



- (51) 국제특허분류:
C12M 1/38 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2014/002284
- (22) 국제출원일: 2014년 3월 18일 (18.03.2014)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2013-0028772 2013년 3월 18일 (18.03.2013) KR
- (71) 출원인: 나노바이오시스(주) (NANOBIOSYS INC.)
[KR/KR]; 153-712 서울시 금천구 디지털로 9길 47,
1206호, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 김성우 (KIM, Sung-Woo); 122-904 서울시 은
평구 갈현로 7길 33, 로얄빌라 104호, Seoul (KR). 이정
환 (LEE, Jung-Hwan); 426-863 경기도 안산시 상록구
삼태기 3길, 20-7 302호, Gyeonggi-do (KR). 김덕중
(KIM, Duck-Joong); 431-746 경기도 안양시 동안구 관
평로 138번길 13, 초원세경아파트 804동 1001호,
Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 김웅 (KIM, Woong); 135-915 서울시 강남구
테헤란로 22길 15, 9층 (역삼동, 에이엔씨빌딩), Seoul
(KR).

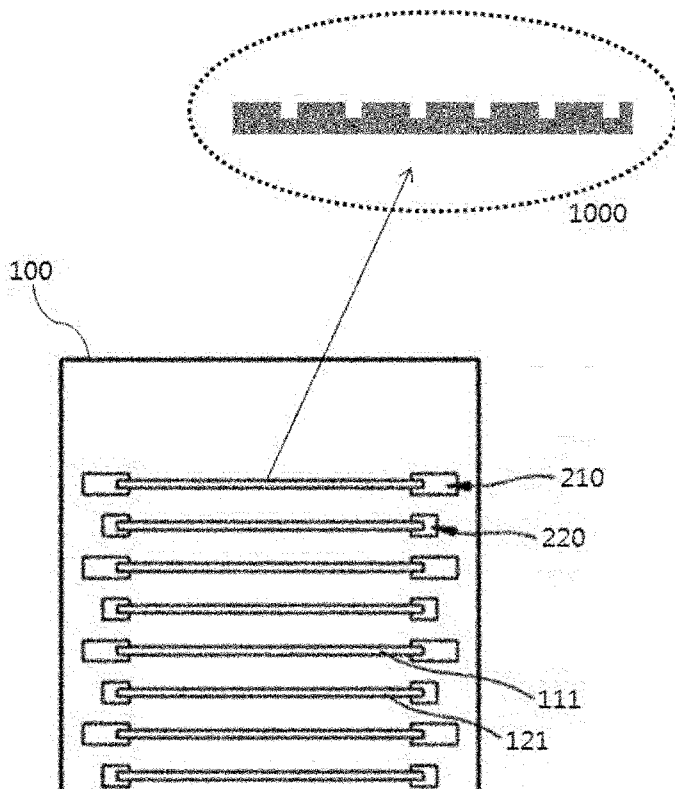
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA,
LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,
PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
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),

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PCR THERMAL BLOCK WITH PATTERN HEATERS REPEATEDLY ARRANGED AND PCR APPARATUS IN-
CLUDING SAME

(54) 발명의 명칭: 패턴 히터가 반복 배치된 PCR 열 블록 및 이를 포함하는 PCR 장치



(57) Abstract: An embodiment of the present invention relates to a PCR thermal block with pattern heaters repeatedly arranged and a PCR apparatus including the same, wherein the thermal block with heaters repeatedly arranged prevents radial thermal distribution generated from each heater and irregular thermal overlapping caused thereby between adjacent heaters so as to improve the PCR yield and to eliminate an additional temperature adjustment means, thus making the apparatus small and integrated. Furthermore, the thermal block with heater units repeatedly arranged and the plate-like PCR reaction part are used to simultaneously and quickly amplify a plurality of nucleic acid samples, and to continuously measure the optical signal or electrochemical signal so as to check the process of amplifying the nucleic acid in real time.

(57) 요약서: 본 발명의 일 실시예는 패턴 히터가 반복 배치된 PCR 열 블록 및 이를 포함하는 PCR 장치에 관한 것으로서, 이에 따르면 히터가 반복 배치된 열 블록에서 개별 히터로부터 발생하는 방사형 열 분포 및 이에 따른 인접 히터 간 불균일한 열 중첩을 방지하여 PCR 수율을 상당히 개선할 수 있고, 별도의 온도 조절 수단이 요구되지 아니하므로 장치의 소형화 및 집적화에 상당히 기여할 수 있으며 더 나아가, 히터 유닛이 반복 배치된 열 블록 및 판형상의 PCR 반응부를 이용하여 다수의 핵산 샘플을 동시에 그리고 신속하게 증폭할 수 있고, 연속적인 광학 신호 또는 전기화학적 신호를 측정함으로써 핵산 증폭 과정을 실시간으로 확인할 수 있다.



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

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

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 패턴 히터가 반복 배치된 PCR 열 블록 및 이를 포함하는 PCR 장치

기술분야

- [1] 본 발명은 히터가 연속적으로 반복 배치된 PCR 열 블록을 구비하는 PCR 장치에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 중합효소 연쇄 반응, 즉 PCR(Polymerase Chain Reaction, 이하 같다)은 주형 핵산의 특정 부위를 반복적으로 가열 및 냉각하여 상기 특정 부위를 연쇄적으로 복제하여 그 특정 부위를 갖는 핵산을 기하급수적으로 증폭하는 기술로써, 생명과학, 유전공학 및 의료 분야 등에서 분석 및 진단 목적으로 널리 사용되고 있다. 최근 PCR을 효율적으로 수행하기 위한 장치가 다양하게 개발되고 있는 실정이다.
- [3] 기존 PCR 장치의 일 예는 가열기에 주형 핵산을 포함하는 샘플 용액을 수용한 용기를 장착하고, 상기 용기를 반복적으로 가열 및 냉각하여 PCR을 수행한다. 그러나 위와 같은 PCR 장치는 하나의 가열기를 구비하기 때문에 전체적인 구조가 복잡하진 않지만, 정확한 온도 제어를 위해 복잡한 회로를 갖춰야 하고, 하나의 가열기에 대한 가열 또는 냉각의 반복으로 인해 전체 PCR 시간이 길어지는 단점이 있다.
- [4] 또한, 기존 PCR 장치의 다른 예는 PCR 온도를 갖는 복수 개의 가열기를 장착하고, 이들 가열기를 통과하는 하나의 채널을 통해 핵산을 포함하는 샘플 용액을 흐르게 하여 PCR을 수행한다. 그러나 위와 같은 PCR 장치는 복수 개의 가열기를 이용하기 때문에 비교적 단순한 회로로 구현 가능하지만, 고온 및 저온의 가열기를 통과하기 위한 긴 유로가 반드시 필요하므로 전체 구조가 복잡하고, 상기 가열기를 통과하는 채널에 흐르는 핵산을 포함하는 샘플 용액의 유속을 제어하기 위한 별도의 제어 장치가 요구된다.
- [5] 한편, 최근 PCR 장치는 PCR 수율 개선 및 PCR 과정을 실시간으로 파악하기 위한 효율적인 방법이 개발되고 있을 뿐만 아니라, 소형화된 가열기를 사용함으로써 장치의 소형화 및 휴대화가 가능하도록 개발되고 있다. 이 경우, 소형화된 가열기의 성능이 PCR 수율에 큰 영향을 미치기 때문에, 소형화된 가열기의 설정 온도를 정확하게 제어 또는 구현할 수 있는 기술 개발이 매우 중요하다. 따라서, PCR 시간을 획기적으로 줄임과 동시에 신뢰할 수 있는 PCR 수율을 얻을 수 있고, 더 나아가 제품의 소형화 및 휴대화가 가능한 PCR 장치의 구현이 여전히 요구되고 있는 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 위와 같은 문제점을 해결하고자, 본 발명의 실시예는 PCR 시간 및 수율을 상당히 개선하고, 더 나아가 제품의 소형화 및 휴대화가 가능하도록 PCR 열 블록을 제안하고, 더 나아가 이를 포함하는 PCR 장치를 제안하고자 한다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명의 제1 실시예는 2 이상의 히터가 반복적으로 구현된 PCR 열 블록에 있어서, 상기 히터는 개별 히터로부터 발생하는 방사형 열 분포에 따른 인접 히터 간 불균일한 열 중첩을 방지하기 위해 상기 히터의 적어도 일 부분의 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도를 조절하는 보상형 패턴(compensated pattern)을 구비하는 것을 특징으로 하는 PCR 열 블록을 제공한다.
- [8] 본 발명의 제1 실시예에 있어서,
- [9] 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분에 간극을 반복 형성하여 간극 패턴에 따른 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다.
- [10] 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분에 반복 형성된 간극의 폭(line width)을 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다.
- [11] 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분에 반복 형성된 간극의 두께를 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다.
- [12] 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분에 재질을 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다.
- [13] 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분에 히터 전극의 배치를 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다.
- [14]
- [15] 본 발명의 제2 실시예는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록; 및 상기 PCR 열 블록과 열 교환이 가능하도록 상기 열 블록 상에 부착되되 상기 PCR 열 블록에 구비된 히터들의 상측 대응 부분들을 길이 방향으로 통과하도록 연장 배치된, 양 말단에 유입부 및 유출부가 구현된 1 이상의 반응 채널을 구비하는 판형상의 PCR 반응부를 포함하는 PCR 칩을 제공한다.
- [16] 본 발명의 제2 실시예에 있어서,
- [17] 상기 PCR 열 블록의 상부 면은 PCR 용액의 전기 분해 방지용 절연막(insulator)이 형성된 것일 수 있다.
- [18]
- [19] 본 발명의 제3 실시예는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록; 상기 PCR 열 블록과 열 교환이 가능하도록 상기 열 블록 상에 접촉되되 상기 PCR 열

블록에 구비된 히터들의 상측 대응 부분들을 길이 방향으로 통과하도록 연장 배치된, 양 말단에 유입부 및 유출부가 구현된 1 이상의 반응 채널을 구비하는 판형상의 PCR 반응부; 및 상기 PCR 열 블록에 구비된 히터들에 전력을 공급하기 위한 전력 공급부를 포함하는 PCR 장치를 제공한다.

[20] 본 발명의 제3 실시예에 있어서,

[21] 상기 PCR 열 블록의 상부 면은 히터 보호용 절연막(insulator)이 형성된 것일 수 있다.

[22] 상기 PCR 장치는 상기 1 이상의 반응 채널 내에서 유동하는 PCR 용액의 유량 및 유속을 제어하기 위해 양압 또는 음압을 제공하도록 배치된 펌프를 더 포함할 수 있다.

[23] 상기 PCR 장치는 상기 PCR 반응부에 광을 제공하도록 배치된 광원, 및 상기 PCR 반응부로부터 방출되는 광을 수용하도록 배치된 광 검출부를 더 포함할 수 있다.

[24] 상기 광원 또는 광 검출부는 상기 PCR 열 블록의 인접 히터 사이 공간에 반복 배치될 수 있다.

[25] 상기 PCR 반응부는 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 하단 면을 가로질러 반복 이격 배치되며 상기 반응 채널 내부에서 증폭 핵산과 활성물질의 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 상기 PCR 열 블록과의 열 접촉시 상기 검출 전극은 상기 2 이상의 히터 군 사이에 배치되도록 구현될 수 있다. 이 경우 상기 PCR 장치는 상기 검출 전극과 전기적으로 연결되어 상기 PCR 반응부의 반응 채널 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈을 더 포함할 수 있다.

[26] 상기 PCR 반응부는 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되며 상기 반응 채널 내부의 일 영역에 형성되어 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브(capture probe)가 표면 처리된 고정화(immobilization) 층 및 상기 반응 채널 내부의 다른 일 영역에 형성되어 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 금속 나노입자 및 상기 금속 나노입자에 연결되며 상기 증폭 표적 핵산의 다른 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 신호 프로브(signaling probe)를 구비하는 복합체를 포함하는 것일 수 있다. 이 경우 상기 PCR 장치는 상기 검출 전극과 전기적으로 연결되어 상기 PCR 반응부의 반응 채널 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈을 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

[27] 본 발명의 실시예에 따르면, 히터가 반복 배치된 열 블록에서 개별 히터로부터 발생하는 방사형 열 분포 및 이에 따른 인접 히터 간 불균일한 열 중첩을

방지하여 PCR 수율을 상당히 개선할 수 있고, 별도의 온도 조절 수단이 요구되지 아니하므로 장치의 소형화 및 집적화에 상당히 기여할 수 있다. 더 나아가, 히터 유닛이 반복 배치된 열 블록 및 판 형상의 PCR 반응부를 이용하여 다수의 핵산 샘플을 동시에 그리고 신속하게 증폭할 수 있고, 연속적인 광학 신호 또는 전기화학적 신호를 측정함으로써 핵산 증폭 과정을 실시간으로 확인할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [28] 도 1은 2 이상의 히터(111, 121)가 반복적으로 구현된 PCR 열 블록(100)을 도시한다.
- [29] 도 2 내지 6은 본 발명의 실시예에 있어서 PCR 열 블록(100)을 구현하는 히터의 배치 구조를 도시한다.
- [30] 도 7은 보상형 패턴이 적용되지 않은 개별 히터에 전력을 공급할 경우 발생하는 불균일한 방사형 열 분포를 보여주는 사진이다.
- [31] 도 8은 PCR 열 블록 상에 보상형 패턴이 적용되지 않은 2 이상의 히터가 반복 배치된 상태에서 전력을 공급할 경우 개별 히터로부터 발생하는 불균일한 방사형 열 분포에 따른 인접 히터(111, 121) 간 불균일한 열 중첩을 보여주는 사진이다.
- [32] 도 9는 보상형 패턴(1000)이 적용된 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)을 도시한다.
- [33] 도 10은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 히터(111)의 일 부분에 형성된 간극(1100)을 포함하는 보상형 패턴을 도시한다.
- [34] 도 11은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 히터(111)의 일 부분에 형성된 간극의 폭(line width)을 달리 구현한 보상형 패턴을 도시한다.
- [35] 도 12는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 히터(111)의 일 부분의 두께를 달리 구현한 보상형 패턴을 도시한다.
- [36] 도 13은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 재질을 달리 구현한 보상형 패턴을 도시한다.
- [37] 도 14은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 배치를 달리 구현한 보상형 패턴을 도시한다.
- [38] 도 15는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록으로부터 발생하는 열 분포를 보여주는 사진이다.
- [39] 도 16은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록으로부터 발생하는 열 분포를 보여주는 그래프이다.
- [40] 도 17은 PCR 열 블록과 열 접촉하는 PCR 반응부(300)를 도시한다.
- [41] 도 18은 PCR 열 블록(100)과 PCR 반응부(300)가 일체형으로 구현된 PCR 칩을 도시한다.
- [42] 도 19는 PCR 열 블록(100)과 PCR 반응부(300)가 별개형으로 구현된 PCR 장치를 도시한다.

- [43] 도 20은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100)을 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 PCR을 도시한다.
- [44] 도 21은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100), 광원(150) 및 광 검출부(600)를 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 광학적 실시간 PCR을 도시한다.
- [45] 도 22 내지 25는 도 12 내지 16의 PCR 열 블록과 열 접촉하는 다른 유형의 PCR 반응부(900)를 도시한다.
- [46] 도 26은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100) 및 도 22 내지 25의 PCR 반응부(900)를 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 PCR을 도시한다.
- [47] 도 27은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100), 도 22 내지 25의 PCR 반응부(900), 검출 전극(950), 및 신호 측정 모듈(800)을 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 전기화학적 실시간 PCR을 도시한다.
- [48] 도 28 내지 31은 도 12 내지 16의 PCR 열 블록과 열 접촉하는 또 다른 유형의 PCR 반응부(900)를 도시한다.
- [49] 도 32는 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100) 및 도 28 내지 31의 PCR 반응부(900)를 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 PCR을 도시한다.
- [50] 도 33은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100), 도 28 내지 31의 PCR 반응부(900), 고정화(immobilization) 층(940), 검출 전극(950), 및 신호 측정 모듈(800)을 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 전기화학적 실시간 PCR을 도시한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [51] 이하, 첨부 도면을 참조하여 본 발명에 따른 실시예들을 상세하게 설명한다. 이하 설명은 본 발명에 따른 실시예들을 용이하게 이해하기 위한 것일 뿐이며, 보호범위를 제한하기 위한 것은 아니다.
- [52]
- [53] 본 발명의 실시예에 있어서, PCR(Polymerase Chain Reaction)은 특정 염기 서열을 갖는 핵산을 증폭하는 반응의 일종을 의미한다. 예를 들어, 특정 염기 서열을 갖는 DNA(deoxyribonucleic acid)를 증폭하기 위해 PCR 장치는 주형 핵산인 이중 가닥의 DNA를 포함하는 PCR 시료 및 시약을 포함하는 용액을 특정 온도, 예를 들어 약 95°C로 가열하여 상기 이중 가닥의 DNA를 단일 가닥의 DNA로 분리하는 변성 단계(denaturing step), 증폭하고자 하는 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 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 용액을 적정 온도, 예를 들어 72°C로 유지하여 DNA 중합효소(polymerase)에 의해 상기 부분적인 DNA-프라이머 복합체의 프라이머를 기초로 이중 가닥의 DNA를 형성하는 연장(혹은 증폭) 단계(extension step)를 수행하고, 상기 3 단계를 예를 들어 20회 내지 40회로 반복함으로써 상기 특정 염기 서열을 갖는 DNA를 기하급수적으로 증폭할 수 있다. 경우에 따라, 상기 PCR 장치는 상기 어닐링 단계와 상기 연장(혹은 증폭) 단계를 동시에 수행할 수 있고, 이 경우 PCR 장치는 상기 연장 단계와 상기 어닐링 및 연장(혹은 증폭) 단계로 구성된 2 단계를 수행함으로써, 제1 순환을 완성할 수도 있다. 따라서, 본 발명의 실시예에 따른 PCR 열 블록 및 이를 포함하는 PCR 장치는 상기 단계들을 수행하기 위한 모듈들을 포함하는 장치를 말하며, 본 명세서에 기재되지 아니한 세부 모듈은 PCR을 수행하기 위한 종래 기술 중 개시되거나 또는 자명한 범위에서 모두 구비하고 있는 것을 전제로 한다.

[54]

[55] 도 1은 2 이상의 히터(111, 121)가 반복적으로 구현된 PCR 열 블록(100)을 도시하고, 도 2 내지 6은 본 발명의 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)을 구현하는 히터의 배치 구조를 도시한다.

[56] 도 1에 따르면, 본 발명의 실시예들은 PCR 용액에 열을 공급하는 PCR 열 블록(100) 상에 2 이상의 히터(111, 121)가 반복 배치된 것을 전제로 한다. 상기 PCR 열 블록(100)은 PCR 용액, 즉 PCR을 수행하기 위해 시료 및 시약에 특정 온도로 열을 공급하는 모듈로서, 적어도 일 면에 시료 및 시약이 수용된 PCR 반응부(900)의 접촉 면을 구비하여 상기 PCR 반응부(900)의 일 면과 열 접촉을 통해 PCR 용액에 열을 공급하여 PCR을 수행하도록 한다.

[57] 도 2 내지 6에 따르면, 상기 PCR 열 블록(100)은 기판(99)을 기저로 한다. 상기 기판(99)은 그 표면에 배치된 히터(111, 121)의 가열 등으로 인해 그 물리적 또는 화학적 성질이 변하지 않고, 2 이상의 히터 사이에서 열 교환이 빈번하게 일어나지 않도록 하는 재질로 구현된다. 예를 들어, 상기 기판(99)은 플라스틱, 유리, 실리콘 등의 재질로 구현되며, 필요에 따라 투명 또는 반투명하게 구현될 수 있다. 상기 PCR 열 블록(100)은 장치의 소형화 및 집적화를 위해 전체적으로 얇은 판 형상, 예를 들어 약 50 나노미터(nm) 내지 1 밀리미터(mm)의 두께, 바람직하게는 약 250 마이크로미터(μm)로 구현될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 PCR 열 블록(100) 상에는 2 이상의 히터가 반복 배치되는데, 예를 들어 상기 PCR 열 블록(100)은 1 이상의 히터를 구비하는 히터 군, 상기 히터 군을 2 이상 구비하되 상기 2 이상의 히터 군이 이격 배치된 히터 유닛이 2 이상 반복 배치될 수 있다. 또한, 상기 PCR 열 블록(100)의 PCR 반응부(900) 접촉 면은 PCR 용액이 수용된 PCR 반응부(900)에 효율적으로 열을 공급하기 위한 다양한

형상, 예를 들어 체적당 표면적 비율(Surface to Volume Ratio)을 증가시키도록 평면(Plane) 형상, 유로(Channel) 형상 또는 기둥(pillar) 형상으로 구현될 수 있다.

- [58] 상기 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)는 상기 기판(99)에 배치 또는 인쇄되는 전도성 발열 소자로서, 줄 열(Joule Heating)을 이용하는 히터, 펠티어 효과(Peltier Effect)를 일으키는 열전소자(Thermoelement)로 구현될 수 있다. 상기 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)는 일정 온도를 유지하기 위해 다양한 전원 모듈 및 제어 모듈과 구동 가능하게 연결될 수 있고, 상기 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)의 온도를 모니터링하기 위한 센서와 구동 가능하게 연결될 수 있다. 상기 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)는 그 내부 온도를 일정하게 유지하기 위해 단위 전극, 즉 히터 전극들이 상기 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)의 표면 중심점을 기준으로 상하 및/또는 좌우 방향으로 대칭 배치될 수 있다. 또한, 상기 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)는 신속한 열 전달 및 전도성을 구현하기 위한 금속 재질, 예를 들어 크롬, 알루미늄, 구리, 철, 은, 및 탄소로 구성된 군으로부터 1 이상 선택되거나 또는 이를 기초로 하는 복합재료(composite materials)로 제조될 수 있으나, 이에 제한되진 않는다. 또한, 상기 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)는 광 투과성 발열 소자, 예를 들어 산화물 반도체 물질 또는 상기 산화물 반도체 물질에 In, Sb, Al, Ga, C 및 Sn로 구성된 군으로부터 선택된 불순물이 첨가된 물질을 포함하는 도전성 나노 입자, 인듐 주석 산화물, 전도성 고분자 물질, 탄소 나노 튜브, 및 그래핀(graphene)이 포함된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 물질을 포함할 수 있다.

- [59] 상기 히터 군(110, 120, 130)은 상기 1 이상의 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)를 포함하는 단위로서, PCR 수행을 위한 변성 단계, 어닐링 단계 및/또는 연장 단계를 수행하기 위한 온도를 유지하는 영역을 의미한다. 상기 히터 군(110, 120, 130)은 상기 PCR 열 블록(100)에 2 이상 배치되고, 상기 2 이상의 히터 군(110, 120, 130)은 상기 기판(99) 상에서 이격 배치되되, 바람직하게는 상기 PCR 열 블록(100)에 2개 내지 4개가 존재할 수 있다. 만약 상기 PCR 열 블록(100)이 2개의 히터 군을 구비한다고 가정하면, 상기 제1 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 어닐링/연장 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 어닐링/연장 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하는 것일 수 있다. 또한, 만약 상기 PCR 열 블록(100)이 3개의 히터 군을 구비한다고 가정하면, 상기 제1 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하거나, 또는 상기 제1 히터 군은 PCR 연장 단계 온도를 유지하고 상기 제2 히터 군은 PCR 변성 단계 온도를 유지하고 상기 제3 히터 군은 PCR 어닐링 단계 온도를 유지하는 것일 수 있다. 바람직하게는 상기 히터 군은 상기 PCR 열

블록(100)에 3회 배치되어 PCR 수행을 위한 3 단계, 즉 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장 단계를 수행하기 위한 온도를 각각 유지하고, 더 바람직하게는 상기 열 블록(100)에 2회 배치되어 PCR 수행을 위한 2 단계, 즉 변성 단계 및 어닐링/연장 단계를 수행하기 위한 온도를 각각 유지하는 것일 수 있다. 상기 히터 군이 상기 PCR 열 블록(100) 상에 2회 배치되어 PCR 수행을 위한 2 단계, 즉 변성 단계 및 어닐링/연장 단계를 수행하는 경우 PCR 수행을 위한 3 단계, 즉 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장 단계를 수행하는 것보다 PCR 시간을 줄일 수 있고, 히터 개수가 줄어들므로써 구조의 단순화 및 집적도(density)를 증가시키는 이점이 있다. 한편, 이 경우 PCR 수행을 위한 3 단계에 있어서, 변성 단계를 수행하기 위한 온도는 85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C이고, 어닐링 단계를 수행하기 위한 온도는 40°C 내지 60°C, 바람직하게는 50°C이고, 연장 단계를 수행하기 위한 온도는 50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C이고, 더 나아가 PCR 수행을 위한 2 단계에 있어서, 변성 단계를 수행하기 위한 온도는 85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C이고, 어닐링/연장 단계를 수행하기 위한 온도는 50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C이다. 다만, 상기 PCR 수행을 위한 특정 온도 및 온도 범위는 PCR 수행에 있어서 공지된 범위 내에서 조절 가능함은 물론이다. 상기 히터 군(110, 120, 130)은 온도 완충 역할을 수행하기 위한 추가적인 히터를 더 포함할 수 있다.

