에너지가 전달될 때 형광에너지가 전달되어 수용체 분자에 전달된 에너지를 측정할 수 있으며 검출할 수 있다.

[15] FP는 단백질-리간드 결합, 단백질-핵산 상호작용, 단백질 분해 등의 분자의 움직임에 대한 물리적 정보를 얻을 수 있기 때문에 신약물질의 스크리닝에 이용이 가능하다.

[16] FP는 BRET 또는 FRET과 같이 물질이 서로 근접해 있을 때 광자에 의한 에너지의 전달이 아니라 공명에너지가 전달되어 형광의 변화가 생긴다. FP 분석의 장점은 FRET보다 형광물질 사용 의존도가 낮기 때문에 생체의 여러 환경에서 실험 가능하다는 점이다. 비등방성(Anisotropy) 즉, FP는 분자의 회전과 질량에 따라 달라지며, 단백질과 같은 거대분자는 회전 시에 높은 형광편광도를 보인다. 이러한 특성을 이용하여 분자간의 상호작용을 측정할 수 있게 된다. 즉, 리간드와 단백질 사이의 상호작용을 형광 혹은 형광편광도를 측정하여 물질이 단백질과 결합하여 변화를 유발시키는 것을 찾아낼 수 있다. 이러한 분석방법을 이용하여 신약후보물질을 선택적으로 구별할 수 있다.

[17]

[18] 이에, 본 발명자들은 신약후보물질을 포함하는 천연물 또는 합성신약 및 타겟 물질과의 미세반응을 조절하여 분자간의 상호작용을 형광의 증가로 감지할 수 있는 미세유체소자를 설계하고, 액체 크로마토그래피로부터 분리된 신약후보물질을 미세유체 소자와 질량분석기로 주입하여 상기 미세반응소자에서 미량의 물질만으로 갖고 다중으로 검출할 수 있을 뿐만 아니라, 실시간으로 분석 가능한 스크리닝 방법 및 이를 수행할 수 있는 장치를 개발하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [19] 본 발명의 목적은 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법을 제공하는데 있다.
- [20] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 미세유체소자를 제공하는데 있다.
- [21] 나아가, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 스크리닝 방법을 수행하기 위한 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 제공하는 데 있다.
- [22] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 신약후보물질의 혼합체를 액체 크로마토그래피로 분리하여 반응할 수 있도록 하는 라이브러리의 구성방법을 제공하는 데 있다.
- [23] 나아가, 본 발명의 또 다른 목적은 상기 신약후보물질과 타겟물질의 반응을 동정할 수 있는 방법을 제공하는 데 있다.
- [24] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 신약후보물질과 타겟물질의 반응을 동정할 수 있는 장치를 제공하는 데 있다.

[25]

과제 해결 수단

- [26] 상기 목적을 해결하기 위하여, 본 발명은 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법을 제공한다.
- [27] 또한, 본 발명은 상기 미세유체소자를 제공한다.
- [28] 나아가, 본 발명은 상기 스크리닝 방법을 수행하기 위한 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 제공한다.
- [29] 또한, 본 발명은 상기 신약후보물질의 혼합체를 액체 크로마토그래피로 분리하여 반응할 수 있도록 하는 라이브러리의 구성방법을 제공한다.
- [30] 나아가, 본 발명은 상기 신약후보물질과 타겟물질의 반응을 동정할 수 있는 방법을 제공한다.
- [31] 또한, 본 발명은 상기 신약후보물질과 타겟물질의 반응을 동정할 수 있는 장치를 제공한다.

[32]

발명의 효과

- [33] 본 발명에 따르면, 미량의 천연물 또는 합성신약물질과 타겟물질의 미세반응 조절을 통하여 분자간의 상호작용을 실시간으로 검출할 수 있으므로 저비용 및 고효율로 신약후보물질을 개발할 수 있을 뿐만 아니라, 삶의 질 향상 및 의료비용 절감 효과를 기대할 수 있고, 나노기술, 바이오 기술, 분석화학 기술의 융합을 통한 새로운 과학기술로 영역을 확대하는데 유용하게 사용할 수 있다.

[34]

도면의 간단한 설명

- [35] 도 1은 신약개발 과정 및 물질 가치에 관한 그래프이고;
- [36] 도 2는 본 발명에 따른 미세유체소자에 액체 크로마토그래피를 연결한

이미지이고;

- [37] 도 3은 본 발명에 따른 미세유체소자의 일 실시 형태이고(Y자형 연결);
- [38] 도 4는 본 발명에 따른 미세유체소자의 일 실시 형태이고(T자형 연결);
- [39] 도 5는 본 발명에 따른 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템의 개념도이고;
- [40] 도 6은 본 발명에 따른 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템의 실제 이미지이고((a)전체장치, (b)질량분석기에 장착된 나노 컬럼);
- [41] 도 7은 본 발명에 따른 미세유체소자의 일 실시 형태이고(Y자형 연결);
- [42] 도 8은 본 발명에 따른 스플리터가 집적된 미세유체소자를 포함하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템의 개념도이고;
- [43] 도 9는 본 발명에 따른 반응물질의 동정방법의 형광 이미지 및 스프레드시트이고((a)단계 3의 형광 이미지, (b)단계 4의 스프레드시트);
- [44] 도 10은 본 발명에 따른 미세유체소자 내에서 액적이 형성되는 모습을 촬영한 이미지이고(순서: $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$);
- [45] 도 11은 본 발명에 따른 미세유체소자 내에서 액적이 형성되는 모습을 촬영한 이미지이고((a)순서: $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$, (b)균일하게 형성된 액적);
- [46] 도 12는 본 발명에 따른 실험예 1에서 미세유체소자가 형광현미경에 장착된 이미지이고;
- [47] 도 13은 본 발명에 따른 실험예 1에서 스크리닝된 신약물질의 형광을 촬영한 현미경 이미지이고;
- [48] 도 14는 본 발명에 따른 실험예 2에서 스크리닝된 신약물질의 형광을 촬영한 현미경 이미지이고;
- [49] 도 15는 본 발명에 따른 실험예 2에서 스크리닝된 신약물질의 질량분석 데이터이고;
- [50] 도 16은 본 발명에 따른 실험예 3에서 스크리닝된 신약물질의 형광을 촬영한 현미경 이미지이다.

[51]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[52] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[53]

[54] 본 발명은 액체 크로마토그래피로 신약후보물질을 포함하는 천연물 또는 합성 신약후보물질을 분획시키는 단계(단계 1); 상기 단계 1에서 분획된 신약후보물질을 스플리터를 통해 질량분석기와 미세유체소자의 분획물 주입구에 동시에 주입시키는 단계(단계 2-1); 상기 단계 1에서 분획된 신약후보물질 채널과 연결되도록 설계된 타겟물질 채널의 주입구에 타겟물질을 주입하는 단계(단계 2-2); 상기 단계 2-1 및 단계 2-2에서 주입된 신약후보물질과 타겟물질을 상기 단계 2-1 및 단계 2-2의 채널이 연결되는 반응 채널 내에서

반응시키는 단계(단계 3); 상기 단계 3의 반응채널에 연결되는 오일 채널을 통해 오일을 주입하여 액적을 형성시키는 단계(단계 4); 및 상기 단계 4의 액적 중 형광 또는 발광이 감지된 액적을 질량분석기로 검출하는 단계(단계 5)를 포함하여 이루어지는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법을 제공한다.

[55]

[56] 이하, 본 발명을 단계별로 상세히 설명한다.

[57]

[58] 먼저, 본 발명에 따른 상기 단계 1은 액체 크로마토그래피로 신약후보물질을 포함하는 천연물 또는 합성신약물질을 분획시키는 단계이다.

[59] 상기 단계 1은 신약후보물질이 혼합되어 있는 천연물 또는 합성신약물질을 크로마토그래피를 이용하여 단일의 신약후보물질을 분리하는 단계로, 각각의 신약후보물질들은 컬럼 이동속도의 차이로 인한 배출되는 시간차를 두고 분리될 수 있다.

[60]

[61] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 2-1는 상기 단계 1에서 분획된 신약후보물질을 스플리터를 통해 질량분석기와 미세유체소자의 신약후보물질 주입구에 동시에 주입시키는 단계이다.

[62] 상기 단계 2-1에서 주입되는 신약후보물질이 미세유체소자에 주입되어 타겟물질과 반응을 일으키는 신약후보물질을 찾아냄과 동시에 상기 단계 1에서 분획된 신약후보물질의 배출시간에 질량분석기에 주입되어 분석된 물질을 확인하기 위해, 신약후보물질을 질량분석기와 미세유체소자의 신약후보물질 주입구에 동시에 주입시키는 것이 바람직하다.

[63]

[64] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 2-2는 상기 단계 2-1의 신약후보물질 채널과 연결되도록 설계된 타겟물질 채널의 주입구에 타겟물질을 주입하는 단계이다.

[65] 이때, 상기 단계 2-1의 신약후보물질 또는 상기 단계 2-2의 타겟물질의 주입유량은 1 내지 20 μl /시간인 것이 바람직하다. 상기 주입유량이 1 μl /시간 미만인 경우에는 상기 신약후보물질 또는 타겟물질이 미세채널을 흐르지 못하는 문제가 발생할 수 있고, 주입유량이 20 μl /시간을 초과하는 경우에는 신약후보물질 또는 타겟물질의 유속이 과속되어 두 물질의 반응이 충분히 일어나지 못하고, 이로 인해 발광 또는 형광이 충분히 발현되지 않아 검출되지 못하는 문제가 발생할 수 있다.

[66] 상기 단계 2-2의 타겟물질은 DNA, 단백질, 세포 또는 질병의 발병과 관련되는 물질인 것이 바람직하며, 상기 타겟물질은 신약후보물질과의 반응으로 형광 또는 발광을 유발 또는 증가시킬 수 있는 물질을 사용할 수 있다.

[67] 이때, 상기 타겟물질은 농도가 0.1 내지 10 mg/ml인 것이 바람직하다. 상기

농도가 0.1 mg/ml 미만인 경우에는 검출이 어려운 문제가 발생할 수 있다.

[68] 이때, 상기 단계 2-1과 2-2는 적절한 반응혼합물을 단계 3의 반응채널에 제공하기 위해 동시에 수행되는 것이 바람직하다.

[69]

[70] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 3은 상기 단계 2-1 및 2-2에서 주입된 신약후보물질과 타겟물질을 상기 신약후보물질 채널 및 타겟물질 채널이 연결된 반응 채널 내에서 반응시키는 단계이다.

[71] 상기 단계 3은 주입된 신약후보물질과 타겟물질이 혼합되어 발광공명전이, 형광공명전이, 형광편광 등의 에너지 전이가 충분히 일어날 수 있도록 반응을 시키는 단계로 좁은 미세유체소자가 차지하는 공간 내에서 충분한 이동거리를 확보하기 위해 채널이 U자 형태로 고안된 반응채널을 이용하여 수행될 수 있다.

[72] 이때, 상기 반응은 예를 들면, 항원-항체(예를 들면, 바이러스 항원-바이러스 항체, 병원성 미생물-병원성 미생물 항체 등), 바이오틴-아비딘(biotin-avidin), 면역글로블린 G-단백질 A(immunoglobulin G-protein A) 등을 포함하는 면역학적 반응, 호르몬-호르몬 수용체(hormone-hormonereceptor) 반응, DNA-DNA 수용체(DNA-DNA receptor) 반응, RNA-RNA 수용체(RNA-RNA receptor) 반응 또는 약물-약물 수용체(drug-drug receptor) 반응을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[73]

[74] 다음으로, 상기 단계 4는 본 발명에 따른 상기 단계 3의 반응채널에 연결되는 오일 채널을 통해 오일을 주입하여 액적을 형성시키는 단계이다.

