(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0031585
(43) 공개일자 2013년03월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 27/414 (2006.01) *H01L 29/78* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0095252
(22) 출원일자 2011년09월21일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
동국대학교 산학협력단
서울특별시 중구 필동로1길 30 (필동3가, 동국대학교)
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
홍승훈
서울특별시 송파구 잠실동 아시아선수촌아파트 6-205
이주형
서울특별시 송파구 가락2동 SK HUB PARK 1304호
김소연
서울특별시 서초구 서초대로65길 13-10, 106동 2202호 (서초동, 서초 래미안아파트)
(74) 대리인
한양특허법인

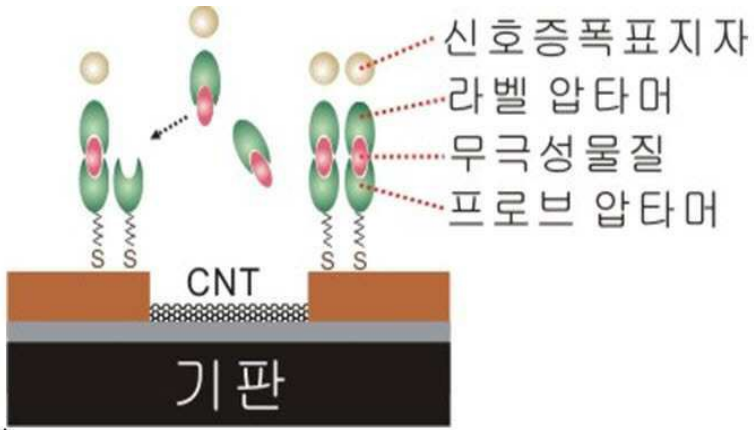
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **신호 증폭 표지자와 압타머 샌드위치 결합을 이용한 전계 효과 트랜지스터 기반 센서의 감도 향상 기술**

(57) 요 약

본 발명은 특정한 검지 물질과 샌드위치 형태로 결합하는 압타머를 탄소나노튜브 기반 센서에 적용한 방법에 관한 것으로서, 기존의 탄소나노튜브 기반 센서로는 검지가 어렵던 무극성 물질까지도 검지할 수 있다. 나아가 나아가 검지 대상에 결합하는 압타머에 추가적으로 전하를 띄는 물질을 고정화 하여 센서 신호를 증폭하여 센서의 민감도를 향상시킬 수 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	GR070045
부처명	서울특별시
연구사업명	서울시 산학연 협력사업
연구과제명	안전한 식수확보를 위한 신속 정확한 휴대형 유해물질 검출시스템 개발
주관기관	고려대학교 산학협력단
연구기간	2007.08.01 ~ 2011.07.30

특허청구의 범위

청구항 1

기판; 소스 전극 및 드레인 전극; 및 상기 소스 전극 및 드레인 전극 사이에 연결되는 탄소나노튜브를 포함하는 탄소나노튜브 트랜지스터를 포함하며, 검지 대상과 특이적으로 결합하는 프로브 압타머가 고정화된 센서.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 탄소나노튜브는 단일벽 탄소나노튜브인 센서.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 금속 전극은 금, 백금, 크롬, 구리, 알루미늄, 니켈, 팔라듐 및 티타늄으로 구성된 군에서 선택되는 어느 하나 이상으로 형성되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 프로브 압타머는 전극 혹은 탄소나노튜브 표면에 고정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

검지 대상과 신호 증폭 표지자가 고정화된 라벨 압타머를 결합하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 신호 증폭 표지자는 금속 나노 입자, 단백질 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

라벨 압타머와 결합된 검지 대상이 전계 효과 트랜지스터 기반 센서에 고정되어 있는 프로브 압타머와 결합시 발생하는 센서의 전도도 변화를 측정하여 검지 대상을 검출하는 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 나노 바이오 기술에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 탄소나노튜브는 나노 미터 수준의 스케일, 높은 부피 대비 표면적률, 주변의 전기적, 화학적 변화에 대한 민감도 등 생화학 센서 응용에 매우 적합한 특성을 지니고 있다. 탄소나노튜브 기반 센서는 환경 호르몬, 독소, 질병 관련 물질 등의 저분자 물질을 검출하기 위한 휴대용 플랫폼으로 연구가 되어왔다.

