

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl. (11) 공개번호 10-2006-0084737
C12Q 1/68 (2006.01) (43) 공개일자 2006년07월25일

(21) 출원번호 10-2005-0005533
(22) 출원일자 2005년01월20일

(71) 출원인 삼성전자주식회사
경기도 수원시 영통구 매탄동 416

(72) 발명자 김준호
경기 성남시 분당구 정자동 정든마을 신화5단지아파트 504-1204
민준홍
경기 용인시 죽전동 꽃매마을 현대홈타운 552-1004호
박경환
광주 서구 화정2동 남화아파트 102동 202
이수석
경기 수원시 영통구 영통동 신나무실6단지아파트 663-1601
박현규
대전 유성구 전민동 엑스포아파트 405-1704호

(74) 대리인 리엔목특허법인
이해영

심사청구 : 있음

(54) 다중 바이오어세이용 미세유체 칩 및 그 제조방법

요약

본 발명은 미세유체 칩(microfluidic chip)에 관한 것으로서, 구체적으로 밑면에 복수의 샘플 채널과 프로브 채널을 위한 오목부를 갖는 채널 구조체를 기판위에 접합하여 미세유체 채널(microfluidic channels)을 제작하는 단계, 상기 프로브 채널 내의 샘플 채널과의 교차점에 프로브 고정화 영역을 제작하는 단계, 상기 프로브 고정화 영역의 프로브 채널 앞뒤에 표적 샘플 간의 혼합 방지용 차단벽(blocking wall)을 제작하는 단계를 포함하는 다중 바이오어세이(multiple bioassay)용 미세유체 칩(microfluidic chip)의 제조방법 및 이에 의해 제조된 미세유체 칩에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 미세유체 채널(microfluidic channel) 제작 후 채널 내에서 프로브를 고정화함으로써 종래 기판위에 프로브 고정화 후 유체 채널을 접합시 공정상의 어려움을 해소할 수 있으며, 복수의 샘플을 동시에 로딩할 수 있으므로 다중 바이오어세이(multiple bioassay)가 가능한 미세유체 플랫폼(microfluidic platform)을 구축할 수 있다.

대표도

도 4

명세서

도면의 간단한 설명

- 도 1은 종래기술로서 Caliper technology의 Bead based microfluidic chip (US6632655)을 도시한 것이다.
- 도 2는 종래기술로서 IBM의 Micromosaic immunoassays (US 6326058)를 도시한 것이다.
- 도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 미세유체 칩(차단벽 설치전)의 사시도이다.
- 도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 미세유체 칩의 평면도이다.
- 도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 미세유체 칩의 평면도이다.
- 도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 미세유체 칩의 광중합반응의 모식도이다.
- 도 7은 실시예 1에 따른 미세유체 칩에서 프로브 고정화 영역을 광중합하는 것을 나타낸 모식도이다.
- 도 8은 실시예 1에 따른 미세유체 칩에서 차단벽을 광중합하는 것을 나타낸 모식도이다.
- 도 9는 실시예 1에 따라 제조된 미세유체 칩의 평면도와 측면도이다.
- 도 10은 실시예 1에 따라 제조된 미세유체 칩의 실제 사진이다.
- 도 11은 Probe 고정화 영역인 GMA gel pad의 현미경 사진들이다.
- 도 12는 본 발명의 실시예2에 따른 면역어세이(immunoassay)의 모식도이다.
- 도 13는 도 12의 면역어세이(immunoassay) 결과인 현미경 사진들이다.
- 도 14는 프로브 고정화 영역의 높이 조절 전후의 형광 현미경 사진이다.
- 도 15는 Pressure를 이용한 프로브 고정화 영역의 높이 조절 방법의 모식도이다.
- 도 16은 Partially polymerization을 이용한 프로브 고정화 영역의 높이 조절 방법의 모식도이다.
- 도 17은 UV 투여량 제어에 의한 부분 중합을 통해 폴리머의 높낮이의 조절이 가능함을 보여주는 사진이다
- 도 18은 단일층 미세유체 채널내 프로브의 주입방법들을 보여주는 도면들이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 미세유체 칩(microfluidic chip)에 관한 것으로서, 더욱 구체적으로 복수의 미세유체 채널(microfluidic channels)을 갖는 다중 바이오어세이(multiple bioassay)용 미세유체 칩(microfluidic chip) 및 그 제조방법에 관한 것이다.

바이오칩(bio chip)이란 기질상에 분석하고자 하는 DNA, 단백질 등의 생분자(biomolecules) 프로브를 고밀도로 부착시킨 칩으로서, 상기 프로브와 샘플내 표적물질과의 혼성화(hybridization) 여부를 검출하여 유전자 발현 양상, 유전자 결합, 단백질 분포, 반응 양상 등을 분석해낼 수 있다. 바이오칩은 프로브의 종류에 따라 DNA 칩이나 단백질칩 등으로 나누고, 프로브의 부착형태에 따라 고체 기질상에 부착된 마이크로어레이 칩(microarray chip)과 미세유체 채널상에 부착된 미세유체 칩(microfluidic chip)으로 나눌 수 있다.

미세유체 칩(microfluidic chip)은 샘플 주입, 혼성화 반응과 검출 등 실험의 전 과정을 하나의 작은 칩으로 자동적으로 처리하려는 것으로 랩온어칩(lab-a-chip)이라고도 불리며, 앞으로 실험실에서 플라스크와 실험관을 사라지게 할 획기적인 첨단기술 제품이다. 이 미세유체 칩은 유리, 석영, 플라스틱 또는 실리콘 등의 다양한 재료로 되어 있으며, 칩 내부에 머리카락보다 좁은 복수의 미세 채널이 엮여 있다. 이러한 미세 채널을 통해 유체를 흘려보내는 방식으로 여러 가지 복잡한 실험을 한꺼번에 수행할 수 있다.

Microfluidics channel을 이용한 bioassay platform은 high speed, low cost, multiple test를 할 수 있다는 장점이 있으나 Cross-contamination의 염려가 있으며, 유체 채널제작과 고정화 방법의 공정상 문제가 존재한다. 이러한 공정상의 문제를 해결하기 위해, 종래에는 기관위에 probe 고정화 후 제작된 채널을 접합하는 방법(Array based microfluidic chip)을 사용하였는데, 이는 채널과 고정화된 probe의 align 문제, 채널 접합시 고열로 인한 프로브 손상 가능성 문제, 고정화된 기관과 제작된 채널의 접합 공정상의 문제가 남아 있다. 이와 달리 도 1과 같이 채널 제작 후 probe 고정화된 bead를 packing 하는 방법(Bead based microfluidic chip, US6632655)도 사용하고 있는데, 이는 Pressure drop 발생하고, Signal loss와 Sample loss가 생기는 문제가 남아 있다.

또한, 도 2와 같이 복수개의 패터닝 공간(cavities)을 갖는 PDMS 채널 구조체로 기관을 패터닝하여 마이크로모자이크 면역어세이(Micromosaic immunoassays, US 6326058)도 개발되었는데, 이는 PDMS 채널 구조체의 방향을 90도 회전하면서 고정화와 샘플 주입을 함으로써 immunoassay 구현하기 때문에, PDMS 채널 구조체와 glass slide 간의 결합이 reversible하고, mold의 교체가 필요하며, Glass slide 표면이 처리된 이후에는 PDMS와 glass 간에 완벽한 접착이 불가능하므로 용액의 누수가 발생할 염려가 있다.