[75] 상기 단계 4는 오일을 상기 단계 3에서 반응이 진행된 신약후보물질과 타겟물질의 혼합물이 흐르는 채널 내에 주입시켜 일정한 부피를 갖는 반응액적을 형성할 수 있다.

[76] 상기 오일은 5 내지 20 cSt의 점도를 갖는 것이 바람직하다. 이때, 오일의 점도가 5 cSt 미만인 경우에는 액적을 형성하지 못하는 문제가 발생할 수 있고, 100 cSt을 초과하는 경우에는 채널 내에서 오일이 흐르지 못하는 문제가 발생할 수 있다.

[77] 상기 오일은 실리콘 오일, 미네랄 오일, 헥사데케인 등을 사용하는 것이 바람직하다.

[78] 상기 오일은 추가적으로 계면활성제를 포함할 수 있다. 계면활성제를 사용함으로써 더욱 안정적인 액적을 형성할 수 있다.

[79] 이때, 상기 오일은 주입되는 혼합물의 주입압력의 2배 내지 10배의 압력으로 주입시킬 수 있다. 주입되는 오일의 압력은 액적을 형성하는데 있어서 중요한 변수로서, 오일의 주입압력을 증가시킴으로써 액적의 크기를 감소시킬 수 있다. 상기 오일의 주입압력이 혼합물의 주입압력의 2배 미만인 경우에는 액적이 형성되지 않는 문제가 발생할 수 있고, 10배를 초과하는 경우에는 혼합물이 채널로 주입되지 못하는 문제가 발생할 수 있다.

[80] 상기 단계 4의 액적은 길이가 0.01 내지 0.10 mm, 부피가 1 nℓ 내지 100 pℓ로 형성될 수 있다.

[81]

[82] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 5는 상기 단계 4에서 형성된 액적 중 형광 또는 발광이 감지된 액적을 질량분석기로 검출하는 단계이다. 상기 질량분석기를 사용하여 반응 형광 물질의 질량 대 전하비를 알 수 있고, 고분해능 질량분석기를 사용하여 화합물의 구조를 알 수 있으며, 다차원 질량분석기를 사용하여 신약후보물질의 구조를 밝힐 수 있다.

[83]

[84] 또한, 본 발명은 신약후보물질이 주입되는 신약후보물질 유입구와; 상기 주입된 신약후보물질이 이동하는 신약후보물질 채널과; 타겟물질이 주입되는 타겟물질 주입구와; 주입된 타겟물질이 이동하는 타겟물질 채널과; 상기 신약후보물질 채널과 상기 타겟물질 채널이 연결되어 신약후보물질과 타겟물질의 반응 및 이동이 수행되는 반응채널과; 상기 반응채널에 연결되며, 신약후보물질과 타겟물질의 흐름을 단절시켜 반응액적을 형성시키도록 오일이 주입되는 오일 주입구를 구비한 오일 채널; 및 상기 반응액적과 오일이 배출되는 배출구를 구비하는 것을 특징으로 하는 미세유체소자를 제공한다.

[85]

[86] 본 발명에 따른 미세유체소자의 이미지를 도 2에 나타내었다.

[87]

[88] 도 2에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 미세유체소자는 액체 크로마토그래피에서 분리된 신약후보물질이 유입구로 주입되어 신약후보물질 채널로 이동하고, 타겟물질이 유입구로 주입되어 타겟물질 채널로 이동하고, 각각의 채널이 반응채널에 연결되어 반응채널 내에서 신약후보물질과 타겟물질이 혼합되어 반응을 일으킨다. 신약후보물질과 타겟물질의 혼합물은 주입되는 오일에 의하여 반응액적을 형성할 수 있다. 상기 반응액적은 반응채널을 따라 이동하면서 발광 또는 형광을 나타내고 이를 검출기를 통해 감지할 수 있으며, 반응채널 말단에 연결되어 있는 배출구를 통하여 반응액적 및 오일이 배출될 수 있다.

[89]

[90] 이때, 상기 신약후보물질과 타겟물질이 혼합된 혼합물이 좁은 미세유체소자가 차지하는 공간 내에서 충분한 이동거리를 확보하기 위해 채널이 U자 형태로 고안된 반응채널을 이용하여 수행되는 것이 바람직하다(도 3 및 도 4 참조).

[91]

[92] 본 발명에 따른 상기 반응채널은 반응액적 형성이 용이하도록 하기 위해, 오일 채널과 T자형, Y자형, X자형 또는 +자형으로 연결한 구조를 갖는 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[93]

- [94] 또한, 본 발명에 따른 상기 오일 채널은 상기 반응채널과의 연결부위에서 오일 채널의 폭이 5 내지 20% 축소되도록 고안된 넥(neck)을 구비할 수 있다. 상기 넥은 반응채널과 연결되는 부분에서 오일 채널 폭을 축소시켜, 오일의 유속을 부분적으로 증가시켜 반응액적을 더욱 용이하게 형성할 수 있다.
- [95] 상기 채널은 폭이 1 내지 100 μm , 높이가 1 내지 100 μm 인 것이 바람직하다. 상기 폭이 10 μm 미만인 경우에는 채널 내 유체의 압력이 지나치게 커지는 문제가 발생할 수 있고, 100 μm 를 초과하는 경우에는 액적의 크기가 필요 이상으로 증가되는 문제가 발생할 수 있다.
- [96]
- [97] 본 발명에 따른 미세유체소자는 광투과성 소재로 이루어져서 신약후보물질과 타겟물질이 반응하여 발광 또는 형광을 발현하는 것을 검출할 수 있다. 상기 광투과성 소재로는 유리, 석영, 폴리다이메틸실록산(PDMS), 폴리메틸메타아크릴레이트, 폴리아크릴레이트, 폴리카보네이트 또는 폴리우레탄 등 광투과성이 있는 소재이면 제한없이 사용될 수 있다.
- [98] 상기 미세유체소자는 화학적, 물리적인 방법을 통해 표면개질 및 세척을 통하여 유리를 기판으로 사용하고, 채널소재를 고분자로 사용할때 이의 결합이 더 단단할 수 있으며, 채널 내 흐르는 유체들이 용이하게 흐를 수 있도록 한다.
- [99]
- [100] 나아가, 본 발명은 천연물 또는 합성신약물질로부터 신약후보물질을 분리하는 액체 크로마토그래피와; 상기 액체 크로마토그래피와 연결되고, 미세유체소자와 질량분석기로 분리시키는 스플리터와; 상기 스플리터로부터 분리된 신약후보물질, 타겟물질이 반응을 일으키는 미세유체소자와; 상기 미세유체소자 내 발광 또는 형광 반응을 감지하는 검출기; 및 상기 스플리터로부터 분리된, 신약후보물질을 분석하는 질량분석기를 구비하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 제공한다.
- [101]
- [102] 본 발명에 따른 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템의 개념도를 도 5에 나타내었으며, 본 발명에 따른 실제 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 구성하여 도 6에 나타내었다.
- [103]
- [104] 도 5에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따른 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템에서 상기 스플리터는 액체 크로마토그래피로부터 분리되는 신약후보물질을 미세유체소자 및 질량분석기에 분리하여 주입시킬 수 있다. 상기와 같이 구성된 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템은 액체 크로마토그래피로부터 분리된 분획물을 미세유체소자와 질량분석기에 동시에 주입시켜, 미세유체소자 내의 발광 또는 형광 반응을 현미경 형광 탐지기 등으로

검출하고, 이와 동시에 질량분석기에서 분석되는 물질을 알아내어 신약물질을 실시간으로 스크리닝 할 수 있다.

[105] 상기 질량분석기는 주입구에 나노 컬럼을 더 구비할 수 있다. 상기 나노 컬럼은 스플리터를 통해 질량분석기에 주입되는 유량을 감소시켜 미세유체소자에 주입되는 유량과 동일하게 유지시킬 수 있다. 따라서, 액체 크로마토그래피의 분획물의 배출시간과 질량분석기에서 분석되는 시간과 미세유체소자 내에서 반응 후, 검출하는 시간을 동일하게 유지시켜주는 역할을 한다.

[106] 이때, 상기 나노 컬럼은 스플리터에서 공급되는 유량을 1/350 내지 1/250으로 감소시키는 것이 바람직하며, 상기 범위를 벗어나면 질량분석시간과 검출시간의 차이가 발생하여 정확한 물질을 검출해내기 어려운 문제가 발생할 수 있다.

[107]

[108] 또한, 본 발명은 나노 액체 크로마토그래피로 신약후보물질을 포함하는 천연물 또는 합성신약물질을 분획시켜 미세유체소자로 주입하는 단계(단계 A); 상기 단계 A에서 미세유체소자로 주입된 신약후보물질을 미세유체소자 내에서 스플리팅하여 신약후보물질 채널로 주입하는 단계(단계 B-1); 상기 단계 B-1에서 스플리팅된 신약후보물질 채널과 연결되도록 설계된 타겟물질 채널의 주입구에 타겟물질을 주입하는 단계(단계 B-2); 상기 단계 B-1에서 스플리팅된 신약후보물질이 질량분석기로 주입되는 단계 (단계 B-3); 상기 단계 B-1 및 단계 B-2에서 주입된 신약후보물질과 타겟물질을 상기 단계 B-1 및 단계 B-2의 채널이 연결된 반응채널 내에서 반응시키는 단계(단계 C); 상기 단계 C의 반응채널에 연결되는 오일 채널을 통해 오일을 주입하여 액적을 형성시키는 단계(단계 D); 및 상기 단계 D에서 형성된 액적 중 형광 또는 발광이 감지된 액적을 질량분석기로 검출하는 단계(단계 E)를 포함하여 이루어지는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법을 제공한다.

[109]

[110] 이하, 본 발명을 단계별로 상세히 설명한다.

[111]

[112] 본 발명에 따른 상기 단계 A는 나노 액체 크로마토그래피로 신약후보물질을 포함하는 천연물 또는 합성신약물질을 분획시켜 미세유체소자로 주입하는 단계이다.

[113] 상기 단계 A는 신약후보물질이 혼합되어 있는 천연물 또는 합성신약물질을 크로마토그래피를 이용하여 단일 신약후보물질로 분리하고 이를 미세유체소자로 도입하는 단계로서 각각의 신약후보물질들은 컬럼 이동속도 차이로 인해 배출되는 시간차를 두고 분리될 수 있다. 상기 크로마토그래피로는 액체 크로마토그래피를 사용하는 것이 바람직하며, 나노 액체 크로마토그래피를 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 상기 크로마토그래피를

이용하여 분획된 신약후보물질은 미세유체소자로 바로 주입될 수 있다.

[114]

[115] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 B-1은 상기 단계 A에서 미세유체소자로 주입된 신약후보물질을 미세유체소자 내에서 스플리팅하여 신약후보물질 채널로 주입하는 단계이다.

[116] 상기 미세유체소자로 주입된 신약후보물질은 미세유체소자 내의 스플리터를 이용하여 미세유체소자 내의 신약후보물질 채널로 주입될 수 있다.

[117]

[118] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 B-2는 상기 단계 B-1에서 스플리팅된 신약후보물질 채널과 연결되도록 설계된 타겟물질 채널의 주입구에 타겟물질을 주입하는 단계로서, 상기 단계 2-2와 동일한 방법으로 수행될 수 있다.

[119]

[120] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 B-3은 상기 단계 B-1에서 스플리팅된 신약후보물질이 질량분석기로 주입되는 단계로서 상기 단계 B-1 및 B-2와 동시에 수행되는 것이 바람직하다. 상기 단계 B-1, B-2 및 B-3은 적절한 반응혼합물을 단계 C의 반응채널에 제공하기 위해 동시에 수행되는 것이 바람직하다.

