

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2012년 2월 2일 (02.02.2012)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2012/015165 A2

- (51) 국제특허분류:
C12M 1/34 (2006.01) *C12Q 1/68* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/004395
- (22) 국제출원일: 2011년 6월 16일 (16.06.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0074385 2010년 7월 30일 (30.07.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 나노바이오시스(주) (NANOBIOSYS INC.) [KR/KR]; 서울시 금천구 가산동 60-18 한신 IT 타워 2 차 1004 호, 153-712 Seoul (KR).
- (72) 발명자: 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 김성우 (KIM, Sung Woo) [KR/KR]; 서울시 은평구 역촌동 228-2 번지 로 알빌라 104 호, 122-904 Seoul (KR). 류호선 (RYU, Ho Sun) [KR/KR]; 서울시 영등포구 양평동 4 가 272-5 번지 B101 호, 150-867 Seoul (KR). 김덕중 (KIM, Duck Joong) [KR/KR]; 경기도 안양시 만안구 석수동 석수하늘채아파트 103-1803, 430-040 Gyeonggi-do (KR). 이동훈 (LEE, Dong Hoon) [KR/KR]; 경기도 안양시 만

안구 박달동 31-14 번지 201 호, 430-030 Gyeonggi-do (KR). 김선진 (KIM, Sun Jin) [KR/KR]; 서울시 서대문구 홍제 1 동 330-81 번지 202 호, 120-859 Seoul (KR). 임기주 (IM, Ki Ju) [KR/KR]; 경기도 남양주시 호평동 한화꿈에그린아파트 103-1205, 472-790 Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 리앤목특허법인 (Y.P.LEE, MOCK & PARTNERS); 서울시 서초구 서초동 1575-1, 137-875 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, 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, KM, 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, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, 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.

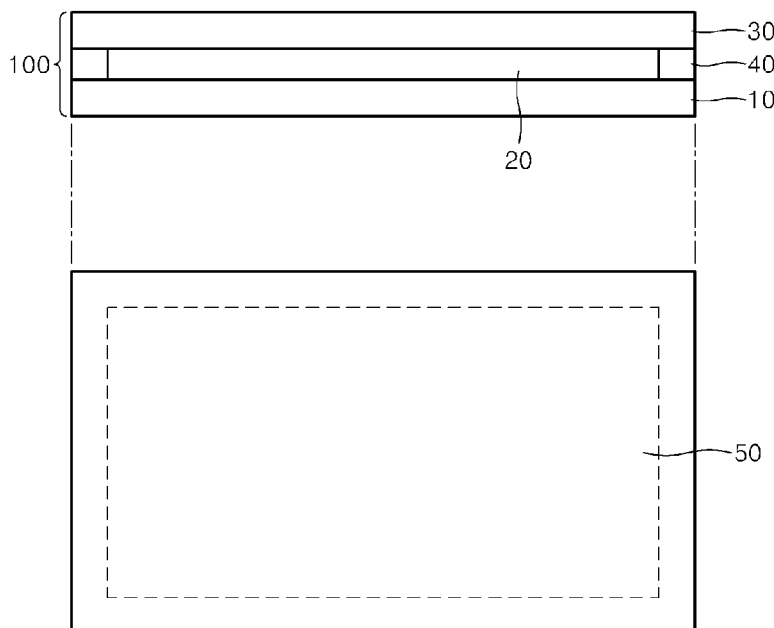
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PCR APPARATUS INCLUDING AN OPTICALLY TRANSMISSIVE HEAT BLOCK

(54) 발명의 명칭 : 광 투과성 열 블록을 포함하는 PCR 장치

[Fig. 1]



(57) Abstract: According to the present invention, a PCR apparatus including an optically transmissive heat block is disclosed. The PCR apparatus according to the present invention can quickly perform a nucleic acid reaction, measure in real time, raise analysis efficiency, and be formed as a miniaturized and portable PCR apparatus which is highly durable.

(57) 요약서: 본 발명에 따르면, 광 투과성 열 블록을 포함하는 PCR 장치가 개시된다. 본 발명에 따른 PCR 장치에 의하면, 핵산 증폭 반응을 신속하게 수행하고, 실시간으로 측정할 수 있으며, 분석 효율을 높일 수 있고, 소형화 및 내구성이 높은 휴대용 PCR 장치를 구현할 수 있다.



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

공개:

— 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

명세서

발명의 명칭: 광 투과성 열 블록을 포함하는 PCR 장치

기술분야

- [1] 본 발명은 중합효소 연쇄 반응에 사용되는 PCR(Polymerase Chain Reaction) 장치에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 중합효소 연쇄 반응(Polymerase Chain Reaction, 이하 PCR이라 통칭한다)은 핵산을 포함하는 샘플 용액을 반복적으로 가열 및 냉각하여 상기 핵산의 특정 염기 서열을 갖는 부위를 연쇄적으로 복제하여 그 특정 염기 서열 부위를 갖는 핵산을 기하급수적으로 증폭하는 기술로써, 생명과학, 유전공학 및 의료 분야 등에서 분석 및 진단 목적으로 널리 사용되고 있다. 따라서, 최근 PCR을 효율적으로 수행하기 위한 장치가 다양하게 개발되고 있다.
- [3] 상기 PCR 장치는 특정 염기 서열을 갖는 핵산을 증폭하는 PCR을 수행하기 위하여 구현된 장치를 말한다. 일반적으로, PCR 장치는 이중 가닥의 DNA를 포함하는 샘플 용액을 특정 온도, 예를 들어 약 95°C로 가열하여 상기 이중 가닥의 DNA를 단일 가닥의 DNA로 분리하는 변성 단계(denaturing step), 상기 샘플 용액에 증폭하고자 하는 특정 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오티드(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 샘플 용액을 DNA 중합효소의 활성온도, 예를 들어 72°C로 유지하여 DNA 중합효소(polymerase)에 의해 상기 부분적인 DNA-프라이머 복합체의 프라이머를 기초로 이중 가닥의 DNA를 형성하는 연장(또는 증폭) 단계(extension step)를 수행하고, 상기 연장(또는 증폭) 단계를 예를 들어, 20회 내지 40회로 반복함으로써 상기 특정 염기 서열을 갖는 DNA를 기하급수적으로 증폭할 수 있도록 구현된다. 또한, PCR 장치는 상기 어닐링 단계와 상기 연장(또는 증폭) 단계를 동시에 수행할 수 있고, 이 경우 상기 PCR 장치는 상기 변성 단계에 이은 상기 어닐링 및 연장 (또는 증폭) 단계로 구성된 2 단계를 수행함으로써, 제1 순환을 완성할 수도 있다.
- [4] 종래 PCR 장치는 상기 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장(또는 증폭) 단계를 수행하기 위하여 온도 제어 모듈로서, 탄화규소(SiC) 소재를 이용한 석열 히터, 열 전도성이 높은 금속 소재의 열선을 이용한 세라믹 히터 및 금속 히터 등을 사용하였다. 상기 히터들은 원적외선을 통한 복사 또는 주변 공기의 가열에 의한 열 대류를 통해 약 80 °C 이하에서 온도 제어가 가능하다. 그러나, 상기 히터들은 소재 특성상 온도가 크게 상승할 경우 단선의 우려가 높아 온도 제어의 안정성이

떨어지고, 금속 소재의 특성상 산화 및 부식이 빈번하게 발생하여 내구성이 크게 떨어지는 문제점이 있었다. 이와 같은 문제점은 PCR 장치의 결과 신뢰성을 크게 떨어뜨리고, 에너지 효율을 감소시키는 결과를 야기하였다. 또한, 최근 맞춤형 의학 및 원격 진단 시스템의 도입 추세에 따라, 생화학적 진단기기의 소형화의 필요성이 대두되고 있음에도 불구하고, 상기 히터들을 이용한 PCR 장치는 그 소재의 특성상 소형화가 불가능한 문제점이 있다. 따라서, 이러한 문제점을 해결하고자 소형화가 가능하고, PCR 반응 시간을 최소화하며, PCR 반응 단계를 실시간으로 모니터링할 수 있을 뿐만 아니라 신뢰할 수 있는 PCR 반응 수율을 얻을 수 있는 PCR 장치를 이하 제안한다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본 발명은 핵산 증폭 반응을 수행함에 있어서, 탁월한 성능 및 편리성을 발휘할 수 있는 PCR 장치를 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

- [6] 본 발명의 일 구체예는 기관, 상기 기관 상에 배치된 도전성 나노 입자를 포함하는 발열층, 상기 발열층 상에 배치된 절연 보호층 및 상기 발열층과 연결 배치된 전극을 구비하는 광 투과성 열 블록을 포함하고, 상기 광투과성 열 블록의 상부 면은 적어도 일부 영역에 중합효소 연쇄 반응(PCR, Polymerase Chain Reaction) 칩의 접촉부를 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치를 제공한다.
- [7] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 기관은 광 투과성 유리 또는 플라스틱 재질이고, 상기 발열층에 포함된 도전성 나노 입자는 산화물 반도체 물질 또는 상기 산화물 반도체 물질에 In, Sb, Al, Ga, C 및 Sn로 구성된 군으로부터 선택된 불순물이 첨가된 물질이고, 상기 절연 보호층은 유전체 산화물, 페릴린, 나노 입자 및 고분자 필름으로 구성된 군으로부터 선택되는 것이고, 상기 전극은 금속 물질, 전도성 에폭시, 전도성 페이스트, 솔더 및 전도성 필름으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.
- [8] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 광투과성 열 블록의 기관의 하부 면은 흡광 물질이 포함된 흡광층이 접촉 배치되거나, 또는 상기 광투과성 열 블록의 절연 보호층의 상부 면은 광반사 방지 물질이 포함된 광반사방지층이 접촉 배치될 수 있다.
- [9] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 PCR 장치는 상기 칩 접촉부에 배치되는 PCR 칩에 광을 제공하도록 구동가능하게 배치된 광 제공부 및 상기 칩 접촉부에 배치되는 PCR 칩으로부터 방출되는 광을 수용하도록 구동가능하게 배치된 광 검출부를 더 포함할 수 있다.
- [10] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 광 제공부 및 광 검출부는 상기 광 투과성 열 블록의 상부에 배치될 수 있다.

