

- (71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)
- (72) 발명자
신세현
서울시 서초구 방배로 270, 바동406호 (방배동,
신삼호아파트)
- (74) 대리인
최훈식

(54) 발명의 명칭 **해산 검출용 미세 유동 장치**

본 발명은 핵산 검출용 미세 유동 장치에 관한 것으로, 칩 본체와, 상기 칩 본체 내부에 형성되고, 샘플이 주입되는 샘플 챔버와, 상기 샘플 챔버와 이격되어 상기 칩 본체 내부에 형성되는 폐기 챔버와, 상기 칩 본체 내부에 형성되어 상기 샘플 챔버와 상기 폐기 챔버를 연결하여 상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플의 유동 경로를 형성하고, (뒷면에 계속)

100

110

120

121

130

140

150

160

161

162

상기 샘플 챔버와 연결되는 입구와 상기 폐기 챔버와 연결되는 출구를 갖는 연결 도관과, 상기 연결 도관의 상기 입구에 설치되고, 상기 샘플의 유동 방향으로 관통된 적어도 하나 이상의 미세 구멍이 형성된 핵산 검출 막과, 상기 핵산 검출 막의 표면에 형성되는 프로브 링커를 포함하며; 상기 프로브 링커는 상기 샘플 내의 타겟 핵산과의 상보적 결합을 통해 증폭되어 상기 타겟 핵산을 검출하는 것을 특징으로 한다. 이에 따라, 핵산 검출 막을 연결 도관의 입구에 설치하여, 샘플 챔버에서 연결 도관으로 유동할 때 바로 핵산 검출 막의 미세 구멍을 통해 유동하도록 함으로써, 버블 발생 현상을 제거하여 검출의 재현 가능성을 높일 수 있다.

(52) CPC특허분류

B01L 2200/0663 (2013.01)

B01L 2200/0684 (2013.01)

B01L 2300/0883 (2013.01)

B01L 2300/14 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

핵산 검출용 미세 유동 장치에 있어서,

칩 본체와,

상기 칩 본체 내부에 형성되고, 샘플이 주입되는 샘플 챔버와,

상기 샘플 챔버와 이격되어 상기 칩 본체 내부에 형성되는 폐기 챔버와,

상기 칩 본체 내부에 형성되어 상기 샘플 챔버와 상기 폐기 챔버를 연결하여 상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플의 유동 경로를 형성하고, 상기 샘플 챔버와 연결되는 입구와 상기 폐기 챔버와 연결되는 출구를 갖는 연결 도관과,

상기 연결 도관의 상기 입구에 설치되고, 상기 샘플의 유동 방향으로 관통된 적어도 하나 이상의 미세 구멍이 형성된 핵산 검출 막과,

상기 핵산 검출 막의 표면에 형성되는 프로브 링커를 포함하며;

상기 프로브 링커는 상기 샘플 내의 타겟 핵산과의 상보적 결합을 통해 증폭되어 상기 타겟 핵산을 검출하는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 프로브 링커와 상기 타겟 핵산 간의 상보적 결합을 통한 증폭에 의해 상기 핵산 검출 막의 상기 미세 구멍이 막히거나 상기 미세 구멍의 사이즈가 감소되어 상기 샘플의 상기 연결 도관으로의 최종 도달 거리, 상기 최종 도달 거리까지의 도달 시간, 및 상기 샘플의 유동 속도 중 적어도 하나가 변하고, 상기 최종 도달 거리, 상기 도달 시간 및 상기 유동 속도 중 적어도 하나에 의해 상기 타겟 핵산을 검출하는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 샘플 챔버 내부에 설치되어, 상기 샘플 챔버 내부에 주입된 상기 샘플을 교반하는 교반기를 더 포함하며;

상기 샘플 챔버 내부의 상기 샘플은 상기 교반기에 의해 교반되는 과정에서 상기 핵산 검출 막의 상기 프로브 링커와 상기 샘플 내의 상기 타겟 핵산이 상보적으로 결합하는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플은 상기 교반기에 의해 기 설정된 교반 시간동안 교반된 후, 상기 연결 도관을 따라 유동하는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플을 기 설정된 온도 범위로 가열하는 샘플 가열부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 온도 범위는 30 ~ 37 ℃ 범위 내에서 설정되고, 상기 교반 시간은 5 ~ 30분 사이의 범위 내에서 설정되는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 7

제4항에 있어서,

상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플을 상기 연결 도관을 따라 유동시키기 위한 유동력은,

상기 폐기 챔버로부터의 음압,

상기 칩 본체의 기울기에 따른 중력,

상기 샘플이 수용된 상기 샘플 챔버와 빈 상태의 상기 폐기 챔버 간의 수두차 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 샘플 챔버에는 상기 샘플 주입 후 상기 샘플과 섞이지 않는 오일이 주입되며;

상기 오일은 상기 샘플의 상부에서 상기 샘플을 외부와 차단시키고, 상기 샘플의 상기 연결 도관으로의 유동을 위한 중력 또는 수두차를 증가시키는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 프로브 링커는

상기 핵산 검출용 메쉬의 표면에 코팅되는 코팅부와,

상기 코팅부에 결합되는 프라이머와,

상기 프라이머와 상보적으로 결합하는 템플레이트를 포함하며;

상기 템플레이트는

상기 타겟 핵산과 제1 결합 부위와,

상기 프라이머와 상보적으로 결합하는 제2 결합 부위와,

덤벨 형태를 형성하기 위한 템플레이트 내 상보적인 제3 결합 부위를 포함하며;

상기 제1 결합 부위는 상기 템플레이트의 양 말단에 분리되어 형성되고, 상기 제2 결합 부위는 분리되어 형성된 상기 제3 결합 부위 사이에 형성되며;

상기 제1 결합 부위에는 상기 타겟 핵산과의 상보적 결합을 촉진하는 리가아제 효소가 형성되는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 10

제2항에 있어서,

상기 연결 도관을 따라 유동하는 상기 샘플을 감지하기 위한 샘플 감지부를 더 포함하며,

상기 샘플 감지부의 감지 결과에 기초하여, 상기 최종 도달 거리, 상기 도달 시간 및 상기 유동 속도 중 적어도 하나가 측정되는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 연결 도관은 상기 샘플 챔버와 상기 폐기 챔버를 각각 독립적으로 연결하도록 상기 칩 본체에 복수개가 형성되고,

각각의 상기 연결 도관의 입구에 상기 핵산 검출 막이 설치되며;

각각의 상기 핵산 검출 막의 표면에 형성되는 상기 프로브 링커는 서로 다른 타겟 핵산과 결합하는 물질로 마련되는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 12

제11항에 있어서,

복수의 상기 연결 도관 중 어느 하나에 설치되는 핵산 검출 막에는 프로브 링커가 부착되지 않은 네거티브 기준 채널로 적용되는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 13

제11항에 있어서,

복수의 상기 연결 도관 중 어느 하나에 설치되는 핵산 검출 막에 형성된 프로브 링커는 상기 타겟 핵산의 존재 여부와 무관하게 핵산 증폭이 발생하도록 형성되어 포지티브 기준 채널로 적용되는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

청구항 14

제1항에 있어서,

상기 핵산 검출 막은 상기 미세 구멍이 형성된 멤브레인 또는 메쉬를 포함하는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 핵산 검출용 미세 유동 장치에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 RNA와 같은 핵산을 검출할 수 있는 핵산 검출용 미세 유동 장치에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 바이러스와 같은 타겟 핵산의 효율적인 증폭은 핵산의 검출 뿐만 아니라, DNA 시퀀싱, 클로닝 등에 있어서도 매우 중요한 요소이다. 핵산을 증폭하기 위한 여러 가지 방법이 제안되고 있으며, 그 예로는, PCR(polymerase chain reaction), LCR(ligase chain reaction), SSR(self-sustained sequence replication), NASBA(nucleic acid sequence based amplification), 및 SDA(strand displacement amplification) 등이 있다.

