

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(10) 국제공개번호

WO 2012/011660 A2

PCT

(43) 국제공개일
2012년 1월 26일 (26.01.2012)

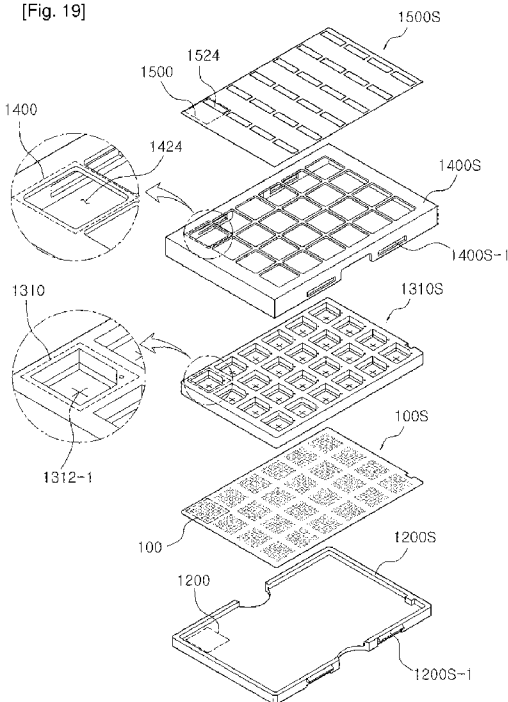
- (51) 국제특허분류: C12Q 1/68 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01) G01N 1/16 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/004010
- (22) 국제출원일: 2011년 6월 1일 (01.06.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2010-0071651 2010년 7월 23일 (23.07.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): (주) 바이오니아 (BIONEER CORPORATION) [KR/KR]; 대전광역시 대덕구 문평동 49-3, 306-220 Daejeon (KR).
- (72) 발명자; 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 박한오 (PARK, Han Oh) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 전민동 엑스포아파트 208 동 601 호, 305-761 Daejeon (KR). 송구영 (SONG, Gu Young) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 전민동 엑스포아파트 401-1302, 305-762 Daejeon (KR). 배정아 (BAE, Jung A) [KR/KR]; 대전광역시 유성구 지족동 열매마을 1 단지 105-1101, 305-769 Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 홍성일 (HONG, Seong Il); 대전광역시 서구 둔산동 1398 인곡타워 402 호, 302-120 Daejeon (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, 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).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: METHOD OF MANUFACTURING MICRO CHAMBER PLATE WITH BUILT-IN SAMPLE AND ANALYTIC MICRO CHAMBER PLATE, ANALYTIC MICRO CHAMBER PLATE AND APPARATUS SET FOR MANUFACTURING ANALYTIC MICRO CHAMBER PLATE WITH BUILT-IN SAMPLE

(54) 발명의 명칭 : 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 및 분석용 마이크로 챔버 플레이트의 제조 방법, 분석용 마이크로 챔버 플레이트 및 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋

[Fig. 19]



(57) Abstract: The present invention relates to a micro chamber plate, and more particularly, to an analytic micro chamber plate in which a plurality of reaction solutions including a primer or probe selectively reacting with a nucleic acid react with each other without cross-contamination to measure and analyze a fluorescence level in real-time so as to analyze biological sample solution including a large amount of nucleic acids. Also, the present invention relates to a method of manufacturing the analytic chamber plate. Also, the present invention relates to a method of manufacturing a micro chamber plate with a built-in sample used for manufacturing the analytic chamber plate. Also, the present invention relates to an apparatus set for manufacturing the micro chamber plate with a built-in sample.

(57) 요약서: 본 발명은 마이크로 챔버 플레이트에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 많은 수의 핵산을 포함하고 있는 생물학적 시료 용액을 분석하기 위하여 각각의 핵산에 선택적으로 반응하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다수의 반응액들이 교차오염없이 반응하여 형광값을 실시간으로 측정 및 분석할 수 있도록 하는 분석용 챔버 플레이트에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 분석용 챔버 플레이트의 제조 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 분석용 챔버 플레이트의 제조에 사용되는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트의 제조 방법에 관한 것이다. 또한 본 발명은 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트를 제조하는 장치 셋에 관한 것이다.

WO 2012/011660 A2

공개:

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

명세서

발명의 명칭: 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 및 분석용 마이크로 챔버 플레이트의 제조 방법, 분석용 마이크로 챔버 플레이트 및 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋 기술분야

- [1] 본 발명은 마이크로 챔버 플레이트에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 많은 수의 핵산을 포함하고 있는 생물학적 시료 용액을 분석하기 위하여 각각의 핵산에 선택적으로 반응하는 프라이머 또는 프로브를 포함하는 다수의 반응액들이 교차오염없이 반응하여 형광값을 실시간으로 측정 및 분석할 수 있도록 하는 분석용 챔버 플레이트에 관한 것이다.
- [2] 또한, 본 발명은 상기 분석용 챔버 플레이트의 제조 방법에 관한 것이다.
- [3] 또한, 본 발명은 상기 분석용 챔버 플레이트의 제조에 사용되는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트의 제조 방법에 관한 것이다.
- [4] 또한 본 발명은 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트를 제조하는 장치 셋에 관한 것이다.

배경기술

- [5] 마이크로 챔버란 수 마이크로 리터 이하의 미세한 반응이 일어나는 용기로서, 실리콘웨이퍼, 유리, 금속, 세라믹 또는 플라스틱 등으로 형성될 수 있으며, 상기 마이크로 챔버 플레이트란, 상기 마이크로 챔버가 2차원적으로 배열되어 이루어진 플레이트로서 일반적으로 일측 면은 시료가 주입되고 밀봉될 수 있는 구조로 이루어진다.
- [6] 한편, 유전자의 양을 측정하는 방법으로서 중합효소연쇄반응(PCR, Polymerase Chain Reaction)을 수행하면서 실시간으로 유전자의 양에 비례하여 증가되는 형광값을 측정할 수 있는 실시간 중합효소연쇄반응(Real-Time PCR) 방법이 개발되었다.
- [7] 상기 실시간 중합효소연쇄반응 방법은 중합효소연쇄반응을 수행함에 따라 중합효소연쇄반응 산물로부터 발생하는 형광값을 각 사이클마다 측정하고, 일정량 이상의 형광값이 발생하는 사이클을 확인함으로써 시료의 특정유전자 초기 농도를 정량적으로 분석할 수 있다.
- [8] 상기 실시간 중합효소연쇄반응 방법은 상기 중합효소연쇄반응 후에 전기영동과정이 필요하지 않고, 중합효소연쇄반응을 수행함과 동시에 반응된 산물을 정량적으로 측정하여 시료 내부의 각각의 특정염기배열을 가진 유전자의 농도를 10^9 이상의 범위에서 결정할 수 있는 이점이 있다.("A-Z of Quantitative PCR" edited by Stephen A. Bustin 2004-2006 International University, "Realtime PCR" edited by M. Tefvik Dorak 2006 Taylor & Francis Group)
- [9] 상기 실시간 중합효소연쇄반응 방법을 수행하는 실시간 중합효소연쇄반응

기기는 다양한 형태가 제안된 바 있으며, 다수의 시료를 분석할 수 있는 실시간 중합효소연쇄반응 기기로서 표준 96well, 384well 플레이트를 사용하여 96개 또는 384개의 유전자들을 분석할 수 있는 기기가 제안된 바 있다.(Roche 사의 Light cycler 480, ABI 7500, 7900)

- [10] 상기 Roche사의 실시간 중합효소연쇄반응 기기는 반응 시료의 양이 10 내지 50 μ l의 것으로, 비교적 많은 양의 시료가 소요되고 많은 수의 유전자를 분석하지 못하는 문제점이 있다.
- [11] 상기 문제점을 해결하기 위해 MEMS(Micro Electro Mechanical Systems) 기술을 이용하여 반응 시료의 양을 줄임으로써 빠른 시간 내에 많은 시료를 동시에 분석하기 위한 다양한 방법들이 제시된 바 있으며, 이에 따라 마이크로 챔버 어레이 플레이트를 이용한 방법 역시 제안된 바 있다.
- [12] 마이크로 챔버 어레이 플레이트를 사용하는 방법은 크게 상기 마이크로 챔버에 반응시료를 주입하는 단계, 마이크로 챔버간의 반응용액을 밀봉시키는 단계, 반응 및 분석단계의 3단계로 구성될 수 있으며, 첫 번째로 개별적으로 상기 마이크로 챔버에 시료용액을 가하는 방법으로서, 투명한 세포배양용 마이크로 챔버 플레이트에 반투과성 막을 덮어 마이크로 챔버를 격리시키고 각각의 마이크로 챔버에 하나의 세포를 배양하여 배양액을 제거한 후, 택맨(Taqman) 반응용액을 가하고 증발방지를 위해 투명 오일로 밀봉하여 온도사이클링을 하면서 플레이트의 바닥에서 형광값을 측정하는 마이크로 챔버 어레이 플레이트가 제안된 바 있다.(YASUDA, Kenji EP 1,541,678 A1, JP 2002245900 NUCLEIC ACID ANALYSIS CHIP AND NUCLEIC ACID ANALYZER)
- [13] 상기 방식은 각각의 마이크로 챔버에 각기 다른 용액을 마이크로 피펫으로 흡입하고 가해 주어야하므로 시간이 많이 걸리고 특히, 1,536개 이상의 마이크로 챔버에 시료를 주입하기 위해서 미세자동분주기를 사용해야 하는데 각각 다른 용액을 가하기전에 세척하는 과정에 많은 시간이 걸려 현실적으로 384 플레이트 이상은 사용이 어려운 문제점이 있다.
- [14] 두 번째로, 첫 번째 방법을 해결하기 위해 실리콘 웨이퍼를 포토리소그래피와 화학식각 방식으로 마이크로 챔버 어레이를 구성한 반응기가 E. Tamiya 교수그룹의 Hidenori Nagai 등에 의해 제시된 바 있다.(Anal. Chem. 2001 73, 1043-1047, Development of a Microchamber Array for Picoliter PCR)
- [15] 상기 반응기는 중합효소연쇄반응 용액의 증발을 방지하기 위해 현미경 슬라이드 커버 글라스를 이용하였으나, 상기 커버글라스를 덮을 때와 떼어낼 때 반응액의 교차오염이 유발됨에 따라 발수성 막을 커버글라스와 웨이퍼 사이에 끼워서 먼저 상기 커버글라스를 제거한 후 반응용액을 건조시킨 후에 발수성 막을 제거하고 분석해야하는 번거로움이 있었으며, 실시간 유전자 정량증폭에 사용할 수 없는 문제점이 있었다.
- [16] 세 번째로, 정량증폭 문제점을 해결하기 위해서 같은 연구실에서 Y. Matsubara 등은 웨이퍼 상의 오목한 마이크로 챔버에 각각의 프라이머를 마이크로어레이

장비를 이용하여 가한 후 건조시킨 마이크로 챔버 어레이를 개발하였다.(7th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems October 5-9, 2003, Squaw Valley California USA)

- [17] 상기 마이크로 챔버 어레이는 칩의 상부에 미네랄 오일을 가하여 마이크로 챔버를 완전히 덮은 다음 여기에 중합효소연쇄반응 반응액을 나노제트 분주기를 이용하여 반응기의 미네랄 오일 위에서 점적하는 방법을 사용하였다. 이 방법은 1인치 × 3인치의 실리콘 웨이퍼를 포토리소그래피와 화학식각 방식으로 50 나노 리터의 부피(0.65 × 0.65 × 0.2 mm)를 가지는 1,248개의 마이크로 챔버 어레이 칩을 제조한 후 마이크로 챔버에 프라이머와 택맨(Taqman) 프로브 용액을 나노 리터 분주기로 점적하여 이것을 건조시키고, 전체를 미네랄 오일로 코팅을 하여 각각의 마이크로 챔버를 격리 밀봉하였다.
- [18] 상기 세 번째 방법을 이용하여 제조된 마이크로 챔버 어레이는 나노 리터 분주기를 이용하여 Taq DNA 중합효소와 시료 DNA의 혼합액을 미네랄 오일의 상층부에서 분사하여 각각의 마이크로 챔버에 분주하여 줌으로서 성공적으로 마이크로 챔버에서 각각의 반응성분들이 교차오염이 없이 중합효소연쇄반응을 수행할 수 있는 장점이 있다.
- [19] 그러나 상기 방법은 용액을 주입할 때 별도의 마이크로어레이용 나노 리터 분주장비가 필요하고, 분주를 하기 위한 시간이 오래 소요되며, 플레이트 이동 시에 미네랄오일의 유동으로 반응액 상호간의 교차오염의 위험성이 높은 문제점이 있다. 또한, 온도 사이클링 반응 시 고온에서 버블이 발생되고 오일과 수용액의 소수성효과로 인해 수용액이 구형형태로 되어 렌즈효과를 일으킴에 따라 광학 측정 시 여기광과 발광이 산란, 분산되어 측정오차를 크게 만드는 문제점이 있다.
- [20] 네 번째로, 상기 세 번째와 같은 화학적인 식각방식에 의해 제조된 마이크로 챔버이지만 상기 세 번째 방식보다 훨씬 많은 수의 반응을 시킬 수 있는 것으로 PicoTiterPlate 가 개발된 바 있다.(John H. Leamon et al., A massively parallel PicoTiterPlate based platform for discrete pico-liter-scale polymerase chain reactions. Electrophoresis 2003, 24, 3769-3777)
- [21] 상기 네 번째 방식은 39.5 pL의 양으로 300,000 개의 독립적인 중합효소연쇄반응을 시킬 수 있는 형태가 있으나 프라이머/프로브들을 고정화한 담체가 있어야 하므로 균일한 광학 특성이 요구되는 실시간 정량 중합효소연쇄반응에 적용될 수 없다.
- [22] 다섯 번째로, 미량시료를 반응시키기 위해서 미국특허 제 5948673호에는 '필름 반응기(또는 DNA 카드)'라 하는 반응기가 제시된 바 있다.
- [23] 상기 필름 반응기는 3층의 매우 얇은 필름으로 되어 있으며, 구체적으로, 하층 필름은 반응기의 밑면을 형성하고, 중층 필름은 반응기의 측면을 형성하며, 상층 필름은 시료주입구를 형성한다. 상기 필름 반응기에 파이펫을 통하여 미량 시료용액을 주입한 후에 반응을 위해서는 반응주입구를 완전하게 밀봉하여야

하는데, 완벽히 밀봉되지 않을 경우 중합효소연쇄반응 시 반응용액이 모두 증발되게 되는 문제점이 있으며, 상기 필름 반응기는 수천 개의 시료를 다루기 위해서는 구조적으로 너무 복잡해지므로 현실적으로 제조가 불가능하다.

