



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2010-0087130  
(43) 공개일자 2010년08월03일

- (51) Int. Cl.  
G01N 27/333 (2006.01) G01N 27/26 (2006.01)  
G01N 27/416 (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2010-7009023
- (22) 출원일자(국제출원일자) 2008년09월26일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2010년04월23일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2008/077954
- (87) 국제공개번호 WO 2009/042921  
국제공개일자 2009년04월02일
- (30) 우선권주장  
60/960,363 2007년09월26일 미국(US)  
60/960,417 2007년09월28일 미국(US)

- (71) 출원인  
메사추세츠 인스티튜트 오브 테크놀로지  
미국 02139 메사추세츠 캠프리지 메사추세츠 애브뉴 77
- (72) 발명자  
한중윤  
미국 01730 메사추세츠주 베드포드 애플트리 레인 5
- 송용악  
미국 02459 메사추세츠주 뉴턴 파크 스트리트 412 #에이치
- 이정훈  
미국 메사추세츠주 02143 서머빌 센트럴 스트리트 19 #28
- (74) 대리인  
유미특허법인

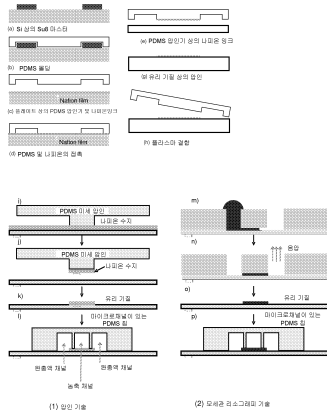
전체 청구항 수 : 총 66 항

**(54) 전기역학적 농축 장치 및 그의 사용 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 관심의 대상인 종의 농축 및/또는 장치 내의 액체 흐름 제어를 위한 장치 및 그의 사용 방법을 제공한다. 그 중에서 방법은, 관심의 대상인 종을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열과 함께 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질을 포함함으로써, 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하고 이온-선택성 막이 기질 표면의 적어도 일부에 부착되며 이는 채널에 접하거나 채널 중의 하나의 표면의 일부에 접하도록 되어있는 장치를 이용한다. 본 장치는 채널 내에 전기장용 유도하는 유닛 및 채널 내에 전기역학 또는 압력 구동성 흐름을 유도하는 유닛을 포함한다.

**대표도 - 도1**



**특허청구의 범위**

**청구항 1**

- 관심의 대상인 종을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩(fluidic chip);
- 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질(rigid substrate);
- 기질 표면의 적어도 일부에 부착되고 채널에 접하는 이온-선택성 막; 또는
- 채널 중 하나의 표면의 일부에 접하는 이온-선택성 막;
- 채널 내에 전기장을 유도하는 유닛; 및
- 채널 내에 전기역학적 또는 압력 구동성 흐름을 유도하는 유닛을 포함하는 농축 장치.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 채널 내에 전기장을 유도하는 수단이 전압 공급(voltage supply)인 장치.

**청구항 3**

제3항에 있어서, 전압 공급에 의해 적용되는 전압이 50 mV 내지 1500 V 사이인 장치.

**청구항 4**

제3항에 있어서, 전압 공급이 마이크로채널의 양측에 동일한 전압을 적용하는 장치.

**청구항 5**

제3항에 있어서, 전압 공급이 채널의 양극 측(anodic side)에 음극 측(cathodic side)보다 더 큰 전압을 적용하는 장치.

**청구항 6**

제1항에 있어서, 채널의 너비가 0.1 - 500  $\mu\text{m}$  사이인 장치.

**청구항 7**

제6항에 있어서, 채널의 너비가 10 - 200  $\mu\text{m}$  사이인 장치.

**청구항 8**

제1항에 있어서, 채널의 깊이가 0.5 - 200  $\mu\text{m}$  사이인 장치.

**청구항 9**

제8항에 있어서, 채널의 깊이가 5 - 50  $\mu\text{m}$  사이인 장치.

**청구항 10**

제1항에 있어서, 경성 기질이 파이렉스, 실리콘, 이산화 실리콘(silicon dioxide), 질화 실리콘(silicon nitride), 석영(quartz), PMMA, PC, 아크릴 또는 COC(사이클릭 올레핀 공중합체)를 포함하는 장치.

**청구항 11**

제1항에 있어서, 유체 칩이 폴리디메틸실록산을 포함하는 장치.

**청구항 12**

제1항에 있어서, 이온-선택성 막이 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE: polytetrafluoroethylene), 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI: polybenzimidazole), 폴리-지르코니아, 폴리에틸렌이민-폴리(아크릴산), 퍼플루오로설

포네이트, 비-불화 탄화수소 중합체, 중합체-무기 복합물 또는 폴리(에틸렌 옥사이드)을 포함하는 장치.

**청구항 13**

제1항에 있어서, 이온-선택성 막이 50 - 1000  $\mu\text{m}$ 의 너비를 가지는 장치.

**청구항 14**

제1항에 있어서, 이온-선택성 막이 100 - 500 나노미터의 너비를 가지는 장치.

**청구항 15**

제1항에 있어서, 이온-선택성 막이 100 - 500 나노미터의 깊이를 가지는 장치.

**청구항 16**

제1항에 있어서, 마이크로채널의 표면이 그 표면에 대한 관심의 대상인 종의 흡착을 저감 또는 증대하기 위해 기능화된 장치.

**청구항 17**

제1항에 있어서, 마이크로채널의 표면이 장치의 작동 효율을 증대 또는 저감하기 위해 기능화된 장치.

**청구항 18**

제1항에 있어서, 채널 내에 전기장을 유도하는 유닛이 적어도 한 쌍의 전극 및 전원(power supply)을 포함하는 장치.

**청구항 19**

제1항에 있어서, 분리 시스템, 검출 시스템, 분석 시스템 또는 그의 조합에 연결된 장치.

**청구항 20**

제1항에 있어서, 질량분석기에 연결된 장치.

**청구항 21**

관심의 대상인 종을 포함하는 액체를 제1항에 따른 장치에 적용함을 특징으로 하여, 액체 내에서 관심의 대상인 종을 농축하는 방법.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 하기의 단계들을 추가로 포함하는 방법:

- 채널 내에 전기장을 유도함으로써 이온-선택성 막에 인접한 채널 내의 지역에 이온 고갈을 발생시키고 채널 내에 공간 전하층(space charge layer)을 형성시켜 관심의 대상인 종에 대한 에너지 장벽을 제공하는 단계; 및
- 채널 내에 액체 흐름을 유도하는 단계.

**청구항 23**

제22항에 있어서, 흐름이 전기삼투성(electroosmotic)인 방법.

**청구항 24**

제22항에 있어서, 흐름이 압력 구동성(pressure driven)인 방법.

**청구항 25**

제22항에 있어서, 단계들이 주기적으로 실행되는 방법.

**청구항 26**

제22항에 있어서, 장치에 전압을 적용함으로써 채널 내에 전기장을 유도하는 방법.

**청구항 27**

제26항에 있어서, 전압이 50 mV 내지 1500 V 사이인 방법.

**청구항 28**

제26항에 있어서, 채널의 양측에 동일한 전압이 적용되는 방법.

**청구항 29**

제26항에 있어서, 채널의 양극 측에 음극 측보다 더 큰 전압이 적용되는 방법.

**청구항 30**

제29항에 있어서, 채널의 양극 측에 더 큰 전압이 적용되기 전에 채널 내에 공간 전하층이 발생하는 방법.

**청구항 31**

제22항에 있어서, 액체가 기관 균질물, 세포 추출물 또는 혈액 시료를 포함하는 방법.

**청구항 32**

제22항에 있어서, 관심의 대상인 종이 단백질, 폴리펩티드, 핵산, 바이러스 입자 또는 그의 조합을 포함하는 방법.

**청구항 33**

제22항에 있어서, 장치가 분리 시스템, 검출 시스템, 분석 시스템 또는 그의 조합에 연결되는 방법.

**청구항 34**

- ▶ 경성 기질에 액체 중합체를 음압(negative pressure) 하에 적용하고, 여기에서 기질 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질이 연결되며, 이에 의해 기질 표면 상에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;
- ▶ 액체 중합체 층이 기질 표면 상에 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계; 및
- ▶ 막 구조를 포함하는 기질의 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질을 부착하는 단계를 특징으로 하여,
  - o 관심의 대상인 종을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
  - o 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
  - o 기질 표면의 적어도 일부에 결합되고 채널에 접하는 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법.

**청구항 35**

제34항에 있어서, 유체 칩이 10 - 200  $\mu\text{m}$  사이의 너비를 가진 채널을 포함하는 방법.

**청구항 36**

제34항에 있어서, 유체 칩이 5 - 50  $\mu\text{m}$  사이의 깊이를 가진 채널을 포함하는 방법.

**청구항 37**

제34항에 있어서, 막 구조가 약 50 - 1000  $\mu\text{m}$  사이의 너비를 가지는 방법.

**청구항 38**

제34항에 있어서, 막 구조가 약 100 - 500 nm 사이의 깊이를 가지는 방법.

**청구항 39**

제34항에 있어서, 막 구조가 약 1 - 50  $\mu\text{m}$  사이의 깊이를 가지는 방법.

**청구항 40**

제34항에 있어서, 경성 기질이 파이렉스, 실리콘, 이산화 실리콘, 질화 실리콘, 석영, PMMA, PC 또는 아크릴을 포함하는 방법.

**청구항 41**

제34항에 있어서, 유체 칩이 폴리디메틸실록산을 포함하는 방법.

**청구항 42**

제34항에 있어서, 액체 중합체가 폴리테트라플루오로에틸렌, 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI), 폴리-지르코니아, 폴리에틸렌이민-폴리(아크릴산) 또는 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(아크릴산)을 포함하는 방법.

**청구항 43**

제34항에 있어서, 액체 중합체 층이 기질 표면 상에 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계가, 기질을 가열함으로써 달성되는 방법.

**청구항 44**

제34항에 있어서, 기질을 유체 칩에 부착하는 단계가 플라즈마 결합(plasma bonding)에 의해 달성되는 방법.

**청구항 45**

- ▶ 목적하는 기하형태(geometry), 문양(pattern), 또는 그의 조합으로 액체 중합체를 경성 기질 상에 압인(stamping)하며, 이에 의해 기질 표면 상에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;
- ▶ 액체 중합체 층이 기질의 표면 상에 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계; 및
- ▶ 막 구조를 포함하는 기질의 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질을 부착하는 단계를 특징으로 하여,
  - o 관심의 대상인 층을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
  - o 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
  - o 기질 표면의 적어도 일부에 결합되고 채널에 접하는 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법.

**청구항 46**

제45항에 있어서, 액체 중합체의 점도 증가에 의해 막 구조의 두께가 증대될 수 있는 방법.

**청구항 47**

제45항에 있어서, 압인을 위해 소수성 압인기(stamper)를 사용함으로써 막 구조의 두께가 증대될 수 있는 방법.

**청구항 48**

제45항에 있어서, 폴리디메틸실록산을 포함하는 압인기로 압인을 수행하는 방법.

**청구항 49**

제45항에 있어서, 유체 칩이 10 - 200  $\mu\text{m}$  사이의 너비를 가진 채널을 포함하는 방법.

**청구항 50**

제45항에 있어서, 유체 칩이 5 - 50  $\mu\text{m}$  사이의 깊이를 가진 채널을 포함하는 방법.

**청구항 51**

제45항에 있어서, 막 구조가 약 50 - 1000  $\mu\text{m}$  사이의 너비를 가지는 방법.

**청구항 52**

제45항에 있어서, 막 구조가 약 100 - 500 nm 사이의 깊이를 가지는 방법.

**청구항 53**

제45항에 있어서, 막 구조가 약 1 - 50  $\mu\text{m}$  사이의 깊이를 가지는 방법.

**청구항 54**

제51항에 있어서, 경성 기질이 파이렉스, 실리콘, 이산화 실리콘, 질화 실리콘, 석영, PMMA, PC 또는 아크릴을 포함하는 방법.

**청구항 55**

제45항에 있어서, 유체 칩이 폴리디메틸실록산을 포함하는 방법.

**청구항 56**

제45항에 있어서, 액체 중합체가 폴리테트라플루오로에틸렌, 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI), 폴리-지르코니아, 폴리에틸렌이민-폴리(아크릴산) 또는 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(아크릴산)를 포함하는 방법.

**청구항 57**

제45항에 있어서, 액체 중합체 층이 기질 표면 상에 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계가, 기질을 가열함으로써 달성되는 방법.

**청구항 58**

제45항에 있어서, 기질을 유체 칩에 부착하는 단계가 플라즈마 결합에 의해 달성되는 방법.

**청구항 59**

제45항에 있어서, 압인 대신에 잉크젯(ink-jet)을 이용하여 중합체를 기질에 도입하는 방법.

**청구항 60**

- ▶ 채널 중 하나의 적어도 일부에 액체 중합체를 적용하며, 이에 의해 채널 중 하나의 표면의 일부에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;
- ▶ 액체 중합체 층이 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계를 특징으로 하여,
  - 관심의 대상인 종을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
  - 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
  - 채널 중 하나의 표면의 일부에 접하는 고종횡비(high aspect ratio) 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법.

**청구항 61**

제60항에 있어서, 액체 중합체가 마이크로비드(microbead) 또는 고분자전해질(polyelectrolyte) 또는 이들의 조합을 포함하며, 이를 액체 중합체와 함께, 또는 그보다 앞서 함침(infiltrated)시키는 방법.

**청구항 62**

제60항에 있어서, 액체 중합체가 이온-선택성 수지인 방법.

**청구항 63**

제60항에 있어서, 액체 중합체가 액체 나피온인 방법.

**청구항 64**

제60항에 있어서, 조건을 제공하는 단계가, 먼저 나피온 수지를 경성 기질의 트렌치(trench) 내로 도입함으로써 나피온 막을 형성시키는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 65**

제64항에 있어서, 트렌치가 목적하는 막의 치수로 형성되는 방법.

**청구항 66**

제60항에 있어서, 조건을 제공하는 단계가 액체 중합체의 모세관-힘-기제의 충진을 포함하는 방법.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 용액 내에서 관심의 대상인 하전된 종을 농축하는 장치 및 그의 사용 방법을 제공한다. 본 발명은 관심의 대상인 하전된 종을 전기역학적으로 포획(trapping)하며, 이를 추가로 단리 및 분석할 수 있음에 기초하는 농축 장치를 제공한다.

**배경기술**

[0002] 단백질학(proteomics)의 주요 난제 중의 하나는 혈청 또는 세포 추출물과 같은 생체 분자 시료의 진단 복잡성(sheer complexity)이다. 통상적인 혈액 시료는 10,000개를 초과하는 상이한 단백질 종을 포함할 수 있으며, 그 농도는 9 자릿수에 걸쳐 변화한다. 이와 같은 단백질의 다양성과 더불어 그들의 방대한 농도 범위는 단백질학의 시료 준비에 있어서 막대한 난제를 부과한다.

[0003] 다차원 분리 단계 및 질량분석학(MS: mass spectrometry)에 기초한 종래의 단백질 분석 기술에는 제한된 분리 피크 용량(최대 ~ 3000) 및 검출의 동적 범위( $\sim 10^4$ )로 인한 미비점이 있다. 미세 유체(microfluidic) 생체 분자 분석 시스템(소위  $\mu$ TAS)은 자동화된 생체 분자 처리에 있어서 유망하다. 화학 반응 및 증폭과 더불어 다양한 생체 분자 분리 및 정제 단계가 마이크로칩 상에 소형화되어 몇 자릿수나 빠른 시료 분리 및 처리를 보여주었다. 또한 2 가지 상이한 분리 단계를 미세 유체 통합한 다차원 분리 장치도 등장했다. 그러나 대부분의 미세 유체 분리 및 시료 처리 장치는 시료 부피 불일치의 결정적 문제점을 안고 있다. 미세 유체 장치는 1 pL ~ 1 nL 의 시료 유체를 취급 및 처리함에 있어서 매우 효율적이거나, 대부분의 생체 분자 시료는 1  $\mu$ L보다 큰 액체 부피로 취급되거나 이용가능하다. 그러므로, 마이크로칩-기제의 분리 기술은 종종 이용가능한 시료의 작은 분획만을 분석하며, 이는 전체 검출 감도를 현저하게 제한한다. 단백질학에 있어서, 정보를 많이 지닌 신호 분자(예를 들어 사이토카인 및 생체 표지자)는 미량 농도(nM ~ pM 범위)로만 존재하며 단백질 및 펩티드에 대해서는 증합효소 연쇄반응(PCR: polymerase chain reaction)과 같은 신호 증폭 기술이 존재하지 않는다는 사실로 인해 문제가 더욱 악화된다.

[0004] 따라서, 마이크로리터 또는 그 이상의 통상적인 시료 부피를 취하여 더 작은 부피로 분자를 농축함으로써 이를 분리하고 훨씬 높은 감도로 검출할 수 있도록 하는 효율적인 시료 농축기가 요구된다. 액체 내 시료의 예비 농축을 제공하기 위한 몇 가지 전략이 현재 이용가능하며, 이는 필드-증폭 시료 스택킹(FAS: field-amplified sample stacking), 등속영동(ITP: isotachopheresis), 전기역학적 포획(electrokinetic trapping), 마이셀 전기역학적 스위핑(micellar electrokinetic sweeping), 크로마토그래피 예비 농축(chromatographic preconcentration) 및 막 예비 농축(membrane preconcentration)을 포함한다. 이들 기술 중의 다수는 원래 모세관 전기영동을 위해 개발되었으며, 특수한 완충액 배열 및/또는 시약들을 필요로 한다. 크로마토그래피 및 여과-기제의 예비 농축 기술들의 효율은 표적 분자의 소수성 및 크기에 따라 달라진다.

[0005] 전기역학적 포획은 상기의 하전된 생체 분자 농축에 있어서 또 다른 수단이다. 이온-선택성 막을 가로질러 전기장을 적용하면 전하-고갈 지역이 발생하는데, 이는 접선 흐름(압력-구동성 또는 전기삼투-구동성)과 조합되어

채널 내부에 하전된 분석물을 농축할 수 있다. 그러나, 장치 내에 충분히 얇은(~ 5 $\mu$ m) 이온-선택성 막을 통합시키는 것이 어려우므로, 현재로서는 이러한 장치의 제작이 번거롭고 복잡한 실정이다. 얇은 나피온(Nafion) 막은 쉽게 파손될 뿐 아니라 막이 자기 주위에 감기기 쉬우므로 취급에 있어서 극도의 주의를 요하기 때문에, 평면 장치 제작 방법을 곤란하게 한다.

[0006] 평면 장치에 있어서의 또 다른 시도에서는, 각각의 칩이 마이크로채널(microchannel)을 포함하는 2개의 평면 마이크로칩 사이에 얇은 이온-선택성 막을 샌드위치시켰으나, 이는 장치의 불완전한 밀봉을 초래하여 막 둘레에 틈새를 형성시킴으로써 흐름의 누출을 유발하였다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0007] **발명의 요약**
- [0008] 본 발명은 한 구체에에서
- [0009] o 관심의 대상인 종을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩(fluidic chip);
- [0010] o 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질(rigid substrate);
- [0011] o 기질 표면의 적어도 일부에 부착되고 채널에 접하는 이온-선택성 막; 또는
- [0012] o 채널 중 하나의 표면의 일부에 접하는 이온-선택성 막;
- [0013] o 채널 내에 전기장을 유도하는 유닛; 및
- [0014] o 채널 내에 전기역학적 또는 압력 구동성 흐름을 유도하는 유닛을 포함하는 농축 장치를 제공한다.
- [0015] 한 구체에에서 채널 내에 전기장을 유도하는 수단은 전압 공급(voltage supply)이며, 이는 일부 구체에에서 50 mV 내지 1500 V 사이로 공급된다. 한 구체에에서는 전압 공급이 마이크로채널의 양측에 동일한 전압을 적용하고, 다른 구체에에서는 전압 공급이 다른 채널에 비해 한 채널에 더 큰 전압을 공급하며, 다른 구체에에서는 전압 공급이 마이크로채널의 한 영역과 마이크로채널 내의 다른 영역 사이에 전위차를 유발한다. 다른 구체에에서 전압 공급은 적어도 2개의 채널 사이에 전위차를 생성시킨다.
- [0016] 일부 구체에에서는 채널의 너비가 약 10 - 200  $\mu$ m 사이이고, 일부 구체에에서는 채널의 너비가 약 10  $\mu$ m - 50  $\mu$ m 사이이다. 일부 구체에에서는 채널의 깊이가 약 5 - 50  $\mu$ m 사이이고, 일부 구체에에서는 채널의 깊이가 약 5 - 10  $\mu$ m 사이이다. 일부 구체에에서는 이온-선택성 막이 약 50 - 1000  $\mu$ m 사이의 너비를 가지며, 일부 구체에에서는 이온-선택성 막의 너비가 100 - 500  $\mu$ m이다. 일부 구체에에서는 이온-선택성 막이 약 100 - 500 nm 사이의 깊이를 가지며, 일부 구체에에서는 이온-선택성 막의 깊이가 약 10 - 50  $\mu$ m 사이이고, 일부 구체에에서는 이온-선택성 막의 깊이가 약 5 - 20  $\mu$ m 사이이다.
- [0017] 일부 구체에에서, 경성 기질은 파이렉스, 실리콘, 이산화 실리콘(silicon dioxide), 질화 실리콘(silicon nitride), 석영(quartz), PMMA, PC 또는 아크릴을 포함한다.
- [0018] 한 구체에에서 유체 칩은 폴리디메틸실록산을 포함한다.
- [0019] 한 구체에에서 이온-선택성 막은 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE: polytetrafluoroethylene), 퍼플루오로설포네이트, 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI: polybenzimidazole), 폴리-지르코니아, 폴리에틸렌이민-폴리(아크릴산), 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(아크릴산), 또는 비-불화 탄화수소 중합체 또는 중합체-무기 복합물을 포함한다. 일부 구체에에서는 이온-선택성 막이 약 100 - 500 nm 사이의 두께를 가지며, 다른 구체에에서는 이온-선택성 막이 약 5 - 20  $\mu$ m 사이의 두께를 가진다.
- [0020] 일부 구체에에서는 마이크로채널의 표면이 그 표면에 대한 관심의 대상인 종의 흡착을 저감 또는 증대하기 위해 기능화되었고, 일부 구체에에서는 마이크로채널의 표면이 장치의 작동 효율을 증대 또는 저감하기 위해 기능화되었다.
- [0021] 일부 구체에에서, 채널 내에 전기장을 유도하는 유닛은 적어도 한 쌍의 전극 및 전원(power supply)을 포함한다. 일부 구체에에서 기질은 전극을 포함하며, 이는 이온-선택성 막에 인접하여 위치한다.



