(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0143002
(43) 공개일자 2015년12월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 1/40 (2006.01) *B81B 1/00* (2006.01)
B81C 1/00 (2006.01) *G01N 1/10* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0071862
(22) 출원일자 2014년06월13일
심사청구일자 2014년06월13일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
천홍구
서울특별시 송파구 올림픽로 435 (신천동, 파크리오아파트 214-502)
(74) 대리인
특허법인남촌

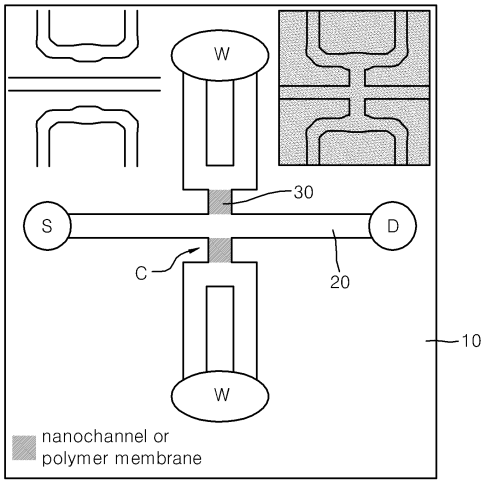
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **양이온 선택적 농축시스템**

(57) 요 약

양이온 선택성 농축시스템을 구현한다. 본 발명에 따른 양이온 선택적 농축시스템은 유체가 지나가는 채널을 양전하로 표면 처리한 마이크로 칩 형태의 양이온 선택적 농축시스템이다. 본 발명에 따르면 양전하 선택적 농축이 가능해져, 생화학 분석에 있어, pH를 조절함으로써 시료의 전하를 음에서 양으로 바꾸며 원하는 시료만 농축할 수 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 NRF-2012-0009556
부처명 미래부
연구관리전문기관 연구재단
연구사업명 미래유망융합기술파이오니어사업
연구과제명 극소볼륨 DNA 리액터(reactor) 개발
기 여 율 40/100
주관기관 고려대학교산학협력단
연구기간 2012.09.01 ~ 2018.02.28이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 NRF-2013M3A6A4046061
부처명 미래부
연구관리전문기관 연구재단
연구사업명 글로벌프론티어연구개발사업
연구과제명 미세유체기술을 이용한 타겟 정량화 및 약물효능 검증 시스템 개발
기 여 율 30/100
주관기관 고려대학교산학협력단
연구기간 2010.10.22 ~ 2019.08.21이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 NRF-2011-0031866
부처명 미래부
연구관리전문기관 연구재단
연구사업명 글로벌프론티어연구개발사업
연구과제명 바이오헬스 분석 시스템
기 여 율 30/100
주관기관 고려대학교산학협력단
연구기간 2011.09.29 ~ 2020.08.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

유체가 지나가는 채널을 양전하로 표면 처리한 마이크로 칩 형태의 양이온 선택적 농축시스템.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 양전하 표면처리를 제공하기 위하여 N-[3-(Trimethoxysilyl)propyl]-N′-(4-vinylbenzyl)ethylenediamine hydrochloride(TMSVE) 또는 polyE-323 코팅을 실시한 것을 특징으로 하는 양이온 선택적 농축시스템.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 채널 상에 이온 선택 필터로서 음이온만 통과하는 음이온-선택투과적(permselective) 나노채널 또는 나노기공성(nanoporous) 양전하 폴리머 멤브레인을 포함하는 것을 특징으로 하는 양이온 선택적 농축시스템.

청구항 4

샘플, 드레인 및 웨이스트 저장소를 포함하는 유체 저장소;

상기 유체 저장소 사이를 연결하고 양전하로 표면 처리된 마이크로채널; 및

상기 마이크로채널 교차지점에 형성되고 음이온만 통과하는 음이온-선택투과적 나노채널 또는 나노기공성 양전하 폴리머 멤브레인을 포함하는 양이온 선택적 농축시스템.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 마이크로채널의 양전하 표면처리를 제공하기 위하여 TMSVE 또는 polyE-323 코팅을 실시한 것을 특징으로 하는 양이온 선택적 농축시스템.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 음이온-선택투과적 나노채널을 제공하기 위하여 TMSVE 또는 polyE-323 코팅을 실시한 것을 특징으로 하는 양이온 선택적 농축시스템.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 나노기공성 양전하 폴리머 멤브레인을 제공하기 위하여 poly(diallyldimethylammonium chloride)(PDADMAC)를 광중합시킨 것을 특징으로 하는 양이온 선택적 농축시스템.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 양이온 선택적 농축에 관한 것이며, 보다 상세하게는 미세유체 시스템 내부에 표면 처리 및 폴리머 형성을 통하여 전기적으로 시료를 한 곳에 농축시키고 담수화된 물을 반대쪽으로 배출시키는 장치에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 검출 감도를 향상시키기 위해 시료를 농축하는 기술이 시료의 물리, 화학적 특징에 따라 다양하게 제안되어 있다. 그 중 전하선택적 농축(electropreconcentration)은 랩-온-어-칩(lab-on-a-chip) 구현에 바로 적용할 수 있고 간단하며 버퍼 공간이 필요 없을 뿐 아니라 모세관 전기영동(capillary electrophoresis, CE)과 같은 후속

작업과 양립성이 좋다는 장점을 가진다.

