



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년03월22일
(11) 등록번호 10-1718951
(24) 등록일자 2017년03월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 1/40 (2006.01) B01L 3/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 1/4005 (2013.01)
B01L 3/502761 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0082500
(22) 출원일자 2016년06월30일
심사청구일자 2016년06월30일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020160066891 A
KR1020100113393 A
KR1020150083722 A
KR1020080019573 A

(73) 특허권자
광운대학교 산학협력단
서울특별시 노원구 광운로 20 (월계동, 광운대학교)
(72) 발명자
이정훈
경기도 성남시 분당구 서판교로 29, 923동 501호 (판교동, 판교원마을한림플에버아파트)
이경재
서울특별시 송파구 오금로32길 5, 201동 802호 (송파동, 가락삼익맨션)
한성일
서울특별시 노원구 광운로 39-1, B동 101호 (월계동, 태광빌라)
(74) 대리인
특허법인우인

전체 청구항 수 : 총 22 항

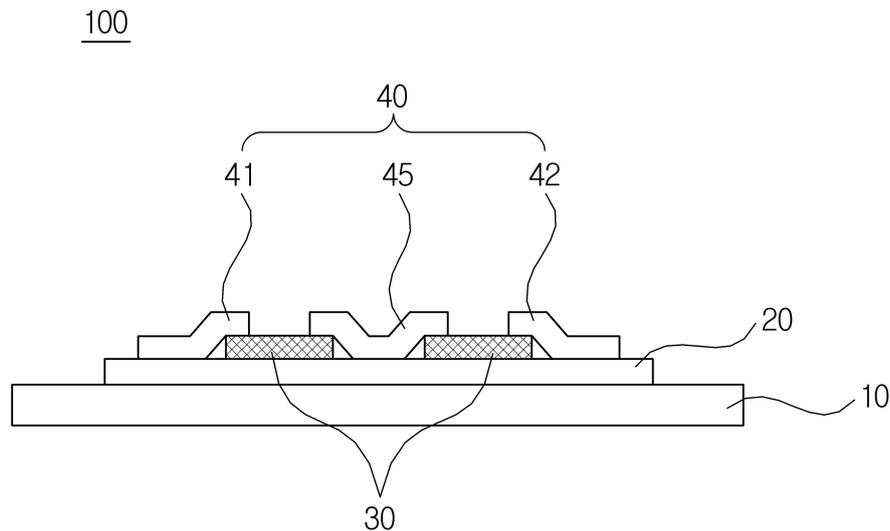
심사관 : 전형태

(54) 발명의 명칭 생체 분자 농축 장치 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 멤브레인(membrane), 레저버(reservoir), 채널(channel) 등을 이루는 선택적 이온 투과 멤브레인(ion perm-selective membrane), 셀룰로오스 페이퍼(cellulose paper) 등의 물질을 커팅하여 붙이는 매우 단순한 방법으로 저비용 제조가 가능한 생체 분자 농축 장치 및 그 제조 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



명세서

청구범위

청구항 1

일직선 상에 서로 이격되어 형성된 2개의 패턴된 선택적 이온 투과 멤브레인들; 및
 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들 사이와 양끝에 하나씩 패턴되어 형성된 다공성 멤브레인을 포함하고,
 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들의 양끝에 형성된 상기 다공성 멤브레인은 버퍼 레저버이고, 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들 사이에 형성된 상기 다공성 멤브레인은 반응 멤브레인인 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,
 상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 각각의 단부가 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들과 접하는 쪽에서 일부 오버랩되도록 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 3

제1항에 있어서,
 상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 커팅(cutting)에 의한 패턴 형성 후 부착되거나, 소수성 물질을 이용한 패터닝에 의해 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 4

제1항에 있어서,
 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들은, 커팅(cutting)에 의한 패턴 형성 후 부착되거나, 마이크로플로우 패터닝(microflow patterning) 또는 피펫팅(pipetting)의 기법으로 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 5

제1항에 있어서,
 상기 반응 멤브레인에 생체 분자를 농축하기 위해 양끝의 각 상기 버퍼 레저버에 전원이 인가되고, 상기 반응 멤브레인에 상기 생체 분자가 포함된 샘플 시료가 투여되는 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 6

제1항에 있어서,
 상기 다공성 멤브레인으로 형성되며, 상기 반응 멤브레인으로부터 연장된 부분과 일측이 연결된 채널; 및
 상기 채널의 타측에 상기 다공성 멤브레인으로 형성되며, 상기 채널의 폭 보다 좀 더 큰 폭으로 이루어진 부분을 갖는 소정의 모양으로 형성된 샘플 주입 멤브레인을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 7

제6항에 있어서,
 상기 반응 멤브레인에 생체 분자를 농축하기 위해 양끝의 각 상기 버퍼 레저버에 전원을 인가되고, 상기 샘플 주입 멤브레인에 상기 생체 분자가 포함된 샘플 시료가 투여되는 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 채널의 양측 단부 위로 상기 반응 멤브레인으로부터 연장된 부분 및 상기 샘플 주입 멤브레인의 일부와 오버랩되도록 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 반응 멤브레인, 상기 채널 및 상기 샘플 주입 멤브레인은 일체형으로 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 생체 분자 농축 장치는 기지정된 기관 상에 상기 이온 투과 멤브레인들 및 상기 다공성 멤브레인을 고정하기 위한 접착층을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 셀룰로오스 페이퍼로 이루어진 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치.

청구항 12

일직선 상에 서로 이격되도록 2개의 패터닝 선택적 이온 투과 멤브레인들을 형성하는 단계; 및

상기 선택적 이온 투과 멤브레인들 사이와 양끝에 하나씩 패터닝 다공성 멤브레인을 형성하는 단계를 포함하고,

상기 선택적 이온 투과 멤브레인들의 양끝에 형성된 상기 다공성 멤브레인은 버퍼 레저버이고, 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들 사이에 형성된 상기 다공성 멤브레인은 반응 멤브레인인 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 각각의 단부가 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들과 접하는 쪽에서 일부 오버랩되도록 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 선택적 이온 투과 멤브레인들은, 컷팅(cutting)에 의한 패터닝 형성 후 부착되거나, 마이크로플로우 패터닝(microflow patterning) 또는 피펫팅(pipetting)의 기법으로 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 컷팅(cutting)에 의한 패터닝 형성 후 부착되거나, 소수성 물질을 이용한 패터닝에 의해 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 16

제12항에 있어서,

상기 반응 멤브레인에 생체 분자를 농축하기 위해 양끝의 각 상기 버퍼 레저버에 전원이 인가되고, 상기 반응

멤브레인에 상기 생체 분자가 포함된 샘플 시료가 투여되는 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 17

제12항에 있어서,

상기 반응 멤브레인으로부터 연장된 부분과 일측이 연결되도록 상기 다공성 멤브레인으로 채널을 형성하는 단계; 및

상기 채널의 타측에, 상기 채널의 폭 보다 좀 더 큰 폭으로 이루어진 부분을 갖는 소정의 모양으로, 상기 다공성 멤브레인으로부터 이루어진 샘플 주입 멤브레인을 형성하는 단계

를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 채널을 먼저 형성한 후, 상기 반응 멤브레인을 형성하되,

상기 채널의 양측 단부 위로 상기 반응 멤브레인으로부터 연장된 부분 및 상기 샘플 주입 멤브레인의 일부와 오버랩되도록 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 19

