

심사관 : 이재형

(54) 아즐락톤 공중합체를 주성분으로 하는 광경화 및 광패턴화가능한 히드로겔 매트릭스

요약

본 발명은 (a) 1 종 이상의 아즐락톤 작용성 단량체 1 내지 99 중량부와 1 종 이상의 공단량체 0 내지 99 중량부로부터 유도된 1 종 이상의 공중합체, 및 (b) 1 종 이상의 광가교제를 포함하는 광경화 및 광패턴화 가능한 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 기재 및 상기 경화된 조성물의 겔층을 포함하는, 고분해능으로 광패턴화되고 기재에 생분자를 결합시키는 데 사용되는 제품을 제공한다.

대표도

도 1

명세서

기술분야

본 발명은 아즐락톤 작용기를 갖는 광경화제 및 중합체를 포함하는 광경화 및 광패턴화 조성물에 관한 것이다. 이 조성물은 기질 상에서 고분해능으로 패턴화될 수 있으며 생물학적 활성 분자들을 결합시키는 데 사용될 수 있다.

배경기술

기재에 생분자들을 고정화시키는 다양한 방법들이 개시되어 있다.

미국 특허 제5,552,270호는 기재 상에 지지되는 겔 스퀘어들의 매트릭스 중에 DNA 올리고뉴클레오티드를 고정화시키는 DNA 서열화 방법에 관한 것이다. DNA는 첨가된 3' 말단 3-메틸 우리딘의 산화 반응 후 기재 결합된 히드라진과의 반응에 의해, 기재에 결합하여 "비교적 안정한 모르폴린 유도체"를 형성한다(상기 미국 특허 제5,552,270호의 컬럼 2, 라인 41 내지 47). 이 참고 문헌은 측면이 25 내지 100 μm이며 폭의 두배만큼 이격되어 있는 겔 스퀘어를 개시하고 있다(상기 미국 특허 제5,552,270호의 컬럼 2, 라인 60 내지 64).

미국 특허 제5,744,305호는 마스크를 사용하는 광 반응에 의해 각 단량체 첨가 단계 전에 보호기를 선택적으로 제거하는 "광 유도 합성법"으로 현장에서 합성되는 DNA 또는 펩티드 올리고머 패치를 포함하는 생물학적 칩 플레이트에 관한 것이다. 각 올리고머성 스트랜드의 초기 염기는 아민 작용기에 결합됨으로써 기재에 확실히 결합되어 있다(미국 특허 제5,744,305호의 도 1 및 도 2).

미국 특허 제4,871,824호는 생물학적 활성 분자 고정화용 반응 지지체로서 유용한 아즐락톤 작용성 중합체로 된 저팽윤성 비드에 관한 것이다.

미국 특허 제5,344,701호는 아즐락톤 작용성 코팅에 결합시킴으로써 생분자들을 기재에 고정화시키는 방법에 관한 것이다. 이 참고 문헌은 자유 라디칼 첨가 부위를 갖는 아즐락톤 작용성 단량체들을 임의로 자유 라디칼 가교제(예컨대, 디비닐)를 사용하여 기재에 적용하고, 이어서 계내 중합 반응시키는 것을 개시한다.

미국 특허 제5,725,989호는 지지체, 광-열 전환층, 중간층 및 열전이층을 포함하는 레이저 어드레서블(addressable) 열전이 영상화 요소에 관한 것이다.

발명의 상세한 설명

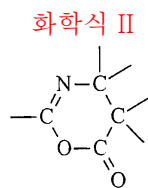
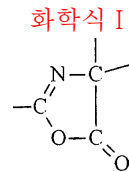
간략히, 본 발명은 (a) 1 종 이상의 아즐락톤 작용성 단량체 1 내지 99 중량부와 1 종 이상의 공단량체 0 내지 99 중량부로부터 유도된 1 종 이상의 공중합체 및 (b) 1 종 이상의 광가교제를 포함하는 광경화 및 광패턴화 가능한, 생물학적 활성 분자들을 결합시키는 데 사용할 수 있는 조성물을 제공한다.

다른 양태에서, 본 발명은 상기 경화된 조성물을 포함하는 히드로겔을 제공하는 것으로, 이 겔은 생물학적 활성 분자들을 결합시킬 수 있다. 이 겔은 유리하게도 팽윤 가능하므로, 코팅으로서 사용되는 경우, 단위 면적 당 생물학적 활성 분자의 보다 높은 농도를 제공한다.

또 다른 양태에서, 본 발명은 상기 조성물로 코팅된 기재를 제공하는 것으로, 기재에서 상기 조성물은 고분해능으로 패턴화 가능하므로 경화될 수 있고, 기재에서 상기 조성물은 생분자들과 반응할 수 있어서 생분자들을 기재에 고정화시킨다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 진술한 코팅 기재의 제조 방법을 제공한다.

당업계에 개시되지 않았으며, 본 발명에 의해 제공되는 것은 광가교제와 함께 아즐락톤 작용성 중합체를 사용하는, 생분자 고정화에 유용한 조성물 및 방법이다. 또한, 본 발명의 조성물은 고분해능으로 광패턴화될 수 있다. 마지막으로, 제조된 경화 겔은 바람직하게는 팽윤 가능하므로, 단위 면적 당 보다 높은 농도를 제공한다.

본 명세서에서, "아즐락톤", "아즐락톤 작용기" 및 "아즐락톤 부위"란, 하기 화학식 I의 치환 또는 비치환 2-옥사졸린-5-온기 및/또는 하기 화학식 II의 2-옥사진-6-온기를 말한다:



"아즐락톤 작용성 단량체"란, 구조상 아즐락톤 부위를 포함하며, 아즐락톤의 개환 반응에 의해 임의로 생분자에 결합되어 생분자-아즐락톤 결합을 형성한 단량체를 말한다.

"히드로겔"이란, 물리적 반응(예컨대, 흡착 또는 탈착) 또는 화학적 반응(예컨대, 가수분해) 중 어느 하나에 의해 수중 팽윤할 수 있는 중합체 재료를 말하는 것으로, 수중에서 팽윤하기 전 또는 팽윤한 후의 겔 재료를 일컫는다.

