

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2018년 11월 1일 (01.11.2018) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호
WO 2018/199465 A1

- (51) 국제특허분류: C12Q 1/6818 (2018.01) G02B 5/12 (2006.01) G01N 21/17 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2018/002812
- (22) 국제출원일: 2018년 3월 9일 (09.03.2018)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2017-0053397 2017년 4월 26일 (26.04.2017) KR
- (71) 출원인: 아주대학교산학협력단 (AJOU UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 16499 경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동), Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 윤현철 (YOON, Hyun Chul); 06608 서울시 서초구 서운로 221, 103동 1801호, Seoul (KR). 김재호 (KIM, Jae Ho); 16504 경기도 수원시 영통구 센트럴파크로 60, 6305동 701호, Gyeonggi-do (KR). 한용덕 (HAN, Yong Duk); 13633 경기도 성남시 분당구 미금일로 57, 606동 908호, Gyeonggi-do (KR). 전형진 (CHUN, Hyeong Jin); 16063 경기도 의왕시 사그내4길 24, 302호, Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 남건필 등 (NAM, Gun Pil et al.); 07299 서울시 영등포구 경인로 775, 에이스하이테크시티2동 508호, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))



WO 2018/199465 A1

(54) Title: MOLECULAR BEACON-BASED OPTICAL GENETIC BIOSENSOR USING RETRO-REFLECTION PHENOMENON AND QUANTITATIVE ANALYSIS METHOD OF NUCLEIC ACID MOLECULE USING SAME

(54) 발명의 명칭: 재귀반사 현상을 이용한 분자 비콘 기반의 광학 유전자 바이오센서 및 이를 이용한 핵산 분자의 정량 분석 방법

(57) Abstract: An optical genetic biosensor is disclosed. The optical genetic biosensor comprises: a substrate; a molecular beacon unit fixed to the substrate and including an oligonucleotide binding selectively to a target nucleic acid molecule, and a first compound at the end of the oligonucleotide; an optical probing unit binding selectively to the first compound and capable of retro-reflecting irradiated light; a light source unit for irradiating light onto the optical probing unit; and a light reception unit for receiving the light retro-reflected by the optical probing unit. The optical genetic biosensor can allow the accurate quantitative analysis of target nucleic acid molecules for both non-spectral light sources and spectral light sources.

(57) 요약서: 광학 유전자 바이오센서가 개시된다. 광학 유전자 바이오센서는 기판, 타겟 핵산 분자와 선택적으로 결합하는 올리고뉴클레오타이드 및 이의 말단에 제1 화합물을 구비하고 기판에 고정된 분자 비콘부, 제1 화합물과 선택적으로 결합하고 조사된 광을 재귀반사시킬 수 있는 광학 표지부, 광학 표지부에 광을 조사하는 광원부 및 광학 표지부에 의해 재귀반사된 광을 수용하는 수광부를 구비한다. 이러한 광학 유전자 바이오센서에 따르면 비분광 광원 및 분광 광원 모두에 대해서 타겟 핵산 분자의 정확한 정량 분석을 수행할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 재귀반사 현상을 이용한 분자 비콘 기반의 광학 유전자 바이오센서 및 이를 이용한 핵산 분자의 정량 분석 방법 기술분야

- [1] 본 발명은 광학적인 방법을 통해 타겟 핵산 분자에 대해 정량 분석이 가능한 광학 유전자 바이오센서 및 이를 이용한 분석 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 분자 비콘(molecular beacon)은 자가-상보적인 구간을 갖는 스템-루프(stem-loop) 구조의 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)로서, 양 단에 위치한 스템(stem) 구간은 상보적인 서열을 갖도록 구성되며 그 사이에 존재하는 루프(loop)구간은 검출하고자 하는 핵산 분자(DNA, RNA 등)에 상보적인 서열을 갖도록 구성된다.
- [3] 이러한 분자 비콘 기반의 종래의 바이오센서의 경우, 통상적으로 올리고뉴클레오티드 일단에는 형광염료(fluorophore)가 수식되고, 타 단에는 상기 형광염료로부터 유도되는 형광을 흡수하여 소광시킬 수 있는 소광체(quencher)가 수식된다.
- [4] 타겟 핵산 분자가 존재하지 않을 경우, 자가 상보성을 가지는 스템 구간이 자가 혼성화되어 분자 비콘은 헤어핀 구조를 나타내게 되는데, 이러한 구조에서 분자 비콘의 양말단에 존재하는 형광염료와 소광체는 인접하게 되며 결과적으로 형광염료의 형광이 에너지 전이현상(fluorescence resonance energy transfer)을 통해 소광체로 전이되어 소광(quenching) 된다. 이와 달리, 상보적인 타겟 핵산 분자가 존재할 경우, 이들 타겟 핵산 분자가 분자 비콘의 루프 혼성화되어 이중 나선을 형성하게 되고, 그 결과 비틀림 힘(torsional force)이 작용하여 분자 비콘의 스템 구간이 풀리게 되고, 결과적으로, 형광염료와 소광체의 거리가 멀어지게 되어 형광염료와 소광체 사이의 에너지 전이 현상이 해소되어 형광염료 고유의 형광신호가 발산하게 된다. 이러한 조건에서 발산되는 형광신호의 세기는 타겟 핵산 분자의 농도에 비례하게 되므로 형광신호 변화의 추적을 통해 타겟 핵산 분자의 유무, 또는 농도를 정량/정성적으로 분석할 수 있게 된다.
- [5] 상기한 바와 같이, 종래의 분자 비콘 기반의 바이오센서는 형광염료를 사용하기 때문에 분광학에 기반한 형광분석 장비를 반드시 요구된다.
- [6] 구체적으로, 형광염료의 경우 특정한 파장으로 분광된 여기광에 대해서만 유효한 신호를 제공하기 때문에, 종래의 바이오센서에는 광원으로써 모든 파장을 제공하는 할로젠족 램프와 그로부터 특정 파장을 선별하여 조사할 수 있는 모노크로메이터(monochromator)를 필수적으로 조합하여 사용하거나 단파장을 제공하는 고출력 레이저 및 LED를 사용하여야 한다. 이 경우, 이들 광원은 매우 고가이고 높은 전력사용량을 요구하기 때문에 소형화, 휴대화 및

상용화가 어려운 문제점이 있다.

- [7] 그리고, 종래의 바이오센서에 따르면, 형광염료들로부터 유도되는 형광신호를 조사해준 여기광으로부터 선택적으로 분리하여 검출하기 위해서 필수적으로 광학 필터(emission filter)가 요구될 뿐만 아니라 형광신호의 민감한 검출을 위해서는 광증배관(photomultiplier tube, PMT)과 같은 고가의 수광 장비가 필수적으로 요구되고, 이에 더하여 이들 광학부품들 사이의 매우 정교한 배열과 조립이 요구되는 문제점이 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명의 일 목적은 재귀반사 가능한 광학 표지자를 구비하여 비분광 방식으로 타겟 핵산 분자의 유무, 농도 등을 감지할 수 있는 광학 유전자 바이오센서를 제공하는 것이다.
- [9] 본 발명의 다른 목적은 상기 광학 유전자 바이오센서를 이용하여 타겟 핵산 분자에 대한 정량 분석을 수행하는 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [10] 본 발명의 실시예에 따른 광학 유전자 바이오센서는 기관; 타겟 핵산 분자와 선택적으로 결합하는 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide) 및 상기 올리고뉴클레오티드의 제1 말단에 결합된 제1 화합물을 구비하고, 상기 기관에 고정된 분자 비콘부; 상기 제1 화합물과 선택적으로 결합하고, 조사된 광을 재귀반사시킬 수 있는 광학 표지부; 상기 광학 표지부에 광을 조사하는 광원부; 및 상기 광학 표지부에 의해 재귀반사된 광을 수용하는 수광부를 포함한다.
- [11] 일 실시예에 있어서, 상기 올리고뉴클레오티드는 상기 타겟 핵산 분자와 상보적인 염기서열을 갖는 루프 구간, 상기 루프 구간의 제1 말단으로부터 연장되고 말단에 상기 제1 화합물이 결합된 제1 스템 구간 및 상기 루프 구간의 제2 말단으로부터 연장되고 상기 제1 스템 구간과 상보적인 염기 서열을 가지며 상기 기관에 결합되는 제2 스템 구간을 포함할 수 있다. 이 경우, 상기 루프 구간은 20 내지 40개의 염기서열을 포함할 수 있고, 상기 제1 및 제2 스템 구간은 각각 4 내지 8개의 염기서열을 포함할 수 있다.
- [12] 일 실시예에 있어서, 상기 제1 화합물은 비오틴을 포함할 수 있고, 이 경우, 상기 분자 비콘부는 상기 제1 화합물을 상기 제1 스템 구간의 말단에 결합시키는 4 내지 10의 탄소를 갖는 알킬체인 또는 약 4 내지 10 개(mer)의 미니-폴리에틸렌글리콜(mini-poly(ethylene glycol))을 포함하는 제1 스페이서 화합물을 더 포함할 수 있다.
- [13] 일 실시예에 있어서, 상기 분자 비콘부는 상기 기관과 공유결합을 형성하는 작용기 및 상기 작용기를 상기 제2 스템 구간의 말단에 결합시키고 4 내지 10의 탄소를 갖는 알킬체인 또는 약 4 내지 10 개(mer)의 미니-폴리에틸렌글리콜(mini-poly(ethylene glycol))을 포함하는 제2 스페이서

화합물을 더 포함할 수 있다.

- [14] 일 실시예에 있어서, 상기 광학 표지부는 투명한 코어 입자; 상기 코어 입자 표면의 일부를 피복하고, 적어도 360nm 내지 820nm의 가시광선 파장 영역에서 상기 코어 입자보다 굴절률이 작은 물질로 형성된 전반사 유도층; 상기 전반사 유도층 상에 형성된 수식층; 및 상기 수식층에 결합되고, 상기 제1 화합물과 선택적으로 결합하는 제2 화합물을 포함할 수 있다.
- [15] 일 실시예에 있어서, 상기 코어 입자는 상기 가시광선 파장 영역에서 1.4 이상의 굴절률을 갖는 물질 중 실리카(silica), 글라스(glass), 폴리스티렌(polystyrene) 및 폴리메틸메타크릴레이트(poly(methyl methacrylate))로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나의 물질로 형성될 수 있다. 그리고, 상기 전반사 유도층은 알루미늄(Al), 구리(Cu), 금(Au), 은(Ag) 및 아연(Zn)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 물질로 형성될 수 있다.
- [16] 일 실시예에 있어서, 상기 코어 입자는 600nm 이상 2 μ m 이하의 평균 직경을 가질 수 있고, 상기 전반사 유도층은 상기 코어 입자의 표면 중 30% 이상 70% 이하의 면적을 피복할 수 있다. 한편, 상기 전반사 유도층은 10 내지 100nm의 두께를 가질 수 있다.
- [17] 일 실시예에 있어서, 상기 수식층은 백금(Pt), 금(Au) 및 은(Ag)으로 이루어진 그룹에서 선택된 하나 이상의 물질로 형성될 수 있다.
- [18] 일 실시예에 있어서, 상기 분자 비콘부의 제1 화합물은 리간드(ligand) 분자단을 포함할 수 있고, 상기 광학 표지부의 제2 화합물은 상기 리간드 분자단과 선택적으로 결합할 수 있는 단백질 화합물을 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 분자 비콘부의 제1 화합물은 비오틴(biotin), 디니트로페닐(dinitrophenyl, DNP), 디곡시게닌(digoxigenin, DIG) 등으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있고, 상기 광학 표지부의 제2 화합물은 이들과 선택적으로 결합할 수 있는 단백질 화합물을 포함할 수 있다. 일 예로, 상기 분자 비콘부의 제1 화합물이 비오틴(biotin)을 포함하는 경우, 상기 광학 표지부의 제2 화합물은 상기 비오틴(biotin)과 선택적으로 결합할 수 있는 아비딘(avidin), 스트렙트아비딘(streptavidin), 뉴트라아비딘(NeutrAvidin) 등으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 화합물을 포함할 수 있다. 다른 예로, 상기 분자 비콘부의 제1 화합물이 디니트로페닐(DNP)을 포함하는 경우, 상기 광학 표지부의 제2 화합물은 상기 디니트로페닐(DNP) 선택적으로 결합할 수 있는 항-DNP 항체(anti-DNP antibody) 화합물을 포함할 수 있다. 또 다른 예로, 상기 분자 비콘부의 제1 화합물이 디곡시게닌(DIG)을 포함하는 경우, 상기 광학 표지부의 제2 화합물은 상기 디곡시게닌(DIG)과 결합할 수 있는 항-DIG 항체(anti-DIG antibody) 화합물을 포함할 수 있다.
- [19] 일 실시예에 있어서, 상기 광학 표지부는 상기 전반사 유도층과 상기 수식층 사이에 배치되고, 자성 물질로 형성된 자성층을 더 포함할 수 있다.
- [20] 일 실시예에 있어서, 상기 광원부는 상기 광학 표지부의 상부에 배치되고, 상기

