



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0051861  
(43) 공개일자 2023년04월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
G01N 35/08 (2006.01) B01L 7/00 (2023.01)  
G01N 35/00 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
G01N 35/08 (2013.01)  
B01L 7/52 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2021-0134752  
(22) 출원일자 2021년10월12일  
심사청구일자 2021년10월12일

(71) 출원인  
서강대학교산학협력단  
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)  
(72) 발명자  
신관우  
서울특별시 강남구 남부순환로 2803, 106동 2002호  
권오선  
경기도 용인시 수지구 신봉2로 72, 221동 504호  
(74) 대리인  
윤대웅

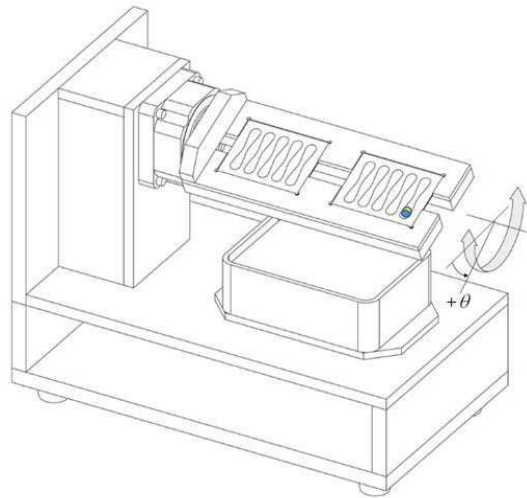
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 경사면 미세유체 방울 기반 회전식 PCR 장치

(57) 요약

본 발명은 중합효소연쇄반응을 간편하고 효율적으로 수행하기 위한 장치에 관한 것으로, 구체적으로 수용공간이 구분된 시료 칩, 각 수용공간을 개별 가열하는 히팅부, 및 시료 칩을 회전 구동시킬 수 있는 액츄에이터부를 두어 중력으로 시료의 위치를 변경시킬 수 있는 회전식 PCR 장치에 관한 것이다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

B01L 2200/0663 (2013.01)  
C12Q 2563/159 (2013.01)  
G01N 2035/00168 (2013.01)  
G01N 2035/00237 (2013.01)  
G01N 2035/00366 (2013.01)

**김창호**

서울특별시 도봉구 삼양로162가길 42-12, 226동 401호

**편나운**

경기도 의정부시 통일로 397, 202동 1104호

(72) 발명자

**홍광표**

대전광역시 유성구 어은로 57, 131동 1205호

**허은진**

경기도 부천시 상동로 57, 2411동 1401호

**김소정**

서울특별시 구로구 구로중앙로 134, 1402호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345331324  
과제번호 2018R1A6A1A03024940  
부처명 교육부  
과제관리(전문)기관명 한국연구재단  
연구사업명 이공학학술연구기반구축(R&D)  
연구과제명 분자 자가 조립 기반 기능성 인공세포 구현  
기 여 율 20/100  
과제수행기관명 서강대학교 산학협력단  
연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345332210  
과제번호 2020R1I1A1A01073311  
부처명 교육부  
과제관리(전문)기관명 한국연구재단  
연구사업명 이공학학술연구기반구축(R&D)  
연구과제명 고속 스크리닝 모듈을 탑재한 PCR용 디지털 미세유체 종이 랩온어칩  
기 여 율 25/100  
과제수행기관명 서강대학교 산학협력단  
연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2021400000  
과제번호 20214000000500  
부처명 산업통상자원부  
과제관리(전문)기관명 한국에너지기술평가원  
연구사업명 에너지인력양성사업(RCMS)  
연구과제명 녹색성장을 위한 CCUS 전문인력양성  
기 여 율 25/100  
과제수행기관명 서강대학교 산학협력단  
연구기간 2021.04.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1485017706  
과제번호 ARQ202002024002  
부처명 환경부  
과제관리(전문)기관명 한국환경산업기술원  
연구사업명 수생태계건강성확보기술개발사업(R&D)  
연구과제명 분자생물학 기술 기반 유해 남조류 및 독소물질 동시 측정장치 개발  
기 여 율 30/100  
과제수행기관명 광운대학교 산학협력단  
연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

시료가 적재될 수 있도록 수용공간을 포함하는 시료 칩;

상기 시료 칩의 일측을 고정하여 가열하는 제1히팅부, 및 상기 시료 칩의 타측을 고정하여 가열하는 제2히팅부를 포함하는 히팅부;

제1히팅부 및 제2히팅부가 동일면상에 위치하도록 고정하는 회전축부재;

회전축부재를 회전 구동시키는 액츄에이터부; 및

제어정보를 생성하여 각 부에 인가하는 제어부;를 포함하는 회전식 PCR 장치.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 시료 칩은 소수성 폴리머로 코팅된 것인, 회전식 PCR 장치.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 시료 칩은 플루오로카본 (Fluorocarbon), 하이드로플루오로카본 (Hydrofluorocarbon), 미네랄 오일 (Mineral oil), 실리콘 오일 (Silicone oil) 및 탄화수소 오일로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 비혼화성 (immiscible) 비-수성 액체를 포함하는 것인, 회전식 PCR 장치.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 시료 칩은 시료를 수용할 수 있는 제1수용공간 및 제2수용공간을 포함하고,

상기 제1수용공간은 상기 제2수용공간과 유체채널을 통해 연통하는 것인, 회전식 PCR 장치.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 상기 유체채널은 직선형 채널, 만곡부를 포함하는 직선형 채널 및 유선형 채널로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것인, 회전식 PCR 장치.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 제1히팅부의 온도는 제1온도범위 또는 제2온도범위로 설정되고,

상기 제2히팅부의 온도는 제1온도범위 또는 제2온도범위 중, 제1히팅부의 온도와 다른 온도범위로 설정되는 것인, 회전식 PCR 장치.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 상기 액츄에이터부는 디씨 브러쉬드 모터 (DC Brushed motor), 브러쉬리스 모터 (Brushless motor-BLDC), 스텝퍼 모터 (Stepper motor) 및 서보 모터 (Servo motor)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것인, 회전식 PCR 장치.

#### 청구항 8

다음의 단계를 포함하는 회전식 PCR 방법:

핵산 증폭 대상인 시료를 준비하는 준비 단계;

시료를 수용할 수 있는 제1수용공간 및 제2수용공간을 포함하고, 제1수용공간은 제2수용공간과 유체채널을 통해 연통하는 시료 칩에 준비한 시료를 투입하는 시료투입 단계;

시료 칩을 제1히팅부 및 제2히팅부 사이에 고정하는 시료 칩 고정 단계; 및

제1히팅부와 제2히팅부에 대한 온도범위 정보 및 회전구동 정보를 이용하여 중합효소연쇄반응을 진행하는 PCR 단계.

