



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0020004
(43) 공개일자 2020년02월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 29/02 (2006.01) G01N 29/036 (2006.01)
G01N 33/553 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 29/022 (2013.01)
G01N 29/036 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7003795
(22) 출원일자(국제) 2018년07월05일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년02월07일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/040887
(87) 국제공개번호 WO 2019/010285
국제공개일자 2019년01월10일
(30) 우선권주장
62/529,986 2017년07월07일 미국(US)
62/530,735 2017년07월10일 미국(US)

(71) 출원인
아비아나 몰레큘라 테크놀로지스 엘엘씨
미국 펜실베이니아 19096 와인우드 이스트 란캐스터
애비뉴 100 란켄아우 인스티튜트 포 메디칼 리서
치
(72) 발명자
다스, 소먼
미국 32826 플로리다 올랜도 솔론 드라이브 12001
아파트먼트 202
햄핀, 존 마틴
미국 21044 메릴랜드 컬럼비아 하이 휠스 코트
5319
굽타, 아미타바
미국 24018 버지니아 로아노크 폭스 덴 로드 5322
(74) 대리인
박장원

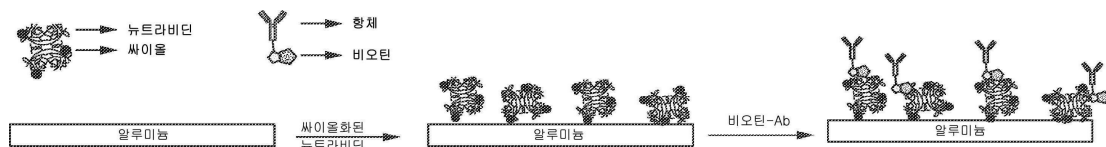
전체 청구항 수 : 총 83 항

(54) 발명의 명칭 표면 탄성과 센서용 바이오활성 코팅

(57) 요약

탄성과 바이오센서 구성요소가 제공된다. 탄성과 바이오센서는 유효 감지 영역의 표면을 증가시키기 위해 3D 매트릭스 미세구조를 가지거나 가지지 않는 압전 기관, 및 압전 기관에 공유 결합된 앵커 물질을 포함하며, 앵커 물질은 포획 시약에 결합할 수 있다. 3D 바이오센서 표면의 제조 방법 및 앵커 물질을 포함하는 바이오활성 필름으로 압전 재료의 표면을 코팅하는 구성요소가 또한 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

G01N 33/553 (2013.01)

G01N 2291/0255 (2013.01)

G01N 2291/0256 (2013.01)

G01N 2291/0422 (2013.01)

G01N 2291/0423 (2013.01)

G01N 2291/0426 (2013.01)

G01N 2291/0427 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는, 바이오센서 구성요소:

금속으로 코팅된 기관; 및

결합 단백질 및 적어도 하나의 항 원자를 가지는 작용기를 포함하는 앵커 물질,

여기서 상기 앵커 물질은 작용기를 통해 금속에 직접적으로 결합하여 금속 코팅된 기관 상에 모노레이어를 형성하고; 앵커 물질은 포획 시약에 커플링하도록 구성되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 금속은 알루미늄, 금, 및 알루미늄-합금 이의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 3

청구항 1 또는 2에 있어서, 금속은 알루미늄인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 4

청구항 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 작용기는 싸이올 기인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 5

청구항 1 내지 4 중 어느 한 항에 있어서, 결합 단백질은 아비딘, 올리고뉴클레오타이드, 항체, 아피머, 압타머, 또는 폴리뉴클레오타이드인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 6

청구항 1 내지 5 중 어느 한 항에 있어서, 결합 단백질은 뉴트라비딘, 천연 아비딘, 스트렙타비딘, 및 이의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 아비딘인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 7

청구항 1 내지 6 중 어느 한 항에 있어서, 포획 시약은 앵커 물질의 결합 단백질에 결합하기 위한 비오틴 모이어티를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 8

청구항 1 내지 7 중 어느 한 항에 있어서, 포획 시약은 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 소분자 또는 단백질에 결합하기 위한 모이어티를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 모이어티는 항체, 아피머, 또는 압타머로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 10

청구항 1 내지 9 중 어느 한 항에 있어서, 탄성과 변환기를 추가로 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 탄성과 변환기는 벌크 탄성파를 발생시키는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 벌크 탄성파는 두께 전단 모드, 음향 플레이트 모드, 및 수평 플레이트 모드로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 13

청구항 1 내지 12 중 어느 한 항에 있어서, 바이오센서 구성요소는 필름 벌크 탄성파 공진기-기반 (FBAR-기반) 장치인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 14

청구항 10에 있어서, 탄성파 변환기는 표면 탄성파를 발생시키는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 표면 탄성파는 전단 수평 표면 탄성파, 표면 횡파, 레일리파, 및 러브파로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 16

청구항 1 내지 15 중 어느 한 항에 있어서, 기관은 압전 재료를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 17

청구항 1 내지 16 중 어느 한 항에 있어서, 금속은 기관 상에 직접 코팅되는 것인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 18

청구항 1 내지 17 중 어느 한 항에 있어서, 기관 유전체 레이어를 추가로 포함하며 금속은 상기 유전체 레이어에 코팅되는 것인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 19

청구항 1 내지 18 중 어느 한 항의 바이오센서 구성요소를 포함하는 것인 벌크 파 공진기.

청구항 20

다음의 단계를 포함하는, 금속 재료의 표면을 바이오활성 필름으로 코팅하는 공정:

앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속 재료의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성하는 단계로서, 여기서 앵커 물질은 결합 단백질 및 적어도 하나의 황을 가지는 작용기를 포함하는 단계; 및

비오틴화 포획 시약을 포함하는 제2 조성물을 앵커 물질의 모노레이어에 도포하는 단계로서, 여기서 비오틴화 포획 시약은 결합 단백질을 통해 앵커 물질에 결합하여 비오틴화 포획 시약 레이어를 형성하는 단계.

청구항 21

청구항 17에 있어서, 앵커 물질의 표면을 플라즈마 세정하는 단계를 추가로 포함하는 것인 공정.

청구항 22

다음에 포함하는, 바이오센서 구성요소:

압전 기관; 및

압전 기관에 결합된 앵커 물질로서, 여기서 상기 앵커 물질은 스페이서 및 결합 구성요소, 및 포획 시약을 포함하며, 상기 앵커 물질은 결합 구성요소를 통해 포획 시약과 커플링되는 물질.

청구항 23

청구항 22에 있어서, 결합 구성요소는 결합 단백질인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 24

청구항 23에 있어서, 결합 단백질은 아비딘, 올리고뉴클레오타이드, 항체, 아피머, 압타머, 또는 폴리뉴클레오타이드인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 25

청구항 22 내지 24 중 어느 한 항에 있어서, 결합 단백질은 뉴트라비딘, 천연 아비딘, 스트렙타비딘, 및 이의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 아비딘인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 26

청구항 22에 있어서, 결합 구성요소는 하나 이상의 작용기를 가지는 결합 화합물인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 결합 화합물은 N-하이드록시석신이미드 (NHS), 설폰-NHS, 에폭시, 카복실 산, 카보닐, 말레이미드 및 아민 중 하나 이상의 작용기 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 28

청구항 22 내지 27 중 어느 한 항에 있어서, 스페이서는 중합체 링커인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 29

청구항 28에 있어서, 중합체 링커는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐 알코올, 또는 폴리아크릴레이트인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 30

청구항 23에 있어서, 중합체 링커는 폴리에틸렌 글리콜인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 31

청구항 22 내지 30 중 어느 한 항에 있어서, 앵커 물질은 압전 기관의 표면 상에 레이어를 형성하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 32

청구항 31에 있어서, 모노레이어 앵커 물질은 압전 기관의 표면 상에 자가-조립식 모노레이어를 형성하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 33

청구항 22 내지 32 중 어느 한 항에 있어서, 앵커 물질의 결합 단백질은 스페이서를 통해 압전 물질의 표면으로부터 떨어져 연장되는 것인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 34

청구항 22 내지 33 중 어느 한 항에 있어서, 압전 기관은 퀴츠 리튬 니오베이트 및 탄탈레이트, 36° Y 퀴츠, 36° YX 리튬 탄탈레이트, 란가사이트, 란가테이트, 란가나이트, 리드 지르코네이트 티타네이트, 카드뮴 셀파이드, 베를리나이트, 리튬 아이오다이트, 리튬 테트라보레이트, 비스무스 게르마늄 옥사이드, 징크 옥사이드, 알루미늄 나이트라이드, 및 갈륨 나이트라이드로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 35

청구항 22 내지 34 중 어느 한 항에 있어서, 하우징 및 유체 챔버를 추가로 포함하며, 여기서 앵커 레이어를 보유하는 압전 재료의 표면은 챔버의 벽을 형성하는 것인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 36

청구항 22 내지 35 중 어느 한 항에 있어서, 앵커 물질은 실란 기를 통해 압전 기관의 표면에 결합하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 37

청구항 22 내지 36 중 어느 한 항에 있어서, 결합 단백질은 아비딘, 올리고뉴클레오타이드, 항체, 아피머, 압타머, 또는 폴리뉴클레오타이드인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 38

청구항 22 내지 37 중 어느 한 항에 있어서, 결합 단백질은 뉴트라비딘, 천연 아비딘, 스트렙타비딘, 및 이의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 아비딘인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 39

청구항 22 내지 38 중 어느 한 항에 있어서, 포획 시약을 추가로 포함하며, 상기 포획 시약은 앵커 물질의 결합 단백질에 결합하기 위한 비오틴 모이어티를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 40

청구항 22 내지 39 중 어느 한 항에 있어서, 포획 시약은 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 단백질 또는 소분자에 결합하기 위한 제3 모이어티를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 41

청구항 22 내지 40 중 어느 한 항에 있어서, 탄성과 변환기를 추가로 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 42

청구항 41에 있어서, 탄성과 변환기는 벌크 탄성파를 발생시키는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 43

청구항 42에 있어서, 벌크 탄성파는 두께 전단 모드, 음향 플레이트 모드, 및 수평 플레이트 모드로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 44

청구항 22 내지 43 중 어느 한 항에 있어서, 바이오센서 구성요소는 필름 벌크 탄성파 공진기-기반 (FBAR-기반) 장치인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 45

청구항 41에 있어서, 탄성과 변환기는 표면 탄성파를 발생시키는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 46

청구항 45에 있어서, 표면 탄성파는 전단 수평 표면 탄성파, 표면 횡파, 레일리파, 및 러브파로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 47

청구항 22 내지 46 중 어느 한 항의 바이오센서 구성요소를 포함하는 것인 벌크 파 공진기.

청구항 48

다음의 단계를 포함하는, 압전 재료의 표면을 바이오필름으로 코팅하는 공정:

앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속으로 코팅된 기관의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성하는 단계로서, 여기서 앵커 물질이 결합 구성요소에 커플링된 스페이서를 포함하는 단계; 및

비오틴닐화 포획 시약을 포함하는 제2 조성물을 앵커 물질의 모노레이어에 도포하는 단계로서, 여기서 비오틴닐화 포획 시약이 앵커 물질의 결합 구성요소를 통해 앵커 물질에 결합하여 비오틴닐화 포획 시약 레이어를 형성하는 단계.

청구항 49

다음의 단계를 포함하는, 샘플에서 분석물의 존재 또는 양 방법을 결정하는 방법:

청구항 1 내지 15 및 22 내지 46 중 어느 한 항의 바이오센서 구성요소를 샘플과 접촉시키는 단계;

코팅된 기관에 걸쳐 탄성파를 발생시키는 단계; 및 포획 시약에 결합한 분석물의 결과로서 탄성파의 진폭, 위상 또는 주파수의 임의의 변화를 측정하는 단계.

청구항 50

다음에 포함하는, 바이오센서 구성요소:

압전 기관; 및

압전 기관 상에 고정된 포획 시약, 여기서 압전 기관은 압전 기관 상에 고정된 포획 시약의 수를 증가시키도록 구성된 3 차원 (3D) 매트릭스 미세구조를 포함하고, 여기서 포획 시약은 3D 매트릭스 미세구조에 대한 결합을 통해 압전 기관 상에 고정되는 바이오센서 구성 요소.

청구항 51

청구항 50에 있어서, 3D 매트릭스 미세구조는 복수의 홀을 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 52

청구항 50 또는 52에 있어서, 3D 매트릭스 미세구조는 포획제의 마이크로어레이를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 53

청구항 50 내지 52 중 어느 한 항에 있어서, 3D 매트릭스 미세구조는 하이드로겔 매트릭스를 포함하는 것인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 54

청구항 50에 있어서, 하이드로겔 매트릭스는 복수의 홀을 포함하는 것인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 55

청구항 53에 있어서, 하이드로겔 매트릭스는 가교된 중합체를 포함하는 것인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 56

청구항 53에 있어서, 가교된 중합체는 친수성인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 57

청구항 50 내지 52 중 어느 한 항에 있어서, 3D 매트릭스 미세구조는 덴드리머를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 58

청구항 50 내지 57 중 어느 한 항에 있어서, 3D 매트릭스 미세구조는 수소 매트릭스의 마이크로어레이를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 59

청구항 50 내지 57 중 어느 한 항에 있어서, 3D 매트릭스 미세구조는 수소 매트릭스의 레이어를 포함하는 것인

바이오센서 구성요소.

청구항 60

청구항 56 내지 61 중 어느 한 항에 있어서, 하이드로겔 매트릭스는 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 유기 소분자, 폴리펩타이드, 또는 단백질에 대해 불투과성인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 61

청구항 50 내지 61 중 어느 한 항에 있어서, 포획 시약을 3D 매트릭스 미세구조 또는 압전 물질에 부착하는 앵커 물질을 추가로 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 62

청구항 50 내지 61 중 어느 한 항에 있어서, 포획 시약은 앵커 물질의 결합 단백질에 결합하기 위한 비오틴 모이어티를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 63

청구항 50 내지 62 중 어느 한 항에 있어서, 포획 시약은 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 유기 소분자, 폴리펩타이드, 또는 단백질에 결합하기 위한 모이어티를 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 64

청구항 63에 있어서, 모이어티는 항체, 아피머, 또는 압타머로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 65

청구항 60 내지 64 중 어느 한 항에 있어서, 앵커 물질을 추가로 포함하는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 66

청구항 65에 있어서, 탄성과 변환기는 벌크 탄성파를 발생시키는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 67

청구항 66에 있어서, 벌크 탄성파는 두께 전단 모드, 음향 플레이트 모드, 및 수평 플레이트 모드로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 68

청구항 50 내지 67 중 어느 한 항에 있어서, 바이오센서 구성요소는 필름 벌크 탄성파 공진기-기반 (FBAR-기반) 장치인 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 69

청구항 68에 있어서, 탄성과 변환기는 표면 탄성파를 발생시키는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 70

청구항 45에 있어서, 표면 탄성파는 전단 수평 표면 탄성파, 표면 횡파, 레일리파, 및 러브파로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 바이오센서 구성요소.

청구항 71

청구항 50 내지 70 중 어느 한 항의 바이오센서 구성요소를 포함하는 것인 벌크 파 공진기.

청구항 72

다음의 단계를 포함하는, 바이오센서 구성요소의 제조 방법:

압전 기관의 표면적을 증가시키기 위해 압전 기관 상에 3D 매트릭스 미세구조를 형성하는 단계, 및
하나 이상의 포획 시약을 압전 기관 상에 고정하는 단계.

청구항 73

청구항 72에 있어서, 압전 기관 상에 홀을 형성하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 74

청구항 72 또는 73에 있어서, 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스를 형성하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 75

청구항 72 내지 74 중 어느 한 항에 있어서, 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스의 마이크로어레이를 형성하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 76

청구항 72 내지 75 중 어느 한 항에 있어서, 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스의 레이어를 형성하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 77

청구항 72 내지 76 중 어느 한 항에 있어서, 하이드로겔 매트릭스는 복수의 홀을 포함하는 것인 것인 방법.

