(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0074919
(43) 공개일자 2020년06월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08J 9/36 (2006.01) *G01N 33/487* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C08J 9/365 (2013.01)
G01N 33/48721 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0051376(분할)
(22) 출원일자 2020년04월28일
심사청구일자 2020년04월28일
(62) 원출원 특허 10-2018-0163351
원출원일자 2018년12월17일
심사청구일자 2018년12월17일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
천홍구
서울특별시 성북구 안암로 145 (안암동5가, 고려대학교안암캠퍼스), 하나과학관 466호
(74) 대리인
특허법인다나

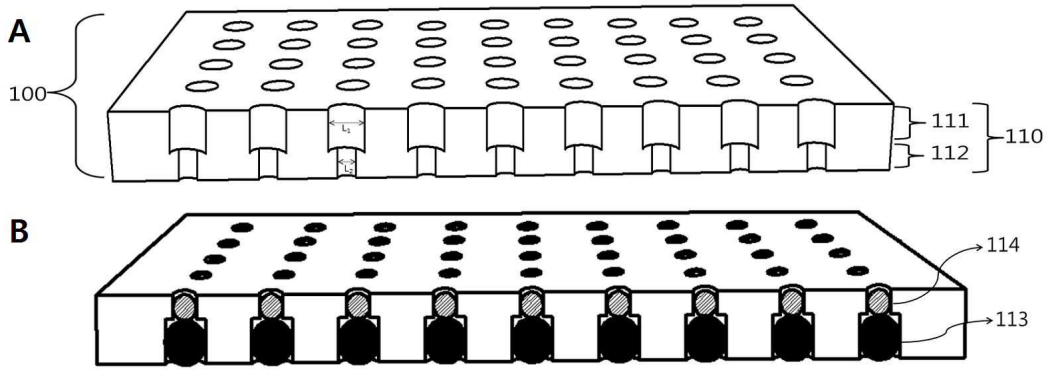
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 **단일 입자 분석을 위한 다공성 막**

(57) 요 약

본 발명은 복수개의 관통형 포어를 포함하는 다공성 막에 관한 것으로, 상기 다공성 막을 사용하면 분석 대상 입자와 반응 입자를 일대일로 반응시킬 수 있으므로 입자 분석의 효율 및 정확성을 증대시킬 수 있다.

대 표 도 - 도1



명 세 서

청구범위

청구항 1

기판; 및

상기 기판에 다각형 또는 원형 패턴으로 형성된 격벽을 포함하고,

상기 격벽 사이의 공간에는 입자(particle)가 위치하는 것인, 비대칭 다공성 막.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 기판은 종이(paper), 셀룰로스(cellulose) 및 유리섬유로 이루어진 군에서 선택되는 재질인 것인, 비대칭 다공성 막.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 격벽은 왁스(wax), 폴리머 및 포토레지스트 (photoresist)로 이루어진 군에서 선택되는 재질인 것인, 비대칭 다공성 막.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 분석 대상 입자 및 이와 특이적으로 결합하는 반응 입자를 일대일로 접촉시킬 수 있는 복수개의 관통형 포어(pore)를 포함하는 다공성 막에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 세포는 다양하고 복잡한 단백질-단백질 상호작용을 통하여 유전자 발현, 세포성장, 세포 주기 조절, 대사 조절, 신호전달 등의 여러 생물학적 기능을 수행함으로써 개체의 생명 현상을 유지하고 있다.

[0004] 대부분의 생물학 연구에 사용되는 세포군 대상 연구 방법은 세포군 내의 개별 세포가 균일한 세포반응을 일으킨다는 가정하에 연구 결과를 분석한다. 그러나 개별세포가 균일한 반응을 일으키지 않을 경우, 평균 측정값에 기반을 둔 결과 분석은 오류를 초래할 수 있다. 실제 개별세포가 균일한 반응을 일으키는 지의 여부는 기술적인 문제로 인해 실험적으로 증명된 경우가 지극히 미미하여 단일 세포 분석을 위한 기술 개발이 필수적이다.

[0005] 단일 세포 분석(single cell analysis)은 단일 세포 수준에서 유전체 특징을 분석함으로써 개별 세포의 이질성을 확인하는 것이다. 시간이 경과하면 세포의 유전자 발현이 변할 수 있고, 세포 사멸에까지 이를 수 있으므로 단일 세포 분석은 생체 환경과 유사한 환경에서 빠르게 진행되어야 한다. 대표적인 단일 세포 분석 방법에는 액적(droplet) 분할 방법과 마이크로웰(microwell) 방법이 있다.

[0006] 액적 분할 방법은 미세유체 채널에서 세포와 세포를 표지할 비드를 액체 방울 상태로 흘려 보내 1:1로 정렬하는 방법이며, 하나의 액적에 두 개 이상의 세포가 들어가는 것을 방지하기 위해서 낮은 농도의 세포를 이용한다. 마이크로웰 방법은 단일 마이크로웰에 세포와 비드를 한 개씩 가두어 1:1로 정렬하는 방법이며, 하나의 웰 안에 두 개 이상의 세포가 들어가는 것을 방지하기 위해 낮은 농도의 세포를 사용한다. 또한, 현미경으로 확인하여 중복된 세포(cell doublet)를 제거하는 과정이 필요하다.