[0003] 이러한 방법들 중 다수는 정량적인 측정에 있어서 정확도가 다소 떨어졌으며, 고가의 장비를 요구하며, 특히 동시에 한 가지 이상의 타겟 핵산을 분석하고자 하는 경우에는 그 정도가 더 심하였다.

[0004] 이러한 단점들을 보완하고자 개발된 것이 등온 핵산 증폭(isothermal amplification) 반응이며, 특히 등온 반응 중, RCA(rolling circle amplification) 방법이 많은 관심을 받고 있다. 즉, 종래, 원형 DNA를 증폭하기 위하여 PCR과 같은 몇몇 기술들이 채용되었으나, 이러한 방법들은 다소 시간이 오래 걸리고 효율이 떨어지며, 고가의 비용과 인력이 소모된다는 단점이 있었다.

[0005] PCR 방법은, 프라이머 쌍, 주형, 중합효소, 및 dNTP를 포함하는 반응 용액 중에서, 온도를 고온으로 높여서 DNA를 단일 가닥으로 분리하는 변성 과정, 온도를 낮추어서 상기 분리된 각 DNA 단일사슬에 상보적인 프라이머를 주형에 결합시키는 어닐링 과정, 다시 온도를 높여서 중합효소에 의한 중합반응에 의해 새로운 가닥을 중합하는 과정으로 이루어지며, 이 증폭을 통하여 DNA 사슬은 지수함수적으로 증가한다. 그러나, PCR 과정은 상기와 같은 단계를 거치기 때문에 온도의 변화를 필연적으로 수반하고, 따라서, PCR을 위한 장치에는 온도 컨트롤러 및 히팅 수단을 구비해야 한다. 그러나 랩온어칩 (lab-on-a-chip, LOC) 등에서 표적 핵산의 증폭을 위해 PCR을 이용

하는 경우, LOC를 위한 검출 장치 등의 장치 외에 PCR 반응을 위한 온도 컨트롤러 및 히터를 별도로 요구하기 때문에, 장비가 복잡해지고, 장비 단가가 높아진다는 단점이 있다.

[0006] 이러한 단점을 개선할 수 있는 방법으로서, 여러 가지 등은 증폭 방법이 제안되었다. LAMP(loop-mediated isothermal amplification) 방법은 이러한 등은 증폭 방법 중 하나로서, 6개의 증폭 프라이머를 이용하여 가지가 달린 다중 루프의 생성물을 생성시킨다. 이러한 LAMP 방법은 조기 진단이나 바이오 센서로서 사용하기에 다소 제한점이 있는데 이는 타겟 RNA를 검출하기 위해 초기의 reverse transcriptase(RT)를 사용하기 때문이다.

[0007] 또 다른 등은 증폭 방법 중 하나로서 RCA 방법이 제안되었다. RCA 방법은 상기한 바와 같이 PCR 증폭에서 요구되는 온도 변화를 요구하지 않음으로써, 등은 상태에서 타겟 핵산의 증폭이 가능하다는 장점을 갖는다. 따라서, 증폭이 요구되는 공정에서 별도의 온도 조절 장치의 요구없이 증폭이 가능하고, 장치의 복잡성과 비용을 줄일 수 있다.

[0008] LRCA(linear rolling circle amplification) 방법은, 표적 DNA 서열과 개방 원형 프로브를 하이브리다이징(Hybridizing)시켜 복합체를 형성한 후, 라이게이션(Ligation)하여 증폭 표적 서클을 만든 후, 프라이머 서열과 DNA 중합효소를 넣어준다. 그리고 나서 증폭 표적 서클은 새로운 DNA가 형성된 주형을 형성하고, 프라이머로부터 신장시켜서 증폭 표적 서클에 상보적인 반복 서열의 계속된 서열로 연장함으로써, 한 시간에 수천 개의 핵산을 만들어낸다.

[0009] 이것을 더욱 개선한 방법이, ERCA(exponential RCA) 방법이다. ERCA는, 증폭 표적 서클에 상보적인 복제된 서열에 결합하는 추가적인 프라이머 서열을 이용하여 새로운 증폭 중심을 제공하고, 그로 인하여 기하 급수적으로 증가하는 증폭을 제공한다. ERCA 방법은 가닥 이동(strand displacement) 방법이 연속되는 형태를 이용하지만, 부가적인 RCA 없이 상기생성물에 부착되는 개별적인 단일 가닥의 선형 프라이머를 이용하여 초기의 단일 가닥 RCA 생성물을 또 다른 DNA 합성의 주형으로 이용하는 것에 한정된다.

[0010] 또 다른 방법으로는, molecular padlock probe(MPP) and rolling circle amplification (RCA)를 이용한 방법이다(C. Larsson et al., Nat. Methods 2004, 1, 227). 이 방법은 여러 가지 장점을 갖고 있는데, 높은 specificity와 타겟 핵산 시퀀스를 구별하는 과정을 거쳐 환형 MPP에서 상보적인 핵산이 증폭되는 특성을 지니고 있다. 특별히, RCA 생성물의 직접적인 커플링으로 인해 별도의 정제과정 없이 향상된 센싱 감도를 제공하게 된다. 간단한 화학적 표면처리를 통해 금이나 석영과 같은 물질의 표면에 타겟 핵산 probes를 고정화 함으로써 RCA 반응을 표면에서 시작시킬 수 있다.

[0011] 한편, 2015년에 공개된 Ho Yeon Lee 등의 논문 'DhITACT: DNA Hydrogel Formation by Isothermal Amplification of Complementary Target in Fluidic Channels (June 17, 2015, Advanced Materials, Volume 27, Issue 23, Pages 3513-3517)에서는 미세채널 바닥면에 RCA 반응면을 준비하고 시료 용액와의 반응 시간을 두 시간 정도 기다려 단일 가닥의 DNA를 길게 생성시키면서 다중의 덩벨 모양으로 자기 조립되는 특성을 이용하여 DNA가 하이드로겔(hydrogel)처럼 형성되는 특성을 이용하여 해당 채널로는 유동이 배제되는 현상을 이용한 기술을 공시하였다.

