



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2011년04월13일  
 (11) 등록번호 10-1029115  
 (24) 등록일자 2011년04월06일

(51) Int. Cl.  
 G01N 33/53 (2006.01) C12Q 1/00 (2006.01)  
 G01N 21/17 (2006.01) G01N 35/00 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2009-0059184  
 (22) 출원일자 2009년06월30일  
 심사청구일자 2009년06월30일  
 (65) 공개번호 10-2010-0007723  
 (43) 공개일자 2010년01월22일  
 (30) 우선권주장  
 1020080066988 2008년07월10일 대한민국(KR)  
 (56) 선행기술조사문헌  
 JP2003268592 A  
 JP2004232027 A  
 JP2008076313 A  
 논문1: 한국생물공학회지  
 전체 청구항 수 : 총 23 항

(73) 특허권자  
 한국과학기술원  
 대전 유성구 구성동 373-1  
 (72) 발명자  
 이상엽  
 대전 유성구 구성동 373-1 한국과학기술원  
 박태정  
 대전광역시 서구 관저2동 구봉마을아파트 912동  
 1505호  
 김도균  
 대전광역시 서구 월평동 298 갤러리빌 렉스 508호  
 (74) 대리인  
 이처영

심사관 : 장정숙

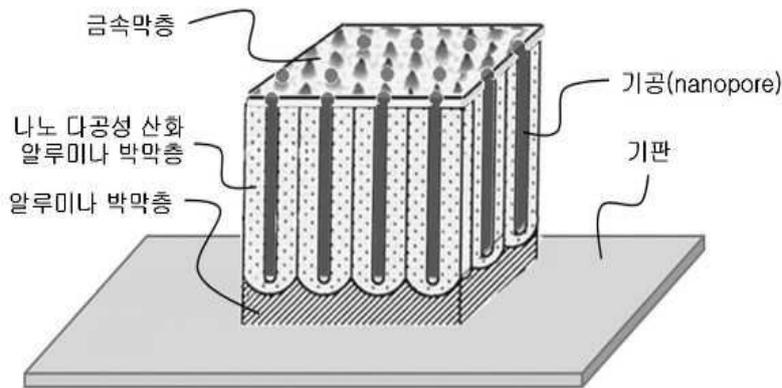
**(54) 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 및 그 제조방법**

**(57) 요약**

본 발명은 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는, 기판, 알루미늄 박막, 다공성 산화 알루미늄 박막 및 금속막을 포함하는 새로운 형태의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 및 상기 바이오칩의 물성을 조절할 수 있는 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명의 바이오칩에 따르면, 다공성 산화막집을 이용한 바이오센서가 가지고 있는 장점을 동일하게 가지고 있을 뿐만 아니라, 광원, 검출기, 분광광도계 및 컴퓨터를 포함하는 분석장치와 결합함으로써 DNA를 포함하여 단백질 등의 다양한 바이오분자의 상호작용을 고감도로 검출할 수 있는 바이오센서로서 응용가능하다.

**대표도 - 도1**



**특허청구의 범위**

**청구항 1**

다음을 포함하는 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩:

기판;

상기 기판에 형성된 알루미늄 박막층;

상기 알루미늄 박막층 상부에 형성되어 있고, 일정한 간격으로 배열된 다수의 기공을 포함하는 다공성 산화 알루미늄 박막층; 및

상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 형성된 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 기판은 유리, 폴리스티렌(polystyrene), PET(polyethylene terephthalate), 폴리카보네이트(polycarbonate), 실리콘(silicon) 및 석영으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 3**

제1항에 있어서, 상기 기판의 두께는 0.1~20mm인 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 4**

제1항에 있어서, 상기 알루미늄 박막층의 두께는 30nm~30 $\mu$ m인 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 5**

제1항에 있어서, 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께는 10nm~10 $\mu$ m인 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 6**

제1항에 있어서, 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층의 기공의 직경은 30nm~300nm인 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 7**

제1항에 있어서, 상기 금속박막층의 금속은 금, 은, 동, 알루미늄, 백금, 니켈, 아연 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 8**

제1항에 있어서, 상기 금속박막층의 두께는 1nm~50nm인 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 9**

제1항에 있어서, 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층과 금속박막층 사이에 중간 금속박막층을 추가로 포함하는 바이오칩.

**청구항 10**

제9항에 있어서, 상기 중간 금속박막층의 금속은 크롬(Cr), 티타늄(Ti) 니켈(Ni) 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 11**

제9항에 있어서, 상기 중간 금속박막층의 두께는 3nm~7nm인 것을 특징으로 하는 바이오칩.

**청구항 12**

다음의 단계를 포함하는 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 제조방법:

- (a) 기판에 알루미늄 박막층을 형성시키는 단계;
- (b) 상기 알루미늄 박막층에 양극 산화 처리에 의해 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성하는 단계; 및
- (c) 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층을 형성시키는 단계.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 상기 (a)단계에서 알루미늄 박막층은 스퍼터법, 증착법, 이온 플레이팅법, 전기도금법 및 무전기도금법으로 구성된 군에서 선택되는 방법에 의해 형성되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 14**

제12항에 있어서, 상기 (b)단계는 양극산화 처리는 2회 실시되는 것을 특징으로 하는 제조방법.

**청구항 15**

제12항에 있어서, 상기 (b)단계에서 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께는 양극산화 처리에 소요되는 시간에 비례하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 16**

제12항에 있어서, 상기 (c)단계에서 금속박막층은 스퍼터법, 증착법, 이온 플레이팅법, 전기도금법 및 무전기도금법으로 구성된 군에서 선택되는 방법에 의해 형성되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 17**

제12항에 있어서, 상기 (c)단계 이전에 중간 금속박막층을 형성하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

**청구항 18**

다음의 단계를 포함하는 비표지 광학 바이오센서의 제조방법:

- (a) 기판에 알루미늄 박막층을 형성시키는 단계;
- (b) 상기 알루미늄 박막층에 양극 산화 처리에 의해 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성하는 단계;
- (c) 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층을 형성시키는 단계; 및
- (d) 상기 금속박막층 상부에 하나 이상의 바이오리셉터를 고정화시키는 단계.

**청구항 19**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 금속박막층에 하나 이상의 바이오리셉터가 고정화되어 있는 것을 특징으로 하는 비표지 광학 바이오센서.

**청구항 20**

제19항에 있어서, 상기 바이오리셉터는 호르몬, DNA, PNA, 효소 및 세포로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 하는 비표지 광학 바이오센서.

**청구항 21**

제19항에 있어서, 상기 바이오리셉터는 물리적 흡착 또는 화학결합에 의해 금속박막층에 고정화되어 있는 것을 특징으로 하는 비표지 광학 바이오센서.

**청구항 22**

제19항에 따른 하나 이상의 바이오리셉터가 고정화되어 있는 비표지 광학 바이오센서와 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질을 포함한 시료를 접촉시킨 후, 입사광을 조사하고 상기 입사광의 반사광에 대한 흡수 스펙트럼을 분석하여, 상기 바이오리셉터와 표적 바이오물질의 상호작용을 검출 및/또는 정량하는 것을 특징으로 하는 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질 측정 방법.

**청구항 23**

제22항에 있어서, 상기 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질은 항원, 항체, 리간드(ligand), RNA, DNA, PNA 및 합텐(hapten)으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질 측정방법.

