



- (51) 국제특허분류:
G01N 27/30 (2006.01) G01N 27/416 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/007788
- (22) 국제출원일: 2013년 8월 29일 (29.08.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2012-0094678 2012년 8월 29일 (29.08.2012) KR
- (71) 출원인: 나노바이오시스(주) (NANOBIOSYS INC.)
[KR/KR]; 153-712 서울시 금천구 디지털로 9길 47
1206호, Seoul (KR). 한국과학기술원 (KOREA AD-
VANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNO-
LOGY) [KR/KR]; 305-701 대전시 유성구 대학로 291
한국과학기술원(KAIST), Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 김성우 (KIM, Sung Woo); 122-904 서울시 은
평구 갈현로 7길 22, Seoul (KR). 박현규 (PARK, Hyun
Gyu); 305-701 대전시 유성구 대학로 291 한국과학기술
술원(KAIST) 생명화학공학과, Daejeon (KR). 이정환
(LEE, Jung Hwan); 426-863 경기도 안산시 상록구 이
동 693-5 302호, Gyeonggi-do (KR). 이유헌 (LEE, Yu-
Jin); 331-789 충청남도 천안시 서북구 쌍용동 용암마
을아파트 103동 604호, Chungcheongnam-do (KR). 김

덕중 (KIM, Duck Joong); 431-746 경기도 안양시 동안
구 관평로 138번길 35, Gyeonggi-do (KR). 원병연
(WON, Byoung Yeon); 305-701 대전시 유성구 대학로
291 한국과학기술원(KAIST) 생명화학공학과, Daejeon
(KR). 백송이 (BAEK, Song Yi); 305-701 대전시 유성구
대학로 291 한국과학기술원(KAIST) 생명화학공학과,
Daejeon (KR).

(74) 대리인: 김웅 (KIM, Woong); 135-924 서울시 강남구
테헤란로 22길 15 9층 (역삼동, 에이엔씨빌딩), Seoul
(KR).

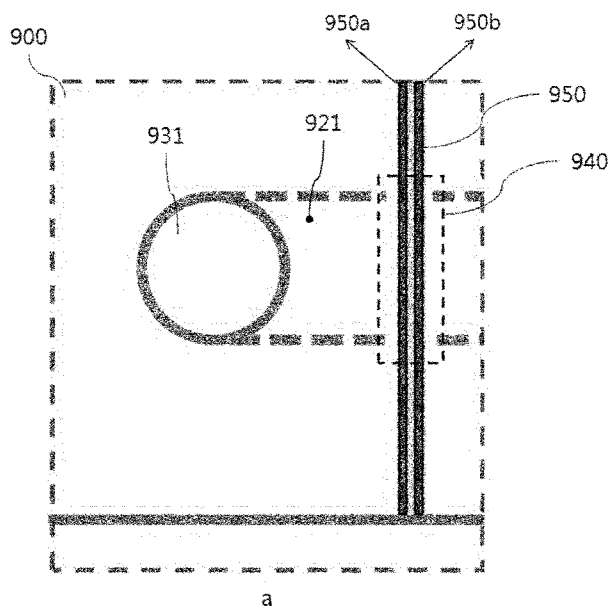
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA,
LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, 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, 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,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PCR CHIP COMPRISING THERMAL BLOCK IN WHICH HEATER UNITS ARE REPEATEDLY ARRANGED FOR DETECTING ELECTROCHEMICAL SIGNALS, PCR DEVICE COMPRISING SAME, AND REAL-TIME PCR METHOD USING PCR DEVICE

(54) 발명의 명칭: 히터 유닛이 반복 배치된 열 블록을 포함하는 전기화학적 신호를 검출하기 위한 PCR 칩, 이를 포함하는 PCR 장치, 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법



(57) Abstract: One embodiment of the present invention relates to a PCR chip comprising a thermal block in which heater units are repeatedly arranged for detecting electrochemical signals, a PCR device comprising same, and a real-time PCR method using the PCR device. According to the present invention, a plurality of samples can be analyzed simultaneously at an ultra-high speed through the thermal block in which the heater units are repeatedly arranged and a plate-shaped PCR chip, and a simple module that can easily detect continuous electrochemical signals, which are generated during a nucleic acid amplification process, can significantly contribute to the miniaturization and increased portability of a product.

(57) 요약서: 본 발명의 일 실시예는 히터 유닛이 반복 배치된 열 블록을 포함하는 전기화학적 신호를 검출하기 위한 PCR 칩, 이를 포함하는 실시간 PCR 장치, 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법에 관한 것으로서, 이에 따르면 히터 유닛이 반복 배치된 열 블록 및 판형상의 PCR 칩을 통해 다수의 샘플을 동시에 초고속으로 분석할 수 있을 뿐만 아니라, 핵산 증폭 과정에서 발생하는 연속적인 전기화학적 신호를 쉽게 검출할 수 있는 단순한 모듈 구현을 통해 제품의 극-소형화 및 휴대화에 상당히 기여할 수 있다.



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

— 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를
접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙
48.2(h))

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

**발명의 명칭: 히터 유닛이 반복 배치된 열 블록을 포함하는
전기화학적 신호를 검출하기 위한 P C R 칩, 이를 포함하는
P C R 장치, 및 이를 이용한 실시간 P C R 방법**

기술분야

- [1] 본 발명의 일 실시예는 증폭 핵산에 따른 전기화학적 신호를 실시간으로 검출 및 측정할 수 있는 PCR 칩, 이를 포함하는 실시간 PCR 장치, 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 중합효소 연쇄 반응, 즉 PCR(Polymerase Chain Reaction)은 주형 핵산의 특정 부위를 반복적으로 가열 및 냉각하여 상기 특정 부위를 연쇄적으로 복제하여 그 특정 부위를 갖는 핵산을 기하급수적으로 증폭하는 기술로써, 생명과학, 유전공학 및 의료 분야 등에서 분석 및 진단 목적으로 널리 사용되고 있다. 최근 상기 PCR을 수행하기 위한 PCR 장치가 다양하게 개발되고 있다. 종래 PCR 장치의 일 예는 하나의 반응 챔버에 주형 핵산을 포함하는 샘플 용액을 포함하는 용기를 장착하고, 상기 용기를 반복적으로 가열 및 냉각하여 PCR 반응을 수행한다. 그러나, 상기 PCR 장치는 하나의 반응 챔버를 구비하기 때문에 전체적인 구조가 복잡하진 않지만, 정확한 온도 제어를 위해 복잡한 회로를 구비해야 하고, 하나의 반응 챔버에 대한 반복적인 가열 및 냉각으로 인해 전체 PCR 수행 시간이 길어지는 문제점이 있다. 또한, 종래 PCR 장치의 다른 예는 PCR 진행 온도를 갖는 복수 개의 반응 챔버를 장착하고, 이들 반응 챔버를 통과하는 하나의 채널을 통해 핵산을 포함하는 샘플 용액을 흐르게 하여 PCR을 수행한다. 그러나, 상기 PCR 장치는 복수 개의 반응 챔버를 이용하기 때문에 정확한 온도 제어를 위한 복잡한 회로가 요구되진 않지만, 고온 및 저온의 반응 챔버를 통과하기 위한 긴 유로가 반드시 필요하므로 전체 구조가 복잡하고, 상기 반응 챔버를 통과하는 채널에 흐르는 핵산을 포함하는 샘플 용액의 유속을 제어하기 위한 별도의 제어 장치가 요구된다. 한편, 최근 PCR 장치는 PCR 수율을 개선하기 위한 노력뿐만 아니라 PCR 진행 과정을 실시간으로 파악하기 위한 효율적인 방법을 개방하기 위한 방향으로 개발되고 있다. 이와 같이 PCR 진행 과정을 실시간으로 파악할 수 있는 기술을 소위 "실시간 PCR(real-time PCR)"이라고 하는데, 실시간 PCR 장치는 PCR 챔버에 형광물질을 투입하여 증폭 산물과의 결합으로 발생하는 광신호를 측정하는 기술이 채용된다. 그러나, 이 경우 상기 실시간 PCR 장치는 형광물질로부터 광신호를 활성화하기 위한 별도의 광원 모듈, 증폭 핵산으로부터 획득된 광신호를 검출하기 위한 광검출 모듈, 및 기타 광 경로를 조절하기 위한 반사경 등 복잡한 구조를 반드시 채용해야 하는바, 기기의 소형화가 어렵고, 휴대용으로 활용하기 어려운

문제점이 있다.

- [3] 따라서, PCR 시간을 줄임과 동시에 신뢰할 수 있는 PCR 수율을 얻을 수 있고, 더 나아가 제품의 소형화 및 휴대화가 가능한 실시간 PCR 장치의 필요성이 부각되고 있는 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [4] 위와 같은 배경기술의 문제점을 해결하고자, 본 발명의 일 실시예는 PCR 시간 및 수율을 합리적으로 개선하고, 더 나아가 제품의 소형화 및 휴대화가 가능한 PCR 칩, 이를 포함하는 실시간 PCR 장치 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법을 제안하고자 한다.

과제 해결 수단

- [5] 본 발명의 제1 실시예는 1 이상의 히터를 구비하는 히터 군, 상기 히터 군을 2 이상 구비하고 상기 2 이상의 히터 군은 상호 열 교환이 일어나지 않도록 이격 배치된 히터 유닛이 2 이상 반복 배치된 것으로서, 적어도 일 면에 시료 및 시약이 수용되는 PCR 칩의 접촉 면을 구비하는 열 블록; 상기 열 블록에 구비된 히터들에 전력을 공급하도록 연결된 열 전극을 구비하는 열 전극부; 및 상기 열 블록의 상부에 배치된 것으로서, 양 말단에 유입부 및 유출부가 구현된 1 이상의 반응 채널, 및 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되며 상기 반응 채널 내부의 일 영역에 형성되어 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브가 표면 처리된 고정 층 및 상기 반응 채널 내부의 다른 일 영역에 형성되어 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 금속 나노입자 및 상기 금속 나노입자에 연결되며 상기 증폭 표적 핵산의 다른 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 신호 프로브를 구비하는 복합체를 포함하는, 판 형상의 PCR 반응부를 포함하는, PCR(Polymerase Chain Reaction) 칩을 제공한다.

[6]

- [7] 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩에 있어서,

- [8] 상기 금속 나노입자는 아연(Zn), 카드뮴(Cd), 납(Pb), 구리(Cu), 갈륨(Ga), 인듐(In), 금(Au), 및 은(Ag)으로 구성된 군으로부터 1 이상 선택될 수 있다.

- [9] 상기 전기화학적 신호는 상기 증폭 표적 핵산이 상기 포획 프로브 및 상기 복합체의 신호 프로브와 상보적으로 결합함에 따라 발생하는 전류 변화에 기인하는 것일 수 있다.

- [10] 상기 검출 전극은 금(Au), 코발트(Co), 백금(Pt), 은(Ag), 탄소나노튜브(carbon nanotube), 그래핀(graphene), 및 탄소(Carbon)로 구성된 군으로부터 1 이상 선택될 수 있다.

- [11] 상기 증폭 표적 핵산, 상기 포획 프로브, 및 상기 신호 프로브는 단일 가닥 DNA일 수 있다.

- [12] 상기 전극은 산화 또는 환원 반응이 일어나는 지시 전극(working electrode) 및 산화 또는 환원 반응이 일어나지 않는 기준 전극(reference electrode)을 구비하는 2-전극 모듈, 또는 상기 지시 전극, 상기 기준 전극, 및 상기 지시 전극으로부터 발생하는 전자 밸런스를 조절하는 카운터 전극(counter electrode)을 구비하는 3-전극 모듈로 구현될 수 있다.
- [13] 상기 열 블록은 2개 내지 4개의 히터 군을 구비할 수 있다.
- [14] 상기 열 블록은 2개의 히터 군을 구비하고, 상기 제1 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 어닐링/연장 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 어닐링/연장 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지할 수 있다.
- [15] 상기 열 블록은 3개의 히터 군을 구비하고, 상기 제1 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지할 수 있다.
- [16] 상기 1 이상의 반응 채널은 상기 히터 유닛 중 최선 배치된 히터의 상측 대응 부분과 최후 배치된 히터의 상측 대응 부분을 직선 길이 방향으로 통과하도록 연장 배치될 수 있다.
- [17] 상기 PCR 반응부는 상기 검출 전극이 구비된 제1 판; 상기 제1 판 상에 배치되되 상기 1 이상의 반응 채널이 구비된 제2 판; 및 상기 제2 판 상에 배치되되 상기 유입부 및 유출부가 구비된 제3 판을 포함할 수 있다.
- [18]
- [19] 본 발명의 제2 실시예는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩; 상기 열 전극부에 전력을 공급하기 위한 전력 공급부; 상기 PCR 칩이 장착되되 상기 PCR 칩의 검출 전극 말단과 전기적으로 연결되도록 구현된 연결 포트를 구비하는 칩 홀더; 및 상기 칩 홀더의 연결 포트와 전기적으로 연결되어 상기 PCR 칩의 반응 채널 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈을 포함하는, 실시간 PCR 장치를 제공한다.
- [20]
- [21] 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치에 있어서,
- [22] 상기 전기화학적 신호 측정 모듈은 양극 벗김 전압전류계(anodic stripping voltammetry, ASV), 대시간 전류계 (chronoamperometry, CA), 순환 전압전류계(cyclic voltammetry), 네모파 전압전류계(square wave voltammetry, SWV), 펄스 전압전류계(differential pulse voltammetry, DPV), 및 임피던스계(impedance)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.
- [23] 상기 PCR 칩은 상기 칩 홀더에 탈착 가능하게 구현될 수 있다.

