



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0037246

(43) 공개일자 2025년03월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

B01J 19/00 (2018.01) *B01J 19/12* (2006.01)

(52) CPC특허분류

B01J 19/0046 (2013.01)*B01J 19/123* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0119859

(22) 출원일자 2023년09월08일

심사청구일자 2023년09월08일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

천홍구

서울특별시 송파구 올림픽로 435 (신천동, 파크리오) 206동 2101호

(74) 대리인

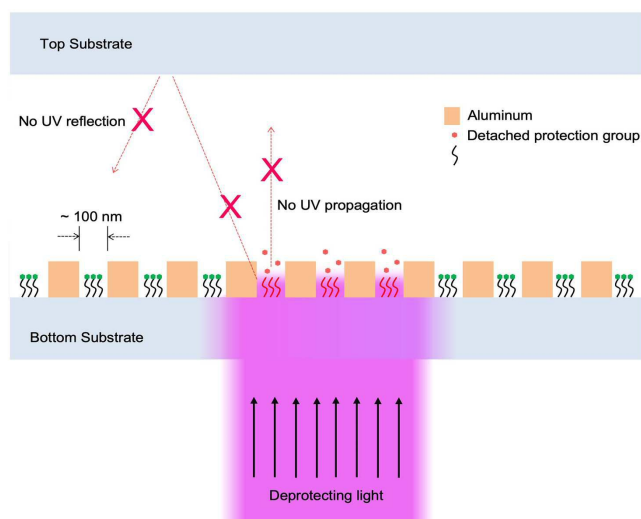
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 아토리터 나노셀 어레이를 이용한 고정밀 DNA 합성 방법

(57) 요약

본 발명은 빛의 원치 않는 반사를 방지하여 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 오류를 줄일 수 있는 아토리터 반응조 어레이에 관한 기술로 상기 어레이를 사용하면 DNA 합성 오류 및 소모되는 시료를 감소시킬 수 있다.

대표도 - 도6

(52) CPC특허분류

B01J 19/127 (2013.01)

B01J 2219/00317 (2013.01)

B01J 2219/00432 (2013.01)

B01J 2219/00711 (2013.01)

B01J 2219/00722 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

DNA 합성이 일어나고, 빛이 투과할 수 있는 재질로 이루어진 기관부; 및

상기 기관부에 형성된 나노웰 어레이를 포함하되,

상기 나노웰은 박막에 의해 구획되고, 가로, 세로 및 높이가 각각 50 nm 내지 2 μm 인, DNA 합성용 아토리터 나노웰 어레이.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 기관부는 규소 (silicon), 질화 규소 (silicon nitride), 산화 규소 (silicon oxide), 유리 (glass) 및 석영 (quartz)으로 이루어진 군에서 선택되는 재질로 이루어지는, DNA 합성용 아토리터 나노웰 어레이.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 박막은 알루미늄 (Al), 크로뮴 (Cr), 타이타늄 (Ti), 구리 (Cu), 금 (Au), 백금 (Pt) 및 은 (Ag)으로 이루어진 군에서 선택되는 재질인, DNA 합성용 아토리터 나노웰 어레이.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 박막은 두께가 50 nm 내지 2 μm 인, DNA 합성용 아토리터 나노웰 어레이.

청구항 5

DNA 합성이 일어나는 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 아토리터 나노웰 어레이;

상기 아토리터 나노웰 어레이의 기관부에서 박막 방향으로 빛을 조사하는 광원부; 및

상기 광원부의 아토리터 나노웰 어레이로의 빛 조사 패턴을 제어하는 빛-공간 변조기;를 포함하는, DNA 합성기기.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 빛-공간변조기는 포토마스크 (photomask), DMD (digital micromirror device) 또는 마이크로LED인, DNA 합성기기.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 나노웰의 가로 및 세로 길이는 상기 광원부에서 조사되는 파장보다 짧은 것인, DNA 합성기기.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 빛의 원치 않는 반사를 방지하여 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 오류를 줄일 수 있는 DNA 합성용 아토리터 나노웰 어레이에 관한 기술이다.

