



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0117326  
(43) 공개일자 2022년08월23일

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/> <i>G01N 27/327</i> (2006.01) <i>G01N 33/543</i> (2006.01)<br/> <i>G01N 33/551</i> (2006.01) <i>G01N 33/552</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/> <i>G01N 27/327</i> (2021.01)<br/> <i>G01N 27/3276</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2022-7025325<br/> (22) 출원일자(국제) 2020년12월18일<br/> 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2022년07월20일<br/> (86) 국제출원번호 PCT/AU2020/051396<br/> (87) 국제공개번호 WO 2021/119755<br/> 국제공개일자 2021년06월24일</p> <p>(30) 우선권주장<br/> 201904865 2019년12월20일 오스트레일리아(AU)</p> | <p>(71) 출원인<br/> <b>로얄 멜버른 인스티튜트 오브 테크놀로지</b><br/> 오스트레일리아, 빅토리아 3000, 멜버른, 라트로<br/> 베 스트리트 124</p> <p>(72) 발명자<br/> <b>아흐메드, 타이무르</b><br/> 오스트레일리아, 빅토리아 3000, 멜버른, 라트로<br/> 베 스트리트 124<br/> <b>도어링, 모리츠</b><br/> 독일, 램페체 슈트라세 25, 로이트키르히 88299<br/> (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/> <b>이원희</b></p> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 **생체분석물(bioanalyte)의 검출을 위한 센서(sensor) 및 이의 검출 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 생체분석물의 검출을 위한 센서를 제공하며, 이는:

- 기관;
- 공간적으로 서로 떨어져 있고 및 대립 관계로 기관에 위치해 있는 단자 전극 쌍; 및
- 한 쌍의 단자 전극 사이에 전기적으로 접촉하는 기관의 표면에 적용된 비절연 감지 요소를 포함하고, 상기 감지 요소는 단자 전극 사이에 전도 경로를 제공하고, 상기 감지 요소는 산소-결핍된 금속 산화물 층(oxygen-deficient metal oxide layer) 및 생체분석물 결합 부위를 포함하고, 및 상기 전압이 센서에 걸쳐서 적용되었을 때, 생체분석물 결합 부위에서의 생체분석물의 결합에 해당하는 감지 요소의 전도성의 변화에 비례적으로 전기적 신호가 생성된다.

(52) CPC특허분류

**G01N 27/3278** (2013.01)

**G01N 33/5438** (2013.01)

**G01N 33/551** (2013.01)

**G01N 33/552** (2013.01)

(72) 발명자

**페레라, 간가나스**

오스트레일리아, 빅토리아 3000, 멜버른, 라트로베  
스트리트 124

**왈리아, 수미트**

오스트레일리아, 빅토리아 3000, 멜버른, 라트로베  
스트리트 124

**바스카란, 마두**

오스트레일리아, 빅토리아 3000, 멜버른, 라트로베  
스트리트 124

**스리람, 샤랏**

오스트레일리아, 빅토리아 3000, 멜버른, 라트로베  
스트리트 124

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

생체분석물 검출용 센서로서:

- 기관
- 공간적으로 서로 떨어져 있고 및 대립 관계로 기관에 위치해 있는 단자 전극 쌍; 및
  - 한 쌍의 단자 전극 사이에 전기적으로 접촉하는 기관의 표면에 적용된 비절연 감지 요소를 포함하며, 상기 감지 요소는 단자 전극 사이에 전도 경로를 제공하고, 상기 감지 요소는 산소-결핍된 금속 산화물 층(oxygen-deficient metal oxide layer) 및 생체분석물 결합 부위를 포함하고, 및 상기 전압이 센서에 걸쳐서 적용되었을 때, 생체분석물 결합 부위에의 생체분석물의 결합에 해당하는 감지 요소의 전도성의 변화에 비례적으로 전기적 신호가 생성되는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층(oxygen-deficient metal oxide layer)은 산화아연(zinc oxide, ZnO), 산화 티타늄 스트론튬(strontium titanium oxide, STO), 산화주석(tin oxide) 및 이산화 티타늄(titanium dioxide)로 구성된 그룹으로부터 선택된 금속 산화물로부터 형성되는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 약 50nm 내지 약 200  $\mu\text{m}$ 의 범위 내에 있는 두께를 가지는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 반응성 있는 스퍼터링(reactive sputtering), 물리적인 증기 증착(physical vapour deposition, PVD), 화학적 증기 증착(chemical vapour deposition, CVD), 금속 유기 화학적 증기 증착(metal organic chemical vapour deposition, MOCVD), 펄스 레이저 증착(pulsed laser deposition, PLD) 및 분자선 에피택시(molecular beam epitaxy, MBE)로 구성된 그룹으로부터 선택된 기술로 기관 표면에 적용되는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생체분석물 결합 부위는 산소-결핍된 금속 산화물 층에 물리적으로 및 화학적으로 흡착된 중간층을 통해 산소-결핍된 금속 산화물 층에 고정되는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 6

제5항에 있어서, 상기 중간층은 에폭시 그룹(epoxy group), 티올 그룹(thiol group), 아미노 그룹(amino group), 카복시 그룹(carboxy group) 및 하이드록시 그룹(hydroxy group)으로 구성된 그룹으로부터 선택된 말단 작용기를 가진 실란화 제제(silanizing agent)로 산소-결핍된 금속 산화물 층을 실란화하여(silanization) 생산하는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 7

제6항에 있어서, 상기 실란화 제제는 (3-글리시딜옥시프로필)트리메톡시실란((3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilane), (3-머캅토프로필)트리메톡시실란((3-mercaptopropyl)trimethoxysilane, MTS), (3-아미노프로필)트리메톡시실란((3-aminopropyl)triethoxysilane, APTES), 및 *N*-(2-아미노에틸)-3-아미노프로필-트리메톡시실란(*N*-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane, AEAPTS))으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 약 0.08 지멘스(simens)/m<sup>2</sup> 내지 약 0.6 지멘스/m<sup>2</sup>의 범위 내에 있는 전도성을 가지는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생체분석물 결합 부위는 바이오분자(biomolecule) 인 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 10

제9항에 있어서, 상기 바이오분자는 단백질, 펩티드, 리포-펩티드(lipo-peptide), 단백질-결합 탄수화물 또는 단백질-결합 리간드인 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 11

제9항에 있어서, 상기 바이오분자는 포획 단백질(capture protein) 인 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 12

제11항에 있어서, 상기 포획 단백질은 단백질-결합 스캐폴드(protein-binding scaffold), T-세포 수용체(T-cell receptor), TCR의 결합-단편(binding-fragment of a TCR), 가변 림프구 수용체(variable lymphocyte receptor), 항체(antibody) 및/또는 항체의 결합-단편(binding-fragment of an antibody) 인 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 13

제12항에 있어서, 상기 단백질-결합 스캐폴드는: 아드넥틴(Adnectins), 아피린(Affilins), 아피바디(Affibodies), 아피머 분자(Affimer molecules), 아피틴(Affitins), 알파바디(Alphabodies), 앵타머(Aptamers), 안티칼린(Anticalins), 아마딜로 반복 단백질-기반한 스캐폴드(Armadillo repeat protein-based scaffolds), 아트리머(Atrimers), 아비머(Avimers), 디자인된 안키린 반복 단백질(Designed Ankyrin Repeat Proteins, DARPins), 피노머(Fynomers), 억제제 시스템 매듭 스캐폴드((Inhibitor Cystine Knot (ICK) scaffolds)), 누즈 도메인 펩티드(Kunitz Domain peptides), 모노바디(Monobodies) 및/또는 나노피틴(Nanofitins)으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 14

제12항에 있어서, 상기 항체의 결합-단편에는 Fab, (Fab')<sub>2</sub>, Fab', 단일-사슬 가변 단편(single-chain variable fragment, scFv), 디- 및 트리-scFvs(di- and tri-scFvs), 단일 도메인 항체(single domain antibodies, sdAb), 디아바디(Diabodies) 또는 항체의 결합-도메인을 포함하는 융합 단백질(fusion protein)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생체분석물 결합부위는 인터루킨-6(IL-6)에 결합하는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 16

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 생체분석물 결합부위가 C-반응성 단백질(CRP)에 결합하는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 기판은 실리콘 웨이퍼(silicon wafer), 폴리머(polymer), 유리(glass) 및 세라믹(ceramic)으로 구성된 그룹으로부터 선택된 재료로부터 제조되는 것을 특징으로 하는, 생체

분석물 검출용 센서.

#### 청구항 18

제17항에 있어서, 상기 폴리머는 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS), 폴리이미드(polyimide, PI) 및 폴리에틸렌 나프탈레이트(polyethylene naphthalate, PEN)로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 19

제17항에 있어서, 상기 세라믹은 산화 알루미늄(aluminium oxide,  $Al_2O_3$ ), 사파이어(sapphire) 및 실리콘 나이트라이드(silicon nitride,  $Si_3N_4$ )로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출용 센서.

#### 청구항 20

생체분석물을 검출하는 방법으로서, 이 방법은:

- 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 센서의 감지 요소를 생체분석물을 포함하는 샘플 용액과 접촉시키고;
- 센서에 걸쳐 전압을 적용하고; 및
- 생체분석물이 생체분석물 결합 부위에 결합하였을 때 생체분석물의 검출에 해당하는 전도성 변화에 비례하여 발생된 전기적 신호를 검출하는,

단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출 방법.

#### 청구항 21

제20항에 있어서, 상기 생체분석물 결합 부위는 바이오분자인 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출 방법.

#### 청구항 22

제20항 또는 21항에 있어서, 상기 생체분석물 결합 부위는 인터루킨-6(interleukin-6, IL-6)에 결합하는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출 방법.

#### 청구항 23

제22항에 있어서, 상기 4 펨토몰(femtomolar) 농도의 IL-6를 가진 샘플 용액에서 검출된 전도성의 변화는 약 9.2%인 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출 방법.

#### 청구항 24

제20항 또는 21항에 있어서, 상기 생체분석물 결합 부위는 C-반응성 단백질(C-reactive protein, CRP)에 결합하는 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출 방법.

#### 청구항 25

제24항에 있어서, 상기 13 펨토몰(femtomolar) 농도의 CRP를 가진 샘플 용액에서 검출된 전도성의 변화는 약 12.5%인 것을 특징으로 하는, 생체분석물 검출 방법.

#### 청구항 26

생체분석물을 검출하기 위한 센서를 제작하는 방법으로서, 이 방법은:

- 기판을 제공하는 단계;
- 공간적으로 서로 떨어져 있고 및 대립 관계로 있는 기판에 단자 전극 쌍을 침착시키는 단계; 및
- 생체분석물 결합 부위로 코트 된 산소-결핍된 금속 산화물 층의 형태로 비-절연성 감지 요소를 단자 전극 쌍과 전기적 접촉 사이 및 접촉 내에 적용하고 여기서 감지 요소는 단자 전극 사이에 전도 경로를 제공하고, 상기

생체분석물 결합 부위는 생체분석물이 생체분석물 결합 부위에 결합하였을 때 생체분석물의 검출에 대해 선택적인 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 생체분석물 검출용 센서를 제작하는 방법.

#### 청구항 27

제26항에 있어서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 산화아연(zinc oxide, ZnO), 산화 티타늄 스트론튬(strontium titanium oxide, STO), 산화주석(tin oxide) 및 이산화 티타늄(titanium dioxide)로 구성된 그룹으로부터 선택된 금속 산화물로부터 형성되는 것을 특징으로 하는 생체분석물 검출용 센서를 제작하는 방법.

#### 청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 약 50nm 내지 약 200  $\mu\text{m}$ 의 범위 내에 있는 두께를 가지는 것을 특징으로 하는 생체분석물 검출용 센서를 제작하는 방법.

#### 청구항 29

제26항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 반응성있는 스퍼터링(reactive sputtering), 물리적인 증기 증착(physical vapour deposition, PVD), 화학적 증기 증착(chemical vapour deposition, CVD), 금속 유기 화학적 증기 증착(metal organic chemical vapour deposition, MOCVD), 펄스 레이저 증착(pulsed laser deposition, PLD) 및 분자선 에피택시(molecular beam epitaxy, MBE)로 구성된 그룹으로부터 선택된 기술로 기판 표면에 적용되는 것을 특징으로 하는 생체분석물 검출용 센서를 제작하는 방법.

#### 청구항 30

제26항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 추가로:

- 생체분석물 결합부위를 산소-결핍된 금속 산화물 층에 고정하기 위하여 중간층(intermediate layer)을 산소-결핍된 금속 산화물 층에 물리적 또는 화학적으로 흡착하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 생체분석물 검출용 센서를 제작하는 방법.

#### 청구항 31

제30항에 있어서, 상기 중간층은 산소-결핍된 금속 산화물 층을 에폭시 그룹(epoxy group), 티올 그룹(thiol group), 아미노 그룹(amino group), 카복시 그룹(carboxy group) 및 하이드록시 그룹(hydroxy group)으로 구성된 그룹으로부터 선택된 말단 작용기를 가진 실란화 제제(silanizing agent)로 실란화하여(silanization) 생산되는 것을 특징으로 하는 생체분석물 검출용 센서를 제작하는 방법.

#### 청구항 32

제31항에 있어서, 상기 실란화 제제는 (3-글리시딜옥시프로필)트리메톡시실란((3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilane), (3-머프캅토프로필)트리메톡시실란((3-mercaptopropyl)trimethoxysilane, MTS), (3-아미노프로필)트리에톡시실란((3-aminopropyl)triethoxysilane, APTES), 및 *N*-(2-아미노에틸)-3-아미노프로필-트리메톡시실란(*N*-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane, AEAPTS))으로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 생체분석물 검출용 센서를 제작하는 방법.

## 발명의 설명

## 기술 분야

### [0001] 발명의 분야

[0002] 본 발명은 센서(sensor)와 관한 것으로, 특히 체액에서 생체분석물(bioanalyte)을 검출하기 위한 비-침습적인 센서 및 이의 검출 방법에 관한 것이다.