[0003] 전하선택적 농축은 두 개의 마이크로채널을 가로지르는 나노채널(또는 나노기공 멤브레인)에 전기장을 가해 나노채널 안에 전기적 이중층이 오버랩되는 조건에 이를 때 달성된다. 이 조건 하에서는 마이크로/나노채널 계면에서 농축된 분극 영역이 형성되어 코이온(co-ion) 수송이 억제된다. 결과적으로, 나노채널은 카운터이온(counter-ion)에 대해 선택투과적(permselective)이 되어, 나노채널과 같은 종류의 전하를 농축시킨다.

[0004] 기존의 전하선택적 농축은 음이온 나노채널이나 폴리머에 기초하므로 음이온 샘플에만 한정되었다. 이는 미세유체 채널로 주로 사용되는 재질인 유리 또는 PDMS의 표면이 음전하를 가지기 때문이다.

[0005] 그러나 분석 방법에 있어서는 양이온 샘플이 요구되는 경우도 많아 양이온 선택적 농축시스템에 대한 요구가 있다. 예를 들어, 역위상 LC(liquid chromatography) 또는 CE(capillary electrophoresis와 결합된 ESI-MS(electrospray ionization mass spectrometry)는 샘플 펩타이드/단백질의 pI보다 낮은 pH의 산성 버퍼를 사용하므로 샘플이 양이온이다. 양이온-선택적 농축은 양이온성 분석 대상의 검출 감도를 증대시키므로 정수 후의 독성 양이온 응고제(coagulants)를 모니터링하는 데에 이용될 수도 있다. 뿐만 아니라, 음이온-선택적 농축과 양이온-선택적 농축을 조합하면 버퍼의 pH를 이용해 특정 pI 범위의 샘플을 선택하여 샘플 전하 극성을 제어할 수 있다.

[0006] 이전의 연구들은 양이온-선택적 농축에 표면 코팅이 요구될 것을 예측하였다. 최근 바이폴라 전극 집중 기술을 이용해 양이온-선택적 농축 실험을 한 예가 보고되었지만 농축율과 속도에 한계가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 양이온 선택적 농축 시스템을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명에 따른 양이온 선택적 농축시스템은 유체가 지나가는 채널을 양전하로 표면처리한 마이크로 칩 형태의 양이온 선택적 농축시스템이다.

[0009] 상기 양이온 선택적 농축시스템에 있어서, 상기 양전하 표면처리를 제공하기 위하여 N-[3-(Trimethoxysilyl)propyl]-N′-(4-vinylbenzyl)ethylenediamine hydrochloride(TMSVE) 또는 polyE-323 코팅을 실시할 수 있다. 그리고, 상기 채널 상에 이온 선택 필터로서 음이온만 통과하는 음이온-선택투과적(permselective) 나노채널 또는 나노기공성(nanoporous) 양전하 폴리머 멤브레인을 포함할 수 있다.

[0010] 본 발명의 일 실시예에 따른 양이온 선택적 농축시스템은, 샘플, 드레인 및 웨이스트 저장소를 포함하는 유체 저장소, 상기 유체 저장소 사이를 연결하고 양전하로 표면 처리된 마이크로채널, 및 상기 마이크로채널 교차지점에 형성되고 음이온만 통과하는 음이온-선택투과적 나노채널 또는 나노기공성 양전하 폴리머 멤브레인을 포함한다.

[0011] 이와 같은 양이온 선택적 농축시스템은 상기 마이크로채널의 양전하 표면처리를 제공하기 위하여 TMSVE 또는 polyE-323 코팅을 실시한 것일 수 있다. 그리고, 상기 음이온-선택투과적 나노채널을 제공하기 위하여 TMSVE 또는 polyE-323 코팅을 실시한 것일 수 있다. 다시 말해, TMSVE 또는 polyE-323 코팅을 실시하여 상기 마이크로채널의 양전하 표면처리와 상기 음이온-선택투과적 나노채널을 동시에 제공할 수 있다. 상기 나노기공성 양전하 폴리머 멤브레인을 제공하기 위하여 poly(diallyldimethylammonium chloride)(PDADMAC)를 광중합시킬 수도 있다.

