



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년11월17일
 (11) 등록번호 10-0869066
 (24) 등록일자 2008년11월11일

(51) Int. Cl.
 G01N 33/53 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)
 G01N 33/48 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2007-0036423
 (22) 출원일자 2007년04월13일
 심사청구일자 2007년04월13일
 (65) 공개번호 10-2007-0102943
 (43) 공개일자 2007년10월22일
 (30) 우선권주장 1020060034483 2006년04월17일 대한민국(KR)
 (56) 선행기술조사문헌
 US 06897965 B2 (2005. 5. 24.)
 WO 1991/004483 A1 (1991. 4. 4.)
 US 06355198 B1 (2002. 3. 12.)

(73) 특허권자
한국기술산업 (주)
 서울특별시 구로구 구로동 197-33 이앤씨벤처드림
 타워 3차 309호
 (72) 발명자
박관한
 인천 연수구 동춘2동 풍림2차 111-801
이강훈
 경기 성남시 분당구 구미동 세종그랑시아 1-425
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
김영철

전체 청구항 수 : 총 36 항

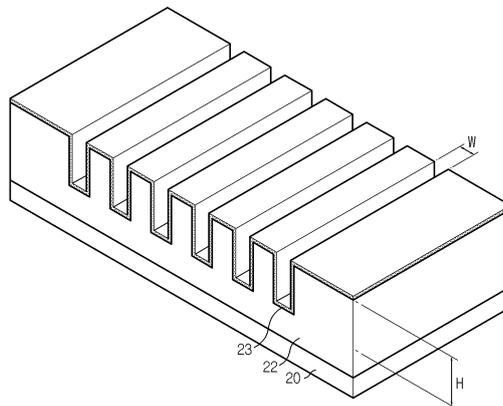
심사관 : 안규정

(54) 일 방향으로 정렬된 패턴의 바이오 칩, 이를 제조하는방법, 및 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법

(57) 요약

본 발명의 바이오 칩은 광 간섭을 이용하여 구비된 단백질을 검출할 수 있는 구조로서 베이스판; 및 상기 베이스판 상에 위치하고 일 방향으로 균일하게 정렬된 복수의 요철형태의 구조물을 갖는 유동성 수지층을 포함하며, 상기 구조물의 측벽이 반사막을 형성하여 페브리-페롯 간섭계 구조를 형성한다. 본 발명의 바이오 칩을 이용하여 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출함으로써, 적은 양의 시료를 다중으로 빠르게 분석할 수 있고, 기존의 방법보다 상대적으로 높은 감지 감도를 실현할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

전병천

경기 수원시 장안구 송죽동 272-13

한문희

서울 송파구 잠실7동 101-1 우성아파트 3-1001

이윤석

강원 춘천시 석사동 현진 에버빌 2차 201-703

특허청구의 범위

청구항 1

베이스판; 및

상기 베이스판 상에 위치하고, 일 방향으로 균일하게 정렬된 복수의 요철형태 구조물을 갖는 수지층을 포함하며,

상기 수지층은,

상기 구조물의 측벽이 반사막을 형성하여 페브리-페롯 간섭계(Fabry-Perot Interferometer) 구조를 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 베이스판은 내식성을 지닌 판인 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 수지층은 고분자 수지로 이루어지는 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 고분자 수지는 열 경화성 수지인 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 고분자 수지는 UV 경화성 수지인 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 수지층 표면에는 금(Au) 코팅막을 구비하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 수지층 표면에는 탄화규소(SiC), 산화규소(Silicon oxide) 또는 이산화규소(SiO₂) 코팅막을 구비하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 구조물의 측벽은, 측벽 사이의 거리(W)가 2~50nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 500nm~5um인 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 구조물의 측벽은, 측벽 사이의 거리(W)가 10~200nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 1~10um인 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 구조물의 측벽은, 측벽 사이의 거리(W)가 100~2000nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 5~30um인 것을 특징으로 하는 바이오 칩.

청구항 11

(1)복수의 요철구조물이 균일하게 정렬되어 형성되는 스탬프를 준비하는 단계;

(2)베이스판 상에 유동성 수지가 구비된 기판을 준비하는 단계;

(3)나노 임프린트법에 기초하여 상기 기판의 유동성 수지에 상기 스탬프를 위치시켜 가압하는 단계;

(4)상기 기판의 유동성 수지를 경화시켜 상기 스탬프의 구조물에 대응하는 구조를 갖는 수지층을 형성하는 단계; 및

(5)상기 스탬프를 상기 수지층으로부터 제거하는 단계를 포함하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 (1)단계에서,

상기 구조물의 각각의 측벽을 평평하게 준비하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 (4)단계는,

상기 유동성 수지에 열을 인가하여 수지층을 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 (4)단계는,

상기 유동성 수지에 자외선을 조사하여 수지층을 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 (5)단계 이후에,

상기 수지층의 표면에 금(Au)을 코팅처리 하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 16

제11항에 있어서, 상기 (5)단계 이후에,

상기 수지층 표면에 탄화규소(SiC), 산화규소(Silicon oxide) 또는 이산화규소(SiO₂) 를 코팅처리하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 17

제11항에 있어서,

상기 스탬프는 레이저 빔 간섭 리소그래피(LIL; Laser interferometer lithography)를 이용하여 제조되는 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 18

제11항에 있어서,

상기 스탬프는 전자 빔 리소그래피(e-beam lithography)를 이용하여 제조되는 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 19

제11항에 있어서,
상기 베이스판은 내식성을 지닌 판인 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 20

제11항에 있어서,
상기 유동성 수지는 고분자 수지인 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 21

제13항 또는 제20항에 있어서,
상기 유동성 수지는 열 경화성 수지인 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 22

제14항 또는 제20항에 있어서,
상기 유동성 수지는 UV 경화성 수지인 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 23

제11항에 있어서, 상기 (2)단계는,
스핀코팅 방법을 통해 상기 베이스판에 상기 유동성 수지층을 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩의 제조방법.