[0003] 본 발명은 주로 체액에서 생체 분석물의 범위를 검출하는 데 사용하기 위해 개발되었으며 본 출원을 참조하여

이후에 설명된다.

[0004] 하기 발명의 배경에 대한 논의는 본 발명의 이해를 용이하게 하기 위한 것이다. 그러나, 이 논의는 언급된 자료 중 어느 하나가 본 명세서 청구항의 우선일(priority date)에 호주 또는 기타 국가에서 출판되었거나, 알려진 일반적인 지식의 일부임을 인지하거나 수용하는 것은 아니라는 것을 이해해야 한다.

## 배경 기술

[0005] 본 발명의 배경

[0006] 조직 및/또는 생체액에 있는 표적 바이오마커 (이후, 생체 분석물 (bioanalytes))의 수준을 모니터/측정하기 위하여 사용되는 접근 방법에는 두 가지가 있다. 첫 번째 접근 방법은 센서 성분이 감염, 조직 손상 및 불편함의 원인이 될 수 있는 조직 또는 체액과 직접적으로 접촉하는 침습적인 센서 (invasive sensor)의 사용에 의존하는 것이다. 두 번째 접근 방법은 체액에 있는 생체분석물의 수준을 결정하기 위하여, 광학적 흡광 (optical absorption), 전기화학적 변환(electrochemical transduction), 및 전기전도법 (conductometry)을 포함하는 다른 기술을 적용하는, 비-침습적 (non-invasive) 센서의 사용에 의존한다.

[0007] 비-침습성 센서 (non-invasive sensors)에 관하여, 광학적 흡수-기반한 비-침습성 센서는 체액에 존재할 수도 있는 여러 다양한 생체분석물의 약한 흡수 밴드들이 밀접하게 중첩되고, 그러한 분석의 온도 민감성 때문에 특별히 정확하지는 않다.

[0008] 전기화학적 센서는, 다른 한편으로, 좀 더 정밀하므로 현재 바이오센서 분야를 지배하고 있다. 그러한 센서는 관심 있는 생체분석물의 반응에 의해 발생하는 전기적 신호를 센서와 연관된 감지 요소(sensing element)로 측정하여 작동하며, 여기서 생성된 전기적 신호는 생체분석물의 농도에 비례한다. 센서에서 이 전기화학적 반응은 측정 가능한 전류((전류 측정 (amperometric)), 측정 가능한 전하 축적 또는 전위((전위차(potentiometric))를 유도하고, 배지의 전도 성질((전도성 측정(conductometric)) 또는 임피던스 측정(impedimetric)을 수정하고, 임피던스(impedance)를 형성하기 위하여 병합하는 저항 및 유도저항 (reactance)을 측정하여 기능을 한다.

[0009] 전기화학적 변환(electrochemical transduction)을 사용하는 센서는 전형적으로 작업 전극(working electrode), 대향 전극(counter electrode) (또는 보조 전극) 및 기준 전극(reference electrode)을 필요로 한다. 기준 전극은 알려진 안정적인 전위를 설정하기 위하여 생물학적 인식 요소 및 분석물 상호작용 부위로부터 거리를 두고 유지된다. 작업 전극(working electrode)은 상호 작용이 일어날 때 변환 요소로서 작용하며 반면에 대향 전극(counter electrode)은 전류를 측정하고 작업 전극에 전류의 전달이 되도록 하기 위하여 전해질 용액의 전달을 촉진한다.

[0010] 전도성 측정 센서(conductometric sensors)는 또한 배지가 그 사이의 전기적 전류를 전도하는 능력을 측정하기 위하여 전극을 사용한다. 그러나, 전도성 측정 센서는 기준 전극의 사용이 필요하지 않다. 이 센서는 또한 저-진폭 교류 전압 (low-amplitude alternating voltage)에서 작동하며, 그러므로 전극에 패러데이 공정(Faraday processes)을 방지하며, 박막 기술(thin-film techniques)을 사용하여 쉽게 소형화하고 통합할 수 있다.

[0011] 전도성 측정 센서(conductometric sensors)가 특정한 이점이 있는 반면에, 그러한 센서의 감도는 폴리머를 감지 요소(sensing element)로서 사용함으로써 종종 방해를 받으며, 이는 종종 불량한 내구성 및 불량한 장기 안정성을 보이는 센서를 나타내게 한다.

[0012] 직접적인 전도성 측정 센서의 대안으로서, 전기장-효과 트랜지스터(field-effect transistors)에 기반을 둔 센서도 또한 개발되었다. 전기장-효과 트랜지스터는 세 개의 단자(terminal), 즉 소스(source), 게이트(gate) 및 드레인(drain)을 가진 장치이다. 이 장치는 게이트에서의 교환으로서 작용하여 소스 및 드레인 사이에 전도성을 변경하는 전기장 효과를 초래한다.

[0013] 예를 들어, US 2010/2016256은 하기를 포함하는 바이오센서 (biosensor)를 서술한다: 기관, 기관에 소스 전극 (source electrode), 기관에 드레인 전극 (drain electrode), 및 소스 전극 및 드레인 전극 사이의 기관의 표면에 적어도 하나의 기능화된 나노 벨트(functionalized nanobelt)를 포함하고, 상기 기능화된 나노 벨트는 검출될 생물학적 분석물과의 결합을 위한 하나 또는 그 이상의 검출 분자에 연결된 화학적으로 기능화된 표면을 가져, 나노 벨트 표면에 연결된 하나 또는 그 이상의 분자에 이 분석물이 결합하여 전기장 게이트 효과가 발생 되도록 한다. 이 장치는 분자의 결합이 나노 벨트(게이트)의 전기장 효과를 수정하여 소스와 드레인(drain) 사이의 경로의 전도성이 수정되고 및 전도성에서 변화가 있는 것과 같이 작용한다.

[0014] 첫 번째로, 전기장-효과 트랜지스터(field-effect transistors)는 전형적으로 켜지고 및 꺼지는 장치이고 및 비-선형의 반응(non-linear response)을 가진다. 이 장치에서, 저항(resistance)은 전형적으로 작은 부위의 직선 반응을 가지므로 저항은 직선 라인에서 변화하지 않을 것이며 및 이는 그 후 안정기에 도달하며 이는 장치가 넓은 범위의 컨디션에 걸쳐서 사용하기 어렵다는 것을 의미한다.

[0015] 두 번째로, 전문가에 의해 인식될 것인 바와 같이, 이러한 장치가 서술한 대로 작동하기 위하여 소스 및 드레인(drain) 및 게이트 바이어스(gate bias)(이 경우 나노벨트) 사이 전도 경로 사이에 절연 층(dielectric)이 있는 것이 필요하다. 이 타입의 장치는 구조적으로 다른 많은 수의 요소들이 있기 때문에 이들은 상대적으로 조립하기 복잡하므로 구조적으로 좀 더 우아한 센서보다 산업적 스케일로 생산하기에는 더 어렵다는 단점을 가지고 있다.

[0016] 본 발명은 생체분석물을 검출하는 데 사용하기 위한 센서 및 이들을 검출하는 방법을 제공하고자 하며, 이는 적어도 선행 기술의 결점의 일부를 극복하거나 또는 상당히 경감시킬 것이거나, 또는 적어도 그 대체 방법을 제공할 것이다.

## 발명의 내용

[0017] **발명의 요약**

[0018] 본 발명의 첫 번째 양상에 따라, 생체분석물의 검출을 위한 센서를 제공하며, 이는: 기판; 공간적으로 서로 떨어져 있고 및 대립 관계로 기판에 위치해 있는 단자 전극 쌍; 및 한 쌍의 단자 전극 사이에 전기적으로 접촉하는 기판의 표면에 적용된 비절연 감지 요소를 포함하며, 상기 감지 요소는 단자 전극 사이에 전도 경로를 제공하고, 상기 감지 요소는 산소-결핍된 금속 산화물 층(oxygen-deficient metal oxide layer) 및 분석물 결합 부위를 포함하고, 및 상기 전압이 센서에 걸쳐서 적용되었을 때, 분석물 결합 부위에의 분석물의 결합에 해당하는 감지 요소의 전도성의 변화에 비례적으로 전기적 신호가 생성된다.

[0019] 바람직하게는, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 산화아연(zinc oxide, ZnO), 산화 티타늄 스트론튬(strontium titanium oxide, STO), 산화주석(tin oxide) 및 이산화 티타늄(titanium dioxide)로 구성된 그룹으로부터 선택된 금속 산화물로부터 형성된다.

[0020] 한 실시예에서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 약 50nm 내지 약 200  $\mu\text{m}$ 의 범위 내에 있는 두께를 가진다.

[0021] 바람직하게, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 반응성 있는 스퍼터링(reactive sputtering), 물리적인 증기 증착(physical vapour deposition, PVD), 화학적 증기 증착(chemical vapour deposition, CVD), 금속 유기 화학적 증기 증착(metal organic chemical vapour deposition, MOCVD), 펄스 레이저 증착(pulsed laser deposition, PLD) 및 분자선 에피택시(molecular beam epitaxy, MBE)로 구성된 그룹으로부터 선택된 기술로 기판 표면에 적용된다.

[0022] 바람직하게, 상기 생체분석물 결합 부위는 산소-결핍된 금속 산화물 층에 물리적으로 또는 화학적으로 흡착된 중간층을 통해 산소-결핍된 금속 산화물 층에 고정된다.

[0023] 한 실시예에서, 상기 중간층은 에폭시 그룹(epoxy group), 티올 그룹(thiol group), 아미노 그룹(amino group), 카복시 그룹(carboxy group) 및 하이드록시 그룹(hydroxy group)으로 구성된 그룹으로부터 선택된 말단 작용기를 가진 실란화 제제(silanizing agent)로 산소-결핍된 금속 산화물 층을 실란화하여(silanization) 생산한다.

[0024] 한 실시예에서, 상기 실란화 제제는 (3-글리시딜옥시프로필)트리메톡시실란((3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilane), (3-머캅토프로필)트리메톡시실란((3-mercaptopropyl)trimethoxysilane, MTS), (3-아미노프로필)트리메톡시실란((3-aminopropyl)triethoxysilane, APTES), 및 *N*-(2-아미노에틸)-3-아미노프로필-트리메톡시실란(*N*-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane, AEPTS))으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.

[0025] 한 실시예에서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 약 0.08 지멘스(simens)/ $\text{m}^2$  내지 약 0.6 지멘스/ $\text{m}^2$ 의 범위 내에 있는 전도성을 가진다.

[0026] 바람직하게, 상기 생체분석물 결합 부위는 바이오분자(biomolecule)이다.

[0027] 적절하게, 바이오분자는 단백질, 펩티드, 리포-펩티드(lipo-peptide), 단백질-결합 탄수화물(protein-binding

carbohydrate) 또는 단백질-결합 리간드(protein-binding ligand)이다.

- [0028] 한 실시예에서, 상기 바이오분자는 포획 단백질(capture protein)이다.
- [0029] 적절하게, 상기 포획 단백질은 단백질-결합 스캐폴드(protein-binding scaffold), T-세포 수용체(T-cell receptor), TCR의 결합-단편(binding-fragment of a TCR), 가변 림프구 수용체(variable lymphocyte receptor), 항체(antibody) 및/또는 항체의 결합-단편(binding-fragment of an antibody)이다.
- [0030] 바람직하게는, 상기 단백질-결합 스캐폴드는 아드넥틴(Adnectins), 아피린(Affilins), 아피바디(Affibodies), 아피머 분자(Affimer molecules), 아피틴(Affitins), 알파바디(Alphabodies), 앵타머(Aptamers), 안티칼린(Anticalins), 아마딜로 반복 단백질-기반한 스캐폴드(Armadillo repeat protein-based scaffolds), 아트림머(Atrimers), 아비머(Avimers), 디자인된 안키린 반복 단백질(Designed Ankyrin Repeat Proteins, DARPins), 피노머(Fynomers), 억제제 시스틴 매듭 스캐폴드((Inhibitor Cystine Knot (ICK) scaffolds)), 누즈 도메인 펩티드(Kunitz Domain peptides), 모노바디(Monobodies) 및/또는 나노피틴(Nanofitins)으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.
- [0031] 바람직하게는, 상기 항체의 결합-단편에는 Fab, (Fab')<sub>2</sub>, Fab', 단일-사슬 가변 단편(single-chain variable fragment, scFv), 디- 및 트리-scFvs(di- and tri-scFvs), 단일 도메인 항체(single domain antibodies, sdAb), 디아바디(Diabodies) 또는 항체의 결합-도메인을 포함하는 융합 단백질(fusion protein)을 포함한다.
- [0032] 한 실시예에서, 상기 생체분석물 결합부위는 인터루킨-6(IL-6)에 결합한다.
- [0033] 한 실시예에서, 상기 생체분석물 결합부위는 C-반응성 단백질(C-reactive protein, CRP)에 결합한다.
- [0034] 한 실시예에서, 상기 기판은 실리콘 웨이퍼(silicon wafer), 폴리머(polymer), 유리(glass) 및 세라믹(ceramic)으로 구성된 그룹으로부터 선택된 재료로부터 제조된다.
- [0035] 적절하게, 상기 폴리머는 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS), 폴리이미드(polyimide, PI) 및 폴리에틸렌 나프탈레이트(polyethylene naphthalate, PEN)로 구성된 그룹으로부터 선택된다.
- [0036] 적절하게, 상기 세라믹은 산화 알루미늄(aluminium oxide, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), 사파이어(sapphire) 및 실리콘 나이트라이드(silicon nitride, Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>)로 구성된 그룹으로부터 선택된다.
- [0037] 본 발명의 두 번째 양상에 따라, 생체분석물을 검출하는 방법을 제공하는 것이며, 이 방법은: 첫 번째 양상에 따른 센서의 감지 요소를 생체분석물을 포함하는 샘플 용액과 접촉시키고; 센서에 걸쳐 전압을 적용하고; 및 생체분석물이 생체분석물 결합 부위에 결합하였을 때 생체분석물의 검출에 해당하는 전도성 변화에 비례하여 발생된 전기적 신호를 검출하는 단계를 포함한다.
- [0038] 바람직하게, 상기 생체분석물 결합 부위는 바이오분자이다.
- [0039] 한 실시예에서, 상기 생체분석물 결합 부위는 인터루킨-6(IL-6)에 결합한다.
- [0040] 적절하게, 4 펨토몰(femtomolar) 농도의 IL-6를 가진 샘플 용액에서 검출된 전도성의 변화는 약 9.2%이다.
- [0041] 한 실시예에서, 상기 생체분석물 결합 부위는 C-반응성 단백질(C-reactive protein, CRP)에 결합한다.
- [0042] 적절하게, 13 펨토몰(femtomolar) 농도의 CRP를 가진 샘플 용액에서 검출된 전도성의 변화는 약 12.5%이다.
- [0043] 본 발명의 세 번째 양상에 따라, 생체분석물을 검출하기 위한 센서를 제작하는 방법을 제공하며, 이 방법은: 기판을 제공하고; 기판에 공간적으로 서로 떨어져 있고 및 대립 관계로 있는 단자 전극 쌍을 침착시키고; 및 생체분석물 결합 부위로 코팅된 산소-결핍된 금속 산화물 층의 형태의 비-절연성 감지 요소를 단자 전극 쌍과 전기적 접촉 사이 및 접촉 내에 적용하고 상기 감지 요소는 단자 전극 사이에 전도 경로를 제공하고, 상기 생체분석물 결합 부위는 생체분석물이 생체분석물 결합 부위에 결합하였을 때 생체분석물의 검출에 대해 선택적인 단계를 포함한다.
- [0044] 바람직하게, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 산화아연(zinc oxide, ZnO), 산화 티타늄 스트론튬(strontium titanium oxide, STO), 산화주석(tin oxide) 및 이산화 티타늄(titanium dioxide)로 구성된 그룹으로부터 선택된 금속 산화물로부터 형성된다.
- [0045] 한 실시예에서, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 약 50nm 내지 약 200 μm의 범위 내에 있는 두께를 가진다.