광학 표지부에 복수의 파장의 혼합 광 또는 단색 파장의 광을 조사할 수 있고, 상기 수광부는 상기 광원부와 이격되도록 상기 광학 표지부 상부에 배치되고, 상기 광원부에서 생성되어 상기 광학 표지부에 조사된 광 중 상기 광학 표지부에 의해 재귀반사된 광을 수용할 수 있다. 이 경우, 상기 광원부는 상기 재귀반사된 광의 진행방향에 대해 0° 초과 45° 이하로 기울어진 방향으로 광을 조사할 수 있다.

- [21] 일 실시예에 있어서, 상기 수광부는 상기 재귀반사 광 신호를 수신하여 이미지화하는 화상 생성부 및 상기 화상 생성부에 의해 생성된 화상 정보를 분석하는 화상 분석부를 포함할 수 있다. 이 경우, 상기 화상 분석부는 상기 이미지로부터 상기 광학 표지부의 개수를 계수하거나 상기 이미지에 나타난 재귀반사 신호의 광량을 정량하여 상기 타겟 핵산 분자의 농도를 분석할 수 있다.
- [22] 본 발명의 실시예에 따른 핵산 분자의 정량 분석 방법은 기관에 고정된 분자 비콘부에 타겟 핵산 분자를 반응시키는 제1 단계; 상기 타겟 핵산 분자가 결합된 분자 비콘부에 광학 표지부를 선택적으로 결합시키는 제2 단계; 상기 분자 비콘부에 결합된 광학 표지부에 광을 조사하는 제3 단계; 및 상기 광학 표지부에 의해 재귀반사된 광에 대한 이미지를 생성하여 분석하는 제4 단계를 포함한다.
- [23] 일 실시예에 있어서, 상기 타겟 핵산 분자를 함유하는 용액 시료를 상기 분자 비콘부가 고정된 상기 기관 상에 도포하여 상기 분자 비콘부 중 상기 타겟 핵산 분자와 상보적인 염기서열을 갖는 루프 구간에 상기 타겟 핵산 분자를 반응시킬 수 있다. 그리고, 상기 용액 시료가 존재하는 상기 기관 상에 상기 광학 표지자들을 도포하여 상기 분자 비콘부들 중 상기 타겟 핵산 분자가 결합된 분자 비콘부에 상기 광학 표지부를 선택적으로 결합시킬 수 있으며, 상기 광학 표지부들 중 상기 분자 비콘부에 결합되지 않은 미반응 광학 표지부를 제거할 수 있다.
- [24] 일 실시예에 있어서, 상기 광학 표지부에는 백색광이 조사될 수 있고, 이 경우, 상기 백색광에 대한 재귀반사신호를 기초로 상기 타겟 핵산 분자에 대한 정량 분석이 수행될 수 있다.

발명의 효과

- [25] 본 발명에 따르면, 분자 비콘부에 타겟 핵산 분자를 결합시킨 후 광학 표지자를 분자 비콘부에 결합시키고, 상기 광학표지자로부터 재귀반사되는 광을 이용하여 타겟 핵산 분자에 대한 정량 분석을 수행하므로, 종래의 형광 염료를 이용하는 바이오센서에 비해 고가이면서 부피가 큰 광학 장비를 사용하지 않고도 고감도로 상기 타겟 핵산 분자에 대한 정량분석을 수행할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [26] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 광학 유전자 바이오센서를 설명하기 위한 모식도이다.
- [27] 도 2는 도 1에 도시된 분자 비콘부를 설명하기 위한 모식도이다.

- [28] 도 3a 및 도 3b는 도 1에 도시된 광학 표지자를 설명하기 위한 단면도들이다.
- [29] 도 4는 도 1에 도시된 광원부와 수광부의 위치 관계를 설명하기 위한 모식도이다.
- [30] 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 핵산 분자의 정량 분석 방법을 설명하기 위한 순서도이다.
- [31] 도 6은 실시예 1에 따른 유전자 분석의 결과를 나타내는 그래프이다.
- [32] 도 7은 실시예 2에 따른 유전자 분석의 결과를 나타내는 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [33] 이하, 본 발명의 실시예에 대해 상세히 설명한다. 본 발명은 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 형태를 가질 수 있는 바, 특정 실시 예들을 도면에 예시하고 본문에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나 이는 본 발명을 특정한 개시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 각 도면을 설명하면서 유사한 참조부호를 유사한 구성요소에 대해 사용하였다. 첨부된 도면에 있어서, 구조물들의 치수는 본 발명의 명확성을 기하기 위하여 실제보다 확대하여 도시한 것이다.
- [34] 제1, 제2 등의 용어는 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 상기 구성요소들은 상기 용어들에 의해 한정되어서는 안 된다. 상기 용어들은 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다. 예를 들어, 본 발명의 권리 범위를 벗어나지 않으면서 제1 구성요소는 제2 구성요소로 명명될 수 있고, 유사하게 제2 구성요소도 제1 구성요소로 명명될 수 있다.
- [35] 본 출원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시 예를 설명하기 위해 사용된 것으로서 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 출원에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 단계, 동작, 구성요소, 부분품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 단계, 동작, 구성요소, 부분품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.
- [36] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [37]
- [38] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 광학 유전자 바이오센서를 설명하기 위한 모식도이고, 도 2는 도 1에 도시된 분자 비콘부를 설명하기 위한 모식도이고, 도

3a 및 도 3b는 도 1에 도시된 광학 표지자를 설명하기 위한 단면도들이며, 도 4는 도 1에 도시된 광원부와 수광부의 위치 관계를 설명하기 위한 모식도이다.

- [39] 도 1 내지 도 4를 참조하면, 본 발명의 실시예에 따른 광학 유전자 바이오센서(100)는 광학적 방식을 통해 검출하고자 하는 타겟 핵산 분자(10)를 정량적으로 분석할 수 있다. 일 실시예에 있어서, 상기 광학 유전자 바이오센서(100)는 분자 비콘부(110), 기관(120), 광학 표지부(130), 광원부(140) 및 수광부(150)을 포함할 수 있다.
- [40] 상기 분자 비콘부(110)는 타겟 핵산 분자(10)와 선택적으로 결합하는 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide)(111) 및 상기 광학 표지부(120)와 선택적으로 결합하는 제1 화합물(112)을 포함할 수 있다.
- [41] 상기 올리고뉴클레오티드(111)는 루프 구간(111a), 제1 스템 구간(111b) 및 제2 스템 구간(111c)을 포함할 수 있다.
- [42] 상기 루프 구간(111a)은 상기 타겟 핵산 분자(10)와 선택적으로 결합할 수 있다. 예를 들면, 상기 루프 구간(111a)은 상기 타겟 핵산 분자(10)와 상보적인 염기 서열을 가져서 상기 타겟 유전자(10)와 혼성화될 수 있다. 일 실시예에 있어서, 상기 루프 구간(111a)은 상기 타겟 핵산 분자(10)의 염기서열을 고려하여 약 20 내지 40의 염기서열을 포함할 수 있다.
- [43] 상기 제1 스템 구간(111b)은 상기 루프 구간(111a)의 제1 말단으로부터 연장된 복수의 제1 염기 서열을 포함할 수 있고, 상기 제2 스템 구간(111c)은 상기 제1 말단과 대향하는 상기 루프 구간(111a)의 제2 말단으로부터 연장된 복수의 제2 염기 서열을 포함할 수 있으며, 상기 제1 스템 구간(111b)의 제1 염기 서열은 상기 제2 스템 구간(111c)의 제2 염기 서열과 서로 상보적일 수 있다. 따라서, 상기 타겟 핵산 분자(10)가 상기 루프 구간(111a)에 결합되지 않은 경우, 상기 올리고뉴클레오티드(111)는 도 3의 좌측에 도시된 바와 같이 상기 제1 및 제2 스템 구간들(111b, 111c)이 서로 혼성화되어 헤어핀(hairpin) 구조를 가질 수 있다. 일 실시예에 있어서, 상기 제1 및 제2 스템 구간들(111b, 111c)은 약 4 내지 8개의 서로 상보적인 염기 서열을 포함할 수 있다.
- [44] 상기 제1 스템 구간(111b)의 말단은 상기 제1 화합물(112)에 결합될 수 있고, 상기 제2 스템 구간(111c)의 말단은 상기 기관(130)에 고정될 수 있다. 이에 대해서는 후술한다.
- [45] 상기 제1 화합물(112)은 상기 제1 스템 구간(111b)의 말단에 결합될 수 있고, 상기 광학 표지부(120)와 특이 결합할 수 있다. 구체적으로, 상기 제1 및 제2 스템 구간들(111b, 111c)이 서로 혼성화된 경우에는 입체적 장애에 의해 상기 광학 표지부(120)가 상기 제1 화합물(112)에 결합할 수 없으나, 상기 타겟 핵산 분자(10)가 상기 루프 구간(111a)에 혼성화됨으로써 상기 제1 및 제2 스템 구간들(111b, 111c)의 혼성화가 풀리는 경우에는 상기 광학 표지부(120)가 상기 제1 화합물(112)에 결합될 수 있다.
- [46] 상기 광학 표지부(120)의 특정 화합물과 선택적으로 결합할 수 있다면 상기 제1

화합물(112)은 특별히 제한되지 않는다. 일 실시예로, 상기 광학 표지부(120)가 상기 제1 화합물(112)은 리간드(ligand) 분자단을 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 광학 표지부(120)가 상기 제1 화합물(112)은 비오틴(biotin), 디니트로페닐(dinitrophenyl, DNP), 디곡시게닌(digoxigenin, DIG) 등으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다.