[0003] 그러나 탄소나노튜브 기반 센서와 같은 전계 효과 트랜지스터 기반 센서는 검지 대상이 갖는 전하나 쌍극자 등에 의하여 센서의 전도도가 변하는 것을 그 원리로 한다. 무극성 저분자 물질의 경우 자체적으로 센서에 영향을 줄 수가 없으므로 전계 효과 트랜지스터 기반 센서의 적용에 어려움이 있다.

[0004] 이에 본 발명에서는 무극성 물질과 샌드위치 형태로 결합하는 압타머를 고정화하여 압타머가 갖는 음전하에 의하여 센서가 반응하도록 하였다. 나아가 검지 대상에 결합하는 압타머에 추가적으로 전하를 띄는 물질을 고정화하여 센서 신호를 증폭하였다.

[0005] 이러한 기술은 환경, 식품, 보건, 군사 등 생화학 물질 검지에 유용하게 응용 될 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 탄소나노튜브 센서 등 기존의 전계 효과 트랜지스터를 이용한 생화학 센서의 경우, 무극성 물질은 검지하기 힘들며 한계가 있었다. 본 기술은 이에 대한 해결책을 제시한다.

과제의 해결 수단

[0007] 전계 효과 트랜지스터 기반 센서는 검지 대상이 갖는 전하나 쌍극자 등에 의하여 센서의 전도도가 변하는 것을 그 원리로 한다. 무극성 물질의 경우 자체적으로 센서에 영향을 줄 수가 없으므로 본 발명에서는 무극성 물질과 샌드위치 형태로 결합하는 압타머를 고정화하여 압타머가 갖는 음전하에 의하여 센서가 반응하도록 하였다. 나아가 검지 대상에 결합하는 압타머에 추가적으로 전하를 띄는 물질을 고정화 하여 센서 신호를 증폭하였다.

발명의 효과

[0008] 기존 전계 효과 트랜지스터(FET) 기반 센서의 문제점을 극복하여 무극성 물질을 검지하고 나아가 신호를 증폭하여 감도가 향상된 센서를 제작할 수 있다. 이는 저분자 무극성 물질에 제한되지 않으며, 신호 증폭 표지자에 의한 신호는 정량적 분석을 가능하게 한다.

[0009] 나아가, 탄소나노튜브에 기초하는 FET 기반의 센서 등을 이용함으로써 시스템 크기 면에서 향상된 특성을 가질 뿐 아니라, 검지 방법의 단순성을 높임으로써 유해한 물질들의 고선택성, 고감도의 신속한 검지가 가능해지므로, 건강 및 환경 안전을 도모할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1 내지 도 3은 본 발명의 기술사상을 나타낸 도면이다.

도 4는 소스-드레인 전류를 모니터링한 결과를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야의 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법 은 본 기술분야에서 널리 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[0012] 본 발명의 설명에서 사용되는 주요 용어의 정의는 다음과 같다.

[0013] 본원에서 "전계 효과 트랜지스터(FET) 기반 센서"란 실리콘, 탄소나노튜브, 나노선 등을 포함하는 트랜지스터의 게이트 표면 또는 금속전극의 표면에 프로브가 고정되어 있어, 프로브에 타겟물질이 결합하는 경우, 결합 시 생기는 전도도변화를 전기적인 방법으로 측정하여 프로브와 검지대상간의 결합여부를 검출하는 센서를 의미한다.

[0014] 본원에서 "탄소나노튜브"란 하나의 탄소가 다른 탄소원자와 육각형 벌집 무늬로 결합되어 있는 튜브 형태를 이루고 있는 물질로, 튜브의 직경이 나노미터 수준으로 극히 작은 물질을 의미한다.

[0015] 본원에서 "압타머"란 높은 친화성으로 검지 대상을 특이적으로 인지할 수 있는 작은 단일가닥 올리고핵산을 의미한다.

[0016] 본원에서 “샌드위치 결합” 이란 하나의 검지 대상에 2개 이상의 압타머가 결합하는 것을 의미한다.

[0017] 본원에서 "프로브 압타머"란 전계 효과 트랜지스터(FET)에 고정되어 검지 대상과 선택적으로 결합하는 압타머를 의미한다.

[0018] 본원에서 "라벨 압타머"란 검지 대상을 전계 효과 트랜지스터(FET) 센서에 적용하기 전에 검지 대상과 결합하는 압타머를 의미한다.

