



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년03월08일
(11) 등록번호 10-2506675
(24) 등록일자 2023년02월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2023.01) B01L 7/00 (2023.01)
G16Y 40/20 (2020.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/502761 (2013.01)
B01L 7/52 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0031615
(22) 출원일자 2022년03월14일
심사청구일자 2022년03월25일
(56) 선행기술조사문헌
JP2012080870 A*
KR1020050091366 A*
KR1020170106995 A*
KR1020170125838 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
주식회사 바이오티엔에스
대전광역시 유성구 대학로76번안길 19-12, 5-6층 (궁동)
(72) 발명자
정봉근
서울특별시 마포구 백범로 35, 서강대학교 R관 618호
최지욱
서울특별시 마포구 백범로 35, 서강대학교 RA관 405호
김봉석
대구광역시 수성구 청수로 261 캐슬골드파크 4단지 1415동 701호
(74) 대리인
특허법인에스알비

전체 청구항 수 : 총 16 항

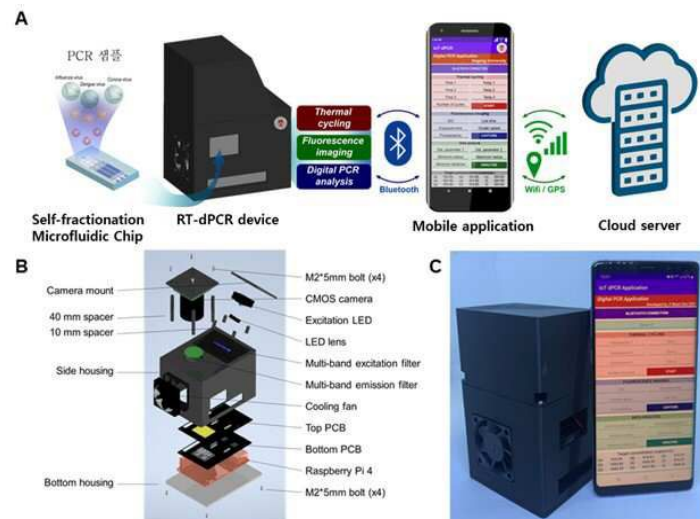
심사관 : 박재희

(54) 발명의 명칭 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템

(57) 요약

본 발명은 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 관한 것으로, 구체적으로 코로나 바이러스와 같은 감염성질환이 전 세계적으로 확산됨에 따라 현장에서 활용 가능한 진단기술로서, 복수 개의 바이러스를 한 번에 검출할 수 있으며, 스마트폰 기반의 작동으로 현장에서 활용 가능한 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템 및 이에 포함되는 플라즈모닉 히팅 모듈에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

B01L 2200/0663 (2013.01)
 B01L 2300/023 (2013.01)
 B01L 2300/0861 (2013.01)
 B01L 2300/12 (2013.01)
 B01L 2300/1838 (2013.01)
 C12Q 2565/619 (2013.01)
 C12Q 2565/629 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711155972
과제번호	2022R1A2C2003724
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구지원사업
연구과제명	기능성 전기자극칩과 다공성 나노소재를 이용한 역분화 줄기세포에서 신경세포 분화

연구

기 여 율	40/100
과제수행기관명	서강대학교
연구기간	2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711129031
과제번호	2019M3A9H2031820
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	바이오. 의료기술개발(R&D)
연구과제명	만능줄기세포 기반 콩팥오가노이드 정밀 분화 분석 및 고효율 약물 독성/효능 평가

용 오가노이드칩 기술 개발

기 여 율	30/100
과제수행기관명	중앙대학교
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345312114
과제번호	2016R1A6A1A03012845
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	기초연구사업
연구과제명	뇌질환 약물 평가 기능 나노바이오칩 개발
기 여 율	30/100
과제수행기관명	서강대학교
연구기간	2022.01.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

핵산 증폭을 위한 마이크로 유체 칩;

마이크로 유체 칩의 일 측에 위치하여 마이크로 유체 칩에 위치하는 핵산이 증폭되도록 가열하는 히팅부;

마이크로 유체 칩의 타 측에 위치하여 증폭된 핵산을 검출하기 위해 마이크로 유체 칩의 형광 이미지를 촬영하는 촬영부;

형광 이미지를 분석하는 분석부; 및

모바일 어플리케이션을 포함하고,

상기 히팅부는

일면에 금 박막 레이어 구조체를 포함한 제1PCB 기판;

금 박막 레이어 구조체의 가열영역을 플라즈모닉 가열시키기 위한 광원; 및

광원의 제어를 위한 제2PCB 기판을 포함하고,

상기 금 박막 레이어 구조체의 가열영역은 구불구불한 패턴을 갖는 미세 금속선을 포함하고,

상기 분석부는 미세 금속선의 저항 정보를 측정함으로써 시료의 온도를 산출하고,

상기 모바일 어플리케이션은 블루투스(bluetooth) 무선통신을 통해 히팅부, 촬영부 및 분석부와 연동하여 시스템을 원격으로 구동시키고, 와이파이 네트워킹(wifi networking) 기능을 통해 클라우드 서버(Cloud server)와 연동하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 마이크로 유체 칩은,

유체가 주입되는 주입구를 포함하는 유체 주입부;

미세구조체 및 미세채널부를 포함하고, 유체가 이동 가능한 유체 진입 채널을 통해 상기 유체 주입부와 연통하는 채널부; 및

상기 채널부와 연통하고, 유체가 배출되는 배출구를 포함하는 배출부;를 포함하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 유체 주입부는,

소수성 유체 (hydrophobic fluid)가 주입되는 제1주입구를 포함하는 제1유체 주입부, 및

수성 유체 (hydrophilic fluid)가 주입되는 제2주입구를 포함하는 제2유체 주입부를 포함하고,

상기 제1유체 주입부와 상기 제2유체 주입부는 소수성 유체 채널을 통해 연통하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 소수성 유체 채널의 일측은 제1유체 주입부와 연통하고, 타측은 하나 이상의 갈래로 분지되어 제2유체 주입부와 연통하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 미세채널부는 일측에 미세구조체를 포함하는 분기 채널부, 및 진행 채널부를 포함하고, 상기 분기 채널부와 진행 채널부는 교번적으로 배치되어 서로 연통하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 미세구조체는 챔버진입부 및 챔버를 포함하고, 상기 챔버는 챔버진입부를 통해 분기 채널부와 연통하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 챔버진입부는 만곡부를 포함하고, 상기 챔버진입부의 너비는 상기 챔버의 직경보다 작은 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 만곡부의 형상은 오목한 만곡선을 포함하는 반원이고, 상기 반원의 곡률 반경 (radius of curvature)은 25 내지 150 μm 인 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 마이크로 유체 칩의 재질은 폴리디메틸실록산 (polydimethylsiloxane, PDMS), 폴리메틸 메타크릴레이트 (polymethyl methacrylate; PMMA) 및 폴리카보네이트(polycarbonates; PC)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종인 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 히팅부는 일면에 금속층과 미세 금속선이 위치하는 제1PCB 기판, 및 금속층과 미세 금속선을 플라즈마로 가열시키는 제2PCB 기판을 포함하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 촬영부는 카메라 모듈, 촬영용 발광다이오드(LED) 광원, 여기 필터 및 출사 필터를 포함하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 촬영용 발광다이오드(LED) 광원으로부터 방출되는 광이, 카메라 모듈부로 조사되도록 마이크로 유체 칩으로부터 반사된 반사광과 이루는 각도는 40 내지 60도인 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 여기 필터(excitation filter)는 500 내지 540 nm, 565 내지 605 nm, 및 670 내지 710 nm의 제1형광 채널을 포함하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 출사 필터(emission filter)는 460 내지 500 nm, 530 내지 570 nm, 및 610 내지 650 nm의 제2형광 채널을 포함하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 분석부는 라즈베리파이(Raspberry Pi)를 기반으로 하는 것인, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템.

청구항 16

삭제

청구항 17

일면에 금 박막 레이어 구조체를 포함한 제1PCB 기판;