[0007] 상기 두 방법에서 하나의 액적이나 마이크로웰에 한 개의 세포가 들어 있는 비율은 푸아송 분포(Poisson distribution)를 따르므로 세포와 비드가 1:1로 정렬한 비율은 매우 낮다. 액적 방법에서의 1:1 정렬 비율은 5% 내외이고, 마이크로웰 방법에서의 1:1 정렬 비율은 10% 내외이며, 두 방법 모두 1:1 정렬 비율이 매우 낮으

므로 두 개 이상의 세포가 같이 분석될 가능성이 있다. 따라서 기존의 단일 세포 분석 방법을 보완하기 위하여 세포와 비드의 1:1 정렬 비율을 높이기 위한 방법 또는 장치가 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 1. 미국 공개특허 제2015-15506521호

(특허문헌 0002) 2. 국내 등록특허 제10-1002597호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 분석 대상 입자 및 상기 분석 대상 입자와 특이적으로 결합하는 반응 분자가 일대일로 접촉할 수 있는 다공성 막을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 상기 다공성 막의 활용 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 기판 및 상기 기판 위에 형성된 격벽을 포함하는 비대칭 다공성 막을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 양상은

[0015] 복수개의 관통형 포어(pore)를 포함하는 다공성 막에 있어서,

[0016] 상기 포어는 제1 기공부 및 제2 기공부를 포함하고,

[0017] 상기 제1 기공부는 일단이 다공성 막의 일면으로 열려 있고, 제1 입자(particle)를 위치시키며, 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이가 제1 입자 지름의 0.1배 이상 1.5배 이하이고, 가로축의 최대 길이는 제1 입자 지름의 1.0배 이상 1.9배 이하이며,

[0018] 상기 제2 기공부는 일단이 상기 제1 기공부와 연결되고, 타단은 다공성 막의 타면으로 열려 있으며, 상기 제1 입자와 특이적으로 반응하는 제2 입자를 위치시키며, 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이가 제2 입자 지름의 0.1배 이상 1.5배 이하이고, 가로축의 최대 길이는 제2 입자 지름의 1.0배 이상 1.9배 이하이며,

[0019] 상기 제1 기공부 및 제2 기공부는 기공부의 종단면에서 가로축의 길이가 서로 상이한 것인, 다공성 막을 제공한다.

[0020] 본 발명의 다른 양상은

[0021] 복수개의 관통형 포어를 포함하는 다공성 막에 있어서,

[0022] 상기 포어는 제1 기공부 및 제2 기공부를 포함하고,

[0023] 상기 제1 기공부는 일단이 다공성 막의 일면으로 열려 있고, 제1 입자를 위치시키며, 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이가 제1 입자 지름의 0.9배 이하이고, 다공성 막의 일면에서 제2 기공부 방향으로 갈수록 기공부의 횡단면적이 일정 비율로 감소하며,

[0024] 상기 제2 기공부는 일단이 상기 제1 기공부와 연결되고, 타단은 다공성 막의 타면으로 열려 있으며, 상기 제1 입자와 특이적으로 반응하는 제2 입자를 위치시키고, 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이가 제2 입자 지름의 0.9배 이하이며, 다공성 막의 타면에서 제1 기공부 방향으로 갈수록 기공부의 횡단면적이 일정 비율로 감소하는 것인, 다공성 막을 제공한다.

[0025] 본 발명의 또 다른 양상은 상기 다공성 막에서 어느 하나의 기공부에 제1 입자 또는 제2 입자를 고정시키는 단계; 및 입자를 고정시킨 기공부를 분석 대상 시료와 접촉시키는 단계를 포함하는, 시료 분석 방법을 제공한다.

[0026] 본 발명의 또 다른 양상은 상기 다공성 막에서 어느 하나의 기공부에 제1 입자 또는 제2 입자를 고정시키는 단계; 입자를 고정시킨 기공부의 말단을 실링(sealing)하는 단계; 및 입자가 고정되지 않은 기공부를 분석 대상 시료와 접촉시키는 단계를 포함하는, 시료 분석 방법을 제공한다.

[0027] 본 발명의 또 다른 양상은 상기 다공성 막에서 다공성 막에서 제1 기공부 또는 제2 기공부 중 어느 하나의 기공부에 제1 입자 또는 제2 입자를 위치시키는 단계; 상기 입자 각각에 목적 시료를 접촉시키는 단계; 및 상기 고정용 비드가 위치하는 기공부의 반대편 기공부에서 석션(suction)하는 단계를 포함하는, 시료 처리 방법을 제공한다.