청구항 78

청구항 72에 있어서, 리포그래피 인쇄를 사용하여 압전 기관 상에 포획 시약의 마이크로어레이를 형성하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 79

청구항 72에 있어서, 압전 기관 상에 텐드리머 레이어를 형성하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 80

다음의 단계를 포함하는, 샘플에서 분석물의 존재 또는 양 방법을 결정하는 방법:

청구항 50 내지 70 중 어느 한 항의 바이오센서 구성요소를 샘플과 접촉시키는 단계; 및

금속 기관에 걸쳐 탄성파를 발생시키는 단계; 및 포획 시약에 결합한 분석물의 결과로서 탄성파의 진폭, 위상 또는 주파수의 임의의 변화를 샘플로서 측정하는 단계.

청구항 81

청구항 59 내지 80에 있어서, 샘플은 환경적 또는 생물학적 샘플인 것인 방법.

청구항 82

청구항 81에 있어서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈청, 혈장, 소변, 가래 또는 대변인 것인 방법.

청구항 83

청구항 49, 81 및 82 중 어느 한 항에 있어서, 탄성파는 입력 주파수가 약 100 내지 3000 MHz인 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

관련 출원의 상호 참조

[0001]

[0002] 본 출원은 2017년 7월 7일자 미국 가출원 제62/529,986호 및 2017년 7월 10일자 미국 가출원 제62/530,735호의 우선권을 주장하며, 상기 특허 각각은 본 명세서에 그 전체가 참조 문헌으로 포함된다.

[0003] **분야**

[0004] 본 발명은 일반적으로 표면 탄성과 기술(surface acoustic wave)의 압전 표면을 사용하여 미세유체를 가지는 단일 또는 다중 바이오센서 장치의 바이오활성 코팅 방법 및 3D 변형에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 압전 결정 또는 금속의 표면을 바이오-코팅하여, 3 차원 (3D) 표면을 생성하고, 포획제 결합의 밀도를 증가시켜, 잠재적으로 감염된 환자 또는 동물의 생물학적 샘플, 완충액 중 소분자, 핵산 서열, 단백질, 항체 및 세포의 신속한 검출을 위해 샌드위치 분석을 구현하는 감도를 향상시키고, 바이오센서에 기반한 표면 탄성의 개발에 적합한 플랫폼 기술을 생성하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 진단이 없으면 의학은 판단력을 잃으므로, 진단 영역에서 질병과 위협을 빠르고 정확하게 식별하는 것이 핵심이다. 생물학적 현상을 진단하기 위해 사용되는 검출 기술은 전통적으로 광 및 화학적 센서를 사용하였으며, 최근 음향 기술의 발전은 바이오-센싱에 음향 방법을 잠재적으로 사용하도록 하였다. 음향 방법은 기본 감지 특성으로서 탄성과 (즉, 매우 높은 주파수 음향)를 생성하여, 전기적인 신호에 응답하는 응답성 압전 재료의 기능을 활용한다. 탄성파가 탄성과 센서 재료의 표면을 통해 또는 표면 상에서 전파될 때, 분석물의 결합은 질량 로딩을 도입하고 및/또는 파동 경로에서의 점도 변화가 표면 탄성 또는 벌크 파의 속도 및/또는 진폭에 영향을 줄 수 있다. 이러한 변화는 표면에 결합된 상응하는 양과 관련이 있을 수 있으며 상기 분석물의 감지/검출을 제공하기 위해 측정되고 있다. 불행하게도, 표적 분자와 센서 표면 사이의 결합이 약할 수 있으므로, 탄성과 센서는 종종 감도가 부족하며 표적과 함께 제시될 때 효과적으로 작동하지 않는다. 이와 같이, 생체분자/대상 분석물을 표면에 효과적으로 결합시켜, 검출 감도를 향상시키는, 안정적인고, 고강도의 수용체 분자 고정화에 대한 필요성이 존재한다.

발명의 내용

[0006] 하나의 양태에서, 본 발명은 금속으로 코팅된 기관; 및 결합 단백질 및 적어도 하나의 항 원자를 가지는 작용기를 포함하는 앵커 물질(anchor substance)을 포함하는 바이오센서 구성요소를 제공하며, 여기서 앵커 물질은 작용기를 통해 금속에 직접적으로 결합하여 금속 코팅된 기관 상에 모노레이어를 형성하고; 앵커 물질은 포획 시약에 커플링하도록 구성된다.

[0007] 하나의 구현예에서, 금속은 알루미늄, 금, 및 알루미늄-합금 및 이의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0008] 하나의 구현예에서, 금속은 알루미늄이다.

[0009] 하나의 구현예에서, 작용기는 싸이올 기이다.

[0010] 하나의 구현예에서, 결합 단백질은 아비딘, 올리고뉴클레오타이드, 항체, 아피머, 압타머, 또는 폴리뉴클레오타이드이다.

[0011] 하나의 구현예에서, 결합 단백질은 뉴트라비딘, 천연 아비딘, 스트렙타비딘, 및 이의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 아비딘이다.

[0012] 하나의 구현예에서, 포획 시약은 앵커 물질의 결합 단백질에 결합하기 위한 비오틴 모이어티를 포함한다.

[0013] 하나의 구현예에서, 포획 시약은 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 소분자 또는 단백질에 결합하기 위한 모이어티를 포함한다.

[0014] 하나의 구현예에서, 모이어티는 항체, 아피머, 또는 압타머로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0015] 하나의 구현예에서, 바이오센서는 탄성과 변환기를 추가로 포함한다.

[0016] 하나의 구현예에서, 탄성과 변환기는 벌크 탄성파를 생성한다.

[0017] 하나의 구현예에서, 벌크 탄성파는 두께 전단 모드(thickness shear mode), 음향 플레이트 모드(acoustic plate mode), 및 수평 플레이트 모드(horizontal plate mode)로 구성된 군으로부터 선택된다.

- [0018] 하나의 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 필름 벌크 탄성과 공진기-기반 (film bulk acoustic-wave resonator, FBAR-기반) 장치이다.
- [0019] 하나의 구현예에서, 탄성과 변환기는 표면 탄성파를 생성한다.
- [0020] 하나의 구현예에서, 표면 탄성파는 전단 수평 표면 탄성파(shear horizontal surface acoustic wave), 표면 횡파(surface traverse wave), 레일리파(Rayleigh wave), 및 러브파(love wave)로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0021] 하나의 구현예에서, 기관은 압전 재료를 포함한다.
- [0022] 하나의 구현예에서, 금속은 기관 상에 직접 코팅된다.
- [0023] 하나의 구현예에서, 기관은 유전체 레이어를 추가로 포함하고, 금속은 유전체 레이어에 코팅된다.
- [0024] 하나의 양태에서, 본 발명은 전술한 바이오센서 구성요소 중 임의의 하나를 포함하는 벌크 파 공진기를 제공한다.
- [0025] 하나의 양태에서, 본 발명은 금속 재료의 표면을 바이오활성 필름으로 코팅하는 공정을 제공하며, 상기 공정은 다음의 단계를 포함한다: 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속 재료의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성하는 단계로서, 여기서 앵커 물질이 결합 단백질 및 적어도 하나의 황을 가지는 작용기를 포함하는 단계; 및 비오틴화 포획 시약을 포함하는 제2 조성물을 앵커 물질의 모노레이어에 도포하는 단계로서, 여기서 비오틴화 포획 시약이 결합 단백질을 통해 앵커 물질에 결합하여 비오틴화 포획 시약 레이어를 형성하는 단계.
- [0026] 하나의 구현예에서, 앵커 물질의 표면은 플라즈마 세정된다.
- [0027] 하나의 양태에서, 본 발명은 다음을 포함하는 바이오센서 구성요소를 제공한다: 압전 기관; 압전 기관에 결합된 앵커 물질, (여기서 앵커 물질은 스페이서 및 결합 구성요소를 포함), 및 포획 시약, 여기서 앵커 물질은 결합 구성요소를 통해 포획 시약에 커플링된다.
- [0028] 하나의 구현예에서, 결합 구성요소는 결합 단백질이다.
- [0029] 하나의 구현예에서, 결합 단백질은 아비딘, 올리고뉴클레오타이드, 항체, 아피머, 압타머, 또는 폴리뉴클레오타이드이다.
- [0030] 하나의 구현예에서, 결합 단백질은 뉴트라비딘, 천연 아비딘, 스트렙타비딘, 및 이의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 아비딘이다.
- [0031] 하나의 구현예에서, 결합 구성요소는 하나 이상의 작용기를 가지는 결합 화합물이다.
- [0032] 하나의 구현예에서, 결합 화합물은 N-하이드록시석신이미드 (NHS), 설폰-NHS, 에폭시, 카복실 산, 카보닐, 말레이미드 및 아민으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 작용기를 가진다.
- [0033] 하나의 구현예에서, 스페이서는 중합체 링커이다.
- [0034] 하나의 구현예에서, 중합체 링커는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐 알코올, 또는 폴리아크릴레이트이다.
- [0035] 하나의 구현예에서, 중합체 링커는 폴리에틸렌 글리콜이다.
- [0036] 하나의 구현예에서, 앵커 물질은 압전 기관의 표면 상에 레이어를 형성한다.
- [0037] 하나의 구현예에서, 모노레이어 앵커 물질은 압전 기관의 표면 상에 자가-조립식 모노레이어를 형성한다.
- [0038] 하나의 구현예에서, 앵커 물질의 결합 단백질은 스페이서를 통해 압전 물질의 표면으로부터 떨어져 연장된다.
- [0039] 하나의 구현예에서, 압전 기관은 퀴즈 리튬 니오베이트 및 탄탈레이트(quartz lithium niobate and tantalate), 36 ° Y 퀴즈(36° Y quartz), 36 ° YX 리튬 탄탈레이트(36° YX lithium tantalate), 랑가사이트(langasite), 랑가테이트(langatate), 랑가나이트(langanite), 리드 지르코네이트 티타네이트(lead zirconate titanate), 카드뮴 설파이드(cadmium sulfide), 베를리나이트(berlinite), 리튬 아이오데이트(lithium iodate), 리튬 테트라보레이트(lithium tetraborate), 비스무스 게르마늄 옥사이드(bismuth germanium oxide), 징크 옥사이드(Zinc oxide), 알루미늄 나이트라이드(aluminium nitride), 및 갈륨 나이트라이드(gallium nitride)로 구성된 군으로부터 선택된다.

- [0040] 하나의 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 하우징 및 유체 챔버를 추가로 포함하며, 여기서 앵커 레이어를 보유하는 압전 재료의 표면이 챔버의 벽을 형성한다.
- [0041] 하나의 구현예에서, 앵커 물질은 실란 기를 통해 압전 기관의 표면에 결합한다.
- [0042] 하나의 구현예에서, 결합 단백질은 아비딘, 올리고뉴클레오타이드, 항체, 아피머, 압타머, 또는 폴리뉴클레오타이드이다.
- [0043] 하나의 구현예에서, 결합 단백질은 뉴트라비딘, 천연 아비딘, 스트렙타비딘, 및 이의 임의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된 아비딘이다.
- [0044] 하나의 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 포획 시약을 추가로 포함하며, 여기서 포획 시약은 앵커 물질의 결합 단백질에 결합하기 위한 비오틴 모이어티를 포함한다.
- [0045] 하나의 구현예에서, 포획 시약은 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 단백질 또는 소분자에 결합하기 위한 제3 모이어티를 포함한다.
- [0046] 하나의 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 탄성과 변환기를 추가로 포함한다.
- [0047] 하나의 구현예에서, 탄성과 변환기는 벌크 탄성파를 생성한다.
- [0048] 하나의 구현예에서, 벌크 탄성파는 두께 전단 모드, 음향 플레이트 모드, 및 수평 플레이트 모드로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0049] 하나의 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 필름 벌크 탄성파 공진기-기반 (FBAR-기반) 장치이다.
- [0050] 하나의 구현예에서, 탄성과 변환기는 표면 탄성파를 생성한다.
- [0051] 하나의 구현예에서, 표면 탄성파는 전단 수평 표면 탄성파, 표면 횡파, 레일리파, 및 러브파로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0052] 하나의 양태에서, 본 발명은 전술한 바이오센서 구성요소 중 임의의 하나를 포함하는 벌크 파 공진기를 제공한다.
- [0053] 하나의 양태에서, 본 발명은 압전 재료의 표면을 바이오필름으로 코팅하는 공정을 제공하며, 상기 공정은 다음의 단계를 포함한다: 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속으로 코팅된 기관의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성하는 단계로서, 여기서 앵커 물질이 결합 구성요소에 커플링된 스페이서를 포함하는 단계; 비오틴화 포획 시약을 포함하는 제2 조성물을 앵커 물질의 모노레이어에 도포하는 단계로서, 여기서 비오틴화 포획 시약이 앵커 물질의 결합 구성요소를 통해 앵커 물질에 결합하여 비오틴화 포획 시약 레이어를 형성하는 단계.
- [0054] 하나의 양태에서, 본 발명은 샘플에서 분석물의 존재 또는 양을 결정하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 다음의 단계를 포함한다: 전술한 임의의 바이오센서 구성요소 중 하나를 샘플과 접촉시키는 단계; 코팅된 기관에 걸쳐 탄성파를 발생시키는 단계; 및 포획 시약에 대한 분석물의 결과로서 탄성파의 진폭, 위상 또는 주파수의 임의의 변화를 측정하는 단계.
- [0055] 하나의 양태에서, 본 발명은 다음을 포함하는 바이오센서 구성요소를 제공한다: 압전 기관; 및 압전 기관 상에 고정된 포획 시약, 여기서 압전 기관은 압전 기관 상에 고정된 포획 시약의 수를 증가시키도록 구성된 3 차원 (3D) 매트릭스 미세구조를 포함하고, 여기서 포획 시약은 3D 매트릭스 미세구조에 대한 결합을 통해 압전 기관 상에 고정된다.
- [0056] 하나의 구현예에서, 3D 매트릭스 미세구조는 복수의 홀을 포함한다.
- [0057] 하나의 구현예에서, 3D 매트릭스 미세구조는 포획제의 마이크로어레이를 포함한다.
- [0058] 하나의 구현예에서, 3D 매트릭스 미세구조는 하이드로겔 매트릭스를 포함한다.
- [0059] 하나의 구현예에서, 하이드로겔 매트릭스는 복수의 홀을 포함한다.
- [0060] 하나의 구현예에서, 하이드로겔 매트릭스는 가교된 중합체를 포함한다.
- [0061] 하나의 구현예에서, 가교된 중합체는 친수성이다.