"광가교제"란, 전자기 복사선의 적용에 응답하여 2 개 이상의 중합체 분자들을 결합시킬 수 있고, 성장하는 중합체쇄를 제외한 부위에서 중합체 분자들에 결합할 수 있는 화학종을 의미한다.

"공중합 가교제"란, 2 개 이상의 중합체 분자들을 결합시킬 수 있고, 성장하는 중합체쇄의 말단에서 중합체에 부착하는 화학종을 의미한다.

"생물학적 활성"이란, 생화학적으로, 면역화학적으로, 물리화학적으로 또는 약학적으로 활성임을 말한다.

"생물학적 활성 분자" 및 "생분자"란, 호환적으로 사용되며 항체, 안티젠, 효소, 공동인자(cofactor), 억제제, 호르몬, 수용체, 응집 인자, 아미노산, 히스톤, 비타민, 약물, 세포 표면 마커, 단백질 및 폴리펩티드, DNA 올리고뉴클레오티드를 비롯한 DNA, RNA 올리고뉴클레오티드를 비롯한 RNA, PNA, 및 이들의 유도체를 들 수 있으며,

"치환된"이란, 목적하는 생성물을 방해하지 않는 종래의 치환체(예컨대, 알킬, 알콕시, 아릴, 페닐, 할로(F, Cl, Br, I), 시아노, 니트로 등)에 의해 치환되는 것을 의미한다.

본 발명의 이점은 광범위한 생분자들에 적용할 수 있으며, 고분해능으로 광패턴화될 수 있는 기재에 생분자들을 고정화시키는 데 유용한 조성물 및 방법을 제공하는 것이다.

도면의 간단한 설명

도 1은 200 배 확대하여 촬영한 본 발명에 의한 히드로겔 패드의 현미경 사진이다. 스케일 바(scale bar)는 100 μm를 나타낸다.

도 2는 1000 배 확대하여 촬영한 본 발명에 의한 히드로겔 패드의 현미경 사진이다. 스케일 바는 40 μm를 나타낸다.

도 3은 100 배 확대하여 촬영한 본 발명에 의한 히드로겔 패드의 현미경 사진이다. 스케일 바는 200 μm를 나타낸다.

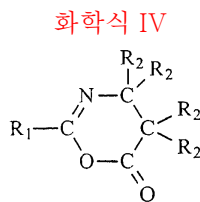
바람직한 구체예의 상세한 설명

본 발명은 (a) 1 종 이상의 아즐락톤 작용성 단량체 1 내지 99 중량부와 1 종 이상의 공단량체 0 내지 99 중량부로부터 유도된 1 종 이상의 공중합체 및 (b) 1 종 이상의 광가교제를 포함하는 광경화 및 광패턴화 가능한, 생물학적 활성 분자들을 결합시키는 데 사용할 수 있는 조성물을 제공한다.

상기 아즐락톤 작용성 단량체의 공중합체는 폴리올레핀, 폴리아민 또는 폴리이미드를 비롯한 임의의 적합한 중합체 타입일 수 있다. 바람직하게는, 상기 중합체는 폴리올레핀이다. 상기 공중합체는 임의로 디비닐 화합종과 같은 공중합 가교제로부터 유도된 가교점을 지닐 수 있다.

아즐락톤 작용성 단량체의 공중합체는 미국 특허 제4,451,619호, 제4,737,560호, 제5,200,471호, 제5,292,840호, 제5,336,742호, 제5,344,701호, 제5,403,902호, 제5,451,453호 및 제4,871,824호를 비롯한 임의의 적당한 방법으로 제조될 수 있다. 바람직한 방법은 자유 라디칼 중합 반응을 포함한다. 바람직하게는, 공중합체의 중합 반응은 광개시제와 반응하기 전에 종료한다.

아즐락톤 작용성 단량체는 하기 화학식 III와 IV를 갖는 단량체를 포함하는, 아즐락톤 작용기를 함유하는 임의의 적당한 단량체일 수 있다:



상기 식들에서,

R₁은 비닐, 프로필렌일, 및 헥센일과 같은 중합 가능한 작용기이고, R₂는 각각 독립적으로 탄소 원자수가 1 내지 14인 알킬기, 탄소 원자수가 3 내지 14인 시클로알킬기, 고리 원자수가 5 내지 12인 아릴기, 탄소 원자수가 6 내지 26이고, S, N 및 비과산화성 O 헤테로원자수가 0 내지 3인 아렌일기이거나, 또는 2 개의 R₂ 치환기가 이들이 결합된 탄소와 함께 고리 원자수가 4 내지 12인 탄소환 고리를 형성할 수 있다. 바람직한 아즐락톤 작용성 단량체는 2-비닐-4,4-디메틸-2-옥사졸린-5-온(비닐 디메틸아즐락톤, VDM)이다.

삭제

공단량체는 임의의 적당한 단량체일 수 있다. 바람직한 단량체로는 비닐기 함유 화합물 및 아크릴로일 함유 화합물을 들 수 있다. 이러한 단량체로서 대표적인 것으로는, 아크릴아미드, 메타크릴아미드, N,N-디메틸아크릴아미드, 디아세톤아크릴아미드, N-비닐피롤리돈, 히드록시에틸 메타크릴레이트, 2-아크릴아미도-2-메틸프로판술폰산 및 이들의 염, N-(3-메타크릴아미도프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 염, N,N-디메틸아미노에틸 메타크릴레이트, 아크릴산, 메타크릴산, 이타콘산 및 이들의 조합물을 들 수 있다. 바람직한 공단량체는 N,N-디메타크릴아미드 및 N-비닐피롤리돈이 있다.

임의의 공중합 가교제는 2 개 이상의 중합성 작용기를 갖는 임의의 적합한 종일 수 있다. 적당한 다작용성 가교 단량체로는 에틸렌계 불포화 (α,β -불포화) 에스테르, 예를 들면 에틸렌 디아크릴레이트, 에틸렌 디메타크릴레이트, 트리메틸올프로판 트리아크릴레이트 및 트리메타크릴레이트 및 α,β -불포화 아미드, 예를 들면 메틸렌비스(아크릴아미드), 메틸렌비스(메타크릴아미드), N,N'-디아크릴로일-1,2-디아미노에탄, N,N'-디메타크릴로일-1,2-디아미노에탄 및 2-알켄일 아즐락톤과 단쇄 디아민의 반응 생성물이 있다.