[0028] 본 발명의 또 다른 양상은 기판; 및 상기 기판에 다각형 또는 원형 패턴으로 형성된 격벽을 포함하고, 상기 격벽 사이의 공간에는 입자(particle)가 위치하는 것인, 비대칭 다공성 막을 제공한다.

발명의 효과

[0030] 본 발명의 일 예에 따른 다공성 막을 사용하면, 분석 대상 입자 및 상기 분석 대상 입자와 특이적으로 결합하는 반응 입자를 일대일로 반응시킬 수 있으므로 입자 분석의 효율 및 정확성을 증대시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 본 발명의 일 예에 따른 다공성 막(A) 및 상기 다공성 막에 제1 입자 및 제2 입자를 정렬시킨 모습(B)을 나타낸다.

도 2는 원뿔대 형태의 관통형 포어를 갖는 다공성 막의 일 예를 나타낸다.

도 3은 사각뿔대 형태의 관통형 포어를 갖는 다공성 막의 일 예를 나타낸다.

도 4는 제1 기공부 및 제2 기공부가 대칭인 관통형 포어를 갖는 다공성 막의 일 예를 나타낸다.

도 5는 본 발명의 다공성 막에 제1 입자 및 제2 입자를 일대일로 정렬시키는 방법을 나타낸다.

도 6은 본 발명의 다공성 막에 입자를 고정시킨 후 조직 절편과 접촉시키는 과정을 개략적으로 나타낸다.

도 7은 본 발명의 다공성 막에 단일의 입자를 정렬시키고, 목적 시료를 분주하여 석션(suction)하는 과정을 개략적으로 나타낸다.

도 8은 기판 표면에 패턴이 형성된 비대칭 다공성 막의 일 예를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 본 발명을 용이하게 실시할 수 있도록 바람직한 실시예를 상세히 설명한다. 다만, 본 발명의 바람직한 실시예를 상세하게 설명함에 있어, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략한다. 또한, 유사한 기능 및 작용을 하는 부분에 대해서는 도면 전체에 걸쳐 동일한 부호를 사용한다. 한편, 어떤 구성요소를 '포함'한다는 것은, 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있다는 것을 의미한다.

[0035] 도 1은 본 발명의 일 예에 따른 다공성 막의 구조(A) 및 상기 다공성 막의 관통형 포어에 제1 입자 및 제2 입자를 정렬시킨 모습(B)을 나타낸다.

[0036] 도 1의 A에 도시된 바와 같이, 본 발명의 다공성 막(100)은 복수개의 관통형 포어(110)를 포함할 수 있다. 상기 관통형 포어(110)는 제1 기공부(111) 및 제2 기공부(112)를 포함한다. 상기 제1 기공부(111)는 일단이 다공성 막의 일면으로 열려 있고, 기공부의 종단면에서 가로축의 길이(L_1)는 최소 길이가 제1 입자(particle)(113)

지름의 0.1배 이상 1.5배 이하이고, 최대 길이는 제1 입자 지름의 1.0배 이상 1.9배 이하일 수 있다.

[0037] 상기 제2 기공부(112)는 관통형 포어(110)가 형성될 수 있도록 일단이 상기 제1 기공부(111)와 연결되어 있다. 또한, 제2 기공부의 타단은 다공성 막의 타면으로 열려 있고, 기공부의 종단면에서 가로축의 길이(L_2)는 최소 길이가 제2 입자(114) 지름의 0.1배 이상 1.5배 이하이며, 최대 길이는 제2 입자 지름의 1.0배 이상 1.9배 이하일 수 있다.

[0038] 상기 제1 기공부 및 제2 기공부의 직경이 상기 범위보다 작으면, 제1 입자 또는 제2 입자가 기공부 내부에 위치하기 어려운 문제가 발생할 수 있다. 반면, 기공부의 직경이 상기 범위보다 크면, 기공부 내에 제1 입자 또는 제2 입자가 복수개 위치하여 단일 입자 분석에 장애가 될 수 있다.

[0039] 상기 제1 기공부 및 제2 기공부는 각각 제1 입자 및 제1 입자와 특이적으로 반응하는 제2 입자를 위치시키는 공간이며, 제1 기공부 및 제2 기공부는 기공부의 종단면에서 가로축의 길이(각각 L_1 및 L_2)가 서로 상이할 수 있다.

[0040] 도 1의 B에 도시된 바와 같이, 본 발명의 다공성 막에서 제1 기공부는 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이와 가로축의 최대 길이가 서로 동일하여 일정한 길이의 가로축을 가질 수 있고, 상기 일정한 길이는 제1 입자 지름의 1.0배 이상 1.5배 이하일 수 있다. 또한, 상기 제2 기공부는 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이와 가로축의 최대 길이가 서로 동일하여 일정한 길이의 가로축을 가질 수 있고, 상기 일정한 길이는 제2 입자 지름의 1.0배 이상 1.5배 이하일 수 있으며, 제1 입자는 제2 입자보다 지름이 큰 것일 수 있다.

