



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년02월23일
(11) 등록번호 10-2217487
(24) 등록일자 2021년02월15일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G06F 13/16 (2006.01) C07H 21/04 (2006.01)
C12N 15/10 (2017.01) G06F 13/42 (2006.01)
G06F 21/78 (2013.01)
- (52) CPC특허분류
G06F 13/16 (2013.01)
C07H 21/04 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-7011399
- (22) 출원일자(국제) 2017년09월19일
심사청구일자 2020년09월17일
- (85) 번역문제출일자 2019년04월19일
- (65) 공개번호 10-2019-0049885
- (43) 공개일자 2019년05월09일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/052305
- (87) 국제공개번호 WO 2018/057526
국제공개일자 2018년03월29일
- (30) 우선권주장
62/397,855 2016년09월21일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
US20150261664 A1
US05863801 A
US05118605 A

- (73) 특허권자
트위스트 바이오사이언스 코포레이션
미국, 캘리포니아 94158, 샌프란시스코, 스위트
545, 사우쓰, 미션 베이 불러바드 455
- (72) 발명자
팩 빌 제임스
미국 95051 캘리포니아주 산타 클라라 칼턴 플레
이스 3086
- (74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 22 항

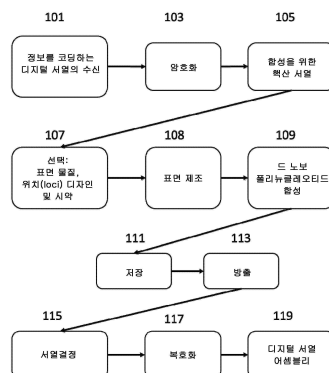
심사관 : 김세영

(54) 발명의 명칭 **핵산 기반 데이터 저장**

(57) 요약

본 출원은 저장을 위한 생체분자 기반 정보의 생성 및 이용을 위한 조성물, 장치, 시스템 및 방법을 제공한다. 또한, 오리지널 소스 정보에 관련된 정보를 코딩하는 핵산의 드 노보 합성을 위해 본 출원에 기재된 장치는 강성 또는 가요성 물질일 수 있다. 추가로 정보의 체류에서 100% 정확성으로 장기간 데이터를 저장하기 위한 매우 효율적인 방법이 본 출원에 기재된다. 또한, 저장된 정보를 판독하기 위한 저장 구조체로부터 미리 선택된 폴리뉴클레오티드의 효율적인 전달을 위한 방법 및 시스템이 본 출원에서 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12N 15/1027 (2013.01)
C12N 15/1089 (2013.01)
G06F 13/4234 (2013.01)
G06F 21/78 (2013.01)
G06F 2212/1052 (2013.01)
G06F 2212/402 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/446,178 2017년01월13일 미국(US)
62/517,671 2017년06월09일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

정보를 저장하고 액세스하기 위한 방법으로서,

- a) 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 적어도 하나의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계;
- b) 표면을 포함하는 구조체를 제공하는 단계;
- c) 집합적으로 적어도 하나의 핵산 서열을 코딩하는 선결(predetermined) 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 각각의 폴리뉴클레오티드는 표면으로부터 연장되는 것인 단계;
- d) 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계; 및
- e) 다수의 폴리뉴클레오티드를 수용 유닛으로 선택적으로 전달하는 단계로서, 선택적으로 전달하는 단계는 정전 기력의 적용을 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드는 집합적으로 적어도 하나의 핵산 서열의 단일 핵산 서열을 코딩하는 것인 단계

를 포함하는, 정보를 저장하고 액세스하기 위한 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 다수의 폴리뉴클레오티드를 수용 유닛으로 선택적으로 전달하는 단계는, 전도성 부재, 및 구조체와 전도성 부재 사이의 인가된 전압 전위를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 다수의 폴리뉴클레오티드를 수용 유닛으로 선택적으로 전달하는 단계는 압력 릴리스(pressure release) 또는 압력 노즐을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 집합적으로 적어도 하나의 핵산 서열을 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계는 압력 노즐을 사용하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 집합적으로 적어도 하나의 핵산 서열을 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계는 압력 노즐을 통해 폴리뉴클레오티드를 플러딩(flooding)하는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 6

제3항에 있어서, 집합적으로 적어도 하나의 핵산 서열을 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계는 압력 노즐을 통해 뉴클레오티드를 침착시키는 것을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

다수의 폴리뉴클레오티드를 서열결정하는 단계; 및

적어도 하나의 디지털 서열을 어셈블링하는 단계

를 추가로 포함하는 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 어셈블링된 적어도 하나의 디지털 서열은 초기의 적어도 하나의 디지털 서열에 비해 100% 정확한 것인 방법.

청구항 9

정보의 수집을 위한 방법으로서,

a) 표면을 포함하는 구조체를 제공하는 단계로서, 상기 구조체는

집합적으로 적어도 하나의 핵산 서열을 코딩하는 선결 서열을 보유하는 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드; 및

집합적으로 적어도 하나의 핵산 서열을 코딩하는 선결 서열을 보유하는 제2의 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드 및 제2의 다수의 폴리뉴클레오티드는 둘 다 표면으로부터 연장되고, 둘 다 동일한 적어도 하나의 핵산 서열을 코딩하는 것인 단계;

b) 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 구조체의 영역을 선택적으로 분리하고 표면으로부터 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 제거하는 단계로서, 표면으로부터 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 제거하는 단계는 정전기력의 적용을 포함하는 것인 단계; 및

c) 적어도 하나의 핵산 서열을 서열결정하고 복호화하여 정보의 아이템을 코딩하는 적어도 하나의 디지털 서열을 형성하는 단계

를 포함하는, 정보의 수집을 위한 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 구조체의 영역은 채널 또는 웰의 클러스터를 포함하는 것인 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 구조체는 강성 구조체인 방법.

청구항 12

제9항에 있어서, 구조체는 가요성 구조체인 방법.

청구항 13

제9항에 있어서, 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드가 결여된 구조체의 나머지 부분만을 포함하는 구조체의 영역은 함께 다시 스프라이싱되는 것인 방법.

청구항 14

제9항에 있어서, 표면으로부터 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 제거하는 단계는, 전도성 부재, 및 구조체와 전도성 부재 사이의 인가된 전압 전위를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 15

제9항에 있어서, 표면으로부터 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 제거하는 단계는 압력 릴리스 또는 압력 노출을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 16

제9항에 있어서, 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드는 최대 500개 염기 길이를 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제9항에 있어서, 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드는 최대 200개 염기 길이를 포함하는 것인 방법.

청구항 18

제9항에 있어서, 제2의 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드는 최대 500개 염기 길이를 포함하는 것인 방법.

청구항 19

제9항에 있어서, 제2의 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드는 최대 200개 염기 길이를 포함하는 것인 방법.

청구항 20

제9항에 있어서, 정보의 아이템의 양은 적어도 1 기가바이트인 방법.

청구항 21

제9항에 있어서, 정보의 아이템의 양은 적어도 1 테라바이트인 방법.

청구항 22

제9항에 있어서, 정보의 아이템의 양은 적어도 1 페타바이트인 방법.

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

- 청구항 49
- 삭제
- 청구항 50
- 삭제
- 청구항 51
- 삭제
- 청구항 52
- 삭제
- 청구항 53
- 삭제
- 청구항 54
- 삭제
- 청구항 55
- 삭제
- 청구항 56
- 삭제
- 청구항 57
- 삭제
- 청구항 58
- 삭제
- 청구항 59
- 삭제
- 청구항 60
- 삭제
- 청구항 61
- 삭제
- 청구항 62
- 삭제
- 청구항 63
- 삭제
- 청구항 64
- 삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

상호 참조

[0002]

본 출원은 2017년 6월 9일 출원된 미국 가출원 번호 62/517,671; 2017년 1월 13일 출원된 미국 가출원 번호 62/446,178; 및 2016년 9월 21일 출원된 미국 가출원 번호 62/397,855를 우선권 주장의 기초로 하며, 이들 각각은 본 출원에 전적으로 참고로 인용된 것이다.

[0003]

서열 목록

[0004]

본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 본 출원에 전적으로 참고로 인용된다. 2017년 9월 18일에 생성된 ASCII 사본은 그 명칭이 44854_728_601_SL.txt이며, 크기는 1,612 바이트이다.

배경 기술

[0005]

배경

[0006]

생체분자 기반 정보 저장 시스템, 예를 들어 DNA 기반은 큰 저장 용량 및 시간 경과에 따른 안정성을 보유한다.

그러나, 정보 저장을 위한 생체분자를 생성하기 위한, 확장 가능하고, 자동화되고, 매우 정확하고, 및 매우 효율적인 시스템에 대한 요구가 존재한다.

발명의 내용

[0007] 개요

본 출원에서는 정보를 저장하고 액세스하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 (a) 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 적어도 하나의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계; (b) 표면을 포함하는 구조체를 제공하는 단계; (c) 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결(predetermined) 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 각각의 폴리뉴클레오티드는 표면으로부터 연장되는 단계; (d) 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계; 및 (e) 다수의 폴리뉴클레오티드를 수용 유닛으로 선택적으로 전달하는 단계로서, 선택적으로 전달하는 것은 힘의 적용을 포함하고, 힘은 층류압(laminar pressure), 모세관 압력, 슬립 플로우 압력, 자력, 정전기력, 연동력(peristaltic force), 음파, 진동력, 구심력, 원심력, 또는 이들의 임의의 조합이고, 다수의 폴리뉴클레오티드는 적어도 하나의 핵산 서열의 단일 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 단계를 포함한다. 또한, 본 출원에서는 힘의 적용이 전도성 부재, 및 구조체와 전도성 부재 사이의 인가된 전압 전위를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 힘의 적용이 구조체의 표면을 강성 또는 가요성 슬립과 접촉시키는 것을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 힘의 적용이 압력 릴리스(pressure release) 또는 압력 노즐을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 단계 (c) 중에 압력 노즐을 사용하는 것을 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 압력 노즐을 통해 폴리뉴클레오티드를 플러딩(flooding)하는 것을 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 압력 노즐을 통해 뉴클레오티드를 침착(depositing)시키는 것을 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 다수의 폴리뉴클레오티드를 서열결정하는 단계; 및 적어도 하나의 디지털 서열을 어셈블링하는 단계를 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 어셈블링된 적어도 하나의 디지털 서열이 초기의 적어도 하나의 디지털 서열에 비해 100% 정확한 방법이 제공된다.

본 출원에서는, 정보를 저장하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 (a) 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 적어도 하나의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계; (b) 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 각각의 폴리뉴클레오티드는 (i) 각각의 코딩 영역이 동일한 다수의 코딩 영역; 및 (ii) 절단 영역을 포함하는 적어도 하나의 비코딩 영역을 포함하는 단계; 및 (c) 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계를 포함한다. 또한, 본 출원에서는 절단 영역이 제한 효소 인식 부위를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 절단 영역이 감광성 핵염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 절단 영역에서 절단하기 위한 제한 효소, 전자기 방사선, 또는 기체 시약을 적용함으로써 다수의 코딩 영역 중 적어도 하나를 제거하는 것을 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 코딩 영역이 길이가 25 내지 500개인 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 코딩 영역이 길이가 100 내지 2000개인 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 비코딩 영역이 길이가 1 내지 100개인 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 비코딩 영역이 200개 이하의 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 100억 개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 폴리뉴클레오티드의 90% 초과가 선결 서열과 상이하지 않은 서열을 코딩하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 정보의 적어도 하나의 아이템이 텍스트 정보, 청각 정보 또는 시각 정보인 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 제1 비코딩 영역이 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 제2 비코딩 영역과 상이한 서열을 보유하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 각각의 비코딩 영역이 상이한 서열을 보유하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 제1 절단 영역이 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 제2 절단 영역과 상이한 서열을 보유하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 각각의 절단 영역이 상이한 서열을 보유하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 절단 영역의 수가 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5인 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 절단 영역의 수에 대한 서열이 상이한 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드가 테더 영역(tether region)을 포함하는 방법이 제공된다.

본 출원에서는, 정보를 암호화하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 (a) 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 적어도 하나의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계; (b) 적어도 하나의 핵산 서열 각

각을 다수의 동일하지 않은 마킹 중 하나와 관련시키는 단계; (c) 표면을 보유하는 구조체를 제공하는 단계로서, 상기 표면은 다수의 동일하지 않은 마킹을 포함하는 단계; (d) 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 다수의 폴리뉴클레오티드는 적어도 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 각각의 폴리뉴클레오티드는 상기 동일하지 않은 마킹 중 하나에 의해 확정된 별개의 영역 내의 표면으로부터 연장되는 단계; 및 (e) 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계를 포함한다. 또한, 본 출원에서는 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 1,000,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 폴리뉴클레오티드의 90% 초과가 선결 서열과는 상이하지 않은 서열을 코딩하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 정보의 적어도 하나의 아이템이 텍스트 정보, 청각 정보 또는 시각 정보인 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 동일하지 않은 마킹 중 하나에 의해 별개로 확정된 폴리뉴클레오티드의 서브세트가 동일한 서열을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 동일하지 않은 마킹 중 하나에 의해 별개로 확정된 폴리뉴클레오티드의 서브세트를 선택하는 단계, 폴리뉴클레오티드의 서브세트를 방출하는 단계, 다수의 폴리뉴클레오티드를 서열결정하는 단계, 다수의 폴리뉴클레오티드를 복호화하는 단계, 및 적어도 하나의 디지털 서열을 어셈블링하는 단계를 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 동일하지 않은 마킹 중 하나에 의해 별개로 확정된 폴리뉴클레오티드의 서브세트를 선택하는 단계, 폴리뉴클레오티드의 서브세트를 증폭하는 단계, 폴리뉴클레오티드의 서브세트를 서열결정하는 단계, 다수의 폴리뉴클레오티드를 복호화하는 단계, 및 적어도 하나의 디지털 서열을 어셈블링하는 단계를 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 어셈블링된 적어도 하나의 디지털 서열이 초기의 적어도 하나의 디지털 서열에 비해 100% 정확한 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 적어도 하나의 디지털 서열이 적어도 1 기가바이트의 디지털 정보량을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 적어도 하나의 디지털 서열이 적어도 1 테라바이트의 디지털 정보량을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 적어도 하나의 디지털 서열이 적어도 1 페타바이트의 디지털 정보량을 포함하는 방법이 제공된다.

[0011] 본 출원에서는, 정보의 수집을 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 (a) 표면을 포함하는 구조체를 제공하는 단계로서, 상기 구조체는 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드; 및 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 제2의 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드 및 제2의 다수의 폴리뉴클레오티드는 둘 다 표면으로부터 연장되고, 둘 다 동일한 적어도 하나의 핵산 서열을 코딩하는 단계; (b) 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 구조체의 영역을 선택적으로 분리하고, 표면으로부터 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 제거하는 단계; 및 (c) 적어도 하나의 핵산 서열을 서열결정하고 복호화하여 정보의 아이템을 코딩하는 적어도 하나의 디지털 서열을 형성하는 단계를 포함한다. 또한, 본 출원에서는 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 구조체의 영역이 채널 또는 웰의 클러스터를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 구조체가 강성 구조체인 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 구조체가 가요성 구조체인 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드가 결여된 구조체의 나머지 부분만을 포함하는 구조체의 영역이 함께 다시 스프라이싱되는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 선택적으로 제거하는 것이 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 구조체의 영역에 힘을 적용하는 것을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 힘을 적용하는 것이 충류압, 모세관 압력, 슬립 플로우 압력, 자력, 정전기력, 연동력, 초음파, 진동력, 구심력, 원심력, 또는 이들의 임의의 조합인 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 힘을 적용하는 것이 전도성 부재, 및 구조체와 전도성 부재 사이의 인가된 전압 전위를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 힘을 적용하는 것이 구조체의 표면을 강성 또는 가요성 슬립과 접촉시키는 것을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 힘의 적용이 압력 릴리스 또는 압력 노출을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드가 길이 500개 이하인 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 제1의 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드가 길이 200개 이하인 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 제2의 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드가 길이 500개 이하인 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 제2의 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드가 길이 200개 이하인 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 정보의 아이템의 양이 적어도 1 기가바이트인 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 정보의 아이템의 양이 적어도 1 테라바이트인 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 정보의 아이템의 양이 적어도 1 페타바이트인 방법이 제공된다.

[0012] 본 출원에서는, 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공되는데, 여기서 각각의 폴리뉴클레오티드는 (i) 각각의 코딩 영역이 동일한 다수의 코딩 영역; 및 (ii) 절단 영역을 포함하는 적어도 하나의 비코딩 영역을 포함하고; 다수의 폴리뉴클레오티드가 서열결정되고, 복호화되고, 어셈블링되어 디지털 서열을 형성하는 경우, 상기 디지털 서열은 미리 선택된 디지털 서열에 비해 90% 초과 정확성을 보유한다. 또한, 본 출원

에서는 절단 영역이 제한 효소 인식 부위를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 절단 영역이 감광성 핵염기를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 절단 영역에서 절단하기 위한 제한 효소, 전자기 방사선, 또는 기체 시약을 포함함으로써 다수의 코딩 영역 중 적어도 하나를 제거하는 것을 추가로 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 코딩 영역이 길이 25 내지 500 개인 염기를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 코딩 영역이 길이 100 내지 2000개인 염기를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 비코딩 영역이 길이 1 내지 100개인 염기를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 비코딩 영역이 길이 200 개 이하인 염기를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 100억 개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 폴리뉴클레오티드의 90% 초과가 선결 서열과는 상이하지 않은 서열을 코딩하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 제1 비코딩 영역이 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 제2 비코딩 영역과는 상이한 서열을 보유하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 각각의 비코딩 영역이 상이한 서열을 보유하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 제1 절단 영역이 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 제2 절단 영역과는 상이한 서열을 보유하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 각각의 절단 영역이 상이한 서열을 보유하는 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드 내의 절단 영역의 수가 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5인 핵산 라이브러리가 제공된다. 또한, 본 출원에서는 상기 절단 영역의 수에 대한 서열이 상이한 핵산 라이브러리가 제공된다.

[0013] 본 출원에서는, 정보를 저장하기 위한 장치가 제공되는데, 상기 장치는 (a) 표면을 보유하는 구조체; 및 (b) 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하기 위한 표면 상의 다수의 별개의 영역을 포함하고, 각각의 폴리뉴클레오티드는 (i) 각각의 코딩 영역이 동일한 다수의 코딩 영역; 및 (ii) 절단 영역을 포함하는 적어도 하나의 비코딩 영역을 포함하며, 적어도 하나의 핵산 서열은 정보의 적어도 하나의 아이템을 코딩한다.

[0014] 본 출원에서는 정보를 암호화하기 위한 장치가 제공되는데, 상기 장치는 (a) 표면을 보유하는 구조체로서, 상기 표면은 다수의 동일하지 않은 마킹을 포함하는 것인 구조체; 및 (b) 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하기 위한 표면 상의 다수의 별개의 영역을 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드는 적어도 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하며, 각각의 폴리뉴클레오티드는 동일하지 않은 마킹 중 하나에 의해 획정된 별개의 영역 내의 표면으로부터 연장되고, 적어도 하나의 핵산 서열은 정보의 적어도 하나의 아이템을 코딩한다.

[0015] 본 출원에서는, 정보를 저장하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 (a) 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 적어도 하나의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계; (b) 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 각각의 폴리뉴클레오티드는 (i) 길이가 약 500개 이하의 염기인 적어도 하나의 코딩 서열; 및 (ii) 적어도 하나의 바코드 서열로서, 상기 바코드 서열은 코딩 서열의 동일성과 관련된 서열을 포함하는 바코드 서열을 포함하는 단계; 및 (c) 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계를 포함한다. 또한, 본 출원에서는 각각의 폴리뉴클레오티드가 길이 약 300개 이하의 염기인 적어도 하나의 코딩 서열을 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 100억 개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 폴리뉴클레오티드의 90% 초과가 선결 서열과 상이하지 않은 서열을 코딩하는 방법이 제공된다. 또한, 본 출원에서는 정보의 적어도 하나의 아이템이 텍스트 정보, 청각 정보 또는 시각 정보인 방법이 제공된다.

[0016] **참조 인용**

[0017] 본 명세서에 언급된 모든 문헌, 특허 및 특허 출원은 각각의 개별적인 문헌, 특허, 또는 특허 출원이 참조 인용되는 것으로 구체적이고 개별적으로 언급되는 바와 같이 동일한 정도로 참조 인용된 것이다.

도면의 간단한 설명

[0018] **도면의 간단한 설명**

본 발명의 신규한 특징은 첨부된 특허청구범위 내에 구체적으로 기술되어 있다. 본 발명의 특징 및 이점에 대한

더 좋은 이해는 본 발명의 원리를 이용하는 예시적인 실시양태를 기술하는 후술하는 상세한 설명 및 첨부 도면을 참조하여 이루어질 것이다:

도 1은 핵산 기반 데이터 저장을 위한 예시적인 흐름도를 예시한다.

도 2a 내지 도 2c는 여러 가지 폴리뉴클레오티드 서열 디자인 스킴을 나타낸다.

도 3a 내지 도 3d는 여러 가지 폴리뉴클레오티드 서열 디자인 스킴을 나타낸다.

도 4a 및 도 4b는 바코드 디자인 스킴을 나타낸다.

도 5는 24개 영역, 또는 각각이 256개의 클러스터의 어레이를 보유하는 서브필드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 합성을 위해 구성된 플레이트를 예시한다.

도 6은 각각의 클러스터가 121개의 개별적인 유전자좌를 보유하는 16x16 클러스터를 보유하는 도 5의 서브 필드의 더 근접한 도면을 예시한다.

도 7은 각각의 클러스터가 121개의 개별적인 유전자좌를 보유하는 도 5의 서브 필드의 상세한 도면을 예시한다.

도 8a는 다수의 채널을 가진 플레이트의 정면도를 예시한다.

도 8b는 다수의 채널을 가진 플레이트의 단면도를 예시한다.

도 9a 및 도 9b는 가요성 구조체를 위한 릴-투-릴(reel-to-reel) 배열 및 연속 루프를 나타낸다.

도 9c 및 도 9d는 합성된 폴리뉴클레오티드의 방출(해방) 및 추출을 위한 스킴을 나타낸다.

도 10a 내지 도 10c는 스팟, 채널, 또는 웰을 각각 보유하는 가요성 구조체의 확대도를 나타낸다.

도 11a는 본 출원에 기재된 구조체 상의 유전자좌의 확대도를 예시한다.

도 11b 및 도 11c는 본 출원에 기재된 구조체 상의 마킹을 예시한다.

도 12는 폴리뉴클레오티드 합성 물질 침착 장치를 예시한다.

도 13은 폴리뉴클레오티드 합성 흐름도를 예시한다.

도 14a 및 도 14b는 다수의 채널 내로의 폴리뉴클레오티드의 정전기 침착을 위한 방법을 예시한다.

도 15a 및 도 15b는 다수의 채널로부터 폴리뉴클레오티드의 정전기적 전달을 위한 예시적인 방법을 예시한다.

도 16a 및 도 16b는 슬립 메커니즘을 통해 다수의 채널로부터 폴리뉴클레오티드의 전달을 위한 방법을 예시한다.

도 17a 및 도 17b는 압력 릴리스 메커니즘을 통해 다수의 채널로부터 폴리뉴클레오티드의 전달을 위한 방법을 예시한다.

도 18은 노즐 메커니즘을 통해 가요성 구조체 내의 다수의 채널로부터 폴리뉴클레오티드의 전달을 위한 방법을 예시한다.

도 19a 및 도 19b는 편을 통해 다수의 채널로부터 폴리뉴클레오티드의 포획을 위한 방법을 예시한다.

도 20a 및 도 20b는 다수의 채널로부터 폴리뉴클레오티드의 정전기적 포획을 위한 방법을 예시한다.

도 21은 다수의 채널로부터 수용 유닛 내로 폴리뉴클레오티드의 정전기적 봉쇄를 위한 방법을 예시한다.

도 22는 다수의 채널로부터 수용 유닛 내로 폴리뉴클레오티드의 정전기적 봉쇄를 위한 방법을 예시한다.

도 23은 컴퓨터 시스템의 예를 예시한다.

도 24는 컴퓨터 시스템의 구조를 예시하는 블록 다이어그램이다.

도 25는 다수의 컴퓨터 시스템, 다수의 휴대전화 및 개인 데이터 보조기, 및 네트워크 기반 저장 장치(NAS)를 통합하도록 구성된 네트워크를 나타내는 다이어그램이다.

도 26은 공유된 가상 에드레스 메모리 공간을 이용하는 멀티프로세서 컴퓨터 시스템의 블록 다이어그램이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] **발명의 상세한 설명**
- [0020] 생성되고 저장되는 정보의 양이 기하급수적으로 증가함에 따라 더 큰 용량의 저장 시스템에 대한 요구가 존재한다. 전통적인 저장 매체는 용량이 제한되고, 때로는 막대한 비용으로 새로운 매체로 데이터의 일정한 전달을 요구하는 시간에 따라 변하는 전문화된 기술을 필요로 한다. DNA와 같은 생체분자는, 전통적인 2진 정보 코딩과는 대조적으로, 4 비트 정보 코딩을 위한 용량 및 경시적인 그의 안정성에 부분적으로 기인하여 정보 저장을 위한 적합한 호스트를 제공한다. 따라서, 대량의 데이터는 시판되는 정보 저장 장치에 의해 사용되는 것보다 상대적으로 더 적은 양의 물리적 공간 내의 DNA에 코딩된다. 본 출원에서는 증가된 서열 밀도 및 감소된 회송 시간을 통해 단백질 합성 처리량을 증가시키는 방법이 제공된다.
- [0021] **정의**
- [0022] 달리 언급하지 않으면, 본 출원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자가 보통 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다.
- [0023] 본 명세서 전체적으로 수치적 특징은 범위의 형태로 나타낸다. 범위 형태의 기재는 단지 편의와 간략성을 위한 것이며, 임의의 실시양태의 범위에 대한 융통성없는 제한으로서 해석되어서는 안 된다. 따라서, 명백하게 달리 언급하지 않는다면, 범위 기재는 모든 가능한 부분범위뿐만 아니라, 하한의 소수점 이하 첫 번째 단위까지 그 범위 내의 개개의 수치 값을 구체적으로 개시하는 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 1 내지 6과 같은 범위 기재는 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 3 내지 6, 3 내지 6과 같은 부분 범위뿐만 아니라, 그 범위 내의 개개의 값, 예를 들어 1.1, 2, 2.3, 5, 및 5.9를 구체적으로 개시하고 있는 것으로 간주되어야 한다. 이는 범위의 폭과는 관계없이 적용된다. 이들 사이에 오는 범위의 상한 및 하한은 독립적으로 더 작은 범위 내에 포함될 수 있고, 또한 기재된 범위 내에서 구체적으로 배제된 한계치라는 것을 조건으로 본 발명 내에 포함된다. 기재된 범위가 상기 한계치 중 하나 또는 둘 다를 포함하는 경우, 이들 중 하나 또는 둘 다를 배제하는 범위도 명백하게 달리 언급하지 않는다면, 본 발명 내에 포함된다.
- [0024] 본 출원에 사용된 용어는 단지 구체적인 실시양태를 기재하기 위한 목적으로 사용된 것이고, 임의의 실시양태를 제한하는 것은 아니다. 본 출원에 사용된 바와 같은 단수형 "a", "an" 및 "the"는 명백하게 달리 언급하지 않는다면, 복수형도 포함하는 의도이다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "포함하다" 및/또는 "포함하는"은 기재된 피처(features), 정수, 단계, 동작, 요소 및/또는 성분의 존재를 명시하지만, 하나 이상의 다른 피처, 정수, 단계, 동작, 요소, 성분, 및/또는 이의 군의 존재 또는 첨가를 배제하는 것은 아니다.
- [0025] 본 명세서에 구체적으로 기재하거나 명시적으로 언급하지 않는다면, 본 출원에 사용된 바와 같은 용어 수치 또는 수치 범위에서의 용어 "약"은 언급된 수치 및 수치들 \pm 이의 10%, 또는 범위로 기재된 값에서 기재된 하한치의 10% 미만 및 기재된 상한치의 10% 초과를 의미하는 것으로 이해된다.
- [0026] 본 출원에 사용된 바와 같이, 용어 "미리 선택된 서열", "미리 정의된 서열" 또는 "선결 서열"은 상호교체 가능하게 사용된다. 상기 용어는 중합체의 서열이 중합체의 합성 또는 어셈블리 이전에 공지되고 선택된 것을 의미한다. 특히, 본 발명의 다양한 관점은 주로 핵산 분자의 제조와 관련하여 기재되고, 상기 핵산 분자의 합성 또는 어셈블리 이전에 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 서열은 공지되고 선택된다.
- [0027] 본 출원에서 합성(즉, 드 노보 합성된 또는 화학적으로 합성된) 폴리뉴클레오티드의 제조를 위한 방법 및 조성물이 제공된다. 또한, 폴리뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고로도 언급될 수 있다. 다른 언급이 없으면, 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드 서열은 DNA 또는 RNA를 포함한다.
- [0028] **핵산 기반 정보 저장**
- [0029] 본 출원에서는 핵산 기반 정보(데이터) 저장을 위한 장치, 조성물, 시스템 및 방법이 제공된다. 예시적인 흐름도는 도 1에 제공된다. 제1 단계에서, 정보의 아이템을 코딩하는 디지털 서열(즉, 컴퓨터에 의한 처리를 위한 2진 코드의 디지털 정보)가 수용된다(101). 암호화(103) 스킴은 디지털 서열을 2진 코드로부터 핵산 서열로 전환하기 위해 적용된다(105). 핵산 연장을 위한 표면 물질, 핵산 연장을 위한 위치(loci)(배열 스팟으로도 알려짐)를 위한 디자인, 및 핵산 합성을 위한 시약이 선택된다(107). 구조체의 표면은 핵산 합성을 위해 제조된다(108). 드 노보 폴리뉴클레오티드 합성이 수행된다(109). 합성된 폴리뉴클레오티드는 저장되고(111), 및 전체적으로 또는 부분적으로 후속 방출(113)을 위해 이용된다. 일단 방출되면, 전체적으로 또는 부분적으로 폴리뉴클레오티드는 서열결정되고(115), 핵산 서열을 다시 디지털 서열로 전환하기 위해 복호화된다(117). 이어서, 디지

털 서열은 어셈블링되어(119) 정보의 본래의 아이템을 코딩하는 열라인먼트를 얻는다.

[0030] **정보의 아이템**

[0031] 임의로, 본 출원에 개시된 DNA 데이터 저장 프로세스의 초기 단계는 초기 코드 형태의 정보의 하나 이상의 아이템을 얻거나 수용하는 것을 포함한다. 정보의 아이템은 문자, 정각 및 시각 정보를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 정보의 아이템에 대한 예시적인 소스는 서적, 정기간행물, 전자적 데이터베이스, 의료 기록, 편지, 양식, 음성 기록, 동물 소리, 생물학적 프로파일, 방송, 영화, 짧은 비디오, 이메일, 부기 전화 기록, 인터넷 활동 기록, 그림, 도화, 프린트, 사진, 화소로 처리된 그래픽 및 소프트웨어 코드를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 정보의 아이템에 대한 예시적인 생물학적 프로파일 소스는 유전자 라이브러리, 계놈, 유전자 발현 데이터, 및 단백질 활성 데이터를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 정보의 아이템에 대한 예시적인 포맷은 .txt, .PDF, .doc, .docx, .ppt, .pptx, .xls, .xlsx, .rtf, .jpg, .gif, .psd, .bmp, .tiff, .png, 및 .mpeg를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 디지털 포맷으로, 정보의 아이템을 코딩하는 개별적인 파일 크기의 양, 또는 정보의 아이템을 코딩하는 다수의 파일의 양은 1024 바이트(1 KB와 같음), 1024 KB(1 MB와 같음), 1024 MB(1 GB와 같음), 1024 GB(1 TB와 같음), 1024 TB(1 PB와 같음), 1 엑사바이트, 1 제타바이트, 1 요타바이트, 1 제노타바이트 또는 그 이상을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 기가바이트 또는 1000 기가바이트를 초과한다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1 테라바이트(TB)이다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 테라바이트, 또는 1000 테라바이트를 초과한다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1 페타바이트(PB)이다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 페타바이트, 또는 1000 페타바이트를 초과한다.

[0032] **암호화**

[0033] *2진 코드 전환*

[0034] 일반적으로, 초기 코드는 디지털 정보, 전형적으로 컴퓨터에 의해 사용되는 2진 코드 형태의 디지털 정보이다. 일반적인 목적의 컴퓨터는 숫자 "0" 및 "1"에 의해 표시되는 "온" 또는 "오프" 상태를 관독하는 전자 장치이다. 상기 2진 코드는 다중 유형의 정보의 아이템을 관독하는 컴퓨터를 위한 적용이다. 2진법 계산에서, 숫자 2는 10으로 읽힌다. 예를 들어, "10"은 " $1 \times 2^1 + 0 \times 2^0$ "를 나타낸다. 숫자 "3"은 "11"로 읽히고, " $1 \times 2^1 + 1 \times 2^0$ "를 의미한다. 숫자 "4"는 "100"으로 읽히고, 숫자 "5"는 "101"로, 숫자 "6"은 "110" 등으로 읽힌다. 2진 코드에 대한 미국 표준 코드 II(ASCII)의 예는 하기 표 1의 하단 및 상단 케이스의 알파벳으로 제공된다.