- [24] 상기 1 이상의 반응 채널 내에서 유동하는 유체의 유량 및 유속을 제어하기 위해 양압 또는 음압을 제공하도록 배치된 펌프를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [25] 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 칩, 이를 포함하는 실시간 PCR 장치, 및 이를 이용한 실시간 PCR 방법에 따르면, 히터 유닛이 반복 배치된 열 블록 및 판형상의 PCR 칩을 통해 다수의 샘플을 동시에 초고속으로 분석할 수 있을 뿐만 아니라, 핵산 증폭 과정에서 발생하는 연속적인 전기화학적 신호를 쉽게 검출할 수 있는 단순한 모듈 구현을 통해 제품의 극-소형화 및 휴대화에 상당히 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [26] 도 1 내지 4는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 열 블록 및 열 전극부를 도시한다.
- [27] 도 5는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 구체적인 구조를 개략적으로 도시한다.
- [28] 도 6 내지 9는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 PCR 반응부의 반응 챔버 내에서 일어나는 포획 프로브 및 신호 프로브와 증폭 표적 핵산 간의 결합, 및 그에 따른 전기화학적 신호 발생 과정을 도시한다.
- [29] 도 10 내지 12는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 PCR 반응부의 상세 구성요소를 도시한다.
- [30] 도 13 내지 14는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 PCR 반응부의 일 수평 단면을 확대한 도면이다.
- [31] 도 15는 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치의 칩 홀더를 도시한다.
- [32] 도 16은 PCR 칩, 전력 공급부, 및 펌프를 구비하는 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치를 도시한다.
- [33] 도 17은 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치에 의한 핵산 증폭 과정, 및 그에 따른 핵산 증폭 신호를 실시간으로 검출 및 측정하는 과정을 도시한다.
- [34] 도 18은 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치를 이용하여 핵산 증폭, 및 그에 따른 핵산 증폭 신호를 실시간으로 검출 및 측정하는 일련의 과정을 도시한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [35] 이하, 첨부 도면을 참조하여 본 발명에 따른 실시예들을 상세하게 설명한다. 이하 설명은 본 발명에 따른 일 실시예들을 용이하게 이해하기 위한 것일 뿐이며, 보호범위를 제한하기 위한 것은 아니다.
- [36]
- [37] 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치란 특정 염기 서열을 갖는 핵산을 증폭하는 PCR(Polymerase Chain Reaction)에 사용하는 장치를 말한다. 예를 들어, 특정 염기 서열을 갖는 DNA(deoxyribonucleic acid)를 증폭하기 위해 PCR 장치는

주형 핵산인 이중 가닥의 DNA를 포함하는 PCR 시료 및 시약을 포함하는 용액을 특정 온도, 예를 들어 약 95°C로 가열하여 상기 이중 가닥의 DNA를 단일 가닥의 DNA로 분리하는 변성 단계(denaturing step), 증폭하고자 하는 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide) 프라이머를 제공하고, 상기 분리된 단일 가닥의 DNA와 함께 특정 온도, 예를 들어 55°C로 냉각하여 상기 단일 가닥의 DNA의 특정 염기 서열에 상기 프라이머를 결합시켜 부분적인 DNA-프라이머 복합체를 형성하는 어닐링 단계(annealing step), 및 상기 어닐링 단계 이후 상기 용액을 적정 온도, 예를 들어 72°C로 유지하여 DNA 중합효소(polymerase)에 의해 상기 부분적인 DNA-프라이머 복합체의 프라이머를 기초로 이중 가닥의 DNA를 형성하는 연장 (혹은 증폭) 단계(extension step)를 수행하고, 상기 3 단계를 예를 들어 20회 내지 40회로 반복함으로써 상기 특정 염기 서열을 갖는 DNA를 기하급수적으로 증폭할 수 있다. 경우에 따라, 상기 PCR 장치는 상기 어닐링 단계와 상기 연장(혹은 증폭) 단계를 동시에 수행할 수 있고, 이 경우 PCR 장치는 상기 연장 단계와 상기 어닐링 및 연장(혹은 증폭) 단계로 구성된 2 단계를 수행함으로써, 제1 순환을 완성할 수도 있다. 따라서, 본 발명의 일 구체예에 따른 실시예 PCR 장치(1)는 상기 단계들을 수행하기 위한 모듈들을 포함하는 장치를 말하며, 본 명세서에 기재되지 아니한 세부적인 모듈들은 PCR을 수행하기 위한 종래 기술 중 개시되거나 또는 자명한 범위에서 모두 구비하고 있는 것을 전제로 한다.

[38]

[39] 본 발명의 제1 실시예는 1 이상의 히터를 구비하는 히터 군, 상기 히터 군을 2 이상 구비하고 상기 2 이상의 히터 군은 상호 열 교환이 일어나지 않도록 이격 배치된 히터 유닛이 2 이상 반복 배치된 것으로서, 적어도 일 면에 시료 및 시약이 수용되는 PCR 칩의 접촉 면을 구비하는 열 블록; 상기 열 블록에 구비된 히터들에 전력을 공급하도록 연결된 열 전극을 구비하는 열 전극부; 및 상기 열 블록의 상부에 배치된 것으로서 양 말단에 유입부 및 유출부가 구현된 1 이상의 반응 채널, 및 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되며 상기 반응 채널 내부의 일 영역에 형성되어 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브가 표면 처리된 고정 층 및 상기 반응 채널 내부의 다른 일 영역에 형성되어 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 금속 나노입자 및 상기 금속 나노입자에 연결되며 상기 증폭 표적 핵산의 다른 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 신호 프로브를 구비하는 복합체를 포함하는, 판 형상의 PCR 반응부를 포함하는, PCR(Polymerase Chain Reaction) 칩을 제공한다.

[40]

[41] 도 1 내지 4는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 열 블록 및 열 전극부를 도시한다.

[42] 상기 열 블록(100)은 PCR을 수행하기 위해 시료 및 시약에 특정 온도로 열을

공급하도록 구현된 모듈로서, 적어도 일 면에 시료 및 시약이 수용되는 PCR 칩의 접촉 면을 구비하고, 이하 상세하게 설명될 PCR 칩의 일 면에 접촉하여, 1 이상의 반응 채널 내에 존재하는 시료 및 시약에 열을 공급하여 PCR을 수행하도록 한다. 상기 열 블록(100)은 기판을 몸체로 하여 구현될 수 있다. 상기 기판은 상기 기판 내에 배치된 히터의 가열 및 온도 유지로 인해 그 물리적 및/또는 화학적 성질이 변하지 않고, 상기 기판 내에 이격 배치된 2 이상의 히터 사이에서 상호 열 교환이 일어나지 않도록 하는 모든 재질로 구현될 수 있다. 예를 들어, 상기 기판은 플라스틱, 유리, 실리콘 등의 재질로서, 투명 또는 반투명하게 구현될 수 있다. 상기 열 블록(100)은 전체적으로 판 형상으로 구현될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 열 블록(100)은 1 이상의 히터를 구비하는 히터 군, 상기 히터 군을 2 이상 구비하고 상기 2 이상의 히터 군은 상호 열 교환이 일어나지 않도록 이격 배치된 히터 유닛이 2 이상 반복 배치된다. 또한, 상기 PCR 칩의 접촉 면은 상기 열 블록(100)의 적어도 일 면에 구현되고, 시료 및 시약이 수용된 PCR 칩에 효율적으로 열을 공급하기 위한 다양한 형상, 예를 들어 접촉 면의 표면적을 넓게 하는 평면 형상 또는 필러(pillar) 형상으로 구현될 수 있다.

- [43] 상기 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)는 발열 소자로서, 그 내부에 열선(도시되지 않음)이 배치되도록 구현될 수 있다. 상기 열선은 일정 온도를 유지하도록 다양한 열원과 구동가능하게 연결될 수 있고, 상기 열선의 온도를 모니터링하기 위한 다양한 온도 센서와 구동가능하게 연결될 수 있다. 상기 열선은 상기 히터의 내부 온도를 전체적으로 일정하게 유지하기 위해 상기 히터의 표면 중심점을 기준으로 상하 및/또는 좌우 방향으로 대칭되도록 배치될 수 있다. 또한, 상기 히터는 그 내부에 박막 히터(thin film heater, 도시되지 않음)가 배치될 수도 있다. 상기 박막 히터는 상기 히터의 내부 온도를 전체적으로 일정하게 유지하기 위해 상기 히터 표면의 중심점을 기준으로 상하 및/또는 좌우 방향으로 일정한 간격으로 배치될 수 있다. 또한, 상기 히터는 발열 소자로서, 동일한 면적에 대한 고른 열 분포 및 신속한 열 전달을 위한 그 자체로 금속 재질, 예를 들어 크롬, 알루미늄, 구리, 철, 은 등일 수 있다. 또한, 상기 히터는 광 투과성 발열 소자, 예를 들어 산화물 반도체 물질 또는 상기 산화물 반도체 물질에 In, Sb, Al, Ga, C 및 Sn로 구성된 군으로부터 선택된 불순물이 첨가된 물질을 포함하는 도전성 나노 입자, 인듐 주석 산화물, 전도성 고분자 물질, 탄소 나노 튜브, 및 그래핀(graphene)이 포함된 군으로부터 선택되는 하나 이상을 포함할 수 있다.

- [44] 상기 히터 군(110, 120, 130)은 상기 1 이상의 히터를 포함하는 단위로서, PCR 수행을 위한 변성 단계, 어닐링 단계 및/또는 연장 단계를 수행하기 위한 온도를 유지하는 영역이다. 상기 히터 군은 상기 열 블록(100)에 2 이상 배치되고, 상기 2 이상의 히터 군은 상호 열 교환이 일어나지 않도록 이격 배치된다. 상기 히터 군은 상기 열 블록(100)에 2개 내지 4개 포함될 수 있다. 즉, 상기 열 블록은 2개의 히터 군을 구비하고, 상기 제1 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 어닐링/연장 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터

군은 PCR 어닐링/연장 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지할 수 있다. 또한, 상기 열 블록은 3개의 히터 군을 구비하고, 상기 제1 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지할 수 있다. 바람직하게는 상기 히터 군은 상기 열 블록(100)에 3회 배치되어 PCR 수행을 위한 3 단계, 즉 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장 단계를 수행하기 위한 온도를 각각 유지할 수 있고, 더 바람직하게는 상기 히터 군은 상기 열 블록(100)에 2회 배치되어 PCR 수행을 위한 2 단계, 즉 변성 단계 및 어닐링/연장 단계를 수행하기 위한 온도를 각각 유지할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 히터 군은 상기 열 블록(100)에 2회 배치되어 PCR 수행을 위한 2 단계, 즉 변성 단계 및 어닐링/연장 단계를 수행할 경우 PCR 수행을 위한 3 단계, 즉 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장 단계를 수행하는 것보다 반응 시간을 줄일 수 있고, 히터의 수를 줄임으로써 구조를 단순화시키는 이점이 있다. 이 경우 PCR 수행을 위한 3 단계에 있어서, 변성 단계를 수행하기 위한 온도는 85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C이고, 어닐링 단계를 수행하기 위한 온도는 40°C 내지 60°C, 바람직하게는 50°C이고, 연장 단계를 수행하기 위한 온도는 50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C이고, PCR 수행을 위한 2 단계에 있어서, 변성 단계를 수행하기 위한 온도는 85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C이고, 어닐링/연장 단계를 수행하기 위한 온도는 50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C이다. 다만, 상기 PCR 수행을 위한 특정된 온도 및 온도 범위는 PCR을 수행함에 있어서 실현 가능한 범위 내에서 조절 가능하다. 한편, 상기 히터 군은 온도 완충 역할을 수행하는 히터를 더 포함할 수 있다.

[45] 상기 히터 유닛(10, 20)은 상기 1 이상의 히터를 포함하는 상기 2 이상의 히터 군을 포함하는 단위로서, PCR 수행을 위한 변성 단계, 어닐링 단계 및/또는 연장 단계를 포함하는 제1 순환이 완료되는 영역이다. 상기 히터 유닛은 상기 열 블록(100)에 2 이상 반복 배치된다. 바람직하게는 상기 히터 유닛은 상기 열 블록(100)에 10회, 20회, 30회 또는 40회로 반복 배치될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[46] 도 1에 따르면, 상기 열 블록(100)은 반복 배치된 히터 유닛(10, 20), 그에 각각 포함된 2개의 히터 군(110, 120), 및 그에 각각 포함된 1개의 히터(111, 121)를 구비함으로써, PCR 수행을 위한 2 단계 온도, 즉 변성 단계의 1 온도 및 어닐링/연장 단계의 1 온도를 순차적으로 반복 제공한다. 예를 들어, 제1 히터(111)는 85°C 내지 105°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 95°C를 유지하여 상기 제1 히터 군(110)은 변성 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제2

히터(121)는 50°C 내지 80°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 72°C를 유지하여 상기 제2 히터 군(120)은 어닐링/연장 단계를 수행하기 위한 온도를 제공함으로써, 상기 열 블록(100)은 제1 히터 유닛(10) 및 제2 히터 유닛(20)에서 PCR 수행을 위한 2 단계 온도를 순차적으로 반복 제공한다.

- [47] 도 2에 따르면, 상기 열 블록(100)은 반복 배치된 히터 유닛(10, 20), 그에 각각 포함된 2개의 히터 군(110, 120), 및 그에 각각 포함된 2개의 히터(111, 112, 121, 122)를 구비함으로써, PCR 수행을 위한 2 단계 온도, 즉 변성 단계의 2 온도 및 어닐링/연장 단계의 2 온도를 순차적으로 반복 제공한다. 예를 들어, 제1 히터(111)는 85°C 내지 105°C 범위 중 1 온도, 제2 히터(112)는 85°C 내지 105°C 범위 중 상기 제1 히터(111)의 온도와 동일한 또는 상이한 1 온도를 유지하여 상기 제1 히터 군(110)은 변성 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제3 히터(121)는 50°C 내지 80°C 범위 중 1 온도, 제4 히터(122)는 50°C 내지 80°C 범위 중 상기 제3 히터(121)의 온도와 동일한 또는 상이한 1 온도를 유지하여 상기 제2 히터 군(120)은 어닐링/연장 단계를 수행하기 위한 온도를 제공함으로써, 상기 열 블록(100)은 제1 히터 유닛(10) 및 제2 히터 유닛(20)에서 PCR 수행을 위한 2 단계 온도를 순차적으로 반복 제공한다.

- [48] 도 3에 따르면, 상기 열 블록(100)은 반복 배치된 히터 유닛(10, 20), 그에 각각 포함된 3개의 히터 군(110, 120, 130), 및 그에 각각 포함된 1개의 히터(111, 121, 131)를 구비함으로써, PCR 수행을 위한 3 단계 온도, 즉 변성 단계의 1 온도, 어닐링 단계의 1 온도, 및 연장 단계의 1 온도를 순차적으로 반복 제공한다. 예를 들어, 제1 히터(111)는 85°C 내지 105°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 95°C를 유지하여 상기 제1 히터 군(110)은 변성 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제2 히터(121)는 40°C 내지 60°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 50°C를 유지하여 상기 제2 히터 군(120)은 어닐링 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제3 히터(131)는 50°C 내지 80°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 72°C를 유지하여 상기 제3 히터 군(130)은 연장 단계를 수행하기 위한 온도를 제공함으로써, 상기 열 블록(100)은 제1 히터 유닛(10) 및 제2 히터 유닛(20)에서 PCR 수행을 위한 3 단계 온도를 순차적으로 반복 제공한다.