청구항 24

(1)특정 대상물을 접합하기 위한 접속부재를 구비하는 제1항의 바이오 칩을 준비하는 단계;
(2)상기 바이오 칩에 구비되는 접속부재에 특정 대상물을 접합하는 단계;
(3)제(2)단계를 통해 제공되는 특정 대상물이 접합된 상기 바이오 칩에 광을 재조사(reilluminate)하여 패브리-패롯 간섭(Fabry-Perot Interferometric)에 의한 파장의 변화를 측정하는 단계; 및
(4)제(3)단계에서 측정된 파장의 변화를 참조하여 상기 바이오 칩에 접합된 특정대상물을 분석하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서,
제(1)단계에서 준비된 상기 바이오 칩에 광을 조사(illuminate)하여 바이오 칩의 패턴에 따른 패브리-패롯 간섭을 측정하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 26

제24항에 있어서,
상기 특정 대상물은 단백질인 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서,
상기 바이오 칩에 구비되는 접속부재에 단백질을 접합하는 단계는 접합부재로서 항체가 구비되는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 28

제24항에 있어서,

상기 특정 대상물은 핵산인 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 29

제28항에 있어서,

상기 바이오 칩에 구비되는 접속부재에 핵산을 접합하는 단계는 접합부재로서 핵산접속체가 구비되는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 30

제24항에 있어서,

상기 특정 대상물은 유기화합물인 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 31

제30항에 있어서,

상기 바이오 칩에 구비되는 접속부재에 유기화합물을 접합하는 단계는 접합부재로서 유기화합물 접속체가 구비되는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 32

제24항에 있어서,

상기 광은 백색 광원을 이용하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 33

제24항에 있어서, 제(4)단계에서,

상기 광을 제1광섬유를 통해 상기 바이오 칩에 전달하고, 상기 바이오 칩으로부터 반사되는 광을 제2광섬유를 통해 광 측정장치로 전달하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 34

제24항 또는 제25항에 있어서,

50~380nm 대역인 자외선 영역의 파장을 이용하여 분석하는 경우에는 제8항의 바이오칩을 이용하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 35

제24항 또는 제25항에 있어서,

380~780nm 대역인 가시광선 영역의 파장을 이용하여 분석하는 경우에는 제9항의 바이오칩을 이용하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

청구항 36

제24항 또는 제25항에 있어서,

780~3000nm 대역인 적외선 영역의 파장을 이용하여 분석하는 경우에는 제10항의 바이오칩을 이용하는 것을 특징으로 하는 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <17> 본 발명은 바이오 칩, 이를 제조하는 방법, 및 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 광 간섭을 이용하여 구비된 단백질을 검출할 수 있는 구조의 바이오 칩, 이를 제조하는 방법, 및 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법에 관한 것이다.
- <18> 최근 인간 유전자의 구조가 대부분 밝혀지면서 인체를 구성하는 유전자의 기능연구에 대한 관심이 급증하고 있다. 유전자는 단백질을 발현시킴으로써 세포내에서 그 기능을 수행하기 때문에 계놈의 기능연구는 단백질에 대한 연구로 귀결되며, 최근 단백질체(proteomics)라는 새로운 연구분야가 국내외적으로 많은 관심을 불러 일으키고 있다. 단백질체 연구에 필수적으로 이용될 수 있는 핵심기술이 단백질 칩(Protein Chip System)이다. 단백질 칩은 핵심기술의 연구개발이 진행되고 있는 미래형 칩으로써, 질병의 진단 및 biomarker 발굴, 단백질의 발현 및 기능연구, 단백질의 상호작용 연구, 신약개발 등 다양한 응용분야를 가지고 있어 의학, 약학, 생명과학분야에서 광범위하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.
- <19> 단백질 칩은 기관 상에 수십~수백 개의 단백질이 고정되는 칩으로서, 단백질 칩에 대한 기술은 단백질을 기관상에 고정하는 기술 및 칩에 고정되는 단백질을 분석하는 기술이 그 핵심을 이룬다.
- <20> 이 중에서, 단백질 칩에 부착된 단백질의 결합을 분석하는 방법은 크게 표지형(Labeling) 분석법과 비표지형(Non-labeling) 분석법으로 구분할 수 있다.
- <21> 우선, 표지형 분석방법은 단백질 자체만으로는 빛의 흡광, 투광 특성에 영향을 주지 않으므로, 단백질에 형광물질을 부착하여 발현된 형광의 세기를 측정하여 정량화하는 분석방법이다. 표지형 분석 방법을 이용하면 분석대상인 단백질에 선택적으로 형광 Dye를 붙이기 때문에 안정된 분석이 가능하다. 그러나 형광 Dye를 단백질에 붙이는 작업의 번거로움과 그 배양시간의 증가로 생산성이 떨어진다.
- <22> 비표지형 분석법은 단백질의 질량이나 굴절률 혹은 밀도만을 측정하여 단백질 칩에 부착되어있는 해당 단백질의 농도를 바로 측정하는 분석방법이다. 표지형 분석법에 비해 생산성이 증가하고 미량의 시료를 이용하여 실시간 측정이 가능하다는 장점이 있다.
- <23> 비표지형 분석법에 사용되는 대표적인 방법으로 광학 원리인 SPR(Surface Plasmon Resonance)을 이용한 분석 방법과 광 간섭(interferometric)을 이용한 분석방법이 있다. SPR을 이용한 분석방법은 단백질이 접합된 단백질 칩에 광 파장을 조사하고, 특정 파장에서는 빛이 반사되지 않고 대상물에 흡수되는 현상을 이용한다. 한편, 광 간섭을 이용한 분석방법은 단백질이 접합된 바이오 칩에 광 파장을 조사하여 상기 단백질 칩 상에서 발생하는 간섭현상을 이용한다.
- <24> 광 간섭을 이용한 분석방법으로 단백질 칩에 접합된 단백질 대상물을 분석할 경우, SPR법을 이용한 분석방법으로 단백질 칩에 접합된 단백질 대상물을 분석할 때보다 더 높은 감도를 확보할 수 있다. 또한 광 간섭을 분석하는 방법은 SPR을 분석하는 방법보다 상대적으로 단순하고, 광 간섭 분석장비는 SPR 분석장비보다 저렴하다. 결국 SPR을 이용하는 것보다 광 간섭을 이용하여 단백질 칩에 접합된 단백질 대상물을 분석하는 것이 더 효율적이고 경제적이다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <25> 본 발명은 상기와 같은 문제점을 고려하여 안출된 것으로서, 광 간섭을 이용할 수 있는 최적의 구조로 설계된 바이오 칩, 이를 제조하는 방법, 및 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법을 제공하는데 그 목적이 있다.
- <26> 또한 광 간섭을 이용할 수 있는 구조의 바이오 칩을 대량으로 생산할 수 있는 제조하는 방법을 제공하는데 다른 목적이 있다.
- <27> 또한, 높은 감지 감도를 구현할 수 있는 구조의 바이오 칩, 이를 제조하는 방법을 제공하는데 또 다른 목적이 있다.
- <28> 또한, 광 간섭을 이용할 수 있는 최적의 구조로 설계된 바이오 칩에 접합된 단백질을 효과적으로 분석하는 방법을 제공하는 데 또 다른 목적이 있다.

