



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년01월21일
(11) 등록번호 10-1940586
(24) 등록일자 2019년01월15일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2006.01) G01N 21/25 (2006.01)
G01N 21/82 (2006.01) G01N 33/543 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
B01L 3/5025 (2013.01)
G01N 21/253 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7014071(분할)
(22) 출원일자(국제) 2014년10월07일
심사청구일자 2018년05월17일
- (85) 번역문제출일자 2018년05월17일
(65) 공개번호 10-2018-0055936
(43) 공개일자 2018년05월25일
(62) 원출원 특허 10-2016-7011595
원출원일자(국제) 2014년10월07일
심사청구일자 2016년08월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2014/071399
(87) 국제공개번호 WO 2015/052162
국제공개일자 2015년04월16일
- (30) 우선권주장
13187975.1 2013년10월09일
유럽특허청(EPO)(EP)
- (56) 선행기술조사문헌
JP2001502795 A*
JP2011133364 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌
- (73) 특허권자
얀타이 아우스바이오 라보라토리즈 컴퍼니 리미티드
중국, 산둥, 예다 얀타이, 후아산 로드 넘버 2
- (72) 발명자
만 볼프강
독일 호르눔스라우터 95512 호르눔스라우터 22a
왕 자오치앙
중국 후아산 로드 넘버2 얀타이 246006
- (74) 대리인
김성호

전체 청구항 수 : 총 16 항

심사관 : 기광용

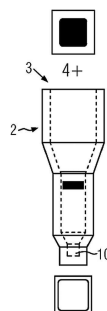
(54) 발명의 명칭 응집반응물 판정용 마이크로플레이트

(57) 요약

본 발명은 응집반응 결과 판정방법에 이용되는 마이크로플레이트에 관한 것이다. 응집 및 비응집 샘플 물질은 겔 물질 또는 비드 매트릭스와 같은 분리 물질의 수단에 의해 원심분리 단계에서 분리된다. 응집 반응이 일어났는지 아닌지는 각 반응조의 상부측 및 바닥측의 이미지들의 색상강도 및/또는 회색조를 비교함으로써 판정된다. 두 개

(뒷면에 계속)

대표도 - 도4a



이미지들의 색상강도 및/또는 회색조 비교는 신뢰성 있고 안정된 자동 판정을 이룬다. 나아가, 반응웹들은 고처리량을 제공하는 2차원 어레이로 배열된다.

(52) CPC특허분류

G01N 21/82 (2013.01)

G01N 33/54366 (2013.01)

B01L 2200/16 (2013.01)

B01L 2300/069 (2013.01)

B01L 2300/0829 (2013.01)

B01L 2300/0858 (2013.01)

B01L 2400/0409 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

응집반응 결과 판정방법으로,

- 웰(well) 내에서 샘플을 시약과 반응하게 하는 반응 단계를 포함하고, 여기서, 응집반응물 판정을 위한 마이크로플레이트(1)가 이용되고,
- 상기 웰(2)의 바닥벽(4)이 회전축(24)에 대해 외측으로 배치되도록 상기 마이크로플레이트(1)를 회전시키는 원심분리 단계를 포함하고, 여기서, 상기 원심분리 단계에서 분리 물질에 의해 응집된 샘플 물질이 비응집된 샘플 물질로부터 분리되고,
- 상기 마이크로플레이트(1)의 적어도 하나의 상부측 이미지와 상기 마이크로플레이트(1)의 적어도 하나의 바닥측 이미지를 획득하는 이미징 단계를 포함하고,
- 응집 반응에 대해 상기 웰(2) 내의 샘플이 양성인지 음성인지 판정하는 판정 단계를 포함하고, 여기서, 상기 마이크로플레이트의 상기 상부측 및 바닥측 이미지들에서 상기 웰의 색상강도 및 회색조 중 적어도 하나가 비교되며,

상기 마이크로플레이트는 2차원 어레이로 배치된 복수의 웰(2)들을 포함하고, 상기 웰들 중 적어도 하나는 분리 물질을 수용하는 분리 섹션(7)을 포함하고, 상기 분리 섹션(7)은 속이 빈 실린더와 하방으로 좁아지는 적어도 하나의 원뿔형부(conical portion)(9)를 포함하여, 상기 분리 물질을 관통하는 샘플 물질이 상기 웰(2)들 각각의 중앙에 집중되고, 상기 웰(2)들은 상기 웰의 바닥 끝단에서 상기 분리 물질을 관통하는 상기 샘플 물질을 수집하기 위한 수집 섹션(10)을 포함하고, 상기 수집 섹션(10)은 속이 빈 실린더의 형상을 가지며, 상기 분리 섹션(7)은 평평한 내측 벽면을 갖는 것인, 응집반응 결과 판정방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 원심분리 단계에서, 상기 마이크로플레이트(1)는 수평축을 중심으로 회전하는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 10

제8항에 있어서,

상기 원심분리 단계 이전에 인큐베이션 단계를 더 포함하는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 11

제8항에 있어서,

상기 분리 물질은 상기 시약을 수용한 혼탁액(suspension) 내에서 혼합되는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 분리 물질은 상기 시약을 수용한 혼탁액(suspension) 내에서 혼합되는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 13

제8항에 있어서,

상기 시약은 상기 분리 물질 상부에 구비되는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 14

제12항에 있어서,

상기 시약은 상기 분리 물질 상부에 구비되는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 15

제8항에 있어서,

상기 샘플은 혈액 세포 샘플을 포함하는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 16

제14항에 있어서,

상기 샘플은 혈액 세포 샘플을 포함하는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 17

제8항에 있어서,

상기 시약은 기설정된 항체 및 항원 중 적어도 하나를 포함하는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 18

제16항에 있어서,

상기 시약은 기설정된 항체 및 항원 중 적어도 하나를 포함하는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 19

제8항에 있어서,

상기 마이크로플레이트는 상기 방법의 초기에 속이 빈 웰들을 포함하고, 상기 반응 단계 이전에 적어도 몇몇 웰들이 분리 물질, 상기 시약 및 상기 샘플 물질로 채워지는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 20

제18항에 있어서,

상기 마이크로플레이트는 상기 방법의 초기에 속이 빈 웰들을 포함하고, 상기 반응 단계 이전에 적어도 몇몇 웰들이 분리 물질, 상기 시약 및 상기 샘플 물질로 채워지는 응집반응 결과 판정방법.

청구항 21

제8항에 있어서,

상기 분리 물질은 겔(gel) 또는 비드 매트릭스(bead matrix)인 응집반응 결과 판정방법.

청구항 22

제20항에 있어서,

상기 분리 물질은 겔(gel) 또는 비드 매트릭스(bead matrix)인 응집반응 결과 판정방법.

청구항 23

원심분리기(14), 웰(2)의 상부측을 검출하기 위한 카메라(44), 웰의 바닥측을 검출하기 위한 카메라(45) 및 제8항 내지 제22항 중 어느 한 항에 정의된 방법을 수행하는 제어 유닛을 포함하고, 응집반응물 판정을 위한 마이크로플레이트가 이용되는 검사 장치로서, 상기 마이크로플레이트는 2차원 어레이로 배치된 복수의 웰(2)들을 포함하고, 상기 웰들 중 적어도 하나는 분리 물질을 수용하는 분리 섹션(7)을 포함하고, 상기 분리 섹션(7)은 속이 빈 실린더와 하방으로 좁아지는 적어도 하나의 원뿔형부(conical portion)(9)를 포함하여, 상기 분리 물질을 관통하는 샘플 물질이 상기 웰(2)들 각각의 중앙에 집중되고, 상기 웰(2)들은 상기 웰의 바닥 끝단에서 상기 분리 물질을 관통하는 상기 샘플 물질을 수집하기 위한 수집 섹션(10)을 포함하고, 상기 수집 섹션(10)은 속이 빈 실린더의 형상을 가지며, 상기 분리 섹션(7)은 평평한 내측 벽면을 갖는 것인, 검사 장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 응집반응물 판정용 마이크로플레이트에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 혈액군 판정, 항원 또는 항체 시험, 또는 그 외 관련 면역혈액학 응용이나 사용을 위하여 겔카드(gel card)나 비드 카세트(bead cassette)와 같은 시험요소(test element)를 이용하는 것으로 알려져 있다. 이런 검사 요소들은 보통 광학적으로 투명하고 수직으로 배치된 복수의 컬럼(column)이나 반응웰(reaction well)들을 지지하는 평면 기판(planar substrate)을 포함한다. 각각의 반응웰은 글래스 비드(glass bead)나 겔 물질과 같은 불활성 물질(inert material)을 다량 보유하고, 이는 항원이나 항체를 가진 현탁액(suspension) 내에서 혼합되거나 영기게 된다. 사용시에 환자의 샘플은 불활성 물질의 상부에서 반응웰 내에 놓인다. 이후, 샘플은 응집 반응(agglutination reaction)의 가속화를 위해 인큐베이션(incubate)되고 원심분리(centrifuge)된다. 적혈구 세포들은 서로 결집하고 불활성 물질 매트릭스에 의해 필터링된다. 불활성 물질은 필터 물질로서 기능한다. 카드(card)나 카세트(cassette)는 보통 일련의 컬럼들이나 반응웰들을 포함하고, 투명 물질로 이루어진다. 겔 물질이나 비드 매트릭스의 필터 기능 때문에, 응집된 혈액 세포들과 비응집된 혈액 세포들이 서로 분리되어 필터 물질의 상부에 유지되거나, 필터 물질을 관통하여 해당 반응웰의 바닥 영역에 도달한다. 비응집된 혈액 세포들로부터 분리된 응집 혈액 세포들이 있는 일련의 반응웰들은 카메라로 스캔될 수 있고, 카메라의 촬영 방향은 일련의 컬럼들이나 반응웰들의 측면을 향한다. 그래서 모든 반응웰들이 하나의 사진으로 동시에 포착될 수 있다.