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는, 기판, 알루미늄 박막, 다공성 산화 알루미늄 박막 및 금속막을 포함하는 새로운 형태의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 및 상기 바이오칩의 물성을 조절할 수 있는 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 제조방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

- [0002] 금속 나노입자와 같이 국소적인 표면에 다양한 파장을 갖는 광원을 쪼이게 되면 벌크 금속과는 달리 금속 나노입자 표면에 분극이 발생하고 전체의 강도를 증대시키는 특이한 성질을 나타낸다. 가시광선과 같은 외부 에너지에 의해 금속 나노입자 내부에 있는 자유전자들은 응집하여 플라즈몬(plasmon)을 이루게 되며, 금속 나노입자 표면이라는 나노공간에서 국소적으로 진동하게 되는데 이러한 현상을 국소 표면 플라즈몬 공명 (Localized Surface Plasmon Resonance; LSPR)이라고 한다. 이러한 현상에 대해서는 오래 전부터 Mie 등에 의해 이론적으로 계산되고 예측되어 왔으나 최근 들어 나노 가공기술이 발전하게 되면서 다양한 센서와 결합시키는 유용한 연구결과들이 발표되고 있다 (Mie, *Ann. Phys.*, 25:377-452, 1908; Link and El-Sayed, *J. Phys. Chem. B*, 103:8410-8426, 1999; Haes and Van Duyne, *Anal. Bioanal. Chem.*, 379:920-930, 2004).
- [0003] 일본 RIKEN의 Okamoto 그룹(T. Okamoto *et. al.*, *Optics Letters*, 25:374, 2000)이 금 나노입자를 유리 기판 위에 고정시키고 liquid sample의 굴절률 변화에 따른 LSPR 특성 변화를 관찰한 결과를 발표한 것이 금 나노입자 어레이칩을 이용한 LSPR센서의 시초이다.
- [0004] 미국 듀크대의 Nath와 Chilkoti 그룹(N. Nath and A. Chilkoti, *Anal. Chem.*, 74:504, 2002)이 동일한 기술을 응용하여 금 나노입자 어레이칩을 이용한 LSPR 바이오센서를 개발하게 되었으며, 바이오분자의 상호작용을 실시간으로 관찰한 결과를 발표하였다. 이들은 또한 금 나노입자의 크기에 따른 측정 감도의 변화에 관한 결과를 관찰함으로써 금나노입자 어레이칩의 최적화에도 성공하였다. 하지만 이런 형태의 LSPR 바이오센서는 금속 나노입자의 제작공정의 복잡화, 제작기간의 장기화, 여러 가지 크기의 금속 나노입자 제작의 어려움, 그리고 나노입자의 불규칙적인 고정에 의한 재현성 확립의 어려움 등의 문제점을 가지고 있다.
- [0005] 따라서, 금 나노입자 어레이칩을 이용한 LSPR 바이오센서의 개발에 걸림돌이 되는 이러한 문제점들을 해결하기 위하여 각종 다공성 산화막칩을 이용한 새로운 형태의 바이오칩이 개발되었다. 즉, 다공성 실리카 산화막 칩의 제작 및 단백질 검출 센서로의 응용 연구가 미국 캘리포니아대학의 Sailor 그룹(M. J. Sailor *et. al.*, *Science*, 278:840, 1997)에 의해 처음 발표되었다. 이후 미국 Rochester대학의 Rothberg 그룹(S. Pan and L. J. Rothbrtg, *Nano Letters*, 3:811, 2003)은 이 기술을 이용하여 다공성 산화 알루미늄 칩의 제작 및 DNA 검출 센서로의 응용 연구에 적용하기도 하였다.
- [0006] 각종 다공성 산화막칩을 이용한 바이오센서는 다공성 산화막 구조에 광원을 쪼임으로서 발생하는 간섭효과 (Interferometry)를 이용한 센서로서 제작공정이 간단하고, 제작시간이 짧으며, 규칙적인 다공성 박막의 제작에 의한 재현성을 확립할 수 있다는 장점이 있는 반면에 투명한 다공성 산화막 구조에 의해 광학적 감도가 다른 광학 센서에 비해 낮다는 단점을 가지고 있다.
- [0007] 이러한 단점을 극복할 수 있는 금 증착형 나노 다공성 산화 알루미늄나 칩이라는 새로운 형태의 바이오칩이 개발되었다. 금 증착형 나노 다공성 산화 알루미늄나 바이오칩은 나노 다공성 산화 알루미늄나 박막의 표면에 금을 증착하는 간단한 조작에 의해서 LSPR 특성을 발생시킬 수 있으며 다공성 산화막 구조에 의해 발생하는 간섭효과 (Interferometry)와 결합함으로써 고감도의 비표지 광학 기반 바이오센서로서 응용가능한 바이오칩이다.
- [0008] 이러한 금 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 이용하여 바이오센서를 구현하기 위한 기술이 일본 공개특허 제2008-0076313호 (명칭: 분석용칩 및 그 제조방법, 분석장치 및 분석방법)에 개시되었다. 상기 금 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩은 간섭효과와 금속박막층에 의한 LSPR 특성을 동시에 나타내는 효과가 있으나, 내구성이 약한 알루미늄 기판을 사용함으로써 기판상에 형성되는 다공성 산화 알루미늄 박막이 쉽게 변형되거나 부서지는 문제점, 양극산화 처리 다공성 산화 알루미늄 박막을 형성시키기 위해서는 알루미늄 기판 표면을 연마하여야 하며, 기계적 연마 및 화학적 연마라고 하는 공정의 도입으로 제작 공정의 복잡화 및 제작기간의 장기화라는 문제점이 존재한다.
- [0009] 본 발명자들은 상기 일본공개특허 제2008-0076313호에 개시되어 있는 금 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오 칩의 장점을 그대로 가지면서도 상기에 언급한 문제점들을 해결함으로써, 물성이 향상된 바이오칩 및 바이오칩의 물성을 조절할 수 있는 방법에 대한 연구를 지속하여 왔다.
- [0010] 이에 본 발명자들은 유리기판 상에 알루미늄 박막, 다공성 산화 알루미늄 박막 및 금속막을 순서대로 형성하여 바이오칩을 제조한 결과, 유리기판의 사용으로 인하여 알루미늄을 기판으로 사용하였을 때보다 내구성이 향상된 바이오칩을 제조할 수 있고, 다공성 산화 알루미늄 박막을 양극산화 처리하여 제조할 때 처리 조건에 따라 제조되는 바이오칩의 두께, 그에 따른 흡광도 강도 등의 흡수 스펙트럼 특성을 조절할 수 있다는 것을 확인하였으며, 상기 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 이용하여 단백질 항체-항원 반응을 검출할

수 있다는 것을 확인하고 본 발명을 완성하게 되었다.

**발명의 내용**

**해결 하고자하는 과제**

- [0011] 본 발명의 목적은 새로운 형태의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 및 그 제조방법을 제공하는데 있다.
- [0012] 본 발명의 다른 목적은 새로운 형태의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 포함하는 광학 바이오센서 및 상기 광학 바이오센서를 이용하는 비표지 바이오물질 측정방법을 제공하는데 있다.

