(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2019 년 1 월 31 일 (31.01.2019)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2019/022520 A1

(51) 국제특허분류:
*C12Q 1/6883* (2018.01) *C12Q 1/6816* (2018.01)
*C12Q 1/6818* (2018.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2018/008444

(22) 국제출원일: 2018 년 7 월 25 일 (25.07.2018)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:

| | | |
|---|---|---|
| 62/536,898 | 2017 년 7 월 25 일 (25.07.2017) | US |
| 62/580,335 | 2017 년 11 월 1 일 (01.11.2017) | US |
| 10-2018-0007355 | 2018 년 1 월 19 일 (19.01.2018) | KR |
| 10-2018-0014739 | 2018 년 2 월 6 일 (06.02.2018) | KR |


(71) 출원인: (주)엔바이오텍 **(NBIOTECH CO., LTD.)** [KR/KR]; 10323 경기도 고양시 일산동구 위시티3로 52, 303호, Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: 김용태 **(KIM, Yong Tae)**; 30063 세종시 마음로 151, 904동 801호, Sejong-si (KR).

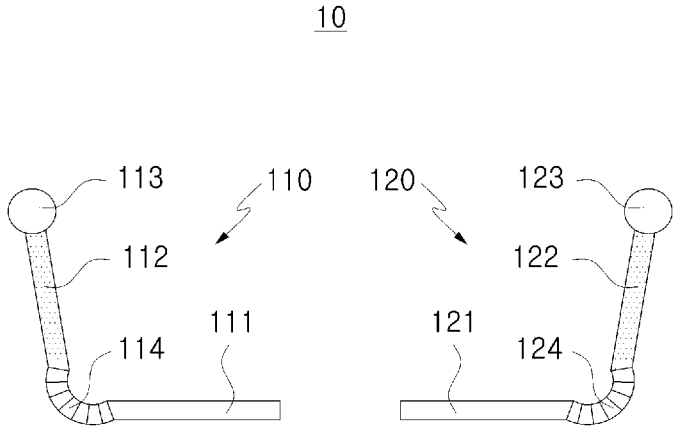
(74) 대리인: 특허법인 아이피에스 **(IPS PATENT FIRM)**; 06656 서울시 서초구 반포대로23길 14, 5층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

**(54) Title:** NUCLEIC ACID COMPLEX PAIR, COMPETITIVE STRUCTURE, AND PCR KIT USING BOTH

**(54) 발명의 명칭:** 핵산 복합체 페어, 경쟁 구조체, 이를 이용한 PCR 키트




**(57) Abstract:** According to one embodiment of the present application, provided is a nucleic acid complex pair comprising: a first nucleic acid complex comprising a first determination part and a second tag part; and a second nucleic acid complex comprising a second determination part and a second tag part, wherein the first determination part comprises a forward primer for a first target DNA, the second determination part comprises a reverse primer for the first target DNA, a first tag part comprises a base sequence complementary to the base sequence of the second tag part, and the second tag part comprises a base sequence complementary to the base sequence of the first tag part.

**(57) 요약서:** 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 결정부 및 제2 태그부를 포함하는 제1 핵산 복합체; 및 제2 결정부 및 제2 태그부를 포함하는 제2 핵산 복합체;를 포함하는 핵산 복합체 페어에 있어서, 상기 제1 결정부는, 제1 타겟 DNA에 대한 포워드 프라이머를 포함하고, 상기 제2 결정부는, 상기 제1 타겟 DNA에 대한 리버스 프라이머를 포함하며, 상기 제1 태그부는 상기 제2 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 포함하고, 상기 제2 태그부는 상기 제1 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 포함하는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

WO 2019/022520 A1

[다음 쪽 계속]

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

# 명세서

# 발명의 명칭: 핵산 복합체 페어, 경쟁 구조체, 이를 이용한 PCR 키트

## 기술분야

[1] 실시 예는 핵산 복합체 페어에 관한 것이다.

[2] 실시 예는 핵산 복합체 페어를 이용한 타겟 검출 방법에 관한 것이다.

[3] 실시 예는 핵산 복합체 페어와 함께 이용되는 경쟁 구조체에 관한 것이다.

[4] 실시 예는 핵산 복합체 페어 및 경쟁 구조체를 포함하는 PCR용 키트에 관한 것이다.

[5]

## 배경기술

[6] 분자 진단은 유전자를 분석하여 질병을 진단하는 분야로, 현재 체외진단 분야 중 가장 높은 성장세를 보이고 있는 실정이다. 실제로, 급속한 환경 오염과 기후변화에 인한 것으로 추정되는 신종 바이러스가 크게 확산되면서, 체외진단 분야 중 가장 높은 진단의 정확도가 확보되고, 신종 바이러스가 출현하는 경우 신속하게 감염 여부를 확인할 수 있다는 이점이 있는 분자 진단에 대한 많은 연구가 계속되고 있다.

[7] 분자 진단 분야에서는 DNA 시퀀싱 및 핵산서열증폭반응(polymerase chain reaction, 이하, PCR)이 주로 이용되고 있다. 아직까지 DNA시퀀싱을 수행하기 위한 장비의 비용이 상당하고, PCR검사에 비해 신속하게 타겟을 검출할 수 있는 것도 아니어서, 대다수의 중소병원, 대형병원 및 건강검진센터에서는 현재 환자의 혈액등과 같은 샘플에 대한 PCR 검사법을 진행하여, 환자의 질병을 진단하고 있는 실정이다.

[8] 종래의 PCR 진단 방법에 따르면, 하나의 PCR 튜브에서 1종의 타겟을 검출하거나, 프로브를 이용하여 복수개의 형광 채널이 각각 다른 타겟의 유무에 따라 발광되도록 설계하고, 이러한 프로브를 이용하여 하나의 PCR튜브에서 형광 채널의 개수에 대응되는 종류만큼의 타겟 검출을 동시에 진행할 수 있었다.

[9] 다만, 하나의 PCR 튜브에서 1종의 타겟을 검출하는 PCR 방법은, 시약의 낭비가 심하고, 소요되는 시간 및 수반되는 인건비가 상당한 문제가 있었다. 또한, 복수개의 형광 채널이 각각 다른 타겟의 유무에 따라 발광되도록 설계된 프로브를 이용하는 PCR 방법은, 프로브의 설계가 까다롭고, 반응성이 떨어지는 문제가 있었다.

[10] 이에 따라, 하나의 PCR 튜브에서 복수 종류의 타겟을 한번에 검출할 수 있는 수단이 요구된다.

[11]

## 발명의 상세한 설명

## 기술적 과제

[12] 실시예는 샘플 내의 타겟 검출에 이용될 수 있는 설계가 간단한 핵산 복합체 페어를 제공한다.

[13] 실시예는 하나의 형광 채널당 복수 종류의 타겟 검출이 가능한 핵산 복합체 페어를 포함하는 PCR 키트를 제공한다.

[14]

[15] 본 출원이 해결하고자 하는 과제가 상술한 과제로 제한되는 것은 아니며, 언급되지 아니한 과제들은 본 명세서 및 첨부된 도면으로부터 본 출원이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

[16]

## 과제 해결 수단

[17] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 타겟 DNA에 대한 프라이머인 제1 결정부, 및 제1 태그부를 포함하는 제1 핵산 복합체; 및 제2 타겟 DNA에 대한 프라이머인 제2 결정부, 및 상기 제1 태그부와 상보적인 서열을 가지는 제2 태그부를 포함하는 제2 핵산 복합체;를 포함하는 핵산 복합체 페어를 이용하는 핵산서열증폭반응(PCR)에서 이용되는 경쟁 구조체에 있어서, 상기 제1 결정부의 염기 서열의 적어도 일부의 염기 서열에 상보적인 서열을 가지는 제1 추가서열부; 및 상기 제1 태그부의 염기 서열의 적어도 일부의 염기 서열에 상보적인 서열을 가지는 제2 추가서열부;를 포함하는, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[18]

## 발명의 효과

[19] 실시예에 따른 핵산 복합체 페어는 상보적 결합을 이루고 있는 태그(tag)의 해리 온도를 이용하여 샘플 내의 타겟 검출을 수행할 수 있다.

[20] 실시예에 따른PCR키트는 태그(tag)의 해리 온도를 상이하게 설계한 복수 종류의 핵산 복합체 페어를 포함하여, 하나의 형광 채널당 복수 종류의 타겟 검출을 수행하는데 이용될 수 있다.

[21]

[22] 본 출원의 효과가 상술한 효과들로 제한되는 것은 아니며, 언급되지 아니한 효과들은 본 명세서 및 첨부된 도면으로부터 본 출원이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확히 이해될 수 있을 것이다.

[23]

## 도면의 간단한 설명

[24] 도 1은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[25] 도 2는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성요소간 위치관계를 설명하기 위한 도면이다.

[26] 도 3은 본 출원의 제1 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[27] 도 4는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성요소간 위치관계를 설명하기 위한 도면이다.

[28] 도 5는 본 출원의 제2 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[29] 도 6은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성요소간 위치관계를 설명하기 위한 도면이다.

[30] 도 7은 본 출원의 제3 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[31] 도 8은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성요소간 위치관계를 설명하기 위한 도면이다.

[32] 도 9는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 설명하기 위한 도면이다.

[33] 도 10 및 11은 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)의 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[34] 도 12는 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)가 결합되는 방향을 설명하기 위한 도면이다.

[35] 도 13은 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합을 설명하기 위한 도면이다.

[36] 도 14는 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[37] 도 15는 본 출원의 일 실시예에 따른, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용에 따른 파장대역(WL)별 형광값(F) 그래프이다.

[38] 도 16은 본 출원의 일 실시예에 따른, PCR 클램핑을 수행할 수 있는 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[39] 도 17은 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 단계를 설명하기 위한 도면이다.

[40] 도 18 및 19는 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 클램핑을 수행할 수 있는 핵산 복합체(1)의 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[41] 도 20은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 설명하기 위한 도면이다.

[42] 도 21은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 페어링 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[43] 도 22는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 설명하기 위한 도면이다.

[44] 도 23 및 24는 본 출원의 일 실시예에 따른, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 결합된 구조체의 2차 구조 형성을 설명하기 위한 도면이다.

[45] 도 25 및 26은 본 출원의 일 실시예에 따른, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)가 포함된 구조체가 형성되는 과정을 설명하기 위한 도면이다.

[46] 도 27 및 28은 본 출원의 일 실시예에 따른, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)을 포함하는 구조체의 2차 구조 형성을 설명하기 위한 도면이다.

[47] 도 29 및 30은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는

핵산 구조체의 2차 구조 형성을 설명하기 위한 도면이다.

[48] 도 31은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 구조체의 2차 구조 형성에 대해서 설명하기 위한 도면이다.

[49] 도 32는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 설명하기 위한 도면이다.

[50] 도 33은 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 이후 검출 단계를 설명하기 위한 도면이다.

[51] 도 34 및 35는 본 출원의 일 실시예에 따른 해리 곡선 검출 단계(S6000)를 설명하기 위한 도면이다.

[52] 도 36은 본 출원의 일 실시예에 따라 단위셀(UC) 내에 존재하는 타겟 핵산의 농도의 확인을 설명하기 위한 도면이다.

[53] 도 37은 본 출원의 일 실시예에 따른 경쟁 구조체(2)를 설명하기 위한 도면이다.

[54] 도 38 내지 도 40은 본 출원의 일 실시예에 따른 경쟁 구조체(2)의 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[55] 도 41은 본 출원의 일 실시예에 따라 핵산 복합체 페어(10) 및 경쟁 구조체(2)를 이용한 PCR 결과를 설명하기 위한 도면이다.

[56] 도 42는 본 출원의 일 실시예에 따른 하나의 형광 채널에 대한 온도에 대한 형광값 그래프 및 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 도시한 것이다.

[57] 도 43은 본 출원의 일 실시예에 따라 단위셀(UC)에 존재하는 적어도 4종의 타겟 핵산을 확인하는 실험에 따른 결과를 설명하기 위한 도면이다.

[58] 도 44 및 45는 본 출원의 제7 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 활용을 설명하기 위한 도면이다.

[59] 도 46은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)가 이용되는 타겟 핵산 검출을 설명하기 위한 도면이다.

[60] 도 47은 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(610)를 설명하기 위한 도면이다.

[61] 도 48 및 49는 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(610) 및 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 제공된 용액의 PCR을 설명하기 위한 도면이다.

[62] 도 50은 본 출원의 일 실시예에 따른 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 설명하기 위한 도면이다.

[63] 도 51은 본 출원의 일 실시예에 따라 단위셀(UC)에 존재하는 적어도 4종의 타겟 핵산을 확인하는 실험에 따른 결과를 설명하기 위한 도면이다.

[64] 도 52는 본 출원의 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620)를 설명하기 위한 도면이다.

[65] 도 53 및 54는 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(620) 및 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 제공된 용액의 PCR을 설명하기 위한

도면이다.

[66] 도 55은 본 출원의 일 실시예에 따른 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 설명하기 위한 도면이다.

[67] 도 56은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 디지털 PCR에 이용하는 경우의 시료의 준비 단계를 설명하기 위한 도면이다.

[68] 도 57은 본 출원의 일 실시예에 따른 디지털 PCR에서의 단위셀(UC)을 설명하기 위한 도면이다.

[69] 도 58은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 디지털 PCR에서의 동작에 대해서 설명하기 위한 도면이다.

[70] 도 59는 본 출원의 일 실시예에 따른 디지털 PCR에서의 해리 곡선 검출단계(S6000)을 수행하는 방법을 설명하기 위한 도면이다.

[71] 도 60은 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 기기(2000)의 블록도이다.

[72] 도 61은 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 기기(2000)의 동작(S7000)에 대해서 설명하기 위한 순서도이다.

[73]

## 발명의 실시를 위한 형태

[74] 본 출원의 상술한 목적, 특징들 및 장점은 첨부된 도면과 관련된 다음의 상세한 설명을 통해 보다 분명해질 것이다. 다만, 본 출원은 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 실시예들을 가질 수 있는 바, 이하에서는 특정 실시예들을 도면에 예시하고 이를 상세히 설명하고자 한다.

[75] 도면들에 있어서, 층 및 영역들의 두께는 명확성을 기하기 위하여 과장되어진 것이며, 또한, 구성요소(element) 또는 층이 다른 구성요소 또는 층의 "위(on)" 또는 "상(on)"으로 지칭되는 것은 다른 구성요소 또는 층의 바로 위 뿐만 아니라 중간에 다른 층 또는 다른 구성요소를 개재한 경우를 모두 포함한다. 명세서 전체에 걸쳐서 동일한 참조번호들은 원칙적으로 동일한 구성요소들을 나타낸다. 또한, 각 실시예의 도면에 나타나는 동일한 사상의 범위 내의 기능이 동일한 구성요소는 동일한 참조부호를 사용하여 설명한다.

[76] 본 출원과 관련된 공지 기능 혹은 구성에 대한 구체적인 설명이 본 출원의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다. 또한, 본 명세서의 설명 과정에서 이용되는 숫자(예를 들어, 제1, 제2 등)는 하나의 구성요소를 다른 구성요소와 구분하기 위한 식별기호에 불과하다.

[77] 또한, 이하의 설명에서 사용되는 구성요소에 대한 접미사 "모듈" 및 "부"는 명세서 작성의 용이함만이 고려되어 부여되거나 혼용되는 것으로서, 그 자체로 서로 구별되는 의미 또는 역할을 갖는 것은 아니다.

[78]

[79] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 결정부 및 제2 태그부를 포함하는 제1 핵산 복합체; 및 제2 결정부 및 제2 태그부를 포함하는 제2 핵산 복합체;를 포함하는

핵산 복합체 페어에 있어서, 상기 제1 결정부는, 제1 타겟 DNA에 대한 포워드 프라이머를 포함하고, 상기 제2 결정부는, 상기 제1 타겟 DNA에 대한 리버스 프라이머를 포함하며, 상기 제1 태그부는 상기 제2 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 포함하고, 상기 제2 태그부는 상기 제1 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 포함하는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[80] 상기 제1 결정부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어지고, 상기 제2 결정부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어진, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[81] 상기 제1 태그부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어지고, 상기 제2 태그부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어진, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[82] 상기 제1 핵산 복합체는 제1 라벨부를 포함하고, 상기 제2 핵산 복합체는 제2 라벨부를 포함하며, 상기 제1 라벨부는 상기 제2 라벨부에 에너지를 제공할 수 있는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[83] 상기 제1 라벨부는, FAM, JOE, TET, HEX, VIC, Oregon Green®, TAMRA, ROX, Cyanine-3, Cyanine-3.5, Cyanine-5, Cyanine-5.5, 에쿼린(Aequorin) 및 청색 형광 단백질(Cyan Fluorescent Protein, CFP) 중 적어도 하나를 포함하는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[84] 상기 제2 라벨부는, 상기 제1 라벨부로부터 방출되는 제1광을 수용하여, 제2광으로 변환하는 물질 또는 상기 제1 라벨부로부터 방출되는 상기 제1광을 흡수하는 물질인, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[85] 상기 제1 태그부와 상기 제2 태그부가 상보적으로 결합할 때, 상기 제1 라벨부는 상기 제2 라벨부에 에너지를 제공할 수 있는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[86] 상기 제1 태그부는 상기 제1 결정부 및 상기 제1 라벨부 사이에 위치되고, 상기 제2 태그부는 상기 제2 결정부 및 상기 제2 라벨부 사이에 위치되는, 핵산 복합체

페어가 제공될 수 있다.

[87] 상기 제1 라벨부는 상기 제1 결정부 및 상기 제1 태그부 사이에 위치되고, 상시 제2 태그부는 상기 제2 결정부 및 상기 제2 라벨부 사이에 위치되는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[88] 상기 제1 결정부 및 상기 제1 태그부 사이에 제1 연결부가 위치되고, 상기 제2 결정부 및 상기 제2 태그부 사이에 제2 연결부가 위치되는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[89] 상기 제1 연결부는, 상기 제1 태그부에 대한 증폭산물의 생성을 방지하기위한 PCR 블로커를 포함하고, 상기 제2 연결부는, 상기 제2 태그부에 대한 증폭산물의 생성을 방지하기위한 PCR 블로커를 포함하는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[90] 상기 핵산 복합체 페어는 핵산서열증폭반응(PCR)을 수행하는데 이용되고, 상기 핵산서열증폭반응은, 상기 제1 타겟 DNA의 적어도 일부 서열을 증폭시키기 위해 수행되는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[91] 상기 핵산 복합체 페어는 디지털 PCR을 수행하는데 이용되는, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[92] 상기 제1 태그부의 염기 서열의 길이는, 상기 제2 태그부의 염기 서열의길이에 비해 짧은, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[93] 상기 제1 태그부의 염기 서열 중 일부 염기 서열은, 상기 제1 결정부의 염기 서열 중 일부 염기 서열 또는 상기 제2 결정부의 염기 서열 중 일부 염기 서열과 동일한, 핵산 복합체 페어가 제공될 수 있다.

[94] 제1 항에 따른 핵산 복합체 페어를 포함하는 PCR용 키트가 제공될 수 있다.

[95] DNA 중합 효소, PCR에 관여하는 조효소, pH 및/또는 염농도를 조절하기위한 완충용액(buffer) 중 적어도 하나가 더 포함되는, PCR용 키트가 제공될 수 있다.

[96]

[97] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 타겟 DNA에 대한 프라이머인 제1 결정부, 및 제1 태그부를 포함하는 제1 핵산 복합체; 및 제2 타겟 DNA에 대한 프라이머인 제2 결정부, 및 상기 제1 태그부와 상보적인 서열을 가지는 제2 태그부를 포함하는 제2 핵산 복합체;를 포함하는 핵산 복합체 페어를 이용하는 핵산서열증폭반응(PCR)에서 이용되는 경쟁 구조체에 있어서, 상기 제1 결정부의 염기 서열의 적어도 일부의 염기 서열에 상보적인 서열을 가지는 제1 추가서열부; 및 상기 제1 태그부의 염기 서열의 적어도 일부의 염기 서열에 상보적인 서열을 가지는 제2 추가서열부;를 포함하는, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[98] 상기 제1 결정부는 상기 제1 타겟 DNA에 대한 포워드 프라이머이고, 상기 제2 결정부는 상기 제1 타겟 DNA에 대한 리버스 프라이머인, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[99] 상기 제1 결정부는 상기 제1 타겟 DNA에 대한 리버스 프라이머이고, 상기 제2

결정부는 상기 제1 타겟 DNA에 대한 포워드 프라이머인, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[100] 상기 제1 추가서열부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어진, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[101] 상기 제2 추가서열부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어진, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[102] 상기 제2 핵산 복합체는 제1 광을 방출하는 형광 분자를 포함하고, 상기 제1 핵산 복합체는 상기 제1 광을 수용하여 제2 광을 방출하거나, 상기 제1 광을 흡수하는 퀀처 분자를 포함하는, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[103] 상기 제1 핵산 복합체는 제1 광을 방출하는 형광 분자를 포함하고, 상기 제2 핵산 복합체는 상기 제1 핵산 복합체는 상기 제1 광을 수용하여 제2 광을 방출하거나, 상기 제1 광을 흡수하는 퀀처 분자를 포함하는, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[104] 상기 제1 핵산 복합체와 상기 경쟁 구조체 사이의 상보적 결합이 유도된 이후, 상기 제1 핵산 복합체 및 상기 경쟁 구조체를 포함하는 튜브로부터 방출되는 제1 광은, 상기 제1 핵산 복합체와 상기 제2 핵산 복합체 사이의 상보적 결합이 유도된 이후, 상기 제1 핵산 복합체 및 상기 제2 핵산 복합체를 포함하는 튜브로부터 방출되는 제1 광에 비해 큰 것을 특징으로 하는, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[105] 상기 제2 추가 서열부는, 상기 제1 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기서열을 가지되, 상기 제1 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열의 염기의 수는, 상기 제1 태그부 및 상기 제2 태그부 사이에서 상보적으로 결합하는 염기쌍의 수의 50%이상인, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[106] 상기 제1 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열의 염기의 수는, 상기 제1 태그부 및 상기 제2 태그부 사이에서 상보적으로 결합하는 염기쌍의 수의 75%이상인, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[107] 상기 제1 추가 서열부는 상기 제1 결정부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 가지되, 상기 제1 결정부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열은 어닐링 온도(annealing temperature)가 10~35℃사이인, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[108] 상기 제1 결정부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열은 상기 어닐링 온도가 20~30℃ 사이인, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다..

[109] 제1 타겟 DNA에 대한 프라이머인 제1 결정부, 및 제1 태그부를 포함하는 제1

핵산 복합체; 제2 타겟 DNA에 대한 프라이머인 제2 결정부, 및 상기 제1 태그부와 상보적인 서열을 가지는 제2 태그부를 포함하는 제2 핵산 복합체; 및 상기 제1 결정부의 염기 서열의 적어도 일부의 염기 서열에 상보적인 서열을 가지는 제1 추가서열부, 및 상기 제1 태그부의 염기 서열의 적어도 일부의 염기 서열에 상보적인 서열을 가지는 제2 추가서열부;를 포함하는, PCR용 키트가 제공될 수 있다.

[110] 상기 제1 결정부는 상기 제1 타겟 DNA에 대한 포워드 프라이머이고, 상기 제2 결정부는 상기 제1 타겟 DNA에 대한 리버스 프라이머인, PCR용 키트가 제공될 수 있다.

[111] 상기 제2 결정부는 상기 제1 타겟 DNA에 대한 포워드 프라이머이고, 상기 제1 결정부는 상기 제1 타겟 DNA에 대한 리버스 프라이머인, PCR용 키트가 제공될 수 있다.

[112] 상기 제1 추가서열부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어진, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[113] 상기 제2 추가서열부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어진, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[114] 상기 제2 핵산 복합체는 제1 광을 방출하는 형광 분자를 포함하고, 상기 제1 핵산 복합체는 상기 제1 광을 수용하여 제2 광을 방출하거나, 상기 제1 광을 흡수하는 퀀처 분자를 포함하는, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[115] 상기 제1 핵산 복합체는 제1 광을 방출하는 형광 분자를 포함하고, 상기 제2 핵산 복합체는 상기 제1 핵산 복합체는 상기 제1 광을 수용하여 제2 광을 방출하거나, 상기 제1 광을 흡수하는 퀀처 분자를 포함하는, 경쟁 구조체가 제공될 수 있다.

[116] 상기 PCR 키트에 포함된 적어도 하나의 경쟁 구조체의 전체 질량은, 상기 PCR 키트에 포함된 적어도 하나의 제1 핵산 복합체의 전체 질량 및 상기 PCR 키트에 포함된 적어도 하나의 제2 핵산 복합체의 전체 질량 중 적어도 하나에 비해 큰, PCR 키트가 제공될 수 있다.

[117] 상기 PCR 키트에 포함된 적어도 하나의 경쟁 구조체의 전체 질량은, 상기 PCR 키트에 포함된 적어도 하나의 제1 핵산 복합체의 전체 질량 및 상기 PCR 키트에 포함된 적어도 하나의 제2 핵산 복합체의 전체 질량 중 적어도 하나와 비교하여 2배 이상의 전체 질량을 가지는, PCR 키트가 제공될 수 있다.

[118]

[119] <핵산 복합체(1)>

[120] 1. 핵산 복합체(1)

[121] 도 1은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[122] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 결정부(100) 및 태그부(200)를 포함할 수 있다.

[123]

[124] 1.1 핵산 복합체(1)의 구성

[125] 1.1.1 결정부(100)

[126] 1.1.1.1 결정부(100)의 구성 물질

[127] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

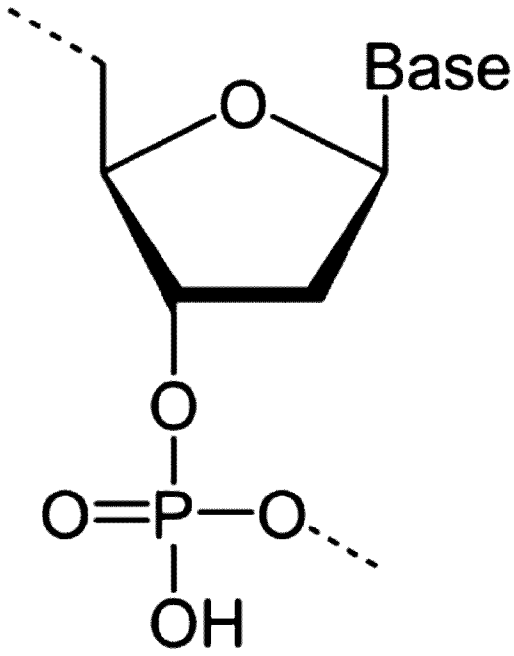
[128]

[129] 1.1.1.1.1 핵산의 단위 분자

[130] 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[131] 일 예로, 상기 결정부(100)는 핵산의 일 예인 DNA(Deoxyribonucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 DNA의 단위 분자는 아래의 화학식 1로 표기되는 물질일 수 있다.

[132]



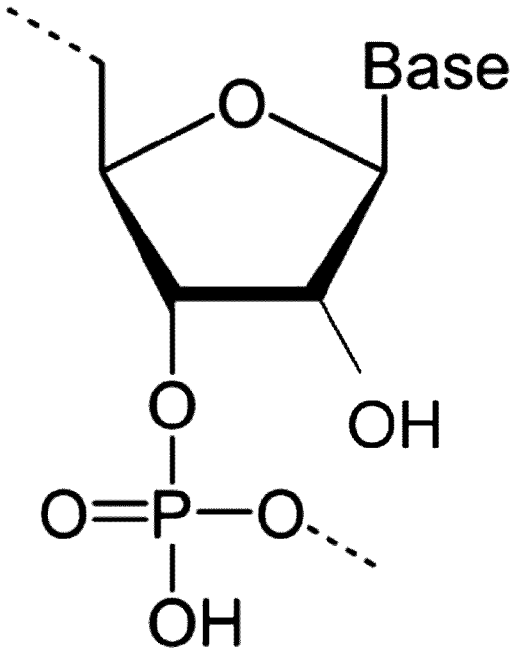

[133] [화학식 1]

[134] 상기 화학식 1 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T) 또는 시토신(C)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 1의 염기(Base)는, 히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[135]

[136] 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산의 일 예인 RNA(Ribonucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 RNA의 단위 분자는 아래의 화학식 2로 표기되는 물질일 수 있다.

[137]




[138] [화학식 2]

[139] 상기 화학식 2 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C) 또는 우라실(U)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 2의 염기(Base)는,

히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[140]

[141] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[142] 일 예로, 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 RNA의 단위 분자로 구성될 수 있다.

[143] 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 RNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[144]

[145] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 제1 핵산의 단위 분자 및 제2 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)는 적어도 제1 핵산 및 제2 핵산을 포함할 수 있다.

[146] 상기 결정부(100)에 포함되는 제1 핵산 및 제2 핵산은 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 결정부(100)는 제1 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[147] 상기 결정부(100)에 포함되는 제1 핵산 및 제2 핵산은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 결정부(100)는 제1 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[148]

[149] 일 예로, 상기 결정부(100)는 제1 핵산의 단위 분자 및 제2 핵산의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자 및 RNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자 및 DNA의 단위 분자가 특정 화합물(예, 가교결합제(crosslinker))을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 RNA의 단위 분자 및 RNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[150] 다른 예로, 상기 결정부(100)는 제1 핵산의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 RNA의 단위 분자의 중합체 및 DNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 DNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 RNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의

단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[151] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 제1 핵산의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 DNA의 단위 분자의 중합체가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 RNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자의 중합체가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

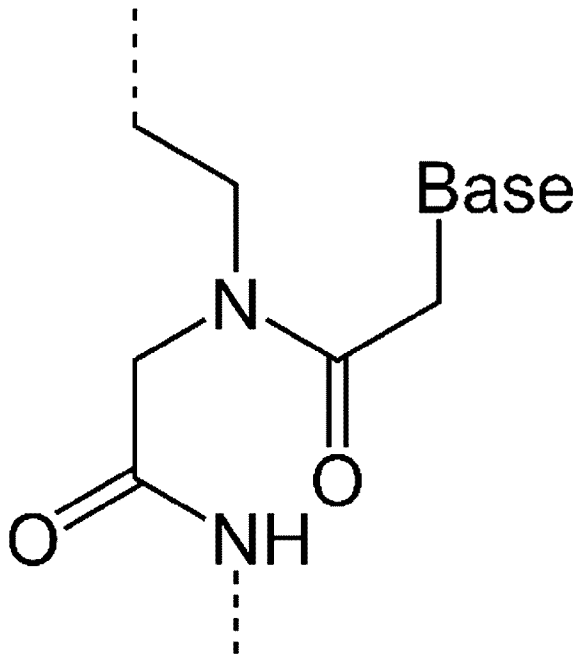
[152]

[153] 1.1.1.1.2 핵산 유사체의 단위 분자

[154] 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[155] 일 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 일 예인 PNA(Peptide nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 PNA의 단위 분자는 아래의 화학식 3으로 표기되는 물질일 수 있다.

[156]



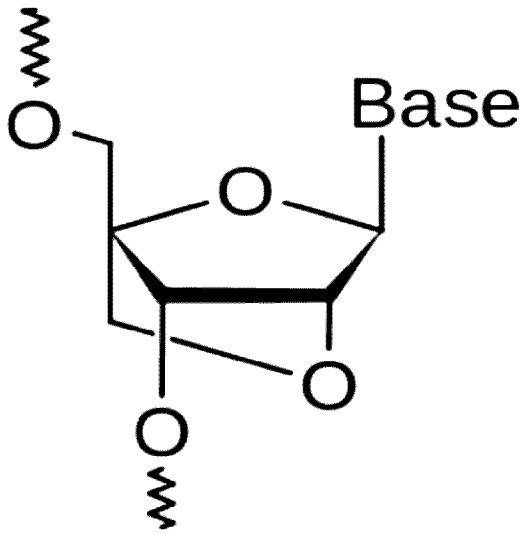

[157] [화학식3]

[158] 상기 화학식 3 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C) 또는 우라실 (Uracil)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 3의 염기(Base)는, 히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[159]

[160] 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 일 예인 LNA(Locked Nucleic Acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 LNA의 단위 분자는 아래의 화학식 4로 표기되는 물질일 수 있다.

[161]




[162] [화학식 4]

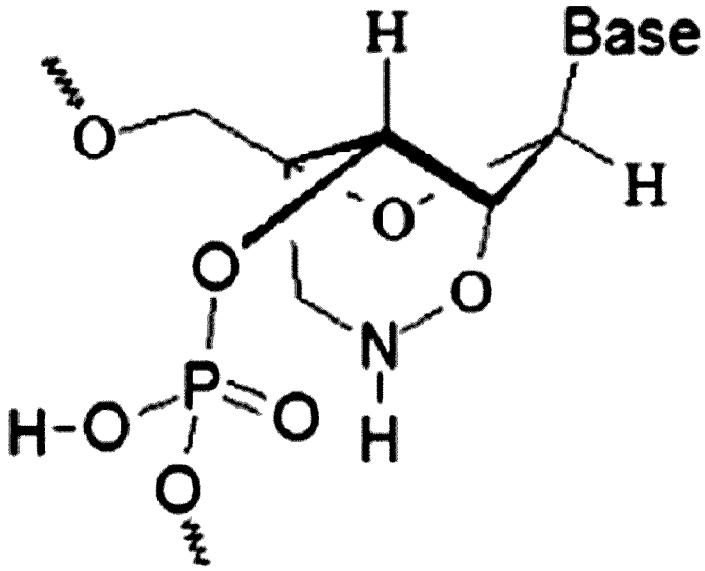
[163] 상기 화학식 4 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C) 또는 우라실 (Uracil)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 4의 염기(Base)는,

히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[164]

[165] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 일 예인 BNA(Bridged nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 BNA의 단위 분자는 아래의 화학식5로 표기되는 물질일 수 있다.

[166]



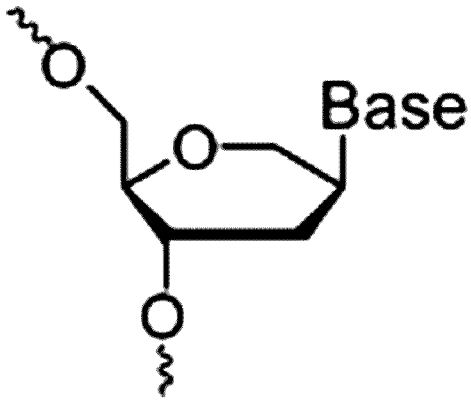
[167] [화학식 5]

[168] 상기 화학식 5 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C) 또는 우라실 (Uracil)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 5의 염기(Base)는, 히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[169]

[170] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 일 예인 HNA(Hexose nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 HNA의 단위 분자는 아래의 화학식 6으로 표기되는 물질일 수 있다.

[171]




HNA

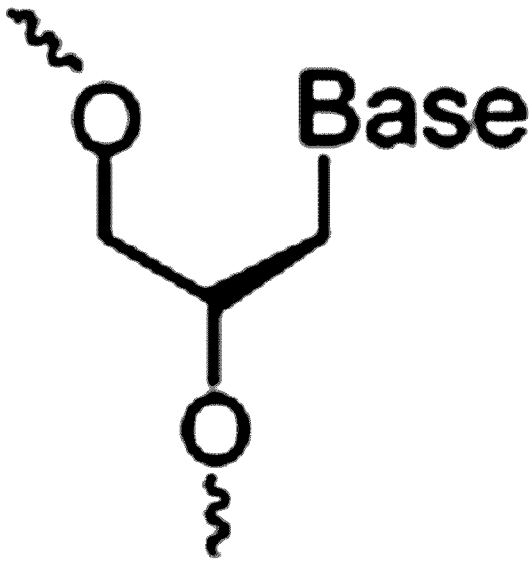
[172] [화학식 6]

[173] 상기 화학식 6 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C) 또는 우라실 (Uracil)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 6의 염기(Base)는, 히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[174]

[175] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 일 예인 GNA(Glycol nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 GNA의 단위 분자는 아래의 화학식 7로 표기되는 물질일 수 있다.

[176]




[177] [화학식 7]

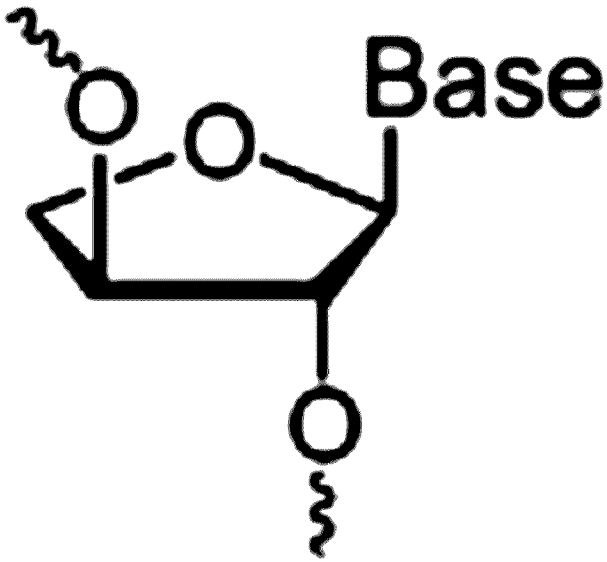
[178] 상기 화학식 7 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C) 또는 우라실 (Uracil)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 7의 염기(Base)는,

히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[179]

[180] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 일 예인 TNA(Threose nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 TNA의 단위 분자는 아래의 화학식 8로 표기되는 물질일 수 있다.

[181]



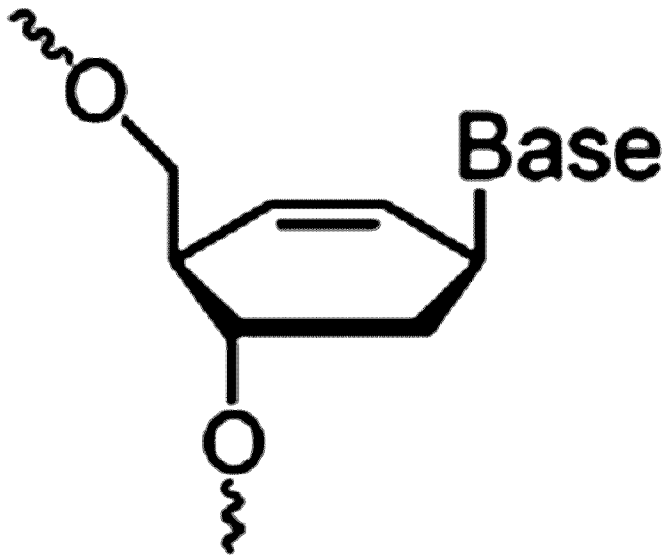
[182] [화학식 8]

[183] 상기 화학식 8 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C) 또는 우라실 (Uracil)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 8의 염기(Base)는, 히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[184]

[185] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 일 예인 CeNA(cyclohexene nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 CeNA의 단위 분자는 아래의 화학식 9로 표기되는 물질일 수 있다.

[186]




[187] [화학식 9]

[188] 상기 화학식 9 의 염기(Base)는, 아데닌(A), 구아닌(G), 티민(T), 시토신(C) 또는 우라실 (Uracil)일 수 있다. 이외에도, 상기 화학식 9의 염기(Base)는, 히포크산틴(Hypoxanthine) 또는 크산틴(Xanthine)과 같은 퓨린 또는 피리미딘계의 유도체일 수 있다.

[189]

[190] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[191] 일 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 LNA의 단위 분자로 구성될 수 있다.

[192] 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 PNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[193]

[194] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)는 적어도 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체을 포함할 수 있다.

[195] 상기 결정부(100)에 포함되는 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체는 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 결정부(100)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[196] 상기 결정부(100)에 포함되는 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체는 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 결정부(100)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[197]

[198] 일 예로, 상기 결정부(100)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 PNA의 단위 분자 및 LNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[199] 다른 예로, 상기 결정부(100)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 TNA의 단위 분자의 중합체 및 GNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 CeNA의 단위 분자의 중합체 및 CeNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[200] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 BNA의 단위 분자의 중합체 및 HNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)는 LNA의 단위 분자의 중합체 및 LNA의 단위 분자의 중합체가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[201]

[202] 1.1.1.1.3 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자의 조합

[203] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)는 적어도 제1 핵산 및 제1 핵산 유사체를 포함할 수 있다.

[204] 상기 결정부(100)에 포함되는 제1 핵산 및 제1 핵산 유사체는 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 결정부(100)는 제1 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[205] 상기 결정부(100)에 포함되는 제1 핵산 및 제1 핵산 유사체는 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 결정부(100)는 제1 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[206]

[207] 일 예로, 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자 및 LNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[208] 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 핵산의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 PNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자 가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[209] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 GNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[210] 또 다른 예로, 상기 결정부(100)는 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 RNA의 단위 분자의 중합체 및 CeNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[211]

[212] 지금까지, 결정부(100)를 구성할 수 있는 물질 및 그 구성에 대해서 구체적으로 살펴본 바 있다. 다만, 이는 본 출원에 따르는 결정부(100)에 대한 이해를 돕기위한 구체적인 실시예들을 개시한 것일 뿐, 결정부(100)가 본 명세서에 개시되어 있는 물질을 포함하는 것으로 한정하여 해석하여야 함을 의미하는 것은 아니다.

[213] 다시 말해, 결정부(100)는 본 명세서에 의해 개시되어 있지 않은 핵산 유사체의 단위 분자를 포함하는 것으로 해석될 수 있다. 여기서, 핵산 유사체의 단위 분자는 염기(base)를 포함하되, 뉴클레오타이드와 비교하여 염기 이외의 구성 중 적어도 일부가 화학적으로 변형된 형태일 수 있다.

[214] 또한, 결정부(100)는, 당업자에 의해 용이하게 설계 변경되는 범위 내에서, 화학식 1 내지 9 중 적어도 하나가 화학적으로 변형된 물질을 포함하는 것으로 해석될 수 있다. 예를 들어, 결정부(100)는 상기 화학식1의 염기에 시토신(C)이 결합되고, 화학식1의 인산에 2개의 인산이 더 결합되는 디옥시시티딘 삼인산(dCTP)을 포함할 수 있다.

[215]

[216] 이하에서는, 본 출원의 일 실시예에 따르는 결정부(100)의 동작 및 예시들에 대해서 구체적으로 개시할 것이다. 이미 설명한바 있는 결정부(100)의 물질적 특성 및 이하에서 설명하는 결정부(100)의 동작 및 예시들에 따라서, 결정부(100)의 용어적 의의 및 기능에 대해서는 보다 구체적으로 이해될 수 있을 것이다.

[217]

[218] 1.1.1.2 결정부(100)의 동작

[219] 본 출원의 일 실시예에 따르면 결정부(100)는 특정 염기 서열에 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)는 특정 염기 서열에 특이적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 일 예로, 상기 특정 염기 서열은 상기 결정부(100)의 염기 서열 중 적어도 일부에 상보적인 염기 서열일 수 있다.

[220] 상기 결정부(100)가 특정 염기 서열에 상보적으로 결합하는 영역을 포함하는 것의 의미는, 상기 결정부(100)의 적어도 일부 영역의 전기적, 화학적 및 물리적 성질 중 적어도 하나의 성질이 특정 염기 서열에 대응되어 연관되는 것을 의미할 수 있다.

[221] 일 예로, 결정부(100)는 특정 염기 서열과 화학적 결합력이 발생할 수 있는 영역을 포함할 수 있다. 다시 말해, 결정부(100)는 특정 염기 서열과 공유 결합, 수소 결합, 이온 결합, 소수성 결합 중 적어도 하나의 결합을 수행할 수 있는 영역을 포함할 수 있다.

[222]

[223] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 고유한 염기 서열을 가질 수 있다. 상기 결정부(100)는 상기 결정부(100)에 포함된 핵산의 단위 분자 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자의 염기 종류(예를 들어, 아데닌, 구아닌 등)에 따라 고유한 염기 서열을 가질 수 있다.

[224] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 특정 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 결정부(100)는, 상기 결정부(100)의 고유한 염기 서열의 적어도 일부 서열에 상보적인 특정 염기 서열에 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 결정부(100)는, 상기 결정부(100)의 고유한 염기 서열 중 적어도 일부 서열과 특정 염기 서열 사이의 수소 결합을 통해, 특정 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[225] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 상보적으로 결합할 타 물질을 결정할 수 있다. 다시 말해, 상기 결정부(100)는 특정 염기 서열에

특이적으로 결합하여, 상기 결정부(100)의 결합 대상 물질이 특정 염기 서열을 포함하는 타 물질(예를 들어, 특정 염기 서열을 포함하는 ssDNA)이 되도록 결정할 수 있다.

[226]

[227] 1.1.1.3 결정부(100)의 예시

[228] 1.1.1.3.1 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 단일 가닥체

[229] 본 출원의 일 실시예에 따른 결정부(100)는 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 단일 가닥체일 수 있다.

[230] 상기 결정부(100)는 적어도 하나의 핵산 및/또는 핵산 유사체로 구성될 수 있다. 상기 결정부(100)가 복수의 핵산 및/또는 핵산 유사체로 구성되는 경우에는, 상기 결정부(100)가 단일 가닥을 이루도록 상기 결정부(100)에 포함된 상기 복수의 핵산 및/또는 핵산 유사체는 서로 연결되어 있을 수 있다.

[231] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 상기 결정부(100)의 염기 서열과 상보적인 서열을 포함하는 핵산에 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 결정부(100)의 염기 서열 중 적어도 일부 서열은 상기 결정부(100)의 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 핵산에 특이적으로 결합할 수 있다.

[232] 일 예로, 상기 결정부(100)의 염기 서열의 전부는 상기 결정부(100)의 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 핵산에 특이적으로 결합할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)가 5`-AAACGGCTCAAATTTTT-3`인 경우, 상기 결정부(100)는 5`-AAAAATTTGAGCCGTTT-3`를 포함하는 핵산에 특이적으로 결합할 수 있다. 다른 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)가 5`-AAACGGCTCAAATTTTT-3`인 경우, 상기 결정부(100)는 5`-AAAAATTTGAG-3`를 포함하는 핵산에 특이적으로 결합할 수 있다.

[233] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 1~100mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 결정부(100)는 5~50mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 결정부(100)는 15~30mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)가 적어도 15mer 이상의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 경우, 상기 결정부(100)가 10mer 이하의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 경우에 비해, 타겟 핵산과의 반응성이 향상될 수 있다.

[234]

[235] 1.1.1.3.2 프라이머

[236] 본 출원의 일 실시예에 따른 결정부(100)는 PCR(polymerase chain reaction) 프라이머일 수 있다.

[237] 상기 결정부(100)는 특정 염기 서열에 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 특정 염기 서열은 상기 결정부(100)의 염기 서열의 적어도 일부에 상보적인 염기 서열일 수 있다.

[238] PCR이 진행되는 경우, 상기 결정부(100)는 타겟 핵산(예, 특정 염기 서열을

포함하는 타겟 DNA)에 결합되고, 상기 결정부(100)의 3` 말단에 뉴클레오타이드가 연결되어 상기 결정부(100)의 3` 말단측이 연장될 수 있다. 다시 말해, 상기 결정부(100)가 결합된 타겟 핵산은, PCR이 진행됨에 따라 중합효소에 의해 상기 결정부(100)의 3` 말단에 뉴클레오타이드(예를 들어, dNTP 또는 ddNTP)가 연결되어, 상기 결정부(100)의 3` 말단측이 연장될 수 있다.

[239] 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)가 5`-AAACGGCTCAAATTTTT-3`인 경우, 상기 결정부(100)는 5`-AAAAATTTGAGCCGTTT-3`을 포함하는 타겟 핵산에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 타겟 핵산의 5`측에 인접한 영역의 염기에 상보적인 염기 서열을 갖는 핵산의 단위 분자(예, 뉴클레오타이드)가 상기 결정부(100)의 3` 말단에 연결되어 상기 결정부(100)의 3` 말단측이 연장될 수 있다.

[240] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)의 3` 말단에 뉴클레오타이드가 연결되는 형태는 공유 결합일 수 있다. 일 예로, 상기 결정부(100)가 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성되어 있는 경우, 결정부(100)의 3`말단의 당의 H기와 상기 결정부(100)의 3` 말단에 연장될 뉴클레오타이드의 인산기에 있는 OH가 반응하여 공유 결합 하는 형태로, 상기 결정부(100)의 3` 말단에 뉴클레오타이드가 연결될 수 있다.

[241]

[242] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 1~50mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 결정부(100)는 5~30mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 결정부(100)는 10~25mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100)가 적어도 15mer 이상의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 경우, 상기 결정부(100)가 10mer 이하의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 경우에 비해, 상기 결정부(100)와 상기 타겟 핵산과의 반응성이 향상될 수 있다.

[243] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 적어도 둘 이상의 핵산을 포함하고, 제1 핵산 및 제2 핵산이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 구성될 수 있다. 상기 결정부(100)는 적어도 둘 이상의 핵산의 단위 분자를 포함하고, 제1 핵산(핵산의 단위 분자 또는 핵산의 단위 분자의 중합체) 및 제2 핵산(핵산의 단위 분자 또는 핵산의 단위 분자의 중합체)이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 구성될 수 있다.

[244] 일 예로, 상기 결정부(100)는 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성된 제1 가닥과 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성된 제2 가닥이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 구성될 수 있다. 보다 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100)는 상기 제1 가닥 및 상기 제2 가닥은 폴리데옥시이노신 링커(Polydeoxyinosine Linker)를 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다. 경우에 따라서, 상기 제1 가닥 및 상기 제1 가닥보다 상대적으로 짧은 제2 가닥이 폴리데옥시이노신 링커(Polydeoxyinosine Linker)를 통해 연결되는 결정부(100)가 제공될 수 있다.

[245]

[246] 1.1.2 태그부(200)

[247] 1.1.2.1 태그부(200)의 구성 물질

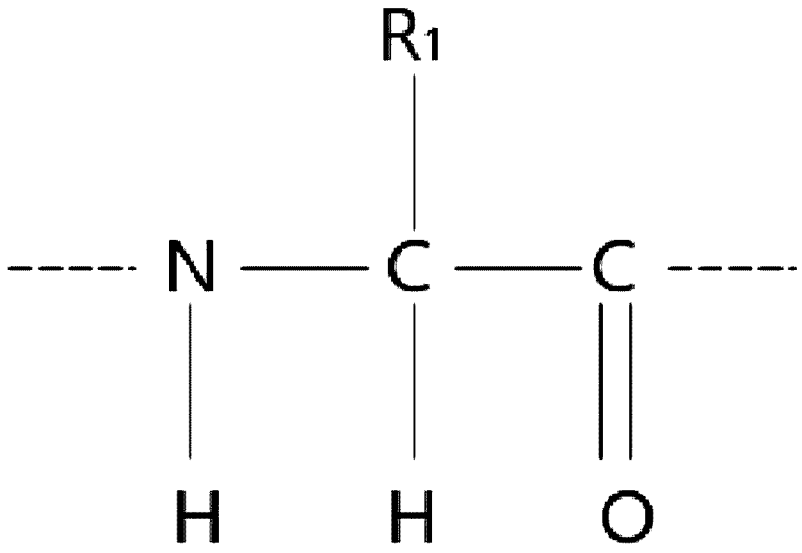
[248] 1.1.2.1.1 화합물

[249] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 수소결합이 가능하도록 F, N, O 및 H 중 적어도 하나를 포함하는 화합물을 포함할 수 있다.

[250] 일 예로, 상기 태그부(200)는 F, N, O 및 H 중 적어도 하나를 포함하는 단량체가 중합되어 생성되는 중합체일 수 있다.

[251] 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 아래의 화학식 10의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[252]




[253] [화학식 10]

[254]

[255] 다른 예로, 상기 태그부(200)는 F, N, O 및 H 중 적어도 하나를 포함하는 단량체가 중합되어 생성되는 제1 중합체 및 F, N, O 및 H 중 적어도 하나를 포함하는 단량체가 중합되어 생성되는 제2 중합체가 특정 화합물을 통해 연결되는 형태일 수 있다.

[256] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 F, N, O 및 H 중 적어도 하나를 포함하는 단량체가 중합되어 생성되는 중합체 및 임의의 화합물이 연결된 형태일 수 있다.

[257]

[258] 1.1.2.1.2 핵산 및/또는 핵산 유사체

[259] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[260]

[261] 1.1.2.1.2.1 핵산의 단위 분자

[262] 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[263] 일 예로, 상기 태그부(200)는 핵산의 일 예인 DNA(Deoxyribonucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 DNA의 단위 분자는 위의 화학식 1로 표기되는 물질일 수 있다.

[264] 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산의 일 예인 RNA(Ribonucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 RNA의 단위 분자는 위의 화학식 2로 표기되는 물질일 수 있다.

[265]

[266] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[267] 일 예로, 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 RNA의 단위 분자로 구성될 수 있다.

[268] 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 RNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[269]

[270] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 제1 핵산의 단위 분자 및 제2 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)는 적어도 제1 핵산 및 제2 핵산을 포함할 수 있다.

[271] 상기 태그부(200)에 포함되는 제1 핵산 및 제2 핵산은 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 태그부(200)는 제1 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[272] 상기 태그부(200)에 포함되는 제1 핵산 및 제2 핵산은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 태그부(200)는 제1 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[273]

[274] 일 예로, 상기 태그부(200)는 제1 핵산의 단위 분자 및 제2 핵산의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자 및 RNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자 및 DNA의 단위 분자가 특정 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 RNA의 단위 분자 및 RNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[275] 다른 예로, 상기 태그부(200)는 제1 핵산의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 RNA의 단위 분자의 중합체 및 DNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 DNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 RNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[276] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 제1 핵산의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 DNA의 단위 분자의 중합체가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 RNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자의 중합체가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[277]

[278] 1.1.2.1.2.2 핵산 유사체의 단위 분자

[279] 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[280] 일 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 일 예인 PNA(Peptide nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 PNA의 단위 분자는 위의 화학식 3으로 표기되는 물질일 수 있다.

[281] 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 일 예인 LNA(Locked Nucleic Acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 LNA의 단위 분자는 위의 화학식 4로 표기되는 물질일 수 있다.

[282] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 일 예인 BNA(Bridged nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 BNA의 단위 분자는 위의 화학식 5로 표기되는 물질일 수 있다.

[283] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 일 예인 HNA(Hexose nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 HNA의 단위 분자는 위의 화학식 6으로 표기되는 물질일 수 있다.

[284] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 일 예인 GNA(Glycol nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 GNA의 단위 분자는 위의 화학식 7로 표기되는 물질일 수 있다.

[285] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 일 예인 TNA(Threose nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 TNA의 단위 분자는 위의 화학식 8로 표기되는 물질일 수 있다.

[286] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 일 예인 CeNA(cyclohexene nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 CeNA의 단위 분자는 위의 화학식 9로 표기되는 물질일 수 있다.

[287]

[288] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[289] 일 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 LNA의 단위 분자로 구성될 수 있다.

[290] 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 PNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[291]

[292] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)는 적어도 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체을 포함할 수 있다.

[293] 상기 태그부(200)에 포함되는 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체는 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 태그부(200)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[294] 상기 태그부(200)에 포함되는 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체는 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 태그부(200)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[295]

[296] 일 예로, 상기 태그부(200)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 PNA의 단위 분자 및 LNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[297] 다른 예로, 상기 태그부(200)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어,

상기 태그부(200)는 TNA의 단위 분자의 중합체 및 GNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 CeNA의 단위 분자의 중합체 및 CeNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[298] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 BNA의 단위 분자의 중합체 및 HNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)는 LNA의 단위 분자의 중합체 및 LNA의 단위 분자의 중합체가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[299]

[300] 1.1.2.1.2.3 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자의 조합

[301] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)는 적어도 제1 핵산 및 제1 핵산 유사체를 포함할 수 있다.

[302] 상기 태그부(200)에 포함되는 제1 핵산 및 제1 핵산 유사체는 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 태그부(200)는 제1 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[303] 상기 태그부(200)에 포함되는 제1 핵산 및 제1 핵산 유사체는 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 태그부(200)는 제1 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[304]

[305] 일 예로, 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자 및 LNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[306] 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 핵산의 단위 분자 가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 PNA의 단위 분자의 중합체 및 RNA의 단위 분자 가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[307] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 DNA의 단위 분자의 중합체 및 GNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[308] 또 다른 예로, 상기 태그부(200)는 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 RNA의 단위 분자의 중합체 및 CeNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[309]

[310] 지금까지, 태그부(200)를 구성할 수 있는 물질 및 그 구성에 대해서 구체적으로 살펴본 바 있다. 다만, 이는 본 출원에 따르는 태그부(200)에 대한 이해를 돕기위한 구체적인 실시예들을 개시한 것일 뿐, 태그부(200)가 본 명세서에 개시되어 있는 물질을 포함하는 것으로 한정하여 해석하여야 함을 의미하는 것은 아니다.

[311] 다시 말해, 태그부(200)는 본 명세서에 의해 개시되어 있지 않은 화합물을 포함하는 것으로 해석될 수 있다.

[312] 또한, 태그부(200)는 본 명세서에 의해 개시되어 있지 않은 핵산 유사체의 단위 분자를 포함하는 것으로 해석될 수 있다. 여기서, 핵산 유사체의 단위 분자는 염기(base)를 포함하되, 뉴클레오타이드와 비교하여 염기 이외의 구성 중 적어도 일부가 화학적으로 변형된 형태일 수 있다.

[313] 또한, 태그부(200)는, 당업자에 의해 용이하게 설계 변경되는 범위 내에서, 화학식 1 내지 10 중 적어도 하나가 화학적으로 변형된 물질을 포함하는 것으로 해석될 수 있다. 예를 들어, 태그부(200)는 상기 화학식2의 염기에 티미딘(T)이 결합되고, 화학식 2의 인산에 1개의 인산이 더 결합되는 티미딘 이인산(TDP)을 포함할 수 있다.

[314]

[315] 이하에서는, 본 출원의 일 실시예에 따르는 태그부(200)의 동작 및 예시들에 대해서 구체적으로 개시할 것이다. 이미 설명한바 있는 태그부(200)의 물질적 특성 및 이하에서 설명하는 태그부(200)의 동작 및 예시들에 따라서, 태그부(200)의 용어적 의의 및 기능에 대해서는 보다 구체적으로 이해될 수 있을 것이다.

[316]

[317] 1.1.2.2 태그부(200)의 동작

[318] 본 출원의 일 실시예에 따르면 태그부(200)는 특정 염기 서열에 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)는 특정 염기 서열에 특이적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 일 예로, 상기 특정 염기 서열은 상기 태그부(200)의 염기 서열 중 적어도 일부에 상보적인 염기 서열일 수 있다.

[319] 상기 태그부(200)가 특정 염기 서열에 상보적으로 결합하는 영역을 포함하는 것의 의미는, 상기 태그부(200)의 적어도 일부 영역의 전기적, 화학적 및 물리적 성질 중 적어도 하나의 성질이 특정 염기 서열에 대응되어 연관되는 것을 의미할 수 있다.

[320] 일 예로, 태그부(200)는 특정 염기 서열과 화학적 결합력이 발생할 수 있는 영역을 포함할 수 있다. 다시 말해, 태그부(200)는 특정 염기 서열과 공유 결합, 수소 결합, 이온 결합, 소수성 결합 중 적어도 하나의 결합을 수행할 수 있는 영역을 포함할 수 있다.

[321]

[322] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 타 핵산 복합체(1)와 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)는 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)와 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다.

[323] 일 예로, 상기 태그부(200)가 상기 화합물로 구성되는 경우, 상기 태그부(200)에 포함되는 화합물은 고유한 화학적 구조를 가질 수 있다. 상기 태그부(200)는, 상기 태그부(200)에 포함된 화합물의 원소와 원소 사이의 이격 거리 및 상기 태그부(200)에 포함된 화합물의 원소의 종류에 따라, 고유한 화학적 구조를 가질 수 있다.

[324] 상기 태그부(200)는 특정 화학적 구조를 포함하는 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 태그부(200)는, 상기 태그부(200)의 고유한 화학적 구조에 대응되는 특정 화학적 구조와 수소 결합하여, 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)와 상보적으로 결합할 수 있다.

[325] 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200) 및 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)가 화학식 10의 단위 분자의 중합체를 가지는 경우, 상기 태그부(200)의 수소와 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)의 산소가 수소결합할 수 있고, 상기 태그부(200)의 질소와 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)의 수소가 수소결합할 수 있다.

[326] 다른 예로, 상기 태그부(200)가 핵산 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함하는 경우, 상기 태그부(200)는 고유한 염기 서열을 가질 수 있다. 상기 태그부(200)는 상기 태그부(200)에 포함된 핵산의 단위 분자 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자의 염기 종류 (예를 들어, 아데닌, 구아닌 등)에 따라 고유한 염기 서열을 가질 수 있다.

[327] 상기 태그부(200)는 특정 염기 서열을 포함하는 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 태그부(200)는, 상기 태그부(200)의 고유한 염기 서열 중 적어도 일부 서열과 대응되는 특정 염기 서열과 수소 결합하여, 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 상보적으로 결합할 수 있다.

[328] 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200) 및 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)가 DNA의 단위 분자의 중합체를 가지는 경우, 상기 태그부(200)의 염기 서열 중 시토신(C)은 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)의 염기 서열 중 구아닌(G)과 수소결합할 수 있고, 상기 태그부(200)의 염기 서열 중 아데닌(A)은 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)의 염기 서열 중 티민(T)과 수소결합할 수 있다.

[329]

[330] 1.1.2.3 태그부(200)의 예시

[331] 1.1.2.3.1 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 단일 가닥체

[332] 본 출원의 일 실시예에 따른 태그부(200)는 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 단일 가닥체일 수 있다.

[333] 상기 태그부(200)는 적어도 하나의 핵산 및/또는 핵산 유사체로 구성될 수 있다. 상기 태그부(200)가 복수의 핵산 및/또는 핵산 유사체로 구성되는 경우에는, 상기

태그부(200)가 단일 가닥을 이루도록 상기 태그부(200)에 포함된 상기 복수의 핵산 및/또는 핵산 유사체는 서로 연결되어 있을 수 있다.

[334] 본 출원의 일 실시예에 따르면 상기 태그부(200)는 상기 태그부(200)의 염기 서열과 상보적인 서열을 포함하는 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 태그부(200)의 염기 서열 중 적어도 일부 서열은 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 특이적으로 결합할 수 있다.

[335] 일 예로, 상기 태그부(200)의 염기 서열의 전부는 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 특이적으로 결합할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)가 AAAAAAAAAA(서열번호 5)인 경우, 상기 태그부(200)는 TTTTTTTTTT(서열번호 7)를 포함하는 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 특이적으로 결합할 수 있다.

[336] 다른 예로, 상기 태그부(200)의 염기 서열 중 일부는 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 특이적으로 결합할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)가 AAAAAAAAAA(서열번호 5)인 경우, 상기 태그부(200)는 TTTTTTTT(서열번호 3)를 포함하는 타 핵산 복합체(1)의 태그부(200)에 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 태그부(200)의 적어도 두 염기(즉, AA)는 결합에 참여하지 않을 수 있다.

[337] 이와 관련된 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 동작에 대해서는 아래의 목차 2.2 태그부(200) 및 2.4 제7 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 활용에서 구체적으로 설명하기로 한다.

[338] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 1~50mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 태그부(200)는 3~25mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 태그부(200)는 5~20mer의 핵산 및/또는 핵산 복합체(1)를 포함할 수 있다.

[339]

[340] 1.1.2.3.2 PCR 클램핑용 프로브

[341] 본 출원의 일 실시예에 따른 태그부(200)는 PCR 클램핑용 프로브일 수 있다. 상기 태그부(200)는 PCR에 이용되는 프라이머와 적어도 하나의 염기 서열이 상이한, 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 단일 가닥체일 수 있다.

[342] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100)의 염기 서열과 적어도 하나의 염기 서열이 상이하도록 구성될 수 있다. 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100)가 결합하는 특정 염기 서열과 유사 서열을 갖는 핵산에 특이적으로 결합할 수 있다.

[343] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는, 상기 결정부(100)가 상기 결정부(100)의 타겟 염기 서열(즉, 결정부(100)의 염기 서열의 적어도 일부와 대응되는 염기 서열)과 유사한 유사 서열에 미스매치(mismatch)되어 결합되는 것을 방지할 수 있다. 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100)의 타겟 염기 서열과 유사한 유사 서열에 특이적으로 결합하여, 상기 결정부(100)가 상기 유사 서열에

미스매치되어 결합되는 것을 방지할 수 있다.

[344] 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)가 5`-GAACGCCATC-3이고 상기 결정부(100)가 5`-TACGAATGCCATC-3`이며, 상기 결정부(100)가 특이적으로 결합하는 타겟 염기 서열이 3`-ATGCTTACGGTAG-5`인 경우, 상기 태그부(200)는 타겟 염기 서열과 유사 서열인 3`-ATGCTTGCGGTAG-3` 중 5`-CTTGCGGTAG-3`에 특이적으로 결합할 수 있다. 그 결과, 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100)가 상기 유사 서열에 결정부(100)의 미스매치되어 결합되는 것을 방지할 수 있다.

[345]

[346] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 1~50mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 태그부(200)는 5~30mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 태그부(200)는 10~25mer의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 상기 태그부(200)가 적어도 15mer 이상의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 경우, 상기 태그부(200)가 10mer 이하의 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 경우에 비해, 상기 태그부(200)와 상기 유사 서열과의 반응성이 향상될 수 있다.

[347]

[348] 지금까지, 결정부(100) 및 태그부(200)를 포함하는 핵산 복합체(1)에 있어서, 각 구성요소(즉, 결정부(100) 및 태그부(200))의 물질, 동작, 예시에 대해서 구체적으로 살펴보았다.

[349] 이하에서는, 결정부(100) 및 태그부(200)를 포함하는 핵산 복합체(1)의 각 구성요소간 위치관계에 대해서 구체적으로 살펴보기로 한다.

[350]

[351] 1.2 핵산 복합체(1)의 각 구성요소간 위치관계

[352] 도 2는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성요소간 위치관계를 설명하기 위한 도면이다.

[353]

[354] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 결정부(100) 및 태그부(200)를 포함할 수 있다. 상기 핵산 복합체(1)의 결정부(100) 및 태그부(200)는 소정의 위치 관계를 가질 수 있다.

[355]

[356] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100) 및 태그부(200)는 연결될 수 있다. 다시 말해, 결정부(100)의 일단과 및 태그부(200)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다.

[357] 상기 결정부(100)의 일단 및 태그부(200)의 일단은 화학적 결합력에 기초하여 연결될 수 있다. 결정부(100)의 일단 및 태그부(200)의 일단은, 공유 결합, 수소 결합, 이온 결합, 소수성 결합 중 적어도 하나의 결합에 기초하여, 연결될 수 있다. 일 예로, 상기 결정부(100) 및 태그부(200)는 공유 결합에 의해 연결될 수

있다.

[358] 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100) 및 태그부(200)는, 상기 태그부(200)의 3` 말단과 결정부(100)의 5` 말단이 직접적으로 연결되는 형태로, 연결될 수 있다(도 2(a) 참조). 상기 결정부(100) 및 태그부(200)가 DNA의 단위분자의 중합체로 구성되어 있는 경우, 태그부(200)의 3`말단의 당의 H기와 결정부(100)의 5`말단의 인산기의 OH가 반응하여 공유 결합 하는 형태로, 상기 결정부(100) 및 태그부(200)는 연결되어 있을 수 있다.

[359] 다른 구체적인 예를 들어, 상기 결정부(100) 및 태그부(200)는, 상기 태그부(200)의 5` 말단과 결정부(100)의 3` 말단이 직접적으로 연결되는 형태로, 연결될 수 있다(도 2(b) 참조). 상기 결정부(100) 및 태그부(200)가 DNA의 단위분자의 중합체로 구성되어 있는 경우, 결정부(100)의 3`말단의 당의 H기와 태그부(200)의 5`말단의 인산기의 OH가 반응하여 공유 결합 하는 형태로, 상기 결정부(100) 및 태그부(200)는 연결되어 있을 수 있다.

[360]

[361] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 결정부(100) 및 태그부(200)는 별도의 물질을 통해 연결될 수 있다. 일 예로, 결정부(100)의 일단 및 태그부(200)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 이와 관련된 구체적인 실시예에 관해서는 이하의 목차 4.2 핵산 복합체(1)의 각 구성요소간 위치관계에서 자세하게 살펴보기로 한다.

[362]

[363] 이상에서는, 본 출원의 일 실시예에 따르는 핵산 복합체(1)에 대해서 살펴보았다. 이하에서 설명할 제1 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 전술한 핵산 복합체(1)와 비교하여 라벨부(300)를 더 포함하는 점을 제외하고는 동일하다. 따라서, 제1 실시예를 설명함에 있어 전술한 실시예와 공통되는 구성에 대해서는 동일한 도면 부호를 부여하고 상세한 설명을 생략한다.

[364]

[365] 2. 제1 실시예에 따른 핵산 복합체(1)

[366] 2.1 제1 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성

[367] 도 3은 본 출원의 제1 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[368] 도 3에 도시된 바와 같이, 본 출원의 제1 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는, 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)를 포함할 수 있다.

[369]

[370] 2.1.1 라벨부(300)(label)

[371] 2.1.1.1 라벨부(300)의 구성 물질

[372] 2.1.1.1.1 입자(particle)

[373] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)는 물리적 성질(예, 크기)과 화학적 성질(예, 화학적 구조의 변화)을 가진 작은 물체를 포함할 수 있다.

[374] 일 예로, 상기 라벨부(300)는 금속 나노입자일 수 있다. 상기 라벨부(300)는

전이 금속, 전이후 금속, 및/또는 준금속를 포함하고, 입자의 크기가 수~수백 나노미터(약 10-9m)인 입자일 수 있다.

[375] 다른 예로, 상기 라벨부(300)는 자성 나노입자일 수 있다. 상기 라벨부(300)는 산화철(Fe2O3, Fe3O4), Ferrite(Fe3O4에서 Fe 하나가 다른 자성 관련 원자로 바뀐 형태, ex: CoFe2O4, MnFe2O4)) 및/또는 합금(자성원자들로 인해 나타나는 산화문제, 전도성 및 안정성을 높이기 위해 귀금속과 합금시킨 것, ex: FePt, CoPt 등) 등을 포함하고, 입자의 크기가 수~수백 나노미터(약 10-9m)인 입자일 수 있다.

[376] 또 다른 예로, 상기 라벨부(300)는 라텍스 비드일 수 있다. 상기 라벨부(300)는 무정형(Amorphous) 중합체(예, 폴리스티렌)를 포함하며, 콜로이드 크기 범위의 구형 중합체 입자일 수 있다.

[377]

[378] 2.1.1.1.2 에너지 공여/수용체

[379] 상기 라벨부(300)는 에너지를 공여하는 입자를 포함할 수 있다. 상기 라벨부(300)는 에너지를 수용하는 입자를 포함할 수 있다. 상기 라벨부(300)는 에너지를 공여하고, 수용하는 입자를 포함할 수 있다.

[380] 상기 라벨부(300)에서 공여되거나 수용되는 에너지는, 화학적 에너지, 전기적 에너지, 발광 에너지, 자계 에너지 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[381]

[382] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)는 에너지를 공여하는 입자를 포함할 수 있다.

[383] 일 예로, 상기 라벨부(300)는 전자 에너지를 공여하는 입자일 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)는 전자를 잃는 산화 물질일 수 있다.

[384] 다른 예로, 상기 라벨부(300)는 형광 공명 에너지를 공여하는 입자일 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)는 발광성 물질일 수 있다. 상기 라벨부(300)는 빛이 투사되면 고유의 파장의 광선을 방사하는 형광 분자일 수 있다. 예시적으로, 상기 라벨부(300)는 FAM, JOE, TET, HEX, VIC, Oregon Green®, TAMRA, ROX, Cyanine-3, Cyanine-3.5, Cyanine-5, Cyanine-5.5, 에쿼린(Aequorin) 또는 청색 형광 단백질(Cyan Fluorescent Protein, CFP)일 수 있다.

[385]

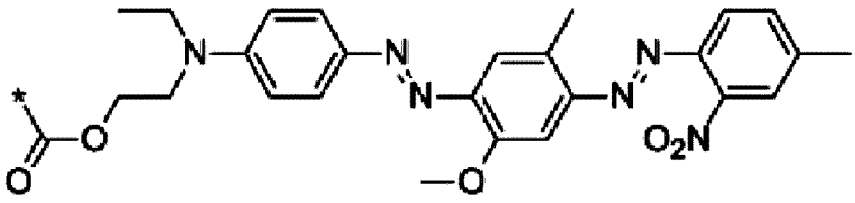
[386] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)는 에너지를 수용하는 입자를 포함할 수 있다.

[387] 일 예로, 상기 라벨부(300)는 전자 에너지를 수여하는 입자일 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)는 전자를 얻는 환원 물질일 수 있다.

[388] 다른 예로, 상기 라벨부(300)는 형광 공명 에너지를 수용하는 입자일 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)는 소광성 물질일 수 있다. 상기 라벨부(300)는 블랙홀 퀀처(Black Holes Quencher, BHQ)일 수 있다. 예시적으로,

상기 블랙홀 퀀처는 아래의 화학식 11 내지 14 중 어느 하나일 수 있다.