발명의 구성 및 작용

- <29> 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 측면에 따른 바이오 칩은 베이스판; 및 상기 베이스판 상에 위치하고 일 방향으로 균일하게 정렬된 복수의 요철형태의 구조물을 갖는 수지층을 포함하며, 상기 구조물의 측벽이 반사막을 형성하여 페브리-페롯 간섭계(Fabry-Perot Interferometer) 구조를 형성한다.
- <30> 상기 베이스판은 내식성을 지닌 판으로 이루어지며, 상기 수지층은 열 경화성 또는 UV 경화성 수지로 이루어지는 것이 바람직하다.
- <31> 또한, 상기 수지층 표면에는 금(Au)이 코팅처리될 수 있고, 탄화규소(SiC), 산화규소(Silicon oxide) 또는 이산화규소(SiO₂)가 코팅처리될 수 있다.
- <32> 본 발명의 바이오칩에 있어서, 상기 구조물의 측벽은, 측벽 사이의 거리(W)가 2~50nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 500nm~5um; 측벽 사이의 거리(W)가 10~200nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 1~10um; 또는 측벽 사이의 거리(W)가 100~2000nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 5~30um인 것을 특징으로 한다.
- <33> 본 발명의 다른 측면에 따른 바이오 칩의 제조방법은 (1)복수의 요철구조물이 균일하게 정렬되어 형성되는 스탬프를 준비하는 단계; (2)베이스판 상에 유동성 수지가 구비된 기판을 준비하는 단계; (3)나노 임프린트법에 기초하여 상기 기판의 유동성 수지에 상기 스탬프를 위치시켜 가압하는 단계; (4)상기 기판의 유동성 수지를 경화시켜 상기 스탬프의 구조물에 대응하는 구조를 갖는 수지층을 형성하는 단계; 및 (5)상기 스탬프를 상기 수지층으로부터 제거하는 단계를 포함한다.
- <34> 상기 (1)단계에서, 상기 구조물의 각각의 측벽을 평평하게 준비하는 것이 바람직하다.
- <35> 상기 스탬프는 레이저 빔 간섭 리소그래피(LIL; Laser interferometer lithography) 또는 전자 빔 리소그래피(e-beam lithography)를 이용하여 제조될 수 있다.
- <36> 상기 제(4)단계는 상기 유동성 수지에 열을 인가하여 수지층을 형성할 수 있다. 이때, 상기 스탬프는 내열성을 지닌 소재인 것이 바람직하며, 상기 유동성 수지는 열경화성 수지인 것이 바람직하다.
- <37> 또한, 상기 제(4)단계는 상기 유동성 수지에 자외선(UV)을 인가하여 수지층을 형성할 수도 있다. 이 경우, 상기 스탬프는 UV 투과성 소재인 것이 바람직하며, 상기 유동성 수지는 UV 경화성 수지인 것이 바람직하다.
- <38> 상기 (2)단계는 스핀 코팅방법을 통해 상기 베이스판에 상기 유동성 수지층을 형성할 수 있다.
- <39> 상기 (5)단계 이후에는 상기 수지층의 표면에 금(Au)을 코팅처리 하는 단계를 더 포함할 수 있고, 또는 탄화규소(SiC), 산화규소(Silicon oxide) 또는 이산화규소(SiO₂)를 코팅처리하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- <40> 본 발명의 또 다른 측면에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법은 (1)특정 대상물을 접합하기 위한 접촉부재를 구비하는 상기 바이오 칩을 준비하는 단계; (2)상기 바이오 칩에 구비되는 접촉부재에 특정 대상물을 접합하는 단계; (3)제(2)단계를 통해 제공되는 특정 대상물이 접합된 상기 바이오 칩에 광을 조사(reilluminate)하여 페브리-페롯 간섭(Fabry-Perot Interferometric)에 의한 파장의 변화를 측정하는 단계; 및 (4)제(3)단계에서 측정된 파장의 변화를 참조하여 상기 바이오 칩에 접합된 특정대상물을 분석하는 단계를 포함한다.
- <41> 바람직하게는, 제(1)단계에서 준비된 상기 바이오 칩에 광을 조사(illuminate)하여 바이오 칩의 패턴에 따른 페브리-페롯 간섭(Fabry-Perot Interferometric)을 측정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- <42> 상기 특정 대상물은 단백질, 핵산 또는 유기화합물이고, 상기 특정 대상물을 접합하기 위한 접합부재로서 항체, 핵산접속체 또는 유기화합물 접속체를 구비할 수 있다.
- <43> 상기 광은 백색 광원을 이용하는 것이 바람직하다.
- <44> 제(2)단계 및 제(4)단계에서, 광을 제1광섬유를 통해 상기 바이오 칩에 전달하고, 상기 바이오 칩으로부터 반사되는 광을 제2광섬유를 통해 광 측정장치로 전달할 수 있다.
- <45> 본 발명의 또 다른 측면에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법에 있어서, 50~380nm 대역인 자외선 영역의 파장을 이용하여 분석하는 경우에는 측벽 사이의 거리(W)가 2~50nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 500nm~5um인 바이오칩을 이용하는 것을 특징으로 하고, 380~780nm 대역인 가시광선 영역의 파장을 이용하여 분석하는 경우에는 측벽 사이의 거리(W)가 10~200nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 1~10um인

바이오칩을 이용하는 것을 특징으로 하며, 780~3000nm 대역인 적외선 영역의 파장을 이용하여 분석하는 경우에는 측벽 사이의 거리(W)가 100~2000nm이고, 측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 5~30um인 바이오칩을 이용하는 것을 특징으로 한다.