이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 문제점들을 극복하기 위하여 예의 연구노력한 결과, 미세유체 채널내에 폴리머로 프로브를 고정화하고 샘플 혼합 방지용 차단벽을 이용하는 경우, 단일층 채널 구조체만을 이용하여 복수 샘플에 대해 다중 바이오어세이 할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

따라서, 본 발명의 주된 목적은 종래의 문제점을 극복할 수 있는 효과적인 다중 바이오어세이용 미세유체 칩의 제조방법을 제공하는 데 있다.

본 발명의 다른 목적은 상기 제조방법에 의해 제조되는 다중 바이오어세이용 미세유체 칩을 제공하는데 있다.

발명의 구성 및 작용

본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 밑면에 복수의 샘플 채널과 프로브 채널을 위한 오목부를 갖는 채널 구조체를 기관위에 접합하여 미세유체 채널(microfluidic channels)을 제작하는 단계, 상기 프로브 채널 내의 샘플 채널과의 교차점에 프로브 고정화 영역을 제작하는 단계, 상기 프로브 고정화 영역의 프로브 채널 앞뒤에 표적 샘플 간의 혼합 방지용 차단벽(blocking wall)을 제작하는 단계를 포함하는 다중 바이오어세이(multiple bioassay)용 미세유체 칩(microfluidic chip)의 제조방법을 제공한다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 프로브는 표적 샘플과 혼성화를 필요로 하는 어떤 바이오 물질도 가능하나, 바람직하게는 DNA, RNA, PNA(Peptide Nucleic Acid), LNA(Locked Nucleic Acid), 펩타이드 및 단백질로 구성된 군에서 선택된 바이오 분자인 것을 특징으로 한다. 이러한 바이오 물질은 상기 프로브 고정화 영역에 고정화(immobilization)된다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 프로브 고정화 영역은 미세유체 채널 제작 후 형성할 수 있으며 프로브인 바이오 분자 결합기를 가질 수 있는 어떤 고정화 영역도 가능하나, 바람직하게는 바이오분자 결합기를 갖는 폴리머의 광 중합(photo-initiated polymerization)에 의해 제작되는 것을 특징으로 한다. 이러한 광 중합 폴리머는 광개시제(photoinitiator)에 도움으로 포토마스크(photo-mask)를 통해 선택적 영역만 UV에 의해 중합반응된다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 바이오분자 결합기를 갖는 폴리머는 에컨대 에폭시, 아민기 등과 같은 바이오분자 결합기를 가지고 단량체가 아크릴아미드, 메타크릴아미드, 아크릴산, 메타크릴산, 또는 이들과 구조적으로 연관된 아미드나 에스테르로 구성된 폴리머와 같이 UV 조사에 의해 광중합될 수 있는 어떤 폴리머도 가능하나, 바람직하게는 글리시딜 메타크릴레이트(GMA) 중합체인 것을 특징으로 한다. 상기 GMA는 광중합에 의해 에폭사이드-활성화된 젤 패드(epoxide-activated gel pad)를 생성한다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 차단벽은 미세유체 채널 제작 후 형성할 수 있으며 프로브인 바이오 분자 결합기를 가지고 있지 않은 어떤 차단벽도 가능하나, 바람직하게는 바이오분자 결합기가 없는 폴리머의 광 중합(photo-initiated polymerization)에 의해 제작되는 것을 특징으로 한다. 이러한 광 중합 폴리머는 광개시제(photoinitiator)에 도움으로 포토마스크(photo-mask)를 통해 패터닝되는 UV에 의해 중합반응된다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 바이오분자 결합기를 갖지 않는 폴리머는 예컨대 단량체가 아크릴아미드, 메타크릴아미드, 아크릴산, 메타크릴산, 또는 이들과 구조적으로 연관된 아미드나 에스테르로 구성된 폴리머와 같이 UV 조사에 의해 광중합될 수 있는 어떤 폴리머도 가능하나, 바람직하게는 상기 폴리머는 폴리에틸렌글리콜 디아크릴레이트(PEG-DA) 중합체인 것을 특징으로 한다. 상기 PEG-DA는 표면에 에폭사이드와 같은 바이오분자 결합기가 없으며 따라서 프로브 고정화 영역이외에 프로브가 오염되는 것을 방지할 수 있다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 채널 구조체는 기판 위를 덮는 상판으로서 기판과 접합하여 내부에 미세유체 채널을 형성한다. 그 재료로서는 바람직하게는 유리, PDMS, 또는 폴리머로 된 것을 특징으로 한다. 상기 채널 구조체는 복수의 샘플 채널과 프로브 채널을 가지고 있는 단일 층(single layer)으로서, 종래와 달리 프로브 채널과 샘플 채널용의 구조체를 교체할 필요가 없다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 기판은 프로브 고정화 영역이 위치하는 하판으로서 채널 구조체와 접합하여 위에 미세유체 채널을 형성한다. 그 재료로서는 바람직하게는 유리, 석영, 플라스틱, 또는 실리콘으로 된 것을 특징으로 한다. 기판은 미세유체 채널 형성후 프로브 고정화 영역이나 차단벽과의 원활한 결합을 위해 표면이 변형될 수 있다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 바람직하게는 상기 프로브 고정화 영역은 그 높이가 미세유체 채널의 천장에 못미치게 하는 것을 특징으로 한다. 상기 프로브 고정화 영역이 천장으로부터 떨어져 있으면 그만큼 프로브가 결합할 수 있는 표면적이 증가하여 표적 샘플과의 결합 신호를 증폭시킬 수 있다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 프로브 고정화 영역의 폴리머의 광중합시 채널 구조체에 압력을 가하고 중합이 끝난후에 압력을 제거하는 것에 의해 그 높이가 미세유체 채널의 천장에 못미치게 하는 것을 특징으로 한다. 압력을 가하고 천장까지 중합하더라도 압력을 제거하면 들뜨게 되고 이후 차단벽을 광중합함으로써 그 간격을 더 띄울 수 있다.

본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 프로브 고정화 영역의 폴리머 광중합시 UV 투여량 제어(dose control)에 의해 부분 중합(partially polymerization)함으로써 그 높이가 미세유체 채널의 천장에 못미치게 하는 것을 특징으로 한다. 천장까지 광중합하는 UV 투여량을 측정한 후 그보다 적은 투여량으로 부분 중합한다.

본 발명의 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 기판, 그 위에 접합된 단일층 채널 구조체, 채널 구조체내에 형성된 복수의 샘플 채널과 프로브 채널, 상기 프로브 채널과 샘플 채널의 교차점에 형성된 프로브 고정화 영역, 상기 프로브 고정화 영역의 프로브 채널 앞뒤에 형성된 표적 샘플 간의 혼합 방지용 차단벽(blocking wall)을 포함하는 다중 바이오어세이(multiple bioassay)용 미세유체 칩(microfluidic chip)을 제공한다.

이하, 첨부 도면을 참조하여 본 발명을 상세히 설명한다.

