최신특허 동향

바이오칩

표 1. 바이오칩의 분류체계

대분류	중분류
마이크로어레이칩	고체기판 재질
	표면개질방법
	분석대상 생체분자
	정렬방법
마이크로 플루이딕스칩	Bio MEMS 공정기술
	Bio MEMS 장치

Ⅰ. Biochip관련기술의 개요

'바이오칩(biochip)' 이란 컴퓨터칩(computer chip)에서 [illegible] 이오(bio)와 관련된 어떤 집적회로의 요소와 관련된 용어로 지칭되어 왔으나, 최근 몇년 동안 기술개발이 구체적으로 이루어지면서, DNA를 포함한 생체분자(biomolecule)에 대하여 생화학적 분석에 사용되는 프로브(probe)를 정렬(array)시킨 물질 및 장치라고 정의되고 있다.

바이오칩은 크게 마이크로어레이칩(microarray chip)과 마이크로플루이딕스칩(micro fluidics chip)으로 나눌 수 있는데, 전자는 DNA 또는 단백질을 고체기판위에 집적하여, 유전자 또는 단백질 수준의 대량분석에 이용되고, 후자는 'Lab on a Chip' 이라 불리기도 하며, 미량의 분석 대상물질을 흘려보내면서 칩에 집적되어 있는 각종 생체분자 혹은 센서와 반응하는 양상을 분석하는데 이용된다. 전자의 경우, 고체기판의 재질, 표면개질방법, 분석대상 생체분자 및 정렬방법으로 관련 기술분야를 세분할 수 있고, 후자의 경우 Bio MEMS 공정기술 및 Bio MEMS 기기로 관련 기술분야를 세분할 수 있다. 이하의 특허동향 역시 상술한 분류체계를 중심으로 분석하기로 한다(참조: 표 1).

II. 핵심분야별 기술발전 추이

1. 마이크로어레이칩

(1) 고체기판 재질

바이오칩의 기판재료는 초기에는 주로 유리를 이용하여 가공하는 기술이 일반적이었으나, 이후 금속물질이나 무기재료 또는 고분자물질 등도 이용되고 있다. 유리기판으로는 1990년 Affymetrix사에서 유리기판 위에서 광식각기술(photolithography)에 의한 펩타이드 라이브러리를 합성한 이래(EP0476014), Beckman Instruments사에서는 유리기판을 이용하여 올리고뉴클레오티드 어레이를 제조하였다(EP0758403). 금속재질기판으로는, 1994년에 Houston Advanced Research Center의 isocyanate, isothiocyanate를 반응시켜 표면개질한 백금기판(USP5622826), Nanogen사의 금기판을 사용한 격자형 혼성화 시스템(WO97/12030), 엘지전자의 티올계열의 물질로 표면개질한 금박막기판(KR308031) 등이 있다.

실리콘을 고체기판으로 사용하여 바이오칩을 개발한 경우로는, Affymax사의 광분해성 보호기를 가지는 리간드를 도입한 실리콘기판(USP5252743), Sequenom사의 활성에스테르 형태의 말단기를 가진 비드로 표면개질한 실리콘기판(WO98/20019), Diachip의 실리콘기판에서의 고밀도 단백질 표지자 어레이(WO01/14425) 등이 있다. 이밖에도, 전도성 고분자(EP0467219), 하이드로겔(WO00/56934), 나일론멤브레인(WO00/77257), 광섬유(JP5285000), 니트로셀룰로스(US20040033546, The Trustees of Columbia University) 상에 핵산 등을 고정하는 기술이 개발되었다.