#### 청구항 9

제8항에 있어서, 상기 시료 칩 고정 단계는 시료 칩의 제1수용공간이 제1히팅부를 향하도록, 제2수용공간이 제2히팅부를 향하도록 고정하는 것인, 회전식 PCR 방법.

#### 청구항 10

제8항에 있어서, 상기 PCR 단계는 제1히팅부의 온도를 제1온도범위 또는 제2온도범위로 설정하고, 제2히팅부의 온도를 제1온도범위 또는 제2온도범위 중, 제1히팅부의 온도와 다른 온도범위로 설정하는 온도 설정단계를 포함하는 것인, 회전식 PCR 방법.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 중합효소연쇄반응을 간편하고 효율적으로 수행하기 위한 장치에 관한 것으로, 구체적으로 수용공간이 구분된 시료 칩, 각 수용공간을 개별 가열하는 히팅부, 및 시료 칩을 회전 구동시켜 미세유체 시료 방울을 경사면에 따라 이동시킬 수 있는 액츄에이터부를 포함하는 회전식 PCR 장치에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 일반적으로, DNA 증폭기술은 생명과학, 유전공학 및 의학 분야 등의 연구개발 및 진단 목적으로 광범위하게 활용되고 있으며, 특히 중합효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction; PCR)에 의한 DNA 증폭기술이 널리 활용되고 있다. 중합효소 연쇄반응은 핵산을 포함하는 샘플용액을 반복적으로 가열 및 냉각하여 핵산의 특정 염기 서열을 갖는 부위를 연쇄적으로 복제하여 핵산을 기하급수적으로 증폭하는 기술이다.

[0003] PCR 장치를 이용한 DNA 합성 시 가장 중요한 요소는 첫째로, DNA 시료를 수용한 PCR 장치의 주위를 특정 온도로 균일하게 유지시키는 것이며, 둘째로, 그 특정 온도를 유지하는 시간이다. 결과적으로 DNA 합성 시 필요한 온도 범위가 정확히 맞지 않을 경우 DNA는 합성되지 않는다. 기존에 나와 있는 PCR 장치의 경우 한 구역에서 특정 온도까지 온도상승 또는 온도하강을 하여 소정시간 특정온도를 유지시켜주는 방식을 채택하고 있다. 따라서, 1회 사이클(cycle)을 수행할 경우 DNA 합성에 필요한 온도에 도달하기 위한 온도 상승 및 온도 하강에 90초 정도의 많은 시간이 소요된다.

[0004] 한편, 종래에 DNA 증폭에 대한 증폭 정도를 판별함에 있어서 일반적인 PCR 장치의 경우, 모든 증폭 프로세스(process)가 종료된 후 전기 영동법을 이용해 DNA 시료의 증폭 정도를 확인한다. 따라서, 증폭 과정 중에 DNA 시료의 증폭 정도를 실시간으로 확인할 수 없었다.

[0005] 유전자를 증폭하는 기술은 플라스틱 튜브를 이용하는 것으로부터 마이크로 채널을 가진 칩의 형태로 발전되었다. 단시간에 여러 종류의 유전자를 한 번에 판별하려는 이유에서, 마이크로 칩 상에서의 유전자 증폭은 반도체 제조공정을 이용한 실리콘 또는 유리기판으로 구성하였다. 최근에는 폴리디메틸실록산(Polydimethylsiloxane, PDMS), 폴리카보네이트(Polycarbonate, PC), 아크릴 수지(Poly methyl methacrylate, PMMA)와 같은 소재를 재료로 한 칩에서 많이 시도되고 있다. 또한, 유체 기술과 MEMS(Microelectromechanical System)를 이용한 미세가공기술을 기존의 분석기술에 접목시키는 추세이다. 이때 적은 양의 액체 시료를 단위 칩에서 다룰 수 있도록 시료분석에 필요한 모든 구성요소를 소형화(miniaturization) 및 집적화(integration)하여 온 칩(on-chip)화 시켜 랩온어칩(lab-on-a chip)을 구현한다.

[0006] 이러한 방법은 플라스틱 튜브를 이용하는 방법에 비하여, 사용되는 시료의 양과 총 증폭시간을 상당히 단축시켰지만, 기존의 마이크로 칩은 PCR 공정을 수행하기 위해서 인렛(inlet), 챔버(chamber), 아울렛(outlet), 히터(heater), 온도센서(thermal sensor) 등의 기능성 유닛(unit)이 집적화된 반도체 제조공정을 이용함으로써 복잡한 제조 공정이 요구되며, 칩 가공단계에 대한 경제성이 떨어지는 등의 일회용 칩으로 사용하기에 적합하지 않는 문제가 있다.

[0007] 또한, PCR 장치는 90~96 °C에서 15~30초 동안 수행되는 DNA 변성 단계, 50~65 °C에서 30~60초 동안 수행되는 프라이머 결합 단계, 그리고 70~74 °C에서 30초~10분 동안 수행되는 신장 단계를 수행하는데, 각 단계의 가열 및 냉각에 시간이 많이 소요되는 단점이 있어, 이를 줄일 수 있는 PCR 장치의 개발이 시급하다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 시료를 회전시킨 후 중력을 이용하여 샘플을 경사면을 따라 이동시켜 장치가 거대하지 않아도 PCR 사이클을 구현할 수 있고, PCR 사이클의 각 단계에 가열 및 냉각에 소요되는 시간을 줄일 수 있는 PCR 장치를 만들기 위해 노력하였다.

[0009] 그 결과, 양 말단이 라운딩 처리된 시료 칩의 일단부를 고정 가열하는 제1히팅부, 타단부를 고정 가열하는 제2히팅부, 및 제1히팅부와 제2히팅부를 회전 구동시키는 액츄에이터를 포함하는 회전식 PCR 장치는 중력으로 샘플을 이동시켜 PCR 사이클을 구현할 수 있고, 칩을 자유자재로 착탈하거나 변형할 수 있으며, PCR 소요시간을 절약하여 효율적임을 확인하였다.

[0010] 이에, 본 발명의 목적은 회전식 PCR 장치를 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 회전식 PCR 방법을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0012] 본 발명은 중합효소연쇄반응을 간편하고 효율적으로 수행하기 위한 장치에 관한 것으로, 구체적으로 수용공간이 구분된 시료 칩, 각 수용공간을 개별 가열하는 히팅부, 및 시료 칩을 회전 구동시킬 수 있는 액츄에이터부를 포함하는 회전식 PCR 장치에 관한 것이다.

[0013] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.