도 3a은 본 발명의 일실시예에 따른 미세유체 칩(차단벽 설치전)의 사시도이다. 기판과 접합한 단일층의 채널 구조체내에 두개의 샘플 채널(1)과 두개의 프로브 채널(2)가 서로 교차하고 있으며, 교차점에 프로브 고정화 영역(3)이 형성되어 있다.

도 3b는 본 발명의 일실시예에 따른 미세유체 칩(차단벽 설치후)의 사시도이다. 기판과 접합한 단일층의 채널 구조체내에 두개의 샘플 채널(1)과 두개의 프로브 채널(2)가 서로 교차하고 있으며, 교차점에 프로브 고정화 영역(3)이 형성되어 있으며, 프로브 고정화 영역의 양옆에 한쌍의 차단벽(4,4')이 형성되어 있다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 미세유체 칩의 평면도이다. 두개의 샘플 채널(1)과 두개의 프로브 채널(2)가 서로 교차하고 있으며, 교차점에 프로브 고정화 영역(3)이 형성되어 있으며, 프로브 고정화 영역의 양옆에 한쌍의 차단벽(4,4')이 형성되어 있다. 상기 두개의 샘플 채널을 통해 샘플1과 샘플2가 각각 주입된다. 이때 차단벽(4,4')은 샘플이 서로 혼합되는 것을 방지한다.

도 5는 본 발명의 일실시에 따른 미세유체 칩의 평면도이다. 5개의 샘플 채널과 4개의 프로브 채널가 서로 교차하고 있으며, 교차점에 프로브 고정화 영역이 형성되어 있다. 상기 4개의 프로브 채널을 통해 서로 다른 프로브 1 내지 4가 각각 주입되며, 상기 5개의 샘플 채널을 통해 서로 다른 샘플 1 내지 5가 각각 주입된다. 프로브 채널과 샘플 채널의 개수는 필요에 따라 선택할 수 있으며, 따라서, 복수의 샘플에 대한 다중 바이오어세이(multiple bioassay)가 가능하다.

도 6은 본 발명의 일실시에 따른 미세유체 칩의 광중합반응의 모식도이다. 기판(7)위에 접합된 채널 구조체(6)를 프로브 채널(2) 방향으로 단면도를 나타낸 것으로서, 프로브 고정화 영역(3)을 형성하기 위해 바이오분자 결합기를 갖는 폴리머를 광개시제(photoinitiator)에 도움으로 포토마스크(8)를 통해 패터닝되는 UV에 의해 광 중합(photopolymerization)반응한다. 이러한 광중합반응은 차단벽(미도시)을 형성하는데도 사용될 수 있다. 차단벽을 형성하기 위해 바이오분자 결합기를 갖지 않는 폴리머를 광개시제(photoinitiator)에 도움으로 포토마스크(8)를 통해 패터닝되는 UV에 의해 광 중합(photopolymerization)반응한다. 구체적인 일례로서, 프로브 고정화 영역을 형성하기 위해 glycidyl methacrylate (GMA)와 photoinitiator (HOMPP)를 사용하여 epoxide-activated gel pad를 생성할 수 있으며 (Hermanson G T 1996 Bioconjugate Techniques 참조), 차단벽을 형성하기 위해 PEG-DA(poly(ethylene glycol) diacrylate)와 photoinitiator (HOMPP)를 사용하여 바이오분자 결합기가 없는 폴리머를 생성할 수 있다.

이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

실시예 1: 미세유체 칩의 제작

SU-8 (Microchem사)을 실리콘 기판위에 spin coating한 후, 포토리소그래피 방법으로 패턴을 형성하여 미세유체 구조체를 만들기 위한 mold로 사용하고, 이 몰드(mold)위에 PDMS prepolymer mixture (Sigard184, Dowcorning사)를 붓고 80도의 온도에서 경화를 시킨후 mold가 있는 기판에서 떼어내 PDMS 구조체를 만든다. 위에서 만든 PDMS 구조체를 O2 플라즈마 처리한 후 하판으로 사용할 glass 기판과 접합한다(50-80도 열처리). 이상과 같이 제작한 미세채널구조체 내에서 폴리머와 기판의 공유결합을 돕기 위해 프로브 채널을 따라 TPM surface modification하고 (3-(trichlorosilyl) propyl methacrylate (TPM) 는 unmodified glass를 acrylate-activated form으로 바꾸어GMA gel pad와glass 사이에 접합력이 증가하게하는 역할을 함), probe 고정화 영역을 define하기 위해 (GMA gel pad 단량체와 photoinitiator (HOMPP)의 부피비를 99:1로하여, 상기 제작된 채널내에 채운 후, 제작된 photomask를 통하여 UV를 노광 하고, pH 9.5 인 carbonate를 수분 동안 흘려 광중합되지 않은 단량체를 세척하여) GMA photopolymerization하고, Probe로서 protein을 고정화하고 원하는 단백질(FITC가 레이블된 anti-human IgG)을 100µg/L 농도로 하여 상기제작된 채널내에 채운 후 20분동안 상온에서 반응 시킨 후, PBST 용액을 분당 0.2ml의 유량으로 20분동안 흘려줌으로써 세척한다. blocking wall을 define하기 위해 PEG-DA photopolymerization하였다. 단량체만 PEGDA인 점을 제외하고, GMA pad 형성방법과 동일한 방법을 사용하였다.

도 7은 실시예 1에 따른 미세유체 칩에서 프로브 고정화 영역을 광중합하는 것을 나타낸 모식도이다. GMA에 포토마스크(8)를 통해 UV를 조사하여 프로브 고정화 영역(3)을 광중합시킨다. 도 8은 실시예 1에 따른 미세유체 칩에서 차단벽을 광중합하는 것을 나타낸 모식도이다. PEG-DA에 포토마스크(8)를 통해 UV를 조사하여 차단벽(4,4')을 광중합시킨다. 도 9는 실시예 1에 따라 제조된 미세유체 칩의 평면도와 측면도이다. 평면도에서 두개의 샘플 채널과 두개의 프로브 채널이 교차되고 있으며, 측면도는 프로브 채널방향의 단면을 나타내는 것으로 교차점마다 한개씩 두개의 프로브 고정화 영역(3)이 있다. 도 10은 실시예 1에 따라 제조된 미세유체 칩의 실제 사진이다. 도 11은 Probe 고정화 영역인 GMA gel pad의 현미경 사진들이다. 도 11a는 광학 현미경 사진(optical photograph)이고, 도 11b는 도 11a의 형광 현미경 사진(fluorescence photograph)이다. GMA 구조에 고정화된 FITC로 라벨된 anti-human IgG의 Fluorescence image를 CCD camera의 FITC filter를 사용하여 얻었다. GMA gel pad의 반경은 약 1000 µm 이었다.

실시예 2 : 면역어세이(Immunoassay)

실시예 1에서 제조된 미세유체 칩을 사용하여 GMA gel pad 상에서 specific immunoreaction을 하였다. 실시예1의 GMA gel pad 형성 후 gel pad에 probe 단백질로 사용하고자 0.1g/L human IgG and mouse IgG를 각각 한 채널씩 채운 후 실시예1의 방법과 동일하게 고정화하였고, 차단벽 또한 동일한 방법으로 제작 한 후, 프로브 단백질과 immunoreaction을 100µg/L 의 농도로 FITC 레이블된 anti-human IgG 와 anti-mouse IgG를 수직방향의 채널에 각각 채운후 상온에서 20분간 반응을 실시한 후 실시예1과 동일한 방법으로 세척하였다.