- <46> 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 이에 앞서, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다. 따라서, 본 명세서에 기재된 실시예와 도면에 도시된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 일 실시예에 불과할 뿐이고 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.
- <47> 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 사시도이다. 도 1을 참조하면, 본 발명의 실시예에 따른 바이오 칩은 베이스판(20) 및 상기 베이스판(20) 상에 형성되는 수지층(22)을 구비한다.
- <48> 상기 베이스판(20)은 내식성을 지닌 판으로서, 석영 또는 고분자 중합체인 것이 바람직하다.
- <49> 상기 수지층(22)은 베이스판(20) 상에 위치하고, 균일하게 정렬된 복수의 요철형태 구조물을 가진다. 또한 수지층(22)에서 상기 구조물의 측벽은 외부로부터 조사되는 빛을 반사시킨다. 이에 따라, 수지층(22)의 상기 구조물의 측벽은 페브리-페롯 간섭계(Fabry-Perot Interferometer) 구조를 형성한다.
- <50> 나아가, 외부의 광에서 조사되는 광 파장이 수지층(22)의 상기 구조물의 측벽 사이에 입사될 경우, 입사된 광 파장은 반사막으로 작용하는 측벽에 반복적으로 반사되어 외부로 방사된다. 구체적으로, 외부로 방사되는 빛은 제조된 칩상의 패턴에 의해 간섭을 일으킨다. 간섭이 일어나 빛의 세기가 극대되는 조건은 하기 수학식 1로 정의할 수 있다.

수학식 1

$$2d\cos I = m\lambda$$

- <51>
- <52> (m = 0, 1, 2, ...) 여기서 d는 측벽 간의 간격(W), I는 입사각, m은 차수이고, λ는 입사되는 빛의 파장을 의미한다.
- <53> 위 수식은 빛이 공기 중에서 이동하는 경우 성립하는 조건이다. 따라서 수지층의 요철 구조물의 측벽 사이에 공기와 다른 굴절률을 지니고 있는 단백질이 접합될 경우, 측벽 사이에서의 광로정이 달라진다. 결국 그 단백질의 농도 차이에 따라 간섭 패턴이 달라지게 되고 그 변화를 감지하여 단백질을 분석할 수 있게 된다.
- <54> 수지층(22)의 표면에 의하여 반사되는 빛의 각도를 일정하게 유지하기 위하여 수지층(22)에 형성되는 상기 구조물의 측벽을 평평하게 유지하는 것이 바람직하다.
- <55> 수지층(22)에 형성되는 상기 구조물의 측벽 사이의 거리와 높이는 측정하는 파장 영역대에 의존하게 된다. 전체적인 파장의 이동을 관찰하기 위해서는 단색광원(monochromatic light)이 아닌 넓은 분광 복사 스펙트럼을 가진 백색광원(white light)을 사용하는 것이 바람직하다.
- <56> 또한, 빛의 파장은 자외선 영역: 50~380nm 대역, 가시광선 영역: 380~780nm 대역, 적외선 영역 : 780~3000nm 대역으로 분류할 수 있다. 따라서, 바이오 칩에 조사하는 광원과 이를 측정하는 분광분석기의 분석 가능한 파장 영역대에 따라 구조물의 치수를 달리하여 사용하는 것이 바람직하다. 구체적으로, 분광분석기가 자외선 영역의 파장을 분석할 수 있는 경우, 상기 구조물의 측벽 사이의 거리(폭:W)는 2~50nm이고, 저면에서 단부까지의 거리(높이:H)는 500nm~5um일 수 있다. 또한, 분광분석기가 가시광선 영역의 파장을 분석할 수 있는 경우, 상기 구조물의 폭(W)은 10~200nm이고, 높이(H)는 1~10um일 수 있다. 그리고 분광분석기가 적외선 영역의 파장을 분석할 수 있는 경우, 상기 구조물의 폭(W)은 100~2000nm이고, 높이(H)는 5~30um일 수 있다.
- <57> 바람직하게, 수지층(22)의 표면에는 반사율이 좋은 금(Au) 코팅막(23)을 구비할 수 있다. 본 발명은 입사된 광 파장이 측벽에 반복적으로 반사되어 외부로 방사되면서 일어나는 간섭패턴을 감지하는 것이므로 반사율이 좋을수록 검출에 용이하다. 금(Au)은 반사율이 99%로 알려져 있다. 코팅막 두께는 20~50nm가 바람직하고 코팅은 저온에서의 화학적 증착법 또는 원자층 증착법으로 수행될 수 있다. 한편, 금은 내산성 및 내구성이 우수하여 수지층이 변형되는 것을 방지할 수 있다. 또한 금으로 수지층의 표면을 코팅하는 경우 단백질 접합을 위한 접속부

재(linker) 중에서 티올(-SH)기를 가지는 linker를 금(Au)표면에 쉽게 코팅할 수 있다.