[0012] 그러나, Ho Yeon Lee의 논문에서 개시된 기술의 경우, 미세 채널의 바닥면에 RCA 반응면을 형성하고 RCA 반응면으로부터의 증폭에 의해 전체 미세 채널이 막힐 때까지 반응을 기다려야 하므로 검사시간이 2시간 이상 정도 소요되는 문제점이 있다.

[0013] 이에 본원 출원인은 한국등록특허 제10-1799192호에 개시된 '표적 유전자 검출을 위한 미세 유동 장치'를 제안한 바 있다. 상기 한국등록특허에 개시된 미세 유동 장치는 미세구슬을 패킹한 미세구슬 패킹부에 마련하고, 미세구슬의 표적 유전자와 상보적으로 결합하는 프로브 링커를 형성하여 프로브 링커에 타겟 유전자가 결합되도록 형성한다. 프로브 링커에 결합된 타겟 유전자의 증폭에 의해 미세구슬 사이의 공극이 막히는 현상을 이용하여, 타겟 유전자를 검출하게 된다.

[0014] 상기 한국등록특허에 개시된 미세 유동 장치는 기존의 RCA 방법에 비해 검사 시간을 15분 정도까지 단축시키는 장점이 있으나, 좀 더 빠른 검사에 대한 수요는 날로 증가하고 있다. 이는 바이러스에 의한 전염병이 팬데믹(Pandemic)에 이를 정도로 퍼지는 상황에서는 더 빠른 검사 속도가 요구되고 있기 때문이다.

[0015] 또한, 상기 한국등록특허에 개시된 미세 구슬이 실제 적용에 있어서는 Hydrogel 기반으로 제작되는 점에서 건조 보관할 수 없는 불편함이 있고, 장기 보관에 따른 성능 저하의 우려가 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0016] 이에, 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해소하기 위해 안출된 것으로서, 타겟 핵산을 검출하는데 있어, 검사 시간을 줄이면서도 건조한 상태에서 보관이 가능한 핵산 검출용 미세 유동 장치를 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

- [0017] 상기 목적은 본 발명에 따라, 핵산 검출용 미세 유동 장치에 있어서, 칩 본체와, 상기 칩 본체 내부에 형성되고, 샘플이 주입되는 샘플 챔버와, 상기 샘플 챔버와 이격되어 상기 칩 본체 내부에 형성되는 폐기 챔버와, 상기 칩 본체 내부에 형성되어 상기 샘플 챔버와 상기 폐기 챔버를 연결하여 상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플의 유동 경로를 형성하고, 상기 샘플 챔버와 연결되는 입구와 상기 폐기 챔버와 연결되는 출구를 갖는 연결 도관과, 상기 연결 도관의 상기 입구에 설치되고, 상기 샘플의 유동 방향으로 관통된 적어도 하나 이상의 미세 구멍이 형성된 핵산 검출 막과, 상기 핵산 검출 막의 표면에 형성되는 프로브 링커를 포함하며; 상기 프로브 링커는 상기 샘플 내의 타겟 핵산과의 상보적 결합을 통해 증폭되어 상기 타겟 핵산을 검출하는 것을 특징으로 하는 핵산 검출용 미세 유동 장치에 의해서 달성된다.
- [0018] 여기서, 상기 프로브 링커와 상기 타겟 핵산 간의 상보적 결합을 통한 증폭에 의해 상기 핵산 검출 막의 상기 미세 구멍이 막히거나 상기 미세 구멍의 사이즈가 감소되어 상기 샘플의 상기 연결 도관으로의 최종 도달 거리, 상기 최종 도달 거리까지의 도달 시간, 및 상기 샘플의 유동 속도 중 적어도 하나가 변하고, 상기 최종 도달 거리, 상기 도달 시간 및 상기 유동 속도 중 적어도 하나에 의해 상기 타겟 핵산을 검출할 수 있다.
- [0019] 또한, 상기 샘플 챔버 내부에 설치되어, 상기 샘플 챔버 내부에 주입된 상기 샘플을 교반하는 교반기를 더 포함하며; 상기 샘플 챔버 내부의 상기 샘플은 상기 교반기에 의해 교반되는 과정에서 상기 핵산 검출 막의 상기 프로브 링커와 상기 샘플 내의 상기 타겟 핵산이 상보적으로 결합할 수 있다.
- [0020] 그리고, 상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플은 상기 교반기에 의해 기 설정된 교반 시간동안 교반된 후, 상기 연결 도관을 따라 유동할 수 있다.
- [0021] 그리고, 상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플을 기 설정된 온도 범위로 가열될 수 있다.
- [0022] 그리고, 상기 온도 범위는 30 ~ 37 °C 범위 내에서 설정되고, 상기 교반 시간은 5 ~ 30분 사이의 범위 내에서 설정될 수 있다.
- [0023] 그리고, 상기 샘플 챔버 내의 상기 샘플을 상기 연결 도관을 따라 유동시키기 위한 유동력은, 상기 폐기 챔버로부터의 음압, 상기 칩 본체의 기울기에 따른 중력, 상기 샘플이 수용된 상기 샘플 챔버와 빈 상태의 상기 폐기 챔버 간의 수두차 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0024] 그리고, 상기 샘플 챔버에는 상기 샘플 주입 후 상기 샘플과 섞이지 않는 오일이 주입되며; 상기 오일은 상기 샘플의 상부에서 상기 샘플을 외부와 차단시키고, 상기 샘플의 상기 연결 도관으로의 유동을 위한 중력 또는 수두차를 증가시킬 수 있다.
- [0025] 그리고, 상기 프로브 링커는 상기 핵산 검출용 메쉬의 표면에 코팅되는 코팅부와, 상기 코팅부에 결합되는 프라이머와, 상기 프라이머와 상보적으로 결합하는 템플레이트를 포함하며; 상기 템플레이트는 상기 타겟 핵산과 제1 결합 부위와, 상기 프라이머와 상보적으로 결합하는 제2 결합 부위와, 덤벨 형태를 형성하기 위한 템플레이트 내 상보적인 제3 결합 부위를 포함하며; 상기 제1 결합 부위는 상기 템플레이트의 양 말단에 분리되어 형성되고, 상기 제2 결합 부위는 분리되어 형성된 상기 제3 결합 부위 사이에 형성되며; 상기 제1 결합 부위에는 상기 타겟 핵산과의 상보적 결합을 촉진하는 리가아제 효소가 형성될 수 있다.
- [0026] 그리고, 상기 연결 도관을 따라 유동하는 상기 샘플을 감지하기 위한 샘플 감지부를 더 포함하며, 상기 샘플 감지부의 감지 결과에 기초하여, 상기 최종 도달 거리, 상기 도달 시간 및 상기 유동 속도 중 적어도 하나가 측정될 수 있다.
- [0027] 그리고, 상기 연결 도관은 상기 샘플 챔버와 상기 폐기 챔버를 각각 독립적으로 연결하도록 상기 칩 본체에 복수개가 형성되고, 각각의 상기 연결 도관의 입구에 상기 핵산 검출 막이 설치되며; 각각의 상기 핵산 검출 막의 표면에 형성되는 상기 프로브 링커는 서로 다른 타겟 핵산과 결합하는 물질로 마련될 수 있다.
- [0028] 그리고, 복수의 상기 연결 도관 중 어느 하나에 설치되는 핵산 검출 막에는 프로브 링커가 부착되지 않은 네거티브 기준 채널로 적용될 수 있다.