- [0062] 하나의 구현예에서, 3D 매트릭스 미세구조는 텐드리머를 포함한다.
- [0063] 하나의 구현예에서, 3D 매트릭스 미세구조는 수소 매트릭스의 마이크로어레이를 포함한다.
- [0064] 하나의 구현예에서, 3D 매트릭스 미세구조는 수소 매트릭스의 레이어를 포함한다.
- [0065] 하나의 구현예에서, 하이드로겔 매트릭스는 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 유기 소분자, 폴리펩타이드, 또는 단백질에 대해 불투과성이다.
- [0066] 하나의 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 3D 매트릭스 미세구조 또는 압전 물질에 포획 시약을 부착하는 앵커 물질을 추가로 포함한다.
- [0067] 하나의 구현예에서, 포획 시약은 앵커 물질의 결합 단백질에 결합하기 위한 비오틴 모이어티를 포함한다.
- [0068] 하나의 구현예에서, 포획 시약은 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 유기 소분자, 폴리펩타이드, 또는 단백질에 결합하기 위한 모이어티를 포함한다.
- [0069] 하나의 구현예에서, 모이어티는 항체, 아피머, 또는 압타머로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0070] 하나의 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 앵커 물질을 추가로 포함한다.
- [0071] 하나의 구현예에서, 탄성과 변환기는 벌크 탄성과를 생성한다.
- [0072] 하나의 구현예에서, 벌크 탄성과는 두께 전단 모드, 음향 플레이트 모드, 및 수평 플레이트 모드로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0073] 하나의 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 필름 벌크 탄성과 공진기-기반 (FBAR-기반) 장치이다.
- [0074] 하나의 구현예에서, 탄성과 변환기는 표면 탄성과를 생성한다.
- [0075] 하나의 구현예에서, 표면 탄성과는 전단 수평 표면 탄성과, 표면 횡파, 레일리파, 및 러브파로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0076] 하나의 양태에서, 본 발명은 전술한 바이오센서 구성요소 중 임의의 하나를 포함하는 벌크 파 공진기를 제공한다.
- [0077] 하나의 양태에서, 본 발명은 바이오센서 구성요소를 제조하는 방법을 제공하며, 다음의 단계를 포함한다: 압전 기관의 표면적을 증가시키기 위해 압전 기관 상에 3D 매트릭스 미세구조를 형성하는 단계; 및 하나 이상의 포획 시약을 압전 기관 상에 고정하는 단계.
- [0078] 하나의 구현예에서, 본 발명은 압전 기관 상의 홀을 형성하는 단계를 포함한다.
- [0079] 하나의 구현예에서, 상기 방법은 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스를 형성하는 단계를 포함한다.
- [0080] 하나의 구현예에서, 상기 방법은 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스의 마이크로어레이를 형성하는 단계를 포함한다.
- [0081] 하나의 구현예에서, 상기 방법은 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스의 레이어를 형성하는 단계를 포함한다.
- [0082] 하나의 구현예에서, 하이드로겔 매트릭스는 복수의 홀을 포함한다.
- [0083] 하나의 구현예에서, 상기 방법은 리포그래피 인쇄를 사용하여 압전 기관 상에 포획 시약의 마이크로어레이를 형성하는 단계를 포함한다.
- [0084] 하나의 구현예에서, 상기 방법은 압전 기관 상에 텐드리머 레이어를 형성하는 단계를 포함한다.
- [0085] 하나의 양태에서, 본 발명은 샘플에서 분석물의 존재 또는 양을 결정하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 다음의 단계를 포함한다: 전술한 임의의 바이오센서 구성요소 중 하나를 샘플과 접촉시키는 단계; 금속 기관에 걸쳐 탄성과를 발생시키는 단계; 및 샘플로서 포획 시약에 대한 분석물의 결과로서 탄성과의 진폭, 위상 또는 주파수의 임의의 변화를 측정하는 단계.
- [0086] 하나의 구현예에서, 샘플은 환경적 또는 생물학적 샘플이다.
- [0087] 하나의 구현예에서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈청, 혈장, 소변, 가래 또는 대변이다.

- [0088] 하나의 구현예에서, 탄성파는 입력 주파수가 약 100 내지 3000 MHz이다.
- [0089] 추가적으로, 일부 구현예는 금속으로 코팅된 기관, 및 결합 단백질 또는 뉴클레오타이드와 적어도 하나의 황 원자를 가지는 작용기를 포함하는 앵커 물질을 포함하는 바이오센서 구성요소에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 포획 시약에 커플링하도록 구성되며 작용기를 통해 금속에 직접적으로 결합하여 금속 물질 상에 모노레이어를 형성한다.
- [0090] 일부 구현예는 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속/결정 재료의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성함으로써, 금속 재료의 표면/및/또는 평평 결정 표면을 바이오활성 필름으로 코팅하는 공정에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 결합 단백질 및 적어도 하나의 황을 가지는 작용기를 포함한다. 제2 조성물은 앵커 물질의 모노레이어에 비오티닐화 포획 시약을 포함하며, 여기서 비오티닐화 포획 시약은 결합 단백질을 통해 앵커 물질에 결합하여 비오티닐화 포획 시약 레이어를 형성한다.
- [0091] 일부 구현예는 바이오센서 구성요소인, 압전 기관; 압전 기관에 결합된 앵커 물질, 여기서 앵커 물질은 스페이서 및 결합 구성요소를 포함하는 앵커 물질, 및 포획 시약에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 결합 구성요소를 통해 포획 시약에 커플링된다.
- [0092] 일부 구현예는 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속/결정 재료의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성함으로써 압전 재료의 표면을 바이오필름으로 코팅하는 공정에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 결합 구성요소에 커플링된 스페이서를 포함한다. 제2 조성물은 앵커 물질의 모노레이어에 비오티닐화 포획 시약을 포함하며, 여기서 비오티닐화 포획 시약은 앵커 물질의 결합 구성요소를 통해 앵커 물질에 결합하여 비오티닐화 포획 시약 레이어를 형성한다.
- [0093] 일부 구현예는 샘플에서 분석물의 존재 또는 양 방법을 결정하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 본 명세서에 기재된 바이오센서 구성요소를 샘플과 접촉시키는 단계, 코팅된 기관에 걸쳐 탄성 또는 벌크 파를 발생시키는 단계 및 포획 시약에 결합한 분석물의 결과로서 탄성 또는 벌크 파의 진폭, 위상 또는 주파수의 임의의 변화를 측정하는 단계를 포함한다.
- [0094] 일부 구현예는 본 명세서에 기재된 바이오센서 구성요소를 포함하는 벌크 파 공진기에 관한 것이다. 압전 기관과 압전 기관에 결합된 앵커 물질로서, 여기서 앵커 물질은 스페이서, 결합 구성요소 및 포획 시약을 포함하고, 여기서 앵커 물질은 결합 구성요소를 통해 포획 시약과 커플링된다.
- [0095] 일부 구현예는 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속/결정 재료의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성함으로써 압전 재료의 표면을 바이오활성 코팅으로 코팅하는 공정에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 결합 구성요소에 커플링된 스페이서를 포함한다. 제2 조성물은 앵커 물질의 모노레이어에 비오티닐화 포획 시약을 포함하며, 여기서 비오티닐화 포획 시약은 앵커 물질의 결합 구성요소를 통해 앵커 물질에 결합하여 비오티닐화 포획 시약 레이어를 형성한다.
- [0096] 일부 구현예는 샘플에서 분석물의 존재 또는 양을 결정하는 방법에 관한 것이다. 상기 방법은 바이오센서 구성요소를, 코팅된 기관에 걸쳐 탄성 또는 벌크 파를 발생시켜, 접촉시키는 단계 및 포획 시약에 결합한 분석물의 결과로서 탄성 또는 벌크 파의 진폭, 위상 또는 주파수의 임의의 변화를 측정하는 단계를 포함한다.
- [0097] 일부 구현예는 압전 기관 및 압전 기관 상에 고정된 포획 시약을 포함하는 바이오센서 구성요소에 관한 것이며, 여기서 압전 기관은 압전 기관 상에 고정된 포획 시약의 수를 증가시키도록 구성된 3 차원 (3D) 매트릭스 미세구조를 포함하고, 포획 시약은 3D 매트릭스 미세구조에 대한 결합을 통해 압전 기관 상에 고정된다.
- [0098] 일부 구현예는 압전 기관 상에 3D 매트릭스 미세구조를 형성하여 압전 기관의 표면적을 증가시키고, 하나 이상의 포획 시약을 압전 기관 상에 고정함으로써 바이오센서 구성요소를 제조하는 방법에 관한 것이다.
- [0099] 일부 구현예는 상기 구현예의 바이오센서 구성요소 중 임의의 하나를 접촉시키고, 금속 기관에 걸쳐 탄성 벌크 파를 발생시키고, 포획 시약에 결합한 분석물의 결과로서 탄성 또는 벌크 파의 진폭, 위상 또는 주파수의 임의의 변화를 측정함으로써 샘플에서 분석물의 존재 또는 양을 결정하는 방법에 관한 것이다.
- [0100] 일부 구현예는 본 명세서에 기재된 바이오센서 구성요소를 포함하는 벌크 파 공진기에 관한 것이다.
- [0101] 일부 구현예는 센서의 표면에 3D 구조를 생성하여 표면적을 증가시키기 위해 러브파로서 중합체 폴리(메틸메타크릴레이트) (PMMA) 및 플리즈마 에칭을 사용한다.

- [0102] 다음의 용어는 하기 정의된 의미를 가진다.
- [0103] "앵커 물질"은 압전 기관 ("직접적인" 결합을 위해) 센서 표면의 금속 일부 또는 그 위의 중간 코팅과 "포획 시약" (하기 정의됨) 모두에 결합하는 코팅 물질을 의미한다. 상기 용어는, 비오틴에 결합하는 능력에 의해 기능적으로 정의되는 단백질 패밀리의 구성원이며, 특이적인 결합 파트너로서 역할을 하는 아비딘 (예컨대, 아비딘, 스트렙타비딘, 뉴트라비딘), 뿐만 아니라 올리고 및 폴리뉴클레오타이드 및 특이적인 결합 파트너를 가지는 단백질 포함하며, 이는 포획 시약을 개질하고 이에 따라 포획 시약이 앵커-코팅된 압전 센서 재료에 결합하도록 사용될 수 있다. 또한 천연 존재의 탄수화물-결합 렉틴이 포함되며, 이는 탄수화물 그룹에 (예컨대, 항체 및 항체 단편 (즉, Fe 단편) 및 압타머와 같은 뉴클레오타이드 단편에) 결합한다. 일반적으로 입체 구조의 변화 또는 심지어 포획 시약의 부분적 변형의 위험으로 인해 시험의 정확성에 영향을 미칠 수 있으므로, 포획 시약을 앵커로서 사용하는 것은 바람직하지 않다. 올리고 및 폴리뉴클레오타이드는 직접적으로 또는 은 코팅이 도포된 매개체를 통해 (예컨대, 이온 교환 방법에 의해) 이온성 또는 쌍극자 부위를 통해 압전 재료에 결합할 수 있다. 이의 특이적인 결합 파트너는 상보적인 뉴클레오타이드 분자이며, 이는 포획 시약을 개질하기 위해 사용될 수 있다.
- [0104] "포획 시약"은 생물학적 샘플에서 분석물에 특이적으로 결합하는 물질을 의미하며, 생물학적 샘플로부터 이를 포획하여 분석물을 식별 및/또는 정량하도록 사용될 수 있다. 상기 용어는 비제한적으로 항체, 압타머 및 이의 항체 단편을 포함한다. 포획 시약은 앵커 물질에 대한 특이적인 결합 파트너인 (예컨대, 비오틴화 또는 상보적인 핵산) 연결 그룹으로 변형 여부와 관계없이 앵커 물질에 결합할 것이다. 달리 말하여, 포획 시약은 앵커 물질에 대한 특이적인 결합 파트너이거나 또는 이를 포함하면서, 동시에 분석물을 인식한다.
- [0105] "유기 소분자"는 분자량이 약 10 달톤 초과 및 약 2500 달톤 미만, 바람직하게 약 2000 달톤 미만, 바람직하게 약 10 내지 약 1000 달톤, 더욱 바람직하게 약 10 내지 약 500 달톤인, 천연 존재 또는 합성 또는 재조합의 유기 분자를 지칭한다.
- [0106] "아비딘"은 난백류로부터, 예컨대, 조류 과충류 및 양서류 종으로부터 유래하는 단백질이며, 많은 생화학 반응에 사용되어 왔다. 아비딘 패밀리로는 뉴트라비딘, 스트렙타비딘 및 아비딘을 포함하며, 높은 친화성 및 특이성으로 비오틴에 결합할 수 있는 능력에 의해 기능적으로 정의되는 모든 단백질이다. 아비딘은 또한 박테리아 아비딘 예컨대 스트렙타비딘 및 뉴트라비딘 (Thermo Scientific으로부터 클리코실화된 아비딘: www.thermoscientific.com)과 같은 개질된 아비딘을 포함할 수 있다. 이는 작은 올리고머 단백질이며, 각각 4개의 (또는 2개의) 동일한 서브유닛을 포함하며, 각각의 서브유닛은 비오틴에 대한 단일 결합 부위를 보유한다. 본 발명의 바이오센서의 표면에 부착될 때, 일부 부위는 금속 코팅된 압전 재료 표면을 마주할 수 있으므로, 비오틴 결합에 이용할 수 없다. 일부 다른 부위는 압전 재료와 반대쪽을 마주하고 있으므로, 비오틴 결합에 이용할 수 있다. 비오틴에 대한 아비딘의 결합 친화력은 매우 높아서, 비공유적임에도 불구하고, 비가역적인 것으로 간주될 수 있다. 아비딘 (KD)의 해리 상수는 대략 10^{-15} M이며, 알려진 강력한 비공유 결합 중 하나이다. 이의 사량체 형태에서, 아비딘은 크기가 66 내지 69 kDa인 것으로 추정된다. 분자량의 10 퍼센트는 4 내지 5개의 만노스 및 3개의 N-아세틸글루코사민 잔기로 구성된 탄수화물 함량에 기인한다. 아비딘의 탄수화물 모이어티는 구조 및 조성이 유사한 적어도 3개의 독특한 올리고당 구조 유형을 포함한다.
- [0107] "비오틴"은, 또한 d-비오틴 또는 비타민 H, 비타민 B7 및 코엔자임 R로서 공지되어 있으며, 아비딘의 특이적인 결합 파트너이다. 이는 Sigma-Aldrich를 비롯한 여러 공급업체로부터 상업적으로 입수 가능하다.
- [0108] 본 명세서에 제공된 범위는 범위 내에 모든 값에 대해 단축된 것으로 이해된다. 예를 들어, 1 내지 50의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50 뿐만 아니라 전술한 정수 사이의 모든 중간 10진수, 예를 들어, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 및 1.9 으로 구성된 군으로부터의 임의의 숫자, 숫자의 조합, 또는 하위-범위를 포함하는 것으로 이해된다. 하위-범위와 관련하여, 범위의 어느 하나의 종료점으로 연장되는 "중첩된 하위-범위"가 구체적으로 고려된다. 예를 들어, 1 내지 50의 예시적인 범위 중 중첩된 하위-범위로는 한 방향으로 1 내지 10, 1 내지 20, 1 내지 30, 및 1 내지 40, 또는 반대 방향으로 50 내지 40, 50 내지 30, 50 내지 20, 및 50 내지 10을 포함할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0109] 도 1은 싸이올화된 생물학적 포획 시약을 사용하여 천연 알루미늄 표면에 바이오-코팅하는 하나의 구현예를 도

시한다.

도 2A-2C는 알루미늄 (Al) 표면에 결합하는 선택적 뉴트라비딘 (NAv)을 나타낸다. 도 2A는 비오틴화 HRP/o-페닐렌다이아민 다이하이드로클로라이드 (OPD) 쌍을 사용하는 효소 분석의 결과를 나타낸다. 417 nm에서의 흡광도는 센서 표면에 결합한 NAv의 양에 비례하였다. Al 코팅된 결정 표면에 결합된 NAv의 양은 싸이올화된 NAv이 사용된 경우보다 상당히 더 많았다. 도 2B는 표면 NAv에 결합된 비오틴화-플루오레세인 분자의 현미경 기반의 이미지를 도시한다 (500x 배율). 도 2C는 0.2 μm 폴리스타이렌 비오틴화 형광 비드의 결합을 도시하는 이미지를 나타낸다 (500x 배율).

도 3은 표적 분석물 선택적으로 포획하기 위한 뉴트라비딘을 이용한 바이오-코팅의 개략도를 도시한다.

도 4A 및 4B는 센서에서 물의 접촉각 측정을 도시한다. 도 4A는 플라즈마 세정이 현저한 접촉각 감소를 야기하는 것을 도시한다. 도 4B는 PEG-실란으로의 코팅이 센서의 소수성을 현저히 증가시킨 것을 도시한다.

도 5A 및 5B는 비오틴화 플루오레세인 (도 2C, 50x 배율) 및 형광 폴리스타이렌 비드 (도 2B, 500x 배율)의 형광 이미지를 도시하며, 이는 표면 바이오-코팅에 대한 균질한 결합을 보여준다.

도 6은 표적 분석물 선택적으로 포획하기 위한 (뉴트라비딘을 이용하지 않는) 바이오-코팅의 개략도를 도시한다.

도 7A 및 7B는 에폭시 스페이서를 통해 고정된 표면 바이오-코팅에 결합된 형광 분석물을 나타낸다. 도 7A는 대조군이며 (500x)도 7B는 에폭시 코팅된 센서이다 (500x).

도 8A 및 8B는 피코 초 레이어 시스템으로 천공된 하이드로겔 매트릭스의 사인과 구조의 SEM 이미지 및 접촉각을 도시한다. 도 8A는 주기성이 25 μm 이고 높이가 12 μm 인 사인과 구조를 나타낸다. 도 8B는 주기성이 35 μm 이고 높이가 45 μm 인 사인과 구조를 나타낸다.