- [11] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 광 제공부는 LED(Light Emitting Diode) 광원 또는 레이저 광원, 상기 광원으로부터 방출되는 광에서 미리 결정된 파장을 갖는 광을 선택하는 제1 광 여과기, 및 상기 제1 광 여과기로부터 방출되는 광을 포집하는 제1 광 렌즈를 포함할 수 있다.
- [12] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 광 검출부는 상기 칩 접촉부에 배치되는 PCR 칩으로부터 방출되는 광을 포집하는 제2 광 렌즈, 상기 제2 광 렌즈로부터 방출되는 광에서 미리 결정된 파장을 갖는 광을 선택하는 제2 광 여과기, 및 상기 제2 광 여과기로부터 방출되는 광으로부터 광 신호를 검출하는 광 분석기를 포함할 수 있다.
- [13] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 광 제공부는 상기 광원과 상기 제1 광 여과기 사이에 빛을 퍼지게 하도록 배치된 제1 비구면 렌즈를 더 포함할 수 있다.
- [14] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 광 검출부는 상기 제2 광 여과기와 상기 광 분석기 사이에 상기 제2 광 여과기로부터 방출되는 광을 집적하도록 배치된 제2 비구면 렌즈를 더 포함할 수 있다.
- [15] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 광 검출부는 상기 제2 비구면 렌즈와 상기 광 분석기 사이에 상기 제2 비구면 렌즈로부터 방출되는 광의 노이즈(noise)를 제거하고 상기 제2 비구면 렌즈로부터 방출되는 광을 증폭하도록 배치된 광다이오드 집적소자(photodiode integrated circuit, PDIC)를 더 포함할 수 있다.
- [16] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 PCR 장치는 상기 광 제공부로부터 방출된 광이 광 검출부까지 도달할 수 있도록 광의 진행 방향을 조절하고, 미리 결정된 파장을 갖는 광을 분리하기 위한 하나 이상의 이색성 필터를 더 포함할 수 있다.
- [17] 본 발명의 다른 일 구체예에는 상기 PCR 장치의 광 투과성 열 블록에 포함된 칩 접촉부에 배치되고, 증폭하고자 하는 핵산을 포함하는 샘플 용액을 수용할 수 있는 것을 특징으로 하는 광 투과성 PCR 칩을 제공한다.
- [18] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 PCR 칩은 광 투과성 플라스틱 재질일 수 있다.
- [19] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 광 투과성 PCR 칩은 제1 판; 상기 제1 판 상에 배치되고, 관통 개구 채널을 구비하는 제2 판; 및 상기 제2 판 상에 배치되고, 상기 관통 개구 채널 상의 일 영역에 형성된 관통 개구 유입부 및 다른 일 영역에 형성된 관통 개구 유출부를 구비하는 제3 판을 포함할 수 있다.
- [20] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제1 판 및 제3 판은 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 재질을 포함할 수 있다.

- [21] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제3 판의 관통 개구 유입부는 지름 1.0 mm 내지 3.0 mm에서 선택되고, 상기 관통 개구 유출부는 지름 1.0 mm 내지 1.5 mm에서 선택될 수 있다.
- [22] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제3 판의 두께는 0.1 mm 내지 2.0 mm에서 선택될 수 있다.
- [23] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제2 판은 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 재질을 포함할 수 있다.
- [24] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제2 판의 두께는 100 μm 내지 200 μm 에서 선택되고, 상기 관통 개구 채널의 폭은 0.5 mm 내지 3 mm에서 선택되고, 상기 관통 개구 채널의 길이는 20 mm 내지 40 mm에서 선택될 수 있다.
- [25] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제3 판과 제2 판 사이 및 상기 제2 판과 제1 판 사이는 양면 접착제 또는 열가소성 수지가 처리될 수 있다.
- [26] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제1 판의 상단 면은 친수성 물질(922)이 처리될 수 있다.
- [27] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 친수성 물질은 카르복시기(-COOH), 아민기(-NH₂), 히드록시기(-OH), 및 술폰기(-SH)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다.
- [28] 본 발명의 일 구체예에 따르면, 상기 광투과성 플라스틱 재질 내벽은 DNA나 단백질(protein) 흡착을 방지하기 위해 실란(silane)계열, 보바인 시럽 알부민(Bovine Serum Albumin, BSA) 등의 물질로 코팅하는 것이 바람직하고 당업계에 공지된 방법에 따라 수행 할 수 있다.
- [29] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제3 판의 관통 개구 유입부 및 관통 개구 유출부, 및 상기 제2 판의 관통 개구 채널은 사출 성형, 핫-엠보싱(hot-embossing), 캐스팅(casting), 및 레이저 어블레이션(laser ablation)으로 구성된 군으로부터 선택되는 가공 방법에 의해 형성될 수 있다.

[30] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 친수성 물질은 산소 및 아르곤 플라즈마 처리, 코로나 방전 처리, 및 계면 활성제 도포로 구성된 군으로부터 선택되는 방법에 의해 처리될 수 있다.

[31] 본 발명의 다른 일 구체예에 따르면, 상기 제3 판의 하부 면과 상기 제2 판의 상부 면, 및 상기 제2 판의 하부 면과 상기 제1 판의 상부 면은 열 접합, 초음파 용착 또는 용매 접합 공정에 의해 접착될 수 있다.

발명의 효과

[32] 본 발명에 따른 광 투과성 열 블록을 포함하는 PCR 장치를 제공함으로써, 핵산 증폭 반응을 효율적이고 신속하게 수행할 수 있고, 핵산 증폭 반응의 실시간 측정 및 분석 효율을 높일 수 있으며, 내구성 및 상업성이 높은 휴대용 PCR 장치를 구현할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[33] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록을 도시한다.

[34] 도 2a는 종래 PCR 장치에 포함된 열 블록의 열 분포를 도시한다.

[35] 도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록의 열 분포를 도시한다.

[36] 도 2c는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록의 시간에 따른 온도 변화를 도시한다.

[37] 도 3a는 기판 하부 면에 흡광층이 접촉 배치된 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록을 도시하고, 도 3b는 절연 보호층 상부 면에 광반사방지층이 접촉 배치된 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록을 도시하고, 도 3c는 기판 하부면에 흡광층이 접촉 배치되고, 외부 공기층과 절연보호층의 접촉에 의한 광 반사를 방지하기 위한 광반사방지층이 상기 절연보호층의 상부에 접촉 배치된 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록을 도시한다.

[38] 도 4는 광 제공부 및 광 검출부를 포함하는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 광 투과성 열 블록 상에 PCR 칩이 배치된 것을 도시한다.

[39] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 광 제공부를 보다 상세하게 도시한다.

[40] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 광 검출부를 보다 상세하게 도시한다.

[41] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 이색성 필터에 의해 광 경로를 도시한다.

[42] 도 8은 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 광 투과성 PCR 칩의 단면을 도시한다.

[43] 도 9는 양면 접착제 또는 열 가소성 수지가 처리된 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 광 투과성 PCR 칩의 단면을 도시한다.

- [44] 도 10a는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치를 이용하여 시간에 따른 PCR 결과를 도시하고, 도 10b는 도 10a에 따른 PCR 결과를 타사의 PCR 장치를 이용한 PCR 결과와 비교한 전기영동 사진을 도시한다.
- [45] 도 11a는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치를 이용하여 시간에 따른 PCR 결과를 도시하고, 도 11b는 도 11a에 따른 PCR 결과를 타사의 PCR 장치를 이용한 PCR 결과와 비교한 전기영동 사진을 도시한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [46] 이하, 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다.
- [47]
- [48] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록(100)을 도시한다.
- [49] 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치는 기관(10), 상기 기관(10) 상에 배치된 도전성 나노 입자를 포함하는 발열층(20), 상기 발열층 상에 배치된 절연 보호층(30) 및 상기 발열층과 연결 배치된 전극(40)을 구비하는 광 투과성 열 블록(100)을 포함하고, 상기 광투과성 열 블록의 상부 면은 적어도 일부 영역에 PCR 칩의 접촉부(50)를 포함한다.
- [50] 상기 기관(10)은 광 투과성 재료의 판재로서, 광 투과성 유리 또는 광 투과성 플라스틱 재질일 수 있다. 또한, 상기 기관(10)은 도 1에 따르면, 평판형으로 도시되어 있지만, 반원통형, 반구면형 등의 다양한 형상을 가질 수 있다. 또한, 상기 기관(10)은 상기 발열층(20)을 지지하는 역할을 수행한다.
- [51] 상기 발열층(20)은 PCR의 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장(또는 증폭) 단계를 수행하기 위한 상기 광 투과성 열 블록(100)의 열원 역할을 수행한다. 상기 발열층(20)은 상기 기관(10) 상에 배치되고, 도전성 나노 입자(도시되지 않음)를 포함한다. 상기 도전성 나노 입자는 산화물 반도체 물질 또는 상기 산화물 반도체 물질에 In, Sb, Al, Ga, C 및 Sn로 구성된 군으로부터 선택된 불순물이 첨가된 물질일 수 있다. 또한, 상기 발열층(20)은 상기 도전성 나노 입자가 물리적으로 연계(necking)된 성긴 조직(loose texture) 구조를 가질 수 있고, 제조 공정의 열 처리 조건에 따라 치밀한 조직(close-packed texture)을 가질 수 있으며, 또한 완전한 막 상태로 구현될 수도 있다. 또한, 상기 도전성 나노 입자는 용매에 분산된 상태로 존재하므로, 상기 기관(10) 상에 용이하게 적층할 수 있기 때문에, 그 적층 수를 조절하여 상기 발열층(20)의 두께 조절을 용이하게 할 수 있다. 또한, 상기 도전성 나노 입자를 포함하는 분산액의 농도를 조절함으로써 상기 발열층(20)의 도전성을 용이하게 조절할 수도 있다. 또한, 상기 발열층(20)을 상기 기관(10)에 강하게 고정하기 위하여 상기 기관(10)과 발열층(20) 사이에 접착력 강화층(도시되지 않음)이 형성될 수 있다. 상기 접착력 강화층은 실리카 또는 폴리머로 형성될 수 있고, 도전성 나노 입자를 포함할 수 있어 발열층과 동일한 역할을 또한 수행할 수도 있다. 또한, 상기 발열층(20)은 투명할 수 있다.