광가교제는 전자기 복사선 적용에 응답하여 2 개 이상의 중합체 분자들을 결합시킬 수 있으며, 성장하는 중합체쇄의 말단을 제외한 부위에서 중합체에 부착할 수 있는 임의의 적당한 화학종이다. 이 광가교제는 중합체의 중합 반응이 종료한 후 중합체에 부착될 수 있어야 한다. 바람직한 광가교제로는 비스아지드, 비스디아조카르보닐 및 비스디아지린을 들 수 있다. 비스아지드가 사용의 용이성 측면에서 가장 바람직하다. 아지드(-N₃)기는 UV 광선을 적용하면 질소(N₂)를 방출하여, 고반응성 2가 질소인 니트렌을 남긴다. 반응성 카르벤은 디아조카르보닐 또는 디아지린의 광분해에 의해 생성될 수 있다. 활성 니트렌 또는 카르벤 종은 예비중합된 중합체들에 C-C 또는 C-H 결합을 비롯한 다양한 유형의 결합을 도입시켜서 가교점을 제공할 수 있다. 아지드, 비스아지드, 아조카르보닐 및 비스디아조카르보닐 가교제는 중합체-중합체 가교점뿐만 아니라, 기재-중합체 결합을 형성할 수 있으므로, 바람직하다. 바람직한 디아지드 종으로는 2,6-비스(4-아지도벤질리덴)-4-메틸 시클로헥산온(BAMC), 4,4'-디아지도디페닐에테르, 4,4'-디아지도디페닐술폰, 4,4'-디아지도디페닐아세톤, 4,4'-디아지도디페닐메탄을 들 수 있다. 바람직한 비스디아조카르보닐 종은 1,4-비스(α -디아조벤질)벤젠을 포함한다. 광가교제는 광경화뿐만 아니라, 열경화도 제공할 수 있다.

또 다른 구체예에서, 상기 광가교제는 상기 중합체에 부착하는 제1 작용기와 광 인가시 가교점을 형성하는 제2 작용기를 갖는 헤테로-이작용성 화합물일 수 있다. 예컨대, 4-[p-아지도살리시아미도]부틸아민(ASBA, 미국 일리노이주 록포드에 소재한 피어스 케미칼 컴패니 제품)은 전술한 바와 같이, 아즐락톤에 결합하는 아민 작용기와 또 다른 중합체쇄에 가교점을 형성하는 아지도 작용기를 갖는다.

중합체의 아즐락톤 작용기를 점유함으로써 광가교제가 중합체에 부착하는 경우, 가교제는 생분자를 결합시키는 데 필요한 모든 아즐락톤 부위를 점유하지 않도록 1 당량 미만의 분량으로 존재하여야 한다. 다시 말하면, 광가교제 상에 존재하는 아즐락톤 반응성 작용기 수는 중합체 상에 존재하는 아즐락톤 작용기의 총수 보다 작아야 한다. 그러나, 광가교 전에 생분자들이 부착되는 경우, 즉 조성물이 이미 생분자-아즐락톤 결합을 포함하는 경우, 이 조건은 적용할 필요가 없다.

본 발명의 조성물은 기재에 코팅되고, 경화(즉, 광가교)되며, 패턴화되고, 생분자와 반응할 수 있다. 다양한 방법으로, 이들 4 단계를 임의의 순서로 수행할 수 있다. 많은 기술, 예컨대 전술한 바와 같이 포토리토그래피 패턴화 및 레이저 유도 열 이미징화(LITI) 패턴화 기술들은 조성물의 코팅, 경화 또는 패턴화 단계들을 동시에 또는 거의 동시에 수행한다.

기재는 중합체가 부착하는 임의의 적당한 재료일 수 있다. 유용한 기재로는 무기 고체, 예를 들면 유리, 세라믹, 불연 금속 및 비금속 산화물, 점토, 제올라이트 및 유기 중합체를 들 수 있다. 바람직한 기재는 광가교제와 용이하게 반응하는 것이다. 광가교제가 아지드 작용기를 포함하는 경우, 바람직한 기재는 유기 중합체 및 표면 처리된 유리(예컨대, 실록산 변성 유리)이다.

조성물은 임의의 적당한 방법으로 기재에 코팅될 수 있다. 코팅의 두께는 1 nm 내지 5 mm 범위일 수 있으나, 바람직하게는 0.05 내지 100 μm , 가장 바람직하게는 1 내지 20 μm 이다.

조성물은 용매의 첨가하거나 또는 첨가하지 않은 채로 코팅될 수 있다. 적당한 방법으로는 스핀 코팅, 스프레이 코팅, 침지 또는 롤러 코팅이 있다. 조성물은 선택적으로 코팅되어 패턴화된 표면을 제공할 수 있다. 이러한 방법으로는 잉크 젯 인쇄, 오프셋, 플렉소그래피 인쇄 등과 같은 공지의 인쇄 방법이 있다. 또한, 조성물이 미세구조 내에 존재하여 조성물의 패턴화 배열을 제공할 수 있게 하는 방법으로 미세구조 표면(예컨대, μm 단위의 함몰부 또는 채널을 갖는 표면)에 나이프 코팅될 수도 있다.

X는 -O-, -S-, -NH- 또는 -NR₄-일 수 있는데, 여기서 R₄는 C₁-C₂₀ 알킬, C₆-C₃₀ 아릴 또는 G에 대한 두번째 결합일 수 있으며,

HXG는 부착 작용기 HX-를 갖는 생분자이고,

XG는 중합체에 결합하고 남은, HXG의 잔기이다.

