



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0118325
(43) 공개일자 2018년10월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/68 (2018.01) B01L 3/00 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01) G01N 33/543 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/6823 (2018.05)
B01L 3/502715 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0051472
(22) 출원일자 2017년04월21일
심사청구일자 2017년04월21일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)
(72) 발명자
신세현
서울시 서초구 방배로 270, 바동406호 (방배동,
신삼호아파트)
장대호
경기도 안산시 단원구 광덕동로 26, 101동606호
(고잔동, 고잔1차푸르지오아파트)
이재승
서울특별시 동대문구 정릉천동로 36, 109동 1703
호 (용두동, 래미안허브리츠)
(74) 대리인
특허법인남춘

전체 청구항 수 : 총 27 항

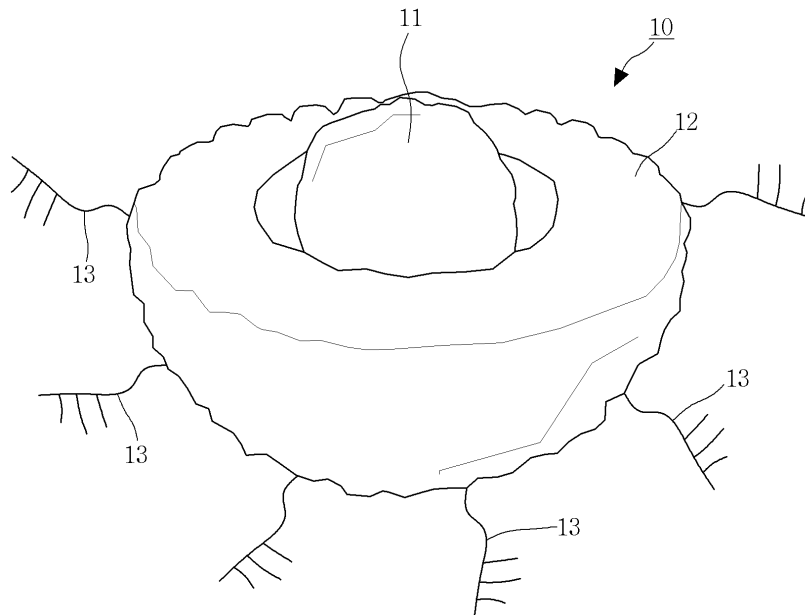
(54) 발명의 명칭 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자, 이를 이용한 검출 시스템 및 검출 방법

(57) 요약

본 발명은 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자, 이를 이용한 검출 시스템 및 검출 방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자는 암호화된 다수의 폴리뉴클레오티드가 뭉쳐 형성되는 폴리뉴클레오티드 뭉침부와, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 내부에 수용하는 외부막과, 상기 외부막의 표면에 형

(뒷면에 계속)

대표도 - 도2



성되어 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 상보적 결합하는 프로브 링커를 포함하며; 상기 프로브 링커가 상기 표적 생물 분자와 결합한 상태에서 외부 자극에 의해 상기 외부막이 파손되어 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부가 외부로 노출되고, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 풀려 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 방출되며, 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 감지를 통해 상기 표적 생물 분자의 검출이 가능하게 된다. 이에 따라, 표적 생물 분자의 증폭 과정 없이도 적은 양의 표적 생물 분자에 대해서도 정확한 검출이 가능할 뿐만 아니라 검사 시간 및 검사 비용을 최소화할 수 있다.

(52) CPC특허분류

B01L 3/502746 (2013.01)

G01N 33/5308 (2013.01)

G01N 33/5432 (2013.01)

G01N 33/54353 (2013.01)

B01L 2200/10 (2013.01)

B01L 2400/084 (2013.01)

C12Q 2563/161 (2013.01)

C12Q 2563/179 (2013.01)

C12Q 2565/629 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자에 있어서,

암호화된 다수의 폴리뉴클레오티드가 뭉쳐 형성되는 폴리뉴클레오티드 뭉침부와,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 내부에 수용하는 외부막과,

상기 외부막의 표면에 형성되어 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 상보적 결합하는 프로브 링커를 포함하며;

상기 프로브 링커가 상기 표적 생물 분자와 결합한 상태에서 외부 자극에 의해 상기 외부막이 파손되어 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부가 외부로 노출되고, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 풀려 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 방출되며, 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 감지를 통해 상기 표적 생물 분자의 검출이 가능한 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드는 금속 2가 이온과의 정전기적 인력에 의해 상호 엉켜 뭉쳐지는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 금속 2가 이온은 Cu^{2+} 와 Cd^{2+} 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침은 상기 금속 2가 이온과 이온 결합이 용이한 뭉침 폴립 물질과 상기 금속 2가 이온과의 결합에 의해 풀리는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 각각의 상기 폴리뉴클레오티드에는 형광 물질, 발광 물질 및 나노 입자 중 어느 하나가 결합되는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 프로브 링커는 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 결합 가능한 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 항체 중 어느 하나로 마련되는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 외부막은 상기 외부막은 금속 재질의 막, 유기막 또는 무기막을 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물

분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 유기막은 리피드 막 또는 폴리머 막 중 어느 하나를 포함하며;

상기 무기막은 실리카 막을 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 외부 자극은 상기 미세 포자가 수용된 버퍼 환경의 변화, 초음파 자극, 레이저 자극 중 어느 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자.

청구항 10

표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템에 있어서,

암호화된 다수의 폴리뉴클레오티드가 뭉쳐 형성되는 폴리뉴클레오티드 뭉침부와, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 내부에 수용하는 외부막과, 상기 외부막의 표면에 형성되어 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 상보적 결합하는 제1 프로브 링커를 갖는 다수의 미세 포자와;

미세 파티클과, 상기 미세 파티클의 표면에 형성되어 상기 표적 생물 분자의 다른 일부 영역과 상보적 결합하는 제2 프로브 링커를 갖는 다수의 포자 수집체와;

암호화된 상기 폴리뉴클레오티드를 감지하기 위한 센싱부를 포함하며,

상기 표적 생물 분자의 일부 영역이 상기 제1 프로브 링커와 결합하고 상기 표적 생물 분자의 다른 일부 영역이 상기 제2 프로브 링커와 결합하여 상기 표적 생물 분자와 결합되는 상기 미세 포자가 상기 포자 수집체로 수집되고,

상기 미세 포자가 상기 포자 수집체로 수집된 상태에서 외부 자극에 의해 상기 미세 포자의 상기 외부막이 파손되어 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부가 외부로 노출되고,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 풀려 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 방출되며,

방출되는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 상기 센싱부에 의해 감지되어 상기 표적 생물 분자의 검출이 가능한 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 표적 생물 분자가 포함된 샘플 용액 및 상기 미세 포자가 포함된 포자 용액이 유동하여 상기 표적 생물 분자, 상기 미세 포자 및 상기 포자 수집체가 결합하는 반응 채널과,

상기 포자 수집체의 유동을 저지하는 유동 저지부를 더 포함하며;

상기 포자 수집체가 상기 유동 저지부에 의해 유동이 저지된 상태에서 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 풀려 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 방출되어 상기 센싱부로 유동하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 미세 파티클은 자성을 갖거나 자화 가능한 재질로 마련되며;

상기 유동 저지부는 상기 미세 파티클과의 자력에 의해 상기 포자 수집체의 유동을 저지하는 자성 부재를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 유동 저지부는

상기 반응 채널의 유동 경로의 일부를 형성하도록 상기 반응 채널 상에 배치되어 다수의 상기 포자 수집체가 상호 밀착되도록 수용된 패킹 도관과,

상기 샘플 용액 및 상기 포자 용액의 유동 방향으로 상기 포자 수집체의 유동을 차단하는 차단 메쉬를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 14