금 박막 레이어 구조체의 가열영역을 플라즈마닉 가열시키기 위한 광원; 및

광원의 제어를 위한 제2PCB 기판;을 포함하고,

상기 금 박막 레이어 구조체의 가열영역은 구불구불한 패턴을 갖는 미세 금속선을 포함하며,

상기 광원은 상기 제1PCB 기판을 향하지 않는 방향으로 광을 조사하여 상기 제1PCB 기판의 금 박막 레이어 구조체를 플라즈마닉 가열하는 것인, dPCR용 히팅 모듈.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 관한 것으로, 구체적으로 코로나 바이러스와 같은 감염성질환이 전 세계적으로 확산됨에 따라 현장에서 활용 가능한 진단기술로서, 복수 개의 바이러스를 한 번에 검출할 수 있으며, 스마트폰 기반의 작동으로 현장에서 활용 가능한 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템 및 이에 포함되는 플라즈마닉 히팅 모듈에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 분자진단의 일종인 디지털 중합효소연쇄반응(Digital polymerase chain reaction; dPCR)은 중합효소연쇄반응(Polymerase chain reaction; PCR)의 3세대 격으로서 암, 백혈병, 각종 호흡기 질환 등 다양한 질병의 진단을 위해 사용된다. 기존 1세대 PCR 및 2세대 실시간 PCR과 달리 dPCR은 표준물질이나 대조 물질 없이 절대 정량분석을 진행할 수 있으며, 높은 정확도와 민감도를 나타내 차세대 진단 시스템으로 주목받고 있다.
- [0003] 코로나 바이러스와 같은 팬데믹 발생 시, 질병 확산 방지를 위해 감염자와의 접촉 가능성이 있는 사람들을 추적하고 격리하는 것이 시급하다. 4차 산업혁명 시대 핵심 기술 중 하나인 사물인터넷(Internet of Things; IoT) 기술은 바이오 진단 시스템과 결합하여 원격 진단, 데이터 수집 및 처리 등의 역할을 수행할 수 있다.
- [0004] 디지털 PCR은 검출 대상 핵산(유전자)의 상대적인 양을 확인하기 위해 특정 증폭 사이클 이후에 형광의 강도를 측정하고, 정량화된 표준물질과 결과 값의 비교를 통해 정량화한다. 이러한 디지털 PCR의 장점은 검출 대상 핵산을 증폭하여 샘플 자체로 절대 정량이 가능하고, 좋은 재현성과 높은 민감도를 가진다.
- [0005] 그러나, 디지털 PCR에 있어서 오일 에멀전을 통한 DNA 용액 분할 기술 등의 종래 기술들은, 제품을 패키징하는 과정에서 발생하는 높은 소요 비용과 분할 기술 등에서 소요되는 긴 검출 시간이 한계점으로 인식되고 있다. 따라서, 이러한 디지털 PCR의 한계점을 극복하기 위한 개발이 지속되고 있다.
- [0006] 종래의 출시된 dPCR 시스템은 단일 타겟 DNA 검출을 목적으로 하여, 코로나 바이러스의 델타 변이 혹은 람다 변이 등의 변이를 검출하는데 한계가 있다. 또한, 복잡한 사용과 비싼 비용, 높은 전력의 사용 등으로 인해 현장에서 활용되기에 어려운 점이 있다.
- [0007] 이러한 종래 dPCR 시스템의 기술적인 단점들을 극복하여 다중 변이체를 한 번에 진단할 수 있으며, IoT 기술을 접목시켜 편리하게 디지털 PCR 분석을 진행할 수 있는 시스템 개발이 시급한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0008] 이에 본 발명자들은 다중 변이체를 한 번에 진단할 수 있으며, IoT 기술을 접목시켜 편리하게 디지털 PCR(Digital PCR; dPCR) 분석을 진행할 수 있는 시스템을 만들기 위해 노력하였다.
- [0009] 그 결과 자가 분획능을 가진 마이크로 유체 칩, 플라즈마닉 히팅 모듈, 다중 형광 이미징 모듈, 디지털 분석 모듈 및 스마트폰 어플리케이션을 포함하는 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템은 다중 변이체를 한 번에 진단할 수 있으며, IoT 기술을 접목시켜 편리하게 디지털 PCR 분석을 진행할 수 있음을 확인하였다.
- [0010] 본 발명의 목적은 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 제공하는 것이다.
- [0011] 본 발명의 다른 목적은 dPCR용 히팅 모듈을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명은 자가 분획능을 가진 마이크로 유체 칩, 마이크로 유체 칩의 핵산을 증폭하기 위해 가열하는 히팅부, 증폭된 핵산을 검출하기 위해 형광 이미지를 촬영하는 촬영부, 및 형광 이미지를 분석하는 분석부를 포함하는 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 관한 것으로, 본 발명을 이용하면 자가 분획능을 가진 마이크로 유체 칩을 통해 손쉽게 dPCR 샘플을 준비한 후, 히팅부를 통해 PCR 과정에 수반되는 온도 사이클을 낮은 전력으로 빠르게 작동 시키고, 촬영부를 통해 9개의 타겟 DNA을 한 번에 검출할 수 있으며, 분석부를 통해 타겟 DNA을 정량 진단할 수 있다.
- [0013] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.
- [0014] 본 발명의 일 예는 핵산 증폭을 위한 마이크로 유체 칩; 마이크로 유체 칩의 일 측에 위치하여 마이크로 유체 칩에 위치하는 핵산이 증폭되도록 가열하는 히팅부; 마이크로 유체 칩의 타 측에 위치하여 증폭된 핵산을 검출하기 위해 마이크로 유체 칩의 형광 이미지를 촬영하는 촬영부; 및 형광 이미지를 분석하는 분석부;를 포함하는 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 관한 것이다.
- [0015] 본 발명에 있어서 마이크로 유체 칩은 핵산 증폭을 위한 것일 수 있다.
- [0016] 본 발명에 있어서 마이크로 유체 칩은 유체가 주입되는 주입구를 포함하는 유체 주입부; 미세구조체 및 미세채널을 포함하고, 유체가 이동 가능한 유체 진입 채널을 통해 상기 유체 주입부와 연통하는 채널부; 및 상기 채널부와 연통하고, 유체가 배출되는 배출구를 포함하는 배출부;를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0017] 본 발명에 있어서 유체는 핵산 시료 등이 포함된 수성 유체 (hydrophilic fluid) 및 오일 등이 포함된 소수성 유체 (hydrophobic fluid)를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0018] 본 발명에 있어서 소수성 유체는 플루오로카본 (fluorocarbon), 히드로플루오로카본 (hydrofluorocarbon), 미네랄 오일 (mineral oil), 실리콘 오일 (silicon oil), 및 탄화수소 오일 (hydrocarbon oils)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 미네랄 오일일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0019] 본 발명에 있어서 소수성 유체의 끓는점은 120 내지 150 °C, 120 내지 145 °C, 120 내지 140 °C, 120 내지 135 °C, 120 내지 130 °C 또는 120 내지 125 °C인 것일 수 있으며, 예를 들어, 120 내지 125 °C인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않고 중합효소연쇄반응의 반응 조건을 고려하여 증발하지 않는 범위의 끓는점을 갖는 소수성 유체를 이용할 수 있다.
- [0020] 본 발명에 있어서 소수성 유체의 점성은 0.01 내지 0.15 poise, 0.01 내지 0.14 poise, 0.01 내지 0.13 poise, 0.01 내지 0.12 poise, 0.01 내지 0.10 poise, 0.01 내지 0.09 poise, 0.01 내지 0.08 poise, 0.01 내지 0.07 poise, 0.01 내지 0.06 poise 또는 0.01 내지 0.05 poise인 것일 수 있으며, 예를 들어, 0.01 내지 0.05 poise 인 것일 수 있다. 점성이 0.15 poise를 초과하는 경우에는 샘플의 분획이 불안정해질 수 있다.
- [0021] 본 발명에 있어서 채널부는 유체 진입 채널과 연통하는 제1채널부, 배출부와 연통하는 제2채널부, 및 제1채널부와 제2채널부의 사이를 연통하는 미세채널부를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0022] 본 발명에 있어서 미세채널부는 미세구조체 및 미세채널을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 본 발명에 있어서 미세채널부는 일측에 미세구조체를 포함하는 분기 채널부, 및 진행 채널부를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명에 있어서 분기 채널부와 진행 채널부는 교번적으로 배치되어 서로 연통하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0025] 본 발명에 있어서 미세구조체는 챔버 및 챔버진입부를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0026] 본 발명에 있어서 유체는 분기 채널부에서 챔버진입부를 통해 챔버로 이동하거나, 진행 채널부로 이동할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명에 있어서 챔버진입부는 만곡부를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0028] 본 발명에 있어서 만곡부의 형상은 오목한 만곡선을 포함하는 반원일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0029] 본 발명에 있어서 챔버진입부의 너비는 챔버의 직경보다 작은 것일 수 있다.
- [0030] 본 발명에 있어서 오목한 만곡선을 포함하는 반원의 곡률 반경 (radius of curvature)은 25 내지 150 μm , 25 내지 125 μm , 25 내지 100 μm , 25 내지 75 μm 또는 25 내지 50 μm 인 것일 수 있으며, 예를 들어, 25 내지 50 μm 인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0031] 본 발명에 있어서 챔버는 내부 공간이 형성되어 중합효소연쇄반응을 위하여 핵산 시료 등이 포함된 수성 유체가 내부 공간에 진입 가능한 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 본 발명에 있어서 마이크로 유체 칩의 재질은 폴리디메틸실록산 (polydimethylsiloxane, PDMS) 및 탄화수소 화합물로 구성된 아이소프렌 (isoprene)계 폴리머 탄성체로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종일 수 있으며, 예를 들어, 폴리디메틸실록산일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0033] 본 발명에 있어서 마이크로 유체 칩은 일측에 미세구조체를 포함하는 미세채널을 포함함으로써 마이크로 유체 칩에 시료를 주입한 후, 미네랄 오일 등과 같은 소수성 유체 (hydrophobicity)를 추가 주입하는 것만으로 시료를 미세구조체의 챔버 내부에 분획시킬 수 있고, 이를 통해 시료의 증발 및 교차 오염을 방지할 수 있는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0034] 본 발명에 있어서 히팅부는 마이크로 유체 칩의 일 측에 위치하여 마이크로 유체 칩에 위치하는 핵산이 증폭되도록 가열하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명에 있어서 히팅부는 일면에 금 박막 레이어(layer) 구조체를 포함한 제1PCB 기판, 금 박막 레이어 구조체의 가열영역을 플라즈모닉 가열시키기 위한 광원, 및 광원과 쿨링팬을 제어하는 제2PCB 기판을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명에 있어서 제1PCB 기판은 일면에 금 박막 레이어 구조체를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0037] 본 발명에 있어서 제1PCB 기판은 아날로그 디지털 컨버터(analogue digital converter; ADC)를 추가로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0038] 본 발명에 있어서 히팅부는 제1PCB 기판의 금 박막 레이어 구조체를 플라즈모닉 히팅시키기 위한 광원을 추가로 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0039] 본 발명에 있어서 히팅부는 제1PCB 기판의 금 박막 레이어 구조체를 냉각시키기 위한 쿨링팬(cooling fan)을 추가로 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0040] 본 발명에 있어서 쿨링팬은 금 박막 레이어 구조체의 열을 냉각시키기 위한 것으로, 대류 방식을 이용하는 공랭식 쿨링팬 또는 물을 냉매를 이용하는 수랭식 쿨링팬이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0041] 본 발명에 있어서 쿨링팬은 히트파이프와 같은 열 전도율이 높은 물질과 추가적으로 연결되어 금 박막 레이어의 열을 전달시킬 수도 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0042] 본 발명에 있어서 제2PCB 기판은 광원과 쿨링팬을 제어하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0043] 본 발명에 있어서 제2PCB 기판은 광원과 쿨링팬을 연결하기 위한 패드를 추가로 포함할 수 있으며, 예를 들어, 써멀패드(Thermal pad)를 추가로 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0044] 본 발명에 있어서 제2PCB 기판은 광원과 쿨링팬을 제어하기 위한 모스펫(metal-oxide-semiconductor field-effect transistor; MOSFET)을 추가로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 본 발명에 있어서 광원은 제1PCB 기판을 향하지 않는 방향으로 광 조사하여, 제1PCB 기판의 금 박막 레이어 구조체를 플라즈모닉 가열하는 것일 수 있다. 이 때, 예를 들어, 광원은 광 반사 수단을 별도로 구비함으로써, 광원으로부터 방출되는 광이 광 반사 수단을 통해 반사되어 금 박막 레이어 구조체에 도달할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0046] 본 발명에 있어서 광원은 금 박막 레이어 구조체의 가열영역을 플라즈모닉 가열시키기 위한 것일 수 있다.
- [0047] 본 발명에 있어서 금 박막 레이어 구조체는 구불구불한 패턴을 갖는 미세 금속선을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0048] 본 발명의 일 구체예에서, 광원이 광 반사 수단을 추가로 포함할 경우, 광원이 제1PCB 기판과 이루는 각도는 광