- [60] 상기 히터 유닛(10, 20)은 상기 1 이상의 히터를 포함하는 상기 2 이상의 히터 군을 포함하는 단위로서, PCR 수행을 위한 변성 단계, 어닐링 단계 및/또는 연장 단계를 포함하는 제1 순환이 완료되는 영역을 의미한다. 상기 히터 유닛(10, 20)은 필요에 따라 상기 PCR 열 블록(100)에 2 이상 반복 배치될 수 있는데, 바람직하게는 상기 PCR 열 블록(100)에 10회, 20회, 30회 또는 40회로 반복 배치될 수 있다.
- [61] 도 2에 따르면, 상기 PCR 열 블록(100)은 그 상부 면에 반복 배치된 히터 유닛(10, 20), 그에 각각 포함된 2개의 히터 군(110, 120), 및 그에 각각 포함된 1개의 히터(111, 121)를 구비함으로써, PCR 수행을 위한 2 단계 온도, 즉 변성 단계의 1 온도 및 어닐링/연장 단계의 1 온도를 순차적으로 반복 제공할 수 있다. 예를 들어, 제1 히터(111)는 85°C 내지 105°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 95°C를 유지하여 제1 히터 군(110)은 변성 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제2 히터(121)는 50°C 내지 80°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 72°C를 유지하여 제2 히터 군(120)은 어닐링/연장 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하여, 상기 PCR 열 블록(100)은 제1 히터 유닛(10) 및 제2 히터 유닛(20)에서 PCR 수행을 위한 2 단계 온도를 순차적으로 반복 제공할 수 있다.
- [62] 도 3에 따르면, 상기 PCR 열 블록(100)은 그 상부 면에 반복 배치된 히터 유닛(10, 20), 그에 각각 포함된 2개의 히터 군(110, 120), 및 그에 각각 포함된 2개의 히터(111, 112, 121, 122)를 구비함으로써, PCR 수행을 위한 2 단계 온도, 즉 변성 단계의 2 온도 및 어닐링/연장 단계의 2 온도를 순차적으로 반복 제공할 수

있다. 예를 들어, 제1 히터(111)는 85°C 내지 105°C 범위 중 1 온도, 제2 히터(112)는 85°C 내지 105°C 범위 중 상기 제1 히터(111)의 온도와 동일하거나 상이한 1 온도를 유지하여 제1 히터 군(110)은 변성 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제3 히터(121)는 50°C 내지 80°C 범위 중 1 온도, 제4 히터(122)는 50°C 내지 80°C 범위 중 상기 제3 히터(121)의 온도와 동일하거나 상이한 1 온도를 유지하여 상기 제2 히터 군(120)은 어닐링/연장 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하여 상기 PCR 열 블록(100)은 제1 히터 유닛(10) 및 제2 히터 유닛(20)에서 PCR 수행을 위한 2 단계 온도를 순차적으로 반복 제공할 수 있다.

[63] 도 4에 따르면, 상기 PCR 열 블록(100)은 그 상부 표면에 반복 배치된 히터 유닛(10, 20), 그에 각각 포함된 3개의 히터 군(110, 120, 130), 및 그에 각각 포함된 1개의 히터(111, 121, 131)를 구비함으로써, PCR 수행을 위한 3 단계 온도, 즉 변성 단계의 1 온도, 어닐링 단계의 1 온도, 및 연장 단계의 1 온도를 순차적으로 반복 제공할 수 있다. 예를 들어, 제1 히터(111)는 85°C 내지 105°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 95°C를 유지하여 상기 제1 히터 군(110)은 변성 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제2 히터(121)는 40°C 내지 60°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 50°C를 유지하여 상기 제2 히터 군(120)은 어닐링 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제3 히터(131)는 50°C 내지 80°C 범위 중 1 온도, 바람직하게는 72°C를 유지하여 상기 제3 히터 군(130)은 연장 단계를 수행하기 위한 온도를 제공함으로써, 상기 열 블록(100)은 제1 히터 유닛(10) 및 제2 히터 유닛(20)에서 PCR 수행을 위한 3 단계 온도를 순차적으로 반복 제공할 수 있다.

[64] 도 5에 따르면, 상기 PCR 열 블록(100)은 그 상부 표면에 반복 배치된 히터 유닛(10, 20), 그에 각각 포함된 3개의 히터 군(110, 120, 130), 및 그에 각각 포함된 2개의 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)를 구비함으로써, PCR 수행을 위한 3 단계 온도, 즉 변성 단계의 2 온도, 어닐링 단계의 2 온도, 및 연장 단계의 2 온도를 순차적으로 반복 제공한다. 예를 들어, 제1 히터(111)는 85°C 내지 105°C 범위 중 1 온도, 제2 히터(112)는 85°C 내지 105°C 범위 중 상기 제1 히터(111)의 온도와 동일하거나 상이한 1 온도를 유지하여 상기 제1 히터 군(110)은 변성 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제3 히터(121)는 40°C 내지 60°C 범위 중 1 온도, 제4 히터(122)는 40°C 내지 60°C 범위 중 상기 제3 히터(121)의 온도와 동일하거나 상이한 1 온도를 유지하여 제2 히터 군(120)은 어닐링 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하고, 제5 히터(131)는 50°C 내지 80°C 범위 중 1 온도, 제6 히터(132)는 50°C 내지 80°C 범위 중 상기 제5 히터(131)의 온도와 동일하거나 상이한 1 온도를 유지하여 상기 제3 히터 군(130)은 연장 단계를 수행하기 위한 온도를 제공하여, 상기 PCR 열 블록(100)은 제1 히터 유닛(10) 및 제2 히터 유닛(20)에서 PCR 수행을 위한 3 단계 온도를 순차적으로 반복 제공할 수 있다.

[65] 도 2 내지 5와 같이, 일정 온도를 유지하는 2 이상의 히터(111, 112, 121, 122, 131, 132)가 PCR 열 블록(100) 상에 반복 배치됨으로써 시간당 온도 변화율을

크게 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 기존의 단일 히터 방식에 따르면, 시간당 온도 변화율이 초당 3°C 내지 7°C 범위 내에서 이루어지는 데 반해, 본 발명의 실시예에 따른 반복 배치 히터 구조에 의하면, 상기 히터들 간의 시간당 온도 변화율이 초당 20°C 내지 40°C 범위 내에서 이루어져 PCR 시간을 크게 단축할 수 있다. 본 발명의 실시예에 따른 반복 배치 히터 구조에 따르면, PCR의 변성 단계, 어닐링 단계 및 연장 단계(또는 상기 변성 단계 및 어닐링/변성 단계)에서 정확한 온도 제어가 가능하게 되고, 아울러 상기 히터들로부터 열을 공급받는 부위에서만 원하는 온도 또는 온도 범위를 유지하는 것이 가능하게 된다. 또한, 상기 PCR 열 블록(100) 상에 다양한 수의 히터 유닛(10, 20)을 반복 배치함으로써 PCR 순환 주기를 다양하게 구현할 수 있다. 예를 들어, 순환 주기를 10회로 하는 PCR에 적용하고자 하는 경우 상기 히터 유닛을 10회 반복 배치할 수 있다. 즉, 의도된 PCR 순환 주기를 고려하여 상기 PCR 열 블록(100) 상에 상기 히터 유닛을 10회, 20회, 30회, 40회, 50회 등으로 반복 배치할 수 있다. 아울러, 상기 히터 유닛을 미리 결정된 PCR 순환 주기의 절반의 수로 반복 배치할 수도 있다. 예를 들어, 순환 주기 20회로 하는 PCR에 적용하고자 하는 경우 상기 히터 유닛을 10회 반복 배치할 수 있다. 이 경우 시료 및 시약 용액은 이하 상세하게 설명될 PCR 반응부의 반응 채널 내에서 유입부로부터 유출부 방향으로 PCR 순환 주기를 10회 반복 실행하되, 뒤이어 반대로 유출부로부터 유입부 방향으로 PCR 순환 주기를 10회 반복 실행할 수 있다.

- [66] 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 PCR 열 블록(100) 및 상기 PCR 열 블록(100)에 반복 배치된 히터에 전력을 공급하도록 구현된 전력 공급부(200)를 도시한다. 구체적으로, 도 6의 상단은 상기 PCR 열 블록(100)의 수직 단면도를 도시하고, 도 6의 하단은 상기 PCR 열 블록(100)의 평면도를 도시한다. 도 6의 PCR 열 블록(100)은 10회 반복 배치된 히터 유닛을 포함하고, 상기 히터 유닛은 제1 히터 군 및 제2 히터 군을 포함하며, 상기 제1 히터 군 및 제2 히터 군은 각각 1개의 히터, 즉 제1 히터(110) 및 제2 히터(120)를 포함한다. 상기 전력 공급부(200)는 전력 공급원으로부터 상기 PCR 열 블록(100)에 전력을 공급하여 가열하는 모듈로서, 상기 각 히터들(110, 120)에 전력을 분배하도록 구현된 배선(210, 220)을 포함한다. 예를 들어, 도 6에 따르면, 상기 PCR 열 블록(100)의 상기 제1 배선(210)은 상기 제1 히터(110)에 전력을 공급하도록 연결되고, 상기 제2 배선(220)은 상기 제2 히터(120)에 전력을 공급하도록 연결되어 있다. 만약 상기 제1 히터(110)가 PCR 변성 단계 온도, 예를 들어 85°C 내지 105°C를 유지하고 상기 제2 히터(120)가 PCR 어닐링/연장 단계 온도, 예를 들어 50°C 내지 80°C를 유지하는 경우 상기 제1 배선(210)은 상기 전력 공급부(200)로부터 PCR 변성 단계 온도 유지를 위한 전력을 공급받고, 상기 제2 배선(220)은 상기 전력 공급부(200)로부터 PCR 어닐링/연장 단계 온도 유지를 위한 전력을 공급받을 수 있다. 상기 제1 배선(210) 및 상기 제2 배선(220)은 금, 은, 구리 등 전도성 재질로 구현될 수 있으나, 이에 제한되진 않는다.

[67]

[68] 도 7은 보상형 패턴이 적용되지 않은 개별 히터에 전력을 공급할 경우 발생하는 불균일한 방사형 열 분포를 보여주는 사진이고, 도 8은 PCR 열 블록 상에 보상형 패턴이 적용되지 않은 2 이상의 히터가 반복 배치된 상태에서 전력을 공급할 경우 개별 히터로부터 발생하는 불균일한 방사형 열 분포에 따른 인접 히터(111, 121) 간 불균일한 열 중첩을 보여주는 사진이다.

[69]

도 7에 따르면, 전체적인 테두리가 장방형으로 구현된 단일 히터가 전력 공급에 의해 발열할 때 방사형 열 분포가 형성된다. 일반적으로, 전체적인 테두리가 장방형으로 구현된 단일 히터는 전력 공급 후 일정 온도를 유지할 때 히터 중앙 영역에서 열 쏠림 현상이 발생하여 고온 발열하고, 히터 테두리 부분으로 갈수록 열 손실 현상이 발생하여 상기 히터 중앙 영역에 비해 테두리 부분이 저온 발열하게 된다. 이러한 불균일한 발열 현상으로 인해, 도 7과 같이 단일 히터 주변에서 방사형의 열 분포가 관찰된다. 이러한 방사형 열 분포는 장방형 히터들이 2 이상 반복 배치된 PCR 열 블록에서 인접 히터 간 열 중첩에 의한 열 불균일도를 증가시키는 원인을 제공한다. 도 8에 따르면, 제1 히터(111)와 제2 히터(121) 사이에 개별 히터로부터 발생하는 방사형 열 분포 현상으로 인해 제1 히터(111)와 제2 히터(121) 사이에 불균일한 열 중첩 현상이 생기는 것을 확인할 수 있다. 예를 들어, 장방형 히터의 폭이 약 4 밀리미터(mm)로 구현되고, 상기 인접 히터 간 거리가 약 8 밀리미터(mm)로 구현된 2 이상의 히터가 반복 배치된 PCR 열 블록에서, 위와 같은 불균일한 열 중첩 현상이 발생하는 것을 쉽게 확인할 수 있다. 이와 같은 불균일한 열 중첩 현상은 도 1 내지 4와 같이 2 이상의 히터가 반복적으로 이격 배치된 열 블록에서 각 히터가 유지해야 할 정확한 온도 생성을 방해하고, 아울러 각 히터에 대한 온도 제어를 어렵게 하며, 더 나아가 정확한 PCR 수행을 어렵게 하여 결과적으로 PCR 효율을 감소시키게 된다. 이러한 인접 히터 간 불균일한 열 중첩 현상에 의한 문제점을 해결하고자 인접 히터 간 거리를 충분히 확보하거나, 인접 히터 사이의 공간에 열 차단 물질 등을 처리할 수는 있지만, 이 경우 PCR 열 블록의 전체 크기가 커지게 되어 장치의 소형화 및 집적화가 어려워지고, 제조 공정이 복잡해져서 경제성이 확보되기 어렵다.

[70]

[71] 도 9는 보상형 패턴(1000)이 적용된 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)을 도시한다.

[72]

도 9에 따르면, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)은 개별 히터(111, 121)로부터 발생하는 방사형 열 분포에 따른 인접 히터 간 불균일한 열 중첩을 방지하기 위해 상기 히터(111, 121)의 적어도 일 부분의 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도를 조절하는 보상형 패턴(compensated pattern)(1000)을 구비한다. 상기 보상형 패턴(1000)은 장방형 히터의 적어도 일 부분의 형상, 재질, 크기, 배치 등을 변형함으로써 그 히터 부분의 저항 및 열

방출량을 조절하기 위한 가공된 패턴 구조를 말한다. 상기 보상형 패턴(1000)은 장방형 히터의 특징에 따라 다양하게 구현될 수 있는데, 예를 들어 상기 히터의 적어도 일 부분에 간극을 반복 형성하여 간극 패턴 또는 파장형 패턴을 구현하거나, 상기 히터의 적어도 일 부분의 재질을 다른 부분과 달리 구현하거나, 상기 히터의 적어도 일 부분의 크기를 다른 부분과 달리 구현하거나, 상기 히터의 적어도 일 부분의 단위 전극, 즉 히터 전극의 배치를 다른 부분과 달리 구현할 수 있다. 또한, 상기 보상형 패턴(1000)은 상기 히터의 전체 영역에 고르게 적용될 수 있지만, 경우에 따라 상기 히터의 일부 영역에만 국한하여 적용되거나, 반복 배치된 각 히터에 다르게 구현될 수도 있다. 한편, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 상기 보상형 패턴을 구비하는 히터는 상기 기판에 포토리소그래피(Photo lithography), 전기도금(Electro Plating), 섀도우 마스크(Shadow Mask) 및 증발 증착(Evaporator Deposition), 섀도우 마스크(Shadow Mask) 및 스퍼터 증착(Sputter Deposition), 잉크젯(Ink jet), 그라비아(Gravure), 그라비아-오프셋(Gravure-Offset), 스크린 인쇄(Screen Printing), CNC 공작 기계(computerized numerically controlled machine tool), 레이저 가공(Laser beam Machining), 및 방전 가공(Electric Discharge Machining)으로 구성된 군으로부터 선택되는 제조방법에 의해 구현될 수 있다.

[73]

[74] 도 10은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 히터(111)의 일 부분에 형성된 간극(1100)을 구비하는 보상형 패턴을 도시한다.

[75] 도 10에 따르면, 상기 보상형 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분에 간극(1100)을 반복 형성하여 간극 패턴에 따른 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다. 상기 간극(1100)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 형상을 변형한 것으로서, 함몰 영역 또는 돌출 영역 또는 틈(gap)과 같이 히터 형상의 가공 패턴을 의미한다. 도 10에 따르면, 상기 간극(1100)은 히터(111) 표면에서 다양하게 구현될 수 있는데, 식별번호 1100a는 볼록형 간극을 나타내고, 식별번호 1100b는 오목형 간극을 나타내고, 식별번호 1100c는 틈새형 간극을 나타낸다. 또한, 상기 간극(1100)은 히터 테두리 표면에서 반복적으로 구현되어 파장형으로 구현될 수 있는데, 이는 상기 히터(111)의 테두리 표면이 연속적인 함몰 영역과 돌출 영역의 반복 형태로 구현된 것이다. 따라서, 상기 다양한 간극(1100) 구조에 의해 히터 표면의 형상이 다양하게 구현될 수 있고, 그로 인해 상기 히터의 적어도 일 부분의 저항을 조절되어 열 방출량을 조절될 수 있다. 한편, 상기 간극(1100)은 상기 히터(111)의 적어도 일 표면에 배치되어 다양한 규격으로 구현될 수 있다. 예를 들어, 상기 간극(1100)의 크기 또는 간극의 폭은 각 히터(111)의 임의의 표면에서 다양하게 구현될 수 있다. 이와 같이, 히터의 2 이상의 표면에서 상기 간극(1100)의 규격을 조절함으로써 상기 히터의 적어도 2 이상의 영역의 저항을 각각 조절할 수 있고, 그 결과 열 방출량을 조절하여 각 히터의 균일한 열 분포를 구현할 수 있다.

[76]

[77] 도 11은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 히터(111)의 일 부분에 형성된 간극의 폭(line width)을 달리 구현한 보상형 패턴을 도시한다.

[78] 상기 보상형 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분에 반복 형성된 간극의 선폭(line width)을 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다. 위와 같이 선폭에 따른 저항 조절로 열 균일도가 조절된 보상형 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 선폭을 달리 구현함으로써 상기 히터의 적어도 일 부분의 저항을 변형시켜 히터의 각 위치별 발열량을 조절하기 위한 가공 형태를 의미한다. 상기 선폭이 보상된 패턴은 상기 히터 표면에 간극이 반복 형성된 구조에서 다양하게 구현될 수 있다. 상기 선폭이 보상된 패턴은 상기 히터(111)의 전체 영역에 고르게 적용될 수 있지만, 경우에 따라 상기 히터(111)의 일부 영역에 적용될 수도 있다. 한편, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)은 상기 히터(111)의 적어도 2 이상의 표면에 형성된 임의의 구획 구간에서 상이한 선폭으로 구현될 수 있다. 즉, 상기 히터 표면 중 다수의 구획 구간(A, B, C)을 정하고, 각 구획 구간(A, B, C)에 해당하는 히터 영역의 발열량을 조절할 수 있다. 예를 들어, 도 11에 따른 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)에 있어서, 구획 구간(A, B, C)의 블록형 간극의 선폭을 비교해 보면, 구획 구간 A 및 C는 구획 구간 B에 비해 선폭이 좁게 구현되어 상대적으로 높은 저항을 갖게 되어 발열량이 높아지는데 반해, 구획 구간 B는 구획 구간 A 및 C에 비해 선폭이 넓게 구현되어 상대적으로 낮은 저항을 갖게 되어 발열량이 낮아지게 된다. 위와 같이, 히터 표면에 구현된 간극의 선폭을 조절함으로써, 기존의 장방형 히터 중 온도가 높은 부분은 저항을 낮게, 온도가 높은 부분은 저항을 높게 조절하고 열 방출량을 조절하여 전체적인 온도의 불균일도를 개선할 수 있다.

[79]

[80] 도 12는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 히터(111)의 일 부분의 두께를 달리 구현한 보상형 패턴을 도시한다.

[81] 상기 보상형 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 두께를 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다. 위와 같이, 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 두께가 보상된 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 두께를 다르게 구현함으로써 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 저항을 변형시켜 상기 히터(111)의 위치별 발열량을 조절하기 위한 가공 형태를 의미한다. 예를 들어, 상기 두께가 보상된 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 표면에 블록 면과 오목 면을 연속적으로 반복 배치하되 그 블록 면 또는 오목 면의 두께를 달리 구현하는 것일 수 있고, 그 두께는 약 0.001 마이크로미터(μm) 내지 1 밀리미터(mm) 범위 내에서 구현되지만, 이에 제한되진 않는다. 또한, 상기 두께가 보상된 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 전체 영역에 고르게 적용될 수 있지만, 경우에 따라 상기 히터의

일부 영역에 적용될 수도 있다. 한편, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)은 상기 히터(111)의 적어도 2 이상의 표면에 형성된 임의의 구획 구간에서 상이한 두께로 구현될 수 있다. 즉, 상기 히터 표면 중 다수의 구획 구간(A, B, C)을 정하고, 각 구획 구간(A, B, C)에 해당하는 히터 영역의 발열량을 조절할 수 있다. 예를 들어, 도 12에 따른 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)에 있어서, 구획 구간(A, B, C)의 블록 면의 두께를 비교해 보면, 구획 구간 A 및 C는 구획 구간 B에 비해 두께가 얇게 구현되어 상대적으로 높은 저항을 갖게 되어 발열량이 높아지는데 반해, 구획 구간 B는 구획 구간 A 및 C에 비해 두께가 두껍게 구현되어 상대적으로 낮은 저항을 갖게 되어 발열량이 낮아진다. 위와 같이, 히터의 임의의 일 부분의 두께를 조절함으로써, 기존의 장방형 히터 중 온도가 높은 부분은 저항을 낮게, 온도가 높은 부분은 저항을 높게 조절하고 열 방출량을 조절하여 전체적인 온도의 불균일도를 개선할 수 있다.

[82]

[83] 도 13은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 재질을 달리 구현한 보상형 패턴을 도시한다.

[84] 상기 보상형 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 재질을 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다. 위와 같이 재질이 보상된 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 재질을 다르게 구현함으로써 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 저항을 변형시켜 히터의 위치별 발열량을 조절하기 위한 가공 형태를 의미한다. 상기 히터의 재질은 크롬, 알루미늄, 구리, 철, 은, 및 탄소로 구성된 군으로부터 1 이상 선택되거나 이를 기초로 하는 복합 재료(composite materials)일 수 있으며, 전도성을 가진 물질이라면 특별히 제한되지 않는다. 또한, 상기 재질이 보상된 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 전체 영역에 고르게 적용될 수 있지만, 경우에 따라 상기 히터의 일부 영역에 적용될 수 있음은 물론이다. 한편, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)은 상기 히터(111)의 적어도 2 이상의 표면에 형성된 임의의 구획 구간에서 상이한 재질로 구현될 수 있다. 즉, 상기 히터 표면 중 다수의 구획 구간(A, B, C)을 정하고, 각 구획 구간(A, B, C)에 해당하는 히터 영역의 발열량을 조절할 수 있다. 예를 들어, 도 13에 따른 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)에 있어서, 구획 구간(A, B, C)의 블록 면(또는 블록형 간극)의 재질을 비교해 보면, 구획 구간 A 및 C는 구획 구간 B에 비해 비저항이 높은 재질로 구현되어 상대적으로 높은 저항을 갖게 되어 발열량이 높아지는데 반해, 구획 구간 B는 구획 구간 A 및 C에 비해 비저항이 낮은 재질로 구현되어 상대적으로 낮은 저항을 갖게 되어 발열량이 낮아진다. 위와 같이, 히터의 임의의 일 부분의 재질을 조절함으로써, 기존의 장방형 히터 중 온도가 높은 부분은 저항을 낮게, 온도가 높은 부분은 저항을 높게 조절하고 열 방출량을 조절하여 전체적인 온도의 불균일도를 개선할 수 있다.