- [47] 일 실시예에 있어서, 상기 제1 화합물(112)은 제1 스페이서 화합물(114)을 통해 상기 제1 스템 구간(111b)의 말단에 결합될 수 있다. 즉, 상기 제1 화합물(112)은 상기 제1 스페이서 화합물(114)의 일 말단에 결합될 수 있고, 상기 제1 스페이서 화합물(114)의 다른 말단은 상기 제1 스템 구간(111b)의 말단에 결합될 수 있다. 상기 제1 화합물(112)은 상기 제1 스템 구간(111b)의 말단에 직접 결합될 수도 있으나, 이 경우 상기 분자 비콘부(110)에 의한 구조장애 및 입체장애로 인하여 상기 제1 화합물(112)과 광학 표지부(130)의 제2 화합물(135) 사이의 결합 수율이 저하될 수 있다. 하지만, 상기 제1 스페이서 화합물(114)을 통해 상기 제1 화합물(112)을 상기 제1 스템 구간(111b)의 말단에 결합시키는 경우, 상기 제1 스페이서 화합물(114)에 의해 상기 제1 화합물(112)이 상기 기관(120)으로부터 보다 멀리 이격되어 상기 타겟 핵산 분자(10)를 포함하는 시료 용액에 노출될 수 있을 뿐만 아니라 상기 시료 용액 내에서의 유동성이 향상되므로, 상기 제1 화합물(112)과 상기 광학 표지부(130)의 제2 화합물(135) 사이의 결합 수율을 향상시킬 수 있다.
- [48] 일 실시예로, 상기 제1 스페이서 화합물(114)은 약 4 내지 10의 탄소를 갖는 알킬체인 또는 약 4 내지 10 개(mer)의 미니-폴리에틸렌글리콜(mini-poly(ethylene glycol))을 포함할 수 있다.
- [49] 한편, 상기 기관(130)에 고정되기 위하여, 상기 제2 스템 구간(111c)의 말단에는 작용기(113)가 수식될 수 있다. 상기 기관(130)과 화학적 결합을 형성하여 상기 분자 비콘부(110)를 상기 기관(130)에 고정할 수 있다면, 상기 작용기(113)는 특별히 제한되지 않는다. 예를 들면, 상기 작용기(113)는 아민기(-NH₂)를 포함할 수 있다. 일 실시예에 있어서, 상기 작용기(113)는 제2 스페이서 화합물(115)을 통해 상기 제2 스템 구간(111c)의 말단에 결합될 수 있다. 상기 분자 비콘부(110)가 상기 제2 스페이서 화합물(115)을 포함하는 경우, 상기 올리고뉴클레오티드(111)가 상기 기관(120)으로부터 보다 멀리 이격되어 상기 타겟 핵산 분자(10)를 포함하는 시료 용액에 노출될 수 있을 뿐만 아니라 상기 시료 용액 내에서의 유동성이 향상되므로, 상기 올리고뉴클레오티드(111)의 루프 구간(111a)과 상기 타겟 핵산 분자(10) 사이의 혼성화 수율을 향상시킬 수 있을 뿐만 아니라, 상기 제2 스페이서 화합물(115)이 상기 제1 스페이서 화합물(114)와 유사하게 작용하여 상기 제1 화합물(112)과 상기 광학 표지부(130)의 제2 화합물(135) 사이의 결합 수율을 향상시킬 수 있다.
- [50] 일 실시예로, 상기 제2 스페이서 화합물(115)은 약 4 내지 10의 탄소를 갖는 알킬체인 또는 약 4 내지 10 개(mer)의 미니-폴리에틸렌글리콜(mini-poly(ethylene

- glycol))을 포함할 수 있다.
- [51] 상기 기관(120)은 상기 분자 비콘부(110)가 고정될 수 있다면 상기 기관(120)의 재료, 형상 등은 특별히 제한되지 않는다. 예를 들면, 상기 기관(120)은 유리, 실리콘, 폴리머, 금속 등으로 형성되고, 상기 분자 비콘부(110)가 결합되는 편평한 상부면을 구비할 수 있다. 상기 폴리머는 폴리스티렌(PS), 폴리메틸메타크릴레이트(PMMA), 올레핀공중합체(COC), 폴리디메틸실록산(PDMS) 등을 포함할 수 있고, 상기 금속은 금(Au), 백금(Pt), 은(Ag) 등의 귀금속을 포함할 수 있다.
- [52] 일 실시예에 있어서, 상기 기관(120)이 유리, 실리콘 폴리머 중에 하나로 형성되고 상기 분자 비콘부(110)의 작용기(113)가 아민기인 경우, 플라즈마 처리 또는 자외선 노광 등을 통해 상기 기관(120) 표면을 활성화시킨 후 아민기가 노출되도록 3-아미노프로필트리에톡시실란(APTES)을 처리하고, 이어서 글루타르알데히드(glutaraldehyde) 등의 아민 반응성 가교제를 처리한 후 상기 분자 비콘부(110)의 작용기인 아민기와 상기 3-아미노프로필트리에톡시실란의 아민기를 공유 결합시킴으로써 상기 분자 비콘부(110)를 상기 기관(120)에 고정할 수 있다.
- [53] 다른 실시예에 있어서, 상기 기관(120)이 귀금속으로 형성되고 상기 분자 비콘부(110)의 작용기(113)가 아민기인 경우, 상기 기관(120) 표면에 숙신이미드기(succinimide group)가 노출되도록 DTSSP(3,3'-dithiobis(sulfosuccinimidyl propionate)) 또는 DTSP(Dithiobis(succinimidyl propionate)) 등의 물질을 이용하여 아민반응성(amine-reactive) 자기조립단분자막(self-assembled monolayer, SAM)을 형성한 후 상기 분자 비콘부(110)의 아민 작용기(113)와 상기 숙신이미드기(succinimide group)를 아마이드 결합(amide bond)으로 공유결합시킴으로써 상기 분자 비콘부(110)를 상기 기관(120)에 고정할 수 있다.
- [54] 한편, 상기의 2가지 경우에 있어서, 상기 분자 비콘부(110)를 상기 기관(120)에 결합시킨 후 에탄올아민(ethanolamine) 등과 같은 아민기를 포함하는 분자를 이용하여 상기 기관 표면에 잔류하는 잔여 반응 잔기, 예를 들면, 알데하이드 또는 숙신이미드기 등을 블록할 수 있다.
- [55] 상기 광학 표지부(130)는 상기 분자 비콘부(110)의 제1 화합물과 선택적으로 결합할 수 있고, 상기 광원부(140)로부터 조사된 광을 상기 광원부(140)의 방향으로 재귀반사시킬 수 있다.
- [56] 일 실시예에 있어서, 도 3a에 도시된 바와 같이, 상기 광학 표지부(130)는 투명한 코어 입자(131), 상기 코어 입자(131)의 일부를 피복하는 전반사 유도층(132), 상기 전반사 유도층(132) 상에 형성된 수식층(133) 및 상기 수식층(133)에 직접 또는 간접적으로 결합된 제2 화합물(135)을 포함할 수 있다.
- [57] 상기 코어 입자(131)는 구형의 형상을 가질 수 있다. 본 발명에 있어서 '구형'이라 함은 중심으로부터 표면의 모든 지점까지의 반지름들이 동일한

완벽한 구형뿐만 아니라 최대 반지름과 최소 반지름의 차이가 약 10% 미만인 실질적인 구형체도 포함하는 것으로 정의된다.

- [58] 일 실시예에 있어서, 상기 코어 입자(131)는 상기 광원부(140)로부터 조사되는 광의 파장과의 관계, 바이오 센싱의 운용성 등을 고려하여, 약 600nm 이상 2 μ m 이하의 평균 직경을 가질 수 있다.
- [59] 일 실시예에 있어서, 상기 코어 입자(131)는 입사광을 투과시킬 수 있는 투명 물질로 형성될 수 있다. 예를 들면, 상기 코어 입자(131)는 투명 산화물이나 투명 고분자 물질 등으로 형성될 수 있다. 상기 투명 산화물은, 예를 들면, 실리카(silica), 글라스(glass) 등을 포함할 수 있고, 상기 투명 고분자 물질은, 예를 들면, 폴리스티렌(polystyrene), 폴리메틸메타크릴레이트(poly(methyl methacrylate)) 등을 포함할 수 있다.
- [60] 상기 전반사 유도층(132)은 상기 코어 입자(131)의 표면 중 일부를 피복하도록 형성되고, 상기 코어 입자(131) 내부를 진행하는 광의 적어도 일부를 전반사시켜 상기 광원부(140)의 방향으로 재귀반사되는 광량을 증가시킬 수 있다.
- [61] 일 실시예에 있어서, 상기 전반사 유도층(132)은 상기 코어 입자(131)의 표면 중 약 30% 이상 70% 이하의 면적을 피복하도록 상기 코어 입자(131)의 표면 상에 형성될 수 있다. 상기 전반사 유도층(132)이 상기 코어 입자(131) 표면의 30% 미만을 피복하는 경우, 상기 코어 입자(131) 내부에 입사된 광 중 재귀반사되지 않고 누설되는 광량이 많아 상기 유전자 바이오센서(100)의 감도가 저하되는 문제점이 발생할 수 있고, 상기 전반사 유도층(132)이 상기 코어 입자(131) 표면을 70% 초과하여 피복하는 경우, 상기 코어 입자(131) 내부로 입사되는 광량이 감소하여 상기 유전자 바이오센서(100)의 감도가 저하되는 문제점이 발생할 수 있다. 일 실시예로, 상기 전반사 유도층(132)은 상기 코어 입자(131) 표면의 약 40% 이상 60% 이하를 피복하도록 상기 코어 입자(131)의 표면 상에 형성될 수 있다.
- [62] 일 실시예에 있어서, 상기 코어 입자(131) 내부를 진행하는 광의 적어도 일부를 전반사시켜 상기 광원부(140)의 방향으로 재귀반사되는 광량을 증가시키기 위해, 상기 전반사 유도층(132)은 상기 코어 입자(131)보다 굴절률이 작은 물질로 형성될 수 있다. 일 실시예로, 상기 코어 입자(131)는 적어도 360nm 내지 820 nm의 가시광선 파장 영역에서 약 1.4 이상의 굴절률을 갖는 물질로 형성될 수 있고, 상기 전반사 유도층(132)은 코어 입자(131)보다 작은 굴절률을 갖는 물질로 형성될 수 있다. 구체적으로, 상기 코어 입자(131)가 가시광선 영역에서 약 1.4 이상의 굴절률을 갖는 투명 산화물 또는 투명 고분자 물질로 형성된 경우, 상기 전반사 유도층(132)은 그보다 작은 굴절률을 갖는 금속 물질로 형성될 수 있다. 예를 들면, 상기 전반사 유도층(132)은 532nm 파장의 광에 대해 약 0.22의 굴절률을 갖는 금(Au), 약 0.15의 굴절률을 갖는 은(Ag), 약 1.0의 굴절률을 갖는 알루미늄(Al), 약 0.4의 굴절률을 갖는 구리(Cu), 약 1.2의 굴절률을 갖는 아연(Zn) 등으로부터 선택된 하나 이상의 금속으로 형성될 수 있다.

