



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0087914
(43) 공개일자 2018년08월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 7/00 (2006.01) B81B 1/00 (2017.01)
(52) CPC특허분류
B01L 7/52 (2013.01)
B81B 1/002 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0012101
(22) 출원일자 2017년01월25일
심사청구일자 2017년01월25일

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
재단법인 바이오나노헬스가드연구단
대전광역시 유성구 과학로 125 (어은동, 한국생명공학연구원)
(72) 발명자
정봉근
경기도 과천시 관문로 143 1110동 1004호 (중앙동, 래미안에코팰리스아파트)
신용범
대전광역시 유성구 배울2로 114 테크노밸리 1105-701
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
윤대웅, 공병욱

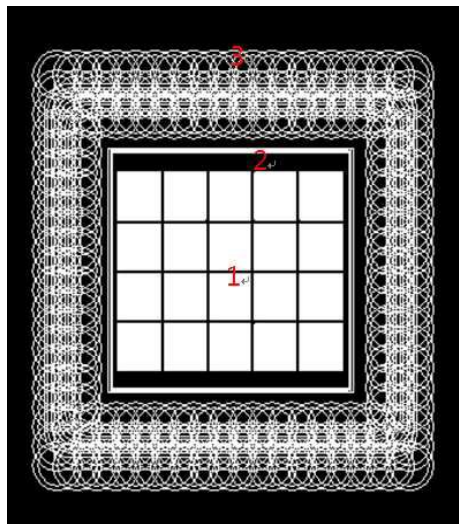
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 마이크로 유체 파티션 칩 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 마이크로 유체 파티션 칩, 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 제조 방법 및 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

B01L 2200/0663 (2013.01)

B01L 2300/0861 (2013.01)

B01L 2300/165 (2013.01)

(72) 발명자

이종민

서울특별시 은평구 갈현로9길 16 (역촌동)

박경숙

대전광역시 서구 청사로 65, 119-905

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 H-GUARD_2014M3A6B2060503

부처명 한국연구재단

연구관리전문기관 재단법인 바이오나노헬스가드연구단

연구사업명 글로벌프론티어사업

연구과제명 디지털 진단을 위한 마이크로 유체 칩 개발

기 여 율 1/1

주관기관 서강대학교

연구기간 2016.07.01 ~ 2017.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

마이크로 필라를 포함하는 압력부; 및
적어도 1개 이상의 파티션을 포함하는 채널부;
를 포함하는 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 마이크로 유체 파티션 칩은 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction)용 인 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 중합효소연쇄반응은 역전사중합효소 연쇄 반응(reverse transcriptase polymerase chain reaction), 실시간 중합효소 연쇄 반응(Real-time polymerase chain reaction) 또는 디지털 중합효소 연쇄 반응(Digital polymerase chain reaction)인 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 마이크로 유체 파티션 칩은 360,000개 이상의 파티션을 포함하고 있는 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 파티션 간의 간격은 5 내지 20 μ m 인 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 파티션은 원형, 삼각형, 사각형 또는 육각형인 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 마이크로 유체 파티션 칩은 폴리디메틸실록산(poly(dimethylsiloxane), PDMS), 폴리메틸 메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리아크릴레이트(polyacrylates), 폴리카보네이트(polycarbonates) 및 폴리사이클릭올레핀(polycyclic olefins) 으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상인 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 마이크로 필라는 폭이 20 μ m 이하인 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 마이크로 필라는 마이크로 필라의 폭과 마이크로 필라 간의 간격의 비율이 0.1 내지 10:1 인 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 마이크로 파티션 칩은 소수성 물질 코팅된 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 소수성 물질은 클로로트리메틸실란(Chlorotrimethylsilane), 트리클로로비닐실란(trichlorovinylsilane) 및 트리클로로(1H, 1H, 2H, 2H-퍼플루오로옥틸)실란(trichloro(1H, 1H, 2H, 2H-

perfluorooctyl)silane)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것인, 마이크로 유체 파티션 칩.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 마이크로 유체 파티션 칩, 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 제조 방법 및 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 마이크로 유체 칩은 미세 유체 공학을 이용하여 제조되며 미세 채널(마이크로 채널 또는 나노 채널)을 포함하고 있는 칩이다. 이러한 마이크로 유체 칩은 미세 채널을 통해 소량의 유체가 흘러가도록 하여, 각종 반응과 작용이 일어나도록 함으로서, 기존의 실험실에서 여러 복잡한 공정을 거쳐야 했던 작업들이 칩 상에서 이루어지도록 할 수 있다. 그러한 이유로 상기 마이크로 유체 칩을 랩온어칩(lab-on-a-chip)이라고 하기도 한다.

[0003] 구체적으로, 마이크로 유체 칩은 샘플의 주입 및 혼성화 반응과 검출 등 실험의 전 과정을 하나의 작은 소자를 이용하여 자동적으로 처리하기 위한 것이다. 이러한 마이크로 유체 칩의 내부에는 머리카락보다 좁은 단수 또는 복수의 미세 채널이 형성되어 있다.

[0004] 종래의 출시된 디지털 중합효소연쇄반응(Digital polymerase chain reaction; 이하 dPCR) 칩 제품들은 대부분 샘플링을 위해 드롭렛(droplet), 마이크로웰(microwell) 또는 파티션 방법 등을 사용하였다.

[0005] Bio-rad 사와 Raindance Technologies 사에서 개발한 드롭렛 방법은 파티션이나 마이크로웰을 이용하는 방법보다 많은 양의 샘플을 검출할 수 있다는 장점이 있으나, 드롭렛을 만드는 시간이 오래 걸리고, 샘플 로딩(loading) 시간 및 분석 시간이 오래 걸리는 등의 단점을 가지고 있다.

