

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2023년 10월 19일 (19.10.2023) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호

WO 2023/200259 A1

- (51) 국제특허분류:
B01J 19/00 (2006.01) B01J 19/12 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2023/004976
- (22) 국제출원일: 2023년 4월 13일 (13.04.2023)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2022-0045902 2022년 4월 13일 (13.04.2022) KR
- (71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 02841 서울특별시 성북구 안암로 145, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 천홍구 (CHUN, Hong Gu); 05507 서울특별시 송파구 올림픽로 435, 206동 2101호, Seoul (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 다나 (DANA PATENT LAW FIRM); 06242 서울특별시 강남구 역삼로 3길 11 광성빌딩 신관 5층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,

EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

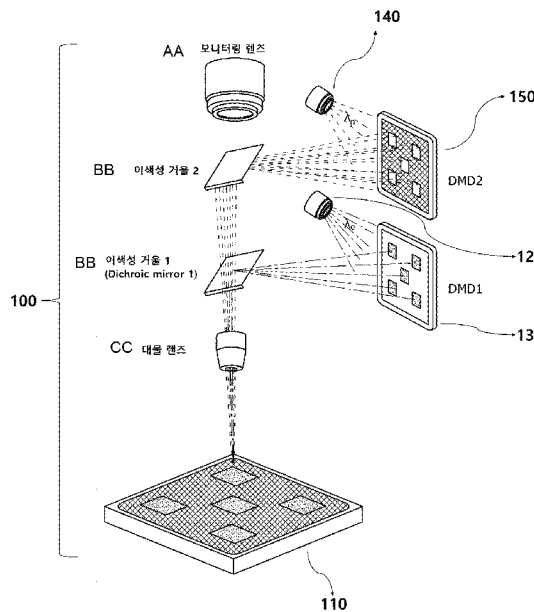
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) Title: SYSTEM AND METHOD FOR PRECISE OPTICAL SYNTHESIS OF DNA

(54) 발명의 명칭: 정밀 DNA 광학 합성을 위한 시스템 및 방법



AA ... Monitoring lens
BB ... Dichroic mirror
CC ... Object lens

(57) Abstract: The present invention relates to a technique which can reduce errors that occur during photochemical DNA synthesis, and which can prevent the deprotection of undesired DNA by irradiating desired DNA synthesis sites with a first wavelength for DNA deprotection, and then irradiating undesired sites with a second wavelength longer than the first wavelength, and thus can reduce DNA synthesis errors.

(57) 요약서: 본 발명은 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 발생하는 오류를 감소시킬 수 있다는 기술이며, 원하는 DNA 합성 부위에 DNA 탈보호를 위한 제1 파장을 조사한 후 제1 파장보다 장파장인 제2 파장을 DNA 합성을 원치 않는 부위에 조사하여 원치 않는 DNA의 탈보호를 막을 수 있고, 결과적으로 DNA 합성 오류를 줄일 수 있다.



WO 2023/200259 A1

명세서

발명의 명칭: 정밀 DNA 광학 합성을 위한 시스템 및 방법 기술분야

- [1] 본 발명은 정밀 DNA 광학 합성을 위한 시스템 및 방법에 관한 것으로 구체적으로 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 빛이 원치 않는 부위의 DNA까지 탈보호시키는 것을 막아 DNA 합성 오류를 줄일 수 있는 기술이다.

배경기술

- [2] 이미지와 동영상을 주로 하는 개인 소셜 네트워크 서비스 (social network service, SNS) 매체의 증가로 데이터 생성량이 매우 빠르게 증가하고 있다. 향후 AR (augmented reality), VR (virtual reality), MR (mixed reality) 기기, 그리고 홀로그램 등 3D 미디어가 보편화되면 데이터 양은 더욱 급증할 것으로 예상된다. 구체적으로 2040년 전 세계적으로 저장된 데이터 양은 10^{24} 비트에서 10^{29} 비트에 달할 것으로 예상된다 (Summary report, Technology Working Group Meeting on future DNA synthesis technologies; September 14, 2017, Arlington, VA).
- [3] 현재 컴퓨터, 스마트폰 등 주요 기기의 데이터 저장 매체는 플래쉬 메모리 (flash memory)로 플래쉬 메모리는 1 pg 당 1 비트 (bit) 정도의 데이터 밀도 (data density)를 갖는다. 상기 2040년에 필요한 데이터 양에 해당하는 플래쉬 메모리를 공급하기 위해서는 10^{14} kg의 실리콘 웨이퍼가 필요하나, 2040년의 실리콘 웨이퍼 공급량은 10^8 kg 정도로 예상되어 수요에 크게 못 미친다. 또한 기존의 데이터 저장 매체는 데이터 보존 기간이 10년 내외라는 한계가 있다.
- [4] 이에 새로운 데이터 저장 매체를 개발하기 위한 시도가 계속해서 이루어지고 있으며 이중 하나가 DNA 저장 장치이다. DNA를 저장 매체로 이용하면 기존의 저장매체의 단점인 데이터 저장 밀도를 뛰어 넘을 수 있고, 물리적인 충격에도 안정적으로 정보를 저장할 수 있다. 또한, DNA는 1 kg의 합성으로 플래쉬 메모리 10^9 kg에 해당하는 2×10^{24} 비트를 저장할 수 있어 대용량 데이터 저장에 적합하며, 특히 저장된 데이터의 보관기간이 매우 긴 장점이 있다. 그러나 DNA 합성 시 발생하는 오류는 데이터의 저장 밀도 저하 및 정보 손실을 일으켜 DNA 저장 장치의 상용화에 걸림돌로 작용하고 있다.
- [5] 특히, 광화학 DNA 합성 방법은 빛을 비추어 DNA 말단의 보호기를 탈보호시킬 때 빛의 회절 (diffraction), 산란 (scattering), 반사에 의해 원치 않는 영역에 빛이 도달하게 된다. 이는 결국 목적하지 않았던 DNA의 말단에서도 탈보호를 일으키고, 결과적으로 DNA 합성에 오류를 발생시킨다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 상기와 같은 상황에서 본 발명자들은 광화학 DNA 합성 과정에서 빛의 회절, 산란, 반사를 줄일 수 있는 방법을 연구하였고, 원하는 DNA 합성 영역에 DNA 탈보