- <58> 또한, 상기 수지층 표면에는 탄화규소(SiC), 산화규소(Silicon oxide) 또는 이산화규소(SiO₂)가 코팅처리될 수 있다.
- <59> 도 2는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법의 순서도, 도 3은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법에 의해 준비된 스탬프의 평면도, 도 4는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법에 의해 준비된 스탬프의 측 단면도, 도 5a 내지 도 5c는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법을 순서대로 도시한 수순 단면도, 도 6은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법에 의해 제조된 바이오 칩의 측 단면도이다.
- <60> 도면을 참조하면, 본 발명의 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법은 우선적으로 바이오 칩을 제조하기 위한 스탬프를 준비한다(S10). S10 단계에서는 레이저 빔 간섭 리소그래피(LIL; Laser interferometer lithography) 또는 전자 빔 리소그래피(e-beam lithography)를 이용하여 상기 스탬프(10)의 기관 상에 복수의 요철구조물(11)을 형성한다. 여기서, 요철구조물(11)은 스탬프(10)의 기관 상에 균일한 간격을 유지하며 형성되는 것이 바람직하다.
- <61> 다음으로, 바이오 칩으로 제조될 기관을 준비한다(S20). 상기 기관은 베이스판(20) 상에 유동성 수지(21)를 스핀 코팅함으로써 제조할 수 있다. 여기서, 상기 베이스판(20)은 내식성을 지닌 판으로서, 석영 또는 고분자 중합체인 것이 바람직하다.
- <62> 비록 본 발명의 실시예에서 베이스판(20) 상에 유동성 수지(21)를 스핀 코팅하는 것을 예시하였으나, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니며, 베이스판(20) 상에 유동성 수지(21)를 형성할 수 있는 방법, 예컨대 베이스판(20)에 유동성 수지(21)를 디스펜서와 같은 장비를 통해 도포하는 방법 등이 사용될 수도 있다.
- <63> 스탬프(10) 및 칩의 기관(20, 21) 준비가 완료되면, S30단계를 진행한다. S30단계는 먼저 도 5a와 같이 칩의 기관(20, 21)상에 스탬프(10)를 위치시킨다. 그 후, 도 5b와 같이 베이스판(20)의 하부에서 열을 가하여 유동성 수지(21)를 가열하고, 스탬프(10)의 상부에서는 소정의 압력을 인가하여, 스탬프(10)에 형성되어 있는 요철구조물(11)을 유동성 수지(21) 상에 임프린트한다.
- <64> S30단계를 진행한 후, 베이스판(20)의 하부에서 가열되는 온도를 저하시켜 유동성 수지(21)를 경화시킨다(S40). 유동성 수지(21)는 스탬프(10)의 요철구조물에 대응하는 형태를 갖는 수지층(22)이 된다. 이때, 수지층(22)이 완전하게 경화되어 패턴 형상에 변형이 발생하지 않도록 한다.
- <65> S40단계에서, 유동성 수지(21)를 경화시키는 방법으로 열을 이용하여 경화시키는 것을 예시하였으나, 본 발명에서 이를 한정하는 것은 아니며, 예컨대, 유동성 수지에 자외선(UV)을 조사하여 유동성 수지(21)를 경화시킬 수도 있다.
- <66> 열을 이용하여 유동성 수지(21)를 경화시킬 경우, S10 단계에서 스탬프(10)는 내열성 소재를 준비하고, S20 단계에서 베이스판(20) 상에 열 경화성 수지로 이루어진 유동성 수지(21)를 코팅한 기관을 준비하는 것이 바람직하다. 한편, 자외선을 이용하여 유동성 수지(21)를 경화시킬 경우, S10 단계에서 스탬프(10)는 석영, 유리 등의 자외선 투과 소재를 준비하고, S20 단계에서 베이스판(20) 상에 UV 경화성 수지를 코팅하는 것이 바람직하다.
- <67> 다음으로, 도 5c와 같이 수지층(22)로부터 스탬프(10)를 제거한다(S50).
- <68> S50단계 이후에 수지층(22)의 반사율을 높게 하고 표면이 변형되는 것을 방지하며 단백질의 고정을 용이하게 하기 위하여, 반사율이 높고, 내산성 및 내구성이 우수한 금(Au)을 수지층(22)의 표면에 코팅하는 단계(S60)를 더 포함하는 것이 바람직하다. 금(Au)대신 탄화규소(SiC), 산화규소(Silicon oxide) 또는 이산화규소(SiO₂)가 상기 수지층 표면에 코팅처리될 수 있다.
- <69> 상기 S30 내지 S60단계를 통해서, 스탬프(10)의 요철구조물(11)이 존재하던 부분은 수지층(22)에서 요철을 형성하게 되고, 요철구조물(11) 사이의 요철이 존재하던 부분은 수지층(22)에서 볼록한 구조물을 형성한다(도 6참조).
- <70> 상기 과정을 통해 일정한 간격으로 볼록한 형태의 구조물을 갖는 수지층(22)이 바이오 칩에 형성되고, 상기 구조물은 페브리- 패럿 간섭계 구조를 형성한다. 즉, 외부 광으로부터 조사되어 볼록한 형태의 구조물 사이로 입사되는 광 파장은 볼록한 형태의 구조물의 측벽에 반복적으로 반사된 후 외부로 방사된다. 따라서 볼록한 형태의 구조물 사이에 단백질 시료를 접합시킬 경우, 외부 광으로부터 조사된 광 파장과 외부로 방사되는 광 파장을

분석하여 단백질을 분석할 수 있게 된다.