[0006] 또한, Life Technologies 사의 마이크로웰 방법은 슬라이더로 기계적으로 샘플을 육각형 또는 원형의 마이크로웰 안에 고정하여 샘플 로딩 효율이 낮다. 그리고, Fluidigm 사는 공압과 마이크로 채널을 이용하여 샘플을 파티션하는 방법을 사용하지만, 많은 수의 마이크로 밸브를 사용하고 시스템이 복잡하고 비싼 단가 등의 단점을 가지고 있다. Formulatrix 사는 마이크로 채널을 이용하여 파티션을 제작을 하지만, 손으로 롤러를 작동하여 샘플을 고정화시키는 단점을 가지고 있다.

[0007] 즉, 종래의 방법인 파티션이나 마이크로웰을 사용하는 경우 샘플을 슬라이더, 공압, 및 롤러 등으로 로딩하고 고정화 해야 하는 등의 단점을 가지고 있다. 또한, 샘플 로딩과정에서 기포가 마이크로웰과 파티션 안에 형성이 되는 등의 균일한 샘플을 파티션 하는 데에는 어려움이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 종래 마이크로 유체 칩의 기술적인 단점들을 극복하고자, 단순하면서도 많은 파티션을 통해 좀 더 민감하고 정확한 샘플의 측정과 사용자 임의대로 컨트롤을 할 수 있는 진공 기반의 마이크로 시스템 개발을 통하여 다양한 샘플에 대한 진단, 검출 및 정량을 할 수 있는 진공을 기반으로 하는 마이크로 유체 파티션 칩을 개발하였다.

[0009] 이에, 본 발명의 목적은 마이크로 유체 파티션 칩을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 제조 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 용도에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 마이크로 유체 파티션 칩, 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 제조 방법 및 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 용도에 관한 것이다.

[0013] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다

[0014] 종래 마이크로 유체 칩 기술에서는 공백 네트워크 채널 안에 농도 구배를 위한 마이크로 유체 칩이 들어가는 장

치를 만들었으나, 샘플을 파티션 하기에는 어려움이 있었다.

- [0015] 이에, 본 발명자들은 단순하면서도 많은 파티션을 통해 좀 더 민감하고 정확한 샘플의 측정과 사용자 임의대로 컨트롤을 할 수 있는 진공 기반의 마이크로 시스템 개발을 통하여 다양한 샘플에 대한 진단, 검출 및 정량을 할 수 있는 진공을 기반으로 하는 마이크로 유체 파티션 칩을 개발하였다.
- [0016] 본 발명의 일 예는 마이크로 유체 파티션 칩에 관한 것이다.
- [0017] 본 발명의 마이크로 유체 파티션 칩은 마이크로 필라를 포함하는 압력부 및 적어도 1개 이상의 파티션을 포함하는 채널부를 포함하는 것일 수 있다:
- [0018] 본 발명의 마이크로 유체 파티션 칩은 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction; 이하, PCR)용 인 것일 수 있으며, 예를 들어, 역전사중합효소 연쇄 반응(reverse transcriptase polymerase chain reaction; 이하, RT-PCR), 실시간 중합효소 연쇄 반응(Real-time polymerase chain reaction; 이하, qPCR), 디지털 중합효소 연쇄 반응(Digital polymerase chain reaction, digital PCR; 이하, dPCR)인 것일 수 있으며, 바람직하게는, 디지털 중합효소 연쇄 반응용 인 것을 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0019] PCR은 현재 유전물질을 조작하여 실험하는 거의 모든 과정에 사용하고 있는 검사법으로, 검출을 원하는 특정 표적 유전물질을 증폭하는 방법이다. 중합효소 연쇄 반응에 의해, 소량의 유전물질로부터 염기 순서가 동일한 유전물질을 많은 양으로 증폭할 수 있으므로, 인간의 DNA를 증폭하여 여러 종류의 유전질환을 진단하는 데 사용된다. 또한, 세균이나 바이러스, 진균의 DNA에 적용하여 감염성 질환의 진단 등에 사용할 수 있다.
- [0020] PCR의 순서는 3단계로 이루어지며, 구체적으로, 열을 이용하여 두 가닥의 DNA를 분리하는 열변성(denaturation) 단계, 온도를 낮추어 프라이머(primer)가 증폭을 원하는 서열 말단에 결합(annealing)하는 단계, 및 다시 열을 약간 올려서 DNA를 합성하는 중합 반응(polymerization or extension)단계로 이루어지며, 상기 과정을 1회 수행하는 것을 사이클 이라고 한다.
- [0021] 열변성 반응은 보통 95℃의 온도에서 2가닥의 DNA의 상보적인 염기의 수소결합을 1가닥으로 떨어뜨리는 과정이며, 결합 반응은 약 55 내지 65℃에서 한 가닥의 DNA에 시발체가 상보적인 염기서열에 결합하는 과정이고, 중합 반응은 한 가닥의 DNA(주형 DNA)에 프라이머가 붙은 다음의 염기에 DNA 중합효소(polymerase)를 이용하여 주형 DNA의 상보적인 염기를 합성하여 두 가닥의 DNA으로 연장시키는 과정이다. 상기 사이클을 거친 후, 다시 열변성 과정, 결합 반응, 및 중합 반응으로 이루어진 사이클을 반복하여 DNA를 증폭하게 된다.
- [0022] 상기 사이클을 1회를 수행하면 유전 물질은 2배로 증폭된다. 따라서 반응의 반복에 의한 기하급수적인 증폭이 가능하고, 중합효소 연쇄 반응을 n회를 반복하면 이론상으로 2의 n승배의 유전자가 증폭된다.
- [0023] 중합효소 연쇄 반응을 위하여 필요한 물질은 증폭하고자 하는 주형이 되는 DNA, 프라이머, DNA 중합효소, dNTP, 완충액 및 염화마그네슘(MgCl₂)이다. 주형이 되는 DNA로는 보통 20 내지 100ng의 DNA를 사용한다.
- [0024] 프라이머는 보통 20 내지 30개의 염기로 이루어지도록 디자인하며 A, T와 G, C의 비율은 동일한 비로 이루어진 것이 좋으며, G, C의 분포는 몰려 있지 않는 것을 사용하여야 한다. 또한, 프라이머 간에 상보적인 염기 서열이 존재하지 않도록 하여야 한다.
- [0025] DNA 중합효소는 90℃ 이상의 고온에서도 활성을 잃지 않는 효소를 사용하며, DNA의 5' 에서 3' 으로 합성하는 기능, 3'에서 5'으로 잘못된 염기를 교정하는 능력을 가지고 있다.
- [0026] dNTP는 dATP, dCTP, dGTP, dTTP로 구성되며 보통 200 μM의 농도를 사용한다. 또한, DNA 중합효소가 작용하고 dNTP와 프라이머가 결합하기 위하여 Mg²⁺가 필요하다. 완충액은 중합효소의 활성화를 위하여 필요하다.
- [0027] 중합효소 연쇄 반응의 변형 방법으로는, RNA를 대상으로 역전사효소를 이용하여 역전사 반응을 시행하여 상보적(complementary) DNA를 합성하여 이를 주형으로 이용하여 중합효소 연쇄 반응을 시행하는 역전사중합효소 연쇄 반응(reverse transcriptase polymerase chain reaction; 이하, RT-PCR), 형광물질을 사용하여 DNA를 증폭시키면서 증폭산물을 동시에 검출하는 실시간 중합효소 연쇄 반응(Real-time polymerase chain reaction; 이하, qPCR), 디지털 중합효소 연쇄 반응(Digital polymerase chain reaction; digital PCR, DigitalPCR, dPCR 또는 dePCR) 등이 있다.
- [0028] 본 발명의 마이크로 유체 파티션 칩은 360,000개 이상의 파티션을 포함하고 있는 것일 수 있으며, 예를 들어, 360,000 내지 1,000,000개, 360,000 내지 900,000개, 360,000 내지 800,000개, 360,000 내지 700,000개,