도 9는 마이크로/나노 패턴의 제조를 위한 소프트 리포그래피 공정을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0110] 본 발명은, 적어도 부분적으로, 바이오센서 기판이 코팅 전에 개질되거나 또는 금속으로 코팅으로 코팅될 수 있고, 적어도 하나의 황 원자를 가지는 작용기를 포함하는 결합 단백질 (예컨대, 폴리펩타이드, 단백질, 단백질 복합체, 등)을 가지는 앵커 물질이 금속 코팅된 기판에 결합되어 바이오활성 코팅을 형성할 수 있고, 이는 바이오센서 장치 (예컨대 표면 탄성과 (SAW) 센서, 벌크 탄성과 (BAW) 센서, 등)에 결합/접합되어 바이오센서 장치에 의해 검출되는 신호의 강도 및 감도를 증가시킬 수 있다는 발견에 기초한다.
- [0111] 일부 구현예에서, 금속 코팅된 압전 재료 상에 아비딘과 같은 앵커 물질의 직접적인 결합은 본 명세서에 논의된 조건하에서 획득될 수 있다. 상기 공정을 사용하여, 앵커 물질은 강하고 안전한 공유 또는 화학흡착 결합을 통해 직접적으로 금속 코팅된 압전 기판 표면에 성공적으로 부착되고, 금속 코팅된 압전 표면 상에 모노레이어를 형성한다. 앵커 물질의 다중 레이어가 탄성 신호를 방해할 수 있음에 따라, 모노레이어는 바이오센서의 최적의 및 일관된 기능에 기여할 수 있다.
- [0112] 본 명세서에 기재된 음향 기술은 높은 정확도 및 감도를 가지는 생물학적 감지를 위한 음향 방법의 사용을 가능하게 한다. 본 명세서에 기재된 기술은 음향 투과성 물질의 표면에 생물학적 감응제를 수용 및 결합시키도록 사용될 수 있고, 이는 음향 방법을 추가적으로 확장시켜 검출 분야에서 사용하도록 돕는다. 일부 구현예는 생물학적 물질과 금속 코팅된 결정의 표면 사이에 강한 접착력을 제공하기 위한 화학 물질, 예컨대 실란, 반응성 아민을 가지는 화합물, 카복시 및 에폭시 잔기 뿐만 아니라 탄수화물 기반의 물질의 사용에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 결정 표면은 쿼츠 및 유사한 물질, 예컨대 리튬 니오베이트 및 탄탈레이트, 36 ° Y 쿼츠, 36 ° YX 리튬 탄탈레이트, 란가사이트, 란가테이트, 란가나이트, 리드 지르코네이트 티타네이트, 카드뮴 셀파이드, 베를리나이트, 리튬 아이오데이트, 리튬 테트라보레이트, 비스무스 게르마늄 옥사이드, 징크 옥사이드, 알루미늄 나이트라이드, 및 갈륨 나이트라이드일 수 있다.
- [0113] 일부 구현예는 생체물질 또는 화합물의 부착에 적합한 금속으로 결정의 표면을 코팅하는 방법에 관한 것이다. 일부 구현예에서, 금속은 알루미늄, 알루미늄 합금, 금, 은, 티타늄, 크로뮴, 플래티늄, 텅스텐, 등일 수 있다. 일부 구현예에서, 금속은 알루미늄 또는 알루미늄 합금일 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법은 전통적으로 생체물질과의 결합력이 열악할 수 있는 일부 금속 표면을 사용할 수 있게 한다. 예를 들어, 알루미늄 자체는 생체물질과 약한 결합을 형성할 수 있지만, 본 명세서에 기재된 방법 및 물질은 표면 탄성과 (SAW) 센서에 알루미늄

표면을 광범위하게 적용시키게 한다. 생체물질을 결합시키기 위한 표면으로서 알루미늄을 사용하면, 신호 손실을 초래하지 않고, 결합 물질을 파괴하지 않고, 음향 센서와 함께 사용될 때 블랙 또는 퍼플 플래그를 형성하지 않는 것과 같은 이점을 가질 수 있다. 또한, 알루미늄 표면은 탄성파를 더욱 효과적으로 전파할 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법은 생체분자 또는 화학 분자와 금속 (알루미늄 또는 알루미늄 합금) 코팅된 표면 사이에 강한 결합을 달성할 수 있게 도우며, SAW 센서에 금속 코팅된 표면을 사용하게 할 수 있다.

[0114] 본 명세서에 기재된 방법 및 물질은 금속 (알루미늄 또는 알루미늄 합금) 코팅된 결정 표면 상에, 및 코팅되지 않은 결정 상에 안정하게, 공유 결합된 바이오-코팅을 제공할 수 있으며, 이러한 표면 결합된 바이오활성 코팅은 기능적인 생물학적 활성을 유지할 수 있다. 또한, 본 명세서에 기재된 방법 및 물질은 감응성 전기 시스템 및 다양한 변형물과 조합될 때 바이오센서에 높은 감도를 제공할 수 있도록 도울 수 있다.

[0115] 본 명세서에 기재된 방법은 공유 결합된 친화성 포획 시약을 달성할 수 있다. 포획 시약의 일부 예로는 소분자, 항체, 단백질 항원, 압타머 또는 표적 분석물을 선택적으로 포획하는데 적합한 다른 분자를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 일부 구현예에서, 표면 접착은 선택적으로 및 특이적으로 표적 분석물을 포획하기 위해 알루미늄 표면 상에서 상기 친화성 시제(agent)가 적절하게 배향하도록 한다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 물질은 앵커 친화성 시제에 사용되는 싸이올 작용기로 활성화된 실란 및 활성화된 모이어티에 공유 결합된 친화성 시제의 조합을 포함할 수 있으며, 활성화된 모이어티는 에폭시 및 다른 적합한 접착성 화학 작용기를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 활성화된 모이어티는 최소 입체 장애 및 신호 반응 증가를 위해 폐쇄화된 탄수화물과 같은 스페이서와 함께 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 활성화된 모이어티는 스페이서와 함께 사용되지 않을 수 있다.

[0116] 본 명세서에 기재된 생물학적 앵커 물질은 보통 바이오활성인 것으로 알려져 있으며, 아비딘과 같은 시제를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 아비딘은 개질된 단백질, 중합체 및 탄수화물 실체를 포함하는 광범위한 비오틀화 물질에 결합하면서 결합 안정성을 증가시킬 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법은 SAW 센서의 표면을 활성화하기 위해 사용될 수 있으며, 이러한 방법으로는 열, 플라즈마, 복사 및 산소 또는 질소와 같은 기체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 이러한 상이한 공정은 여러 조건하에서 다양한 처리를 제공한다. SAW 센서의 알루미늄 코팅된 결정 표면은 이러한 조건하에서 활성화되어, 생물학적 활성인 포획 시약의 공유 결합을 향상시킬 수 있다. 이러한 표면 변형과 물질의 조합은 센서의 표면과 원하는 표적 분석물 분자의 특이적인 포획을 위한 임의의 항체 또는 다른 친화성 포획 시제로 표면을 장식(decorate)하기 위한 범용 플랫폼으로서의 역할을 한다.

[0117] 바이오센서 구성요소

[0118] 센서 표면은 압전 결정 물질에 증착된 금속 레이어 (알루미늄 또는 알루미늄 합금)일 수 있거나, 또는 센서는 금속 레이어로 코팅되지 않은 압전 재료일 수 있다. 일부 구현예에서, SAW 센서 표면은 압전 결정 물질에 증착된 금속 레이어 (알루미늄 또는 알루미늄 합금)일 수 있다. 일부 구현예에서, SAW 센서 섹션은 결정과 교호하는 금속 코팅을 포함할 수 있거나, 또는 유전체 물질 레이어로 커버될 수 있다. 일부 구현예에서, 유전체 레이어는 중합체 또는 세라믹 레이어일 수 있다. 일부 구현예에서, 유전체 레이어는 SiO_2 , 폴리(메틸메타크릴레이트) (PMMA), 징크 옥사이드, 또는 알루미늄 질소를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 적합한 결정은 다양한 결정 컷과 함께 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 센서 섹션은 압전 기관에 증착된 유전체 레이어를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 센서 섹션은 금속 레이어에 증착된 유전체 레이어를 포함할 수 있으며, 이는 결과적으로 압전 기관에 증착된다. 일부 구현예에서, 센서 섹션은 유전체 레이어에 증착된 금속 레이어를 포함할 수 있으며, 이는 이후 제2 금속 레이어에 증착되고, 제2 금속 레이어는 이후 압전 기관에 증착된다. 표적 분석물의 검출을 위한 센서의 사용과 관련하여 모든 적합한 접근법이 본 명세서에 기재된 적합한 코팅으로 장식하기 위한 능력에 기초할 수 있다. 생체분자의 검출을 위해, 센서 표면은 원하는 표적 분석물을 선택적으로 포획할 수 있는 적합한 물질로 고정화 또는 개질될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 센서는 SAW 센서일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 센서는 BAW 센서일 수 있다.

[0119] 일부 구현예는 금속 레이어로 코팅된 기관, 결합 단백질 및 적어도 하나의 싸이올 기를 가지는 작용기를 포함하는 앵커 물질을 포함하는 바이오센서 구성요소에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 작용기를 통해 금속 레이어에 직접적으로 결합하며, 앵커 물질은 포획 시약에 커플링하도록 구성된다. 일부 구현예에서, 앵커 물질은 금속 레이어에 결합한 후 금속 레이어 상에 모노레이어를 형성한다.

[0120] 일부 구현예에서, 금속은 알루미늄, 금 알루미늄 합금, 은, 티타늄, 크로뮴, 플래티늄, 텅스텐 및 또는 이의 임

의의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 금속은 압전 또는 유전체 기관에 증착된다. 일부 구현예에서, 금속은 유전체 기관에 증착되고, 이후 또 다른 금속 레이어에 증착된다.

[0121] 일부 구현예에서, 기관은 압전 재료를 포함한다. 일부 구현예에서, 기관은 압전 재료 상에 직접 배치된 유전체 레이어를 추가로 포함한다.

[0122] 일부 구현예에서, 결합 단백질 상의 작용기는 싸이올 기이다.

[0123] 일부 구현예에서, 결합 단백질은 아비딘, 올리고뉴클레오타이드, 또는 폴리뉴클레오타이드이다. 일부 구현예에서, 결합 단백질은 항체와 같은 친화성 시체일 수 있다. 일부 구현예에서, 결합 단백질은 뉴트라비딘, 천연 아비딘, 스트렙타비딘, 및 이의 임의의 조합의 군으로부터 선택된 아비딘이다. 일부 구현예에서, 결합 단백질은 항체, 아피머, 및 압타머를 포함할 수 있다.

[0124] 포획 시약은 비오틴화 올리고뉴클레오타이드, 뉴클레오타이드, 핵산, 단백질, 펩타이드, 및 IgA, IgG, IgM, IgE를 포함하는 항체, 효소, 효소 보조인자, 효소 억제제, 막 수용체, 키나제, 단백질 A, 폴리 U, 폴리 A, 폴리 라이신 수용체, 다당류, 킬레이트제, 탄수화물 또는 당으로부터 형성된, 항체, 압타머, 또는 다른 특이적 리간드 또는 수용체일 수 있다.

[0125] 일부 구현예에서, 포획 시약은 전세포, 박테리아, 진핵 세포, 종양 세포, 바이러스, 진균, 기생충, 포자, 핵산, 단백질 또는 소분자에 결합하기 위한 모이어티를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 모이어티는 항체, 단백질 단편, 펩타이드, 폴리펩타이드, 아피머, 항체 단편, 압타머 또는 뉴클레오타이드로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 모이어티는 항체, 아피머, 또는 압타머로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0126] 포획 시약은 결합 단백질에 특이적인 결합 파트너로 개질될 수 있다. 일부 구현예에서, 포획 시약은 앵커 물질의 결합 단백질에 결합하기 위한 비오틴 모이어티를 추가로 포함한다.

[0127] 예로 든 일부 바이오센서 및 검출 방법은 포획 시약으로서 부착된 항체를 가지는 표면으로서 도시되어 있다. 그러나, 바이오센서는 포획 시약으로서 항체를 가지는 것에 한정되지 않으며, 단백질 단편, 아피머, 항체 단편, 압타머 또는 뉴클레오타이드를 포함하지만 이에 제한되지 않는 다른 포획제를 센서 표면 상에 고정시키도록 구성될 수 있다.

[0128] 본 명세서에 기재된 바이오센서 구성요소는 탄성 또는 벌크 파 변환기를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 탄성과 변환기는 벌크 탄성파를 생성한다. 일부 구현예에서, 벌크 탄성파는 두께 전단 모드, 음향 플레이트 모드, 및 수평 플레이트 모드로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 바이오센서 구성요소는 필름 벌크 탄성과 공진기-기반 (FBAR-기반) 장치이다.

[0129] 일부 구현예에서, 탄성과 변환기는 표면 탄성파를 생성한다. 일부 구현예에서, 표면 탄성파는 전단 수평 표면 탄성파, 표면 횡파, 레일리파, 및 러브파로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0130] 일부 구현예는 결정 레이어, 결합 단백질 및 적어도 하나의 싸이올 기를 가지는 작용기를 포함하는 앵커 물질을 포함하는 바이오센서 구성요소에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 작용기를 통해 결정 레이어에 직접적으로 결합하며, 앵커 물질은 포획 시약에 커플링하도록 구성된다.

[0131] 금속 표면/물질과 작용기 (예컨대, 싸이올 기) 사이의 결합이 기재된 구현예에 있어서, 금속 표면/물질은 결정 물질 또는 다른 압전 재료로 대체될 수 있다.

[0132] **스페이서를 포함하는 앵커 물질**

[0133] 일부 구현예는 금속으로 코팅된 기관, 금속에 결합된 앵커 물질을 포함하는 바이오센서 구성요소에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 스페이서 및 결합 구성요소 및 포획 시약을 포함하며, 앵커 물질은 결합 구성요소를 통해 포획 시약에 커플링된다. 일부 구현예에서, 기관은 압전 재료를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서는 실란 기를 포함하며, 이는 금속 코팅 상에 공유 결합을 형성할 수 있다. 이에 따라, 일부 구현예에서, 앵커 물질은 실란 기를 통해 금속 코팅된 압전 기관의 표면에 결합한다.

[0134] 일부 구현예는 결정 물질 및 결정 물질에 결합된 앵커 물질을 포함하는 바이오센서 구성요소에 관한 것이며, 여기서 앵커 물질은 스페이서 및 결합 구성요소 및 포획 시약을 포함한다. 앵커 물질은 결합 구성요소를 통해 포획 시약과 커플링된다. 일부 구현예에서, 스페이서는 실란 기를 포함한다. 실란 기는 결정 물질 상에 공유 결합을 형성할 수 있다. 이에 따라, 일부 구현예에서, 앵커 물질은 실란 기를 통해 결정 물질의 표면 상에 결합한다.