생분자의 부착 작용기에 따라서, 효과적인 부착 반응 속도를 달성하기 위해 촉매를 필요로 할 수 있다. 1차 아민 작용기는 촉매를 필요로 하지 않는다. 산 촉매, 예컨대 트리플루오로아세트산, 에탄술폰산, 톨루엔술폰산 등은 히드록시 및 2차 아민 작용기에서 유효하다. 아민 염기, 예컨대 트리에틸아민, 1,8-디아자비시클로[5.4.0]운데크-7-엔(DBU) 및 1,5-디아자비시클로[4.3.0]논-5-엔(DBN)(양자는 미국 위스콘신주 밀워키에 소재한 엘드리치 케미칼 컴패니 제품)은 히드록시 및 티올 부착 작용기에 대해 효과적이다. 사용된 촉매의 양은 아즐락톤 100 부를 기준으로 일반적으로 1 내지 10 중량부, 바람직하게는 1 내지 5 중량부이다. 유리하게, 본 발명의 아즐락톤 작용기는 말단에서 폴리펩티드 및 폴리뉴클레오티드에 부착되는 것이 바람직하다.

중합체에 생분자를 부착시키는 단계는 코팅 전 또는 후, 경화 전 또는 후, 그리고 패턴화 전 또는 후에 수행될 수 있다.

생분자가 부착된 후, 사용되지 않은 임의의 아즐락톤 작용기를 점유하고, 추후, 임의의 불필요한 재료로 젤이 오염되는 것을 막기 위해, 캡핑 기를 첨가할 수 있다. 캡핑기는 아즐락톤과 용이하게 반응하는 것이 바람직하며, 젤의 소정의 특징을 방해하지 않는 것이 바람직하다. 캡핑기는 수용성이어서 젤의 팽윤성을 개선시키는 것이 바람직하다. 바람직한 캡핑기는 1차 아민 및 물이다.

생성된 경화 젤은 팽윤할 수 있는 것이 유리하다. 왜냐하면, 팽윤 가능한 젤은 소정의 기재 영역에서 더 많은 양의 생분자를 결합시킬 수 있기 때문이다. 이러한 면적 밀도의 증가는 표적 부위의 광학적 판독값과 같은 측정 성능을 개선시키며, 더 많은 소형화를 허용한다. 젤은 수중에서 하룻밤 침지되는 경우, 그 건조 부피의 두배 이상까지 팽윤하는 것이 유리하며, 바람직하게는 그 건조 부피의 세배 이상, 더욱 바람직하게는 네배 이상, 가장바람직하게는 그 건조 부피의 다섯배 이상 팽윤한다. 팽윤 정도는 사용된 광경화제의 양을 통해 유리하게 조절될 수 있다.

본 발명은 시험 탐침 또는 기준물을 사용하는 분석 장치에 유용하다. 특히, 기재의 압축 부위에서 다양한 상이한 생분자들을 사용하는 것이 바람직한 경우에 유용하다.

예를 들면, 마이크로칩 상에 DNA 서열 조작용 소형화함으로써 속도 및 비용상의 개선을 제공한다. 본 발명의 젤 패드를 함유하는 올리고뉴클레오티드는 수천 내지 수백만 개의 탐침이 칩의 표면 어디에서건 스포팅된 고밀도 DNA 칩을 제조하는데 사용할 수 있다. 하이브리드화에 의한 서열화 방법에서, 올리고뉴클레오티드 탐침의 완전한 배열(예컨대, 모두 1024 개의 가능한 오량체 또는 65,536개의 가능한 육량체)을 기재 상에 패턴화하고, 서열화하고자 하는 DNA 시료를 배열에 구체적으로 하이브리드화시킨다. 표적 DNA 서열은 표적 서열과 완전한 2분쇄를 형성하는 올리고머들의 중첩 세트를 분석함으로써 확인할 수 있다. 일례로서, 이들과 같은 칩은 폴리겐계 질환을 감지하는 데 요구될 수 있는 다중 유전자 돌연변이의 서열화에 요구되는 용도에 유용하다.

저밀도 DNA 칩은 일반적으로 300 개까지의 탐침을 가질 수 있으며, 특히 특정 유기체 또는 균주 검출 또는 패널 시험이 요구되는 진단 용도에 적합하다. 저밀도 배열의 경우, 올리고뉴클레오티드를 함유하는 본 발명의 젤은, 미국 특허 제 5,632,957호 및 제 5,605,662호에 기재된 바와 같이, 예를 들면 표적 DNA 하이브리드화의 유리장 전기이동 제어용 프로그램 가능한 전자 매트릭스로서 사용되는 별도의 어드레스블 미소전극 상에 패턴화될 수 있다. DNA의 시료는 전기영동적으로 하나의 마이크로위치로부터 다음 위치로 이동한다. 전자의 엄격한 제어를 사용하여 각 마이크로위치에서 포획 탐침을 맞추는 DNA를 보유한다.

본 발명의 효소 함유 젤 패드의 미소배열은 효소 억제 또는 활성화 효과를 위한 코미칼(comical) 화합물을 스크리닝하기 위해 사용될 수 있다. 각각의 젤 패드를 다양한 조사량의 표적 화합물에 노출시키고, 각 패드 젤 내의 효소활성을 측정함으로써 조사량 응답을 모니터링한다.

천연 또는 유전적으로 가공된 미생물 또한 본 발명의 각 겔 패드에 부동하시킬 수 있다. 미생물 표면 상의 생분자는 겔에 부착시키기 위한 고정 점으로 작용한다. 화학적 자극 또는 기타 환경 조건에 대한 미생물의 생물학적 응답을 모니터링한다. 별도의 방법으로, 이러한 미생물 함유 겔 패드를 별개의 생반응기로서 사용할 수 있다.

겔 부착 및 성장을 촉진시키는 생물학적 분자(예컨대, 성장 인자 또는 콜라겐)를 함유하는 겔은 전술한 방법 및 조성물을 사용하여 패턴화될 수 있다. 생성된 패턴화 겔은 두 가지 치수의 세포 구조물, 예컨대 뉴런 망상구조, 피부 또는 혈액을 형성하는 데 사용된다.

또한, 본 발명의 조성물은 면역 분석 패널, 약물 남용 패널, 효소계 전극 및 오프토티드(optode)를 지지하는 데 사용될 수도 있다. 또한, 겔 패드의 배열은 감지하고자 하는 미생물을 함유하는 계측량의 유체를 함침하는 데 사용될 수 있다. 성장 영양소 및 형광 탐침을 겔 패드 내로 도입할 수 있다. 시료 중 생육 가능한 유기체의 수는 형광 응답을 나타내는 겔 패드의 수에 상관될 수 있다.