배경기술

[0003] 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 전세계적으로 저장된 데이터 양은 10^{24} 비트에서 10^{29} 비트에 달할 것으로 예상된다 (비특허문헌 1).

[0004] 현재 컴퓨터, 스마트폰 등 주요 기기의 데이터 저장 매체는 플래시 메모리 (flash memory)로 플래시 메모리는 1 pg 당 1 비트 (bit) 정도의 데이터 밀도 (data density)를 갖는다. 상기 2040년에 필요한 데이터 양에 해당하는 플래시 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 내 외라는 한계가 있다.

[0005] 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 플래시 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.

[0006] 특히, 광화학 DNA 합성 방법은 빛을 비추어 DNA 말단의 보호기를 탈보호 시키므로 빛의 회절 (diffraction), 산란 (scattering), 반사에 의해 원치 않는 영역에 빛이 도달하게 된다. 또한, DNA를 합성하고자 하는 부위에는 빛이 불충분하게 도달하는 영역이 존재하는 문제점이 있다. 이러한 문제점으로 인해 목적하지 않았던 DNA에서 탈보호가 일어나고, 목적하는 부위에서는 DNA의 탈보호가 일어나지 않게 되며, 결과적으로 DNA 합성 오류가 발생한다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) 1. Summary report, Technology Working Group Meeting on future DNA synthesis technologies (September 14, 2017, Arlington, VA)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 상기와 같은 상황에서 본 발명자는 광화학 기반 DNA 합성 과정의 DNA 탈보호 단계에서 i) DNA 합성 표면 외에 반대편 기판에도 빛이 흐릿 (blur)한 이미지로 맺혀 테두리 부분에 충분한 광량이 제공되지 못함으로써 보호기 (protection group)가 탈보호되지 않거나, ii) 반대편 기판에서 반사된 빛이 다시 합성기판에 도달하여 빛이 도달하지 않아야 할 위치의 보호기가 탈보호되는 문제를 개선하고자 연구하였다.

[0010] 그 결과, 빛이 회절한계 (diffraction limit; ~절반 파장)보다 좁은 구멍 (aperture)을 통과하지 못하는 특성에 착안하여 DNA 합성기판 표면에 ~100 nm 두께의 알루미늄 박막을 세워 ~100 nm 직경의 나노웰 어레이 (nanowell

array)를 구성하였다. 이렇게 나노웰 어레이를 구성하면 합성 기관 하단에서 조사된 빛이 합성기관 표면에 감쇠장 (evanescent field)으로서 존재하고 나노웰을 통과하지 못하게 된다. 따라서 반대편 기관의 흐릿한 이미지, 그리고 반사된 빛에 의한 DNA 합성 오류 문제가 원천 차단된다. 상기 나노웰 어레이에서 DNA 합성을 위한 광화학 반응은 $\sim 100 \times 100 \times 100 \text{ nm}^3$ (~ 1 아토 리터 (atto liter)) 공간으로 제한되므로 본 발명자는 상기 나노웰 어레이를 아토리터 나노웰 어레이로 명명하였다.

[0011] 따라서, 본 발명의 목적은 상기 아토리터 나노웰 어레이 및 상기 아토리터 나노웰 어레이를 포함하는 DNA 합성 기기를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 양상은 하기 구성을 포함하는 DNA 합성용 아토리터 나노웰 어레이를 제공한다:

[0014] 상기 기관부에 형성된 나노웰 어레이를 포함하되,

[0015] 상기 나노웰은 박막에 의해 구획되고, 가로, 세로 및 높이가 각각 50 nm 내지 2 μm 이다.

[0016] 본 발명에서, 상기 나노웰의 가로, 세로 및 높이는 각각 50 nm 내지 2 μm 일 수 있으며, 바람직하게는 50 nm 내지 1 μm , 보다 바람직하게는 50 nm 내지 200 nm, 더욱 바람직하게는 50 nm 내지 100 nm일 수 있다.