[0042] 도 2 및 3은 각각 원뿔대 또는 사각뿔대 형태의 관통형 포어를 갖는 다공성 막의 일 예를 보여준다.

[0043] 본 명세서에 사용된 용어, '원뿔대'는 원뿔을 밑면에 평행한 평면으로 자를 때 생기는 입체도형 중에서 원뿔이 아닌 부분을 의미하고, '사각뿔대'는 사각뿔을 밑면에 평행한 평면으로 자를 때 생기는 입체도형 중에서 사각뿔이 아닌 부분을 의미한다.

[0044] 원뿔대 또는 사각뿔대 형태의 관통형 포어를 갖는 다공성 막에서 상기 제1 기공부는 기공부의 종단면에서 가로축(L_1)의 최소 길이가 제1 입자 지름의 0.5배 이상 1.2배 이하이고, 가로축의 최대 길이는 제1 입자 지름의 1.0배 이상 1.5배 이하이며, 상기 제2 기공부는 기공부의 종단면에서 가로축(L_2)의 최소 길이가 제2 입자 지름의 0.5배 이상 1.2배 이하이고, 가로축의 최대 길이는 제2 입자 지름의 1.0배 이상 1.5배 이하일 수 있다. 또한, 상기 제1 기공부의 종단면에서 가로축의 최대 길이와 상기 제2 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이는 서로 동일한 것일 수 있다.

[0045] 본 발명에서, 상기 다공성 막은 제1 기공부(111) 및 제2 기공부(112)의 종단면의 형태가 비대칭일 수 있다. 예를 들어 제1 기공부(111)의 종단면은 사각형이고, 제2 기공부(112)의 종단면은 마름모형일 수 있고, 제1 기공부(111)의 종단면은 사각형이고, 제2 기공부(112)의 종단면은 제1 기공부의 종단면보다 크기가 작은 사각형 형태일 수 있다. 이러한 비대칭성으로 인해 제1 입자 및 제2 입자는 각각의 기공부 내에 위치할 수 있다.

[0047] 도 4는 제1 기공부 및 제2 기공부가 대칭 형태인 관통형 포어를 갖는 다공성 막의 일 예를 보여준다.

[0048] 도 4에 제시된 다공성 막에서, 관통형 포어(110)는 상하 대칭 형태인 제1 기공부 및 제2 기공부를 포함한다. 상기 제1 기공부(111)는 일단이 다공성 막의 일면으로 열려 있고, 제1 입자를 위치시키며, 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이가 제1 입자 지름의 0.9배 이하이고, 다공성 막의 일면에서 제2 기공부 방향으로 갈수록 기공부의 횡단면적이 일정 비율로 감소할 수 있다.

[0049] 또한, 상기 제2 기공부(112)는 일단이 상기 제1 기공부와 연결되고, 타단은 다공성 막의 타면으로 열려 있으며, 상기 제1 입자와 특이적으로 반응하는 제2 입자를 위치시키고, 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이가 제2 입자 지름의 0.9배 이하이며, 다공성 막의 타면에서 제1 기공부 방향으로 갈수록 기공부의 횡단면적이 일정 비율로 감소할 수 있다.

[0050] 도 4에 제시된 다공성 막에서, 원뿔대 형태의 제1 기공부 및 제2 기공부가 서로 연결되어 관통형 포어를 형성할 수 있으며, 사각뿔대 형태의 관통형 포어도 형성될 수 있다.

[0051] 또한, 도 4에 제시된 다공성 막에서, 상기 제1 기공부는 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이가 제1 입자 지름의 0.1배 이상 0.9배 이하이고, 가로축의 최대 길이는 제1 입자 지름의 1배 이상 5배 이하이며, 상기 제2 기공부는 기공부의 종단면에서 가로축의 최소 길이가 제2 입자 지름의 0.1배 이상 0.9배 이하이고, 가로축의 최대 길이는 제2 입자 지름의 1배 이상 5배 이하의 길이를 가질 수 있다.

[0052] 본 발명에서, 상기 제1 입자 및 제2 입자는 각각 비드(bead) 또는 세포일 수 있으며, 세포가 용해된 경우 핵산, 지질, 당(saccharide), 항체, 효소 및 호르몬 또한 본 발명의 입자에 포함된다. 상기 비드는 폴리스티렌 비드, 금속 나노비드 등 제한없이 사용될 수 있으며, 항체, 형광분자 등으로 표면이 수식된 비드 또한 사용될 수 있다. 또한, 상기 입자는 생체 시료에서 분리된 세포, 핵산, 지질, 당, 항체, 효소 및 호르몬일 수 있다.

[0053] 본 발명의 도 1 내지 4에 제시된 다공성 막에서 관통형 포어(110)는 다공성 막에 일정 간격으로 배열되어 있으며, 포어의 수가 너무 작으면 기공부에 위치하는 분석 대상 입자의 양이 너무 적어 분석 효율이 떨어질 수 있다.