- [24] 여섯 번째로 표준 ELISA 플레이트 크기로 1,536 형광분석 반응을 수행할 수 있는 반응플레이트가 WO 02/40158과 US 6,232,114에 개시된 바 있다.
- [25] 상기 여섯 번째 방법은 플레이트에 다수의 관통된 구멍을 형성하고, 형광양이 적은 투명한 필름을 용착하여 다수의 반응용기를 형성하고 여기에 시료를 담은 후 투명필름으로 밀봉하여 반응을 수행하는 용기를 이용하는 방법이다. 상기 반응 플레이트는 상면 및 하면이 투명하게 형성되고, 일측 면에서 여기광을 가해주고 다른 한쪽에서 형광을 측정할 수 있는 장점이 있다.
- [26] 그러나 상기 여섯 번째 방법 역시, 많은 수의 유전자를 분석하기 위해서는 각각의 마이크로 챔버마다 각각 다른 프라이머와 프로브가 들어가야 하는데 많은 수의 시료를 분석하는 플레이트는 수천 개의 다른 용액을 미세한 마이크로 챔버에 넣어 주어야 하므로, 이를 위해 종래의 나노 리터 분주기와 같은 특수한 분주장비가 필요하고, 많은 시간이 걸리는 작업이면서도 시료 주입 시 불량이 발생하는 문제점을 그대로 가지고 있게 된다. 또한, 마이크로 챔버 내에 용액을 완전히 채울 수 없는 문제로 인하여, 기포가 생기고 가온될 경우 마이크로 챔버 상부에 수증기가 맺히게 되어 스캐터링에 의해 광학 측정을 방해하는 문제점도 있다.
- [27] 일곱 번째로 일측 면에 시료 주입을 위한 다공성 막이 형성되고 타측 면에 광학 측정부가 형성된 마이크로 챔버 플레이트를 이용한 반응플레이트를 본 발명자 등이 PCT 출원(PCT/KR2008/005635)한 바 있다.
- [28] 상기 일곱 번째 방법은 플레이트에 다수의 관통된 구멍을 형성하고, 일측 면에 형광양이 적은 투명한 필름을 용착하여 다수의 반응용기를 형성하고 여기에 시료를 담은 후 타측 면에 시료용액 주입이 가능한 다공성 막으로 밀봉하여 반응을 수행하는 용기를 이용하는 방법이다. 상기 반응 플레이트는 다공성 막을 통해 시료용액 주입 후 주입면에 미네랄 오일을 점적하여 밀봉하고, 타측 면에 형성된 광학 측정부로 여기광 인가 및 측정하는 방법이다.
- [29] 그러나 상기 일곱 번째 방법은, 주입부와 광학 측정부가 별도로 형성되어 있어 구조가 복잡하고, 주입부에 형성된 미네랄 오일층이 투명해져 바닥면의 얼룩 상태에 따라 측정 결과의 편차 문제가 있을 수 있다. 또한, 반응 및 측정을 위해 미네랄 오일 점적된 주입부가 하측으로 향할 수 있는데 이때 시료에 비해 상대적으로 밀도가 낮은 미네랄 오일이 마이크로 챔버 내부로 유입되어 스캐터링을 유발하는 문제점도 있다.
- [30] 여덟 번째로 국제출원된 "THE MICRO-CHAMBER PLATE, MANUFACTURING METHOD THEREOF; 국제출원번호 : PCT/KR2008/005635"가 공개된 바 있다.
- [31] 그러나 상기 여덟 번째 방법은, 주입을 위한 시료를 다공성 막에 직접 인가하는

구조로 되어 있어, 1)진공에 의한 시료 주입 방법을 사용할 경우; 진공 인가시 시료의 끓음을 방지하기 위해서 원심력을 가해 주게 되는데 이때 다공성 막의 기공을 통한 기체의 배출이 시료의 표면 장력과 원심력에 의해 방해받게 되고, 2)원심력에 의해 마이크로 챔버내의 기체가 압착되어 부피가 축소됨으로써 주입 과정 중에 막을 통해 빠져나갈 수 있을 정도의 부력을 받지 못하고 작은 기포 형태로 잔존하다가 대기압 상태의 측정 조건에서 다시 팽창되어 측정을 방해하는 문제점이 있다.

- [32] 따라서, 다수의 마이크로 챔버에 간편하게 시료를 주입하고 각 반응액 간의 교차 오염이 일어나지 않고, 광학측정부의 시료 등에 의한 오염 가능성이 없이 시료로부터 발생하는 광을 실시간으로 정확하게 측정할 수 있는 마이크로 챔버 플레이트가 요구되고 있다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [33] 본 발명은 실시간 중합효소연쇄반응, 정온 효소반응, 또는 LCR(Ligase Chain Reaction)에 요구되는 다수개의 마이크로 챔버 내부에 용액이 증발됨을 방지하고, 용액을 용이하게 주입하여 주입 단계에 소요되는 시간을 획기적으로 줄일 수 있으며, 마이크로 챔버 간에 용액이 혼입되지 않도록 하며, 주입부와 광학 측정부를 일체화하여 구조가 간단하고 광학 측정부에 미세기포가 발생되지 않음으로써 형광값을 더욱 정확히 측정할 수 있어 분석의 정확도를 높일 수 있는 마이크로 챔버 플레이트 및 이의 제조 방법을 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

- [34] 본 발명은 상측 개방구가 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)를 안치시키는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 안치 단계(S20); 임시 저장부(312)와 상기 임시 저장부(312)에 연접하여 형성되어 보조 덮개부 관통공(314-1)이 형성된 보조 덮개부(314)를 포함하는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)가 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상측 개방구를 덮도록 배치하는 덮개부 배치 단계(S30); 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)가 배치된 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)를 진공인가가 가능한 원심분리기에 넣고 원심력을 가하여 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 연통되도록 상기 임시 저장부(312)에 형성된 용기 연통부를 통하여 상기 임시 저장부(312)에 임시 저장된 시료 용액을 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)에 주입시켜 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)를 제조하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S40); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법에 관한 것이다.

- [35] 한편, 본 발명은 임시 저장부(1312)와 상기 임시 저장부(1312)에 연접하여 형성되며 보조 덮개부 관통공(1314-1)이 형성된 보조 덮개부(1314)를 포함하는

마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)의 하측단을 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면에 밀착시켜, 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면과의 사이에 시료 용액 저장 공간을 형성하는 시료 용액 저장 공간 형성 단계(S200); 상기 시료 용액 저장 공간이 형성되도록 상호 밀착된 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 및 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)를 진공인가가 가능한 원심분리기에 넣고 원심력을 가하여 상기 임시 저장부(1312)에 임시 저장된 시료 용액을 상기 시료 용액 저장 공간에 연통되도록 상기 임시 저장부(1312)에 형성된 용기 연통부를 통하여 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)에 주입시켜 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)를 제조하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S300); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법에 관한 것이다.

- [36] 본 발명에 있어서, 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S40, S300)는, 상기 원심분리기에 진공을 인가하고, 상기 원심분리기 내의 진공 인가 상태에서 제1 원심력을 발생시키는 진공 및 원심력 인가 단계; 상기 원심분리기에 의하여 상기 제1 원심력보다 큰 제2 원심력을 발생시킨 상태에서 상기 원심분리기 내의 진공을 해제하여 상기 시료 용액을 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트에 주입시키는 진공 해제 및 원심력 인가 단계; 를 포함할 수 있는데, 상기 제1 원심력은 상기 원심분리기 내의 진공 인가 상태에서 상기 시료 용액의 범핑(bumping)을 억제시킬 수 있는 원심력일 수 있고, 상기 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지도록 상기 임시 저장부(312, 1312)에 형성된 절개선(312-1, 1312-1)이고, 상기 제2 원심력은 상기 절개선(312-1, 1312-1)을 벌릴 수 있는 크기의 원심력일 수 있다.
- [37] 한편, 본 발명은 상기 어느 하나의 방법에 의하여 제조된 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트를 이용한 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법으로서, 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)를 상기 원심분리기로부터 꺼낸 뒤, 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)의 분리막(130)을 밀봉한 분석용 마이크로 챔버 플레이트를 제조하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S50); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법에 관한 것이다.
- [38] 한편, 본 발명은 하측면에 몸체 밀폐부(120)가 형성되고, 상측면에 밀봉된 분리막이 형성되며, 핵산 분석을 위한 특이 성분(140) 및 핵산을 포함하는 시료 용액이 내장된 단위 개수의 챔버 홀(112)이 형성된 분석용 마이크로 챔버 플레이트에 있어서, 상기 몸체 밀폐부(120)는 빛을 반사하는 재질로 형성되고, 상기 밀봉된 분리막은 다공성 재질의 분리막(130)이 고분자성 오일로 도포되어 상기 다공성 재질의 분리막(130) 표면의 광학 투명도가 증가되며 밀봉된 것을 특징으로 하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트에 관한 것이다.
- [39] 한편, 본 발명은 상측 개방구가 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200);

개폐 가능하며 개방시 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 연통되는 용기 연통부가 형성된 임시 저장부(312)와 상기 임시 저장부(312)에 연접하여 형성되어 보조 덮개부 관통공(314-1)이 형성된 보조 덮개부(314)를 포함하며, 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상측 개방구를 덮는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋에 관한 것이다.

[40] 본 발명에 있어서, 상기 보조 덮개부 관통공(314-1)을 외부에 노출시키며 상기 임시 저장부(312)의 일부를 밀폐하는 임시 저장부 덮개(320)를 포함할 수 있고, 상기 임시 저장부(312)의 하측면은 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 인입되고, 상기 임시 저장부(312)의 상단 및 상기 보조 덮개부(314)는 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상단에 배치될 수 있고, 상기 보조 덮개부 관통공(314-1)의 상단 및 상기 임시 저장부(312)의 상단을 덮는 임시 저장부 덮개(320)를 포함하되, 상기 임시 저장부 덮개(320)는 기체는 통과시키고, 상기 시료 용액은 통과시키지 않는 멤브레인 필터일 수 있고, 상기 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지는 절개선(312-1)일 수 있다.

[41] 한편, 본 발명은 임시 저장부(1312)와 상기 임시 저장부(1312)에 연접하여 형성되어 보조 덮개부 관통공(1314-1)이 형성된 보조 덮개부(1314)를 포함하며, 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면과의 사이에 시료 용액 저장 공간(S)이 형성되도록 체결수단에 의하여 하측단이 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면에 밀착되는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310); 를 포함하되, 상기 임시 저장부(1312)에는 개폐 가능하며 개방시 상기 시료 용액 저장 공간에 연통되는 용기 연통부가 형성되는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋에 관한 것이다.

[42] 본 발명에 있어서, 상기 체결수단은, 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)가 안치되는 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200); 상면에 상기 보조 덮개부 관통공(1314-1) 및 상기 임시 저장부(1312)를 외부와 연통시키는 케이스 관통공(1424)이 형성되고, 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310) 상단을 압착하며 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)에 체결되는 체결 케이스(1400); 를 포함할 수 있고, 상기 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지는 절개선(1312-1)일 수 있고, 상기 체결 케이스(1400)에는 상기 보조 덮개부 관통공(1314-1)은 외부에 노출시키고 상기 임시 저장부(1312)의 일부를 밀폐하도록 상기 케이스 관통공(1424)을 덮는 케이스 덮개(1500)를 포함할 수 있고, 상기 체결 케이스(1400)에는 상기 케이스 관통공(1424)을 덮는 케이스 덮개(1500)가 부착되되, 상기 케이스 덮개(1500)는 기체는 통과시키고, 상기 시료 용액은 통과시키지 않는 멤브레인 필터일 수 있다.

발명의 효과

[43] 본 발명은 핵산을 포함하는 시료 용액의 주입부인 분리막을 광학 측정부로

사용함으로써 구조가 간단하고, 오염에 의한 광학 측정부의 측정의 오차를 발생시키지 않으며, 분석용 마이크로 챔버 플레이트의 크기를 작게 할 수 있어 온도조절이 용이하고, 이에 따라 분석에 소요되는 시간을 획기적으로 줄일 수 있는 장점이 있다.

- [44] 본 발명은 챔버 홀 내부로 핵산을 포함하는 시료 용액을 주입하는 경우 진공에 의해 챔버 홀 내부의 기체를 먼저 제거한 후 분리막을 통해 주입이 이루어짐으로써 단시간 내 잔존 기체 없이 완전한 주입이 가능하여 챔버 홀의 내부 잔류 기체에 의해 광학 측정값이 올바르게 측정되지 않는 문제를 방지할 수 있고, 분리막을 고분자성 오일인 미네랄 오일(mineral oil) 또는 실리콘 오일(silicone oil) 등으로 밀봉함으로써 챔버 홀 간의 용액의 혼입에 따른 교차 오염 문제를 방지함에 따라 분석의 정확도를 높일 수 있는 장점이 있다.
- [45] 본 발명은 복수개의 분석용 마이크로 챔버 플레이트가 일체로 형성 가능하여 여러 종류의 시료를 동시에 분석 및 비교함으로써 분석에 소요되는 시간을 획기적으로 단축할 수 있는 장점이 있다.
- [46] 또한, 본 발명의 분석용 마이크로 챔버 플레이트는 분리막 및 광학 측정부의 이면이 분석용 마이크로 챔버 플레이트와 일체로 형성함으로써, 알루미늄 압축성형 등의 방법으로 제작이 가능하여 생산 공정 및 제작비용을 획기적으로 단축할 수 있는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [47] 도1은 실시예1의 흐름도.
- [48] 도2는 도1의 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계에서 제조되는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트의 사시도.
- [49] 도3은 도2의 AA'의 단면도.
- [50] 도4는 도2의 주요부의 분해 사시도.
- [51] 도5는 도1의 원(origin) 마이크로 챔버 몸체 제조 단계에서 제조되는 원(origin) 마이크로 챔버 몸체의 사시도.
- [52] 도6은 도5의 원(origin) 마이크로 챔버 몸체의 단면도.
- [53] 도7은 도1의 코팅 단계 및 커풀링 단계를 설명하기 위한 단면도.
- [54] 도8은 도1의 몸체 밀폐부 부착 단계를 설명하기 위한 단면도.
- [55] 도9는 도1의 특이 성분 주입 단계를 설명하기 위한 단면도.
- [56] 도10은 도1의 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 안치 단계, 덮개부 배치 단계 및 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계를 설명하기 위한 분해 사시도.
- [57] 도11은 도10의 결합 사시도.
- [58] 도12는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트가 안치된 도11의 BB'의 단면도.
- [59] 도13은 도10의 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개의 확대도.
- [60] 도14는 도10의 임시 저장부 덮개의 확대도.

- [61] 도15는 도10의 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개와 임시 저장부 덮개가 상호 결합 형성된 덮개부의 사시도.
- [62] 도16은 도10의 마이크로 챔버 플레이트 수용부의 확대도.
- [63] 도17은 도3에 대응하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트의 단면도.
- [64] 도18은 실시예5의 흐름도.
- [65] 도19는 도18의 시료 용액 저장 공간 형성 단계 및 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계를 설명하기 위한 분해 사시도.
- [66] 도20은 도19의 결합 사시도.
- [67] 도21은 도20의 AA'의 단면도.
- [68] <도면의 주요부분에 대한 부호의 설명>
- [69] 100:시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트
- [70] 100A:시료 내장 마이크로 챔버 플레이트
- [71] 112:챔버 홀 120:몸체 밀폐부
- [72] 130:분리막 140:특이 성분
- [73] 200:마이크로 챔버 플레이트 수용부 300:덮개부
- [74] 310:마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개
- [75] 312:임시 저장부 312-1:절개선
- [76] 314:보조 덮개부 314-1:보조 덮개부 관통공
- [77] 320:임시 저장부 덮개
- [78] 1200:마이크로 챔버 플레이트 수용부
- [79] 1310:마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개 1312:임시 저장부
- [80] 1312-1:절개선
- [81] 1314:보조 덮개부 1314-1:보조 덮개부 관통공
- [82] 1400:체결 케이스 1424:케이스 관통공
- [83] 1500:케이스 덮개
- [84] S:시료 용액 저장 공간

발명의 실시를 위한 형태

- [85] 이하, 도면을 참조하며 본 발명의 일실시예에 대하여 상세히 설명한다.
- [86] 실시예1
- [87] 실시예1은 본 발명에 따른 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법에 관한 것이다.
- [88] 도1을 참조하면 실시예1은 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S10), 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 안치 단계(S20), 덮개부 배치 단계(S30), 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S40) 및 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S50)를 포함한다.
- [89]
- [90] 1. 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S10)