**과제 해결수단**

- [0013] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은, 기관; 상기 기관에 형성된 알루미늄 박막층; 상기 알루미늄 박막층 상부에 형성되어 있고, 일정한 간격으로 배열된 다수의 기공을 포함하는 다공성 산화 알루미늄 박막층; 및 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 형성된 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층을 포함하는 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 제공한다.
- [0014] 본 발명은 또한, (a) 기관에 알루미늄 박막층을 형성시키는 단계; (b) 상기 알루미늄 박막층에 양극 산화 처리에 의해 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성하는 단계; 및 (c) 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층을 형성시키는 단계를 포함하는, 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 제조방법을 제공한다.
- [0015] 본 발명은 또한, (a) 기관에 알루미늄 박막층을 형성시키는 단계; (b) 상기 알루미늄 박막층에 양극 산화 처리에 의해 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성하는 단계; (c) 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층을 형성시키는 단계; 및 (d) 상기 금속박막층 상부에 하나 이상의 바이오리셉터를 고정화시키는 단계를 포함하는 비표지 광학 바이오센서의 제조방법을 제공한다.
- [0016] 본 발명은 또한, 상기 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 금속박막층에 하나 이상의 바이오리셉터가 고정화되어 있는 것을 특징으로 하는 비표지 광학 바이오센서를 제공한다.
- [0017] 본 발명은 또한, 상기 하나 이상의 바이오리셉터가 고정화되어 있는 비표지 광학 바이오센서와 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질을 포함한 시료를 접촉시킨 후, 입사광을 조사하고 상기 입사광의 반사광에 대한 흡수 스펙트럼을 분석하여, 상기 바이오리셉터와 표적 바이오물질의 상호작용을 검출 및/또는 정량하는 것을 특징으로 하는 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질 측정 방법을 제공한다.

**효과**

- [0018] 본 발명의 바이오칩에 따르면, 다공성 산화막집을 이용한 바이오센서가 가지고 있는 장점을 동일하게 가지고 있을 뿐만 아니라, 광원, 검출기, 분광광도계 및 컴퓨터를 포함하는 분석장치와 결합함으로써 DNA를 포함하여 단백질 등의 다양한 바이오분자의 상호작용을 고감도로 검출할 수 있는 바이오센서로서 응용가능하다.

**발명의 실시를 위한 구체적인 내용**

- [0019] 본 발명은 일 관점에서, 기관; 상기 기관에 형성된 알루미늄 박막층; 상기 알루미늄 박막층 상부에 형성되어 있고, 일정한 간격으로 배열된 다수의 기공을 포함하는 다공성 산화 알루미늄 박막층; 및 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 형성된 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층을 포함하는 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩에 관한 것이다 (도 1 및 도 2).
- [0020] 본 발명에 있어서, 상기 기관은 유리, 폴리스티렌(polystyrene), PET(polyethylene terephthalate), 폴리카보네이트(polycarbonate), 실리콘(silicon) 및 석영으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다. 상기

에 열거한 종류의 기관은 편광에 대해서 이방성을 나타내지 않고, 가공성이 우수한 효과가 있으며, 특히, 상기 유리, 폴리스티렌, PET 및 폴리카보네이트는 백색광에 대해서 투명한 특성을 나타내는 재료이다.

- [0021] 기관의 표면이 색깔을 띠게 되면 입사한 백색광이 기관 표면으로부터 반사를 하게 되고, LSPR 특성과 간섭효과와 같은 광학특성에 영향을 미치게 된다. 따라서 입사한 백색광이 반사하지 않고 투과하는 특성을 가진 투명한 기관을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0022] 또한, 본 발명에 있어서, 상기 기관의 두께는 0.1~20mm인 것을 특징으로 할 수 있으며, 이는 상기 각 기관에 대해 현재까지 제작되었거나 도입가능한 기관 중에서 본 발명에 사용해도 무방한 최저 두께치와 최고 두께치를 나타낸 것이다. 즉, 본 발명에서는 0.1~20mm 두께의 기관을 사용할 때, 기관에 의해 LSPR 특성과 간섭효과와 같은 광학특성이 영향받지 않는 바이오칩과 바이오센서를 제조할 수 있다.
- [0023] 또한, 상기 알루미늄 박막층은 양극산화처리에 의해서 알루미늄 박막층 일부가 다공성 산화 알루미늄 박막층으로 전환되기 때문에 알루미늄 박막층의 두께는 형성되는 다공성 산화 알루미늄 박막층과 관련이 있다. 본 발명의 경우 양극산화처리를 두차례 하더라도 상기 알루미늄 박막층이 기관 위에 남아있어야 하기 때문에 상기 알루미늄 박막층의 두께는 형성하려는 다공성 산화 알루미늄 박막층보다 3배 정도 두꺼운 두께로 형성하는 것이 바람직하다.
- [0024] 한편, 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층을 제작할 수 있는 최저 두께는 10nm이며, 10nm미만이면 다수 개의 기공을 가진 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층을 제작하기가 어려우며, 상기 기공이 일정하게 배열되기도 어렵다. 또한, 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께에 따라서 LSPR 특성 및 간섭효과와 같은 광학 특성이 변화하게 되지만, 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께가 10 $\mu$ m를 초과하게 되면 다수 개의 기공 사이로 입사된 백색광이 기공의 아래 바닥까지 도달하지 않기 때문에 LSPR 특성 및 간섭효과와 같은 광학 특성의 변화가 일어나지 않게 되므로, 본 발명에 있어서, 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께는 10nm~10 $\mu$ m인 것이 바람직하다. 따라서, 전술한 바와 같이 알루미늄 박막층의 두께는 다공성 산화 알루미늄 박막층보다 3배 정도 두꺼운 두께로 형성하는 것이 바람직하므로, 상기 알루미늄 박막층의 두께는 30nm~30 $\mu$ m인 것이 바람직하다.
- [0025] 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층에는 다수 개의 기공이 일정한 간격으로 배열되어 있으며, 본 발명에서 제작할 수 있는 기공의 크기는 30nm~300nm인 것을 특징으로 하며, 상기 수치범위 내의 크기를 가지는 기공을 형성할 때 다수 개의 기공이 전부 같은 크기로 일정하게 배열될 수 있으며, 보다 바람직하게는, 본 발명에 있어서 기공의 크기는 60nm로 제작할 수 있다.
- [0026] 본 발명에 있어서, 상기 금속박막층의 금속은 금(Au), 은(Ag), 동(Cu), 알루미늄(Al), 백금(Pt), 니켈(Ni), 아연(Zn) 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있으나, 국소 표면 플라즈몬 공명을 발생시킬 수 있는 금속이라면 이에 제한되지 않고 사용될 수 있다.
- [0027] 본 발명에 있어서, 상기 금속박막층의 두께는 1nm~50nm인 것이 바람직하다. 상기 금속박막층의 두께가 1nm 미만일 경우에는 금속박막층의 형성이 어려우며, 50nm를 초과할 경우에는 금속박막층이 상기 기공을 덮어버리기 때문에 LSPR 특성 및 간섭효과와 같은 광학특성이 발생하지 않는 문제점이 있다.
- [0028] 본 발명에 있어서, 상기 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩은 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층과 금속박막층 사이에 중간 금속박막층을 추가로 포함하는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 중간 금속박막층의 금속은 크롬(Cr), 티타늄(Ti), 니켈(Ni) 및 이들의 혼합물로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0029] 또한, 상기 중간 금속박막층의 두께는 LSPR 특성 및 간섭효과에 영향을 미치게 되므로, 상기 금속박막을 다공성 산화 알루미늄 박막층의 표면에 증착시킬 수 있는 두께인 중간 금속박막층의 두께는 3~7nm인 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 5nm일 수 있다.
- [0030] 한편, 본 발명에 따른 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩은 금속박막층의 두께에 따라 국소 플라즈몬 공명 및 간섭효과에 의해 발생하는 흡수 스펙트럼 피크의 파장영역이 달라지는 특성을 나타낸다. 따라서, 금속 박막층의 두께에 따라 다양한 가시광선 파장영역에서 반응할 수 있는 새로운 형태의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 제공할 수 있다.
- [0031] 본 발명은 다른 관점에서, (a) 기관에 알루미늄 박막층을 형성시키는 단계; (b) 상기 알루미늄 박막층에 양극 산화 처리에 의해 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성하는 단계; 및 (c) 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층을 형성시키는 단계를 포함하는, 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 제조방법에 관한 것이다.