- [0046] 바람직하게, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 반응성 있는 스퍼터링(reactive sputtering), 물리적인 증기 증착(physical vapour deposition, PVD), 화학적 증기 증착(chemical vapour deposition, CVD), 금속 유기 화학적 증기 증착(metal organic chemical vapour deposition, MOCVD), 펄스 레이저 증착(pulsed laser deposition, PLD) 및 분자선 에피택시(molecular beam epitaxy, MBE) 로 구성된 그룹으로부터 선택된 기술로 기판 표면에 적용된다.
- [0047] 적절하게, 상기 방법은 추가로: 첫 번째 바이오분자를 산소-결핍된 금속 산화물 층에 고정하기 위하여 중간 층(intermediate layer)을 물리적 및 화학적으로 산소-결핍된 금속 산화물 층에 흡착하는, 단계를 포함한다.
- [0048] 바람직하게, 상기 중간층은 산소-결핍된 금속 산화물 층을 에폭시 그룹(epoxy group), 티올 그룹(thiol group), 아미노 그룹(amino group), 카복시 그룹(carboxy group) 및 하이드록시 그룹(hydroxy group)으로 구성된 그룹으로부터 선택된 말단 작용기를 가진 실란화 제제(silanizing agent)로 실란화하여(silanization) 생산된다.
- [0049] 한 실시예에서, 상기 실란화 제제는(3-글리시딜옥시프로필)트리메톡시실란((3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilane)), (3-머캅토프로필)트리메톡시실란((3-mercaptopropyl)trimethoxysilane, MTS)), (3-아미노프로필)트리메톡시실란((3-aminopropyl)triethoxysilane, APTES)), 및 *N*-(2-아미노에틸)-3-아미노프로필-트리메톡시실란(*N*-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane, AEAPTS)) 으로 구성된 그룹으로부터 선택된다.
- [0050] 본 발명의 다른 양상도 또한 공개된다.

## 도면의 간단한 설명

### [0051] 도면의 간단한 설명

본 발명의 범위 내에 속할 수 있는 어느 다른 형태가 있음에도 불구하고, 본 발명의 바람직한 실시예가, 단지 실시예의 형태로, 수반되는 도면을 참조하여 지금 서술될 것이며, 여기에는:

**도 1**은 본 발명의 바람직한 실시예에 부합하는 생체분석물의 검출을 위한 비-침습적인 전도성 측정 센서의 제조를 위한 도식적인 대표 도를 보여주며, 여기서 센서는 여기에 커플된 복수의 생체분석물 결합 부위를 가진 산소-결핍된 금속 산화물 박막 층을 포함하는 감지 요소(sensing element)를 가진다;

**도 2**는 저항의 변화(%)가 (A) 전도성 측정 센서에 고정된 항-IL6 항체에 대한 IL-6의 농도(M)의 함수로서 및 (B) 전도성 측정 센서에 고정된 항-CRP 항체에 대한 CRP의 농도의 함수로서 반영된 플롯을 보여준다. 각 플롯에서 대쉬드 라인(dashed line)은 건강한 인간 체액(즉, 땀에 있는 IL-6에 타액에 있는 CRP)에 있는 항원 농도(M)를 제시한다;

**도 3**은 교차-선택성 연구 목적으로 수행된, (A) CRP의 항-IL-6 항체 고정된 전도성 측정 센서에 대한 저항 변화(%) 및 (B) IL-6의 항-CRP 항체 고정된 전도성 측정 센서에 대한 저항 변화를 반영한 플롯을 보여준다. IL-6 및 CRP의 노미날 농도(nominal concentration)는 각각 4 pM 및 13pM이다;

**도 4**는 도 1의 전도성 측정 센서의 기판 표면에 형성된, 각각 스퍼터된(sputtered)  $ZnO_x$  및  $ZnO_y$  박막으로부터 수집된 (a,c) Zn 2p, (b,d) O 1s의 코어-수준 XPS 스펙트라(core-level XPS spectra)를 보여준다. 0v는 산소 결핍을 나타낸다;

**도 5**는 다른 화학적 조성물로 **도 1**의 전도성 측정 센서의 기판 표면에 형성된, 스퍼터된(sputtered) STP 박막에서의 세 개의 모든 요소, (a,d) Sr (b,e) Ti 및 (c,f) O,의 해결된 코어-수준 XPS 스펙트라를 보여준다;

**도 6**은 (a) 연구하고 있는 다른 항원의 존재 하에서 IL-6 항원의 IL-6 항체 고정된 장치에 대한 선택성의 저항의 변화(%), (b) 연구하고 있는 다른 항원의 존재 하에서 CRP 항원의 CRP 항체 고정된 장치에 대한 선택성의 저항의 변화(%)를 반영한 플롯을 보여준다;

**도 7**은 (a) IL-6 농도의 함수로서 신선한 (0일째) 및 오래된 (450일째) 장치에 대한 저항 변화. (b)CRP 농도의 함수로서 신선한 (0일째) 및 오래된 (450일째) 장치에 대한 저항 변화를 반영한 플롯을 보여준다.; 및

**도 8**은 (a) PBS 및 인공 타액(artificial saliva)에 있는 IL-6 농도의 함수로서 저항의 변화. (b) 이 연구에서 사용된 다른 항원의 존재 하에서 IL-6 항원의 IL-6 항체 고정된 장치에 대한 선택성 연구. (c) PBS 및 인공 타액(artificial saliva)에 있는 CRP 농도의 함수로서 저항의 변화. (d) 이 연구에서 사용된 다른 항원의 존재 하

에서 CRP의 CRP-항체 고정된-장치에 대한 선택성 연구를 반영한 플럿을 보여준다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

#### [0052] 특정한 실시예의 상세한 설명

[0053] 하기의 설명에서 다른 실시예에서 비슷한 또는 같은 참고 문헌 번호는 같거나 비슷한 특징을 의미하는 것을 주목하여야 한다.

[0054] 본 발명은 의학적 진단의 예후/진단을 위하여 인간 타액 및/또는 땀과 같은 체액에서 일련의 생체분석물의 수준을 검출하기 위한 전도성 측정 감지 기술을 적용하는 비싸지 않은 비-침습성 센서의 발견을 예상한다. 하기에 좀 더 상세하게 서술될 것인 대로, 전도성 측정 센서는 간단하고 및 비교적 쉽게-제작하는 장치 구조를 가졌으며, 이는 특별한 기관을 요구하거나 또는 결과에서 이들의 정확도를 제한하는 감지 기술을 적용하는 전통적인 비-침습성 센서에 대한 비용-효과적인(cost-effective) 대체품을 제공한다.

[0055] 발명가들은 하기에 좀 상세하게 서술된 대로 전도성 측정 센서는 CMOS 전기회로망과 호환성을 가지며 및 그러므로 침습성 과정의 필요 없이, 체액을 통해 표적 생체분석물의 수준을 연속적으로 모니터 하는데 사용될 수 있는 휴대 가능하고, 개인적이고 및 재사용 가능한 센서를 제공하기 위한 유연한/착용 가능한 전자제품에 쉽게 통합될 수 있다. 이들 생체분석물은 개인의 상태 및 웰빙(well-being)을 표시하는 바이오마커로서 작용할 수 있다.

[0056] 다음은 비-침습성 전도성 측정 센서 및 체액에서 일련의 생체분석물(바이오마커와 같은)의 수준을 검출하기 위한 이들을 적용하는 방법의 상세한 서술이다.

#### [0057] 센서(sensor)

[0058] 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 생체분석물을 검출하는 데 사용을 위한 센서를 이제 서술할 것이다.

[0059] 이의 가장 단순한 형태에서, 및 도 1에서 도식적인 대표도로 보여준 대로, 센서는 기관, 공간적으로 서로 떨어져 있고 및 대립 관계로 기관에 위치해 있는 단자 전극 쌍, 및 한 쌍의 단자 전극 사이에서 전기적으로 접촉하는 기관의 표면에 적용된 비절연 감지 요소를 포함하고, 상기 감지 요소는 단자 전극사이에 전도 경로를 제공하고, 상기 감지 요소는 적절한 표면 수정 체제를 사용하여 표면에 수정이 될 수 있는 산소-결핍된 금속 산화물 층(oxygen-deficient metal oxide layer) 및 검출 목적을 위해 표적 바이오마커 또는 이의 생체분석물에 선택적으로 결합할 수 있는 부위를 형성하기 위한 합성 결합 개체 또는 바이오분자를 포함한다.

[0060] 다음은 상기 비-침습성 전도성 측정 센서의 각 구성성분의 서술이다.

#### [0061] 기관(substrate)

[0062] 기관은 실리콘 웨이퍼(silicon wafer), 폴리머(polymer), 유리(glass) 또는 세라믹(ceramic)으로 구성된 그룹으로부터 선택된 재료로부터 제조될 수 있다.

[0063] 예를 들어, 기관으로서 사용되는 적절한 폴리머는 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS), 폴리이미드(polyimide, PI) 및 폴리에틸렌 나프탈레이트(polyethylene naphthalate, PEN)로 구성된 그룹으로부터 선택될 수 있다. 반면에 적절한 세라믹스는 산화 알루미늄(aluminium oxide,  $Al_2O_3$ ), 사파이어(sapphire) 및 실리콘 나이트라이드(silicon nitride,  $Si_3N_4$ )로 구성된 그룹으로부터 선택될 수 있다.

[0064] 여기서, 비-침습성 전도성 측정 센서를 제조하는 단계를 서술할 목적을 위하여, 및 도 1의 단계 (1)에서 보여준 대로, 기관은  $SiO_2$  표면을 가진 단단한 실리콘 웨이퍼이다.

[0065] 관련된 기술 분야에서의 통상 전문가에 의해 인정될 것이나, 만약 바람직한 목적이 휴대가능성 및 유연성이 바람직한 곳에서 적용하는 장치로서 사용될 수 있는 비-침습성 전도성 측정 센서를 제공하는 것이라면, 그러면 사용되는 기관은 이상적으로는 상기 서술된 단단한  $SiO_2/Si$  웨이퍼(rigid  $SiO_2/Si$  wafer)보다 폴리이미드 호일(polyimide foil)과 같은 유연한 폴리머이다. 폴리이미드 호일을 사용한 유연한 비-침습성 전도성 측정 센서의 제조를 위한 단계는 상기 서술된 것과 같다(도 1 참조).

#### [0066] 감지 요소(sensing element)

[0067] 가장 단순한 형태에서, 감지 요소(sensing element)는 산소-결핍된 금속 산화물 층 및 산소-결핍된 금속 산화물 층의 표면에 화학적 또는 물리적 흡착에 의해 결합된 하나 또는 그 이상의 생체분석물 결합 부위를 포함한다.

