



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년03월05일
(11) 등록번호 10-2224541
(24) 등록일자 2021년03월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 27/327 (2006.01) G01N 27/49 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 27/3271 (2013.01)
G01N 27/3272 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0037021
(22) 출원일자 2019년03월29일
심사청구일자 2019년03월29일
(65) 공개번호 10-2020-0114759
(43) 공개일자 2020년10월07일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020050090285 A*
KR1020160004421 A*
JP2006524815 A
KR1020140132584 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
(72) 발명자
변재철
서울특별시 서초구 잠원로 46-38, 101동 301호(잠원동, 브라운스톤잠원)
(74) 대리인
김권석

전체 청구항 수 : 총 19 항

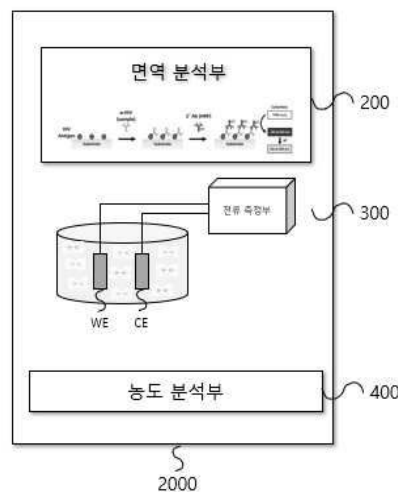
심사관 : 양경식

(54) 발명의 명칭 바이오 전극, 고감도 바이오 정량 키트, 고감도 바이오 정량 장치 및 임류노어세이 장치 및 이를 이용한 분석 방법

(57) 요약

본 발명은 적어도 일부에 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하는 전류 측정용 바이오 전극에 관한 것이다. 본 발명의 일 실시예에 따른 전류 측정용 바이오 전극은 전기화학적 반응에 의해 전류 신호를 발생시키는 분석 대상물에 접촉되는 전류 측정용 바이오 전극으로서, 적어도 일부에 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하고, 상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성된 전류 측정용 바이오 전극일 수 있고, 상기 바이오 전극은 고감도 바이오 정량 키트, 고감도 바이오 정량 장치 및 임류노어세이 장치에 이용될 수 있다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

G01N 27/49 (2013.01)

G01N 33/5438 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

전기화학적 반응에 의해 전류 신호를 발생시키는 분석 대상물에 접촉되는 전류 측정용 바이오 전극으로서,
적어도 일부에 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하고,

상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성된 전류 측정용 바이오 전극.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 질소의 도핑 농도가 1×10^{17} atoms/cm³ 내지 9×10^{19} atoms/cm³인 바이오 전극.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 탄화 규소(SiC)는, 4H-SiC의 결정 구조를 가지는 바이오 전극.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 전류 측정용 바이오 전극의 산화-환원 포텐셜 윈도우는 -700 mV 내지 2,500 mV인 전류 측정용 바이오 전극.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 탄화 규소(SiC)의 표면 캐패시턴스가 $3.59 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ 내지 $3.71 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ 인 바이오 전극.

청구항 6

분석 대상물을 수용하고 적어도 하나 이상의 전기화학적 반응 영역을 제공하는 기관;

상기 전기화학적 반응 영역 내에 배치되어 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응을 유도하고, 상기 전기화학적 반응으로부터 발생하는 전류 변화를 검출하기 위한 작동 전극 및 상대 전극을 포함하며,

상기 작동 전극은 적어도 일부에 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하고, 상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성된 고감도 바이오 정량 키트.

청구항 7

전기 화학적 반응에 의해 전류 신호를 발생시키는 분석 대상물에 접촉되고, 적어도 일부에 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하는 작동 전극;

상대 전극; 및

상기 작동 전극과 상기 상대 전극 사이에 구동 전압을 인가하여 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응을 유도하고 상기 전기화학적 반응에 의해 발생하는 전류를 측정하는 전류 측정부를 포함하고,

상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성된 고감도 바이오 정량 장치.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 전류 측정부는, 크로노암페로메트리(chronoamperometry)를 이용하는 고감도 바이오 정량 장치.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)는, 상기 분석 대상물의 환원 포텐셜 전압과 산화 포텐셜 전압을 순차적으로 가하고, 시간에 따라 전류를 측정하는 고감도 바이오 정량 장치.

청구항 10

1차 프로브 물질을 기판에 고정시키고, 상기 고정된 1차 프로브 물질에 정량의 대상이 되는 표적 물질을 처리하여 특이적으로 결합시키고, 항체에 표지 물질이 부착된 2차 프로브 물질을 처리하여 특이적으로 결합시키고, 상기 2차 프로브 물질에 부착되어 있는 표지 물질의 촉매 반응에 의해 발색 기질을 산화시켜, 상기 표지 물질, 제 1 산화물 또는 제 2 산화물 중 적어도 하나 이상을 포함하는 분석 대상물을 생성하는 면역 분석부;

상기 분석 대상물에 적어도 일부에 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하는 작동 전극을 접촉시키고, 상기 작동 전극에 동작 전압을 가하여 상기 분석 대상물의 전류를 측정하는 전류 측정부; 및

상기 측정된 전류를 이용하여 상기 표적 물질의 농도를 분석하는 농도 분석부를 포함하고,

상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성된 임무노어세이(immunoassay) 장치.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 표지 물질은 과산화효소(peroxidase) 또는 금속, 비금속, 상기 금속 또는 비금속의 산화물을 포함하는 나노 입자들 중 적어도 하나 이상 또는 이들의 조합을 포함하며, 상기 금속은 철(Fe), 금(Au), 백금(Pt)을 포함하는 임무노어세이(immunoassay) 장치.

청구항 12

제 10 항에 있어서,

상기 표지 물질은 horseradish peroxidase(HRP)이고, 상기 발색 기질은 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB)인 임무노어세이(immunoassay) 장치.

청구항 13

제 10 항에 있어서,

상기 표적 물질은 anti-human immunodeficiency virus(HIV)의 항체 또는 human hepatitis B surface antigen(hHBsAg)의 항원인 임무노어세이(immunoassay) 장치.

청구항 14

표적 물질의 농도를 측정하는 임무노어세이(immunoassay) 방법으로서,

1차 프로브 물질이 결합된 기판에 표적 물질을 처리하여 특이적으로 결합시키는 단계;

상기 결합된 제 1 중간생성물에 표지 물질이 부착된 2차 프로브 물질을 처리하여 제 2 중간생성물을 형성하는 단계;

상기 제 2 중간생성물 중 표지 물질의 촉매 반응에 의해 발색 기질을 산화시켜 제 1 산화물 또는 제 2 산화물을 생성하는 단계;

상기 발색 기질, 제 1 산화물 및 제 2 산화물 사이의 전기화학적 반응으로부터 발생하는 전류 신호의 측정에 이

용되는 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하는 작동 전극을 제공하는 단계;

상기 제 1 산화물 또는 상기 제 2 산화물에 적어도 일부에 상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하는 작동 전극을 접촉시키고, 상기 작동 전극에 동작 전압을 가하여 상기 제 1 산화물 또는 상기 제 2 산화물 중 적어도 하나 이상을 포함하는 분석 대상물의 전류 신호를 측정하는 단계; 및

상기 측정된 전류 신호를 이용하여 상기 표적 물질의 농도를 분석하는 단계를 포함하고,

상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성된 임뮤노어세이(immunoassay) 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

상기 전류 신호 측정은,

크로노암페로메트리(chronoamperometry)를 이용하는 임뮤노어세이(immunoassay) 방법.