- [91] 도2 내지 도4를 참조하면 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S10)에서는 프라이머나 프로브가 포함된 핵산 분석을 위한 특이 성분(140)이 내장되는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)가 제조된다. 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)는 마이크로 챔버 몸체(110), 몸체 밀폐부(120) 및 분리막(130)을 포함한다.
- [92] 따라서, 도1 내지 도4를 참조하면 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S10)는 마이크로 챔버 몸체(110)를 제조하는 마이크로 챔버 몸체 제조 단계(S11), 마이크로 챔버 몸체(110)의 하측면에 몸체 밀폐부(120)를 형성하는 몸체 밀폐부 부착 단계(S12), 특이 성분(140)을 주입하는 특이 성분 주입 단계(S13) 및 마이크로 챔버 몸체(110)의 상측면에 분리막(130)을 형성하는 분리막 부착 단계(S14)를 포함한다.
- [93] 한편, 도1을 참조하면 마이크로 챔버 몸체 제조 단계(S11)는 원(origin) 마이크로 챔버 몸체 제조 단계(S11-1), 코팅 단계(S11-2) 및 커플링 단계(S11-3)를 포함한다.
- [94] 도5 및 도6을 참조하면 원(origin) 마이크로 챔버 몸체 제조 단계(S11-1)에서는 상하면을 관통하는 단위 개수의 원(origin) 챔버 홀(110-1H)이 형성된 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)가 제조된다. 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)는 중합효소연쇄반응(PCR)이나 기타의 분석 반응에서 가해지는 열에 대하여 내구성을 가진 재료로 제조되는 것이 바람직한데, 특히 0°C 내지 100°C 에서 변형이 일어나지 않는 재료로 제조되는 것이 바람직하다. 따라서, 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)는 알루미늄, 실리콘웨이퍼, 유리, 금속, 또는 플라스틱일 수 있다. 한편, 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)는 이음편(도면 부호 미부여)에 의하여 상호 연결되며 다수개 형성될 수 있다. 도면 부호 110-1S는 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)가 여러개 연결되어 형성된 원(origin) 마이크로 챔버 몸체 셋(set)을 나타낸다.
- [95] 도7을 참조하면 코팅 단계(S11-2) 및 커플링 단계(S11-3)를 수행함에 따라 마이크로 챔버 몸체(110)가 제조되는데, 마이크로 챔버 몸체(110)에는 단위 개수의 원(origin) 챔버 홀(110-1H)에 대응하는 단위 개수의 챔버 홀(112)이 형성된다. 챔버 홀(112)은 0.3 내지 3 mm 의 폭을 가지며, 0.5 내지 5 mm 의 깊이를 갖도록 형성될 수 있다. 실시예1의 경우 챔버 홀(112)은 하나의 마이크로 챔버 몸체(110)에 복수 개 형성되므로 동시에 많은 수의 핵산을 정량적으로 분석할 수 있고, 챔버 홀(112)의 깊이가 얇아 열전도 성능이 좋으며, 분석시간을 줄이고 분석의 정확도를 높일 수 있다.
- [96] 도7을 참조하면 코팅 단계(S11-2)에서는 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)를 고분자 용액에 디핑(dipping)하여 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1) 표면 및 단위 개수의 원(origin) 챔버 홀(110-1H, 도6 참조) 내면에 고분자 코팅층(110-2)을 형성하게 된다.
- [97] 본 출원의 발명자는 (주)베이스코리아의 폴리에스터계 수지인 제품명

ES-120s(복합 방향족 디카르복실산과 복합 지방족 디올과의 반응으로 얻어진 공중합 폴리에스터) 수지가 톨루엔(4, toluene)과 엠이케이(1, MEK)에 50%로 희석된 수지 용액을 톨루엔을 이용하여 5 ~ 20 vol%로 희석하여 점도를 조절한 후 1회에서 3회까지 디핑(dipping) 횟수를 바꾸어 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)를 코팅하였다. 본 출원의 발명자는 원(origin) 챔버 홀(110-1H)이 막히지 않고 균일한 고분자 코팅층(110-2)을 형성하는 점도로는 5 vol%에서 10 vol%가 가장 적합하였고, 디핑(dipping) 횟수는 2회가 가장 적합함을 확인하였다. 한편, 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)의 재질이 알루미늄인 경우에는 코팅 단계(S11-2) 수행 전 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)의 표면을 화이트 애노다이징(white anodizing)하는 화이트 애노다이징(white anodizing) 단계를 수행하는 것이 바람직하다.

- [98] 도7을 참조하면 커플링 단계(S11-3)에서는 고분자 코팅층(110-2) 표면을 커플링(coupling)하게 된다. 커플링(coupling)은 폴리에스터계 수지 내에 존재하는 작용기인 카르복실산을 제거하기 위한 것이다.
- [99] 본 출원의 발명자는 1-Ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]carbodiimide hydrochloride(EDC)와 4-Dimethylaminopyridine(DMAP)을 사용하여 에탄올 용매하에서 커플링(coupling)을 수행하였다. 먼저 0.25M 농도의 EDC와 DMAP를 각각 제조하고, 이를 각각 50ml와 9ml씩 혼합하여 상온에서 12시간 이상 반응시켰다. 후에 에탄올과 증류수로 3회씩 세척 후 건조하여 커플링(coupling)을 완료하였다.
- [100] 본 발명에서 사용된 폴리에스터계 수지는 알루미늄 표면에 접착성이 매우 우수하여 안정된 고분자 코팅층(110-2)을 형성하고, 무색 투명하여 사용에 매우 적합한 것으로 평가되었다.
- [101] 도8을 참조하면 몸체 밀폐부 부착 단계(S12)에서는 커플링 단계(S11-3) 수행 후 단위 개수의 챔버 홀(112)의 하측 개방구를 각각 몸체 밀폐부(120)에 의하여 밀폐시키게 된다. 몸체 밀폐부(120)는 몸체 밀폐부 부착 단계(S12)에서 고분자 코팅층(110-2)에 접촉되어 고온 상태에서 가압됨으로써 고분자 코팅층(110-2)에 부착된다. 몸체 밀폐부(120)는 분리막(130, 도17 참조)을 통한 광학측정 시 조사광과 시료로부터의 여기광 측정이 용이하도록, 분리막(130, 도17 참조) 방향으로 빛을 반사하는 재질로 형성될 수 있다. 따라서, 단위 개수의 챔버 홀(112)의 하측 개방구가 투명 재질의 필름으로 밀폐되는 경우에는 몸체 밀폐부(120)는 상기 투명 재질의 필름 외에 상기 투명 재질의 필름 외측에 부착되는 반사 재질의 필름을 추가로 포함할 수 있다. 한편, 몸체 밀폐부(120)가 투명한 재질의 필름이거나 빛을 반사하는 재질이 아닌 재질의 필름인 경우에는 챔버 홀(112)의 하측 개방구 방향에 위치할 면에 반사층을 더 형성할 수 있다. 한편, 몸체 밀폐부(120)는 핵산을 포함하는 시료 용액의 유출을 차단할 수 있는 재질의 것을 사용한다.
- [102] 본 출원의 발명자는 몸체 밀폐부(120)로 투명하거나 불투명한 흰색의 고분자

필름 형태의 제품을 사용하였는데, (주)케이엠산업의 폴리에틸렌테레프탈레이트 (PET) 재질의 두께 40 μ m의 투명한 필름과 불투명한 흰색 필름(제품명 : ST-DF 50W)을 모두 사용하였다. 이를 통해, 본 출원의 발명자는 더욱 정확한 광학 측정값을 얻을 수 있음을 확인하였다.

[103] 도9를 참조하면 특이 성분 주입 단계(S13)에서는 하측 개방구가 몸체 밀폐부(120)에 의하여 밀폐된 단위 개수의 챔버 홀(112) 각각에 프라이머나 프로브가 포함된 핵산 분석을 위한 특이 성분(140)을 주입하게 된다. 특이 성분(140)은 핵산분석을 위한 형광분석시약 및 필요에 따라 핵산증폭효소, DNA구성 화합물(dNTP), 버퍼 또는 안정화제(반응용액, 프라이머, 효소 등과 분자적으로 잘 혼합되어 이들을 안정화시키고 용기내의 흡착을 줄여주는 역할을 하는 물질로서, 폴리올, 탄수화물, 소알부민, PEG 등을 예로 들 수 있다.)를 더 포함할 수 있다. 특이 성분(140)은 그 조성에 따라 건조, 반건조, 또는 액상의 상태로 이용된다.

[104] 도3을 참조하면 분리막 부착 단계(S14)에서는 마이크로 챔버 몸체(110)의 상측면에 분리막(130)을 부착하게 된다. 즉, 분리막 부착 단계(S14)에서는 분리막(130)이 단위 개수의 챔버 홀(112)의 상측단에 부착되어 특이 성분(140)이 주입된 단위 개수의 챔버 홀(112)의 상측 개방구를 덮게 된다. 분리막(130)은 특이성분(140)은 통과시키지 않고, 핵산을 포함하는 시료 용액은 통과시킬 수 있도록 형성된다. 따라서, 특이 성분(140)은 챔버 홀(112) 내부로부터 분리막(130)을 통하여 외부로 유출되지 않고, 핵산을 포함하는 시료 용액은 챔버 홀(112) 외부로부터 분리막(130)을 통하여 챔버 홀(112)로 유입될 수 있다. 따라서, 분리막(130)은 특이성분(140)은 통과시키지 않고, 핵산을 포함하는 시료 용액은 통과시킬 수 있는 다공성 재질로 형성될 수 있다. 분리막(130)이 다공성 재질인 경우 고분자성 오일로 도포되어 밀봉됨으로써 분리막(130)의 광학 투명도가 증가되어 챔버 홀(112) 내부의 시료에 대한 광학 측정이 용이해질 수 있다. 상기 고분자성 오일은 미네랄 오일(mineral oil), 실리콘 오일(silicone oil), 하이드로 카본 오일 또는 파라핀 왁스 등일 수 있다. 다공성 재질의 분리막(130)은 마이크로포아(Micropore) 형태이거나, 메시(mesh) 형태이거나, 부직포 형태일 수 있으며, 다공성 재질의 포아 크기는 0.1 내지 100 μ m 이내인 것이 바람직하다. 다공성 재질의 분리막(130)은 고분자 재질 멤브레인(membrane)일 수 있다. 한편, 분리막(130)은 고분자 코팅층(110-2)에 접촉되어 고온 상태에서 가압됨으로써 고분자 코팅층(110-2)에 부착된다.

[105] 본 출원의 발명자는 분리막(130)으로서 무수히 많은 일정 직경의 기공을 갖는 다공성 재질을 사용하였다. 보다 구체적으로는 pore size 12 μ m의 폴리카보네이트(PC)재질의 Whatman사 제품을 선택하였다. 이는 pore size가 커 시료의 주입이 용이하며, 고분자성 오일인 미네랄 오일(mineral oil)에 의해 완전 투명해져 광학 측정이 가능하기 때문이다.

[106]

- [107] 한편, 다른 일실시예의 경우 분리막(130)은 천공 가능한 필름일 수 있다. 상기 필름 형태의 분리막은 테플론, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 폴리에스테르, 또는 폴리염화비닐로 이루어질 수 있으며, 챔버 홀(112) 하나 당 1 내지 10 개의 중공된 부분을 가질 수 있고, 내장된 특이성분(140)의 이탈을 방지하고, 핵산을 포함하는 시료 용액의 주입은 용이하도록 상기 천공된 부분의 폭은 10 μm 내지 1 mm 이내로 형성하는데, 100 내지 500 μm 일 수 있다. 한편, 상기 필름 형태의 분리막은 광학 투명도가 좋아 광학측정이 가능한 것일 수 있다.
- [108]
- [109] 2. 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 안치 단계(S20)
- [110] 도10 내지 도12를 참조하면 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 안치 단계(S20)에서는 상측 개방구가 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)가 안치된다. 도면 부호 200S는 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)가 상호 연결되어 다수개 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 셋(set)을 나타낸다.
- [111]
- [112] 3. 덮개부 배치 단계(S30)
- [113] 도1을 참조하면 덮개부 배치 단계(S30)는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개 제조 단계(S31), 임시 저장부 덮개 제조 단계(S32), 임시 저장부 덮개 부착 단계(S33) 및 시료 용액 임시 저장 단계(S34)를 포함한다.
- [114] 도13을 참조하면 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개 제조 단계(S31)에서는 임시 저장부(312)와 보조 덮개부(314)가 일체로 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)가 제조된다. 도면 부호 310S는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)가 상호 연결되어 다수개 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개 셋(set)을 나타낸다.
- [115] 도13을 참조하면 임시 저장부(312)는 핵산을 포함하는 시료 용액이 임시 저장되는 용기로서, 그 하측면에 용기 연통부가 형성된다. 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지는 절개선(312-1)일 수 있다. 따라서, 임시 저장부(312)의 하측면에 외력이 작용하지 않는 경우 임시 저장부(312)에 임시 저장된 핵산을 포함하는 시료 용액은 절개선(312-1)을 통하여 임시 저장부(312) 외부로 유출되지 않게 된다. 임시 저장부(312)는 실리콘 재질로 형성될 수 있다. 한편, 절개선(312-1)의 형상은 "+" 형상이거나, "<" 형상이거나, "=" 형상이거나, "x" 형상일 수 있다.
- [116] 도13을 참조하면 보조 덮개부(314)는 임시 저장부(312)의 들레면 상측단에 연접하여 수평방향으로 형성되는 판 형상이다. 보조 덮개부(314)에는 상하면을 관통하는 보조 덮개부 관통공(314-1)이 형성된다.
- [117] 도14를 참조하면 임시 저장부 덮개 제조 단계(S32)에서는 상하면을 관통하는 임시 저장부 덮개 관통공(324)이 형성된 임시 저장부 덮개(320)가 제조된다. 임시 저장부 덮개(320)는 얇은 필름 형상일 수 있다. 도면 부호 320S는 임시 저장부 덮개(320)가 상호 연결되어 다수개 형성된 임시 저장부 덮개 셋(set)을 나타낸다.

- [118] 도15를 참조하면 임시 저장부 덮개(320)는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)의 상단에 부착된 경우 보조 덮개부 관통공(314-1)을 외부에 노출시키며 임시 저장부(312)의 상측단 일부를 밀폐하도록 형성된다. 이 경우 임시 저장부(312)의 상측단 나머지는 임시 저장부 덮개 관통공(324)을 통하여 외부에 노출된다.
- [119] 도15를 참조하면 임시 저장부 덮개 부착 단계(S33)에서는 임시 저장부 덮개(320)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310) 상측단에 부착된다. 임시 저장부 덮개(320)의 부착을 위하여 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)에 접착제가 미리 부착될 수 있는데, 접착제는 고분자성 접착제 또는 양면 테이프 등일 수 있다. 따라서, 임시 저장부(312)의 상측단 일부는 밀폐되고, 보조 덮개부 관통공(314-1) 및 임시 저장부(312)의 상측단 나머지는 임시 저장부 덮개 관통공(324)을 통하여 외부에 노출된다. 임시 저장부 덮개 부착 단계(S33)가 수행됨으로써 덮개부(300)가 형성된다.
- [120] 도11, 도15 및 도16을 참조하면 임시 저장부 덮개 부착 단계(S33)가 수행되면 덮개부(300)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상측 개방구를 덮으면서 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상단에 안착된다.
- [121] 도12를 참조하면 덮개부(300)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상단에 안착되면 임시 저장부(312)의 하측면은 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 인입되고, 임시 저장부(312)의 상단 및 상기 보조 덮개부(314)는 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상단에 배치된다.
- [122] 도12를 참조하면 덮개부(300)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상단에 안착되면 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 내측은 보조 덮개부 관통공(314-1) 및 임시 저장부 덮개 관통공(324)을 통하여 외부와 연통되고, 임시 저장부(312)는 임시 저장부 덮개 관통공(324)을 통하여 외부와 연통된다.
- [123] 도12를 참조하면 시료 용액 임시 저장 단계(S34)에서는 임시 저장부 덮개 관통공(324)을 통하여 임시 저장부(312)에 핵산을 포함하는 시료 용액이 임시 저장된다.
- [124]
- [125] 4. 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S40)
- [126] 도1을 참조하면 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S40)는 진공 및 원심력 인가 단계(S41)와, 진공 해제 및 원심력 인가 단계(S42)를 포함한다.
- [127] 진공 및 원심력 인가 단계(S41)에서는 먼저, 덮개부(300)가 배치된 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)를 진공인가가 가능한 원심분리기 내부에 안치시킨다. 이 경우 도11을 참조하면 임시 저장부 덮개 관통공(324)이 상부를 향하고, 임시 저장부 덮개(320)가 상기 원심분리기의 회전 중심 방향을 향하고, 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 하측면이 상기 원심분리기의 회전 중심의 반대 방향을 향하도록 한다. 이어서, 상기 원심분리기에 진공을 인가하고, 상기 원심분리기를 작동하여 덮개부(300)가 배치된 마이크로 챔버

플레이트 수용부(200)에 제1 원심력이 작용하도록 한다. 진공 인가 상태에서 원심력을 가하지 않게 되면 핵산을 포함하는 시료 용액의 끓는점(b.p)이 낮아져 범핑(bumping) 현상이 발생함으로써 오염을 유발시키게 된다. 따라서, 상기 제1 원심력은 상기 원심분리기 내에 진공이 인가된 상태에서 상기 시료 용액의 범핑(bumping)이 억제되는 원심력이다. 또한 상기 제1 원심력은 절개선(312-1)이 벌어지지 않는 크기의 원심력이다. 이는 절개선(312-1)이 벌어져 상기 시료 용액이 분리막(130)과 접촉하는 방지하기 위한 것이다.