(2) 표면개질방법

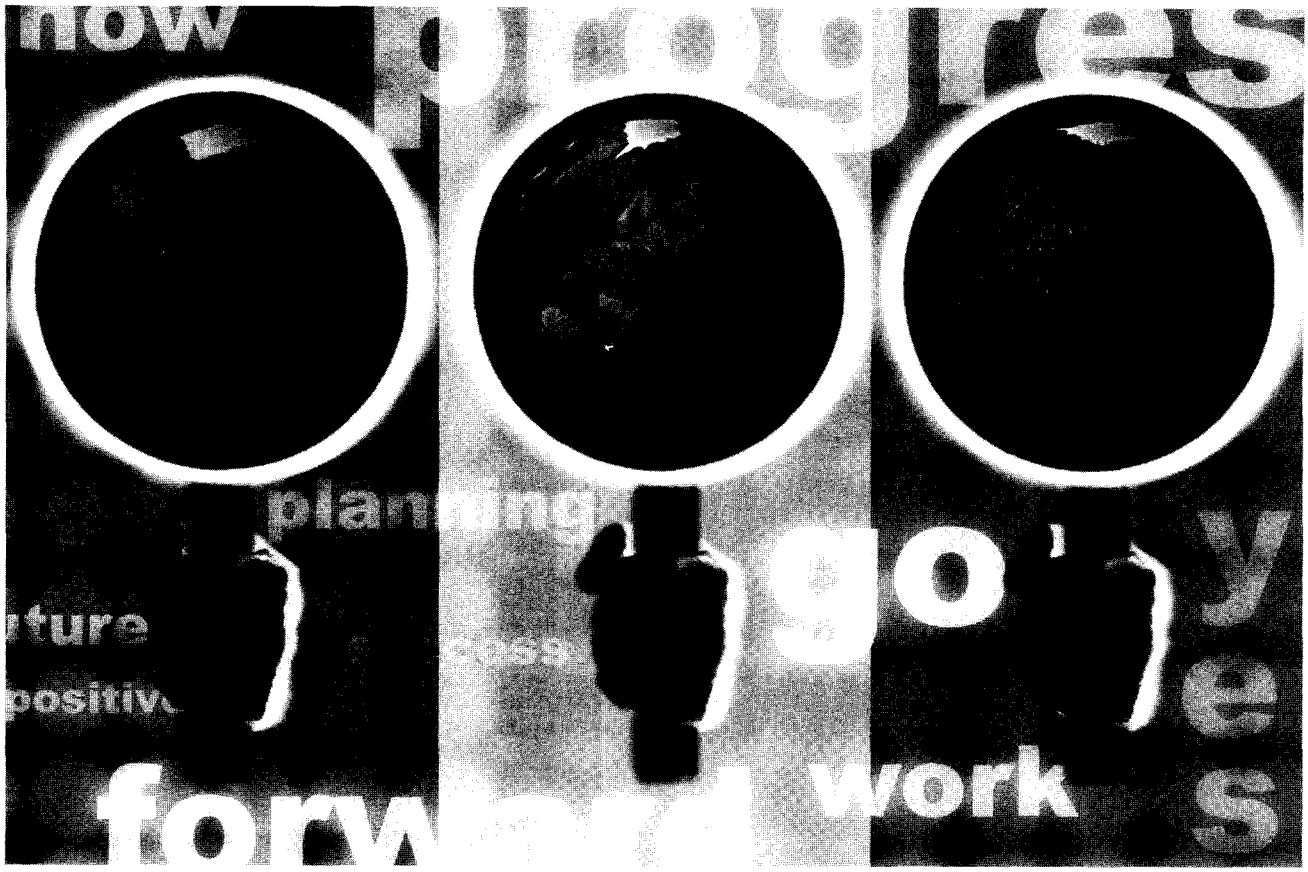
고체기판은 유리 또는 실리콘 계열로 구성되어 있어서, DNA 또는 단백질 등 생체분자를 직접 부착시켜 고정시키기 용이하지 않으므로, 고체기판 표면을 다른 물질로 코팅하여, 생체분자의 고정을 용이하도록 표면개질시킨다. 표면개질방법으로는 실란처리 방법, 폴리머를 이용하는 방법 및 표면에 고정화시키는 방법 등이 개발되어 왔다. 실란처리 방법으로는, 1990년 Affymax사의 광식각기술을 이용한 DNA 칩의 제작에 있어서 표면개질에 실란화기술을 이용한 이래, 1999년 Affymetrix사는 다양한 기능기를 갖는 실란화합물을 합성하여, 생체 고분자의 고정화에 응용할 수 있는 기술(WO00/21967)을 개발하였다.

폴리머를 이용한 방법으로는, Chiron사의 마이크로타이터에서 폴리펩타이드를 코팅한 DNA의 고정화기술(USP5712383), Rapigene사의 PEI(poylethylene imine)로 코팅된 표면에 올리고핵산을 고정한 DNA 어레이 제작기술(WO99/04896), 바이오니아사의 고체 표면상에 젤을 형성하여 공유결합으로 생체분자를 고정하는 기술(KR1020000012892), Affymetrix사의 표면에서 폴리머를 라디칼 중합하여, 기능기의 밀도를 증가시키는 기술(EP1081163), Zou 등의 다중 양이온 폴리머 및 다중 음이온 폴리머가 번갈아 형성된 필름으로 코팅된 마이크로어레이(US20040121339) 등이 있다.