발명의 효과

[0012] 양이온-선택적 농축은 산성 버퍼 안에서의 생물학적 샘플 분석에 필수적이다. 본 발명에서는 유체가 지나가는 채널의 표면을 양전하로 바꾸고, 이온 선택 필터도 음이온만 통과하는 양이온을 갖는 나노채널 또는 나노기공성 폴리머로 구현하여, 양전하 선택적 농축이 가능하게 한다. 본 발명에 따르면 양전하 선택적 농축이 가능해져, 생화학 분석에 있어, pH를 조절함으로써 시료의 전하를 음에서 양으로 바꾸며 원하는 시료만 농축할 수 있다. 본 발명에 따르면, 미세유체 소자 상의 양이온성 펩타이드/단백질 농축에 이용되어 후속 분석에 이용될 수 있다.

[0013] 본 발명에서는 양이온을 선택적으로 농축시키기 위해 마이크로채널을 양이온으로 표면 처리하는 방법을 제안한다. 마이크로채널을 양이온으로 표면 처리하는 방법은, 양이온이 코팅된 나노채널을 형성하거나 양전하를 갖는 나노기공성 폴리머를 형성하여 수행될 수 있다. 이 방법은 음이온만 통과하게 함으로써 양이온이 한쪽에 농축되도록 하므로, 이 방법을 이용하면 한쪽에는 양이온을 농축시킬 수 있고, 반대쪽으로 담수가 배출되게 할 수 있다. 따라서, 이를 이용한 담수화 시스템 또는 인공신장투석 기술 구현이 가능하다.

[0014] 또한, 본 발명의 양이온-선택적 농축을 음이온-선택적 농축과 조합하면 버퍼의 pH를 변화시켜 특정 pI 범위를 가지는 샘플을 선택적으로 농축시키는 데에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 본 발명에 따른 양이온 선택적 농축시스템의 개략도이다.

도 2는 본 발명에 따른 양이온 선택적 농축시스템의 사시도이다.

도 3은 polyE-323 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 양이온 선택 농축시스템의 사진이다.

도 4는 TMSVE 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템에서 양이온-선택적 로다민 6G 농축 과정을 보여주는 그래프이다.

도 5는 로다민 6G(10 μM)의 양이온-선택적 샘플 농축 과정을 보이는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하, 첨부 도면들을 참조하면서 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나 본 발명의 실시예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 실시예로 한정되는 것으로 해석되어져서는 안 된다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위하여 제공되는 것이다. 따라서, 도면에서의 요소의 형상 등은 보다 명확한 설명을 강조하기 위해서 과장되어진 것이다.

[0017] 본 발명에서는 채널의 표면을 양전하로 바꾸고, 이온 선택 필터도 음이온만 통과하는 양이온을 갖는 나노채널 또는 나노기공성(nanoporous) 폴리머로 구현하여, 양전하 선택적 농축이 가능하게 한다.

[0018] 도 1은 본 발명에 따른 양이온 선택적 농축시스템 마이크로 칩의 개략도이고, 도 2는 사시도이다.

[0019] 도 1과 도 2의 (a)에 도시한 마이크로 칩(10)은 샘플 저장소(reservoir)(S), 드레인 저장소(D) 및 웨이스트 저장소(W)와 연결되는 마이크로채널(20)을 포함한다. 상단과 하단의 U-형상 채널은 웨이스트 채널이다. 마이크로칩(10)은 양이온-선택성 미세유체 샘플 농축 시스템이다. 양이온 샘플은 전기적 이중층 중첩 조건이 존재하는 음이온-선택투과적 필터와 역방향 전기삼투 흐름(EOF)을 이용해 전기농축되도록 한다. 음이온-선택투과적 필터 구현을 위하여, 마이크로채널 교차지점(C) 안에는 음이온-선택투과적 나노채널 또는 양전하 폴리머 멤브레인(30)을 형성한다. 도 1 안의 좌측 삽입그림은 나노채널의 실제 이미지이고, 우측 삽입그림은 폴리머 멤브레인의 실제 이미지이다. 음이온-선택투과적 나노채널 또는 양전하 폴리머 멤브레인(30)은 투명해서 경계만 관찰 가능하다.

[0020] 음이온-선택투과적 나노채널 또는 양전하 폴리머 멤브레인(30) 부분의 확대 그림을 도 2의 (b)에 나타내었다. 붉은 화살표로 표시한 것처럼 효율적인 음이온 선택적 추출이 가능해 양이온 농축이 일어난다.