제10항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드는 금속 2가 이온과의 정전기적 인력에 의해 상호 엉켜 뭉쳐지는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 금속 2가 이온은 Cu^{2+} 와 Cd^{2+} 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 16

제14항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침은 상기 금속 2가 이온과 이온 결합이 용이한 뭉침 폴리머 물질과 상기 금속 2가 이온과의 결합에 의해 풀리는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 17

제10항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 각각의 상기 폴리뉴클레오티드에는 형광 물질, 발광 물질 및 나노 입자 중 어느 하나가 결합되는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 18

제10항에 있어서,

상기 외부막은 금속 재질의 막, 유기막 또는 무기막을 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 19

제18항에 있어서,

상기 유기막은 리피드 막 또는 폴리머 막 중 어느 하나를 포함하며;

상기 무기막은 실리카 막을 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 20

제18항에 있어서,

상기 외부 자극은 상기 미세 포자가 수용된 버퍼 환경의 변화, 초음파 자극, 레이저 자극 중 어느 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 21

제10항에 있어서,

상기 센싱부는

암호화된 상기 폴리뉴클레오티드와 상보적인 서열의 검출용 폴리뉴클레오티드가 배열된 링커 어레이와;

상기 검출용 폴리뉴클레오티드와 상보적 결합하는 상기 폴리뉴클레오티드를 감지하는 센서를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 22

제10항에 있어서,

상기 미세 포자는 상이한 유형의 상기 표적 생물 분자의 검출이 가능하도록 상기 제1 프로브 링커가 해당 표적 생물 분자와 결합 가능하게 상호 상이한 형태를 가지며, 상호 상이한 형태의 상기 제1 프로브 링커를 갖는 해당 미세 포자의 폴리뉴클레오티드는 상호 상이하게 암호화되는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템.

청구항 23

표적 생물 분자의 검출 방법에 있어서,

(a) 외부막의 표면에 제1 프로브 링커가 형성된 미세 포자의 상기 제1 프로브 링커가 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 상보적으로 결합하고, 미세 파티클의 표면에 제2 프로브 링커가 형성된 포자 수집체의 상기 제2 프로브 링커가 상기 표적 생물 분자의 다른 일부 영역과 상보적으로 결합되어 상기 표적 생물 분자와 결합되는 상기 미세 포자가 상기 포자 수집체로 수집되는 단계와;

(b) 상기 미세 포자의 상기 외부막이 외부 자극에 의해 파손되어 상기 미세 포자의 상기 외부막 내부에 수용되는 폴리뉴클레오티드 뭉침부가 외부로 노출되는 단계와 - 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부는 암호화된 다수의 폴리뉴클레오티드가 뭉쳐 형성됨;

(c) 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 풀려 다수의 폴리뉴클레오티드가 방출되는 단계와;

(d) 방출된 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 감지되는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출 방법.

청구항 24

제23항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드는 금속 2가 이온과의 정전기적 인력에 의해 상호 엉켜 뭉쳐지며;

상기 (c) 단계에서는 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 상기 금속 2가 이온과 이온 결합이 용이한 뭉침 풀림 물질과 상기 금속 2가 이온과의 결합에 의해 풀리는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출 방법.

청구항 25

제24항에 있어서,

상기 금속 2가 이온은 Cu^{2+} 와 Cd^{2+} 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출 방법.

청구항 26

제23항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 각각의 상기 폴리뉴클레오티드에는 형광 물질, 발광 물질 및 나노 입자 중 어느 하나가 결합되며;

상기 (d) 단계에서는 상기 형광 물질, 상기 발광 물질 또는 상기 나노 물질의 감지에 의해 상기 폴리뉴클레오티드가 감지되는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출 방법.

청구항 27

제23항에 있어서,

상기 외부막은 금속 재질의 막, 리피드 막 및 폴리머 막을 포함하는 유기막, 또는 실리카 막을 포함하는 무기막을 포함하며;

상기 (b) 단계에서 상기 외부막은 상기 미세 포자가 수용된 버퍼 환경의 변화, 초음파 자극, 레이저 자극 중 어느 하나의 외부 자극에 의해 파손되는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자, 이를 이용한 검출 시스템 및 검출 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 유전자 검출과 같은 표적 생물 분자를 검출하는데 있어, 표적 생물 분자의 증폭 과정 없이도 적은 양의 표적 생물 분자에 대해서도 정확한 검출이 가능할 뿐만 아니라 검출 시간 및 검출 비용을 최소화할 수 있는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자, 이를 이용한 검출 시스템 및 검출 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 표적 핵산의 효율적인 증폭은 핵산의 검출 뿐만 아니라, DNA 시퀀싱, 클로닝 등에 있어서도 매우 중요한 요소이다. 핵산을 증폭하기 위한 여러 가지 방법이 제안되고 있으며, 그 예로는, PCR(polymerase chain reaction), LCR(ligase chain reaction), SSR(self-sustained sequence replication), NASBA(nucleic acid sequence based amplification), 및 SDA(strand displacement amplification) 등이 있다.
- [0003] 이러한 방법들 중 다수는 정량적인 측정에 있어서 정확도가 다소 떨어졌으며, 고가의 장비를 요구하며, 특히 동시에 한 가지 이상의 타겟을 분석하고자 하는 경우에는 그 정도가 더 심하였다.
- [0004] 이러한 단점들을 보완하고자 개발된 것이 등온 핵산 증폭반응(isothermal amplification)이며, 특히 등온 반응 중, RCA (rolling circle amplification) 방법이 많은 관심을 받고 있다. 즉, 종래, 원형 DNA를 증폭하기 위하여 PCR과 같은 몇몇 기술들이 채용되었으나, 이러한 방법들은 다소 시간이 오래 걸리고 효율이 떨어지며, 고가의 비용과 인력이 소모된다는 단점이 있었다.
- [0005] PCR 방법은, 프라이머 쌍, 주형, 중합효소, 및 dNTP를 포함하는 반응 용액 중에서, 온도를 고온으로 높여서 DNA를 단일 가닥으로 분리하는 변성 과정, 온도를 낮추어서 상기 분리된 각 DNA 단일사슬에 상보적인 프라이머를 주형에 결합시키는 어닐링 과정, 다시 온도를 높여서 중합효소에 의한 중합반응에 의해 새로운 가닥을 중합하는 과정으로 이루어지며, 이 증폭을 통하여 DNA 사슬은 지수함수적으로 증가한다.
- [0006] 그러나, PCR 과정은 상기와 같은 단계를 거치기 때문에 온도의 변화를 필연적으로 수반하고, 따라서, PCR을 위한 장치에는 온도 컨트롤러 및 히팅 수단을 구비해야 한다. 그러나 랩온어칩 (lab-on-a-chip, LOC) 등에서 표적 핵산의 증폭을 위해 PCR을 이용하는 경우, LOC를 위한 검출 장치 등의 장치 외에 PCR 반응을 위한 온도 컨트롤러 및 히터를 별도로 요구하기 때문에, 장비가 복잡해지고, 장비 단가가 높아진다는 단점이 있다.
- [0007] 이러한 단점을 개선할 수 있는 방법으로서, 여러 가지 등온 증폭법이 제안되었다. LAMP(loop-mediated isothermal amplification)법은 이러한 등온 증폭방법 중 하나로서, 6개의 증폭 프라이머를 이용하여 가지가 달린 다중 루프의 생성물을 생성시킨다. 이러한 LAMP법은 조기진단과 바이오센서로서 사용하기에 다소 제한점이 있는데 이는 타겟 RNA를 검출하기 위해 초기의 reverse transcriptase (RT)를 사용하기 때문이다.
- [0008] 또 다른 등온증폭 법 중 하나로서 RCA 방법이 제안되었다. RCA 방법은 상기한 바와 같이 PCR 증폭에서 요구되는 온도변화를 요구하지 않음으로써, 등온 상태에서 표적 핵산의 증폭이 가능하다는 장점을 갖는다. 따라서, 증폭이 요구되는 공정에서 별도의 온도 조절 장치의 요구 없이 증폭이 가능하고, 장치의 복잡성과 비용을 줄일 수 있다.
- [0009] LRCA(linear rolling circle amplification) 방법은, 표적 DNA 서열과 개방 원형 프로브를 하이브리다이징 (Hybridizing)시켜 복합체를 형성한 후, 라이게이션(Ligation)하여 증폭 표적 서열을 만든 후, 프라이머 서열과

DNA 증합효소를 넣어준다. 그리고 나서 증폭 표적 서클은 새로운 DNA가 형성된 주형을 형성하고, 프라이머로부터 신장시켜서 증폭 표적 서클에 상보적인 반복 서열의 계속된 서열로 연장함으로써, 한 시간에 수천 카피의 핵산을 만들어낸다.

