(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0111707
(43) 공개일자 2024년07월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2023.01) *B01L 7/00* (2023.01)
G01N 33/543 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/502738 (2013.01)
B01L 3/50273 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0000737
(22) 출원일자 2024년01월03일
심사청구일자 2024년01월03일
(30) 우선권주장
1020230003520 2023년01월10일 대한민국(KR)

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
오병근
서울특별시 마포구 모래내로9길 3, 106동 1506호
이명준
서울특별시 마포구 숭문16가길 26, 303호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인에스알비

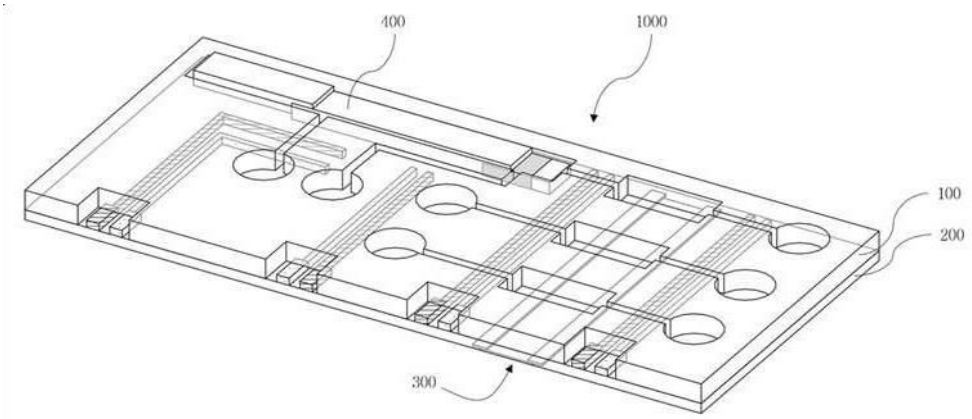
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **샘플의 등온 핵산 증폭 및 분석이 가능한 전기습윤 밸브 기반 미세유체장치 및 이를 이용한 샘플 분석 방법**

(57) 요 약

본 발명은 샘플의 등온 증폭 및 분석이 가능한 전기습윤 밸브 기반의 미세유체장치 및 이를 이용한 샘플 분석 방법에 관한 것으로, 본 발명의 미세유체장치에 주입된 샘플은 모세관 압력 및 전기습윤 밸브를 통해 그 흐름이 조절되고, 샘플에 포함된 다종의 표적물질은 복수의 검출부를 통해 동시에 검출될 수 있으므로, 본 발명을 통해 샘플 내의 표적물질을 효율적이고 간편하게 검출할 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
B01L 3/502761 (2013.01)
B01L 7/52 (2013.01)
G01N 33/54388 (2021.08)
B01L 2300/0636 (2013.01)
B01L 2300/0645 (2013.01)
B01L 2300/0819 (2013.01)
B01L 2300/1805 (2013.01)
B01L 2400/0427 (2013.01)
(72) 발명자
명지운
서울특별시 마포구 백범로 8, 1232호
신정협
서울특별시 마포구 숭문4길 20, 301호
이기쁨
서울특별시 중랑구 용마산로 210, 104동 102호
이장섭
서울특별시 마포구 고산16길 58, B동 862호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711153268
과제번호 2022R1A2C1006714
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구
연구과제명 종양 유래 엑소좀 다종 바이오마커 동시 검출용 등온 핵산증폭 바이오칩 플랫폼 개발
과제수행기관명 서강대학교 산학협력단
연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1415180675
과제번호 20214000000500
부처명 산업통상자원부
과제관리(전문)기관명 한국에너지기술평가원
연구사업명 에너지인력양성사업 (RCMS)
연구과제명 녹색성장을 위한 CCUS 전문인력양성
과제수행기관명 사단법인 케이씨씨유에스 추진단
연구기간 2022.01.01 ~ 2022.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

둘 이상의 샘플 로딩부, 상기 샘플 로딩부와 각각 연결되는 둘 이상의 제1유로, 상기 제1유로와 각각 연결되는 둘 이상의 반응부, 상기 반응부와 각각 연결되는 둘 이상의 제2유로, 및 상기 제2유로와 각각 연결되는 둘 이상의 검출부를 포함하는 제1기판; 및

상기 제1유로와 대응되는 위치에 배치되는 제1밸브 및 상기 제2유로와 대응되는 위치에 배치되는 제2밸브를 포함하고, 상기 제1밸브 및 상기 제2밸브가 배치된 일면이 상기 제1기판의 일측에 접하도록 배치되는 제2기판;을 포함하고,

상기 제1밸브는 제1 소수성 전극, 및 상기 제1 소수성 전극에 인접하며 상기 샘플 로딩부에서 상기 반응부를 향하는 방향을 기준으로 상기 제1 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제1 친수성 전극을 포함하고,

상기 제2밸브는 제2 소수성 전극, 및 상기 제2 소수성 전극에 인접하며 상기 반응부에서 상기 검출부를 향하는 방향을 기준으로 상기 제2 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제2 친수성 전극을 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 미세유체장치는,

상기 제2기판의 타면에 접하며 상기 반응부와 대응되는 위치에 배치되는 발열기판;

을 더 포함하고,

상기 발열기판은:

절연 소재로 구성되는 지지부재;

상기 지지부재의 상면에 배치되는 발열성 잉크; 및

상기 발열성 잉크의 양 말단에 각각 접하도록 배치되는 발열용 전극;

을 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 발열성 잉크는 금속 나노와이어, 탄소나노튜브 및 전도성 고분자로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상을 포함하고,

상기 금속 나노와이어는 금, 은, 백금, 구리, 팔라듐, 코발트 및 니켈로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 금속을 포함하고,

상기 탄소나노튜브는 단일벽 탄소나노튜브, 이중벽 탄소나노튜브 및 다중벽 탄소나노튜브로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상을 포함하고,

상기 전도성 고분자는 폴리아세틸렌 (polyacetylene), 폴리아닐린 (polyaniline), 폴리피롤 (polypyrrole), 폴리티오펜 (polythiophene), 폴리(3,4-에틸렌디옥시티오펜) (poly(3,4-ethylenedioxythiophene); PEDOT), 폴리파라페닐렌 (poly(p-phenylene)), 폴리파라페닐렌 비닐렌 (poly(p-phenylene vinylene); PPV) 및 폴리스티렌 설포네이트 (poly(styrenesulfonate); PSS)로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 고분자를 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 발열성 잉크는 생분해성 고분자를 더 포함하고,

상기 생분해성 고분자는 전분 (starch), 셀룰로오스 (cellulose), 폴리카프로락톤 (polycaprolactone; PCL),

폴리에스테르 (polyester), 폴리글리콜산 (polyglycolic acid; PGA) 및 아가로즈 (agarose)로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 고분자를 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 미세유체장치는,

상기 제1기판의 타측에 접하도록 배치되는 커버기판;

을 더 포함하고,

상기 커버기판은:

상기 샘플 로딩부에 대응되는 영역이 개구된 샘플 주입구;

를 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 검출부는 형광분석이 수행되는 제1검출부, 및 측방유동분석 (lateral flow assay; LFA)이 수행되는 제2검출부를 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 제1검출부는 샘플 내의 표적물질과 특이적으로 결합하는 형광 프로브를 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 제2검출부는 측방유동분석을 위한 측방유동분석장치를 포함하고,

상기 측방유동분석장치는:

샘플이 수용되는 샘플패드;

상기 샘플 내의 표적물질과 특이적으로 결합하는 신호 프로브를 포함하고 상기 샘플패드와 접하도록 배치되는 접합패드;

상기 표적물질과 특이적으로 결합하는 검출 프로브를 포함하는 검사선 (test line) 및 상기 신호 프로브와 특이적으로 결합하는 대조 프로브를 포함하는 대조선 (control line)을 포함하고 상기 접합패드와 접하도록 배치되는 검출패드; 및

상기 검출패드와 접하도록 배치되고, 상기 검출패드를 통과한 샘플 여액이 흡수되는 흡수패드;

를 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 제1기판은 상기 접합패드와 연결되는 제3유로, 상기 제3유로와 연결되는 제1저장부, 상기 검출패드와 연결되는 제4유로, 및 상기 제4유로와 연결되는 제2저장부를 더 포함하고,

상기 제2기판은 상기 제3유로와 대응되는 위치에 배치되는 제3밸브 및 상기 제4유로와 대응되는 위치에 배치되는 제4밸브를 더 포함하고,

상기 제3밸브는 제3 소수성 전극, 및 상기 제3 소수성 전극에 인접하며 상기 제1저장부에서 상기 접합패드를 향하는 방향을 기준으로 상기 제3 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제3 친수성 전극을 포함하고,

상기 제4밸브는 제4 소수성 전극, 및 상기 제4 소수성 전극에 인접하며 상기 제2저장부에서 상기 검출패드를 향하는 방향을 기준으로 상기 제4 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제4 친수성 전극을 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 미세유체장치는,

상기 제1기판의 타측에 접하도록 배치되는 커버기판;

을 더 포함하고,

상기 커버기판은:

상기 샘플 로딩부에 대응되는 영역이 개구된 샘플 주입구;

상기 제1저장부에 대응되는 영역이 개구된 제1저장액 주입구; 및

상기 제2저장부에 대응되는 영역이 개구된 제2저장액 주입구;

를 더 포함하는 것인, 미세유체장치.

청구항 11

제9항에 있어서, 상기 제1 소수성 전극, 상기 제2 소수성 전극, 상기 제3 소수성 전극 또는 상기 제4 소수성 전극은 표면에 미세 요철 패턴이 배치되는 것인, 미세유체장치.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 제1 소수성 전극, 상기 제2 소수성 전극, 상기 제3 소수성 전극 또는 상기 제4 소수성 전극은 표면에 불화 다면체 올리고머 실세스퀴옥산 (fluorinated polyhedral oligomeric silsesquioxane; F-POSS), 불화흑연 (graphite fluoride), 퍼플루오로데칸티올 (perfluorodecanethiol; PFDT), 퍼플루오로데실 트리클로로실란 (perfluorodecyl trichlorosilane; FDTS), 퍼플루오로데실 디메틸클로로실란 (perfluorodecyl dimethylchlorosilane; FDDCS), 폴리테트라플루오로에틸렌 (polytetrafluoroethylene; PTFE), 불소 계면활성제 (fluorosurfactant), 플로오로실란 (fluorosilane) 및 이들의 유도체로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 자기조립물질 (self-assembling material)을 포함하는 코팅층이 배치되는 것인, 미세유체장치.

청구항 13

미세유체장치에 샘플을 주입하는 샘플 주입 단계;

미세유체장치의 제1밸브에 전압을 인가하여 샘플을 반응부로 유동시키는 제1유동단계; 및

미세유체장치의 제2밸브에 전압을 인가하여 샘플을 검출부로 유동시키는 제2유동단계;

를 포함하고,

상기 미세유체장치는:

둘 이상의 샘플 로딩부, 상기 샘플 로딩부와 각각 연결되는 둘 이상의 제1유로, 상기 제1유로와 각각 연결되는 둘 이상의 반응부, 상기 반응부와 각각 연결되는 둘 이상의 제2유로, 및 상기 제2유로와 각각 연결되는 둘 이상의 검출부를 포함하는 제1기판; 및

상기 제1유로와 대응되는 위치에 배치되는 제1밸브 및 상기 제2유로와 대응되는 위치에 배치되는 제2밸브를 포함하고, 상기 제1밸브 및 상기 제2밸브가 배치된 일면이 상기 제1기판의 일측에 접하도록 배치되는 제2기판;을 포함하고,

상기 제1밸브는 제1 소수성 전극, 및 상기 제1 소수성 전극에 인접하며 상기 샘플 로딩부에서 상기 반응부를 향하는 방향을 기준으로 상기 제1 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제1 친수성 전극을 포함하고,

상기 제2밸브는 제2 소수성 전극, 및 상기 제2 소수성 전극에 인접하며 상기 반응부에서 상기 검출부를 향하는 방향을 기준으로 상기 제2 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제2 친수성 전극을 포함하는 것인, 샘플 분석 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 샘플 분석 방법은,

상기 제1유동단계 이후 미세유체장치의 발열기판에 전압을 인가하여 상기 반응부의 온도를 조절하는 온도조절단계;

를 더 포함하고,

상기 미세유체장치는,

상기 제2기판의 타면에 접하며 상기 반응부와 대응되는 위치에 배치되는 발열기판;

을 더 포함하고,

상기 발열기판은:

절연 소재로 구성되는 지지부재;

상기 지지부재의 상면에 배치되는 발열성 잉크; 및

상기 발열성 잉크의 양 말단에 각각 접하도록 배치되는 발열용 전극;

을 포함하는 것인, 샘플 분석 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 샘플 분석 방법은,

미세유체장치의 제1검출부에 유동된 샘플에 대하여 형광분석을 수행하는 제1검출단계; 및

미세유체장치의 제2검출부에 유동된 샘플에 대하여 측방유동분석을 수행하는 제2검출단계;

를 더 포함하고,

상기 검출부는 형광분석이 수행되는 제1검출부, 및 측방유동분석이 수행되는 제2검출부를 포함하는 것인, 샘플 분석 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 샘플의 등온 증폭 및 분석이 가능한 전기습윤 밸브 기반의 미세유체장치 및 이를 이용한 샘플 분석 방법에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명의 미세유체장치는 친수성 및 소수성 전극으로 구성된 전기습윤 밸브에 전압을 인가함으로써 유체 흐름을 조절할 수 있고, 미세유체장치의 일면에 배치된 발열기판을 통해 핵산 등온 증폭이 수행될 수 있는 온도를 확보할 수 있으며, 샘플 내의 표적물질을 두 가지 이상의 검출법을 통해 검출할 수 있도록 한다.

배 경 기 술

[0002] 등온 핵산 증폭법을 위한 자동화된 디바이스의 제작은 그 특유의 사용편리성으로 인해 많은 연구 및 기술 개발이 이루어지고 있다. 등온 핵산 증폭 및 분석을 위한 미세유체장치의 제작을 위해서는 크게 3가지 기술이 필요하다.

[0003] 첫째로, 등온 핵산 증폭을 진행하기 위한 온도 조절부가 필요하며, 이를 위해 장치 내에 직접 작은 히터를 직접 설치하는 방법 또는 외부 장치를 통해 온도를 조절하는 방법을 기반으로 한 기술이 개발되어 있다.

[0004] 둘째로, 등온 핵산 증폭에 사용되는 유체의 흐름을 조절할 수 있는 기술이 필요하며, 대표적으로 외부 펌프를 이용하여 미세유체관 내의 유체 흐름을 조절하는 방법, 전기습윤 효과를 이용한 디지털 미세유체 시스템을 이용하여 유체 흐름을 조절하는 방법 등이 있다.

[0005] 셋째로, 증폭된 등온 핵산 증폭을 검출할 수 있는 시스템이 요구되며, 이를 위해 형광 검출법, 면역 검출법 및 전기화학적 반응을 통한 검출법 등이 사용된다.

[0006] 그러나, 종래 기술에서는 유체 조절방식 및 히터 작동방식이 일치되지 않아 장치가 복잡해지거나 과도하게 커지는 문제점이 있다. 일례로, 유체 흐름 조절에 원심력을 이용하는 디스크 방식은 유체의 회전을 위해 미세유체장치 외부에 배치되는 별도의 회전장치가 필요하며, 핵산 증폭에 요구되는 히터 역시 장치 외부에 추가적으로 달아야 한다. 따라서, 디스크 방식에서 미세유체장치는 단순히 유체 흐름을 위한 도구로만 사용되고 핵산 증폭 절차의 대부분은 외부장치에 의존하게 되는 현상이 발생한다.

[0007] 다른 예로, 디지털 미세유체 시스템을 살펴보면, 유체 흐름을 조절하기 위해 수많은 전극이 사용이 되며, 이는 곧 각 전극에 대한 전압 인가를 조절하는 외부 장치의 높은 복잡성으로 이어지며, 실질적으로 미세유체장치 외부의 전압 인가 조절장치의 사용 난이도를 올리게 된다.

[0008] 아울러, 대부분의 핵산증폭용 장치는 증폭된 핵산을 검출하는데 있어, 하나의 검출 시스템밖에 사용할 수 없다는 문제점이 있으며, 이에 따라 장치의 온도 조절과 유체 흐름 조절이 모두 가능하며 두 가지 이상의 검출법을 통해 샘플 내 표적물질을 검출할 수 있는 소형 미세유체장치의 개발이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 이에, 본 발명자들은 친수성 및 소수성 전극으로 구성된 전기습윤 밸브를 통해 미세유체장치 내의 유체 흐름을 효율적으로 조절할 수 있으며, 간단한 전압 인가만으로 쉽게 발열 효과를 얻을 수 있는 발열기판을 미세유체장치에 통합함으로써 휴대 가능한 소형 미세유체장치의 제작이 가능함을 확인하였다.

[0011] 이에, 본 발명의 목적은 전기습윤 밸브 기반의 미세유체장치를 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 다른 목적은 전기습윤 밸브 기반의 미세유체장치를 이용하여 샘플 내의 표적물질을 검출하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명은 샘플의 등온 증폭 및 분석이 가능한 전기습윤 밸브 기반의 미세유체장치 및 이를 이용한 샘플 분석 방법에 관한 것으로, 전기습윤 밸브를 기반으로 하는 본 발명의 일체형 미세유체장치를 통해 샘플 내의 표적물질에 대한 증폭 및 분석이 모두 수행될 수 있다.