청구항 16

제 15 항에 있어서,

상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)는,

상기 발색 기질의 환원 포텐셜 전압과 산화 포텐셜 전압을 순차적으로 가하고, 시간에 따라 전류를 측정하는 단계;

상기 환원 포텐셜 전압을 가한 경우의 전류 크기와 상기 산화 포텐셜 전압을 가한 경우의 전류 크기의 차이로부터 결과값을 얻는 단계를 포함하는 임뮤노어세이(immunoassay) 방법.

청구항 17

제 14 항에 있어서,

상기 표지 물질은 과산화효소(peroxidase) 또는 금속, 비금속, 상기 금속 또는 비금속의 산화물을 포함하는 나노 입자들 중 적어도 하나 이상 또는 이들의 조합을 포함하며, 상기 금속은 철(Fe), 금(Au), 백금(Pt)을 포함하는 임뮤노어세이(immunoassay) 방법.

청구항 18

제 14 항에 있어서,

상기 표지 물질은 horseradish peroxidase (HRP)이고, 상기 발색 기질은 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)인 임뮤노어세이(immunoassay) 방법.

청구항 19

제 14 항에 있어서,

450 nm에서 측정된 상기 표적 물질의 광학 밀도(optical density) 측정 한계는 0.37 초과 0.042미만인 임뮤노어세이(immunoassay) 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 피분석물의 검출 기술에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 고감도 바이오 정량 키트, 고감도 바이오 정량 장치, 임뮤노어세이 장치 및 이를 이용한 분석 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 임뮤노어세이는 항원과 항체의 특이결합을 이용하여 분석 대상물의 농도를 측정하는 방법이다. 일반적으로 상

기 분석 대상물을 항원으로 하고 이에 선택적으로 결합하는 항체를 이용하는 방법이 사용된다. 상기 분석 대상물에 대한 항체를 플레이트, 비드 등의 고체 지지체에 고정시킨 후, 상기 분석 대상물이 함유된 시료를 반응시키면 상기 분석 대상물이 상기 고정되어 있는 항체에 결합될 수 있다. 상기 항체에 결합된 분석 대상물의 농도를 측정하기 위해 상기 분석 대상물에 선택적 결합이 가능한 2차 항체를 처리하게 되며 상기 2차 항체는 발색, 형광 또는 발광 반응을 일으킬 수 있는 효소가 결합되어 있다. 따라서, 발색 혹은 발광의 양은 상기 결합된 분석 대상물의 농도와 정량적으로 비례하는 관계를 가지게 된다.

[0003] 상기 발색, 형광, 또는 발광을 이용하기 위해서는, 일반적으로 광학계를 가진 측정기가 필요하다. 상기 광학계를 가진 측정기는, 임류노어세이를 이용한 진단 장치의 소형화에 큰 장벽이 된다.

[0004] 또한, 상기 발색, 형광, 및 발광과 같은 광학적 측정 방법에 의하는 상당한 크기의 농도 이상의 분석 대상물만을 측정할 수 있어, 고도의 신뢰도, 측정 한계 및 측정 민감도가 요구되는 진단 검사를 위해서는 적용이 어렵다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 신뢰도 및 측정 민감도가 향상되고, 진단 키트 및 장치의 소형화가 가능하도록 하는 바이오 전극을 제공하는 것이다.

[0006] 또한, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 매우 낮은 농도의 분석 대상물을 감지할 수 있는 측정 민감도 및 신뢰도가 향상된 고감도 바이오 정량 키트를 제공하는 것이다.

[0007] 또한, 상기 이점을 제공하는 임류노어세이용 크로노암페로메트리 장치를 제공하고, 상기 전극 및 상기 크로노암페로메트리 장치를 이용하는 임류노어세이 분석 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기의 과제를 해결하기 위한, 본 발명에 따른 전류 측정용 바이오 전극은, 전기화학적 반응에 의해 전류 신호를 발생시키는 분석 대상물에 접촉되는 전류 측정용 바이오 전극으로서, 적어도 일부에 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하고, 상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성된 전류 측정용 바이오 전극이다. 상기 질소의 도핑 농도는 1×10^{17} atoms/cm³ 내지 9×10^{19} atoms/cm³ 일 수 있다.

[0009] 일부 실시예에서, 상기 탄화 규소(SiC)는, 4H-SiC의 결정 구조를 가질 수 있으며, 선택적으로는, 상기 전류 측정용 바이오 전극의 산화-환원 포텐셜 윈도우는 -700 mV 내지 2500 mV일 수 있다. 또한, 상기 탄화 규소(SiC)의 표면 캐패시턴스는 $3.59 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ 내지 $3.71 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ 일 수 있다.

[0010] 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 고감도 바이오 정량 키트는, 분석 대상물을 수용하고 적어도 하나 이상의 전기화학적 반응 영역을 제공하는 기관, 상기 전기화학적 반응 영역 내에 배치되어 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응을 유도하고, 상기 전기화학적 반응으로부터 발생하는 전류 변화를 검출하기 위한 작동 전극 및 상대 전극을 포함할 수 있고, 상기 작동 전극 및 상대 전극 중 적어도 하나는 적어도 일부가 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함할 수 있고, 상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성될 수 있다.

[0011] 다른 실시예에서, 고감도 바이오 정량 장치는, 전기화학적 반응에 의해 전류 신호를 발생시키는 분석 대상물에 접촉되고, 적어도 일부에 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하는 작동 전극 및 상대 전극 및 구동 전압을 인가하여 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응을 유도하고 상기 전기화학적 반응에 의해 발생하는 전류를 측정하는 전류 측정부를 포함할 수 있고, 상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성될 수 있다. 선택적으로, 상기 전류 측정부는, 크로노암페로메트리(chronoamperometry)를 이용할 수 있다.

[0012] 일부 실시예에서, 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)는, 상기 분석 대상물의 환원 포텐셜 전압과 산화 포텐셜 전압을 순차적으로 가하고, 시간에 따라 전류를 측정할 수 있고, 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)는, 순환전압법(cyclic voltammetry)를 이용하여 상기 전류를 측정하는 경우보다 작은 배

경 전류(background current)를 발생시킬 수 있다.