[121]

[122] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 C는 상기 단계 B-1 및 단계 B-2에서 주입된 신약후보물질과 타겟물질을 상기 단계 B-1 및 단계 B-2의 채널이 연결된 반응채널 내에서 반응시키는 단계로서, 상기 단계 3과 동일한 방법으로 수행될 수 있다.

[123]

[124] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 D는 상기 단계 C의 반응채널에 연결되는 오일 채널을 통해 오일을 주입하여 액적을 형성시키는 단계로서, 상기 단계 4와 동일한 방법으로 수행될 수 있다.

[125]

[126] 다음으로, 본 발명에 따른 상기 단계 E는 상기 단계 D에서 형성된 액적 중 형광 또는 발광이 감지된 액적을 질량분석기로 검출하는 단계로서, 상기 단계 5와 동일한 방법으로 수행될 수 있다.

[127]

[128] 나아가, 본 발명은 나노 액체 크로마토그래피로부터 신약후보물질이 주입되는 신약후보물질 유입구와; 상기 주입된 신약후보물질을 질량분석기와 신약후보물질과 채널로 분리하는 스플리터와; 상기 주입된 신약후보물질이 이동하는 신약후보물질 채널과; 타겟물질이 주입되는 타겟물질 주입구와; 상기 주입된 타겟물질이 이동하는 타겟물질 채널과; 상기 신약후보물질 채널과 상기 타겟물질 채널이 연결되어 신약후보물질과 타겟물질의 반응 및 이동이 수행되는 반응채널과; 상기 반응채널에 연결되되, 신약후보물질과 타겟물질의

흐름을 단절시켜 반응액적을 형성시키도록 오일이 주입되는 오일 주입구를 구비한 오일 채널; 및 상기 반응액적과 오일이 배출되는 배출구를 구비하는 것을 특징으로 하는 미세유체소자를 제공한다.

[129]

[130] 본 발명에 따른 미세유체소자는 나노 액체 크로마토그래피로부터 분리된 신약후보물질이 유입구로 주입되고, 상기 주입된 신약후보물질을 스플리터를 사용하여 질량분석기와 미세유체소자 내의 신약후보물질 채널로 분리하여 주입하고, 이때, 신약후보물질은 신약후보물질 채널로 이동하고, 타겟물질이 유입구로 주입되어 타겟물질 채널로 이동하고, 각각의 채널이 연결되어 신약후보물질과 타겟물질의 반응채널 내에서 혼합되어 반응을 일으킨다. 신약후보물질과 타겟물질의 혼합물은 주입되는 오일에 의하여 반응액적을 형성할 수 있다. 상기 반응액적은 반응채널을 따라 이동하면서 발광 또는 형광을 나타내고 이를 검출기를 통해 감지할 수 있으며, 반응채널 말단에 연결되어 있는 배출구를 통하여 반응액적 및 오일이 배출될 수 있다.

[131] 이때, 상기 신약후보물질과 타겟물질이 혼합된 혼합물이 좁은 미세유체소자가 차지하는 공간 내에서 충분한 이동거리를 확보하기 위해 채널이 U자 형태로 고안된 반응채널을 이용하여 수행되는 것이 바람직하다(도 7 참조).

[132]

[133] 본 발명에 따른 상기 반응채널은 반응액적형성이 용이하도록 하기 위해, 오일 채널과 T자형, Y자형, X자형 또는 +자형, 또는 이들 중 2 이상의 조합형으로 연결되는 구조를 갖는 것이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.

[134]

[135] 또한, 본 발명은 천연물 또는 합성신약물질로부터 신약후보물질을 분리하는 나노 액체 크로마토그래피와; 상기 나노 액체 크로마토그래피와 연결되는 미세유체소자와; 상기 미세유체소자 내에서 질량분석기와 신약후보물질 채널로 분리시키는 스플리터와; 상기 미세유체소자 내 발광 또는 형광 반응을 감지하는 검출기; 및 상기 스플리터로부터 분리된 신약후보물질을 분석하는 질량분석기를 구비하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 제공한다.

[136]

[137] 본 발명에 따른 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템의 개념도를 도 8에 나타내었다.

[138]

[139] 도 8에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템은 나노 액체 크로마토그래피에서 분리된 분획물을 미세유체소자에 주입하고, 미세유체소자 내에서 스플리터를 이용하여 질량분석기 및 미세유체소자 내의 신약후보물질 채널로 분리하여 주입할 수 있다. 상기와 같이 구성된 액체

크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템은 미세유체소자 내에 발광 또는 형광 반응을 현미경 형광 탐지기 등으로 검출하고, 이와 동시에 질량분석기에서 분석되는 물질을 알아내어 신약물질을 실시간으로 스크리닝 할 수 있다.

[140]

[141] 상기 질량분석기는 주입구에 나노 컬럼을 더 구비할 수 있다. 상기 나노 컬럼은 스플리터를 통해 질량분석기에 주입되는 유량을 감소시켜 미세유체소자에 주입되는 유량과 동일하게 유지시킬 수 있다. 따라서, 나노 액체 크로마토그래피의 분획물의 배출시간과 질량분석기에서 분석되는 시간과 미세유체소자 내에서 반응 후, 검출하는 시간을 동일하게 유지시켜주는 역할을 한다.

[142] 이때, 상기 나노 컬럼은 스플리터에서 공급되는 유량을 1/350 내지 1/250으로 감소시키는 것이 바람직하며, 상기 범위를 벗어나면 질량분석시간과 검출시간의 차이가 발생하여 정확한 물질을 검출해내기 어려운 문제가 발생할 수 있다.

[143]

[144] 상기 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템은 미세유체소자 내에 스플리터를 집적하여 별도의 스플리터를 구비하지 않는 것을 특징으로 한다.

[145]

[146] 나아가, 본 발명은 미세유체소자 내에서 나노유체를 분리하여 질량분석기와 미세유체소자 내의 신약후보물질 채널에 분리하여 주입할 수 있는 스플리터 장치를 제공한다.

[147]

[148] 또한, 본 발명은 순수 화합물을 혼합하여 혼합물 용액을 제조하는 단계(단계 1); 및 상기 단계 1에서 얻은 혼합물 용액 내에 포함된 화합물의 구조 및 정보를 명기하는 단계(단계 2)를 포함하여 이루어지는 미세유체소자와 발광현상을 이용하여 신약후보물질을 발굴할 때 신약후보물질의 혼합체를 액체 크로마토그래피로 분리하여 반응할 수 있도록 하는 라이브러리의 구성 방법을 제공한다.

[149]

[150] 이하, 상기 구성방법을 단계별로 설명한다.

[151]

[152] 본 발명에 따른 상기 단계 1은 순수 화합물을 혼합하여 혼합물 용액을 제조하는 단계이다.

[153]

상기 화합물은 타겟 물질과 반응할 수 있는 화합물로서, 합성화합물 또는 천연물인 것이 바람직하다. 상기 화합물이 천연물인 경우에는 천연물 추출액을 라이브러리에 이용한다. 상기 화합물은 타겟 물질과 반응할 경우의 수를 줄이기

위하여 100 내지 300개의 화합물을 혼합하여 혼합물 용액을 제조하는 것이 바람직하다. 또한, 상기 화합물은 기존에 구조가 알려진 화합물을 사용하는 것이 바람직하다.

[154]

[155] 다음으로, 상기 단계 2는 상기 단계 1에서 얻은 혼합물 용액 내에 포함된 화합물의 구조 및 정보를 명기하는 단계이다.

[156] 상기 단계 1 및 2를 반복하여 수행함으로써 본 발명에 따른 라이브러리를 구성할 수 있다. 상기 라이브러리는 액체 크로마토그래피를 수행하여 다시 분획한 후, 타겟물질과 반응시키고, 질량분석기를 사용함으로써 타겟물질과 반응한 화합물을 검출할 수 있다.

[157]

[158] 나아가, 본 발명은 현미경을 이용하여 형광을 필터링하고 이를 CCD 카메라로 동영상 이미지를 캡처하는 단계(단계 1); 상기 단계 1에서 얻은 동영상 이미지 중 형광이 진행된 부분의 동영상 이미지를 단층의 이미지로 스테킹하는 단계(단계 2); 미세유체소자의 유로 내에 제한된 영역을 설정하고 설정된 영역 내의 픽셀의 광량 변화를 이미지별로 측정하는 단계(단계 3); 및 상기 단계 3에서 얻은 광량의 양을 스프레드시트로 익스포트하여 형광이 나오는 시간을 감지하는 단계(단계 4)를 포함하여 이루어지는 미세유체소자 내의 타겟물질과 신약후보물질이 반응시 이를 광학적으로 녹화하고 액적의 이동을 추적하여 액적 내의 형광의 휘도 변화를 자동으로 감지하고 반응시간의 추적을 통한 반응물질의 동정방법을 제공한다.

[159] 이때, 상기 단계 4의 형광이 나오는 시간을 질량분석기의 시간과 일치시킴으로써 형광이 발생한 반응물질을 질량분석기로 검출할 수 있다. 본 발명에 따른 동정방법의 단계 3의 형광 이미지 및 단계 4의 스프레드시트를 도 9에 나타내었다. 보다 상세하게는, 도 9의 (a)에서 형광이 진행된 부분의 형광 이미지 중에서 영역 1 내지 3을 설정하여 픽셀의 광량 변화를 측정하였고, 도 9의 (b)에서 상기 영역 1 내지 3의 광량의 양의 변화를 시간별로 나타내어 형광이 나오는 시간을 검출하였다. 도 9의 (b)에 나타난 바와 같이, 영역 1의 경우에는 약 6.62초에서 형광이 발생하고, 영역 2의 경우에는 약 6.53초에서 형광이 발생하며, 영역 3의 경우에는 약 6.40초에서 형광이 발생하는 것을 알 수 있다. 이를 통해, 질량분석기에서 약 6.62초에 검출되는 물질이 영역 1의 반응물질이고, 약 6.53초에 검출되는 물질이 영역 2의 반응물질이며, 약 6.40초에 검출되는 물질이 영역 3의 반응물질임을 알 수 있다.

[160]

[161] 또한, 본 발명은 형광을 필터링하는 현미경 형광 탐지기와; 형광을 동영상 이미지로 캡처하는 CCD 카메라와; 동영상 이미지를 단층의 이미지로 스테킹하는 이미지 프로그램; 및 픽셀의 광량변화를 측정하는 프로그램을 구비하는 미세유체소자 내의 타겟물질과 신약후보물질이 반응시 이를

광학적으로 녹화하고 액적의 이동을 추적하여 액적내의 형광의 휘도 변화를 자동으로 감지하고 반응시간의 추적을 통한 반응물질의 동정장치를 제공한다.

[162]

발명의 실시를 위한 형태

[163] 이하, 본 발명을 실시예 및 도면을 참조하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기의 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[164]

[165] <실시예 1> 미세유체소자의 제작 1

[166] 하기와 같은 음광식각 기술(Negative photolithography) 방식을 이용하여 미세유체 소자를 제작하였다.

[167] 실리콘 웨이퍼에 스핀코터를 이용하여 진공에서 포토리지스트를 고루 펴준 후, 포토마스크 이미지를 이용하여 빛에 의해 활성화시켰다. 채널 이외의 것은 제거하여 마스터를 제작하였다. 이때, 혼합물 주입채널과 오일 주입채널의 연결이 Y자형이 되도록 채널패턴을 형성하였다.