360,000 내지 600,000, 360,000 내지 400,000 또는 360,000 내지 400,000개인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0029] 상기 파티션은 파티션 간의 간격은 20 μm 이하, 예를 들어, 1 내지 20 μm , 2 내지 20 μm , 3 내지 20 μm , 4 내지 20 μm , 5 내지 20 μm , 6 내지 20 μm , 7 내지 20 μm , 8 내지 20 μm , 9 내지 20 μm 또는 10 내지 20 μm 인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0030] 상기 파티션은 원형 또는 다각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 다각형은 삼각형, 사각형 또는 육각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 예를 들어, 정삼각형, 이등변삼각형, 직각삼각형, 정사각형, 직사각형, 사다리꼴, 마름모, 또는 정육각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0031] 본 발명의 마이크로 유체 파티션 칩은 폴리디메틸실록산(poly(dimethylsiloxane), PDMS), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리아크릴레이트(polyacrylates), 폴리카보네이트(polycarbonates) 및 폴리사이클릭올레핀(polycyclic olefins)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 본 발명의 진공 기반의 마이크로 유체 파티션 칩은 진공 채널에 따라 칩의 최종 구조가 다르게 형성되므로, 칩안의 채널 형태를 변경하는 것만으로도 광범위한 응용이 가능하다.
- [0033] 상기 마이크로 필터는 폭이 20 μm 이하, 19 μm 이하, 18 μm 이하, 17 μm 이하, 16 μm 이하, 15 μm 이하, 14 μm 이하, 13 μm 이하, 12 μm 이하, 11 μm 이하, 10 μm 이하, 예를 들어, 1 내지 20 μm , 1 내지 19 μm , 1 내지 18 μm , 1 내지 17 μm , 1 내지 16 μm , 1 내지 15 μm , 1 내지 14 μm , 1 내지 13 μm , 1 내지 12 μm , 1 내지 11 μm 또는 1 내지 10 μm 인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 상기 마이크로 필터는 마이크로 필터의 폭과 마이크로 필터 간의 간격의 비율이 0.1 내지 10:1, 예를 들어 1:1인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명의 마이크로 유체 칩은 적은 양의 샘플로도 채널을 파티션에 고정하기 위한 마이크로 필터 구조(도 1의 2번 참조) 등이 이전과는 확연히 다른 차이점이 있으며, 이러한 마이크로 필터 구조를 통하여 샘플이 지나가는 것을 방지 할 수 있고, 유체의 흐름이 마이크로 필터에 의해 차단되는 현저한 효과가 있다.
- [0036] 구체적으로, 본 발명의 마이크로 유체 칩은 진공 채널을 원에 선이 아닌 선에 원을 철조망처럼 배열하여 바닥면과의 접촉 채널의 면적을 늘려서 작은 압력으로도 진공으로 인해 접착력을 높일 수 있다 (도 1).
- [0037] 본 발명의 마이크로 파티션 칩은 소수성 물질 코팅된 것일 수 있다. 마이크로 파티션 칩이 소수성 물질로 코팅되는 경우 시료가 넘치지 않는 효과가 있다.
- [0038] 상기 소수성 물질은 클로로트리메틸실란(Chlorotrimethylsilane), 트리클로로비닐실란(trichlorovinylsilane) 및 트리클로로(1H, 1H, 2H, 2H-퍼플루오로옥틸)실란(trichloro(1H, 1H, 2H, 2H-perfluorooctyl)silane)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명의 마이크로 파티션 칩은 마이크로 어레이를 포함하는 것일 수 있다.
- [0040] 상기 마이크로 유체 칩은 진공 채널 안쪽에 마이크로 유체(채널구조)를 넣지 않고 마이크로 어레이를 넣어서 고속 스크리닝이 가능하다.
- [0041] 본 발명의 마이크로 파티션 칩은 사각형 구조인 것일 수 있다. 상기 마이크로 유체 칩은 원형의 진공(vacuum) 구조를 사용하지 않고 사각형의 구조를 사용하여 빈 공간을 없애 사용 가능한 면적을 넓힘으로써 구조 안에 다양한 채널 및 구조를 만들기 용이한 효과가 있다.
- [0042] 본 발명의 미세유체 파티션 칩은 슬라이드 글라스, 크리스탈 및 유리 글라스로 구성된 군으로부터 선택되는 광학적 측정이 용이한 플레이트 상부에 접합되는 것일 수 있으며, 예를 들어, 유리 글라스 상부에 접합되는 것일 수 있다.
- [0043] 본 발명의 마이크로 유체 파티션 칩은 샘플들을 균일하게 원형 또는 다각형의 파티션 안에 고정화하고, 파티션 주변에 마이크로 필터 구조를 제작하여 적은 양의 샘플로도 진공 채널이 작동할 수 있도록 설계를 하고, 코팅 기술을 이용하여 칩에 샘플의 로딩 효율을 높일 수 있으며, 파티션의 숫자가 최대한 많아지도록 구현 가능하도록 하였다.
- [0044] 따라서 본 발명의 마이크로 유체 파티션 칩은 종래 마이크로 유체 칩들에 비해 하기와 같은 장점을 가진다.