[0003] US 8,076,126 B2는 그런 임상시험장치에 적합한 단일 컬럼 시험 요소를 개시한다. 각 시험 요소는 불활성 물질 뿐만 아니라 항원이나 항체, 또는 캐리어 결합 항원이나 항체를 수용하는 현탁액, 또는 반응웰을 커버하는 랩(wrap)이나 시일(seal)을 가진 단일 반응웰을 포함한다. 시일은 반응웰의 내용물로의 접근을 허용하기 위하여 뚫을 수 있다. 카트리지가 구비되고, 복수의 시험 요소들을 수용하는 프레임에 포함하며, 시험 요소들은 일렬로 배열된다.

[0004] WO 95/31731은 혈액형 항원 및 항체를 검출하기 위한 방법 및 장치를 개시한다. 여기서, 항원 및 항체를 검출하기 위해 면역친화성 크로마토그래피(immunoreactive affinity chromatography)가 이용된다. 본 방법은 검사될

erythrocyte를 단백질A, 단백질G 등과 같은 면역글로불린 결합 리간드(immunoglobulin binding ligand)를 갖는 복수의 입자(particle)을 포함하는 반응 튜브에 첨가하는 단계를 포함한다. 이 단계 이후에 원심분리와 검출 단계가 이루어지고, 튜브 내용물은 측면 시각으로부터 분석된다.

- [0005] D. 하머닝(Harmening) 외의 "현대 혈액 은행 및 수혈 실무", 5판, 챕터15 "일반적인 혈액 은행 검사의 대체 기술 및 자동화", 2005년1월1일, 현대 혈액 은행 및 수혈 실무 제5판, 에프에이 데이비스 컴퍼니(F:A: DAVIS COMPANY), 미국, 293-302페이지, ISBN: 0-8036-1248-6은 일반적인 혈액 은행 검사에서의 기술들을 리뷰하는 것으로, 종래 방법들의 자동화의 필요성과 그에 따른 이익을 논하고 있다.
- [0006] US 2012/0288887 A1은 혈액 세포 응집 사진 관정을 위한 또 다른 방식과 그에 따른 장치를 개시한다. 이 방식은, 2차원 어레이로 배열된 복수의 반응웰들을 가지는 마이크로플레이트가 사용된다. 반응웰들은 실질적으로 원뿔 모양을 가지는 바닥벽을 포함한다. 바닥벽의 내표면은 동심원에 형성되는 복수의 단차(step)를 포함하는 줄로 배열된 영역(tiered portion)으로 형성된다. 반응웰들에서 응집 반응이 수행되고, 이는 응집 반응 결과에 따라, 대략 단차 부분이 반응물들로 커버된다. 반응물들의 직경은 카메라 수단에 의해 광학적으로 검출된다. 측정된 직경에 기초하여, 응집 반응 결과가 자동적으로 판정될 수 있다. 이 방식은 응집 반응을 가속화하고 반응물들을 원뿔형 바닥벽으로 밀어내도록 원심분리 단계 및 틸팅 단계를 포함한다.
- [0007] 아슈라프 아게일란(Ashraf Agaylan) 외의 "폐암 환자에서 P53 자가항체의 검출을 위한 고감도 입자 응집 시험법", CANCER, vol.110, no.11, 2007년1월1일, 2502-2506페이지, ISSN: 0008-543X, DOI: 10.1002/cncr.23057은 대량의 혈청 샘플로부터 p53 자가항체, p53 단백질 및 p53 단백질-항체 복합체를 위한 초상자성 입자(superparamagnetic particle)를 이용한 감도 높고 단순한 입자 응집 면역분석법을 개시한다.
- [0008] EP 0 797 097 A1은 응집에 의해 샘플 용액의 애널라이트(analyte)를 검출하는 방법에 관한 것으로, 샘플 용액이 응집 시약과 접촉하게 되고, 애널라이트와 응집 시약 사이의 반응이 판정된다. 덧붙여, 상기 방법을 수행하기 위한 반응조와 시약이 개시된다. 분리를 위해, 정의된 직경들을 가지는 채널들을 가진 콤팩트 매트릭스(compact matrix)가 이용된다.
- [0009] EP 1 450 159 A2는 응집 분석법에 관한 것으로, 특히 이런 분석법을 수행하기 위한 장치에 관한 것이다. 여기서, 이 장치는 응집된 것들을 분리하기 위한 분리 섹션을 포함한다. 이 분리 섹션은 헤드와 같은 입자나 겔을 이용하지 않고, 기관에 고정된 요소를 이용한다([0028] 참고). 나아가, EP 1 450 159 A2는 향상된 속도와 정확성을 가지는 응집 분석을 수행할 수 있는 자동화 시스템을 개시한다.
- [0010] WO 2009/120516 A1은 지지 부재(support member), 검사 물질을 수용하는 적어도 하나의 검사 컬럼, 적어도 하나의 테스트 요소의 상부를 커버하는 랩을 포함하는 면역진단 검사에 관한 것이다. WO 2009/120516 A1에 이용되는 튜브들은 카드(card)들 안에 배치된다.
- [0011] US 2004/002415 A1은 생물학적 물질을 수용하는 용액을 자동적으로 원심분리하기 위한 자동 원심분리 시스템에 관한 것이다(요약서 참고).
- [0012] EP 2 124 054 A1은 원심분리 싸이클에서 개선된 응집 평가를 제공하는 적어도 하나의 이미저(imager)를 가지는 면역진단 검사 장치를 개시한다(발명의 명칭 참고).
- [0013] EP 2 518 502 A1은 제어 유닛, 원심 분리기 및 카메라를 포함하는 혈구 응집 이미지 판정 장치를 개시한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0014] 본 발명의 목적은 자동적으로 수행될 수 있는 응집 반응 결과 판정 방법을 제공함에 있고, 이는 신뢰성 있고 높은 처리량을 제공한다.
- [0015] 본 발명의 목적은 고신뢰도 및 고처리량을 갖는 응집 반응 결과 판정 방법을 수행하는 마이크로플레이트를 제공함에 있다.
- [0016] 본 발명의 목적은 독립 청구항들에 정의된 마이크로플레이트에 의해 달성된다. 본 발명의 효과적인 실시예들은 대응되는 종속항들에 정의되어 있다.

과제의 해결 수단

- [0017] 응집반응 결과 판정 방법은 다음의 단계들을 포함한다.
- [0018] - 샘플이 웰(well) 내의 시약(reagent)과 반응하도록 하는 반응 단계(reaction step), 여기서 2차원 어레이로 배열된 복수의 웰들을 가지는 마이크로플레이트가 이용됨
- [0019] - 상기 웰의 바닥이 회전축(rotational axis)에 대해 바깥쪽으로 배열되도록 상기 마이크로플레이트를 회전시키는 원심분리 단계(centrifugation step), 상기 원심분리 단계에서, 겔 물질(gel material)이나 비드 매트릭스(bead matrix)와 같은 분리 물질(separation material)의 수단으로, 응집된 샘플 물질이 비응집된 샘플 물질로부터 분리됨
- [0020] - 상기 마이크로플레이트의 적어도 하나의 상부측(top side) 이미지 및 상기 마이크로플레이트의 적어도 하나의 바닥측(bottom side) 이미지를 찍는 이미징 단계(imaging step)
- [0021] - 응집 반응에 대하여 상기 웰 내의 샘플이 양성(positive)인지 음성(negative)인지를 판정하는 판정 단계(determination step), 여기서 상기 마이크로플레이트의 상부측 및 바닥측 이미지에서 상기 웰의 색상강도(color intensity) 및/또는 회색도(gray level)이 비교됨
- [0022] 이 방법에 의해, 웰의 상부측 및 바닥측에서 특정 웰의 색상강도 및/또는 회색도 차이가 판정된다. 그 차이는 높은 정확도를 갖고 측정될 수 있다. 배경조명(background light)과 같은 방해 조건은 보통 웰의 상부측과 바닥측의 양 이미지에 동일한 임팩트를 가지므로 대응하는 반응웰의 상부측과 바닥측의 색상강도 및/또는 회색도를 비교함으로써 제거된다. 이는 본 방법을 매우 로버스트(robust)하고 신뢰성 있게 만든다. 이 방법은 인간의 개입 없이 수천 혹은 수백만 개의 샘플을 자동적으로 검사하는 산업적 이용에 적합하다.
- [0023] 나아가, 2차원 어레이의 제공은 복수의 응집 반응과, 복수의 응집 반응 결과 판정을 동시에 수행할 수 있게 만든다. 바닥측만 아니라 상부측에서도 웰을 감지하기 때문에, 예를 들어, US 8,076,126 B2로부터 알려진 바와 같은 1차원 배열의 반응웰들만을 이용할 필요가 없다.
- [0024] 바람직하게는, 상기 원심분리 단계에서 마이크로플레이트가 수평축(horizontal axis)을 중심으로 회전된다. 이는 자동화 시스템에서 원심분리 단계의 통합을 가능하게 한다. 수평 회전축을 갖는 샘플을 지닌 원심분리기는 WO 2013/117606 A1 및 EP 13179437.2에 기재되어 있다. EP 13179437.2는 아직 공개된 바가 없다. WO 2013/117606 A1 및 EP 13179437.2 문서는 참조에 의해 통합된다.
- [0025] 바람직한 실시예에 따르면, 응집 반응을 가속화시키기 위해, 원심분리 단계 이전에 인큐베이션 단계(incubation step)가 수행될 수 있다.
- [0026] 반응물들, 즉, 응집된 프로브 샘플 부분들은, 겔 물질 또는 비드 매트릭스와 같은 분리 물질의 수단에 의해 원심분리 단계에서, 반응 추출물(reaction educts), 즉, 비응집 프로브 샘플 부분들로부터 분리된다. 비드 매트릭스는 필터 물질(filter material)로 기능하며, 이는 비드 매트릭스의 상부에 응집된 샘플 부분들, 특히 응집된 혈액 세포들이 유지되며, 여기서, 비응집된 샘플 부분들은 비드 매트릭스를 관통하여 해당 웰의 바닥부에 수집된다. 겔 매트릭스를 이용하면, 비응집된 샘플 부분들이 원심분리 단계 동안 겔 매트릭스를 관통하여 반응웰의 바닥으로 가서 비응집된 샘플 파드들이 응집된 샘플 부분들에 의해 분리되며, 여기서, 더 큰 응집 샘플 부분들이 겔 매트릭스의 상부측이나 겔 매트릭스 내에 유지된다.
- [0027] 시약은 분리 물질의 상부에 구비될 수 있고, 또는 분리 물질이 시약을 수용하는 현탁액(suspension) 내에서 혼합될 수 있다. 시약은 기설정된 샘플과 반응하는 항체 및/또는 항원을 포함할 수 있다. 겔 매트릭스가 시약과 혼합되면, 응집 반응이 겔 매트릭스 안에서 일어나게 되고, 응집물이 반응이 일어나는 겔 매트릭스 내에 유지된다.
- [0028] 항원/항체 반응이 눈에 보이도록 기판(substrate)을 필요로 하는 경우, 이 역시 겔 내에 포함될 수 있다. 또한, 이는 바닥 및 상부 위치에만 위치할 수 있다.
- [0029] 응집반응물 판정을 위한 마이크로플레이트는 2차원 어레이로 배열된 복수의 웰들을 포함하며, 상기 웰들 중 적어도 하나는 겔이나 비드 매트릭스와 같은 분리 물질을 수용하는 분리 섹션을 포함하며, 분리 섹션은 아래쪽으로 점점 가늘어지는 적어도 하나의 원뿔 부위(conical portion)를 포함하여, 분리 물질을 관통하는 샘플 물질이 상기 웰(2)들 각각의 중앙에 집중되고, 상기 웰(2)들은 상기 웰의 바닥 끝단에서 상기 분리 물질을 관통하는 상기 샘플 물질을 수집하기 위한 수집 섹션(10)을 포함하고, 상기 수집 섹션(10)은 속이 빈 실린더의 형상을 갖는다.

