



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0100134
(43) 공개일자 2024년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2023.01) B29C 45/00 (2006.01)
B29K 69/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/502761 (2013.01)
B29C 45/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0182316
(22) 출원일자 2022년12월22일
심사청구일자 2022년12월22일

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
주식회사 바이오티엔에스
대전광역시 유성구 대학로76번안길 19-12, 5-6층 (공동)
(72) 발명자
정봉근
서울특별시 마포구 백범로 35 서강대학교 R관 618호
최지욱
서울특별시 마포구 백범로 35 서강대학교 R관 617호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인에스알비

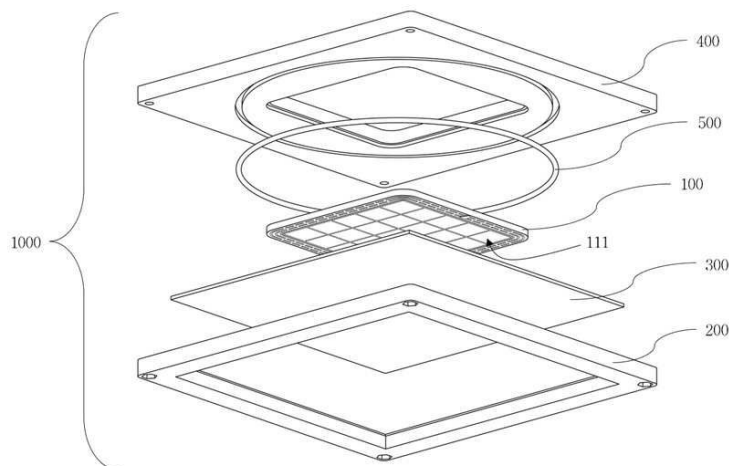
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 음압 기반 마이크로칩 및 이를 포함하는 샘플 로딩 하우징, 및 이를 이용한 샘플 로딩 방법

(57) 요약

본 발명은 음압 기반 마이크로칩 및 이를 포함하는 샘플 로딩 하우징, 및 이를 이용한 샘플 로딩 방법에 관한 것으로, 본 발명의 마이크로칩은 플라스틱 소재로 구성되어 샘플의 증발을 방지할 수 있고, 음압 인가 장치를 통해 샘플 로딩 하우징에 음압을 인가함으로써 마이크로칩에 효율적으로 샘플링할 수 있다. 따라서, 본 발명의 샘플 로딩 하우징 및 음압 인가 장치를 포함하는 샘플 로딩 시스템은 디지털 PCR 분석을 위한 새로운 플랫폼으로서 활용될 수 있다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

B01L 2200/0663 (2013.01)

B01L 2200/142 (2013.01)

B01L 2300/0819 (2013.01)

B01L 2300/0829 (2013.01)

B01L 2300/14 (2013.01)

B01L 2300/161 (2013.01)

B29C 2045/0094 (2013.01)

B29K 2069/00 (2019.01)

(72) 발명자

전환균

경기도 용인시 수지구 정평로 89 208-903

김봉석

대구광역시 수성구 청수로 261, 1415동 701호(황금
동, 캐슬골드파크)

명세서

청구범위

청구항 1

마이크로칩의 일면에 배치되고, 복수의 마이크로웰이 배치된 웰 어레이를 포함하는 샘플 로딩부; 및
상기 샘플 로딩부를 둘러싸도록 배치되고, 상기 마이크로칩의 일면과 타면이 연통되도록 하는 관통공을 포함하는 음압 인가부;
를 포함하는, 마이크로칩.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 웰 어레이는 하나 이상의 유로 및 상기 유로에 의해 구획되고 상기 마이크로웰이 배치되는 하나 이상의 서브어레이를 포함하는 것인, 마이크로칩.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 샘플 로딩부는 상기 웰 어레이의 둘레를 따라 외측으로 돌출되는 제1돌출패턴을 포함하고,
상기 제1돌출패턴은 상기 웰 어레이로부터 소정의 거리만큼 이격된 것인, 마이크로칩.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 음압 인가부는 상기 제1돌출패턴의 둘레를 따라 외측으로 돌출되는 제2돌출패턴을 포함하고,
상기 제2돌출패턴은 상기 제1돌출패턴으로부터 소정의 거리만큼 이격된 것인, 마이크로칩.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 마이크로칩은 수분 투과 방지 소재로 구성되는 것인, 마이크로칩.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 수분 투과 방지 소재는 폴리메틸 메타크릴레이트 (polymethyl methacrylate; PMMA), 폴리에틸렌 테레프탈레이트 (polyethylene terephthalate; PET), 폴리페닐렌 에테르 (polyphenylene ether; PPE), 폴리아미드 (polyamide; PA), 폴리카보네이트 (polycarbonate; PC), 폴리에틸렌 (polyethylene; PE), 폴리프로필렌 (polypropylene; PP), 폴리이미드 (polyimide; PI), 폴리스티렌 (polystyrene; PS), 폴리우레탄 (polyurethane; PU), 환형 올레핀 중합체 (cyclic olefin polymer; COP) 및 환형 올레핀 공중합체 (cyclic olefin copolymer; COC)로 이루어진 그룹에서 선택되는 것인, 마이크로칩.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 샘플 로딩부의 표면에는 친수성 코팅층이 배치되는 것인, 마이크로칩.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 친수성 코팅층은 친수성 용매에 친수성 고분자, 산화 규소, 금속 산화물 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹에서 선택된 하나 이상이 용해된 친수성 성분을 포함하는 것인, 마이크로칩.

청구항 9

중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제1장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 배치되는 둘 이상의 제1체결공을 포함하는 하부 하우징;
상기 제1장착홈에 결합되는 받침부재;

상기 받침부재상에 배치되는 마이크로칩; 및

중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제2장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 하며 상기 제1체결공과 대응되는 위치에 배치되는 둘 이상의 제2체결공을 포함하는 상부 하우징;

을 포함하고,

상기 마이크로칩은 상기 제2장착홈을 통해 상기 상부 하우징과 결합되는 것이고,

상기 마이크로칩은:

상기 마이크로칩의 일면에 배치되고, 복수의 마이크로웰이 배치된 웰 어레이를 포함하는 샘플 로딩부; 및

상기 샘플 로딩부를 둘러싸도록 배치되고, 상기 마이크로칩의 일면과 타면이 연통되도록 하는 관통공을 포함하는 음압 인가부;

를 포함하는 것인, 샘플 로딩 하우징.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 샘플 로딩 하우징은 상기 받침부재에 인접하며 상기 마이크로칩의 둘레 주위에 배치되는 실링부재를 더 포함하는 것인, 샘플 로딩 하우징.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 상부 하우징은 하측면에 제3장착홈을 포함하고,

상기 실링부재는 상기 제3장착홈을 통해 상기 상부 하우징에 결합되는 것인, 샘플 로딩 하우징.

청구항 12

제9항에 있어서, 상기 제1체결공 및 상기 제2체결공은 내측면에 볼트-너트 체결을 위한 나사 구조가 배치되는 것인, 샘플 로딩 하우징.

청구항 13

받침부재상에 위치한 시료에 웰 어레이가 인접하도록 마이크로칩을 접촉시키는 접촉 단계;

마이크로칩 및 받침부재를 상부 하우징 및 하부 하우징에 결합하여 샘플 로딩 하우징으로 결합하는 결합 단계; 및

음압 인가 장치의 음압전달부재를 마이크로칩에 배치된 관통공과 연결하여 샘플 로딩 하우징 내부에 음압을 인가하는 음압 인가 단계;를 포함하고,

상기 마이크로칩은:

상기 마이크로칩의 일면에 배치되고, 복수의 마이크로웰이 배치된 웰 어레이를 포함하는 샘플 로딩부; 및

상기 샘플 로딩부를 둘러싸도록 배치되고, 상기 마이크로칩의 일면과 타면이 연통되도록 하는 관통공을 포함하는 음압 인가부;

를 포함하는 것인, 샘플 로딩 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 샘플 로딩 하우징은 하기의 구성을 포함하는 것인, 샘플 로딩 방법:

중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제1장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 배치되는 둘 이상의 제1체결공을 포함하는 하부 하우징;

상기 제1장착홈에 결합되는 받침부재;

상기 받침부재상에 배치되는 마이크로칩; 및

중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제2장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 하

며 상기 제1체결공과 대응되는 위치에 배치되는 둘 이상의 제2체결공을 포함하는 상부 하우징;
을 포함하고,
상기 마이크로칩은 상기 제2장착홈을 통해 상기 상부 하우징과 결합되는 것임.

청구항 15

제13항에 있어서, 상기 음압 인가 단계는 60 내지 180초 동안 음압을 인가하는 것인, 샘플 로딩 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 음압 기반 마이크로칩 및 이를 포함하는 샘플 로딩 하우징, 및 이를 이용한 샘플 로딩 방법에 관한 것으로, 구체적으로 본 발명의 마이크로칩은 플라스틱 소재로 구성되어 샘플의 증발을 방지할 수 있고, 샘플 로딩 하우징에 음압을 인가함으로써 마이크로칩에 효율적으로 샘플링할 수 있다.

배경 기술

[0002] 중합효소 연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)은 핵산 중합효소를 이용하여 일련의 반복된 중합 단계를 통해 시료 내의 특정 유전자 또는 임의의 유전자를 증폭하는 기법으로, DNA 또는 RNA와 같은 핵산을 이용한 다양한 실험에 거의 필수적으로 활용되고 있다. PCR의 기법으로서 네스티드 PCR, 인버스 PCR, 비대칭 PCR, RT-PCR, qPCR, 터치다운 PCR, 콜로니 PCR, 핫스타트 PCR, 멀티플렉스 PCR, RAPD PCR, RACE 또는 LAMP 등의 다양한 기법이 개발되어 있으며, PCR을 수행하기 위한 다양한 종류의 플랫폼이 개발되고 있다.

[0003] 이러한 PCR 기법 중, 디지털 PCR은 기존에 사용되던 전통적인 PCR 방법 대비 절대 정량 분석이 가능하여 정확도 및 감도가 높은 방법으로서 수요와 응용 분야가 확대되고 있다.

[0004] 다만, 디지털 PCR을 위한 샘플 로딩에 주로 사용되는 PDMS 칩은 소재 특성상 샘플의 증발로 인해 정확도가 낮아질 위험성이 있고, 잔여 샘플 제거 및 증발 억제를 위해 오일을 사용하기 때문에 샘플의 오염 가능성이 높다는 단점이 있다.

[0005] 아울러, 기존의 디지털 PCR 칩의 경우, 마이크로웰에 샘플링 되고 남은 잔여 샘플로 인해 수막 (water film)이 생성되며, 이는 칩의 고정성 저하 및 샘플의 증발 문제를 야기시켜 정밀한 PCR 결과를 얻는 데에 치명적으로 작용하게 된다.

[0006] 이에, 마이크로웰에 로딩된 샘플의 증발 억제가 가능하며 잔여 샘플을 제거하여 샘플의 오염을 방지함으로써 우수한 디지털 PCR 분석 결과를 얻을 수 있는 샘플링 플랫폼이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 이에, 본 발명자들은 마이크로칩을 수분 투과 방지가 용이한 플라스틱 소재로 구성함으로써 디지털 PCR 수행 중의 샘플의 증발을 방지할 수 있으며, 마이크로칩이 높은 투명도 및 내열성을 가짐으로써 PCR 증폭 이후의 이미징 과정에서도 우수한 성능을 보일 수 있고, 또한 마이크로칩에 음압을 인가함으로써 마이크로웰에 로딩되고 남은 잔여 샘플로 인한 수막을 제거함으로써 정밀한 PCR 결과를 확보할 수 있음을 확인하였다.

[0009] 이에, 본 발명의 목적은 음압 기반의 마이크로칩을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 음압 기반의 마이크로칩을 포함하는 샘플 로딩 하우징을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 샘플 로딩 하우징 및 음압 인가 장치를 포함하는 샘플 로딩 시스템을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 샘플 로딩 시스템을 이용한 샘플 로딩 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명은 음압 기반 마이크로칩 및 이를 포함하는 샘플 로딩 하우징, 및 이를 이용한 샘플 로딩 방법에 관한 것으로, 본 발명의 마이크로칩 및 샘플 로딩 하우징을 이용하여 샘플링을 함으로써 로딩된 샘플의 증발을 방지하며 효율적으로 샘플링이 수행되도록 할 수 있다.
- [0014] 이하, 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.
- [0016] 본 발명의 일 양태는, 마이크로칩의 일면에 배치되고, 복수의 마이크로웰이 배치된 웰 어레이를 포함하는 샘플 로딩부; 및 샘플 로딩부를 둘러싸도록 배치되고, 마이크로칩의 일면과 타면이 연통되도록 하는 관통공을 포함하는 음압 인가부;를 포함하는, 마이크로칩에 관한 것이다.
- [0017] 본 발명의 일 구현예에서, 웰 어레이는 하나 이상의 유로 및 유로에 의해 구획되고 마이크로웰이 배치되는 하나 이상의 서브어레이를 포함하는 것일 수 있다.
- [0018] 본 발명의 일 구현예에서, 샘플 로딩부는 웰 어레이의 둘레를 따라 외측으로 돌출되는 제1돌출패턴을 포함하고, 제1돌출패턴은 웰 어레이로부터 소정의 거리만큼 이격된 것일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 일 구현예에서, 음압 인가부는 제1돌출패턴의 둘레를 따라 외측으로 돌출되는 제2돌출패턴을 포함하고, 제2돌출패턴은 제1돌출패턴으로부터 소정의 거리만큼 이격된 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 일 구현예에서, 마이크로칩은 수분 투과 방지 소재로 구성되는 것일 수 있다.
- [0021] 본 발명의 일 구현예에서, 수분 투과 방지 소재는 폴리메틸 메타크릴레이트 (polymethyl methacrylate; PMMA), 폴리에틸렌 테레프탈레이트 (polyethylene terephthalate; PET), 폴리페닐렌 에테르 (polyphenylene ether; PPE), 폴리아미드 (polyamide; PA), 폴리카보네이트 (polycarbonate; PC), 폴리에틸렌 (polyethylene; PE), 폴리프로필렌 (polypropylene; PP), 폴리이미드 (polyimide; PI), 폴리스티렌 (polystyrene; PS), 폴리우레탄 (polyurethane; PU), 환형 올레핀 중합체 (cyclic olefin polymer; COP) 및 환형 올레핀 공중합체 (cyclic olefin copolymer; COC)로 이루어진 그룹에서 선택되는 것일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 일 구현예에서, 샘플 로딩부의 표면에는 친수성 코팅층이 배치되는 것일 수 있다.
- [0023] 본 발명의 일 구현예에서, 친수성 코팅층은 친수성 용매에 친수성 고분자, 산화 규소, 금속 산화물 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹에서 선택된 하나 이상이 용해된 친수성 성분을 포함하는 것일 수 있다.
- [0024] 본 발명의 다른 양태는, 중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제1장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 배치되는 둘 이상의 제1체결공을 포함하는 하부 하우징; 제1장착홈에 결합되는 받침부재; 받침부재상에 배치되는 마이크로칩; 및 중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제2장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 하며 제1체결공과 대응되는 위치에 배치되는 둘 이상의 제2체결공을 포함하는 상부 하우징;을 포함하고, 마이크로칩은 제2장착홈을 통해 상부 하우징과 결합되는 것이고, 마이크로칩은: 마이크로칩의 일면에 배치되고, 복수의 마이크로웰이 배치된 웰 어레이를 포함하는 샘플 로딩부; 및 샘플 로딩부를 둘러싸도록 배치되고, 마이크로칩의 일면과 타면이 연통되도록 하는 관통공을 포함하는 음압 인가부;를 포함하는 것인, 샘플 로딩 하우징에 관한 것이다.
- [0025] 본 발명의 일 구현예에서, 샘플 로딩 하우징은 받침부재에 인접하며 마이크로칩의 둘레 주위에 배치되는 실링부재를 더 포함하는 것일 수 있다.
- [0026] 본 발명의 일 구현예에서, 상부 하우징은 하측면에 제3장착홈을 포함하고, 실링부재는 제3장착홈을 통해 상부 하우징에 결합되는 것일 수 있다.
- [0027] 본 발명의 일 구현예에서, 제1체결공 및 제2체결공은 내측면에 볼트-너트 체결을 위한 나사 구조가 배치되는 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 양태는, 내부와 외부의 공기 흐름을 차단하여 내부에 음압이 인가될 수 있도록 하는 샘플 로딩 하우징; 및 샘플 로딩 하우징의 내부에 음압을 인가하도록 배치되는 음압 인가 장치;를 포함하는 샘플 로딩 시스템에 관한 것이다.
- [0029] 본 발명의 일 구현예에서, 샘플 로딩 하우징은 중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입