[0014] 본 발명의 일 예는 시료가 적재될 수 있도록 수용공간을 포함하는 시료 칩; 시료 칩의 일측을 고정하여 가열하는 제1히팅부, 및 시료 칩의 타측을 고정하여 가열하는 제2히팅부를 포함하는 히팅부; 제1히팅부 및 제2히팅부가 동일면상에 위치하도록 고정하는 회전축부재; 회전축부재를 회전 구동시키는 액츄에이터부; 및 제어정보를 생성하여 각 부에 인가하는 제어부;를 포함하는 회전식 PCR 장치에 관한 것이다.

[0015] 본 발명에 있어서 시료 칩은 시료가 적재될 수 있도록 수용공간을 포함하는 것일 수 있다.

[0016] 본 발명에 있어서 시료 칩은 소수성 폴리머로 코팅된 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0017] 본 발명에 있어서 소수성 폴리머는 테프론(Teflon) 즉, 폴리테트라플루오로에틸렌(Polytetrafluoroethylene, PTFE)일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0018] 본 발명에 있어서 시료 칩의 재질은 폴리디메틸실록산(Polydimethylsiloxane; PDMS), 폴리스타이렌(Polystyrene; PS), 폴리메틸메타크릴레이트(Polymethyl methacrylate; PMMA), 폴리테트라플루오로에틸렌(Polytetrafluoroethylene; PTFE), 폴리에틸렌(Polyethylene; PE) 및 폴리우레탄(Polyurethane; PU)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것일 수 있으며, 예를 들어, 폴리디메틸실록산일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0019] 본 발명에 있어서 시료 칩은 플루오로카본(Fluorocarbon), 하이드로플루오로카본(Hydrofluorocarbon), 미네랄 오일(Mineral oil), 실리콘 오일(Silicone oil) 및 탄화수소 오일로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 비혼화성(immiscible)인 비-수성 액체를 포함할 수 있으며, 예를 들어, 실리콘 오일을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0020] 본 발명에 있어서 비-수성 액체는 시료 칩 내에서 시료의 유동성을 증대시키는 것일 수 있다. 또한, 비-수성 액체는 액상의 DNA 시료의 증발과 기포발생을 억제하여 DNA의 농도를 일정하게 유지시키는 것일 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 구체예에서, 시료 칩은 시료를 수용할 수 있는 제1수용공간 및 제2수용공간을 포함하고, 제1수용공간은 제2수용공간과 유체채널을 통해 연통하는 것일 수 있다.

[0022] 본 발명의 일 구체예에서, 유체채널은 직선형 채널, 만곡부를 포함하는 직선형 채널, 또는 유선형 채널일 수 있으며, 예를 들어, 만곡부를 포함하는 직선형 채널일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0023] 본 발명의 일 구체예에서, 유체채널이 유선형 채널의 경우, 액상의 DNA의 증발을 억제하기 위하여 제1 및 제2 수용공간 사이의 중간 부분의 유체채널이 가늘어지는 모래시계와 유사한 2차원 또는 3차원 구조일 수 있다.
- [0024] 본 발명에 있어서 히팅부는 제1히팅부 및 제2히팅부를 포함하는 것일 수 있다.
- [0025] 본 발명에 있어서 제1히팅부는 시료 칩의 일측을 고정하여 가열하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0026] 본 발명에 있어서 제1히팅부는 제1온도범위 또는 제2온도범위로 설정되어, 시료 칩의 일단부를 가열하는 것일 수 있다.
- [0027] 본 발명에 있어서 제2히팅부는 시료 칩의 타측을 고정하여 가열하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명에 있어서 제2히팅부는 제1온도범위 또는 제2온도범위로 설정되어, 시료 칩의 타단부를 가열하는 것일 수 있다.
- [0029] 본 발명에 있어서 제1히팅부와 제2히팅부는 서로 다른 온도범위로 설정되는 것일 수 있다. 즉, 제2히팅부의 온도는 제1온도범위 또는 제2온도범위 중, 제1히팅부의 온도와 다른 온도범위로 설정되는 것일 수 있다.
- [0030] 본 발명에 있어서 제1온도범위는 85 내지 105 °C, 85 내지 100 °C, 90 내지 105 °C, 90 내지 100 °C, 95 내지 105 °C 또는 95 내지 100 °C일 수 있으며, 예를 들어, 95 °C일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0031] 본 발명에 있어서 제2온도범위는 60 내지 75 °C, 60 내지 70 °C, 65 내지 75 °C 또는 65 내지 70 °C일 수 있으며, 예를 들어, 68 °C일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 본 발명에 있어서 제1히팅부는 제1히팅부의 온도를 측정하는 제1온도 센서를 추가로 포함할 수 있다.
- [0033] 본 발명에 있어서 제2히팅부는 제2히팅부의 온도를 측정하는 제2온도 센서를 추가로 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명에 있어서 회전축부재는 제1히팅부 및 제2히팅부가 동일면상에 위치하도록 고정하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명에 있어서 시료 칩은 제1히팅부 및 제2히팅부 사이에 위치하는 것일 수 있다.
- [0036] 본 발명에 있어서 제1히팅부 및 제2히팅부가 위치한 면은 회전축부재에 의하여, 회전축부재를 기준으로 회전 구동되는 것일 수 있다.
- [0037] 본 발명에 있어서 회전축부재의 회전 각도는 제1히팅부 및 제2히팅부가 위치한 면이 지면과 평행한 때에 0도인 것으로 정의될 수 있다.
- [0038] 본 발명에 있어서 회전축부재의 회전 각도는 제1히팅부 및 제2히팅부가 위치한 면이 지면과 평행한 때에 0도이고, 시계 방향이 양의 각도 (+)로 정의될 수 있다.
- [0039] 본 발명에 있어서 시계 방향은 회전축부재에서 히팅부를 향하는 방향을 기준으로 하여 정의될 수 있다.
- [0040] 본 발명에 있어서 회전축부재의 회전 방향은 시계 방향 및 반시계 방향으로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있으며, 예를 들어, 시계 방향 및 반시계 방향일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명에 있어서 회전축부재의 회전 각도는, 시료칩 내의 시료 방울이 제1수용공간에서 제2의 수용공간으로 또는 제2의 수용공간에서 제1 수용공간으로 이동시킬 정도로 정해주어야 한다. 즉, 방울에 가해지는 경사면 방향의 중력 성분이 방울과 칩 사이의 최대정지마찰력 보다 커져서 방울이 미끄러지기 시작하는 임계각도 보다 큰 값으로 설정해 주어야 한다.
- [0042] 본 발명에 있어서 액추에이터부는 회전축부재를 회전 구동시키는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명에 있어서 액추에이터부는 디씨 브러쉬드 모터 (DC Brushed motor), 브러쉬리스 모터 (Brushless motor-BLDC), 스텝퍼 모터 (Stepper motor) 및 서보 모터 (Servo motor)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것일 수 있으며, 예를 들어, 스텝퍼 모터일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명에 있어서 제어부는 제어정보를 생성하여 각 부에 인가하는 것일 수 있다.
- [0045] 본 발명에 있어서 제어정보는 제1히팅부와 제2히팅부에 대한 온도범위 정보 및 회전구동 정보를 포함할 수 있다.