- [0030] 분리 물질을 관통하는 샘플 물질의 집중은, 이러한 샘플 물질이 반응웰의 가운데로 집중되기 때문에, 웰의 바닥 측 이미지에서 색상강도나 회색조를 향상시킬 것이다. 이는 자동 광학 분석을 가능하게 한다. 또한, 반응웰의 상부측과 바닥측의 색상강도 또는 회색조 비교를 수월하게 만들기 때문에 검사의 신뢰도를 향상시킨다.
- [0031] 실시예에서 상기 분리 섹션(7)은 속이 빈 실린더를 포함한다.
- [0032] 바람직하게는 반응웰들이 웰의 상부 끝단에 주입 섹션(filling section)을 포함하며, 주입 섹션의 단면적(cross sectional area)은 분리 섹션의 단면적보다 크다.
- [0033] 마이크로플레이트는 적어도 96개의 웰들을 포함하는 것이 바람직하다. 그런 마이크로플레이트는 적어도 300개, 특히, 384개의 웰들을 포함할 수 있거나, 적어도 1000개, 특히, 1536개의 웰들을 포함할 수 있다.
- [0034] 반응웰들의 내부 높이(inner height)는 5mm에서 25mm의 범위인 것이 바람직하며, 특히 10mm에서 20mm의 범위, 또는, 10mm에서 15mm의 범위인 것이 바람직하다.
- [0035] 바람직한 실시예에서 본 발명에 따른 상기 마이크로플레이트는 여기에 개시된 응집 반응 결과 판정방법을 수행하는데 이용된다.
- [0036] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 검사 장치는 원심분리기 및 반응 웰의 상부측을 감지하기 위한 카메라, 반응 웰의 바닥측을 감지하기 위한 또 다른 카메라, 및 아이템 5 내지 12 중 어느 하나에서 정의된 방법을 수행하기 위한 제어 유닛(control unit)을 포함하고, 여기서 바람직하게 아이템 1 내지 4 중 어느 하나에 따른 마이크로플레이트가 이용된다. 이 검사 장치는 상술한 방법을 수행하기 위한 제어 유닛(control unit)을 포함한다.
- [0037] 검사 장치는 마이크로플레이트를 원심분리기 안으로 수평적으로 로딩(load)하고, 마이크로플레이트를 원심분리기로부터 수평적으로 회수(discharge)하기 위한 로딩 메커니즘(loading mechanism)을 포함한다. 마이크로플레이트의 상부면과 바닥면을 감지하기 위하여, 마이크로플레이트의 로딩 경로를 따라 라인 카메라(line camera)들이 구비될 수 있다. 라인 카메라들은 마이크로플레이트의 이동 방향에 횡단하도록 연장된다.
- [0038] 검사 장치는 겔 물질과 같은 분리 물질을 반응웰들에 자동적으로 채우는 피펫 수단(pipetting means)을 포함하는 것이 바람직하다. 이는 필요로 하는 마이크로플레이트의 반응웰들만 사용하는 것을 가능케 한다. 그 외의 반응웰들은 빈 상태로 내버려둘 수 있다. 따라서, 복수의 반응웰들을 가지는 마이크로플레이트를 이용하면 실제로 사용되는 분리 물질과 시약을 가진 반응웰들만 로딩되기 때문에, 적은 비용으로도 높은 처리량을 달성한다.

도면의 간단한 설명

- [0039] 본 발명은 첨부된 도면을 참조하면서 아래에서 더욱 상세히 설명될 것이고, 도면에서,
- 도 1a는 본 발명에 따른 마이크로플레이트의 실시예의 상면도이다.
- 도 1b 및 1c는 도 1a에 따른 마이크로플레이트의 측면도이다.
- 도 2는 도 1a에 따른 마이크로플레이트의 단일 반응웰의 측면도로, 내부 가장자리가 점선으로 표시되어 있다.
- 도 3은 도 1a의 마이크로플레이트의 단일 반응웰의 사시도이다.
- 도 4a 내지 4f는 응집 반응을 수행한 이후의 샘플을 수용하는 각 반응웰들과 상부측(웰 위) 및 바닥측(웰 아래)의 웰의 사진을 각각 포함한다.
- 도 5 내지 8은 하우징 없이 다른 각도에서 본 응집 반응 결과 판정 방법을 수행하는 장치를 도시한다.
- 도 9는 마이크로플레이트 캐리어이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] 도 1a-1c에서 도 3까지는 본 발명에 따른 마이크로플레이트(1)의 실시예를 나타낸다. 마이크로플레이트는 16×24웰의 2차원 어레이로 배열되는 384개의 반응웰(2)들을 포함한다.
- [0041] 마이크로플레이트(1)는 폴리카보네이트(polycarbonate)와 같은 투명한 비활성 플라스틱 물질로 이루어진다.
- [0042] 각각의 웰(2)(도 2 및 3)은 동일하다. 각 반응웰(2)은 상부 끝단에 개구(opening)(3)를 갖고, 바닥 끝단에 바닥벽(bottom wall)(4)을 가진다. 사용 목적상, 마이크로플레이트는 개구들이 위쪽(upwards)을 향하고, 바닥벽들이 아래쪽(downwards)을 향하도록 배치된다. 따라서, 이하의 설명에서 위쪽이라는 용어는 개구(3)쪽을 향하는 것을

로 사용되고, 아래쪽이라는 용어는 바닥벽(4)을 향하는 것으로 사용된다.

