



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0122525  
(43) 공개일자 2007년12월31일

(51) Int. Cl.

G01J 3/44 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)  
C12M 1/34 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-7025262

(22) 출원일자 2007년10월31일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2007년10월31일

(86) 국제출원번호 PCT/US2006/010978

국제출원일자 2006년03월24일

(87) 국제공개번호 WO 2006/107627

국제공개일자 2006년10월12일

(30) 우선권주장

11/174,755 2005년07월05일 미국(US)

60/667,461 2005년04월01일 미국(US)

(71) 출원인

쓰리엠 이노베티브 프로퍼티즈 컴파니

미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 피.오. 박스 33427 쓰리엠 센터

(72) 발명자

베딩햄 윌리엄

미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 피.오. 박스 33427 쓰리엠센터

루도 와이즈 피터 디.

미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 피.오. 박스 33427 쓰리엠센터

로블레 베리 더블유.

미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 피.오. 박스 33427 쓰리엠센터

(74) 대리인

김영, 양영준, 안국찬

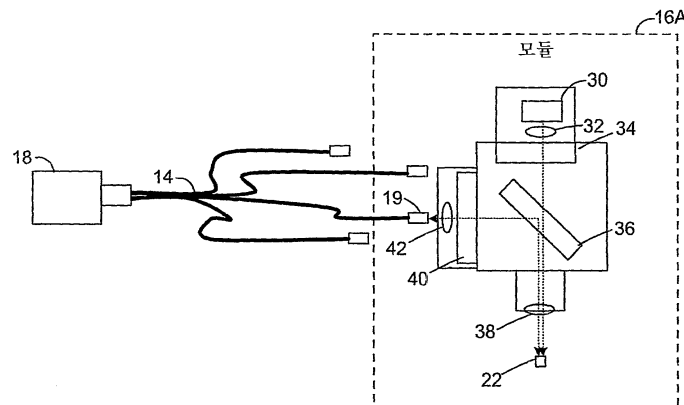
전체 청구항 수 : 총 29 항

(54) 통상의 검출기에 다중 광학 모듈을 결합하는 섬유 다발을 갖는 멀티플렉스 형광 검출 장치

(57) 요약

실시간 PCR(중합효소 연쇄 반응)에서 복수의 목표 시편의 검출을 위한 기술이 설명된다. 예를 들어, 시스템은 데이터 획득 시스템과, 데이터 획득 시스템에 결합된 검출 장치를 포함한다. 검출 장치는 상이한 파장에서 형광 광을 방출하는 복수의 시편을 갖는 복수의 처리 챔버를 갖는 회전 디스크를 포함한다. 장치는 복수의 광학 모듈을 더 포함한다. 각각의 광학 모듈은 상이한 파장에서 시편을 여기시켜서 시편에 의해 방출되는 형광 광을 포착하도록 광학적으로 구성된다. 복수의 광학 모듈에 결합된 광섬유 다발이 광학 모듈로부터 단일 검출기로 형광 광을 이송한다.

대표도 - 도2



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

각각의 시료 및 복수의 형광 염료를 각각 유지하는 복수의 처리 챔버를 갖는 디스크를 회전시키는 모터와,  
각각 상이한 염료에 대해 선택된 광원과, 디스크로부터 방출된 형광 광을 포착하는 렌즈를 포함하는 복수의 광학 모듈과,  
검출기와,  
형광 광을 다중 광학 모듈로부터 검출기로 이송하기 위해 복수의 광학 모듈에 결합된 광섬유 다발을 포함하는 검출 장치.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 각각의 광학 모듈은 여기 필터 및 검출 필터를 더 포함하는 검출 장치.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 검출기에 의해 제공된 데이터를 디스크의 회전의 동기화를 위한 출력 신호에 제공하는 슬롯 센서 트리거를 더 포함하는 검출 장치.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 광섬유 다발은 검출기의 개구에서 각각 종결하는 복수의 광섬유 레그를 포함하는 검출 장치.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 검출기는 광증배관, 증폭 포토다이오드, 애벌란치 포토다이오드(avalanche photodiode) 또는 포토트랜지스터를 포함하는 검출 장치.

### 청구항 6

제1항에 있어서, 광학 모듈의 광원은 발광 다이오드 또는 레이저 다이오드를 포함하는 검출 장치.

### 청구항 7

제1항에 있어서, 장치는 적어도 2개의 광학 모듈을 포함하는 검출 장치.

### 청구항 8

제1항에 있어서, 장치는 적어도 4개의 광학 모듈을 포함하는 검출 장치.

### 청구항 9

제1항에 있어서, 광원은 다중 파장으로 형광 검출을 이용하여 중합효소 연쇄 반응(PCR)의 상이한 시편의 검출을 위해 선택되는 검출 장치.

### 청구항 10

데이터 획득 장치와,  
데이터 획득 장치에 결합된 검출 장치를 포함하고,  
검출 장치는,  
상이한 파장으로 형광 광을 방출하는 복수의 시편을 각각 갖는 복수의 처리 챔버를 갖는 디스크를 회전시키는 모터와,  
각각 시편을 여기시켜서 상이한 파장으로 시편에 의해 방출되는 형광 광을 포착하도록 광학적으로 구성되는 복수의 광학 모듈과,

검출기와,

형광 광을 다중 광학 모듈로부터 검출기로 이송하기 위해 복수의 광학 모듈에 결합된 광섬유 다발을 포함하는 검출 시스템.

#### 청구항 11

제10항에 있어서, 데이터 취득 장치는 광학 모듈과, 시간 오프셋을 기초한 검출 장치로부터의 처리 데이터 사이의 시간 오프셋을 계산하는 검출 시스템.

#### 청구항 12

제10항에 있어서, 각각의 광학 모듈은 여기 필터와, 상이한 파장에 대해 선택된 검출 필터를 더 포함하는 검출 시스템.

#### 청구항 13

제10항에 있어서, 검출 장치는 검출기에 의해 제공된 데이터를 디스크의 회전의 동기화를 위한 출력 신호에 제공하는 슬롯 센서 트리거를 더 포함하는 검출 시스템.

#### 청구항 14

제13항에 있어서, 각각의 광학 모듈은 장치의 각각의 위치 내에 물리적으로 장착될 수 있고,

각각의 광학 모듈은 광학 모듈의 하나 이상의 마킹과 정합하는 가이드를 따라 각각의 위치 내에 삽입될 수 있는 검출 시스템.

#### 청구항 15

제14항에 있어서, 각각의 광학 모듈은 광섬유 다발의 레그에 결합하기 위해 광학 출력 포트를 포함하는 검출 시스템.

#### 청구항 16

제15항에 있어서, 광학 출력 포트는 레그의 나사식 커넥터에 결합하도록 나사식 단부를 갖는 검출 시스템.

#### 청구항 17

제15항에 있어서, 광학 출력 포트는 광섬유 다발이 광학 출력 포트와 활주식으로 결합되고, 결합해제되도록 허용하는 활주가능한 연결부를 갖는 검출 시스템.

#### 청구항 18

제17항에 있어서, 광학 출력 포트에 대해 광섬유 다발을 가압하도록 활주가능한 연결부와 관련된 편위 부재를 더 포함하는 검출 시스템.

#### 청구항 19

제14항에 있어서, 각각의 광학 모듈은 위치로 완전히 삽입될 때 제어 유닛을 전자식으로 결합하기 위해 하나 이상의 전기 접촉부를 갖는 검출 시스템.

#### 청구항 20

제10항에 있어서, 광섬유 다발은 검출기의 개구에서 각각 종결하는 복수의 광섬유 레그를 포함하는 검출 시스템.

#### 청구항 21

제10항에 있어서, 검출기는 광증배관, 증폭 포토다이오드, 애벌란체 포토다이오드 또는 포토트랜지스터를 포함하는 검출 시스템.

## 청구항 22

상이한 파장으로 형광 광을 방출하는 복수의 시편을 각각 갖는 복수의 처리 챔버를 갖는 디스크를 회전시키는 단계와,

복수의 방출되는 형광 광선을 생성하기 위해 복수의 광선으로 디스크를 여기시키는 단계와,

상이한 파장에 대해 광학적으로 구성되는, 복수의 상이한 광학 모듈로 형광 광선을 포착하는 단계와,

광섬유 다발로 복수의 모듈로부터 단일 검출기로 형광 광선을 이송하는 단계와,

검출된 광선을 나타내는 검출기로부터의 신호를 출력하는 단계를 포함하는 방법.

## 청구항 23

제22항에 있어서, 복수의 광선으로 디스크를 여기시키는 단계는 여기 필터를 통해 광선을 보냄으로써 달성될 수도 있고, 형광 광선을 포착하는 단계는 검출 필터를 통해 형광 광선을 보냄으로써 달성될 수도 있는 방법.

## 청구항 24

제22항에 있어서, 검출기에 의해 제공된 데이터를 디스크의 회전의 동기화를 위해 슬롯 센서 트리거로부터의 출력 신호에 제공하는 단계를 더 포함하는 방법.

## 청구항 25

제22항에 있어서, 단일 검출기는 광증배관, 증폭 포토다이오드 또는 포토써미스터(photothermistor)를 포함하는 방법.

## 청구항 26

제22항에 있어서, 복수의 광선은 발광 다이오드 또는 레이저 다이오드에 의해 생성되는 방법.

## 청구항 27

제22항에 있어서, 광선은 적어도 2개의 광학 모듈로부터 생성되고 포착되는 방법.

## 청구항 28

제22항에 있어서, 광선은 적어도 4개의 광학 모듈로부터 생성되고 포착되는 방법.

## 청구항 29

제22항에 있어서, 다중 파장으로 형광 검출을 이용하여 중합효소 연쇄 반응(PCR)의 상이한 시편을 여기시키기 위해 복수의 광선 각각에 대해 파장을 선택하는 단계를 더 포함하는 방법.

## 명세서

### 기술분야

<1> 본 발명은 검정 시스템에 관한 것이고, 특히 형광 염료를 사용한 다중 목표 시편의 검출을 위한 기술에 관한 것이다.

### 배경기술

<2> 광학 디스크 시스템은 자주 다양한 생물학적, 화학적, 또는 생화학적 검정을 수행하도록 사용된다. 전형적인 시스템에서, 회전 가능한 디스크가 혈액, 혈장, 혈청, 소변, 또는 다른 유체와 같은 유체 시편을 저장 및 처리하기 위한 매체로서 사용된다.

<3> 분석의 한 가지 유형은 핵산 서열 분석을 위해 자주 사용되는 중합효소 연쇄 반응(PCR)이다. 특히, PCR은 DNA 서열 분석, 클로닝, 유전자 지도 작성, 및 다른 형태의 핵산 서열 분석을 위해 자주 사용된다.