[168] 제작된 마스터 위에 TMCS(trimethylchlorosilane)를 증착하여 실리콘 웨이퍼 표면과 PDMS와의 결합을 방지하였고, 그 위에 PDMS(Polydimethylsiloxane, Sylgard 184)를 하기와 같은 반응을 위하여 올리고머(Oligomer)와 가교제(cross-linker)를 4:1의 비율로 섞은 후 마스터 위에 부었다. 이를 75 °C 오븐에서 30분 동안 경화시킨 후 채널이 있는 부분을 떼어 낸 다음 용액을 채널 내에 삽입하기 위한 연결 구멍을 뚫어 만들었다.

[169] 유리기관 위에 PDMS 올리고머와 경화제를 20:1로 섞은 용액을 스핀코팅하여 제작하였다. 30분 동안 오븐에서 경화시킨 후 이전에 만들어진 채널이 있는 PDMS와 아래기관을 접합한 후 다시 오븐에 30분 동안 경화시킴으로써 PDMS 미세유체 반응소자를 제조하였다. 제작된 칩에 용액을 넣기 위한 연결선을 도 2와 같이 연결하였다. 상기와 같이 제작된 미세유체소자를 도 10에 나타내었다.

[170] 상기와 같이 제조된 미세유체소자에 실리콘 오일(점도:10 cSt, KF-96, ShinEtsu)을 10 μ l/시간의 유량으로, 파란색 안료를 포함하는 수용액을 15 μ l/시간의 유량으로 주입하여 오일과 혼합물의 압력을 평형 값에 도달시킨 후 도 10과 같이 균일한 액적이 연속적으로 계속하여 생기는 것을 확인하였다.

[171]

[172] <실시예 2> 미세유체소자의 제작 2

[173] 상기 실시예 1에서 혼합물 주입채널과 오일 주입채널의 연결이 T자형이 되도록 채널패턴을 형성하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 미세유체소자를 제작하였다. 상기와 같이 제작된 미세유체소자를 도 11에 나타내었다.

[174] 상기와 같이 제조된 미세유체소자에 파란색 안료를 포함하는 수용액을 1 psig,

10 μl /시간의 유량으로 주입하고, 점도가 실리콘 오일의 약 두배인 미네랄 오일(21 cSt)을 15 μl /시간의 유량으로 주입하여 액적을 형성하였고 이를 도 12에 나타내었다. 도 11의 (a)에 나타난 바와 같이, 액적이 형성되는 것을 확인하였다. 또한, 도 11의 (b)에 나타난 바와 같이, 크기가 균일한 액적이 형성되는 것을 확인하였다.

[175]

[176] <실시예 3> 미세유체소자의 제작 3

[177] 상기 실시예 1에서 제조된 채널이 패터닝된 PDMS와 유리기판을 직접 접합하기 위해 PDMS 표면을 O_2 플라즈마로 20초 동안 처리한 다음 유리기판과 접합한 후 12시간 동안 오븐에서 결합시켰다. 이때, 유리기판은 황산과 과산화수소 혼합물 또는 플라즈마 처리를 하여 표면에 유기물을 제거하여 더욱 단단하게 결합된 미세유체소자를 제작하였다.

[178]

[179] <실시예 4> 미세유체소자의 제작 4

[180] 상기 실시예 1 또는 실시예 2에서, 오일에 계면활성제 SPAN 80을 혼합하여 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1 또는 실시예 2와 동일한 방법으로 미세유체소자를 제작하였다.

[181]

[182] <실시예 5> 스플리터가 집적된 미세유체소자의 제작 1

[183] 하기와 같은 음광식각 기술(Negative photolithography) 방식을 이용하여 미세유체 소자를 제작하였다.

[184] 실리콘 웨이퍼에 스피너를 이용하여 진공에서 포토리지스트를 고루 펴준 후, 포토마스크 이미지를 이용하여 빛에 의해 활성화시켰다. 채널 이외의 것은 제거하여 마스터를 제작하였다. 이때, 혼합물 주입채널과 오일 주입채널의 연결이 Y자형이 되도록 채널패턴을 형성하였다. 또한, 미세유체소자 내부에 나노액체크로마토그래피로부터 주입되는 나노유체를 분리하여 질량분석기와 미세유체소자 내의 혼합물 주입채널로 주입할 수 있는 Y자 형의 채널패턴을 형성하여, 미세유체소자 내부에 Y자형 스플리터를 집적할 수 있도록 하였다. 상기 실시예 1 내지 3의 미세유체소자는 액체크로마토그래피로부터 미세유체소자 내로 주입되는 유량을 밸브로 조절하였으나, 상기 실시예 4는 미세유체소자 내에 스플리터를 집적함으로써 나노 액체크로마토그래피로부터 주입되는 나노유체를 밸브를 사용하지 않고 직접 분리하여 공급할 수 있다.

[185] 제작된 마스터 위에 TMCS(trimethylchlorosilane)를 증착하여 실리콘 웨이퍼 표면과 PDMS와의 결합을 방지하였고, 그 위에 PDMS(Polydimethylsiloxane, Sylgard 184)를 하기와 같은 반응을 위하여 올리고머(Oligomer)와 가교제(cross-linker)를 4:1의 비율로 섞은 후 마스터 위에 부었다. 이를 75 °C 오븐에서 30분 동안 경화시킨 후 채널이 있는 부분을 떼어 낸 다음 용액을 채널 내에 삽입하기 위한 연결 구멍을 뚫어 만들었다.

[186] 유리기판 위에 PDMS 올리고머와 경화제를 20:1로 섞은 용액을 스핀코팅하여 제작하였다. 30분 동안 오븐에서 경화시킨 후 이전에 만들어진 채널이 있는 PDMS와 아래기판을 접합한 후 다시 오븐에 30분 동안 경화시킴으로써 PDMS 미세유체 반응소자를 제조하였다.

[187]

[188] <실시예 6> 스플리터가 집적된 미세유체소자의 제작 2

[189] 상기 실시예 5에서 혼합물 주입채널과 오일 주입채널의 연결이 T자형이 되도록 채널패턴을 형성하는 것을 제외하고는, 상기 실시예 5와 동일한 방법으로 미세유체소자를 제작하였다.

[190]

[191] <실시예 7> 스플리터가 집적된 미세유체소자의 제작 3

[192] 상기 실시예 5에서 제조된 채널이 패터닝된 PDMS와 유리기판을 직접 접합하기 위해 PDMS 표면을 O₂ 플라즈마로 20초 동안 처리한 다음 유리기판과 접합한 후 12시간 동안 오븐에서 결합시켰다. 이때, 유리기판은 황산과 과산화수소 혼합물 또는 플라즈마 처리를 하여 표면에 유기물을 제거하여 더욱 단단하게 결합된 미세유체소자를 제작하였다.

[193]

[194] <실시예 8> 스플리터가 집적된 미세유체소자의 제작 4

[195] 상기 실시예 5 또는 실시예 6에서, 오일에 계면활성제 SPAN 80을 혼합하여 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 5 또는 실시예 6과 동일한 방법으로 미세유체소자를 제작하였다.

[196]

[197] <실험예 1> 미세채널 내 액적의 형광 검출

[198] 상기 실시예 1, 2 또는 4의 미세유체소자의 신약후보물질 유입구에 DAPI(4'6-디아미디노-2-페닐인돌, 여기파장 345 nm, 방출파장 458 nm)와 아크리딘오렌지(여기파장 500 nm, 방출파장 530 nm)의 혼합물을 10 내지 15 μ l/시간의 유량으로 주입하고 8 mg/ml 농도의 Herring DNA를 10 내지 15 μ l/시간의 유량으로 타겟물질 주입구에 주입하였다. 이때, 반응채널 내 압력은 1 psig으로 유지시키고, 오일 주입 압력은 2.5 psig로 주입하여 액적을 형성하였다. 형성된 액적을 형광현미경(Nikon inverted microscope, Eclipse Nikon TS100, 4 X 10 UV용 렌즈, 100 W Nikon Intensilight epi-fluorescence 램프 사용)을 이용하여 검출하였다. 상기 미세유체소자가 형광현미경에 장착된 이미지를 도 12에 나타내었으며, 이를 이용하여 형광을 검출한 결과를 도 13에 나타내었다.

[199]

[200] 도 13에 나타낸 바와 같이, 본 발명에 따라 형성된 액적은 발광하면서 균일하게 형성되어 있는 것을 알 수 있다.

[201]

[202] <실험예 2> 미세유체소자를 통한 혼합물 검출

- [203] 상기 실시예 1, 2 또는 4의 미세유체소자를 사용하여 도 5 및 도 6과 같이 구성된 스크리닝 장치의 타겟물질 주입구에 8 mg/ml 농도의 Herring DNA를 10 내지 15 μl /시간의 유량으로 주입시키고, DAPI와 아크리딘 오렌지 혼합물을 액체 크로마토그래피(Finnigan사 Survivor LC)로 분리시키고, 분리된 분획물을 스플리터에 주입하였다. 스플리터에 주입된 분획물은 미세유체소자의 신약후보물질 주입구와 질량분석기(Finnigan사 TSQ MS Quantum Ultrainnigan사 TSQ MS Quantum Ultra)에 나노컬럼(Polymicro사 OD 359/ ID250/ tube coat 17.5)을 통해 유량을 1/300으로 감소시켜 주입하였다.
- [204] 상기 미세유체소자를 현미경 형광 탐지기를 이용하여 관찰한 이미지를 도 14에 나타내었고, 상기의 방법으로 스크리닝된 질량분석 그래프(Total Ion Chromatography, TIC)를 도 15에 나타내었다.
- [205] 도 14에 나타난 바와 같이, 형광 탐지기에 미세유체소자 내에 주입된 분획물이 타겟물질인 Herring DNA와 반응하여 형광을 나타내는 것을 알 수 있다.
- [206] 또한, 도 15에 나타난 바와 같이, 액체 크로마토그래피를 통하여 DAPI와 아크리딘 오렌지의 혼합물은 DAPI와 아크리딘 오렌지가 각각 12.55분 및 17.18분에 분리되었고, 이를 질량분석기로 확인한 결과 DAPI와 아크리딘 오렌지인 것을 확인함으로써 액체 크로마토그래피에서 분리되는 신약후보물질을 실시간으로 스크리닝할 수 있는 것을 알 수 있다.
- [207]
- [208] <실험예 3> 스플리터가 집적된 미세채널 내 액적의 단백질 형광 검출
- [209] 상기 실시예 5 내지 8의 미세유체소자의 신약후보물질 유입구에 약 1 mg/ml 농도의 드론파(Dronpa, 방출파장 520 nm)를 10 내지 15 μl /시간의 유량으로 주입하였다. 이때, 반응채널 내 압력은 1 psig으로 유지시키고, 오일 주입 압력은 2.5 psig로 주입하여 액적을 형성하였다. 형성된 액적을 형광현미경(Nikon inverted microscope, Eclipse Nikon TS100, 4 X 10 UV용 렌즈, 100 W Nikon Intensilight epi-fluorescence 램프 사용)을 이용하여 검출하였으며, 그 결과를 도 16에 나타내었다.
- [210] 도 16에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따라 형성된 액적은 발광하면서 균일하게 형성되어 있는 것을 알 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] 액체 크로마토그래피로 신약후보물질을 포함하는 천연물 또는 합성신약물질을 분획시키는 단계(단계 1);
상기 단계 1에서 분획된 신약후보물질을 스플리터를 통해 질량분석기와 미세유체소자의 분획물 주입구에 동시에 주입시키는 단계(단계 2-1);
상기 단계 1에서 분획된 신약후보물질 채널과 연결되도록 설계된 타겟물질 채널의 주입구에 타겟물질을 주입하는 단계(단계 2-2);
상기 단계 2-1 및 단계 2-2에서 주입된 신약후보물질과 타겟물질을 상기 단계 2-1 및 단계 2-2의 채널이 연결된 반응채널 내에서 반응시키는 단계(단계 3);
상기 단계 3의 반응채널에 연결되는 오일 채널을 통해 오일을 주입하여 액적을 형성시키는 단계(단계 4); 및
상기 단계 4의 액적 중 형광 또는 발광이 감지된 액적을 질량분석기로 검출하는 단계(단계 5)를 포함하여 이루어지는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 단계 2-1의 신약후보물질 또는 상기 단계 2-2의 타겟물질은 1 내지 20 μl /시간으로 주입되는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 단계 2-2의 타겟물질은 DNA, 단백질 및 세포로 이루어지는 군으로부터 선택되는 질병의 발병과 관련되는 물질인 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 타겟물질은 신약후보물질과의 반응으로 형광 또는 발광을 유발 또는 증가시킬 수 있는 물질인 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 단계 2-1과 2-2는 동시에 진행되는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 단계 2-2의 타겟물질은 농도가 0.1 내지 10 mg/ml인 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