- [0022] 일부 구체예에서, 장치는 분리 시스템, 검출 시스템, 분석 시스템 또는 그의 조합에 연결된다. 일부 구체예에서, 장치는 질량분석기에 연결된다.
- [0023] 한 구체예에서 본 발명은, 본 발명의 장치를 포함하는 미세 유체 펌프를 제공하며, 이는 한 구체예에서 10  $\mu\text{m}$  /sec 내지 10 mm/sec 사이의 액체 유속을 가진다.
- [0024] 한 구체예에서 본 발명은, 관심의 대상인 종을 포함하는 액체를 본 발명의 장치에 적용함을 특징으로 하여, 액체 내에서 관심의 대상인 종을 농축하는 방법을 제공한다.
- [0025] 한 구체예에서 본 방법은 하기의 단계들을 추가로 포함한다:
- [0026] ● 채널 내에 전기장을 유도함으로써 이온-선택성 막에 인접한 채널 내의 지역에 이온 고갈을 발생시키고 채널 내에 공간 전하층(space charge layer)을 형성시켜 관심의 대상인 종에 대한 에너지 장벽을 제공하는 단계; 및
- [0027] ● 채널 내에 액체 흐름을 유도하는 단계.
- [0028] 한 구체예에서는 흐름이 전기삼투 구동성이고, 다른 구체예에서는 흐름이 압력 구동성이다.
- [0029] 한 구체예에서 단계들은 주기적으로 실행된다.
- [0030] 한 구체예에서는, 장치에 전압을 적용함으로써 채널 내에 전기장을 유도하며, 이는 한 구체예에서 50 mV 내지 1500 V 사이이다. 한 구체예에서는 채널의 양측에 동일한 전압이 적용되고, 다른 구체예에서는 채널의 양극 측(anodic side)에 음극 측(cathodic side)보다 더 큰 전압이 적용된다.
- [0031] 한 구체예에서는, 채널의 양극 측에 더 큰 전압이 적용되기 전에 채널 내에 공간 전하층이 발생한다.
- [0032] 한 구체예에서, 액체는 기관 균질물, 세포 추출물 또는 혈액 시료를 포함한다. 다른 구체예에서, 관심의 대상인 종은 단백질, 폴리펩티드, 핵산, 바이러스 입자 또는 그의 조합을 포함한다. 한 구체예에서, 관심의 대상인 종은 마이크로- 및/또는 나노 입자를 포함한다.
- [0033] 본 발명의 상기 태양에 따라, 다른 구체예에서는 장치가 분리 시스템, 검출 시스템, 분석 시스템 또는 그의 조합에 연결된다.
- [0034] 일부 구체예에서 본 발명은
- [0035] ▶ 경성 기질에 액체 중합체를 음압(negative pressure) 하에 적용하고, 여기에서 기질 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질이 연결되며, 이에 의해 기질 표면 상에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;
- [0036] ▶ 액체 중합체 층이 기질 표면 상에 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계; 및
- [0037] ▶ 막 구조를 포함하는 기질의 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질을 부착하는 단계를 특징으로 하여,
- [0038] ○ 관심의 대상인 종을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
- [0039] ○ 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
- [0040] ○ 기질 표면의 적어도 일부에 결합되고 채널에 접하는 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법을 제공한다.
- [0041] 일부 구체예에서, 액체 중합체는 폴리테트라플루오로에틸렌, 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI), 폴리-지르코니아, 폴리에틸렌이민-폴리(아크릴산) 또는 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(아크릴산)을 포함한다.
- [0042] 일부 구체예에서 막 구조는 100 - 500 nm의 두께를 가지며, 일부 구체예에서 이온 선택성 막은 5 - 20  $\mu\text{m}$ 의 두께를 가진다. 일부 구체예에서는 이온 선택성 막이 20 - 80  $\mu\text{m}$ 의 두께를 가지며, 일부 구체예에서는 50 - 100  $\mu\text{m}$ , 일부 구체예에서는 150 - 300  $\mu\text{m}$ , 일부 구체예에서는 250 - 500  $\mu\text{m}$ 의 두께를 가진다. 한 구체예에서, 액체 중합체 층이 기질의 표면 상에 막 구조를 형성하도록 하는 조건의 제공은 기질을 가열함으로써 이루어진다. 한 구체예에서, 기질은 플라즈마 결합(plasma bonding)에 의해 유체 칩에 부착된다.
- [0043] 다른 구체예에서 본 발명은
- [0044] ▶ 목적하는 기하형태(geometry), 문양(pattern), 또는 그의 조합으로 액체 중합체를 경성 기질 상에 압인

(stamping)하며, 이에 의해 기질 표면 상에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;

- [0045] ▶ 액체 중합체 층이 기질의 표면 상에 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계; 및
- [0046] ▶ 막 구조를 포함하는 기질의 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질을 부착하는 단계를 특징으로 하여,
- [0047] ○ 관심의 대상인 종을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
- [0048] ○ 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
- [0049] ○ 기질 표면의 적어도 일부에 결합되고 채널에 접하는 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법을 제공한다.
- [0050] 일부 구체예에서는, 액체 중합체의 점도를 증가시킴으로써 막 구조의 두께를 증대할 수 있다. 다른 구체예에서는, 압인을 위해 소수성 압인기(stamper)를 사용함으로써 막 구조의 두께를 증대할 수 있다. 다른 구체예에서는, 폴리디메틸실록산을 포함하는 압인기로 압인을 수행한다.
- [0051] 일부 구체예에서, 액체 중합체는 폴리테트라플루오로에틸렌, 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI), 폴리-지르코니아, 폴리에틸렌이민-폴리(아크릴산) 또는 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(아크릴산)을 포함한다.
- [0052] 일부 구체예에서 막 구조는 100 - 500 nm의 두께를 가지며, 일부 구체예에서 이온 선택성 막은 5 - 20  $\mu\text{m}$ 의 두께를 가진다. 일부 구체예에서, 액체 중합체 층이 기질의 표면 상에 막 구조를 형성하도록 하는 조건의 제공은 기질을 가열함으로써 이루어진다.
- [0053] 일부 구체예에서, 기질은 플라즈마 결합에 의해 유체 칩에 부착된다.
- [0054] 일부 구체예에서 본 발명은
- [0055] ▶ 채널 중 하나의 적어도 일부에 액체 중합체를 적용하며, 이에 의해 채널 중 하나의 표면의 일부에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;
- [0056] ▶ 액체 중합체 층이 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계를 특징으로 하여,
- [0057] ○ 관심의 대상인 종을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
- [0058] ○ 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
- [0059] ○ 채널 중 하나의 표면의 일부에 접하는 고종횡비(high aspect ratio) 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법을 제공한다.
- [0060] 일부 구체예에서 액체 중합체는 마이크로비드(microbead)를 포함하며, 이는 액체 중합체와 함께 함침(infiltrated)된다. 한 구체예에서, 이들 마이크로비드는 지지성 고체 매트릭스로 작용하여 이온-선택성 막의 기계적 강도를 증가시킨다. 일부 구체예에서, 액체 중합체는 액체 나피온이다.

**과제의 해결 수단**

- [0061] **발명의 상세한 설명**
- [0062] 본 발명은 한 구체예에서, 관심의 대상인 종을 농축하는 농축 장치 및 그의 사용 방법을 제공한다.
- [0063] 일부 구체예에서 본 발명은 마이크로- 또는 나노-규모로 물질을 농축 및/또는 예비-농축하기 위한 장치를 제공한다. 일부 구체예에서 본 발명의 장치는 독특한 제작 공정을 통해 미세 유체 칩 내에 위치하는 나피온 막과 같은 이온-선택성 막을 이용하며, 이는 일부 구체예에서, 과거에는 이러한 장치 내에 혼입함에 있어서 난점으로 작용했던 물리적 조작에 대한 상기 막의 알려진 취약도(fragility)에도 불구하고 용이한 침착을 촉진하는 저렴한 방식으로 이온-선택성 막을 평면 장치 내에 특이적으로 침착시킴을 가능하게 한다.
- [0064] 일부 구체예에서, 본 발명의 장치 및 방법은 수지 용액을 문양화(patterning)하고 이러한 용액을 경화(curing)시켜 본 명세서에 기술된 바와 같이 이온 선택성 막을 형성할 수만한다. 일부 구체예에서, 수지 용액의 문양화는 기질 상에 얇은 평면 막 문양을 가능하게 하며, 예를 들어 그 위에 PDMS 채널을 플라즈마 결합시킴을 통해 장치의 마이크로채널 내에 그의 혼입을 가능하게 한다.

- [0065] 본 발명은 한 구체예에서
- [0066] o 관심의 대상인 층을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
- [0067] o 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
- [0068] o 기질 표면의 적어도 일부에 부착되고 채널에 접하는 이온-선택성 막; 또는
- [0069] o 채널 중 하나의 표면의 일부에 접하는 이온-선택성 막;
- [0070] o 채널 내에 전기장을 유도하는 유닛; 및
- [0071] o 채널 내에 전기역학적 또는 압력 구동성 흐름을 유도하는 유닛을 포함하는 농축 장치를 제공한다.
- [0072] 일부 구체예에서 본 발명은
- [0073] ▶ 경성 기질에 액체 중합체를 음압 하에 적용하고, 여기에서 기질 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질이 연결되며, 이에 의해 기질 표면 상에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;
- [0074] ▶ 액체 중합체 층이 기질 표면 상에 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계; 및
- [0075] ▶ 막 구조를 포함하는 기질의 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질을 부착하는 단계를 특징으로 하여,
- [0076] o 관심의 대상인 층을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
- [0077] o 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
- [0078] o 기질 표면의 적어도 일부에 결합되고 채널에 접하는 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법을 제공한다.
- [0079] 본 발명의 상기 태양에 따라, 한 구체예에서 본 발명은 전기 방법에 따라 제작되는 장치를 제공한다.
- [0080] 일부 구체예에서, 액체 중합체는 폴리테트라플루오로에틸렌, 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI), 폴리-지르코니아, 폴리에틸렌이민-폴리(아크릴산) 또는 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(아크릴산)을 포함한다.
- [0081] 일부 구체예에서 막 구조는 100 - 500 nm의 두께를 가지며, 일부 구체예에서 이온 선택성 막은 5 - 20  $\mu\text{m}$ 의 두께를 가진다. 한 구체예에서, 액체 중합체 층이 기질의 표면 상에 막 구조를 형성하도록 하는 조건의 제공은 기질을 가열함으로써 이루어진다. 한 구체예에서, 기질은 플라즈마 결합에 의해 유체 칩에 부착된다.
- [0082] 다른 구체예에서 본 발명은
- [0083] ▶ 목적하는 기하형태, 문양, 또는 그의 조합으로 액체 중합체를 경성 기질 상에 압인하며, 이에 의해 기질 표면 상에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;
- [0084] ▶ 액체 중합체 층이 기질의 표면 상에 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계; 및
- [0085] ▶ 막 구조를 포함하는 기질의 표면의 적어도 일부에 채널이 접하도록 채널을 포함하는 유체 칩에 기질을 부착하는 단계를 특징으로 하여,
- [0086] o 관심의 대상인 층을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
- [0087] o 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
- [0088] o 기질 표면의 적어도 일부에 결합되고 채널에 접하는 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법을 제공한다.
- [0089] 본 발명의 상기 태양에 따라, 본 발명은 한 구체예에서 전기 방법에 따라, 또는 일부 구체예에서 본 명세서에 기술되거나 도식화되거나 표시되거나 예시된 임의의 방법에 따라 제작되는 장치를 제공한다.
- [0090] 일부 구체예에서는, 액체 중합체의 점도를 증가시킴으로써 막 구조의 두께를 증대할 수 있다. 다른 구체예에서는, 압인을 위해 소수성 압인기를 사용함으로써 막 구조의 두께를 증대할 수 있다. 다른 구체예에서는, 폴리디메틸실록산을 포함하는 압인기로 압인을 수행한다.
- [0091] 일부 구체예에서, 액체 중합체는 폴리테트라플루오로에틸렌, 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI), 폴리-지르

코니아, 폴리에틸렌이민-폴리(아크릴산) 또는 폴리(에틸렌 옥사이드)-폴리(아크릴산)을 포함한다. 한 구체예에서, 액체 중합체는 임의의 유형의 이온-선택성 중합체 및/또는 이온-선택성 재료를 포함할 수 있다.

- [0092] 일부 구체예에서 막 구조는 100 - 500 nm의 두께를 가지며, 일부 구체예에서 이온 선택성 막은 5 - 20  $\mu\text{m}$ 의 두께를 가진다. 일부 구체예에서, 액체 중합체 층이 기질의 표면 상에 막 구조를 형성하도록 하는 조건의 제공은 기질을 가열함으로써 이루어진다.
- [0093] 일부 구체예에서, 기질은 플라즈마 결합에 의해 유체 칩에 부착된다.
- [0094] 일부 구체예에서 본 발명은, 경성 기질 상에 이온-선택성 막을 문양화하여 본 발명의 장치를 형성하기 위한 다양한 방법을 제공한다. 이러한 방법은 본 명세서에 기술되며 후술하는 실시예 1에 예시된다.
- [0095] 일부 구체예에서, 본 발명의 문양화 방법 및 그에 의해 만들어지는 장치는, 특히, 장치 내의 마이크로- 또는 나노-채널을 통해 음압 하에 수지를 흐르게 하고, 수지를 플러싱(flushing)하며, 접촉된 얇은 층을 경화시켜 평면 막 구조를 형성함을 포함한다. 일부 구체예에서는 수지의 점도가 변화하고, 일부 구체예에서는 적용 압력이 변화하며, 이는 그에 의해 형성되는 막의 두께에 영향을 미친다.
- [0096] 일부 구체예에서, 본 발명의 문양화 방법 및 그에 의해 만들어지는 장치는, 특히, 당업자가 인식할 수 있는 바와 같이 압인 기술을 통해 기질 상에 이전되는 액체 수지의 마이크로- 또는 나노-압인을 포함한다. 일부 구체예에서는 수지 점도가 변화하고, 일부 구체예에서는 수지의 소수성이 변화하여, 이에 의해 형성되는 이온-선택성 막의 차후의 두께에 영향을 미친다.
- [0097] 일부 구체예에서, 본 발명의 문양화 방법 및 그에 의해 만들어지는 장치는, 특히, 기질 상의 수지의 잉크젯 인쇄(ink jet printing)를 포함하며, 여기에서 침착의 문양은 인쇄에 따라 용이하게 변화시킬 수 있다.
- [0098] 일부 구체예에서, 본 발명의 문양화 방법 및 그에 의해 만들어지는 장치는, 특히, 중합체 또는 유리 기질과 같은 기질 상의 수지의 UV 리소그래피(UV lithography) 또는 e-빔 리소그래피(e-beam lithography)를 포함한다.
- [0099] 일부 구체예에서, 본 발명의 고중형비, 이온-선택성 막을 가진 평면 마이크로- 또는 나노-유체 장치를 생산하는 방법은, 특히, PSS/PAA와 같이 반대로 하전된 2개의 고분자 전해질(polyelectrolyte)의 사용을 포함하며, 이는 지지성 고체 매트릭스로서 작용한다. 한 구체예에서는, 마이크로비드 또는 임의의 유형의 콜로이드 입자를 PSS/PAA의 대안적 재료로 사용하여 고중형비 지지성 고체 매트릭스를 구축할 수 있다. 이 때에 지지성 매트릭스에 이온 선택성을 부여하기 위해서는, 이러한 특성을 부여하는 수지, 예를 들어 나피온 수지로 막을 함침시킬 수 있다. 본 발명의 상기 태양에 따라 한 구체예에서, 막의 모세관 힘에 의해 고분자 전해질 막의 기공을 나피온 수지로 채워 막에 이온 투과선택성(perm-selectivity)을 부여한다. 일부 구체예에서는 탈이온수(deionized water)로 채널을 플러싱함으로써 채널로부터 과량의 나피온 수지 잔류물을 제거한다.
- [0100] 본 명세서에 기술된 바와 같은 방법에 따라 문양화 및 경화될 경우에 이온-선택성 막을 생산하는 임의의 액체 수지는 본 발명의 일부로서 간주되며, 본 발명은 본 명세서에 기술된 상기 수지 구성 성분의 예로 한정되지 않음을 이해하여야 한다.
- [0101] 일부 구체예에서, 친수성 설폰산 부위로 충전(impregnated)시킨 폴리테트라플루오로에틸렌(PTFE)-가교화 소수성 골격을 포함하는 퍼플루오로설폰화 막을 포함하도록 이러한 막을 작제할 수 있다. 일부 구체예에서는 비-불화 탄화수소 중합체 및 중합체-무기 복합물 막을 유사하게 제조하여 본 발명의 방법에 사용할 수 있다.
- [0102] 일부 구체예에서, 막/수지는 폴리포스파젠, 폴리벤즈이미다졸(PBI), 및/또는 지르코니아-중합체 겔과 같은 중합체를 포함할 수 있다.
- [0103] 일부 구체예에서는, LPEI/PAA 또는 PEO/PAA(LPEI: linear polyethyleneimine, PAA:poly(acrylic acid); PEO: poly(ethylene oxide))와 같은 고분자 전해질 다층 시스템을 사용할 수 있다. 일부 구체예에서, LPEI 및 PAA로 작제된 필름은 100% 상대습도 및 실온에서  $10^{-5}$  S/cm<sup>-1</sup>에 달하는 이온 전도도를 나타내므로 본 발명의 장치에 유용하다.
- [0104] 일부 구체예에서는 수소 결합 상호작용을 통해 PEO 및 PAA의 막을 작제할 수 있으며, 주위 조건에서  $10^{-5}$  내지  $10^{-4}$  S/cm<sup>-1</sup>에 달하는 전도도를 가진 필름을 수득할 수 있다. 일부 구체예에서는, 본 명세서에 상기한 바와 같은 고분자 전해질 다중층을 사용하여, 장치 내의 마이크로- 또는 나노-채널을 통해 음압 하에 수지를 흐르게 하고, 수지를 플러싱하며, 접촉된 얇은 층을 경화시킴을 특징으로 하는 방법이 본 발명의 장치 내에 목적하는 이온-선

택성 막을 생산함에 있어서 유용하다.