- [0045] 1) 간단한 칩의 구조로 진공이 가능하여 샘플을 파티션 안에 고정화할 수 있으며 손실되는 샘플 양을 최소화.
- [0046] 2) 파티션 주변에 마이크로 필라 구조를 제작하여 적은 양의 샘플로도 효과적으로 분석이 가능.
- [0047] 3) 코팅 기술을 이용하여 칩에 샘플의 로딩 효율을 높임.
- [0048] 4) 파티션의 숫자를 360,000개 이상으로 구현이 가능.
- [0049] 5) 진공 채널의 구조를 달리하거나 채널 내부의 특성을 변경하여 dPCR 또는 다양한 약물 스크리닝에도 활용 가능.
- [0050] 본 발명의 다른 일 예는 마이크로 유체 파티션 칩의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0051] 상기 마이크로 유체 파티션 칩 1 개에 포함되는 파티션의 수는 360,000개 이상이 되도록 제작을 하였다.
- [0052] 마이크로 유체 파티션 칩에 포함되는 파티션의 수를 360,000 이상으로 구현하기 위하여 포토/소프트-리소그래피(photo/soft-lithography) 기술을 이용하여 진공 네트워크 마이크로 채널과 파티션 마이크로 채널을 제작하였다.
- [0053] 또한, 파티션 마이크로 채널의 높이와 지름은 모두 10um로 설계하여 약 0.8pL의 샘플을 적재하고, 파티션 주위에 진공 네트워크 마이크로 채널을 배치하였다.
- [0054] 파티션 안에 샘플을 고정화하기 위하여 진공 네트워크 마이크로 파티션은 원형 또는 다각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 다각형은 삼각형, 사각형 또는 육각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 예를 들어, 정삼각형, 이등변삼각형, 직각삼각형, 정사각형, 직사각형, 사다리꼴, 마름모, 또는 정육각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0055] 본 발명의 또 다른 일 예는 상기 마이크로 유체 파티션 칩을 이용한 dPCR 분석 방법을 제공하는 것이다.
- [0056] 상기 dPCR 분석 방법의 분석 순서는 하기의 단계를 포함하는 것일 수 있다:
- [0057] dPCR 프라이머 시료를 마이크로 유체 파티션 칩에 로딩하는 단계;
- [0058] 실리콘 칩을 로딩된 시료 위에 덮고 진공을 걸어주는 단계; 및
- [0059] dPCR을 수행하는 단계.
- [0060] 상기 진공을 걸어주는 단계를 통해 칩과 실리콘 칩이 흡착하여 시료가 분리되는 것으로, 구체적으로, 마이크로 유체 파티션 칩에 진공을 걸어주면, 진공 네트워크 기반의 마이크로 유체 칩이 유리나 실리콘 표면에 흡착되고 샘플이 파티션 및 고정화된다.
- [0061] 상기 샘플의 파티션 및 고정화는 10초 이내, 9초 이내, 8초 이내, 7초 이내, 6초 이내, 5초 이내, 4초 이내, 3초 이내, 2초 이내 또는 1초 이내, 예를 들어, 1 내지 10초, 1 내지 9초, 1 내지 8초, 1 내지 7초, 1 내지 6초, 1 내지 5초, 1 내지 4초, 1 내지 3초, 1 내지 2초 또는 1초에 이루어지는 것일 수 있다.
- [0062] 또한, 페릴린 코팅을 이용하여 샘플의 증발을 방지하며 dPCR 분석을 수행할 수 있다.
- [0063] 본 발명의 용어 "마이크로 채널"은 기관 상에 형성된 수십 마이크로미터 정도의 높이, 수백 마이크로미터 정도의 너비, 및 수십 밀리미터 정도의 길이를 갖는 홈을 의미한다. 이러한 마이크로 채널은 마이크로 기관의 일측의 표면에 형성될 수 있으며, 마이크로 기관의 내부에 직선형태의 통로로서 형성될 수 있다. 이 경우, 분리된 시료의 육안 관찰이 가능하도록 마이크로 기관은 투명한 재질로 형성되는 것이 바람직하다.
- [0064] 본 발명의 용어 "마이크로 기관"은 상술한 "마이크로 채널"이 형성된 기관을 의미하고, 상술한 마이크로 채널의 치수를 고려하여 실시자의 편의에 따라 적정한 사이즈로 준비될 수 있으며, 특별히 한정되지 않는다.
- [0065] 상기 분석은 검출 가능한 표지를 통해 수행하는 것일 수 있다.
- [0066] 본 발명의 일 구체예에 있어서, 본 발명의 검출 가능한 표지는 광학적 표지, 전기화학적 표지, 방사성 동위원소 또는 이들의 조합일 수 있다. 상기 표지는 기질과 결합을 형성하여 부착될 수 있다.
- [0067] 상기 광학적 표지는 형광물질일 수 있으며, 예를 들어, TAMRA, VIC, 플로레세인(fluorescein), 6-FAM, 로다민, 텍사스 레드(Texas Red), 테트라메틸로다민, 카르복시로다민, 카르복시로타민6G, 카르복시로돌, 카르복시로다민 110, 캐스케이드 블루(Cascade Blue), 캐스케이드 옐로우(Cascade Yellow), 코마린, Cy2(cyanine 2), Cy3,