[0014] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0016] 본 발명의 일 양태는, 둘 이상의 샘플 로딩부, 샘플 로딩부와 각각 연결되는 둘 이상의 제1유로, 제1유로와 각각 연결되는 둘 이상의 반응부, 반응부와 각각 연결되는 둘 이상의 제2유로, 및 제2유로와 각각 연결되는 둘 이상의 검출부를 포함하는 제1기판; 및 제1유로와 대응되는 위치에 배치되는 제1밸브 및 제2유로와 대응되는 위치에 배치되는 제2밸브를 포함하고, 제1밸브 및 제2밸브가 배치된 일면이 제1기판의 일측에 접하도록 배치되는 제2기판;을 포함하고, 제1밸브는 제1 소수성 전극, 및 제1 소수성 전극에 인접하며 샘플 로딩부에서 반응부를 향하는 방향을 기준으로 제1 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제1 친수성 전극을 포함하고, 제2밸브는 제2 소수성 전극, 및 제2 소수성 전극에 인접하며 반응부에서 검출부를 향하는 방향을 기준으로 제2 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제2 친수성 전극을 포함하는 것인, 미세유체장치에 관한 것이다.

[0017] 본 명세서 상의 용어 "샘플"은 분석의 대상이 되는 액상 또는 고상의 임의의 물질을 의미하는 것으로, 검출하고자 하는 물질이 함유되는 것으로 예상되는 경우라면 생물학적 출처 또는 비생물학적 출처에서 유래되는 임의의 물질을 샘플로서 사용할 수 있다. 생물학적 출처에서 유래되는 샘플을 사용하는 경우, 샘플은 생물학적 유체 또는 생물학적 조직일 수 있다. 생물학적 유체에는 뇨, 혈액(전혈), 혈장, 혈청, 타액, 정액, 대변, 가래, 뇌척수액, 눈물, 점액, 양수 등이 포함될 수 있고, 생물학적 조직은 인간, 포유류를 포함하는 동물, 식물, 세균, 진균 또는 바이러스에서 채취될 수 있는 임의의 세포 집단이 포함될 수 있다. 샘플은 "시료"와 상호 교환적으로 사용될 수 있다.

[0018] 본 명세서 상의 용어 "대응되는 위치"는 서로 다른 둘 이상의 물체가 서로에 대해 특정한 관계를 이루는 위치를 의미하는 것으로, 예를 들어, 한 물체를 이와 대응되는 위치에 배치되는 다른 물체에 수직하게 투영했을 때, 그 물체가 다른 물체와 일치하거나, 다른 물체에 포함되거나, 다른 물체를 포함하거나, 또는 서로 겹칠 수 있다. 한 물체가 다른 물체의"위치에 대응"한다는 용어도 이와 같은 의미로 사용된다.

[0019] 본 발명의 일 구현예에서, 미세유체장치는, 제2기판의 타면에 접하며 반응부와 대응되는 위치에 배치되는 발열기판;을 더 포함하고, 발열기판은: 절연 소재로 구성되는 지지부재; 지지부재의 상면에 배치되는 발열성 잉크; 및 발열성 잉크의 양 말단에 각각 접하도록 배치되는 발열용 전극;을 포함하는 것일 수 있다.

[0020] 본 발명의 일 구현예에서, 발열성 잉크는 금속 나노와이어, 탄소나노튜브 및 전도성 고분자로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상을 포함하고, 금속 나노와이어는 금, 은, 백금, 구리, 팔라듐, 코발트 및 니켈로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 금속을 포함하고, 탄소나노튜브는 단일벽 탄소나노튜브, 이중벽 탄소나노튜브 및 다중벽 탄소나노튜브로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상을 포함하고, 전도성 고분자는 폴리아세틸렌 (polyacetylene), 폴리아닐린 (polyaniline), 폴리피롤 (polypyrrole), 폴리티오펜 (polythiophene), 폴리(3,4-에틸렌디옥시티오펜) (poly(3,4-ethylenedioxythiophene); PEDOT), 폴리파라페닐렌 (poly(p-phenylene)), 폴리파라페닐렌 비닐렌 (poly(p-phenylene vinylene); PPV) 및 폴리스티렌 설포네이트 (poly(styrenesulfonate); PSS)로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 고분자를 포함하는 것일 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 구현예에서, 금속 나노와이어는 은 나노와이어를 사용할 수 있고, 이 때 은 나노와이어는 0.1 내지 1mg/mL의 농도로 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0022] 은 나노와이어를 낮은 농도로 포함하는 경우, 예를 들어 0.1mg/mL로 포함하는 경우, 좁은 온도 범위, 예를 들어 20 내지 40도 사이의 온도를 미세하게 컨트롤 할 수 있다.

[0023] 은 나노와이어를 높은 농도로 포함하는 경우, 예를 들어 1mg/mL로 포함하는 경우, 온도 조절 민감도는 낮아지지만 넓은 온도 범위, 예를 들어 20내지 160도 사이의 넓은 온도 범위를 컨트롤 할 수 있다.

[0024] 이에, 원하는 온도 범위에 따라 은 나노와이어의 농도를 조절하여 적절한 온도 범위에 대해 높은 온도 민감도를 가진 발열 기판을 제작할 수 있다.

[0025] 본 발명의 일 구현예에서, 발열성 잉크는 생분해성 고분자를 더 포함하고, 생분해성 고분자는 전분 (starch), 셀룰로오스 (cellulose), 폴리카프로락톤 (polycaprolactone; PCL), 폴리에스테르 (polyester), 폴리글리콜산 (polyglycolic acid; PGA) 및 아가로즈 (agarose)로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 고분자를 포함하는 것일 수 있다.

[0026] 본 발명의 일 구현예에서, 발열 기판 제작에 생분해성 고분자를 사용하는 것으로, 보다 환경 친화적인 발열 기판을 제작할 수 있다.

[0027] 본 발명의 일 구현예에서, 발열 기판의 제작에 생분해성 고분자로 아가로즈를 사용하는 경우, 제작 과정 중 수분을 증발시키면 얇은 판 모양으로 부피가 줄어들어 더 얇은 형태의 발열 기판을 제작할 수 있다.

[0028] 본 발명의 일 구현예에서, 미세유체장치는, 상기 제1기판의 타측에 접하도록 배치되는 커버기판;을 더 포함하고, 커버기판은: 샘플 로딩부에 대응되는 영역이 개구된 샘플 주입구;를 포함하는 것일 수 있다.

[0029] 본 발명의 일 구현예에서, 검출부는 형광분석이 수행되는 제1검출부, 및 측방유동분석 (lateral flow assay; LFA)이 수행되는 제2검출부를 포함하는 것일 수 있다.

[0030] 본 명세서 상의 용어 "측방유동분석"은 막 혹은 기판 표면에 고정된 프로브를 포함하는 검출 영역에 대해 샘플을 전개시키며 프로브에 대해 특이적으로 결합하는 표적물질의 존재 여부를 신속하게 확인할 수 있는 분석법을 의미한다. 표적물질 분석을 위해 항원-항체 반응을 사용하는 경우 "측방유동면역분석 (lateral flow immunoassay)"으로 지칭 가능하고, 표적물질인 핵산의 분석을 위해 상보적인 서열을 사용하는 경우 "측방유동핵산분석 (lateral flow nucleic acid assay)"으로 지칭 가능하다.

[0031] 본 발명의 일 구현예에서 제1검출부는 샘플 내의 표적물질과 특이적으로 결합하는 형광 프로브를 포함하는 것일 수 있다.

[0032] 본 명세서 상의 용어 "표적물질"은 샘플 내에 존재하는 물질 중 분석의 대상이 되는 물질을 의미한다. 표적물질은 임의의 유기물 또는 무기물일 수 있으며, 표적물질이 유기물인 경우 표적물질은 지질, 아미노산, 단백질, 핵산과 같은 생분자일 수 있다. 이때, 핵산은 DNA 또는 RNA일 수 있다.

[0033] 본 명세서 상의 용어 "특이적으로 결합"은 물질 간의 결합 친화도 차이에 따라 특정 물질 간에 선별적으로 결합이 이루어지는 것을 의미하는 것으로, 서로 특이적으로 결합하는 둘 이상의 물질은 특이적으로 결합하지 않는 그 외의 물질과 현저히 낮은 결합력을 가지고, 결과적으로 특이적으로 결합하지 않는 그 외의 물질과는 유효한 결합을 형성하지 않을 수 있다. 생분자의 일정 부위를 항원 결정 부위 (antigenic determinant)로 인식하는 항체, 또는 서로 상보적인 서열을 갖는 단일가닥 핵산 등이 특이적으로 결합하는 물질의 대표적인 예시이다.

[0034] 본 명세서 상의 용어 "프로브"는 특정 물질에 대해 특이적으로 결합함으로써 해당 물질의 존재 여부를 확인할 수 있도록 하는 물질을 의미하는 것으로, 항체, 항원, 핵산, 압타머 (aptamer), 합텐 (hapten) 등이 프로브로서

활용될 수 있다.

[0035] 본 발명의 일 구현예에서, 제2검출부는 측방유동분석을 위한 측방유동분석장치를 포함하고, 측방유동분석장치는: 샘플이 수용되는 샘플패드; 샘플 내의 표적물질과 특이적으로 결합하는 신호 프로브를 포함하고 샘플패드와 접하도록 배치되는 접합패드; 표적물질과 특이적으로 결합하는 검출 프로브를 포함하는 검사선 (test line) 및 상기 신호 프로브와 특이적으로 결합하는 대조 프로브를 포함하는 대조선 (control line)을 포함하고 접합패드와 접하도록 배치되는 검출패드; 및 검출패드와 접하도록 배치되고, 검출패드를 통과한 샘플 여액이 흡수되는 흡수패드;를 포함하는 것일 수 있다.

[0036] 본 발명의 일 구현예에서, 제1기판은 접합패드와 연결되는 제3유로, 제3유로와 연결되는 제1저장부, 검출패드와 연결되는 제4유로, 및 제4유로와 연결되는 제2저장부를 더 포함하고, 제2기판은 제3유로와 대응되는 위치에 배치되는 제3밸브 및 제4유로와 대응되는 위치에 배치되는 제4밸브를 더 포함하고, 제3밸브는 제3 소수성 전극, 및 제3 소수성 전극에 인접하며 제1저장부에서 접합패드를 향하는 방향을 기준으로 제3 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제3 친수성 전극을 포함하고, 제4밸브는 제4 소수성 전극, 및 제4 소수성 전극에 인접하며 제2저장부에서 검출패드를 향하는 방향을 기준으로 제4 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제4 친수성 전극을 포함하는 것일 수 있다.

[0037] 본 발명의 일 구현예에서, 미세유체장치는, 제1기판의 타측에 접하도록 배치되는 커버기판;을 더 포함하고, 커버기판은: 샘플 로딩부에 대응되는 영역이 개구된 샘플 주입구; 제1저장부에 대응되는 영역이 개구된 제1저장액 주입구; 및 제2저장부에 대응되는 영역이 개구된 제2저장액 주입구;를 더 포함하는 것일 수 있다.

[0038] 본 발명의 일 구현예에서, 제1 소수성 전극, 제2 소수성 전극, 제3 소수성 전극 또는 제4 소수성 전극은 표면에 미세 요철 패턴이 배치되는 것일 수 있다.

[0039] 본 명세서 상의 용어 "미세 요철 패턴"은 물질의 표면에 수 나노미터 내지 수백 마이크로미터 크기의 수많은 돌출부가 형성되는 것을 의미하는 것으로, 돌출부는 일정한 규칙 또는 간격을 두어 형성되거나, 무작위로 형성될 수 있다. 물질 표면에 미세 요철 패턴이 존재하는 경우, 표면의 조도 (roughness)가 증가하며 미세 돌출부 사이에 공기가 갇히고, 이에 따라 물질 표면에 위치하는 액체에 대한 반발이 증가함으로써 표면에 대한 액적의 접촉각이 커질 수 있다.

[0040] 본 발명의 일 구현예에서, 제1 소수성 전극, 제2 소수성 전극, 제3 소수성 전극 또는 제4 소수성 전극은 표면에 불화 다면체 올리고머 실세스퀴옥산 (fluorinated polyhedral oligomeric silsesquioxane; F-POSS), 불화흑연 (graphite fluoride), 퍼플루오로데칸티올 (perfluorodecanethiol; PFDT), 퍼플루오로데실 트리클로로실란 (perfluorodecyl trichlorosilane; FDTS), 퍼플루오로데실 디메틸클로로실란 (perfluorodecyl dimethylchlorosilane; FDDCS), 폴리테트라플루오로에틸렌 (polytetrafluoroethylene; PTFE), 불소 계면활성제 (fluorosurfactant), 플로오로실란 (fluorosilane) 및 이들의 유도체로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 자기조립물질 (self-assembling material)을 포함하는 코팅층이 배치되는 것일 수 있다.

[0041] 본 명세서 상의 용어 "자기조립물질"은 물질 고유의 물리화학 반응을 통해 전극, 금속 또는 다른 물질, 나노입자 등과 특별한 반응 과정 없이 자발적으로 결합하는 물질을 의미한다. 일례로, 티올 (thiol)기를 지닌 분자가 외부로부터의 에너지 투입 없이 금, 은과 같은 금속과 자발적으로 결합하는 경우에 있어서, 이러한 분자를 자기조립물질로 지칭할 수 있다.

[0042] 본 발명의 다른 양태는, 미세유체장치에 샘플을 주입하는 샘플 주입 단계; 미세유체장치의 제1밸브에 전압을 인가하여 샘플을 반응부로 유동시키는 제1유동단계; 및 미세유체장치의 제2밸브에 전압을 인가하여 샘플을 검출부로 유동시키는 제2유동단계;를 포함하고, 미세유체장치는: 둘 이상의 샘플 로딩부, 샘플 로딩부와 각각 연결되는 둘 이상의 제1유로, 제1유로와 각각 연결되는 둘 이상의 반응부, 반응부와 각각 연결되는 둘 이상의 제2유로, 및 제2유로와 각각 연결되는 둘 이상의 검출부를 포함하는 제1기판; 및 제1유로와 대응되는 위치에 배치되는 제1밸브 및 제2유로와 대응되는 위치에 배치되는 제2밸브를 포함하고, 제1밸브 및 제2밸브가 배치된 일면이 제1기판의 일측에 접하도록 배치되는 제2기판;을 포함하고, 제1밸브는 제1 소수성 전극, 및 제1 소수성 전극에 인접하며 샘플 로딩부에서 반응부를 향하는 방향을 기준으로 제1 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제1 친수성 전극을 포함하고, 제2밸브는 제2 소수성 전극, 및 제2 소수성 전극에 인접하며 반응부에서 검출부를 향하는 방향을 기준으로 제2 소수성 전극에 선행하도록 배치되는 제2 친수성 전극을 포함하는 것인, 샘플 분석 방법에 관한 것이다.

[0043] 본 발명의 일 구현예에서, 샘플 분석 방법은, 제1유동단계 이후 미세유체장치의 발열기판에 전압을 인가하여 반

응부의 온도를 조절하는 온도조절단계;를 더 포함하고, 미세유체장치는, 제2기판의 타면에 접하며 반응부와 대응되는 위치에 배치되는 발열기판;을 더 포함하고, 발열기판은: 절연 소재로 구성되는 지지부재; 지지부재의 상면에 배치되는 발열성 잉크; 및 발열성 잉크의 양 말단에 각각 접하도록 배치되는 발열용 전극;을 포함하는 것일 수 있다.

[0044] 본 발명의 일 구현예에서, 샘플 분석 방법은, 미세유체장치의 제1검출부에 유동된 샘플에 대하여 형광분석을 수행하는 제1검출단계; 및 미세유체장치의 제2검출부에 유동된 샘플에 대하여 측방유동분석을 수행하는 제2검출단계;를 더 포함하고, 검출부는 형광분석이 수행되는 제1검출부, 및 측방유동분석이 수행되는 제2검출부를 포함하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0045] 본 발명의 미세유체장치는 모세관 현상으로 유동되는 유체의 흐름이 전기습윤 밸브를 통해 조절될 수 있도록 하고, 핵산을 비롯한 여러 물질을 포함하는 샘플에 대해 핵산 증폭 및 두 종류 이상의 표적물질의 검출이 모두 수행될 수 있도록 하는 일체형 장치인 것으로, 본 발명을 통해 샘플을 효율적이고 간편하게 분석할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0046] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 분해사시도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라 제1기판, 제2기판 및 발열기판이 결합된 미세유체장치의 투명사시도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제1기판의 상면도이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제2기판의 상면도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 발열기판의 사시도이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 측방유동분석장치의 사시도이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 커버기판의 상면도이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유치장치의 제1밸브 내지 제4밸브의 전기습윤적 작동 원리와 이를 위한 전극 구성, 및 유체 흐름 조절 단계를 나타낸 도면이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제1밸브 내지 제4밸브를 구성하는 소수성 전극의 형성 단계를 나타낸 모식도이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제1밸브 내지 제4밸브를 구성하는 소수성 전극의 형성 단계를 구체적으로 나타낸 도면이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제1밸브 내지 제4밸브를 구성하는 소수성 전극의 표면 구성에 따른 액적 적하 결과 및 접촉각을 나타낸 도면이다.