<4> 일반적으로, PCR은 고온에서 안정되게 유지되는 DNA 복제 효소의 능력에 의존한다. PCR에 3가지 주요 단계로,

변성, 접합, 및 연장이 있다. 변성 중에, 액체 시료가 대략 94℃에서 가열된다. 이러한 처리 중에, 이중-가닥 DNA가 단일 가닥 DNA로 "용융되서" 개방된다. 어닐링(annealing) 중에, 단일 가닥 DNA는 54℃로 냉각된다. 이러한 온도에서, 프라이머가 복제될 DNA 세그먼트의 단부에 결합 또는 "어닐(anneal)"된다. 연장 중에, 시료는 75℃로 가열된다. 이러한 온도에서, 효소 추가 뉴클레오타이드(nucleotides)가 목표 순서에 추가되고, 결국 DNA 주형의 상보적인 복제물이 형성된다. 새로운 DNA 가닥은 다음 순서 또는 "사이클"의 일을 위해 새로운 목표가 된다.

<5> PCR 중에 시료 내의 특정 DNA 및 RNA 서열의 수준을 실시간으로 결정하도록 설계된 복수의 기존 PCR 기기가 있다. 많은 기기들은 형광 염료의 사용에 기초한다. 특히, 많은 종래의 실시간 PCR 기기는 PCR 생성물의 증폭 중에 비례하여 생성되는 형광 신호를 검출한다.

<6> 종래의 실시간 PCR 기기는 상이한 형광 염료의 검출을 위해 상이한 방법을 사용한다. 예를 들어, 몇몇 종래의 PCR 기기는 각각의 염료를 분광 분해하기 위한 필터 휠을 구비한 백색 광원을 포함한다. 백색 광원은 수천 시간의 최대 사용 수명을 갖는 텅스텐 할로겐 전구이다. 필터 휠은 전형적으로 마모되기 쉬운 복잡한 전기-기계식 부품이다.

### 발명의 상세한 설명

<7> 일반적으로, 본 발명은 멀티플렉스 PCR로 본원에서 불리는, 실시간 PCR(중합효소 연쇄 반응)에서 다중 목표 시편의 검출을 위한 기술에 관한 것이다. 특히, 복수의 광학 모듈을 포함하는 멀티플렉스 형광 검출 장치가 설명된다. 각각의 광학 모듈은 별개의 파장 대역에서의 각각의 형광 염료의 검출을 위해 최적화될 수 있다. 바꾸어 말하면, 광학 모듈은 상이한 파장에서 다중 평행 반응을 호출하도록 사용될 수 있다. 반응은 예를 들어 회전 디스크의 단일 처리 챔버(예를 들어, 웰) 내에서 발생할 수 있다. 추가적으로, 각각의 광학 모듈은 장치의 검출 용량을 신속하게 변화시키기 위해 제거 가능할 수 있다.

<8> 복수의 광학 모듈은 다중 분지 광섬유 다발에 의해 단일 검출기에 광학적으로 결합된다. 이러한 방식으로, 멀티플렉싱은 복수의 광학 모듈과 단일 검출기, 예를 들어 광증배관(photomultiplier tube)을 사용함으로써 달성된다. 각각의 광학 모듈 내의 광학 구성요소들은 감도를 최대화하고, 분광 혼선, 즉 다른 광학 모듈 상의 하나의 염료로부터의 신호의 양을 최소화하도록, 선택될 수 있다.

<9> 일 실시예에서, 장치는 각각의 시료 및 복수의 형광 염료를 각각 유지하는 복수의 처리 챔버를 갖는 회전 디스크를 포함한다. 장치는 복수의 광학 모듈을 더 포함하고, 각각의 광학 모듈은 상이한 염료에 대해 선택된 광원을 포함한다. 광학 모듈의 광원은 회전 디스크의 상이한 구역을 여기하고, 디스크로부터 방출되는 형광 광을 포착한다. 광섬유 다발은 복수의 광학 모듈로부터 단일 검출기로 형광 광을 이송하기 위해 복수의 광학 모듈에 결합된다.

<10> 다른 실시예에서, 시스템은 데이터 획득 장치를 포함한다. 시스템은 데이터 획득 장치에 결합된 검출 장치를 더 포함하고, 검출 장치는 상이한 파장에서 형광 광을 방출하는 복수의 시편을 각각 갖는 복수의 처리 챔버를 갖는 회전 디스크와, 검출기와, 복수의 광학 모듈로부터 검출기로 형광 광을 이송하도록 복수의 광학 모듈에 결합되는 광섬유 다발을 포함하고, 각각의 광학 모듈은 상이한 파장에서 시편을 여기시켜서 시편에 의해 방출되는 형광 광을 포착하도록 광학적으로 구성된다.

<11> 추가의 실시예에서, 방법은 회전시키는 단계와, 복수의 방출되는 형광 광선을 생성하도록 복수의 광선으로 디스크를 여기시키는 단계와, 복수의 상이한 광학 모듈에 의해 형광 광선을 포착하는 단계와, 광섬유 다발에 의해 복수의 모듈로부터 단일 검출기로 형광 광선을 이송하는 단계와, 형광 광선을 나타내는 검출기로부터의 신호를 출력하는 단계를 포함하고, 광학 모듈은 상이한 파장에 대해 광학적으로 구성된다.

<12> 추가의 실시예에서, 방법은 상이한 파장에서 형광 광을 방출하는 복수의 시편을 각각 갖는 복수의 처리 챔버를 갖는 디스크를 회전시키는 단계와, 복수의 방출되는 형광 광선을 생성하기 위해 복수의 광선으로 디스크를 여기시키는 단계와, 복수의 상이한 광학 모듈에 의해 형광 광선을 포착하는 단계와, 광섬유 다발에 의해 복수의 모듈로부터 단일 검출기로 형광 광선을 이송하는 단계와, 형광 광선을 나타내는 검출기로부터의 신호를 출력하는 단계를 포함하고, 광학 모듈은 상이한 파장에 대해 광학적으로 구성된다.

<13> 장치가 실시간 PCR을 수행할 수 있지만, 장치는 임의의 유형의 생물학적 반응이 발생할 때, 그를 분석할 수 있다. 장치는 각각의 반응의 온도를 독립적으로 또는 선택된 그룹으로서 조절할 수 있고, 장치는 2개의 챔버들 사이에 밸브를 포함함으로써 다단 반응을 지원할 수 있다. 이러한 밸브는 에너지 분출을 밸브로 송출하는 레이

저의 사용을 통해 반응 중에 개방될 수 있다.

- <14> 몇몇 실시예에서, 장치는 원격 장소 또는 임시 실험실에서의 작동을 허용하도록 휴대형일 수 있다. 장치는 반응을 실시간으로 분석하기 위한 데이터 획득 컴퓨터를 포함할 수 있거나, 장치는 유선 또는 무선 통신 인터페이스를 통해 다른 장치로 데이터를 전달할 수 있다.
- <15> 본 발명의 하나 이상의 실시예의 설명이 첨부된 도면 및 아래의 설명에서 설명된다. 본 발명의 다른 특징, 목적, 및 장점은 설명, 도면, 및 청구범위로부터 명백해질 것이다.

## 실시예

- <25> 도1은 멀티플렉스 형광 검출 장치(10)의 예시적인 실시예를 도시하는 블록도이다. 도시된 예에서, 장치(10)는 4가지 상이한 염료의 광학 검출을 위한 4개의 "채널"을 제공하는 4개의 광학 모듈(16)을 갖는다. 특히, 장치(10)는 임의의 주어진 시간에 회전 디스크(13)의 상이한 영역들을 여기시키고, 염료로부터 상이한 파장에서 방출된 형광 광 에너지를 수집하는 4개의 광학 모듈(16)을 갖는다. 결과적으로, 광학 모듈(16)은 시료(22) 내에서 발생하는 다중 평행 반응을 호출하도록 사용될 수 있다.
- <26> 다중 반응들은 예를 들어 회전 디스크(13)의 단일 챔버 내에서 동시에 발생할 수 있다. 각각의 광학 모듈(16)은 시료(22)를 호출하고, 디스크(13)가 회전할 때 상이한 파장에서 형광 광 에너지를 수집한다. 예를 들어, 모듈(16) 내의 여기원들은 대응하는 파장에서 데이터를 수집하기에 충분한 기간 동안 순차적으로 활성화될 수 있다. 즉, 광학 모듈(16A)이 제1 반응에 대응하는 제1 염료에 대해 선택된 제1 파장 범위에서 데이터를 수집하기 위한 기간 동안 활성화될 수 있다. 여기원은 그 다음 불활성화될 수 있고, 모듈(16B) 내의 여기원이 제2 반응에 대응하는 제2 염료에 대해 선택된 제2 파장 범위에서 시료(22)를 호출하도록 활성화될 수 있다. 이러한 공정은 데이터가 모든 광학 모듈(16)로부터 포착될 때까지 계속된다. 일 실시예에서, 광학 모듈(16) 내의 각각의 여기원은 정상 상태에 도달하기 위해 대략 2초의 초기 기간 동안 활성화되고, 디스크(13)의 10 - 50 회전 동안 지속되는 호출 기간이 뒤따른다. 다른 실시예에서, 여기원은 더 짧거나 (예를 들어, 1 또는 2 ms) 또는 더 긴 기간 동안 시퀀싱될 수 있다. 몇몇 실시예에서, 디스크(13)가 회전하면서, 하나 이상의 광학 모듈이 시료(22)의 동시 호출을 위해 동시에 활성화될 수 있다.
- <27> 단일 시료(22)가 도시되어 있지만, 디스크(13)는 시료를 유지하는 복수의 챔버를 포함할 수 있다. 광학 모듈(16)은 상이한 파장에서 상이한 챔버들 중 일부 또는 전부를 호출할 수 있다. 일 실시예에서, 디스크(13)는 디스크(13)의 원주부 둘레에 96개의 챔버 공간을 포함한다. 96-챔버 디스크 및 4개의 광학 모듈(16)에서, 장치(10)는 384개의 상이한 시편으로부터 데이터를 획득할 수 있다.
- <28> 일 실시예에서, 광학 모듈(16)은 다양한 파장에서 상업적으로 이용 가능하며 긴 사용 수명(예를 들어, 100,000 시간 이상)을 갖는 저렴한 고효율 발광 다이오드(LED)인 여기원을 포함한다. 다른 실시예에서, 종래의 할로젠 전구 또는 수은 램프가 여기원으로서 사용될 수 있다.
- <29> 도1에 도시된 바와 같이, 각각의 광학 모듈(16)은 광섬유 다발(14)의 하나의 레그에 결합될 수 있다. 광섬유 다발(14)은 감도의 손실이 없는 광학 모듈(16)로부터의 형광 신호의 수집을 위한 유연한 메커니즘을 제공한다. 일반적으로, 광섬유 다발은 나란히 놓이고 단부에서 서로 결합되고 가요성 보호 자켓 내에 봉입된 복수의 광섬유를 포함한다. 대안적으로, 광섬유 다발(14)은 공통 단부를 갖는 유리 또는 플라스틱의, 더 적은 개수의 직경이 큰 개별 다중 모드 섬유를 포함할 수 있다. 예를 들어, 4-광학 모듈 장치에 대해, 광섬유 다발(16)은 1 mm 코어 직경을 각각 갖는 4개의 개별 다중 모드 섬유를 포함할 수 있다. 다발의 공통 단부는 서로 결합된 4개의 섬유를 포함한다. 이러한 예에서, 검출기(18)의 개구는 8 mm일 수 있고, 이는 4개의 섬유에 결합되기에 충분한 것 이상이다.
- <30> 이러한 예에서, 광섬유 다발(14)은 광학 모듈(16)들을 단일 검출기(18)에 결합시킨다. 광섬유는 광학 모듈(16)에 의해 수집된 형광 광을 운반하며, 포착된 광을 검출기(18)로 효율적으로 송출한다. 일 실시예에서, 검출기(18)는 광증배관이다. 다른 실시예에서, 검출기는 단일 검출기에서, 각각의 광섬유마다 하나씩, 복수의 광증배기 요소를 포함할 수 있다. 다른 실시예에서, 하나 이상의 고체 검출기가 사용될 수 있다.
- <31> 단일 검출기(18)의 사용은 단일 검출기만이 사용될 필요가 있는 점에서 최소의 비용을 유지하면서, 고도로 민감하며 저렴할 수 있는 검출기(예를 들어, 광증배기)의 사용을 허용하는 점에서 유리할 수 있다. 단일 검출기가 본원에서 언급되지만, 하나 이상의 검출기가 더 많은 수의 염료를 검출하기 위해 포함될 수 있다. 예를 들어, 4개의 추가의 광학 모듈(16) 및 제2 검출기가 하나의 디스크로부터 방출되는 8개의 상이한 파장의 검출을 허용