Cy3.5, Cy5, Cy5.5, Cy-크롬, 피코에리트린, PerCP(페리딘 클로로필-a 단백질), PerCP-Cy5.5, JOE(6-카르복시-4',5'-디클로로-2',7'-디메톡시플루오레신), NED, ROX(5-(및-6)-카르복시-X-로다민), HEX, 루시퍼 옐로우(Lucifer Yellow), 마리나 블루(Marina Blue), 오레곤 그린(Oregon Green) 488, 오레곤 그린 500, 오레곤 그린 514, 알렉사 플루오어, 7-아미노-4-메틸코마린-3-아세트산, 보디피(BODIPY) FL, 보디피 FL-Br 2, 보디피 530/550, 이의 콘쥬게이트화물 및 이들의 배합물로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 플루오레세인 아이소싸이오사이아네이트 텍스트란(Fluorescein isothiocyanate dextran)인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0068] 상기 전기화학적 표지는 당업계에 알려진 전기화학적 표지를 포함하는 것일 수 있으며, 예를 들면, 상기 전기화학적 표지는 메틸렌 블루인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0069] 상기 방사성 동위원소는 종래 당업계에 잘 알려진 방사성 동위원소를 이용할 수 있으며, 예를 들어, ^{14}C , ^{125}I , ^{32}P 또는 ^{35}S 을 이용할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0070] 구체적인 다양한 표지 및 표지화 방법은 Ed. Harlow and David Lane, Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999에 기재되어 있다.

발명의 효과

[0071] 본 발명은 마이크로 유체 파티션 칩, 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 제조 방법 및 상기 마이크로 유체 파티션 칩의 용도에 관한 것으로, 본 발명에 따른 마이크로 유체 파티션 칩은 샘플의 균일한 파티션을 위하여 설계되었으며 파티션 주변에 마이크로 필라 구조를 규칙적으로 배열하여 적은 양의 샘플로 진공 채널이 작동할 수 있도록 하였다. 또한, 진공 채널의 구조를 사각형 테두리 안에 원형채널로 배열하여 마이크로 유체 칩의 크기를 줄일 수 있었으며, 마이크로 채널 내부의 구조 특성의 변경이 용이하였다. 특성 변경을 통하여 파티션의 수를 360,000 이상으로 구현하거나 표면 코팅을 통하여 시료의 로딩효율을 높였다. 이러한 진공 기반 파티션 마이크로 칩은 dPCR 분야 또는 약물 스크리닝 분야에서 매우 유용한 도구로 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0072] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 dPCR용 진공 기반 마이크로 유체 파티션 칩을 보여주는 그림이다.
 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 dPCR용 진공 기반 마이크로 유체 파티션 칩의 공정 순서를 보여주는 공정도이다.
 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 육각형 모양의 진공 기반 마이크로 유체 파티션 마이크로 칩의 수치 모식도이다.
 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 진공 네트워크 마이크로 채널과 원형모양의 360,000 파티션이다.
 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 소수성 코팅 기술을 이용한 샘플 분리 효율 증가를 보여주는 그림이다.
 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 진공 채널을 이용하여 샘플을 파티션 안에 고정화한 사진이다(좌: 진공 전, 우: 진공 후).
 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 원형 또는 다각형 모양의 진공 기반 마이크로 유체 파티션 마이크로 칩의 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0073] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0075] 실시예 1. 마이크로 유체 칩의 설계

[0076] dPCR 칩으로 적용하기 위하여 한 개의 마이크로 유체 칩 안에 수 만개 파티션을 제작하여 진공을 이용하여 샘플을 파티션 안에 고정화할 수 있는 마이크로 유체 칩을 설계하였다.

[0077] 먼저, 진공 기반 파티션 칩을 만들기 위하여 오토캐드(AutoCAD) 프로그램으로 진공 채널과 파티션을 디자인하였다. 구체적으로, 파티션의 높이와 지름은 모두 육각형의 60um로 설계하였으며 20um의 간격을 갖는다. 또한, 파

티션의 주위에 사각형과 원형 모양의 진공 채널을 배치하였다. 한 칩 안에 파티션의 수는 20,000개 이상이며, 적은 샘플량으로 파티션이 가능하게 해주기 위하여 6,000개의 바깥쪽 마이크로 필라를 제작하여, 파티션 칩 안에 샘플의 고정은 10 초 이내로 이루어지게 하였다.

[0079] 실시예 2. 마이크로 유체 파티션 칩의 제작

[0080] 2-1. 코팅되지 않은 마이크로 유체 파티션 칩의 제작

[0081] 진공 기반 마이크로 유체 파티션 칩을 제조하기 위해 SU-8 50 포토 레지스트(Microchem, MA, USA)를 2000rpm에서 60초 동안 40um 두께로 실리콘 웨이퍼 상에 스핀-코팅을 실시하였다.