된 제1장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 배치되는 둘 이상의 제1체결공을 포함하는 하부 하우징; 제1장착홈에 결합되는 받침부재; 받침부재상에 배치되는 마이크로칩; 및 중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제2장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 하며 제1체결공과 대응되는 위치에 배치되는 둘 이상의 제2체결공을 포함하는 상부 하우징;을 포함하고, 마이크로칩은 제2장착홈을 통해 상부 하우징과 결합되는 것이고, 마이크로칩은: 마이크로칩의 일면에 배치되고, 복수의 마이크로웰이 배치된 웰 어레이를 포함하는 샘플 로딩부; 및 샘플 로딩부를 둘러싸도록 배치되고, 마이크로칩의 일면과 타면이 연통되도록 하는 관통공을 포함하는 음압 인가부;를 포함하는 것일 수 있다.

[0030] 본 발명의 일 구현예에서, 음압 인가 장치는 음압을 생성하며, 인가된 음압에 따라 흡입되는 유체를 음압 인가 장치 외부로 배출하기 위한 배출구를 포함하는 음압 생성부; 음압 생성부와 연결되어 음압 전달 여부를 조절할 수 있고, 음압 인가 중단 후에도 음압이 전달된 공간의 음압 상태가 유지될 수 있도록 하는 밸브부; 밸브부와 연결되는 연결부; 및 마이크로칩의 하나 이상의 관통공과 각각 연결되며 연결부와 연결되는 음압전달부재를 포함하는 것일 수 있다.

[0031] 본 발명의 또 다른 양태는, 받침부재상에 위치한 시료에 웰 어레이가 인접하도록 마이크로칩을 접촉시키는 접촉 단계; 마이크로칩 및 받침부재를 상부 하우징 및 하부 하우징에 결합하여 샘플 로딩 하우징으로 결합하는 결합 단계; 및 음압 인가 장치의 음압전달부재를 마이크로칩에 배치된 관통공과 연결하여 샘플 로딩 하우징 내부에 음압을 인가하는 음압 인가 단계;를 포함하고, 마이크로칩은: 마이크로칩의 일면에 배치되고, 복수의 마이크로웰이 배치된 웰 어레이를 포함하는 샘플 로딩부; 및 샘플 로딩부를 둘러싸도록 배치되고, 마이크로칩의 일면과 타면이 연통되도록 하는 관통공을 포함하는 음압 인가부;를 포함하는 것인, 샘플 로딩 방법에 관한 것이다.

[0032] 본 발명의 일 구현예에서, 샘플 로딩 하우징은 중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제1장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 배치되는 둘 이상의 제1체결공을 포함하는 하부 하우징; 제1장착홈에 결합되는 받침부재; 받침부재상에 배치되는 마이크로칩; 및 중앙의 소정의 영역이 개구되고 개구된 영역의 둘레를 따라 함입된 제2장착홈, 및 상측과 하측이 연통되도록 하며 제1체결공과 대응되는 위치에 배치되는 둘 이상의 제2체결공을 포함하는 상부 하우징;을 포함하고, 마이크로칩은 제2장착홈을 통해 상부 하우징과 결합되는 것이고, 마이크로칩은: 마이크로칩의 일면에 배치되고, 복수의 마이크로웰이 배치된 웰 어레이를 포함하는 샘플 로딩부; 및 샘플 로딩부를 둘러싸도록 배치되고, 마이크로칩의 일면과 타면이 연통되도록 하는 관통공을 포함하는 음압 인가부;를 포함하는 것일 수 있다.

[0033] 본 발명의 일 구현예에서, 음압 인가 단계는 60 내지 180초 동안 음압을 인가하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0034] 본 발명의 음압 기반 마이크로칩은 로딩된 샘플의 증발을 억제할 수 있고, 마이크로칩을 포함하는 샘플 로딩 하우징에 음압을 인가함으로써 잔여 샘플로 인한 마이크로칩 상의 수막을 효과적으로 제거함으로써 마이크로칩에 샘플이 효율적으로 로딩되며 정밀한 PCR 결과를 얻을 수 있으므로, 본 발명의 음압 기반 마이크로칩을 포함하는 샘플 로딩 시스템을 디지털 PCR 등의 다양한 분자 진단 분야에 활용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로칩의 사시도 및 이의 부분확대도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 하우징의 분해 사시도의 탑 뷰 (top view)이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 하우징의 분해 사시도의 바텀 뷰 (bottom view)이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 하부 하우징의 사시도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 상부 하우징의 사시도이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템의 사시도이다.

도 7은 음압 채널 및 마이크로웰 패널 구조가 최적화된 PDMS 소재 마이크로칩에 음압이 인가되기 전 · 후 및 PCR 수행 후의 마이크로웰 내부의 샘플링 및 샘플 유지 효율을 나타낸 그래프이다.

도 8은 압 채널 및 마이크로웰 패널 구조가 최적화된 PDMS 소재 마이크로칩에 음압이 인가되기 전 · 후의 마이크로칩 형광 세기를 마이크로칩 상의 일 지점으로부터의 거리에 따라 나타낸 그래프이다.

도 9은 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로칩의 친수성 코팅 후의 샘플링 결과를 나타낸 도면이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로칩의 친수성 코팅 후의 샘플링 효율을 나타낸 그래프이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따라 친수성 코팅 후 진공 포장되어 4개월 간 보관된 마이크로칩을 이용한 샘플링 결과를 나타낸 도면이다.

도 12는 마이크로웰 증발 억제 정도를 확인하기 위해, 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 하우징에 볼트-너트 체결 방식을 도입한 경우의 PCR 수행 결과를 나타낸 도면이다.

도 13는 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템이 실제로 구현된 일 형태를 나타낸 도면이다.

도 14은 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템을 이용하여 마이크로칩에 음압을 형성할 때, 음압 인가 시간에 따른 마이크로웰 및 마이크로웰 외 배경 영역의 형광 세기를 각각 나타낸 그래프이다.

도 15는 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템을 이용하여 마이크로칩에 음압을 형성할 때, 음압 인가 시간에 따른 신호 대 잡음비 (signal to noise ratio)를 나타낸 그래프이다.

도 16는 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템을 이용하여 PCR을 수행하였을 때, 샘플 내 핵산 농도에 따른 마이크로칩 상의 양성 웰 (positive well) 표시 정도를 나타낸 도면이다.

도 17은 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템을 이용하여 PCR을 수행하였을 때, 마이크로칩 상의 양성 웰 (positive well) 표시 정도를 바탕으로 각 샘플 내의 핵산 농도를 계산한 결과를 나타낸 추세 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 이하, 본 발명에 따른 바람직한 실시 형태를 첨부된 도면을 참조하여 상세하게 설명한다. 첨부된 도면과 함께 이하에 개시될 상세한 설명은 본 발명의 예시적인 실시 형태를 설명하고자 하는 것으로, 본 발명이 실시될 수 있는 유일한 실시 형태를 나타내고자 하는 것이 아니고, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다.
- [0037] 또한, 몇몇의 경우, 본 발명의 개념이 모호해지는 것을 피하기 위하여 공지의 구조는 생략될 수 있고, 본 명세서 전체에서 동일한 구성요소에 대해서는 동일한 도면 부호를 사용하여 설명한다.
- [0038] 용어 "또는"은 배타적 "또는"이 아니라 내포적 "또는"을 의미하는 것으로 의도된다. 즉, 구성 간의 결합 또는 이용이 달리 특정되지 않거나 문맥상 명확하지 않은 경우에, 즉, X가 A를 포함하거나; X가 B를 포함하거나; 또는 X가 A 및 B 모두를 포함하는 경우, "X는 A 또는 B를 포함한다"가 이들 경우들 어느 것으로도 적용될 수 있다.
- [0039] 그리고, 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미하며, 어떤 구성이 다른 구성과 "연결" 되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결" 되어 있는 경우뿐 아니라, "그 중간에 다른 구성을 사이에 두고 연결" 되어 있는 경우도 포함한다.
- [0041] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로칩의 사시도 및 이의 부분확대도이다.
- [0042] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로칩 (100)은 샘플 로딩부 (110), 및 샘플 로딩부 (110)를 둘러싸도록 배치되는 음압 인가부 (120)를 포함할 수 있다.
- [0043] 샘플 로딩부 (110)는 마이크로칩 (100)의 일면에 배치되는 웰 어레이 (111) 및 제1돌출패턴 (112)을 포함할 수 있다.
- [0044] 웰 어레이 (111)에는 마이크로칩 (100) 일면에서 마이크로칩 (100)의 내부로 함입되는 복수의 마이크로웰 (111a)이 배치될 수 있다.
- [0045] 웰 어레이 (111)는 사용자가 일련의 분석 절차를 걸쳐 개별 마이크로웰 (111a)에서 발현되는 결과를 살펴볼 수 있도록 함으로써, 마이크로칩 (100)을 통한 샘플 분석이 가능하도록 할 수 있다.
- [0046] 마이크로웰 (111a)에는 분석 대상이 되는 샘플이 로딩될 수 있으며, 분석 대상이 되는 샘플은 분자적 진단이 요구되는 미지의 물질을 포함하는 검체, 및 미지의 물질을 검출하기 위한 시약을 포함하는 용액 형태일 수 있다.