표 1

문자	ASCII 코드	2진법	문자	ASCII 코드	2진법	번호	ASCII 코드	2진법
a	97	1100001	A	65	1000001	0	chr(0)	00000000
b	98	1100010	B	66	1000010	1	chr(1)	00000001
c	99	1100011	C	67	1000011	2	chr(2)	00000010
d	100	1100100	D	68	1000100	3	chr(3)	00000011
e	101	1100101	E	69	1000101	4	chr(4)	00000100
f	102	1100110	F	70	1000110	5	chr(5)	00000101
g	103	1100111	G	71	1000111	6	chr(6)	00000110
h	104	1101000	H	72	1001000	7	chr(7)	00000111
i	105	1101001	I	73	1001001	8	chr(8)	00001000
j	106	1101010	J	74	1001010	9	chr(9)	00001001
k	107	1101011	K	75	1001011	10	chr(10)	00001010
l	108	1101100	L	76	1001100	11	chr(11)	00001011
m	109	1101101	M	77	1001101	12	chr(12)	00001100
n	110	1101110	N	78	1001110	13	chr(13)	00001101
o	111	1101111	O	79	1001111	14	chr(14)	00001110
p	112	1110000	P	80	1010000	15	chr(15)	00001111
q	113	1110001	Q	81	1010001	16	chr(16)	00010000
r	114	1110010	R	82	1010010	17	chr(17)	00010001
s	115	1110011	S	83	1010011	18	chr(18)	00010010
t	116	1110100	T	84	1010100	19	chr(19)	00010011
u	117	1110101	U	85	1010101	20	chr(20)	00010100
v	118	1110110	V	86	1010110	21	chr(21)	00010101
w	119	1110111	W	87	1010111	22	chr(22)	00010110
x	120	1111000	X	88	1011000	23	chr(23)	00010111
y	121	1111001	Y	89	1011001	24	chr(24)	00011000
z	122	1111010	Z	90	1011010	25	chr(25)	00011001
						26	chr(26)	00011010
						27	chr(27)	00011011
						28	chr(28)	00011100
						29	chr(29)	00011101
						30	chr(30)	00011110

[0035]

[0036]

본 출원에서 제1 코드 형태의 정보를 전환하기 위한, 예를 들어 2진 서열을 hex산 서열로 전환하기 위한 방법이 제공된다. 상기 방법은 염기 2 코드(즉, 2진법)로부터 더 높은 염기 코드로의 직접 전환을 포함할 수 있다. 예시적인 염기 코드는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상을 포함한다. 표 2는 다양한 염기 넘버링 스킴 사이의 예시적인 열라인먼트를 예시한다. 전환을 위한 컴퓨터 수용 기계어 명령은 서열 정보를 한 코드로부터 다른 코드로 자동적으로 전환할 수 있다.

표 2

10진법	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
4진법	0	1	2	3	10	11	12	13	20	21
8진법	0	1	2	3	4	5	6	7	10	11
3진법	0	1	2	10	11	12	20	21	22	100
2진법	0	1	10	11	100	101	110	111	1000	1001

[0037]

[0038]

기본 DNA는 이용할 수 있는 4개의 상이한 핵염기를 보유하는 염기 4 코딩 시스템이다: A, T, C 또는 G(아데닌, 티민, 시토신, 및 구아닌). 따라서, 이들 4 염기는 염기 3(모두 미만을 이용), 또는 4 염기 코딩 스킴을 고려한다. 또한, RNA에서 확인되는 우라실(U)의 이용은 제5 염기를 제공하고, 염기 5 코딩 스킴을 고려한다. 또한, 변형된 핵염기는 4를 초과하는 hex산 염기 코딩을 위해 사용될 수 있다. 기본 DNA 핵염기가 아닌 핵염기 또는 변형된 핵염기는 우라실, 3-meA(3-메틸아데닌), 하이포잔틴, 8-옥소G(7,8-디히드로-8-옥소구아닌), FapyG, FapyA,

Tg(티민 글리콜), hoU(히드록시우라실), hmU(히드록시메틸우라실), fU(포르밀우라실), hoC(히드록시시토신), fC(포르밀시토신), 5-meC(5-메틸시토신), 6-meG(06-메틸구아닌), 7-meG(N7-메틸구아닌), εC(에테노시토신), 5-caC(5-카르복실시토신), 2-hA, εA(에타노아데닌), 5-fU(5-플루오로우라실), 3-meG(3-메틸구아닌), 및 이소디알루르산을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 출원에서, 기계어 명령이 2진 서열 형태의 디지털 정보를 최종 핵산 서열로 궁극적으로 전환하기 이전에 중간 코드로의 전환을 제공하는 코딩 스킴이 제공된다.

[0039] 몇몇 예에서, DNA의 서열에 데이터를 저장하기 위해, 정보는 2진 코드의 1 및 0으로부터 DNA의 A, T, G, 및 C 염기의 코드로 전환된다. 몇몇 예에서, 정보의 아이템은 먼저 디지털 정보 형태로 코딩된다. 몇몇 경우에, 디지털 정보의 2진 코드는 생체분자 기반(예를 들어, DNA 기반) 코드로 전환되는 한편, 코드가 나타내는 정보는 보존된다. 이 전환된 코드(생체분자 코드에 대한 디지털 2진 코드)는 본 출원에 개시된 표면 상에서 본 출원에 개시된 생체분자의 침착에 대해 야기되는 "선결" 서열로서 언급된다. 상기 선결 서열은 다수의 폴리뉴클레오티드에 대한 서열을 코딩할 수 있다.

[0040] **핵산 서열**

[0041] 본 출원에서, 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 위한 서열을 디자인하여 핵산 서열이 정보의 아이템의 적어도 일부분을 코딩하도록 하는 방법이 제공된다. 몇몇 예에서, 각각의 폴리뉴클레오티드 서열은 후속 어셈블리 단계 중에서 서열 얼라인먼트를 가능하게 하고, 또한 에러 보정을 위한 수단을 제공하는 디자인 피처를 포함한다. 몇몇 배열에서, 폴리뉴클레오티드 서열은 각각의 폴리뉴클레오티드 서열과 집단 내의 다른 폴리뉴클레오티드 서열과 사이에 중첩이 존재하도록 디자인된다. 몇몇 예에서, 각각의 폴리뉴클레오티드 서열은 단지 하나의 다른 폴리뉴클레오티드 서열의 일부와 중첩된다(도 2a). 대안적인 배열에서, 각각의 폴리뉴클레오티드 서열 영역은 2개의 서열과 중첩되어, 단일 폴리뉴클레오티드 내의 각각의 서열에 대해 2개의 사본이 생성되도록 한다(도 2b). 여전히 다른 배열에서, 각각의 폴리뉴클레오티드 서열 영역은 2개를 초과하는 서열과 중첩되어, 단일 폴리뉴클레오티드 내의 각각의 서열에 대해 3개의 사본이 생성되도록 한다(도 2c). 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 위한 서열은 길이 10-2000, 10-500, 30-300, 50-250, 또는 75-200개의 염기를 코딩할 수 있다. 몇몇 예에서, 각각의 폴리뉴클레오티드 서열은 길이가 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100, 150, 200, 500개 또는 이를 초과하는 염기이다.

[0042] 몇몇 배열에서, 본 출원에 기재된 각각의 폴리뉴클레오티드 서열은 다수의 코딩 영역 및 다수의 비코딩 영역을 포함하도록 디자인된다(도 3a). 상기 배열에서, 각각의 코딩 영역(예를 들어, 301, 303, 305)은 정보의 아이템의 적어도 일부를 코딩한다. 임의로, 동일한 폴리뉴클레오티드 내의 각각의 코딩 영역은 정보의 동일한 아이템 유래의 서열을 코딩하고, 중첩하는 스킴은 본 출원에 기재된 바와 같이 임의로 사용된다(도 3b). 추가의 예에서, 동일한 폴리뉴클레오티드 내의 각각의 코딩 영역은 동일한 서열을 코딩한다(도 3c 및 도 3d). 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 위한 서열은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 이를 초과하는 코딩 영역을 코딩할 수 있다. 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 위한 서열은 동일한 코딩 영역의 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 이의 초과를 코딩할 수 있다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 코딩 영역은 길이가 10-1000, 20-500, 30-300, 50-250, 또는 75-200개의 염기이다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 코딩 영역은 길이가 25-500, 25-200, 50-300, 50-200, 75-150, 10-2000, 20-1000, 또는 25-500개의 염기이다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 코딩 영역은 길이가 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100, 150, 200개 또는 이를 초과하는 염기이다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 코딩 영역은 길이가 적어도 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 900, 1000개, 또는 1000개의 염기를 초과한다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 코딩 영역은 기껏해야 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 900, 1000개의 염기 또는 1000개의 염기를 초과한다. 몇몇 예에서, 각각의 폴리뉴클레오티드는 구조체의 표면(302)에 분자를 연결하는 테더 영역(311)을 포함한다.

[0043] 다중 코딩 서열이 동일한 폴리뉴클레오티드 내에 존재하는 배열에서, 절단 영역(307)은 각각의 코딩 영역 사이에 임의로 존재한다. 상기 절단 영역(307)은 각각의 코딩 영역 사이의 접합부에 존재할 수 있거나, 또는 각각의 코딩 영역 사이의 서열의 스트링을 보유하는 어댑터 영역 내에 존재할 수 있다. 절단 영역(307)은 일단 합성되면, 절단 신호의 적용 후 스트랜드로부터 파단될 서열 피처를 코딩할 수 있다. 상기 절단 영역(307)은 제한 효소 인식 부위, 감광성이고 전자기 복사의 적용 하에서 파단될 변경된 핵산(예를 들어, >300 nm 파장의 광에 민감인 염기 민감성 S-피발로일티오에틸(t-Bu-SATE)를 보유하는 올리고데옥시뉴클레오티드 헤테로중합체), 또는 특정 화학물질, 예를 들어 암모니아 기체의 적용 후 파단되는 티미딘-숙시닐 헥사미드 CED 포스포르아미다이트

(ChemGenes의 CLP-2244)의 적용에 민감한 변형된 핵산을 코딩할 수 있다. 특정 절단 스킴을 보유하도록 하는 서열의 디자인은 합성된 폴리뉴클레오티드를 서열결정하여 용이하게 명백하게 되는 것은 아니기 때문에, 절단 스킴은 합성된 핵산 라이브러리에 의해 코딩된 서열에 보장 레벨을 첨가하기 위한 수단을 제공한다. 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 위한 서열은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 이를 초과하는 절단 영역을 코딩한다. 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 위한 서열은 적어도 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 절단 영역을 코딩할 수 있다. 몇몇 예에서, 각각의 절단 영역은 길이가 1-100, 1-50, 1-20, 1-10, 5-25, 또는 5-30개인 염기를 코딩한다. 몇몇 예에서, 각각의 코딩 영역은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 40, 50, 100개 또는 이를 초과하는 염기를 코딩한다. 몇몇 배열에서, 각각의 폴리뉴클레오티드에 대해, 각각의 코딩 영역은 동일하고, 각각의 코딩 영역 사이의 각각의 절단 영역은 상이하다. 예를 들어, 제1 절단 영역(307)은 제2 절단 영역(309)과 상이하다. 몇몇 배열에서, 상기 표면(302)에 가장 근접한 상기 절단 영역(307)은 다음 말단 절단 영역(307)과 동일하다. 몇몇 예에서, 각각의 코딩 영역은 다른 각각의 코딩 영역과 상이하다. 예를 들어, 제1 절단 영역(307)은 제2 절단 영역(309) 및 제3 절단 영역(308)과 상이하다.

[0044] 본 출원에서, 다수의 코딩 영역 및 다수의 비코딩 영역을 포함하도록 디자인된 폴리뉴클레오티드 서열이 제공되는데, 이때 상기 코딩 영역은 길이 및 수가 다양하다. 예를 들어, 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 위한 서열은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 이를 초과하는 비코딩 영역을 포함할 수 있다. 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드를 위한 서열은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 이를 초과하는 동일한 비코딩 영역을 포함할 수 있다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 비코딩 영역은 10-1000, 20-500, 30-300, 50-250, 또는 75-200개의 염기이다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 비코딩 영역은 길이가 적어도 1-100, 5-90, 10-80, 15-70, 20-60, 25-50, 또는 30-40개의 염기이다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 비코딩 영역은 길이가 적어도 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100, 150, 200개 또는 이를 초과하는 염기이다. 몇몇 예에서, 각각의 다중 비코딩 영역은 길이가 기껏해야 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100, 150, 200개, 또는 이를 초과하는 염기이다. 몇몇 예에서, 상기 비코딩 영역은 바코드이다.

[0045] 바코드는, 바코드가 관련된 폴리뉴클레오티드의 몇몇 피처의 확인을 가능하게 하는 전형적으로 공지된 핵산 서열이다. 도 4a 및 도 4b는 예시적인 바코드 배열을 제공한다. 도 4a에서, 제1 폴리뉴클레오티드(301), 제2 폴리뉴클레오티드(303) 및 제3 폴리뉴클레오티드(305)를 위한 각각의 코딩 영역은 하기 피처(표면(302)으로부터 외측으로)를 보유한다: 테더 영역(302), 절단 영역(307), 제1 프라이머 결합 영역(401), 바코드 영역(403), 코딩 영역(301, 303, 305), 및 제2 프라이머 결합 영역(404). 상기 폴리뉴클레오티드는 제1 및/또는 제2 프라이머 결합 영역을 인식하는 프라이머를 이용하여 증폭될 수 있다. 증폭은 표면에 부착된, 또는 표면으로부터 방출된(즉, 절단 영역(307)에서 절단에 의해) 폴리뉴클레오티드에서 발생할 수 있다. 서열결정 후, 바코드 영역(403)은 코딩 영역과 관련된 특성을 확인하기 위한 표시자를 제공한다. 몇몇 실시양태에서, 바코드는 표적 폴리뉴클레오티드에 결합되는 경우, 표적 폴리뉴클레오티드가 유도되는 샘플의 확인자로서 기능하는 핵산 서열을 포함한다. 바코드는 충분한 정도의 확인을 가능하게 하는 적합한 길이, 예를 들어 길이가 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55개, 또는 이를 초과하는 염기로 디자인될 수 있다. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 이를 초과하는 바코드와 같은 다중 바코드는 경우에 따라 비바코드 서열에 의해 분리된 동일한 분자 상에서 사용될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 바코드는 길이가 10, 9, 8, 7, 6, 5, 또는 4개의 염기보다 더 짧다. 몇몇 실시양태에서, 몇몇 폴리뉴클레오티드와 관련된 바코드는 다른 폴리뉴클레오티드와 관련된 바코드와는 길이가 상이하다. 일반적으로, 바코드는 길이가 충분하고, 서열들이 관련되는 바코드에 기초한 샘플의 확인을 가능하게 할 정도로 충분히 상이한 서열을 포함한다. 몇몇 배열에서, 바코드 및 이와 관련된 샘플 소스는 바코드 서열 내의 하나 이상의 염기의 돌연변이, 삽입, 또는 결실, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 이를 초과하는 염기의 돌연변이, 삽입, 또는 결실 후에 정확하게 확인될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 다수의 바코드 중의 각각의 바코드는 다수의 적어도 3개의 염기 위치, 예를 들어 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개, 또는 이를 초과하는 위치에서 모든 다른 바코드와 상이하다. 본 출원에 제공된 배열은 디지털 서열의 특정 영역을 위한 서열을 코딩하는 핵산 서열에 상응하는 바코드 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 바코드 서열은, 큰 파일 내의 어디를 특정 폴리뉴클레오티드 서열이 코딩하는지 나타낼 수 있다. 몇몇 예에서, 바코드 서열은 특정 폴리뉴클레오티드 서열이 어느 파일에 관련된 것인지 나타낼 수 있다. 몇몇 예에서, 바코드 서열은 추가된 보안 층을 제공하는 특정 서열의 전환 스킴과 관련된 정보를 포함한다.

[0046] 본 출원에서, 집단 내의 각각의 폴리뉴클레오티드 서열이 그 집단 내의 폴리뉴클레오티드 서열 중에서 공통인 적어도 하나의 영역을 보유하도록 디자인된 폴리뉴클레오티드 서열 디자인 스킴이 제공된다. 예를 들어, 동일한 집단 내의 모든 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 프라이머 영역을 포함할 수 있다. 서열 특이적인 프라이머 영역의 디자인은 다중 폴리뉴클레오티드의 대형 라이브러리로부터 선택된 배치 내에서 증폭될 수 있는 폴리뉴클레오티드의 선택을 가능하게 한다. 각각의 폴리뉴클레오티드 서열은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 이를 초과하는 프라이머 결합 서열을 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오티드 서열의 집단은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 25, 50, 100, 200, 500, 1000, 5000, 10000, 50000, 100000개 또는 이를 초과하는 동일하지 않은 결합 서열을 포함할 수 있다. 프라이머 결합 서열은 길이가 5-100, 10-75, 7-60, 8-60, 10-50, 또는 10-40개의 염기를 포함할 수 있다.

[0047] **폴리뉴클레오티드 합성을 위한 구조체**

[0048] 본 출원에서, 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 강성 또는 가요성 구조체가 제공된다. 강성 구조체의 경우, 본 출원에서, 폴리뉴클레오티드의 라이브러리의 생성을 위한 구조체(예를 들어, 플레이트)를 보유하는 장치가 제공된다. 예시적인 구조체(500)는 도 5에 예시되는데, 여기서 구조체(500)는 표준 96웰 플레이트와 동일한 크기 차원을 보유한다: 140 mm x 90 mm. 상기 구조체(500)는 24개의 영역 또는 서브필드(505) 내에 그루핑된 클러스터를 포함하는데, 각각의 서브필드(505)는 256개의 클러스터(510)의 어레이를 포함한다. 예시적인 서브필드(505)의 확대도는 도 6에 도시된다. 4개의 클러스터의 확대도(도 6)에서, 단일 클러스터(510)는 1079.210 μm 또는 1142.694 μm 의 Y축 클러스터 피치(인접한 클러스터의 중심으로부터 중심까지의 거리), 및 1125 μm 의 X축 클러스터 피치를 보유한다. 예시적인 클러스터(510)는 도 7에 도시되는데, 여기서 Y축 위치 피치(인접한 위치의 중심으로부터 중심까지의 거리)는 63.483 μm 이고, 및 X축 위치 피치는 75 μm 이다. 가장 긴 부분에서의 위치 너비, 예를 들어 원형 위치의 경우 직경은 50 μm 이고, 위치 사이의 거리는 24 μm 이다. 도 7의 예시적인 클러스터에서 위치(705)의 수는 121이다. 위치는 플랫폼, 웰, 또는 채널일 수 있다. 예시적인 채널 배열은 도 8a 및 도 8b에 예시되는데, 여기서 플레이트(805)는 주 채널(810) 및 주 채널(810)에 연결된 다수의 채널(815)을 포함한다. 주 채널(810) 및 다수의 채널(815) 사이의 연결은 주 채널(810)로부터 각각의 다수의 채널(815)까지의 유로를 위한 유체 연통을 제공한다. 본 출원에 기재된 플레이트(805)는 다중 주 채널(810)을 포함할 수 있다. 다수의 채널(815)은 주 채널(810) 내에 클러스터를 집합적으로 형성한다.

[0049] 가요성 구조체의 경우, 본 출원에서 장치가 제공되는데, 여기서 가요성 구조체는 하나 이상의 고정 구조체, 예를 들어 한 쌍의 롤러(903) 주위를 둘러싸는 연속 루프(901), 또는 별개의 고정 구조체, 예를 들어 한 쌍의 릴(905) 주위를 둘러싸는 불연속 가요성 구조체(907)를 포함한다(참조: 도 9a 및 도 9b). 몇몇 예에서, 상기 구조체는 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 다중 영역을 포함한다. 예시적인 구조체는 도 9c에 예시되는데, 여기서 플레이트는 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 구별된 영역(909)을 포함한다. 구별된 영역(909)은 파단 또는 절단에 의해 분리될 수 있다(911). 구별된 각각의 영역은 추가로 방출되거나, 서열결정되거나, 복호화되거나, 및 관독(913)되거나, 또는 저장(915)될 수 있다. 대안적인 구조체는 도 9d에 예시되는데, 여기서 테이프는 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 구별된 영역(917)을 포함한다. 구별된 영역(917)은 파단 또는 절단에 의해 분리될 수 있다(919). 구별된 각각의 영역은 추가로 방출되거나, 서열결정되거나, 복호화되거나, 및 관독(921)되거나, 또는 저장(923)될 수 있다. 본 출원에서, 폴리뉴클레오티드 연장을 위한 다수의 위치를 가진 표면을 보유하는 가요성 구조체가 제공된다. 도 10a 내지 도 10c는 가요성 구조체 내의 위치를 확대한 것이다. 가요성 구조체(1001) 내의 일부에서 각각의 위치는 실질적으로 편평한 스팟(1003)(예를 들어, 플랫폼), 채널(1005), 또는 웰(1007)일 수 있다. 하나의 예시적인 배열에서, 구조체의 각각의 위치는 폭이 약 10 μm 이고, 각각의 구조체의 중심 사이의 거리는 약 21 μm 이다. 참조: 도 11a. 위치는 원형, 직사각형, 테이퍼진 형상, 또는 둥근 형상을 포함할 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 대안적으로 또는 조합하여, 상기 구조체는 강성이다. 몇몇 예에서, 강성 구조체는 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 위치, 채널, 또는 웰을 포함한다.

[0050] 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 채널은 1 대 0.01의 너비 대 깊이(또는 높이) 비를 보유하는데, 이때 너비는 마이크로채널의 가장 좁은 세그먼트에서의 너비 측정값이다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 채널은 0.5 대 0.01의 너비 대 깊이(또는 높이) 비를 보유하는데, 이때 너비는 마이크로채널의 가장 좁은 세그먼트에서의 너비 측정값이다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 채널은 약 0.01, 0.05, 0.1, 0.15, 0.16, 0.2, 0.5, 또는 1의 너비 대 깊이(또는 높이) 비를 보유한다.

[0051] 본 출원에서 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 다수의 별개의 위치, 채널, 또는 웰을 포함하는 구조체가 기재된다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 구조체는 클러스터 내에 다수의 위치에 상응하는 다수의 채널을 포함하는데, 이때 상기 채널의 높이 또는 깊이는 약 5 μm 내지 약 500 μm , 약 5 μm 내지 약 400 μm , 약 5 μm 내지 약 300 μm ,

약 5 μm 내지 약 200 μm , 약 5 μm 내지 약 100 μm , 약 5 μm 내지 약 50 μm , 또는 약 10 μm 내지 약 50 μm 이다. 몇몇 경우에서, 채널의 높이는 100 μm 미만, 80 μm 미만, 60 μm 미만, 40 μm 미만 또는 20 μm 미만이다. 몇몇 경우에서, 채널의 높이는 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500 μm 또는 그 이상이다. 몇몇 예에서, 채널의 높이 또는 깊이는 적어도 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 nm, 또는 1000 nm를 초과한다. 몇몇 예에서, 채널의 높이 또는 깊이는 약 10 nm 내지 약 1000 nm, 약 25 nm 내지 약 900 nm, 약 50 nm 내지 약 800 nm, 약 75 nm 내지 약 700 nm, 약 100 nm 내지 약 600 nm, 또는 약 200 nm 내지 약 500 nm의 범위이다.

[0052] 몇몇 예에서, 위치(예를 들어, 실질적으로 평평한 스팟, 웰, 또는 채널)의 너비는 약 0.1 μm 내지 약 500 μm , 약 0.5 μm 내지 약 500 μm , 약 1 μm 내지 약 200 μm , 약 1 μm 내지 약 100 μm , 약 5 μm 내지 약 100 μm , 또는 약 0.1 μm 내지 약 100 μm , 예를 들어, 약 90 μm , 80 μm , 70 μm , 60 μm , 50 μm , 40 μm , 30 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 1 μm 또는 0.5 μm 이다. 몇몇 예에서, 위치(예를 들어, 마이크로채널)의 너비는 약 100 μm , 90 μm , 80 μm , 70 μm , 60 μm , 50 μm , 40 μm , 30 μm , 20 μm 또는 10 μm 미만이다. 몇몇 예에서, 위치의 너비는 적어도 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 nm이거나, 또는 1000 nm 초과이다. 몇몇 예에서, 위치의 너비는 약 10 nm 내지 약 1000 nm, 약 25 nm 내지 약 900 nm, 약 50 nm 내지 약 800 nm, 약 75 nm 내지 약 700 nm, 약 100 nm 내지 약 600 nm, 또는 약 200 nm 내지 약 500 nm 범위이다. 몇몇 예에서, 2개의 인접한 위치의 중심 사이의 거리는 약 0.1 μm 내지 약 500 μm , 0.5 μm 내지 약 500 μm , 약 1 μm 내지 약 200 μm , 약 1 μm 내지 약 100 μm , 약 5 μm 내지 약 200 μm , 약 5 μm 내지 약 100 μm , 약 5 μm 내지 약 50 μm , 또는 약 5 μm 내지 약 30 μm , 예를 들어, 약 20 μm 이다. 몇몇 예에서, 위치의 전체 너비는 약 5 μm , 10 μm , 20 μm , 30 μm , 40 μm , 50 μm , 60 μm , 70 μm , 80 μm , 90 μm , 또는 100 μm 이다. 몇몇 예에서, 위치의 전체 너비는 약 1 μm 내지 100 μm , 30 μm to 100 μm , 또는 50 μm 내지 70 μm 이다.

[0053] 몇몇 예에서, 각각의 위치는 다른 위치에서 성장하는 폴리뉴클레오티드 집단과는 상이한 서열을 보유하는 폴리뉴클레오티드의 집단의 합성을 지원한다. 본 출원에서는 적어도 10, 100, 256, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000, 20000, 30000, 40000, 50000개 또는 이를 초과하는 클러스터를 포함하는 표면이 제공된다. 본 출원에서는 2,000; 5,000; 10,000; 20,000; 30,000; 50,000; 100,000; 200,000; 300,000; 400,000; 500,000; 600,000; 700,000; 800,000; 900,000; 1,000,000; 5,000,000; 또는 10,000,000개 초과 또는 그 이상의 구별된 위치를 포함하는 표면이 제공된다. 몇몇 경우에서, 각각의 클러스터는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 130, 150, 200, 500개 또는 이를 초과하는 위치를 포함한다. 몇몇 경우에서, 각각의 클러스터는 50 내지 500, 50 내지 200, 50 내지 150, 또는 100 내지 150개의 위치를 포함한다. 몇몇 경우에서, 각각의 클러스터는 100 내지 150개의 위치를 포함한다. 예시적인 배열에서, 각각의 클러스터는 109, 121, 130 또는 137개의 위치를 포함한다.

[0054] 본 출원에서 50 내지 100 μm 의 가장 긴 세그먼트에서 너비를 보유하는 위치가 제공된다. 몇몇 경우에서, 상기 위치는 약 30, 35, 40, 45, 50, 55 또는 60 μm 의 가장 긴 세그먼트에서 너비를 보유한다. 몇몇 경우에서, 상기 위치는 다중 세그먼트를 보유하는 채널이고, 이때 각각의 세그먼트는 5 내지 50 μm 이격된 중심 대 중심 거리를 보유한다. 몇몇 경우에서, 각각의 세그먼트의 이격된 중심 대 중심 거리는 약 5, 10, 15, 20 또는 25 μm 이다.

[0055] 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 구조체의 표면 상에서 합성된 구별되는 폴리뉴클레오티드의 수는 기관 내에서 이용할 수 있는 구별된 위치의 수에 의존한다. 몇몇 예에서, 기관의 클러스터 내 위치의 밀도는 적어도 또는 약 1 위치/ mm^2 , 10 위치/ mm^2 , 25 위치/ mm^2 , 50 위치/ mm^2 , 65 위치/ mm^2 , 75 위치/ mm^2 , 100 위치/ mm^2 , 130 위치/ mm^2 , 150 위치/ mm^2 , 175 위치/ mm^2 , 200 위치/ mm^2 , 300 위치/ mm^2 , 400 위치/ mm^2 , 500 위치/ mm^2 , 1,000 위치/ mm^2 또는 그 이상이다. 몇몇 경우에서, 기관은 약 10 위치/ mm^2 내지 약 500 위치/ mm^2 , 약 25 위치/ mm^2 내지 약 400 위치/ mm^2 , 약 50 위치/ mm^2 내지 약 500 위치/ mm^2 , 약 100 위치/ mm^2 내지 약 500 위치/ mm^2 , 약 150 위치/ mm^2 내지 약 500 위치/ mm^2 , 약 10 위치/ mm^2 내지 약 250 위치/ mm^2 , 약 50 위치/ mm^2 내지 약 250 위치/ mm^2 , 약 10 위치/ mm^2 내지 약 200 위치/ mm^2 , 또는 약 50 위치/ mm^2 내지 약 200 위치/ mm^2 를 포함한다. 몇몇 예에서, 클러스터 내의 2개의 인접한 위치의 중심 사이의 거리는 약 10 μm 내지 약 500 μm , 약 10 μm 내지 약 200 μm , 또는 약 10 μm 내지 약 100 μm 이다. 몇몇 경우에서, 인접한 위치의 2개의 중심 사이의 거리는 약 10 μm , 20 μm , 30 μm , 40 μm , 50 μm , 60 μm , 70 μm , 80 μm , 90 μm 또는 100 μm 보다 크다. 몇몇 경우에서, 2개의 인접한 위치의 중심 사이의 거리는 약 200 μm , 150 μm , 100 μm , 80 μm , 70 μm , 60 μm , 50 μm , 40 μm , 30 μm , 20 μm 또는 10 μm 미만이다. 몇몇 경

우에서, 2개의 인접한 위치의 중심 사이의 거리는 약 10000 nm, 8000 nm, 6000 nm, 4000 nm, 2000 nm 1000 nm, 800 nm, 600 nm, 400 nm, 200 nm, 150 nm, 100 nm, 80 μ m, 70 nm, 60 nm, 50 nm, 40 nm, 30 nm, 20 nm 또는 10 nm 미만이다. 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 기재된 구조체의 각각의 제곱 미터는 적어도 약 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} 위치를 고려하는데, 이때 각각의 위치는 하나의 폴리뉴클레오티드를 지지한다. 몇몇 실시양태에서, 10^9 폴리뉴클레오티드는 본 출원에 기재된 구조체의 약 6, 5, 4, 3, 2 또는 1 m^2 미만 상에서 지지된다.

[0056] 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 구조체는 2,000; 5,000; 10,000; 20,000; 30,000; 50,000; 100,000; 200,000; 300,000; 400,000; 500,000; 600,000; 700,000; 800,000; 900,000; 1,000,000; 1,200,000; 1,400,000; 1,600,000; 1,800,000; 2,000,000; 2,500,000; 3,000,000; 3,500,000; 4,000,000; 4,500,000; 5,000,000; 10,000,000개 초과 또는 그 이상의 동일하지 않은 폴리뉴클레오티드의 합성을 위한 지지체를 제공한다. 몇몇 경우에서, 상기 구조체는 구별되는 서열을 코딩하는 2,000; 5,000; 10,000; 20,000; 50,000; 100,000; 200,000; 300,000; 400,000; 500,000; 600,000; 700,000; 800,000; 900,000; 1,000,000; 1,200,000; 1,400,000; 1,600,000; 1,800,000; 2,000,000; 2,500,000; 3,000,000; 3,500,000; 4,000,000; 4,500,000; 5,000,000; 10,000,000개 초과 또는 그 이상의 폴리뉴클레오티드의 합성을 위한 지지체를 제공한다. 몇몇 예에서, 폴리뉴클레오티드의 적어도 일부는 동일한 서열을 보유하거나, 또는 동일한 서열을 이용하여 합성되도록 구성된다. 몇몇 예에서, 구조체는 적어도 약 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500개의 염기 또는 그 이상을 보유하는 폴리뉴클레오티드의 성장을 위한 표면 환경을 제공한다. 몇몇 배열에서, 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 구조체는 균일한 배열로 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 부위를 포함한다.