- [0105] 일부 구체예에서 본 발명의 방법 및 장치에 있어서 독특한 점은, 본 발명의 장치 내에 막을 통합시키기 위해 취약성 막을 물리적으로 조작할 필요가 없다는 점이다. 일부 구체예에서 본 발명은, 경성 기질 상에 수지를 문양화/침착시킨 후 수지를 경화시켜 막을 형성하는 공정을 포함하며, 이는 형성된 막에 추가의 물리적 조작을 가하지 않고 이를 장치 내에 용이하게 통합되도록 한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 장치 및 그의 제조 방법은 장치 자체의 일부로서 이온-선택성 수지를 경화시켜 막을 형성함을 포함하며, 일회용(disposable) 재료를 사용함으로써 대량 생산이 용이하고 단순하게 제조되는 장치를 제공하여 일회용 매체(medium) 상에 병렬(parallel) 농축기의 배열을 형성한다.
- [0106] 한 구체예에서 본 발명은, 본 명세서에 후술하는 바와 같이 나피온 문양화에 앞서 유리 기질의 표면 처리를 제공한다. 특히 미세 유체 농축 장치 내에 PBS 1X와 같이 고도로 농축된 완충용액을 사용할 경우에는 평면 나피온 막의 심한 분해가 발생할 수 있다. 이 결과의 가능성 있는 원인은, 농도가 증가하면서  $\text{Na}^+$  이온이 유리 기질 및 나피온 막 사이의 계면을 공격한다는 점이다. 나피온 막은 작동 중에 기질로부터 완전히 떨어져나올 수 있으며 장치는 작업을 멈출 수 있다. 한 구체예에서 본 발명은 유리 기질 및 나피온 막 사이의 결합 강도를 증가시키는 효율적인 표면 처리 방법을 제공한다. 먼저, 실가드 프라임 코트 용액(Sylgard Prime Coat solution)을 유리 기질 상에 문양화한다. 한 구체예에서, 이러한 문양화는 다양한 기질에 대한 실리콘의 침착 및 결합을 증대하며 결합 표면 내로의 활성 성분의 침투를 보조한다. 프라임 코트 층이 기질 상에 침착된 후에, 앞서 기술한 바와 같이 다양한 문양화 방법을 사용하여 나피온 수지를 문양화한다. 이 방법으로, 결합 강도를 증가시키고 PBS 1X와 같이 높은 이온 세기의 매체에서도 단백질 시료의 농축을 달성할 수 있다.
- [0107] 한 구체예에서 본 발명은 투과선택성 접합부(junction)를 만들기 위한 대안적인 제작 방법을 제공한다. 한 구체예에서는, 본 명세서에 상기한 바와 같은 나피온 수지 문양화에 의해 시료 및 완충액 부채널(side buffer channel) 사이에 평면 이온-선택성 접합부를 생성시키는 대신에, 마이크로채널 사이에 이온-선택성 막을 생성시키는 대안적 방법을 개발하였다. 이 제작 방법을 사용하여, 시료 예비 농축을 증대하기 위한 고종횡비 이온-선택성 막을 제작할 수 있다. 모세관 힘-기체의 충전 방법을 도 18에 나타낸다.
- [0108] 처음에, 나피온 수지를 완충액 부채널 내로 흐르게 하여 채널 사이의 누두형(funnel-type) 접합부를 액체 나피온 수지로 충전한다(도 18a). 접합부는 통상적으로 개방구에서 너비가 10 - 50  $\mu\text{m}$ 이고 길이가 20 - 50  $\mu\text{m}$ 이다. 채널을 충전할 때, 표면 장력으로 인해 나피온 수지는 접합부를 충전하고 시료 채널 내로는 흐르지 않는다. 그 다음에, 완충액 채널의 다른 쪽 말단에 음압을 적용함으로써 나피온 수지를 제거하여 채널을 비운다(도 18b). 완충액 채널로부터 과량의 나피온 수지를 제거하고 물 및 알콜과 같은 나피온 수지의 주성분을 일단 완전히 증발시킨 후에, 접합부에 포획된 나피온 수지는 채널 사이에 이온-선택성 막을 형성한다(도 18c). 전체 장치를 열판 위에서 95  $^{\circ}\text{C}$ 까지 가열하면 30 분 후에 사용할 준비가 된다(도 18d). 나피온 막 및 장치 사이의 결합 강도를 증가시키기 위해서는, 본 명세서에 상기한 바와 같이 장치의 표면을 프라임 코트로 먼저 처리한 후에 나피온 수지로 채널을 충전할 수 있다.
- [0109] 한 구체예에서는 이러한 제작 방법이 유리하다. 이 제작 방법의 주요 장점은 하기와 같다: I) 마이크로채널만큼 높은 고종횡비 이온-선택성 막을 만들 수 있다. 이 고종횡비 막은 농축비를 증가시키고 압력-구동성 흐름을 가능하게 하여 다양한 단백질체학 시료를 농축할 수 있다; II) PDMS 칩의 산소 플라즈마를 사용하지 않으면서도 유리 기질에 가역적, 비-영구성(non-permanent) 결합이 가능하다. 플라즈마 처리 없이 커버를 가역적으로 결합시킬 수 있으므로, 면역분석법을 위해 먼저(결합에 앞서) 유리 기질 상에 표면 화학을 수행하고, 둘째로 표면 기능화된 유리 기질 위에 PDMS 장치를 가역적으로 결합시킨 후 분자를 농축한 다음에, 후속의 작동을 수행하기 위해 PDMS 장치를 유리 기질로부터 간단하게 벗겨낼 수 있다. 이 절차는 전체적인 면역분석법을 단순화시킬 수 있다; III) 이 제작 방법은 폴리메틸메타크릴레이트(PMMA: polymethylmethacrylate) 또는 사이클릭 올레핀 공중합체(COC: cyclic olefin copolymer)와 같은 다양한 통상의 미세 유체 칩 재료에 적용될 수 있다. 따라서, PDMS에 비해 더욱 내구성이 있는 플라스틱 재료를 가진 예비 농축 칩을 만들 수 있다; IV) 나피온에 부가하여, 액체 형태로 이용가능한 임의의 이온-선택성 수지와 더불어 표면 전하를 가진 콜로이드 입자 현탁액 또는 그의 조합을 본 제작 방법에 적용할 수 있다.
- [0110] 일부 구체예에서, 본 발명의 이온-선택성 막을 가진 평면 마이크로- 또는 나노-유체 장치를 생산하는 방법은 본 명세서의 일부 구체예에서 예시하는 바와 같이 고종횡비 이온 선택성 막의 제조를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 방법은 당업자가 인식하는 바와 같이 마이크로비드-기체의 접근방법을 통한 고종횡비 막의 구축을 포함할 수 있다. 본 명세서에 기술한 바와 같이 자가-조립(self-assembled) 콜로이드 입자를 수지, 예를 들어

나피온으로 함침시킬 수 있다. 다른 구체예에서는 고종횡비 막을 구축하기 위하여 수지로 충전된 트렌치(trench)를 사용할 수 있고, 다른 구체예에서는, 예를 들어 본 명세서에 기술된 고분자 전해질을 이용하는 층류(laminar flow) 문양화 기술을 이용할 수 있다. 후자는 예를 들어, 수소 결합을 하는 PEO/PAA 전해질, 또는 다른 구체예에서는 정전기적 상호작용을 하는 PSS/PAH를 이용하여 막을 작제한 후에 조립체(assembly)를 수지, 예를 들어 나피온으로 함침시킴으로써 이루어질 수 있다. 유리 기질 또는 PDMS 칩에 마이크로/나노채널을 문양화하고 이들을 나피온으로 충전함으로써 고종횡비 막을 생성시킬 수도 있다.

- [0111] 일부 구체예에서 본 발명은
- [0112] ▶ 채널 중 하나의 적어도 일부에 액체 중합체를 적용하며, 이에 의해 채널 중 하나의 표면의 일부에 중합체 층이 형성되기에 충분한 시간 동안 중합체가 적용되는 단계;
- [0113] ▶ 액체 중합체 층이 막 구조를 형성하도록 조건을 제공하는 단계를 특징으로 하여,
- [0114] ○ 관심의 대상인 층을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩;
- [0115] ○ 기질 표면의 적어도 일부가 채널에 접하도록 이에 연결된 적어도 하나의 경성 기질;
- [0116] ○ 채널 중 하나의 표면의 일부에 접하는 고종횡비 이온-선택성 막을 포함하는 농축 장치의 제조 방법을 제공한다.
- [0117] 일부 구체예에서 액체 중합체는 마이크로비드를 포함하며, 이는 액체 중합체로 함침된다. 일부 구체예에서 액체 중합체는 액체 나피온이다.
- [0118] 본 명세서에 기술된 방법론 및 그의 임의의 개질에 기초하여 고종횡비 이온-선택성 막을 작제하기 위해 사용되는 임의의 방법은 본 발명의 일부로서 간주됨이 인정되어야 한다.
- [0119] 본 발명은 농축 또는 예비-농축 장치를 제공한다. 일부 구체예에서, "농축기(concentrator)"라고 지칭되는 농축 장치는, 다른 구체예에서, 대략적 평면 체제(roughly planar format)로 기질 상에 위치한 적어도 하나의 마이크로채널 및/또는 적어도 하나의 나노채널을 포함하며, 여기에서 채널은 이온-선택성 막을 포함하고, 채널은 경성 기질에 접한다.
- [0120] 한 구체예에서, 관심의 대상인 층을 포함하는 액체가 통과할 수 있는 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩은, 개별적인 채널의 형성을 위한 마이크로제작 및 나노제작 기술을 사용하여 형성시킬 수 있다.
- [0121] 마이크로제작 기술, 또는 마이크로기술 또는 MEMS는, 한 구체예에서, 예를 들어 물리적 구조의 형성을 위해 반도체 제작의 수단 및 공정을 적용한다. 한 구체예에서 마이크로제작 기술은, 다른 구체예에서 실리콘, 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 칩 상에 < 1 mm 내지 수 센티미터 범위의 치수로 형체(예를 들어, 웰, 채널)를 정밀하게 설계하는 것을 가능하게 한다. 이러한 기술은 한 구체예에서 농축기의 마이크로채널을 작제하기 위해 사용될 수 있다.
- [0122] 다른 구체예에서는, 예를 들어 원용에 의해 본 명세서에 그 전체 내용이 포함된 문헌(Z. N. Yu, P. Deshpande, W. Wu, J. Wang and S. Y. Chou, Appl. Phys. Lett. 77 (7), 927 (2000); S. Y. Chou, P. R. Krauss, and P. J. Renstrom, Appl. Phys. Lett. 67 (21), 3114 (1995); Stephen Y. Chou, Peter R. Krauss and Preston J. Renstrom, Science 272, 85 (1996) 및 미국특허 제5,772,905호)에 기술된 바와 같이, 당업계에 공지된 임의의 방법에 따라, 또는 이에 기초하여 농축기의 마이크로채널을 작제할 수 있다. 한 구체예에서 마이크로채널은 각인 리소그래피(imprint lithography), 간섭 리소그래피(interference lithography), 자가-조립 공중합체 문양 이전(self-assembled copolymer pattern transfer), 스핀 코팅(spin coating), 전자 빔 리소그래피(electron beam lithography), 집속 이온 빔 밀링(focused ion beam milling), 포토리소그래피(photolithography), 반응성 이온 식각(reactive ion-etching), 습식 식각(wet-etching), 플라즈마 화학 증착(plasma-enhanced chemical vapor deposition), 전자 빔 증착(electron beam evaporation), 스퍼터 증착(sputter deposition) 및 그의 조합에 의해 형성될 수 있다. 일부 구체예에서 본 발명의 장치의 제조 방법은 문헌(Astorga-Wells J. et al, Analytical Chemistry 75: 5207-5212 (2003); 또는 Joensson, M. et al, Proceedings of the MicroTAS 2006 Symposium, Tokyo Japan, Vol. 1, pp. 606-608)의 방법을 포함하거나 그의 개질일 수 있다. 대안적으로 다른 관용적 방법을 사용하여 마이크로채널을 형성시킬 수 있다.
- [0123] 한 구체예에서는, 원용에 의해 전체로서 본 명세서에 포함된 문헌(J. Han, H. G. Craighead, J. Vac. Sci. Technol., A 17, 2142-2147 (1999) 및 J. Han, H. G. Craighead, Science 288, 1026-1029 (2000))에 기술된

바와 같이 마이크로채널이 형성된다.

- [0124] 한 구체예에서는, 일련의 반응성 이온 식각을 실행한 후에 표준 리소그래피 수단으로 나노- 또는 마이크로-채널을 문양화한다. 한 구체예에서는 특정 기하형태로 식각을 실행하며, 이는 다른 구체예에서 마이크로채널 및/또는 나노채널 사이의 계면을 결정한다. 한 구체예에서는, 나노채널을 위한 식각이 생성된 평면에 마이크로채널을 생성시키는 식각을 병행하여 수행한다. 다른 구체예에서는, 농축기 내에 부가적 구조를 만들기 위하여, 예를 들어 로딩 홀(loadng hole)을 생성시키기 위하여, 부가적 식각, 예를 들어 한 구체예에서는 KOH 식각을 사용한다.
- [0125] 다른 구체예에서는, 농축기의 전기적 절연을 수행한다. 한 구체예에서, 이러한 절연은 농축기의 나이트리드 스트리핑(nitride stripping) 및 열 산화(thermal oxidation)를 통해 이루어진다. 다른 구체예에서는, 농축기의 표면을, 다른 구체예에서는 바닥 표면을, 예를 들어 한 구체예에서 파이렉스 박판과 같은 기질에 부착할 수 있다. 한 구체예에서는 양극 집합(anodic bonding) 기술을 사용하여 박판을 부착할 수 있다.
- [0126] 한 구체예에서는, 예를 들어 원용에 의해 그 전체 내용이 본 명세서에 포함된 미국 특허 제6,753,200호에 기술된 것과 같이 당업자에게 공지된 방법 또는 이러한 방법의 개조에 의해, 채널의 평면 배열을 포함하는 유체 칩의 작제를 수행할 수 있다.
- [0127] 한 구체예에서 제작은 형상화 희생층(shaped sacrificial layer)을 사용할 수 있는데, 이는 영구적인 바닥(floor) 및 천장(ceiling) 층 사이에 샌드위치되며, 희생층의 형상으로 작업 틈새(working gap)가 정의된다. 희생층이 제거되면 작업 틈새는 목적하는 형태를 가진 유체 채널이 된다. 한 구체예에서 이 접근 방법은 유체 장치의 구조에서 내부 작업 공간 또는 유체 채널의 높이, 너비 및 형상의 정밀한 정의를 가능하게 한다.
- [0128] 희생층은 기질 상에 형성되며, 적합한 리소그래피 공정에 의해 형상화되고, 예를 들어 천장층에 의해 덮인다. 그 후에, 희생층을 습식 화학 식각(wet chemical etch)으로 제거하여 바닥 및 천장층 사이에 빈 공간을 남길 수 있으며, 이는 농축기에서 유동 채널 및 챔버로 사용될 수 있는 작업 틈새를 형성한다. 이러한 장치에서 작업 틈새의 수직 치수, 또는 높이는 희생층 필름의 두께에 의해 결정되는데, 이는 정밀한 화학 증착(CVD: chemical vapor deposition) 기술로 이루어지며, 따라서 이 치수는 매우 작을 수 있다.
- [0129] 희생층을 제거하기 위해 사용되는 식각 용액이 구조 내에 포함된 희생층에 접근할 수 있도록, 천장층을 통과하여 하나 이상의 접근공(access hole)을 뚫고, 이 구멍을 통해 습식 식각으로 희생층을 제거한다. 완성된 장치를 구성하는 바닥 및 천장층을 소모하지 않으면서 식각이 희생층 내에서 접근공으로부터 상당한 거리를 수평으로 진행할 수 있도록, 희생층 및 유전층(dielectric layer) 사이에 극도로 높은 식각 선택성이 요구될 수 있다. 이러한 공정에 사용될 수 있는 재료의 한 조합은 희생층에 대해 폴리실리콘, 바닥 및 천장층에 대해 질화 실리콘이다. 염기성 용액, 예를 들어 일부 구체예에서 포타슘 하이드록사이드(KOH), 소듐 하이드록사이드(NaOH), 또는 다른 구체예에서 테트라메틸 암모늄 하이드록사이드(TMAH)로부터 극도로 높은 식각 선택성을 얻을 수 있다.
- [0130] 일부 구체예에서, 천장층은 이온-선택성 막이 연계된 경성 기질이다.
- [0131] 다른 구체예에서는 상층(top layer)에 뚫은 접근공을 덮을 수 있다. 이 목적을 위해서, 이산화 실리콘의 밀봉층(sealing layer)을 천장층 위에 침착시켜 접근공을 충전할 수 있으며, 이러한 부가적 얇은 필름층은 작업 틈새 내의 유체의 누출 또는 증발을 막는 우수한 밀봉을 제공한다. SiO<sub>2</sub> CVD 기술은 극저온 옥사이드(VLTO: very low temperature oxide) 침착과 같이 낮은 정도의 필름 등각성(conformality)을 내는 다른 구체예들을 대표하며, 접근공 주위의 폐색(clogging)에 기인하는 장치 면적의 과도한 손실 없이 신뢰할 수 있는 밀봉을 형성한다. 필요한 경우에는, 천장층의 구멍 대신에, 또는 이에 부가하여, 바닥층을 통과하는 접근공을 뚫고 이후에 이산화 실리콘 층의 침착에 의해 재밀봉할 수 있다.
- [0132] 예를 들어 일부 구체예에서는, 통상적으로 질화 실리콘 또는 이산화 실리콘과 같은 유전성 재료인 영구성 벽 재료, 및 비정질 실리콘 또는 폴리실리콘과 같은 비영구성 희생층 재료를 포함하는 장치 재료를 침착시키기 위해 화학 증착(CVD: chemical vapor deposition)을 사용할 수 있다.
- [0133] 일부 구체예에서, 마이크로-채널 및/또는 나노-채널은 칩 상에서 병렬로 배치되어 채널의 배열을 형성하며, 여기에서 다중 병렬 농축이 단일 칩 상에서 수행될 수 있도록 각각의 채널이 농축기를 대표할 수 있다. 일부 구체예에서는, 채널 내에 농축되는 재료가 적당한 조건 하에 칩 상의 다른 농축기, 예를 들어 포스트 에세이 또는 특정 시약에의 노출에 이송될 수 있도록 채널들이 교차한다. 본 태양에 따라 일부 구체예에서는, 교차하는 배열 또는 채널이 다단계 농축을 가능하게 하며, 예를 들어 후속의 조작 또는 희석 환경에의 노출, 및 반복 농축이

바람직하다.