원으로부터 방출된 광이 광 반사 수단을 통해 제1PCB 기판으로 향하는 각도를 기준으로, 0도 초과 내지 180도 미만일 수 있으며, 예를 들어, 90도 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0049] 본 발명의 일 구체예에서, 히팅부는 광 반사 수단을 포함함으로써, 광원과 제1PCB 기판의 배치를 변경할 수 있다. 이를 통해, 광 반사 수단이 포함되는 히팅부를 소형화하면서 광원을 집중시킬 수 있고, 결국 본 발명에 따른 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템 전체의 소형화, 광원의 집적화 및/또는 시스템 설계 편의성을 증진시킬 수 있게 된다.
- [0050] 본 발명에 있어서 촬영부는 마이크로 유체 칩의 타 측에 위치하여 증폭된 핵산을 검출하기 위해 마이크로 유체 칩의 형광 이미지를 촬영하는 것일 수 있다.
- [0051] 본 발명에 있어서 촬영부는 카메라 모듈, 촬영용 발광다이오드(LED) 광원, 여기 필터 및 출사 필터를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0052] 본 발명에 있어서 카메라 모듈은 CMOS 방식(Complementary Metal-Oxide Semiconductor)의 카메라 모듈일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0053] 본 발명에 있어서 촬영용 발광다이오드(LED) 광원은 적색(Red Color)을 가진 발광다이오드(Red LED), 녹색(Green Color)을 가진 발광다이오드(Green LED), 청색(Blue Color)을 가진 발광다이오드(Blue LED) 및 황색(Amber Color)을 가진 발광다이오드(Amber LED)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상일 수 있으며, 예를 들어, 4개의 적색, 녹색, 청색 및 황색을 가진 발광다이오드를 모두 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0054] 본 발명에 있어서 촬영용 발광다이오드(LED) 광원으로부터 방출되는 광이, 카메라 모듈부로 조사되도록 마이크로 유체 칩으로부터 반사된 반사광과 이루는 각도는 40 내지 60도, 40 내지 55도, 40 내지 50도, 45 내지 60도, 45 내지 55도, 45 내지 50도 또는 45도일 수 있으며, 예를 들어, 45도일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0055] 본 발명에 있어서 여기 필터(excitation filter)는 촬영용 발광다이오드(LED) 광원과 결합할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0056] 본 발명에 있어서 여기 필터는 촬영용 발광다이오드 광원으로부터 마이크로 유체 칩에 조사되는 조사광이 특정 파장을 갖도록 조절하기 위한 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0057] 본 발명에 있어서 출사 필터(emission filter)는 카메라 모듈과 결합할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0058] 본 발명에 있어서 출사 필터는 카메라 모듈이 마이크로 유체 칩으로부터 반사되는 반사광 중 특정 파장을 갖는 반사광을 촬영할 수 있도록 조절할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0059] 본 발명에 있어서 여기 필터는 λ_{peak} 가 460 내지 500 nm, 530 내지 570 nm, 및 610 내지 650 nm 인 제1형광 채널을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0060] 본 발명에 있어서 출사 필터는 λ_{peak} 가 500 내지 540 nm, 565 내지 605 nm, 및 670 내지 710 nm 인 제2형광 채널을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0061] 본 발명의 일 구체예에서, 여기 필터는 λ_{peak} 가 390 nm, 480 nm, 550 nm 및 630 nm인 4개의 제1형광 채널을 포함하는 것일 수 있다.
- [0062] 본 발명의 일 구체예에서, 출사 필터는 λ_{peak} 가 430 nm, 520 nm, 585 nm 및 690 nm인 4개의 제2형광 채널을 포함하는 것일 수 있다.
- [0063] 본 발명에 있어서 분석부는 형광 이미지를 분석하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0064] 본 발명에 있어서 분석부는 라즈베리파이(Raspberry Pi)를 기반으로 하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0065] 본 발명에 있어서 분석부는 촬영부에서 촬영한 형광 이미지들을 하나의 RGB 이미지로 머징(merging)한 후 형광 이미지를 분석하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0066] 본 발명에 있어서 분석부는 표준 거리(Normalized distance) 및 휴 밸류(Hue value) 변수를 이용하여, 적어도

하나 이상의 타겟 DNA를 검출할 수 있다.

- [0067] 본 발명에 있어서 표준 거리는 마이크로 유체 칩이 적어도 하나 이상의 채널부를 포함하는 경우, 채널부 내 제1 채널부, 미세채널부 및 제2채널부를 이동하는 유체의 이동 방향인 X축과 이와 수직하는 Y축 좌표 값을 의미할 수 있다.
- [0068] 본 발명에 있어서 표준 거리는 적어도 하나 이상의 채널부에서 증폭된 핵산 시료간에 적어도 하나 이상의 서로 다른 타겟 DNA로부터 검출되는 정보를 구분하기 위한 것일 수 있다.
- [0069] 본 발명에 있어서 휴 밸류는 형광 이미지가 머징된 RGB 이미지의 색상을 판별하기 위해 이용되는 값일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0070] 본 발명에 있어서 분석부는 히팅부의 구동 제어를 위한 제1제어 정보를 생성할 수 있으며, 예를 들어, 히팅부의 가열 온도, 가열 시간 및 가열 횟수를 제어할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0071] 본 발명에 있어서 분석부는 촬영부의 구동 제어를 위한 제2제어 정보를 생성할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0072] 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템은 모바일 어플리케이션(mobile application)을 추가로 포함할 수 있다.
- [0073] 본 발명에 있어서 모바일 어플리케이션은 블루투스(bluetooth) 무선통신 및 와이파이 네트워킹(wifi networking) 기능을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0074] 본 발명의 일 구체예에서, 모바일 어플리케이션은 블루투스를 통해 본 발명의 분석부와 연동될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0075] 본 발명의 일 구체예에서, 모바일 어플리케이션은 와이파이 네트워킹을 통해 클라우드 서버(Cloud server)와 연동될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0076] 본 발명의 다른 일 예는 일면에 금 박막 레이어 구조체를 포함한 제1PCB 기판; 금 박막 레이어 구조체의 가열영역을 플라즈모닉 가열시키기 위한 광원; 및 상기 광원의 제어를 위한 제2PCB 기판;을 포함하는 dPCR용 히팅 모듈에 관한 것이다.
- [0077] 본 발명에 있어서 광원은 광 반사 수단을 추가로 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0078] 본 발명에 있어서 광 반사 수단은 반사 부재를 구비함으로써, 광원으로부터 방출된 광의 진로를 변경시키는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0079] 본 발명에 있어서 광원은 제1PCB 기판을 향하지 않는 방향으로 광을 조사하여 제1PCB 기판의 금 박막 레이어 구조체를 플라즈모닉 가열하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0080] 본 발명에 있어서 제2PCB 기판은 쿨링팬과 연결되기 위한 쿨링팬 마운트를 추가로 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0081] 본 발명을 이용하면 코로나 바이러스와 같은 호흡기 감염성 질환이나 암 질환 등의 빠른 진단뿐만 아니라, 델타 변이와 같은 아종들을 현장에서 한 번에 간편하게 검출할 수 있다.
- [0082] 또한, 높은 히팅 효율을 지닌 플라즈모닉 기반의 온도조절기를 통해 디지털 PCR 진단의 시간을 단축시킬 수 있으며, 소형화된 이미징 시스템과 결합되어 휴대성이 뛰어나다. 또한, 스마트폰 어플리케이션과의 연동을 통해 손쉬운 작동으로 비전문가도 dPCR 분석을 편리하게 진행할 수 있어, 현장진단 시스템으로서의 활용도 또한 뛰어나다.
- [0083] 즉, 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템은 현장 진단과 관련된 다양한 분야에서 폭 넓게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0084] 도 1은 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템의 구성을 나타낸 모식도이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 포함될 수 있는 자가 분획능을 가진 마이크

로 유체 칩의 세부 구성을 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 유체 칩을 제작하기 위한 도면을 나타낸 것이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 유체 칩에 포함되는 미세구조체와 미세채널의 구조를 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 포함되어 DNA 증폭과정을 수행하기 위한 히팅부의 세부 구성을 나타낸 것이다.

도 8은 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 포함되고 다중 dPCR 진단을 위한 촬영부의 세부 구성을 나타낸 것이다.

도 9는 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 포함되는 분석부가 형광 이미지를 분석하는 방법을 나타낸 것이다.

도 10은 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 이용하여 촬영한 다중 dPCR 형광 이미지를 나타낸 것이다.

도 11은 본 발명의 일 실험예에 따라 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 이용한 인플루엔자 바이러스 (Influenza virus) 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 12는 본 발명의 일 실험예에 따라 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 이용한 뎅기 바이러스 (Dengue virus) 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 13은 본 발명의 일 실험예에 따라 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 이용한 인간 코로나바이러스 (Human coronavirus) 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 14는 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 이용하여 다중 dPCR 시스템의 특이성 검증 결과를 나타낸 것이다.

도 15는 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 이용한 타겟 바이러스 예측 모델을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0085] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.
- [0086] 도 1은 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템을 나타낸 것이다.
- [0087] 도 1을 참조하면, IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템은 자가 분획능을 가진 마이크로 유체 칩, 휴대용 다중 dPCR 디바이스 및 스마트폰 어플리케이션으로 구성될 수 있다. 도 1의 A로부터 확인할 수 있듯이, 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템은 플라즈모닉 히팅 모듈, 다중 형광 이미징 모듈 및 디지털 분석 모듈을 포함하는 디바이스로 구성될 수 있다. 본 발명의 디바이스 외관은 3D 프린팅으로 제작되었으며, 개발된 스마트폰 어플리케이션과의 블루투스 연결을 통해 원격으로 작동될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 스마트폰 어플리케이션은 와이파이 연결을 통해 클라우드 서버와 연동될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0088] 스마트폰 어플리케이션은 IDE(Integrated Development Environment)의 일종인 안드로이드 스튜디오(Android Studio)를 통해 개발될 수 있다. 스마트폰 어플리케이션은 다음과 같이 작동될 수 있다.
- [0089] (1) 블루투스 페어링을 통해 플라즈모닉 히팅 모듈, 다중 형광 이미징 모듈 및 디지털 분석 모듈과 연동한다.
- [0090] (2) DNA 증폭, 형광 이미지 촬영 및 디지털 분석에 필요한 변수들을 플라즈모닉 히팅 모듈, 다중 형광 이미징 모듈 및 디지털 분석 모듈에 전송한다.
- [0091] (3) 상기 변수들을 기반으로 DNA 증폭, 형광 이미지 촬영, 디지털 분석을 진행한다.
- [0092] (4) 다중 dPCR 분석 결과를 데이터베이스 파일로 변환하여 스마트폰에 전송한다.
- [0093] (5) 서버 주소를 스마트폰 어플리케이션에 입력하여 클라우드 서버와 연동한다.
- [0094] (6) 데이터베이스 파일을 서버에 전송한다.