예를 들어, 가시광선의 파장은 400 내지 700 nm이고, 도전성 나노 입자를 포함하는 발열층을 이러한 파장의 1/4 이하의 두께, 예를 들어 약 100 nm 이하가 되도록 형성하는 경우 광 투과성을 획득할 수 있다.

- [52] 상기 절연 보호층(30)은 상기 발열층(20)을 물리적 및/또는 전기적으로 보호하기 위한 것으로서, 절연성 물질을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 절연성 물질은 유전체 산화물, 페릴린, 나노 입자 및 고분자 필름으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 한편, 상기 절연 보호층(30)은 투명할 수 있다.
- [53] 상기 전극(40)은 상기 발열층(20)과 직접 또는 간접적으로 연결 배치되어 상기 발열층(20)에 전력을 공급하는 것이다. 상기 전극(40)은 전력을 공급할 수 있는 다양한 물질이 사용될 수 있고, 예를 들어 금속 물질, 전도성 에폭시, 전도성 페이스트, 솔더 및 전도성 필름으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 도 1에 따르면, 상기 전극(40)은 상기 발열층(20)의 양 측면에 연결 배치되지만, 상기 발열층(20)에 전력을 공급할 수 있다면 다양하게 작동가능한 위치에서 연결 배치될 수 있다. 또한, 상기 전극(40)은 상기 PCR 장치에 포함되거나 또는 외부 배치된 전원과 전기적으로 연결될 수도 있다. 예를 들어, 상기 전극(40)은 상기 발열층(20)에 직접 접촉하고, 배선(도시되지 않음)을 통해 외부 회로(도시되지 않음)에 상기 발열층(20)을 연결하며, 상기 배선이 전극(40)에 안정적으로 고정되도록 단자가 배치될 수 있다.
- [54] 상기 광 투과성 열 블록(100)은 그 상부 면의 적어도 일부 영역에 PCR 칩(도시되지 않음)이 접촉하는 칩 접촉부(50)를 포함한다. 상기 PCR 칩은 상기 칩 접촉부(50)에 접촉함으로써, 상기 광 투과성 열 블록(100)의 열 공급 또는 회수에 따라 가열 또는 냉각되어 PCR의 각 반응 단계를 수행할 수 있다. 또한, 상기 PCR 칩은 상기 칩 접촉부(50)에 직접 또는 간접적으로 접촉할 수 있다. 한편, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치는 상기 광 투과성 열 블록을 포함하는 기타 PCR을 수행하기 위한 모듈들을 추가적으로 포함할 수 있고, 본 명세서에 기재되지 아니한 세부적인 모듈들은 종래 기술 중 자명한 범위 안에서 모두 구비하고 있는 것을 전제로 한다.
- [55] 상기 광 투과성 열 블록(100)을 포함하는 PCR 장치는 종래 기존 석열 히터, 세라믹 히터 또는 금속 히터를 열 블록으로 이용하는 PCR 장치에 비해 많은 장점을 갖는다. 먼저, 열원으로서 도전성 나노 입자를 이용하기 때문에 발열층의 단선의 우려가 없고, 상기 도전성 나노 입자를 직접적으로 가열하기 때문에 높은 열 효율 및 낮은 소비 전력을 획득할 수 있으며(예를 들어, 상기 광투과성 열 블록이 약 2X2 cm의 규격일 경우 약 12V의 전압으로 발열이 가능함), 금속 재질이 아니므로 산화, 부식이 거의 일어나지 않아 내구성이 뛰어나다. 또한, 상기 기관(10), 발열층(20) 및 절연 보호층(30)의 제조시 광 투과성을 획득할 수 있기 때문에, 이하 설명될 광 제공부 및 광 검출부와 함께 구현될 경우 샘플 용액에 포함된 형광 물질에 의한 PCR의 실시간 모니터링이 가능하다. 또한, 상기 기관(10), 발열층(20) 및 절연 보호층(30)의 제조시 그 두께 조절이 용이하기

때문에 상기 광 투과성 열 블록(100)의 슬립화가 가능하여 상기 광 투과성 열 블록(100)을 포함하는 PCR 장치의 소형화가 가능하다. 또한, 상기 도전성 나노 입자가 상기 발열층(20)에 균일하게 분포되어 상기 광 투과성 열 블록(100)의 균일한 열 분포 및 신속한 온도 제어가 가능하기 때문에 PCR 결과의 검출 효율이 높고, PCR 결과를 신속하게 얻을 수 있다. 상기 광 투과성 열 블록(100)의 열 분포의 균일성 및 온도 제어의 신속성은 도 2에 따른 실험 결과로서 확인할 수 있다. 도 2a는 종래 PCR 장치에 포함된 열 블록의 열 분포를 도시하고, 도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록(100)의 열 분포를 도시하며, 도 2c는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록(100)의 시간에 따른 온도 변화를 도시한다. 기존 PCR 장치에서 열 블록으로 사용된 석열 히터, 세라믹 히터 또는 금속 히터에 전력을 인가하여 온도 분포를 관찰하고, 본 발명의 일 실시예에 따른 광 투과성 열 블록(100)에 상기 전극(40)을 통해 전력을 인가하여 온도 분포를 관찰하였다. 그 결과, 도 2a에 따르면, 기존 히터 상의 온도 분포는 히터 표면 전체에 걸쳐서 균일하지 않지만, 도 2b에 따르면, 상기 광 투과성 열 블록(100) 상의 온도 분포는 상기 도 2a에 비해 전체적으로 균일한 것으로 관찰되었다. 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 광 투과성 열 블록(100)에 상기 전극(40)을 통해 전력을 인가하여 시간에 따른 상기 광 투과성 열 블록(100)의 온도 변화를 관찰하였다. 그 결과, 온도 상승 폭은 최대 17 °C/sec으로 나타났고, 이는 대표적인 기존 히터들(예를 들어, Bio-Rad사의 CFX96)의 온도 상승 폭이 최대 5 °C/sec인 것에 비해 상당히 높은 수치임을 확인할 수 있다.

[56]

[57] 도 3a는 기관(10) 하부 면에 흡광층(60)이 접촉 배치된 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록(100)을 도시하고, 도 3b는 절연 보호층(30) 상부 면에 광반사방지층(70)이 접촉 배치된 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록(100)을 도시하고, 도 3c는 기관(10) 하부면에 흡광층(60)이 접촉 배치되고, 외부 공기층과 절연보호층(30)의 접촉에 의한 광 반사를 방지하기 위한 광반사방지층(70)이 상기 절연보호층(30)의 상부에 접촉 배치된 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 광 투과성 열 블록(100)을 도시한다.

[58] 일반적으로, PCR을 수행함과 동시에 형광물질을 이용하여 PCR 산물의 발생 유무 및 정도를 실시간으로 측정 및 분석할 수 있다. 이와 같은 PCR을 소위 실시간 중합효소 연쇄반응(Real time PCR)이라고 한다. 상기 반응은 PCR 칩에 PCR 반응에 필요한 시약뿐만 아니라 형광물질이 첨가되고, PCR 산물의 생성에 따라 상기 형광물질이 특정 파장의 광에 의해 발광함으로써 측정 및 분석 가능한 광 신호를 유발하게 된다. 따라서, 실시간으로 PCR 산물을 정확하게 모니터링하기 위해서는 상기 광 신호의 센싱 효율을 가능한 높힐 필요가 있다. 상기 광 투과성 열 블록(100)은 전체적으로 광 투과성을 갖기 때문에

광원으로부터 유래된 여기 광을 대부분 그대로 투과시켜 상기 광 신호의 센싱 효율을 높일 수 있다. 그러나, 상기 여기 광의 일부는 상기 광 투과성 열 블록(100) 상에서 반사되거나 또는 상기 광 투과성 열 블록(100)을 통과한 후 반사되어 광 신호의 노이즈(noise)로서 작용할 수 있다. 따라서, 바람직하게는, 상기 광 투과성 열 블록(100)의 하부 면에 흡광 물질을 처리하여 센싱 효율을 더욱 높일 수 있다. 도 3a에 따르면, 흡광층(60)이 상기 기판(10)의 하부 면에 접촉 배치되고, 상기 흡광층(60)은 흡광 물질을 포함한다. 상기 흡광 물질은 예를 들어, 운모(mica)일 수 있으나, 광을 흡수하는 성질을 갖는 물질이라면 제한되지 않는다. 따라서, 광원으로부터 유래된 광의 일부를 상기 흡광층(60)이 흡수하여, 광 신호의 노이즈로 작용하는 반사 광의 발생을 최대한 억제할 수 있다. 또한, 대안적으로, 상기 광 투과성 열 블록(100)의 상부 면에 광반사방지 물질을 처리하여 센싱 효율을 더욱 높일 수 있다. 도 3b에 따르면, 광반사방지층(70)이 상기 절연 보호층(30)의 상부 면에 접촉 배치되고, 상기 광반사방지층(70)은 절연보호층(30)과 조합하여 절연보호 기능 및 광반사방지 기능을 수행하며, 광반사방지 물질을 포함한다. 상기 광반사방지 물질은 예를 들어, MgF_2 와 같은 불화물, SiO_2 , Al_2O_3 와 같은 산화물일 수 있으나, 광반사를 방지할 수 있는 성질을 갖는 물질이라면 제한되지 않는다. 또한, 더 바람직하게는, 상기 광 투과성 열 블록(100)의 하부 면에 흡광 물질을 처리하고, 동시에 상기 광 투과성 열 블록(100)의 상부 면에 광반사방지 물질을 처리하여 센싱 효율을 더욱 높일 수 있다. 즉, 효과적인 실시간 PCR의 모니터링을 위하여 상기 노이즈 대비 광 신호 비율은 가능한 최대값을 가져야 하고, 상기 노이즈 대비 광 신호 비율은 상기 PCR 칩으로부터 여기 광의 반사율이 낮을수록 향상될 수 있다. 예를 들어, 일반적인 금속성 재질의 기존 히터들의 여기 광의 반사율은 약 20 내지 80 %이지만, 상기 도 3a 또는 도 3b에 따른 흡광층(60) 또는 광반사방지층(70)을 포함하는 본 발명에 따른 광 투과성 열 블록(100)을 사용하는 경우 광 반사율을 0.2% 내지 4% 이내로 줄일 수 있고, 상기 도 3c에 따른 흡광층(60) 및 광반사방지층(70)을 포함하는 본 발명에 따른 광 투과성 열 블록(100)을 사용하는 경우 광 반사율을 0.2% 이하로 줄일 수 있다.