- [0134] 일부 구체예에서는, 예를 들어 특정 목적 또는 수집 기법(collection scheme) 등 다른 것의 축에 알맞도록, 마이크로채널이 임의의 목적하는 방향으로 위치한다.
- [0135] 한 구체예에서는, 칩 상의 채널들, 예를 들어 본 발명의 농축기의 2개 마이크로채널을 연결하는 계면 지역이 작게 된다. 한 구체예에서는, 필요한 경우에 회절 구배 리소그래피(DGL: diffraction gradient lithography)를 사용하여 본 발명의 채널 사이에 구배 계면을 형성한다. 한 구체예에서, 구배 계면 지역은 농축기를 통한 흐름을 조절할 수 있고, 다른 구체예에서는 마이크로채널 내에 형성된 공간 전하층을 조절하며, 이는 다른 구체예에서 전기장의 세기, 또는 다른 구체예에서 마이크로채널 내에 공간 전하층을 발생시키기 위해 필요한 전압에 반영될 수 있다. 일부 구체예에서, 이온-선택성 막은 이러한 계면에 위치한다.
- [0136] 한 구체예에서, 목적하는 규모, 예를 들어 미크론으로부터 나노미터 길이 규모로 수치의 단면을 축소하기 위해, 구배 계면 영역은 수평 공간 구배 구조(lateral spatial gradient structure)로 형성된다. 다른 구체예에서는 구배 계면 영역이 수직 경사 구배 구조(vertical sloped gradient structure)로 형성된다. 다른 구체예에서 구배 구조는 수평 및 수직 구배 양자 모두를 제공할 수 있다.
- [0137] 한 구체예에서 농축 장치는, 마이크로채널 또는 마이크로채널들을 기질 상에 형성시키고 목적하는 채널들 사이에 구배 계면 영역을 형성시킴으로써 회절 구배 리소그래피에 의해 제작될 수 있다. 한 구체예에서는, 포토리소그래피 중에 포토 마스크(photo mask) 및/또는 포토레지스트(photoresist) 위에 위치한 차단 마스크를 사용함으로써 구배 계면 영역을 형성시킬 수 있다. 차단 마스크의 가장자리는 회절을 제공하여 포토레지스트 상에 구배 광강도를 발한다.
- [0138] 한 구체예에서 농축기는 다수의 채널들, 예를 들어 다수의 마이크로채널, 및/또는 다수의 나노채널, 또는 그의 조합을 포함할 수 있다. 한 구체예에서 구문 "다수의 채널"은, 2개, 다른 구체예에서는 5개, 다른 구체예에서는 10, 96, 100, 384, 1,000, 1,536, 10,000, 100,000 또는 1,000,000개를 초과하거나, 특정 목적에 부합하기에 바람직한 임의의 수의 채널을 지칭한다. 마찬가지로, 칩 상의 채널 배열은 특정 응용에 알맞도록 설계될 수 있다.
- [0139] 마이크로채널의 너비는, 한 구체예에서 1 - 100  $\mu\text{m}$  사이, 다른 구체예에서는 1 내지 15  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 20 내지 50  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 25 내지 75  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 50 내지 100  $\mu\text{m}$ 이다. 마이크로채널의 깊이는, 한 구체예에서 0.5 - 50  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 0.5 내지 5  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 5 내지 15  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 10 내지 25  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 15 내지 50  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 1  $\mu\text{m}$  - 50  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 10 내지 25  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 15 내지 40  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 25 내지 50  $\mu\text{m}$ 이다. 채널의 깊이는 다른 구체예에서 1  $\mu\text{m}$  - 50  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 5 내지 25  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 15 내지 40  $\mu\text{m}$ , 다른 구체예에서는 25 내지 50  $\mu\text{m}$ 이다.
- [0140] 한 구체예에서 농축기는 도 2에 도식화된 바와 같이, 또는 도 9에 제공된 개요도에 따라 작게 된다. 마이크로채널(9-10)은 원형 배열로 배치되며, 채널은 칩 바닥 및 천장에 접한다. 천장은 각각 시료 및 완충액 도입을 위한 로딩 포트(9-20, 9-30)를 포함한다.
- [0141] 본 발명의 다른 태양에서, 농축기는 마이크로채널 또는 마이크로채널들과 유체 소통을 하는 적어도 하나의 시료 저장소(sample reservoir)를 추가로 포함한다. 다른 구체예에서, 시료 저장소는 관심의 대상인 종을 포함하는 유체 또는 액체를 방출할 수 있다. 한 구체예에서 시료 저장소는 도관(conduit)을 써서 마이크로채널에 연결되며, 이는 마이크로채널의 치수를 가지거나, 기술된 바와 같이 구배 계면 영역을 포함할 수 있다.
- [0142] 한 구체예에서는, 관심의 대상인 종을 포함하는 액체를 장치 내에 도입하고 나노채널 및/또는 마이크로채널 내에 독립적으로 전기장을 유도하여, 관심의 대상인 종을 채널 내부에 농축한다.
- [0143] 한 구체예에서 농축기는, 본 명세서에 예시 및 기술된 바와 같이 이온-선택성 막을 사용하여 전기역학적 포획을 위한 이온-고갈 지역을 발생시킨다.
- [0144] 한 구체예에서는, 농축기에 전기장을 적용하여 음이온성 분자를 포획하는 확장된 공간 전하층 및 이온-고갈 지역을 발생시킨다. 양극 축의 접선 필드(tangential field)는 전기삼투 흐름을 발생시킬 수 있으며, 이는 포획된 지역 내로 분자들을 끌어들이는다.
- [0145] 한 구체예에서, 장치 내의 흐름은 압력-구동성일 수 있으며, 이는 당업자에게 주지된 임의의 수단에 의해 이루어



어질 수 있다. 다른 구체예에서 흐름은 압력-구동성 및 전기역학적 흐름의 혼성(hybrid)일 수 있다.

- [0146] 한 구체예에서 구문 "압력-구동성 흐름"은, 이러한 흐름이 구동되는 채널 세그먼트(segment)의 외부에 있는 압력원에 의해 구동되는 흐름을 지칭하며, 이와 대조적으로, 채널 세그먼트를 통한 전기장의 적용에 의해 문체의 채널 세그먼트를 통해 발생하는 흐름은 본 명세서의 한 구체예에서 "전기역학 구동성 흐름"이라고 지칭한다.
- [0147] 압력원의 예는, 문체의 채널 세그먼트 외부에 있는 음압 및 양압원 또는 펌프, 예를 들어 전기역학적 압력 펌프, 예를 들어 문체의 채널 세그먼트로부터 분리된 펌핑 채널 내에 전기역학 구동성 흐름에 의한 압력을 발생시키는 펌프를 포함하며, 다만 이러한 펌프는 문체의 채널 세그먼트의 외부에 존재한다(미국 특허 제6,012,902호 및 제6,171,067호 참조, 각각은 모든 목적에 있어서 그 전체 내용이 원용에 의해 본 명세서에 포함됨).
- [0148] 한 구체예에서, 용어 "전기역학적 흐름"은 적용된 전기장 하에 유체 또는 유체에 함유된 물질이 이동함을 지칭한다. 전기역학적 흐름은 일반적으로 전기영동, 예를 들어 하전된 종이 배치된 매체 또는 유체를 통한 하전된 종의 이동, 및 전기삼투, 예를 들어 모든 구성성분을 포함하는 벌크 유체의 전기 구동성 이동 중 하나 또는 양자 모두를 포함한다. 따라서 전기역학적 흐름에 관한 논의에서는, 주로 전기영동성이거나 실질적으로 완전하게 전기영동성인 종의 이동으로부터, 예를 들어 하전되지 않은 물질의 경우에 주로 전기삼투 구동성인 물질의 이동에 이르기까지, 그리고 이들 양 극단 사이에 들어가는 2개 유형의 전기역학적 이동의 모든 범위 및 비율을 포함하여, 전기역학적 흐름의 전체 스펙트럼을 상정해야 한다.
- [0149] 한 구체예에서 용어 "액체 흐름"은, 통로, 도관, 채널을 통하거나 표면을 가로지르는 유체 또는 다른 물질의 흐름의 특성 중 임의의 것 또는 전부를 포괄적으로 지칭한다. 이러한 특성은 흐르는 유체 또는 다른 물질의 유속, 유량(flow volume), 형태(conformation) 및 수반되는 확산 프로파일(dispersion profile)과 더불어 층류, 점동류(creeping flow), 난류(turbulent flow) 등의 더 일반적인 다른 특성들을 포함하며, 이에 한정되지 않는다.
- [0150] 혼성 흐름은, 한 구체예에서는 채널 네트워크 내로의 액체 시료의 압력-기체 중계(pressure-based relay) 후에 물질의 전기역학적 이동이 뒤따르는 경우를 포함할 수 있고, 다른 구체예에서는 액체의 전기역학적 이동 후에 압력-구동성 흐름이 뒤따르는 경우를 포함할 수 있다.
- [0151] 한 구체예에서, 전기장은 전압 공급으로부터 장치로의 전압 적용에 의해 각각의 채널 내에 유도될 수 있다. 한 구체예에서는, 적어도 하나의 방향으로 적어도 일부의 채널을 건너서 전기장을 적용할 수 있는 적어도 한 쌍의 전극을 설치함으로써 전압을 적용한다. 표준 집적회로(integrated circuit) 제작 기술을 사용하여, 적어도 하나의 마이크로채널, 다른 구체예에서는 적어도 하나의 나노채널, 또는 다른 구체예에서는 그의 조합에 접촉하고 방향성(directional) 전기장을 구축하기 위해 배열되도록 전극 금속 접촉(electrode metal contact)을 집적할 수 있다. 교류(AC: alternating current), 직류(DC: direct current), 또는 2가지 유형의 필드 모두를 적용할 수 있다. 전극은 거의 모든 금속으로 만들 수 있으며, 한 구체예에서는 정의된 선로 상에 침착된 얇은 Al/Au 금속층을 포함한다. 한 구체예에서는, 하나의 전극의 적어도 하나의 말단이 저장소 내의 완충용액에 접촉한다.
- [0152] 다른 구체예에서, 농축기는 적어도 2 쌍의 전극을 포함할 수 있으며, 각각은 상이한 방향으로 전기장을 제공한다. 한 구체예에서는 공간 전하층을 배열하기 위하여, 다른 구체예에서는 거대분자를 목적하는 속도 및 방향으로 이동시키기 위하여, 다른 구체예에서는 그의 조합을 위하여, 한 구체예에서는 필드 접촉을 사용하여 전기장의 방향 및 진폭을 독립적으로 조정할 수 있다.
- [0153] 한 구체예에서, 전압은 50 mV 내지 1500 V로 적용된다. 한 구체예에서 전압 공급은 마이크로채널의 양측에 동일한 전압을 적용하고, 다른 구체예에서 전압 공급은 마이크로채널의 양극 측에 음극 측보다 더 큰 전압을 적용한다.
- [0154] 한 구체예에서 전압 공급은 목적하는 전압을 제공하기 위해 사용될 수 있는 임의의 전기 공급원(electrical source)일 수 있다. 전기 공급원은 목적하는 전압을 발생시킬 수 있는 임의의 전기 공급원일 수 있다. 예를 들어, 전기 공급원은 압전(piezoelectrical) 공급원, 배터리, 또는 가정용 전류를 동력으로 하는 장치일 수 있다. 한 구체예에서는 가스 점화기의 압전 방전을 사용할 수 있다.
- [0155] 한 구체예에서 장치 내의 전기역학적 포획 및 시료 수집은 수분의 경로에 걸쳐 일어날 수 있고, 다른 구체예에서는 몇 시간 동안 지속될 수 있다. 한 구체예에서 시간 경로에 걸친 농축은  $10^6 - 10^8$ 에 달하는 농축 지수를 유발하며, 다른 구체예에서는, 적용되는 전압, 액체의 염 농도, 액체의 pH, 이온-선택성 막의 재료 또는 두께의 선택의 수정 또는 그의 조합과 같이 농축 중에 채용되는 조건의 최적화에 따라 더욱 높아질 수 있다.
- [0156] 다른 구체예에서 농축기는, 농축기의 마이크로채널, 마이크로채널들, 나노채널 및/또는 나노채널들과 유체 소통

을 하는 적어도 하나의 폐기 저장소(waste reservoir)를 추가로 포함한다. 한 구체예에서, 폐기 저장소는 유체를 수용할 수 있다.

[0157] 한 구체예에서는 관심의 대상인 종의 농축기 표면에 대한 흡착을 저감 또는 증대하기 위해 마이크로채널의 표면을 기능화할 수 있다. 다른 구체예에서는 장치의 작동 효율을 증대 또는 저감하기 위해 나노채널 및/또는 마이크로채널의 표면이 기능화되었다. 다른 구체예에서는, 장치의 작동 효율을 증대 또는 저감하기 위해 장치의 기질에 외부 게이트 전위를 적용한다. 다른 구체예에서, 장치는 투명 재료를 포함한다. 다른 구체예에서, 투명 재료는 파이렉스, 이산화 실리콘, 질화 실리콘, 석영, PMMA, PC 또는 아크릴이다.

[0158] 다른 구체예에서, 관심의 대상인 종의 분석을 한 구체예에서는 농축기 내에서, 다른 구체예에서는 농축기의 다운스트림(downstream)에서 실행할 수 있도록 농축기를 개조한다. 농축기 다운스트림의 분석은, 한 구체예에서는 농축된 종을 장치로부터 수거하여 적절한 분석 환경에 놓이게 함을 지칭하고, 다른 구체예에서는 농축된 물질을 농축기로부터 적절한 분석 환경으로 중계하는 도관의 작제를 지칭한다. 이러한 분석은 한 구체예에서 신호 획득(signal acquisition)을 포함할 수 있고, 다른 구체예에서는 데이터 처리장치(data processor)를 포함할 수 있다. 한 구체예에서 신호는 광자, 전기적인 전류/임피던스 측정 또는 측정상의 변화일 수 있다. 예를 들어 본 명세서에 후술하고 도 5에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 농축 장치는 그의 단순성, 성능, 견고성, 및 다른 분리 및 검출 시스템에 통합 가능성에 의해 다양한 분석 시스템, 예를 들어 생체 분석 마이크로시스템에 유용할 수 있음이 이해될 것이다. 이러한 시스템에의 본 장치의 임의의 통합은 본 발명의 일부로 간주됨을 이해하여야 한다.

[0159] 다른 구체예에서 농축기가, 다른 구체예에서는 마이크로채널 또는 마이크로채널들이 2 차원 검출기로 영상화될 수 있다. 농축기 또는 그의 일부의 영상화는, 일부 구체예에서 마이크로채널로부터 빛을 수집하는 광학 요소와 같이 발산 신호의 수집을 위해 적합한 기구에 이를 제공함으로써 이루어질 수 있다.

[0160] 장치는 다른 구체예에서 분석 시스템에, 다른 구체예에서는 검출 시스템에, 다른 구체예에서는 분석 시스템에, 다른 구체예에서는 그의 조합에 연결된다. 다른 구체예에서, 장치는 조명원(illumination source)에 연결된다. 본 태양에 따라 일부 구체예에서, 농축된 물질의 에세이는 본 명세서에 기술된 바와 같이 장치 내에서 이루어질 수 있으며, 이러한 분석을 실행하기 위해 적절한 검출 기구 및 시스템을 장치에 연결함으로써 그의 분석에 영향을 미칠 수 있다. 일부 구체예에서, 이러한 에세이는 효소적 에세이, 목적하는 산물의 탐침 검출, 합성 절차, 물질의 분해, 또는 당업자가 인식할 수 있는 다른 것들일 수 있다.

[0161] 한 구체예에서, 표면-문양화 나피온 막을 가진 예비 농축기와 PBS 1X 매체 내에서의 면역분석법의 연결은 하기와 같이 실행된다: 미세 유체 예비 농축기를 표면 면역분석법에 연결하고(도 14 참조) 예비 농축기를 사용하여 면역분석법의 증가된 결합률을 입증한다. 상기의 통합된 예비 농축-면역분석법 장치에서, 본 명세서에 기술된 바와 같이 유리 기질 상에 먼저 프라임 코트를 문양화한 후에 나피온 수지를 문양화한다. 한 구체예에서, 유리 기질은 사전에 e-빔 침착된 Au 도트(dot)의 배열을 포함한다. 그 다음에 Au-도트의 표면을 항-hcG와 같은 항체로 기능화한다. 표면 기능화를 위해서는, 표준 티올 화학이 사용된다(도 15). 스트렙타비딘 및 바이오틴화된 표면 사이의 결합을 시험하기 위해, PBS 1X 내에서 바이오틴화 Au 표면 상에 스트렙타비딘 분자를 농축하고 Au 표면 상의 그의 결합 증가를 관찰한다(도 16). 최종적으로, PBS 1X 완충액 내에서 표면-기능화 Au-도트 위에 hcG 단백질이 농축되고 항-hcG에 대한 hcG의 결합률이 증가함이 입증된다(도 17 참조).

[0162] 농축기는 한 구체예에서 일회용일 수 있고, 다른 구체예에서는 개별적으로 포장될 수 있으며, 다른 구체예에서는 1 - 50,000개의 개별적 유체 시료의 시료 로딩 용량을 가진다. 한 구체예에서는 농축기를 플라스틱과 같은 적합한 하우징(housing)에 넣어 편리하고 상업적으로 완성된 카트리리지 또는 카세트를 제공할 수 있다. 한 구체예에서 농축기는, 예를 들어 농축기에 연결하고자 하는 다른 장치의 저장소와 시료 로딩 구획이 정렬되도록 장치를 삽입(inserting), 인도(guiding) 및 정렬(aligning)하기 위한 적합한 특징을 하우징 상에 또는 그 내부에 가진다. 예를 들어, 농축기에는 삽입 슬롯, 트랙, 또는 그의 조합, 또는 본 발명의 장치를 통한 농축 공정의 자동화를 위한 다른 개조가 장착될 수 있다.

[0163] 한 구체예에서 농축기는 다중 시료의 초고속 스크리닝(high throughput screening)을 위해 개조될 수 있으며, 이는 당업자가 인식하는 바와 같이 단백질체학 응용에 있어서 유용하다.

[0164] 한 구체예에서 농축기는 전극에 연결되고, 이는 전위 발생기(electric potential generator)에 연결되며, 이는 다른 구체예에서 금속 접촉에 연결될 수 있다. 다른 구체예에서, 적합한 금속 접촉은 외부 주사/영상화/전기장 튜너(scanning/imaging/electric-field tuner)에 연결될 수 있는 외부 접촉 패치일 수 있다.

- [0165] 본 발명의 한 구체예에서, 농축기는 대형 시스템의 일부이며, 이는 채널 내의 분자를 여기시키고 유발된 신호를 검출 및 수집하는 기구를 포함한다. 다른 구체예에서는 집속 렌즈를 사용하여, 한 구체예에서 레이저 빔을 시료 플러그에 집속시킬 수 있다. 마이크로채널 내부에서 분자로부터 발생된 광신호는 집속/수집 렌즈에 의해 수집될 수 있으며, 다른 구체예에서는 색선별 거울(dichroic mirror)/대역통과 필터(band pass filter)에 반사되어 광학 경로에 들어가서, 다른 구체예에서 전하결합소자(CCD: charge coupled device) 카메라에 입력될 수 있다.
- [0166] 다른 구체예에서 여기 광원은 농축기 상단으로부터 색선별 거울/대역통과 필터 박스 및 집속/수집 체계를 통과할 수 있다. 광학 신호를 검출하기 위하여, 디지털 카메라, 광전자 증배관(PMT: photomultiplier tube) 및 애벌란시 광다이오드(APD: Avalanche photodiode)와 같은 다양한 광학 요소 및 장치 또한 시스템에 사용될 수 있다.
- [0167] 다른 구체예에서, 시스템은 데이터 처리장치를 추가로 포함할 수 있다. 한 구체예에서, 데이터 처리장치는 CCD로부터의 신호를 농축된 종의 디지털 영상으로 디스플레이 상에 처리하기 위해 사용될 수 있다. 한 구체예에서, 데이터 처리장치는 또한 디지털 영상을 분석하여 크기 통계, 히스토그램(histogram), 핵형(karyotype), 맵핑(mapping), 진단 정보와 같은 특성분석 정보를 제공하고 데이터 판독을 위해 적합한 형태로 정보를 디스플레이할 수 있다.
- [0168] 한 구체예에서는, 마이크로채널 내에 활성 약제를 포함하도록 장치를 추가로 개질한다. 예를 들어 한 구체예에서는, 본 발명의 방법에 따라 농축된 분자가 포획되는 지역에서 마이크로채널을 효소로 코팅한다. 본 태양에 따라, 프로테아제와 같은 효소가 농축된 단백질에 접촉하여 그를 분해할 수 있다. 본 태양에 따라 본 발명은 단백질 분석을 위한 방법을 제공하며, 예를 들어 다수의 세포 폴리펩티드를 포함하는 시료를 마이크로채널 내에 농축하여 실질적으로 정제된 다수의 폴리펩티드를 수득한다. 폴리펩티드를 실질적으로 분해하기에 충분한 조건 하에서, 마이크로채널 내에 고정된 프로테아제에 폴리펩티드가 노출됨으로써, 분해 산물 또는 펩티드가 생산된다. 다른 구체예에서 분해 산물은 다운스트림 분리 모듈로 수송되어 분리되고, 다른 구체예에서는 분리된 분해 산물이 여기에서 펩티드 분석 모듈로 이송될 수 있다. 분해 산물의 아미노산 서열을 결정하고 조립하면 폴리펩티드의 서열을 완성할 수 있다. 펩티드 분석 모듈에 전달하기 전에 펩티드를 계면 모듈에 이송하여 하나 이상의 부가적 분리, 농축 및 또는 집속 단계를 수행할 수 있다.
- [0169] 다른 구체예에서 프로테아제는 아미노펩티다제, 카복시펩티다제 및 엔도펩티다제(예를 들어 트립신, 카이모트립신, 서모라이신, 엔도프로티나제 Lys C, 엔도프로티나제 GluC, 엔도프로티나제 ArgC, 엔도프로티나제 AspN)와 같은 펩티다제를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 아미노펩티다제 및 카복시펩티다제는 전사후 개질 및 가공 사건의 특성분석에 있어서 유용하다. 프로테아제의 조합 또한 사용할 수 있다. 한 구체예에서는, 흡착 또는 공유 방법을 사용하여 프로테아제 및/또는 다른 효소들을 마이크로채널 표면 상에 고정할 수 있다. 일부 구체예에서, 공유 고정의 예는 글루타르알데히드, 이소티오시아네이트 및 시아노젠 브로마이드와 같은 리간드를 가진 표면에 프로테아제를 직접 공유 부착하는 경우를 포함한다. 다른 구체예에서는, 프로테아제와 특이적으로 반응하거나 프로테아제에 연결된(예를 들어 공유적으로) 분자와 결합 또는 반응하는 결합 파트너를 사용하여 프로테아제를 부착할 수 있다. 결합 쌍은 사이토스타틴/파과인, 발포스파네이트/카복시펩티다제 A, 바이오틴/스트렙타비딘, 리보플라빈/리보플라빈 결합 단백질, 항원/항체 결합 쌍, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.
- [0170] 한 구체예에서는, 주어진 세포로부터 수득된 폴리펩티드를 농축하고, 분해 산물을 생산하며, 분해 산물을 분석하여 단백질 서열을 결정하는 단계들을 주어진 시료에 대해 병행 및/또는 반복적으로 수행하여, 폴리펩티드가 얻어진 세포의 단백질 맵을 제공할 수 있다. 다중의 상이한 세포로부터의 단백질 맵을 비교하여 이들 세포에서 차별적으로 발현되는 폴리펩티드를 동정할 수 있으며, 다른 구체예에서는 세포를 다양한 처리 또는 조건 하에 두거나, 다양한 공급원으로부터 추출함으로써, 이렇게 생성된 단백질 맵이 세포 상태의 결과로서 차별적인 단백질 발현을 반영할 수 있다. 이러한 농축 및 예세이는 본 발명의 방법을 포함함을 이해하여야 한다.
- [0171] 일부 구체예에서는, 본 발명의 장치/방법을 사용하여 생물학적 시료로부터 목적하는 물질을 농축할 수 있다. 일부 구체예에서, 생물학적 시료는 유체일 수 있다. 한 구체예에서, 이러한 유체는 체액을 포함할 수 있으며, 이는 예를 들어 일부 구체예에서는 혈액, 소변, 혈청, 림프, 타액, 향문 및 질 분비물, 땀 및 정액, 다른 구체예에서는 예를 들어 기술된 바와 같이 간, 비장, 골수, 폐, 근육, 신경계 조직 등과 같은 고형 조직의 균질물일 수 있으며, 예를 들어 포유류, 설치류, 박테리아 등을 포함하는 사실상 모든 유기체로부터 수득될 수 있다. 일부 구체예에서, 용액 또는 완충액 매체는 환경 시료, 예를 들어 대기, 농업, 물 또는 토양 근원으로부터 수득된 물질을 포함할 수 있으며, 이는 본 발명의 방법을 적용할 수 있는 유체 내에 존재한다. 다른 구체예에서, 이러한 시료는 생물학적 무기 시료; 연구용 시료일 수 있으며, 예를 들어 당단백질, 생물 독소, 정제된 단백질 등을 포함할 수 있다. 다른 구체예에서, 이러한 유체는 희석될 수 있다.