- [49] 도 4에 따르면, 반복 배치된 히터 유닛(10, 20), 그에 각각 포함된 3개의 히터 군(110, 120, 130), 및 그에 각각 포함된 2개의 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)를 구비함으로써, PCR 수행을 위한 3 단계 온도, 즉 변성 단계의 2 온도, 어닐링 단계의 2 온도, 및 연장 단계의 2 온도를 순차적으로 반복 제공한다. 예를 들어, 제1 히터(111)는 85°C 내지 105°C 범위 중 1 온도, 제2 히터(112)는 85°C 내지 105°C 범위 중 상기 제1 히터(111)의 온도와 동일한 또는 상이한 1 온도를 유지하여 상기 제1 히터 군(110)은 변성 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제3 히터(121)는 40°C 내지 60°C 범위 중 1 온도, 제4 히터(122)는 40°C 내지 60°C 범위 중 상기 제3 히터(121)의 온도와 동일한 또는 상이한 1 온도를 유지하여 제2 히터 군(120)은 어닐링 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제5 히터(131)는

50°C 내지 80°C 범위 중 1 온도, 제6 히터(132)는 50°C 내지 80°C 범위 중 상기 제5 히터(131)의 온도와 동일한 또는 상이한 1 온도를 유지하여 상기 제3 히터 군(130)은 연장 단계를 수행하기 위한 온도를 제공함으로써, 상기 열 블록(100)은 제1 히터 유닛(10) 및 제2 히터 유닛(20)에서 PCR 수행을 위한 3 단계 온도를 순차적으로 반복 제공한다.

- [50] 도 1 내지 4와 같이, 일정 온도를 유지하는 2 이상의 히터를 반복 배치함으로써 온도 변화율을 상당히 개선할 수 있다. 예를 들어, 종래 하나의 히터만을 채택하는 단일 히터 방식에 의하면, 온도 변화율이 초당 3°C 내지 7°C 범위 내에서 이루어지는 데 반해, 본 발명의 일 실시예에 따른 반복 히터 배치 방식에 의하면, 상기 히터들 간의 온도 변화율이 초당 20°C 내지 40°C 범위 내에서 이루어져 반응 시간을 크게 단축할 수 있다. 상기 히터들은 상호 열 교환이 일어나지 않도록 이격 배치되어 있고, 그 결과, 미세한 온도 변화에 의해서도 큰 영향을 받을 수 있는 핵산 증폭 반응에 있어서, 상기 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장 단계(또는 상기 변성 단계 및 어닐링/변성 단계)의 정확한 온도 제어가 가능하고, 상기 히터들로부터 열을 공급받는 부위에서만 원하는 온도 또는 온도 범위를 유지하는 것이 가능하다. 또한, 상기 열 블록(100)에는 상기 히터 유닛이 2 이상 반복 배치되어 있고, 상기 히터 유닛(10, 20)의 반복 배치 수는 PCR을 수행하고자 하는 사용자 또는 시료 및 시약의 종류에 따라 다양할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치를 순환 주기 10회로 하는 PCR에 적용하고자 하는 경우 상기 히터 유닛을 10회 반복 배치할 수 있다. 즉, PCR을 수행하고자 하는 사용자 또는 시료 및 시약의 종류에 따라 PCR 순환 주기를 고려하여 상기 히터 유닛을 10회, 20회, 30회, 40회, 50회 등으로 반복 배치할 수 있고, 이는 특별히 제한되는 것은 아니다. 한편, 상기 히터 유닛을 미리 결정된 PCR 순환 주기의 절반의 수로 반복 배치할 수도 있다. 예를 들어, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치를 순환 주기 20회로 하는 PCR에 적용하고자 하는 경우 상기 히터 유닛을 10회 반복 배치할 수 있다. 이 경우 시료 및 시약 용액은 이하 상세하게 설명될 1 이상의 반응 채널 내에서 유입부로부터 유출부 방향으로 PCR 순환 주기를 10회 반복 실행하되, 뒤이어 반대로 유출부로부터 유입부 방향으로 PCR 순환 주기를 10회 반복 실행할 수 있다.

[51]

- [52] 도 5는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 구체적인 구조를 개략적으로 도시한다.

- [53] 도 5에 따르면, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩은 열 블록(100) 및 상기 열 블록(100)에 구비된 히터들에 전력을 공급하도록 연결된 열 전극(210, 220)을 구비하는 열 전극부(200), 및 상기 열 블록(100) 상에 배치된 PCR 반응부(900)를 포함한다. 구체적으로, 상기 PCR 반응부(900)와 열 접촉하는 본 발명의 일 실시예에 따른 열 블록(100)에 있어서, 도 5의 상단은 상기 PCR 칩의 수직 단면도를 도시하고, 도 2의 하단은 상기 열 블록(100)의 수평 단면도를 도시한다.

도 5에 따르면, 상기 열 블록(100)은 10회 반복 배치된 히터 유닛을 포함하고, 상기 히터 유닛은 제1 히터 군 및 제2 히터 군을 포함하며, 상기 제1 히터 군 및 제2 히터 군은 각각 1개의 히터, 즉 제1 히터(110) 및 제2 히터(120)를 포함한다. 도 5에 따른 히터, 히터 군, 히터 유닛 및 열 블록에 관해서는 상기 설명된 것과 같다. 상기 열 전극부(200)는 전력 공급부(도시되지 않음)로부터 상기 열 블록(100)에 전력을 공급하여 상기 열 블록(100)을 가열하는 모듈로서, 상기 열 블록(100)에 구비된 히터들에 전력을 공급하도록 연결된 열 전극(210, 220)을 포함한다. 도 5에 따르면, 상기 열 블록(100)의 상기 제1 열 전극(210)은 상기 제1 히터(110)에 전력을 공급하도록 연결되고, 상기 제2 열 전극(220)은 상기 제2 히터(120)에 전력을 공급하도록 연결되어 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 만약 상기 제1 히터(110)가 PCR 변성 단계 온도, 예를 들어 85°C 내지 105°C를 유지하고 상기 제2 히터(120)가 PCR 어닐링/연장 단계 온도, 예를 들어 50°C 내지 80°C를 유지하는 경우 상기 제1 열 전극(210)은 전력 공급부로부터 PCR 변성 단계 온도 유지를 위한 전력을 공급받고, 상기 제2 열 전극(220)은 전력 공급부로부터 PCR 어닐링/연장 단계 온도 유지를 위한 전력을 공급받을 수 있다. 도 5에 따르면, 상기 제1 열 전극(210) 및 상기 제2 열 전극(220)은 상기 열 블록(100)에 반복 배치된 제1 히터(110) 및 2 이상의 제2 히터(120)에 각각 연결될 수 있다. 상기 제1 열 전극(210) 및 상기 제2 열 전극(220)은 금, 은, 구리 등 전도성 재질일 수 있고, 특별히 제한되는 것은 아니다. 상기 PCR 반응부(900)에 대해서는 후술한다.

[54]

[55] 도 6 내지 9는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 PCR 반응부의 반응 챔버 내에서 일어나는 포획 프로브 및 신호 프로브와 증폭 표적 핵산 간의 결합, 및 그에 따른 전기화학적 신호 발생 과정을 도시한다.

[56] 도 6에 따르면, 상기 PCR 반응부(900)는 핵산, 예를 들어 PCR 시료인 주형 핵산 이 중 가닥 DNA, PCR 시약인 증폭하고자 하는 특정 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드 프라이머, DNA 중합효소, 삼인산화데옥시리보뉴클레오타이드(deoxyribonucleotide triphosphates, dNTP), PCR 완충액 (PCR reaction buffer)을 포함하는 용액을 수용할 수 있다. 상기 PCR 반응부(900)는 상기 시료 및 시약을 도입하기 위한 유입부(931), 핵산 증폭 반응을 완료한 용액을 배출하기 위한 유출부(932) 및 상기 시료 및 시약의 핵산 증폭 반응이 수행되는 반응 채널(921)을 구비한다. 도 6에 따르면, 상기 반응 채널(921)은 상기 제1 히터의 상측 대응 부분 및 상기 제2 히터의 상측 대응 부분을 길이 방향으로 통과하도록 연장 배치된다. 상기 PCR 반응부(900)의 외부 표면이 상기 열 블록(100)에 열 접촉하면, 상기 열 블록(100)으로부터 열을 제공받고, 상기 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921)에 포함된 PCR 시료 및 시약은 가열 및 유지될 수 있다. 또한, 상기 PCR 반응부(900)는 열 전도율을 높이고 2 이상의 반응 채널(921)을 구비할 수 있도록 판 형상으로 구현된다.

또한, 상기 PCR 반응부(900)의 외부 구조는 후술할 칩 홀더(300)로부터 이탈되지 않도록 상기 칩 홀더(300)의 내부 공간에 고정 장착되도록 구현된다. 또한, 상기 PCR 반응부(900)는 투명 또는 불투명 재질의 플라스틱 재질로 구현될 수 있는데, 플라스틱 재질의 특성상 두께 조절이 용이하여 두께 조절만으로 열 전달 효율을 증대시킬 수 있고, 제작 공정이 단순하여 칩 제조 비용을 절감할 수 있다.

- [57] 도 7에 따르면, 상기 반응 챔버(921)는 PCR 시료 및 시약에 의해 PCR이 수행되는 공간으로서, 상기 PCR 반응부(900)의 내부에 형성된다. 상기 반응 챔버(921)는 빈 원기둥 형상, 바(bar) 형상, 사각기둥 형상 등 다양한 형상 및 구조로 구현될 수 있다. 구체적으로, 도 7은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 PCR 반응부(900)의 반응 챔버(921) 및 이에 수용된 복합체(29)에 관한 상세도이다. 상기 반응 챔버(921)는 그 내부의 일 영역에 배치되되 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브(24)가 표면 처리된 고정 층(940), 및 그 내부의 다른 일 영역에 배치되되 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극(950)을 구비하는데, 상기 고정 층(940)과 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 챔버(921) 내부에서 다양한 위치에 배치될 수 있으나, 도 7과 같이 서로 상하 또는 좌우로 마주보도록 배치되는 것이 바람직하다. 또한, 상기 반응 챔버(921)는 그 내부에 금속 나노입자(27) 및 상기 금속 나노입자(27)에 연결되되 상기 증폭 표적 핵산의 다른 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 신호 프로브(28)를 구비하는 복합체(29)를 수용한다. 이 경우 상기 복합체(29)는 주형 핵산 등을 포함하는 PCR 시료 도입 전 상기 반응 챔버(921)에 미리 수용될 수 있고, 프라이머, 중합효소 등을 포함하는 PCR 시약에 포함된 상태로 상기 반응 챔버(23)에 함께 도입될 수도 있다. 상기 고정 층(940)은 그 일 면에 포획 프로브(24)가 증착되어 노출될 수 있도록 다양한 재질, 예를 들어 실리콘, 플라스틱, 유리, 금속 재질 등으로 구현된다. 이 경우 상기 고정 층(940)의 표면은 예를 들어, 포획 프로브(24) 증착 전 아민 NH_3^+ , 알데하이드 COH , 카르복실기 COOH 등과 같은 물질이 먼저 표면 처리될 수 있다. 상기 포획 프로브(24)는 상기 증폭 표적 핵산의 일 부위(영역)와 상보적으로 결합할 수 있도록 구현되고, 금속 나노입자(27)와 결합하여 복합체(29)를 형성한다. 상기 금속 나노입자(27)는 다양할 수 있으나, 아연(Zn), 카드뮴(Cd), 납(Pb), 구리(Cu), 갈륨(Ga), 인듐(In), 금(Au), 및 은(Ag)으로 구성된 군으로부터 1 이상 선택될 수 있다. 상기 신호 프로브(28)는 상기 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있도록 구현되는데, 이 경우 상기 증폭 표적 핵산에 있어서, 상기 신호 프로브(28)의 상보적 결합 영역은 상기 포획 프로브(24)의 상보적 결합 영역과 상이하다. 따라서, 상기 포획 프로브(24) 및 신호 프로브(28)는 증폭 표적 핵산에 함께 상보적으로 결합할 수 있다(도 8 참조). 도 8을 참조하면, 좌측 그림은 PCR 수행 전, 즉 증폭 표적 핵산이 존재하지 않는 경우이고, 우측 그림은 PCR 수행 후, 즉 증폭 표적 핵산이 존재하는 경우인데, PCR이 진행되면서 상기 반응 챔버(921) 내부에서 표적 핵산이 증폭되면 상기

우측 그림과 같이 증폭 표적 핵산(2)은 상기 고정 층(940)에 표면 처리된 포획 프로브(24)와 상보적으로 결합하고, 아울러 금속 나노입자(27)에 연결된 신호 프로브(28)와 상보적으로 결합하여 상기 금속 나노입자(27)를 상기 고정 층(940)에 근접한 영역에 집중시킨다. 그 결과, 상기 금속 나노입자(27)는 상기 검출 전극(26)에 도달하지 못하게 되어 상기 금속 나노입자(27)와 상기 검출 전극(26) 간의 전류 변화(감소)를 야기하여 표적 핵산(2)의 증폭에 따른 검출 가능한 전기화학적 신호가 발생하게 된다. 한편, 상기 증폭 표적 핵산(2), 상기 포획 프로브(24), 및 상기 신호 프로브(28)는 단일 가닥 DNA일 수 있다.