[0010] 이것을 더욱 개선한 방법이, ERCA(exponential RCA) 방법이다. ERCA는, 증폭 표적 서클에 상보적인 복제된 서열에 결합하는 추가적인 프라이머 서열을 이용하여 새로운 증폭 중심을 제공하고, 그로 인하여 기하 급수적으로 증가하는 증폭을 제공한다. ERCA 방법은 가닥 이동(strand displacement) 방법이 연속되는 형태를 이용하지만, 부가적인 RCA 없이 상기생성물에 부착되는 개별적인 단일 가닥의 선형 프라이머를 이용하여 초기의 단일 가닥 RCA 생성물을 또 다른 DNA 합성의 주형으로 이용하는 것에 한정된다.

[0011] 또 다른 방법으로는, molecular padlock probe(MPP) and rolling circle amplification (RCA)를 이용한 방법이다(C. Larsson et al., Nat. Methods 2004, 1, 227). 이 방법은 여러 가지 장점을 갖고 있는데, 높은 specificity 와 타겟 핵산 시퀀스를 구별하는 과정을 거쳐 환형 MPP에서 상보적인 핵산이 증폭되는 특성을 지니고 있다. 특별히, RCA 생성물의 직접적인 커플링으로 인해 별도의 정제과정 없이 향상된 센싱 감도를 제공할 수 있다. 간단한 화학적 표면처리를 통해 금이나 석영과 같은 물질의 표면에 타겟 핵산 probes를 고정화 함으로써 RCA 반응을 표면에서 시작시킬 수 있다.

[0012] 한편, 2015년에 공개된 Ho Yeon Lee 등의 논문 'DhITACT: DNA Hydrogel Formation by Isothermal Amplification of Complementary Target in Fluidic Channels (June 17, 2015, Advanced Materials, Volume 27, Issue 23, Pages 3513-3517)에서는 미세채널 바닥면에 RCA 반응면을 준비하고 시료 용액과의 반응 시간을 두 시간 정도 기다려 단일 가닥의 DNA를 길게 생성시키면서 다중의 덤벨 모양으로 자기 조립되는 특성을 이용하여 DNA가 하이드로젤(hydrogel)처럼 형성되는 특성을 이용하여 해당 채널로는 유동이 배제되는 현상을 이용한 기술을 개시하였다.

[0013] 그러나, Ho Yeon Lee의 논문에 개시된 기술의 경우, 미세 채널의 바닥면에 RCA 반응면을 형성하고 RCA 반응면으로부터의 증폭에 의해 전체 미세 채널이 막힐 때까지 반응을 기다려야 하므로 검사시간이 2시간 이상 정도 소요되는 문제점이 있다.

[0014] 상기와 같이, 기존의 표적 유전자를 검출하는 방법들의 경우, 미소량의 유전자를 검출하기 위해 유전자의 증폭 과정을 거치게 되어, 검사 과정이 복잡하여 검사 시간이나 검사 비용이 증가할 뿐만 아니라 그 구조 및 검사 절차 또한 복잡한 단점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 이에, 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해소하기 위해 안출된 것으로서, 표적 생물 분자의 증폭 과정 없이도 적은 양의 표적 생물 분자에 대해서도 정확한 검출이 가능할 뿐만 아니라 검사 시간 및 검사 비용을 최소화할 수 있는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자, 이를 이용한 검출 시스템 및 검출 방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

[0016] 또한, 다종의 표적 생물 분자의 동시 검출이 가능하여 다종의 정성 및 정량 분석이 가능한 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자, 이를 이용한 검출 시스템 및 검출 방법을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 목적은 본 발명에 따라, 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자에 있어서, 암호화된 다수의 폴리뉴클레오타이드가 묻혀 형성되는 폴리뉴클레오타이드 묻침부와, 상기 폴리뉴클레오타이드 묻침부를 내부에 수용하는 외부막과, 상기 외부막의 표면에 형성되어 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 상보적 결합하는 프로브 링커를 포함하며; 상기 프로브 링커가 상기 표적 생물 분자와 결합한 상태에서 외부 자극에 의해 상기 외부막이 파손되어 상기 폴리뉴클레오타이드 묻침부가 외부로 노출되고, 상기 폴리뉴클레오타이드 묻침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오타이드의 묻침이 풀려 다수의 상기 폴리뉴클레오타이드가 방출되며, 다수의 상기 폴리뉴클레오타이드의 감지를 통해 상기 표적 생물 분자의 검출이 가능한 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자에 의해서 달성된다.

[0018] 여기서, 상기 폴리뉴클레오타이드 묻침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오타이드는 금속 2가 이온과의 정전기

적 인력에 의해 상호 엉켜 뭉쳐질 수 있다.

[0019] 또한, 상기 금속 2가 이온은 Cu^{2+} 와 Cd^{2+} 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0020] 그리고, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침은 상기 금속 2가 이온과 이온 결합이 용이한 뭉침 풀림 물질과 상기 금속 2가 이온과의 결합에 의해 풀릴 수 있다.

[0021] 또한, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 각각의 상기 폴리뉴클레오티드에는 형광 물질, 발광 물질 및 나노 입자 중 어느 하나가 결합될 수 있다.

[0022] 그리고, 상기 프로브 링커는 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 결합 가능한 폴리뉴클레오티드뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 항체 중 어느 하나로 마련될 수 있다.

[0023] 그리고, 상기 외부막은 금속 재질의 막, 유기막 또는 무기막을 포함할 수 있다.

[0024] 또한, 상기 유기막은 리피드 막 또는 폴리머 막 중 어느 하나를 포함하며; 상기 무기막은 실리카 막을 포함할 수 있다.

[0025] 그리고, 상기 외부 자극은 상기 미세 포자가 수용된 버퍼 환경의 변화, 초음파 자극, 레이저 자극 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

[0026] 한편, 상기 목적은 본 발명의 다른 실시 형태에 따라, 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템에 있어서, 암호화된 다수의 폴리뉴클레오티드가 뭉쳐 형성되는 폴리뉴클레오티드 뭉침부와, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 내부에 수용하는 외부막과, 상기 외부막의 표면에 형성되어 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 상보적 결합하는 제1 프로브 링커를 갖는 다수의 미세 포자와; 미세 파티클과, 상기 미세 파티클의 표면에 형성되어 상기 표적 생물 분자의 다른 일부 영역과 상보적 결합하는 제2 프로브 링커를 갖는 다수의 포자 수집체와; 암호화된 상기 폴리뉴클레오티드를 감지하기 위한 센싱부를 포함하며, 상기 표적 생물 분자의 일부 영역이 상기 제1 프로브 링커와 결합하고 상기 표적 생물 분자의 다른 일부 영역이 상기 제2 프로브 링커와 결합하여 상기 표적 생물 분자와 결합되는 상기 미세 포자가 상기 포자 수집체로 수집되고, 상기 미세 포자가 상기 포자 수집체로 수집된 상태에서 외부 자극에 의해 상기 미세 포자의 상기 외부막이 파손되어 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부가 외부로 노출되고, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 풀려 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 방출되며, 방출되는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 상기 센싱부에 의해 감지되어 상기 표적 생물 분자의 검출이 가능한 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템에 의해서 달성된다.