[0029] 또는, 복수의 상기 연결 도관 중 어느 하나에 설치되는 핵산 검출 막에 형성된 프로브 링커는 상기 타겟 핵산의 존재 여부와 무관하게 핵산 증폭이 발생하도록 형성되어 포지티브 기준 채널로 적용될 수 있다.

[0030] 그리고, 상기 핵산 검출 막은 상기 미세 구멍이 형성된 멤브레인 또는 메쉬를 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0031] 상기와 같은 구성에 따라, 본 발명에 따르면, 핵산 검출 막을 연결 도관의 입구에 설치하여, 샘플 챔버에서 연결 도관으로 유동할 때 바로 핵산 검출 막의 미세 구멍을 통해 유동하도록 함으로써, 버블 발생 현상을 제거하여 검출의 재현 가능성을 높일 수 있다.

[0032] 또한, 버블 발생 현상을 제거함에 따라, 유동 압력 제어의 제약을 제거할 수 있을 뿐만 아니라, 단일의 핵산 검출 막을 이용함으로써, 미세구슬 패킹부를 적용할 때보다도 낮은 압력으로 제어가 가능하게 된다.

[0033] 그리고, 기존의 미세구슬 패킹부가 하이드로겔 형태로 제작되어 건식 보관의 어려움이 있었으나, 본 발명에 따른 핵산 검출 막은 나일론 재질 등으로의 제작을 통해 건식 보관이 가능하게 된다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치를 나타낸 도면이고,
 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치의 단면을 개략적으로 도시한 도면이고,
 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치의 핵산 검출 막의 예를 나타낸 도면이고,
 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치의 프로브 링커의 예를 나타낸 도면이고,
 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치에서 샘플에 유동력을 인가하기 위한 예들을 설명하기 위한 도면이고,
 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치의 샘플 감지부의 예들을 설명하기 위한 도면이고,
 도 7은 본 발명의 다른 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치를 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 이하에서는 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 실시예들을 상세히 설명한다.

[0036] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)를 나타낸 도면이고, 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)의 단면을 개략적으로 도시한 도면이다.

[0037] 도 1 및 도 2를 참조하여 설명하면, 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)는 칩 본체(110), 샘플 챔버(120), 폐기 챔버(150), 연결 도관(140), 핵산 검출 막(130) 및 프로브 링커(200)를 포함한다.

[0038] 칩 본체(110)는 내부에 샘플 챔버(120), 폐기 챔버(150), 연결 도관(140)이 형성되는 미세 유동 칩 형태로 마련되는데, 상부 본체 및 하부 본체 간의 결합을 통해 내부에 샘플 챔버(120), 폐기 챔버(150), 연결 도관(140) 등이 형성되는 구조를 가질 수 있다.

[0039] 샘플 챔버(120)는 칩 본체(110) 내부에 형성되고, 샘플(S)이 주입된다. 본 발명에서는 샘플 챔버(120)가 칩 본체(110)의 일측 가장자리 영역에 마련되는 것을 예로 하며, 도 2에 도시된 바와 같이, 연결 도관(140)보다는 상대적으로 높게 형성되는 것을 예로 한다.

[0040] 폐기 챔버(150)는 샘플 챔버(120)와 이격되어 칩 본체(110) 내부에 칩 본체(110)의 타측 가장자리 영역에 형성된다.

[0041] 연결 도관(140)은 칩 본체(110) 내부에 형성되어 샘플 챔버(120)와 폐기 챔버(150)를 연결한다. 여기서, 연결 도관(140)은 샘플 챔버(120)에 주입되어 수용되는 샘플(S)이 폐기 챔버(150) 방향으로 유동하는 유동 경로를 형성하게 된다.

[0042] 즉, 연결 도관(140)은 샘플 챔버(120)와 폐기 챔버(150)를 연통시키는 미세 채널 형태로 형성되는데, 본 발명에서는 샘플 챔버(120)와 연결되는 입구와, 폐기 챔버(150)와 연결되는 출구를 갖는 것을 예로 한다.