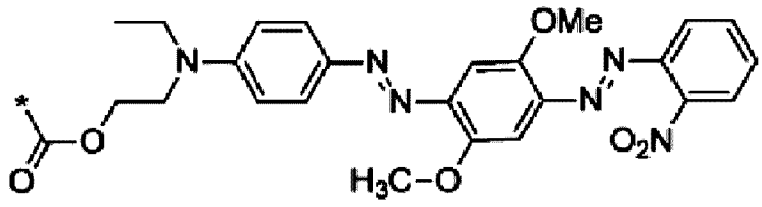
[389]



[390] [화학식 11]

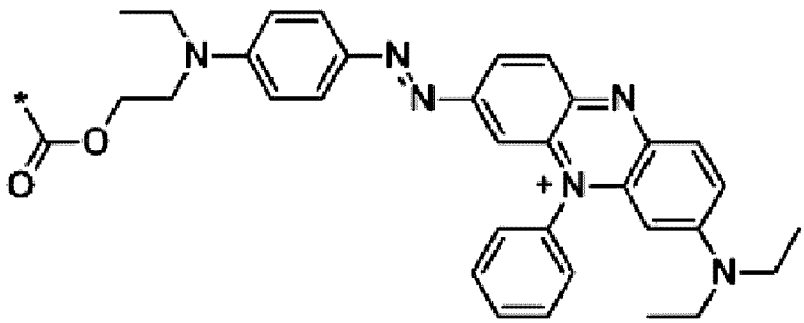
[391]

[392]



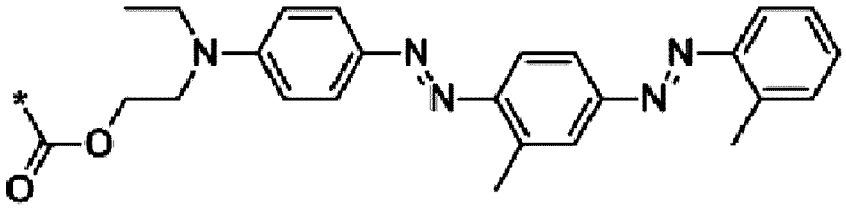

[393] [화학식 12]

[394]



[395] [화학식 13]

[396]



[397] [화학식 14]

[398]

[399] 다른 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)는 형광 변환성 물질일 수 있다. 상기 라벨부(300)는 에쿼린(Aequorin)으로부터 에너지를 받아 508nm의 녹색 형광을 방출하는 녹색 형광 단백질(Green Fluorescent Protein, GFP)일 수 있다. 또는, 상기 라벨부(300)는 청색 형광 단백질(Cyan Fluorescent Protein, CFP)

로부터 에너지를 받아 535nm의 노랑 형광을 방출하는 노랑 형광 단백질(Yellow Fluorescent Protein, YFP)일 수 있다.

[400]

[401] 지금까지, 라벨부(300)를 구성할 수 있는 물질에 대해서 구체적으로 살펴본 바 있다. 다만, 이는 본 출원에 따르는 라벨부(300)에 대한 이해를 돕기위한 구체적인 실시예들을 개시한 것일 뿐, 라벨부(300)가 본 명세서에 개시되어 있는 물질을 포함하는 것으로 한정하여 해석하여야 함을 의미하는 것은 아니다.

[402]

[403] 이하에서는, 본 출원의 일 실시예에 따르는 라벨부(300)의 동작 및 예시들에 대해서 구체적으로 개시할 것이다. 이미 설명한바 있는 라벨부(300)의 물질적 특성 및 이하에서 설명하는 라벨부(300)의 동작 및 예시들에 따라서, 라벨부(300)의 용어적 의의 및 기능에 대해서는 보다 구체적으로 이해될 수 있을 것이다.

[404]

[405] 2.1.1.2 라벨부(300)의 동작

[406] 본 출원의 일 실시예에 따르면 라벨부(300)는 핵산 복합체(1)를 표지하는데에 관여할 수 있다. 상기 라벨부(300)는 핵산 복합체(1)에 대한 정보를 확인하기 위한 표지로써 기능할 수 있다. 상기 라벨부(300)의 특성에 따라 상기 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)에 대한 정보가 확인되도록 함으로써, 상기 라벨부(300)는 핵산 복합체(1)를 표지할 수 있다.

[407]

[408] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)의 입자에 대한 정보(예를 들어, 입자의 크기, 이동도, 위치 등)에 기초하여 핵산 복합체(1)에 대한 정보가 검출될 수 있다.

[409] 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)가 물리적 성질을 가지는 입자인 경우, 상기 라벨부(300)가 검출되는지 여부에 따라 핵산 복합체(1)의 유무가 확인될 수 있다. 다른 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)가 물리적 성질을 가지는 입자인 경우, 상기 라벨부(300)의 위치에 따라 핵산 복합체(1)의 응집 정도가 확인될 수 있다. 또 다른 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)가 물리적 성질을 가지는 입자인 경우, 상기 라벨부(300)의 이동 경로에 따라 핵산 복합체(1)의 이동 여부 및 이동에 관한 정보(예, 속도) 등에 대해 확인될 수 있다.

[410]

[411] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)로부터 발생하는 화학적, 전기적, 광학적 및 자기적 신호 중 적어도 하나를 검출하는 형태로 상기 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)의 정보가 검출될 수 있다.

[412] 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)가 에너지를 방출하는 물질인 경우, 방출되는 에너지(즉, 신호)에 기초하여 핵산 복합체(1)의 유무 및/또는 핵산 복합체(1)의 분포 등이 확인될 수 있다.

[413]

[414] 본 출원의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)가 관여한 화학적, 전기적, 광학적 및 자기적 신호 중 적어도 하나를 검출하여, 상기 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)의 정보가 검출될 수 있다.

[415] 구체적인 예를 들어, 상기 라벨부(300)가 에너지를 수용하여, 수용된 에너지와 다른 에너지를 방출하거나 에너지를 흡수하는 물질인 경우, 특정 환경 조건(condition)에서 검출되는 라벨부(300)의 특성에 따라 핵산 복합체(1)의 정보가 확인될 수 있다.

[416]

[417] 2.1.1.3 라벨부(300)의 예시

[418] 2.1.1.3.1 금 나노입자

[419] 본 출원의 일 실시예에 따른 라벨부(300)는 금 나노입자일 수 있다. 상기 라벨부(300)는 금을 포함하고, 입자의 크기가 수~수백 나노미터인 입자일 수 있다.

[420]

[421] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)의 입자에 대한 정보(예를 들어, 입자의 크기, 이동도, 위치 등)를 검출하는 형태로, 상기 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)가 표지될 수 있다.

[422] 일 예로, 광학 센서 등을 통해 상기 라벨부(300)의 크기에 대응되는 입자가 검출되는지 여부에 따라, 상기 라벨부(300)의 유무가 확인될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 검출 여부에 따라, 핵산 복합체(1)의 유무가 확인될 수 있다.

[423] 다른 예로, 라벨부(300)를 검출하여 분포를 분석함에 따라, 상기 라벨부(300)의 응집 정도가 확인될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 응집 정도에 따라, 핵산 복합체(1)의 응집 정도가 확인될 수 있다.

[424] 또 다른 예로, 상기 라벨부(300)의 이동 경과에 따라 핵산 복합체(1)의 이동 및 이동에 관한 정보(예, 속도)가 확인될 수 있다.

[425]

[426] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)의 입자의 반응성에 관한 정보를 검출하는 형태로 상기 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)가 표지될 수 있다.

[427] 일 예로, 상기 라벨부(300)에 임의의 전압을 가하여 전압의 인가에 따라 검출되는 전류를 분석하는 방법(예, 순환전압전류법, cyclic voltammetry)을 통해, 상기 라벨부(300)의 입자의 유무가 확인될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 검출 여부에 따라, 핵산 복합체(1)의 유무가 확인될 수 있다.

[428] 다른 예로, 상기 라벨부(300)에의 전압의 인가에 따라 검출되는 전류를 분석하는 방법(예, 순환전압전류법, cyclic voltammetry)을 통해, 상기 라벨부(300)의 분포가 확인될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 분포에 따라, 핵산 복합체(1)의 분포가 확인될 수 있다.

[429]

[430] 2.1.1.3.2 형광물질

[431] 본 출원의 일 실시예에 따른 라벨부(300)는 형광물질일 수 있다. 상기 라벨부(300)는 빛이 투사되면 고유의 파장의 광선을 방사하는 형광 분자일 수 있다.

[432]

[433] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)로부터 발생하는 화학적, 전기적, 광학적 및 자기적 신호 중 적어도 하나를 검출하는 형태로, 상기 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)의 정보가 검출될 수 있다.

[434] 일 예로, 상기 라벨부(300)로부터 발생하는 광학적 신호를 검출함으로써, 상기 라벨부(300)의 입자의 유무가 확인될 수 있다. 상기 라벨부(300)로부터 발생하는 특정 파장대역에서의 신호를 검출함으로써, 상기 라벨부(300)의 유무가 확인될 수 있다. 상기 라벨부(300)로부터 발생하는 특정 파장대역에서의 신호가 임계치(threshold)를 넘었는지 여부를 검출함으로써, 상기 라벨부(300)의 입자의 유무가 확인될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 검출 여부에 따라, 핵산 복합체(1)의 유무가 확인될 수 있다.

[435] 다른 예로, 상기 라벨부(300)로부터 발생하는 광학적 신호를 검출하여, 상기 라벨의 분포가 확인될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 분포에 따라 핵산 복합체(1)의 분포가 확인될 수 있다.

[436]

[437] 2.1.1.3.3 퀀처물질

[438] 본 출원의 일 실시예에 따른 라벨부(300)는 퀀처물질일 수 있다. 상기 라벨부(300)는 특정 파장대의 에너지가 투사되면, 투사된 특정 파장대의 에너지를 변환하여 방출하거나 흡수하는 퀀처분자일 수 있다.

[439]

[440] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)가 관여한 화학적, 전기적, 광학적 및 자기적 신호 중 적어도 하나를 검출하여, 상기 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)의 정보가 검출될 수 있다.

[441] 일 예로, 검출된 광학적 신호가 상기 라벨부(300)에 의한 영향을 받았는지 여부를 확인함으로써, 상기 라벨부(300)의 유무가 확인될 수 있다. 특정 환경 조건이 조성(예를 들어, 핵산 복합체(1)의 투입 등)되기 이전에 상기 라벨부(300)로부터 발생하는 광학적 신호와 비교하여, 특정 환경 조건이 조성된 이후 상기 라벨부(300)로부터 발생하는 광학적 신호가 변경된 경우, 변경 여부 및/또는 변경된 정도에 기초하여 라벨부(300)가 표지될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 표지에 따라, 상기 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)가 표지될 수 있다.

[442]

[443] 지금까지, 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)를 포함하는 핵산

복합체(1)에 있어서, 각 구성요소(즉, 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300))의 물질, 동작, 예시에 대해서 구체적으로 살펴보았다.

[444] 이하에서는, 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)를 포함하는 핵산 복합체(1)의 각 구성요소간 위치관계에 대해서 구체적으로 살펴보기로 한다.

[445]

[446] 2.2 핵산 복합체(1)의 각 구성요소간 위치관계

[447] 도 4는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성요소간 위치관계를 설명하기 위한 도면이다.

[448]

[449] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)를 포함할 수 있다. 상기 핵산 복합체(1)의 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)는 소정의 위치 관계를 가질 수 있다.

[450]

[451] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)는 연결될 수 있다. 상기 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)는 화학적 결합력에 기초하여 연결될 수 있다. 상기 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)는 공유 결합, 수소 결합, 이온 결합, 소수성 결합 중 적어도 하나의 결합에 기초하여, 연결될 수 있다.

[452]

[453] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100) 및 상기 라벨부(300)의 사이에 위치될 수 있다(도 4(a) 참조).

[454] 상기 태그부(200)의 일단에는 상기 결정부(100)가 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 일단에는 상기 결정부(100)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 일단과 상기 결정부(100)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)의 일단과 상기 결정부(100)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[455] 상기 태그부(200)의 타단(즉, 상기 태그부(200)의 일단과 다른 일단)에는 상기 라벨부(300)가 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 타단에는 상기 라벨부(300)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 타단과 상기 라벨부(300)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)의 타단과 상기 라벨부(300)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[456] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 도 2(a) 및 도 2(b)에 따른 핵산 복합체(1)에 있어서, 라벨부(300)를 더 포함하고, 상기 라벨부(300)와 상기 결정부(100) 사이를 상기 태그부(200)가 연결하도록 구성되는, 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다.

[457]

[458] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 라벨부(300)는 상기 결정부(100) 및 상기 태그부(200)의 사이에 위치될 수 있다(도 4(b) 참조).

[459] 상기 라벨부(300)의 일단에는 상기 결정부(100)가 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 일단에는 상기 결정부(100)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 일단과 상기 결정부(100)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 라벨부(300)의 일단과 상기 결정부(100)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[460] 상기 라벨부(300)의 타단(즉, 상기 라벨부(300)의 일단과 다른 일단)에는 상기 태그부(200)가 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 타단에는 상기 태그부(200)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 타단과 상기 태그부(200)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 타단과 상기 태그부(200)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[461] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 도 2(a) 및 도 2(b)에 따른 핵산 복합체(1)에 있어서, 라벨부(300)를 더 포함하고, 상기 결정부(100)와 상기 태그부(200) 사이를 상기 라벨부(300)가 연결하도록 구성되는, 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다.

[462]

[463] 본 출원의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 결정부(100)는 상기 태그부(200) 및 상기 라벨부(300)의 사이에 위치될 수 있다(도 4(c) 참조).

[464] 상기 결정부(100)의 일단에는 상기 태그부(200)가 연결될 수 있다. 상기 결정부(100)의 일단에는 상기 태그부(200)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 결정부(100)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[465] 상기 결정부(100)의 타단(즉, 상기 결정부(100)의 일단과 다른 일단)에는 상기 라벨부(300)가 연결될 수 있다. 상기 결정부(100)의 타단에는 상기 라벨부(300)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 결정부(100)의 타단과 상기 라벨부(300)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 상기 결정부(100)의 타단과 상기 라벨부(300)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[466] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 도 2(a) 및 도 2(b)에 따른 핵산 복합체(1)에 있어서, 라벨부(300)를 더 포함하고, 상기 태그부(200)와 상기 라벨부(300) 사이를 상기 결정부(100)가 연결하도록 구성되는, 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다.

[467]

[468] 이상에서는, 본 출원의 제1 실시예에 따른 핵산 복합체(1)에 대해서 살펴보았다. 이하에서 설명할 제2 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 제1 실시예에 따른 핵산 복합체(1)와 비교하여 라벨부(300)를 포함하지 않고, 연결부(400)를 더 포함하는 점을 제외하고는 동일하다. 따라서, 제2 실시예를 설명함에 있어 전술한 실시예와 공통되는 구성에 대해서는 동일한 도면 부호를 부여하고 상세한 설명을 생략한다.

[469]

[470] 3. 제2 실시예에 따른 핵산 복합체(1)

[471] 3.1 제2 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성

[472] 도 5는 본 출원의 제2 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[473] 도 5에 도시된 바와 같이, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)를 포함할 수 있다.

[474]

[475] 3.1.1 연결부(400)

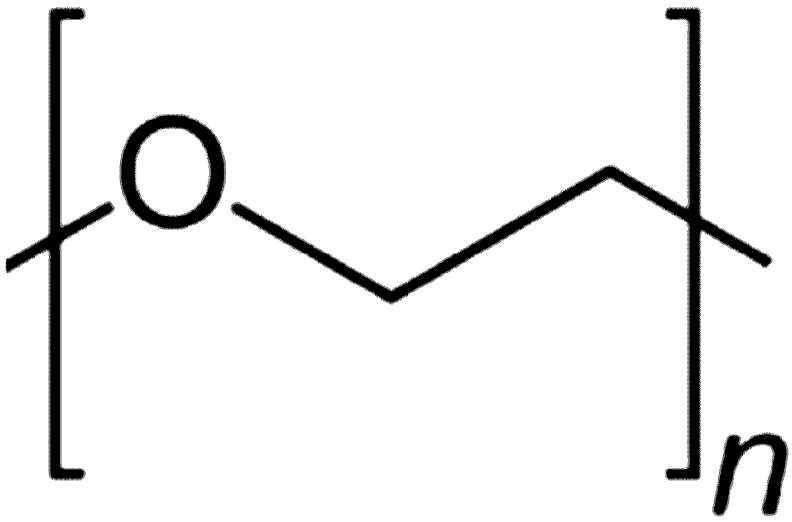
[476] 3.1.1.1 연결부(400)의 구성 물질

[477] 3.1.1.1.1 화합물

[478] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 H, O, F, N, S, C, P 중 적어도 하나를 포함하는 화합물일 수 있다. 상기 연결부(400)는 소정의 길이를 가지며, H, O, F, N, S, C, P 중 적어도 하나를 포함하는 화합물을 포함할 수 있다.

[479] 일 예로, 상기 연결부(400)는 적어도 하나의 단일 결합을 포함하는 탄소를 포함할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 아래의 화학식 15의 화합물을 포함할 수 있다. 예시적으로, 상기 연결부(400)는 헥사 에틸렌 글리콜(hexaethyleneglycol)일 수 있다.

[480]



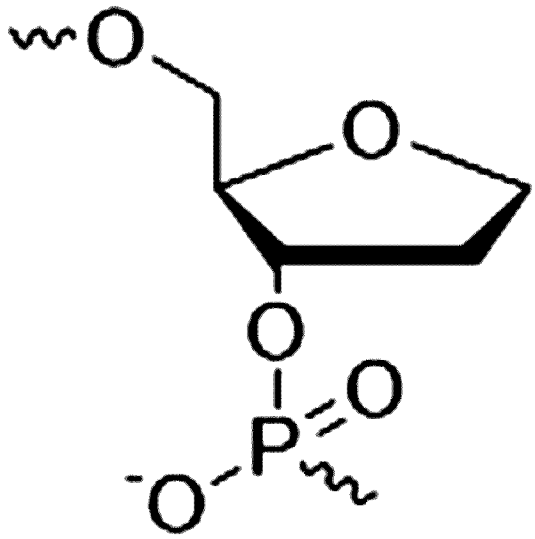
[481] [화학식 15]

[482]

[483] 다른 예로, 상기 연결부(400)는 공명 구조를 이루는 탄소를 포함할 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)는 적어도 하나의 이중 결합을 포함하는 탄소를 포함할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 무지방 퓨란(Abasic Furan)을 포함할 수 있다. 예시적으로, 상기 연결부(400)는 아래의 화학식 16의 화합물을

포함할 수 있다.

[484]



[485] [화학식 16]

[486]

[487] 3.1.1.1.2 핵산 및/또는 핵산 유사체

[488] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체 및/또는 변형된 핵산을 포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 변형된 핵산의 단위 분자를

포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 변형된 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[489]

[490] 3.1.1.1.2.1 변형된 핵산의 단위 분자

[491] 상기 연결부(400)는 상기 변형된 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[492] 일 예로, 상기 변형된 핵산의 단위 분자는, 핵산의 일 예인 DNA (Deoxyribonucleic acid)의 단위 분자 중 염기의 적어도 일부 구조가 변형된 분자일 수 있다.

[493] 다른 예로, 상기 변형된 핵산의 단위 분자는, 핵산의 일 예인 RNA(Ribonucleic acid)의 단위 분자 중 염기의 적어도 일부 구조가 변형된 분자일 수 있다.

[494]

[495] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 상기 변형된 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[496] 일 예로, 상기 연결부(400)는 상기 변형된 핵산의 단위 분자로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기 중 일부가 변형된 RNA의 단위 분자로 구성될 수 있다.

[497] 다른 예로, 상기 연결부(400)는 상기 변형된 핵산의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기 중 전체가 변형된 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[498]

[499] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 제1 변형된 핵산의 단위 분자 및 제2 변형된 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 적어도 제1 변형된 핵산 및 제2 변형된 핵산을 포함할 수 있다.

[500] 상기 연결부(400)에 포함되는 제1 변형된 핵산 및 제2 변형된 핵산은 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 연결부(400)는 제1 변형된 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 변형된 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[501] 상기 연결부(400)에 포함되는 제1 변형된 핵산 및 제2 변형된 핵산은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 연결부(400)는 제1 변형된 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 변형된 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[502]

[503] 일 예로, 상기 연결부(400)는 제1 변형된 핵산의 단위 분자 및 제2 변형된 핵산의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 DNA의 단위 분자 및 염기의 적어도

일부가 변형된 RNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 RNA의 단위 분자 및 염기의 적어도 일부가 변형된 RNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[504] 다른 예로, 상기 연결부(400)는 제1 변형된 핵산의 단위 분자의 중합체 및 제2 변형된 핵산의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 DNA의 단위 분자의 중합체 및 염기의 적어도 일부가 변형된 RNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 DNA의 단위 분자의 중합체 및 염기의 적어도 일부가 변형된 DNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[505] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 제1 변형된 핵산의 단위 분자의 중합체 및 제2 변형된 핵산의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 DNA의 단위 분자의 중합체 및 염기의 적어도 일부가 변형된 RNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된RNA의 단위 분자의 중합체 및 염기의 적어도 일부가 변형된 RNA의 단위 분자의 중합체가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[506]

[507] 3.1.1.1.2.2 핵산 유사체의 단위 분자

[508] 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[509] 일 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 일 예인 PNA(Peptide nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 PNA의 단위 분자는 위의 화학식 3으로 표기되는 물질일 수 있다.

[510] 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 일 예인 LNA(Locked Nucleic Acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 LNA의 단위 분자는 위의 화학식 4로 표기되는 물질일 수 있다.

[511] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 일 예인 BNA(Bridged nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 BNA의 단위 분자는 위의 화학식 5로 표기되는 물질일 수 있다.

[512] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 일 예인 HNA(Hexose nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 HNA의 단위 분자는 위의 화학식 6으로 표기되는 물질일 수 있다.

[513] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 일 예인 GNA(Glycol nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 GNA의 단위 분자는 위의 화학식 7로 표기되는 물질일 수 있다.

[514] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 일 예인 TNA(Threose nucleic

acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 TNA의 단위 분자는 위의 화학식 8로 표기되는 물질일 수 있다.

[515] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 일 예인 CeNA(cyclohexene nucleic acid)의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 CeNA의 단위 분자는 위의 화학식 9로 표기되는 물질일 수 있다.

[516]

[517] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다.

[518] 일 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 LNA의 단위 분자로 구성될 수 있다.

[519] 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 PNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[520]

[521] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 적어도 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체을 포함할 수 있다.

[522] 상기 연결부(400)에 포함되는 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체는 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 연결부(400)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[523] 상기 연결부(400)에 포함되는 제1 핵산 유사체 및 제2 핵산 유사체는 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 연결부(400)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제2 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[524]

[525] 일 예로, 상기 연결부(400)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 PNA의 단위 분자 및 LNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[526] 다른 예로, 상기 연결부(400)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 제2 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 TNA의 단위 분자의 중합체 및 GNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)는 CeNA의 단위 분자의 중합체 및 CeNA의 단위 분자가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[527] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및

제2 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 BNA의 단위 분자의 중합체 및 HNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)는 LNA의 단위 분자의 중합체 및 LNA의 단위 분자의 중합체가 특정 화합물을 통해 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[528]

[529] 3.1.1.1.2.3 핵산 유사체의 단위 분자 및 변형된 핵산의 단위 분자의 조합

[530] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자 및 상기 변형된 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 적어도 제1 핵산 유사체 및 제1 변형된 핵산을 포함할 수 있다.

[531] 상기 연결부(400)에 포함되는 제1 핵산 유사체 및 제1 변형된 핵산은 직접적으로 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 연결부(400)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제1 변형된 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 직접적으로 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[532] 상기 연결부(400)에 포함되는 제1 핵산 유사체 및 제1 변형된 핵산은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 다시 말해, 상기 연결부(400)는 제1 핵산 유사체의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단과 제1 변형된 핵산의 단위 분자(또는 단위 분자의 중합체)의 일단이 특정 화합물을 통해 연결되는 형태로 제공될 수 있다.

[533]

[534] 일 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자 및 변형된 핵산의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 DNA의 단위 분자, 및 LNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[535] 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 상기 변형된 핵산의 단위 분자 가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 RNA의 단위 분자, 및 PNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[536] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 상기 변형된 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 DNA의 단위 분자의 중합체, 및 GNA의 단위 분자가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[537] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 상기 변형된 핵산의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기의 적어도 일부가 변형된 RNA의 단위 분자의 중합체, 및 CeNA의 단위 분자의 중합체가 연결된 형태로 구성될 수 있다.

[538]

[539] 지금까지, 연결부(400)를 구성할 수 있는 물질 및 그 구성에 대해서 구체적으로 살펴본 바 있다. 다만, 이는 본 출원에 따르는 연결부(400)에 대한 이해를 돕기위한 구체적인 실시예들을 개시한 것일 뿐, 연결부(400)가 본 명세서에 개시되어 있는 물질을 포함하는 것으로 한정하여 해석하여야 함을 의미하는 것은 아니다.

[540] 다시 말해, 연결부(400)는 본 명세서에 의해 개시되어 있지 않은 화합물을 포함하는 것으로 해석될 수 있다.

[541] 또한, 연결부(400)는 본 명세서에 의해 개시되어 있지 않은 핵산 유사체의 단위 분자를 포함하는 것으로 해석될 수 있다. 여기서 핵산 유사체의 단위 분자는 염기(base)를 포함하되, 뉴클레오타이드와 비교하여 염기 이외의 구성 중 적어도 일부가 화학적으로 변형된 형태일 수 있다.

[542] 또한, 연결부(400)는, 당업자에 의해 용이하게 설계 변경되는 범위 내에서, 화학식 1 내지 10 및 화학식 15 및 16 중 적어도 하나가 화학적으로 변형된 물질을 포함하는 것으로 해석될 수 있다.

[543]

[544] 이하에서는, 본 출원의 일 실시예에 따르는 연결부(400)의 동작 및 예시들에 대해서 구체적으로 개시할 것이다. 이미 설명한바 있는 연결부(400)의 물질적 특성 및 이하에서 설명하는 연결부(400)의 동작 및 예시들에 따라서, 연결부(400)의 용어적 의의 및 기능에 대해서는 보다 구체적으로 이해될 수 있을 것이다.

[545]

[546] 3.1.1.2 연결부(400)의 동작

[547] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 상기 결정부(100)와 상기 태그부(200)를 연결할 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 결정부(100)와 상기 태그부(200)의 사이에 배치될 수 있다. 상기 결정부(100)와 상기 태그부(200)는 연결부(400)를 통해 연결될 수 있다.

[548] 상기 연결부(400)는 상기 결정부(100)의 일단과 직접적으로 결합되거나, 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 결정부(100)의 일단과 화학적 결합력에 기초하여 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)는 결정부(100)의 일단과 공유 결합, 수소 결합, 이온 결합, 소수성 결합 중 적어도 하나의 결합에 기초하여 연결될 수 있다.

[549] 상기 연결부(400)는 상기 태그부(200)의 일단과 직접적으로 결합되거나, 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 태그부(200)의 일단과 화학적 결합력에 기초하여 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)는 태그부(200)의 일단과 공유 결합, 수소 결합, 이온 결합, 소수성 결합 중 적어도 하나의 결합에 기초하여, 연결될 수 있다.

[550]

[551] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 연결부(400)는 상기 결정부(100)와 상기

태그부(200) 사이의 거리를 이격시키는 기능을 수행할 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 결정부(100)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단 사이의 거리를 이격시키는 기능을 수행할 수 있다.

[552]

[553] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체(1)가 PCR에 이용되는 경우, 상기 연결부(400)는 상기 결정부(100) 및 상기 태그부(200)의 사이의 거리를 이격시켜, 상기 결정부(100)의 염기 서열을 읽는 DNA 중합효소(DNA polymerase)가 상기 태그부(200)의 염기 서열을 읽는 것을 차단할 수 있다. 이에 대해서는 아래의 목차 3.1.1.3.1 PCR용 블로커(blocker)에서 보다 구체적으로 설명하기로 한다.

[554]

[555] 3.1.1.3 연결부(400)의 예시

[556] 3.1.1.3.1 PCR 용 블로커(blocker)

[557] 본 출원의 일 실시예에 따른 연결부(400)는 PCR용 블로커일 수 있다.

[558] 상기 PCR용 블로커는, 상기 PCR용 블로커와 연결된 어느 일 영역의 정보를 다른 물질(예, DNA 중합효소)이 획득하지 않도록 차단할 수 있다. 상기 PCR용 블로커는, 상기 PCR용 블로커와 연결된 어느 일 영역의 염기 서열에 대한 증폭 산물의 생성을 방지할 수 있다. 상기 PCR용 블로커는 DNA 중합효소(DNA polymerase)가 상기 PCR용 블로커와 연결된 어느 일 영역의 정보를 획득하는 것 방지할 수 있다.

[559] 특별한 언급이 없는 한, 본 명세서에서 "증폭산물"은, 적어도 1주기의 PCR의 결과로 생성된 물질일 수 있다. 본 명세서에서 "증폭산물"은, PCR을 수행함에 따라 적어도 둘 이상의 뉴클레오타이드가 공유결합을 통해 연결됨으로써 생성된 물질일 수 있다.

[560] 특별한 언급이 없는 한, 본 명세서에서 "A에 대한 증폭산물"이라 함은, A의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 갖도록 생성된 물질을 의미할 수 있다. 본 명세서에서 "A에 대한 증폭산물"이라 함은, A의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 갖도록 생성된 뉴클레오타이드 또는 폴리 뉴클레오타이드일 수 있다. 상기 폴리 뉴클레오타이드는, 적어도 일 뉴클레오타이드의 당의 H기와 타 뉴클레오타이드의 인산기에 있는 OH가 반응하여 공유결합하는 형태로 연장되어 생성된 것일 수 있다.

[561]

[562] 상기 연결부(400)는, 상기 연결부(400)와 연결되어 있는 결정부(100)에 대한 증폭산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)는, 상기 연결부(400)와 연결되어 있는 태그부(200)에 대한 증폭산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[563]

[564] 본 출원의 일 실시예에 따르면 상기 연결부(400)는 소정의 길이를 가질 수 있다.

[565] 일 예로, 상기 연결부(400)는 적어도 1 옴스트롱(amstrang)을 초과하는 길이로

형성될 수 있다. 바람직하게는, 상기 연결부(400)는 적어도 3.4 옴스트롱(amstrang)을 초과하는 길이로 형성될 수 있다. 바람직하게는, 상기 연결부(400)는 적어도 5 옴스트롱(amstrang)을 초과하는 길이로 형성될 수 있다.

[566] 다른 예로, 상기 연결부(400)는 적어도 1 mer를 초과하는 길이로 형성될 수 있다. 바람직하게는, 상기 연결부(400)는 적어도 3mer를 초과하는 길이로 형성될 수 있다. 바람직하게는, 상기 연결부(400)는 적어도 5 mer를 초과하는 길이로 형성될 수 있다.

[567]

[568] 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기를 제거한 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 염기를 제거한 DNA의 단위 분자의 중합체일 수 있다. 상기 연결부(400)는 염기를 제거한 RNA의 단위 분자의 중합체일 수 있다.

[569] 다른 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 염기를 변형시킨 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 염기를 변형시킨 DNA의 단위 분자의 중합체일 수 있다. 상기 연결부(400)는 염기를 변형시킨 RNA의 단위 분자의 중합체일 수 있다.

[570] 또 다른 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 연결부(400)는 PNA의 단위 분자의 중합체일 수 있다. 상기 연결부(400)는 LNA의 단위 분자의 중합체일 수 있다.

[571] 또 다른 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 탄소를 포함하는 사슬형 구조일 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)는 PEG(polyethyleneglycol)일 수 있다.

[572]

[573] 지금까지, 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)를 포함하는 핵산 복합체(1)에 있어서, 각 구성요소(즉, 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400))의 물질, 동작, 예시에 대해서 구체적으로 살펴보았다.

[574] 이하에서는, 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)를 포함하는 핵산 복합체(1)의 각 구성요소간 위치관계에 대해서 구체적으로 살펴보기로 한다.

[575]

[576] 3.2 핵산 복합체(1)의 각 구성요소간 위치관계

[577] 도 6은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성요소간 위치관계를 설명하기 위한 도면이다.

[578]

[579] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)를 포함할 수 있다. 상기 핵산 복합체(1)의 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)는 소정의 위치 관계를 가질 수 있다.

[580]

[581] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)는

연결되어 있는 형태일 수 있다. 상기 연결부(400)의 결정부(100)가 연결되는 측과 상기 연결부(400)의 태그부(200)가 연결되는 측은 상이할 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 결정부(100)와 상기 태그부(200)의 사이에 배치될 수 있다.

[582]

[583] 상기 결정부(100)의 일단은 상기 연결부(400)의 일단과 직접적으로 연결되거나, 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 일단은 상기 연결부(400)의 타단(연결부(400)의 일단과 상이한 일단)과 직접적으로 연결되거나, 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[584] 일 예로, 연결부(400)의 일단에는 상기 결정부(100)의 일단이 화학적 결합에 따라 직접적으로 연결되고, 상기 연결부(400)의 타단에는 상기 태그부(200)의 일단이 화학적 결합에 따라 직접적으로 연결될 수 있다.

[585] 다른 예로, 상기 연결부(400)의 일단은 상기 결정부(100)의 일단과 직접적으로 연결되고, 상기 연결부(400)의 타단은 상기 태그부(200)의 일단과 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[586] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)의 일단은 상기 결정부(100)의 일단과 특정 화합물을 통해 연결되고, 상기 연결부(400)의 타단은 상기 태그부(200)의 일단과 직접적으로 연결될 수 있다.

[587] 또 다른 예로, 상기 연결부(400)의 일단은 상기 결정부(100)의 일단과 특정 화합물을 통해 연결되고, 상기 연결부(400)의 타단은 상기 태그부(200)의 일단과 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[588]

[589] 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)의 3` 말단과 연결부(400)의 일단이 연결되고, 결정부(100)의 5` 말단에 연결부(400)의 타단(태그부(200)의 일단과 상이한 일단)이 연결되는 형태로, 상기 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)는 연결될 수 있다(도 6(a) 참조).

[590] 다른 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)의 3` 말단과 연결부(400)의 일단이 연결되고, 결정부(100)의 3` 말단에 연결부(400)의 타단이 연결되는 형태로, 상기 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)는 연결될 수 있다(도 6(b) 참조).

[591] 또 다른 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)의 5` 말단과 연결부(400)의 일단이 연결되고, 결정부(100)의 5` 말단에 연결부(400)의 타단이 연결되는 형태로, 상기 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)는 연결될 수 있다(도 6(c) 참조).

[592] 또 다른 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)의 5` 말단과 연결부(400)의 일단이 연결되고, 결정부(100)의 3` 말단에 연결부(400)의 타단이 연결되는 형태로, 상기 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)는 연결될 수 있다(도 6(d) 참조).

[593]

[594] 이상에서는, 본 출원의 제2 실시예에 따르는 핵산 복합체(1)에 대해서

살펴보았다. 이하에서 설명할 제3 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 전술한 핵산 복합체(1)와 비교하여 라벨부(300)를 더 포함하는 점을 제외하고는 동일하다. 따라서, 제3 실시예를 설명함에 있어 전술한 실시예와 공통되는 구성에 대해서는 동일한 도면 부호를 부여하고 상세한 설명을 생략한다.

[595]

[596] 4. 제3 실시예에 따른 핵산 복합체(1)

[597] 4.1 제3 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성

[598] 도 7은 본 출원의 제3 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[599] 도 7에 도시된 바와 같이, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 결정부(100), 태그부(200), 라벨부(300) 및 연결부(400)를 포함할 수 있다.

[600]

[601] 4.2 핵산 복합체(1)의 각 구성요소간 위치관계

[602] 도 8은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)의 구성요소간 위치관계를 설명하기 위한 도면이다.

[603]

[604] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 결정부(100), 태그부(200), 라벨부(300) 및 연결부(400)를 포함할 수 있다. 상기 결정부(100), 태그부(200), 라벨부(300) 및 연결부(400)는, 화학적 결합력에 기초하여 연결될 수 있다. 상기 결정부(100), 태그부(200), 라벨부(300) 및 연결부(400)는, 공유 결합, 수소 결합, 이온 결합, 소수성 결합 중 적어도 하나의 결합에 기초하여, 연결될 수 있다.

[605]

[606] 상기 핵산 복합체(1)의 결정부(100), 태그부(200), 라벨부(300) 및 연결부(400)는 소정의 위치 관계를 가질 수 있다.

[607]

[608] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 라벨부(300), 태그부(200), 연결부(400), 결정부(100) 순으로 연결된 형태의 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다(도 8(a) 참조).

[609] 상기 태그부(200)의 일단에는 상기 라벨부(300)가 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 일단에는 상기 라벨부(300)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 일단과 상기 라벨부(300)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)의 일단과 상기 라벨부(300)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[610] 상기 태그부(200)의 타단(즉, 상기 태그부(200)의 일단과 다른 일단)에는 상기 연결부(400)가 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 타단에는 상기 연결부(400)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 태그부(200)의 타단과 상기 연결부(400)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 태그부(200)의 타단과 상기 연결부(400)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[611] 상기 연결부(400)의 타단(즉, 상기 연결부(400)의 일단과 다른 일단)에는 상기

결정부(100)가 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 타단에는 상기 결정부(100)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 타단과 상기 결정부(100)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)의 타단과 상기 결정부(100)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[612] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 도 6(a) 내지 도 6(d)에 따른 핵산 복합체(1)에 있어서, 라벨부(300)를 더 포함하고, 상기 라벨부(300), 태그부(200), 연결부(400), 결정부(100) 순으로 연결되도록 구성되는, 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다.

[613]

[614] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 태그부(200), 라벨부(300), 연결부(400), 결정부(100) 순으로 연결된 형태의 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다(도 8(b) 참조).

[615] 상기 라벨부(300)의 일단에는 상기 태그부(200)가 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 일단에는 상기 태그부(200)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 라벨부(300)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[616] 상기 라벨부(300)의 타단(즉, 상기 라벨부(300)의 일단과 다른 일단)에는 상기 연결부(400)가 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 타단에는 상기 연결부(400)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 타단과 상기 연결부(400)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 라벨부(300)의 타단과 상기 연결부(400)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[617] 상기 연결부(400)의 타단(즉, 상기 연결부(400)의 일단과 다른 일단)에는 상기 결정부(100)가 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 타단에는 상기 결정부(100)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 타단과 상기 결정부(100)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)의 타단과 상기 결정부(100)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[618] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 도 6(a) 내지 도 6(d)에 따른 핵산 복합체(1)에 있어서, 라벨부(300)를 더 포함하고, 상기 태그부(200), 라벨부(300), 연결부(400), 결정부(100) 순으로 연결되도록 구성되는, 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다.

[619]

[620] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 태그부(200), 연결부(400), 라벨부(300), 결정부(100) 순으로 연결된 형태의 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다(도 8(c) 참조).

[621] 상기 연결부(400)의 일단에는 상기 태그부(200)가 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 일단에는 상기 태그부(200)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[622] 상기 연결부(400)의 타단(즉, 상기 연결부(400)의 일단과 다른 일단)에는 상기 라벨부(300)가 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 타단에는 상기 라벨부(300)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 타단과 상기 라벨부(300)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)의 타단과 상기 라벨부(300)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[623] 상기 라벨부(300)의 타단(즉, 상기 라벨부(300)의 일단과 다른 일단)에는 상기 결정부(100)가 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 타단에는 상기 결정부(100)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 라벨부(300)의 타단과 상기 결정부(100)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 라벨부(300)의 타단과 상기 결정부(100)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[624] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 도 6(a) 내지 도 6(d)에 따른 핵산 복합체(1)에 있어서, 라벨부(300)를 더 포함하고, 상기 태그부(200), 연결부(400), 라벨부(300), 결정부(100) 순으로 연결되도록 구성되는, 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다.

[625]

[626] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 태그부(200), 연결부(400), 결정부(100), 라벨부(300) 순으로 연결된 형태의 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다(도 8(d) 참조).

[627] 상기 연결부(400)의 일단에는 상기 태그부(200)가 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 일단에는 상기 태그부(200)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)의 일단과 상기 태그부(200)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[628] 상기 연결부(400)의 타단(즉, 상기 연결부(400)의 일단과 다른 일단)에는 상기 결정부(100)가 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 타단에는 상기 결정부(100)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 연결부(400)의 타단과 상기 결정부(100)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 연결부(400)의 타단과 상기 결정부(100)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[629] 상기 결정부(100)의 타단(즉, 상기 결정부(100)의 일단과 다른 일단)에는 상기 라벨부(300)가 연결될 수 있다. 상기 결정부(100)의 타단에는 상기 라벨부(300)의 일단이 화학적 결합에 따라 연결될 수 있다. 상기 결정부(100)의 타단과 상기 라벨부(300)의 일단은 직접적으로 연결될 수 있다. 또는, 상기 결정부(100)의 타단과 상기 라벨부(300)의 일단은 특정 화합물을 통해 연결될 수 있다.

[630] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 도 6(a) 내지 도 6(d)에 따른 핵산 복합체(1)에 있어서, 라벨부(300)를 더 포함하고, 상기 태그부(200), 연결부(400), 결정부(100), 라벨부(300) 순으로 연결되도록 구성되는, 핵산 복합체(1)가 제공될 수 있다.

[631]

[632] 지금까지, 본 출원의 몇몇 실시예에 따르는 핵산 복합체(1)에 대해서 구체적으로 개시하였다. 다만, 본 출원에 따른 핵산 복합체(1)는 전술한 각

구성요소 중 하나가 생략되거나, 별도의 구성요소를 더 구비하거나, 특정 구성요소를 복수개 구비하는 형태, 및/또는 일부 구성요소가 변형된 형태로 구현될 수 있다.

[633] 따라서, 본 출원에 따르는 권리 범위를 해석함에 있어, 권리 범위에 기재되어 있는 용어 및 청구항을 해석하는 기본 법리에 따라 본 출원에 따르는 권리 범위가 되어야 할 것이지, 권리 범위를 본 명세서에 개시된 구성 및 형태에 한정하여 해석하여서는 안될 것이다.

[634]

[635] 이하에서는, 적어도 둘 이상의 핵산 복합체(1)를 포함하는 핵산 복합체 페어(10)의 구성 및 동작에 대해서 구체적으로 개시하기로 한다.

[636]

[637] <핵산 복합체 페어(10)>

[638] 1. 핵산 복합체 페어(10)의 구성

[639] 도 9는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 설명하기 위한 도면이다.

[640]

[641] 본 출원의 일 실시예에 따르는 핵산 복합체 페어(10)는, 적어도 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다. 핵산 복합체 페어(10)는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)로 구성될 수 있다. 핵산 복합체 페어(10)는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)로 페어를 이루며 제공될 수 있다.

[642]

[643] 제1 핵산 복합체(110)는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1) 중 어느 하나의 핵산 복합체(1)일 수 있다. 상기 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 태그부(112), 제1 연결부(114) 및 제1 라벨부(113) 중 적어도 하나의 구성요소를 포함할 수 있다. 일 예로, 제1 핵산 복합체(110)는, 제1 결정부(111), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113) 및 제1 연결부(114)를 포함할 수 있다. 다른 예로, 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 태그부(112) 및 제1 라벨부(113)를 포함할 수 있다. 또 다른 예로, 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 태그부(112) 및 제1 연결부(114)를 포함할 수 있다. 또 다른 예로, 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111) 및 제1 태그부(112)를 포함할 수 있다.

[644] 제2 핵산 복합체(120)는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1) 중 어느 하나의 핵산 복합체(1)일 수 있다. 상기 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 태그부(122), 제2 연결부(124) 및 제2 라벨부(123) 중 적어도 하나의 구성요소를 포함할 수 있다. 일 예로, 제2 핵산 복합체(120)는, 제2 결정부(121), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123) 및 제2 연결부(124)를 포함할 수 있다. 다른 예로, 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 태그부(122) 및 제2

라벨부(123)를 포함할 수 있다. 또 다른 예로, 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 태그부(122) 및 제2 연결부(124)를 포함할 수 있다. 또 다른 예로, 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121) 및 제2 태그부(122)를 포함할 수 있다.

[645]

[646] 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소

[647] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110)는 상기 제2 핵산 복합체(120)와 구성요소의 구성이 동일할 수 있다.

[648] 일 예로, 상기 제1 핵산 복합체(110)가 제1 결정부(111) 및 제1 태그부(112)로 구성되는 경우, 제2 핵산 복합체(120)도 제2 결정부(121) 및 제2 태그부(122)로 구성될 수 있다.

[649] 다른 예로, 상기 제1 핵산 복합체(110)가 제1 결정부(111), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113) 및 제1 연결부(114)로 구성되는 경우, 제2 핵산 복합체(120)도 제2 결정부(121), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123) 및 제2 연결부(124)로 구성될 수 있다.

[650]

[651] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110)는 상기 제2 핵산 복합체(120)와 구성요소의 구성이 상이할 수 있다.

[652] 일 예로, 상기 제1 핵산 복합체(110)가 제1 결정부(111), 제1 태그부(112) 및 제1 라벨부(113)로 구성되는 경우, 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121) 및 제2 태그부(122)로 구성될 수 있다.

[653] 다른 예로, 상기 제1 핵산 복합체(110)가 제1 결정부(111), 제1 태그부(112) 및 제1 연결부(114)로 구성되는 경우, 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123) 및 제2 연결부(124)로 구성될 수 있다.

[654]

[655] 1.1 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소간 위치관계

[656] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110)의 구성요소간 위치관계와 상기 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소간 위치관계가 동일할 수 있다.

[657] 일 예로, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 상기 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소의 구성이 동일한 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110)의 구성요소의 위치관계와 상기 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소의 위치관계가 동일할 수 있다.

[658] 구체적인 예를 들어, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 결정부(100), 태그부(200) 및 라벨부(300)를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 결정부(100), 태그부(200), 라벨부(300) 순으로 연결된 형태일 수 있다.

[659]

[660] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110)의 구성요소의 위치관계와 상기 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소의 위치관계가 상이할 수 있다.

[661]

[662] 일 예로, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 상기 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소의 구성이 일부 상이하여, 상기 제1 핵산 복합체(110)의 구성요소의 위치관계와 상기 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소의 위치관계가 상이할 수 있다.

[663] 구체적인 예를 들어, 제1 핵산 복합체(110)가 제1 결정부(111), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113) 및 제1 연결부(114)를 포함하고, 제2 핵산 복합체(120)가 제2 결정부(121), 제2 태그부(122) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 연결부(114), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113) 순으로 연결된 형태이고, 상기 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123) 순으로 연결될 수 있다.

[664]

[665] 다른 예로, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 상기 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소의 구성이 동일한 경우에도, 상기 제1 핵산 복합체(110)의 구성요소의 위치관계와 상기 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소의 위치관계가 상이할 수 있다.

[666] 구체적인 예를 들어, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 결정부(100), 태그부(200), 라벨부(300) 및 연결부(400)를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110)는 결정부(100), 연결부(400), 태그부(200), 라벨부(300)순으로 연결된 형태이고, 상기 제2 핵산 복합체(120)는 결정부(100), 라벨부(300), 연결부(400), 태그부(200)순으로 연결된 형태일 수 있다.

[667]

[668] 1.2 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)의 구성요소간 기능

[669] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 대응되는 구성요소간의 기능이 동일할 수 있다.

[670] 여기서, 제1 결정부(111)에 대응되는 구성요소는 제2 결정부(121)일 수 있다. 제1 태그부(112)에 대응되는 구성요소는 제2 태그부(122)일 수 있다. 제1 라벨부(113)에 대응되는 구성요소는 제2 라벨부(123)일 수 있다. 제1 연결부(114)에 대응되는 구성요소는 제2 연결부(124)일 수 있다.

[671]

[672] 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120) 사이에 대응되는 구성요소간의 기능이 동일한 핵산 복합체 페어(10)의 일 예로, 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 PCR 프라이머로의 기능을 수행하고, 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)는 신호를 발생시키는(예를 들어, 광을 방출하거나, 산화/환원 반응을 수행) 기능을 수행할 수 있다.

[673]

[674] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 기능 상이한 구성요소를 포함할 수 있다.

[675] 일 예로, 상기 제1 라벨부(113)는 특정 신호를 발생시키는(예, 제1 파장 대역의 빛을 방출) 기능을 수행하고, 상기 제2 라벨부(123)는 상기 특정 신호를 흡수하는(예, 제1 파장 대역의 빛을 흡수) 기능을 수행할 수 있다.

[676] 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 서로 대응되는 구성요소간 기능이 상이한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 기능이 동일한 적어도 하나의 구성 요소를 포함할 수 있다.

[677] 일 예로, 상기 제1 라벨부(113)는 특정 신호를 발생시키는(예, 제1 파장 대역의 빛을 방출) 기능을 수행하고, 상기 제2 라벨부(123)는 상기 특정 신호를 흡수하는(예, 제1 파장 대역의 빛을 흡수) 기능을 수행할 수 있다. 이 때, 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 PCR 프라이머로의 기능을 수행할 수 있다.

[678] 또는, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 서로 대응되는 구성요소간 기능이 상이한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 기능이 동일한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하지 않을 수 있다.

[679] 일 예로, 상기 제1 라벨부(113)는 특정 신호를 발생시키는(예, 제1 파장 대역의 빛을 방출) 기능을 수행하고, 상기 제2 라벨부(123)는 상기 특정 신호를 흡수하는(예, 제1 파장 대역의 빛을 흡수) 기능을 수행할 수 있다. 이 때, 상기 제1 태그부(112)는 PCR 클램핑용 프로브의 기능을 수행하고, 상기 제2 태그부(122)는 PCR 클램핑용 프로브의 기능을 수행하지 않을 수 있다.

[680]

[681] 1.3 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)의 구성 물질

[682] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 대응되는 구성요소간의 구성 물질이 동일할 수 있다.

[683] 일 예로, 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)(제1 결정부(111)에 대응되는 구성요소)는 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성되고, 상기 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)(제1 태그부(112)에 대응되는 구성요소)는 위의 화학식 10의 중합체로 구성될 수 있다.

[684]

[685] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 대응되는 구성요소간 구성 물질이 상이한 구성요소를 포함할 수 있다.

[686] 일 예로, 상기 제1 결정부(111)는 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성되고, 상기

제2 결정부(121)(제1 결정부(111)에 대응되는 구성요소)는 PNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[687] 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 서로 대응되는 구성요소간 구성 물질이 상이한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 구성 물질이 동일한 적어도 하나의 구성 요소를 포함할 수 있다.

[688] 일 예로, 상기 제1 결정부(111)는 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성되고, 상기 제2 결정부(121)(제1 결정부(111)에 대응되는 구성요소)는 LNA 의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 이 때, 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)는 위의 화합물 10으로 구성될 수 있다.

[689] 또는, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 서로 대응되는 구성요소간 구성 물질이 상이한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 구성 물질이 동일한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하지 않을 수 있다.

[690] 일 예로, 상기 제1 결정부(111)는 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성되고, 상기 제2 결정부(121)(제1 결정부(111)에 대응되는 구성요소)는 LNA 의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 이 때, 상기 제1 태그부(112)는 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성되고, 상기 제2 태그부(122)는 PNA 의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 이 때, 상기 제1 라벨부(113)는 형광 분자로 구성되고, 상기 제2 라벨부(123)는 퀀처 분자로 구성될 수 있다.

[691]

[692] 1.4 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)의 물리적 특성

[693] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 대응되는 구성요소간 물리적 특성이 동일할 수 있다. 또는, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 물리적인 특성이 상이할 수 있다.

[694] 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 물리적인 특성이 상이한 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 물리적인 특성이 동일한 적어도 하나의 구성 요소를 포함할 수 있다.

[695] 또는, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 물리적인 특성이 상이한 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 물리적인 특성이 동일한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하지 않을 수 있다.

[696] 예시적으로, 상기 물리적인 특성은 물리적인 길이, 무게, 광학적 특성(예, 파장 대역, 세기), 특정 물질과의 결합력, 색, 열전도율 및/또는 강도일 수 있다.

[697]

[698] 이하에서는, 위의 여러가지 물리적인 특성 중 길이에 관련하여, 제1 핵산

복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)의 구체적인 실시예에 대해서 개시한다.

[699] 명세서의 지면상의 한계로, 물리적인 특성 중 다른 특성과 관련된 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)의 구체적인 실시예의 기재는 생략할 것이지만, 당업자는 다른 특성이 동일하거나 상이한 경우에의 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)에 대해서 용이하게 이해할 수 있을 것이고, 따라서, 본 명세서의 권리 범위를 해석함에 있어서 물리적인 특성이 길이로 한정되어서는 안될 것이다.

[700]

[701] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 대응되는 구성요소간 물리적인 길이가 동일할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 제1 결정부(111)가 10mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, DNA)인 경우, 제2 결정부(121)도 10mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, DNA)일 수 있다.

[702]

[703] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 물리적인 길이가 상이할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)가 10mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, DNA)이며, 제2 태그부(122)는 7mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, DNA)일 수 있다.

[704] 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 서로 대응되는 구성요소간 물리적인 길이가 상이한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 물리적 길이가 동일한 적어도 하나의 구성 요소를 포함할 수 있다.

[705] 일 예로, 제1 태그부(112)가 10mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, PNA)인 경우, 제2 태그부(122)는 7mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, PNA)일 수 있다. 이 때, 제1 결정부(111)가 10mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, DNA)인 경우, 제2 결정부(121)는 10mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, DNA)일 수 있다.

[706] 또는, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 서로 대응되는 구성요소간 물리적인 길이가 상이한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하는 경우, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 서로 대응되는 구성요소간 물리적 길이가 동일한 적어도 하나의 구성 요소를 포함하지 않을 수 있다.

[707] 일 예로, 제1 태그부(112)가 10mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, PNA)인 경우, 제2 태그부(122)는 7mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, PNA)일 수 있다. 이 때, 제1 결정부(111)가 17mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, DNA)인 경우, 제2 결정부(121)는 15mer의 길이를 갖는 단일 가닥의 핵산(예, DNA)일 수 있다.

[708]

[709] 지금까지, 핵산 복합체 페어(10)에 포함되는 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)의 구성에 대해서 구체적으로 살펴보았다.

[710] 이는 본 출원에 따르는 핵산 복합체 페어(10)에 대한 이해를 돕기위한 구체적인 실시예들을 개시한 것일 뿐, 핵산 복합체 페어(10)가 본 명세서에 개시되어 있는 구성으로만 한정하여 해석되어야 함을 의미하는 것은 아니다.

[711] 구체적으로, 본 출원에 따르는 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120) 이외에 추가적인 핵산 복합체(1)를 포함하는 형태로 제공될 수 있다.

[712] 또한, 핵산 복합체 페어(10)에 포함되는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 기 서술된 특성 이외의 구별되는 특성을 가질 수 있고, 또는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 기 서술된 특성 중 적어도 둘 이상이 구별되는 특성을 가질 수 있다.

[713]

[714] 이하에서는, 본 출원의 일 실시예에 따르는 핵산 복합체 페어(10)의 동작 및 예시들에 대해서 구체적으로 개시할 것이다. 이미 설명한바 있는 핵산 복합체 페어(10)의 구성 및 이하에서 설명하는 핵산 복합체 페어(10)의 동작 및 예시들에 따라서, 핵산 복합체 페어(10)의 용어적 의의 및 기능에 대해서는 보다 구체적으로 이해될 수 있을 것이다.

[715] 다만, 설명의 편의를 위해서, 필요에 따라 별도로 기재한 경우를 제외하고는, 핵산 복합체 페어(10)가 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)로 구성되고, 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 연결부(114), 제1 태그부(112) 및 제1 라벨부(113)를 포함하고, 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 연결부(124), 제2 태그부(122) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 것으로 가정하여 설명한다.

[716] 이는 불필요하게 각 경우에 따른 실시예들이 반복적으로 기재되는 것을 방지하기 위한 것이고, 이하에서 설명하는 다양한 실시예들에서 이용되는 핵산 복합체 페어(10)가 전술한 가정에 따라 한정적으로 해석되어야 함을 의미하는 것은 아니다.

[717]

[718] 2. 핵산 복합체 페어(10)의 동작

[719] 2.1 결정부(100)

[720] 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 결정부(111)는 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다. 여기서, "제1 타겟 염기 서열"이라 함은, 상기 제1 결정부(111)의 염기 서열의 적어도 일부와 상보적인 염기 서열을 의미할 수 있다.

[721] 상기 제1 결정부(111)와 상기 제1 타겟 염기 서열간의 상보적 결합은, 전기적, 화학적 또는 물리적 성질 중 적어도 하나의 성질이 대응되어 연관되는 것을 의미할 수 있다. 일 예로, 상기 제1 결정부(111)의 적어도 하나의 염기와 상기 제1 타겟 염기 서열과의 수소결합을 통해, 상기 제1 결정부(111)와 상기 제1 타겟

염기 서열은 상보적으로 결합할 수 있다.

[722]

[723] 상기 제1 결정부(111)와 상기 제1 타겟 염기 서열간의 결합력은, 상기 제1 타겟 염기 서열의 단위 분자의 종류, 상기 제1 타겟 염기 서열의 단위 분자의 염기의 종류, 제1 결정부(111)와의 상보적 결합에 관여하는 염기의 수 중 적어도 하나에 연관되어 결정될 수 있다.

[724] 상기 제1 결정부(111)와 상기 제1 타겟 염기 서열간의 결합력은, 상기 제1 결정부(111)의 단위 분자의 종류, 상기 제1 결정부(111)의 단위 분자의 염기의 종류, 제1 타겟 염기 서열과의 상보적 결합에 관여하는 염기의 수 중 적어도 하나에 연관되어 결정될 수 있다.

[725] 일 예로, 상기 제1 타겟 염기 서열과 결합하는 제1 결정부(111)의 단위 분자가 PNA의 단위 분자로 이루어진 경우가, 상기 제1 타겟 염기 서열과 결합하는 제1 결정부(111)의 단위 분자가 DNA의 단위 분자로 이루어진 경우에 비해, 상기 제1 타겟 염기 서열과 제1 결정부(111)간의 결합력이 강할 수 있다.

[726] 다른 예로, 상기 제1 타겟 염기 서열과 결합하는 제1 결정부(111)의 적어도 일부 영역에 포함된 염기가 C(시토신)-G(구아닌)의 함량이 높은 경우가, 상기 제1 타겟 염기 서열과 결합하는 제1 결정부(111)의 적어도 일부 영역에 포함된 염기가 C(시토신)-G(구아닌)의 함량이 낮은 경우에 비해, 상기 제1 타겟 염기 서열과 제1 결정부(111)간의 결합력이 강할 수 있다.

[727] 또 다른 예로, 상기 제1 타겟 염기 서열과 결합하는 제1 결정부(111)의 적어도 일부 영역에 포함된 염기가 10bp인 경우가, 상기 제1 타겟 염기 서열과 결합하는 제1 결정부(111)의 적어도 일부 영역에 포함된 염기가 5bp인 경우에 비해, 상기 제1 타겟 염기 서열과 제1 결정부(111)간의 결합력이 강할 수 있다.

[728]

[729] 본 출원의 일 실시예에 따른 제2 결정부(121)는 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다. 여기서, "제2 타겟 염기 서열"이라 함은, 상기 제2 결정부(121)의 염기 서열의 적어도 일부와 상보적인 염기 서열을 의미할 수 있다.

[730] 상기 제2 결정부(121)와 상기 제2 타겟 염기 서열간의 상보적 결합은, 전기적, 화학적 또는 물리적 성질 중 적어도 하나의 성질이 대응되어 연관되는 것을 의미할 수 있다. 일 예로, 상기 제2 결정부(121)의 적어도 하나의 염기와 상기 제2 타겟 염기 서열과의 수소결합을 통해, 상기 제2 결정부(121)와 상기 제2 타겟 염기 서열은 상보적으로 결합할 수 있다.

[731]

[732] 상기 제2 결정부(121)와 상기 제2 타겟 염기 서열간의 결합력은 상기 제2 타겟 염기 서열의 단위 분자의 종류, 상기 제2 타겟 염기 서열의 단위 단위 분자의 염기의 종류, 제2 결정부(121)와의 상보적 결합에 관여하는 염기의 수 중 적어도 하나에 연관되어 결정될 수 있다.

[733] 상기 제2 결정부(121)와 상기 제2 타겟 염기 서열간의 결합력은 상기 제2

결정부(121)의 단위 분자의 종류, 제2 결정부(121)의 단위 분자의 염기의 종류, 제2 타겟 염기 서열과의 상보적 결합에 관여하는 염기의 수 중 적어도 하나에 연관되어 결정될 수 있다.

[734] 일 예로, 상기 제2 타겟 염기 서열과 결합하는 제2 결정부(121)의 단위 분자가 PNA의 단위 분자로 이루어진 경우가, 상기 제2 타겟 염기 서열과 결합하는 제2 결정부(121)의 단위 분자가 DNA의 단위 분자로 이루어진 경우에 비해, 상기 제2 타겟 염기 서열과 제2 결정부(121)간의 결합력이 강할 수 있다.

[735] 다른 예로, 상기 제2 타겟 염기 서열과 결합하는 제2 결정부(121)의 적어도 일부 영역에 포함된 염기가 C(시토신)-G(구아닌)의 함량이 높은 경우가, 상기 제2 타겟 염기 서열과 결합하는 제2 결정부(121)의 적어도 일부 영역에 포함된 염기가 C(시토신)-G(구아닌)의 함량이 낮은 경우에 비해, 상기 제2 타겟 염기 서열과 제2 결정부(121)간의 결합력이 강할 수 있다.

[736] 또 다른 예로, 상기 제2 타겟 염기 서열과 결합하는 제2 결정부(121)의 적어도 일부 영역에 포함된 염기가 10bp인 경우가, 상기 제2 타겟 염기 서열과 결합하는 제2 결정부(121)의 적어도 일부 영역에 포함된 염기가 5bp인 경우에 비해, 상기 제2 타겟 염기 서열과 제2 결정부(121)간의 결합력이 강할 수 있다.

[737]

[738] 본 출원의 일 실시예에 따르면 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)는 서로 연관된 물질과 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 결정부(111)와 상보적으로 결합하는 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 타겟 핵산은, 상기 제2 결정부(121)와 상보적으로 결합하는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 타겟 핵산과 연관되어 있을 수 있다. 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 상기 제2 핵산 복합체(120)는 서로 연관된 물질에 작용할 수 있다. 상기 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)는 사후적으로 연관될 수 있다.

[739]

[740] 일 예로, 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 동일 핵산과 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 타겟 핵산과 상기 제2 타겟 핵산은 동일할 수 있다.

[741] 이 때, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열은 단일 가닥의 핵산에 포함되어 있을 수 있다.

[742] 또는, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열은 이중 가닥의 핵산에 포함되어 있되, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열은 이중 가닥 중 어느 하나의 가닥에 포함될 수 있다.

[743] 또는, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열은 이중 가닥의 핵산에 포함되어 있되, 제1 타겟 염기 서열은 이중 가닥 중 어느 하나의 가닥에 포함되며, 제2 타겟 염기 서열은 이중 가닥 중 다른 하나의 가닥에 포함되어 있을 수 있다.

[744]

[745] 도 10 및 11은 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)의 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[746]

[747] 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 연관된 물질에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 동일 핵산에 상보적으로 결합할 수 있다. 이 때, 동일 핵산은 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 핵산일 수 있다.

[748] 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열이 단일 가닥의 핵산에 포함되어 있는 경우, 상기 제1 결정부(111)는 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하고, 제1 타겟 염기 서열과는 다른 영역에 있는 제2 타겟 염기 서열에 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합할 수 있다. 이 때, 상기 제1 결정부(111)와 연결된 제1 태그부(112)와 상기 제2 결정부(121)와 연결된 제2 태그부(122)는, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)를 기준으로 일측에 위치될 수 있다(도 10(a) 참조).

[749] 또는, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열이 단일 가닥의 핵산에 포함되어 있는 경우, 상기 제1 결정부(111)는 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하고, 제1 타겟 염기 서열과는 다른 영역에 있는 제2 타겟 염기 서열에 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합할 수 있다. 이 때, 상기 제1 결정부(111)와 연결된 제1 태그부(112)와 상기 제2 결정부(121)와 연결된 제2 태그부(122)는, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)를 기준으로 타측에 위치될 수 있다(도 10(b) 참조).

[750]

[751] 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 연관된 물질에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 동일 핵산에 상보적으로 결합할 수 있다. 이 때, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열은 이중 가닥의 핵산에 포함되고, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열은 이중 가닥 중 어느 하나의 가닥에 포함될 수 있다.

[752] 상기 제1 결정부(111)는 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하고, 제1 타겟 염기 서열이 포함된 어느 하나의 가닥에 포함된 제2 타겟 염기 서열에 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합할 수 있다(도 11(a) 참조).

[753]

[754] 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 연관된 물질에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 동일 핵산에 상보적으로 결합할 수 있다. 이 때, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열은 이중 가닥의 핵산에 포함되고, 제1 타겟 염기 서열은 이중 가닥 중 어느 하나의 가닥에 포함되며, 제2 타겟 염기 서열은 이중 가닥 중 다른 하나의 가닥에 포함되어 있을 수 있다. 상기 제1 타겟 염기 서열에 대응되는 핵산의 일 영역 및 제2 타겟 염기 서열에 대응되는 핵산의 일 영역은 단일 가닥의 형태로 존재할 수

있다.

[755] 상기 제1 결정부(111)는 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하고, 제1 타겟 염기 서열이 포함된 어느 하나의 가닥과 다른 하나의 가닥에 포함된 제2 타겟 염기 서열에 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합할 수 있다(도 11(b) 참조).

[756]

[757] 도 11에 도시된 경우에 있어서도, 따로 도시하지는 않았지만 도 10에서 설명한 바와 같이, 상기 제1 결정부(111)와 연결된 제1 태그부(112) 및 상기 제2 결정부(121)와 연결된 제2 태그부(122)는, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)를 기준으로 일측에 위치될 수 있다.

[758]

[759] 본 출원의 다른 실시예에 따르면 제1 결정부(111)가 특이적으로 결합한 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 타겟 핵산 및 제2 결정부(121)가 특이적으로 결합한 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 타겟 핵산은 사후적으로 연관될 수 있다.

[760] 일 예로, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)가 PCR에서 이용되는 경우, 상기 제1 결정부(111)가 제1 타겟 염기 서열에 특이적으로 결합하고, 상기 제1 타겟 염기 서열에 상보적인 서열을 갖도록 상기 결정부(100)의 3` 말단에 뉴클레오타이드가 연장될 수 있다. 이 때, 상기 연장되어 생성된 폴리 뉴클레오타이드의 염기 서열이 상기 제2 타겟 핵산을 포함할 수 있다. 다시 말해, 상기 제1 결정부(111)의 3` 말단에 연장되어 생성된 폴리 뉴클레오타이드에 제2 타겟 염기 서열이 포함되어 있을 수 있다.

[761] 이러한 형태로, 상기 제1 타겟 핵산 및 제2 타겟 핵산은 사후적으로 연관될 수 있다. 이와 관련된 구체적인 실시예는, 이하에서 설명할 도 27 및 28에서 구체적으로 이해될 수 있을 것이다.

[762]

[763] 2.2 태그부(200)

[764] 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 태그부(112)는 타 핵산 복합체(1)(즉, 제1 핵산 복합체(110)가 아닌 핵산 복합체(1))에 상보적으로 결합할 수 있다.

[765] 일 예로, 제1 태그부(112)는 제2 핵산 복합체(120)의 제2 태그부(122)에 상보적으로 결합할 수 있다.

[766] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112)는 제2 태그부(122)의 화학적 구조와 상보적인 화학적 구조를 갖는 화합물을 포함할 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는, 제1 태그부(112)의 화학적 구조와 상보적인 화학적 구조를 갖는 화합물을 포함할 수 있다.

[767] 다른 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112)는, 제2 태그부(122)의 염기 서열과 상보적인 염기 서열을 포함할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는, 제2 태그부(122)의 염기 서열과 상보적인 염기 서열을 포함하는 핵산 및/또는 핵산 복합체(1)를 포함할 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는 상기 제1 태그부(112)의

염기 서열과 상보적인 염기 서열을 포함할 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는, 제1 태그부(112)의 염기 서열과 상보적인 염기 서열을 포함하는 핵산 및/또는 핵산 복합체(1)를 포함할 수 있다.

[768]

[769] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122)의 결합 방향에 따라, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)의 결합 방향이 달라질 수 있다.

[770] 일 예로, 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122)의 외측으로 노출된 원소 배열(즉, 원소간 거리 및 원소의 종류 등)에 따라, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)의 결합 방향이 달라질 수 있다. 다른 예로, 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122)의 염기서열에 따라, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)의 결합 방향이 달라질 수 있다.

[771] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112)의 5` 말단부터 3` 말단방향으로 나열된 염기 서열과 상기 제2 태그부(122)의 5` 말단부터 3` 말단방향으로 나열된 염기 서열 사이의 관계에 따라, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)의 결합 방향이 달라질 수 있다.

[772]

[773] 도 12는 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)가 결합되는 방향을 설명하기 위한 도면이다.

[774]

[775] 도 12(a)를 참조하면, 제1 태그부(112)는, 제1 결정부(111)에 인접한 제1 태그부(112)의 일 영역이 제2 결정부(121)로부터 이격된 제2 태그부(122)의 일 영역과 상보적으로 결합되도록, 제2 태그부(122)에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 제2 태그부(122)는, 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역이 제1 결정부(111)로부터 이격된 제1 태그부(112)의 일 영역과 상보적으로 결합되도록, 제1 태그부(112)에 상보적인 서열을 포함할 수 있다.

[776] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 결정부(100), 연결부(400), 태그부(200), 라벨부(300) 순으로 연결되는 형태로 구현될 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는, 제1 연결부(114)와 인접한 제1 태그부(112)의 염기서열부터 나열하여, CCCCCAAAA의 염기 서열을 가질 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는, 제2 연결부(124)와 인접한 제2 태그부(122)의 염기서열부터 나열하여, TTTTGGGGG의 염기 서열을 가질 수 있다.

[777] 바람직하게는, 상기 제1 태그부(112)는 제1 연결부(114)와 인접한 제1 태그부(112)의 염기서열부터 나열하여, 5`-CCCCCAAAA-3`의 염기 서열을 가질 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는, 제2 연결부(124)와 인접한 제2 태그부(122)의 염기서열부터 나열하여, 5`-TTTTGGGGG-3`의 염기 서열을 가질 수 있다.

[778] 또는, 바람직하게는, 상기 제1 태그부(112)는 제1 연결부(114)와 인접한 제1 태그부(112)의 염기서열부터 나열하여, 3`-CCCCCAAAA-5`의 염기 서열을 가질

수 있다. 상기 제2 태그부(122)는, 제2 연결부(124)와 인접한 제2 태그부(122)의 염기서열부터 나열하여, 3`-TTTTGGGGG-5`의 염기 서열을 가질 수 있다.

[779] 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역이 제1 결정부(111)로부터 이격된 제1 태그부(112)의 일 영역과 상보적으로 결합되도록 핵산 복합체 페어(10)가 구현되는 경우, 상기 제1 결정부(111)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 기준으로 일측에 위치되고, 상기 제2 결정부(121)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 기준으로 타측에 위치될 수 있다.

[780] 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역이 제1 결정부(111)로부터 이격된 제1 태그부(112)의 일 영역과 상보적으로 결합되도록 핵산 복합체 페어(10)가 구현되는 경우, 상기 제1 결정부(111)가 제1 태그부(112)에 연결된 부분은 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 관통하는 가상의 일면을 기준으로 제1 측에 위치되고, 상기 제2 결정부(121)가 제2 태그부(122)에 연결된 부분은 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 관통하는 가상의 일면을 기준으로 제2 측에 위치될 수 있다. 제1 측 및 제2 측은 상기 가상의 일면을 기준으로 다른측에 있을 수 있다.

[781]

[782] 도 12(b)를 참조하면, 제1 태그부(112)는, 제1 결정부(111)에 인접한 제1 태그부(112)의 일 영역이 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역과 상보적으로 결합되도록, 제2 태그부(122)에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 제2 태그부(122)는, 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역이 제1 결정부(111)에 인접한 제1 태그부(112)의 일 영역과 상보적으로 결합되도록, 제1 태그부(112)에 상보적인 서열을 포함할 수 있다.

[783] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 결정부(100), 연결부(400), 태그부(200), 라벨부(300) 순으로 연결되는 형태로 구현될 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는, 제1 연결부(114)와 인접한 제1 태그부(112)의 염기서열부터 나열하여, CCCCCAAAA의 염기 서열을 가질 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는, 제2 연결부(124)와 인접한 제2 태그부(122)의 염기서열부터 나열하여, GGGGGTTTT의 염기 서열을 가질 수 있다.

[784] 바람직하게는, 상기 제1 태그부(112)는 제1 연결부(114)와 인접한 제1 태그부(112)의 염기서열부터 나열하여, 5`-CCCCCAAAA-3`의 염기 서열을 가질 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는, 제2 연결부(124)와 인접한 제2 태그부(122)의 염기서열부터 나열하여, 3`-GGGGGTTTT-5`의 염기 서열을 가질 수 있다.

[785] 또는, 바람직하게는, 상기 제1 태그부(112)는 제1 연결부(114)와 인접한 제1 태그부(112)의 염기서열부터 나열하여, 3`-CCCCCAAAA-5`의 염기 서열을 가질 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는, 제2 연결부(124)와 인접한 제2 태그부(122)의 염기서열부터 나열하여, 5`-GGGGGTTTT-3`의 염기 서열을 가질 수 있다.