- [청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 단계 4의 오일은 비극성이며, 5 내지 20 cSt의 점도를 갖는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 8] 제1항에 있어서, 상기 단계 4의 오일은 실리콘 오일, 미네랄 오일, 헥사데케인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이의 혼합물인 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 9] 제1항에 있어서, 상기 단계 4의 오일은 추가적으로 계면활성제를 포함하는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 10] 제1항에 있어서, 상기 단계 4의 오일은 신약후보물질과 타겟물질의 혼합물의 압력의 2배 내지 10배의 압력으로 주입시키는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 11] 신약후보물질이 주입되는 신약후보물질 유입구와;
상기 주입된 신약후보물질이 이동하는 신약후보물질 채널과;
타겟물질이 주입되는 타겟물질 주입구와;
상기 주입된 타겟물질이 이동하는 타겟물질 채널과;
상기 신약후보물질채널과 상기 타겟물질 채널이 연결되어 신약후보물질과 타겟물질의 반응 및 이동이 수행되는 반응채널과;
상기 반응채널에 연결되되, 신약후보물질과 타겟물질의 흐름을 단절시켜 반응액적을 형성시키도록 오일이 주입되는 오일 주입구를 구비한 오일 채널; 및
상기 반응액적과 오일이 배출되는 배출구를 구비하는 것을 특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 12] 제11항에 있어서, 상기 반응채널은 채널의 길이를 확보하기 위해 U자 형태로 반복하며 밀집되는 구조를 갖는 것을 특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 13] 제11항에 있어서, 상기 반응채널과 오일 채널은 T자형, Y자형, X자형 또는 +자형으로 연결되는 것을 특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 14] 제11항에 있어서, 상기 오일 채널은 상기 반응채널과의 연결부위에서 오일 채널의 폭이 5 내지 20% 축소되도록 고안된 넥(neck)을 구비하는 것을 특징으로 하는 미세유체소자.

- [청구항 15] 제11항에 있어서, 상기 미세유체소자는 광투과성 소재로 이루어지는 것을 특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 16] 제15항에 있어서, 상기 광투과성 소재는 유리, 석영, 폴리다이메틸실록산(PDMS), 폴리메틸메타아크릴레이트, 폴리아크릴레이트, 폴리카보네이트 및 폴리우레탄으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이의 혼합물인 것을 특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 17] 천연물 또는 합성신약물질로부터 신약후보물질을 분리하는 액체 크로마토그래피와;
상기 액체 크로마토그래피와 연결되고, 미세유체소자와 질량분석기로 분리시키는 스플리터와;
상기 스플리터로부터 분리된 신약후보물질, 타겟물질이 반응을 일으키는 미세유체소자와;
상기 미세유체소자 내 발광 또는 형광 반응을 감지하는 검출기; 및
상기 스플리터로부터 분리된, 신약후보물질을 분석하는 질량분석기를 구비하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템.
- [청구항 18] 제17항에 있어서, 상기 질량분석기는 주입구에 나노 컬럼을 더 구비하는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템.
- [청구항 19] 제18항에 있어서, 상기 나노 컬럼은 스플리터를 통해 유입되는 신약후보물질의 유량을 1/350 내지 1/250으로 감소시키는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템.
- [청구항 20] 나노 액체 크로마토그래피로 신약후보물질을 포함하는 천연물 또는 합성신약물질을 분획시켜 미세유체소자로 주입하는 단계(단계 A);
상기 단계 A에서 미세유체소자로 주입된 신약후보물질을 미세유체소자 내에서 스플리팅하여 신약후보물질 채널로 주입하는 단계(단계 B-1);
상기 단계 B-1에서 스플리팅된 신약후보물질 채널과 연결되도록 설계된 타겟물질 채널의 주입구에 타겟물질을 주입하는 단계(단계 B-2);
상기 단계 B-1에서 스플리팅된 신약후보물질이 질량분석기로 주입되는 단계 (단계 B-3);
상기 단계 B-1 및 단계 B-2에서 주입된 신약후보물질과 타겟물질을 상기 단계 B-1 및 단계 B-2의 채널이 연결된 반응채널 내에서 반응시키는 단계(단계 C);

상기 단계 C의 반응채널에 연결되는 오일 채널을 통해 오일을 주입하여 액적을 형성시키는 단계(단계 D); 및
상기 단계 D에서 형성된 액적 중 형광 또는 발광이 감지된 액적을 질량분석기로 검출하는 단계(단계 E)를 포함하여 이루어지는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

[청구항 21] 제20항에 있어서, 상기 단계 B-1의 신약후보물질 또는 상기 단계 B-2의 타겟물질은 1 내지 20 μl /시간으로 주입되는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

[청구항 22] 제20항에 있어서, 상기 단계 B-2의 타겟물질은 DNA, 단백질 및 세포로 이루어지는 군으로부터 선택되는 질병의 발병과 관련되는 물질인 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

[청구항 23] 제22항에 있어서, 상기 타겟물질은 신약후보물질과의 반응으로 형광 또는 발광을 유발 또는 증가시킬 수 있는 물질인 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

[청구항 24] 제20항에 있어서, 상기 단계 B-2의 타겟물질은 농도가 0.1 내지 10 mg/ml인 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

[청구항 25] 제20항에 있어서, 상기 단계 B-1, B-2 및 B-3은 동시에 진행되는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

[청구항 26] 제20항에 있어서, 상기 단계 D의 오일은 비극성이며, 5 내지 20 cSt의 점도를 갖는 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

[청구항 27] 제20항에 있어서, 상기 단계 D의 오일은 실리콘 오일, 미네랄 오일 및 헥사데케인으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이의 혼합물인 것을 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한 신약후보물질 스크리닝 방법.

[청구항 28] 제20항에 있어서, 상기 단계 D의 오일은 추가적으로 계면활성제를 포함하는 것을 특징으로 하는 액체

- 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한
신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 29] 제20항에 있어서, 상기 단계 D의 오일은 신약후보물질과
타겟물질의 혼합물의 압력의 2배 내지 10배의 압력으로
주입시키는 것을 특징으로 하는 액체
크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템을 이용한
신약후보물질 스크리닝 방법.
- [청구항 30] 나노 액체 크로마토그래피로부터 신약후보물질이 주입되는
신약후보물질 유입구와;
상기 주입된 신약후보물질을 질량분석기와 신약후보물질과
채널로 분리하는 스플리터와;
상기 주입된 신약후보물질이 이동하는 신약후보물질 채널과;
타겟물질이 주입되는 타겟물질 주입구와;
상기 주입된 타겟물질이 이동하는 타겟물질 채널과;
상기 신약후보물질채널과 상기 타겟물질 채널이 연결되어
신약후보물질과 타겟물질의 반응 및 이동이 수행되는 반응채널과;
상기 반응채널에 연결되되, 신약후보물질과 타겟물질의 흐름을
단절시켜 반응액적을 형성시키도록 오일이 주입되는 오일
주입구를 구비한 오일 채널; 및
상기 반응액적과 오일이 배출되는 배출구를 구비하는 것을
특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 31] 제30항에 있어서, 상기 반응채널은 채널의 길이를 확보하기 위해
U자 형태로 반복하며 밀집되는 구조를 갖는 것을 특징으로 하는
미세유체소자.
- [청구항 32] 제30항에 있어서, 상기 반응채널과 오일 채널은 T자형, Y자형,
X자형, +자형, 또는 이들 중 2 이상의 조합형으로 연결되는 것을
특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 33] 제30항에 있어서, 상기 오일 채널은 상기 반응채널과의
연결부위에서 오일 채널의 폭이 5 내지 20% 축소되도록 고안된
넥(neck)을 구비하는 것을 특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 34] 제30항에 있어서, 상기 미세유체소자는 광투과성 소재로
이루어지는 것을 특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 35] 제34항에 있어서, 상기 광투과성 소재는 유리, 석영,
폴리디메틸실록산(PDMS), 폴리메틸메타아크릴레이트,
폴리아크릴레이트, 폴리카보네이트 및 폴리우레탄으로
이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 또는 이의 혼합물인
것을 특징으로 하는 미세유체소자.
- [청구항 36] 천연물 또는 합성신약물질로부터 신약후보물질을 분리하는 나노

- 액체 크로마토그래피와;
 상기 나노 액체 크로마토그래피와 연결되는 미세유체소자와;
 상기 미세유체소자 내에서 질량분석기와 신약후보물질 채널로
 분리시키는 스플리터와;
 상기 미세유체소자 내 발광 또는 형광 반응을 감지하는 검출기; 및
 상기 스플리터로부터 분리된 신약후보물질을 분석하는
 질량분석기를 구비하는 액체
 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템.
- [청구항 37] 제36항에 있어서, 상기 질량분석기는 주입구에 나노 컬럼을 더
 구비하는 것을 특징으로 하는 액체
 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템.
- [청구항 38] 제37항에 있어서, 상기 나노 컬럼은 스플리터를 통해 유입되는
 신약후보물질의 유량을 1/350 내지 1/250으로 감소시키는 것을
 특징으로 하는 액체 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기
 시스템.
- [청구항 39] 제36항에 있어서, 상기 미세유체소자 내에 스플리터를 집적하여
 별도의 스플리터를 구비하지 않는 것을 특징으로 하는 액체
 크로마토그래피/미세유체소자/질량분석기 시스템.
- [청구항 40] 미세유체소자 내에서 나노유체를 분리하여 질량분석기와
 미세유체소자 내의 신약후보물질 채널에 분리하여 주입할 수 있는
 스플리터 장치.
- [청구항 41] 순수 화합물을 혼합하여 혼합물 용액을 제조하는 단계(단계 1); 및
 상기 단계 1에서 얻은 혼합물 용액 내에 포함된 화합물의 구조 및
 정보를 명기하는 단계(단계 2)를 포함하여 이루어지는
 미세유체소자와 발광현상을 이용하여 신약후보물질을 발굴할 때
 신약후보물질의 혼합체를 액체 크로마토그래피로 분리하여
 반응할 수 있도록 하는 라이브러리의 구성 방법.
- [청구항 42] 현미경을 이용하여 형광을 필터링하고 이를 CCD 카메라로
 동영상 이미지를 캡처하는 단계(단계 1);
 상기 단계 1에서 얻은 동영상 이미지 중 형광이 진행된 부분의
 동영상 이미지를 단층의 이미지로 스테킹하는 단계(단계 2);
 미세유체소자의 유로 내에 제한된 영역을 설정하고 설정된 영역
 내의 픽셀의 광량 변화를 이미지별로 측정하는 단계(단계 3); 및
 상기 단계 3에서 얻은 광량의 양을 스프레드시트로 익스포트하여
 형광이 나오는 시간을 감지하는 단계(단계 4)를 포함하여
 이루어지는 미세유체소자 내의 타겟물질과 신약후보물질이
 반응시 이를 광학적으로 녹화하고 액적의 이동을 추적하여 액적
 내의 형광의 휘도 변화를 자동으로 감지하고 반응시간의 추적을

[청구항 43]

통한 반응물질의 동정방법.