[0054] 또한, 도 1 내지 4에 제시된 다공성 막은 제1 입자 및 제2 입자의 확산 또는 분산을 방지하기 위하여 제1 기공부 및 제2 기공부 내부는 친수성 물질로 코팅되고, 이를 제외한 나머지 부분은 소수성 물질로 코팅될 수 있다. 이와 반대로 제1 기공부 및 제2 기공부 내부는 소수성 물질로 코팅되고, 이를 제외한 나머지 부분은 친수성 물질로 코팅될 수 있다. 또는 다공성 막의 재질을 고려하여, 재질의 특성과 반대 특성을 가진 물질을 기공부 내부에 코팅할 수 있다. 제1 기공부 및 제2 기공부에 코팅될 수 있는 친수성 물질에는 실리콘이 있고, 소수성 물질에는 폴리디메틸실록산 등이 있다.

[0055] 본 발명에서, 상기 다공성 막은 실리콘(silicon), 폴리디메틸실록산 (polydimethylsiloxane, PDMS), 폴리에테르설폰 (polyethersulfone, PES), 폴리메틸 메타크릴레이트 (polymethyl methacrylate, PMMA), 폴리스티렌 (polystyrene, PS), 폴리우레탄 아크릴레이트(polyurethane acrylate, PUA) 및 폴리카보네이트(polycarbonate, PC)로 이루어진 군에서 선택되는 재질로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0057] 도 5는 본 발명의 다공성 막에 제1 입자 및 제2 입자를 일대일로 정렬시키는 방법을 보여준다.

[0058] 먼저 다공성 막(100)의 제1 기공부(111)에 제1 입자(113)를 고정시킨 후 다공성 막을 뒤집고, 제2 기공부(112)에 제2 입자(114)를 고정시키면 제1 입자와 제2 입자가 일대일로 접촉하게 된다. 상기 제1 입자 및 제2 입자는 각각 비드 또는 세포일 수 있다.

[0060] 도 6은 본 발명의 다공성 막에 입자를 고정시킨 후 조직 절편과 접촉시키는 과정을 보여준다.

[0061] 구체적으로 본 발명은 (a) 제1항 또는 제5항의 다공성 막에서 어느 하나의 기공부에 제1 입자 또는 제2 입자를 고정시키는 단계; 및 (b) 입자를 고정시킨 기공부를 분석 대상 시료와 접촉시키는 단계를 포함하는, 시료 분석 방법을 제공한다.

[0062] 또한, 본 발명은 (a) 제1항 또는 제5항의 다공성 막에서 어느 하나의 기공부에 제1 입자 또는 제2 입자를 고정시키는 단계; (b) 입자를 고정시킨 기공부의 말단을 실링(sealing)하는 단계; 및 (c) 입자가 고정되지 않은 기공부를 분석 대상 시료와 접촉시키는 단계를 포함하는, 시료 분석 방법을 제공한다.

[0063] 본 발명에서, 상기 (b)의 실링은 폴리디메틸실록산, 하이드로젤, 아가로스, 오일, 테이프, 유리 플레이트(glass plate), 쿼츠 플레이트(quartz plate), 규소 플레이트(silicon plate), 폴리카보네이트(polycarbonate) 및 양극 산화 알루미늄(anodized aluminum oxide)으로 이루어진 군에서 선택되는 물질로 기공부의 말단을 폐쇄하는 방법으로 이루어질 수 있다.

[0064] 또한, 상기 분석 대상 시료는 생체로부터 분리된 조직 절편, 체액, 세포 및 세포 용해물로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

[0065] 상기 제1 입자 및 제2 입자는 본 명세서에 이미 기재한 바와 같이 각각 비드 또는 세포일 수 있다.

[0067] 도 7은 본 다공성 막에 단일의 입자를 정렬시키고, 목적 시료를 분주하여 석션(suction)하는 과정을 보여준다.

[0068] 구체적으로 본 발명은 (a) 제1항 또는 제5항의 다공성 막에서 제1 기공부 또는 제2 기공부 중 어느 하나의 기공부에 제1 입자 또는 제2 입자를 위치시키는 단계; (b) 상기 입자 각각에 목적 시료를 접촉시키는 단계; 및 (c) 상기 고정용 비드가 위치하는 기공부의 반대편 기공부에서 석션(suction)하는 단계를 포함하는, 시료 처리 방법을 제공한다.

[0069] 본 발명에서, (b)의 목적 시료는 아데닌, 아데닌 유도체, 구아닌, 구아닌 유도체, 시토신, 시토신 유도체, 티민, 티민 유도체, 이들의 혼합물 또는 이들의 유도체로 이루어진 군을 포함할 수 있다. 또한, 상기 (b)의 목적 시료에는 상기 아데닌 등의 물질의 반응을 촉진시킬 수 있는 촉매 물질 또한 포함될 수 있다.