- [63] 한편, 일 실시예로, 상기 전반사 유도층(132)과 상기 코어 입자(131)의 접착력을 향상시키기 위해, 상기 코어 입자(131)의 표면에 크롬(Cr)을 도포한 후 상기 전반사 유도층(132)을 형성할 수 있다. 이 경우, 재귀반사능이 저하되는 것을 방지하기 위해, 상기 크롬은 약 2 nm 내지는 5 nm 이하의 두께로 도포되는 것이 바람직하다. 이와 달리, 다른 실시예로, 상기 전반사 유도층(132) 자체를 상기 코어 입자(131)와 접착력이 강한 물질로 형성할 수 있다. 예를 들면, 상기 코어 입자(131)가 투명 산화물로 형성된 경우, 상기 전반사 유도층(132)은 알루미늄(Al) 또는 구리(Cu)로 형성될 수 있다.
- [64] 일 실시예에 있어서, 광 투과에 의한 광 누설을 방지하고 상기 광학 표지부(130)의 분산성을 향상시키기 위하여, 상기 전반사 유도층(132)은 약 10 내지 100nm의 두께를 가질 수 있다. 상기 전반사 유도층(132)의 두께가 10nm 미만인 경우, 상기 코어 입자(131) 내부에 입사된 광 중 일부가 상기 전반사 유도층(132)을 투과하여 누설되는 문제점이 발생할 수 있고, 상기 전반사 유도층(132)의 두께가 100nm를 초과하는 경우, 상기 광학 표지부(130)의 중량이 커져 액체 내에서의 상기 광학 표지부(130)의 분산성이 저하되는 문제점이 발생할 수 있다.
- [65] 상기 수식층(133)은 상기 전반사 유도층(132) 표면 상에 형성될 수 있다. 상기 수식층(133)은 생체물질과의 결합이 용이한 금속 물질로 형성될 수 있다. 예를 들면, 상기 수식층(133)은 생체물질에 의한 수식이 용이하고 산화 안정성이 우수한 백금(Pt), 금(Au), 은(Ag) 등과 같은 귀금속으로 형성될 수 있다.
- [66] 일 실시예에 있어서, 상기 수식층(133)은 상기 전반사 유도층(132)과 독립된 별개의 층으로 형성될 수 있다. 예를 들면, 상기 전반사 유도층(132)이 귀금속이 아닌 금속 물질로 형성된 경우, 상기 수식층(133)은 상기 전반사 유도층(132)을 피복하는 귀금속 물질층일 수 있다.
- [67] 이와 달리, 다른 실시예에 있어서, 상기 수식층(133)과 상기 전반사 유도층(132)은 일체로 형성될 수 있다. 예를 들면, 상기 전반사 유도층(132)이 금(Au), 은(Ag) 등과 같이 상기 코어 입자보다 굴절률이 작은 귀금속으로 형성된 경우, 상기 전반사 유도층(132)은 상기 수식층(133)으로도 기능할 수 있다.
- [68] 일 실시예에 있어서, 상기 수식층(133)은 상기 광학 표지부(130)의 액체 내부에서의 분산성 및 응집 방지를 위해 약 100 nm 이하의 두께를 가질 수 있다.
- [69] 상기 제2 화합물(135)은 상기 수식층(133)에 직접 또는 간접적으로 결합되고, 상기 분자 비콘부(110)의 제1 화합물(112)과 선택적으로 결합할 수 있다. 상기 제2 화합물(135)은 상기 제1 화합물(112)에 따라 변경될 수 있고, 단백질, 핵산, 리간드 등으로부터 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다. 일 예로, 상기 분자 비콘부(110)의 제1 화합물(112)이 비오틴(biotin)을 포함하는 경우, 상기 제2 화합물(135)은 상기 비오틴(biotin)과 선택적으로 결합할 수 있는 아비딘(avidin), 스트렙트아비딘(streptavidin), 뉴트라아비딘(NeutrAvidin) 등으로부터 선택된 하나 이상의 단백질 화합물을 포함할 수 있다. 다른 예로, 상기 분자

비콘부(110)의 제1 화합물(112)이 디니트로페닐(DNP)을 포함하는 경우, 상기 제2 화합물(135)은 상기 디니트로페닐(DNP) 선택적으로 결합할 수 있는 항-DNP 항체(anti-DNP antibody) 화합물을 포함할 수 있다. 또 다른 예로, 상기 분자 비콘부(110)의 제1 화합물(112)이 디곡시게닌(DIG)을 포함하는 경우, 상기 제2 화합물(135)은 상기 디곡시게닌(DIG)과 결합할 수 있는 항-DIG 항체(anti-DIG antibody) 화합물을 포함할 수 있다.

- [70] 한편, 상기 제2 화합물(135)은 상기 수식층(133) 표면에만 결합되고, 상기 코어 입자(131)의 노출 표면에는 결합되지 않도록 형성될 수 있다. 이와 같이, 상기 전반사 유도층(132) 및 상기 수식층(133)에 의해 피복된 코어 입자(131)에 대해 상기 제2 화합물(135)을 위치 선택적으로 형성하는 경우, 상기 분자 비콘부(110)에 결합된 상태에서 상기 노출된 코어 입자(131) 부분이 상기 광원부(140)를 향하므로, 보다 강력한 재귀반사 신호를 유도할 수 있고, 그 결과 상기 유전자 바이오센서(100)의 감도를 현저하게 향상시킬 수 있다.
- [71] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 도 3b에 도시된 바와 같이, 상기 광학 표지부(130)는 상기 전반사 유도층(132)과 상기 수식층(133) 사이에 배치되고, 자성물질로 형성된 자성층(134)을 더 포함할 수 있다. 상기 자성층(134)은, 예를 들면, 철(Fe), 니켈(Ni), 망간(Mn), 이들의 소성체 또는 산화물 등과 같은 자성물질로 형성될 수 있다. 상기 광학 표지부(130)가 상기 자성층(134)을 더 포함하는 경우, 외부에서 자기장을 인가함으로써 상기 광학 표지부(130)의 배향 방향을 조절하여 보다 강력한 재귀반사 신호를 유도할 수 있을 뿐만 아니라 광학 표지부(130)들 중 상기 분자 비콘부(110)와 결합하지 않은 광학 표지부(130)를 외부 자기장을 이용하여 용이하게 분리할 수 있다.
- [72] 상기 광원부(140)는 상기 광학 표지부(130) 상부에 배치되고, 상기 분자 비콘부(110)에 결합된 상기 광학 표지부(110)에 광을 조사할 수 있다. 상기 광원부(140)의 광원은 특별히 제한되지 않는다. 예를 들면, 상기 광원부(140)의 광원으로는 다양한 파장의 광이 혼합된 광을 생성하는 광원 또는 특정 파장의 단색 광을 생성하는 광원이 제한 없이 사용될 수 있다. 구체적으로, 상기 광원부(140)의 광원은 할로젠족 램프, 수은 램프, 형광등, 발광다이오드(LED), 레이저(Laser) 등이 제한 없이 사용될 수 있다.
- [73] 상기 수광부(150)는 상기 광원부(140)와 이격되도록 상기 광학 표지부(130) 상부에 배치되고, 상기 광원부(140)에서 생성되어 상기 광학 표지부(130)에 조사된 광 중 상기 광학 표지부(130)에 의해 재귀반사된 광을 수용하여 상기 타겟 핵산 분자(10)의 유무, 농도 등에 대한 정보를 정량 분석할 수 있다. 상기 재귀반사된 광을 수용하여 상기 타겟 핵산 분자(10)에 대한 정보를 분석할 수 있다면, 상기 수광부(150)의 구성은 특별히 제한되지 않는다. 일 실시예로, 상기 수광부(150)는 상기 재귀반사된 광 신호를 이미지화하는 화상 생성부 및 상기 화상 생성부에 의해 생성된 화상 정보를 분석하는 화상 분석부를 포함할 수 있다. 이 경우, 상기 화상 생성부로는 디지털 카메라 등의 공지의 화상 생성

장치가 제한 없이 적용될 수 있고, 상기 화상 분석부로는 공지의 화상분석 시스템이 제한 없이 적용될 수 있다.

[74] 일 실시예에 있어서, 상기 수광부(150)는 상기 화상 생성부에 의해 생성된 이미지로부터 상기 화상 분석부가 상기 광학 표지부(130)의 숫자를 계수함으로써 상기 타겟 핵산 분자(10)의 농도를 정량분석할 수 있다.

[75] 다른 실시예에 있어서, 상기 수광부(150)는 상기 화상 생성부에 의해 생성된 이미지로부터 상기 화상 분석부가 상기 광학 표지부(130)에 의해 재귀반사된 광량을 측정함으로써 상기 타겟 핵산 분자(10)의 농도를 정량분석할 수 있다.

[76] 일 실시예에 있어서, 도 4에 도시된 바와 같이, 상기 광원부(140)로부터 조사된 광과 상기 광학 표지부(130)에 의해 재귀반사된 광의 간섭에 의한 민감도 저하를 최소화하고, 상기 기관(120)에 의해 거울 반사된 광에 의한 민감도 저하를 방지하기 위해, 상기 수광부는 상기 기관(121) 표면의 법선에 대해 약 -10° 내지 $+10^\circ$ 의 각도 범위 안에서 입사하는 재귀반사 광을 수용하도록 배치되고, 상기 광원부(140)는 상기 재귀반사된 광의 진행방향에 대해 약 0° 초과 45° 이하로 기울어진 방향으로 광을 조사하도록 배치될 수 있다.

[77]

[78] 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 핵산 분자의 정량 분석 방법을 설명하기 위한 순서도이고, 본 발명의 실시예에 따른 핵산 분자의 정량 분석 방법은 도 1 내지 도 4를 참조하여 설명한 광학 유전자 바이오센서(100)를 이용하여 수행될 수 있다.

[79] 도 1 내지 도 4와 함께 도 5를 참조하면, 본 발명의 실시예에 따른 핵산 분자의 정량 분석 방법은 기관(120)에 고정된 분자 비콘부(110)에 타겟 핵산 분자(10)를 반응시키는 제1 단계(S110); 상기 타겟 핵산 분자(10)가 결합된 분자 비콘부(110)에 광학 표지부(130)를 선택적으로 결합시키는 제2 단계(S120); 상기 분자 비콘부(110)에 결합된 광학 표지부(130)에 광을 조사하는 제3 단계(S130); 및 상기 광학 표지부(130)에 의해 재귀반사된 광에 대한 이미지를 생성하여 분석하는 제4 단계(S140)를 포함한다.

[80] 상기 제1 단계(S110)에 있어서, 상기 분자 비콘부(110)가 고정된 상기 기관(120) 상에 상기 핵산 분자(10)를 포함하는 용액 시료를 도포하여 상기 분자 비콘부(110)의 루프 구간(111a)과 상기 핵산 분자(10)를 결합시킬 수 있다. 앞에서 설명한 바와 같이, 상기 루프 구간(111a)은 상기 핵산 분자(10)와 상보적인 염기 서열을 가지므로, 상기 핵산 분자에 대해 선택적으로 결합할 수 있다. 상기 분자 비콘부(110)와 상기 핵산 분자(10)의 결합을 촉진하기 위해, 상기 핵산 분자(10)를 포함하는 용액 시료는 약 35°C 내지 45°C 의 온도로 가열될 수 있다. 다만, 이때의 가열 온도는 상기 분자 비콘부(110)과 상기 타겟 핵산분자(10)의 염기서열의 길이 및 해당 염기서열 내에 존재하는 구아닌(guanine, G)과 시토신(cytosine, C)의 비율에 따라 변경될 수 있다.

[81] 한편, 상기 핵산 분자(10)를 포함하는 용액 시료를 상기 기관(120) 상에

도포하여 상기 분자 비콘부(110)와 상기 핵산 분자(10)의 결합을 유도한 후, 상기 핵산 분자(10)와 미반응한 분자 비콘들(110)을 헤어핀 구조로 환원시키기 위해, 상기 용액 시료를 약 1 내지 5°C로 일정시간 동안 냉각한 후 상온에서 유지할 수 있다.

[82] 상기 제2 단계(S120)에 있어서, 상기 용액 시료가 존재하는 상기 기관(120) 상에 상기 광학 표지자들(130)을 도포하여 상기 타겟 핵산 분자(10)가 결합된 분자 비콘부(110)에 상기 광학 표지부(130)를 선택적으로 결합시킬 수 있다. 이 경우, 상기 분자 비콘부(110)의 제1 화합물(112)이 상기 광학 표지자들(130)의 제2 화합물(135)과 선택적으로 결합할 수 있다.