[0082] 그 다음, 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane; 이하, PDMS) 용액을 포토 레지스트가 패터닝된 실리콘 웨이퍼로 본을 뜨고 PDMS 기반의 진공으로 작동하는 마이크로 유체 파티션 칩을 제조하였다.

[0083] 구체적으로, PDMS 마이크로 파이크로 파티션 칩을 실리콘 웨이퍼 기관 위에 올리고 마이크로 튜브를 이용하여 시린지와 연결하여 시린지를 당겨주어 진공 채널을 통해 칩과 실리콘 기관이 완전히 부착되게 하였다.

[0085] 2-2. 코팅된 마이크로 유체 파티션 칩의 제작

[0086] 진공 기반 마이크로 유체 파티션 칩의 제조방법과 동일하게 코팅을 위한 채널을 제작하기 위하여 SU-8 50 포토 레지스트를 2000rpm에서 60초 동안 40um 두께로 실리콘 웨이퍼 상에 스핀-코팅을 실시하였다.

[0087] 그 다음, PDMS 용액을 포토 레지스트가 패터닝된 실리콘 웨이퍼로 본을 뜨고 PDMS 기반의 코팅 채널을 만들었다. 파티션 칩을 실리콘 웨이퍼 기관 위에 올리기 전에, PDMS 마이크로 파이크로 파티션의 바깥쪽 필라 부분을 소수성으로 바꾸기 위해 클로로트리메틸실란(Chlorotrimethylsilane)을 PDMS 몰드를 이용하여 마이크로 컨택트 프린팅 방법으로 소수성 코팅을 하고, PDMS 마이크로 유체 파티션 칩을 진공 채널을 통해 칩과 실리콘 기관이 완전히 부착되게 하였다 (도 2).

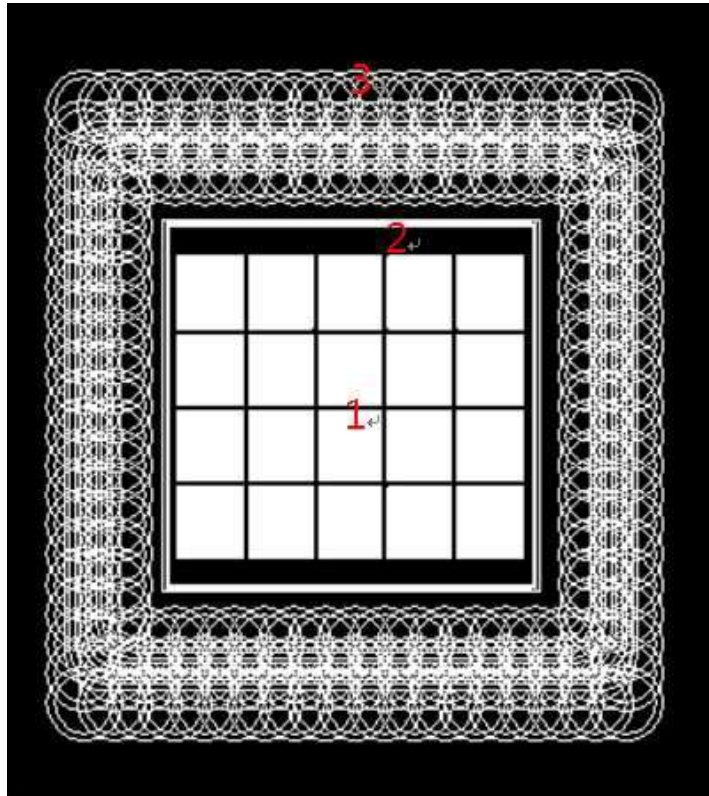
[0089] 실시예 3. 시료 분리 및 확인

[0090] 마이크로 필라 안쪽에는 샘플(FITC 20마이크로 리터, PBS 180 마이크로 리터)을 올려두고 마이크로 유체 칩에 진공을 걸어주면, 파티션 마이크로 칩이 글래스에 흡착되고 샘플이 파티션에 유입되면서 분리된다. 파티션 칩의 진공에 의한 샘플의 분리(isolation)는 플루오레세인 이소티오시안산염(fluorescein isothiocyanate; 이하, FITC)를 통해서 확인할 수 있다. 구체적으로, 진공 채널에 의한 형광샘플의 파티션을 확인하기 위하여 실리콘 기관의 칩 위에 형광샘플을 올리고 마이크로 파티션 칩을 올린 뒤에 형광 현미경으로 확인하여, 그 결과를 도 6에 나타내었다.