- [0068] 상기 금속 산화물 층은 산화아연(zinc oxide, ZnO), 산화 티타늄 스트론튬(strontium titanium oxide, STO), 산화주석(tin oxide) 및 이산화 티타늄(titanium dioxide)로 구성된 그룹으로부터 선택된 어느 적절한 금속 산화물을 사용하여 형성될 수 있다.
- [0069] 바람직한 형태에서, 상기 금속 산화물 층은 산화아연(zinc oxide, ZnO) 또는 산화 티타늄 스트론튬(strontium titanium oxide, STO)를 사용하여 형성된 산소-결핍된 금속 산화물 층이다. 하기에 서술될 것과 같이, 발명자는 금속 산화물 층이 박막 산소-결핍 산화아연(ZnO)일 때 좋은 결과가 얻어질 수 있다는 것을 발견했다.
- [0070] 상기 산소-결핍 금속 산화물 층은 반응성 있는 스퍼터링(reactive sputtering), 물리적인 증기 증착(physical vapour deposition, PVD), 화학적 증기 증착(chemical vapour deposition, CVD), 금속 유기 화학적 증기 증착(metal organic chemical vapour deposition, MOCVD), 펄스 레이저 증착(pulsed laser deposition, PLD) 및 분자선 에피택시(molecular beam epitaxy, MBE) 로 구성된 그룹으로부터 선택된 기술로 기판 표면에 적용될 수 있다.
- [0071] 바람직한 실시예에서, 및 도 1의 단계 (2)에서 보여준 대로, 상기 산소-결핍된 금속 산화물 층은 반응성 스퍼터링(sputtering)으로 단단한 (SiO<sub>2</sub>/Si) 웨이퍼 ((rigid (SiO<sub>2</sub>/Si) wafer)) 또는 유연한 폴리이미드 호일 (flexible polyimide foil) 표면에 적용되어 약 50nm 내지 약 200 μm의 범위 내 두께를 가진 금속 산화물 박막이 제공된다.
- [0072] 예를 들어, 도 1의 단계 (2)에서 보여준 대로, 산화아연이 단단한 (SiO<sub>2</sub>/Si) 웨이퍼의 표면에 스퍼터되어 (sputtered) 표면에 복수의 하이드록시(OH) 그룹을 나타내는 산소-결핍된 산화아연 층 (ZnO<sub>1-x</sub>)을 제공한다. 증착된 직후(as-deposit) 산소-결핍된 ZnO은 바람직한 적용에 적합한 어느 적절한 두께일 수 있다.
- [0073] 상기 산소-결핍된 ZnO 층이 약 10nm에서 약 1μm의 범위 내에 있는 두께를 가질 때 좋은 결과가 얻어졌다.
- [0074] **금속 산화물 박막(Metal Oxide Thin Films)**
- [0075] 다르게 이분된(ZnO<sub>x</sub> and ZnO<sub>y</sub>) 금속 산화물 및 복합 금속 산화물(SrTiO<sub>3</sub> 와 같은) 박막이, 예를 들어, IL-6 및 CRP와 같은, 다른 생체분석물을 감지하기 위한 비-침습성 전도성 측정 센서에 적용하기 위하여 제작되었다.
- [0076] 하기 부분에서 이 이분된 금속 화합물 및 복합 금속 산화물 박막의 합성 과정 및 화학적 조성을 논의한다.
- [0077] **산화아연(Zinc oxide, ZnO)**
- [0078] 다른 산소 함량 비율을 가진 두 개의 다른 타입의 ZnO 박막이 마그네트론 스퍼터링(magnetron sputtering)을 통해 제조되었다. 이는 스퍼터된 박막의 다른 화학량론적 조성비(stoichiometries)의 결과가 되게 한다. 스퍼터링(sputtering) 계수 및 연관된 전도성이 표 1에 목록화 되어 있다.

**표 1**

- [0079] 다른 화학량론적 조성비(stoichiometries) 및 연관된 전기 전도성을 가진 ZnO 박막을 스퍼터하기 위하여 사용된 계수.

| 박막 타입            | 스퍼터링 소스 (Sputtering Source) | 전력 (W) | Ar:O <sub>2</sub> 비율 | 공정 압력 (mTorr) | 공정 온도 (°C) | 전도성 (S/m) |
|------------------|-----------------------------|--------|----------------------|---------------|------------|-----------|
| ZnO <sub>x</sub> | Zn (금속성)                    | 200    | 100:30               | 3.5           | 250        | 0.08-0.6  |
| ZnO <sub>y</sub> | ZnO (세라믹성)                  | 200    | 100:05               | 3.5           | 250        | < 0.07    |

- [0080] 스퍼터링 계수는 전기 전도성이 0.08-0.6 S/m의 범위에 있는 박막을 제작하기 위하여 선택된다. 이 범위의 전도성은 센서의 최대 민감도를 준다.
- [0081] 상기 스퍼터된 ZnO 박막의 화학량론적 조성비(stoichiometry)가 X-레이 광전자 스펙트로스코피(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)로 평가되었다. 도 4는 ZnO<sub>x</sub> 및 ZnO<sub>y</sub> 박막으로부터 수집된 코아-레벨(core-level) Zn 2p 및 O 1s 스펙트라를 보여준다.

- [0082] 도 4에서 보여준 대로, 0 1s 스펙트라는 Zn-O 결합((피크 (1)으로서 표시)), 산소 결핍 ((Ov, (2)로 표시)) 및 -OH 결합 ((3)으로서 마크됨))<sup>[1, 2]</sup> 과 관련된 세 개의 뚜렷한 피크와 맞는다.
- [0083] 적합 계수(fitting parameter)는 표 2에 목록화되어 있다. 두 타입의 박막에서 피크(2)의 상대적인 비교는 ZnO<sub>x</sub> 가 ZnO<sub>y</sub> 보다 상대적으로 좀 더 산소 결핍되어 있음을 제시한다.

## 표 2

- [0084] ZnO<sub>x</sub> 및 ZnO<sub>y</sub> 박막으로부터 수집된 코아-레벨(core-level) XPS 스펙트라의 적합 계수(fitting parameter).

| 박막<br>타입         | 피크 위치 (eV)           |                      |        |              |        |              |        |              |
|------------------|----------------------|----------------------|--------|--------------|--------|--------------|--------|--------------|
|                  | Zn 2p <sub>3/2</sub> | Zn 2p <sub>1/2</sub> | O 1s   |              |        |              |        |              |
|                  |                      |                      | (1)    | (1)<br>At. % | (2)    | (2)<br>At. % | (3)    | (3)<br>At. % |
| ZnO <sub>x</sub> | 1021.60              | 1044.66              | 530.32 | 59.57        | 531.85 | 30.66        | 533.03 | 9.76         |
| ZnO <sub>y</sub> | 1021.10              | 1044.16              | 529.88 | 67.15        | 531.25 | 24.48        | 532.30 | 8.36         |

- [0085] 산화 티타늄 스트론튬(Strontium titanium oxide, STO)

- [0086] 두 가지 타입의 산화 티타늄 스트론튬(SrTiO<sub>3</sub>: STO) 박막이 다른 비율의 산소 함량으로 마그네트론 스퍼터링 (magnetron sputtering)을 통해 제조되었다. 스퍼터링 계수는 표 3에 요약되어 있다.

## 표 3

- [0087] 다른 화학량론적 조성비(stoichiometries) 및 관련 전도도를 갖는 STO박막을 스퍼터하는데 사용되는 계수

| 박막<br>타입         | 스퍼터링 소스<br>(Sputtering<br>Source) | 전력 (W) | Ar:O <sub>2</sub><br>비율 | 공정<br>압력<br>(mTorr) | 공정<br>온도<br>(℃) | 전도성<br>(S/m) |
|------------------|-----------------------------------|--------|-------------------------|---------------------|-----------------|--------------|
| STO <sub>x</sub> | 세라믹 SrTiO <sub>3</sub>            | 200    | 100:00                  | 3.5                 | 23              | 0.07-0.09    |
| STO <sub>y</sub> | 세라믹 SrTiO <sub>3</sub>            | 200    | 100:05                  | 3.5                 | 23              | < 0.04       |

- [0088] 도 5는 두 타입의 STO 박막, 즉 환원(0% 산소) 및 산화(5% 산소) 환경에서 각각 스퍼터된 STO<sub>x</sub> 및 STO<sub>y</sub>에서 세 요소(three element) 모두의 XPS 코아-레벨(core-level) 결합 에너지 스펙트라를 보여준다. 두 STO 산화물에서, Sr 3d의 코아-레벨 스펙트라(도 5a, 5d)는 화학적 상태에서 관찰된 의미 있는 이전(shift)은 없이 단일 요소(single component)로 맞추어진다. 두 산화물에서 132.9 eV(±0.1 eV)에서 Sr 3d<sub>5/2</sub> 및 134.7 eV(±0.1 eV)에서 Sr 3d<sub>3/2</sub>의 결합 에너지는 STO에 있는 Sr<sup>2+</sup> 중 때문이다.<sup>[3, 4]</sup>

- [0089] Ti 2d의 코아-레벨 결합 에너지의 디-컨볼루트된 스펙트라(de-convoluted spectra)의 분석이 도 5b, 5e에 보여 준다. STO<sub>x</sub> 및 STO<sub>y</sub>에서 두 Ti 2p 스펙트라, 스펙트라는 두 가지 뚜렷한 요소, 즉 Ti<sup>4+</sup> 및 Ti<sup>(4-x)+</sup>, 로 맞춘다. 단지 Ti<sup>4+</sup> 요소만의 존재는 전적으로 화학량론적(stoichiometric) STO 산화물에 해당하고, 반면에 Ti<sup>(4-x)+</sup> 중(Ti<sup>3+</sup> 및 Ti<sup>2+</sup> 와 같은)은 산화물 시스템에 산소 결핍의 존재를 표시한다. 그러나, Ti<sup>3+</sup> 및 Ti<sup>2+</sup> 요소는 더 낮은 결합 에너지에서 단지 하나의 요소와 맞추고 및 어느 모호성을 피하기 위하여 Ti<sup>(4-x)+</sup> 로서 표시한다. STO<sub>x</sub> 및 STO<sub>y</sub> 산화물에서, 458.4 eV의 Ti 2p<sub>3/2</sub> 결합 에너지에서 피크는(peak) Ti<sup>4+</sup> 산화 상태로 지정되고 및 456.2 eV 및 456.5 eV에서 피크는 Ti<sup>(4-x)+</sup> 중으로 지정된다. [5-8] 개별 Ti<sup>4+</sup> 및 Ti<sup>(4-x)+</sup> 중의 상대적 비율은 맞춘 피크를 통합하여 계산된다. STO<sub>x</sub>에서 Ti<sup>4+</sup> 및 Ti<sup>(4-x)+</sup>의 상대적 비율은 각각 72.9% 및 27.1%로 계산된다.

[0090] 다른 한편으로, ST0y에서  $Ti^{4+}$  및  $Ti^{(4-x)+}$  종의 상대적 비율은 각각 75.2% 및 24.8%로 계산된다. 이는 ST0x에서  $Ti^{(4-x)+}$  종의 농도는 ST0y 에서보다 상대적으로 더 높다. 그러므로, ST0x 박막은 ST0y 박막보다 좀 더 산소 결핍하다.

[0091] 더욱이, 0 1s 스펙트라는(도 5c 5f)는, 표면에 우연한 탄소의 흡착 때문에 형성된 ST0 산화물<sup>31</sup> 및 C-O 결합<sup>[3, 4, 9]</sup>에 있는  $O^{2-}$  이온에 해당하는, 529.5 eV 및 531.3 eV의 피크 위치로 두 요소와 맞춘다.

## [0092] 전극(Electrodes)

[0093] 도 1의 단계 (3)에서 보여준 대로, 한 쌍의 금(gold) 단자 전극은, 증착된 직후(as-deposit) 산소-결핍된 금속 산화물 박막의 표면에, 상호 공간적으로 떨어지고 및 반대의 관계로 형성되고, 및 센서의 감지 요소로 작용하는 산소-결핍된 금속 산화물 박막과 전기적 접촉이 있게 형성된다.

[0094] 간략하게, 전자빔 석판술 (electron beam lithography)을 사용하여 산소-결핍 금속 산화물 층 위에 증발하는 금 박막((100nm 크롬(chromium) 부착 층과 함께 250nm))으로 단자 전극이 형성된다. 증착된 금 박막은 그 후 표준 광석판술(standard photolithography) 및 습식 에칭 기술(wet etching techniques)을 사용하여 한 쌍의 단자 전극을 분명히 나타내기 위하여 패턴화된다(patterned).

## [0095] 중간 층(Intermediate Layer)

[0096] 바람직한 형태에서, 생체분석물 결합 부위는, 물리적으로 또는 화학적으로 산소-결핍된 금속 산화물 층에 흡착된 복수의 긴 사슬 분자를 표면 수정 제제로서 사용하여 형성된 중간 층을 통하여 산소-결핍된 금속 산화물 층에 고정된다.

[0097] 한 실시예에서, 상기 중간 층은 에폭시 그룹(epoxy group), 티올 그룹(thiol group), 아미노 그룹, 카복시 그룹, 및 하이드록시 그룹으로 구성된 그룹으로부터 선택된 말단 작용기를 가진 실란화 제제(silanizing agent)로 산소-결핍된 산화아연 층의 하이드록실 그룹을 실란화하여(silanization) 생산된다.

[0098] 예를 들어, 도 1의 단계 (4)에서 보여준 대로, 상기 실란화 제제는 에폭시-말단화된 실란화 제제, (3-글리시딜 옥시프로필)트리메톡시실란((3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilane, GPS)) 이다. GPS를 산소-결핍된 산화아연 층에 흡착시키는 프로토콜은 하기 재료 및 방법에 서술된다.

[0099] 다른 실시예에서, 표면 수정 제제(surface modification agent)는, (3-머캅토프로필)트리메톡시실란((3-mercaptopropyl)trimethoxysilane, MTS)), (3-아미노프로필)트리메톡시실란((3-aminopropyl)triethoxysilane, APTES)), 및 *N*-(2-아미노에틸)-3-아미노프로필-트리메톡시실란(*N*-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane, AEAPTS)) 으로 구성된 그룹으로부터 선택될 수 있다.

## [0100] 분석물 결합 부위(Analyte Binding Site)

[0101] 도 1의 단계 (5)에서 보여준 대로, 산소-결핍된 산화아연 층에 지금 실란화된 표면은 추가로 생물학적 샘플로부터 바람직한 생체 분석물의 선택적인 결합을 위한 결합 부위로서 작용하도록 각 고정된 실란화 제제의 말단 끝에 적절한 결합체 또는 바이오분자를 고정시켜 수정된다.

[0102] 예를 들어, 그러한 바이오분자에는 단백질, 펩티드, 리포-펩티드(lipo-peptide), 단백질-결합 탄수화물 또는 단백질-결합 리간드이다.

[0103] 한 실시예에서, 상기 바이오분자는 포획 단백질(capture protein)이다.