[59]

[60] 도 4는 광 제공부 및 광 검출부를 포함하는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 광 투과성 열 블록 상에 PCR 칩이 배치된 것을 도시한다.

[61] 도 4에 따르면, 상기 PCR 장치는 상기 칩 접촉부(50)에 배치되는 PCR 칩(900)에 광을 제공하도록 구동가능하게 배치된 광 제공부(200) 및 상기 칩 접촉부(50)에 배치되는 PCR 칩(900)으로부터 방출되는 광을 수용하도록 구동가능하게 배치된 광 검출부(300)를 더 포함한다. 상기 광 제공부(200)는 상기 PCR 칩(900)에 광을 제공하기 위한 모듈이고, 상기 광 검출부(300)는 상기 PCR 칩(900)으로부터 방출되는 광을 수용하여 상기 PCR 칩(900)에서 수행되는 PCR 반응을 측정하기 위한 모듈이다. 상기 광 제공부(200)로부터 광이 방출되고, 상기 방출된 광은

상기 PCR 칩(900), 구체적으로 상기 PCR 칩(900)의 반응 챔버(또는 채널)(도시되지 않음)를 통과하거나 반사하고, 이 경우 상기 반응 챔버(또는 채널) 내의 핵산 증폭에 의해 발생하는 광 신호를 상기 광 검출부(300)가 검출한다. 따라서, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 따르면, 상기 PCR 칩(900)에서 상기 PCR의 각 순환 단계가 진행되는 동안 상기 반응 챔버(또는 채널) 내에서 (형광 물질이 결합된) 핵산의 증폭에 의한 반응 결과를 실시간으로 모니터링함으로써 초기 샘플 용액에 포함되어 있는 표적 핵산의 증폭 여부 및 증폭 정도를 실시간으로 측정 및 분석할 수 있다. 또한, 상기 광 제공부(200) 및 광 검출부(300)는 상기 광 투과성 열 블록(900)을 중심으로 위 또는 아래에 모두 배치되거나 각각 배치될 수 있다. 다만, 상기 광 제공부(200) 및 광 검출부(300)의 배치는 본 발명에 따른 PCR 장치의 최적의 구현을 위하여 다른 모듈과의 배치 관계를 고려하여 다양할 수 있으며, 바람직하게는 도 4에 따라, 상기 광 제공부(200) 및 광 검출부(300)는 상기 광 투과성 열 블록의 상부에 배치될 수 있다.

[62]

[63] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 광 제공부(200)를 보다 상세하게 도시한다.

[64]

도 5에 따르면, 상기 광 제공부(200)는 LED(Light Emitting Diode) 광원 또는 레이저 광원(210), 상기 광원으로부터 방출되는 광에서 미리 결정된 파장을 갖는 광을 선택하는 제1 광 여과기(230), 및 상기 제1 광 여과기로부터 방출되는 광을 포집하는 제1 광 렌즈(240)를 포함하고, 상기 광원(210)과 상기 제1 광 여과기(230) 사이에 빛을 퍼지게 하도록 배치된 제1 비구면 렌즈(220)를 더 포함한다. 상기 광원(210)은 광을 방출할 수 있는 모든 광원을 포함하며, 본 발명의 일 실시예에 따르면, LED(Light Emitting Diode) 광원 또는 레이저 광원을 포함한다. 상기 제1 광 여과기(230)는 다양한 파장대를 갖는 입사광 중 특정 파장의 광을 선택하여 방출하는 것으로, 미리 결정된 상기 광원(210)에 따라 다양하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 상기 제1 광 여과기(230)는 상기 광원(210)으로부터 방출되는 광 중 500 nm 이하 파장대의 광만을 통과시킬 수 있다. 상기 제1 광 렌즈(240)는 그 입사광을 포집하여 그 방출광의 강도를 증가시키는 역할을 수행하는 것으로, 상기 광 투과성 열 블록(100)을 통해 PCR 칩에 조사되는 광의 강도를 증가시킬 수 있다. 또한, 상기 광 제공부(200)는 상기 광원(210)과 상기 제1 광 여과기(230) 사이에 빛을 퍼지게 하도록 배치된 제1 비구면 렌즈(220)를 더 포함한다. 상기 제1 비구면 렌즈(220)의 배치 방향을 조정함으로써, 상기 광원(210)으로부터 방출되는 광 범위를 확장하여 측정 가능한 영역에 도달하게 한다.

[65]

[66] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 광 검출부(300)를 보다 상세하게 도시한다.

[67] 도 6에 따르면, 상기 광 검출부(300)는 상기 칩 접촉부에 배치되는 PCR 칩으로부터 방출되는 광을 포집하는 제2 광 렌즈(310), 상기 제2 광 렌즈로부터 방출되는 광에서 미리 결정된 파장을 갖는 광을 선택하는 제2 광 여과기(320), 및 상기 제2 광 여과기로부터 방출되는 광으로부터 광 신호를 검출하는 광 분석기(350)를 포함하고, 상기 제2 광 여과기(320)와 상기 광 분석기(350) 사이에 상기 제2 광 여과기(320)로부터 방출되는 광을 집적하도록 배치된 제2 비구면 렌즈(330)를 더 포함하며, 상기 제2 비구면 렌즈(330)와 상기 광 분석기(350) 사이에 상기 제2 비구면 렌즈(330)로부터 방출되는 광의 노이즈(noise)를 제거하고 상기 제2 비구면 렌즈(330)로부터 방출되는 광을 증폭하도록 배치된 광다이오드 집적소자(photodiode integrated circuit, PDIC)(340)를 더 포함한다. 상기 제2 광 렌즈(310)는 그 입사광을 포집하여 그 방출광의 강도를 증가시키는 역할을 수행하는 것으로, 상기 광 투과성 열 블록(100)을 통해 PCR 칩으로부터 방출되는 광의 강도를 증가시켜 광 신호 검출을 용이하게 한다. 상기 제2 광 여과기(320)는 다양한 파장대를 갖는 입사광 중 특정 파장의 광을 선택하여 방출하는 것으로, 상기 광 투과성 열 블록(100)을 통해 PCR 칩으로부터 방출되는 미리 결정된 광의 파장에 따라 다양하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 상기 제2 광 여과기(320)는 상기 광 투과성 열 블록(100)을 통해 PCR 칩으로부터 방출되는 미리 결정된 광 중 500 nm 이하 파장대의 광만을 통과시킬 수 있다. 상기 광 분석기(350)는 상기 제2 광 여과기(320)로부터 방출되는 광으로부터 광 신호를 검출하는 모듈로서, 샘플 용액으로부터 발현 형광된 광을 전기 신호로 전환하여 정성 및 정량적인 측정이 가능하도록 한다. 또한, 상기 광 검출부(300)는 상기 제2 광 여과기(320)와 상기 광 분석기(350) 사이에 상기 제2 광 여과기(320)로부터 방출되는 광을 집적하도록 배치된 제2 비구면 렌즈(330)를 더 포함할 수 있다. 상기 제2 비구면 렌즈(330)의 배치 방향을 조정함으로써, 상기 제2 광 여과기(320)로부터 방출되는 광 범위를 확장하여 측정 가능한 영역에 도달하게 한다. 또한, 상기 광 검출부(300)는 상기 제2 비구면 렌즈(330)와 상기 광 분석기(350) 사이에 상기 제2 비구면 렌즈(330)로부터 방출되는 광의 노이즈(noise)를 제거하고, 상기 제2 비구면 렌즈(330)로부터 방출되는 광을 증폭하도록 배치된 광다이오드 집적소자(photodiode integrated circuit, PDIC)(340)를 더 포함할 수 있다. 상기 광다이오드 집적소자(340)를 사용함으로써, 상기 PCR 장치의 소형화가 더욱 가능하고, 노이즈를 최소화하여 신뢰 가능한 광 신호를 측정할 수 있다.

[68]

[69] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 포함된 이색성 필터(400)에 의해 광 경로를 도식한다.

[70] 도 7에 따르면, 상기 PCR 장치는 상기 광 제공부(200)로부터 방출된 광이 광 검출부(300)까지 도달할 수 있도록 광의 진행 방향을 조절하고, 미리 결정된 파장을 갖는 광을 분리하기 위한 하나 이상의 이색성 필터(400)를 더 포함한다.