[0057] 몇몇 예에서, 폴리뉴클레오티드는 구조체의 구별된 위치 상에서 합성되는데, 이때 각각의 위치는 폴리뉴클레오티드의 집단의 합성을 지원한다. 몇몇 경우에서, 각각의 위치는 다른 위치에서 성장한 폴리뉴클레오티드의 집단과는 상이한 서열을 보유하는 폴리뉴클레오티드의 집단의 합성을 지원한다. 몇몇 예에서, 구조체의 위치는 다수의 클러스터 내에 위치된다. 몇몇 예에서, 구조체는 적어도 10, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000, 10000, 11000, 12000, 13000, 14000, 15000, 20000, 30000, 40000, 50000개 초과 또는 그 이상의 클러스터를 포함한다. 몇몇 예에서, 구조체는 2,000; 5,000; 10,000; 100,000; 200,000; 300,000; 400,000; 500,000; 600,000; 700,000; 800,000; 900,000; 1,000,000; 1,100,000; 1,200,000; 1,300,000; 1,400,000; 1,500,000; 1,600,000; 1,700,000; 1,800,000; 1,900,000; 2,000,000; 300,000; 400,000; 500,000; 600,000; 700,000; 800,000; 900,000; 1,000,000; 1,200,000; 1,400,000; 1,600,000; 1,800,000; 2,000,000; 2,500,000; 3,000,000; 3,500,000; 4,000,000; 4,500,000; 5,000,000; 또는 10,000,000개 초과 또는 그 이상의 구별된 위치를 포함한다. 몇몇 경우에서, 각각의 클러스터는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 130, 150개 또는 이를 초과하는 위치를 포함한다. 몇몇 예에서, 각각의 클러스터는 50 내지 500, 100 내지 150, 또는 100 내지 200개의 위치를 포함한다. 몇몇 예에서, 각각의 클러스터는 109, 121, 130 또는 137개의 위치를 포함한다. 몇몇 예에서, 각각의 클러스터는 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개의 위치를 포함한다. 몇몇 예에서, 하나의 클러스터 내의 구별된 위치로부터의 폴리뉴클레오티드는, 어셈블링되는 경우, 선결 서열의 근접하는 더 긴 폴리뉴클레오티드를 코딩하는 서열을 보유한다.

[0058] 구조체 크기

[0059] 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 구조체는 대략 표준 96웰 플레이트, 예를 들어 약 100 내지 200 mm x 약 50 내지 150 mm의 크기이다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 구조체는 약 1000 mm, 500 mm, 450 mm, 400 mm, 300 mm, 250 mm, 200 mm, 150 mm, 100 mm 또는 50 mm 미만 또는 이와 동일한 직경을 보유한다. 몇몇 예에서, 기관의 직경은 약 25 mm 내지 1000 mm, 약 25 mm 내지 약 800 mm, 약 25 mm 내지 약 600 mm, 약 25 mm 내지 약 500 mm, 약 25 mm 내지 약 400 mm, 약 25 mm 내지 약 300 mm, 또는 약 25 mm 내지 약 200이다. 구조체 크기의 비제한적인 예는 약 300 mm, 200 mm, 150 mm, 130 mm, 100 mm, 76 mm, 51 mm 및 25 mm를 포함한다. 몇몇 예에서, 구조체는 적어도 약 100 mm^2 ; 200 mm^2 ; 500 mm^2 ; $1,000\text{ mm}^2$; $2,000\text{ mm}^2$; $5,000\text{ mm}^2$; $10,000\text{ mm}^2$; $12,000\text{ mm}^2$; $15,000\text{ mm}^2$; $20,000\text{ mm}^2$; $30,000\text{ mm}^2$; $40,000\text{ mm}^2$; $50,000\text{ mm}^2$ 또는 이를 초과하는 평면 표면적을 보유한다. 몇몇 예에서, 두께는 약 50 mm 내지 약 2000 mm, 약 50 mm 내지 약 1000 mm, 약 100 mm 내지 약 1000 mm, 약 200 mm 내지 약 1000 mm, 또는 약 250 mm 내지 약 1000 mm이다. 두께의 비제한적인 예는 275 mm, 375 mm, 525 mm, 625 mm, 675 mm, 725 mm, 775 mm 및 925 mm를 포함한다. 몇몇 경우에서, 두께는 직경에 따라 달라지고, 기관의 구성에 따라 달라진다. 예를 들어, 규소 이외의 다른 물질을 포함하는 구조체는 동일한 직경의 규소 구조체와는

상이한 두께를 보유할 수 있다. 구조체 두께는 사용된 물질의 기계적 강도에 의해 결정될 수 있고, 구조체는 취급 중에 균열되지 않고 자신의 무게를 지탱하기에 충분히 두꺼워야 한다. 몇몇 예에서, 구조체는 임의의 한 차원으로 약 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 30, 40, 50 피트 초과이다.

[0060] 물질(재료)

[0061] 본 출원에서, 표면을 포함하는 장치가 제공되는데, 이때 상기 표면은 선결 위치에서, 및 결과적으로 낮은 에러율, 낮은 탈락률, 높은 수율, 및 높은 올리고 묘사로 폴리뉴클레오티드 합성을 지원하기 위해 개질된다. 몇몇 실시양태에서, 본 출원에 제공된 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 장치의 표면은 드 노보 폴리뉴클레오티드 합성 반응을 지원하기 위해 개질될 수 있는 다양한 물질로 조립된다. 몇몇 경우에서, 상기 장치는 충분히 전도성인, 예를 들어 장치의 전부 또는 일부를 가로질러 균일한 전기장을 형성할 수 있다. 본 출원에 기재된 장치는 가요성 물질을 포함할 수 있다. 예시적인 가요성 물질은 개질된 나일론, 개질되지 않은 나일론, 니트로셀룰로오스, 및 폴리프로필렌을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 본 출원에 기재된 장치는 강성 물질을 포함할 수 있다. 강성 물질의 예로는 유리, 융합 실리카, 실리콘, 이산화규소, 질화규소, 플라스틱(예를 들어, 폴리테트라플루오로에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리카르보네이트, 및 이의 블렌드), 및 금속(예를 들어, 금, 백금)을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 본 출원에 개시된 장치는 실리콘, 폴리스티렌, 아가로오스, 텍스트란, 셀룰로오스 중합체, 폴리아크릴아마이드, 폴리디메틸실록산(PDMS), 유리, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 물질로 조립될 수 있다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 개시된 장치는 본 출원에 목록화된 물질 또는 당해 기술분야에 공지된 임의의 다른 적합한 물질의 조합으로 제조된다.

[0062] 본 출원에 기재된 장치는 일정 범위의 인장 강도를 보유하는 물질을 포함할 수 있다. 일정 범위의 인장 강도를 보유하는 예시적인 물질은 나일론(70 MPa), 니트로셀룰로오스(1.5 MPa), 폴리프로필렌(40 MPa), 실리콘(268 MPa), 폴리스티렌(40 MPa), 아가로오스(1-10 MPa), 폴리아크릴아마이드(1-10 MPa), 폴리디메틸실록산(PDMS)(3.9-10.8 MPa)을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 본 출원에 기재된 고품 지지체는 1 내지 300, 1 내지 40, 1 내지 10, 1 내지 5, 또는 3 내지 11 Mpa의 인장 강도를 보유할 수 있다. 본 출원에 기재된 고품 지지체는 약 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 20, 25, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 270 MPa, 또는 이를 초과하는 인장 강도를 보유할 수 있다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 장치는 테이프 또는 가요성 시트와 같은 연속 루프 또는 릴에 저장될 수 있는 가요성 물질의 형태인 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 고품 지지체를 포함한다.

[0063] 영률은 하중 하의 탄성(회복할 수 있는) 변형에 대한 물질의 저항을 측정한다. 일정 범위의 영률 강성을 보유하는 예시적인 물질은 나일론(3 GPa), 니트로셀룰로오스(1.5 GPa), 폴리프로필렌(2 GPa), 실리콘(150 GPa), 폴리스티렌(3 GPa), 아가로오스(1-10 GPa), 폴리아크릴아마이드(1-10 GPa), 폴리디메틸실록산(PDMS)(1-10 GPa)을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 본 출원에 기재된 고품 지지체는 1 내지 500, 1 내지 40, 1 내지 10, 1 내지 5, 또는 3 내지 11 Gpa의 영률을 보유할 수 있다. 본 출원에 기재된 고품 지지체는 약 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 20, 25, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 400, 500 GPa, 또는 이를 초과하는 영률을 보유할 수 있다. 가요성과 강성 사이의 관계는 서로 반대이기 때문에, 가요성 물질은 낮은 영률을 보유하고, 하중 하에서 그의 형태를 상당히 변화시킨다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 고품 지지체는 적어도 나일론의 가요성을 가진 표면을 보유한다.

[0064] 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 장치는 이산화규소 베이스 및 산화규소의 표면 층을 포함한다. 대안적으로, 상기 장치는 산화규소의 베이스를 보유할 수 있다. 본 출원에 제공된 장치의 표면은 가공될 수 있고, 그 결과 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 전체 표면적이 증가된다. 본 출원에 개시된 장치는 적어도 5%, 10%, 25%, 50%, 80%, 90%, 95%, 또는 99%의 실리콘을 포함할 수 있다. 본 출원에 개시된 장치는 절연체 상 실리콘(SOI) 웨이퍼로부터 조립될 수 있다.

[0065] 상기 구조체는 본 출원에 기재된 발명의 방법 및 조성물을 위해 적합한, 다양한 물질로 조립될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명을 포함하는 기관/고형 지지체를 제조하는 물질은 낮은 수준의 올리뉴클레오티드 결합을 나타낸다. 몇몇 상황에서, 가시광 및/또는 UV 광에 투명한 물질이 사용될 수 있다. 충분히 전도성인 물질, 예를 들어 본 출원에 기재된 기관/고형 지지체의 전부 또는 부분을 가로질러 균일한 전기장을 형성할 수 있는 물질이 이용될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 그러한 물질은 전기 접지에 연결될 수 있다. 몇몇 경우에서, 상기 기관 또는 고품 지지체는 열전도성이거나, 또는 절연될 수 있다. 상기 물질은 일련의 올리뉴클레오티드 합성 반응과 같은 화학적 또는 생화학적 반응을 지원하기 위해 내화학적 및 내열성일 수 있다. 가요성 물질의 경우, 관심 있는 물질은 개질된 및 개질되지 않은 나일론 둘 다, 니트로셀룰로오스, 폴리프로필렌 등을 포함할 수 있다.

- [0066] 강성 물질의 경우, 관심 있는 특정 물질은 유리; 융합 실리카; 실리콘, 플라스틱(예를 들어, 폴리테트라플루오로에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리카르보네이트, 및 이의 블렌드 등); 금속(예를 들어, 금, 백금 등)을 포함한다. 상기 구조체는 실리콘, 폴리스티렌, 아가로오스, 텍스트란, 셀룰로오스 중합체, 폴리아크릴아마이드, 폴리디메틸실록산(PDMS), 및 유리로 구성되는 군으로부터 선택된 물질로 조립될 수 있다. 반응기 그 내부의 상기 기관/고형 지지체 또는 마이크로구조체는 본 출원에 목록화된 물질의 조합 또는 당해 기술분야에 공지된 임의의 다른 적합한 물질로 제조할 수 있다.
- [0067] 본 출원에서 용어 "가요성"은 구부러거나, 접거나 또는 파단 없이 유사하게 조작될 수 있는 구조체를 언급하기 위해 사용된다. 몇몇 경우에서, 가요성 구조체는 롤러 주위에서 적어도 30도 구부러진다. 몇몇 경우에서, 가요성 구조체는 롤러 주위에서 적어도 180도 구부러진다. 몇몇 경우에서, 가요성 구조체는 롤러 주위에서 적어도 270도 구부러진다. 몇몇 경우에서, 가요성 구조체는 롤러 주위에서 적어도 360도 구부러진다. 몇몇 경우에서, 상기 롤러는 반경이 약 10 cm, 5 cm, 3 cm, 2 cm 또는 1 cm 미만이다. 몇몇 예에서, 상기 가요성 구조체는 고장(예를 들어, 균열) 또는 20°C에서 변형 없이 적어도 100회 반복하여 구부러지고, 똑바로 펴질 수 있다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 가요성 구조체는 회전에서 따를 수 있는 두께를 보유한다. 몇몇 경우에서, 본 출원에 기재된 가요성 구조체의 두께는 약 50 mm, 10 mm, 1 mm, 또는 0.5 mm 미만이다.
- [0068] 본 출원에 기재된 구조체를 위한 예시적인 가요성 물질은 나일론(개질되지 않은 나일론, 개질된 나일론, 투명 나일론), 니트로셀룰로오스, 폴리프로필렌, 폴리카르보네이트, 폴리에틸렌, 폴리우레탄, 폴리스티렌, 아세탈, 아크릴, 아크릴로니트릴, 부타디엔 스티렌(ABS), 폴리에틸렌 테레프탈레이트와 같은 폴리에스테르 필름, 폴리메틸 메타크릴레이트 또는 다른 아크릴, 폴리비닐 클로라이드 또는 다른 비닐 수지, 투명 PVC 호일, 프린터용 투명 호일, 폴리(비닐 메타크릴레이트)(PMMA), 메타크릴레이트 공중합체, 스티렌 중합체, 높은 내화성 지수 중합체, 불소 함유 중합체, 폴리에테르설폰, 폴리이미드 함유 지환식 구조체, 고무, 패브릭, 금속 호일, 및 이들의 임의의 조합을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 다양한 가소제 및 개질제가 선택된 가요성 특성을 획득하기 위해 중합성 구조체 물질과 함께 사용될 수 있다.
- [0069] 본 출원에 기재된 가요성 구조체는 플라스틱 물질을 포함할 수 있다. 몇몇 예에서, 상기 가요성 구조체는 열가소성 물질을 포함할 수 있다. 열가소성 물질의 비제한적인 예는 아크릴, 아크릴로니트릴 부타디엔 스티렌, 나일론, 폴리락트산, 폴리벤즈이미다졸, 폴리카르보네이트, 폴리에테르 설폰, 폴리에테르에테르 케톤, 폴리에테르이미드, 폴리에틸렌, 폴리페닐렌 옥사이드, 폴리페닐렌 설파이드, 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드, 및 폴리테트라플루오로에틸렌을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 상기 기관은 폴리아릴에테르케톤(PEAK) 패밀리의 열가소성 물질을 포함할 수 있다. PEAK 열가소성 물질의 비제한적인 예는 폴리에테르케톤(PEK), 폴리에테르케톤(PEKK), 폴리(에테르에테르케톤) (PEEKK), 폴리에테르에테르 케톤(PEEK), 및 폴리에테르케톤에테르케톤(PEKEKK)을 포함한다. 몇몇 예에서, 가요성 구조체는 툴루엔과 상용성인 열가소성 물질을 포함한다. 몇몇 예에서, 플라스틱 물질의 가요성은 가소제의 첨가에 의해 증가된다. 가소제의 예는 프탈레이트와 같은 에스테르계 가소제이다. 프탈레이트 가소제는 비스(2-에틸헥실)프탈레이트(DEHP), 디이소노닐 프탈레이트(DINP), 디-n-부틸프탈레이트(DnBP, DBP), 부틸벤질프탈레이트(BBzP), 디이소데실프탈레이트(DIDP), 디옥틸프탈레이트(DOP, DnOP), 디이소옥틸프탈레이트(DIOP), 디에틸프탈레이트(DEP), 디이소부틸프탈레이트(DIBP), 및 디-n-헥실프탈레이트를 포함한다. 몇몇 예에서, 공중합을 통해, 또는 중합 이전에 단량체에 비반응성 측쇄의 첨가를 통한 열가소성 중합체의 개질은 가요성을 증가시킨다.
- [0070] 본 출원에서, 플루오로엘라스토머를 추가로 포함할 수 있는 가요성 구조체가 제공된다. 약 80%의 플루오로엘라스토머를 보유하는 물질은 FKM으로 지정된다. 플루오로엘라스토머는 퍼플루오로-엘라스토머(FFKM) 및 테트라플루오로에틸렌/프로필렌 고무(FEPM)를 포함한다. 플루오로엘라스토머는 5가지의 공지된 타입을 보유한다. 타입 1 FKM은 비닐리덴 플루오라이드(VDF) 및 헥사플루오로프로필렌(HFP)로 구성되고, 그들의 불소 함량은 전형적으로 약 66 중량%이다. 타입 2 FKM은 VDF, HFP, 및 테트라플루오로에틸렌(TFE)으로 구성되고, 전형적으로 약 68% 내지 69%의 불소를 보유한다. 타입 3 FKM은 VDF, TFE, 및 퍼플루오로메틸비닐에테르(PMVE)로 구성되고, 약 62% 내지 68%의 불소를 보유한다. 타입 4 FKM은 프로필렌, TFE, 및 VDF로 구성되고, 전형적으로 약 67%의 불소를 보유한다. 타입 5 FKM은 VDF, HFP, TFE, PMVE, 및 에틸렌으로 구성된다.
- [0071] 몇몇 예에서, 본 출원에 개시된 기관은 컴퓨터 판독 가능한 물질을 포함한다. 컴퓨터 판독 가능한 물질은 자기 매체, 릴-투-릴 테이프, 카트리지 테이프, 카세트 테이프, 가요성 디스크, 종이 매체, 필름, 마이크로피서, 연속 테이프(예를 들어, 벨트) 및 전자적 명령을 저장하기 위해 적합한 임의의 매체를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 상기 기관은 자기 릴-투-릴 테이프 또는 자기 벨트를 포함한다. 몇몇 예에서, 상

기 기관은 가요성 인쇄 회로 기관을 포함한다.

[0072] 본 출원에 기재된 구조체는 가시광 및/또는 UV 광에 투명할 수 있다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 구조체는 구조체의 전부 또는 일부를 가로질러 균일한 전기장을 형성하기 위해 충분히 전도성이다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 구조체는 열전도성이거나 절연된다. 몇몇 예에서, 상기 구조체는 폴리뉴클레오티드 합성 반응과 같은 화학 반응을 지원하기 위해 내화학적 및 내열성이다. 몇몇 실시양태에서, 상기 구조체는 자성이다. 몇몇 예에서, 상기 구조체는 금속 또는 금속 합금을 포함한다.

[0073] 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 구조체는 임의의 차원으로 1, 2, 5, 10, 30, 50 피트 또는 이를 초과하는 길이에 걸쳐질 수 있다. 가요성 구조체의 경우, 가요성 구조체는 경우에 따라 감긴 상태, 예를 들어 릴로 저장된다. 대형, 예를 들어 길이가 1피트 초과인 강성 구조체의 경우, 강성 구조체는 수직으로 또는 수평으로 저장될 수 있다.

[0074] **구조체 표면 상의 암호화 키 마킹**

[0075] 본 출원에서, 마킹(1101)을 보유하는 구조체가 제공되는데, 이때 상기 마킹은 폴리뉴클레오티드의 인접한 집단과 관련된 정보의 소스 아이템, 폴리뉴클레오티드의 인접한 집단의 서열을 복호화하기 위한 암호화 스킴, 폴리뉴클레오티드의 인접한 집단을 위한 사본 수, 또는 이들의 임의의 조합과 관련되는 정보를 제공한다. 참조, 예를 들어 도 11b 및 11c. 상기 마킹은 육안 또는 현미경으로 확대하여 식별할 수 있다. 몇몇 예에서, 표면 상의 마킹은 단지 상기 마킹을 예를 들어 열, 화학물질 또는 광 처리(예를 들어, 마킹을 발광시키기 위한 UV 또는 IR 광)에 노출시키는 처리 상태 후에만 식별된다. 열에 의해 현상되는 예시적인 잉크는 염화코발트(가열되는 경우 청색으로 변함)를 포함하나, 이로 제한되는 것은 아니다. 화학 반응에 의해 현상되는 예시적인 잉크는 페놀프탈레인, 황산구리, 질산납(II), 염화코발트(II), 및 황산망간과 과산화수소에 의해 현상되는 옥살산세륨을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0076] **표면 제조**

[0077] 본 출원에서, 기관 상에 생체분자의 고정화를 지원하는 방법이 제공되는데, 이때 본 출원에 기재된 구조체의 표면은 부착을 위해 생체분자와의 커플링 반응을 용이하게 하는 물질을 포함하고/하거나 상기 물질로 코팅된다. 생체분자 고정화를 위한 구조체를 제조하기 위해, 기관 표면 및/또는 상기 표면의 선택된 부위 또는 영역의 하나 이상의 화학적 및/또는 물리적 특성을 변화시키는 가색법 또는 감색법에 의해 기관 표면을 화학적으로 및/또는 물리적으로 변경시키는 표면 개질이 사용될 수 있다. 예를 들어, 표면 개질은 (1) 표면의 습윤 특성을 변화시키는 것, (2) 표면을 작용화, 즉 표면 작용기를 제공하거나, 변경하거나 또는 치환하는 것, (3) 표면을 탈작용화, 즉 표면 작용기를 제거하는 것, (4) 달리 언급하지 않으면, 예들여 에칭을 통해 표면의 화학 조성을 변경시키는 것, (5) 표면 조도를 증가 또는 감소시키는 것, (6) 표면 상에 코팅, 예를 들어 표면의 습윤 특성과는 상이한 습윤 특성을 나타내는 코팅을 제공하는 것, 및/또는 (7) 표면 상에 미립자를 침착시키는 것을 포함한다. 몇몇 예에서, 구조체의 표면은 구조체 상에서 2개 이상의 구별된 영역을 생성하기 위해 선택적으로 작용화되는데, 이때 적어도 하나의 영역은 동일한 구조체의 다른 영역과는 상이한 표면 또는 화학적 특성을 보유한다. 그러한 특성은 화학적 모이어티의 표면 농도, 화학적 말단, 표면 에너지 등을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0078] 몇몇 예에서, 본 출원에 개시된 구조체의 표면은 기관의 표면 및 생체분자 둘 다에 결합하도록 구성된 하나 이상의 능동적으로 작용화된 포함하도록 개질되어 상기 표면에 대한 커플링 반응을 지원하는 구조체의 표면이 제공된다. 몇몇 예에서, 상기 표면은 또한 생체분자를 효율적으로 결합하지 않은 피동 물질로 작용화되어, 상기 피동 작용화제가 결합되는 경우, 부위들에서 생체분자 부착을 방해한다. 몇몇 경우에서, 상기 표면은 생체분자 지지를 위해 단지 구별된 위치를 확정하는 활성층을 포함한다.

[0079] 몇몇 실시양태에서, 상기 표면은 임의의 상이한 비율로 작용화 기의 혼합물과 접촉된다. 몇몇 실시양태에서, 혼합물은 적어도 2, 3, 4, 5 또는 이를 초과하는 상이한 타입의 작용화 기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 혼합물 내에서 적어도 2개의 타입의 표면 작용화 계의 비율은 약 1:1, 1:2, 1:5, 1:10, 2:10, 3:10, 4:10, 5:10, 6:10, 7:10, 8:10, 9:10, 또는 2개의 기의 원하는 표면 표현을 획득하기 위한 임의의 다른 비율을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 원하는 표면 장력, 습윤성, 수접촉각, 및/또는 다른 적합한 용매에 대한 접촉각은 작용화계의 적합한 비율을 가진 기관 표면을 제공함으로써 달성된다. 몇몇 경우에서, 혼합물 내의 상기 작용화제는 적합한 반응성 모이어티 및 불활성 모이어티로부터 선택되어, 다운스트림 반응을 위한 소정의 수준으로 반응성 기의 표면 밀도를 희석한다. 몇몇 실시양태에서, 작용화계의 혼합물은 생체분자에 결합하는 하나 이상의 제제 또는 생체분

자에 결합하지 않은 하나 이상의 제제를 포함한다. 따라서, 상기 제제들의 조절은 구별된 작용화 구역에서 발생하는 생체분자의 결합량의 조절을 가능하게 한다.

[0080] 몇몇 예에서, 기관 작용화를 위한 방법은 기관의 표면 상에 실란 분자의 침착을 포함한다. 상기 실란 분자는 상기 기관의 고 에너지 표면 상에 침착될 수 있다. 몇몇 예에서, 고 표면 에너지 영역은 피동 작용화제를 포함한다. 본 출원에 기재된 방법은 표면에 결합하기 위한 실란 기를 제공하는 한편, 상기 분자의 나머지는 기관으로부터의 거리 및 생체분자가 부착되는 말단에 유리 히드록실기를 제공한다. 몇몇 예에서, 실란은 유기작용성 알콕시실란 분자이다. 유기작용성 알콕시실란의 비제한적인 예는 디메틸클로로-옥토데실-실란, 메틸디클로로-옥토데실-실란, 트리클로로-옥토데실-실란, 트리메틸-옥토데실-실란, 및 트리에틸-옥토데실-실란을 포함한다. 몇몇 예에서, 실란은 아미노실란이다. 아미노실란의 예는 11-아세톡시운데실트리에톡시실란, n-데실트리에톡시실란, (3-아미노프로필)트리메톡시실란, (3-아미노프로필)트리에톡시실란, 글리시딜옥시프로필/트리메톡시실란 및 N-(3-트리에톡시실릴프로필)-4-히드록시부티르아미드를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 예에서, 실란은 11-아세톡시운데실트리에톡시실란, n-데실트리에톡시실란, (3-아미노프로필)트리메톡시실란, (3-아미노프로필)트리에톡시실란, 글리시딜옥시프로필/트리메톡시실란, N-(3-트리에톡시실릴프로필)-4-히드록시부티르아미드, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 몇몇 예에서, 능동 작용화제는 11-아세톡시운데실트리에톡시실란을 포함한다. 몇몇 예에서, 능동 작용화제는 n-데실트리에톡시실란을 포함한다. 몇몇 경우에서, 능동 작용화제는 글리시딜옥시프로필트리에톡시실란(GOPS)을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 실란은 플루오로실란이다. 몇몇 실시양태에서, 실란은 탄화수소실란이다. 몇몇 경우에서, 실란은 3-요오도-프로필트리메톡시실란이다. 몇몇 경우에서, 실란은 옥틸클로로실란이다.

[0081] 몇몇 실시양태에서, 실란화는 유기작용성 알콕시실란 분자를 이용하여 자가 어셈블리를 통해 표면 상에서 수행된다. 상기 유기작용성 알콕시실란은 그들의 유기 작용에 따라 분류된다. 실록산 작용화제의 비제한적인 예는 히드록시알킬실록산(실릴레이트 표면, 디보레인을 이용하는 작용화 및 과산화수소에 의한 알코올의 산화), 디올(디히드록시알킬)실록산(실릴레이트 표면, 및 디올로의 가수분해), 아미노알킬실록산(아민은 중간 작용화 단계를 필요로 하지 않음), 글리시독시실란(3-글리시독시프로필-디메틸-에톡시실란, 글리시독시-트리메톡시실란), 머캅토실란(3-머캅토프로필-트리메톡시실란, 3-4 에폭시시클로헥실-에틸트리메톡시실란 또는 3-머캅토프로필-메틸-디메톡시실란), 비시클로헥테닐-트리클로로실란, 부틸-알데히드-트리메톡시실란, 또는 이량체성 2차 아미노알킬실록산을 포함한다. 예시적인 히드록시알킬실록산은 3-히드록시프로필로 전환하는 알릴 트리클로로클로로실란, 또는 8-히드록시옥틸로 전환하는 7-옥트-1-에닐 트리클로로클로로실란을 포함한다. 디올(디히드록시알킬)실록산은 글리시딜트리메톡시실란-유도된 (2,3-디히드록시프로필옥시)프로필(GOPS)을 포함한다. 아미노알킬실록산은 3-아미노프로필(3-아미노프로필-트리에톡시실란, 3-아미노프로필-디에톡시-메틸실란, 3-아미노프로필-디메톡시-에톡시실란, 또는 3-아미노프로필-트리메톡시실란)으로 전환하는 3-아미노프로필 트리메톡시실란을 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 이량체성 제2 아미노알킬실록산은 비스(실릴옥실프로필)아민으로 전환하는 비스(3-트리에톡시실릴프로필)아민을 포함한다.

[0082] 능동 작용화 구역은 하나 이상의 상이한 종의 실란, 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 이를 초과하는 실란을 포함할 수 있다. 몇몇 경우에서, 하나 이상의 실란 중 하나는 다른 실란보다 더 많은 양으로 작용화 조성물 중에 존재한다. 예를 들어, 2개의 실란을 보유하는 혼합 실란 용액은 하나의 실란 대 다른 실란의 비율이 99:1, 98:2, 97:3, 96:4, 95:5, 94:6, 93:7, 92:8, 91:9, 90:10, 89:11, 88:12, 87:13, 86:14, 85:15, 84:16, 83:17, 82:18, 81:19, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45이다. 몇몇 예에서, 능동 작용화제는 11-아세톡시운데실트리에톡시실란 및 n-데실트리에톡시실란을 포함한다. 몇몇 예에서, 능동 작용화제는 11-아세톡시운데실트리에톡시실란 및 n-데실트리에톡시실란을 약 20:80 내지 약 1:99, 또는 약 10:90 내지 약 2:98, 또는 약 5:95의 비율로 포함한다.

[0083] 몇몇 예에서, 작용화는 임의의 침착 기법에 의해 작용화제를 기관에 침착시키는 것을 포함하는데, 상기 침착 기법은 화학 증착(CVD), 원자층 침착(ALD), 플라즈마 증착 CVD(PECVD), 플라즈마 증착 ALD(PEALD), 금속 유기 CVD(MOCVD), 핫 와이어 CVD(HWCVD), 개시 CVD(iCVD), 개질 CVD(MCVD), 기상 축 침착(VAD), 외부 증착 (OVD), 물리적 증착(예를 들어, 스퍼터 침착, 증발 침착), 및 분자층 침착(MLD)을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0084] 후술하는 작용화 공정에서 임의의 단계 또는 성분은 생략되거나, 또는 최종 작용화된 기관의 원하는 특성에 따라 변경된다. 몇몇 경우에서, 임의의 성분 및/또는 공정 단계가 본 출원에 예시된 공정 작업 흐름에 추가된다. 몇몇 예에서, 기관은 먼저, 예를 들어 피라냐 용액(piranha solution)을 이용하여 세정된다. 세정 공정의 예는

승온(예를 들어, 120℃)에서 피라냐 용액(예를 들어, 90% H₂SO₄, 10% H₂O₂) 중에 기판을 침지하고, 기판을 세척하고(예를 들어, 물), 및 기판을 건조한다(예를 들어, 질소 기체). 상기 공정은 경우에 따라 염기성 용액(예를 들어, NH₄OH) 중에 피라냐 처리된 기판을 침지하고, 이어서 수성 세척(예를 들어, 물)하는 것을 포함하는 후 피라냐 처리를 포함한다. 몇몇 예에서, 구조체의 표면은 플라즈마 세정되고, 경우에 따라 이어서 피라냐 침지 및 임의의 후 피라냐 처리한다. 플라즈마 세정 공정의 예는 산소 플라즈마 에칭을 포함한다. 몇몇 예에서, 상기 표면은 능동 작용화제로 침착된 후, 증발된다. 몇몇 예에서, 기판은 세정 이전에, 예를 들어 피라냐 처리 및/또는 플라즈마 세정에 의해 능동적으로 작용화된다.

[0085] 표면 작용화를 위한 공정은 경우에 따라 레지스트 코트 및 레지스트 스트립을 포함한다. 몇몇 예에서, 능동 표면 작용화 후, 기판은 레지스트, 예를 들어 SPRTM 3612 포지티브 포토레지스트로 스핀 코팅된다. 다양한 예에서, 표면 작용화를 위한 공정은 패터화를 작용화를 이용하는 리소그래피를 포함한다. 몇몇 예에서, 레지스트 코팅 후 포토리소그래피가 수행된다. 몇몇 예에서, 리소그래피 후, 표면은 리소그래피 결함에 대해 육안 검사한다. 몇몇 예에서, 표면 작용화를 위한 공정은 세정 단계를 포함함으로써, 기판의 잔류물은, 예를 들어 플라즈마 세정 또는 에칭에 의해 제거되도록 한다. 몇몇 예에서, 플라즈마 세정 단계는 리소그래피 단계 이후의 몇몇 단계에서 수행된다.

[0086] 몇몇 예에서, 레지스트로 코팅된 표면은, 예를 들어 작용화 후 및/또는 리소그래피 후에 레지스트를 제거하기 위해 처리된다. 몇몇 경우에서, 상기 레지스트는 용매, 예를 들어 N-메틸-2-피롤리돈을 포함하는 스트립핑 용액으로 제거된다. 몇몇 경우에서, 레지스트 스트립핑은 음과처리 또는 초음파처리를 포함한다. 몇몇 예에서, 레지스트는 코팅 및 스트립핑되고, 이어서 노광된 구역의 능동 작용화를 통해 원하는 차등 작용화 패턴을 생성한다.

[0087] 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 방법 및 조성물은 선택된 구역에서 개질된 표면 특성의 생성을 위한 포토레지스트의 적용에 관한 것인데, 이때 포토레지스트의 적용은 포토레지스트의 공간적인 분포를 한정하는 표면의 플로우 특성에 의존한다. 이론에 의해 구속되는 것은 바라지 않지만, 적용된 유체에 관한 표면 장력 효과는 포토레지스트의 플로우를 한정할 수 있다. 예를 들어, 표면 장력 및/또는 모세관 작용 효과는 레지스트 용매가 증발되기 이전에 조절된 방식으로 작은 구조체 내로 포토레지스트를 끌어당기는 것 용이하게 한다. 몇몇 예에서, 레지스트 접촉점은 날카로운 에지에 의해 고정됨으로써, 유체의 진행을 조절한다. 하부 구조체는 제조 및 작용화 공정 중에 포토레지스트를 적용하기 위해 사용되는 원하는 플로우 패턴에 기초하여 디자인될 수 있다. 용매 증발 후에 잔존하는 고형 유기층은 제조 공정의 후속 단계를 수행하기 위해 사용될 수 있다. 구조체는 위킹 효과(wicking effect)를 용이하게 하거나 또는 억제함으로써 이웃하는 플로우 경로 내로의 유체의 플로우를 조절하도록 디자인될 수 있다. 예를 들어, 구조체는 레지스트의 특정 침착을 허용하는 상부 구조체 내의 유체의 보유를 가능하게 하는, 상부 에지 및 하부 에지 사이의 중첩을 회피하도록 디자인된다. 대안적인 예에서, 상부 및 하부 에지는 중첩하여 하부 구조체 내로 적용된 유체의 위킹을 유도한다. 따라서, 적합한 디자인은 원하는 레지스트의 적용에 따라 선택될 수 있다.