[0070] 본 발명에서, 상기 시료 처리 방법은 핵산 합성, 예를 들어 DNA 올리고머 합성 방법으로 활용될 수 있다. 기존의 평판 마이크로어레이(microarray)를 사용하는 DNA 합성 방법은 평판 위의 각 스팟(spot)에 A, G, T, C를 선택적으로 첨가하고, 세척하는 과정을 반복한다. 그러나 상기 세척 과정이 평판과 수평 방향으로 진행되기 때문에, 한 스팟에서 반응하지 못한 용액이 옆으로 흐르면서 다른 스팟에 반응할 가능성이 있다. 또한, 세척 용액이 옆으로 흐를 때 층류(laminar flow)를 형성하여 평판의 표면에 가까울수록 유속이 느려지므로 DNA가 합성되고 있는 평판 표면 근접지역의 세척 효율은 떨어진다. 따라서, 세척 용액을 평판 위에서 옆으로 흘리며 세척하는 과정은 비효율적이다.

[0071] 반면, 본 발명의 다공성 막(100)을 사용하면, 다공성 막의 제1 기공부 또는 제2 기공부에 핵산 고정용 비드를 위치시키는 단계; 상기 핵산 고정용 비드와 아데닌, 아데닌 유도체, 구아닌, 구아닌 유도체, 시토신, 시토신 유도체, 티민, 티민 유도체, 이들의 혼합물 또는 이들의 유도체를 접촉시키는 단계; 및 상기 제1 기공부 또는 제2 기공부를 세척하는 단계를 통하여 효율적으로 핵산을 합성할 수 있다.

[0072] 상기 세척하는 단계는 제1 기공부에 세척액을 첨가한 후 제2 기공부에서 석션(suction)하여 이루어지거나, 또는 반대로 이루어질 수 있다. 세척 과정이 수직 방향으로 이루어지므로 DNA 합성에 이용되지 못한 물질들은 다공성 막의 하단으로 빠져 나가게 되며, 원치 않는 핵산 분자의 오염을 방지할 수 있다.

[0074] 도 8은 기판 표면에 패턴이 형성된 비대칭 다공성 막의 일 예를 보여준다.

[0075] 구체적으로 본 발명은 기판; 및 상기 기판에 다각형 또는 원형 패턴으로 형성된 격벽을 포함하고, 상기 격벽 사이의 공간에는 입자(particle)가 위치하는 비대칭 다공성 막을 제공한다.

[0076] 본 발명에서, 상기 기판은 종이(paper), 셀룰로스(cellulose), 셀룰로스 유도체 및 유리섬유로 이루어진 군에서 선택되는 재질로 이루어질 수 있으며, 상기 격벽은 왁스(wax), 폴리머 또는 포토레지스트(photoresist) 재질로 이루어질 수 있다.

[0077] 종이는 미세한 다공성 구조이므로 종이 기판 위에 격벽을 형성시키는 경우 한쪽은 격벽에 의하여 비교적 큰 포어가 형성되고, 종이 기판 쪽으로는 미세한 포어가 형성되어 결과적으로 종이 기판에 비대칭 다공성 구조가 형성된다.

[0078] 본 명세서에 사용된 용어, '포토레지스트(photoresist)'는 빛(주로 자외선)에 노출되면 물성이 변하는 물질을 의미하며, 빛에 노출되었을 때 가교 등의 반응이 일어나 분자량이 크게 증가하고, 용해성이 떨어지는 네거티브 포토레지스트(negative Photoresist)와 빛에 노출되었을 때 분해, 분지쇄 절단 등의 반응에 의해 용해성이 증가하는 포지티브 포토레지스트(positive Photoresist)가 있다. 기판 위에 포지티브 포토레지스트를 증착시키고, 원하는 패턴의 마스크를 올린 후 빛을 조사하면 빛에 노출된 부분은 용해되고 마스크의 패턴에 해당하는 포토레지스트만 남게 되므로 기판 위에 격벽을 형성시킬 수 있다.