[0104] 적절하게, 상기 포획 단백질은 단백질-결합 스캐폴드(protein-binding scaffold), T-세포 수용체, TCR의 결합-단편(binding-fragment of a TCR), 가변 림프구 수용체(variable lymphocyte receptor), 항체 및/또는 항체의 결합-단편이다.

## [0105] 단백질 결합 스캐폴드(Protein Binding Scaffolds)

[0106] 단백질 결합하는 스캐폴드는 단백질을 포함하는 다양한 범위의 생체분석물과 결합하는 생존 가능한 분자로서 드러나고 있다. 단백질 결합하는 스캐폴드는 결합 도메인의 상대적인 정렬의 변화없이 지정된 결합 부위 내에서 아미노산 수정을 견딜 수 있는 전형적으로 안정적인 단백질 구조(스캐폴드)를 포함한다. 이 단백질-결합하는 스캐폴드에는(이것에만 제한하지 않으나): 아드넥틴(Adnectins), 아피린(Affilins) ((나노피틴(Nanofitins)) 아

피바디(Affibodies), 아피머 분자(Affimer molecules), 아피틴(Affitins), 알파바디(Alphabodies), 앵타머(Aptamers), 안티칼린(Anticalins), 아마딜로 반복 단백질-기반 한 스캐폴드(Armadillo repeat protein-based scaffolds), 아비머(Avimers), 디자인된 안키린 반복 단백질(Designed Ankyrin Repeat Proteins, DARPins), 피노머(Fynomers), 억제제 시스틴 매듭 스캐폴드(Inhibitor Cystine Knot (ICK) scaffolds), 누즈 도메인 펩티드(Kunitz Domain peptides), 모노바디(Monobodies) 및 나노피틴(Nanofitins)이 포함된다.

[0107] 아피린(Affilins)은 약 20kDa의 인공적으로 만들어진 단백질이다. 여기에는 여덟 개의 표면-노출된 조작 가능한 아미노산을 가진, 인간 유비퀴틴(human ubiquitin) 및 척추동물 감마-B 크리스탈린(gamma-B crystalline)과 구조적으로 관련된 스캐폴드가 포함된다. 아피린은 부위-지정 돌연변이 제작(site-directed mutagenesis) 및 파지 디스플레이 라이브러리(phage display libraries)와 같은 기술을 사용하여 표적 생체분석물과 특별히 결합하도록 디자인될 수 있고 및 많은 다양한 분자에 결합하도록 특별히 맞출 수 있다.<sup>[10]</sup>

[0108] 아피바디(Affibodies)는 약 6kDa의 단백질로 두 개의 알파-헬릭스(alpha-helices) 결합 도메인에 위치해 있는 13개 아미노산 잔기 중 하나 또는 그 이상이 수정되어 있는 IgG 아이소타입 항체의 Z 도메인의 단백질 스캐폴드를 포함한다.<sup>[11]</sup>

[0109] 아피머 분자(Affimer molecules)는 약 12 내지 14kDa의 단백질로 시스타틴(cystatins)의 시스테인 프로테아제 억제제 계열(cysteine protease inhibitor family)로부터 유래한 단백질스캐폴드를 활용한다. 아피머 분자는 표적-특이적으로 결합하도록 적응시킬 수 있는 N-말단 서열에 추가하여 두 개의 펩티드 루프 부위(peptide loop regions)를 포함한다. 결합 부위에 1010 아미노산 조합을 가진, 아피머 분자는, 파지 디스플레이 라이브러리 및 적절한 기술을 사용하여 생성될 수 있다.

[0110] 아피틴(Affitins)은 66 아미노산 잔기의 단백질(약 7kDa)이며 및 *설포로버스 에시도칼다리우스(Sulfolobus acidocaldarius)*에서 발견된 DNA 결합 단백질 Sac7d로부터 유래한 단백질 스캐폴드를 사용한다. 이들은 비진핵 세포 배양으로부터 시험관 내에서 쉽게 생산되며 및 과량의  $3 \times 10^{12}$  구조적 변이체를 생산하도록 돌연변이 되게 할 수 있는 14 결합 아미노산 잔기를 함유한다.<sup>[13]</sup> 이들 분자들과 특별히 결합하는 종을 동정하기 위하여 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance)과 같은 스크리닝 기술이 사용될 수 있다.

[0111] 알파바디(Alphabodies)는 대략 10kDa 분자이고, 대부분의 거대분자와는 달리, 세포막을 통과할 수 있고(고정되지 않았을 때) 및 그러므로 세포 내 및 세포 외 분자에 결합할 수 있다. 알파바디의 스캐폴드는 자연적인 구조와는 비슷하지 않은 세 개의 알파-헬릭스(alpha-helices (A, B 및 C))를 가진 컴퓨터를 사용하여 디자인된 코일-코일 구조(coiled-coil structures)에 근거한다. A 및 C 알파 헬릭스에 있는 아미노산은 특이적인 항원을 표적하도록 수정될 수 있다.

[0112] 단백질에 결합을 위한 앵타머(Aptamers)에는 일련의 핵산(DNA, RNA 및 XNA) 및 펩티드가 포함되며, 이는 특정한 표적 분자에 결합에 대한 스크리닝이 될 수 있다. 핵산 앵타머의 데이터 베이스<sup>[15]</sup>는 시험관 내 동정된 DNA 앵타머의 선택을 하게 한다. 펩티드 앵타머는 일반적으로 안정적인 단백질 스캐폴드 프레임 내 루프 구조(("프레임에 루프(loop on a frame)"))에 박혀 있는 짧은 아미노산 서열로 구성된다. 전형적으로, 5 내지 20 잔기의 펩티드 루프는 표적 분자에 선택적인 결합의 다양성 소스이다. 조합 라이브러리(combinatorial libraries) 및 이스트-투-하이브리드 스크리닝(yeast-two hybrid screening)과 같은 기술이 펩티드 앵타머를 생성하고 및 스크리닝하는데 사용될 수 있다. 펩티드 앵타머의 생성 및 스크리닝을 위한 다른 기술들이 문헌에 서술되어 있다.<sup>[16]</sup>

[0113] 안티칼린(Anticalins)은 리포칼린(lipocalins)으로부터 유래된 단백질 결합 분자이다. 전형적으로, 안티칼린은 항체보다 더 작은 분자에 결합한다. 안티칼린을 스크리닝하고 및 개발하는 방법들은 문헌에 서술되어 있다.<sup>[17]</sup>

18]

[0114] 아마딜로 반복 단백질-기반한 스캐폴드(Armadillo repeat protein-based scaffolds)는 아마딜로 도메인(armadillo domain)이 특징이며, 약 42 아미노산의 아마딜로 반복으로 구성되고, 각 세 개의 α-헬릭스로 구성된 슈퍼-헬릭스 반복 유닛으로 형성된다. 보존적인 결합 도메인 내의 잔기의 수정은 표적-특이적인 결합체(binder)를 선택하는 데 사용될 수 있는 일련의 조합 라이브러리를 제조하도록 한다.<sup>[19]</sup>

[0115] 아비머(Avimers) ((아비디티 멀티머(avidity multimers), 맥시바디(maxibodies) 또는 낮은-밀도 리포프로테인 수용체(low-density lipoprotein receptor, LDLR) 도메인 A 라고도 알려진))는 일련의 시스테인-풍부한 세포

표면 수용체 단백질의 A 도메인에 기반을 둔 적어도 두 개의 30 내지 35 아미노산 길이의 펩티드를 포함한다. A 도메인의 수정은, 연결된 펩티드의 수가 아비머 당 가능한 표적의 수를 결정하게 하면서, 같은 표적 또는 표적에 걸쳐서 일련의 에피토프(epitopes)에 직접적인 결합을 하게 한다. 일련의 아비머 파지 디스플레이 라이브러리가 크리에티브 바이오랩(Creative Biolabs)과 같은 상업적인 라이브러리를 포함하는 이 분야 기술에서 알려졌다.

[0116] 디자인된 안키린 반복 단백질(Designed Ankyrin Repeat Proteins, DARPins)은 알려진 안키린 단백질(ankyrin proteins)로부터 유래한 제작된 결합 단백질이다. DARPins을 스크리닝 하고 및 동정하는 방법은 문헌에 서술되어 있다.<sup>[20, 21]</sup>

[0117] 억제제 시스틴 매듭 스캐폴드((Inhibitor Cystine Knot (ICK) scaffolds))는 미니단백질 계(30 내지 50 아미노산 잔기 길이의)이며 이는 높은 서열 다양성을 가진 루프 시리즈를 연결하는 세 개의 이황화결합(disulphide bridges)를 포함하는 안정적인 3-차원 구조를 형성한다. 억제제 시스틴 매듭은 노틴(knots); 사이클로티드(cyclotides) 및 성장 인자 시스테인-매듭(growth factor cysteine-knots)의 세 부류를 포함한다. 이 분야 기술에서 노틴 데이터 베이스(KNOTTIN database, www.dsimb.inserm.fr/KNOTTIN/) 와 같은 데이터베이스가 알려져 있으며, 이는 이들의 서열, 구조 및 기능과 같은 알려진 노틴 및 사이클로티드의 특정한 성질을 개시한다. 추가로, ICKs 를 생산하는 방법 및 결합을 스크리닝하는 방법들이 문헌에 서술되어 있다.<sup>[22]</sup>

[0118] 모노바디(Monobodies)((상표 이름 아드넥틴(AdNectins)으로도 또한 알려짐))는 다양하고 조절 가능한 가변 그룹을 가진 FN3((피브로넥틴 타입 III 도메인 (fibronectin type III domain)) 스캐폴드를 사용한다. 아드넥티스(Adnectis)는 항체 가변 도메인 및 베타-시트 루프(beta-sheet loop)를 항체와 공유한다. 모노바디의 결합 친화력은 다양화될 수 있으며 mRNA 디스플레이(mRNA display), 파지 디스플레이(phage display) 및 이스트 디스플레이(yeast display)와 같은 시험관 내 진화 방법(*in vitro* evolution methods) 으로 맞춤형될 수 있다. 모노바디를 스크리닝하고 및 생산하는 방법들이 문헌에 서술되어 있다.<sup>[23, 24]</sup>

#### [0119] 항체 및 항체 단편(Antibodies and Antibody Fragments)

[0120] 어떤 실시예에서, 생체 분석물의 결합 부위는 항체, 또는 이의 결합 단편이다. 항체들은 단백질 결합하는 분자로서 이들은 단일 개체에서 잠재적으로  $10^{11}$  내지  $10^{12}$  와 같은 많은 유일한 분자들의 본보기적인 다양성을 가지고 있으며 개체들 사이에는 유전적 다양성이 있어 추가의 다양성이 있도록 한다. 생체 내에서 항체 다양성은 V(D)J 연결에서 일련의 유전자의 무작위 재조합에 의해 유도된다.

[0121] 항체의 결합은, 상보성결정부위(complementarity-determining region, CDR) 1, 2 및 3으로 불리는 중사슬 및 경사슬의 세 부위의 추가변 부위에 의해 주로 결정된다. 그러므로, 각 성숙된 항체는 여섯 개의 CDRs((가변 중사슬(VH) CDR1, CDR2 및 CDR3 및 가변 경사슬(VL) CDR1, CDR2 및 CDR3))를 갖는다. 이들 추가변 부위는 3-차원 항원-결합 포켓을 형성하고, CDR들, 주로 CDR3에 있는 특정한 아미노산에 의해 결정되는 항체의 결합 특이성을 가진다.

[0122] 특정한 생체분석물에 대한 항체는 상업적으로 얻을 수 있거나 또는 이 분야 기술에서 알려진 방법으로 생성될 수 있다. 예를 들어, 특정한 생체분석물에 대한 항체는 일반적으로 문헌에 공개된 방법을 사용하여 제조될 수 있다.<sup>[25]</sup>

[0123] 개체 내에서 생성된 항체의 특이성, 결합력 및 친화력은 친화력 성숙(affinity maturation) 과 같은 시험관 내 공정을 통해 수정될 수 있다.<sup>[26]</sup> 그러므로, 생체 내 유래한 항체는 뚜렷한, 그러나 직계로 관련된 항체를 생산하기 위하여 추가로 수정될 수 있다. 따라서, “항체” 라는 용어는 생체 내 유래한 항체 및 생체 내에서 생성된 항체에 비교하였을 때 유일한 서열을 갖는 그러한 CDR 결합 부위를 갖도록 수정하기 위하여 돌연변이 과정을 거친 시험관 내 유래한 분자를 포함한다.

[0124] 항체라는 용어는 또한 낙타과(camelids), 상어(shark) 및 턱돔과(jawfish)와 같은 종으로부터 생성된 비-전통적인 항체도 포함한다. 그러므로, 항체라는 용어는 낙타과 항체, IgNAR들 및 가변 림프구 수용체(variable lymphocyte receptors, VLRs)를 포함하는 중사슬 항체를 포함한다. 추가로, 이들은 이들의 결합부분(VNARs-IgNARs의 단일 결합 부분과 같은)으로 쪼개질 수 있거나 또는 재조합적으로 융합 단백질에 통합될 수 있다. 그러한 비-전통적인 항체를 생성하고 및 적응시키기 위한 방법들이 문헌에 서술된다.<sup>[27, 28]</sup>

[0125] **항체 결합 단편(Antibody Binding Fragments)**

[0126] 어떤 실시예에서, 생체분석물 결합 부위는 항체결합 단편이다. 항체 결합 단편은 항체로부터 유래할 수 있거나 또는 항체 또는 항체 단편의 CDR들과 동일한 서열로 재조합적으로 생성될 수 있다. 정말로, 이들 CDR들은 친화력 성숙한 항체로부터 올 수 있으며 및 그러므로 생체 내 유래한 항체와 동일하지 않을 수 있다.

[0127] 항체는 4개의 사슬을 포함하고(두 개의 중사슬 및 두 개의 경사슬) 및 Fc(fraction crystallisable, 단편 결정화 가능) 및 Fab(fraction antibody, 항체 단편) 도메인으로 분리될 수 있다. 항체의 Fc 부분은 Fc 수용체 및 보완 시스템(complement system)과 상호작용한다. 결과적으로, Fc 부분은 항체의 면역 기능에 중요하다. 그러나, Fab 부분은 항체의 결합부위를 함유하며 및 바람직한 에피토프(epitope)에 대한 항체의 특이성에 결정적이다.