[786] 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역이 제1 결정부(111)에 인접한 제1 태그부(112)의 일 영역과 상보적으로 결합되도록 핵산 복합체

페어(10)가 구현되는 경우, 상기 제1 결정부(111)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 기준으로 일측에 위치되고, 상기 제2 결정부(121)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 기준으로 일측에 위치될 수 있다.

[787] 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역이 제1 결정부(111)에 인접한 제1 태그부(112)의 일 영역과 상보적으로 결합되도록 핵산 복합체 페어(10)가 구현되는 경우, 상기 제1 결정부(111)가 제1 태그부(112)에 연결된 부분은 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 관통하는 가상의 일면을 기준으로 제1 측에 위치되고, 상기 제2 결정부(121)가 제2 태그부(122)에 연결된 부분은 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 관통하는 가상의 일면을 기준으로 제2 측에 위치될 수 있다. 상기 제1 측 및 상기 제2 측은 상기 가상의 일면을 기준으로 같은 측에 있을 수 있다.

[788]

[789] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122)의 염기 서열에 따라, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)와 연관된 타 물질의 형상이 변경될 수 있다. 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122)의 염기 서열에 따라, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 적어도 하나의 타겟 핵산의 형상이 변경될 수 있다. 이와 관련하여서는, 아래의 목차 1.2 2차 구조체의 형성에서 구체적으로 기재하기로 한다.

[790]

[791] 이하에서는, 필요에 따라 별도로 기재한 경우를 제외하고는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적인 결합을 설명함에 있어, 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역이 제1 결정부(111)에 이격된 제1 태그부(112)의 일 영역과 상보적으로 결합되는 것을 가정하여 설명한다.

[792] 이는, 불필요하게 반복적으로 기재되는 것을 방지하기 위함이고, 상기 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적인 결합이, 제2 결정부(121)에 인접한 제2 태그부(122)의 일 영역이 제1 결정부(111)에 인접한 제1 태그부(112)의 일 영역과 상보적으로 결합되는 것을 포함하지 않는 것을 상정하는 것이 아님을 분명히 할 것이다.

[793]

[794] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는, 상기 제2 태그부(122)의 적어도 일부 영역에 상보적으로 결합할 수 있다.

[795] 일 예로, 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)의 전체 영역에 상보적으로 결합할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열은 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열 전부에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)와 결합하지 않은 염기를 가지고 있지 않을 수 있다. 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열은 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열 전부에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는 상기 제1

태그부(112)의 염기 서열과 결합을 하지 않은 염기를 가지고 있지 않을 수 있다.

[796] 다른 예로, 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 가지되, 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열은 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열과 적어도 하나의 염기 서열이 상이할 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 가지되, 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열은 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열과 적어도 하나의 염기 서열이 상이할 수 있다. 이 때, 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)에 포함된 서로 상보적인 염기 서열 간의 결합을 기초로 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)는 미스매치되어 결합될 수 있다.

[797] 다른 예로, 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)의 일부 영역에 상보적으로 결합할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열은 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열 중 일부 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)와 결합하지 않은 염기를 가지고 있지 않을 수 있다. 상기 제2 태그부(122)는 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열과 결합을 하지 않은 염기를 포함하고 있을 수 있다.

[798]

[799] 도 13은 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합을 설명하기 위한 도면이다.

[800]

[801] 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)의 일부 영역에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열과 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열은 서로 상보적으로 결합하는 영역을 가지되, 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열과 상보적으로 결합하지 않는 영역을 더 포함할 수 있다.

[802]

[803] 상기 제1 태그부(112)와 상기 제2 태그부(122)의 상보적 결합을 형성하는 영역(BR)은, 상기 제1 태그부(112)의 상기 제2 태그부(122)와의 상보적 결합을 형성하지 않는 영역(NBR)에 비해, 제1 태그부(112)와 제1 결정부(111)가 연결되는 부분에 상대적으로 인접할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)의 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하는 염기는, 상기 제1 태그부(112)의 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지 않는 염기에 비해 상기 제1 결정부(111)에 인접하게 형성될 수 있다 (도 13(a) 참조).

[804] 상기 제1 태그부(112)와 상기 제2 태그부(122)의 상보적 결합을 형성하는 영역(BR)은, 상기 제1 태그부(112)의 상기 제2 태그부(122)와의 상보적 결합을 형성하지 않는 영역(NBR)에 비해, 제1 태그부(112)와 제1 결정부(111)가 연결되는 부분에 상대적으로 이격되어 있을 수 있다. 상기 제1 태그부(112)의 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하는 염기는, 상기 제1 태그부(112)의 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지 않는 염기에 비해 상기 제1

결정부(111)로부터 이격되어 형성될 수 있다(도 13(b) 참조).

[805] 상기 제1 태그부(112)와 상기 제2 태그부(122)의 상보적 결합을 형성하는 영역(BR)은 상기 제1 태그부(112)의 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지 않는 제1 영역(NBR) 및 상기 제1 태그부(112)의 제2 태그부(122)와 결합하지 않는 제2 영역(NBR) 사이에 위치할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는, 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지 않는 제1 타겟 염기 서열, 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하는 제2 타겟 염기 서열, 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지않는 제3 염기 서열을 포함할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는, 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지않는 제1 타겟 염기 서열, 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하는 제2 타겟 염기 서열, 상기 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지 않는 제3 염기 서열 순으로 연결되어 형성될 수 있다(도 13(c) 참조).

[806]

[807] 경우에 따라서, 상기 제1 태그부(112)가 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열과 상보적으로 결합하지 않는 염기 서열을 더 포함하는 경우, 상기 제2 태그부(122)도 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열과 상보적으로 결합하지 않는 염기 서열을 더 포함할 수 있다.

[808] 일 예로, 상기 제2 태그부(122)의 상기 제1 태그부(112)와 상보적으로 결합하지 않는 염기는, 상기 제1 태그부(112)와 상기 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합된 영역의 제1 방향(예, 제2 태그부(122)를 기준으로 5`말단에서 3`말단으로 향하는 방향)으로 형성되어 있을 수 있다.

[809] 다른 예로, 상기 제2 태그부(122)의 상기 제1 태그부(112)와 상보적으로 결합하지 않는 염기는, 상기 제1 태그부(112)와 상기 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합된 영역의 제2 방향(예, 제2 태그부(122)를 기준으로 3`말단에서 5`말단으로 향하는 방향)으로 형성되어 있을 수 있다.

[810] 또 다른 예로, 상기 제2 태그부(122)의 상기 제1 태그부(112)와 상보적으로 결합하지 않는 염기는, 상기 제1 태그부(112)와 상기 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합된 영역의 제1 방향(예, 제2 태그부(122)를 기준으로 5`말단에서 3`말단으로 향하는 방향) 및 제2 방향(예, 제2 태그부(122)를 기준으로 3`말단에서 5`말단으로 향하는 방향)으로 형성되어 있을 수 있다.

[811]

[812] 2.3 라벨부(300)

[813] 본 출원의 일 실시예에 따르면 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 핵산 복합체 페어(10)를 표지하는데에 관여할 수 있다. 일 예로, 제1 라벨부(113)는 제2 라벨부(123)와 연계된 작용을 통해 핵산 복합체 페어(10)를 표지하는데에 관여할 수 있다. 상기 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)와 연계된 작용을 통해 핵산 복합체 페어(10)를 표지하는데에 관여할 수 있다.

[814]

[815] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 연계될 수 있다. 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)가 연계된 작용을 수행할 수 있을만큼 인접한 거리에 배치될 때, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계된 작용(이하, 연계 작용)이 발생될 수 있다.

[816] 일 예로, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 상보적 결합을 통해 연계 작용이 발생하게 될 수 있다.

[817] 다른 예로, 제1 결정부(111)가 결합하는 제1 타겟 염기 서열 및 제2 결정부(121)가 결합하는 제2 타겟 염기 서열이 연관성을 가지고 있는 경우, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 발생될 수 있다.

[818]

[819] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이에서 에너지 전달이 발생하는 형태로, 연계 작용이 수행될 수 있다.

[820] 에너지가 전달되는 일 양상으로는, 제1 라벨부(113)가 제2 라벨부(123)에 에너지를 제공하고, 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)로부터 에너지를 제공받는 형태일 수 있다. 에너지가 전달되는 다른 양상으로는, 제2 라벨부(123)가 제1 라벨부(113)에 에너지를 제공하고, 제1 라벨부(113)는 제2 라벨부(123)로부터 에너지를 제공받는 형태일 수 있다. 에너지가 전달되는 또 다른 양상으로는, 제1 라벨부(113)는 제2 라벨부(123)에 에너지를 제공하며, 제2 라벨부(123)로부터 에너지를 제공받는 형태일 수 있다. 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)에 에너지를 제공하며, 제1 라벨부(113)로부터 에너지를 제공받는 형태일 수 다.

[821] 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이에서 에너지의 전달이 발생하였는지 여부에 따라, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용을 통해 발생되는 물리적 성질이 달라질 수 있다. 상기 물리적 성질은 화학적, 전기적, 광학적 및 자기적 성질 중 적어도 하나일 수 있다. 구체적인 예를 들어, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 발생하였는지 여부에 따라 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)로부터 검출되는 광학적 특성이 달라질 수 있다. 상기 달라지는 광학적 특성은, 광의 세기의 변화, 광의 파장대의 변화 등이 있을 수 있다.

[822] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계된 작용이 발생하였는지 여부에 따라 달라진 물리적 성질에 기초하여, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 연계 여부를 확인할 수 있다. 그 결과, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 연계 여부에 따라 핵산 복합체 페어(10)의 정보를 확인하는 형태로 핵산 복합체 페어(10)가 표지될 수 있다.

[823]

[824] 이하에서는, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 동작에 대해서 보다 구체적인 설명한다.

[825] 다만, 이해를 돕기 위해, 제1 라벨부(113)는 빛이 입사되면 제1 파장대의 빛을

방출하는 형광 분자이고, 제2 라벨부(123)는 제1 파장대의 빛이 입사되면 빛을 흡수하는 블랙홀 퀀처 분자인 것으로 가정하여 설명한다.

[826]

[827] 도 14는 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[828]

[829] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)는, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 "연계작용유효거리(LD)"가 정의될 수 있다.

[830] 여기서, "연계작용유효거리(LD)"라 함은, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 수행될 수 있는, 제1 라벨부(113) 또는 제2 라벨부(123)로부터의 기준이격거리를 의미할 수 있다. 여기서, "연계작용유효거리(LD)"라 함은, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 수행될 수 있는, 제1 라벨부(113)로부터 제2 라벨부(123)의 이격 정도의 임계거리를 의미할 수 있다. 여기서, "연계작용유효거리(LD)"라 함은, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 수행될 수 있는, 제2 라벨부(123)로부터 제1 라벨부(113)의 이격 정도의 임계거리를 의미할 수 있다.

[831]

[832] 연계작용유효거리(LD)는, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 성질에 기초하여 결정될 수 있다. 다시 말해, 제1 라벨부(113)가 형광 분자, 제2 라벨부(123)가 퀀처 분자인 경우, 연계작용유효거리(LD)는 형광 분자 및 퀀처 분자 사이의 특성에 따라 결정될 수 있다. 일 예로, 상기 퀀처 분자가 상기 형광 분자로부터 100Å(옴스트롱)의 범위 이내에 있을 때 연계 작용이 수행되는 특성을 가지는 경우, 연계작용유효거리(LD)는 100Å일 수 있다.

[833]

[834] 상기 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)가 서로 인접하게 배치되어 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123) 사이의 거리가 연계작용유효거리(LD)이내인 경우, 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)는 연계 작용이 수행될 수 있다(도 14(a) 참조).

[835] 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)가 연계된 작용을 수행하는 경우, 제1 라벨부(113)는 제1 파장대의 빛을 방출하되, 제2 라벨부(123)는 제1 파장대의 빛을 흡수할 수 있다. 그 결과, 광학 기기를 통해 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광을 검출하는 경우, 상기 단위셀(UC)로부터 제1 파장대의 빛이 검출되지 않을 수 있다. 또는, 그 결과, 광학 기기를 통해 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광을 검출하는 경우, 상기 단위셀(UC)로부터 검출되는 제1 파장대의 빛의 세기가 감소될 수 있다.

[836]

[837] 상기 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)가 이격되어 상기 제1 라벨부(113) 및

상기 제2 라벨부(123) 사이의 거리가 연계작용유효거리(LD)를 초과하는 경우, 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)는 연계 작용이 수행되지 않을 수 있다(도 14(b) 참조).

[838] 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)가 연계 작용을 수행하지 않는 경우, 제1 라벨부(113)는 제1 파장대의 빛을 방출하고, 제2 라벨부(123)는 제1 파장대의 빛을 방출하지 않을 수 있다. 그 결과, 광학 기기를 통해 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)(예를 들어, 튜브)의 광을 검출하는 경우, 상기 단위셀(UC)로부터 제1 파장대의 빛이 검출될 수 있다.

[839]

[840] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 라벨부(113)와 제2 라벨부(123) 사이의 거리는, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합 여부에 기초하여 달라질 수 있다. 제1 라벨부(113)와 제2 라벨부(123) 사이의 거리는, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합 여부에 기초하여 결정될 수 있다.

[841] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 결합되어 있는 경우, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 인접하게 배치될 수 있다. 상기 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 서로 상보적으로 결합되어 있는 경우, 제1 태그부(112)에 연결된 제1 라벨부(113) 및 제2 태그부(122)에 연결된 제2 라벨부(123)는 인접하게 배치될 수 있다.

[842] 또한, 상기 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 결합되어 있지 않은 경우, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 이격되어 배치될 수 있다. 상기 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 서로 상보적으로 결합되어 있지 않은 경우, 제1 태그부(112)에 연결된 제1 라벨부(113) 및 제2 태그부(122)에 연결된 제2 라벨부(123)는 이격되어 배치될 수 있다.

[843] 따라서, 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합 여부에 기초하여 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 수행 여부가 결정될 수 있다.

[844]

[845] 도 15는 본 출원의 일 실시예에 따른, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용에 따른 파장대역(WL)별 형광값(F) 그래프이다.

[846]

[847] 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용은, 광학적 특성의 변화를 유발할 수 있다. 상기 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 이전의 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광학적 특성과, 상기 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 이후의 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광학적 특성은 다를 수 있다.

[848] 일 예로, 광학 기기를 통해 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광을 검출하는 경우, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의

연계 작용은 검출되는 신호의 파장대(예; 빛의 파장대)의 변화를 유발할 수 있다.

[849] 다른 예로, 광학 기기를 통해 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광을 검출하는 경우, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용은 특정 파장대에서의 신호의 세기의 변화를 유발할 수 있다.

[850] 또 다른 예로, 광학 기기를 통해 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광을 검출하는 경우, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용은 광학 기기의 설정 또는 한계 등으로 인해 신호의 온(On)/오프(Off)가 변경되도록하는 변화를 유발할 수 있다.

[851]

[852] 구체적인 예를 들어, 광학 기기를 통해 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광을 검출하는 때에, 단위셀(UC)의 검출값이 상기 광학 기기의 형광 임계치(TF)를 초과하는 상태에서 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)의 연계 작용이 발생하는 경우, 상기 단위셀(UC)의 검출값이 형광 임계치(TF) 미만으로 감소될 수 있다 (도 15(a) 참조).

[853] 여기서, 형광 임계치(TF)는, 상기 광학 기기의 설정 또는 광학 기기의 한계 등으로 결정된, 상기 광학 기기를 통해 형광값을 검출할 수 있는 최저 형광값일 수 있다.

[854] 초기 상태(즉, 단위셀(UC)의 검출값이 광학 기기의 형광 임계치(TF)를 초과함)에서 연계 작용에 따라 상기 단위셀(UC)의 검출값이 형광 임계치(TF) 미만으로 감소되는 경우, 상기 광학 기기의 신호는 온(on) 상태에서 오프(off)상태로 변경되는 양상을 보일 수 있다.

[855] 또는, 초기 상태에서 연계 작용에 따라 상기 단위셀(UC)의 검출값이 형광 임계치(TF) 미만으로 감소되는 경우, 상기 광학 기기의 신호는 단위셀(UC)의 형광값을 연속적으로 검출하다가, 오프(off)상태로 변경되는 양상을 보일 수 있다.

[856]

[857] 다른 구체적인 예를 들어, 광학 기기를 통해 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)의 광을 검출하는 때에, 단위셀(UC)의 검출값이 검출 영역(DR)에서 형광 임계치(TF)를 초과하는 상태에서 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)의 연계 작용이 발생하는 경우, 상기 단위셀(UC)의 검출값이 상기 검출 영역(DR)에서 형광 임계치(TF) 미만으로 감소될 수 있다 (도 15(b) 참조).

[858] 여기서, 검출 영역(DR)은 상기 광학 기기의 설정 또는 광학 기기의 한계 등으로 결정된 상기 광학 기기를 통해 형광값을 검출할 수 있는 파장 대역 범위일 수 있다.

[859] 여기서, 형광 임계치(TF)는 상기 광학 기기에 설정 또는 광학 기기의 한계 등으로 결정된 상기 광학 기기를 통해 형광값을 검출할 수 있는 최저 형광값일 수 있다.

[860] 초기 상태(즉, 단위셀(UC)의 검출값이 광학 기기의 검출 영역(DR)에서 형광 임계치(TF)를 초과함)에서 연계 작용에 따라 상기 단위셀(UC)의 검출값이 검출 영역(DR)에서 형광 임계치(TF) 미만으로 감소되는 경우, 상기 광학 기기의 신호는 온(on) 상태에서 오프(off)상태로 변경되는 양상을 보일 수 있다.

[861] 초기 상태에서 연계 작용에 따라 상기 단위셀(UC)의 검출값이 검출 영역(DR)에서 형광 임계치(TF) 미만으로 감소되는 경우, 상기 광학 기기의 신호는 단위셀(UC)의 형광값을 연속적으로 검출하다가, 오프(off)상태로 변경되는 양상을 보일 수 있다.

[862]

[863] 2.4 연결부(400)

[864] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 연결부(114)는 PCR이 수행되는 경우에 제1 태그부(112)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다. 또한, 제2 연결부(124)는 PCR이 수행되는 경우에 제2 태그부(122)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[865] 상기 제1 연결부(114) 및 제2 연결부(124)는 PCR이 수행된 이후에도, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 단일 가닥의 핵산으로 유지되도록 할 수 있다. 단일 가닥의 핵산인 상기 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 특정 환경 조건 내에서 상보적으로 결합할 수 있다.

[866]

[867] 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 연결부(114) 및 제2 연결부(124)는, PCR이 수행되는 경우에 핵산 복합체 페어(10)와 연관되어 생성되는 증폭산물의 길이가 일정하게 유지되도록 할 수 있다. 이와 관련하여서는, 이하 목차 1. 핵산 복합체 페어(10)의 활용 #1- PCR에서 보다 구체적으로 설명하기로 한다.

[868]

[869] 지금까지 본 출원에서 개시하는 핵산 복합체 페어(10)의 구성 및 일반적인 동작에 대해서 개시하였다.

[870]

[871] 본 출원에 따르는 핵산 복합체 페어(10)는 핵산이 이용되는 다양한 분야에서 이용될 수 있다.

[872] 예를 들어, 핵산 복합체 페어(10)는 플라스미드의 합성, DNA 칩의 제작, DNA 시퀀싱을 위한 프라이머로써 활용될 수 있다. 다른 예를 들어, 핵산 복합체 페어(10)는 PCR에서 특정 염기 서열에 대한 증폭을 방지하기 위해 활용될 수 있다. 또 다른 예를 들어, 핵산 복합체 페어(10)는 샘플내의 타겟 핵산의 유무를 확인하기 위해 활용될 수 있다.

[873]

[874] 이하에서는, 핵산 복합체(1) 및 핵산 복합체 페어(10)의 활용에 대한 구체적인 실시 태양에 대해서 자세하게 설명하기로 한다.

[875] 다만, 설명의 편의를 위해서, 필요에 따라 별도로 기재한 경우를 제외하고는

제1 결정부(111)는 포워드 프라이머, 제2 결정부(121)는 리버스 프라이머인 것을 가정하고, 제1 연결부(114) 및 제2 연결부(124)는 PCR 블로커인 것을 가정하며, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 DNA로 이루어진 단일 가닥인 것으로 가정하며, 제1 라벨부(113)는 형광 분자, 제2 라벨부(123)는 퀀처 분자인 것을 가정하여 설명한다.

[876] 이는 불필요하게 반복적으로 기재되는 것을 방지하기 위함인바, 상기 제1 결정부(111), 제1 연결부(114), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113), 제2 결정부(121), 제2 연결부(124), 제2 태그부(122) 및 제2 라벨부(123)는 기 서술된 물질, 구성, 예시 및 본 명세서의 전 취지에 의해 합리적으로 해석되어야 할 것이지, 상기 제1 결정부(111), 제1 연결부(114), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113), 제2 결정부(121), 제2 연결부(124), 제2 태그부(122) 및 제2 라벨부(123)가 전술한 가정에 의해 한정 해석 되어서는 안될 것이다.

[877]

[878] <핵산 복합체(1)의 활용>

[879] 1. 핵산 복합체(1)의 활용 #1 - PCR 클램핑

[880] 1.1 핵산 복합체(1)의 구성

[881] 도 16은 본 출원의 일 실시예에 따른, PCR 클램핑을 수행할 수 있는 핵산 복합체(1)를 설명하기 위한 도면이다.

[882]

[883] 본 출원의 일 실시예에 따르면, PCR 클램핑을 수행할 수 있는 핵산 복합체(1)는 적어도 결정부(100) 및 태그부(200)를 포함할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 결정부(100), 태그부(200) 및 연결부(400)를 포함할 수 있다.

[884]

[885] 상기 결정부(100)는 PCR을 개시하는 포워드 프라이머(forward primer) 또는 리버스 프라이머(reverse primer)일 수 있다. 이에 대한 구체적인 설명은 위의 목차 1.1.1.3.2 프라이머에서 기재하였는바, 중복되는 내용은 기재하지 않기로 한다.

[886]

[887] 상기 태그부(200)는 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 단일 가닥체일 수 있다. 상기 태그부(200)는 PCR 클램핑용 프로브일 수 있다. 상기 태그부(200)의 염기 서열은 상기 결정부(100)의 염기 서열과 적어도 하나가 상이할 수 있다. 이에 대한 구체적인 설명은 위의 목차 1.1.2.3.2 PCR 클램핑용 프로브에서 기재하였는바, 중복 내용은 기재하지 않기로 한다.

[888]

[889] 상기 연결부(400)는 소정의 길이를 가지는 화합물일 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 연결부(400)는 PCR용 블로커일 수 있다. 이에 대한 구체적인 설명은 위의 목차 3.1.1.3.1 PCR용 블로커(blocker) 에서 기재하였는바, 중복 내용은 기재하지 않기로 한다.

[890]

[891] 1.2 핵산 복합체(1)의 동작

[892] 1.2.1 PCR일반

[893] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)는 PCR에서 이용될 수 있다.

[894]

[895] 도 17은 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 단계를 설명하기 위한 도면이다.

[896]

[897] 상기 PCR 단계는 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)를 포함할 수 있다.

[898]

[899] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체(1)를 포함하는 단위셀(UC)에 대한 PCR단계가 진행될 수 있다. 핵산 복합체(1)를 포함하는 단위셀(UC)은, PCR 반응을 진행하기 위해 온도가 변화되는 단위셀(UC)일 수 있다. 핵산 복합체(1)를 포함하는 단위셀(UC)은, PCR 반응을 진행하기 위해 다수의 시료가 제공되는 단위셀(UC)일 수 있다. 일 예로, 단위셀(UC)은, PCR 반응이 진행되는 튜브(tube)일 수 있다.

[900]

[901] 상기 단위셀(UC)에는 적어도 하나의 시료가 제공될 수 있다. 상기 단위셀(UC)에는 PCR 단계에서 이용되는 적어도 하나의 시료가 제공될 수 있다. 예를 들어, 상기 단위셀(UC)에는 핵산 복합체(1)가 포함될 수 있다. 상기 단위셀(UC)에는, 중합 반응을 수행하는데 관여하는 중합 효소(예; 폴리머레이즈), 염기 조각(예; 디옥시뉴클레오타이드 삼인산(dNTP)), PCR에 관여하는 조효소(예; MgCl2, MgSO4), PCR에 최적 pH 및/또는 염농도를 제공하기 위해 완충용액(buffer) 중 적어도 하나가 더 포함될 수 있다.

[902]

[903] 상기 단위셀(UC)에 대한 PCR 단계는, 일반적으로, 1) 단위셀(UC)의 온도를 조절하여 이중 가닥의 DNA를 분리하는 열변성 단계(S2000)(denaturation step), 2) 단위셀(UC)의 온도를 조절하여 프라이머가 특정 염기 서열을 포함하는 타겟 핵산(예를 들어, 분리된 단일 가닥의 DNA)에 결합하도록 하는 어닐링 단계(S3000)(annealing step), 3) 단위셀(UC)의 온도를 조절하여 상기 타겟 핵산에 대한 증폭 산물이 상기 타겟 핵산에 결합된 프라이머의 일단에 생성되는 중합 반응 단계(S4000)(extension step)를 포함할 수 있다.

[904]

[905] 상술한 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000), 및 중합 반응 단계(S4000)는 순차적으로 반복하여 수행될 수 있다.

[906] 상기 열변성 단계(S2000)에서 조절되는 온도는 이중 가닥의 DNA가 분리되도록 하는 온도일 수 있다. 바람직하게는, 상기 열변성 단계(S2000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 80℃를 초과한 상태로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기

열변성 단계(S2000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 90℃를 초과한 상태로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 열변성 단계(S2000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 95℃를 초과한 상태로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 열변성 단계(S2000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 95℃로 유지될 수 있다.

[907] 상기 어닐링 단계(S3000)에서 조절되는 온도는 프라이머가 타겟 핵산에 결합하도록 하는 온도일수 있다. 바람직하게는, 상기 어닐링 단계(S3000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 40~60℃정도로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 어닐링 단계(S3000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 45~55℃정도로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 어닐링 단계(S3000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 50℃정도로 유지될 수 있다.

[908] 상기 중합 반응 단계(S4000)에서 조절되는 온도는, 상기 타겟 핵산에 결합된 프라이머의 일단에 상기 타겟 핵산에 대한 증폭 산물이 생성되도록 하는 온도일수 있다. 바람직하게는, 상기 중합 반응 단계(S4000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 50~70℃정도로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 어닐링 단계(S3000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 55~65℃정도로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 어닐링 단계(S3000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 60℃정도로 유지될 수 있다.

[909]

[910] 이하에서는, 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 클램핑을 수행할 수 있는 핵산 복합체(1)가 단위셀(UC)(예, 튜브)에 제공되는 경우에 있어서, PCR이 진행됨에 따른 핵산 복합체(1)의 모식도에 대해서 구체적으로 개시한다.

[911]

[912] 1.2.2 핵산 복합체(1)의 동작

[913] 도 18 및 19는 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 클램핑을 수행할 수 있는 핵산 복합체(1)의 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[914]

[915] 도 18을 참조하면, 열변성 단계(S2000)에서는, 단위셀(UC)내에 존재하는 이중 가닥의 DNA가 단일 가닥의 DNA로 변성될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는, 이중 가닥의 DNA가 2개의 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는, 2개의 단일 가닥의 DNA 간의 수소 결합을 통해 형성된 이중 가닥의 DNA가 2개의 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다.

[916] 열변성 단계(S2000)에서 분리된 적어도 하나의 단일가닥의 DNA는 타겟 염기 서열(즉, 결정부(100)의 염기 서열 중 적어도 일부와 상보적인 염기 서열)을 포함할 수 있다. 단위셀(UC)내에 존재하는 적어도 하나의 단일가닥의 DNA는 타겟 염기 서열을 포함할 수 있다.

[917]

[918] 어닐링 단계(S3000)에서는, 열변성 단계(S2000) 이후 결정부(100)는 단위셀(UC)내에 존재하는 단일 가닥의 DNA 중 타겟 염기 서열을 포함하는 타겟

핵산에 결합할 수 있다. 상기 결정부(100)는 단위셀(UC)내에 존재하는 단일 가닥의 DNA 중 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 결정부(100)는 상기 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하여, 타겟 염기 서열을 포함하는 타겟 핵산의 적어도 일부 영역에 대한 증폭산물의 생성을 개시할 수 있다.

[919] 상기 결정부(100)(즉, 핵산 복합체(1)의 결정부(100))가 포워드 프라이머인 경우, 단위셀(UC)내에는 별도의 리버스 프라이머가 제공되어 있을 수 있다. 상기 리버스 프라이머는 핵산 복합체(1)일 수 있다. 상기 리버스 프라이머는 핵산 복합체(1)가 아닐 수 있다.

[920] 어닐링 단계(S3000)에서 상기 리버스 프라이머는 상기 리버스 프라이머의 염기 서열에 대한 상보적인 서열을 갖는 단일 가닥의 DNA에 결합할 수 있다. 상기 리버스 프라이머는 상기 리버스 프라이머의 염기 서열에 대한 상보적인 서열을 갖는 단일 가닥의 DNA에 상보적으로 결합할 수 있다.

[921]

[922] 상기 결정부(100)가 리버스 프라이머인 경우, 단위셀(UC)내에는 별도의 포워드 프라이머가 제공되어 있을 수 있다. 상기 포워드 프라이머는 핵산 복합체(1)일 수 있다. 상기 포워드 프라이머는 핵산 복합체(1)가 아닐 수 있다.

[923] 어닐링 단계(S3000)에서 상기 포워드 프라이머는 상기 포워드 프라이머의 염기 서열에 대한 상보적인 서열을 갖는 단일 가닥의 DNA에 결합할 수 있다. 상기 포워드 프라이머는 상기 포워드 프라이머의 염기 서열에 대한 상보적인 서열을 갖는 단일 가닥의 DNA에 상보적으로 결합할 수 있다.

[924]

[925] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 결정부(100)를 개시점으로 하여, 상기 결정부(100)가 결합한 타겟 핵산의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 결정부(100)의 3` 말단측에 타겟 핵산의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 연장될 수 있다.

[926] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 리버스 프라이머를 개시점으로 하여, 상기 리버스 프라이머가 결합된 단일 가닥의 DNA의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 리버스 프라이머의 3` 말단측에 상기 리버스 프라이머가 결합된 단일 가닥의 DNA의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 연장될 수 있다.

[927]

[928] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 포워드 프라이머 및 리버스 프라이머가 핵산 복합체(1)일 때, 적어도 2주기의 PCR 이후, 이중 가닥의 DNA의 일측으로 제1 태그부(112)가 위치되고 이중 가닥의 DNA의 타측(이중 가닥의 DNA의 일측과 다른 타측)으로 제2 태그부(122)가 위치되는 형태의 구조체가 생성될 수 있다. 다시 말해, 상기 포워드 프라이머 및 리버스 프라이머가 핵산 복합체(1)일 때, 적어도 2주기의 PCR 이후, 포워드 프라이머의 5` 말단측으로 제1

태그부(112)가 위치되고 리버스 프라이머의 5` 말단 측으로 제2 태그부(122)가 위치되는 형태의 구조체가 생성될 수 있다.

[929] 이와 관련하여서는 아래 목차 1.2 2차 구조의 형성에서 보다 구체적으로 살펴보기로 한다.

[930]

[931] 도 19를 참조하면, 열변성 단계(S2000)에서는, 단위셀(UC)내에 존재하는 이중 가닥의 DNA가 단일 가닥의 DNA로 변성될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는 상기 타겟 염기 서열을 포함하는 이중 가닥의 DNA가 단일 가닥의 DNA로 변성될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 타겟 염기 서열을 포함하는 이중 가닥의 DNA가 2개의 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다.

[932] 단위셀(UC)내에는 타겟 염기 서열과 적어도 하나의 염기 서열이 다른 유사 염기 서열이 존재할 수 있다. 단위셀(UC)내에는 유사 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 DNA 및/또는 단일 가닥의 DNA가 존재할 수 있다. 상기 유사 염기 서열은, 상기 타겟 염기 서열과 비교하여 일부 염기 서열이 생략되거나, 일부 염기 서열이 치환된 염기 서열을 의미할 수 있다.

[933] 열변성 단계(S2000)에서는 유사 염기 서열을 포함하는 이중 가닥의 DNA가 단일 가닥의 DNA로 변성될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는, 유사 염기 서열을 포함하는 이중 가닥의 DNA가 2개의 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다.

[934] 상기 유사 염기 서열 및 타겟 염기 서열은 동일한 핵산에 포함되어 있을 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 유사 염기 서열 및 타겟 염기 서열은 같은 가닥의 DNA에 포함되어 있을 수 있다. 상기 유사 염기 서열 및 타겟 염기 서열은 상이한 핵산에 포함되어 있을 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 유사 염기 서열 및 타겟 염기 서열은 다른 가닥의 DNA에 포함되어 있을 수 있다.

[935]

[936] 어닐링 단계(S3000)에서는, 열변성 단계(S2000) 이후 결정부(100)는 단위셀(UC)내에 존재하는 단일 가닥의 DNA 중 타겟 염기 서열을 포함하는 타겟 핵산에 결합할 수 있다. 상기 결정부(100)는 단위셀(UC)내에 존재하는 단일 가닥의 DNA 중 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[937] 어닐링 단계(S3000)에서는, 열변성 단계(S2000) 이후 태그부(200)는 단위셀(UC)내에 존재하는 단일 가닥의 DNA 중 유사 염기 서열을 포함하는 핵산에 결합할 수 있다. 상기 태그부(200)는 단위셀(UC)내에 존재하는 단일 가닥의 DNA 중 유사 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[938] 유사 염기 서열에 상기 태그부(200)가 상보적으로 결합하는 경우, 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100)가 상기 유사 염기 서열에 미스매치되어 결합되는 것을 방지할 수 있다. 유사 염기 서열에 상기 태그부(200)가 상보적으로 결합하는 경우, 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100)가 상기 유사 염기 서열에 비특이적으로 결합되는 것을 방지할 수 있다.

[939]

[940] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 결정부(100)를 개시점으로 하여, 상기 결정부(100)가 결합한 타겟 핵산의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 결정부(100)의 3` 말단측에 상기 타겟 핵산의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 연장될 수 있다.

[941]

[942] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 태그부(200)를 개시점으로한 상기 유사 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 DNA에 대한 증폭 상물의 생성이 방지될 수 있다.

[943] 일 예로, 상기 태그부(200)는 상기 연결부(400)와 연결되어 있을 수 있다. 상기 태그부(200)는 연결부(400)와 연결되어, 상기 태그부(200)를 개시점으로한 상기 유사 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 DNA에 대한 증폭 상물의 생성이 방지될 수 있다. 상기 태그부(200)는 상기 연결부(400)와 연결되어, 상기 태그부(200)의 3` 말단 방향으로 상기 유사 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 DNA에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[944] 상기 태그부(200)의 3` 말단의 당의 H기는 상기 연결부(400)와 연결되는데 이용되어, 상기 태그부(200)의 3` 말단 방향으로 상기 유사 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 DNA에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[945] 구체적인 예를 들어, 상기 연결부(400)가 PEG(polyethyleneglycol)인 경우, 상기 태그부(200)의 H와 연결부(400)의 OH기가 반응하여 공유결합하는 형태로 상기 태그부(200) 및 상기 연결부(400)가 연결될 수 있고, 그 결과, 뉴클레오타이드가 연장되는 태그부(200)의 3` 말단의 당의 H기가 이미 반응에 참가하여, 상기 태그부(200)의 3` 말단 방향으로 상기 유사 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 DNA에 대한 증폭 산물이 생성되는 것이 방지될 수 있다.

[946] 경우에 따라서는, 중합 반응 단계(S4000)에서 상기 태그부(200)는 상기 유사 염기 서열로부터 해리될 수 있다. 상기 태그부(200)의 염기 서열의 종류, 길이, 태그부(200)의 물질 구성 등에 기초하여 결정되는 상기 태그부(200)의 결합력에 따라서, 중합 반응 단계(S4000)에서 상기 태그부(200)와 상기 유사 염기 서열간의 결합은 해리될 수 있다.

[947]

[948] 기 서술된 바와 같이, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 PCR에 이용하는 경우, 타겟 염기 서열과 관련된 핵산에 대한 증폭 산물을 생성하면서, 유사 염기 서열과 관련된 핵산에 대한 증폭 산물의 생성은 방지하는 것이 가능할 수 있다. 이로써, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체(1)를 PCR에 이용하는 경우, 원하는 DNA를 보다 정확하게 증폭시키는 것이 가능하다는 이점이 도출될 수 있다.

[949]

[950] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, PCR 클램핑을 수행할 수 있는 핵산

복합체(1)는 결정부(100) 및 태그부(200)를 포함할 수 있다.

[951] 상기 결정부(100)는 PCR반응을 개시하는 포워드 프라이머(forward primer) 또는 리버스 프라이머(reverse primer)일 수 있다. 상기 결정부(100)는 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산의 적어도 일부 영역에 대한 증폭 산물의 생성을 개시할 수 있다.

[952] 상기 태그부(200)는 핵산 유사체를 포함할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 태그부(200)는 PNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100)와 적어도 일부 영역이 상이한 염기 서열을 가질 수 있다. 상기 태그부(200)는 상기 결정부(100)의 염기 서열의 일부 서열이 생략되거나, 일부 서열이 치환된 염기 서열을 가질 수 있다.

[953] 상기 태그부(200)는 유사 염기 서열에 결합될 수 있다. 상기 태그부(200)는 유사 염기 서열에 결합되어, 상기 결정부(100)의 유사 염기 서열에의 결합을 방지할 수 있다.

[954] 상기 태그부(200)는 유사 염기 서열에 결합되어, 상기 유사 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 DNA의 증폭을 방지할 수 있다. 일 예로, 상기 태그부(200)는 핵산 유사체의 단위 분자로 구성되어, DNA 중합효소에 의해 연장되지 않을 수 있다. 그 결과, 상기 태그부(200)는 상기 유사 염기 서열을 포함하는 단일 가닥의 DNA의 증폭을 방지할 수 있다.

[955]

[956] <핵산 복합체 페어(10)의 활용>

[957] 1. 핵산 복합체 페어(10)의 활용 #1 - PCR

[958] 1.1 Primer pair를 제공하기 위한 핵산 복합체 페어(10)의 활용

[959] 1.1.1 핵산 복합체 페어(10)의 구성

[960] 도 20은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 설명하기 위한 도면이다.

[961]

[962] 본 출원의 일 실시예에 따르는 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다. 제1 핵산 복합체(110)는 적어도 제1 결정부(111) 및 제1 태그부(112)를 포함할 수 있다. 제2 핵산 복합체(120)는 적어도 제2 결정부(121) 및 제2 태그부(122)를 포함할 수 있다.

[963] 상기 제1 결정부(111)는 포워드 프라이머 또는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 포워드 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 리버스 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 포워드 프라이머일 수 있다.

[964] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 결정부(111)는 특정 질병과 연관된 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있고, 상기 제2 결정부(121)는 동일 질병과 연관된 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[965] 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)와 서로 상보적으로 결합할 수

있다. 일 예로, 상기제2 태그부(122)는 제1 태그부(112)와 서로 상보적으로 결합하는 염기 서열을 포함할 수 있다. 다른 예로, 상기 제2 태그부(122)는 제1 태그부(112)와 서로 상보적으로 결합하는 화합물을 포함할 수 있다.

[966]

[967] 1.1.2 핵산 복합체 페어(10)의 동작

[968] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)는 PCR에서 활용될 수 있다. 상기 핵산 복합체 페어(10)는 PCR에서 이용되어 포워드 프라이머 및 리버스 프라이머의 기능을 수행할 수 있다. 상기 제1 핵산 복합체(110)는 포워드 프라이머로 이용되고, 상기 제2 핵산 복합체(120)는 리버스 프라이머로 이용될 수 있다. 또는, 상기 제1 핵산 복합체(110)는 리버스 프라이머로 이용되고, 상기 제2 핵산 복합체(120)는 포워드 프라이머로 이용될 수 있다.

[969] PCR에 핵산 복합체 페어(10)가 이용되는 경우, 핵산 복합체 페어(10)는 PCR이 수행될 단위셀(UC)에 제공되는 단계가 필요할 수 있다.

[970] 단위셀(UC)에 핵산 복합체 페어(10)가 제공되는 경우, 핵산 복합체 페어(10)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 서로 상보적으로 결합되어 있는 상태일 수 있다. 상기 단위셀(UC)에는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 서로 상보적으로 결합되어 있는 핵산 복합체 페어(10)가 제공될 수 있다. 이는, 핵산 복합체 페어(10)의 합성 과정에서 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합된 형태로 합성된 것일 수 있다.

[971] 또는, 단위셀(UC)에 핵산 복합체 페어(10)가 제공된 이후, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 서로 상보적으로 결합될 수 있다.

[972]

[973] 도 21은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 페어링 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[974] PCR이 진행되기 이전에 페어링 단계(S1000)가 수행될 수 있다. 열변성 단계(S2000) 이전에 페어링 단계(S1000)가 수행될 수 있다.

[975] 상기 페어링 단계(S1000)는 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)의 상보적 결합을 유도하는 단계일 수 있다. 다시 말해, 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 단위셀(UC)에 포함된 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적인 결합이 유도될 수 있다.

[976] 상기 페어링 단계(S1000)에서 조절되는 온도는, 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합되도록 하는 온도일 수 있다. 바람직하게는, 상기 페어링 단계(S1000)에서 조절되는 온도는, 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)가 서로 상보적으로 결합하는 영역의 어닐링 온도일 수 있다.

[977]

[978] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 페어링 단계(S1000) 이후, 핵산 복합체 페어(10)는 PCR이 수행될 수 있다. 페어링 단계(S1000) 이후, 핵산 복합체 페어(10)는 열변성 단계(S2000)가 수행될 수 있다. 페어링 단계(S1000)이후, 핵산

복합체 페어(10)는 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000), 중합 반응 단계(S4000)순으로 PCR이 수행될 수 있다. 페어링 단계(S1000)이후, 핵산 복합체 페어(10)는 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000), 중합 반응 단계(S4000)를 1주기로 하여 적어도 1주기 이상의 PCR이 수행될 수 있다.

[979] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 페어링 단계(S1000) 이후 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 단위셀(UC)에의 용액은 분배될 수 있다. 페어링 단계(S1000) 이후 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 단위셀(UC)에의 용액은 더 작은 단위의 유닛(예를 들어, 튜브 또는 웰(well))으로 분배될 수 있다. 이와 관련하여서는, 이하의 목차 4. 핵산 복합체 페어(10)의 활용 #4 - digital PCR에서 구체적으로 살펴보기로 한다.

[980]

[981] 1.1.3 제4 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 활용

[982] 도 22는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 설명하기 위한 도면이다.

[983]

[984] 본 출원의 일 실시예에 따르는 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다. 제1 핵산 복합체(110)는 적어도 제1 결정부(111), 제1 태그부(112) 및 제1 라벨부(113)를 포함할 수 있다. 제2 핵산 복합체(120)는 적어도 제2 결정부(121), 제2 태그부(122) 및 제2 라벨부(123)를 포함할 수 있다.

[985] 상기 제1 결정부(111)는 포워드 프라이머 또는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 포워드 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 리버스 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 포워드 프라이머일 수 있다.

[986] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 결정부(111)는 특정 질병과 연관된 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있고, 상기 제2 결정부(121)는 동일 질병과 연관된 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[987] 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)와 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 일 예로, 상기제2 태그부(122)는 제1 태그부(112)와 서로 상보적으로 결합하는 염기 서열을 포함할 수 있다. 다른 예로, 상기 제2 태그부(122)는 제1 태그부(112)와 서로 상보적으로 결합하는 화합물을 포함할 수 있다.

[988] 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)는 연계 작용을 수행할 수 있다. 일 예로, 제1 라벨부(113)가 형광 분자인 경우, 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)로부터 방출되는 빛을 흡수하거나 변환하는 기능을 수행하는 퀀처 분자일 수 있다.

[989] 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 여부는, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 결합 여부와 연관되어 있을 수 있다. 일 예로, 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 여부는,

제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 결합 여부에 의해 결정될 수 있다.

[990]

[991] 전술한 일 실시예와 같이, 페어링 단계(S1000) 이후 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 단위셀(UC)에의용액이 분배될 수 있다. 페어링 단계(S1000) 이후 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 단위셀(UC)에의 용액은 더 작은 단위의 유닛으로 분배될 수 있다.

[992] 분배된 더 작은 단위셀(UC)에의 용액의 온도를 조절할 수 있다. 분배된 더 작은 단위셀(UC)에의 용액의 온도를 조절함에 따라, 더 작은 단위셀(UC)에 분배된 핵산 복합체 페어(10)는 온도의 조절에 따라 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 결합이 유도되거나 해리될 수 있다. 바람직하게는, 분배된 더 작은 단위셀(UC)에의 용액의 온도를 상승시켜, 더 작은 단위셀(UC)에 분배된 핵산 복합체 페어(10)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 결합이 해리될 수 있다.

[993] 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합이 해리됨에 따라, 온도 조절 이전의 더 작은 단위셀(UC)에의 물리적 특성과 온도 조절 이후의 더 작은 단위셀(UC)에의 물리적 특성이 달라질 수 있다. 일 예로, 광학 기기를 통해 상기 더 작은 단위셀(UC)에 대한 광학적 특성을 검출하는 경우, 온도를 상승시키는 형태로 단위셀(UC)의 온도가 조절된기 이전의 검출값이 온도를 상승시키는 형태로 단위셀(UC)의 온도가 조절된 이후의 검출값에 비해 작을 수 있다.

[994]

[995] 1.2 2차 구조의 형성

[996] 1.2.1 2차 구조의 형성

[997] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)는 서로 연관된 물질과 특이적으로 결합할 수 있다.

[998] 일 예로, 핵산 복합체 페어(10)는, 제1 결정부(111)와 상보적으로 결합하는 제1 타겟 염기 서열 및 제2 결정부(121)와 상보적으로 결합하는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산(즉, 연관된 물질)과 특이적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산과 특이적으로 결합할 수 있다.

[999] 본 출원의 일 실시에에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 상보적으로 결합할 수 있다. 일 예로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합에 따라, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 구조체의 형상이 달라질 수 있다.

[1000] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합에 따라, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 구조체는 2차 구조를 형성할 수 있다. 예시적으로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합에 따라, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 구조체는 유사 헤어핀 구조를 형성할 수 있다.

[1001] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적 결합에 따라 형성되는 2차 구조의 형상은 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 결합 방향에 따라 달라질 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 결합 동작과 관련하여서는, 위의 목차 2.2 태그부(200)에서 구체적으로 설명한바 있어 중복적인 설명은 생략하기로 한다.

[1002]

[1003] 도 23 및 24는 본 출원의 일 실시예에 따른, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 결합된 구조체의 2차 구조 형성을 설명하기 위한 도면이다.

[1004]

[1005] 도 23을 참고하면, 제1 결정부(111)는 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산에 결합할 수 있다. 제2 결정부(121)는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산에 결합할 수 있다. 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)는, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산에 결합할 수 있다.

[1006] 제1 태그부(112)는 제2 태그부(122)에 상보적으로 결합할 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는제1 태그부(112)의 제1 결정부(111)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 결정부(121)와 이격된 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하도록 염기 서열을 가질 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는제1 태그부(112)의 제1 연결부(114)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 연결부(124)와 이격된 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하도록 염기 서열을 가질 수 있다. 일 예로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, 도 12(a)와 같은 형태로 결합할 수 있는 염기 서열을 가질 수 있다.

[1007] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산은 유사 원형 구조를 형성할 수 있다. 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산은 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 상보적으로 결합할 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하면, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산은 유사 원형 구조를 형성할 수 있다. 제1 태그부(112)의 제1 결정부(111)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 결정부(121)와 이격된 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하는 형태로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적 결합을 하면, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산은 유사 원형 구조를 형성할 수 있다.

[1008] 여기서 "유사 원형 구조"라 함은, 임의의 곡률을 가지도록 형성된 루프 구조의 적어도 일부 영역이 이중 가닥으로 이루어지고, 루프 구조의 적어도 일부 영역이 개방되어 완전한 원형을 이루지 않도록 형성되는 것을 의미할 수 있다.

[1009]

[1010] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적

결합에 따라, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 핵산이 유사 원형 구조를 형성할지 여부가 결정될 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적 결합에 따라, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 여부가 결정될 수 있다. 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 핵산이 유사 원형 구조를 형성 했는지 여부에 따라, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 연계 작용 수행 여부가 달라질 수 있다.

[1011]

[1012] 도 24를 참고하면, 제1 결정부(111)는 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산에 결합할 수 있다. 제2 결정부(121)는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산에 결합할 수 있다. 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)는, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산에 결합할 수 있다.

[1013] 제1 태그부(112)는 제2 태그부(122)에 상보적으로 결합할 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는제1 태그부(112)의 제1 결정부(111)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 결정부(121)와 인접한 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하도록 염기 서열을 가질 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는제1 태그부(112)의 제1 연결부(114)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 연결부(124)와 인접한 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하도록 염기 서열을 가질 수 있다. 일 예로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, 도 12(b)와 같은 형태로 결합할 수 있는 염기 서열을 가질 수 있다.

[1014] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산은 유사 헤어핀 구조를 형성할 수 있다. 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산은 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 상보적으로 결합할 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하면, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산은 유사 원형 구조를 형성할 수 있다. 제1 태그부(112)의 제1 결정부(111)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 결정부(121)와 인접한 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하는 형태로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적 결합을 하면, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)와 연결된 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산은 유사 헤어핀 구조를 형성할 수 있다.

[1015] 여기서 "유사 헤어핀 구조"라 함은, 임의의 곡률을 가지도록 형성된 루프 구조의 적어도 일부 영역이 이중 가닥으로 이루어지고, 이중 가닥이 형성된 영역의 각 단일 가닥의 일단에 연결된 염기 서열간의 결합으로 루프 구조와 연계된 스템 구조가 형성되는 것을 의미할 수 있다.

[1016]

[1017] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)는 서로 연관된 물질과 특이적으로 결합할 수 있다.

[1018] 일 예로, 핵산 복합체 페어(10)는, 제1 결정부(111)와 상보적으로 결합하는 제1 타겟 염기 서열 및 제2 결정부(121)와 상보적으로 결합하는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산(즉, 연관된 물질)과 특이적으로 결합할 수 있다.

[1019] 다른 예로, 본 출원의 다른 실시예에 따르면 제1 결정부(111)가 특이적으로 결합한 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 타겟 핵산 및 제2 결정부(121)가 특이적으로 결합한 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 타겟 핵산은 사후적으로 연관될 수 있다. 상기 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)는, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)를 포함하는 이중 가닥의 핵산 구조체가 형성되는 형태로, 사후적으로 연관될 수 있다.

[1020]

[1021] 도 25 및 26은 본 출원의 일 실시예에 따른, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)가 포함된 구조체가 형성되는 과정을 설명하기 위한 도면이다.

[1022]

[1023] 도 25를 참조하면, PCR이 진행되는 단위셀(UC)에는 핵산 복합체 페어(10) 및 다수의 시료가 제공될 수 있다. 일 예로, 상기 단위셀(UC)내에는, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 이중 가닥의 DNA가 존재할 수 있다. 상기 단위셀(UC)내에는, 제1 타겟 염기 서열을 제1 가닥에 포함하고, 제2 타겟 염기 서열을 제2 가닥에 포함하며, 제1 가닥 및 제2 가닥이 상보적으로 연결되어 있는 이중 가닥의 DNA가 존재할 수 있다.

[1024] 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 단위셀(UC)내에 존재하는 이중 가닥의 DNA가 단일 가닥 DNA로 변경될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥 및 상기 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥의 상보적 결합이 해리될 수 있다.

[1025]

[1026] 어닐링 단계(S3000)에서는, 상기 제1 가닥에 제1 핵산 복합체(110)의 제1 결정부(111)가 상보적으로 결합할 수 있다. 어닐링 단계(S3000)에서는, 상기 제2 가닥에 제2 핵산 복합체(120)의 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합할 수 있다.

[1027] 어닐링 단계(S3000)에서는, 제1 가닥에 결합된 제1 결정부(111)에 연결된 제1 라벨부(113) 및 제2 가닥에 결합된 제2 결정부(121)에 연결된 제2 라벨부(123)는 연계 작용을 수행하지 않을 수 있다. 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 상대적으로 멀게 이격되어, 연계 작용을 수행하지 않을 수 있다. 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 연계작용유효거리(LD)이상으로 이격되어, 연계 작용을 수행하지 않을 수 있다. 구체적인 예를 들어, 제1 라벨부(113)가 형광 분자, 제2 라벨부(123)가 퀀처 분자라면, 제1 라벨부(113)에 의한 형광이 방출되고 있는 상태일 수 있다.

[1028]

[1029] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 상기

제1 결정부(111)가 결합한 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 상기 제2 결정부(121)가 결합한 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다.

[1030]

[1031] 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000), 중합 반응 단계(S4000)를 1주기로 하여, 단위셀(UC)에 대한 적어도 1주기 이상의 PCR이 진행될 수 있다.

[1032]

[1033] 도 26을 참조하면, 1주기 이후의 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 단위셀(UC)내에 존재하는 이중 가닥의 DNA가 단일 가닥 DNA로 분리될 수 있다.

[1034] 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)을 포함하는 단일 가닥의 핵산이 생성될 수 있다. 상기 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)를 포함하는 단일 가닥의 핵산은 제2 타겟 염기 서열을 포함할 수 있다.

[1035] 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)을 포함하는 단일 가닥의 핵산으로 분리될 수 있다. 상기 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)를 포함하는 단일 가닥의 핵산은 제1 타겟 염기 서열을 포함할 수 있다.

[1036]

[1037] 어닐링 단계(S3000)에서는, 상기 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)을 포함하는 단일 가닥의 핵산에 제1 결정부(111)가 상보적으로 결합할 수 있다. 어닐링 단계(S3000)에서는, 상기 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)을 포함하는 단일 가닥의 핵산에 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합할 수 있다.

[1038] 어닐링 단계(S3000)에서는, 첫주기의 PCR에서와 마찬가지로 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 제1 결정부(111)가 상보적으로 결합할 수 있다. 또한, 어닐링 단계(S3000)에서는, 첫주기의 PCR에서와 마찬가지로 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합할 수 있다.

[1039] 어닐링 단계(S3000)에서는, 제1 가닥에 결합된 제1 결정부(111)에 연결된 제1 라벨부(113) 및 제2 가닥에 결합된 제2 결정부(121)에 연결된 제2 라벨부(123)는 연계 작용을 수행하지 않을 수 있다. 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 상대적으로 멀게 이격되어, 연계 작용을 수행하지 않을 수 있다. 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는 연계작용유효거리(LD)이상으로 이격되어, 연계 작용을 수행하지 않을 수 있다. 구체적인 예를 들어, 제1 라벨부(113)가 형광 분자, 제2 라벨부(123)가 퀀처 분자라면, 제1 라벨부(113)에 의한 형광이 방출되고 있는 상태일 수 있다.

[1040]

[1041] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 상기 제1 결정부(111)가 결합한, 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)을 포함하는 단일 가닥의 핵산에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)을 포함하는 단일 가닥의 핵산의 증폭 산물을 생성할 때, 상기 제2 연결부(124)는 상기 제2 태그부(122)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[1042] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 상기 제2 결정부(121)가 결합한, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)을 포함하는 단일 가닥의 핵산에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)을 포함하는 단일 가닥의 핵산의 증폭 산물을 생성할 때, 상기 제1 연결부(114)는 상기 제1 태그부(112)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[1043] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 첫 주기에서의 PCR과 마찬가지로, 상기 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 상기 제1 결정부(111)가 결합한 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 또한, 중합 반응 단계(S4000)에서는, 첫 주기에서의 PCR과 마찬가지로, 상기 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 상기 제2 결정부(121)가 결합한 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다.

[1044]

[1045] 적어도 2주기 이상의 PCR이 진행되면, 단위셀(UC)에는 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열이 포함되고, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 포함되는 이중 나선의 핵산 구조체가 생성될 수 있다. 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열이 포함되고, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 포함되는 이중 나선의 핵산 구조체에 있어서, 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)는 단일 가닥의 형태로 유지될 수 있다.

[1046]

[1047] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 단일 가닥의 형태로 유지되는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, PCR이 종료된 이후에도 단일 가닥으로 남아, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합을 형성할 수 있다. 그 결과, PCR이 종료된 이후에도 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합 여부에 따라 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)를 검출하여 타겟 핵산 유무를 검출할 수 있다. 이와 같은 핵산 복합체 페어(10)의 구체적인 실시예에 대해서는 아래의 목차 1.3 타겟 검출을 위한 핵산 복합페 페어의 활용에서 보다 구체적으로 다뤄질 것이다.

[1048]

[1049] 도 27 및 28은 본 출원의 일 실시예에 따른, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)을 포함하는 구조체의 2차 구조 형성을 설명하기 위한 도면이다.

[1050]

[1051] 도 27을 참고하면, 제1 핵산 복합체(110), 제2 핵산 복합체(120), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 구조체는 2차 구조를 형성할 수 있다. 일 예로, PCR에 따라 생성된 제1 핵산 복합체(110), 제2 핵산 복합체(120), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 구조체는 2차 구조를 형성할 수 있다.

[1052] 제1 태그부(112)는 제2 태그부(122)에 상보적으로 결합할 수 있다. 단일 가닥 형태로 유지되어 있는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 단일 가닥의 핵산으로 유지되어 있는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 서로 상보적으로 결합할 수 있다.

[1053] 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, 제1 태그부(112)의 제1 결정부(111)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 결정부(121)와 이격된 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하도록, 염기 서열을 가질 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, 제1 태그부(112)의 제1 연결부(114)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 연결부(124)와 이격된 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하도록, 염기 서열을 가질 수 있다. 일 예로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, 도 12(a)와 같은 형태로 결합할 수 있는 염기 서열을 가질 수 있다.

[1054] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 결정부(111), 제2 결정부(121), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열를 포함하는 핵산 구조체가 이중 가닥의 형태를 가진다고 하더라도, 제1 결정부(111), 제2 결정부(121), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 구조체는 유사 원형 구조를 형성할 수 있다. 상기 제1 결정부(111)의 5` 측으로 노출된 제1 태그부(112) 및 제2 결정부(121)의 5` 측으로 노출된 제2 태그부(122)는 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합으로 제1 결정부(111), 제2 결정부(121), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열를 포함하는 핵산 구조체는 유사 원형 구조로 형성될 수 있다.

[1055]

[1056] 도 28을 참고하면, 제1 핵산 복합체(110), 제2 핵산 복합체(120), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 구조체는 2차 구조를 형성할 수 있다. 일 예로, PCR에 따라 생성된 제1 핵산 복합체(110), 제2 핵산 복합체(120), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 구조체는 2차 구조를 형성할 수 있다.

[1057] 제1 태그부(112)는 제2 태그부(122)에 상보적으로 결합할 수 있다. 단일 가닥 형태로 유지되어 있는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 단일 가닥의 핵산으로 유지되어 있는 제1 태그부(112) 및 제2

태그부(122)는 서로 상보적으로 결합할 수 있다.

[1058] 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, 제1 태그부(112)의 제1 결정부(111)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 결정부(121)와 인접한 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하도록, 염기 서열을 가질 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, 제1 태그부(112)의 제1 연결부(114)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 연결부(124)와 인접한 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 하도록, 염기 서열을 가질 수 있다. 일 예로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, 도 12(b)와 같은 형태로 결합할 수 있는 염기 서열을 가질 수 있다.

[1059] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 결정부(111), 제2 결정부(121), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열를 포함하는 핵산 구조체가 이중 가닥의 형태를 가진다고 하더라도, 제1 결정부(111), 제2 결정부(121), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 구조체는 유사 헤어핀 구조를 형성할 수 있다. 상기 제1 결정부(111)의 5` 측으로 노출된 제1 태그부(112) 및 제2 결정부(121)의 5` 측으로 노출된 제2 태그부(122)는 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합으로 제1 결정부(111), 제2 결정부(121), 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열를 포함하는 핵산 구조체는 유사 헤어핀 구조로 형성될 수 있다.

[1060]

[1061] 1.2.2 2차 구조체의 형성과 관련된 실험예 #1

[1062] 도 29 및 30은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체의 2차 구조 형성을 설명하기 위한 도면이다.

[1063]

[1064] 본 실험을 진행함에 있어서, PCR 플레이트의 튜브(또는 well)에 Tris-HCl(pH9.0), salt(KCl), MaCl2, dNTP mixture, protein stabilizer, PCR enhancer(macromolecules), fast hot-start Taq DNA Polymerase가 도입되었다.

[1065]

[1066] 상기 PCR플레이트의 제1 튜브에는 제1 핵산 복합체 페어(10)가 도입되었다. 제1 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)로 구성되었다.

[1067] 제1 핵산 복합체(110)는, 제1 라벨부(113), 제1 태그부(112), 제1 연결부(114) 및 제1 결정부(111) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제1 라벨부(113)는 FAM이고, 제1 태그부(112)는 AAAAAAAA(서열번호 1), 제1 연결부(114)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제1 결정부(111)는 TACGCCTGCTACTTTCACG(서열번호 2) 이었다.

[1068] 제2 핵산 복합체(120)는, 제2 라벨부(123), 제2 태그부(122), 제2 연결부(124) 및 제2 결정부(121) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제2 라벨부(123)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers))이고, 제2 태그부(122)는

TTTTTTTT(서열번호 3), 제2 연결부(124)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제2 결정부(121)는 ATATTTAAGGGCATAATTTCCG(서열번호 4)이었다.

[1069]

[1070] 상기 PCR플레이트의 제2 튜브에는 제2 핵산 복합체 페어(10)가 도입되었다. 제2 핵산 복합체 페어(10)는 제3 핵산 복합체(1) 및 제4 핵산 복합체(1)로 구성되었다.

[1071] 제3 핵산 복합체(1)는, 제3 라벨부(300), 제3 태그부(200), 제3 연결부(400) 및 제3 결정부(100) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제3 라벨부(300)는 FAM이고, 제3 태그부(200)는 AAAAAAAAAA(서열번호 5), 제3 연결부(400)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제3 결정부(100)는 AGGTAAACGCTCCTCTGAA(서열번호 6)이었다.

[1072] 제4 핵산 복합체(1)는, 제4 라벨부(300), 제4 태그부(200), 제4 연결부(400) 및 제4 결정부(100) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제4 라벨부(300)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers))이고, 제4 태그부(200)는 TTTTTTTTTT(서열번호7), 제4 연결부(400)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제4 결정부(100)는 GCGAGTTACGAAGACAAAA(서열번호 8)이었다.

[1073]

[1074] 상기 PCR플레이트의 제3 튜브에는 제3 핵산 복합체 페어(10)가 도입되었다. 제3 핵산 복합체 페어(10)는 제5 핵산 복합체(1) 및 제6 핵산 복합체(1)로 구성되었다.

[1075] 제5 핵산 복합체(1)는, 제5 라벨부(300), 제5 태그부(200), 제5 연결부(400) 및 제5 결정부(100) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제5 라벨부(300)는 FAM이고, 제5 태그부(200)는 AACCTTGGGA(서열번호 9), 제5 연결부(400)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제5 결정부(100)는 AGCTCCTATTGCCAACGTA(서열번호 10)이었다.

[1076] 제6 핵산 복합체(1)는, 제6 라벨부(300), 제6 태그부(200), 제6 연결부(400) 및 제6 결정부(100) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제6 라벨부(300)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers))이고, 제6 태그부(200)는 TCCCAAGGTT(서열번호 11), 제6 연결부(400)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제6 결정부(100)는 AATCTTTGTGTGGAGCATC(서열번호 12)이었다.

[1077]

[1078] 핵산 복합체 페어(10) 및 기타 엔자임이 도입된 튜브는 온도가 조절되어, 튜브내의 용액에 대한 PCR 반응이 진행되었다. 도 29에 도시된 바와 같이, 튜브의 온도를 95C로 10분정도 유지한 후, 열변성 단계(S2000)(95C, 10초), 어닐링 단계(S3000)(50C, 40초), 중합 반응 단계(S4000)(60C, 20초)를 1주기로

하여, 40번이 반복되었다. 본 실험에서는 bio-rad사의 CFX 96(허가번호 수인 10-205호)가 이용되었다.

[1079]

[1080] 이후, 냉장고에 일정 시간 이상 두어 제1 튜브, 제2 튜브 및 제3 튜브를 안정화한 후, 위의 제1 튜브, 제2 튜브 및 제3 튜브의 용액에 대한 전기영동 실험을 진행하였다.

[1081]

[1082] 도 30을 참조하면, 제1 튜브에 대한 결과값은 2열(즉, Probeless PCR amplicon T1)에 대응된다. 제1 튜브에 포함된 제1 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체(즉, 제1 핵산 복합체(110), 제2 핵산 복합체(120), 제1 타겟 염기 서열 포함하는 제1 타겟 핵산의 적어도 일부에 대한 증폭 산물 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 타겟 핵산의 적어도 일부에 대한 증폭 산물)는 180bp의 질량을 갖는 것으로 확인되었다.

[1083] 대조군과의 비교를 위해, 제1 튜브의 엔자임을 동일하게 포함하되, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 대신하여 포워드 프라이머(TACGCCTGCTACTTTCACG (서열번호 2)) 및 리버스 프라이머(ATATTTAAGGGCATAATTTCCG (서열번호 4))를 포함하는 제4 튜브를 이용한 실험을 진행하였고, 그 결과값은 5열(즉, PCR amplicon T1)에 대응된다. 포워드 프라이머 및 리버스 프라이머의 포함하는 증폭 산물(즉, 포워드 프라이머, 리버스 프라이머, 포워드 프라이머에 상보적인 서열을 포함하는 핵산의 적어도 일부에 대한 증폭 산물 및 리버스 프라이머에 상보적인 서열을 포함하는 핵산의 적어도 일부에 대한 증폭 산물)은 143bp의 질량을 갖는 것으로 확인되었다.

[1084]

[1085] 도 31은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 구조체의 2차 구조 형성에 대해서 설명하기 위한 도면이다.

[1086]

[1087] 구체적으로, 도 31(a)와 같이, 단위셀(UC) 내에서 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112)와 타 핵산 복합체 페어(10)의 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합한 것으로 가정한다면, 전기 영동겔의 결과값은, 적어도 2개의 증폭 산물에 따른 질량에 따라, 143*2=286bp의 질량을 나타내야 한다.

[1088] 다만, 도 30의 제1 튜브의 결과값의 경우 180bp의 질량을 나타내어, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 16bp의 질량을 갖는 것에 비추어, 약 180-143-16=21bp의 질량만큼 차이가 나지만, 형광 분자, 퀀처 분자, 연결부(400)의 질량을 고려할 때, 도 32(b)와 같이, 2차 구조를 형성한 것으로 보는 것이 합리적이다.

[1089]

[1090] 이로부터, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체는 2차 구조를

형성하였다는 것을 확인할 수 있다.

[1091]

[1092] 마찬가지로, 제2 튜브에 대한 결과값은 3열(즉, Probeless PCR amplicon T2)에 230bp으로 나타났고, 제2 튜브의 엔자임을 동일하게 포함하되, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 대신하여 포워드 프라이머(AGGTAAACGCTCCTCTGAA(서열번호 6)) 및 리버스 프라이머(GCGAGTTACGAAGACAAAA(서열번호 8))를 포함하는 제5 튜브에 대한 결과값은 6열(즉, PCR amplicon T2)에 191bp으로 나타났다.

[1093] 또한, 제3 튜브에 대한 결과값은 4열(즉, Probeless PCR amplicon T3)에 150bp으로 나타났고, 제3 튜브의 엔자임을 동일하게 포함하되, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 대신하여 포워드 프라이머(AGCTCCTATTGCCAACGTA(서열번호 10)) 및 리버스 프라이머(AATCTTTGTGTGGAGCATC(서열번호 12))를 포함하는 제6 튜브에 대한 결과값은 7열(즉, PCR amplicon T3)에 113bp으로 나타났다.

[1094]

[1095] 결과적으로, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체의 질량이 핵산 복합체 페어(10)를 포함하지 않는 핵산 구조체의 질량에 비해 2배를 초과하지 않아, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체의 제1 태그부(112)가 타 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체의 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합한 것으로 볼 수 없고, 따라서, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하여 2차 구조를 형성하였음을 확인할 수 있었다.

[1096]

[1097] 지금까지, 핵산 복합체 페어(10)와 연관된 핵산의 2차 구조의 형성 및 2차 구조의 형성에 따른2차 구조의 형상에 대해서 구체적으로 개시하였다. 다만, 본 출원에 의해 개시되는 핵산 복합체(1) 및 관련 동작은 당업자가 본 명세서를 용이하기 이해할 수 있도록, 간략히 모식화하여 도시하고 구체적인 설명을 기재하였는바, 본 명세서의 권리 범위를 해석함에 있어, 도면이나 특정 기재만으로 한정하여 해석하여서는 안될 것이다.

[1098]

[1099] 이하에서는, 2차 구조의 형성 및 2차 구조의 해리를 통해서 달라질 수 있는 광학 기기의 검출 신호에 따라, 단위셀(UC)내에 검출하고자 하는 타겟 핵산이 있는지 여부에 대해서 확인하는 일 활용예에 대해서 구체적으로 개시한다.

[1100]

[1101] 1.3 타겟 검출을 위한 핵산 복합체 페어(10)의 활용

[1102] 1.3.1 핵산 복합체 페어(10)의 구성

[1103] 도 32는 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 설명하기 위한 도면이다.

[1104]

[1105] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다. 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113) 및 제1 연결부(114)를 포함할 수 있다. 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123) 및 제2 연결부(124)를 포함할 수 있다.

[1106]

[1107] 상기 제1 결정부(111)는 포워드 프라이머 또는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 포워드 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 리버스 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 포워드 프라이머일 수 있다.

[1108] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 결정부(111)는 특정 질병과 연관된 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있고, 상기 제2 결정부(121)는 동일 질병과 연관된 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[1109]

[1110] 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 태그부(122)와 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 일 예로, 상기제2 태그부(122)는 제1 태그부(112)와 서로 상보적으로 결합하는 염기 서열을 포함할 수 있다. 다른 예로, 상기 제2 태그부(122)는 제1 태그부(112)와 서로 상보적으로 결합하는 화합물을 포함할 수 있다.

[1111]

[1112] 상기 제1 연결부(114)는 상기 제1 태그부(112)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 제1 결정부(111)가 제1 타겟 염기 서열과 상보적으로 결합하여, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 타겟 핵산 중 적어도 일부 영역에 대한 증폭 산물이 생성된 이후, 제1 타겟 핵산 중 적어도 일부 영역에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)를 포함하는 단일 가닥의 핵산에 대한 증폭이 개시되도록 제2 결정부(121)가 결합된 이후에, 상기 제1 연결부(114)는 제1 태그부(112)에 대한 증폭 산물의 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[1113] 상기 제2 연결부(124)는 상기 제2 태그부(122)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 제2 결정부(121)가 제2 타겟 염기 서열과 상보적으로 결합하여, 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 타겟 핵산 중 적어도 일부 영역에 대한 증폭 산물이 생성된 이후, 제2 타겟 핵산 중 적어도 일부 영역에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)를 포함하는 단일 가닥의 핵산에 대한 증폭이 개시되도록 제1 결정부(111)가 결합된 이후에, 상기 제2 연결부(124)는 제2 태그부(122)에 대한 증폭 산물의 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[1114] 구체적인 예를 들어, 제1 연결부(114) 및 제2 연결부(124)는 PCR블로커일 수 있다.

[1115]

[1116] 상기 제1 라벨부(113)는, 제2 라벨부(123)와 연계 작용을 할 수 있다. 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)를 포함하는 단위셀(UC)에 대한 광학 기기의 검출값을 획득하는 경우, 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)가 연계 작용을 수행하는 경우의 검출값과 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)가 연계 작용을 수행하지 않는 경우의 검출값이 상이할 수 있다. 일 예로, 제1 라벨부(113)가 형광 분자, 제2 라벨부(123)가 퀀처 분자일 수 있고, 상기 연계 작용이 수행되는 경우 제1 라벨부(113)로부터 방출되는 광은 제2 라벨부(123)에 흡수되고, 상기 연계 작용이 수행되지 않는 경우 제1 라벨부(113)로부터 방출되는 광이 광학 기기를 통해 검출될 수 있다.

[1117]

[1118] 1.3.2 핵산 복합체 페어(10)의 동작

[1119] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)는 PCR에서 프라이머로써 이용될 수 있다.

[1120]

[1121] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)의 신호를 검출하여, 핵산 복합체 페어(10)의 연계 작용 여부를 확인할 수 있고, 핵산 복합체 페어(10)의 연계 작용 여부를 확인하여 단위셀(UC) 내의 타겟 핵산의 유무를 검출할 수 있다.

[1122] 구체적으로, 제1 결정부(111)가 상보적으로 결합하는 제1 타겟 염기 서열 및 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합하는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산이 단위셀(UC)내에 있는 경우, 상기 단위셀(UC)에 대한 광학 기기의 검출값은 특정 온도에서 변화될 수 있다.

[1123] 예를 들어, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 결합이 해리되는 온도에서, 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 여부가 변동됨에 따라, 단위셀(UC)에 대한 광학 기기의 검출값은 달라지는 양상을 보일 수 있다.

[1124] 그 결과, 특정 온도에서의 광학 기기의 검출값이 변동되었는지 여부에 따라 검출하고자하는 타겟 핵산이 단위셀(UC) 내에 있는지 여부를 확인할 수 있다.