[85]

[86] 도 14는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록에 있어서, 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 배치를 달리 구현한 보상형 패턴을 도시한다.

[87]

상기 보상형 패턴(1000)은 상기 히터(111)의 적어도 일 부분의 배치를 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것일 수 있다. 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)은 상기 히터(111)의 일 표면 및 이에 대응하는 타 표면에 간극(1100), 예를 들어 볼록형 간극 또는 오목형 간극이 배치되되, 서로 쌍 방향 지그재그 방식으로 구현된 히터 전극(1110a, 1110b)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 간극(1100)은 상기 히터 전극(1110a, 1110b)의 대응하는 표면에 지그재그 방식으로 구현될 수 있다. 또한, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)은 장방형 히터 전극(1500), 및 상기 장방형 히터 전극(1500)으로부터 이격 배치되되 상기 보상형 패턴(1000)이 적용된 히터 전극(1110a, 1110b)을 포함할 수 있다. 더 나아가, 도 14와 같이, 상기 장방형 히터 전극(1500)은 상기 히터(111)의 중심 영역에 배치되되, 상기 보상형 패턴이 적용된 히터 전극(1110a, 1110b)은 상기 장방형 히터 전극(1500)으로부터 양 방향으로 이격 배치되되 상기 보상형 패턴이 적용된 히터 전극(1110a, 1110b)은 상기 장방형 히터 전극(1500) 위치를 기준으로 대칭으로 구현될 수 있다. 즉, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)은 보상형 패턴(1000)을 포함하는 히터 전극만으로 구현될 수도 있지만, 필요에 따라 보상형 패턴(1000)이 적용된 히터 전극과 기존의 장방형 히터 전극(1500)을 다양하게 조합한 상태로 구현됨으로써, 기존의 장방형 히터 중 온도가 높은 부분은 저항을 낮게, 온도가 높은 부분은 저항을 높게 조절하고 열 방출량을 조절하여 전체적인 온도의 불균일도를 개선할 수 있다.

[88]

[89] 도 15는 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록으로부터 발생하는 열 분포를 보여주는 사진이고, 도 16은 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록으로부터 발생하는 열 분포를 보여주는 그래프이다.

[90]

기존의 장방형 히터 대비 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록(100)의 열 균일도 개선 효과를 확인하기 위하여, 도 11과 같은 PCR 열 블록을 제작하였다. 상기 PCR 열 블록은 볼록형 간극과 오목형 간극이 연속적으로 반복 배치된 보상형 패턴을 구비하는 히터가 기판 상에 반복 배치되도록 구현하였다. 또한, 상기 PCR 열 블록은 구획 구간 A 및 C의 볼록형 간극의 선폭 및 간극 간 거리를 모두 200 마이크로미터(μm)로 구현하고, 구획 구간 B의 볼록형 간극의 선폭 및 간극 간 거리를 모두 400 마이크로미터(μm)로 구현하여 히터의 각 구획 구간의 발열량을 조절하였다. 이 경우 볼록형 간극의 선폭 및 간극 간 거리는 약 50 나노미터(nm) 내지 1 밀리미터(mm) 범위 내에서 조절 가능한 것으로 확인되었고, 상기 히터의 두께는 10 마이크로미터(μm)로 구현하되, 약 10 나노미터(nm) 내지 1 밀리미터(mm) 범위 내에서 조절 가능한 것으로

확인되었다.

- [91] 도 15에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 열 블록의 열 분포는 도 7 내지 8에 따른 기존 장방형 히터의 열 분포에 비해 상당히 균일하게 나타난 것을 확인할 수 있다. 아울러, 도 16에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 열 블록의 제1 히터(111) 및 이에 인접하는 제2 히터(121)의 온도 피크 점(원형 점선)이 뚜렷하게 구별되는 것으로 보아 불균일한 열 중첩 현상이 상당히 감소하여 열 균일도가 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이를 토대로, 위와 같은 보상형 패턴이 적용된 히터에 전력을 공급한 후 일정 온도를 유지한 상태에서 확인하면, 히터의 중앙 영역과 테두리 부분의 온도 차이가 감소하여 전체적으로 균일한 열 분포가 형성되었음을 확인할 수 있었다. 또한, 위와 같은 보상형 패턴이 적용된 히터들이 2 이상 반복 배치된 PCR 열 블록에 전력을 공급한 후 일정 온도를 유지한 상태에서 확인하면, 인접 히터 간 열 균일도가 상당히 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 더 나아가, 위와 같은 보상형 패턴이 적용된 히터가 반복 배치된 PCR 열 블록을 통해 2 단계 PCR(2-step PCR)을 수행한 결과, 인접하는 2개의 히터는 각각 변성 단계 온도(95 °C) 및 어닐링/연장 단계 온도(72 °C)를 정확하게 유지하는 것으로 파악되었다. 위와 같이, 본 발명의 제1 실시예에 따른 PCR 열 블록을 사용하면, 온도의 정밀 제어가 가능하여 PCR 과정을 통해 PCR 효율을 상당히 증가시킬 수 있고 더 나아가 제어 모듈을 단순화 및 집적화할 수 있어서 PCR 장치의 소형화 구현이 가능하고, 제조 공정이 단순해져서 경제성이 더욱 확보될 것으로 예상된다.

[92]

- [93] 도 17은 PCR 열 블록과 열 접촉하는 PCR 반응부(300)를 도시한다.

- [94] 도 17에 따르면, 상기 PCR 반응부(300)는 상기 PCR 열 블록(100)에 접촉 또는 부착되는 제1 판(310), 상기 제1 판(310) 상에 배치되고 상기 1 이상의 반응 채널(303)을 구비하는 제2 판(320), 및 상기 제2 판(320) 상에 배치되고 상기 1 이상의 반응 채널(303)의 양 말단에 각각 유입부(304) 및 유출부(305)를 구비하는 제3 판(330)을 포함할 수 있다. 이와 같이, 상기 PCR 반응부(300)를 박막 형상의 적층 구조로 구현하여 제조 방식이 간단하고, 비용을 크게 낮출 수 있으며, 상기 PCR 열 블록(100)과 열 교환이 매우 용이하다. 상기 PCR 반응부(300)는 다양한 재질로 구현될 수 있지만, 전체적으로 플라스틱 재질의 박막 형상으로 구현되는 것이 바람직하다. 또한, 상기 PCR 반응부(300)는 광 투과성 재질로 구현될 수 있고, 만약 형광(Fluorescence), 인광(Phosphorescence), 발광(Luminescence), 라만 분광법(Raman Spectroscopy), 표면 강화 라만 산란 (Surface Enhanced Raman Scattering), 및 표면 플라스몬 공명 (Surface Plasmon Resonance)와 같은 광학 측정 기반의 실시간(real-time) PCR 용도로 사용될 경우 상기 PCR 반응부(300)는 광 투과성 재질로 구현되는 것이 바람직하다.

- [95] 상기 제1 판(310)은 상기 PCR 열 블록(100)과 접촉 또는 부착되어 상기 PCR 열 블록(100)으로부터 열을 공급받는다. 상기 제1 판(310)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(310)의 상단 면은 친수성 물질(도시되지 않음)이 처리될 수 있고, 이는 PCR을 원활하게 수행할 수 있도록 한다. 상기 친수성 물질의 처리에 의해 상기 제1 판(310) 상에 친수성 물질을 포함하는 단일 층이 형성될 수 있다. 상기 친수성 물질은 다양한 물질일 수 있으나, 바람직하게는 카르복시기(-COOH), 아민기(-NH₂), 히드록시기(-OH), 및 술포기(-SH)로 구성된 군으로부터 선택되는 것일 수 있고, 상기 친수성 물질의 처리는 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행할 수 있다.

- [96] 상기 제2 판(320)은 상기 제1 판(310) 상에 배치된다. 상기 제2 판(320)은 1 이상의 반응 채널(303)을 포함한다. 상기 1 이상의 반응 채널(303)은 상기 제3 판(330)에 형성된 유입부(304) 및 유출부(305)에 대응되는 부분과 연결된다. 따라서, 상기 1 이상의 반응 채널(303)에 증폭하고자 하는 표적 샘플 용액이 도입된 후 PCR 반응이 진행된다. 또한, 상기 1 이상의 반응 채널(303)은 사용 목적 및 범위에 따라 2 이상 존재할 수 있고, 도 1에 따르면, 5개의 반응 채널(303)이 예시되고 있다. 또한, 상기 제2 판(320)은 다양한 재질로 구현될 수 있으나, 바람직하게는 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 사이클로올레핀 코폴리머(cycloolefin copolymer, COC), 폴리아미드(polyamide, PA), 폴리에틸렌(polyethylene, PE), 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리페닐렌 에테르(polyphenylene ether, PPE), 폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리옥시메틸렌(polyoxymethylene, POM), 폴리에테르에테르케톤(polyetheretherketone, PEEK), 폴리테트라프로오르에틸렌(polytetrafluoroethylene, PTFE), 폴리비닐클로라이드(polyvinylchloride, PVC), 폴리비닐리덴 플루오라이드(polyvinylidene fluoride, PVDF), 폴리부틸렌테레프탈레이트(polybutyleneterephthalate, PBT), 불소화에틸렌프로필렌(fluorinated ethylenepropylene, FEP), 퍼플로로알콕시알칸(perfluoralkoxyalkane, PFA), 및 그의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 열 가소성 수지 또는 열 경화성 수지 재질일 수 있다. 또한, 상기 제2 판(320)의 두께는 다양할 수 있으나, 0.01 μ m 내지 5 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 반응 채널(303)의 폭과 길이는 다양할 수 있으나, 바람직하게는 상기 반응 채널(303)의 폭은 0.001 mm 내지 10 mm에서 선택되고, 상기 반응 채널(303)의 길이는 1 mm 내지 400 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 제2 판(320)의 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 수행될 수 있다.

- [97] 상기 제3 판(330)은 상기 제2 판(320) 상에 배치된다. 상기 제3 판(330)은 상기 제2 판(320)에 형성된 1 이상의 반응 채널(303) 상의 일 영역에 형성된 유입부(304) 및 다른 일 영역에 형성된 유출부(305)를 구비한다. 상기 유입부(304)는 증폭하고자 하는 핵산을 포함하는 표적 샘플 용액이 유입되는 부분이다. 상기 유출부(305)는 PCR이 종료된 후 상기 표적 샘플 용액이 배출되는 부분이다. 따라서, 상기 제3 판(330)은 상기 제2 판(320)에 형성된 1 이상의 반응 채널(303)을 커버하되, 상기 유입부(304) 및 상기 유출부(305)는 상기 1 이상의 반응 채널(303)의 유입부 및 유출부 역할을 수행하게 된다. 또한, 상기 제3 판(330)은 다양한 재질로 구현될 수 있지만, 바람직하게는 폴리디메틸실옥산(polydimethylsiloxane, PDMS), 사이클로올레핀코폴리머(cycle olefin copolymer, COC), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리프로필렌카보네이트(polypropylene carbonate, PPC), 폴리에테르설폰(polyether sulfone, PES), 및 폴리에틸렌테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 및 그의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 재질일 수 있다. 또한, 상기 유입부(304)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 0.001 mm 내지 10 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유출부(305)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 0.001 mm 내지 10 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유입부(304) 및 관통 개구 유출부(305)는 별도의 커버 수단(도시되지 않음)을 구비하여, 상기 1 이상의 반응 채널(303) 내에서 표적 샘플 용액에 대한 PCR이 진행될 때 표적 샘플 용액이 누출되는 것을 방지할 수 있다. 상기 커버 수단은 다양한 형상, 크기 또는 재질로서 구현될 수 있다. 또한, 상기 제3 판(330)의 두께는 다양할 수 있으나, 바람직하게는 0.001 mm 내지 10 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유입부(304) 및 유출부(305)는 2 이상 존재할 수 있다.
- [98] 상기 PCR 반응부(300)는 기계적 가공을 통해 상기 유입부(304) 및 상기 유출부(305)를 형성하여 상기 제3 판(330)을 제공하는 단계; 상기 제3 판(330)의 하부 면과 대응되는 크기를 갖는 판재에 상기 제3 판(330)의 유입부(304)와 대응되는 부분으로부터 상기 제3 판(330)의 유출부(305)에 대응되는 부분까지 기계적 가공을 통해 1 이상의 반응 채널(303)을 형성하여 제2 판(320)을 제공하는 단계; 상기 제2 판(320)의 하부 면과 대응되는 크기를 갖는 판재의 상부 면에 표면 처리 가공을 통해 친수성 물질(도시되지 않음)로 구현된 표면을 형성하여 제1 판(310)을 제공하는 단계; 및 상기 제3 판(330)의 하부 면을 상기 제2 판(320)의 상부 면에 접합 공정을 통해 접합하고, 상기 제2 판(320)의 하부 면을 상기 제1 판(310)의 상부 면에 접합 공정을 통해 접합하는 단계를 포함하는 방법에 의해 쉽게 제조될 수 있다.

[99] 상기 제3 판(330)의 유입부(304) 및 유출부(305), 및 상기 제2 판(320)의 1 이상의 반응 채널(303)은 사출성형(injection molding), 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(310) 표면의 친수성 물질은 산소 및 아르곤 플라즈마 처리, 코로나 방전 처리, 및 계면 활성제 도포로 구성된 군으로부터 선택되는 방법에 의해 처리될 수 있고 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행될 수 있다. 또한, 상기 제3 판(330)의 하부 면과 상기 제2 판(320)의 상부 면, 및 상기 제2 판(320)의 하부 면과 상기 제1 판(310)의 상부 면은 열 접합(Thermal bonding), 초음파 용착(Ultrasonic Welding), 용매 접합(Solvent Bonding), 열판용착(Hot Plate Welding), UV 접합(Ultraviolet Bonding), 및 프레스 접합(Press Bonding) 공정에 의해 접착될 수 있고 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행될 수 있다. 상기 제3 판(330)과 제2 판(320) 사이 및 상기 제2 판(320)과 제1 판(310) 사이에는 양면 접착제 또는 열가소성 수지 또는 열경화성 수지(도시되지 않음)가 처리될 수 있다.

[100]

[101] 도 18은 PCR 열 블록(100)과 PCR 반응부(300)가 일체형으로 구현된 PCR 칩을 도시하고, 도 19는 PCR 열 블록(100)과 PCR 반응부(300)가 별개형으로 구현된 PCR 장치를 도시한다.

[102]

본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴을 구비하는 PCR 열 블록은 다양한 PCR 모듈 또는 장치에 적용될 수 있다. 예를 들어, 상기 보상형 패턴을 구비하는 PCR 열 블록은 PCR 용액을 수용하는 PCR 반응부에 장착되어 PCR 칩으로 구현될 수 있고(칩 내장형, 도 18), 상기 PCR 반응부를 구비하는 별개 PCR 칩과 열 접촉 또는 분리하도록 구현된 PCR 장치로 구현될 수 있다(칩 외장형, 도 19). 상기 칩 내장형의 경우 상기 보상형 패턴을 구비하는 PCR 열 블록의 상부 면은 PCR 용액의 전기 분해를 방지하기 위한 절연막(insulator, 306)이 형성될 수 있고, 상기 칩 외장형의 경우 상기 보상형 패턴을 구비하는 PCR 열 블록의 상부 면은 히터 보호용 절연막(insulator, 307)이 형성될 수 있다. 상기 절연막(306, 307)의 두께는 약 20 마이크로미터(μm)로 구현되는 것이 바람직하지만, 약 50 나노미터(nm) 내지 1 밀리미터(mm) 범위 내에서 구현될 수 있음이 확인되었다. 상기 절연막은 PCR 용액의 전기 분해를 방지하기 위한 다양한 재질로 구현될 수 있는데, 예를 들어 산화물(Oxide), 질화물(Nitride), 열경화성 수지, 열가소성 수지, 및 UV 경화 수지로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 구체적으로, 상기 산화물은 실리콘 산화물(SiO_2), 티타늄 산화물(TiO_2), 알루미늄 산화물(Al_2O_3), 하프늄 산화물(HfO_2), 바나듐 산화물(V_2O_5), 지르코늄 산화물(ZrO_2), 안티모니 산화물(Sb_2O_3), 및 이트륨 산화물(Y_2O_3)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 상기 질화물은 실리콘 질화물(Si_3N_4), 티타늄 질화물(TiN), 알루미늄 질화물(AlN), 탄탈륨 질화물(Ta_3N_5), 하프늄 질화물(HfN), 바나듐 질화물(VN), 및 지르코늄 질화물(ZrN)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고,

상기 열경화성 수지는 페놀 수지(Phenol Resin), 에폭시 수지(Epoxy Resin), 요소 수지(Urea Resin), 멜라민 수지(Melamine Resin), 알키드 수지(Alkyd Resin), 폴리에스테르 수지(Polyester Resin), 아닐린(Aniline), 폴리이미드(Polyimide), 및 실리콘 수지(Silicone Resin)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 상기 열가소성 수지는 폴리에틸렌(Polyethylene), 폴리염화비닐수지(Polyvinyl chloride Resin), 폴리스틸렌(Polystyrene), 폴리아미드 수지(Polyamide Resin), 폴리 4불화 에틸렌(Polytetrafluorethylene), 및 폴리프로필렌(Polypropylene)으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있으며, 상기 UV 경화 수지는 에폭시 아크릴레이트(Epoxy Acrylate), 폴리 에스테르 아크릴레이트(Polyester Acrylate), 우레탄 아크릴레이트(Urethane Acrylate), 폴리 부타디엔 아크릴레이트(Polybutadiene Acrylate), 실리콘 아크릴레이트(Silicone Acrylate), 및 알킬 아크릴레이트(Alkyl Acrylate)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 한편, 상기 절연막은 상기 PCR 열 블록의 상부 면에 포토리소그래피(Photo lithography), 전기도금(Electro Plating), 새도 마스크(Shadow Mask) 및 증발 증착(Evaporator Deposition), 새도 마스크(Shadow Mask) 및 스퍼터 증착(Sputter Deposition), 잉크젯(Ink jet), 그라비아(Gravure), 그라비아-오프셋(Gravure-Offset), 및 스크린 인쇄(Screen Printing)로 구성된 군으로부터 선택되는 제조방법에 의해 구현될 수 있다.

[103]

[104] 도 20은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100)을 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 PCR을 도시한다.

[105] 도 20에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치는 PCR 반응부(300), 전력 공급원(400) 및 펌프(500)를 포함한다. 구체적으로, 상기 PCR 반응부(300)는 상기 PCR 열 블록 상에 접촉된다.

[106] 상기 전력 공급원(400)은 상기 전력 공급부(200)에 전력을 공급하기 위한 모듈로서, 상기 전력 공급부(200)의 제1 배선(210) 및 제2 배선(220)과 각각 연결될 수 있다. 예를 들어, PCR 수행시 상기 전력 공급원(400)의 제1 전력 포트(도시되지 않음)는 상기 제1 배선(210)과 전기적으로 연결되고, 상기 전력 공급원(400)의 제2 전력 포트(도시되지 않음)는 상기 제2 배선(220)과 전기적으로 연결된다. 뒤이어, PCR 수행을 위한 사용자 지시가 있는 경우 상기 전력 공급원(400)은 상기 제1 배선(210) 및 상기 제2 배선(220)에 각각 전력을 공급하여 상기 PCR 열 블록의 제1 히터 및 제2 히터를 신속히 가열할 수 있고, 각 히터들이 미리 결정된 온도에 도달하게 되면 전력 공급량을 제어하여 상기 미리 결정된 온도를 유지토록 한다. 예를 들어, 상기 미리 결정된 온도는 상기 제1 히터에서는 PCR 변성 단계 온도(85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C) 및 상기 제2 히터에서는 PCR 어닐링/연장 단계 온도(50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C)이거나, 또는 상기 제1 히터에서는 PCR 어닐링/연장 단계 온도(50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C) 및 상기 제2 히터에서는 PCR 변성 단계 온도(85°C 내지

105°C, 바람직하게는 95°C)일 수 있다.

- [107] 상기 펌프(500)는 상기 PCR 반응부(300)의 1 이상의 반응 채널(303) 내에서 유동하는 유체의 유량 및 유속을 제어하기 위한 모듈로서, 양압 펌프 또는 음압 펌프일 수 있고, 예를 들어 실린지(syringe) 펌프일 수 있다. 상기 펌프(500)는 상기 반응 채널(303)의 일 부분에 구동가능하게 배치될 수 있으나, 바람직하게는 상기 반응 채널(303)의 양 말단에 형성된 유입부(304) 및/또는 유출부(305)에 연결 배치된다. 상기 펌프(500)가 상기 유입부(304) 및/또는 유출부(305)에 연결 배치된 경우 펌프 역할을 수행할 뿐만 아니라 상기 유입부(304) 및/또는 유출부(305)를 통해 표적 샘플 용액이 새어 나오는 것을 방지하는 마개 역할을 수행할 수도 있다. 또한, 상기 반응 채널(303) 내에서 유동하는 유체, 즉 표적 샘플 용액의 유량 및 유속을 일 방향으로 제어하고자 하는 경우 상기 펌프(500)는 상기 유입부(304) 및 상기 유출부(305) 중 어느 하나에만 연결 배치되고, 남은 하나에는 일반적인 마개가 밀봉 연결될 수 있고, 상기 반응 채널(303) 내에서 유동하는 유체, 즉 표적 샘플 용액의 유량 및 유속을 양 방향으로 제어하고자 하는 경우에는 상기 펌프(500)는 상기 유입부(304) 및 상기 유출부(305) 모두에 연결 배치될 수 있다.
- [108] 상기 PCR 반응부(300), 상기 전력 공급원(400) 및 상기 펌프(500)를 포함하는 PCR 장치 내에서 PCR 용액의 핵산 증폭 반응은 일 실시예로서, 아래와 같은 단계를 통해 수행될 수 있다.
- [109] 1. 원하는 이중 가닥 표적 DNA, 증폭하고자 하는 특정 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드 프라이머, DNA 중합효소, 삼인산화데옥시리보뉴클레오타이드(deoxyribonucleotide triphosphates, dNTP), PCR 반응 완충액(PCR reaction buffer)를 포함하는 PCR 용액을 준비한다.
- [110] 2. 상기 PCR 용액을 PCR 반응부(300)에 도입한다. 이 경우 상기 PCR 용액은 상기 유입부(304)를 통해 상기 PCR 반응부(300) 내부의 반응 채널(303)에 배치된다.
- [111] 3. 상기 전력 공급부(200), 구체적으로 제1 배선(210) 및 제2 배선(220)이 상기 전력 공급원(400)과 각각 연결되도록 하고, 상기 PCR 반응부(300)의 상기 유입부(304) 및 상기 유출부(305)를 펌프(500)와 밀봉 연결한다.
- [112] 4. 상기 전력 공급부(400)에 전력 공급 지시를 하여 상기 제1 배선(210) 및 상기 제2 배선(220)을 통해 상기 제1 히터 및 상기 제2 히터를 발열시키고, 특정 온도, 예를 들어 제1 히터의 경우 PCR 변성 단계 온도(95°C) 및 제2 히터의 경우 PCR 어닐링/연장 단계 온도(72°C)를 유지한다.
- [113] 5. 상기 유입부(304)와 연결된 펌프(500)에 의해 양압이 제공되거나 또는 상기 유출부(305)와 연결된 펌프(500)에 의해 음압이 제공되면 상기 표적 샘플 용액은 상기 반응 채널(303) 내부에서 수평 방향으로 유동하도록 한다. 이 경우 상기 PCR 용액의 유량 및 유속은 상기 펌프(500)에 의해 제공되는 양압 또는 음압의 세기를 조절하여 제어될 수 있다.