[0013] 본 발명의 다른 실시예에 따른 임뮤노어세이(immunoassay) 장치는, 1차 프로브 물질을 기관에 고정시키고, 상기 고정된 1차 프로브 물질에 정량의 대상이 되는 표적 물질을 처리하여 특이적으로 결합시키고, 항체에 표지 물질이 부착된 2차 프로브 물질을 처리하여 특이적으로 결합시키고, 상기 2차 프로브 물질에 부착되어 있는 표지 물질의 촉매 반응에 의해 발색 기질을 산화시켜, 상기 표지 물질, 제 1 산화물 또는 제 2 산화물 중 적어도 하나 이상을 포함하는 분석 대상물을 생성하는 면역 분석부, 상기 분석 대상물에 적어도 일부에 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극을 접촉시키고, 일정 전압을 가하여 상기 분석 대상물의 전류를 측정하는 전류 측정부 및 상기 측정된 전류를 이용하여 상기 표적 물질의 농도를 분석하는 농도 분석부를 포함할 수 있고, 상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성될 수 있다.

[0014] 일부 실시예에서, 상기 표지 물질은 horseradish peroxidase (HRP)이고, 상기 발색 기질은 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)일 수 있고, 선택적으로는, 상기 표적 물질은 anti-human immunodeficiency virus(HIV)의 항체 또는 human hepatitis B surface antigen(hHBsAg)의 항원일 수 있다.

[0015] 다른 실시예에 따른 임뮤노어세이(immunoassay) 방법은 1차 프로브 물질이 결합된 기관에 표적 물질을 처리하여 특이적으로 결합시키는 단계, 상기 결합된 제 1 중간생성물에 표지 물질이 부착된 2차 프로브 물질을 처리하여 제 2 중간생성물을 형성하는 단계, 상기 제 2 중간생성물 중 표지 물질의 촉매 반응에 의해 발색 기질을 산화시켜 제 1 산화물 또는 제 2 산화물을 생성하는 단계, 상기 발색 기질, 제 1 산화물 및 제 2 산화물 사이의 전기화학적 반응으로부터 발생하는 전류 신호의 측정에 이용되는 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하는 작동 전극을 제공하는 단계, 상기 제 1 산화물 또는 상기 제 2 산화물에 적어도 일부에 상기 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함하는 작동 전극을 접촉시키고, 상기 작동 전극에 동작 전압을 가하여 상기 제 1 산화물 또는 상기 제 2 산화물 중 적어도 하나 이상을 포함하는 분석 대상물의 전류 신호를 측정하는 단계 및 상기 측정된 전류 신호를 이용하여 상기 표적 물질의 농도를 분석하는 단계를 포함할 수 있고, 상기 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC)는 상기 분석 대상물과 관련된 발광이 아닌 산화-환원 반응에 해당하는 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 검출하도록 구성될 수 있다.

[0016] 일부 실시예에서, 상기 전류 신호 측정은 크로노암페로메트리(chronoamperometry)를 이용할 수 있다. 또한, 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)는 상기 발색 기질의 환원 포텐셜 전압과 산화 포텐셜 전압을 순차적으로 가하고, 시간에 따라 전류를 측정하는 단계, 상기 환원 포텐셜 전압을 가한 경우의 전류 크기와 상기 산화 포텐셜 전압을 가한 경우의 전류 크기의 차이로부터 결과값을 얻는 단계를 포함할 수 있다.

[0017] 다른 실시예에서, 상기 표지 물질은 horseradish peroxidase(HRP)이고, 상기 발색 기질은 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB)일 수 있으며, 450 nm에서 측정된 상기 표적 물질의 광학 밀도(optical density) 측정 한계는 0.37 초과 0.042미만일 수 있다.

발명의 효과

[0018] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극은 반도체 특성으로 인해 낮은 표면 캐패시턴스와 높은 전자 전달 속도를 가지므로 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응에 의한 전류 신호를 측정하는 경우에 발생하는 노이즈 전류를 감소시킬 수 있으며, 상기 전극은 넓은 범위의 전위에서 산화 또는 환원되지 않는 전기화학적 안정성을 가짐으로써 높은 측정 민감도 및 높은 신뢰도와 낮은 측정 한계를 가지는 전류 측정용 바이오 전극을 제공할 수 있다.

[0019] 또한, 상기 전극을 이용하여 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응으로부터 발생하는 전류 신호를 측정함으로써 상기 이점을 가지는 고감도 바이오 정량 키트 및 고감도 바이오 정량 장치를 제공할 수 있다.

[0020] 또한, 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응을 검출하는 상기 고감도 바이오 정량 장치의 경우 기존의 발색, 발광, 형광을 이용한 임뮤노어세이 분석과 달리 매우 낮은 농도의 분석 대상물까지 측정할 수 있기 때문에, 측정 민감도와 신뢰도가 향상된 임뮤노어세이 분석 장치 및 이를 이용한 임뮤노어세이 방법을 제공할 수 있다.