[1125]

[1126] 이하에서는, 단위셀(UC)내에 타겟 핵산이 존재하는지 여부를 확인하기 위한 구체적인 동작에 대해서 개시한다.

[1127]

[1128] 도 33은 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 이후 검출 단계를 설명하기 위한 도면이다.

[1129]

[1130] 본 출원의 일 실시예에 따르면, PCR이 완료된 단위셀(UC)에 대한 안정화 단계(S5000)가 수행될 수 있다. 상기 안정화 단계(S5000)는 단위셀(UC)의 온도를

임의의 온도 이하로 낮추는 형태로 실시될 수 있다. 상기 안정화 단계(S5000)는, 단위셀(UC)내의 용액의 온도를 적어도 40도 이하로 낮춰 일정 시간동안 유지하는 형태로 수행될 수 있다.

[1131] 상기 안정화 단계(S5000)에서 조절되는 온도는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합이 유도되도록 하는 온도일 수 있다. 바람직하게는, 상기 안정화 단계(S5000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 20℃를 초과하지 않는 상태로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 안정화 단계(S5000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 15℃를 초과하지 않는 상태로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 안정화 단계(S5000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 10℃를 초과하지 않는 상태로 유지될 수 있다. 바람직하게는, 상기 안정화 단계(S5000)에서의 단위셀(UC)의 온도는 5℃를 초과하지 않는 상태로 유지될 수 있다.

[1132]

[1133] 상기 안정화 단계(S5000)에 의해, 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합이 수행될 수 있다. 기 설명한바와 같이, 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122) 사이의 결합으로 인해, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)를 포함하는 핵산이 2차 구조를 형성할 수 있다.

[1134]

[1135] 상기 안정화 단계(S5000)에 이어서, 해리 곡선 검출 단계(S6000)가 수행될 수 있다. 상기 안정화 단계(S5000)가 수행된 단위셀(UC)에 대한 해리 곡선 검출 단계(S6000)가 수행될 수 있다.

[1136] 여기서, "해리곡선"이라 함은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 해리되는 온도를 포함하는 온도 범위 내에서, 단위셀(UC)에 대해 온도에 대한 형광값을 그래프화한 것을 의미한다.

[1137]

[1138] 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서는, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 온도가 증가함에 따른, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 형광값이 검출될 수 있다. 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서는, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 온도가 일정한 속도로 증가함에 따른, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 형광값이 검출될 수 있다.

[1139] 또는, 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서는, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 온도가 감소함에 따른, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 형광값이 검출될 수 있다. 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서는, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 온도가 일정한 속도로 감소함에 따른, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 형광값이 검출될 수 있다.

[1140]

[1141] 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서는, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 복수 파장대의 형광값이 검출될 수 있다. 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서는, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 복수 파장대의 형광값 중 몇몇에 대한 형광값이 검출될 수 있다. 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서는, 단위셀(UC)에 포함된 용액의 복수 파장대의 형광값 중 미리 설정된 몇몇 파장대(또는 몇몇 파장대

그룹)에 대한 형광값이 검출될 수 있다.

[1142]

[1143] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용에 의해 제1 라벨부(113)로부터 방출되는 광을 제2 라벨부(123)가 소광하도록 구현되어 있는 경우, 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서 획득되는 해리 곡선은 온도가 증가함에 따가 형광값이 감소하는 그래프일 수 있다(도 34(a) 참조). 구체적으로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 안정화 단계(S5000)에서 상보적으로 결합되어 있는 경우, 제1 라벨부(113)의 광은 제2 라벨부(123)에 의해 소광되어 있는 상태일 수 있다. 단위셀(UC)의 온도가 증가함에 따라, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적 결합이 해리되는 경우, 제1 라벨부(113)의 광은 제2 라벨부(123)에 의해 소광되지 않아, 제1 라벨부(113)의 광이 방출되는 상태일 수 있다.

[1144] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 검출된 온도에 따른 형광값 그래프로부터 미분 그래프를 획득할 수 있다. 다시 말해, 검출된 해리 곡선 검출 단계(S6000)에 따른 온도에 따른 형광값 그래프는, 온도-형광값의 온도에 따른 변화량 그래프로 변환될 수 있다. 도 34(a)에 따른 온도에 따른 형광값 그래프는, 도 34(b)와 같은 온도-형광값의 온도에 따른 변화율 그래프로 도시될 수 있다.

[1145]

[1146] 온도-형광값의 온도에 따른 변화율 그래프에 따르면, 해리피크값이 도출될 수 있다. 여기서, "해리피크값"이라 함은 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적인 결합이 해리되는 온도를 의미할 수 있다. 또는, 여기서, "해리피크값"이라 함은, 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서 획득된 형광값에 기초하여, 형광값의 변화량이 가장 크거나 가장 작은 지점의 온도값을 의미할 수 있다. 또는, 여기서, "해리피크값"이라 함은, 해리 곡선에 기초하여 획득한 온도-온도에 대한 형광값의 음의 변화량이 도시된 그래프에서, 극대점에 대응되는 온도값 또는 극소점에 대응되는 온도값을 의미할 수 있다(도 34(b), 35(b) 참조). 또는, 여기서, "해리피크값"이라 함은, 해리 곡선에 기초하여, 특정 온도 범위에서 기준치 이상의 형광량의 변화가 발생한 경우, 변화된 형광량 중 1/2에 대응되는 형광량만큼 감소된 지점의 온도값을 의미할 수 있다. 또는, 여기서, "해리피크값"이라 함은, 한 종류의 핵산 복합체 페어(10)에 대한 형광값이 미리 정해진 비율 이하로 감소되는 온도값을 의미할 수 있다.

[1147]

[1148] 일 예로, 도 34(b)에 따르면, T1은 해리 곡선에 기초하여 획득한 온도-온도에 대한 형광값의 음의 변화량이 도시된 그래프에서, 극소점에 대응되는 온도값이고, 따라서, T1은 해리 피크값일 수 있다.

[1149]

[1150] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용에 의해 제1 라벨부(113)로부터 방출되는

광을 제2 라벨부(123)가 변환하여 검출 가능한 광이 발생되도록 구현되어 있는 경우, 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서 획득되는 해리 곡선은 온도가 증가함에 따가 형광값이 증가하는 그래프일 수 있다(도 35(a) 참조). 구체적으로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 안정화 단계(S5000)에서 상보적으로 결합되어 있는 경우, 제1 라벨부(113)의 광은 제2 라벨부(123)에 의해 검출 가능한 광으로 변환되어 있는 상태일 수 있다. 단위셀(UC)의 온도가 증가함에 따라, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적 결합이 해리되는 경우, 제1 라벨부(113)의 광은 제2 라벨부(123)에 의해 변환되지 않고, 그 결과, 광학 기기는 제1 라벨부(113)로부터의 광을 검출할 수 없어 소광된 상태로 분석될 수 있다.

[1151] 일 예로, 도 35(b)에 따르면, T1은 해리 곡선에 기초하여 획득한 온도-온도에 대한 형광값의 음의 변화량이 도시된 그래프에서, 극대점에 대응되는 온도값이고, 따라서, T1은 해리 피크값일 수 있다.

[1152]

[1153] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 단위셀(UC) 내의 타겟 핵산의 유무 확인에 있어서, 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서 획득된 정보에 기초하여 온도-온도에 대한 형광값의 음의 변화량이 특정 온도에서 기준치를 초과하는 경우, 해리피크값과 관련된 타겟 핵산이 단위셀(UC)내에 존재함을 확인할 수 있게 된다.

[1154]

[1155] 1.3.3 타겟 검출을 위한 핵산 복합체 페어(10)의 활용과 관련된 실험예 #2

[1156] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 단위셀(UC) 내의 타겟 핵산의 유무를 확인하는 경우, 타겟 핵산의 농도를 확인하는 것도 가능할 수 있다.

[1157]

[1158] 도 36은 본 출원의 일 실시예에 따라 단위셀(UC) 내에 존재하는 타겟 핵산의 농도의 확인을 설명하기 위한 도면이다.

[1159]

[1160] 본 실험을 진행함에 있어서, PCR 플레이트의 튜브(또는 well)에 Tris-HCl(pH9.0), salt(KCl), MaCl2, dNTP mixture, protein stabilizer, PCR enhancer(macromolecules), fast hot-start Taq DNA Polymerase가 도입되었다.

[1161]

[1162] 상기 PCR플레이트의 제1 튜브 내지 제5 튜브에는 제1 핵산 복합체 페어(10)가 도입되었다. 제1 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)로 구성되었다. 구체적으로, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 각각 1.5 pmol/Rxn만큼 도입되었다.

[1163] 제1 핵산 복합체(110)는, 제1 라벨부(113), 제1 태그부(112), 제1 연결부(114) 및 제1 결정부(111) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제1 라벨부(113)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers)) 이고, 제1 태그부(112)는

ACCGCGCGGG(서열번호 13), 제1 연결부(114)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제1 결정부(111)는 TGGAGATACACCTACATTG(서열번호 14) 이었다.

[1164] 제2 핵산 복합체(120)는, 제2 라벨부(123), 제2 태그부(122), 제2 연결부(124) 및 제2 결정부(121) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제2 라벨부(123)는 FAM이고, 제2 태그부(122)는 CCCGCGCGGT(서열번호 15), 제2 연결부(124)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제2 결정부(121)는 GCTGGACCATCTATTTCATC(서열번호 16)이었다.

[1165]

[1166] 핵산 복합체 페어(10) 및 기타 엔자임이 도입된 튜브는 온도가 조절되어, 튜브내의 용액에 대한 PCR 반응이 진행되었다. 도 29에 도시된 바와 같이, 튜브의 온도를 95C로 10분정도 유지한 후, 열변성 단계(S2000)(95C, 10초), 어닐링 단계(S3000)(50C, 40초), 중합 반응 단계(S4000)(60C, 20초)를 1주기로 하여, 40번이 반복되었다. 본 실험에서는 bio-rad사의 CFX 96(허가번호 수인 10-205호)가 이용되었다.

[1167]

[1168] 이후, 위의 제1 튜브에 대한 해리 곡선을 검출한 후, 도 36에 도시된 바와 같이 온도-온도에 따른 형광 그래프를 획득하였다.

[1169]

[1170] 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)에 대응되는 타겟(HPV16)이 10^5copy 포함되어 있는 경우(R1), 가장 작은 극소값을 갖는 온도-온도에 따른 형광값이 검출되었다.

[1171] 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)에 대응되는 타겟(HPV16)이 10^4copy 포함되어 있는 경우(R2), R1의 경우에 비해 상대적으로 큰 극소값을 갖는 온도-온도에 따른 형광값이 검출되었다.

[1172] 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)에 대응되는 타겟(HPV16)이 10^3copy 포함되어 있는 경우(R3), R2의 경우에 비해 상대적으로 큰 극소값을 갖는 온도-온도에 따른 형광값이 검출되었다.

[1173] 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)에 대응되는 타겟(HPV16)이 10^2copy 포함되어 있는 경우(R4), R3의 경우에 비해 상대적으로 큰 극소값을 갖는 온도-온도에 따른 형광값이 검출되었다.

[1174] 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)에 대응되는 타겟(HPV16)이 10copy 포함되어 있는 경우(R5), R1 내지 R4가 극소값을 가지는 온도와는 다른 온도에서 극소값을 가지는 그래프가 획득되었고, 이 경우 핵산 복합체 페어(10)로 인한 극소값인지 여부가 불투명하여, 본 데이터는 분석에 이용하지 않았다.

[1175]

[1176] 결과적으로, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에 있어서, 특정 온도에서 해리피크값이 검출되는지 여부를 토대로 단위셀(UC) 내에 타겟

핵산의 유무를 확인할 수 있고, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 해리피크값의 최소 또는 최대값을 구체적으로 확인하여 타겟 핵산의 농도를 유추할 수 있음을 확인하였다.

[1177]

[1178] 1.3.4 제5 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 활용

[1179] 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 서열에 관여하는 염기 서열의 수가 많을수록, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 높은 온도에서 상보적 결합이 해리될 수 있다. 다만, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 서열에 관여하는 염기 서열의 수가 기준치 이상으로 많아지면, 제1 태그부(112) 자체의 헤어핀 구조등의 형성이나, 제2 태그부(122) 자체의 헤어핀 구조등의 형성이 발생할 수 있다.

[1180] 이러한 현상이 발생하는 경우, 안정화 단계(S5000)에서 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합 정도가 저해될 수 있다. 다시 말해, 제1 태그부(112)가 자체적인 헤어핀 구조등을 형성할 수 있어, 제2 태그부(122)는 제1 태그부(112)에 결합하지 못할 수 있다.

[1181] 본 출원의 제5 실시예에 따른 핵산 복합체(1)에 따르면, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 설계함에 있어, 제1 태그부(112)에 시토신(C)이 포함되는 경우, 제1 태그부(112)에 구아닌(G)은 포함되지 않도록 설계할 수 있다. 또한, 제2 태그부(122)에 구아닌(G)이 포함되는 경우, 제2 태그부(122)에 시토신(C)은 포함되지 않도록 설계할 수 있다.

[1182] 본 출원의 제5 실시예에 따른 핵산 복합체(1)에 따르면, 필요에 따라서, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 설계함에 있어, 제1 태그부(112)에 아데닌(A)이 포함되는 경우, 제1 태그부(112)에 티민(T)은 포함되지 않도록 설계할 수 있다. 또한, 제2 태그부(122)에 티민(T)이 포함되는 경우, 제2 태그부(122)에 아데닌(A)은 포함되지 않도록 설계할 수 있다.

[1183]

[1184] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)는, 해리피크값에 관여하는 결합이 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 간의 결합이므로, 검출하고자 하는 타겟에 따라 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)(즉, 해리 피크값에 관여하는 염기 서열)의 염기 서열이 변경되어야 하는 필수성이 적다.

[1185] 그 결과, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)는 해리피크값에 관여하는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 염기 서열의 용이하게 설계할 수 있고, 제5 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)도 이용할 수 있다.

[1186]

[1187] 1.4 타겟 검출을 위한 핵산 복합체 페어(10)의 활용에 대한 개선예

[1188] 1.4.1 경쟁 구조체(2)의 구성

[1189] 도 37은 본 출원의 일 실시예에 따른 경쟁 구조체(2)를 설명하기 위한 도면이다.

[1190]

[1191] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 PCR에 있어서, 경쟁 구조체(2)를 더 이용할 수 있다. 다시 말해, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 경쟁 구조체(2)를 제공하고, 단위셀(UC)에 대한 PCR을 진행할 수 있다.

[1192]

[1193] 상기 경쟁 구조체(2)는 태그 경쟁부(500) 및 프라이머 경쟁부(600)를 포함할 수 있다.

[1194]

[1195] 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[1196] 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[1197] 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 핵산의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[1198]

[1199] 상기 태그 경쟁부(500)는 상기 핵산 복합체(1)의 태그부(200)의 염기 서열에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 상기 핵산 복합체(1)의 태그부(200)의 염기 서열 중 적어도 일부에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 태그 경쟁부(500)는 상기 태그부(200)의 염기 서열의 개수 중 90%의 염기 서열의 개수에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 태그 경쟁부(500)는 상기 태그부(200)의 염기 서열의 개수 중 85%의 염기 서열의 개수에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 태그 경쟁부(500)는 상기 태그부(200)의 염기 서열의 개수 중 80%의 염기 서열의 개수에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 상기 태그 경쟁부(500)는 상기 태그부(200)의 염기 서열의 개수 중 75%의 염기 서열의 개수에 상보적인 서열을 포함할 수 있다.

[1200] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 태그 경쟁부(500)는, 라벨부(300)의 파장이 커질수록, 태그부(200)의 염기 서열과 상보적으로 결합하는 염기 서열이 상대적으로 더 많아지도록 설계될 수 있다.

[1201]

[1202] 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기

프라이머 경쟁부(600)는 핵산의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[1203] 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[1204] 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산의 단위 분자 및 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체 및 핵산의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자로 구성될 수 있다. 상기 프라이머 경쟁부(600)는 핵산의 단위 분자의 중합체 및 핵산 유사체의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다.

[1205]

[1206] 상기 프라이머 경쟁부(600)는 상기 핵산 복합체(1)의 결정부(100)의 염기 서열에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 상기 프라이머 경쟁부(600)는 상기 핵산 복합체(1)의 결정부(100)의 염기 서열 중 적어도 일부에 상보적인 서열을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 프라이머 경쟁부(600)는 어닐링 온도가 10C~35C사이에 대응되는 서열을 가지되, 상기 프라이머 경쟁부(600)의 서열은 상기 프라이머에 상보적인 서열일 수 있다. 바람직하게는, 상기 프라이머 경쟁부(600)는 어닐링 온도가 20C~30C사이에 대응되는 서열을 가지되, 상기 프라이머 경쟁부(600)의 서열은 상기 프라이머에 상보적인 서열일 수 있다.

[1207] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 프라이머 경쟁부(600)는, 라벨부(300)의 파장이 커질수록, 결정부(200)의 염기 서열과 상보적으로 결합하는 염기 서열이 상대적으로 더 많아지도록 설계될 수 있다.

[1208]

[1209] 상기 경쟁 구조체(2)는 핵산 복합체(1)에 대해서 구현될 수 있다. 상기 경쟁 구조체(2)는 핵산 복합체(1)의 결정부(100)의 염기 서열의 적어도 일부에 상보적인 서열을 가지고, 상기 핵산 복합체(1)의 태그부(200)의 염기 서열의 적어도 일부에 상보적인 서열을 가질 수 있다.

[1210] 상기 경쟁 구조체(2)는 핵산 복합체 페어(10)에 대해서 구현될 수 있다. 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)가 제공되고, 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)는 제공되지 않을 수 있다. 또는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)가 제공되고, 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)는 제공되지 않을 수 있다. 또는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 핵산 복합체(110)에 대한 제1 경쟁 구조체(2)가 제공되고, 제2 핵산

복합체(120)에 대한 제2 경쟁 구조체(2)는 제공될 수 있다.

[1211]

[1212] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하는 결합력에 비해 제1 태그부(112) 및 제1 태그 경쟁부(500)가 상보적으로 결합하는 결합력이 더 작을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 수에 비해 제1 태그부(112) 및 제1 태그 경쟁부(500)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 수가 더 작을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 A-T의 수에 대한 C-G의 수가 제1 태그부(112) 및 제1 태그 경쟁부(500)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 A-T의 수에 대한 C-G의 수에 비해 더 작을 수 있다.

[1213] 이는, 제1 태그부(112) 및 제1 태그 경쟁부(500) 사이의 활발한 결합이, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 결합을 저해하는 것을 방지하기 위함일 수 있다.

[1214]

[1215] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하는 결합력에 비해 제2 태그부(122) 및 제2 태그 경쟁부(500)가 상보적으로 결합하는 결합력이 더 작을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 수에 비해 제2 태그부(122) 및 제2 태그 경쟁부(500)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 수가 더 작을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 A-T의 수에 대한 C-G의 수가 제2 태그부(122) 및 제2 태그 경쟁부(500)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 A-T의 수에 대한 C-G의 수에 비해 더 작을 수 있다.

[1216] 이는, 제2 태그부(122) 및 제2 태그 경쟁부(500) 사이의 활발한 결합이, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 결합을 저해하는 것을 방지하기 위함일 수 있다.

[1217]

[1218] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 결정부(111)가 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하는 결합력에 비해 제1 결정부(111) 및 제1 프라이머 경쟁부(600)가 상보적으로 결합하는 결합력이 더 작을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 결정부(111)가 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하는 염기 서열의 수에 비해 제1 결정부(111) 및 제1 프라이머 경쟁부(600)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 수가 더 작을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 결정부(111)가 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하는 염기 서열의 A-T의

수에 대한 C-G의 수가 제1 결정부(111) 및 프라이머 경쟁부(600)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 A-T의 수에 대한 C-G의 수에 비해 더 작을 수 있다.

[1219] 이는, 제1 결정부(111) 및 제1 프라이머 경쟁부(600) 사이의 활발한 결합이, 제1 결정부(111) 및 제1 타겟 염기 서열 간의 결합을 저해하는 것을 방지하기 위함일 수 있다.

[1220]

[1221] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제2 결정부(121)가 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하는 결합력에 비해 제2 결정부(121) 및 제2 프라이머 경쟁부(600)가 상보적으로 결합하는 결합력이 더 작을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제2 결정부(121)가 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하는 염기 서열의 수에 비해 제2 결정부(121) 및 제2 프라이머 경쟁부(600)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 수가 더 작을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제2 결정부(121)가 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하는 염기 서열의 A-T의 수에 대한 C-G의 수가 제2 결정부(121) 및 프라이머 경쟁부(600)가 상보적으로 결합하는 염기 서열의 A-T의 수에 대한 C-G의 수에 비해 더 작을 수 있다.

[1222] 이는, 제2 결정부(121) 및 제2 프라이머 경쟁부(600) 사이의 활발한 결합이, 제2 결정부(121) 및 제2 타겟 염기 서열 간의 결합을 저해하는 것을 방지하기 위함일 수 있다.

[1223]

[1224] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 경쟁 구조체(2)는 태그 경쟁부(500) 및 프라이머 경쟁부(600) 사이에 PCR블로커가 배치되는 형태로 구현될 수 있다. 또한, 본 출원의 일 실시예에 따르면, 경쟁 구조체(2)는 태그 경쟁부(500), PCR 블로커, 프라이머 경쟁부(600) 및 3' Phosphorylation가 연결되는 형태로 구현될 수 있다.

[1225]

[1226] 1.4.2 경쟁 구조체(2)의 동작

[1227] 도 38 내지 도 40은 본 출원의 일 실시예에 따른 경쟁 구조체(2)의 동작을 설명하기 위한 도면이다.

[1228]

[1229] 이하에서는, 설명의 편의를 위해, PCR이 진행되는 단위셀(UC)에 4개의 제1 핵산 복합체(110), 4개의 제2 핵산 복합체(120), 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2), 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제 2 가닥이 존재하는 경우를 상정하여 설명한다.

[1230]

[1231] 다만, 이는 이해를 돕기 위한 간략화된 도면 및 설명일 뿐, 단위셀(UC)에 4개의 제1 핵산 복합체(110), 4개의 제2 핵산 복합체(120), 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2), 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제 2 가닥이 존재하는 것으로 가정하여 설명하는

것일 뿐, 실제로 단위셀(UC)내에 4개의 제1 핵산 복합체(110), 4개의 제2 핵산 복합체(120), 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2), 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제 2 가닥를 제공하여 PCR을 진행한다는 것을 설명하는 것은 아니다.

[1232]

[1233] 도 38을 참조하면, PCR이 진행되는 단위셀(UC)에는 4개의 제1 핵산 복합체(110), 4개의 제2 핵산 복합체(120), 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2), 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제 2 가닥가 존재할 수 있다.

[1234] 일 예로, 단위셀(UC)에는 제1 가닥 및 제2 가닥이 상보적으로 연결되어 있는 이중 가닥의 DNA가 존재할 수 있다.

[1235] 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 단위셀(UC)내에 존재하는 이중 가닥의 DNA가 단일 가닥 DNA로 변경될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥 및 상기 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥의 상보적 결합이 해리될 수 있다.

[1236]

[1237] 어닐링 단계(S3000)에서는, 제1 핵산 복합체(110)의 제1 결정부(111)가 상기 제1 가닥에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 결정부(111)는 상기 제1 가닥의 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다. 어닐링 단계(S3000)에서는, 제2 핵산 복합체(120)의 제2 결정부(121)가 상기 제2 가닥에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제2 결정부(121)는 상기 제2 가닥의 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[1238] 어닐링 단계(S3000)에서는, 단위셀(UC)에서 반응에 참여하지 않은 3개의 제1 핵산 복합체(110), 3개의 제2 핵산 복합체(120) 및 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)가 유동하고 있을 수 있다.

[1239]

[1240] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 상기 제1 결정부(111)가 결합한 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 상기 제2 결정부(121)가 결합한 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다.

[1241] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 단위셀(UC)에서 반응에 참여하지 않은 3개의 제1 핵산 복합체(110), 3개의 제2 핵산 복합체(120) 및 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)가 유동하고 있을 수 있다.

[1242]

[1243] 본 출원의 일 실시예에 따르면 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000), 중합

반응 단계(S4000)를 1주기로 하여, 단위셀(UC)에 대한 적어도 1주기 이상의 PCR이 진행될 수 있다.

[1244]

[1245] 도 39를 참조하면, 1주기 이후의 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 단위셀(UC)내에 존재하는 이중 가닥의 DNA가 단일 가닥 DNA로 분리될 수 있다.

[1246] 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)을 포함하는 단일 가닥의 핵산이 생성될 수 있다. 상기 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)를 포함하는 단일 가닥의 핵산은 제2 타겟 염기 서열을 포함할 수 있다.

[1247] 열변성 단계(S2000)에서는, 상기 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)을 포함하는 단일 가닥의 핵산으로 분리될 수 있다. 상기 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)를 포함하는 단일 가닥의 핵산은 제1 타겟 염기 서열을 포함할 수 있다.

[1248] 열변성 단계(S2000)에서는, 단위셀(UC)에서 반응에 참여하지 않은 3개의 제1 핵산 복합체(110), 3개의 제2 핵산 복합체(120) 및 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)가 유동하고 있을 수 있다.

[1249]

[1250] 어닐링 단계(S3000)에서는, 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)을 포함하는 단일 가닥의 핵산에 제1 결정부(111)가 상보적으로 결합할 수 있다. 어닐링 단계(S3000)에서는, 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)을 포함하는 단일 가닥의 핵산에 제2 결정부(121)가 상보적으로 결합할 수 있다.

[1251] 어닐링 단계(S3000)에서는, 첫주기의 PCR에서와 마찬가지로 제1 결정부(111)는 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 상보적으로 결합할 수 있다. 또한, 어닐링 단계(S3000)에서는, 첫주기의 PCR에서와 마찬가지로 제2 결정부(121)는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 상보적으로 결합할 수 있다.

[1252] 어닐링 단계(S3000)에서는, 단위셀(UC)에서 반응에 참여하지 않은 1개의 제1 핵산 복합체(110), 1개의 제2 핵산 복합체(120) 및 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)가 유동하고 있을 수 있다.

[1253]

[1254] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 상기 제1 결정부(111)가 결합한, 제2 가닥에 대한 증폭 산물 및 제2 결정부(121)을 포함하는 단일 가닥의 핵산에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 상기 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 상기 제2 결정부(121)가 결합한, 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및 제1 결정부(111)을 포함하는 단일 가닥의 핵산에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다.

[1255] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 첫 주기에서의 PCR과 마찬가지로, 상기 제1

결정부(111)를 개시점으로 하여, 상기 제1 결정부(111)가 결합한 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 또한, 중합 반응 단계(S4000)에서는, 첫 주기에서의 PCR과 마찬가지로, 상기 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 상기 제2 결정부(121)가 결합한 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥의 적어도 일부에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다.

[1256] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 단위셀(UC)에서 반응에 참여하지 않은 1개의 제1 핵산 복합체(110), 1개의 제2 핵산 복합체(120) 및 2개의 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)가 유동하고 있을 수 있다.

[1257]

[1258] 적어도 2주기 이상의 PCR이 진행되면, 단위셀(UC)에는 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열이 포함되고, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 포함되는 이중 나선의 핵산 구조체가 생성될 수 있다. 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열이 포함되고, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 포함되는 이중 나선의 핵산 구조체에 있어서, 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)는 단일 가닥의 형태로 유지될 수 있다.

[1259]

[1260] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 단일 가닥의 형태로 유지되는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는, PCR이 종료된 이후에도 단일 가닥으로 남아, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합을 형성할 수 있다. 그 결과, PCR이 종료된 이후에도 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합 여부에 따라 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 연계 작용 유무를 검출하여 타겟 핵산 유무를 확인할 수 있다.

[1261]

[1262] 다만, 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열이 포함되고, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 포함되는 이중 나선의 핵산 구조체의 제1 태그부(112)에, 중합 반응 단계(S4000)에서 유동하고 있던 1개의 제2 핵산 복합체(120)의 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하는 경우(도 40(a) 참조), 타겟 핵산(즉, 검출하고자 하는 타겟 DNA)의 유무 및 타겟 핵산의 농도에 대한 부정확한 데이터가 획득되는 문제가 발생할 수 있다.

[1263] 또한, 단위셀(UC)에 유동하고 있는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)에 있어서, PCR에 의해 증폭 산물을 형성하지 않았더라도 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합을 형성하여 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 연계 작용에 의한 신호를 발생시킬 수 있다. 즉, 단위셀(UC)에 타겟 핵산이 없음에도, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)의 연계 작용에 의한 신호가 검출되어 부정확한 데이터가 획득되는 문제가 발생할 수 있다.

[1264]

[1265] 이러한 문제를 개선하기 위해 경쟁 구조체(2)를 더 이용하여 PCR을 진행할 수

있다. 도 38 및 39에 따른 PCR 동작을 살펴보면, PCR이 종료된 후 유동하고 있는 경쟁 구조체(2)는 반응에 참여하지 않은 제1 핵산 복합체(110)와 상보적으로 결합할 수 있다(도 40(b) 참조). 다시 말해, PCR이 종료된 후 유동하고 있는 경쟁 구조체(2)가 반응에 참여하지 않은 제1 핵산 복합체(110)와 반응함으로써, 유동하고 있는 반응에 참여하지 않은 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 반응하여 타겟 핵산의 유무 및 타겟 핵산의 농도에 대한 부정확한 데이터가 획득되는 문제가 발생하는 것을 방지할 수 있다.

[1266]

[1267] 1.4.3 경쟁 구조체(2)의 동작과 관련된 실험예 #3

[1268] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10) 및 경쟁 구조체(2)를 이용하여 단위셀(UC) 내의 타겟 핵산의 유무를 확인하는 경우, 타겟 핵산 유무의 검출의 정확도가 향상될 수 있다.

[1269]

[1270] 도 41은 본 출원의 일 실시예에 따라 핵산 복합체 페어(10) 및 경쟁 구조체(2)를 이용한 PCR 결과를 설명하기 위한 도면이다.

[1271]

[1272] 본 실험을 진행함에 있어서, PCR 플레이트의 제1 튜브(또는 well) 내지 제4 튜브에 Tris-HCl(pH9.0), salt(KCl), MaCl2, dNTP mixture, protein stabilizer, PCR enhancer(macromolecules), fast hot-start Taq DNA Polymerase가 도입되었다.

[1273]

[1274] 상기 PCR플레이트의 제1 튜브 내지 제4 튜브에 핵산 복합체 페어(10)가 도입되었다. 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)로 구성되었다.

[1275] 제1 핵산 복합체(110)는, 제1 라벨부(113), 제1 태그부(112), 제1 연결부(114) 및 제1 결정부(111) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제1 라벨부(113)는 FAM이고, 제1 태그부(112)는 AACCTTGGGA(서열번호 9), 제1 연결부(114)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제1 결정부(111)는 AGCTCCTATTGCCAACGTA(서열번호 10)이었다.

[1276] 제2 핵산 복합체(120)는, 제2 라벨부(123), 제2 태그부(122), 제2 연결부(124) 및 제2 결정부(121) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제2 라벨부(123)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers))이고, 제2 태그부(122)는 TCCCAAGGTT(서열번호 11), 제2 연결부(124)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제2 결정부(121)는 GCGAGTTACGAAGACAAAA(서열번호 8)이었다.

[1277] 제1 튜브 내지 제4 튜브에는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)는 각각 1.5 pmol/Rxn만큼 도입되었다.

[1278]

[1279] 상기 PCR 플레이트의 제1 튜브에는 경쟁 구조체(2)가 제공되지 않았고, 상기

PCR 플레이트의 제2 튜브 내지 제4 튜브에는 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)가 제공되었다.

[1280] 제2 튜브에는 경쟁 구조체(2)가 1.5 pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제3 튜브에는 경쟁 구조체(2)가 3 pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제2 튜브에는 경쟁 구조체(2)가 12 pmol/Rxn만큼 도입되었다.

[1281] 제2 튜브에 도입된 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)의 농도는 제1 핵산 복합체(110)의 약 1배에 달했다. 제2 튜브에 도입된 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)의 농도는 제2 핵산 복합체(120)의 약 1배에 달했다. 제3 튜브에 도입된 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)의 농도는 제1 핵산 복합체(110)의 약 2배에 달했다. 제3 튜브에 도입된 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)의 농도는 제2 핵산 복합체(120)의 약 2배에 달했다. 제4 튜브에 도입된 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)의 농도는 제1 핵산 복합체(110)의 약 8배에 달했다. 제4 튜브에 도입된 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)의 농도는 제2 핵산 복합체(120)의 약 8배에 달했다.

[1282]

[1283] 제2 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)는 프라이머 경쟁부(600), PCR 블로커, 태그 경쟁부(500) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 태그 경쟁부(500)는 AAAAAAAACCTT(서열번호 17)이고, PCR 블로커는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 프라이머 경쟁부(600)는 CCACACAAAGATT(서열번호 18) 이었다.

[1284]

[1285] 핵산 복합체 페어(10) 및 기타 엔자임이 도입된 튜브된 제1 내지 제4 튜브는 온도가 조절되어, 튜브내의 용액에 대한 PCR 반응이 진행되었다. 도 29에 도시된 바와 같이, 튜브의 온도를 95C로 10분정도 유지한 후, 열변성 단계(S2000)(95C, 10초), 어닐링 단계(S3000)(50C, 40초), 중합 반응 단계(S4000)(60C, 20초)를 1주기로 하여, 40번이 반복되었다. 본 실험에서는 bio-rad사의 CFX 96(허가번호 수인 10-205호)가 이용되었다.

[1286]

[1287] 실험을 진행한 결과, 경쟁 구조체(2)가 제공되지 않은 제1 튜브에, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열이 존재하는 경우에, 약 38C에서 해리피크값이 검출되어 타겟 핵산의 유무의 검출(R1)이 가능하였다.

[1288] 다만, 경쟁 구조체(2)가 제공되지 않은 제1 튜브에, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열이 존재하지 않는 경우에도, 약 40C 근처에서 -600[-d/(RFU/dT)]정도의 피크값이 검출(R2)되어, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열의 유무에 따른 검출 정확도가 저해되는 현상을 보였다.

[1289]

[1290] 경쟁 구조체(2)가 제1 핵산 복합체(110)(또는, 제2 핵산 복합체(120))의 1배가 제공된 제2 튜브에서, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열이 존재하는 경우에, 약 38C에서 해리피크값이 검출되어 타겟 핵산의 유무의 검출(R3)이 가능하였다.

[1291] 다만, 경쟁 구조체(2)가 제1 핵산 복합체(110)(또는, 제2 핵산 복합체(120))의 1배가 제공된 제2 튜브에서, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열이 존재하지 않는 경우에도, 약 40C 근처에서 -800[-d/(RFU/dT)]정도의 피크값이 검출(R4)되어, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열의 유무에 따른 검출 정확도가 저해되는 현상을 보였다.

[1292]

[1293] 경쟁 구조체(2)가 제1 핵산 복합체(110)(또는, 제2 핵산 복합체(120))의 2배가 제공된 제3 튜브에서, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열이 존재하는 경우에, 약 38C에서 해리피크값이 검출되어 타겟 검출(R5)이 가능하였다.

[1294] 또한, 경쟁 구조체(2)가 제1 핵산 복합체(110)(또는, 제2 핵산 복합체(120))의 2배가 제공된 제3 튜브에서, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열이 존재하지 않는 경우에, 약 38C근처에서 -200[-d/(RFU/dT)]을 초과하는 어떠한 피크값도 검출되지 않는(R6) 것을 확인하였다.

[1295]

[1296] 경쟁 구조체(2)가 제1 핵산 복합체(110)(또는, 제2 핵산 복합체(120))의 8배가 제공된 제4 튜브에서, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열이 존재하는 경우에, 약 38C에서 해리피크값이 검출되어 타겟 검출(R7)이 가능하였다.

[1297] 또한, 경쟁 구조체(2)가 제1 핵산 복합체(110)(또는, 제2 핵산 복합체(120))의 8배가 제공된 제4 튜브에서, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열이 존재하지 않는 경우에, 약 38C근처에서 -200[-d/(RFU/dT)]을 초과하는 어떠한 피크값도 검출되지 않는(R8) 것을 확인하였다.

[1298]

[1299] 이로써, 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 타겟 핵산의 유무를 검출함에 있어서, 경쟁 구조체(2)를 제1 핵산 복합체(110)(또는, 제2 핵산 복합체(120))에 대해 일정 비율(예, 1:2)이상 제공하여 이용하는 경우, 상기 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 상기 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열의 유무에 따른 검출 정확도가 향상되는 것을 확인할 수 있었다.

[1300]

[1301] 2. 핵산 복합체 페어(10)의 활용 #2 - multiplex PCR

[1302] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합 여부에 기초한 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 여부를 확인함으로써, 타겟 핵산의 유무를 확인할 수 있다.

[1303]

[1304] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)의 일 태그부(200)(예, 제1 태그부(112)) 및 타 태그부(200)(예, 제2 태그부(122)) 사이의 결합이 해리되는 온도를 달리하여, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용 여부가 달라지는 특정 온도를 확인함으로써, 단위셀(UC)에서 복수 종류의 타겟 핵산의 유무를 확인할 수 있다.

[1305]

[1306] 구체적으로는, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 결합을 유지하는 결합 유지력이, 핵산 복합체(1)의 구성 물질, 구조 등에 따라 다른 특성을 활용하여, 동일 표지가 부착된 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 구분하여 표지하는 것이 가능할 수 있다.

[1307]

[1308] 2.1 결합유지력

[1309] 2.1.1 결합유지력의 의의

[1310] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)를 포함하는 핵산 구조체는, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합에 따라 2차 구조를 형성할 수 있다. 이에 대해서는 위의 목차 1.2 2차 구조의 형성에서 구체적으로 설명한바 있어, 중복되는 설명은 생략하기로 한다.

[1311] 이 때, 단순히 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합을 해리시키기 위해 가해야 하는 최소 외력에 비해, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)를 포함하는 핵산 구조체 있어서 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합을 통해 2차 구조를 형성한 경우에 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합을 해리시키기 위해 가해야 하는 최소 외력이 클 수 있다.

[1312] 다시 말해, 단순히 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합이 형성된 것에 비해, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)를 포함하는 핵산 구조체 있어서 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합을 통해 2차 구조를 형성한 경우의, 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122) 사이의 결합력이 더 클 수 있다.

[1313]

[1314] 본 명세서에서는, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)를 포함하는 핵산 구조체

있어서 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합을 통해 상기 핵산 구조체의 2차 구조를 형성한 경우에, 상기 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합을 해리 시키기 위한 최소 외력을 "결합유지력"이라고 하기로 한다.

[1315]

[1316] 이하에서는, 결합유지력에 영향을 미치는 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 몇몇 요소(factor)에 대해서 구체적으로 설명하기로 한다.

[1317]

[1318] 2.1.2 결합유지력에 영향을 미치는 요소

[1319] 2.1.2.1 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 단위 핵산의 종류

[1320] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 핵산 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자의 종류와 연관되어 있을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 구성하는 핵산의 단위 분자의 결합력에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.

[1321]

[1322] 일 예로, 제1 태그부(112)를 구성하는 핵산 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자의 결합력이 증가할수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다. 다른 예로, 제2 태그부(122)를 구성하는 핵산 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자의 결합력이 증가할수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다.

[1323] 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)를 구성하는 단위 분자가 PNA인 경우, 제1 태그부(112)를 구성하는 단위 분자가 DNA인 경우에 비해 상기 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다. 다른 구체적인 예를 들어, 제2 태그부(122)를 구성하는 단위 분자가 LNA인 경우, 제2 태그부(122)를 구성하는 단위 분자가 DNA인 경우에 비해 상기 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다. 또 다른 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)를 구성하는 단위 분자가 PNA인 경우, 제1 태그부(112)를 구성하는 단위 분자가 PNA이고, 제2 태그부(122)를 구성하는 단위 분자가 DNA인 경우에 비해 결합유지력이 높을 수 있다.

[1324]

[1325] 2.1.2.2 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 염기 서열의 염기 종류

[1326] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 염기 서열과 연관되어 있을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 염기 서열의 염기 종류에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.

[1327]

[1328] 구체적인 예를 들어, 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하는 제1 태그부(112)에 포함된 염기 서열의 염기

종류에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.

[1329] 일 예로, 제1 태그부(112)를 구성하는 염기 서열 중 제2 태그부(122)와의 결합에 관여하는 염기 서열에 C(시토신)이 많을수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다. 다른 예로, 제1 태그부(112)를 구성하는 염기 서열 중 제2 태그부(122)와의 결합에 관여하는 염기 서열에 G(구아닌)이 많을수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다. 또 다른 예로, 동일 길이의 제1 태그부(112)라 가정할 때, 제1 태그부(112)의 C(시토신)-G(구아닌)/A(아데닌)-T(티민)의 비율이 높을수록 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다.

[1330]

[1331] 다른 구체적인 예를 들어, 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112)와 상보적으로 결합하는 제2 태그부(122)에 포함된 염기 서열의 염기 종류에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.

[1332] 일 예로, 제2 태그부(122)를 구성하는 염기 서열 중 제1 태그부(112)와의 결합에 관여하는 염기 서열에 C(시토신)이 많을수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다. 다른 예로, 제2 태그부(122)를 구성하는 염기 서열 중 제1 태그부(112)와의 결합에 관여하는 염기 서열에 G(구아닌)이 많을수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다. 또 다른 예로, 동일 길이의 제2 태그부(122)라 가정할 때, 제2 태그부(122)의 C(시토신)-G(구아닌)/A(아데닌)-T(티민)의 비율이 높을수록 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 증가할 수 있다.

[1333]

[1334] 2.1.2.3 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 염기 서열의 염기 배열

[1335] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 염기 서열과 연관되어 있을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 염기 서열의 염기 배열에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.

[1336]

[1337] 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)의 염기 서열의 염기 배열에 따라 결합유지력은 증가하거나 감소할 수 있다.

[1338] 일 예로, 제1 태그부(112)를 구성하는 염기 서열이 5개의 C(시토신) 및 5개의 A(아데닌)이라고 하더라도, 5`-CCCCCAAAAA-3`로 구성된 제1 태그부(112) 및 5`-TTTTTGGGGG-3`로 구성된 제2 태그부(122) 사이의 결합에 따른 결합유지력과, 5`-CCAAAAACCC-3`로 구성된 제1 태그부(112) 및 5`-GGGTTTTTGG-3`로 구성된 제2 태그부(122) 사이의 결합에 따른 결합유지력이 상이할 수 있다.

[1339] 다른 예로, 제1 태그부(112)를 구성하는 염기 서열이 5개의 G(구아닌) 및 5개의 A(아데닌) 이라고 하더라도, G(구아닌)이 제1 라벨부(113)에 인접하게

위치되는지, 또는, G(구아닌)이 제1 연결부(114)에 인접하게 위치되는지에 따라 결합유지력이 상이할 수 있다.

[1340]

[1341] 다른 구체적인 예를 들어, 제2 태그부(122)의 염기 서열의 염기 배열에 따라 결합유지력은 증가하거나 감소할 수 있다.

[1342] 일 예로, 제2 태그부(122)를 구성하는 염기 서열이 5개의 C(시토신) 및 5개의 A(아데닌) 이라고 하더라도, 5`-CCCCCAAAAA-3`로 구성된 제2 태그부(122) 및 5`-TTTTTGGGGG-3`로 구성된 제1 태그부(112) 사이의 결합에 따른 결합유지력과, 5`-CCAAAAACCC-3`로 구성된 제2 태그부(122) 및 5`-GGGTTTTTGG-3`로 구성된 제1 태그부(112) 사이의 결합에 따른 결합유지력이 상이할 수 있다.

[1343] 다른 예로, 제2 태그부(122)를 구성하는 염기 서열이 5개의 G(구아닌) 및 5개의 A(아데닌) 이라고 하더라도, G(구아닌)이 제2 라벨부(123)에 인접하게 위치되는지, 또는, G(구아닌)이 제2 연결부(124)에 인접하게 위치되는지에 따라 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 상이할 수 있다.

[1344]

[1345] 2.1.2.4 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적 결합에 관여하는 염기의 수

[1346] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적 결합에 관여하는 염기의 수가 연관되어 있을 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적 결합에 관여하는 염기의 수에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.

[1347]

[1348] 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 상보적 결합에 관여하는 염기의 수가 증가할수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력은 증가할 수 있다. 제1 태그부(112)의 염기 중 제2 태그부(122)와 결합하는 염기의 수가 많을수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력은 증가할 수 있다. 제2 태그부(122)의 염기 중 제1 태그부(112)와 결합하는 염기의 수가 많을수록, 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력은 증가할 수 있다.

[1349]

[1350] 2.1.2.5 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122) 사이의 상대적인 염기 서열

[1351] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상대적인 염기 서열과 연관되어 있을 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상대적인 염기 서열에 따른, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합 방향에 따라, 상기 결합유지력은 증가하거나 감소할 수 있다.

[1352]

[1353] 상기 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합 방향에 대해서는, 위의

목차 2.2 태그부(200) 및 1.2 2차 구조의 형성에서 구체적으로 개시한바 있어, 중복되는 기재는 생략하기로 한다.

[1354]

[1355] 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)의 제1 결정부(111)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 결정부(121)와 이격된 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 수행하는 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력과, 제1 태그부(112)의 제1 결정부(111)와 인접한 영역의 염기 서열과 제2 태그부(122)의 제2 결정부(121)와 인접한 영역의 염기 서열이 상보적인 결합을 수행하는 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력은 상이할 수 있다.

[1356]

[1357] 2.1.2.6 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122) 사이의 미스 매치된 염기 서열의 수

[1358] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 미스 매치된 염기 서열과 연관되어 있을 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 미스 매치된 염기 서열의 유무 및/또는 미스 매치된 염기 서열의 수에 따라, 상기 결합유지력은 증가하거나 감소할 수 있다.

[1359]

[1360] 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)와 제2 태그부(122) 사이의 미스 매치된 염기 서열이 있는 경우, 결합유지력은 감소할 수 있다. 일 예로, 제1 태그부(112)가 5`-AAACCCGG-3`의 염기 서열을 가지는 경우에 있어서, 제2 태그부(122)가 5`-CCGGGTTT-3`를 가지는 경우가, 제2 태그부(122)가 5`-CCGGTTTT-3`를 가지는 경우에 비해 결합유지력이 클 수 있다.

[1361]

[1362] 2.1.2.7 제1 라벨부(113) 및/또는 제2 라벨부(123)의 상대적인 위치

[1363] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 라벨부(113) 및/또는 제2 라벨부(123)의 위치와 연관되어 있을 수 있다. 제1 핵산 복합체(110)의 각 구성요소와 제1 라벨부(113) 사이의 위치 관계에 따라서, 상기 결합유지력은 증가하거나 감소할 수 있다. 제2 핵산 복합체(120)의 각 구성요소와 제2 라벨부(123) 사이의 위치 관계에 따라서, 상기 결합유지력은 증가하거나 감소할 수 있다.

[1364]

[1365] 구체적인 예를 들어, 제1 핵산 복합체(110)가 제1 라벨부(113), 제1 태그부(112), 제1 연결부(114) 및 제1 결정부(111) 순으로 연결된 경우에 있어서, 제2 핵산 복합체(120)가 제2 라벨부(123), 제2 태그부(122), 제2 연결부(124) 및 제2 결정부(121) 순으로 연결된 경우에 비해, 제2 핵산 복합체(120)가 제2 태그부(122), 제2 연결부(124), 제2 라벨부(123) 및 제2 결정부(121) 순으로 연결된 경우의 결합유지력이 클 수 있다.

[1366]

[1367] 2.1.2.8 제1 라벨부(113) 및/또는 제2 라벨부(123)의 종류

[1368] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 라벨부(113) 및/또는 제2 라벨부(123)의 종류와 연관되어 있을 수 있다. 제1 라벨부(113)의 종류에 따라서, 상기 결합유지력은 증가하거나 감소할 수 있다. 제2 라벨부(123)의 종류에 따라서, 상기 결합유지력은 증가하거나 감소할 수 있다.

[1369]

[1370] 구체적인 예를 들어, 제1 라벨부(113)가 FAM인 경우의 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력과, 제1 라벨부(113)가 HEX인 경우의 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 상이할 수 있다. 제2 라벨부(123)가 FAM인 경우의 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력과, 제2 라벨부(123)가 HEX인 경우의 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 상이할 수 있다.

[1371]

[1372] 2.1.2.9 증폭 산물의 염기 서열의 염기 종류

[1373] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 결정부(111) 및/또는 제2 결정부(121)의 상보적 결합 및 PCR을 통해 형성된, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및/또는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물에 연관되어 있을 수 있다. 제1 결정부(111) 및/또는 제2 결정부(121)의 상보적 결합 및 PCR을 통해 형성된, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물에 포함되는 염기 서열의 염기 종류에 따라, 상기 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 제1 결정부(111) 및/또는 제2 결정부(121)의 상보적 결합 및 PCR을 통해 형성된, 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물에 포함되는 염기 서열의 염기 종류에 따라, 상기 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다.

[1374]

[1375] 구체적인 예를 들어, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물에 포함되는 염기 서열에 C(시토신)-G(구아닌)이 많을수록, 결합유지력이 상승할 수 있다. 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물에 포함되는 염기 서열에 C(시토신)-G(구아닌)이 많을수록, 결합유지력이 상승할 수 있다.

[1376]

[1377] 2.1.2.10 증폭 산물의 길이

[1378] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 결정부(111) 및/또는 제2 결정부(121)의 상보적 결합 및 PCR을 통해 형성된, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물 및/또는 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물에 연관되어 있을 수 있다. 제1 결정부(111) 및/또는 제2 결정부(121)의 상보적 결합 및 PCR을 통해 형성된, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물의 길이에 따라, 상기 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 제1 결정부(111) 및/또는 제2 결정부(121)의 상보적 결합 및 PCR을 통해 형성된, 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한

증폭 산물의 길이에 따라, 상기 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다.

[1379]

[1380] 일 예로, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물의 길이가 달라짐에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 다른 예로, 제1 결정부(111) 및 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭 산물을 포함하는 핵산 가닥의 길이가 달라짐에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 또다른 예로, 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물의 길이가 달라짐에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 다른 예로, 제2 결정부(121) 및 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭 산물을 포함하는 핵산 가닥의 길이가 달라짐에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다.

[1381]

[1382] 2.1.2.11 제1 결정부(111) 및/또는 제2 결정부(121)의 염기 서열

[1383] 본 출원의 일 실시예에 따른 결합유지력은, 제1 결정부(111) 및/또는 제2 결정부(121)의 염기 서열에 연관되어 있을 수 있다. 상기 결합유지력은, 제1 타겟 염기 서열 및/또는 제2 타겟 염기 서열에 연관되어 있을 수 있다. 상기 결합유지력은, 제1 결정부(111)가 타겟하는 특정 질병 및/또는 제2 결정부(121)가 타겟하는 특정 질병에 연관되어 있을 수 있다. 상기 결합유지력은, 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)가 타겟하는 특정 질병에 연관되어 있을 수 있다.

[1384]

[1385] 일 예로, 제1 결정부(111)의 염기 서열의 염기 종류에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 다른 예로, 제1 결정부(111)의 염기 서열의 염기 배열에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 또 다른 예로, 제1 결정부(111)의 염기 서열의 길이에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 또 다른 예로, 제2 결정부(121)의 염기 서열의 염기 종류에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 또 다른 예로, 제2 결정부(121)의 염기 서열의 염기 배열에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다. 또 다른 예로, 제2 결정부(121)의 염기 서열의 길이에 따라, 결합유지력이 상승하거나 감소할 수 있다.

[1386]

[1387] 2.2 핵산 복합체 페어(10)의 구성

[1388] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 적어도 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)가 이용될 수 있다.

[1389] 상기 제1 핵산 복합체 페어(10)는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다. 상기 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 연결부(114), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113)를 포함할 수 있다. 상기 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 연결부(114), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113) 순으로 연결될 수 있다. 상기 제2 핵산 복합체(120)는 제2

결정부(121), 제2 연결부(124), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123)를 포함할 수 있다. 상기 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 연결부(124), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123) 순으로 연결될 수 있다.

[1390] 상기 제2 핵산 복합체 페어(10)는, 제3 핵산 복합체(1) 및 제4 핵산 복합체(1)를 포함할 수 있다. 상기 제3 핵산 복합체(1)는 제3 결정부(100), 제3 연결부(400), 제3 태그부(200), 제3 라벨부(300)를 포함할 수 있다. 상기 제3 핵산 복합체(1)는 제3 결정부(100), 제3 연결부(400), 제3 태그부(200), 제3 라벨부(300) 순으로 연결될 수 있다. 상기 제4 핵산 복합체(1)는 제4 결정부(100), 제4 연결부(400), 제4 태그부(200), 제4 라벨부(300)를 포함할 수 있다. 상기 제4 핵산 복합체(1)는 제4 결정부(100), 제4 연결부(400), 제4 태그부(200), 제4 라벨부(300) 순으로 연결될 수 있다.

[1391]

[1392] 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)는 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 포워드 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 리버스 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 포워드 프라이머일 수 있다.

[1393] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 결정부(111)는 제1 질병과 관련된 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥을 증폭시키기 위한 프라이머일 수 있고, 상기 제2 결정부(121)는 제1 질병과 관련된 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥을 증폭시키기 위한 프라이머일 수 있다.

[1394]

[1395] 상기 제3 결정부(100) 및 상기 제4 결정부(100)는 프라이머일 수 있다. 상기 제3 결정부(100)가 포워드 프라이머인 경우, 상기 제4 결정부(100)는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제3 결정부(100)가 리버스 프라이머인 경우, 상기 제4 결정부(100)는 포워드 프라이머일 수 있다.

[1396] 구체적인 예를 들어, 상기 제3 결정부(100)는 제2 질병과 관련된 제3 타겟 염기 서열을 포함하는 제3 가닥을 증폭시키기 위한 프라이머일 수 있고, 상기 제4 결정부(100)는 제2 질병과 관련된 제4 타겟 염기 서열을 포함하는 제4 가닥을 증폭시키기 위한 프라이머일 수 있다.

[1397]

[1398] 본 출원의 일 바람직한 실시예에 있어서, 제1 결정부(111), 제2 결정부(121), 제3 결정부(100) 및 제4 결정부(100)의 어닐링 온도는 유사할 수 있다. 다시 말해, 프라이머를 설계함에 있어서 타겟 염기 서열에 결합하는 어닐링 온도(Tm, annealing temperature)는 프로그램 등을 통해 계산될 수 있다. 제1 결정부(111), 제2 결정부(121), 제3 결정부(100) 및 제4 결정부(100)가 단위셀(UC)의 어닐링 단계(S3000)에서 각 타겟 염기 서열에 결합함에 비추어, 1 결정부(100), 제2 결정부(121), 제3 결정부(100) 및 제4 결정부(100)의 어닐링 온도는 유사하게 설계될 수 있다.

[1399]

[1400] 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)은 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제3 태그부(200) 및 상기 제4 태그부(200)는 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 제1 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력은 제2 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력과 상이할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122) 사이의 상보적인 결합에 관여하는 염기 서열은, 4개의 C-G 및 3개의 A-T로 구성될 수 있다. 상기 제3 태그부(200) 및 상기 제4 태그부(200) 사이의 상보적인 결합에 관여하는 염기 서열은, 5개의 C-G 및 5개의 A-T로 구성될 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합유지력은 제3 태그부(200) 및 제4 태그부(200) 사이의 결합 유지력보다 작을 수 있다.

[1401]

[1402] 상기 제1 라벨부(113)는 제1 신호 발생 물질을 포함할 수 있다. 상기 제3 라벨부(300)는 제1 라벨부(113)와 동일할 신호로 검출되는 동일신호검출물질을 포함할 수 있다.

[1403] 여기서, "동일신호검출물질"이라 함은, 동일한 종류의 물질일 수 있다. 일 예로, 제1 핵산 복합체 페어(10)가 포함하는 제1 신호 물질이 JOE인 경우, 제2 핵산 복합체 페어(10)가 포함하는 제2 신호 물질이 JOE일 수 있다.

[1404] 여기서, "동일신호검출물질"이라 함은, 디바이스의 사양에 기초하여 동일한 신호(예를 들어, 미리 설정된 파장대에 대응되는 파장대 범위에 포함하는 신호)로 검출되는 복수의 종류의 상이한 물질일 수 있다. 일 예로, 제1 핵산 복합체 페어(10)가 포함하는 제1 신호 물질이 방출 파장이 548 lambda 인 TET인 경우, 디바이스의 사양에 따라 신호 물질 JOE 및 TET는 동일 파장대의 광으로 검출될 수 있고, 이 때, JOE와 TET는 동일신호검출물질일 수 있다.

[1405]

[1406] 상기 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)의 제1 신호를 변환하는 제1 신호 변환 물질을 포함할 수 있다. 상기 제4 라벨부(300)는 제1 라벨부(113)의 제1 신호와 동일한 신호로 검출되는 제3 라벨부(300)의 신호를 변환하는 제2 신호 변환 물질을 포함할 수 있다. 상기 제1 라벨부(113) 및 제3 라벨부(300)가 동일한 물질로 구성되는 경우, 상기 제2 라벨부(123) 및 상기 제4 라벨부(300)는 동일한 물질일 수 있다. 제1 라벨부(113) 및 제3 라벨부(300)가 동일한 물질인 경우에도, 상기 제2 라벨부(123) 및 상기 제4 라벨부(300)는 상이한 물질일 수 있다.

[1407]

[1408] 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)는 연계 작용을 수행할 수 있다. 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)의 결합 여부에 기초하여, 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)는 연계 작용을 수행할 수 있다. 상기 제3 라벨부(300) 및 상기 제4 라벨부(300)는 연계 작용을 수행할 수 있다. 상기 제3 태그부(200) 및 상기 제4 태그부(200)의 결합 여부에 기초하여, 상기 제3 라벨부(300) 및 상기 제4 라벨부(300)는 연계 작용을 수행할 수 있다.

[1409] 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)의 결합 유지력과, 상기 제3 태그부(200) 및 상기 제4 태그부(200)의 결합 유지력이 상이할 수 있다.

[1410]

[1411] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 대해서 온도를 증가시키면서 광학 신호를 측정하는 경우, 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 해제되는 시점 및 상기 제3 라벨부(300) 및 상기 제4 라벨부(300) 사이의 연계 작용이 해제되는 시점이 상이하게 검출될 수 있다. 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 대해서 온도를 증가시키면서 광학 신호를 측정하는 경우, 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 해제되는 온도 및 상기 제3 라벨부(300) 및 상기 제4 라벨부(300) 사이의 연계 작용이 해제되는 온도가 상이할 수 있다.

[1412] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 대해서 온도를 감소시키면서 광학 신호를 측정하는 경우, 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 유도되는 시점 및 상기 제3 라벨부(300) 및 상기 제4 라벨부(300) 사이의 연계 작용이 유도되는 시점이 상이하게 검출될 수 있다. 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 대해서 감소를 증가시키면서 광학 신호를 측정하는 경우, 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 유도되는 온도 및 상기 제3 라벨부(300) 및 상기 제4 라벨부(300) 사이의 연계 작용이 유도되는 온도가 상이할 수 있다.

[1413]

[1414] 상기 제1 연결부(114), 상기 제2 연결부(124), 상기 제3 연결부(400) 및 상기 제4 연결부(400)는 PCR 블로커일 수 있다. 상기 제1 연결부(114)는 상기 제1 태그부(112)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다. 상기 제2 연결부(124)는 상기 제2 태그부(122)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다. 상기 제3 연결부(400)는 상기 제3 태그부(200)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다. 상기 제4 연결부(400)는 상기 제4 태그부(200)에 대한 증폭 산물이 생성되는 것을 방지할 수 있다.

[1415]

[1416] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 이용하여, 하나의 단위셀(UC)에서 복수 종류의 타겟 핵산의 검출을 수행할 수 있다.

[1417] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 이용하여, 하나의 단위셀(UC)에서 하나의 형광 채널당 하나의 타겟 핵산을 검출하되, 복수의 형광 채널을 이용하여 하나의 단위셀(UC)에서 복수 종류의 타겟 핵산의 검출을 수행할 수 있다.

[1418] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10) 및 복수 종류의 핵산 복합체(1)의 결합유지력이 상이한 특성을 이용하여, 하나의 형광

채널당 복수 종류의 타겟 핵산의 검출을 수행할 수 있다.

[1419]

[1420] 하나의 형광 채널당 복수 종류의 타겟 핵산의 검출을 수행할 수 있도록 하기 위한 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)는, 위의 목차 2.1 결합유지력에서 개시한 여러가지 요소들을 고려하여, 서로 중첩되지 않는 결합유지력을 갖도록 설계될 수 있다. 하나의 형광 채널당 복수 종류의 타겟 핵산산의 검출을 수행할 수 있도록 하기 위한 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)는, 위의 목차 2.1 결합유지력에서 개시한 여러가지 요소들을 고려하여, 서로 중첩되지 않는 해리피크값을 갖도록 설계될 수 있다.

[1421] 일 예로, 핵산 복합체 페어(10)에 포함된 형광 물질(예, 제1 라벨부(113))의 핵산 복합체 페어(10)의 구성요소간 위치 관계를 변경하여, 제1 태그부(112)와 제3 태그부(200)의 염기 서열이 동일하고, 제2 태그부(122)와 제4 태그부(200)의 염기 서열이 동일한 경우에도, 제1 핵산 복합체 페어(10)의 해리피크값과 제2 핵산 복합체 페어(10)의 해리피크값이 상이하도록 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)가 설계될 수 있다.

[1422]

[1423] 하나의 형광 채널당 복수 종류의 타겟 핵산의 검출을 수행할 수 있도록 하기 위한 복수 종류의 핵산 복합체(1)는, 적어도 하나의 상이한 결정부(100) 서열을 가질 수 있다. 다시 말해, 제1 결정부(111)의 염기 서열과 제3 결정부(100)의 염기 서열은 다를 수 있다. 또는, 제2 결정부(121)의 염기 서열과 제4 결정부(100)의 염기 서열을은다를 수 있다. 또는, 제1 결정부(111)의 염기 서열과 제3 결정부(100)의 염기 서열은 다르고, 제2 결정부(121)의 염기 서열과 제4 결정부(100)의 염기 서열은 다를 수 있다.

[1424]

[1425] 하나의 단위셀(UC)에서 하나의 형광 채널 당 복수 종류의 타겟 핵산의 검출이 가능하도록 하기 위해, 복수의 해리피크값 각각을 서로 다른 타겟 염기 서열에 대응되는 핵산 복합체 페어(10)에 할당할 수 있다. 예를 들어, 제1 핵산 복합체 페어(10)에 대응되는 해리 피크값이 40C라면, 제2 핵산 복합체 페어(10)에 대응되는 해리 피크값은 55C로 설계될 수 있다.

[1426]

[1427] 2.3 핵산 복합체 페어(10)의 동작

[1428] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 복수 종류의 타겟 핵산을 검출하기 위해서 PCR을 수행할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따르면, 한 형광 채널당 복수 종류의 타겟 핵산을 검출하기 위해서 PCR을 수행할 수 있다.

[1429] PCR은 제1 핵산 복합체 페어(10)가 반응하는 타겟 핵산 및 제2 핵산 복합체 페어(10)가 반응하는 타겟 핵산이 상이할 수 있다는 점을 제외하고는, 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)는 위의 목차 1.3.2 핵산 복합체 페어(10)의 동작에서 설명한 바와 같아, 구체적인 설명은

생략하기로 한다.

[1430]

[1431] PCR이 종료된 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 대하여, 안정화 단계(S5000)가 진행될 수 있다. 안정화 단계(S5000)에서는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 상보적인 결합 및 제3 태그부(200) 및 제4 태그부(200)간의 상보적인 결합이 유도될 수 있다.

[1432] 안정화 단계(S5000)가 진행되고 나면, 해리 곡선 검출 단계(S6000)가 진행될 수 있다. 다시 말해, 단위셀(UC)에 대한 온도에 따른 형광값이 검출될 수 있다. 검출된 온도에 따른 형광값을 분석하여, 온도-온도에 대한 형광값의 음의 변화율에 대한 그래프가 획득될 수 있고, 해리 피크값이 확인될 수 있다.

[1433]

[1434] 보다 구체적으로, 제1 온도의 해리피크값을 갖도록 설계된 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 온도의 해리피크값을 갖도록 설계된 제2 핵산 복합체 페어(10)를 이용하여 PCR을 수행하는 경우, 제1 온도에서 해리피크값이 확인되는지 여부에 기초하여 제1 핵산 복합체 페어(10)의 제1 타겟 염기 서열(즉, 제1 결정부(111)의 적어도 일부와 상보적인 서열) 및 제2 타겟 염기 서열(즉, 제2 결정부(121)의 적어도 일부와 상보적인 서열)의 유무를 확인할 수 있고, 제2 온도에서 해리피크값이 확인되는지 여부에 기초하여 제2 핵산 복합체 페어(10)의 제3 타겟 염기 서열(즉, 제3 결정부(100)의 적어도 일부와 상보적인 서열) 및 제4 타겟 염기 서열(즉, 제4 결정부(100)의 적어도 일부와 상보적인 서열)의 유무를 확인할 수 있다.

[1435]

[1436] 도 42는 본 출원의 일 실시예에 따른 하나의 형광 채널에 대한 온도에 대한 형광값 그래프 및 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 도시한 것이다.

[1437]

[1438] 제1 라벨부(113) 및 제3 라벨부(300)는 동일 신호로 검출되는 신호 발생 물질이고, 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)로부터 방출되는 빛을 흡수하는 신호 변환 물질이며, 제4 라벨부(300)는 제3 라벨부(300)로부터 방출되는 빛을 흡수하는 신호 변환 물질일 수 있다.

[1439] 단위셀(UC)내에 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산 및 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 포함되어 있는 경우, 온도에 따른 형광값 그래프 중 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값(T1) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값(T2)에 대응되는 온도에서 단위셀(UC)로부터 검출되는 형광값이 증가하는 양상을 보일 수 있다(도 42(a) 참조).

[1440] 다시 말해, 단위셀(UC)내에 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산 및 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 포함되어 있는 경우, 제1 핵산

복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합으로 2차 구조를 형성할 수 있고, 제2 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체는 제3 태그부(200) 및 제4 태그부(200) 사이의 결합으로 2차 구조를 형성할 수 있다.

[1441] 단위셀(UC)에 대해 온도를 증가시키면서 단위셀(UC)로부터 발생하는 형광값을 검출하는 경우, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 결합의 해리에 따라 제2 라벨부(123)에 의해 흡수되던 제1 라벨부(113)의 광이 방출될 수 있다. 그 결과, 온도에 따른 형광값 그래프 중 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값(T1)에 대응되는 온도에서 단위셀(UC)로부터 검출되는 형광값이 증가하는 양상을 보일 수 있다.

[1442] 또한, 단위셀(UC)에 대해 온도를 증가시키면서 단위셀(UC)로부터 발생하는 형광값을 검출하는 경우, 제3 태그부(200) 및 제4 태그부(200)의 결합의 해리에 따라 제4 라벨부(300)에 의해 흡수되던 제3 라벨부(300)의 광이 방출될 수 있다. 그 결과, 온도에 따른 형광값 그래프 중 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값(T2)에 대응되는 온도에서 단위셀(UC)로부터 검출되는 형광값이 증가하는 양상을 보일 수 있다.

[1443]

[1444] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 온도-형광값 그래프는 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프로 변환될 수 있다.

[1445]

[1446] 단위셀(UC)내에 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산 및 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 포함되어 있는 경우, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서, 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값(T1)에 대응되는 온도 및 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값(T2)에 대응되는 온도에서 극대점 또는 극소점이 확인될 수 있다.

[1447] 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서, 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값(T1)에 대응되는 온도 및 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값(T2)에 대응되는 온도에서 극소점이 확인되는 경우, 제1 핵산 복합체 페어(10)에 관련된 타겟 핵산 및 제2 핵산 복합체 페어(10)에 관련된 타겟 핵산의 존재를 확인할 수 있다.

[1448]

[1449] 제1 라벨부(113) 및 제3 라벨부(300)는 동일 신호로 검출되는 신호 발생 물질이고, 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)로부터 방출되는 빛을 흡수하는 신호 변환 물질이며, 제4 라벨부(300)는 제3 라벨부(300)로부터 방출되는 빛을 흡수하는 신호 변환 물질일 수 있다. 단위셀(UC)내에 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산 및 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 포함되어 있는 경우, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서, 제1 온도(즉, 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값)에 대응되는 온도에서

및 제2 온도(즉, 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값)에 대응되는 온도에서 극소점이 확인될 수 있다(도 42(b) 참조).

[1450]

[1451] 적어도 제1 온도와 제2 온도 사이의 온도차이는 디바이스를 통해 구분 가능한 범위에 기초하여 설계될 수 있다. 일 예로, 바람직하게는, 제1 온도와 제2 온도 사이의 온도차이는 1~10℃의 범위가 되도록 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)가 설계될 수 있다.

[1452]

[1453] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값의 검출에 기초하여 단위셀(UC) 내에 핵산 복합체 페어(10)에 관련된 타겟 핵산이 있는지 여부를 확인할 수 있다.

[1454] 해리피크값은 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합유지력에 기초하여 조절될 수 있다. 따라서, 타겟 핵산에 결합한 영역의 해리에 따른 형광값의 변화에 기초하여 타겟 핵산의 유무를 확인하는 타 프로브와 비교하여, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 타겟 핵산 유무는 타겟 핵산에 결합하지 않는 영역(즉, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122))의 결합유지력을 기초로 타겟 핵산의 유무가 확인되어, 제1 태그부(112), 제2 태그부(122) 및 제1 및 제2 태그부(122)에 기초한 해리피크값의 설계가 보다 간단하고 유연하다는 이점이 도출된다.

[1455] 또한, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 타겟 핵산의 유무 확인에 있어서, 타 프로브의 결합 위치를 제공할 필요성이 적어, Symmetric PCR을 통해서도 타겟 핵산의 검출이 수행될 수 있어, 보다 높은 검출 민감도를 확보할 수 있다는 이점이 도출될 수 있다.

[1456]

[1457] 본 출원에 의해 개시되는 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 PCR용 키트는 2종 이상의 핵산 복합체 페어(10)를 포함할 수 있다. PCR용 키트는 적어도 2종류 이상의 핵산 복합체 페어(10)를 포함할 수 있다. PCR용 키트는 중합 반응을 수행하는데 관여하는 효소, 염기 조각, PCR에 관여하는 조효소, PCR에 최적 pH 및/또는 염농도를 제공하기 위해 완충용액 중 적어도 하나가 더 포함될 수 있다.

[1458] PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질(예; 일 종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기)이 포함된 컴포지션을 하나의 용기에 담아, 복수의 용기(예; 일 종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기 및 다른종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기)를 하나의 포장 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다. PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질이 포함된 컴포지션의 형태로 하나의 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다. PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질이 건조된 상태로 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다.

[1459]

[1460] PCR용 키트는 X종 이하의 핵산 복합체 페어(10)를 포함할 수 있다. 상기 X값은 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)의 일 태그부(200)(예, 제1 태그부(112)) 및 다른 태그부(200)(예, 제2 태그부(122))의 상보적 결합의 해리에 따른 복수개의 해리피크값이 구별되기 위한 최소 해리피크값의 차이(_T) 및 디바이스에 따른 신호를 검출할 수 있는 온도 구간에 의존할 수 있다. 상기 X값은 디바이스가 구분 가능한 파장대 그룹의 개수에 의존할 수 있다. 상기 X값은 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)에 포함된 신호 물질의 종류에 의존할 수 있다.

[1461] 예를 들어, 신호를 측정할 수 있는 최소온도가 10℃이고, 최고온도가 70℃이며, 상기 _T가 5℃인 경우, (70-10)/5=12개가 하나의 형광 채널에 의해 구분하여 검출가능한 타겟 핵산의 종류의 수가 되고, 디바이스가 구분 가능한 파장대 그룹의 개수가 5개 인 경우, 상기 X값은 12*5=60이 될 수 있다.

[1462] 따라서, 본 출원의 일 실시예에 따른 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 PCR용 컴포지션을 사용하게 되면, 한 튜브에서 60종의 서로 다른 타겟 핵산의 유무를 확인하는 것이 가능해질 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 60종류의 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 PCR용 컴포지션을 사용하게 되면, 5개의 형광 채널을 이용하여 한 튜브에서 60종의 서로 다른 타겟 핵산의 유무를 확인하는 것이 가능해질 수 있다.

[1463]

[1464] 본 출원의 일 실시예에 따른 상기 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)가 연계 작용하는 경우, 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)로부터 방출되는 광을 소광시키도록 설계 (이하, 신호소광방식)될 수 있다. 또는, 본 출원의 일 실시예에 따른 상기 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)는, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)가 연계 작용하는 경우, 제2 라벨부(123)는 제1 라벨부(113)로부터 방출되는 광을 변환하여 디바이스에의해 검출되도록 설계(이하, 신호방출방식)될 수 있다.

[1465] 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)가 PCR에 이용되는 경우, 적어도 제1 핵산 복합체 페어(10)와 제2 핵산 복합체 페어(10)는 동일한 방식(예, 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)는 신호소광방식)으로 설계되어 있거나, 상이한 방식(예, 제1 핵산 복합체 페어(10)는 신호방출방식 및 제2 핵산 복합체 페어(10)는 신호소광방식)으로 설계되어 있을 수 있다.