도 12는 본 발명의 실시예2에 따른 면역어세이(immunoasaay)의 모식도이다. 1, 2, 3, 4는 교차점마다의 프로브 고정화 영역으로서, 거기에 고정화되는 프로브(capture protein)과 이와 반응하는 표적 샘플(target protein)의 종류는 아래 표 1과 같다.

[표 1]

	Capture protein Solution concn. - 100 μ g/L	Target protein Solution concn. - 100 μ g/L
1	Antigen human IgG	Antibody human IgG
2	Antigen human IgG	Antibody mouse IgG
3	Antigen mouse IgG	Antibody human IgG
4	Antigen mouse IgG	Antibody mouse IgG

실험결과, 도 13에서 보여지듯이, 1, 4번 gel은 match(형광신호 유)되었고, 2, 3번 gel은 unmatched(형광신호 무)되어서, 본 발명의 미세유체 칩에 따르면 프로브나 샘플의 상호 오염없이 정확히 면역어세이가 가능함을 알 수 있었다.

실시예 3 : 프로브 고정화 영역의 높이 조절

실시예 1의 미세유체 칩의 제조방법을 변형하여, 프로브 고정화 영역의 높이를 미세유체 채널의 천장에 못미치게 만들 수 있다. 프로브 고정화 영역이 천장으로부터 떨어져 있으면 그만큼 프로브가 결합할 수 있는 표면적이 증가하여 표적 샘플과의 결합 신호를 증폭시킬 수 있다. 도 14의 왼쪽은 프로브 고정화 영역이 천장까지 닿은 경우의 현광 현미경 사진으로서 기둥의 측면에만 프로브가 결합하여 형광신호가 원형 고리형태로 나타나나, 오른쪽은 프로브 고정화 영역이 천장에서 떨어진 경우의 현광 현미경 사진으로서 기둥의 측면 뿐만아니라 기둥의 상면에도 프로브가 결합하여 형광신호가 딱찬 원형으로 나타난다.

이렇게 프로브 고정화 영역의 높이를 조절하기 위한 한가지 방법은 Pressure를 이용하는 것이다. 도 15에서 보여지듯이, 프로브 고정화 영역의 폴리머의 광중합시 채널 구조체에 압력을 가하고 중합이 끝난후에 압력을 제거한 후 차단벽을 광중합함으로써 프로브 고정화 영역의 높이가 미세유체 채널의 천장에 못미치게 할 수 있다

또 다른 방법은 Partially polymerization을 이용하는 것이다. 도 16에서 보여지듯이, 프로브 고정화 영역의 폴리머 광중합시 UV 투여량 제어(dose control)에 의해 부분 중합(partially polymerization)함으로써 그 높이가 미세유체 채널의 천장에 못미치게 할 수 있다. 도 17은 UV 투여량 제어에 의한 부분 중합을 통해 폴리머의 높낮이의 조절이 가능함을 보여주는 사진이다(uTAS 2002, JHKim 참조)

실시예 4 : 단일층 미세유체 채널내 프로브의 주입

단일층 미세유체 채널에서는 프로브 채널과 샘플 채널이 서로 교차로 연결되어 있기 때문에 샘플뿐만 아니라 프로브간에도 서로 혼합되어 오염될 수 있다. 따라서, 프로브 주입시 서로다른 프로브 채널간의 프로브 혼합을 방지하기 위해 3가지 방법을 사용할 수 있다.

첫 번째 방법은 도 18a와 같이, 서로 다른 프로브 채널의 주입구에 동일 압력으로 동시에 프로브들을 흘려보내면서 반대편 프로브 채널의 출구들만 오픈하고 다른 입출구를 모두 폐쇄하는 것이다(O는 오픈, X는 폐쇄). 그러면, 한 프로브의 흐름이 동일한 압력의 다른 프로브의 흐름으로 이동하지 못하고 압력이 약한 자신의 출구쪽으로만 흐름이 유지될 수 있다.

두 번째 방법은 도 18b와 같이, 서로 다른 프로브 채널의 주입구에 순차적으로 프로브를 흘려보내면서, 자기 자신의 프로브 채널의 반대편 출구만을 오픈시키고, 다른 입출구를 모두 폐쇄하는 것이다(O는 오픈, X는 폐쇄). 그러면 프로브의 흐름은 유일한 출구인 자신의 반대편 출구로만 흐름이 유지된다. 도 18b의 1)에서는 우선 프로브 A(Capture A)만을 흘려보내고 다음에 프로브 B(Capture B)만을 흘려보낸다.

마지막 방법은 도 18c와 같이 프로브를 흘려보내기 전에 교차점의 샘플채널 위 아래에 프로브 차단벽을 설치하는 것이다. 상기 프로브 차단벽의 재료로는 pH나 온도에 따라 부피가 변화하여 개폐가능한 하이드로젤(hydrogel)이 바람직하다. 상기 하이드로젤은 에틸렌기를 갖는 단량체 단위가 광중합 반응하여 제조될 수 있다. 단량체가 아크릴아미드, 메타크릴아미드, 아크릴산, 메타크릴산, 또는 이들과 구조적으로 연관된 아미드나 에스테르로 구성된 폴리머가 사용될 수 있다. 도 18c의 1)에서 프로브 차단벽을 형성하고, 2)에서 서로 다른 프로브들을 프로브 채널을 통해 흘려보내고, 3)에서 프로브 앞뒤에 차단벽(샘플 차단벽)을 형성하고, 4)에서 프로브 차단벽을 오픈시킨후, 5)에서 샘플 채널을 통해 서로 다른 샘플들을 흘려보낸다.

발명의 효과

이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따르면 미세유체 채널(microfluidic channel) 제작 후 채널 내에서 프로브를 고정화함으로써 종래 기관위에 프로브 고정화 후 유체 채널을 접합시 공정상의 어려움을 해소할 수 있으며, 복수의 샘플을 동시에 로딩할 수 있음으로써 다중 바이오어세이(multiple bioassay)가 가능한 미세유체 플랫폼(microfluidic platform)을 구축할 수 있다. 또한, Single layer microfluidic channel로 제조공정을 단순화할 수 있으며, blocking wall으로 sample 혼합을 방지하고, polymer를 이용하여 probe를 효과적으로 고정화할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

밑면에 복수의 샘플 채널과 프로브 채널을 위한 오목부를 갖는 채널 구조체를 기관위에 접합하여 미세유체 채널(microfluidic channels)을 제작하는 단계, 상기 프로브 채널 내의 샘플 채널과의 교차점에 프로브 고정화 영역을 제작하는 단계, 상기 프로브 고정화 영역의 프로브 채널 앞뒤에 표적 샘플 간의 혼합 방지용 차단벽(blocking wall)을 제작하는 단계를 포함하는 다중 바이오어세이(multiple bioassay)용 미세유체 칩(microfluidic chip)의 제조방법.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 상기 프로브는 DNA, RNA, PNA(Peptide Nucleic Acid), LNA(Locked Nucleic Acid), 펩타이드 및 단백질로 구성된 군에서 선택된 바이오분자인 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 3.