형광을 필터링하는 현미경 형광 탐지기와;

형광을 동영상 이미지로 캡처하는 CCD 카메라와;

동영상 이미지를 단층의 이미지로 스테킹하는 이미지 프로그램;

및

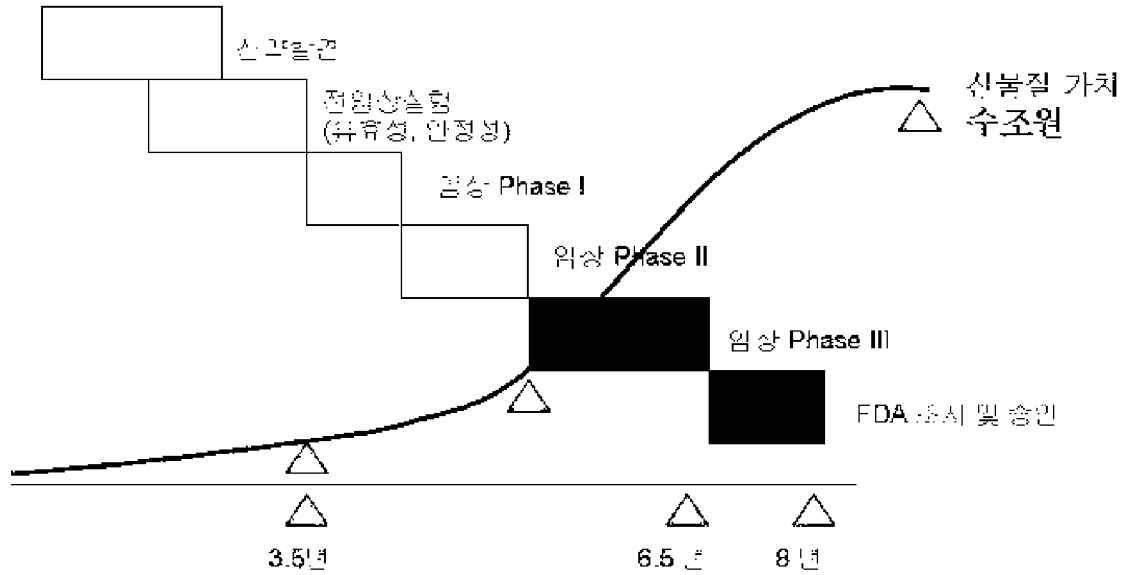
픽셀의 광량변화를 측정하는 프로그램을 구비하는 미세유체소자

내의 타겟물질과 신약후보물질이 반응시 이를 광학적으로

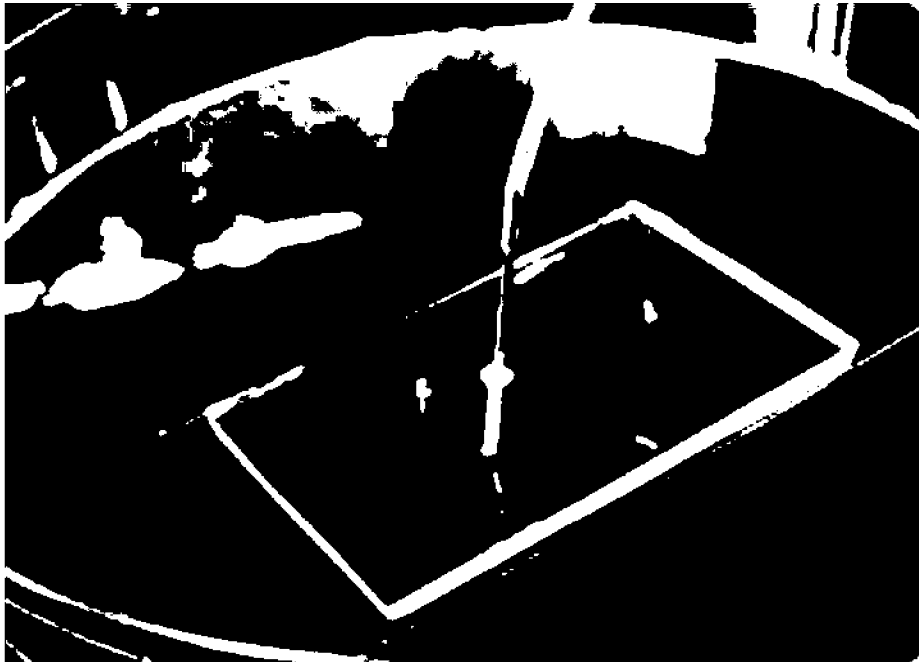
녹화하고 액적의 이동을 추적하여 액적내의 형광의 휘도 변화를

자동으로 감지하고 반응시간의 추적을 통한 반응물질의 동정장치.

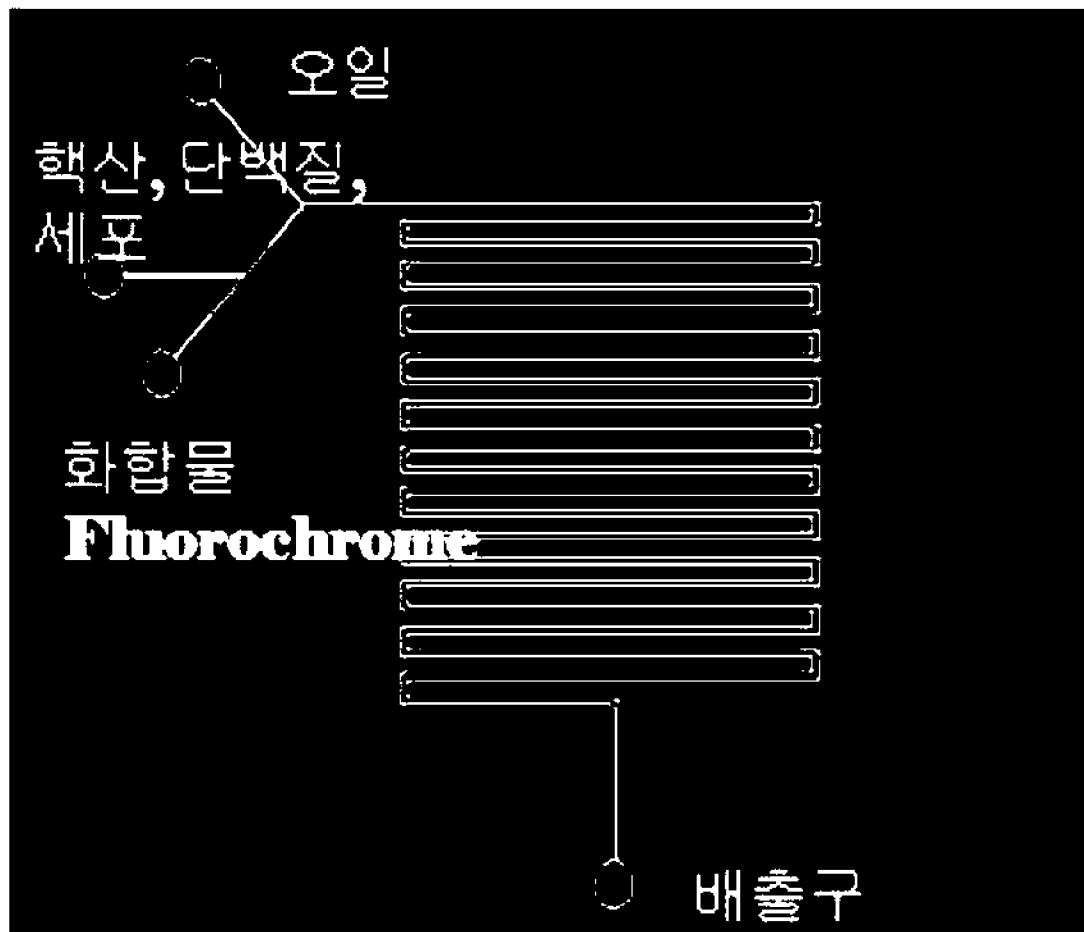
[Fig. 1]



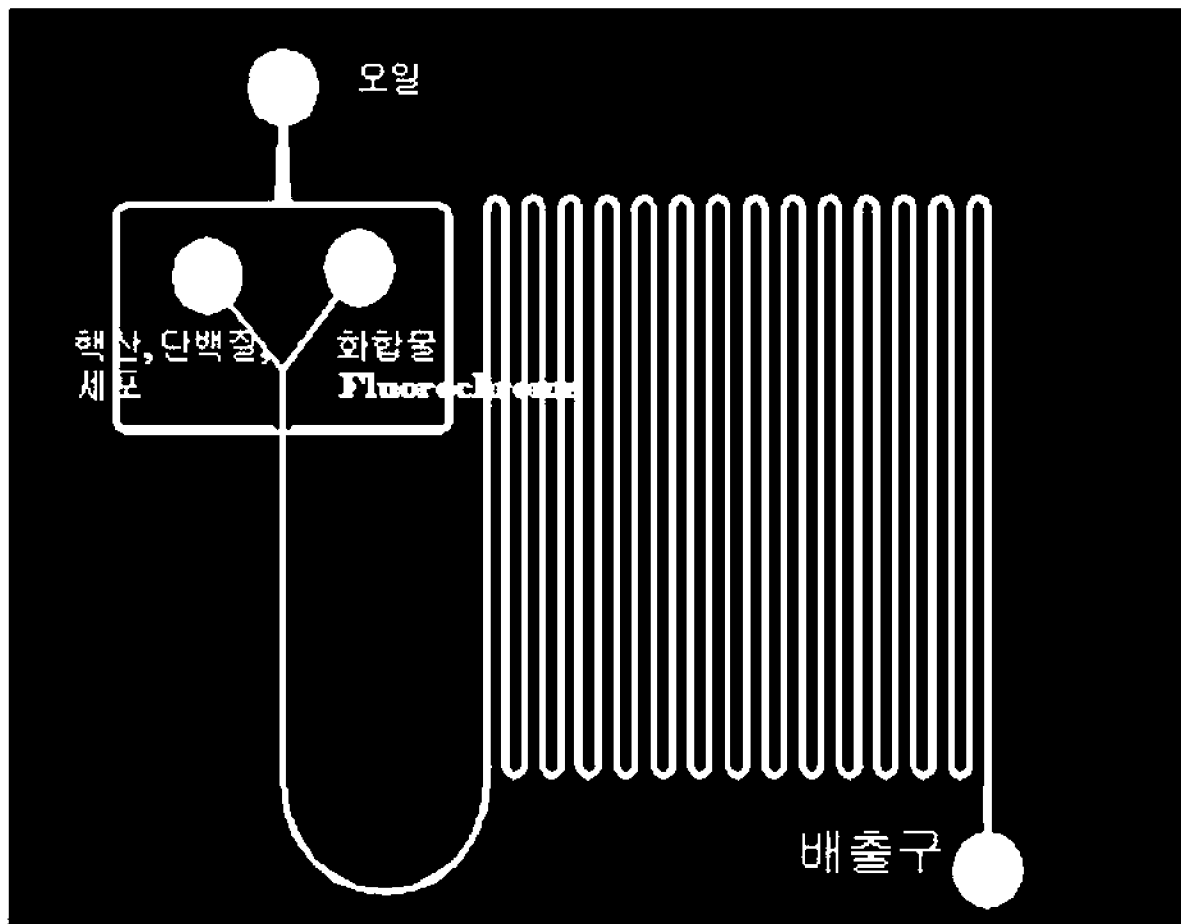
[Fig. 2]