호를 위한 제1 파장을 조사하고, 제1파장의 조사와 동시에 제1 파장보다 장파장인 제2 파장을 DNA 합성을 원치 않는 영역에 조사하는 방법을 고안하였다.

- [7] 상기 방법을 사용하면 DNA 합성을 원치 않는 영역에서 DNA 말단의 보호기가 제1 파장으로부터 에너지를 흡수하여 화학결합을 끊기 전에 흡수된 에너지가 제2 파장의 조사에 의해 유도 방출 (stimulated emission) 되므로 원치 않는 DNA의 탈보호를 막을 수 있다.

- [8] 따라서, 본 발명의 목적은 상기 원리를 이용한 DNA 합성 방법 및 상기 방법의 구현을 위한 DNA 합성 시스템을 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [9] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 양상은 하기 구성을 포함하는 DNA 합성 시스템을 제공한다:

- [10] DNA 합성이 일어나는 DNA 합성부;

- [11] DNA 합성부의 합성 영역에 제1 파장을 조사하는 제1 파장 광원;

- [12] DNA 합성부의 합성 영역에 제2 파장을 조사하는 제2 파장 광원;

- [13] 제1 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제1 빛-공간변조기; 및

- [14] 제2 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제2 빛-공간변조기.

- [15] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 다른 양상은 하기 구성을 포함하는 DNA 합성 시스템을 제공한다:

- [16] 투명 전극을 포함하고, DNA 합성이 일어나는 DNA 합성부;

- [17] DNA 합성부의 목적 부위에 제1 파장을 조사하는 제1 파장 광원;

- [18] 제1 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제1 빛-공간변조기; 및

- [19] DNA 합성부의 전극에 전원을 공급하는 전원부.

- [20] 본 발명의 또 다른 양상은 상기 DNA 합성 시스템을 이용한 DNA 합성 방법을 제공한다.

- [21] 상기 방법은

- [22] (a) DNA 합성부에서 DNA를 합성하고자 하는 부위에 제1 빛-공간변조기를 통해 제1 파장을 조사하는 단계;

- [23] (b-1) 제1 파장의 조사와 동시에 DNA 합성부에서 DNA를 합성하고자 하는 부위를 제외한 나머지 부위에 제2 빛-공간변조기를 통해 제1 파장보다 장파장인 제2 파장을 조사하는 단계; 또는

- [24] (b-2) 제1 파장의 조사와 동시에 DNA 합성부에 전압을 인가하는 단계; 및

- [25] 합성하고자 하는 뉴클레오티드 용액을 공급하는 단계;를 포함한다.

발명의 효과

- [26] 본 발명의 일 예에 따른 DNA 합성 방법을 사용하면 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 발생하는 오류를 현저히 감소시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [27] 도 1은 제1 파장 (λ_e) 및 제2 파장 (λ_p)을 이용하는 DNA 합성 시스템의 구조를 개략적으로 보여준다.
- [28] 도 2는 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 합성 오류가 나타나는 원인을 개략적으로 보여준다.
- [29] 도 3은 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 합성 부위에 조사된 광량을 측정한 결과이다.
- [30] 도 4는 광화학 기반 DNA 합성 방법에서 DNA 말단이 탈보호되고 새로운 뉴클레오티드가 첨가되는 과정의 일 예를 보여준다.
- [31] 도 5는 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 탈보호 분자 제공 물질에 의해 DNA 말단이 탈보호되고 새로운 뉴클레오티드가 첨가되는 과정의 일 예를 보여준다.
- [32] 도 6은 투명 전극을 포함하는 DNA 합성 기판을 이용하여 광화학 기반으로 DNA를 합성할 때, DNA 합성 부위에 빛을 조사함과 동시에 해당 부위의 공간해상도를 높이는 위해 전압을 인가하는 방법의 일 예를 보여준다.

발명의 실시를 위한 형태

- [33] 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.
- [34]
- [35] 광화학 (photochemistry) 기반 DNA 합성법은 새롭게 첨가된 뉴클레오티드의 말단에 붙어 있는 보호기를 빛을 가하여 선택적으로 탈보호 (deprotection)하는 방법을 사용한다.
- [36] 도 2는 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 합성 오류가 나타나는 원인을 개략적으로 보여준다.
- [37] 포토마스크 (pohotomask) 또는 DMD (digital micromirror device)를 이용한 DNA 합성 기판 (substrate)의 합성 영역에 선택적으로 탈보호를 위한 빛 (UV 또는 100 내지 500nm 파장)를 조사할 때 해당 빛이 DNA 합성 기판에서 반사, 분산되거나, 또는 회절에 의해 퍼져 빛이 불필요한 영역에 도달할 수 있다.
- [38] 도 1을 보면 DNA 합성 기판에서 회절된 빛이 DNA 합성 영역이 아닌 곳에 위치한 DNA를 탈보호시키는 것을 알 수 있다. 또한, DNA 합성 기판에서 합성 영역의

테두리에는 빛이 불충분하게 도달하는데 이 테두리에서는 보호기의 확률적 탈보호 (stochastic deprotection)가 일어날 수 있다.