[0021] 본 발명에서는 도 1에서와 같이 마이크로 칩(10) 상에서 고수율 양이온-선택적 전기농축 시스템을 제시한다. 음이온-선택투과적 나노채널은 양전하 표면 코팅을 하여 형성할 수 있는데, 양전하 표면 코팅에는 N-[3-(Trimethoxysilyl)propyl]-N′ -(4-vinylbenzyl)ethylenediamine hydrochloride(TMSVE) 또는 polyE-323을 사용할 수 있다. 다른 예로, 양전하 폴리머 poly(diallyldimethylammonium chloride)(PDADMAC)는 마이크로 채널(20) 안에서 광중합되어 음이온-선택투과적 폴리머 멤브레인을 형성하도록 할 수 있다.

[0022] 이와 같이 마이크로채널(20) 사이의 음이온-선택투과적 필터는 세 가지 다른 방법으로 제조할 수 있으며, 본 발명에서는 세 가지 시스템 실시예(TMSVE 코팅된 나노채널을 포함하는 마이크로 칩, polyE-323 코팅된 나노채널을 포함하는 마이크로 칩, 및 PDADMAC 멤브레인을 포함하는 마이크로 칩)를 수행하여, 농축 과정의 중요 특성, 예컨대 버퍼 농도와 pH 의존성, 효율, 허용 유속(tolerable flow rate), 및 샘플 흡착 등을 비교하였다.

[0023] 제1 실시예는 나노채널을 식각한 후 양전하 프리폼 폴리머(pre-formed polymer) polyE-323으로 코팅하는 방법이

고, 제2 실시예는 나노채널을 식각한 후 양전하 모노머 TMSVE로 코팅하는 방법이며, 제3 실시예는 PDADMAC의 광중합을 이용해 양전하 나노기공성 폴리머 멤브레인을 신장시키는 방법이다. 실험 결과, 마이크로채널(20) 안의 EOF 방향은 TMSVE 및 polyE-323 코팅에 의해 반전되었다. 이하에서는 실험예를 상세히 설명하기로 한다.

[0024] 마이크로 칩(10)을 제조하는 베이스 기판으로서는 4 x 4 제곱인치 크기에 0.9 mm 두께를 가지는 크롬/포토레지스트 코팅 B270 유리 슬라이드(Telic, Valencia, CA, USA)를 사용하였다. 마스크리스 SF-100 노광장치(Intelligent Patterning, St. Petersburg, FL,USA)를 이용해 원하는 모양의 패턴을 노광하였다. 패터닝된 기판은 MF-319(MicroChem Corp., Newton, MA, USA)를 사용하여 현상한 후, 크롬 식각액(Transene, Danvers, MA,USA)을 사용해 크롬을 식각하였다. 그런 다음, 10 : 1 버퍼 산화막 식각액(Transene)을 사용해 마이크로채널(20)을 기판 안에 식각하였다. 각 마이크로채널(20)은 최고 높이에서 50 μm 너비, 12 μm 깊이, 나노채널 또는 폴리머 멤브레인(30)으로부터 각 유체 저장소(S, D, W)까지 8 mm 길이로 형성하였다.

[0025] 그런 다음 기판을 Basic Dicer II (Dicing Technology, San Jose, CA, USA) 위에서 1 × 1 제곱인치 크기의 마이크로 칩으로 다이싱하였다. 잔류하는 크롬/포토레지스트를 제거한 후 기판 상에 HMDS(hexamethyldisilazane; Acros Organics)와 포토레지스트 S1813(MicroChem Corp.)을 각각 4000 rpm 속도에서 30 초씩 연속적으로 스핀 코팅하였다. 그리고 나서 95 ° C 컨벡션 오븐에서 2분간 베이킹하였다.

[0026] 나노채널 패턴을 형성하기 위하여 기판 정렬 후, J200 UV Exposure System (OAI, Milpitas, CA, USA)를 사용해 UV 파장(365 nm)으로 4.8 mW cm^{-2}에서 100 초간 노광을 실시하였다. 나노채널 패턴은 MF-319를 사용해 현상한 후 10 : 1 버퍼 산화막 식각액(Transene)을 사용해 3초간 식각해 40 nm 깊이의 나노채널을 형성하였다.

[0027] MB-1000-1 파우더 블라스터(Comco Inc., Burbank, CA, USA) 위에 직경 1mm의 액세스 홀(access holes)을 형성하였다. 채널이 형성된 기판은 1 x 1 제곱인치 크기에 0.9 mm 두께를 가지는 B270 블랭크 유리 기판에 본딩하였다.

[0028] 직경 6mm의 클로닝 실린더(cloning cylinders, Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, USA)를 액세스 홀 상부에 위치시킨 후 UV 광경화성 접착제(NOA 63, Norland, Cranbury, NJ, USA)를 사용해 접합함으로써 각 유체 저장소(S, D, W)를 제공하였다.

[0029] 제1 실시예

[0030] PolyE-323을 합성한 후 다음과 같은 방법에 따라 코팅하였다.