- [0172] 한 구체예에서 본 발명은 실제 상황 스크린에 적합한 적어도 10,000개 농축기 규모를 감당할 수 있는 배열 구조(array architecture)를 제공한다.
- [0173] 한 구체예에서는, 표지된 단백질 또는 폴리펩티드를 알고 있는 비율로 농축기 내에 도입하고 농축된 표지 단백질 또는 폴리펩티드를 검출함으로써 하기에 예시된 바와 같이 농축 효율을 결정할 수 있다. 배경 잡음 위의 신호 강도를 시간의 함수로서 결정할 수 있다.
- [0174] 한 구체예에서는, 온도, pH, 염 농도, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있는 물리화학적 변수들에 대해 본 발명의 농축기를 제어할 수 있다.
- [0175] 한 구체예에서 본 발명은, 본 발명의 장치 또는 본 명세서에 기술된 공정에 의해 제조되는 것을 사용함을 특징으로 하여, 액체 내에서 관심의 대상인 종을 농축하는 방법을 제공한다.
- [0176] 한 구체예에서 본 발명은, 관심의 대상인 종을 포함하는 액체를 본 발명의 장치에 적용함을 특징으로 하여, 액체 내에서 관심의 대상인 종을 농축하는 방법을 제공한다.
- [0177] 한 구체예에서 본 방법은 하기의 단계들을 추가로 포함한다:
- [0178] ▶ 채널 내에 전기장을 유도함으로써 이온-선택성 막에 인접한 채널 내의 지역에 이온 고갈을 발생시키고 채널 내에 공간 전하층을 형성시켜 관심의 대상인 종에 대한 에너지 장벽을 제공하는 단계; 및
- [0179] ▶ 채널 내에 액체 흐름을 유도하는 단계.
- [0180] 한 구체예에서 흐름은 전기삼투 구동성이고, 다른 구체예에서는 흐름이 압력 구동성이다.
- [0181] 한 구체예에서 단계들은 주기적으로 실행된다.
- [0182] 한 구체예에서는, 장치에 전압을 적용함으로써 채널 내에 전기장을 유도하며, 이는 한 구체예에서 50 mV 내지 1500 V 사이이다. 한 구체예에서는 채널의 양측에 동일한 전압이 적용되고, 다른 구체예에서는 채널의 양극 측에 음극 측보다 더 큰 전압이 적용된다.
- [0183] 한 구체예에서는, 채널의 양극 측에 더 큰 전압이 적용되기 전에 채널 내에 공간 전하층이 발생한다.
- [0184] 본 발명의 상기 태양에 따라, 다른 구체예에서는 장치가 분리 시스템, 검출 시스템, 분석 시스템 또는 그의 조합에 연결된다.
- [0185] 한 구체예에서 액체는 용액이다. 다른 구체예에서 액체는 현탁액이며, 이는 다른 구체예에서 기관 균질물, 세포 추출물 또는 혈액 시료이다. 한 구체예에서, 관심의 대상인 종은 단백질, 폴리펩티드, 핵산, 바이러스 입자 또는 그의 조합을 포함한다. 한 구체예에서 관심의 대상인 종은 세포에서 발견되거나 그로부터 분비되는 단백질, 핵산, 바이러스 또는 바이러스의 입자이며, 다른 구체예에서 이는 세포의 단백질 추출물로부터 추출된 단백질의 10% 미만에 해당할 정도로 매우 적은 양으로 존재한다.
- [0186] 한 구체예에서 본 발명의 방법 및 본 발명의 장치는 상대적으로 많은(~1  $\mu$ l 이상) 시료 부피로부터 분자를 수집하여 작은(1 pL ~ 1 nL) 부피로 이를 농축할 수 있다. 이렇게 농축된 시료는 이후에 다른 구체예에서, 미세 유체 생체 분자 분류(sorting)/검출 시스템의 작은 시료 부피 용량에 의해 유발되는 전체적 검출 감도의 손실 없이 다양한 미세 유체 시스템에 의해 효율적으로 분류, 분리 또는 검출될 수 있다.
- [0187] 한 구체예에서 본 발명의 방법 및 농축 장치는 분자 신호 강도의 현저한 증가 및 후속의 적절한 분석을 가능하게 하며, 이는 다른 구체예에서 소량 단백질 또는 펩티드와 같이 낮은 농도로 존재하는 분자의 검출성을 손실하지 않으면서 더욱 적극적인 분자 분류 및/또는 단백질과 같은 다량 분자를 시료로부터 제거함을 가능하게 한다.
- [0188] 다른 구체예에서 본 발명의 농축 장치 및 방법은, 종래의 미세 유체 채널의 짧은 경로 길이 및 작은 내부 부피로 인해 불가능하였던 몇 가지 비-표지 검출 기술(예를 들어 UV 흡광)의 사용을 가능하게 한다. 그러므로 다른 구체예에서, 농축 및 분자 분류를 조합한 본 발명의 농축 장치 및 방법은 생체 표지자 검출, 환경 분석 및 화학적-생물학적 약제 검출을 위해 통합된 마이크로시스템에 있어서 이상적인 기반을 제공할 수 있다.
- [0189] 한 구체예에서 본 방법은 관심의 대상인 종을 장치로부터 방출하는 단계를 추가로 포함한다. 한 구체예에서 본 방법은 관심의 대상인 종을 모세관 전기영동에 제공하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0190] 모세관 전기영동은 작은 모세관 내에서 분자의 전기영동적 성질 및/또는 시료의 전기삼투 흐름을 이용하여 시료 구성성분을 분리하는 기술이다. 통상적으로 내경 100  $\mu$ m 이하의 용융 실리카(fused silica) 모세관에 전해질을

함유하는 완충 용액을 충전한다. 완충 전해질을 포함하는 독립적인 유체 저장소에 모세관의 양쪽 말단을 위치시킨다. 한쪽 완충액 저장소에 전위 전압을 위치시키고 다른 완충액 저장소에 두 번째 전위 전압을 위치시킨다. 양성 및 음성으로 하전된 종은 완충액 저장소에 적용된 2개의 전위 전압에 의해 구축된 전기장의 영향 하에 모세관을 통해 반대 방향으로 이동한다. 유체의 각 구성성분의 전기영동적 이동성 및 전기삼투 흐름은 각각의 유체 구성성분의 전체적 이동을 결정한다. 분리 채널 벽을 따라 마찰 항력(frictional drag)이 감소함으로써, 전기삼투 흐름으로부터 유발되는 유체 흐름 프로파일은 편평하다. 관찰되는 이동성은 전기삼투 및 전기영동적 이동성의 합이며, 관찰되는 속도는 전기삼투 및 전기영동적 속도의 합이다.

- [0191] 본 발명의 한 구체예에서, 모세관 전기영동 시스템은 장치 상에 미세 기계화(micromachined)되며, 이는 본 명세서에 기술된 농축 장치의 일부이거나 그로부터 분리된다. 장치 상에 모세관 전기영동 시스템을 미세 기계화하는 방법은 당업계에 주지되어 있으며, 예를 들어 문헌(미국 특허 제6,274,089호; 미국 특허 제6,271,021호; Effenhauser et al., 1993, Anal. Chem. 65: 2637-2642; Harrison et al., 1993, Science 261: 895-897; Jacobson et al., 1994, Anal. Chem. 66:1107-1113; 및 Jacobson et al., 1994, Anal. Chem. 66: 1114-1118)에 기술되어 있다.
- [0192] 한 구체예에서 모세관 전기영동 분리는, 이후에 MALDI-MS 및/또는 ESI-MS/MS-기체의 단백질 분석에 모두 사용할 수 있는 시료를 제공한다(예를 들어, Feng et al., 2000, Journal of the American Society For Mass Spectrometry 11: 94-99; Koziel, New Orleans, La. 2000; Khandurina et al., 1999, Analytical Chemistry 71: 1815-1819 참조).
- [0193] 다른 구체예에서, 본 발명의 농축기에 접속될 수 있는 다운스트림 분리 장치는 마이크로 고속 액체 크로마토그래피 컬럼, 예를 들어 역상, 이온-교환 및 친화도 컬럼을 포함하나 이에 한정되지 않는다.
- [0194] 농축 장치의 다운스트림에 연결되는 임의의 시스템, 장치 등의 정확한 구성은 본 발명의 일부로서 간주되며, 그 구성은 목적하는 응용에 적합하게 변동될 수 있음을 이해하여야 한다. 한 구체예에서, 농축 장치의 다운스트림에 위치하는 농축 펌프의 분리를 위한 모듈은 분리 매체 및 모세관을 포함하며, 그의 말단들 사이에는 전기장이 적용된다. 모세관 시스템 내에서의 분리 매체의 수송 및 분리 매체 내로의 시험 시료(예를 들어 펄스 및/또는 부분적으로 분해된 폴리펩티드를 포함하는 시료 밴드)의 주입은 펌프 및 밸브의 도움으로, 다른 구체예에서는 모세관의 다양한 지점에 적용된 전기장을 통해 실행될 수 있다.
- [0195] 다른 구체예에서 본 방법은 액체 내에 검출 한계 미만의 농도로 존재하는 관심의 대상인 종을 검출하기 위해 이용된다.
- [0196] 본 명세서에 하기 예시하는 바와 같이(도 6 및 10), 본 발명의 장치/방법에 의해 소량 단백질의 농축 및 에세이가 용이하게 이루어진다. 불과 4 분만에 소량 단백질의  $10^4$  배 농축이 달성되었고, 본 발명의 농축 방법/장치를 사용하지 않는 유사한 에세이와 비교할 때 대략 1000 배의 에세이 감도 증대가 달성되었다.
- [0197] 다른 구체예에서, 본 발명을 이탈하지 않으면서 본 발명의 방법의 다양한 응용이 가능하다.
- [0198] 예를 들어, 본 발명의 농축 및 펌핑 방법은 초고속 로봇 에세이 시스템이 본 발명의 장치에 직접 접속되어 관심의 대상인 종을 농축하고/하거나 액체를 펌핑함을 가능하게 한다.
- [0199] 본 발명을 실시하는 다양한 양식들은, 본 발명으로서 간주되는 대상 발명을 특별히 적시하여 명백하게 청구하는 하기의 청구 범위의 범위 내에 포함되는 것으로 본다.

**도면의 간단한 설명**

- [0200] 도 1은 본 발명의 장치를 제작하는 방법의 구체예를 도식적으로 나타낸다.
- 도 2는 도 1에 개괄한 바와 비교할만한 방법에 의해 제작된 본 발명의 장치의 구체예의 사진이다.
- 도 3은 본 발명의 농축 장치 및 그의 제작 공정의 구체예를 나타낸다. 도 3a는 유리 기질 상에 모세관 리소그래피를 이용하여 나피온 나노-브릿지를 형성함을 나타내고; 도 3b는 유리 상의 나피온 나노-브릿지 및 PDMS(마이크로채널) 사이의 결합을 나타내며; 도 3c는 유리 상의 나피온 브릿지 및 PDMS를 포함하는 예비 농축기 칩을 기술한다. 전극 접촉이 나타나 있다.
- 도 4는 도 2의 장치 내에서 하전된 종이 농축되는 기전의 구체예를 나타낸다. 포획 모드에서는, 나피온 막을 건

너서 적용된 전위차  $V_{diff} = 200 \text{ V}$  및 압력-구동성 흐름으로 주입된 시료를 포획한다. 목적하는 예비 농축 지수에 도달하면, 자동 주입기로 완충 용액을 주입하여 시료의 pH를 포획된 분자의 pI 수치로 조정한다. B) 일단 pH 수치가 분자의 pI 수치에 도달하면, 분자는 중성이 되어 전기역학적 트랩으로부터 방출된다. 분주 모드(dispensing mode)로 전환하기 위해서는 전압 설정을 변화시키며, 이는 고전압 시퀀서(high voltage sequencer)에 의해 수행될 수 있다. 채널로부터 MALDI 플레이트로 액적 형성(droplet generation)을 이루기 위해 중간 채널의 전압을  $\sim 1000 \text{ V}$ 로 증가시킨다. 채널 내에 완충액 이온을 보유하기 위하여(그렇지 않으면 분주된 시료가 높은 염 농도를 가지게 됨), 분주 모드에서 고갈 지역을 더 오래 유지한다. 그러므로, 중간 채널의 말단으로부터 방출된 분자를 분주하는 동안 동일한 전위차,  $V_{diff} = 200 \text{ V}(1000 \text{ V} - 800 \text{ V})$ 를 주채널 및 2개의 부채널(side channel)을 건너서 일정하게 적용한다. 시료를 분주하기 전에 폐기물을 제거하기 위하여 구멍 주위에 위치한 공기 제트를 사용할 수 있다. MALDI 플레이트가 X-Y 테이블에 탑재될 경우, 플레이트 상에 추가 시료를 연이어 수집할 수 있다.

도 5는 예비-농축기 작동 개요도의 한 구체예를 나타낸다. 도 5a는 "포착" 또는 포획 모드를 설명하며, 여기에서 시료 채널의 양측은 접지된 완충액 채널에 대해 일정한 50 V로 유지된다. 이러한 전압 설정에서, 하전된 입자는 나피온 막 브릿지 주위에 포획된다(표시됨). 도 5b는 방출 또는 분주 모드를 나타낸다. 이 모드에서 시료 채널의 한쪽 말단의 전압은 25 V로 감소되어 시료 채널의 양쪽 말단 사이에 25 V의 전위차를 발생시킨다. 이 전위차가 입자 흐름을 유발한다. 도 5c는 단계 a(상단) 및 b(하단)에서 생물학적 표지자 위치의 영상이다.

도 6은 전기역학적 포획 시간에 대한  $\beta$ -과이코에리트린 예비 농축(단위: 형광 강도)의 플롯이다. 본 구체예에서는 20 분만에  $\sim 10^5$ 의 예비-농축 지수가 달성되었다(5 분만에  $10^4$ ). 그래프 뒤에 나타난 4 nM 단백질의 형광 영상은 포획 시간의 증가에 따른 농축 플러그 크기 및 농도의 증가를 의미한다. 10 mM 포스페이트 완충액, pH = 7 용액에 대한 데이터를 나타낸다.

도 7은 소량 효소에 대한 반응 부스팅(boosting) 수단으로서 작동하는 장치의 한 구체예를 나타낸다.

도 8은 마이크로채널 내의 화합물을 포획 및 에세이하는 구체예를 기술하며, 여기에서 에세이는 효소 에세이이다.

도 9는 농축 모드가 아닌 효소적 처리 에세이로 작동된 장치 내에 형성된 산물의 형광 신호 강도를 도시한다.

도 10은 장치가 농축 모드로 작동할 때 도 9의 에세이의 산물 형성의 형광 신호 강도를 도시한다.

도 11은 나피온 막이 고종횡비를 가지는 장치의 한 구체예를 나타낸다. 고종횡비 나피온 막의 평면도(좌측) 및 측면도(우측)가 표시되어 있다. 나타난 공정에서는, 먼저 나피온 수지를 유리의 트렌치 내로 도입함으로써 나피온 막을 형성시킨다. 트렌치는 목적하는 막의 치수로 형성된다. 전해질을 경화시킨다. 나피온과 같이 투과성인 다른 재료를 전해질 재료에 첨가할 수 있다. 하이드로겔과 같은 임의의 다른 투과-선택성 중합체 재료를 대신 사용할 수 있다. 마이크로채널을 포함하는 PDMS 구조의 결합을 고종횡비 이온-선택성 막의 상단에 실행할 수 있다. 다른 구체예에서는, 도 11b에 나타난 바와 같이 PDMS 칩 상에 트렌치를 문양화하고(마이크로/나노채널의 형태로) 나피온으로 충전한다.

도 12는 장치 내에 시료 및 완충액 로딩 포트 및 예상 플러그 형성 영역을 표시하여, 16 예비-농축기 장치의 병렬 배열을 도식적으로 나타낸다.

도 13은 질량분석기에 사용하기 위한 농축기의 통합의 구체예를 도식적으로 나타낸다.

도 14는 유리 기질 상의 표면-문양화 나피온 막을 가진 PDMS 예비 농축기 및 그의 작동의 구체예를 도식적으로 나타낸다. (b) 면역분석학에 응용하기 위한 유리 슬라이드 상의 Au 도트 배열(직경 = 20  $\mu\text{m}$ ). 중간 채널에 hcG 단백질(PBS 내의)을 로딩하고 부채널을 1X PBS 완충 용액으로 충전한다. 예비 농축을 위하여, 중간 및 부채널에 전기역학적 흐름과 조합하여 전위차를 적용한다. 모든 마이크로채널은 깊이 12  $\mu\text{m}$  및 너비 70  $\mu\text{m}$ 이다.

도 15는 Au 표면 상의 알킬티올레이트 자가-조립 단일층 형성을 통한 hcG 단백질 고정화의 구체예를 도식적으로 나타낸다. (a) Au 표면 상의 트리(에틸렌 글리콜) 도데실티올(TEG) 및 바이오틴화 트리(에틸렌 글리콜) 도데실티올(BAT)의 형성. (b) 스트렙타비딘의 결합. (c) 바이오틴화 단클론 항-hcG의 결합 (d) 비-특이적 결합을 방지하기 위하여 BSA(PBS 내의 1%)를 사용하는 표면 블로킹. (e) 알렉사488(Alexa488)로 표지된 hcG 단백질(인간 용모막 고나도트로핀(HCG), Fitzgerald Inc, MA)을 사용하는 면역분석법.

도 16은 하기의 구체예를 나타낸다: (a) 바이오틴화 Au 표면 상의 cy3 표지된 스트렙타비딘의 예비 농축의 작동

(10 분 후, 1X PBS 내의 10 ug/mL 스트렙타비딘; V1 = 50 V 및 V2 = 25 V, V3 = V4 = GND) (b) 세척 단계 (PBS/PBST(Tween20을 포함하는 PBS)/PBS의 주입에 의한) 후의 형광 영상. 세척 단계 후에 청색 도트 영역으로부터 취한 영상. (c) 각 Au 도트의 형광 강도는 예비 농축 구역에서 결합 동역학이 극적으로 개선됨을 의미한다.

도 17은 하기의 구체예를 나타낸다: (a) PDMS 단백질 예비 농축 칩의 광학 영상. 표면 문양화 나피온 막이 Au 도트 사이에 위치하였다. (b) 예비 농축의 안정적 작동과 더불어 고정된 항-hcG 및 bPE 단백질 사이의 비-특이적 결합 사건이 없음(영상 미수룩)을 보여주는, 예비 농축의 작동(10 분 후, 1X PBS 내의 1 ug/mL bBE; 1 mg / mL BSA 배경 단백질 포함; V1 = 50 V 및 V2 = 25 V, V3 = V4 = GND). (c) hcG 단백질 예비 농축(10 분 예비 농축 후에 취함, 1X PBS 내의 500 ng/mL hcG 항원; 1 mg / mL BSA 배경 단백질 포함; V1 = 50 V 및 V2 = 25 V, V3 = V4 = GND)(장치 b의 세척 단계 후에 동일한 장치 사용)의 형광 영상 및 강도 프로파일. (d) 예비 농축을 통한 hcG Ag-Ab 사이의 결합 동역학 증대를 보여주는, 장치 c의 세척 단계 후의 형광 영상 및 강도 프로파일.