- [58] 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 챔버(921)의 적어도 일 영역에 배치되며 상기 반응 챔버(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된다. 상기 검출 전극(950)은 위와 같은 기능을 수행하기 위하여 다양한 재질로 구현될 수 있지만, 예를 들어 금(Au), 코발트(Co), 백금(Pt), 은(Ag), 탄소나노튜브(carbon nanotube), 그래핀(graphene), 및 탄소(Carbon)로 구성된 군으로부터 1 이상 선택될 수 있다. 또한, 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 챔버(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 효율적으로 검출하기 위해 다양한 형상 및 구조로 구현될 수 있지만, 예를 들어 도 7과 같이 상기 반응 챔버(921) 내부 표면에 따라 배치되는 금속 재질의 판 형상으로 구현될 수 있다. 한편, 상기 전기화학적 신호는 후술할 전기화학적 신호 측정 모듈에 의해 측정되는데, 상기 전기화학적 신호 측정 모듈은 다양할 수 있으나, 양극 벗김 전압전류계(anodic stripping voltammetry, ASV), 대시간 전류계 (chronoamperometry, CA), 순환 전압전류계(cyclic voltammetry), 네모파 전압전류계(square wave voltammetry, SWV), 펄스 전압전류계(differential pulse voltammetry, DPV), 및 임피던스계(impedance)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 상기 전기화학적 신호는 상기 증폭 표적 핵산이 상기 포획 프로브(24) 및 신호 프로브(28)와 상보적으로 결합함에 따라 발생하는 전류 변화에 기인할 수 있다. 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 실시간 PCR 장치의 전기화학적 신호 발생 과정을 도시한다. 도 9에 따르면, S1 단계는 PCR 개시 전으로서, 고정 층(25, Gold matrix)에 표면 처리된 포획 프로브(24, Capture probe)와 신호 프로브(28) 및 금속 나노입자(27)를 포함하는 복합체(29, Signaling probe-AuNP)의 원 상태를 나타내고, S2 단계는 상기 검출 전극(950, GC electrode)과 금속 나노입자(27, 노란색 입자) 간의 환원 또는 산화에 의해 발생하는 전류 변화(신호, Signal)를 나타내고, S3 단계는 PCR 개시 후로서, 증폭 표적 핵산(2, H1N1 DNA)이 상기 포획 프로브(24, Capture probe) 및 상기 복합체(29, Signaling probe-AuNP)의 신호 프로브(28, Signaling probe)와 결합하여 전류 변화의 감소(신호 감소)를 야기하는 과정을 나타낸다. 구체적으로, 상기 복합체(29, Signaling probe-AuNP)의 금속 나노입자(27, AuNP)에 환원 전압이 가해지면, 상기 금속 나노입자(27, AuNP)는 상기 검출 전극(950, GC electrode)의 근접 표면에 모여 축적 층을 형성하면서 환원되고(Accumulation of AuNP), 뒤이어 상기 검출 전극(950, GC electrode)에 전압을 인가하면 상기 환원 금속

나노입자(27, AuNP)가 산화되면서(Stripping) 전류 변화, 즉 신호가 발생하고(Signal), 상기 전류 변화는 산화 전류 피크가 나타내는 전압 값으로 쉽게 측정할 수 있다(S2). 이 경우 상기 반응 챔버(921) 내부에서 전류 변화값, 즉 전기화학적 신호는 최대값을 나타낸다. 또한, 상기 전류 변화는 금속 나노입자(27, AuNP)의 종류마다 상이하기 때문에 2 이상의 금속 나노입자(27, AuNP)를 사용하는 경우 2 이상의 시료에 대한 동시 신호 검출도 가능하다. 그 후 PCR이 진행되면, 주형 핵산으로부터 표적 핵산(2, H1N1 DNA)이 증폭되고, 상기 증폭 표적 핵산(2, H1N1 DNA)은 상기 포획 프로브(24, Capture probe) 및 상기 복합체(29, Signaling probe-AuNP)의 신호 프로브(28, Signaling probe)와 상보적으로 결합(Hybridized target DNA)함으로써 위와 같이 상기 복합체(29, Signaling probe-AuNP)의 금속 나노입자(27, AuNP)의 전극 표면 축적(Accumulation of AuNP)을 방해하고, 상기 전류 값을 감소시키고, 더 나아가 PCR 주기가 진행될수록 증폭 표적 핵산(2, H1N1 DNA)의 양이 증가하면서 상기 포획 프로브(24, Capture probe) 및 상기 복합체(29, Signaling probe-AuNP)의 신호 프로브(28, Signaling probe)와의 상보적으로 결합(Hybridized target DNA) 또한 증가하여 상기 전류 값(신호)은 더욱 감소한다. 따라서, 위와 같은 전류 감소 현상, 즉 전기화학적 신호를 검출 및 측정함으로써 실시간 PCR 구현이 가능하다.

[59]

[60] 도 10 내지 12는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩의 PCR 반응부의 상세 구성요소를 도시한다.

[61] 상기 PCR 반응부(900)는 상기 열 블록(100)의 상부에 배치된 것으로서, 양 말단에 유입부(931) 및 유출부(932)가 구현된 1 이상의 반응 채널(921), 및 상기 반응 채널(921)의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 반응 채널(921) 내부의 일 영역에 형성되어 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브가 표면 처리된 고정 층(940) 및 상기 반응 채널(921) 내부의 다른 일 영역에 형성되어 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극(950)을 구비한다.

[62] 도 10 내지 12에 따르면, 상기 고정 층(940) 및 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921)의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 열 블록(100)과의 열 접촉시 상기 고정 층(940) 및 상기 검출 전극(950)은 상기 2 이상의 히터 군(110, 120, 130) 사이에 배치되도록 구현된다. 상기 PCR 반응부(900)의 평면도를 도시하는 도 10에 따르면, 상기 고정 층(940) 및 검출 전극(950)은 상기 유입부(931)로부터 유출부(932)까지의 반응 채널(921) 영역에 일정한 간격으로 반복적으로 이격 배치되어 있는데, 이와 같은 구조를 통해 상기 반응 채널(921)을 길이 방향으로 통과하면서 순차적으로 증폭되는 핵산으로부터 반복적으로 전기화학적 신호를 검출할 수 있다. 아울러, 상기 PCR 반응부(900)의 수직 단면도를 도시하는 도 11 내지 12에 따르면, 상기 고정 층(940) 및 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921)의 단면에 서로 마주 보며 배치된 것을 확인할

수 있는데, 상기 고정 층(940) 및 검출 전극(950)의 위치는 상하 변동될 수 있다.

- [63] 도 11 내지 12에 따르면, 상기 PCR 반응부(900)는 수직 단면도를 기준으로 크게 3개의 층(layer)으로 구분될 수 있다. 도 11 내지 12에 따르면, 상기 PCR 반응부(900)는 상기 검출 전극(950)이 구비된 제1 판(910); 상기 제1 판(910) 상에 배치되며 상기 1 이상의 반응 채널(921)이 구비된 제2 판(920); 및 상기 제2 판(920) 상에 배치되며 상기 고정 층(940), 상기 유입부(931), 및 상기 유출부(932)가 구비된 제3 판(930)을 포함할 수 있다. 이 경우 상기 검출 전극(950)이 상기 제3 판(930)에 배치되고, 상기 고정 층(940)이 상기 제1 판(910)에 배치될 수도 있음은 물론이다.

- [64] 상기 검출 전극(950)이 구비된 제1 판(910)의 상부 면은 상기 제2 판(920)의 하부 면에 접촉 배치된다. 상기 제1 판(910)이 상기 반응 채널(921)을 구비하는 제2 판(920)에 접촉 배치됨으로써 상기 반응 채널(921)에 관한 공간이 확보되고, 더 나아가 상기 반응 채널(921)의 적어도 일 영역(표면)에 상기 검출 전극(950)이 배치된다. 한편, 상기 제1 판(910)은 다양한 재질로 구현될 수 있으나, 바람직하게는 폴리디메틸실옥산(polydimethylsiloxane, PDMS), 사이클로올레핀코폴리머(cycle olefin copolymer, COC), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리프로필렌카보네이트(polypropylene carbonate, PPC), 폴리에테르설폰(polyether sulfone, PES), 및 폴리에틸렌테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 및 그의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 재질일 수 있다. 또한, 상기 제1 판(910)의 상부 면은 친수성 물질(도시되지 않음)이 처리되어 PCR을 원활하게 수행할 수 있다. 상기 친수성 물질 처리에 의해 상기 제1 판(910) 상에 친수성 물질을 포함하는 단일 층이 형성될 수 있다. 상기 친수성 물질은 다양한 물질일 수 있으나, 바람직하게는 카르복시기(-COOH), 아민기(-NH₂), 히드록시기(-OH), 및 술포기(-SH)로 구성된 군으로부터 선택되는 것일 수 있고, 상기 친수성 물질의 처리는 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행할 수 있다.

- [65] 상기 제2 판(920)의 상부 면은 상기 제3 판(930)의 하부 면과 접촉 배치된다. 상기 제2 판(920)은 상기 반응 채널(921)을 포함한다. 상기 반응 채널(921)은 상기 제3 판(910)에 형성된 유입부(931)와 유출부(932)에 대응되는 부분과 연결되어 양 말단에 유입부(931) 및 유출부(932)가 구현된 1 이상의 반응 채널(921)을 완성한다. 따라서, 상기 반응 채널(921)에 PCR 시료 및 시약이 도입된 후 PCR이 진행된다. 또한, 상기 반응 채널(921)은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 사용 목적 및 범위에 따라 2 이상 존재할 수 있다. 또한, 상기 제2 판(920)은 다양한 재질로 구현될 수 있으나, 바람직하게는 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 사이클로올레핀 코폴리머(cycloolefin copolymer, COC), 폴리아미드(polyamide, PA), 폴리에틸렌(polyethylene, PE),

폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리페닐렌 에테르(polyphenylene ether, PPE), 폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리옥시메틸렌(polyoxymethylene, POM), 폴리에테르에테르케톤(polyetheretherketone, PEEK), 폴리테트라프로오르에틸렌(polytetrafluoroethylene, PTFE), 폴리비닐클로라이드(polyvinylchloride, PVC), 폴리비닐리덴 플루오라이드(polyvinylidene fluoride, PVDF), 폴리부틸렌테레프탈레이트(polybutyleneterephthalate, PBT), 불소화에틸렌프로필렌(fluorinated ethylenepropylene, FEP), 퍼플로로알콕시알칸(perfluoralkoxyalkane, PFA), 및 그의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 열 가소성 수지 또는 열 경화성 수지 재질일 수 있다. 또한, 상기 제2 판(920)의 두께는 다양할 수 있으나, 100 μm 내지 200 μm 에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 반응 채널(921)의 폭과 길이는 다양할 수 있으나, 바람직하게는 상기 반응 채널(921)의 폭은 0.5 mm 내지 3 mm에서 선택되고, 상기 반응 채널(921)의 길이는 20 mm 내지 40 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 제2 판(920) 내벽은 DNA, 단백질(protein) 흡착을 방지하기 위해 실란(silane) 계열, 보바인 시럼 알부민(Bovine Serum Albumin, BSA) 등의 물질로 코팅할 수 있고, 상기 물질의 처리는 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행될 수 있다.

- [66] 상기 제3 판(930)의 하부 면은 상기 제2 판(920)의 상부 면에 배치된다. 상기 제3 판(930)은 상기 제2 판(920)에 형성된 반응 채널(921) 상에 형성된 고정 층(940), 유입부(931), 및 유출부(932)를 구비한다. 상기 유입부(931)는 PCR 시료 및 시약이 유입되는 부분이다. 상기 유출부(932)는 PCR이 종료된 후 PCR 산물이 유출되는 부분이다. 따라서, 상기 제3 판(930)은 상기 제2 판(920)에 형성된 반응 채널(921)을 커버하되 상기 유입부(931) 및 유출부(932)는 상기 반응 채널(921)의 유입부 및 유출부 역할을 수행하게 된다. 또한, 상기 제3 판(930)은 다양한 재질로 구현될 수 있지만, 바람직하게는 폴리디메틸실옥산(polydimethylsiloxane, PDMS), 사이클로올레핀코폴리머(cycle olefin copolymer, COC), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리프로필렌카보네이트(polypropylene carbonate, PPC), 폴리에테르설폰(polyether sulfone, PES), 및 폴리에틸렌테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 및 그의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 재질일 수 있다. 또한, 상기 유입부(931)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 1.0 mm 내지 3.0 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유출부(932)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 1.0 mm 내지 1.5 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유입부(931) 및 유출부(932)는 별도의 커버 수단(도시되지 않음)을 구비하여, 상기 반응 채널(921) 내에서 PCR 시료 및 시약에 대한 PCR이 진행될 때 용액이 누출되는 것을 방지할 수 있다. 상기 커버 수단은 다양한 형상, 크기 또는 재질로서 구현될 수 있다. 또한, 상기 제3 판의 두께는 다양할 수 있으나, 바람직하게는 0.1 mm

내지 2.0 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932)는 2 이상 존재할 수 있다.

- [67] 한편, 상기 PCR 반응부(900)는 기계적 가공을 통해 유입부(931) 및 유출부(932)를 형성하여 제3 판(930)을 제공하는 단계; 상기 제3 판(930)의 하부 면과 대응되는 크기를 갖는 판재에 상기 제3 판(930)의 유입부(931)와 대응되는 부분으로부터 상기 제3 판(930)의 유출부(932)에 대응되는 부분까지 기계적 가공을 통해 반응 채널(921)을 형성하여 제2 판(920)을 제공하는 단계; 상기 제2 판(920)의 하부 면과 대응되는 크기를 갖는 판재의 상부 면에 표면 처리 가공을 통해 친수성 물질(922)로 구현된 표면을 형성하여 제1 판(910)을 제공하는 단계; 및 상기 제3 판(930)의 하부 면을 상기 제2 판(920)의 상부 면에 접합 공정을 통해 접합하고, 상기 제2 판(920)의 하부 면을 상기 제1 판(910)의 상부 면에 접합 공정을 통해 접합하는 단계를 포함하는 방법에 의해 용이하게 제조될 수 있다. 상기 제3 판(930)의 유입부(931) 및 유출부(932), 및 상기 제2 판(920)의 반응 채널(921)은 사출성형, 핫-엠보싱(hot-embossing), 캐스팅(casting), 및 레이저 어블레이션(laser ablation)으로 구성된 군으로부터 선택되는 가공 방법에 의해 제조될 수 있다. 또한, 상기 제1 판(910) 표면의 친수성 물질(922)은 산소 및 아르곤 플라즈마 처리, 코로나 방전 처리, 및 계면 활성제 도포로 구성된 군으로부터 선택되는 방법에 의해 처리될 수 있고 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행될 수 있다. 또한, 상기 제3 판(930)의 하부 면과 상기 제2 판(920)의 상부 면, 및 상기 제2 판(920)의 하부 면과 상기 제1 판(910)의 상부 면은 열 접합, 초음파 용착, 용매 접합 공정에 의해 접착될 수 있고 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행될 수 있다. 상기 제3 판(930)과 제2 판(920) 사이 및 상기 제2 판(920)과 제3 판(910) 사이에는 양면 접착제 또는 열가소성 수지 또는 열 경화성 수지(500)가 처리될 수 있다.

- [68] 한편, 도 10의 "a" 부분을 확대한 도 13 내지 14에 따르면, 상기 검출 전극(950)은 다양하게 구현될 수 있다. 예를 들어, 도 13과 같이 산화 또는 환원 반응이 일어나는 지시 전극(working electrode)(950a) 및 산화 또는 환원 반응이 일어나지 않는 기준 전극(reference electrode)(950b)을 구비하는 2-전극 모듈, 또는 도 14과 같이 상기 지시 전극(950a), 상기 기준 전극(950b), 및 상기 지시 전극으로부터 발생하는 전자 밸런스를 조절하는 카운터 전극(counter electrode)(950c)을 구비하는 3-전극 모듈로 구현될 수 있다. 이와 같이, 상기 검출 전극(950)의 구조가 도 13 내지 14와 같이 다-전극 모듈 방식으로 구현되면, 상기 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호의 감도를 높일 수 있을 뿐만 아니라, 발생 신호의 검출 및 측정을 용이하게 수행할 수 있다.