[0031] 1,2-Bis(3-aminopropylamino)ethane (17.65 g)을 탈이온수(20 mL)에 녹여 에피클로하이드린(epichlorohydrin) 9.3 g과 혼합하였다. 이 혼합물을 밀봉한 후 상온에서 교반하였다. 48 시간 후, 탈이온수 100 mL를 첨가하였다.

[0032] 마이크로 채널 및 나노채널은 pH 7.0으로 조정된 polyE-323 용액(15%)을 1 M 아세트산에 1시간 동안 플러싱하여 코팅하였다. 여분의 폴리머는 50 mM 암모늄 아세테이트로 5분간 플러싱하여 제거하였다.

[0033] 제2 실시예

[0034] TMSVE 코팅을 위해 마이크로 채널 및 나노채널이 형성된 마이크로 칩을 TMSVE : 아세트산 : 탈이온수 = 2 : 3 : 5 용액에 하룻밤 방치하여 이소프로판올로 세척하였다.

[0035] 제3 실시예

[0036] TMSVE 코팅으로 마이크로 채널을 형성하고 PDADMAC 멤브레인도 제조하였다. 원하는 패턴 마스크 위에 UV를 조사하여 광개시제로서 2-hydroxy-4′-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiophenone(2%), 가교제로서 N,N′-methylenebisacrylamide (2%) 존재 하는 DADMAC 수용액(65%)을 중합시켜 PDADMAC 멤브레인을 형성하였다.

[0037] 샘플 농축 과정의 진행은 10배 대물렌즈, 고압 수은 램프, 및 NTE/CCD-512-EBFT CCD 16-비트 해상도 카메라(Roper Scientific, Trenton, NJ, USA)가 구비된 TE300 현미경(Nikon, Tokyo, Japan)을 이용해 모니터링하였다. 형광 이미지 데이터는 Matlab(The MathWorks, Natick, MA, USA) 코드를 이용해 분석하였다. 고전압은 각각의 릴레이와 전류 싱크 저항(10 MΩ)에 연결된 8-채널, 고압 파워 서플라이(E10128, EMCO, Sutter Creek, CA, USA)로부터 칩 저장소로 공급하였다.

[0038] 농축이 양이온-선택적인지를 확인하기 위하여, 제1 실시예, polyE-323 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템을 이용해 0.005% 포름산 안의 10 μM 플루오레세인(Fluorescein, 음이온성) 및 로다민 6G(Rhodamine 6G, 양이온성) 혼합물과 pH 3.4인 5% 이소프로필알콜(IPA) 버퍼를 농축하였다. 유리 채널 표면 상

에 코팅된 polyE-323의 표면 양전하는 EOF의 방향을 음이온측으로 반전시킨다. S, W, 및 D 저장소에 인가된 전위는 각각 0, 250, 및 60 V이었다.

[0039] 도 3은 polyE-323 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 양이온 선택 농축시스템의 사진이다. (a)는 음이온-선택투과적 나노채널을 지나 웨이스트 채널로 향하는 플루오레세인 리크(leak)를 녹색으로 나타낸다. (b)는 나노채널 앞에 농축되어 있는 로다민 6G를 적색으로 나타낸다.

[0040] 도 3의 (a)를 참조하면, S 저장소로부터 음이온성 플루오레세인이 농축되지 않고 웨이스트 채널(상단과 하단의 U-형상 채널)까지 음이온-선택투과적 나노채널을 연속적으로 통과하는 것을 확인할 수 있다. 음이온-선택투과적 나노채널을 지나 음이온이 추출되는 동안, 전하 중성을 유지하기 위하여 나노채널 사이에 이온 공핍 영역이 형성된다. 이러한 농축 분극에 의해 도 3의 (b)에서 보는 것처럼 양이온성 로다민 6G가 이온 공핍 영역 앞에 농축이 되는 것이다.

[0041] 제2 실시예, TMSVE 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템에서의 양이온-선택적 농축 과정을 조사하기 위하여 0.005% 포름산 안의 로다민 6G 농도를 100 nM, 1 μM, 및 10 μM로 변화시켜 가며 pH 3.4인 5% IPA 버퍼와 혼합해 조사하였다. S, W, 및 D 저장소에 인가된 전위는 각각 0, 250, 및 60 V이었다.

[0042] 도 4는 TMSVE 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템에서 양이온-선택적 로다민 6G 농축 과정을 보여주는 그래프인데, (a)는 형광 세기(μM)를 나타내고, (b)는 농축 플러그 안의 분자 수(fmole)를 나타낸다.

[0043] 먼저 도 4의 (a)를 참조하면, 로다민 6G 용액의 형광 세기를 비교함으로써 농축 정도를 평가할 수 있다. 각 샘플 농축 실험에서 초기에는 형광 세기가 증가하지만 포화된다. 그러나, 도 S의 (b)에서와 같이 총 샘플 분자에 비례하여 선형 농축 속도를 유지하므로 농축된 샘플의 플러그 길이는 계속 증가한다.