[1466] PCR용 키트가 X종 이하의 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 경우, 신호소광방식으로 설계된 X/2종의 핵산 복합체 페어(10) 및 신호발광방식으로 설계된 X/2종의 핵산 복합체 페어(10)로 구성될 수 있다. 이 경우, 하나의 튜브에서 검출가능한 타겟 핵산의 종류의 수가 증가될 수 있다.

[1467] 복수 종류의 핵산 복합페 페어의 일부가 신호소광방식 및 복수 종류의 핵산 복합페 페어의 일부가 신호발광방식으로 설계되는 경우, 동일한 조건에서(예를 들어, 신호를 측정할 수 있는 최소온도가 10℃이고, 최고온도가 70℃이며, 상기 _T가 5℃이며, 디바이스가 구분 가능한 파장대 그룹의 개수가 5개인 경우)

검출가능한 타겟 핵산의 종류의 수와 관련된 X값은 60*2=120으로 2배 증가될 수 있다.

[1468]

[1469] 2.4 핵산 복합체 페어(10)의 활용과 관련된 실험예 #4

[1470] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 이용하여 단위셀(UC) 내에서 복수 종류의 타겟 핵산의 유무를 확인할 수 있다.

[1471]

[1472] 도 43은 본 출원의 일 실시예에 따라 단위셀(UC)에 존재하는 적어도 4종의 타겟 핵산을 확인하는 실험에 따른 결과를 설명하기 위한 도면이다.

[1473]

[1474] 본 실험을 진행함에 있어서, PCR 플레이트의 튜브(또는 well)에 Tris-HCl(pH9.0), salt(KCl), MaCl2, dNTP mixture, protein stabilizer, PCR enhancer(macromolecules), fast hot-start Taq DNA Polymerase가 도입되었다.

[1475]

[1476] 상기 PCR플레이트의 제1 튜브에는 제1 핵산 복합체 페어(10) 내지 제4 핵산 복합체 페어(10)가 도입되었다.

[1477]

[1478] 제1 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)로 구성되었다. 제2 핵산 복합체 페어(10)는 제3 핵산 복합체(110) 및 제4 핵산 복합체(120)로 구성되었다. 제3 핵산 복합체 페어(10)는 제5 핵산 복합체(110) 및 제6 핵산 복합체(120)로 구성되었다. 제4 핵산 복합체 페어(10)는 제7 핵산 복합체(110) 및 제8 핵산 복합체(120)로 구성되었다.

[1479] 제1 핵산 복합체(110)는 1pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제2 핵산 복합체(120)는 1pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제3 핵산 복합체(110)는 1pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제4 핵산 복합체(120)는 1pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제5 핵산 복합체(110)는 1pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제6 핵산 복합체(120)는 1pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제7 핵산 복합체(110)는 1pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제8 핵산 복합체(120)는 1pmol/Rxn만큼 도입되었다.

[1480]

[1481] 제1 핵산 복합체(110)는, 제1 라벨부(113), 제1 태그부(112), 제1 연결부(114) 및 제1 결정부(111) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제1 라벨부(113)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers)) 이고, 제1 태그부(112)는 CCCGCGCG(서열번호 19), 제1 연결부(114)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제1 결정부(111)는 TGGAGATACACCTACATTG(서열번호 14) 이었다.

[1482] 제2 핵산 복합체(120)는, 제2 라벨부(123), 제2 태그부(122), 제2 연결부(124) 및 제2 결정부(121) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제2 라벨부(123)는 FAM이고, 제2 태그부(122)는 CGCGCGGG(서열번호 20), 제2 연결부(124)는

Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제2 결정부(121)는 GCTGGACCATCTATTTCATC(서열번호 16)이었다.

[1483]

[1484] 제3 핵산 복합체(110)는, 제3 라벨부(113), 제3 태그부(112), 제3 연결부(114) 및 제3 결정부(111) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제3 라벨부(113)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers)) 이고, 제3 태그부(112)는 AAAAAAAA(서열번호 1), 제3 연결부(114)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제3 결정부(111)는 TACGCCTGCTACTTTCACG (서열번호 2)이었다.

[1485] 제4 핵산 복합체(120)는, 제4 라벨부(123), 제4 태그부(122), 제4 연결부(124) 및 제4 결정부(121) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제4 라벨부(123)는 FAM이고, 제4 태그부(122)는 TTTTTTTT(서열번호 3), 제4 연결부(124)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제4 결정부(121)는 ATATTTAAGGGCATAATTTCCG(서열번호 4) 이었다.

[1486]

[1487] 제5 핵산 복합체(110)는, 제5 라벨부(113), 제5 태그부(112), 제5 연결부(114) 및 제5 결정부(111) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제5 라벨부(113)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers)) 이고, 제5 태그부(112)는 AAAAAAAAAA(서열번호 5), 제5 연결부(114)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제5 결정부(111)는 AGGTAAACGCTCCTCTGAA(서열번호 6) 이었다.

[1488] 제6 핵산 복합체(120)는, 제6 라벨부(123), 제6 태그부(122), 제6 연결부(124) 및 제6 결정부(121) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제6 라벨부(123)는 FAM이고, 제6 태그부(122)는 TTTTTTTTTT(서열번호 7), 제6 연결부(124)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제6 결정부(121)는 GCGAGTTACGAAGACAAAA(서열번호 8)이었다.

[1489]

[1490] 제7 핵산 복합체(110)는, 제7 라벨부(113), 제7 태그부(112), 제7 연결부(114) 및 제7 결정부(111) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제7 라벨부(113)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers)) 이고, 제7 태그부(112)는 AACCTTGGGA(서열번호 9), 제7 연결부(114)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제7 결정부(111)는 AGCTCCTATTGCCAACGTA(서열번호 10)이었다.

[1491] 제8 핵산 복합체(120)는, 제8 라벨부(123), 제8 태그부(122), 제8 연결부(124) 및 제8 결정부(121) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제8 라벨부(123)는 FAM이고, 제8 태그부(122)는 TCCCAAGGTT(서열번호 11), 제8 연결부(124)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제8 결정부(121)는 AATCTTTGTGTGGAGCATC(서열번호 12)이었다.

[1492]

[1493] 상기 PCR 플레이트의 제1 튜브에는 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2), 제4 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2), 제6 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2), 제8 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2) 가 제공되었다.

[1494] 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)는 2pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제4 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)는 8pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제6 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)는 2pmol/Rxn만큼 도입되었다. 제8 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)는 8pmol/Rxn만큼 도입되었다.

[1495]

[1496] 제1 핵산 복합체(110)에 대한 경쟁 구조체(2)는 프라이머 경쟁부(600), PCR 블로커, 태그 경쟁부(500) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 태그 경쟁부(500)는 CGCGCG(서열번호 21) 이고, PCR 블로커는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 프라이머 경쟁부(600)는 GGTGTATCTCCA(서열번호 22)이었다.

[1497] 제4 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)는 프라이머 경쟁부(600), PCR 블로커, 태그 경쟁부(500) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 태그 경쟁부(500)는 AAAAAA(서열번호 23)이고, PCR 블로커는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 프라이머 경쟁부(600)는 TATGCCCTTAAATAT(서열번호 24) 이었다.

[1498] 제6 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)는 프라이머 경쟁부(600), PCR 블로커, 태그 경쟁부(500) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 태그 경쟁부(500)는 AAAAAAAA(서열번호 1)이고, PCR 블로커는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 프라이머 경쟁부(600)는 GTAACTCGC(서열번호 25) 이었다.

[1499] 제8 핵산 복합체(120)에 대한 경쟁 구조체(2)는 프라이머 경쟁부(600), PCR 블로커, 태그 경쟁부(500) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 태그 경쟁부(500)는 AACCTTGG(서열번호 26) 이고, PCR 블로커는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 프라이머 경쟁부(600)는 CCACACAAAGATT(서열번호 18)이었다.

[1500]

[1501] 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10), 경쟁 구조체(2) 및 기타 엔자임이 도입된 튜브는 온도가 조절되어, 튜브내의 용액에 대한 PCR 반응이 진행되었다. 도 29에 도시된 바와 같이, 튜브의 온도를 95C로 10분정도 유지한 후, 열변성 단계(S2000)(95C, 10초), 어닐링 단계(S3000)(50C, 40초), 중합 반응 단계(S4000)(60C, 20초)를 1주기로 하여, 40번이 반복되었다. 본 실험에서는 bio-rad사의 CFX 96(허가번호 수인 10-205호)가 이용되었다.

[1502]

[1503] 이후, 위의 제1 튜브에 대한 해리 곡선을 검출한 후, 도 43에 도시된 바와 같이 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 획득하였다.

[1504]

[1505] 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 제2 핵산 복합체 페어(10)의 해리피크값과 관련하여, 12.5C에서 극소값이 확인되었다. 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 제3 태그부(200) 및 제4 태그부(200)의 해리피크값과 관련하여, 12.5C에서 극소값이 확인되었다. 이로써, 제2 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 단위셀(UC) 내부에 존재한다는 것을 확인할 수 있다.

[1506] 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 제3 핵산 복합체 페어(10)의 해리피크값과 관련하여, 25.5C에서 극소값이 확인되었다. 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 제5 태그부(200) 및 제6 태그부(200)의 해리피크값과 관련하여, 25.5C에서 극소값이 확인되었다. 이로써, 제3 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 단위셀(UC) 내부에 존재한다는 것을 확인할 수 있다.

[1507] 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 제4 핵산 복합체 페어(10)의 해리피크값과 관련하여, 35.5C에서 극소값이 확인되었다. 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 제7 태그부(200) 및 제8 태그부(200)의 해리피크값과 관련하여, 35.5C에서 극소값이 확인되었다. 이로써, 제4 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 단위셀(UC) 내부에 존재한다는 것을 확인할 수 있다.

[1508] 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 제1 핵산 복합체 페어(10)의 해리피크값과 관련하여, 48.5C에서 극소값이 확인되었다. 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 해리피크값과 관련하여, 48.5C에서 극소값이 확인되었다. 이로써, 제1 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 단위셀(UC) 내부에 존재한다는 것을 확인할 수 있다.

[1509]

[1510] 결과적으로, 본 출원의 일 실시예에 따르면 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 획득하여, 특정 온도에서 해리피크값이 검출되는지 여부를 확인함으로써 단위셀(UC)내의 타겟 핵산의 유무를 확인할 수 있다.

[1511]

[1512] 2.5 제7 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 활용

[1513] 도 44 및 45는 본 출원의 제7 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 활용을 설명하기 위한 도면이다.

[1514]

[1515] 제 44를 참조하면, 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다.

[1516] 제1 핵산 복합체(110)는 적어도 제1 결정부(111), 제1 태그부(112) 및 제1 라벨부(113) 를 포함할 수 있다. 일 예로, 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113) 및 제1 연결부(114)를 포함할 수 있다.

[1517] 제2 핵산 복합체(120)는 적어도 제2 결정부(121), 제2 태그부(122) 및 제2 라벨부(123) 를 포함할 수 있다. 일 예로, 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123) 및 제2 연결부(124)를 포함할 수 있다.

[1518]

[1519] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 서로 상보적으로 결합할 수 있다. 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 서로 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다.

[1520]

[1521] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 물리적인 길이는 동일할 수 있다. 예를 들어, 제1 태그부(112)의 염기 서열은 제2 태그부(122)에 상보적으로 결합하는 염기 서열만을 포함할 수 있다. 제2 태그부(122)의 염기 서열은 제1 태그부(112)에 상보적으로 결합하는 염기 서열만을 포함할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)가 AAAAAAAA(서열번호 1)의 염기 서열을 갖도록 구성된 경우, 제2 태그부(122)는 TTTTTTTT(서열번호 3)의 염기 서열을 갖도록 구성될 수 있다.

[1522]

[1523] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 물리적인 길이는 상이할 수 있다.

[1524] 예를 들어, 제1 태그부(112)는 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하는 영역을 포함하고, 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지 않는 영역을 포함할 수 있다. 제2 태그부(122)의 염기 서열은 제1 태그부(112)와 상보적으로 결합하는 염기 서열만을 포함할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)가 AAAAAAAA(서열번호 1)의 염기 서열을 갖도록 구성된 경우, 제2 태그부(122)는 5`-TTTTTT-3`의 염기 서열을 갖도록 구성될 수 있다.

[1525] 예를 들어, 제1 태그부(112)는 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하는 영역을 포함하고, 제2 태그부(122)와 상보적으로 결합하지 않는 영역을 포함할 수 있다. 제2 태그부(122)는 제1 태그부(112)와 상보적으로 결합하는 영역을 포함하고, 제1 태그부(112)와 상보적으로 결합하지 않는 영역을 포함할 수 있다. 제1 태그부(112)는 제2 태그부(122)와 물리적인 길이가 상이할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)가 AAAAAAAA(서열번호 1)의 염기 서열을 갖도록 구성된 경우, 제2 태그부(122)는 5`-TTTTTG-3`의 염기 서열을 갖도록 구성될 수 있다.

[1526]

[1527] 본 출원의 일 실시예에 따른 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 타겟 핵산의 검출에 있어서, 적어도 제1 핵산 복합체 페어(10) 및 제2 핵산 복합체 페어(10)가 이용될 수 있다.

[1528] 구체적인 예를 들어, 제1 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다. 제2 핵산 복합체 페어(10)는 제3 핵산 복합체(110) 및 제4 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다.

[1529]

[1530] 본 실시예에 따른 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)의 염기 서열은 동일할 수 있다.

[1531] 본 출원의 일 실시예에 따른 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)의 염기 서열이 동일하다고 하더라도, 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열과 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열 사이의 상보적 결합에 따른 결합유지력은, 상기 제3 태그부(121)의 염기 서열과 상기 제4 태그부(122)의 염기 서열 사이의 상보적 결합에 따른 결합유지력과 상이할 수 있다.

[1532] 일 예로, 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)의 염기 서열이 동일하다고 하더라도, 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열에 상보적으로 결합하는 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열의 길이는, 상기 제3 태그부(112)의 염기 서열에 상보적으로 결합하는 상기 제4 태그부(122)의 염기 서열의 길이에 비해 짧을 수 있다(도 44(a), (b) 참조).

[1533] 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열에 상보적으로 결합하는 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열의 길이가, 상기 제3 태그부(112)의 염기 서열에 상보적으로 결합하는 상기 제4 태그부(122)의 염기 서열의 길이에 비해 짧은 경우, 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열과 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열 사이의 상보적 결합에 따른 결합유지력은, 상기 제3 태그부(112)의 염기 서열과 상기 제4 태그부(122)의 염기 서열 사이의 상보적 결합에 따른 결합유지력에 비해 작을 수 있다.

[1534]

[1535] 다른 예로, 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)의 염기 서열이 동일하다고 하더라도, 상기 제1 태그부(112)에의 제2 태그부(122)의 상보적 결합 위치는, 상기 제3 태그부(112)에의 제4 태그부(122)의 상보적 결합 위치와 상이할 수 있다.

[1536] 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112)에의 제2 태그부(122)의 상보적 결합 위치는, 상기 제3 태그부(112)에의 제4 태그부(122)의 상보적 결합 위치와 일부는 중첩되고, 일부는 중첩되지 않을 수 있다. 다른 구체적인 예를 들어, 상기 제1 태그부(112)에의 제2 태그부(122)의 상보적 결합 위치는, 상기 제3 태그부(112)에의 제4 태그부(122)의 상보적 결합 위치와 모두 중첩되지 않을 수 있다.

[1537] 상기 제1 태그부(112)에의 제2 태그부(122)의 상보적 결합 위치에의 염기 서열 구성 및 상기 제3 태그부(112)에의 제4 태그부(122)의 상보적 결합 위치에의 염기 서열 구성에 따라, 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열과 상기 제2 태그부(122)의 염기 서열사이의 상보적 결합에 따른 결합유지력은, 상기 제3 태그부(112)의 염기 서열과 상기 제4 태그부(122)의 염기 서열 사이의 상보적 결합에 따른 결합유지력과 상이할 수 있다.

[1538]

[1539] 제1 태그부(112)(또는, 제3 태그부(112)) 및 제2 태그부(122)(또는, 제4 태그부(122))의 결합 방법과 관련된 구체적인 기재(예를 들어, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)의 길이가 다른 경우 핵산 복합체 페어(10)의 동작 및 제1 태그부(112)에의 제2 태그부(122)의 상보적 결합 위치에 대한 구체적인 기재)는 위의 목차 2.2 태그부(200)에서 설명한 바 있어, 중복되는 설명은 생략하기로 한다.

[1540] 또한, 제1 태그부(112)(또는, 제3 태그부(112)) 및 제2 태그부(122)(또는, 제4 태그부(122))의 상보적 결합에 관여하는 염기 서열의 종류, 개수, 물질 특성 등에 따른 결합유지력의 변화는 위의 목차 2.1 결합유지력에서 구체적으로 설명한 바 있어, 마찬가지로 중복되는 설명은 생략하기로 한다.

[1541]

[1542] 기 설명한 바와 같이, 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)가 공통되는 경우에도, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합유지력 및 제3 태그부(112) 및 제4 태그부(122) 사이의 결합유지력은 상이할 수 있다.

[1543] 일 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)가 공통되는 경우에도, 제1 태그부(112)와 결합하는 제2 태그부(122)의 길이 및 제3 태그부(112)와 결합하는 제4 태그부(122)의 길이가 상이하도록 설계하는 경우, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 결합유지력 및 제3 태그부(112) 및 제4 태그부(122) 사이의 결합유지력은 상이할 수 있다.

[1544]

[1545] 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)가 공통되고, 제1 태그부(112)와 결합하는 제2 태그부(122)의 길이 및 제3 태그부(112)와 결합하는 제4 태그부(122)의 길이가 상이한 경우에도, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)는 상보적으로 결합하여 상기 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 구조체의 2차 구조를 형성할 수 있다(도 45(a) 참조).

[1546] 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)가 공통되고, 제1 태그부(112)와 결합하는 제2 태그부(122)의 길이 및 제3 태그부(112)와 결합하는 제4 태그부(122)의 길이가 상이한 경우에도, 제3 태그부(112) 및 제4 태그부(122)는 상보적으로 결합하여 상기 제3 핵산 복합체(110) 및 제4 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 구조체의 2차 구조를 형성할 수 있다(도 45(b) 참조).

[1547]

[1548] 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)가 공통되고, 제1 태그부(112)와 결합하는 제2 태그부(122)의 길이 및 제3 태그부(112)와 결합하는 제4 태그부(122)의 길이가 상이한 경우에도, 제1 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력 및 제2 핵산 복합체 페어(10)의 결합유지력이 상이한 점에 기초하여, 온도에 따른 형광값 검출(및 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 분석)을 통해 제1 타겟 염기 서열 및 제2 타겟 염기 서열의 유무를 확인할 수 있고, 제3 타겟 염기 서열 및 제4 타겟 염기 서열의 유무를 확인할 수 있다.

[1549] 이와 같이, 하나의 단위셀(UC)에서 복수의 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 이용하여 복수 종류의 타겟 핵산을 검출하는 실시예에 있어서, 제1 태그부(112) 및 제3 태그부(112)가 공통된 염기 서열을 가지도록 구성되더라도, 제1 태그부(112)와 상보적으로 결합하는 제2 태그부(122) 및 제3 태그부(112)와 상보적으로 결합하는 제4 태그부(122)의 염기 서열을 달리 구성함으로써, 하나의 단위셀(UC)에서 복수 종류의 타겟 핵산의 검출이 가능하도록 할 수 있다.

[1550]

[1551] 이 때, 제1 핵산 복합체(110)의 제1 결정부(111)와 제3 핵산 복합체(110)의 제3 결정부(111)는 서로 다른 염기 서열을 포함할 수 있다. 구체적으로, 제1 결정부(111)는 제1 질병과 관련된 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하고, 제3 결정부(111)는 제2 질병과 관련된 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[1552] 또는, 제1 핵산 복합체(110)의 제1 결정부(111)와 제3 핵산 복합체(110)의 제3 결정부(111)는 동일한 염기 서열로 구성될 수 있다. 구체적으로, 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열 및 제3 결정부(111)에 대응되는 제3 타겟 염기 서열은 동일할 수 있다. 제1 타겟 염기 서열 및 제3 타겟 염기 서열은 질병 특이적이지 않은 보존 부위(conserved region) 중 적어도 일부 영역에 대응되는 염기 서열일 수 있다. 이 때, 제2 결정부(121)는 제1 질병과 관련된 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합하고, 제4 결정부(121)는 제2 질병과 관련된 제4 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다.

[1553]

[1554] 2.6 제8 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 활용

[1555] 2.6.1. 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)를 활용한 타겟 핵산의 검출

[1556] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 PCR에서 이용하여 단위셀(UC) 내의 타겟 핵산의 유무를 확인하는 경우, 핵산 복합체 페어(10)는 타겟 핵산의 제1 타겟 염기 서열 및/또는 제2 타겟 염기 서열에 결합하게 된다.

[1557] 따라서, PCR에서 증폭산물이 생성되는 영역(예를 들어, 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥, 증폭에 따라 생성된 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥과 동일한 염기 서열을 갖는 가닥, 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥, 증폭에 따라 생성된 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥과 동일한 염기 서열을 갖는 가닥) 중 제1 타겟 염기 서열 및/또는 제2 타겟 염기 서열을 제외한

나머지 영역에는 프로브 복합체(600)가 결합되는 영역(PR)이 존재할 수 있다.

[1558] 다시 말해, 제1 타겟 염기 서열 및/또는 제2 타겟 염기 서열을 제외한 나머지 영역 중 적어도 일 영역에 프로브 복합체(600)가 결합되어, 프로브 복합체(600)와 관련된 타겟 핵산의 유무를 검출할 수 있다.

[1559] 결과적으로, 제1 표지법(예, 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 타겟 핵산 검출 방법) 및 제2 표지법(예, 프로브 복합체(600)를 이용한 타겟 핵산 검출 방법)에 따른 타겟 핵산 검출 방법이 하나의 단위셀(UC)에서 동시에 진행될 수 있게 된다.

[1560]

[1561] 구체적인 예를 들어, 제2 표지법은 Taqman 방식, 분자비콘 방식, TOCE 방식, PNA 프로브 방식, scorpion 방식 또는 이들의 조합일 수 있다. 이는 구체적인 예시를 들어 설명한 것에 불과하고, 제2 표지법으로 활용될 수 있는 방식이 전술한 예들에 한정되는 것도 아니다.

[1562] 본 출원에서 개시하는 표지법에 의하면, 종래 방식에 비하여 2-20배에 가까운 종류의 타겟 핵산을 하나의 단위셀(UC)(예, PCR 튜브)를 통해 확인할 수 있게 된다.

[1563]

[1564] 제1 표지법 및 제2 표지법을 이용한 샘플내 타겟 핵산의 검출을 수행하기 위해서는, 제1 표지법에 관련된 해리피크값 및 제2 표지법에 관련된 해리피크값이 중첩되지 않도록 설계하는 과정이 요구될 수 있다. 여기서, "해리피크값"이라 함은, 해리 곡선에 기초하여 온도에 대한 형광값의 음의 변화량이 도시된그래프에서, 극대점에 대응되는 온도값 또는 극소점에 대응되는 온도값을 의미할 수 있다.

[1565]

[1566] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제공된 단위셀(UC)에 대하여 광학 기기의 검출 가능 해리피크값이 T1, T2, T3, T4로 총4개인 경우, 제1 온도 구간에 포함되는 해리피크값은 제1 표지법에 할당하고 제2 온도 구간에 포함되는 해리피크값은 제2 표지법에 할당하는 형태로, 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)가 설계될 수 있다. 일 예로, T1, T2는 제1 표지법에 관련된 해리피크값으로 할당되고, T3, T4는 제2 표지법에 관련된 해리피크값으로 할당될 수 있다.

[1567] 또는, 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 제공된 단위셀(UC)에 대해서 광학 기기의 검출 가능 해리피크값이 T1, T2, T3, T4로 총4개인 경우, 몇몇 온도에 대응되는 해리피크값은 제1 표지법에 할당하고, 제1 표지법에 할당되지 않은 온도에 대응되는 해리피크값은 제2 표지법에 할당하는 형태로, 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)가 설계될 수 있다. 일 예로, T1, T3는 제1 표지법에 관련된 해리피크값으로 할당되고, T2, T4는 제2 표지법에 관련된 해리피크값으로 할당될 수 있다.

[1568]

[1569] 보다 구체적인 예를 들어, 단위셀(UC)에 대하여 광학 기기가 신호를 측정할 수 있는 최소온도가 35℃이고, 최고온도가 60℃이며, 상기 _T가 5℃인 경우, 하나의 형광 채널에 대하여 측정가능한 해리피크값은 35, 40, 45, 50, 55, 60℃로 최대 6개일 수 있다.

[1570] 일 예로, 제1 표지법에 대응되는 해리피크값으로 35, 40, 45 ℃이 각각 할당되도록 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)가 설계되고, 제2 표지법에 대응되는 해리피크값으로 50, 55, 60℃이 각각 할당되도록 프로브 복합체(600)가 설계될 수 있다. 이러한 형태로 설계된 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)를 이용하면, 프로브 복합체(600)의 프로브 결합 영역(PR)에의 결합이 PCR단계에서 수행되어야 하는 경우, PCR에서의 어닐링 온도를 고려하여 프로브 복합체(600)와 관련된 해리피크값으로 상대적으로 높은 온도인 50, 55, 60℃를 각각 할당하고, 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 해리피크값으로 나머지 35, 40, 45℃을 각각 할당할 수 있다는 이점이 도출된다.

[1571] 다른 예로, 제1 표지법에 대응되는 해리피크값으로 35, 45, 55℃이 각각 할당되도록 핵산 복합체 페어(10)가 설계되고, 제2 표지법에 대응되는 해리피크값으로 40, 50, 60℃이 각각 할당되도록 프로브 복합체(600)가 설계될 수 있다. 이러한 형태로 설계된 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)를 이용하면, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10) 및 복수 종류의 프로브 복합체(600)를 설계함에 있어, 5℃의 해리피크값이 차이나도록 설계하는데에 어려움이 있는 경우, 해리피크값이 10℃ 차이나는 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10) 및 복수 종류의 프로브 복합체(600)를 이용함으로써 상대적으로 많은 온도 구간을 활용할 수 있다는 이점이 도출된다.

[1572]

[1573] 도 46은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)가 이용되는 타겟 핵산 검출을 설명하기 위한 도면이다.

[1574]

[1575] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 프로브 복합체(600)가 결합하는 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 증폭산물이 생성되는 데에 관련된 프라이머로 핵산 복합체 페어(10)가 이용되는 경우(도 46(a) 참조), 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)를 이용하여 타겟 핵산 검출이 가능한 타겟 핵산 종류의 수는, 프로브 복합체(600)를 이용하여 검출이 가능한 타겟 핵산의 종류의 수(N1) * 핵산 복합체 페어(10)를 이용하여 검출이 가능한 타겟 핵산의 종류의 수(N2)일 수 있다.

[1576] 보다 구체적인 예를 들어, 제1 표지법에 할당된 해리피크값의 온도가 40, 45, 50℃이고, 제2 표지법에 할당된 해리피크값의 온도가 55, 60, 65℃이며, 총 5개의 형광 파장대(또는 형광 물질)가 검출 가능한 경우, 프로브 복합체(600)가 결합하는 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 증폭산물이 생성되는데에 관련된 프라이머로 핵산 복합체 페어(10)가 이용되면, 핵산 복합체 페어(10)와 프로브

복합체(600)를 이용하여 검출 가능한 타겟 핵산의 종류는 3*5*3*5=225개일 수 있다.

[1577]

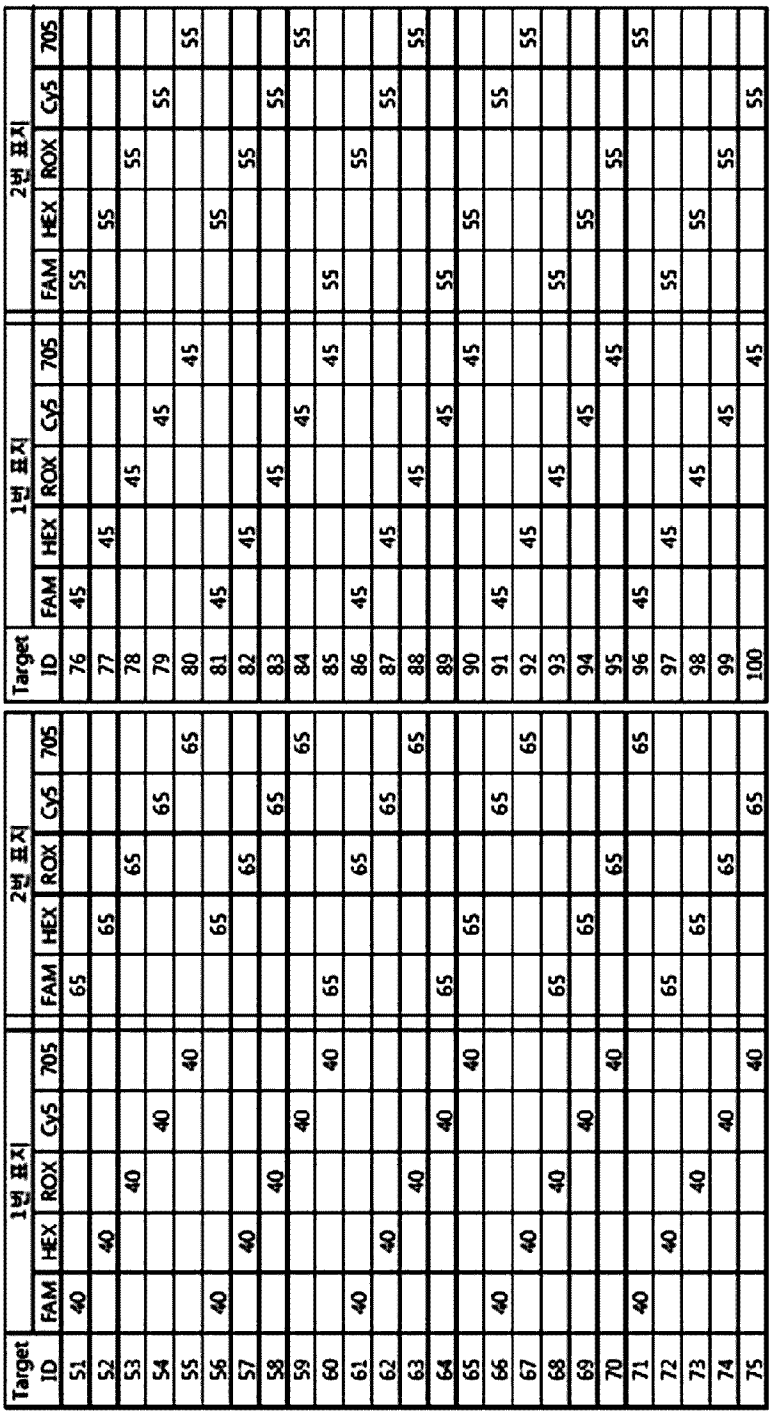
[1578] [표 1]

[1579]

| Target ID | 1번 표지 | | | | | | 2번 표지 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | |
| 1 | 40 | | | | | | 55 | | | | | |
| 2 | | 40 | | | | | | 55 | | | | |
| 3 | | | 40 | | | | | | 55 | | | |
| 4 | | | | 40 | | | | | | 55 | | |
| 5 | | | | | 40 | | | | | | 55 | |
| 6 | 40 | | | | | | | 55 | | | | |
| 7 | | 40 | | | | | | | 55 | | | |
| 8 | | | 40 | | | | | | | 55 | | |
| 9 | | | | 40 | | | | | | | 55 | |
| 10 | | | | | 40 | | 55 | | | | | |
| 11 | 40 | | | | | | | | 55 | | | |
| 12 | | 40 | | | | | | | | 55 | | |
| 13 | | | 40 | | | | | | | | 55 | |
| 14 | | | | 40 | | | 55 | | | | | |
| 15 | | | | | 40 | | | 55 | | | | |
| 16 | 40 | | | | | | | | | 55 | | |
| 17 | | 40 | | | | | | | | | 55 | |
| 18 | | | 40 | | | | 55 | | | | | |
| 19 | | | | 40 | | | | 55 | | | | |
| 20 | | | | | 40 | | | | 55 | | | |
| 21 | 40 | | | | | | | | | | 55 | |
| 22 | | 40 | | | | | 55 | | | | | |
| 23 | | | 40 | | | | | 55 | | | | |
| 24 | | | | 40 | | | | | 55 | | | |
| 25 | | | | | 40 | | | | | 55 | | |

| Target ID | 1번 표지 | | | | | | 2번 표지 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | |
| 26 | 40 | | | | | | 60 | | | | | |
| 27 | | 40 | | | | | | 60 | | | | |
| 28 | | | 40 | | | | | | 60 | | | |
| 29 | | | | 40 | | | | | | 60 | | |
| 30 | | | | | 40 | | | | | | 60 | |
| 31 | 40 | | | | | | | 60 | | | | |
| 32 | | 40 | | | | | | | 60 | | | |
| 33 | | | 40 | | | | | | | 60 | | |
| 34 | | | | 40 | | | | | | | 60 | |
| 35 | | | | | 40 | | 60 | | | | | |
| 36 | 40 | | | | | | | | 60 | | | |
| 37 | | 40 | | | | | | | | 60 | | |
| 38 | | | 40 | | | | | | | | 60 | |
| 39 | | | | 40 | | | 60 | | | | | |
| 40 | | | | | 40 | | | 60 | | | | |
| 41 | 40 | | | | | | | | | 60 | | |
| 42 | | 40 | | | | | | | | | 60 | |
| 43 | | | 40 | | | | 60 | | | | | |
| 44 | | | | 40 | | | | 60 | | | | |
| 45 | | | | | 40 | | | | 60 | | | |
| 46 | 40 | | | | | | | | | | 60 | |
| 47 | | 40 | | | | | 60 | | | | | |
| 48 | | | 40 | | | | | 60 | | | | |
| 49 | | | | 40 | | | | | 60 | | | |
| 50 | | | | | 40 | | | | | 60 | | |

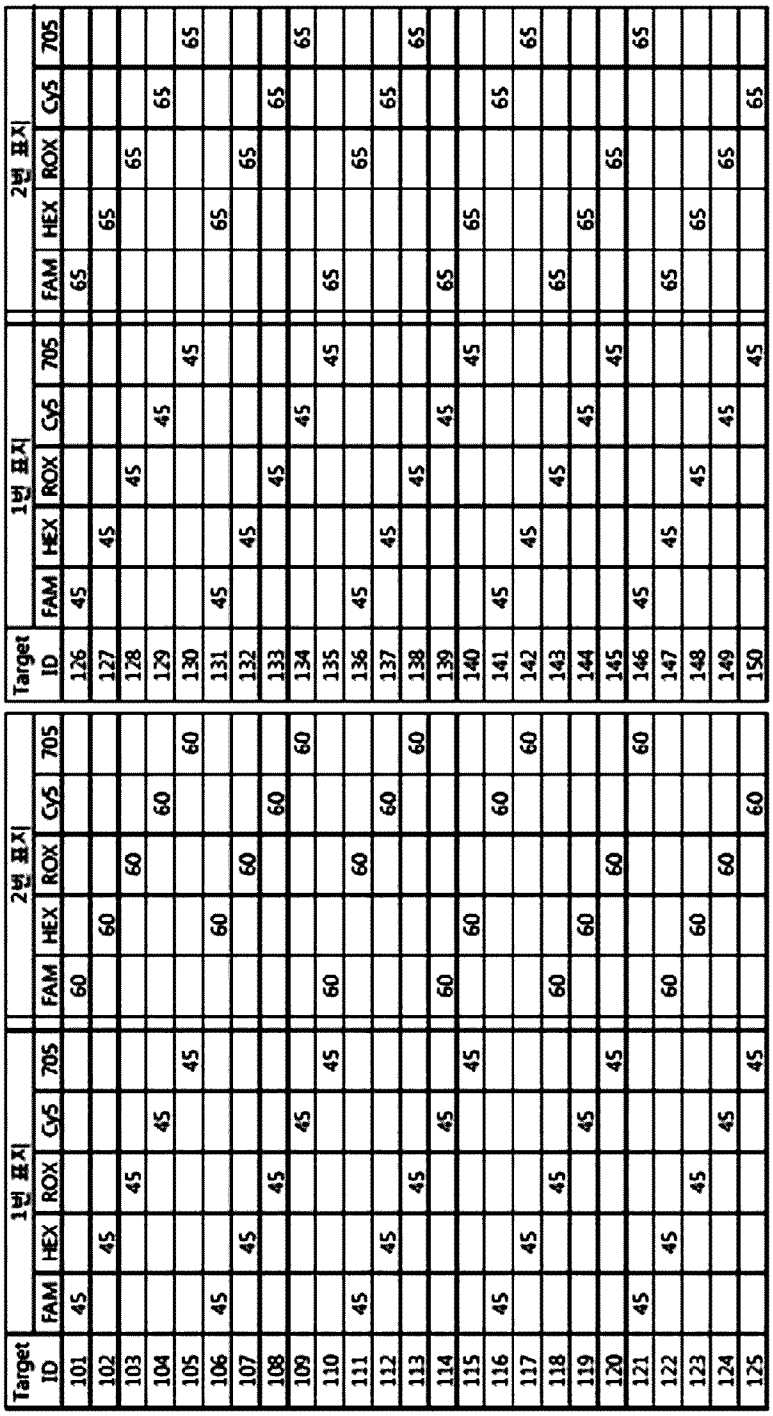
[1580]



| Target ID | 1번 표지 | | | | | 2번 표지 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 |
| 51 | 40 | | | | | 65 | | | | |
| 52 | | 40 | | | | | 65 | | | |
| 53 | | | 40 | | | | | 65 | | |
| 54 | | | | 40 | | | | | 65 | |
| 55 | | | | | 40 | | | | | 65 |
| 56 | 40 | | | | | | 65 | | | |
| 57 | | 40 | | | | | | 65 | | |
| 58 | | | 40 | | | | | | 65 | |
| 59 | | | | 40 | | | | | | 65 |
| 60 | | | | | 40 | 65 | | | | |
| 61 | 40 | | | | | | | 65 | | |
| 62 | | 40 | | | | | | | 65 | |
| 63 | | | 40 | | | | | | | 65 |
| 64 | | | | 40 | | 65 | | | | |
| 65 | | | | | 40 | | 65 | | | |
| 66 | 40 | | | | | | | | 65 | |
| 67 | | 40 | | | | | | | | 65 |
| 68 | | | 40 | | | 65 | | | | |
| 69 | | | | 40 | | | 65 | | | |
| 70 | | | | | 40 | | | 65 | | |
| 71 | 40 | | | | | | | | | 65 |
| 72 | | 40 | | | | 65 | | | | |
| 73 | | | 40 | | | | 65 | | | |
| 74 | | | | 40 | | | | 65 | | |
| 75 | | | | | 40 | | | | 65 | |

| Target ID | 1번 표지 | | | | | 2번 표지 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 |
| 76 | 45 | | | | | 55 | | | | |
| 77 | | 45 | | | | | 55 | | | |
| 78 | | | 45 | | | | | 55 | | |
| 79 | | | | 45 | | | | | 55 | |
| 80 | | | | | 45 | | | | | 55 |
| 81 | 45 | | | | | | 55 | | | |
| 82 | | 45 | | | | | | 55 | | |
| 83 | | | 45 | | | | | | 55 | |
| 84 | | | | 45 | | | | | | 55 |
| 85 | | | | | 45 | 55 | | | | |
| 86 | 45 | | | | | | | 55 | | |
| 87 | | 45 | | | | | | | 55 | |
| 88 | | | 45 | | | | | | | 55 |
| 89 | | | | 45 | | 55 | | | | |
| 90 | | | | | 45 | | 55 | | | |
| 91 | 45 | | | | | | | | 55 | |
| 92 | | 45 | | | | | | | | 55 |
| 93 | | | 45 | | | 55 | | | | |
| 94 | | | | 45 | | | 55 | | | |
| 95 | | | | | 45 | | | 55 | | |
| 96 | 45 | | | | | | | | | 55 |
| 97 | | 45 | | | | 55 | | | | |
| 98 | | | 45 | | | | 55 | | | |
| 99 | | | | 45 | | | | 55 | | |
| 100 | | | | | 45 | | | | 55 | |

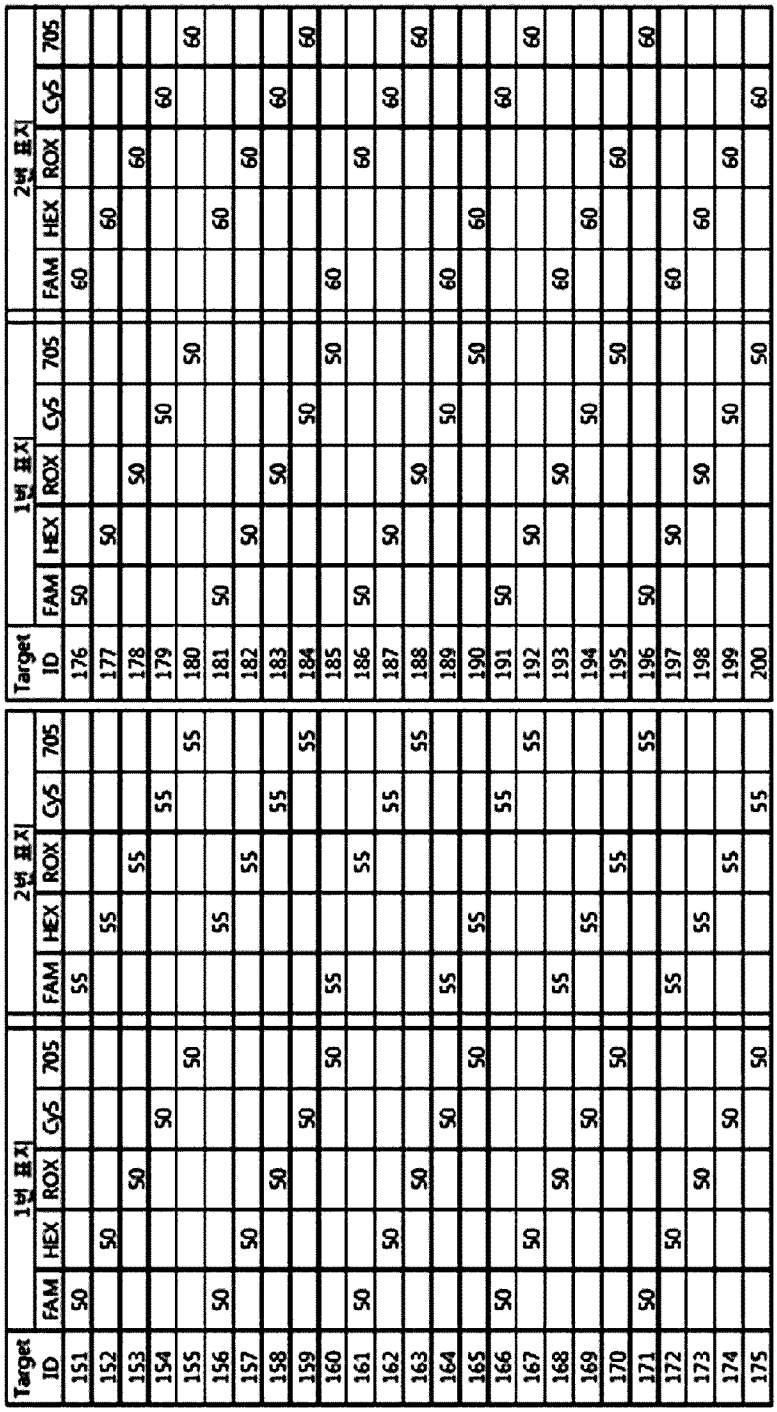
[1581]



| Target ID | 1번 표지 | | | | | 2번 표지 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 |
| 101 | 45 | | | | | 60 | | | | |
| 102 | | 45 | | | | | 60 | | | |
| 103 | | | 45 | | | | | 60 | | |
| 104 | | | | 45 | | | | | 60 | |
| 105 | | | | | 45 | | | | | 60 |
| 106 | 45 | | | | | | 60 | | | |
| 107 | | 45 | | | | | | 60 | | |
| 108 | | | 45 | | | | | | 60 | |
| 109 | | | | 45 | | | | | | 60 |
| 110 | | | | | 45 | | | | | |
| 111 | 45 | | | | | 60 | | | | |
| 112 | | 45 | | | | | | 60 | | |
| 113 | | | 45 | | | | | | 60 | |
| 114 | | | | 45 | | 60 | | | | |
| 115 | | | | | 45 | | 60 | | | |
| 116 | 45 | | | | | | | | 60 | |
| 117 | | 45 | | | | | | | | 60 |
| 118 | | | 45 | | | 60 | | | | |
| 119 | | | | 45 | | | 60 | | | |
| 120 | | | | | 45 | | | 60 | | |
| 121 | 45 | | | | | | | | | 60 |
| 122 | | 45 | | | | 60 | | | | |
| 123 | | | 45 | | | | 60 | | | |
| 124 | | | | 45 | | | | 60 | | |
| 125 | | | | | 45 | | | | 60 | |

| Target ID | 1번 표지 | | | | | 2번 표지 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 |
| 126 | 45 | | | | | 65 | | | | |
| 127 | | 45 | | | | | 65 | | | |
| 128 | | | 45 | | | | | 65 | | |
| 129 | | | | 45 | | | | | 65 | |
| 130 | | | | | 45 | | | | | 65 |
| 131 | 45 | | | | | | 65 | | | |
| 132 | | 45 | | | | | | 65 | | |
| 133 | | | 45 | | | | | | 65 | |
| 134 | | | | 45 | | | | | | 65 |
| 135 | | | | | 45 | | | | | |
| 136 | 45 | | | | | 65 | | | | |
| 137 | | 45 | | | | | | 65 | | |
| 138 | | | 45 | | | | | | 65 | |
| 139 | | | | 45 | | 65 | | | | |
| 140 | | | | | 45 | | 65 | | | |
| 141 | 45 | | | | | | | | 65 | |
| 142 | | 45 | | | | | | | | 65 |
| 143 | | | 45 | | | 65 | | | | |
| 144 | | | | 45 | | | 65 | | | |
| 145 | | | | | 45 | | | 65 | | |
| 146 | 45 | | | | | | | | | 65 |
| 147 | | 45 | | | | 65 | | | | |
| 148 | | | 45 | | | | 65 | | | |
| 149 | | | | 45 | | | | 65 | | |
| 150 | | | | | 45 | | | | 65 | |

[1582]



| Target ID | 1번 표지 | | | | | 2번 표지 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 |
| 151 | 50 | | | | | 55 | | | | |
| 152 | | 50 | | | | | 55 | | | |
| 153 | | | 50 | | | | | 55 | | |
| 154 | | | | 50 | | | | | 55 | |
| 155 | | | | | 50 | | | | | 55 |
| 156 | 50 | | | | | | 55 | | | |
| 157 | | 50 | | | | | | 55 | | |
| 158 | | | 50 | | | | | | 55 | |
| 159 | | | | 50 | | | | | | 55 |
| 160 | | | | | 50 | 55 | | | | |
| 161 | 50 | | | | | | | 55 | | |
| 162 | | 50 | | | | | | | 55 | |
| 163 | | | 50 | | | | | | | 55 |
| 164 | | | | 50 | | 55 | | | | |
| 165 | | | | | 50 | | 55 | | | |
| 166 | 50 | | | | | | | | 55 | |
| 167 | | 50 | | | | | | | | 55 |
| 168 | | | 50 | | | 55 | | | | |
| 169 | | | | 50 | | | 55 | | | |
| 170 | | | | | 50 | | | 55 | | |
| 171 | 50 | | | | | | | | | 55 |
| 172 | | 50 | | | | 55 | | | | |
| 173 | | | 50 | | | | 55 | | | |
| 174 | | | | 50 | | | | 55 | | |
| 175 | | | | | 50 | | | | 55 | |

| Target ID | 1번 표지 | | | | | 2번 표지 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 |
| 176 | 50 | | | | | 60 | | | | |
| 177 | | 50 | | | | | 60 | | | |
| 178 | | | 50 | | | | | 60 | | |
| 179 | | | | 50 | | | | | 60 | |
| 180 | | | | | 50 | | | | | 60 |
| 181 | 50 | | | | | | 60 | | | |
| 182 | | 50 | | | | | | 60 | | |
| 183 | | | 50 | | | | | | 60 | |
| 184 | | | | 50 | | | | | | 60 |
| 185 | | | | | 50 | 60 | | | | |
| 186 | 50 | | | | | | | 60 | | |
| 187 | | 50 | | | | | | | 60 | |
| 188 | | | 50 | | | | | | | 60 |
| 189 | | | | 50 | | 60 | | | | |
| 190 | | | | | 50 | | 60 | | | |
| 191 | 50 | | | | | | | | 60 | |
| 192 | | 50 | | | | | | | | 60 |
| 193 | | | 50 | | | 60 | | | | |
| 194 | | | | 50 | | | 60 | | | |
| 195 | | | | | 50 | | | 60 | | |
| 196 | 50 | | | | | | | | | 60 |
| 197 | | 50 | | | | 60 | | | | |
| 198 | | | 50 | | | | 60 | | | |
| 199 | | | | 50 | | | | 60 | | |
| 200 | | | | | 50 | | | | 60 | |

[1583]

| Target ID | 1번 표지 | | | | | 2번 표지 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 |
| 201 | 50 | | | | | 65 | | | | |
| 202 | | 50 | | | | | 65 | | | |
| 203 | | | 50 | | | | | 65 | | |
| 204 | | | | 50 | | | | | 65 | |
| 205 | | | | | 50 | | | | | 65 |
| 206 | 50 | | | | | | 65 | | | |
| 207 | | 50 | | | | | | 65 | | |
| 208 | | | 50 | | | | | | 65 | |
| 209 | | | | 50 | | | | | | 65 |
| 210 | | | | | 50 | 65 | | | | |
| 211 | 50 | | | | | | | 65 | | |
| 212 | | 50 | | | | | | | 65 | |
| 213 | | | 50 | | | | | | | 65 |
| 214 | | | | 50 | | 65 | | | | |
| 215 | | | | | 50 | | 65 | | | |
| 216 | 50 | | | | | | | | 65 | |
| 217 | | 50 | | | | | | | | 65 |
| 218 | | | 50 | | | 65 | | | | |
| 219 | | | | 50 | | | 65 | | | |
| 220 | | | | | 50 | | | 65 | | |
| 221 | 50 | | | | | | | | | 65 |
| 222 | | 50 | | | | 65 | | | | |
| 223 | | | 50 | | | | 65 | | | |
| 224 | | | | 50 | | | | 65 | | |
| 225 | | | | | 50 | | | | 65 | |

[1584]

[1585] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 프로브 복합체(600)가 결합하는 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 증폭산물을 생성하는 데 관여하는 프라이머가 핵산 복합체 페어(10)가 아닌 경우(도 46(b) 참조), 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)를 이용하여 검출이 가능한 타겟 핵산의 종류의 수는, 프로브 복합체(600)를 이용하여 검출이 가능한 타겟 핵산의 종류의 수(N1) + 핵산

복합체 페어(10)를 이용하여 검출이 가능한 타겟 핵산의 종류의 수(N2)일 수 있다.

[1586] 보다 구체적인 예를 들어, 제1 표지법에 할당된 해리피크값의 온도가 40, 45, 50℃이고, 제2 표지법에 할당된 해리피크값의 온도가 55, 60, 65℃이며, 총 5개의 형광 파장대(또는 형광 물질)가 검출 가능한 경우, 프로브 복합체(600)가 결합하는 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 증폭산물을 생성하는 데 관여하는 프라이머가 핵산 복합체 페어(10)가 아니더라도, 핵산 복합체 페어(10)와 프로브 복합체(600)를 이용하여 타겟 핵산의 검출을 수행하면, 총 3*5+3*5=30개의 타겟 핵산의 검출이 가능할 수 있다.

[1587]

[1588] [표 2]

[1589]

| Target ID | 1번표지 | | | | | 2번표지 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 | FAM | HEX | ROX | Cy5 | 705 |
| 1 | 40 | | | | | | | | | |
| 2 | | 40 | | | | | | | | |
| 3 | | | 40 | | | | | | | |
| 4 | | | | 40 | | | | | | |
| 5 | | | | | 40 | | | | | |
| 6 | 45 | | | | | | | | | |
| 7 | | 45 | | | | | | | | |
| 8 | | | 45 | | | | | | | |
| 9 | | | | 45 | | | | | | |
| 10 | | | | | 45 | | | | | |
| 11 | 50 | | | | | | | | | |
| 12 | | 50 | | | | | | | | |
| 13 | | | 50 | | | | | | | |
| 14 | | | | 50 | | | | | | |
| 15 | | | | | 50 | | | | | |
| 16 | | | | | | 55 | | | | |
| 17 | | | | | | | 55 | | | |
| 18 | | | | | | | | 55 | | |
| 19 | | | | | | | | | 55 | |
| 20 | | | | | | | | | | 55 |
| 21 | | | | | | 60 | | | | |
| 22 | | | | | | | 60 | | | |
| 23 | | | | | | | | 60 | | |
| 24 | | | | | | | | | 60 | |
| 25 | | | | | | | | | | 60 |
| 26 | | | | | | 65 | | | | |
| 27 | | | | | | | 65 | | | |
| 28 | | | | | | | | 65 | | |
| 29 | | | | | | | | | 65 | |
| 30 | | | | | | | | | | 65 |

[1590]

[1591] 지금까지, 단위셀(UC)내의 타겟 핵산의 유무를 검출하기 위해 단위셀(UC)에서 이용되는 핵산 복합체 페어(10) 및 프로브 복합체(600)의 설계 및 동작에 대해서 설명하였다.

[1592]

[1593] 이하에서는, 본 출원의 몇몇 실시예에 따르는 프로브 복합체(600) 및 핵산

복합체 페어(10) 를 이용한 타겟 핵산의 검출 방법에 대해서 구체적으로 설명하기로 한다.

[1594]

[1595] 2.6.2 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610)

[1596] 2.6.2.1 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610)의 구성

[1597] 도 47은 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(610)를 설명하기 위한 도면이다.

[1598]

[1599] 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(610)는 적어도 결정부(611), 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)를 포함할 수 있다.

[1600]

[1601] 상기 결정부(611)는 핵산의 단위 분자 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 핵산의 단위 분자의 예시로는 위의 화학식 1 및 화학식2가 있을 수 있다. 핵산 유사체의 단위 분자의 예시로는 위의 화학식 3 내지 9가 있을 수 있다.

[1602] 상기 제1 라벨부(612)는 에너지 공여체일 수 있다. 상기 제1 라벨부(612)는 에너지를 방출하는 분자일 수 있다. 에너지 공여체의 예시로는 FAM, JOE, TET, HEX, VIC, Oregon Green®, TAMRA, ROX, Cyanine-3, Cyanine-3.5, Cyanine-5, Cyanine-5.5, 에쿼린(Aequorin) 또는 청색 형광 단백질(Cyan Fluorescent Protein, CFP)가 있을 수 있다.

[1603] 상기 제2 라벨부(613)는 에너지 수용체일 수 있다. 상기 제2 라벨부(613)는 에너지를 수용하는 분자일 수 있다. 에너지 수용체의 예시로는 블랙홀 퀀처(Black Holes Quencher, BHQ), 녹색 형광 단백질(Green Fluorescent Protein, GFP) 또는 노랑 형광 단백질(Yellow Fluorescent Protein, YFP)가 있을 수 있다.

[1604] 상기 결정부(611)는 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)에 연결되어 있을수 있다. 상기 결정부(611)의 일측에 제1 라벨부(612)가 연결되고, 상기 결정부(611)의 다른측에 제2 라벨부(613)가 연결될 수 있다. 상기 결정부(611) 및 상기 제1 라벨부(612)는 직접 연결되어 있을 수 있고, 또는, 특정 화합물을 통해 연결되어 있을 수 있다. 상기 결정부(611) 및 상기 제2 라벨부(613)는 직접 연결되어 있을 수 있고, 또는, 특정 화합물을 통해 연결되어 있을 수 있다.

[1605]

[1606] 상기 결정부(611)는 특정 염기 서열과 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 결정부(611)는 검출하고자 하는 타겟 핵산의 적어도 일부와 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 결정부(611)가 타겟 핵산의 적어도 일부와 상보적으로 결합하는 영역을 포함한다는 것의 의미는, 상기 결정부(611)의 적어도 일부 영역이 검출하고자 하는 타겟 핵산의 적어도 일부와 전기적, 화학적, 또는 물리적 성질 중 적어도 하나의 성질이 대응되어, 연관되는

것을 의미할 수 있다.

[1607] 상기 결정부(611)는, 프로브 결합 영역(PR)에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 결정부(611)는 상기 프로브 결합 영역(PR)에 특이적으로 결합할 수 있다. 여기서, "프로브 결합 영역(PR)"이라 함은, 상기 결정부(611)와 상보적으로 결합할 수 있는 특정 염기 서열을 의미할 수 있다.

[1608]

[1609] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 결정부(611)와 상기 프로브 결합 영역(PR)과의 결합이 해리되는 온도에 기초하여 해리피크값이 결정될 수 있다. 결정부(611)와 프로브 결합 영역(PR)의 결합에 이용되는 염기의 종류, 염기의 서열, 염기의 수 등에 기초하여 결정부(611)와 프로브 결합 영역(PR)사이의 결합력이 결정될 수 있고, 따라서, 결정부(611)와 프로브 결합 영역(PR)의 결합에 이용되는 염기의 종류, 염기의 서열, 염기의 수 등에 기초하여 해리피크값이 결정될 수 있다.

[1610]

[1611] 상기 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)는 연계된 작용을 수행하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 제1 라벨부(612)는 에너지를 제공하는 영역을 포함할 수 있다. 제2 라벨부(613)는 에너지를 제공받는 영역을 포함할 수 있다.

[1612] 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)는 서로 이격된 거리에 따라 연계 작용의 수행 여부가 달라질 수 있다. 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)가 연계 작용을 수행하는 경우, 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)가 연계 작용을 수행하기 이전과 비교하여, 단위셀(UC)로부터 검출되는 광학적 특성이 변경될 수 있다.

[1613] 구체적인 예를 들어, 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)가 연계 작용을 수행하는 경우, 제1 라벨부(612)로부터 방출되는 광이 제2 라벨부(613)에 의해 흡수될 수 있다. 다른 구체적인 예를 들어, 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)가 연계 작용을 수행하는 경우, 제1 라벨부(612)로부터 방출되는 광이 제2 라벨부(613)에 의해 광의 파장대, 광의 세기 등이 변환될 수 있다.

[1614]

[1615] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 결정부(611)와 프로브 결합 영역(PR)간의 결합 여부에 기초하여, 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613) 간의 연계 작용 여부가 결정될 수 있다.

[1616] 구체적으로, 프로브 복합체(610)의 결정부(611)가 프로브 결합 영역(PR)에결합되어 이중 가닥을 형성하고 있지 않은 경우, 프로브 복합체(610)의 자가응집(Self-aggregation)에 의해 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613) 사이의 거리가 인접해여 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613) 사이의 연계 작용이 수행될 수 있다.

[1617] 프로브 복합체(610)가 프로브 결합 영역(PR)에 어닐링 되는 경우, 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613)는 적어도 결정부(611)의 길이만큼 이격될 수 있다. 그 결과, 제1 라벨부(612) 및 제2 라벨부(613) 사이의 연계 작용이 수행되지 않을 수 있다.

[1618]

[1619] 2.6.2.2 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610)의 동작

[1620] 본 출원의 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610)는 PCR에서 이용되어 타겟 핵산을 검출하는데에 이용될 수 있다.

[1621] 구체적으로, 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610)는 단위셀(UC)에 제공될 수있다. 단위셀(UC)에는 프로브 복합체(610) 및 중합 반응을 수행하는데 관여하는 중합 효소(예; 폴리머레이즈), 염기 조각(예; 디옥시뉴클레오타이드 삼인산(dNTP)), PCR에 관여하는 조효소(예; MgCl2, MgSO4), PCR에 최적 pH 및/또는 염농도를 제공하기 위해 완충용액(buffer) 중 적어도 하나가 더 포함될 수 있다.

[1622] 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 단위셀(UC) 내의 용액에서는 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)가 순차적으로 진행될 수 있다.

[1623] PCR이 완료된 단위셀(UC)에 대하여 안정화 단계(S5000) 및 해리 곡선 검출 단계(S6000)이 진행될 수 있다. 검출된 해리 곡선에 기초하여 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프가 획득될 수 있다. 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서는 해리피크값이 확인될 수 있다.

[1624] 상기 해리피크값은, 프로브 복합체(610)의 결정부(611)가 프로브 결합 영역(PR)으로부터 해리되는 온도와 관련되어 있을 수 있다. 극단적으로, 해리피크값은 프로브 복합체(610)의 결정부(611)가 프로브 결합 영역(PR)으로부터 해리되는 온도에 대응될 수 있다.

[1625]

[1626] 복수 종류의 프로브 복합체(610)를 이용한 복수 종류의 타겟 핵산 검출에 있어서, 결정부(611)가 타겟하는 프로브 결합 영역(PR)의 염기 서열 및 결정부(611)와 프로브 결합 영역(PR)사이의 결합력을 조절하여 복수 종류의 프로브 복합체(610)가 상이한 해리피크값을 갖도록 설계할 수 있다.

[1627] 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서 획득한 그래프를 분석하여 확인한 해리피크값에 대응되는 프로브 복합체(610)의 종류를 확인하여, 샘플내에 존재하는 타겟 핵산의 종류를 확인할 수 있다. 타겟 핵산은, 프로브 결합 영역(PR)에 대응되는 서열일 수 있다. 타겟 핵산은, 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 특정 핵산일 수 있다.

[1628]

[1629] 정리하자면, 프로브 복합체(610)를 이용한 타겟 핵산 유무의 검출 방법에 있어서, 단위셀(UC)에 대한 온도에 따른 형광값을 검출하는 경우, 형광값이 감소하거나 증가하는 특정 온도가 확인될 수 있고, 그에 따라 타겟 핵산의 존재를 확인할 수 있다. 프로브 복합체(610)를 이용한 타겟 핵산 유무의 검출 방법에 있어서, 단위셀(UC)에 대한 온도에 따른 형광값에 기초하여, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율에 대한 그래프가 획득될 수 있고, 해리피크값의

존재에 기초하여 타겟 핵산의 존재를 확인할 수 있다.

[1630]

[1631] 본 출원의 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610)의 결정부(611)가 PNA의단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 따라서, 프로브 복합체(610)의 결정부(611)는 DNA 중합 효소(DNA polymerase)에 의해 분해되지 않을 수 있다. 이는, PNA가 DNA와 상이한 구조를 가지는 것에 기인한 것일 수 있다.

[1632] 다만, 본 출원의 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610)의 결정부(611)가 DNA의 단위 분자의 중합체로 구성될 수 있다. 따라서, 프로브 복합체(610)의 결정부(611)는 DNA 중합 효소에 의해 분해될 수 있다.

[1633] 이를 해결하기 위해, 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(610)는, DNA 중합효소가 프로브 복합체(610)의 결정부(611)를 절단하는 것을 저해하기 위한 효소가 결합되어 있는 상태일 수 있다. 또는, 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(610)를 이용한 PCR에 있어서, 특정 도메인의 활성이 결여된 DNA 중합 효소가 이용될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 핵산말단가수분해효소활성이 결여된 DNA 중합 효소를 이용하여 PCR이 진행되도록 하여, 프로브 복합체(610)의 결정부(611)가 절단되는 것을 방지할 수 있다.

[1634]

[1635] 2.6.2.3 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610) 및 핵산 복합체 페어(10)를 활용한 타겟 핵산의 검출 방법

[1636] 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(610) 및 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 타겟 핵산의 검출을 위해서는, 단위셀(UC)에 대해, 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000), 중합 반응 단계(S4000), 안정화 단계(S5000) 및 해리 곡선 검출 단계(S6000)가 수행될 수 있다. 상기 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)는 순차적으로 진행되는 것을 1주기로, 적어도 1주기 이상 반복 진행 될 수 있다.

[1637]

[1638] 단위셀(UC)에는, 적어도 하나의 종류의 핵산 복합체 페어(10) 및 적어도 하나의 종류의 프로브 복합체(610)가 제공될 수 있다.

[1639] 본 출원의 일 실시예에 따라 복수 종류의 프로브 복합체(610)가 단위셀(UC)에 제공되는 경우, 복수 종류의 프로브 복합체(610)는 각각의 프로브 복합체(610)의 결정부(611)와 프로브 결합 영역(PR)과의 결합력이 서로 상이하게 설계될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 복수 종류의 프로브 복합체(610)가 단위셀(UC)에 제공되는 경우, 복수 종류의 프로브 복합체(610)는 각각의 프로브 복합체(610)의 결정부(611)와 프로브 결합 영역(PR)과의 결합이 해리되는 온도가 서로 상이하게 설계될 수 있다.

[1640] 본 출원의 일 실시예에 따라 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)가 단위셀(UC)에 제공되는 경우, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)는 제1 태그부 (112) 및 제2 태그부(122)간의 결합해리력이 서로 상이하게 설계될 수 있다. 구체적인 예를

들어, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)가 단위셀(UC)에 제공되는 경우, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부 (122)의 상보적 결합에 따른 염기의 수, 염기의 종류, 단위핵산의 종류 등에 기초한 해리피크값이 서로 상이하게 설계될 수 있다.

[1641] 단위셀(UC)에는, PCR에 이용되는 효소, 염기 조각, 조효소, 및/또는 완충 용액 등이 더 제공될 수 있다. 단위셀(UC)에 제공될 수 있는 PCR 용 키트는, 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610), 핵산 복합체 페어(10), PCR에 이용되는 효소, 염기 조각, 조효소 및 완충 용액 중 적어도 하나가 포함될 수 있다.

[1642] 일 예로, 광학기기를 통해 측정할 수 있는 해리피크값이 총6개인 경우, PCR키트는 3개의 해리피크값이 각각 대응되는 세 종류의 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610) 및 3개의 해리피크값이 각각 대응되는 세 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 포함할 수 있다.

[1643]

[1644] PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질(예; 일 종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기)이 포함된 컴포지션을 하나의 용기에 담아, 복수의 용기(예; 일 종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기 및 다른종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기)를 하나의 포장 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다. PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질이 포함된 컴포지션의 형태로 하나의 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다. PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질이 건조된 상태로 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다.

[1645]

[1646] 도 48 및 49는 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(610) 및 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 제공된 용액의 PCR을 설명하기 위한 도면이다.

[1647]

[1648] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 프로브 복합체(610) 및 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 PCR을 진행함에 있어, 상기 PCR은 Asymmetric PCR 방식에 따라서 진행될 수 있다.

[1649] 이하에서는, Asymmetric 방식에 따른 PCR에 대해서 설명한다. Asymmetric 방식에 따른 PCR에서는, 단위셀(UC)에 제2 핵산 복합체(120)에 비해 상대적으로 많은 비중의 제1 핵산 복합체(110)가 포함되어 있을 수 있다. 또는, Asymmetric 방식에 따른 PCR혼합 용액에서는, 단위셀(UC)에 제1 핵산 복합체(110)에 비해 상대적으로 많은 비중의 제2 핵산 복합체(120)가 포함되어 있을 수 있다.

[1650]

[1651] 열변성 단계(S2000)에서는, 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 이중 가닥의 DNA를 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는, 제1 핵산 복합체(110)의 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열, 제2 핵산

복합체(120)의 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열, 및/또는 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 이중 가닥의 DNA가 2개의 단일 가닥 DNA로 분리될 수 있다.

[1652]

[1653] 어닐링 단계(S3000)에서는, 단일 가닥으로 분리된 DNA 중 적어도 일부 영역에 제1 핵산 복합체(110), 제2 핵산 복합체(120) 및/또는 프로브 복합체(610)가 결합될 수 있다. 구체적으로, 제1 핵산 복합체(110)는 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합될 수 있다. 제2 핵산 복합체(120)는 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합될 수 있다. 프로브 복합체(610)은 프로브 결합 영역(PR)에 상보적으로 결합될 수 있다.

[1654]

[1655] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 제1 결정부(111)가 결합한 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 제2 결정부(121)가 결합한 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭산물이 생성될 수 있다.

[1656] 본 출원의 일 실시예에 따라, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)가 프로브 복합체(610)와 관련된 프라이머로써 활용되는 경우에는, 중합 반응 단계(S4000)에서 프로브 결합 영역(PR)에 결합한 프로브 복합체(610)는, 상기 프로브 결합 영역(PR)으로부터 분리될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서 프로브 결합 영역(PR)에 결합한 프로브 복합체(610)는, 분해되지 않을 수 있다.

[1657] 구체적인 예를 들어, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)가 프로브 복합체(610)와 관련된 프라이머로써 활용되는 경우에는, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 제1 가닥 또는 제2 가닥에 대한 증폭 산물의 생성이 개시된 이후, 프로브 복합체(610)가 결합된 영역에 인접한 염기 서열에 대한 증폭 산물이 생성되는 시점에 프로브 복합체(610)가 프로브 결합 영역(PR)로부터 분리될 수 있다.

[1658] 본 출원의 일 실시예에 따라, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)가 프로브 복합체(610)와 관련된 프라이머로써 활용되지 않는 경우에도, 프로브 결합 영역(PR)에 결합한 프로브 복합체(610)는, 중합 반응 단계(S4000)에서 상기 프로브 복합체(610)와 관련된 프라이머의 개시에 따른 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 핵산에 대한 증폭산물이 프로브 복합체(610)와 인접한 영역에서 생성되는 시점에, 상기 프로브 결합 영역(PR)으로부터 분리될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서 프로브 결합 영역(PR)에 결합한 프로브 복합체(610)는, 분해되지 않을 수 있다.

[1659]

[1660] 1주기의 PCR 이후 열변성 단계(S2000)에서는, 단위셀(UC)내의 이중 가닥의 DNA는 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다. 이 때, 중합 반응 단계(S4000)에서

형성되었던 적어도 하나의 핵산 복합체(1)를 포함하는 이중 가닥의 DNA도 2개의 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다.

[1661]

[1662] 1주기의 PCR 이후의 어닐링 단계(S3000)에서는, 단위셀(UC)의 단일 가닥 중 제1 타겟 염기 서열 및/또는 제2 타겟 염기 서열에 제1 핵산 복합체(110) 또는 제2 핵산 복합체(120)가 결합될 수 있다. 경우에 따라서, 상기 제1 핵산 복합체(110)는 제2 핵산 복합체(120)가 포함된 단일 가닥의 DNA에 결합할 수 있다. 상기 제2 핵산 복합체(120)는 제1 핵산 복합체(110)가 포함된 단일 가닥의 DNA에 결합할 수 있다.

[1663]

[1664] 1주기의 PCR 이후의 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 제2 결정부(121)를 포함하는 핵산에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 1주기의 PCR 이후의 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 제1 결정부(111)를 포함하는 핵산에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다.

[1665] 본 출원의 일 실시예에 따라, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)가 프로브 복합체(610)와 관련된 프라이머로써 활용되는 경우에는, 중합 반응 단계(S4000)에서 프로브 결합 영역(PR)에 결합한 프로브 복합체(610)는, 상기 프로브 결합 영역(PR)으로부터 분리될 수 있다.

[1666]

[1667] 적어도 2주기의 PCR이 수행된 단위셀(UC)에 포함된 용액에는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 구조체, 제1 핵산 복합체(110)를 포함하는 핵산 구조체, 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 구조체, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하지 않는 핵산 구조체가 유동하고 있을 수 있다.

[1668] 또한, 적어도 2주기의 PCR이 수행된 단위셀(UC)에 포함된 용액에는, PCR이전에 제2 핵산 복합체(120)의 제공 농도가 제1 핵산 복합체(110)의 제공 농도와 달라(Asymmetric PCR 방식), 제1 핵산 복합체(110)를 포함하는 단일 가닥의 DNA 및/또는 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 단일 가닥의 DNA가 반응 후 단위셀(UC)에 남아있을 수 있다.

[1669]

[1670] PCR이 종료된 후, 안정화하는 단계(S5000)이 수행될 수 있다. 안정화 단계(S5000)에서는, 남겨진 제1 핵산 복합체(110)를 포함하는 단일 가닥의 DNA 또는 남겨진 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 단일 가닥의 DNA 중 프로브 결합 영역(PR)를 포함하는 가닥에 프로브 복합체(610) 가 결합될 수 있다.

[1671] 또한, 안정화 단계(S5000)에서는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 구조체의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 상보적 결합이 수행될 수 있다.

[1672]

[1673] 안정화 단계(S5000) 이후, 단위셀(UC)에 대한 해리 곡선 검출 단계(S6000)이 수행될 수 있다. 이 때, 단위셀(UC)에 대해 획득된 온도에 대한 형광값의 그래프에 기초하여, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 획득함으로써, 단위셀(UC)에 대한 해리피크값이 확인될 수 있다.

[1674]

[1675] 도 50을 참조하면, 본 출원의 일 실시예에 따르면, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에는 T1 및 T2의 온도에서 극대점이 도시되어 있을 수 있다. 또는, 본 출원 일 실시예에 따르면, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율에는 T1 및 T2의 온도에서 극소점이 도시되어 있을 수 있다. 또는, 본 출원의 일 실시예에 따르면, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율에는 T1 의 온도에서 극대점이 도시되고, T2의 온도에서 극소점이 도시되어 있을 수 있다.