도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제1밸브 내지 제4밸브를 구성하는 전극 패턴을 형성하기 위한 장비와 소재 및 형성 단계를 나타낸 모식도이다.

도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 은 나노와이어의 제작 온도에 따른 은 나노와이어의 구조 모습을 나타낸 사진이다.

도 14는 본 발명의 일 실시예에 따라 제작한 은 나노와이어를 이용한 발열기판의 모습을 SEM으로 확인한 사진이다.

도 15는 본 발명의 일 실시예에 따라 제작한 은 나노와이어를 이용한 발열기판의 구성을 EDS 분석을 통해 확인한 데이터다.

도 16은 본 발명의 일 실시예에 따른 발열기판의 제조 단계를 나타낸 모식도이다.

도 17은 본 발명의 일 실시예에 따라 실제로 구현된 발열기판, 및 발열기판에 대한 전압 인가 시간별 발열기판 온도를 나타낸 도면이다.

도 18은 본 발명의 일 실시예에 따라 제작한 발열기판에 대한 전압 인가 시간 및 인가 전압별 발열기판의 온도를 나타낸 그래프다.

도 19는 본 발명의 일 실시예에 따른 생분해성 발열기판의 제조 단계를 나타낸 모식도이다.

도 20은 본발명의 일 실시예에 따라 제작한 생분해성 발열기판에 대한 전압 인가 시간 및 인가 전압별 발열기판의 온도를 나타낸 그래프이다.

도 21은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 반응부에서 등온 증폭 기법을 이용하여 샘플 내 표적 miRNA를 증폭하는 과정을 나타낸 모식도이다.

도 22는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치를 통해 miRNA에 대한 등온 핵산 증폭을 수행함에 있어, 샘플 내의 miRNA 또는 효소의 유무에 따른 핵산 증폭 여부를 전기영동으로 확인한 결과를 나타낸 사진이다.

도 23은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치를 통해 miRNA에 대한 등온 핵산 증폭을 수행함에 있어, 샘플 내의 miRNA 농도에 따른 용량-의존적 핵산 증폭 여부를 전기영동으로 확인한 결과를 나타낸 사진이다.

도 24는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치를 통해 miRNA에 대한 등온 핵산 증폭을 수행함에 있어, 샘플 내의 miRNA 농도에 따른 용량-의존적 핵산 증폭 여부를 형광이 강화된 전기영동으로 확인한 결과를 나타낸 사진이다.

도 25는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치를 통해 miRNA에 대한 등온 핵산 증폭을 수행함에 있어, 샘플 내의 miRNA (1 uM)의 서열에 따른 특이적 핵산 증폭 여부를 전기영동으로 확인한 결과를 나타낸 사진이다.

도 26은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치를 통해 miRNA에 대한 등온 핵산 증폭을 수행함에 있어, 샘플 내의 miRNA (1 uM)의 서열에 따른 특이적 핵산 증폭 여부를 전기영동으로 확인한 결과를 명암 대비로써 나타낸 사진이다.

도 27은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치를 통해 miRNA에 대한 등온 핵산 증폭을 수행함에 있어, 샘플 내의 miRNA (100 nM)의 서열에 따른 특이적 핵산 증폭 여부를 전기영동으로 확인한 결과를 나타낸 사진이다.

도 28은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제1검출부에서 형광분석이 수행되는 경우, 형광분석이 수행되는 과정을 나타낸 모식도이다.

도 29는 본 발명의 일 실시예에 따른 형광분석이 수행되는 경우 miRNA의 농도에 따른 형광 세기의 변화를 나타낸 그래프이다.

도 30은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제2검출부에서 측방유동분석이 수행되는 경우, 측방유동분석이 수행되는 과정을 나타낸 모식도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0047] 이하, 본 발명에 따른 바람직한 실시 형태를 첨부된 도면을 참조하여 상세하게 설명한다. 첨부된 도면과 함께 이하에 개시될 상세한 설명은 본 발명의 예시적인 실시 형태를 설명하고자 하는 것으로, 본 발명이 실시될 수 있는 유일한 실시 형태를 나타내고자 하는 것이 아니고, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다.

[0048] 또한, 몇몇의 경우, 본 발명의 개념이 모호해지는 것을 피하기 위하여 공지의 구조는 생략될 수 있고, 본 명세서 전체에서 동일한 구성요소에 대해서는 동일한 도면 부호를 사용하여 설명한다.

[0049] 용어 "또는"은 배타적 "또는"이 아니라 내포적 "또는"을 의미하는 것으로 의도된다. 즉, 구성 간의 결합 또는 이용이 달리 특정되지 않거나 문맥상 명확하지 않은 경우에, 즉, X가 A를 포함하거나; X가 B를 포함하거나; 또는 X가 A 및 B 모두를 포함하는 경우, "X는 A 또는 B를 포함한다"가 이들 경우들 어느 것으로도 적용될 수 있다.

[0050] 그리고, 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미하며, 어떤 구성이 다른 구성과 "연결" 또는 "결합"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로" 연결 또는 결합되어 있는 경우뿐 아니라, "그 중간에 다른 구성을 사이에 두고" 연결 또는 결합되어 있는 경우도 포함한다.

[0051] 아울러, 어떤 구성이 다른 구성과 "접한다"거나 "부착된다"고 할 때, 이는 두 구성이 서로 직접 접촉하도록 배치되는 것을 의미한다.

[0053] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 분해사시도이고, 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라 제1기판, 제2기판 및 발열기판이 결합된 미세유체장치의 투명사시도이다.

[0054] 도 1 및 도 2를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치 (1000)는 제1기판 (100) 및 제2기판 (200)을 포함할 수 있다.

[0055] 제1기판 (100)은 샘플이 로딩되는 로딩부, 샘플이 유동되는 유로, 및 샘플 내의 표적물질의 검출되는 검출부 등의 내부 구조를 포함할 수 있다.

[0056] 제1기판 (100)의 각 내부 구조는 상면과 하면이 모두 개방된 개구 형태이거나, 상면 또는 하면 중 어느 하나만 개방된 함입 형태이거나, 또는 상면과 하면이 모두 폐쇄된 중공 형태일 수 있다. 예를 들어, 제1기판 (100)에 포함될 수 있는 샘플 로딩부, 유로, 반응부, 검출부 및 저장부의 구조는 상면과 하면이 모두 개방된 개구 형태를 취할 수 있다.

[0057] 제1기판 (100)에 포함되는 내부 구조가 개구 형태를 취하는 경우, 제1기판 (100)의 일측 또는 타측에 배치되는 별도의 기판 또는 부재를 통해 폐쇄 공간이 형성될 수 있고, 이에 따라 미세유체장치 (1000)에 로딩된 샘플이 외부 유출 없이 장치 내에서 유동될 수 있다. 예를 들어, 제1기판 (100)의 내부 구조가 개구 형태를 취하는 경우, 각 내부 구조는 제1기판 (100)의 일측에 접하도록 배치되는 제2기판 (200)을 통해 샘플이 담지될 수 있는 함입 형태를 이루게 된다.

[0058] 제1기판 (100)에 포함되는 내부 구조는 제1기판 (100)의 두께에 따라 각 구조의 높이가 결정되며, 예를 들어, 제1기판 (100)의 두께는 0.1 내지 2 ㎜, 즉 0.1 ㎜, 0.3 ㎜, 0.5 ㎜, 0.8 ㎜, 1.0 ㎜, 1.2 ㎜, 1.5 ㎜ 또는 2.0 ㎜일 수 있다.

[0059] 제1기판 (100)의 두께가 지나치게 두꺼운 경우 미세유체장치 (1000) 내에서의 유체 유동 효율이 저하될 수 있고, 제1기판 (100)의 두께가 지나치게 얇은 경우 충분한 양의 샘플이 주입되지 않거나 밸브를 통한 유체 유동 조절이 용이하지 않을 수 있으므로, 미세유체장치 (1000) 구현 시 상기 기재된 제1기판 (100)의 두께 범위 내에서 적절한 제1기판 (100)의 두께를 선택할 수 있다.

[0060] 제2기판 (200)은 제1기판 (100)의 일측에 접하도록 배치될 수 있다.

[0061] 제2기판 (200)이 제1기판 (100)과 접하는 일면에는 미세유체장치 (1000)에서 유동되는 유체의 흐름을 조절할 수 있는 복수의 밸브가 배치될 수 있다.

[0062] 제2기판 (200)의 입체적인 형상이 도시된 도 1 및 도 2에는 설명의 편의를 위해 각 밸브의 높이가 과장되게 표현되었으며, 실제로 미세유체장치 (1000)를 구현하는 경우 박막 형태의 전극만으로 각 밸브를 구성함으로써 제1기판 (100)과 제2기판 (200)이 서로 긴밀하게 부착되도록 하여, 미세유체장치 (1000)에 로딩된 샘플이 밸브의 존재에도 불구하고 외부로 유출되지 않도록 할 수 있다.

[0063] 제2기판 (200)은 제1기판 (100) 일측에 배치되어 제1기판을 지지하기에 충분한 두께를 가질 수 있으며, 예를 들어, 제2기판 (200)의 두께는 1 내지 3 ㎜, 즉 1.0 ㎜, 1.2 ㎜, 1.5 ㎜, 1.8 ㎜, 2.0 ㎜, 2.3 ㎜, 2.5 ㎜, 2.8 ㎜ 또는 3.0 ㎜일 수 있다.

[0064] 제2기판 (200)의 두께가 지나치게 두꺼운 경우 제2기판 (200)을 통한 제1기판 (100)으로의 열 전달 효율이 저감되어 미세유체장치 (1000)를 통한 등온 증폭이 용이하지 않을 수 있고, 제2기판 (200)의 두께가 지나치게 얇은 경우 제2기판 (200)이 제1기판 (100)을 제대로 지지하지 못하거나 제2기판 (200)을 통해 지나치게 많은 열이 제1기판 (100)으로 전달될 위험이 있으므로, 미세유체장치 (1000) 구현 시 상기 기재된 제2기판 (200)의 두께 범위 내에서 적절한 제2기판 (200)의 두께를 선택할 수 있다.

[0065] 미세유체장치 (1000) 내부에 위치하는 유체는 제1기판 (100) 및 제2기판 (200)에 의해 형성되는 공간에서의 모세관 압력 (capillary pressure)을 통해 미세유체장치 (1000) 내에서 유동될 수 있다.

[0066] 이때, 유체가 유동되는 공간의 단면의 가로 및 세로 너비에 따라 모세관 압력이 조절될 수 있다. 따라서, 미세유체장치 (1000) 내부의 개별 공간의 크기를 조절함으로써 유체가 흐르지 않는 정체 영역 (stagnation region)을 형성할 수 있고, 이러한 정체 영역에서 등온 핵산 증폭과 같은 시간 소모적인 전처리 과정이 수행될 수 있다.

[0067] 여기에서, 미세유체장치 (1000)에 형성되는 공간의 단면의 가로 너비는 제1기판 (100)의 각 내부 구조의 폭에 상응할 수 있고, 세로 너비는 제1기판 (100)의 두께에 상응할 수 있다.

[0068] 제1기판 (100)과 제2기판 (200)은 전기절연성의 소재로 구성될 수 있으며, 예를 들어, 각 기판은 유리, 고분자 화합물, 실리콘 (silicone) 또는 세라믹 소재로 구성될 수 있다.

[0069] 제1기판 (100)과 제2기판 (200)이 고분자화합물로 구성되는 경우, 고분자화합물은 플라스틱 소재일 수 있고, 예를 들어, 폴리메틸 메타크릴레이트 (polymethyl methacrylate; PMMA), 폴리에틸렌 테레프탈레이트 (polyethylene terephthalate; PET), 폴리페닐렌 에테르 (polyphenylene ether; PPE), 폴리페닐렌 설파이드 (polyphenylene sulfide; PPS), 폴리아미드 (polyamide; PA), 폴리카보네이트 (polycarbonate; PC), 폴리에틸렌 (polyethylene; PE), 폴리프로필렌(polypropylene; PP), 폴리이미드(polyimide; PI), 폴리스티렌 (polystyrene; PS), 폴리우레탄(polyurethane; PU), 환형 올레핀 중합체 (cyclic olefin polymer; COP), 환형 올레핀 공중합체 (cyclic olefin copolymer; COC) 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹에서 선택되는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0070] 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치 (1000)는 발열기판 (300)을 더 포함할 수 있다.

[0071] 발열기판 (300)은 제2기판 (200)의 양면 중 밸브가 배치되지 않는 타면과 접하도록 배치될 수 있다.

[0072] 발열기판 (300)은 외부로부터 전달되는 물리화학적 자극에 의해 열을 발생시킬 수 있고, 발열기판 (300)에서 발생된 열은 발열기판 (300) 접한 제2기판 (200) 및 제2기판 (200)과 접한 제1기판 (100)에 차례대로 전도되므로, 결과적으로 발열기판 (300)을 통해 제1기판 (100)의 온도를 일정 범위 내에서 유지시킬 수 있다.

[0073] 예를 들어, 발열기판 (300)은 외부의 전력원 (미도시)으로부터 인가된 전압을 통해 열을 발생시킬 수 있는 발열원을 포함함으로써 전기적 방식으로 발열할 수 있고, 이 경우 발열기판 (300)에 대한 지속적인 전압 인가를 통해 제1기판의 온도를 일정 범위 내에서 유지시킬 수 있다.

[0074] 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치 (1000)는 측방유동분석장치 (400)를 더 포함할 수 있다.

[0075] 측방유동분석장치 (400)는 제1기판 (100)에 형성된 유로와 접촉하도록 배치될 수 있다. 미세유체장치 (1000)에 로딩된 샘플은 유로를 따라 측방유동분석장치 (400)까지 전달되어 측방유동분석장치 (400)의 일단에 수용되고, 수용된 샘플은 측방유동분석장치 (400)의 타단까지 전개되어 최종적으로 샘플 내 표적물질이 측방유동분석장치 (400)를 통해 검출될 수 있다.

[0076] 측방유동분석장치 (400)는 샘플 내 표적물질의 검출을 위해 분자 간 결합 친화도 (binding affinity)를 활용할 수 있다. 예를 들어, 표적물질이 단일가닥 핵산인 경우, 단일가닥 핵산에 상보적인 핵산을 프로브로 사용함으로써 표적물질에 대한 결합 친화도를 극대화할 수 있고, 이에 따라 표적 핵산 분자를 특이적으로 검출해낼 수 있다. 또 다른 예로, 표적물질이 단백질인 경우, 단백질의 전부 또는 일부를 항원 결정 부위로 인식하는 항체를 프로브로 사용함으로써 표적물질에 대한 결합 친화도를 극대화할 수 있고, 이에 따라 표적 단백질 분자를 특이적으로 검출해낼 수 있다.

[0077] 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치 (1000)는 커버기판 (500)을 더 포함할 수 있다.

[0078] 커버기판 (500)은 제1기판 (100)의 양측 중 제2기판 (200)과 접하지 않는 타측과 접하도록 배치될 수 있다.

[0079] 커버기판 (500)은 유체의 출입이 가능하도록 상하면이 모두 개방된 복수의 개구 영역을 포함할 수 있다.

[0080] 커버기판 (500)이 하나 이상의 개구 영역을 포함함에 따라, 사용자는 커버기판 (500)이 제1기판 (100)에 부착된 경우에도 두 기판을 분리하지 않고 샘플 또는 저장액 등의 유체를 미세유체장치 (1000)에 주입할 수 있다.

[0081] 또한, 커버기판 (500)과 제1기판 (100) 밀착 시 커버기판 (500)에서 개구 영역이 형성되지 않은 부분은 제1기판 (100)의 내부 공간을 효과적으로 밀폐할 수 있고, 이에 따라 미세유체장치 (1000)에 주입된 유체가 증발되어 유실되는 것을 방지할 수 있다.

[0082] 커버기판 (500)은 미세유체장치 (1000)에 주입된 유체를 육안으로 관찰할 수 있도록 하기 위해 투명한 소재로 구성될 수 있으며, 예를 들어, 유리, 실리콘, 세라믹 또는 투명 플라스틱 등으로 구성될 수 있다.

[0083] 커버기판 (500)이 투명 플라스틱 소재로 구성되는 경우, 커버기판 (500)은 폴리메틸 메타크릴레이트, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리페닐렌 에테르, 폴리아미드, 폴리카보네이트, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리이미드 또는 폴리스티렌 등의 고분자 중합체로 구성될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0085] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제1기판의 상면도이다.

[0086] 도 1 내지 도 3을 참조하면, 제1기판 (100)은 샘플 로딩부 (110), 제1유로 (101), 반응부 (120), 제2유로 (102), 제1검출부 (131) 및 제2검출부 (132)를 포함할 수 있다.

[0087] 제1기판 (100)에는 둘 이상의 샘플 로딩부 (110)가 포함될 수 있다. 각각의 샘플 로딩부 (110)에는 동일하거나 상이한 샘플이 로딩될 수 있다.

[0088] 각각의 샘플 로딩부 (110)에는 제1유로 (101)가 연결될 수 있다.

[0089] 샘플 로딩부 (110)로부터 제1유로 (101)에 유입된 샘플는 제1유로 (101)에서 작용하는 모세관 압력에 의해 유동될 수 있다.