[39] 빛이 불충분하게 도달하는 영역은 도 1에서 오류 발생 용이 영역 (error prone zone)으로 표시되어 있다. 오류 발생 용이 영역에 도달하는 빛은 보호기의 탈보호에 필요한 수준 (threshold)에 미치지 못하기 때문에 일부 보호기는 탈보호가 되나, 일부 보호기는 제거되지 않고 그대로 남아 있게 된다.

[40] DNA 합성 기관의 목적 위치에 빛이 불충분하게 도달하는 영역이 존재하는 것은 도 3을 통해서도 확인할 수 있다.

[41]

[42] 도 2는 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 DNA 합성 기관의 목적 위치 (DNA 합성 영역)에 조사된 광량을 측정한 결과이다.

[43] 도 2에서 왼쪽 그림은 DNA 합성 부위에 빛이 조사되는 것을 탑 뷰 (top view)로 본 것으로 각 지점에서의 빛의 강도 (intensity)를 색으로 표현하였다. 오른쪽 그림은 빛의 강도를 x-축 (파란색), y-축 (초록색)에서 그린 것으로 DNA 합성 부위에 빛을 비출 때 가운데 영역은 일정한 광량이 유지되지만, 테두리 부분에 도달하는 광량은 구배 (gradient)를 갖고 감소하는 것을 알 수 있다. 즉, 기관에 비춰지는 빛 패턴의 명암비가 완벽하지 않다.

[44] 도 2에 대한 설명에 기재하였듯이 테두리 부분 (도 2에서 오류 발생 용이 영역에 해당함)은 빛의 강도가 점차 감소하므로 탈보호를 위한 충분한 광량을 제공할 수 없고, 이로 인하여 특정 위치에서는 탈보호가 일어나나, 다른 위치에서는 일어나지 않을 수도 있다. 이러한 확률적 탈보호는 매우 무작위이기 때문에 매 사이클의 DNA 합성에 있어, (n-1)번째 DNA 합성에서는 탈보호가 안된 DNA 가닥 (strand)이더라도 n번째 DNA 합성에서는 탈보호가 발생하고, 새로운 뉴클레오타이드가 첨가되면 (커플링, coupling) (n-1) 번째 서열에 대해 결실 오류 (deletion error)가 발생할 수 있다.

[45] 즉, n번째 DNA 합성에서 탈보호되는지 여부는 이전 (n-1)번째 DNA 합성에서의 탈보호 여부와 독립적이다. 이와 같은 테두리 (오류 발생 용이 영역)에서의 결실 오류 (deletion error) 때문에 매 합성 사이클에서 추가 합성이 일어나지 않도록 합성 중인 DNA 또는 핵산의 말단을 차단하는 캡핑 (capping)이 필요하며, 합성이 종료된 이후에는 목표했던 DNA 길이보다 짧은 것들은 제거하는 공정이 필요하다. 이러한 테두리에서의 에러는 길이 대 표면 비율 (length to surface ratio)이 높아질수록, 즉, 빛이 조사되는 영역의 크기가 작아질수록, 그 영향이 커지는데, 이는 마이크로어레이 (microarray) DNA 합성의 동시합성 가능 가지수를 높이기 위하여 한 스폿 (spot)의 크기를 줄이는 것을 어렵게 만든다.

[46]

[47] 도 4 및 도 5는 DNA 합성 과정에서 탈보호 및 커플링 기작을 설명한다.

[48] 도 4는 광화학 기반 DNA 합성 방법에서 DNA 말단이 탈보호되고 새로운 뉴클레오타이드가 첨가되는 과정의 일 예를 보여준다.