도 18은 마이크로채널 내부의 이온-선택성 막 접합부를 제작하는 대안적 방법의 구체예를 도식적으로 나타낸다: a) 나피온 수지에 의한 완충액 채널 [18-20]의 충전. 시료 채널 [18-10]은 중간 채널이다. 사전-문양화 마이크로 접합부를 통해 시료 채널이 완충액 채널에 연결된다. 마이크로 접합부 [18-30]는 너비 10 - 50  $\mu$ m, 길이 20 - 50  $\mu$ m이다; b) 완충액 채널에 음압을 적용함에 의한 나피온 수지의 플러싱; c) 과량의 나피온 수지를 완전히 제거한 후의 나피온 막 접합부 생성. 나피온 막 접합부 [18-40]가 표시되어 있다 d) 작동중의 농축기.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0201] **재료 및 방법:**
- [0202] **장치 제작:**
- [0203] 마이크로- 또는 나노-채널을 포함하는 미세 유체 장치의 제작 기술은 문헌에 기술된 것과 유사하였다(*J. Han, H. G. Craighead, J. Vac. Sci. Technol., A 17, 2142-2147 (1999); J. Han, H. G. Craighead, Science 288, 1026-1029 (2000)*). 마이크로채널을 포함하는 PDMS 장치가 제작되었다.
- [0204] 나피온 과불화 수지 용액(15 - 20% 물을 함유하는 저급 지방족 알콜 및 물 내의 5 중량%)을 사용하여 표준 유리 기질 상에 얇은 평면 나피온 막을 문양화하였다. 막을 경화시키고 기질 상단에 PDMS 채널을 플라즈마 결합시킴으로써 채널 내에 통합하였다.
- [0205] 유리 기질 상의 양성자-교환 수지의 침착 및 문양화는 하기와 같이 수행되었다:
- [0206] 목적하는 기하형태를 가진 미세 유체 채널을 사용하였다. 응용에 따라 채널 기하형태(길이, 깊이, 너비)와 더불어 그의 형상이 변경될 수 있다(단일 직선, 다중선, 곡선 등). 이 경우에, 너비 100  $\mu$ m 및 두께 20  $\mu$ m의 미세 유체 채널을 통해 음압 하에 0.5 ~ 1  $\mu$ L의 나피온 수지를 흐르게 하였다. 적용된 음압의 함수로 막의 두께가 변동될 수 있다. 마이크로채널을 통해 수지를 완전히 플러싱한 후에 유리 기질의 표면에는, 그의 친수성 표면이 수지를 보유함에 의해, 막의 얇은 필름이 잔류하였다. 90 °C에서 ~3 분 동안 열판 위에서 수지를 경화시켰다.
- [0207] 양성자-교환 수지의 침착 및 문양화를 위한 다른 수단은 마이크로- 나노-압인 기술의 사용이다. 마이크로- 또는 나노-크기의 양성 형태(positive feature)를 가진 PDMS 도구를 목적하는 기하형태 및 문양으로 조립한다. 압인에 의해 액체 수지를 기질의 노출 표면 위에 이전한다. 막의 두께는 수지의 점도 및/또는 PDMS 압인의 소수성에 따라 변경될 수 있다.
- [0208] 양성자-교환 수지의 침착 및 문양화를 위한 다른 수단은 잉크젯 인쇄 기술의 사용이다. 양성자-교환 수지를 기질의 노출 표면 위에 분주하고, CAD 모델에 기초하여 그 위에 임의의 막 문양 및 기하형태를 인쇄한다. 문양화 후에, 수지를 90 °C에서 30 분 동안 경화시킨다.
- [0209] 양성자-교환 수지의 침착 및 문양화를 위한 다른 수단은, 유리 또는 실리콘 또는 다른 중합체(예를 들어 PDMS) 기질 상에 양성자-교환 수지를 직접 문양화하기 위한 UV 포토리소그래피 또는 e-빔 리소그래피의 사용이다.
- [0210] 상기 방법 각각에 있어서, 형성된 막이 100 - 500 nm 사이의 최종 두께를 가지도록 주의한다.
- [0211] 일단 수지가 침착되고 막이 기질 상에 형성되면, 기질과 더불어 채널 포함 미세 유체 장치를 표준 플라즈마 결합 프로토콜에 따라 플라즈마 결합시킨다.
- [0212] 2 가지의 고분자전해질 용액, 예를 들어 PEO/PAA 및 LPEI/PAA를 마이크로채널(들)에 흐르게 함으로써 채널만큼 높은 고충형비 막을 생성시킬 수도 있다.

- [0213] 이러한 장치의 대형 문양화 배열을 그에 맞추어 제조할 수 있다.
- [0214] 일부 경우에는 나피온 문양화 전에 유리 기질의 표면 처리를 하기와 같이 수행하였다: 먼저, 실가드 프라임 코트 용액을 유리 기질 상에 문양화하였다. 이러한 문양화는 다양한 기질에 대한 실리콘의 점착 및 결합을 증대하였으며 결합 표면 내로의 활성 성분의 침투를 증대하였다. 프라임 코트 층이 기질 상에 침착된 후에, 앞서 기술한 바와 같이 다양한 문양화 방법을 사용하여 나피온 수지를 문양화하였다. 이 방법으로, 결합 강도를 증가시키고 PBS 1X와 같이 높은 이온 세기의 매체에서도 단백질 시료의 농축을 달성할 수 있었다.
- [0215] *생체 분자 및 시약 제조*
- [0216] 사용된 분자 및 염료에는 **B-파이코에리트린**, rGFP(BD bioscience, Palo Alto, CA), FITC-BSA(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), FITC-오브알부민(Molecular Probes, Eugene, OR), FITC-BSA(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), FITC 염료(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), 미토 오렌지(Molecular Probes, Eugene, OR), 및 램다-DNA(500  $\mu$ g/ml)가 포함되었다. 제조자 지침에 따라 YOYO-1 삽입 염료(intercalating dye)(Molecular Probes, Eugene, OR)로 DNA 분자를 표지하였다.
- [0217] *광학적 검출 장비*
- [0218] 모든 실험은 형광 여기 광원이 부착된 도립 현미경(IX-71) 상에서 수행하였다. 형광 영상화에는 열전기적으로 냉각되는 CCD 카메라(Cooke Co., Auburn Hill, MI)를 사용하였다. 연속적 영상을 IPLab 3.6(Scanalytics, Fairfax, VA)으로 분석하였다. 자가-제작 분압기를 사용하여 저장소에 상이한 전위를 분배하였다. 내장형 100 W 수은 램프를 광원으로 사용하였다.
- [0219] 채널을 40 nM, 4 nM 및 4  $\mu$ M **B-파이코에리트린** 용액으로 충전하고, 형광 강도를 결정하였다. 수집된 분자의 광 표백을 최소화하기 위하여 주기적인 노출(~1 초) 동안에만 카메라 셔터를 개방하였다.
- [0220] *표면-문양화 나피온 막을 가진 예비 농축기와 PBS 1X 매체 내에서의 면역분석법의 연결*
- [0221] 미세 유체 예비 농축기를 표면 면역분석법에 연결하고(도 14 참조) 예비 농축기를 사용하여 면역분석법의 증가된 결합물을 입증하였다. 상기의 통합된 예비 농축-면역분석법 장치에서, 본 명세서에 기술된 바와 같이 유리 기질 상에 먼저 프라임 코트를 문양화한 후에 나피온 수지를 문양화하였다. 한 구체예에서, 유리 기질은 사전에 e-빔 침착된 Au 도트의 배열을 포함하였다. 그 다음에 Au-도트의 표면을 항-hcG와 같은 항체로 기능화하였다. 표면 기능화를 위해서는, 표준 티올 화학이 사용되었다(도 15). 스트렙타비딘 및 바이오틴화 표면 사이의 결합을 시험하기 위해, PBS 1X 내에서 바이오틴화 Au 표면 상에 스트렙타비딘 분자를 농축하고 Au 표면 상의 그의 결합 증가를 관찰하였다(도 16). 최종적으로, PBS 1X 완충액 내에서 표면-기능화 Au-도트 위에 hcG 단백질이 농축되고 항-hcG에 대한 hcG의 결합물이 증가함이 입증되었다(도 17 참조).
- [0222] **실시예 1**
- [0223] **평면 전기역학적 농축 장치의 제작**
- [0224] 미세 유체 장치 내로의 고체 이온-선택성 막의 통합은 번거롭고 그 결과도 불완전하므로, 대안적 제작 방법을 모색하였다.
- [0225] 이를 위하여 나피온 과불화 수지 용액(15 - 20% 물을 함유하는 저급 지방족 알콜 및 물 내의 5 중량%)을 표준 유리 기질 상에 문양화하여 얇은 막을 형성시켰다. 그 다음에 수지를 경화시키고 마이크로채널을 포함하는 PDMS 칩에 플라스마 결합시킴으로써 채널 내에 통합하였다.
- [0226] 기질 표면 상의 수지의 문양화는 여러 가지 방법으로 달성할 수 있다.
- [0227] 한 문양화 방법은 너비 100  $\mu$ m 및 두께 20  $\mu$ m의 통상적 기하형태를 가진 미세 유체 채널을 포함하는 칩을 사용하여 0.5 ~ 1  $\mu$ l의 나피온 수지를 음압 하에 채널을 통해 흐르게 한다. 응용에 따라서 채널의 기하형태(길이, 깊이, 너비)와 더불어 그의 형상이 변경될 수 있다(단일 직선, 다중선, 곡선 등). 적용된 음압에 따라 막의 두



께가 변동될 수 있다. 마이크로채널을 통해 수지를 완전히 플러싱한 후에 유리 기질의 표면에는, 그의 친수성 표면이 수지를 보유함에 의해, 막의 얇은 필름이 잔류한다. 그 다음에 예를 들어 열판 위에서 대략 3 분 동안 90 °C에서 수지를 경화시킨다.

[0228] 다른 문양화 방법은 마이크로- 또는 나노-압인 기술을 이용한다. 마이크로- 또는 나노-크기의 양성 형태의 PDMS 도구를 목적하는 기하형태 및 문양을 가지도록 제조한다. 압인에 의해 액체 수지를 목적하는 기질, 예를 들어 유리 기질의 표면에 이전한다. 얻어진 막의 두께는 수지의 점도와 더불어 PDMS 압인의 소수성에 따라 달라진다. 압인 기술은 일부 구체예에서 기질의 대형 표면 상의 문양화에 있어서 유용하다(도 1). 본 방법에 의해 작제된 장치의 한 구체예는 도 2 또는 3에 나타낸다.

[0229] 다른 문양화 방법은 잉크젯 인쇄 기술을 이용한다. 잉크젯 인쇄 방법과 같은 요구 적출형(drop-on-demand) 기술을 이용하여, 점도가 낮은 수지를 유리와 같은 기질에 용이하게 이전할 수 있다. 수지의 분주는 유리 기질 상의 어느 곳이나 목적하는 막 문양 및 기하형태의 정밀한 침착을 가능하게 한다. 문양화 후에 수지를 경화시킨다.

[0230] 다른 문양화 방법은 UV 포토리소그래피 또는 e-빔 리소그래피를 이용하여 유리 또는 실리콘 또는 다른 증합체 (예를 들어 PDMS) 기질 상에 수지를 직접 문양화한다.

[0231] 일단 유리 기질 상에 막이 제조되면, 최종 두께는 통상적으로 100 - 500 nm 사이이다.

[0232] 위에 나열한 방법들은 약 수 나노미터 내지 수 마이크로미터의 범위에서 막 두께의 제어를 가능하게 한다.

[0233] 일단 경화되면, 막을 포함하는 기질, 및 미세 유체 챔버를 포함하는 장치를 표준 방법론에 의해 플라즈마 결합시킨다.

[0234] **실시예 2**

[0235] **본 발명의 장치의 한 구체예에서의 전기역학적 농축**

[0236] 도 4는 본 발명의 장치의 한 구체예의 작동을 도식적으로 나타낸다. 본 태양에 따라 한 구체예에서, 장치의 작동은 포획 모드의 효과를 수반할 수 있으며, 여기에서 시료(압력-구동성 흐름에 의함)가 주입된 후에는 나피온 막을 통해 적용된  $V_{diff} = 200$  V의 전위차에 의해 포획된다.

[0237] 일단 예비 농축되면, 예를 들어 자동 주입기에 의해 완충 용액이 주입되어 시료의 pH 수치를 포획된 분자의 pI 수치로 조정할 수 있다. 일단 pH 수치가 분자의 pI 수치에 도달하면, 중성이 된 분자는 포획에 있어서 전하의 존재에 의존하는 전기역학적 트랩으로부터 방출된다.

[0238] 그 다음에 농축된 시료는 분주될 수 있다. 이 목적을 위해서 전압 설정을 변화시키며, 이는 고전압 시퀀스에 의해 수행될 수 있다. 채널로부터 MALDI 플레이트로 액적 형성을 이루기 위해, 본 태양에 따라 중간 채널의 전압을 예를 들어 ~1 kV까지 증가시킨다.

[0239] 채널 내에 완충액 이온을 보유하기 위하여(그렇지 않으면 분주된 시료가 높은 염 농도를 가지게 됨), 분주 모드에서 고갈 지역을 더 오래 유지해야 한다. 그러므로, 중간 채널의 말단으로부터 방출된 분자를 분주하는 동안 동일한 전위차,  $V_{diff} = 200$  V(1000 V - 800 V)를 주채널 및 2개의 부채널을 통해 일정하게 적용한다. 시료를 분주하기 전에 폐기물을 제거하기 위하여 구멍 주위에 예를 들어 공기 제트를 사용할 수 있다. MALDI 플레이트를 x-y 테이블에 탑재함으로써, 추가 시료의 수집을 위한 웰의 이동을 가능하게 할 수 있다.

[0240] 도 5는 예비-농축기 작동 개요도의 한 구체예를 나타낸다. 본 태양에 따라 "포착" 또는 포획 모드로 작동될 경우에, 장치는 일정한 전압, 본 실시예에서는 50 V로 유지되어 시료 채널의 양측에 적용되는 전압을 가진다. 완충액 채널은 접지된다.

[0241] 이러한 전압 설정에서, 하전된 입자는 나피온 막 브릿지 주위에 포획된다. 장치가 방출 또는 분주 모드로 작동될 경우에, 시료 채널의 한쪽에 적용되는 전압은, 예를 들어 본 구체예에서는 25 V로 감소되어 시료 채널의 양쪽 사이에 25 V의 전위차를 발생시킨다. 이 전위차가 입자 흐름을 촉진한다. 삽입도에서 보는 바와 같이 생물학적 표지자는 장치 내에 용이하게 농축된다.

[0242] 소량으로 존재하는 화합물의 효과적인 농축이 도 6에 나타나 있다.  $\beta$ -파이코에리트린 예비 농축(단위: 형광 강도)을 전기역학적 포획 시간 경로를 따라 도시하였다. 화합물은 20 분만에  $10^5$  배를 초과하여 농축되거나, 5 분

만에  $10^4$  배 농축되었다.

[0243] **실시예 3**

[0244] **농축된 물질의 에세이**

[0245] 농축된 물질의 에세이는 본 발명의 장치 및 방법의 한 구체화 응용이다. 도 7은, 예를 들어 소량으로 존재하는 효소 또는 기질을 사용한 물질의 에세이를 도식적으로 나타낸다. 본 태양에서는, 본 발명의 구체화된 장치의 중간 채널에 효소/기질 혼합물을 로딩하고 부채널을 완충 용액으로 충전한다. 사전에 혼합된 효소/기질 용액을 농축하기 위하여, 중간 채널 및 부채널을 통해 전기역학적 흐름과 조합하여 전위차를 적용한다. 효소 및 기질의 포획은 이들의 반응을 촉진하고, 그의 농축은 반응 감도를 증가시키며, 이는 효소, 기질, 또는 양자 모두가 제한된 양으로 이용가능한 에세이 조건에 있어서 유용하다.

[0246] 도 8은, 에세이가 효소 에세이인 경우에 마이크로채널 내의 화합물의 포획 및 에세이의 구체예를 기술한다. 패널 A는 농축 구역(구역 2) 내의 효소-기질 산물의 전기역학적 포획을 나타낸다. 구역 1은 트립신 및 BODIPY 및 FL 카제인의 혼합물을 농축 구역 바깥쪽에 확산 배열(diffuse arrangement)로 포함한다. 구역 2에서, 예비 농축은 효소 및 기질의 근위적 편재(proximal localization)를 가능하게 한다. 그래프에 나타난 형광 강도의 증가는 효소-기질 반응성을 증명한다. 구역 3은 고갈 구역을 설명하며, 이는 마이크로채널 측면에 효소/기질이 흡착됨으로써 발생하는 배경 잡음의 평가를 가능하게 한다.

[0247] 도 9는, 농축 모드가 아닌 효소적 처리 에세이로 작동되고 트립신(효소) 농도가  $1 \mu\text{g/ml}$  내지  $1 \text{ ng/ml}$  범위인 장치 내에 형성된 산물의 형광 신호 강도를 도시한다.  $50 \text{ mg/ml}$  BODIPY FL 카제인을 기질로 사용하여 전환율(turnover rate)을 측정하였다. 반응 곡선은 시간에 대해 쌍곡선 형상을 나타냈으며, 검출 한계는  $\sim 10 \text{ ng/ml}$ 였고 요구되는 반응 시간은 대략 1 시간이었다.

[0248] 도 10은 도 9의 에세이에서 장치가 농축 모드로 작동할 때 산물 형성의 형광 신호 강도를 도시한다. 예비 농축에 의해 트립신-촉매화 반응이 증대되었다. 효소로는  $10 \text{ pg/ml}$  내지  $1 \text{ ng/ml}$  범위의 트립신 농도(도 9에서 사용된 것보다 낮은 농도) 및  $50 \mu\text{g/ml}$  BODIPY FL 카제인을 사용하였다. 이 경우의 검출 한계는 대략  $10 \text{ pg/ml}$ 로서, 농축 모드로 작동되지 않은 장치에서 얻어지는 것에 비해 에세이 감도가 대략 1000-배 증대되었다.  $1 \text{ ng/ml}$  농도의 기질을 전환하는데에 요구되는 반응 시간은 대략 10 분이었으며, 이는 예비 농축이 없는 경우에 비해 6 배 빨랐다.

[0249] **실시예 4**

[0250] **고종횡비 이온-선택성 막을 포함하는 장치**

[0251] 높은 고갈력이 생성되어 더욱 신속한 농축을 위한 압력-구동성 흐름을 가능하게 하는지 여부를 결정하기 위하여, 마이크로채널 내부에 고종횡비 이온-선택성 막을 포함하고, 여기에서 막의 높이가 채널의 높이와 동일한 장치를 작제하였다. 본 발명의 상기 구체예에서는, 2 가지 고분자전해질을 채널 내로 흐르게 하여 이들의 정전기적 상호작용/수소 결합 상호작용에 의해 액체 접합부에서 막 구조가 제작되었다. 이러한 고분자전해질 조합은 PEO(폴리(에틸렌 옥사이드))/PAA(폴리(아크릴산)) 및 LPEI(선형 폴리에틸렌아민)/PAA, PAA이다. 그 다음에 도 11에 나타낸 장치의 마이크로채널 내부에 고종횡비 막을 작제하였다.

[0252] **실시예 5**

[0253] **초고속 응용을 위한 병렬 일회용 배열의 작제**

[0254] 본 명세서에 기술된 장치는, 일회용으로서의 잠재성을 제안할 수 있도록 저렴한 재료로 간단하게 제작될 수 있다. 또한, 본 발명의 장치의 제작은 통합된 이온-선택성 막을 포함하는 마이크로- 및 나노-유체 장치의 병렬 배열의 창출로 이어진다(도 12). 목적하는 용질의 농축을 위한 상기의 일회용 평면 배열은 다수의 환경, 예를 들어 초고속 스크리닝에서, 다양한 진단적 및 분석적 응용에 있어서 응용성을 가진다(도 13). 예를 들어, 이러한 배열은 질량분석법에 통합하기 용이하다. 본 발명의 일부 구체예에서, 상기 기술은 시료 준비, 농축 및 분석을 위한 통합된 미세 유체 칩의 작제로 이어진다.