[128] 진공 해제 및 원심력 인가 단계(S42)에서는 절개선(312-1)이 벌어지도록 상기 원심분리기에 의해 발생하는 원심력이 상기 제1 원심력보다 큰 제2 원심력이 되도록 한다. 이어서, 상기 원심분리기 내의 진공을 해제하여 상기 시료 용액을 절개선(312-1) 및 분리막(130)을 통하여 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)에 주입시킨다. 도17을 참조하면 이에 따라 챔버 홀(112)에 상기 시료 용액이 주입되어 특이 성분(140, 도3 참조)과 혼합된 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)가 제조된다. 도면 부호 150은 특이 성분(140, 도3 참조)과 상기 시료 용액의 혼합 용액을 나타낸다.

[129]

[130] 본 출원의 발명자는 진공 및 원심력 인가 단계(S41)에서 상기 제1 원심력을 42g 이하로 하면서 시료 용액의 범핑(bumping)이 억제되도록 하였다.

[131] 진공 해제 및 원심력 인가 단계(S42)에서는 원심력을 서서히 증가시켜 상기 제2 원심력을 242g 이상으로 유지하며 진공을 해제하여 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)에 상기 시료 용액을 1분간 주입하였다. 이와 같은 방법을 통하여 챔버 홀(112) 내부로 시료 용액을 완벽하게 주입하였다.

[132] 진공 해제 후 시료 용액을 주입하는 방법이 효과적인 이유는 진공 인가 시에 시료 용액과 분리막(130)이 접촉하게 되면 분리막(130)의 특성상 완벽한 주입이 불가능한 문제가 있기 때문이다.

[133]

[134] 5. 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S50)

[135] 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S50)에서는 먼저, 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A, 도17 참조)를 상기 원심분리기로부터 꺼내게 된다. 이어서, 중합효소연쇄반응(PCR)을 포함한 분석 반응 시 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A, 도17 참조)에 내장된 상기 시료 용액이 외부로 유출되지 않도록, 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A, 도17 참조)의 분리막(130) 표면을 밀봉하게 된다. 또한, 분리막(130) 표면의 밀봉은 분리막(130)의 광학 투명도를 증가시킴으로써 분리막(130)을 통하여 챔버 홀(112) 내부의 시료에 대한 광학 측정이 용이하게 될 수 있도록 수행된다. 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S50)가 수행됨에 따라 중합효소연쇄반응(PCR)을 포함한 분석 반응에 사용할 수 있는 분석용 마이크로 챔버 플레이트가 제조된다.

- [136] 실시예1에 의한 분석용 마이크로 챔버 플레이트는 프라이머 또는 프로브가 포함된 특이성분(140)이 내장됨으로써 실시간 중합효소연쇄반응(PCR)에 이용될 수 있으며, 이 외에도 정온 효소반응, 또는 LCR(Ligase Chain Reaction)과 같은 반응에 이용될 수 있으며, 내부에 내장되는 특이 성분(140) 등을 변경함으로써 이 외에도 다양하게 이용될 수 있다.
- [137]
- [138] 실시예1의 경우 분리막(130)이 다공성 재질이므로 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)의 분리막(130) 표면을 고분자성 오일로 도포하여 밀봉한다. 고분자성 오일은 미네랄 오일(mineral oil), 실리콘 오일(silicone oil), 하이드로 카본 오일 또는 파라핀 왁스 등일 수 있다. 분리막(130)이 폴리프로필렌 멤브레인(Poly polypropylene membrane)인 경우, 미네랄 오일(mineral oil)로 도포되어 밀봉될 수 있다.
- [139] 폴리프로필렌 멤브레인(Poly polypropylene membrane)으로 형성된 분리막(130)이 미네랄 오일(mineral oil)로 도포되어 밀봉되면, 친수-소수 효과(Hydrophobicity)에 의해 소수성인 폴리프로필렌 멤브레인(Poly polypropylene membrane)에 침투되어 있던 물을 포함한 시료들을 소수성을 띠는 미네랄 오일이 밀어내고 그 자리에 침투하게 된다. 한편, 미네랄 오일은 상대적으로 폴리프로필렌 멤브레인과의 밀도가 유사하므로 분리막(130)의 광학 투명도가 증가되어 챔버 홀(112) 내부의 시료에 대한 광학 측정이 용이하게 되고, 폴리프로필렌 멤브레인(Poly polypropylene membrane)의 기공들이 미네랄 오일에 의해 밀봉되므로 챔버 홀(112) 내부의 시료의 유출과 증발이 방지된다.
- [140] 한편, 다른 일실시예에 있어서, 분리막(130)으로서 천공 가능한 필름을 이용한 경우 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A, 도17 참조)의 분리막(130) 표면의 밀봉은 접착성 필름(테이프)을 이용하여 수행될 수 있다.
- [141] 한편, 다른 일실시예의 경우 임시 저장부 덮개(320)는 기체는 통과시키고, 상기 시료 용액은 통과시키지 않는 멤브레인 필터일 수 있다. 임시 저장부 덮개(320)인 멤브레인 필터의 부착을 위하여 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)에 접착제가 미리 부착될 수 있는데, 접착제는 고분자성 접착제 또는 양면 테이프 등일 수 있다. 임시 저장부 덮개(320)는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)의 상단에 부착된 경우 보조 덮개부 관통공(314-1)의 상단 및 임시 저장부(312)의 상측단을 덮도록 형성된다. 이 경우 시료 용액 임시 저장 단계(S34)는 임시 저장부 덮개 부착 단계(S33) 수행 전에 수행된다.
- [142] 한편, 다른 일실시예의 경우 임시 저장부 덮개 제조 단계(S32) 및 임시 저장부 덮개 부착 단계(S33)를 포함하지 않을 수 있다. 이 경우 덮개부(300)는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)일 수 있다. 따라서, 원심력 인가 단계(S41)가 수행되기 전에는 임시 저장부(312)의 개방된 상측을 통하여 상기 시료 용액이 유출되지 않도록, 임시 저장부(312)의 바닥면이 하방향(중력 작용방향)을 향하도록 한다. 원심력 인가 단계(S41)가 수행됨에 따라 임시 저장부(312)의

개방된 상측면이 상기 원심분리기의 회전 중심 방향을 향하고, 임시 저장부(312)의 하측면, 즉 절개선(312-1)이 형성된 면이 상기 원심분리기의 회전 중심의 반대 방향을 향하도록 한다.

[143] 한편, 다른 일실시예의 경우 임시 저장부 덮개(320)는 보조 덮개부 관통공(314-1) 및 임시 저장부(312)를 각각 덮도록 형성될 수 있다. 이 경우 임시 저장부 덮개(320)는 기체는 통과시키고, 상기 시료 용액은 통과시키지 않는 멤브레인 필터로 형성된다. 이 경우 임시 저장부 덮개(320)에는 임시 저장부 덮개 관통공(324)이 형성되지 않는다.

[144]

[145] 실시예2

[146] 실시예2는 본 발명에 따른 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트의 제조 방법에 관한 것이다.

[147] 실시예2는 실시예1에서 설명한 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S10), 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 안치 단계(S20), 덮개부 배치 단계(S30) 및 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S40)를 포함한다.

[148] 이들에 대한 설명은 실시예1에서 설명한 바에 준한다.

[149]

[150] 실시예3

[151] 실시예3은 본 발명에 따른 분석용 마이크로 챔버 플레이트에 관한 것이다. 분석용 마이크로 챔버 플레이트(도면 미도시)는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A, 도17 참조)와 분리막(130) 부분을 제외하고는 동일하므로 도17을 참조하며 설명한다.

[152] 도17 및 도6을 참조하면 실시예3은 단위 개수의 원(origin) 챔버 홀(110-1H)이 상하로 관통 형성되는 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)를 가진다.

[153] 도17 및 도7을 참조하면 원(origin) 마이크로 챔버 몸체(110-1)의 표면 및 단위 개수의 원(origin) 챔버 홀(110-1H, 도6 참조) 내면에는 고분자 코팅층(110-2)이 형성된다. 고분자 코팅층(110-2)에 의하여 단위 개수의 원(origin) 챔버 홀(110-1H, 도6 참조)에 대응하는 단위 개수의 챔버 홀(112)이 생성된다.

[154] 도17 및 도8을 참조하면 마이크로 챔버 몸체(110)의 하측면에는 단위 개수의 챔버 홀(112)의 하측 개방구를 밀폐하도록 몸체 밀폐부(120)가 형성된다. 몸체 밀폐부(120)는 핵산을 포함하는 시료 용액의 유출을 차단하기 위한 것이다. 한편, 몸체 밀폐부(120)는 빛을 반사하는 재질로 형성되는데, 폴리에틸렌테레프탈레이트(Polyethylene terephthalate; PET)로 형성될 수 있다.

[155] 도17을 참조하면 마이크로 챔버 몸체(110)의 상측면에는 단위 개수의 챔버 홀(112)의 상측 개방구를 덮는 밀봉된 분리막(도면 미도시)이 형성된다. 상기 밀봉된 분리막(도면 미도시)은 다공성 재질의 분리막(130)이 고분자성 오일로 도포되어 밀봉됨으로써 형성된다. 상기 고분자성 오일은 미네랄 오일(mineral oil), 실리콘 오일(silicone oil), 하이드로 카본 오일 또는 파라핀 왁스 등일 수

있다. 한편, 다공성 재질의 분리막(130)은 미네랄 오일(mineral oil)에 도포됨으로써 광학 투명도가 증가되며 밀봉될 수 있는 폴리프로필렌 멤브레인(Poly polypropylene membrane)일 수 있다.

- [156] 도17을 단위 개수의 챔버 홀(112) 각각에는 프라이머나 프로브가 포함된 핵산 분석을 위한 특이 성분(140)과 핵산을 포함하는 시료 용액이 내장된다. 도면 부호 150은 이들의 혼합액을 지시한다.
- [157] 기타, 설명하지 않은 사항은 실시예1에서 설명한 바에 준한다.
- [158]
- [159] 실시예4
- [160] 실시예4는 본 발명에 따른 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋(set)에 관한 것이다.
- [161] 도10 및 도12를 참조하면 실시예4는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)가 안치 가능한 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)를 가진다. 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상단에는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)를 안치하기 위한 상측 개방구가 형성된다.
- [162] 도10 및 도12를 참조하면 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상부에는 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상측 개방구를 덮는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)가 안치된다.
- [163] 도12 및 도15를 참조하면 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)는 상기 시료 용액이 임시 저장 가능한 임시 저장부(312)와, 임시 저장부(312)의 둘레면에 연결하여 형성되는 관상의 보조 덮개부(314)를 포함한다.
- [164] 도13을 참조하면 임시 저장부(312)의 하측면에는 용기 연통부가 형성된다. 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지는 절개선(312-1)일 수 있다. 한편, 보조 덮개부(314)에는 상하면을 관통하는 보조 덮개부 관통공(314-1)이 형성된다.
- [165] 도11 및 도12를 참조하면 임시 저장부(312)의 하측면은 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 인입되고, 임시 저장부(312)의 상단 및 보조 덮개부(314)는 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상단에 배치된다.
- [166] 도12 및 도15를 참조하면 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)의 상측단에는 임시 저장부 덮개(320)가 부착된다. 임시 저장부 덮개(320)는 임시 저장부(312)의 상측단 일부는 밀폐하고, 임시 저장부 덮개 관통공(324)을 통하여 보조 덮개부 관통공(314-1) 및 임시 저장부(312)의 상측단 나머지를 외부에 노출시키도록 부착된다.
- [167] 기타, 설명하지 않은 사항은 실시예1에서 설명한 바에 준한다.
- [168]
- [169] 실시예5
- [170] 실시예5는 본 발명에 따른 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법에 관한 것이다.
- [171] 도18을 참조하면 실시예5는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조

단계(S100), 시료 용액 저장 공간 형성 단계(S200), 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S300) 및 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S400)를 포함한다.

- [172] 이들 중 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S100) 및 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S400)는 실시예1에서 설명한 바에 준한다.
- [173]
- [174] 1. 시료 용액 저장 공간 형성 단계(S200)
- [175] 도18을 참조하면 시료 용액 저장 공간 형성 단계(S200)는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 제조 단계(S210), 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개 제조 단계(S220), 체결 케이스 제조 단계(S230), 케이스 체결 단계(S240) 및 케이스 덮개 부착 단계(S250)를 포함한다.
- [176] 도19 및 도21을 참조하면 마이크로 챔버 플레이트 수용부 제조 단계(S210)에서는 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)가 형성된다. 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)는 평평한 판상으로 형성될 수 있다. 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)를 안치시키기 위한 것이다. 도면부호 1200S는 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)가 다수개 일체로 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 셋(set)을 나타낸다. 한편, 마이크로 챔버 플레이트 수용부 셋(1200S)의 측면에는 수용부 체결돌기(1200S-1)가 돌출 형성된다.
- [177] 도19 및 도21을 참조하면 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개 제조 단계(S220)에서는 임시 저장부(1312)와 보조 덮개부(1314)가 일체로 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)가 제조된다. 도19의 도면 부호 1310S는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)가 상호 연결되어 다수개 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개 셋(set)을 나타낸다.
- [178] 도19 및 도21을 참조하면 임시 저장부(1312)는 핵산을 포함하는 시료 용액이 임시 저장되는 용기로서, 그 하측면에 용기 연통부가 형성된다. 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지는 절개선(1312-1)일 수 있다. 절개선(1312-1)에 대한 설명은 실시예1에서 설명한 바에 준한다.
- [179] 도19 및 도21을 참조하면 보조 덮개부(1314)는 임시 저장부(1312)의 둘레면에 연접하여 수평방향으로 형성되는데, 돌기 형상이거나 실시예1에서와 같이 판형상일 수 있다. 보조 덮개부(1314)에는 상하면을 관통하는 보조 덮개부 관통공(1314-1)이 형성된다.
- [180] 도19 및 도21을 참조하면 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)의 하측가장자리에는 링 형상의 덮개 지지부(1316)가 돌출 형성된다. 덮개 지지부(1316)는 보조 덮개부 관통공(1314-1)의 하측단이 덮개 지지부(1316)의 내측에 위치하도록 형성된다.
- [181] 도19 및 도21을 참조하면 체결 케이스 제조 단계(S230)에서는 케이스 관통공(1424)이 형성된 체결 케이스(1400)가 형성된다. 케이스 관통공(1424)은

체결 케이스(1400)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310) 상단에 안착된 경우 보조 덮개부 관통공(1314-1) 및 임시 저장부(1312)와 각각 연통되도록 형성된다. 도19의 1400S는 체결 케이스(1400)가 상호 연결되어 다수개 형성된 체결 케이스 셋(set)을 나타낸다. 한편, 체결 케이스 셋(1400S)의 측면에는 수용부 체결돌기(1200S-1)가 끼워지는 케이스 체결홈(1400S-1)이 형성된다.