- [0032] 본 발명에서 상기 (a)단계에서 알루미늄 박막층은 스퍼터법, 증착법, 이온 플레이팅법, 전기도금법 및 무전기도금법으로 구성된 군에서 선택되는 방법으로 형성되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 특히 균일한 박막 형성이 가능한 스퍼터법 및 증착법을 이용하여 형성되는 것이 바람직하다.
- [0033] 본 발명에 있어서, 상기 (b)단계의 양극산화 처리는 2회 실시되는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0034] 즉, 1회째의 양극산화 처리로 인해 형성된 다공성 산화 알루미늄 박막층을 제거한 뒤, 2회째의 양극산화 처리로 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성한다. 1회째의 양극산화 처리에 의해 형성된 다공성 산화 알루미늄 박막층의 표면은 전체적으로 기공을 이루고 있으나, 기공의 크기나 모양이 일정하지 않고, 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께도 고르지 않다. 1회째의 양극산화 처리에 의해 형성된 다공성 산화 알루미늄 박막층을 제거하면 알루미늄 기판상에 돌기 모양의 요철이 형성되며, 2회째의 양극산화 처리를 하면 상기 요철을 중심으로 기공이 형성되기 때문에 다수 개의 기공이 같은 크기로 일정하게 배열될 수 있는 다공성 산화 알루미늄 박막층을 얻을 수 있다.
- [0035] 본 발명에서 상기 (b)단계의 다공성 산화 알루미늄 박막층이란 기판상에 형성된 알루미늄 박막층에 양극 산화 처리를 하여 생성되는 산화 알루미늄 박막이며, 나노 크기의 다수개의 기공이 일정한 간격으로 배열되어 있는 다공성 박막을 의미한다.
- [0036] 양극산화(anodizing)란, 전해질 용액속에서 처리하려는 물질에 양극을 가하고 다른 금속 전극에 음극을 가하여 물질에 산화피막을 입히는 표면처리기술을 가리키며, 사용되는 전해질 용액 및 결정되는 산화피막의 종류에 따라 양극산화가 적용되는 물질의 내식성, 내구성 또는 접착성을 좋게 한다.
- [0037] 일반적으로, 양극산화는 보통 알루미늄 합금에 표면처리 기술로 많이 이용된다. 알루미늄 금속은 물리화학적 성질이 연약하여 알루미늄 금속으로 제조된 각종제품을 그대로 사용할 경우 쉽게 변질, 부식되어 제품의 외관 및 기능이 훼손되거나 상실될 우려가 있어, 이러한 알루미늄 금속의 취약성을 보완 및 개선하여 주며 알루미늄 금속 표면은 본래의 성질보다 향상된 강도, 내마모성, 내식성, 전기절연성 등을 나타내게 된다.
- [0038] 알루미늄 금속에 양극산화 처리를 하게 되면, 울퉁불퉁한 상태의 다공성 표면을 나타낸다. 이러한 양극산화 처리에 의한 다공성 표면은 표면적을 증가시켜 후속 표면처리의 접착성을 향상시킬 수 있다. 또한, 상기에 언급한 바와 같이, 양극산화에 의한 알루미늄 금속 처리시 사용하는 각종 용액의 종류에 따라서 알루미늄 금속의 특성을 향상시켜 주며, 예를 들어, 크롬산 용액을 사용하면 알루미늄 금속의 내식성을 향상시키고, 인산 용액을 사용하면 접착성을 향상시킨다.
- [0039] 본 발명에 있어서, 상기 (b)단계에서 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께는 양극산화 처리에 소요되는 시간에 비례하는 것을 특징으로 할 수 있다 (표 1). 즉, 본 발명에서 양극산화 처리에 의해 생성되는 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께는 양극산화 처리에 소요되는 시간에 의해 제어 가능하다.

**표 1**

[0040] 양극산화 처리시간에 따른 다공성 알루미늄 박막의 두께

다공성 산화 알루미늄 박막의 두께	양극산화 처리시간
10nm	8초
50nm	40초
75nm	1분
100nm	1분 20초
500nm	6분 40초
1 $\mu$ m	13분 20초
2 $\mu$ m	26분 40초
3 $\mu$ m	40분
4 $\mu$ m	53분 20초
5 $\mu$ m	1시간 6분 40초
6 $\mu$ m	1시간 20분
7 $\mu$ m	1시간 33분 20초
8 $\mu$ m	1시간 46분 40초
9 $\mu$ m	2시간
10 $\mu$ m	2시간 13분 20초