- [49] 빛에 의해 DNA 말단의 탈보호기가 떨어져 나가면서 DNA의 5' 말단에 -OH기가 노출되므로 새로운 뉴클레오티드가 합성 중인 DNA 가닥의 말단에 결합할 수 있다. 합성에 공급되는 뉴클레오티드는 일 말단에 보호기가 결합되어 있으므로 별도의 탈보호 과정이 없으면 DNA 추가 합성이 발생하지 않는다.
- [50] 빛과 직접 반응하여 떨어져 나가는 보호기에는 BzNPPOC, NPPOC, SPh-NOOPC 등이 있다.
- [51] 도 5는 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 탈보호 분자 제공 물질 (deprotecting molecule supplier)에 의해 DNA 말단이 탈보호되고 새로운 뉴클레오티드가 첨가되는 과정의 일 예를 보여준다.
- [52] 빛이 조사되면 탈보호 분자 제공 물질이 빛을 받아 활성 탈보호 분자 (active deprotecting molecule)를 내놓고, 이 활성 탈보호 분자가 보호기를 공격하여 떼어낸다. 결과적으로 DNA의 5' 말단에 -OH기가 노출되므로 새로운 뉴클레오티드가 합성 중인 DNA 가닥의 말단에 결합할 수 있다.
- [53] 상기 탈보호 분자 제공 물질로는 하이드로퀴논, 활성 탈보호 분자로는 수소 이온 (H^+)이 사용될 수 있으며, 보호기로는 DMT가 사용될 수 있다.
- [54]
- [55] 도 2 및 도 3에서 설명한 문제점을 해결하기 위해 본 발명자들은 DNA 합성 영역에 DNA 탈보호를 위한 제1 파장을 조사하고, 제1파장의 조사와 동시에 제1 파장보다 장파장인 제2 파장을 DNA 합성을 원치 않는 영역 (DNA 합성 영역을 제외한 나머지 영역)에 조사하는 방법을 고안하였다.
- [56] 도 1은 상기 방법을 구현하기 위해 제1 파장 (λ_e) 및 제2 파장 (λ_p)을 이용하는 DNA 합성 시스템의 구조를 개략적으로 보여준다.
- [57] 본 발명의 DNA 합성 시스템 (100)은
- [58] DNA 합성이 일어나는 DNA 합성부 (110);
- [59] DNA 합성부에 제1 파장을 조사하는 제1 파장 광원 (120);
- [60] DNA 합성부에 제2 파장을 조사하는 제2 파장 광원 (140);
- [61] 제1 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제1 빛-공간변조기 (130); 및
- [62] 제2 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제2 빛-공간변조기 (150);를 포함한다.
- [63] 본 발명에서 사용된 용어, '빛-공간 변조기'란 광원으로부터 방출된 빛이 DNA 합성부의 특정 영역에 조사될 수 있도록 조절하는 장치이다. 상기 제1 빛-공간 변조기 및 제2 빛-공간변조기는 서로 독립적으로 포토마스크 (photomask) 또는 DMD (digital micromirror device)일 수 있다.
- [64]
- [65] 상기 시스템을 이용한 DNA 합성 방법은 다음을 포함한다:
- [66] DNA 합성부의 조사 영역에 제1 빛-공간변조기를 통해 제1 파장을 조사하는 단계;

- [67] 제1 파장의 조사와 동시에 DNA 합성부의 반전 조사 영역에 제2 빛-공간변조기를 통해 제1 파장보다 장파장인 제2 파장을 조사하는 단계; 및
- [68] 합성하고자 하는 뉴클레오티드 용액을 공급하는 단계.
- [69] 본 발명에서 사용된 용어, '조사 영역'이란 DNA 합성부에서 DNA를 합성하고자 하는 영역을 말하며, '반전 조사 영역'은 DNA 합성부에서 DNA를 합성하고자 하는 영역 이외의 나머지 영역을 말한다.
- [70] 조사 영역의 DNA를 선택적으로 탈보호시키기 위해 제1 파장의 빛 λ_e 는 제1 빛-공간 변조기인 DMD1에 의해 반사되어 기판에 비추진다. 이 때 빛의 회절, 굴절, 반사 등에 의해 λ_e 의 빛이 반전 조사 영역에 도달할 수 있다. 이 빛에 의해 에너지를 받은 광 민감성 보호기 (photo-labile protection group)가 화학 결합을 끊거나 또는 탈보호 분자 제공 물질이 활성 탈보호 분자를 방출하기 전에 반전 조사 영역에 제2 파장의 빛 λ_p ($\lambda_p > \lambda_e$)를 조사하면 자극 방출 (stimulated emission)로 에너지가 방출되어 반전 조사 영역에서 탈보호가 일어나지 않게 된다.
- [71] 제2 파장의 빛은 제1 파장과 동시에 조사되거나 또는 짧은 지연 (예를 들어 <10 ns)을 두고 순차적으로 조사될 수 있다. 한편, 제1 파장 및 제2 파장은 서로 독립적으로 0.1 나노초 내지 10분 동안 DNA 합성부에 조사될 수 있다.
- [72] 도 1의 DNA 합성 시스템을 이용한 DNA 합성 방법은 조사 영역에 제1 파장을 조사하기 전에 DNA 합성부에 DNA 합성 위치 선택 물질을 공급하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [73] 본 발명에서, 용어 'DNA 합성 위치 선택 물질'이란 DNA 합성 과정에서 원하는 위치에서만 DNA를 합성하는데 필요한 물질을 말하며, 빛에 의해 수소 이온 또는 수산화 이온을 발생시키거나 2가 양이온을 제공하는 물질일 수 있다. 2가 양이온 제공 물질은 빛에 의해 2가 양이온을 발생시키는 물질이거나, 2가 양이온을 가지고 있다가 빛에 의해 2가 양이온을 방출하는 물질일 수 있다.
- [74] 2가 양이온 제공 물질에는 DMNP-EDTA, 수소 이온 발생 물질에는 하이드로퀴논, 수산화 이온 발생 물질에는 퀴논이 있다.
- [75]
- [76] 상기 설명한 본 발명의 DNA 합성법은 DMT, BzNPPOC 등의 보호기를 고해상도로 선택적으로 탈보호시켜 마이크로어레이 (microarray) 형태로 원하는 부분에 원하는 모노머를 도입하는 데에 쓰일 수 있으나, 본 발명은 이에 한정하지 않는다.
- [77] 도 1 내지 5에서 설명한 DNA 합성은 모두 유기용매를 사용하는 포스포라미다이트 (phosphoramidite)에 의한 DNA 합성으로 본 발명은 DNA 합성 효소 (DNA polymerase) 기반 방법에도 적용될 수 있다.
- [78] DNA 합성 효소 중에서 TdT (Terminal deoxynucleotidyl transferase)는 예외적으로 주형 DNA가 없이도 임의 서열의 단일 가닥 DNA를 합성할 수 있으며 활성화 되려면 2가 양이온이 필요하다. TdT를 이용한 DNA 합성에 있어 가장 중요한 이

슈는 A, G, T, C 중 원하는 모노머를 어떻게 도입할 것인가로 본 발명은 상기 이 슈를 해결할 수 있다.