제 1항에 있어서, 상기 프로브 고정화 영역은 바이오분자 결합기를 갖는 폴리머의 광 중합(photopolymerization)에 의해 제작되는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 4.

제 3항에 있어서, 상기 폴리머는 글리시딜 메타크릴레이트(GMA) 중합체인 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 5.

제 1항에 있어서, 상기 차단벽은 바이오분자 결합기가 없는 폴리머의 광 중합(photopolymerization)에 의해 제작되는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 6.

제 5항에 있어서, 상기 폴리머는 폴리에틸렌글리콜 디아크릴레이트(PEG-DA) 중합체인 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 7.

제 1항에 있어서, 상기 채널 구조체는 유리, PDMS 또는 폴리머로 된 단일 층(single layer)인 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 8.

제 1항에 있어서, 상기 기판은 실리콘 또는 유리로 된 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 9.

제 1항에 있어서, 상기 프로브 고정화 영역은 그 높이가 미세유체 채널의 천장에 못미치게 하는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 10.

제 9항에 있어서, 상기 프로브 고정화 영역의 폴리머 광중합시 채널 구조체에 압력을 가하고 중합이 끝난후에 압력을 제거하는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 11.

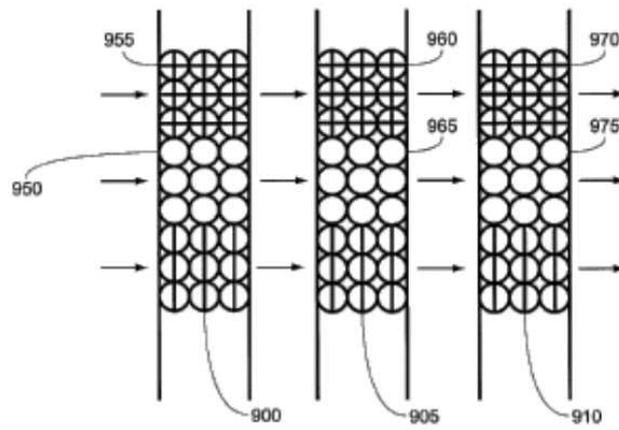
제 9항에 있어서, 상기 프로브 고정화 영역의 폴리머 광중합시 UV 투여량 제어(dose control)에 의해 부분 중합(partially polymerization)하는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 제조방법.

청구항 12.

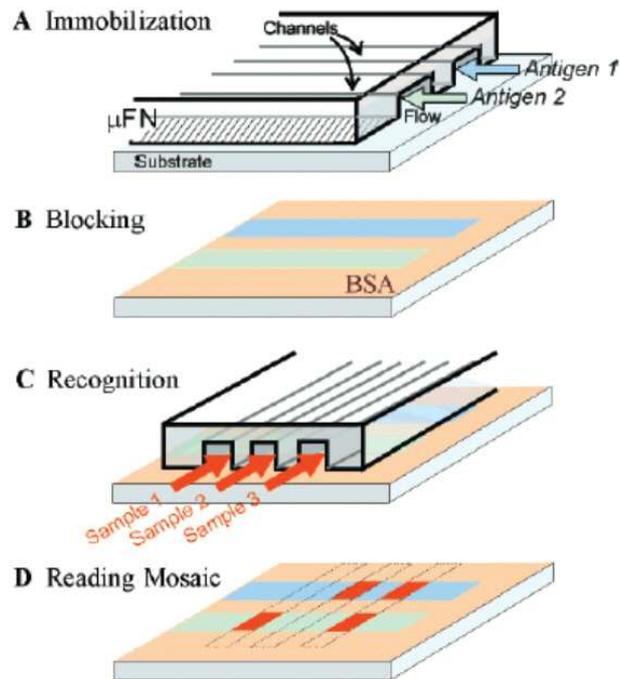
기판, 그 위에 접합된 단일층 채널 구조체, 채널 구조체내에 형성된 복수의 샘플 채널과 프로브 채널, 상기 프로브 채널과 샘플 채널의 교차점에 형성된 프로브 고정화 영역, 상기 프로브 고정화 영역의 프로브 채널 앞뒤에 형성된 표적 샘플 간의 혼합 방지용 차단벽(blocking wall)을 포함하는 다중 바이오어세이(multiple bioassay)용 미세유체 칩(microfluidic chip)