하도록 시스템에 추가될 수 있다.

- <32> 광학 모듈(16)은 장치로부터 제거 가능하고, 상이한 파장에서의 호출에 대해 최적화된 다른 광학 모듈과 쉽게 교환 가능하다. 예를 들어, 광학 모듈(16)은 하우징의 위치 내에 물리적으로 장착될 수 있다. 각각의 광학 모듈(16)은 광학 모듈의 하나 이상의 표시부(예를 들어, 안내 핀)와 정합하는 가이드(예를 들어, 리세스된 홈)를 따라 하우징의 각각의 위치 내에 쉽게 삽입될 수 있다. 각각의 광학 모듈은 광섬유 다발(14)의 하나의 레그에 결합하기 위한 (도2에 도시된) 광학 출력 포트를 포함한다. 광학 출력 포트는 레그의 나사식 커넥터에 결합되는 나사식 단부를 가질 수 있다. 대안적으로, 광섬유 다발(14)이 활주식으로 광학 출력 포트에 결합되고, 결합 해제되도록 허용하는 "신속 연결구(quick-connect)"의 형태가 사용될 수 있다 (예를 들어, o-링 및 포착 핀을 갖는 활주식 연결부). 또한, 각각의 광학 모듈(16)은 완전히 삽입되었을 때, 제어 유닛(23)에 전기적으로 결합하기 위한 하나 이상의 전기 접촉부를 가질 수 있다. 회전 디스크(13)와 함께 사용하기 위한 예시적인 제거가 가능한 광학 모듈은 2005년 7월 5일자로 출원된 발명의 명칭이 "제거가능한 광학 모듈을 가진 멀티플렉스 형광 검출 장치"인 미국 특허 출원 제11/174,754호에 설명되어 있다.
- <33> 장치(10)의 모듈형 구조는 장치가 멀티플렉스 PCR과 같은 주어진 분석 환경에서 사용되는 모든 형광 염료에 대해 쉽게 적응되도록 허용한다. 장치(10) 내에서 사용될 수 있는 다른 화학 분석은 인베이더(Invader: 위스콘신주 매디슨 소재의 써드 웨이브(Third Wave)), 전자 매개식 증폭(캘리포니아주 샌디에고 소재의 진프로브(GenProbe)), 형광 표지 효소 결합 면역 흡수 검정(ELISA) 또는 형광 동소 보합법(FISH)을 포함한다. 장치(10)의 모듈형 구조는 각각의 광학 모듈(16)의 감도가 멀티플렉스 반응에서 대응하는 염료를 선택적으로 여기시키고 검출하기 위해 작은 특정 목표 파장 범위에 대해 (도시되지 않은) 대응하는 여기원과 여기 및 검출 필터를 선택함으로써 최적화될 수 있는 점에서 다른 장점을 제공할 수 있다.
- <34> 예시의 목적으로, 장치(10)는 4색 멀티플렉스 배열로 도시되어 있지만, 더 많거나 더 적은 채널이 적절한 광섬유 다발(14)과 함께 사용될 수 있다. 이러한 모듈형 설계는 사용자가 단순히 다른 광학 모듈(16)을 기부(20)에 추가하고 광섬유 다발(14)의 하나의 레그를 새로운 광학 모듈 내로 삽입함으로써, 장치(10)를 현장에서 쉽게 업그레이드하도록 허용한다. 광학 모듈(16)은 광학 모듈을 식별하고 보정 데이터를 장치(10)의 내부 제어 모듈 또는 다른 내부 전자 장치(예를 들어, 제어 유닛(23)) 내로 다운로드하는 통합형 전자 장치를 가질 수 있다.
- <35> 도1의 예에서, 시료(22)는 제어 유닛(23)의 제어 하에서 회전 플랫폼 상에 장착된 디스크(13)의 챔버 내에 담긴다. 슬롯 센서 트리거(27)가 디스크 회전 중에 데이터 획득을 챔버 위치와 동기화하기 위해 제어 유닛(23) 및 데이터 획득에 의해 이용되는 출력 신호를 제공한다. 슬롯 센서 트리거(27)는 기계식 또는 광학식 센서일 수 있다. 예를 들어, 센서는 광선을 디스크(13)로 보내는 레이저일 수 있고, 제어 유닛(23)은 디스크 상의 챔버의 위치를 찾기 위해 디스크(13) 내의 슬롯을 통과하는 광을 검출하는 센서를 사용한다. 광학 모듈(16)은 회전 플랫폼(25) 위에 물리적으로 장착될 수 있다. 결과적으로, 광학 모듈(16)은 한번에 상이한 챔버들과 중첩된다.
- <36> 검출 장치(10)는 디스크(13) 상의 시료(22)의 온도를 조절하기 위한 (도시되지 않은) 가열 요소를 또한 포함한다. 가열 요소는 반사 봉입체 내에 포함된 원통형 할로겐 전구를 포함할 수 있다. 반사 챔버는 전구로부터의 방사선을 디스크(13)의 방사상 섹션 상으로 집광하도록 형성된다. 일반적으로, 디스크(13)의 가열 영역은 디스크(13)가 회전할 때, 링을 닦을 것이다. 이러한 실시예에서, 반사 봉입체의 형상은 정밀한 집광을 가능케 하는 타원형 및 구형의 기하학적 형상들의 조합일 수 있다. 다른 실시예에서, 반사 봉입체는 상이한 형상일 수 있거나, 전구는 더 큰 면적을 넓게 조사할 수 있다. 다른 실시예에서, 반사 봉입체는 전구로부터의 방사선을 시료(22)를 담은 단일 처리 챔버와 같은, 디스크(13)의 단일 영역 상으로 집광하도록 형성될 수 있다.
- <37> 몇몇 실시예에서, 가열 요소는 온도를 조절하기 위해, 공기를 가열하여 고온 공기를 하나 이상의 시료 위로 이동시킬 수 있다. 추가적으로, 시료는 디스크에 의해 직접 가열될 수 있다. 이러한 경우에, 가열 요소는 플랫폼(25) 내에 위치되어, 디스크(13)에 열적으로 결합될 수 있다. 가열 요소 내의 전기 저항이 제어 유닛(23)에 의해 제어되면서 디스크의 선택된 영역을 가열할 수 있다. 예를 들어, 영역은 하나 이상의 챔버, 가능하게는 전체 디스크를 포함할 수 있다. 회전 디스크(13)와 함께 사용하기 위한 예시적인 가열 요소는 2005년 7월 5일자로 출원된 발명의 명칭이 "회전식 멀티플렉스 형광 검출 장치용 가열 요소"인 미국 특허 출원 제11/174,691호에 설명되어 있다.
- <38> 대안적으로 또는 추가적으로, 장치(10)는 (도시되지 않은) 냉각 구성요소를 또한 포함할 수 있다. 팬이 장치(10) 내에 포함되어, 냉각 공기, 즉 실온 공기를 디스크(13)로 공급한다. 냉각은 시료의 온도를 적절하게 조절하고, 실험이 완료된 후에 시료를 저장하기 위해 필요할 수 있다. 다른 실시예에서, 냉각 구성요소는 플랫폼(25)이 필요할 때 그의 온도를 감소시킬 수 있으므로, 플랫폼(25)과 디스크(13) 사이의 열적 결합을 포함할 수

있다. 예를 들어, 몇몇 생물학적 시료는 효소 활성 또는 단백질 변성을 감소시키기 위해 4℃에서 저장될 수 있다.

<39> 검출 장치(10)는 또한 처리 챔버 내에 담긴 반응 시편을 제어할 수 있다. 예를 들어, 일부 시편을 처리 챔버 내에 투입하여 하나의 반응을 발생시키고, 이후에 제1 반응이 종결되면 다른 시편을 시료에 추가하는 것이 유익할 수 있다. 레이저 복원식 밸브 시스템이 내측 유지 챔버를 처리 챔버로부터 분리하는 밸브를 제어하기 위해 추가될 수 있고, 이에 의해 디스크(13)의 회전 중에 챔버에 대한 시편의 추가를 제어한다. 이러한 레이저 복원식 밸브 시스템은 광학 모듈(16)들 중 하나 내에 또는 광학 모듈로부터 분리되어 위치될 수 있다. 디스크(13) 하부의 레이저 바로 아래에, 디스크(13)에 대해 레이저를 위치 설정하기 위한 레이저 센서가 있을 수 있다.