- [0043] 핵산 검출 막(130)은 연결 도관(140)의 입구에 설치된다. 여기서, 핵산 검출 막(130)에는 샘플(S)의 유동 방향으로 관통된 적어도 하나 이상의 미세 구멍(131)이 형성되는데, 이를 통해, 핵산 검출 막(130)이 연결 도관(140)의 입구를 막는 형태로 설치되더라도 미세 구멍(131)을 통해 연결 도관(140) 측으로 샘플(S)의 유동이 가능하게 된다.
- [0044] 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)의 핵산 검출 막(130)의 예를 나타낸 도면이다. 도 3에 도시된 실시예는 핵산 검출 막(130)을 메쉬 형태로 마련하는 것을 예로 하는데, 사각 형상의 막에 다수의 미세 구멍(131)이 마련되어 제작되는데, 사각 형상의 나일론 막에 다수의 미세 구멍(131)을 타공하여 핵산 검출 막(130)을 제작할 수 있다. 이외에도, 다수의 미세 구멍(131)이 형성된 멤브레인(Membrane)을 본 발명에 따른 핵산 검출 막(130)으로 적용 가능함은 물론이다.
- [0045] 여기서, 핵산 검출 막(130)의 미세 구멍(131)은 타겟 핵산에 따라 다양한 사이즈로 형성될 수 있는데, 타겟 핵산 이외의 요소들은 통과할 수 있도록 마련되어 다른 요소에 의한 미세 구멍(131)의 막힘 현상을 제거할 수 있다. 본 발명에서는 미세 구멍(131)의 직경이 50nm ~ 50um 사이의 범위에서 결정되는 것을 예로 한다.
- [0046] 한편, 프로브 링커(200)는 핵산 검출 막(130)의 표면에 형성된다. 바람직하게는 프로브 링커(200)는 핵산 검출 막(130)에 형성된 미세 구멍(131) 내측 표면에도 형성될 수 있다. 여기서, 핵산 검출 막(130)의 표면에 형성된 프로브 링커(200)와 타겟 핵산 간의 상보적 결합을 통한 증폭에 의해 형성되는 하이드로겔이 핵산 검출 막(130)에 형성된 미세 구멍(131)을 막거나 사이즈를 감소시켜 샘플 챔버(120)에 수용된 샘플(S)이 연결 도관(140)을 통해 유동할 때, 최종 도달 거리, 최종 도달 거리까지의 도달 시간, 그리고 샘플(S)의 유동 속도의 변화를 야기하게 된다. 그리고, 최종 도달 거리, 도달 시간 및 유동 속도 중 적어도 하나를 이용하게 되면 타겟 핵산의 검출이 가능하게 된다.
- [0047] 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)의 프로브 링커(200)의 예를 나타낸 도면이다. 도 4를 참조하여 설명하면, 본 발명에 따른 프로브 링커(200)는 코팅부(210), 프라이머(220) 및 템플레이트(230)를 포함하는 것을 예로 한다.
- [0048] 코팅부(210)는 핵산 검출 막(130)의 표면에 코팅되는데, 프라이머(220)가 부착되어 고정될 수 있는 재질로 마련되는데, 예를 들어, 카볼실기 또는 아민기가 코팅된다. 구체적인 예로 코팅부(210)는 5-히드록시도파민 염산, 노르에피네프린, 에피네프린, 파이로갈롤아민, DOPA(3,4-Dihydroxyphenylalanine), 카테킨, 탄닌류, 파이로갈롤, 파이로카테콜, 헤파린-카테콜, 키토산-카테콜, 폴리에틸렌글리콜-카테콜, 폴리에틸렌아민-카테콜, 폴리메틸메타크릴레이트-카테콜, 히알루론산-카테콜, 폴리라이신-카테콜 (polylysine-catechol), 및 폴리라이신 (polylysine)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상을 포함하는 것을 예로 한다.
- [0049] 프라이머(220)는 코팅부(210)에 고정되며, 템플레이트(230)는 프라이머(220)와 상보적으로 결합한다. 여기서, 템플레이트(230)는 타겟 핵산과 상보적으로 결합하는 제1 결합 부위와, 프라이머(220)와 상보적으로 결합하는 제2 결합 부위, 그리고 템플 형태를 형성하기 위한 템플레이트(230) 내 상보적인 제3 결합 부위를 포함하게 된다. 그리고, 제1 결합 부위는 템플레이트(230)의 양 말단에 분리되어 형성되고, 제2 결합 부위는 분리되어 형성된 제3 결합 부위 사이에 형성된다.
- [0050] 여기서, 프라이머(220)는 티올(thiol), 아민(amine), 하이드록실(hydroxyl), 카복실(carboxyl), 이소티오시아네이트 (isothiocyanate), NHS 에스테르, 알데히드(aldehyde), 에폭시드(epoxide), 카보네이트(Carbonate), HOBt 에스테르, 글루타르알데히드(Glutaraldehyde), 카바메이트(carbamate), 이미다졸 카바메이트(imidazole carbamate), 말레이미드(maleimide), 아지리딘(aziridine), 설펜(sulfone), 비닐설펜(vinylsulfone), 하이드라진(hydrazine), 페닐 아자이드(phenyl azide), 벤조페논(benzophenone), 안트라퀴논 (anthraquinone), 및 디엔(Diene) 기로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상으로 발단이 변형된 것을 예로 한다.
- [0051] 여기서, 상기와 같은 구성을 통해, 본 발명에 따른 프로브 링커(200)에 타겟 핵산과 결합되어 증폭되고, 증폭되는 타겟 핵산이 엉기어 큰 사이즈의 하이드로겔을 형성하게 되면서, 핵산 검출 막(130)에 형성된 미세 구멍(131)을 막게 된다.
- [0052] 전술한 예에서의 프로브 링커(200)는 2015년에 공개된 Ho Yeon Lee 등의 논문 'DhITACT: DNA Hydrogel Formation by Isothermal Amplification of Complementary Target in Fluidic Channels (June 17, 2015, Advanced Materials, Volume 27, Issue 23, Pages 3513-3517)에 개시된 구성을 예로 하고 있으며, 그 상세한 설명은 상기 논문에 기재된 바와 같다.