도면

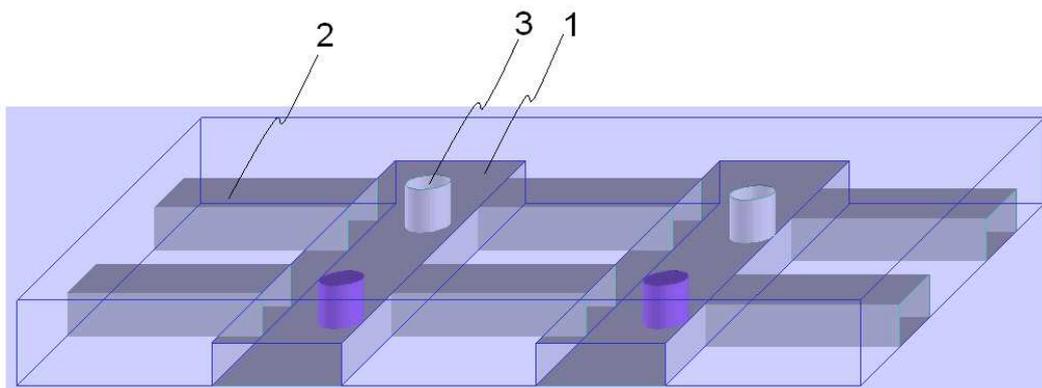
도면1



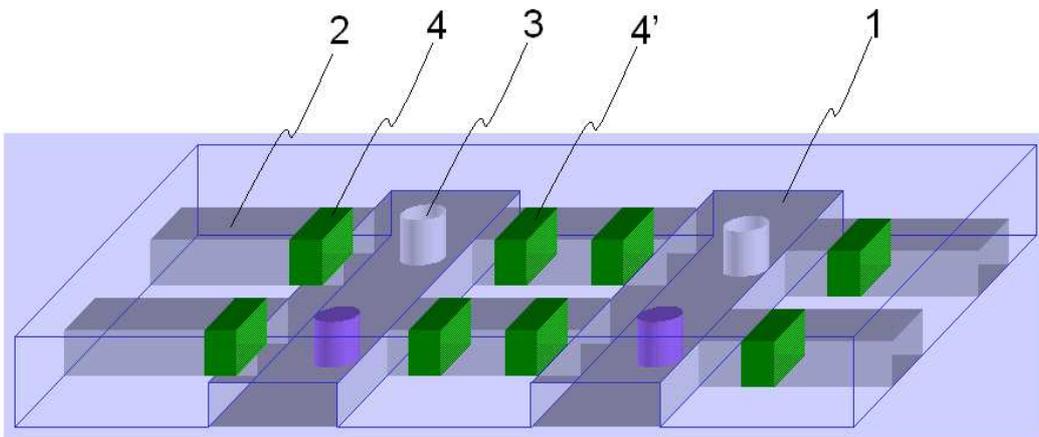
도면2



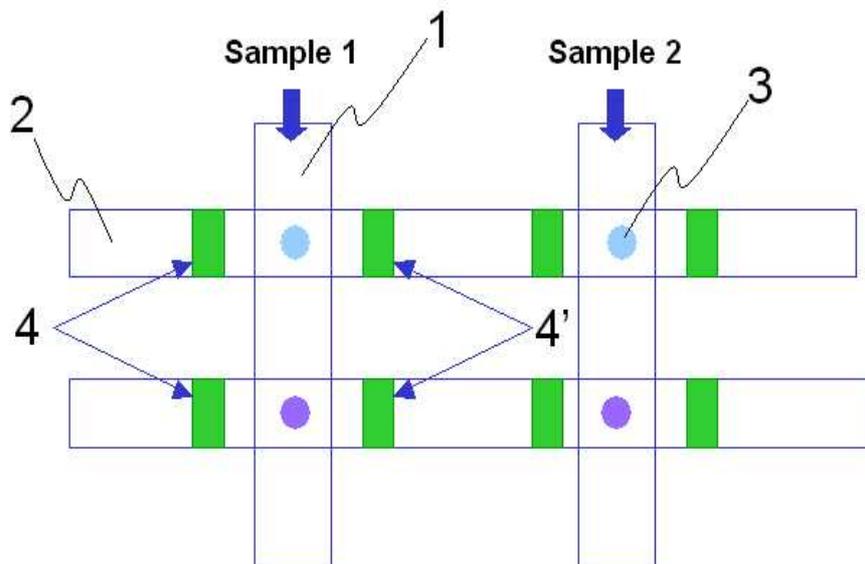
도면3a



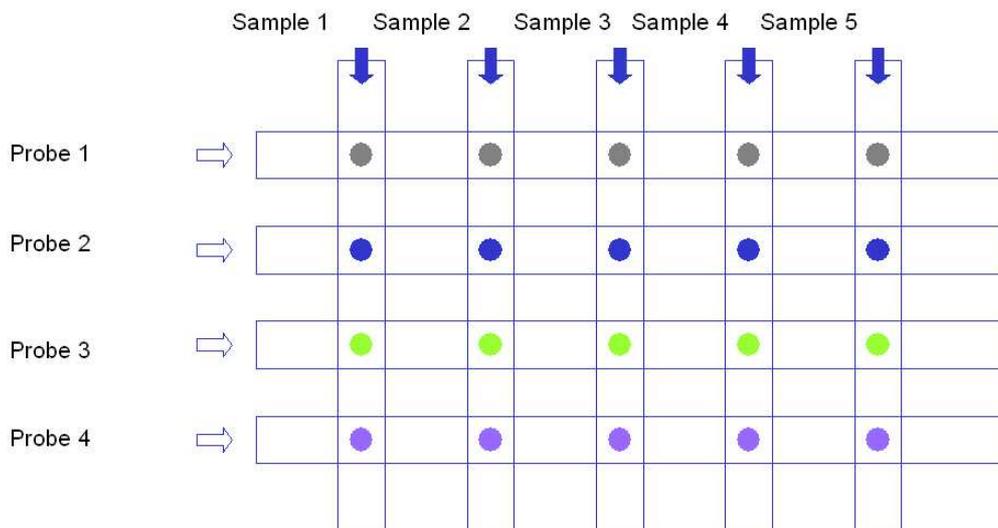
도면3b



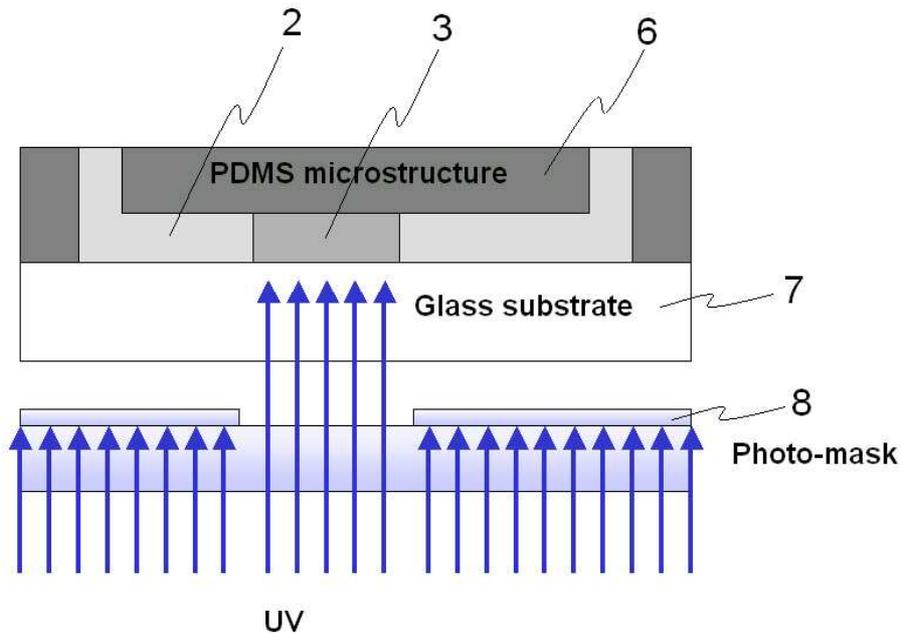
도면4



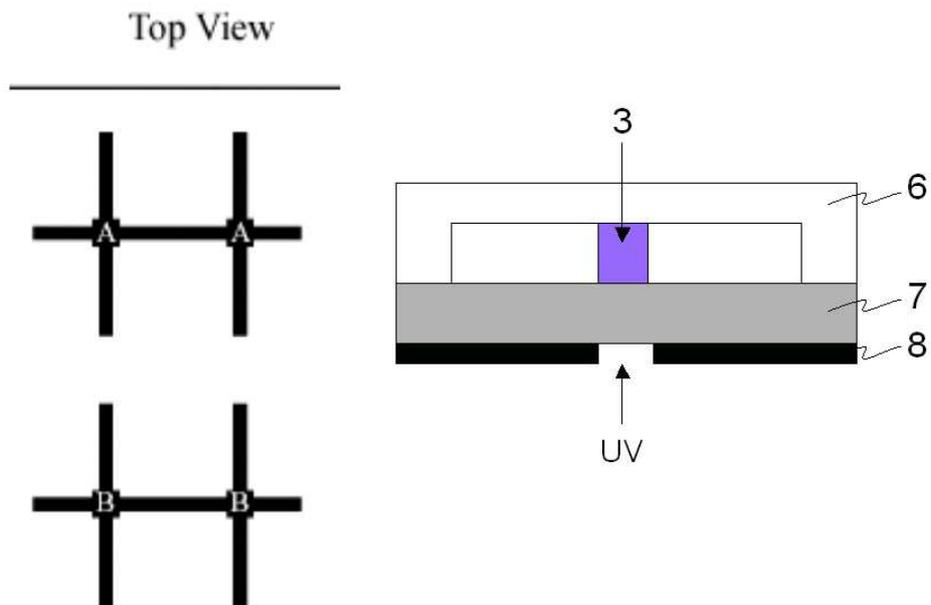
도면5