- [0047] 예를 들어, 분석 대상이 되는 샘플에는 검체 내의 특정 종류의 단백질을 검출하기 위한 항체 및 형광 발현 단백질이 포함될 수 있고, 또는 검체 내의 특정 종류의 핵산을 검출하기 위한 프라이머 및 증합효소가 포함될 수 있으며, 또는 검체로부터 단백질이나 핵산 이외의 유기 화합물 또는 무기 화합물을 검출하기 위한 프로브 물질이 포함될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0048] 마이크로웰 (111a)은 샘플이 효과적으로 로딩될 수 있도록 하기 위한 임의의 형상 및 크기를 지닐 수 있다.
- [0049] 예를 들어, 마이크로웰 (111a)의 함입면은 원형 또는 다각형일 수 있고, 이에 따라 마이크로웰 (111a)은 함입면의 형상을 밑면으로 하는 원기둥 또는 다각기둥의 구조를 가질 수 있다.
- [0050] 마이크로웰 (111a)의 함입면이 원형인 경우, 함입면의 직경은 50 μm , 75 μm , 100 μm , 125 μm , 150 μm , 175 μm 또는 200 μm 일 수 있고, 예를 들어, 마이크로웰 (111a)은 직경이 150 μm 인 원형의 함입면을 가질 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0051] 마이크로웰 (111a)이 원기둥 또는 다각기둥의 구조인 경우, 마이크로웰 (111a)의 깊이는 25 μm , 50 μm , 75 μm , 100 μm , 125 μm 또는 150 μm 일 수 있고, 예를 들어, 100 μm 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0052] 마이크로웰 (111a)은 웰 어레이 (111)에 두 개 이상 배치될 수 있으며, 그 개수는 샘플의 분석 목표 또는 분석 샘플의 특성 등에 따라 적절하게 결정될 수 있다.
- [0053] 예를 들어, 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로칩 (100)을 이용하여 PCR 기법으로 샘플 내 핵산을 분석하는 경우, 마이크로웰 (111a)은 샘플 내 핵산의 존재 여부 및 샘플 내 핵산의 농도를 모두 파악하기에 충분한 개수만큼 웰 어레이 (111)에 배치될 수 있고, 예를 들어, 1,000개, 5,000개, 10,000개, 15,000개, 20,000개, 22,500개, 25,000개, 27,500개, 30,000개, 50,000개 또는 100,000개의 마이크로웰 (111a)이 배치될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0054] 복수의 마이크로웰 (111a)은 서로 소정의 거리만큼 이격되어 배치될 수 있으며, 예를 들어, 인접한 각 마이크로웰 (111a)의 함입면의 중심을 기준으로 서로 100 μm , 150 μm , 200 μm , 250 μm , 300 μm , 350 μm , 400 μm , 450 μm 또는 500 μm 만큼 이격되어 웰 어레이 (111)에 배치될 수 있다.
- [0055] 웰 어레이 (111)는 하나 이상의 서브어레이 (111b)를 포함할 수 있다.
- [0056] 서브어레이 (111b)는 웰 어레이 (111)를 하나 이상의 구획으로 구분하면서 복수의 마이크로웰 (111a)을 포함하기에 적합한 크기 및 형태로 배치될 수 있고, 예를 들어, 서브어레이 (111b)는 한 변의 길이가 7,500 내지 10,000 μm , 구체적으로는 9,150 μm 인 정사각형의 형태를 가질 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0057] 하나 이상의 서브어레이 (111b)가 웰 어레이 (111)에 포함되는 경우, 복수의 마이크로웰 (111a)은 서브어레이 (111b)의 표면에서 마이크로칩 (100)의 내부로 함입되도록 배치될 수 있고, 이에 따라 웰 어레이 (111) 중 서브어레이 (111b)를 제외한 부분에는 마이크로웰 (111a)이 배치되지 않을 수 있다.
- [0058] 개별 서브어레이 (111b)에는 서로 같거나 다른 수의 복수의 마이크로웰 (111a)이 배치될 수 있으며, 예를 들어, 웰 어레이 (111)에 배치되는 전체 마이크로웰의 개수 (111a)를 서브어레이 (111b)의 개수로 나눈 수의 마이크로웰 (111a)이 하나 이상의 서브어레이 (111b)에 각각 배치될 수 있고, 이에 따라 서브어레이 (111b)에는 100개, 200개, 300개, 400개, 500개, 600개, 700개, 800개, 900개, 1,000개, 2,000개 또는 5,000개의 마이크로웰 (111a)이 배치될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0059] 서브어레이 (111b)는 웰 어레이 (111)의 외측으로 돌출되도록 배치될 수 있고, 그에 따라 소정의 서브어레이 돌출 높이 (h1)가 형성될 수 있다.
- [0060] 서브어레이 돌출 높이 (h1)는 웰 어레이 (111)를 하나 이상의 개별 구획으로 구분하기에 충분한 높이일 수 있고, 예를 들어, 25 μm , 30 μm , 35 μm , 40 μm , 45 μm , 50 μm , 55 μm , 60 μm , 65 μm , 70 μm 또는 75 μm 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0061] 서브어레이 (111b)에 의해 웰 어레이 (111)가 구분되며 마이크로웰 (111a)이 집중적으로 배치된 구획이 형성될 수 있는 것이므로, 각 서브어레이 (111b)는 마이크로웰 (111a)의 “패널”로 지칭될 수 있다.
- [0062] 웰 어레이 (111)에 둘 이상의 서브어레이 (111b)가 배치되는 경우, 각 서브어레이 (111b)는 서로 소정의 거리 (11)만큼 이격되어 배치될 수 있으며, 예를 들어, 인접한 각 서브어레이 (111b)의 모서리를 기준으로 서로 300 μm , 400 μm , 500 μm , 600 μm , 700 μm , 800 μm 또는 900 μm 만큼 이격되어 배치될 수 있으나, 이에 한정되는 것

은 아니다.

- [0063] 샘플 로딩부 (110)는 제1돌출패턴 (112)을 포함할 수 있다.
- [0064] 제1돌출패턴 (112)은 웰 어레이 (111)의 둘레 또는 가장 바깥쪽의 서브어레이 (111b)의 가장 바깥쪽 모서리를 따라 배치될 수 있으며, 한 줄 이상의 패턴이 서로 이격되어 평행하게 배치될 수 있다.
- [0065] 예를 들어, 제1돌출패턴 (112)은 웰 어레이 (111)의 가장 바깥쪽의 서브어레이 (111b)의 가장 바깥쪽 모서리를 따라 배치되는 한 줄의 패턴으로 구성될 수 있다.
- [0066] 제1돌출패턴 (112)를 구성하는 한 줄 이상의 패턴은 연속적이거나 연속적이지 않은 직선 또는 곡선의 조합으로 구성될 수 있으며, 예를 들어, 제1돌출패턴 (112)은 도 1에 도시된 바와 같이 연속적인 직선 및 곡선의 조합으로 구성된 한 줄의 패턴으로 구성될 수 있다.
- [0067] 제1돌출패턴 (112)은 마이크로칩 (100)의 외측으로 돌출되도록 배치될 수 있고, 그에 따른 소정의 제1돌출패턴 돌출 높이 (h2)가 형성될 수 있다.
- [0068] 제1돌출패턴 돌출 높이 (h2)는 서브어레이 돌출 높이 (h1)와 같거나 다른 높이일 수 있고, 예를 들어, 25 μm , 30 μm , 35 μm , 40 μm , 45 μm , 50 μm , 55 μm , 60 μm , 65 μm , 70 μm 또는 75 μm 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0069] 제1돌출패턴 (112)은 웰 어레이 (111) 또는 가장 바깥쪽의 서브어레이 (111b)로부터 소정의 거리 (12)만큼 이격되어 배치될 수 있으며, 예를 들어, 가장 바깥쪽의 서브어레이 (111b)로부터 300 μm , 400 μm , 500 μm , 600 μm , 700 μm , 800 μm 또는 900 μm 만큼 이격되어 배치될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0070] 마이크로칩 (100)은 일면에 배치되는 음압 인가부 (120)를 포함할 수 있다.
- [0071] 음압 인가부 (120)는 마이크로칩 (100)의 일면과 타면이 연통되도록 하는 하나 이상의 관통공 (121)을 포함할 수 있다.
- [0072] 관통공 (121)에는 마이크로칩 (100)에 음압을 인가하기 위한 음압전달부재가 삽입될 수 있으며, 예를 들어 진공 펌프에서 발생하는 음압을 마이크로칩 (100)에 전달하기 위한 튜브가 관통공 (121)에 삽입될 수 있다.
- [0073] 따라서, 관통공 (121)은 음압 인가용 음압전달부재가 삽입되기에 적당한 형태를 지닐 수 있으며, 예를 들어, 원형의 밀면을 가지는 원기둥 형태의 관통공 (121)이 음압 인가부 (120)에 배치될 수 있다.
- [0074] 하나 이상의 관통공 (121)은 마이크로칩 (100)에 음압을 인가할 수 있는 적절한 위치에 배치될 수 있으며, 예를 들어, 두 개의 관통공 (121)이 사각형 형태의 샘플 로딩부 (110)를 둘러싸는 사각형 형태의 음압 인가부 (120)의 대향되는 두 변에 각각 배치되거나, 네 개의 관통공이 사각형 형태의 샘플 로딩부 (110)를 둘러싸는 사각형 형태의 음압 인가부 (120)의 각 변에 모두 배치될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0075] 관통공 (121)을 통해 마이크로칩 (100)의 웰 어레이 (111)에 음압을 인가하는 경우, 먼저 마이크로칩 (100)의 양면 중 웰 어레이 (111)가 배치된 일면을 시료가 부어진 받침부재에 밀착시키고, 마이크로칩 (100)의 양면 중 웰 어레이 (111)가 배치되지 않은 타면에서부터 일면 방향으로 음압전달부재를 관통공 (121)에 삽입하여 음압전달부재가 받침부재에 접촉되도록 한 후, 음압전달부재를 통해 마이크로칩 (100)에 음압을 인가함으로써 웰 어레이 (111)에 음압이 전달되도록 할 수 있다.
- [0076] 음압 인가부 (120)는 제2돌출패턴 (122)을 포함할 수 있다.
- [0077] 제2돌출패턴 (122)은 샘플 로딩부의 제1돌출패턴 (112)의 가장 바깥쪽의 패턴의 둘레를 따라 배치될 수 있으며, 한 줄 이상의 패턴이 서로 이격되어 평행하게 배치될 수 있다.
- [0078] 예를 들어, 제2돌출패턴 (122)은 한 줄의 패턴으로 구성된 제1돌출패턴 (112)의 둘레를 따라 배치되는 두 줄의 패턴으로 구성될 수 있다.
- [0079] 제2돌출패턴 (122)을 구성하는 한 줄 이상의 패턴은 연속적이거나 연속적이지 않은 직선 또는 곡선의 조합으로 구성될 수 있으며, 예를 들어, 제2돌출패턴 (122)은 도 1에 도시된 바와 같이 불연속적이며 일정한 간격으로 배치되는 직선 및 곡선의 조합으로 구성된 평행한 두 줄의 패턴으로 구성될 수 있다.
- [0080] 제2돌출패턴 (122)의 패턴이 불연속적인 경우, 제2돌출패턴 (122)을 구성하는 직선 또는 곡선은 서로 250 μm , 500 μm , 750 μm , 1,000 μm , 1,250 μm , 또는 1,500 μm 의 일정한 간격을 유지하며 각 줄의 패턴을 구성할 수

있다.

- [0081] 제2돌출패턴 (122)은 마이크로칩 (100)의 외측으로 돌출되도록 배치될 수 있고, 그에 따른 소정의 제2돌출패턴 돌출 높이 (h3)가 형성될 수 있다.
- [0082] 제2돌출패턴 돌출 높이 (h3)는 서브어레이 돌출 높이 (h1) 또는 제1돌출패턴 돌출 높이 (h2)와 같거나 다른 높이일 수 있고, 예를 들어, 25 μm , 30 μm , 35 μm , 40 μm , 45 μm , 50 μm , 55 μm , 60 μm , 65 μm , 70 μm 또는 75 μm 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0083] 제2돌출패턴 (122)은 제1돌출패턴 (112)의 가장 바깥쪽의 패턴으로부터 소정의 거리 (13)만큼 이격되어 배치될 수 있으며, 예를 들어, 제1돌출패턴 (112)의 가장 바깥쪽의 패턴으로부터 250 μm , 500 μm , 750 μm , 1,000 μm , 1,250 μm , 또는 1,500 μm 만큼 이격되어 배치될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0084] 제2돌출패턴 (122)이 두 줄 이상의 패턴으로 구성되는 경우, 각 패턴은 서로 제1돌출패턴 (112) 및 제2돌출패턴 (122) 간의 이격 거리 (13)와 동일한 거리만큼 이격되어 배치될 수 있다.
- [0085] 마이크로칩 (100)과 받침부재를 밀착시키는 경우, 마이크로칩 (100)에는 서브어레이, 제1돌출패턴 및 제2돌출패턴 간의 이격거리 (11, 12, 13) 및 돌출 높이 (h1, h2, h3)에 따라 유로 (131, 132, 133)가 형성될 수 있다.
- [0086] 구체적으로, 둘 이상의 서브어레이 (111b)가 서로 소정의 거리 (11)만큼 이격되어 배치될 때, 서브어레이의 돌출 높이 (h1)에 의해 웰 어레이 (111)상에 유로 (131)가 형성될 수 있고, 제1돌출패턴 (112)과 서브어레이 (111b)가 서로 소정의 거리 (12)만큼 이격되어 배치될 때, 제1돌출패턴 또는 서브어레이의 돌출 높이 (h2 또는 h1)에 의해 샘플 로딩부 (110)상에 유로 (132)가 형성될 수 있으며, 제2돌출패턴 (122)과 제1돌출패턴 (112)이 서로 소정의 거리 (13)만큼 이격되어 배치될 때, 제2돌출패턴 또는 제1돌출패턴의 돌출 높이 (h3 또는 h2)에 의해 음압 인가부 (120)상에 유로 (133)가 형성될 수 있다.
- [0087] 다만, 웰 어레이 (111)에 음압을 인가하기 위하여 마이크로칩 (100)을 받침부재에 밀착시킬 때, 서브어레이 (111b), 제1돌출패턴 (112) 및 제2돌출패턴 (122) 중 가장 큰 돌출 높이를 갖는 구성이 받침부재에 밀착하게 되고, 그 결과 받침부재와 밀착되지 않은 구성은 마이크로칩 (100)상에 유로를 형성하기 위한 격벽으로서의 역할을 수행할 수 없게 된다.
- [0088] 따라서, 서브어레이 (111b), 제1돌출패턴 (112) 및 제2돌출패턴 (122)의 구성 전부에 의해 마이크로칩 (100)상에 유로 (131, 132, 133)가 형성되도록 하기 위해, 각 구성의 돌출 높이는 모두 동일한 것으로 조절될 수 있다 (h1 = h2 = h3 = h).
- [0089] 마이크로칩 (100)과 받침부재의 밀착에 따라 형성되는 유로 (131, 132, 133)는 서브어레이 (111b), 제1돌출패턴 (112) 또는 제2돌출패턴 (122)의 이격 거리 (11, 12 또는 13)만큼의 유로 폭을 가지며, 각 구성의 돌출 높이 (h1 = h2 = h3 = h)만큼의 유로 높이를 가지게 된다.
- [0090] 유로 (131, 132, 133)가 형성됨에 따라, 마이크로칩 (100)이 받침부재와 밀착되는 경우라도 웰 어레이 (111)상에 적용되는 샘플은 개별 유로 (131, 132, 133)를 통해 유동될 수 있으며, 따라서 마이크로칩 (100)에 음압 인가 시 마이크로웰 (111a)에 로딩이 완료된 후의 잔여 샘플이 유로 (131, 132, 133)를 통해 효과적으로 배출되어 웰 어레이 (111) 상의 잔여 샘플에 의해 발생하는 수막 (water film)이 제거될 수 있다.
- [0091] 마이크로칩상에 형성된 유로 (131, 132, 133)는 음압 인가에 따라 샘플이 배출될 수 있도록 하므로, 각 유로는 “음압 채널”로 지칭될 수 있다.
- [0092] 마이크로칩 (100)의 샘플 로딩부 (110) 및 음압 인가부 (120)는 각 구성을 구분하는 이음새가 있거나 없을 수 있으며, 이는 마이크로칩 (100)의 제조 방법에 따라 결정될 수 있다.
- [0093] 예를 들어, 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로칩 (100)의 개별 구성을 각각 제작한 후, 임의의 접합 과정을 거쳐 각 구성을 모두 조립하는 경우, 샘플 로딩부 (110) 및 음압 인가부 (120) 간에 접합 이음새가 존재하게 된다.
- [0094] 반면, 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로칩 (100)을 제작하기 위한 몰드를 사전에 제작한 후, 몰드에 마이크로칩 제작 소재를 적용하여 사출 성형하는 방식으로 마이크로칩 (100)을 제작하는 경우, 샘플 로딩부 (110) 및 음압 인가부 (120)는 접합 이음새가 존재하지 않는 일체형으로서 마이크로칩 (100)을 구성하게 된다.
- [0095] 마이크로칩 (100)은 수분 투과 방지 소재로 구성될 수 있으며, 예를 들어, 유리, 고분자화합물, 금속 또는 세라

믹으로 구성될 수 있다.