- [0043] 반응웰(2)은 상부 끝단에 주입 섹션(filling section)(5)을 포함한다. 주입 섹션(5)은 사각형상의 단면을 가진다. 물론, 원형이나 삼각형과 같은 다른 단면 형상을 가질 수도 있다. 하지만, 사각 형상은 영역당 반응웰(2)들의 특정 밀도를 가진 배열에 대해 최대 단면적을 가능하게 하므로 사각 형상인 것이 바람직하다. 주입 섹션(5)의 단면적이 클수록 반응웰(2)을 채우기 쉬워진다.
- [0044] 이동 섹션(transfer section)(6)이 주입 섹션(5) 아래에 구비되어 주입 섹션(5)을 분리 섹션(7)을 연결시킨다. 분리 섹션(7)은 주입 섹션(5)보다 작은 단면을 가져, 주입 섹션의 더 큰 단면으로부터 분리 섹션(7)의 더 작은 단면적으로의 이동을 제공하도록 이동 섹션(5)은 아래쪽으로 점점 좁아진다.
- [0045] 분리 섹션(7)은 속인 빈 실린더의 형상을 가진 상부(upper part)(8)를 포함한다. 본 실시예에서, 상부(8)는 사각형의 단면을 가진다.
- [0046] 분리 섹션(7)의 하부(lower part)(9)는 아래쪽으로 점점 좁아지는 원뿔형부(conical portion)로 구현된다.
- [0047] 원뿔형부(9)의 하부 끝단은 수집 섹션(collection section)(10)으로 이어진다. 수집 섹션(10)은 속이 빈 실린더의 형태로 구현된다. 본 실시예에서 속이 빈 실린더는 원형 단면을 가진다.
- [0048] 수집 섹션(10)의 단면적은 실질적으로 분리 섹션(7)의 상부(8)의 단면적보다 작다. 하부 또는 원뿔형부(9)는 각각 적어도 2:1, 바람직하게는 3:1, 그리고 특히 바람직하게는 4:1의 비율로 분리 섹션(7)의 상부의 단면적을 줄여 수집 섹션(10)의 단면적이 된다.
- [0049] 분리 섹션의 주된 부분은 겔 물질이나 비드 매트릭스와 같은 분리 물질로 채워진다. 그런 분리 물질은 응집된 샘플 부분(agglutinated sample parts)을 비응집된 샘플 부분(non-agglutinated sample parts)로부터 분리시키기 위해 이용된다. 샘플 물질의 응집 및 비응집된 부분은 분리 물질의 윗쪽에 제공되고 반응웰(2)의 상부에서 하부 끝단으로 향하는 원심력(centrifugal force)이 전달되고, 이후 샘플의 비응집된 부분들만 겔 물질 또는 비드 매트릭스와 같은 필터 물질(filter material)을 관통한다. 따라서, 응집된 샘플 부분들을 비응집된 샘플 부분들로부터 분리시켜 비응집 샘플 부분을 수집 섹션에 수집하는 것이 가능해진다.
- [0050] 분리 섹션(7)의 상부에 대한 수집 섹션(10)의 단면적 감소로 인하여, 관통하는 샘플 물질 부분들은 반응웰의 중앙에 집중된다. 그래서, 관통하는 샘플 물질 부분들이 수집 섹션(10)의 작은 체적에 집중된다. 그 결과, 수집 섹션(10)은 분리 물질을 관통한 고농도의 샘플 물질을 포함한다. 그런 고농도 샘플 물질은 광학 검출에 매우 유리하다.
- [0051] 본 실시예에서, 주입 섹션의 높이는 4.5mm이고, 이동 섹션(6)의 높이는 3mm이며, 분리 섹션(7)의 상부(8) 높이는 5mm이고, 분리 섹션(7)의 원뿔형부(9)의 높이는 1mm이며, 수집 섹션(10)의 높이는 1mm이다.
- [0052] 주입 섹션(5)의 외측 가장자리 사이의 길이는 4.5mm이다. 반응웰의 벽두께는 대략 0.7mm이다.
- [0053] 분리 섹션(7)의 상부(8)의 수평 내측 가장자리들의 길이는 대략 2mm이어서, 분리 섹션(7)의 상부(8)의 단면적은 대략 4mm²이다. 분리 섹션(10)의 단면의 직경은 1mm보다 크지 않아서 단면적이 1mm²보다 작다.
- [0054] 바닥벽(4)의 내측으로부터 반응웰(2)의 상부끝단까지 연장된 반응웰(2)의 총 내측 길이는 14.5mm이다.
- [0055] 위에서 특정한 수치들은 반응웰(2)의 특정례를 설명한다. 물론, 수치를 달리하는 것도 가능하다. 마이크로플레이트(1)가 더 적은 수의 반응웰(2)들을 포함한다면, 각 반응웰(2)의 단면들은 동일 크기의 마이크로플레이트에 대해 더 커질 수 있다.
- [0056] 사용되는 분리 물질의 종류에 따라, 분리 섹션(7)의 높이 수치가 달라질 수 있다. 분리 섹션(7)의 주된 부분(major part)는 분리 물질로 채워진다. 이동 섹션(6) 및 주입 섹션(5)의 하부까지 분리 물질이 채워질 수도 있다.
- [0057] 도 1b 및 1c에서 볼 수 있듯이, 주입 섹션(5)을 정의하는 벽들은 이러한 벽들 양측에 있는 2개의 반응웰(2)들의 각 부분이다.
- [0058] 마이크로플레이트(1)는 반응웰(2)들의 어레이를 둘러싸는 프레임(frame)(11)을 포함한다. 프레임(11)은 수직측 벽(vertical side wall)(12)들에 의해 지지된다.
- [0059] 본 실시예에서 복수의 반응웰(2)들은 하나의 마이크로플레이트(1) 내에 통합적으로 구현된다. 하지만, 바람직하게는 랙(rack) 안에 놓일 수 있는 단일 반응웰들을 이용할 수도 있다. 랙은 반응웰들을 유지시키는 소켓

(socket)들을 포함하고, 소켓들은 2차원 어레이로 배치되는 것이 바람직하다.

- [0060] 도 5는 응집 반응 결과를 판정하기 위한 검사 장치(testing apparatus)(13)를 나타낸다.
- [0061] 원심분리기(centrifuge)(14)는 전면 플랫폼(front platform)(15), 원심분리기 섹션(centrifuge section)(16) 및 구동 섹션(driving section)(17)을 포함한다(도 6, 7, 8).
- [0062] 전면 플랫폼(15)은 상면도로 보았을 때 표준 마이크로플레이트보다 살짝 큰 사각형상을 가진다. 원심분리기 섹션(16)에 인접한 곳을 제외하고, 전면 플랫폼(15)의 모든 측면 가장자리에 림(rim)(18)들이 구비된다.
- [0063] 원심분리기 섹션(16)은 로터(rotor)(19)를 포함한다. 로터(19)는 수평 샤프트(horizontal shaft)(20) 상에 장착된다(도 7). 로터(19)는 하나의 마이크로플레이트(1)를 수용하기 위한 수용기 섹션(receptacle section)을 포함한다. 수용기 섹션은 플레이트 트레이(plate tray)(21)로 구현된다. 플레이트 트레이(21)는 사각형의 저벽(base wall)(22) 및 2개의 U-레일(23)에 의해 정의된다. U-레일(23)들은 그들의 개방측(open side)이 서로 반대 방향이 되도록 배치된다. 플레이트 트레이의 최하단 위치에서, U-레일(23)은 저벽(22) 아래에 존재한다. 도 6에서, 플레이트 트레이(21)는 부분적으로 절개되며, 이에 따라 플레이트 트레이(21)에 유지되는 마이크로플레이트(2) 및 마이크로플레이트 캐리어(26)가 보인다.
- [0064] 플레이트 트레이(21)에서 회전축(rotation axis)(24)까지의 거리는 반응웰 유닛의 측면 길이(lateral extension)보다 큰 것이 바람직하고, 특히, 반응웰 유닛의 측면 길이보다 1.5배 또는 2배 큰 것이 바람직하다.
- [0065] 수용기 섹션 또는 플레이트 트레이(21)의 정반대에, 균형추(counterweight)(40)가 레그(leg)(41)들의 수단에 의해 플랜지(flange)(39)들에 고정된다. 또 다른 플레이트 트레이가 균형추(40) 대신 구비될 수 있고, 이는 플레이트 트레이(21)에 사용되는 종류의 마이크로플레이트에 조절 가능한 균형추를 형성하기 위하여, 마이크로플레이트 또는 마이크로플레이트와 함께 마이크로플레이트 캐리어를 수용하도록 구현된다.
- [0066] 전측벽(front side wall)(28)의 개구(opening)(29)는 플레이트 트레이(21)의 최하단 위치의 높이에 구현되고, 이는 로터(19)의 로딩 위치(loading position)이다. 전면 플랫폼(15)은 로딩 위치에서 플레이트 트레이(21)의 저벽(22)과 동일 높이에 구비되며, 이에 따라 마이크로플레이트 또는 마이크로플레이트 캐리어 위의 마이크로플레이트가 전면 플랫폼(15)에서 저벽(22)으로, 혹은 그 반대로 슬라이딩될 수 있고, 여기서 마이크로플레이트(1)의 반응웰(2)의 개구들은 로터(19)를 홀딩하는 샤프트(20)를 향한다.
- [0067] 본 실시예에서 저벽(22)들, U-레일(23)들 및 저벽(22)들 사이의 섹션들은 하나의 단일 구성의 알루미늄으로 이루어진다.
- [0068] 로터(19)의 전면측에, 플레이트 트레이(21)는 개방되어 마이크로플레이트가 플레이트 트레이(21) 안으로 슬라이딩될 수 있다. 로터(19)의 후측에는 스톱퍼(stopper)(25)가 구비된다. 스톱퍼(25)는 자성 요소(magnetic element)를 포함하는 것이 바람직하다.
- [0069] 저벽(22)들 사이의 섹션은 가능한 떨어져 절개되고, 관성 모멘트(moment of inertia)를 최소화하기 위해 저벽(22)들 사이에 보어(bore)들이 구비된다.
- [0070] 본 실시예에서 플레이트 트레이(21)는 마이크로플레이트 캐리어(26)와 함께 마이크로플레이트(1)를 수용하도록 설계된다. 마이크로플레이트 캐리어(26)는 측면 가장자리마다 림(42)을 가지는 사각형 프레임이고, 림들의 내표면은 작은 움푹임을 가지면서 마이크로플레이트 캐리어(26) 상의 마이크로플레이트의 위치를 정의한다. 림(42)들의 상면은 안쪽으로 젖혀져 림들에 의해 정의되는 섹션 안으로 마이크로플레이트가 슬라이딩된다.
- [0071] 마이크로플레이트 캐리어(26)는 일측 가장자리에 자성 물질, 특히 강자성 물질로 이루어진 연결 요소(coupling element)(43)를 포함한다. 이 연결 요소(27)는 로터(19)의 자성 스톱퍼(25)와 협업할 수 있다.
- [0072] 전측벽(28)의 개구(29)는 사각 슬리드(slid)의 형태를 가진다. 개구(29)를 닫기 위한 자동 도어가 구비된다. 개구(29)는 전면 플랫폼(15)의 높이에 배치된다. 로딩 위치에서, 로터(19)는 그의 저벽(22)들과 수평적으로 배치되고, 플레이트 트레이(21)의 저벽은 전면 플랫폼(15)과 동일 높이에 배치되어, 마이크로플레이트 캐리어(26) 및 마이크로플레이트(1)가 전면 플랫폼(15)에서 하부 플레이트 트레이(21)로, 혹은 그 반대로 수평 슬라이딩될 수 있다.
- [0073] 개구의 상부 가장자리에는 마이크로플레이트(1)의 반응웰(2)들 안으로 시약(reagent)을 분배하기 위하여 피펫 노즐(pipetting nozzle)들이 구비된다.