나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0046] 본 발명에 있어서 온도범위 정보는 제1온도범위 정보 및 제2온도범위 정보를 포함할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 일 구체예에서, 제1히팅부는 제1온도범위로 설정될 수 있다.
- [0048] 본 발명의 일 구체예에서, 제2히팅부는 제2온도범위로 설정될 수 있다.
- [0049] 본 발명에 있어서 회전구동 정보는 액츄에이터부가 회전축부재를 회전 구동시키도록 하는 정보로서, 회전축부재의 제1회전 각도, 제1회전 각도의 유지 시간, 제2회전 각도 및 제2회전 각도의 유지 시간을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0050] 본 발명의 다른 일 예는 핵산 증폭 대상인 시료를 준비하는 준비 단계; 시료를 수용할 수 있는 제1수용공간 및 제2수용공간을 포함하고, 제1수용공간은 제2수용공간과 유체채널을 통해 연통하는 시료 칩에 준비한 시료를 투입하는 시료투입 단계; 시료 칩을 제1히팅부 및 제2히팅부 사이에 고정하는 시료 칩 고정 단계; 및 제1히팅부와 제2히팅부에 대한 온도범위 정보 및 회전구동 정보를 이용하여 중합효소연쇄반응을 진행하는 PCR 단계에 관한 것이다.
- [0051] 본 발명에 있어서 준비 단계는 핵산 증폭 대상인 시료를 준비하는 것일 수 있다.
- [0052] 본 발명에 있어서 시료는 핵산을 포함할 수 있다.
- [0053] 본 발명에 있어서 핵산은 DNA(deoxyribonucleic acid), LNA(Locked nucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), RNA(Ribonucleic acid) 및 다양한 핵산(nucleic acids) 유사체로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종일 수 있으며, 예를 들어, DNA일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0054] 본 발명에 있어서 시료는 핵산 증폭을 위한 프라이머, dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 혼합물, DNA 중합효소, 또는 완충액(buffer)을 추가로 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0055] 본 발명에 있어서 시료는 플루오로카본 (Fluorocarbon), 하이드로플루오로카본 (Hydrofluorocarbon), 미네랄 오일 (Mineral oil), 실리콘 오일 (Silicone oil) 및 탄화수소 오일로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상의 비-수성 액체를 추가로 포함할 수 있으며, 예를 들어, 실리콘 오일을 추가로 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0056] 본 발명에 있어서 준비 단계는 미리 제1히팅부 및 제2히팅부를 가열하여 일정한 온도 상태로 유지하는 정온유지 단계를 포함할 수 있다.
- [0057] 본 발명에 있어서 시료투입 단계는 시료를 수용할 수 있는 제1수용공간 또는 제2수용공간에 준비한 시료를 투입하는 것일 수 있다.
- [0058] 본 발명에 있어서 시료 칩 고정 단계는 시료 칩을 제1히팅부 및 제2히팅부 사이에 위치하도록 고정하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0059] 본 발명에 있어서 시료 칩 고정 단계는 시료 칩의 제1수용공간이 제1히팅부를 향하도록, 제2수용공간이 제2히팅부를 향하도록 고정하는 것일 수 있다.
- [0060] 본 발명에 있어서 PCR 단계는 제1히팅부와 제2히팅부에 대한 온도범위 정보 및 회전구동 정보를 이용하여 중합효소연쇄반응을 진행하는 것일 수 있다.
- [0061] 본 발명에 있어서 PCR 단계는 제1히팅부의 온도를 제1온도범위 또는 제2온도범위로 설정하고, 제2히팅부의 온도를 제1온도범위 또는 제2온도범위 중, 제1히팅부의 온도와 다른 온도범위로 설정하는 온도 설정단계를 포함하는 것일 수 있다.

### 발명의 효과

- [0062] 본 발명은 회전식 PCR 장치에 관한 것으로, 수용공간이 구분된 시료 칩과 각 수용공간을 개별 가열하여 시료 도착 전에 미리 일정한 온도를 유지시켜주는 히팅부를 이용하여 시료의 가열 및 냉각 효율을 향상시켜 중합효소연쇄반응 (Polymerase chain reaction; PCR)에 소요되는 시간을 절감하고, 시료 칩을 회전 구동시킬 수 있는 액츄에이터부를 포함함으로써, 밸브나 펌프와 같은 별도 장치를 구비하지 않더라도 시료의 이동이 가능하여 장치가 간소화되어 휴대가 용이하면서도 효율적으로 PCR을 수행할 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