- [114] 상기 단계들을 수행함으로써, 상기 PCR 용액은 상기 반응 채널(303)의 유입부(304) 말단으로부터 유출부(305) 말단까지 상기 제1 히터의 상측 대응 부분 및 상기 제2 히터의 상측 대응 부분을 길이 방향으로 이동하면서 PCR을 수행한다. 도 20에 따르면, 상기 PCR 용액은 상기 제1 히터 및 상기 제2 히터를 포함하는 히터 유닛이 10회 반복 배치된 열 블록(100)으로부터 열을 공급받아 상기 제1 히터의 상측 대응 부분에서 PCR 변성 단계 및 상기 제2 히터의 상측 대응 부분에서 PCR 어닐링/연장 단계를 거치면서 10회 PCR 순환 주기를 완료하게 된다. 뒤이어, 선택적으로, 상기 PCR 용액은 상기 반응 채널(303)의 유출부(305) 말단으로부터 유입부(304) 말단까지 상기 제1 히터의 상측 대응 부분 및 상기 제2 히터의 상측 대응 부분을 길이 방향으로 역 이동하면서 PCR을 재수행할 수 있다.
- [115]
- [116] 도 21은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100), 광원(150) 및 광 검출부(600)를 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 광학적 실시간 PCR을 도시한다.
- [117] 도 21에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치는 광 투과성 재질의 PCR 반응부(300) 및 이를 포함하되 제1 히터(110) 및 제2 히터(120) 사이에 광원(150)이 배치된 열 블록(100), 전력 공급부(400), 펌프(500) 및 광 검출부(600)를 포함한다.
- [118] 도 21에 따른 PCR 반응부(300)은 광 투과성 재질로 구현되고, 상기 PCR 열 블록(100)의 제1 히터(110) 및 제2 히터(120) 사이에 광원(150)이 배치되는 것을 특징으로 한다. 또한, 상기 PCR 장치는 상기 광원(150)으로부터 방출되는 광을 검출하기 위한 광 검출부(600)를 더 포함한다. 따라서, 상기 PCR 장치는 PCR 수행시 핵산 증폭 과정을 실시간(real-time)으로 측정 및 분석할 수 있다. 이 경우 상기 PCR 용액은 별도의 형광 물질이 더 첨가될 수 있고, 이는 PCR 산물의 생성에 따라 특정 파장의 광에 의해 발광함으로써 측정 및 분석 가능한 광 신호를 유발하게 된다. 상기 광원(150)은 수은 아크 램프(Mercury Arc Lamp), 크세논 아크 램프(Xenon Arc Lamp), 텅스텐 아크 램프(Tungsten Arc Lamp), 금속 할라이드 아크 램프(Metal Halide Arc Lamp), 금속 할라이드 광섬유(Metal Halide fiber), 및 LED(Light Emitting Diodes)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 또한, 상기 광원(150)의 파장은 약 200 나노미터(nm) 내지 1300 나노미터(nm) 범위 내에서 선택될 수 있고, 다중 광원을 이용하거나, 필터를 이용하여 다중 파장으로 구현될 수 있다. 또한, 상기 광 검출부(600)은 CCD(Charge-coupled Device), CID(Charge-injection Device), CMOS(Complementary-metal-oxide-semiconductor Detector), 및 PMT(Photo Multiplier Tube)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 광원(150)은 상기 제1 히터(110) 및 제2 히터(120) 사이의 공간에 배치될 수 있다. 또한, 상기 광원(150)은 상기 광원(150)으로부터 방출되는 광을

포집하는 렌즈(도시되지 않음) 및 특정 파장 대의 광을 여과하는 광 필터(도시되지 않음)와 구동가능하게 연결 배치될 수 있다.

[119]

[120] 도 21에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치에 의해 핵산 증폭 반응이 실시간(real-time)으로 측정되는 단계를 확인할 수 있다. 예를 들어, PCR 용액은 상기 반응 채널(303) 내에서 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분(301) 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분(302)을 연이어 통과하면서 PCR 변성 단계 및 PCR 어닐링/연장 단계를 수행하는데, 이 경우 PCR 용액은 상기 제1 히터(110)와 상기 제2 히터(120) 사이, 및 상기 제1 히터(110)와 상기 제2 히터(120)를 포함하는 히터 유닛 사이에서 상기 광원(150)의 상측 대응 부분을 통과하게 된다. PCR 용액이 상기 광원(150)의 상측 대응 부분을 통과할 때 유체 제어를 통해 상기 PCR 용액의 유속을 느리게 하거나 잠시 정지 상태로 유지한 후 상기 광원(150)으로부터 광을 방출시키고, 상기 방출된 광은 상기 광 투명한 PCR 반응부(300), 구체적으로 상기 반응 채널(330)을 통과하고, 상기 반응 채널(330) 내의 핵산 증폭에 의해 발생하는 광 신호를 상기 광 검출부(600)가 측정 및 분석할 수 있다. 따라서, PCR 각 순환 주기가 진행되는 동안 상기 반응 채널(303) 내에서 (형광 물질이 결합된) 핵산의 증폭에 의한 반응 결과를 실시간(real-time)으로 모니터링함으로써 표적 핵산의 양을 실시간(real-time)으로 측정 및 분석할 수 있다.

[121]

[122] 도 22 내지 25는 도 12 내지 16의 PCR 열 블록과 열 접촉하는 다른 유형의 PCR 반응부(900)를 도시한다.

[123] 도 22 내지 25에 따른 PCR 반응부(900)는 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 하단 면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 반응 채널 내부에서 증폭 핵산과 활성물질의 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 상기 열 블록과의 열 접촉시 상기 검출 전극은 상기 2 이상의 히터 군 사이에 배치되도록 구현된다. 상기 PCR 반응부(900)는 판형상으로 구현되고, 양 말단에 유입부(931) 및 유출부(932)가 구현된 1 이상의 반응 채널(921), 및 상기 반응 채널(921)의 길이 방향으로 그 하단 면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 반응 채널(921) 내부에서 증폭 핵산과 활성물질의 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극(950)을 구비하는 것으로서, 상기 PCR 열 블록(100)과의 열 접촉시 상기 검출 전극(950)은 상기 2 이상의 히터 군(110, 120, 130) 사이에 배치되도록 구현된다. 상기 PCR 반응부(900)는 핵산, 예를 들어 PCR 시료인 주형 핵산 이중가닥 DNA, PCR 시약인 증폭하고자 하는 특정 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드 프라이머, DNA 중합효소, 삼인산화데옥시리보뉴클레오타이드(deoxyribonucleotide triphosphates, dNTP), PCR 완충액 (PCR reaction buffer)을 포함하는 용액을 수용할 수 있다. 상기 PCR

반응부(900)는 상기 시료 및 시약을 도입하기 위한 유입부(931), 핵산 증폭 반응을 완료한 용액을 배출하기 위한 유출부(932) 및 상기 시료 및 시약의 핵산 증폭 반응이 수행되는 반응 채널(921)을 구비한다. 도 22에 따르면, 상기 반응 채널(921)은 상기 제1 히터의 상측 대응 부분 및 상기 제2 히터의 상측 대응 부분을 길이 방향으로 통과하도록 연장 배치될 수 있다. 상기 PCR 반응부(900)는 상기 열 블록(100)으로부터 열을 제공받고, 상기 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921)에 포함된 PCR 시료 및 시약은 가열 및 유지될 수 있다. 또한, 상기 PCR 반응부(900)는 열 전도율을 높이고 2 이상의 반응 채널(921)을 구비할 수 있도록 전체적으로 판 형상으로 구현된다. 또한, 상기 PCR 반응부(900)는 투명 또는 불투명 재질의 플라스틱 재질로 구현될 수 있는데, 플라스틱 재질의 특성상 두께 조절이 용이하여 두께 조절만으로 열 전달 효율을 증대시킬 수 있고, 제작 공정이 단순하여 제조 비용을 절감할 수 있다.

[124] 한편, 상기 활성물질(redox indicator)은 증폭 핵산과 화학적으로 반응(결합)하여 전기화학적 신호를 일으키는 물질로 정의되고, 상기 전기화학적 신호는 핵산의 연속적인 증폭에 따라 연속적으로 검출 및 측정될 수 있는 신호를 말한다. 예를 들어, 이중 가닥 핵산(DNA)의 경우 전체적으로 음전하를 띠는데, 활성물질이 양전하를 띠는 경우 핵산의 연속적인 증폭에 따라 증폭 핵산과 상기 활성물질이 반응하여 총 전하량 변화에 의해 검출가능한 신호가 도출될 수 있다. 따라서, 상기 전기화학적 신호는 상기 증폭 핵산의 음 전하와 상기 활성물질의 양 전하의 결합에 인한 총 전류값 변화에 기인할 수 있고, 상기 활성물질은 이온결합성 물질의 이온화 산물 중 양이온 물질일 수 있다. 더 구체적으로, 상기 이온결합성 물질은 메틸렌 블루(methylene blue)이고, 상기 활성물질은 메틸렌 블루의 이온화 산물 중 양이온 물질일 수 있다. 상기 메틸렌 블루($C_{16}H_{18}N_3SCl \cdot 3H_2O$)는 용매에 녹이면 이온화 되어 $C_{16}H_{18}N_3S^+$ 와 Cl^- 로 이온화되고, 전자의 경우 황원자(S)에 의하여 양전하를 띤다. 이중 가닥 핵산(DNA)은 당과 염기와 인산으로 이루어져 있는데, 이 중 인산기가 음전하를 띠고 있어 이중 가닥 핵산(DNA)은 전체적으로 음전하를 띤다. 메틸렌 블루의 양이온이 DNA의 인산기와 결합하여, 메틸렌 블루의 겔보기 확산율보다 이중가닥 핵산과 결합한 메틸렌블루의 겔보기 확산율이 감소하고, 이에 따라 전류의 피크 값을 감소시킨다. 따라서 PCR 주기가 진행됨에 따라 이중 가닥 핵산(DNA)이 증폭되고 이중가닥 핵산(DNA)에 결합되는 메틸렌 블루의 양이 늘어나 전류의 피크 값이 감소하게 되고, 결과적으로 실시간 PCR의 증폭 산물과 메틸렌 블루의 화학적 결합으로 인한 전기적 신호를 통해 증폭 핵산의 실시간 정량이 가능하다.

[125] 상기 검출 전극(950)은 상기 1 이상의 반응 채널(921) 내부에서 증폭 핵산과 활성물질의 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호를 검출할 수 있도록 다양한 재질로 구현될 수 있는데, 예를 들어 금(Au), 코발트(Co), 백금(Pt), 은(Ag), 탄소나노튜브(carbon nanotube), 그래핀(graphene), 및 탄소(Carbon)로 구성된 군으로부터 1 이상 선택될 수 있다. 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921)의

길이 방향으로 그 하단 면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 열 블록(100)과의 열 접촉시 상기 검출 전극(950)은 상기 2 이상의 히터 군(110, 120, 130) 사이에 배치되도록 구현된다. 도 22에 따르면, 상기 검출 전극(950)은 상기 유입부(931)로부터 유출부(932)까지의 반응 채널(921) 영역에 일정한 간격으로 반복적으로 이격 배치되어 있는데, 이와 같은 구조를 통해 상기 반응 채널(921)을 길이 방향으로 통과하면서 순차적으로 증폭되는 핵산으로부터 반복적으로 전기화학적 신호를 검출할 수 있다. 아울러, 도 23에 따르면, 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921)의 하단 면에 배치된 것을 확인할 수 있다. 한편, 도 23에 따르면, 상기 PCR 반응부(900)는 수직 단면도를 기준으로 크게 3개의 층(layer)으로 구분될 수 있다. 상기 PCR 반응부(900)는 상기 검출 전극(950)이 구비된 제1 판(910); 상기 제1 판(910) 상에 배치되되 상기 1 이상의 반응 채널(921)이 구비된 제2 판(920); 및 상기 제2 판(920) 상에 배치되되 상기 유입부(931) 및 유출부(932)가 구비된 제3 판(930)을 포함할 수 있다.

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

- [127] 상기 제2 판(920)의 상부 면은 상기 제3 판(930)의 하부 면과 접촉 배치된다. 상기 제2 판(920)은 상기 반응 채널(921)을 포함한다. 상기 반응 채널(921)은 상기 제3 판(910)에 형성된 유입부(931)와 유출부(932)에 대응되는 부분과 연결되어 양 말단에 유입부(931) 및 유출부(932)가 구현된 1 이상의 반응 채널(921)을 완성한다. 따라서, 상기 반응 채널(921)에 PCR 시료 및 시약이 도입된 후 PCR이 진행된다. 또한, 상기 반응 채널(921)은 사용목적 및 범위에 따라 2 이상 존재할 수 있다. 또한, 상기 제2 판(920)은 다양한 재질로 구현될 수 있으나,

바람직하게는 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 사이클로올레핀 코폴리머(cycloolefin copolymer, COC), 폴리아미드(polyamide, PA), 폴리에틸렌(polyethylene, PE), 폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리페닐렌 에테르(polyphenylene ether, PPE), 폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리옥시메틸렌(polyoxymethylene, POM), 폴리에테르에테르케톤(polyetheretherketone, PEEK), 폴리테트라프로오르에틸렌(polytetrafluoroethylene, PTFE), 폴리비닐클로라이드(polyvinylchloride, PVC), 폴리비닐리덴 플루오라이드(polyvinylidene fluoride, PVDF), 폴리부틸렌테레프탈레이트(polybutyleneterephthalate, PBT), 불소화에틸렌프로필렌(fluorinated ethylenepropylene, FEP), 퍼플로로알콕시알칸(perfluoralkoxyalkane, PFA), 및 그의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 열 가소성 수지 또는 열 경화성 수지 재질일 수 있다. 또한, 상기 제2 판(920)의 두께는 다양할 수 있으나, 10 μm 내지 2000 μm 에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 반응 채널(921)의 폭과 길이는 다양할 수 있으나, 바람직하게는 상기 반응 채널(921)의 폭은 0.001 mm 내지 10 mm에서 선택되고, 상기 반응 채널(921)의 길이는 1 mm 내지 400 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 제2 판(920) 내벽은 DNA, 단백질(protein) 흡착을 방지하기 위해 실란(silane) 계열, 보바인 시럼 알부민(Bovine Serum Albumin, BSA) 등의 물질로 코팅할 수 있고, 상기 물질의 처리는 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행될 수 있다.

- [128] 상기 제3 판(930)의 하부 면은 상기 제2 판(920)의 상부 면에 배치된다. 상기 제3 판(930)은 상기 제2 판(920)에 형성된 반응 채널(921) 상의 일 영역에 형성된 유입부(931) 및 다른 일 영역에 형성된 유출부(932)를 구비한다. 상기 유입부(931)는 PCR 시료 및 시약이 유입되는 부분이다. 상기 유출부(932)는 PCR이 종료된 후 PCR 산물이 유출되는 부분이다. 따라서, 상기 제3 판(930)은 상기 제2 판(920)에 형성된 반응 채널(921)을 커버하되 상기 유입부(931) 및 유출부(932)는 상기 반응 채널(921)의 유입부 및 유출부 역할을 수행하게 된다. 또한, 상기 제3 판(930)은 다양한 재질로 구현될 수 있지만, 바람직하게는 폴리디메틸실옥산(polydimethylsiloxane, PDMS), 사이클로올레핀코폴리머(cycloolefin copolymer, COC), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리프로필렌카보네이트(polypropylene carbonate, PPC), 폴리에테르설폰(polyether sulfone, PES), 및 폴리에틸렌테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 및 그의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 재질일 수 있다. 또한, 상기 유입부(931)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 1.0 mm 내지 3.0 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유출부(932)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 1.0 mm 내지 1.5 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유입부(931) 및

유출부(932)는 별도의 커버 수단(도시되지 않음)을 구비하여, 상기 반응 채널(921) 내에서 PCR 시료 및 시약에 대한 PCR이 진행될 때 용액이 누출되는 것을 방지할 수 있다. 상기 커버 수단은 다양한 형상, 크기 또는 재질로서 구현될 수 있다. 또한, 상기 제3 판의 두께는 다양할 수 있으나, 바람직하게는 0.1 mm 내지 2.0 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932)는 2 이상 존재할 수 있다.

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

- [130] 한편, 도 22의 "a" 부분을 확대한 도 24 내지 25에 따르면, 상기 검출 전극(950)은 다양하게 구현될 수 있다. 예를 들어, 도 24과 같이 상기 증폭 핵산과 활성물질의 결합이 일어나는 작업 전극(working electrode)(950a) 및 상기 증폭 핵산과 활성물질의 결합이 일어나지 않음으로써 전극 전위의 측정 기준이 되는 기준 전극(reference electrode)(950b)을 구비하는 2-전극 모듈, 또는 도 25와 같이 상기 작업 전극(950a), 상기 기준 전극(950b), 및 상기 작업 전극으로부터 발생하는 전류가 흐르게 되는 상대 전극(counter electrode)(950c)을 구비하는 3-전극 모듈로 구현될 수 있다. 이와 같이, 상기 검출 전극(950)의 구조가 위와 같이 다-전극

모듈 방식으로 구현되면, 상기 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호의 감도를 높일 수 있을 뿐만 아니라, 발생 신호의 검출 및 측정을 용이하게 수행할 수 있다.

[131]

[132] 도 26은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100) 및 도 22 내지 25의 PCR 반응부(900)를 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 PCR을 도시한다.

[133] 도 26에 따르면, 상기 PCR 반응부(900)는 상기 PCR 열 블록(100) 상에 배치되고, 상기 검출 전극(950)은 상기 열 블록(100)의 상부 표면에 반복 배치된 제1 히터 및 제2 히터 사이에 반복 배치되어 있다. 상기 PCR 반응부(900) 및 이에 포함된 구성요소에 관해서는 상술한 바와 같다.

[134] 상기 전력 공급원(400)은 상기 전력 공급부(200)에 전력을 공급하기 위한 모듈로서, 상기 전력 공급부(200)의 제1 배선(210) 및 제2 배선(220)과 각각 연결될 수 있다. 예를 들어, PCR 시 상기 전력 공급원(400)의 제1 전력 포트(도시되지 않음)는 상기 제1 배선(210)과 전기적으로 연결되고, 상기 전력 공급원(400)의 제2 전력 포트(도시되지 않음)는 상기 제2 배선(220)과 전기적으로 연결된다. 뒤이어, PCR 수행을 위한 사용자 지시가 있는 경우 상기 전력 공급원(400)은 상기 제1 배선(210) 및 상기 제2 배선(220)에 각각 전력을 공급하여 상기 PCR 열 블록(100)의 제1 히터 및 제2 히터를 신속히 가열할 수 있고, 각 히터들이 미리 결정된 온도에 도달하게 되면 전력 공급량을 제어하여 상기 미리 결정된 온도를 유지하도록 한다. 예를 들어, 상기 미리 결정된 온도는 상기 제1 히터에서는 PCR 변성 단계 온도(85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C) 및 상기 제2 히터에서는 PCR 어닐링/연장 단계 온도(50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C)이거나, 또는 상기 제1 히터에서는 PCR 어닐링/연장 단계 온도(50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C 또는 60°C) 및 상기 제2 히터에서는 PCR 변성 단계 온도(85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C)일 수 있다.

[135] 상기 펌프(500)는 상기 PCR 반응부(900)의 1 이상의 반응 채널(921) 내에서 유동하는 유체의 유량 및 유속을 제어하기 위한 모듈로서, 양압 펌프 또는 음압 펌프일 수 있고, 예를 들어 실린지(syringe) 펌프일 수 있다. 상기 펌프(500)는 상기 반응 채널(921)의 일 부분에 구동가능하게 배치될 수 있으나, 바람직하게는 상기 반응 채널(921)의 양 말단에 형성된 유입부(931) 및/또는 유출부(932)에 연결 배치된다. 상기 펌프(500)가 상기 유입부(931) 및/또는 유출부(932)에 연결 배치된 경우 펌프 역할을 수행할 뿐만 아니라 상기 유입부(931) 및/또는 유출부(932)를 통해 시료 및 시약 용액이 새어 나오는 것을 방지하는 마개 역할을 수행할 수도 있다. 또한, 상기 반응 채널(921) 내에서 유동하는 유체, 즉 시료 및 시약 용액의 유량 및 유속을 일 방향으로 제어하고자 하는 경우 상기 펌프(500)는 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932) 중 어느 하나에만 연결 배치되고, 남은 하나에는 일반적인 마개가 밀봉 연결될 수 있고, 상기 반응 채널(921) 내에서

유동하는 유체, 즉 시료 및 시약 용액의 유량 및 유속을 양 방향으로 제어하고자 하는 경우에는 상기 펌프(500)는 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932) 모두에 연결 배치될 수 있다.

- [136] 상기 실시간 PCR 장치 내에서 PCR 용액의 핵산 증폭 반응은 일 실시예로서, 아래와 같은 단계를 통해 수행될 수 있다.
- [137] 1. 원하는 이중 가닥 표적 DNA, 증폭하고자 하는 특정 염기 서열과 상보적인 서열을 갖는 올리고뉴클레오타이드 프라이머, DNA 중합효소, 삼인산화데옥시리보뉴클레오타이드(deoxyribonucleotide triphosphates, dNTP), PCR 반응 완충액(PCR reaction buffer)를 포함하는 PCR 용액을 준비한다.
- [138] 2. 상기 PCR 용액을 PCR 반응부(900)에 도입한다. 이 경우 상기 PCR 용액은 상기 유입부(931)를 통해 PCR 반응부(900) 내부의 반응 채널(921)에 배치된다.
- [139] 3. 상기 전력 공급부(200), 구체적으로 제1 배선(210) 및 제2 배선(220)이 상기 전력 공급원(400)과 각각 연결되도록 하고, 상기 PCR 반응부(900)의 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932)를 펌프(500)와 밀봉 연결한다.
- [140] 4. 상기 전력 공급원(400)에 전력 공급 지시를 하여 상기 제1 배선(210) 및 상기 제2 배선(220)을 통해 상기 제1 히터 및 상기 제2 히터를 발열시키고, 특정 온도, 예를 들어 제1 히터의 경우 PCR 변성 단계 온도(95°C) 및 제2 히터의 경우 PCR 어닐링/연장 단계 온도(72°C)를 유지한다.
- [141] 5. 상기 유입부(931)와 연결된 펌프(500)에 의해 양압이 제공되거나 또는 상기 유출부(932)와 연결된 펌프(500)에 의해 음압이 제공되면 상기 시료 및 시약 용액은 상기 반응 채널(921) 내부에서 수평 방향으로 유동하도록 한다. 이 경우 상기 시료 및 시약 용액의 유량 및 유속은 상기 펌프(500)에 의해 제공되는 양압 또는 음압의 세기를 조절하여 제어될 수 있다.
- [142] 상기 단계들을 수행함으로써, 상기 PCR 용액은 상기 반응 채널(921)의 유입부(931) 말단으로부터 유출부(932) 말단까지 상기 제1 히터의 상측 대응 부분 및 상기 제2 히터의 상측 대응 부분을 길이 방향으로 이동하면서 PCR을 수행한다. 도 26에 따르면, 상기 PCR 용액은 상기 제1 히터 및 상기 제2 히터를 포함하는 히터 유닛이 10회 반복 배치된 열 블록(100)으로부터 열을 공급받아 상기 제1 히터의 상측 대응 부분에서 PCR 변성 단계 및 상기 제2 히터의 상측 대응 부분에서 PCR 어닐링/연장 단계를 거치면서 10회 PCR 순환 주기를 완료하게 된다. 뒤이어, 선택적으로, 상기 PCR 용액은 상기 반응 채널(921)의 유출부(931) 말단으로부터 유입부(932) 말단까지 상기 제1 히터의 상측 대응 부분 및 상기 제2 히터의 상측 대응 부분을 길이 방향으로 역 이동하면서 PCR을 재수행할 수 있다.
- [143]
- [144] 도 27은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100), 도 22 내지 25의 PCR 반응부(900), 검출 전극(950), 및 신호 측정 모듈(800)을 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 전기화학적 실시간

PCR을 도시한다.