- [0074] 전면 플랫폼(15)과 로터(19) 사이의 갭(gap)에는, 마이크로플레이트의 이동 경로 위에 상부 라인 카메라(44)가 배치되고, 그의 시야는 하방으로 마이크로플레이트(1)의 상면을 향한다. 하부 라인 카메라(45)는 마이크로플레이트의 이동 경로 아래에 배치되고, 그의 시야는 상방으로 마이크로플레이트(1)의 바닥면을 향한다(도 5). 마이크로플레이트(1)가 개구(29)를 통해 이동되면, 마이크로플레이트(1)의 전체 상하측 이미지들이 라인 카메라(44,45)에 의해 검출될 수 있다.
- [0075] 구동 섹션(17)은 샤프트(20) 및 로터(19)를 회전시키기 위한 모터(미도시)를 포함한다. 모터는 회전 속도를 제어하기 위한 제어 유닛(control unit)에 연결된다. 원심분리기는 마이크로플레이트(1)를 원심분리하도록 설계된다. 마이크로플레이트와 샤프트(20) 또는 회전축(24) 사이의 거리는 크고, 거의 동일한 원심가속도가 서로 다른 반응웰(2)들 내의 유체에 가해진다. 따라서, 유체가 중심 반응웰에 있든 측면 반응웰에 있든 동일한 원심분리작용이 이루어진다.
- [0076] 제어 유닛은 로터의 속도뿐만 아니라 가속도까지 제어하도록 구비된다. 로터의 속도는 100RPM에서 3,000RPM의 범위이다. 로터의 가속도 및 감속도는 100에서 1,200RPM/s의 범위에 있다. 로터를 시동시킬 때, 가속될 수 있을 것이고, 따라서, 대략 180° 회전된 이후 적어도 1g의 원심가속도가 가해지며, 이에 따라 하방을 향한 개구를 가지는 반응웰들로부터 유체가 떨어지지 않게 된다. 딥웰(deep well) 반응웰을 가지는 마이크로플레이트는 가능한 빠르게 가속될 수 있다. 하지만, 반응웰들로 작은 웰들을 가지는 마이크로플레이트를 가속시키는 것은 가속 때 문에, 한 반응웰에서 주위 반응웰들로 유체가 튕으로 인해 오염을 일으킬 수 있다. 하지만, 그런 튕에 의한 오염의 위험은 반응웰의 채움량 뿐만 아니라 반응웰의 형상에도 의존한다. 500RPM/s에서 1,200RPM/s의 가속도를 가지면 튕에 의한 오염이 일어나지 않는다는 것이 증명된 바 있다.
- [0077] 또한, 구동 섹션(17)은 마이크로플레이트(1)를 가지는 원심분리기(14)를 로딩하거나 언로딩하기 위한 로딩 메커니즘(loading mechanism)(30)을 포함한다.
- [0078] 로딩 메커니즘(30)은 마이크로플레이트(1) 또는 마이크로플레이트(1)와 마이크로플레이트 캐리어(26)의 신장(extension) 및 회수(retraction)를 위한 유연성 장형 빔(flexible elongated beam)(31)을 포함한다(도 5). 유연성 장형 빔(31)은 그의 길이방향 연장에 수평하게 살짝 구부러진 하나의 메탈 시트(metal sheet)로 이루어진다. 따라서, 메탈 시트는 선형적으로 연장될 때 특성 강성(stiffness)을 제공하며, 다시 말해 길이방향 연장에 수평한 축을 기준으로 구부러질 수 있다. 그렇게 휘어진 메탈 시트 스트라이프(stripe)는 금속 줄자(mesuring tape)로 잘 알려져 있다.
- [0079] 본 실시예에서, 빔(31)의 일단은 구동 섹션(17)의 내벽(inner wall)(32)에서 수직으로 고정되고, 여기서 빔은 내벽(32)으로부터 후측으로 연장된다. 빔(31)은 U-턴으로 구부러져 빔의 자유단(free end)(33)은 전측을 향하고, 빔은 내벽(32)에서 슬리드를 통해 연장된다. 그래서, 빔은 내벽(32)에 고정된 상측 스트랜드(upper strand)(34)와 내벽(32)의 슬리드를 통해 연장된 하측 스트랜드(lower strand)(35)를 포함한다. 내벽(32)을 통해 연장되고 자유단(33)을 가지는 스트랜드(35)는 2개의 휠(wheel)(미도시) 사이에서 고정(clamp)되고, 2개의 휠 중 하나는 스텝퍼 모터(stepper motor)(37)에 의해 구동된다. 2개의 휠 중 단 하나만 도면에 도시되었다. 빔(31)의 자유단(33)은 자성 요소(magnetic element)(38)를 구비한다. 빔(31)은 스텝퍼 모터(38)에 의해 가동될 수 있고, 자성 요소(38)를 가진 자유단(33)이 원심분리기 섹션(16) 및 전측벽(28)의 개구(29)를 통해 연장되거나 이동된다. 따라서, 빔(31)의 자유단(33)이 최대 연장 위치에서 전면 플랫폼(15)의 영역에 도달한다. 최대 회수 위치에서, 빔(31)의 자유단(33)은 로터(19)의 뒤, 특히 원심분리기 섹션(16) 밖에 배치되고, 이에 따라 로터(19)가 자유로이 회전될 수 있다.
- [0080] 빔의 자성 요소(38)가 마이크로플레이트 캐리어(26)의 자성 요소(27)를 통해 연결될 때까지 빔(31)을 연장시키는 것만으로 로딩 메커니즘(30)이 전면 플랫폼(15)에 배치된 마이크로플레이트 캐리어(26)에 연결될 수 있다. 빔(31)을 회수함으로써, 마이크로플레이트 캐리어(26)는 로터(19)의 하나의 플레이트 트레이(21) 안으로 끌려온다. 마이크로플레이트 캐리어(26)가 스톱퍼(25)에 인접할 때, 빔을 더 회수함으로써 빔(31)의 자성 요소(38)와 마이크로플레이트 캐리어(26)의 자성 요소(27)간의 연결이 해제되고, 이와 동시에 마이크로플레이트 캐리어(26)의 자성 요소(27)가 스톱퍼(25)의 자성 요소와 연결되어 로터(19)의 위치에 고정된다.
- [0081] 로딩 메커니즘(30)은 자동 임상 로봇에서 마이크로플레이트를 이송하기 위한 어떠한 이송 시스템에도 원심분리기(14)를 연결할 수 있게 한다. 임상 로봇은 전면 플랫폼(15)에 위치한 마이크로플레이트 캐리어(26) 위에 마이크로플레이트(1)를 놓기만 하면 된다. 이후, 로딩 메커니즘(30)은 로터(19)를 로드하거나 언로드할 수 있다. 또한, 전면 플레이트(front plate) 없이 원심분리기(14)를 마이크로플레이트 이송용 이송 벨트(transport belt)에 바로 인접하게 놓을 수 있게 되고, 여기서, 마이크로플레이트(1)는 로딩 메커니즘(30)으로 이송 벨트로부터 끄

령당겨질 수 있고, 다시 이송 벨트 위에 놓일 수 있게 된다. 본 실시예에서, 연결 요소(27)를 가진 마이크로플레이트 캐리어(26)가 이용된다. 또한, 마이크로플레이트(1)에 그런 연결 요소(27)들을 구비시킬 수 있고, 이에 따라 마이크로플레이트 캐리어가 필요없게 된다.