[0128] 따라서, 어떤 실시예에서, 생체 분석물의 결합 부위는 항체의 Fab 단편이다. Fab 단편은 개별적인 Fab 단편일 수 있거나(즉, 항체 단편은 이황화결합(disulphide bridges)를 연결하지 않고 생성된다) 또는 이황화결합을 통해 연결되는 항체의 두 개의 Fab 단편을 포함하는 F(ab')<sub>2</sub>가 될 수 있다. 이들 단편은 전형적으로 펩신(pepsin)과 같은, 소화 효소를 사용하여 항체를 절편화하여 생성된다. 방법들은 문헌에 서술되어 있다.<sup>[29]</sup>

[0129] 항체의 각 Fab 단편은 각 세 개의 CDR를 포함하는 VH 및 VL 사슬로 총 6개의 CDR를 가지고 있다. 개별 VH 및 VL 사슬(각 단지 세 개의 CDRs을 포함하는)은 높은 친화력을 가지고 특이적으로 결합하는 것을 보여주었다. 전형적으로, 개별적인 결합 부위는 단일 항체 도메인 (single antibody domains, sdAbs)으로서 알려져 있다. 다른 한편으로, VH 및 VL 사슬은 링커를 통해 연결될 수 있어 단일-사슬 가변 단편 (single-chain variable fragment) ((scFv - 디아바디(diabody)라고도 알려짐))으로서 알려진 융합 단백질을 형성한다. Fab와는 달리, scFvs는 항체로부터의 단편이 아니고, 오히려 전형적으로 항체의 CDR 및 프레임워크 부위에 기반하여 재조합적으로 형성된다. 추가로, sdAbs는 또한 재조합적으로 생산될 수 있으며 및 더 큰 융합 단백질의 결합 부분을 형성하며 이는 결합 부위를 안정화하고, 감지 요소 또는 중간층에의 고정을 개선 또는 촉진하고, 예를 들어, 결합 부위의 유연성을 제공하거나 또는 생체분석물의 결합 부위의 길이를 최적화하여 그러므로써 생체분석물의 항원성 부위에 접근하도록 하여 결합을 개선하게 작용할 수 있는 부분을 또한 포함한다. 따라서, 어떤 실시예에서, 생체분석물 결합 부위는, scFv 또는 sdAb이거나 또는 이를 포함한다. scFv는 디-scFv(di-scFv) 또는 트리-scFv(tri-scFv)와 같은 다가(multivalent) scFv를 형성하도록 함께 연결되어 있는 다중 VH 및 VL 사슬을 포함할 수 있다.

[0130] 특정한 생체 분석물에 대한 항체 및 항체 단편, 또는 항체 유래한 서열을 포함하는 융합 단백질은 상업적으로 얻어질 수 있거나 또는 상기에 논의된 것과 같은 이 분야에서 알려진 방법에 의해 생성될 수 있다.

[0131] **단백질 및 수용체(Proteins and Receptors)**

[0132] 단백질과 상호작용하고 및 단백질에 결합하는 단백질 수용체 또는 리간드는 생체분석물 결합 부위로서 사용될 수 있다. 그러한 수용체 및 리간드(ligands)에는 전체 수용체 또는 리간드, 또는 이의 특정한 단편(예를 들어, 수용체 또는 리간드의 결합 도메인을 포함하는 단편)이 포함된다. 특별하게-구상된 수용체에는 인터루킨(interleukins)과 같은, 사이토카인, 또는 면역 시스템의 상태에 대한 유용한 정보를 줄 수 있는 케모카인(chemokines) 수용체가 포함된다. 어떤 실시예에서, 수용체 또는 리간드(또는 이의 단편)는 병합될 수 있어 융합 단백질을 형성한다.

[0133] 예를 들어, 인터루킨-6(IL-6)는 염증성 다능성 사이토카인이고 및 암 치료 동안에 면역 반응을 모니터링하기 위하여 사용될 수 있는 중요한 바이오마커이다. 이는 또한 정신적인 스트레스 및 인슐린 활성을 모니터링하기 위하여 사용될 수 있다.

[0134] 예를 들어, 발명자들은 IL-6의 선택적인 인식 및 결합을 위해 항-인터루킨-6(IL-6) 항체를 사용할 때 좋은 결과를 얻었다.

[0135] 예를 들어, 발명자들은 CRP의 선택적인 인식 및 결합을 위해 항-C-반응성 단백질(C-reactive protein, CRP) 항체를 사용할 때 좋은 결과를 얻었다.

[0136] **요약(SUMMARY)**

[0137] 요약하면, 상기 서술된 비-침습성 전도성 측정 센서는 단순한 평면-내 두-단자 전극 기하학적 구조로 향상화된 수동적인 전자 장치이고, 여기서 센서의 감지 요소는 센서 기관의 표면에 적용되고 및 이어서 인간 타액 및/또

는 땀과 같은 체액에서 검출될 하나 또는 그 이상의 생체분석물에 대하여 선택적인 특정한 생체분석물 결합 부위로 기능화 된 산소-결핍된 금속 산화물 박막의 형태를 취한다. 센서에 걸쳐서 전압이 적용될 때, 생체분석물과 생체분석물 결합 부위 사이에 형성된 복합체와 산소-결핍된 금속 산화물 박막 층 사이에 전하 이전(charge transfer)의 결과로서 생산된 감지 요소의 전도성의 변화에 비례적인 전기적 신호가 발생된다. 이 전기적 신호는 체액 내에 존재하는 표적 바이오마커 또는 생체분석물의 수준과 동일시할 수 있다.

[0138] 이제 다음은 상기 서술된 비-침습성 전도성 측정 센서를 사용하여 체액에서 표적 생체분석물의 수준을 검출하는 방법의 서술이다.

#### [0139] 검출 방법(Detection Method)

[0140] 본 발명의 다른 바람직한 실시예에 따라, 제공하는 것은 생체분석물을 검출하는 방법이다.

[0141] 간략하게, 산소-결핍된 금속 산화물 기반한 센서를 사용하여 생체분석물을 검출하는 방법은 다음의 단계를 포함한다: (i) 산소-결핍된 금속 산화물-기반 한 감지 요소를 생체분석물을 포함하는 체액의 샘플 용액과 접촉시키고; (ii) 센서에 걸쳐서 전압을 적용하고; 및 (iii) 전류 소스 계량기(current source meter)를 사용하여 언급된 생체분석물이 산소-결핍된 금속 산화물 감지 요소의 표면에 있는 생체분석물 결합 부위에 결합하였을 때 생체분석물의 검출에 해당하는 전도성 변화에 비례적인 단자 전극 쌍 사이에 생성된 전기적 신호를 검출한다.

#### [0142] 실시예 (Examples)

#### [0143] 항원 농도 의존 연구(Antigen concentration dependent study):

[0144] IL-6 및 CRP 항원은 둘 다 장치의 베이스라인 저항(baseline resistance)에 관하여 농도 의존적인 저항 변화를 보인다. 베이스라인 저항은 항원 첨가 이전에 항체 고정된-GPS 실란화된(silanized) 센서에 대하여 측정된다. 저항 변화는 IL-6 및 CRP 항원 둘 다에서, 항원 농도의 함수로서 직선 관계(linear correlation)가 관찰되었다 (도 2). IL-6 및 CRP의 반응도(즉, 커브의 기울기)는 각각 5.1 및 4.1 %/M이다. 이 값은 항-IL-6 항체-고정된 ZnO 센서의 IL-6 항원 검출에 대한 민감도가 항-CRP 항체-고정된 ZnO 전도성 측정 센서가 CRP 항원 검출하는 것에 비교하여 더 큰 것을 보여줌을 제시한다. 항원 용액의 매트릭스로부터의 기여도를 측정하기 위하여, 저항은 두 타입의 항체-고정된 ZnO 센서에서 PBS 용액에 대하여 측정되었다. PBS 용액의 존재 하에서 두 타입의 항체-고정된 센서에서의 저항의 변화는 1% 이하이다. 그러므로, 저항의 변화에서 항원 용액의 매트릭스로부터의 기여도는 무시할 만하다.

[0145] 둘 다의 항원에서, 비-침습성 전도성 측정 ZnO 센서는 건강한 인간 체액 이하의 농도에서까지도 검출 가능한 반응을 보여주었다. 건강한 인간 땀에서 보고된 IL-6 농도는 대략 0.38 pM(10ng/L)<sup>[30]</sup> 이고 및 건강한 인간 타액에서 CRP 농도는 대략 12 pM(285ng/L) 이다.<sup>[31]</sup> ZnO 전도성 측정 센서는 건강한 인간 땀의 IL-6 농도보다 100배 더 낮은 IL-6 농도 4 fM에서 9.2% 저항 변화를 보인다. 비슷하게, 센서에 의해 검출된 가장 낮은 CRP 농도(13 fM)에서 저항의 변화는 ~12.5%이며 이는 건강한 인간 타액에서의 CRP 농도보다 거의 1000배 더 낮다. 건강한 인간 체액에서보다 훨씬 낮은 농도에서 반응의 이 높은 민감도는 인간 체액에서 생체분석물을 검출하는 데 있어서 ZnO-기반한 전도성 측정 센서의 중요성을 분명하게 제시한다.

#### [0146] 교차-선택성 연구 1(Cross-selectivity study 1):

[0147] 다른 항원 존재 하에서 각 항체-고정된 장치의 생존력을 결정하기 위하여, 교차-선택성 연구가 수행되었다. 항-IL-6 항체 고정된 장치는 13 pM CRP 존재 하에서 3% 저항 변화를 보였으며 반면에 4 pM IL-6 존재 하에서 CRP 항체 고정된 장치는 3.5% 저항 변화를 보였다(도 4). 이 실험에서 사용된 항원 농도는 건강한 인간 체액에서의 항원의 농도와 가능한 한 아주 가깝게 선택되었다. 두 항원이 장치에 첨가하기 전에 혼합되었을 때, 항-IL-6 항체 고정된 장치는 17.6%의 저항 변화를 보였으며 이는 같은 장치에 있는 4 pM IL-6에 비교하여 ~4% 더 적다. 반대로, 항-CRP 항체 고정된 장치에서 저항 변화는 27.4%이며 이는 같은 장치에 있는 13 pM CRP에 비교하여 ~3% 더 높다. 교차-선택성 테스트 결과는 항-IL6 항체 고정된 ZnO 장치는 CRP 항원 존재 하에서 IL-6에 선택적이고 및 항-CRP 항체 고정된 ZnO 장치는 IL-6 항원 존재 하에서 CRP에 선택적임을 분명히 제시한다. IL-6 항체 장치에서 감소한 4% 변화 및 항원 혼합물의 존재 하에서 CRP 항체 장치에서 증가한 3% 변화의 이유는 현재는 불분명하다.

#### [0148] 교차-선택성 연구 2(Cross-selectivity study 2):

[0149] 다른 항원 존재 하에서 각 항체-고정된 장치의 생존력을 결정하기 위하여, 교차-선택성 연구가 수행되었다. 카

텔리시딘(Cathelicidin), B-나트리우레틱 펩티드(B-natriuretic peptide, BNP) 및 카디악 트로포닌 I(cardiac troponin I, cTnI)이 IL-6 및 CRP 항원과 함께 이 연구에 사용되었다. 노미날(nominal) 농도의 프리스틴 항원(pristine antigen) 및 항원들이 혼합물에서 4 pM으로 유지되었다. 항원 혼합물을 해당하는 항원-고정된 장치와 반응시켰을 때, 표적된 항원에서 의미 있게 높은 저항 변화가 관찰되었다(도 6). IL-6 항체-고정된 장치로 처리했을 때 항원 혼합물에 있는 IL-6에서 31% 저항 변화가 관찰되었다. CRP에서는 단지 3% 저항 변화가 관찰되었다. 추가로, CRP 항체-고정된 장치는 항원 혼합물에 있는 CRP에서 30% 저항 변화를 보였으며 반면에 IL-6는 5% 저항 변화에 기여했다. IL-6 및 CRP 항체-고정된 장치 둘 다에서의 저항 변화에 카텔리시딘(Cathelicidin), BNP, 및 cTnI으로부터의 기여는 없었다는 것을 주목하는 것은 중요하다. 해당하지 않는 항체에 대해 IL-6 및 CRP 항원으로부터의 작은 저항 변화에의 기여는 아마도 이들 분자들의 항체에의 물리적 흡착 때문일 수 있다. 카텔리시딘(Cathelicidin), BNP, 및 cTnI에서 저항 변화에 대한 기여가 음성적인 것은 이 세 가지 항원이 연구한 항체들에 결합하지 않았거나 또는 이 세 항원들의 전하 전달 효과(charge transfer effect)는 CRP 및 IL-6 항원의 이들 항체에 대한 기전과는 다른 기전을 채택한다는 것을 제시한다.

[0150] **재료 및 방법**

[0151] **센서의 제작(Fabrication of sensors):**

[0152] 센서는 단단한 (SiO<sub>2</sub>/Si) 기판 및 유연한 플라스틱 (폴리이미드 호일) 기판에, 산화아연(ZnO)와 같은, 금속 산화물의 100nm 두께의 박막을 센서의 감지 요소로서 침착시켜 제작되었다. 감지 요소의 조성물은 반응성 스퍼터링(reactive sputtering)으로 전도성이 0.08-2 지멘스(siemens)/m<sup>2</sup>의 범위, 좀 더 바람직하게는 0.08-0.6 지멘스(siemens)/m<sup>2</sup>를 가진 산소 결핍된 금속 산화물 막이 생산되도록 하여 제작되었다. 전도성 측정을 위하여, 두 개의 단위 평면-내 전극은 감지 면적(sensing area) 16 X 10<sup>-6</sup> m<sup>2</sup>로 패턴화된다(patterned). 분배된(dispersed) 항체 및 항원에 해당하는 전도성의 변화는 상업적인 전류 소스 계량기(current source meter)((케이사이트 테크놀로지(Keysight Technologies)로부터의 B2901A precision source/measure unit))를 사용하여 측정된다.