본 발명의 목적 및 이점은 하기 실시예에서 추가로 설명될 것이나, 이들 실시예에서 인용된 특정 재료 및 양뿐만 아니라, 기타 조건 및 상세한 내역에 의해 본 발명은 부당히 제한되는 것은 아니다.

실시예

특별한 언급이 없는 한, 모든 약품 및 시약은 미국 위스콘신주 밀워키에 소재한 알드리치 케미칼 컴퍼니에서 제조 또는 시판하는 것이다.

실시예 1: 1:1 디메틸아크릴아미드:비닐 디메틸아졸락톤(DMA:VDM) 공중합체의 제조

메틸 에틸 케톤(MEK) 210 중량부 중의 디메틸아크릴아미드(DMA) 70 중량부 및 2-비닐-4,4-디메틸-2-옥사졸린-5-온(비닐디메틸아졸락톤, VDM, 미국 뉴저지주 프린스턴에 소재한 SNPE에서 시판함) 70 중량부의 용액을 N,N'-아조비스(이소부티로니트릴) 개시제(AIBN, 미국 버지니아주 리치몬드 소재한 와코 케미칼스 USA사에서 VAZO 64TM로 시판함)와 혼합하였다. 혼합물을 5 분간 질소 분출시킨 후, 단지 내에 밀봉하고, 60°C에서 24 시간 동안 라우더로미터(lauderometer) 수욕에서 텀블링하였다. 생성된 반응 혼합물은 120°C에서 3 시간동안 시료를 증발시킴으로써 고형분 함량이 40.6%인 것으로 중력 측정법으로 측정하였다.

실시예 2: 2,6-비스(4-아지도벤질리덴)-4-메틸 시클로헥산온(BAMC) 광경화제:디메틸포름아미드(DMF) 용액을 사용하는 (DMA:VDM)의 리토그래피 패턴화

50:50(w/w) DMA:VDM 공중합체(실시예 1에 기술된 바와 같이 제조됨)를 메틸 에틸 케톤(MEK) 중의 40%(w/w) 용액으로 제조하였다. 건조시킨 공중합체를 디메틸포름아미드에 재용해하여 40%(w/w) 용액을 제조하였다. 저광선 조건(< 0.1 ft 캔들(fc)< 1 lux), 미국 코네티컷주 웨스트베리에 소재한 스펙트로닉스 코퍼레이션의 Spectroline DIX-555A 센서를 사용하여 555 nm에서 측정함) 하에서, 습윤 2,6-비스(4-아지도벤질리덴)-4-메틸 시클로헥산온(BAMC)(물 30% 함유) 28 mg을 진공 데시게이터에서 23°C 및 약 0.1 mtorr에서 건조시킨 뒤, DMA:VDM 용액 2 g에 첨가하였다. 얻은 혼합물을 스파틀라를 사용하여 1.5 cm x 2.0 cm x 1 mm 두께의 폴리(메틸메타크릴레이트)(PMMA, DRG-100, 미국 펜실베이니아주 필라델피아에 소재한 아토하스 아메리카스 제품) 상에 손으로 전착시켰다. 융합 실리카 포토리토그래피 마스크(MRS-3, 미국 매사추세츠주, 톱스필드에 소재한 젤러 마이크로어날리티칼 레보라토리 제품)를 박리제로서 나트륨 도데실 술페이트 용액 1% 수용액으로 침지 코팅한 후, 질소 스트림 하에서 건조시켰다. DMA:VDM 코팅을 접촉시키는 크롬메이트 패턴을 갖는 코팅된 PMMA 시트에 마스크를 손으로 도포하고, 적층물을 UV 조사 광원(모델: ELC4001, 미국 코네티컷주 덴버리에 소재한 일렉트로-리트 코퍼레이션 제품, 미국 코네티컷주 웨스트베리에 소재한 스펙트로닉스 코퍼레이션의 Spectroline DIX-365 센서에 의해 365 nm에서 측정하여 18 mW/cm²에서 400 W Hg 램프를 구비함)에 3 분간 노출시켰다. 저광선 조건(전술함) 하에서, 마스크를 제거하고, 노출되지 않은 중합체를 10% 이소프로필 알콜을 사용하여 PMMA로부터 행구었다. 얻어진 리토그래피 패턴화 DMA:VDM 히드로겔을 질소 하에 건조시켜서 고분해능 겔 배열을 제공하였다. 200 배율의 현미경(독일 베를린에 소재한 라이카의 라이카 모델 DMRX 현미경 사용)으로 20 μm x 20 μm의 겔 패드와 5 μm x 20 μm의 작은 겔 패드를 용이하게 제조할 수 있음을 알았다. 도 1 참조.

유사한 방법으로, 전술한 MRS-3 마스크를 사용하여 2 μm 미만의 분해능을 갖는 패턴을 제공하는 PMMA 상의 히드로겔 패턴을 얻었다. 1000 배율의 현미경(독일 베츨러에 소재한 라이카의 라이카 모델 DMRX 현미경 사용)으로 아즐락톤 히드로겔은 2 μm 보다 더 우수한 분해능으로 리토그래피 기법으로 패턴화될 수 있음을 알았다. 도 2 참조.

실시예 3: BAMC 광가교제:MEK/부틸 아세테이트 용매 혼합물을 사용하는 DMA:VDM의 리토그래피 패턴화

MEK 중의 50:50 DMA:VDM 공중합체(실시예 1에서 기술한 바와 같이 제조함)의 40%(w/w) 용액을 부틸아세테이트 중의 BAMC(30% 수성 현탁액) 2.86%(w/w) 용액 동량과 혼합하였다. 얻어진 혼합물의 부틸 아세테이트 용액을 포토-레지스트 스피너(미국 텍사스주 갈랜드에 소재한 헤드웨이 러서치 인코포레이티드의 모델 1-EC101D-R435) 상에서 1.5 cm x 2.0 cm x 1 mm PMMA 시트에 4,500 rpm으로 스핀 코팅하였다. 그 코팅을 진공 데시케이터에서 1 시간 동안 23°C 및 약 0.1 motorr로 건조시켰다. 실시예 2에 기술된 바와 같은 리토그래피 과정을 통해 실시예 2에서와 실질적으로 동일한 분해능을 갖는 겔 패턴을 제공함을 현미경으로 확인하였다.