[0019] 본원에서 "신호 증폭 표지자"란 라벨 압타머에 고정된 물질로서 전하를 많이 갖고 있어, 전계 효과 트랜지스터(FET) 센서에 적용 시 신호를 증폭해 주는 역할을 한다.

[0020] 본 발명은 일 관점에서, 상기 목적을 달성하기 위하여, 신호 증폭 표지자와 압타머 샌드위치 결합을 이용한 전계효과 트랜지스터 기반 센서의 감도 향상 기술에 관한 것이다:

[0021] 본 발명에서는 검지 대상과 결합된 압타머와 압타머에 고정된 신호 증폭 표지자에 의하여 전계 효과 트랜지스터 기반 센서의 감도를 향상시키는 것을 특징으로 한다.

[0022] 탄소나노튜브 센서와 같은 전계 효과 트랜지스터 기반 센서의 경우, 검지 대상에 있는 전하나 쌍극자에 의하여 전도도가 변화하는 것을 그 원리로 한다. 그러므로 전하가 없는 무극성 분자의 경우 전계 효과 트랜지스터 기반 센서로 검지하는 것이 어렵다는 한계가 있다.

[0023] 압타머는 높은 친화성으로 검지 대상과 특이적으로 결합하는 올리고핵산을 의미하며, 이러한 압타머는 전계 효과 트랜지스터 기반 센서의 프로브로 쓰기에 유리하다. 프로브 압타머를 트랜지스터에 고정할 때에는 기판 표면, 전극 표면 등을 이용할 수 있다.

[0024] 특정 압타머의 경우, 한 분자의 검지 대상에 2개 이상이 결합하기도 하는데, 이를 프로브 압타머와 라벨 압타머로 이용할 수 있다. 압타머는 자체적으로 많은 전하를 갖고 있으며 다른 물질을 기능화하기 용이한 장점이 있어, 검지 대상을 전계 효과 트랜지스터 기반 센서에 적용하기 전에 압타머와 결합시켜 주게 되면 압타머에 있는 음전하에 의하여 센서 신호가 증폭이 된다.

[0025] 이 때, 라벨 압타머에는 추가적으로 신호 증폭 표지자 물질을 고정화하여 센서 신호를 추가적으로 증폭하는 것도 가능하다. 신호 증폭 표지자로는 많은 전하를 갖고 있는 금속 나노 입자, 단백질 등을 이용할 수 있다.

[0026] 이하, 실시예에 의하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다.

[0027] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐이며, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0028] 도 1은 본 발명의 기술사상을 나타낸 도면이다.

[0029] 실시예 : 압타머 샌드위치 결합을 이용하여 무극성 분자인 비스페놀 A를 검출하고 바이오틴을 이용하여 신호를 증폭한 실험

[0030] 도 2에 도시된 바와 같이, SiO_2 또는 유리 기판 상에 포토리소그래피를 통하여 AZ5214 포토레지스트를 먼저 패터닝하고, 기판을 23℃의 온도 및 80% 습도에서 10분 동안 옥타데실트리클로로실란(OTS) 용액(OTS:헥산 = 1:500 v/v)에 침지시켰다. 이후, 기판을 깨끗한 무수 헥산, 아세톤 및 에탄올로 헹군 후, 산화물층에 OTS 기능화(functionalization)를 향상시키기 위하여 10분 동안 50℃ 온도의 컨벡션 오븐에서 가열하였다. 이에 의하여, SiO_2 또는 유리 기판 상에 OTS로 이루어진 자기조립단층(self-assembled monolayer(SAM))을 형성하였다. 패터닝된 샘플

[0031] 을 CNT 서스펜젼(o-디클로로벤젠 중에 0.05 mg/mℓ)에 침지시킴으로써, CNT를 노출된 SiO_2 또는 유리 기판 상에 선택적으로 흡착 및 정렬시켰다. 포토리소그래피 및 Pd/Au의 열적 증착(thermal deposition)(10 nm Pd 상의 30 nm Au), 이어서 수행되는 리프트-오프(lift-off) 방법에 의하여 소스 전극 및 드레인 전극을 패터닝하였다. 전술한 분자 패터닝을 포함하는 전체 과정은 종래 마이크로조립 설비를 이용하여 수행될 수 있다. 이후, 프로브 압타머를 소스 전극과 드레인 전극에 고정하였다.