[0044] 부가적으로 polyE-323 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 양이온 선택 농축시스템에서 TRITC 태그 알부민을 가지고 실시한 농축 실험은 안정적인 과정을 보여주었다.

[0045] 제1 내지 제 3 실시예에 따른 세 가지 시스템에 있어서, 농축 과정의 중요 특성, 예컨대 버퍼 농도와 pH 의존성, 효율, 허용 유속 및 샘플 흡착 등을 비교하였다.

[0046] 도 5는 로다민 6G(10 μM)의 양이온-선택적 샘플 농축 과정을 보이는 그래프로서, (a)와 (b)는 0.005% 포름산 + pH 3.4의 5% IPA 버퍼를 사용한 경우이고, (c)와 (d)는 0.005% 포름산 + pH 7.4의 1 mM 포스페이트 버퍼를 사용한 경우이다. PDADMAC 멤브레인을 포함하는 시스템(제3 실시예)에서 S, W, 및 D 저장소에 인가된 전위는 각각 0, 250, 및 100 V이고, TMSVE 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템(제2 실시예), 그리고 polyE-323 코팅된 마이크로채널 및 나노채널 시스템(제1 실시예)에서 S, W, 및 D 저장소에 인가된 전위는 각각 0, 250, 및 60 V이었다.

[0047] pH 3.4에서는 세 가지 시스템 모두 안정적인 양이온-선택적 농축을 보인다. 도 5의 (a)를 참조하면 제2 실시예에 비하여 제1 실시예에서 농축된 플러그의 최대 농도가 더 높게 나타나지만, 제2 실시예에서 플러그 크기가 더 빠르게 증가하여 도 5의 (b)에서 보는 바와 같이 샘플 농축 속도는 비슷해진다. 도 5의 (c)를 참조하면 pH 7.4에서의 농축 플러그 최대 농도는 T제2 실시예와 제1 실시예가 pH 3.4에서 보이는 수치와 견줄 만하다. 그런데 도 5의 (d)를 참조하면 샘플 농축 속도는 감소하는데 이것은 약알칼리성인 포스페이트 버퍼 안에서 polyE-323과 TMSVE의 표면 전하 밀도, 이에 따른 EOF 속도가 감소했기 때문이다.

[0048] 제3 실시예에 의한 농축은 낮은 (~1 mM) 버퍼 이온 강도에서의 최대 농도 레벨과 수집 속도 관점에서 덜 효율적이었다. 그러나, 제3 실시예에서의 농축은 버퍼 이온 강도가 10mM으로 증가하여도 안정적으로 유지되었다. PDADMAC 멤브레인의 기공 크기가 나노채널 깊이(40 nm)보다 작아 높은 버퍼 이온 강도에서도 EDL 중첩 조건을 유지함에 기인한다. 반면에 제1 및 제2 실시예에서는 이 조건하에서 농축이 일어나지 않았다.

[0049] 허용 가능한 전기장, 그에 따른 유속은 제3 실시예에 비하여 제1 및 제2 실시예가 더 높다. 제1 및 제2 실시예에서의 농축은 S 및 W 저장소에 인가되는 전위차가 4KV 정도로 높아도 안정적임에 반해, 제3 실시예에서는 전위차가 500 V만 되어도 깨진다.

[0050] 생물학적 샘플의 양이온-선택적 농축이 이루어지는 동안, 샘플이 유리 표면에 흡착됨에 따라 표면 전하 변경, 유동 불안정성, 및 잠재적으로 대체 불가능한 샘플의 손실을 야기할 수 있다. 제2 실시예에 비하여 제1 실시예에서 펩타이드 흡착이 덜 일어났다.

[0051] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명은 음이온-선택투과적 TMSVE 또는 polyE-323 코팅된 나노채널 또는 양전하 코팅

된 마이크로 채널 사이에 배치된 양전하 나노기공성 폴리머(PDADMAC)를 이용한 양이온-선택적 전하선택적 농축을 개시한다. TMSVE 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템과 polyE-323 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템은 낮은 (~1 mM) 이온 세기에서 양호한 농축을 보이고, PDADMAC 멤브레인을 포함하는 시스템은 높은 (~10 mM) 이온 세기에서 양호한 농축을 보인다. 허용 가능한 전기장과 유속은 PDADMAC 멤브레인을 포함하는 시스템에 비하여 TMSVE 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템과 polyE-323 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템이 높다. polyE-323 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템은 TMSVE 코팅된 마이크로채널 및 나노채널을 포함하는 시스템에 비하여 약한 샘플 흡착을 가지고, 다양한 pH에서 더 나은 성능을 보인다.