- [0135] 일부 구현예에서, 결합 구성요소는 예를 들어, 아비딘, 올리고뉴클레오타이드, 또는 폴리뉴클레오타이드와 같은 결합 단백질이다. 일부 구현예에서, 결합 단백질은 뉴트라비딘, 천연 아비딘, 스트렙타비딘, 및 이의 임의의 조합의 군으로부터 선택된 아비딘이다.
- [0136] 일부 구현예에서, 결합 구성요소는 N-하이드록시석신이미드 (NHS), 설폰-NHS, 에폭시, 카복실 산, 카보닐, 말레이미드 및/또는 아민으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 작용기를 가지는 결합 화합물이다.
- [0137] 일부 구현예에서, 스페이서는 중합체 링커이며, 이러한 중합체 링커는 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐 알코올, 또는 폴리아크릴레이트이다. 일부 구현예에서, 중합체 링커는 분자량이 약 50 - 약 10,000, 약 100 - 약 10,000, 약 200 - 약 8000, 약 300 - 약 8000, 약 400 - 약 8000, 약 500 - 약 6000, 약 600 - 약 6000, 약 700 - 약 6000, 약 800 - 약 5000, 약 900 - 약 5000, 약 1000 - 약 5000, 약 500 - 약 4000, 약 600 - 약 4000, 약 700 - 약 4000, 약 800 - 약 4000, 약 900 - 약 4000, 약 1000 - 약 4000, 약 500 - 약 3000, 약 600 - 약 3000, 약 700 - 약 3000, 약 800 - 약 3000, 약 900 - 약 3000, 약 1000 - 약 3000, 약 500 - 약 2000, 약 600 - 약 2000, 약 700 - 약 2000, 약 800 - 약 2000, 약 900 - 약 5000, 또는 약 1000 - 약 2000 범위인 선형 폴리 에틸렌이다.
- [0138] 일부 구현예에서, 중합체 링커는 분자량이 약 10 초과, 약 50 초과, 약 100 초과, 약 200 초과, 약 300 초과, 약 400 초과, 약 500 초과, 약 600 초과, 약 700 초과, 약 800 초과, 약 900 초과, 약 1000 초과, 약 1200 초과, 약 1400 초과, 약 1600 초과, 약 1800 초과, 또는 약 2000 초과인 선형 폴리 에틸렌이다. 일부 구현예에서, 중합체 링커는 약 500 미만, 약 600 미만, 약 700 미만, 약 800 미만, 약 900 미만, 약 1000 미만, 약 1200 미만, 약 1400 미만, 약 1600 미만, 약 1800 미만, 약 2000 미만, 약 2200 미만, 약 2400 미만, 약 2600 미만, 약 2800 미만, 약 3000 미만, 약 3500 미만, 약 4000 미만, 약 4500 미만, 약 5000 미만, 약 5500 미만, 약 6000 미만, 약 6500 미만, 약 7000 미만, 약 7500 미만, 약 8000 미만, 약 8500 미만, 약 9000 미만, 약 9500 미만, 또는 약 10,000 미만인 선형 폴리 에틸렌이다.
- [0139] 결합 화합물이 하나 이상의 작용기 (예컨대, N-하이드록시석신이미드 (NHS), 설폰-NHS, 에폭시, 카복실 산, 카보닐, 말레이미드, 및/또는 아민)을 가지는 구현예에서, 스페이서의 길이는 약 0.1-50, 0.5-50, 1-50, 1.5-50, 2-50, 2.5-50, 3-50, 4-50, 5-50, 0.1-40, 0.5-40, 1-40, 1.5-40, 2-40, 2.5-40, 3-40, 4-40, 5-40, 0.1-30, 0.5-30, 1-30, 1.5-30, 2-30, 2.5-30, 3-30, 4-30, 5-30, 0.1-20, 0.5-20, 1-20, 1.5-20, 2-20, 2.5-20, 3-20, 4-20, 5-20, 0.1-10, 0.5-10, 1-10, 1.5-10, 2-10, 2.5-10, 3-10, 4-10, 5-10, 0.1-8, 0.5-8, 1-8, 1.5-8, 2-8, 2.5-8, 3-8, 4-8, 5-8, 0.1-5, 0.5-5, 1-5, 1.5-5, 2-5, 2.5-5, 3-5, 4-5, 0.1-3, 0.5-3, 1-3, 1.5-3, 2-3, 2.5-3, 0.1-2.5, 0.5-2.5, 1-2.5, 1.5-2.5, 또는 2-2.5 nm 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서는 길이가 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100 nm 이상의 범위일 수 있다. 일부 구현예에서, 스페이서는 길이가 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 250, 또는 500 nm 미만의 범위일 수 있다.
- [0140] 일부 구현예에서, 앵커 물질은 금속 코팅된 압전 재료의 표면에 모노레이어를 형성한다. 일부 구현예에서, 앵커 물질은 금속 코팅된 압전 재료의 표면에 자가-조립식 모노레이어를 형성한다. 일부 구현예에서, 앵커 물질의 결합 단백질은 스페이서를 통해 금속 표면으로부터 떨어져 연장된다.
- [0141] 일부 구현예에서, 압전 기관은 리튬 니오베이트 (LiNbO_3), 리튬 탄탈레이트 (LiTaO_3), 실리콘 다이옥사이드 (SiO_2), 및 보로실리케이트로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 금속 코팅은 알루미늄 또는 알루미늄 합금일 수 있다.
- [0142] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 바이오센서 구성요소는 하우징 및 유체 챔버를 추가로 포함하며, 이러한 챔버 벽은 앵커 물질 및 포획 시약을 보유하는 코팅된 압전 기관의 표면 상에 형성된다.
- [0143] **벌크 탄성과 공진기**
- [0144] 벌크 탄성과 (BAW) 공진기는 두 전극 사이에 샌드위치된 적어도 하나의 압전 재료로 구성되는 장치이다. 전극은 압전 재료에 교호 전계를 인가하여 일부 응력을 발생시키고 일부 BAW 파를 생성한다. 일부 설계는 높은 및 낮은 음향 임피던스를 가지는 일부 레이어를 첨가하여 일부 브래그 반사기 (Bragg reflector)를 구축하거나 및/또는 이러한 레이어를 방해(suspend)한다. BAW 공진기는 다수의 레이어, 압전 기관 (AlN , PZT , 퀴즈, LiNbO_3 , 란가사이트 등), 전극 (금, 알루미늄, 구리, 등), 브래그 반사기 (높은 또는 낮은 음향 임피던스 재료) 레이어를 포함

하여, 분석물 (바이오활성 레이어, 항체, 항원, 기체 감응 레이어, 팔라듐, 등) 또는 탄성파를 전파할 수 있는 임의의 물질을 포착할 수 있다. BAW 센서는 본 명세서에 기재된 다양한 레이어의 혼합일 수 있다. 감응성 레이어 (분석물 포착 레이어)는 전극 (A)과 직접 접촉될 수 있거나, 또는 브래그 반사기 상에 있을 수 있거나, 또는 탄성파를 전파시킬 수 있는 임의의 물질 상에 있을 수 있다.

[0145] 일부 구현에는 본 명세서에 기재된 바이오센서 구성요소를 포함하는 BAW 공진기에 관한 것이다. 액체 또는 기체 감지를 위한 BAW 센서 구축은 BAW 센서의 표면을 지나는 모든 물체가 공진 주파수를 변화시킨다는 원리에 기반한다. 공진 주파수 (측정 또는 위상 주파수)를 추적 및 디코딩함으로써, 센서 표면에 부착된 매스 로딩 및 입자의 점도가 측정될 수 있다.

[0146] 바이오코팅 방법

[0147] 일부 구현에는 금속 재료의 표면을 바이오활성 필름으로 코팅하는 공정에 관한 것이며, 상기 공정은 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속 재료의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성하는 단계로서, 여기서 앵커 물질은 결합 단백질 및 적어도 하나의 싸이올 기를 가지는 작용기를 포함하는 단계; 비오틴화 포획 시약을 포함하는 제2 조성물을 앵커 물질의 모노레이어에 도포하는 단계로서, 여기서 비오틴화 포획 시약은 결합 단백질을 통해 앵커 물질에 결합하여 비오틴화 포획 시약 레이어를 형성하는 단계를 포함한다.

[0148] 일부 구현에는 결정 물질을 바이오활성 필름으로 코팅하는 공정에 관한 것이며, 상기 공정은 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 결정 물질 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성하는 단계를 포함하고, 여기서 앵커 물질은 결합 단백질 및 적어도 하나의 싸이올 기를 가지는 작용기를 포함한다. 비오틴화 포획 시약을 포함하는 제2 조성물을 앵커 물질의 모노레이어에 도포하는 단계로서, 여기서 비오틴화 포획 시약은 결합 단백질을 통해 앵커 물질에 결합하여 비오틴화 포획 시약 레이어를 형성한다.

[0149] 일부 구현에는 알루미늄 표면을 바이오활성 필름으로 코팅하는 공정에 관한 것이며, 상기 공정은 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 알루미늄 표면에 도포하여 알루미늄 표면 상에 모노레이어를 형성하는 단계로서, 여기서 앵커 물질은 결합 단백질 및 싸이올 작용기를 포함하는 단계; 및 비오틴화 포획 시약을 포함하는 제2 조성물을 앵커 물질의 모노레이어에 도포하는 단계로서, 여기서 비오틴화 포획 시약은 결합 단백질을 통해 앵커 물질에 결합하여 비오틴화 포획 시약 레이어를 형성하는 단계를 포함한다. 상기 공정은 또한 결정 표면 또는 유전체 물질의 표면을 코팅하기 위해 사용될 수 있다.

[0150] 일부 구현에는 금속 코팅된 압전 재료의 표면을 바이오활성 필름으로 코팅하는 공정에 관한 것이며, 금속 코팅된 압전 재료의 표면을 처리하여 금속 표면을 활성화시키는 단계 및 앵커 물질의 레이어를 직접적으로 금속 코팅된 압전 기관의 활성화된 표면에 직접 도포하는 단계를 포함한다. 앵커 물질은 앵커 물질에 대한 특이적인 결합 파트너를 포함하는 또는 이를 구성하는 포획 시약에 결합하는 성질을 가진다. 일부 구현예에서, 앵커 물질은 실란 작용기를 포함한다. 실란 작용기는 금속 코팅된 압전 표면과 반응할 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 방법은 압전 기관에 금속 레이어를 증착시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 금속은 알루미늄이다. 상기 공정은 또한 결정 표면 또는 유전체 물질의 표면을 코팅하기 위해 사용될 수 있다.

[0151] 일부 구현예에서, 상기 방법은 공유 결합으로 금속 표면 상에 화학흡착된 앵커 레이어를 형성하는 단계를 포함한다.

[0152] 일부 구현에는 생물학적 유체 샘플에서 분석물의 존재 또는 양을 결정하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 바이오센서 구성요소를 포획 시약을 포함하는 조성물과 접촉시키는 단계로서, 여기서 포획 시약은 앵커 물질에 대해 특이적인 결합 파트너를 포함하거나 이를 구성하며 또한 분석물을 특이적으로 인식하는 단계, 포획 시약이 앵커 물질에 결합하도록 하는 단계, 포획 시약 레이어를 형성하면서, 동시에 결합된 포획 시약 레이어와 생물학적 유체 샘플과 접촉하는 단계 및 압전 표면에 걸쳐 이를 통해 탄성파를 발생시키는 단계 및 포획 시약 레이어에 결합한 분석물의 결과로서 파의 진폭, 위상, 시간 지연 또는 주파수의 임의의 변화를 측정하는 단계를 포함한다.

[0153] 일부 구현에는 금속 재료의 표면을 바이오활성 필름으로 코팅하는 공정에 관한 것이며, 상기 방법은 앵커 물질을 포함하는 제1 조성물을 금속 재료의 표면에 도포하여 상기 표면 상에 모노레이어를 형성하는 단계로서, 여기서 앵커 물질은 결합 구성요소와 커플링된 스페이서를 포함하는 단계, 및 비오틴화 포획 시약을 포함하는 제2 조성물을 앵커 물질의 모노레이어에 도포하는 단계로서, 여기서 비오틴화 포획 시약은 앵커 물질의 결합 구성요소를 통해 앵커 물질에 결합하여 비오틴화 포획 시약 레이어를 형성하는 단계를 포함한다.

[0154] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 방법은 앵커 물질의 표면을 활성화시키는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 앵커 물질 표면의 활성화 단계는 플라즈마 세정 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 플라즈마 세정

단계는 산소 또는 산소/아르곤 혼합물을 사용하여 표면을 처리하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 플라즈마 세정 단계는 1 - 10 분, 1 - 20 분, 1 - 30 분, 또는 1 - 60 분간 지속된다. 일부 구현예에서, 플라즈마 세정 단계는 1 분, 5 분, 10 분, 20 분, 30 분, 40 분, 50 분, 60 분, 1.5 시간, 2 시간, 3 시간, 또는 4 시간 이상 지속된다. 일부 구현예에서, 플라즈마 세정 단계는 5 분, 10 분, 20 분, 30 분, 40 분, 50 분, 60 분, 1.5 시간, 2 시간, 3 시간, 또는 4 시간 미만으로 지속된다. 일부 구현예에서, 플라즈마 세정 단계는 50 - 150 KHz의 50 - 200와트에서의 처리를 포함한다.

[0155] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 방법은 직접적인 코팅이다. 일부 구현예에서, 직접 코팅은 수 시간이 아닌 수 초 또는 수 분에 실행되며, 정밀성과 물질의 모노레이어를 배치하는 능력이 요구되며, 최소한의 작업자의 개입으로 용이하게 자동화되는 확장가능하고, 연속적인 인-라인(in-line) 방법, 예컨대 잉크젯 프린팅으로 제조되는 단순하고 신속한 화학 반응을 포함한다. 이러한 코팅 방법은 적은 수의 리젝트 및 적은 양의 유해한 폐기물을 생산한다. 이러한 코팅 방법은 중간 물질 레이어 없이 압전 표면에 직접적으로 앵커 물질을 증착한다.

[0156] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 제조 방법은 압전 기관 표면의 세정 단계를 포함한다. 세정 단계는 비제한적으로 산 처리, 자외선 노출을 포함하는 다수의 방법 및 높은 반응성의 종을 생성하여 압전 기관의 표면 상의 사실상 모든 유기 오염물을 제거할 수 있는 다양한 플라즈마 처리 방법의해 달성될 수 있다. 일부 구현예에서, 제조 방법은 플라즈마 세정 단계를 포함한다.

[0157] 코팅된 바이오센서에 대한 분석물의 결합

[0158] 일부 구현예에서, 압전 기관 표면에 결합된 아비딘은 대상 분석물을 결합시키기 위한 활성화를 필요로 한다. 활성화는 대상 분석물 항원에 특이적인 항체와 같은 비오틴화 결합제를 포함한다. 항체 또는 다른 시체는 아비딘-코팅된 칩에 부착되기 전에 비오틴화된다. 항체는 아비딘 기관에 부착되기 이전 또는 이후에 이의 분석물 항원에 결합할 수 있다. 분석물 비오틴화 항체 복합체는 센서 외부에서 형성될 수 있으며 이러한 복합체는 센서와 접촉될 수 있는 반면, 항체 상의 비오틴은 아비딘-코팅된 칩에 결합할 것이다. 두 방법 중 어느 방법이 바람직한지는 분석물 및 샘플 처리에 따라 다르다. 두 방법 모두 본 발명의 범위 내에 속한다. 칩 표면에서 아비딘에 결합된 특정 항체로의 표면 코팅을 분석한 결과, 깊이가 6 내지 9 nm로 측정되었으며, 다시 AFM를 사용하여, 항체가 아비딘 레이어에 실제로 결합되었음을 입증하였다.

[0159] 항원-특이적 비오틴화 포획 시약이 도포되어, 비건식 매질 중에 결합된 과량의 무-비오틴화 시약으로 구성되며, 또한 수크로스, 트레할로스, 글리세롤 등과 같이 공지된 단백질 안정화제를 포함하는 제2 레이어를 형성한다. 다수의 시체가 비오틴화될 수 있고, 그 중에서 가장 일반적으로 사용되는 시체는 비오틴화 항체이며, 대상 분석물을 특이적으로 인식한다. 단백질 포획 시약은 화학적으로 또는 효소적으로 비오틴화될 수 있다. 화학적 비오틴화는 다양한 공지된 접합 화학반응을 사용하여 아민, 카복실레이트, 설프하이드릴 및 탄수화물의 비특이적 비오틴화를 생성한다. N-하이드록시 석신이미드 (NHS)-커플링은 단백질 내 임의의 1차 아민의 비오틴화를 제공하는 것으로 이해된다. 효소적 비오틴화는 박테리아 비오틴 리가제에 의한 특정 서열 내의 특이적인 라이신의 비오틴화를 야기한다. 대부분의 화학적 비오틴화 시약은 비오틴의 발레산 측쇄에 링커를 통해 부착된 반응성 그룹으로구성된다. 효소적 비오틴화는 대상 단백질의 N-말단, C-말단 또는 내부 루프에, AviTag 또는 수용체 펩타이드 (AP)로 지칭되는 15개의 아미노산 펩타이드를 연결함으로써 가장 흔히 수행된다. 이러한 비오틴화 기법은 기술 분야 내에 공지되어 있다.