[79] 조사 영역에 제1 파장의 빛을 조사하면 DMNP-EDTA에 의해 가두어진 (caging) 2가 양이온이 방출되는데 이때에도 반전 조사 영역에 원치 않는 빛이 도달할 수 있다. 제1 파장의 조사와 거의 동시에 반전 조사 영역에 제2 파장을 조사하면 반전 조사 영역의 DMNP-EDTA가 흡수한 에너지를 방출하게 되므로 반전 조사 영역에서 TdT가 활성화되는 것을 막을 수 있다.

[80]

[81] 한편, 본 발명의 다른 양상은 제2 파장 대신 전극을 사용하는 DNA 합성 시스템을 제공한다.

[82] 상기 시스템은

[83] 투명 전극을 포함하고, DNA 합성이 일어나는 DNA 합성부;

[84] DNA 합성부의 목적 부위에 제1 파장을 조사하는 제1 파장 광원;

[85] 제1 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제1 빛-공간변조기; 및

[86] DNA 합성부의 전극에 전원을 공급하는 전원부;를 포함한다.

[87] 상기 시스템을 이용한 DNA 합성 방법은

[88] DNA 합성부의 조사 영역에 제1 빛-공간변조기를 통해 제1 파장을 조사하는 단계;

[89] 제1 파장의 조사와 동시에 DNA 합성부에 전압을 인가하는 단계; 및

[90] 합성하고자 하는 뉴클레오티드 용액을 공급하는 단계;를 포함한다.

[91] 도 6을 참고하여 설명하면, 빛에 의해 하이드로퀴논으로부터 떨어져 나온 H^+ 이온은 확산이 매우 빨라 도 6A에 도시된 바와 같이 반전 조사 영역에 위치한 스팟 (spot)의 DNA에 도달하여 탈보호를 일으킬 수 있다.

[92] 그러나 도 6B와 같이 투명 기판 위에 투명 전극(예: ITO, IZO)을 위치시키고, 제 1 전압(예: 기준전극에 대하여 음의 전압)을 인가하여 투명 전극 상에서 전기화학반응에 의하여 활성 탈보호 물질 제거제 (active deprotecting molecule quencher; 예: OH^- 이온)를 발생시키면 활성 탈보호 물질을 제거할 수 있다 (예: H^+ 이온에 OH^- 이온을 가하여 H_2O 형성). 결과적으로 제1 파장의 빛이 도달하는 영역을 한정할 수 있으며, 해당 한정 영역에서만 유효한 H^+ 농도가 유지될 수 있다.

[93] 도 6에서는 투명 전극 위에 DNA가 직접 부착된 것으로 도시되어 있으나, 투명 전극과 DNA 사이에 추가 층(layer)이 더 포함될 수도 있다. 예를 들어, i) 투명 전극과 DNA 사이의 결합을 수월하게 하기 위한 자가-정렬 단일층 (self assembled monolayer), ii) DNA가 붙을 수 있는 면적을 넓히기 위한 다공성 유리 층 (porous glass layer) 등이 추가될 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 이를 통해 광화학 기반의 DNA 합성에 있어 고해상도의 병렬 DNA 합성이 가능해진다.

[94]

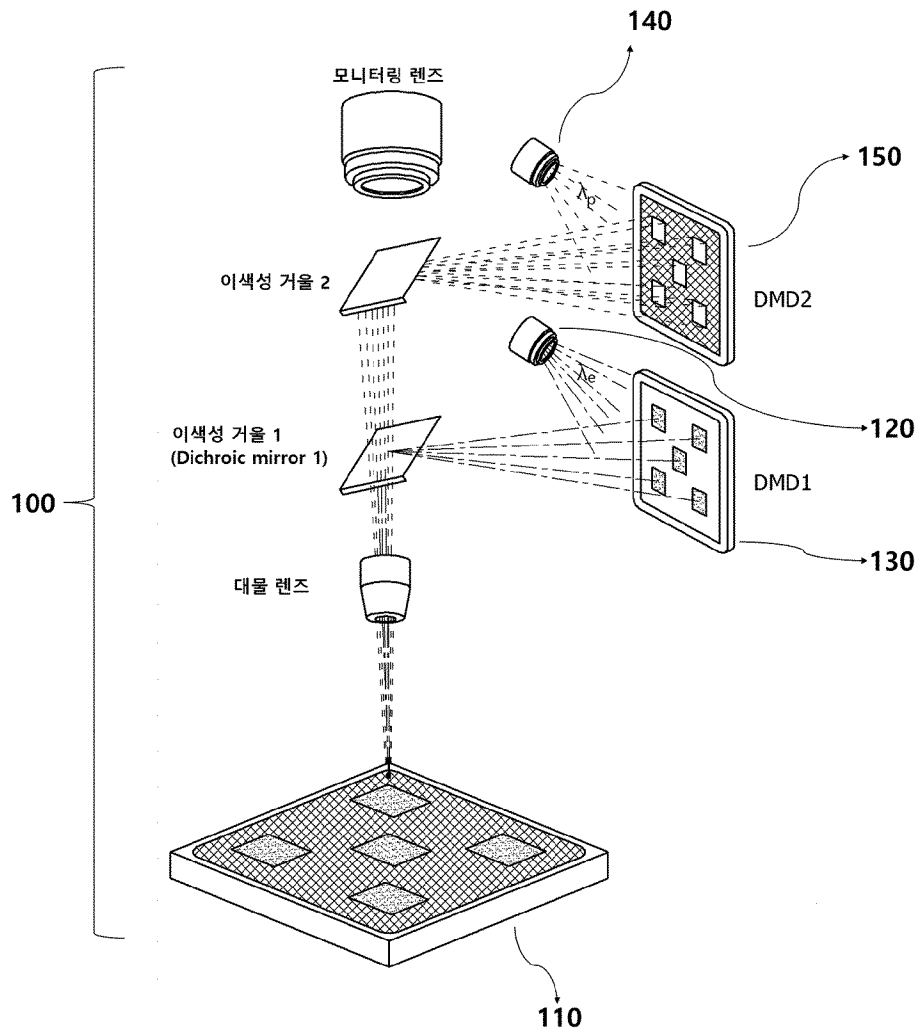
- [95] [부호의 설명]
- [96] 100: DNA 합성 시스템;
- [97] 110: DNA 합성부;
- [98] 120: 제1 파장 광원;
- [99] 130: 제1 빛-공간변조기;
- [100] 140: 제2 파장 광원; 및
- [101] 150: 제1 빛-공간변조기.