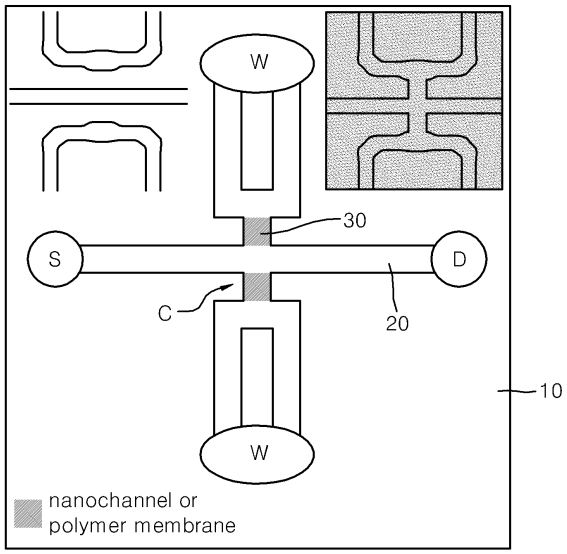
[0052] 다시 말해, TMSVE 및 polyE-323 코팅된 나노채널을 포함하는 시스템은 높은 유속으로 이온 농축이 잘 수행되고, PDADMAC 멤브레인을 포함하는 시스템은 높은 버퍼 농도에서 음이온-선택투과성을 유지하였다. TMSVE 코팅된 나노채널을 포함하는 시스템은 보다 안정적인 농축 과정을 보이고, polyE-323 코팅된 나노채널을 포함하는 시스템은 낮은 펩타이드 샘플 흡착과 넓은 버퍼 pH 영역 하에서 양호한 효율성을 보였다.

[0053] 양이온-선택적 농축은 산성 버퍼 안에서의 생물학적 샘플 분석에 필수적이다. 버퍼의 pH를 변화시켜 특정 pI 범위를 가지는 샘플을 선택적으로 농축시키는 데에 양이온-선택적 농축 및 음이온-선택적 농축을 직렬로 연결하는 데까지 본 발명을 확장시킬 수 있다.

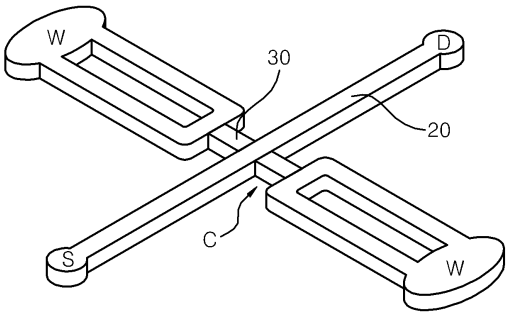
[0054] 이상, 본 발명을 바람직한 실시예를 들어 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 상기 실시예에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 많은 변형이 가능함은 명백하다. 본 발명의 실시예들은 예시적이고 비한정적으로 모든 관점에서 고려되었으며, 이는 그 안에 상세한 설명 보다는 첨부된 청구범위와, 그 청구범위의 균등 범위와 수단내의 모든 변형예에 의해 나타난 본 발명의 범주를 포함시키려는 것이다.

도면

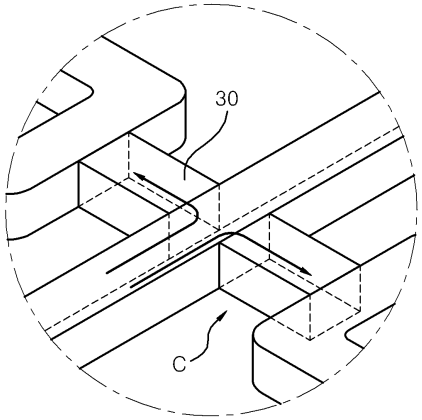
도면1



도면2

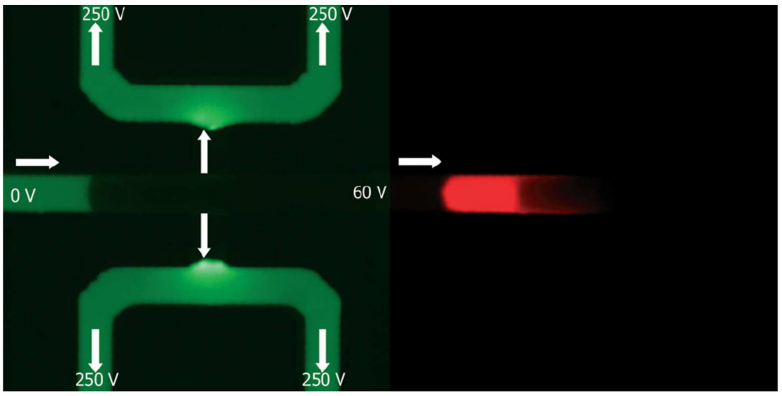


(a)