[182] 도19 및 도21을 참조하면 케이스 체결 단계(S240)에서는 체결 케이스(1400)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310) 상단을 압착하며 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)에 체결된다. 체결 케이스(1400)와 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)와의 체결은 수용부 체결돌기(1200S-1)가 케이스 체결홈(1400S-1)에 끼워짐으로써 이루어진다. 체결 케이스(1400)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)에 체결됨으로써 덮개 지지부(1316)의 하측단이 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면에 밀착되고, 이에 따라 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)와 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면 사이에 시료 용액 저장 공간(S)이 형성된다. 케이스 체결 단계(S240)가 수행됨에 따라 보조 덮개부 관통공(1314-1)의 하측단은 시료 용액 저장 공간(S)에 연통되고, 케이스 관통공(1424)은 보조 덮개부 관통공(1314-1) 및 임시 저장부(1312)와 각각 연통된다.

[183] 도19 및 도21을 참조하면 케이스 덮개 부착 단계(S250)에서는 케이스 덮개(1500)가 체결 케이스(1400)에 부착된다. 케이스 덮개(1500)의 부착을 위하여 체결 케이스(1400)에는 접착제가 미리 부착될 수 있는데, 접착제는 고분자성 접착제 또는 양면 테이프 등일 수 있다. 케이스 덮개(1500)에는 상하면을 관통하는 케이스 덮개 관통공(1524)이 형성된다. 케이스 덮개 부착 단계(S250)는 케이스 덮개 관통공(1524)이 보조 덮개부 관통공(1314-1)은 외부에 노출시키고 임시 저장부(1312)의 일부는 밀폐하도록 수행된다. 도19의 1500S는 케이스 덮개(1500)가 상호 연결되어 다수개 형성된 케이스 덮개 셋(set)을 나타낸다.

[184] 한편, 케이스 덮개 부착 단계(S250) 수행 후에는 케이스 덮개 관통공(1524)을 통하여 임시 저장부(1312)에 핵산을 포함하는 시료 용액이 임시 저장된다.

[185]

[186] 2. 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S300)

[187] 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S300)는 실시예1에서와 마찬가지로 진공 및 원심력 인가 단계와, 진공 해제 및 원심력 인가 단계를 포함한다.

[188] 진공 및 원심력 인가 단계에서는 먼저, 상호 밀착된 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 및 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)를 진공인가가 가능한 원심분리기 내부에 안치시킨다. 이 경우 도21을 참조하면 케이스 덮개 관통공(1524)이 상부를 향하고, 케이스 덮개(1500)가 상기 원심분리기의 회전 중심 방향을 향하고, 임시 저장부(312)의 바닥면이 상기 원심분리기의 회전

중심의 반대 방향을 향하도록 한다. 기타의 사항은 실시예1에서 설명한 바에 준한다.

[189]

[190] 한편, 다른 일실시예의 경우 체결 케이스(1400)에는 케이스 관통공(1424)을 뚫는 케이스 뚫개(1500)가 부착된다. 케이스 뚫개(1500)는 기체는 통과시키고, 상기 시료 용액은 통과시키지 않는 멤브레인 필터로 형성된다. 이 경우 케이스 뚫개(1500)에는 케이스 관통공(1424)이 형성되지 않는다. 또한 케이스 뚫개(1500)인 멤브레인 필터의 부착을 위하여 체결 케이스(1400)에는 접착제가 미리 부착될 수 있는데, 접착제는 고분자성 접착제 또는 양면 테이프 등일 수 있다.

[191] 한편, 다른 일실시예의 경우 체결 케이스(1400)에는 케이스 뚫개(1500)가 부착되지 않을 수 있다.

[192] 기타의 사항은 실시예1에서 설명한 바에 준한다.

[193]

[194] 실시예6

[195] 실시예6은 본 발명에 따른 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트의 제조 방법에 관한 것이다.

[196] 실시예6은 실시예5에서 설명한 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S100), 시료 용액 저장 공간 형성 단계(S200) 및 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S300)를 포함한다.

[197] 이들에 대한 설명은 실시예5에서 설명한 바에 준한다.

[198]

[199] 실시예7

[200] 실시예7은 본 발명에 따른 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋(set)에 관한 것이다.

[201] 도19 및 도21을 참조하면 실시예7은 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)를 포함한다. 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)는 평평한 판상으로 형성될 수 있다. 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)를 안치시키기 위한 것이다. 도면부호 1200S는 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)가 다수개 일체로 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 셋(set)을 나타낸다. 한편, 마이크로 챔버 플레이트 수용부 셋(1200S)의 측면에는 수용부 체결돌기(1200S-1)가 돌출 형성된다.

[202] 도19 및 도21을 참조하면 실시예7은 임시 저장부(1312)와 보조 뚫개부(1314)가 일체로 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 뚫개(1310)를 포함한다. 도19의 도면 부호 1310S는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 뚫개(1310)가 상호 연결되어 다수개 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부 뚫개 셋(set)을 나타낸다.

[203] 도19 및 도21을 참조하면 임시 저장부(1312)는 핵산을 포함하는 시료 용액이 임시 저장되는 용기로서, 그 하측면에 용기 연통부가 형성된다. 용기 연통부는

외력에 의하여 벌어지는 절개선(1312-1)일 수 있다. 절개선(1312-1)에 대한 설명은 실시예1에서 설명한 바에 준한다.

- [204] 도19 및 도21을 참조하면 보조 덮개부(314)는 임시 저장부(312)의 둘레면에 연접하여 수평방향으로 형성되는데, 돌기 형상이거나 실시예1에서와 같이 판형상일 수 있다. 보조 덮개부(314)에는 상하면을 관통하는 보조 덮개부 관통공(1314-1)이 형성된다.
- [205] 도19 및 도21을 참조하면 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)의 하측가장자리에는 링 형상의 덮개 지지부(1316)가 돌출 형성된다. 덮개 지지부(1316)는 보조 덮개부 관통공(1314-1)의 하측단이 덮개 지지부(1316)의 내측에 위치하도록 형성된다.
- [206] 도19 및 도21을 참조하면 실시예7은 체결 케이스(1400)를 포함한다. 체결 케이스(1400)에는 상하면을 관통하는 케이스 관통공(1424)이 형성된다. 케이스 관통공(1424)은 체결 케이스(1400)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310) 상단에 안착된 경우 보조 덮개부 관통공(1314-1) 및 임시 저장부(1312)와 각각 연통되도록 형성된다. 도19의 1400S는 체결 케이스(1400)가 상호 연결되어 다수개 형성된 체결 케이스 셋(set)을 나타낸다. 한편, 체결 케이스 셋(1400S)의 측면에는 수용부 체결돌기(1200S-1)가 끼워지는 케이스 체결홈(1400S-1)이 형성된다.
- [207] 도19 및 도21을 참조하면 체결 케이스(1400)는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310) 상단을 압착하며 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)에 체결된다. 체결 케이스(1400)와 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)와의 체결은 수용부 체결돌기(1200S-1)가 케이스 체결홈(1400S-1)에 끼워짐으로써 이루어진다. 체결 케이스(1400)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)에 체결됨으로써 덮개 지지부(1316)의 하측단이 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면에 밀착되고, 이에 따라 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)와 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면 사이에 시료 용액 저장 공간(S)이 형성된다. 체결 케이스(1400)가 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)와 체결됨에 따라 보조 덮개부 관통공(1314-1)의 하측단은 시료 용액 저장 공간(S)에 연통되고, 케이스 관통공(1424)은 보조 덮개부 관통공(1314-1) 및 임시 저장부(1312)와 각각 연통된다.
- [208] 도19 및 도21을 참조하면 체결 케이스(1400)에는 케이스 덮개(1500)가 부착된다. 케이스 덮개(1500)에는 상하면을 관통하는 케이스 덮개 관통공(1524)이 형성된다. 케이스 덮개 관통공(1524)은 케이스 덮개(1500)가 체결 케이스(1400)에 부착된 경우 보조 덮개부 관통공(1314-1)은 외부에 노출시키고 임시 저장부(1312)의 일부는 밀폐하도록 형성된다. 도19의 1500S는 케이스 덮개(1500)가 상호 연결되어 다수개 형성된 케이스 덮개 셋(set)을 나타낸다.
- [209] 기타 설명하지 않은 사항은 실시예5에서 설명한 바에 준한다.

청구범위

- [청구항 1] 상측 개방구가 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)를 안치시키는 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트 안치 단계(S20);
 임시 저장부(312)와 상기 임시 저장부(312)에 연접하여 형성되어 보조 덮개부 관통공(314-1)이 형성된 보조 덮개부(314)를 포함하는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)가 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상측 개방구를 덮도록 배치하는 덮개부 배치 단계(S30);
 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310)가 배치된 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)를 진공인가가 가능한 원심분리기에 넣고 원심력을 가하여 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 연통되도록 상기 임시 저장부(312)에 형성된 용기 연통부를 통하여 상기 임시 저장부(312)에 임시 저장된 시료 용액을 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)에 주입시켜 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)를 제조하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S40);
 를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S40)는,
 상기 원심분리기에 진공을 인가하고, 상기 원심분리기 내의 진공 인가 상태에서 제1 원심력을 발생시키는 진공 및 원심력 인가 단계(S41);
 상기 원심분리기에 의하여 상기 제1 원심력보다 큰 제2 원심력을 발생시킨 상태에서 상기 원심분리기 내의 진공을 해제하여 상기 시료 용액을 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)에 주입시키는 진공 해제 및 원심력 인가 단계(S42);
 를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.
- [청구항 3] 제2항에 있어서,
 상기 제1 원심력은 상기 원심분리기 내의 진공 인가 상태에서 상기 시료 용액의 범핑(bumping)을 억제시킬 수 있는 원심력인 것을 특징으로 하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.
- [청구항 4] 제3항에 있어서,
 상기 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지도록 상기 임시 저장부(1312)에 형성된 절개선(312-1)이고,

상기 제2 원심력은 상기 절개선(312-1)을 벌릴 수 있는 크기의 원심력인 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.

[청구항 5]

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 의하여 제조된 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트를 이용한 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법으로서,

상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)를 상기 원심분리기로부터 꺼낸 뒤, 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)의 분리막(130)을 밀봉한 분석용 마이크로 챔버 플레이트를 제조하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S50);

를 포함하는 것을 특징으로 하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.

[청구항 6]

임시 저장부(1312)와 상기 임시 저장부(1312)에 연접하여 형성되며 보조 덮개부 관통공(1314-1)이 형성된 보조 덮개부(1314)를 포함하는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)의 하측단을 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면에 밀착시켜, 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면과의 사이에 시료 용액 저장 공간을 형성하는 시료 용액 저장 공간 형성 단계(S200);

상기 시료 용액 저장 공간이 형성되도록 상호 밀착된 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 및 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310)를 진공인가가 가능한 원심분리기에 넣고 원심력을 가하여 상기 임시 저장부(1312)에 임시 저장된 시료 용액을 상기 시료 용액 저장 공간에 연통되도록 상기 임시 저장부(1312)에 형성된 용기 연통부를 통하여 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)에 주입시켜 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)를 제조하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S300);

를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.

[청구항 7]

제6항에 있어서,

상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S300)는, 상기 원심분리기에 진공을 인가하고, 상기 원심분리기 내의 진공 인가 상태에서 제1 원심력을 발생시키는 진공 및 원심력 인가 단계;

상기 원심분리기에 의하여 상기 제1 원심력보다 큰 제2 원심력을 발생시킨 상태에서 상기 원심분리기 내의 진공을 해제하여 상기

- 시료 용액을 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)에 주입시키는 진공 해제 및 원심력 인가 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 제1 원심력은 상기 원심분리기 내의 진공 인가 상태에서 상기 시료 용액의 범핑(bumping)을 억제시킬 수 있는 원심력인 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.
- [청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지도록 상기 임시 저장부(1312)에 형성된 절개선(1312-1)이고, 상기 제2 원심력은 상기 절개선(1312-1)을 벌릴 수 있는 크기의 원심력인 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.
- [청구항 10] 제6항 내지 제9항 중 어느 한 항에 의하여 제조된 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트를 이용한 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법으로서, 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)를 상기 원심분리기로부터 꺼낸 뒤, 상기 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트(100A)의 분리막(130)을 밀봉한 분석용 마이크로 챔버 플레이트를 제조하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 단계(S50); 를 포함하는 것을 특징으로 하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트 제조 방법.
- [청구항 11] 하측면에 몸체 밀폐부(120)가 형성되고, 상측면에 밀봉된 분리막이 형성되며, 핵산 분석을 위한 특이 성분(140) 및 핵산을 포함하는 시료 용액이 내장된 단위 개수의 챔버 홀(112)이 형성된 분석용 마이크로 챔버 플레이트에 있어서, 상기 몸체 밀폐부(120)는 빛을 반사하는 재질로 형성되고, 상기 밀봉된 분리막은 다공성 재질의 분리막(130)이 고분자성 오일로 도포되어 상기 다공성 재질의 분리막(130) 표면의 광학 투명도가 증가되며 밀봉된 것을 특징으로 하는 분석용 마이크로 챔버 플레이트.
- [청구항 12] 상측 개방구가 형성된 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200); 개폐 가능하며 개방시 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 연통되는 용기 연통부가 형성된 임시 저장부(312)와 상기 임시 저장부(312)에 연결하여 형성되어 보조 덮개부 관통공(314-1)이 형성된 보조 덮개부(314)를 포함하며,

- 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상측 개방구를 덮는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(310);
를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.
- [청구항 13] 제12항에 있어서,
상기 보조 덮개부 관통공(314-1)을 외부에 노출시키며 상기 임시 저장부(312)의 일부를 밀폐하는 임시 저장부 덮개(320)를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.
- [청구항 14] 제13항에 있어서,
상기 임시 저장부(312)의 하측면은 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)에 인입되고,
상기 임시 저장부(312)의 상단 및 상기 보조 덮개부(314)는 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(200)의 상단에 배치되는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.
- [청구항 15] 제12항에 있어서,
상기 보조 덮개부 관통공(314-1)의 상단 및 상기 임시 저장부(312)의 상단을 덮는 임시 저장부 덮개(320)를 포함하되,
상기 임시 저장부 덮개(320)는 기체는 통과시키고, 상기 시료 용액은 통과시키지 않는 멤브레인 필터인 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.
- [청구항 16] 제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지는 절개선(312-1)인 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.
- [청구항 17] 임시 저장부(1312)와 상기 임시 저장부(1312)에 연결하여 형성되어 보조 덮개부 관통공(1314-1)이 형성된 보조 덮개부(1314)를 포함하며, 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면과의 사이에 시료 용액 저장 공간(S)이 형성되도록 체결수단에 의하여 하측단이 상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100) 상면에 밀착되는 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310);
를 포함하되,
상기 임시 저장부(1312)에는 개폐 가능하며 개방시 상기 시료 용액 저장 공간에 연통되는 용기 연통부가 형성되는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.
- [청구항 18] 제17항에 있어서, 상기 체결수단은,
상기 시료 주입용 마이크로 챔버 플레이트(100)가 안치되는 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200);

상면에 상기 보조 덮개부 관통공(1314-1) 및 상기 임시 저장부(1312)를 외부와 연통시키는 케이스 관통공(1424)이 형성되고, 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부 덮개(1310) 상단을 압착하며 상기 마이크로 챔버 플레이트 수용부(1200)에 체결되는 체결 케이스(1400);

를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.

[청구항 19]

제17항 또는 제18항에 있어서,

상기 용기 연통부는 외력에 의하여 벌어지는 절개선(1312-1)인 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.