[0090] 제1유로 (101)의 폭은 샘플이 모세관 압력을 통해 유동될 수 있을 만큼 충분히 좁아야 하며, 예를 들어 0.1 내지 3 ㎜, 즉 0.1 ㎜, 0.5 ㎜, 0.8 ㎜, 1.0 ㎜, 1.2 ㎜, 1.5 ㎜, 1.8 ㎜, 2.0 ㎜, 2.5 ㎜ 또는 3.0 ㎜일 수 있다.

[0091] 제1유로 (101)의 폭이 상기 기재된 폭보다 넓은 경우 유로 내의 모세관 압력이 충분하지 않아 샘플의 원활한 유동이 이루어지지 않게 되고, 제1유로 (101)의 폭이 상기 기재된 폭보다 좁은 경우 샘플 분석에 요구되는 유량이 확보되지 않을 수 있다.

[0092] 각각의 제1유로 (101)에는 반응부 (120)가 연결될 수 있으며, 샘플 로딩부 (110)에 로딩된 샘플은 제1유로 (101)를 통해 각 반응부 (120)에 전달될 수 있다.

[0093] 반응부 (120)에서는 샘플에 대한 전처리가 수행될 수 있다.

[0094] 반응부 (120)에서 샘플에 대한 전처리가 수행되는 경우, 전술한 바와 같이 반응부 (120)의 단면의 가로 및 세로 폭을 넓게 설정하여 모세관 압력을 낮춤으로써 반응부 (120)에 정체 영역을 형성할 수 있고, 이에 따라 반응부 (120)에 유입된 샘플에 대한 충분한 전처리 시간이 확보될 수 있다.

[0095] 반응부 (120)에서 수행될 수 있는 전처리 방법은 미세유체장치 (1000)를 통해 검출하고자 하는 표적물질의 종류 및 검출 목적에 따라 상이할 수 있다.

[0096] 예를 들어, 샘플 내의 단일가닥 핵산을 검출하고자 하는 경우, 반응부 (120)에서는 핵산 증폭을 위한 일련의 과정이 샘플에 대한 전처리로서 수행될 수 있으며, 핵산 증폭에 요구되는 프라이머, 핵산 단분자 및 효소를 포함하는 핵산 증폭 시약이 반응부 (120)에 미리 배치될 수 있다.

[0097] 이때, 핵산 증폭 시 온도의 변화를 요구하지 않는 등온 증폭법 (isothermal amplification)으로서 LAMP (loop mediated isothermal amplification), RCA (rolling circle amplification), RPA (recombinase polymerase amplification), HDA (helicase dependent amplification), SDA (strand displacement amplification) 또는 ISDPR (isothermal strand displacement polymerization) 등의 기법이 사용될 수 있고, 예를 들어 RCA 기법을 통해 샘플 내의 단일가닥 핵산을 등온 증폭할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0098] 반응부 (120)에서 등온 증폭 반응이 수행되는 경우, 제2기판 (200)의 타면에 배치되는 발열기판 (300)의 발열을 통해 반응부 (120)에 적절한 반응 온도가 제공될 수 있다.

[0099] 이때, 반응부 (120)에 효율적으로 열을 전달하기 위해, 복수의 반응부 (120) 각각의 위치에 대응되는 복수의 발열기판 (300)이 제2기판 (200)의 타면에 배치되거나, 또는 복수의 반응부 (120)의 위치를 모두 포괄하는 하나의 발열기판 (300)이 제2기판 (200)의 타면에 배치될 수 있다.

[0100] 샘플 내 표적물질에 대한 별도의 전처리가 요구되지 않는 경우, 반응부 (120)는 제1유로 (101) 및 제2유로 (102)를 연결하는 연결부로서 이용될 수 있다.

[0101] 각각의 반응부 (120)에는 제2유로 (102)가 연결될 수 있다.

[0102] 제2유로 (102)에서는 제1유로 (101)와 마찬가지로 모세관 압력을 통해 샘플이 유동될 수 있고, 제2유로 (102)는 0.1 내지 3 ㎜, 즉 0.1 ㎜, 0.5 ㎜, 0.8 ㎜, 1.0 ㎜, 1.2 ㎜, 1.5 ㎜, 1.8 ㎜, 2.0 ㎜, 2.5 ㎜ 또는 3.0 ㎜의 폭을 가질 수 있다.

[0103] 각각의 제2유로 (102)에는 제1검출부 (131) 또는 제2검출부 (132)가 연결될 수 있고, 반응부 (120)에서 정체되

었던 샘플은 제2유로 (102)를 통해 제1검출부 (131) 또는 제3검출부 (132)로 전달될 수 있다.

[0104] 제1기판 (100)은 하나 이상의 제1검출부 (131) 및 하나 이상의 제2검출부 (132)를 포함할 수 있다.

[0105] 제1검출부 (131)와 제2검출부 (132)에서 동일한 검출 방식이 활용되는 경우, 제1검출부 (131) 및 제2검출부 (132)는 양자 간의 구분 없이 "검출부"로 총칭될 수 있다.

[0106] 반대로, 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치 (1000)에서 세 가지 이상의 검출 방식을 통해 샘플 내의 표적물질을 검출할 수 있는 경우, 도 1 내지 도 3에 도시된 제1검출부 (131) 및 제2검출부 (132) 이외의 별도의 제3검출부, 혹은 그 이상의 검출부가 더 포함될 수 있다.

[0107] 제1검출부 (131)가 둘 이상인 경우, 각각의 제1검출부 (131)마다 상이한 프로브가 이용됨으로써 샘플 내의 둘 이상의 표적물질이 동시에 검출될 수 있다.

[0108] 예를 들어, 서로 다른 항원 결정 부위를 인식하는 둘 이상의 항체가 두 개의 제1검출부 (131)의 프로브로 각각 이용됨으로써 샘플 내의 둘 이상의 상이한 단백질이 동시에 검출될 수 있고, 또는 서로 다른 서열을 가지는 단일가닥 핵산이 두 개의 제1검출부 (131)의 프로브로서 각각 이용됨으로써 샘플 내의 둘 이상의 상이한 핵산이 동시에 검출될 수 있다.

[0109] 제2검출부 (132)가 둘 이상인 경우, 제1검출부 (131)와 마찬가지로 샘플 내의 둘 이상의 표적물질이 동시에 검출될 수 있다.

[0110] 샘플 내 표적물질을 검출하는 방식으로는 당업계에 공지된 임의의 분자 검출 방식이 활용될 수 있으며, 이에 따라 분자 검출을 위한 별도의 장치가 각 검출부에 더 포함될 수 있다.

[0111] 예를 들어, 제1검출부 (131)에서는 특정 분자와 특이적으로 결합함으로써 특정 파장의 형광을 발생시켜 형광 세기 측정이 가능하도록 하는 형광 프로브를 통해 샘플 내의 표적물질에 대한 형광분석이 수행될 수 있고, 제2검출부 (132)에서는 특정 분자와 특이적으로 결합함으로써 발색 신호를 나타내어 육안으로 특정 분자의 존부를 확인할 수 있도록 하는 신호프로브를 통해 샘플 내의 표적물질에 대한 발색분석이 수행될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0112] 제2검출부 (132)에서 발색 신호를 통한 발색분석이 수행되는 경우, 제2검출부 (132)에는 발색분석을 보조하기 위한 별도의 장치가 포함될 수 있으며, 예를 들어, 제2검출부 (132)에는 측면유동분석장치 (400)가 포함될 수 있다.

[0113] 제2검출부 (132)에 측면유동분석장치 (400)가 포함되는 경우, 제1기판 (100)에는 측면유동분석장치 (400)와 연결되는 제3유로 (103) 및 이와 연결되는 제1저장부 (140), 및 제4유로 (104) 및 이와 연결되는 제2저장부 (150)가 더 포함될 수 있다.

[0114] 제3유로 (103) 및 제4유로 (104)는 제1유로 (101)와 마찬가지로 모세관 압력을 통해 유체가 유동될 수 있고, 제3유로 (103) 및 제4유로 (104)는 각각 0.1 내지 3 ㎜, 즉 0.1 ㎜, 0.5 ㎜, 0.8 ㎜, 1.0 ㎜, 1.2 ㎜, 1.5 ㎜, 1.8 ㎜, 2.0 ㎜, 2.5 ㎜ 또는 3.0 ㎜의 폭을 가질 수 있다.

[0115] 제1저장부 (140) 및 제2저장부 (150)에는 서로 다른 저장액이 저장될 수 있으며, 예를 들어, 제1저장부 (140)에는 측방유동분석을 위한 세정액이 저장될 수 있고, 제2저장부 (150)에는 측방유동분석을 위한 검출액이 저장될 수 있다.

[0116] 제1기판 (100)에는 제2기판 (200)에 포함되는 밸브를 노출시키기 위한 제1밸브 노출홈 내지 제2밸브 노출홈 (161, 162, 163, 164)이 더 포함될 수 있다. 제2기판 (200)의 밸브 배치 양상에 따라 밸브 노출홈 (161, 162, 163, 164)의 배치 양상이 결정될 수 있다.

[0117] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체장치의 제2기판의 상면도이다.

[0118] 도 1 내지 도 4를 참조하면, 제2기판 (200)은 일면에 배치되는 제1밸브 (201)를 포함할 수 있다.

[0119] 제1밸브 (201)는 제1유로 (101)와 대응되는 위치에 배치될 수 있고, 각각의 제1유로 (101)에서의 유체의 흐름을 조절하기 위해 하나 이상의 제1밸브 (201)가 제1유로 (101) 내의 샘플과 직접 접촉하도록 배치될 수 있다.

[0120] 예를 들어, 제1기판 (100)에 3개의 제1유로 (101)가 포함되는 경우, 제2기판 (200)에는 3개의 제1유로 (101)의 각각의 위치에 대응되는 3개의 제1밸브 (201)가 배치되거나, 또는 3개의 제1유로 (101)의 위치를 모두 포괄하는

하나의 제1밸브 (201)가 배치될 수 있다.

[0121] 제1밸브 (201)는 전기습윤 (electrowetting) 방식을 통해 제1유로 (101) 내의 샘플의 유동을 조절할 수 있다. 구체적으로, 제1유로 (101) 내에서 모세관 압력에 따라 유동되던 샘플이 제1밸브 (201)와 접촉하게 되면 제1밸브 (201)와 샘플 간에 약한 표면장력이 형성되어 큰 접촉각을 이루고, 이에 따라 모세관 압력에 의한 샘플의 전개가 억제된다 (밸브가 닫힌 상황). 이후 제1밸브 (201)와 샘플에 전극을 연결하여 전압을 인가하면 제1밸브 (201)와 샘플 간의 전기장 변화로 인하여 표면장력이 강해지고, 이에 따라 샘플의 접촉각이 작아지며 모세관 압력에 의한 샘플의 전개가 재개된다 (밸브가 열린 상황).

[0122] 제1밸브 (201)를 통한 샘플의 유동 조절에 있어, 샘플과 제1밸브 (201)의 접촉 시 최대한 높은 접촉각을 이루는 것이 핵심이며, 따라서 샘플이 친수성인 경우 소수성 소재를 포함하여 제1밸브 (201)를 구성할 수 있고, 샘플이 소수성인 경우 친수성 소재를 포함하여 제1밸브 (201)를 구성할 수 있다.

[0123] 친수성 샘플의 유동을 조절하고자 하는 경우, 제1밸브 (201)는 샘플 유동을 조절하기 위한 제1 소수성 전극 (201b) 및 샘플에 전류가 흐르도록 하기 위한 제1 친수성 전극 (201a)을 포함할 수 있다.

[0124] 샘플이 제1 소수성 전극 (201b)과 접촉 시 샘플의 유동이 억제된다는 점을 고려할 때, 양 전극에 전압 인가 시 샘플에 전류가 흐르도록 하기 위해서는 샘플의 유동 방향, 즉 샘플 로딩부 (110)에서 반응부 (120)를 향하는 방향을 기준으로 제1 친수성 전극 (201a)이 제1 소수성 전극 (201b)에 선행하도록 배치되어야 한다. 제1 소수성 전극 (201b)이 제1 친수성 전극 (201a)에 선행하는 경우에는 샘플이 제1 친수성 전극 (201a)에 접촉하기 이전에 유동이 억제되며, 그로 인해 양 전극에 전압을 인가하더라도 샘플에 전류가 흐르지 않기 때문이다.

[0125] 소수성 샘플의 경우, 제1 소수성 전극 (201b) 및 제1 친수성 전극 (201a)이 상기와 반대의 순서로 배치될 수 있다.

[0126] 제1 친수성 전극 (201a)과 제1 소수성 전극 (201b)은 서로 소정의 거리만큼 이격되며 인접하도록 배치될 수 있고, 예를 들어, 제1밸브 (201)는 서로 1 내지 10 mm, 즉 1.0 mm, 1.5 mm, 2.0 mm, 2.5 mm, 3.0 mm, 3.5 mm, 4.0 mm, 4.5 mm, 5.0 mm, 5.5 mm, 6.0 mm, 6.5 mm, 7.0 mm, 7.5 mm, 8.0 mm, 8.5 mm, 9.0 mm, 9.5 mm 또는 10.0 mm의 간격으로 이격되어 배치되는 제1 친수성 전극 (201a) 및 제1 소수성 전극 (201b)을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0127] 제1 친수성 전극 (201a)과 제2 소수성 전극 (201b)은 높은 전기전도도를 가지는 금속 소재로 구성될 수 있으며, 예를 들어 구리 (Cu), 금 (Au), 은 (Ag), 백금 (Pt) 등의 금속 소재일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0128] 다만, 전기전도도가 높은 금속 소재로써 제1 소수성 전극 (201b)을 구성하는 경우 친수성 샘플 및 금속 소재 간의 전기적 인력으로 인해 충분한 소수성이 확보되지 않으며, 따라서, 금속 소재 기반의 제1 소수성 전극 (201b) 구성 시 샘플과 제1 소수성 전극 (201b) 간의 접촉각을 극대화하기 위해 전극 표면에 미세 요철 패턴이 배치되도록 하거나, 전극의 표면에 소수성 코팅층이 배치되도록 할 수 있다.

[0129] 소수성 코팅층은 불화 다면체 올리고머 실세스퀴옥산, 불화흑연, 퍼플루오로데칸티올, 퍼플루오로데실 트리클로로실란, 퍼플루오로데실 디메틸클로로실란, 폴리테트라플루오로에틸렌, 불소 계면활성제, 플로오로실란 및 이들의 유도체로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 자기조립물질을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0130] 높은 접촉각 형성을 위한 소수성 전극 제조 과정은 하기 실시예에 구체적으로 기술되었다.

[0131] 제2기판 (200)은 일면에 배치되는 제2밸브 (202)를 포함할 수 있다.

[0132] 제2밸브 (202)는 제2유로 (102)와 대응되는 위치에 배치될 수 있고, 각각의 제2유로 (102)에서의 유체의 흐름을 조절하기 위해 하나 이상의 제2밸브 (202)가 제2유로 (102) 내의 샘플과 직접 접촉하도록 배치될 수 있다.

[0133] 제1밸브 (201)에 관하여 기술된 바와 마찬가지로, 제2밸브 (202)는 제2유로 (102)의 개수 및 위치에 따라 배치될 수 있고, 제2밸브 (202)는 전기습윤 방식을 통해 샘플의 유동을 효과적으로 조절할 수 있도록 구성될 수 있다.

[0134] 따라서, 제2밸브 (202)는 제2 친수성 전극 (202a) 및 제2 소수성 전극 (202b)을 포함할 수 있고, 제2 친수성 전극 (202a)은 반응부 (120)에서 각 검출부 (131, 132)를 향하는 방향을 기준으로 제2 소수성 전극 (202b)에 선행하도록 배치될 수 있다.

[0135] 제1기판 (100)에 제3유로 (103) 및 제4유로 (104)가 포함되는 경우, 제2기판 (200)은 일면에 배치되는 제3밸브 (203) 및 제4밸브 (204)를 더 포함할 수 있다.

[0136] 제3밸브 (203) 및 제4밸브 (204)는 제3유로 (103) 및 제4유로 (104)와 각각 대응되는 위치에 배치될 수 있고, 각 유로 (103, 104)에서의 유체의 흐름을 조절하기 위해 하나 이상의 제3밸브 (203) 및 제4밸브 (204)가 제3유로 (103) 및 제4유로 (104) 내의 유체와 직접 접촉하도록 각각 배치될 수 있다.

[0137] 제1밸브 (201)의 배치에 관하여 기술된 바와 마찬가지로, 제3밸브 (203) 및 제4밸브 (204)는 제3유로 (103) 및 제4유로 (104)의 개수 및 위치에 따라 배치될 수 있고, 제3밸브 (203) 및 제4밸브 (204)는 전기습윤 방식을 통해 유체의 유동을 효과적으로 조절할 수 있도록 구성될 수 있다.

[0138] 따라서, 제3밸브 (203)는 제3 친수성 전극 (203a) 및 제3 소수성 전극 (203b)을 포함할 수 있고, 제3 친수성 전극 (203a)은 제1저장부 (140)에서 제2검출부 (132)를 향하는 방향을 기준으로 제3 소수성 전극 (203b)에 선행하도록 배치될 수 있으며, 제4밸브(204)는 제4 친수성 전극 (204a) 및 제4 소수성 전극 (204b)을 포함할 수 있고, 제4 친수성 전극 (204a)은 제2저장부 (150)에서 제2검출부 (132)를 향하는 방향을 기준으로 제4 소수성 전극 (204b)에 선행하도록 배치될 수 있다.