청구범위

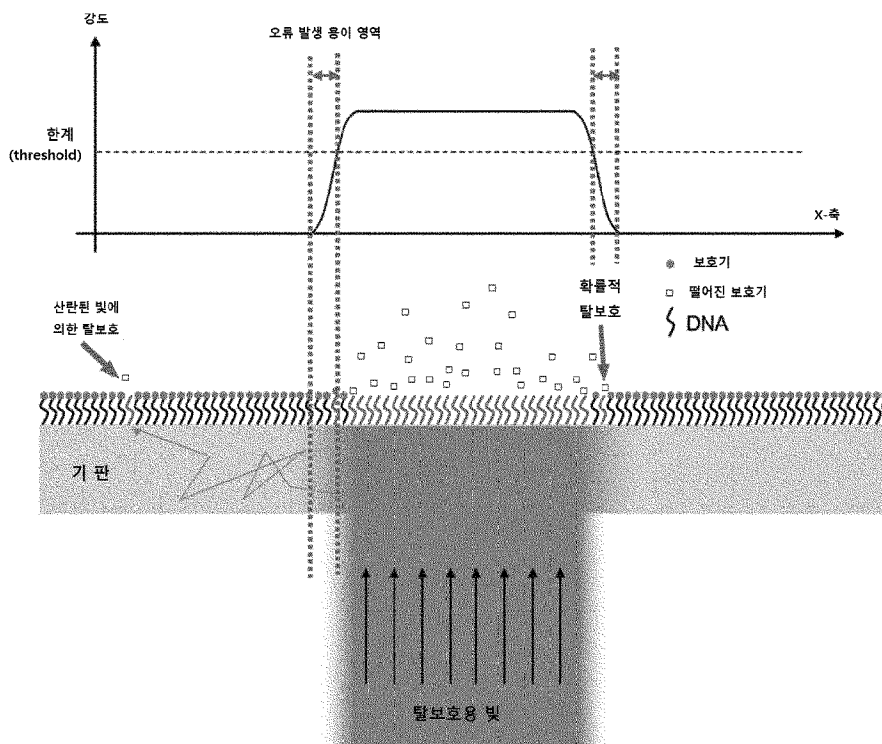
- [청구항 1] DNA 합성이 일어나는 DNA 합성부;
DNA 합성부에 제1 파장을 조사하는 제1 파장 광원;
DNA 합성부에 제2 파장을 조사하는 제2 파장 광원;
제1 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제1 빛-공간변조기; 및
제2 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제2 빛-공간변조기;를 포함하는, DNA 합성 시스템.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 제1 빛-공간변조기 및 제2 빛-공간변조기는 서로 독립적으로 포토마스크(photomask) 또는 DMD(digital micromirror device)인, DNA 합성 시스템.
- [청구항 3] 투명 전극을 포함하고, DNA 합성이 일어나는 DNA 합성부;
DNA 합성부에 제1 파장을 조사하는 제1 파장 광원;
제1 파장 광원의 DNA 합성부로의 조사 패턴을 제어하는 제1 빛-공간변조기; 및
DNA 합성부의 전극에 전원을 공급하는 전원부;를 포함하는, DNA 합성 시스템.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 제1 빛-공간변조기는 포토마스크 또는 DMD인, DNA 합성 시스템.
- [청구항 5] 제1항의 DNA 합성 시스템을 이용하고, 하기 단계를 포함하는 DNA 합성 방법:
DNA 합성부의 조사 영역에 제1 빛-공간변조기를 통해 제1 파장을 조사하는 단계;
제1 파장의 조사와 동시에 DNA 합성부의 반전 조사 영역에 제2 빛-공간변조기를 통해 제1 파장보다 장파장인 제2 파장을 조사하는 단계; 및
합성하고자 하는 뉴클레오티드 용액을 공급하는 단계.
- [청구항 6] 제3항의 DNA 합성 시스템을 이용하고, 하기 단계를 포함하는 DNA 합성 방법:
DNA 합성부의 조사 영역에 제1 빛-공간변조기를 통해 제1 파장을 조사하는 단계;
제1 파장의 조사와 동시에 DNA 합성부에 전압을 인가하는 단계; 및
합성하고자 하는 뉴클레오티드 용액을 공급하는 단계.
- [청구항 7] 제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 방법은 제1 파장을 조사하는 단계 이전에 DNA 합성부에 DNA 합성 위치 선택 물질을 공급하는 단계를 추가로 포함하는, DNA 합성 방법.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 DNA 합성 위치 선택 물질은 수소 이온 발생 물질, 수산화 이온 발생 물질 또는 2가 양이온 제공 물질인, DNA 합성 방법.