[0017] 본 발명에서, 상기 기관부는 규소 (silicon), 질화 규소 (silicon nitride), 산화 규소 (silicon oxide), 유리 (glass) 및 석영 (quartz)으로 이루어진 군에서 선택되는 재료로 이루어진다.

[0018] 본 발명에서, 상기 박막은 알루미늄 (Al), 크로뮴 (Cr), 타이타늄 (Ti), 구리 (Cu), 금 (Au), 백금 (Pt) 및 은 (Ag)으로 이루어진 군에서 선택되는 재료로 만들어진다.

[0019] 또한, 상기 박막은 두께가 50 nm 내지 2 μm 일 수 있으며, 바람직하게는 50 nm 내지 200 nm, 보다 바람직하게는 50 nm 내지 100 nm일 수 있다.

[0020] 본 발명의 다른 목적은

[0021] 상기 나노웰 어레이;

[0022] 상기 나노웰 어레이의 기관부에서 박막 방향으로 빛을 조사하는 광원부; 및

[0023] 상기 광원부의 나노웰 어레이로의 빛 조사 패턴을 제어하는 빛-공간 변조기;를 포함하는, DNA 합성기기를 제공한다.

[0024] 상기 빛-공간변조기는 포토마스크 (photomask), DMD (digital micromirror device) 또는 마이크로LED일 수 있다.

[0025] 본 발명에서, 상기 나노웰의 가로 및 세로 길이는 상기 광원부에서 조사되는 파장보다 짧은 것일 수 있다.

발명의 효과

[0027] 본 발명의 일 예에 따른 DNA 합성용 나노웰 어레이를 사용하면 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 빛의 불필요한 반사를 막아 DNA 합성 오류를 감소시킬 수 있고, 소모되는 시료 또한 줄일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 합성 오류가 나타나는 원인을 개략적으로 보여준다.

도 2는 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 합성 부위에 조사된 광량을 측정한 결과이다.

도 3은 빛이 DNA 합성 기관의 반대편 기관까지 도달하여 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 오류가 나타나는 일 예를 보여준다.

도 4는 광화학 기반 DNA 합성 방법에서 DNA 말단이 탈보호되고 새로운 뉴클레오티드가 첨가되는 과정의 일 예를 보여준다.

도 5는 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 탈보호 분자 제공 물질에 의해 DNA 말단이 탈보호되고 새로운 뉴클레오티드가 첨가되는 과정의 일 예를 보여준다.

도 6은 DNA 합성 기판 표면에 알루미늄 나노웰이 형성된 아토리터 나노웰 어레이의 일 예를 보여 준다.

도 7은 두께 20 nm, 직경 80 nm의 나노웰에 365 nm의 UV 파장을 갖는 빛을 조사하였을 때 전파 프로파일을 계산한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 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.
- [0032] 도 1은 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 합성 오류가 나타나는 원인을 개략적으로 보여준다.
- [0033] 포토마스크 (photomask) 또는 DMD (digital micromirror device)를 이용하는 DNA 합성 기판 (substrate)의 합성 영역에 선택적으로 탈보호를 위한 빛 (UV 또는 100 내지 500 nm 파장)을 조사하면 해당 빛이 DNA 합성 기판에서 반사, 분산되거나, 또는 회절에 의해 퍼져 빛이 불필요한 영역에 도달할 수 있다.
- [0034] 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.
- [0035] 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.
- [0036] DNA 합성 기판의 목적 위치에 빛이 불충분하게 도달하는 영역이 존재하는 것은 도 2를 통해서도 확인할 수 있다.
- [0038] 도 2는 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 DNA 합성 기판의 목적 위치 (DNA 합성 영역)에 조사된 광량을 측정한 결과이다.
- [0039] 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, 기판에 비춰지는 빛 패턴의 명암비가 완벽하지 않다.
- [0040] 도 1에 대한 설명에 기재하였듯이 테두리 부분 (도 1에서 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 뉴클레오티드가 첨가되면 (커플링, coupling) (n-1) 번째 서열에 대해 결실 오류 (deletion error)가 발생할 수 있다.
- [0041] 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 이후

에는 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.