- [0041] 또한, 양극산화 처리시간에 따라 제어되는 다공성 산화 알루미늄 박막의 두께에 의해서 국소 표면 플라즈몬 공명 및 간섭효과에 의해 발생하는 흡수 스펙트럼 피크의 파장영역이 달라진다. 따라서, 다양한 가시광선 파장영역에서 반응할 수 있는 새로운 형태의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 제작이 가능하다.
- [0042] 본 발명에서 상기 (c)단계에서 금속박막층은 스파터법, 증착법, 이온 플레이팅법, 전기도금법 및 무전기도금법으로 구성된 군에서 선택되는 방법으로 형성되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 특히 균일한 박막 형성이 가능한 스파터법 및 증착법을 이용하여 형성되는 것이 바람직하다.
- [0043] 본 발명에 있어서, 상기 (c)단계의 금속박막층을 형성하기 이전에 중간 금속박막층을 형성하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 중간 금속박막층은 금속박막의 형성 방법과 같이 스파터법, 증착법, 이온 플레이팅법, 전기도금법 및 무전기도금법으로 구성된 군에서 선택되는 방법으로 형성되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 특히 균일한 박막 형성이 가능한 스파터법 및 증착법을 이용하여 형성되는 것이 바람직하다.
- [0044] 본 발명은 또 다른 관점에서, (a) 기관에 알루미늄 박막층을 형성시키는 단계; (b) 상기 알루미늄 박막층에 양극 산화 처리에 의해 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성하는 단계; (c) 상기 다공성 산화 알루미늄 박막층 상부에 LSPR(Local Spectrum Plasmon Resonance)을 나타내는 금속박막층을 형성시키는 단계; 및 (d) 상기 금속박막층 상부에 하나 이상의 바이오리셉터를 고정화시키는 단계를 포함하는 비표지 광학 바이오센서의 제조방법에 관한 것이다.
- [0045] 이때, 상기 (d)단계에서 하나 이상의 바이오리셉터를 고정화시키는 방법은 당업계에서 바이오센서 제조시 통상적으로 사용되는 바이오리셉터 고정화 방법을 이용할 수 있다.
- [0046] 본 발명은 또 다른 관점에서, 상기 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 금속박막층에 하나 이상의 바이오리셉터가 고정화되어 있는 것을 특징으로 하는 비표지 광학 바이오센서에 관한 것이다.
- [0047] 본 발명에 있어서, 상기 바이오리셉터는 호르몬, DNA, PNA, 효소 및 세포로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0048] 본 발명에서 바이오리셉터란 시료 중의 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질만을 인식하여 특이적으로 결합하는 바이오물질을 나타내지만, 금속막에 고정화가 가능한 바이오물질이라면 이에 제한되지 않는다. 이때, 표적 바이오물질이란 바이오리셉터와 특이적으로 결합 가능한 바이오물질을 의미하고, 후보 표적 바이오물질이란 바이오리셉터와 특이적으로 결합하는 것이 예측 가능한 바이오물질을 의미한다.
- [0049] 구체적으로, 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질에 대한 바이오리셉터가 아래에 나열한 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질과 바이오리셉터의 쌍과 같다. 즉, 항원에 대해서는 항체, 항체에 대해서는 항원, 합텐(hapten)에 대해서는 항합텐 항체, 항합텐 항체에 대해서는 합텐, DNA(RNA)에 대해서는 혼성화(hybridization)되는 것이 가능한 DNA(RNA) 또는 PNA, 비오틴(biotin)에 대해서는 아비딘(abidin) 또는 스트렙타비딘(streptavidin), 아비딘 또는 스트렙타비딘에 대해서는 비오틴 또는 비오틴화 단백질, 호르몬 수용체(예를 들어, 인슐린 수용체)에 대해서는 호르몬(예를 들어, 인슐린), 호르몬(예를 들어, 인슐린)에 대해서는 호르몬 수용체(예를 들어, 인슐린 수용체), 효소에 대해서는 효소 기질 등이 바이오리셉터로서 바람직하다.
- [0050] 한편, 바이오리셉터로서 세포 자체를 사용하는 것도 가능하며, 이 경우 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질은 세포에 있는 수용체 등을 특이적으로 인식하는 것이 가능한 바이오물질을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0051] 본 발명에 있어서, 상기 광학 바이오센서에서 바이오리셉터는 물리적 흡착 또는 화학결합에 의해 금속박막층에 고정화되어 있는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0052] 본 발명은 또 다른 관점에서, 하나 이상의 바이오리셉터가 고정화되어 있는 비표지 광학 바이오센서와 표적 바이오물질을 포함하는 시료를 접촉시킨 후, 입사광을 조사하고 상기 입사광의 반사광에 대한 흡수 스펙트럼을 분석하여, 상기 바이오리셉터와 표적 바이오물질의 상호작용을 검출 및/또는 정량하는 것을 특징으로 하는 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질 측정 방법에 관한 것이다.
- [0053] 구체적으로, 상기 비표지 광학 바이오센서는 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 표면에 바이오리셉터가 고정화된 부분으로 입사광을 수직방향으로 조사하고, 상기 입사광에 대해 바이오칩 표면에서 반사된 반사광의 흡수 스펙트럼을 광원, 검출기, 분광광도계 및 컴퓨터를 포함하는 분석장치를 이용해서 측정한다. 또한, 상

기 흡수 스펙트럼을 측정하는 방법은 당업계에서 통상적으로 사용하는 방법이라면, 이에 국한되지 않고 사용할 수 있다.

- [0054] 본 발명에 있어서, 상기 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질은 항원, 항체, 리간드(ligand), RNA, DNA, PNA 및 합텐(hapten)으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0055] 또한, 상기 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질 측정 방법에서 시료는 표적 바이오물질 또는 후보 표적 바이오물질을 포함하는 용액으로, 혈액, 타액, 오줌, 코피, 눈물, 배설물, 조직추출액 및 배양액으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다.
- [0056] 본 발명에 따른 비표지 광학 바이오센서는 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 금속박막층에 하나 이상의 바이오리셉터를 고정화하는 것이 가능하므로, 다중검체 검출용 비표지 광학 바이오센서로 응용하는 것이 가능하다.

**실시예**

- [0057] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0058] **실시예 1: 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 제작**

[0059] 1-1. 기판에 알루미늄 박막층 형성

- [0060] 슬라이드 유리기판 표면(75mm x 25mm)에 증착기(신우엠에스티, 대한민국)를 이용하여 알루미늄을 진공증착하였으며, 15 $\mu$ m의 알루미늄 박막층을 형성하였다.

[0061] 1-2. 다공성 산화 알루미늄 박막층 형성

- [0062] 1-1에서 제조된 알루미늄 박막층에 2회의 양극산화 처리를 수행하되, 10℃의 실험온도 인가전압 40V인 조건하에서, 0.3M 옥살산(oxalic acid) 용액을 이용하여 1회째 및 2회째 양극산화 처리를 수행하였다. 이 때 양극산화 처리 시간을 1분, 2분, 5분, 80분으로 변화시켜, 형성되는 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께를 75nm, 150nm, 400nm 및 6가 되도록 제어하였다.
- [0063] 첫째, 1회째 양극산화 처리로서, 0.3M 옥살산 용액 속에서 알루미늄 박막층에 양극을 인가하고 티타늄 전극에 음극을 인가하여 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성하였다. 그 후, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>와 H<sub>2</sub>O를 8:2의 비율로 혼합한 용액에 50g/L의 CrO<sub>3</sub>을 첨가한 용액을 이용하여, 상기 1회째 양극산화 처리로 형성된 다공성 산화 알루미늄 박막을 제거하였다.
- [0064] 둘째, 2회째 양극산화 처리로서, 0.3M 옥살산 용액 속에서 알루미늄 박막층에 양극을 인가하고 티타늄 전극에 음극을 인가하여 2회째의 다공성 산화 알루미늄 박막층을 형성하였다.

[0065] 1-3. 중간 금속박막층 및 금속박막층 형성

- [0066] 1-2에서 제조된 다공성 산화 알루미늄 박막층에 진공 증착장치(신우엠에스티, 대한민국)를 이용하여 중간 금속박막층 및 금속박막층을 형성시켰다. 구체적으로, 중간 금속박막층으로 크롬(Cr)은 5nm의 두께로 증착시키고, 금속박막층으로 금(Au)의 두께를 1nm, 5nm, 10nm, 15nm, 25nm 및 35nm가 되도록 제어하면서 증착시켰다.
- [0067] 그 결과, 기판, 알루미늄 박막층, 다공성 산화 알루미늄 박막층, 크롬 박막층 및 금박막층이 순서대로 형성된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 제조하였다.