- [청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 2가 양이온 제공 물질은 DMNP-EDTA인, DNA 합성 방법.
- [청구항 10] 제8항에 있어서, 상기 수소 이온 발생 물질은 하이드로퀴논인, DNA 합성 방법.
- [청구항 11] 제8항에 있어서, 상기 수산화 이온 발생 물질은 퀴논인, DNA 합성 방법.
- [청구항 12] 제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 제1 파장을 조사하는 단계는 0.1 나노초 내지 10분 동안 수행되는, DNA 합성 방법.
- [청구항 13] 제5항에 있어서, 상기 제2 파장을 조사하는 단계는 0.1 나노초 내지 10분 동안 수행되는, DNA 합성 방법.

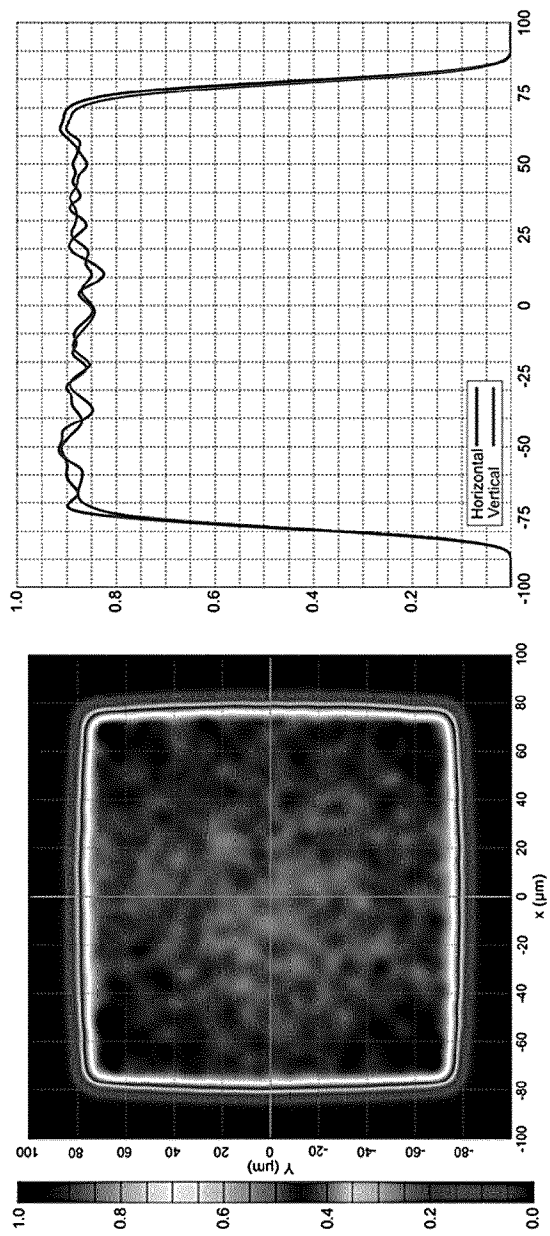
[도1]



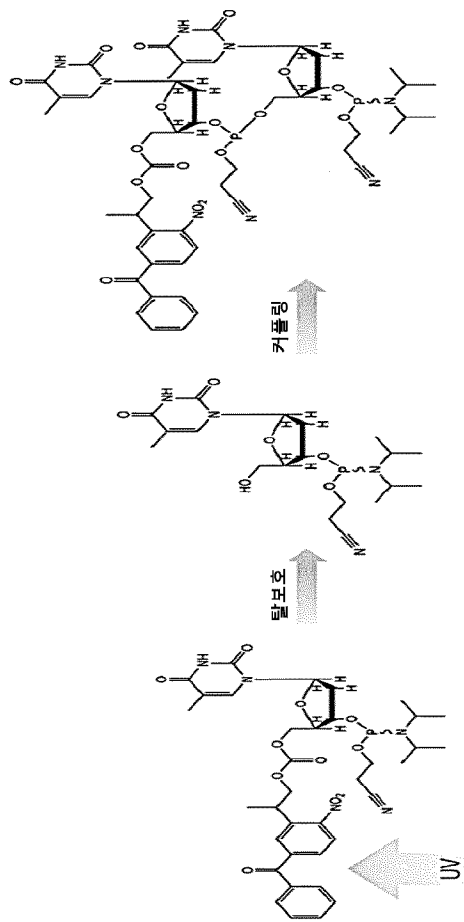
[도2]



[도3]



[도4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2023/004976

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**B01J 19/00**(2006.01)i; **B01J 19/12**(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

B01J 19/00(2006.01); C07K 1/04(2006.01); C07K 17/08(2006.01); C12N 15/11(2006.01); C12P 19/34(2006.01);
C12Q 1/68(2006.01); G01N 33/53(2006.01); G01N 37/00(2006.01)