[0027] 여기서, 상기 표적 생물 분자가 포함된 샘플 용액 및 상기 미세 포자가 포함된 포자 용액이 유동하여 상기 표적 생물 분자, 상기 미세 포자 및 상기 포자 수집체가 결합하는 반응 채널과, 상기 포자 수집체의 유동을 저지하는 유동 저지부를 더 포함하며; 상기 포자 수집체가 상기 유동 저지부에 의해 유동이 저지된 상태에서 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 풀려 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 방출되어 상기 센싱부로 유동할 수 있다.

[0028] 그리고, 상기 미세 파티클은 자성을 갖거나 자화 가능한 재료로 마련되며; 상기 유동 저지부는 상기 미세 파티클과의 자력에 의해 상기 포자 수집체의 유동을 저지하는 자성 부재를 포함할 수 있다.

[0029] 또한, 상기 유동 저지부는 상기 반응 채널의 유동 경로의 일부를 형성하도록 상기 반응 채널 상에 배치되어 다수의 상기 포자 수집체가 상호 밀착되도록 수용된 패킹 도관과, 상기 샘플 용액 및 상기 포자 용액의 유동 방향으로 상기 포자 수집체의 유동을 차단하는 차단 메쉬를 포함할 수 있다.

[0030] 그리고, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드는 금속 2가 이온과의 정전기적 인력에 의해 상호 엉켜 뭉쳐질 수 있다.

[0031] 여기서, 상기 금속 2가 이온은 Cu^{2+} 와 Cd^{2+} 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0032] 또한, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침은 상기 금속 2가 이온과 이온 결합이 용이한 뭉침 풀림 물질과 상기 금속 2가 이온과의 결합에 의해 풀릴 수 있다.

[0033] 그리고, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 각각의 상기 폴리뉴클레오티드에는 형광 물질, 발광 물질 및 나노 입자 중 어느 하나가 결합될 수 있다.

[0034] 그리고, 상기 외부막은 금속 재질의 막, 유기막 또는 무기막을 포함할 수 있다.

- [0035] 또한, 상기 유기막은 리피드 막 또는 폴리머 막 중 어느 하나를 포함하며; 상기 무기막은 실리카 막을 포함할 수 있다.
- [0036] 또한, 상기 외부 자극은 상기 미세 포자가 수용된 버퍼 환경의 변화, 초음파 자극, 레이저 자극 중 어느 하나를 포함할 수 있다.
- [0037] 그리고, 상기 센싱부는 암호화된 상기 폴리뉴클레오티드와 상보적인 서열의 검출용 폴리뉴클레오티드가 배열된 링커 어레이와; 상기 검출용 폴리뉴클레오티드와 상보적 결합하는 상기 폴리뉴클레오티드를 감지하는 센서를 포함할 수 있다.
- [0038] 그리고, 상기 미세 포자는 상이한 유형의 상기 표적 생물 분자의 검출이 가능하도록 상기 제1 프로브 링커가 해당 표적 생물 분자와 결합 가능하게 상호 상이한 형태를 가지며, 상호 상이한 형태의 상기 제1 프로브 링커를 갖는 해당 미세 포자의 폴리뉴클레오티드는 상호 상이하게 암호화될 수 있다.
- [0039] 한편, 상기 목적은 본 발명의 또 다른 실시 형태에 따라, 표적 생물 분자의 검출 방법에 있어서, (a) 외부막의 표면에 제1 프로브 링커가 형성된 미세 포자의 상기 제1 프로브 링커가 상기 표적 생물 분자의 일부 영역과 상보적으로 결합하고, 미세 파티클의 표면에 제2 프로브 링커가 형성된 포자 수집체의 상기 제2 프로브 링커가 상기 표적 생물 분자의 다른 일부 영역과 상보적으로 결합되어 상기 표적 생물 분자와 결합되는 상기 미세 포자가 상기 포자 수집체로 수집되는 단계와; (b) 상기 미세 포자의 상기 외부막이 외부 자극에 의해 파손되어 상기 미세 포자의 상기 외부막 내부에 수용되는 폴리뉴클레오티드 뭉침부가 외부로 노출되는 단계와 - 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부는 암호화된 다수의 폴리뉴클레오티드가 뭉쳐 형성됨; (c) 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 풀려 다수의 폴리뉴클레오티드가 방출되는 단계와; (d) 방출된 다수의 상기 폴리뉴클레오티드가 감지되는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 표적 생물 분자의 검출 방법에 의해서도 달성될 수 있다.
- [0040] 여기서, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드는 금속 2가 이온과의 정전기적 인력에 의해 상호 엉켜 뭉치며; 상기 (c) 단계에서는 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 다수의 상기 폴리뉴클레오티드의 뭉침이 상기 금속 2가 이온과 이온 결합이 용이한 뭉침 풀림 물질과 상기 금속 2가 이온과의 결합에 의해 풀릴 수 있다.
- [0041] 또한, 상기 금속 2가 이온은 Cu^{2+} 와 Cd^{2+} 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0042] 그리고, 상기 폴리뉴클레오티드 뭉침부를 구성하는 각각의 상기 폴리뉴클레오티드에는 형광 물질, 발광 물질 및 나노 입자 중 어느 하나가 결합되며; 상기 (d) 단계에서는 상기 형광 물질, 상기 발광 물질 또는 상기 나노 물질의 감지에 의해 상기 폴리뉴클레오티드가 감지될 수 있다.
- [0043] 그리고, 상기 외부막은 금속 재질의 막, 리피드 막, 폴리머 막을 포함하는 유기막, 또는 실리카 막을 포함하는 무기막을 포함하며; 상기 (b) 단계에서 상기 외부막은 상기 미세 포자가 수용된 버퍼 환경의 변화, 초음파 자극, 레이저 자극 중 어느 하나의 외부 자극에 의해 파손될 수 있다.

발명의 효과

- [0044] 상기와 같은 구성에 따라, 본 발명에 따르면, 표적 생물 분자의 증폭 과정 없이도 적은 양의 표적 생물 분자에 대해서도 정확한 검출이 가능할 뿐만 아니라 검사 시간 및 검사 비용을 최소화할 수 있는 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자, 이를 이용한 검출 시스템 및 검출 방법이 제공된다.
- [0045] 또한, 다종의 표적 생물 분자의 동시 검출이 가능하여 다종의 정성 및 정량 분석이 가능하게 된다.

도면의 간단한 설명

- [0046] 도 1 및 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자를 나타낸 도면이고, 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템을 설명하기 위한 도면이고, 도 4는 본 발명의 다른 실시예에 따른 표적 생물 분자의 검출을 위한 검출 시스템을 설명하기 위한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0047] 이하에서는 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 실시예들을 상세히 설명한다.