[0160] 결합되면, 포획 시약은 가열된 공기에 잠시동안 노출되어 가해진 유체로부터 물을 부분적으로 제거하여, 비-건조 겔 레이어에서 항체와 같은 결합된 단백질성 결합제의 장기적 안정성을 보장하는 보호성 및 안정화제 겔을 형성하고, 이는 본질적으로 제2 항원 - 특이적 결합제 레이어가 완전히 시간-의존적으로 형성하게 한다. 이러한 유리형 레이어는 선택적으로 저장하는 동안 카트리지 파우치 내부에 실리카 또는 분자 체의 흡습제 펠렛의 존재하에 탈수된다. 카트리지의 상부 챔버는 밀봉되어 유체 구획을 형성한다. 상부 챔버를 가지는 카트리지는 이후, 플라스틱 저장 파우치 내부에, 바람직하게 N2 분위기로 밀봉된다.

[0161] 앵커 물질 (예컨대, 아비딘)과 비오틴화 포획 시약 사이의 결합은 칩 상에서 제2의, 포획 시약 레이어를 형성하게 한다. 사용하기 전에, 보호 겔 레이어 내 잔류하는 임의의 결합하지 않은 비오틴화 포획 시약 및 다른 구성요소는 분석 절차 동안 분석 완충액을 사용하여 또는 시편 유체를 사용하여 단순 플러시에 의해 쉽게 제거될 수 있다. 이러한 센서는 바이오센서를 사용하여 항원, 분석물의 결합을 검출하고 질병을 검출하는 것을 입증하였다.

[0162] 본 명세서에 기재된 바이오센서는, 대상 분석물에 특이적으로 결합하는 포획제를 포함하는 적절한 바이오필름

코팅이 장착된 경우, 다양한 시제 및 생화학적 마커를 검출하도록 사용될 수 있다. 이러한 통합 바이오센서가 사용될 수 있는 용도의 예로는 인간 및 가축 진단을 포함한다. 분석물은 감염원이거나, 또는 감염원에서 발견되거나 생성되며, 검출에 사용될 수 있는 임의의 물질로서 정의되며, 소분자, 올리고뉴클레오타이드, 핵산, 단백질, 펩타이드, 병원체 단편, 용해된 단편, 및 IgA, IgG, IgM, IgE를 포함하는 항체, 효소, 효소 보조인자, 효소 억제제, 독소, 막 수용체, 키네이스, 단백질 A, 폴리 U, 폴리 A, 폴리 라이신, 다당류, 압타머, 밀 킬레이트제를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 항원-항체 상호작용의 검출은 다음의 문헌에 이미 기재되어 있다 (미국 특허 4,236,893, 4,242,096, 및 4,314,821 참조, 상기 특허 모두는 본 명세서에 참조 문헌으로 명백히 포함된다). 또한, 전세포 (원핵 생물, 예컨대 병원성 박테리아, 진핵 세포, 및 포유류 종양 세포 포함), 바이러스 (레트로바이러스, 헤르페스 바이러스, 아데노바이러스, 렌티바이러스, 등 포함), 진균, 기생충 및 포자, (혈청형 또는 항원형 같은 감염체의 표현형 변형체 포함)의 검출에서의 적용은 본 발명의 범위 내에 속한다.

[0163] 일부 구현예는 샘플에서 분석물의 존재 또는 양을 결정하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 바이오센서 구성 요소를 샘플과 접촉시키는 단계; 탄성파를 발생시키는 단계; 포획 시약에 대한 분석물의 결과로서 탄성파의 진폭, 위상 또는 주파수의 변화를 측정하는 단계를 포함한다.

[0164] 일부 구현예에서, 샘플은 환경적 또는 생물학적 샘플이다. 일부 구현예에서, 생물학적 샘플은 혈액, 혈청, 혈장, 소변, 가래 또는 대변이다.

[0165] 일부 구현예에서, 금속으로 코팅된 기관은 압전 기관이다. 일부 구현예에서, 탄성파는 입력 주파수가 약 10 내지 3000 MHz이다. 일부 구현예에서, 탄성파는 주파수가 약 1-10000, 1-8000, 1-6000, 1-5000, 1-4000, 1-3000, 1-2000, 1-1000, 10-8000, 10-6000, 10-5000, 10-3000, 10-2000, 10-1000, 50-8000, 50-6000, 50-5000, 50-3000, 50-2000, 50-1000, 100-8000, 100-6000, 100-5000, 100-3000, 100-2000, 100-1000, 200-8000, 200-6000, 200-5000, 200-3000, 200-2000, 200-1000 MHz 범위이다. 일부 구현예에서, 탄성파는 입력 주파수가 약 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 MHz 초과이다. 일부 구현예에서, 탄성파는 입력 주파수가 약 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000 MHz 미만이다.

[0166] 본 명세서에 개시된 구현예는 상기 개시된 두 가지의 센서 클래스 각각에서 발견되는 독립적인 이점의 조합을 나타내는 개별 요소 및 센서를 제공한다. 예를 들어, 압전 기관에 결합하기 위해 싸이올 작용기를 가지는 앵커 물질을 사용하는 제1 구현예는 스페이서를 가지는 앵커 물질의 구현예와 조합될 수 있다.

[0167] **앵커링제의 코팅 밀도를 개선하기 위한 3D 표면**

[0168] 다수의 센서 디자인은 기능을 위해 효소 하이드로겔 매트릭스와 같은 매트릭스 (또는 복수의 매트릭스)를 사용한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "매트릭스"는 기술 분야에 따르면 다른 무언가의 내부에서 또는 이로부터 기원, 발달, 형성 및/또는 발견되는 무언가를 의미하는 것으로 받아들여진다. 예시적인 효소 하이드로겔 매트릭스는 일반적으로 바이오-감응성 효소 (예컨대 글루코스 산화효소 또는 락테이트 산화효소) 및 인간 혈청 알부민 단백질을 포함하며, 이는 글루타르알데하이드와 같은 가교제와 함께 가교되어 중합체 네트워크를 형성한다. 이러한 네트워크는 이후 수용액으로 팽윤되어 효소 하이드로겔 매트릭스를 형성한다. 이러한 하이드로겔의 팽윤 정도는 종종 수 주의 시간에 걸쳐 증가하며, 이는 아마도 네트워크 가교의 열화로 인한 것이다. 원인에 관계없이, 이러한 팽윤의 관찰된 결과는, 외부 센서 튜브로 절단된 홀 또는 "윈도우"의 하이드로겔 외부 돌출이다. 이로 인해, 센서 크기가 설계 사양을 초과하고, 분석 성능에 부정적인 영향을 미친다.

[0169] 일부 구현예는 복수의 상이한 미세 패턴을 이용하여, 표적 분석물 (예컨대, 세포 또는 바이러스 입자 표면에 유리 또는 발현된 항원)과의 접합에 효과적인 결합 모이어티 (예컨대, 항체)의 입체 구성을 손상시키지 않으면서 결합된, 고정화된 포획 시약의 유효 표면적을 증가시키는 것에 관한 것이다. 결합된 분석물 (예컨대, 항원)의 표면 밀도가 센서의 성능을 결정하는데 중요하므로, 표적 분석물의 확산 수송이 가능하게 하며, 또한 포획 시약 (예컨대, 항체 접합된 비오틴)이 결합되는 앵커 물질 (예컨대, 아비딘 분자)에 결합 모이어티의 크기를 수용하는, 비교적 개방된 3 차원 매트릭스 미세 구조를 보장할 필요가 있다. 일부 구현예는 포획 시약 (예컨대, 활성화된 비오틴 분자)를 포함하는 매트릭스를 통해 이러한 종의 수송을 가능하게 하기 위해, 3 차원 (3D) 매트릭스를 통해 약 0.05 마이크론 - 약 10 마이크론 폭의 통과를 필요로 하는 바이러스 및 박테리아를 비롯한 온전한 병원체 중을 검출하는 것에 관한 것이다.

[0170] 일부 구현예는 향상된 재료 특성을 가지는 바이오센서 요소 및 이러한 요소로부터 구성된 바이오센서에 관한 것이다. 본 발명은 이러한 센서의 제조 및 사용 방법을 추가로 제공한다. 일부 구현예는 탄성파 센서에 관한 것이지만, 본 명세서에 개시된 다양한 요소 (예컨대 압전 기관 및 3D 매트릭스 미세구조물 설계)는 기술 분야 내 공

지된 광범위한 센서 중 임의의 하나와 함께 사용하도록 구성될 수 있다. 본 명세서에 개시된 이러한 요소의 제조 및 사용을 위한 분석물 센서 요소, 구조물 및 방법은 다양한 레이어의 센서 구조를 확립하도록 사용될 수 있다. 이러한 센서는 놀라운 정도의 감도 및 정확도를 나타낸다. 센서는 또한 높은 수준의 유연성, 다양성 및 특성을 가지고 있어, 광범위한 센서 구조물이 광범위한 분석물 중을 검사하도록 설계할 수 있다.

[0171] 전통적인 SAW 센서와 비교하여, 본 명세서에 기재된 바이오센서의 감도는 낮은 농도에서의 생물학적 분석물의 검출 및 또한 생물학적 유체 내 감염 입자의 수가 작을 수 있는 박테리아 또는 바이러스 감염의 검출에 충분할 수 있다. 또한, 본 명세서에 기재된 센서는 또한 생물학적 유체의 부피가 또한 제한된 상황에서 충분한 감도를 가진다.

[0172] 본 명세서에 기재된 검출 및 정량화 방법은 피코몰 범위의 생물학적 분석물 검출, 및 생물학적 유체 내 감염 입자의 수가 작을 수 있는 (즉, < 10 입자/ml) 박테리아 또는 바이러스 감염의 검출에 또한 충분한 감도를 가질 수 있다. 또한, 본 명세서에 기재된 검출 방법은 향상된 감도로 인해 생물학적 유체의 부피가 제한될 때도 (예컨대, 10-250 마이크로리터) 또한 사용될 수 있다.

[0173] 3D 매트릭스 미세구조는 3D 겔 또는 나노구조의 표면을 포함하며, 3D 초-분자 구조체를 활용할 수 있으며, 이는 유효 표면적 및 바이오센서의 표면에 고정화된 포획제의 수를 증가시키기 위해 바이오센서에 통합될 수 있다. 덴드리머는 분지형 구조로 3D 공간에서 높은 밀도의 작용기를 제공함에 따라 다양한 덴드리머가 3D 매트릭스 미세구조를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 말초 작용기는 센서 표면 상의 항원/항체의 접합을 용이하게 한다. 덴드리머의 분지 구조로 인해, 덴드리머는 또한 항원 및 항체 결합의 입체 장애를 감소시켜, 표적 분자의 포획을 용이하게 한다. 폴리아미도아민 (PAMAM) 및/또는 폴리프로필렌이민 (PPI) 덴드리머가 압전 기관의 표면을 코팅하는데 사용될 수 있다. 덴드리머는 압전 기관의 표면 상에 공유적 또는 비공유적으로 코팅될 수 있다. 아미노실란, 사이아노실란, 에폭시실란, 등을 사용하여 압전 표면을 작용기화하도록 실란화 방법이 사용될 수 있다. 덴드리머는 작용기화된 탄성 표면과 공유적으로 접합될 수 있다. 덴드리머 레이어의 높이는 5 - 20 nm일 수 있다. 그 다음, 항체, 항체 단편, 단일 도메인 항체, 소분자, DNA 또는 항원 덴드리머 표면의 말초에 고정화되어 표적 분자를 포획할 수 있다.

[0174] 3 차원 매트릭스 미세구조의 제조 방법

[0175] 압전 기관 상에 3D 매트릭스 미세구조를 형성하기 위해 평판 기술이 사용될 수 있다. 포토마스크 및 몰드는 광중합 공정 동안 마이크로 패턴을 형성하도록 사용될 수 있다. 리포그래피 공정 후, 앵커 물질이 미세구조에 부착될 수 있다. 앵커 물질이 3D 매트릭스 미세구조에 부착된 후, 포획 시약은 앵커 물질에 커플링함으로써 미세구조 상에 고정화될 수 있다.

[0176] 일부 구현에는 압전 기관 상에 3D 매트릭스 미세구조를 형성하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 현탁액을 상기 압전 기관에 적용하여 현탁액 레이어를 형성하는 단계, 상기 현탁액 레이어에 포토마스크를 적용하는 단계, 상기 포토마스크를 자외선 광원에 노출시키는 단계로서, 여기서 상기 현탁액 레이어의 상기 부분은 상기 포토마스크에 의해 커버되지 않으며 반응하는 단계 및 상기 기관으로부터 반응하지 않은 임의의 현탁액 레이어를 제거하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 3D 매트릭스 미세구조가 상기 기관 상에 형성된다.

[0177] 일부 구현에는 압전 기관 상에 3D 매트릭스 미세구조를 형성하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 상기 압전 기관 상에 적어도 하나의 미세채널을 포함하는 미세유체 네트워크를 형성하는 단계, 상기 미세채널을 하이드로겔 전구체 용액으로 채우는 단계, 상기 하이드로겔 전구체를 자외선 광원에 노출시키는 단계 및 상기 미세유체 네트워크를 상기 압전 기관으로부터 제거하여 상기 기관 상에 배치된 상기 3 차원 하이드로겔 미세구조를 남기는 단계를 포함한다.

[0178] 일부 구현예에서, 상기 현탁액 레이어의 일부는 상기 포토마스크에 의해 커버되지 않는다.

[0179] 일부 구현예에서, 상기 현탁액은 스핀-코팅에 의해 상기 기관에 적용된다.

[0180] 일부 구현예에서, 상기 현탁액은 미세유체 채널로 유동함으로써 상기 기관에 적용된다.

[0181] 일부 구현예에서, 상기 반응하지 않은 현탁액 레이어는 상기 현탁액 레이어를 용매에 용해시킴으로써 상기 기관으로부터 제거되며, 여기서 용매는 물, 식염수, 포스페이트 완충 식염수 또는 유기 용매일 수 있다. 일부 구현예에서, 상기 반응하지 않은 현탁액 레이어는 세척에 의해 상기 압전 기관으로부터 제거된다.

[0182] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 방법은 3D 매트릭스 미세구조를 결합 시약을 포함하는 용액에 노출시키는

단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 결합 시약은 비오틴이다.

- [0183] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 방법은 3D 매트릭스 미세구조를 앵커 물질 용액에 노출시키는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 3D 매트릭스 미세구조가 결합 시약을 포함하고, 3D 매트릭스 미세구조가 결합 시약을 통해 앵커 물질에 부착된다.
- [0184] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 방법은 앵커 물질이 3D 매트릭스 미세구조에 부착된 후 3D 매트릭스 미세구조를 포획제 용액에 노출시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0185] 일부 구현예는 바이오센서 구성요소를 제조하는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 압전 기관의 표면적을 증가시키기 위해 압전 기관 상에 3D 매트릭스 미세구조를 형성하는 단계, 및 하나 이상의 포획 시약을 압전 기관 상에 고정하는 단계를 포함한다.
- [0186] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 제조 방법은 압전 기관 상에 홀을 형성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0187] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 제조 방법은 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스를 형성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0188] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 제조 방법은 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스의 마이크로레이를 형성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0189] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 제조 방법은 압전 기관 상에 하이드로겔 매트릭스의 레이어를 형성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0190] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 제조 방법은 복수의 홀을 포함하는 하이드로겔 매트릭스를 추가로 포함한다.
- [0191] 일부 구현예에서, 제조 본 명세서에 기재된 방법은 리포그래피 인쇄를 사용하여 압전 기관 상에 포획 시약의 마이크로레이를 형성하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0192] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기재된 제조 방법은 레이저를 사용하여 홀을 형성하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 레이저는 피코 초 또는 펨토 초 펄스 레이저이다.