- [145] 도 27에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치는 제1 히터(110) 및 제2 히터(120)가 수평 방향으로 반복 배치된 PCR 열 블록(100), 상기 제1 히터(110) 및 제2 히터(120) 사이 공간에 검출 전극(950)이 대응하도록 반복 배치된 PCR 반응부(900), 상기 칩 홀더(도시되지 않음)의 연결 포트(도시되지 않음)와 전기적으로 연결되어 상기 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈(800), 기타 비록 도시되지는 않았지만, 전력 공급부, 펌프 등을 포함한다. 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)은 상기 칩 홀더의 연결 포트와 전기적 연결 수단(700), 예를 들어 리드 전선을 통해 전기 소통가능하게 연결될 수 있다. 따라서, 상기 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921) 내부에서 순차적인 핵산 증폭에 의해 반복적으로 발생하는 전기화학적 신호는 상기 PCR 반응부(900)의 검출 전극(950)을 통해 순차적으로 검출되고, 상기 검출된 신호는 상기 칩 홀더의 연결 포트와 상기 전기적 연결 수단(700)을 경유하여 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)에서 측정되고 더 나아가 가공 또는 분석될 수 있다. 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)은 다양할 수 있으나, 양극 벗김 전압전류계(anodic stripping voltammetry, ASV), 대시간 전류계(chronoamperometry, CA), 순환 전압전류계(cyclic voltammetry), 네모파 전압전류계(square wave voltammetry, SWV), 펄스 전압전류계(differential pulse voltammetry, DPV), 및 임피던스계(impedance)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 실시예에 따른 실시간 PCR 장치에 따르면, PCR 수행시 핵산 증폭 과정을 실시간(real-time)으로 측정 및 분석할 수 있다. 이 경우 상기 PCR 용액은 광학적 실시간 PCR 장치와는 달리 별도의 형광 물질이 첨가될 수 필요가 없다. 아울러, 본 발명의 일 실시예에 따른 실시간 PCR 장치에 의해 핵산 증폭 반응이 실시간(real-time)으로 측정되는 단계를 확인할 수 있다. 예를 들어, PCR 용액은 상기 반응 채널(921) 내에서 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분(301) 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분(302)을 연이어 통과하면서 PCR 변성 단계 및 PCR 어닐링/연장 단계를 수행하는데, 이 경우 PCR 용액은 상기 제1 히터(110)와 상기 제2 히터(120) 사이, 및 상기 제1 히터(110)와 상기 제2 히터(120)를 포함하는 히터 유닛 사이에서 반복 배치된 상기 검출 전극(950) 영역을 통과하게 된다. 상기 PCR 용액이 상기 검출 전극(950)의 상측 대응 부분을 통과할 때 유체 제어를 통해 상기 PCR 용액의 유속을 느리게 하거나 잠시 정지 상태로 유지한 후 증폭 핵산과 활성물질의 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호를 상기 검출 전극(950)을 통해 순차적으로 실시간으로 검출 및 측정할 수 있다. 따라서, PCR 각 순환 주기가 진행되는 동안 상기 반응 채널(921) 내에서 (형광 물질 및 광 검출 시스템 없이) 핵산의 증폭에 의한 반응 결과를 실시간(real-time)으로 모니터링함으로써 표적 핵산의 양을 실시간(real-time)으로 검출 및 측정할 수 있다.

[146]

[147] 도 28 내지 31은 도 12 내지 16의 PCR 열 블록과 열 접촉하는 또 다른 유형의 PCR 반응부(900)를 도시한다.

[148] 도 28 내지 31에 따른 PCR 반응부(900)는 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 반응 채널 내부의 일 영역에 형성되어 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브(capture probe)가 표면 처리된 고정화(immobilization) 층 및 상기 반응 채널 내부의 다른 일 영역에 형성되어 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 금속 나노입자 및 상기 금속 나노입자에 연결되되 상기 증폭 표적 핵산의 다른 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 신호 프로브(signaling probe)를 구비하는 복합체를 포함한다.

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

[150] 상기 반응 채널(921)은 PCR 용액에 의해 PCR이 수행되는 공간으로서, 상기 PCR 반응부(900)의 내부에 형성된다. 상기 반응 채널(921)은 빈 원기둥 형상, 바(bar) 형상, 사각기둥 형상 등 다양한 형상 및 구조로 구현될 수 있다. 상기 반응 채널(921)은 그 내부의 일 영역에 배치되되 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브(capture probe)가 표면 처리된 고정화(immobilization) 층(940), 및 그 내부의 다른 일 영역에 배치되되 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극(950)을 구비하는데, 상기 고정화(immobilization) 층(940)과 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921) 내부에서 다양한 위치에 배치될 수 있으나, 도 29와 같이 서로 상하 또는 좌우로 마주보도록 배치되는 것이 바람직하다. 또한, 상기 반응 채널(921)은 그 내부에 금속 나노입자 및 상기 금속 나노입자에 연결되되 상기 증폭 표적 핵산의 다른 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 신호 프로브(signaling probe)를 구비하는 복합체를 수용한다. 이 경우 상기 복합체는 주형 핵산 등을 포함하는 PCR 시료 도입 전 상기 반응 채널(921)에 미리 수용될 수 있고, 프라이머, 중합효소 등을 포함하는 PCR 시약에 포함된 상태로 상기 반응 채널(23)에 함께 도입될 수도 있다. 상기 고정화(immobilization) 층(940)은 그 일 면에 포획 프로브(capture probe)가 증착되어 노출될 수 있도록 다양한 재질, 예를 들어 실리콘, 플라스틱, 유리, 금속 재질 등으로 구현된다. 이 경우 상기 고정화(immobilization) 층(940)의 표면은 예를 들어, 포획 프로브(capture probe) 증착 전 아민 NH_3^+ , 알데하이드 COH, 카르복실기 COOH 등과 같은 물질이 먼저 표면 처리될 수 있다. 상기 포획

프로브(capture probe)는 상기 증폭 표적 핵산의 일 부위(영역)와 상보적으로 결합할 수 있도록 구현되고, 금속 나노입자와 결합하여 복합체를 형성한다. 상기 금속 나노입자는 다양할 수 있으나, 아연(Zn), 카드뮴(Cd), 납(Pb), 구리(Cu), 갈륨(Ga), 인듐(In), 금(Au), 크롬(Cr), 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co), 니켈(Ni), 세슘(Cs), 바륨(Ba), 카드뮴(Cd), 수은(Hg), 비소(As), 셀레늄(Se), 주석(Sn), 안티몬(Sb), 비슈뮷트(Bi) 및 은(Ag)으로 구성된 군으로부터 1 이상 선택될 수 있다. 상기 신호 프로브(signaling probe)는 상기 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있도록 구현되는데, 이 경우 상기 증폭 표적 핵산에 있어서, 상기 신호 프로브(signaling probe)의 상보적 결합 영역은 상기 포획 프로브(capture probe)의 상보적 결합 영역과 상이하다. 따라서, 상기 포획 프로브(capture probe) 및 신호 프로브(signaling probe)는 증폭 표적 핵산에 함께 상보적으로 결합할 수 있다. 즉, PCR이 진행되면서 상기 반응 채널(921) 내부에서 표적 핵산이 증폭되면 증폭 표적 핵산은 상기 고정화(immobilization) 층(940)에 표면 처리된 포획 프로브(capture probe)와 상보적으로 결합하고, 아울러 금속 나노입자에 연결된 신호 프로브(signaling probe)와 상보적으로 결합하여 상기 금속 나노입자를 상기 고정화(immobilization) 층(940)에 근접한 영역에 집중시킨다. 그 결과, 상기 금속 나노입자는 상기 검출 전극(26)에 도달하지 못하게 되어 상기 금속 나노입자와 상기 검출 전극(26) 간의 전류 변화(감소)를 야기하여 표적 핵산의 증폭에 따른 검출 가능한 전기화학적 신호가 발생하게 된다. 한편, 상기 증폭 표적 핵산, 상기 포획 프로브(capture probe), 및 상기 신호 프로브(signaling probe)는 단일 가닥 DNA일 수 있다.

- [151] 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921)의 적어도 일 영역에 배치되며 상기 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된다. 상기 검출 전극(950)은 위와 같은 기능을 수행하기 위하여 다양한 재질로 구현될 수 있지만, 예를 들어 금(Au), 코발트(Co), 백금(Pt), 은(Ag), 탄소나노튜브(carbon nanotube), 그래핀(graphene), 및 탄소(Carbon)로 구성된 군으로부터 1 이상 선택될 수 있다. 또한, 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 효율적으로 검출하기 위해 다양한 형상 및 구조로 구현될 수 있지만, 예를 들어 도 28과 같이 상기 반응 채널(921) 내부 표면에 따라 배치되는 금속 재질의 판 형상으로 구현될 수 있다. 한편, 상기 전기화학적 신호는 후술할 전기화학적 신호 측정 모듈에 의해 측정되는데, 상기 전기화학적 신호 측정 모듈은 다양할 수 있으나, 양극 벗김 전압전류계(anodic stripping voltammetry, ASV), 대시간 전류계 (chronoamperometry, CA), 순환 전압전류계(cyclic voltammetry), 네모파 전압전류계(square wave voltammetry, SWV), 펄스 전압전류계(differential pulse voltammetry, DPV), 및 임피던스계(impedance)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 상기 전기화학적 신호는 상기 증폭 표적 핵산이 상기 포획 프로브(capture probe) 및 신호 프로브(signaling probe)와 상보적으로 결합함에 따라 발생하는 전류 변화에 기인할 수 있다. 본 발명의 일

실시예에 따른 PCR 장치의 전기화학적 신호 발생 과정은 다음과 같다. 제1 단계는 PCR 개시 전으로서, 고정화(immobilization) 층에 표면 처리된 포획 프로브(capture probe)와 신호 프로브(signaling probe) 및 금속 나노입자를 포함하는 복합체(Signaling probe-metal nano particle)의 원래 상태를 포함하고, 제2 단계는 상기 검출 전극(working electrode)과 금속 나노입자 간의 환원 또는 산화에 의해 발생하는 전류 변화(신호, Signal)를 포함하고, 제3 단계는 PCR 개시 후로서, 증폭 표적 핵산(target DNA)이 상기 포획 프로브(capture probe) 및 상기 복합체(Signaling probe-metal nano particle)의 신호 프로브(signaling probe)와 결합하여 전류 변화의 감소(신호 감소)를 야기하는 단계를 포함한다.

구체적으로, 상기 복합체(Signaling probe-metal nano particle)의 금속 나노입자(metal nano particle)에 환원 전압이 가해지면, 상기 금속 나노입자(metal nano particle)는 상기 검출 전극(working electrode)의 근접 표면에 모여 축적 층을 형성하면서 환원되고(Accumulation of metal nano particle), 뒤이어 상기 검출 전극(working electrode)에 전압을 인가하면 상기 환원 금속 나노입자(metal nano particle)가 산화되면서(Stripping) 전류 변화, 즉 신호가 발생하고(Signal), 상기 전류 변화는 산화 전류 피크가 나타내는 전압 값으로 쉽게 측정할 수 있다. 이 경우 상기 반응 채널(921) 내부에서 전류 변화값, 즉 전기화학적 신호는 표적 핵산(target DNA)의 변화량을 나타낸다. 또한, 상기 금속 나노입자(metal nano particle)가 산화되는 전압값은 금속 나노입자(metal nano particle)의 종류마다 상이하기 때문에 2 이상의 금속 나노입자(metal nano particle)를 사용하는 경우 2 이상의 시료에 대한 동시 신호 검출도 가능하다. 그 후 PCR이 진행되면, 주형 핵산으로부터 표적 핵산(target DNA)이 증폭되고, 상기 증폭 표적 핵산(target DNA)은 상기 포획 프로브(capture probe) 및 상기 복합체(Signaling probe-metal nano particle)의 신호 프로브(signaling probe)와 상보적으로 결합(Hybridized target DNA)함으로써 위와 같이 상기 복합체(Signaling probe-metal nano particle)의 금속 나노입자(metal nano particle)의 전극 표면 축적(Accumulation of metal nano particle)을 방해하고, 상기 전류 값을 감소시키고, 더 나아가 PCR 주기가 진행될수록 증폭 표적 핵산(target DNA)의 양이 증가하면서 상기 포획 프로브(capture probe) 및 상기 복합체(Signaling probe-metal nano particle)의 신호 프로브(signaling probe)와의 상보적으로 결합(Hybridized target DNA) 또한 증가하여 상기 전류 값(신호)은 더욱 감소한다. 따라서, 위와 같은 전류 감소 현상, 즉 전기화학적 신호를 검출 및 측정함으로써 실시간 PCR 구현이 가능하다.

- [152] 도 28 내지 29에 따르면, 상기 고정화(immobilization) 층(940) 및 상기 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921)의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되며 상기 PCR 열 블록(100)과의 열 접촉시 상기 고정화(immobilization) 층(940) 및 상기 검출 전극(950)은 상기 2 이상의 히터 군(110, 120, 130) 사이에 배치되도록 구현된다. 상기 PCR 반응부(900)의 평면도를 도시하는 도 28에 따르면, 상기 고정화(immobilization) 층(940) 및 검출 전극(950)은 상기

유입부(931)로부터 유출부(932)까지의 반응 채널(921) 영역에 일정한 간격으로 반복 배치되어 있는데, 이와 같은 구조를 통해 상기 반응 채널(921)을 길이 방향으로 통과하면서 순차적으로 증폭되는 핵산으로부터 반복적으로 전기화학적 신호를 검출할 수 있다. 아울러, 상기 PCR 반응부(900)의 수직 단면도를 도시하는 도 29에 따르면, 상기 고정화(immobilization) 층(940) 및 검출 전극(950)은 상기 반응 채널(921)의 단면에 서로 마주 보며 배치된 것을 확인할 수 있는데, 상기 고정화(immobilization) 층(940) 및 검출 전극(950)의 위치는 상하 변동될 수 있다.

- [153] 도 29에 따르면, 상기 PCR 반응부(900)는 수직 단면도를 기준으로 크게 3개의 층(layer)으로 구분될 수 있다. 상기 PCR 반응부(900)는 상기 검출 전극(950)이 구비된 제1 판(910); 상기 제1 판(910) 상에 배치되며 상기 1 이상의 반응 채널(921)이 구비된 제2 판(920); 및 상기 제2 판(920) 상에 배치되며 상기 고정화(immobilization) 층(940), 상기 유입부(931), 및 상기 유출부(932)가 구비된 제3 판(930)을 포함할 수 있다. 이 경우 상기 검출 전극(950)이 상기 제3 판(930)에 배치되고, 상기 고정화(immobilization) 층(940)이 상기 제1 판(910)에 배치될 수도 있음은 물론이다.
- [154] 상기 검출 전극(950)이 구비된 제1 판(910)의 상부 면은 상기 제2 판(920)의 하부 면에 접촉 배치된다. 상기 제1 판(910)이 상기 반응 채널(921)을 구비하는 제2 판(920)에 접촉 배치됨으로써 상기 반응 채널(921)에 관한 공간이 확보되고, 더 나아가 상기 반응 채널(921)의 적어도 일 영역(표면)에 상기 검출 전극(950)이 배치된다. 한편, 상기 제1 판(910)은 다양한 재질로 구현될 수 있으나, 바람직하게는 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS), 사이클로올레핀코폴리머(cycle olefin copolymer, COC), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리프로필렌카보네이트(polypropylene carbonate, PPC), 폴리에테르설폰(polyether sulfone, PES), 및 폴리에틸렌테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 및 그의 조합물로 구성된 군으로부터 선택되는 재질일 수 있다. 또한, 상기 제1 판(910)의 상부 면은 친수성 물질(도시되지 않음)이 처리되어 PCR을 원활하게 수행할 수 있다. 상기 친수성 물질 처리에 의해 상기 제1 판(910) 상에 친수성 물질을 포함하는 단일 층이 형성될 수 있다. 상기 친수성 물질은 다양한 물질일 수 있으나, 바람직하게는 카르복시기(-COOH), 아민기(-NH₂), 히드록시기(-OH), 및 술포기(-SH)로 구성된 군으로부터 선택되는 것일 수 있고, 상기 친수성 물질의 처리는 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행할 수 있다.
- [155] 상기 제2 판(920)의 상부 면은 상기 제3 판(930)의 하부 면과 접촉 배치된다. 상기 제2 판(920)은 상기 반응 채널(921)을 포함한다. 상기 반응 채널(921)은 상기 제3 판(910)에 형성된 유입부(931)와 유출부(932)에 대응되는 부분과 연결되어 양 말단에 유입부(931) 및 유출부(932)가 구현된 1 이상의 반응 채널(921)을

완성한다. 따라서, 상기 반응 채널(921)에 PCR 시료 및 시약이 도입된 후 PCR이 진행된다. 또한, 상기 반응 채널(921)은 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치의 사용 목적 및 범위에 따라 2 이상 존재할 수 있다. 또한, 상기 제2 판(920)은 다양한 재질로 구현될 수 있으나, 바람직하게는

폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA),
폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 사이클로올레핀 코폴리머(cycloolefin copolymer, COC), 폴리아미드(polyamide, PA), 폴리에틸렌(polyethylene, PE),
폴리프로필렌(polypropylene, PP), 폴리페닐렌 에테르(polyphenylene ether, PPE),
폴리스티렌(polystyrene, PS), 폴리옥시메틸렌(polyoxymethylene, POM),
폴리에테르에테르케톤(polyetheretherketone, PEEK),
폴리테트라프로오르에틸렌(polytetrafluoroethylene, PTFE),
폴리비닐클로라이드(polyvinylchloride, PVC), 폴리비닐리덴
플로라이드(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 반응 채널(921)의 폭과 길이는 다양할 수 있으나, 바람직하게는
상기 반응 채널(921)의 폭은 0.001 mm 내지 10 mm에서 선택되고, 상기 반응
채널(921)의 길이는 1 mm 내지 400 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 제2
판(920) 내벽은 DNA, 단백질(protein) 흡착을 방지하기 위해 실란(silane) 계열,
보바인 시럼 알부민(Bovine Serum Albumin, BSA) 등의 물질로 코팅할 수 있고,
상기 물질의 처리는 당 업계에 공지된 방법에 따라 수행될 수 있다.

- [156] 상기 제3 판(930)의 하부 면은 상기 제2 판(920)의 상부 면에 배치된다. 상기 제3 판(930)은 상기 제2 판(920)에 형성된 반응 채널(921) 상에 형성된 고정화(immobilization) 층(940), 유입부(931), 및 유출부(932)를 구비한다. 상기 유입부(931)는 PCR 시료 및 시약이 유입되는 부분이다. 상기 유출부(932)는 PCR이 종료된 후 PCR 산물이 유출되는 부분이다. 따라서, 상기 제3 판(930)은 상기 제2 판(920)에 형성된 반응 채널(921)을 커버하되 상기 유입부(931) 및 유출부(932)는 상기 반응 채널(921)의 유입부 및 유출부 역할을 수행하게 된다. 또한, 상기 제3 판(930)은 다양한 재질로 구현될 수 있지만, 바람직하게는 폴리디메틸실옥산(polydimethylsiloxane, PDMS), 사이클로올레핀코폴리머(cycle olefin copolymer, COC), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmetharcylate, PMMA), 폴리카보네이트(polycarbonate, PC), 폴리프로필렌카보네이트(polypropylene carbonate, PPC), 폴리에테르설폰(polyether sulfone, PES), 및 폴리에틸렌테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET), 및 그의 조합물로

구성된 균으로부터 선택되는 재질일 수 있다. 또한, 상기 유입부(931)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 1.0 mm 내지 3.0 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유출부(932)는 다양한 크기를 구비할 수 있으나, 바람직하게는 지름 1.0 mm 내지 1.5 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유입부(931) 및 유출부(932)는 별도의 커버 수단(도시되지 않음)을 구비하여, 상기 반응 채널(921) 내에서 PCR 시료 및 시약에 대한 PCR이 진행될 때 용액이 누출되는 것을 방지할 수 있다. 상기 커버 수단은 다양한 형상, 크기 또는 재질로서 구현될 수 있다. 또한, 상기 제3 판의 두께는 다양할 수 있으나, 바람직하게는 0.1 mm 내지 2.0 mm에서 선택될 수 있다. 또한, 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932)는 2 이상 존재할 수 있다.

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

- [158] 한편, 도 28의 "a" 부분을 확대한 도 30 내지 31에 따르면, 상기 검출 전극(950)은 다양하게 구현될 수 있다. 예를 들어, 도 30과 같이 산화 또는 환원 반응이 일어나는 작업 전극(working electrode)(950a) 및 산화 또는 환원 반응이 일어나지 않는 기준 전극(reference electrode)(950b)을 구비하는 2-전극 모듈, 또는 도 31과

같이 상기 작업 전극(950a), 상기 기준 전극(950b), 및 상기 지시 전극으로부터 발생하는 전자 밸런스를 조절하는 상대 전극(counter electrode)(950c)을 구비하는 3-전극 모듈로 구현될 수 있다. 이와 같이, 상기 검출 전극(950)의 구조가 위와 같이 다-전극 모듈 방식으로 구현되면, 상기 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호의 감도를 높일 수 있을 뿐만 아니라, 발생 신호의 검출 및 측정을 용이하게 수행할 수 있다.

[159]

[160] 도 32는 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100) 및 도 28 내지 31의 PCR 반응부(900)를 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 PCR을 도시한다.

[161] 도 32에 따르면, 상기 PCR 반응부(900)는 상기 PCR 열 블록(100) 상에 배치되고, 구체적으로 상기 검출 전극(950)은 상기 PCR 열 블록(100) 상부 표면에 반복 배치된 제1 히터 및 제2 히터 사이에 반복 배치되어 있다. 상기 전력 공급원(400)은 상기 전력 공급부(200)에 전력을 공급하기 위한 모듈로서, 상기 전력 공급부(200)의 제1 배선(210) 및 제2 배선(220)과 각각 연결될 수 있다. 예를 들어, PCR 수행시 상기 전력 공급원(400)의 제1 전력 포트(도시되지 않음)는 상기 제1 배선(210)과 전기적으로 연결되고, 상기 전력 공급원(400)의 제2 전력 포트(도시되지 않음)는 상기 제2 배선(220)과 전기적으로 연결된다. 뒤이어, PCR 수행을 위한 사용자 지시가 있는 경우 상기 전력 공급원(400)은 상기 제1 배선(210) 및 상기 제2 배선(220)에 각각 전력을 공급하여 상기 PCR 열 블록(100)의 제1 히터(110) 및 제2 히터(120)를 신속히 가열할 수 있고, 각 히터들(110, 120)이 미리 결정된 온도에 도달하게 되면 전력 공급량을 제어하여 상기 미리 결정된 온도를 유지하도록 한다. 예를 들어, 상기 미리 결정된 온도는 상기 제1 히터(110)에서는 PCR 변성 단계 온도(85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C) 및 상기 제2 히터(120)에서는 PCR 어닐링/연장 단계 온도(50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C)이거나, 또는 상기 제1 히터(110)에서는 PCR 어닐링/연장 단계 온도(50°C 내지 80°C, 바람직하게는 72°C 또는 60°C) 및 상기 제2 히터(120)에서는 PCR 변성 단계 온도(85°C 내지 105°C, 바람직하게는 95°C)일 수 있다.

[162] 상기 펌프(500)는 상기 PCR 반응부(900)의 1 이상의 반응 채널(921) 내에서 유동하는 유체의 유량 및 유속을 제어하기 위한 모듈로서, 양압 펌프 또는 음압 펌프일 수 있고, 예를 들어 실린지(syringe) 펌프일 수 있다. 상기 펌프(500)는 상기 반응 채널(921)의 일 부분에 구동가능하게 배치될 수 있으나, 바람직하게는 상기 반응 채널(921)의 양 말단에 형성된 유입부(931) 및/또는 유출부(932)에 연결 배치된다. 상기 펌프(500)가 상기 유입부(931) 및/또는 유출부(932)에 연결 배치된 경우 펌프 역할을 수행할 뿐만 아니라 상기 유입부(931) 및/또는 유출부(932)를 통해 시료 및 시약 용액이 새어 나오는 것을 방지하는 마개 역할을 수행할 수도 있다. 또한, 상기 반응 채널(921) 내에서 유동하는 유체, 즉 시료 및

시약 용액의 유량 및 유속을 일 방향으로 제어하고자 하는 경우 상기 펌프(500)는 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932) 중 어느 하나에만 연결 배치되고, 남은 하나에는 일반적인 마개가 밀봉 연결될 수 있고, 상기 반응 채널(921) 내에서 유동하는 유체, 즉 시료 및 시약 용액의 유량 및 유속을 양 방향으로 제어하고자 하는 경우에는 상기 펌프(500)는 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932) 모두에 연결 배치될 수 있다.