- <71> 수지층(22)의 표면에 의하여 반사되는 빛의 각도를 일정하게 유지하기 위해서는 수지층(22)에 형성되는 상기 구조물의 측벽을 평평하게 유지해야한다. 이를 위해, S10 단계에서 스템프(10)의 요철구조물(11)의 측벽을 평평하게 형성하는 것이 바람직하다.
- <72> 또한, 바이오칩의 구조에서 전술한 바와 같이, 수지층(22)에 형성되는 상기 구조물은 분광분석기의 분석 가능한 파장 영역대(예컨대, 자외선 영역, 가시광선 영역, 또는 적외선 영역)에 대응하여 구조물의 치수가 결정된다. 수지층(22)에 상기 구조물을 형성시키기 위한 요철구조물(11)의 치수도 그에 대응하여 준비해야한다.
- <73> 도 7은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법의 순서도이고, 도 8은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법을 대략적으로 도시하는 도면이다. 이하, 도 7 및 도 8을 참조하여 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법을 설명한다.
- <74> 우선, 일 방향으로 균일하게 정렬된 패턴을 갖는 바이오 칩에 특정 대상물(target material)을 접합하기 위하여 접속부재(linker)를 구비한 바이오 칩을 준비한다(S100).
- <75> 다음으로, S100단계에서 준비한 바이오 칩에 광을 조사(illuminate)하여 바이오 칩의 패턴에 따른 패브리-패럿 간섭을 측정한다(S200).
- <76> 이때, 제1광섬유 및 제2광섬유를 구비하는 프로브를 이용하여 광을 조사하고, 반사되는 광을 측정한다. 구체적으로, 광을 바이오 칩에 직접적으로 조사하지 않고, 프로브에 구비되는 제1광섬유에 광을 조사하면, 광 전달 매체로 작용하는 제1광섬유가 상기 광으로부터 전달된 특정영역의 광 파장을 바이오 칩에 전달한다. 또한, 상기 바이오 칩으로부터 반사되는 광 파장도 상기 제2광섬유에 전달되며, 제2광섬유가 이를 광 측정장치로 전달한다.
- <77> 한편, 전체적인 파장의 이동을 관찰하기 위해서 상기 광은 단색광원(monochromatic light)이 아닌, 넓은 분광복사 스펙트럼을 가진 백색광원(white light)을 사용하는 것이 바람직하다.
- <78> 바람직하게, 제1광섬유 및 제2광섬유는 단일의 프로브에 구비될 수 있고, 프로브에는 복수의 제1광섬유 및 제2광섬유가 구비될 수도 있다.
- <79> S200단계가 완료되면, 상기 바이오 칩에 구비되는 접속부재에 특정 대상물을 접합한다(S300).
- <80> 바람직하게, 상기 특정 대상물은 단백질이며, 이를 바이오 칩에 접합하기 위한 접합부재는 항체가 될 수 있다.
- <81> 본 발명의 실시예에서 상기 특정대상물로서 단백질을 예시하고, 이를 바이오칩에 접합하기 위한 접합부재로서 항체를 예시하였으나, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다. 예컨대, 상기 특정대상물은 핵산 등과 같은 유기화합물이 될 수 있으며, 이때 상기 접합부재는 핵산 접속체 등의 유기화합물이 될 수 있다.
- <82> S300단계를 통해 상기 바이오 칩에 특정 대상물이 접합되면, 상기 S200단계에서 사용하였던 광 및 프로브를 사용하여 특정 대상물이 접합된 상기 바이오 칩에 광을 재조사(reilluminate)하고, 패브리-패럿 간섭에 의한 파장의 이동(shift)을 광측정장치를 통해 측정한다(S400).
- <83> 마지막으로, S200 및 S400 단계에서 측정된 데이터를 분석하여 상기 바이오 칩에 접합된 특정대상물을 분석한다(S500).
- <84> 비록 본 발명의 실시예에서, S200단계가 S100단계와 S300단계 사이에서 실시되는 것을 예시하였으나, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다. 즉, S500단계를 실시하기 이전에 순서에 상관없이 실시 가능하다.
- <85> 상기 S100 내지 S500단계를 통해서 분석된 데이터는 질병의 진단 및 biomarker 발굴, 단백질의 발현 및 기능연구, 단백질의 상호작용 연구, 신약개발 등 다양한 용도로 사용될 수 있다.
- <86> 이하에서는 본 발명의 바이오 칩을 이용하여 실제로 단백질을 부착하고 검출하여 그 감도를 확인하였다. 우선 금(Au)으로 코팅된 수지층 표면에 접속부재(linker)를 증착시켰다. linker로는 프로테오젠(주)의 제품인 Prolinker를 사용하였다. 그 후 CRP 에 대한 항체를 접합부재로서 linker에 결합시켰다. 상기 결합은 linker가 항체 단백질의 $-NH_3^+$ 를 인식함으로써 이루어진다. 항체가 결합된 이후에는 항체 이외의 다른 곳에 단백질이 nonspecific하게 접합되지 못하도록 blocking을 한다. 그리고 target 단백질인 항원 CRP 를 결합시켰다.
- <87> 광 측정장치로는 HR-4000(Ocean Optics) spectrometer를 사용하였고, 광원으로는 할로겐 램프를 사용하였다. 분석에 이용한 광 파장은 350-850nm 대역이었고, 칩 상의 구조물의 측벽은 측벽 사이의 거리(W)가 40-60nm이고,

측벽 저면에서 단부까지의 거리(H)가 1.5um였다.

- <88> 도 9 내지 도 11은 항원 단백질인 CRP의 농도를 100ng/ml(도 9), 10ng/ml(도 10), 1ng/ml(도 11)로 변화시키면서 단백질 검출의 감도를 측정된 결과를 나타내는 스펙트럼이다. 각각의 스펙트럼은 항원이 결합하기 전의 항체 스펙트럼(점선 스펙트럼)에 대비하여 항원이 결합한 후의 스펙트럼(실선 스펙트럼)이 왼쪽으로 이동(shift)되었음(Δ)을 보여준다. 이것은 간섭에 의한 효과로서, 단백질 검출이 1ng/ml까지 가능할 정도로 감도가 우수하다는 것을 나타낸다.
- <89> 이상에서 본 발명은 비록 한정된 실시예와 도면에 의해 설명되었으나, 본 발명은 이것에 의해 한정되지 않으며 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 본 발명의 기술사상과 아래에 기재될 특허청구범위의 균등범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능함은 물론이다.