- [0095] (7) 클라우드에 저장된 데이터베이스 파일을 스마트폰으로 다운로드 한다.
- [0096] 도 2는 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템의 구성을 나타낸 모식도이다.
- [0097] 도 2를 참조하면, 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템은 핵산 증폭을 위한 마이크로 유체 칩(10); 마이크로 유체 칩(10)의 일 측에 위치하여 마이크로 유체 칩(10)에 위치하는 핵산이 증폭되도록 가열하는 히팅부(20); 마이크로 유체 칩(10)의 타 측에 위치하여 증폭된 핵산을 검출하기 위해 마이크로 유체 칩(10)의 형광 이미지를 촬영하는 촬영부(30); 및 형광 이미지를 분석하는 분석부(40);를 포함할 수 있다.
- [0098] 마이크로 유체 칩(10)의 세부 구성은 도 3 내지 도 5에, 히팅부(20)의 세부 구성은 도 6에, 촬영부(30)의 세부 구성은 도 8에, 분석부(40)의 세부 작동 메커니즘은 도 9에 나타내었다.
- [0099] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 포함될 수 있는 자가 분획능을 가진 마이크로 유체 칩의 세부 구성을 나타낸 것이다.
- [0100] 도 3의 자가 분획능을 가진 마이크로 유체 칩(10)은 다음과 같이 제작된다. 실리콘 웨이퍼를 핫플레이트로 150 ℃까지 가열하여 표면층에 잔존하는 물 분자를 제거시키고, HMDS(Hexamethyldisilazane)를 스핀 코팅하여 도포하였다. IPA(Isopropyl alcohol)로 웨이퍼 표면을 세척하여 반응하지 않은 HMDS를 제거하고 건조시켰다. 건조된 실리콘 웨이퍼 위에 포토레지스트(Photoresist, SU8-50)를 1000 rpm으로 30초간 스핀 코팅하여 100 um 높이의 포토레지스트 층을 구성하였다. 이후 핫플레이트를 통해 65 ℃ 및 95 ℃로 가열하여 웨이퍼를 베이킹(bake)하였다.
- [0101] 상기 디자인을 기반으로 제작한 마스크 필름과 포토레지스트가 도포된 웨이퍼를 얼라이너(aligner)에 위치시키고, 자외선을 누광하여 패터를 전사하였다. 핫플레이트를 통해 추가적으로 웨이퍼를 베이킹하고, 디벨로퍼(developer)를 통해 반응하지 않은 포토레지스트를 제거하였다. 이소프로필알코올(isopropyl alcohol; IPA)을 통해 세척하고, 질소 가스를 통해 건조시켰다.
- [0102] 제작된 웨이퍼를 클로로트리메틸실란(chlorotrimethylsilane)을 통해 소수성 처리를 하고, 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane; PDMS)을 부은 후 오븐에서 80 ℃로 2시간 동안 베이킹하였다. 1.5 mm 직경의 펀치를 이용하여 PDMS 몰드에 주입구와 배출구를 형성하였고, 글라스 슬라이드와 함께 산소 플라즈마 처리하여 친수성 처리를 한 후, 분당시키면 본 발명의 마이크로 유체 칩을 제작할 수 있다.
- [0103] 도 3의 B 및 C를 참조하면, 마이크로 유체 칩은 3개의 구역으로 분리되며, 각각 1,080개의 마이크로웰 패턴 (직경: 100 um)과 18개의 직선채널 (선폭: 50 um)로 구성될 수 있다.
- [0104] 도 3의 D에서 확인할 수 있듯이, 파란색 염료로 염색한 샘플과 미네랄 오일을 이용하여 마이크로 유체 칩의 자가 분리 실험을 진행하였다. 먼저 제2유체 주입부(120)에 파이펫을 이용하여 수성 유체를 포함하는 샘플을 주입하고, 제1유체 주입부(110)에 미네랄 오일을 주입한 후, 현미경을 통해 결과를 관찰하였다. 샘플이 채널부(200) 전면에 구성되고, 이후 오일의 주입으로 인해 성공적으로 샘플이 분리되었다.
- [0105] 이러한 마이크로 유체 칩을 제작하기 위한 도면을 도 4에 나타내었다.
- [0106] 도 4를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 시스템에 포함되는 마이크로 유체 칩(10)은 유체가 주입되는 주입구를 포함하는 유체 주입부; 미세구조체 및 미세채널을 포함하고, 유체가 이동 가능한 유체 진입 채널을 통해 상기 유체 주입부와 연통하는 채널부; 및 상기 채널부와 연통하고, 유체가 배출되는 배출구를 포함하는 배출부;를 포함할 수 있다.
- [0107] 유체 주입부는 유체가 주입되는 주입구를 포함하는 것일 수 있다. 유체는 핵산 시료 등이 포함된 수성 유체(hydrophilic fluid) 및 오일 등이 포함된 소수성 유체(hydrophobic fluid)를 포함하는 것일 수 있다.
- [0108] 유체 주입부는 소수성 유체가 주입되는 제1주입구 (미도시)를 포함하는 제1유체 주입부 (110); 및 수성 유체가 주입되는 제2주입구 (미도시)를 포함하는 제2유체 주입부 (120);를 포함하는 것일 수 있다.
- [0109] 제2유체 주입부 (120)는 소수성 유체 채널 (115)을 통해 제1유체 주입부 (110)와 연통하는 것일 수 있다. 제2유체 주입부 (120)는 제1유체 주입부 (110) 및 채널부 (200)의 사이에 배치되는 것일 수 있다.
- [0110] 마이크로 유체 칩은 제2유체 주입부 (120)를 1개, 2개, 3개 또는 4개 이상 포함하는 것일 수 있으며, 예를 들어, 3개 포함하는 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0111] 제2유체 주입부 (120)에 수성 유체가 먼저 주입되어 마이크로 유체 칩에 주입이 완료된 후, 제1유체 주입부

(110)에 소수성 유체가 주입되는 것일 수 있다.

- [0112] 제1유체 주입부 (110) 및 채널부 (200)의 사이에 배치되는 3개의 제2유체 주입부 (120)를 통해 각각 수성 유체가 주입되는 동안 제1유체 주입부 (110)를 폐쇄하면, 3개의 제2유체 주입부 (120)를 통해 주입되는 수성 유체는 서로 혼합되지 않고 주입될 수 있다.
- [0113] 소수성 유체 채널 (115)의 일측은 제1유체 주입부 (110)와 연통하고, 타측은 제2유체 주입부 (120)와 연통하는 것일 수 있다.
- [0114] 소수성 유체 채널 (115)의 일측은 제1유체 주입부 (110)와 연통하고, 타측은 1 이상의 갈래로 분지되어 제2유체 주입부 (120)와 연통하는 것일 수 있다.
- [0115] 소수성 유체 채널 (115)의 타측은 1, 2 또는 3 이상의 갈래로 분지되는 것일 수 있다. 소수성 유체 채널 (115)의 타측이 3 갈래로 분지되면, 제2유체 주입부 (120)를 통해 수성 유체가 주입된 후 제2유체 주입부 (120)에 잔류하는 수성 유체를 소수성 유체로 제거하기에 용이하다.
- [0116] 소수성 유체는 플루오로카본 (fluorocarbon), 히드로플루오로카본 (hydrofluorocarbon), 미네랄 오일 (mineral oil), 실리콘 오일 (silicon oil), 및 탄화수소 오일 (hydrocarbon oils)로 이루어진 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것일 수 있으며, 예를 들어, 미네랄 오일일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0117] 채널부 (200)는 유체가 이동 가능한 유체 진입 채널 (150)을 통해 유체 주입부와 연통하는 것일 수 있다. 채널부 (200)는 유체 진입 채널 (150)을 통해 제2유체 주입부 (120)와 연통하는 것일 수 있다.
- [0118] 유체 진입 채널 (150)은 절곡부 (155)를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0119] 절곡부 (155)는 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상 또는 4개일 수 있으며, 예를 들어, 4개일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0120] 유체 진입 채널 (150)은 절곡부 (155)를 2개 이상 포함하고, 상기 유체 진입 채널 (150)은 S자 형상, 지그재그 형상 또는 구불구불한 형상으로 형성되는 것일 수 있다. 이를 통해, 유체 진입 채널 (155)은 채널부 (200)에 진입한 유체가 역류하여 제2유체 주입부 (120)로 진입하는 것을 방지하고, 절곡부 (155)가 많을수록 역류를 더 효과적으로 방지할 수 있다.
- [0121] 채널부 (200)는 유체 진입 채널 (150)과 연통하는 것일 수 있다. 채널부 (200)는 유체 진입 채널 (150)과 연통하는 제1채널부 (260), 배출부 (300)와 연통하는 제2채널부 (270), 및 제1채널부와 제2채널부의 사이를 연통하는 미세채널부 (250)를 포함하는 것일 수 있다.
- [0122] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 유체 칩에 포함되는 미세구조체와 미세채널의 구조를 도 5에 나타내었다.
- [0123] 도 5를 참조하면, 미세채널부 (250)는 1개 이상, 2개 이상, 4개 이상, 6개 이상, 8개 이상, 10개 이상, 12개 이상, 14개 이상, 16개 이상 또는 18개 이상의 미세채널 (252)을 포함할 수 있으며, 예를 들어, 18개 이상의 미세채널 (252)을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0124] 미세채널부 (250)는 미세구조체 (251) 및 미세채널 (252)을 포함하는 것일 수 있다. 미세채널부 (250)는 일측에 미세구조체 (251)를 포함하는 분기 채널부 (252a), 및 진행 채널부 (252b)를 포함하는 것일 수 있다.
- [0125] 분기 채널부 (252a)와 진행 채널부 (252b)는 교번적으로 배치되어 서로 연통하는 것일 수 있다. 즉, 일측에 미세구조체를 포함하는 분기 채널부 (252a), 및 진행 채널부 (252b)는 하나의 단위 구조를 형성하고, 상기 단위 구조는 반복 배치되어 서로 연통하는 것일 수 있다. 반복 배치된 단위 구조를 이용하여, 미네랄 오일 등과 같은 소수성 유체를 미세구조체 내부에 분획시킬 수 있다.
- [0126] 유체는 분기 채널부 (252a)에서 챔버진입부 (251b)를 통해 챔버 (251a)로 이동하거나, 진행 채널부 (252b)로 이동할 수 있다.
- [0127] 미세구조체 (251)는 챔버 (251a) 및 챔버진입부 (251b)를 포함하는 것일 수 있다. 또한, 미세구조체 (251)는 옴 (Ω) 형상으로 형성되는 것일 수 있다.
- [0128] 챔버 (251a)는 내부 공간이 형성되어 중합효소연쇄반응을 위하여 핵산 시료 등이 포함된 수성 유체가 내부 공간에 진입 가능한 것일 수 있다. 챔버 (251a)는 소수성 유체가 내부 공간에 진입하지 않는 것일 수 있다. 챔버 (251a)는 챔버진입부 (251b)를 통해 분기 채널부 (252a)와 연통하는 것일 수 있다. 유체는 챔버진입부 (251b)를

통해 챔버 (251a)의 내부 공간으로 진입할 수 있다.