- [0048] 도 1 및 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 표적 생물 분자의 검출을 위한 미세 포자(10)를 나타낸 도면이다. 도 1 및 도 2를 참조하여 설명하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 미세 포자(10)는 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11), 외부막(30), 그리고 프로브 링커(13)를 포함한다.
- [0049] 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)는 암호화된 다수의 폴리뉴클레오티드(IPN)가 뭉쳐 형성된다. 보다 구체적으로 설명하면, 뉴클레오티드는 4 개의 기본 물질인 아데닌(A), 티민(T), 구아닌(G), 시토신(C)으로 구성되는데, 폴리뉴클레오티드(IPN)는 이러한 기본 물질을 합성하여 원하는 기본 물질의 수만큼의 폴리뉴클레오티드(IPN)를 획득할 수 있는데, 이와 같은 기본 물질의 개수와 배열 순서를 기반으로 폴리뉴클레오티드(IPN)의 암호화가 가능하게 된다. 일 예로, 폴리뉴클레오티드(IPN)의 염기 서열을 AAATTTTAAATT로 암호화하는 경우, 이와 같은 폴리뉴클레오티드(IPN)와 상보적으로 결합하는 TTTAAAAATTAA의 배열을 갖는 검출용 폴리뉴클레오티드(CPN)가 해당 폴리뉴클레오티드(IPN)를 검출하는데 사용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 실시예에서는 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)가 다수의 폴리뉴클레오티드(IPN)가 금속 2가 이온과의 정전기적 인력에 의해 상호 엉킨 상태로 뭉쳐져서 형성되는 것을 예로 하며, 금속 2가 이온으로는 Cu^{2+} 와 Cd^{2+} 중 적어도 하나가 적용되는 것을 예로 한다.
- [0051] 여기서, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 형성 방법을 설명하면, 금속 2가 이온을 일정 온도, 예를 들어 25℃ 조건에서 암호화된 폴리뉴클레오티드(IPN) 수용액에 혼합시키게 되면, 정전기적 인력에 의해 금속 2가 이온과 폴리뉴클레오티드(IPN)가 서로 엉겨 붙어 덩어리를 이루게 되어 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 형성이 가능하게 된다.
- [0052] 다시, 도 1 및 도 2를 참조하여 설명하면, 외부막(30)은 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 내부에 수용한다. 본 발명의 실시예에서는 외부막(30)이 금속 재질의 막(이하, '금속막'이라 함), 유기막 또는 무기막으로 구성되는 것을 예로 한다. 이 때, 유기막은 리피드 막 및 폴리머 막을 포함할 수 있고, 무기막은 실리카 막을 포함할 수 있다.
- [0053] 금속막의 경우, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 표면에 매우 작은 크기의 금속 씨앗 입자를 정전기적 인력을 이용하여 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 표면에 결합시킨 후, 금속 염과 환원제를 투입하게 되면 금속 씨앗 입자로부터 금속 염의 환원이 시작되어 금속 씨앗 입자가 성장하게 된다. 이와 같은 금속 씨앗 입자의 성장 과정에서 금속 씨앗 입자가 서로 연결되어 금속막을 형성하게 된다.
- [0054] 리피드 막의 경우, 리포좀 또는 생체막을 형성하는 인지질(phospholipid)이 양친매성의 성질을 갖는 리피드로, 친수성의 머리 부분과 소수성의 꼬리 부분으로 형성되는데, 친수성 용매와 친유성 용매의 경계에서 머리와 꼬리가 일정하게 자기 조립(self-assembly)하는 성질을 이용하여 형성할 수 있다. 리피드 막을 형성하는 방법으로는 Pautot, Sophie, Barbara J. Frisken, 및 D. A. Weitz의 논문 "Engineering asymmetric vesicles(Proceedings of the National Academy of Sciences 100.19 (2003): 10718-10721.)" 등에 개시되어 있다.
- [0055] 폴리머 막의 경우, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 표면과 반대되는 전하를 띠는 폴리머를 혼합하게 되면, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 표면에 폴리머들이 달라붙어 폴리머 막을 형성하게 된다. 그리고, 실리카 막의 경우, 실리카의 전구 물질인 TEOS(tetraethyl orthosilicate) 등을 혼합한 후 정전기적 인력에 의해 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 표면에 붙게 한 상태에서 화학 반응을 통해 실리카로 변환시켜 실리카 막을 형성할 수 있다.
- [0056] 상술한 각각의 외부막(30)의 형성 방법은 일 예로서, 본 발명의 기술적 사상이 이에 국한되지 않으며, 다른 방법을 통해 외부막(30)을 형성할 수 있음은 물론이다.
- [0057] 한편, 프로브 링커(13)는 외부막(30)의 표면에 형성되는데, 표적 생물 분자, 예를 들어 표적 유전자의 일부 영역과 상보적으로 결합된다. 본 발명의 실시예에서는 표적 생물 분자의 유형에 따라 상보적 결합이 가능한 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 항체가 프로브 링커(13)로 적용될 수 있다.
- [0058] 상기와 같은 구성에 따라, 미세 포자(10)의 프로브 링커(13)가 표적 생물 분자, 예를 들어 표적 유전자의 일부 영역과 상보적으로 결합한 상태에서, 외부 자극에 의해 외부막(30)을 파손시키게 되면, 외부막(30) 내부에 수용된 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)가 외부로 노출된다.
- [0059] 이 때, 외부로 노출된 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 구성하는 다수의 폴리뉴클레오티드(IPN)의 뭉침이 풀릴 수 있는 조건을 부여하게 되면 폴리뉴클레오티드(IPN)의 뭉침이 풀려 다수의 폴리뉴클레오티드(IPN)가 방출되는

데, 이와 같이 방출된 다수의 폴리뉴클레오티드(IPN)를 감지하여 표적 생물 분자의 검출이 가능하게 된다.