[0088] 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 구조체는 뉴클레오시드를 결합할 수 있는 반응성 기를 포함하는 적어도 또는 적어도 약 0.1 nm, 0.5 nm, 1 nm, 2 nm, 5 nm, 10 nm 또는 25 nm의 두께를 보유하는 물질을 포함하는 표면을 보유한다. 그 예로는 유리 및 실리콘, 예를 들어 이산화규소 및 질화규소를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 예시적인 표면은 나일론 및 PMMA를 포함한다.

[0089] 몇몇 예에서, UV 광 형태의 전자기 방사선이 표면 패터화를 위해 사용된다. 몇몇 예에서, 램프가 표면 패터화를 위해 사용되고, 마스크는 표면에 대한 UV 광의 노광 위치를 조정한다. 몇몇 예에서, 레이저가 표면 패터화를 위해 사용되고, 셔터 개방/폐쇄 상태가 표면에 대한 UV 광의 노광을 조절한다. 레이저 배열은 이동할 수 있는 가요성 구조체와 함께 사용될 수 있다. 그러한 배열에서, 레이저 노광 및 가요성 구조체 이동의 조화가 상이한 뉴클레오시드 커플링 능력을 보유하는 하나 이상의 제제의 패턴을 생성하기 위해 사용된다.

[0090] **물질 침착 시스템**

[0091] 본 출원에서, 본 출원에 기재된 구조체 상에 생체분자의 침착 및 저장을 위한 시스템 및 장치가 제공된다. 몇몇 실시양태에서, 상기 생체분자는 그들의 서열 내에 코딩된 정보를 저장하는 폴리뉴클레오티드이다. 몇몇 실시양태에서, 상기 시스템은 생체분자 부착을 지원하는 구조체의 표면 및/또는 기판의 표면에 생체분자의 적용을 위한 장치를 포함한다. 한 예에서, 생체분자 적용을 위한 장치는 폴리뉴클레오티드 합성기이다. 몇몇 실시양태에서, 상기 시스템은 유체, 예를 들어 플로우셀로 기판을 처리하기 위한 장치를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 상기 시스템은 적용 장치와 처리 장치 사이에서 기판을 이동하기 위한 장치를 포함한다. 예를 들어, 기판이 릴-투

-릴 테이프인 경우, 상기 시스템은 상이한 시간에 적용 및 임의의 처리 장치에 대한 기관의 상이한 부분의 액세스를 허용하는 2개 이상의 릴을 포함할 수 있다.

[0092] 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 폴리뉴클레오티드 물질 침착 시스템의 첫 번째 예는 도 12에 도시한다. 상기 시스템은 구조체의 위치를 따라 정렬되는 X-Y 방향으로 이동하는 물질 침착 장치를 포함한다. 상기 물질 침착 장치는 또한 기관으로 밀봉하여 견고한 반응기를 형성하도록 Z 방향으로 이동할 수 있다. 견고한 반응기는 기관으로부터 캡핑 부재로 및/또는 그 반대로 폴리뉴클레오티드 및/또는 시약을 포함하는 유체의 전달이 가능하도록 구성된다. 도 12에 도시된 바와 같이, 유체는 기관 및 캡핑 부재 중 하나 또는 둘 다를 통해 통과할 수 있고, 커플링 시약, 캡핑 시약, 산화제, 디블로킹제, 아세토니트릴 및 질소 기체를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 고 해상도 액적 침착이 가능한 장치의 예는 잉크젯 프린터 및 레이저 프린터의 프린트헤드를 포함한다. 본 출원에 기재된 시스템 및 방법에 유용한 장치는 약 100 도트 퍼 인치(DPI) 내지 약 50,000 DPI; 약 100 DPI 내지 약 20,000 DPI; 약 100 DPI 내지 약 10,000 DPI; 약 100 DPI 내지 약 5,000 DPI; 약 1,000 DPI 내지 약 20,000 DPI; 또는 약 1,000 DPI 내지 약 10,000 DPI의 해상도를 달성한다. 몇몇 예에서, 상기 장치는 적어도 약 1,000; 2,000; 3,000; 4,000; 5,000; 10,000; 12,000 DPI, 또는 20,000 DPI의 해상도를 보유한다. 상기 장치에 의해 수행된 고해상도 침착은 기관의 피처에 상응하는 각각의 노즐의 수 및 밀도와 관련된다.

[0093] 폴리뉴클레오티드 합성기를 이용하는, 기관 상에서 폴리뉴클레오티드의 드 노보 합성을 위한 예시적인 공정 작업 흐름은 도 13에 나타낸다. 폴리뉴클레오티드 합성 시약을 포함하는 액적은 물질 침착 장치로부터 단계적으로 기관으로 방출되는데, 상기 물질 침착 장치는 전기 신호를 액적 방출을 위한 기계적 신호로 전화하는 전극 및 압전 세라믹 물질을 보유한다. 상기 액적은 데이터를 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 합성된 폴리뉴클레오티드를 생성하기 위해 한 시점에서 하나의 핵염기를 기관의 표면 상의 특정 위치에 방출한다. 몇몇 경우에서, 합성된 폴리뉴클레오티드는 기관 상에 저장된다. 핵산 시약은 불연속적인 방법 또는 드롭 온 디맨드 방법으로 기관 표면 상에 침착될 수 있다. 그러한 방법의 예는 전자기기계적 전달 방법, 전기 열전달 방법 및 정전기적 유인 방법을 포함한다. 전자기기계적 전달 방법에서, 전기 펄스에 의해 변형된 압전 부재는 액적의 방출을 야기한다. 전기 열전달 방법에서, 버블이 장치의 챔버 내에 생성되고, 버블의 팽창력이 액적의 방출을 야기한다. 정전기적 유인 방법에서, 정전기적 인력이 사용되어 기관 상에 액적이 방출된다. 몇몇 경우에서, 드롭 주파수는 약 5 KHz 내지 약 500 KHz; 약 5 KHz 내지 약 100 KHz; 약 10 KHz 내지 약 500 KHz; 약 10 KHz 내지 약 100 KHz; 또는 약 50 KHz 내지 약 500 KHz이다. 몇몇 경우에서, 상기 주파수는 약 500 KHz, 200 KHz, 100 KHz, 또는 50 KHz 미만이다.

[0094] 분배된 액적의 크기는 장치의 해상도와 관련되어 있다. 몇몇 예에서, 상기 장치는 약 0.01 pL 내지 약 20 pL, 약 0.01 pL 내지 약 10 pL, 약 0.01 pL 내지 약 1 pL, 약 0.01 pL 내지 약 0.5 pL, 약 0.01 pL 내지 약 0.01 pL, 또는 약 0.05 pL 내지 약 1 pL 크기로 시약의 액적을 침착한다. 몇몇 예에서, 상기 액적의 크기는 약 1 pL, 0.5 pL, 0.2 pL, 0.1 pL, 또는 0.05 pL 미만이다. 상기 장치에 의해 분배되는 액적의 크기는 침착 노즐의 직경과 관련되는데, 각각의 노즐은 상기 기관 상에 피처를 침착시킬 수 있다. 몇몇 예에서, 폴리뉴클레오티드 합성기의 침착 장치는 약 100 내지 약 10,000개의 노즐; 약 100 내지 약 5,000개의 노즐; 약 100 내지 약 3,000개의 노즐; 약 500 내지 약 10,000개의 노즐; 또는 약 100 내지 약 5,000개의 노즐을 포함한다. 몇몇 경우에서, 상기 침착 장치는 1,000; 2,000; 3,000; 4,000; 5,000; 또는 10,000개 초과 노즐을 포함한다. 몇몇 예에서, 각각의 물질 침착 장치는 다수의 노즐을 포함하는데, 이때 각각의 노즐은 경우에 따라 기관 상의 피처에 대응하도록 구성된다. 각각의 노즐은 다른 노즐과는 상이한 시약 성분을 침착할 수 있다. 몇몇 예에서, 각각의 노즐은 기관의 하나 이상의 피처를 커버하는 액적을 침착한다. 몇몇 하나 이상의 노즐은 비스듬할 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 다중 침착 장치는 나란히 쌓여 처리량을 임의 배수의 증가를 실현한다. 몇몇 경우에서, 증가는 2x, 4x, 8x 또는 이를 초과한다. 침착 장치의 예는 삼바 프린트헤드(Fujifilm)이다. 삼바 프린트헤드는 삼바 웹 관리 도구(SWAT)와 함께 사용될 수 있다.

[0095] 침착 부위의 수는 동일한 침착 장치를 이용하고, 특정 각도 또는 사브르 각(saber angle)로 회전시킴으로써 증가될 수 있다. 침착 장치를 회전시킴으로써, 각각의 노즐은 사브르 각에 대응되는 특정 양의 지연 시간으로 분출된다. 이러한 비동기화 분출은 노즐 사이의 혼선을 야기한다. 따라서, 액적이 0도와는 상이한 특정 사브르 각으로 분출되는 경우, 노즐로부터의 액적 부피는 상이할 수 있다.

[0096] 몇몇 배열에서, 폴리뉴클레오티드 합성 시스템의 구성은 릴-투-릴 타입 공정에서 이동하기 위한 기관의 가요성을 이용하는 연속적인 폴리뉴클레오티드 합성 공정을 가능하게 한다. 이러한 합성 공정은 기관의 위치를 회전시키는 하나 이상의 릴을 이용하는 폴리뉴클레오티드 합성의 다양한 단계를 통해 이동하는 기관을 이용하는 연속 생산 라인 방식에서 구동된다. 예시적인 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 합성 반응은 기관을 회전시키는 것을

포함한다: 포스포르아미다이트 침착을 위한 침착 장치 아래의 용매 배스를 통해, 산화제 배스를 통해, 아세토니트릴 세척 배스를 통해, 및 더블록 배스를 통해. 경우에 따라, 상기 테이프는 또한 캡핑 배스를 통해 횡단된다. 릴 투 일 타입 공정은 합성된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 기관의 최종 생성물이 테이크업 릴 상에 용이하게 모여질 수 있도록 하는데, 이때 이는 추가의 처리 또는 저장을 위해 수송될 수 있다.

[0097] 몇몇 배열에서, 폴리뉴클레오티드 합성은 연속적인 공정으로 진행되는데, 그 이유는 연속적인 가요성 테이프가 컨베이어 벨트 시스템을 따라 이동되기 때문이다. 릴-투-릴 타입 공정과 유사하게, 연속적인 테이프 상에서 폴리뉴클레오티드 합성은 운반 중 폴리뉴클레오티드 합성의 다양한 단계를 통해 이동하는 기관을 이용하는 생산 라인 방식으로 구동된다. 그러나, 컨베이어 벨트 공정에서, 연속적인 테이프는 테이프의 말림 및 풀림 없이 폴리뉴클레오티드 합성 단계를 다시 수행한다. 몇몇 배열에서, 폴리뉴클레오티드 합성 단계는 대역으로 분배되고, 연속적인 테이프는 한 사이클에서 1회 이상 각각의 대역을 통해 운반된다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드 합성 반응은 (1) 한 사이클 내의 포스포르아미다이트 침착을 위한 침착 장치 아래의 용매 배스를 통해, 산화제 배스를 통해, 아세토니트릴 세척 배스를 통해, 및 블록 배스를 통해 기관을 운반하는 것; 및 (2) 선결 길이의 합성된 폴리뉴클레오티드를 획득하기 위해 상기 사이클을 반복하는 것을 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오티드 합성 후, 가요성 기관은 컨베이어 벨트 시스템으로부터 제거되고, 및 경우에 따라 저장을 위해 말린다. 말림은 저장을 위해 릴 주위에서 수행된다.

[0098] 예시적인 배열에서, 열가소성 물질을 포함하는 가요성 기관은 뉴클레오시드 커플링 시약으로 코팅된다. 상기 코팅은 위치 내로 패턴화되어, 각각의 위치는 약 10 μm의 직경을 보유하고, 2개의 인접한 위치 사이의 중심 대 중심 거리는 약 21 μm이다. 이 경우, 위치 크기는 폴리뉴클레오티드 합성 침착 단계 중에 0.2 pL의 정적 부피를 수용하기에 충분하다. 몇몇 경우에서, 상기 위치 밀도는 약 22억개의 위치/m²(1 위치 / 441 x 10⁻¹² m²)이다. 몇몇 경우에서, 4.5 m² 기관은 약 100억개의 위치를 포함하고, 각각의 위치의 직경은 10 μm이다.

[0099] 본 출원에 기재된 물질 침착 장치는 각각의 노즐이 1 액적당 1 핵염기로 1초당 약 100,000개의 액적을 침착하는 약 2,048개의 노즐을 포함할 수 있다. 각각의 침착 장치에서, 적어도 약 1.75 x 10¹³개의 핵염기는 하루에 기관 상에 침착된다. 몇몇 예에서, 100 내지 500개의 핵염기 폴리뉴클레오티드가 합성된다. 몇몇 경우에서, 200개의 핵염기 뉴클레오티드가 합성된다. 경우에 따라, 3일에 걸쳐, 약 약 1.75 x 10¹³개의 염기/일의 속도로, 적어도 약 262.5 x 10⁹개의 폴리뉴클레오티드가 합성된다.

[0100] 몇몇 배열에서, 합성 반응 중에 기관에 하나 이상의 시약을 적용하기 위한 장치는 뉴클레오시드 포스포르아미다이트 기반 합성을 위해 시약 및/또는 뉴클레오티드 단량체를 침착하도록 구성된다. 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 시약은 폴리뉴클레오티드 연장을 위한 시약 및 세척 완충액을 포함한다. 비제한적인 예로서, 상기 장치는 세정 시약, 커플링 시약, 캡핑 시약, 산화제, 더블록제, 아세토니트릴, 질소 기체와 같은 기체, 및 이들의 임의의 조합을 침착한다. 아울러, 상기 장치는 경우에 따라 기관 완전성의 준비 및/또는 유지를 위한 시약을 침착한다. 몇몇 실시양태에서, 상기 폴리뉴클레오티드 합성기는 약 1000, 500, 100, 50, 또는 20 pL 미만의 부피로 직경이 약 200 μm, 100 μm, 또는 50 μm 미만인 드롭을 침착한다. 몇몇 경우에서, 상기 폴리뉴클레오티드 합성기는 1초당 약 1 내지 10000, 1 내지 5000, 100 내지 5000, 또는 1000 내지 5000개의 액적을 침착한다.

[0101] 몇몇 배열에서, 폴리뉴클레오티드 합성 중, 기관은 플로우셀 내에 위치되고/거나 밀봉된다. 상기 플로우셀은 액체, 예를 들어 기관 내에서 반응을 위해 필요한 시약, 예를 들어 산화제 및/또는 용매를 포함하는 액체의 연속적인 또는 불연속적인 플로우를 제공할 수 있다. 상기 플로우셀은 전형적으로 휘발성 기관의 증강된 증발을 통해 기관을 건조하기 위한 질소와 같은 기체의 연속적인 또는 불연속적인 플로우를 제공할 수 있다. 다양한 보조 장치가 상기 기관의 표면 상에서 건조 및 잔류 수분 감소를 개선하기 위해 유용하다. 그러한 보조 건조 장치의 예는 진공 공급원, 탈압 펌프 및 진공 탱크를 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 폴리뉴클레오티드 합성 시스템은 1개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 20개의 플로우셀 및 1개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 20개의 기관을 포함한다. 몇몇 경우에서, 플로우셀은 합성 반응에서 하나 이상의 단계 중에 상기 기관에 시약을 유지 및 제공하도록 구성된다. 몇몇 실시양태에서, 플로우셀은 기관의 상부에 걸쳐 미끄러지고, 기관의 예지 주위를 기밀하는 압력을 형성하는 위치로 클램핑될 수 있는 리드를 포함한다. 적합한 밀봉은 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10 기압의 압력을 허용하는 밀봉을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다. 몇몇 경우에서, 플로우셀의 리드는 폴리뉴클레오티드 합성과 같은 적용 장치에 액세스할 수 있도록 개방된다. 몇몇 경우에서, 폴리뉴클레오티드 합성 방법의 하나 이상의 단계는 기관의 수송 없이 플로우셀 내의 기관 상에서 수행된다.

[0102] 몇몇 배열에서, 유체로 기관을 처리하기 위한 장치는 스프레이 바를 포함한다. 뉴클레오티드 단량체는 기관 표면 상에 적용되고, 그 후 스프레이 바는 스프레이 바의 노즐의 분무를 이용하여 하나 이상의 처리 시약을 기관 표면에 분무한다. 몇몇 배열에서, 노즐의 분무는 폴리뉴클레오티드 합성 중에 상이한 처리 단계와 관련되도록 연속적으로 순서화된다. 상이한 공정 단계에서 사용된 화학물질은 합성 방법 및 합성 방법의 단계들 사이에서의 변경을 용이하게 수용하도록 스프레이 바 내에서 변경될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 스프레이 바는 기관이 스프레이 바를 지나서 이동함에 따라 기관의 표면 상에 정해진 화학물질을 분무한다. 몇몇 경우에서, 스프레이 바는 잔디 스프링클러에서 사용되는 스프레이 바와 매우 유사하게 기관의 넓은 구역을 침착한다. 몇몇 실시양태에서, 노즐의 스프레이 바는 기관의 정해진 구역에 처리 물질의 균일한 코트를 제공하도록 위치된다.

[0103] 몇몇 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 합성 시스템은 합성된 폴리뉴클레오티드의 다운스트림 처리를 위해 유용한 하나 이상의 부재를 포함한다. 한 예로서, 상기 시스템의 열 사이클링 장치와 같은 온도 조절 부재를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 상기 온도 조절 부재는 PCA와 같은 핵산 어셈블리 및/또는 PCR과 같은 핵산 증폭을 수행하기 위한 다수의 견고한 반응기와 함께 사용된다.

[0104] 드 노보 폴리뉴클레오티드 합성

[0105] 본 출원에서, 짧은 시간에 기관 상에서 고밀도의 폴리뉴클레오티드를 합성하기 위한 시스템 및 방법이 제공된다. 몇몇 예에서, 상기 기관은 가요성 기관이다. 몇몇 예에서, 적어도 약 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} , 10^{14} , 또는 10^{15} 개의 염기가 하루에 합성된다. 몇몇 예에서, 적어도 약 10×10^8 , 10×10^9 , 10×10^{10} , 10×10^{11} , 또는 10×10^{12} 개의 폴리뉴클레오티드가 하루에 합성된다. 몇몇 경우에서, 합성된 각각의 폴리뉴클레오티드는 적어도 약 20, 50, 100, 200, 300, 400 또는 500개의 핵염기를 포함한다. 몇몇 경우에서, 이들 염기는 100; 200; 300; 400; 500; 1000; 2000; 5000; 10000; 15000; 20000개의 염기 중 약 1개 미만의 전체 평균 에러율로 합성된다. 몇몇 예에서, 이들 에러율은 합성된 폴리뉴클레오티드의 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 또는 그 초과에 대한 것이다. 몇몇 예에서, 합성된 폴리뉴클레오티드의 이들 적어도 90%, 95%, 98%, 99%, 99.5%, 또는 그 초과는 이들이 코딩하는 선결 서열과는 상이하지 않다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 방법 및 시스템을 이용하는, 기관 상에서 합성된 폴리뉴클레오티드에 대한 에러율은 200개의 염기 중 1개 미만이다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 방법 및 시스템을 이용하는, 기관 상에서 합성된 폴리뉴클레오티드에 대한 에러율은 1,000개의 염기 중 약 1개 미만이다. 본 출원에 기재된 방법 및 시스템을 이용하는, 기관 상에서 합성된 폴리뉴클레오티드에 대한 에러율은 2,000개의 염기 중 약 1개 미만이다. 본 출원에 기재된 방법 및 시스템을 이용하는, 기관 상에서 합성된 폴리뉴클레오티드에 대한 에러율은 3,000개의 염기 중 약 1개 미만이다. 본 출원에 기재된 방법 및 시스템을 이용하는, 기관 상에서 합성된 폴리뉴클레오티드에 대한 에러율은 5,000개의 염기 중 약 1개 미만이다. 에러율의 개개의 유형은 기관 상에서 합성된 폴리뉴클레오티드에 대한 미스매치, 결실, 삽입, 및/또는 치환을 포함한다. 용어 "에러율"은 선결 폴리뉴클레오티드 서열의 응집체에 대한 합성된 폴리뉴클레오티드의 총체적인 양의 비교를 의미한다. 몇몇 예에서, 본 출원에 개시된 합성된 폴리뉴클레오티드는 12 내지 25개의 염기의 테더를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 상기 테더는 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50개 또는 이를 초과하는 염기를 포함한다.

[0106] 본 발명의 기관 상에서 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 적절한 방법은, 기관 상에 결합된 뉴클레오시드와 포스포르아미다이트 빌딩 블록 사이에 포스포이트 트리에스테르 결합을 형성하는 커플링 단계에서 성장하는 폴리뉴클레오티드에 대한 포스포르아미다이트 빌딩 블록, 즉 뉴클레오시드 포스포르아미다이트의 조절된 첨가를 포함하는 포스포르아미다이트 방법이다. 몇몇 예에서, 상기 뉴클레오시드 포스포르아미다이트는 활성화된 기관에 제공된다. 몇몇 예에서, 상기 뉴클레오시드 포스포르아미다이트는 활성제를 가진 기관에 제공된다. 몇몇 예에서, 뉴클레오시드 포스포르아미다이트 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100배 또는 이를 초과하는 기관 결합된 뉴클레오시드보다 과잉량으로 기관에 제공된다. 몇몇 예에서, 뉴클레오시드 포스포르아미다이트의 첨가는 무수 환경, 예를 들어 아세토니트릴 중에서 수행된다. 커플링 단계에서 뉴클레오시드 포스포르아미다이트의 첨가 및 결합 후, 기관은 경우에 따라 세척한다. 몇몇 실시양태에서, 상기 커플링 단계는 1회 이상 추가로 반복되며, 경우에 따라 기관에 뉴클레오시드 포스포르아미다이트를 첨가하는 사이에 세척 단계를 수행한다. 몇몇 예에서, 본 출원에 기재된 폴리뉴클레오티드 합성 방법은 1, 2, 3회 또는 이를 초과하는 연속적인 커플링 단계를 포함한다. 다수의 경우에서, 커플링 이전에 기관에 결합된 뉴클레오시드는 보호기의 제거에 의해 탈보호되는데, 이때 보호기는 중합을 방지하는 작용을 한다. 통상적인 보호기는 4,4'-디메톡시트리틸(DMT)이다.

- [0107] 커플링 후, 포스포르아미다이트 폴리뉴클레오티드 합성 방법은 경우에 따라 캡핑 단계를 포함한다. 캡핑 단계에서, 성장하는 폴리뉴클레오티드는 캡핑제로 처리된다. 일반적으로, 캡핑 단계는 커플링 후 미반응 기관 결합된 5'-OH 기가 추가로 사슬 연장되지 않도록 하여 내부 염기 결실을 가진 폴리뉴클레오티드의 형성을 방지한다. 또한, ¹H-테트라졸로 활성화된 포스포르아미다이트는 종종 소량으로 구아노신의 O6 위치와 반응한다. 이론에 의해 구속되기는 원하지 않지만, ¹H-테트라졸로 산화 시, 이 부산물은 가능하게는 O6-N7 이동에 의해 탈퓨린화가 수행된다. 탈퓨린 구역은 올리고뉴클레오티드의 최종 탈보호의 과정 중에 절단 종결되어 전장 생성물의 수율을 감소시킬 수 있다. 상기 O6 변형은 I₂/물에 의한 산화 이전에 캡핑 시약으로 처리함으로써 제거될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 합성 중에 캡핑 단계가 포함되면 캡핑이 일어나지 않는 합성에 비해 에러율이 감소된다. 한 예로서, 상기 캡핑 단계는 기관 결합된 폴리뉴클레오티드를 아세트산 무수물과 1-메틸이미다졸의 혼합물로 처리하는 것을 포함한다. 캡핑 단계 후, 기관은 경우에 따라 세척된다.
- [0108] 뉴클레오시드 포스포르아미다이트의 첨가에 이어서, 경우에 따라 캡핑 및 1회 이상의 세척 단계 후에, 기관 결합된 성장하는 핵산은 산화될 수 있다. 상기 산화 단계는 포스파이트 트리에스테르를, 천연 포스페이트 디에스테르 뉴클레오시드간 결합의 보호된 전구체인, 4배위결합된 포스페이트 트리에스테르로 산화시키는 것을 포함한다. 몇몇 예에서, 성장하는 폴리뉴클레오티드의 산화는 경우에 따라 피리딘, 루티딘 또는 콜리딘과 같은 약염기의 존재 하에서 요오드 및 물로 처리함으로써 달성된다. 산화는 때때로 tert-부틸 히드록시페록시드 또는 (1S)-(+)-(10-감포르설포닐)-옥사지리딘(CS0)을 사용하여 무수 조건 하에서 수행된다. 몇몇 방법에서, 캡핑 단계는 산화 후에 수행된다. 제2 캡핑 단계는, 지속될 수 있는 산화로부터 유래하는 잔류수가 후속의 커플링을 억제할 수 있으므로, 기관 건조를 허용한다. 산화 후, 기질 및 성장하는 폴리뉴클레오티드는 경우에 따라 세척된다. 몇몇 실시양태에서, 산화 단계는 올리고뉴클레오티드 포스포로티오에이트를 얻기 위해 황화 단계로 대체되며, 여기서 임의의 캡핑 단계가 황화 후에 수행될 수 있다. 다수의 시약은 효율적인 황 전달을 가능하게 하는데, 그 시약의 예로는 3-(디메톡시아미노메틸리엔)아미노-3H-1,2,4-디티아졸-3-티온, DDTT, 뷰케이지 시약으로도 공지된 3H-1,2-벤조디티올-3-온 1,1-디옥사이드, 및 N,N,N'N'-테트라에틸티우람 디설파이드(TETD)를 들 수 있으나, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0109] 커플링을 통해 뉴클레오시드 도입의 후속 사이클을 수행하기 위해, 기관 결합된 성장하는 폴리뉴클레오티드의 보호된 5' 말단은 제거되어 1급 히드록실기가 다음의 뉴클레오시드 포스포르아미다이트와 반응할 수 있도록 하여야 한다. 몇몇 예에서, 보호기는 DMT이고, 디블로킹은 디클로로메탄 내의 트리클로로아세트산에 의해 발생한다. 연장된 시간 동안, 또는 권장되는 산 용액보다 더 강하게, 탈트리틸화를 수행하는 것은 고체 지지체-결합된 올리고뉴클레오티드의 탈퓨린화의 증가를 유도할 수 있고, 이에 따라 원하는 전장 생성물의 수율을 감소시킬 수 있다. 본 출원에 기재된 방법 및 조성물은 바람직하지 않은 탈퓨린화 반응을 제한하는 제어된 디블로킹 조건을 제공한다. 몇몇 예에서, 기관 결합된 폴리뉴클레오티드는 디블로킹 후에 세척된다. 몇몇 경우에서, 디블로킹 후의 효율적인 세척은 낮은 에러율을 갖는 합성된 폴리뉴클레오티드에 기여한다.
- [0110] 본 출원에 기재된 기관 상에서 폴리뉴클레오티드의 합성 방법은 전형적으로 하기 순서의 단계들을 반복하는 것을 포함한다: 기관 피처의 표면에 보호된 모노머를 적용하여 표면, 링커, 또는 사전에 탈보호된 모노머와 연결시키는 단계; 적용된 모노머를 탈보호하여, 이후에 적용되는 모노머와 반응할 수 있도록 하는 단계; 결합을 위해 또 다른 보호된 모노머를 적용하는 단계. 하나 이상의 중간 단계는 산화 및/또는 황화를 포함한다. 몇몇 예에서, 하나 이상의 세척 단계는 상기 단계들 중 하나 또는 모두에 선행 또는 후행된다.
- [0111] 몇몇 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드는 광불안정성 보호기로 합성되며, 이때 표면 상에 생성된 히드록실기는 광불안정성 보호기에 의해 블로킹된다. 표면이 예를 들어 포토리소그래피 마스크를 통해서, UV 광에 노출될 때, 표면 상의 유리 히드록실기의 패턴이 생성될 수 있다. 이들 히드록실기는 포스포르아미다이트 화학에 따라 광보호된 뉴클레오시드 포스포르아미다이트와 반응할 수 있다. 제2 포토리소그래피 마스크를 도포하고 그 표면을 UV 광에 노출시켜 히드록실기의 제2 패턴을 생성시킨 후, 5'-광보호된 뉴클레오시드 포스포르아미다이트와 커플링할 수 있다. 마찬가지로, 패턴이 생성될 수 있고, 올리고머 사슬이 신장될 수 있다. 이론에 의해 제한되는 것을 원하는 것은 아니지만, 광절단 가능한 기의 불안정성은 사용된 용매의 파장 및 극성에 따라 달라지며, 광절단 속도는 노광 지속 시간 및 광 강도에 의해 영향을 받을 수 있다. 이 방법은 마스크 정렬의 정확도, 광 보호기의 제거 효율, 및 포스포르아미다이트 커플링 단계의 수율과 같은 다수의 인자를 활용할 수 있다. 또한, 인접한 부위로의 의도하지 않은 누출을 최소화할 수 있다. 스팟당 합성된 올리고머의 밀도는 합성 표면상의 리더 뉴클레오시드의 로딩을 조절함으로써 모니터링될 수 있다.
- [0112] 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 지지체를 제공하는 기관의 표면은 화학적으로 개질되어 상기 기관으로부터 합성

된 폴리뉴클레오티드 사슬이 절단되는 것을 가능하게 한다. 몇몇 예에서, 상기 폴리뉴클레오티드 사슬은 폴리뉴클레오티드가 탈보호되는 것과 동일한 시간에 절단된다. 몇몇 경우에서, 폴리뉴클레오티드 사슬은, 폴리뉴클레오티드가 탈보호된 후, 절단된다. 예시적인 스킵에서, $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O})_3\text{Si}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$ 와 같은 트리알콕시실릴아민은 기관의 SiOH와 반응하고, 그 후 아민과 함께 숙신산 무수물과 반응하여 아마이드 결합 및 핵산 사슬 성장이 지원되는 유리 OH를 생성한다. 절단은 암모니아 또는 메틸아민을 이용하는 기체 절단을 포함한다. 몇몇 예에서, 표면으로부터 일단 방출되면, 폴리뉴클레오티드는 저장된 정보를 서열결정하고 해독하는 더 긴 핵산으로 어셈블링된다.

[0113] 어셈블리

[0114] 폴리뉴클레오티드는 정보를 코딩하는 선결 서열의 대형 영역을 집합적으로 스페닝하도록 디자인될 수 있다. 몇몇 예에서, 더 큰 폴리뉴클레오티드는 합성된 폴리뉴클레오티드를 연결시키는 연결 반응을 통해 생성된다. 연결 반응의 한 예는 중합효소 사슬 어셈블리(PCA)이다. 몇몇 경우에서, 폴리뉴클레오티드의 적어도 일부는 범용 프라이머 결합을 위한 기관인 부가된 영역을 포함하도록 디자인된다. PCA 반응의 경우, 예비합성된 폴리뉴클레오티드는 서로 중첩되는 부분(예를 들어, 중첩 서열을 갖는 4, 20, 40개 또는 이를 초과하는 염기)을 포함한다. 중합효소 사이클 동안, 폴리뉴클레오티드는 상보적 단편에 어닐링된 다음 중합효소에 의해 채워진다. 따라서 각각의 사이클은 어떤 폴리뉴클레오티드가 서로 인식하는가에 따라 무작위적으로 다양한 길이의 단편을 증가시킨다. 단편 사이의 상보성은 이중 가닥 DNA의 완전한 대형 스펠의 형성을 가능하게 한다. 몇몇 경우에서, PCA 반응이 완료된 후, 에러 보정은 서열 내의 미스매치를 제거하는 미스매치 수복 검출 효소를 이용하여 수행된다. 일단 표적 서열의 더 큰 단편이 생성되면, 이들은 증폭될 수 있다. 예를 들어, 일부 경우에서, 5' 및 3' 말단 어댑터 서열을 포함하는 표적 서열은 어댑터 서열에 혼성화되는 변형된 프라이머를 포함하는 중합효소 연쇄 반응(PCR)에서 증폭된다. 몇몇 경우에서, 변형된 프라이머는 하나 이상의 우라실 염기를 포함한다. 변형된 프라이머의 사용은, 변형된 염기 및/또는 단편으로부터의 변형된 염기쌍을 절단하는 효소에 의해 남겨진 갭을 표적화하는 것에 집중하는 효소 반응을 통한 프라이머의 제거를 가능하게 한다. 잔류하는 것은 어댑터 서열의 잔재가 없는 이중 가닥 증폭 생성물이다. 이 방식으로, 다중 증폭 생성물이 동일한 프라이머 세트와 병렬로 생성되어 이중 가닥 DNA의 상이한 단편을 생성할 수 있다.