- [0063] 도 1은 본 발명의 회전식 PCR 장치를 나타낸 사시도이다.
- 도 2는 본 발명의 시료 칩을 확대하여 나타낸 모식도이다.
- 도 3은 본 발명의 회전식 PCR 장치에 시료 칩을 적재한 모습을 나타낸 모식도이다.
- 도 4는 본 발명의 회전식 PCR 장치가 시료 칩을 회전 구동시키는 모습을 나타낸 모식도이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실험예에 따라 실리콘 오일이 PCR 반응에 영향을 미치는지 확인하는 모습을 촬영한 사진이다.
- 도 6은 본 발명의 회전식 PCR 장치가 시료 칩을 회전 구동시켜 시료 칩에 투입된 시료가 중력에 의해 이동하는 모습을 촬영한 사진이다.
- 도 7은 본 발명의 일 실험예에 따라 실리콘 오일이 시료의 PCR 결과에 미치는 영향을 전기영동으로 확인한 사진이다.
- 도 8은 본 발명의 회전식 PCR 방법을 나타낸 블록도이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0064] 이하, 도면 및 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.
- [0065] 도 1은 본 발명의 회전식 PCR 장치를 나타낸 사시도이다.
- [0066] 도 1을 참조하면, 본 발명의 회전식 PCR 장치는 제1히팅부(211), 제2히팅부(212)를 포함하는 히팅부; 제1히팅부(211) 및 제2히팅부(212)가 동일면상에 위치하도록 고정하는 회전축부재(280); 회전축부재(280)를 회전 구동시키는 액츄에이터부(300); 제어정보를 생성하여 각 부에 인가하는 제어부(400)를 포함할 수 있다.
- [0067] 히팅부(200)는 제1히팅부(211) 및 제2히팅부(212)를 포함할 수 있다.
- [0068] 제1히팅부(211)는 시료 칩(100)의 일단부를 고정할 수 있고, 제2히팅부(212)는 시료 칩(100)의 타단부를 고정하기 위한 것일 수 있다.
- [0069] 제1히팅부(211)는 제1온도범위 또는 제2온도범위로 설정될 수 있고, 고정된 시료 칩(100)의 일단부를 가열하는 것일 수 있다. 제2히팅부(212) 또한 제1온도범위 또는 제2온도범위로 설정되어, 시료 칩(100)의 타단부를 가열하는 것일 수 있다.
- [0070] 제1히팅부(211)와 제2히팅부(212)는 서로 다른 온도 범위로 설정될 수 있다. 즉, 제1히팅부(211)가 제1온도범위로 설정되면 제2히팅부(212)는 제2온도범위로 설정될 수 있다. 반대로 마찬가지로, 제1히팅부(211)가 제2온도범위로 설정되면 제2히팅부(212)는 제1온도범위로 설정될 수 있다.
- [0071] 다시 말해, 히팅부(200)는 제1히팅부(211) 및 제2히팅부(212)로 나뉘어 시료 칩(100)의 일단부와 타단부를 서로 다른 온도 범위로 가열 유지하는 것일 수 있다.
- [0072] 제1온도범위는 예를 들어, 85 내지 105 °C의 온도범위를 가질 수 있다. 이러한 핵산 시료의 변성(Denaturation)을 위한 것일 수 있다. 제1온도범위가 85 내지 105 °C인 경우, 제2온도범위는 60 내지 75 °C일 수 있다. 이러한 제2온도범위는 시료의 프라이머를 주형 가닥에 결합시키기 위한 어닐링(Annealing) 및 중합효소가 핵산을 중합하게 하는 신장(Extension)을 위한 것일 수 있다.
- [0073] 회전축부재(280)는 제1히팅부(211) 및 제2히팅부(212)가 동일면상에 위치하도록 고정하는 것일 수 있다.
- [0074] 액츄에이터부(300)는 회전축부재(280)를 회전 구동시키는 것일 수 있다. 액츄에이터부(300)가 스텝퍼 모터를 채용한 경우, 회전축부재(280)는 소정의 각도 내 범위에서 회전 운동이 가능할 수 있고, 예를 들어, 소정의 각도는 +45 내지 -45도 일 수 있으나, 이에 한정되지 않고, 중력에 의해 시료를 이동시킬 수 있는 소정의 각도라면 어느 범위이더라도 무방하다.
- [0075] 제어부(400)는 제어정보를 생성하여 각 부에 인가하는 것일 수 있다.

- [0076] 제어정보는 제1히팅부(211)와 제2히팅부(212)에 대한 온도범위 정보를 포함할 수 있다.
- [0077] 온도범위 정보는 제1온도범위 정보 및 제2온도범위 정보를 포함할 수 있다.
- [0078] 제1온도범위는 85 내지 105 ℃로 설정될 수 있고, 제2온도범위는 60 내지 75 ℃로 설정될 수 있다.
- [0079] 제1히팅부(211)가 제1온도범위로 설정되는 경우에는 제2히팅부(212)가 제2온도범위로 설정되고, 제1히팅부(211)가 제2온도범위로 설정되는 경우에는 제2히팅부(212)가 제1온도범위로 설정될 수 있다. 즉, 제1히팅부(211)와 제2히팅부(212)는 제1온도범위와 제2온도범위 중에서 서로 다른 온도범위로 설정될 수 있다.
- [0080] 도 2는 본 발명의 시료 칩을 확대하여 나타낸 모식도이다.
- [0081] 도 2를 참조하면, 본 발명의 시료 칩은 제1수용공간(111) 및 제2수용공간(112)을 포함할 수 있고, 제1수용공간(111)은 제2수용공간(112)과 유체채널(120)을 통해 연통하는 것일 수 있다.
- [0082] 유체채널(120)은 중심부에 만곡부를 포함하는 직선형 채널일 수 있다. 만곡부는 유체채널의 측벽이 유체채널의 내측으로 완곡하게 함몰된 것일 수 있다.
- [0083] 모래시계 형태의 시료 칩(도 2)에서 유체채널(120)은 시료의 증발과 기포 발생을 억제하기 위하여 병목 모양의 만곡부 형태일 수 있다.
- [0084] 시료의 투입 방법은 밀폐된 시료칩 내부로 PDMS와 같은 탄성이 있는 벽을 통하여 주사기로 주입하는 것일 수 있다.
- [0085] 제1수용공간(111)과 제2수용공간(112)은 각각 독립적으로 시료를 포함할 수 있다.
- [0086] 제1수용공간(111) 또는 제2수용공간(112)은 시료와 비혼화성인 실리콘 오일 (Silicone oil)을 포함할 수 있다.
- [0087] 시료 칩(100)의 재질은 폴리디메틸실록산(Polydimethylsiloxane; PDMS)일 수 있다. 투명한 PDMS는 넓은 범위의 액상의 생체 시료에 반응하지 않는 안전성을 갖는 무독성이며 불연성 실리콘 고무로서, 방수성이 높고 탄성이 있어 가공하기 쉬운뿐더러 유리판, PET 등의 표면에 플라즈마 조사 방법으로 접착이 용이한 장점이 있다.
- [0088] 나아가, 시료 칩(100)은 소수성 폴리머로 코팅될 수 있으며, 이를 통해 비-수성 액체를 포함하는 시료의 유동성을 증가시킬 수 있다.
- [0089] 도 3은 본 발명의 회전식 PCR 장치에 시료 칩을 적재한 모습을 나타낸 모식도이다.
- [0090] 도 3을 참조하면, 시료 칩(100)은 제1히팅부(211) 및 제2히팅부(212) 사이에 위치하도록 적재될 수 있다.
- [0091] 구체적으로 예를 들면, 시료 칩(100)의 제1수용공간(111)은 제1히팅부(211)를 향하도록, 제2수용공간(112)이 제2히팅부(212)를 향하도록 고정될 수 있다.
- [0092] 히팅부(200)는 회전축부재(280)로부터 돌출되는 히팅부(200)의 길이를 고려하여, 적어도 하나 이상의 제1히팅부(211), 및 적어도 하나 이상의 제2히팅부(212)를 포함할 수 있다. 이에 따라, 본 발명의 회전식 PCR 장치는 적어도 하나 이상의 시료 칩(100)을 히팅부(200)에 적재될 수 있다.
- [0093] 도 4는 본 발명의 회전식 PCR 장치가 시료 칩을 회전 구동시키는 모습을 나타낸 모식도이다.
- [0094] 도 4를 참조하면, 회전축부재(280)의 회전 각도는 제1히팅부(211) 및 제2히팅부(212)가 위치한 면이 지면과 평행한 때에 0도인 것이라 정의하면, 회전축부재(280)에서 히팅부(200)로 향하는 방향을 기준으로 하여 시계 방향을 정의할 수 있고, 나아가 시계 방향을 양의 각도 ( $+\theta$ )로 정의할 수 있다.
- [0095] 본 발명의 회전식 PCR 장치에서 액추에이터(300)가 스텝퍼 모터라면, 회전축부재(280)의 회전 각도는 +90 내지 -90도로 회전 가능한 것일 수 있다. 이와 달리, 액추에이터(300)가 스텝퍼 모터 외의 것이라면 회전축부재(280)의 회전 각도는 +360 내지 -360도로 회전 가능한 것일 수 있다.
- [0096] 회전축부재(280)가 회전함으로써 시료 칩(100)에 투입된 시료는 제1히팅부(211)를 향하여 고정된 제1수용공간(111)과 제2히팅부(212)를 향하여 고정된 제2수용공간(112) 사이를 중력에 의해 왕복 운동할 수 있게 된다.
- [0097] 시료 칩(100)이 포함하는 비-수성 액체인 실리콘 오일은 시료의 유동성을 증대시켜 이러한 왕복 운동을 용이하게 한다.
- [0098] 도 5는 본 발명의 일 실험예에 따라 실리콘 오일이 PCR 반응에 미치는 영향과 효과를 확인하는 모습을 촬영한