- [0043] 도 3은 빛이 DNA 합성 기관의 반대편 기관까지 도달하여 광화학 기반 DNA 합성 과정에서 오류가 나타나는 일 예를 보여준다.
- [0044] DNA 합성 기관의 하단에서 조사된 빛이 반대편 기관에 맺히게 되면 해당 부분의 DNA에서 탈보호가 일어나게 되고, 추가로 빛의 반사가 일어나면 DNA 합성 기관의 원치 않는 영역에까지 빛이 도달할 수 있다.
- [0046] 도 4 및 도 5는 DNA 합성 과정에서 탈보호 및 커플링 기작을 설명한다.
- [0047] 도 4는 광화학 기반 DNA 합성 방법에서 DNA 말단이 탈보호되고 새로운 뉴클레오티드가 첨가되는 과정의 일 예를 보여준다.
- [0048] 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 보호기기 결합되어 있으므로 별도의 탈보호 과정이 없으면 DNA 추가 합성이 발생하지 않는다.
- [0049] 빛과 직접 반응하여 떨어져 나가는 보호기에는 BzNPOC, NPOC, SPh-NOOPC 등이 있다.
- [0051] 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.
- [0052] 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.
- [0053] 상기 탈보호 분자 제공 물질로는 하이드로퀴논, 활성 탈보호 분자로는 수소 이온 (H^+)이 사용될 수 있으며, 보호기로는 DMT가 사용될 수 있다.
- [0055] 도 6은 DNA 합성 기관 표면에 알루미늄 박막에 의해 나노웰이 형성된 아토리터 나노웰 어레이의 일 예를 보여준다.
- [0056] 구체적으로 도 6은 DNA 합성 기관 표면에 나노웰이 ~100 nm 두께와 직경을 갖도록 원형의 알루미늄 나노웰 어레이를 구성한 뒤 빛을 조사하여 DNA 합성을 진행하는 과정을 보여준다.
- [0057] 본 발명에서, 상기 나노웰은 가로, 세로 및 높이가 각각 50 nm 내지 1 μm 일 수 있으며, 상기 박막은 두께가 50 nm 내지 2 μm 일 수 있다. 나노웰의 높이와 박막의 두께를 동일하게 만드는 것도 가능하다.
- [0058] 상기 알루미늄 나노웰은 레이저 간섭 리소그래피 (laser interference lithography, LIL)을 이용하여 만들 수 있고, 나노비드 자가조립 리소그래피 (nanobead self-assembly lithography), 전자 빔 리소그래피 (Electron beam lithography, EBL), 집속 이온빔 리소그래피 (focused ion-beam lithography, FIB)를 이용하여 공정하는 것도 가능하다.
- [0059] 도 6을 참고하면, 박막에 의해 구획된 알루미늄 나노웰로 인해 DNA 합성 기관의 하단에서 조사된 빛이 전파되지 않고, DNA 합성 기관의 표면에 국한되는 것을 볼 수 있다.
- [0060] 이렇게 광원부에서 조사된 빛이 DNA 합성 기관의 표면에 국한되면 반대편 기관에 흐릿한 이미지가 맺히거나, 빛이 반사되는 현상이 차단되며, 본 발명의 아토리터 나노웰 어레이로 DNA 합성 과정에서 빛 반사로 인한 문제를 원천 차단할 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 예에 따른 나노웰 어레이를 사용하면 기존에 빛 반사로 인한 DNA 합성 오류를 방지하기 위해 사용하던 방법인 굴절률 매칭 (refractive index matching)을 위한 용액을 플로우