[0115] 에러 보정은 합성된 폴리뉴클레오티드 및/또는 어셈블링된 생성물에 대해 수행된다. 에러 보정을 위한 전략의 예로는 에러를 정정하기 위한 중첩 신장 PCR에 의한 부위 지정 돌연변이 유발이 포함되며, 이는 경우에 따라 2회 이상의 복제 및 서열결정 라운드와 결합된다. 특정 실시양태에서, 미스매치, 별지 및 작은 루프, 화학적으로 변경된 염기 및/또는 다른 이형 이중 가닥을 갖는 이중 가닥 핵산은 정확하게 합성된 핵산의 집단으로부터 선택적으로 제거된다. 몇몇 실시양태에서, 이중 나선 핵산 내의 미스매치 또는 쌍을 이루지 않은 염기를 인식하고 결합하는 단백질/효소를 사용하여 단일 또는 이중 가닥 절단을 생성하거나 가닥 전달 전이 현상을 개시하는 에러 보정이 수행된다. 에러 보정을 위한 단백질/효소의 비제한적인 예는 엔도뉴클레아제(T7 엔도뉴클레아제 I, 이. 콜라이 엔도뉴클레아제 V, T4 엔도뉴클레아제 VII, 녹두 뉴클레아제, Cell, 이. 콜라이 엔도뉴클레아제 IV, UVDE), 제한 효소, 글리코실라아제, 리보뉴클레아제, 미스매치 수복 효소, 리졸바아제, 헬리케이스, 리가아제, 미스매치에 특이적인 항체, 및 이들의 변형체를 포함한다. 특정 에러 보정 효소의 예는 T4 엔도뉴클레아제 7, T7 엔도뉴클레아제 1, S1, 녹두 엔도뉴클레아제, MutY, MutS, MutH, MutL, 클레바아제, CELI 및 HINF1을 포함한다. 몇몇 경우에서, DNA 미스매치-결합 단백질 MutS(*Thermus aquaticus*)를 사용하여 합성된 생성물 집단에서 불량 생성물을 제거한다. 몇몇 실시양태에서, 효소 코렉타아제를 사용하여 에러 보정이 수행된다. 몇몇 경우에서, 이형 이중 가닥 DNA에 대해 알려진 돌연변이 및 알려지지 않은 돌연변이, 그리고 다형성을 검사하는 미스매치에 특이적인 DNA 엔도뉴클레아제인 SURVEYOR 엔도뉴클레아제(Transgenomic)를 사용하여 에러 보정을 수행한다.

[0116] 방출, 추출 및 어셈블리

[0117] 본 출원에서, 복제 가능한 정보 저장을 위한 방법 및 장치가 제공된다. 몇몇 예에서, 동일한 코딩 영역, 폴리뉴클레오티드, 동일한 클러스터, 폴리뉴클레오티드를 포함하는 구조체의 동일한 부분, 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 전체 구조체의 다중 카피가 합성된다. 동일한 폴리뉴클레오티드의 다중 카피가 합성되는 경우, 각각의 폴리뉴클레오티드는 표면의 구별된 영역에 부착될 수 있다. 구별된 영역은 파단 또는 절단에 의해 분리될 수 있다. 대안적으로, 각각의 폴리뉴클레오티드는 스팟, 웰 또는 채널의 형태로 위치에 존재할 수 있고, 개별적으로 액세스 가능하다. 예를 들어, 위치와 절단 시약과의 접촉에 이어서, 물은 다른 카피를 손상시키지 않고 이탈하면서 폴리뉴클레오티드의 하나의 카피를 자유롭게 한다. 유사하게, 전체 영역 내에서 또는 전체 플레이트에 걸

쳐 폴리뉴클레오티드의 절단은 복제 집단의 분획에 대한 액세스를 허용한다. 복제 집단은 분리된 릴, 플레이트, 벨트 등에 존재할 수 있다. 가요성 물질, 예를 들어 테이프의 경우, 복제 영역은 절단될 수 있고, 테이프의 나머지 영역들은 함께 다시 스프라이싱될 수 있다. 대안적으로, 합성된 및 저장된 폴리뉴클레오티드의 핵산 정보는 프라이머 및 DNA 폴리머라아제를 이용하여 상기 구조체의 표면에 부착된 폴리뉴클레오티드의 증폭을 수행함으로써 얻을 수 있다.

[0118] 몇몇 예에서, 수성 또는 기체 전달 매체는 구조체 내의 하나 또는 다수의 채널 상에 침착되어 폴리뉴클레오티드를 구조체로부터 수용 유닛으로 전달한다. 예를 들어, 전달 매체는 폴리뉴클레오티드에 부착되고, 이를 수집하고, 이를 구조체의 채널로부터 수용 유닛으로 전달하기 위해 구조체 내의 채널을 통해 통과할 수 있다. 몇몇 예에서, 전하 전도성 피쳐 및 인가된 전압은 구조체 내의 채널에 또는 채널을 통해 전달 매체를 유인하거나 밀어내기 위해 사용된다. 몇몇 예에서, 슬립은 구조체 내의 채널 내로 전달 매체를 유도하기 위해 사용된다. 몇몇 경우에, 압력 릴리스는 구조체 내의 채널 내로 또는 채널을 통해 전달 매체를 유도하기 위해 사용된다. 몇몇 경우에서, 노즐은 구조체 내의 채널 내로 또는 채널을 통해 전달 매체를 미는 고압의 국소화된 구역을 형성하기 위해 사용된다. 몇몇 예에서, 핀은 폴리뉴클레오티드를 구조체 내의 채널로부터 용기로 수용 유닛으로 전달하기 위해 사용된다. 그러한 예에서, 상기 핀은 전달 매체 부착을 가능하게 하는 제제를 포함할 수 있다. 몇몇 경우에서, 전하 전도성 피쳐는 전도성 피쳐와 구조체 사이에 전압 전위를 형성함으로써 구조체 내의 채널로 또는 채널을 통해 전달 매체를 유인하거나 밀어내기 위해 사용된다. 몇몇 경우에서, 피켓 팁 또는 다른 모세관 흐름 유도 구조체는 모세관 흐름에 의해 유체 및 폴리뉴클레오티드를 전달하기 위해 사용된다. 몇몇 예에서, 용기는 하나 이상의 구획을 포함하는데, 각각의 구획은 그 내부에 각각의 단일 채널로부터 방출되는, 전달 매체의 일부 및 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 수용한다. 몇몇 예에서, 상기 용기는 전달 매체의 하나 이상의 부분을 수용하는 단일 구획을 포함하는데, 각각은 그 내부에 하나 이상의 구조체 채널로부터 방출되는, 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 함유한다.

[0119] 도 14a 및 14b를 참조하면, 폴리뉴클레오티드(1417)는, 폴리뉴클레오티드(1417)에 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체(1419)의 침착을 통해 구조체(1405) 내의 채널(1415)로부터 전달되는데, 이때 하나 이상의 서로 연결된 전도체 플레이트(1420) 및 파워 유닛(1422)은 전달 매체(1419)를 하나 이상의 채널로 각각 전달한다. 이 배열에서, 하나 이상의 서로 연결된 일련의 전도체 플레이트(1409) 각각은 각각의 채널(1415) 상부에서 이의 인접한 에지를 둘러싸도록 위치되고, 서로 연결된 전도체 플레이트(1420)와 구조체(1405) 사이에서 파워 유닛(1422)에 의해 부여된 전압 전위는 하나 이상의 채널(1415)의 인접한 개구로 전달 매체(1419)를 유인한다. 이와 같이, 이러한 예에서 하나 이상의 채널(1415)의 인접한 개구로 전달 매체(1419)를 유인하는 예시적인 방법은, 구조체(1405)의 주 채널(1410) 내로 전달 매체(1419)를 침착시키는 것, 및 파워 유닛(1422)에 의해 서로 연결된 전도성 플레이트(1420)와 구조체(1405) 사이에 전압 전위를 인가하는 것을 포함한다. 또한, 이 경우에서, 전달 매체(1419)는 파워 유닛(1422)에 의해 생성된 전위차 또는 자기장 또는 정전기장에 반응하는 양전하 또는 음전하를 함유할 수 있는데, 왜냐하면 이는 구조체(1405) 및 채널(1415)을 통해 통과하기 때문이다. 또한, 하나 이상의 전도성 플레이트(1420) 및 구조체(1405)의 정전기 특성은 구조체 내의 채널(1415)을 통해 전달 매체(1419) 내의 폴리뉴클레오티드(1417)의 전달을 최적화되도록 조정될 수 있다. 최종적으로, 비전도성 분리기는 구조체(1405)와 하나 이상의 전도성 플레이트(1420)의 사이에 위치되어 그 내부에 형성된 전위차 또는 자기장 또는 정전기장을 조정 또는 최적화할 수 있다. 또한, 이 경우는 주 채널(1410)의 하나 이상의 면 위 또는 서로 연결된 전도체 플레이트(1420) 위에 친수성 또는 소수성 구조체를 추가로 사용하여 채널(1415) 내로 전달 매체(1419)를 더 효율적으로 유도할 수 있다.

[0120] 도 15a 및 도 15b를 참조하면, 폴리뉴클레오티드(1517)는, 하나 이상의 폴리뉴클레오티드(1517)에 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체(1519)를 통해 구조체(1505) 내의 채널(1515)로부터 전달되고, 및 이때 전달 매체(1519)는 하나 이상의 전도성 시트(1524) 및 파워 유닛(1522)에 의해 하나 이상의 채널(1515)로부터 유인된다. 이 배열에서, 채널(1515) 아래 및 이를 둘러싸는 전도성 시트(1524) 및 파워 유닛(1522)은 채널(1515)의 인접 개구(참조: 도 15a)로부터 그 채널(1515)의 원위 개구(참조: 도 15b)로 전달 매체(1519)를 유인하기 위해 사용된다. 이와 같이, 이 예에서 채널(1515)의 원위 개구로 전달 매체(1519)를 유인하는 예시적인 방법은, 파워 유닛(1522)에 의해 전도성 시트(1524)와 구조체(1505) 사이에 전압 전위를 인가하는 것을 포함한다. 또한, 이 경우에서, 전달 매체(1519)는 파워 유닛(1522)에 의해 생성된 전위차 또는 자기장 또는 정전기장에 반응하는 양전하 또는 음전하를 함유할 수 있는데, 왜냐하면 이는 구조체(1505) 및 하나 이상의 전도성 시트(1524)를 통해 통과하기 때문이다. 또한, 하나 이상의 전도성 시트(1524) 및 구조체(1505)의 정전기 특성은 구조체(1505) 내의 채널(1515)을 통해 전달 매체(1519) 내의 폴리뉴클레오티드(1517)의 전달을 최적화하도록 조정될 수 있다. 비전도성 분리기는 구조체(1505)와 하나 이상의 전도성 시트(1524)의 사이에 위치되어 그 내부에 형성된 전위차 또는

자기장 또는 정전기장을 조정 또는 최적화할 수 있다.

[0121] 도 16a 및 도 16b를 참조하면, 폴리뉴클레오티드(1617)는, 폴리뉴클레오티드(1617)에 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체(1619)의 침착을 통해 구조체(1605) 내의 채널(1615)로부터 전달되고, 및 이때 정지 플레이트 구조체(1605) 또는 이동하는 불연속 가요성 구조체의 표면과 플러시 접촉하고, 구조체에 대해 어택의 예각(1632)으로 위치된 슬립(1630)은 구조체의 채널 내로 전달 매체를 보내기 위해 사용된다. 이 배열에서, 슬립(1630)은 하나 이상의 채널(1615)의 인접 개구로부터(참조: 도 16a) 각각의 채널의 원위 개구(1615)로 전달 매체(1619)를 유도하기 위해 사용된다. 이와 같이, 이 예에서 하나 이상의 채널(1615)을 통해 전달 매체(1619)를 보내는 예시적인 방법은, 구조체(1605)에 대해 하나 이상의 슬립(1630)을 옮기거나 회전시키는 것을 포함한다. 이들 예에서 어택의 예각(1632)은 약 10°, 20°, 30°, 40°, 50°, 60°, 70° 또는 약 80° 일 수 있다. 몇몇 경우에서, 단일 슬립(1630) 또는 하나 이상의 슬립(1630)의 강성 어셈블리는 하나 이상의 채널(1615)을 통해 전달 매체(1619)를 옮기기 위해 사용된다. 몇몇 경우에서, 슬립(1630)과 구조체(1605) 사이의 상대 속도는 1 cm/초 초과이다. 몇몇 경우에서, 구조체(1605)에 대한 슬립(1630) 사이의 상대 각속도는 약 1회전/초까지이다. 몇몇 경우에서, 구조체(1605)에 대한 슬립(1630) 사이의 상대 각속도는 1회전/초 초과이다. 몇몇 경우에서, 슬립(1630)은 채널(1615)에 부분적으로 진입하기 위해 뒤틀릴 수 있다. 최종적으로, 이 예에서, 슬립(1630)은 플라스틱, 고무, 목재, 금속, 유리, 유리섬유, 탄소 섬유 또는 이의 조합을 포함하는 임의의 방수 물질로 구성될 수 있다.

[0122] 폴리뉴클레오티드(1717)는, 폴리뉴클레오티드(1717)가 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체(1719)의 침착을 통해 구조체(1705) 내의 채널(1715)로부터 전달되고, 및 이때 기체 또는 유체 내에 적용된 압력(1740) 및 압력 릴리스(1742)는 구조체(1705) 내에서 채널(1715)을 통해 전달 매체(1719)를 밀기 위해 사용되는데, 이는 도 17a 및 도 17b에 도시되어 있다. 이 예에서, 압력 릴리스(1742)는 적용된 압력(1740)을 차단하고, 따라서 채널(1715)의 원위 예지와 압력 릴리스(1742)의 원위 면 사이에 압력차를 형성하는데(참조: 도 17a), 이는, 압력 릴리스(1742)의 개구에 의해 방출되는 경우, 채널을 통해 전달 매체(1719)를 밀어낸다(참조: 도 17b). 몇몇 경우에서, 단일 압력 릴리스(1742)는 하나 이상의 채널(1715)을 통해 한 번에 전달 매체(1719)를 보내기 위해 사용된다. 이와 같이, 이 예에서 채널(1715)을 통해 전달 매체(1719)를 보내는 예시적인 방법은, 기체 및 유체 내에 적용된 압력(1740)을 형성하고, 및 구조체(1705)에 대해 압력 릴리스(1742)를 옮기거나 회전시키는 것을 포함한다. 몇몇 경우에서, 하나 이상의 압력 릴리스(1742)와 구조체(1705) 사이의 상대 속도는 약 1 cm/초 초과이다. 몇몇 경우에서, 하나 이상의 압력 릴리스(1742)와 구조체(1705) 사이의 상대 속도는 1 cm/초 초과이다. 몇몇 배열에서, 하나 이상의 압력 릴리스(1742)와 구조체(1705) 사이의 상대 회전 속도는 약 1회전/초 초과이다. 몇몇 경우에서, 하나 이상의 압력 릴리스(1742)와 구조체(1705) 사이의 상대 회전 속도는 약 1회전/초 초과이다. 몇몇 예에서, 적용된 압력(1740)에 의해 생성된, 구조체(1705)를 둘러싸는 기체 또는 유체 내의 압력차는 1 atm 미만이다. 몇몇 예에서, 적용된 압력(1740)에 의해 생성된, 구조체(1705)를 둘러싸는 기체 또는 유체 내의 압력차는 1 atm 초과이다.

[0123] 도 18을 참조하면, 폴리뉴클레오티드(1817)는, 폴리뉴클레오티드(1817)를 부착하는 수성 또는 기체 전달 매체(1819)의 침착을 통해 이동하는 불연속 가요성 구조체(1807) 내의 채널(1815)로부터 전달되고, 및 이때 노즐(1844) 및 적용된 압력(1840)은 구조체(1807) 내의 채널(1815)을 통해 전달 매체(1819)를 밀기 위해 사용된다. 이와 같이, 이 예에서 채널(1815)을 통해 전달 매체(1819)를 보내는 예시적인 방법은, 롤러(1803) 주위의 연속적인 가요성 구조체(1807)를 옮겨 채널(1815)이 노즐(1844) 하부에 정렬되도록 하고, 노즐(1844)을 트리거링하여 채널(1815)을 향해 적용된 압력(1840)을 보내도록 한다. 몇몇 예에서, 노즐(1844)에 의해 부여되는 구조체(1807)를 둘러싸는 기체 또는 유체 내의 압력차는 1 atm 미만이다. 몇몇 예에서, 노즐(1844)에 의해 부여되는 구조체(1807)를 둘러싸는 기체 또는 유체 내의 압력차는 1 atm 초과이다.

[0124] 도 19a 및 19b를 참조하면, 폴리뉴클레오티드(1917)는, 수성 또는 기체 전달 매체(1919)의 침착을 통해 구조체(1905) 내의 채널(1915)로부터 전달되고, 및 이때 핀(1950)은 전달 매체(1919) 및 그 내의 폴리뉴클레오티드(1917)에 부착하여, 구조체(1905) 내의 채널(1915)로부터 전달 매체(1919)를 제거하는데, 이는 도 19a 및 도 19b에 도시된다. 이 예에서, 핀(1950)은 전달 매체에 접촉하여 이를 유인하는데(참조: 도 19a), 이때 핀(1950)에 대한 전달 매체(1919)의 유인은 채널(1915)의 원위 예지에 대한 전달 매체(1919)의 유인보다 더 크고, 및 이때 핀(1950)과 구조체(1905) 사이의 상대 수직 운동은 구조체(1905)로부터 전달 매체(1919)를 전위시킨다(참조: 도 19b). 이러한 예에서, 핀(1950)은 전달 매체 부착을 용이하게 하는 피처를 포함할 수 있는데, 이는 친수성 또는 친기성 구조체 또는 코팅, 또는 결합 화학물질 코팅을 포함한다. 몇몇 예에서, 핀(1950)은 플라스틱, 고무, 목재, 금속, 유리, 유리섬유, 탄소 섬유 또는 이의 조합을 포함하는 임의의 경질 재료로 구성된다. 다른 예에서, 핀(1950)은 전달 매체(1919)를 유인하기 위해 전기장, 정전기장 또는 자기 전하 또는 자기장을 전도할

수 있는 전도성 물질로 구성된다. 몇몇 경우에서, 핀(1950)과 구조체(1905) 사이의 상대 속도는 약 1cm/초까지이다. 몇몇 경우에서, 핀(1950)과 구조체(1905) 사이의 상대 속도는 1 cm/초 초과이다.

[0125] 도 20a 및 도 20b를 참조하면, 폴리뉴클레오티드(2017)는 수성 또는 기체 전달 매체(2019)의 침착을 통해 구조체(2005) 내의 채널(2015)을 통해 전달되고, 및 이때 전달 매체(2019)는 파워 유닛(2022)으로부터 전도성 시트(2024)에 인가된 전압에 의해 구조체(2005) 내의 채널로부터 수용 유닛(2060)으로 밀려난다. 이 경우, 채널(2015)의 하부에서 이의 원위 에지를 둘러싸는 전도성 시트(2024) 및 파워 유닛(2022)은 채널(2015)의 원위 개구로부터 전달 매체(2019)를 수용 유닛(2060)(참조: 도 20b)으로 밀어내기 위해 사용된다(참조: 도 20a). 이와 같이, 이 예에서 하나 이상의 채널(2015)의 원위 개구로부터 전달 매체(2019)를 밀어내는 예시적인 방법은, 파워 유닛(2022)에 의해 하나 이상의 전도성 시트(2024)와 구조체(2005) 사이에 전압차를 적용하는 것을 포함한다. 또한, 이 경우에서, 전달 매체(2019)는 파워 유닛(2022)에 의해 생성된 정전기장 또는 자기장 또는 전위차에 반응하는 양전하 또는 음전하를 함유할 수 있는데, 왜냐하면 이는 구조체(2005) 및 시트(2024)를 통해 통과하기 때문이다. 아울러, 하나 이상의 전도성 시트(2024) 및 구조체(2005)의 정전기 특성은 구조체 내의 채널(2015)을 통해 전달 매체(2019) 내의 폴리뉴클레오티드의 전달 최적화하도록 조정될 수 있다. 최종적으로, 비전도성 분리가 구조체(2005)와 전도성 시트(2024) 사이에 위치되어 내부에 형성된 정전기장 또는 자기장 또는 전위차를 조정하거나 최적화할 수 있다.

[0126] 몇몇 배열에서, 전달 매체를 채널로 또는 채널로부터 유인하기 위한 수단은 유체 또는 기체 전달 메커니즘을 사용하는데, 이의 예로는 증류압, 모세관 압력, 슬립 플로우 압력, 자기력, 정전기력, 연동력, 음파, 진동력, 구심력, 원심력, 또는 이들의 조합을 포함하나, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0127] 몇몇 예(참조: 예를 들어, 도 21)에서, 수용 유닛(2160)은 2개 이상의 구획(2162a, 2162b)을 포함하는데, 각각의 구획(2162a, 2162b)은 폴리뉴클레오티드(2117)를 포함하는 기체 또는 유체 전달 매체(2119)의 각각의 단일 부분을 수용하고 일시적으로 저장할 수 있다. 다른 배열(참조: 도 22)에서, 수용 유닛(2260)은 단일 구획(2262)을 포함하는데, 이는 폴리뉴클레오티드(2217)를 포함하는 기체 또는 유체 전달 매체(2219)의 하나 이상의 부분을 수용하고 일시적으로 저장할 수 있다.

[0128] **서열결정**

[0129] 구조체의 표면으로부터 폴리뉴클레오티드의 추출 및/또는 증폭 후, 적합한 서열결정 기술을 이용하여 폴리뉴클레오티드를 서열결정할 수 있다. 몇몇 경우에서, DNA 서열은 기관 상에서 또는 구조체의 피쳐 내에서 관독된다. 몇몇 경우에서, 기관 상에 저장된 폴리뉴클레오티드는 경우에 따라 더 긴 핵산 서열로 어셈블링된 후에 서열결정된다.

[0130] 본 출원에 기재된 구조체 상에서 합성되고 저장된 폴리뉴클레오티드는 합성된 폴리뉴클레오티드의 서열을 관독하고, 그 서열을 컴퓨터에 의해 관독할 수 있는 2진 코드로 전환함으로써 해석될 수 있는 데이터를 코딩한다. 몇몇 경우에서, 상기 서열은 어셈블리가 필요하고, 및 상기 어셈블리 단계는 핵산 서열 스테이지 또는 디지털 서열 스테이지에서 필요할 수 있다.

[0131] 본 출원에서, 구조체 상에서 직접적으로 및/또는 주 구조체로부터 제거 후에 저장된 폴리뉴클레오티드를 서열결정할 수 있는 장치를 포함하는 검출 시스템이 제공된다. 구조체가 가요성 물질의 릴-투-릴 테이프인 경우, 상기 검출 시스템은 검출 위치를 통해 구조체를 유지 및 진행시키기 위한 장치 및 테이프의 부분(상기 부분이 상기 검출 위치인 경우)으로부터 유래하는 신호를 검출하기 위한 상기 검출 위치에 인접하게 배치된 검출기를 포함한다. 몇몇 예에서, 상기 신호는 폴리뉴클레오티드의 존재를 나타낸다. 몇몇 실시양태에서, 상기 신호는 폴리뉴클레오티드의 서열을 나타낸다(예를 들어, 형광 신호). 몇몇 예에서, 연속 테이프 상에서 폴리뉴클레오티드 내에 코딩된 정보는 컴퓨터에 의해 관독되는데, 왜냐하면 상기 테이프는 컴퓨터에 작동 가능하게 연결된 검출기를 통해 연속적으로 운반되기 때문이다. 몇몇 예에서, 검출 시스템은 폴리뉴클레오티드 서열결정 장치, 폴리뉴클레오티드 서열과 관련된 데이터의 저장 및 회수를 위한 데이터 베이스, 폴리뉴클레오티드 서열의 DNA 코드를 2진 코드로 전환하기 위한 소프트웨어, 2진 코드를 관독하기 위한 컴퓨터, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0132] **컴퓨터 시스템**

[0133] 다양한 관점에서, 본 출원에 기재된 임의의 시스템은 컴퓨터에 작동 가능하게 연결되고, 경우에 따라 로컬 또는 원격으로 컴퓨터를 통해 자동화된다. 다양한 실시양태에서, 본 발명의 방법 및 시스템은 추가로 컴퓨터 시스템 상의 소프트웨어 프로그램 및 이의 용도를 포함한다. 따라서, 분배/진공/충전 기능의 동기화, 예를 들어 물질 침착 장치 이동, 분배 작용 및 진공 작동을 조화 및 동기화를 위한 컴퓨터화된 조절은 본 발명의 범위 내에 있

다. 몇몇 예에서, 컴퓨터 시스템은 사용자가 특정한 염기 서열과 기관의 특정된 영역으로 정확한 시약을 전달하는 물질 침착 장치의 위치 사이의 인터페이스로 프로그래밍된다.

[0134] 도 23에 예시된 컴퓨터 시스템(2300)은, 경우에 따라 고정된 매체(1412)를 보유하는 서버(2309)에 연결될 수 있는, 매체(2311) 및/또는 네트워크 포트(2305)로부터의 명령을 판독할 수 있는 논리적인 장치로서 이해될 수 있다. 도 4에 도시된 바와 같은 시스템은 CPU(2301), 디스크 드라이브(2303), 키보드(2315) 및/또는 마우스(2316)와 같은 임의의 입력 장치 및 임의의 모니터(2307)를 포함할 수 있다. 데이터 통신은 로컬 또는 원격 위치에서 서버에 대한 지시된 통신 매체를 통해 달성될 수 있다. 상기 통신 매체는 데이터를 전송 및/또는 수신하기 위한 임의의 수단을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 통신 매체는 네트워크 연결, 무선 연결 또는 인터넷 연결일 수 있다. 이러한 연결은 월드 와이드 웹 상에서의 통신을 제공할 수 있다. 본 발명에 관한 데이터는 사용자(2322)에 의한 접속 및/또는 검토를 위해 그러한 네트워크 또는 연결로 전송될 수 있는 것으로 고려된다.

[0135] 도 24는 본 발명의 예시적인 실시양태와 함께 사용될 수 있는 컴퓨터 시스템(1500)의 제1 예시 아키텍처를 예시하는 블록 다이어그램이다. 도 5에 도시된 바와 같이, 예시적인 컴퓨터 시스템은, 명령을 처리하기 위한 프로세서(2402)를 포함할 수 있다. 프로세서의 비제한적인 예는 인텔 Xeon™ 프로세서, AMD Opteron™ 프로세서, 삼성 32-bit RISC ARM 1176JZ(F)-S v1.0™ 프로세서, ARM Cortex-A8 삼성 S5PC100™ 프로세서, ARM Cortex-A8 애플 A4™ 프로세서, 마벨PXA 930™ 프로세서, 또는 기능적으로 균등한 프로세서를 포함한다. 병렬 처리에는 복수의 스레드의 실행을 이용할 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 다수의 컴퓨터, 휴대전화, 및/또는 개인 정보 단말기 장치를 포함하는, 네트워크를 통해 단일 컴퓨터 시스템에서든, 클러스터에서든, 또는 시스템에 분산되어 있든, 다수의 프로세서 또는 다수의 코어를 갖는 프로세서가 또한 사용될 수 있다.

[0136] 도 24에 도시된 바와 같이, 고속 캐시(2404)는 최근에 프로세서(2402)에 의해 사용되었거나 자주 사용되는 명령 또는 데이터를 위한 고속 메모리를 제공하기 위해 프로세서(2402)에 연결되거나 내장될 수 있다. 프로세서(502)는 프로세서 버스(2408)에 의해 노스 브리지(2406)에 접속된다. 노스 브리지(506)는 메모리 버스(2412)에 의해 랜덤 액세스 메모리(RAM)(2410)에 접속되고, 프로세서(2402)에 의해 RAM(2410)에 대한 액세스를 관리한다. 노스 브리지(2406)는 또한 칩셋 버스(2416)에 의해 사우스 브리지(2414)에 접속된다. 사우스 브리지(514)는 차례로 주변 장치 버스(2418)에 접속된다. 주변 장치 버스는, 예를 들어 PCI, PCI-X, PCI Express, 또는 다른 주변 장치 버스일 수 있다. 노스 브리지 및 사우스 브리지는 종종 프로세서 칩셋으로 지칭되고, 프로세서, RAM 및 주변 장치 버스(2418) 상의 주변 장치 구성 요소 사이의 데이터 전송을 관리한다. 일부 대체 아키텍처에서는, 별도의 노스 브리지 칩 대신에, 노스 브리지의 기능을 프로세서에 통합시킬 수 있다.

[0137] 몇몇 실시양태에서, 시스템(2400)은 주변 장치 버스(2418)에 부착된 가속기 카드(2422)를 포함할 수 있다. 가속기는 필드 프로그램 가능한 게이트 어레이(FPGA) 또는 특정 프로세싱을 가속화하기 위한 다른 하드웨어를 포함할 수 있다. 예를 들어, 가속기는 적응 데이터 재구성, 또는 확장된 세트 처리에 사용되는 대수 표현식을 평가하는 데 사용될 수 있다.

[0138] 소프트웨어 및 데이터는 외부 저장 장치(2424)에 저장되고, 프로세서에 의한 사용을 위해 RAM(2410) 및/또는 캐시(2404)에 로딩될 수 있다. 시스템(2400)은 시스템 자원을 관리하기 위한 운영 시스템을 포함하고, 운영 체제의 비제한적인 예는, Linux, Windows™, MACOS™, BlackBerry OST™, iOS™ 및 다른 기능적으로 동등한 운영 체제뿐만 아니라, 본 발명의 예시적인 실시양태에 따라 데이터 저장 및 최적화를 관리하기 위한 운영 체제의 정상부에서 실행되는 응용 소프트웨어도 포함한다.

[0139] 이 예에서, 시스템(2400)은 또한 네트워크 연결 저장 장치(NAS)와 같은 외부 저장 장치에 네트워크 인터페이스를 제공하기 위해 주변 장치 버스에 연결된 네트워크 인터페이스 카드(NIC)(2420 및 2421) 및 분산 병렬 처리에 사용될 수 있는 다른 컴퓨터 시스템을 포함한다.

[0140] 도 25는 다수의 컴퓨터 시스템(602a 및 602b), 다수의 휴대전화 및 개인 정보 단말기(2002c), 그리고 네트워크 연결 저장 장치(NAS)(2504a 및 2504b)를 갖는 네트워크(2500)를 도시하는 다이어그램이다. 예시적인 실시양태에서, 시스템(2502a, 2502b 및 2502c)은 네트워크 연결 저장 장치(NAS)(2504a 및 2504b)에 저장된 데이터에 대한 데이터 저장을 관리하고 데이터 액세스를 최적화할 수 있다. 컴퓨터 시스템(2502a 및 2502b), 휴대전화 및 개인 정보 단말기 시스템(2502c)을 거쳐, 분산된 병렬 처리를 사용하여 수학적 모델이 데이터에 사용 및 평가될 수 있다. 컴퓨터 시스템(2502a 및 2502b), 휴대전화 및 개인 데이터 보조 시스템(2502c)은 또한 네트워크 연결 저장 장치(NAS)(2504a 및 2504b)에 저장된 데이터의 적응 데이터 재구성을 위한 병렬 처리를 제공할 수 있다. 도 25는 단지 예시를 도시하는 것이며, 다양한 다른 컴퓨터 아키텍처 및 시스템이 본 발명의 다양한 실시양태와 연관되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 블레이드 서버를 사용하여 병렬 처리를 제공할 수 있다. 프로세서 블레이드

는 백플레인을 통해 연결되어 병렬 처리를 제공할 수 있다. 저장은 별도의 네트워크 인터페이스를 통해 백플레인 또는 네트워크 연결 저장 장치(NAS)로 연결될 수도 있다.

[0141] 일부 예시적인 실시양태에서, 프로세서는 다른 프로세서에 의한 병렬 처리를 위해서 별도의 메모리 공간을 유지하고, 네트워크 인터페이스, 백플레인 또는 다른 커넥터를 통해 데이터를 전송할 수 있다. 다른 실시양태에서, 프로세서의 일부 또는 전부는 공유된 가상 주소 메모리 공간을 사용할 수 있다.