[0153] **항체 및 항원 용액 제조(Preparation of antibody and antigen solutions):**

[0154] 인터루킨-6(Interleukin-6, IL-6), 항 IL-6(anti-IL-6), C 반응성 단백질(C reactive protein, CRP) 및 항-CRP(anti-CRP)은 상업적 판매처(Sigma-Aldrich)로부터 구입했으며 및 입수된 그대로(as-received) 사용하였다. 카텔리시딘(Cathelicidin), B-나트리우레틱 펩티드(B-natriuretic peptide, BNP) 및 카디악 트로포닌 I(cardiac troponin I, cTnI)은 여러 상업적 판매처(Abcam, MyBioSource, 및 ProSpec Bio)로부터의 소스이고 및 입수된 그대로 사용되었다.

[0155] 항-IL-6 스톡 용액(stock solution)은 1:10<sup>6</sup>로 인산 버퍼 용액으로 희석시켜(PBS, pH 7.4) 산소-결핍된 ZnO 센서의 표면에 고정시켰다. 입수된 그대로의 항 CRP 용액은 고정하기 전에 PBS(pH 7.4)에 1:50로 희석시켰다. 입수된 그대로의 IL-6 분말은 알려진 양의 가압 멸균된 밀리-Q 물(autoclaved Milli-Q water)에 완전히 용해시키고 및 표준 시리즈 IL-6 용액을 제조하기 위하여 pH 7.4 PBS 용액에 희석하였다. 제조된 IL-6 농도는 4nM, 100pM, 4pM, 100fM, 및 4fM이다. 표준 시리즈 CRP 용액도 또한 입수된 그대로의 CRP 용액을 pH 7.4 PBS에 미리 정해진 부피로 희석시켜 제조되었다. 제조된 CRP 농도는 13nM, 100pM, 13pM, 100fM, 및 13fM이다. 다른 항원의 용액은 비슷한 방법으로 제조되었다.

[0156] **GPS-실란화(silanized) 센서의 제조(Preparation of GPS-silanized sensors):**

[0157] (3-글리시딜옥시프로필)트리메톡시 실레인((3- glycidyloxypropyl)trimethoxy silane, GPS))을 사용한 산소-결핍된 금속 산화물 센서의 표면에 실란화(silanization)는, 침습성 센서를 위해서라도, 이전에 보고되었다.<sup>[32]</sup> 여기서, ZnO의 실란화는 보고된 실란화 과정에 몇 가지 수정하여 수행되었다. 간략하게, 신선하게 제조된 ZnO 장치는 ZnO 표면에 있는 하이드록실 그룹을 활성화하기 위하여 <sup>0</sup>2 플라즈마(plasma)(Plasma Cleaner PDC-002, Harrick Plasma)에 10 분 동안 노출시켰다. 그 후, 20 μL의 신선하게 제조된 GPS 용액을 AI 호일에 떨어뜨리고(drop-casted), 이를 진공 건조기(vacuum desiccator) 안에 놓아두고, GPS 증기가 건조기 안에 차도록 두었다. 그 후, <sup>0</sup>2 플라즈마 세척된-ZnO 센서는 GPS 증기에 30-45분 동안 노출시켰다. 플라즈마 세척된-ZnO 센서의 이 GPS 증기에의 노출은 LC 200 글러브박스 시스템(LC 200 Glovebox System) 내부에서 수행되었다. GPS 증기에의 노출이 완결된 후, ZnO 센서의 표

면으로부터 결합되지 않은 실레인 그룹(silane group)을 제거하기 위하여 ZnO 센서는 밀리-Q 물(Milli-Q water)로 2분 동안 철저히 행구었다. 그 후, 실레인 그룹의 ZnO 표면과의 결합을 강화하기 위하여 세척된 ZnO 센서는 150 °C 에서 10분 동안 가열되었다. 이들 GPS-실란화 된 센서는 그 후 항체의 고정화를 위하여 사용되었다.

[0158] (3-글리시딜옥시프로필)트리메톡시 실레인((3- glycidyloxypropyl)trimethoxy silane, GPS)) 또는 대체적인 실란화 제제를 사용하여 산소-결핍된 산화 티타늄 스트론튬(strontium titanium oxide, STO) 센서의 표면에 실란화가 상기 서술된 것과 같은 방식으로 수행될 수 있다는 것을 인지할 것이다.

[0159] **항체의 고정화(Immobilization of antibodies):**

[0160] GPS-실란화된 ZnO 센서에 항체(IgG) 고정은 침습성 센서를 위해서라도, 이전에 보고 되었다.<sup>[32]</sup> 25  $\mu$ L 부피의 신선하게 제조된 1:10<sup>6</sup> 희석된 항-IL-6 용액을 각 신선하게 제조된 GPS-실란화된 ZnO 센서의 표면에 떨어뜨리고 및 IL-6 항체가 ZnO 센서 표면에 고정되도록 2시간 동안 배양시켰다. 그 후, 센서는 pH 7.4 PBS 용액으로 행구어 결합되지 않은 어느 항체가 제거되었다. PBS-세척된 ZnO 센서는 그 후 <sup>N</sup>2 가스 흐름(stream)에서 건조되었다. 이들 항-IL-6 항체 고정된 센서들은 IL-6 항원 농도 및 교차-선택성 측정을 위해 사용되었다. CRP-고정된 GPS-실란화 된 ZnO 센서를 제조하기 위하여 25  $\mu$ L의 신선하게 제조된 1:50 희석된 항-CRP 용액을 사용하여 같은 공정이 이어졌다.

[0161] **항원의 전도성 측정(Conductometry of antigens)**

[0162] 항체-고정된 ZnO 센서의 베이스라인 전도성(baseline conductance) 이 항원 첨가 전에 측정되었다. 15  $\mu$ L 부피의 항원 용액을 항체-고정된 ZnO 센서의 표면에 떨어 뜨리고(drop casted) 및 10분 동안 배양시켰다. 그런 시간 후에, 센서 위에 남은 항원 용액이 제거되고 및 표면은 <sup>N</sup>2 가스 흐름(stream) 하에서 건조되었다. 이어서 각 농도에서 전도성 측정이 따랐다. 교차-선택성 측정을 위해, 4 pM의 IL-6 용액(15  $\mu$ L)이 항-CRP 항체 고정된 ZnO 장치에 떨어뜨려졌고 및 13 pM CRP 용액(15  $\mu$ L)이 항-IL-6 항체 고정된 ZnO 장치에 떨어뜨려졌다. 교차-선택성 측정을 위해 미리-혼합된 용액에서 IL-6 및 CRP의 노미날 농도(nominal concentrations)는 각각 4 pM 및 13 pM 이었다.

[0163] **장치의 저장 수명 연구(Device shelf-life study)**

[0164] GPS-실란화된 장치는 적어도 15개월 동안 안정적이다. 이 결론은 15개월 된 (450일) 장치에서 얻어진 IL-6 및 CRP 항원의 저항 변화에 기반하여 유래되었다(도 7). 이 두 타입의 항원에서 저항 변화는 이들의 농도와 직선상 변이를 보였다. 비슷한 직선 경향이 이 두 타입의 항원에 대하여 신선하게 제조된 장치(0일)에서 관찰되었다. 선택된 항원의 주어진 농도에 대한 저항 변화의 표준 오차가 밀접하게 겹치는 것은 선택된 항원의 주어진 농도에서 신선한 및 오래된 장치의 평균 저항 변화 값 사이에 통계적 차이는 없다는 것을 강하게 제시한다.

[0165] **인공 타액에서 장치의 수행능력(Device performances in artificial saliva)**

[0166] IL-6 및 CRP 항체 고정된-장치는 인공 타액에서 해당하는 항원을 성공적으로 검출하였다 (도 8). 두 타입의 항원에서 저항의 변화는 이들의 농도에 대해 직선적으로 변화하였다. 인공 타액에서 IL-6 및 CRP에 대한 반응성(즉, 기울기)은 1.6(%/M) 및 1.2(%/M)이며, 장치는 인공 타액에서 CRP 보다 IL-6에 더 민감함을 각각 제시한다. 주어진 이들 항원 농도에서 저항 변화는 PBS에서의 저항 변화에 비해 인공 타액에서 의미 있게 낮다. 인공 타액으로부터 커다란 배경 기여도(IL-6에 대해서는 83% 및 CRP에 대해서는 85%)가 의미 있게 더 낮은 저항 변화에 원인 된다. 이는 PBS에 비교하여 인공 타액에서의 높은 이온 조성 때문일 수 있으며 이는 좀 더 높은 전하 이전 효과(higher charge transfer effect)의 원인이 된다. PBS 에서와 비슷한 효과로, 이 장치들이 해당하는 항체와 고정되었을 때 이들 장치는 인공 타액에서 표적된 항체에 대한 의미 있는 선택성을 보인다. 한 예로, 인공 타액에서 제조된 항원 혼합물에서 IL-6에 대한 저항 변화는 IL-6 항체-고정된 장치의 존재 하에서 다른 항원보다 의미 있게 더 높다. 비슷하게, CRP 항체 고정된 장치는 인공 타액에서 제조된 항원 혼합물에서 CRP 항원에 대하여 좀 더 높은 저항 변화를 보인다.

[0167] **장점(ADVANTAGES)**

[0168] 앞선 논의로부터, 이 분야 기술의 전문가에게는 본 발명의 여러 가지 실시예의 비-침습성 산소-결핍된 금속 산화물-기반한 전도성 측정 센서는 현존하는 이들의 상대물(counterparts)에 비해 많은 장점을 제공한다는 것이 분명할 것이다.

- [0169] 정말로, 산소-결핍된 금속 산화물-기반한 전도성 측정 센서는 인간 체액에서 이들의 각각의 수준보다 더 낮은 표적된 생체분석물의 농도를 측정할 수 있다. 이 목적으로, 발명자들은 그러한 센서들은 개인화되고 및 재사용될 수 있는 헬스케어 모니터로서 널리 그 응용을 찾을 수 있는 비용-효율적이고, 생체-호환성이 있고 및 기능적인 센서의 개발을 위한 중요한 잠재력을 제공한다는 것을 믿는다. 실제로, 발명자들은 이들 센서가 다음 사항에 중요한 영향을 끼칠 수 있다는 것을 널리 기대한다:
- [0170] 1. 심혈관 질환 경고: 이들 센서를 사용한 정기적인 테스트는 심장 마비 또는 뇌졸중에 앞서 개입하기 위한 염증성 바이오마커의 높아진 수준을 경고할 것으로 기대한다.
- [0171] 2. 암 치료: 이 센서들은 암 및 치료에 대한 바이오마커 수준을 모니터링하는 데 매우 유용할 것으로 예상된다; 및
- [0172] 3. 복부 장애 치료: 이 센서들은 또한 CRP 항원의 감지를 통해 간 질환(liver disorder)과 같은 복부 장애를 감지하는 것이 기대된다.
- [0173] 산소-결핍된 금속 산화물-기반한 전도성 측정 센서는 만약 필요하다면 작용할 수 있는 휴대 가능한 장치로서 만들 수 있는 전통적인 휴대 가능한 통합된 전자기기 및 작용 가능한 전자기기/장치에 통합될 수 있다.
- [0174] 사실, 산소-결핍 금속 산화물-기반한 전도성 측정 센서는 모든 유형의 절연성 및 플라스틱인 기판에 제조될 수 있으며 아직 표적된 바이오마커 또는 생체분석물에 대한 선택성을 여전히 유지한다. 추가로, 이 센서들은 재사용이 가능하여 추가로 비용 이점이 더욱 향상된다.
- [0175] **참고문헌 (REFERENCES)**
- [0176] [1] J. Wang, Z. Wang, B. Huang, Y. Ma, Y. Liu, X. Qin, X. Zhang, Y. Dai, *ACS Appl Mater Interfaces* 2012, 4, 4024.
- [0177] [2] M. Chen, X. Wang, Y. H. Yu, Z. L. Pei, X. D. Bai, C. Sun, R. F. Huang, L. S. Wen, *Appl. Surf. Sci.* 2000, 158, 134.
- [0178] [3] D. Ehre, H. Cohen, V. Lyahovitskaya, I. Lubomirsky, *Physical Review B* 2008, 77.
- [0179] [4] P. V. Nagarkar, P. C. Searson, F. D. Gealy, *Journal of Applied Physics* 1991, 69, 459.
- [0180] [5] H. Nili, S. Walia, A. E. Kandjani, R. Ramanathan, P. Gutruf, T. Ahmed, S. Balendhran, V. Bansal, D. B. Strukov, O. Kavehei, M. Bhaskaran, S. Sriram, *Adv. Funct. Mater.* 2015, 25, 3172.
- [0181] [6] S. Stille, C. Lenser, R. Dittmann, A. Koehl, I. Krug, R. Muenstermann, J. Perlich,
- [0182] C. M. Schneider, U. Klemradt, R. Waser, *Appl. Phys. Lett.* 2012, 100, 223503.
- [0183] [7] H. L. Cai, X. S. Wu, J. Gao, *Chem. Phys. Lett.* 2009, 467, 313.
- [0184] [8] P. A. W. v. d. Heide, Q. D. Jiang, Y. S. Kim, J. W. Rabalais, *Surf Sci.* 2001, 473, 59.
- [0185] [9] H. Nili, S. Walia, A. E. Kandjani, R. Ramanathan, P. Gutruf, T. Ahmed, S. Balendhran, V. Bansal, D. B. Strukov, O. Kavehei, M. Bhaskaran, S. Sriram, *Advanced Functional Materials* 2015.
- [0186] [10] Lorey, S. et al. "Novel Ubiquitin-Derived High Affinity Binding Proteins with Tumor Targeting Properties", *J Bio Chem.* (2014); 289(12): pp.8493-507
- [0187] [11] Feldwisch, J. and Tolmachev, V. "Engineering of affibody molecules for therapy and diagnostics", *Methods in Molecular Biology* (2012); 899: pp103-126.
- [0188] [12] Hoffmann T. et al. "Structure-function studies of an engineered scaffold protein derived from stefin A. I: Development of the SQM variant" (2010) *Protein Engineering, Design & Selection: PEDS*, 23 (5): pp403-13.
- [0189] [13] Mouratou et al. "Remodeling a DNA-binding protein as a specific in vivo inhibitor of bacterial secretin PulD" (2007) *PNAS*. Nov 13; 104(46): 17983-17988.
- [0190] [14] US 2010/0305304 A1.