한편, 표면에 고정화시키는 방법으로서는, Cetus사의 나일론 표면 위에 올리고핵산을 점적하고 UV를 조사시켜 제조한 어레이(WO89/11548), Clinical Micro Sensors사(USP-6096273), Surmodics사(USP5858653) 및 Orchid Biocomputer사(USP6030782)의 DNA에 기능기를 도입하여 기판표면과 공유결합시키는 방법 등이 있다.

(3) 분석대상 생체분자

분석대상 생체분자로는 주로 DNA나 기타의 핵산 유사분자 및 단백질, 펩티드, 세포, 기타의 화학종으로 분류할 수 있다. DNA나 기타의 핵산 유사분자를 기반으로 하는 기술로서는, 1992년 Affymetrix사의 올리고뉴클레오티드 어레이(WO93/06121)를 시작으로, 2000년 Epigenomics사의 PNA 이용법(WO01/38565) 등이 있으며, Gilead Sciences사에서 핵산분해효소에 저항성을 가지는 핵산결합부를 개발하는(USP5596086) 등, 다양한 방법이 개발되고 있고, 단백질이나 펩타이드 등 아미노산 서열을 기반으로 하는 기술로는, Affymetrix사의 초기 펩타이드 어레이 기술이 NEC사(EP0818467), Combimatrix사(WO00/53311) 등의 기술에 응용되고 있으며, 이밖에 Incyte Genomics사의 항체 어레이를 이용한 사이토카인 분석기술(WO01/



27611) 등이 있고, 세포를 직접 배열하여 이용하는 기술으로는, John Hozier의 고체 표면에 부착한 세포라이브러리 이용기술(USP5326691)과, Cellomics사의 마이크로 배열 세포에 의한 병리학적 고속 탐색기술(USP6103479) 및 세포 내의 형광라벨 표지물질에 의한 탐색 시스템(WO00/17643) 등이 있다.

이밖에도 미국 정부의 조직어레이(tissue array)에 의한 분석기법(WO99/44062), Vysis의 암조직 세포의 진단법(WO01/75160) 등이 있으며, Amersham Pharmacia Biotech사의 미세 가공된 회전식 디스크에서 세포를 이용한 분석시스템(WO99/55827), Carlsson 등의 항-리간드 어레이(US20040067539) 등이 있다.

(4) 정렬방법

생체분자를 고체기판상에 점적(spotting)하는 방법으로는, 접촉 또는 비접촉식 디스펜서를 이용하여 기판상에 스포팅하는 방법인 Pin & Inkjet 방식, 반도체제작에 이용되는 광식각법(photolithography), 전극 어레이 기판에 전하를 띠는 생체분자를 선택적으로 전극에 도입하는 기술인 전기적 어드레싱(electrical addressing) 방법이 개발되어 있다. Pin & Inkjet 방식으로는, 먼저, Pin을 이용한 점적방법으로, Hewlett-Packard사의 마이크로피펫을 이용하여 일정량의 생체분자 프로브를 점적하는 기술(USP5601980), Perkin Elmer사의 다수의 디스펜서로 이루어진 어셈블리, 샘플공급 장치, 어셈블리를 이동시키는 장치 등으로 이루어진 어레이 제조장치(WO00/63705) 등이 있고, 잉크젯 원리를 이용한 점적방법으로, Amersham International PLC사의 기체 흐름을 조절하여 방울을 분사시켜 어레이를 형성하는 기술(EP0550757), California Institute of Technology의 펄스형태로 미세한 방울을 기판상에 적용하는 기술(USP5847105), Incyte Pharmaceuticals사의 펄스 젯팅 장치를 이용한 고상 phosphoramidite 방법으로 올리고핵산을 합성하는 기술(USP5874554) 등이 있다.