[0142] 도 26은 예시적인 실시양태에 따른 공유된 가상 주소 메모리 공간을 이용하는 멀티프로세서 컴퓨터 시스템(2600)의 블록 다이어그램이다. 시스템은 공유된 메모리 서브시스템(2604)에 액세스할 수 있는 다수의 프로세서(2602a-f)를 포함한다. 시스템은 메모리 서브시스템(2604)에 다수의 프로그램 가능한 하드웨어 메모리 알고리즘 프로세서(MAP)(2606a-f)를 포함한다. 각각의 MAP(2606a-f)는 메모리(2608a-f) 및 하나 이상의 필드 프로그램 가능한 게이트 어레이(FPGA)(2610a-f)를 포함할 수 있다. MAP는 구성 가능한 기능 유닛을 제공하며, 각각의 프로세서와 긴밀히 협조하여 처리하기 위해, 특정 알고리즘 또는 알고리즘의 일부가 FPGA(2610a-f)에 제공될 수 있다. 예를 들어, MAP는 데이터 모델에 관한 대수 표현을 평가하고 예시적인 실시양태에서 적응 데이터 재구성을 수행하는데 사용될 수 있다. 이 예에서, 각각의 MAP는 이러한 목적으로 모든 프로세서에 의해 전역으로 액세스할 수 있다. 한 구성에서, 각각의 MAP는 직접 메모리 액세스(DMA)를 사용하여 관련 메모리(2608a-f)에 액세스할 수 있으며, 이는 각각의 마이크로프로세서(2602a-f)와 독립적으로 그리고 비동기적으로 태스크를 실행할 수 있게 한다. 이 구성에서, MAP는 파이프라이닝 및 알고리즘의 병렬 실행을 위해 다른 MAP에 결과를 직접 제공할 수 있다.

[0143] 상기 컴퓨터 아키텍처 및 시스템은 단지 예시일 뿐이며, 일반적인 프로세서, 보조 프로세서, FPGA 및 기타 프로그램 가능한 논리 장치, 시스템 온 칩(SOC), 응용 주문형 집적 회로(ASIC) 및 기타 처리 및 논리 소자를 포함하여, 다양한 다른 컴퓨터, 휴대전화 및 개인 정보 단말기 아키텍처 및 시스템이 예시적인 실시양태와 관련하여 이용될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 컴퓨터 시스템의 전부 또는 일부는 소프트웨어 또는 하드웨어로 구현될 수 있다. 랜덤 액세스 메모리, 하드 드라이브, 플래시 메모리, 테이프 드라이브, 디스크 어레이, 네트워크 연결 저장 장치(NAS) 및 다른 로컬 또는 분산 데이터 저장 장치 및 시스템을 포함하는, 임의의 다양한 데이터 저장 매체가, 예시적인 실시양태와 관련하여 사용될 수 있다.

[0144] 예시적인 실시양태에서, 컴퓨터 시스템은 상기 또는 다른 컴퓨터 아키텍처 및 시스템 중 어느 하나 상에서 실행하는 소프트웨어 모듈을 사용하여 구현될 수 있다. 다른 실시양태에서, 시스템의 기능은 펌웨어, 즉, 도 7에 참조된 바와 같이, 프로그램 가능한 논리 장치, 예를 들어 필드 프로그램 가능한 게이트 어레이(FPGA), 시스템 온 칩(SOC), 응용 주문형 집적 회로(ASIC) 또는 기타 처리 및 논리 요소에서 부분적으로 또는 완전히 구현될 수 있다. 예를 들어, 'Set Processor and Optimizer'는 하드웨어 가속기 카드, 예를 들어 도 18에 예시된 가속기 카드(1822)의 사용을 통한 하드웨어 가속에 의해 구현될 수 있다.

[0145] 본 출원에서 정보를 저장하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계; 표면을 보유하는 가요성 구조체를 제공하는 단계; 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 다수의 폴리뉴클레오티드는 적어도 약 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드는 가요성 구조체의 표면으로부터 연장되는 단계; 및 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계를 포함한다. 추가로 본 출원에서, 합성이 선결 위치에서 표면 상에 뉴클레오시드를 침착시키는 단계; 및 배스 또는 스프레이 바로부터의 방출을 통해 가요성 구조체의 적어도 일부를 이동시키는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 추가로 본 출원에서, 합성이 표면 상에 침착된 뉴클레오시드를 캡핑하는 것을 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 추가로 본 출원에서, 배스 또는 스프레이 바로부터의 방출이 산화 시약 또는 디블로킹 시약에 구조체의 표면을 노출시키는 방법에 제공된다. 추가로 본 출원에서, 합성이 표면 상에 침착된 뉴클레오시드를 캡핑하는 것을 추가로 포함하는 방법이 제공된다. 추가로 본 출원에서, 뉴클레오시드가 뉴클레오시드 포스포라미다이트를 포함하는 방법이 제공된다. 추가로 본 출원에서, 가요성 구조체가 탈-투-틸 테이프 또는 연속 테이프를 포함하는 방법이 제공된다. 추가로 본 출원에서, 가요성 구조체가 열가소성 물질을 포함하는 방법이 제공된다. 본 출원에서, 열가소성 물질이 폴리아릴에테르케톤을 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 폴리아릴에테르케톤이 폴리에테르케톤, 폴리에테르케톤케톤, 폴리(에테르에테르케톤케톤), 폴리에테르에테르케톤 또는 폴리에테르케톤테테르케톤케톤인 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 가요성 구조체가 나일론, 니트로셀룰로오스, 폴리프로필렌, 폴리카르보네이트, 폴리에틸렌, 폴리우레탄, 폴리스티렌, 아세탈, 아크릴, 아크릴로니트릴, 부타디엔 스티렌, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리메틸 메타크릴레이트, 폴리비닐 클로라이드, 투명 PVC 호일, 폴리(메틸 메타크릴레이트), 스티렌 중합체, 불소 함유 중합체, 폴리에테르설폰 또는 폴리이미드인 방법이 추가로

제공된다. 본 출원에서, 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드가 50 내지 500개 길이의 염기를 포함하는 방법이 제공된다. 본 출원에서, 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 약 100억 개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 적어도 약 1.75×10^{13} 개의 핵염기가 24시간 내에 합성되는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 적어도 약 262.5×10^9 개의 폴리뉴클레오티드가 72시간 내에 합성되는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 정보의 아이템이 텍스트 정보, 청각 정보 또는 시각 정보인 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 뉴클레오시드가 뉴클레오시드 포스포라미다이트를 포함하는 추가의 방법이 제공된다.

[0146] 본 출원에서 정보를 저장하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계; 표면을 보유하는 구조체를 제공하는 단계; 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 다수의 폴리뉴클레오티드는 적어도 약 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드는 가요성 구조체의 표면으로부터 연장되고, 합성은 구조체의 표면을 세척하는 것; 선결 위치에서 표면 상에 뉴클레오시드를 침착하는 것; 표면 상에 침착된 뉴클레오시드를 산화하는 것, 디블로킹하는 것, 및 경우에 따라 캡핑하는 것으로서, 이때 세정, 산화, 디블로킹, 및 캡핑은 베스 또는 스프레이 바로부터의 방출을 통해 가용성 구조체의 적어도 일부를 이동시키는 것을 포함하는 단계; 및 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계를 포함한다. 본 출원에서, 뉴클레오시드가 뉴클레오시드 포스포라미다이트를 포함하는 방법이 추가로 제거된다.

[0147] 본 출원에서 정보를 저장하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계; 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 다수의 폴리뉴클레오티드는 적어도 약 10,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드는 1000개 중 단지 1개 이하로 선결 서열과는 상이한 서열을 집합적으로 코딩하고, 다수의 폴리뉴클레오티드 중 각각의 폴리뉴클레오티드는 길이가 50 내지 500개의 염기를 포함하는 단계; 및 적어도 약 10,000개의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계를 포함한다. 본 출원에서, 상기 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 약 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 약 1,000,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 약 100억 개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 폴리뉴클레오티드의 90% 초과가 선결 서열과는 상이하지 않은 서열을 코딩하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 정보의 아이템이 텍스트 정보, 청각 정보 또는 시각 정보인 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 구조체가 강성 또는 가요성이고, 및 구조체가 표면을 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드가 표면으로부터 연장되는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 뉴클레오시드가 뉴클레오시드 포스포라미다이트를 포함하는 방법이 추가로 제공된다.

[0148] 본 출원에서 정보를 저장하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 전환하는 단계; 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 다수의 폴리뉴클레오티드는 적어도 약 10,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드의 각각의 폴리뉴클레오티드는 길이가 50 내지 500개의 염기를 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드는 가요성 구조체의 표면으로부터 연장되는 단계; 및 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계를 포함한다. 본 출원에서, 상기 가요성 구조체가 릴 투 일 테이프 또는 연속 테이프를 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 각각의 폴리뉴클레오티드가 가요성 구조체의 표면 상의 위치로부터 연장되는 방법이 추가로 제공되는데, 상기 위치는 직경이 약 $1 \mu\text{m}$ 내지 약 $500 \mu\text{m}$ 이다. 본 출원에서, 상기 위치는 직경이 약 $1 \mu\text{m}$ 내지 약 $50 \mu\text{m}$ 인 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 위치는 직경이 약 $10 \mu\text{m}$ 인 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 가요성 구조체가 열가소성 물질을 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 열가소성 물질이 폴리아릴에테르케톤을 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 폴리아릴에테르케톤이 폴리에테르케톤, 폴리에테르케톤케톤, 폴리(에테르에테르케톤케톤), 폴리에테르에테르케톤 또는 폴리에테르케톤에테르케톤케톤인 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 가요성 구조체가 나일론, 니트로셀룰로오스, 폴리프로필렌, 폴리카르보네이트, 폴리에틸렌, 폴리우레탄, 폴리스티렌, 아세탈, 아크릴, 아크릴로니트릴, 부타디엔 스티렌, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리메틸 메타크릴레이트, 폴리비닐 클로라이드, 투명 PVC 호일, 폴리(메틸메타크릴레이트), 스티렌 중합체, 불소 함유 중합체, 폴리에테르설폰 또는 폴리이미드를 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 가요성 구조체는 두께가 약 10 mm 미만인 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 각각의 폴리뉴클레오티드는 길이가 약 200개의 염기인 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 적어도 약 1.75×10^{13} 개의 핵염기

가 24시간 내에 합성되는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 약 262.5×10^9 개의 폴리뉴클레오티드가 72시간 내에 합성되는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 뉴클레오시드가 뉴클레오시드 포스포르아미다이트를 포함하는 방법이 추가로 제공된다.

[0149] 본 출원에서, 정보를 저장하기 위한 방법이 제공되는데, 상기 방법은 적어도 하나의 디지털 서열 형태의 정보의 적어도 하나의 아이템을 적어도 하나의 핵산 서열로 암호화하는 단계; 적어도 하나의 핵산 서열을 집합적으로 코딩하는 선결 서열을 보유하는 다수의 뉴클레오티드를 합성하는 단계로서, 다수의 폴리뉴클레오티드는 적어도 약 10,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 다수의 폴리뉴클레오티드 중 각각의 폴리뉴클레오티드는 길이가 50 내지 500개의 염기인 단계; 다수의 폴리뉴클레오티드를 저장하는 단계; 다수의 폴리뉴클레오티드를 서열결정하는 단계; 핵산 서열로부터의 다수의 폴리뉴클레오티드를 디지털 서열로 복호화하는 단계; 및 디지털 서열을 어셈블링하여 적어도 하나의 디지털 서열을 형성하는 단계로서, 상기 적어도 하나의 디지털 서열은 초기의 적어도 하나의 디지털 서열에 비해 100% 정확도로 어셈블링되는 단계를 포함한다. 본 출원에서, 다수의 폴리뉴클레오티드를 방출하는 것을 추가로 포함하는 방법이 추가로 제공된다. 본 출원에서, 뉴클레오시드가 뉴클레오시드 포스포르아미다이트를 포함하는 방법이 추가로 제공된다.

[0150] 본 출원에서, 정보를 저장하기 위한 장치가 제공되는데, 상기 장치는 표면을 보유하는 가요성 구조체; 및 표면 상의 다수의 위치로서, 각각의 위치는 약 1 내지 약 500 μm 의 너비를 갖고, 다수의 위치 중 각각의 위치는 표면에 결합하고 뉴클레오시드 커플링에 사용할 수 있는 히드록시기를 포함하는 모이어티로 코팅되는 단계를 포함한다. 본 출원에서, 상기 가요성 구조체는 만곡된 위치에 있는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 만곡된 위치는 30도 초과인 커브를 포함하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 만곡된 위치는 180도 초과인 커브를 포함하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 가요성 구조체가 약 100만 개의 위치를 포함하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 가요성 구조체가 약 4.5 m^2 미만의 총 표면적을 보유하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 가요성 구조체는 20억 위치/ m^2 초과를 포함하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 가요성 구조체는 열가소성 물질을 포함하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 열가소성 물질이 폴리아릴에테르케톤을 포함하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 폴리아릴에테르케톤은 폴리에테르케톤, 폴리에테르케톤케톤, 폴리(에테르에테르케톤케톤), 폴리에테르에테르케톤 또는 폴리에테르케톤에테르케톤케톤인 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 가요성 구조체가 나일론, 니트로셀룰로오스, 폴리프로필렌, 폴리카르보네이트, 폴리에틸렌, 폴리우레탄, 폴리스티렌, 아세탈, 아크릴, 아크릴로니트릴, 부타디엔 스티렌, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리메틸 메타크릴레이트, 폴리비닐 클로라이드, 투명 PVC 호일, 폴리(메틸메타크릴레이트), 스티렌 중합체, 불소 함유 중합체, 폴리에테르설폰 또는 폴리이미드를 포함하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 가요성 구조체는 두께가 약 10 μm 인 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 각각의 위치는 폭이 약 1 μm 내지 약 50 μm 인 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 각각의 위치는 직경이 약 10 μm 인 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 제1 위치의 중심은 제2 위치의 중심 및 제1 위치 및 제2 위치로부터 약 21 μm 인 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 가요성 구조체가 릴-투-릴 테이프 또는 연속 테이프를 포함하는 장치가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 각각의 위치가 채널을 포함하는 장치가 제공된다.

[0151] 본 출원에서, 정보 저장을 위한 폴리뉴클레오티드 라이브러리가 제공되는데, 상기 라이브러리는 다수의 폴리뉴클레오티드로서, 상기 다수의 폴리뉴클레오티드는 약 10,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 상기 다수의 뉴클레오티드는 1000개 중 단지 하나 이하로 선결 서열의 응집체와는 상이한 서열을 집합적으로 코딩하고, 상기 다수의 폴리뉴클레오티드 중의 각각의 폴리뉴클레오티드는 복호화되는 경우 디지털 정보를 코딩하는 선결 서열을 포함하는 다수의 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 본 출원에서, 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 약 100,000개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 라이브러리가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 다수의 폴리뉴클레오티드가 적어도 약 100억 개의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 라이브러리가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 다수의 폴리뉴클레오티드 중 각각의 폴리뉴클레오티드가 테더에 의해 구조체의 표면에 부착되는 라이브러리가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 테더는 절단 시약의 존재 하에서 폴리뉴클레오티드로부터 분리하기 위해 화학적으로 개질된 적어도 하나의 뉴클레오티드를 보유하는 절단 가능한 영역을 포함하는 라이브러리가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 테더가 약 10 내지 약 50개의 염기를 포함하는 라이브러리가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 폴리뉴클레오티드의 90% 초과가 선결 서열과는 상이하지 않은 서열을 코딩하는 라이브러리가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 상기 디지털 정보가 텍스트 정보, 청각 정보 또는 시각 정보를 코딩하는 라이브러리가 제공된다. 본 출원에서, 상기 라이브러리가 3일 이내에 합성되는 라이브러리가 추가로 제공된다. 본 출원에서, 라이브러리가 24시간 이내에 합성되는 라이브러리가 추가로 제공된다.

- [0152] 본 출원에서, 일정 범위의 기가바이트(GB)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 합성하기 위한 방법이 추가로 제공된다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1 기가바이트(GB) 이상이다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 기가바이트, 또는 1000 기가바이트 초과이다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1 테라바이트(TB)이다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 테라바이트 또는 그 이상이다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1 페타바이트(PB)이다. 몇몇 예에서, 디지털 정보의 양은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 또는 1000 페타바이트를 초과한다.
- [0153] 하기의 실시예는 통상의 기술자에게 본 출원에 개시된 실시양태의 원리 및 실시를 보다 명확하게 예시하기 위해 설명된 것으로, 청구된 임의의 실시양태의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 달리 언급되지 않은 한, 모든 부 및 백분율은 중량 기준이다.
- [0154] **실시예**
- [0155] **실시예 1: 장치 표면의 작용화**
- [0156] 폴리뉴클레오티드의 라이브러리의 부착 및 합성을 지지하기 위해 장치를 작용화하였다. 장치 표면은 먼저 90% H₂SO₄ 및 10% H₂O₂를 포함하는 피라냐 용액을 이용하여 20분 동안 습윤 세정하였다. 상기 장치는 DI수를 이용하여 몇 개의 비이커 내에서 세정하고, DI수 거위목형 수도꼭지 아래에 5분 동안 위치시키고, N₂로 건조하였다. 상기 장치는 후속적으로 NH₄OH(1:100; 3 mL:300 mL) 중에 5분 동안 친지하고, 핸드건을 이용하여 DI수로 세정하고, DI수를 이용하여 3개의 연속적인 비이커 중에 1분 동안 각각 침지하고, 이어서 핸드건을 이용하여 DI수로 다시 세정하였다. 이어서, 상기 장치는 상기 장치를 O₂에 노출시킴으로써 플라즈마 세정하였다. SAMCO PC-300 장비를 사용하여 250 와트에서 1분 동안 다운스트림 모드로 O₂ 플라즈마 예칭하였다.
- [0157] 세정된 장치 표면은 하기 파라미터를 이용하는 YES-1224P 침착 오븐 시스템을 이용하여 N-(3-트리에톡시실릴프로필)-4-히드록시부티르아미드를 포함하는 용액으로 활성적으로 작용화하였다: 0.5 내지 1 torr, 60분, 70°C, 135°C 증발기. 상기 장치 표면은 Brewer Science 200X 스핀 코터를 이용하여 레지스트 코팅하였다. SPRTM 3612 포토레지스트는 2500 rpm으로 40초 동안 상기 장치 상에 스핀 코팅하였다. 상기 장치는 Brewer 열판 상에서 90°C에서 30분 동안 예비 소성하였다. 상기 장치는 Karl Suss MA6 마스크 얼라이너 장비를 이용하여 사진석판술을 수행하였다. 상기 장치는 2.2초 동안 노광하고, 1분 동안 MSF 26A에서 현상하였다. 잔류 현상액은 핸드건으로 세정하고, 상기 장치는 5분 동안 물에 침지하였다. 상기 장치는 100°C 오븐에서 30분 동안 소성하고, 이어서 Nikon L200을 이용하여 리소그래피 결함을 육안 검사하였다. SAMCO PC-300 장비를 사용하여 250 와트에서 1분 동안 O₂ 플라즈마 예칭하는 스킵 제거 과정을 이용하여 잔류 레지스트를 제거하였다.
- [0158] 상기 장치 표면은 10 μL의 부드러운 광유와 혼합된 퍼플루오로옥틸트리클로로실란 용액 100 μL로 수동적으로 작용화하였다. 상기 장치는 챔버 내에 위치시키고, 10분 동안 펌핑하고, 이어서 밸브를 닫고, 10분 동안 정치시켰다. 상기 챔버는 공기를 통하게 하였다. 상기 장치는 최대 출력(크레스트 시스템에서 9)에서 초음파 처리하면서 70°C에서 500 mL NMP 중에서 5분 동안 2회 침지를 수행함으로써 레지스트 스트립핑하였다. 이어서 상기 장치는 최대 출력으로 초음파 처리하면서 실온에서 500 mL 이소프로판올 중에서 5분 동안 침지하였다. 상기 장치는 200 프루프 에탄올 300 mL 중에 담그고, N₂를 불어 건조하였다. 작용화된 표면은 폴리뉴클레오티드 합성을 위한 지지체로서 작용하기 위해 활성화되었다.
- [0159] **실시예 2: 50-mer 서열 올리고뉴클레오티드의 합성**
- [0160] 2차원 올리고뉴클레오티드 합성 장치는 플로우셀(Applied Biosystems (ABI394 DNA 합성기)에 연결된 플로우셀로 조립하였다. 상기 2차원 올리고뉴클레오티드 합성 장치는 N-(3-트리에톡시실릴프로필)-4-히드록시부티르아미드(Gelast)로 균일하게 작용화되었고, 본 출원에 기재된 올리고뉴클레오티드 합성 방법을 이용하여 50 bp("50-mer 올리고뉴클레오티드")의 예시적인 올리고뉴클레오티드를 합성하기 위해 사용하였다.
- [0161] 50-mer의 서열은 서열번호 1에 나타난 바와 같았다.
- [0162] 5'AGACAATCAACCATTTGGGGTGGACGCCTTGACCTCTAGACTTCGGCAT##TTTTTTTTT3'(서열번호: 1), 이때 #는 티미딘-숙시닐 헥사미드 CED 포스포라미다이트(ChemGenes의 CLP-2244)를 나타내며, 이는 탈보호 중 표면으로부터 폴리뉴클레

오티드의 방출을 가능하게 하는 절단 가능한 링커이다.

[0163] 합성은 표 3의 프로토콜 및 ABI 합성기 표준 DNA 합성 화학(커플링, 캡핑, 산화 및 디블로킹)를 이용하여 수행하였다.

표 3

일반적인 DNA 합성 공정 명칭	표 3	
	공정 단계	시간(초)
세척(아세트니트릴 세척 플로우)	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	플로우셀로의 아세트니트릴	23
	N2 시스템 플러시	4
	아세트니트릴 시스템 플러시	4
DNA 염기 첨가(포스포르아미다이트 + 활성화제 플로우)	활성제 매니폴드 플러시	2
	플로우셀로의 활성화제	6
	플로우셀로의 활성화제 + 포스포르아미다이트	6
	플로우셀로의 활성화제	0.5
	플로우셀로의 활성화제 + 포스포르아미다이트	5
	플로우셀로의 활성화제	0.5
	플로우셀로의 활성화제 + 포스포르아미다이트	5
	플로우셀로의 활성화제	0.5
	플로우셀로의 활성화제 + 포스포르아미다이트	5
	25 초 동안 항온처리	25
세척(아세트니트릴 세척 플로우)	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	플로우셀로의 아세트니트릴	15
	N2 시스템 플러시	4
	아세트니트릴 시스템 플러시	4
DNA 염기 첨가(포스포르아미다이트 + 활성화제 플로우)	활성제 매니폴드 플러시	2
	플로우셀로의 활성화제	5
	플로우셀로의 활성화제 + 포스포르아미다이트	18
	25 초 동안 항온처리	25

[0164]

표 3		
일반적인 DNA 합성 공정 명칭	공정 단계	시간(초)
세척(아세트니트릴 세척 플로우)	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	플로우셀로의 아세트니트릴	15
	N2 시스템 플러시	4
	아세트니트릴 시스템 플러시	4
캡핑(CapA+ B, 1:1, 플로우)	플로우셀로의 CapA+ B	15
세척(아세트니트릴 세척 플로우)	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	플로우셀로의 아세트니트릴	15
	아세트니트릴 시스템 플러시	4
산화(산화제 플로우)	플로우셀로의 산화제	18
세척(아세트니트릴 세척 플로우)	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	N2 시스템 플러시	4
	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	플로우셀로의 아세트니트릴	15
	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	플로우셀로의 아세트니트릴	15
	N2 시스템 플러시	4
	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	플로우셀로의 아세트니트릴	23
	N2 시스템 플러시	4
아세트니트릴 시스템 플러시	4	
디블록킹(디블록 플로우)	플로우셀에 대한 디블록킹	36
세척(아세트니트릴 세척 플로우)	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	N2 시스템 플러시	4
	아세트니트릴 시스템 플러시	4
	플로우셀로의 아세트니트릴	18
	N2 시스템 플러시	4.13
	아세트니트릴 시스템 플러시	4.13
	플로우셀로의 아세트니트릴	15

[0165]

[0166]

포스포르아미다이트/활성제 조합은 플로우셀을 통한 벌크 시약의 전달과 유사하게 전달하였다. 환경은 전체적인 시간 동안 시약으로 인해 “습윤” 상태를 유지하기 때문에, 건조 단계는 수행하지 않았다.

[0167]

유량 제한기는 ABI 394 합성기로부터 제거하여 더 빠른 플로우를 가능하게 하였다. 유량 제한기 없이, 아미다이트(ACN 중의 0.1M), 활성제, (ACN 중의 0.25M 벤조일티오테트라졸(“BT” ; GlenResearch의 30-3070-xx)), 및 Ox(20% 피리딘 중의 0.02M I2, 10% 물, 및 70% THF)의 유량은 대략 ~100 μl/초였고, 아세트니트릴(“ACN”) 및 캡핑 시약(CapA 및 CapB의 1:1 혼합, 이때 CapA는 THF/피리딘 중의 아세트산무수물이고, CapB는 THF 중의 16% 1-메틸이미다졸이다)의 경우, 대략 ~200 μl/초였고, 및 디블록킹(톨루엔 중의 3% 디클로로아세트산)의 경우, 대략 ~300 μl/초였다(유량 제한기가 존재하는 모든 시약의 경우 ~50 μl/초와 비교). 산화제를 완전히 밀어 내기 위한 시간을 관찰하고, 그에 따라 화학물질 흐름 시간을 위한 타이밍을 조정하고, 추가의 CAN 세척을 상이한 화학 물질 사이에 도입하였다. 올리고뉴클레오티드 합성 후, 칩을 75 psi에서 하루밤 기체상 암모니아에서 탈보호하였다. 5개의 물방울을 표면에 적용하여 폴리뉴클레오티드를 어셈블링하였다. 이어서, 어셈블링된 폴리뉴클레오티드는 바이오분석기 소 RNA 칩 상에서 분석하였다(데이터는 나타내지 않음).

[0168]

실시예 3: 100-mer 서열 올리고뉴클레오티드의 합성

[0169]

50-mer 서열의 합성을 위한 실시예에 기재된 바와 동일한 공정을 사용하여 100-mer 올리고뉴클레오티드(“100-mer 올리고뉴클레오티드”;

표 5

샘플 ID/ 스팟 번호	OSA_0 046/1	OSA_0 047/2	OSA_0 048/3	OSA_0 049/4	OSA_0 050/5	OSA_0 051/6	OSA_0 052/7	OSA_0 053/8	OSA_0 054/9	OSA_0 055/10
총 서열	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32
서열결정 품질	28 중 25	27 중 27	30 중 26	23 중 21	26 중 25	30 중 29	31 중 27	31 중 29	29 중 28	28 중 25
올리고 품질	25 중 23	27 중 25	26 중 22	21 중 18	25 중 24	29 중 25	27 중 22	29 중 28	28 중 26	25 중 20
ROI 매칭 카운트	2500	2698	2561	2122	2499	2666	2625	2899	2798	2348
ROI 돌연변이	2	2	1	3	1	0	2	1	2	1
ROI 다중 염기 결실	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ROI 소 삽입	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ROI 단일 염기 결실	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
대 결실 카운트	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
돌연변이 : G>A	2	2	1	2	1	0	2	1	2	1
돌연변이 : T>C	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
ROI 에러 카운트	3	2	2	3	1	1	3	1	2	1
ROI 에러율	Err: 834 중 ~1	Err: 1350 중 ~1	Err: 1282 중 ~1	Err: 708 중 ~1	Err: 2500 중 ~1	Err: 2667 중 ~1	Err: 876 중 ~1	Err: 2900 중 ~1	Err: 1400 중 ~1	Err: 2349 중 ~1
ROI 마이너스 프라이머 에러율	MP Err: 763 중 ~1	MP Err: 824 중 ~1	MP Err: 780 중 ~1	MP Err: 429 중 ~1	MP Err: 1525 중 ~1	MP Err: 1615 중 ~1	MP Err: 531 중 ~1	MP Err: 1769 중 ~1	MP Err: 854 중 ~1	MP Err: 1451 중 ~1

[0178]

[0179] 실시예 4: 매우 정확한 DNA 기반 정보 저장 및 어셈블리

[0180] 디지털 정보는 100개 언어의 세계인권선언, 프로젝트 구텐베르크의 상위 도서 100권 및 시드 데이터베이스의 내용에 포함된 전체 약 0.2 GB의 2진 데이터의 형태로 선택하였다. 상기 디지털 정보는 핵산 기반 서열로 암호화하고, 스트링으로 분할하였다. 각각 스트링에 대응되는 천만 개를 넘는 동일하지 않은 폴리뉴클레오티드가 실시예 2에 기재된 것과 유사한 방식으로 강성 실리콘 표면 상에서 합성되었다. 각각의 동일하지 않은 폴리뉴클레오티드는 길이가 200개 이하의 염기이거나, 또는 그와 동일하였다. 합성 폴리뉴클레오티드는 수집하고, 서열결정하고, 다시 디지털 코드로 디코딩하였는데, 소스 디지털 정보의 경우 초기의 적어도 하나의 디지털 서열에 비해 100% 정확하였다.

[0181] 실시예 5: 디지털 서열의 핵산 서열로의 전환

[0182] 컴퓨터 txt 파일은 텍스트 정보를 포함한다. 일반적인 목적의 컴퓨터는 수용된 명령에 따라 서열을 염기 3, 4, 또는 5 서열로 전환하기 위한 기계어 명령을 보유하는 소프트웨어 프로그램을 이용한다. 염기 3 내의 각각의 수는 핵산에 지정된다(예를 들어, A=0, T=1, C=2). 염기 4 내의 각각의 수는 핵산에 지정된다(예를 들어, A=0, T=1, C=2, G=3). 대안적으로, 염기 5의 경우 5진법 서열이 사용되고, 이때 염기 5 내의 각각의 수는 핵산에 지

정된다(예를 들어, A=0, T=1, C=2, G=3, U=4). 서열은 도 6에 나타난 바와 같이 생성된다. 이어서 기계어 명령이 핵산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 드 노보 합성을 위해 제공된다.

표 6

문자	작은 언덕에 올라갔다.
2진법 서열	010010100110000101100011011010110010000001110111011001010110111001110100001000000111010101110000010000001110100011010000110010100100000110100001101000110110001101100001101000010100000110100001010
3진법 서열	101010201100022101010021102012221200101112202210002122002210200011112212102011201021112122200101110001002001022002222211002222112
4진법 서열	1022120112031223020013131211123213100200131113000200131012201210200122012211230123002320031002200310022
5진법 서열	33221433013301230301312300103024443334330043122410302032021020112342341100431241100334213

[0183]

[0184]

실시예 6: 고밀도의 위치를 보유하는 가요성 표면

[0185]

열가소성 물질을 포함하는 가요성 구조체는 뉴클레오티드 커플링 시약으로 코팅된다. 코팅체는 고밀도 위치를 위해 패터닝된다. 가요성 표면의 일부는 도 11a에 예시된다. 각각의 위치는 직경이 10 μm이고, 2개의 인접한 위치 사이의 중심 대 중심 거리는 21 μm이다. 위치 크기는 폴리뉴클레오티드 합성 침착 단계 중에 0.2 pL의 정적 부피를 수용하기에 충분하다. 작은 위치 차원은 기관의 표면 상에서 합성되는 고밀도의 폴리뉴클레오티드를 고려한 것이다. 위치 밀도는 22억 위치/m²(1 위치 / 441 x 10⁻¹² m²)이다. 4.5 m² 기관은 100억 개의 위치를 보유하도록 제조되고, 각각의 위치의 직경은 10 μm이다. 가요성 구조체는 폴리뉴클레오티드 합성을 위해 연속적인 루프 시스템(도 9a) 또는 릴-대-릴 시스템(도 9b) 내에 임의로 위치된다.

[0186]

실시예 7: 가요성 구조체 상에서 폴리뉴클레오티드 합성

[0187]

열가소성 가요성 물질 사이에 다수의 위치를 포함하는 가요성 구조체가 제조된다. 상기 구조체는 침착 장치를 포함하는 폴리뉴클레오티드 합성 장치를 이용하는 폴리뉴클레오티드의 합성을 위한 지지체로서 작용한다. 상기 가요성 기관은 자기 릴-대-릴 테이프와 매우 유사한 가요성 매체 형태이다.

[0188]

드 노보 합성은 구조체가 용매 베스, 이어서 포스포르아미다이트가 상기 구조체의 표면 상에 인쇄되는 프린트헤드 스택을 통해 이동하는 연속적인 생산 라인 방식으로 작동된다. 표면 상에 침착된 정적을 가진 가요성 구조체는 산화제의 베스 내로 굴러 들어가고, 이어서 테이프는 산화 베스로부터 빠져나와 아세토니트릴 세척 베스 내에 담기고, 이어서 디블로킹 베스 내에 침지된다. 경우에 따라, 상기 테이프는 캠프 베스를 통해 횡단한다. 대안적인 작업 흐름에서, 상기 가요성 구조체는 산화 베스로부터 빠져나와 세척 단계에서 아세토니트릴로 분무된다.