[0032] 도 3에 도시된 바와 같이, 비스페놀 A을 전계 효과 트랜지스터 기반 센서에 적용하기 전에 신호 증폭 표지자가 고정된 라벨 압타머와 결합시켜 준다. 이때, 신호 증폭 표지자로는 바이오틴이 이용되었다.

[0033] 도 4에 도시된 바와 같이, 프로브 압타머가 고정된 CNT 전계 효과 트랜지스터 기반 센서에 라벨 압타머와 결합된 비스패놀 A 용액을 첨가하고 소스-드레인 전류를 모니터링하였다. 전기적 측정 중에 계속 100 mV의 바이어스 전압이 유지 되었다. 도 4에는 10 fM 내지 1 pM 의 바이오틴이 고정화된 라벨 압타머와 결합된 비스페놀 A, 1 pM 내지 100 pM 의 표지자가 고정화 되지 않은 라벨 압타머와 결합된 비스페놀 A, 및 라벨 압타머와 결합되지 않은 비스페놀 A를 CNT 전계 효과 트랜지스터 기반 센서에 적용한 경우의 전도도 변화율을 나타낸다. 1 pM 내지

100 pM 의 라벨 압타머와 결합되지 않은 비스페놀 A의 첨가는 전도도에 현저한 영향을 나타내지 않은 반면에, 1 pM 내지 100 pM 의 표지자가 고정화 되지 않은 라벨 압타머와 결합된 비스페놀 A의 첨가는 2% 내지 8%의 전도도 변화를 나타내었다. 또한, 10 fM 내지 1 pM 의 바이오틴이 고정화된 라벨 압타머와 결합된 비스페놀 A의 첨가는 4% 내지 13%의 전도도 변화를 보여 약 100배의 민감도를 나타내었다.