[69]

- [70] 본 발명의 제2 실시예는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 칩; 상기 열 전극부에 전력을 공급하기 위한 전력 공급부; 상기 PCR 칩이 장착되되 상기 PCR 칩의 검출 전극 말단과 전기적으로 연결되도록 구현된 연결 포트를 구비하는 칩

홀더; 및 상기 칩 홀더의 연결 포트와 전기적으로 연결되어 상기 PCR 칩의 반응 채널 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈을 포함하는, 실시간 PCR 장치를 제공한다.

[71]

[72] 도 15는 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치의 칩 홀더를 도시한다.

[73] 도 15에 따르면, 상기 칩 홀더(300)는 상기 PCR 칩이 장착되어 상기 PCR 칩의 PCR 반응부(900)의 검출 전극(950) 말단과 전기적으로 연결되도록 구현된 연결 포트(310)를 구비한다. 상기 칩 홀더(300)는 상기 PCR 칩이 상기 실시간 PCR 장치에 장착되는 부분이다. 상기 칩 홀더(300)의 내벽은 판 형상을 갖는 PCR 칩이 상기 칩 홀더(300)로부터 이탈하지 않도록 상기 PCR 칩의 외벽과 고정 장착되기 위한 형상 및 구조를 가질 수 있다. 즉, 상기 PCR 칩이 상기 칩 홀더(300)에 장착되는 경우 상기 PCR 반응부(900)의 검출 전극(950) 말단은 상기 칩 홀더(300)의 연결 포트(310)와 전기적으로 연결되어 상기 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호가 후술할 전기화학적 신호 측정 모듈(800)로 전달된다. 한편, 상기 PCR 칩은 상기 칩 홀더(300)와 탈착 가능하다. 또한, 상기 칩 홀더(300)는 임의의 구동 수단(도시되지 않음)에 연결되어 상기 실시간 PCR 장치 내부에서 상하 또는 좌우로 이동할 수 있음은 물론이다.

[74]

[75] 도 16은 PCR 칩, 전력 공급부, 및 펌프를 구비하는 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치를 도시한다.

[76] 도 16에 따르면, 상기 PCR 반응부(900)는 상기 열 블록(100) 상에 배치되고, 구체적으로 상기 검출 전극(950)은 상기 열 블록(100) 상부 표면에 반복 배치된 제1 히터 및 제2 히터 사이에 반복 배치되어 있다. 상기 PCR 반응부(900) 및 이에 포함된 구성요소에 관해서는 상술한 바와 같다.

[77] 상기 전력 공급부(400)는 상기 열 전극부(200)에 전력을 공급하기 위한 모듈로서, 상기 열 전극부(200)의 제1 열 전극(210) 및 제2 열 전극(220)과 각각 연결될 수 있다. 예를 들어, 상기 PCR 칩이 PCR 수행을 위해 상기 실시간 PCR 장치에 배치되면, 상기 전력 공급부(400)의 제1 전력 포트(도시되지 않음)는 상기 제1 열 전극(210)과 전기적으로 연결되고, 상기 전력 공급부(400)의 제2 전력 포트(도시되지 않음)는 상기 제2 열 전극(220)과 전기적으로 연결된다. 뒤이어, PCR 수행을 위한 사용자 지시가 있는 경우 상기 전력 공급부(400)는 상기 제1 열 전극(210) 및 상기 제2 열 전극(220)에 각각 전력을 공급하여 상기 열 블록(100)의 제1 히터(110) 및 제2 히터(120)를 신속히 가열할 수 있고, 각 히터들(110, 120)이 미리 결정된 온도에 도달하게 되면 전력 공급량을 제어하여 상기 미리 결정된 온도를 유지하도록 한다. 예를 들어, 상기 미리 결정된 온도는 상기 제1 히터(110)에서는 PCR 변성 단계 온도(85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C) 및 상기 제2 히터(120)에서는 PCR 어닐링/연장 단계 온도(50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C)이거나, 또는 상기 제1 히터(110)에서는 PCR 어닐링/연장

단계 온도(50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C 또는 60°C) 및 상기 제2 히터(120)에서는 PCR 변성 단계 온도(85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C)일 수 있다.

- [78] 상기 펌프(500)는 상기 PCR 반응부(900)의 1 이상의 반응 채널(921) 내에서 유동하는 유체의 유량 및 유속을 제어하기 위한 모듈로서, 양압 펌프 또는 음압 펌프일 수 있고, 예를 들어 실린지(syringe) 펌프일 수 있다. 상기 펌프(500)는 상기 반응 채널(921)의 일 부분에 구동가능하게 배치될 수 있으나, 바람직하게는 상기 반응 채널(921)의 양 말단에 형성된 유입부(931) 및/또는 유출부(932)에 연결 배치된다. 상기 펌프(500)가 상기 유입부(931) 및/또는 유출부(932)에 연결 배치된 경우 펌프 역할을 수행할 뿐만 아니라 상기 유입부(931) 및/또는 유출부(932)를 통해 시료 및 시약 용액이 새어 나오는 것을 방지하는 마개 역할을 수행할 수도 있다. 또한, 상기 반응 채널(921) 내에서 유동하는 유체, 즉 시료 및 시약 용액의 유량 및 유속을 일 방향으로 제어하고자 하는 경우 상기 펌프(500)는 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932) 중 어느 하나에만 연결 배치되고, 남은 하나에는 일반적인 마개가 밀봉 연결될 수 있고, 상기 반응 채널(921) 내에서 유동하는 유체, 즉 시료 및 시약 용액의 유량 및 유속을 양 방향으로 제어하고자 하는 경우에는 상기 펌프(500)는 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932) 모두에 연결 배치될 수 있다.
- [79] 상기 실시간 PCR 장치 내에서 시료 및 시약의 핵산 증폭 반응은 일 실시예로서, 아래와 같은 단계를 통해 수행될 수 있다.
- [80] 1. 원하는 이중 가닥 표적 DNA, 증폭하고자 하는 특정 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드 프라이머, DNA 중합효소, 삼인산화데옥시리보뉴클레오타이드(deoxyribonucleotide triphosphates, dNTP), PCR 반응 완충액(PCR reaction buffer)를 포함하는 시료 및 시약 용액을 준비한다.
- [81] 2. 상기 시료 및 시약 용액을 PCR 반응부(900)에 도입한다. 이 경우 상기 시료 및 시약 용액은 상기 유입부(931)를 통해 PCR 반응부(900) 내부의 반응 채널(921)에 배치된다.
- [82] 3. 상기 열 전극부(200), 구체적으로 제1 열 전극(210) 및 제2 열 전극(220)이 상기 전력 공급부(400)과 각각 연결되도록 하고, 상기 PCR 반응부(900)의 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932)를 펌프(500)와 밀봉 연결한다.
- [83] 4. 상기 전력 공급부(400)에 전력 공급 지시를 하여 상기 제1 열 전극(210) 및 상기 제2 열 전극(220)을 통해 상기 제1 히터(110) 및 상기 제2 히터(120)를 발열시키고, 특정 온도, 예를 들어 제1 히터(110)의 경우 PCR 변성 단계 온도(95°C) 및 제2 히터(120)의 경우 PCR 어닐링/연장 단계 온도(72°C)를 유지한다.
- [84] 5. 상기 유입부(931)와 연결된 펌프(500)에 의해 양압이 제공되거나 또는 상기 유출부(932)와 연결된 펌프(500)에 의해 음압이 제공되면 상기 시료 및 시약 용액은 상기 반응 채널(921) 내부에서 수평 방향으로 유동하도록 한다. 이 경우

상기 시료 및 시약 용액의 유량 및 유속은 상기 펌프(500)에 의해 제공되는 양압 또는 음압의 세기를 조절하여 제어될 수 있다.

[85]

[86] 상기 단계들을 수행함으로써, 상기 시료 및 시약 용액은 상기 반응 채널(921)의 유입부(931) 말단으로부터 유출부(932) 말단까지 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분(301) 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분(302)을 길이 방향으로 이동하면서 PCR을 수행한다. 도 16에 따르면, 상기 시료 및 시약 용액은 상기 제1 히터(110) 및 상기 제2 히터(120)를 포함하는 히터 유닛이 10회 반복 배치된 열 블록(100)으로부터 열을 공급받아 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분(301)에서 PCR 변성 단계 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분(302)에서 PCR 어닐링/연장 단계를 거치면서 10회 PCR 순환 주기를 완료하게 된다. 뒤이어, 선택적으로, 상기 시료 및 시약 용액은 상기 반응 채널(921)의 유출부(931) 말단으로부터 유입부(932) 말단까지 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분을 길이 방향으로 역 이동하면서 PCR을 재수행할 수 있다.

[87]

[88] 도 17은 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치에 의한 핵산 증폭 과정, 및 그에 따른 핵산 증폭 신호를 실시간으로 검출 및 측정하는 과정을 도시한다.

[89]

도 17에 따르면, 상기 실시간 PCR 장치는 제1 히터(110) 및 제2 히터(120)가 수평 방향으로 반복 배치된 열 블록(100), 상기 제1 히터(110) 및 제2 히터(120) 사이 공간에 고정 층(940) 및 검출 전극(950)이 대응하도록 반복 배치된 PCR 반응부(900)를 포함하되, 상기 칩 홀더(도시되지 않음)의 연결 포트(도시되지 않음)와 전기적으로 연결되어 상기 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈(800), 기타 비록 도시되지는 않았지만, 전력 공급부, 펌프 등을 포함한다. 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)은 상기 칩 홀더의 연결 포트와 전기적 연결 수단(700), 예를 들어 리드 전선을 통해 전기 소통가능하게 연결될 수 있다. 따라서, 상기 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921) 내부에서 순차적인 핵산 증폭에 의해 반복적으로 발생하는 전기화학적 신호는 상기 PCR 반응부(900)의 검출 전극(950)을 통해 순차적으로 검출되고, 상기 검출된 신호는 상기 칩 홀더의 연결 포트와 상기 전기적 연결 수단(700)을 경유하여 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)에서 측정되고 더 나아가 가공 또는 분석될 수 있다. 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)은 다양할 수 있으나, 양극 벗김 전압전류계(anodic stripping voltammetry, ASV), 대시간 전류계(chronoamperometry, CA), 순환 전압전류계(cyclic voltammetry), 네모파 전압전류계(square wave voltammetry, SWV), 펄스 전압전류계(differential pulse voltammetry, DPV), 및 임피던스계(impedance)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 따라서, 도 17에 따른 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치에

의하면, PCR 수행시 핵산 증폭 과정을 실시간(real-time)으로 측정 및 분석할 수 있다. 이 경우 상기 시료 및 시약 용액은 종래 실시간 PCR 장치와는 달리 별도의 형광 물질이 첨가될 수 필요가 없다. 아울러, 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치에 의해 핵산 증폭 반응이 실시간(real-time)으로 측정되는 단계를 확인할 수 있다. 예를 들어, 시료 및 시약 용액은 상기 반응 채널(921) 내에서 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분(301) 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분(302)을 연이어 통과하면서 PCR 변성 단계 및 PCR 어닐링/연장 단계를 수행하는데, 이 경우 시료 및 시약 용액은 상기 제1 히터(110)와 상기 제2 히터(120) 사이, 및 상기 제1 히터(110)와 상기 제2 히터(120)를 포함하는 히터 유닛 사이에서 반복 배치된 상기 검출 전극(950) 영역을 통과하게 된다. 상기 시료 및 시약 용액이 상기 검출 전극(950)의 상측 대응 부분을 통과할 때 유체 제어를 통해 상기 시료 및 시약 용액의 유속을 느리게 하거나 잠시 정지 상태로 유지한 후 증폭 표적 핵산과 상기 포획 프로브 및 상기 복합체의 신호 프로브와의 상보적 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호(전류 변화)를 상기 검출 전극(950)을 통해 순차적으로 실시간으로 검출 및 측정할 수 있다. 따라서, PCR 각 순환 주기가 진행되는 동안 상기 반응 채널(921) 내에서 (형광 물질 및 광 검출 시스템 없이) 핵산의 증폭에 의한 반응 결과를 실시간(real-time)으로 모니터링함으로써 표적 핵산의 양을 실시간(real-time)으로 검출 및 측정할 수 있다.

[90]

[91] 도 18은 본 발명의 제2 실시예에 따른 실시간 PCR 장치를 이용하여 핵산 증폭, 및 그에 따른 핵산 증폭 신호를 실시간으로 검출 및 측정하는 일련의 과정을 도시한다.

[92] 도 18에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 실시간 PCR 장치를 이용한 실시간 PCR 방법은 상술한 실시간 PCR 장치를 제공하는 단계; 주형 핵산을 포함하는 PCR 시료 및 상기 금속 나노입자-신호 프로브 복합체를 포함하는 PCR 시약을 상기 PCR 칩의 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921)에 주입하는 단계; 상기 PCR 반응부(900)의 전극(950) 말단이 상기 연결 포트(310)에 전기적으로 연결되도록 상기 PCR 시료 및 PCR 시약이 주입된 PCR 칩을 상기 칩 홀더(300)에 장착하는 단계; 상기 PCR 시료 및 PCR 시약을 상기 반응 채널(921)을 길이 방향으로 이동하게 하면서 PCR의 변성 단계 온도 및 PCR의 어닐링 및 연장(혹은 증폭) 단계 온도를 각각 유지하는 제1 히터 및 제2 히터에 순차적이고 반복적으로 열 접촉하여 PCR을 수행하는 단계; 및 상기 PCR 수행 중 상기 PCR 반응부(900) 내부에서 증폭 표적 핵산과 상기 포획 프로브 및 상기 복합체의 신호 프로브와의 상보적 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호(전류 변화)를 실시간으로 검출 및 측정하는 단계를 포함한다.

[93] 실시간 PCR 장치 제공 단계(S1)는 상술한 실시간 PCR 장치를 준비하는 단계이다. 따라서, 이하 본 발명의 일 실시예에 따른 실시간 PCR 방법은 상기

실시간 PCR 장치의 구동을 전제로 한다.