[1676] 구체적인 예를 들어, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 극소점이 도시된 T1은 핵산 복합체 페어(10)에 관련된 해리피크값일 수 있다(도 50(a) 참조). 이 때의 핵산 복합체 페어(10)는 신호소광방식의 연계 작용을 수행하도록 설계되어 있을 수 있다. 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 극소점이 도시된 T2은 프로브 복합체(610) 에 관련된 해리피크값일 수 있다(도 50(b) 참조). 이 때의 복합체 프로브(610)는 신호발광방식의 연계 작용을 수행하도록 설계되어 있을 수 있다.

[1677]

[1678] 보다 구체적인 예를 들어, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)와 관련하여 해리피크값이 40, 45 및 50℃로 할당되고, 총 5개의 형광 물질이 각각 표지된, 서로 다른 15 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 설계하고, 복수 종류의 프로브 복합체(610)와 관련하여 해리피크값이 55, 60 및 65℃로 할당되고, 총 5개의 형광 물질이 각각 표지된, 서로 다른 15 종류의 프로브 복합체(610)를 설계하여, 이를 포함하는 단위셀(UC)에 대한 PCR을 진행할 수 있다.

[1679] 이 때, 프로브 복합체(610)와 관련된 프라이머는 핵산 복합체 페어(10)인 경우, FAM에 대응되는 형광채널에서 45C이라는 해리 피크값 및 60C라는 해리 피크값이 검출된 경우에는, 단위셀(UC) 내에는 표1의 Target ID 101에 대응되는 타겟 핵산이 존재하는 것으로 확인할 수 있다.

[1680] 이 때, 프로브 복합체(610)와 관련된 프라이머가 핵산 복합체 페어(10)가 아닌 경우, FAM에 대응되는 형광채널에서 45C이라는 해리 피크값 및 60C라는 해리 피크값이 검출된 경우에는, 단위셀(UC) 내에는 표1의 Target ID 1 에 대응되는 타겟 핵산 및 Target ID21에 대응되는 타겟 핵산이 존재하는 것으로 확인할 수 있다.

[1681]

[1682] 2.6.2.4 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610) 및 핵산 복합체 페어(10)에 대한 실험예 #5

[1683] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 프로브 복합체(610) 및 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 타겟 핵산의 유무를 확인할 수 있다.

[1684]

[1685] 도 51은 본 출원의 일 실시예에 따라 단위셀(UC)에 존재하는 적어도 4종의 타겟 핵산을 확인하는 실험에 따른 결과를 설명하기 위한 도면이다.

[1686]

[1687] 본 실험을 진행함에 있어서, PCR 플레이트의 튜브(또는 well)에 Tris-HCl(pH9.0), salt(KCl), MaCl2, dNTP mixture, protein stabilizer, PCR enhancer(macromolecules), fast hot-start Taq DNA Polymerase가 도입되었다.

[1688]

[1689] 상기 PCR플레이트의 제1 튜브에는 제1 핵산 복합체 페어(10), 프로브 복합체(610) 및 프로브 복합체(610)와 연관된 별도의 프라이머가 도입되었다.

[1690]

[1691] 제1 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)로 구성되었다. 제1 핵산 복합체(110)는 0.5pmol/Rxn만큼 도입되었고, 제2 핵산 복합체(120)는 8pmol/Rxn만큼 도입되었다.

[1692]

[1693] 제1 핵산 복합체(110)는, 제1 라벨부(113), 제1 태그부(112), 제1 연결부(114) 및 제1 결정부(111) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제1 라벨부(113)는 FAM이고, 제1 태그부(112)는 AAAAAAAAAA(서열번호 5), 제1 연결부(114)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제1 결정부(111)는 AGGTAAACGCTCCTCTGAA(서열번호 6)이었다.

[1694] 제2 핵산 복합체(120)는, 제2 라벨부(123), 제2 태그부(122), 제2 연결부(124) 및 제2 결정부(121) 순으로 연결된 형태로 형성되었으며, 제2 라벨부(123)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers)) 이고, 제2 태그부(122)는 TTTTTTTTTT(서열번호 7), 제2 연결부(124)는 Spacer 18(18-atom hexa-ethyleneglycol spacer)이며, 제2 결정부(121)는 GCGAGTTACGAAGACAAAA(서열번호 8)이었다.

[1695]

[1696] 프로브 복합체(610)는 제1 라벨부(612), 결정부(611), 제2 라벨부(613) 순으로 연결되었다. 프로브 복합체(610)는 2pmol/Rxn 만큼 도입되었다. 제1 라벨부(612)는 퀀처 분자(Iowa Black® FQ (Iowa Black® Quenchers))이고, 결정부(611)은 CACTCATATACAGC(서열번호 27) 이었으며, 제2 라벨부(613)은 FAM이었다.

[1697]

[1698] 프로브 복합체(610)와 연관된 포워드 프라이머 및 리버스 프라이머가 제공되었다. 포워드 프라이머는 0.5pmol/Rxn만큼 도입되었고, 리버스 프라이머는 8pmol/Rxn만큼 도입되었다.

[1699]

[1700] 프로브 복합체(610)와 관련된 포워드 프라이머는 AGCTCCTATTGCCAACGTA(서열번호 10)이고, 리버스 프라이머는 GTGTGGAGCATCTTGTAATC(서열번호 28)이었다.

[1701]

[1702] 핵산 복합체 페어(10), 프로브 복합체(610) 및 프로브 복합체(610)와 관련된 포워드 프라이머 및 리버스 프라이머가 도입된 튜브는 온도가 조절되어, 튜브내의 용액에 대한 PCR 반응이 진행되었다. 도 29에 도시된 바와 같이, 튜브의 온도를 95C로 10분정도 유지한 후, 열변성 단계(S2000)(95C, 10초), 어닐링 단계(S3000)(50C, 40초), 중합 반응 단계(S4000)(60C, 20초)를 1주기로 하여, 40번이 반복되었다. 본 실험에서는 bio-rad사의 CFX 96(허가번호 수인 10-205호)가 이용되었다.

[1703]

[1704] 이후, 위의 제1 튜브에 대한 해리 곡선을 검출한 후, 도 51에 도시된 바와 같이, 온도에 따른 형광값 그래프 및 온도-온도에 따른 형광량의 음의 변화율 그래프를 획득하였다.

[1705]

[1706] 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서, 핵산 복합체 페어(10)의 해리피크값과 관련하여, 23.5C에서 극소값이 확인되었다. 이로써, 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 단위셀(UC) 내부에 존재한다는 것을 확인할 수 있다.

[1707] 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 프로브 복합체(610)의 해리피크값과 관련하여, 43.5C에서 극대값이 확인되었다. 이로써, 프로브 복합체(610)와 관련된 타겟 핵산이 단위셀(UC) 내부에 존재한다는 것을 확인할 수 있다.

[1708]

[1709] 결과적으로, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 획득하여, 특정 온도에서 해리피크값이 검출되는지 여부를 토대로 핵산 복합체 페어(10)의 타겟 핵산의 유무 및 프로브 복합체(610)의 타겟 핵산의 유무를 확인할 수 있다.

[1710]

[1711] 2.6.3 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620)

[1712] 2.6.3.1 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620)의 구성

[1713] 도 52는 본 출원의 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620)를 설명하기 위한 도면이다.

[1714]

[1715] 본 출원의 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620)는 물리적으로 구분된 제1 프로브유사체 및 제2 프로브유사체로 구성될 수 있다.

[1716] 제1 프로브유사체는 결정부(621) 및 제1 페어링부(622)를 포함할 수 있다. 제1

프로브유사체는 결정부(621)에 제1페어링부(622)가 연결되어 있는 형태로 구현될 수 있다. 제2 프로브유사체는 제2 페어링부(623), 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)를 포함할 수 있다.

[1717]

[1718] 상기 결정부(621)는 핵산의 단위 분자 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 핵산의 단위 분자의 예시로는 위의 화학식 1 및 화학식2가 있을 수 있다. 핵산 유사체의 단위 분자의 예시로는 위의 화학식 3 내지 9가 있을 수 있다.

[1719]

[1720] 상기 제1 페어링부(622)는 핵산의 단위 분자 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 상기 제2 페어링부(623)는 핵산의 단위 분자 및/또는 핵산 유사체의 단위 분자를 포함할 수 있다. 마찬가지로, 핵산의 단위 분자의 예시로는 위의 화학식 1 및 화학식2가 있을 수 있다. 핵산 유사체의 단위 분자의 예시로는 위의 화학식 3 내지 9가 있을 수 있다.

[1721]

[1722] 상기 제1 라벨부(624는 에너지 공여체일 수 있다. 상기 제1 라벨부(624)는 에너지를 방출하는 분자일 수 있다. 에너지 공여체의 예시로는 FAM, JOE, TET, HEX, VIC, Oregon Green®, TAMRA, ROX, Cyanine-3, Cyanine-3.5, Cyanine-5, Cyanine-5.5, 에쿼린(Aequorin) 또는 청색 형광 단백질(Cyan Fluorescent Protein, CFP)가 있을 수 있다.

[1723] 상기 제2 라벨부(625)는 에너지 수용체일 수 있다. 상기 제2 라벨부(625)는 에너지를 수용하는 분자일 수 있다. 에너지 수용체의 예시로는 블랙홀 퀀처(Black Holes Quencher, BHQ), 녹색 형광 단백질(Green Fluorescent Protein, GFP) 또는 노랑 형광 단백질(Yellow Fluorescent Protein, YFP)가 있을 수 있다.

[1724]

[1725] 제1 프로브유사체는 결정부(621) 및 제1 페어링부(622)가 연결되어 있는 형태로 구현될 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 프로브유사체는 결정부(621)에 제1 페어링부(622)가 결합되어 있는 형태로 구현될 수 있다.

[1726] 제 2 프로브유사체는 제2 페어링부(623), 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)가 연결되어 있는 형태로 구현될 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 제2 프로브유사체는 제2 페어링부(623)에 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)가 결합되어 있는 형태로 구현될 수 있다.

[1727]

[1728] 상기 결정부(621)는 특정 염기 서열과 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 결정부(621)는 검출하고자 하는 타겟 핵산의 적어도 일부와 상보적으로 결합하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 결정부(621)가 타겟 핵산의 적어도 일부와 상보적으로 결합하는 영역을 포함한다는 것의 의미는, 상기

결정부(621)의 적어도 일부 영역이 검출하고자 하는 타겟 핵산의 적어도 일부와 전기적, 화학적, 또는 물리적 성질 중 적어도 하나의 성질이 대응되어, 연관되는 것을 의미할 수 있다.

[1729] 상기 결정부(621)는, 프로브 결합 영역(PR)에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 결정부(621)는 상기 프로브 결합 영역(PR)에 특이적으로 결합할 수 있다. 여기서, "프로브 결합 영역(PR)"이라 함은, 상기 결정부(621)와 상보적으로 결합할 수 있는 특정 염기 서열을 의미할 수 있다.

[1730]

[1731] 상기 제1 페어링부(622)는, 상기 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 타겟 핵산에 대한 증폭 산물이 생성되는 경우, 결정부(621)로부터 분리될 수 있다. 상기 제1 페어링부(622)는, 상기 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 타겟 핵산에 대한 증폭 산물의 생성이 개시되어, 프로브 결합 영역(PR)에 인접한 영역까지 증폭이 진행된 경우, 결정부(621)로부터 분리될 수 있다.

[1732] 상기 제1 페어링부(622)는, DNA 중합 효소의 작용으로, 결정부(621)로부터 분리될 수 있다. 상기 제1 페어링부(622)는, DNA중합 효소의 작용으로, 결정부(621)로부터 절단되어 분리될 수 있다. 일 예로, 상기 제1 페어링부(622)의 결정부(621)로부터의 분리는 DNA 중합효소의 핵산말단가수분해효소의 활성에 의한 것일 수 있다.

[1733]

[1734] 상기 제1 페어링부(622)는 상기 제2 페어링부(623)와 상보적으로 결합할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(620)는, 상기 제1 페어링부(622)와 제2 페어링부(623)가 서로 상보적으로 결합하도록 구현될 수 있다. 제1 페어링부(622)는 제2 페어링부(623)와 상보적인 염기 서열을 포함할 수 있다. 제2 페어링부(623)는 제1 페어링부(622)와 상보적인 염기 서열을 포함할 수 있다.

[1735] 제1 페어링부(622)는 제2 페어링부(623)에 결합되어 프라이머로써의 기능을 수행할 수 있다. 제1 페어링부(622)는 제2 페어링부(623)에 결합되어 프라이머로써의 기능을 수행할 수 있다. 다시 말해, 제2 페어링부(623)의 적어도 일부 영역에 제1 페어링부(622)가 결합되는 경우, 제1 페어링부(622)를 개시점으로 하여, 제2 페어링부(623)에 상보적인 염기 서열을 갖도록 상기 제2 페어링부(623)의 3` 말단에 뉴클레오타이드가 연장될 수 있다.

[1736]

[1737] 상기 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)는 연계된 작용을 수행하는 영역을 포함할 수 있다. 상기 제1 라벨부(625)는 에너지를 제공하는 영역을 포함할 수 있다. 제2 라벨부(625)는 에너지를 제공받는 영역을 포함할 수 있다.

[1738] 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)는 서로 이격된 거리에 따라 연계 작용의 수행 여부가 달라질 수 있다. 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)가 연계 작용을 수행하는 경우, 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)가 연계 작용을 수행하기

이전과 비교하여, 광학 기기에 의해 검출되는 단위셀의 광학적 특성이 변경될 수 있다.

[1739] 구체적인 예를 들어, 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)가 연계 작용을 수행하는 경우, 제1 라벨부(624)로부터 방출되는 광이 제2 라벨부(625)에 의해 흡수될 수 있다. 다른 구체적인 예를 들어, 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)가 연계 작용을 수행하는 경우, 제1 라벨부(624)로부터 방출되는 광이 제2 라벨부(625)에 의해 광의 파장대, 광의 세기 등이 변환될 수 있다.

[1740]

[1741] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)는 자가응집(Self-aggregation)된 상태로, 연계 작용을 수행할 수 있다.

[1742] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 제2 페어링부(623)에 제1 페어링부(622)가 상보적으로 결합하면, 상기 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)간 거리가 이격되어, 연계 작용을 수행하지 않을 수 있다. 다시 말해, 제2 페어링부(623)에 제1 페어링부(622)가 상보적으로 결합하면, 제1 페어링부(622)가 결합하지 않은 일부 영역에는 뉴클레오타이드가 결합되어 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)의 거리를 이격시킬 수 있다.

[1743] 따라서, 제2 페어링부(623)에 제1 페어링부(622)가 상보적으로 결합하였는지, 결합한 후 중합 반응 단계(S4000)이 수행되었는지 여부에 따라 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625) 사이의 연계 작용 여부가 결정될 수 있다.

[1744]

[1745] 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서는, 특정 온도에서 1) 제2 페어링부(623)와 2) 제2 페어링부(623)의 염기 서열 중 적어도 일부의 염기 서열에 대한 상보적인 서열 사이의 결합이 해리될 수 있다. 특정 온도에서 1) 제2 페어링부(623)와 2) 제1 페어링부(622)를 포함하는 단일 가닥 사이의 상보적 결합이 해리될 수 있다.

[1746] 제2 페어링부(623)가 단일 가닥으로 열변성되는 특정 온도에서는, 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)사이의 연계 작용이 수행될 수 있다. 제2 페어링부(623)가 단일 가닥으로 열변성되는 경우, 제2 페어링부(623)가 자가응집되어 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625) 사이의 거리가 인접하여 질 수 있고, 그 결과, 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625)사이의 연계 작용이 개시될 수 있다.

[1747]

[1748] 2.6.3.2 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620)의 동작

[1749] 본 출원의 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620)는 PCR에서 이용되어 타겟 핵산을 검출하는데에 이용될 수 있다.

[1750] 구체적으로, 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620)는 단위셀(UC)에 제공될 수있다. 단위셀(UC)에는 프로브 복합체(620) 및 중합 반응을 수행하는데 관여하는 중합 효소(예; 폴리머레이즈), 염기 조각(예; 디옥시뉴클레오타이드 삼인산(dNTP)), PCR에 관여하는 조효소(예; MgCl2, MgSO4), PCR에 최적 pH

및/또는 염농도를 제공하기 위해 완충용액(buffer) 중 적어도 하나가 더 포함될 수 있다.

[1751] 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 단위셀(UC) 내의 용액에서는 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)가 순차적으로 진행될 수 있다.

[1752] 어닐링 단계(S3000)에서 결정부(621) 및 제1 페어링부(622) 사이의 연결이 분리된 경우, 제1 페어링부(622)는 제2 페어링부(623)에 상보적으로 결합할 수 있다.

[1753] 중합 반응 단계(S4000)에서 제1 페어링부(622)를 개시점으로 하여, 제2 페어링부(623)의 적어도 일부 영역의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 갖도록 뉴클레오타이드가 연장될 수 있다.

[1754] PCR이 완료된 단위셀(UC)에 대하여 안정화 단계(S5000) 및 해리 곡선 검출 단계(S6000)이 진행될 수 있다. 검출된 해리 곡선에 기초하여 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프가 획득될 수 있다. 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서는 해리피크값이 확인될 수 있다.

[1755] 상기 해리피크값은, 제2 페어링부(623)에 결합되어 있는 프로브(즉, 제1 페어링부(622)를 포함하는 DNA 가닥)가 제2 페어링부(623)로부터 해리되어 제2 페어링부(623)가 단일 가닥이 되는 온도와 관련되어 있을 수 있다. 극단적으로, 제2 페어링부(623)에 결합되어 있는 프로브(즉, 제1 페어링부(622)를 포함하는 DNA 가닥)가 제2 페어링부(623)로부터 해리되어 제2 페어링부(623)가 단일 가닥이 되는 온도에 대응될 수 있다.

[1756]

[1757] 복수 종류의 프로브 복합체(620)를 이용한 복수 종류의 타겟 핵산 검출에 있어서, 제2 페어링부(223)의 길이 및 염기 배열을 조절하여 복수 종류의 프로브 복합체(620)가 서로 상이한 해리피크값을 갖도록 설계될 수 있다.

[1758] 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서 획득한 그래프를 분석하여 확인한 해리피크값에 대응되는 프로브 복합체(620)의 종류를 확인하여, 샘플내에 존재하는 타겟 핵산의 종류를 확인할 수 있다. 타겟 핵산은, 프로브 결합 영역(PR)에 대응되는 서열일 수 있다. 타겟 핵산은, 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 서열일 수 있다.

[1759]

[1760] 정리하자면, 프로브 복합체(620)를 이용한 타겟 핵산 유무의 검출 방법에 있어서, 단위셀(UC)에 대한 온도에 따른 형광값을 검출하는 경우, 형광값이 감소하거나 증가하는 특정 온도가 확인될 수 있고, 그에 따라 타겟 핵산의 존재를 확인할 수 있다. 프로브 복합체(620)를 이용한 타겟 핵산 유무의 검출 방법에 있어서, 단위셀(UC)에 대한 온도에 따른 형광값에 기초하여, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율에 대한 그래프가 획득될 수 있고, 해리피크값의 존재에 기초하여 타겟 핵산의 존재를 확인할 수 있다.

[1761]

[1762] 2.6.3.3 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620) 및 핵산 복합체 페어(10)를 활용한 타겟 핵산의 검출 방법

[1763] 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(620) 및 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 타겟 핵산의 검출을 위해서는, 단위셀(UC)에 대해, 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000), 중합 반응 단계(S4000), 안정화 단계(S5000) 및 해리 곡선 검출 단계(S6000)가 수행될 수 있다. 상기 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)는 순차적으로 진행되는 것을 1주기로, 적어도 1주기 이상 반복 진행 될 수 있다.

[1764]

[1765] 단위셀(UC)에는, 적어도 하나의 종류의 핵산 복합체 페어(10) 및 적어도 하나의 종류의 프로브 복합체(620)가 제공될 수 있다.

[1766] 본 출원의 일 실시예에 따라 복수 종류의 프로브 복합체(620)가 단위셀(UC)에 제공되는 경우, 복수 종류의 프로브 복합체(620)는 각각의 프로브 복합체(620)의 제2 페어링부(623)와 제1 페어링부(622)를 포함하는 단일 가닥 간의 결합력이 서로 상이하게 설계될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 복수 종류의 프로브 복합체(620)가 단위셀(UC)에 제공되는 경우, 복수 종류의 프로브 복합체(620)는 각각의 프로브 복합체(620)의 제2 페어링부(623)와 제1 페어링부(622)를 포함하는 단일 가닥 간의 결합이 해리되는 온도가 서로 상이하게 설계될 수 있다.

[1767] 본 출원의 일 실시예에 따라 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)가 단위셀(UC)에 제공되는 경우, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)는 제1 태그부 (112) 및 제2 태그부(122)간의 결합해리력이 서로 상이하게 설계될 수 있다. 구체적인 예를 들어, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)가 단위셀(UC)에 제공되는 경우, 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)는 제1 태그부(112) 및 제2 태그부 (122)의 상보적 결합에 따른 염기의 수, 염기의 종류, 단위핵산의 종류 등에 기초한 해리피크값이 서로 상이하게 설계될 수 있다.

[1768] 단위셀(UC)에는, PCR에 이용되는 효소, 염기 조각, 조효소, 및/또는 완충 용액 등이 더 제공될 수 있다. 단위셀(UC)에 제공될 수 있는 PCR 용 키트는, 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(620), 핵산 복합체 페어(10), PCR에 이용되는 효소, 염기 조각, 조효소 및 완충 용액 중 적어도 하나가 포함될 수 있다.

[1769]

[1770] 본 출원의 일 실시예에 따르는 PCR 용 키트는, 제1 실시예에 따른 프로브 복합체(610), 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620), 핵산 복합체 페어(10), PCR에 이용되는 효소, 염기 조각, 조효소 및 완충 용액 중 적어도 하나가 포함될 수 있다.

[1771] 일 예로, 광학기기를 통해 측정할 수 있는 해리피크값이 총6개인 경우, PCR키트는 2개의 해리피크값이 각각 대응되는 두 종류의 제1 실시예에 따른

프로브 복합체(610), 2개의 해리피크값이 각각 대응되는 두 종류의 제2 실시예에 따른 프로브 복합체(620), 2개의 해리피크값이 각각 대응되는 두 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 포함할 수 있다.

[1772]

[1773] PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질(예; 일 종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기)이 포함된 컴포지션을 하나의 용기에 담아, 복수의 용기(예; 일 종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기 및 다른종의 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 컴포지션이 담긴 용기)를 하나의 포장 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다. PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질이 포함된 컴포지션의 형태로 하나의 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다. PCR용 키트는 적어도 하나 이상의 물질이 건조된 상태로 용기에 담아 판매하는 형태로 구현될 수 있다.

[1774]

[1775] 도 53 및 54는 본 출원의 일 실시예에 따른 프로브 복합체(620) 및 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 단위셀(UC)에 제공된 용액의 PCR을 설명하기 위한 도면이다.

[1776]

[1777] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 프로브 복합체(620) 및 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 PCR을 진행함에 있어, 상기 PCR은 Asymmetric PCR 방식 또는 Symmetric PCR 방식에 따라서 진행될 수 있다.

[1778] 이하에서는, Symmetric 방식에 따른 PCR에 대해서 설명한다. Symmetric 방식에 따른 PCR 에서는, 단위셀(UC)에 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)가 거의 동일한 양으로 포함되어 있을 수 있다. Symmetric 방식에 따른 PCR 에는, 단위셀(UC)에 제1 핵산 복합체(110)와 제2 핵산 복합체(120)의 비율이 1:1일 수 있다.

[1779]

[1780] 열변성 단계(S2000)에서는, 단위셀(UC)의 온도를 조절하여, 이중 가닥의 DNA를 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다. 열변성 단계(S2000)에서는, 제1 핵산 복합체(110)의 제1 결정부(111)에 대응되는 제1 타겟 염기 서열, 제2 핵산 복합체(120)의 제2 결정부(121)에 대응되는 제2 타겟 염기 서열, 및/또는 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 이중 가닥의 DNA가 2개의 단일 가닥 DNA로 분리될 수 있다.

[1781]

[1782] 어닐링 단계(S3000)에서는, 단일 가닥으로 분리된 DNA 중 적어도 일부 영역에 제1 핵산 복합체(110), 제2 핵산 복합체(120) 및/또는 제1 프로브유사체가 결합될 수 있다. 구체적으로, 제1 핵산 복합체(110)는 제1 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합될 수 있다. 제2 핵산 복합체(120)는 제2 타겟 염기 서열에 상보적으로 결합될 수 있다. 제1 프로브 유사체는 프로브 결합 영역(PR)에 상보적으로

결합될 수 있다.

[1783]

[1784] 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 제1 결정부(111)가 결합한 제1 타겟 염기 서열을 포함하는 제1 가닥에 대한 증폭산물이 생성될 수 있다. 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 제2 결정부(121)가 결합한 제2 타겟 염기 서열을 포함하는 제2 가닥에 대한 증폭산물이 생성될 수 있다.

[1785] 본 출원의 일 실시예에 따라, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)가 프로브 복합체(620)와 관련된 프라이머로써 활용되는 경우에는, 제1프로브유사체 중 적어도 일부의 염기 서열은 프로브 결합 영역(PR)로부터 분리될 수 있다.

[1786] 구체적인 예를 들어, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)가 프로브 복합체(620)와 관련된 프라이머로써 활용되는 경우에는, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 제1 가닥 또는 제2 가닥에 대한 증폭 산물의 생성이 개시된 이후, 제1 프로브유사체가 결합된 영역에 인접한 염기 서열에 대한 증폭 산물이 생성되는 시점에 제1페어링부(622)는 결정부(621)로부터 분리될 수 있다.

[1787] 본 출원의 일 실시예에 따라, 제1 결정부(111) 또는 제2 결정부(121)가 프로브 복합체(620)와 관련된 프라이머로써 활용되지 않는 경우에도, 프로브 결합 영역(PR)에 결합한 프로브 복합체(620)는, 중합 반응 단계(S4000)에서 상기 프로브 복합체(620)와 관련된 프라이머의 개시에 따른 프로브 결합 영역(PR)을 포함하는 핵산에 대한 증폭산물이 프로브 복합체(620)와 인접한 영역에서 생성되는 시점에, 제1페어링부(622)는 결정부(621)로부터 분리될 수 있다.

[1788]

[1789] 1주기의 PCR 이후 열변성 단계(S2000)에서는, 단위셀(UC)내의 이중 가닥의 DNA는 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다. 이 때, 중합 반응 단계(S4000)에서 형성되었던 적어도 하나의 핵산 복합체(1)를 포함하는 이중 가닥의 DNA도 2개의 단일 가닥의 DNA로 분리될 수 있다.

[1790] 1주기의 PCR 이후 열변성 단계(S2000)에서는, 제1 페어링부(622)는 단위셀(UC) 내에서 유동할 수 있다. 1주기의 PCR 이후 열변성 단계(S2000)에서는, 결정부(621)로부터 분리된 제1 페어링부(622)는 단위셀(UC) 내에서 유동할 수 있다.

[1791]

[1792] 1주기의 PCR 이후의 어닐링 단계(S3000)에서는, 단위셀(UC)의 단일 가닥 중 제1 타겟 염기 서열 및/또는 제2 타겟 염기 서열에 제1 핵산 복합체(110) 또는 제2 핵산 복합체(120)가 결합될 수 있다. 경우에 따라서, 상기 제1 핵산 복합체(110)는 제2 핵산 복합체(120)가 포함된 단일 가닥의 DNA에 결합할 수 있다. 상기 제2 핵산 복합체(120)는 제1 핵산 복합체(110)가 포함된 단일 가닥의 DNA에 결합할 수 있다.

[1793] 1주기의 PCR 이후의 어닐링 단계(S3000)에서는, 제1 페어링부(622)는 단위셀(UC) 내의 프로브 복합체(620)의 제2 프로브유사체와 결합할 수 있다. 단위셀(UC)내에서 유동하던 제1 페어링부(622)는 프로브 복합체(620)의 제2 프로브유사체의 제2 페어링부(623)와 결합할 수 있다. 제1 페어링부(622)가 제2 페어링부(623)에 결합되면, 제1 페어링부(622)는 프라이머로써의 기능을 수행할 수 있다.

[1794]

[1795] 1주기의 PCR 이후의 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제1 결정부(111)를 개시점으로 하여, 제2 결정부(121)를 포함하는 핵산에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다. 1주기의 PCR 이후의 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제2 결정부(121)를 개시점으로 하여, 제1 결정부(111)를 포함하는 핵산에 대한 증폭 산물이 생성될 수 있다.

[1796] 또한, 1주기의 PCR 이후의 중합 반응 단계(S4000)에서는, 제1 페어링부(622)을 개시점으로 하여, 제2 페어링부(623)의 염기 서열의 적어도 일부에 상보적인 염기 서열을 갖도록 뉴클레오타이드가 연장될 수 있다.

[1797] 제2 페어링부(623)의 염기 서열의 적어도 일부에 상보적인 염기 서열을 갖도록 뉴클레오타이드가 연장되어, 상기 연장된 폴리 뉴클레오타이드는 상기 제2 페어링부(623)와 이중 가닥 구조체를 형성할 수 있다. 상기 제2 페어링부(623)가 이중 가닥 구조체가 되면, 제1 라벨부(624) 및 제2 라벨부(625) 사이의 연계 작용이 수행되지 않을 수 있다.

[1798]

[1799] 적어도 2주기의 PCR이 수행된 단위셀(UC)에 포함된 용액에는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 구조체, 제1 핵산 복합체(110)를 포함하는 핵산 구조체, 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 구조체, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하지 않는 핵산 구조체가 유동하고 있을 수 있다.

[1800]

[1801] PCR이 종료된 후, 안정화하는 단계(S5000)이 수행될 수 있다. 안정화 단계(S5000)에서는, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함하는 핵산 구조체의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)간의 상보적 결합이 수행될 수 있다.

[1802] 또한, 안정화하는 단계(S5000)에서는, 제2 페어링부(623)의 염기 서열의 적어도 일부에 상보적인 염기 서열을 갖도록 연장된 폴리 뉴클레오타이드와 제2 페어링부(623) 사이의 결합이 유도될 수 있다. 안정화하는 단계(S5000)에서는, 1) 제2 페어링부(623)의 염기 서열의 적어도 일부에 상보적인 염기 서열을 갖도록 연장된 폴리 뉴클레오타이드 및 제1 페어링부(622)와, 2) 제2 페어링부(623) 사이의 결합이 유도될 수 있다.

[1803]

[1804] 도 55를 참조하면, 본 출원의 일 실시예에 따르면, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에는 T1 및 T2의 온도에서 극대점이 도시되어 있을 수 있다. 또는, 본 출원 일 실시예에 따르면, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율에는 T1 및 T2의 온도에서 극소점이 도시되어 있을 수 있다. 또는, 본 출원의 일 실시예에 따르면, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율에는 T1의 온도에서 극소점이 도시되고, T2의 온도에서 극대점이 도시되어 있을 수 있다.

[1805] 구체적인 예를 들어, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 극소점이 도시된 T1은 핵산 복합체 페어(10)에 관련된 해리피크값일 수 있다(도 50(a) 참조). 이 때의 핵산 복합체 페어(10)는 신호소광방식의 연계 작용을 수행하도록 설계되어 있을 수 있다. 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프에서 극소점이 도시된 T2은 프로브 복합체(620) 에 관련된 해리피크값일 수 있다(도 50(b) 참조). 이 때의 복합체 프로브(620)는 신호소광방식의 연계 작용을 수행하도록 설계되어 있을 수 있다.

[1806]

[1807] 3. 핵산 복합체 페어(10)의 활용 #3 - PCR clamping & tagging

[1808] 3.1 핵산 복합체 페어(10)의 구성

[1809] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)는 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)를 포함할 수 있다.

[1810]

[1811] 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 핵산 복합체(110)는 적어도 제1 결정부(111) 및 제1 태그부(112)를 포함할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 제1 핵산 복합체(110)는 제1 결정부(111), 제1 태그부(112), 제1 라벨부(113) 및 제1 연결부(114)를 포함할 수 있다.

[1812] 본 출원의 일 실시예에 따른 제2 핵산 복합체(120)는 적어도 제2 결정부(121) 및 제2 태그부(122)를 포함할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 제2 핵산 복합체(120)는 제2 결정부(121), 제2 태그부(122), 제2 라벨부(123) 및 제2 연결부(124)를 포함할 수 있다.

[1813]

[1814] 상기 제1 결정부(111)는 PCR을 개시하는 포워드 프라이머(forward primer) 또는 리버스 프라이머(reverse primer)일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 포워드 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 리버스 프라이머일 수 있다. 상기 제1 결정부(111)가 리버스 프라이머인 경우, 상기 제2 결정부(121)는 포워드 프라이머일 수 있다.

[1815] 상기 제1 결정부(111) 및 제2 결정부(121)는 연관된 타겟 핵산과 반응할 수 있다. 보다 구체적인 예를 들어, 상기 제1 결정부(111)는 제1 질병과 관련된 타겟 핵산과 반응할 수 있고, 상기 제2 결정부(111)도 제1 질병과 관련된 타겟 핵산과 반응할 수 있다.

[1816] 상기 제1 결정부(111) 및 상기 제2 결정부(121)의 구체적인 동작과 구성 물질

등에 대해서 위의 목차 1.1.1.3.2 프라이머에서 기재하였는바, 중복되는 내용은 기재하지 않기로 한다.

[1817]

[1818] 상기 제1 태그부(112) 는 핵산 및/또는 핵산 유사체를 포함하는 단일 가닥체일 수 있다. 상기 제1 태그부(112)는 PCR 클램핑용 프로브일 수 있다.

[1819] 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열은 상기 제1 결정부(111)의 염기 서열과 적어도 하나가 상이할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열은 상기 제1 결정부(111)의 염기 서열 중 일부의 염기 서열이 치환되거나, 생략되도록 설계될 수 있다. 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열은 상기 제2 결정부(121)의 염기 서열과 적어도 하나가 상이할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)의 염기 서열은 상기 제2 결정부(121)의 염기 서열 중 일부의 염기 서열이 치환되거나, 생략되도록 설계될 수 있다.

[1820] 이에 대한 구체적인 설명은 위의 목차 1.1.2.3.2 PCR 클램핑용 프로브에서 기재하였는바, 중복 내용은 기재하지 않기로 한다.

[1821]

[1822] 상기 제1 태그부(112)는 상기 제1 결정부(111)의 제1 타겟 염기 서열과 유사 염기 서열 또는 제2 결정부(121)의 제2 타겟 염기 서열과 유사 염기 서열과 반응할 수 있다. 일 예로, 상기 제1 태그부(112)는 상기 제1 결정부(111)의 제1 타겟 염기 서열의 유사 염기 서열에 대한 PCR 클램핑용 프로브로 이용될 수 있다. 다른 예로, 상기 제1 태그부(112)는 상기 제2 결정부(121)의 제2 타겟 염기 서열의 유사 염기 서열에 대한 PCR 클램핑용 프로브로 이용될 수 있다.

[1823]

[1824] 상기 제2 태그부(121)는 상기 제1 태그부(111)와 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제2 태그부(121)는 상기 제1 태그부(111)와 상보적으로 결합하여, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123)사이의 거리가 인접해지도록 할 수 있다.

[1825]

[1826] 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)는 연계 작용을 수행할 수 있다. 상기 제1 태그부(112) 및 상기 제2 태그부(122)의 결합 여부에 기초하여, 상기 제1 라벨부(113) 및 상기 제2 라벨부(123)는 연계 작용을 수행할 수 있다.

[1827]

[1828] 상기 연결부(400)는 소정의 길이를 가지는 화합물일 수 있다. 상기 연결부(400)는 상기 연결부(400)는 PCR용 블로커일 수 있다. 이에 대한 구체적인 설명은 위의 목차 3.1.1.3.1 PCR용 블로커(blocker) 에서 기재하였는바, 중복 내용은 기재하지 않기로 한다.

[1829]

[1830] 3.1 핵산 복합체 페어(10)의 동작

[1831] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 PCR에 이용하여, 단위셀(UC)내에 핵산 복합체 페어(10)와 관련된 타겟 핵산이 있는지 여부를

확인할 수 있다.

[1832] 구체적으로, 적어도 2주기 이상의 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)이 수행되면, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체가 형성될 수 있다.

[1833] 이후, 안정화 단계(S5000)가 수행되면, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 핵산 구조체가 2차 구조를 형성할 수 있다. 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합이 형성되면, 제1 라벨부(113) 및 제2 라벨부(123) 사이의 연계 작용이 수행될 수 있다.

[1834] 이후, 해리 곡선 검출 단계(S6000)에서 단위셀(UC)의 온도를 변화시키면서 단위셀(UC)의 형광값을 검출하고, 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 획득하면, 핵산 복합체 페어(10)의 해리피크값에 대응되는 온도에서 극대점 또는 극소점이 확인될 수 있다. 해리피크값에 대응되는 온도에서 극대점 또는 극소점이 확인되었는지 여부에 따라 단위셀(UC)내의 핵산 복합페 페어(10)와 연관된 타겟 핵산이 있는지 여부가 확인될 수 있다.

[1835] 이와 관련하여서는, 1.3.2 타겟 검출을 위한 핵산 복합체 페어(10)의 동작에 개시되어 있는 PCR 방법 및 2.3 핵산 복합체 페어(10)의 동작에 개시되어 있는 multiplex PCR 방법 등에 따른 타겟 핵산의 유무의 검출이 수행될 수 있다.

[1836]

[1837] 이와 동시에, 상기 어닐링 단계(S3000)에서는 제1 태그부(112)가 상기 제1 결정부(111) 또는 상기 제2 결정부(121)의 유사 염기 서열에 상보적으로 결합할 수 있다. 상기 제1 태그부(112)가 상기 제1 결정부(111) 또는 상기 제2 결정부(121)의 유사 염기 서열에 상보적으로 결합되는 경우, 상기 제1 결정부(111) 또는 상기 제2 결정부(121)가 상기 유사 염기 서열에 미스매치되어 비특이적으로 결합되는 것이 방지될 수 있다.

[1838] 또한, 상기 중합 반응 단계(S4000)에서는 제1 결정부(111) 또는 상기 제2 결정부(121)의 유사 염기 서열에 상보적으로 결합된 제1 태그부(112)는 상기 유사 염기 서열의 증폭을 방지할 수 있다. 일 구체적인 예를 들어, 제1 태그부(112)가 상기 유사 염기 서열에 상보적으로 결합하고, 상기 제1 태그부(112)와 연결된 제1 연결부(114)가 상기 제1 태그부의 3` 말단에의 뉴클레오타이드의 연장을 방지하여, 상기 유사 염기 서열을 포함하는 핵산에 대한 증폭 산물의 생성이 방지될 수 있다.

[1839] 이와 관련하여서는, 위의 목차 1.2.2 핵산 복합체(1)의 동작에서 자세하게 살펴본 바 있어 중복되는 기재는 생략하기로 한다.

[1840]

[1841] 이로써, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 활용하면, 단위셀(UC)내에 유사 염기 서열을 포함하는 핵산의 증폭은 방지하면서, 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산의 증폭 산물을 형성하고, 시료에 타겟 염기 서열을 포함하는 핵산이 존재 하는지 여부에 대한 확인을 수행할 수 있다.

[1842] 따라서, 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 활용하면, 보다 민감도 높은 타겟 핵산의 검출이 가능해질 수 있다.

[1843]

[1844] 4. 핵산 복합체 페어(10)의 활용 #4 - digital PCR

[1845] 4.1 Digital PCR 일반

[1846] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)는 디지털 PCR에서 이용될 수 있다. 상기 디지털 PCR을 수행하는 경우, 일반적인 PCR에서 PCR이 수행되는 단위셀(UC)(예, 튜브)에 포함된 용액을 수백~수만개로 나눠 각각의 단위셀(UC)에서 PCR을 수행함으로써, 보다 민감도 및 정확도가 향상된 진단이 가능하다는 이점을 도출할 수 있다.

[1847]

[1848] 4.2 Primer pair를 제공하기 위한 핵산 복합체 페어(10)의 활용

[1849] 도 56은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 디지털 PCR에 이용하는 경우의 시료의 준비 단계를 설명하기 위한 도면이다.

[1850]

[1851] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액을 디지털 PCR에 적합하도록 분배하는 형태로, 단위셀(UC)을 형성하는 단계(S1500)가 수행될 수 있다.

[1852] 다만, 핵산 복합체 페어(10)가 포함된 용액을 사후적으로 디지털 PCR에 적합한 단위셀(UC)로 분배함에 따라, 제1 핵산 복합체(110) 및 제2 핵산 복합체(120)가 각 단위셀(UC)에 균질하게 분배되지 않는 문제가 생길 수 있다.

[1853] 구체적으로, 제1 단위셀(UC)에 제1 핵산 복합체(110)가 제2 핵산 복합체(120)에 비해 많이 분배되거나, 제2 단위셀(UC)에 제2 핵산 복합체(120)가 제1 핵산 복합체(110)에 비해 많이 분배되거나, 제3 단위셀(UC)에 제1 핵산 복합체(110) 또는 제2 핵산 복합체(120)가 아예 분배되지 않는 경우가 발생할 수 있다. 이 때, PCR을 수행하기 위한 프라이머등과 같은 시료는 이미 이용되어 소모되거나 재사용이 불가능한데에 반해 정확한 타겟 핵산의 유무 확인이 수행되지 않는 문제가 생길 수 있다.

[1854]

[1855] 이를 해결하기 위해, 디지털 PCR을 위한 단위셀(UC)을 형성하기 이전에, 핵산 복합체 페어(10)의 페어링 단계(S1000)을 수행할 수 있다. 다시 말해, 디지털 PCR을 수행함에 있어서, 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합이 유도될 수 있다.

[1856] 페어링 단계(S1000)에서는 튜브에 수용된 용액의 온도를 조절하여, 핵산 복합체 페어(10)의 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122) 사이의 상보적 결합이 유도될 수 있다. 상기 페어링 단계(S1000)에서의 용액의 온도는 적어도 40도 미만일 수 있다. 페어링 단계(S1000)의 구체적인 설명에 대해서는 위의 목차 1.1 Primer Pair를 제공하기 위한 핵산 복합체 페어(10)의 활용에서 개시한 바 있어,

중복되는 기재는 생략하기로 한다.

[1857]

[1858] 구체적인 일 실시예를 개시하면, 제1 핵산 복합체(110)는 적어도 포워드 프라이머 및 제1 페어링부(112)를 포함할 수 있고, 제2 핵산 복합체(120)는 적어도 리버스 프라이머 및 제2 페어링부(122)를 포함할 수 있다.

[1859] 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액은 단위셀(UC)이 형성(S1500)되기 이전에 제1 태그부(112) 및 제2 페어링부(122) 사이의 상보적 결합이 유도되는 페어링 단계(S1000)가 수행될 수 있다.

[1860] 그 결과, 일 단위셀(UC)에 포워드 프라이머 또는 리버스 프라이머 중 일측의 비율이 상대적으로 높게 분배되는 것을 방지할 수 있다. 궁극적으로, 제1 태그부(112) 및 제2 태그부(122)가 상보적으로 결합하여 페어를 이룬 핵산 복합체 페어(10)를 단위셀(UC)에 분배하는 경우, 단위셀(UC)당 포워드 프라이머 및 버스 프라이머의 비율이 1:1이 되도록 분배하는 것이 가능해질 수 있다.

[1861]

[1862] 4.3 타겟 핵산의 검출을 위한 핵산 복합체 페어(10)의 활용

[1863] 4.3.1 핵산 복합체 페어(10)의 구조

[1864] 디지털 PCR에 이용되는 적어도 하나의 종류의 핵산 복합체 페어(10)는, 전술한 일반적인 PCR에 이용되는 적어도 하나의 종류의 핵산 복합체 페어(10)와 유사할 수 있다. 다시 말해, 디지털 PCR에서는 본 출원에 의해 개시되는 몇몇 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)가 이용될 수 있다.

[1865]

[1866] 본 명세서에서는 몇몇 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)의 구성, 물질, 예시, 동작 등에 대해서 이미 구체적으로 개시한 바 있다. 따라서, 디지털 PCR에서 이미 개시한 핵산 복합체 페어(10) 가 이용될 수 있음을 명확히 밝히고, 중복되는 기재는 생략하기로 한다.

[1867] 또한, 디지털 PCR에서 핵산 복합체 페어(10)가 이용되는 경우 변경되는 구성이나 동작 및/또는 다른 실시예가 있는 경우, 해당 실시예에서 변경되는 구성이나 동작에 대해서 구체적으로 개시하기로 한다.

[1868]

[1869] 4.3.2 핵산 복합체 페어(10)의 동작

[1870] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 디지털 PCR에서 이용하여 단위셀(UC) 내의 타겟 핵산의 유무를 확인 하는 경우, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액을 이용하여 단위셀(UC)을 형성하는 단계(S1500)가 PCR이전에 수행될 수 있다.

[1871]

[1872] 도 57은 본 출원의 일 실시예에 따른 디지털 PCR에서의 단위셀(UC)을 설명하기 위한 도면이다.

[1873]

[1874] 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액을 이용하여 단위셀(UC)을 형성하는 구체적인 실시 태양은, 디지털 PCR을 수행하는 방식이 웰(well)방식인지 또는 드롭렛(droplet) 방식인지 여부에 따라서 달라질 수 있다.

[1875]

[1876] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 디지털 PCR을 수행함에 있어, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액은 다수의 웰(well)이 형성된 플레이트에 분배되는 형태로, 단위셀(UC)을 형성할 수 있다(도 57(a) 참조). 상기 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액에는 중합 반응을 수행하는데 관여하는 중합 효소(예; 폴리머레이즈), 염기 조각(예; 디옥시뉴클레오타이드 삼인산(dNTP)), PCR에 관여하는 조효소(예; MgCl2, MgSO4), PCR에 최적 pH 및/또는 염농도를 제공하기 위해 완충용액(buffer) 중 적어도 하나가 더 포함될 수 있다.

[1877]

[1878] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액은 웰(well)에 순차적으로 분배될 수 있다. 일 예로, 시료가 웰(well)에 먼저 분배되고, 핵산 복합체 페어(10)가 웰(well)에 순차적으로 분배되며, PCR에 이용되는 효소 등이 웰(well)에 마지막으로 분배되는 형태로, 단위셀(UC)이 형성될 수 있다.

[1879] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액은 웰(well)에 동시에 분배될 수 있다. 일 예로, 시료, 핵산 복합체 페어(10) 및 PCR에 이용되는 효소가 혼합되어 있는 혼합 용액을 웰(well)에 분배하는 형태로, 단위셀(UC)이 형성될 수 있다.

[1880] 웰(well)에 용액 등을 분배하는 방식은 다양할 수 있다. 일 예로, 용액 등은 미세유동 채널을 이용한 방식을 통해 웰(well)에 분배될 수 있다. 다른 예로, 용액 등은, 웰의 상부가 개방된 형태로 구현된 플레이트 상에 용액 등을 도말하는 형태로, 웰(well)에 분배될 수 있다.

[1881]

[1882] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 디지털 PCR을 수행함에 있어, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액은 드롭렛(droplet)을 형성하는 형태로, 단위셀(UC)을 형성할 수 있다(도 57(b) 참조). 상기 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액에는 중합 반응을 수행하는데 관여하는 중합 효소(예; 폴리머레이즈), 염기 조각(예; 디옥시뉴클레오타이드 삼인산(dNTP)), PCR에 관여하는 조효소(예; MgCl2, MgSO4), PCR에 최적 pH 및/또는 염농도를 제공하기 위해 완충용액(buffer) 중 적어도 하나가 더 포함될 수 있다.

[1883] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 시료를 포함하는 용액을 수십 nL~ 수십pL의 드롭렛 형태로 분배하여 제1 드롭렛을 형성하고, 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액을 수십 nL~ 수십pL의 드롭렛 형태로 분배하여 제2 드롭렛을 형성하고, 및 PCR에 필요한 효소를 포함하는 용액을 수십 nL~ 수십pL의 드롭렛 형태로 분배하여 제3 드롭렛을 형성하여, 적어도 제1 드롭렛, 제2 드롭렛 및 제3

드롭렛을 병합하는 형태로 단위셀(UC)이 형성될 수 있다.

[1884] 또는, 제1 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액을 수십 nL~ 수십pL의 드롭렛 형태로 분배하여 제1 드롭렛을 형성하고, 및 제2 핵산 복합체 페어(10)를 포함하는 용액을 수십 nL~ 수십pL의 드롭렛 형태로 분배하여 제2 드롭렛을 형성하여, 적어도 제1 드롭렛 및 제2 드롭렛을 병합하는 형태로 단위셀(UC)이 형성될 수 있다.

[1885] 또는, 시료, 핵산 복합체 페어(10) 및 PCR에 필요한 효소를 포함하는 용액은 수십 nL~ 수십pL의 드롭렛 형태로 분배하여, 단위셀(UC)이 형성될 수 있다.

[1886]

[1887] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 활용한 디지털 PCR에 있어서, 단위셀(UC)에 포함된 용액에 대한 PCR이 진행될 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 활용한 디지털 PCR에 있어서, 단위셀(UC)에 포함된 용액에 대한 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)이 진행될 수 있다.

[1888] 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 활용한 디지털 PCR에 있어서, 단위셀(UC)에 포함된 용액에 대한 열변성 단계(S2000), 어닐링 단계(S3000) 및 중합 반응 단계(S4000)를 1주기로 하여, 적어도 1주기의 PCR 이 진행될 수 있다.

[1889] 단위셀(UC)에 대한 용액에 대한 안정화 단계(S5000) 및 해리 곡선 검출 단계(S6000)이 수행될 수 있다. 위의 단계 S2000 내지 S6000은 기 설명한바 있는 일반적인(또는 리얼타임) PCR에 있어서의 단계 S2000 내지 S6000와 유사할 수 있다.

[1890]

[1891] 도 58은 본 출원의 일 실시예에 따른 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 디지털 PCR에서의 동작에 대해서 설명하기 위한 도면이다.

[1892]

[1893] 본 출원의 일 실시예에 따르면, PCR이 종료된 복수의 단위셀(UC)을 재정렬하는 단계(S5500)가 수행될 수 있다.

[1894]

[1895] 구체적으로, 웰방식의 디지털 PCR의 경우, 다수의 웰이 형성된 플레이트의 온도를 조절하여 단위셀(UC)에 포함된 용액(적어도, 시료 및 핵산 복합체 페어(10)가 포함됨)의 온도를 조절할 수 있다. 상기 플레이트의 온도는, 플레이트가 배치되는 영역에 구현되어 있는 써모사이클러(thermocycler)의 온도를 조절함으로써, 조절될 수 있다.

[1896]

[1897] 다만, 드롭렛방식의 디지털 PCR의 경우, 미세 유동 채널을 이동하는 단위셀(UC)의 형광값을 검출하는 현재의 디지털 PCR 장비에서 해리 곡선 검출 단계(S6000)를 수행하는 것이 용이하지 않다는 문제가 발생할 수 있다.

[1898]

[1899] 이를 해결하기 위해, 드롭렛 방식의 PCR의 경우, 단위셀(UC)을 미세 유동 레인(LN)이 형성되어 있는 플레이트를 이용하여, 미세 유동 레인(LN)에 다수개의 단위셀(UC)을 균분하는 형태로, 단위셀(UC)을 재정렬하는 단계(S5500)가 수행될 수 있다.

[1900]

[1901] 도 59는 본 출원의 일 실시예에 따른 디지털 PCR에서의 해리 곡선 검출단계(S6000)을 수행하는 방법을 설명하기 위한 도면이다.

[1902]

[1903] 본 출원의 일 실시예에 따른 해리 곡선 검출용 플레이트는, 다수개의 미세 유동 레인(LN)이 형성되어 있을 수 있다(도 59(a) 참고). 다수개의 레인(LN)이 형성된 플레이트의 각각의 미세 유동 레인(LN)에는 다수개의 단위셀(UC)이 균분될 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따른 해리 곡선 검출용 플레이트는 하나의 미세 유동 레인(LN)이 형성되어 있을 수 있다(도 59(b) 참고). 하나의 미세 유동 레인(LN)이 형성된 플레이트에 다수개의 단위셀(UC)이 일렬로 배열될 수 있다.

[1904]

[1905] 본 출원의 일 실시예에 따른 해리 곡선 검출용 플레이트는, 제1 단위셀(UC)의 드롭렛이 충분히 들어갈 수 있는 크기의 미세 유동 레인(LN)이 형성되어 있을 수 있다. 적어도 하나의 미세 유동 레인(LN)은 제1 단위셀(UC)의 드롭렛의 반지름에 기초하여 가로*세로*깊이가 결정될 수 있다. 또한, 적어도 하나의 미세 유동 레인(LN)의 가로*세로*깊이를 결정하는 데에는, 드롭렛의 반지름이 부피, 온도 또는 압력에 따라 변경될 수 있음이 고려될 수 있다.

[1906]

[1907] 결과적으로, 본 출원의 일 실시예에 따르면 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 디지털 PCR에 있어서, 단위셀(UC)마다의 해리 곡선을 검출할 수 있고, 검출된 해리 곡선에 대한 정보에 기초하여 해리피크값을 확인할 수 있다.

[1908]

[1909] 따라서, 본 출원에서 개시하는 핵산 복합체 페어(10) 및 핵산 복합체 페어(10)를 이용한 디지털 PCR에서의 동작에 따르면, 디지털 PCR 방식에서도 타겟 핵산의 유무를 확인할 수 있게 된다.

[1910]

[1911] 또한, 본 출원에서 개시하는 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 이용한복수 종류의 타겟 핵산 검출 방법을 디지털 PCR에 적용하면, 디지털 PCR 방식에서도 단위셀(UC)에 복수 종류의 타겟 핵산이 존재하는지 여부에 대한 확인이 가능한 이점이 도출될 수 있다.

[1912] 다시 말해, 동일 형광(또는, 동일 신호)으로 검출되는 표지를 포함하는 복수 종류의 핵산 복합체 페어(10)를 이용하더라도, 디지털 PCR 방식에서 한 형광 채널당 복수 종류의 타겟 핵산의 유무가 확인될 수 있다.

[1913]

[1914] <PCR 기기(2000)>

[1915] 본 출원의 일 실시예에 따르면, PCR 기기(2000)는 로딩된 플레이트내에 있는 적어도 하나의 단위셀(UC)에 대한 PCR을 진행할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따르면, PCR 기기(2000)는 로딩된 플레이트내에 있는 적어도 하나의 단위셀(UC)에 대한 온도에 따른 형광값의 그래프를 획득할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따르면, PCR 기기(2000)는 로딩된 플레이트내에 있는 적어도 하나의 단위셀(UC)에 대한 온도- 온도에 따른 형광값의 음의 변화율 그래프를 획득하고, 해리피크값을 확인할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따르면, PCR 기기(2000)는 로딩된 플레이트내에 있는 적어도 하나의 단위셀(UC)에 대한 해리피크값을 확인하여, 단위셀(UC)내에 포함된 적어도 하나의 종류의 타겟 핵산이 존재하는지 여부를 확인할 수 있다.

[1916]

[1917] 도 60은 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 기기(2000)의 블록도이다.

[1918]

[1919] 상기 PCR 기기(2000)는 통신부(2100), 온도조절부(2200), 센서부(2300), 메모리부(2400) 및 제어부(2500)를 포함할 수 있다.

[1920]

[1921] 상기 통신부(2100)는, 상기 PCR 기기(2000)가 외부 기기와 필요한 데이터를 송/수신할 수 있도록 하는 기능을 수행할 수 있다.

[1922] 상기 통신부(2100)는 무선 통신을 수행할 수 있다. 상기 통신부(2100)는 와이파이(Wifi), 블루투쓰(Bluetooth), 직비(ZigBee), 와이기그(WiGig), 알에프아이디(RFID, Radio Frequency Identification), 적외선 통신(IrDA, infrared Data Association), 유더블유비(UWB, Ultra Wideband) 및 와이에이치디(WiHD) 중 적어도 하나의 무선 통신 방식에 의해 데이터를 송/수신할 수 있다.

[1923] 상기 통신부(2100)는, 유선 통신 모듈을 구비할 수 있다. 예를 들어, 상기 통신부(2100)는, 유에스비(USB) 방식, 시리얼 방식 및 패러럴 방식 중 적어도 하나의 통신 방식에 의해 외부와 데이터를 송/수신할 수 있다.

[1924]

[1925] 상기 온도조절부(2200)는, PCR 기기(2000)에 로딩되는 PCR 플레이트의 온도를 조절하는 기능을 수행할 수 있다.

[1926] 본 출원의 일 실시예에 따르면 상기 온도조절부(2200)는 발열제 및/또는 냉각제를 포함할 수 있다. 구체적인 예를 들어, 상기 온도조절부(2200)는 발열 및 냉각 기능을 모두 구현할 수 있는 열전소자를 포함할 수 있다.

[1927]

[1928] 상기 센서부(2300)는, PCR 기기(2000)에 로딩되는 PCR 플레이트 중 적어도 하나의 단위셀(UC)에 대한 형광값을 검출하는 기능을 수행할 수 있다. 본 출원의 일 실시예에 따르면 상기 센서부(2300)는 특정 파장이 입사되었을 때방출되는

광의 특성을 검출하기 위해, 광의 파장대를 변환하는 필터 및 광 검출기를 포함할 수 있다.

[1929] 또는, 상기 센서부(2300)는 전 파장대적인 광학적 특성을 검출하고, 대응되는 파장대 별 광학적 특성을 출력하는 기능을 수행할 수 있다.

[1930]

[1931] 본 출원의 일 실시예에 따른 광학 기기는 상기 센서부(2300)를 포함하는 PCR기기(2000)일 수 있다.

[1932]

[1933] 상기 메모리부(2400)는, PCR 기기(2000)에 필요한 각종 데이터를 저장하고 있을 수 있다.

[1934] 메모리부는 플래시 메모리 타입(flash memory type), 하드디스크 타입(hard disk type), 멀티미디어 카드 마이크로 타입(multimedia card micro type), 카드 타입의 메모리(예를 들어 SD 또는 XD 메모리 등), 램(Random Access Memory, RAM), SRAM(Static Random Access Memory), 롬(ReadOnly Memory, ROM), EEPROM(Electrically Erasable Programmable ReadOnly Memory), PROM(Programmable ReadOnly Memory) 자기 메모리, 자기 디스크, 광디스크 중 적어도 하나의 타입의 저장매체를 포함할 수 있다.

[1935]

[1936] 상기 제어부(2500)는, 상기 PCR 기기(2000)의 전반적인 동작을 제어할 수 있다. 상기 제어부(2500)는, 각종 정보의 연산 및 처리를 수행하고, 상기 PCR 기기(2000)의 구성요소들의 동작을 제어할 수 있다.

[1937] 상기 제어부(2500)는 하드웨어, 소프트웨어 또는 이들의 조합에 따라 컴퓨터나 이와 유사한 장치로 구현될 수 있다. 일 예로, 상기 제어부(2400)는 하드웨어적으로 전기적인 신호를 처리하여 제어 기능을 수행하는 CPU 칩 등의 전자 회로 형태로 제공될 수 있으며, 소프트웨어적으로는 하드웨어적인 제어부를 구동시키는 프로그램 형태로 제공될 수 있다.

[1938]

[1939] 도 61은 본 출원의 일 실시예에 따른 PCR 기기(2000)의 동작(S7000)에 대해서 설명하기 위한 순서도이다.

[1940] 상기 PCR 기기(2000)는, 플레이트를 로딩하는 단계(S7100), 온도정보를 입력받는 단계(S7200), 온도를 제어하는 단계(S7300), 형광값을 검출하는 단계(S7400), 검출값을 분석하는 단계(S7500)를 수행할 수 있다. 전술한 각 단계는 생략되거나 중복되어 수행될 수 있고, 다른 추가적인 동작을 수행하는 것도 가능하다.

[1941]

[1942] 상기 플레이트를 로딩하는 단계(S7100)는, PCR 기기(2000)의 플레이트 로딩부에 제공된 PCR 플레이트를 PCR 기기(2000)의 내부의 반응 영역으로 도입시키는 형태로 수행될 수 있다.

[1943] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기 플레이트가 PCR 기기(2000)의 내부로 로딩되면, 플레이트와 온도조절부(2200)는 물리적으로 접촉할 수 있고, 상기 플레이트의 반응 환경은 PCR 기기(2000)에 의해 조절될 수 있다.

[1944]

[1945] 상기 온도정보를 입력받는 단계(S7200)는, 열변성 온도, 어닐링 온도, 중합 반응 온도, 안정화 단계에서의 온도, 해리 곡선 검출 단계에서의 온도 중 적어도 하나의 정보를 입력받는 형태로 수행될 수 있다.

[1946] 본 출원의 일 실시예에 따르면, 상기PCR 기기(2000)는 PCR을 수행하기 위한 각 단계의 온도 및 온도 유지 시간에 대한 정보를 입력받을 수 있다. 상기 PCR 기기(2000)는 PCR 기기(2000)의 외부에 형성된 입력 인터페이스를 이용하여 형태로 상기 PCR을 수행하기 위한 각 단계의 온도 및 온도 유지 시간에 대한 정보를 입력받을 수 있다. 또는, PCR 기기(2000)의 통신부(2100)를 통하여 상기 PCR을 수행하기 위한 각 단계의 온도 및 온도 유지 시간에 대한 정보를 입력될 수 있다.

[1947] 본 출원의 다른 실시예에 따르면, 상기PCR 기기(2000)는 PCR을 수행하기 위한 각 단계의 온도 및 온도 유지 시간에 대한 정보를 상기 메모리부(2400)에 저장하고 있을 수 있다.

[1948]

[1949] PCR 기기(2000)의 온도조절부(2200)는 로딩된 플레이트의 적어도 하나의 단위셀(UC)에 대한 온도를 제어(S7300)할 수 있다. 온도가 제어되어 PCR이 진행되고 나면, 상기 PCR 기기(2000)는 형광값을 검출(S7400)할 수 있다. 형광값을 검출하는 단계에서는, 온도에 따른 로딩된 플레이트의 적어도 하나의 단위셀(UC)에 대한 형광값을 획득하기 위해, 적어도 하나의 단위셀(UC)의 온도 조절이 함께 진행될 수 있다.

[1950]

[1951] 본 출원의 일 실시예에 따르면, PCR 기기(2000)의 제어부(2500)는 S7400단계에서 획득된 검출값을 분석할 수 있다. PCR 기기(2000)의 제어부(2500)는 S7400단계에서 획득된 온도에 따른 형광값을 분석할 수 있다.

[1952] 검출값을 분석하는 단계(S7500)는, 온도에 따른 형광값의 그래프를 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화량의 그래프로 변환하는 단계를 포함할 수 있다. 검출값을 분석하는 단계(S7500)는, 변환된 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화량의 그래프에서 해리피크값을 확인하는 단계를 포함할 수 있다. 검출값을 분석하는 단계(S7500)는, 변환된 온도-온도에 따른 형광값의 음의 변화량의 그래프에서 해리피크값을 확인하여, 확인된 해리피크값에 대응되는 타겟 핵산을 출력하는 단계를 포함할 수 있다.

[1953]

[1954] 상기에서는 본 출원에 따른 실시예를 기준으로 본 출원의 구성과 특징을 설명하였으나 본 출원은 이에 한정되지 않으며, 본 출원의 사상과 범위 내에서

다양하게 변경 또는 변형할 수 있음은 본 출원이 속하는 기술분야의 당업자에게 명백한 것이며, 따라서 이와 같은 변경 또는 변형은 첨부된 특허청구범위에 속함을 밝혀둔다.

[1955]

## 서열목록 Free Text

[1956] 서열번호 1은 인공서열이다.

[1957] 서열번호 2는 Neisseria gonorrhoeae에 대한 프라이머 서열이다.

[1958] 서열번호 3은 인공서열이다.

[1959] 서열번호 4는 Neisseria gonorrhoeae에 대한 프라이머 서열이다.

[1960] 서열번호 5는 인공서열이다.

[1961] 서열번호 6은 Chlamydia trachomatis에 대한 프라이머 서열이다.

[1962] 서열번호 7은 인공서열이다.

[1963] 서열번호 8은 Chlamydia trachomatis에 대한 프라이머 서열이다.

[1964] 서열번호 9는 인공서열이다.

[1965] 서열번호 10은 Mycoplasma hominis에 대한 프라이머 서열이다.

[1966] 서열번호 11은 인공서열이다.

[1967] 서열번호 12는 Mycoplasma hominis에 대한 프라이머 서열이다.

[1968] 서열번호 13은 인공서열이다.

[1969] 서열번호 14는 Human papillomavirus type 16에 대한 프라이머 서열이다.

[1970] 서열번호 15는 인공서열이다.

[1971] 서열번호 16은 Human papillomavirus type 16에 대한 프라이머 서열이다.

[1972] 서열번호 17 내지 26은 인공서열이다.

[1973] 서열번호 27은 Mycoplasma hominis에 대한 프로브 서열이다.

[1974] 서열번호 28은 Mycoplasma hominis에 대한 프라이머 서열이다.

[1975]

# 청구범위

[청구항 1] 제1 결정부 및 제2 태그부를 포함하는 제1 핵산 복합체; 및 제2 결정부 및 제2 태그부를 포함하는 제2 핵산 복합체;를 포함하는 핵산 복합체 페어에 있어서,
상기 제1 결정부는, 제1 타겟 DNA에 대한 포워드 프라이머를 포함하고,
상기 제2 결정부는, 상기 제1 타겟 DNA에 대한 리버스 프라이머를 포함하며,
상기 제1 태그부는 상기 제2 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 포함하고,
상기 제2 태그부는 상기 제1 태그부의 염기 서열에 상보적인 염기 서열을 포함하는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 2] 제1 항에 있어서,
상기 제1 결정부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어지고,
상기 제2 결정부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어진,
핵산 복합체 페어.

[청구항 3] 제1 항에 있어서,
상기 제1 태그부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어지고,
상기 제2 태그부는, DNA(Deoxyribonucleic acid), RNA(Ribonucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), LNA(Locked Nucleic Acid), BNA(Bridged nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), GNA(Glycol nucleic acid), TNA(Threose nucleic acid), CeNA(cyclohexene nucleic acid) 또는 이들의 조합으로 이루어진,
핵산 복합체 페어.

[청구항 4] 제1 항에 있어서,

상기 제1 핵산 복합체는 제1 라벨부를 포함하고,
상기 제2 핵산 복합체는 제2 라벨부를 포함하며,
상기 제1 라벨부는 상기 제2 라벨부에 에너지를 제공할 수 있는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 5] 제2 항에 있어서,
상기 제1 라벨부는, FAM, JOE, TET, HEX, VIC, Oregon Green®, TAMRA, ROX, Cyanine-3, Cyanine-3.5, Cyanine-5, Cyanine-5.5, 에쿼린(Aequorin) 및 청색 형광 단백질(Cyan Fluorescent Protein, CFP) 중 적어도 하나를 포함하는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 6] 제5 항에 있어서,
상기 제2 라벨부는,
상기 제1 라벨부로부터 방출되는 제1광을 수용하여, 제2 광으로 변환하는 물질 또는 상기 제1 라벨부로부터 방출되는 상기 제1광을 흡수하는 물질인,
핵산 복합체 페어.

[청구항 7] 제4 항에 있어서,
상기 제1 태그부와 상기 제2 태그부가 상보적으로 결합할 때, 상기 제1 라벨부는 상기 제2 라벨부에 에너지를 제공할 수 있는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 8] 제4 항에 있어서,
상기 제1 태그부는 상기 제1 결정부 및 상기 제1 라벨부 사이에 위치되고,
상기 제2 태그부는 상기 제2 결정부 및 상기 제2 라벨부 사이에 위치되는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 9] 제4 항에 있어서,
상기 제1 라벨부는 상기 제1 결정부 및 상기 제1 태그부 사이에 위치되고,
상시 제2 태그부는 상기 제2 결정부 및 상기 제2 라벨부 사이에 위치되는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 10] 제1 항에 있어서,
상기 제1 결정부 및 상기 제1 태그부 사이에 제1 연결부가 위치되고,
상기 제2 결정부 및 상기 제2 태그부 사이에 제2 연결부가 위치되는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 11] 제10 항에 있어서,
상기 제1 연결부는, 상기 제1 태그부에 대한 증폭산물의 생성을 방지하기위한 PCR 블로커를 포함하고,
상기 제2 연결부는, 상기 제2 태그부에 대한 증폭산물의 생성을 방지하기위한 PCR 블로커를 포함하는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 12] 제1 항에 있어서,
상기 핵산 복합체 페어는 핵산서열증폭반응(PCR)을 수행하는데 이용되고,
상기 핵산서열증폭반응은, 상기 제1 타겟 DNA의 적어도 일부 서열을 증폭시키기 위해 수행되는,
핵산 복합체 페어.

[청구항 13] 제12 항에 있어서,
상기 핵산 복합체 페어는 디지털 PCR을 수행하는데 이용되는,
핵산 복합체 페어.

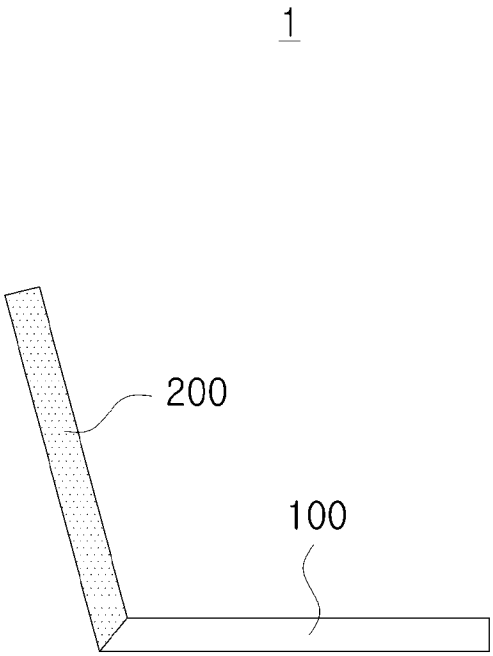
[청구항 14] 제1 항에 있어서,
상기 제1 태그부의 염기 서열의 길이는, 상기 제2 태그부의 염기 서열의길이에 비해 짧은,
핵산 복합체 페어.

[청구항 15] 제1 항에 있어서,
상기 제1 태그부의 염기 서열 중 일부 염기 서열은,
상기 제1 결정부의 염기 서열 중 일부 염기 서열 또는 상기 제2 결정부의 염기 서열 중 일부 염기 서열과 동일한,
핵산 복합체 페어.

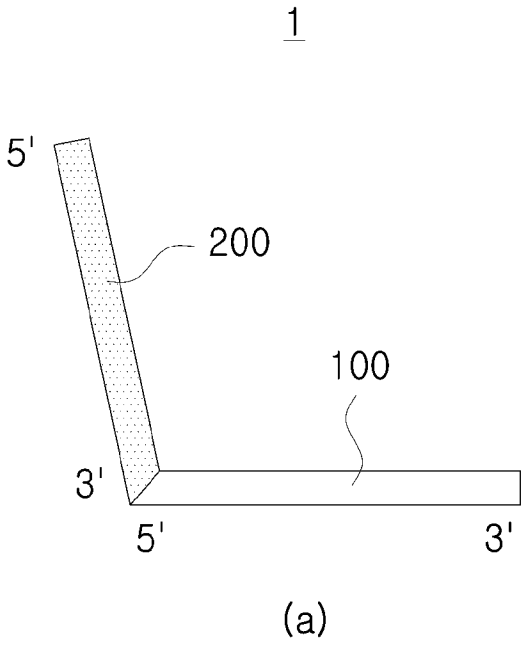
[청구항 16] 제1 항에 따른 핵산 복합체 페어를 포함하는 PCR용 키트.

[청구항 17] 제16 항에 있어서,
DNA 중합 효소, PCR에 관여하는 조효소, pH 및/또는 염농도를 조절하기위한 완충용액(buffer) 중 적어도 하나가 더 포함되는,
PCR용 키트.