제17항에 있어서,

상기 반응 멤브레인, 상기 채널 및 상기 샘플 주입 멤브레인은 일체형으로 형성된 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 20

제17항에 있어서,

상기 반응 멤브레인에 생체 분자를 농축하기 위해 양끝의 각 상기 버퍼 레저버에 전원을 인가되고, 상기 샘플 주입 멤브레인에 상기 생체 분자가 포함된 샘플 시료가 투여되는 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 21

제12항에 있어서,

상기 이온 투과 멤브레인들을 형성하는 단계 이전, 소정의 기관 상에 상기 이온 투과 멤브레인들 및 상기 다공성 멤브레인을 고정하기 위한 접착층을 형성하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

청구항 22

제12항에 있어서,

상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 셀룰로오스 페이퍼로 이루어진 것을 특징으로 하는 생체 분자 농축 장치의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생체 분자 농축 장치 및 그 제조방법에 관한 것으로, 특히 멤브레인(membrane), 레저버(reservoir), 채널(channel) 등을 이루는 물질을 커팅하여 붙이는 매우 단순한 방법으로 저비용 제조가 가능한 생체 분자 농축 장치 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 현대 의학은 단순히 수명을 연장하는 것이 아니라, 건강하게 오래 사는 건강수명의 연장을 실현하는 것을 목적으로 한다. 따라서, 미래의학은 치료의학 중심이 아니라, 예방의학(Preventive Medicine), 예측의학(Predictive Medicine), 맞춤형의학(Personalized Medicine)의 3P를 구현하는 것으로 패러다임이 변화하고 있다. 이를 구체적으로 실현하기 위해서는 질병의 조기발견 및 조기 치료 등이 매우 중요한 수단이 되고 있으며, 이를 위한 수단으로서 바이오마커(biomarker)에 대한 연구가 매우 활발하게 이루어지고 있다.
- [0003] 바이오마커는 정상이나 병적인 상태를 구분할 수 있거나 치료반응을 예측할 수 있고 객관적으로 측정할 수 있는 표지자를 말한다. 바이오마커에는 핵산 DNA, RNA(유전자), 단백질, 지방질, 대사물질 등과 그 패턴의 변화 등이 이용되고 있다. 즉, 당뇨병의 진단을 위한 혈중 포도당 같은 간단한 물질부터 글리백의 치료 타겟인 만성골수성 백혈병의 BCR-ABL 유전자 융합 같은 유전자 등이 모두 바이오마커에 해당하며 임상에서 실제적으로 사용하는 바이오마커이다.
- [0004] DNA(Deoxyribonucleic Acid)는 핵내에 존재하는 유전자 물질이며, 유전자는 생물체가 생성하는 단백질의 종류를 결정해주는 화학 정보가 저장된 곳이다. 인체를 구성하는 정보들은 DNA를 분석함으로써 파악할 수 있으며, 질병의 예방 및 치료를 위하여 다양한 DNA 분석 기법이 연구 개발 및 활용되고 있다. DNA를 이용하여 질병을 분석하기 위해서는 PCR(Polymerase Chain Reaction)이라는 유전자 증폭기술을 사용하고 있다. PCR은 DNA의 이중나선을 연속적으로 분리시켜 생긴 단일가닥을 새로운 이중나선을 만드는 원본으로 사용하기 위하여 열에 안정한 DNA 중합효소로 가열 및 냉각을 반복하는 것으로서, 우선 DNA에 열을 가하여 2개의 사슬로 나눈다. 이것에 '프라이머(primer)'라고 하는 짧은 DNA를 추가하여 냉각하면 프라이머가 DNA에 결합하게 된다. 이것에 DNA 폴리머라아제(Polymerase)라는 효소를 더하면 프라이머 부분이 출발점이 되어 DNA가 복제된다. 이 '가열 및 냉각'이라고 하는 1사이클로 DNA는 2배가 된다. 이것을 수십 회 반복하면 약 1시간에 DNA는 수십억 배로 불어난다.
- [0005] 단백질(protein)은 아미노산(amino acid)이라고 하는 비교적 단순한 분자들이 연결되어 만들어진 복잡한 분자로, 대체적으로 분자량이 매우 큰 편이다. 단백질을 이루고 있는 아미노산에는 약 20 종류가 있는데, 이 아미노산들이 화학결합을 통해 서로 연결되어 폴리펩티드(polypeptide)를 만든다. 이때 아미노산들의 결합을 펩티드결합이라 하며, 이러한 펩티드결합이 여러(poly-)개 존재한다는 뜻에서 폴리펩티드라 부른다. 넓은 의미에서 단백질도 폴리펩티드라 할 수 있으며, 일반적으로는 분자량이 비교적 작으면 폴리펩티드라 하고, 분자량이 매우 크면 단백질이라고 한다. 이와 같은 단백질은 생물체의 몸을 구성하는 대표적인 분자이며, 세포 내의 각종 화학 반응의 촉매 역할과 면역(免疫)을 담당하는 물질이다. 단백질은 이처럼 생체를 구성하고 생체내의 반응 및 에너지 대사에 참여하는 매우 중요한 유기물이다.
- [0006] 상기와 같은 DNA 또는 단백질을 분석하여 암 또는 질병의 발연 및 진행 정도를 파악할 수 있다. 특히 암 등의 난치병 조기진단과 치료를 위해서는 혈액 속에 들어 있는 단백질 중 정상세포가 암세포로 발전하는 초기 단계에서 미세한 변화를 보이는 지표 단백질을 찾아내는 혈액지문분석 기법이 알려져 있다. 혈액지문분석이란, 암의 유무에 따라 인체의 대사 물질들이 변화될 수 있다는데 착안하여, 암환자들의 혈액 내에 존재하는 대사 물질들의 질량분석데이터를 종합적으로 분석해 패턴의 변화추이를 통해 암 발생 여부를 진단하는 기법이다. 혈액지문분석은 혈액으로부터 곧바로 암 발생 여부를 진단할 수 있어 신속하게 정보를 획득할 수 있다는 장점이 있다.
- [0007] 그러나, 현재 단백질 분석을 위한 기술 및 소자들은 나노 기술을 이용함으로써 소자의 제작이 어렵고 비교적 고가여서 보급화 되기 어려운 문제점이 있다. 또한, 단백질 분석 장치에 고감도의 센서가 필요하거나 적은 양의 샘플로는 정확한 분석이 어렵다는 단점이 있다. 한편 최근에는 나노기술과 MEMS(Micro Electro Mechanical Systems) 기술의 발전으로 이를 단일의 유체 소자 내에 나노 구조물로 패터닝하여 적은 양의 시료만으로도 필요로 하는 물질을 신속히 분리 및 정제할 수 있게 되었으며, 이러한 기술들을 생명공학 및 의료공학 분야에 적용하고자 하는 노력들이 활발히 이루어지고 있다. 또한, 발전된 MEMS/NEMS 기술은 보다 정밀하게 나노구조물을 원하는 위치에 수 나노의 오차한계로 패터닝할 수 있게 되었으며, 이러한 기술은 미세유체채널과 결합되어 미세 종합분석시스템(micro total analysis system; μ -TAS) 또는 랩온어칩 (Lab-on-a-chip)으로 활발히 연구되고 있다.
- [0008] 특히 유리나 기타 무겁고 비싼 재료를 이용하여 적은 양의 샘플 시료에서도 생체 분자를 농축하여 검출 정확도를 향상시킬 수 있는 생체 분자 농축 장치를 구현하는 방식이 알려져 있으며, 이는 분석 대상 물질을 좁은 관이나 얇은 판을 통해 확산시키면서 일정 위치에 표적 물질을 농축할 수 있도록 막을 형성하는 방식이다. 하지만 이러한 방식들은 농축 장치의 제조가 어렵거나 많은 비용이 들어가고 농축 장치가 크고 무겁거나 취급이 불편한