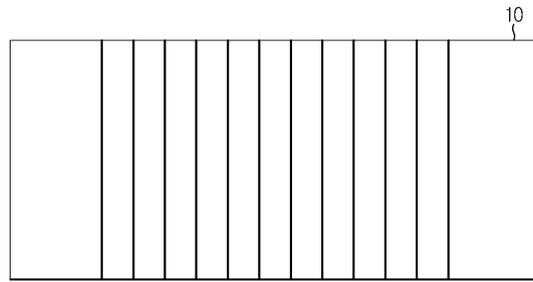
발명의 효과

- <90> 본 발명의 바이오 칩, 이를 제조하는 방법, 및 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법에 따르면, 다음과 같은 효과가 있다.
- <91> 첫째, 광 간섭계 구조로 형성되는 바이오 칩을 이용하여 적은 양의 시료를 다중으로 빠르게 분석할 수 있다.
- <92> 둘째, 개선된 바이오 칩의 구조를 통해 기존의 방법보다 상대적으로 높은 감지 감도를 실현할 수 있다.
- <93> 셋째, 일정한 패턴의 바이오 칩을 제조하는 방법을 통해 바이오 칩을 대량으로 생산할 수 있다.
- <94> 넷째, 광 간섭을 이용할 수 있는 최적의 구조로 설계된 바이오 칩에 접합된 단백질을 효과적으로 분석할 수 있다.

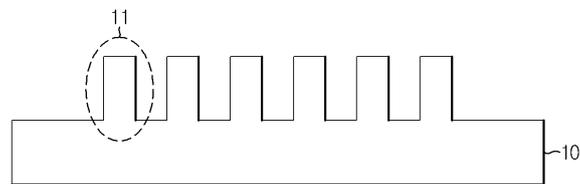
도면의 간단한 설명

- <1> 본 명세서에 첨부되는 다음의 도면들은 본 발명의 바람직한 실시예를 예시하는 것이며, 후술하는 발명의 상세한 설명과 함께 본 발명의 기술사상을 더욱 이해시키는 역할을 하는 것이다. 그러므로 본 발명은 그러한 도면에 기재된 사항에만 한정되어 해석되어서는 아니된다.
- <2> 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 사시도이다.
- <3> 도 2는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법의 순서도이다.
- <4> 도 3은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법에 의해 준비된 스탬프의 평면도이다.
- <5> 도 4는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법에 의해 준비된 스탬프의 측 단면도이다.
- <6> 도 5a 내지 도 5c는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법을 순서대로 도시한 수순 단면도이다.
- <7> 도 6은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩의 제조방법에 의해 제조된 바이오 칩의 측 단면도이다.
- <8> 도 7은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법의 순서도이다.
- <9> 도 8은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법을 대략적으로 도시하는 도면이다.
- <10> 도 9은 본 발명의 실시예에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법에서 단백질 검출의 감도를 측정하기 위하여 항원 단백질인 CRP의 농도가 100ng/ml 일 때 파장의 변화를 광측정장치를 통해 측정된 스펙트럼이다.
- <11> 도 10은 본 발명의 실시예에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법에서 단백질 검출의 감도를 측정하기 위하여 항원 단백질인 CRP의 농도가 10ng/ml 일 때 파장의 변화를 광측정장치를 통해 측정된 스펙트럼이다.
- <12> 도 11은 본 발명의 실시예에 따른 바이오 칩에 구비되는 대상물을 검출하는 방법에서 단백질 검출의 감도를 측정하기 위하여 항원 단백질인 CRP의 농도가 1ng/ml 일 때 파장의 변화를 광측정장치를 통해 측정된 스펙트럼이다.
- <13> <도면의 주요 참조부호에 대한 설명>