<40> 일 실시예에서, 레이저는 적어도 2가지 출력 설정을 갖는 근적외선(NIR) 레이저이다. 저출력 설정 하에서, 레이저 위치 설정 센서는 디스크(13) 내의 슬롯을 통해 NIR 광을 인식함으로써 레이저가 챔버 밸브 위의 제 위치에 있다고 표시할 수 있다. 레이저가 제 위치에 있으면, 제어 유닛(23)은 밸브를 가열하여 개방하기 위해, 레이저가 고출력 에너지의 짧은 분출을 출력하도록 지시한다. 개방된 밸브는 그 다음 내측 유체 시편이 내부 챔버로부터 외부 처리 챔버로 유동하도록 허용하여, 제2 반응을 수행할 수 있다. 몇몇 실시예에서, 디스크(13)는 복수의 반응을 순차적으로 발생시키기 위한 복수의 밸브를 포함할 수 있다. 레이저 및 레이저 센서의 하나 이상의 세트가 또한 복수의 챔버 밸브를 이용할 때 사용될 수 있다. 회전 디스크(13)와 함께 사용하기 위한 예시적인 레이저 복원식 밸브 제어 시스템은 2005년 7월 5일자로 출원된 발명의 명칭이 "회전식 멀티플렉스 형광 검출 장치용 밸브 제어 시스템"인 미국 특허 출원 제11/174,957호에 설명되어 있다.

<41> 데이터 획득 시스템(21)은 각각의 염료에 대해 장치(10)로부터 데이터를 순차식으로 또는 병행식으로 수집할 수 있다. 일 실시예에서, 데이터 획득 시스템(21)은 광학 모듈(16)로부터 데이터를 순차식으로 수집하여, 슬롯 센서 트리거(27)로부터 측정된 각각의 광학 모듈에 대한 트리거 지연에 의한 공간적 중첩을 교정한다.

<42> 장치(10)에 대한 한 가지 용도는 실시간 PCR이지만, 본원에서 설명되는 기술은 복수의 파장에서의 형광 검출을 이용하는 다른 플랫폼으로 확장될 수 있다. 장치(10)는 가열 요소를 이용하는 신속한 열 사이클과, 핵산의 분리, 증폭, 및 검출을 위한 원심 구동식 미세 유체 역학을 조합할 수 있다. 멀티플렉스 형광 검출을 사용함으로써, 복수의 목표 시편이 병렬식으로 검출 및 분석될 수 있다.

<43> 실시간 PCR에 대해, 3가지 일반적인 기술 중 하나에서 증폭량을 측정하기 위해 형광이 사용된다. 제1 기술은 이중 가닥 DNA에 결합될 때 형광이 증가하는, Sybr Green(오레곤주 유진 소재의 몰레큘라 프로브즈(Molecular Probes))과 같은 염료의 사용이다. 제2 기술은 증폭 목표 서열에 결합될 때 형광이 변화하는 형광 표지 탐침(혼성화 탐침, 헤어핀 탐침 등)을 사용한다. 이러한 기술은 이중 나선 DNA 결합 염료를 사용하는 것과 유사하지만, 탐침이 목표 서열의 특정 부위에만 결합하기 때문에 더욱 특이적이다. 제3 기술은 중합 효소의 핵산말단 분해효소 활성이 PCR의 연장 단계 중에 탐침으로부터 억제자 분자를 절단하여, 이를 형광 활성으로 만드는, 가수분해 탐침(캘리포니아주 포스터 시티 소재의 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems)의 타크만(Taqman™))의 사용이다.

<44> 각각의 접근에서, 형광은 증폭 목표 농도에 선형으로 비례한다. 데이터 획득 시스템(21)은 증폭을 거의 실시간으로 관찰하기 위해 PCR 반응 중에 검출기(18)로부터의 (또는 선택적으로 제어 유닛(23)에 의해 채취되어 전달되는) 출력 신호를 측정한다. 멀티플렉스 PCR에서, 복수의 목표는 독립적으로 측정되는 상이한 염료로 표시된다. 일반적으로 말하자면, 각각의 염료는 상이한 흡수 및 방출 스펙트럼을 가질 것이다. 이러한 이유로, 광학 모듈(16)은 상이한 파장에서 시료(22)의 호출을 위해 광학적으로 선택된 여기원, 렌즈, 및 관련 필터를 가질 수 있다.

<45> 본 발명과 관련하여 사용되도록 적응된 적합한 구성 기술 또는 재료의 몇몇 예가 예를 들어 공동 양도된, 발명의 명칭이 "향상된 시료 처리 장치 시스템 및 방법"인 미국 특허 제6,734,401호(베딩햄 등) 및 발명의 명칭이 "시료 처리 장치"인 미국 특허 출원 공개 제2002/0064885호에서 설명될 수 있다. 다른 사용 가능한 장치 구성은 예를 들어 2000년 6월 28일자로 출원된 발명의 명칭이 "열 처리 장치 및 방법"인 미국 가특허 출원 제60/214,508호와, 2000년 6월 28일자로 출원된 발명의 명칭이 "시료 처리 장치, 시스템, 및 방법"인 미국 가특허 출원 제60/214,642호와, 2000년 10월 2일자로 출원된 발명의 명칭이 "시료 처리 장치, 시스템, 및 방법"인 미국 가특허 출원 제60/237,072호와, 2001년 1월 6일자로 출원된 발명의 명칭이 "시료 처리 장치, 시스템, 및 방법"인 미국 가특허 출원 제60/260,063호와, 2001년 4월 18일자로 출원된 발명의 명칭이 "향상된 시료 처리 장치, 시스템, 및 방법"인 미국 가특허 출원 제60/284,637호와, 발명의 명칭이 "시료 처리 장치 및 캐리어"인 미국 특허 출원 공개 제2002/0048533호에서 발견할 수 있다. 다른 가능한 장치 구성은 예를 들어 발명의 명칭이 "시료



처리 장치의 원심 충전"인 미국 특허 제6,627,159호(베딩햄 등)에서 발견할 수 있다.

- <46> 도2는 도1의 임의의 광학 모듈(16)에 대응할 수 있는 예시적인 광학 모듈(16A)을 도시하는 개략도이다. 이러한 예에서, 광학 모듈(16A)은 고출력 여기원인 LED(30), 시준 렌즈(32), 여기 필터(34), 이색성 필터(36), 집광 렌즈(38), 검출 필터(40), 및 광섬유 다발(14)의 하나의 레그에 결합된 광학 출력 포트(19)로 형광을 집광하기 위한 렌즈(42)를 포함한다.
- <47> 결과적으로, LED(30)로부터의 여기 광은 시준 렌즈(32)에 의해 시준되고, 여기 필터(34)에 의해 필터링되고, 이색성 필터(36)를 통해 투과되고, 집광 렌즈(38)에 의해 시료(22) 내로 집광된다. 시료에 의해 방출된 결과적인 형광은 동일한 집광 렌즈(38)에 의해 수집되고, 이색성 필터(36)에서 반사되고, 광학 출력 포트(19)에 결합된 광섬유 다발(14)의 하나의 레그 내로 집광되기 전에 검출 필터(40)에 의해 필터링된다. 광섬유 다발(14)은 그 다음 광을 검출기(18)로 전달한다.
- <48> LED(30), 시준 렌즈(32), 여기 필터(34), 이색성 필터(36), 집광 렌즈(38), 검출 필터(40), 및 렌즈(42)는 광학 모듈(16A)이 사용되어야 하는 멀티플렉스 염료의 특정 흡수 및 방출 대역에 기초하여 선택된다. 이러한 방식으로, 복수의 광학 모듈(16)은 상이한 염료를 목표로 하도록 구성되어 장치(10) 내에 탑재될 수 있다.
- <49> 표1은 다양한 형광 염료에 대해 4-채널 멀티플렉스 형광 검출 장치(10) 내에서 사용될 수 있는 예시적인 구성요소들을 나열한다. FAM, HEX, JOE, VIC, TET, ROX는 캘리포니아주 놀워 소재의 아플레라(Applera)의 상표이다. Tamra는 캘리포니아주 산 호세 소재의 아나스펙(AnaSpec)의 상표이다. Texas Red는 몰레큘라 프로브즈의 상표이다. Cy 5는 영국 버킹엄셔셔 소재의 아머샴(Amersham)의 상표이다.

표 1

<50>	광학 모듈	LED	여기 필터	검출 필터	염료
	1	청색	475 nm	520 nm	FAM, Sybr Green
	2	녹색	530 nm	555 nm	HEX, JOE, VIC, TET
	3	황색	580 nm	610 nm	TAMRA, ROX, Texas Red
	4	적색	630 nm	670 nm	Cy 5

- <51> 설명된 모듈형 멀티플렉스 검출 구조의 한 가지 장점은 매우 다양한 염료에 대한 검출을 최적화하는데 있어서의 유연성이다. 개념적으로는, 사용자는 N개가 한번에 사용될 수 있는, 필요한 대로 장치(10) 내로 끼워질 수 있는 여러 상이한 광학 모듈의 뱅크를 가질 수 있고, 여기서 N은 장치에 의해 지원되는 채널의 최대 개수이다. 그러므로, 장치(10) 및 광학 모듈(16)은 임의의 형광 염료 및 PCR 검출 방법과 함께 사용될 수 있다. 더 큰 광섬유 다발이 더 많은 수의 검출 채널을 지원하도록 사용될 수 있다. 또한, 복수의 광섬유 다발이 복수의 검출기와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 2개의 4-분지형 광섬유 다발이 8개의 광학 모듈(16) 및 2개의 검출기(18)와 함께 사용될 수 있다.
- <52> 도3은 멀티플렉스 형광 검출 장치(10)의 기능 블록도이다. 특히, 도3은 장치 구성요소들 사이의 전기적 연결 및 구성요소들을 통한 광의 일반적인 경로를 표시한다. 도3의 예에서, 장치(10)는 적어도 하나의 프로세서(44) 또는 다른 제어 로직, 메모리(46), 디스크 모터(48), 광원(30), 여기 필터(34), 렌즈(38), 검출 필터(40), 수집 렌즈(42), 검출기(18), 슬롯 센서 트리거(27), 통신 인터페이스(50), 가열 요소(54), 레이저(55), 및 전원(52)을 포함한다. 도3에 도시된 바와 같이, 렌즈(38) 및 수집 렌즈(42)는 다른 구성요소에 전기적으로 연결될 필요가 없다. 더욱이, 광원(30), 필터(34, 40), 렌즈(38), 및 수집 렌즈(42)는 하나의 광학 모듈(16)을 나타낸다. 도3에 도시되지는 않았지만, 장치(10)는 전술한 바와 같이, 추가의 광학 모듈(16)을 포함할 수 있다. 그러한 경우에, 각각의 추가 광학 모듈은 도3에 도시된 것과 실질적으로 유사하게 배열된 구성요소들을 포함할 수 있다.
- <53> 광은 도3의 여러 구성요소들을 통한 특정 경로를 따른다. 광이 광원(30)에 의해 방출되면, 이는 여기 필터(34)로 진입하고, 분리된 파장의 광으로서 떠난다. 이는 그 다음 렌즈(38)를 통과하여, 검출 장치(10)를 떠나고 (도시되지 않은) 처리 챔버 내의 시료(22)를 여기시킨다. 시료(22)는 상이한 파장에서 형광에 의해 응답하고, 이 때 이러한 광은 렌즈(38)로 진입하고, 검출 필터(40)에 의해 필터링된다. 필터(40)는 시료(22)로부터 원하는 형광 이외의 파장의 배경 광을 제거한다. 잔여 광은 수집 렌즈(42)를 통해 보내져서, 검출기(18)에 의해 검출되기 전에 광섬유 다발(14)의 레그로 진입한다. 검출기(18)는 이후에 수신된 광 신호를 증폭시킨다.