- [0096] 마이크로칩 (100)이 고분자화합물로 구성되는 경우, 마이크로칩 (100)은 플라스틱 소재로 구성될 수 있고, 예를 들어 폴리메틸 메타크릴레이트, 폴리에틸렌 테레프탈레이트, 폴리페닐렌 에테르, 폴리아미드, 폴리카보네이트, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리이미드, 폴리스티렌, 폴리우레탄, 환형 올레핀 중합체 또는 환형 올레핀 공중합체 등의 소재로 구성될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0097] 마이크로칩 (100)은 친수성 성분으로 코팅됨으로써 표면에 친수성 코팅층이 배치될 수 있다. 친수성 코팅층은 샘플 로딩부 (110) 및 음압 인가부 (120) 모두에 배치될 수 있고, 이때 샘플 로딩부 (110) 및 음압 인가부 (120)의 구조 중 외기와 접하는 모든 면에 친수성 코팅층이 배치될 수 있다.
- [0098] 친수성 코팅을 위한 친수성 성분으로는 친수성 용매에 친수성 고분자, 산화 규소, 금속 산화물 또는 이들의 혼합물이 용해된 용액을 사용할 수 있으며, 이는 시중에서 유통되는 친수성 코팅제를 포함할 수 있다.
- [0100] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 하우징의 분해 사시도의 탑 뷰이고, 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 하우징의 분해 사시도의 바텀 뷰이고, 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 하부 하우징의 사시도이고, 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 상부 하우징의 사시도이다.
- [0101] 도 2 내지 도 5를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 하우징 (1000)은 하부 하우징 (200), 받침부재 (300), 마이크로칩 (100) 및 상부 하우징 (400)을 포함할 수 있다.
- [0102] 하부 하우징 (200)은 중앙의 소정의 영역이 개구될 수 있고, 이에 따라 하부 하우징 (200)에 별도의 커버부재를 적용함으로써 광선이 샘플 로딩 하우징 (1000)을 투과하지 못하도록 하거나, 또는 별도의 커버부재를 적용하지 않음으로써 광선이 샘플 로딩 하우징 (1000)을 투과하도록 하여 육안으로 마이크로칩 (100)을 관찰할 수 있도록 할 수 있다.
- [0103] 하부 하우징 (200)은 제1장착홈 (201)을 포함할 수 있다.
- [0104] 제1장착홈 (201)은 하부 하우징 (200)의 개구된 영역의 둘레를 따라 하부 하우징 (200)이 함입됨으로써 형성되는 것일 수 있다.
- [0105] 제1장착홈 (201)은 받침부재 (300)가 하부 하우징 (200)에 결합되기에 적합한 정도로 함입될 수 있으며, 예를 들어, 제1장착홈 (201)은 함입면의 한 변의 길이가 하부 하우징 (200)의 개구된 영역의 한 변의 길이보다 1,000 μm , 1,500 μm , 2,000 μm , 2,500 μm 또는 3,000 μm 더 긴 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0106] 하부 하우징 (200)은 하부 하우징 (200)의 상측과 하측이 연통되도록 하는 둘 이상의 제1체결공 (202)을 포함할 수 있다.
- [0107] 둘 이상의 제1체결공 (202)은 하부 하우징 (200)과 상부 하우징 (400) 간의 최적의 체결이 이루어질 수 있도록 하는 적합한 위치에 배치될 수 있으며, 예를 들어, 네 개의 제1체결공 (202)이 사각형 형태의 하부 하우징 (200)의 각 꼭짓점 영역에 배치될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0108] 제1체결공 (202)에는 체결을 위한 임의의 체결부재가 삽입될 수 있고, 예를 들어, 볼트-너트 체결을 위한 나사가 삽입될 수 있다.
- [0109] 제1체결공 (202)에 볼트-너트 체결 소재가 삽입되는 경우, 제1체결공 (202)의 내측면에는 나사의 상하운동을 지지하기 위한 나사산이 배치될 수 있다.
- [0110] 제1체결공 (202)의 일측과 타측의 개구면의 형태 및 크기는 서로 같거나 다를 수 있으며, 예를 들어, 제1체결공 (202)의 일측에 볼트 또는 스크류의 헤드가 위치할 수 있도록 하기 위해 제1체결공 (202)의 일측은 타측에 비해 더 큰 직경을 갖는 원형의 개구면을 가지거나, 또는 제1체결공 (202)의 일측에 너트가 위치할 수 있도록 하기 위해 제1체결공 (202)의 일측은 타측과 상이한 육각형의 개구면을 가질 수 있다.
- [0111] 샘플 로딩 하우징 (1000)은 받침부재 (300)를 포함할 수 있다.
- [0112] 받침부재 (300)는 제1장착홈 (201)에 결합되기에 적합한 형태와 크기로 구성될 수 있고, 받침부재 (300)는 제1장착홈 (201)의 함입 깊이 이상의 두께로 구성될 수 있다. 이에 따라, 받침부재 (300)를 제1장착홈 (201)에 결합했을 때, 받침부재 (300)는 하부 하우징 (200)의 일측과 평면을 이루거나, 하부 하우징 (200)의 일측보다 더

돌출될 수 있다.

- [0113] 받침부재 (300)는 광투과성을 지닌 임의의 소재로 구성될 수 있고, 예를 들어, 유리, 플라스틱 또는 PET 필름 등으로 구성될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0114] 샘플 로딩 하우징 (1000)은 마이크로칩 (100)을 포함할 수 있다.
- [0115] 마이크로칩 (100)은 웰 어레이 (111)가 배치된 일면이 받침부재 (300)와 접하도록 배치될 수 있으며, 마이크로칩 (100)의 구성에 관한 구체적인 실시예는 도 1을 참조하여 전술되었다.
- [0116] 마이크로칩의 웰 어레이 (111)가 받침부재 (300)와 접하도록 배치함으로써, 음압을 인가하기 위한 음압전달부재를 웰 어레이 (111)가 배치되지 않은 타면에서부터 일면 방향으로 관통공 (121)에 삽입하여, 받침부재 (300)와 접촉한 음압전달부재가 받침부재 (300)와 웰 어레이 (100) 사이의 공간에 음압을 인가하도록 할 수 있다.
- [0117] 샘플 로딩 하우징 (1000)은 상부 하우징 (400)을 포함할 수 있다.
- [0118] 상부 하우징 (400)은 중앙의 소정의 영역이 개구될 수 있고, 이에 따라 상부 하우징 (400)에 별도의 커버부재를 적용함으로써 광선이 샘플 로딩 하우징 (1000)을 투과하지 못하도록 하거나, 또는 별도의 커버부재를 적용하지 않음으로써 광선이 샘플 로딩 하우징 (1000)을 투과하여 육안으로 마이크로칩 (100)을 관찰할 수 있도록 할 수 있다.
- [0119] 상부 하우징 (400)은 제2장착홈 (401)을 포함할 수 있다.
- [0120] 제2장착홈 (401)은 상부 하우징 (400)의 개구된 영역의 둘레를 따라 상부 하우징 (400)이 함입됨으로써 형성되는 것일 수 있다.
- [0121] 제2장착홈 (401)은 마이크로칩 (100)이 상부 하우징 (400)에 결합되기에 적합한 정도로 함입될 수 있으며, 예를 들어, 제2장착홈 (401)은 함입면의 한 변의 길이가 상부 하우징 (400)의 개구된 영역의 한 변의 길이보다 1,000 μm , 1,400 μm , 1,800 μm , 2,200 μm , 2,600 μm 또는 3,000 μm 더 긴 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0122] 제2장착홈 (401)은 마이크로칩 (100)의 두께 이하의 깊이로 함입될 수 있다. 이에 따라, 마이크로칩 (100)을 제2장착홈 (401)에 결합했을 때, 마이크로칩 (100)은 상부 하우징 (400)의 일측과 평면을 이루거나, 상부 하우징 (401)의 일측보다 더 돌출될 수 있다.
- [0123] 상부 하우징 (400)은 상부 하우징 (400)의 상측과 하측이 연통되도록 하는 둘 이상의 제2체결공 (402)을 포함할 수 있다.
- [0124] 둘 이상의 제2체결공 (402)은 체결부재를 통해 제1체결공 (202)과 체결될 수 있도록 하기 위해, 제1체결공 (202)과 대응되는 상부 하우징 (400) 상의 위치에 배치될 수 있으며, 예를 들어, 사각형 형태의 하부 하우징 (200)의 각 꼭짓점 영역에 배치되는 네 개의 제1체결공 (202)에 대응하여, 네 개의 제2체결공 (402)이 사각형 형태의 상부 하우징 (400)의 각 꼭짓점 영역에 배치될 수 있다.
- [0125] 제2체결공 (402)에는 체결을 위한 임의의 체결부재가 삽입될 수 있고, 예를 들어, 볼트-너트 체결을 위한 나사가 삽입될 수 있다.
- [0126] 제2체결공 (402)에 볼트-너트 체결 소재가 삽입되는 경우, 제2체결공 (402)의 내측면에는 나사의 상하운동을 지지하기 위한 나사산이 배치될 수 있다.
- [0127] 제2체결공 (402)의 일측과 타측의 개구면의 형태 및 크기는 서로 같거나 다를 수 있으며, 예를 들어, 제2체결공 (402)의 일측에 볼트 또는 스크류의 헤드가 위치할 수 있도록 하기 위해 제2체결공 (402)의 일측은 타측에 비해 더 큰 직경을 갖는 원형의 개구면을 가지거나, 또는 제2체결공 (402)의 일측에 너트가 위치할 수 있도록 하기 위해 제2체결공 (402)의 일측은 타측과 상이한 육각형의 개구면을 가질 수 있다.
- [0128] 제1체결공 (202) 및 제2체결공 (402)에 체결부재를 삽입함으로써 하부 하우징 (200)과 상부 하우징 (400)이 체결될 수 있다.
- [0129] 각 체결공에 삽입될 수 있는 체결부재의 종류는 한정되지 않으며, 제1체결공 (202)에 삽입되는 제1체결부재가 제2체결공 (402)에 삽입되는 제2체결부재와 맞물리거나, 또는 각 체결공 (202, 402) 외부에 배치되며 각 체결부재와 맞물릴 수 있는 추가적인 체결부재가 도입됨으로써, 하부 하우징 (200)과 상부 하우징 (400)이 체결될 수

있다.

- [0130] 예를 들어, 제1체결공 (202)과 제2체결공 (402) 내측면에 나사산이 형성되는 경우, 제1체결공 (202) 및 제2체결공 (402)에 볼트 및 너트가 삽입됨으로써 하부 하우징 (200)과 상부 하우징 (400)이 볼트-너트 체결 방식을 통해 체결될 수 있다.
- [0131] 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 하우징 (1000)은 실링부재 (500)를 더 포함할 수 있다.
- [0132] 실링부재 (500)는 받침부재 (300)에 인접하며 마이크로칩 (100) 둘레를 따라 마이크로칩 (100) 주위에 배치될 수 있다.
- [0133] 실링부재 (500)가 마이크로칩 (100)의 둘레 주위에 배치됨으로써 마이크로칩 (100) 및 그 주변 공간은 밀폐될 수 있고, 이에 따라 마이크로칩 (100)에 음압이 인가될 때 외부 대기와의 공기 흐름 없이 효과적으로 음압 환경이 형성될 수 있다.
- [0134] 실링부재 (500)는 외부 압력이 가해질 때 일정 정도 압착되고, 외부 압력의 해체에 따라 원상태로 복구될 수 있는 탄성을 지닌 소재로 구성될 수 있으며, 예를 들어, 실링부재 (500)는 합성 고무 또는 합성 플라스틱 수지로 구성될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0135] 샘플 로딩 하우징 (1000)에 실링부재 (500)가 더 포함되는 경우, 상부 하우징 (400)의 하측면에는 실링부재 (500)가 결합될 수 있도록 하는 제3장착홈 (403)이 배치될 수 있다.
- [0136] 실링부재 (500)가 제3장착홈 (403)에 결합되는 경우, 샘플 로딩 하우징 (1000)에 음압 인가 시 실링부재 (500)가 기존의 위치에서 이탈되지 않음으로써 효과적인 음압 환경이 구축될 수 있다.
- [0137] 실링부재 (500)가 제3장착홈 (403)에 결합되었을 때 실링부재 (500)가 돌출되는 정도는 마이크로칩 (100)을 제2장착홈 (401)에 결합했을 때 돌출되는 정도보다 크거나 같을 수 있다.
- [0138] 결합된 실링부재 (500)의 돌출 정도가 결합된 마이크로칩 (100)의 돌출 정도보다 작은 경우, 마이크로칩 (100) 주변의 공간이 밀폐되지 않아 마이크로칩 (100)에 대한 음압 인가가 정상적으로 이루어지지 않을 수 있는 반면, 결합된 실링부재 (500)의 돌출 정도가 결합된 마이크로칩 (100)의 돌출 정도보다 일정 수준 이상 큰 경우, 마이크로칩 (100)에 하부 하우징 (200) 및 상부 하우징 (400)의 체결에 의한 압력이 전달되지 않아 음압 인가 과정에서 마이크로칩 (100)이 기존 위치에서 이탈할 수 있다.
- [0139] 따라서, 효율적인 음압 인가 환경을 구축하기 위해 마이크로칩 (100)의 두께에 따라 제2체결홈 (401)과 제3체결홈 (403)의 함입 깊이, 및 실링부재 (500)의 두께를 적절하게 조절할 수 있다.
- [0141] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템의 사시도이다.
- [0142] 도 6을 참조하면, 샘플 로딩 시스템은 샘플 로딩 하우징 (1000), 및 이에 음압을 인가하는 음압 인가 장치 (2000)를 포함할 수 있다.
- [0143] 샘플 로딩 하우징 (1000)은 하부 하우징 (200), 상부 하우징 (400)을 포함할 수 있고, 하부 하우징 (200)과 상부 하우징 (400)의 내부에 마이크로칩 (100)이 배치될 수 있다.
- [0144] 샘플 로딩 하우징 (1000) 조립 시, 마이크로칩 (100)은 웰 어레이가 배치된 일면이 하부 하우징 (200)을 향하도록 배치될 수 있으며, 이에 따라 마이크로칩 (100)의 웰 어레이가 배치되지 않은 타면이 상부 하우징 (200)의 개구된 영역으로 노출될 수 있다.
- [0145] 마이크로칩 (100)이 투명한 소재로 구성되는 경우, 도 6에 도시된 바와 같이 상부 하우징 (200)의 개구된 영역을 통해 마이크로칩 (100)의 웰 어레이를 육안으로 관찰할 수 있다.
- [0146] 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템을 이용한 샘플 분석 시, 마이크로칩 (100)을 웰 어레이가 배치된 일면이 하부 하우징 (200)을 향하도록 배치하고 하부 하우징 (200)이 지면을 향하도록 배치함으로써, 샘플 분석을 위해 마이크로칩 (100)을 가열할 때 샘플이 증발하여 마이크로웰에서 유출되는 것을 방지할 수 있다.
- [0147] 음압 인가 장치 (2000)는 음압 생성부 (2100), 밸브부 (2200), 연결부 (2300) 및 하나 이상의 음압전달부재 (2400)를 포함할 수 있다.
- [0148] 음압 생성부 (2100)는 물리화학적 방식으로 특정 공간 내 기체를 배기하여 음압을 생성할 수 있으며, 예를

들어, 음압 생성부 (2100)로서 회전식, 확산식, 냉각식, 이온식 또는 터보식 진공 펌프 등을 사용할 수 있다.