- [0129] 챔버진입부 (251b)는 만곡부 (253)를 포함할 수 있다. 만곡부 (253)의 형상은 오목한 만곡선을 포함하는 반원일 수 있다. 챔버진입부 (251b)의 너비는 챔버 (251a)의 직경보다 작아야 시료를 효과적으로 분획할 수 있으며, 챔버진입부 (251b)의 너비가 더 좁아지면 시료를 더 효과적으로 분획할 수 있다.
- [0130] 오목한 만곡선을 포함하는 반원의 곡률 반경 (radius of curvature)은 25 내지 150 μm , 25 내지 125 μm , 25 내지 100 μm , 25 내지 75 μm 또는 25 내지 50 μm 인 것일 수 있으며, 예를 들어, 25 내지 50 μm 인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 챔버진입부 (251b)와 미세채널 (252)의 너비비 (width rate)는 1:1 내지 3:1, 1:1 내지 2.5:1, 1:1 내지 2:1 또는 1:1 내지 1.5:1인 것일 수 있으며, 예를 들어, 1:1 내지 1.5:1인 것일 수 있다.
- [0131] 챔버진입부 (251b)의 너비가 미세채널 (252)에 비하여 넓어 그 너비비가 3:1을 초과할 경우에는 시료의 주입이 곤란하고, 반대로, 챔버진입부 (251b)의 너비가 미세채널 (252)에 비하여 좁아 그 너비비가 1:1 미만일 경우에는 시료의 분획이 곤란해진다. 챔버진입부 (251b)의 너비는 챔버진입부 (251b)의 양 측벽 사이의 거리 중 최단 거리를 의미하는 것일 수 있다.
- [0132] 챔버진입부 (251b)는 오목한 만곡선을 포함하는 반원 형상의 만곡부 (253)를 포함함으로써 인하여, 챔버진입부 (251b)의 너비는 챔버 (251a)의 직경보다 작은 것일 수 있다. 이로 인해, 수성 유체가 챔버 (251a) 내부 공간으로 이동하면, 소수성 유체는 챔버 (251a) 내부 공간으로 이동하지 못할 수 있다.
- [0133] 챔버 (251a)의 직경 (diameter)은 50 내지 300 μm , 50 내지 250 μm , 50 내지 200 μm , 50 내지 150 μm 또는 50 내지 100 μm 인 것일 수 있으며, 예를 들어 50 내지 100 μm 인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0134] 미세채널 (252)의 너비 (width)는 20 내지 100 μm , 20 내지 90 μm , 20 내지 80 μm , 20 내지 70 μm , 20 내지 60 μm , 20 내지 50 μm , 30 내지 100 μm , 30 내지 90 μm , 30 내지 80 μm , 30 내지 70 μm , 30 내지 60 μm 또는 30 내지 50 μm 인 것일 수 있으며, 예를 들어, 30 내지 50 μm 인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0135] 챔버진입부 (251b)는 소수성 유체가 챔버 (251a)의 내부 공간으로 진입하는 것을 차단하는 것일 수 있다.
- [0136] 마이크로 유체 칩은 일정 크기의 제1직경을 갖는 제1챔버 및 일정 크기의 제2직경을 갖는 제2챔버를 포함하는 것일 수 있다. 제1챔버 및 제2챔버의 중심 사이의 간격값은 제1직경 및 제2직경의 합에 비해 큰 것일 수 있다.
- [0137] 미세채널 (252)의 깊이는 미세채널 (252) 너비와 1:1 내지 2:1인 것일 수 있으며, 예를 들어, 2:1인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니고 본 발명의 마이크로 유체 칩의 제작 용이성을 고려하여 적절한 깊이를 갖는 것일 수 있다.
- [0138] 유체 진입 채널 (150)은 제1채널부 (260)를 통해 미세채널부 (250)와 연통하는 것일 수 있다. 제1채널부 (260)는 미세채널부 (250)에 진입되는 유체의 흐름을 정렬할 수 있다. 미세채널부 (250)는 제2채널부 (270)를 통해 배출부 (300)와 연통하는 것일 수 있다. 배출부 (300)는 유체가 마이크로 유체 칩의 외부로 배출되는 배출구 (미도시)를 포함하는 것일 수 있다.
- [0139] 도 6은 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 포함되어 DNA 증폭과정을 수행하기 위한 히팅부의 세부 구성을 나타낸 것이다.
- [0140] 도 6의 A를 참조하면, 히팅부는 플라즈모닉 히팅(plasmonic heating)을 위한 플라즈모닉 히팅 모듈을 포함할 수 있다. 플라즈모닉 히팅 모듈은 플라즈모닉 히팅되는 금 박막 레이어 구조체, 온도 측정 및 조절을 위한 제1PCB (printed circuit board) 기판과, 히팅용 발광 다이오드(LED) 및 쿨링팬 작동을 위한 제2PCB 기판, 쿨링팬 및 마운트로 구성될 수 있으며, 이러한 플라즈모닉 히팅 모듈은 라즈베리파이를 기반으로 구동될 수 있다.
- [0141] 여기서, (i)는 시스템 제어 및 dPCR 분석을 위해 사용하는 라즈베리파이, (ii)는 LED 및 쿨링팬 제어를 위한 제2PCB 기판, (iii)는 금 박막 레이어 온도 측정을 위한 제1PCB 기판, (iv)는 플라즈모닉 히팅을 위해 사용하는 금 박막 레이어 구조체, (v)는 쿨링팬 고정을 위해 사용하는 쿨링팬 마운트, 그리고 (vi)는 금 박막 레이어 및 LED 냉각을 위해 사용하는 쿨링팬을 나타낸 것이다.
- [0142] 도 6의 B는 제1PCB 기판, C는 제2PCB 기판의 세부 구성을 나타낸 것이다.
- [0143] 제1PCB 기판은 금 박막 레이어 구조체의 연결을 위한 패드와 박막의 저항을 측정하기 위한 휘트스톤 브리지 (wheatstone bridge) 및 측정된 저항을 기반으로 온도를 계산하는 아날로그 디지털 컨버터(Analog digital

converter; ADC)를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0144] 제2PCB 기판은 예를 들어, 4개의 히팅용 발광다이오드(LED)와 쿨링팬 연결을 위한 패드, 발광다이오드(LED)와 쿨링팬 제어를 위한 모스펫(metal-oxide-semiconductor field-effect transistor; MOSFET)을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0145] 도 6의 D에서 확인할 수 있듯이, 본 발명의 시스템에 포함되는 히팅부를 이용하여 PCR thermal cycling을 구현한 결과, 35 cycle을 10분 만에 완료할 수 있었다.
- [0146] 도 7은 본 발명의 플라즈모닉 히팅 모듈에 포함되는 금 박막 레이어 구조체의 표면 구조를 나타낸 것이다.
- [0147] 도 7의 A를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 금 박막 레이어 구조체는 구불구불한 패턴을 갖는 미세 금속선(22)에 나노 사이즈의 금(Au)이 코팅된 것일 수 있다. 금 박막 레이어 구조체는 제2PCB 기판의 히팅용 발광다이오드에 의하여 플라즈모닉 가열되는 가열영역(Ha)과 가열되지 않는 비가열영역(Hb)으로 구분될 수 있으며, 미세 금속선(22)은 금 박막 레이어 구조체의 가열영역(Ha) 전반에 걸쳐 제공될 수 있다.
- [0148] 한편, 본 발명의 일 실시예에 따른 미세 금속선(22)은 금 박막 레이어 구조체의 가열영역(Ha)에 구비됨으로써 시료의 온도를 측정하는 온도 센서의 역할을 수행할 수 있으며, 분석부(40)는 미세 금속선(22)의 저항 정보를 측정함으로써 시료의 온도를 산출할 수 있다.
- [0149] 히팅용 발광 다이오드 광원은 미세 금속선(22)을 가열시키는 구성으로, 광원은 적외선, 가시광선, 자외선 범위의 파장을 방출하는 것으로 선택될 수 있으며, 예를 들어, LED PCB, 다이오드 레이저 어레이 등이 구비될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 히팅용 발광 다이오드는 적절한 세기의 빛을 방출하기 위해 임의의 개수로 선택되어 구비될 수 있다. 또한, 히팅용 발광 다이오드는 히트싱크와 함께 구비되어 과열에 대비할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0150] 도 8은 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 포함되고 다중 dPCR 진단을 위한 촬영부의 세부 구성을 나타낸 것이다.
- [0151] 도 8의 A 및 B를 참조하면, 촬영부는 다중 dPCR 진단을 위해 다중 형광 이미징 모듈로 이루어질 수 있다. 다중 형광 이미징 모듈은 CMOS 카메라 모듈, λ_{peak} 가 430 nm, 520 nm, 585 nm 및 690 nm인 4개의 채널을 지닌 출사 필터(emission filter)와 λ_{peak} 가 390 nm, 480 nm, 550 nm 및 630 nm인 4개의 채널을 가진 여기 필터(excitation filter), 광원으로 작용하는 multi color 발광다이오드(LED) (red, green, blue, amber)로 구성될 수 있다.
- [0152] 구체적으로, multi color 발광다이오드(LED) 광원이 마이크로 유체 칩 기준으로 CMOS 카메라 모듈과 40도 내지 60도 각도를 이루도록 구성하여, dPCR 분석에 사용되는 칩에 충분한 양의 빛을 누광시킬 수 있도록 하였다. 다중 형광 이미징 모듈의 각 파트는 3D 프린팅으로 제작된 몰드와 볼트 및 너트로 결합되었다. 도 8의 C에서 확인할 수 있듯이, 다중 형광 이미징 모듈을 이용하여 3개의 색상의 이미지를 촬영할 수 있었으며, 촬영된 이미지들은 하나의 RGB 이미지로 머징(merging)된 후 분석이 진행될 수 있다.
- [0153] 도 8의 D에서 확인할 수 있듯이, RGB 이미지 분석 결과, 다중 형광 이미징 모듈을 통해 촬영된 3가지 색상의 이미지는 모두 균일한 분포도를 나타내었다.
- [0154] 도 9는 본 발명의 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템에 포함되는 분석부가 형광 이미지를 분석하는 방법을 나타낸 것이다.
- [0155] 도 9의 A를 참조하면, 분석부는 다중 dPCR 분석을 위해 디지털 분석 모듈로 이루어질 수 있고, 디지털 분석 모듈은 라즈베리파이를 통해 작동되며, 파이썬을 기반으로 작성된 것일 수 있다. 디지털 분석 모듈은 2 개의 변수(Normalized distance, Hue value)를 통해 9종의 타겟 DNA를 검출할 수 있다.
- [0156] 표준 거리(Normalized distance)는 3개의 채널부를 포함하는 마이크로 유체 칩에서, 3개의 채널부를 가로지르는 Y축을 설정하고, Y축 좌표 값을 도출하여 물리적으로 3개의 채널부에 구분된 3개의 바이러스를 구분하기 위해 사용될 수 있다. 휴 밸류(Hue value)는 다중 형광 이미징 모듈을 통해 촬영되어 머징된 RGB 이미지의 색상을 판별하여 3개의 바이러스에 대한 아종을 구분하기 위해 사용될 수 있다.
- [0157] 도 9의 B를 참조하면, 적어도 1종 이상의 바이러스를 검출하기 위한 다중 형광 이미지 분석은 다음 단계로 수행될 수 있으며, 일 구체예에 따라