[83] 한편, 앞에서 설명한 바와 같이, 상기 분자 비콘부들(110) 각각의 올리고뉴클레오티드(111)는 상기 루프 구간(111a)의 양쪽 말단에 각각 형성되고 서로 상보적인 염기서열을 갖는 제1 및 제2 스템 구간(111b, 111c)을 구비하므로, 상기 핵산 분자(10)와 결합한 올리고뉴클레오티드(111)는 상기 기관(120)에 대해 상기 제1 화합물(112)이 결합된 단부가 상부로 향하는 선형 구조를 유지하나, 상기 핵산 분자(10)가 결합하지 않은 올리고뉴클레오티드(111)는 상기 제1 및 제2 스템 구간(111b, 111c)이 서로 결합하여 헤어핀 구조를 갖게 되고, 그 결과 상기 제1 화합물(112)이 결합된 단부가 상기 기관(120)을 향하게 된다. 따라서, 상기 용액 시료가 존재하는 상기 기관(120) 상에 상기 광학 표지자들(130)을 도포하는 경우, 상기 선형 구조의 올리고뉴클레오티드(111)의 제1 화합물(112)에는 상기 광학 표지부(130)가 용이하게 접근하여 상기 올리고뉴클레오티드(111)의 제1 화합물(112)과 상기 광학 표지부(130)의 제2 화합물 사이의 결합(135)이 형성되나, 상기 헤어핀 구조를 갖는 올리고뉴클레오티드(111)의 제1 화합물(112)에는 입체 장애에 의해 상기 광학 표지부(130)의 접근이 제한되고, 그 결과, 상기 올리고뉴클레오티드(111)의 제1 화합물(112)과 상기 광학 표지부(130)의 제2 화합물(135) 사이의 결합이 발생하지 않을 수 있다.

[84] 한편, 상기 타겟 핵산 분자(10)가 결합된 분자 비콘부(110)에 상기 광학 표지부(130)를 결합시킨 후, 상기 분자 비콘부(110)에 결합되지 않은 미반응 광학 표지부(130)를 제거할 수 있다. 이러한 미반응 광학 표지부(130)의 제거는 세척 용액을 이용하여 상기 용액 시료의 용매 및 기타 미반응 물질들을 제거하는 방식으로 수행될 수 있다.

[85] 상기 제3 단계(130)에 있어서, 상기 광원부(140)를 이용하여 상기 분자 비콘부(110)에 결합된 상기 광학 표지부(130)에 광을 조사할 수 있다. 이 경우, 상기 광학 표지부(130)의 제2 화합물(135)은 상기 수식층(133) 표면에만 결합되고 상기 코어 입자(131)의 노출 표면에는 결합되지 않으므로, 상기 광학 표지부(130)가 상기 분자 비콘부(110)에 결합되는 경우, 상기 광학 표지부(130) 중 상기 코어 입자(131)의 노출 표면이 상기 광원부(140) 방향으로 배향되고, 그 결과 상기 광원부(140)의 광 조사에 대해 더 강한 재귀반사 신호를 생성할 수 있다.

- [86] 상기 제4 단계(140)에 있어서, 상기 수광부(150)는 상기 광원부(140)가 광을 조사하는 상태에서 상기 광학 표지부(110)가 결합된 상기 기관(120)에 대한 이미지를 생성하고, 이에 대한 분석을 수행할 수 있다. 예를 들면, 상기 수광부(150)는 화상 생성부를 통해 상기 기관(120)에 대한 이미지를 생성할 수 있고, 상기 화상 분석부를 통해 상기 이미지로부터 상기 광학 표지부(130)의 숫자를 계수하는 방식으로 상기 이미지를 분석할 수 있다.
- [87] 본 발명에 따르면, 분자 비콘부에 타겟 핵산 분자를 결합시킨 후 광학 표지자를 분자 비콘부에 결합시키고, 상기 광학 표지자로부터 재귀반사되는 광을 이용하여 타겟 핵산 분자에 대한 정량 분석을 수행하므로, 종래의 형광 염료를 이용하는 바이오센서에 비해 고가이면서 부피가 큰 광학 장비를 사용하지 않고도 고감도로 상기 타겟 핵산 분자에 대한 정량분석을 수행할 수 있다.
- [88]
- [89] 이하 본 발명의 실시예에 대해 상술한다. 하기 실시예들은 본 발명의 일부 실시태양에 불과한 것으로서, 본 발명이 하기의 실시예들에 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.
- [90]
- [91] [실시예 1]
- [92] 본 발명을 통해 개발된 재귀반사원리를 채용한 분자 비콘 기반 유전자 바이오센싱 기술의 실제 핵산 마커 측정에의 응용 가능성을 입증하고 그 분석능을 확인하고자 감염성 미생물인 항생제 내성 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)의 FemA 유전자에 대한 유전자 센싱을 수행하였다. 구체적으로, 타겟 핵산 분자로써는 5'의 염기서열을 갖는 FemA 유전자의 cDNA 프래그먼트(fragment)를 합성해 사용하였다.
- [93] 분자 비콘부의 구조는 5'- $(\text{CH}_2)_6$ -GTGAGCTCATAACCTTCAGCAAGCTTTAACTCATAGGCTCAC-(CH_2)₆-Biotin-3'로 설계 되었으며, 6 x 2 염기쌍(base pair, bp)의 스템 구간과 30 염기쌍(bp)의 루프 구간을 갖도록 구성되었다.
- [94] 상기 분자 비콘부가 고정된 기관으로는 유리기관에 금박막이 패터닝된 입자계수전용 칩(chip)을 사용하였다. 구체적으로, 금 박막 패터닝은 340 μm x 340 μm 의 면적을 갖는 정사각형이 16개 존재하도록 제작하였다.
- [95] DTSSP를 이용하여 아민 반응성 자기조립단분자막(Amine-reactive SAM)를 형성시킨 금 박막 패터닝 표면에 상기 분자 비콘부를 수식한 후 다양한 농도(0 nM, 0.01 nM, 0.1 nM, 1.0 nM, 10.0 nM 및 100 nM)의 상기 FemA 유전자의 cDNA 프래그먼트(fragment)를 반응시켰다. 이어서, 상기 분자 비콘부의 비오틴(Biotin)과 선택적으로 결합하는 스트렙트아비딘(streptavidin)이 수식된 광학 표지부 입자들을 상기 분자 비콘부에 결합시킨 후 상기 광학 표지부 입자들에 백색 LED 광원을 이용하여 백색광을 조사한 상태에서 0.065의 개구수를 갖는 대물렌즈가 연결된 디지털 카메라를 이용하여 상기 기관에 대한

이미지를 생성하였고, 이어서 Image J 프로그램을 이용하여 상기 광학 표지부 입자들의 숫자를 계수하는 방식으로 상기 이미지를 분석하였다.

[96]

[97] [실험예 1]

[98] 도 6은 실시예 1에 따른 유전자 분석의 결과를 나타내는 그래프이고, 이 그래프는 3회 반복 실험 결과를 평균한 결과이다.

[99] 도 6을 참조하면, cDNA 프래그먼트(fragment)의 농도가 증가할수록 이미지에서 광학표지부 입자들의 수가 증가함을 알 수 있다. 즉, 실시예 1에 따라 타겟 핵산 분자에 대한 정량 분석을 수행할 경우, 유효하게 타겟 핵산 분자에 대한 농도를 측정할 수 있음을 알 수 있다.

[100] 한편, 실시예 1에 따라 재귀반사 신호를 기초로 타겟 핵산 분자를 검출할 경우, 검출민감도(limit of detection)는 34 pM로 계산되었고, 이는 하기 인용논문에 개시된 형광염료를 채용한 분자 비콘 기반의 종래의 바이오 센싱의 검출민감도인 10 nM보다 현저하게 향상된 결과이다.

[101]

[102] 인용논문: Sensitivity and Specificity of Metal Surface-Immobilized “Beacon” Biosensors, J. Am. Chem. Soc., 2005, vol.127, pp.79327940

[103] 이상의 결과로부터, 본 발명에 따를 경우에는 비분광 백색광원 및 디지털 카메라와 같은 최소한의 광학 장치만을 이용하더라도 종래의 고가의 광학장비를 사용하는 바이오 센싱 방법보다 타겟 핵산 분자를 더욱 정확하게 측정할 수 있음을 알 수 있다.

[104]

[105] [실시예 2]

[106] 본 발명을 통해 개발된 재귀반사원리 기반 유전자 바이오센싱 기술이 분자 비콘 본래의 주된 활용분야인 SNP(single nucleotide polymorphism) 분석에도 적용이 가능한지 확인하기 위해 다음의 두 가지 유전자(‘gene’과 ‘gene’에 대해 실시예 1과 동일한 분자 비콘부 및 광학 표지자를 이용하여 실시예 1과 동일한 방법으로 정량분석을 수행하였다.

[107] (i) 타겟 핵산 분자(target gene): 5’

[108] (ii) 검증 핵산 분자(verification gene): 5’

[109] 상기 검증 핵산 분자는 타겟 핵산 분자와 3개의 염기쌍(base pair)이 다른 DNA이다.

[110]

[111] [실험예 2]

[112] 도 7은 실시예 2에 따른 유전자 분석의 결과를 나타내는 그래프이고, 하기 표 1은 도 7로부터 산출된 농도에 따른 타겟 핵산 분자의 신호에 대한 검증 핵산 분자의 신호의 강도 비를 나타내는 결과이다.

[113] [표1]

농도	0.01nM	0.1nM	1nM	10nM	100nM	평균
신호 비율	24.0%	20.0%	43.6%	48.6%	53.4%	37.9%

[114] 도 6 및 표 1을 참조하면, 단지 3개의 염기쌍(base pair)만이 차이가 남에도 불구하고, 타겟 핵산 분자에 대한 신호에 비해 검증 핵산 분자에 대한 신호의 강도가 크게 감소함을 확인할 수 있다. 구체적으로, 검증 핵산 분자에 대한 재귀반사 신호는 타겟 핵산 분자에 대한 재귀반사 신호의 약 38% 수준에 불과한 것으로 나타났다.

[115] 이러한 결과로부터, 본 발명에 따른 광학 유전자 바이오센서는 유전자 변이 스크리닝 분야 등에도 활용될 수 있음을 알 수 있다.