[0068] **실시예 2: 다공성 산화 알루미늄 박막의 두께 및 금속막의 두께에 따른 흡수 스펙트럼 특성 분석**

- [0069] 실시예 1에서 제조된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩에서, 다공성 산화 알루미늄 박막 및 금속박막층의 두께가 변화함에 따라 상기 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 흡수 스펙트럼의 특성 변화를 측정하였다.
- [0070] 실시예 1의 방법에 따라 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 제조하되, 실시예 1의 1-2에서 2회째의 양극산화 처리를 수행할 때, 양극산화 처리 시간을 1분, 2분, 5분, 80분으로 변화시켜, 형성되는 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께를 75nm, 150nm, 400nm 및 6 $\mu$ m가 되도록 제어하고, 상기 4가지의 두께를 가지는 다공성 산화 알루미늄 박막층에 금속박막층의 두께를 1nm, 5nm, 10nm, 15nm, 15nm 및 35nm가 되도록 제어하면서 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 제작하였다.
- [0071] 그 후, 광원, 검출기, 분광광도계 및 컴퓨터로 구성되는 분석장치를 이용하여 제작된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 흡광도 및 흡수 스펙트럼을 측정하였다. 상기 분석장치는 상기 바이오칩에 광원을 입사시키는 텅스텐-할로겐 광원(파장 360~2000nm, Ocean Optics, Inc., 미국), 상기 바이오칩에서 반사된 반사광을 검출하는 검출기(파장 300~1100nm, Ocean Optics, Inc., 미국), 검출기로 검출된 반사광을 분광하는 분광광도계(파장 200~1100nm, Ocean Optics, Inc., 미국) 및 상기 분광광도계에서 얻어진 결과를 처리하는 컴퓨터를 구성된다. 이때, 상기 텅스텐-할로겐 광원과 검출기는 하나의 광원 프로브에 구비되어 있다.
- [0072] 상기 분석장치의 텅스텐-할로겐 광원으로부터 방출되는 입사광을 수직방향으로 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 표면에 입사시킨 후, 반사되는 반사광을 검출기를 통해서 검출하고, 분광광도계를 거쳐 분광된 반사광을 컴퓨터를 통하여 분석하여, 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 흡수 스펙트럼을 측정하였다.
- [0073] 우선, 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께와 흡수 스펙트럼의 상관관계를 분석한 결과, 도 3, 도 4, 도 5 및 도 6에 나타난 바와 같이, 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께가 증가할수록 흡수 스펙트럼 피크의 흡광도 강도는 선형적으로 감소하는 반면, 흡수 스펙트럼 피크 수는 선형적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다.
- [0074] 이러한 결과는 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께가 증가할수록 입사광이 도달할 수 있는 거리가 멀어지므로 흡수 스펙트럼 피크의 흡광도 강도가 선형적으로 감소하고, 다공성 산화 알루미늄 박막층의 표면에서 반사되는 광원의 파동과 기공 내부에서 반사되는 광원의 파동의 위상이 점점 커지게 됨으로써 흡수 스펙트럼 피크의 수가 선형적으로 증가하기 것에 기인하는 것이다.
- [0075] 또한, 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께가 동일할 경우, 금속박막층의 두께와 흡광도의 상관관계를 분석한 결과, 도 3(다공성 산화 알루미늄 박막층 두께: 75nm), 도 4(다공성 산화 알루미늄 박막층 두께: 150nm), 도 5(다공성 산화 알루미늄 박막층 두께: 400nm) 및 도 6(다공성 산화 알루미늄 박막층 두께: 6 $\mu$ m)에 나타난 바와 같이, 금속박막층의 두께가 증가할수록 흡수 스펙트럼 피크의 흡광도 강도는 감소하고, 흡수 스펙트럼 피크가 나타나는 파장 영역이 단파장 쪽으로 변화하는 것을 확인할 수 있었다.
- [0076] 이러한 결과는 금속박막층의 두께가 증가할수록 다공성 산화 알루미늄 박막층에 존재하는 기공의 직경이 감소하므로 흡수 스펙트럼 피크의 흡광도 강도도 감소하고, 기공의 직경이 감소함에 따라 기공과 기공 사이의 금속박막층 간의 거리가 가까워지므로 흡수 스펙트럼 피크가 나타나는 파장 영역이 단파장 쪽으로 변화하는 것에 기인하는 것이다.
- [0077] 결국, 다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께에 상관없이 금속박막층의 두께가 5nm일 때 가장 높은 흡광도 피크가 나타난다는 것을 알 수 있었다.
- [0078] **실시예 3: 비표지 광학 바이오센서를 이용한 바이오리셉터와 상호작용하는 표적 바이오물질의 검출 및/또는 정량방법**
- [0079] 바이오리셉터를 포함하는 비표지 광학 바이오센서를 이용하여 표적 바이오물질을 검출 및 정량하되, 바이오리셉터로서 단백질 항체(anti-Insulin antibody)를 사용하고, 표적 바이오물질로서 단백질 항원(Insulin antigen)을 사용하였다.
- [0080] 3-1. 단백질 항체의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 표면의 고정
- [0081] 실시예 1에서 제조된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 (다공성 산화 알루미늄 박막층의 두께: 6 $\mu$ m)

의 표면에 단백질 항체를 고정시키기 위하여 Protein A를 이용하였다.

[0082] 먼저, 상기 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 표면은 1mM 4,4'-dithiodibutylic acid(DDA)를 이용해서 카르복실기를 가지는 SAM(Self Assembly Monoclonal)막을 형성하였다. 다음에 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 표면에 400mM EDC와 100mM NHS를 첨가하여 당 바이오칩 표면에 도입된 카르복실기의 활성화를 수행한 후, 아민기를 가지는 Protein A를 첨가하여 1시간 이상 카르복실-아민 결합시켜 Protein A를 고정하였다. 이 때, Protein A는 100 µg/mL의 농도로 고정화하였다. Protein A는 단백질 항체의 Fc부위에 특이적으로 결합하는 것으로 알려져 있으므로, Protein A를 이용하여 단백질 항체의 배향성을 유지하고 칩 표면에 단백질 항체를 고정화하는 것이 가능하게 된다. Protein A 결합 후, 100 µg/mL 농도의 단백질 항체를 바이오칩 표면에 첨가하여 단백질 항체의 고정화를 수행하였다. 이상의 과정을 통해 단백질 항체가 고정화된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 제작할 수 있었다 (도 7).

[0083] 3-2. 비표지 광학 바이오센서를 이용한 단백질 항체의 검출

[0084] 상기 3-1에서 제조된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 표면에 고정화된 단백질 항체에 표적 바이오물질로서 1 µg/mL의 단백질 항원을 고정화한 후, 상기 비표지 광학 바이오센서를 이용하여 상기 단백질 항원을 검출하였다. 즉, 상기 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 표면에 단백질 항체를 고정시킨 후, 단백질 항원을 첨가하여 단백질 항체-항원 반응을 실시해 2의 분석장치를 이용하여 수직방향으로 입사광을 조사한 후, 반사되는 반사광에 대한 흡수 스펙트럼을 측정하였다. 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이, 상기 비표지 광학 바이오센서를 이용하여 단백질 항체-항원 반응이 검출 가능하다는 것을 확인하였다.

[0085] 3-3. 비표지 광학 바이오센서를 이용한 단백질 항원의 농도에 따른 기능성 검사

[0086] 상기 3-2와 마찬가지로 실시예 1에 의해 제작된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 결합한 비표지 광학 바이오센서를 이용하여 단백질 항원의 농도에 따른 검출 효율을 측정하였다. 단백질 항원의 농도는 1pg/mL ~ 100 µg/mL의 범위에서 측정되었다. 단백질 항체는 100 µg/mL 농도로 바이오칩 표면에 고정시켰으며, 1시간 이상 단백질 항체와 단백질 항원을 반응시켜 결합을 유도하였다. 도 9, 도 10 및 도 11에 나타난 실험 결과와 같이, 단백질 항원은 100pg/mL라는 고감도 분석이 가능하다는 것이 확인되었으며, 1pg/mL~100 µg/mL의 범위내에서 직선 관계에 있었다. 따라서 본 발명의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 결합한 비표지 광학 바이오센서는 저농도의 정량분석이 가능하다는 것을 알았다.