광식각 방법으로는, 1990년 Affymax사의 광식각법을 이용한 폴리펩타이드 어레이 합성기술(USP5143854)을 시작으로 하여, Affymax사의 고정된 바이오틴 유사체를 이용한 특정 단백질의 패터닝 기술(WO91/07087), Affymetrix사의 올리고핵산 어레이 합성과 그를 이용한 스크리닝

기술(USP6156501) 및 Epigenomics사의 액정 마스크를 이용한 기술(WO99/60156)이 있으며, 컴퓨터에 의해 제어되는 디지털 광학 프로젝터(WO99/42813, Wisconsin Alumni Research Foundation)와 마이크로 미러 어레이(EP0961174, Affymetrix)를 이용한 기술 등은 포토마스크를 이용하지 않고 광패턴을 형성하는 혁신적인 방법으로 알려져 있다. 전기적으로 어드레싱하여 어레이를 제작하는 방법은 전극 어레이 기판에 전하를 띠는 생체분자를 선택적으로 전극에 도입하는 기술로서, Nanogen사를 중심으로 개발되고 있는데, 1993년에 선택적 어드레스 가능한 투과층을 갖는 전극 어레이를 포함하는 미세전자칩을 이용하여 진단하는 시스템이 개발되었으며(USP5605662), 정밀한 분석을 위한 electric stringency control방법(USP6017696), 전극 어레이를 이용한 생체고분자 조합 합성방법(USP-5929208) 등이 개발되었다(참조: 표 2).

2. 마이크로플루이딕스칩

(1) Bio-MEMS 공정기술

Lab-on-a-Chip을 구현하기 위해서는, Bio-MEMS(bio-micro electro-mechanical system), 미세유체학(microfluidics)과 같은 첨단공학 분야의 기술 개발이 필연적으로 요구된다. Bio-MEMS 공정기술은 크게 silicon glass 공정과 plastic metal 공정으로 구분할 수 있는데, silicon glass 공정으로는 David Sarnoff Research Center의 glass sealing 기술(EP0869921)과 hole sealing과 전기도관 형성방법(EP0869850) 및 The Regent of the University of California의 필터형태의 반응기 형태(USP5798042) 및 실리콘 나노체 제작방법(USP6044981) 등이 있으며, plastic metal 공정으로는, David Sarnoff Research Center의 마이크로 크기의 진동형 박막제조 공정(USP5753302), Caliper Technologies사의 PMMA(polymethyl methacrylate)를 이용한 유체 시스템 제작기술(USP5885470) 등이 있다.

(2) Bio-MEMS 장치

Bio MEMS 장치는 유체를 마이크로 단위에서 소량의 시료를 분리, 분취, 혼합, 배분하기 위한 기기로서, 미세펌프, micro dispenser, micro reaction 챔버, 미세 모세관 전기영동 장치, micro PCR 장치 등이 있다. 미세펌프에 관한 기술로는, David Sarnoff Research Center의 전기적인 제어를 기본설계로 한 micro pump(USP5858193)와, 전극 패턴을 이용한 EO, EHD 펌프(USP5985119) 등이 있고, micro dispenser 관련 기술로는, Rockefeller Univ.의 외부의 기계적인 펌핑으로 구동하는 dispenser(USP-5046539), Regents of the University of California의 압전소자를 이용한 dispenser(USP5877580) 등이 있으며, micro reaction 챔버 관련 기술로는, Affymetrix사의 injection molding 등을 이용한 챔버(WO95/33846), Gamera Bioscience사의 반응의 효과를 도모한 열조절 반응기(EP0752009), Commissariat energie atomigue의 개별선택 가열구조가 도입된 챔버(EP0890651) 등이 있고, 마이크로 모세관 전기영동 장치 관련 기술로는, 듀퐁사의 반도체기판에 전기영동 또는 크로마토그래피를 통하여 생체분자의 분리가 가능하도록 고안된 미세 모세관 전기영동 시스템(USP4908112) 및 Albert Univ.의 다른 소자나 분석에 결합될 수 있는 미세 모세관 전기영동 시스템(WO00/22409) 등이 있으며, micro PCR 관련 기술로는, Micro-Fab Technologies사의 MEMS 기술로 제작된 마이크로 챔버와 히터로 이루어진 미세 PCR 장치(USP-5849208), David Sarnoff Research Center의 고유의 PCR 기능 이외 mciro CE소자와 결합된 미세 PCR 장치(USP5882903) 등이 있다(참조: 표 3).