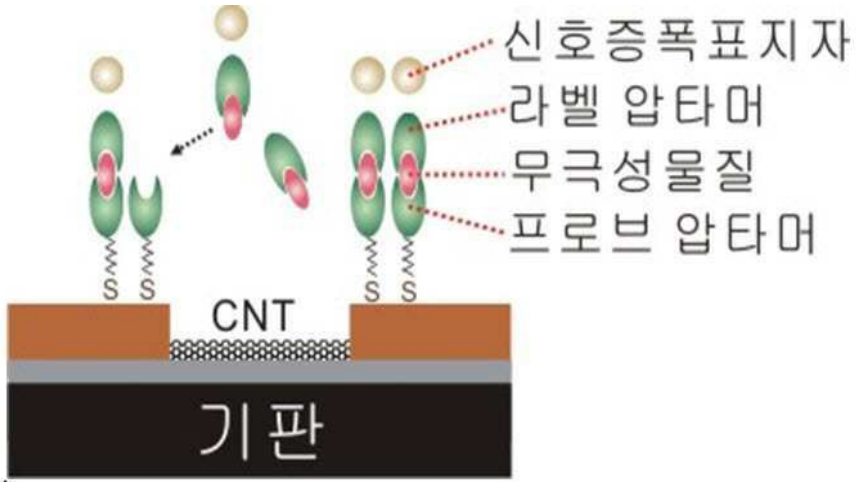
부호의 설명

[0034] 바이오틴: Biotin

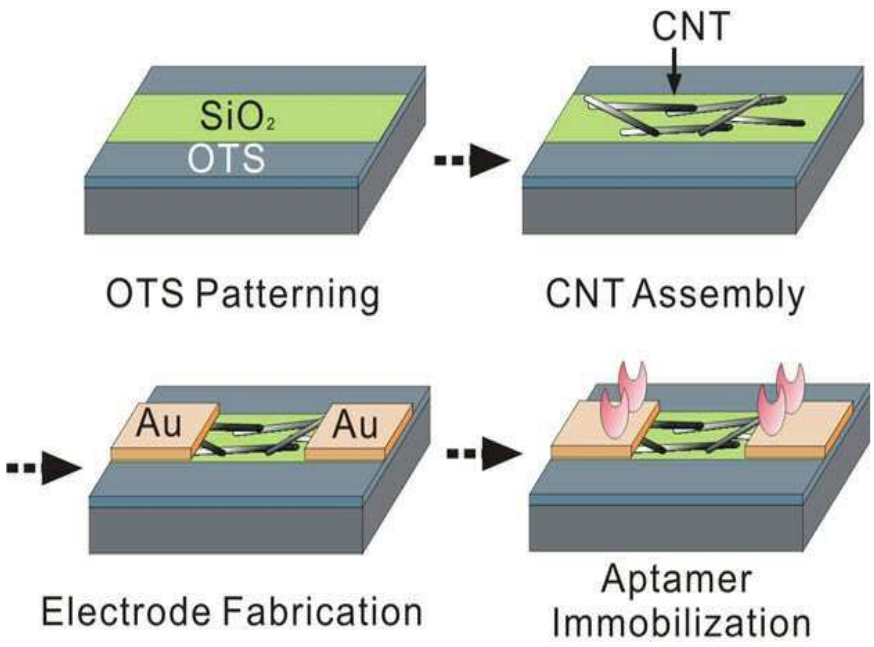
비스페놀A: Bisphenol A

도면

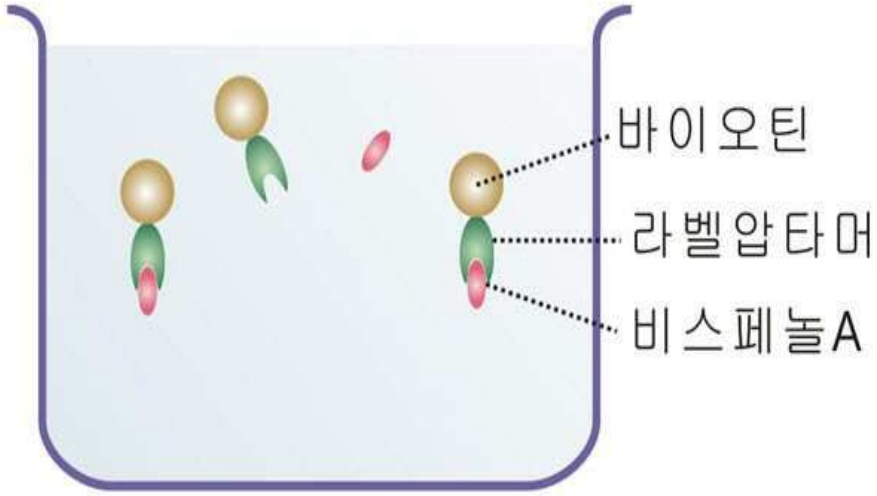
도면1



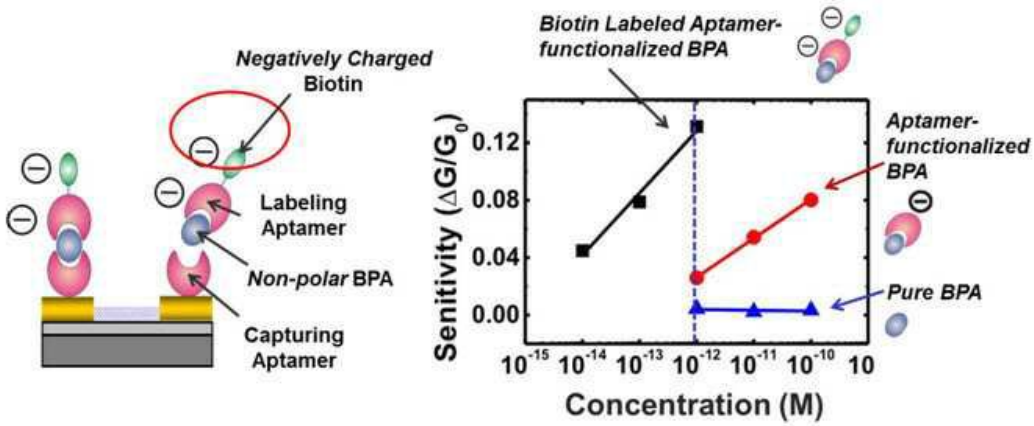
도면2



도면3


바이오틴
라벨압타머
비스페놀A

도면4


Negatively Charged
Biotin
Labeling
Aptamer
Non-polar BPA
Capturing
Aptamer
Biotin Labeled Aptamer-
functionalized BPA
Aptamer-
functionalized
BPA
Pure BPA
Senitivity (ΔG/G0)
0.12
0.08
0.04
0.00
10-15 10-14 10-13 10-12 10-11 10-10 10
Concentration (M)