[0021] 또한, 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응을 검출하는 방식에 의하는 경우, 광학계를 가진 측정 장치가 불필요하게 되어 간단하고 소형화가 가능한 임뮤노어세이 분석 장치를 구현할 수 있으며, 상당한 측정 민감도가 요구되는 anti-human immunodeficiency virus(HIV)의 항체 또는 human hepatitis B surface antigen(hHBsAg)의 항원을 표적 물질로 함으로써 신뢰도 높은 의료용 진단 장치를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극(10)의 구조도이고, 도 2a는 전극(10)에 가해지는 포텐셜 변화 속도(Scan rate)에 따른 전류 변화의 그래프이며, 도 2b는 전극(10), 금속 전극 및 탄소 전극의 산화-환원반응 윈도우를 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 전극(10)을 포함하는 고감도 바이오 정량 키트(100)의 구조도이고, 도 4는 전극(10)을 포함하는 고감도 바이오 정량 장치(1000)의 구조도이다.
- 도 5는 일 실시예에 따른 크로노암페로메트리(chronoamperometry)와 상기 순환전압법(cyclic voltammetry)에 따라 전류를 측정한 그래프이다.
- 도 6는 탄화 규소(SiC) 전극(10)을 포함하는 임뮤노어세이(immunoassay) 장치(2000)이다.
- 도 7은 임뮤노어세이(immunoassay) 장치(2000)에 의한 분석 방법을 나타낸 흐름도이고, 도 8a는 anti-human immunodeficiency virus(HIV) 항체를 검출하기 위한 임뮤노어세이 과정의 모식도이고, 도 8b는, human hepatitis B surface antigen(hHBsAg)의 표면 항원을 검출하기 위한 임뮤노어세이 과정의 모식도이다.
- 도 9는 TMB 분석을 위한 크로노암페로메트리(chronoamperometry) 방법을 설명하는 그래프이다.
- 도 10a는 전극(10)을 이용한 TMB 분석 결과를 금(Au) 전극 및 탄소(Graphite) 전극을 이용한 분석 결과와 비교한 그래프이며, 도 10b는 크로노암페로메트리(chronoamperometry)로 TMB를 분석한 결과를 루미놀(luminol)에 의한 발광 분석 및 기존의 TMB 발색 분석과 비교한 그래프이다.
- 도 11a는 전극(10)을 이용한 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 의한 HIV항체의 농도 분석 결과를 루미놀(luminol)에 의한 발광 분석 및 기존의 TMB 발색 분석과 비교한 그래프이며, 도 11b는 전극(10)을 이용한 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 의한 HIV항체의 농도 분석 결과를 루미놀(luminol)에 의한 발광 분석 및 기존의 TMB 발색 분석과 비교한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다.
- [0024] 본 발명의 실시예들은 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 본 발명을 더욱 완전하게 설명하기 위하여 제공되는 것이며, 하기 실시예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 오히려, 이들 실시예는 본 개시를 더욱 충실하고 완전하게 하고, 당업자에게 본 발명의 사상을 완전하게 전달하기 위하여 제공되는 것이다.
- [0025] 또한, 도면에서 각 층의 두께나 크기는 설명의 편의 및 명확성을 위하여 과장된 것이며, 도면상에서 동일 부호는 동일한 요소를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 해당 열거된 항목 중 어느 하나 및 하나 이상의 모든 조합을 포함한다.
- [0026] 본 명세서에서 사용된 용어는 특정 실시예를 설명하기 위하여 사용되며, 본 발명을 제한하기 위한 것이 아니다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥상 다른 경우를 분명히 지적하는 것이 아니라면, 복수의 형태를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 경우 "포함한다(comprise)" 및/또는 "포함하는(comprising)"은 언급한 형상들, 숫자, 단계, 동작, 부재, 요소 및/또는 이들 그룹의 존재를 특정하는 것이며, 하나 이상의 다른 형상, 숫자, 동작, 부재, 요소 및/또는 그룹들의 존재 또는 부가를 배제하는 것이 아니다.
- [0027] 본 명세서에서 제 1, 제 2 등의 용어가 다양한 부재, 부품, 영역, 및/또는 부분들을 설명하기 위하여 사용되지만, 이들 부재, 부품, 영역, 및/또는 부분들은 이들 용어에 의해 한정되어서는 안됨은 자명하다. 이들 용어는 하나의 부재, 부품, 영역 또는 부분을 다른 영역 또는 부분과 구별하기 위하여만 사용된다. 따라서, 이하 상술할 제 1 부재, 부품, 영역 또는 부분은 본 발명의 가르침으로부터 벗어나지 않고서도 제 2 부재, 부품, 영역 또는 부분을 지칭할 수 있다.
- [0028] 또한, 어떤 층이 다른 층 상에 형성 또는 배치되어 있다고 하는 경우에는, 이들 층 사이에 중간층이 형성되거나 배치될 수 있다. 이와 유사하게, 어떤 재료가 다른 재료에 인접한다고 하는 경우에도 이들 재료들 사이에 중간재료가 있을 수 있다. 반대로, 층 또는 재료가 다른 층 또는 재료 상에 "바로" 또는 "직접" 형성되거나 배치된다고 하는 경우 또는 다른 층 또는 재료에 "바로" 또는 "직접" 인접 또는 접촉된다고 하는 경우에는, 이들 재료

또는 층들 사이에 중간 재료 또는 층이 없다는 것을 이해하여야 한다.

[0029] 이하, 본 발명의 실시예들은 본 발명의 이상적인 실시예들을 개략적으로 도시하는 도면들을 참조하여 설명한다. 도면들에 있어서, 예를 들면, 부재들의 크기와 형상은 설명의 편의와 명확성을 위하여 과장될 수 있으며, 실제 구현시, 도시된 형상의 변형들이 예상될 수 있다. 따라서, 본 발명의 실시예는 본 명세서에 도시된 영역의 특정 형상에 제한된 것으로 해석되어서는 아니 된다.

[0030] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극(10)의 구조도이고, 도 2a는 전극(10)에 가해지는 포텐셜 변화 속도(Scan rate)에 따른 전류 변화의 그래프이며, 도 2b는 전극(10), 금속 전극 및 탄소 전극의 산화-환원반응 윈도우를 나타낸 그래프이다.

[0031] 도 1을 참조하면, 일 실시예에 따른 탄화 규소(SiC) 전극은 탄화 규소(Si-C) 결정에서 규소(Si) 자리에 질소(N)가 고농도로 도핑되어 상기 규소(Si)의 일부가 치환될 수 있다. 상기 질소(N)의 비공유 전자쌍에 의하여 전극(10)은 도전 특성을 가질 수 있다. 다른 실시예에서는, 상기 질소(N)의 도핑 농도는 $1 \times 10^{17} \text{ atoms/cm}^3$ 내지 $9 \times 10^{19} \text{ atoms/cm}^3$ 일 수 있고, 전극(10)의 표면 저항은 $0.1 \text{ } \Omega \cdot \text{sq}^{-1}$ 내지 $10 \text{ } \Omega \cdot \text{sq}^{-1}$ 일 수 있다. 일 실시예에서, 상기 질소(N)의 도핑 농도가 $5 \times 10^{18} \text{ atoms/cm}^3$ 인 경우, 전극(10)의 표면 저항은 $0.4 \text{ } \Omega \cdot \text{sq}^{-1}$ 일 수 있다. 상기 질소(N)의 도핑 농도가 $1 \times 10^{17} \text{ atoms/cm}^3$ 미만인 경우에는 후술하는 전기 화학 분석에 유효한 도전성을 얻기 어려우며, 상기 질소(N)의 도핑 농도가 $9 \times 10^{19} \text{ atoms/cm}^3$ 를 초과하는 경우 동작 전압 내에서 전극(10) 자체의 산화 및 환원이 발생하여 신뢰성을 갖는 결과값을 도출하기 어렵다.

[0032] 일 실시예에서는, 전극(10)은 4H-SiC의 결정 구조를 가질 수 있다. 상기 탄화 규소(SiC) 단결정의 경우 200 개 이상의 아형(polytype)이 존재할 수 있다. 상기 4H-SiC의 결정 구조를 가지는 경우, 라만 분석시 $1,518 \text{ cm}^{-1}$ 및 $1,711 \text{ cm}^{-1}$ 의 피크를 보일 수 있다. 일 실시예에서, 전극(10)은 규소 웨이퍼를 탄화 및 질소 도핑 처리한 후 절단 공정을 통해 소정 크기로 분할함으로써 제공될 수 있다. 다른 실시예에서, 탄화 규소 단결정 웨이퍼에 질소 도핑 처리를 한 후 상기 절단 공정을 통해 소정 크기로 분할함으로써 제공될 수 있다.