[0193] 실시예 1

- [0194] 싸이올화된-뉴트라비딘을 센서 표면에 직접적으로 부착되는 제1 레이어로서 사용하였다. 도 1은 싸이올화된 생물학적 포획 시약을 사용한 천연 알루미늄 표면의 바이오-코팅을 도시한다. 알루미늄이 예시로서 제공되었지만, 결정에서도 또한 사용될 수 있다. 부착은 싸이올 화학반응에 기초하였다. 싸이올은 금 표면에 대해 높은 결합력을 가져, 안정한 공유 결합을 형성한다. 도 2A는 싸이올화된-뉴트라비딘이 알루미늄 대 결정에 대해 예상하지 못한 우선적 결합으로, 알루미늄에 대해 높은 결합력을 나타내는 것을 또한 도시한다. 알루미늄 금속에 대한 싸이올화된-뉴트라비딘의 우선적 결합은 센서 상에서 임의의 대상 영역을 선택적으로 제조하는데 사용될 수 있다. 포획제는 싸이올화된 - 뉴트라비딘일 수 있으며 또한 압타머, 뉴클레오타이드, 및 항체를 비롯하여 임의의 싸이올화된 포획제에 의해 대체될 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법은 티타늄 등과 같은 탄성파의 전송에 사용되는 다른 물질에 사용될 수 있다.
- [0195] ddH₂O 중의 10 - 0.01 mg/ml 뉴트라비딘을 포함하는 낮은 마이크로리터 범위의 소량의 액체를 센서 영역의 표적 표면에 적용하고, 결정 또는 알루미늄 표면의 조건에 기초하여 수 분 내지 수 시간에 걸쳐 일정 기간 동안 공기 건조시켰다. 과량의 흡수되지 않은 뉴트라비딘을 이후 철저히 세척하였다. 도 2A는 광학 분석법을 사용하여 표면 코팅된 뉴트라비딘 및 싸이올화된-뉴트라비딘 각각에 대한 비오틴화 효소 프로브의 결합을 비교한다. 데이터는 알루미늄에 대한 싸이올화된-뉴트라비딘의 흡수가 결정 표면에 대한 흡수의 대략 6배를 초과하며, 또한 (비-싸이올화된) 뉴트라비딘에 대한 흡수를 초과함을 나타낸다.
- [0196] 도 2A-2C는 알루미늄 표면에 결합하는 선택적 뉴트라비딘 (NAv)을 나타낸다. 도 2A는 비오틴화 HRP/o-페닐렌 다이아민 다이하이드로클로라이드 (OPD) 쌍을 사용하는 효소 분석의 결과를 나타낸다. Blk LT는 리튬 탄탈라이트 결정 표면을 나타낸다. 417 nm에서의 흡광도는 센서 표면에 결합한 뉴트라비딘의 양에 비례하였다. 알루미늄 표면에 결합된 뉴트라비딘의 양은 싸이올화된 뉴트라비딘이 사용된 경우보다 상당히 더 많았다. 도 2B는 표면 뉴트라비딘에 결합된 비오틴화 - 플루오레세인 분자의 현미경 기반 이미지를 도시하며 (500x 배율), 도 2C는 0.2 μm 폴리스타이렌 비오틴화 형광 비드의 결합을 도시한다 (500x 배율). 비오틴화 플루오레세인 및 폴리스타이렌 형광 비드를 사용하여 SAW 센서 상에 표면-결합된 형광의 존재는 표면 뉴트라비딘 바이오-코팅이 기능

적으로 활성임을 확인하였다.

[0197] 실시예 2

[0198] 알루미늄 또는 결정 표면을 먼저 플라즈마 세정으로 활성화시켰다 (수 분 내지 수 시간). 센서 표면을 플라즈마 세정에 노출시켜, 물 접촉각을 평가함으로써 용이하게 측정될 수 있는 작용기를 생성하였다. 90 ° 보다 훨씬 작은 접촉각은 이후 활성화된 표면에 시약을 부착하기에 최적이었다. 활성화된 표면은 이후 싸이올화된-뉴트라비딘에 노출되어 표면 상에 레이어를 형성하였다. 코팅 후, 센서를 세척하여 활성화된 알루미늄 또는 결정 표면으로부터 과량의 싸이올화된 - 뉴트라비딘을 제거하였다. 코팅된 장치를 이후 건조하였다.

[0199] 실시예 3

[0200] 도 3은 표적 분석물 선택적으로 포획하기 위한 뉴트라비딘을 이용한 바이오-코팅의 개략도를 도시한다. 알루미늄 또는 결정 표면을 먼저 플라즈마 세정으로 활성화시켰다 (수 분 내지 수 시간). 센서를 플라즈마 세정에 노출시켜, 물 접촉각을 평가함으로써 용이하게 측정될 수 있는 작용기를 생성하였다. 90 ° 보다 훨씬 작은 접촉각은 이후 활성화된 표면에 시약을 부착하기에 최적이었다. 도 4A 및 4B는 센서에서 물의 접촉각 측정을 도시한다. 도 4A는 플라즈마 세정이 현저한 접촉각 감소를 야기하는 것을 나타내며, 도 4B는 PEG-실란으로의 코팅이 센서의 소수성을 현저히 증가시킨 것을 나타낸다.

[0201] 이어서 활성화된 표면을 다양한 길이의 페길화된 화합물 (스페이서)에 부착된 실란으로 코팅하였으며, 이러한 스페이서는 스페이서의 상부에 비오틴이 공유 결합되어 있다. PEG의 농도는 모노레이어를 보장하는데 중요하며 사용되는 반응 조건에 따라 달라졌다. 코팅 후, 센서를 세척하여 활성화된 알루미늄 표면으로부터 과량의 비흡수된 PEG-비오틴을 제거하였다. 코팅된 장치를 이후 건조하였다. 물 접촉각 측정을 통해 PEG-비오틴 코팅의 완전성을 확인하였다. PEG 스페이서의 길이는 100-2000 분자량일 수 있으며 특정 대상 결합체에 대해 맞춤화될 수 있다.

[0202] 도 5A 및 5B는 비오틴화 플루오레세인 및 형광 폴리스타이렌 비드의 형광 이미지를 도시한다. 도 5A는 비오틴화 플루오레세인을 나타내며 (50x 배율) 도 5B는 형광 폴리스타이렌 비드를 나타내고 (500x 배율) 이는 표면 바이오-코팅에 대한 결합이 균질한 것을 나타낸다. 도 5A 및 5B는 비오틴화 폴리스타이렌 비드가 센서의 활성화된 표면에 접촉되었으며 수득된 표면 뉴트라비딘이 완전히 기능적임을 입증하는 것을 나타낸다. 이와 유사하게, 비오틴화 항체 또는 이의 단편, 압타머, 등을 포함하는 임의의 비오틴화 물질이 바이오-코팅 상에 제조될 수 있다. 도시된 예시에서, 비오틴화-플루오레세인은 표면-결합된 뉴트라비딘에 대한 프로브로 사용하였다. 표면 상의 모든 뉴트라비딘 결합 위치가, 예를 들어, 비오틴화 항체에 의해 취해진 조건하에서, 비오틴화-플루오레세인의 후속적인 첨가는 바이오-코팅 상에서 관찰될 수 없다 (데이터는 도시되지 않음). 데이터는 상기 코팅이 표적 분석물의 포획에 적합한 것을 나타낸다. 따라서, 센서 표면에 대한 분석물의 결합은 SAW 기술을 사용하여 정량적으로 검출될 수 있는 센서 표면 상의 미세-점도 및 질량 로딩을 변화시킬 것이다.

[0203] 실시예 4

[0204] 본 실시예는 표면 활성화 및 유도체화 이후 알루미늄 및/또는 결정의 바이오-코팅 공정을 포함한다. 짧은 NHS 또는 에폭시 스페이서를 통해 표면에 생물학적 포획체 (예컨대, 항체)를 직접 공유적으로 부착시킨다.

[0205] 도 6은 표적 분석물 선택적으로 포획하기 위한 (뉴트라비딘을 이용하지 않는) 바이오-코팅의 개략도를 도시한다. 스페이서에 부착된 작용기 (예컨대, PEG 또는 탄수화물 사슬)는 사용하여 센서 표면에 부착된 항체 또는 다른 분석물 포획 분자에 직접 결합할 수 있다. 이러한 직접적인 접근법은 뉴트라비딘의 사용을 피함으로써, 이분자 레이어의 전체 두께와 관련된 공정 단계의 수를 감소시킨다. 짧은 스페이서 (2 내지 20 nm 길이의 PEG 또는 탄수화물 사슬)을 가지는 N-하이드록시석신이미드 (NHS), 설폰-NHS, 말레이미드, -COOH 또는 -NH₂ 또는 3-글리시독시프로필(에폭시) 작용기 중 하나가 선택될 수 있다. 각각의 경우에, 실란을 앵커링 분자로서 사용하여 스페이서에 의해 분리된 작용기를 부착하였다. 포획 분자 (예컨대, 항체)와 반응하는 작용기화된 스페이서는 높은 밀도를 야기하며 입체 장애를 감소시켰다. 센서의 알루미늄 또는 결정 표면은 플라즈마 세정으로 활성화시켰다. 그 다음, 실란 분자 (5-10% 농도 - 중량%/부피)를 센서 표면에 적용시키고 인큐베이션하였다 (수 분 내지 수 시간). 과량의 실란 용매로 세척하였다. NHS 작용기화를 위해, 항체/단백질 (1-10 ug)을 센서에 직접 적용하고 실온에서 인큐베이션하였다. NHS 또는 에폭시 작용기화 이후, 표면 바이오-코팅의 작용기를 확인하기 위해 형광-분석물이 첨가될 수 있다.

[0206] 도 7A 및 7B는 에폭시 스페이서를 통해 고정된 표면 바이오-코팅에 결합된 형광 분석물을 나타낸다. 도 7A는 대

조균이며 (500x)도 7B는 에폭시 코팅된 센서이다 (500x).

[0207] 실시예 5

[0208] 압전 기관의 3 차원 매트릭스는 표면 내에 홀을 천공하여 형성되어 포획제를 위해 더 넓은 영역을 노출시킬 수 있으며 이러한 구조는 압전 기관의 활성화된 영역을 증가시키는 것을 도울 수 있다. 각 홀의 깊이가 증가하면 홀 당 분석물에 노출되는 아비딘의 면적이 증가하기 때문에, 홀은 가능한 한 깊은 것이 바람직하다. 그러나, 홀의 깊이가 증가하면 홀의 종횡비를 또한 증가시킬 수 있고, 이는 분석물이 홀의 바닥으로 확산되는 것을 더욱 어렵게 할 수 있다. IO (h/R) 초과와 종횡비는, 전체 홀 영역을 커버하는데 필요한 시간을 과도하게 증가시켜, 기기의 반응 시간을 초래하기 때문에 바람직하지 않다. IO (h/R) 이하의 종횡비가 바람직하다. 포획제로 코팅된 압전 기관의 영역은 100 mm^2 이고, 직경이 20 마이크론 및 깊이가 100 마이크론인 홀을 그 안에 추가하면, 접촉 면적은 홀 당 6280 마이크론^2 으로 증가한다. 접촉 면적을 2배로 증가시키기 위해 1.6×10^4 개의 홀이 필요하고, 접촉 면적을 10^3 배 증가시키기 위해 필요한 홀의 수는 1.6×10^7 개 이다. 1.6×10^7 개의 홀이 차지하는 표면적은 50 mm^2 이다. 홀의 면적 밀도는 따라서 50%이며, 이는 펄스 피코 초 레이저를 주사함으로써 달성될 수 있다. 10^3 초과와 표면적 증가를 위해, 더 큰 직경의 홀이 바람직하다. 예를 들어, 직경이 100 마이크론이고 깊이가 500 마이크론인 홀의 수는 접촉 면적을 두 배로 늘려 1.3×10^2 이며 커버하는 전체 표면적이 1.04 mm^2 이다.

[0209] 도 8A 및 8B는 $1.04 \text{ }\mu\text{m}$ 로 작업한, 피코 초 레이저 시스템으로 천공된 하이드로겔 매트릭스의 사인과 구조의 SEM 이미지 및 접촉각을 도시한다. 도 8A는 주기성이 $25 \text{ }\mu\text{m}$ 이고 높이가 $12 \text{ }\mu\text{m}$ 인 사인과 구조를 나타내며, 도 8B는 주기성이 $35 \text{ }\mu\text{m}$ 이고 높이가 $45 \text{ }\mu\text{m}$ 인 사인과 구조를 나타낸다. 친수성 가교된 매트릭스의 이러한 홀의 크기는 바람직하게 피코 초 또는 펨토 초 펄스 레이저를 사용하여 천공된다.

[0210] 실시예 6

[0211] 비오틴 스트렙타비딘 복합체의 마이크로어레이를 압전 기관 상에 고정화하였다. 바람직하게, 각각의 점은 직경이 10-25 마이크론일 수 있고, 높이가 5-20 마이크론일 수 있다. 바람직하게, 밀도 25-50%의 표면 패키징은 종래의 단백질 마이크로어레이 기술을 사용하여 달성될 수 있다. 단백질 마이크로어레이는 스트렙타비딘 및 비오틴을 포함하는 단백질의 흡착에 매우 불활성인 코팅 물질로서 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 사용하여 편리하게 제조된다. 비오틴을 부착하기 전에 PEG 코팅을 패터닝하기 위해 포토리소그래피 기술을 사용하고, 이어서 항체와 복합체를 형성한 비오틴에 결합하기 전에, 스트렙타비딘에 복합체를 형성한다.

[0212] 실시예 7

[0213] 하이드로겔 매트릭스는 PEG와 같은 수용성 불활성 희석제를 포함하는 친수성 단량체 배합물의 중합 및 가교에 의해 형성된다. 하이드로겔 매트릭스는 압전 기관 상에 단량체 배합물의 레이어를 첨가한 후, 단량체 레이어를 자외선 복사에 노출시켜 광개시제를 활성화시키고, 중합 및 가교를 수행함으로써 형성될 수 있다. 하이드로겔 매트릭스는 매트릭스의 두께, 이의 친수성 (평균 수분 함량), 및 처리 온도의 따라 탈이온수 또는 PBS에 수 분 내치 수 시간 동안 침지된다. 이러한 처리는 희석제를 제거하여, 이를 물로 대체하고 미세 - 공동을 도입하고, 자유 부피를 향상시켜, 매트릭스에 부착되도록 단백질 분자 세그먼트의 국소 이동성을 허용한다. 매트릭스는 이후 하이드로겔 매트릭스 상에 비오틴을 결합시키기 위해 비오틴 용액 (즉, 포스페이트 완충 염수에 용해된 NHS-LC-비오틴으로 용리시킨다. 하이드로겔 매트릭스를 이후 스트렙타비딘 용액으로 추가로 용리시켜 스트렙타비딘을 결합된 비오틴에 결합시킨다. 작용기화된 하이드로겔 매트릭스는 이후 특이적 병원체 또는 다른 바이오-시제를 표적으로 하는 항체와 접합된 비오틴으로 활성화될 준비가 되어있다.

[0214] 실시예 8

[0215] 실시예 5-7에 기재된 미세 패터닝 및 3D 매트릭스는 모두 압전 기관 상에서 소프트 리소그래피 공정을 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 접근법은 도 9와 같이 자동화에 특히 적합하다. 도 9에 도시된 마이크로/나노 패터닝의 제조를 위한 소프트 리소그래피 공정은 폴리다이메틸 실록산 (PDMS)으로 제조된 몰드를 사용한다.

[0216] 실시예 9

[0217] 하이드로겔 매트릭스의 마이크로어레이는 또한 실시예 7에 기재된 중합 및 가교 단계에 따라 제조될 수 있다. 이러한 하이드로겔 매트릭스의 마이크로어레이는 또한 상기 실시예에 기재된 단계를 사용하여 작용기화될 수 있다.

[0218] 실시예 10

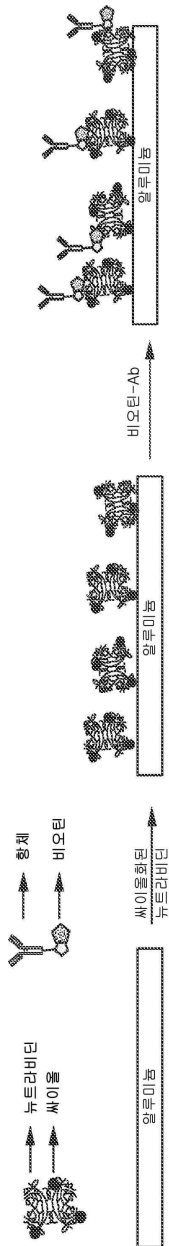
[0219] 하이드로겔 매트릭스는 레이어를 형성하도록 사용될 수 있다. 하이드로겔 매트릭스는 폴리비닐 알코올 또는 폴리비닐 아세테이트와 같은 수용성 중합체의 작은 입자 배합물로부터 형성된다. 매트릭스가 형성되면, 희석제가 있는 경우 이를 제거하고, 또한 입자를 용해시키기 위해 물 또는 생리 식염수에서 세척된다. 입자는 10^2 내지 10^6 마이크론³ 범위의 특정 부피의 공간을 남기며 매트릭스 내에 무작위로 균일하게 분포되어 있다. 최대 10^6 개의 입자가 1 mL의 단량체 배합물에 로딩될 수 있다. 이에 의해 형성된 각각의 미세-공동은 아비딘 분자에 결합된 비오틴 상에 존재하는 항체 부위로의 접근을 가능하게 한다.