[0255] 실시예 6

[0256] 투과-선택성 접합부를 만드는 대안적 제작 방법

[0257] 본 명세서에 상기한 바와 같이 나피온 수지의 문양화에 의해 시료 및 완충액 부채널 사이에 평면 이온-선택성 접합부를 생성시키는 대신에, 마이크로채널 사이에 이온-선택성 막을 생성시키는 대안적 방법을 개발하였다. 이 제작 방법을 사용하여, 시료 예비 농축을 증대하기 위한 고종횡비 이온-선택성 막을 제작하였다. 모세관 힘-기체의 충전 방법을 도 18에 나타낸다.

[0258] 처음에, 나피온 수지를 완충액 부채널 내로 흐르게 하여 채널 사이의 누두형 접합부를 액체 나피온 수지로 충전하였다(도 18a). 접합부는 통상적으로 개방구에서 너비가 10 - 50  $\mu\text{m}$ 이고 길이가 20 - 50  $\mu\text{m}$ 이었다. 채널을 충전할 때, 표면 장력으로 인해 나피온 수지는 접합부를 충전하고 시료 채널 내로는 흐르지 않았다. 그 다음에, 완충액 채널의 다른 쪽 말단에 음압을 적용함으로써 나피온 수지를 제거하여 채널을 비웠다(도 18b). 완충액 채널로부터 과량의 나피온 수지를 제거하고 물 및 알콜과 같은 나피온 수지의 주성분을 일단 완전히 증발시킨 후에, 접합부에 포획된 나피온 수지는 채널 사이에 이온-선택성 막을 형성하였다(도 18c). 전체 장치를 열판 위에서 95  $^{\circ}\text{C}$ 까지 가열함으로써 30 분 후에 사용할 준비가 되었다(도 18d). 나피온 막 및 장치 사이의 결합 강도를 증가시키기 위하여, 본 명세서에 상기한 바와 같이 장치의 표면을 프라임 코트로 먼저 처리한 후에 나피온 수지로 채널을 충전하였다. 한 구체예에서, 상기 충전 방법은 액체 형태로 이용가능한 임의의 이온-선택성 수지와 더불어 표면 전하를 가진 현탁액 내의 콜로이드 입자 또는 그의 조합에 적용할 수 있다.

[0259] 첨부된 청구범위에 설명된 본 발명의 사상 및 범위를 이탈하지 않으면서 형태 및 세부 사항을 다양하게 변화시킬 수 있음을 당업자는 이해할 것이다. 당업자는 과도한 실험이 없이도 본 명세서에 기술된 발명의 특이적 구체예의 여러 균등물을 인식하거나 알아낼 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 청구범위 내에 포함되는 것으로 본다.

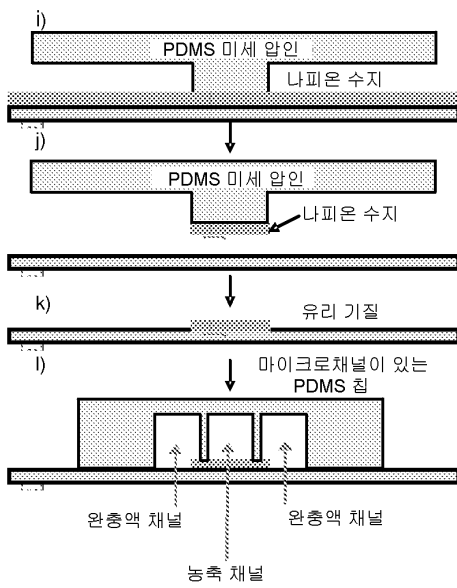
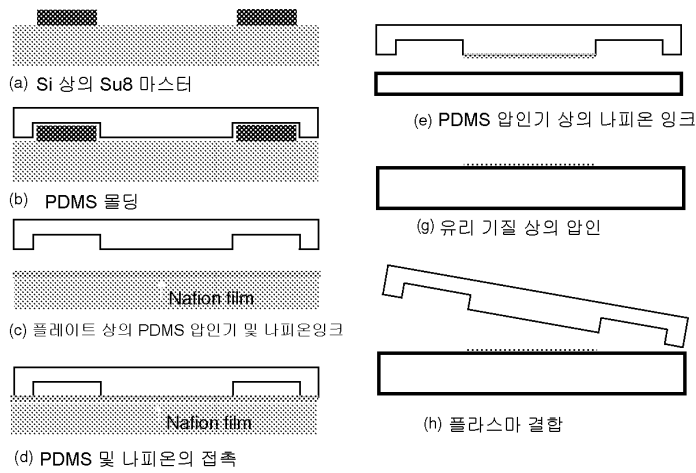
[0260] 청구범위에서 "한(a)", "하나의(an)" 및 "그(the)"와 같은 관사는, 문맥상 반대로 또는 명백하게 다른 의미로 지시하지 않는 한, 하나 이상을 의미한다. 그룹의 구성원 사이에 "또는" 또는 "및/또는"을 포함하는 청구범위 또는 상세한 설명은, 문맥상 반대로 또는 명백하게 다른 의미로 지시하지 않는 한, 하나, 하나 초과, 또는 그룹 구성원 전체가 주어진 산물 또는 공정에 존재하거나 채용되거나 달리 연관될 경우에 만족하는 것으로 간주한다. 본 발명은 주어진 산물 또는 공정에 정확하게 하나의 그룹 구성원이 존재하거나 채용되거나 달리 연관되는 구체예를 포함한다. 본 발명은 또한 주어진 산물 또는 공정에 하나를 초과하는 그룹 구성원 또는 그룹 구성원 전체가 존재하거나 채용되거나 달리 연관되는 구체예를 포함한다. 추가로, 본 발명은 다양한 구체예에서, 달리 지시되거나 모순 또는 불일치가 발생할 것이 당업자에게 명백하지 않는 한, 하나 이상의 열거된 청구항으로부터의 하나 이상의 한정, 요소, 조목, 기술적 용어 등이 동일한 기본항에 종속하는 다른 청구항에 도입된 모든 변형, 조합 및 치환(permutation)을 제공함을 이해할 것이다. 요소가 목록으로 존재하는 경우, 예를 들어 마쿠쉬 그룹 포맷 등에서는, 요소의 각 하위 그룹 또한 개시되며, 그룹으로부터 임의의 요소(들)을 제거할 수 있음을 이해할 것이다.

[0261] 일반적으로, 본 발명 또는 본 발명의 태양이 특정 요소, 특징 등을 포함하는 것으로 언급되는 경우에는, 본 발명의 어떤 구체예 또는 본 발명의 태양이 이러한 요소, 특징 등으로 구성되거나 필수적으로 구성됨을 이해해야 한다. 단순화의 목적상 그러한 구체예는 모든 경우에 본 명세서에 구체적으로 인용되어 설명되지는 않는다.

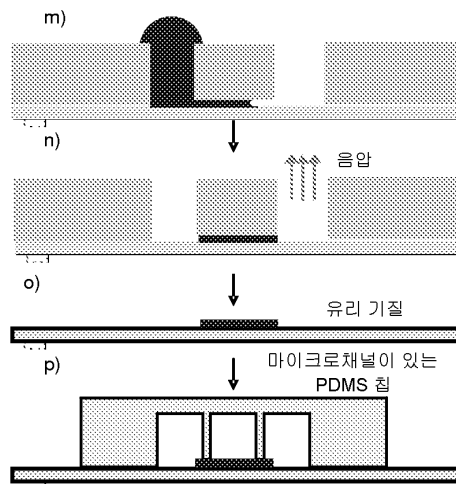
[0262] 어떤 청구항은 편의상 종속형으로 제시되나, 출원인은 독립항 및 상기 청구항이 종속하는 임의의 다른 청구항(들)의 요소 또는 한정을 포함하도록 임의의 종속항을 독립 포맷으로 정정할 권리를 보유하며, 이렇게 정정된 청구항은 독립 포맷으로 정정되기 전에 그것이 어떤 형태이든(보정 또는 비보정) 모든 관점에서 종속항과 균등한 것으로 간주된다.