[0033] 도 2a를 참조하면, 전류와 전압은 다음과 같은 식을 만족한다.

$$I = C * \left(\frac{dV}{dt} \right), \quad I: \text{전류}, C: \text{캐패시턴스}, V: \text{전압}, t: \text{시간}$$

[0034]

[0035] 도 2는 포텐셜 변화 속도에 따른 전류의 변화를 나타내고 있으므로, 도 2의 각 그래프의 기울기는 탄화 규소(SiC) 전극의 표면 캐패시턴스를 나타낼 수 있다. 상기 그래프는 순환 전압 전류법(Cyclic Voltammetry)을 이용하여 측정된 결과로부터 얻어질 수 있으며, 상기 표면 캐패시턴스는 상기 전극(10)의 산화 반응 또는 환원 반응에 의하여 각각 측정될 수 있다. 일 실시예에서, 상기 표면 캐패시턴스는 $3.59 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$ 내지 $3.71 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$ 일 수 있다. 예컨대, 상기 산화 반응에 의하여 $3.71 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$, 상기 환원 반응에 의하여 $3.59 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$ 의 값이 측정될 수 있다. 이는, 금(Au)의 경우 $30.9 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$, 백금(Pt)의 경우 $64.2 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$, 은(Ag)은 $52.8 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$, 스테인레스는 $39.8 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$ 임을 고려할 때, 상기 전극(10)의 금속 전극의 표면 캐패시턴스보다 매우 낮은 값을 보이며, 이는 탄소계 전극인 고배향 열분해 그래파이트(highly oriented pyrolytic graphite; HOPG)의 경우 $1 \sim 5 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$, 다이아몬드상 카본(diamond-like-carbon; DLC)의 $3.45 \text{ } \mu\text{F/cm}^2$ 와 비교시, 유사한 수준의 값을 보인다. 상기 표면 캐패시턴스가 낮은 경우 전기화학적 반응에 의한 상기 분석 대상물의 검출을 위한 I-V 측정시의 배경 전압을 작게 하여 노이즈 전압을 줄일 수 있고, 그에 따라 민감한 전류의 측정이 가능해진다.

[0036] 도 2b를 참조하면, 전극(10)은 -700 mV 내지 $2,500 \text{ mV}$ 범위의 산화-환원 포텐셜 윈도우를 가지는 것을 볼 수 있다. 이와 달리, 금속 및 탄소 전극(HOPG)의 경우 더 좁은 범위의 포텐셜 윈도우를 가진다. 상기 분석 대상물의 농도 측정에서, 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응은 산화-환원 반응을 의미하는데, 만약 상기 분석 대상물 외에 전극 자체의 산화-환원 반응이 일어나는 경우 상기 전극 자체의 산화-환원 반응에서 발생하는 전류 신호가 상기 분석 대상물의 산화-환원 반응의 전류 신호와 중첩되어 정확한 분석이 어렵다. 따라서, 상기 전극 자체의 산화-환원 반응이 일어나지 않아 측정 신뢰도를 갖는 포텐셜 범위를 산화-환원 포텐셜 윈도우라고 지칭

하며 상기 산화-환원 포텐셜 범위가 넓을수록 다양한 종류의 화합물을 분석할 수 있다.

[0037] 도 3은 전극(10)을 포함하는 고감도 바이오 정량 키트(100)의 구조도이다.

[0038] 도 3을 참조하면, 일 실시예에서, 고감도 바이오 정량 키트(100)는 기관(SS), 작동 전극(WE) 및 상대 전극(CE)을 포함할 수 있으며, 작동 전극(WE)은 적어도 일부에 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함할 수 있다. 다른 실시예에서, 상대 전극(CE)도 적어도 일부가 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC)를 포함할 수 있다.

[0039] 일 실시예에서, 기관(SS)은 분석 대상물을 수용하고 적어도 하나 이상의 전기화학적 반응 영역(도 3의 RA)을 제공한다. 상기 전기화학적 반응 영역은 상기 분석 대상물이 포함된 용액을 수용하기에 적합하도록 구획된 독립적 웰(well) 및/또는 연속적 측정이 가능하도록 상기 분석 대상물이 공급되는 유로(conduit)를 포함할 수 있으며, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

[0040] 일 실시예에서, 상기 전기화학적 반응 영역(도 3의 RA)은 도 3에 도시된 것과 같이 어레이 형태로 제공될 수도 있다. 비제한적 예로서, 전기화학적 반응 영역(도 3의 RA)에 분석 대상물이 포함된 용액이 점적되거나 소정 유량으로 연속적으로 공급될 수 있다. 기관(SS)은 전기화학적 방식에 의해 분석 대상물을 검출하기 때문에, 부도체 또는 반도체인 것이 바람직하며, 광학적으로 투명, 불투명 또는 반투명 재료를 요구하지 않는다.

[0041] 작동 전극(WE) 및 상대 전극(CE)은 전기화학적 반응 영역(도 3의 RA) 내에 배치되어 분석 대상물의 전기화학적 반응을 유도하고, 상기 전기화학적 반응으로부터 발생하는 전류 변화를 검출할 수 있다. 일 실시예에서, 작동 전극(WE) 또는 상대 전극(CE)은 패드 형태를 가질 수 있다. 일 실시예에서는, 고감도 바이오 정량 키트(100)는 작동 전극(WE) 및 상대 전극(CE) 외에 추가적으로 기준 전극 또는 보조 전극을 포함할 수 있고, 상기 기준 전극은 전위가 일정하여 상기 고감도 바이오 정량 키트(100)를 이용하여 측정된 전위의 절대적인 기준이 될 수 있다. 또한, 다른 실시예에서, 고감도 바이오 정량 키트(100)는, 상기 전극들을 하나의 단위체로 하여, 여러 개의 상기 단위체가 어레이(array) 형태로 배열될 수 있고, 상기 단위체의 개수는 제한되지 않는다.

[0042] 도 4는 전극(10)을 포함하는 고감도 바이오 정량 장치(1000)의 구조도이다.

[0043] 도 4를 참조하면, 일 실시예에서, 고감도 바이오 정량 장치(1000)는 작동 전극(WE), 상대 전극(CE) 및 전류 측정부(300)를 포함할 수 있다. 작동 전극(WE) 및 상대 전극(CE)에 관한 설명은 모순되지 않는 한 전술한 개시 사항을 참조할 수 있다.

[0044] 전류 측정부(300)는 구동 전압을 인가하여 상기 분석 대상물의 전기화학적 반응을 유도하고 상기 전기화학적 반응에 의해 발생하는 전류를 측정할 수 있다. 상기 전류 측정부는 작동 전극(WE) 또는 상대 전극(CE)을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 작동 전극(WE) 또는 상대 전극(CE)의 적어도 일부가 상기 분석 대상물과 접촉할 수 있다. 일 실시예에서, 전류 측정부(300)는 상기 기준 전극 또는 상기 보조 전극을 더 포함할 수도 있다.

[0045] 작동 전극(WE), 상대 전극(CE) 또는 기준 전극 및 보조 전극은 분석 대상물을 포함하는 용액에 침지 방식에 의한 접촉이 용이하도록 탐침의 형태로 제공될 수 있으며, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 작동 전극(WE), 상대 전극(CE) 또는 기준 전극 및 보조 전극은 어레이 형태로 배치될 수 있다. 또한, 작동 전극(WE), 상대 전극(CE) 또는 기준 전극 및 보조 전극은 수평 방향 또는 수직 방향으로 이동 가능한 구동계에 고정되어, 측정을 위해 필요한 물리적 운동을 할 수도 있다.