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

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 파장(wavelength), 광원(light source), 포토마스크(photomask), 디지털 마이크로 미러 디바이스(digital micromirror device), 수소(hydrogen)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 4698023 B2 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 08 June 2011 (2011-06-08) See claim 1; paragraphs [0005]-[0011]; and figure 2.	1-4,6-12 5,13
Y	JP 11-315095 A (AFFYMETRIX INC.) 16 November 1999 (1999-11-16) See paragraphs [0001]-[0089].	1-2
Y	JP 2021-531777 A (DNA SCRIPT) 25 November 2021 (2021-11-25) See claim 1; and paragraphs [0002]-[0068].	3-4,6-12
A	KR 10-2013-0022437 A (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.) 07 March 2013 (2013-03-07) See entire document.	1-13
A	CN 1515693 A (MIAO, J.) 28 July 2004 (2004-07-28) See entire document.	1-13



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

“D” document cited by the applicant in the international application

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

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

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

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

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 July 2023

Date of mailing of the international search report

18 July 2023

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2023/004976

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
JP	4698023	B2	08 June 2011	EP	1066506	A1	10 January 2001
				EP	1066506	A4	23 February 2005
				EP	1066506	B1	21 April 2010
				EP	2180309	A2	28 April 2010
				EP	2180309	A3	07 December 2011
				EP	2180309	B1	01 November 2017
				EP	2259046	A2	08 December 2010
				EP	2259046	A3	30 November 2011
				JP	2002-504679	A	12 February 2002
				US	2010-0227780	A1	09 September 2010
				US	6375903	B1	23 April 2002
				US	8030477	B2	04 October 2011
				WO	99-42813	A1	26 August 1999
JP	11-315095	A	16 November 1999	EP	0476014	A1	25 March 1992
				EP	0476014	B1	31 August 1994
				EP	0619321	A1	12 October 1994
				EP	0619321	B1	07 January 1999
				EP	0902034	A2	17 March 1999
				EP	0902034	A3	26 May 1999
				EP	0953835	A1	03 November 1999
				JP	04-505763	A	08 October 1992
				JP	11-021293	A	26 January 1999
				JP	2004-002386	A	08 January 2004
				JP	2005-112867	A	28 April 2005
				JP	3759161	B2	22 March 2006
				KR	10-1992-0701235	A	11 August 1992
				US	2002-0064796	A1	30 May 2002
				US	2002-0192693	A1	19 December 2002
				US	2003-0013100	A1	16 January 2003
				US	2003-0064391	A1	03 April 2003
				US	2003-0082831	A1	01 May 2003
				US	2003-0235853	A1	25 December 2003
				US	2005-0148027	A1	07 July 2005
				US	2005-0214828	A1	29 September 2005
				US	2006-0210452	A1	21 September 2006
				US	5143854	A	01 September 1992
				US	5405783	A	11 April 1995
				US	5445934	A	29 August 1995
				US	5510270	A	23 April 1996
				US	6225625	B1	01 May 2001
				US	6261776	B1	17 July 2001
				US	6291183	B1	18 September 2001
				US	6329143	B1	11 December 2001
				US	6403957	B1	11 June 2002
				US	6491871	B1	10 December 2002
				US	6630308	B2	07 October 2003
				US	6646243	B2	11 November 2003
				US	6660234	B2	09 December 2003
				US	6747143	B2	08 June 2004
				WO	90-15070	A1	13 December 1990

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2023/004976

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
JP	2021-531777	A	25 November 2021	CN	113056327	A	29 June 2021
				EP	3826762	A1	02 June 2021
				US	2021-0332351	A1	28 October 2021
				WO	2020-020608	A1	30 January 2020
KR	10-2013-0022437	A	07 March 2013	US	2013-0052690	A1	28 February 2013
CN	1515693	A	28 July 2004	None			

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) B01J 19/00(2006.01)i; B01J 19/12(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) B01J 19/00(2006.01); C07K 1/04(2006.01); C07K 17/08(2006.01); C12N 15/11(2006.01); C12P 19/34(2006.01); C12Q 1/68(2006.01); G01N 33/53(2006.01); G01N 37/00(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 파장(wavelength), 광원(light source), 포토마스크(photomask), 디지털 마이크로미러 디바이스(disital micromirror device), 수소(hydrogen)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y A	JP 4698023 B2 (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 2011.06.08 청구항 1; 단락 [0005]-[0011]; 도면 2	1-4,6-12 5,13
Y	JP 11-315095 A (AFFYMETRIX INC.) 1999.11.16 단락 [0001]-[0089]	1-2
Y	JP 2021-531777 A (DNA SCRIPT) 2021.11.25 청구항 1; 단락 [0002]-[0068]	3-4,6-12
A	KR 10-2013-0022437 A (삼성전자주식회사) 2013.03.07 전문	1-13
A	CN 1515693 A (MIAO, J.) 2004.07.28 전문	1-13
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2023년07월17일(17.07.2023)		국제조사보고서 발송일 2023년07월18일(18.07.2023)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373

국제출원번호
PCT/KR2023/004976

서식 PCT/ISA/210 (대응특허 추가용지) (2022년 7월)

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2021-531777 A	2021/11/25	CN 113056327 A	2021/06/29
		EP 3826762 A1	2021/06/02
		US 2021-0332351 A1	2021/10/28
		WO 2020-020608 A1	2020/01/30
KR 10-2013-0022437 A	2013/03/07	US 2013-0052690 A1	2013/02/28
CN 1515693 A	2004/07/28	없음	