[0189]

대안적으로, 분무 바가 액체 베스 대신에 사용된다. 이 공정에서, 뉴클레오티드는 잉크젯 장치를 이용하여 표면 상에 여전히 침착되지만, 플러드(flood) 스텝은 분무 노즐을 이용하여 챔버 내에서 수행된다. 예를 들어, 침착 장치는 2,048개의 노즐을 보유하는데, 각각의 노즐은 액적당 1 핵염기로 초당 100,000개의 액적을 침착한다. 표준 포스포르아미다이트 화학에서 플러드 스텝의 순서를 모방하는 분무 노즐의 순차적인 순서가 존재한다. 이 기법은 상이한 공정 단계를 수용하기 위해 분무 바에 로딩된 화학물질의 용이한 변경을 제공한다. 폴리뉴클레오티드는 실시예 2에 기재한 바와 동일한 방식으로 탈보호되거나 절단된다.

[0190]

각각의 침착 장치의 경우, 1.75 x 10¹³ 개 초과 핵염기는 하루에 구조체 상에 침착된다. 다수의 200개의 핵염기 폴리뉴클레오티드가 합성된다. 3일에, 1.75 x 10¹³ 개 염기/일의 속도로 262.5 x 10⁹ 개의 폴리뉴클레오티드가 합성된다. 각각의 올리고뉴클레오티드 서열은 더 긴 폴리뉴클레오티드 내에 포매된 적어도 15개 염기의 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 하나의 경우에, 상기 폴리뉴클레오티드는 적어도 5'에서 3'으로 링커 영역, 절단 영역, 제1 프라이머 결합 영역, 바코드 영역, 표적 서열 영역, 및 제2 프라이머 영역을 보유하도록 디자인된다.

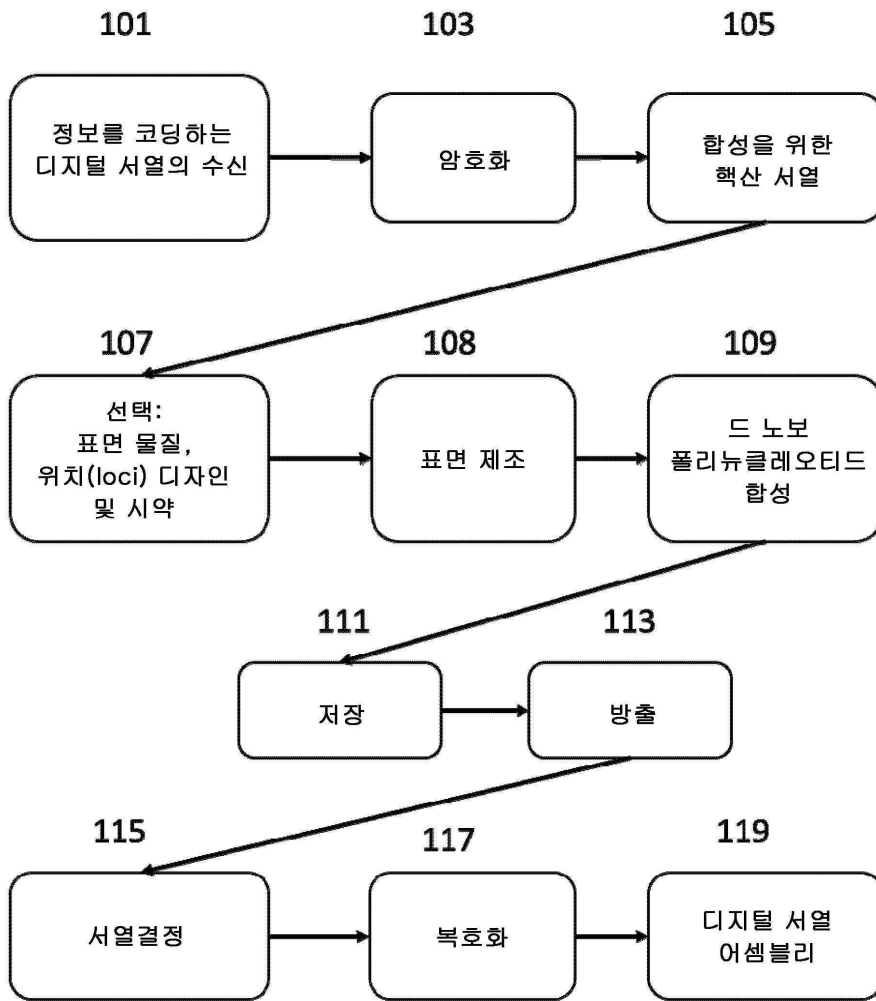
[0191]

실시예 8: 드 노보 합성 후 폴리뉴클레오티드의 정전기적 전달

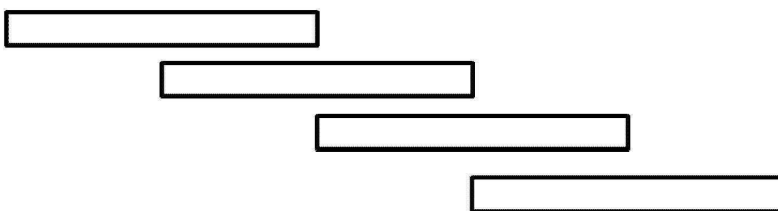
- [0192] 폴리뉴클레오티드는 실시예 2-3과 유사하게 합성된다. 폴리뉴클레오티드 합성 후, 상기 폴리뉴클레오티드는 정전기력을 이용하여 구조체 내의 채널로부터 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 전달된다.
- [0193] 폴리뉴클레오티드에 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체는 침착된다. 상기 채널은 채널 상부에 위치한 상호연결된 전도체 플레이트에 의해 둘러싸여 있다. 전달 매체는 상기 전도체 플레이트에 의해 생성된 정전기장과 반응하는 전하(양 또는 음)를 포함한다. 전압 전위는 상호연결된 전도체 플레이트 사이에 인가되고, 결과적으로 채널의 개구를 통해 전달 매체가 유인되고, 폴리뉴클레오티드가 전달된다.
- [0194] 채널로부터 폴리뉴클레오티드를 밀어내기 위해, 상기 채널은 채널 아래에 위치한 상호연결된 전도체 플레이트에 의해 둘러싸여 있다. 전압 전위가 상호연결된 전도체 플레이트 사이에 인가되는 경우, 상기 전달 매체는 채널로부터 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 밀려난다.
- [0195] **실시예 9: 진동력을 이용하는, 드 노보 합성 후 폴리뉴클레오티드의 전달**
- [0196] 폴리뉴클레오티드는 실시예 2-3과 유사하게 합성된다. 폴리뉴클레오티드 합성 후, 상기 폴리뉴클레오티드는 진동력을 이용하여 구조체 내의 채널로부터 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 전달된다.
- [0197] 폴리뉴클레오티드에 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체는 침착된다. 상기 채널은 진동 에너지 어플리케이션에 의해 둘러싸여 있다. 진동 에너지는 진동 에너지 어플리케이션을 통해 적용되고, 결과적으로 폴리뉴클레오티드는 채널의 개구를 통해 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 전달된다.
- [0198] **실시예 10: 슬립을 이용하는, 드 노보 합성 후 폴리뉴클레오티드의 전달**
- [0199] 폴리뉴클레오티드는 실시예 2-3과 유사하게 합성된다. 폴리뉴클레오티드 합성 후, 상기 폴리뉴클레오티드는 슬립을 이용하여 구조체 내의 채널로부터 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 전달된다.
- [0200] 폴리뉴클레오티드에 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체는 침착된다. 슬립은 임의의 각도로 구조체와 접촉하여 위치된다. 구조체에 대해 슬립을 회전시킴으로써, 예를 들어 10°, 20°, 30°, 40°, 50°, 60°, 70° 또는 80° 로 회전시킴으로써, 상기 전달 매체는 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 전달된다.
- [0201] **실시예 11: 적용된 압력을 이용하는, 드 노보 합성 후 폴리뉴클레오티드의 전달**
- [0202] 폴리뉴클레오티드는 실시예 2-3과 유사하게 합성된다. 폴리뉴클레오티드 합성 후, 상기 폴리뉴클레오티드는 적용된 압력을 이용하여 구조체 내의 채널로부터 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 전달된다.
- [0203] 폴리뉴클레오티드에 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체는 침착된다. 기체 또는 유체 내에 적용된 압력은 구조체 내에서 채널을 통해 전달 매체를 이동시키는데 사용된다. 압력 차이를 생성시킴으로써, 압력 릴리스의 개방은 채널을 통해 전달 매체를 이동시킨다.
- [0204] **실시예 12: 적용된 압력 및 노즐을 이용하는, 드 노보 합성 후 폴리뉴클레오티드의 전달**
- [0205] 폴리뉴클레오티드는 실시예 2-3과 유사하게 합성된다. 폴리뉴클레오티드 합성 후, 상기 폴리뉴클레오티드는 적용된 압력 및 노즐을 이용하여 가요성 구조체 내의 채널로부터 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 전달된다.
- [0206] 상기 가요성 구조체는 롤러를 이용하여 이동되어 상기 채널이 노즐 하부로 얼라인되도록 한다. 이어서 상기 노즐은 채널을 향해 압력을 적용하고, 상기 채널을 통해 전달 매체를 이동시킨다.
- [0207] **실시예 13: 핀을 이용하는, 드 노보 합성 후 폴리뉴클레오티드의 전달**
- [0208] 폴리뉴클레오티드는 실시예 2-3과 유사하게 합성된다. 폴리뉴클레오티드 합성 후, 상기 폴리뉴클레오티드는 핀을 이용하여 구조체 내의 채널로부터 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로 전달된다.
- [0209] 폴리뉴클레오티드에 부착되는 수성 또는 기체 전달 매체는 침착된다. 상기 핀은 전달 매체를 접촉 및 유인하고, 핀과 구조체 사이의 상대적인 수직 운동은 구조체로부터 하나 이상의 채널 또는 수용 유닛으로의 전달 매체를 이동시킨다.
- [0210] 본 발명의 바람직한 실시양태는 본 출원에 나타내고 기재하였지만, 그러한 실시양태는 단지 예로서 제공된다는 점을 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 다수의 변화, 변경 및 치환이 본 발명을 벗어나지 않고 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 발생할 것이다. 본 출원에 기재된 본 발명의 실시양태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는데 사용될 수 있음을 이해하여야 한다. 후술하는 특허청구범위는 본 발명의 범위를 한정하고, 이들 특허청구범위 내의 방법 및 구조체 및 이들의 등가물은 이들에 의해 커버되는 것으로 의도된다.