[0046] 다른 실시예에서, 전류 측정부(300)는 크로노암페로메트리(chronoamperometry)를 이용하여 구동될 수 있다. 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)는 시간에 따라 상기 분석 대상물에 인가하는 전압을 변화시키고, 상기 인가하는 전압을 변화시키기에 따라 상기 분석 대상물에 흐르는 전류의 크기를 측정한다. 본 실시예에서는, 상기 분석 대상물의 환원 포텐셜 전압과 산화 포텐셜 전압을 작동 전극(WE) 및 상대 전극(CE) 사이에 순차적으로 가하고, 시간에 따라 전류를 측정할 수 있다. 예를 들면, 상기 분석 대상물이 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB)인 경우 상기 환원 포텐셜 전압은 +600 mV, 상기 산화 포텐셜 전압은 -100 mV일 수 있다.

[0047] 또 다른 실시예에서, 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)는 순환 전압법(cyclic voltammetry)을 이용하여 상기 전류를 측정하는 경우보다 작은 배경 전류(background current)를 발생시킬 수 있다. 상기 배경 전류는 노이즈 전류로 작용함으로써 상기 분석 대상물 농도 측정의 측정 민감도에 악영향을 미친다. 도 5는 일 실시예에 따른 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)와 상기 순환 전압법(cyclic voltammetry)에 따라 상기 전류를 측정한 그래프이다. 도 5를 참조하면, 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 의해 측정된 경우 측정 한계(limit of detection; LOD)가 낮은 것을 볼 수 있다.

- [0048] 도 6은 탄화 규소(SiC) 전극(10)을 포함하는 임뮤노어세이(immunoassay) 장치(2000)이다.
- [0049] 도 6을 참조하면, 임뮤노어세이(immunoassay) 장치(2000)는 면역 분석부(200), 전류 측정부(300) 및 농도 분석부(400)를 포함할 수 있다. 본 발명은 상기 구성요소에 한정되지 않으며, 다른 구성요소를 더 포함할 수 있다.
- [0050] 면역 분석부(200)는 1차 프로브 물질을 기관에 고정시키고, 상기 고정된 1차 프로브 물질에 정량의 대상이 되는 표적 물질을 처리하여 특이적으로 결합시키고, 항체에 표지 물질이 부착된 2차 프로브 물질을 처리하여 특이적으로 결합시키고, 상기 2차 프로브 물질에 부착되어 있는 표지 물질의 촉매 반응에 의해 발색 기질을 산화시켜, 상기 표지 물질, 상기 제 1 산화물 또는 상기 제 2 산화물 중 적어도 하나 이상을 포함하는 분석 대상물을 생성한다. 상용 임뮤노어세이에서는 발색 반응을 이용하는 경우 발색 기질에 주로 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB)를 사용하고, 발광 반응을 이용하는 경우 발광 기질에 주로 루미놀(lumino)을 사용한다. 본 실시예에서는, 상기 표지 물질은 horseradish peroxidase (HRP)이고, 상기 발색 기질은 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB)일 수 있다.
- [0051] 일 실시예에서, 상기 표적 물질은 anti-human immunodeficiency virus(HIV)의 항체 또는 human hepatitis B surface antigen(hHBsAg)의 항원일 수 있다. 본 발명의 실시예는, 상기 두 종류의 질병에 대하여 높은 측정 민감도, 높은 신뢰도 및 낮은 측정 한계를 가지는 임뮤노어세이 장치를 제공할 수 있다. 상기 HIV, 상기 hHBsAg와 같은 항원은 인간을 대상으로 하는 질병의 원인이 되며, 따라서 본 발명에 의하여 측정 민감도 및 신뢰도 높은 의료용 진단 장치를 제공할 수 있다.
- [0052] 전류 측정부(300)는, 상기 분석 대상물에 적어도 일부에 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극을 접촉시키고, 일정 전압을 가하여 상기 분석 대상물의 전류를 측정한다. 전류 측정부(300)에 대하여는, 모순되지 않는 범위에서 전술한 바와 같다. 또한, 농도 분석부(400)는, 상기 측정된 전류를 이용하여 상기 표적 물질의 농도를 분석하며, 이에 대하여는 후술할 상기 표적 물질의 농도 분석 단계(S700)에서 상세히 설명하도록 한다.
- [0053] 이하에서는, 도 7 내지 도 8c를 참조하여 임뮤노어세이(immunoassay) 방법에 대하여 상세히 설명한다. 도 7은 임뮤노어세이(immunoassay) 장치(2000)에 의한 분석 방법을 나타낸 흐름도이고, 도 8a는 anti-human immunodeficiency virus(HIV) 항체를 검출하기 위한 임뮤노어세이 과정의 모식도이고, 도 8b는, human hepatitis B surface antigen(hHBsAg)의 표면 항원을 검출하기 위한 임뮤노어세이 과정의 모식도이다. 단, 이는 본 발명의 목적을 달성하기 위한 바람직한 실시예일뿐이며, 필요에 따라 일부 단계가 추가되거나 삭제될 수 있음은 물론이다.
- [0054] 도 7을 참조하면, 일 실시예에서, 임뮤노어세이(immunoassay) 장치(2000)는 1차 프로브 물질이 결합된 기관에 표적 물질을 처리하여 특이적으로 결합시킨다(S100). 일 실시예에서는, 도 8a를 참조하면, 상기 1차 프로브 물질은 HIV 항원이고, 상기 표적 물질은 HIV 항체일 수 있다. 또한, 도 8b를 참조하면, 다른 실시예에서는 상기 1차 프로브 물질은 hHBsAg 항체이고, 상기 표적 물질은 hHBsAg 항원일 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 2차 프로브 물질은 상기 표지 물질과 결합할 수 있는 화합물로서, 예를 들면, 상기 HRP로 표지된 항-쥐 면역글로불린 G(Anti-Mouse IgG-HRP)일 수 있다. 상기 2차 항체는 검출 대상인 표적 물질의 종류에 따라 달라지며, 항-염소(anti-goat), 항-쥐(anti-mouse), 항-인간(anti-human)과 같은 종류일 수 있고, 면역글로불린 G(igG), 면역글로불린 M(igM), 면역글로불린 A(igA)와 같은 종류일 수 있다. 상기 2차 프로브 물질은 상기 표지 물질과 결합된 다양한 종류의 항체일 수 있다. 또한, 상기 표지 물질은 과산화수소를 이용해 기질을 탈수소화시키는 산화제일 수 있으며, 일 실시예에서, 상기 표지 물질은 과산화효소(peroxidase)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 아스코르브산 또는 p-아미노벤조산시토크롬과 같은 효소일 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 표지 물질은 금속, 비금속, 상기 금속 또는 비금속의 산화물을 포함하는 나노 입자들 중 적어도 하나 이상 또는 이들의 조합을 포함할 수 있으며, 상기 금속은 철(Fe), 금(Au), 백금(Pt) 또는 상기 과산화효소(peroxidase)의 역할을 하는 무기 나노 입자를 포함할 수 있고, 특정 원소에 한정되지 않는다.
- [0055] 이후, 결합된 제 1 중간생성물에 표지 물질이 부착된 2차 프로브 물질을 처리하여 제 2 중간생성물을 형성하고(S200), 제 2 중간생성물 중 표지 물질의 촉매 반응에 의해 발색 기질을 산화시켜 제 1 산화물 또는 제 2 산화물을 생성할 수 있다(S300). 도 8c는 일 실시예에서 발색 기질로 사용되는 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB)의 산화 또는 환원에 따른 구조식이다. 무색의 TMB(도 8c의 transparent)가 산화되면, 푸른색(650nm)의 TMB(ox-1 TMB)가 생성되고 상기 ox-1 TMB가 다시 산화되면 노란색(450nm)의 TMB(ox-2)가 생성된다. 이 때, ox-1 TMB는 산성 조건에서 급격한 속도로 ox-2 TMB로 산화된다. 따라서, ox-2 TMB의 환원반응을 용이하게 측정할 수 있다. 이 경우, 상기 발색 기질은 transparent TMB, 제 1 산화물은 ox-1 TMB, 제 2

산화물은 ox-2 TMB일 수 있다.