- [94] 시료 및 시약 주입 단계(S2)는 상기 PCR 칩의 PCR 반응부(900)에 PCR 시료 및 시약, 아울러 증폭하고자 하는 주형 핵산과 화학적 반응(결합)을 통해 전기적 신호를 발생시킬 수 있는 물질, 예를 들어 금속 나노입자-신호 프로브 복합체를 주입하는 단계이다.
- [95] PCR 칩 장착 단계(S3)는 상기 PCR 시료 및 시약이 수용된 PCR 칩을 상기 실시간 PCR 장치의 칩 홀더(300)에 장착하는 단계이다. 이 경우 전기화학적 신호 검출을 위해 상기 PCR 칩의 PCR 반응부(900)의 검출 전극(950)이 상기 칩 홀더(300)의 연결 포트(310)와 전기적으로 연결되어야 한다.
- [96] PCR 단계(S4)는 상기 열 블록(100)의 제1 히터(110) 및 제2 히터(120)의 온도를 가열 유지하고, 상기 PCR 칩의 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921)에서 시료 및 시약이 길이 방향으로 이동하면서 PCR이 수행되는 단계이다. 이 경우 상기 반응 채널(921)의 내부를 이동하는 시료 및 시약 중에 주형 핵산을 기초로 표적 핵산 부위가 순차적으로 증폭되고, 표적 핵산 부위의 연속적인 증폭에 따라 상기 포획 프로브 및 상기 복합체의 신호 프로브와의 상보적 결합으로 인해 전기화학적 신호가 발생한다.
- [97] 전기화학적 신호 검출 및 측정 단계(S5)는 상기 S4 단계에서 핵산의 연속적인 증폭에 의해 발생한 전기화학적 신호(전류값 변화)를 상기 PCR 반응부(900)의 검출 전극(950), 상기 칩 홀더(300)의 연결 포트(310), 상기 전기적 연결 수단(700), 및 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)을 통해 검출 및 측정하는 단계이다.

청구범위

- [청구항 1] 1 이상의 히터를 구비하는 히터 군, 상기 히터 군을 2 이상 구비하고 상기 2 이상의 히터 군은 상호 열 교환이 일어나지 않도록 이격 배치된 히터 유닛이 2 이상 반복 배치된 것으로서, 적어도 일 면에 시료 및 시약이 수용되는 PCR 칩의 접촉 면을 구비하는 열 블록;
상기 열 블록에 구비된 히터들에 전력을 공급하도록 연결된 열 전극을 구비하는 열 전극부; 및
상기 열 블록의 상부에 배치된 것으로서, 양 말단에 유입부 및 유출부가 구현된 1 이상의 반응 채널, 및 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 반응 채널 내부의 일 영역에 형성되어 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브가 표면 처리된 고정 층 및 상기 반응 채널 내부의 다른 일 영역에 형성되어 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 금속 나노입자 및 상기 금속 나노입자에 연결되되 상기 증폭 표적 핵산의 다른 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 신호 프로브를 구비하는 복합체를 포함하는, 판 형상의 PCR 반응부;
를 포함하는, PCR(Polymerase Chain Reaction) 칩.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 금속 나노입자는 아연(Zn), 카드뮴(Cd), 납(Pb), 구리(Cu), 갈륨(Ga), 인듐(In), 금(Au), 및 은(Ag)으로 구성된 군으로부터 1 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 전기화학적 신호는 상기 증폭 표적 핵산이 상기 포획 프로브 및 상기 복합체의 신호 프로브와 상보적으로 결합함에 따라 발생하는 전류 변화에 기인하는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 검출 전극은 금(Au), 코발트(Co), 백금(Pt), 은(Ag), 탄소나노튜브(carbon nanotube), 그래핀(graphene), 및 탄소(Carbon)로 구성된 군으로부터 1 이상 선택되는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.
- [청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 증폭 표적 핵산, 상기 포획 프로브, 및 상기 신호 프로브는 단일 가닥 DNA인 것을 특징으로 하는 PCR 칩.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 전극은 산화 또는 환원 반응이 일어나는 지시 전극(working

electrode) 및 산화 또는 환원 반응이 일어나지 않는 기준

전극(reference electrode)을 구비하는 2-전극 모듈, 또는 상기 지시 전극, 상기 기준 전극, 및 상기 지시 전극으로부터 발생하는 전자 밸런스를 조절하는 카운터 전극(counter electrode)을 구비하는 3-전극 모듈로 구현되는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

[청구항 7]

제1항에 있어서,

상기 열 블록은 2개 내지 4개의 히터 군을 구비하는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

[청구항 8]

제1항에 있어서,

상기 열 블록은 2개의 히터 군을 구비하고, 상기 제1 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 어닐링/연장 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 어닐링/연장 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

[청구항 9]

제1항에 있어서,

상기 열 블록은 3개의 히터 군을 구비하고, 상기 제1 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

[청구항 10]

제1항에 있어서,

상기 1 이상의 반응 채널은 상기 히터 유닛 중 최선 배치된 히터의 상측 대응 부분과 최후 배치된 히터의 상측 대응 부분을 직선 길이 방향으로 통과하도록 연장 배치된 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

[청구항 11]

제1항에 있어서,

상기 PCR 반응부는 상기 검출 전극이 구비된 제1 판; 상기 제1 판 상에 배치되되 상기 1 이상의 반응 채널이 구비된 제2 판; 및 상기 제2 판 상에 배치되되 상기 유입부 및 유출부가 구비된 제3 판을 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

[청구항 12]

제1항에 따른 PCR 칩;

상기 열 전극부에 전력을 공급하기 위한 전력 공급부;

상기 PCR 칩이 장착되되 상기 PCR 칩의 검출 전극 말단과

전기적으로 연결되도록 구현된 연결 포트를 구비하는 칩 홀더; 및

상기 칩 홀더의 연결 포트와 전기적으로 연결되어 상기 PCR 칩의

반응 채널 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈;
을 포함하는, 실시간 PCR 장치.

[청구항 13]

제12항에 있어서,
상기 전기화학적 신호 측정 모듈은 양극 벗김 전압전류계(anodic stripping voltammetry, ASV), 대시간 전류계 (chronoamperometry, CA), 순환 전압전류계(cyclic voltammetry), 네모파 전압전류계(square wave voltammetry, SWV), 펄스 전압전류계(differential pulse voltammetry, DPV), 및 임피던스계(impedance)로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 실시간 PCR 장치.

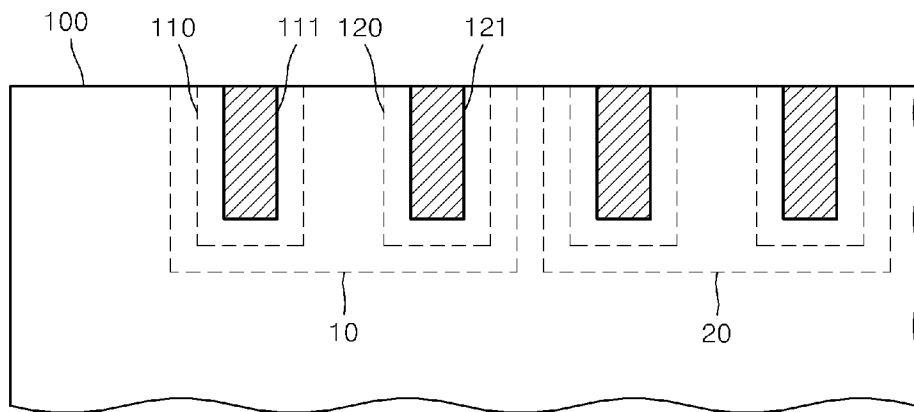
[청구항 14]

제12항에 있어서,
상기 PCR 칩은 상기 칩 홀더에 탈착 가능하게 구현된 것을 특징으로 하는 실시간 PCR 장치.

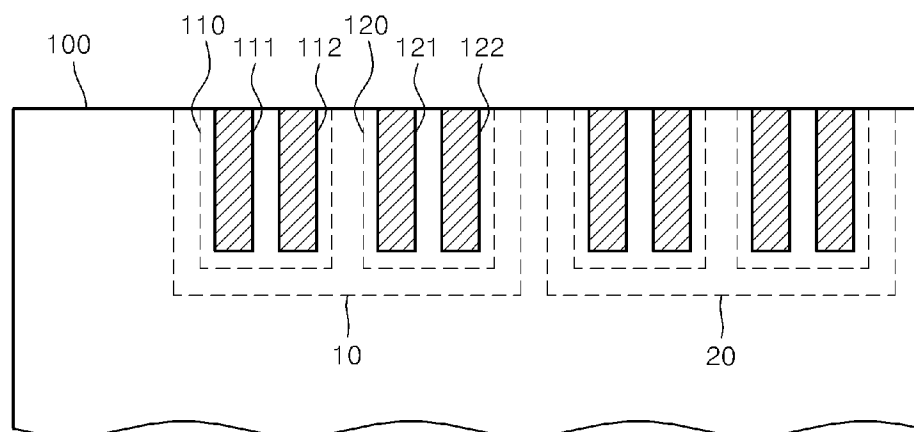
[청구항 15]

제12항에 있어서,
상기 1 이상의 반응 채널 내에서 유동하는 유체의 유량 및 유속을 제어하기 위해 양압 또는 음압을 제공하도록 배치된 펌프를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.

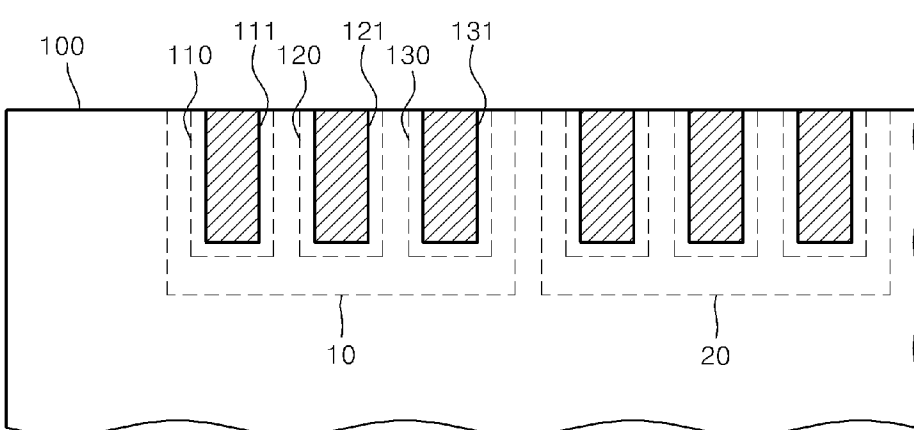
[Fig. 1]



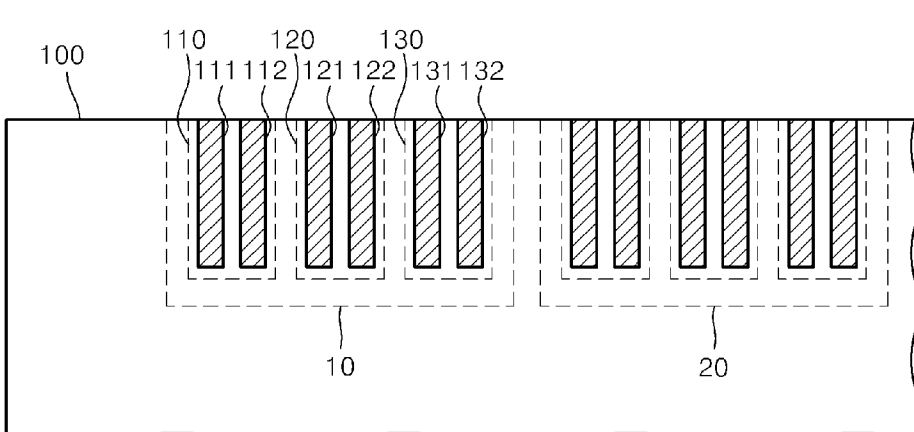
[Fig. 2]



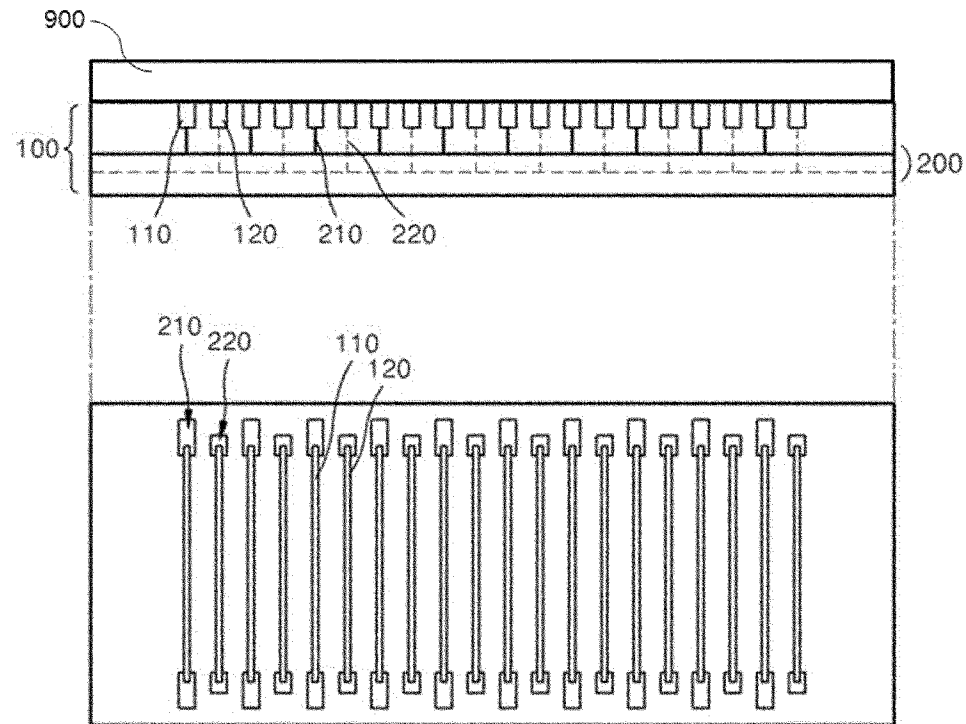
[Fig. 3]



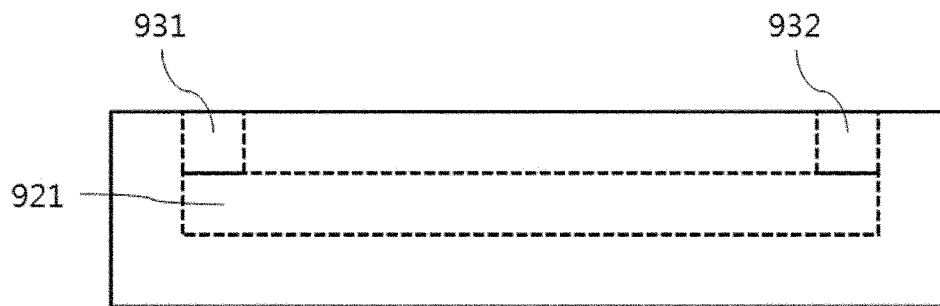
[Fig. 4]