도면

도면1

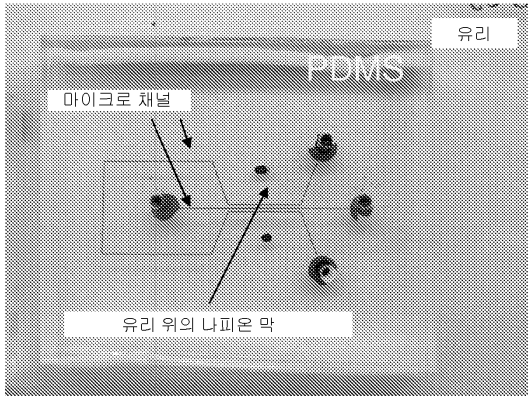


(1) 압인 기술

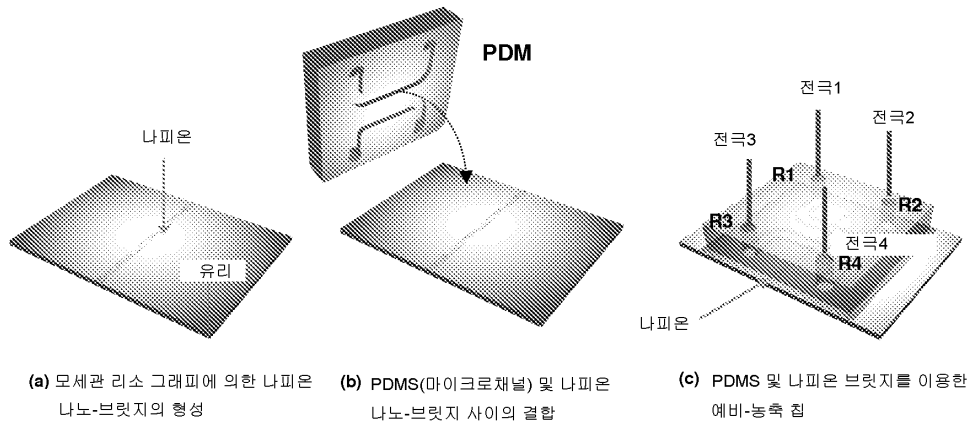


(2) 모세관 리소그래피 기술

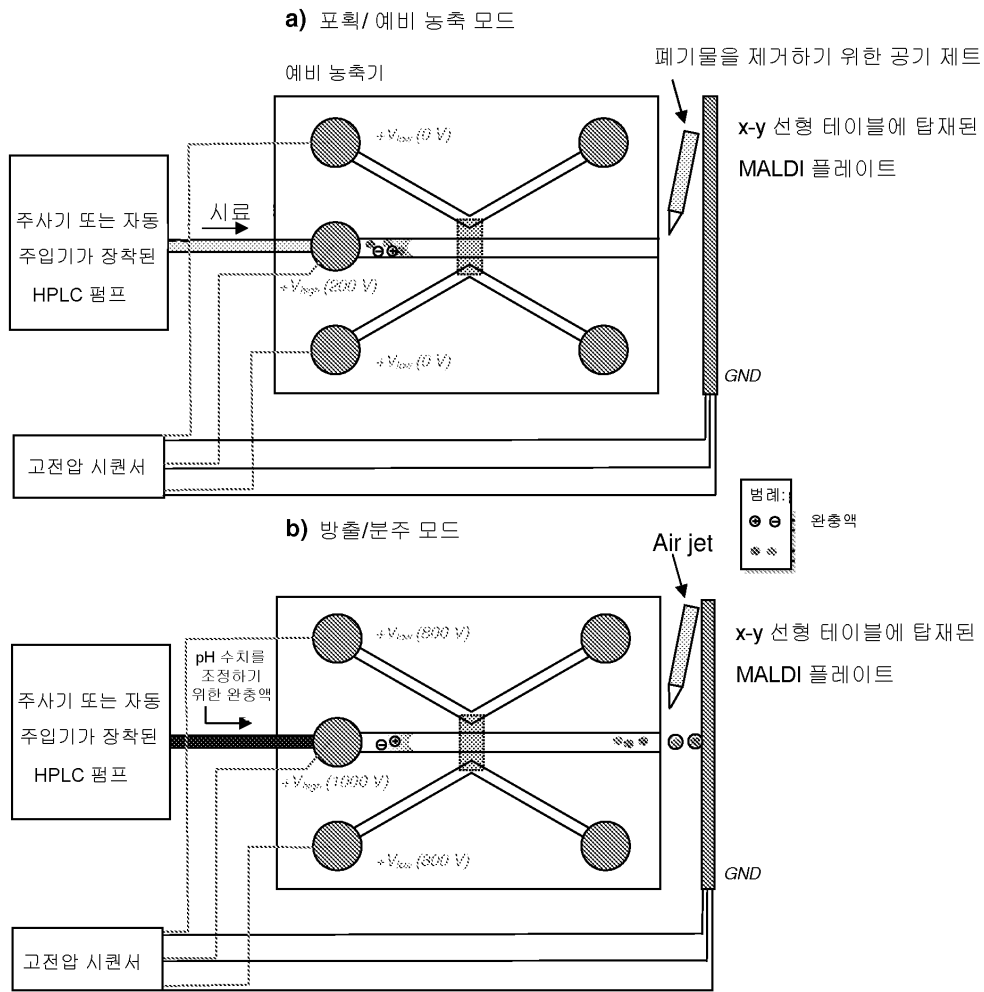
도면2



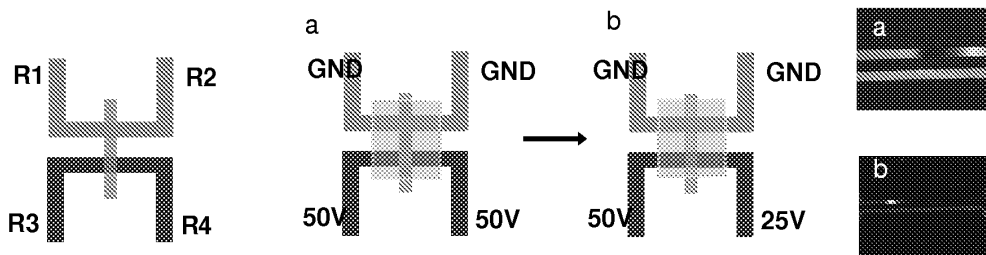
도면3



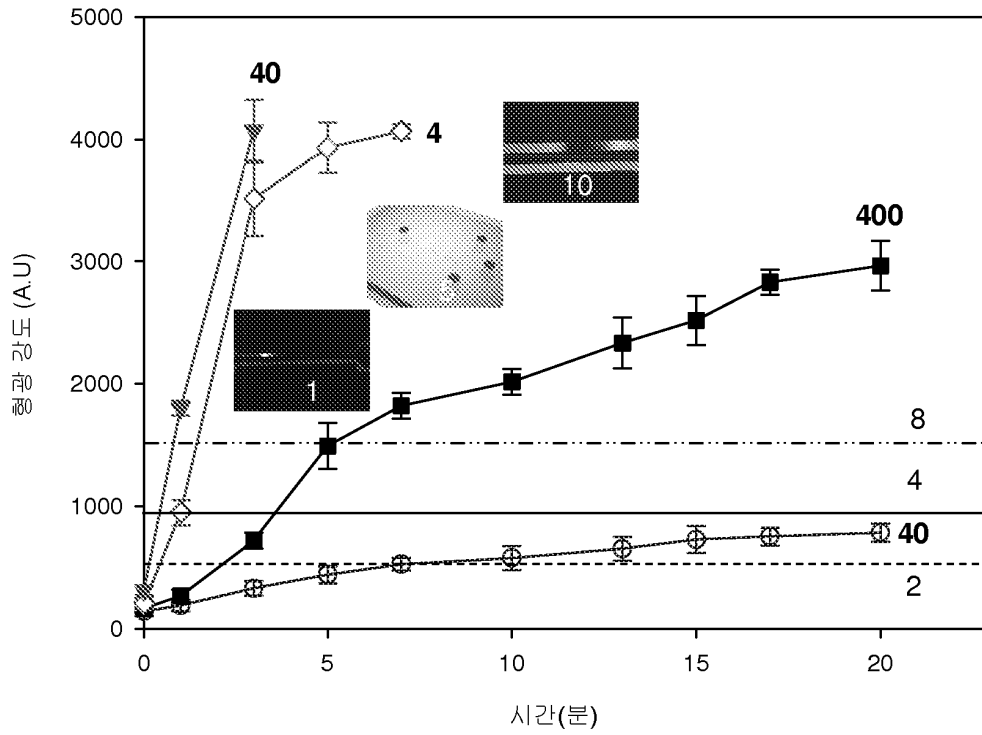
도면4



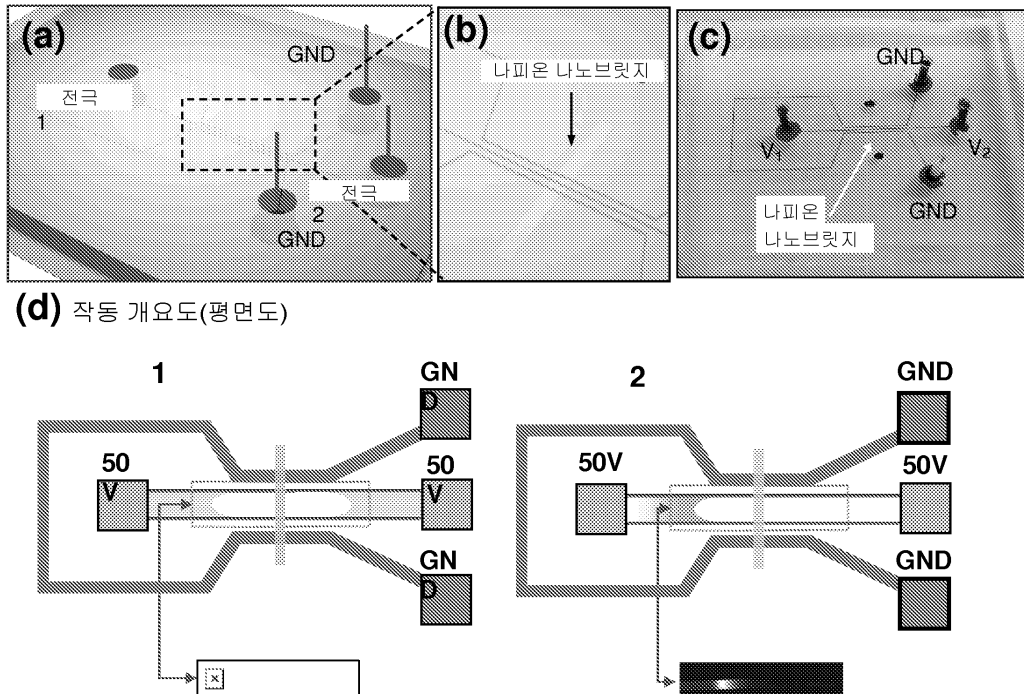
도면5



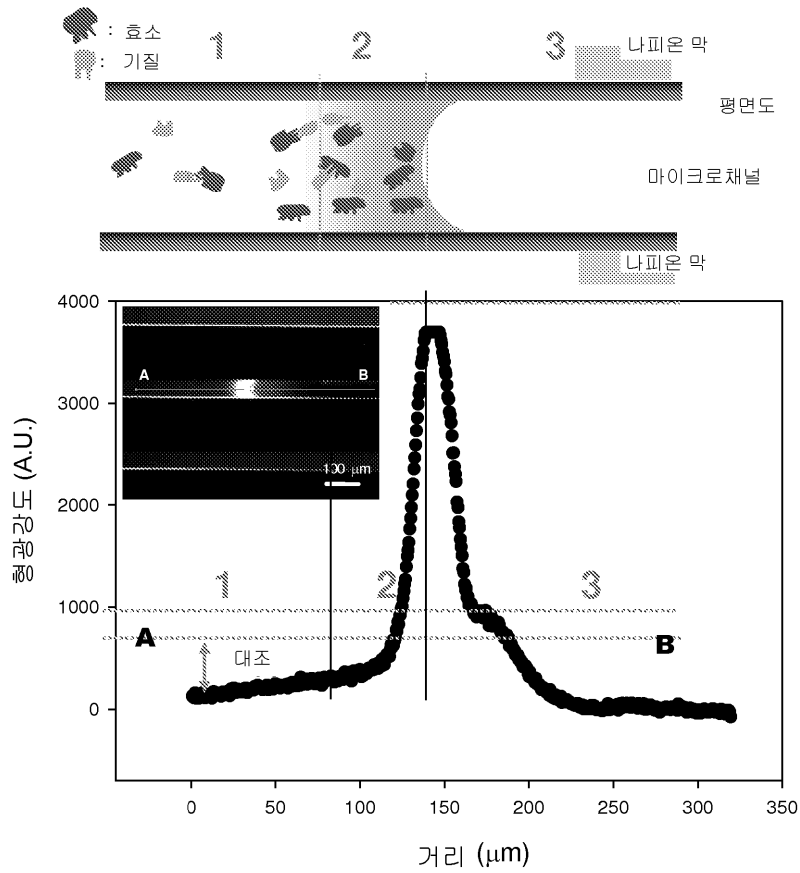
도면6



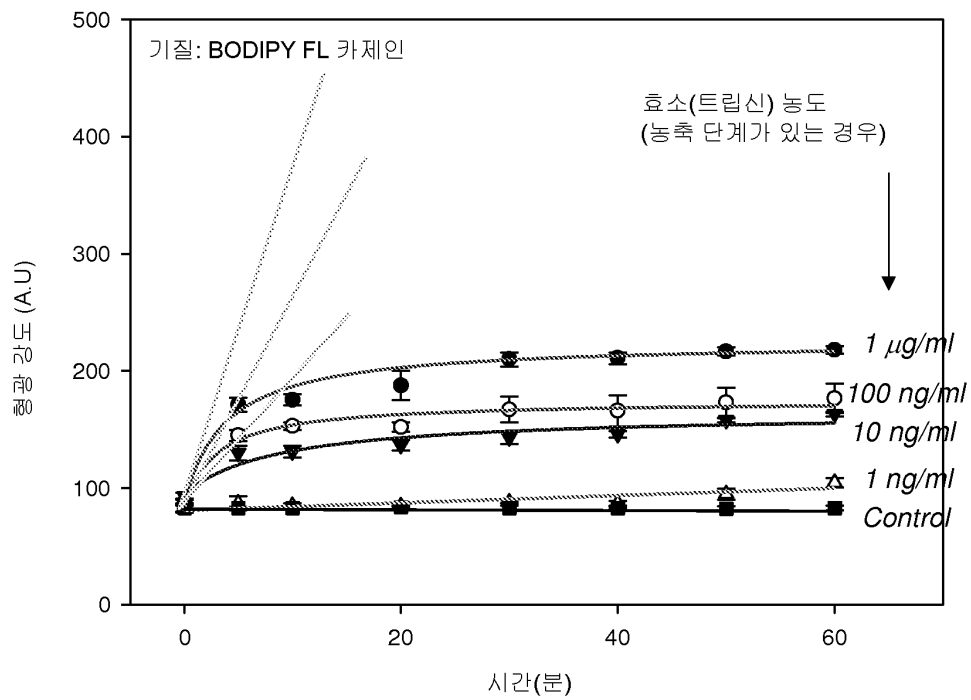
도면7



도면8

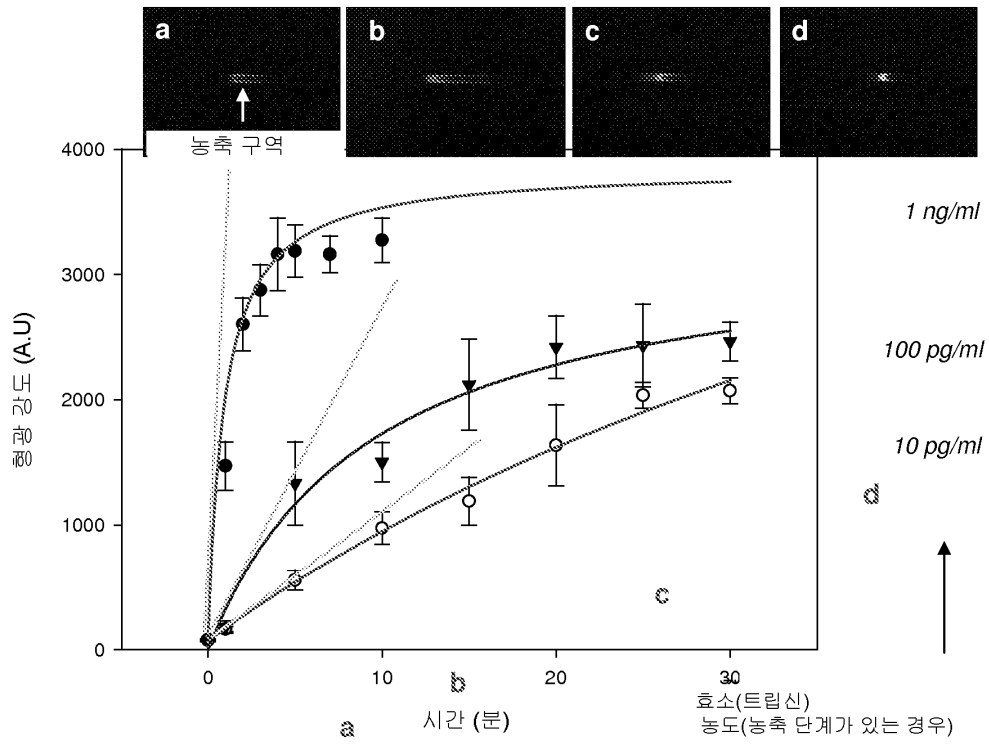


도면9

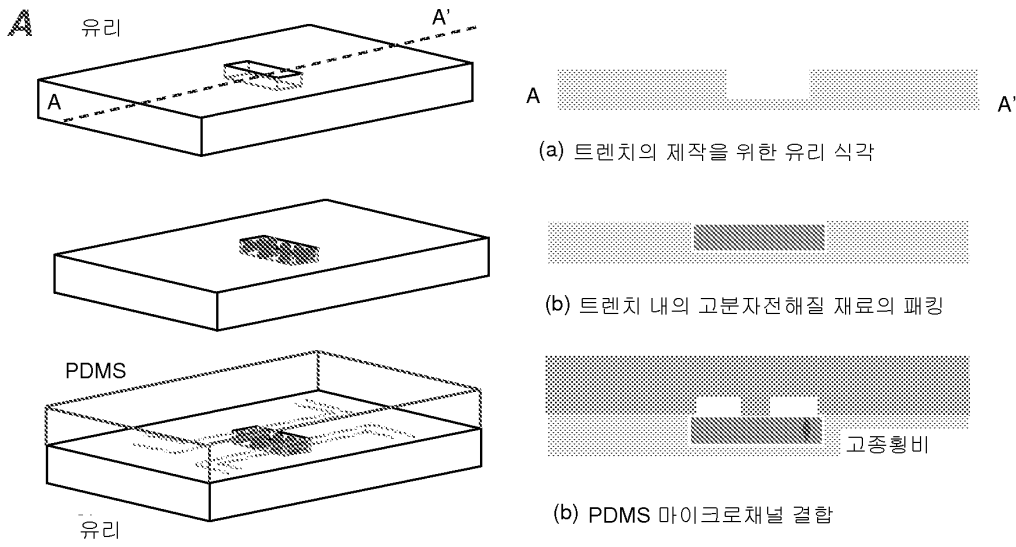




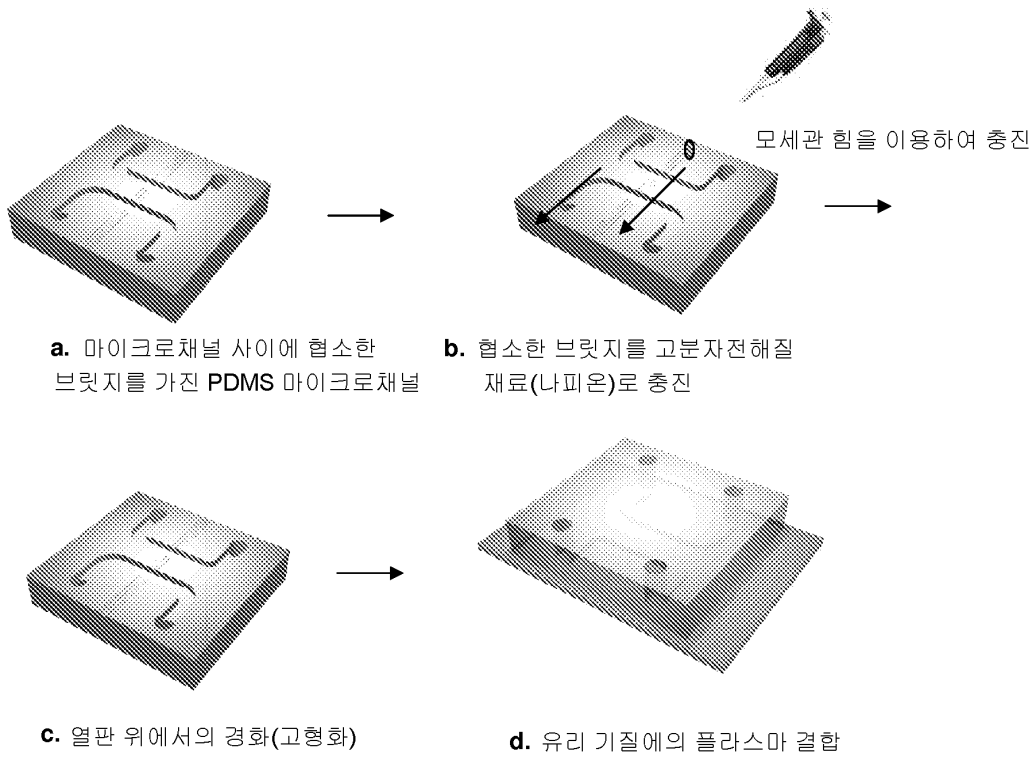
도면10



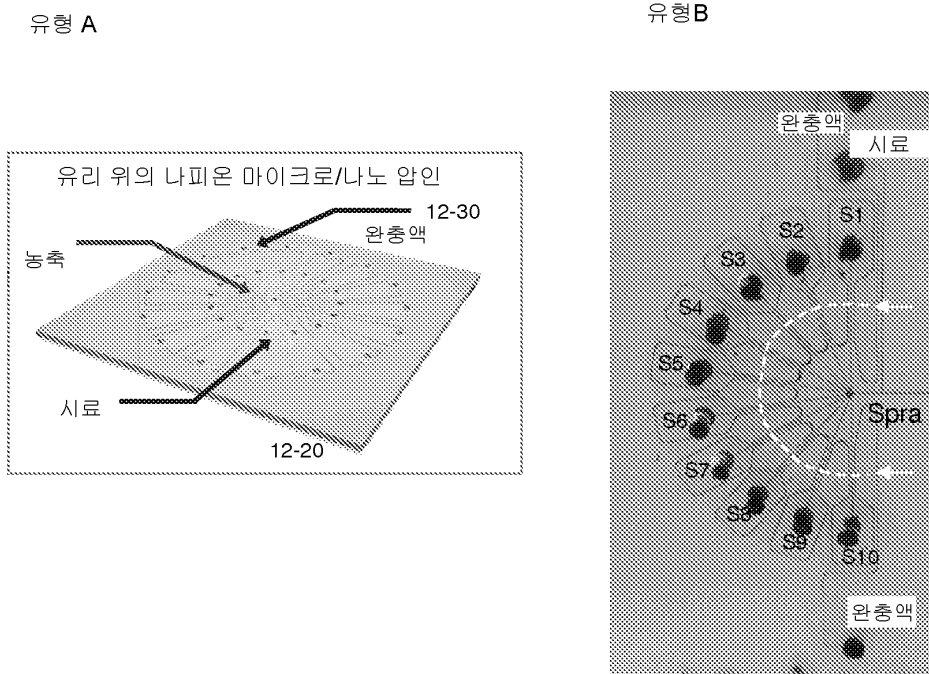
도면11a



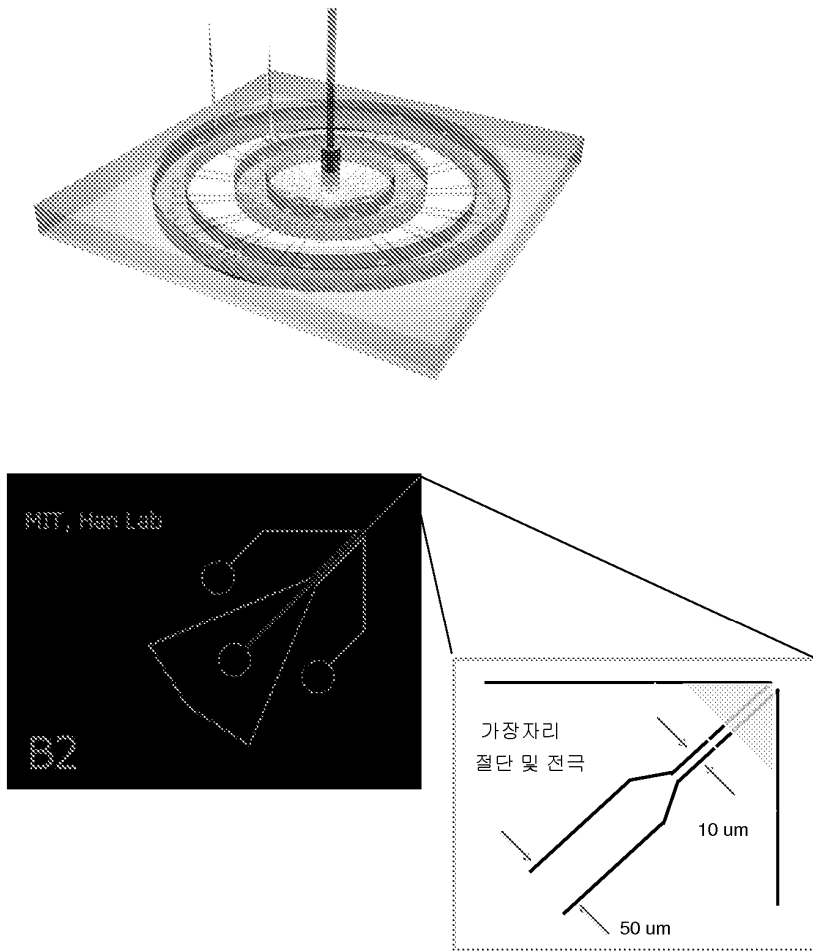
도면11b



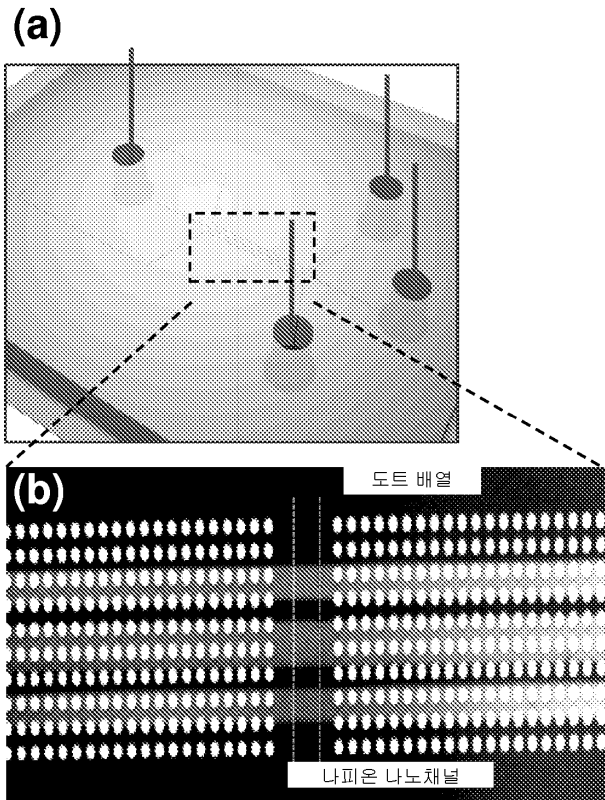
도면12



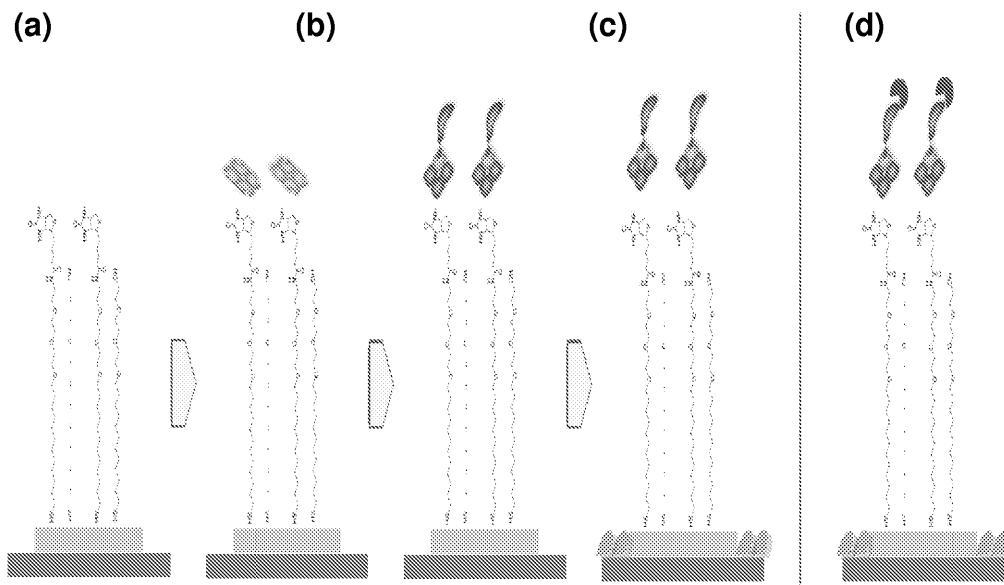
도면13



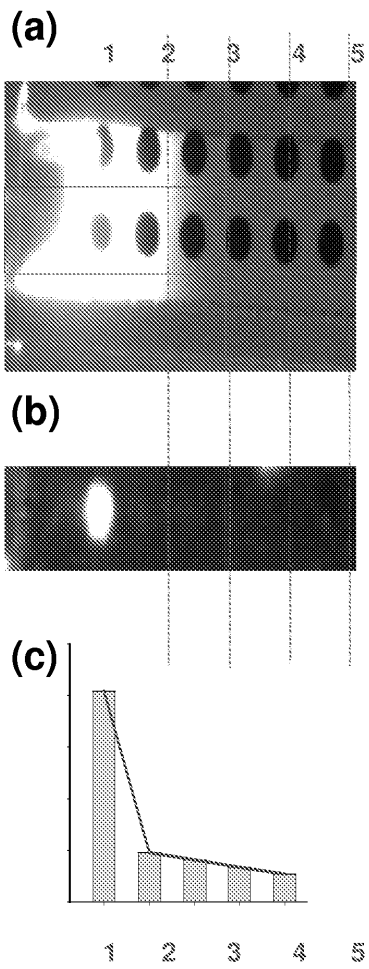
도면14



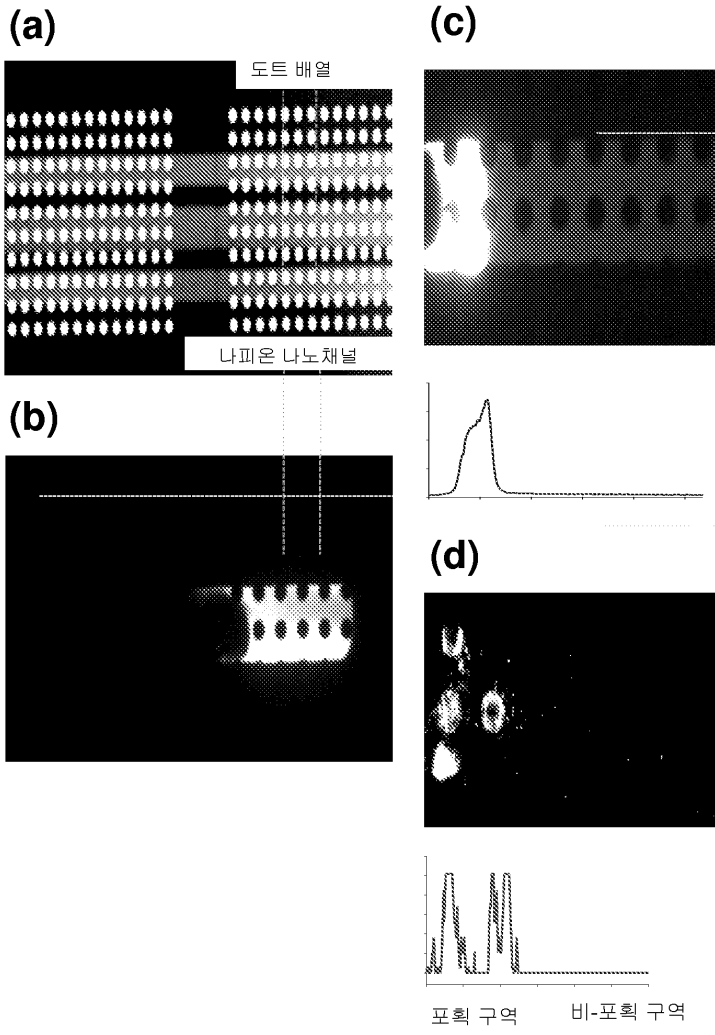
도면15



도면16



도면17



도면18