[116] 상기에서는 본 발명의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하였지만, 해당 기술 분야의 숙련된 당업자는 하기의 특허 청구 범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

[117] [부호의 설명]

[118] 100: 광학 유전자 바이오센서 110: 분자 비콘부

[119] 111: 올리고뉴클레오티드 112: 제1 화합물

[120] 120: 기판 130: 광학 표지부

[121] 131: 코어 입자 132: 전반사 유도층

[122] 133: 수식층 134: 자성층

[123] 135: 제2 화합물 140: 광원부

[124] 150: 수광부

청구범위

- [청구항 1] 기관;
 타겟 핵산 분자와 선택적으로 결합하는
 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide) 및 상기 올리고뉴클레오티드의 제1
 말단에 결합된 제1 화합물을 구비하고, 상기 기관에 고정된 분자 비콘부;
 상기 제1 화합물과 선택적으로 결합하고, 조사된 광을 재귀반사시킬 수
 있는 광학 표지부;
 상기 광학 표지부에 광을 조사하는 광원부; 및
 상기 광학 표지부에 의해 재귀반사된 광을 수용하는 수광부를 포함하는,
 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 2] 상기 올리고뉴클레오티드는 상기 타겟 핵산 분자와 상보적인 염기서열을
 갖는 루프 구간, 상기 루프 구간의 제1 말단으로부터 연장되고 말단에
 상기 제1 화합물이 결합된 제1 스템 구간 및 상기 루프 구간의 제2
 말단으로부터 연장되고 상기 제1 스템 구간과 상보적인 염기 서열을
 가지며 상기 기관에 결합되는 제2 스템 구간을 포함하는 것을 특징으로
 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 3] 제2항에 있어서,
 상기 루프 구간은 20 내지 40개의 염기서열을 포함하고,
 상기 제1 및 제2 스템 구간은 각각 4 내지 8개의 염기서열을 포함하는
 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 4] 제2항에 있어서,
 상기 제1 화합물은 비오틴(biotin), 디니트로페닐(dinitrophenyl, DNP) 및
 디곡시게닌(digoxigenin, DIG)으로 이루어진 그룹에서 선택된 하나
 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
 상기 분자 비콘부는 상기 제1 화합물을 상기 제1 스템 구간의 말단에
 결합시키는 제1 스페이서 화합물을 더 포함하고,
 상기 제1 스페이서 화합물은 4 내지 10의 탄소를 갖는 알킬체인 또는 약 4
 내지 10 개(mer)의 미니-폴리에틸렌글리콜(mini-poly(ethylene glycol))을
 포함하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 6] 제2항에 있어서,
 상기 분자 비콘부는 상기 기관과 공유결합을 형성하는 작용기를 더
 포함하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 7] 제6항에 있어서,
 상기 분자 비콘부는 상기 작용기를 상기 제2 스템 구간의 말단에
 결합시키는 제2 스페이서 화합물을 더 포함하고,
 상기 제2 스페이서 화합물은 4 내지 10의 탄소를 갖는 알킬체인 또는 약 4

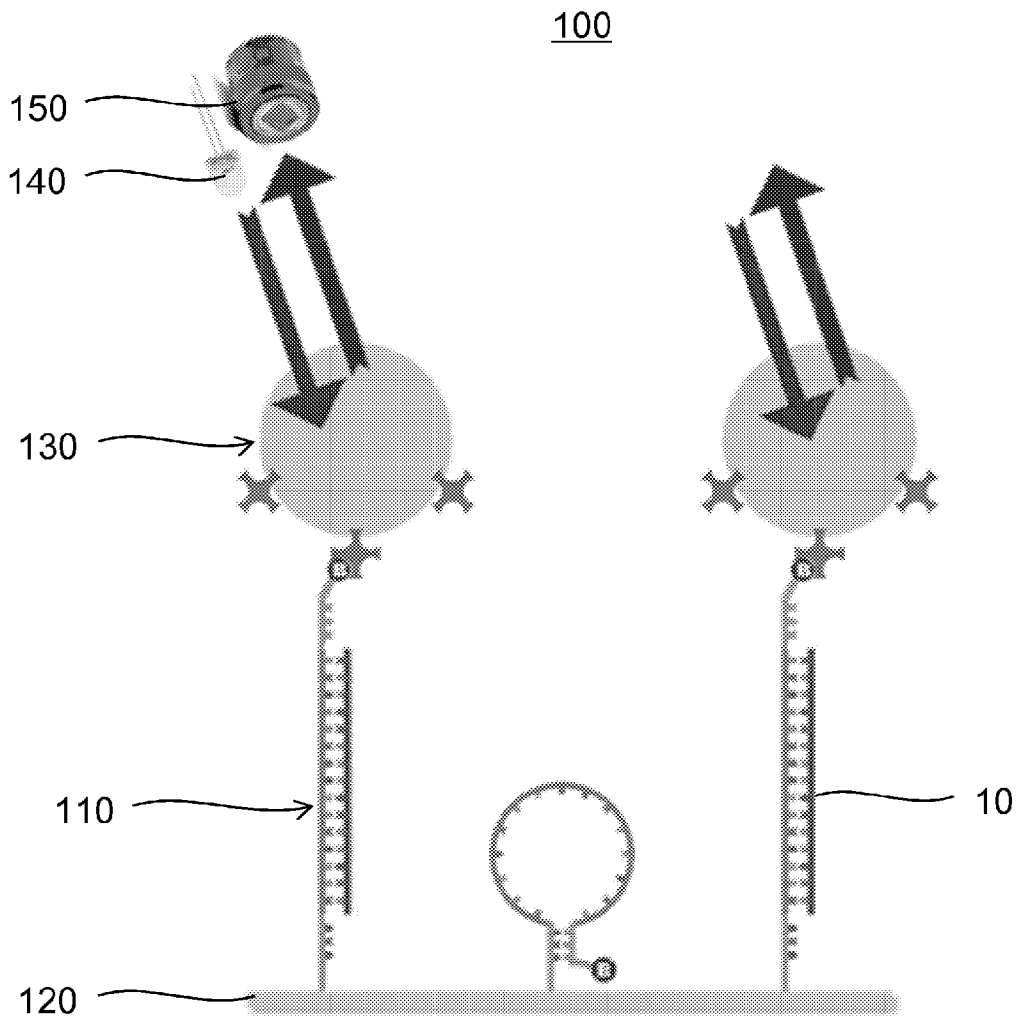
- 내지 10 개(mer)의 미니-폴리에틸렌글리콜(mini-poly(ethylene glycol))을 포함하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
 상기 광학 표지부는,
 투명한 코어 입자;
 상기 코어 입자 표면의 일부를 피복하고, 적어도 360nm 내지 820nm의 가시광선 파장 영역에서 상기 코어 입자보다 굴절률이 작은 물질로 형성된 전반사 유도층;
 상기 전반사 유도층 상에 형성된 수식층; 및
 상기 수식층에 결합되고, 상기 제1 화합물과 선택적으로 결합하는 제2 화합물을 포함하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 9] 제8항에 있어서,
 상기 코어 입자는 상기 가시광선 파장 영역에서 1.4 이상의 굴절률을 갖는 물질 중 실리카(silica), 글라스(glass), 폴리스티렌(polystyrene) 및 폴리메틸메타크릴레이트(poly(methyl methacrylate))로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나의 물질로 형성된 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
 상기 전반사 유도층은 알루미늄(Al), 구리(Cu), 금(Au), 은(Ag) 및 아연(Zn)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 물질로 형성된 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 11] 제8항에 있어서,
 상기 코어 입자는 600nm 이상 2 μ m 이하의 평균 직경을 갖고,
 상기 전반사 유도층은 상기 코어 입자의 표면 중 30% 이상 70% 이하의 면적을 피복하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 12] 제11항에 있어서,
 상기 전반사 유도층은 10 내지 100nm의 두께를 갖는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 13] 제8항에 있어서,
 상기 수식층은 백금(Pt), 금(Au) 및 은(Ag)으로 이루어진 그룹에서 선택된 하나 이상의 물질로 형성된 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 14] 제8항에 있어서,
 상기 제1 화합물은 비오틴(biotin), 디니트로페닐(dinitrophenyl, DNP) 및 디곡시게닌(digoxigenin, DIG)으로 이루어진 그룹에서 선택된 하나 이상을 포함하고,
 상기 제1 화합물이 상기 비오틴을 포함하는 경우, 상기 제2 화합물은 상기 비오틴(biotin)과 선택적으로 결합할 수 있는 아비딘(avidin), 스트렙트아비딘(streptavidin) 및 뉴트라아비딘(NeutrAvidin)으로 이루어진

- 그룹에서 선택된 하나 이상을 포함하고,
 상기 제1 화합물이 상기 디니트로페닐을 포함하는 경우, 상기 제2 화합물은 상기 디니트로페닐(DNP) 선택적으로 결합할 수 있는 항-DNP 항체(anti-DNP antibody) 화합물을 포함하며,
 상기 제1 화합물이 상기 디곡시게닌을 포함하는 경우, 상기 제2 화합물은 기 디곡시게닌(DIG)과 결합할 수 있는 항-DIG 항체 (anti-DIG antibody) 화합물을 포함하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 15] 제8항에 있어서,
 상기 광학 표지부는 상기 전반사 유도층과 상기 수식층 사이에 배치되고, 자성 물질로 형성된 자성층을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 16] 제1항에 있어서,
 상기 광원부는 상기 광학 표지부의 상부에 배치되고, 상기 광학 표지부에 복수의 파장의 혼합 광 또는 단색 파장의 광을 조사하고,
 상기 수광부는 상기 광원부와 이격되도록 상기 광학 표지부 상부에 배치되고, 상기 광원부에서 생성되어 상기 광학 표지부에 조사된 광 중 상기 광학 표지부에 의해 재귀반사된 광을 수용하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 17] 제16항에 있어서,
 상기 광원부는 상기 재귀반사된 광의 진행방향에 대해 0° 초과 45° 이하로 기울어진 방향으로 광을 조사하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 18] 제16항에 있어서,
 상기 수광부는 상기 재귀반사 광 신호를 수신하여 이미지화하는 화상 생성부; 및 상기 화상 생성부에 의해 생성된 화상 정보를 분석하는 화상 분석부를 포함하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 19] 제18항에 있어서,
 상기 화상 분석부는 상기 이미지로부터 상기 광학 표지부의 개수를 계수하여 상기 타겟 핵산 분자의 농도를 분석하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 20] 제18항에 있어서,
 상기 화상 분석부는 상기 이미지로부터 상기 광학 표지부에 의해 재귀반사된 광량을 측정하여 상기 타겟 핵산 분자의 농도를 분석하는 것을 특징으로 하는, 광학 유전자 바이오센서.
- [청구항 21] 기관에 고정된 분자 비콘부에 타겟 핵산 분자를 반응시키는 제1 단계;
 상기 타겟 핵산 분자가 결합된 분자 비콘부에 광학 표지부를 선택적으로 결합시키는 제2 단계;
 상기 분자 비콘부에 결합된 광학 표지부에 광을 조사하는 제3 단계; 및

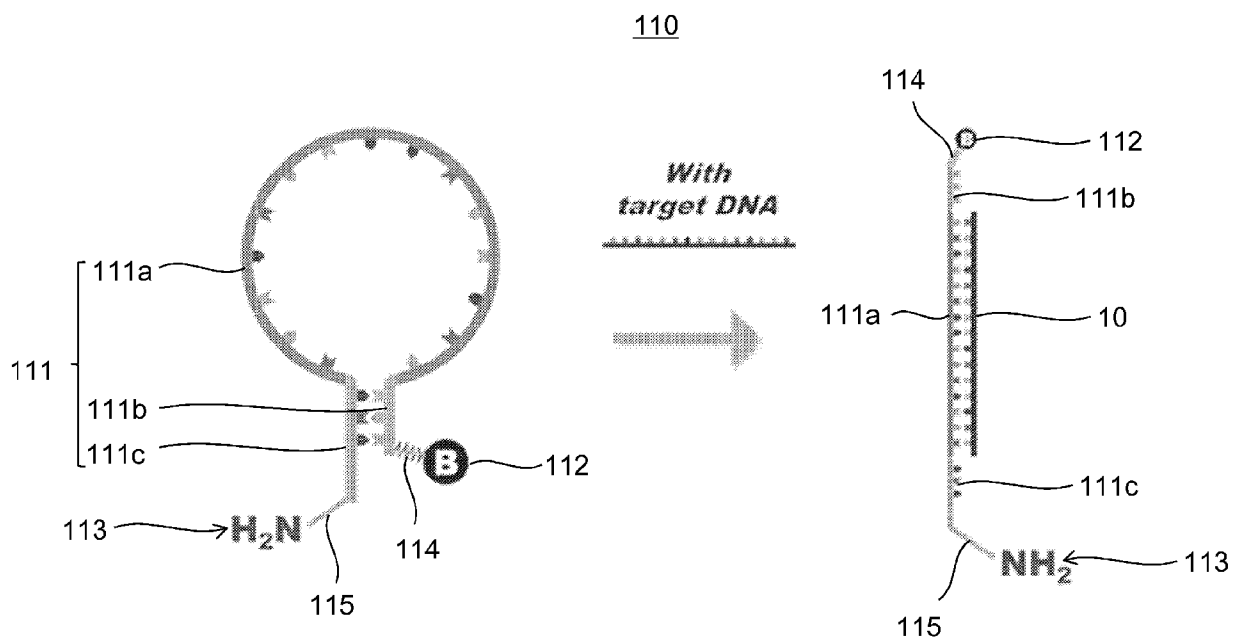
상기 광학 표지부에 의해 재귀반사된 광에 대한 이미지를 생성하여 분석하는 제4 단계를 포함하는, 핵산 분자의 정량 분석 방법.