[0080] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

부호의 설명

[0082] 100: 다공성 막

110: 관통형 포어

111: 제1 기공부

112: 제2 기공부

113: 제1 입자

114: 제2 입자

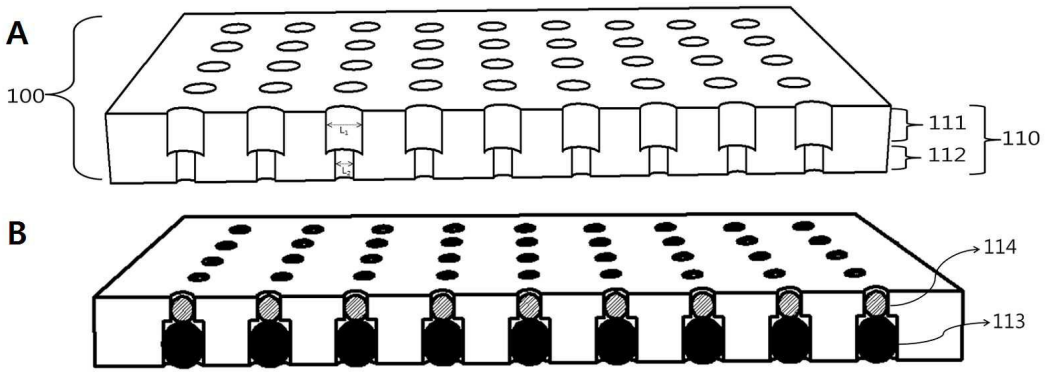
200: 비대칭 다공성 막

210: 기판

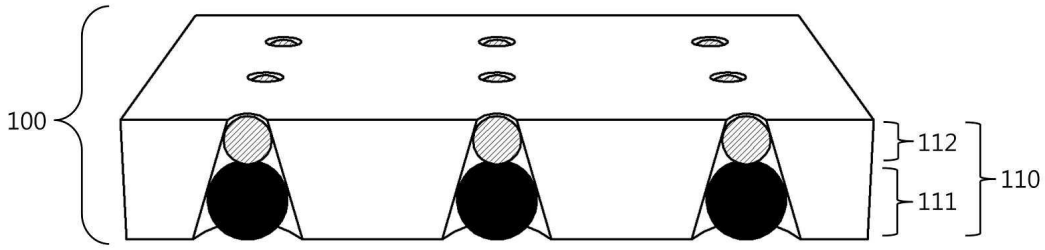
220: 격벽

도면

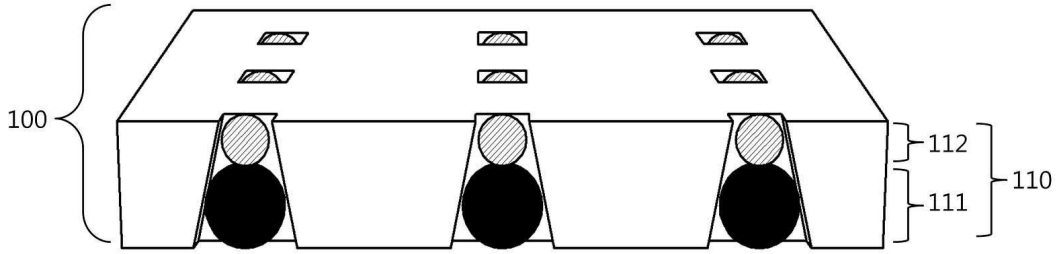