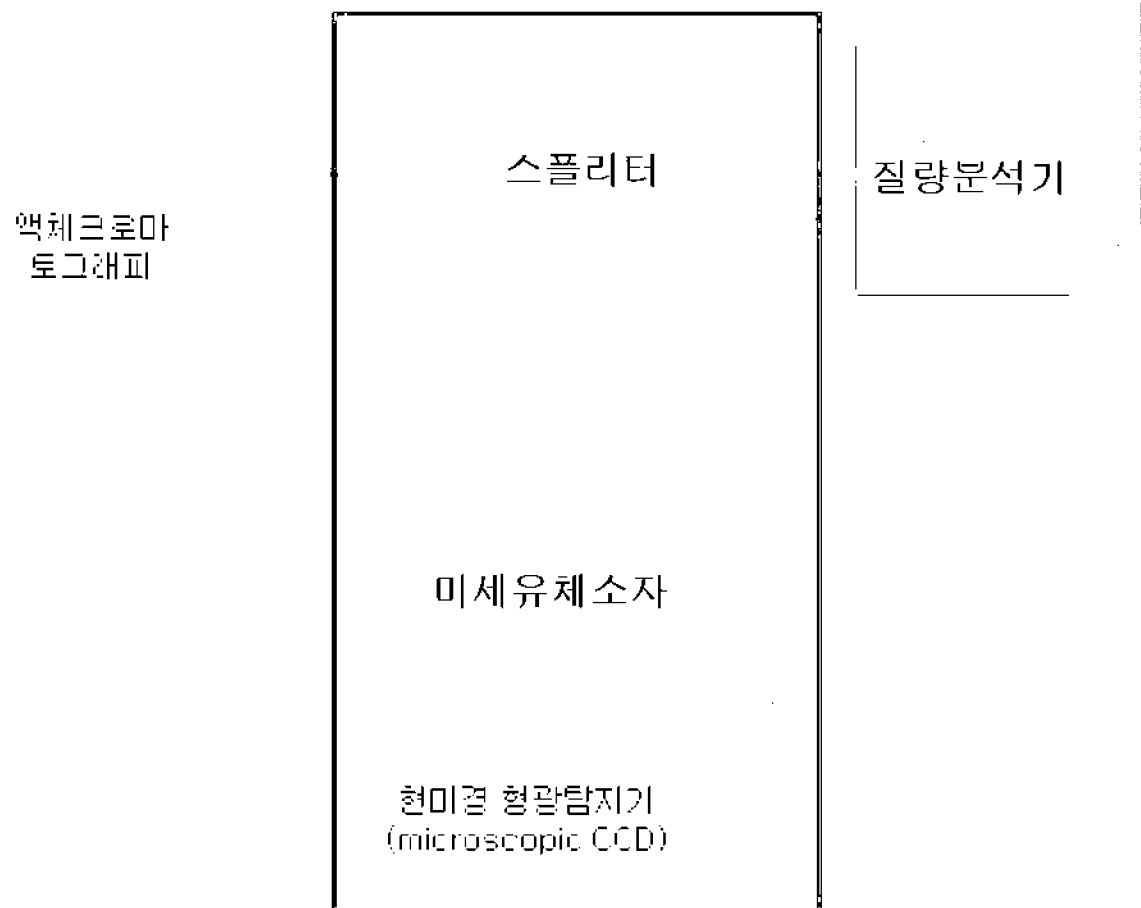
[Fig. 3]



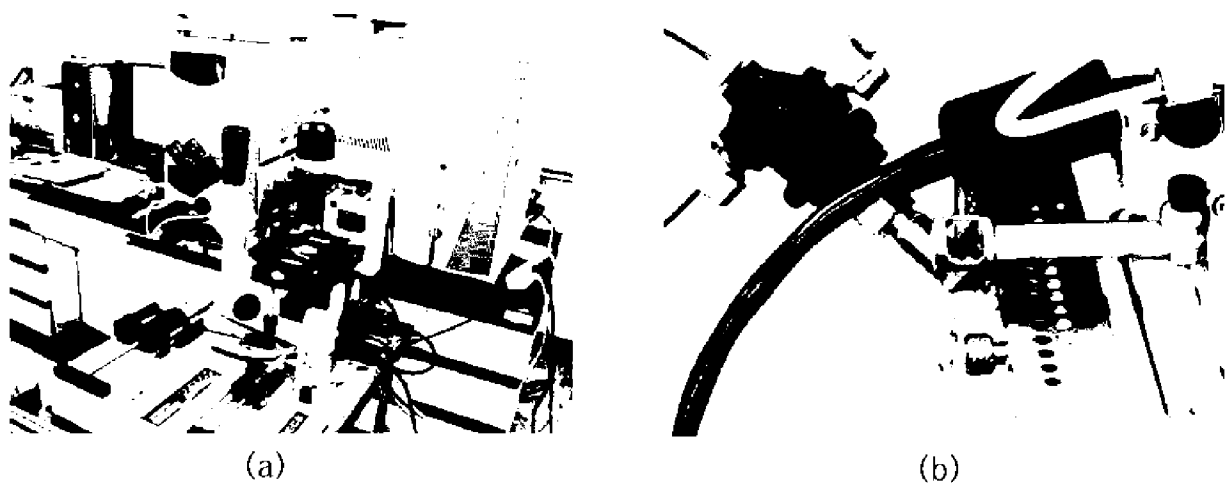
[Fig. 4]



[Fig. 5]



[Fig. 6]



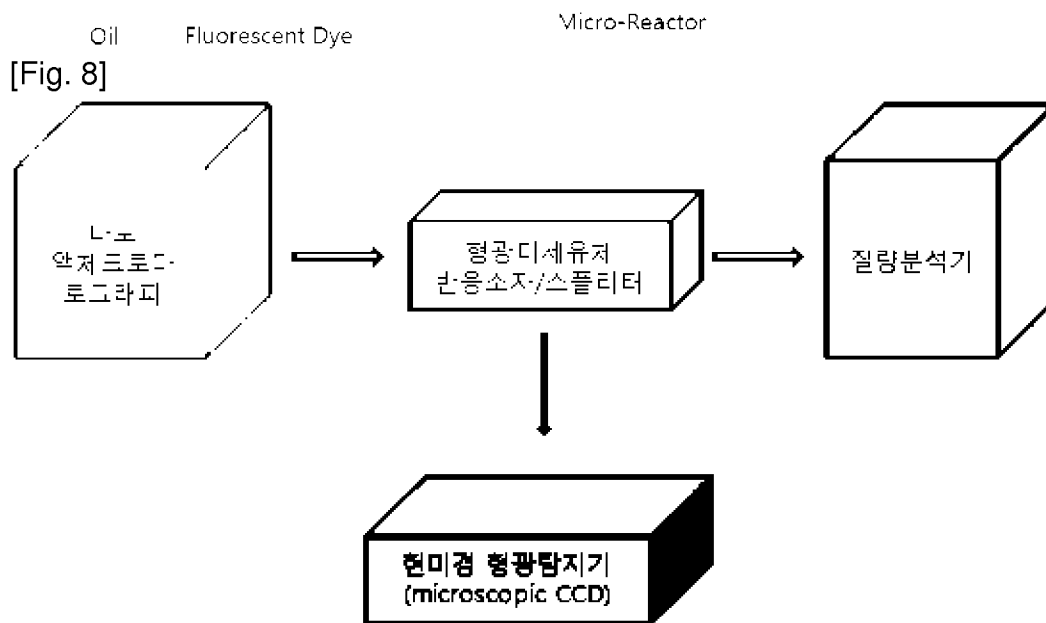
[Fig. 7]

Target
Compounds
(from Nano-LC)

To MS

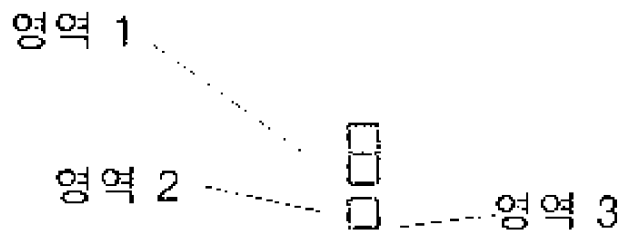
OUTLET

[Fig. 8]

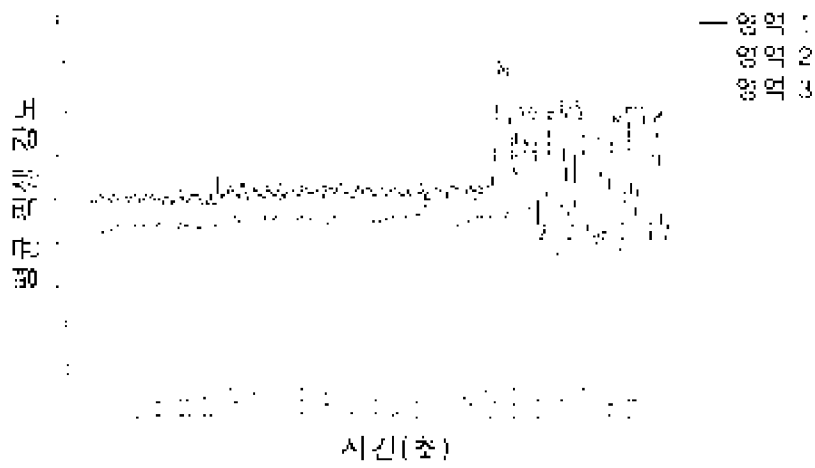


[Fig. 9]

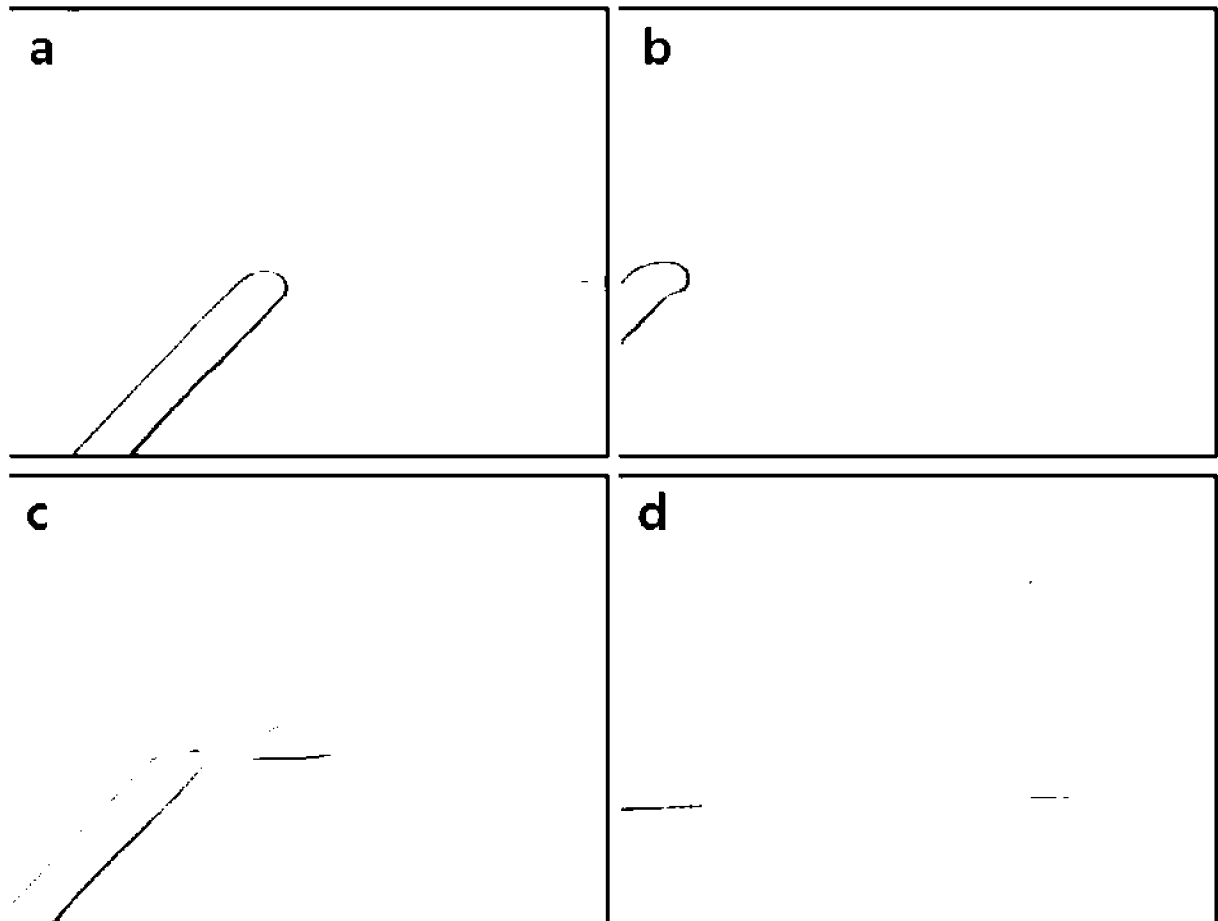
(a)