[청구항 20]

제17항 또는 제18항에 있어서,

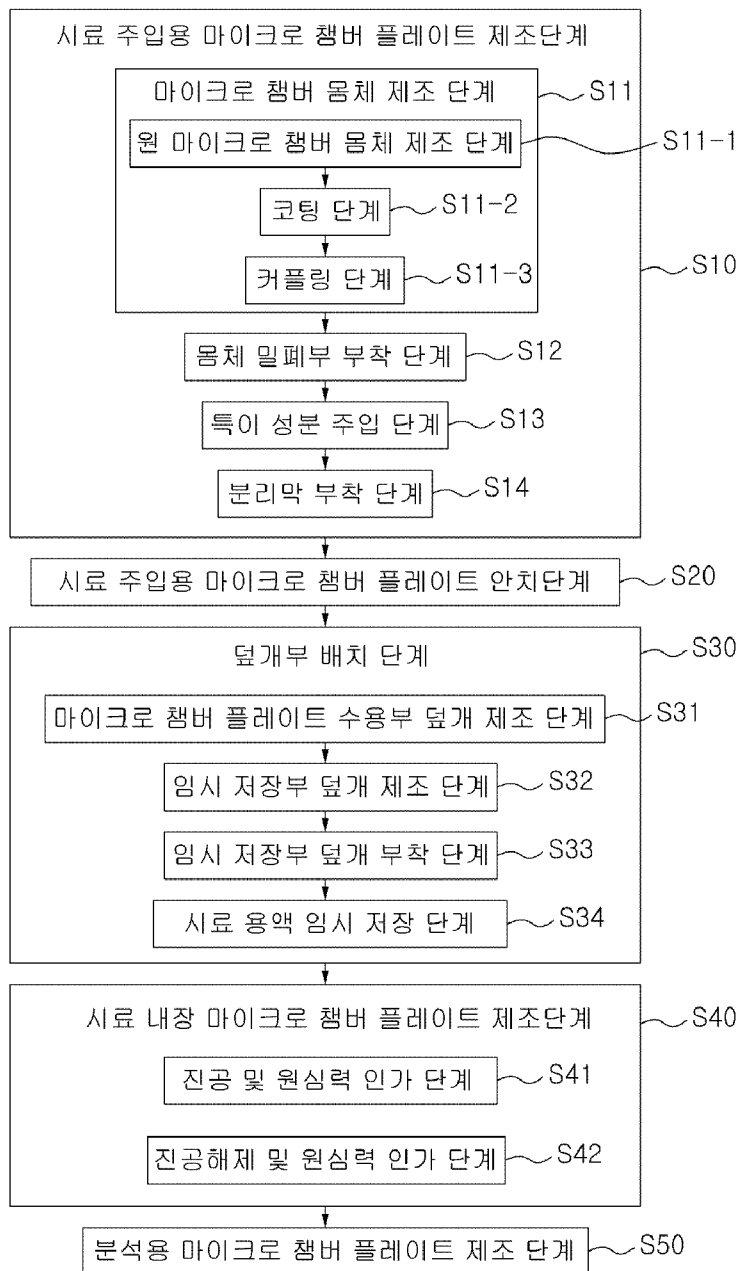
상기 체결 케이스(1400)에는 상기 보조 덮개부 관통공(1314-1)은 외부에 노출시키고 상기 임시 저장부(1312)의 일부를 밀폐하도록 상기 케이스 관통공(1424)을 덮는 케이스 덮개(1500)를 포함하는 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.

[청구항 21]

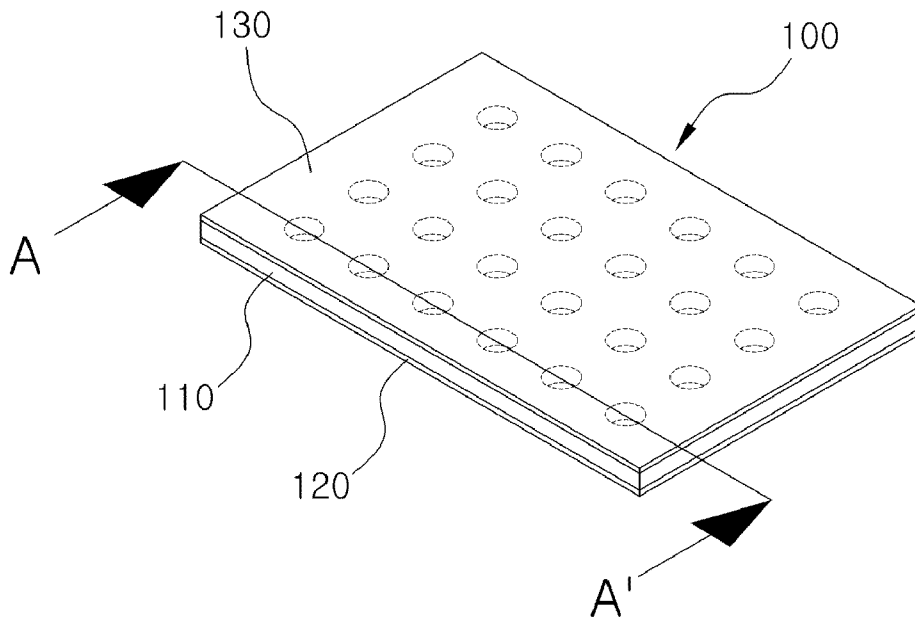
제17항 또는 제18항에 있어서,

상기 체결 케이스(1400)에는 상기 케이스 관통공(1424)을 덮는 케이스 덮개(1500)가 부착되되, 상기 케이스 덮개(1500)는 기체는 통과시키고, 상기 시료 용액은 통과시키지 않는 멤브레인 필터인 것을 특징으로 하는 시료 내장 마이크로 챔버 플레이트 제조 장치 셋.

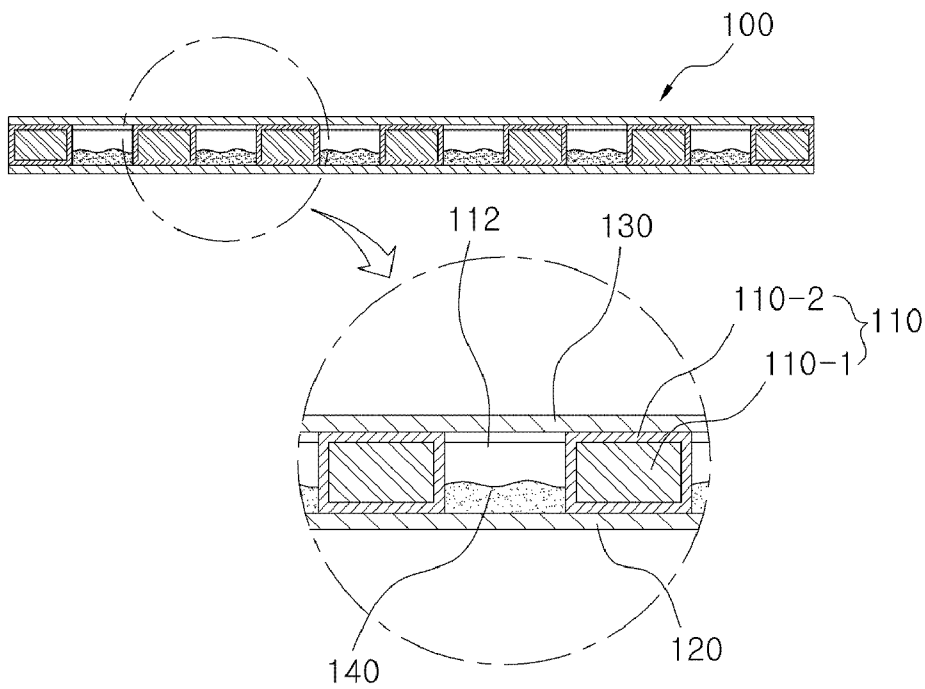
[Fig. 1]



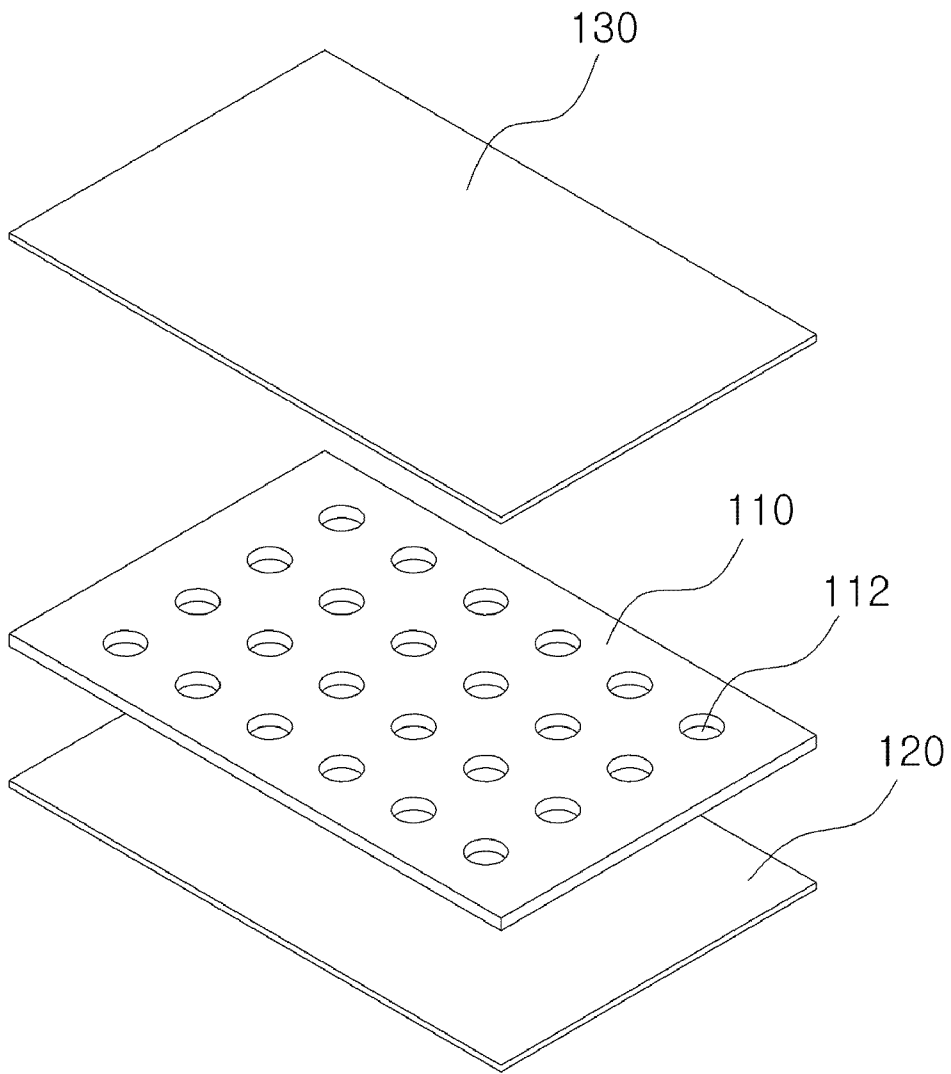
[Fig. 2]



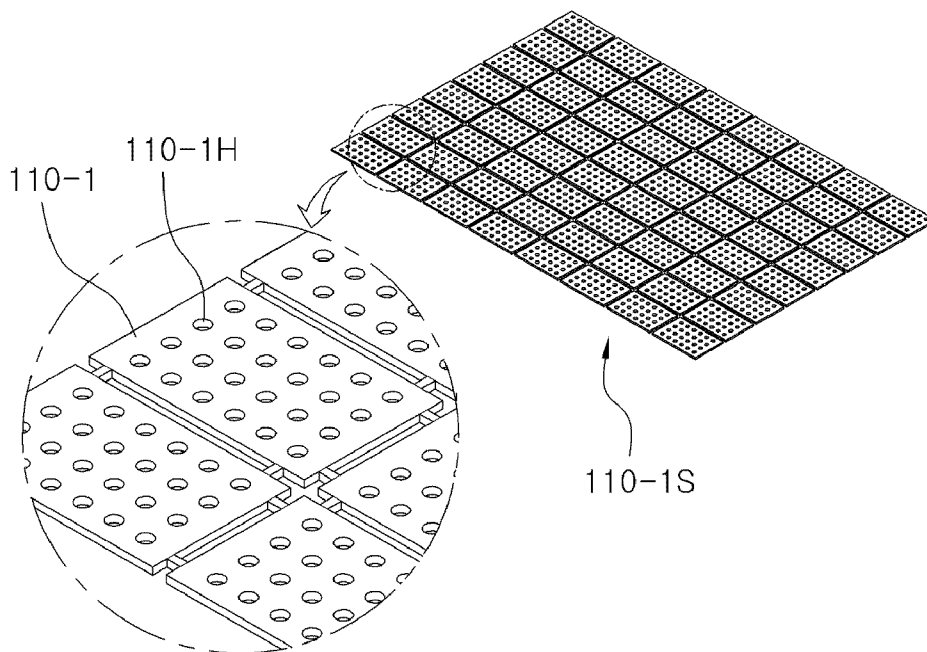
[Fig. 3]



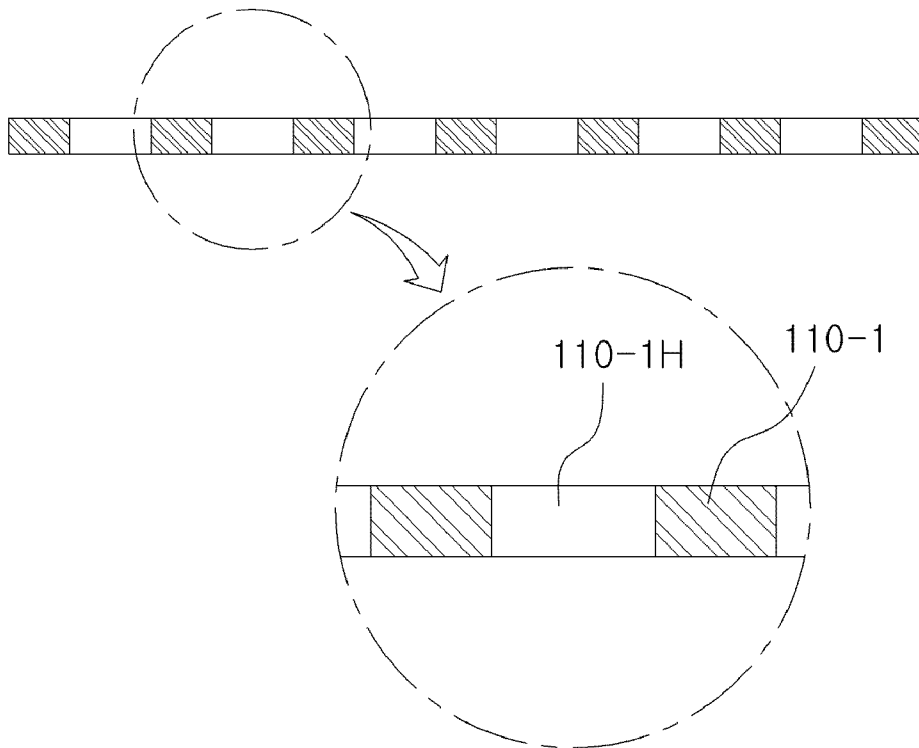
[Fig. 4]



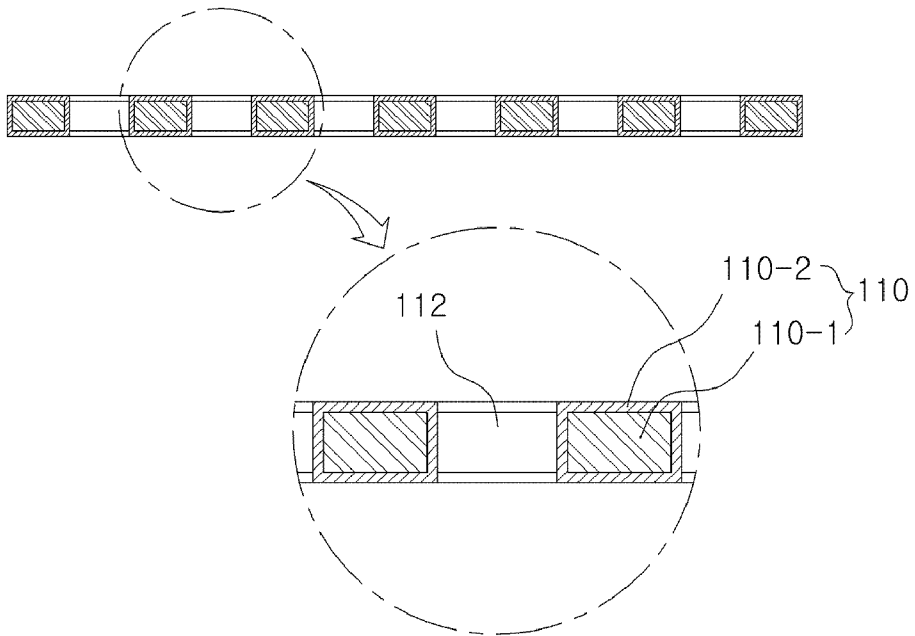
[Fig. 5]