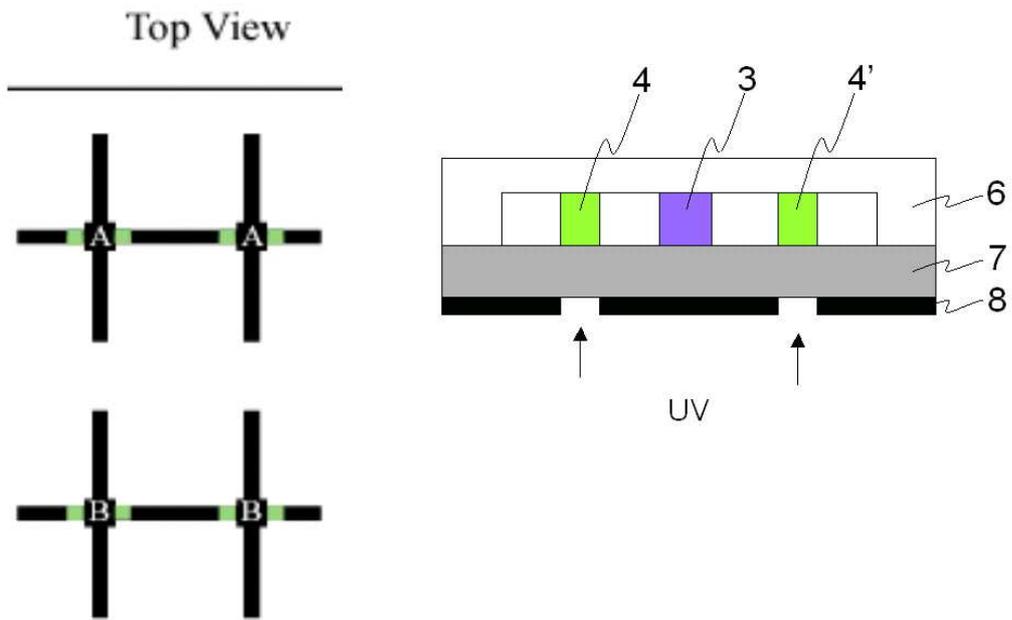
도면6



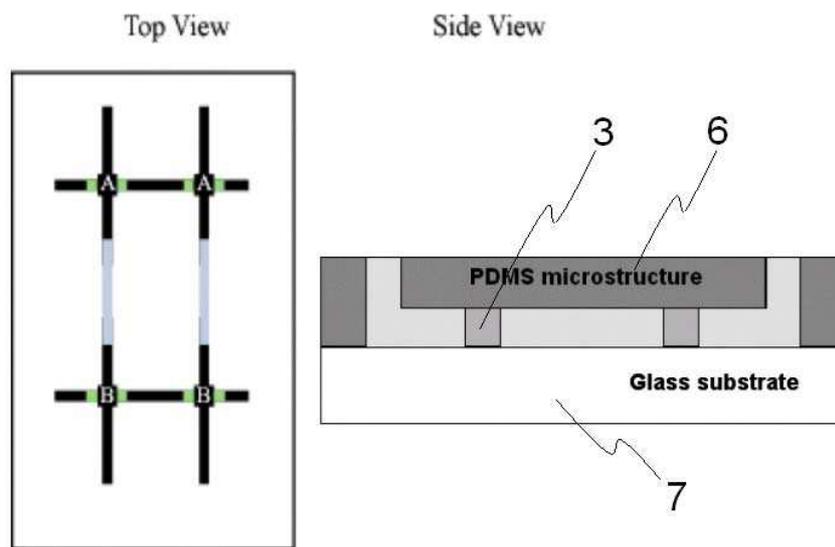
도면7



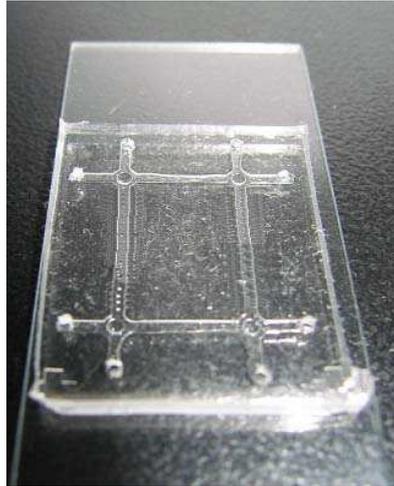
도면8



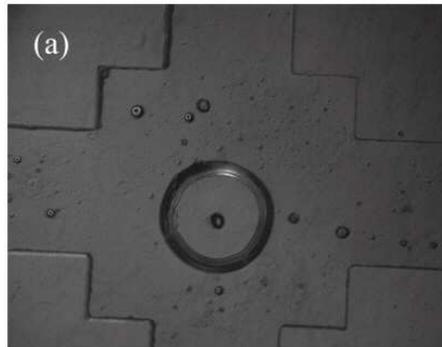
도면9



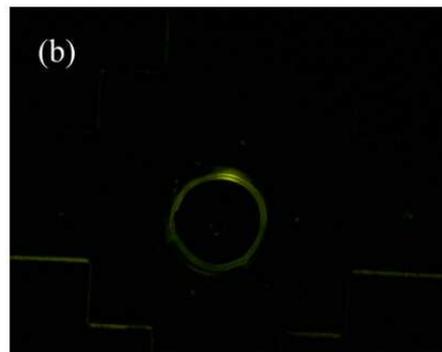
도면10



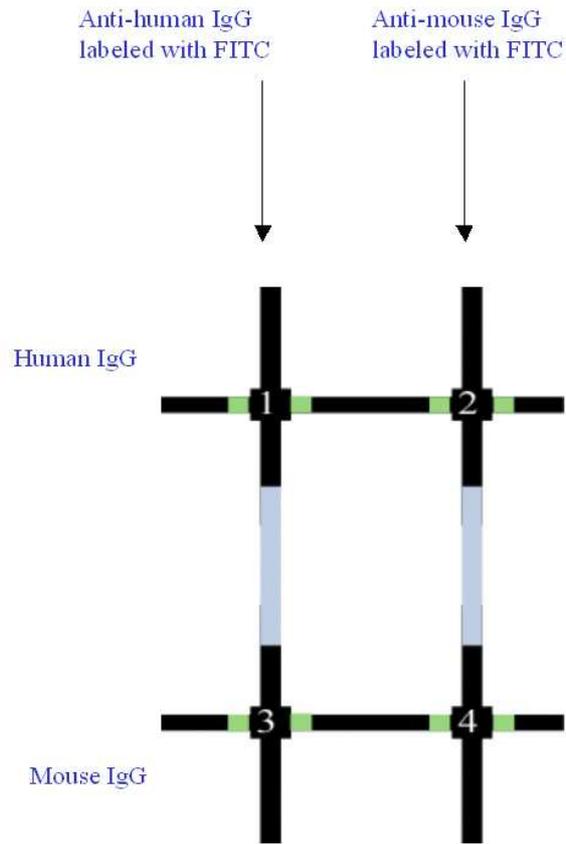
도면11a



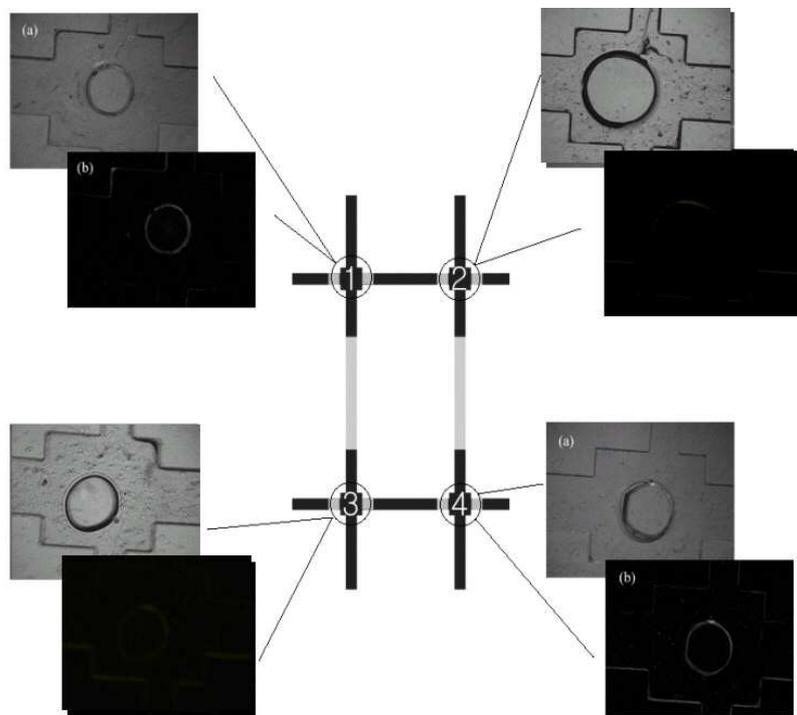