- [163] 상기 실시간 PCR 장치 내에서 PCR 용액의 핵산 증폭 반응은 일 실시예로서, 아래와 같은 단계를 통해 수행될 수 있다.
- [164] 1. 원하는 이중 가닥 표적 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 PCR 용액을 준비한다.
- [165] 2. 상기 PCR 용액을 PCR 반응부(900)에 도입한다. 이 경우 상기 PCR 용액은 상기 유입부(931)를 통해 PCR 반응부(900) 내부의 반응 채널(921)에 배치된다.
- [166] 3. 상기 전력 공급부(200), 구체적으로 제1 배선(210) 및 제2 배선(220)이 상기 전력 공급원(400)과 각각 연결되도록 하고, 상기 PCR 반응부(900)의 상기 유입부(931) 및 상기 유출부(932)를 펌프(500)와 밀봉 연결한다.
- [167] 4. 상기 전력 공급원(400)에 전력 공급 지시를 하여 상기 제1 배선(210) 및 상기 제2 배선(220)을 통해 상기 제1 히터(110) 및 상기 제2 히터(120)를 발열시키고, 특정 온도, 예를 들어 제1 히터(110)의 경우 PCR 변성 단계 온도(95°C) 및 제2 히터(120)의 경우 PCR 어닐링/연장 단계 온도(72°C)를 유지한다.
- [168] 5. 상기 유입부(931)와 연결된 펌프(500)에 의해 양압이 제공되거나 또는 상기 유출부(932)와 연결된 펌프(500)에 의해 음압이 제공되면 상기 시료 및 시약 용액은 상기 반응 채널(921) 내부에서 수평 방향으로 유동하도록 한다. 이 경우 상기 시료 및 시약 용액의 유량 및 유속은 상기 펌프(500)에 의해 제공되는 양압 또는 음압의 세기를 조절하여 제어될 수 있다.
- [169] 상기 단계들을 수행함으로써, 상기 PCR 용액은 상기 반응 채널(921)의 유입부(931) 말단으로부터 유출부(932) 말단까지 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분(301) 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분(302)을 길이 방향으로 이동하면서 PCR을 수행한다. 상기 PCR 용액은 상기 제1 히터(110) 및 상기 제2 히터(120)를 포함하는 히터 유닛이 10회 반복 배치된 PCR 열 블록(100)으로부터 열을 공급받아 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분(301)에서 PCR 변성 단계 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분(302)에서 PCR 어닐링/연장 단계를 거치면서 10회 PCR 순환 주기를 완료하게 된다. 뒤이어, 선택적으로, 상기 PCR 용액은 상기 반응 채널(921)의 유출부(931) 말단으로부터 유입부(932) 말단까지 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분을 길이 방향으로 역 이동하면서 PCR을 재수행할 수 있다.

[170]

- [171] 도 33은 본 발명의 제1 실시예에 따른 보상형 패턴이 적용된 히터들이 반복 배치된 PCR 열 블록(100), 도 28 내지 31의 PCR 반응부(900), 고정화(immobilization) 층(940), 검출 전극(950), 및 신호 측정 모듈(800)을 구비하는 PCR 장치를 통해 구현되는 전기화학적 실시간 PCR을 도시한다.
- [172] 도 33에 따르면, 상기 본 발명의 일 실시예에 따른 PCR 장치는 제1 히터(110) 및 제2 히터(120)가 수평 방향으로 반복 배치된 PCR 열 블록(100), 상기 제1 히터(110) 및 제2 히터(120) 사이 공간에 고정화(immobilization) 층(940) 및 검출 전극(950)이 대응하도록 반복 배치된 PCR 반응부(900)를 포함하되, 상기 칩 홀더(도시되지 않음)의 연결 포트(도시되지 않음)와 전기적으로 연결되어 상기 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921) 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈(800), 비록 도시되지는 않았지만, 전력 공급원, 펌프 등을 포함한다. 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)은 상기 칩 홀더의 연결 포트와 전기적 연결 수단(700), 예를 들어 리드 전선을 통해 전기 소통가능하게 연결될 수 있다. 따라서, 상기 PCR 반응부(900)의 반응 채널(921) 내부에서 순차적인 핵산 증폭에 의해 반복적으로 발생하는 전기화학적 신호는 상기 PCR 반응부(900)의 검출 전극(950)을 통해 순차적으로 검출되고, 상기 검출된 신호는 상기 칩 홀더의 연결 포트와 상기 전기적 연결 수단(700)을 경유하여 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)에서 측정되고 더 나아가 가공 또는 분석될 수 있다. 상기 전기화학적 신호 측정 모듈(800)은 다양할 수 있으나, 양극 벗김 전압전류계(anodic stripping voltammetry, ASV), 대시간 전류계 (chronoamperometry, CA), 순환 전압전류계(cyclic voltammetry), 네모파 전압전류계(square wave voltammetry, SWV), 펄스 전압전류계(differential pulse voltammetry, DPV), 및 임피던스계(impedance)로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 따라서, 도 33에 따른 본 발명의 일 실시예에 따른 실시간 PCR 장치에 의하면, PCR 수행시 핵산 증폭 과정을 실시간(real-time)으로 측정 및 분석할 수 있다. 이 경우 상기 PCR 용액은 종래 실시간 PCR 장치와는 달리 별도의 형광 물질이 첨가될 필요가 없다. 예를 들어, PCR 용액은 상기 반응 채널(921) 내에서 상기 제1 히터(110)의 상측 대응 부분(301) 및 상기 제2 히터(120)의 상측 대응 부분(302)을 연이어 통과하면서 PCR 변성 단계 및 PCR 어닐링/연장 단계를 수행하는데, 이 경우 PCR 용액은 상기 제1 히터(110)와 상기 제2 히터(120) 사이, 및 상기 제1 히터(110)와 상기 제2 히터(120)를 포함하는 히터 유닛 사이에서 반복 배치된 상기 검출 전극(950) 영역을 통과하게 된다. 상기 PCR 용액이 상기 검출 전극(950)의 상측 대응 부분을 통과할 때 유체 제어를 통해 상기 PCR 용액의 유속을 느리게 하거나 잠시 정지 상태로 유지한 후 증폭 표적 핵산과 상기 포획 프로브(capture probe) 및 상기 복합체의 신호 프로브(signaling probe)와의 상보적 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호(전류 변화)를 상기 검출 전극(950)을 통해 순차적으로 실시간으로 검출 및 측정할 수 있다. 따라서, PCR 각 순환 주기가 진행되는 동안

상기 반응 채널(921) 내에서 (형광 물질 및 광 검출 시스템 없이) 핵산의 증폭에 의한 반응 결과를 실시간(real-time)으로 모니터링함으로써 표적 핵산의 양을 실시간(real-time)으로 검출 및 측정할 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] 2 이상의 히터가 반복적으로 구현된 PCR 열 블록(100)에 있어서, 상기 히터는 개별 히터로부터 발생하는 방사형 열 분포에 따른 인접 히터 간 불균일한 열 중첩을 방지하기 위해 상기 히터의 적어도 일 부분의 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도를 조절하는 보상형 패턴(compensated pattern)(1000)을 구비하는 것을 특징으로 하는 PCR 열 블록.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분에 간극(1100)을 반복 형성하여 간극 패턴에 따른 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것을 특징으로 하는 PCR 열 블록.
- [청구항 3] 제2항에 있어서, 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분에 반복 형성된 간극의 폭(line width)을 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것을 특징으로 하는 PCR 열 블록.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분의 두께를 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것을 특징으로 하는 PCR 열 블록.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분의 재질을 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것을 특징으로 하는 PCR 열 블록.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 보상형 패턴은 상기 히터의 적어도 일 부분의 배치를 달리 구현함으로써 저항을 조절하여 상기 히터 표면의 열 균일도가 조절된 것을 특징으로 하는 PCR 열 블록.
- [청구항 7] 제1항에 따른 PCR 열 블록; 및
상기 PCR 열 블록과 열 교환이 가능하도록 상기 열 블록 상에 부착되되 상기 PCR 열 블록에 구비된 히터들의 상측 대응 부분들을 길이 방향으로 통과하도록 연장 배치된, 양 말단에 유입부 및 유출부가 구현된 1 이상의 반응 채널을 구비하는 판형상의 PCR 반응부;
를 포함하는 PCR 칩.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 PCR 열 블록의 상부 면은 PCR 용액의 전기 분해 방지용 절연막(insulator)이 형성된 것을 특징으로 하는 PCR 칩.

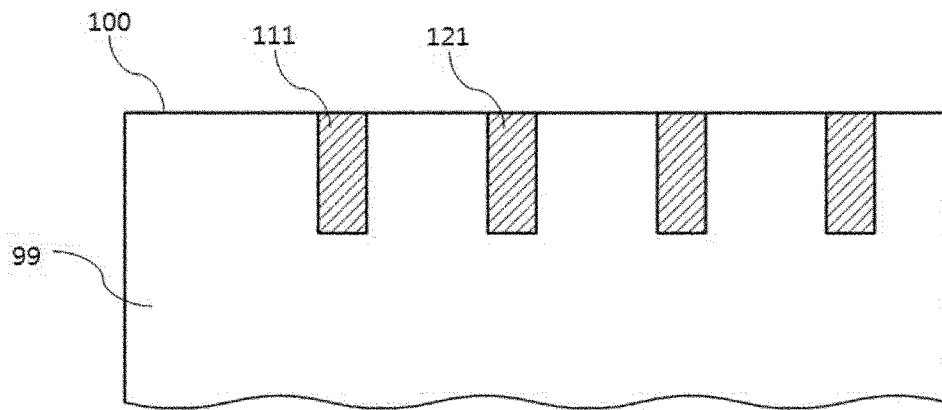
- [청구항 9] 제1항에 따른 PCR 열 블록;
 상기 PCR 열 블록과 열 교환이 가능하도록 상기 열 블록 상에 접촉되되 상기 PCR 열 블록에 구비된 히터들의 상측 대응 부분들을 길이 방향으로 통과하도록 연장 배치된, 양 말단에 유입부 및 유출부가 구현된 1 이상의 반응 채널을 구비하는 판형상의 PCR 반응부; 및
 상기 PCR 열 블록에 구비된 히터들에 전력을 공급하기 위한 전력 공급부;
 를 포함하는 PCR 장치.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
 상기 PCR 열 블록의 상부 면은 히터 보호용 절연막(insulator)이 형성된 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 11] 제9항에 있어서,
 상기 1 이상의 반응 채널 내에서 유동하는 PCR 용액의 유량 및 유속을 제어하기 위해 양압 또는 음압을 제공하도록 배치된 펌프를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 12] 제9항에 있어서,
 상기 PCR 반응부에 광을 제공하도록 배치된 광원, 및 상기 PCR 반응부로부터 방출되는 광을 수용하도록 배치된 광 검출부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 13] 제12항에 있어서,
 상기 광원 또는 광 검출부는 상기 PCR 열 블록의 인접 히터 사이 공간에 반복 배치되는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 14] 제9항에 있어서,
 상기 PCR 반응부는 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 하단 면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 반응 채널 내부에서 증폭 핵산과 활성물질의 결합으로 인해 발생하는 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 상기 PCR 열 블록과의 열 접촉시 상기 검출 전극은 상기 2 이상의 히터 군 사이에 배치되도록 구현된 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 15] 제14항에 있어서,
 상기 검출 전극과 전기적으로 연결되어 상기 PCR 반응부의 반응 채널 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.
- [청구항 16] 제9항에 있어서,
 상기 PCR 반응부는 상기 반응 채널의 길이 방향으로 그 단면을 가로질러 반복 이격 배치되되 상기 반응 채널 내부의 일 영역에

형성되어 증폭 표적 핵산의 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 포획 프로브(capture probe)가 표면 처리된 고정화(immobilization) 층 및 상기 반응 채널 내부의 다른 일 영역에 형성되어 전기화학적 신호를 검출하도록 구현된 검출 전극을 구비하는 것으로서, 금속 나노입자 및 상기 금속 나노입자에 연결되되 상기 증폭 표적 핵산의 다른 일 영역과 상보적으로 결합할 수 있는 신호 프로브(signaling probe)를 구비하는 복합체를 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.

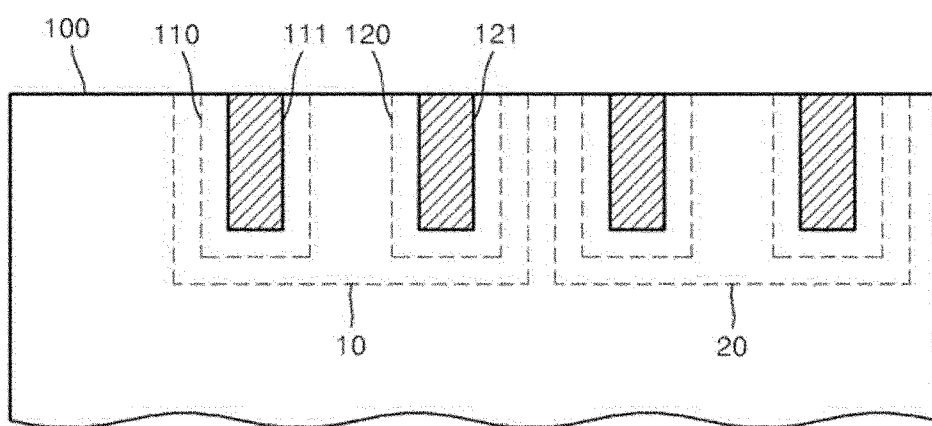
[청구항 17]

제16항에 있어서,
상기 검출 전극과 전기적으로 연결되어 상기 PCR 반응부의 반응 채널 내부에서 발생하는 전기화학적 신호를 실시간으로 측정하도록 구현된 전기화학적 신호 측정 모듈을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 PCR 장치.

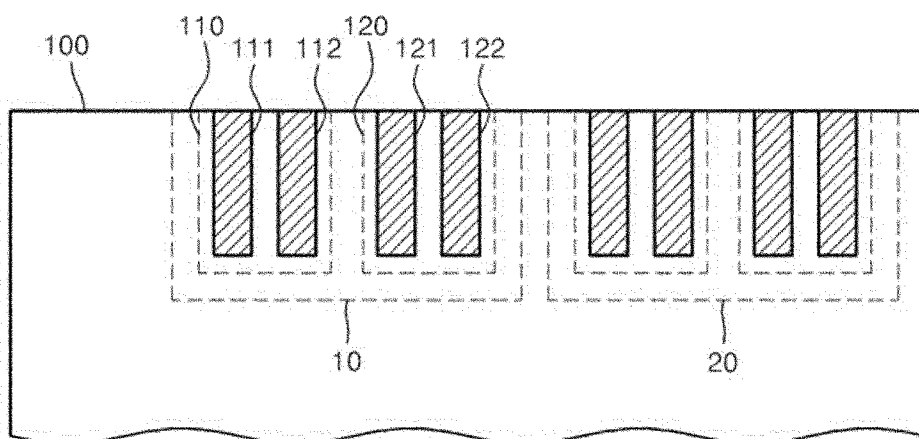
[Fig. 1]



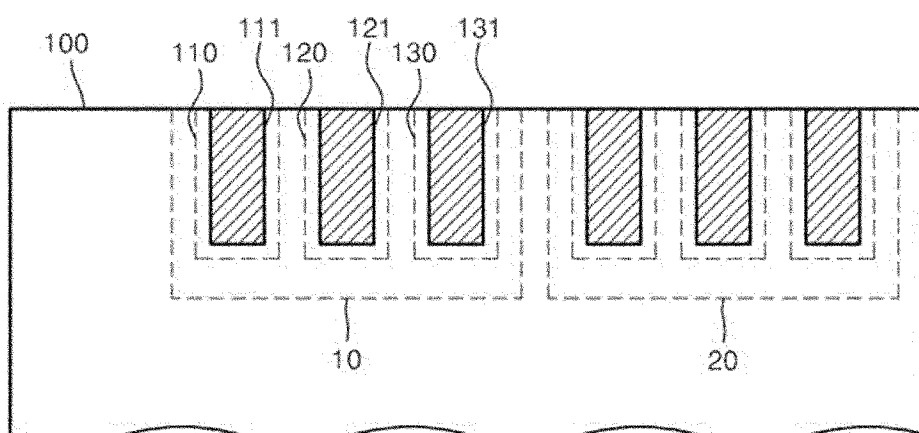
[Fig. 2]



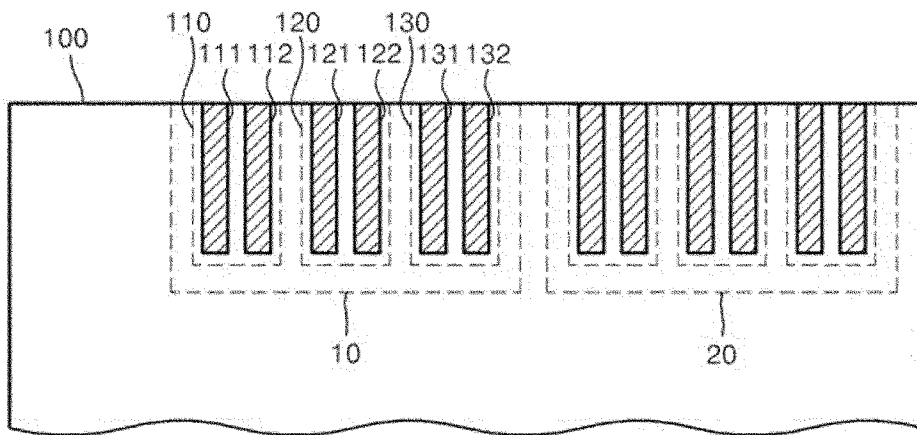
[Fig. 3]



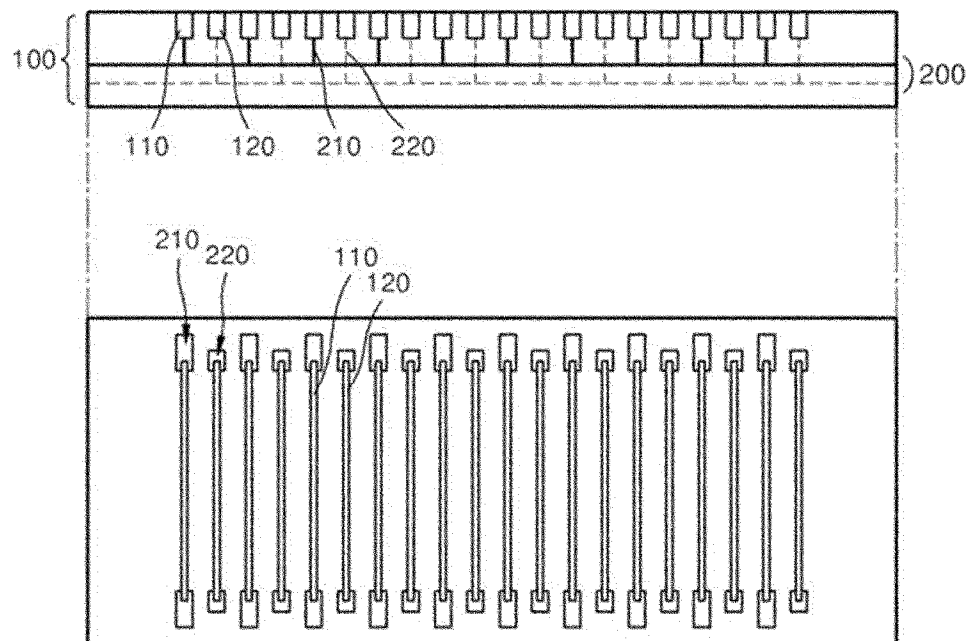
[Fig. 4]



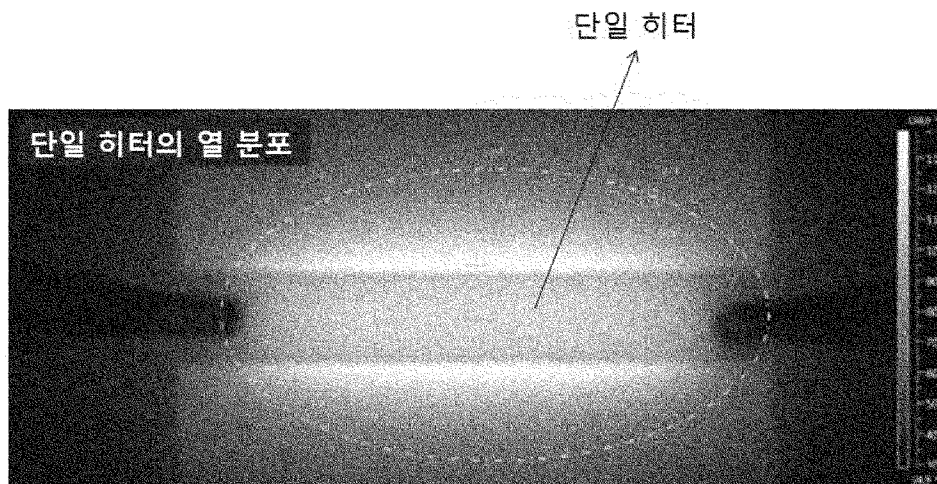
[Fig. 5]



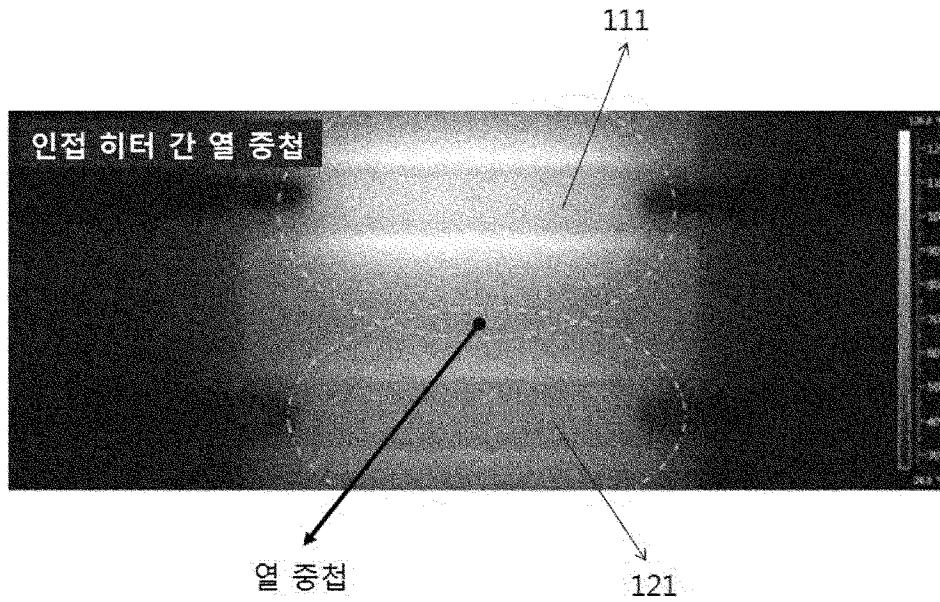
[Fig. 6]