- [0082] 또 다른 효과는 로딩 메커니즘(30)이 원심분리기 섹션(16)의 후측에 놓인다는 점이고, 이에 따라 원심분리기(14)는 어떤 중개 장치 없이도 기존의 임상 로봇에 연결될 수 있다. 이는 원심분리기를 기존의 임상 로봇들에 통합시킬 수 있게 만든다.
- [0083] 아래에서 하나 이상의 응집 반응 결과를 판정하기 위한 검사 장치(13)의 상술한 마이크로플레이트(1)의 사용 방법이 설명된다.
- [0084] 본 방법은 속이 빈 마이크로플레이트(1)와 함께 시작되는 것이 바람직하다. 반응웰(2)들은 피펫 장치(pipetting device)에 의해 겔 물질로 채워진다. 수행될 각 응집 반응을 위해, 개별적인 반응웰(2)이 겔 물질로 채워진다. 응집반응의 수가 한 마이크로플레이트에 구비된 반응웰(2)의 개수보다 작은 경우라면 필요 없는 반응웰들에는 겔 물질이 채워지지 않는다.
- [0085] 각 반응웰에 각각 특정 양의 겔 물질을 채운 후, 마이크로플레이트는 원심분리되어 겔 물질에 반응웰의 하부 방향으로 힘을 가하며, 이에 따라 어떠한 기포도 없이 겔 물질이 수집 섹션과 분리 섹션(7)의 주된 부분을 채우게 된다.
- [0086] 원심분리 단계 때문에, 작은 직경을 가진 반응웰이 이용된다 해도 현장의 반응웰에 겔 물질을 채울 수 있다. 분리 물질이 미리 채워진(preloaded) 반응웰을 필요로 하지 않는다. 물론, 미리 채워진 반응웰들을 이용할 수도 있다.
- [0087] 분리 물질을 수용하고 있는 반응웰들은 특정 시약을 수용하는 혼탁액(suspension)으로 채워질 수 있다. 다른 반응웰들은 다른 시약으로 채워질 수 있다. 일반적으로 시약은 항원, 항체 또는 이미 알고 있는 종류의 혈액 세포를 포함한다.
- [0088] 검사에서 특정량의 샘플이 분리 물질과 시약을 수용한 반응웰 내에 분배된다. 바람직하게는, 동일한 샘플의 샘플 물질이 상이한 시약을 수용하는 반응웰들에 분배되고, 상이한 샘플 물질이 상이한 군(group)의 반응웰들에 다른 시약에 분배될 수 있다. 따라서, 복수의 상이한 샘플들을 동시에 검사하는 것이 가능해지고, 각 샘플은 복수의 상이한 시약에 대해 검사된다.
- [0089] 샘플, 시약 및 분리 물질이 채워진 반응웰을 수용하는 마이크로플레이트는 인큐베이션되고, 특정 온도가 기설정된 기간 동안 가해진다. 인큐베이션 단계는 분리된 인큐베이터(incubator) 내에서 수행될 수 있다. 이와 달리, 원심분리기가 가열 수단(heating means)을 포함하여 마이크로플레이트가 원심분리기 내에서 인큐베이션될 수 있다. 그 후 마이크로플레이트가 원심분리되며, 비응집된 샘플 부분들이 반응웰(2)의 바닥벽(4) 방향으로 겔 물질을 관통한다. 샘플의 비응집된 부분들은 반응웰(2)들의 수집 섹션(10)에 수집된다. 응집 반응 결과가 응집이 일어난 경우라면, 응집된 샘플 물질은 분리 물질의 상측에 머무른다(도 4a). 약한 응집 반응 또는 지연된 응집 반응만 있는 경우라면, 응집된 덩어리들이 작고, 겔 물질 내에 멈추며, 반응웰(2)들의 바닥벽(4)이나 수집 섹션(10)에 도달하지 않는다. 응집된 겔 물질이 겔 물질 내에 유지되거나 거기에 분포되어 있는 모습을 도 4b 및 4c에서 볼 수 있다. 응집 반응이 약할수록, 비응집된 샘플 부분이 많아지고, 더 많은 샘플 파트가 수집부(10)에 도달하며, 이는 도 4d 내지 4f에서 볼 수 있다.
- [0090] 원심분리 단계 이후, 마이크로플레이트는 원심분리기로부터 배출되고, 라인 카메라에 의해 반응웰들의 상측 및 하측으로부터 이미지가 획득된다.
- [0091] 도 4a 내지 4f는 개별 반응웰(2) 위의 상측 사진과 개별 반응웰 아래의 바닥측 사진을 각각 보여준다. 이 2개의 사진들의 회색조는 자동적으로 비교되고, 회색조의 차이가 계산된다. 5개 클래스의 결과, 즉, 0, 1+, 2+, 3+ 및 4+가 있다. 각 차이의 레벨은 특정 클래스로 할당되고, 응집된 샘플 물질만 있다면 반응웰의 상측이 어둡고 반응웰의 하측이 밝으며, 이에 대응하는 클래스는 4+이고, 응집 반응이 매우 약하다면 모든 혹은 거의 모든 샘플 파트가 반응웰의 수집 섹션(10)에 도달하고, 반응웰의 하측이 어둡고 상측이 밝아(도 4, 4f), 클래스는 0(응집 반응 없음)이 된다.
- [0092] 샘플 물질이 적혈구 세포를 포함한다면, 컬러 이미지들이 획득되어 상측 및 하측의 이미지의 적색의 색상강도가 비교되는 것이 바람직하다.
- [0093] 본 실시예에서, 반응웰(2)의 개구(3)의 단면은 사각 형상을 갖고, 수집 섹션(10)은 원형의 단면을 갖는다. 따라

서, 상측에서 획득된 사진은 사각형이고, 하측에서 획득된 사진은 동그라미로 보여진다. 검출된 패턴 형상(원형 또는 사각형)에 의해, 사진이 반응웰의 상측으로부터 찍혔는지 하측으로부터 찍혔는지 판단될 수 있다. 이는 사진들이 수동적으로 제어되는 경우에 하측 및 상측의 사진들이 서로 섞이지 않게 한다. 따라서, 반응웰(2)의 개구(3)의 형상과 수집 섹션(10)의 형상은 서로 다른 것이 바람직하다.

- [0094] 확실한 색상강도나 회색조는 배경 조명, 분리 물질의 종류, 각 반응웰 안에 분배되는 샘플 물질의 양 등과 같은 다수 환경에 의존한다. 반응웰들의 상측 및 하측의 이미지들을 비교함으로써 이러한 영향이 제거되는데 이는 응집 반응이 있는지 없는지의 판정이 2개 이미지의 색상강도 및/또는 회색조의 차이에만 기초하기 때문이다. 이는 검사를 매우 신뢰성 있고 안정적으로 만든다. 나아가, 상이한 분리 물질 및 상이한 시약에서의 검사를 계산하기 쉬우며, 이에 따라 모든 공정이 매우 유연해진다. 이 시스템은 특히 고처리량 및 저비용으로 대량 샘플을 검사하는 데에 적합하다.
- [0095] 상기 실시예에서, 반응웰의 상측 및 하측의 2개 이미지의 색상강도 및/또는 회색조가 비교된다. 이에 더하여, 이미지들은 기설정된 샘플 이미지들과 비교될 수 있다.
- [0096] 개시내용에 따른 아이템들
- [0097] 아이템1
- [0098] 응집반응 결과 판정방법으로,
- [0099] - 웰(well) 내에서 샘플을 시약과 반응하게 하는 반응 단계를 포함하고, 여기서, 2차원 어레이로 배치된 복수의 웰(2)들을 가지는 마이크로플레이트(1)가 이용되고,
- [0100] - 상기 웰(2)의 바닥벽(4)이 회전축(24)에 대해 외측으로 배치되도록 마이크로플레이트(1)를 회전시키는 원심분리 단계를 포함하고, 여기서, 원심분리 단계에서 겔 물질 또는 비드 매트릭스와 같은 분리 물질의 수단에 의해 응집된 샘플 물질은 비응집된 샘플 물질로부터 분리되고,
- [0101] - 상기 마이크로플레이트(1)의 적어도 하나의 상부측 이미지와 상기 마이크로플레이트(1)의 적어도 하나의 바닥측 이미지를 획득하는 이미징 단계를 포함하고,
- [0102] - 응집 반응에 대해 상기 웰(2) 내의 샘플이 양성인지 음성인지 판정하는 판정 단계를 포함하고, 여기서, 상기 마이크로플레이트의 상부측 및 바닥측 이미지들에서 상기 웰의 색상강도 및 회색조 중 적어도 하나가 비교되는 응집반응 결과 판정방법.
- [0104] 아이템2
- [0105] 아이템1에 있어서, 상기 원심분리 단계에서, 상기 마이크로플레이트(1)는 수평축을 중심으로 회전하는 응집반응 결과 판정방법.
- [0107] 아이템3
- [0108] 아이템1 또는 아이템2에 있어서, 상기 원심분리 단계 이전에 인큐베이션 단계를 더 포함하는 응집반응 결과 판정방법.
- [0110] 아이템4
- [0111] 아이템1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 상기 분리 물질은 시약을 수용한 혼탁액(suspension) 내에서 혼합되는 응집반응 결과 판정방법.
- [0113] 아이템5
- [0114] 아이템1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 시약은 상기 분리 물질 상부에 구비되는 응집반응 결과 판정방법.
- [0116] 아이템6
- [0117] 아이템1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 상기 샘플은 혈액 세포 샘플을 포함하는 응집반응 결과 판정방법.
- [0119] 아이템7
- [0120] 아이템1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 시약은 기설정된 항체 및 항원 중 적어도 하나를 포함하는 응집반응 결과 판정방법.

- [0122] 아이템8
- [0123] 아이템1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 상기 마이크로플레이트는 상기 방법의 초기에 속이 빈 웰들을 포함하고, 상기 반응 단계 이전에 적어도 몇몇 웰들이 분리 물질, 상기 시약 및 상기 샘플 물질로 채워지는 응집반응 결과 판정방법.
- [0125] 아이템9
- [0126] 응집반응물 판정을 위한 마이크로플레이트로,
- [0127] 2차원 어레이로 배치된 복수의 웰(2)들을 포함하고,
- [0128] 상기 웰들 중 적어도 하나는 겔 또는 비드 매트릭스와 같은 분리 물질을 수용하는 분리 섹션(7)을 포함하고,
- [0129] 상기 분리 섹션(7)은 하방으로 좁아지는 적어도 하나의 원뿔형부(conical portion)(9)를 포함하여, 분리 물질을 관통하는 샘플 물질이 각각의 웰(2)의 중앙에 집중되는 마이크로플레이트.
- [0131] 아이템10
- [0132] 아이템9에 있어서, 상기 웰(2)들은 상기 웰의 바닥 끝단에서 분리 물질을 관통한 샘플 물질을 수집하기 위한 수집 섹션(10)을 포함하고, 상기 수집 섹션(10)은 속이 빈 실린더의 형상을 갖는 마이크로플레이트.
- [0134] 아이템11
- [0135] 아이템9 또는 10에 있어서, 상기 분리 섹션(7)은 속이 빈 실린더를 포함하는 마이크로플레이트.
- [0137] 아이템12
- [0138] 아이템9 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 웰(2)들은 상기 웰의 상부 끝단에 주입 섹션(5)을 포함하고, 상기 주입 섹션(5)의 단면적은 상기 분리 섹션(7)의 단면적보다 큰 마이크로플레이트.
- [0140] 아이템13
- [0141] 아이템9 내지 12 중 어느 하나에 있어서, 상기 마이크로플레이트(1)는 적어도 96개의 웰들을 포함하거나, 및/또는, 상기 반응웰(2)들의 내부 높이는 5mm에서 20mm 사이인 마이크로플레이트.
- [0143] 아이템14
- [0144] 원심분리기(14), 반응웰(2)의 상부측을 검출하기 위한 카메라(44), 반응웰(45)의 바닥측을 검출하기 위한 카메라 및 아이템1 내지 8 중 어느 하나에 정의된 방법을 수행하는 제어 유닛을 포함하고, 아이템9 내지 13 중 어느 하나에 따른 마이크로플레이트가 이용되는 검사 장치.