- <54> 프로세서(44), 메모리(46), 및 통신 인터페이스(50)는 제어 유닛(23)의 일부일 수 있다. 프로세서(44)는 디스크(13)를 통해 형광 정보를 수집하거나 유체를 이동시키기 위해 필요한 대로, 디스크(13)를 회전시키도록 디스크 모터(48)를 제어한다. 프로세서(44)는 회전 중에 디스크(13) 상의 챔버의 위치를 식별하고, 디스크로부터 수신되는 형광 데이터의 획득을 동기화하기 위해, 슬롯 센서 트리거(27)로부터 수신되는 디스크 위치 정보를 사용할 수 있다.
- <55> 프로세서(44)는 또한 광학 모듈(16) 내의 광원(30)이 언제 켜지고 꺼질지를 제어할 수 있다. 몇몇 실시예에서, 프로세서(44)는 여기 필터(34) 및 검출 필터(40)를 제어한다. 조사되는 시료에 따라, 프로세서(44)는 상이한 파장의 여기 광이 시료에 도달하거나 상이한 파장의 형광이 수집 렌즈(42)에 도달하도록 허용하도록 필터를 변화시킬 수 있다. 몇몇 실시예에서, 하나 또는 2개의 필터가 특정 광학 모듈(16)의 광원(30)에 대해 최적화되어, 프로세서(44)에 의해 변화되지 않을 수 있다.
- <56> 수집 렌즈(42)는 수집 렌즈로부터 검출기(18)로의 광에 대한 광학 경로를 제공하는 광섬유 다발(14)의 하나의 레그에 결합된다. 프로세서(44)는 검출기(18)의 작동을 제어할 수 있다. 검출기(18)가 모든 광을 일정하게 검출할 수 있지만, 몇몇 실시예는 다른 획득 모드를 이용할 수 있다. 프로세서(44)는 검출기(18)가 언제 데이터를 수집할지를 결정할 수 있고, 검출기(18)의 다른 구성 파라미터를 프로그램식으로 설정할 수 있다. 일 실시예에서, 검출기(18)는 수집 렌즈(42)에 의해 제공되는 광으로부터 형광을 포착하는 광증배관이다. 응답식으로, 검출기(18)는 수신된 광을 나타내는 출력 신호(43)(예를 들어, 아날로그 출력 신호)를 생성한다. 도3에 도시되지는 않았지만, 검출기(18)는 장치(10)의 다른 광학 모듈(16)로부터 동시에 광을 수신할 수 있다. 이러한 경우에, 출력 신호(19)는 다양한 광학 모듈(16)로부터 검출기(18)에 의해 수신된 광학 입력의 조합을 전기적으로 나타낸다.
- <57> 프로세서(44)는 또한 장치(10)로부터의 데이터 흐름을 제어할 수 있다. 검출기(18)로부터 채취된 형광, 가열 요소(54) 및 관련 센서로부터의 시료의 온도, 및 디스크 회전 정보와 같은 데이터가 분석을 위해 메모리(46) 내로 저장될 수 있다. 프로세서(44)는 마이크로 프로세서, 디지털 신호 프로세서(DSP), 주문형 반도체(ASIC), 현장 프로그램 가능 게이트 어레이(FPGA), 또는 다른 디지털 로직 회로 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 또한, 마이크로 프로세서(44)는 메모리(46)와 같은 컴퓨터 판독 가능 매체 상에 저장된 펌웨어, 소프트웨어, 또는 이들의 조합에 대한 작동 환경을 제공한다.
- <58> 레이저(55)는 내부 챔버의 내용물이 디스크(13) 상의 다른 챔버, 예를 들어 처리 챔버로 이동하도록 허용하는 밸브 개방을 제어하도록 사용된다. 프로세서(44) 및 지원 하드웨어는 디스크(13)에 포함된 특정 밸브를 선택적으로 개방하도록 레이저(55)를 구동한다. 프로세서(44)는 원하는 밸브에 대한 레이저의 위치를 결정하기 위해 디스크(13) 아래의 레이저 센서와 상호 작용할 수 있다. 제 위치에 있을 때, 프로세서(44)는 밸브를 목표로 한 에너지의 분출을 생성하도록 레이저(55)를 유도하기 위한 신호를 출력한다. 몇몇 경우에, 분출은 대략 0.5초 동안 지속될 수 있고, 다른 실시예는 더 짧거나 더 긴 개방 지속 시간을 포함할 수 있다. 레이저 에너지 및 펄스 지속 시간은 레이저(55)와의 통신을 통해 프로세서(44)에 의해 제어될 수 있다.
- <59> 프로세서(44)는 데이터 획득 시스템(21)과 통신하기 위한 통신 인터페이스(50)를 이용한다. 통신 인터페이스(50)는 데이터를 전달하기 위한 단일 방법 또는 방법들의 조합을 포함할 수 있다. 몇몇 방법은 높은 데이터 전달 속도를 갖는 하드웨어 연결을 위해 범용 직렬 버스(USB) 포트 또는 IEEE 1394 포트를 포함할 수 있다. 몇몇 실시예에서, 저장 장치가 후처리를 위한 데이터 저장을 위해 이러한 포트들 중 하나에 직접 부착될 수 있다. 데이터는 프로세서(44)에 의해 전처리되어 관찰을 위해 준비될 수 있거나, 원 데이터는 분석이 시작될 수 있기 전에 완전히 처리될 필요가 있을 수 있다.
- <60> 검출 장치(10)와의 통신은 또한 고주파(RF) 통신 또는 지역 정보 통신망(LAN) 연결에 의해 달성될 수 있다. 또한, 연결은 직접 연결에 의해, 또는 유선 또는 무선 통신을 지원할 수 있는 허브 또는 라우터와 같은 네트워크 접근 지점을 통해 달성될 수 있다. 예를 들어, 검출 장치(10)는 목표 데이터 획득 장치(21)에 의한 수신을 위해 특정 RF 주파수 상에서 데이터를 송신할 수 있다. 데이터 획득 장치(21)는 범용 컴퓨터, 노트북 컴퓨터, 휴대형 컴퓨팅 장치, 또는 주문형 장치일 수 있다. 더욱이, 복수의 데이터 획득 장치가 데이터를 동시에 수신할 수 있다. 다른 실시예에서, 데이터 획득 장치(21)는 하나의 통합형 검출 및 획득 시스템으로서 검출 장치(10)에 포함될 수 있다.
- <61> 또한, 검출 장치(10)는 인터넷과 같은 네트워크를 거쳐 원격 장치로부터 업데이트된 소프트웨어, 펌웨어, 및 보정 데이터를 다운로드할 수 있다. 통신 인터페이스(50)는 또한 프로세서(44)가 고장 목록 보고서를 모니터링하는 것을 가능케 할 수 있다. 작동 문제가 발생하면, 프로세서(44)는 작업 데이터를 제공함으로써 사용자가 문

제를 해결하는 것을 보조하기 위해, 오류 정보를 출력할 수 있다. 예를 들어, 프로세서(44)는 사용자가 고장난 가열 요소 또는 동기화 문제를 진단하는 것을 돕기 위한 정보를 제공할 수 있다.