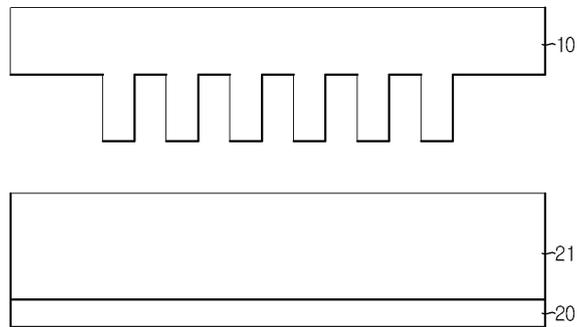
도면3



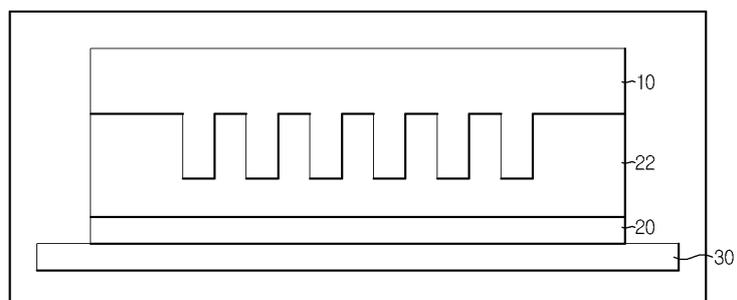
도면4



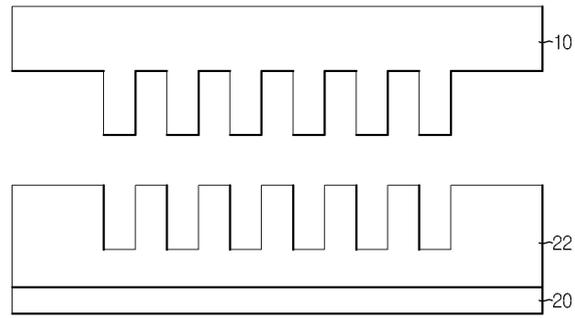
도면5a



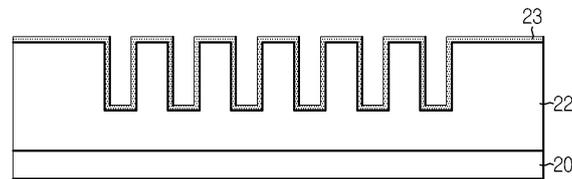
도면5b



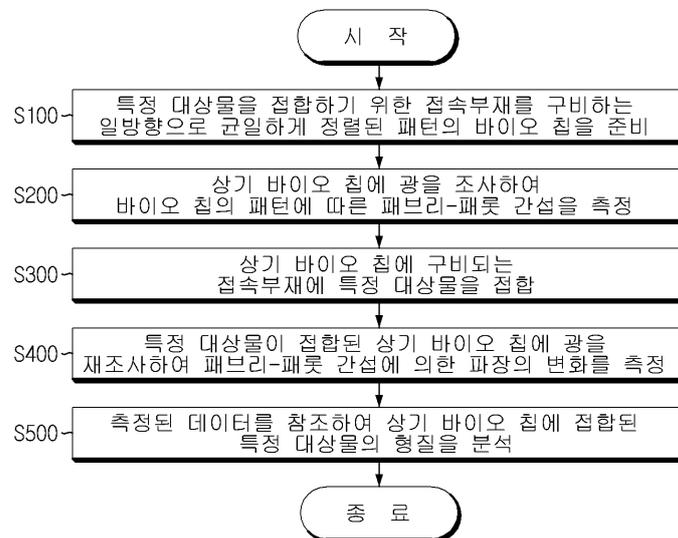
도면5c



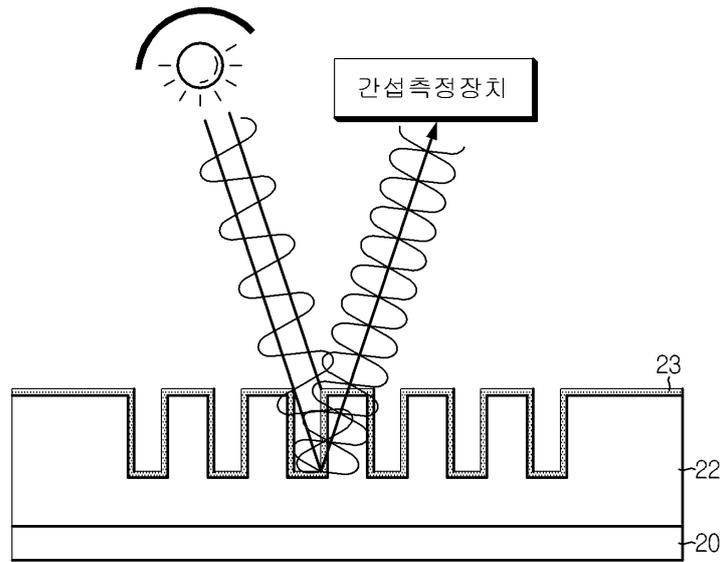
도면6



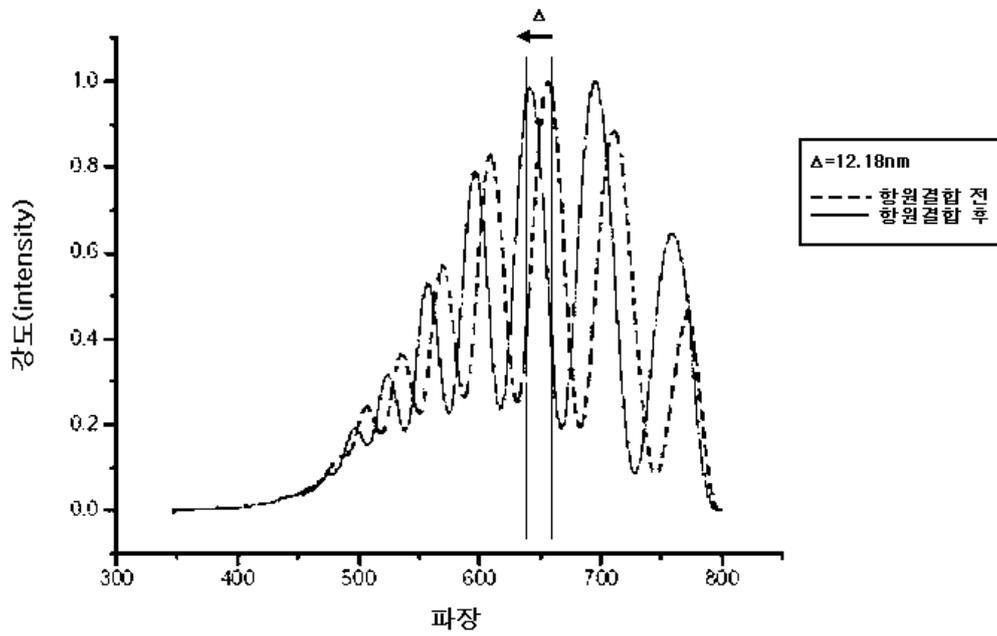
도면7



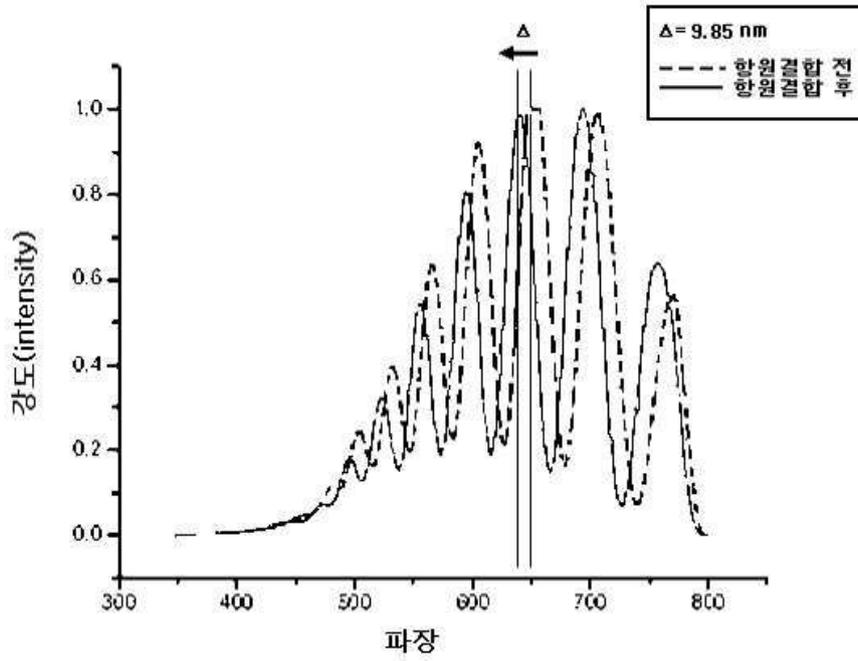
도면8



도면9



도면10



도면11