사진이다.

- [0099] 도 5를 참조하면, 시료칩 내의 밀폐된 두 개의 제1수용공간에, 10X Mg<sup>2+</sup> PCR 버퍼(5  $\mu$ L), dNTP 혼합물(4  $\mu$ L), 컨트롤 프라이머 1 및 3(각각 0.5  $\mu$ L), 타카라(TakaRa)사의 Taq(0.25  $\mu$ L) 및 탈이온수(39.25  $\mu$ L)로 구성된 조성액과 컨트롤 템플릿 DNA(0.5  $\mu$ L)을 섞은 총 50  $\mu$ L의 시료를 준비하여 주사기로 주입한 모습을 확인할 수 있다.
- [0100] 오렌지색 시료 (a)는 제1수용공간에 시료가 채워진 폴리디메틸실록산(PDMS) 칩에 20  $\mu$ L의 점성 50 cSt인 실리콘 오일(Silicone oil)을 추가로 주입하고, 파란색 시료 (b)는 폴리디메틸실록산 칩에 20  $\mu$ L의 5 cSt인 실리콘 오일을 추가로 주입하여 시료를 덮어 밀폐한 것이다.
- [0101] 도 6은 본 발명의 회전식 PCR 장치가 시료 칩을 회전 구동시켜 시료 칩에 투입된 시료가 중력에 의해 경사면을 따라 이동하는 모습을 촬영한 사진이다.
- [0102] 도 6을 참조하면, 본 발명의 회전식 PCR 장치를 이용하면 시료 칩(100)에 별도의 펌프나 밸브를 구비하지 않아도 시료 칩(100) 내에서 시료가 중력에 의해 간편하게 이동할 수 있어, 제1히팅부(211)와 제2히팅부(212) 사이를 왕복 운동하며 PCR 사이클이 진행될 수 있어 효율적이다.
- [0103] 구체적으로, PCR 과정은 시료를 95  $^{\circ}$ C에서 5분 동안 유지한 후, 시료를 제1수용공간(111)에서 95  $^{\circ}$ C의 온도 조건으로 30초 동안, 제2수용공간(112)으로 이동시켜 65  $^{\circ}$ C의 온도 조건으로 40초 동안 위치시키는 것을 1사이클로 하여, 총 30 사이클을 반복하고, 반복 완료시 65  $^{\circ}$ C의 온도 조건으로 5분 동안 유지한 후, 15  $^{\circ}$ C의 온도 조건으로 시료를 최종적으로 보관하는 것일 수 있다.
- [0104] 제1수용공간(111)을 가열하기 위한 제1히팅부(211)의 온도와, 제2수용공간(112)을 가열하기 위한 제2히팅부(212)의 온도는 MINCO CT425 소프트웨어에 의하여 시료가 투입되기 전 미리 정온 상태(isothermal state)로 일정하게 각각 설정될 수 있다.
- [0105] 회전축부재(280)의 회전 각도는 XILab 소프트웨어에 의하여 설정될 수 있다.
- [0106] 제1히팅부(211) 및 제2히팅부(212)가 위치한 면은 +45 내지 -45도 사이 범위에서 회전하며 시료를 제1수용공간(111)과 제2수용공간(112) 사이에서 왕복 운동 시킬 수 있다.
- [0107] 도 7은 본 발명의 일 실험예에 따라 점성이 50 cSt와 5 cSt인 실리콘 오일이 시료의 PCR 결과에 미치는 영향을 전기영동으로 확인한 사진이다.
- [0108] 도 7을 참조하면, 시료가 점성 5 cSt인 실리콘 오일을 포함하면 50 cSt 와는 달리 DNA증폭을 보여주고, 낮은 점성의 오일로 시료 위를 덮어주었을 때 기포의 생성과 물의 증발을 억제하여 증폭 효율을 높이는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.
- [0109] 도 8은 본 발명의 회전식 PCR 방법을 나타낸 블록도이다.
- [0110] 도 8을 참조하면, 본 발명의 회전식 PCR 방법은 준비 단계, 시료투입 단계, 시료 칩 고정 단계 및 PCR 단계를 포함할 수 있다.
- [0111] 준비 단계(S100)는 핵산 증폭 대상 시료를 준비하는 것일 수 있다. 시료는 시료 칩 내 유동성을 향상시키기 위해 실리콘 오일(Silicone oil)을 추가로 포함할 수 있다. 또한 제1히팅부 및 제2히팅부를 가열하여 미리 정온 상태(isothermal state)로 일정하게 유지하는 정온유지단계를 포함할 수 있다. 히팅부(200)의 초기 각위치를 +90도 내지 -90도로 유지시켜 제1수용공간(111) 내지 제2수용공간(112)을 아래로 향하는 단계를 포함할 수 있으나 이에 한정하는 것은 아니다. 즉, 히팅부(200) 초기 각위치를 0도로 유지해도 무방하다.
- [0112] 핵산은 DNA(deoxyribonucleic acid), LNA(Locked nucleic acid), PNA(Peptide nucleic acid), HNA(Hexose nucleic acid), RNA(Ribonucleic acid) 및 다양한 핵산(nucleic acid) 유사체로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종일 수 있다.
- [0113] 시료투입 단계(S200)는 시료를 수용할 수 있는 제1수용공간 또는 제2수용공간에 준비한 시료를 투입하는 것일 수 있다.
- [0114] 시료 칩 고정 단계(S300)는 시료 칩을 제1히팅부 및 제2히팅부 사이에 위치하도록 고정하는 것일 수 있다.
- [0115] PCR 단계(S400)는 제1히팅부(211)와 제2히팅부(212)에 대한 온도범위 정보 및 회전구동 정보를 이용하여 시료칩

의 각도와 히팅부의 열원과의 열접촉 시간을 제어하여 시료에서 중합효소연쇄반응이 최적화로 진행되도록 하는 것일 수 있다.