[0087] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

**도면의 간단한 설명**

[0088] 도 1은 본 발명의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 일례를 나타낸 개략도이다.

[0089] 도 2는 본 발명의 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩 표면의 SEM(Scanning Electron Microscope) 사진이다.

[0090] 도 3은 막 두께 75nm의 다공성 산화 알루미늄 박막과 여러 종류의 금속막 두께(1nm, 5nm, 10nm, 15nm, 25nm 및 35nm)를 가지는 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 분석장치로 측정하여 얻어진 흡수 스펙트럼 결과이다.

[0091] 도 4는 막 두께 150nm의 다공성 산화 알루미늄 박막과 여러 종류의 금속막 두께(1nm, 5nm, 10nm, 15nm, 25nm 및 35nm)를 가진 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 분석장치로 측정하여 얻어진 흡수 스펙트럼 결과이다.

[0092] 도 5는 막 두께 400nm의 다공성 산화 알루미늄 박막과 여러 종류의 금속막 두께(1nm, 5nm, 10nm, 15nm, 25nm 및

35nm)를 가진 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 분석장치로 측정하여 얻어진 흡수 스펙트럼 결과이다.

[0093] 도 6은 막 두께 6 $\mu\text{m}$ 의 다공성 산화 알루미늄 박막과 여러 종류의 금속막 두께(1nm, 5nm, 10nm, 15nm, 25nm 및 35nm)를 가진 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩을 분석장치로 측정하여 얻어진 흡수 스펙트럼 결과이다.

[0094] 도 7은 단백질 항체를 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 표면에 고정화하는 방법 및 단백질 항원과 상호작용 과정의 개략도이다.

[0095] 도 8은 단백질 항체를 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 표면에 고정화한 후, 단백질 항원을 첨가하여 단백질 항체-항원 반응을 분석장치로 측정하여 얻어진 흡수 스펙트럼 결과이다.

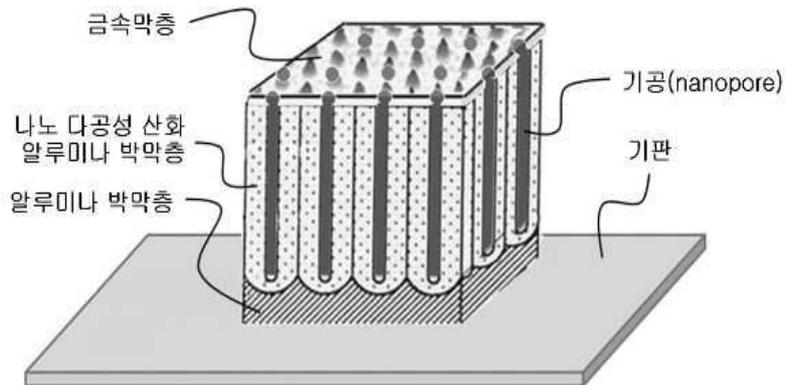
[0096] 도 9는 단백질 항체가 고정된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 단백질 항원의 농도에 따른 검출 효율을 측정한 흡수 스펙트럼 결과이다.

[0097] 도 10은 단백질 항체가 고정된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 단백질 항원의 농도에 따른 흡광도 변화량을 측정한 결과이다.

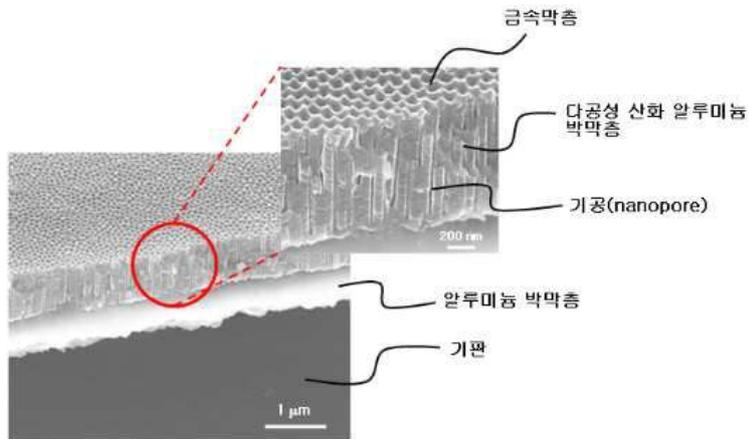
[0098] 도 11은 단백질 항체가 고정된 금속 증착형 다공성 산화 알루미늄 바이오칩의 단백질 항원의 농도에 따른 파장 시프트량을 측정한 결과이다.