[0139] 한편, 제2기판 (200)을 제1기판 (100)에 부착시키는 경우라도, 제1밸브 내지 제4밸브 (201, 202, 203, 204)는 제1밸브 노출홈 내지 제4밸브 노출홈 (161, 162, 163, 164)을 통해 외부로 노출되고, 따라서 사용자는 제1기판 (100) 및 제2기판 (200)을 분리하지 않고 각 밸브 (201, 202, 203, 204)의 개폐를 조절할 수 있다.

[0140] 각 밸브 (201, 202, 203, 204)가 제1유로 내지 제4유로 (101, 102, 103, 104)의 위치에 대응하여 배치되는 형태에 따라 각 밸브 노출홈 (161, 162, 163, 164)의 개수가 결정될 수 있다.

[0141] 예를 들어, 제1기판 (100)에 3개의 제1유로 (101)가 포함되고, 3개의 제1유로 (101)의 위치마다 각각 대응되도록 배치되는 3개의 제1밸브 (201)가 제2기판 (200)에 배치되는 경우, 제1기판 (100)에는 각각의 제1밸브 (201)를 노출시키기 위한 3개의 제1밸브 노출홈 (161)이 형성될 수 있다.

[0142] 반면, 제1기판 (100)에 3개의 제1유로 (101)가 포함되고, 3개의 제1유로 (101)의 위치를 모두 포괄하는 하나의 제1밸브 (201)가 제2기판 (200)에 배치되는 경우, 제1기판 (100)에는 하나의 제1밸브 (201)를 노출시키기 위한 제1밸브 노출홈 (161)이 형성될 수 있다.

[0143] 이와 같은 방식으로 제2밸브 노출홈 내지 제4밸브 노출홈 (162, 163, 164)의 개수가 결정될 수 있으며, 예를 들어, 제2기판 (200)에 하나씩 배치되는 제1밸브 내지 제4밸브 (201, 202, 203, 204)를 각각 노출시키기 위해, 제1기판 (100)에는 제1밸브 노출홈 내지 제4밸브 노출홈 (161, 162, 163, 164)이 하나씩 형성될 수 있다.

[0144] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 발열기판의 사시도이다.

[0145] 도 1 내지 도 3 및 도 5를 참조하면, 전기적 방식으로 작동되는 발열기판 (300)은 지지부재 (310), 발열성 잉크 (320) 및 발열용 전극 (330)을 포함할 수 있다.

[0146] 지지부재 (310)는 전기절연성의 소재로 구성될 수 있으며, 예를 들어, 유리, 고분자화합물, 실리콘, 세라믹, 또는 이들의 조합으로 구성될 수 있다. 예를 들어, 지지부재 (310)는 유리판의 한 면에 PET 필름이 부착되는 형태로 구성될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0147] 발열성 잉크 (320)는 전류의 흐름에 따라 발열할 수 있는 것으로, 발열기판 (300)의 실질적인 발열부에 해당한다.

[0148] 발열성 잉크 (320)는 발열을 위해 충분한 전기 저항을 가져야 하며, 예를 들어, 2,500 Ω, 3,000 Ω, 3,500 Ω, 4,000 Ω, 4,500 Ω, 5,000 Ω, 5,500 Ω 또는 6,000 Ω의 전기 저항을 가질 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 발열성 잉크 (320)의 저항은 미세유체장치 (1000)의 작동에 요구되는 온도 및 제2기판 (200)의 두께에 따라 적절하게 선택될 수 있다.

[0149] 발열성 잉크 (320)는 전기전도성 및 전기 저항을 모두 확보하기 위해 금속 나노와이어, 탄소나노튜브 또는 전도성 고분자를 포함할 수 있다.

[0150] 금속 나노와이어는 금, 은, 백금, 구리, 팔라듐, 코발트 및 니켈로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 금속을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 은 나노와이어일 수 있다.

[0151] 탄소나노튜브는 단일벽 탄소나노튜브, 이중벽 탄소나노튜브 및 다중벽 탄소나노튜브로 이루어진 그룹에서 선택

되는 하나 이상을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 세 형태의 탄소나노튜브가 모두 혼합된 탄소나노튜브일 수 있다.

[0152] 전도성 고분자는 폴리아세틸렌, 폴리아닐린, 폴리피롤, 폴리티오펜, 폴리(3,4-에틸렌디옥시티오펜), 폴리파라페닐렌, 폴리파라페닐렌 비닐렌 및 폴리스티렌 설포네이트로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 고분자를 포함할 수 있으며, 예를 들어, 폴리(3,4-에틸렌디옥시티오펜)과 폴리스티렌 설포네이트의 혼합물일 수 있다.

[0153] 발열용 전극 (330)은 발열기판 (300)에 전압을 인가할 때 발열성 잉크 (320)에 전류가 흐르도록 하기 위한 전극으로, 발열성 잉크 (320)의 양 말단에 접하도록 배치될 수 있다.

[0154] 발열용 전극 (330)은 높은 전기전도도를 가지는 금속 소재로 구성될 수 있으며, 예를 들어 구리, 철, 금, 은, 백금 등의 금속 소재일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0155] 발열기판 (300)은 제2기판 (200)의 양면 중 밸브가 배치되지 않는 타면에 접하며, 제1기판의 반응부 (110)의 위치에 대응되도록 배치될 수 있다.

[0156] 예를 들어, 제1기판 (100)에 3개의 반응부 (120)가 포함되는 경우, 3개의 반응부 (120) 각각의 위치에 대응되는 3개의 발열기판 (300)이 제2기판 (200)의 타면에 접하도록 배치되거나, 또는 3개의 반응부 (120)의 위치를 모두 포괄하는 하나의 발열기판 (300)이 제2기판 (200)의 타면에 접하도록 배치될 수 있다.

[0157] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 측방유동분석장치의 사시도이다.

[0158] 도 1 내지 도 3 및 도 6을 참조하면, 제1기판의 제2검출부 (132)에는 측방유동분석장치 (400)가 포함될 수 있다.

[0159] 측방유동분석장치 (400)는 샘플패드 (410), 접합패드 (420), 검출패드 (430) 및 흡수패드 (440)를 포함할 수 있다.

[0160] 샘플패드 (410)에는 제2유로 (102)를 통해 전달된 샘플이 수용될 수 있다. 샘플패드 (410)에 수용된 샘플은 확산 또는 모세관 압력에 의해 측방유동분석장치 (400)의 타단까지 전개될 수 있다.

[0161] 접합패드 (420)는 샘플패드 (410)와 접하도록 배치될 수 있다.

[0162] 접합패드 (420)에는 샘플 내의 표적물질과 특이적으로 결합하는 신호 프로브가 포함될 수 있다. 신호 프로브는 표적물질과 높은 결합 친화도를 갖는 결합 부위만으로 구성되거나, 또는 결합 부위 및 결합 부위에 접합되어 발색 작용을 할 수 있는 효소 또는 기질로 구성될 수 있다.

[0163] 검출패드 (430)는 접합패드 (420)와 접하도록 배치될 수 있다.

[0164] 검출패드 (430)에는 샘플 내의 표적물질과 특이적으로 결합하는 검출 프로브를 포함하는 검사선 및 신호 프로브와 특이적으로 결합하는 대조 프로브를 포함하는 대조선이 포함될 수 있다.

[0165] 측방유동분석장치 (400)에서의 샘플의 전개 방향을 기준으로, 대조선이 검사선에 선행하는 경우, 표적물질과 결합된 신호 프로브 및 표적물질과 결합되지 않은 신호 프로브가 모두 대조 프로브와 결합되고, 결국 샘플 내 표적물질의 실제 양에 비해 현저히 적은 표적물질이 검출 프로브와 결합하게 되어 표적물질의 검출이 용이하지 않게 된다. 따라서, 검출패드 (430)의 검사선은 샘플의 전개 방향을 기준으로 대조선에 선행하도록 배치될 수 있다.

[0166] 흡수패드 (440)는 검출패드 (430)와 접하도록 배치될 수 있다.

[0167] 흡수패드 (440)는 샘플패드 (410)로부터 전개되어 검출패드 (430)를 통과한 샘플 여액을 흡수할 수 있다.

[0168] 한편, 제1기판의 제2검출부 (132)에 측방유동분석장치 (400)가 포함되는 경우, 제1기판 (100)에는 제3유로 (103)와 제1저장부 (140), 및 제4유로 (104)와 제2저장부 (150)가 더 포함될 수 있다.

[0169] 제3유로 (103)는 접합패드 (420) 및 제1저장부 (140)와 연결되어, 제1저장부 (140)에 저장된 제1저장액을 접합패드 (420)에 전달할 수 있다.

[0170] 제1저장액은 측방유동분석장치 (400)의 세척을 위한 세정액일 수 있고, 제1저장액이 세정액인 경우 제3유로 (103)를 통해 접합패드 (420)에 전달된 세정액은 검출패드 (430)를 따라 전개되며 샘플 내의 비특이적인 물질을 흡수패드 (440)까지 밀어낼 수 있다. 세정액을 통한 검출패드 (430)의 세척 시, 검사선 및 대조선에서의 발색을 더욱 명확하게 확인할 수 있다.

[0171] 제1저장액을 통해 검출패드 (430)를 효과적으로 세척하기 위해, 제1저장액은 검사선에 대한 표적물질의 특이적 결합 및 대조선에 대한 신호 프로브의 특이적 결합이 완료된 후 접합패드 (420)에 전달될 수 있다.

[0172] 제4유로 (104)는 검출패드 (430) 및 제2저장부 (150)와 연결되어, 제2저장부 (150)에 저장된 제2저장액을 검출패드 (430)에 전달할 수 있다.

[0173] 제2저장액은 검출패드 (430)의 검사선에 결합된 표적물질-신호 프로브 복합체, 또는 대조선에 결합된 신호 프로브의 검출을 위한 검출액일 수 있다.

[0174] 제2저장액이 검출액인 경우, 제4유로 (104)를 통해 검출패드 (430)에 전달된 검출액은 검사선 및 대조선에 위치하는 신호 프로브와 접촉하여 발색 반응을 나타낼 수 있고, 이를 통해 사용자는 육안으로 검사선 및 대조선에서의 검출 결과를 확인할 수 있다.

[0175] 발색 반응은 대표적으로 겨자무 과산화효소 (horseradish peroxidase; HRP)와 기질의 반응을 통해 수행될 수 있다. 접합패드 (420)의 신호 프로브에 겨자무 과산화효소가 포함되는 경우 검출액에는 기질이 포함될 수 있고, 이와 달리 신호 프로브에 기질이 포함되는 경우 검출액에는 겨자무 과산화효소가 포함될 수 있다.

[0176] 겨자무 과산화효소에 대한 기질로는 TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), DAB (3,3'-diaminobenzidine) 또는 AEC (3-amino-9-ethylcarbozole) 등을 사용할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0177] 제2저장액을 통한 검사선 및 대조선의 효과적인 검출을 위해, 제2저장액은 제1저장액을 통한 검출패드 (430)의 세척이 완료된 후 검출패드 (430)에 전달될 수 있다.

[0178] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 커버기판의 상면도이다.

[0179] 도 1 내지 도 3 및 도 7을 참조하면, 커버기판 (500)에는 미세유체장치 (1000)에 샘플을 주입하기 위한 샘플 주입구 (510)가 형성될 수 있다.

[0180] 샘플 주입구 (510)는 샘플 로딩부 (110)에 대응되는 위치에 형성될 수 있으며, 샘플 주입구 (510)는 커버기판 (500)이 제1기판 (100)에 부착되더라도 각 기판의 분리 없이 샘플이 샘플 로딩부 (110)에 주입될 수 있도록 상하면이 모두 개방될 수 있다.

[0181] 제1기판 (100)에 측방유동분석장치 (400)를 위한 제1저장부 (140) 및 제2저장부 (150)가 더 포함되는 경우, 커버기판 (500)에는 제1저장부 (140) 및 제2저장부 (150)에 제1저장액 및 제2저장액을 각각 주입하기 위한 제1저장액 주입구 (540) 및 제2저장액 주입구 (550)가 형성될 수 있다.

[0182] 제1저장액 주입구 (540) 및 제2저장액 주입구 (550)는 제1저장부 (140) 및 제2저장부 (150)에 각각 대응되는 위치에 형성될 수 있다.

[0183] 커버기판 (500)에는 제2기판 (200)에 배치되는 밸브를 노출시키기 위한 제1밸브 노출홈 내지 제4밸브 노출홈 (561, 562, 563, 564)이 더 형성될 수 있다.

[0184] 커버기판의 각 노출홈 (561, 562, 563, 564)은 제1기판의 각 노출홈 (161, 162, 163, 164)과 함께 제1유로 내지 제4유로 (101, 102, 103, 104)에 상응하는 각 밸브를 노출시킬 수 있다.

[0185] 이하, 본 발명을 하기의 예시에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 예시는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 예시에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0187] **실시예 1. 전기습윤 밸브 제작**

[0188] 본 발명의 미세유체장치 내에서 유동되는 유체의 흐름을 전기습윤 방식으로 조절하기 위한 전기습윤 밸브를 구상 및 제작하였다. 전기습윤 현상의 원리과 이를 구현하기 위한 전기습윤 밸브의 구성, 및 밸브를 통한 유체 흐름 조절 단계를 도 8에 나타내었다.

[0190] **1-1. 소수성 전극의 제작**

[0191] 전기습윤 방식을 통한 유체 흐름 조절에 필수적인 소수성 전극을 제작하였다. 구체적으로, 구리 전극을 질산

(HNO_3) 5 M 및 브로민화 세트리모늄 (cetrimonium bromide; CTAB) 1.2 mM로 구성된 산성용액에 넣어 실온에서 5분 간 반응시킨 후 세척하였다. 그 후, 구리 전극을 수산화나트륨 (NaOH) 2.5 M 및 과류산암모늄 ($(NH_4)_2S_2O_8$) 0.1 M로 구성된 용액에 넣어 실온에서 15분 간 반응시킨 후 세척하였다.

[0192] 이를 통해 식각된 구리 전극을 PFDT (1.0 wt%) 용액에 침지하여 PFDT의 티올기가 자기조립을 통해 전극 표면에 부착될 수 있도록 한 후, 마지막으로 구리 전극을 80 ℃의 오븐에서 10분 간 건조하고, 상온에 보관하여 하소 (calcination) 처리하였다. 소수성 전극 형성 단계를 간략히 표현한 모식도를 도 9 및 도 10에 나타내었다.

[0194] **1-2. 소수성 전극에 대한 액적 접촉각 측정**

[0195] 상기 실시예 1-1에서 제작된 전극의 소수성을 확인하기 위해, 여러 형태의 표면을 가진 전극에 대한 비교 실험을 진행하였다.

[0196] 구체적으로, 유리에 PFDT만 처리한 경우, 유리에 구리 전극을 부착한 후 PFDT 처리한 경우, 유리에 구리 전극을 부착한 후 식각 및 PFDT 처리한 경우, 및 유리에 구리 전극을 부착한 후 식각, PFDT 처리 및 하소 처리한 경우 각각에 대해, 각 기판을 측정기기에 고정한 후 표면에 물 (3차 정제수)을 1 uL을 떨어뜨렸다.

[0197] 다음으로, 접촉각 측정기기를 통해 각 기판의 표면에 배치된 물의 측면 형태를 촬영한 후, 촬영된 이미지를 분석하여 기판과 물의 접촉각 계산 결과를 도출하였고, 각 기판에 대한 비교 실험 결과를 도 11 및 표 1에 나타내었다.

표 1

[0198]

기판 표면	유리 + PFDT	유리 + 구리 + PFDT	유리 + 구리 (식각) + PFDT	유리 + 구리 (식각) + PFDT (하소)
접촉각	88.2 °	119.1 °	144.9 °	154.2 °

[0199] 실험 결과, 구리 전극 표면에 식각을 통한 미세 요철 패턴이 존재하는 경우, 및 PFDT와 같은 자기조립물질을 통해 구리 전극 표면을 코팅하는 경우, 전극에 대한 액적의 접촉각이 더 커졌고, 전극 표면의 식각 및 PFDT 코팅 후 하소 과정을 거치는 경우 전극 표면과 유체 간의 접촉각이 더욱 증가함을 확인하였다.

[0201] **1-3. 전기습윤 밸브를 위한 전극 패턴 형성**

[0202] 전기습윤 밸브에서 유체에 전압을 인가하기 위한 전극 패턴을 형성하였다.

[0203] 구체적으로, 유리 기판에 구리테이프를 부착한 후, 이를 커팅 장비 (Cricut explorer2)에 고정시킨 후, 커팅 패턴 디자인 프로그램 (Cricut design space)을 사용하여 구리테이프의 커팅 패턴을 구성하였다.

[0204] 완성된 커팅 패턴에 따라 커팅 장비를 통해 유리 기판 표면의 구리테이프를 커팅하고, 전극 패턴에 필요하지 않은 구리테이프 영역을 유리 기판 표면에서 제거하여, 최종적으로 전기습윤 밸브에 사용되는 구리 전극 패턴을 형성하였다.

[0205] 전극 패턴을 형성하기 위한 장비와 소재, 및 형성 과정의 모식도를 도 12에 나타내었다.

[0207] **실시예 2. 발열기판 제작 및 발열 성능 확인**

[0208] 본 발명의 미세유체장치의 반응부의 온도를 일정하게 유지함으로써 등온 증폭이 수행될 수 있도록 하는 발열기판을 제작하였다.