[0116] 또한, PCR 단계(S400)는 제1히팅부(211)의 온도를 제1온도범위 또는 제2온도범위로 설정하고, 제2히팅부(212)의 온도를 제1온도범위 또는 제2온도범위 중, 제1히팅부(211)의 온도와 다른 온도범위로 설정하는 온도 설정단계를 포함할 수 있다.

[0117] 또한, PCR 단계(S400)는 회전구동 정보에 따라 85 내지 105 ℃로 가열된 제1히팅부(211) 및 60 내지 75 ℃로 가열된 제2히팅부(212)가 위치한 면을 +45도로 회전시킨 후 5분 동안 유지한 다음, 회전 각도 +45도에서 30초, -45도에서 40초 회전시키는 것을 1사이클로 하여 총 30사이클을 반복하고, 반복 완료 시 회전 각도 -45도에서 5분 유지하며, 15 ℃로 냉각된 제1히팅부(211)로 시료가 이동하도록 회전 각도 +45도로 회전시킴으로서 수행될 수 있다.

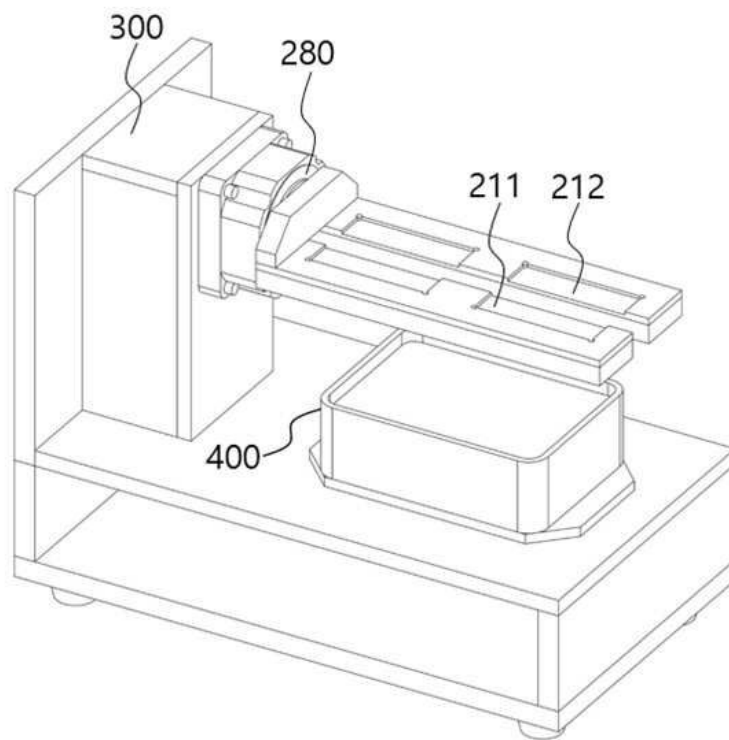
[0118] 이를 통해, 시료 칩(100)이 별도의 펌프나 밸브를 구비하지 않더라도 중력을 이용하여 시료가 시료 칩(100) 내에서 간편하게 제1수용공간(111)과 제2수용공간(112) 사이를 간편하게 왕복 운동할 수 있게 된다. 나아가, 회전축부재(280)를 이용하여 시료가 위치하는 수용공간을 변화시킬 수 있고, 시료가 위치하지 않는 수용공간을 미리 가열하거나 냉각시킬 수 있어, 전체 중합효소연쇄반응에 필요한 시간을 줄일 수 있어 효율적이다.

### 부호의 설명

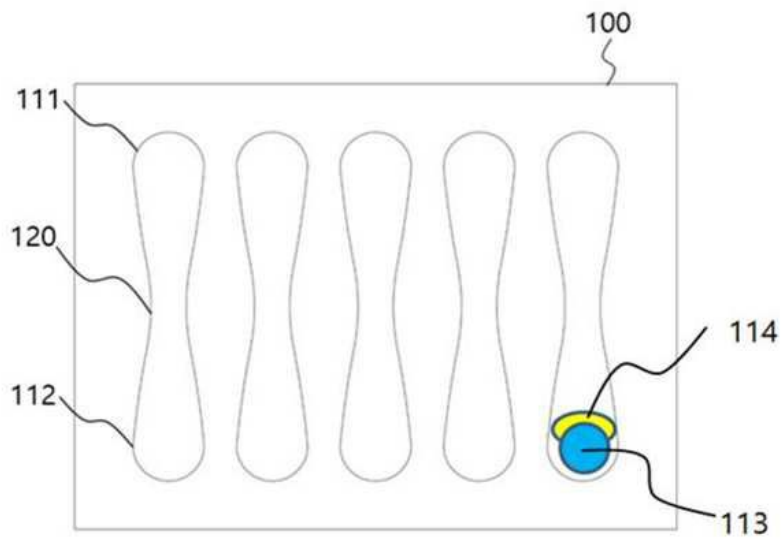
[0119] 100: 시료 칩 111: 제1수용공간  
112: 제2수용공간 113: 시료  
114: 실리콘 오일 120: 유체채널  
200: 히팅부 211: 제1히팅부  
212: 제2히팅부 280: 회전축부재  
300: 액추에이터부  
400: 제어부  
S100: 준비 단계  
S200: 시료투입 단계  
S300: 시료 칩 고정 단계  
S400: PCR 단계