[0149] 음압 생성부 (2100)는 특정 공간에 인가되는 음압에 따라 음압 생성부 (2100)로 흡입되는 유체를 음압 인가 장치 (2000) 외부로 토출하기 위한 별도의 배출구를 더 포함할 수 있다.

[0150] 음압 생성부 (2100)에 의해 생성된 음압이 음압전달부재 (2400)를 통해 샘플 로딩 하우징 (1000)에 전달됨으로써 마이크로칩 (100)에 음압이 인가될 수 있다.

[0151] 음압 생성부 (2100)에 의한 음압 인가 시간이 적절히 조절됨으로써 마이크로칩 (100)의 마이크로웰 및 마이크로웰 외 배경 영역의 샘플링 비율이 최적화되어 샘플링이 효율적으로 수행될 수 있고, 예를 들어, 음압 생성부 (2100)를 통해 15초, 30초, 45초, 60초, 75초, 90초, 105초, 120초, 135초, 150초, 165초, 180초, 195초 또는 210초간 마이크로칩 (100)에 음압을 인가할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0152] 밸브부 (2200)는 음압 생성부 (2100)로부터 생성되는 음압의 전달을 조절할 수 있으며, 음압 생성부 (2100)의 작동이 중단된 이후에도 밸브부 (2200)의 조작을 통해 샘플 로딩 하우징 (1000) 내부에 이미 인가된 음압이 유지되도록 할 수 있다.

[0153] 연결부 (2300)는 밸브부 (2200)와 연결되며 음압 생성부 (2100)로부터 생성되는 음압을 하나 이상의 공간에 전달하기 위한 것으로, 연결부 (2300)는 음압 인가 장치 (2000) 내 기체의 일방향 및 다방향 흐름 간의 분지점이 될 수 있다.

[0154] 하나 이상의 음압전달부재 (2400)는 연결부 (2300)와 연결되어, 음압 생성부 (2100)로부터 생성되는 음압을 하나 이상의 공간에 전달할 수 있다.

[0155] 하나 이상의 음압전달부재 (2400)는 하나 이상의 관통공 (121)과 각각 연결될 수 있고, 웰 어레이가 배치되지 않은 마이크로칩 (100)의 타면에서부터 일면 방향으로 각각의 관통공 (121)에 삽입될 수 있다. 음압전달부재 (2400)는 튜브 등의 도관일 수 있다.

[0156] 음압전달부재 (2400)가 관통공 (121)에 삽입된 후, 삽입면의 틈새를 막기 위해 별도의 실링부재가 음압전달부재 (2400)와 관통공 (121) 사이에 배치될 수 있다.

[0157] 이하, 본 발명을 하기의 예시에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 예시는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 예시에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0159] 실시예 1: PDMS 소재를 이용한 마이크로칩 구조 최적화

[0160] 디지털 PCR을 수행하기 위한 음압 기반 마이크로칩을 고안함에 있어, 플라스틱으로 마이크로칩을 성형하는 경우 높은 제작 비용 및 장기간이 소요되므로, PDMS 소재를 통해 우선적으로 마이크로칩의 음압 채널 및 마이크로웰 패널 구조를 최적화하였다.

[0161] 구체적으로, 충분한 유량이 확보되도록 음압채널의 단면적을 넓게 설계하였으며, 단일 패널 당 마이크로웰 수가 많을 경우 불균일한 샘플링이 발생하였기에 패널 당 마이크로웰 수를 조정한 후 패널 간에 유로가 형성되도록 하여, 최종적으로 균일한 샘플링이 가능한 마이크로칩 구조를 설계하였다.

[0162] 또한, 마이크로칩에 음압이 인가될 수 있도록 하기 위해, 마이크로칩 외곽의 음압 채널상에 레이저 커팅을 통해 지름 1.5 mm의 구멍을 칩의 중심을 기준으로 대칭이 되도록 2개 추가하였고, 구조가 최적화된 PDMS 칩을 이용하여 음압 인가에 따른 샘플링 테스트를 진행하였으며, 그 결과를 표 7 및 표 8에 나타내었다.

표 1

	진공 인가 전	진공 인가 후	PCR 수행 후
샘플링 및 샘플 유지 효율 (%)	98.703	98.640	95.992

[0164] 테스트 결과, 음압 형성 여부와 관계없이 대부분의 마이크로웰에 샘플이 도포되었으며, PCR 과정에서 샘플 증발 현상은 나타나지 않은 것을 확인할 수 있다. 또한, 음압 형성 이후 마이크로웰 내부와 유로 간의 형광 세기 차이가 확연하게 증가한 것을 통해 잔여 샘플이 효과적으로 제거된 것을 확인할 수 있다.

[0166] 실시예 2: 마이크로칩의 제조 및 샘플링 성능 테스트

[0167] 2-1. 플라스틱 마이크로칩의 제조

[0168] 실시예 1에 따라 최적화된 마이크로칩 구조에 플라스틱 소재를 적용하여, 플라스틱 마이크로칩을 제조하였다. 플라스틱 칩은 플라스틱 중 폴리카보네이트를 소재로 하여 사출 성형 방식을 통해 제작되었다.

[0169] 구체적으로, 3차원 모델링을 기반으로 제작된 금형을 사출기에 삽입한 후, 호퍼에 폴리카보네이트 수지를 주입하였다. 주입된 수지는 스프루(관로)를 통해 성형부로 인가되고, 냉각 및 고화 과정을 거쳐 배출되었다. 마무리 공정으로 성형 시 사용된 스프루 및 러너를 절단하여 플라스틱 소재의 마이크로칩을 제작하였다.

[0170] 이에 따라 제작된 플라스틱 칩의 전체 크기는 58 x 58 x 1 mm이고, 내부 마이크로웰 부분은 48 x 48 mm의 면적을 가지며, 칩 상의 마이크로웰은 150 μ m의 직경과 100 μ m의 깊이를 가짐을 확인하였다.

[0172] 2-2. 친수성 코팅을 통한 마이크로칩의 표면 개질

[0173] 플라스틱 소재로 제작된 마이크로칩 표면의 소수성으로 인하여 샘플링 시 샘플이 마이크로웰에 제대로 로딩되지 않는 점을 해결하기 위해, 플라스틱 칩의 친수성 표면 개질을 진행하였다.

[0174] 구체적으로, 플라스틱 칩 표면을 1분간 산소 플라즈마를 이용하여 코팅한 후, 마이크로웰 표면에 S100, P100, PVA의 3가지 용액을 (100 μ L가량) 도포하였다. 이후, 칩을 30분간 오븐에 넣어 코팅액을 증발시키고, 정제수를 이용하여 3회 세척하였다. 질소 가스를 이용하여 잔존 용액을 제거한 후, 상온에 보관하였다.

[0176] 2-3. 친수성 코팅에 따른 마이크로칩 샘플링 성능 테스트

[0177] 플라스틱 마이크로칩 표면의 친수성 코팅 이후, FITC 용액을 플라스틱 칩상에 샘플링하여 칩의 샘플링 성능을 분석하였다.

[0178] 구체적으로, 친수성 코팅이 이루어진 마이크로칩에 FITC 용액을 도포한 후, 형광현미경을 이용하여 이미지를 촬영하였다. 촬영된 형광 이미지에서 자체 개발한 분석 알고리즘을 통해 샘플이 잔존한 것으로 판단되는 마이크로웰의 개수를 측정한 후, 마이크로칩상의 전체 마이크로웰 개수를 나눔으로써 친수성 코팅이 이루어진 마이크로칩의 샘플링 성능을 도출하였고, 그 결과를 표 2, 도 9 및 도 10에 나타내었다. 분석된 샘플링 성능은 백분율로 표기하였다.

표 2

		S100 용액	P100 용액	PVA 용액
샘플링 효율 (%)	플라즈마 도입 전	65.625	62.125	97.438
	플라즈마 도입 후	99.938	99.875	97.625

[0180] 분석 결과, 산소 플라즈마를 동반한 S100 및 P100 용액에서 99%로 가장 높은 샘플링 성능을 보였다.

[0182] 2-4. 표면 개질 마이크로칩의 장기 보관에 따른 샘플링 성능 테스트

[0183] 표면이 친수성으로 개질된 마이크로칩의 보관 기간에 따른 샘플링 성능을 테스트하였다.

[0184] 구체적으로, 마이크로칩의 코팅 직후 각 마이크로칩을 일괄적으로 진공 포장하여 공기 노출을 차단한 후 1개월 내지 4개월동안 보관하였다. 진공 포장된 마이크로칩의 포장을 1개월마다 해체하고, FITC 용액으로 보관된 마이크로칩의 샘플링 성능을 테스트하였고, 그 결과를 표 3 및 도 11에 나타내었다.

표 3

진공 포장 후 경과 기간	1개월	2개월	3개월	4개월
샘플링 효율	99.98	99.66	99.27	98.50

테스트 결과, 코팅 후 3개월까지 99%의 샘플링 성능을 보였으며 4달차부터 조금씩 감소하였다.

실시예 3: 샘플 로딩 하우징의 제조 및 증발 억제 성능 테스트

3-1. 샘플 로딩 하우징의 제조

플라스틱 마이크로칩이 내부에 배치될 수 있는 샘플 로딩 하우징은 레이저커팅 및 3D 프린팅 방식을 이용하여 제작되었다.

구체적으로, 모델링 프로그램을 이용하여 3차원 구조의 하우징 (하부 플레이트 및 상부 플레이트)을 설계한 후, 3D 프린터에 로딩하여 출력하였다. 출력물을 내부에 생성된 잔여 서포터들을 제거한 후, 사포를 이용하여 표면을 처리하였다. 표면이 처리된 상부 플레이트와 하부 플레이트에 각각 마이크로칩, 및 0링과 슬라이드 글래스를 장착한 후, 슬라이드 글래스 표면에 샘플을 로딩하였다. 이후, 마이크로웰이 샘플을 향하도록 하여 상부 플레이트를 덮은 후, 상부 플레이트와 하부 플레이트를 볼트-너트로 체결하였다.

3-2. 샘플 로딩 하우징의 증발 억제 성능 테스트

제조된 샘플 로딩 하우징에 있어서, 최적의 증발 억제 성능을 나타낼 수 있는 하우징의 제작 소재 및 체결 방식을 확인하기 위해, 다양한 제작 소재 및 체결 방식의 조합에 따른 증발 억제 성능 비교 테스트를 진행하였다.

구체적으로, 친수성 표면 개질된 마이크로칩에 FITC 용액을 샘플링 한 후, 2 개의 하우징 소재 (플라스틱, 3D 프린팅) 및 3 개의 체결방식 (자석, 0링, 볼트-너트)을 조합하여 샘플 로딩 하우징을 각각 구성하였다. 각각의 하우징마다 35 사이클의 PCR 과정을 진행한 후, 자체 개발한 형광 분석 알고리즘을 기반으로 마이크로칩상의 마이크로웰 중 샘플이 잔존한 마이크로웰의 개수를 분석하여 개별 하우징 조합의 증발 억제 성능을 비교하였고, 그 결과를 도 12에 나타내었다.

테스트 결과, 플라스틱 하우징을 이용한 경우에는 샘플 증발 현상이 나타난 반면, 3D 프린팅 하우징 소재를 이용하였을 때 높은 증발 억제 효과가 나타남을 확인하였다. 또한, 체결 방식에 있어서 자석이나 0링 보다 체결력이 높은 볼트-너트 체결 방식을 도입한 경우에 높은 증발 억제 성능을 기록하였다.

이에 따라, 최종적으로, 3D 프린팅 소재와 볼트-너트 결합을 통해 샘플 증발 억제 성능이 최적화된 샘플 로딩 하우징을 구성하였다.

실시예 4: 음압 인가 장치의 제조 및 음압 인가에 따른 샘플링 성능 테스트

4-1. 음압 인가 장치의 제조

본 발명의 샘플 로딩 하우징에 음압을 인가할 수 있는 음압 인가 장치는 단일 유압 펌프, 밸브, T-커넥터, 및 3D 프린팅을 통해 제작된 하우징으로 구성되었다.

구체적으로, 하우징에 고정된 유압 펌프에는 펌프 작동 중지 이후에도 음압이 유지될 수 있도록 2-방향 밸브가 장착되었으며, T-커넥터를 통해 단일 유압 펌프의 압력이 고르게 분산될 수 있도록 하였다. 이때, 밸브와 T-커넥터, 그리고 플라스틱 마이크로칩은 각각 1.3 mm 주사침, 피팅 (fitting), 그리고 플라스틱 칩의 구멍을 통해 1/16 인치 튜브로 연결되었다.