[0210] **2-1. 은 나노와이어 제작**

[0211] 먼저, 발열성 잉크를 제작하기 위한 은 나노와이어를 제작하였다.

[0212] 구체적으로, 질산은 ($AgNO_3$) 0.68 g을 에틸렌 글리콜 (ethylene glycol) 60mL에 녹인 용액과 폴리비닐프릴로돈

(polyvinylpyrrolidone; PVP) 1.766 g과 염화나트륨 (NaCl) 4.6 mg을 160℃의 온도에서 에틸렌 글리콜 40 ml에 600rpm으로 교반하여 녹인 용액을 준비하였다.

[0213] 그 후, 질산은 용액을 격렬하게 교반 (vigorous stirring) 하면서 PVP 용액을 한방울씩 (drop by drop) 추가한 후, 혼합된 용액을 5분간 섞어주고 오토클레이브를 이용하여 7시간 동안 140℃에서 가열한 후 실온에서 냉각시켰다.

[0214] 이 때 가장 적합한 오토클레이브 온도를 확인하기 위하여, 120℃, 140℃, 160℃로 가열하여 그 구조를 확인한 결과 도 13과 같이 140℃에서 은 나노와이어 생성이 가장 우수한 것을 확인하였다.

[0215] 제조된 나노와이어를 메탄올로 3회 세척한 후, 아세톤으로 침전시키고 5000 rpm으로 원심분리하였다.

[0217] **2-2. 발열기판 제작**

[0218] 이렇게 제조한 은 나노와이어와 PEDOT:PSS 및 탄소나노튜브를 적절한 비율로 혼합하여 광투과성 및 전기전도성을 모두 갖는 발열성 잉크를 제작하였다. 제작된 잉크를 접착성 PET 필름이 부착된 유리 기판에 도포한 후 건조시켰다.

[0219] SEM을 이용하여 잉크로 코팅된 PET 필름의 표면을 확인하였고, 도 14와 같이 잘 코팅되었음을 확인하였다.

[0220] 또한, 에너지분산형 분광분석법 (electrical dispersive spectroscopy; EDS)을 이용하여 잉크로 코팅된 PET 필름의 구성을 확인하였고, 도 15와 같이 잘 코팅되었음을 확인하였다.

[0221] 그 후 잉크에 전압이 인가될 수 있도록 잉크 표면에 구리 전극을 부착하여, 발열용 기판을 완성하였다. 발열기판을 제작하는 과정을 간략하게 나타낸 모식도를 도 16에 나타내었다.

[0223] **2-3. 발열기판의 발열 성능 확인**

[0224] 이후, 제작된 발열기판의 발열 성능을 확인하기 위해 전압 인가 시간에 따른 발열기판 온도를 측정하였고, 그 결과를 도 17 및 표 2에 나타내었다.

표 2

[0225]

전압 인가 시간	10초	20초	30초	40초	50초
발열기판 온도	35.1 ℃	36.3 ℃	38.1 ℃	42.0 ℃	45.3 ℃

[0226] 또한 은 나노와이어의 농도와 인가전압에 따른 발열기판의 온도 변화를 측정하였고, 그 결과를 도 18에 나타내었다.

[0227] 발열 성능 확인 결과, 전압 인가 후 40초 이내에 40 ℃ 이상의 발열기판 온도가 달성되었으며, 따라서 미세유체 장치에서 등온 증폭 반응이 수행되기 위한 온도를 단시간 내에 확보할 수 있음을 확인하였다.

[0229] **실시예 3. 생분해성 발열기판 제작 및 발열 성능 확인**

[0230] **3-1. 생분해성 발열기판 제작**

[0231] 은 나노와이어와 생분해성 고분자를 섞어 생분해성 발열기판을 제작하였다.

[0232] 구체적으로는 3% 아가로즈 용액 25 mL에 실시예 2-1에서 제작한 은 나노와이어 1mg/ml와 3% PEDOT:PSS 혼합용액 100 ul를 섞은 후 틀에 넣고 건조시켜 생분해성 발열기판을 제작하였다.

[0233] 생분해성 발열기판을 제작하는 과정을 간략하게 나타낸 모식도를 도 19에 나타내었다.

[0235] **3-2. 생분해성 발열기판의 발열 성능 확인**

[0236] 이후, 제작된 발열기판의 발열 성능을 확인하기 위해 전압 인가 시간에 따른 발열기판 온도를 측정하였고, 그 결과를 도 20에 나타내었다.

[0237] 발열 성능 확인 결과, 전압 인가에 따라 생분해성 발열기판의 온도가 상승하는 것을 확인하였다.

[0239] **실시예 4. 등온 증폭 기법 수행 및 증폭 결과 확인**

[0240] **4-1. 핵산의 등온 증폭**

[0241] 미세유체장치를 이용한 샘플 내 표적물질 분석의 일 예시로서, 단일가닥 핵산인 miRNA에 대한 등온 증폭 반응을 수행하였다. miRNA의 등온 증폭을 위해 RCA 기법을 도입하였다.

[0242] 구체적으로, 미세유체장치의 샘플 로딩부에 다양한 농도의 표적 miRNA 및 이와 상보적으로 결합하여 원형을 형성할 수 있는 기준 DNA, 그리고 Splint R 연결효소와 Phi29 중합효소, dNTP 등이 혼합된 샘플을 주입하였다. 샘플의 구체적인 조성을 표 3에 나타내었다.

표 3

[0243]

등온 증폭 재료	부피 (uL)
10X Splint R 연결효소 버퍼	2
10X Phi29 중합효소 버퍼	2
Splint R 연결효소	1
Phi29 중합효소	1
표적 miRNA (다양한 농도)	2
RCA padlock template (100 pmol/uL)	2
dNTPs (2.5 mM)	8
1% (w/v) BSA	2
총 부피	20

[0244] 여기에서, Splint R 연결효소는 miRNA가 있을 경우 원형을 만드는 DNA의 잘린 부분 (nick)을 이어주는 효소로, 이를 사용하면 miRNA가 존재할 경우 원형의 DNA가 형성된다. Phi29 중합효소는 원형 DNA를 핵산 증폭시키는 효소로, miRNA를 개시점으로 하여 원형 DNA의 서열을 따라 돌며 DNA를 중합하여 단일가닥 DNA를 생산한다. 두 효소는 모두 37 ℃에서 최대 활성을 보인다. 따라서, 원형 DNA의 생성 여부 및 단일가닥 DNA의 증폭 여부를 통해 샘플 내에 miRNA가 존재하는지 파악할 수 있다.

[0245] 이후, 전기습윤 밸브에 전압을 인가하여 샘플을 반응부로 이동시키고, 미세유체장치 하부에 부착된 발열기판에 전압을 인가하여 발열시켜 반응부의 온도를 37 ℃로 상승시킨 후, 1시간 동안 핵산 증폭 반응이 수행되도록 하였다. 핵산이 등온 증폭되는 과정을 도시한 모식도를 도 21에 나타내었다.

[0247] **4-2. 핵산 증폭 결과 확인**

[0248] **4-2-1. miRNA, Splint R 연결효소 또는 Phi29 중합효소의 존재 유무에 따른 핵산 증폭 결과 확인**

[0249] 먼저, 등온 증폭 재료 중 miRNA, Splint R 연결효소 또는 Phi29 중합효소의 존재 유무에 따른 핵산 증폭 여부를 확인하기 위해, 세 가지 재료가 모두 포함된 샘플, 및 세 가지 중 어느 하나의 재료가 포함되지 않은 샘플에 대해 실시예 4-1의 과정으로 등온 핵산 증폭을 수행하였다.

[0250] 증폭이 완료된 샘플을 추출한 후, 각 샘플을 전기영동 장치에 셀별로 주입하고, 2% (w/v) 아가로즈 젤에서 100 V로 20분간 전기영동을 수행하였다. 전기영동 결과를 도 22에 나타내었다.

[0251] 실험 결과, 미세유체장치를 통해 샘플의 핵산 등온 증폭을 수행하기 위해서는 miRNA, Splint R 연결효소 및 Phi29 중합효소를 모두 포함해야 하며, 세 가지 재료 중 어느 하나라도 포함되지 않는 경우 등온 증폭이 수행되지 않음을 확인할 수 있었다.

[0253] **4-2-2. miRNA의 농도에 따른 용량-의존적 핵산 증폭 결과 확인**

[0254] 다음으로, miRNA의 농도에 따른 용량-의존적인 핵산 증폭 여부를 확인하기 위해, 다양한 농도의 miRNA를 포함하는 샘플에 대해 실시예 3-1의 과정으로 등온 핵산 증폭을 수행하였다.

[0255] 각 샘플을 전기영동 장치에 셀별로 주입하고, 2% (w/v) 아가로즈 젤에서 100 V로 20분간 전기영동을 수행하였다. 전기영동이 종료된 후, 각 셀의 형광 발현을 강화하기 위해 강화 형광 염료 (SYBR™ Gold Nucleic Acid Gel Stain, Invitrogen)로 셀을 염색하였고, 그 결과를 도 23 및 도 24에 나타내었다.

[0256] 실험 결과, 샘플에 포함된 miRNA의 농도가 높을수록 형광 발현이 더욱 뚜렷하다는 점을 확인하였으며, 이를 통해 미세유체장치를 통해 miRNA에 대한 정량 분석을 수행할 수 있음이 시사되었다.

[0258] **4-2-3. miRNA의 서열 특이성에 따른 핵산 증폭 결과 확인**

[0259] miRNA의 서열에 따른 특이적 핵산 증폭 여부를 확인하기 위해, 서로 다른 서열을 가지는 miRNA를 포함하는 샘플에 대해 실시예 4-1의 과정으로 등온 핵산 증폭을 수행하였다. 실험에 사용된 각 miRNA의 서열을 표 4에 나타내었다.

표 4

[0260]

명명	염기서열 (5' -> 3')
miRNA-21	UAG CUU AUC AGA CUG AUG UUG A
miRNA-21 miss1	UAG CUU AUC ACA CUG AUG UUG A
miRNA-21 miss2	UAG CUU AUC ACA UUG AUG UUG A
miRNA-21 miss3	UAG CUU AUG ACA UUG AUG UUG A
miRNA 146a	CCU CUG AAA UUC AGU UCU UCA G
miRNA 25b	UCC CUG AGA CCC UAA CUU GUG A

[0261] 증폭이 완료된 샘플을 추출한 후, 각 샘플을 전기영동 장치에 셀별로 주입하고, 2% (w/v) 아가로즈 젤에서 100 V로 20분간 전기영동을 수행하였다. 전기영동이 종료된 후, 각 셀의 형광 발현을 강화하기 위해 강화 형광 염료 (SYBR™ Gold Nucleic Acid Gel Stain, Invitrogen)로 셀을 염색하였고, 그 결과를 도 25 내지 도 27에 나타내었다.

[0262] 실험 결과, 샘플에 함유된 miRNA의 농도가 지나치게 높을 경우 (도 25, 도 26) 등온 증폭의 서열 특이성이 떨어지지만, 적정한 농도의 miRNA가 함유된 샘플에서는 (도 27) 서열 특이성이 충분히 확보되는 것을 확인하였다. 실제 검체 분석 시 사용되는 샘플에 함유되는 표적물질의 양이 매우 적다는 점을 고려할 때, 본 미세유체장치를 활용한 등온 핵산 증폭은 표적 miRNA에 대해 높은 서열 특이성을 확보할 수 있을 것으로 사료되었다.

[0263] 이상의 실시예로부터, 본 발명의 미세유체장치를 통해 등온 핵산 증폭이 용이하게 수행될 수 있음을 확인하였다. 이때, 증폭된 핵산은 추후 형광분석 또는 측방유동분석을 위한 표적물질로서 활용될 수 있다. 핵산에 대한 형광분석이 수행되는 과정을 간략하게 나타낸 모식도를 도 28에 나타내었고, 핵산의 농도에 따른 형광 정도를 비교하여 도 29에 나타내었다. 핵산에 대한 측방유동분석이 수행되는 과정을 간략하게 나타낸 모식도를 도 30에 나타내었다.