점 등의 문제점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국 공개 특허 제 10-2015-0083722호 (2015.08.20 공개)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 멤브레인(membrane), 레저버(reservoir), 채널(channel) 등을 이루는 선택적 이온 투과 멤브레인(ion perm-selective membrane), 셀룰로오스 페이퍼(cellulose paper) 등의 물질을 커팅하여 붙이는 매우 단순한 방법으로 저비용 제조가 가능한 생체 분자 농축 장치를 제공하는데 있다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 상기 목적을 달성하기 위한 생체 분자 농축 장치 제조 방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기의 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일면에 따른 생체 분자 농축 장치는, 일직선 상에 서로 이격되어 형성된 2개의 패턴된 선택적 이온 투과 멤브레인들; 및 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들 사이와 양끝에 하나씩 패턴되어 형성된 다공성 멤브레인을 포함하고, 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들의 양끝에 형성된 상기 다공성 멤브레인은 버퍼 레저버이고, 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들 사이에 형성된 상기 다공성 멤브레인은 반응 멤브레인인 것을 특징으로 한다.

[0013] 상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 각각의 단부가 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들과 접하는 쪽에서 일부 오버랩되도록 형성된 것을 특징으로 한다.

[0014] 상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 컷팅(cutting)에 의한 패턴 형성 후 부착되거나, 소수성 물질을 이용한 패턴닝에 의해 형성된 것을 특징으로 한다.

[0015] 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들은, 컷팅(cutting)에 의한 패턴 형성 후 부착되거나, 마이크로플로우 패턴닝(microflow patterning) 또는 피펫팅(pipetting)의 기법으로 형성된 것을 특징으로 한다.

[0016] 상기 반응 멤브레인에 생체 분자를 농축하기 위해 양끝의 각 상기 버퍼 레저버에 전원이 인가되고, 상기 반응 멤브레인에 상기 생체 분자가 포함된 샘플 시료가 투여되는 것을 특징으로 한다.

[0017] 상기 다공성 멤브레인으로 형성되며, 상기 반응 멤브레인으로부터 연장된 부분과 일측이 연결된 채널; 및 상기 채널의 타측에 상기 다공성 멤브레인으로 형성되며, 상기 채널의 폭 보다 좀 더 큰 폭으로 이루어진 부분을 갖는 소정의 모양으로 형성된 샘플 주입 멤브레인을 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0018] 상기 반응 멤브레인에 생체 분자를 농축하기 위해 양끝의 각 상기 버퍼 레저버에 전원을 인가되고, 상기 샘플 주입 멤브레인에 상기 생체 분자가 포함된 샘플 시료가 투여되는 것을 특징으로 한다.

[0019] 상기 채널의 양측 단부 위로 상기 반응 멤브레인으로부터 연장된 부분 및 상기 샘플 주입 멤브레인의 일부와 오버랩되도록 형성된 것을 특징으로 한다.

[0020] 상기 반응 멤브레인, 상기 채널 및 상기 샘플 주입 멤브레인은 일체형으로 형성된 것을 특징으로 한다.

[0021] 상기 생체 분자 농축 장치는 기지정된 기판 상에 상기 이온 투과 멤브레인들 및 상기 다공성 멤브레인을 고정하기 위한 접착층을 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0022] 상기 버퍼 레저버 및 상기 반응 멤브레인은, 셀룰로오스 페이퍼로 이루어진 것을 특징으로 한다.

[0023] 상기의 다른 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일면에 따른 생체 분자 농축 장치의 제조 방법은, 일직선 상에 서로 이격되도록 2개의 패턴된 선택적 이온 투과 멤브레인들을 형성하는 단계; 및 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들 사이와 양끝에 하나씩 패턴된 다공성 멤브레인을 형성하는 단계를 포함하고, 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들의 양끝에 형성된 상기 다공성 멤브레인은 버퍼 레저버이고, 상기 선택적 이온 투과 멤브레인들 사이에

형성된 상기 다공성 멤브레인은 반응 멤브레인인 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0024] 따라서, 본 발명의 생체 분자 농축 장치는, 기존과 같이 왁스 패터닝(wax-patterning), 디핑(dipping), 소킹(soaking) 등의 소수성 물질을 패터닝 혹은 적시는 과정이 필요 없이, 멤브레인(membrane), 레저버(reservoir), 채널(channel) 등을 이루는 선택적 이온 투과 멤브레인(ion perm-selective membrane), 셀룰로오스 페이퍼(cellulose paper) 등의 다공성 멤브레인(Porous membrane)을 커팅하여 커팅하여 붙이는 매우 간단한 방법으로 저비용 제조가 가능하다.

[0025] 또한, 본 발명의 생체 분자 농축 장치에서, 반응 멤브레인(reaction membrane)은 다양한 방식(예, Inkjet printing, pipetting, soaking 등)으로 단백질 또는 항체들을 고정화하고 전혈(whole blood)에서 분리된 혈장(plasma) 내의 항원이 되는 단백질(protein)을 농축함으로써, 실시간 현장 진단이 가능한 고감도의 농축기를 제공할 수 있다. 기존의 종이 기반 농축기에서는 비색분석(colorimetric assay)의 반응 멤브레인 영역의 반응을 육안으로 양성 혹은 음성 반응을 판별함에 있어서 제한이 있었지만, 본 발명은 수 ng 이하의 전혈 내의 단백질(biomarker)을 수 천 배 이상 농축하여 육안으로도 반응 판별이 용이하고 조기 질병 검출 및 진단이 가능하다.

[0026] 그리고, 본 발명의 생체 분자 농축 장치에서, 빠른 시간에 생체 분자의 고농축이 가능하므로 다중화(multiplexing) 분석기술로 확장이 용이하며, 사람 혈청(human serum)이나 전혈(whole blood) 등에서의 단백질 등 생체 분자의 농축에 활용이 가능하고, 적절한 하우스징(housing)을 통하여 임신진단키트와 같은 래피드 키트(rapid kit), 또는 혈당센서와 같은 카트리지 형태로도 구현이 용이하여 스마트폰 등 이동통신 단말기와와의 연동 기술을 편리하게 접목시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 생체 분자 농축 장치의 측면도를 나타낸다.
- 도 2는 도 1의 생체 분자 농축 장치를 설명하기 위한 분해 사시도와 상면도를 나타낸다.
- 도 3은 도 1의 생체 분자 농축 장치의 제조 방법을 설명하기 위한 도면이다.
- 도 4는 도 1의 생체 분자 농축 장치의 구현 예와 실제 농축 동작에 대한 실험 예를 나타낸다.
- 도 5는 본 발명의 다른 실시예에 따른 생체 분자 농축 장치를 나타낸다.
- 도 6a와 도 6b는 본 발명의 생체 분자 농축 장치를 이용하여 서로 다른 조건의 혈청 샘플에 대해 실험을 수행한 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 본 발명과 본 발명의 동작상의 이점 및 본 발명의 실시예에 의하여 달성되는 목적을 충분히 이해하기 위해서는 본 발명의 바람직한 실시예를 예시하는 첨부 도면 및 첨부 도면에 기재된 내용을 참조하여야만 한다.