- [청구항 22] 제21항에 있어서,
상기 타겟 핵산 분자를 함유하는 용액 시료를 상기 분자 비콘부가 고정된 상기 기관 상에 도포하여 상기 분자 비콘부 중 상기 타겟 핵산 분자와 상보적인 염기서열을 갖는 루프 구간에 상기 타겟 핵산 분자를 반응시키는 것을 특징으로 하는, 핵산 분자의 정량 분석 방법.
- [청구항 23] 제22항에 있어서,
상기 용액 시료가 존재하는 상기 기관 상에 상기 광학 표지자들을 도포하여 상기 분자 비콘부들 중 상기 타겟 핵산 분자가 결합된 분자 비콘부에 상기 광학 표지부를 선택적으로 결합시키는 것을 특징으로 하는, 핵산 분자의 정량 분석 방법.
- [청구항 24] 제23항에 있어서,
상기 제2 단계 후 상기 제3 단계 전에 상기 광학 표지부들 중 상기 분자 비콘부에 결합되지 않은 미반응 광학 표지부를 제거하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 핵산 분자의 정량 분석 방법.
- [청구항 25] 제21항에 있어서,
상기 제3 단계에서 백색광이 상기 광학 표지부에 조사되고,
상기 제4 단계에서 상기 백색광에 대한 재귀반사신호를 기초로 상기 타겟 핵산 분자에 대한 정량 분석이 수행되는 것을 특징으로 하는, 핵산 분자의 정량 분석 방법.

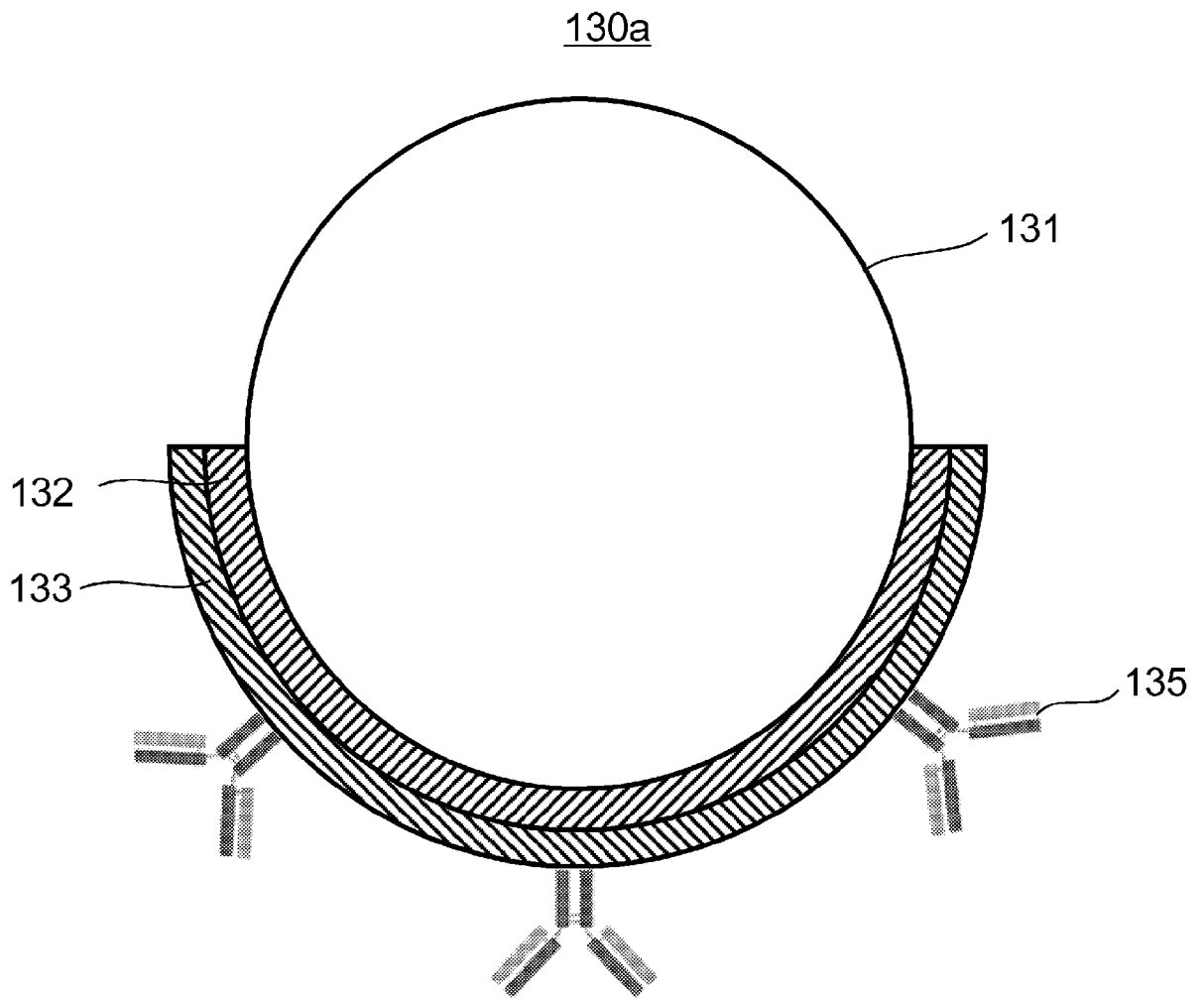
[도1]



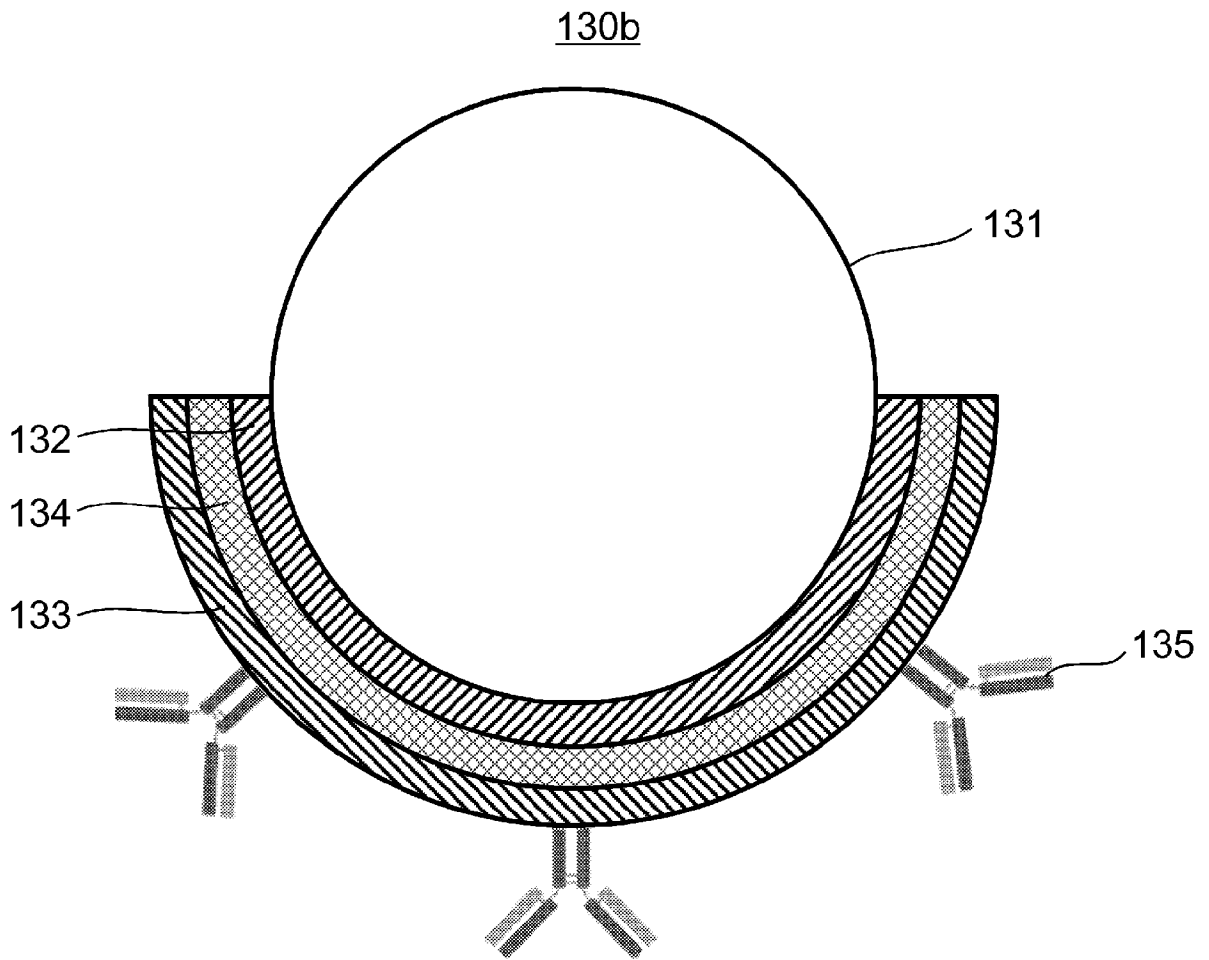
[도2]



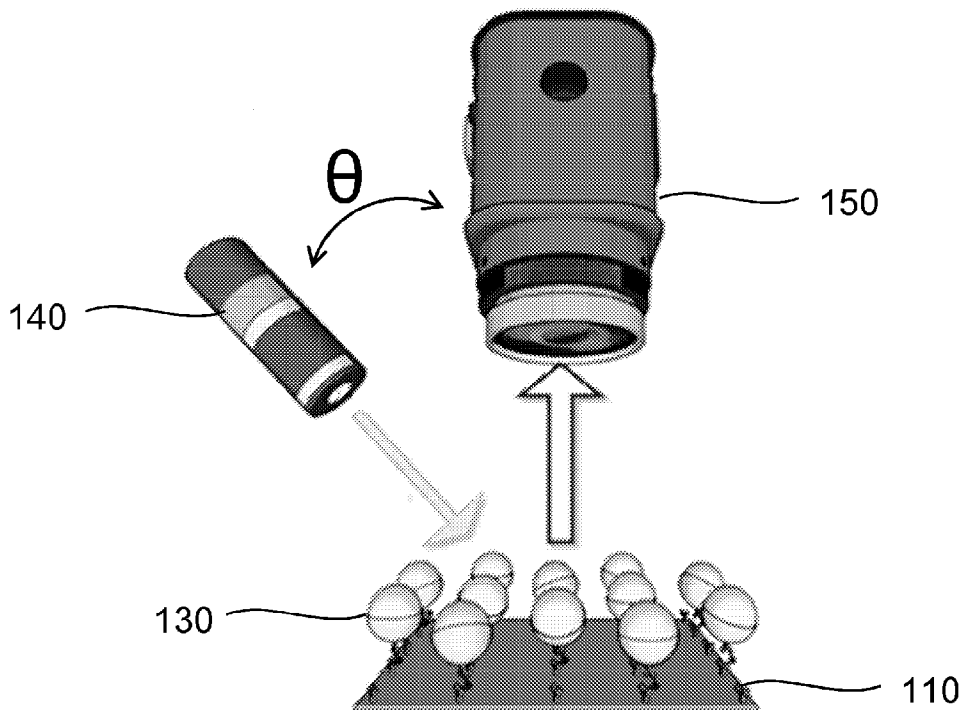
[도3a]