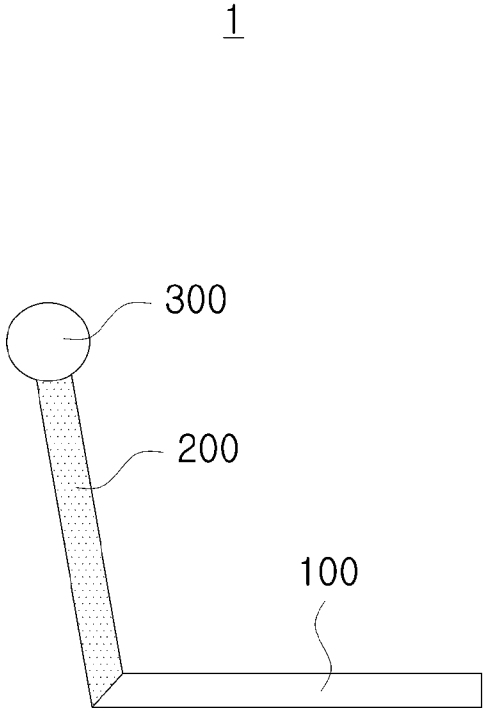
[도1]



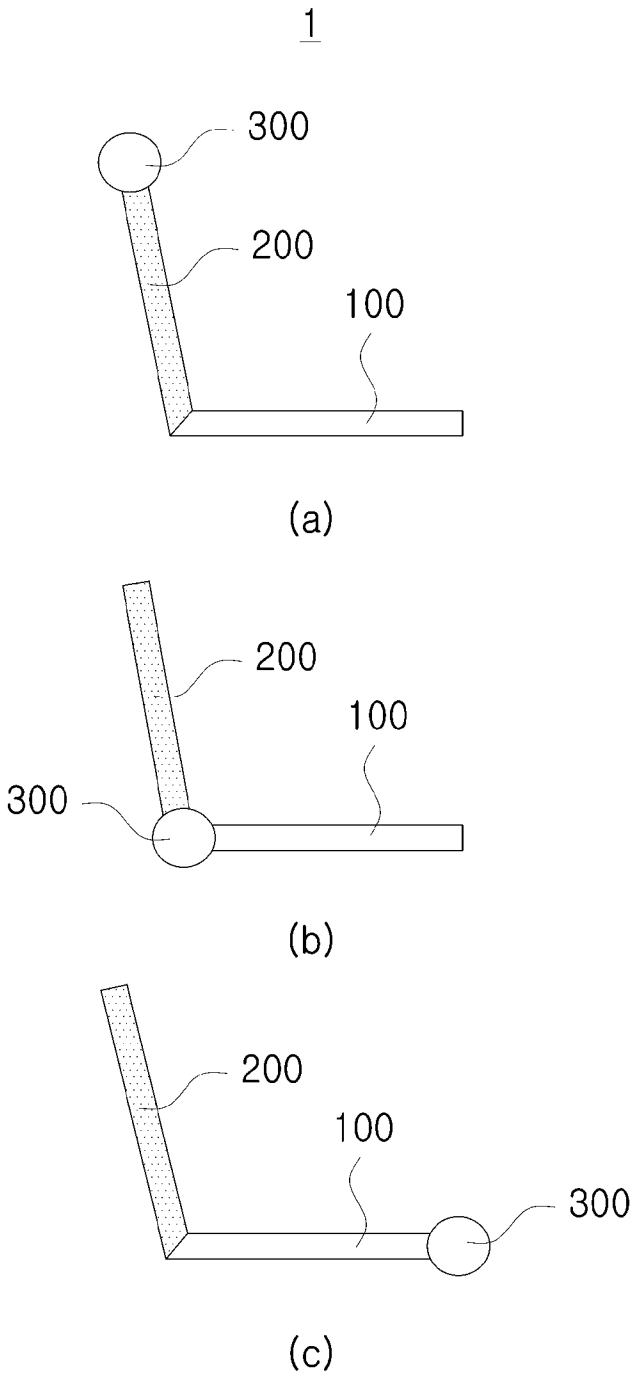
[도2]



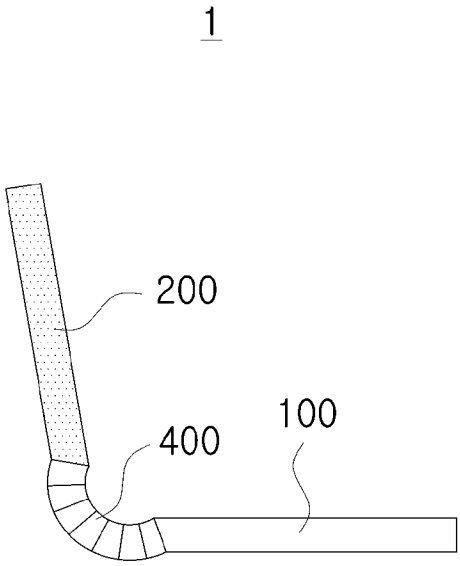
[도3]



[도4]

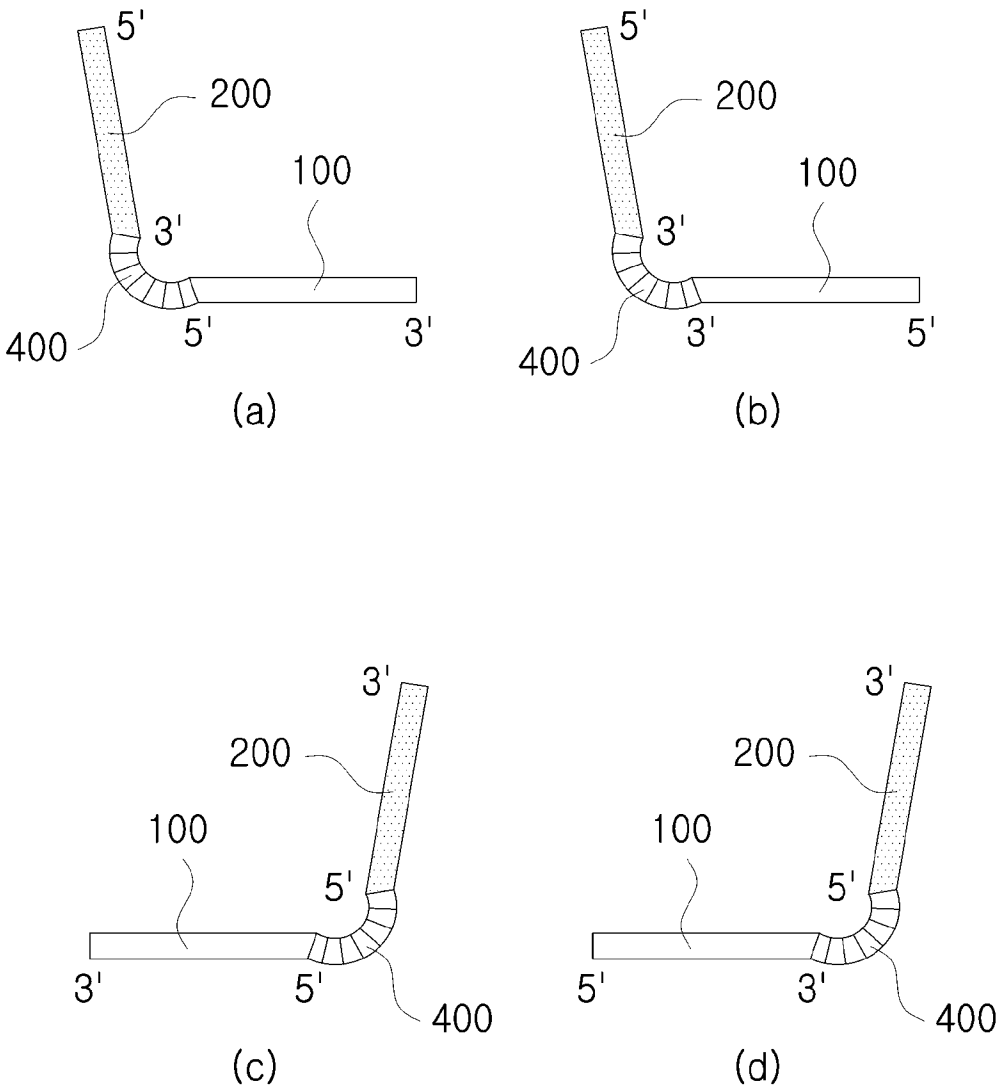


[도5]



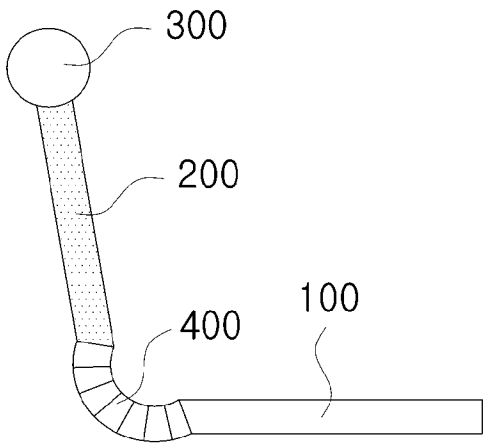
[도6]

1


5'
200
100
3'
400
5'
3'
(a)
5'
200
100
3'
400
3'
5'
(b)
3'
200
100
5'
3'
5'
400
(c)
3'
200
100
5'
5'
3'
400
(d)

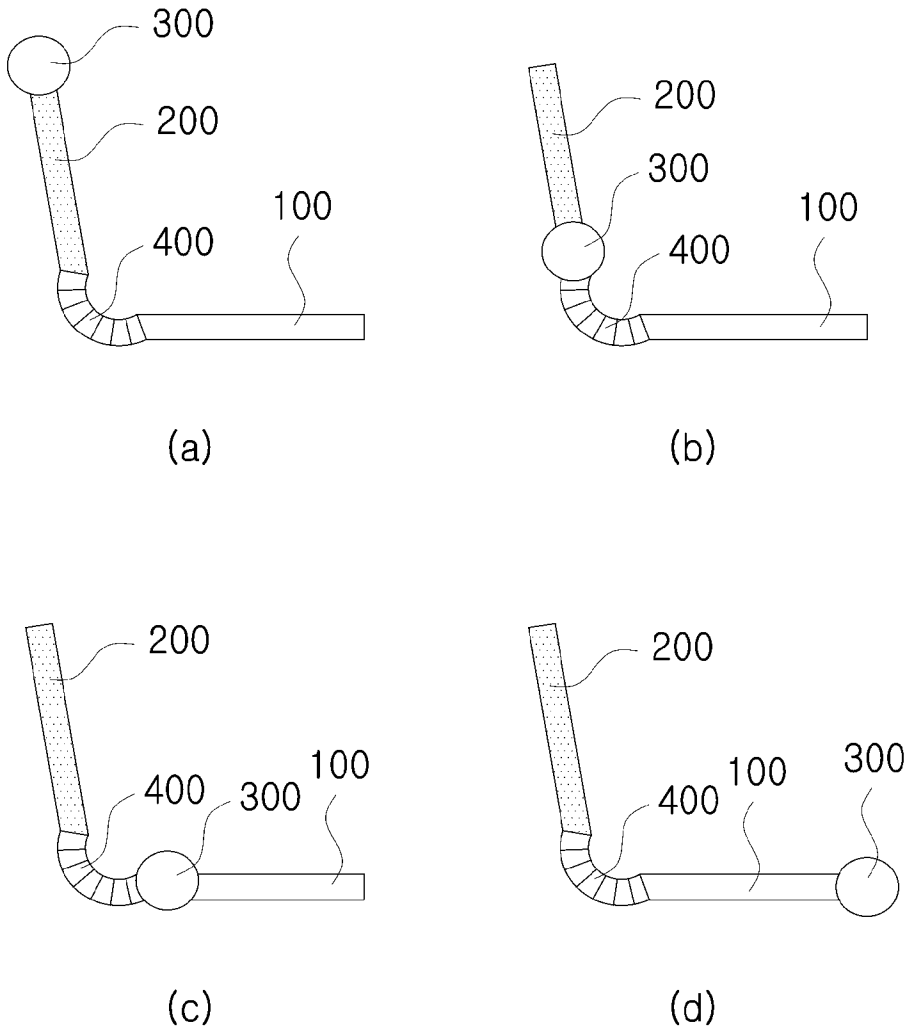
[도7]

1

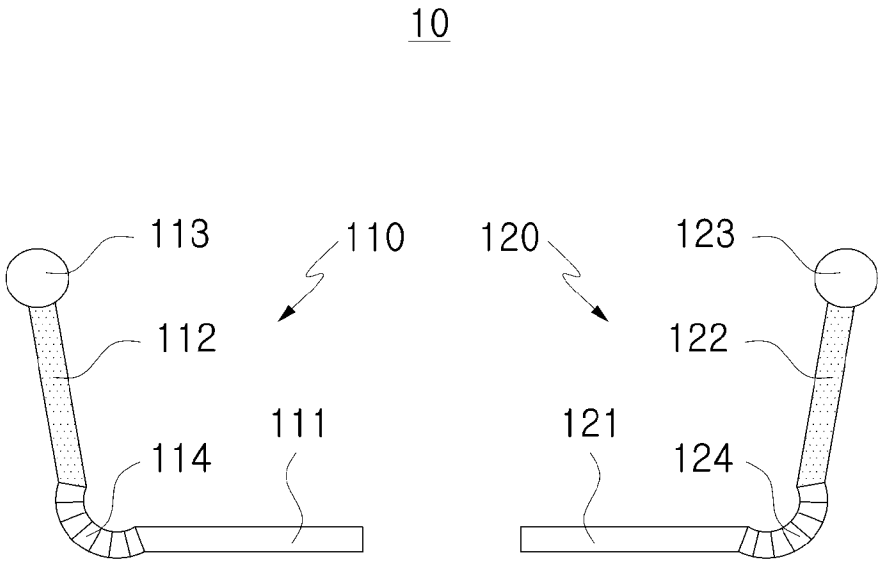


[도8]

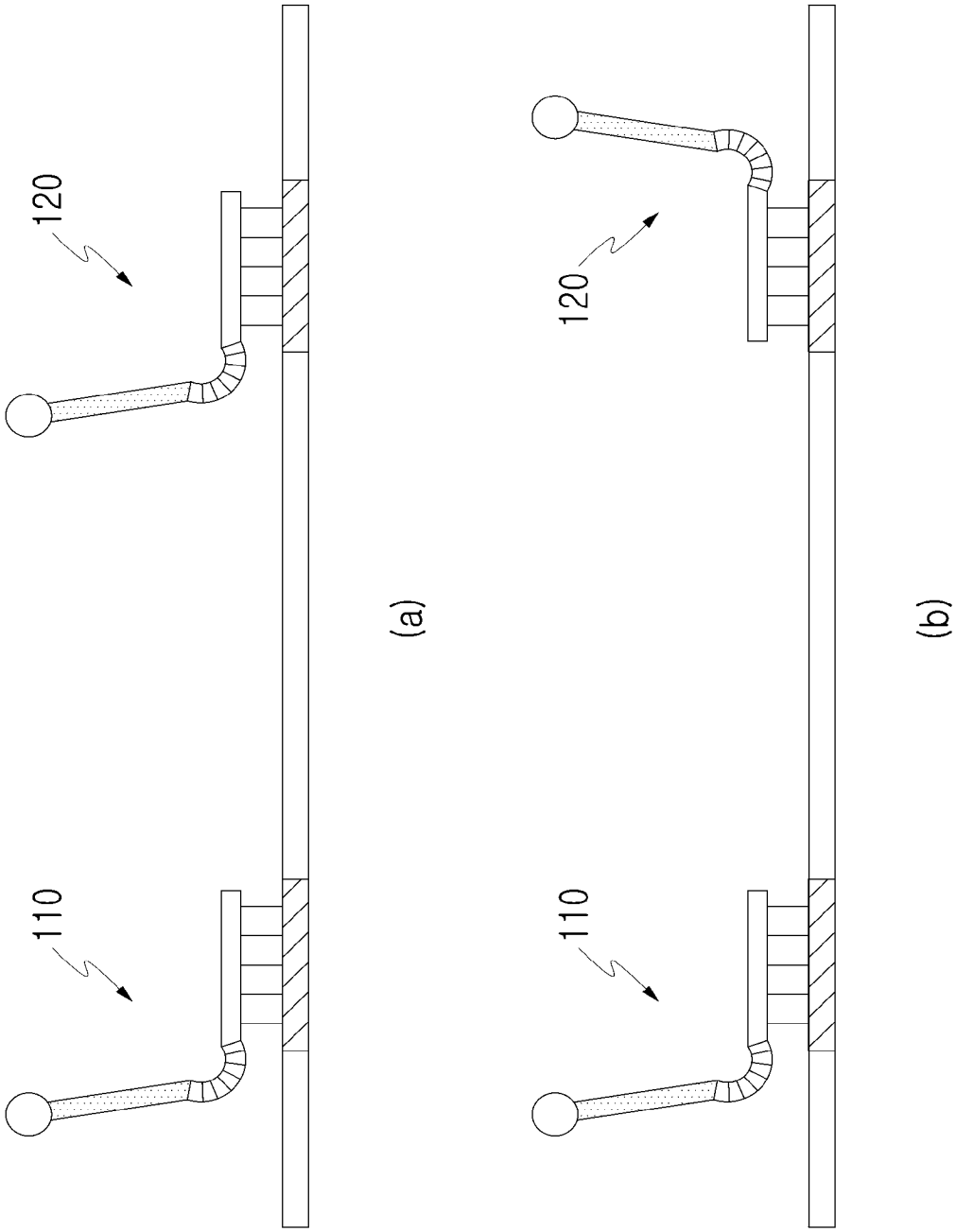
1


300
200
100
400
(a)
200
300
100
400
(b)
200
400
300
100
(c)
200
400
100
300
(d)

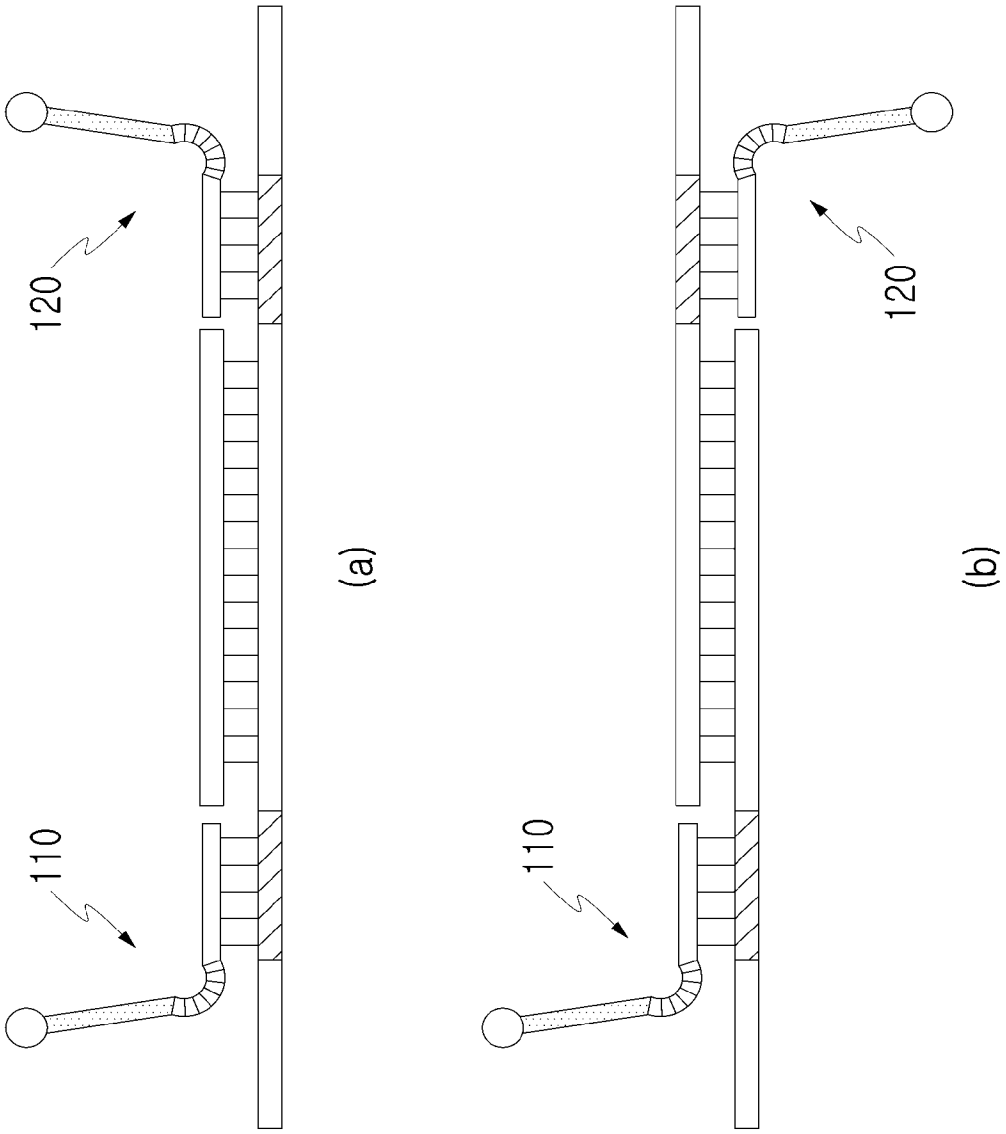
[도9]



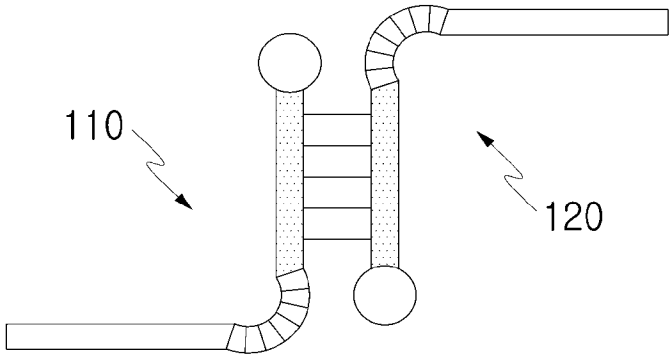
[도10]



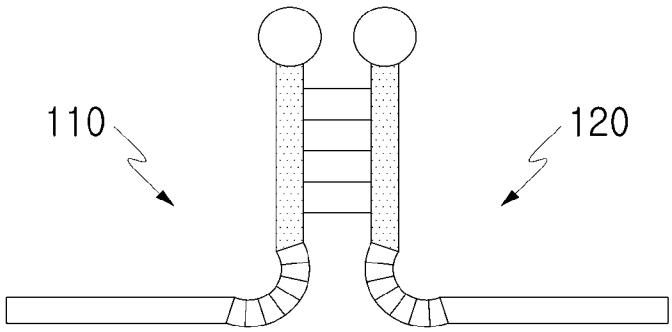
[도11]



[도12]

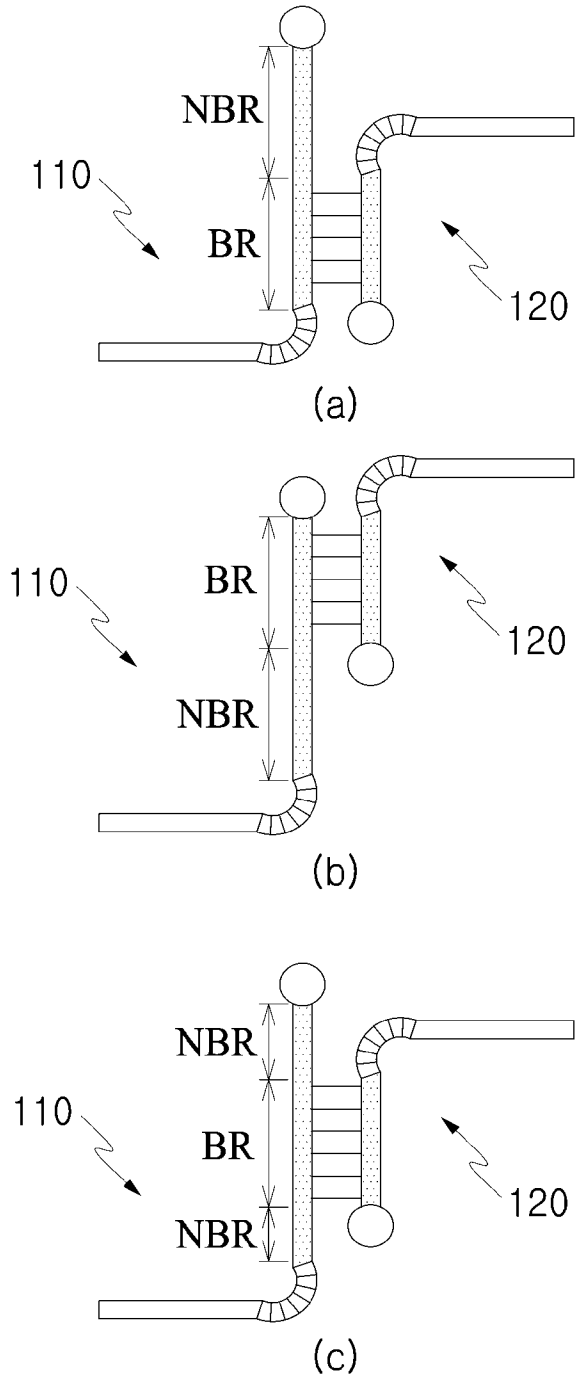



(a)

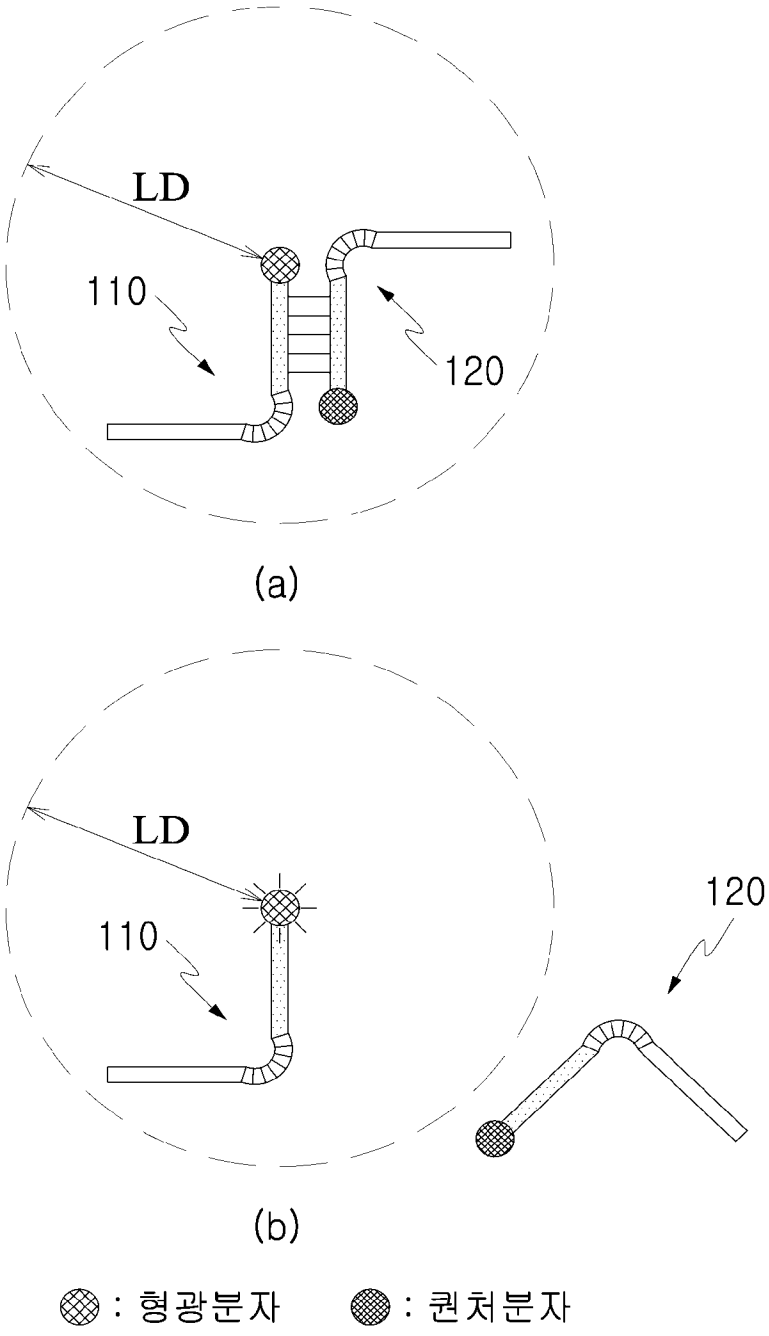



(b)

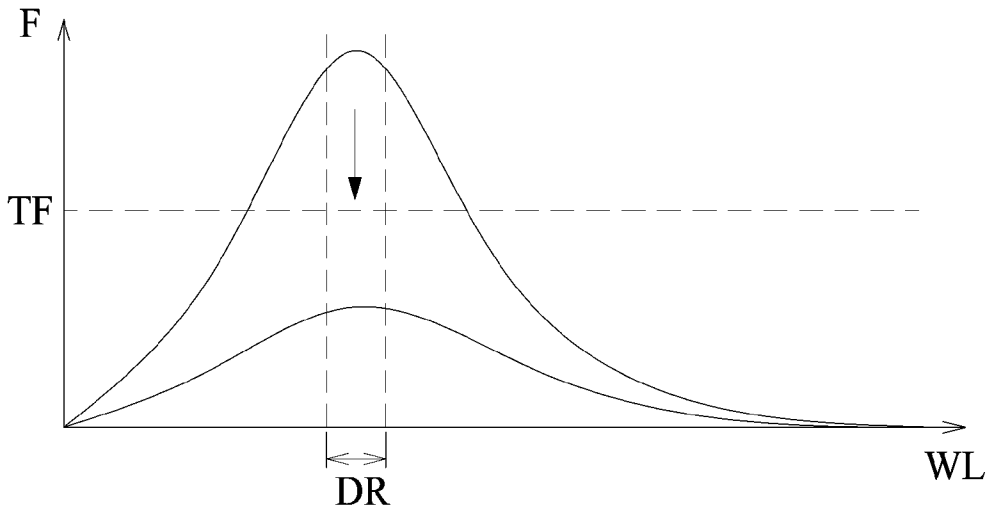
[도13]



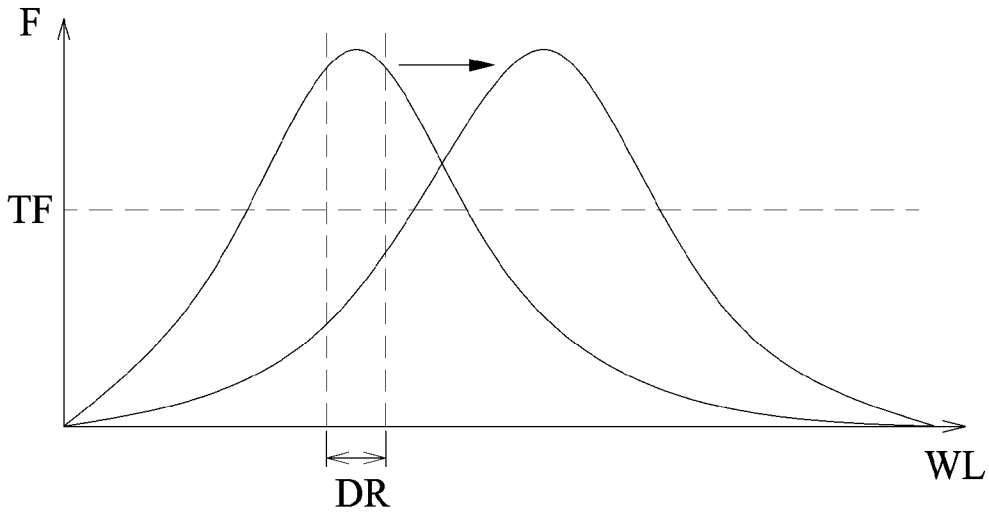
[도14]



[도15]



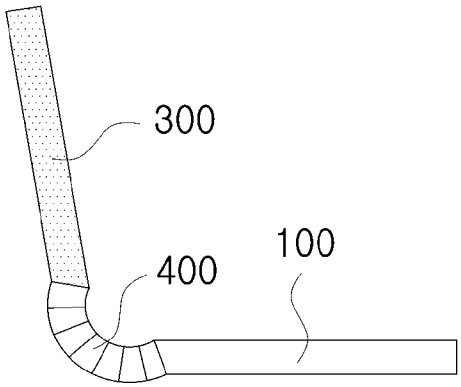

(a)



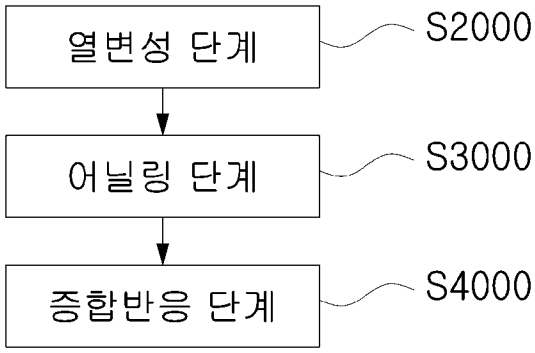

(b)

[도16]

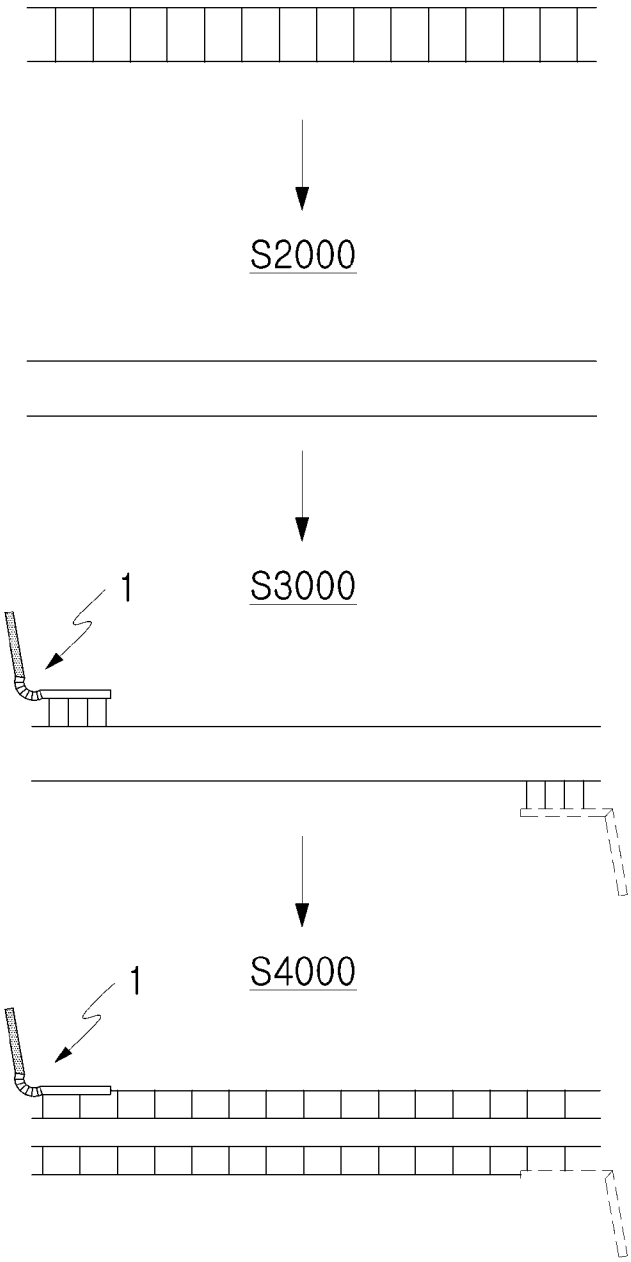
1



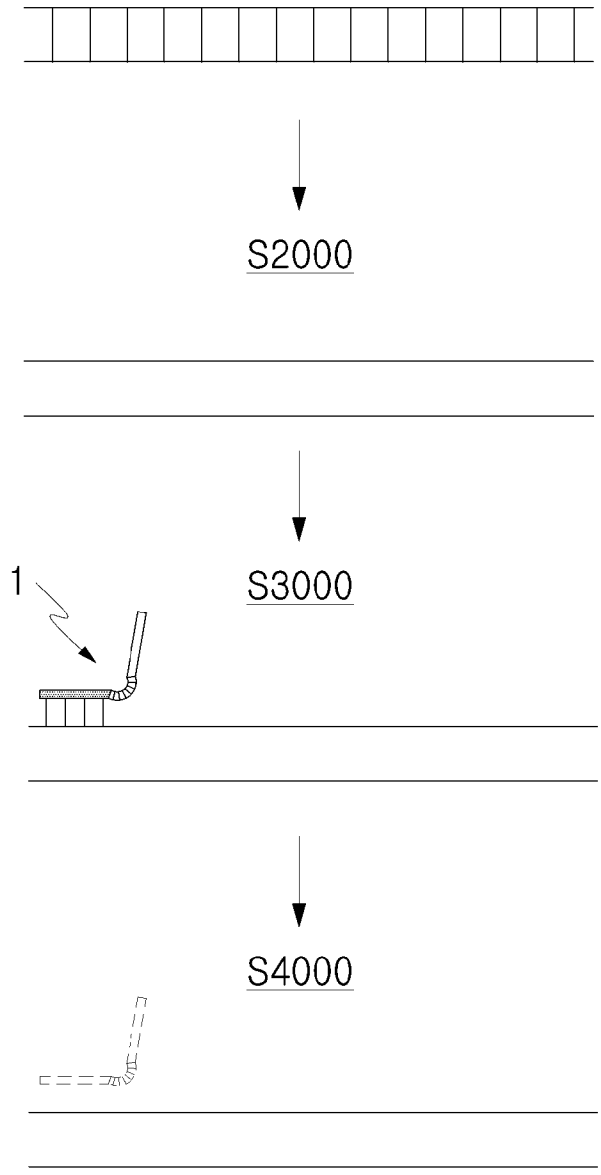
[도17]



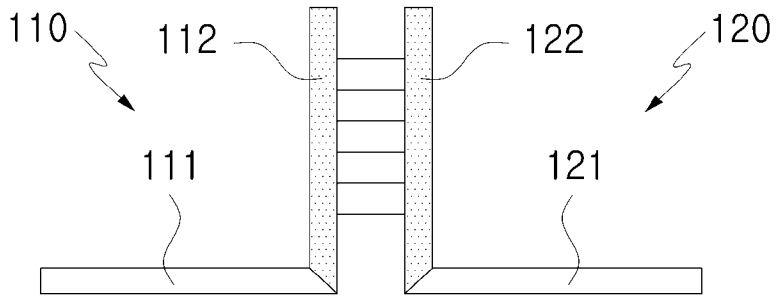
[도18]



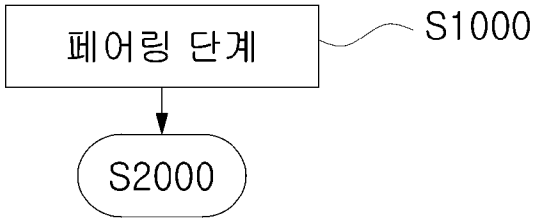
[도19]



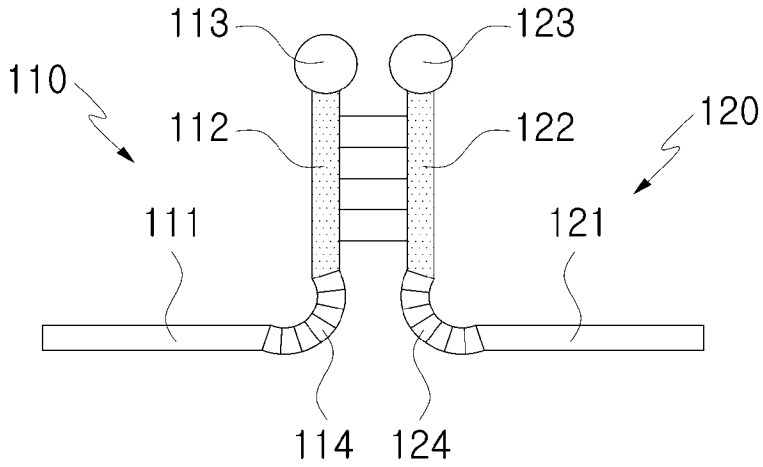
[도20]



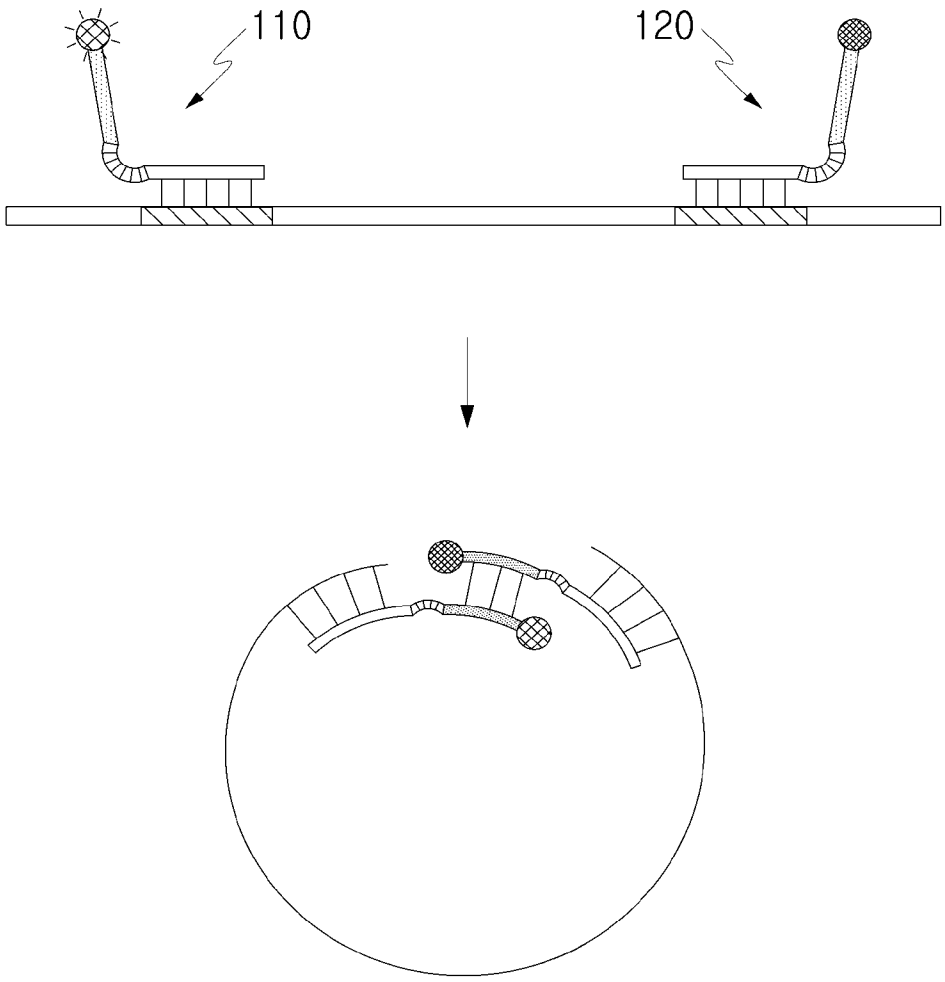
[도21]



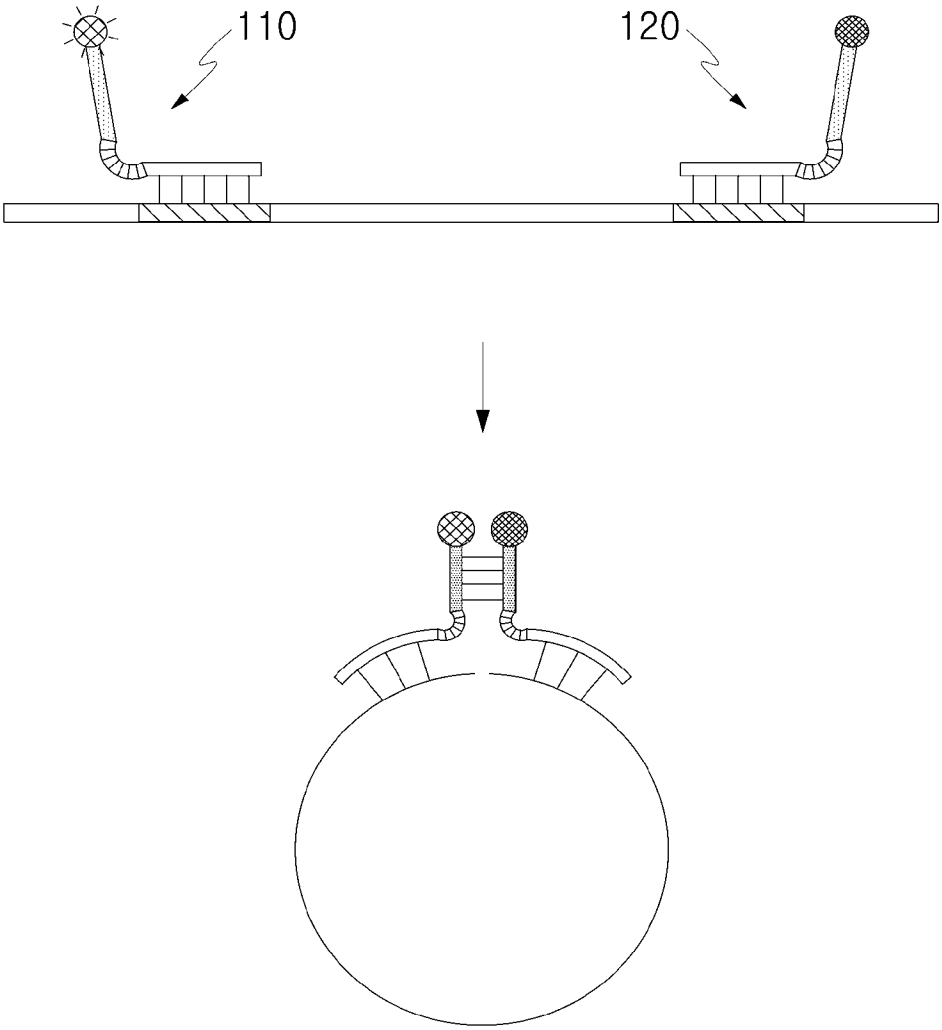
[도22]



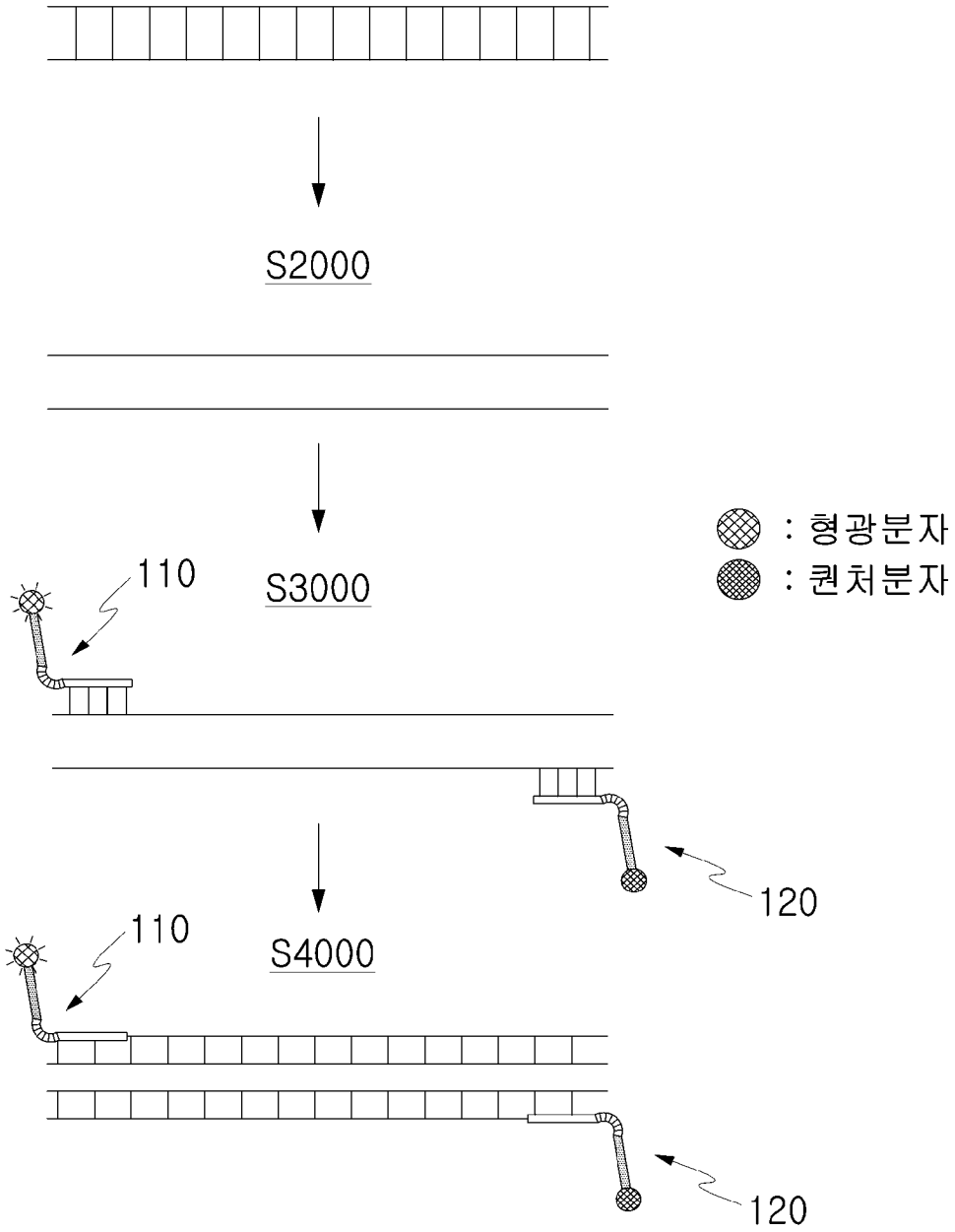
[도23]



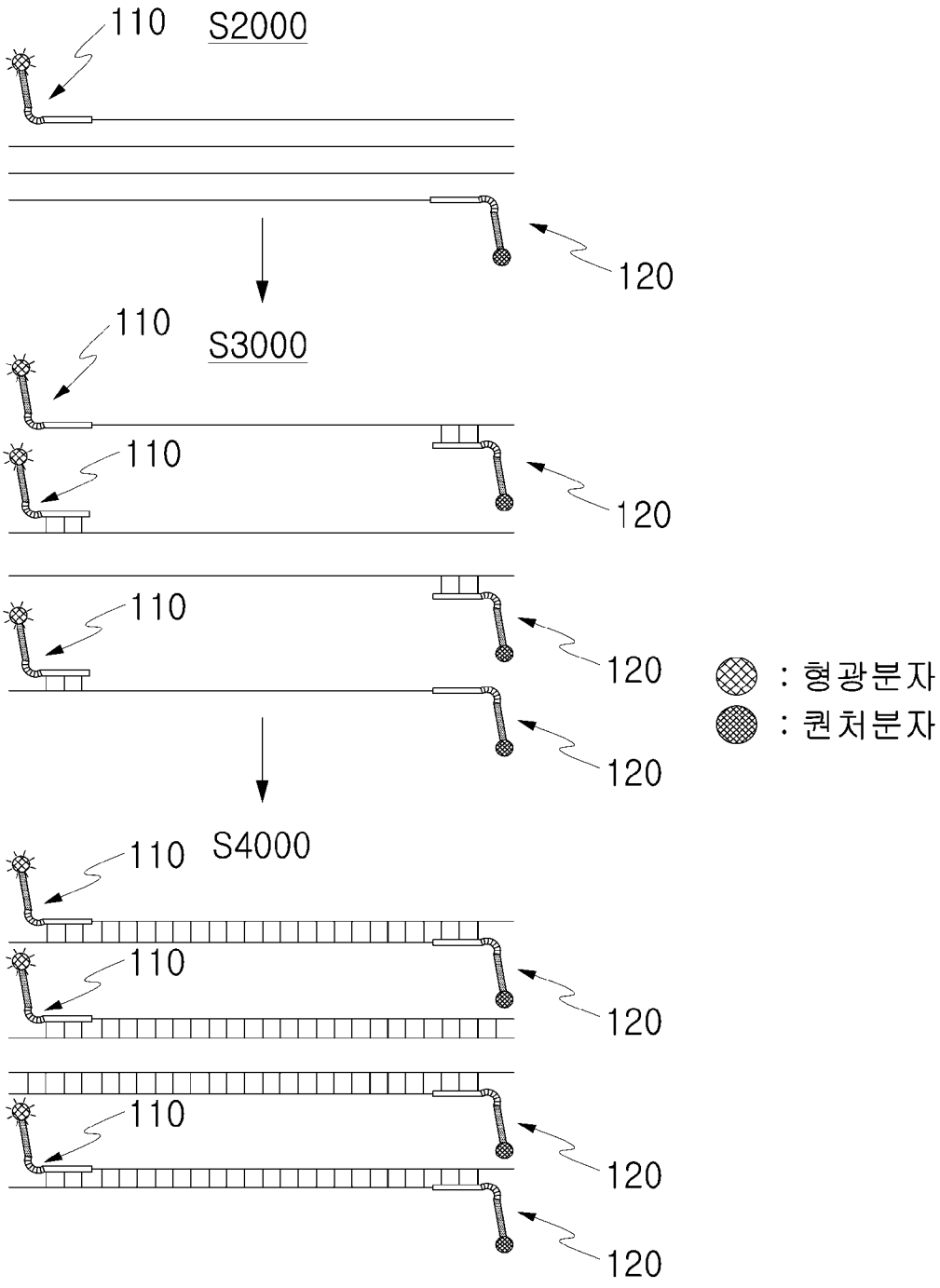
[도24]



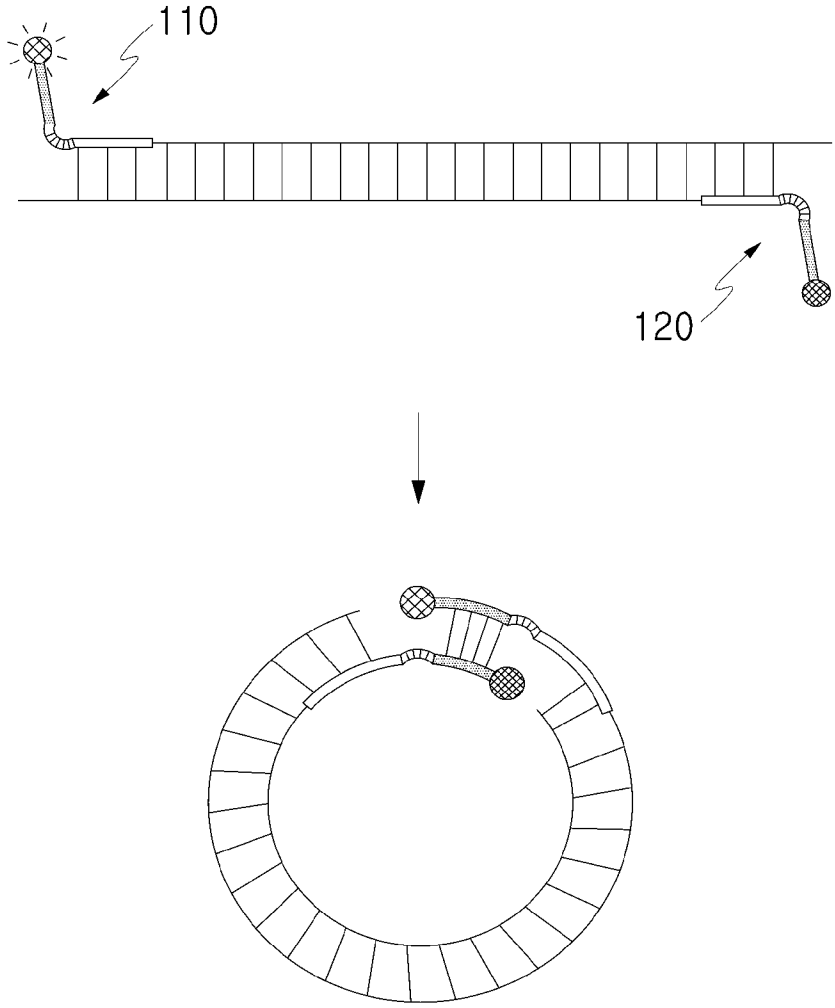
[도25]



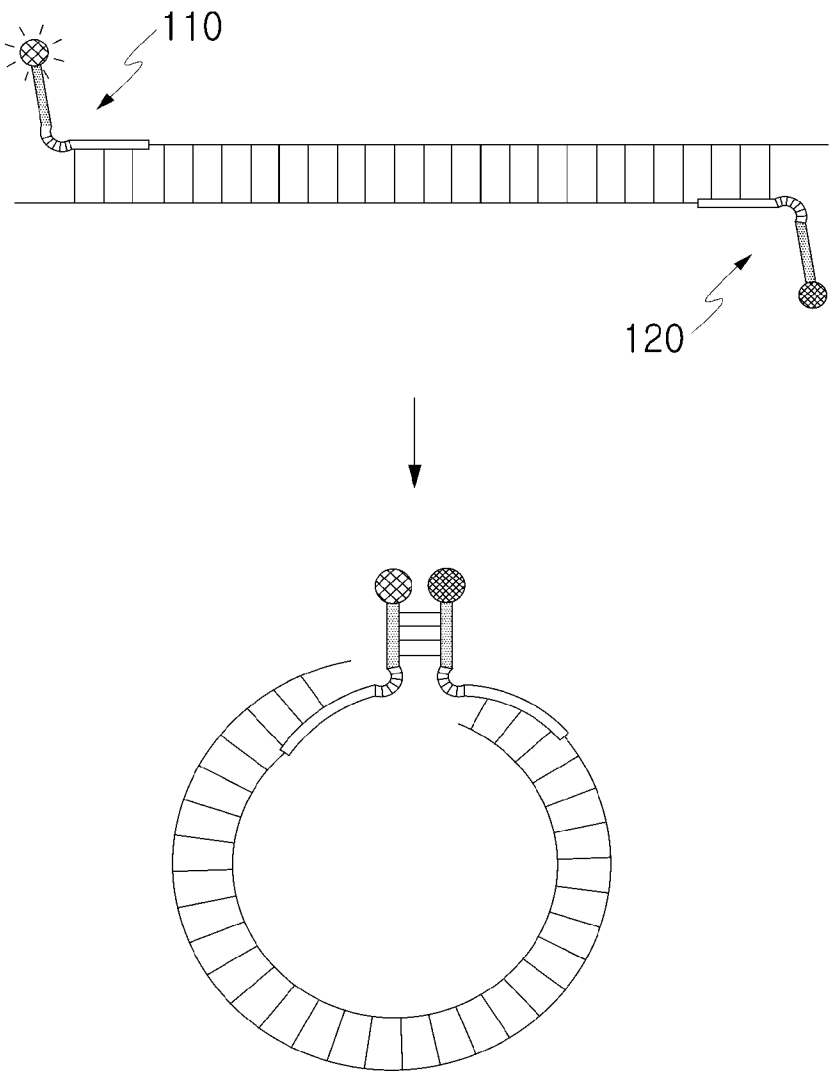
[도26]


110
S2000
120
110
S3000
110
120
110
120
120
: 형광분자
: 퀀처분자
110
S4000
110
120
110
120
120

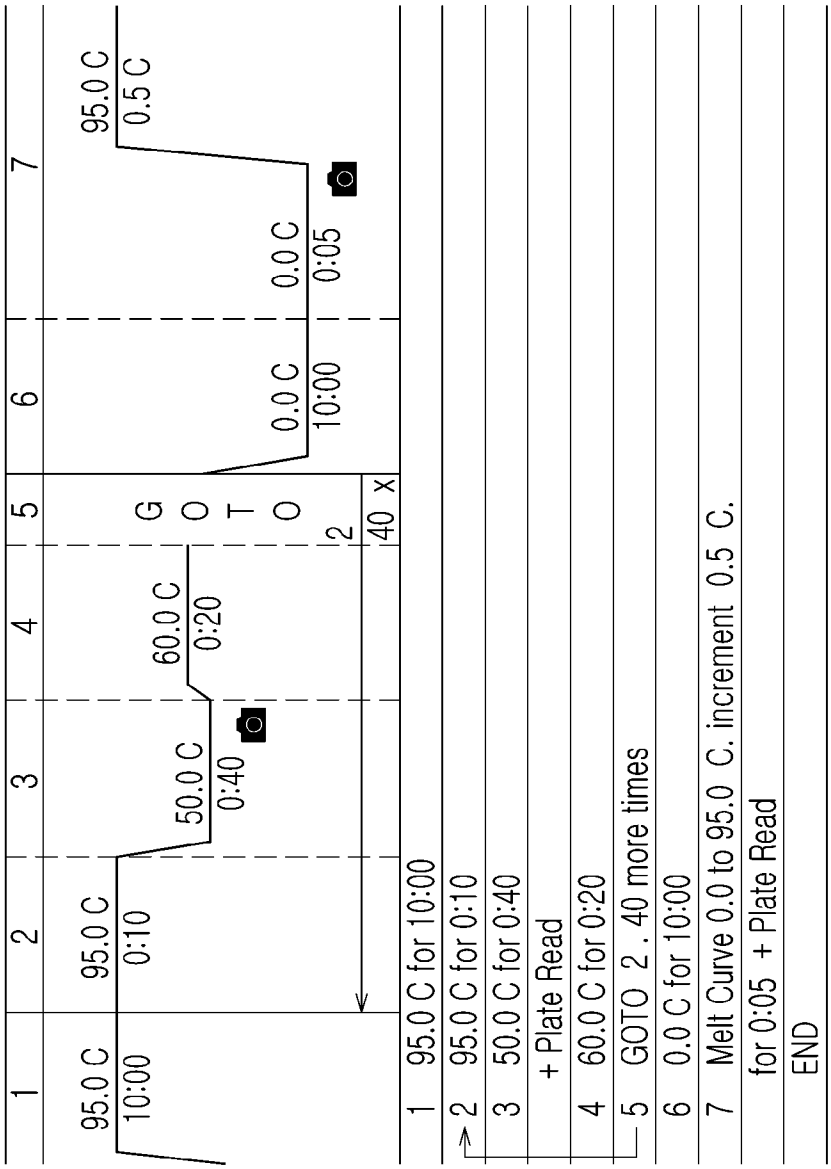
[도27]



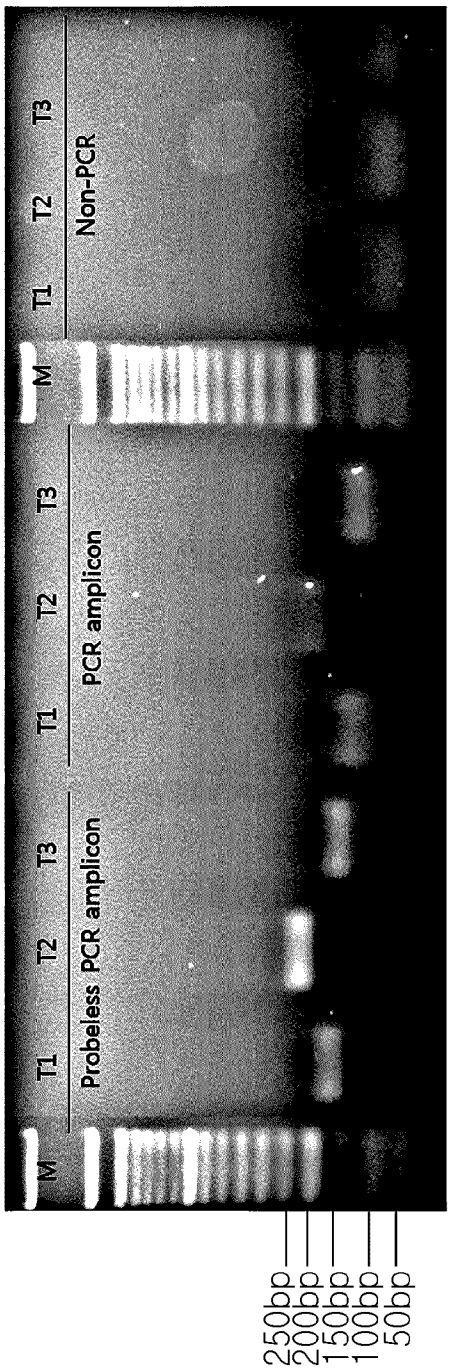
[도28]



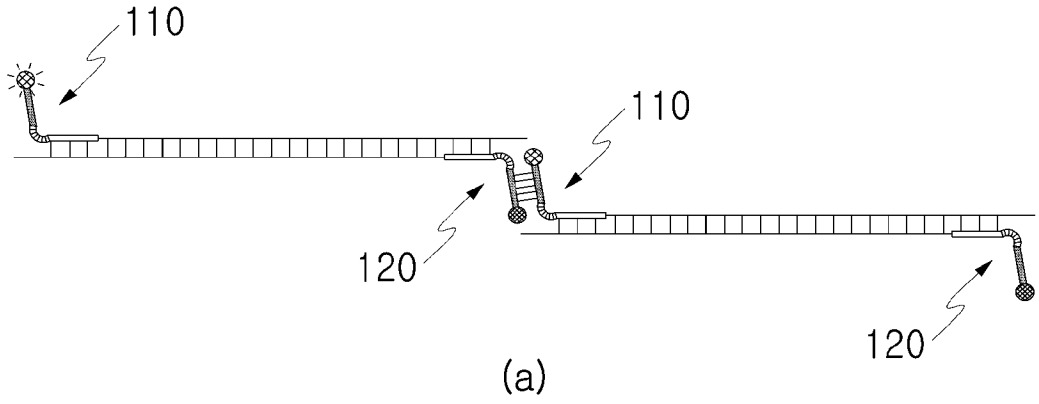
[도29]


1 2 3 4 5 6 7
95.0 C
10:00
95.0 C
0:10
50.0 C
0:40
60.0 C
0:20
GOTO 2
40 x
0.0 C
10:00
0.0 C
0:05
95.0 C
0.5 C
1 95.0 C for 10:00
2 95.0 C for 0:10
3 50.0 C for 0:40
+ Plate Read
4 60.0 C for 0:20
5 GOTO 2 . 40 more times
6 0.0 C for 10:00
7 Melt Curve 0.0 to 95.0 C. increment 0.5 C.
for 0:05 + Plate Read
END

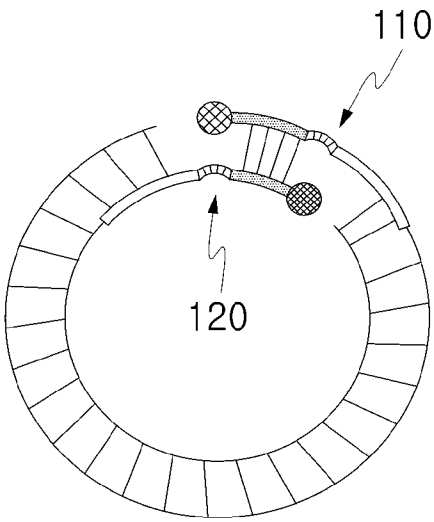
[도30]


M
T1
T2
T3
Probeless PCR amplicon
T1
T2
T3
PCR amplicon
M
T1
T2
T3
Non-PCR
250bp
200bp
150bp
100bp
50bp

[도31]



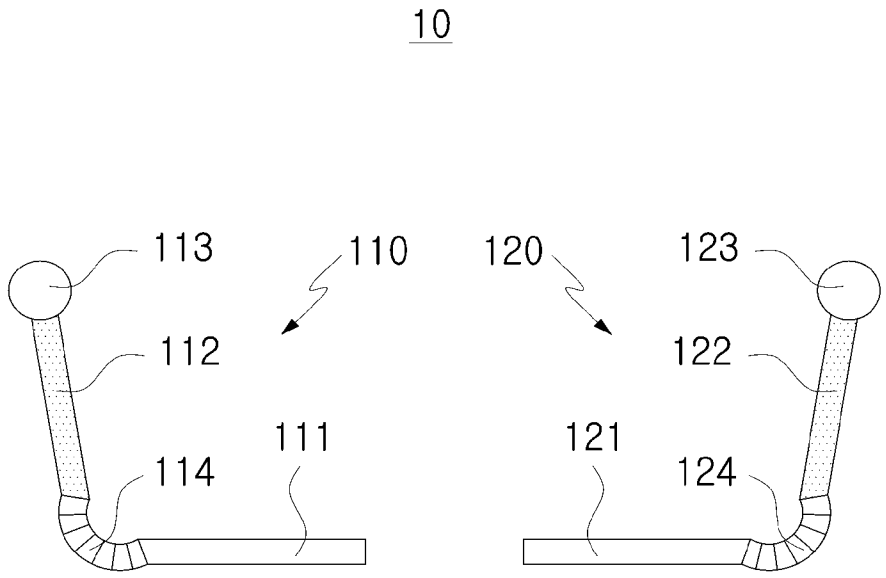

(a)



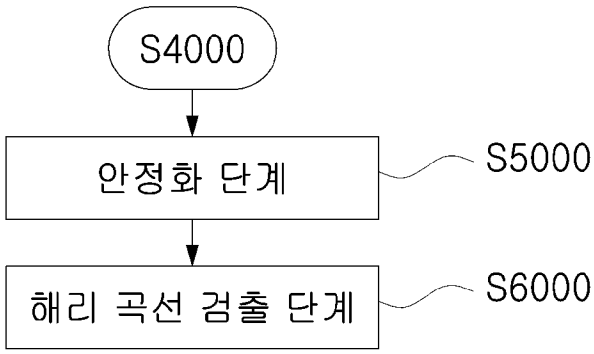

(b)

: 형광분자 : 퀀처분자

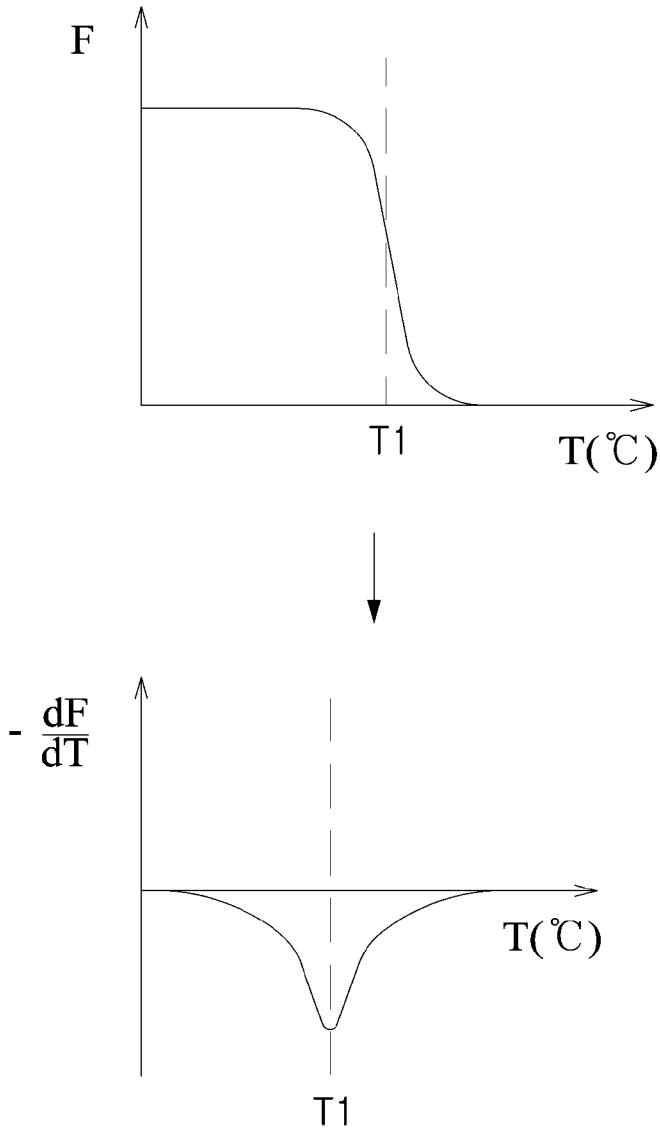
[도32]



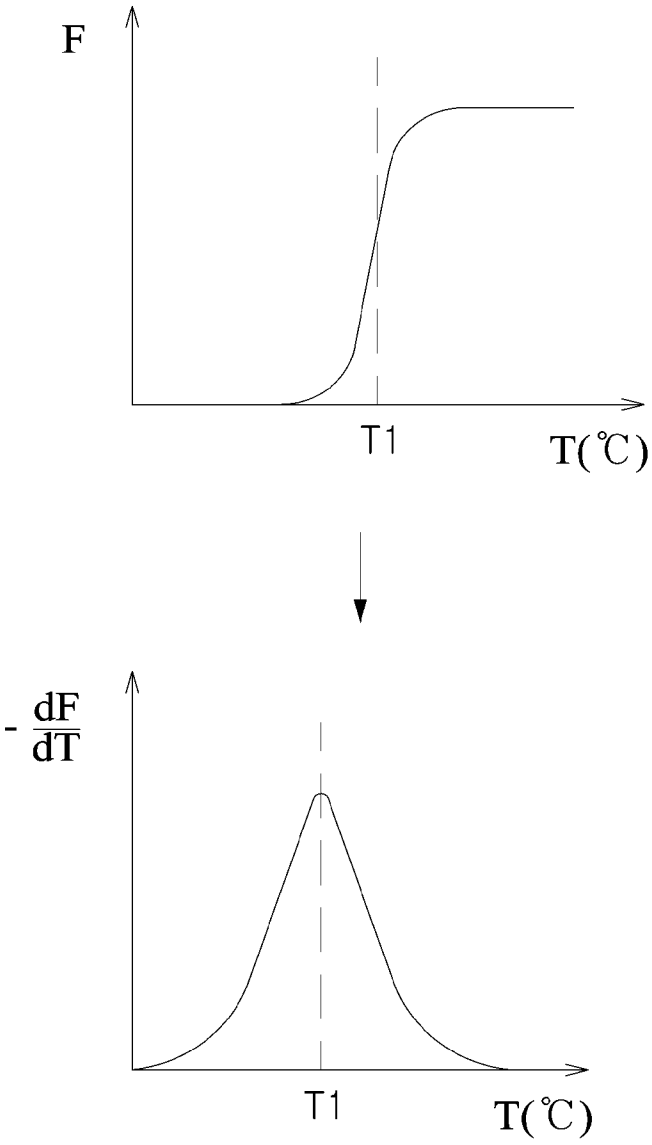
[도33]