표 2. 마이크로어레이칩의 특허현황

기술분야	1980년대	1990년~1994년도	1995년~1998년도	1999년~2001년도
	▶실리콘 기판위에 광분해성 보호기를 가지는 리간드 도입 (USP5252743, Affymax)	▶실리콘 기판에 아미노산기를 포함한 다량의 폴리머 고정화 (USP5405783, Affymax) ▶유리기판에 광식각법으로 올리고뉴클레오티드 어레이 형성 (USP5510270, Affymax) ▶유리기판 표면에 빛에 의하여 제거되는 보호기를 가진 리간드 도입 (USP5482867, Affymax) ▶백금기판에 isocyanate, isothiocyanate를 반응시켜 반응좌표 형성(USP5622826, Houston Research Center)	▶CE system용 기판으로 금 사용 (USP6132580, Univ. California) ▶실리콘기판을 폴리머매트릭스로 표면개질(USP5849486, Nanogen) ▶유리기판 표면에 마이크로웰이 형성된 DNA chip (USP5874219, Affymax) ▶실리콘 기판에 괄활성 폴리머층 형성(USP5847019, 미국정부) ▶금기판 위에서 전극으로 핵산분자 결합(USP6060023, Motorola) ▶금기판을 티올계열 물질로 표면개질(KR308031, 엘지전자)	▶실리콘기판을 bead로 정렬 (WO00/71992, Illuma) ▶실리콘기판에서의 고밀도 단백질 프로브 어레이 (WO01/14425, Diachip) ▶하이드로젤을 이용한 chip 소재 (WO00/56934, Packard Bioscience Company) ▶DNA를 나일론멤브레인 위에 고정시킨 후 발현분석 (WO00/77257, Clingenix) ▶니트로셀룰로스 또는 하이드로겔상에 항체나 글리코머 등을 고정시킨 어레이어(US20040033546, The Trustees of Columbia University)
	▶나일론 표면 위에 올리고뉴클레오티드를 점적하고 UV 조사하여 고정화(WO89/11548, Cetus)	▶마이크로웰에 폴리(phe-lys) 코팅하여 DNA 고정 (USP5747244, Chiron) ▶겔이 부착된 기판에 올리고뉴클레오티드 프로브 고정화하여 DNA sequencing (USP5552270, Molekulyarnoi Biologii Imeni) ▶자기 어셈블리된 단층막에 표면을 변형하여 분자를 인식하는 시스템 (USP5620850, President and Fellows of Harvard College)	▶다양한 폴리머매트릭스의 고정화 (USP5624711, Affymax) ▶레진에 DNA 부착 (USP5900481, Sequenom) ▶폴리머나 글리칸이 코팅된 고체기판과 그를 이용한 어레이 (USP5919523, Affymetrix) ▶PEI로 코팅된 기질에 올리고뉴클레오티드 고정 (WO99/04896, Papigene) ▶고체 표면상에 gel 형성·공유결합으로 생체분자 도입 (KR1020000012892, 바이오니아)	▶다양한 기능기를 갖는 실리콘 화합물 합성 (WO00/21967, Affymetrix) ▶산소플라즈마를 이용한 표면개질 (WO99/40173, Toyo Kohan) ▶다중양이온 폴리머와 다중음이온 폴리머로 구성된의 필름이 코팅된 마이크로어레이 (US20040121339, Zou et al.)
		▶슬라이드 위에 효모 등의 micro colony를 이용한 micro library 제조방법 (USP5563060, John Hozier)	▶펩타이드 배열을 만들어 단백질과 반응, 단백질의 반응위치를 알아내는 방법(EP818467, NEC) ▶마이크로배열에 세포를 배양하고 세포의 병리학적 반응을 고속 탐색할 수 있는 방법 (USP6103479, Cellomics)	▶표면에 PNA 또는 DNA 올리고머 정렬 (WO01/38565, Epigenomics) ▶세포를 이용한 분석을 수행하는 미세가공 회전식디스크 (WO99/55827, Amersham Pharmacia Biotech) ▶진단에 이용가능한 항-리간드 어레이(US20040067539, Carlsson et al.)
	▶광식각술에 의한 폴리펩티드의 합성(USP5143854, Affymax)	▶마이크로피팻을 이용하여 일정량의 생물학적 탐침을 기판의 선택된 위치에 점적하는 장치 (USP5601980, Hewlett-Packard) ▶micro-drop dispenser를 이용하여 micro-drop을 기판에 펄스로 공급 (USP6015880, California Institute of Technology) ▶선택적 addressable electrode array를 포함하는 미세전자소자 (USP5605662, Nanogen)	▶Chip array를 만드는 capillary tapping pin과 그 구성장치 (USP5807522, Stanford Univ.) ▶DNA array를 광분해성 보호기를 이용하여 만들기 위한 mask, energy source, computer programming, flow cell (USP5744101, Affymax) ▶펄스제팅 장치를 이용한 고상 phosphoramidite 방법으로 올리고뉴클레오티드 합성 (USP5874554, Incyte) ▶열에너지를 이용하여 유체를 분사시키는 bubble jet 방식으로 기판상에 고밀도 핵산 어레이 제작 (H10-209923, Canon)	▶광학 프로젝터를 이용한 패터닝 방법 (WO99/42813, Wisconsin Alumni Research Foundation) ▶기판상에 소량의 생체분자 물질을 점적하기 위한 장치 (WO00/63705, Perkin Elmer) ▶회전하는 디스크형 바이오칩에 펄스형의 레이저빔을 조사하여 패턴을 형성하는 방법 (KR379411, 엘지전자) ▶마이크로어레이상에 전기적으로 포획된 프라이머쌍을 이용한 목표 핵산의 스트랜드 치환 증폭방법 (WO00/60919, Nanogen)