상기 이색성 필터(dichroic filter)(400)는 광을 파장에 따라 선택적으로 투과 또는 선택적으로 조절된 각도로 반사시키는 모듈이다. 도 7에 따르면, 이색성 필터(400a)는 광 제공부(200)으로부터 방출되는 광의 광축에 대하여 약 45도 각도로 경사지게 배치되고, 상기 광을 그 파장에 따라 선택적으로 단파장 성분을 투과시키고 장파장 성분을 직각으로 반사시켜 상기 광 투과성 열 블록(100) 상에 배치된 PCR 칩(900)에 도달하게 한다. 또한, 이색성 필터(400b)는 상기 PCR 칩(900) 및 광 투과성 열 블록(100)으로부터 반사된 광의 광축에 대하여 약 45도 각도로 경사지게 배치되고, 상기 광을 그 파장에 따라 선택적으로 단파장 성분을 투과시키고 장파장 성분을 직각으로 반사시켜 상기 광 검출부(300)에 도달하게 한다. 상기 광 검출부(300)에 도달한 광은 광 분석기에서 전기 신호로 전환되어 핵산 증폭 여부 및 증폭 정도를 나타내게 된다.

[71]

[72] 도 8은 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 광 투과성 PCR 칩(900)의 단면을 도시한다.

[73] 도 8에 따르면, 광 투과성 PCR 칩(900)은 상기 설명된 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 광 투과성 열 블록(100)에 포함된 칩 접촉부(50)에 배치되고, 증폭하고자 하는 핵산을 포함하는 샘플 용액을 수용할 수 있다. 또한, 상기 광투과성 PCR 칩(900)은 광 투과성 플라스틱 재질일 수 있다. 또한, 상기 광 투과성 PCR 칩은 제1 판(910); 상기 제1 판(910) 상에 배치되고, 관통 개구 채널(921)을 구비하는 제2 판(920); 및 상기 제2 판(920) 상에 배치되고, 상기 관통 개구 채널(921) 상의 일 영역에 형성된 관통 개구 유입부(931) 및 다른 일 영역에 형성된 관통 개구 유출부(932)를 구비하는 제3 판(930)을 포함한다.

[74] 상기 PCR 칩(900)은 핵산, 예를 들어 이중 가닥 DNA, 증폭하고자 하는 특정 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오티드 프라이머, DNA 중합효소, 삼인산화데옥시리보뉴클레오티드(deoxyribonucleotide triphosphates, dNTP), PCR 반응 완충액 (PCR reaction buffer)를 포함하는 샘플 용액을 포함할 수 있다. 상기 PCR 칩(900)은 상기 샘플 용액을 도입하기 위한 유입부(931), 핵산 증폭 반응을 완료한 샘플 용액을 배출하기 위한 유출부(932) 및 증폭하고자 하는 핵산을 포함하는 샘플 용액이 수용된 하나 이상의 PCR 반응 챔버(또는 채널)(921)를 포함할 수 있다. 상기 PCR 칩(900)이 상기 광 투과성 열 블록(100)에 접촉하는 경우 상기 광 투과성 열 블록(100)의 열은 상기 PCR 칩(900)에 전달되고, 상기 PCR 칩(900)의 PCR 반응 챔버(또는 채널)(921)에 포함된 샘플 용액은 가열되거나 냉각되어 일정 온도가 유지될 수 있다. 또한, 상기 PCR 칩(900)은 전체적으로 평면 형상을 가질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 PCR 칩(900)은 별도의 칩 홀더(도시되지 않음)에 장착된 상태로 상기 광 투과성 열 블록(100)에 간접적으로 접촉 배치될 수도 있다. 따라서, 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 PCR 칩(900)이 상기 광 투과성 열 블록(100)의 칩 접촉부(50)에 배치된다는 것은 상기 PCR 칩(900)이 별도의 칩 홀더에 장착된

상태로 상기 광 투과성 열 블록(100)에 접촉 배치되는 것을 포함한다. 또한, 상기 PCR 칩(900)은 광 투과성 재질로 구현될 수 있고, 바람직하게는 광 투과성 플라스틱 재질을 포함한다. 상기 PCR 칩(900)은 플라스틱 재질을 사용하여, 플라스틱 두께 조절만으로 열 전달 효율을 증대시킬 수 있고, 제작 공정이 단순하여 제조 비용을 절감할 수 있다. 또한 상기 PCR 칩(900)은 전체적으로 광 투과적인 성질을 갖기 때문에 상기 광 투과성 열 블록(100)의 칩 접촉부(50)에 배치된 상태에서 PCR 칩에 직접적으로 광 조사가 가능하여 실시간으로 핵산 증폭 여부 및 증폭 정도를 측정 및 분석할 수 있다.

- [75] 상기 제1 판(910)은 상기 제2 판(920) 상에 배치된다. 상기 제1 판(910)이 상기 제2 판(920)의 하부면에 접촉 배치됨으로써 상기 관통 개구 채널(921)은 일종의 PCR 반응 챔버를 형성한다. 또한, 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 상단 면은 친수성 물질(922)이 처리되어 PCR을 원활하게 수행할 수 있다. 상기 친수성 물질(922)의 처리에 의해 상기 제1 판(910) 상에 친수성 물질(922)을 포함하는 단일층이 형성될 수 있다. 상기 친수성 물질은 다양한 물질일 수 있으나, 바람직하게는 카르복시기(-COOH), 아민기(-NH₂), 히드록시기(-OH), 및 술폰기(-SH)로 구성된 군으로부터 선택되는 것일 수 있고, 상기 친수성 물질의 처리는 당업계에 공지된 방법에 따라 수행할 수 있다.
- [76] 상기 제2 판(920)은 상기 제1 판(910) 상에 배치된다. 상기 제2 판(920)은 관통 개구 채널(921)을 포함한다. 상기 관통 개구 채널(921)은 상기 제3 판(910)에 형성된 관통 개구 유입부(931)과 관통 개구 유출부(932)에 대응되는 부분과 연결되어 일종의 PCR 반응 챔버를 형성한다. 따라서, 상기 관통 개구 채널(921)에 증폭하고자 하는 샘플 용액이 도입된 후 PCR 반응이 진행된다. 또한, 상기 관통 개구 채널(921)은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 사용 목적 및 범위에 따라 2 이상 존재할 수 있고, 도 8에 따르면, 6개의 관통 개구 채널(921)이 예시되고 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), 퍼플로알콕시알칸(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 관통 개구 채널(921)의 폭과 길이는 다양할 수 있으나, 바람직하게는 상기 관통 개구 채널(921)의 폭은 0.5 mm 내지 3 mm에서 선택되고, 상기 관통 개구 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 당업계에 공지된 방법에 따라 수행할 수 있다.

- [77] 상기 제3 판(930)은 상기 제2 판(920) 상에 배치된다. 상기 제3 판(930)은 상기 제2 판(920)에 형성된 관통 개구 채널(921) 상의 일 영역에 형성된 관통 개구 유입부(931) 및 다른 일 영역에 형성된 관통 개구 유출부(932)를 구비한다. 상기 관통 개구 유입부(931)는 증폭하고자 하는 핵산을 포함하는 샘플 용액이 유입되는 부분이다. 상기 관통 개구 유출부(932)는 PCR 반응이 종료된 후 상기 샘플 용액(932)이 유출되는 부분이다. 따라서, 상기 제3 판(930)은 이하 언급할 제2 판(920)에 형성된 관통 개구 채널(921)을 커버하되, 상기 관통 개구 유입부(931) 및 관통 개구 유출부(932)는 상기 관통 개구 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 관통 개구 유입부(931)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 1.0 mm 내지 3.0 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 관통 개구 유출부(932)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 1.0 mm 내지 1.5 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 관통 개구 유입부(931) 및 관통 개구 유출부(932)는 별도의 커버 수단(도시되지 않음)을 구비하여, 상기 관통 개구 채널(921) 내에서 샘플 용액에 대한 PCR 반응이 진행될 때 샘플 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 관통 개구 유입부(931) 및 관통 개구 유출부(932)는 2 이상 존재할 수 있다.

[78]

[79] 도 9는 양면 접착제 또는 열 가소성 수지(500)가 처리된 본 발명의 다른 일 실시예에 따른 광 투과성 PCR 칩을 도시한다. 구체적으로, 도 9에 따른 PCR 칩은 하기 단계를 포함하는 방법에 의해 제조될 수 있다.

[80] 상기 광 투과성 PCR 칩(100)은 기계적 가공을 통해 관통 개구 유입부(931) 및 관통 개구 유출부(932)를 형성하여 제3 판(930)을 제공하는 단계; 상기 제3 판(930)의 하부면과 대응되는 크기를 갖는 판재에 상기 제3 판(930)의 관통 개구 유입부(931)와 대응되는 부분으로부터 상기 제3 판(930)의 관통 개구 유출부(932)에 대응되는 부분까지 기계적 가공을 통해 관통 개구 채널(921)을 형성하여 제2 판(920)을 제공하는 단계; 상기 제2 판(920)의 하부면과 대응되는 크기를 갖는 판재의 상부면에 표면 처리 가공을 통해 친수성 물질(922)로 구현된 표면을 형성하여 제1 판(910)을 제공하는 단계; 및 상기 제3 판(930)의 하부면을 상기 제2 판(920)의 상부면에 접합 공정을 통해 접합하고, 상기 제2 판(920)의 하부면을 상기 제1 판(910)의 상부면에 접합 공정을 통해 접합하는 단계를 포함하는 방법에 의해 용이하게 제조될 수 있다.

[81] 상기 제3 판(930)의 관통 개구 유입부(931) 및 관통 개구 유출부(932), 및 상기 제2 판(920)의 관통 개구 채널(921)은 사출성형, 핫-엠보싱(hot-embossing), 캐스팅(casting), 및 레이저 어블레이션(laser ablation)으로 구성된 군으로부터 선택되는 가공 방법에 의해 형성될 수 있다. 또한, 상기 제1 판(910) 표면의 친수성 물질(922)은 산소 및 아르곤 플라즈마 처리, 코로나 방전 처리, 및 계면활성제 도포로 구성된 군으로부터 선택되는 방법에 의해 처리될 수 있고 당업계에 공지된 방법에 따라 수행할 수 있다. 또한, 상기 제3 판(930)의 하부면과 상기 제2 판(920)의 상부면, 및 상기 제2 판(920)의 하부면과 상기 제1 판(910)의 상부면은 열 접합, 초음파 용착, 용매 접합 공정에 의해 접착될 수 있고 당업계에 공지된 방법에 따라 수행할 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(500)가 처리될 수 있다.