[0029] 이하, 첨부한 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 설명함으로써, 본 발명을 상세히 설명한다. 그러나, 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며, 설명하는 실시예에 한정되는 것이 아니다. 그리고, 본 발명을 명확하게 설명하기 위하여 설명과 관계없는 부분은 생략되며, 도면의 동일한 참조부호는 동일한 부재임을 나타낸다. 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 의미한다.

[0030] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 생체 분자 농축 장치의 측면도를 나타내고, 도 2는 도 1의 생체 분자 농축 장치를 설명하기 위한 분해 사시도와 상면도를 나타낸다.

[0031] 도 1 및 도 2를 참조하면, 본 발명의 생체 분자 농축 장치(100)는, 기관(10), 기관(10) 상에 부착되는 양면 테이프 등의 접착층(20), 접착층(20) 상의 일직선 상에 서로 이격되어 형성/부착되는 2개의 패터닝 선택적 이온 투과 멤브레인들(ion perm-selective membrane)(30) 및 2개의 패터닝 선택적 이온 투과 멤브레인들(30) 사이와 양끝에 하나씩 패터닝되어 형성/부착된 다공성 멤브레인들(Porous membrane)(40)을 포함하되, 패터닝 다공성 멤브레인들(40)은 선택적 이온 투과 멤브레인들(30)과 접하는 쪽에서 각각의 단부가 선택적 이온 투과 멤브레인(30) 위로 일부 오버랩(overlap)되도록 형성/부착된다. 다공성 멤브레인들(40) 중 양끝의 부착된 페이퍼는 버퍼 레저버(reservoir)(41, 42), 다공성 멤브레인들(40) 중 중앙에 형성/부착된 페이퍼는 반응 멤브레인(reaction

membrane)(45)로서 동작한다.

- [0032] 여기서, 다공성 멤브레인(40)은 대표적인 일 예로 셀룰로오스 페이퍼(cellulose paper)로 구현될 수 있으며, passive capillary force를 형성할 수 있는 다른 종류의 물질로도 다공성 멤브레인이 구현될 수 있다. 또한, 이하에서 선택적 이온 투과 멤브레인(30)이 2개의 패턴된 경우를 예로 들어 설명하지만, 경우에 따라 일직선 상에 더 많은 수가 패턴되어 부착될 수도 있음을 미리 밝혀 둔다.
- [0033] 기관(10)은 생체 분자 농축을 위한 동작을 수행하는 구성 요소는 아니며, 생체 분자 농축 장치(100)가 안정된 형태를 유지할 수 있도록 하는 지지판으로서의 역할을 수행한다. 따라서 지지판으로 기능할 수 있는 다양한 재료가 기관(10)으로 이용될 수 있다. 기관(10)은 글래스 기관, PC(Polycarbonate) 또는 PDMS(polydimethylsiloxane) 등의 플라스틱 기관, 또는 실리콘 기관 등으로 구현될 수 있으나, 본 발명에서는 일예로 유리로 구현된 것으로 가정한다.
- [0034] 접착층(20) 또한 생체 분자 농축을 수행하기 위한 구성요소가 아니라, 실제 생체 분자 농축 기능을 수행하는 선택적 이온 투과 멤브레인(30)과 다공성 멤브레인(40)을 기관에 부착하여 흔들림없이 안정된 형태를 유지하도록 한다. 접착층(20)은 선택적 이온 투과 멤브레인(30)과 다공성 멤브레인(40)을 기관(10)에 부착하여 고정시킬 수 있는 다양한 재료가 사용될 수 있으나, 본 발명에서는 사용의 편의성과 비용 등을 고려하여 일예로 양면 테이프(double-sided tape)가 접착층(20)으로 이용되는 것으로 가정한다.
- [0035] 선택적 이온 투과 멤브레인(30)은 마이크로플로우 패턴닝(microflow patterning)이나 피펫팅(pipetting) 기법을 이용하여 접착층(20)에 직접 지지정된 패턴에 따라 소정의 두께와 길이를 갖는 나피온(Nafion) 멤브레인으로 형성될 수 있다. 다만, 본 발명은 저비용으로 용이하게 제조가 가능한 생체 분자 농축 장치를 제공하는 것을 특징으로 하고 있으므로, 미리 형성된 나피온 멤브레인을 커팅(cutting)하여 패턴을 형성하고 접착층(20)에 부착하는 것이 바람직하다. 선택적 이온 투과 멤브레인(30)은 수백나노에서 수십 마이크로미터의 두께를 갖도록 형성될 수 있으며, 수십에서 수백 마이크로 미터의 폭을 갖는 사각 패턴으로 형성될 수 있다. 선택적 이온 투과 멤브레인(30)은 나피온 이외에도 polystyrene sulfonate (PSS), polyallylamine hydrochloride (PAH) 등의 고분자 전해질(polyelectrolyte)로도 구현될 수 있으며, 선택적으로 이온 투과가 가능한 물질이라면 어떠한 물질로 구현되더라도 무방하다.
- [0036] 선택적 이온 투과 멤브레인(30)은 특정 이온 물질을 선택적으로 투과시키는 막으로서 나노 필터(nano filter)의 기능을 수행하는 나노 채널(nano channel)을 구현하기 위한 구성요소이다. 선택적 이온 투과막(ipsm)은 일예로 양성자(proton)를 선택하여 투과시키는 나노 필터로서 기능할 수 있다. 선택적 이온 투과 멤브레인(30)이 나피온(nafion)으로 구현되는 경우, 나피온의 화학 구조 중 SO₃-로 인해서 H⁺ 이온이 호핑(hopping) 및 비히클 기전(vehicle mechanism)(K. -D. Kreuer, Chem. Mater. 1996, 8, 610-641)에 의하여 선택적으로 빠르게 투과되도록 한다. 따라서, 선택적 이온 투과 멤브레인(30)은 나노 필터의 기능을 수행할 수 있다.
- [0037] 다공성 멤브레인들(40) 중 양단에 부착되는 버퍼 레저버(41, 42)는 전극을 통해 외부 전압을 인가받아 선택적 이온 투과 멤브레인들(30)과 다공성 멤브레인들(40)에 전위차를 발생한다. 버퍼 레저버(41, 42)에는 도 2의 (b)에 도시된 바와 같이, 와이어를 통해 외부로부터 각각 서로 다른 전압 레벨을 갖는 제1 전압(V1, 예를 들어 접지 전압) 및 제2 전압(V2)이 인가되도록 구성될 수도 있으나, 외부 전원과 연결될 수 있도록 박막전극이 미리 구비되어 있을 수도 있다.
- [0038] 한편, 선택적 이온 투과 멤브레인들(30) 사이에 부착되는 반응 멤브레인(45)은 양단의 선택적 이온 투과 멤브레인(30)과 접하는 쪽에서 일부가 위로 오버랩되어 중첩되도록 부착된다. 반응 멤브레인(45)에 혈액, 혈청 등 샘플 시료가 투여될 수 있고, 샘플 시료에 포함된 다양한 물질들 중 표적 물질을 제외한 물질들은 버퍼 레저버(41, 42)로 빠져 나가면서 표적 물질(예, 단백질)이 반응 멤브레인(45)에 농축되도록 동작한다.
- [0039] 예를 들어, 반응 멤브레인(45)에 혈액 샘플이 투여되면, 반응 멤브레인(45)과 선택적 이온 투과 멤브레인(30)이 중첩된 영역에서, 선택적 이온 투과 멤브레인(30)의 표면에 혈액 유체가 접촉되면서 둘 사이에 서로 다른 성질의 유도 전하가 발생한다. 이와 같이 유체 내에 발생한 유도 전하들이 존재하는 특정한 층을 전기 이중층(EDL: Electric Double Layer)이라고 한다. 이때 양단에 배치된 버퍼 레저버(41, 42)에 외부 전원이 인가되어 전압차가 발생하면, 전압차에 따른 전기장에 의해 유체 내에 존재하는 이온들이 각 이온의 전기적 성질과 반대인 전극 쪽으로 이끌리게 된다. 이와 같이 이온들이 전기적 성질에 따라서 반응 멤브레인(45) 내에서 움직이면서 점성력에 의해 유체 입자들을 같이 이끌고 가게 된다. 따라서 전체적인 유체의 유동이 발생하게 되며, 이와 같은 유체의 이동현상을 전기삼투(EOF: electro-osmosis flow)라고 하고, 이온의 움직임을 전기영동(EP:

electrophoresis)이라 한다.

- [0040] 이러한 전기영동(Capillary electrophoresis) 및 전기삼투(electro-osmosis)의 특성은 선택적 이온 투과막(ipsm)으로 구현된 나노 채널 근처에서 그 특성이 달라져, 이온 농도 분극(ion concentration polarization : ICP)이 발생한다. 따라서, 나노 채널로서 기능하는 선택적 이온 투과 멤브레인(30)과 중첩 배치된 반응 멤브레인(45)의 반응 영역에서 음극쪽에는 이온 결핍(depletion)이 발생하고, 양극쪽에서는 이온 농축(enrichment)이 발생하게 된다. 이때, 결핍된 낮은 이온농도와 그에 따른 높은 전기장에 의해 결핍 영역(depletion zone)이 전하(charge)를 띤 단백질에 대해 일종의 전기적 장벽(electric barrier)으로 작용을 하게 된다. 그 결과 단백질은 결핍 영역을 통과하지 못하고 그 앞에 농축된다. 즉 표적 물질인 단백질이 반응 멤브레인(45) 내의 결핍 영역 앞에 매우 빠른 시간에 농축된다. 이온 농도 분극에 의한 결핍 영역의 크기는 시료의 이온 농도 분극이 진행됨에 따라 확장되므로, 표적 물질인 단백질은 반응 멤브레인(45)에서 이온 투과 멤브레인(30)과 중첩된 양끝 단부이 아닌 가운데 영역에서 농축이 된다.
- [0041] 도 3은 도 1의 생체 분자 농축 장치(100)의 제조 방법을 설명하기 위한 도면이다.
- [0042] 도 3을 참조하면, 먼저, S100 단계와 같이, 글래스, 플라스틱, 또는 실리콘 등의 재질로 이루어진 적절한 기판(10)을 준비하고, 기판(10) 상에 양면 테이프 등과 같은 접착층(20)을 형성 또는 고정한다.
- [0043] 다음에, S200 단계와 같이, 접착층(20) 상의 일직선 상에 서로 이격되도록 2개의 패턴된 선택적 이온 투과 멤브레인들(30)을 형성 또는 부착한다. 선택적 이온 투과 멤브레인(30)은 나피온(Nafion), polystyrene sulfonate (PSS), polyallylamine hydrochloride (PAH) 등의 고분자 전해질(polyelectrolyte) 등의 재질로 이루어지며, 이외에도 선택적으로 이온 투과가 가능한 물질이라면 어떠한 물질로 구현되더라도 무방하다. 선택적 이온 투과 멤브레인(30)은 소정의 두께와 폭 및 길이를 갖도록 위와 같은 재질의 멤브레인을 커팅(cutting)하여 패턴을 형성하고 접착층(20)에 부착하는 것이 바람직하다. 이외에도 선택적 이온 투과 멤브레인(30)은 마이크로플로우 패터닝(microflow patterning)이나 피펫팅(pipetting) 등의 기법을 이용하여 패턴을 소정의 패턴을 갖도록 형성될 수도 있다.
- [0044] 다음에, S300 단계와 같이, 2개의 패턴된 선택적 이온 투과 멤브레인들(30) 사이와 그 양끝에 하나씩 패턴된 다공성 멤브레인들(40)을 형성 또는 부착한다. 이때, 패턴된 다공성 멤브레인들(40)은 선택적 이온 투과 멤브레인들(30)과 접하는 쪽에서 각각의 단부가 선택적 이온 투과 멤브레인(30) 위로 일부 오버랩(overlap)되도록 형성 또는 부착된다. 다공성 멤브레인들(40) 중 양끝의 부착된 페이지퍼는 버퍼 레저버(reservoir)(41, 42)으로 동작하고, 다공성 멤브레인들(40) 중 중앙에 부착된 페이지퍼는 반응 멤브레인(reaction membrane)(45)로서 동작한다. 다공성 멤브레인(40)에 해당하는 셀룰로오스 페이지퍼들은 소정의 두께와 폭 및 길이를 갖도록 커팅(cutting)하여 패턴을 형성하고 부착하는 것이 바람직하다. 이외에도 다공성 멤브레인들(40)은 소수성 물질(예, 왁스, 테프론, 툴루엔, silane 등)을 이용한 패터닝 기술에 의해 형성될 수도 있다.
- [0045] 이후, S400 단계와 같이, 버퍼 레저버(41, 42)에는 서로 다른 전압 레벨을 갖는 제1 전압(V1, 예를 들어 접지 전압) 및 제2 전압(V2)을 인가하고, 반응 멤브레인(45)에 전혈, 혈청 등 샘플 시료를 투여하여 생체 분자를 농축할 수 있게 된다.
- [0046] 도 4는 도 1의 생체 분자 농축 장치(100)의 구현 예와 실제 농축 동작에 대한 실험 예를 나타낸다. 도 4의 410은 반응 멤브레인(45)에 샘플 시료가 투여된 상태의 사진이며, 도 4의 420은 샘플 시료가 투여되고, 버퍼 레저버(41, 42)에 제1 전압 및 제2 전압(V2)을 인가된 3분 후에 반응 멤브레인(45)에 표적 물질(예, 단백질) 농축된 모습을 보여주는 사진이다.
- [0047] 도 4와 같이, 버퍼 레저버(41, 42)에 서로 다른 전압 레벨을 갖는 제1 전압(V1, 예를 들어 접지) 및 제2 전압(V2)을 인가하고, 반응 멤브레인(45)에 전혈, 혈청 등 샘플 시료를 투여하면, 이때 위에서 기술한 바와 같은 전기영동(Capillary electrophoresis) 및 전기삼투(electro-osmosis) 등의 원리에 따라, 샘플 시료에 포함된 다양한 물질들 중 표적 물질을 제외한 물질들은 버퍼 레저버(41, 42)로 빠져 나가면서 표적 물질(예, 단백질)이 반응 멤브레인(45)에 농축될 수 있다. 이때 표적 물질은 상기한 바와 같이, 결핍 영역의 앞에 농축되므로, 420에 도시된 바와 같이 반응 멤브레인(45)의 일측단이 아니라 가운데 영역에 농축된다.
- [0048] 본 발명에서는 시료인 수 ng 이하의 전혈 내에서 표적 물질인 단백질(biomarker)을 이온 농도 분극(ion concentration polarization : ICP)을 통해 분리하고 수 천 배 이상 농축할 수 있으므로 육안으로도 반응 판별이 용이하고 조기 질병 검출 및 진단이 가능함을 확인할 수 있다.