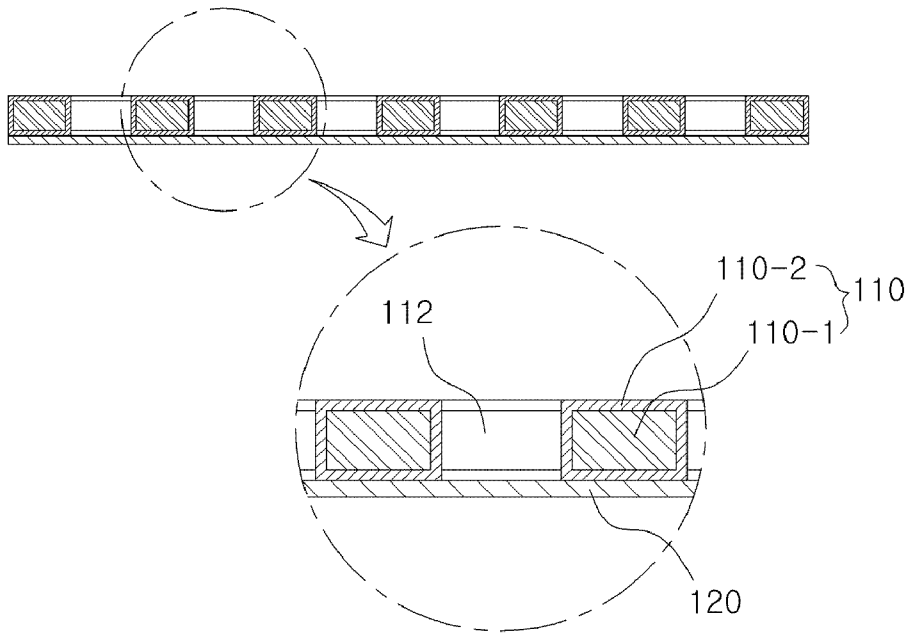
[Fig. 6]



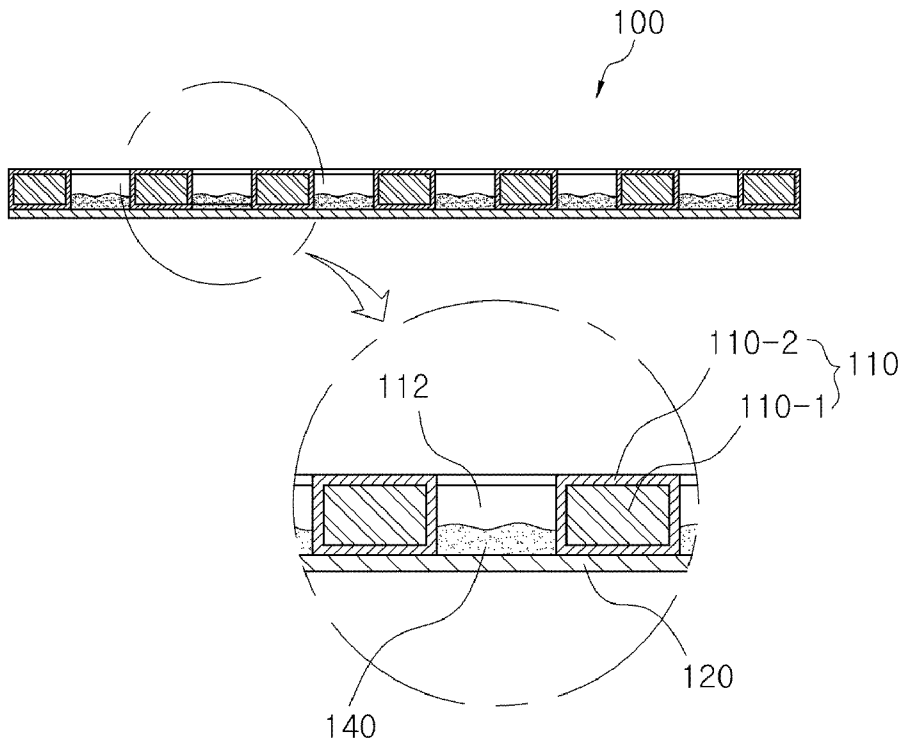
[Fig. 7]



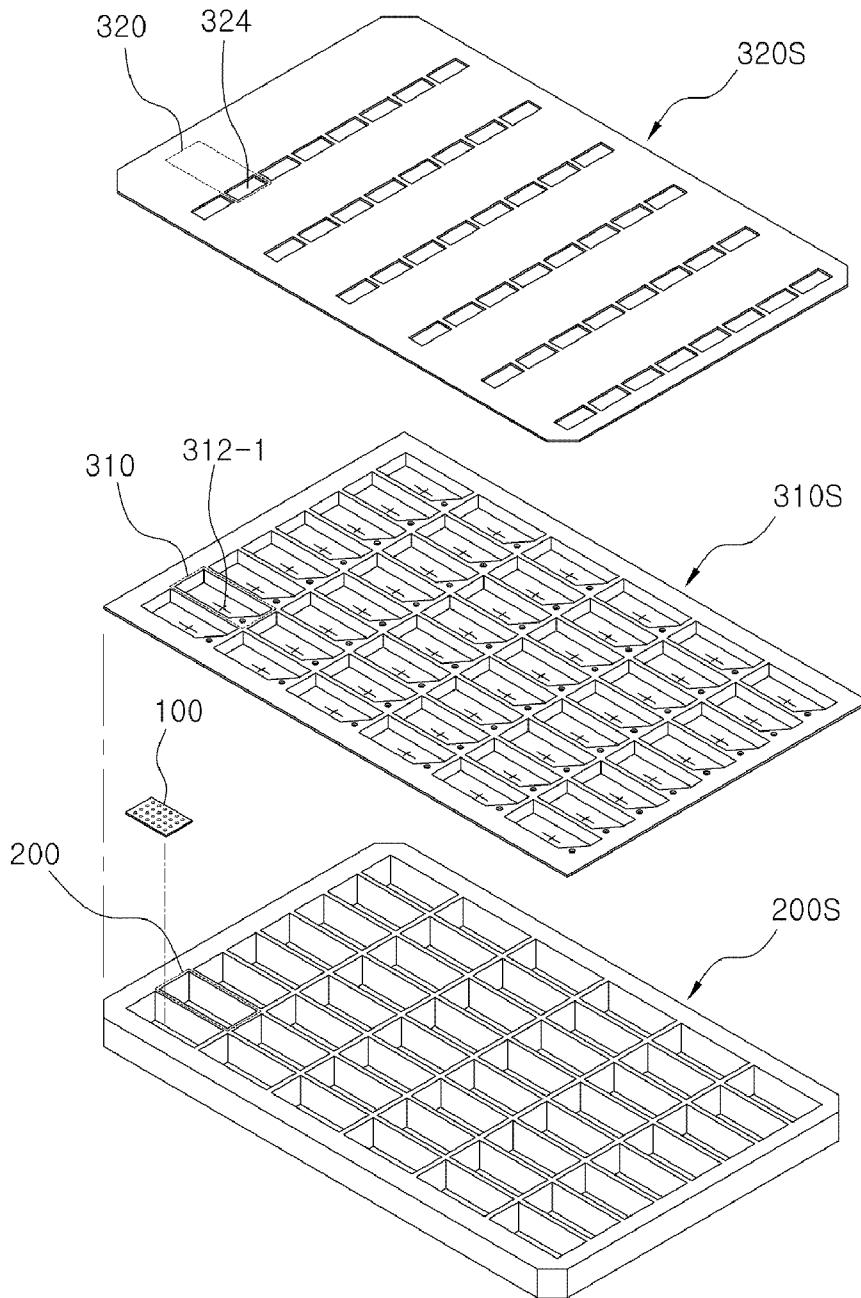
[Fig. 8]



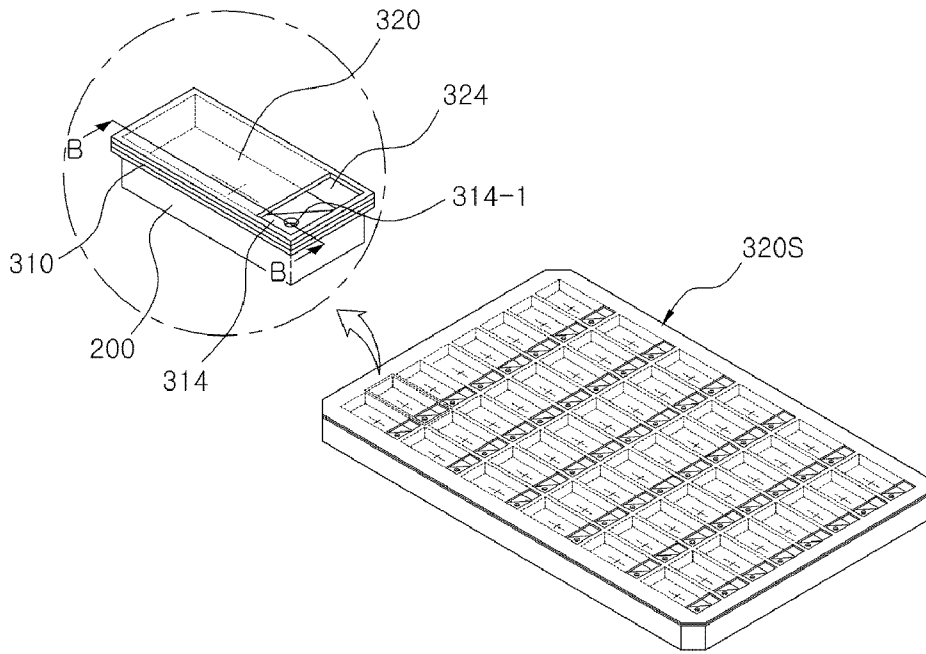
[Fig. 9]



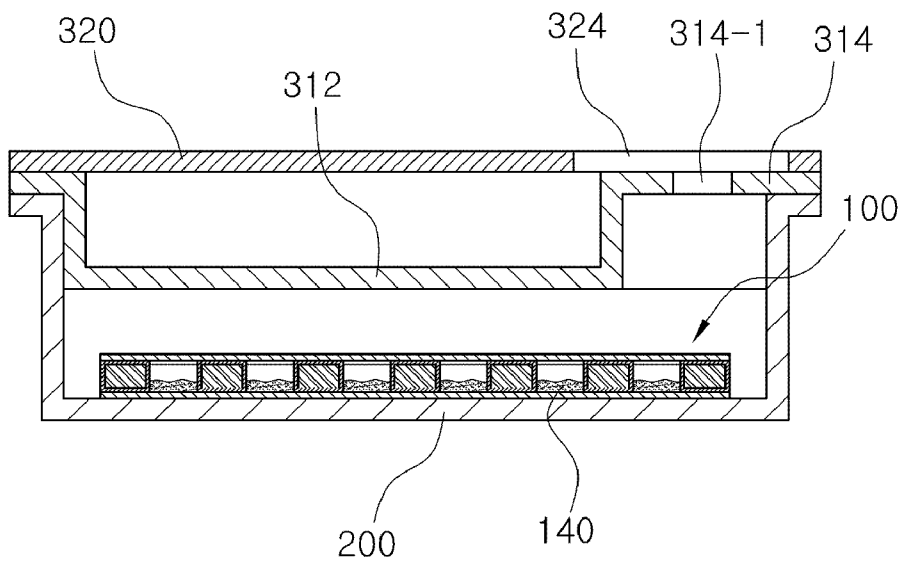
[Fig. 10]



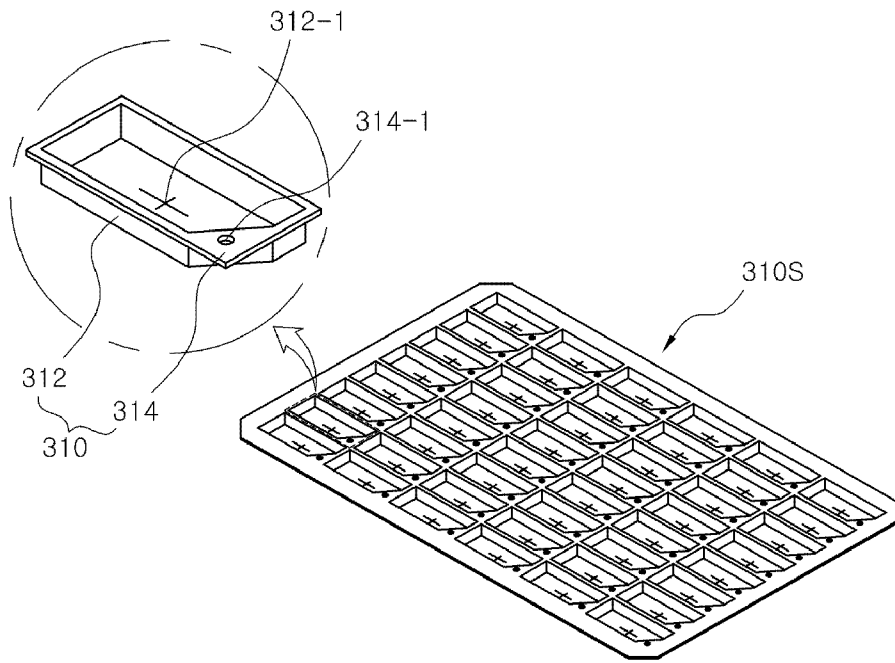
[Fig. 11]



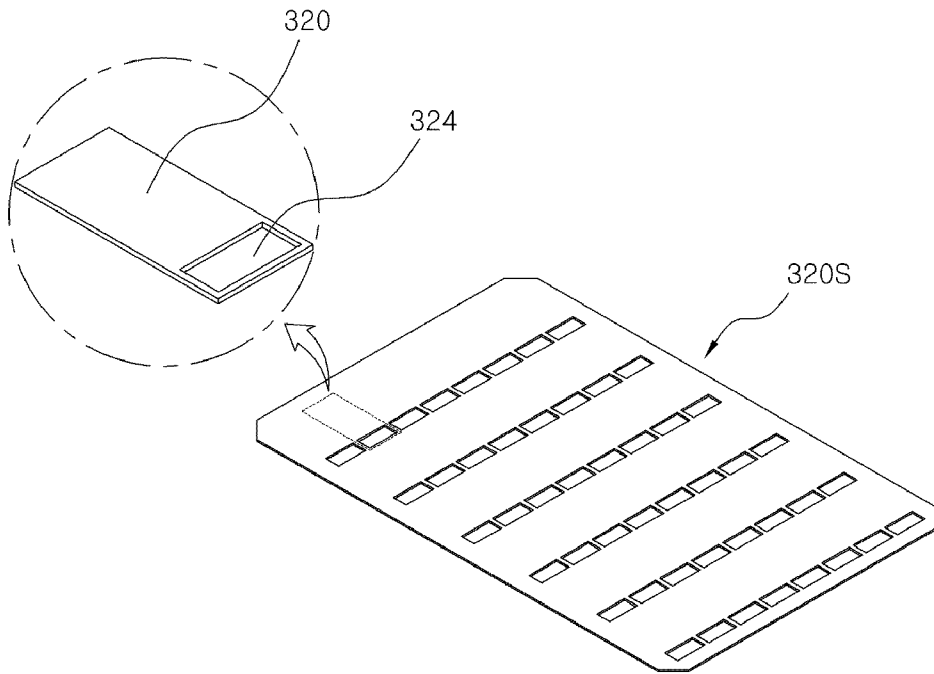
[Fig. 12]