도면1



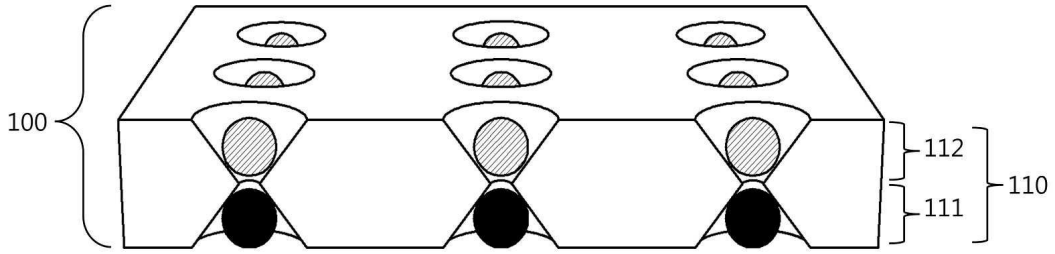
도면2



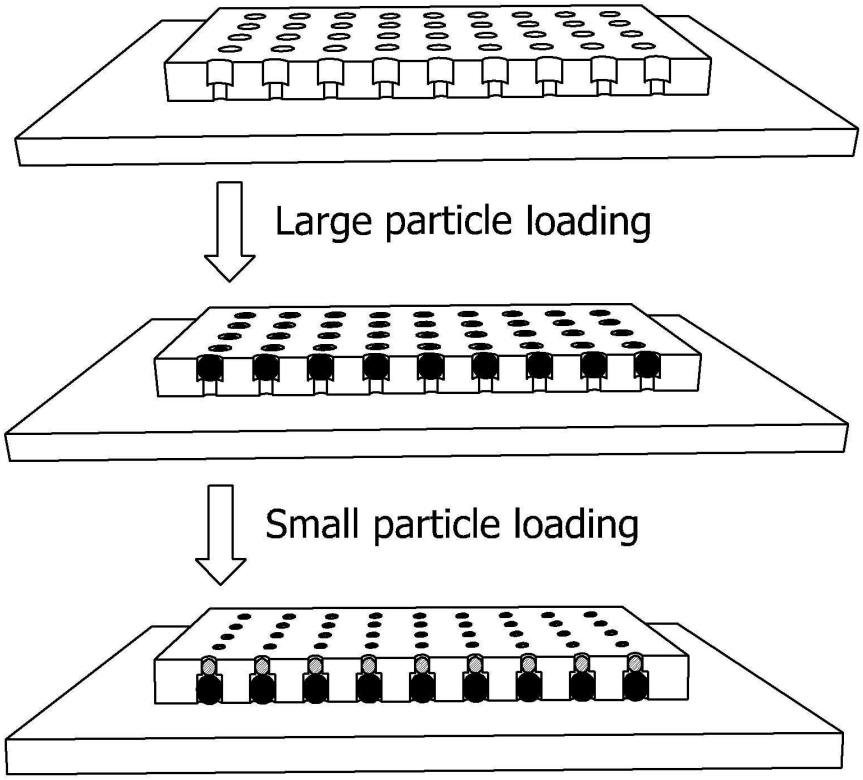
도면3



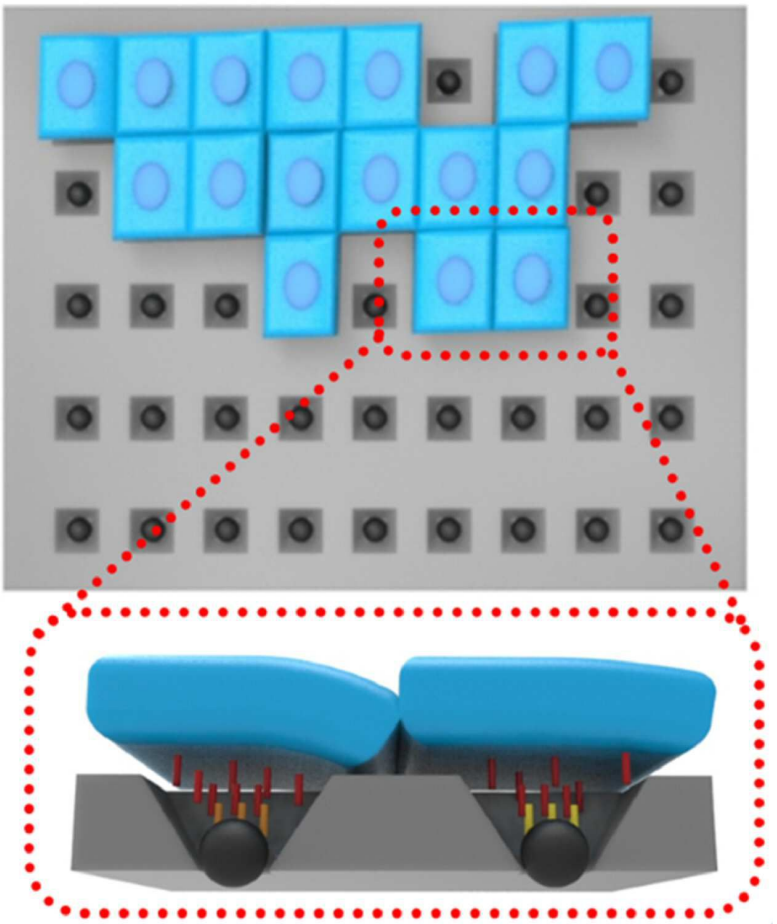
도면4


100
112
111
110

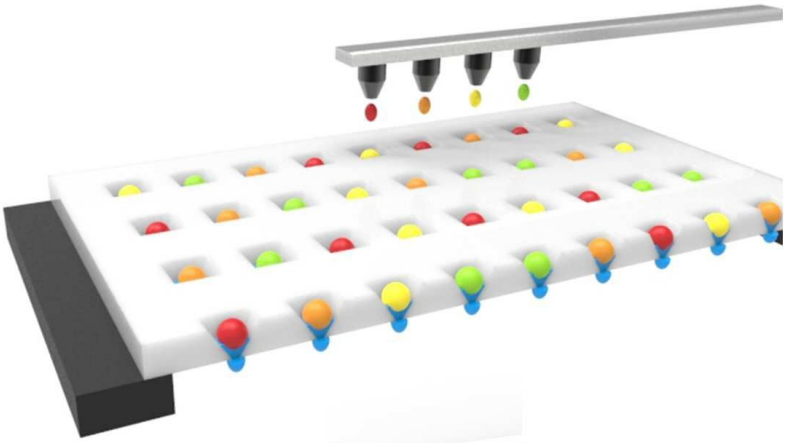
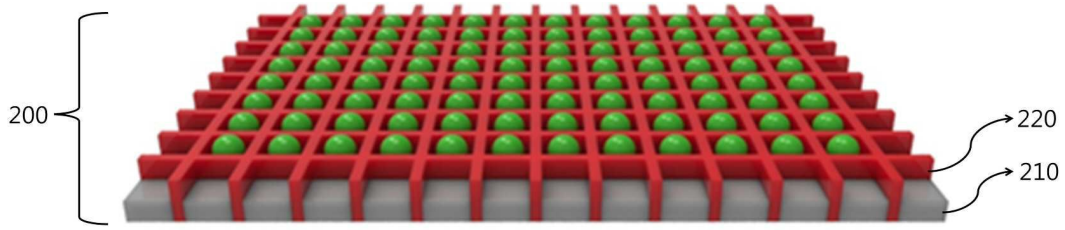
도면5


Large particle loading
Small particle loading

도면6



도면7



도면8