- [0056] 이후, 상기 발색 기질, 제 1 산화물 및 제 2 산화물 사이의 전기화학적 반응으로부터 발생하는 전류 신호의 측정에 이용되는 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극을 제공하고(S500), 상기 제 1 산화물 또는 상기 제 2 산화물에 적어도 일부에 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극을 접촉시키고, 일정 전압을 가하여 상기 분석 대상물의 전류 신호를 측정한다(S600). 상기 질소(N)로 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극(10)의 구조, 도핑 농도, 표면 캐패시터와 같은 측정값에 대한 상세한 설명은 전술한 바와 같다. 상기 임류노어세이 방법은 효소 결합 면역침강 분석법(enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)분석법으로서, 직접 엘라이자(Direct ELISA)와 간접 엘라이자(Indirect ELISA) 및 샌드위치 엘라이자(Sandwich ELISA) 방식에 의해 실행될 수 있다.
- [0057] 일 실시예에서는, 상기 전류 신호 측정은 크로노암페로메트리(chronoamperometry)를 이용할 수 있다. 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 대한 상세한 설명은 전술한 바와 같다. 다른 실시예에서는, 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)는 상기 발색 기질의 환원 포텐셜 전압과 산화 포텐셜 전압을 순차적으로 가하고, 시간에 따라 전류를 측정하며,
- [0058] 상기 환원 포텐셜 전압을 가한 경우의 전류 크기와 상기 산화 포텐셜 전압을 가한 경우의 전류 크기의 차이로부터 결과값을 얻는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 발색 기질이 상기 TMB인 경우, 상기 제 1 산화물은 ox-1 TMB이고, 상기 제 2 산화물은 ox-2 TMB일 수 있다.
- [0059] 이후, 상기 측정된 전류 신호를 이용하여 상기 표적 물질의 농도를 분석한다(S700). 도 9는 TMB 분석을 위한 크로노암페로메트리(chronoamperometry) 방법을 설명하는 그래프이다. 일 실시예에서는, 상기 환원 전위를 인가한 경우의 전류와 상기 산화 전위를 인가한 경우의 전류의 크기 차이(signal = $I_{Red} - I_{Ox}$)에 의하여 상기 표적 물질의 농도를 분석한다. 예를 들면, TMB의 경우 상기 산화 전위는 +600 mV이고, 상기 환원 전위는 -1,000 mV이다. 이 경우, 약 4 번 이상 측정된 상기 전류의 크기 차이의 평균값이 사용될 수 있으며, 상기 ox-2 TMB를 이용한 측정값의 경우 광학 농도(optical density)와의 선형 상수(R^2)가 0.99로 측정되었다.
- [0060] 도 10a는 전극(10)을 이용한 TMB 분석 결과를 금(Au) 전극 및 탄소(Graphite) 전극의 분석 결과와 비교한 그래프이며, 도 10b는 크로노암페로메트리(chronoamperometry)로 TMB를 분석한 결과를 루미놀(luminor)에 의한 발광 분석 및 기존의 TMB 발색 분석과 비교한 그래프이다.
- [0061] 도 10a를 참조하면, 전극(10)을 이용한 TMB 분석 결과의 측정 한계(Limit of Detection, LOD)가 0.045로 가장 낮은 것을 알 수 있으며, 도 10b를 참조하면, 일 실시예에서는, 다양한 농도의 HRP 조건에서 같은 시간 및 같은 농도의 TMB를 처리하여 상기 HRP농도 변화에 대한 민감도를 관찰하였다. 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)로 TMB를 분석한 결과에서 상기 HRP 농도 변화에 따라 가장 높은 민감도를 보이는 것을 알 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 실시예로서, 전극(10) 및 상기 크로노암페로메트리(chronoamperometry)를 이용하여 임류노어세이를 실행하는 경우 가장 높은 측정 민감도와 신뢰도 및 낮은 측정 한계를 얻을 수 있다.
- [0062] 도 11a는 전극(10)을 이용한 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 의한 HIV항체의 농도 분석 결과를 루미놀(luminor)에 의한 발광 분석 및 기존의 TMB 발색 분석과 비교한 그래프이며, 도 11b는 전극(10)을 이용한 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 의한 HIV항체의 농도 분석 결과를 루미놀(luminor)에 의한 발광 분석 및 기존의 TMB 발색 분석과 비교한 그래프이다. 도 11a를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에서, 전극(10)을 이용한 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 의한 HIV항체의 농도 분석 결과의 측정 한계가 0.037(optical density 기준)로 가장 낮고, 도 11b를 참조하면, 마찬가지로, 본 발명의 실시예에서, 전극(10)을 이용한 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 의한 hHBsAg 항원의 농도 분석 결과의 측정 한계가 0.042(optical density 기준)로 가장 낮은 것을 볼 수 있다. 따라서, 본 발명의 실시예에 따라, 전극(10)을 이용한 크로노암페로메트리(chronoamperometry)에 의한 분석 방법에 의해 광학적 분석 방법이나 화학발광(chemiluminescence)을 이용한 분석 방법보다 훨씬 높은 수준의 측정 민감도 및 신뢰도를 가지는 의료 진단 키트 및 장치의 구현이 가능하다.