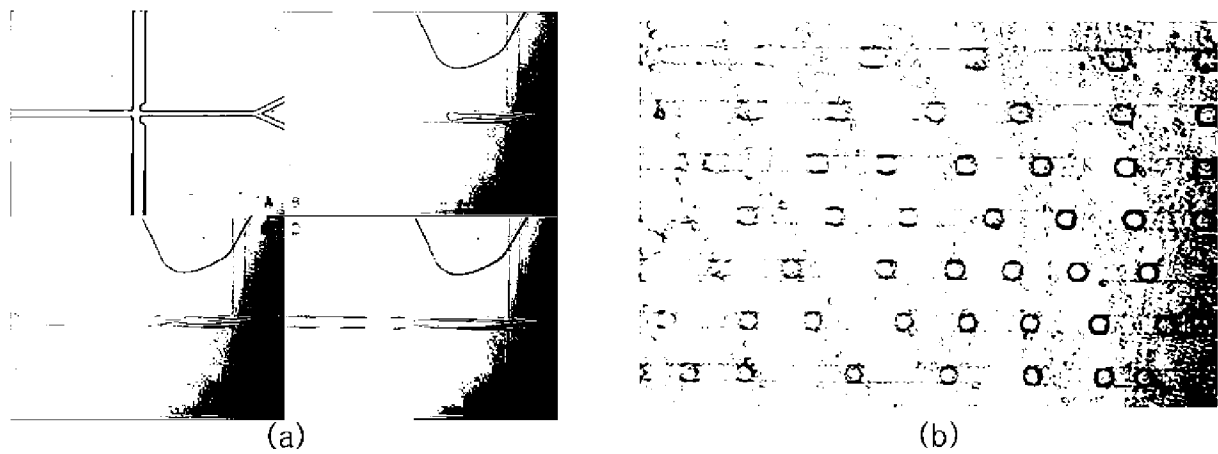
(b)



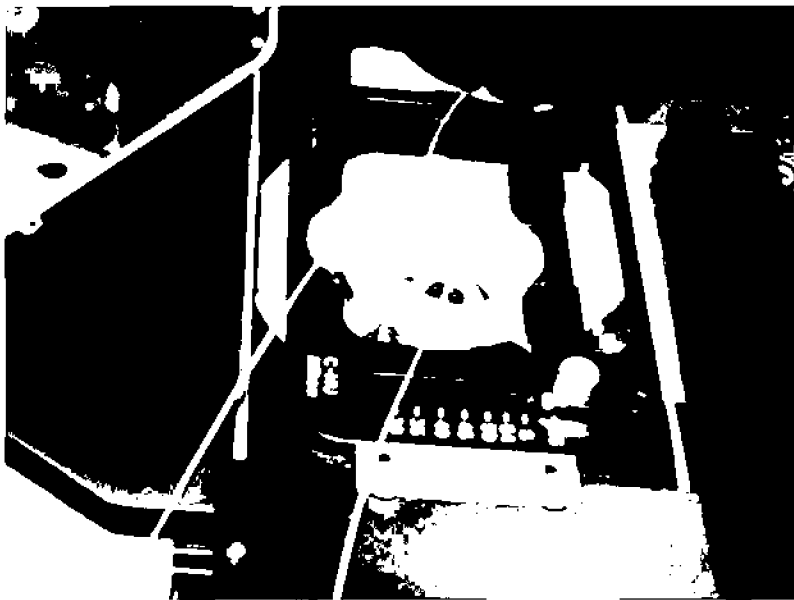
[Fig. 10]



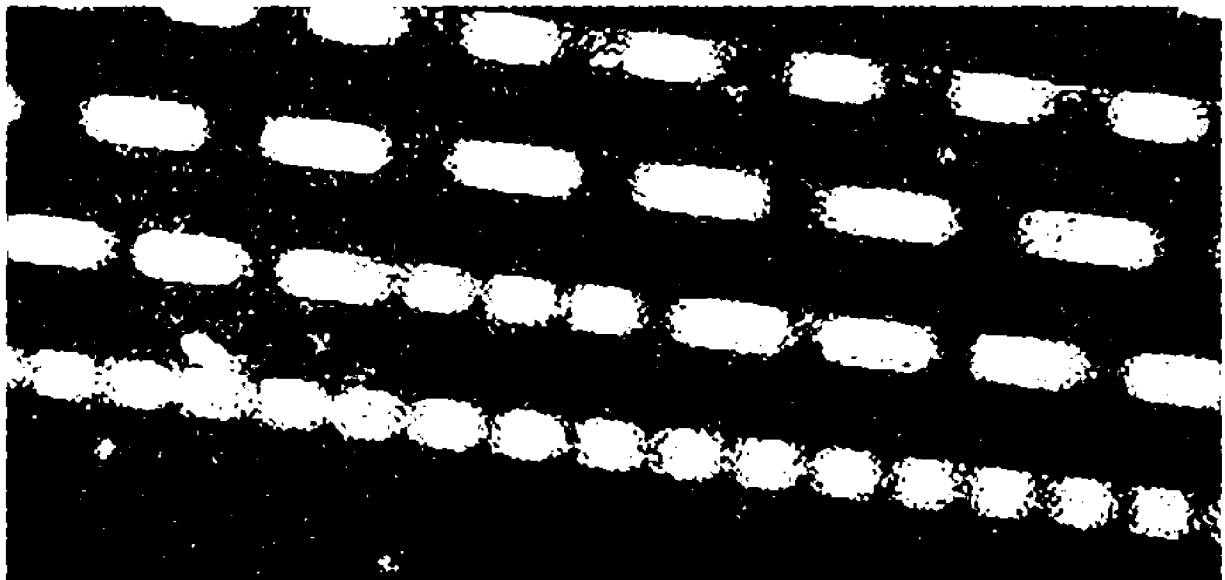
[Fig. 11]



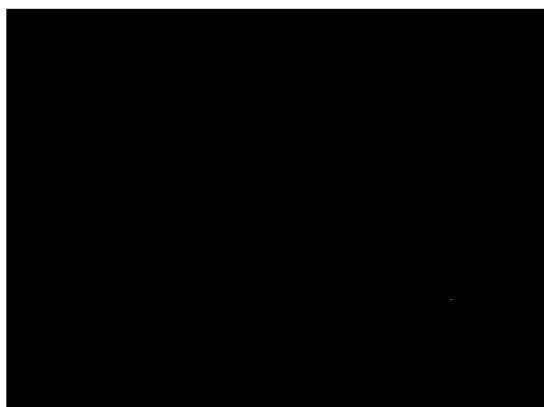
[Fig. 12]



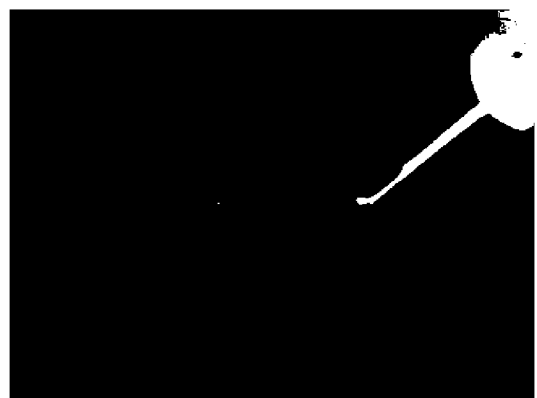
[Fig. 13]



[Fig. 14]

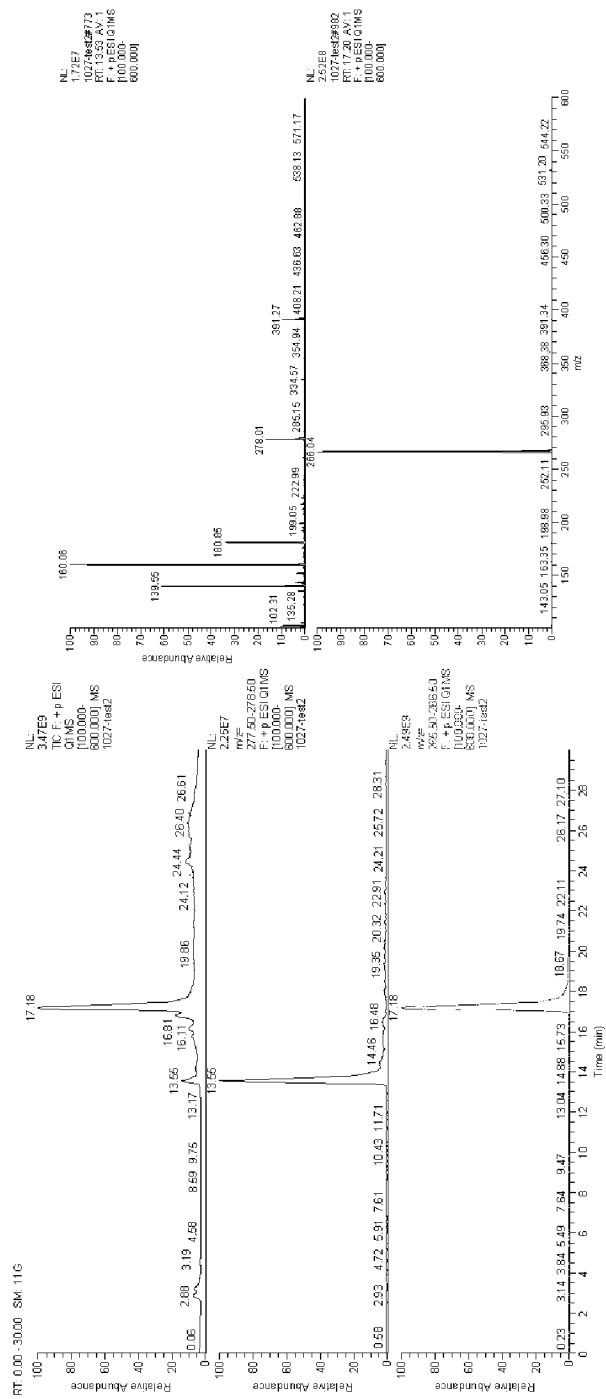


(a)



(b)

[Fig. 15]



[Fig. 16]