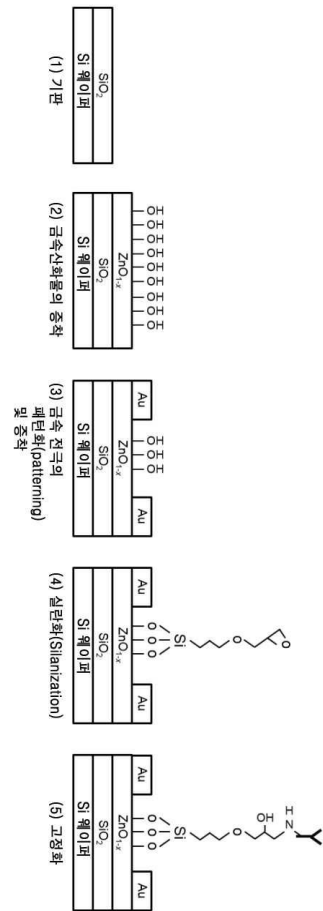
- [0191] [15] *Nucleic Acids Research*, Volume 32, Issue suppl\_1, 1 January 2004, pp.95- 100, <https://doi.org/10.1093/nar/gkh094>.
- [0192] [16] Reverdatto S. *et al.* "Peptide Aptamers: Development and Applications", *Curr Top Med Chem.* (2015), 15(12): pp1082-1101.
- [0193] [17] Gebauer, M. and Skerra, A., "Anticalins: small engineered binding proteins based on the lipocalin scaffold", *Methods Enzymology*, 503 (2012), pp. 157-188.
- [0194] [18] Richter, A. *et al.* "Anticalins: Exploiting a non-Ig scaffold with hypervariable loops for the engineering of binding proteins", *FEBS Letters* (2014), 588(2): pp213-218.
- [0195] [19] Parmeggiani F *et al.* "Designed armadillo repeat proteins as general peptide- binding scaffolds: consensus design and computational optimization of the hydrophobic core." *J Mol Biol.* (2008), 376(5): pp1282-304.
- [0196] [20] Stumpp MT, *et al.* "DARPin: a new generation of protein therapeutics", *Drug Discovery Today* (2008); 13(15-16): pp695-701.
- [0197] [21] Pluckthurn A "Designed ankyrin repeat proteins (DARPin): binding proteins for research, diagnostics, and therapy", *Annual Reviews in Pharmacology and Toxicology* (2015); 55: pp489-511.
- [0198] [22] Moore, S. *et al.*, Protein Engineering for Therapeutics, Part B - Chapter 9, *Methods in Enzymology* (2012), 503; pp.223-251.
- [0199] [23] Park SH *et al.* "Isolation and Characterization of a Monobody with a Fibronectin Domain III Scaffold That Specifically Binds EphA2", *PLoS One* (2015) 10(7) doi: 10.1002/pro.3148.
- [0200] [24] Lipovsek, D. "Adnectins: engineered target-binding protein therapeutics", *Protein Engineering Design & Selection: PEDS*, (2011); 24(1-2):3-9.
- [0201] [25] Howard and Kaser, Making and Using Antibodies: A Practical Handbook, CRC Press, 2007.
- [0202] [26] Li, B. *et al.* "In vitro affinity maturation of a natural human antibody overcomes a barrier to in vivo affinity maturation. *MAbs.* (2014) 6(2): pp.437-45.
- [0203] [27] Nuttall, S., "Overview and discovery of IgNARs and generation of VNARs", *Methods Mol Biol*, (2012) 911: pp.27-36.
- [0204] [28] Vincke C *et al.* "Generation of single-domain antibody fragments derived from camelids and generation of manifold constructs", *Methods Mol Biol.* (2012) 907: pp.145- 76.
- [0205] [29] Sjögren, J. *et al.* "Generating and Purifying Fab Fragments from Human and Mouse IgG Using the Bacterial Enzymes IdeS, SpeB and Kgp.", *Methods Mol Biol.* (2017); 1535: pp.319-329.
- [0206] [30] Cho Sung Bo *et al.*, Label-free and direct detection of C-reactive protein using reduced graphene oxide-nanoparticle hybrid impedimetric sensor, South Korean Patent 101774891 B1 (2016).
- [0207] [31] Yang Ting *et al.*, Electrochemical immunosensor for directly detecting IL-6 (interleukin-6) antigen and application thereof, Chinese Patent 102706939 A (2012).
- [0208] [32] James H. Silver, Sensors for detecting substances indicative of stroke, ischemia, infection or inflammation, US Patent 8,133,698 B2 (2012).
- [0209] **정의(DEFINITIONS)**
- [0210] 명세서에서 범위가 주어질 때마다, 예를 들어, 온도 범위, 시간 범위, 또는 농도 범위, 모든 중간 범위 및 부분 범위(subrange)는 물론, 주어진 범위 내에 포함된 모든 개별적인 값도 이 공개에 포함되려는 의도이다. 어느 부분 범위 또는 여기의 서술에서 포함된 범위 또는 부분 범위 내에 있는 개별 값은 여기의 청구항으로부터 제외될 수 있다는 것이 이해될 것이다.
- [0211] 모든 정의는, 여기서 정의되고 및 사용된 대로, 사전적 정의, 참고문헌으로 병합된 서류에서의 정의, 및/또는

정의된 용어의 보통의 의미에서 조절된다는 것이 이해되어야 한다.

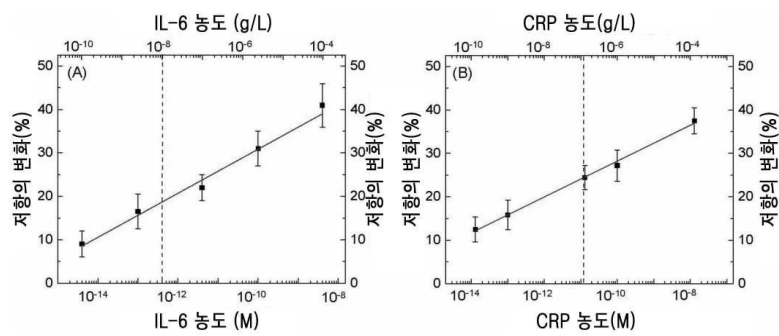
- [0212] 부정관사 “a” 및 “an” 은, 여기 본 명세서에서 사용된 대로, 반대로 분명하게 제시되지 않는 한, “적어도 하나(at least one)” 를 의미하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0213] “및/또는(and/or)” 구절은, 여기 이 명세서에서 사용된 대로, 그렇게 결합된 요소, 즉, 어떤 경우에는 결합하여 존재하고 및 다른 경우에는 분리적으로 존재하는 요소의,
- [0214] “둘 중 하나 또는 둘 다(either or both)” 를 의미하는 것으로 이해되어야 한다. “및/또는” 으로 목록화되어 있는 다중 요소는 같은 방식으로, 즉, 그렇게 결합된 요소의 “하나 또는 그 이상(one or more)” 의 요소로, 간주되어야 한다. 다른 요소들은, 특이적으로 동정된 그러한 요소들과 관계되든 또는 관계되지 않든, “및/또는” 조항에 의해 특별히 동정된 요소 이외에 선택적으로 제시될 수 있다. 그러므로, 비-제한적인 예로서, “및/또는 B” 에 참조는, “포함하는(comprising)” 과 같은 개방형 언어(open-ended language)와 관련하여 사용될 때, 한 실시예에서, A만(선택적으로 B 이외의 요소를 포함하는)을 의미할 수 있으며; 다른 실시예에서, B만(선택적으로 A 이외의 요소를 포함하는)을 의미할 수 있으며; 또 다른 실시예에서, A 및 B 둘 다(선택적으로 다른 요소를 포함하는)를 의미할 수 있다; 등.
- [0215] 발명이 제한적인 수의 실시예와 관련하여 서술되는 동안, 이 분야 기술에 전문가들은 많은 대안, 수정 및 변화가 앞선 서술을 고려하여 가능하다는 것을 인지할 것이다. 따라서, 본 발명은 공개된 대로 본 발명의 정신 및 범위에 들어갈 수 있는 모든 그러한 대안, 수정 및 변이를 포괄하려는 의도이다.
- [0216] 이 명세서에서 “포함하다(comprise)”, “포함하다(comprises)”, “포함하였다(comprised)” 또는 “포함하는(comprising)”이라는 용어가 사용되는 곳에서, 이들은 언급된 특징, 정수, 단계 또는 성분의 존재를 명시하는 것으로 해석되나, 그러나 하나 또는 그 이상의 다른 특징, 정수, 단계 또는 성분, 또는 이들의 그룹의 존재를 배제하는 것은 아니다.
- [0217] 본 발명의 범위를 정의하는 청구항은 다음과 같다:

## 도면

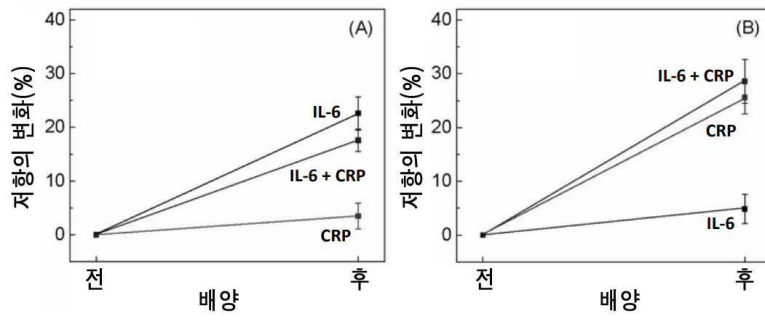
### 도면1



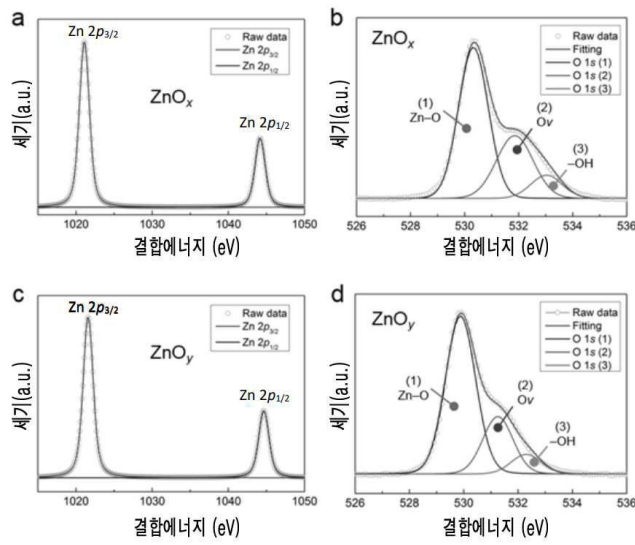
### 도면2



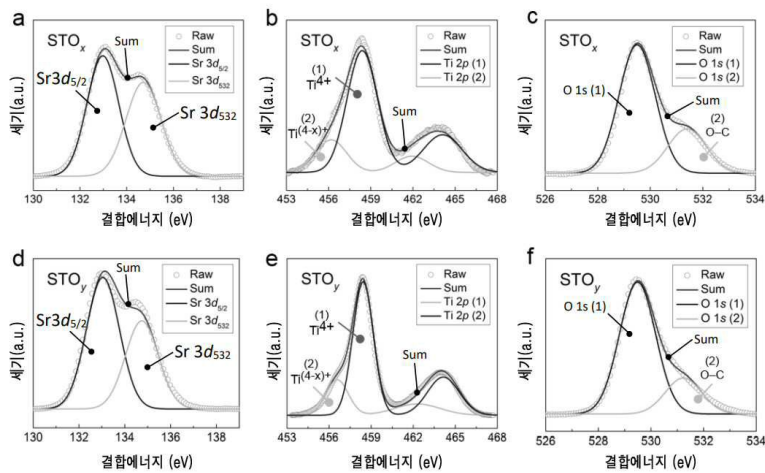
도면3



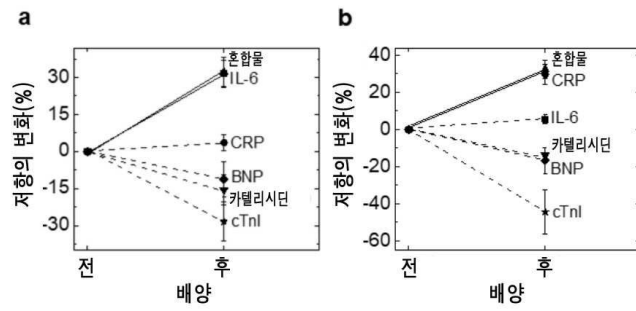
도면4



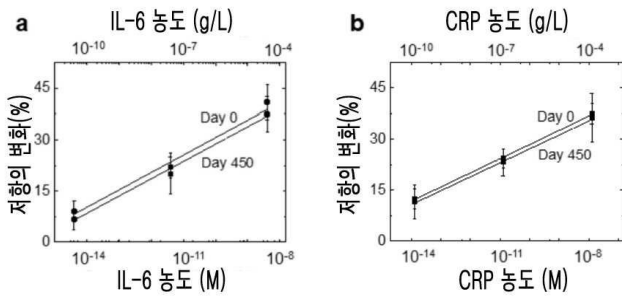
도면5



도면6



도면7



도면8