부호의 설명

[0264] 1000: 미세유체장치

100: 제1기판

200: 제2기판

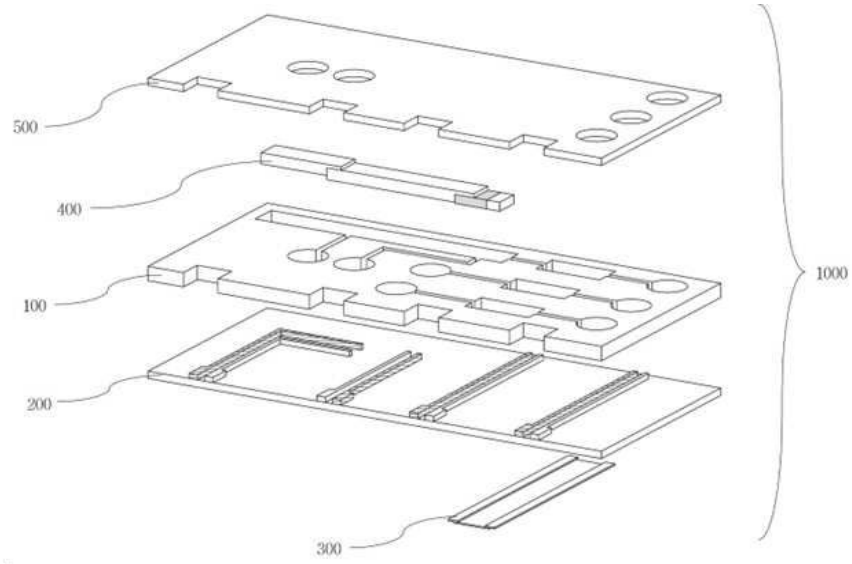
300: 발열기판

400: 측방유동분석장치

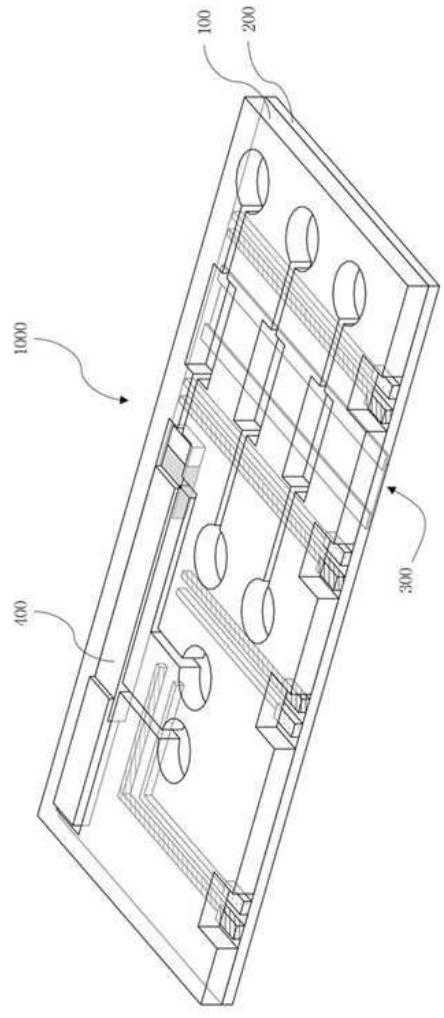
500: 커버기판

도면

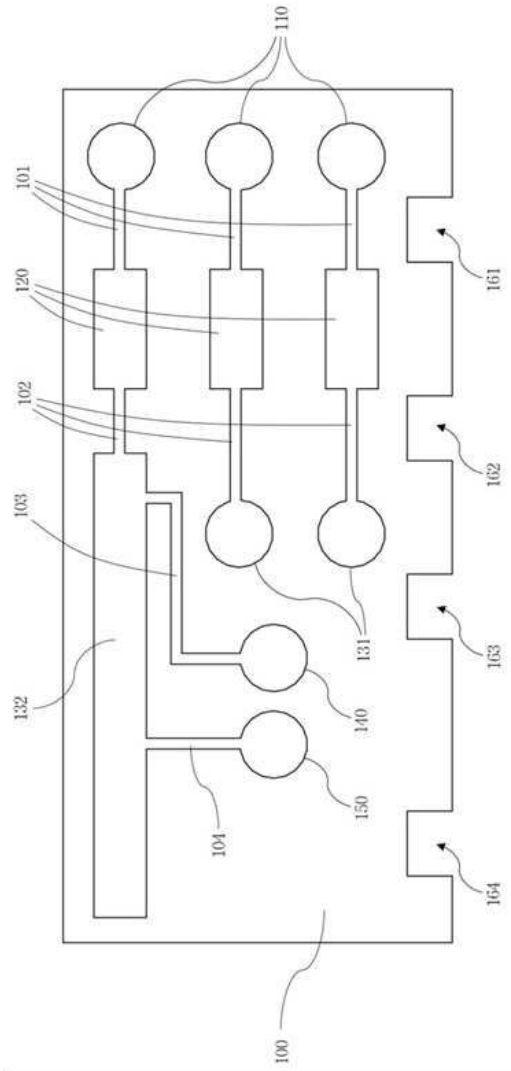
도면1



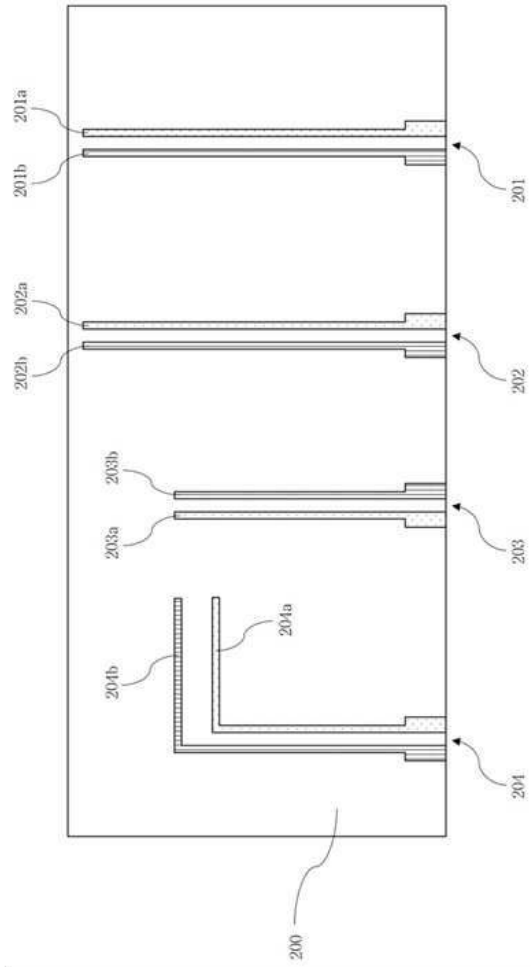
도면2



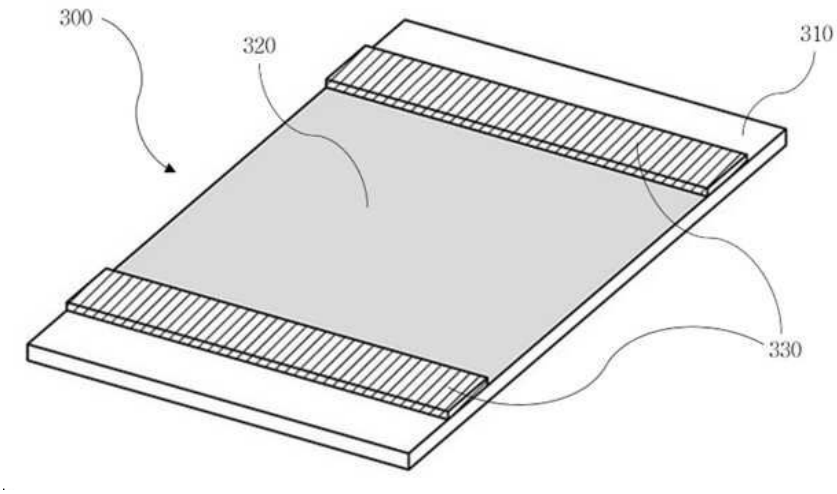
도면3



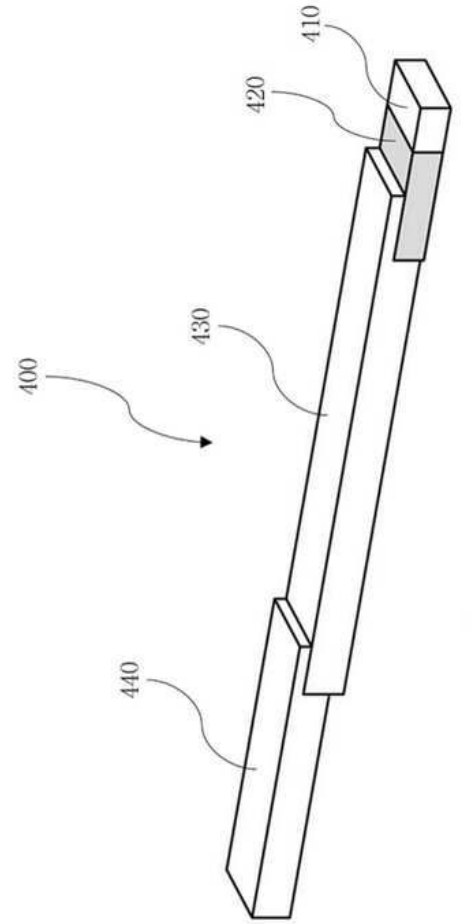
도면4


201a
201b
201
202a
202b
202
203b
203a
203
204a
204b
204
200

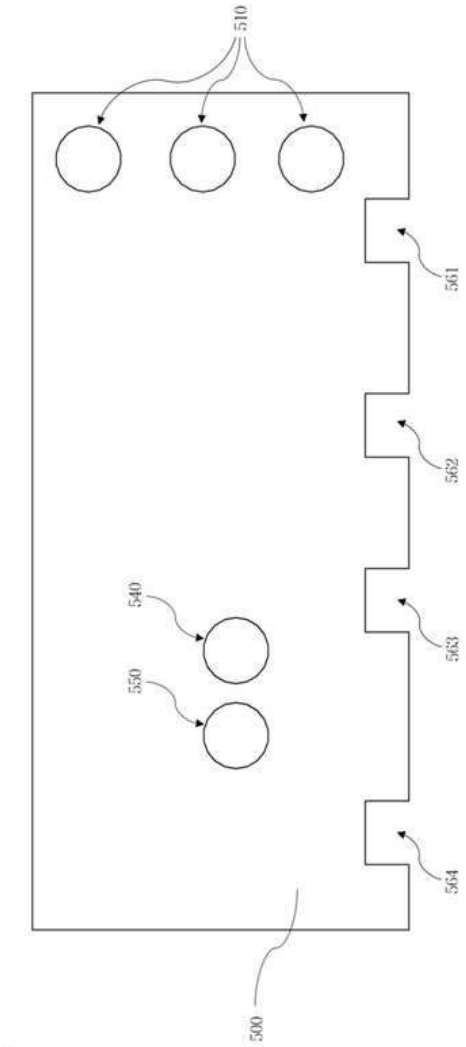
도면5


300
320
310
330

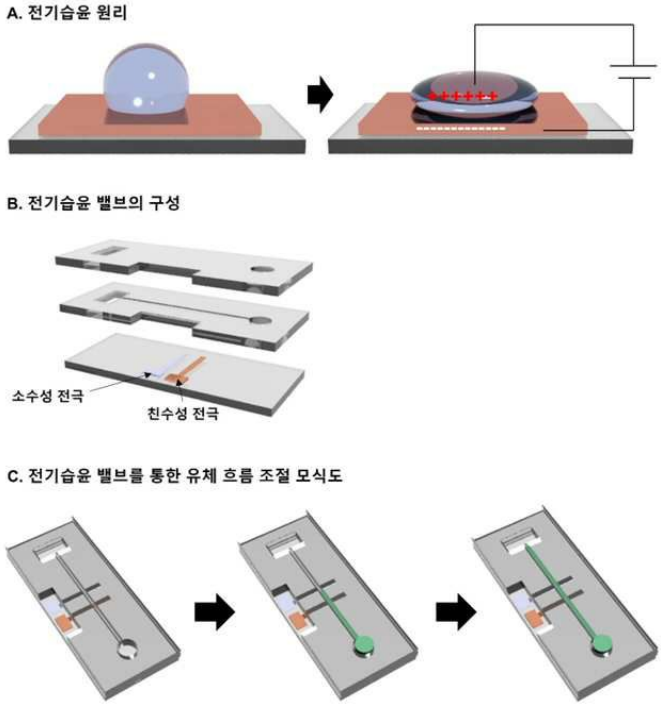
도면6



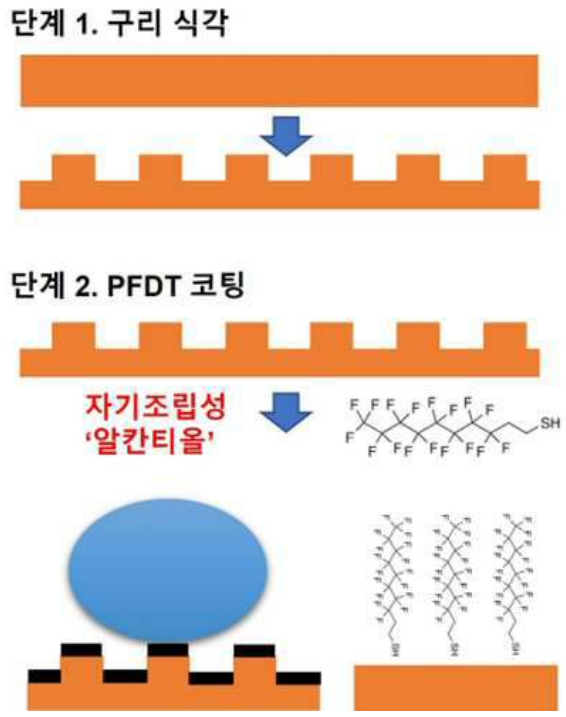
도면7



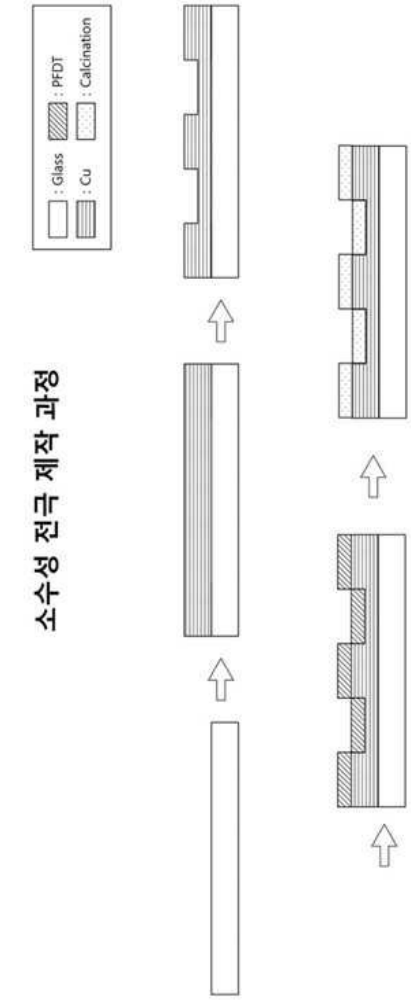
도면8


A. 전기습윤 원리
B. 전기습윤 밸브의 구성
소수성 전극
친수성 전극
C. 전기습윤 밸브를 통한 유체 흐름 조절 모식도

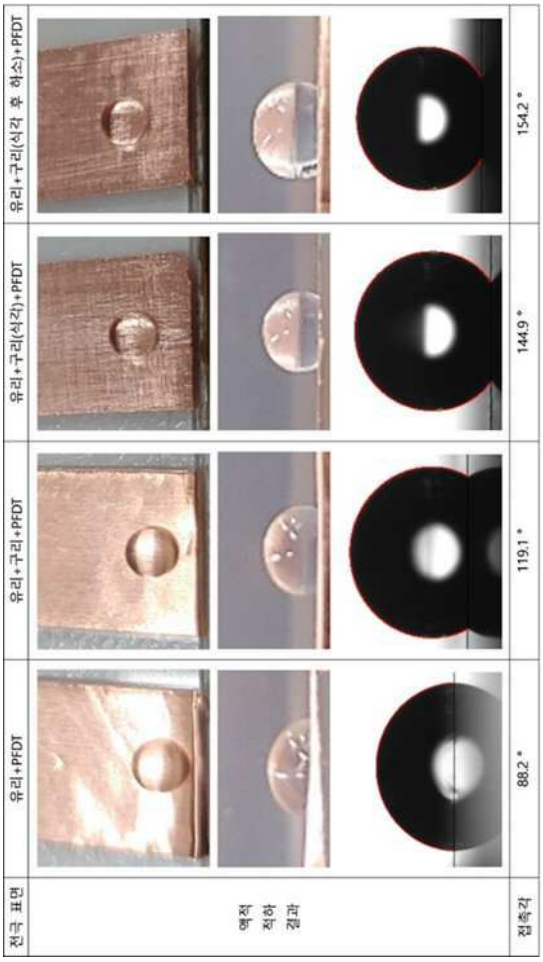
도면9


단계 1. 구리 식각
단계 2. PFDT 코팅
자기조립성
'알칸티올'
SH

도면10



도면11

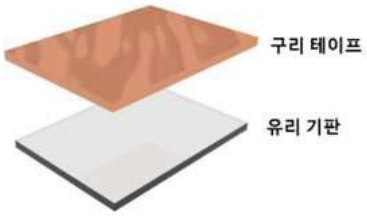

전극 표면
유리+PFDT
유리+구리+PFDT
유리+구리(식각)+PFDT
유리+구리(식각 후 헥소)+PFDT
액적 적하 결과
접촉각
88.2 °
119.1 °
144.9 °
154.2 °

도면12

A. 전극 패턴 형성용 장비 및 소재



커팅 장비 (Cricut explorer2)