- [0158] (1) 다중 형광 이미징 모듈을 통해 3가지 색상의 이미지를 촬영한다.
- [0159] (2) 촬영된 이미지들을 하나의 RGB 이미지로 머징(merging)한다.
- [0160] (3) 분석 알고리즘을 통해 마이크로 유체 칩에 포함되는 미세 구조체의 위치 및 형광 세기를 측정한다.
- [0161] (4) 측정된 값들을 각각 표준 거리 및 휴 밸류로 변환한다.
- [0162] (5) 변환된 값들을 히스토그램으로 플롯팅(plotting)한다.
- [0163] (6) 히스토그램에서 피크(peak) 값을 도출한다.
- [0164] (7) 노이즈 제거를 위해 히스토그램을 스무딩(smoothing)한다.
- [0165] (8) 피크 값들 사이에 역치(Threshold) 지점을 지정한다.
- [0166] (9) 역치 지점을 기준으로 양성 및 음성을 구분하여 비율을 도출한다.
- [0167] (10) 도출한 비율을 포아송 분포도(Poisson distribution)를 통해 계산한다.
- [0168] (11) 9종 바이러스의 최종 DNA copy 값을 도출한다.
- [0169] 다양한 농도(10 copies/uL, 100 copies/uL, 1,000 copies/uL 또는 10,000 copies/uL)의 PCR 샘플을 이용하여 실험을 진행한 결과를 도 10에 나타내었다. 실험에서 PCR 샘플은 마스터 믹스(master mix), 포워드 프라이머(forward primer), 리버스 프라이머(reverse primer), 프로브(probe) 및 타겟 DNA(target DNA)로 구성되었다. 구체적으로 target DNA는 인플루엔자 바이러스(Influenza virus) 3종 - (H1N1, H3N2, IFZ B), 뎅기 바이러스(Dengue virus) 3종 - (DENV2, DENV3, DENV4), 인간 코로나바이러스(Human coronavirus) - 3종 (OC43, 229E, NL63)으로 구분된다. 프로브는 각 아종에 따라 FAM ($\lambda_{ex} = 492 \text{ nm}$, $\lambda_{ex} = 518 \text{ nm}$), TAMRA ($\lambda_{ex} = 555 \text{ nm}$, $\lambda_{ex} = 580 \text{ nm}$), Cy5 ($\lambda_{ex} = 650 \text{ nm}$, $\lambda_{ex} = 680 \text{ nm}$)를 사용하였다.
- [0170] 도 10에서 확인할 수 있듯이, 농도가 증가함에 따라 모든 바이러스 아종 샘플에서 형광 이미지의 양성 신호가 증가하였다. 이에, 다중 dPCR 분석의 민감도는 10 copies/uL이며, 작동 범위는 10 내지 10,000 copies/uL이다.
- [0171] 형광 이미지를 기반으로 정량 분석한 결과, 도 11 내지 도 13에 나타낸 바와 같이 9종의 바이러스에서 높은 정확도 (CV 10% 미만) 및 높은 선형도 ($R^2 > 0.980$)가 나타났다.
- [0172] 구체적으로, 도 11에서 확인할 수 있듯이, 인플루엔자 바이러스(Influenza virus) 3종의 선형도는 각각 H1N1 (0.984), H3N2 (0.997), IFZ B(0.993)로 나타났다. 도 12에서 확인할 수 있듯이, 뎅기 바이러스(Dengue virus) 3종의 선형도는 각각 DENV2 (0.994), DENV3 (0.992), DENV4 (0.999)로 나타났다. 도 12에서 확인할 수 있듯이, 인간 코로나바이러스(Human coronavirus) 3종의 선형도는 각각 OC43 (0.996), 229E (0.997), NL63 (0.990)로 나타났다.
- [0173] 상기 PCR 샘플을 이용하여 특이성 검증을 진행할 결과를 도 14에 나타내었다. 특이성 검증은 9종의 바이러스 중 1종씩 dPCR 분석을 진행하여 해당 바이러스를 구별할 수 있는지 평가하는 방식으로 진행하였다.
- [0174] 도 14에서 확인할 수 있듯이, 자가 분획능을 가진 마이크로 유체 칩의 표준 거리(y축 좌표값) 및 휴 밸류를 기반으로 평가한 결과, 9종의 바이러스 모두 95% 이상의 정확도가 나타나 높은 특이성을 가지는 것을 확인하였다. 또한, 상기 특이성 분석 결과를 기반으로 정량분석을 진행한 결과, 주입된 바이러스의 타겟 RNA를 높은 정확도로 예측하는 모델이 형성되어 도 15에 나타내었다.
- [0175] 구체적으로, 도 15는 총 9종의 타겟 RNA는 좌측에서부터 H1N1, H3N2, IFZ B, DenV2, DenV3, DenV4, OC43, 229E 및 NL63이며, 각 샘플내 1종의 타겟 RNA가 높은 순으로 나열 구분한 것이다.
- [0176] 결과적으로, 본 발명에서 제안한 IoT 기반 휴대용 dPCR 시스템은 간편하게 작동 가능하며, 9종의 바이러스를 높은 정확도 및 민감도로 빠르게 진단할 수 있음을 확인하였다.

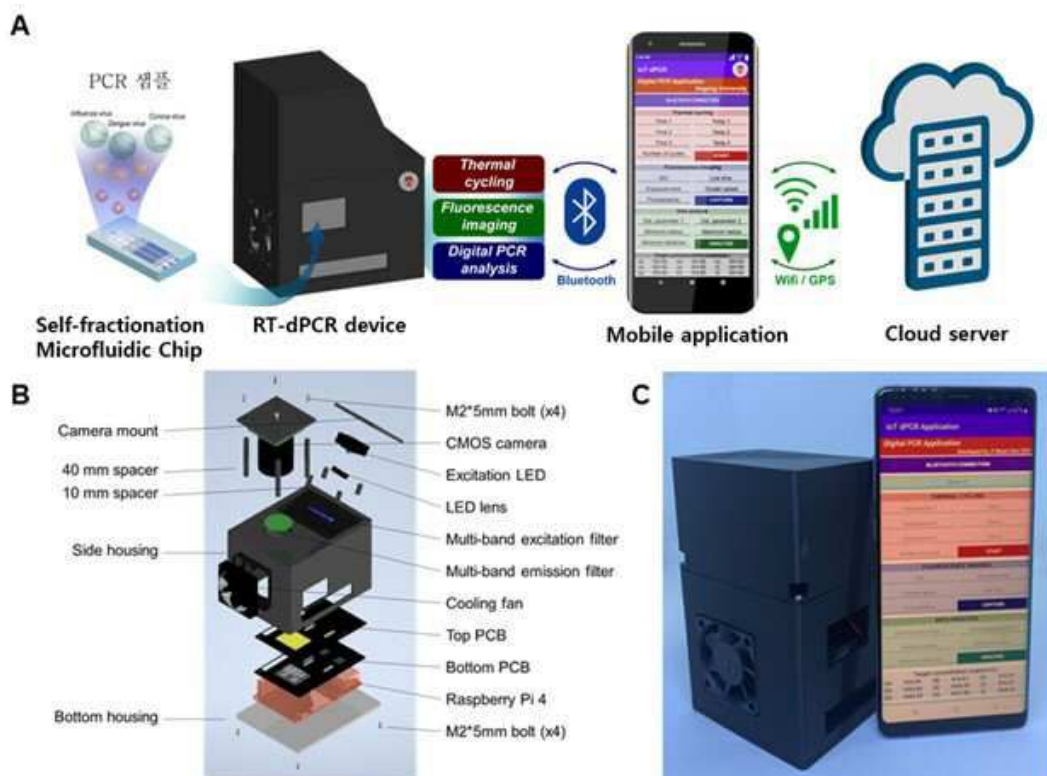
부호의 설명

- [0177] 10: 마이크로 유체 칩 20: 히팅부
- 22: 미세 금속선

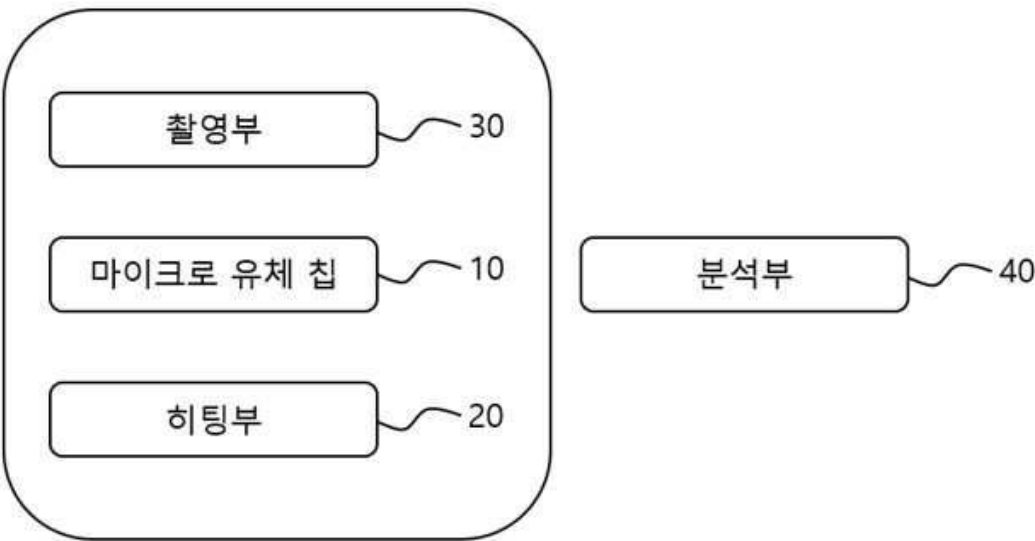
Ha: 가열영역	Hb: 비가열영역
30: 촬영부	40: 분석부
110: 제1유체 주입부	115: 소수성 유체 채널
120: 제2유체 주입부	150: 유체 진입 채널
155: 절곡부	200: 채널부
250: 미세채널부	251: 미세구조체
251a: 챔버	251b: 챔버진입부
252: 미세채널	252a: 분기 채널부
252b: 진행 채널부	253: 만곡부
260: 제1채널부	270: 제2채널부
300: 배출부	