- [0060] 이를 통해, 하나의 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 구성하는 폴리뉴클레오티드(IPN)의 수를 수만 개로 구성하게 되면, 단 하나의 표적 생물 분자가 미세 포자(10)의 프로브 링커(13)와 결합되더라도 산술적으로 암호화된 수만 개의 폴리뉴클레오티드(IPN)의 검출이 가능하게 되어, 미소량의 표적 생물 분자의 검출이 가능하면서도 유전자 증폭과 같은 과정없이 증폭과 동일 또는 그 이상의 효과를 얻을 수 있어, 검사 시간 및 검사 비용을 현저히 감소시킬 수 있게 된다.
- [0061] 이하에서는, 상술한 미세 포자(10)를 이용하여 표적 생물 분자를 검출하는 검출 시스템(100)에 대해 상세히 설명한다.
- [0062] 본 발명의 일 실시예에 따른 검출 시스템(100)은, 도 3에 도시된 바와 같이, 다수의 미세 포자(10), 포자 수집체(30) 및 센싱부(50)를 포함한다.
- [0063] 각각의 미세 포자(10)는 상술한 바와 같이, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11), 외부막(30) 및 프로브 링커(13)(이하, '제1 프로브 링커'라 함)를 포함하는 바, 그 상세한 설명은 생략한다.
- [0064] 포자 수집체(30)는 미세 파티클(32) 및 프로브 링커(33)(이하, '제2 프로브 링커'라 함)를 포함한다.
- [0065] 미세 파티클(32)은 포자 수집체(30)의 베이스 구조를 형성하는데, 후술할 유동 저지부에 의해 그 유동이 저지된 상태로 미세 포자(10)의 수집 기능을 수행하는데, 그 상세한 설명은 후술한다.
- [0066] 제2 프로브 링커(33)는 미세 파티클(32)의 표면에 형성되어 표적 생물 분자, 예컨대 표적 유전자의 다른 일부 영역, 즉 미세 포자(10)의 제1 프로브 링커(13)가 상보적 결합하는 일부 영역 이외의 다른 일부 영역과 상보적으로 결합한다.
- [0067] 제1 프로브 링커(13)와 마찬가지로, 제2 프로브 링커(33)는 표적 생물 분자의 유형에 따라 상보적 결합이 가능한 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 항체 중 어느 하나의 형태로 마련될 수 있다.
- [0068] 센싱부(50)는 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 구성하는 암호화된 폴리뉴클레오티드(IPN)를 감지한다. 여기서, 센싱부(50)는, 도 3의 (c)에 도시된 바와 같이, 암호화된 폴리뉴클레오티드(IPN)와 상보적인 서열의 검출용 폴리뉴클레오티드(CPN)가 배열된 링커 어레이(51)와, 검출용 폴리뉴클레오티드(CPN)와 상보적 결합하는 폴리뉴클레오티드(IPN)를 감지하는 센서(52)를 포함할 수 있다.
- [0069] 상기와 같은 구성에 따라, 본 발명의 일 실시예에 따른 검출 시스템(100)에 의한 표적 생물 분자의 검출 과정을, 도 3을 참조하여 설명한다.
- [0070] 먼저, 도 3의 (a)에 도시된 바와 같이, 표적 생물 분자의 일부 영역이 제1 프로브 링커(13)와 결합하고, 표적 생물 분자의 다른 일부 영역이 제2 프로브 링커(33)와 결합하여 표적 생물 분자와 결합되는 미세 포자(10)가 포자 수집체(30)로 수집된다.
- [0071] 그리고, 미세 포자(10)가 포자 수집체(30)로 수집된 상태에서 외부 자극에 의해 미세 포자(10)의 외부막(30)이 파손되면, 도 3의 (b)에 도시된 바와 같이, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)가 외부막(30)의 외부로 노출되는 상태가 된다.
- [0072] 여기서, 외부막(30)을 파손시키는 외부 자극은 미세 포자(10)가 수용된 버퍼 환경의 변화나, 초음파 자극이나 레이저 자극과 같은 물리적 자극을 포함할 수 있다. 예컨대, 외부막(30) 중 금속막, 리피드 막, 폴리머 막 및 실리카 막은 pH, 온도, 또는 특정 화학 물질의 투입 등과 같은 버퍼 환경의 변화를 통해 파손이 가능할 것이며, 폴리머 막이나 실리카 막은 초음파 자극에 의한 파손이 가능하고, 리피드 막이나 금속막의 경우 레이저 자극에 의한 파손이 가능할 것이다.
- [0073] 이와 같이, 외부막(30)의 파손에 의해 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)가 외부로 노출된 상태에서, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 뭉침을 풀게 되면 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 구성하는 암호화된 폴리뉴클레오티드(IPN)가 외부로 방출된다.
- [0074] 여기서, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 구성하는 폴리뉴클레오티드(IPN)의 뭉침은 뭉침 풀림 물질을 이용하여 푸는 것을 예로 한다. 뭉침 풀림 물질은 금속 2가 이온과 이온 결합이 용이한 물질로, 예를 들어 에틸렌디아아민테트라아세트산(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)을 투입하게 되면 에틸렌디아아민테트라아세트산과 금속 2가 이온 간의 이온 결합을 통해 폴리뉴클레오티드(IPN)의 뭉침이 풀리게 된다.

- [0075] 이와 같이, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 구성하는 폴리뉴클레오티드(IPN)의 뭉침이 풀리게 되면, 암호화된 폴리뉴클레오티드(IPN)가 방출되어 센싱부(50)로 유동하게 되고, 센싱부(50)의 링커 어레이(51)에 배열된 검출용 폴리뉴클레오티드(CPN)와의 상보적인 결합을 통해 검출되고, 센서(52)가 이를 감지하여 표적 생물 분자의 존재 유무 및 정량적인 검출이 가능하게 된다.
- [0076] 여기서, 센싱부(50)의 링커 어레이(51)에 결합된 폴리뉴클레오티드(IPN)를 센서(52)가 감지하는 방법은 다양한 형태가 적용될 수 있다. 예를 들어, 센서(52)로는 표면 플라즈몬 공명(Surface plasmon resonance, SPR) 센서(52), 형광 센서(52), 질량 분석 기반의 센서(52)가 적용될 수 있다.
- [0077] 표면 플라즈몬 공명 센서(52)는 링커 어레이(51)에 결합되는 폴리뉴클레오티드(IPN)에 의한 공명 조건의 변화에 따라, 폴리뉴클레오티드(IPN)의 감지가 가능하게 된다.
- [0078] 다른 예로, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 구성하는 각 폴리뉴클레오티드(IPN)에 형광 물질 또는 발광 물질을 결합하여 센싱부(50)가 센싱 가능하게 마련할 수 있다. 즉, 각각의 폴리뉴클레오티드(IPN)에 형광 물질 또는 발광 물질을 결합시키고, 센싱부(50)가 이를 감지하는 형광 센서(52) 등을 마련함으로써, 센싱부(50)가 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)에서 방출되는 폴리뉴클레오티드(IPN)를 검출하도록 마련할 수 있다.
- [0079] 다른 예로, 질량 분석 기반의 센서(52)가 적용되는 경우, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)를 구성하는 폴리뉴클레오티드(IPN)에 나노 입자를 결합시키게 되면, 질량 분석 기반의 센서(52)의 감도를 향상시킬 수 있어 보다 정확한 검출이 가능하게 된다.
- [0080] 한편, 본 발명에 따른 검출 시스템(100)은, 도 3에 도시된 바와 같이, 반응 채널(140)과 유동 저지부를 포함할 수 있다. 반응 채널(140)에서는 표적 생물 분자가 포함된 샘플 용액, 미세 포자(10)가 포함된 포자 용액이 유동하여 표적 생물 분자, 미세 포자(10) 및 포자 수집체(30)가 상술한 바와 같이 결합한다.
- [0081] 유동 저지부는 포자 수집체(30)의 유동을 저지하여 표적 생물 분자와 결합한 미세 포자(10)가 반응 채널(140)에 수집되게 한다. 도 3의 (b)에서는 유동 저지부가 포자 수집체(30)의 미세 파티클(32)과의 자력에 의해 포자 수집체(30)의 유동을 저지하는 자성 부재(M)로 마련되는 것을 예로 하고 있으며, 이를 위해 미세 파티클(32)은 자성을 갖거나 자화 가능한 금속 재질로 마련되는 것을 예로 한다.
- [0082] 이와 같은 구성에 따라, 반응 채널(140) 내에 표적 생물 분자와 결합한 미세 포자(10)가 수집된 상태에서, 세척용 버퍼 용액으로 반응하지 않은 샘플 용액을 제거한 후, 상술한 바와 같이, 외부 자극을 인가하게 되면 미세 포자(10)가 수집된 상태에서 폴리뉴클레오티드(IPN)가 방출 가능하게 된다.
- [0083] 도 4는 본 발명의 다른 실시예에 따른 검출 시스템(100a)의 예를 나타낸 도면이다. 도 4에 도시된 실시예에서는 검출 시스템(100a)이 마이크로 칩을 이용하는 것을 예로 하고 있다.
- [0084] 도 4를 참조하여 설명하면, 본 발명의 다른 실시예에 따른 검출 시스템(100a)은 샘플 챔버(110a), 포자 챔버(120a), 반응 채널(140a) 및 센싱부(50a)를 포함할 수 있다.
- [0085] 샘플 챔버(110a)에는 검출 대상인 표적 생물 분자가 포함된 샘플 용액이 수용된다. 그리고, 포자 챔버(120a)에는 다수의 미세 포자(10, 도 1 및 도 2 참조)가 포함된 포자 용액이 수용된다.
- [0086] 샘플 챔버(110a) 및 포자 챔버(120a)는 유동 채널(130a)을 통해 반응 채널(140a)과 연결되는데, 음압 챔버(180a)를 통해 인가되는 음압에 의해 샘플 챔버(110a) 내의 샘플 용액과 포자 챔버(120a) 내의 포자 용액이 유동 채널(130a)을 따라 반응 채널(140a)로 유동하게 된다.
- [0087] 반응 채널(140a)에는 포자 수집체(30)의 유동을 저지하는 유동 저지부가 설치되는데, 도 4에 도시된 실시예에서는 유동 저지부가 패킹 도관(150aa)과 차단 메쉬(151a)를 포함하는 것을 예로 하고 있다.
- [0088] 패킹 도관(150aa)은 반응 채널(140a)의 유동 경로의 일부를 형성하도록 반응 채널(140a) 상에 배치된다. 그리고 패킹 도관(150aa) 내에는 다수의 포자 수집체(30)가 상호 밀착되도록 수용되는데, 포자 수집체(30)의 미세 파티클(32)의 직경에 따라 포자 수집체(30) 간의 공극의 크기가 결정되며, 공극 사이로 이동하는 표적 생물 분자의 일부 영역과 포자 수집체(30)의 제2 프로브 링커(33)가 결합 가능하게 된다. 즉, 포자 수집체(30)가 밀착된 상태에서 그 사이 공간은 공극으로 표적 생물 분자가 이동하게 되어 표적 생물 분자와 포자 수집체(30)의 제2 프로브 링커(33) 간의 결합 가능성이 높아져서 보다 정확한 검출이 가능하게 된다.
- [0089] 그리고 차단 메쉬(151a)는 샘플 용액 및 포자 용액의 유동 방향으로 포자 수집체(30)의 유동이 차단되도록 패킹 도관(150aa)의 유동 방향 끝단에 설치된다. 도 4에서는 패킹 도관(150aa)의 양쪽 끝단에 모두 차단 메쉬(151