(b)

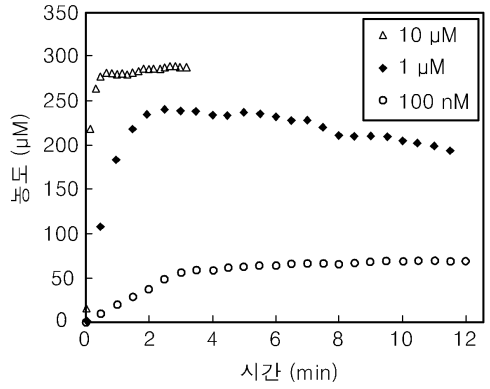
도면3



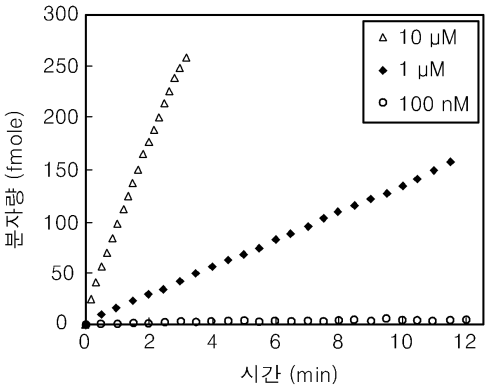
(a) (b)

도면4

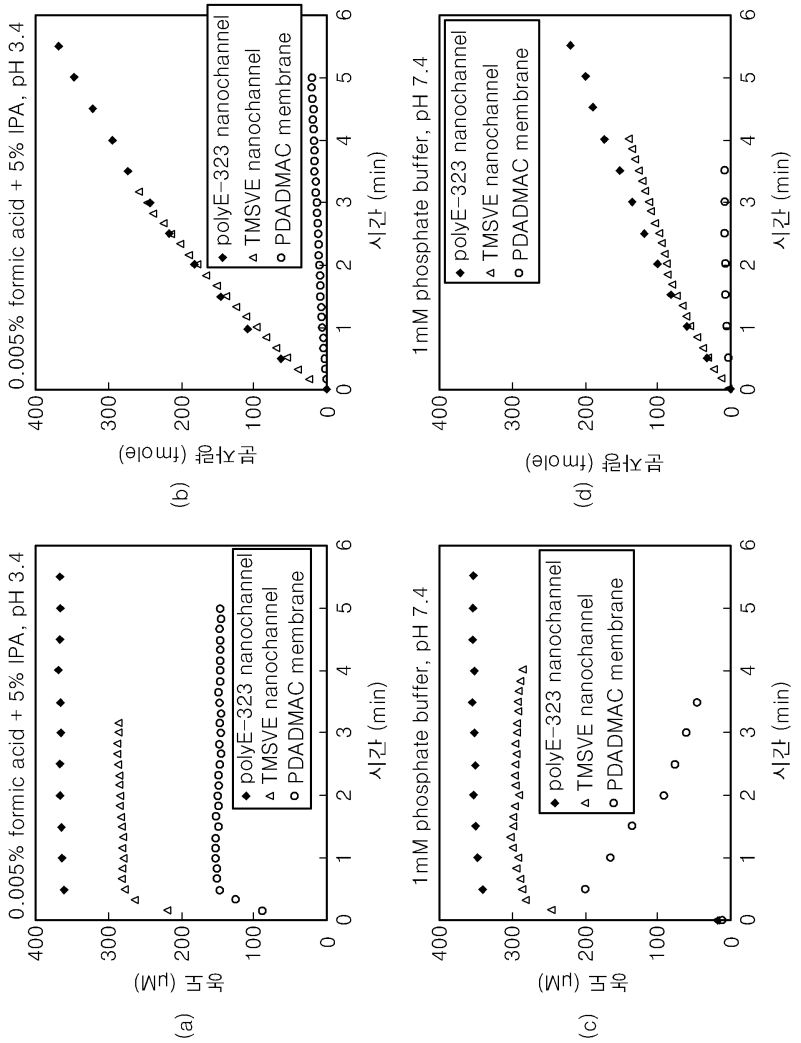
(a)


350
300
250
200
150
100
50
0
농도 (μM)
0
2
4
6
8
10
12
시간 (min)
10 μM
1 μM
100 nM

(b)


300
250
200
150
100
50
0
분자량 (fmole)
0
2
4
6
8
10
12
시간 (min)
10 μM
1 μM
100 nM

도면5


0.005% formic acid + 5% IPA, pH 3.4
1mM phosphate buffer, pH 7.4
polyE-323 nanochannel
TMSVE nanochannel
PDADMAC membrane
농도 (μM)
분자량 (fmole)
시간 (min)
(a)
(b)
(c)
(d)