- <62> 전원(52)이 장치(10)의 구성요소로 작동 전력을 송출한다. 전원(52)은 표준 115 볼트 전기 콘센트로부터 전기를 이용할 수 있거나, 작동 전력을 생성하기 위한 배터리 및 전력 발생 회로를 포함할 수 있다. 몇몇 실시예에서, 배터리는 연장된 작동을 허용하도록 충전될 수 있다. 예를 들어, 장치(10)는 재해 지역과 같은 위급 시에 생물학적 시료의 검출을 위해 휴대용일 수 있다. 충전은 115 볼트 전기 콘센트를 통해 달성될 수 있다. 다른 실시예에서, 전통적인 배터리가 사용될 수 있다.
- <63> 도4는 광섬유 다발의 4개의 광섬유에 결합된 단일 검출기(18)의 기능 블록 선도이다. 이러한 실시예에서, 검출기(18)는 광증배관이다. 광섬유 다발(14)의 각각의 레그인 광섬유(14A), 광섬유(14B), 광섬유(14C), 및 광섬유(14D)는 검출기(18)의 광학 입력 인터페이스(55)에 결합한다. 이러한 방식으로, 임의의 광섬유(14)에 의해 운반된 광이 검출기(18)의 단일 광학 입력 인터페이스(55)에 제공된다. 소정의 실시예에서, 광섬유 다발(14)의 각각의 레그는 상이한 직경, 길이 또는 양자 모두일 수 있다. 예를 들어, 광섬유(14A)는 광섬유(14)의 다른 광섬유보다 검출기(18)에 광을 더 전송하도록 직경이 더 클 수 있다. 광학 입력 인터페이스(55)는 광을 전자 증배기(56)에 집합시킨다. 양극(58)이 전자를 수집하고, 대응하는 아날로그 신호를 출력 신호로서 생성한다.
- <64> 바꾸어 말하면, 도시된 바와 같이, 광섬유(14)는 검출기(18)에 대한 입력 광학 개구 내에 끼워진다. 결과적으로, 검출기(18)는 광섬유 다발(14)의 각각의 레그로부터 동시에 광을 검출하도록 사용될 수 있다. 광학 입력 인터페이스(55)는 광을 전자 증배기(56)에 제공한다. 광증배관에 대해, 광섬유로부터의 광자는 먼저 광전자 방출 음극에 부딪히고, 이는 결국 광전자를 방출한다. 광전자는 그 다음 일련의 다이노드에 부딪힘으로써 캐스케이딩되어, 더 많은 광전자가 각각의 다이노드와의 접촉 시에 방출된다. 결과적인 전자 그룹은 광섬유(14)에 의해 처음 송신된 소량의 광 신호를 본질적으로 증대시켰다. 증가된 수의 전자는 마지막으로 양극(58)에 의해 수집된다. 양극(58)으로부터의 이러한 전류는 복수의 광학 모듈(16)에 의해 제공된 시료로부터의 광학 형광 신호를 나타내는 아날로그 출력 신호로서 전압 증폭기(59)로 전류에 의해 전달된다.
- <65> 제어 광학 모듈(23)은 아날로그 신호를 샘플링된 디지털 데이터의 스트림, 즉 디지털 신호로 변환하는 아날로그-디지털(A/D) 컨버터(60)를 포함한다. 프로세서(44)는 전술한 바와 같이, 디지털 신호를 수신하고, 데이터 획득 장치(21)에 대한 통신을 위해 메모리(46) 내에 채워진 데이터를 저장한다. 몇몇 실시예에서, A/D 컨버터(60)는 제어 유닛(23) 대신에 검출기(18) 내에 포함될 수 있다.
- <66> 이러한 방식으로, 단일 검출기(18)가 광섬유 다발(14)로부터의 모든 광을 수집하여, 그를 나타내는 신호를 생성하도록 이용될 수 있다. 신호가 증폭기(59)에 의해 증폭되어 디지털 신호로 변환되면, 이는 각각의 개별 광학 모듈(16)에 의해 수집된 광에 대응하는 데이터로 디지털식으로 분리될 수 있다. 전체 (즉, 집합) 신호는 주파수 범위에 의해 각각의 형광을 나타내는 각각의 검출 신호로 분리될 수 있다. 이러한 주파수는 데이터 획득 장치(21)에 의해 또는 장치(10) 내에 적용된 디지털 필터에 의해 분리될 수 있다.
- <67> 다른 실시예에서, 증폭 신호는 아날로그 필터를 사용하여 주파수에 의해 분리되어, A/D 컨버터(60) 이전에 분리 채널로 보내질 수 있다. 각각의 채널은 그 다음 분리되어 디지털화되어, 데이터 획득 장치로 보내질 수 있다. 각 경우에, 단일 검출기는 각각의 광학 모듈(16)로부터 모든 형광 정보를 포착할 수 있다. 데이터 획득 장치(21)는 복수의 검출기를 필요로 하지 않고서, 실시간으로 디스크(13)의 각각의 챔버로부터 획득된 신호를 플로팅하여 분석할 수 있다.
- <68> 몇몇 실시예에서, 검출기(18)는 광증배관이 아닐 수 있다. 일반적으로, 검출기(18)는 광학 송출 메커니즘, 즉 광섬유 다발(14)의 복수의 레그로부터 광을 포착하여, 포착된 광의 송신 가능한 표현을 생성할 수 있는 임의의 유형의 아날로그 또는 디지털 장치일 수 있다. 다른 실시예에서는 증폭 포토다이오드(photodiode) 또는 포토트랜지스터(phototransistor)인 검출기를 포함할 수 있다.
- <69> 도5는 멀티플렉스 형광 검출 장치(10)의 작동을 도시하는 흐름도이다. 초기에, 사용자는 데이터 획득 장치(21) 상에서 또는 제어 유닛(23)(62)과의 인터페이스를 거쳐 프로그램 파라미터를 규정한다. 예를 들어, 이러한 파라미터는 회전 디스크(13)에 대한 속도 및 주기를 포함하고, 반응에 대한 온도 프로파일을 정의하고, 디스크(13) 상의 위치를 샘플링할 수 있다.
- <70> 다음으로, 사용자는 디스크(13)를 검출 장치(10)(64) 내로 탑재한다. 장치(10)를 고정시키면, 사용자는 프로그램(66)을 시작하여, 제어 유닛(23)이 디스크(68)를 규정된 속도로 회전시키기 시작하게 한다. 디스크가 회전하기 시작한 후에, 2개의 동시 처리가 발생할 수 있다.

- <71> 먼저, 검출 장치(10)는 하나 이상의 시료 내에서 하나 이상의 반응에 의해 생성된 여기 광(70)으로부터 형광을 검출하기 시작한다. 검출기(18)는 각각의 시료로부터의 형광 신호를 증폭하고, 이는 형광이 방출되었던 각각의 시료 및 시점에 대해 동기화된다(72). 이러한 처리 중에, 프로세서(44)는 포착된 데이터를 메모리(46)로 저장하고, 실행 중인 처리 및 추가의 처리를 모니터링하기 위해 실시간으로 데이터를 데이터 획득 장치(10)로 전달할 수 있다(73). 대안적으로, 프로세서(44)는 프로그램이 완료될 때까지, 장치(10) 내에 데이터를 저장할 수 있다. 프로세서(44)는 시료의 형광을 계속 검출하고, 프로그램이 완료될 때까지 데이터를 저장한다(74). 실행이 완료되면, 제어 유닛(23)은 디스크 회전을 정지시킨다 (76).
- <72> 이러한 처리 중에, 제어 유닛(23)은 디스크 온도를 모니터링하고(78), 그러한 시점에 대한 목표 온도를 얻기 위해 디스크 또는 각각의 시료 온도를 조절한다(80). 제어 유닛(23)은 프로그램이 완료될 때까지, 온도를 계속 모니터링하며 제어한다(82). 실행이 완료되면, 제어 유닛(23)은 시료의 온도를 보통 4℃인 목표 저장 온도로 유지한다(84).
- <73> 장치(10)의 작동은 도5의 예로부터 변할 수 있다. 예를 들어, 디스크의 분당 회전수는 프로그램 전반에 걸쳐 변형될 수 있고, 레이저(55)가 복수의 반응을 허용하기 위해 디스크 상의 챔버들 사이의 밸브를 개방하도록 이용될 수 있다. 이러한 단계들은 사용자가 정의한 프로그램에 따라, 작동 중에 임의의 순서로 발생할 수 있다.
- <74> **예**
- <75> 도6 및 도7은 멀티플렉스 PCR을 위한 장치(10)와 함께 이용될 수 있는 통상적으로 사용되는 형광 염료의 흡수 및 방출 스펙트럼을 도시한다. 이러한 예에서, 염료의 최대 흡수는 480 - 620 nm에서 변하고, 결과적인 최대 방출은 520 - 670 nm에서 변한다. 도6의 각각의 염료에 대한 신호는 FAM(88), Sybr(90), JOE(92), TET(94), HEX(96), ROX(98), Tx RED(100), 및 Cy5(102)로 표시되어 있다. 도7의 신호는 FAM(104), Sybr(106), TET(108), JOE(110), HEX(112), ROX(114), Tx RED(116), 및 Cy5(118)이다. FAM, HEX, JOE, VIC, TET, ROX는 캘리포니아주 놀릭 소재의 아플레라의 상표이다. Tamra는 캘리포니아주 산 호세 소재의 아나스펙의 상표이다. Texas Red는 몰레cula 프로브즈의 상표이다. Cy5는 영국 버킹햄셔셔 소재의 아머삼의 상표이다.
- <76> 일례에서, 96개의 챔버 디스크가 표준 PCR 반응 완충액 내에 희석된 상이한 농도의 FAM 및 ROX 염료로 충전되었다. 각각의 염료의 4개의 복제물이 200 nM FAM 및 2000 nM ROX에서 시작하여, 2x 희석 순서로 첨가되었다. 각각의 시료 체적은 10  $\mu$ L였다. 챔버(82)는 5  $\mu$ L의 200 nM FAM 및 5  $\mu$ L의 2000 nM ROX의 혼합물을 가졌다. 장치(10)는 염료의 검출을 위한 2개의 광학 모듈(16)을 갖는 2채널 멀티플렉스 PCR 검출 장치로서 구성되었다.
- <77> 제1 광학 모듈(FAM 광학 모듈)은 청색 LED, 475 nm 여기 필터, 및 520 nm 검출 필터를 포함했다. 제2 광학 모듈(ROX 광학 모듈)은 560 nm 여기 필터 및 610 nm 검출 필터를 갖는 녹색 LED를 포함했다. 다른 옵션은 ROX 검출에 대해 최적화되도록 황색 LED 및 580 nm의 여기 필터를 포함하는 것이다.
- <78> PCR 분석이 수행되었고, 시료로부터의 형광 신호가 이분된 광섬유 다발 내로 멀티플렉싱되었다. 섬유 다발은 단일 검출기, 구체적으로 광증배관(PMT)과 접속되었다. 데이터가 범용 컴퓨터 상에서 실행되는 비주얼 베이직 데이터 획득 프로그램과 접속되는 내셔널 인스트루먼트(National Instruments) 데이터 획득(DAQ) 보드에 의해 수집되었다. 데이터는 디스크가 분당 1000 회전(공칭)으로 회전되면서, 획득되었다. FAM 광학 모듈 및 ROX 모듈은 시료를 호출하도록 순차적으로 사용되었다. 각각의 스캔은 평균 50 회전으로 구성되었다. 2개의 광학 모듈로부터의 원데이터가 도8A 및 도8B에 도시되어 있다.
- <79> 도8A의 그래프는 FAM 광학 모듈 내의 LED를 급전함으로써 획득되었고, 도8B의 그래프는 ROX 광학 모듈 내의 LED를 급전함으로써 획득되었다.
- <80> 분석 중에, 수집된 데이터는 한번에 여러 챔버들 위에 물리적으로 위치되는 광학 모듈들과 관련된 시간 오프셋이 있다는 것을 명확하게 보여주었다. 오프셋 값은 특정 챔버, 즉 이러한 경우에 챔버(82)에 대한 광학 모듈(1, 2)들 사이의 시간 오프셋을 결정함으로써 계산되었다. 바꾸어 말하면, 시간 오프셋은 동일한 챔버에 대해 FAM 광학 모듈에 의해 포착된 데이터와 ROX 광학 모듈에 의해 포착된 데이터 사이의 시간 지연량을 표시한다.
- <81> 도9는 각각의 챔버에 대한 오프셋이 제거된 적분 데이터를 도시하는 그래프이다. FAM은 점선 표시된 막대에 의해 표시되고, ROX는 개방 막대에 의해 표시되고, ROX 데이터는 FAM 데이터 위에 위치된다. 데이터는 광학 모듈(1) 상의 ROX 염료로부터의 신호가 없고 광학 모듈(2) 상의 FAM 염료로부터의 신호가 없다는 것을 보여준다. 광학 모듈(1) 상에 더 높은 배경이 있었고, 이는 최적화된 필터 세트를 사용함으로써 정류될 수 있다. 데이터는 기본 노이즈 수준과 동등한 신호로서 설명되는 검출 한계(LOD)를 결정하기 위해 분석되었다. 기본 노이즈



수준은 빈 챔버의 평균 10회 스캔과 표준 편차의 3배를 더한 값으로서 정의되었다.