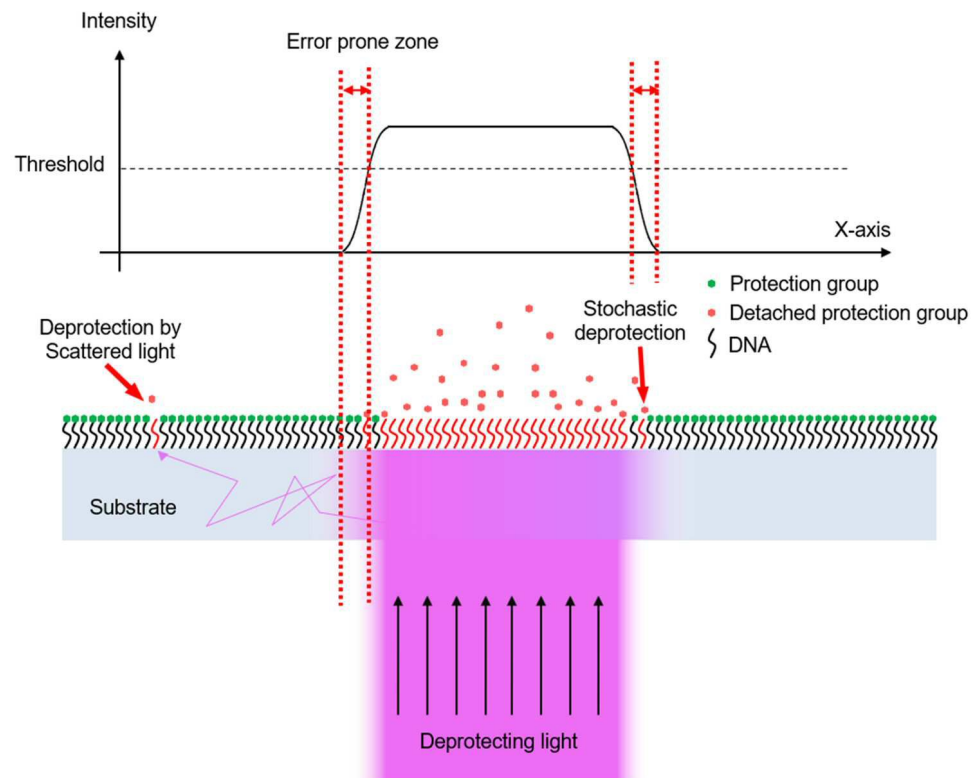
셀(flow cell)에 흘려주거나, 반대편 기관의 뒷부분에 무반사 (anti-reflecting) 물질을 채우는 과정을 생략할 수 있다.

[0062] 도 7은 두께 20 nm, 직경 80 nm의 크로뮴 나노웰이 있는 기관에 365 nm의 UV 파장을 조사하였을 때 전파 프로파일 (propagation profile)을 Matlab으로 계산한 결과이다.

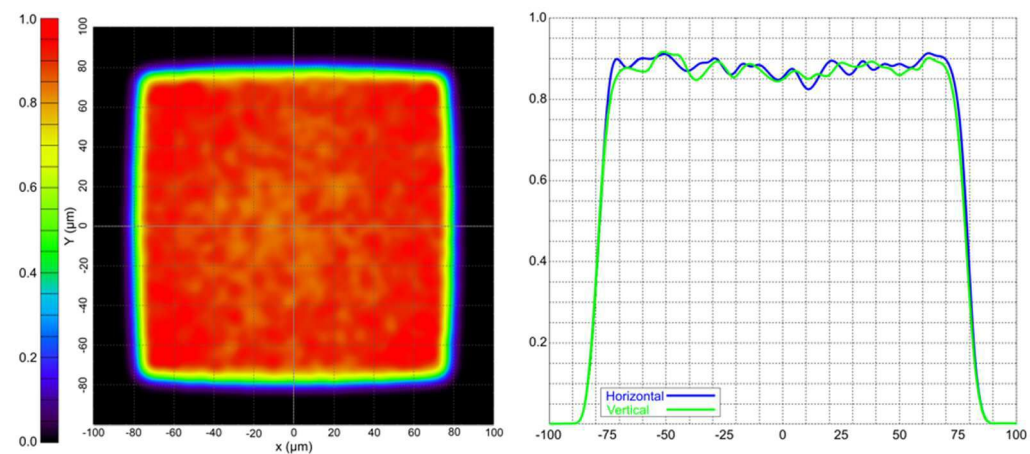
[0063] 기관의 아래쪽에서 조사된 빛이 합성 기관 표면에 국한되는 것을 확인할 수 있다.