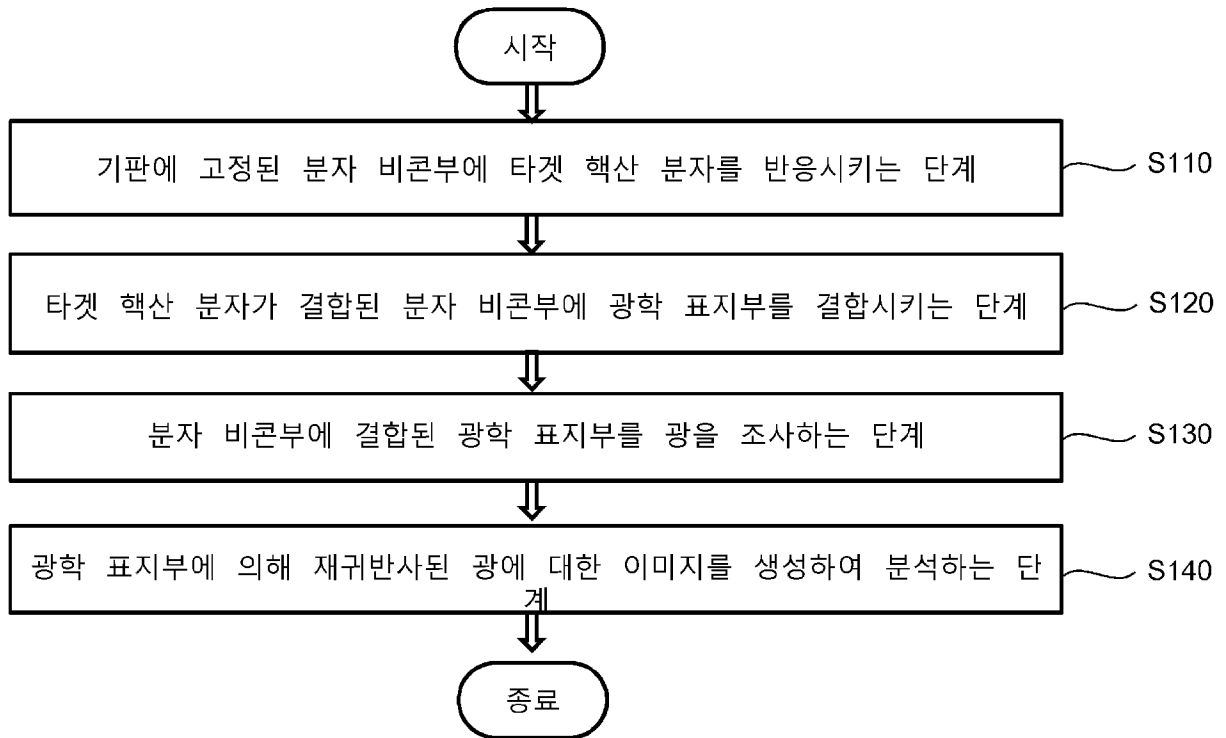
[도3b]



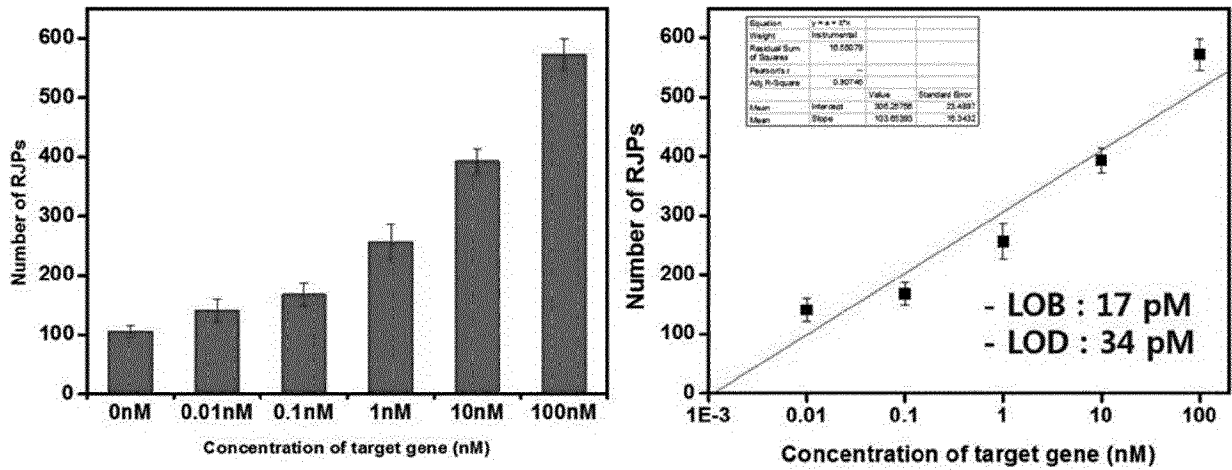
[도4]



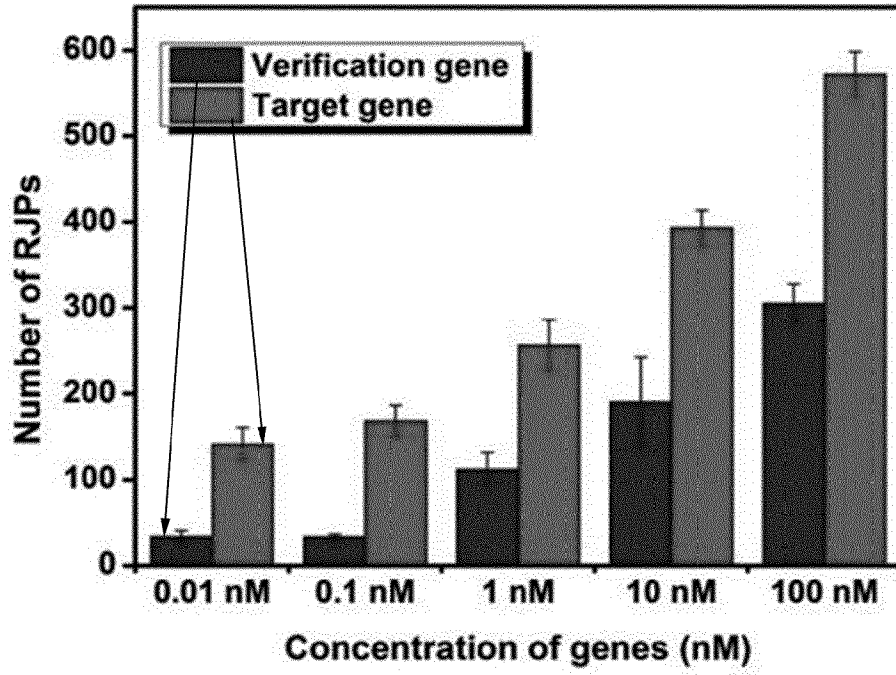
[도5]



[도6]



[도7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/002812

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/6818(2018.01)i, G01N 21/17(2006.01)i, G02B 5/12(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/6818; G01N 21/17; G02B 5/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: optical gene biosensor, substrate, molecular beacon unit, first compound, light source unit, retro-reflection, light source unit, light receiving unit, second compound

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	FANG, X. et al., "Molecular Beacon Based Biosensor for the Sequence-specific Detection of DNA Using DNA-capped Gold Nanoparticles-streptavidin Conjugates for Signal Amplification", <i>Microchimica Acta</i> , 23 July 2013 (Electronic publishing), vol. 180, nos. 13-14, pages 1271-1277 See abstract; page 1271-page 1274, left column, first paragraph; figure 1.	1-25
Y	HAN, Y. D. et al., "Retroreflective Janus Microparticle as a Nonspectroscopic Optical Immunosensing Probe", <i>Applied Materials & Interfaces</i> , 15 April 2016, vol. 8, no. 17, pages 10767-10774 See abstract; page 10772, right column, second paragraph-page 10773, right column, fourth paragraph; figures 1, 3; formulas 1-2.	1-25
Y	SITUMA, C. et al., "Immobilized Molecular Beacons: A New Strategy Using UV-activated Poly(methyl methacrylate) Surfaces to Provide Large Fluorescence Sensitivities for Reporting on Molecular Association Events", <i>Analytical Biochemistry</i> , 20 December 2006 (Electronic publishing), vol. 363, no. 1, pages 35-45 See abstract; page 38, right column, second paragraph-page 39, left column, first paragraph.	5-7
A	RAJA, B. et al., "An Embedded Microretroreflector-based Microfluidic Immunoassay Platform", <i>Lab on a Chip</i> , 2016, vol. 16, no. 9, pages 1625-1635 See the entire document.	1-25



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

07 JUNE 2018 (07.06.2018)

Date of mailing of the international search report

07 JUNE 2018 (07.06.2018)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/002812

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GARVEY, G. et al., "Microretroreflector-sedimentation Immunoassays for Pathogen Detection", Analytical Chemistry, 18 August 2014, vol. 86, no. 18, pages 9029-9035 See the entire document.	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2018/002812

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
None			

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
C12Q 1/6818(2018.01)i, G01N 21/17(2006.01)i, G02B 5/12(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
C12Q 1/6818; G01N 21/17; G02B 5/12

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 광학 유전자 바이오센서, 기관, 분자 비콘부, 제1 화합물, 광원부, 재귀반사, 광원부, 수광부, 제2 화합물

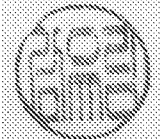
C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	FANG, X. 등, "Molecular beacon based biosensor for the sequence-specific detection of DNA using DNA-capped gold nanoparticles-streptavidin conjugates for signal amplification", Microchimica Acta, 2013.07.23 (전자공개), 180권, 13-14호, 페이지 1271-1277 초록; 페이지 1271 - 페이지 1274, 좌측 컬럼, 첫 번째 단락; 도면 1 참조.	1-25
Y	HAN, Y. D. 등, "Retroreflective janus microparticle as a nonspectroscopic optical immunosensing probe", Applied Materials & Interfaces, 2016.04.15, 8권, 17호, 페이지 10767-10774 초록; 페이지 10772, 우측 컬럼, 두 번째 단락 - 페이지 10773, 우측 컬럼, 네 번째 단락; 도면 1, 3; 도식 1-2 참조.	1-25
Y	SITUMA, C. 등, "Immobilized molecular beacons: A new strategy using UV-activated poly(methyl methacrylate) surfaces to provide large fluorescence sensitivities for reporting on molecular association events", Analytical Biochemistry, 2006.12.20 (전자공개), 363권, 1호, 페이지 35-45 초록; 페이지 38, 우측 컬럼, 두 번째 단락 - 페이지 39, 좌측 컬럼, 첫 번째 단락 참조.	5-7
A	RAJA, B. 등, "An embedded microretroreflector-based microfluidic immunoassay platform", Lab on a Chip, 2016, 16권, 9호, 페이지 1625-1635 전체 문헌 참조.	1-25

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:
 "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 " & " 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌
 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일 2018년 06월 07일 (07.06.2018)	국제조사보고서 발송일 2018년 06월 07일 (07.06.2018)
--	---

ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	심사관 감유림 전화번호 +82-42-481-3516	
---	------------------------------------	---

C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	GARVEY, G. 등, "Microretroreflector-sedimentation immunoassays for pathogen detection", Analytical Chemistry, 2014.08.18, 86권, 18호, 페이지 9029-9035 전체 문헌 참조.	1-25

국제조사보고서에서
인용된 특허문헌

공개일

대응특허문헌

공개일

없음