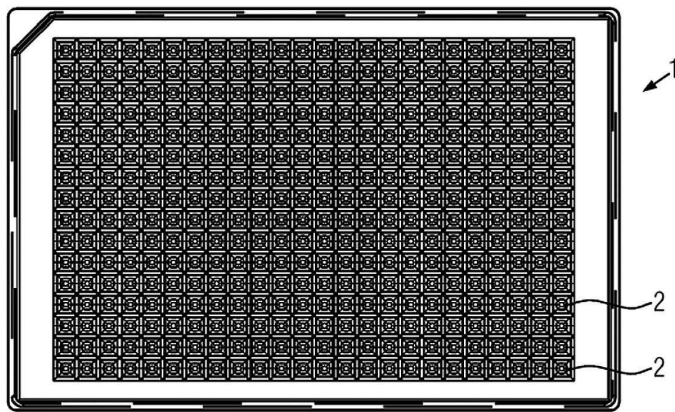
부호의 설명

- [0145] 1 마이크로플레이트
- 2 반응웰
- 3 개구
- 4 바닥벽
- 5 주입 섹션
- 6 이동 섹션
- 7 분리 섹션
- 8 상부
- 9 하부(원뿔형부)
- 10 수집 섹션
- 11 프레임
- 12 측벽

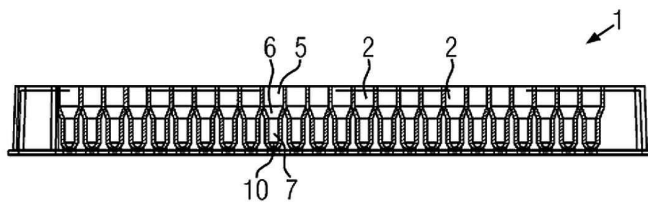
13	검사 장치
14	원심분리기
15	전면 플랫폼
16	원심분리기 섹션
17	구동 섹션
18	림
19	로터
20	샤프트
21	플레이트 트레이
22	저벽
23	U-레일
24	회전축
25	스톱퍼
26	마이크로플레이트 캐리어
27	연결 요소
28	전측벽
29	개구
30	로딩 메커니즘
31	유연성 장형 빔
32	내벽
33	자유단
34	상부 스트랜드
35	하부 스트랜드
37	스톱퍼 모터
38	자성 요소
39	플랜지
40	균형추
41	레그
42	림
43	피켓 노즐
44	상부 라인 카메라
45	하부 라인 카메라