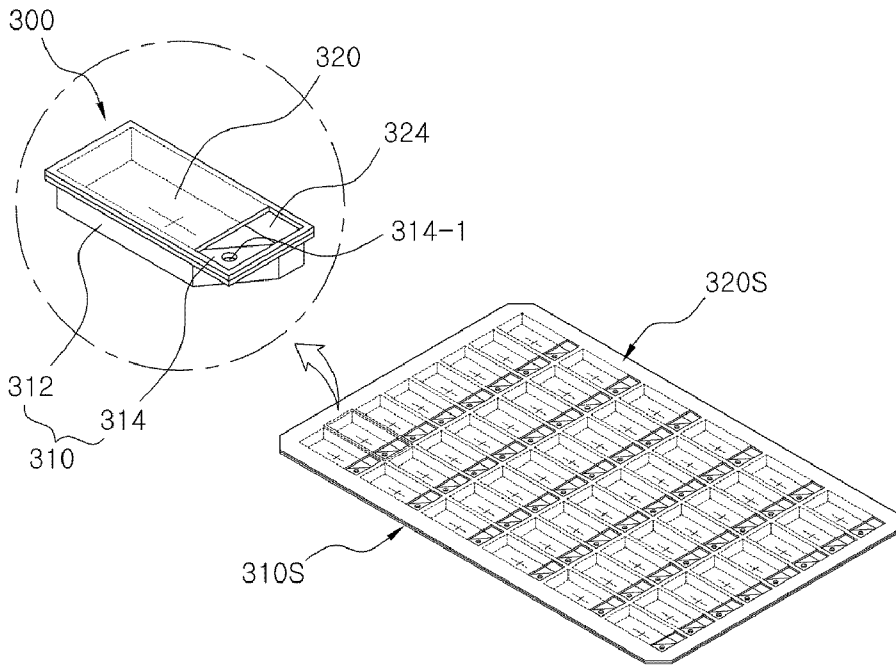
[Fig. 13]



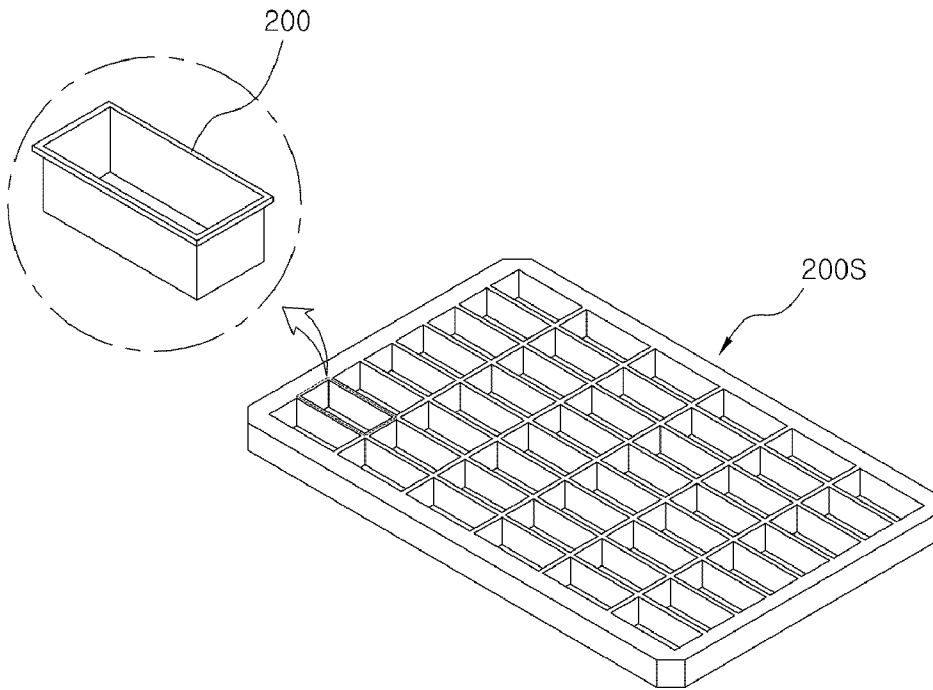
[Fig. 14]



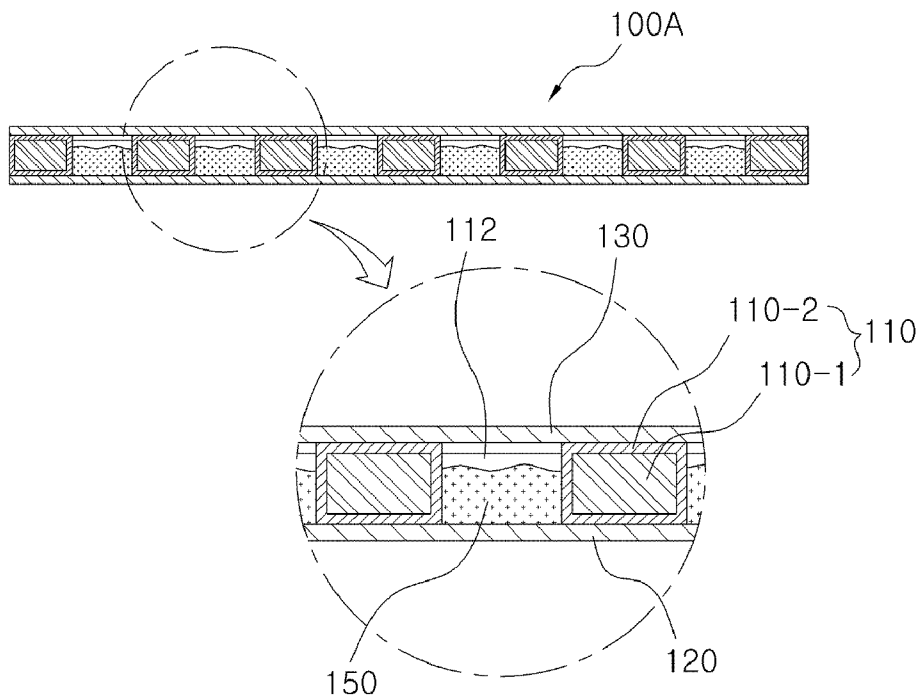
[Fig. 15]



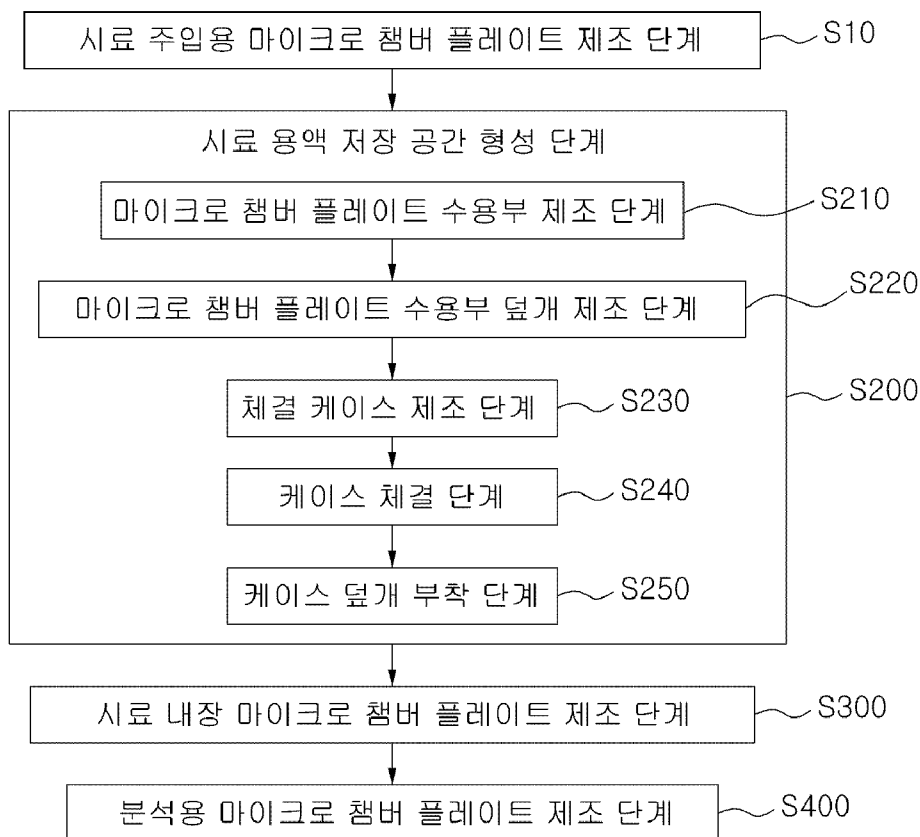
[Fig. 16]



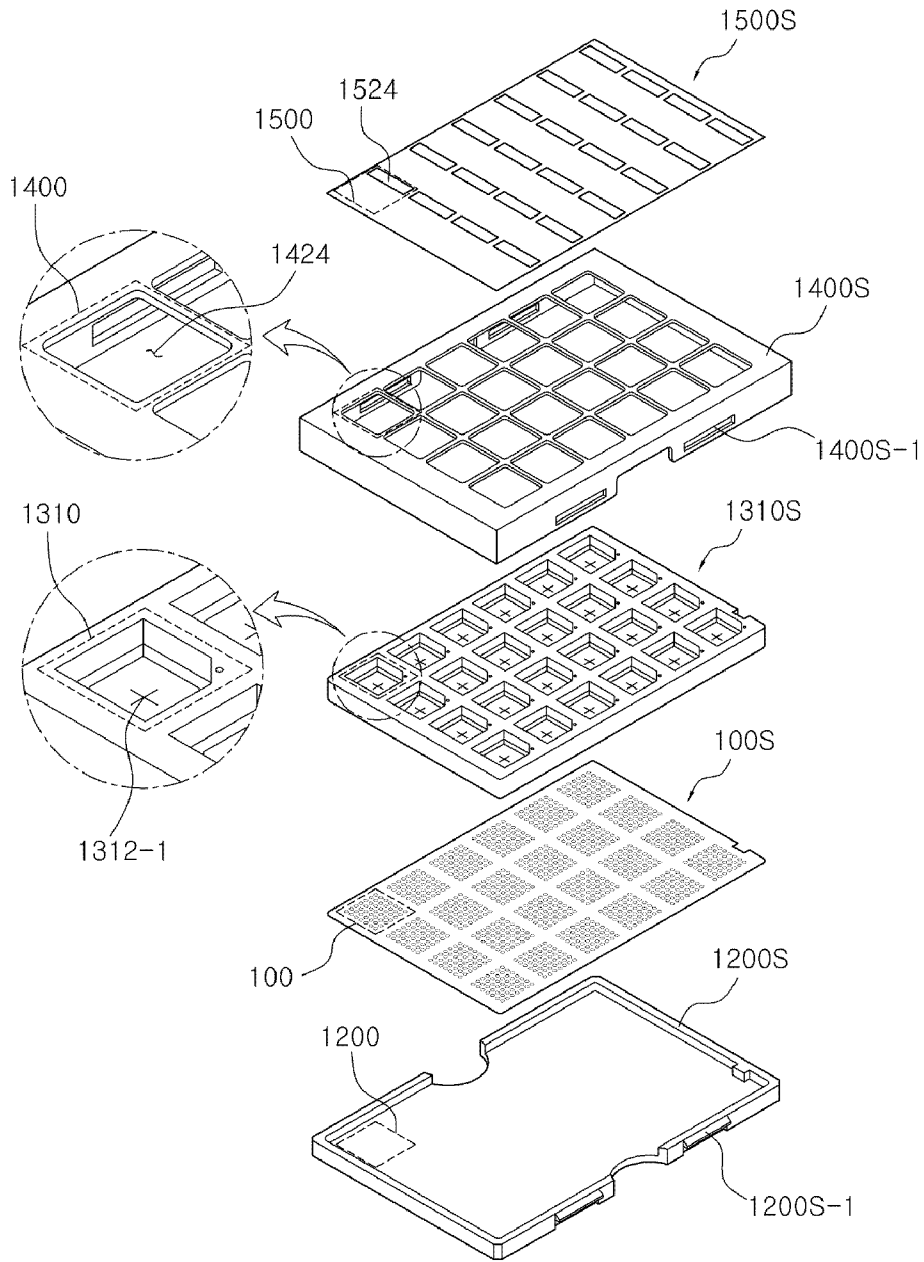
[Fig. 17]



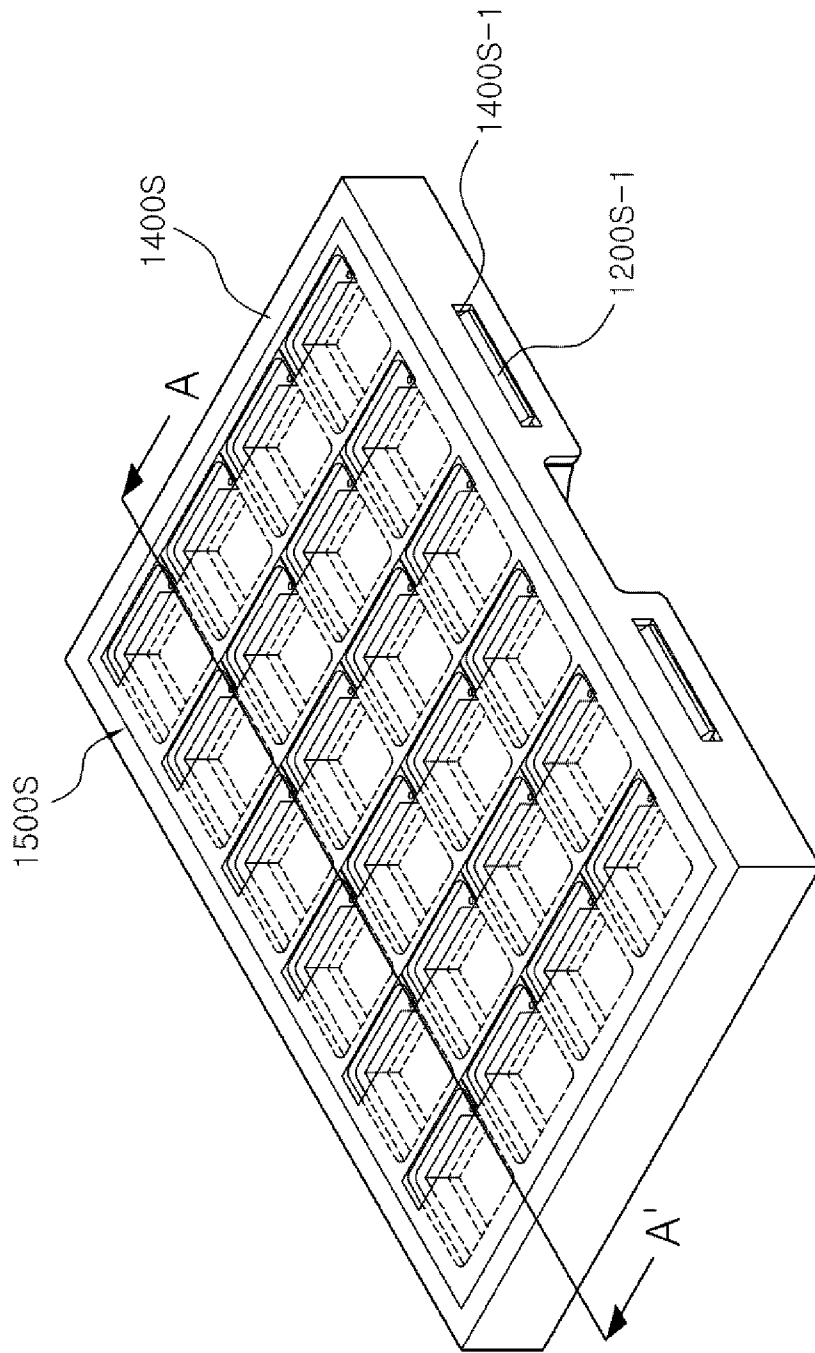
[Fig. 18]



[Fig. 19]



[Fig. 20]



[Fig. 21]