- [0049] 도 5는 본 발명의 다른 실시예에 따른 생체 분자 농축 장치(200)를 나타낸다.
- [0050] 도 5를 참조하면, 본 발명의 다른 실시예에 따른 생체 분자 농축 장치(200)는, 도 2에서와 같이 기관(10), 접촉층(20), 선택적 이온 투과 멤브레인들(30), 다공성 멤브레인들(40)을 포함한다. 다만, 여기서는 다공성 멤브레인들(40)은 버퍼 레저버(41, 42), 반응 멤브레인 (45) 이외에도 채널(48)과 샘플 주입 멤브레인(sample injection membrane)(49)을 더 포함한다.
- [0051] 즉, 반응 멤브레인(45)은 선택적 이온 투과 멤브레인(30)과 중첩되는 방향에 수직한 방향으로 일부 연장된 부분(또는 돌기 부분)을 가지며, 상기 연장된 부분은 미리 형성되거나 부착된 채널(48)의 일측 단부의 위로 일부가 오버랩되도록 형성되거나 부착된다. 샘플 주입 멤브레인(49)은 채널(48)의 타측 단부의 위로 일부(예, 돌기 부분)가 오버랩되도록 형성되거나 부착된다. 샘플 주입 멤브레인(49)은 전혈 등 샘플 시료를 투여하기 위한 부분으로서, 채널(48)의 폭 보다는 좀 더 큰 폭으로 이루어진 부분을 갖는 소정의 모양(예, 사각형, 원형)으로 형성될 수 있으며, 도 5와 같이 채널(48)과 오버랩되는 부분을 위하여 돌기 부분을 포함할 수 있다.
- [0052] 버퍼 레저버(41, 42), 반응 멤브레인(45), 채널(48), 샘플 주입 멤브레인(49)을 포함하는 다공성 멤브레인들(40)은 모두 같은 소정의 두께로 이루어질 수 있으며, 일 예로 셀룰로오스 페이퍼(cellulose paper)로 구현될 수 있다.
- [0053] 이와 같이 생체 분자 농축 장치(200)의 제조를 위하여, 다공성 멤브레인들(40)의 형성/부착 공정에서는, 버퍼 레저버(41, 42)와 채널(48)을 미리 형성/부착한 후, 반응 멤브레인(45), 샘플 주입 멤브레인(49)을 위와 같은 해당 위치에 형성/부착하는 2단계로 이루어질 수 있다. 여기서, 버퍼 레저버(41, 42)는 채널(48), 반응 멤브레인(45), 샘플 주입 멤브레인(49)을 형성/부착한 후에 형성/부착될 수도 있다.
- [0054] 다만, 경우에 따라서는 채널(48)을 미리 형성/부착하지 않고, 반응 멤브레인(45), 채널(48), 샘플 주입 멤브레인(49)을 일체형으로 형성/부착할 수도 있다. 이때에는, 버퍼 레저버(41, 42)를 형성/부착한 후 상기 일체형을 형성/부착할 수도 있고, 상기 일체형을 먼저 형성/부착한 후 버퍼 레저버(41, 42)를 형성/부착할 수도 있다.
- [0055] 셀룰로오스 페이퍼와 같은 다공성 멤브레인(40)으로 형성되는 반응 멤브레인(45), 채널(48), 샘플 주입 멤브레인(49)은, 위에서도 기술한 바와 같이, 커팅(cutting)에 의한 패턴 형성 후 부착될 수도 있고, 소수성 물질을 이용한 패터닝에 의해 형성될 수도 있다.
- [0056] 도 5에서도, 버퍼 레저버(41, 42)에 서로 다른 전압 레벨을 갖는 제1 전압(V1, 예를 들어 접지) 및 제2 전압(V2)을 인가하고, 샘플 주입 멤브레인(49)에 전혈 등 샘플 시료를 투여하면, 샘플 시료는 채널(48)을 따라 반응 멤브레인(45)으로 흐른다. 반응 멤브레인(45)에서는 위에서 기술한 바와 같은 전기영동(Capillary electrophoresis) 및 전기삼투(electro-osmosis) 등의 원리에 따라, 샘플 시료에 포함된 다양한 물질들 중 표적 물질을 제외한 물질들이 버퍼 레저버(41, 42)로 빠져 나가도록 한다. 이에 따라 표적 물질(예, 단백질)이 반응 멤브레인(45)에 농축될 수 있다. 본 발명에서는 시료인 수 ng 이하의 전혈 내에서 표적 물질인 단백질(biomarker)을 이온 농도 분극(ion concentration polarization : ICP)을 통해 분리하고 수 천 배 이상 농축할 수 있으므로 육안으로도 반응 판별이 용이하고 조기 질병 검출 및 진단이 가능하다.
- [0057] 도 6 은 본 발명의 생체 분자 농축 장치(100/200)를 이용하여 서로 다른 조건의 혈청(serum) 샘플에 대해 실험을 수행한 결과를 나타낸다.
- [0058] 도 6의 (a)는 0.4x 사람 혈청(serum) 샘플 2 μ l를 투여하여 10분 후에 반응 멤브레인(45)에 농축된 단백질에 대하여 발광 분광 분석법 등에 의한 발광강도와 농축 농도를 비교한 결과이다. (a)는 버퍼 레저버(41, 42) 사이에 50 ~ 100V의 전압을 소정의 스텝(예, 10V 스텝)으로 인가한 경우, 100V의 전압을 인가할 때의 최대 발광강도(peak)와 평균 발광강도(mean) 및 농축 농도를 나타내었다. (a)와 같이, 최대 발광강도(peak)에서의 10분 후의 농축 농도(15.5 μ M)가 샘플 투여 시작 시의 농축 농도(1.55 μ M)에 비하여 10배 높게 나타남을 알 수 있다.
- [0059] (b)는 1.0x 사람 혈청(serum) 샘플 2 μ l를 투여하여 10분 후에 반응 멤브레인(45)에 농축된 단백질에 대하여 발광 분광 분석법 등에 의한 발광강도와 농축 농도를 비교한 결과이다. (b)와 같이, 버퍼 레저버(41, 42) 사이에 75V의 전압을 인가할 때의 농축 농도(4.65 μ M)가 10분 후에 버퍼 레저버(41, 42) 사이에 50V의 전압을 인가할 때의 농축 농도(1.55 μ M)에 비하여 3배 높게 나타남을 알 수 있다.
- [0060] 상술한 바와 같이, 따라서, 본 발명의 생체 분자 농축 장치(100/200)는, 기존과 같이 왁스 패터닝(wax-patterning), 디핑(dipping), 소킹(soaking) 등의 소수성 물질을 패터닝 혹은 적시는 과정이 필요 없이, 멤브레인(membrane), 레저버(reservoir), 채널(channel) 등을 이루는 선택적 이온 투과 멤브레인(ion perm-selective