**도면**

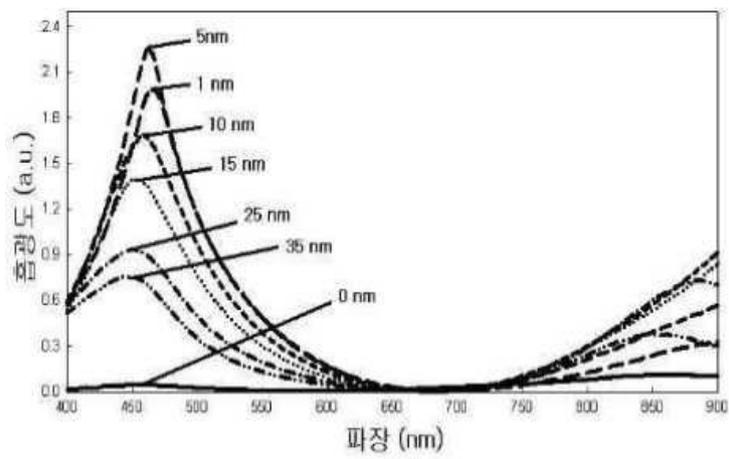
**도면1**



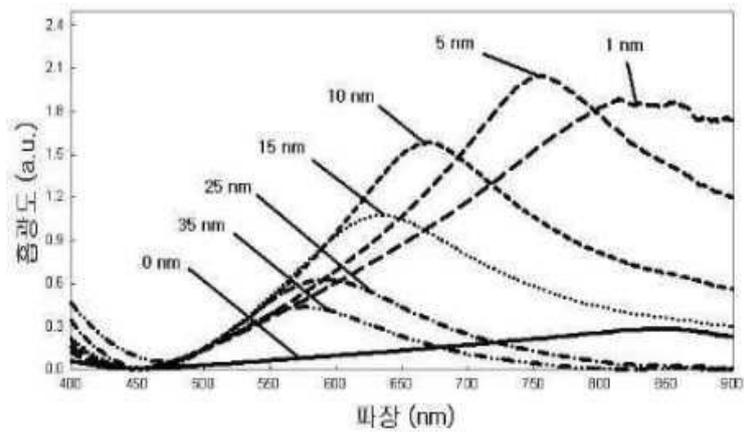
도면2



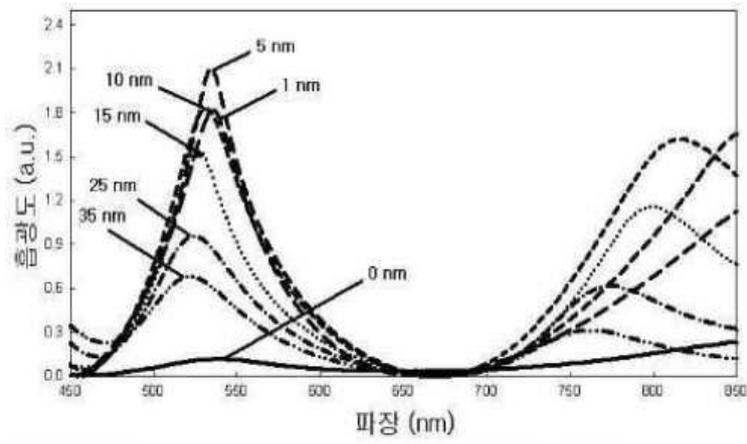
도면3



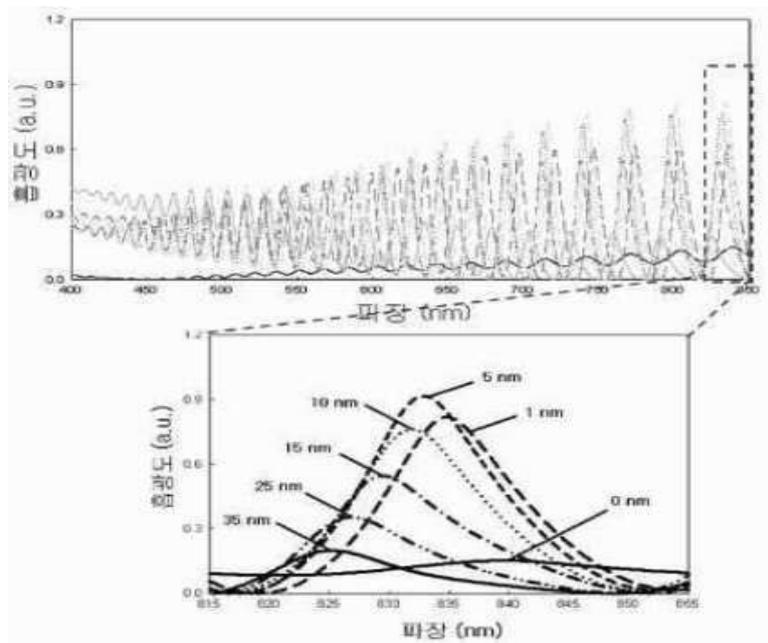
도면4



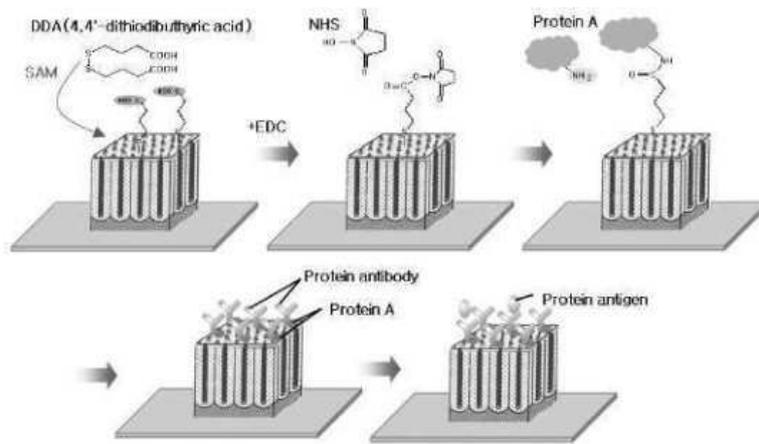
도면5



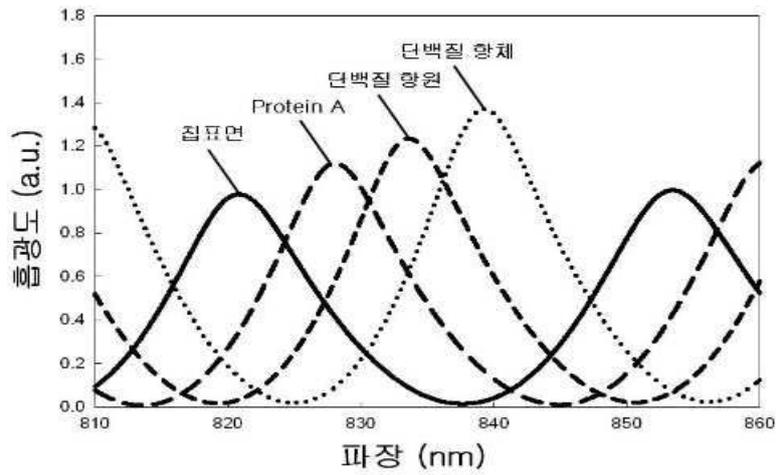
도면6



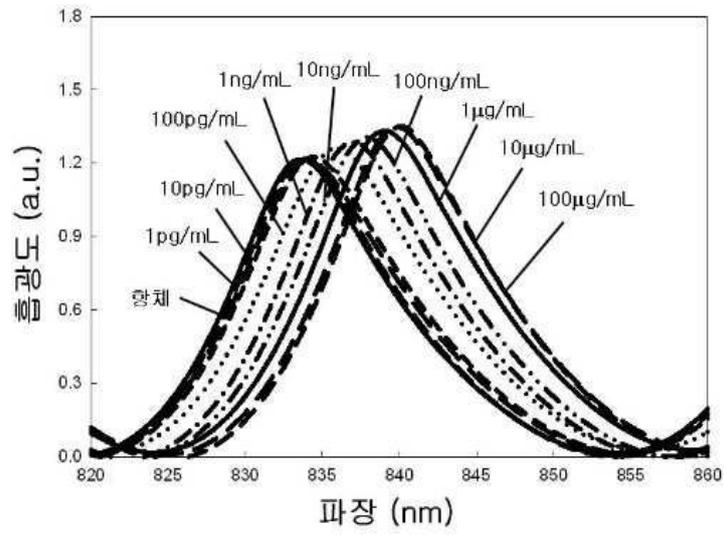
도면7



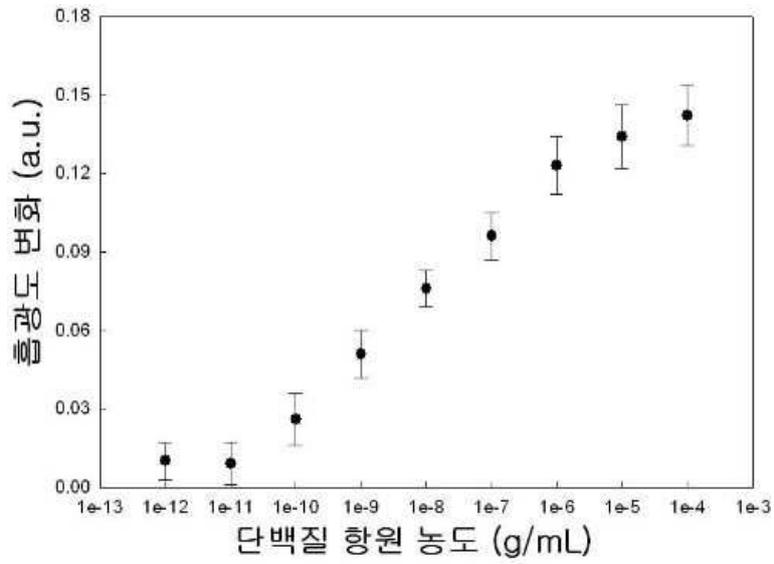
도면8



도면9



도면10



도면11