부호의 설명

- [0063] 10: 질소(N)가 도핑된 탄화 규소(SiC) 전극
100: 고감도 바이오 정량 키트
SS: 기관

WE: 작동 전극

CE: 상대 전극

RA: 반응 영역

1000: 고감도 바이오 정량 장치

200: 면역 분석부

300: 전류 측정부

400: 농도 분석부

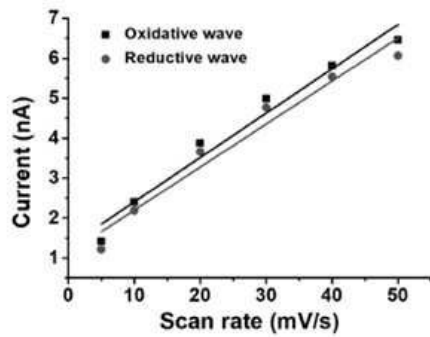
2000: 임류노어세이(immunoassay) 장치

도면

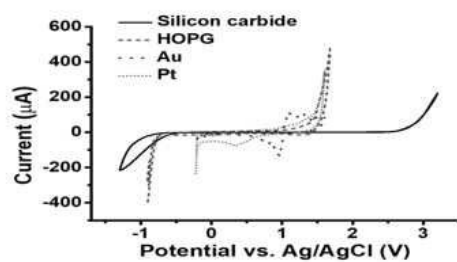
도면1



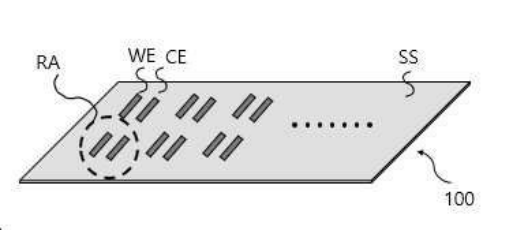
도면2a



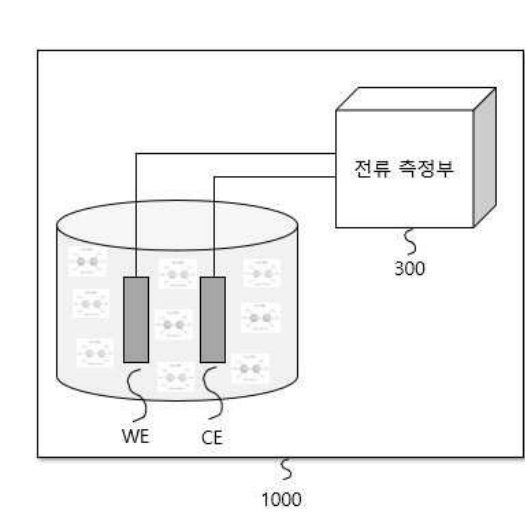
도면2b



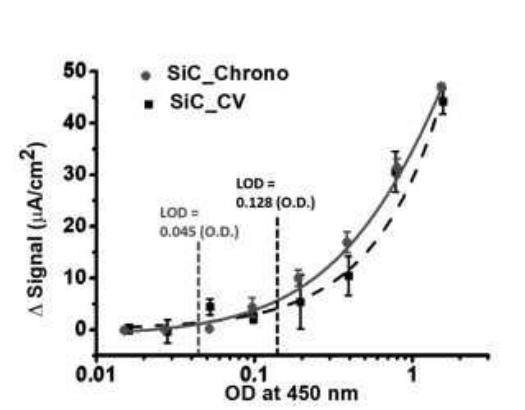
도면3



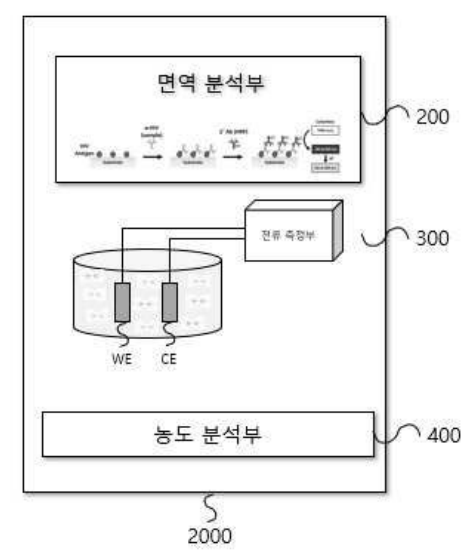
도면4



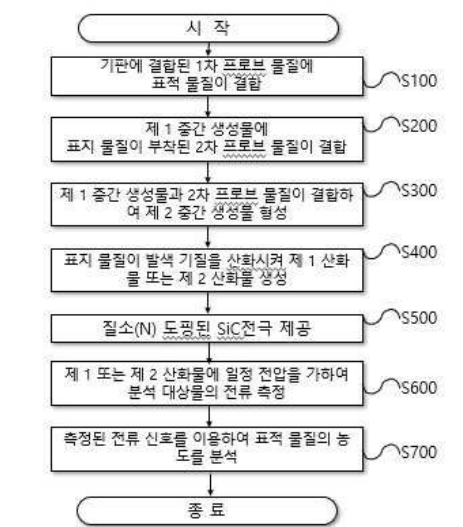
도면5



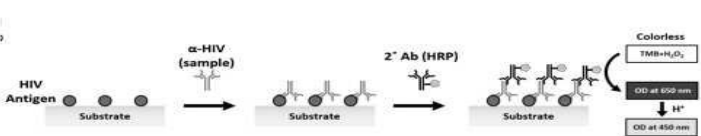
도면6



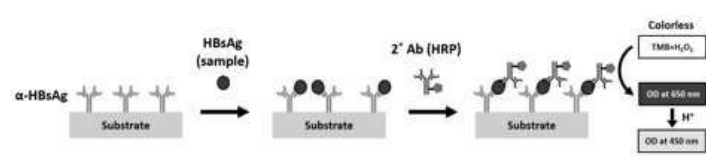
도면7



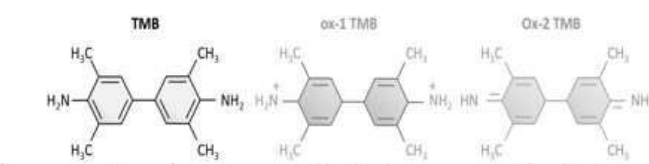
도면8a



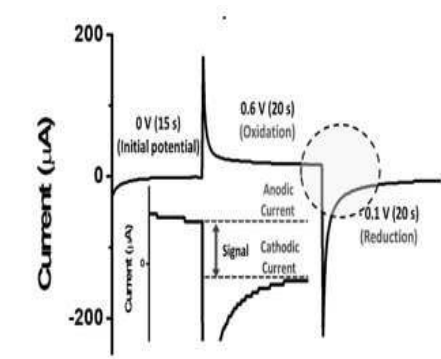
도면8b



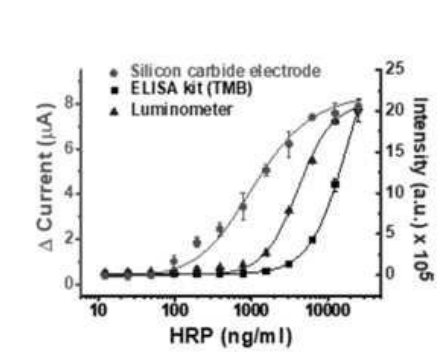
도면8c



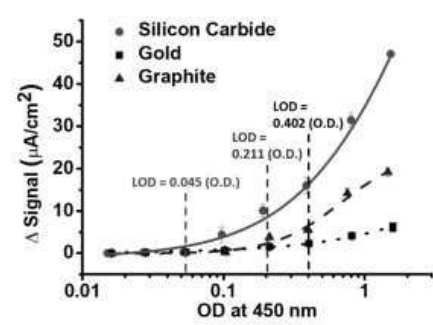
도면9a



도면9b



도면10a



도면10b