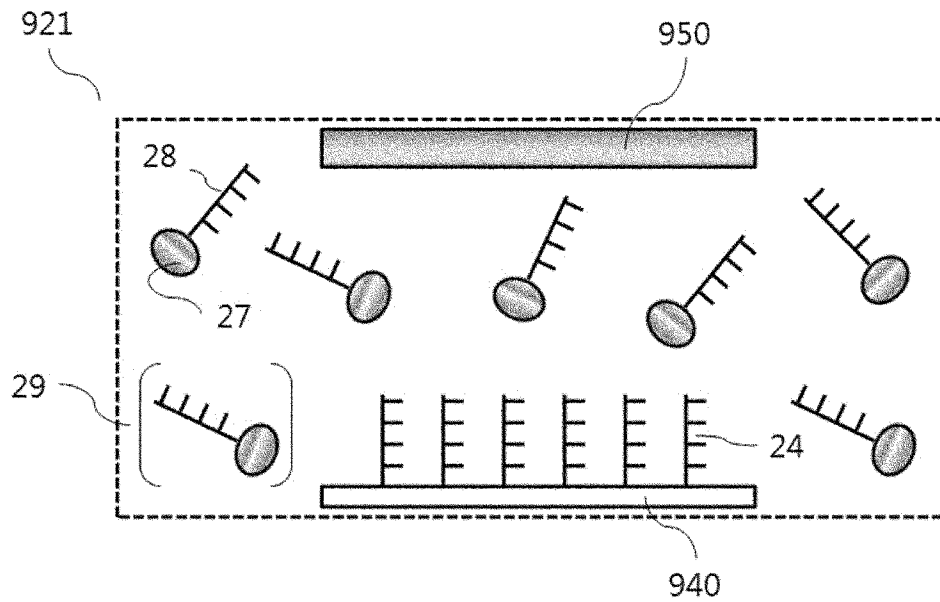
[Fig. 5]



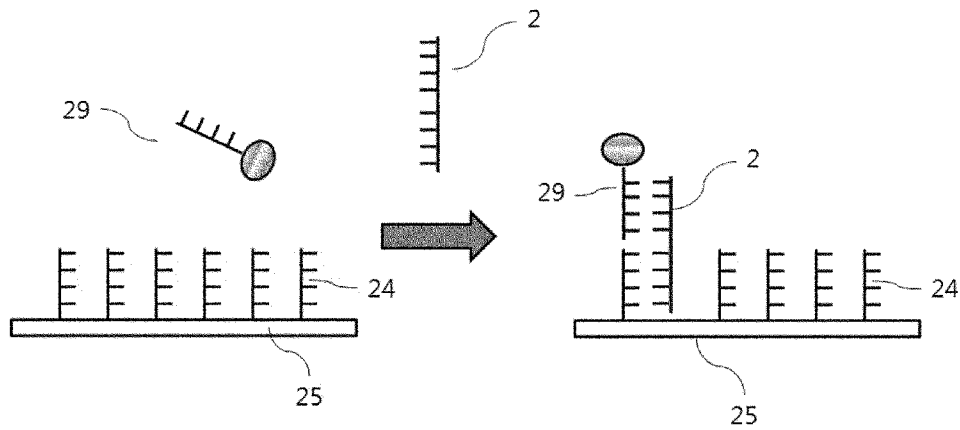
[Fig. 6]

**900**

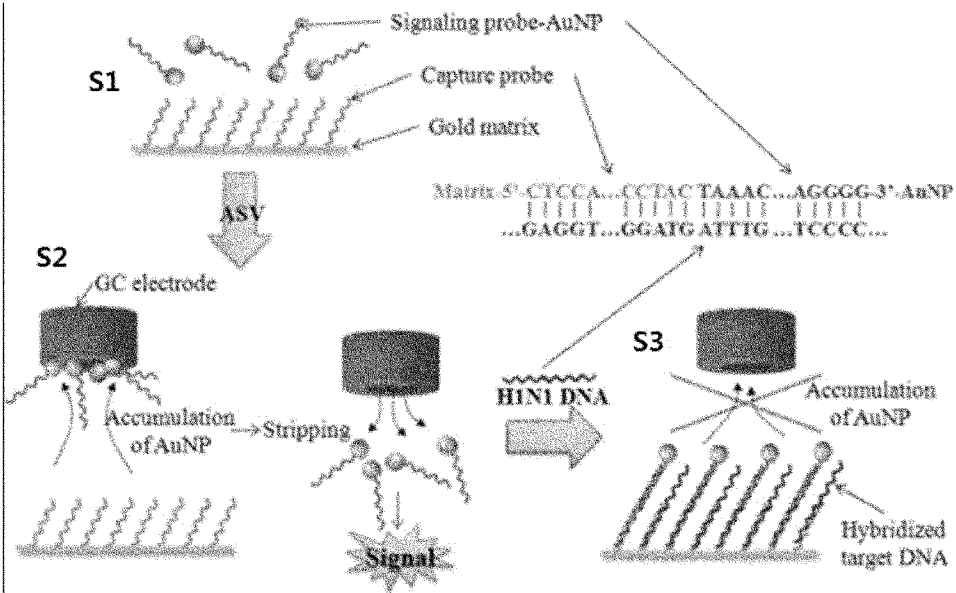
[Fig. 7]



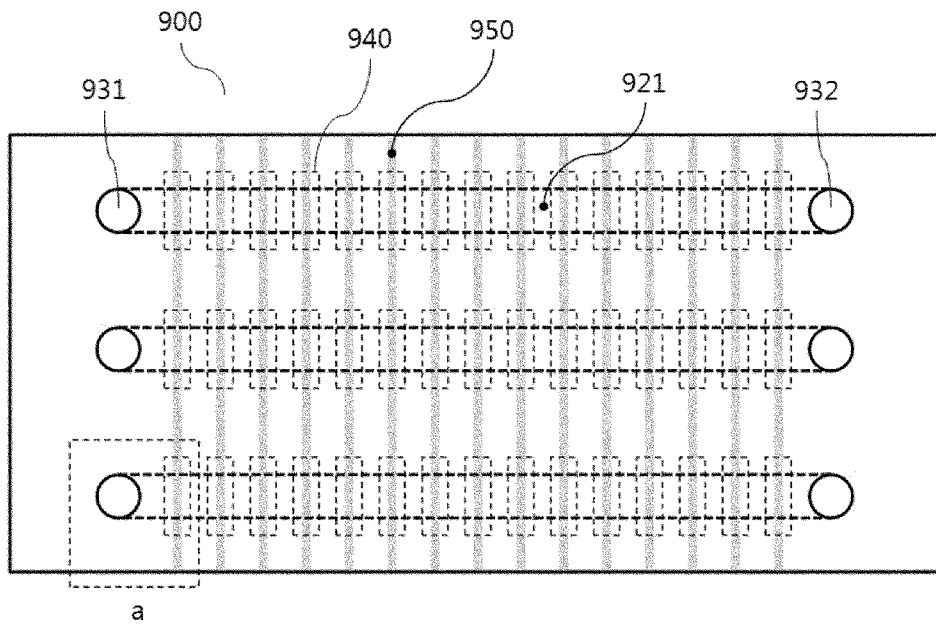
[Fig. 8]



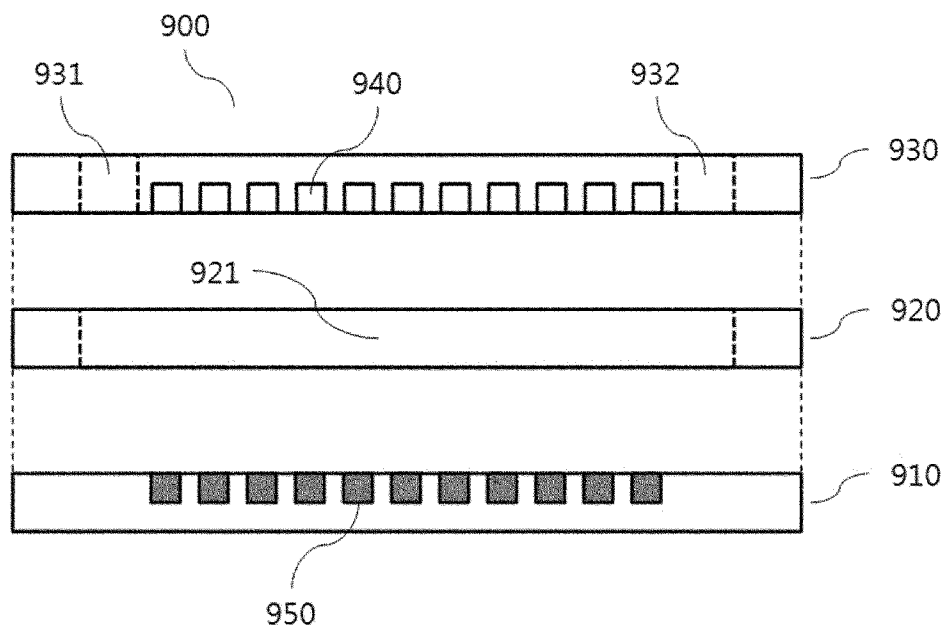
[Fig. 9]



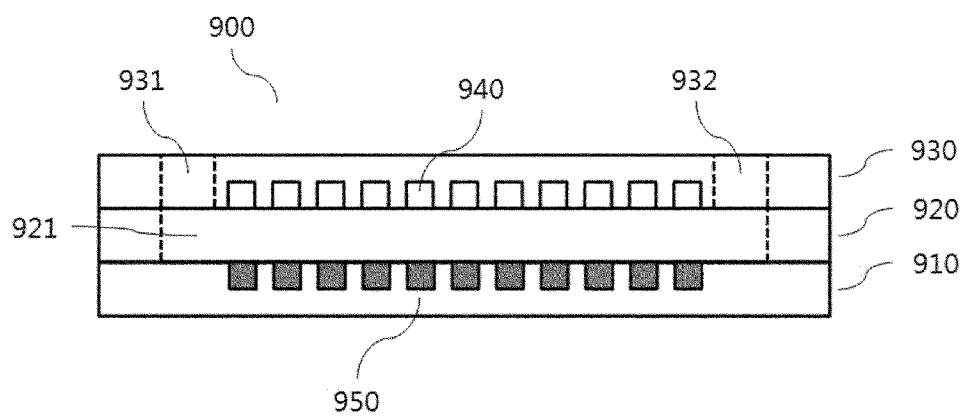
[Fig. 10]



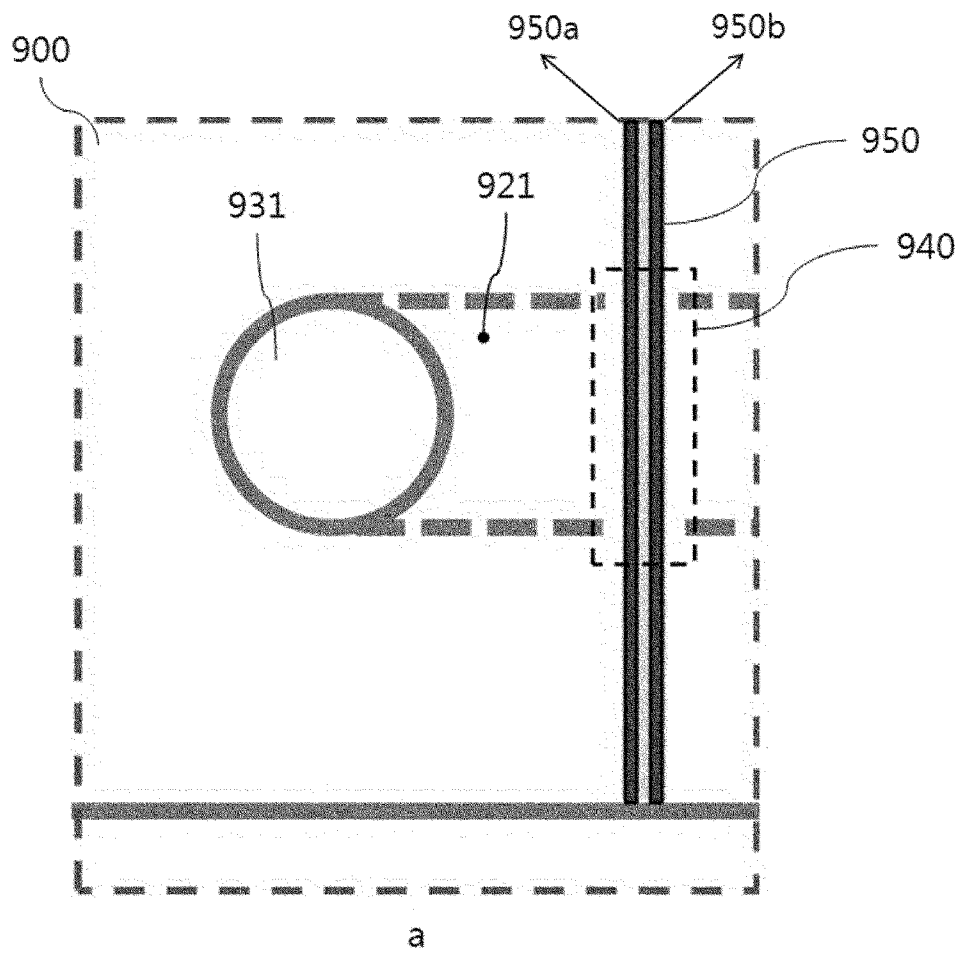
[Fig. 11]