<82> LOD는 FAM 및 ROX 표준의 농도에 대해 플로팅된 적분 신호의 선형 최소 자승법에 의해 결정되었다. FAM 및 ROX 모듈의 LOD는 도10A 및 도10B에 도시된 바와 같이, 각각 1 및 4 nM으로 계산되었다.

### 도면의 간단한 설명

<16> 도1은 멀티플렉스 형광 검출 장치의 예시적인 실시예를 도시하는 블록도이다.

<17> 도2는 도1의 형광 검출 장치의 복수의 검출 모듈 중 하나에 대응할 수 있는, 예시적인 광학 모듈을 도시하는 개략도이다.

<18> 도3은 멀티플렉스 형광 검출 장치의 예시적인 실시예를 더 자세히 도시하는 블록도이다.

<19> 도4는 광섬유 다발의 4개의 광섬유에 결합된 단일 검출기의 블록도이다.

<20> 도5는 멀티플렉스 형광 검출 장치의 예시적인 작동을 도시하는 흐름도이다.

<21> 도6 및 도7은 멀티플렉스 PCR에 대해 이용될 수 있는 통상적으로 사용되는 형광 염료의 흡수 및 방출 스펙트럼을 도시한다.

<22> 도8A 및 도8B는 PCR 분석 중에 단일 검출기에서 2개의 예시적인 광학 모듈로부터 획득되는 원 데이터를 도시한다.

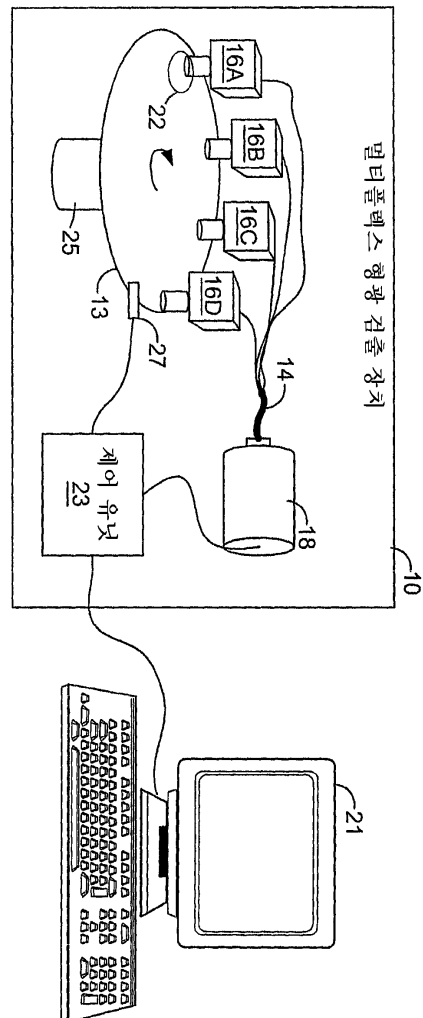
<23> 도9는 시간 오프셋에 대해 조정된 데이터를 도시하는 그래프이다.

<24> 도10A 및 도10B는 2개의 예시적인 검출 모듈로부터 수신된 데이터에 대한 검출 한계(LOD)를 도시한다.