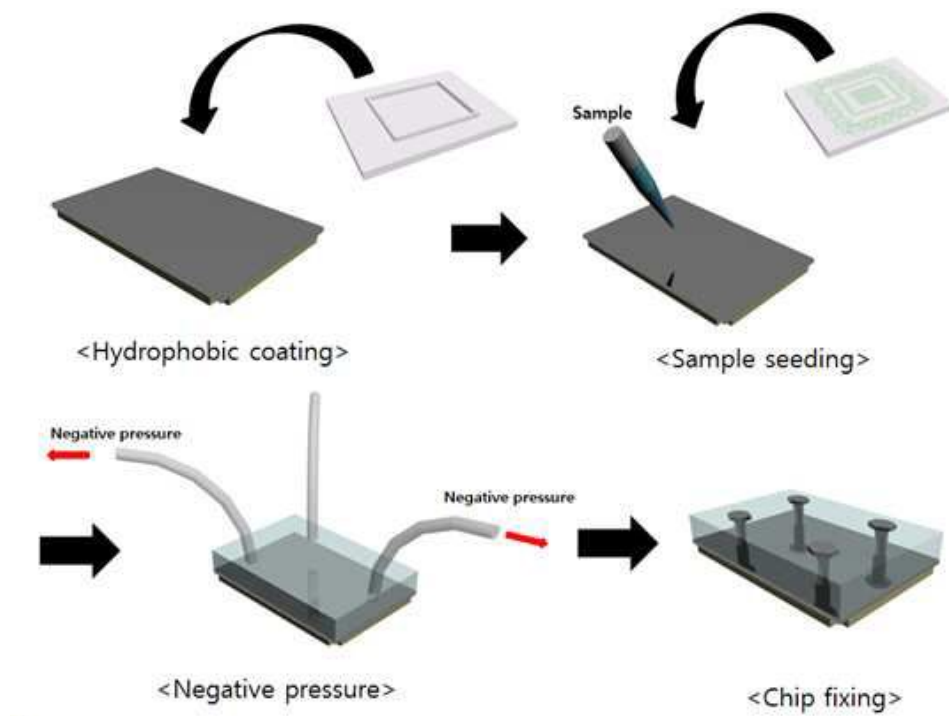
[0091] 도 6에서 확인할 수 있듯이, 왼쪽 사진과 같이 형광 샘플이 어레이로 들어가지 않은 것을 확인할 수 있었다. 하지만 형광샘플을 올리고 마이크로 파티션 칩을 올린 뒤에 진공 채널을 이용하여 칩과 실리콘 기관을 부착시킨 뒤에는 대부분의 형광샘플이 오른쪽 사진과 같이 어레이로 들어가는 것을 확인할 수 있었다.