이들 겔을 가수분해하고, 수중에 하룻밤 팽윤시켰다. 겔은 약 500%까지 팽윤되었으며, 그 형상은 30 일의 기간 동안 현저한 변화를 전개하지 않았다. 확실히, 팽윤된 겔은 PMMA 지지체와에 결합된 상태를 유지하였다.

광경화된 조성물의 반응성을 입증하기 위해, 제2 시료를 제조하고, 다음과 같이 처리하였다. 형광 플루오레신 리포터 탐침(5'-FITC-T₈-3'-NH₂, 미국 캘리포니아주 샌프란시스코에 소재한 제넬드 신세스(Genemed Synthesis) 제품)을 갖는 아민 말단화 올리고뉴클레오티드 용액 54 nM을 중탄산 탄산염 완충액(0.05 M, pH 9.2) 20 μl에 용해하였다. 그 올리고뉴클레오티드 용액을 FED 32 게이지 편평 팁 니들(FED 코포레이션, 미국 로드아일랜드주 이스트 프로비던스 소재)을 사용하여 광경화된 DMA:VDM 코팅 상에 스폿팅(spottting)하였다. 시료를 밀봉된 습윤시킨 용기에 2 시간 동안 실온에서 넣은 후, 탈이온수로 세척하고, 탈이온수로 10 시간 동안 항온 처리하였다. 밝은 형광점들을 에피플루오레신 현미경(라이카)을 사용하여 관찰하여 올리고뉴클레오티드가 아민과 아즐락톤 작용기의 반응을 통해 광경화된 겔에 공유 결합함을 나타내는 FITC 리포터를 감지하였다.

대조 시료에서는, 경화된 DMA:VDM 코팅을 탈이온수에서 1 시간 동안 항온 처리하여 아즐락톤 고리를 가수분해한 후, 질소 스트림에서 건조시켰다. 그 후, 아민 말단화된 올리고뉴클레오티드 용액을 스폿팅하고, 습윤시킨 용기에서 2 시간 동안 항온처리하였다. 시료를 탈이온수로 세척하고, 형광 현미경 하에서 검사하였다. 동일한 검출기 게인 하에 형광성 스팟은 관찰되지 않았다.

이들 결과는 (1) 반응성 아즐락톤 작용성은 광가교 단계에서 보존되며, (2) 아민 말단화된 올리고뉴클레오티드의 공유 결합은 이 원래의 아즐락톤 고리와 반응의 반응을 통해 급격히 진행되고, (3) 캡핑 반응(잔여 아즐락톤의 카복실레이트로의 전환 반응)이 종결된다면 올리고뉴클레오티드의 비특이적인 결합은 일어나지 않는다는 사실을 지지하는 증거를 제공한다.

실시예 4: 4-(p-아지도살리시아미도)부틸아민(ASBA)을 사용하는 DMA:VDM의 리토그래피 패턴화

저 광선 조건(전술함) 하에서, 4-(p-아지도살리시아미도)부틸아민(ASBA, 미국 일리노이주 옥포드에 소재한 피어스 케미칼 컴퍼니에서 시판함) 25 mg 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 축진제(EDC, HCl 염, 미국 일리노이주 옥포드에 소재한 피어스 케미칼 컴퍼니에 제품) 10 mg을 95:5(v/v) 이소프로판올:물 0.5 ml에 용해하였다. 이 용액과 1 N HCl 1 액적을 MEK 중의 50:50 DMA:VDM 공중합체(실시예 1) 40% (w/w) 용액 1 ml에 가하였다. ASBA의 부틸아민 부분을 아즐락톤 작용기에 열 커플링하여 실온에서 2 시간 동안 방치하였다. 얻어진 혼합물의 MEK 용액을 PMMA 기재에 스핀 코팅하고, 진공 데시케이터에서 15 분간 건조시켰다. 시료를 리토그래피법으로 UV 복사선에 18 mW/cm²에서 노출시키고, 3 분간 MRS-3 마스크를 사용하여 365 nm에서(Spectroline DIX-365, 미국 코네티컷주 웨스트베리에 소재한 스펙트로닉스 코포레이션 제품) 측정하여 결합된 ASBA의 아지도 부분을 통해 광가교시켰다. 마스크를 제거하고, 시료를 순수 이소프로판올 알콜로 철저히 세척하였다. 실시예 2에 필적할 만한 분해능을 갖는 겔 패턴을 레이카 모델 DMRX 현미경을 사용하여 현미경법으로 관찰하였다. 이러한 이중 경화 접근법은 비스아지드 가교제에 비해 경화에 대한 효율을 증가시킨다.

실시예 5: UV 경화성 아크릴레이트 접착제를 사용하는 DMA:VDM의 리토그래피 패턴화

본 실시예는 아즐락톤 작용기를 갖는 겔은 아즐락톤 중합체와 UV 경화 중합체의 혼합물을 사용하여 리토그래피될 수 있음을 보여준다. 이 접근법의 이점은 UV 경화성 중합체와 아즐락톤 중합체를 상이한 비율로 혼합함으로써 아즐락톤 밀도를 다양화시킬 수 있다는 것이다.

MEK 중의 50:50 DMA:VDM 공중합체(실시예 1)의 40% (w/w) 용액을 다양한 분량으로 UV 경화성 아크릴레이트 접착제 (미국 코네티컷주 덴버리에 소재한 일렉트로-리트 코포레이션의 클래스 VI 의약 등급 접착제, 모델 4M01)와 1:1 내지 1:30 v/v 비율로 혼합하였다. 혼합물을 손으로 PMMA 상에 전착하였다. 실시예 2에 기술한 바와 같이 리토그래피 공정을 5 분간 UV 노출하면서 수행하였다. 실시예 2에 필적할 만한 분해능을 겔 배열 상에서 5 부피부의 아크릴레이트 접착제:2 부(v/v)의 아즐락톤 공중합체의 비로 관찰하였다.