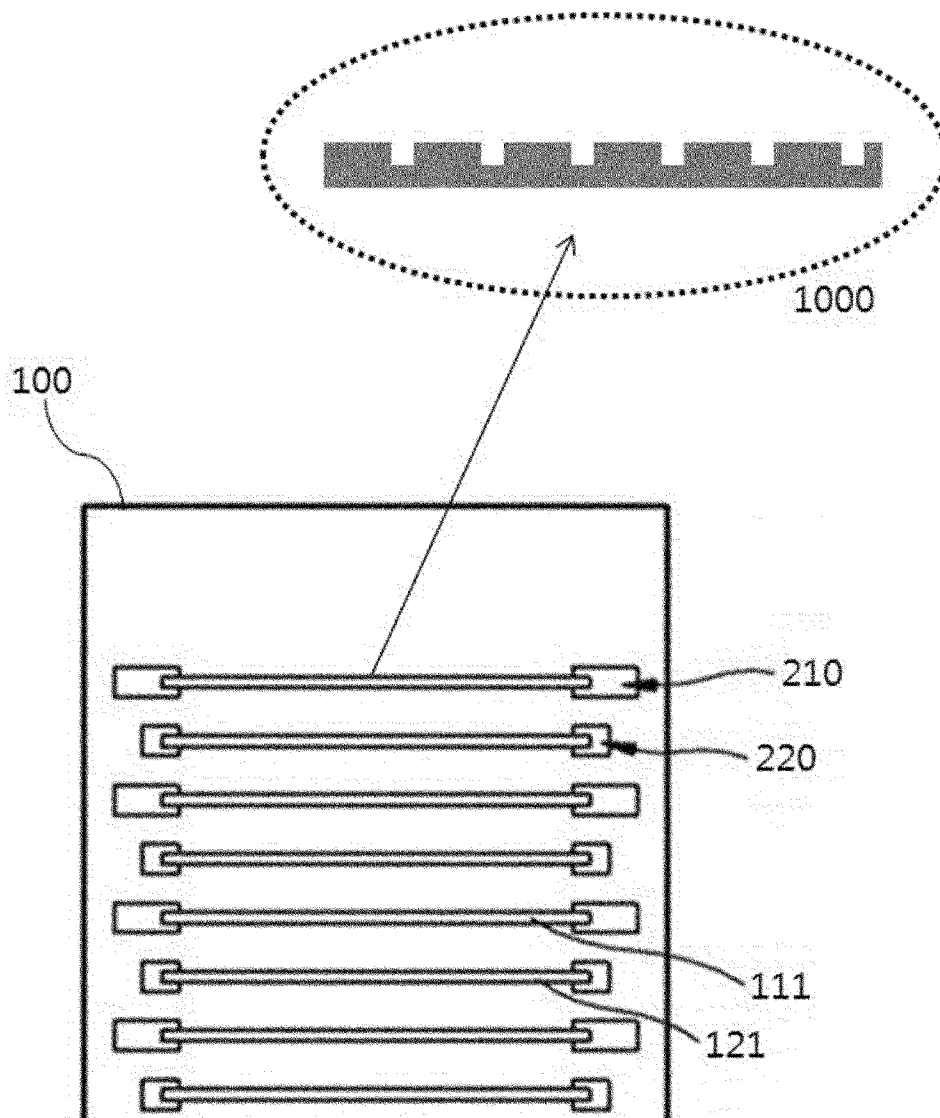
[Fig. 7]



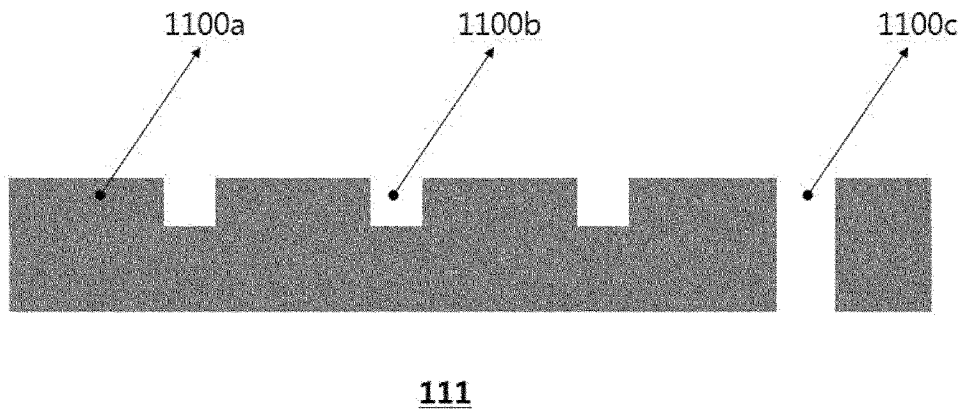
[Fig. 8]



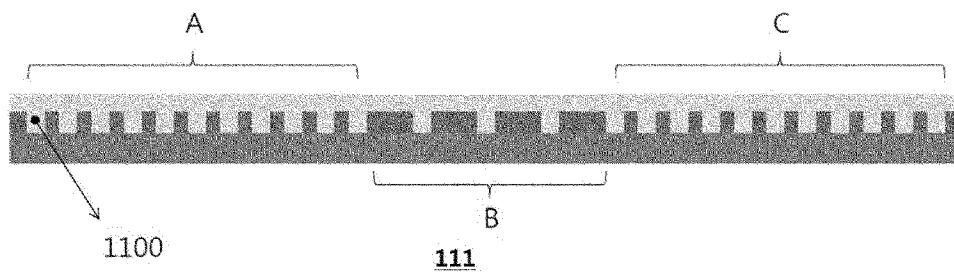
[Fig. 9]



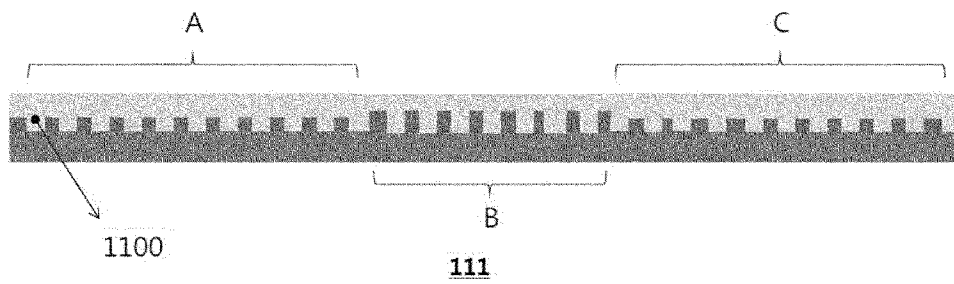
[Fig. 10]



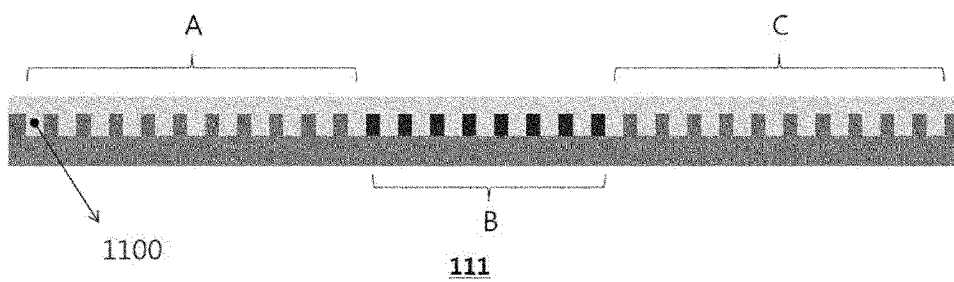
[Fig. 11]



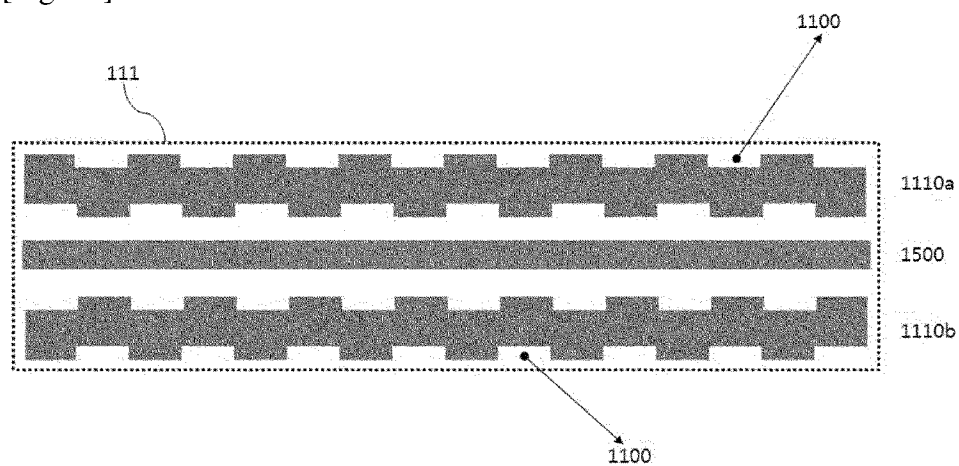
[Fig. 12]



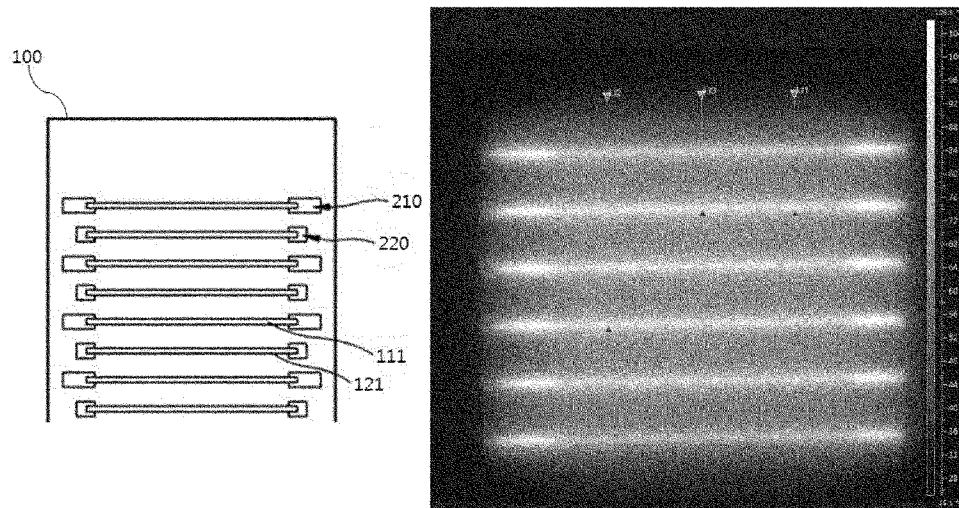
[Fig. 13]



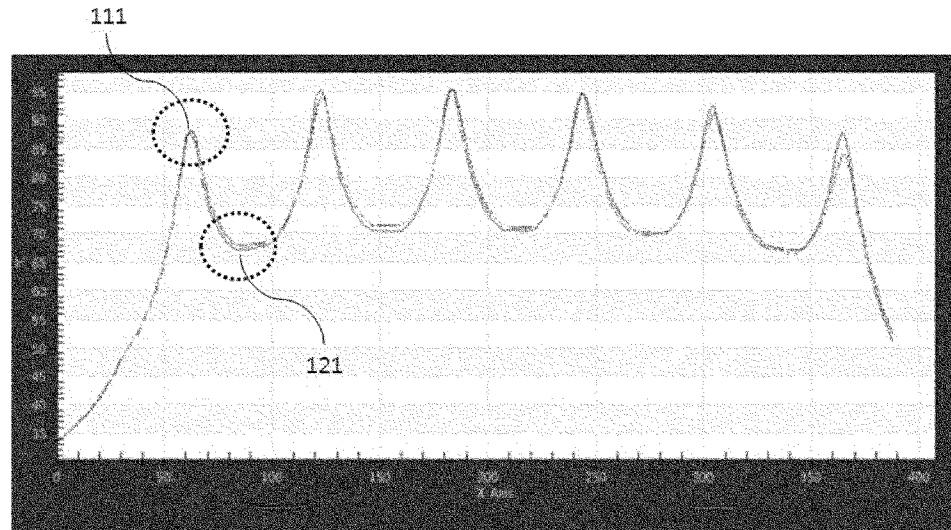
[Fig. 14]



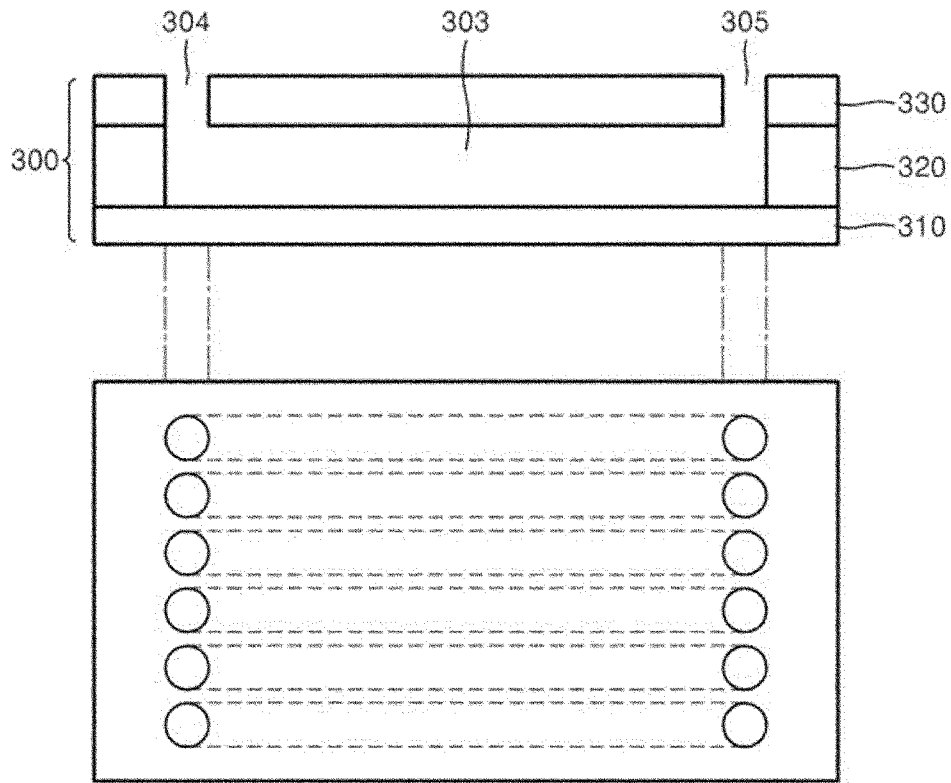
[Fig. 15]



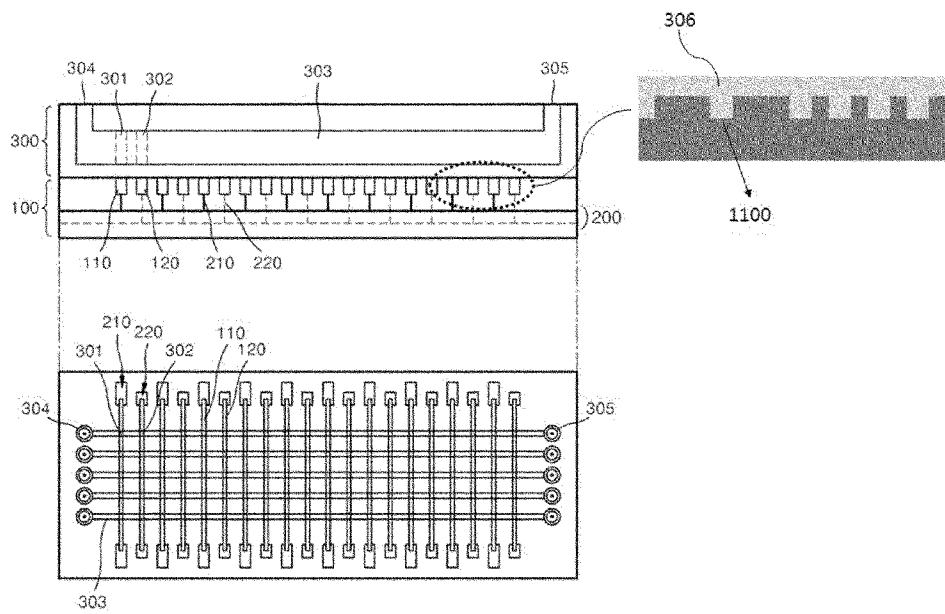
[Fig. 16]



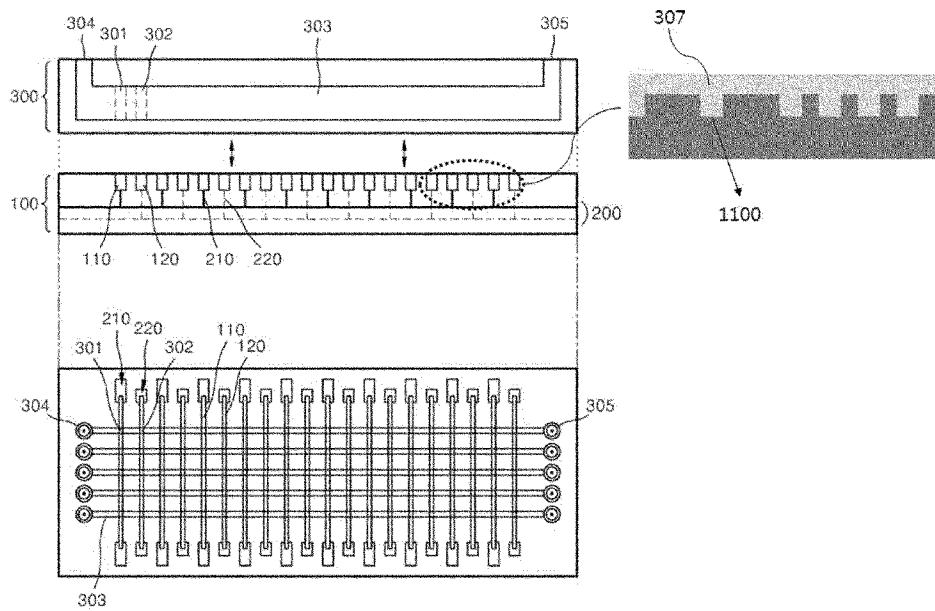
[Fig. 17]



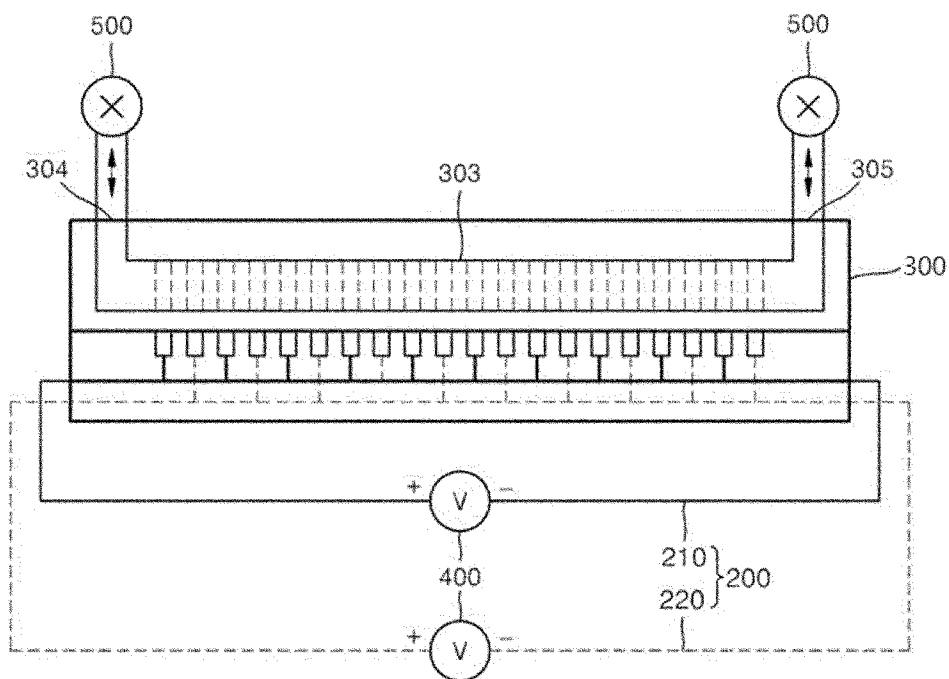
[Fig. 18]



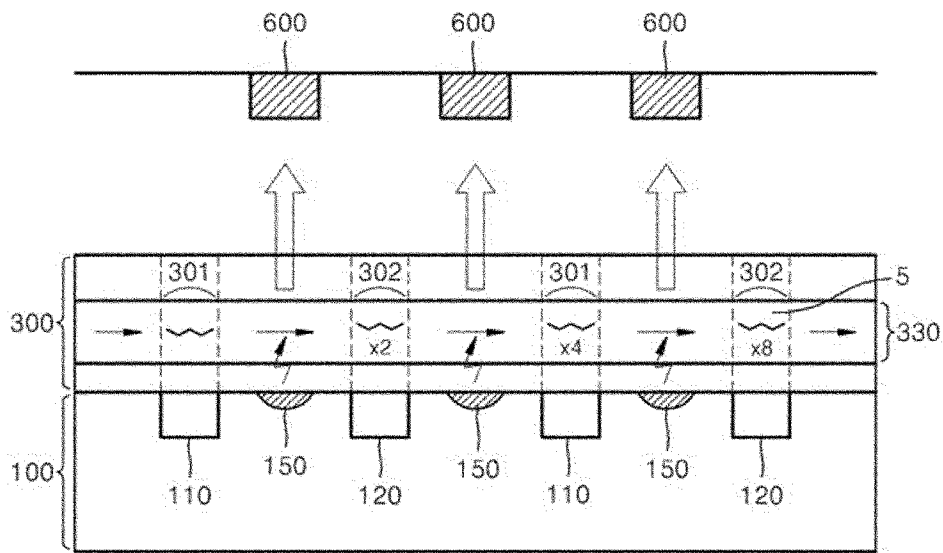
[Fig. 19]



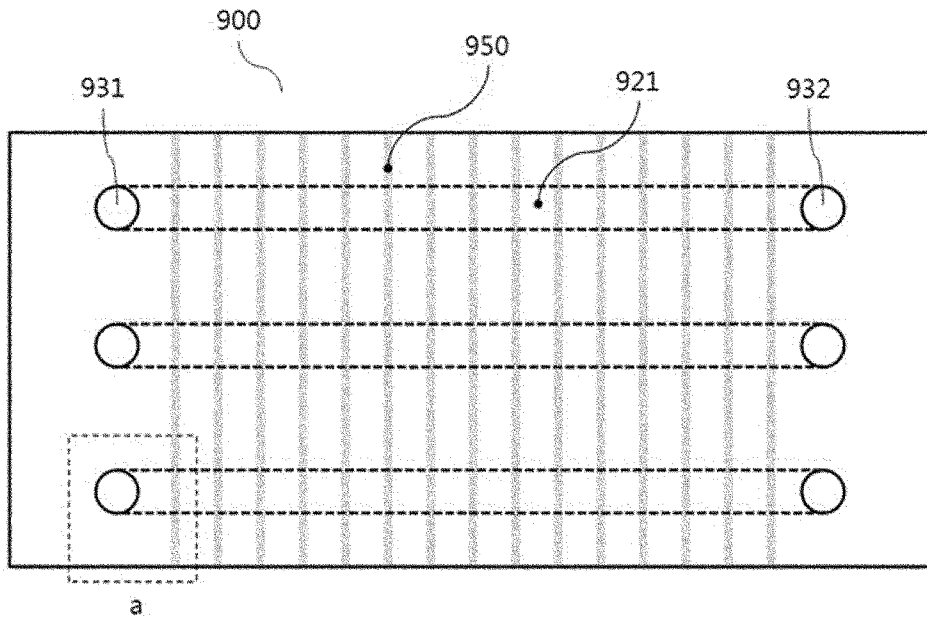
[Fig. 20]



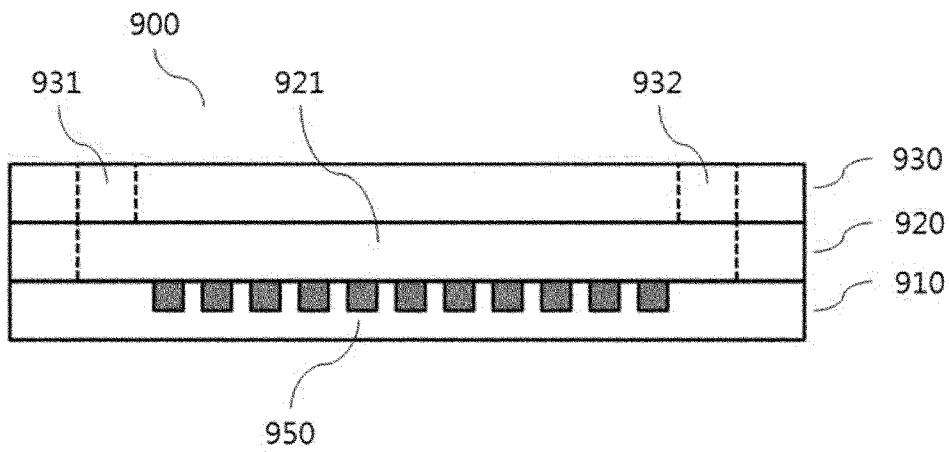
[Fig. 21]