이와 같이 음압 인가 장치를 샘플 로딩 하우징에 연결함으로써 샘플 로딩 시스템을 완성하였으며, 샘플 로딩 시스템의 실제 구현 사진을 도 13에 나타내었다.

4-2. 음압 인가에 따른 마이크로칩의 샘플링 성능 테스트

디자인이 최적화된 플라스틱 마이크로칩에 대한 음압 인가를 통해 마이크로칩의 샘플링 성능을 검증하였다.

구체적으로, 형광 염료를 담지한 샘플을 칩에 로딩한 후, 칩을 고정하고 유압 펌프를 작동시켜 칩에 음압을 인가하였고, 형광 현미경을 이용하여 30초 간격으로 이미지를 촬영하였다. 촬영된 이미지를 바탕으로 라인 프로파일 (line profile) 분석을 진행하여 마이크로웰과 유로의 형광 세기를 측정하였고, 그 결과를 표 4, 표 5 및 도 14, 도 15에 나타내었다.

표 4

		음압 인가 시간 (s)					
		0	30	60	90	120	150
강도 (a.u.)	마이크로웰	97.313	94.435	97.235	90.798	79.298	65.297
	배경 영역	84.912	72.271	54.845	40.134	26.899	15.284

표 5

	음압 인가 시간 (s)					
	0	30	60	90	120	150
신호 대 잡음비 (a.u.)	1.146	1.306	1.770	2.262	2.948	4.272

테스트 결과, 30초 단위로 촬영된 형광 이미지들의 라인 프로파일 (line profile)을 분석한 결과 150초 후에 가장 낮은 배경 강도를 보였으며, 신호 대 잡음비 또한 시간에 따라 증가하여 최대 4배 이상의 형광 차이를 보였다. 이러한 결과를 바탕으로 펌프가 작동함에 따라 음압이 형성되어 수막이 제거되었으며, 따라서 유압 펌프 기반의 음압 시스템이 성공적으로 작동하였음을 확인하였다.

실시예 5: 샘플 로딩 시스템을 이용한 디지털 PCR 실험

음압 기반 샘플 로딩 시스템을 이용하여 디지털 PCR 실험을 진행하였다.

구체적으로, 휴먼 코로나바이러스(H1N1) DNA를 담지한 샘플을 각 농도별로 희석 (10 copies/uL 내지 5,000 copies/uL)한 후, 마이크로웰 표면에 로딩하였다. 체결된 칩에 음압 펌프를 30초간 작동시킨 후, 열전소자에 칩을 위치시켜 35 사이클의 PCR 과정을 진행하였다. PCR 과정이 완료된 후 형광현미경을 통해 이미지를 촬영하였고, 자체 개발한 형광 분석 알고리즘을 기반으로 전체 마이크로웰 중 샘플이 잔존하는 양성 웰의 수를 계산하여 샘플 로딩 시스템의 디지털 PCR 성능을 분석하였고, 그 결과를 표 6, 도 16 및 도 17에 나타내었다.

표 6

	예상 샘플 농도 (copies/uL)			
	1x10	1x10 ²	1x10 ³	5x10 ³
측정 샘플 농도 (copies/uL)	8.315 ± 1.295	116.904 ± 23.564	878.058 ± 35.765	5280.424 ± 76.163

분석 결과, 샘플의 농도가 증가함에 따라 증가한 양성 웰의 비율이 점차 증가하였으며, 푸아송 분포를 이용하여 휴먼 코로나바이러스 DNA의 초기 농도를 계산한 결과 기존 농도 대비 오차 20% 이내의 유사한 결과가 나타남을 확인하였다. 또한, 그래프의 선형도가 0.9877로 높게 나타나 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 로딩 시스템이 높은 정량분석 성능을 가짐을 확인하였다.

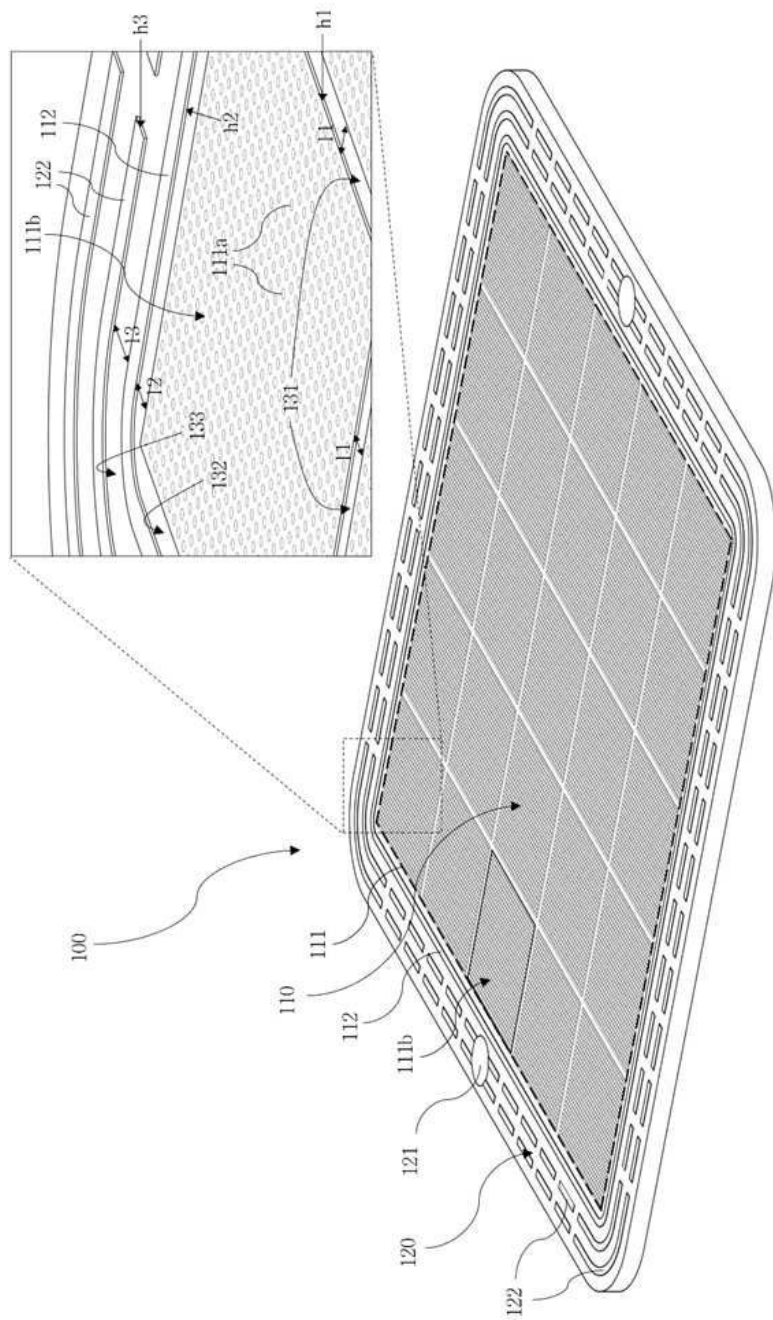
부호의 설명

100: 마이크로칩

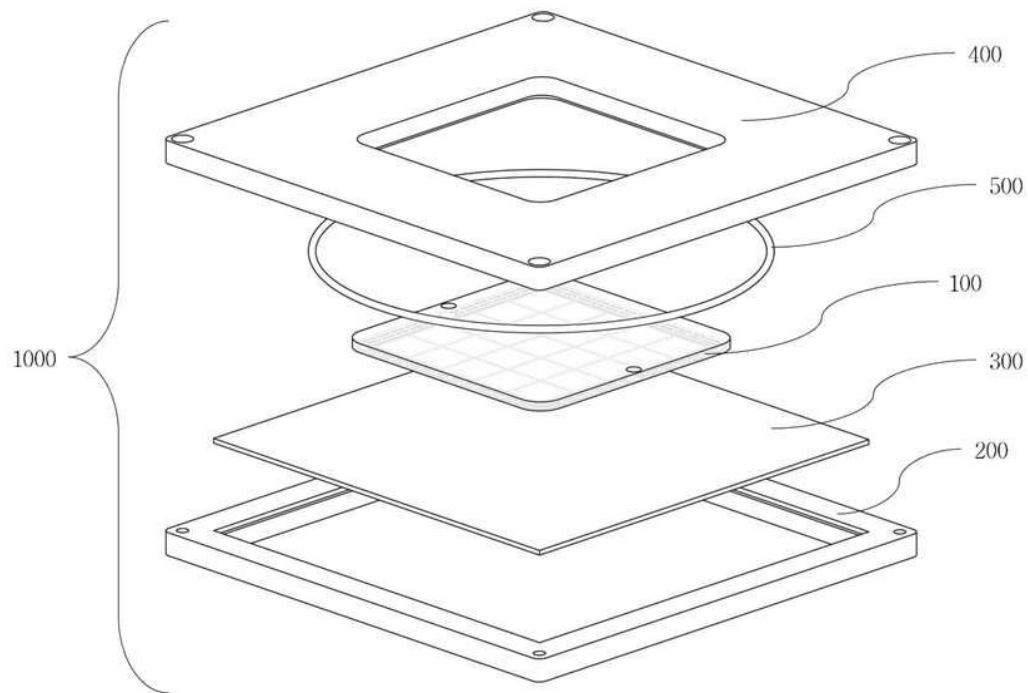
110: 샘플 로딩부
120: 음압 인가부
200: 하부 하우징
300: 받침부재
400: 상부 하우징
500: 실링부재
1000: 샘플 로딩 하우징
2000: 음압 인가 장치