도면

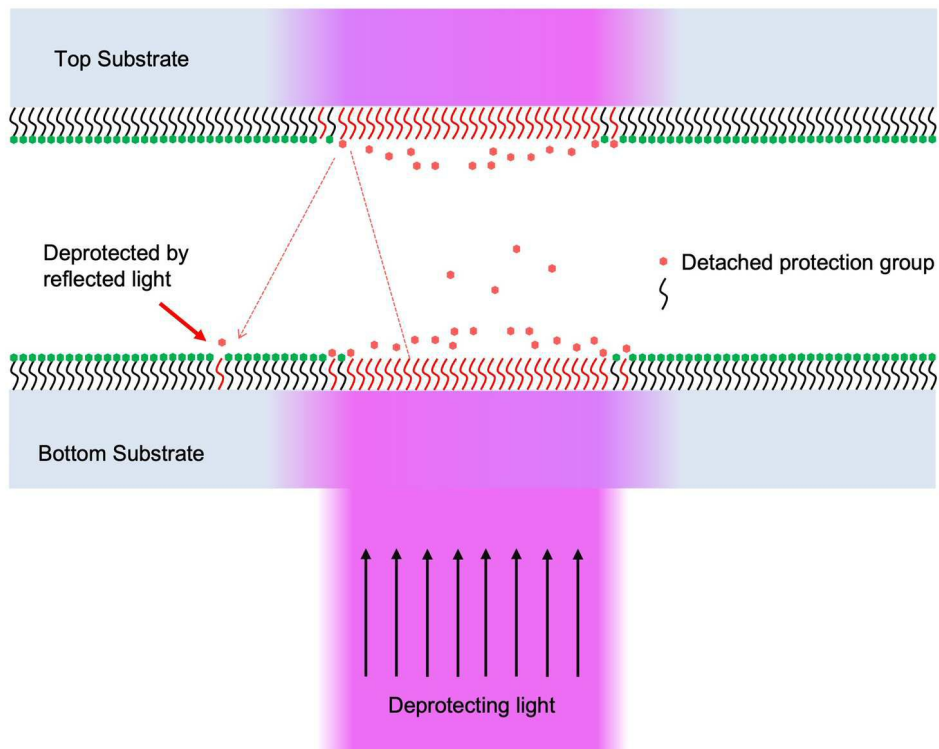
도면1



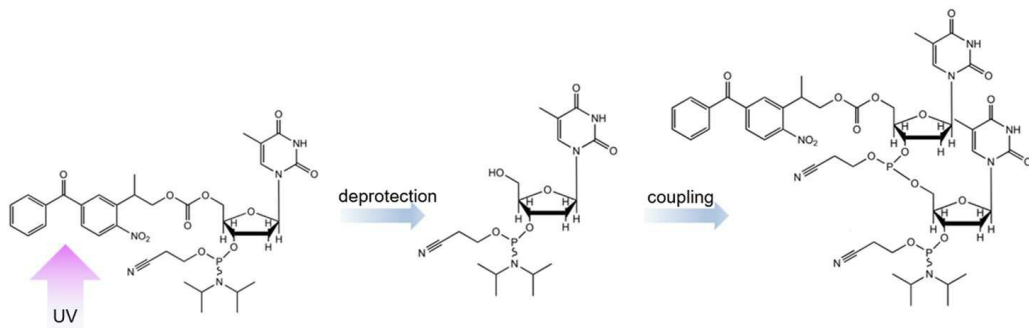
도면2