표 3. 마이크로플루이딕스칩의 특허동향

기술분야	1980년대	1990년~1994년도	1995년~1998년도	1999년~2001년도
			▶실리콘 마이크로 sieve 구조 제작 및 미세유체채널 공정 (USP5770076, Univ. California) ▶마이크로 크기의 구멍이 형성된 진동형 박막을 이용한 bead나 particle 등을 공급하는 dispenser (USP5753302, David Sarnoff Research Center) ▶PMMA를 이용한 micro-fluidic system (USP5885470, Caliper Technologies) ▶반도체기술로 제작된 실리콘 micro/nano sieve 및 이로 구성된 챔버(USP604498, Univ. California)	▶micro-contilever, micro-brigde, micro-membrane을 이용하여 유체의 물리적, 화학적 특성을 분석하는 센서 (WO00/66266, Grey)
	▶반도체기판에 전기영동 또는 크로마토그래피를 통하여 생체분자의 분리가 가능하도록 고안된 미세 모세관 전기영동 시스템 (USP4908112, Dupon Pharmaceuticals Company)	▶면역반응 및 생화학 반응을 수행하기 위한 멀티반응 well에 유체를 공급하기 위한 자동유체 공급기 (USP5046539, Rockefeller Univ.) ▶순서대로 샘플을 분리, 이동하는 웰, 디스크 장치 (USP5585069, David Sarnoff Research Center)	▶회전하는 기저층 위에 광식각법으로 올리고뉴클레오티드 및 펩티드를 합성하는 칩 (USP6136269, Affymetrix) ▶유체와 변면사의 wetting이나 챔버 크기를 이용하여 유체의 압력을 부분적으로 제어하는 장치 (USP6143248, Gamera Bioscience) ▶샘플을 순서대로 분리, 이동 및 PCR 증폭할 수 있는 디스크 시스템 (USP5593838, David Sarnoff Research Center) ▶단일염기돌연변이를 몇 개의 분자로 동시에 검사하는 유체분리형 lab CD (USP6013513, Motorola) ▶마이크로렌즈와 미러 등의 광전소자를 결합한 유전자 분석용 통합시스템 (USP6045756, Ut-Battelle)	▶친수/소수의 표면특성을 이용한 유체제어 (WO99/58245, Amersham Pharmacia Biotech) ▶광섬유에 코팅된 형광물질을 이용하여 특정시료의 정성분석 센서 (USP6024923, Texas Instruments) ▶다기능 바이오칩 장치로 복수의 생물학적 감지요소, 마이크로 레이저, 광학 형광검출기 등 통합된 시스템 (WO00/43552, Lockheed Martin) ▶단일 웰을 어드레싱할 수 있는 유체구조 (WO00/66360, Orchid Bioscience) ▶샘플챔버와 두개의 전극을 통해 전기장을 형성할 수 있는 채널을 구비한 통합 마이크로플루이딕스 시스템 (WO04/039499, The Trustees of Princeton Univ.)