도면

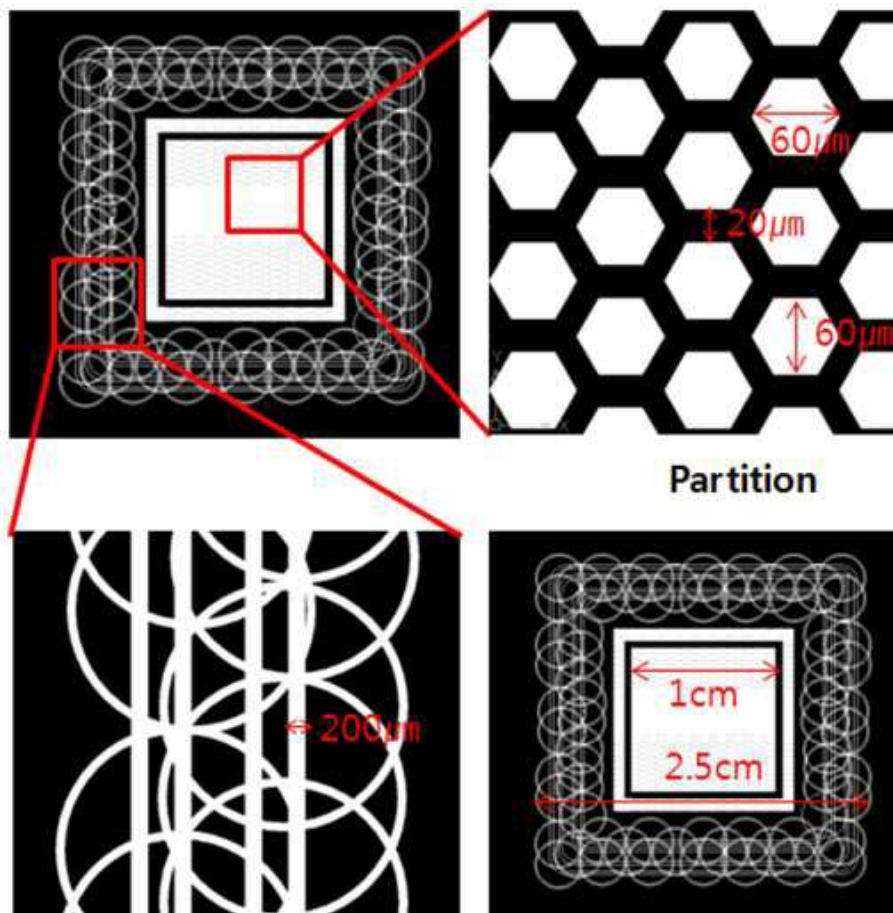
도면1



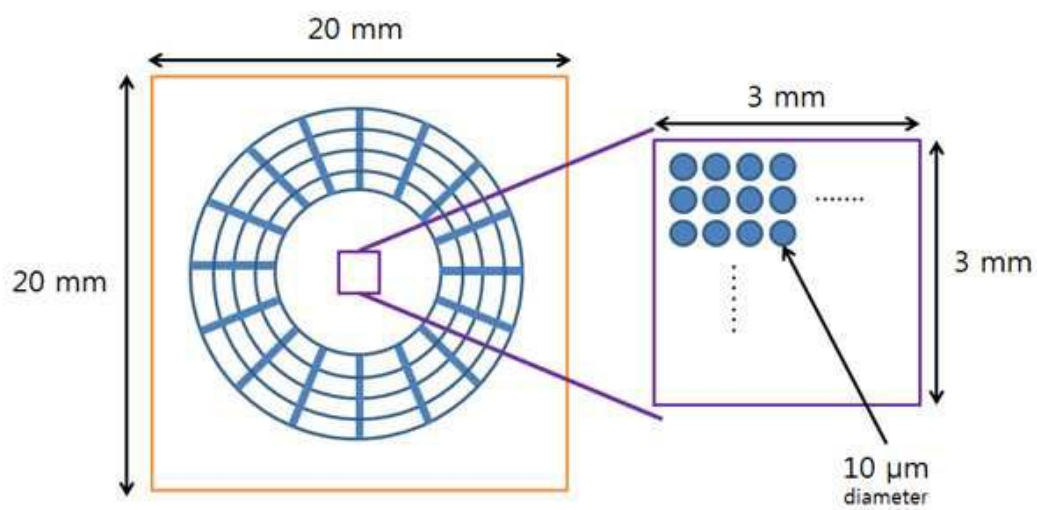
도면2



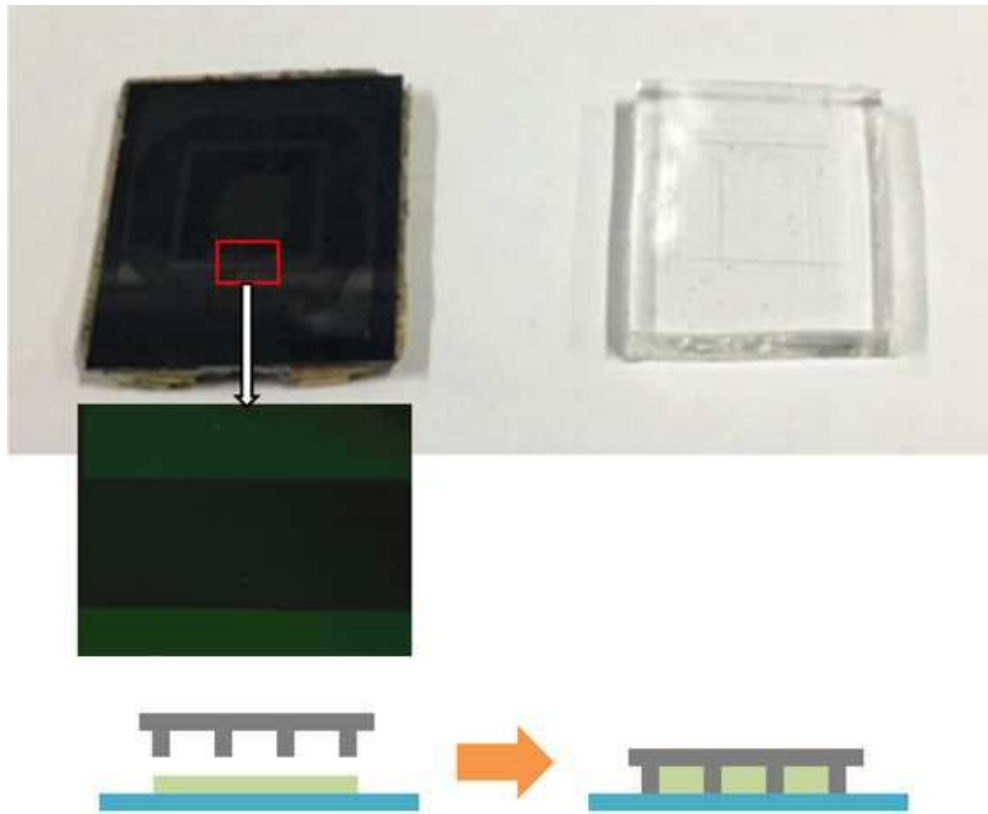
도면3



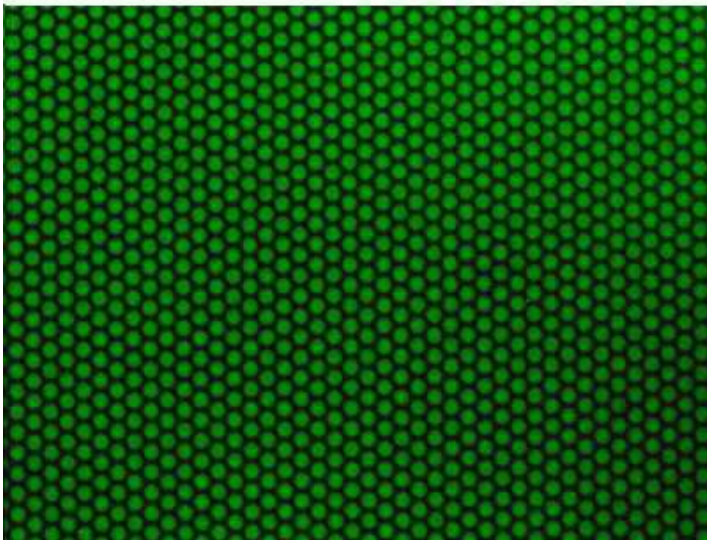
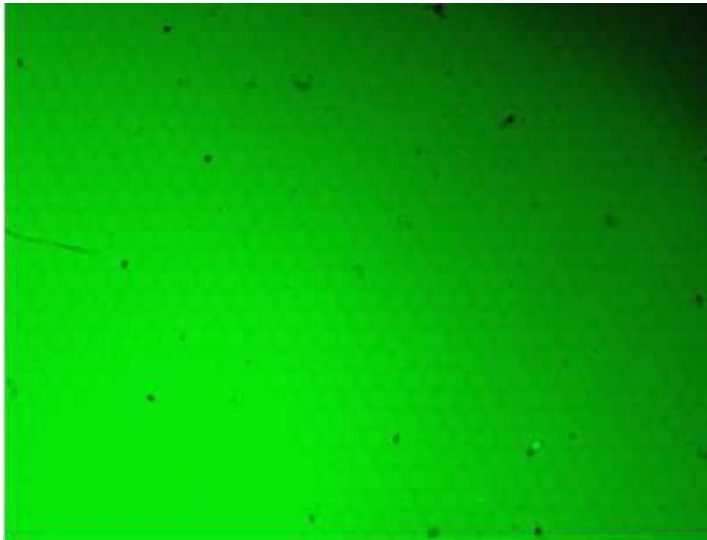
도면4



도면5



도면6



도면7