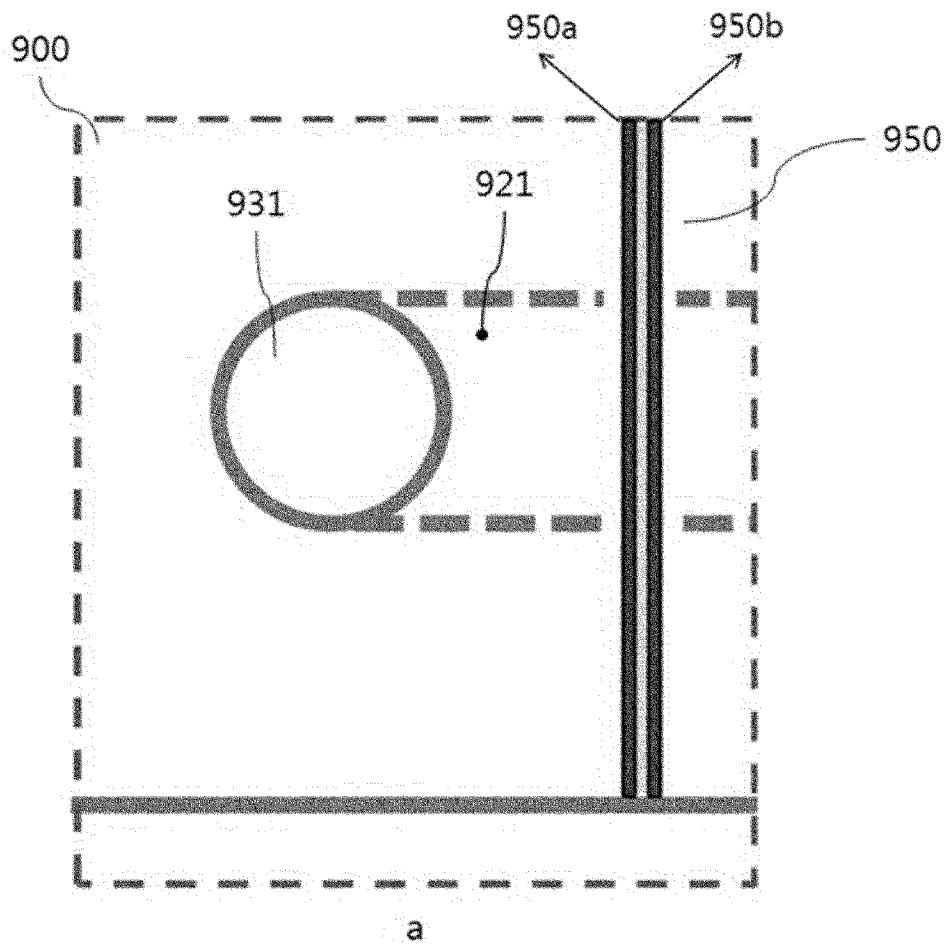
[Fig. 22]



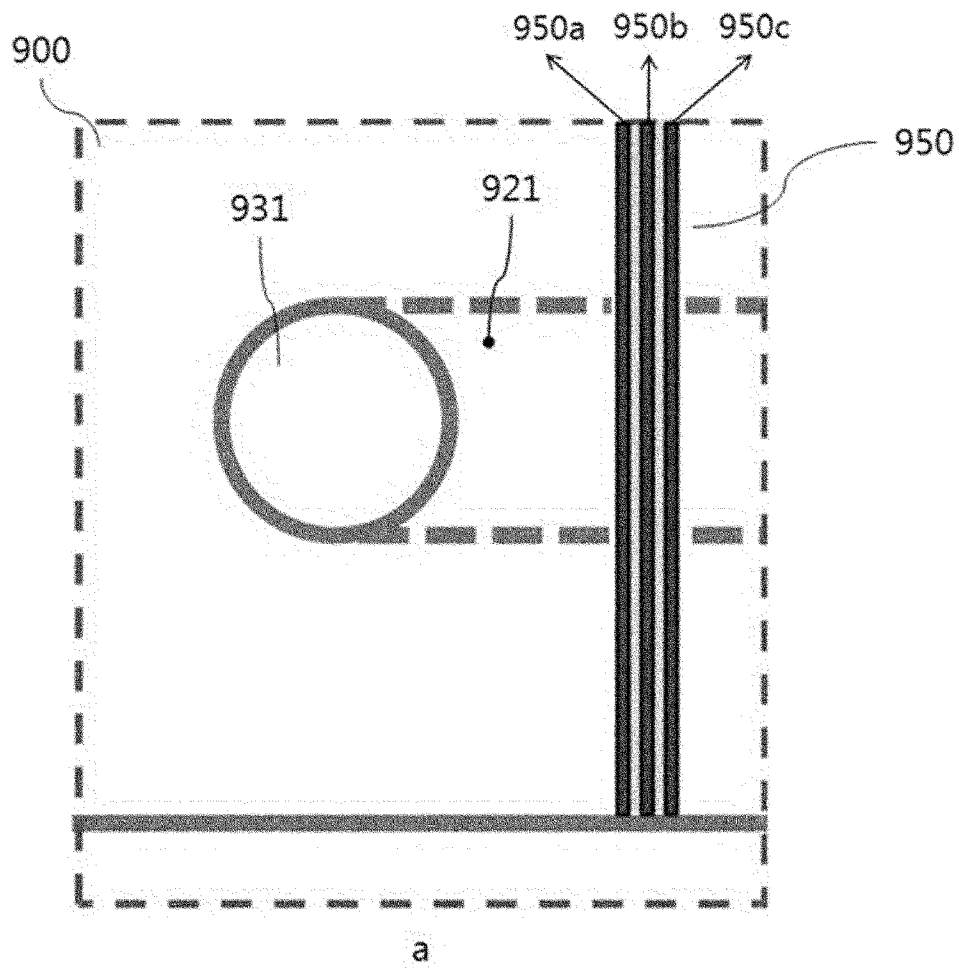
[Fig. 23]



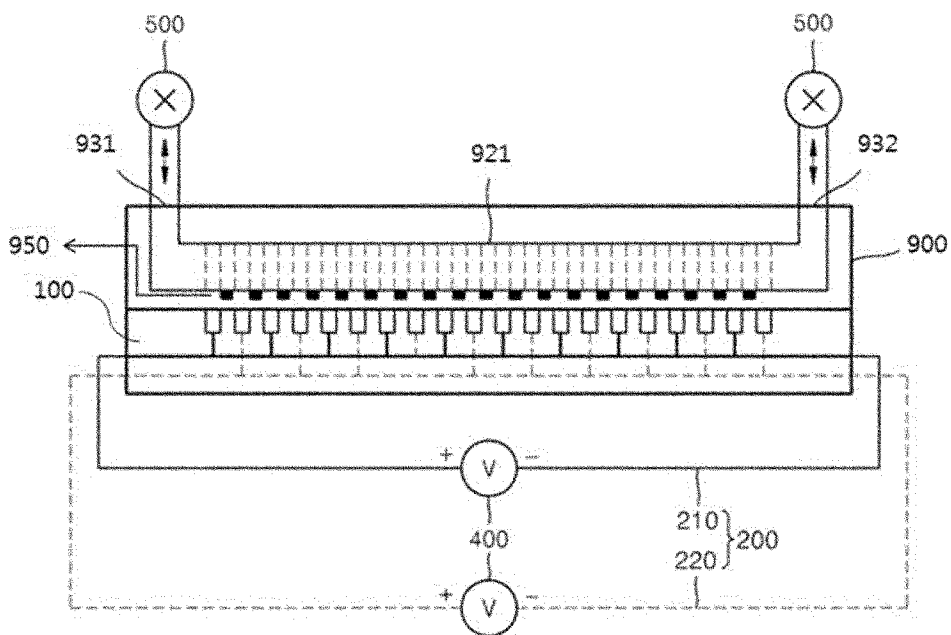
[Fig. 24]



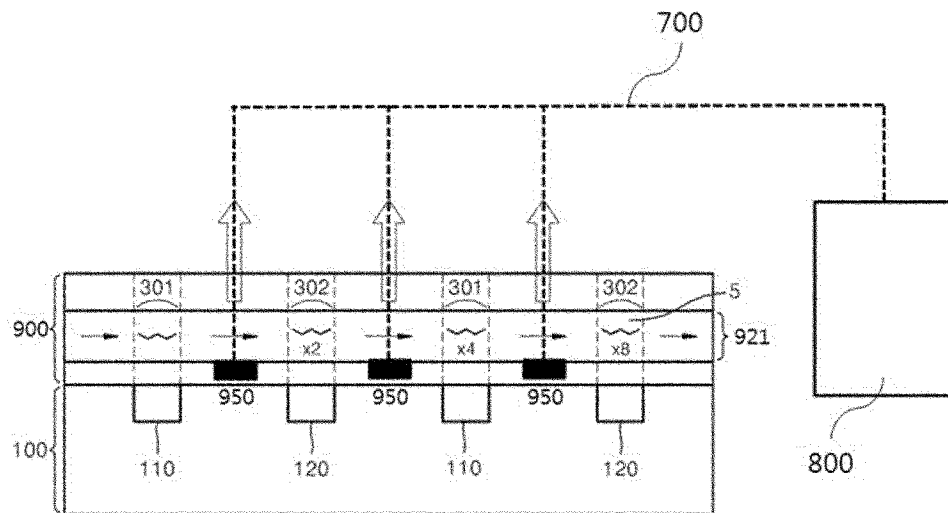
[Fig. 25]



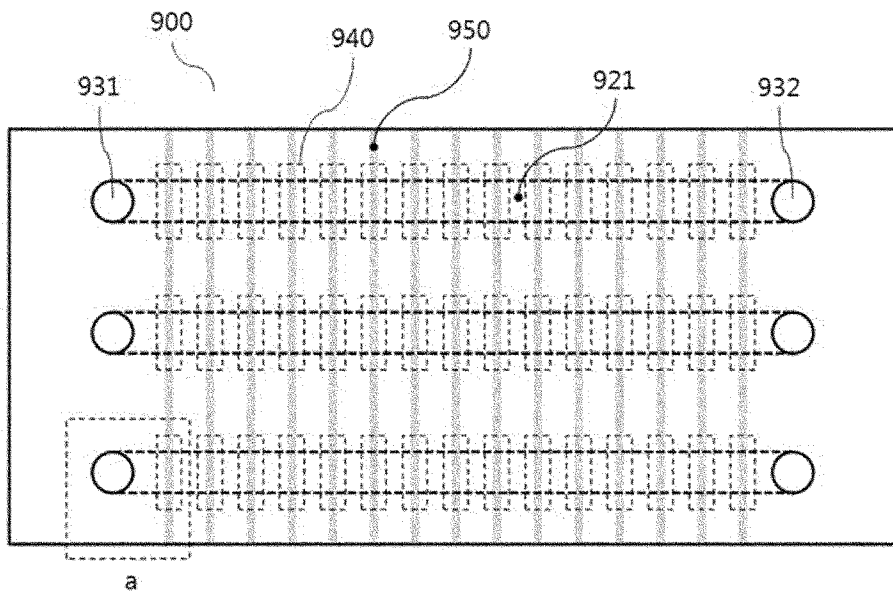
[Fig. 26]



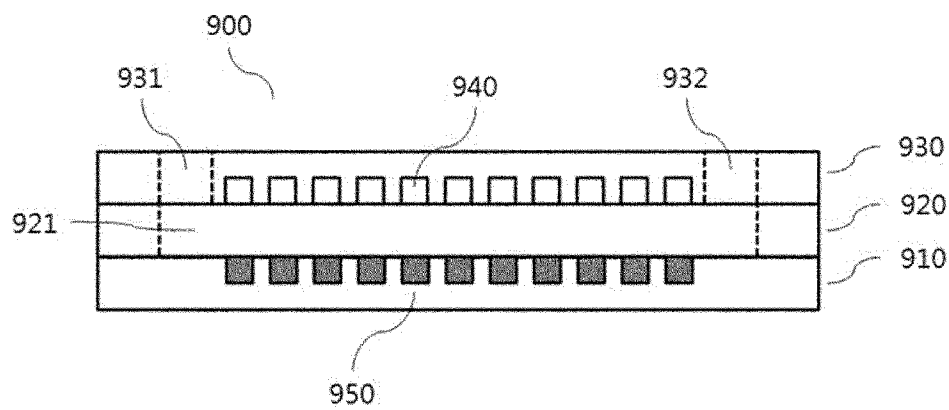
[Fig. 27]



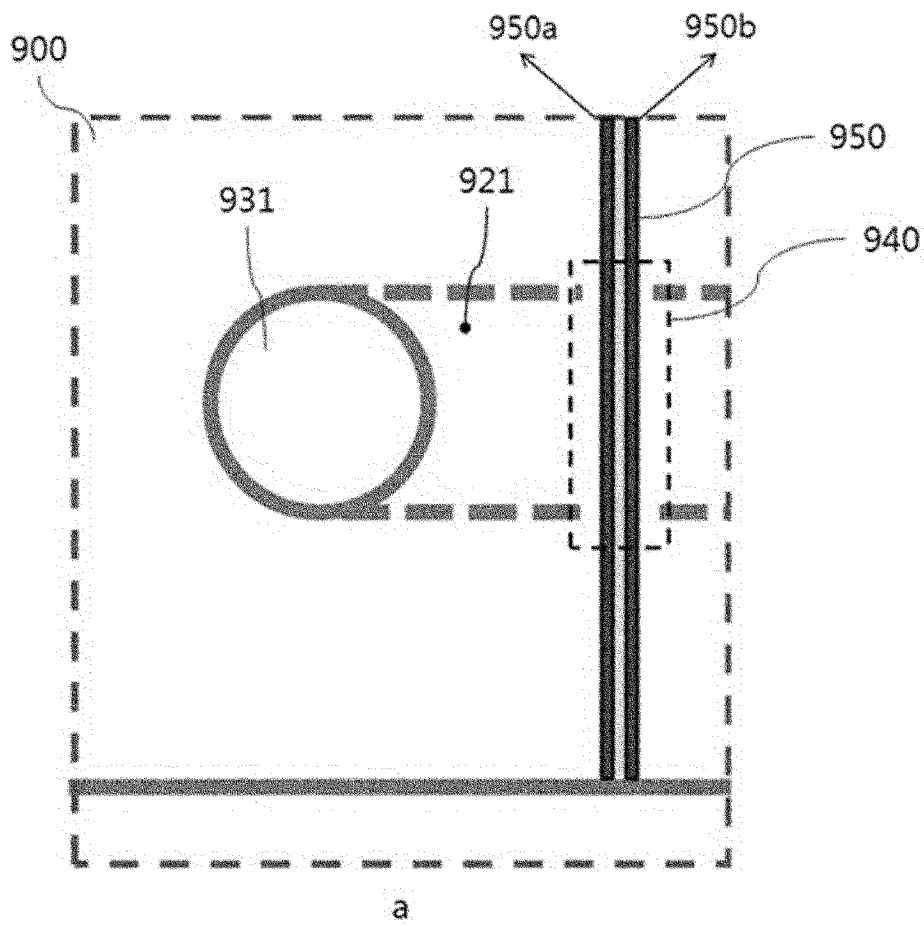
[Fig. 28]



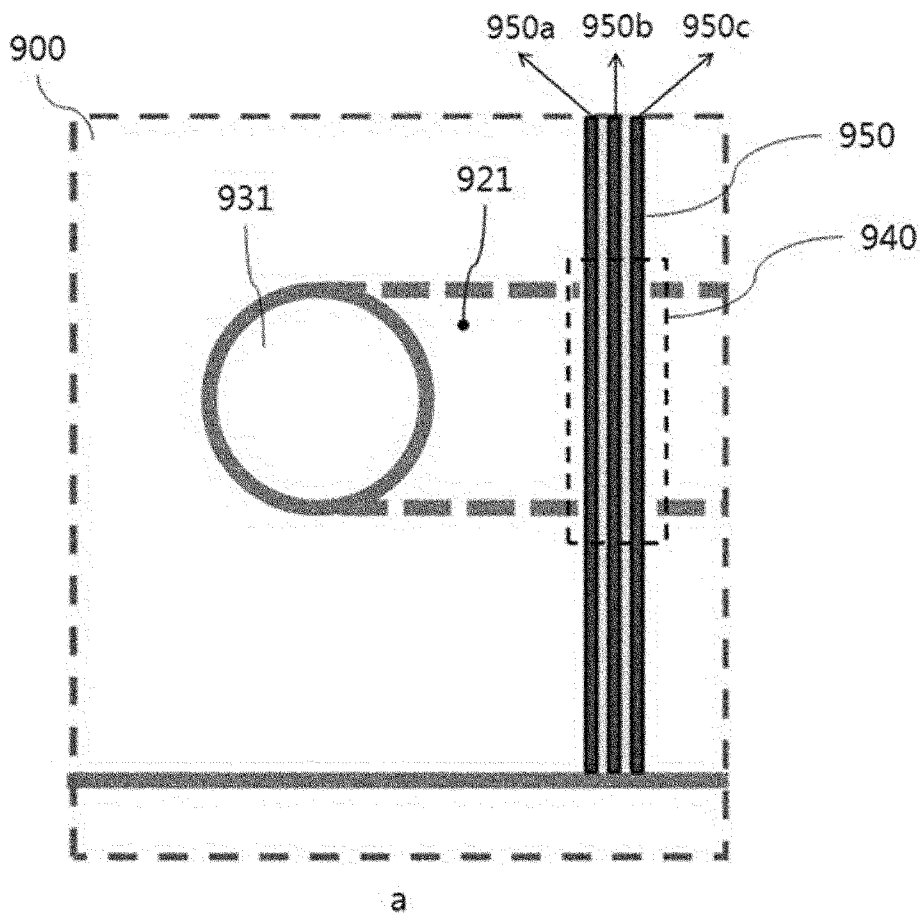
[Fig. 29]



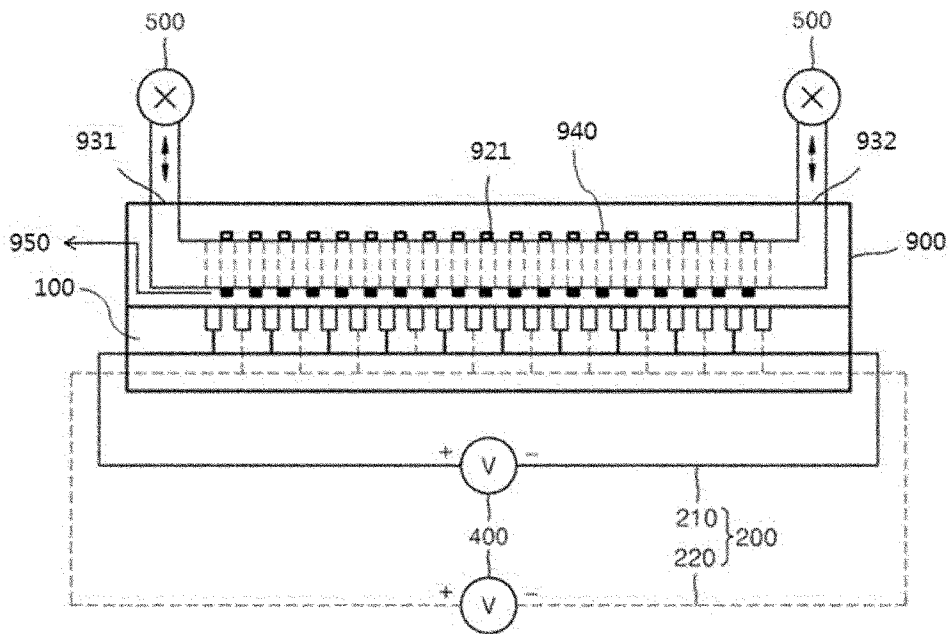
[Fig. 30]



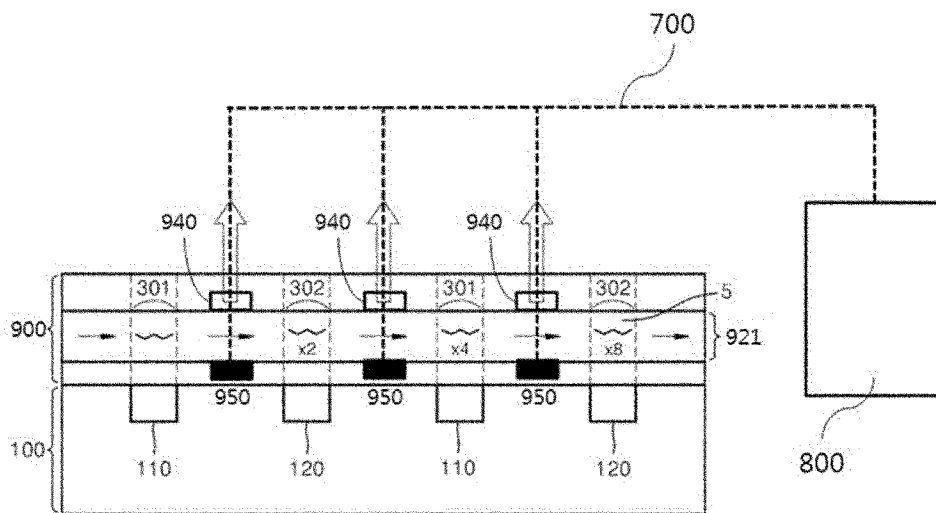
[Fig. 31]



[Fig. 32]



[Fig. 33]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2014/002284

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M 1/38(2006.01)i, C12Q 1/68(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M 1/38; C12M 1/36; C12Q 1/68; C12M 1/34; H01L 21/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: heater, heating uniformity, compensated pattern, heat overlapping, PCR, heating block, line, thickness, arrangement

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2012-0137054 A (NANOBIOSYS INC.) 20 December 2012 See claims 1-7; figures 1-6.	1-17
A	KR 10-2012-0139205 A (NANOBIOSYS INC.) 27 December 2012 See claims 1-5; figures 1-6.	1-17
A	KR 10-2012-0139206 A (NANOBIOSYS INC.) 27 December 2012 See claims 1-3; figures 1-4 .	1-17
A	US 2008-0131956 A1 (CHUNG, K. H. et al.) 05 June 2008 See claims 1 and 8-11; figures 1-3.	1-17
A	KR 10-2005-0003944 A (ULTECH CO., LTD.) 12 January 2005 See abstract; claims 1-3; figures 1-2.	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 JULY 2014 (21.07.2014)

Date of mailing of the international search report

22 JULY 2014 (22.07.2014)

Name and mailing address of the ISA/KR

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

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2014/002284

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2012-0137054 A	20/12/2012	NONE	
KR 10-2012-0139205 A	27/12/2012	NONE	
KR 10-2012-0139206 A	27/12/2012	NONE	
US 2008-0131956 A1	05/06/2008	KR 10-0900956 B1	08/06/2009
KR 10-2005-0003944 A	12/01/2005	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12M 1/38(2006.01)i, C12Q 1/68(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12M 1/38; C12M 1/36; C12Q 1/68; C12M 1/34; H01L 21/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 히터, 열 균일도, 보상형 패턴, 열 중첩, PCR, 열 블록, 간극, 두께, 배치

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2012-0137054 A (나노바이오시스 주식회사) 2012.12.20. 청구항 1-7; 도면 1-6 참조.	1-17
A	KR 10-2012-0139205 A (나노바이오시스 주식회사) 2012.12.27. 청구항 1-5; 도면 1-6 참조.	1-17
A	KR 10-2012-0139206 A (나노바이오시스 주식회사) 2012.12.27. 청구항 1-3; 도면 1-4 참조.	1-17
A	US 2008-0131956 A1 (CHUNG, K. H. 외 3명) 2008.06.05. 청구항 1 및 8-11; 도면 1-3 참조.	1-17
A	KR 10-2005-0003944 A ((주)울텍) 2005.01.12. 요약; 청구항 1-3; 도면 1-2 참조.	1-17

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

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

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

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

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

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

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

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2014년 07월 21일 (21.07.2014)

국제조사보고서 발송일

2014년 07월 22일 (22.07.2014)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



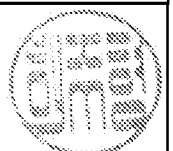
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2012-0137054 A	2012/12/20	없음	
KR 10-2012-0139205 A	2012/12/27	없음	
KR 10-2012-0139206 A	2012/12/27	없음	
US 2008-0131956 A1	2008/06/05	KR 10-0900956 B1	2009/06/08
KR 10-2005-0003944 A	2005/01/12	없음	