membrane)과 셀룰로오스 페이퍼(cellulose paper) 등의 다공성 멤브레인(Porous membrane)을 커팅하여 붙이는 매우 간단한 방법으로 저비용 제조가 가능하다. 또한, 본 발명의 생체 분자 농축 장치(100/200)에서, 반응 멤브레인(45)은 다양한 방식(예, Inkjet printing, pipetting, soaking 등)으로 단백질 또는 항체들을 고정화하고 전혈(whole blood)에서 분리된 혈장(plasma) 내의 항원이 되는 단백질(protein)을 농축함으로써, 실시간 현장 진단이 가능한 고감도의 농축기를 제공할 수 있다. 기존의 종이기반 농축기에서는 비색분석(colorimetric assay)의 반응 멤브레인 영역의 반응을 육안으로 양성 혹은 음성 반응을 판별함에 있어서 제한이 있었지만, 본 발명은 수 ng 이하의 전혈 내의 단백질(biomarker)을 수 천 배 이상 농축하여 육안으로도 반응 판별이 용이하고 조기 질병 검출 및 진단이 가능하다.

[0061] 그리고, 본 발명의 생체 분자 농축 장치(100/200)에서, 빠른 시간에 생체 분자의 고농축이 가능하므로 다중화(multiplexing) 분석기술로 확장이 용이하며, 사람 혈청(human serum)이나 전혈(whole blood) 등에서의 단백질 등 생체 분자의 농축에 활용이 가능하고, 적절한 하우스징(housing)을 통하여 임신진단키트와 같은 래피드 키트(rapid kit), 또는 혈당센서와 같은 카트리지 형태로도 구현이 용이하여 스마트폰 등 이동통신 단말기와의 연동 기술을 편리하게 접목시킬 수 있다.

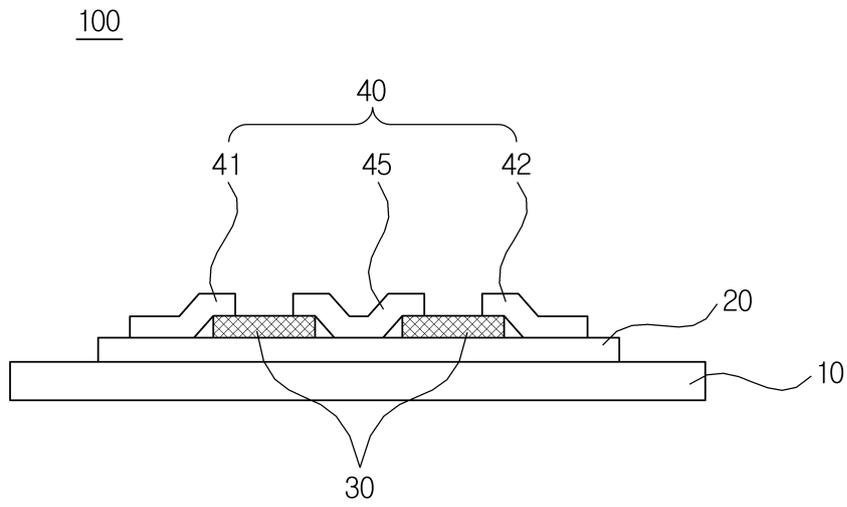
[0062] 이상과 같이 본 발명에서는 구체적인 구성요소 등과 같은 특정 사항들과 한정된 실시예 및 도면에 의해 설명되었으나 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상적인 지식을 가진 자라면 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 다양한 수정 및 변형이 가능할 것이다. 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니되며, 후술하는 청구범위 뿐만 아니라 이 청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 기술사상은 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

부호의 설명

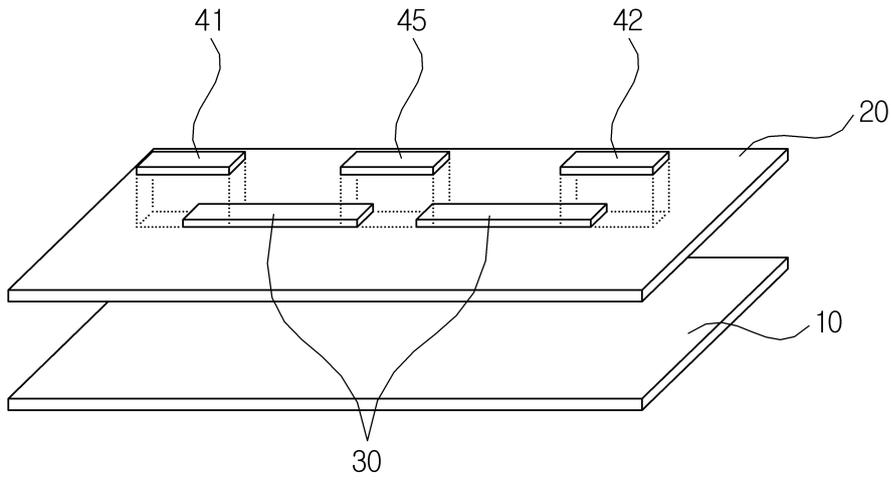
- [0063] 기관(10)
- 접착층(20)
- 선택적 이온 투과 멤브레인(30)
- 다공성 멤브레인(40)
- 버퍼 레저버(41, 42)
- 반응 멤브레인(45)
- 채널(48)
- 샘플 주입 멤브레인(49)