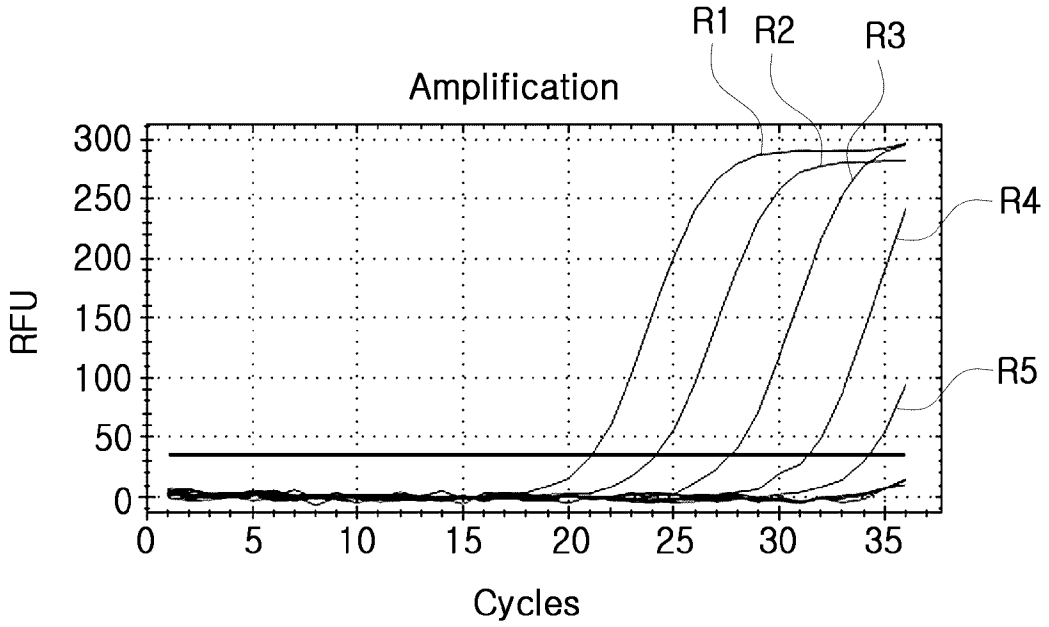
[도34]



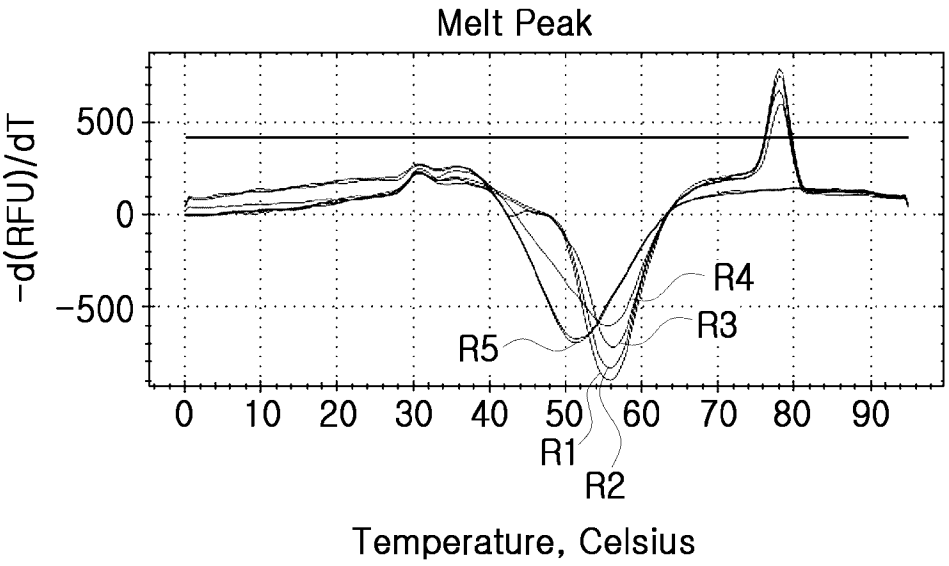
[도35]



[도36]

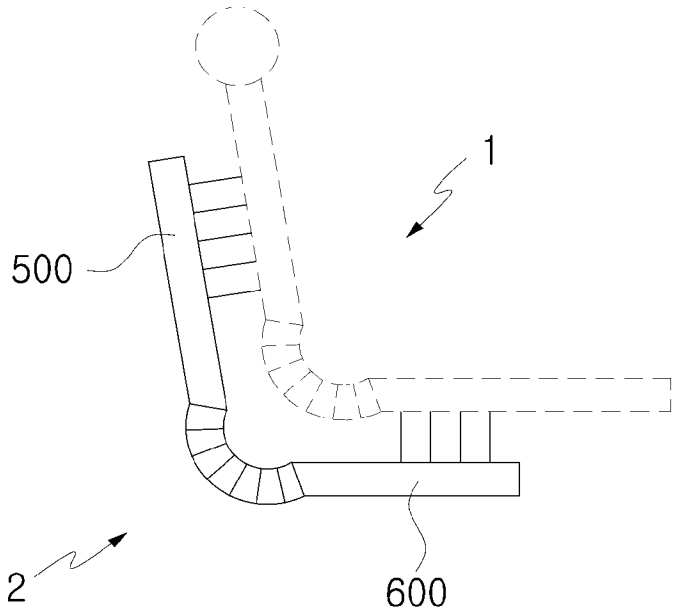

Amplification
R1
R2
R3
R4
R5
RFU
300
250
200
150
100
50
0
0
5
10
15
20
25
30
35
Cycles

(a)

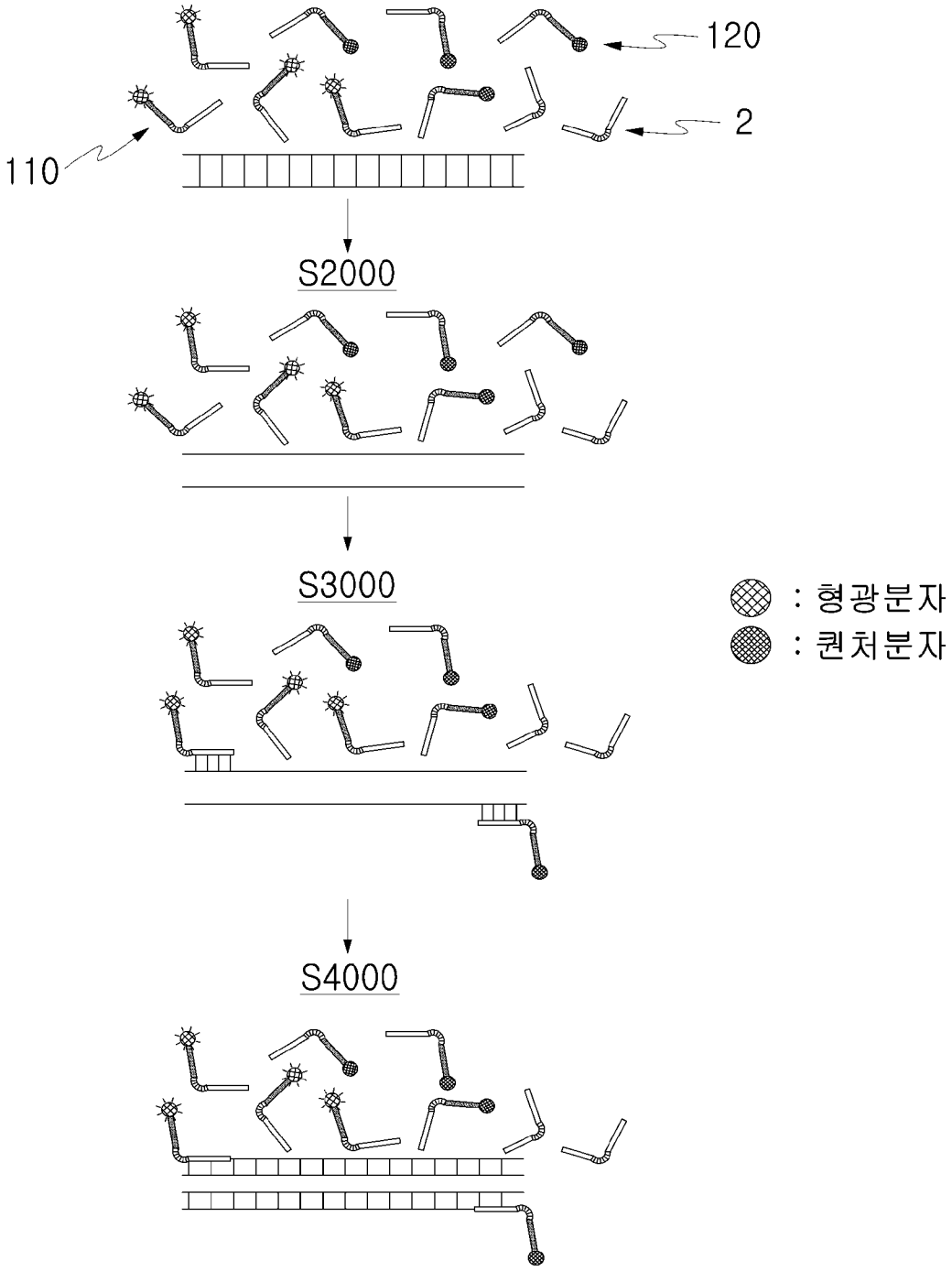

Melt Peak
-d(RFU)/dT
500
0
-500
R4
R3
R5
R1
R2
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
Temperature, Celsius

(b)

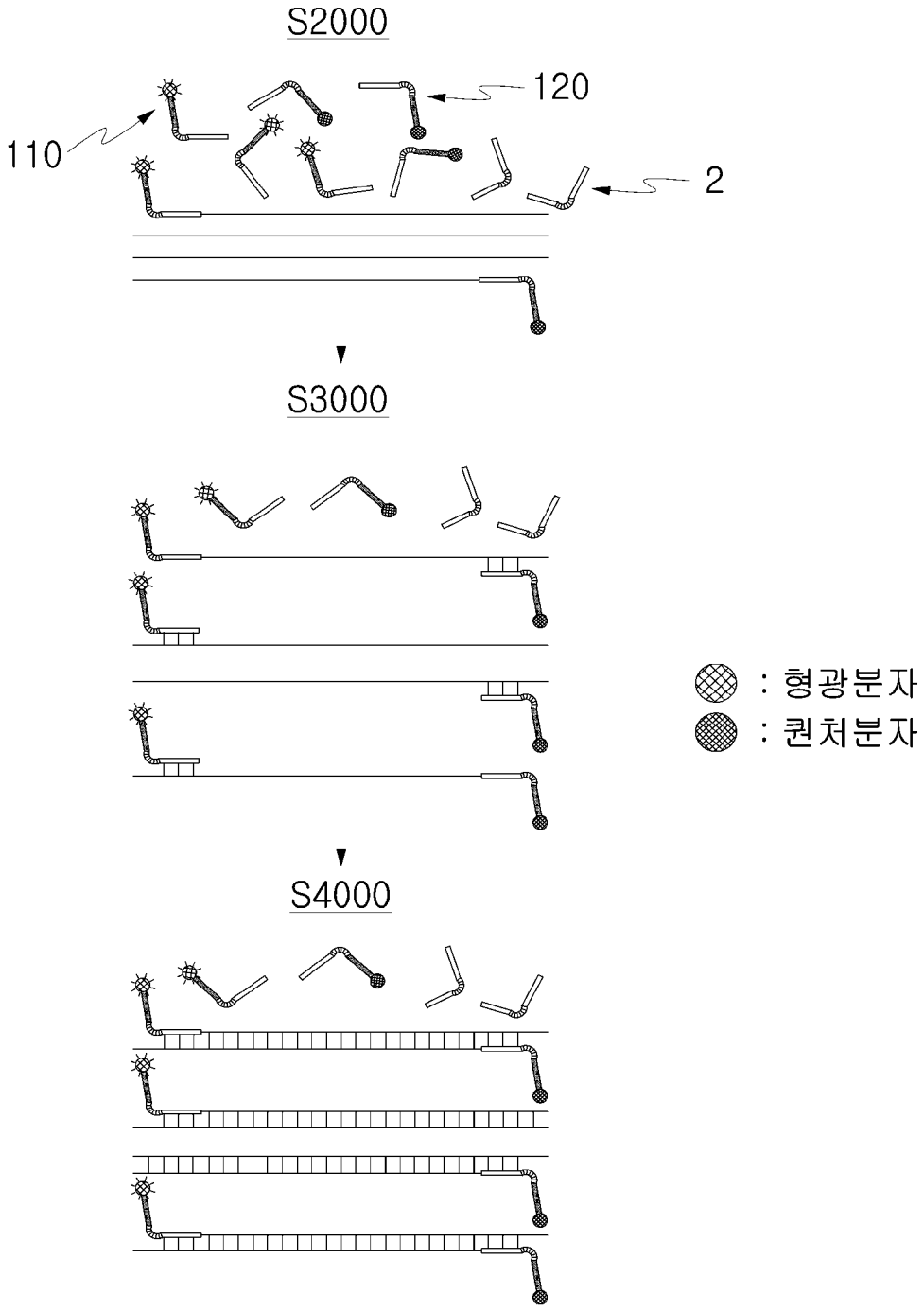
[도37]



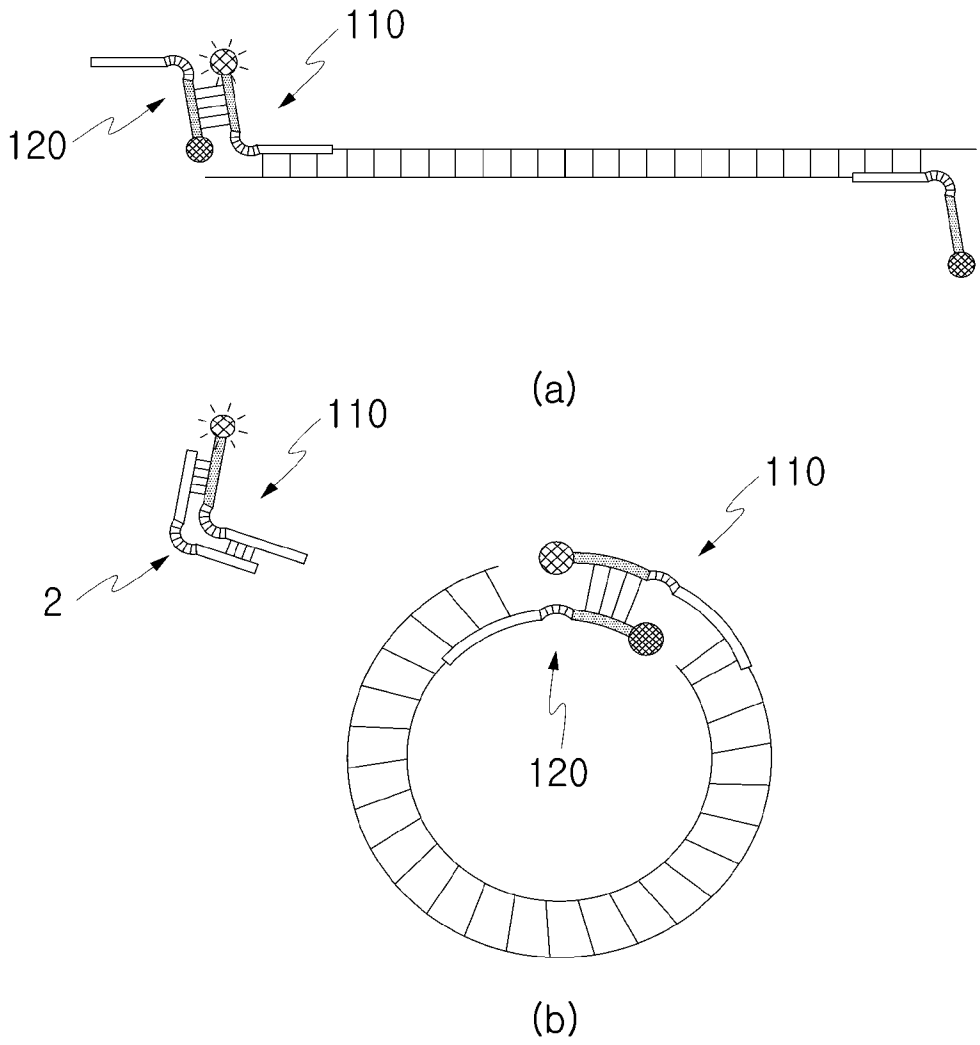
[도38]



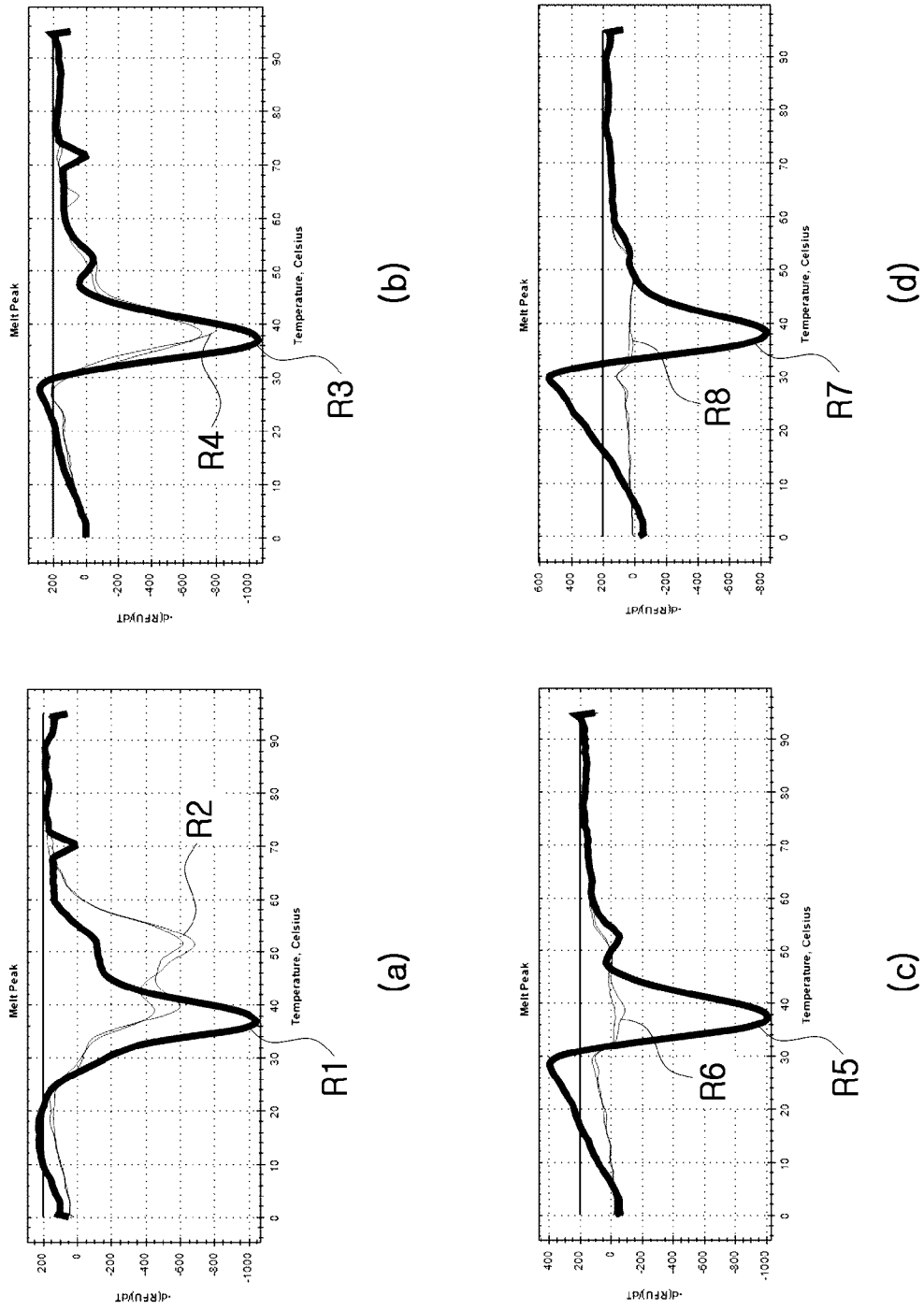
[도39]



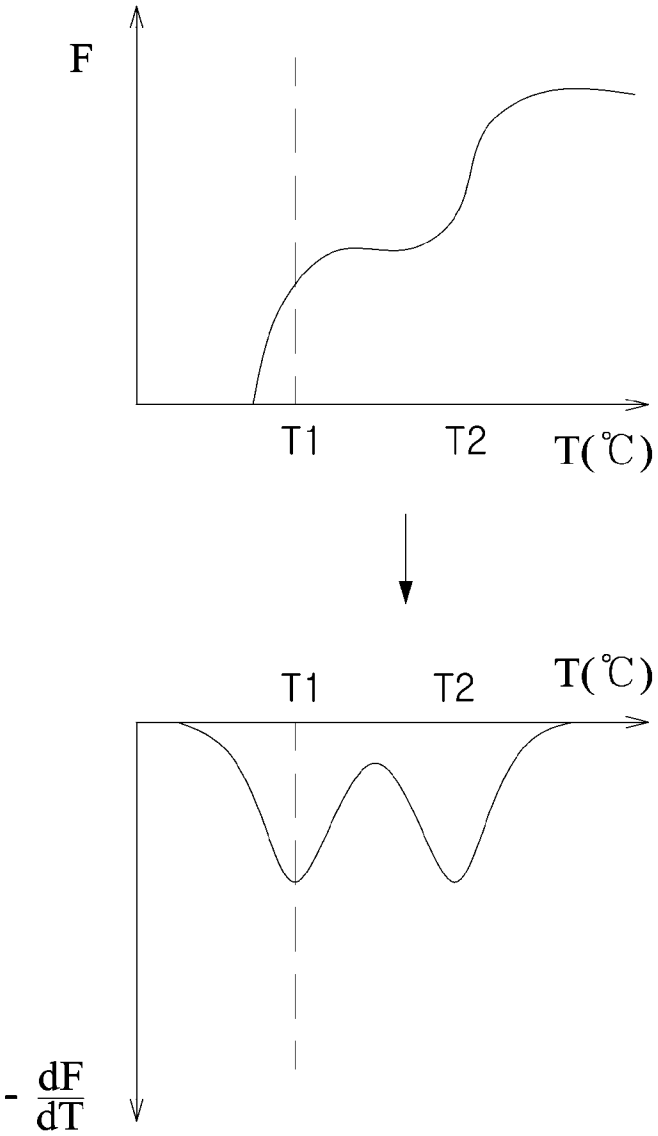
[도40]



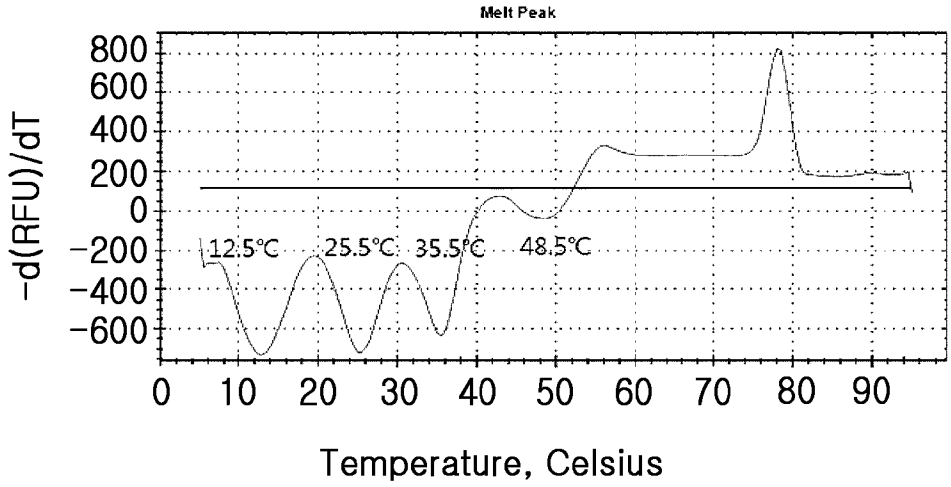
[도41]


Melt Peak
Temperature, Celsius
-dRFU/dT
R1
R2
(a)
R3
R4
(b)
R5
R6
(c)
R7
R8
(d)

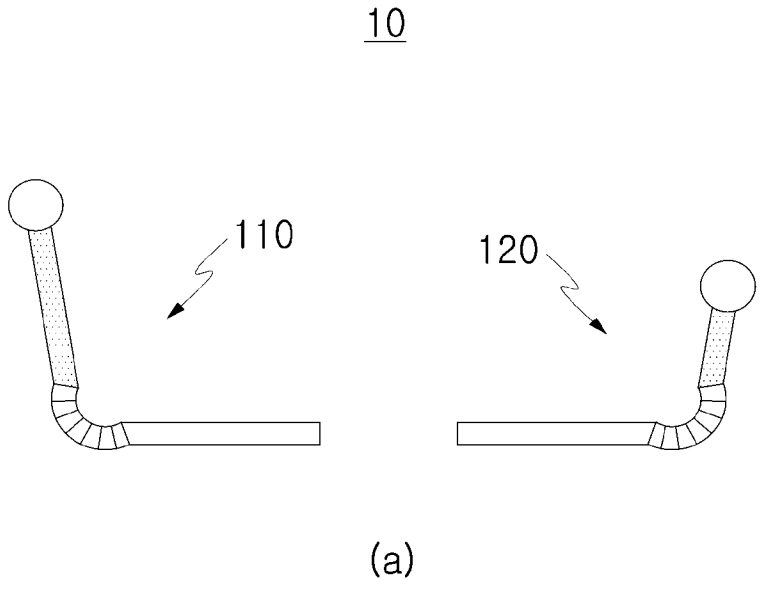
[도42]



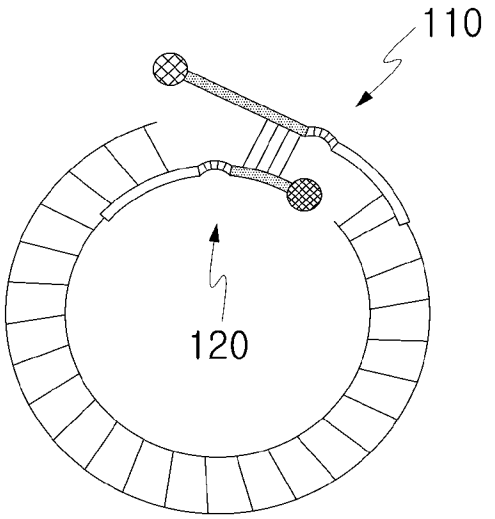
[도43]


Melt Peak
800
600
400
200
0
−200
−400
−600
-d(RFU)/dT
12.5℃
25.5℃
35.5℃
48.5℃
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
Temperature, Celsius

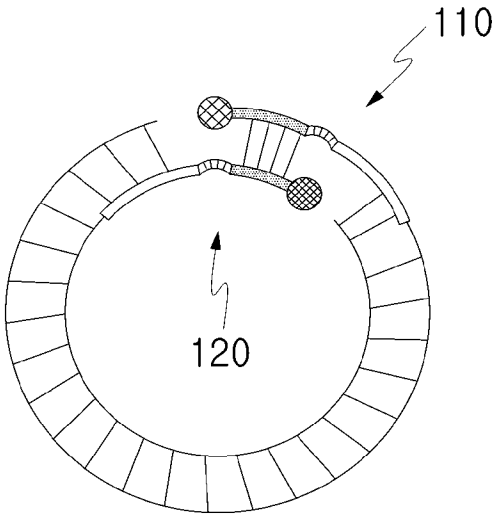
[도44]



[도45]

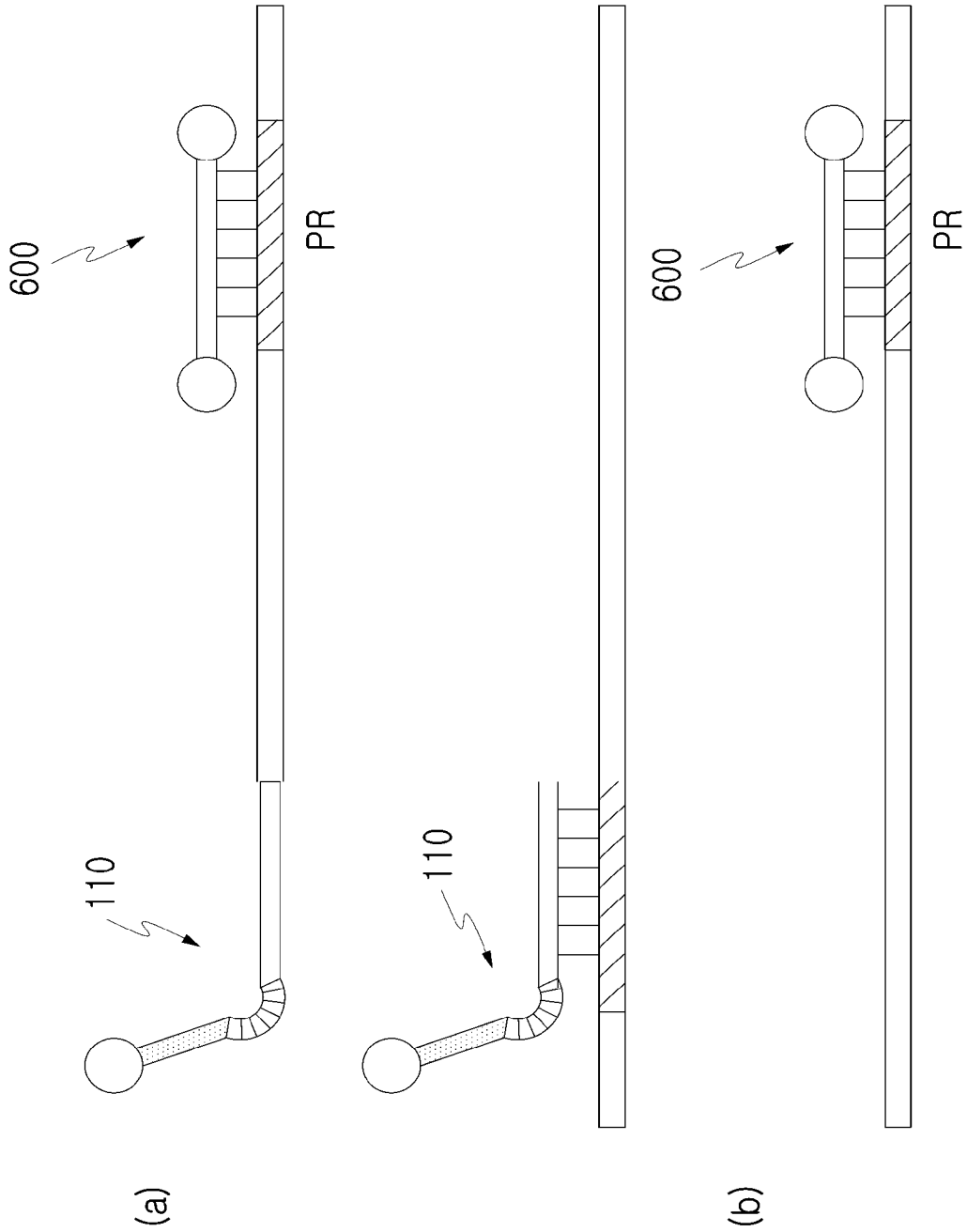



(b)



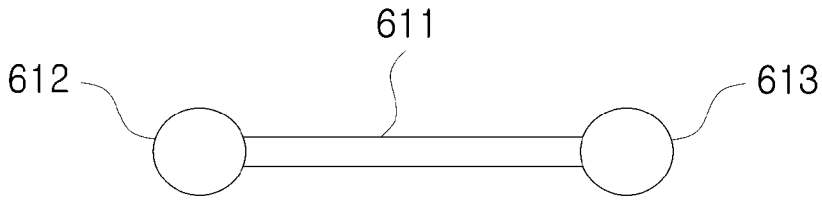

(b)

[도46]

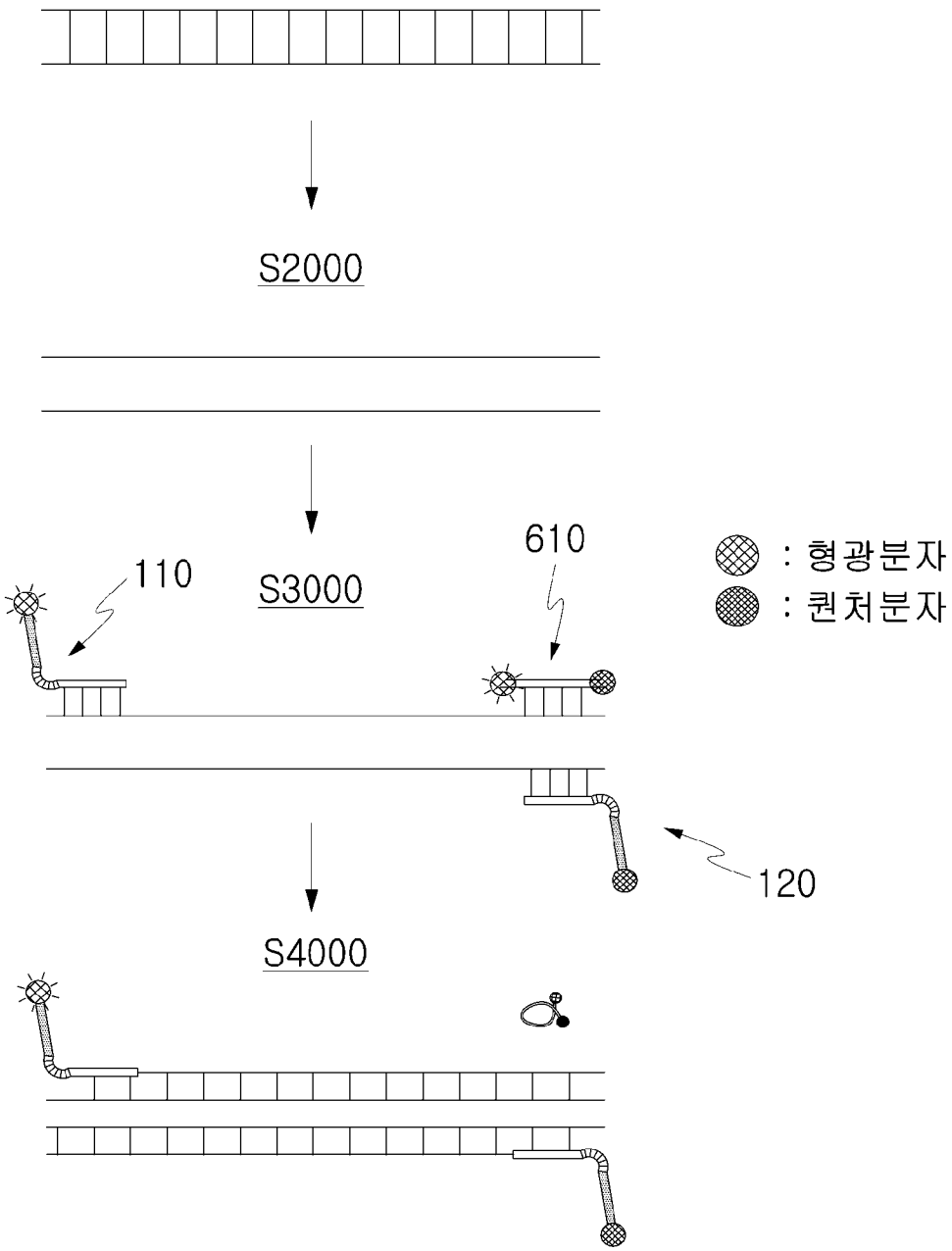


[도47]

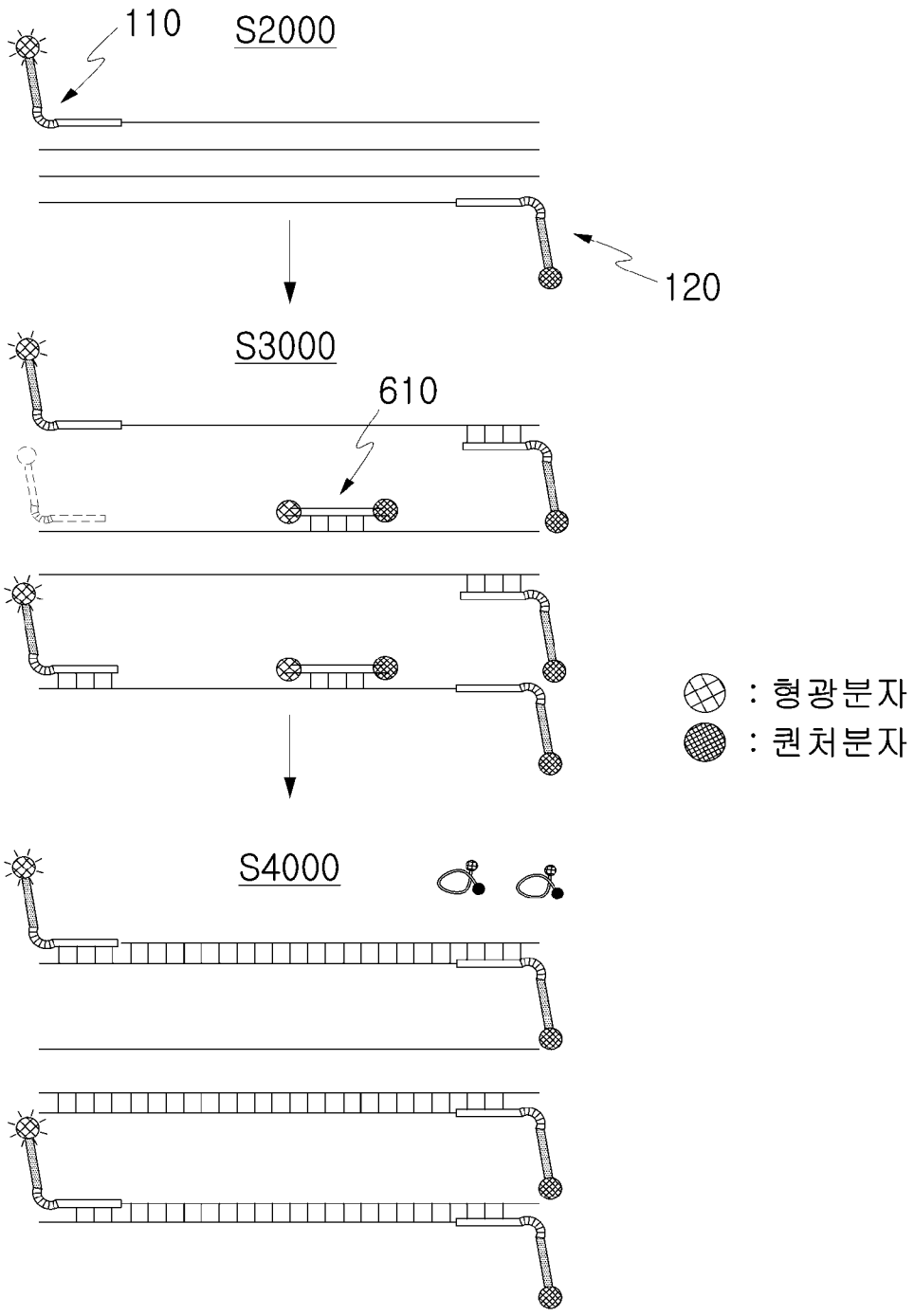
610



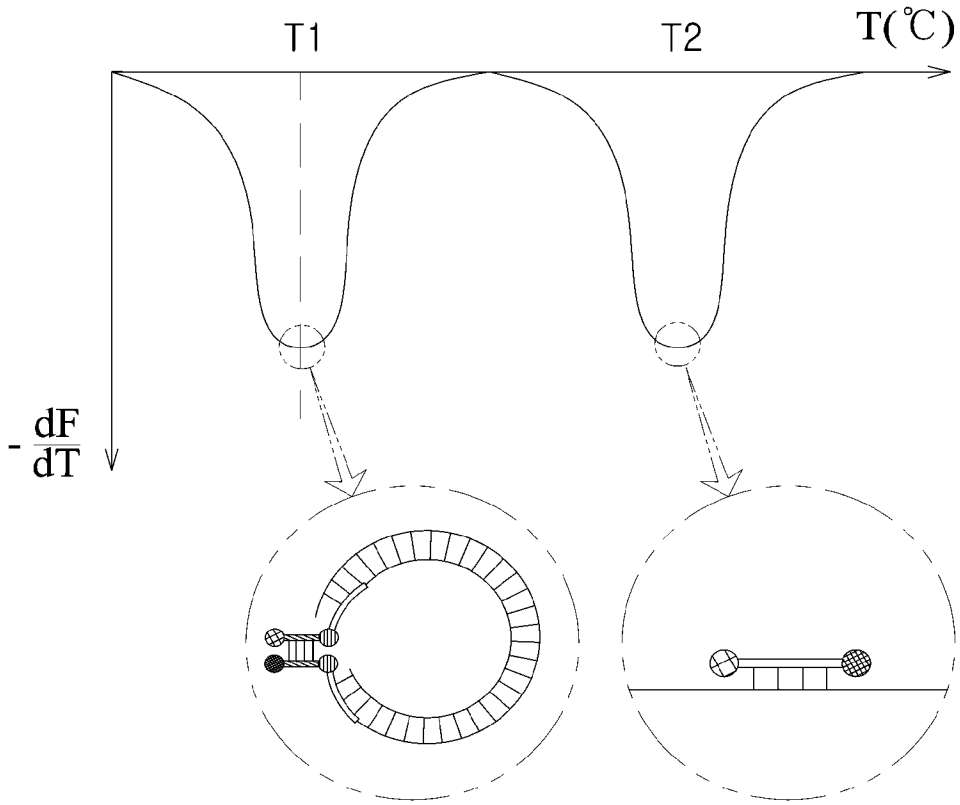
[도48]



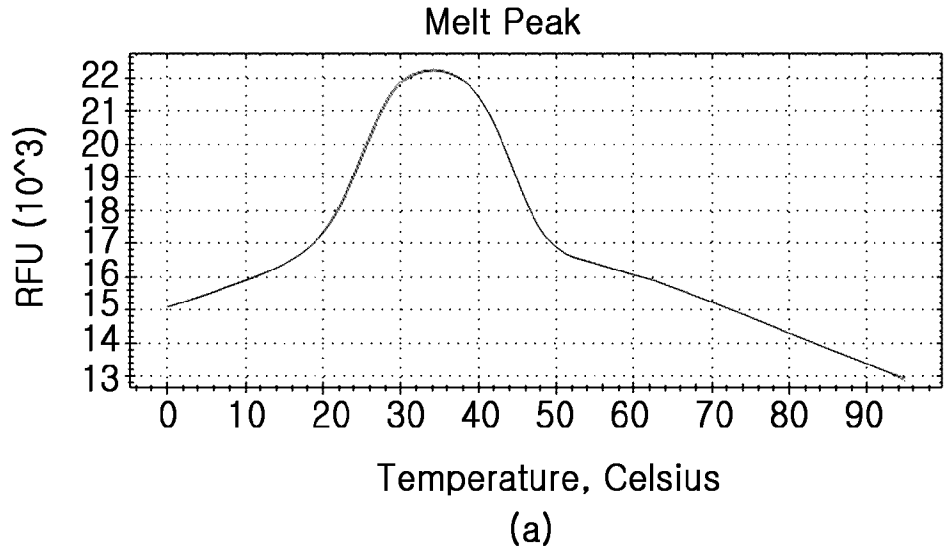
[도49]



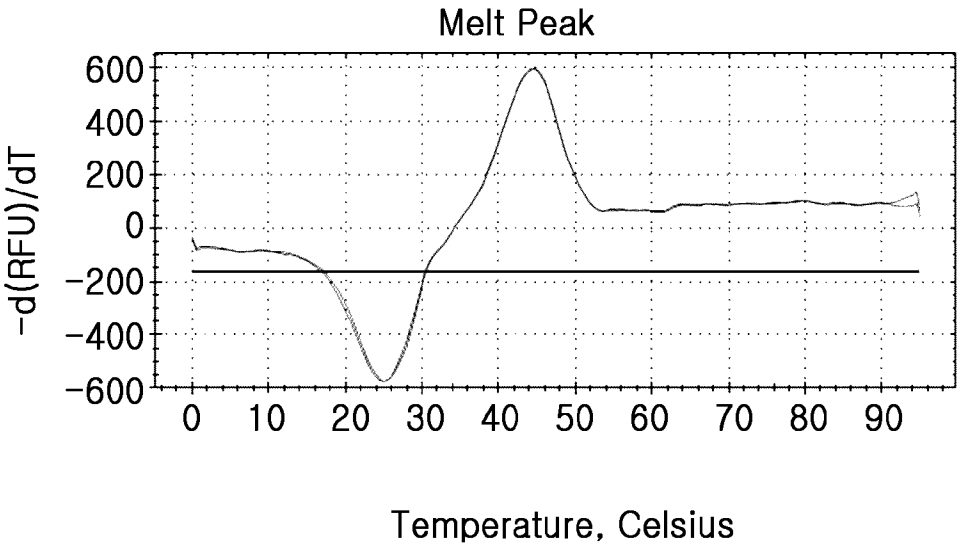
[도50]



[도51]

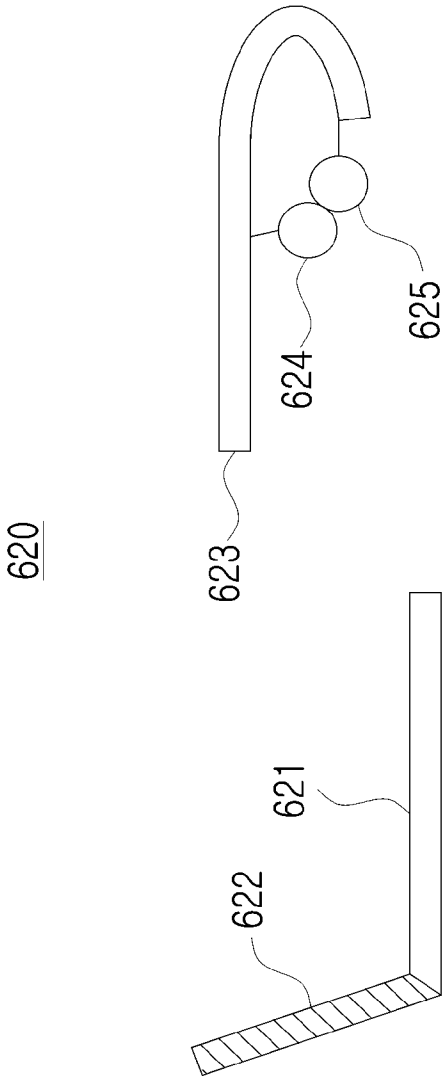

Melt Peak
RFU (10^3)
22
21
20
19
18
17
16
15
14
13
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
Temperature, Celsius

(a)

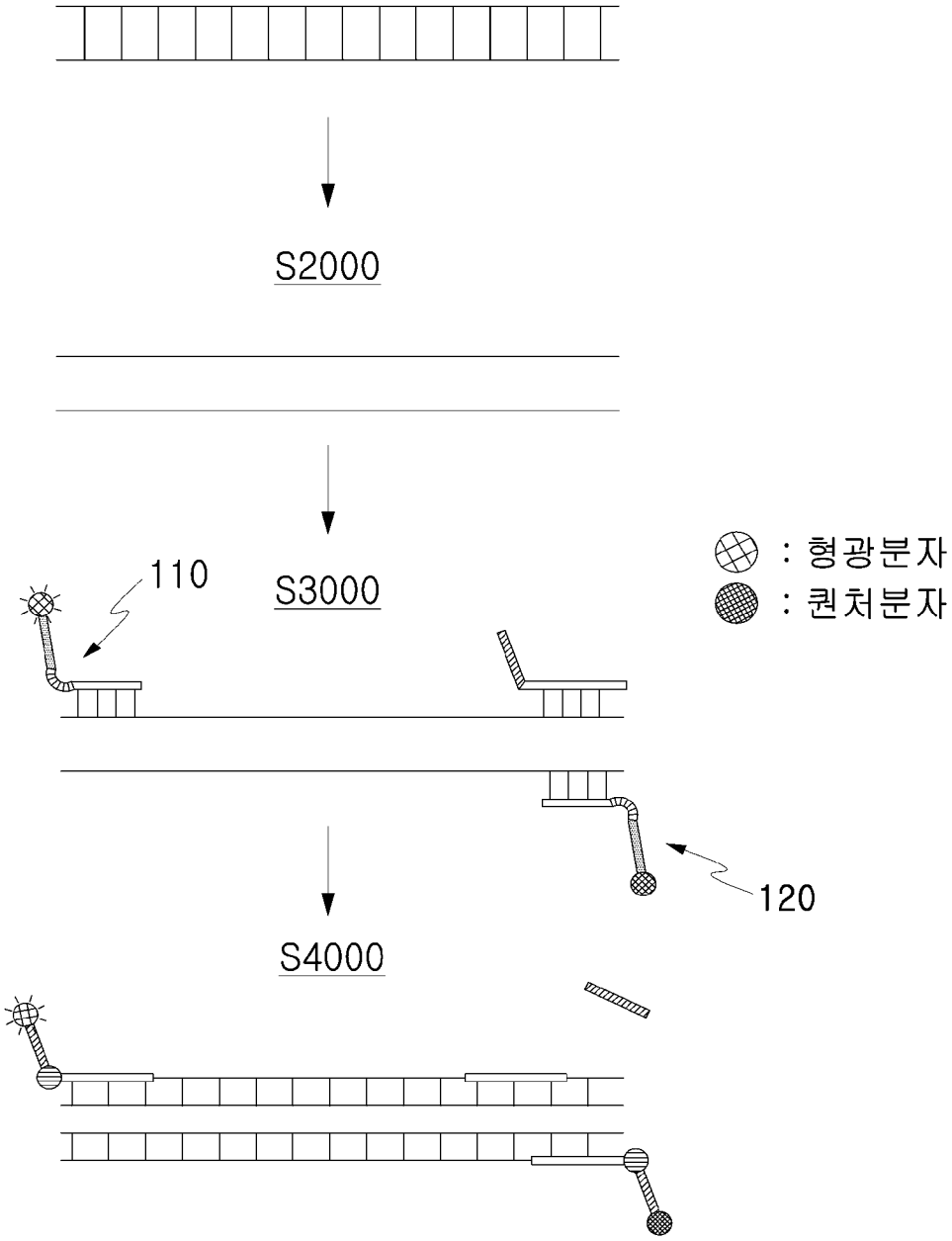

Melt Peak
-d(RFU)/dT
600
400
200
0
-200
-400
-600
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
Temperature, Celsius

(b)

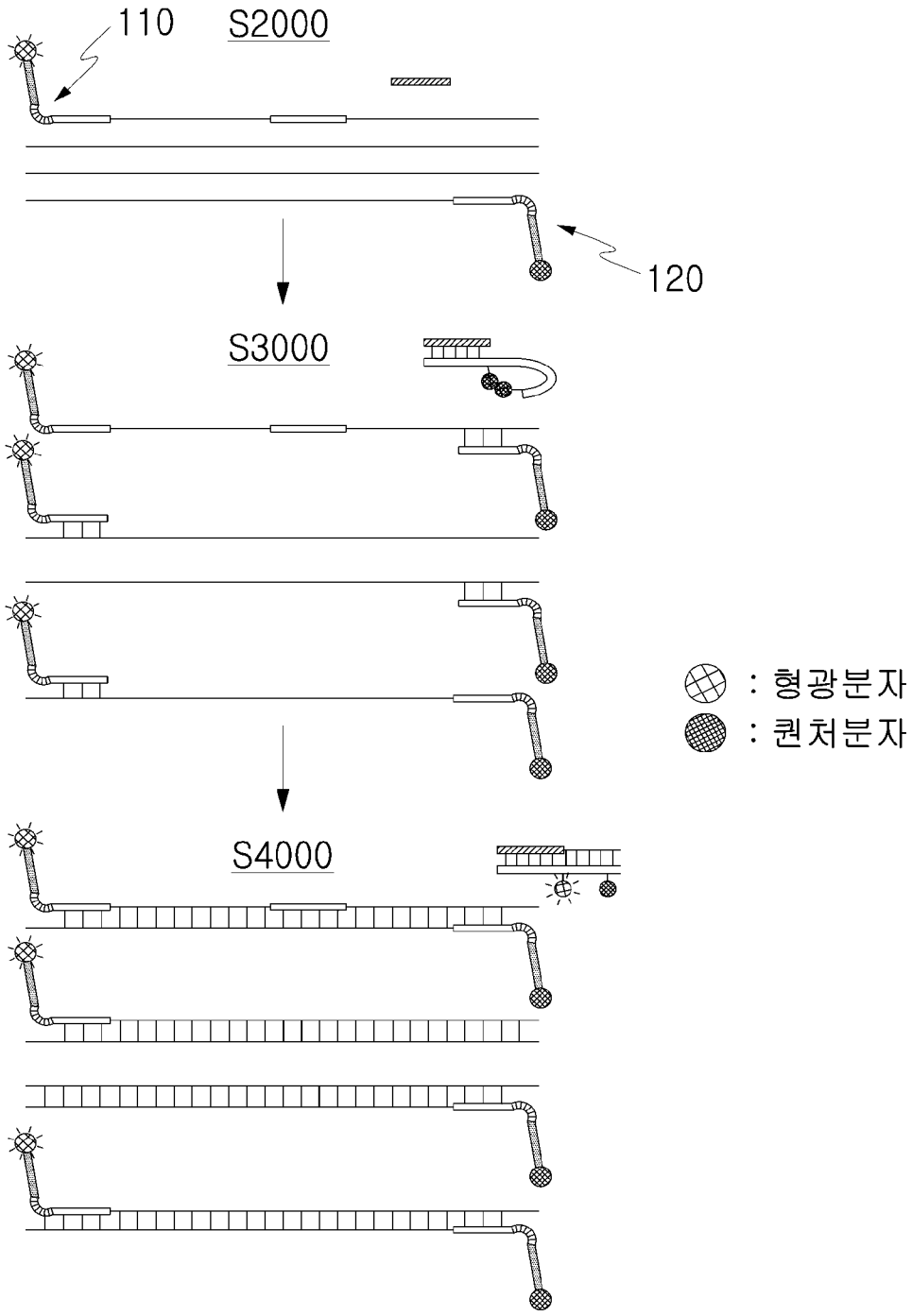
[도52]



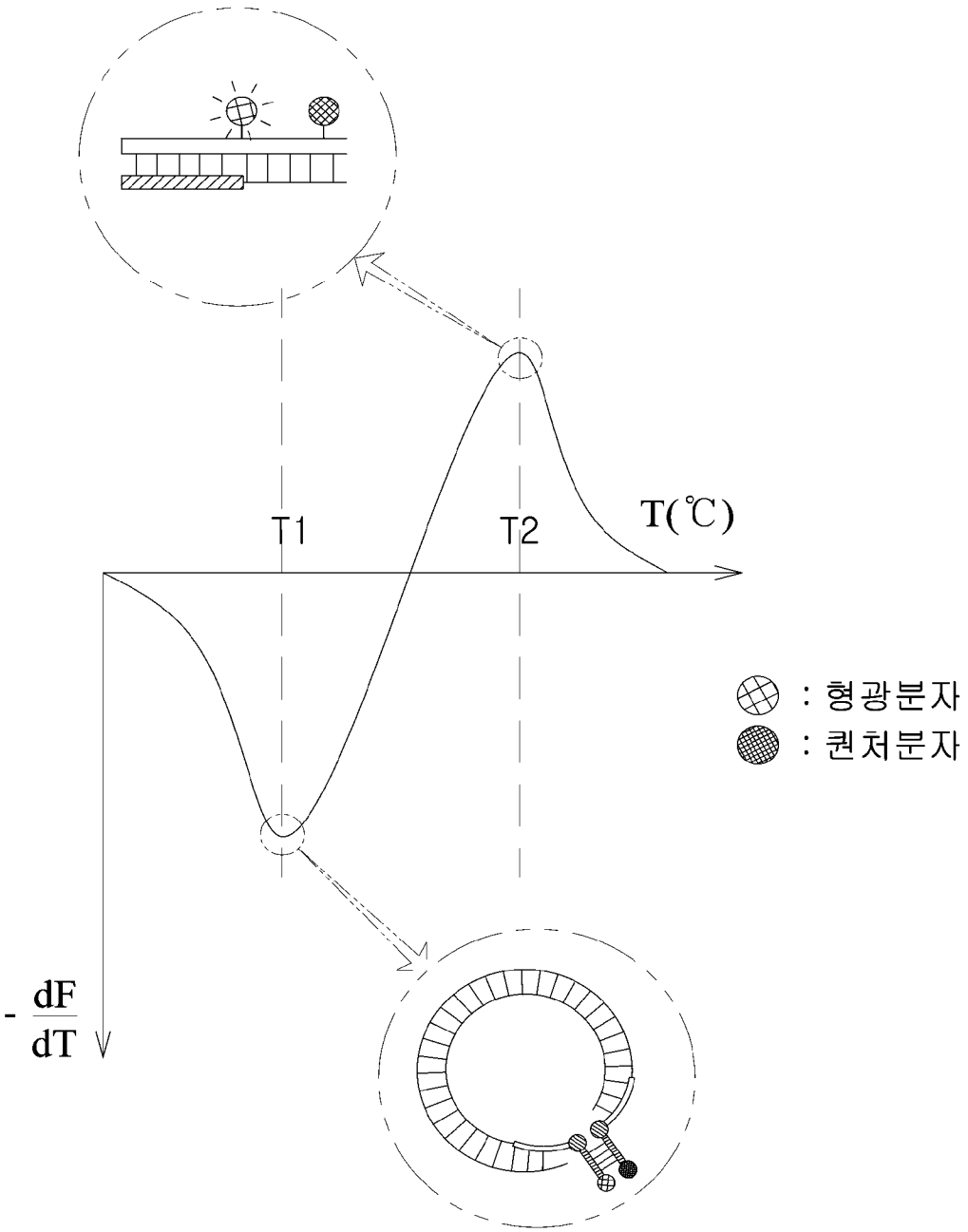
[도53]



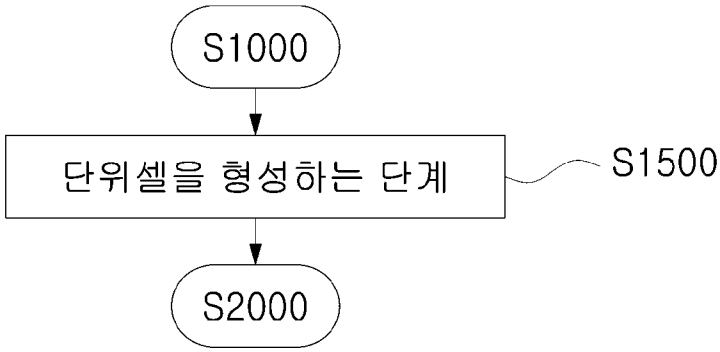
[도54]



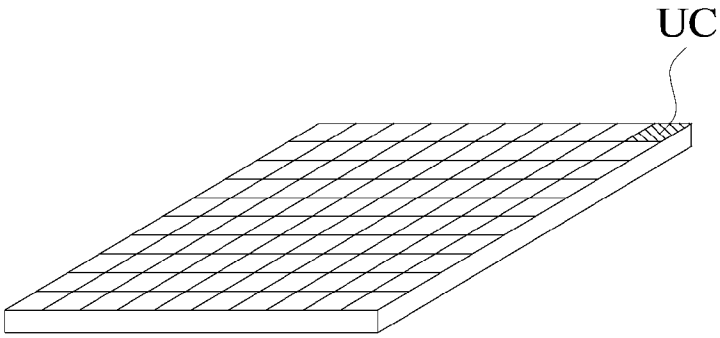
[도55]



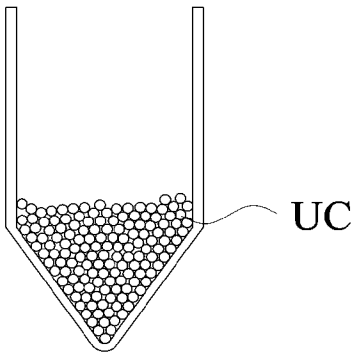
[도56]



[도57]

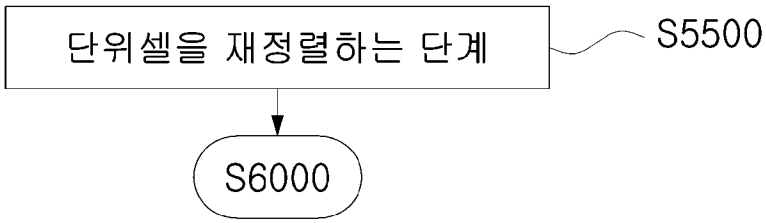



(a)

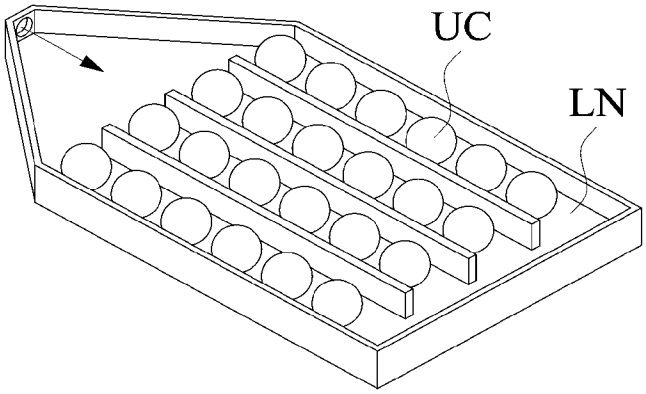



(b)

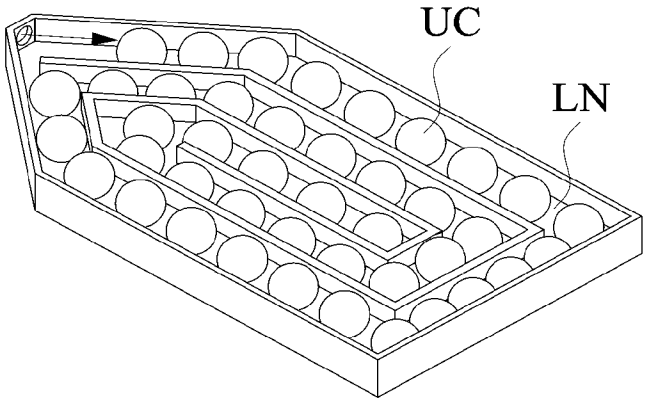
[도58]



[도59]

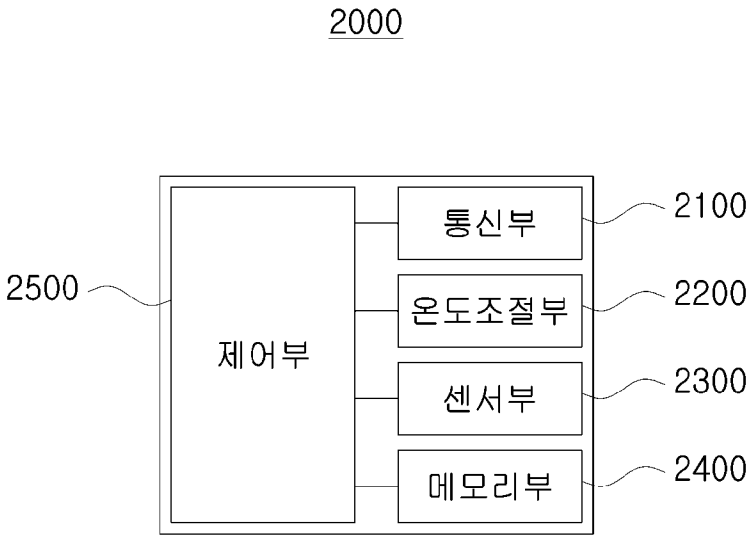



(a)

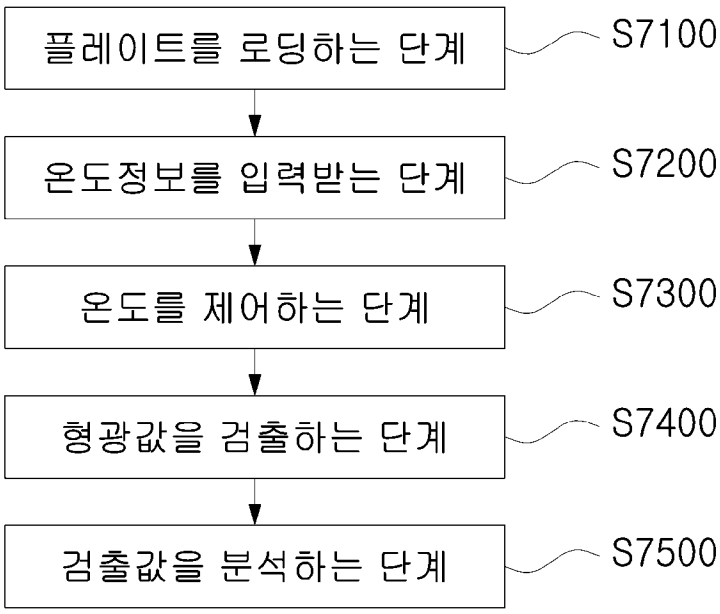



(b)

[도60]



[도61]


플레이트를 로딩하는 단계
S7100
온도정보를 입력받는 단계
S7200
온도를 제어하는 단계
S7300
형광값을 검출하는 단계
S7400
검출값을 분석하는 단계
S7500

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2018/008444

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

*C12Q 1/6883(2018.01)i, C12Q 1/6818(2018.01)i, C12Q 1/6816(2018.01)i*

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/6883; C07H 21/00; C12N 15/11; C12P 19/34; C12Q 1/68; C12Q 1/6818; C12Q 1/6816

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: nucleic acid complex, pair, competitive structure, crystal part, tag part, primer, PCR

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| A | US 2010-0129792 A1 (MAKRIGIORGOS, G.) 27 May 2010<br>See paragraphs [0012]-[0015], [0054]-[0057]; claims 10-20; and figures 3-4. | 1-17 |
| A | US 2002-0197611 A1 (CHAGOVETZ, A. M.) 26 December 2002<br>See the entire document. | 1-17 |
| A | HUANG, Q. et al., "Multiplex Fluorescence Melting Curve Analysis for Mutation Detection with Dual-labeled, Self-quenched Probes", PLoS ONE, April 2011, vol. 6, no. 4, document no. e19206, pages 1-9<br>See the entire document. | 1-17 |
| A | NAVARRO, E. et al., "Real-time PCR Detection Chemistry", Clinica Chimica Acta, 2015, vol. 439, pages 231-250<br>See the entire document. | 1-17 |
| A | OLIVIER, M., "The Invader Assay for SNP Genotyping", Mutation Research, 2005, vol. 573, pages 103-110<br>See the entire document. | 1-17 |
| A | US 2011-0207131 A1 (FU, G.) 25 August 2011<br>See the entire document. | 1-17 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 01 NOVEMBER 2018 (01.11.2018) | **06 NOVEMBER 2018 (06.11.2018)** |
| Name and mailing address of the ISA/KR<br>Korean Intellectual Property Office<br>Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea<br>Facsimile No. +82-42-481-8578 | Authorized officer<br><br>Telephone No. |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.
**PCT/KR2018/008444**

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| A | US 2008-0064033 A1 (HANER, R. et al.) 13 March 2018<br>See the entire document. | 1-17 |
| A | KR 10-2012-0021262 A (SAMSUNG TECHWIN CO., LTD.) 08 March 2018<br>See the entire document. | 1-17 |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**
Information on patent family members

International application No.
**PCT/KR2018/008444**

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member | Publication date |
|---|---|---|---|
| US 2010-0129792 A1 | 27/05/2010 | NONE | |
| US 2002-0197611 A1 | 26/12/2002 | AU 2002-361708 A1 | 22/07/2004 |
| | | WO 2004-059009 A1 | 15/07/2004 |
| US 2011-0207131 A1 | 25/08/2011 | AU 2010-255523 A1 | 19/01/2012 |
| | | AU 2010-255523 B2 | 21/07/2016 |
| | | CA 2738792 A1 | 04/02/2010 |
| | | CA 2738792 C | 22/11/2016 |
| | | CN 102171366 A | 31/08/2011 |
| | | CN 102171366 B | 26/11/2014 |
| | | EP 2307574 A1 | 13/04/2011 |
| | | EP 2307574 B1 | 19/09/2012 |
| | | EP 2438189 A1 | 11/04/2012 |
| | | EP 2438189 B1 | 25/09/2013 |
| | | ES 2396044 T3 | 18/02/2013 |
| | | HK 1161746 A1 | 25/09/2015 |
| | | US 2012-0164645 A1 | 28/06/2012 |
| | | US 2016-0115526 A1 | 28/04/2016 |
| | | US 9234232 B2 | 12/01/2016 |
| | | WO 2010-013017 A1 | 04/02/2010 |
| | | WO 2010-139937 A1 | 09/12/2010 |
| US 2008-0064033 A1 | 13/03/2008 | AU 2005-287517 A1 | 30/03/2006 |
| | | CA 2580212 A1 | 30/03/2006 |
| | | CA 2580212 C | 12/11/2013 |
| | | EP 1799853 A2 | 27/06/2007 |
| | | US 7671184 B2 | 02/03/2010 |
| | | WO 2006-032487 A2 | 30/03/2006 |
| | | WO 2006-032487 A3 | 05/10/2006 |
| KR 10-2012-0021262 A | 08/03/2012 | US 2012-0052502 A1 | 01/03/2012 |

# 국제조사보고서

국제출원번호
**PCT/KR2018/008444**

**A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))**

**C12Q 1/6883(2018.01)i, C12Q 1/6818(2018.01)i, C12Q 1/6816(2018.01)i**

**B. 조사된 분야**

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
C12Q 1/6883; C07H 21/00; C12N 15/11; C12P 19/34; C12Q 1/68; C12Q 1/6818; C12Q 1/6816

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 핵산 복합체, 페어, 경쟁 구조체, 결정부, 태그부, 프라이머, PCR

**C. 관련 문헌**

| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재 | 관련 청구항 |
|---|---|---|
| A | US 2010-0129792 A1 (MAKRIGIORGOS, G.) 2010.05.27<br>단락 [0012]-[0015], [0054]-[0057]; 청구항 10-20; 및 도면 3-4 참조. | 1-17 |
| A | US 2002-0197611 A1 (CHAGOVETZ, A. M.) 2002.12.26<br>전체 문헌 참조. | 1-17 |
| A | HUANG, Q. 등, "Multiplex fluorescence melting curve analysis for mutation detection with dual-labeled, self-quenched probes", PLoS ONE, 2011.04., 6권, 4호, 문헌번호 e19206, 페이지 1-9<br>전체 문헌 참조. | 1-17 |
| A | NAVARRO, E. 등, "Real-time PCR detection chemistry", Clinica Chimica Acta, 2015, 439권, 페이지 231-250<br>전체 문헌 참조. | 1-17 |
| A | OLIVIER, M., "The Invader assay for SNP genotyping", Mutation Research, 2005, 573권, 페이지 103-110<br>전체 문헌 참조. | 1-17 |
| A | US 2011-0207131 A1 (FU, G.) 2011.08.25<br>전체 문헌 참조. | 1-17 |

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

| 국제조사의 실제 완료일 | 국제조사보고서 발송일 |
|---|---|
| 2018년 11월 01일 (01.11.2018) | 2018년 11월 06일 (06.11.2018) |

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
감유림
전화번호 +82-42-481-3516

# 국제조사보고서

국제출원번호
**PCT/KR2018/008444**

C (계속). 관련 문헌

| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재 | 관련 청구항 |
|---|---|---|
| A | US 2008-0064033 A1 (HANER, R. 등) 2008.03.13<br>전체 문헌 참조. | 1-17 |
| A | KR 10-2012-0021262 A (삼성테크윈 주식회사) 2012.03.08<br>전체 문헌 참조. | 1-17 |

# 국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
**PCT/KR2018/008444**

| 국제조사보고서에서 인용된 특허문헌 | 공개일 | 대응특허문헌 | 공개일 |
|---|---|---|---|
| US 2010-0129792 A1 | 2010/05/27 | 없음 | |
| US 2002-0197611 A1 | 2002/12/26 | AU 2002-361708 A1 | 2004/07/22 |
| | | WO 2004-059009 A1 | 2004/07/15 |
| US 2011-0207131 A1 | 2011/08/25 | AU 2010-255523 A1 | 2012/01/19 |
| | | AU 2010-255523 B2 | 2016/07/21 |
| | | CA 2738792 A1 | 2010/02/04 |
| | | CA 2738792 C | 2016/11/22 |
| | | CN 102171366 A | 2011/08/31 |
| | | CN 102171366 B | 2014/11/26 |
| | | EP 2307574 A1 | 2011/04/13 |
| | | EP 2307574 B1 | 2012/09/19 |
| | | EP 2438189 A1 | 2012/04/11 |
| | | EP 2438189 B1 | 2013/09/25 |
| | | ES 2396044 T3 | 2013/02/18 |
| | | HK 1161746 A1 | 2015/09/25 |
| | | US 2012-0164645 A1 | 2012/06/28 |
| | | US 2016-0115526 A1 | 2016/04/28 |
| | | US 9234232 B2 | 2016/01/12 |
| | | WO 2010-013017 A1 | 2010/02/04 |
| | | WO 2010-139937 A1 | 2010/12/09 |
| US 2008-0064033 A1 | 2008/03/13 | AU 2005-287517 A1 | 2006/03/30 |
| | | CA 2580212 A1 | 2006/03/30 |
| | | CA 2580212 C | 2013/11/12 |
| | | EP 1799853 A2 | 2007/06/27 |
| | | US 7671184 B2 | 2010/03/02 |
| | | WO 2006-032487 A2 | 2006/03/30 |
| | | WO 2006-032487 A3 | 2006/10/05 |
| KR 10-2012-0021262 A | 2012/03/08 | US 2012-0052502 A1 | 2012/03/01 |