- [0053] 앞서 설명한 바와 같이, 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출 막(130)은 연결 도관(140)의 입구에 설치된다. 이를 통해, 샘플 챔버(120)에 수용된 샘플(S)은 연결 도관(140)의 입구에 설치되는 핵산 검출 막(130)의 미세 구멍(131)을 통해 연결 도관(140)으로 유동하게 되는데, 연결 도관(140)에서 유동하는 과정에서 미세 구멍(131)을 통과하는 과정에서 발생하는 샘플(S)의 버블(Bubble) 현상을 방지할 수 있다.
- [0054] 보다 구체적으로 설명하면, 상술한 한국등록특허 제10-1799192호에 개시된 '표적 유전자 검출을 위한 미세 유동 장치(100)'에서는 미세구슬 패킹부를 마이크로 채널의 중간 영역에 설치하는 것을 예로 하고 있다.
- [0055] 그러나, 미세구슬 패킹부에 형성된 공극을 샘플(S)이 통과할 때, 유동 속도가 빠를 경우 버블이 발생하게 되고, 이는 샘플(S)의 유동을 방해하는 원인으로 작용하게 된다. 따라서, 버블 발생을 방지하기 위해 유동 압력을 줄이게 되면, 핵산 검출에 있어 반복 재현성이 저하될 뿐만 아니라, 잦은 유동 압력에서의 제어가 필요하게 되어, 검출 과정의 제약으로 작용하게 된다.
- [0056] 반면, 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)에서는 핵산 검출 막(130)을 연결 도관(140)의 입구에 설치하여, 샘플 챔버(120)에서 연결 도관(140)으로 유동할 때 바로 핵산 검출 막(130)의 미세 구멍(131)을 통해 유동하도록 함으로써, 버블 발생 현상을 제거하여 검출의 재현 가능성을 높일 수 있다.
- [0057] 이러한 버블 발생 현상을 제거함에 따라, 유동 압력 제어의 제약을 제거할 수 있을 뿐만 아니라, 단일의 핵산 검출 막(130)을 이용함으로써, 미세구슬 패킹부를 적용할 때보다도 낮은 압력으로 제어가 가능하게 된다.
- [0058] 여기서, 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)는, 도 1 및 도 2에 도시된 바와 같이, 샘플 챔버(120) 내부에 설치되는 교반기(121)를 더 포함할 수 있다.
- [0059] 교반기(121)는 샘플 챔버(120) 내부에서 회전하면서 샘플 챔버(120) 내부에 주입된 샘플(S)을 교반한다. 이를 통해, 샘플 챔버(120) 내의 샘플(S)은 교반기(121)에 의해 교반되는 과정에서, 연결 도관(140)의 입구에 설치된 핵산 검출 막(130)에 골고루 접촉하게 되며, 이를 통해 교반 과정에서 샘플(S) 내의 타겟 핵산이 핵산 검출 막(130)에 형성된 프로브 링커(200)와 상보적 결합될 확률이 증가하게 된다.
- [0060] 이에, 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)에서는 샘플 챔버(120) 내의 샘플(S)이 교반기(121)에 의해 기 설정된 교반 시간동안 교반된 후에, 연결 도관(140)을 따라 유동하는 것을 예로 한다. 여기서, 교반 시간은 5 ~30분 사이의 범위 내에서 설정되는 것을 예로 하는데, 교반 시간의 설정은 프로브 링커(200)와 타겟 핵산 간의 상보적 결합에 필요한 시간과, 검사 시간 등을 고려하여 설정되는 것이 바람직하다.
- [0061] 또한, 샘플 챔버(120) 내의 샘플(S)은 기 설정된 온도 범위로 가열될 수 있다. 여기서, 온도 범위는 프로브 링커(200)와 타겟 핵산 간의 상보적 결합에 의한 증폭 과정, 즉 PCA 반응에 최적 반응 온도로 설정되는데, 본 발명에서는 30 ~37 ℃ 범위 내에서 설정되는 것을 예로 한다.
- [0062] 이러한 구성에 따라, 교반 과정에서 샘플(S) 내의 타겟 핵산이 핵산 검출 막(130)의 표면에 형성된 프로브 링커(200)와 충분히 결합하게 되고, 후술할 유동력에 의해 샘플(S)이 핵산 검출 막(130)의 미세 구멍(131)을 통과하여 연결 도관(140)을 따라 유동할 때, 보다 빠른 시간 내에 미세 구멍(131)이 막히거나, 기 설정된 거리까지 도달하는 시간이 단축되는 등, 검출 시간을 줄일 수 있게 된다.
- [0063] 또한, 샘플(S)이 미세 구멍(131)을 통과하기 전이 미리 타겟 샘플(S)과 프로브 링커(200)가 결합 상태가 되어, 미세 구멍(131)을 통한 샘플(S)의 유동에 따른 버블 현상의 발생 가능성을 줄일 수 있게 된다.
- [0064] 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)에서 샘플(S)에 유동력을 인가하기 위한 예들을 설명하기 위한 도면이다.
- [0065] 도 5의 (a)에 도시된 실시예에서는 폐기 챔버(150)를 마개를 통해 막은 상태에서, 상술한 바와 같이, 교반기(121)가 샘플 챔버(120) 내의 샘플(S)을 교반 시간동안 교반시킨 후, 주사 바늘(171)과 같은 물체로 찢러 배기 구멍을 형성하게 되면, 빈 상태의 폐기 챔버(150)와 샘플 챔버(120) 간의 수두차가 발생하여, 샘플 챔버(120) 내의 샘플(S)이 핵산 검출 막(130)의 미세 구멍(131)을 통해 연결 도관(140)으로 유동하게 된다.
- [0066] 도 5의 (b)에 도시된 실시예에서는, 음압 장치(172), 예컨대 시린지 펌프를 이용하여 폐기 챔버(150)로 샘플(S)의 유동을 음압을 제공하는 예를 나타낸 도면이다. 그리고, 도 5의 (c)에 도시된 실시예에서는, 칩 본체(110) 자체를 폐기 챔버(150) 방향으로 기울어, 중력에 의해 샘플 챔버(120)의 샘플(S)이 연결 도관(140) 방향으로 유동할 수 있는 유동력을 제공하는 예를 나타내고 있다.
- [0067] 여기서, 샘플 챔버(120)에는 샘플(S) 주입 후 샘플(S)과 섞이지 않는 오일(O), 예컨대 미네랄 오일(O)이 주입될

수 있다. 이를 통해, 오일(O)은 샘플(S)의 상부에서 샘플(S)을 외부와 차단하게 된다. 즉, 외부로부터의 이물질의 유입을 차단할 뿐만 아니라, 교반 과정 동안 샘플(S)이 공기 중으로 증발되지 않도록 외부 공기와 샘플(S)을 차단하게 된다. 또한, 오일(O)은 샘플(S)의 연결 도관(140)으로의 유동을 위한, 상술한 중력이나 수두차에 의한 유동력을 증가시키는 효과를 제공하게 된다.

[0068] 다시, 도 1을 참조하여 설명하면, 도 1에 도시된 실시예에서는 샘플 감지부(160)가 광을 조사하는 LED 모듈(161)과, LED 모듈(161)에서 조사되는 광을 감지하는 포토 다이오드(162)로 구성되는 것을 예로 하고 있다. LED 모듈(161)은 연결 도관(140)의 일측에서 연결 도관(140) 내부를 향해 광을 조사하고, 포토 다이오드(162)는 연결 도관(140)의 반대측에서 LED 모듈(161)로부터 조사된 광을 감지하도록 구성된다. 여기서, LED 모듈(161) 및 포토 다이오드(162)는 연결 도관(140)의 유동 경로 방향을 따라 배열된 상태로 배치될 수 있는데, 이를 통해, 연결 도관(140)을 따라 샘플(S)이 유동하게 되면, 샘플(S)이 LED 모듈(161)로부터 조사된 광을 차단하게 되어, 샘플(S)이 연결 도관(140)을 따라 유동한 최대 이동 거리나 도달 시간 등의 검출이 가능하게 된다.

[0069] 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(100)의 샘플 감지부(160)의 예를 설명하기 위한 도면이다.

[0070] 도 6의 (a)에 도시된 실시예에서는, 연결 도관(140) 내부에 다공성 재질의 스틱 바나 리트머스 시험지와 같은 샘플 감지 부재(181)를 설치하고, 해당 샘플 감지 부재(181)가 샘플(S)과 반응하여 색이 변하는 특성을 이용한 샘플 감지부(160)의 예를 나타낸 도면이다. 이 때, 샘플 감지부(160)는 카메라를 포함할 수 있으며, 카메라에 의해 촬영된 영상에서 샘플(S)의 유동 거리 등을 검출하도록 마련될 수 있다.

[0071] 도 6의 (b)에 도시된 실시예에서는 폐기 챔버(150)에 샘플(S)과 반응하는 변색 물질(182)을 수용시킨 상태에서, 샘플(S)이 폐기 챔버(150)로 도달하는 시간을 변색 물질(182)의 변색을 통해 확인할 수 있는 샘플 감지부(160)의 예를 나타내고 있다.

[0072] 도 7은 본 발명의 다른 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(300)를 나타낸 도면이다.

[0073] 도 7에 도시된 실시예에 따른 핵산 검출용 미세 유동 장치(300)에서의 연결 도관(340)은 샘플 챔버(320a, 320b)와 폐기 챔버(350)를 각각 독립적으로 연결하도록 침 본체(310)에 복수개가 형성되는 것을 예로 한다.

[0074] 이 때, 샘플 챔버(320a, 320b)는 주입 챔버(320a)와, 복수의 교반 챔버(320b)를 포함할 수 있으며, 각각의 교반 챔버(320b)가 하나씩의 연결 도관(340)을 통해 폐기 챔버(350)와 연결되는 것을 예로 한다. 즉, 각각의 연결 도관(340)의 입구가 해당 교반 챔버(320b)와 연결되도록 구성되어, 각각의 연결 도관(340)의 입구에 핵산 검출 막(330)이 설치될 수 있다.