도면11b



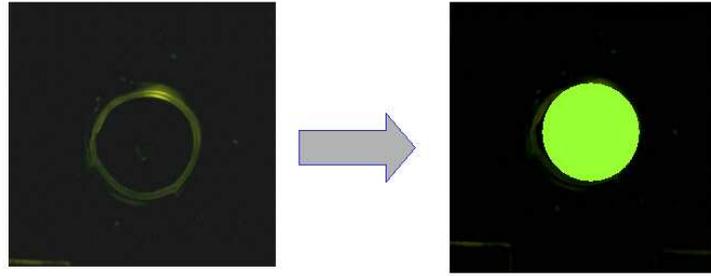
도면12



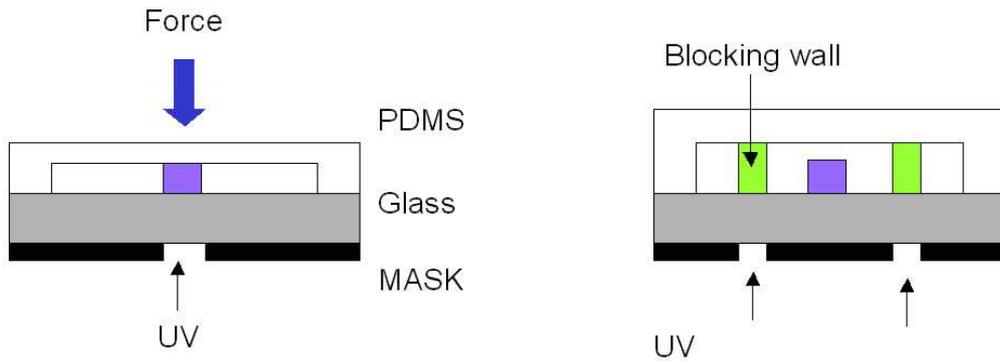
도면13



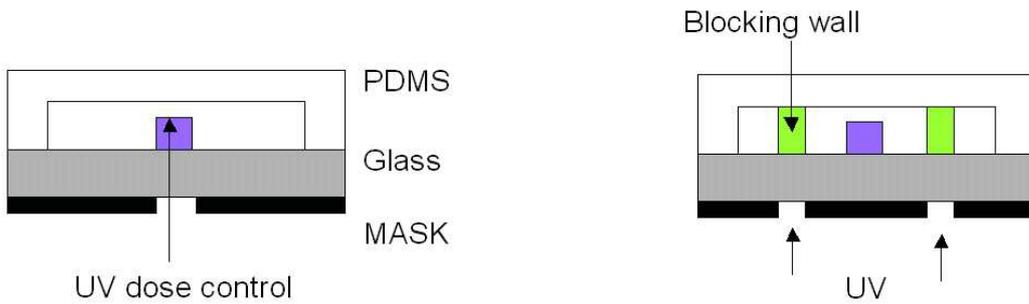
도면14



도면15



도면16

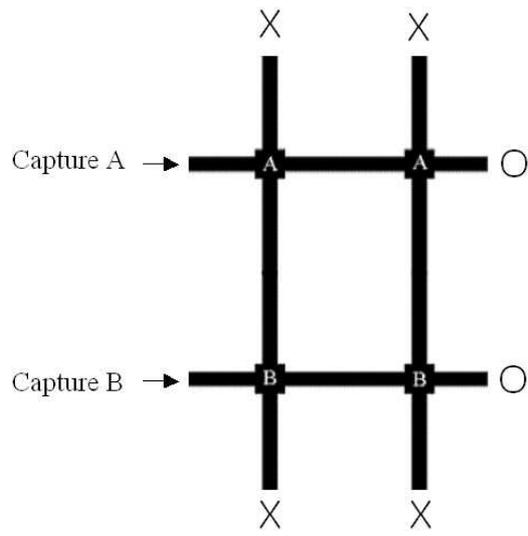


도면17

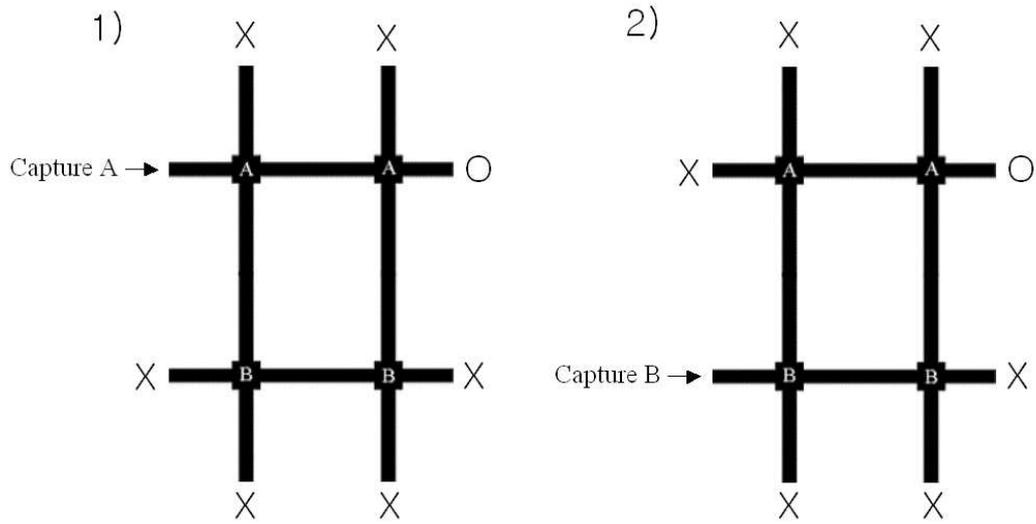


uTAS 2002, JHKim

도면18a



도면18b



도면18c