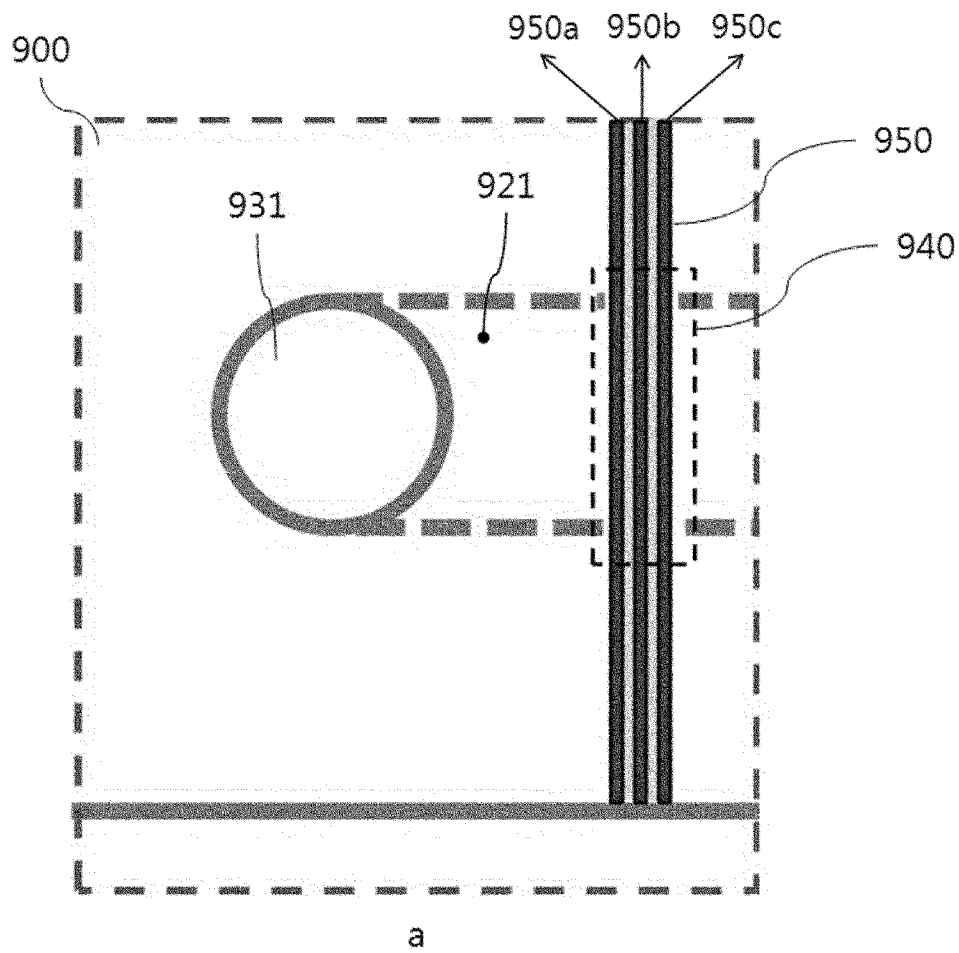
[Fig. 12]



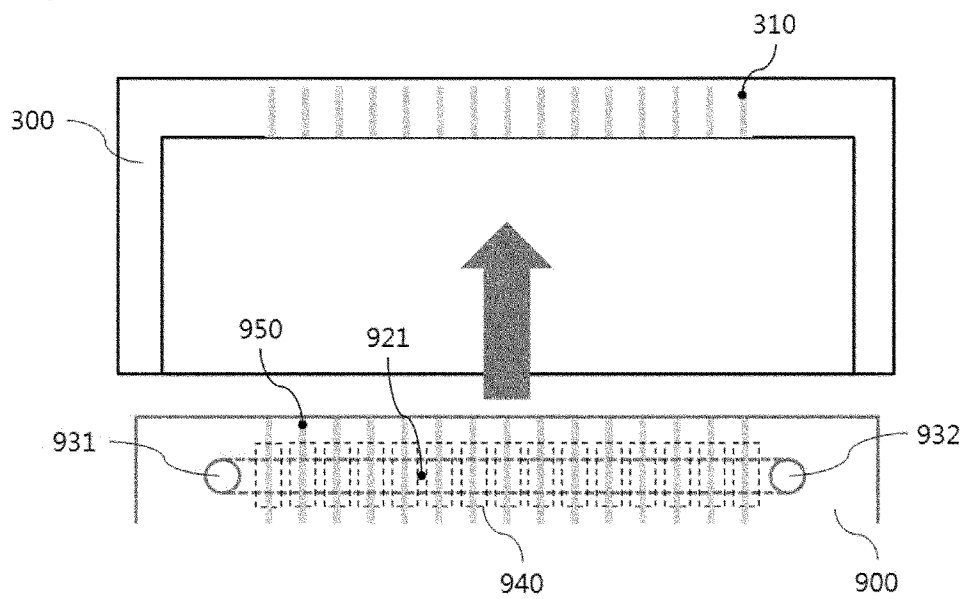
[Fig. 13]



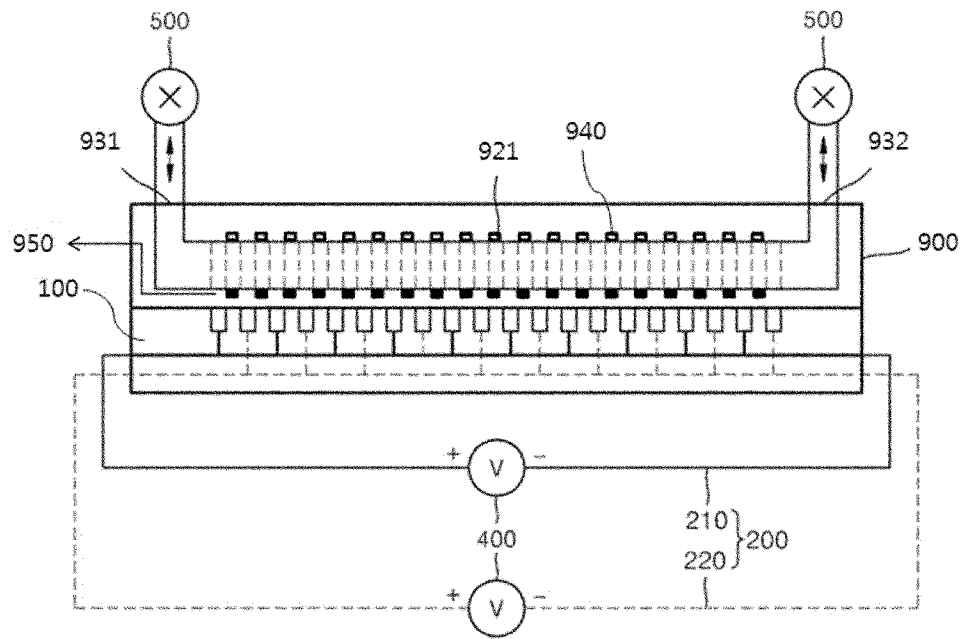
[Fig. 14]



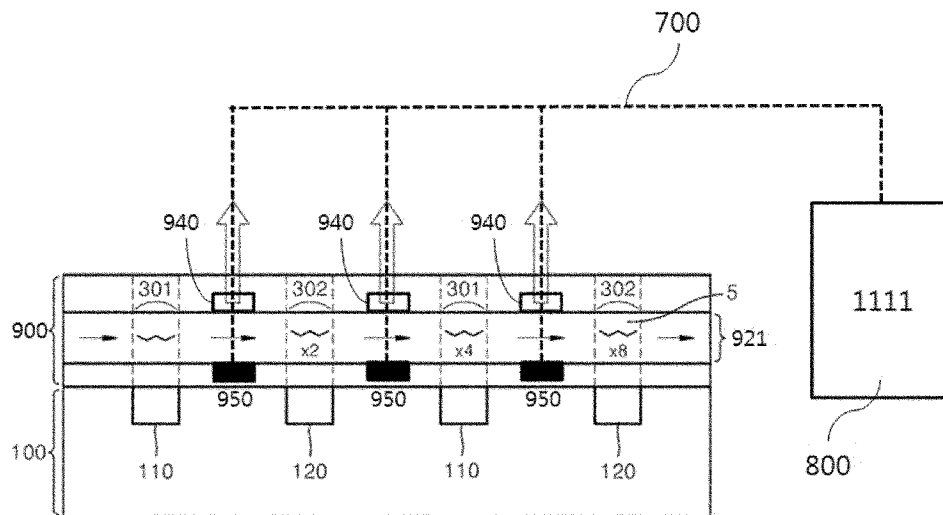
[Fig. 15]



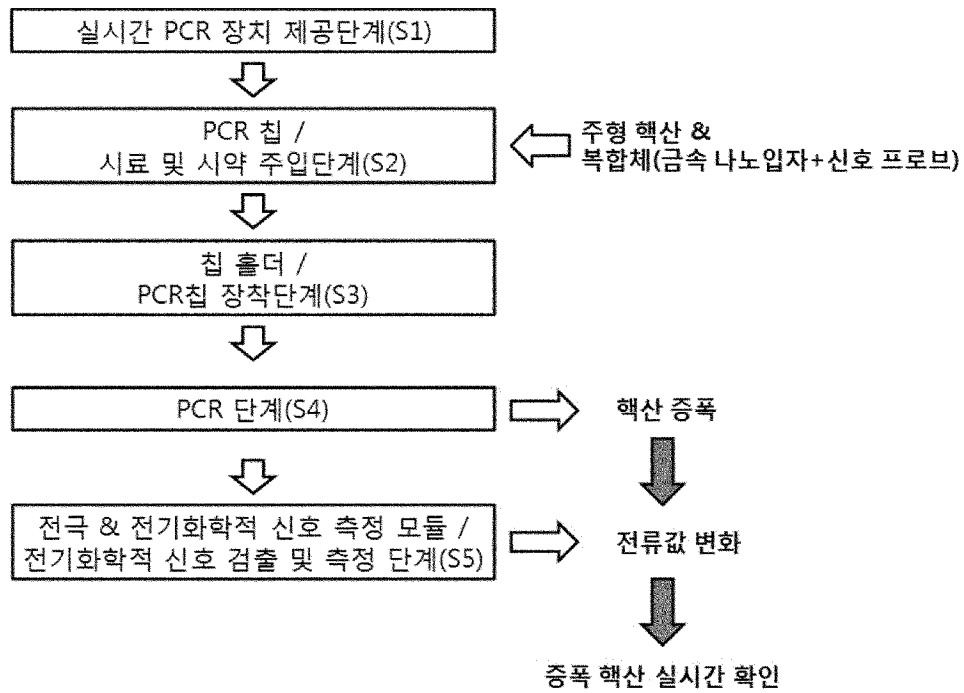
[Fig. 16]



[Fig. 17]



[Fig. 18]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/007788**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****G01N 27/30(2006.01)i, C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 27/416(2006.01)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)

G01N 27/30; C12M 1/00; G06F 19/20; C12Q 1/68; C12M 1/34; G01N 27/416

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: PCR, nucleic acid, electrode, probe, capture, measurement

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2002-0072054 A1 (MILES et al.) 13 June 2002 See abstract; paragraphs [0006]-[0007], [0019]; and figure 1.	1-15
A	KR 10-2010-0019409 A (WAFERGEN, INC.) 18 February 2010 See abstract and paragraphs [0021], [0024], [0101] and [0184].	1-15
A	KR 10-0668320 B1 (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.) 12 January 2007 See abstract; paragraph [0074] and claim 1.	1-15
A	KR 10-2003-0073255 A (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.) 19 September 2003 See abstract and claim 1.	1-15
A	KR 10-2002-0017212 A (BIONEX CO., LTD.) 07 March 2002 See abstract; claim 1 and figure 1.	1-15



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

26 DECEMBER 2013 (26.12.2013)

Date of mailing of the international search report

26 DECEMBER 2013 (26.12.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/007788

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2002-0072054 A1	13/06/2002	US 2005-0136466 A1 US 7157232 B2	23/06/2005 02/01/2007
KR 10-2010-0019409 A	18/02/2010	AU 2008-209561 A1 CA 2677833 A1 CN 101711257 A EP 2109627 A1 JP 2010-516281 A WO 2008-091626 A1	31/07/2008 31/07/2008 19/05/2010 21/10/2009 20/05/2010 31/07/2008
KR 10-0668320 B1	12/01/2007	EP 1541237 A2 EP 1541237 A3 US 2005-0130183 A1 US 2005-0164281 A1 US 2010-0311070 A1 US 7767439 B2 US 7799557 B2	15/06/2005 01/02/2006 16/06/2005 28/07/2005 09/12/2010 03/08/2010 21/09/2010
KR 10-2003-0073255 A	19/09/2003	AU 2002-367763 A1 CN 1511194 A EP 1483402 A1 JP 2005-518825 A US 2005-0112754 A1 WO 2003-076661 A1	22/09/2003 07/07/2004 08/12/2004 30/06/2005 26/05/2005 18/09/2003
KR 10-2002-0017212 A	07/03/2002	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
G01N 27/30(2006.01)i, C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 27/416(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 27/30; C12M 1/00; G06F 19/20; C12Q 1/68; C12M 1/34; G01N 27/416

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: PCR, 핵산, 전극, 프로브, 포획, 측정

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 2002-0072054 A1 (MILES 외 2명) 2002.06.13 요약; 문단부호 [0006]-[0007], [0019]; 및 도면 1 참조.	1-15
A	KR 10-2010-0019409 A (웨이퍼젠, 인크.) 2010.02.18 요약 및 문단부호 [0021], [0024], [0101], [0184] 참조.	1-15
A	KR 10-0668320 B1 (삼성전자주식회사) 2007.01.12 요약; 문단부호 [0074] 및 청구항 1 참조.	1-15
A	KR 10-2003-0073255 A (삼성전자주식회사) 2003.09.19 요약 및 청구항 1 참조.	1-15
A	KR 10-2002-0017212 A ((주)바이오넥스) 2002.03.07 요약; 청구항 1 및 도면 1 참조.	1-15

☐ 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

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

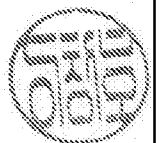
“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일
2013년 12월 26일 (26.12.2013)

국제조사보고서 발송일
2013년 12월 26일 (26.12.2013)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관
이창호
전화번호 +82-42-481-8398



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2002-0072054 A1	2002/06/13	US 2005-0136466 A1 US 7157232 B2	2005/06/23 2007/01/02
KR 10-2010-0019409 A	2010/02/18	AU 2008-209561 A1 CA 2677833 A1 CN 101711257 A EP 2109627 A1 JP 2010-516281 A WO 2008-091626 A1	2008/07/31 2008/07/31 2010/05/19 2009/10/21 2010/05/20 2008/07/31
KR 10-0668320 B1	2007/01/12	EP 1541237 A2 EP 1541237 A3 US 2005-0130183 A1 US 2005-0164281 A1 US 2010-0311070 A1 US 7767439 B2 US 7799557 B2	2005/06/15 2006/02/01 2005/06/16 2005/07/28 2010/12/09 2010/08/03 2010/09/21
KR 10-2003-0073255 A	2003/09/19	AU 2002-367763 A1 CN 1511194 A EP 1483402 A1 JP 2005-518825 A US 2005-0112754 A1 WO 2003-076661 A1	2003/09/22 2004/07/07 2004/12/08 2005/06/30 2005/05/26 2003/09/18
KR 10-2002-0017212 A	2002/03/07	없음	