도면

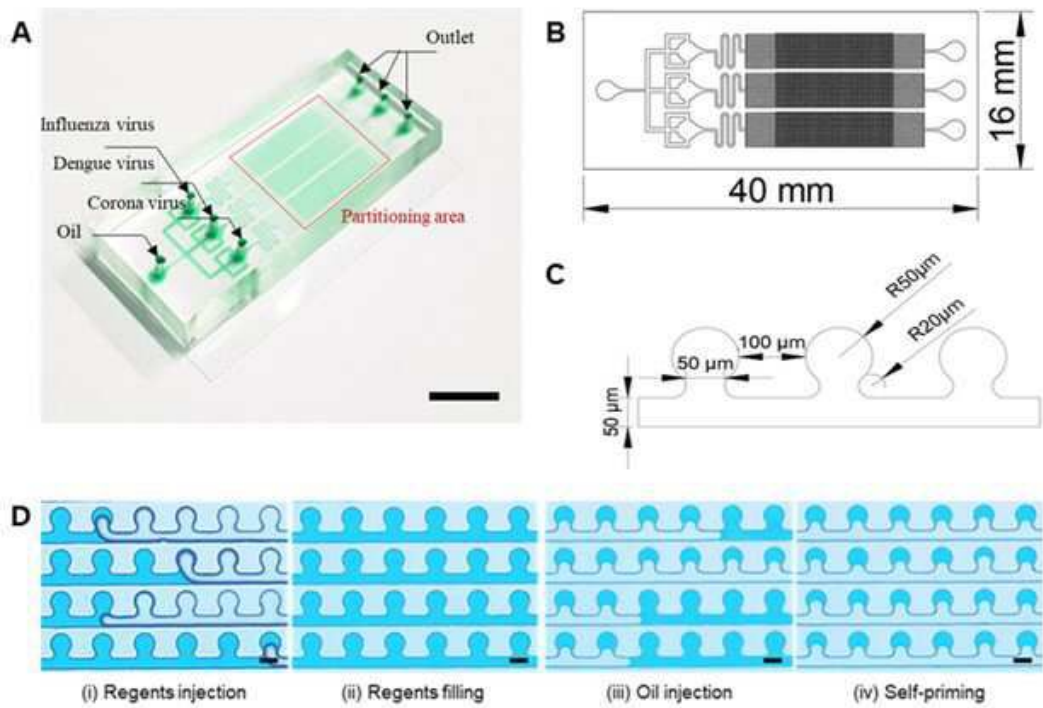
도면1



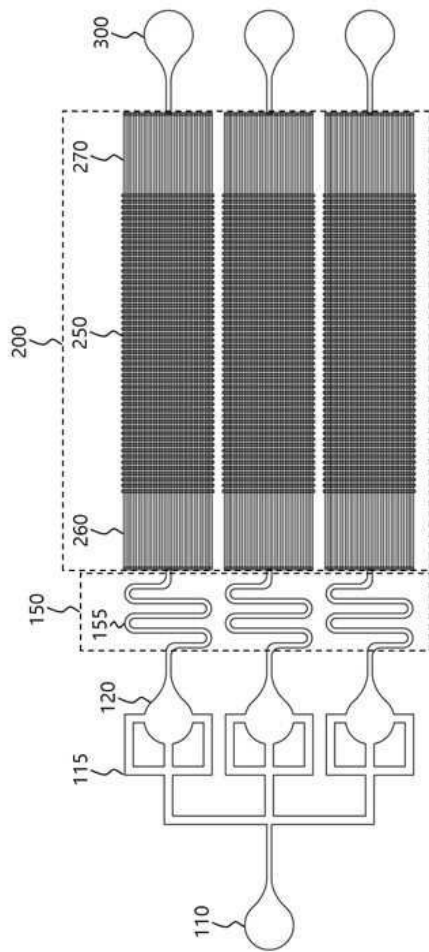
도면2



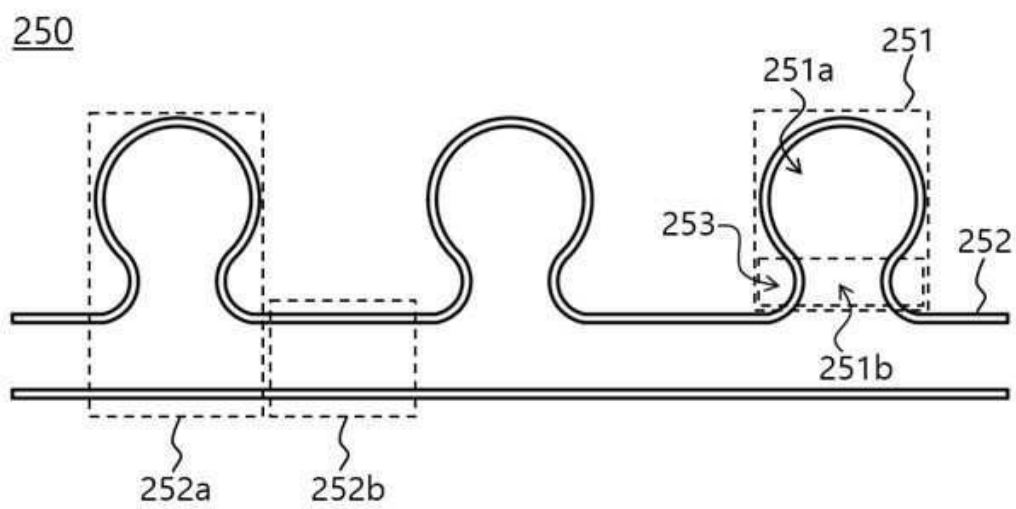
도면3



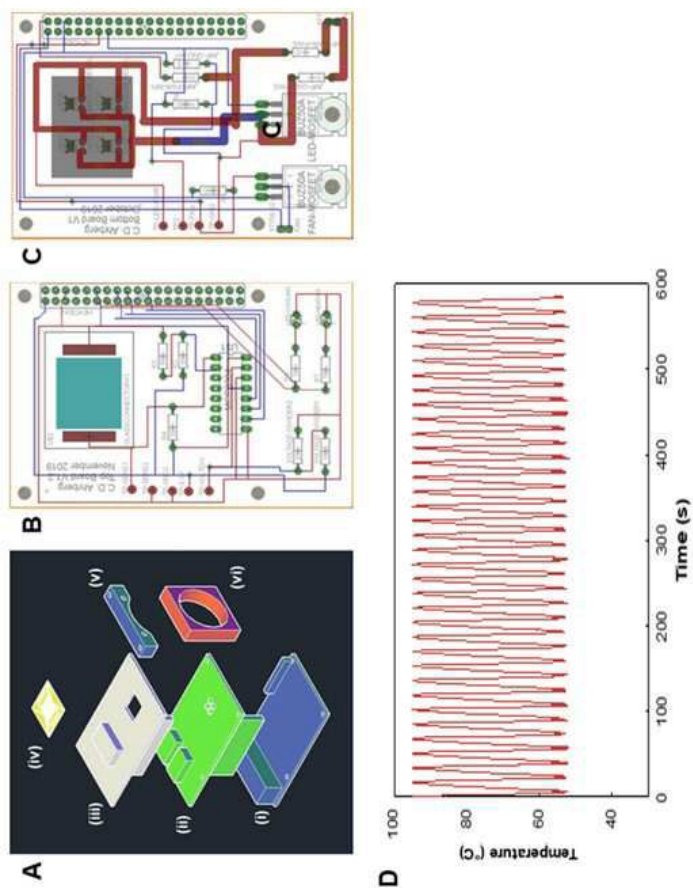
도면4



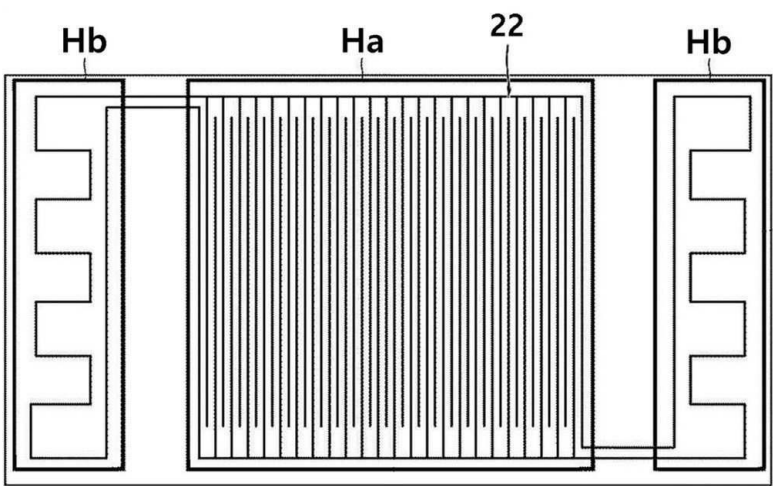
도면5