도면

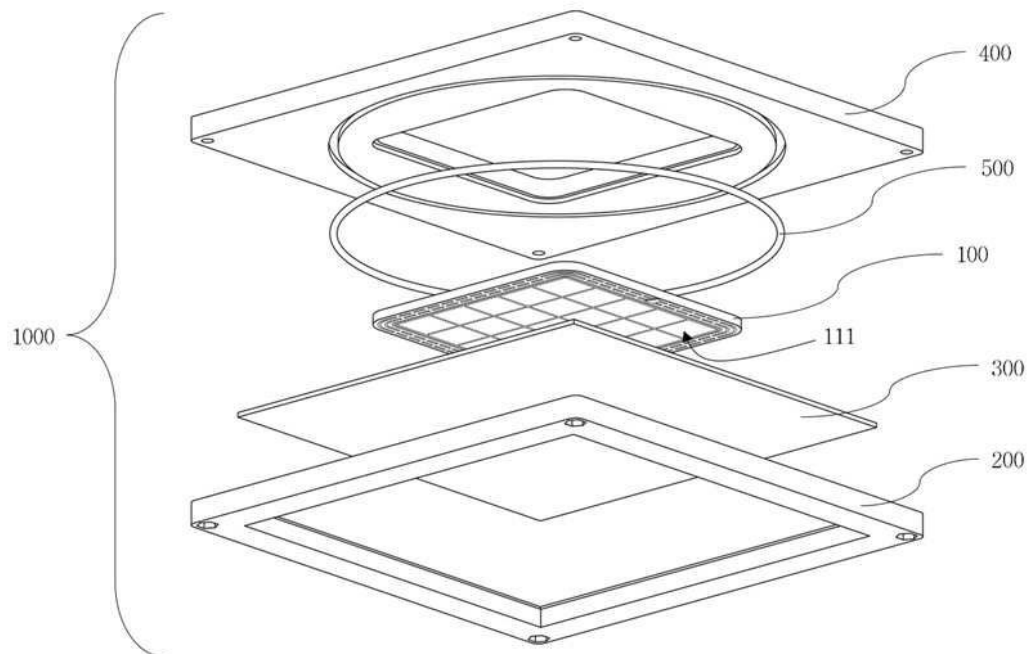
도면1



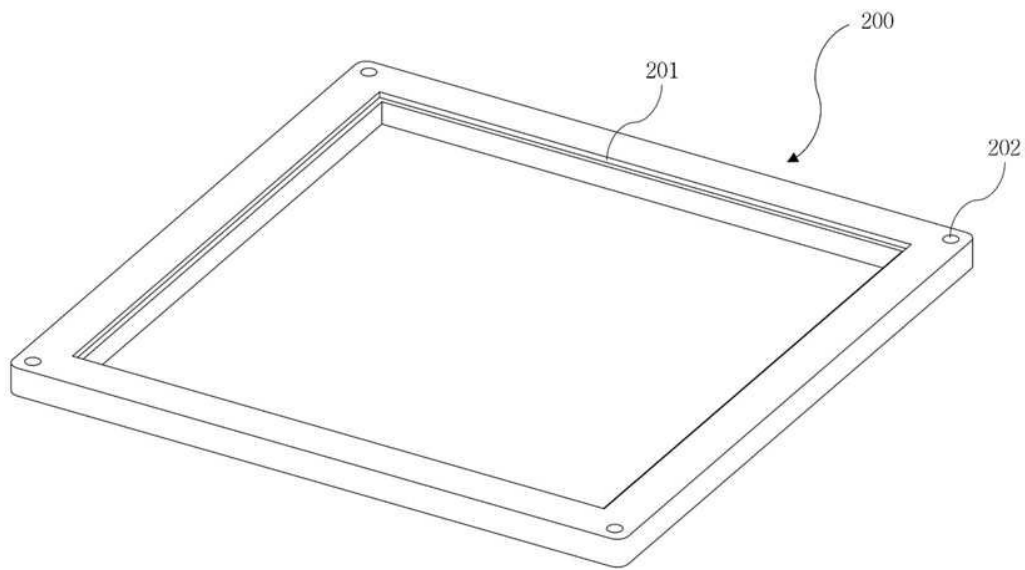
도면2



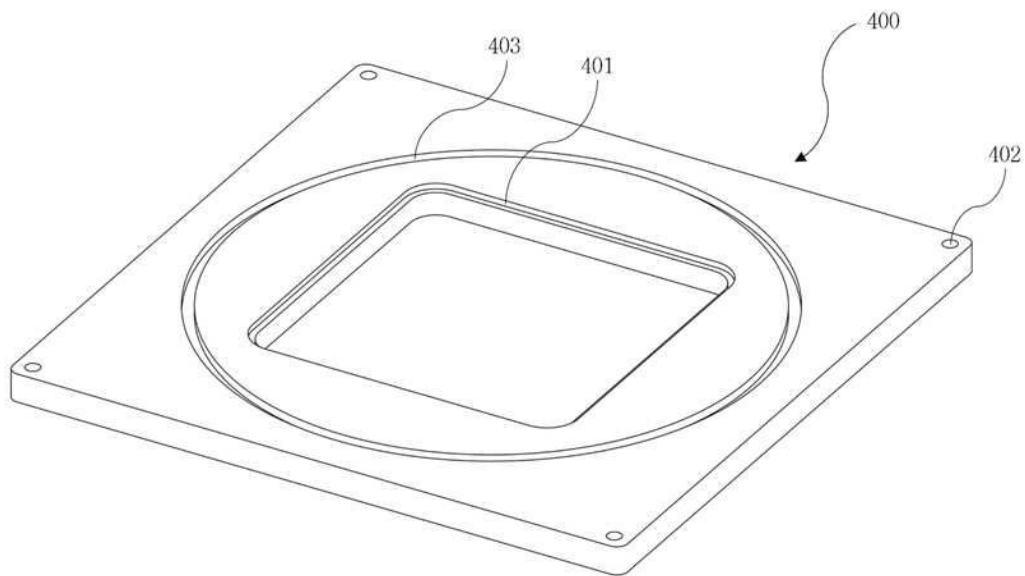
도면3



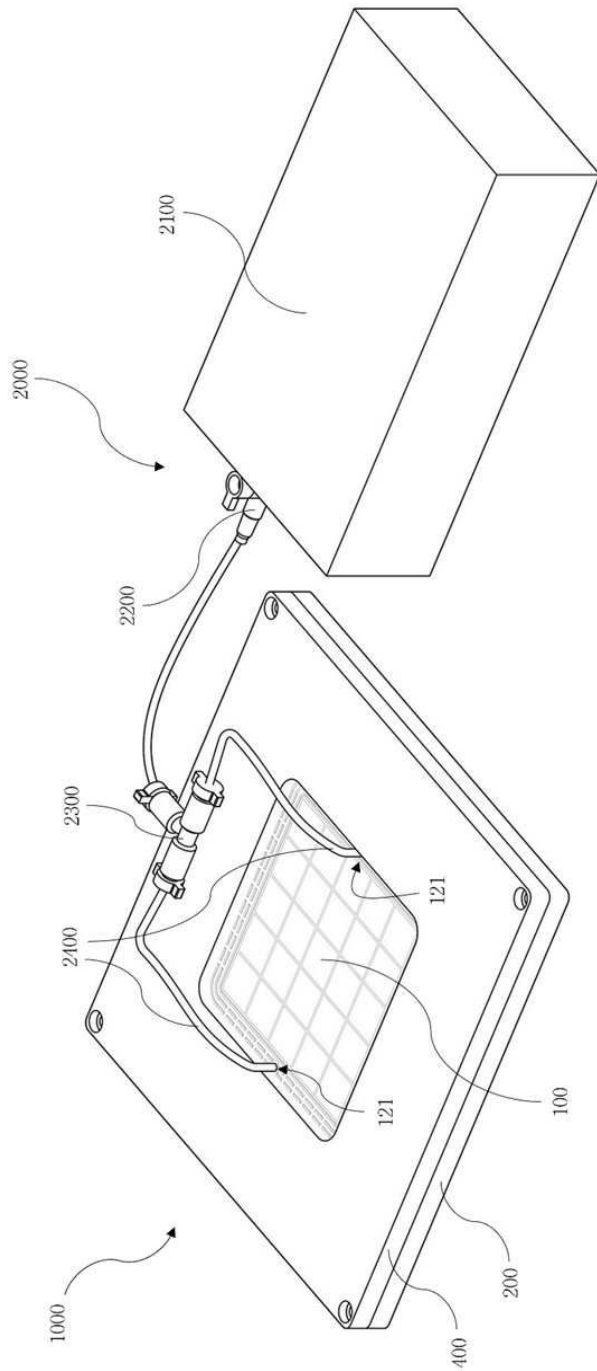
도면4



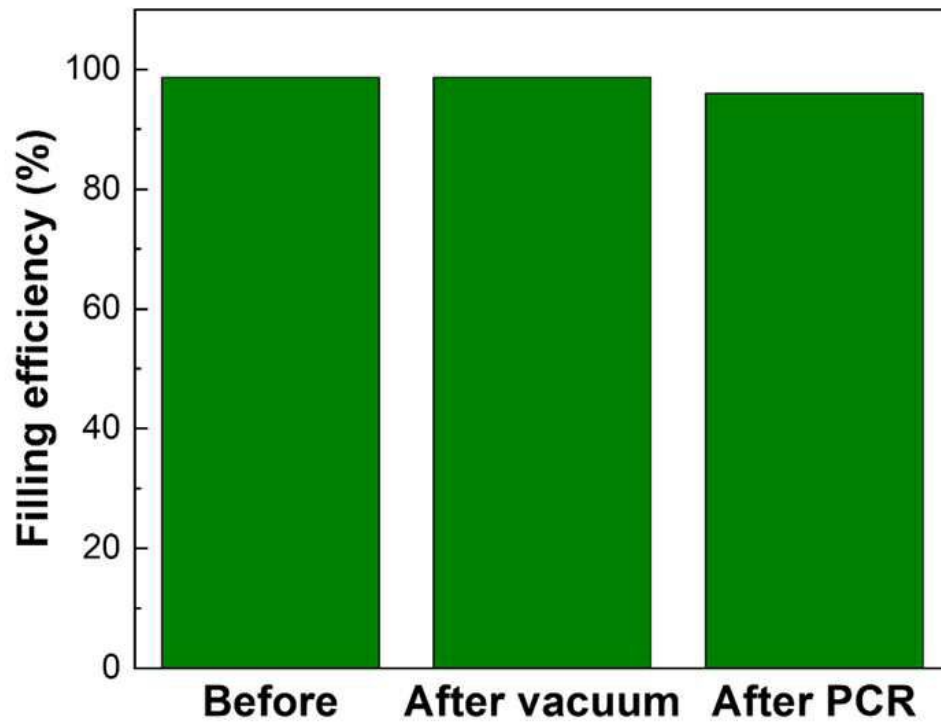
도면5



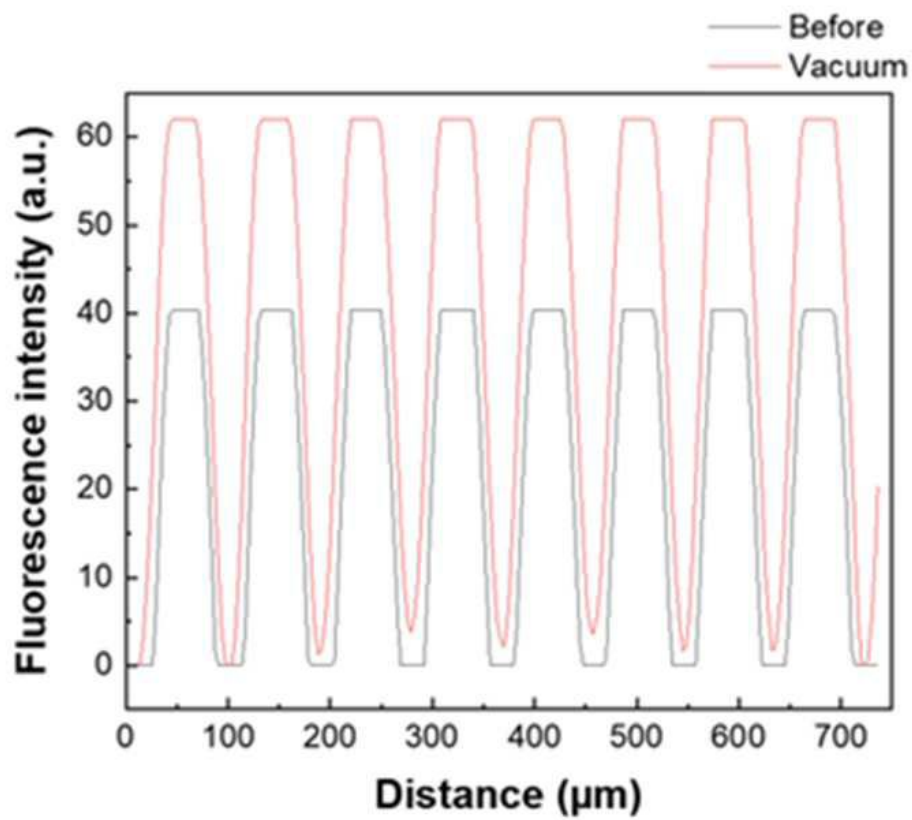
도면6



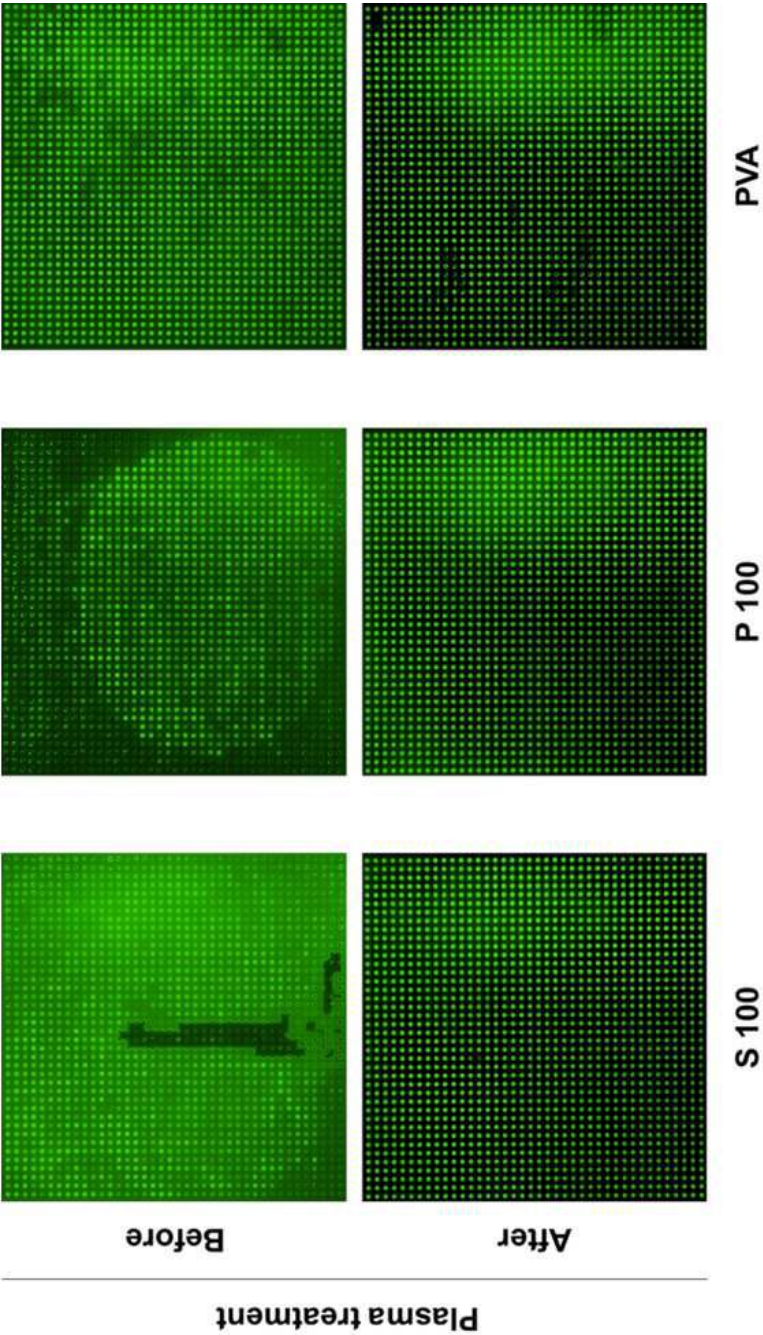
도면7



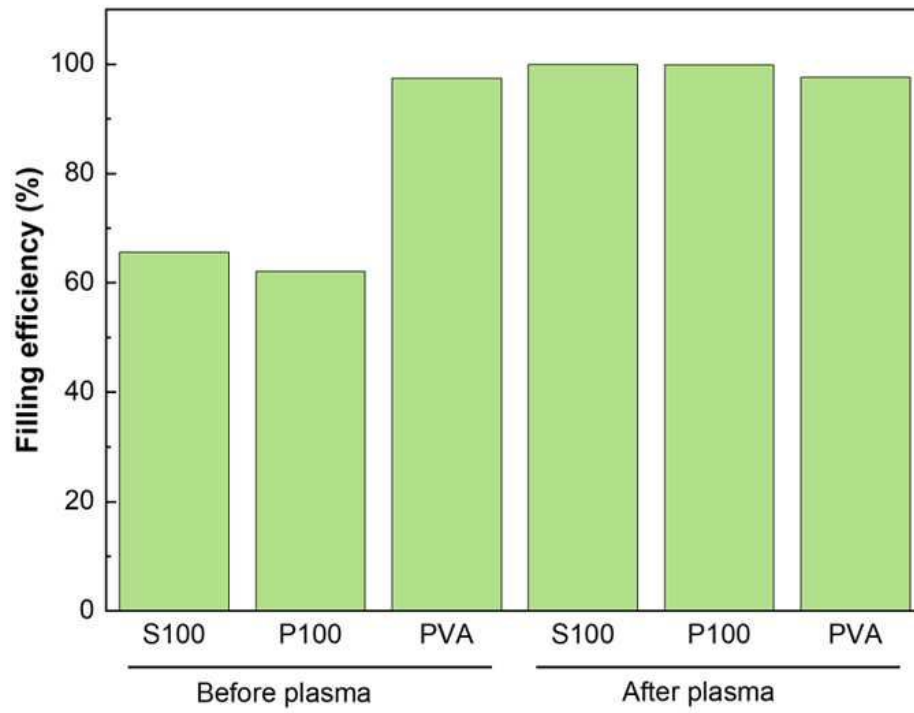