실시예 6: BAMC 광가교제를 사용하는 DMA:VDM의 레이저 유도 열적 이미지화(LITI)

레이저 유도 열적 이미지화(LITI) 공여 시트는 폴리에틸렌 테레프탈레이트 기재 상에 아즐락톤 히드로겔 층, 폴리아크릴레이트 중간층 및 카본 블랙 광-열 전환 층으로 이루어진다. 이들 공여 시트를 다음과 같이 제조하였다.

1 선인치당 90 개의 나선 셀로 도는 마이크로그래비아 롤을 사용하여 야수이 셰이키 랩 코팅기, 모델 CAG-150(야수이 셰이키 컴패니, Bloomington, Ind.)로 90 나선 셀복사선 경화성 수지 중 카본 블랙의 수성 분산액을 4 mil(0.1 mm) PET 기재 위에 코팅함으로써 광-열 전환층을 제조하였다. 코팅 조성물은 1 부의 트리메틸올프로판 트리아크릴레이트 (Sartomer™ SR351HP, 미국 펜실베이니아주 엑스톤에 소재한 사르토머 컴패니 인코포레이티드 제품) 1 중량부, 3M의 Matchprint Negative Black Millbase(미국 미네소타주 세인트폴에 소재한 3M 컴패니 제품) 1.15 중량부 및 5% 2-히드록시-2,2-디메틸아세트페논 광개시제(Darocur™, 미국 뉴욕주 테리타운에 소재한 시바 스페셜티 케미칼스 컴패니의 제품)로 이루어진다. 이어서, 코팅을 인라인 건조시키고 코팅기에서 UV 경화하였다. 코팅된 필름의 투과광 밀도(TOD = -log T, 여기서 T는 측정된 분율 투과도입)는 1060 nm에서 2.35였다.

트리메틸올프로판 트리아크릴레이트(Sartomer™ SR351HP) 130 g, 3:1 혼합물 130 g(25% 고형분 w/w) 및 폴리비닐부티랄(Butvar™ B98, 미국 미주리주 세인트 루이스에 소재한 몬산토 컴패니 제품), 1-메틸-2-프로판올 221 g, 메틸 에틸 케톤 331.5 g 중의 Darocur™ 11738.13 g을 20% 고용체로서 제조하고, 그후 이것을 광-열 전환층 상에 두께 1.0 내지 1.2 μm로 코팅하고, 라디에이션 폴리머 코포레이션(미국 일리노이주 플레인필드에 소재) UV 프로세서 모드 제QC 1202AN3TR호(매체 압력 UV 램프, 총 노출량 약 100 mJ/cm², N₂ 대기)에서 노출을 통해 활성 복사선으로 경화시켜서 중간층을 제조하였다.

60:40(w/w) DMA/VDM 공중합체(실시예 1에서와 같이 제조함, DMA 56 중량부와 VDM 84 중량부를 사용) 고체의 40% (w/w) 용액을 실시예 2에서 기술한 바와 같이 시클로헥산온 중에서 제조하였다. BAMC 가교제의 30% 수성 현탁액 28 mg을 건조시킨 후 얻은 잔류물을 중합체-시클로헥산온 용액 2 ml 중에서 용해하고, 얻은 혼합물을 표적 코팅 두께 5 μm로 감소 광선 조건 하에서 중간층에 손으로 전착시켜서 LITI 공여 기재를 완성하였다.

LITI에 의해 재료를 유리 수용체 시트에 이동시켰다. LITI 장치는 연속 웨이브(cw) 모드로 조작되는 YAG 레이저(모델 2600, 미국 플로리다주 올랜도에 소재한 컨트럴 레이저 코포레이션 제품)를 사용하였다. cw 출력 빔은 모델 231 rf 드라이버에 의해 구동되는 모델 1201E-2 아쿠스토-광학 모듈레이터(AOM)에서 생성되는데, 양자는 모두 미국 버지니아주 스프링필드에 소재한 이소메트 코포레이션 제품이다. AOM에 의해 제1 순서로 회절되는 YAG 레이저 빔의 부품을 개구에 의해 선택하고, 3 개의 요소, 즉 2/5" 초점 길이 대물 렌즈를 갖춘 100 μm 직경 스폿에 초점을 모았다. 유리 수용체와 접촉하는 LITI 공여 시트를, 미국 펜실베이니아주 피츠버그에 소재한 에어로테크 인코포레이티드 제품인 모델 번호 ATS50030 xy 트랜스레이션 단상의 대물 렌즈의 초점에 두었다. AOM에 대한 rf 드라이버는 미국 캘리포니아주 산타 클라라에 소재한 휴렛-패커드에서 시판하는 모델 8116A 기능 발생기를 사용하여 개폐하였다. 이러한 방식으로, LITI 공여 시트/수용체 조합물의 상이한 면적을 레이저 빔으로 이동시키고, 레이저 빔을 온. 오프하여 펄스 폭이 0.1 내지 100 msec인 광학 펄스를 생성하였다. 공여 시트에 의한 이들 레이저 펄스의 흡광도는 전술한 DMA/VDM 공중합체 층의 신속한 가열과, 공중합체가 유리 수용체로의 열 전이하는 결과를 낳았다.

열전이 실험은 미국 오레곤주 포틀랜드에 소재한 몰렉트론 디텍터 인코포레이티드에서 제조한 모드 J3-09 감지기를 측정되는 바와 같이 LITI 시료 세트에서의 레이저 출력 값 0.128 W에서 수행하였다. 이들 실험에서, 광학 펄스 폭은 2 내지 7 msce로 다양하였다. 공중합체가 BAMC 가교제를 함유하지 않는 공여 시트에 대해 레이저 빔에 노출되지 않는 영역에서 일부 공중합체의 이동이 존재한다는 것이 밝혀졌다. 이러한 전이는 감소되지만, 공여 시트로부터 잔여 시클로헥산온을 제거함으로써 완전히 없어지는 것은 아니다. 가교된 공중합체 재료는 어떠한 블록 경향도 나타내지 않았다. 라이카 모델 DMRX 현미경을 사용하여 100 배율 현미경으로 관찰한 바와 같이, 펄스 폭 6 및 7 msec에서 가교된 공여 시트로부터 직경 50 μm, 두께 4 μm의 겔 패드를 형성하는 것은 가능하였다. 도 3 참조.