도면

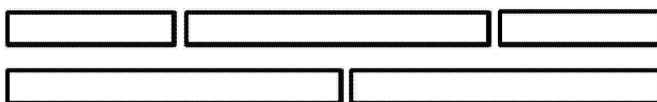
도면1



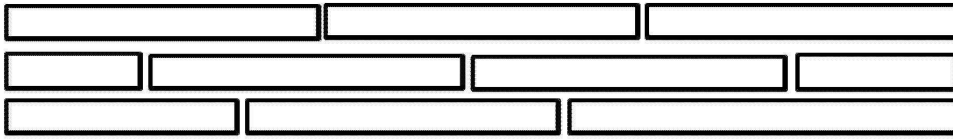
도면2a



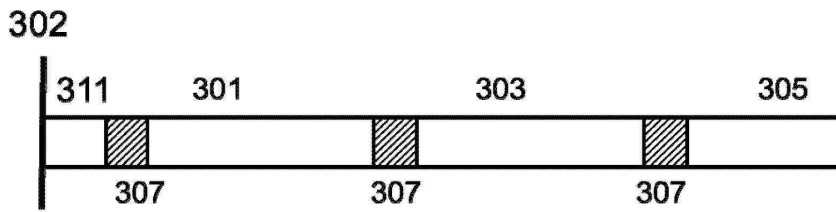
도면2b



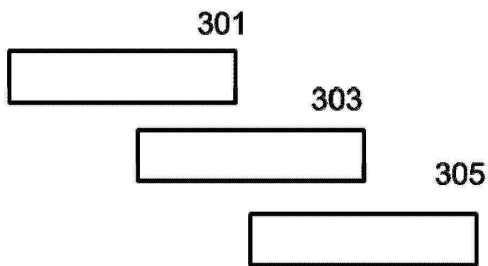
도면2c



도면3a



도면3b



도면3c

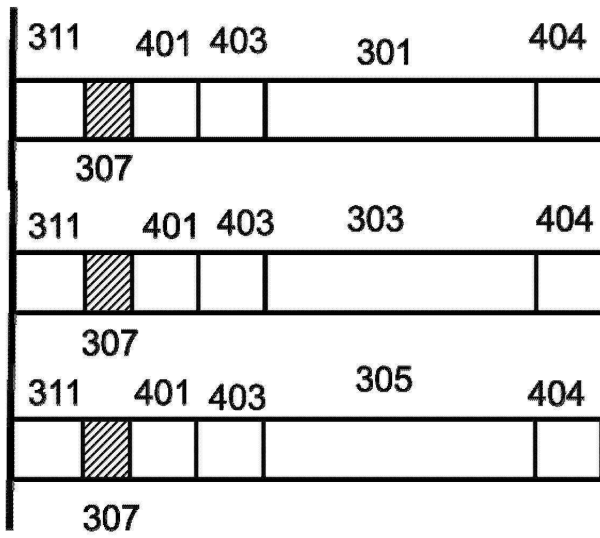


도면3d

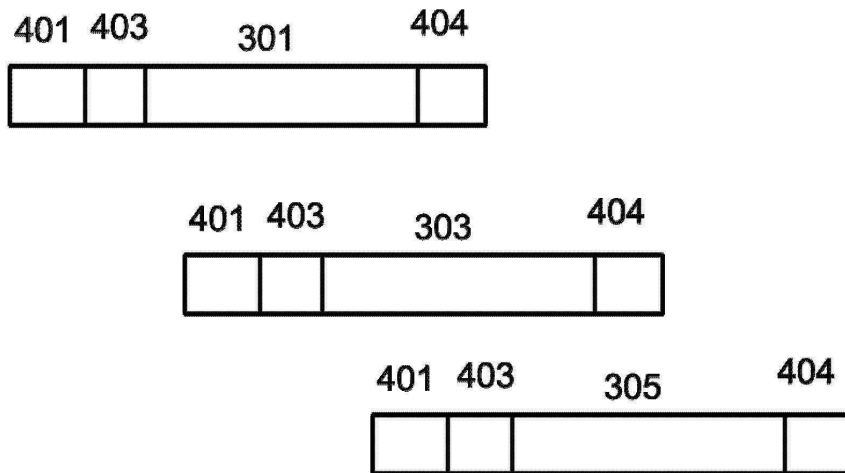


도면4a

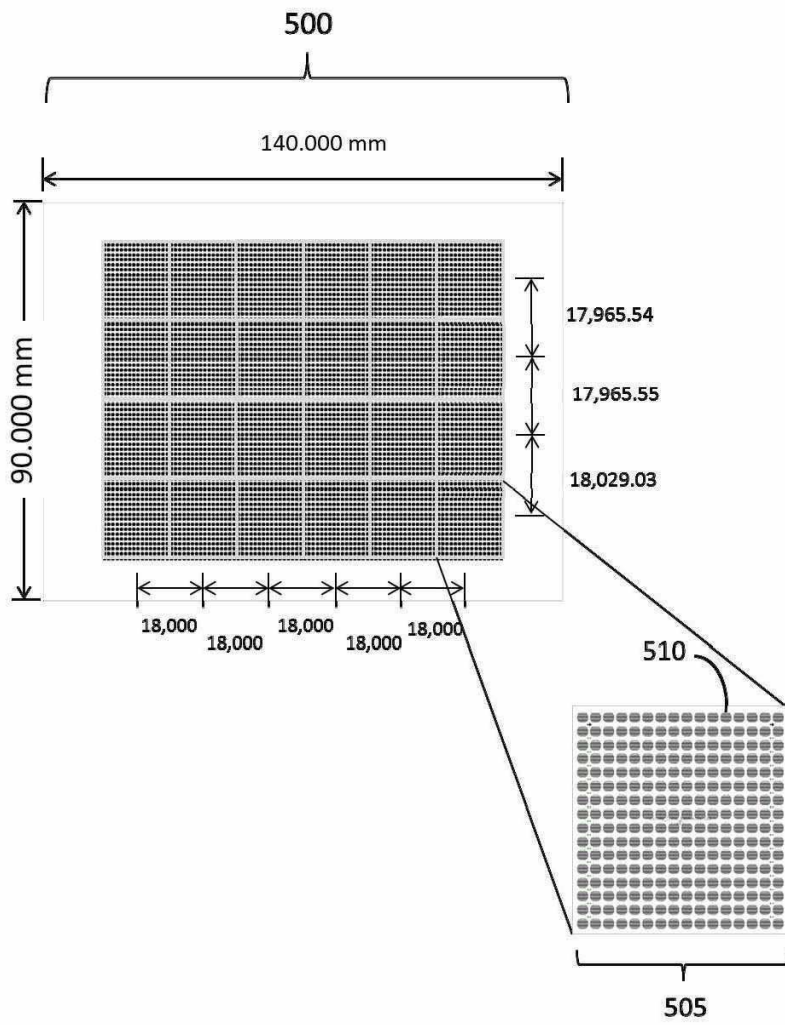
302



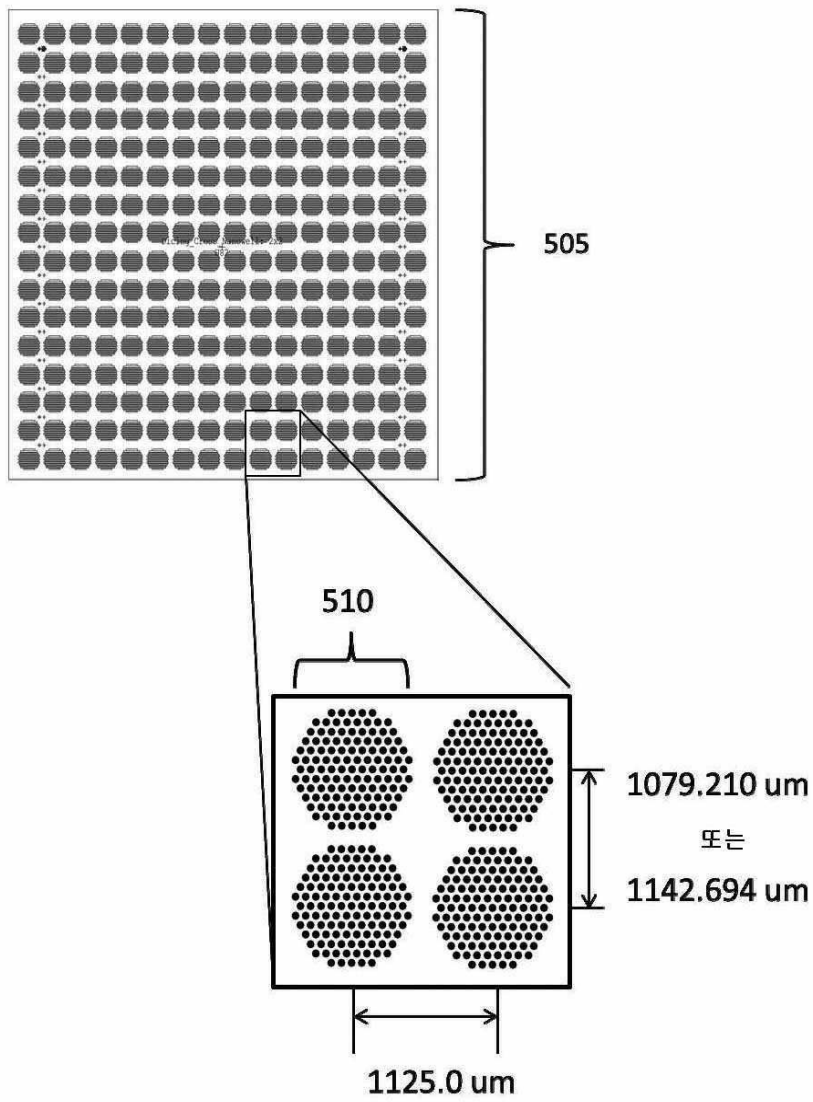
도면4b



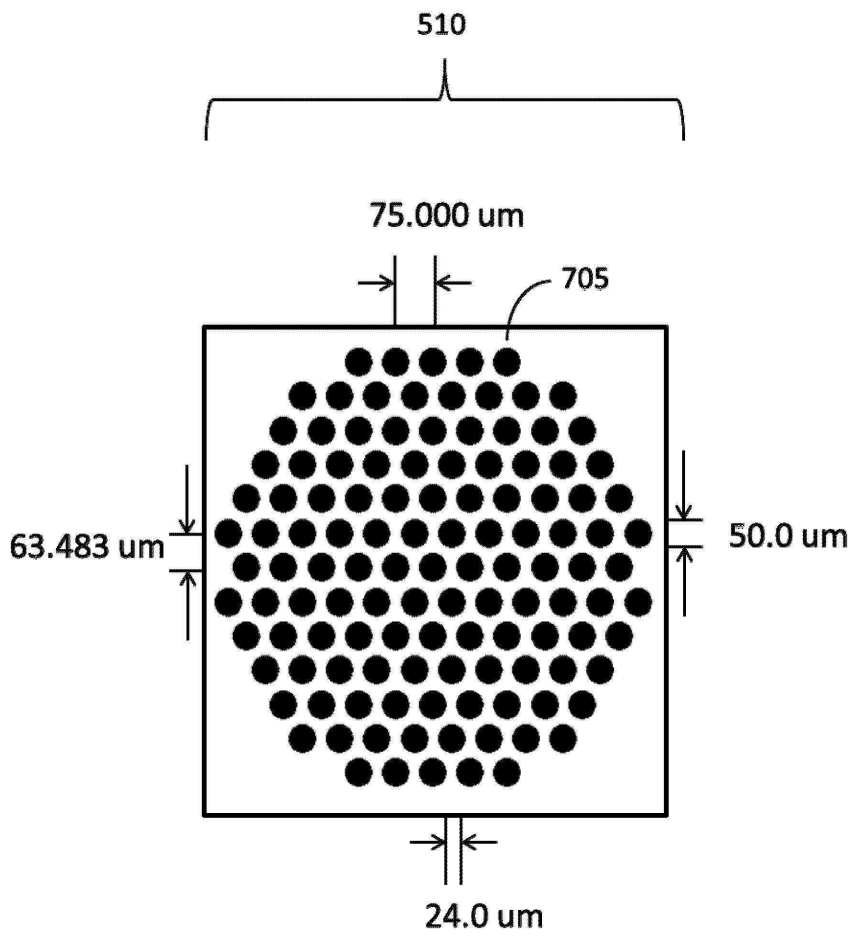
도면5



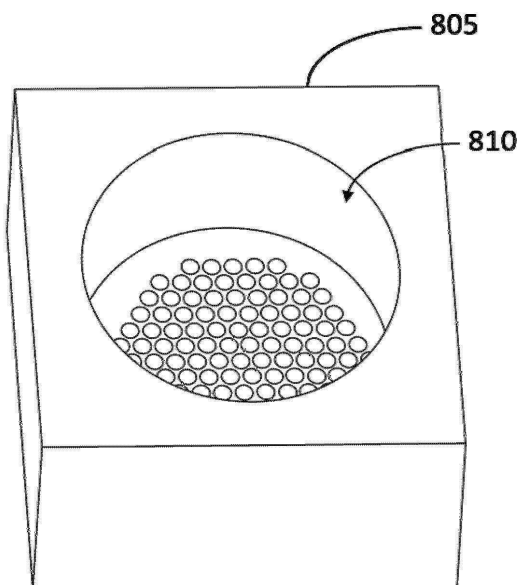
도면6



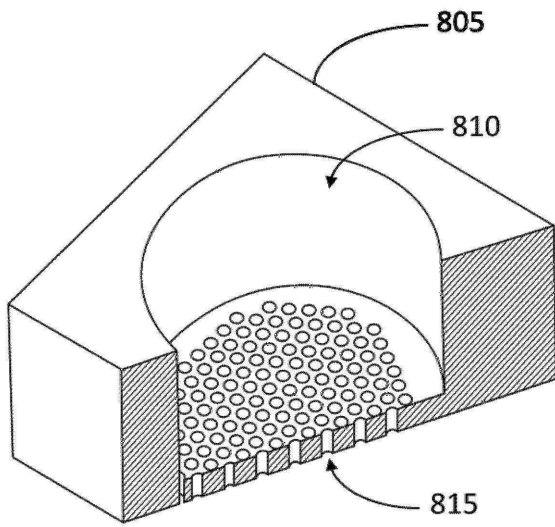
도면7



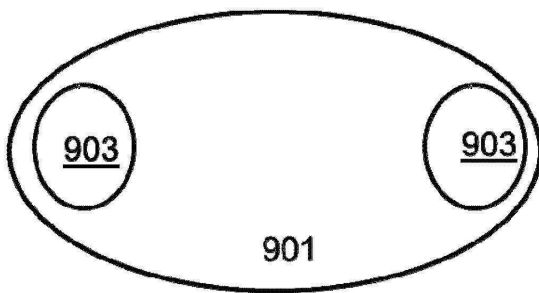
도면8a



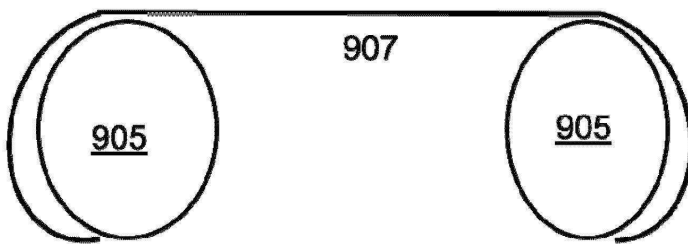
도면8b



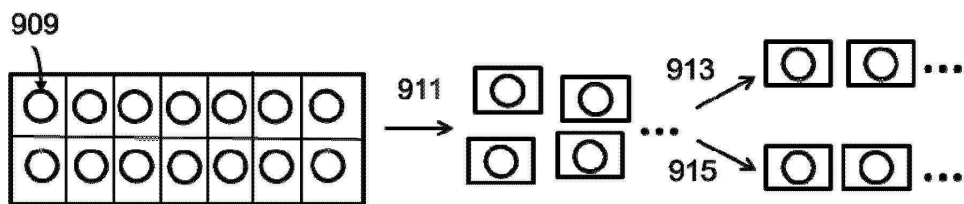
도면9a



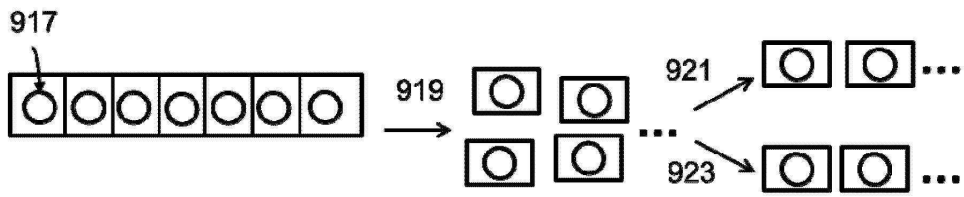
도면9b



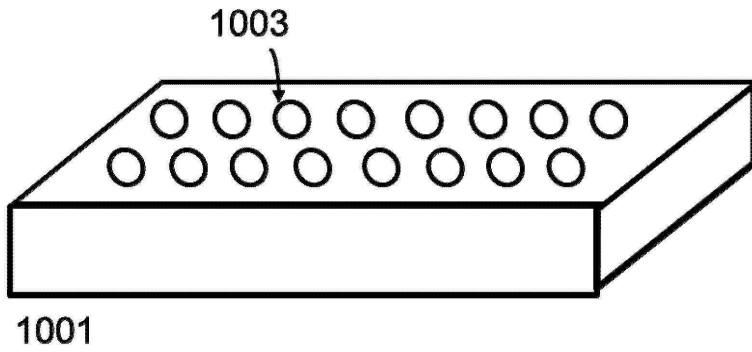
도면9c



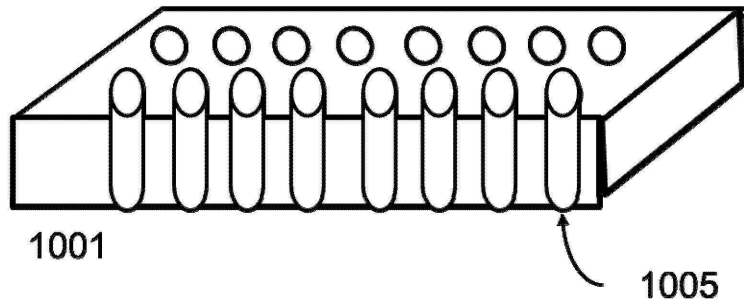
도면9d



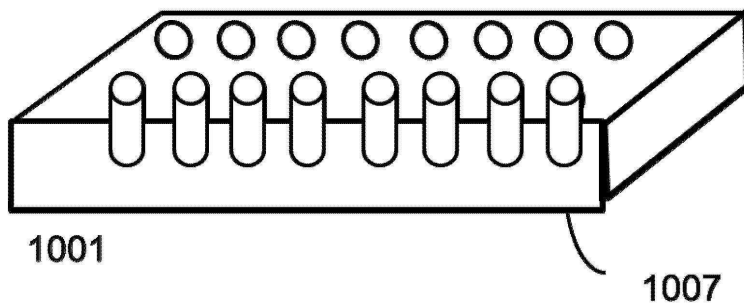
도면10a



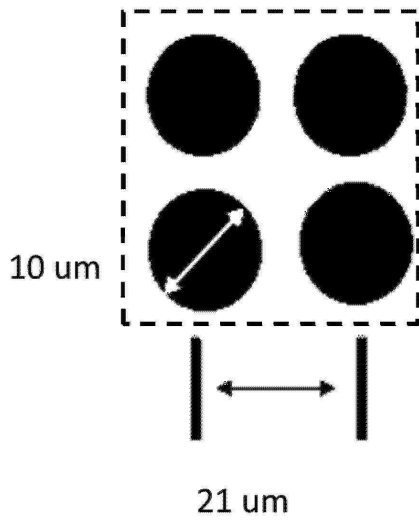
도면10b



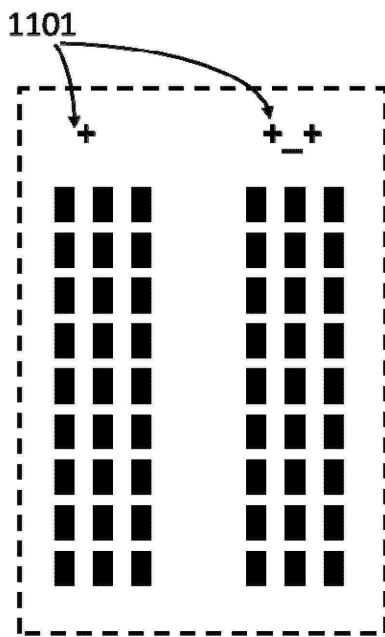
도면10c



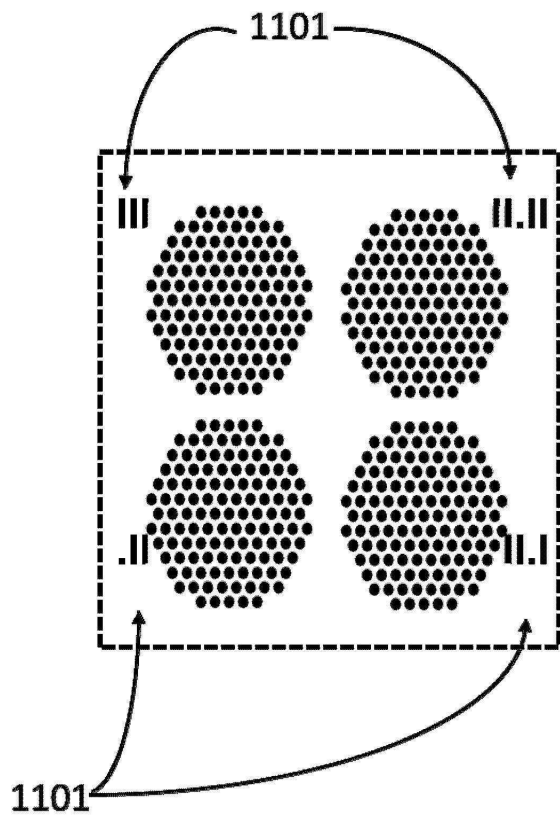
도면11a



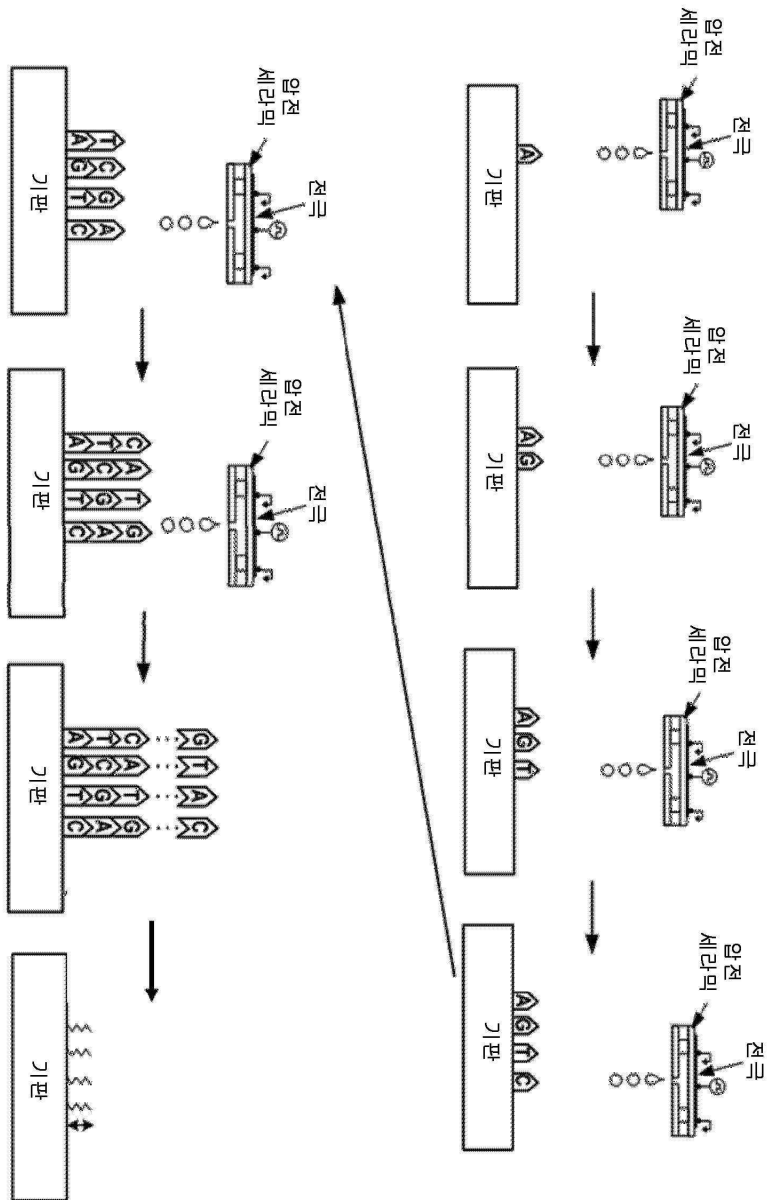
도면11b



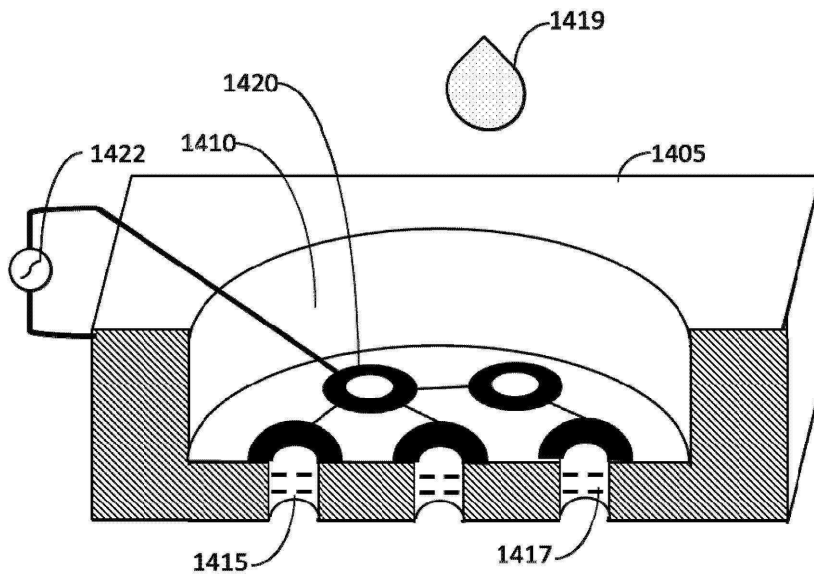
도면11c



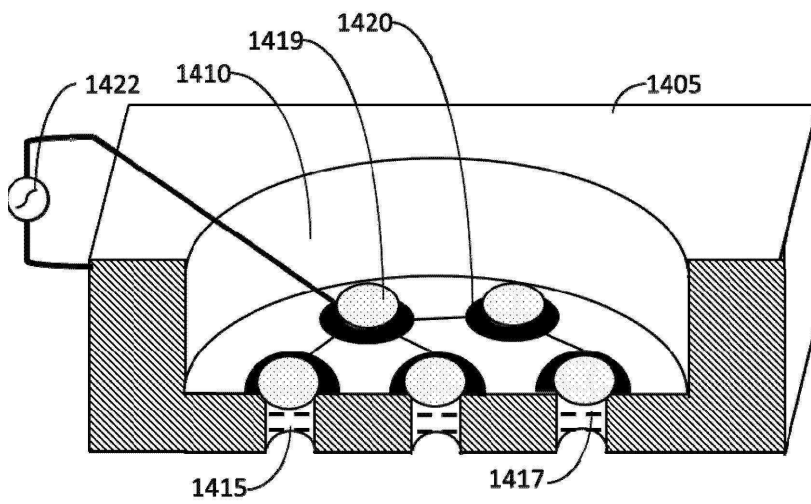
도면13



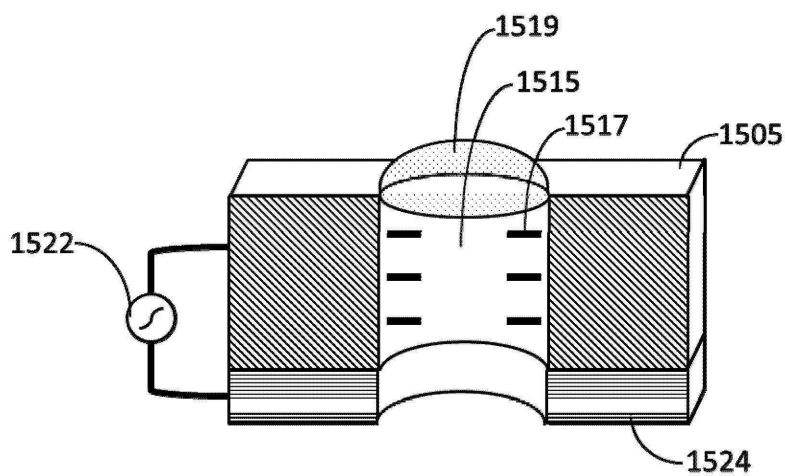
도면14a



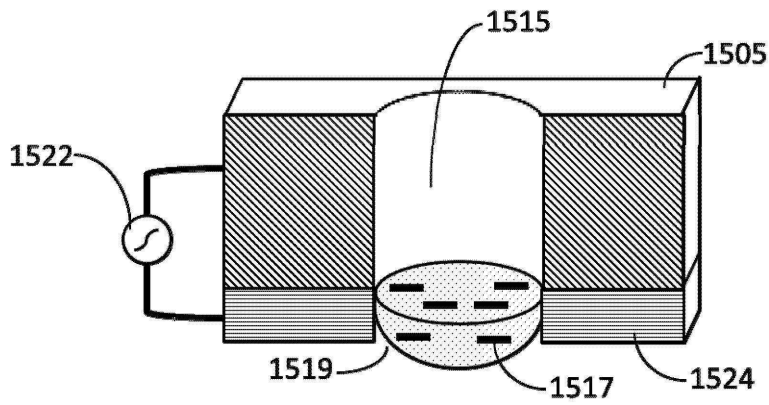
도면14b



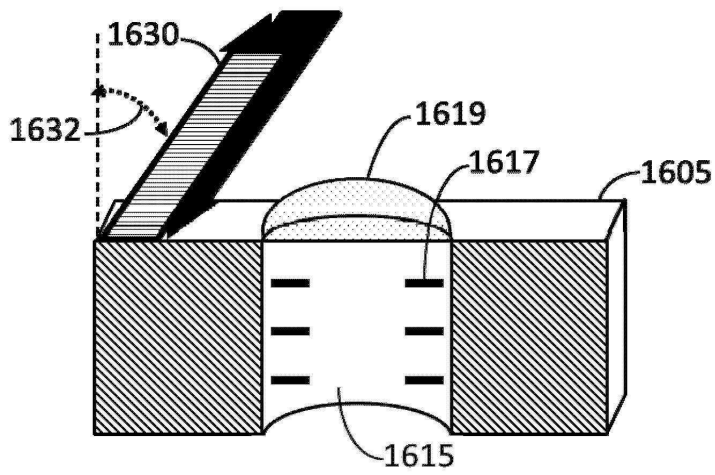
도면15a



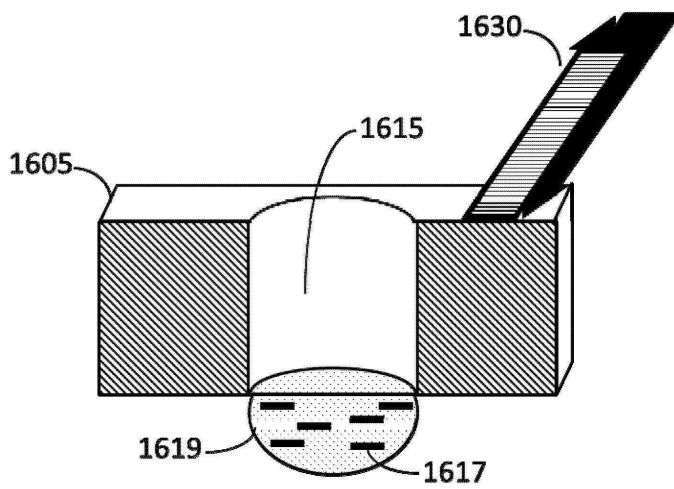
도면15b



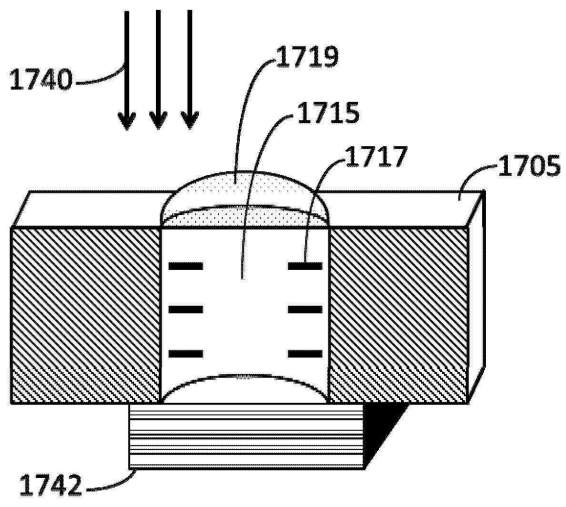
도면16a



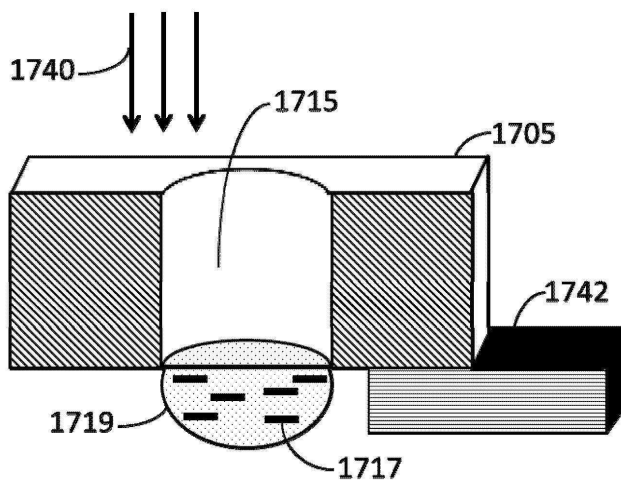
도면16b



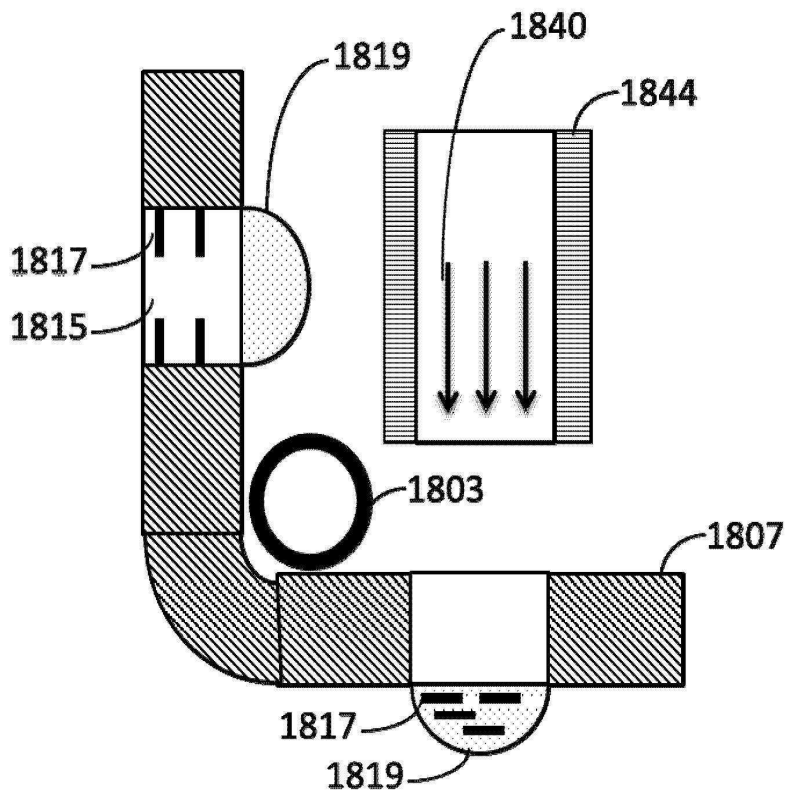
도면17a



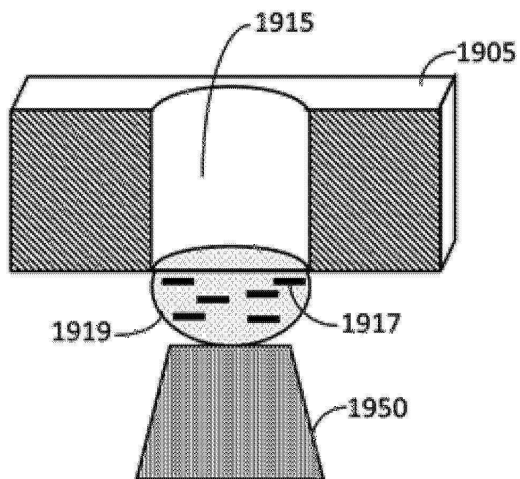
도면17b



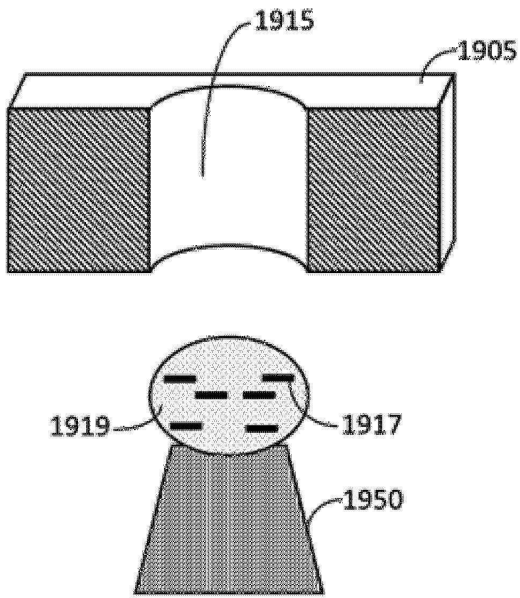
도면18



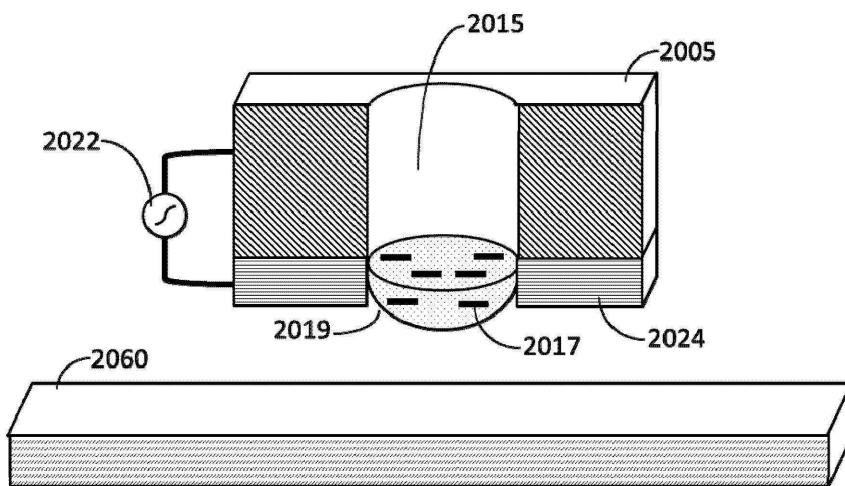
도면19a



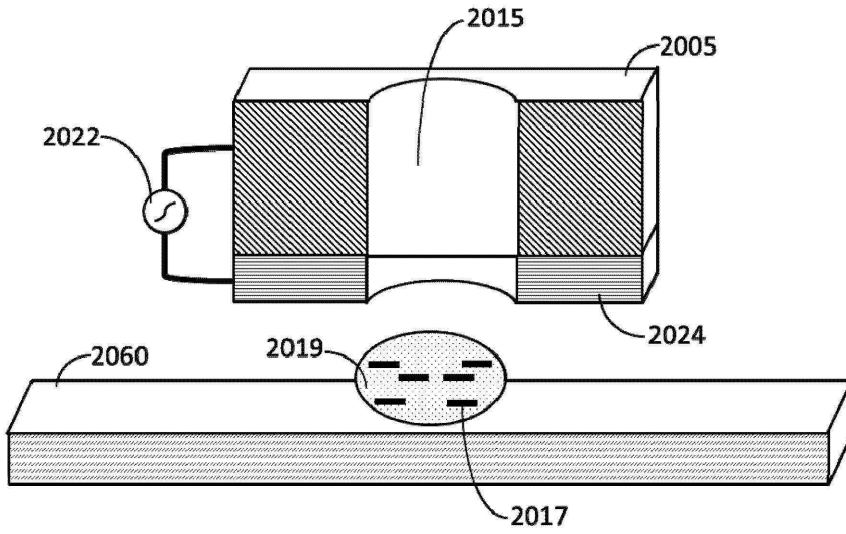
도면19b



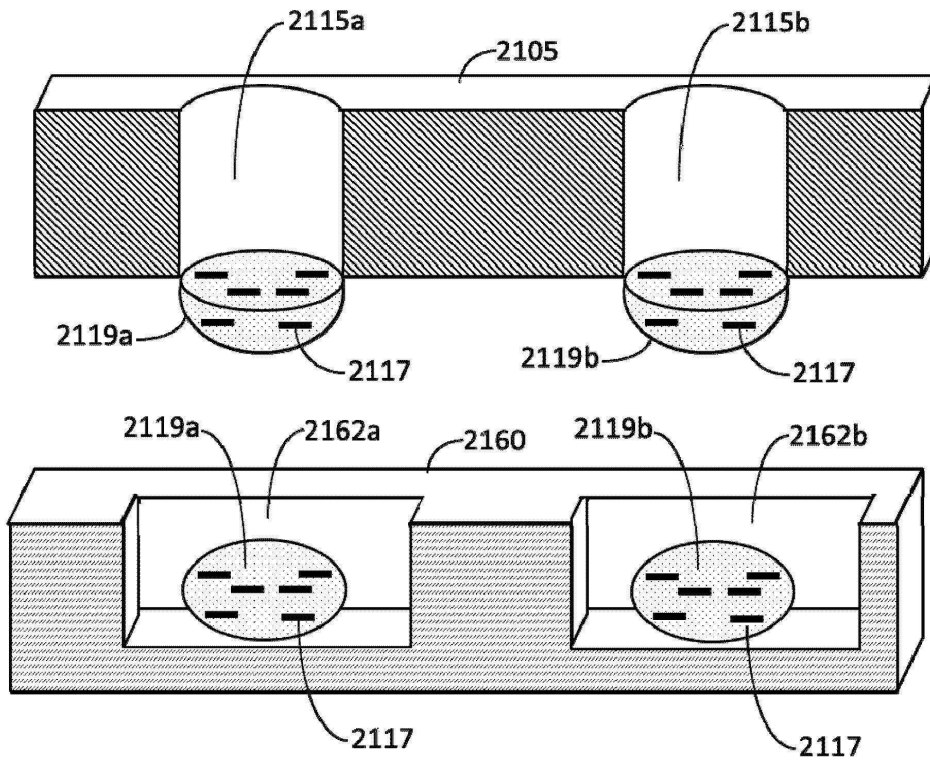
도면20a



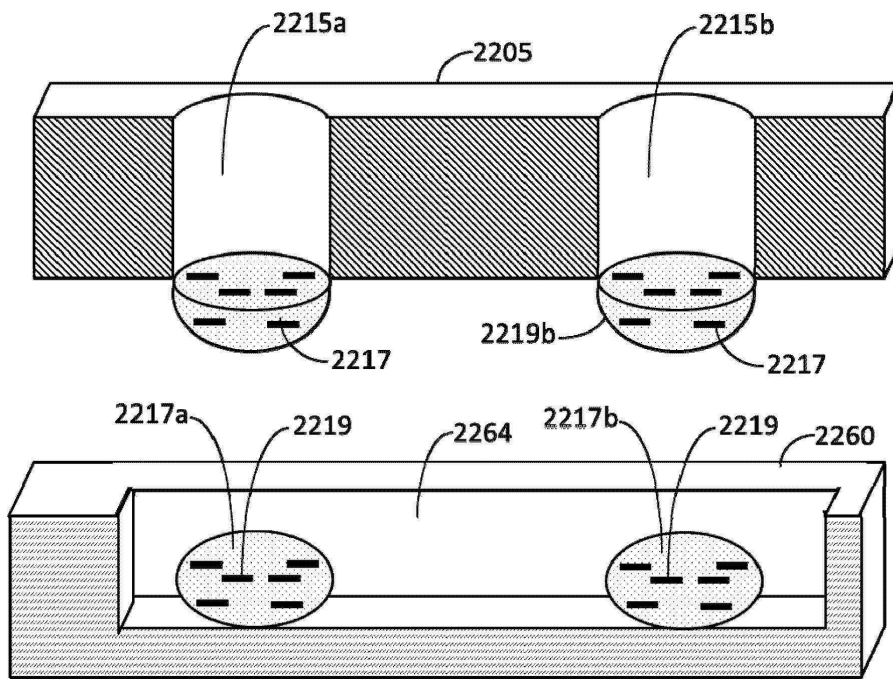
도면20b



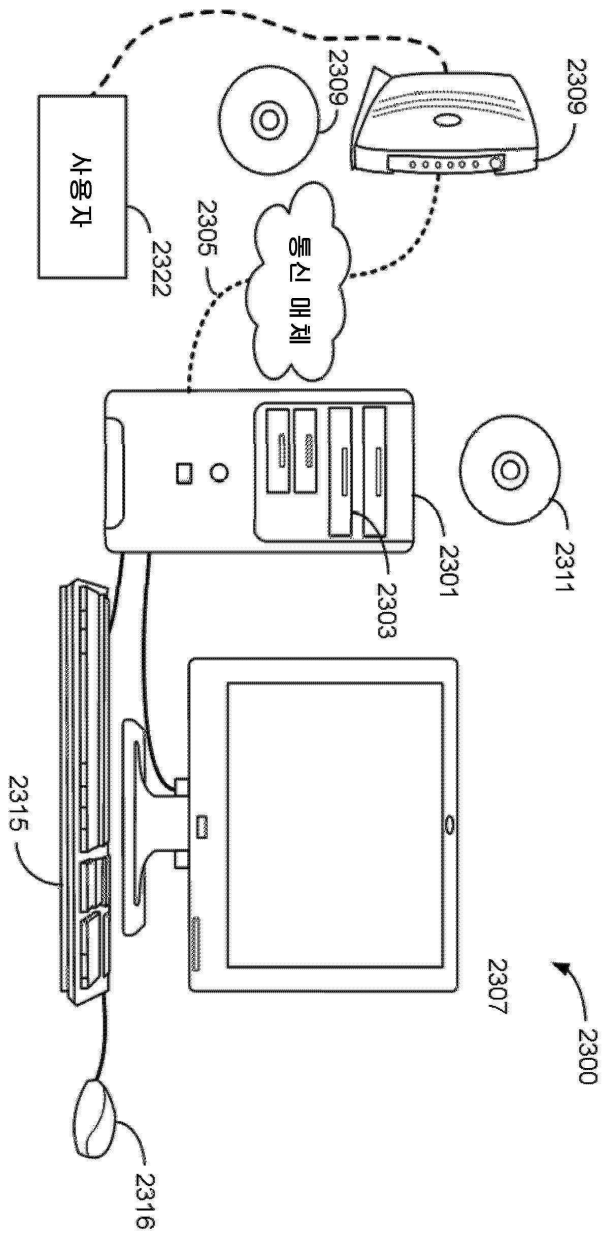
도면21



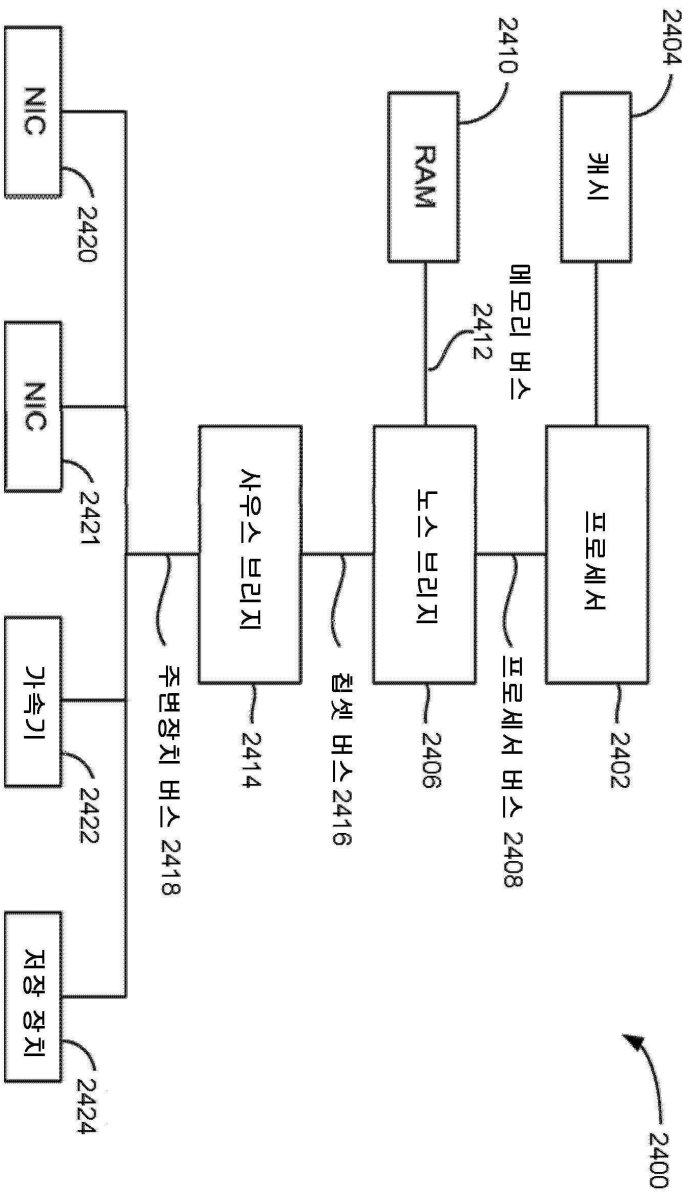
도면22



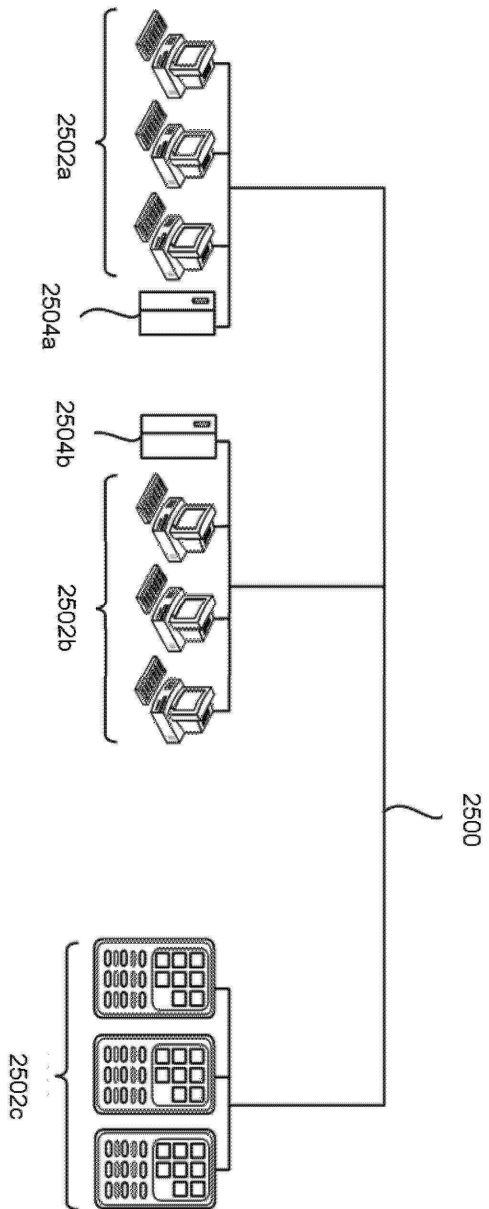
도면23



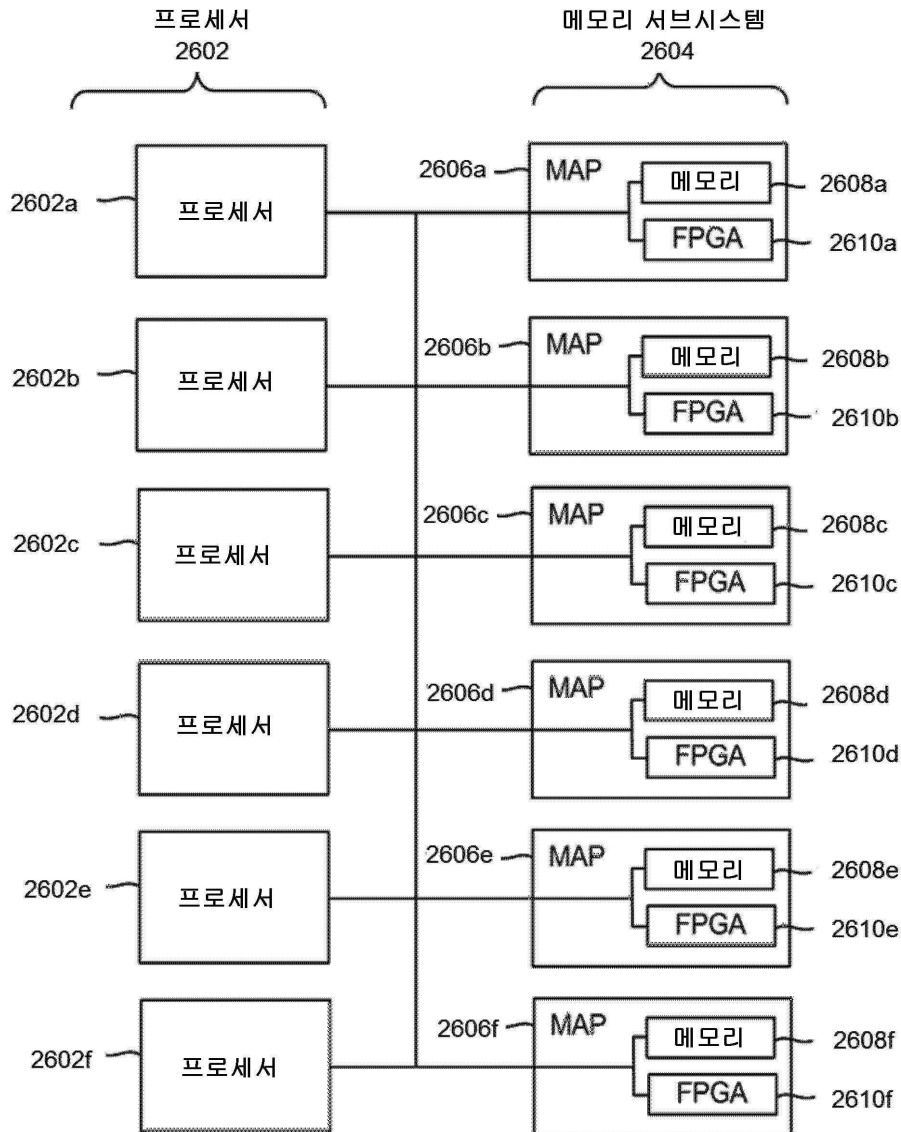
도면24



도면25



도면26



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> TWIST BIOSCIENCE CORPORATION

<120> NUCLEIC ACID BASED DATA STORAGE

<130> 44854-728.601

<140><141><150> 62/517,671

<151> 2017-06-09

<150> 62/446,178

<151> 2017-01-13

<150> 62/397,855

<400> 3

atgcggggtt ctcatcatc

19

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer

<400> 4

cgggatcctt atcgatcatcg

20