도면

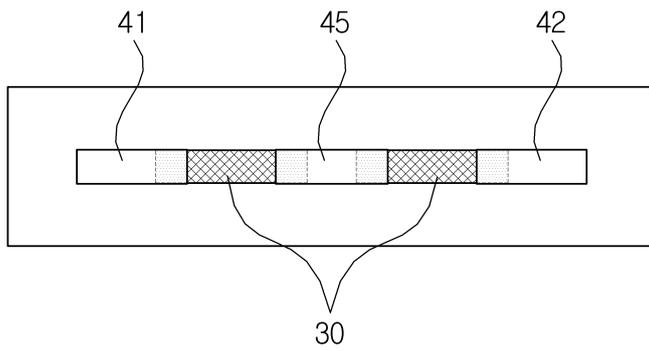
도면1



도면2

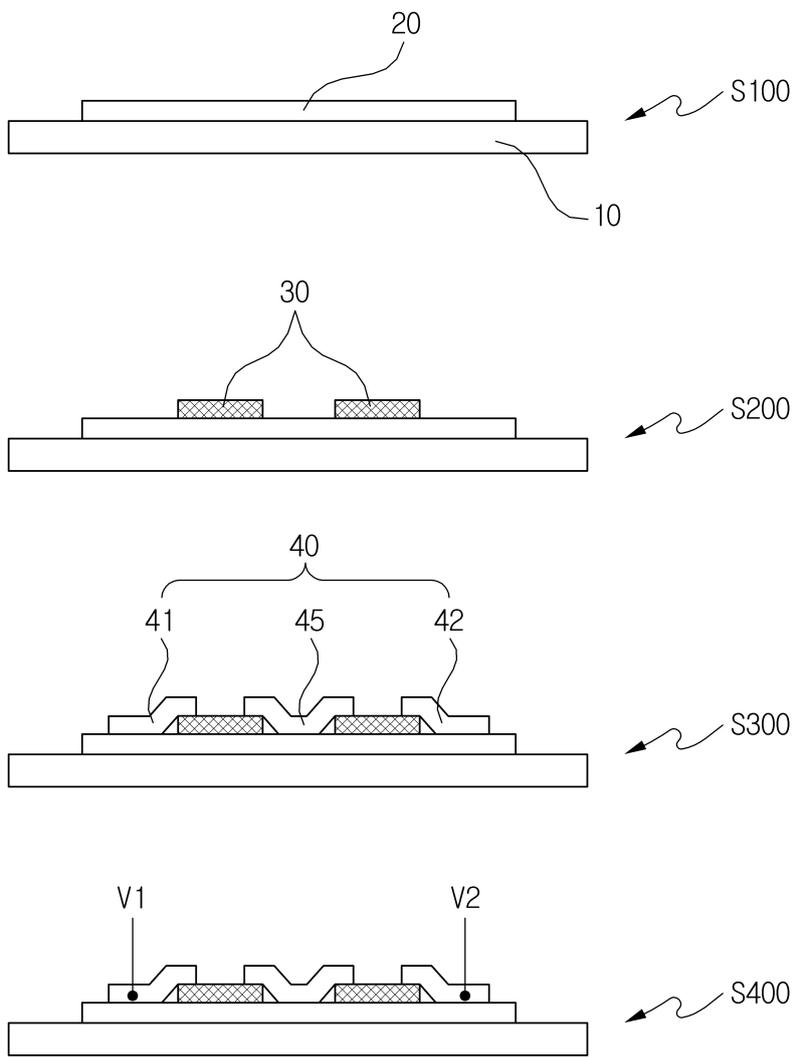


(a)



(b)

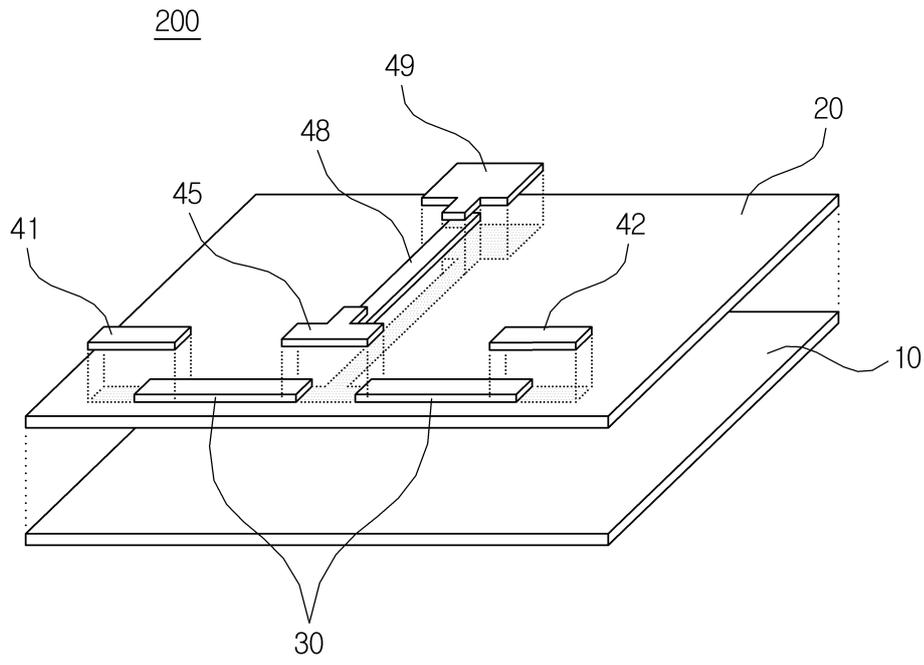
도면3



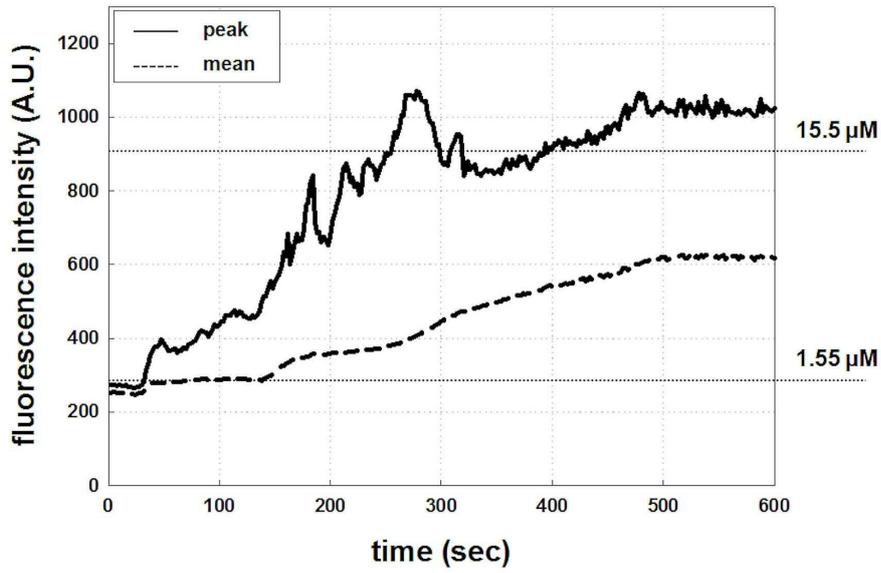
도면4



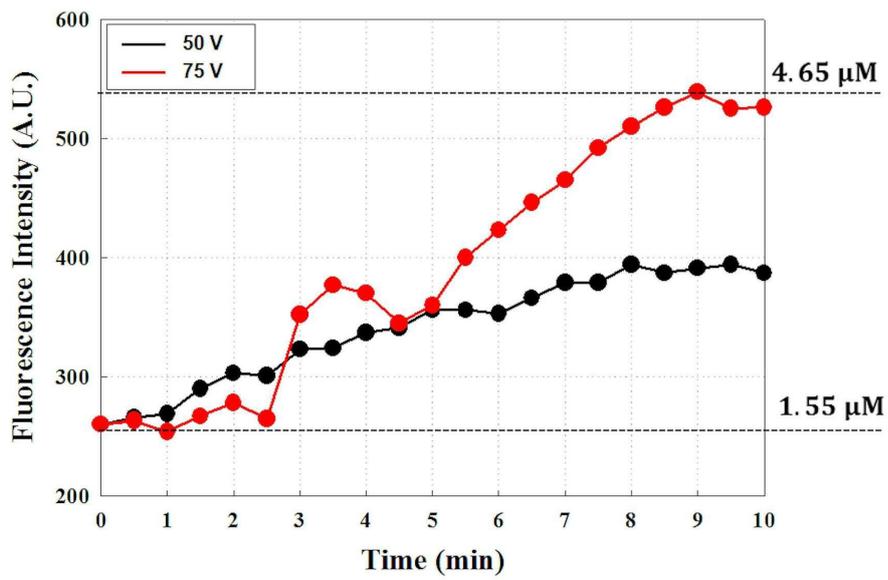
도면5



도면6



(a)



(b)