B. 전극 패턴 형성 과정 모식도

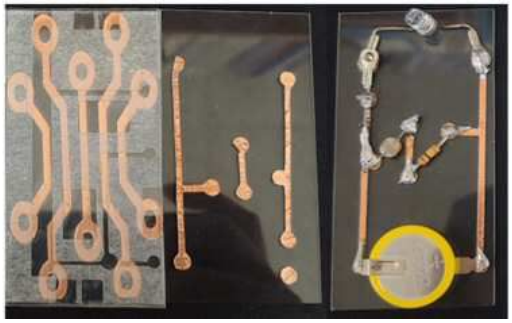


구리 테이프를
유리 기판에 부착

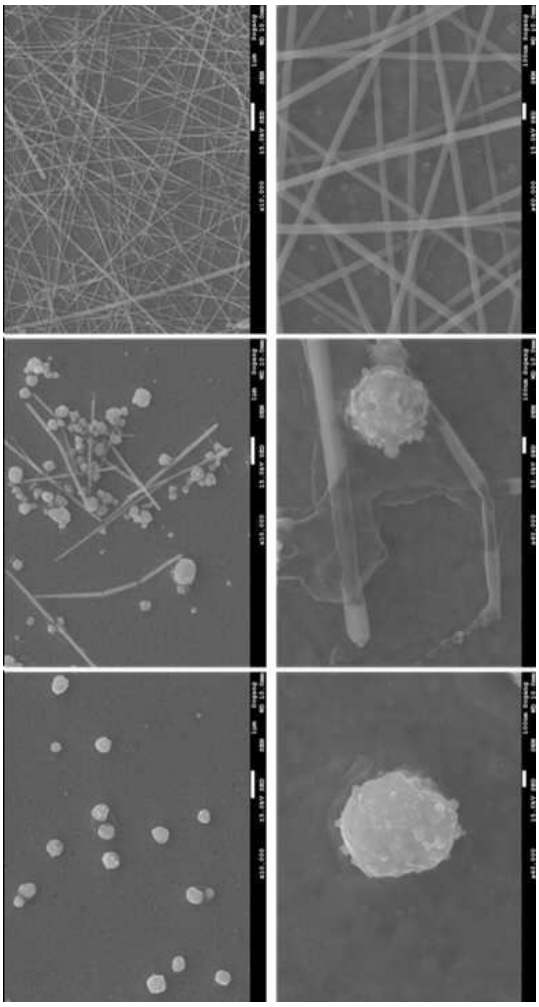
커팅 장비를 이용하여
구리 테이프 커팅

불필요한 Cu tape 제거

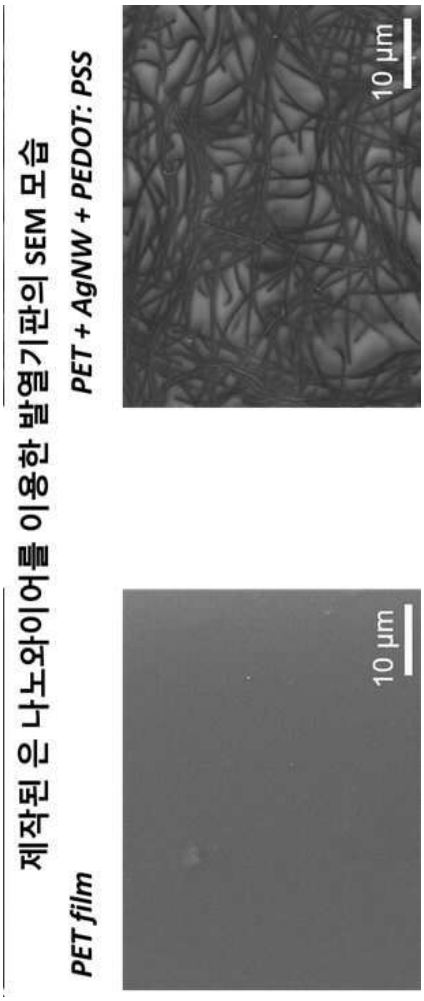
C. 전극 패턴 예시



도면13



도면14


제작된 은 나노와이어를 이용한 발열기판의 SEM 모습
PET film
10 μm
PET + AgNW + PEDOT: PSS
10 μm

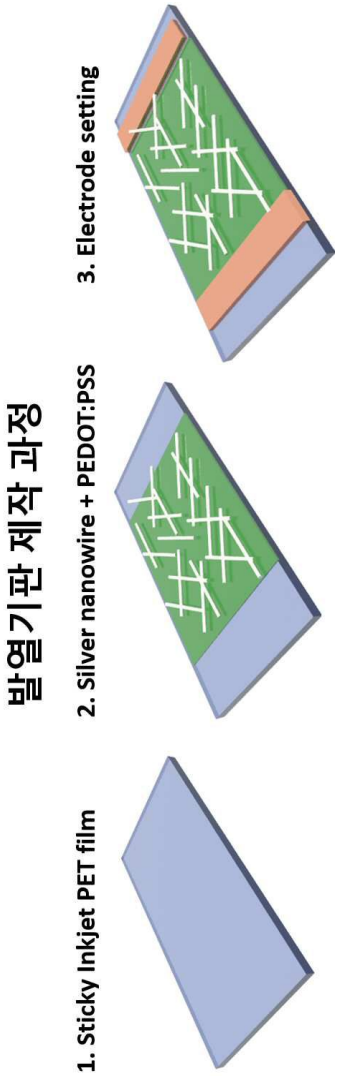
도면15

PET + AgNW + PEDOT: PSS EDS 분석

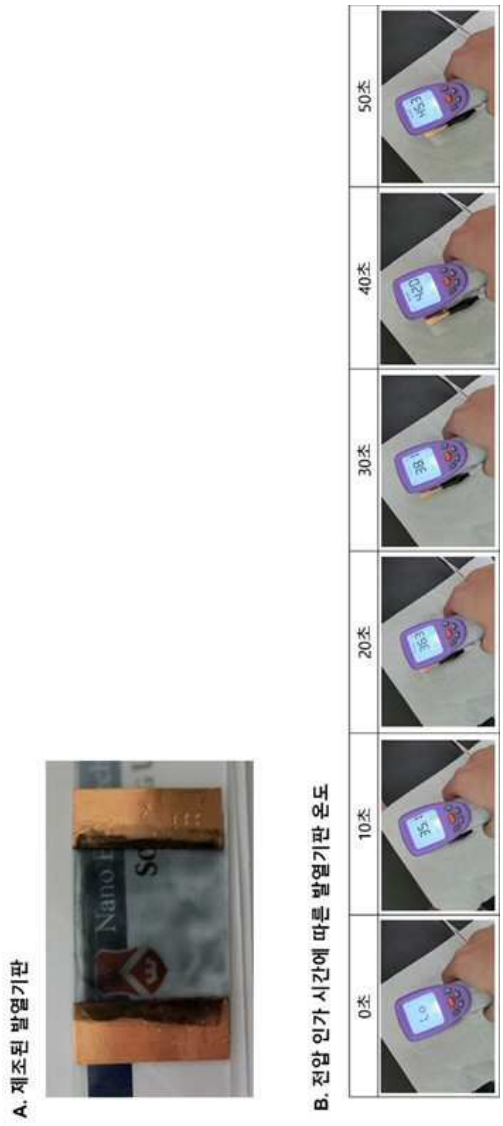


Element	Apparent Concentration	Wt%	Atomic %	Standard Label
C	7.85	80.60	88.87	Pure Element
O	1.02	12.40	10.27	SiO_2
Ag	0.72	7.00	0.86	Pure Element
Total:		100.00	100.00	

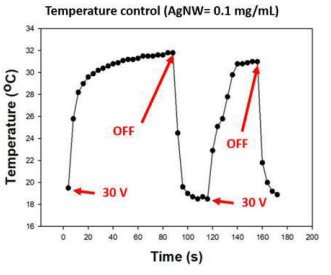
도면16

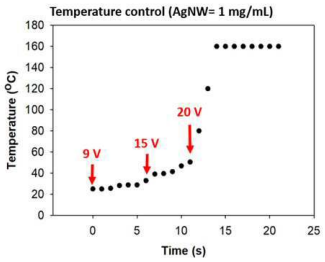

발열기판 제작 과정
1. Sticky Inkjet PET film
2. Silver nanowire + PEDOT:PSS
3. Electrode setting

도면17

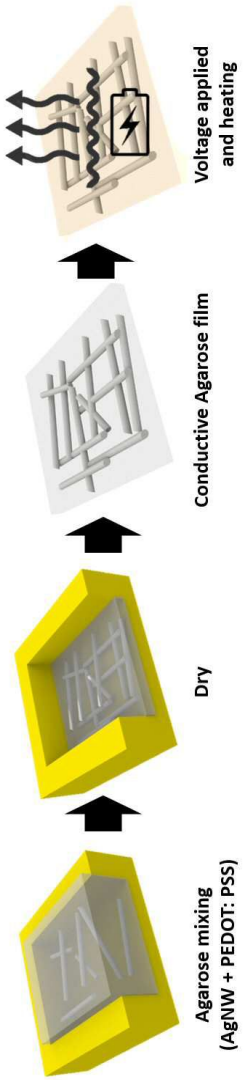

A. 제조된 발열기판
B. 전압 인가 시간에 따른 발열기판 온도
0초
10초
20초
30초
40초
50초

도면18

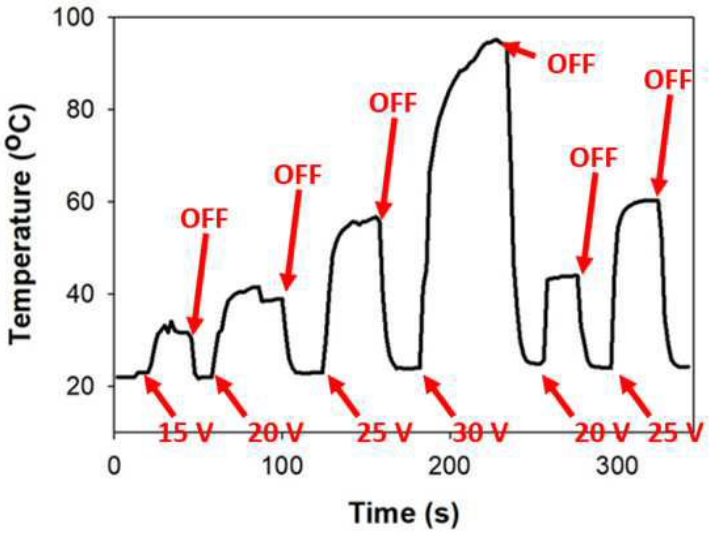

Temperature control (AgNW= 0.1 mg/mL)
Temperature (°C)
Time (s)
OFF
OFF
30 V
30 V


Temperature control (AgNW= 1 mg/mL)
Temperature (°C)
Time (s)
9 V
15 V
20 V

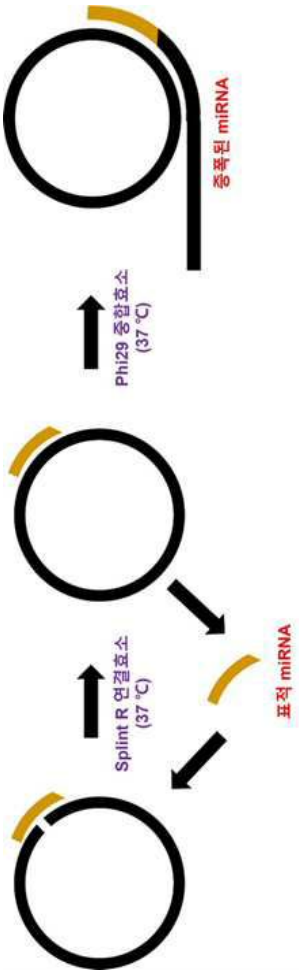
도면19


Voltage applied and heating
Conductive Agarose film
Dry
Agarose mixing (AgNW + PEDOT: PSS)

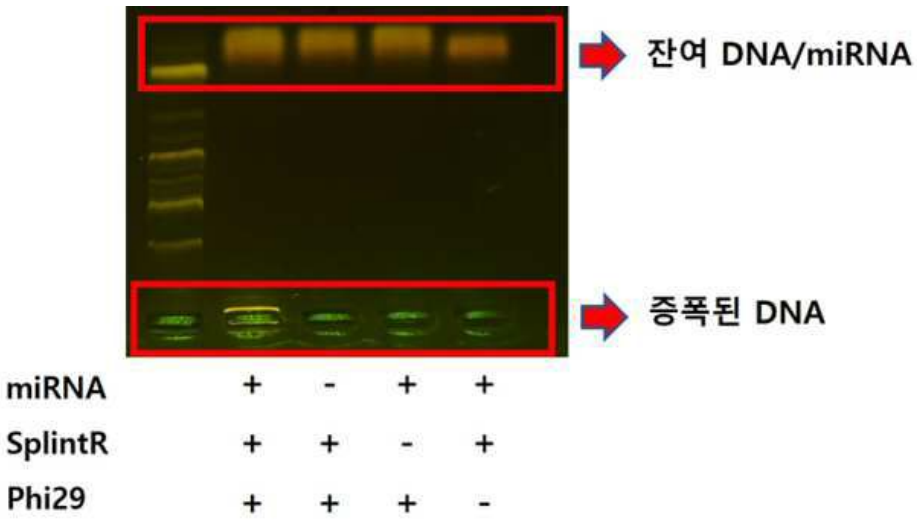
도면20


Temperature (°C)
Time (s)
OFF
15 V
20 V
25 V
30 V
20 V
25 V

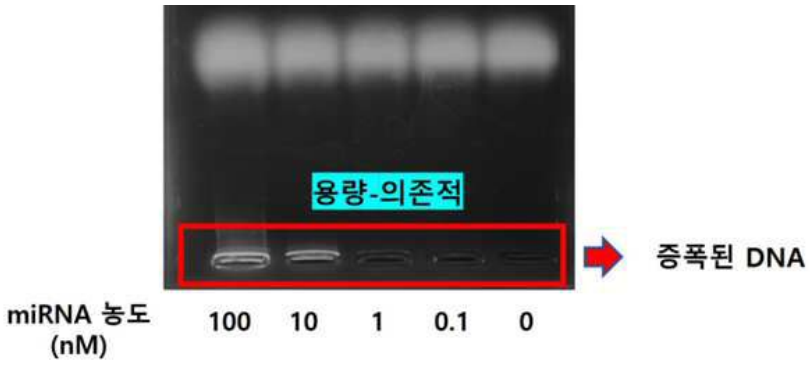
도면21


증폭된 miRNA
Phi29 중합효소
(37 °C)
Splint R 연결효소
(37 °C)
표적 miRNA

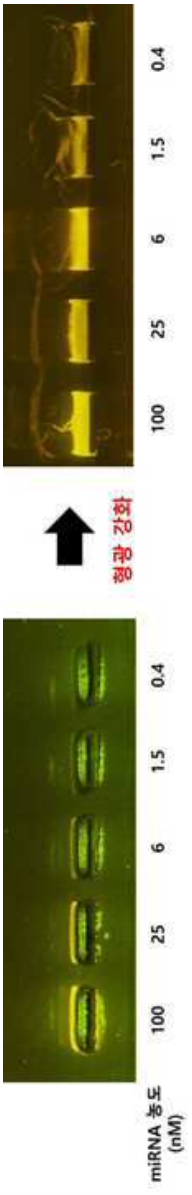
도면22


잔여 DNA/miRNA
증폭된 DNA
miRNA + - + +
SplintR + + - +
Phi29 + + + -

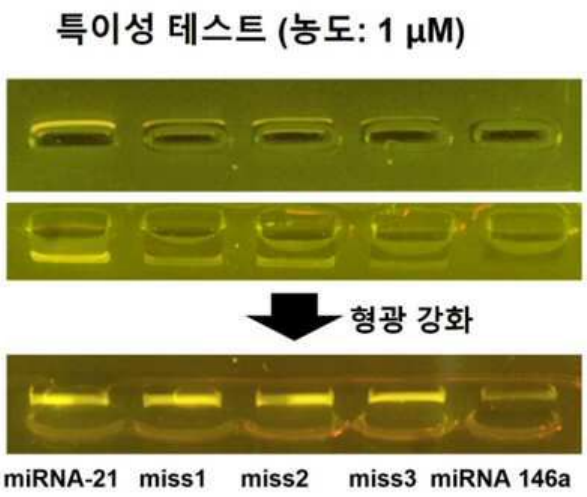
도면23


용량-의존적
증폭된 DNA
miRNA 농도
(nM)
100
10
1
0.1
0

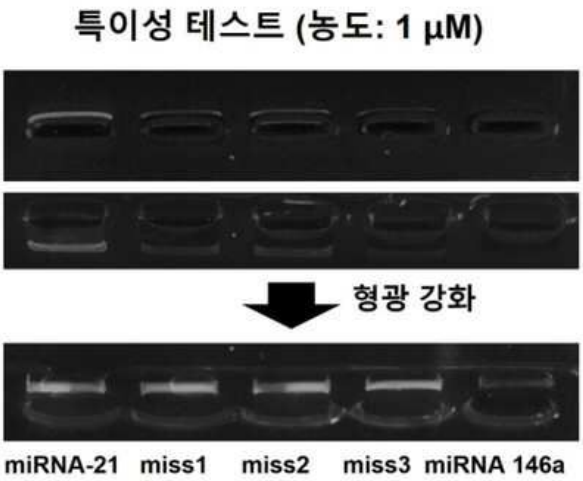
도면24


0.4
1.5
6
25
100
형광 강화
0.4
1.5
6
25
100
miRNA 농도
(nM)

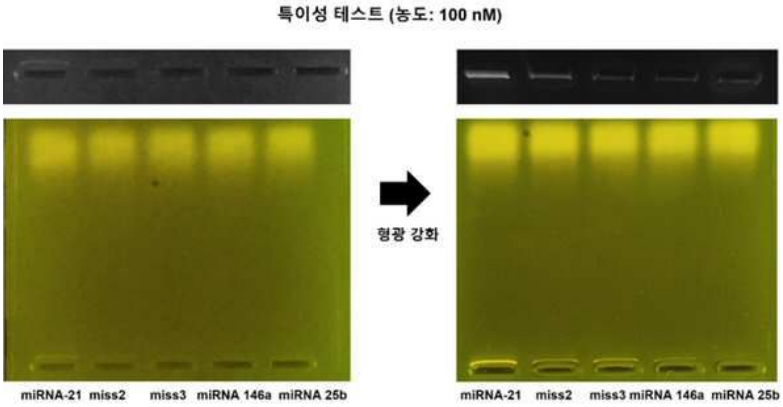
도면25



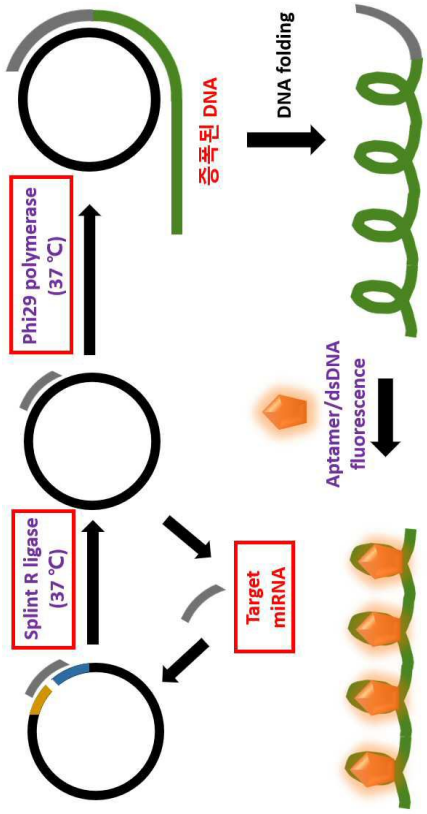
도면26



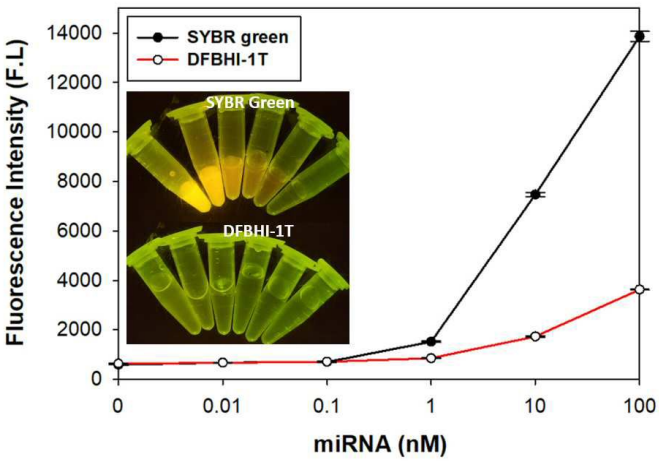
도면27



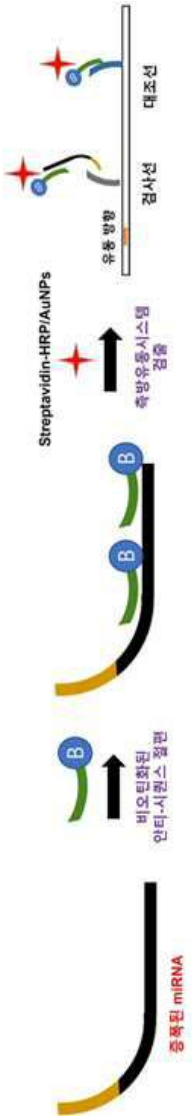
도면28


증폭된 DNA
DNA folding
Phi29 polymerase (37 ℃)
Aptamer/dsDNA fluorescence
Splint R ligase (37 ℃)
Target miRNA

도면29


SYBR green
DFBHI-1T
SYBR Green
DFBHI-1T
Fluorescence Intensity (F.L)
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
0.01
0.1
1
10
100
miRNA (nM)

도면30


대조선
검사선
유동 방향
Streptavidin-HRP/AuNPs
측방유동시스템
검출
비오틴화된
안티-시퀀스 절편
증폭된 miRNA