[0075] 이 때, 각각의 연결 도관(340) 입구에 설치되는 핵산 검출 막(330)의 표면에는 서로 다른 타겟 핵산과 결합되는 물질로 마련되는 프로브 링커(200)가 형성됨으로써, 하나의 핵산 검출용 미세 유동 장치(300)를 이용하여 다수의 타겟 핵산을 동시에 검출할 수 있게 된다.

[0076] 여기서, 본 발명에서는 폐기 챔버(350) 또한 각각의 연결 도관(340)에 각각 연결되도록 복수개로 형성되는 것을 예로 하는데 하나의 폐기 챔버(350)가 각각의 연결 도관(340)과 연결되도록 구성될 수 있다.

[0077] 다른 예로, 복수의 연결 도관(340) 중 어느 하나에 설치되는 핵산 검출 막(330)에는 프로브 링커가 부착되지 않은 네거티브 기준 채널로 적용될 수 있다. 즉, 프로브 링커가 부착되지 않은 핵산 검출 막(330)에서는 핵산의 증폭 반응이 발생하지 않아, 샘플(S)이 유동이 원활하여 다른 핵산 검출 막(330)의 막힘 현상에 의한 유동과 비교가 가능하게 된다.

[0078] 또 다른 예로, 복수의 연결 도관(340) 중 어느 하나에 설치되는 핵산 검출 막(330)에 형성된 프로브 링커는 타겟 핵산의 존재 여부와 무관하게 핵산 증폭이 발생하도록 형성되어 포지티브 기준 채널로 적용될 수 있다. 즉, 네거티브 기준 채널과는 반대로, 포지티브 기준 채널의 경우 샘플(S)의 유동 초기부터 막힘 현상이 발생하게 되어, 이를 기준으로 다른 연결 도관(340)을 통한 샘플(S)이 유동이 비교 가능하게 된다.

[0079] 비록 본 발명의 몇몇 실시예들이 도시되고 설명되었지만, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 당업자라면 본 발명의 원칙이나 정신에서 벗어나지 않으면서 본 실시예를 변형할 수 있음을 알 수 있을 것이다. 발명의 범위는 첨부된 청구항과 그 균등물에 의해 정해질 것이다.

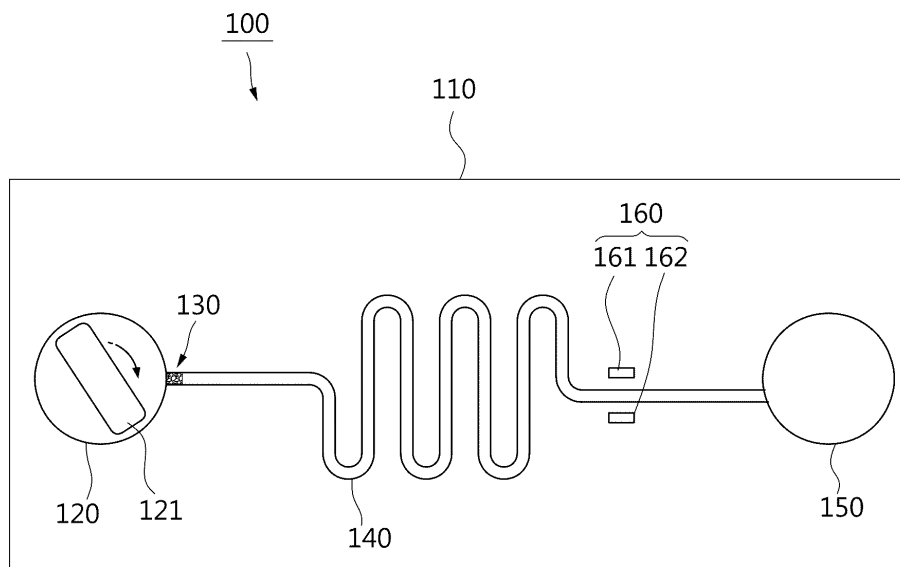
부호의 설명

[0080]

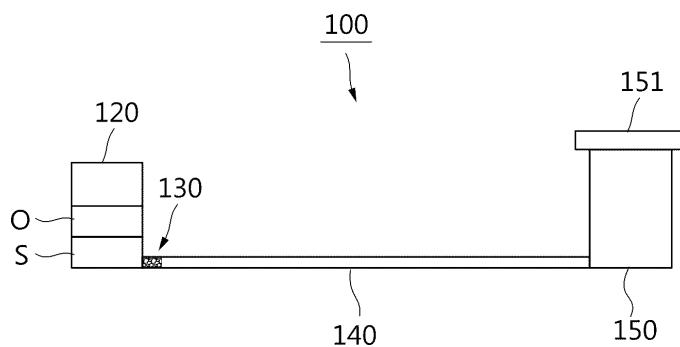
100,300 : 미세 유동 장치	110,310 : 칩 본체
120 : 샘플 챔버	320a : 주입 챔버
320b : 교반 챔버	121,321 : 교반기
130,330 : 핵산 검출 막	131 : 미세 구멍
140,340 : 연결 도관	150,350 : 폐기 챔버
160 : 샘플 감지부	161 : LED 모듈
162 : 포토 다이오드	171 : 주사 바늘
172 : 음압 장치	181 : 샘플 감지 부재
182 : 변색 물질	200 : 프로브 링커
210 : 코팅부	220 : 프라이머
230 : 템플레이트	