실시예 7: BAMC 광가교제를 사용하는 DMA:VDM에 결합된 효소의 레이저 유도열적 이미징(LITI)

레이저 유도 열적 이미징(LITI) 공여 시트를, 다음을 제외하고는 실시예 6에 기술한 바와 같이 제조하였다. 아즐락톤 히드로겔 코팅을 다양한 위치에서 50 mM 인산나트륨 완충액 pH 7.6 중의 1 mg/ml의 β-D-글루코시아다아제 효소 용액으로 처리하고, 건조시켰다. 이것은, 효소 상의 반응성 현수기와 히드로겔 조성물의 아즐락톤 작용기의 반응을 통해 공여 시트 구조물의 아즐락톤 전이층에 대한 효소의 공유 결합을 제공한다.

효소 함침된 아즐락톤을 PVdC(염화폴리비닐리덴) 프라임 처리된 PET 수용체 시트에 의해 실시예 6에 기술된 것과 유사한 방법으로 전이시켰다. 이 경우, 100 μm 폭의 스트립은 수용체 상에 이미징화된 후 가교된다. 일부 스트립은 효소가 적용되는 공여체의 구역에 대응하였다. 일부 스트립은 효소가 적용되지 않는 공여체의 구역에 대응하였다. 모든 스트립을 β-D-글루코시다제 효소에 의한 효소 분해 결과, 형광성을 보이게 되는 지시약(4-메틸-옴벨리페릴-β-D-글루코시드)의 0.05 mM 용액에 섞었다. 라이카 에피플루오레센 현미경을 사용하여, 밝은 청색 형광은 효소 함침 스트립에 대해 관찰되는 반면, 대조 스트립은 형광성을 나타내지 않았다. 이들 결과는 히드로겔 조성물에 대한 공유 결합, 조성물의 LITI 전이 및 조성물의 가교 후, 효소 활성이 보유됨을 보여준다.

본 발명의 범위 및 기술적 사상을 벗어나지 않는 한, 본 발명의 다양한 변경 및 수정은 당업자에게는 명백한 것이며, 본 발명은 전술한 예시적인 구체예의 설명에 의해 부당하게 제한되지 않는다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

- (a) 1 종 이상의 아즐락톤 작용성 단량체 1 내지 99 중량부와 1 종 이상의 공단량체 0 내지 99 중량부로부터 유도된 1 종 이상의 공중합체, 및
- (b) 1 종 이상의 광가교제

를 포함하는 광경화 및 광패턴화 가능한 조성물로서, 상기 조성물이 생분자-아즐락톤 결합을 갖지 않는 경우, 상기 광가교제 상에 존재하는 아즐락톤 반응성 작용기의 수가 상기 조성물 상에 존재하는 아즐락톤 작용기의 수보다 적은 것인 광경화 및 광패턴화 가능한 조성물.

청구항 2.

제1항에 의한 조성물을 포함하는 히드로겔을 포함하는 물품으로서, 상기 조성물은 광경화되어 있고, 상기 히드로겔은 기재에 결합된 것인 제품.

청구항 3.

제2항에 있어서, 상기 히드로겔은 상기 기재에 각각 결합되는 별도의 구역들로 분리되며, 상기 별도의 구역들 중 하나 및 상기 임의의 별도 구역들 간의 틈 중에서 선택되는 형상(feature)의 상기 히드로겔 층의 평면 내 최소 치수가 200 μm 미만인 제품.

청구항 4.

제1항에 있어서, 아즐락톤 작용기의 잔기에 공유 결합되는 생물학적 활성 분자를 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 5.

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 히드로겔의 아즐락톤 작용기의 잔기에 공유 결합되는 생물학적 활성 분자를 더 포함하는 것인 제품.

청구항 6.

제3항에 있어서, 상기 히드로겔의 상이한 별도의 구역들 내의 아즐락톤 작용기의 잔기에 공유 결합되는 상이한 생물학적 활성 분자를 더 포함하는 것인 제품.

청구항 7.

(a) 제1항에 의한 광경화 가능한 조성물의 층을 기재에 적용하는 단계, 및

(b) 상기 층을 전자기 복사선으로 조사하여 상기 층의 일부 이상을 경화시키는 단계

를 포함하는 제품의 제조 방법.

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

제7항에 있어서, 상기 히드로겔의 아즐락톤 작용기와의 반응에 의해 상기 제품의 일부에 생물학적 활성 분자를 고정시키는 단계를 더 포함하는 것인 제조 방법.

청구항 14.

삭제

청구항 15.

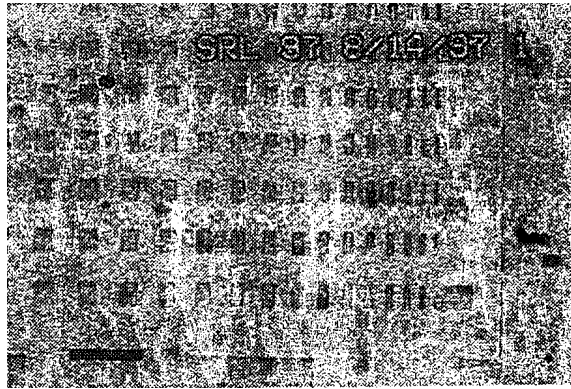
삭제

청구항 16.

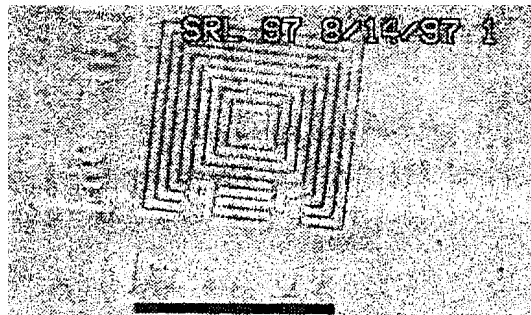
삭제

도면

도면1



도면2



도면3