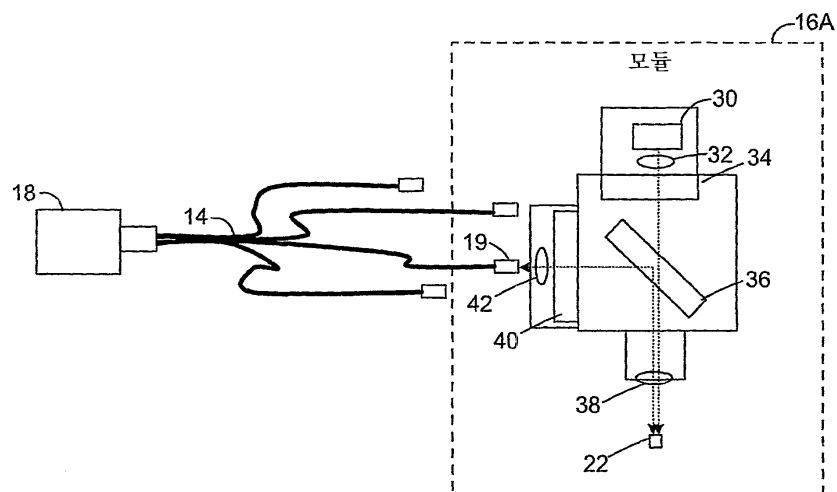


도면

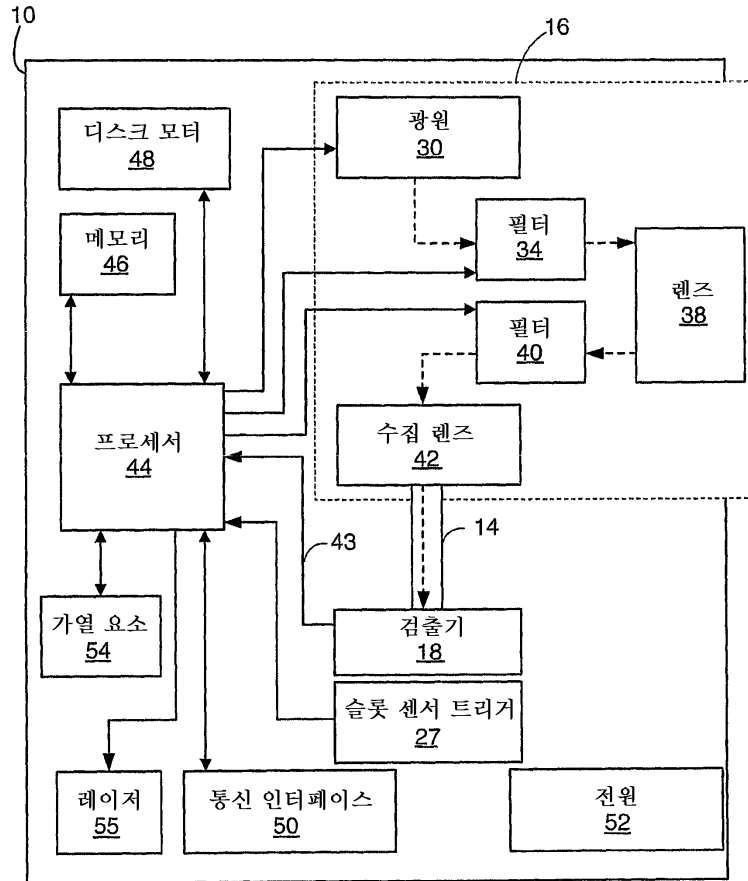
도면1



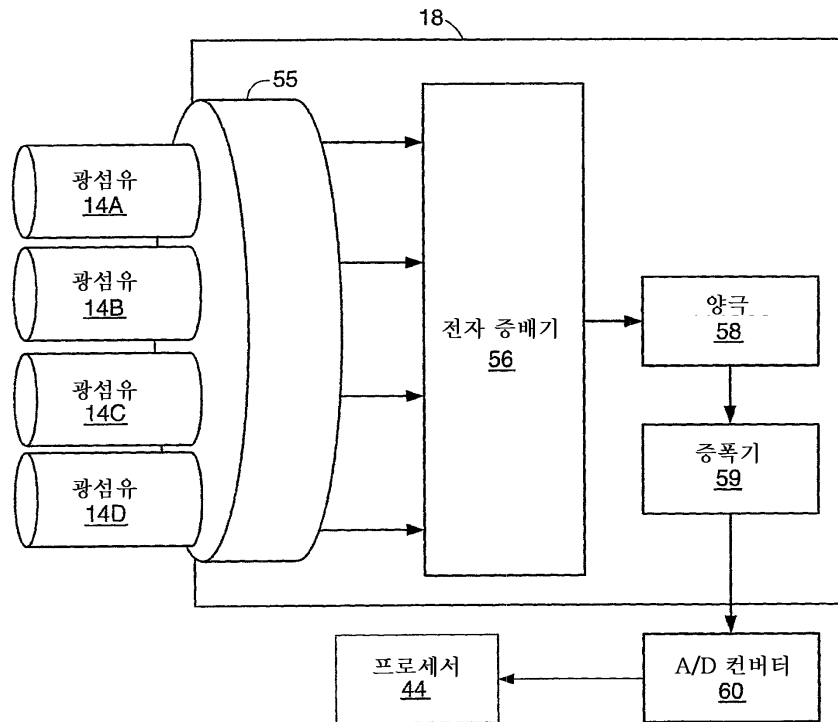
도면2



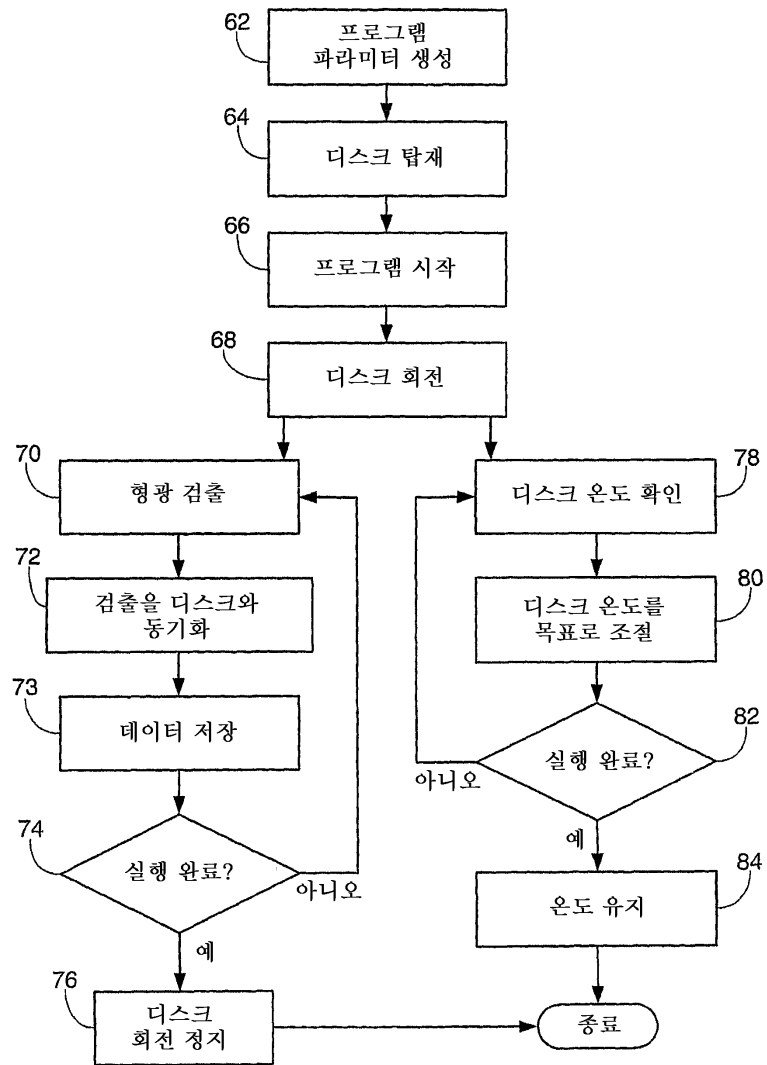
도면3



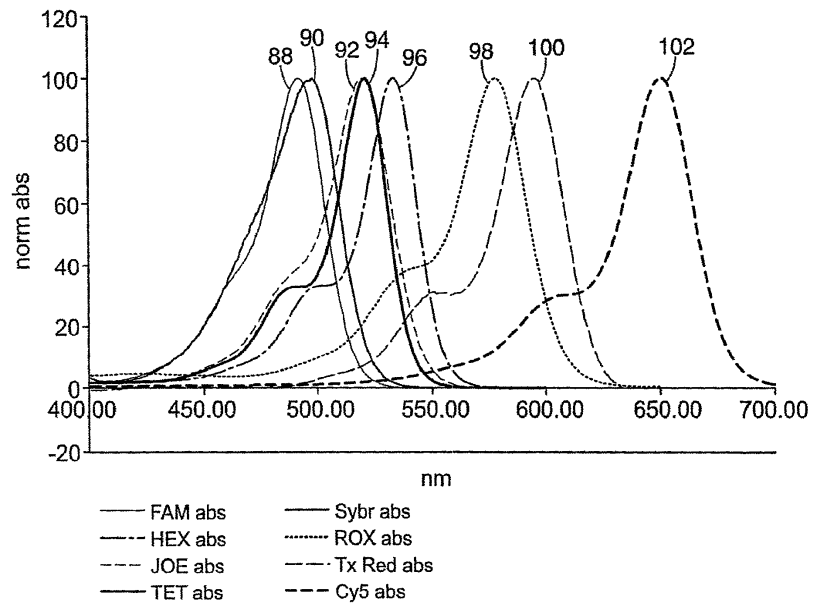
도면4



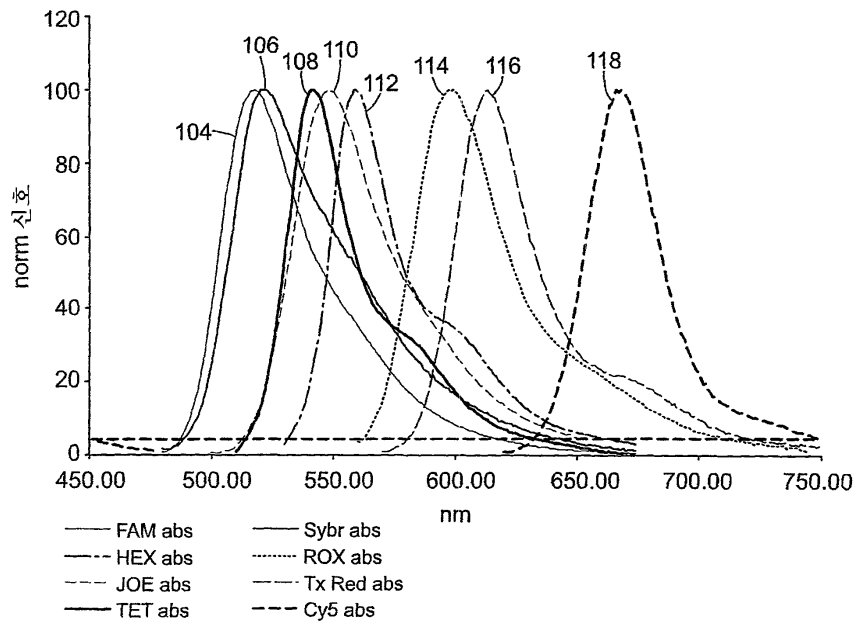
도면5



도면6

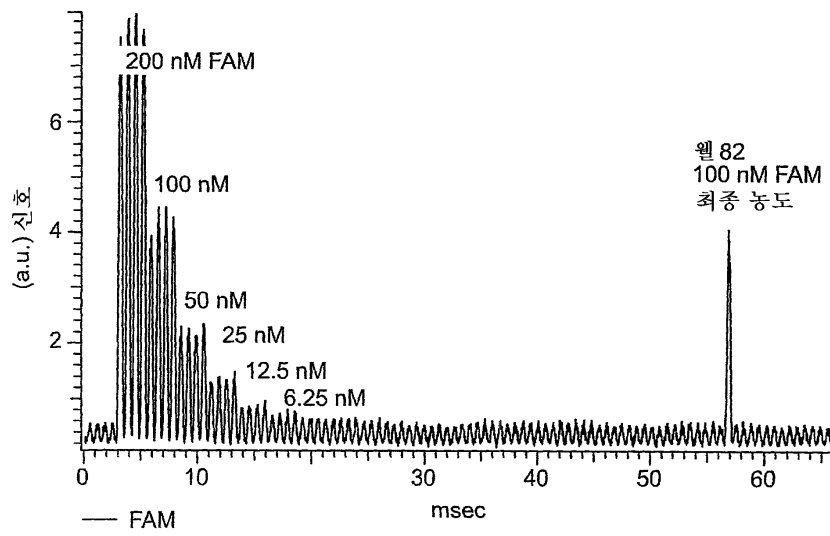


도면7

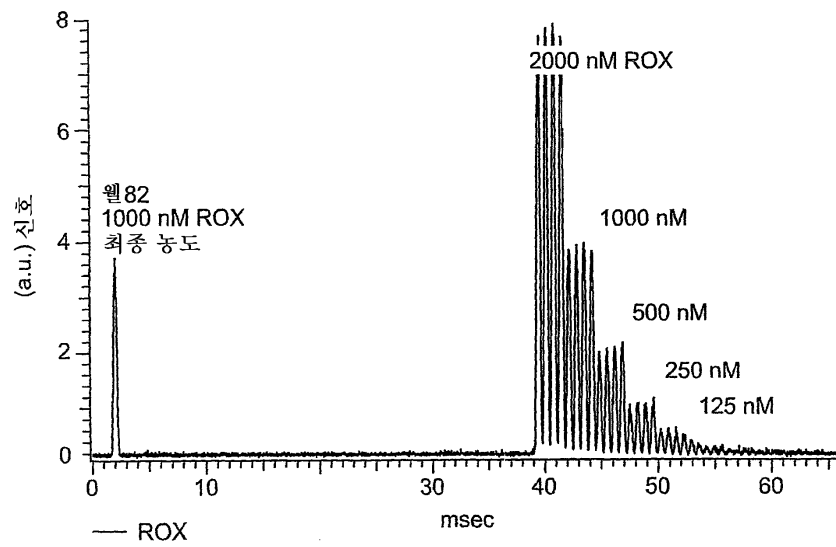




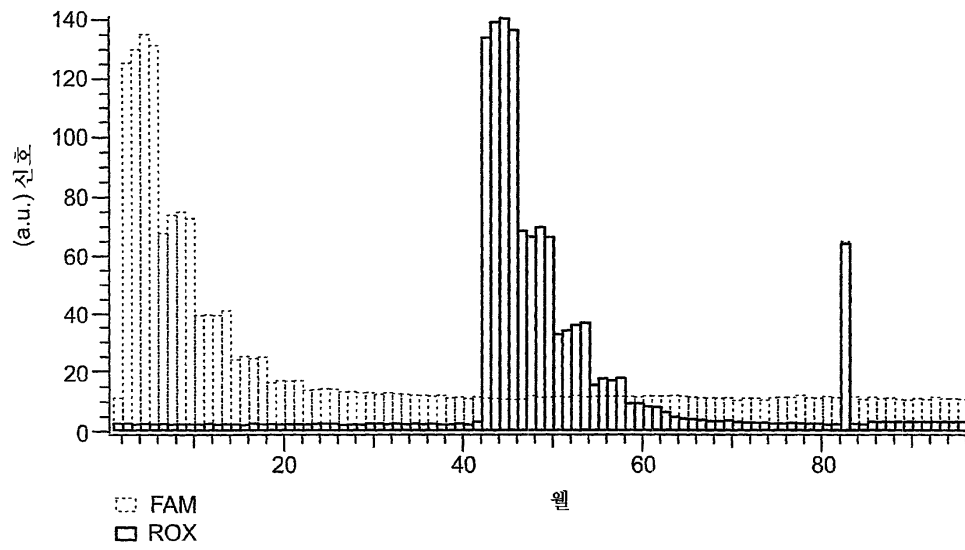
도면8A



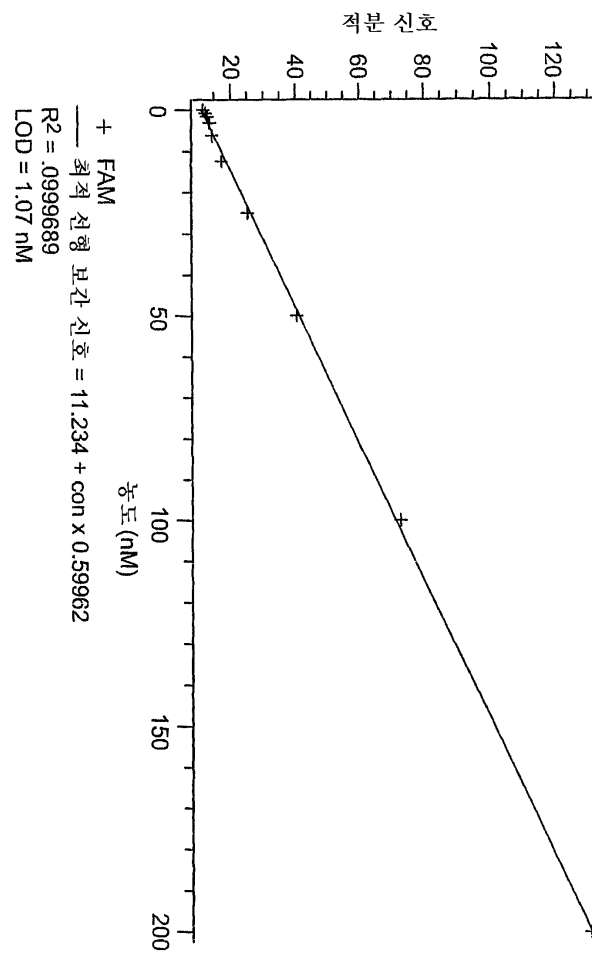
도면8B



도면9



도면10A



도면10B