도면

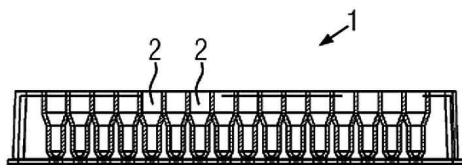
도면1a



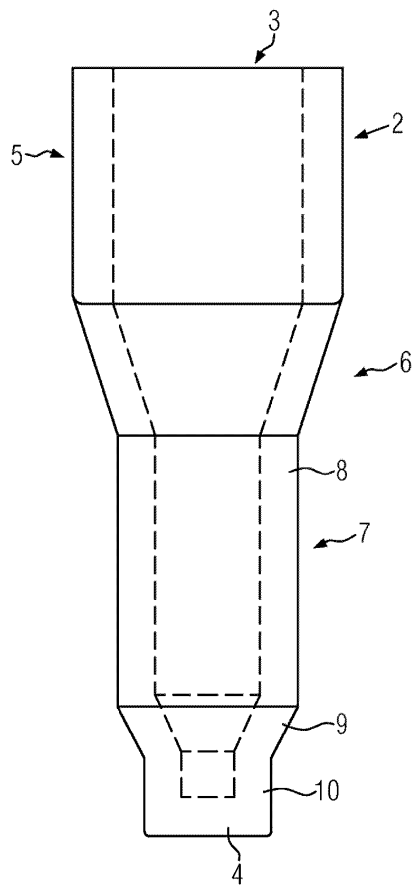
도면1b



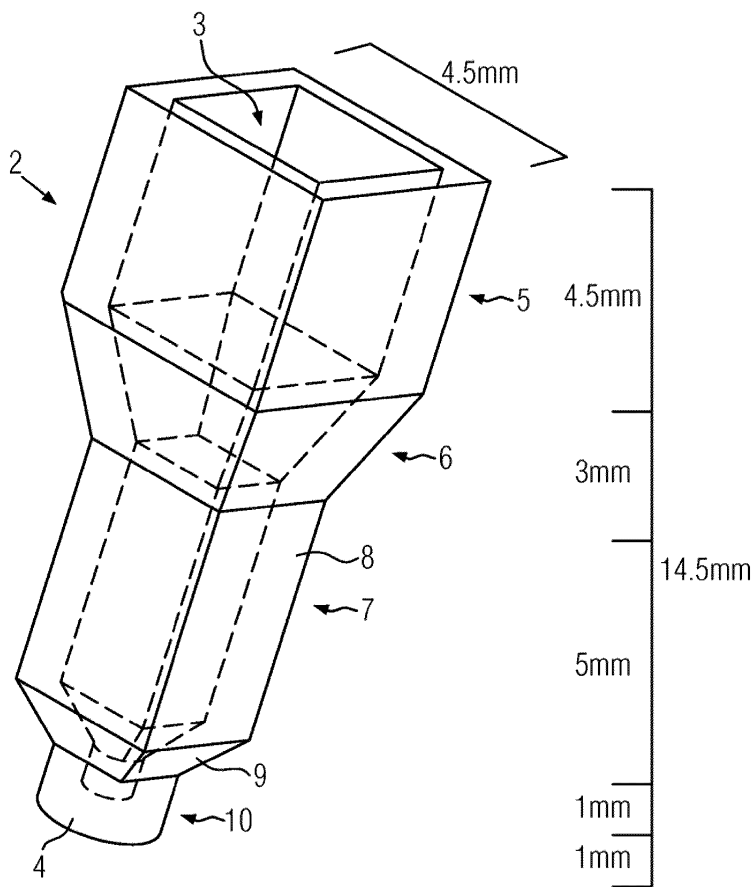
도면1c



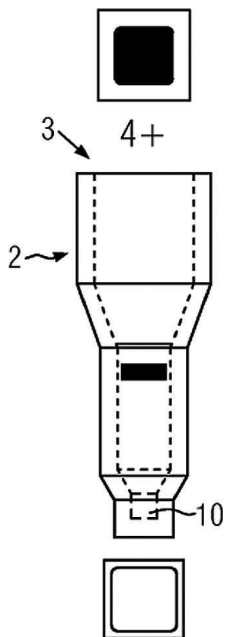
도면2



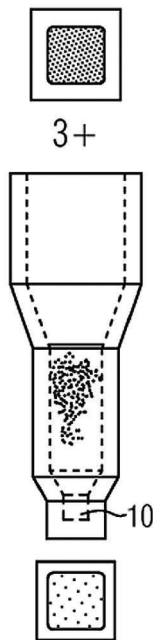
도면3



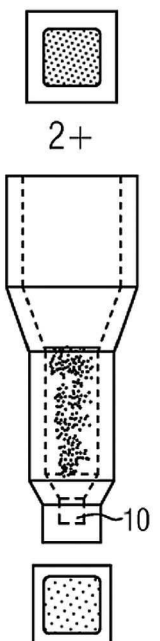
도면4a



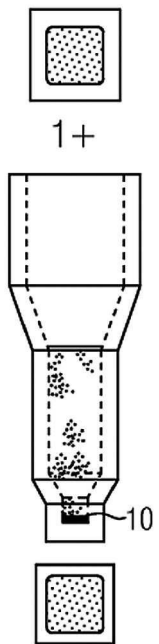
도면4b



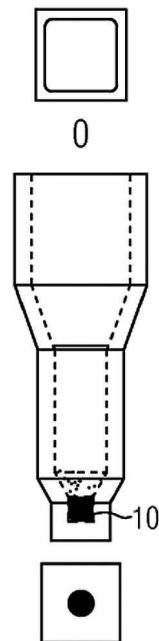
도면4c



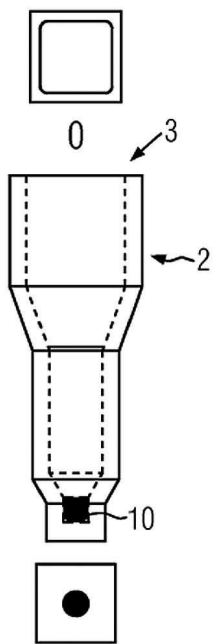
도면4d



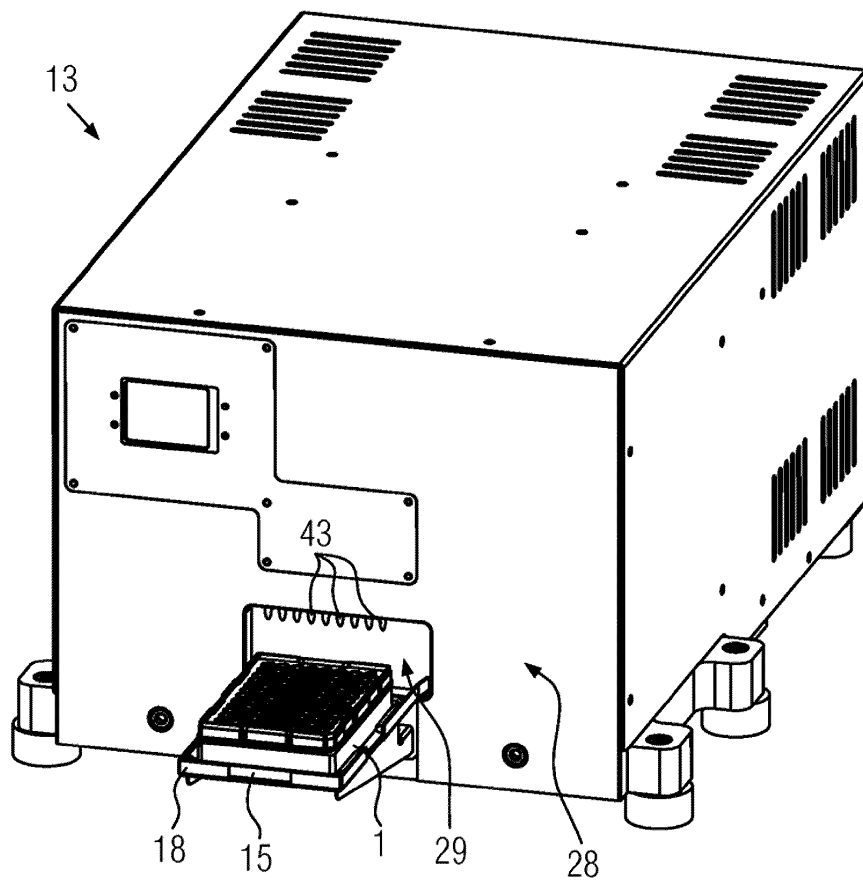
도면4e



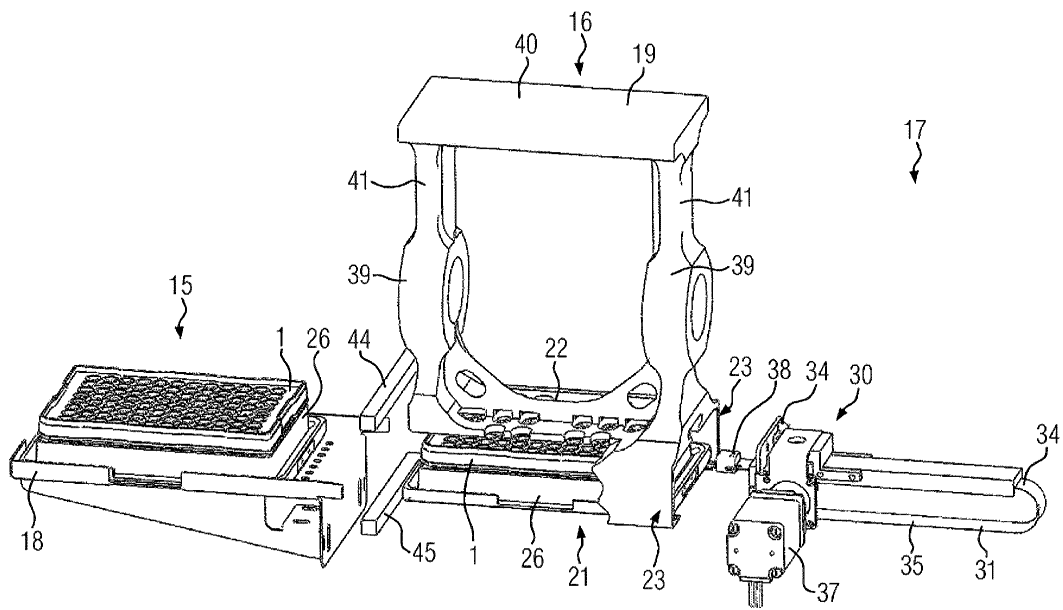
도면4f



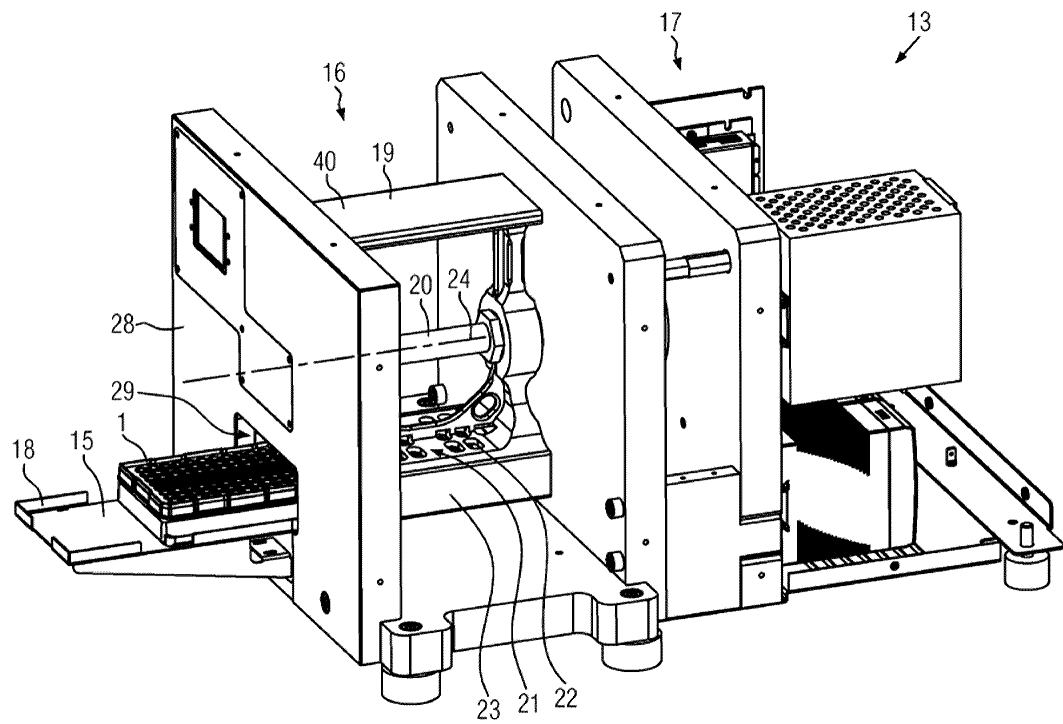
도면5



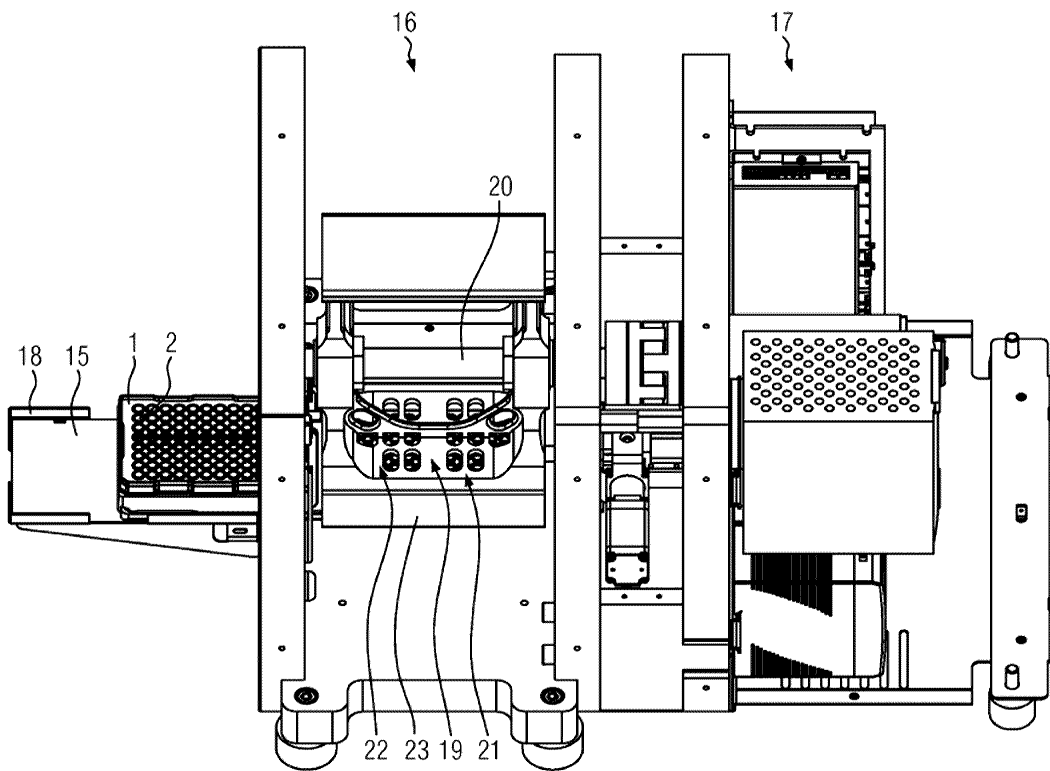
도면6



도면7



도면8



도면9