[82]

[83] 실시 및 비교예 1

[84] 도 10a는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치를 이용하여 시간에 따른 PCR 결과를 도시하고, 도 10b는 도 10a에 따른 PCR 결과를 타사의 PCR 장치를 이용한 PCR 결과와 비교한 전기영동 사진을 도시한다.

[85] 도 7에 따른 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치 및 도 8에 따른 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 칩을 이용하여 PCR을 수행하고, 상기 PCR 과정 중에 실시간으로 PCR 결과를 확인하였다. 상기 PCR은 2X TaKaRa SYBR Green Kit 및

Primer Forward, Primer Reverse(Final Concentration: 1 pmole), BSA 1ug/1ul, Hot start taq polymerase(2.8U)을 포함하는 PCR 용액을 사용하여 수행하였다. 또한, 결과의 신뢰성을 확보하기 위하여 2종의 식중독균을 샘플로 사용하였다(E.coli O157:H7 및 *Salmonella enterica* Typhimurium). 상기 PCR 칩에 약 8ul의 PCR 용액 및 샘플 용액을 도입하고, 상기 PCR 장치에서 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장(또는 증폭) 단계를 30 회(cycle) 진행하였다.

[86] 도 10a에 도시된 그래프는 시간 대비 상기 PCR 결과를 나타낸다. X축은 분과 초 단위로 시간을 나타내고, Y축은 형광 강도를 나타낸다. 도 10a에 따르면, 약 25분이 경과한 후 PCR을 종료하였고, 시간에 따른 형광 정도가 예상되는 PCR 결과와 유사한 패턴을 나타낸다. x곡선은 E.coli O157:H7에 관한 결과이고, y곡선 및 z곡선은 *Salmonella enterica* Typhimurium에 관한 결과이다.

[87] 또한, 동일한 2종의 식중독균 샘플을 Roche사의 capillary tube에 약 25ul를 도입하고, Roche사의 LightCycler 1.5 PCR 장치를 이용하여 상기 PCR 장치에서 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장(또는 증폭) 단계를 30 회(cycle) 진행하였다. 도 10b는 Roche사의 PCR 장치와 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치를 이용하여 PCR을 수행한 결과를 나타내는 전기영동 사진이다(Gel Loading량은 약 2 ul임). 사진의 좌측 Roche사의 결과에서 약칭 N.C는 음성 대조군으로서, 2X TaKaRa SYBR Green Kit의 SYBR Green Mixture만을 사용한 결과이고, 약칭 S.E는 *Salmonella enterica* Typhimurium에 관한 결과이며, 약칭 E.C는 E.coli O157:H7에 관한 결과이다. 한편, 사진의 우측 자사의 결과에서 약칭 S.E는 *Salmonella enterica* Typhimurium에 관한 결과이며, 약칭 E.C는 E.coli O157:H7에 관한 결과이다(결과의 신뢰성을 위해 S.E는 두 번 수행함). 확인 결과, 상용되는 타사의 PCR 장치와 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 PCR 결과는 실질적으로 동일하거나 큰 차이가 없음을 알 수 있다.

[88]

[89] 실시 및 비교예 2

[90] 도 11a는 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치를 이용하여 시간에 따른 PCR 결과를 도시하고, 도 11b는 도 11a에 따른 PCR 결과를 타사의 PCR 장치를 이용한 PCR 결과와 비교한 전기영동 사진을 도시한다.

[91] 결과의 신뢰성을 위해 상기 실시 및 비교예 1과 동일한 방법으로 샘플을 달리하여 PCR 결과를 확인하였다. 실시 및 비교예 2에서는 2종의 식중독균을 샘플로 사용하였다(*Listeria monocytogenes* 및 *Staphylococcus aureus*).

[92] 도 11a에 따르면, 약 25분이 경과한 후 PCR을 종료하였고, 시간에 따른 형광 정도가 예상되는 PCR 결과와 유사한 패턴을 나타낸다. x'곡선 및 y'곡선은 *Listeria monocytogenes*에 관한 결과이고, z'곡선은 *Staphylococcus aureus*에 관한 결과이다.

[93] 또한, 동일한 2종의 식중독균 샘플을 Roche사의 capillary tube에 약 25ul를 도입하고, Roche사의 LightCycler 1.5 PCR 장치를 이용하여 상기 PCR 장치에서

변성 단계, 어닐링 단계 및 연장(또는 증폭) 단계를 30 회(cycle) 진행하였다. 도 11b는 Roche사의 PCR 장치와 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치를 이용하여 PCR을 수행한 결과를 나타내는 전기영동 사진이다(Gel Loading량은 약 2 ul임). 사진의 좌측 Roche사의 결과에서 약칭 N.C는 음성 대조군으로서, 2X TaKaRa SYBR Green Kit의 SYBR Green Mixture만을 사용한 결과이고, 약칭 Listeria는 *Listeria monocytogenes*에 관한 결과이며, 약칭 S.A는 *E.coli* O157:H7에 관한 결과이다. 한편, 사진의 우측 자사의 결과에서 약칭 S.E는 *Staphylococcus aureus*에 관한 결과이며, 약칭 Listeria는 *Listeria monocytogenes*에 관한 결과이다(결과의 신뢰성을 위해 Listeria는 두 번 수행함). 확인 결과, 상용되는 타사의 PCR 장치와 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 PCR 결과는 실질적으로 동일하거나 큰 차이가 없음을 알 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] 기관, 상기 기관 상에 배치된 도전성 나노 입자를 포함하는 발열층, 상기 발열층 상에 배치된 절연 보호층 및 상기 발열층과 연결 배치된 전극을 구비하는 광 투과성 열 블록을 포함하고, 상기 광투과성 열 블록의 상부 면은 적어도 일부 영역에 중합효소 연쇄 반응(PCR, Polymerase Chain Reaction) 칩의 접촉부를 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 기관은 광 투과성 유리 또는 플라스틱 재질이고, 상기 발열층에 포함된 도전성 나노 입자는 산화물 반도체 물질 또는 상기 산화물 반도체 물질에 In, Sb, Al, Ga, C 및 Sn로 구성된 군으로부터 선택된 불순물이 첨가된 물질이고, 상기 절연 보호층은 유전체 산화물, 페릴린, 나노 입자 및 고분자 필름으로 구성된 군으로부터 선택되는 것이고, 상기 전극은 금속 물질, 전도성 에폭시, 전도성 페이스트, 솔더 및 전도성 필름으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 광투과성 열 블록의 기관의 하부 면은 흡광 물질이 포함된 흡광층이 접촉 배치되거나, 또는 상기 광투과성 열 블록의 절연 보호층의 상부 면은 광반사 방지 물질이 포함된 광반사방지층이 접촉 배치된 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 PCR 장치는 상기 칩 접촉부에 배치되는 PCR 칩에 광을 제공하도록 구동가능하게 배치된 광 제공부 및 상기 칩 접촉부에 배치되는 PCR 칩으로부터 방출되는 광을 수용하도록 구동가능하게 배치된 광 검출부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 광 제공부 및 광 검출부는 상기 광 투과성 열 블록의 상부에 배치된 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 6] 제4항에 있어서, 상기 광 제공부는 LED(Light Emitting Diode) 광원 또는 레이저 광원, 상기 광원으로부터 방출되는 광에서 미리 결정된 파장을 갖는 광을 선택하는 제1 광 여과기, 및 상기 제1 광 여과기로부터 방출되는 광을 포집하는 제1 광 렌즈를 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 7] 제4항에 있어서, 상기 광 검출부는 상기 칩 접촉부에 배치되는 PCR 칩으로부터 방출되는 광을 포집하는 제2 광 렌즈, 상기 제2 광 렌즈로부터 방출되는 광에서 미리 결정된 파장을 갖는 광을 선택하는 제2 광 여과기, 및 상기 제2 광 여과기로부터 방출되는 광으로부터 광 신호를 검출하는 광 분석기를 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.

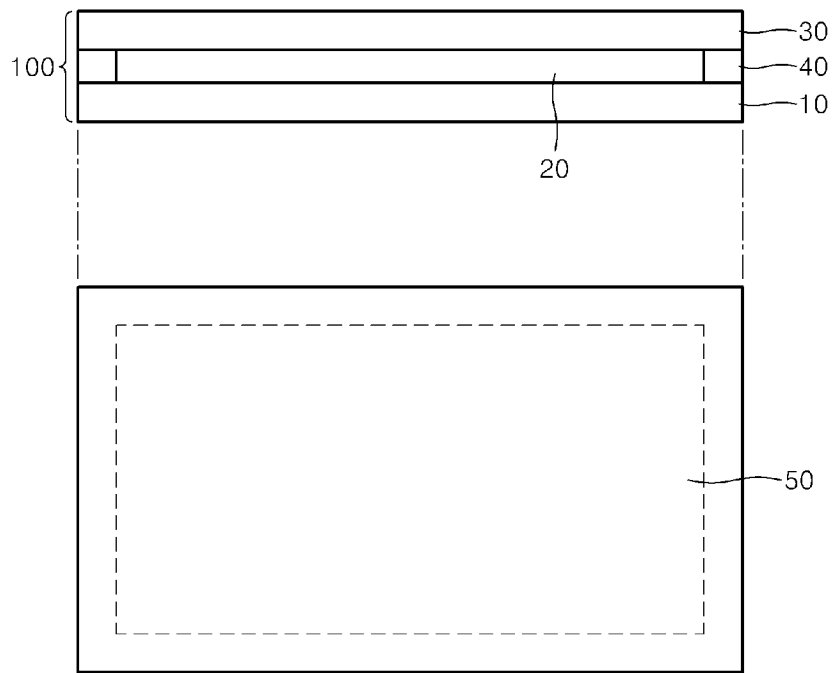
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 광 제공부는 상기 광원과 상기 제1 광 여과기 사이에 빛을 퍼지게 하도록 배치된 제1 비구면 렌즈를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 9] 제7항에 있어서, 상기 광 검출부는 상기 제2 광 여과기와 상기 광 분석기 사이에 상기 제2 광 여과기로부터 방출되는 광을 집적하도록 배치된 제2 비구면 렌즈를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 광 검출부는 상기 제2 비구면 렌즈와 상기 광 분석기 사이에 상기 제2 비구면 렌즈로부터 방출되는 광의 노이즈(noise)를 제거하고 상기 제2 비구면 렌즈로부터 방출되는 광을 증폭하도록 배치된 광다이오드 집적소자(photodiode integrated circuit, PDIC)를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 11] 제4항에 있어서, 상기 PCR 장치는 상기 광 제공부로부터 방출된 광이 광 검출부까지 도달할 수 있도록 광의 진행 방향을 조절하고, 미리 결정된 파장을 갖는 광을 분리하기 위한 하나 이상의 이색성 필터를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 12] 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 PCR 장치의 광 투과성 열 블록에 포함된 칩 접촉부에 배치되고, 증폭하고자 하는 핵산을 포함하는 샘플 용액을 수용할 수 있는 것을 특징으로 하는 광 투과성 PCR 칩.
- [청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 PCR 칩은 광 투과성 플라스틱 재질인 것을 특징으로 하는 PCR용 칩.
- [청구항 14] 제12항에 있어서, 상기 광 투과성 PCR 칩은 제1 판; 상기 제1 판 상에 배치되고, 관통 개구 채널을 구비하는 제2 판; 및 상기 제2 판 상에 배치되고, 상기 관통 개구 채널 상의 일 영역에 형성된 관통 개구 유입부 및 다른 일 영역에 형성된 관통 개구 유출부를 구비하는 제3 판을 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.
- [청구항 15] 제14항에 있어서, 상기 제1 판 및 제3 판은 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 재질을 포함하고, 상기 제2 판은 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 재질을 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