도면

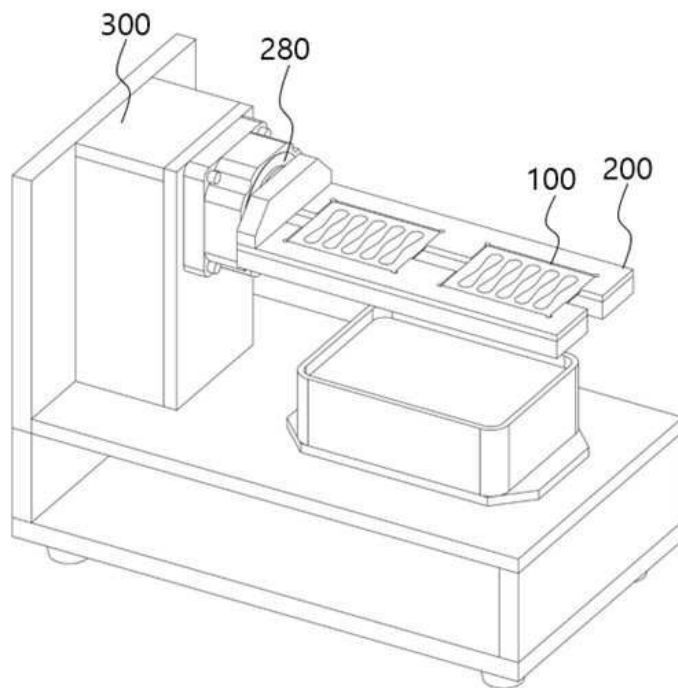
도면1



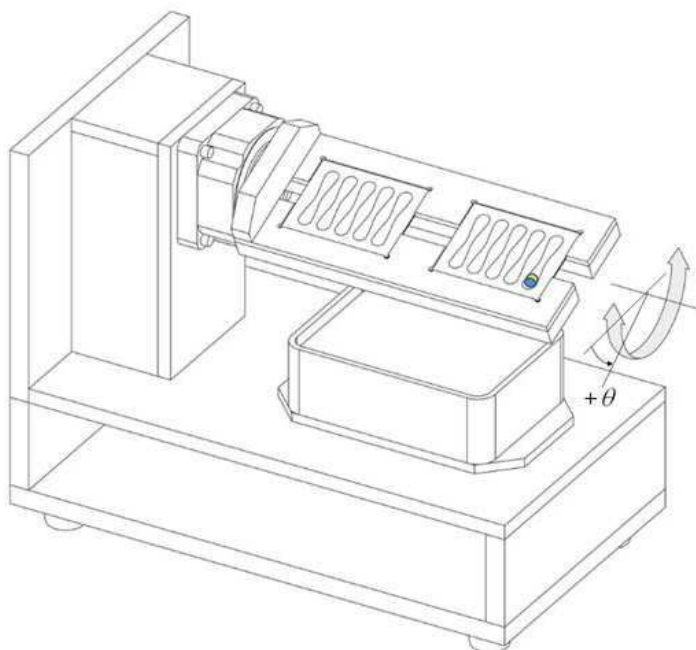
도면2



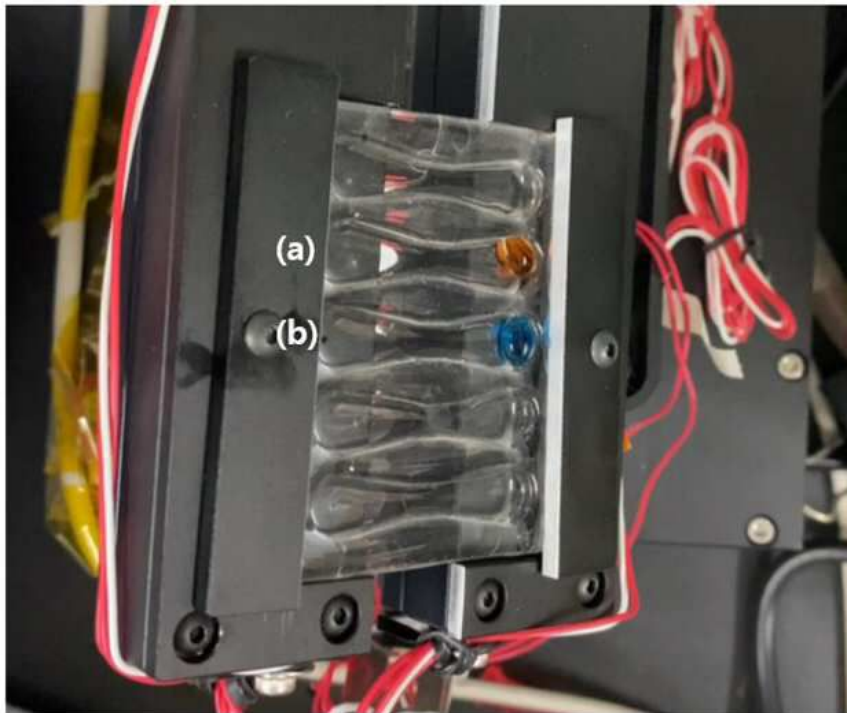
도면3



도면4



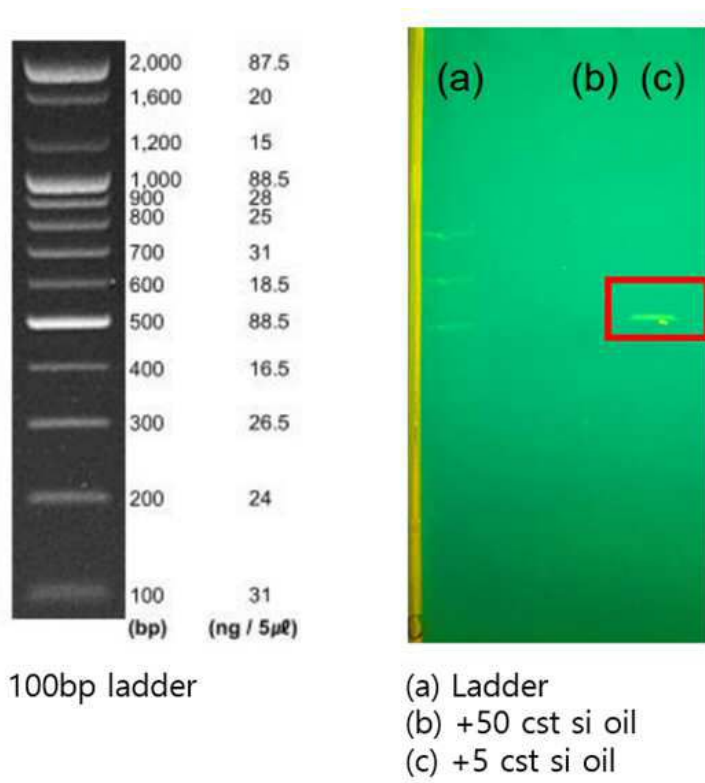
도면5



도면6



도면7



도면8