a)가 설치되는 것을 예로 도시하고 있다.

- [0090] 한편, 본 발명의 다른 실시예에 따른 검출 시스템(100a)은, 도 4에 도시된 바와 같이, 세척용 버퍼 챔버(160a)와 및 파손 버퍼 챔버(170a)를 포함할 수 있다.
- [0091] 세척용 버퍼 챔버(160a)에는 미세 포자(10)의 외부막(30)을 파손시키기 전 반응 채널(140a) 내의 샘플 용액과 포자 용액을 세척하기 위한 세척용 버퍼 용액이 저장된다. 그리고, 파손 버퍼 챔버(170a)에는 미세 포자(10)의 외부막(30)을 파손시키기 위한 외부 자극으로 버퍼 환경을 변화시키기 위한 파손용 버퍼 용액이나, 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)의 뭉침을 해제시키기 위한 뭉침 풀림 물질, 예를 들어 상술한 에틸렌다이아민테트라아세트산이 용해되어 있는 뭉침 풀림 용액이 수용될 수 있다.
- [0092] 또한, 본 발명에 따른 검출 시스템(100a)은 폐 용액, 즉 샘플 용액, 포자 용액, 세척 용액 등의 폐 용액이 저장되는 폐 용액 챔버(190a)를 포함할 수 있다. 그리고, 각 챔버나 경로에는 마이크로 밸브가 설치되어 그 유동 경로를 단속하도록 마련될 수 있다.
- [0093] 이하에서는, 상기와 같은 구성에 따라 표적 생물 분자를 검출하는 과정에 대해 상세히 설명한다.
- [0094] 먼저, 마이크로 밸브 V2, V4가 온된 상태에서 폐 용액 챔버(190a)를 통해 음압을 인가하게 되면, 샘플 챔버(110a) 및 포자 챔버(120a)로부터 샘플 용액과 포자 용액이 유동 채널(130a)을 통해 반응 채널(140a) 방향으로 유동하게 된다. 이와 같은 유동 과정에서 샘플 용액 내의 표적 생물 분자와 포자 용액 내의 미세 포자(10)의 제1 프로브 링커(13)가 상보적으로 결합하면서 유동 채널(130a)을 통해 반응 채널(140a)로 이동하게 된다.
- [0095] 그리고, 미세 포자(10)와 결합한 표적 생물 분자의 다른 일부 영역은 상술한 바와 같이, 포자 수집체(30) 간의 공극을 통과하면서 포자 수집체(30)의 제2 프로브 링커(33)와 상보적으로 결합하게 되어 미세 포자(10) 및 표적 생물 분자가 포자 수집체(30)가 고정되어 있는 반응 채널(140a)에 수집된다. 여기서, 미세 포자(10)와 결합되지 않은 표적 생물 분자가 반응 채널(140a)에서 포자 수집체(30)와 먼저 결합할 수 있으며, 이 때 포자 수집체(30)와 결합한 표적 생물 분자에 미세 포자(10)가 결합될 수 있음은 물론이다.
- [0096] 일정한 반응 시간이 경과하게 되면, 마이크로 밸브 V2를 오프시키고, 세척용 버퍼 용액을 단속하는 V1을 온시킨 후 다시 폐 용액 챔버(190a)를 통해 음압을 제공하게 되면, 세척용 버퍼 용액이 유동 채널(130a)을 통해 반응 채널(140a)로 이동하면서 유동 채널(130a) 및 반응 채널(140a) 내의 잔존 용액을 제거하면서 폐 용액 챔버(190a)로 유동하게 된다.
- [0097] 상기와 같은 과정을 통해, 반응 채널(140a)에는 포자 수집체(30)에 결합하여 수집된 미세 포자(10) 및 표적 생물 분자가 남아있는 상태가 되고, 마이크로 밸브 V5를 온시키고, V4를 오프시킨 상태에서 반응 채널(140a)로 미세 포자(10)의 외부막(30)을 파손시키기 위한 외부 자극을 인가하게 된다. 여기서, 외부 자극은 파손용 버퍼 용액이 적용될 수 있으며, 상술한 바와 같은 다른 외부 자극의 적용이 가능하다.
- [0098] 그런 다음, 외부 자극에 의해 미세 포자(10)의 외부막(30)이 파손되면, 마이크로 밸브 v을 온시켜, 뭉침 풀림 물질이 포함된 용액이 유동 채널(130a)을 통해 반응 채널(140a)로 이동하게 하고, 뭉침 풀림 물질에 의해 폴리뉴클레오티드(IPN)가 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11)로부터 방출되어 센싱부(50a)로 이동하게 된다.
- [0099] 그리고, 상술한 바와 같이, 센싱부(50a)의 링커 어레이(51, 도 3 참조)에 배열된 검출용 폴리뉴클레오티드(CPN)에 암호화된 폴리뉴클레오티드(IPN)가 결합되면, 센서(52, 도 3 참조)가 이를 감지함으로써, 표적 생물 분자의 검출이 가능하게 된다. 이 때, 센서(52)에 의해 검출된 폴리뉴클레오티드(IPN)의 양에 따라 표적 생물 분자의 정량적인 분석이 가능하게 된다.
- [0100] 또한, 복수 종류의 표적 생물 분자를 동시에 검출하기 위해, 미세 포자(10)의 제1 프로브 링커(13)를 표적 생물 분자의 유형에 따라 달리하여 형성하고 해당 미세 포자(10)의 폴리뉴클레오티드 뭉침부(11) 내의 폴리뉴클레오티드(IPN)를 서로 상이하게 암호화하게 되면, 동시에 여러 종류의 표적 생물 분자의 정량적 및 정성적 분석이 가능하게 된다. 즉, 미세 포자(10)가 각각 상이한 유형의 표적 생물 분자를 검출하기 위한 제1 미세 포자(10), 제2 미세 포자(10), 제3 미세 포자(10) 등으로 구분될 수 있으며, 제1 미세 포자(10), 제2 미세 포자(10) 및 제3 미세 포자(10)의 제1 프로브 링커(13)는 상호 상이한 형태를 가지고, 각각의 미세 포자(10) 내의 폴리뉴클레오티드(IPN)는 서로 다른 형태로 암호화될 수 있다.
- [0101] 비록 본 발명의 몇몇 실시예들이 도시되고 설명되었지만, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 당업자라면 본 발명의 원칙이나 정신에서 벗어나지 않으면서 본 실시예를 변형할 수 있음을 알 수 있을 것이다.