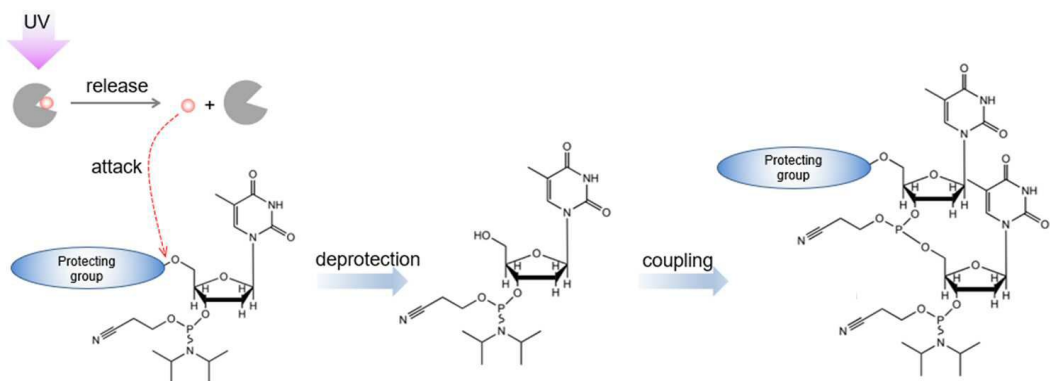
도면3



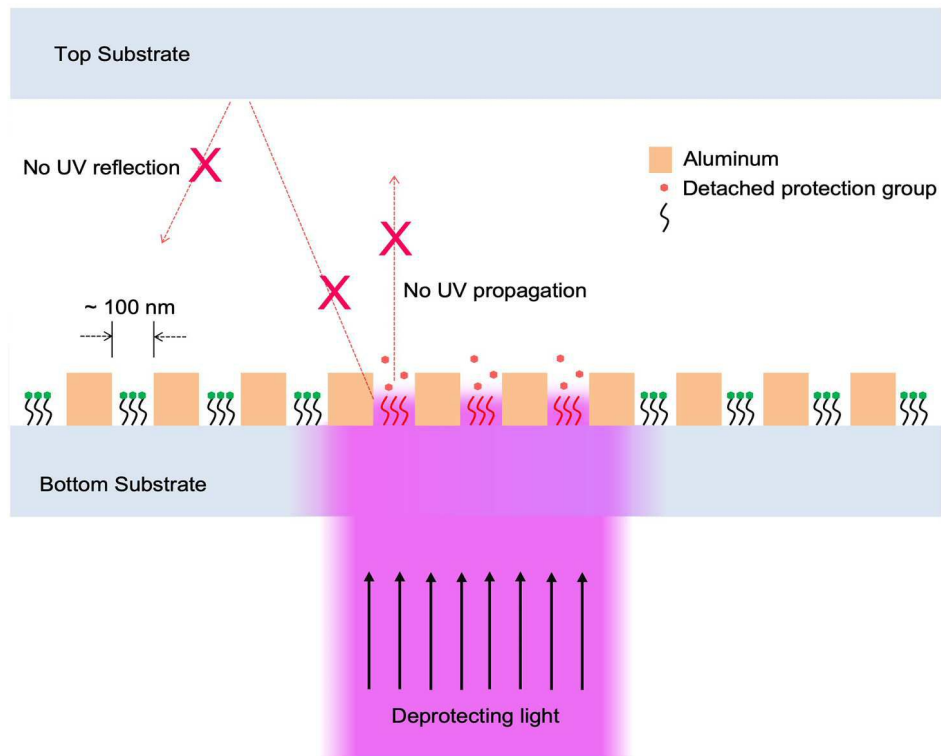
도면4



도면5



도면6



도면7