도면8



도면9



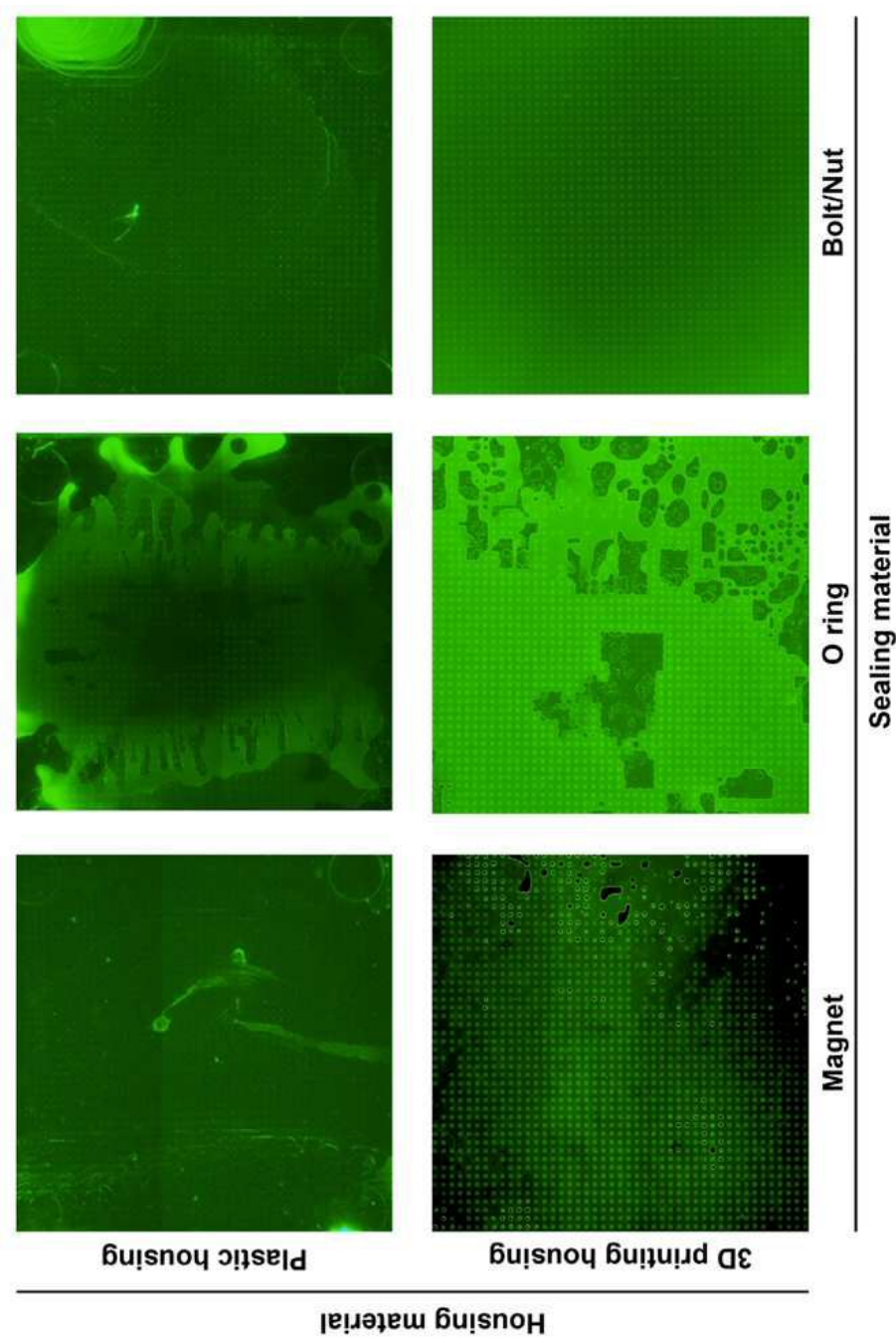
도면10



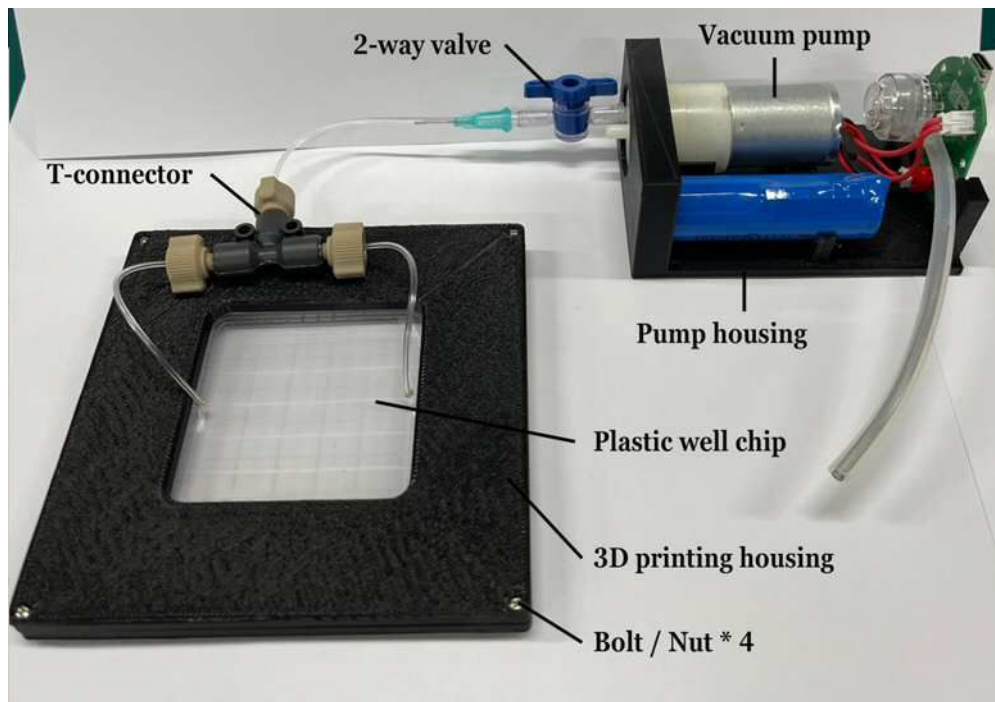
도면11

경과 기간	1개월	2개월	3개월	4개월
샘플링 결과				
	99.98%	99.66%	99.27%	98.50%
샘플링 효율				

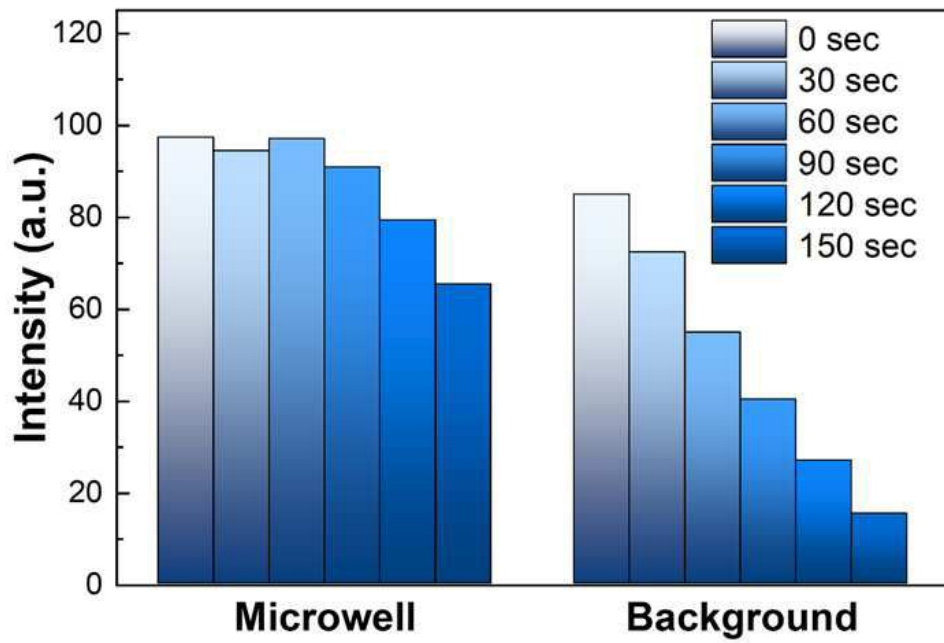
도면12



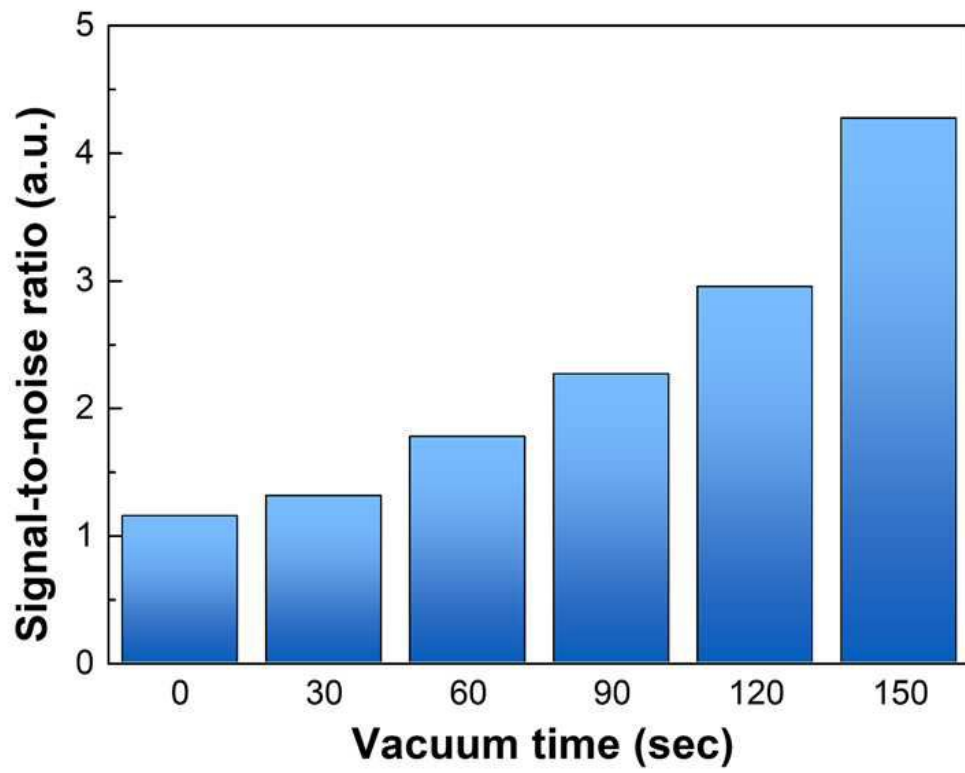
도면13



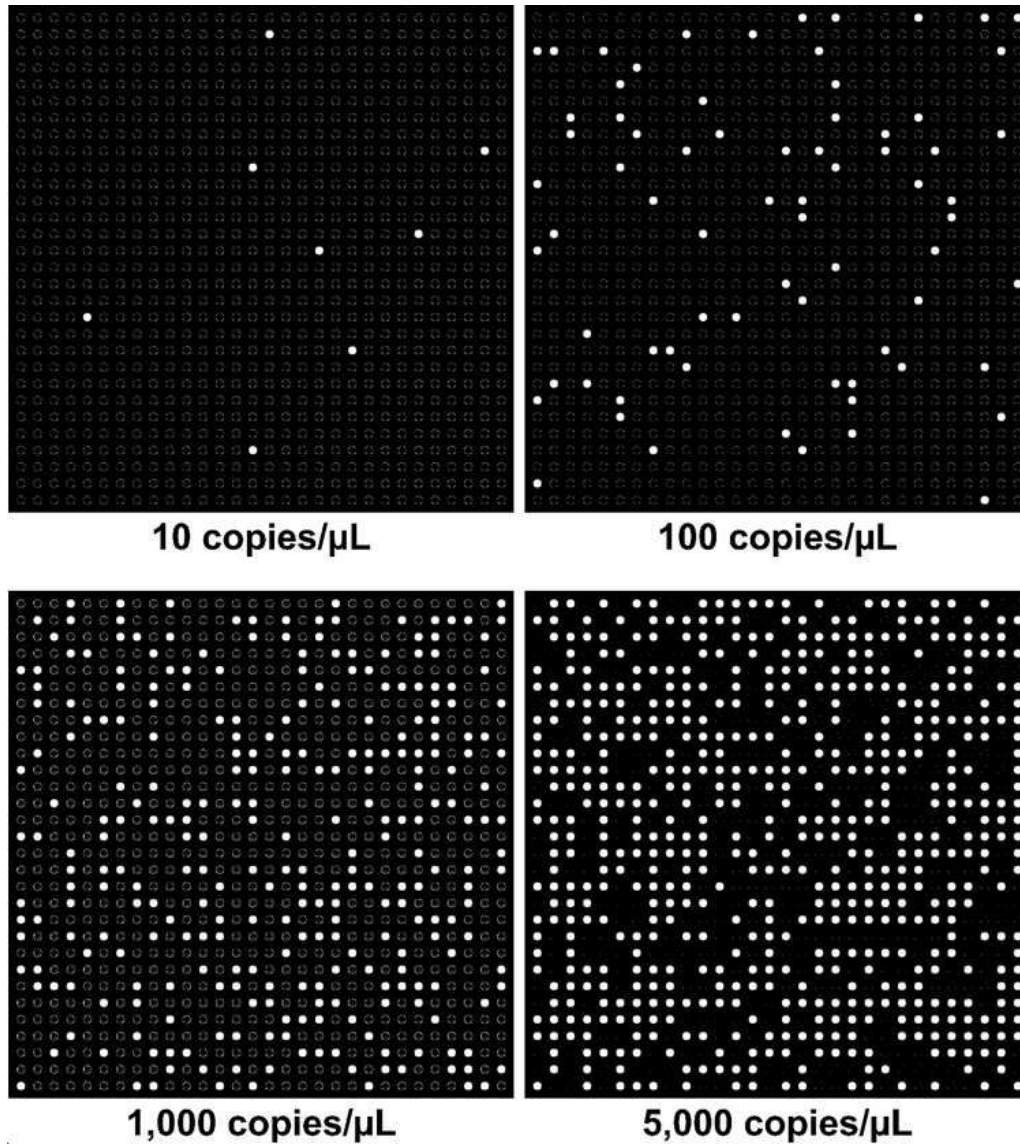
도면14



도면15



도면16



도면17