[0220] 실시예 11

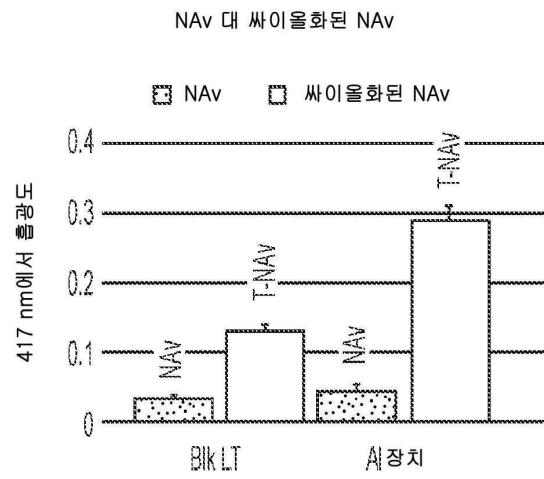
[0221] 덴드리머 (예컨대, PMMA, PPI, 또는 이의 조합)은 레이어를 형성하도록 제조될 수 있다. 덴드리머는 작용기를 포함하기 위해 형성될 수 있다. 매트릭스가 형성되면, 희석제가 있는 경우 이를 제거하고, 또한 입자를 용해시키기 위해 물 또는 생리 식염수에서 세척된다. 입자는 10^2 내지 10^6 마이크론³ 범위의 특정 부피의 공간을 남기며 매트릭스 내에 무작위로 균일하게 분포되어 있다. 최대 10^6 개의 입자가 1 mL의 단량체 배합물에 로딩될 수 있다. 이에 의해 형성된 각각의 미세-공동은 아비딘 분자에 결합된 비오틴 상에 존재하는 항체 부위로의 접근을 가능하게 한다.

도면

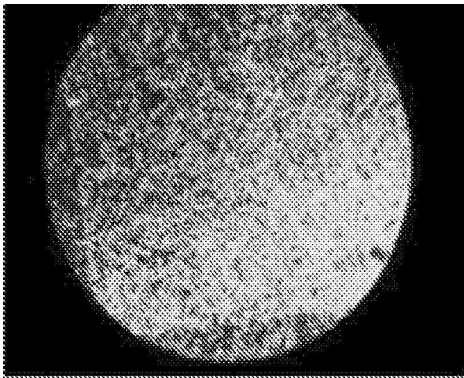
도면1



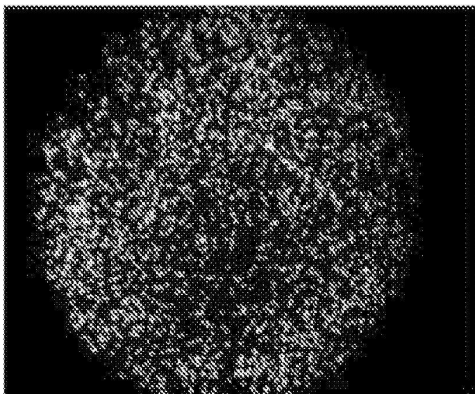
도면2a



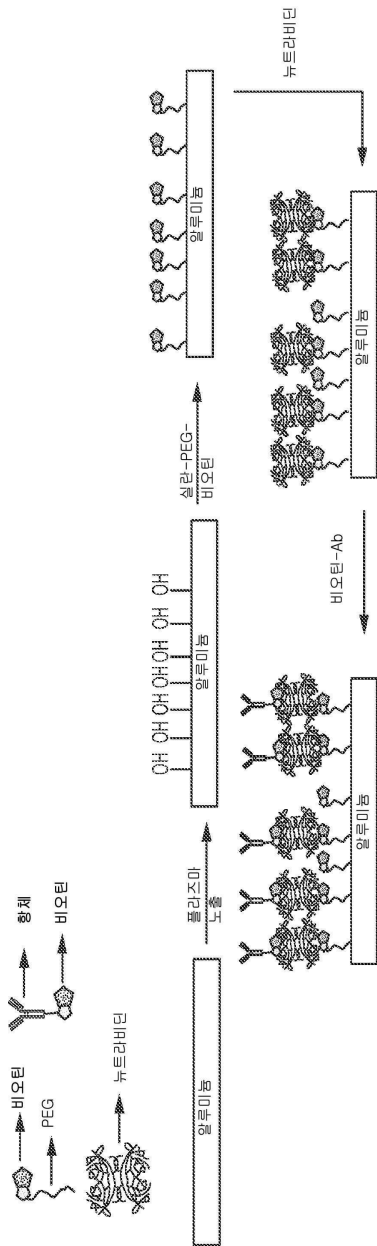
도면2b



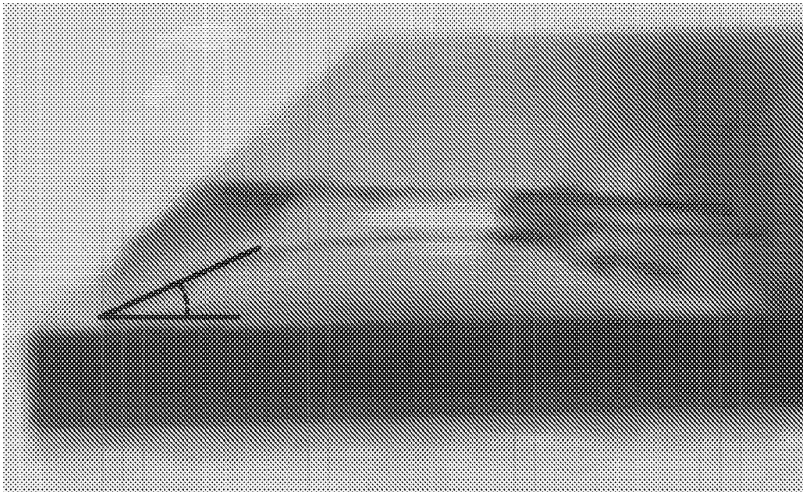
도면2c



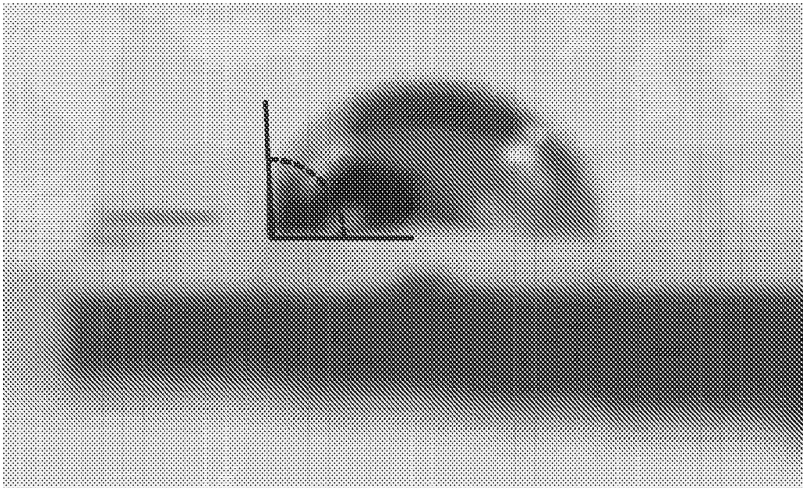
도면3



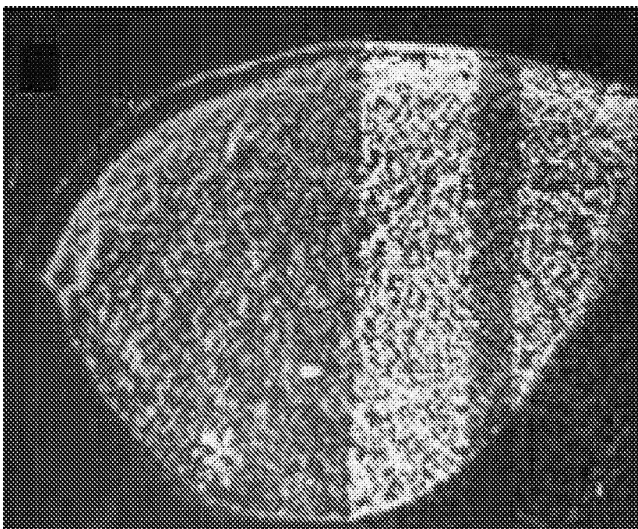
도면4a



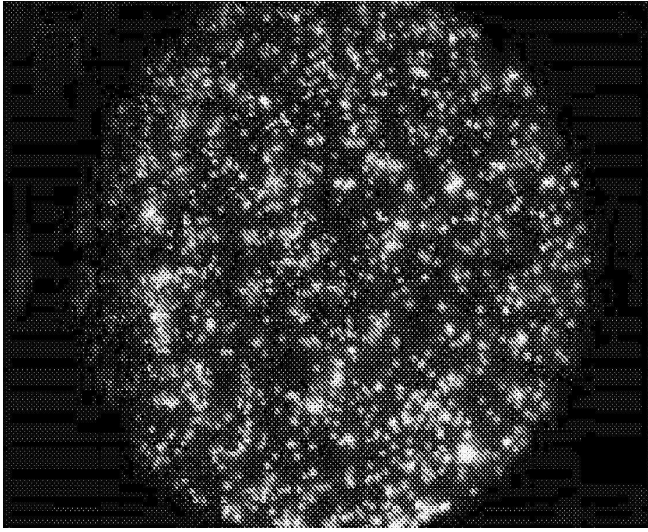
도면4b



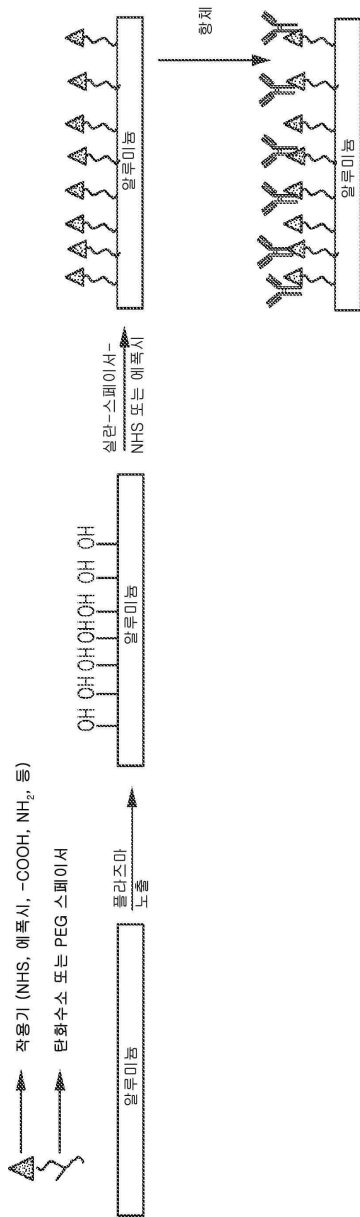
도면5a



도면5b



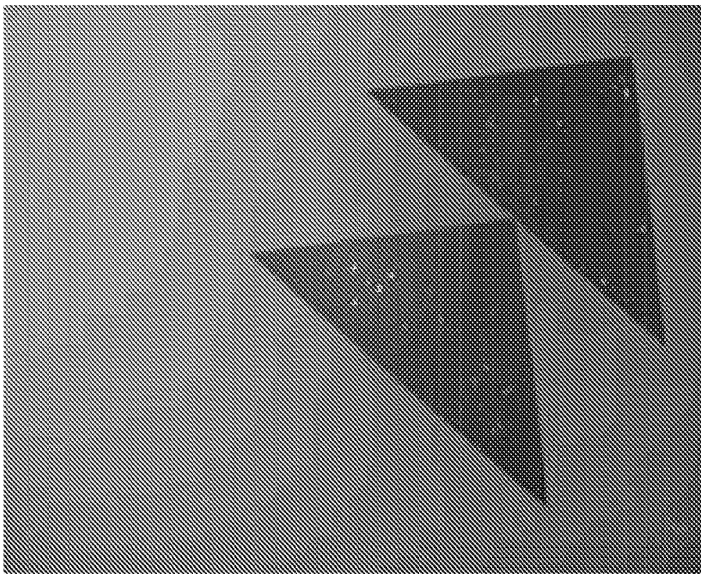
도면6



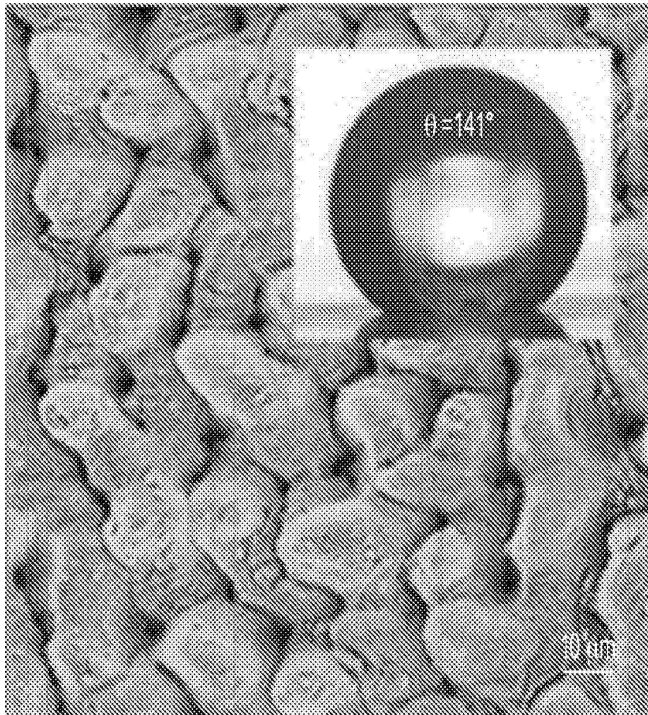
도면7a



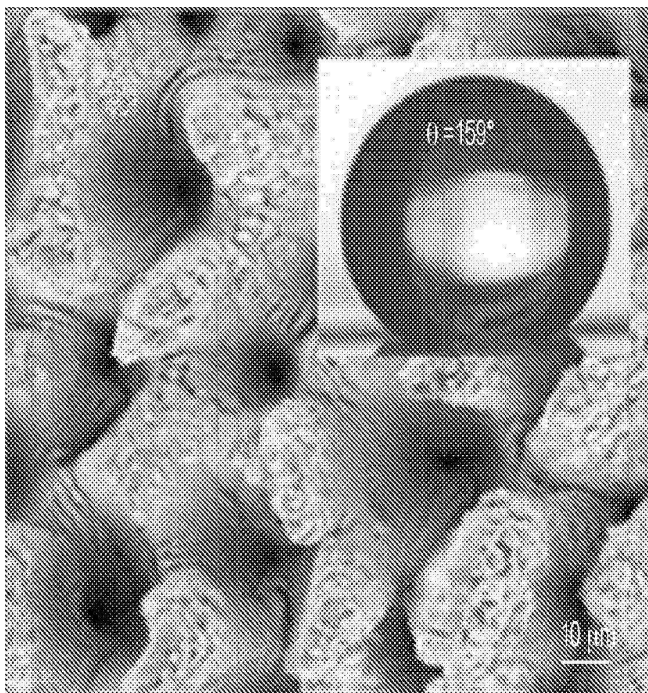
도면7b



도면8a



도면8b



도면9

점착 인쇄 (ref 38,39)		모세관 성형 (ref 40-43)	
물드	소프트 물드 폴리(다이메틸실록산) (PDMS) 하드 PDMS (h-PDMS)	폴리(다이메틸실록산) (PDMS) 건고하고 유연한 물드 (PUA)	
해상도	~500 nm h-PDMS로 ~50 nm	PUA 물드로 ~50 nm	
적용	1. 채널 제조 2. 생물학적 분자의 직접 인쇄 (1D 화학적 개질)	1. 채널 제조 2. 마이크로/나노구조물의 제조 (2D 구조)	
공정	