도면

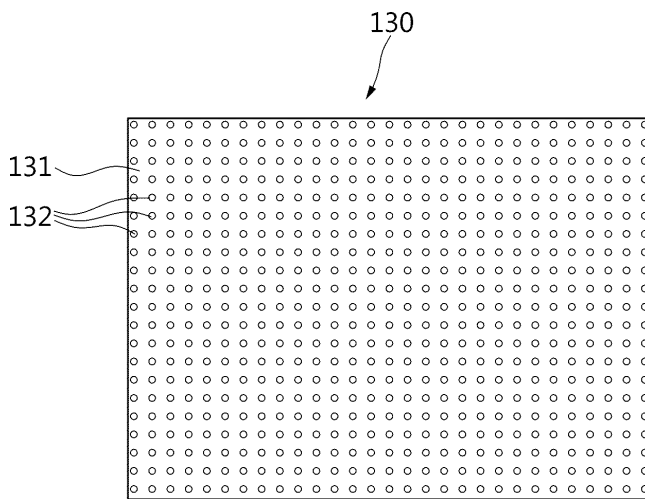
도면1



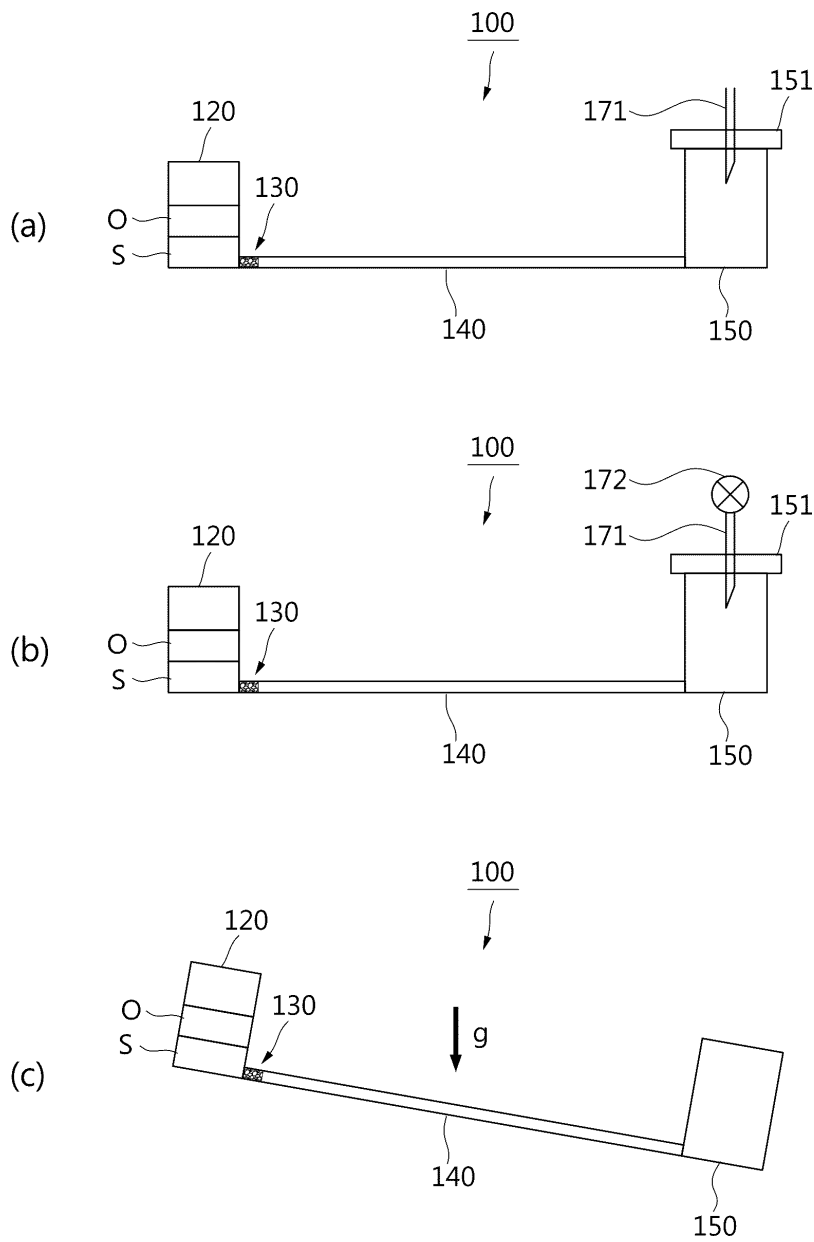
도면2



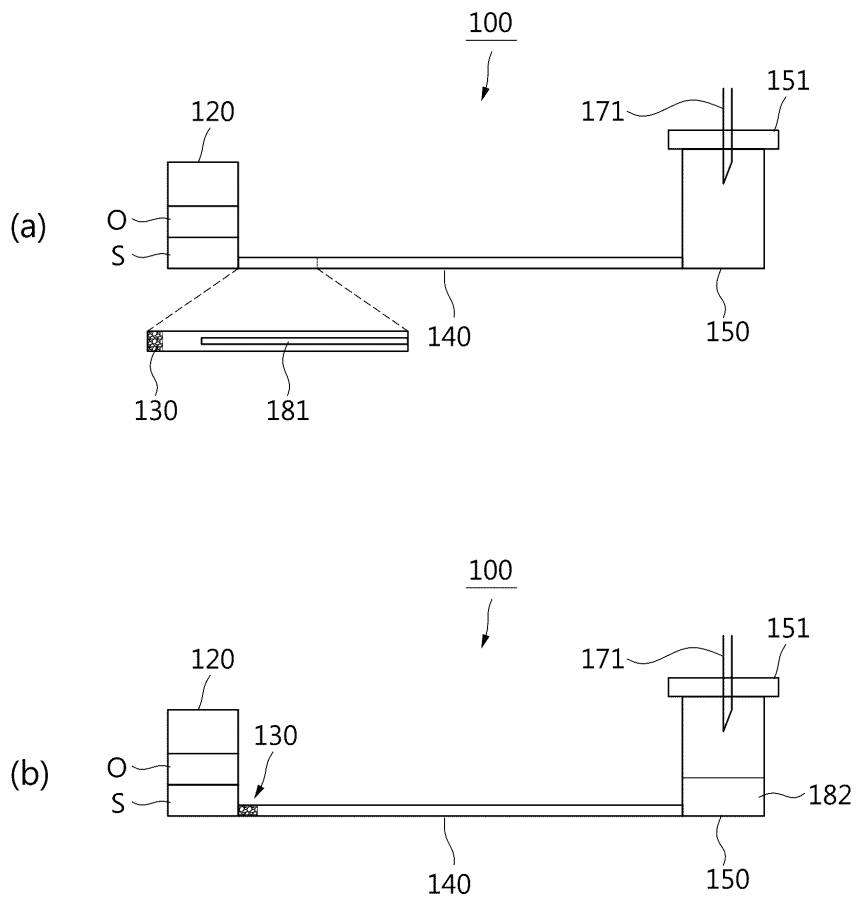
도면3



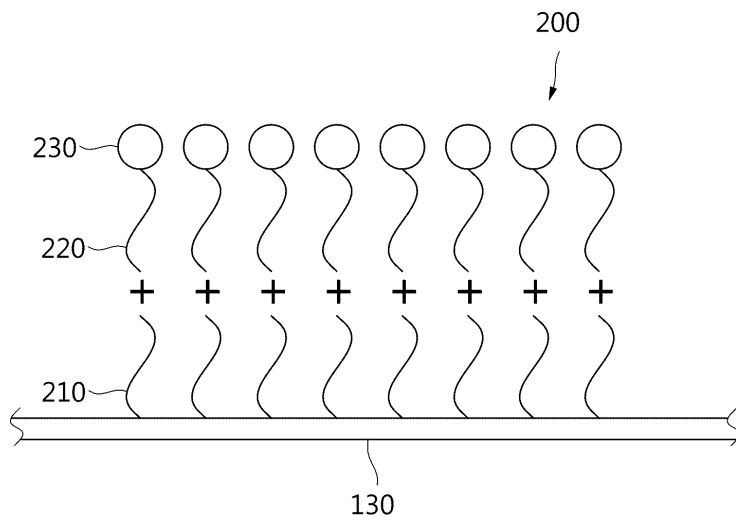
도면4



도면5



도면6



도면7