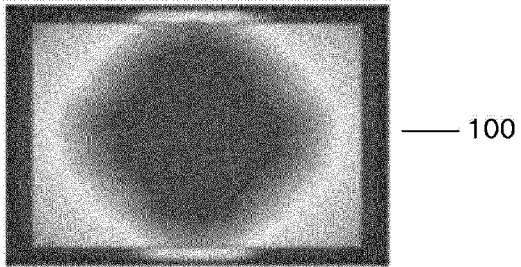
[청구항 16]

제14항에 있어서, 상기 제3 판의 관통 개구 유입부는 지름 1.0 mm 내지 3.0 mm에서 선택되고, 상기 관통 개구 유출부는 지름 1.0 mm 내지 1.5 mm에서 선택되고, 상기 제3 판의 두께는 0.1 mm 내지 2 mm에서 선택되고, 상기 제2 판의 두께는 100 μ m 내지 200 μ m에서 선택되고, 상기 관통 개구 채널의 폭은 0.5 mm 내지 3 mm에서 선택되고, 상기 관통 개구 채널의 길이는 20 mm 내지 40 mm에서 선택되는 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

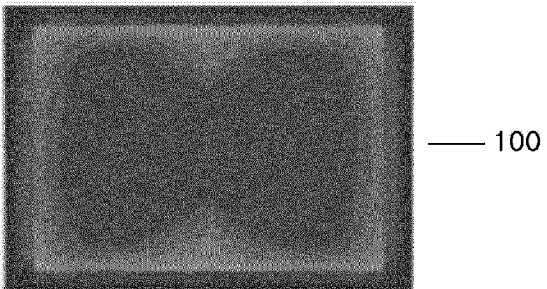
[Fig. 1]



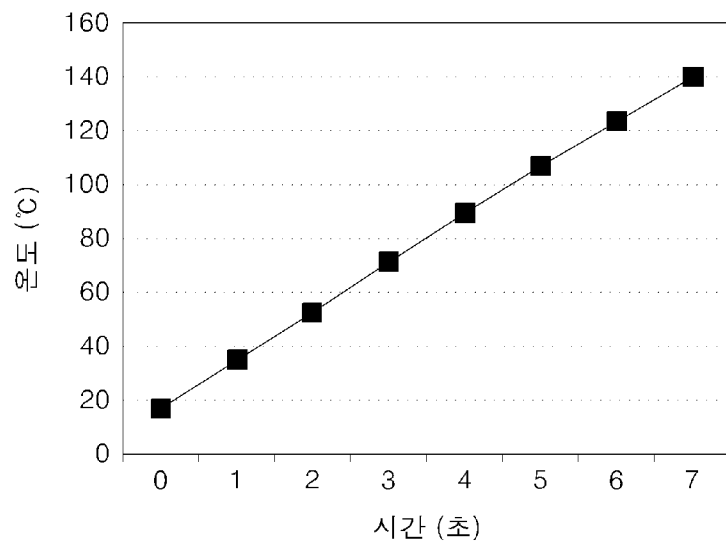
[Fig. 2a]



[Fig. 2b]



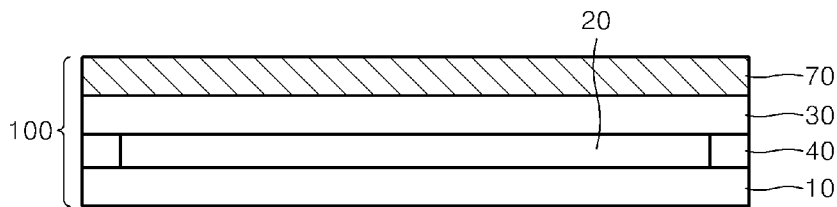
[Fig. 2c]



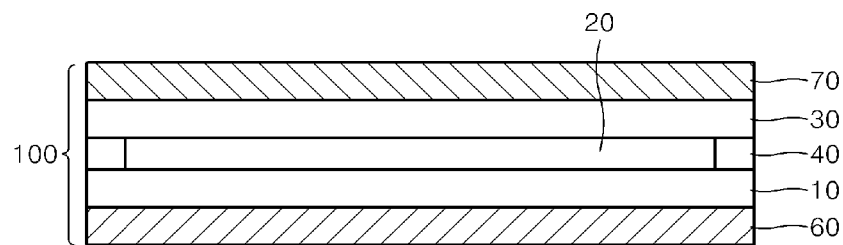
[Fig. 3a]



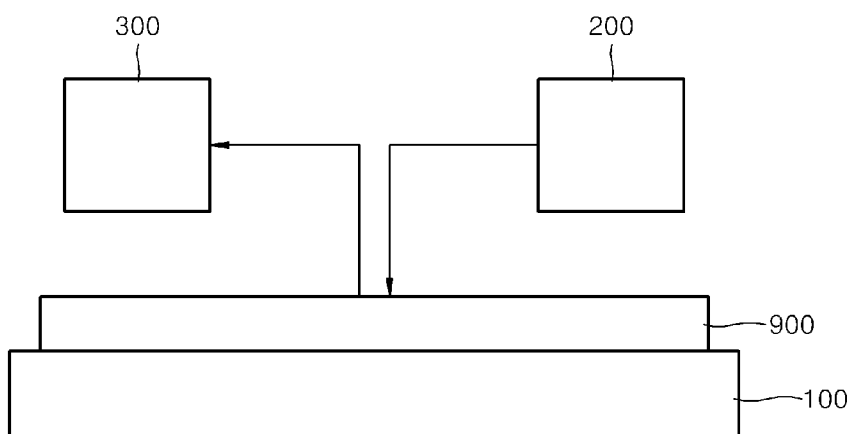
[Fig. 3b]



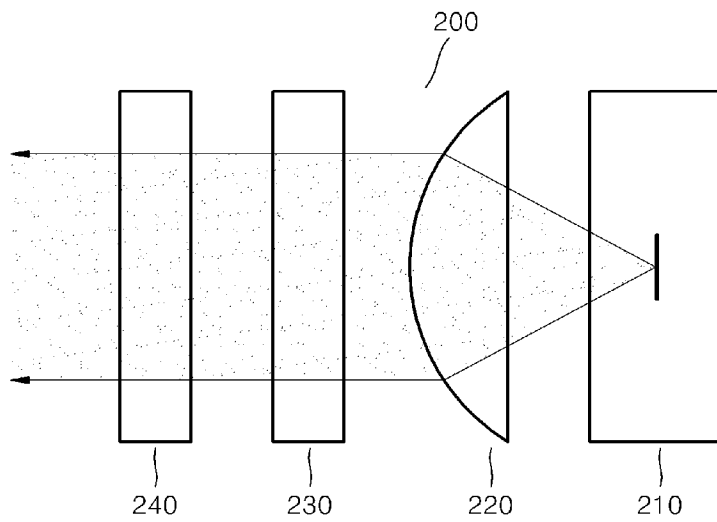
[Fig. 3c]



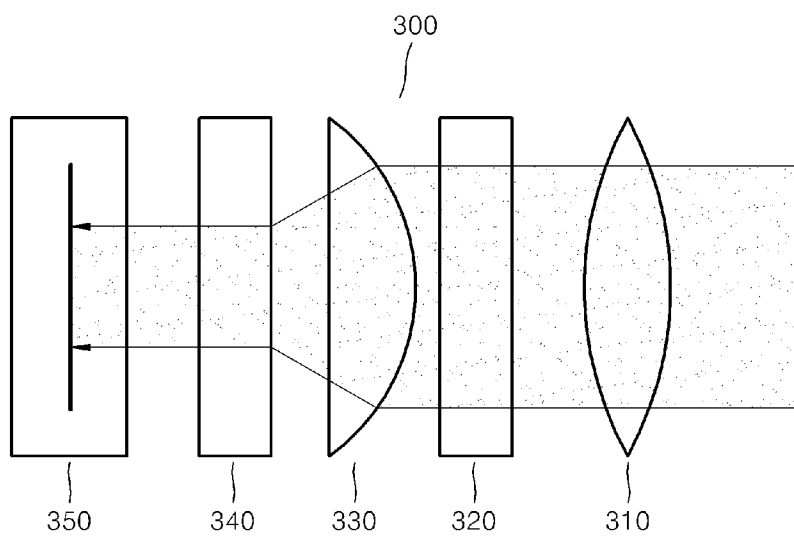
[Fig. 4]