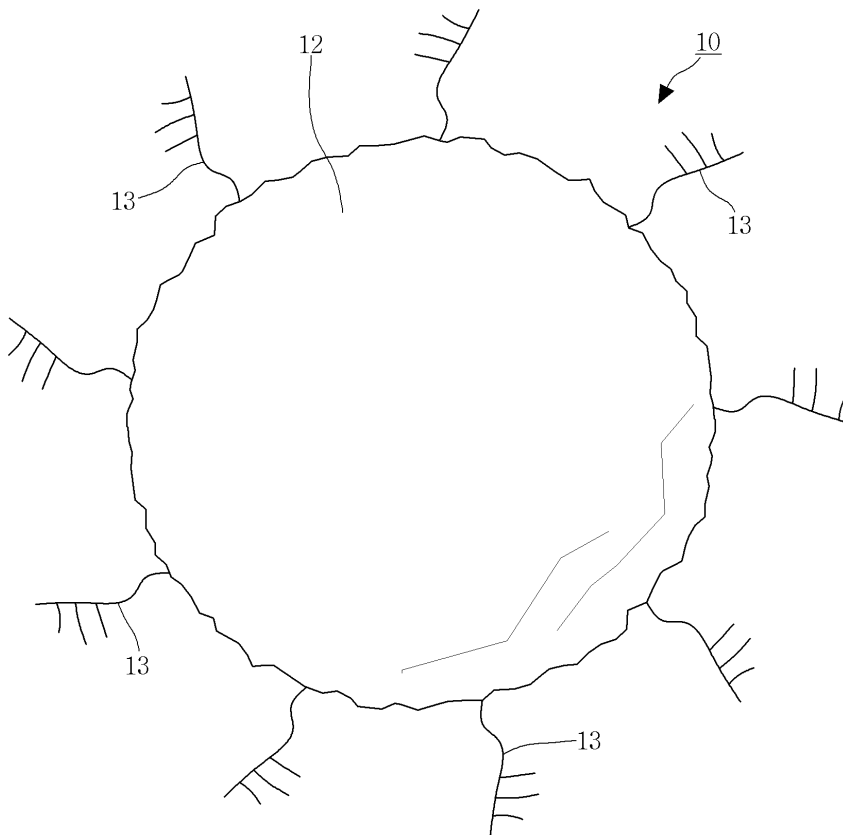
발명의 범위는 첨부된 청구항과 그 균등물에 의해 정해질 것이다.

부호의 설명

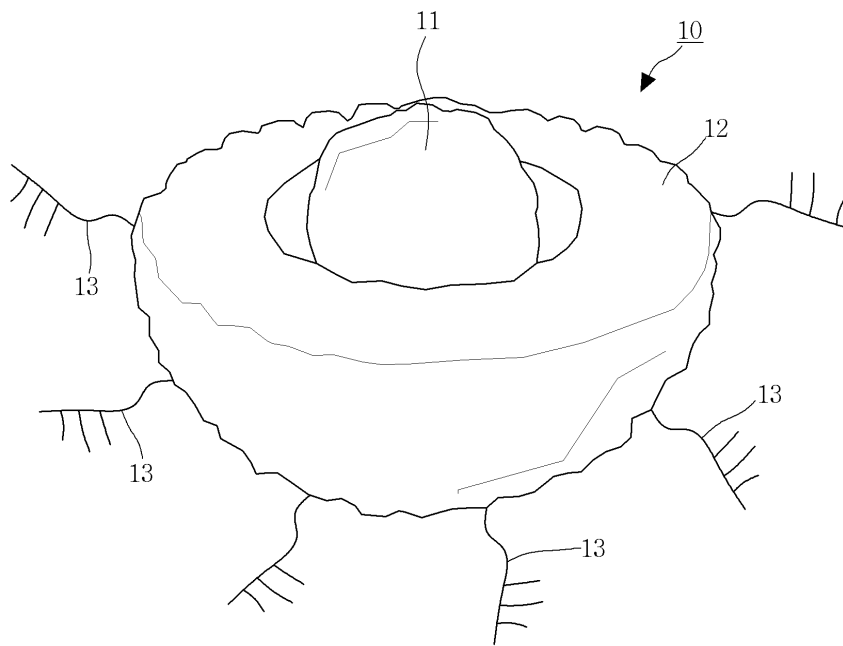
[0102]	10 : 미세 포자	11 : 폴리뉴클레오티드 뭉침부
	12 : 외부막	13 : 제1 프로브 링커
	30 : 포자 수집체	32 : 미세 파티클
	33 : 제2 프로브 링커	50, 50a : 센싱부
	51 : 링커 어레이	52 : 센서
	100, 100a : 검출 시스템	110a : 샘플 챔버
	120a : 포자 챔버	130a : 유동 채널
	140, 140a : 반응 채널	150a : 패킹 도관
	151a : 차단 메쉬	160a : 세척용 버퍼 챔버
	170a : 파손 버퍼 챔버	180a : 음압 챔버
	190a : 폐 용액 챔버	M : 자성 부재
	IPN : 폴리뉴클레오티드	CPN : 검출용 폴리뉴클레오티드

도면

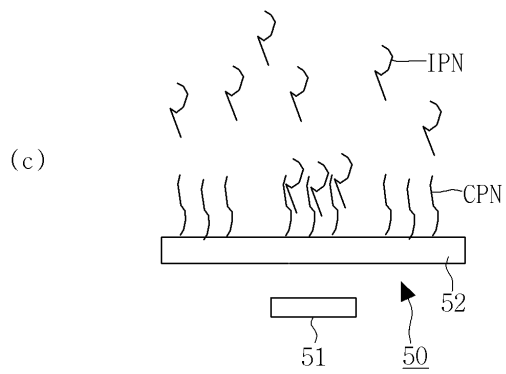
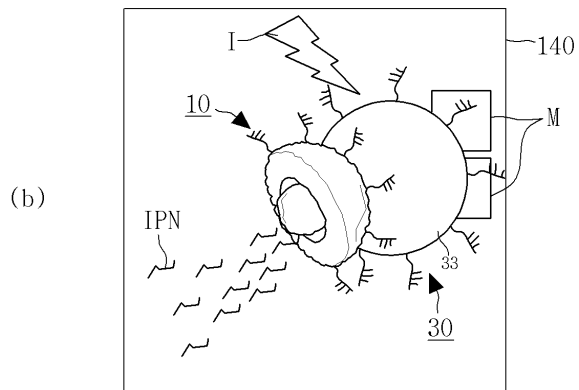
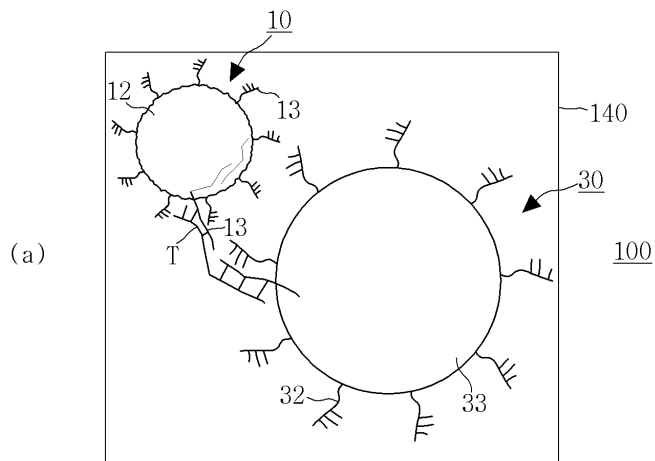
도면1



도면2



도면3



도면4