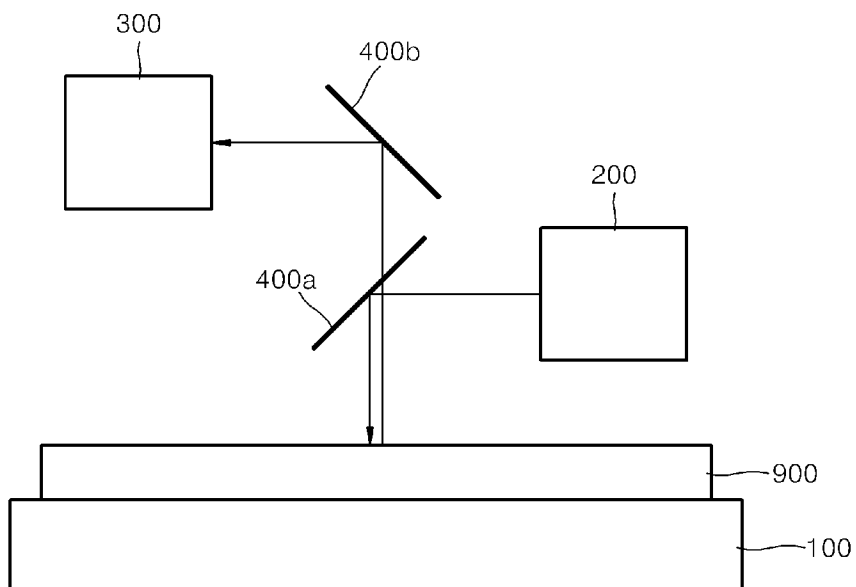
[Fig. 5]



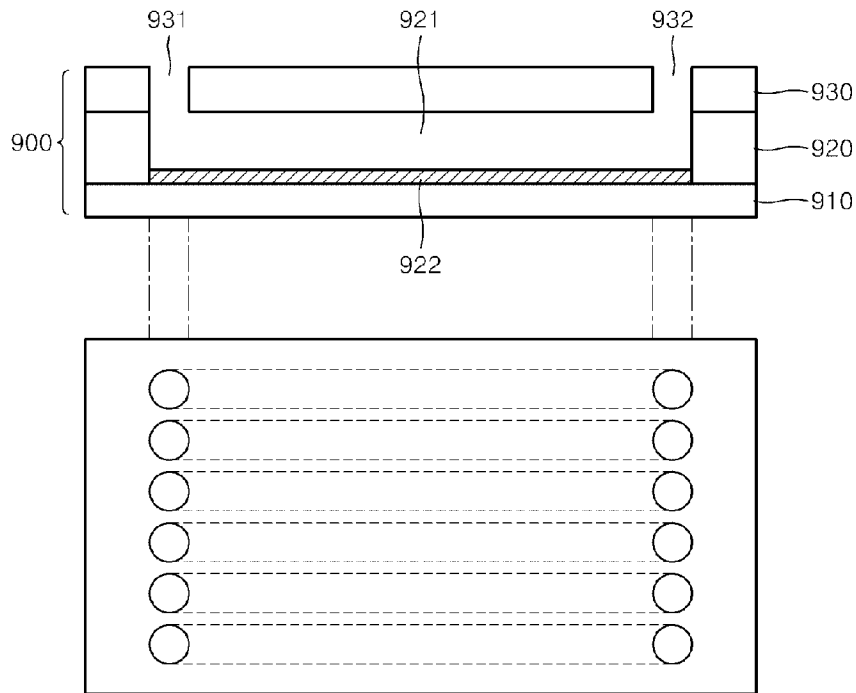
[Fig. 6]



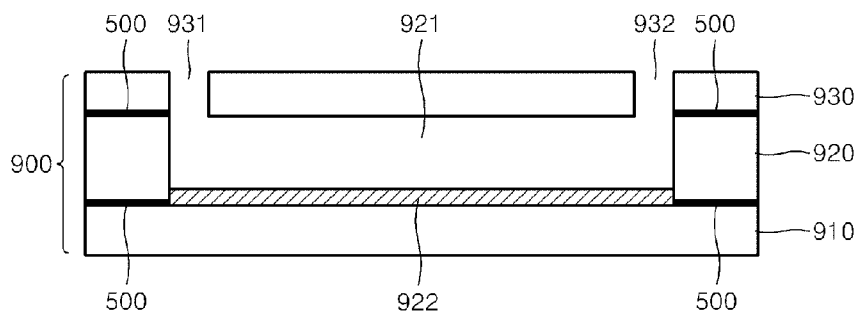
[Fig. 7]



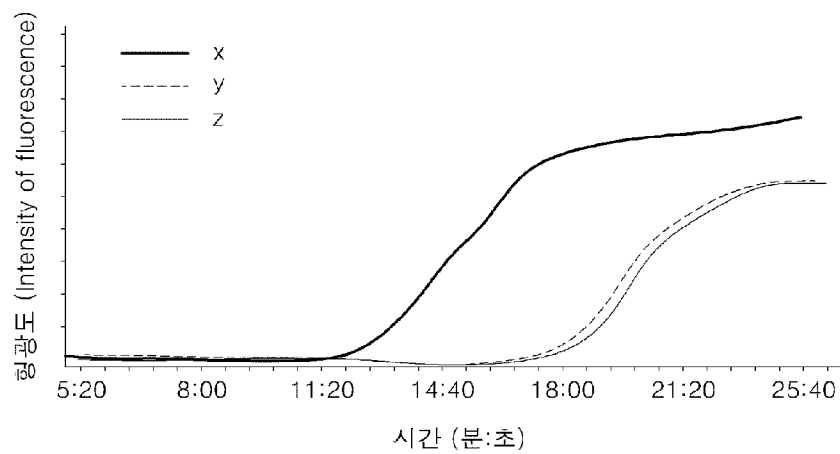
[Fig. 8]



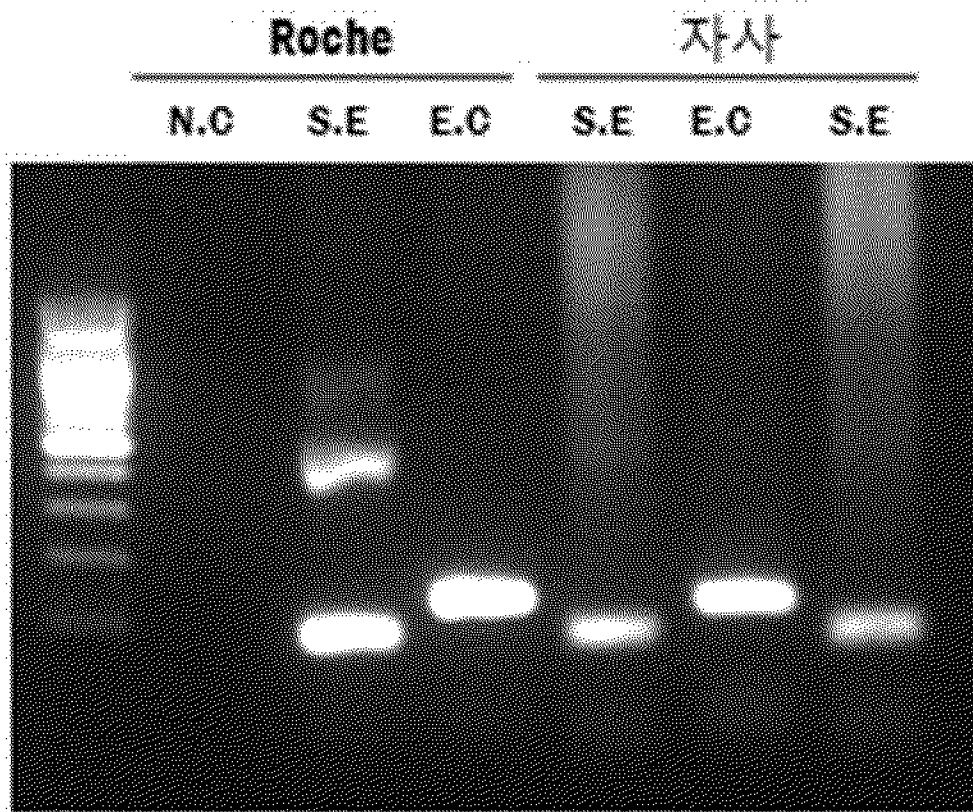
[Fig. 9]



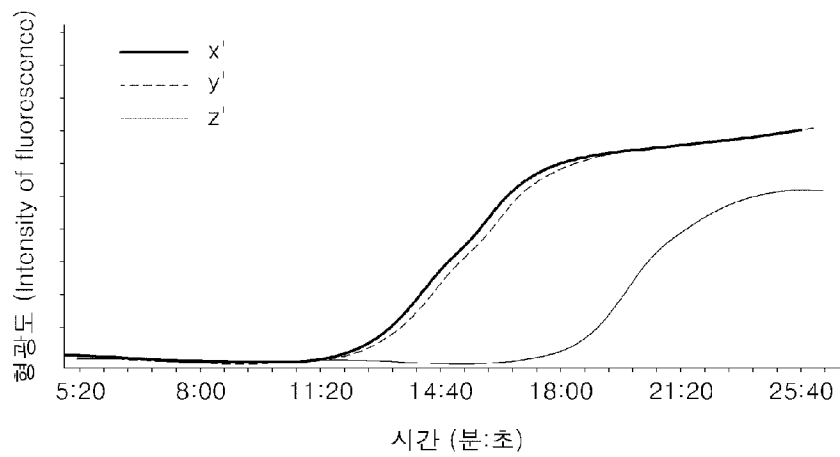
[Fig. 10a]



[Fig. 10b]



[Fig. 11a]



[Fig. 11b]