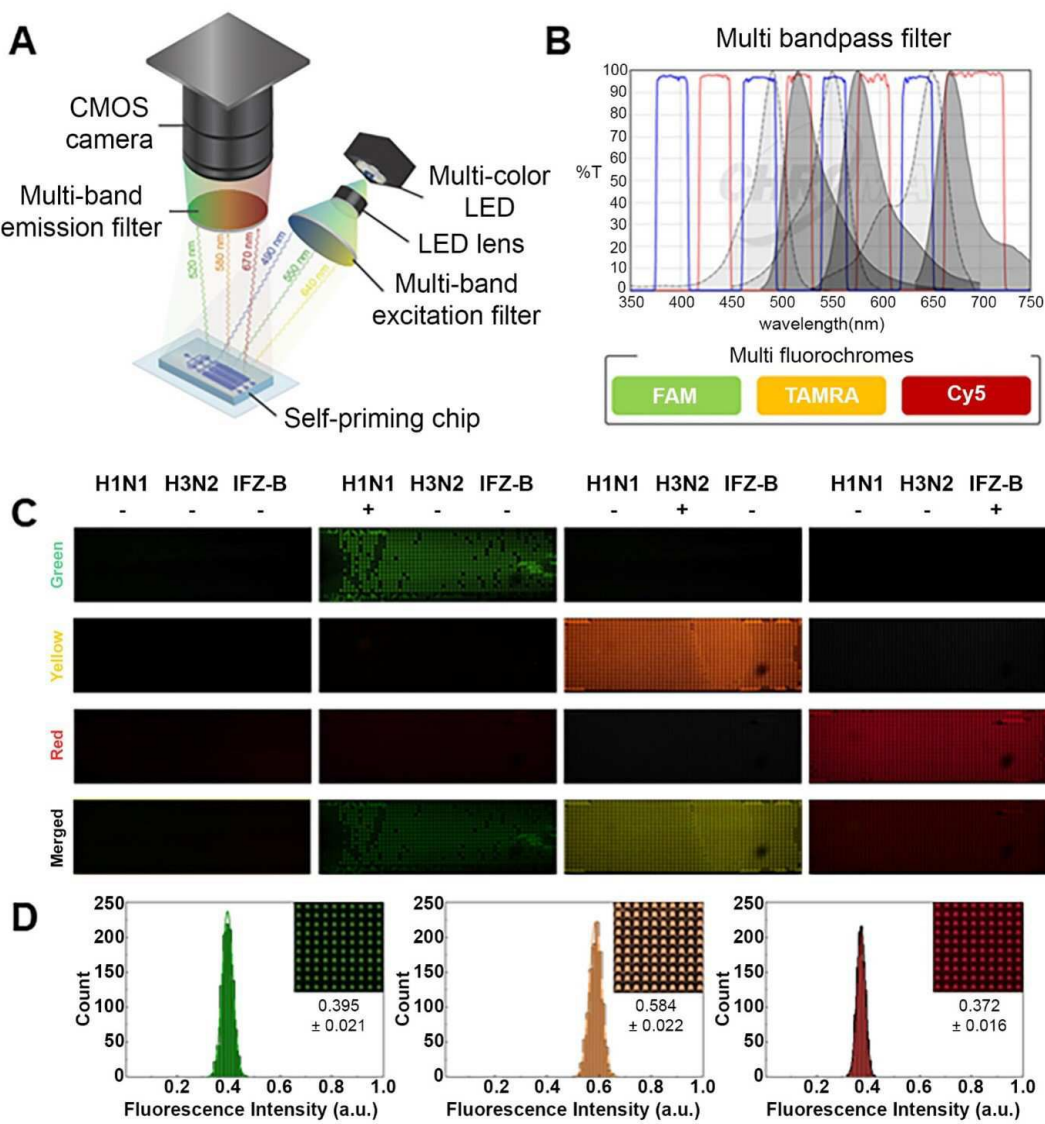
도면6



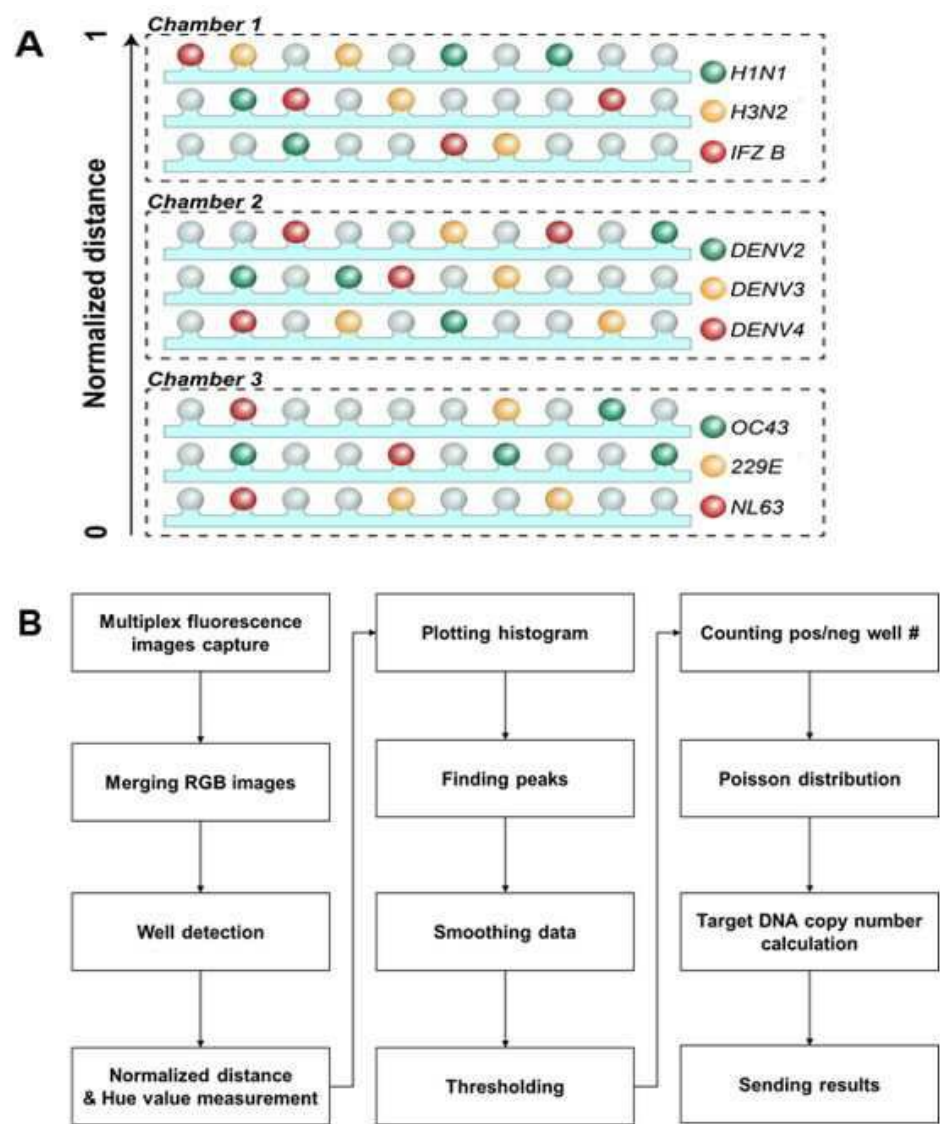
도면7



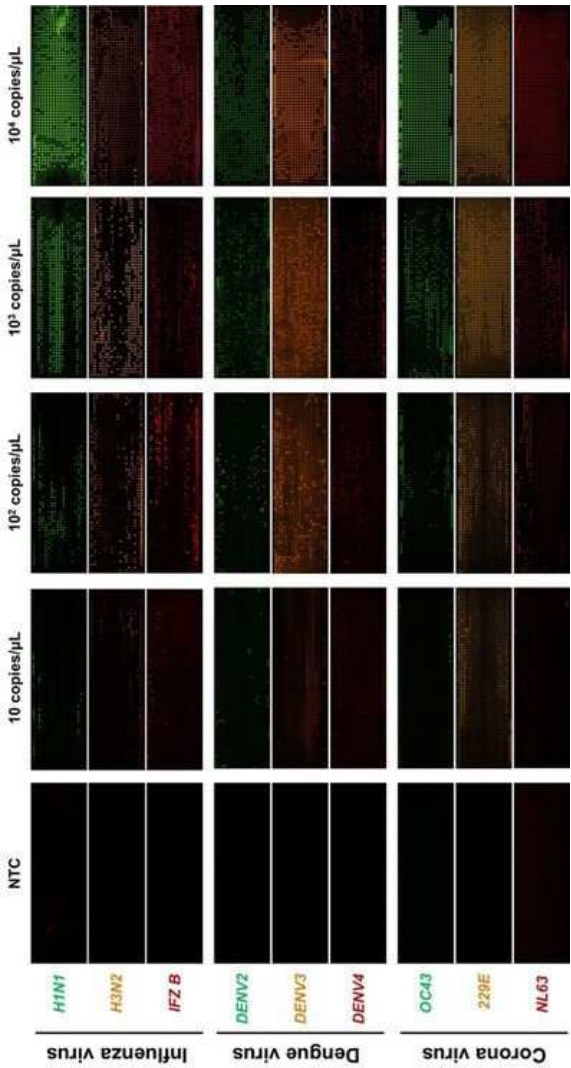
도면8



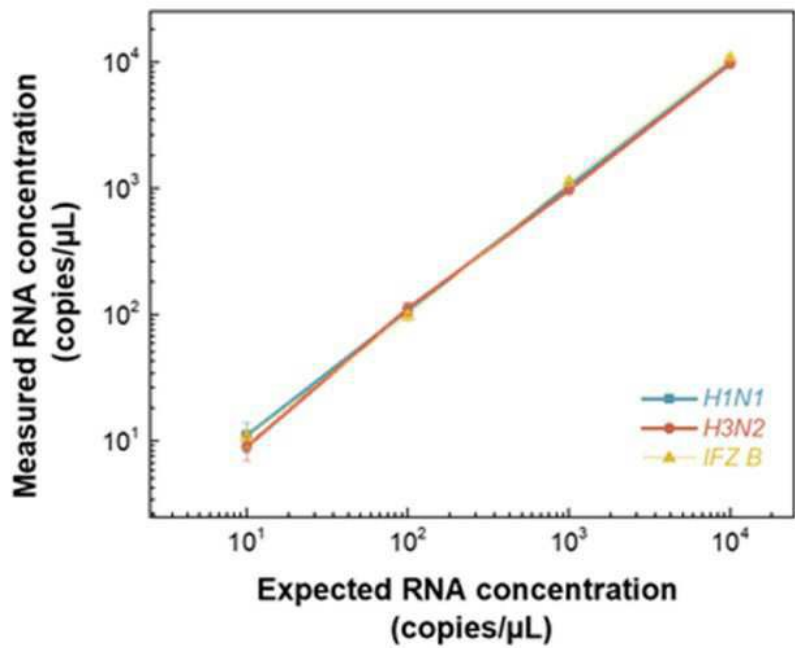
도면9



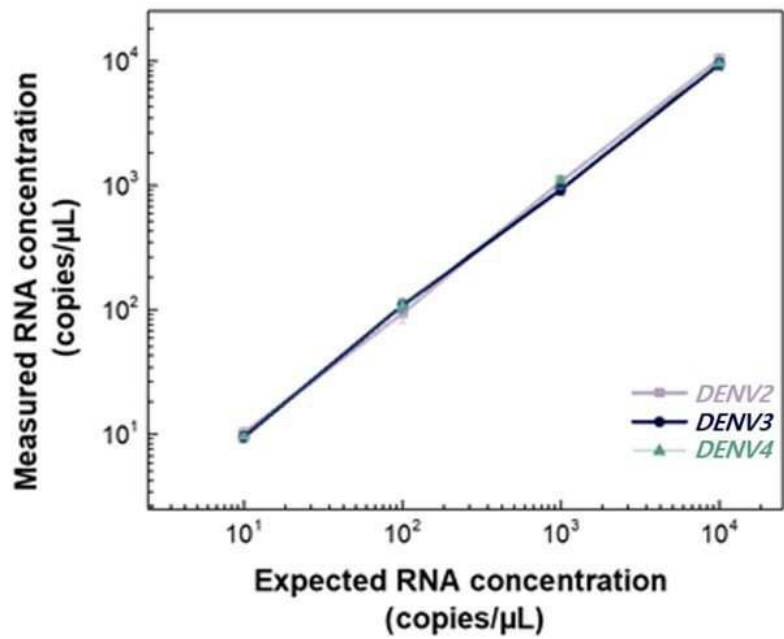
도면10



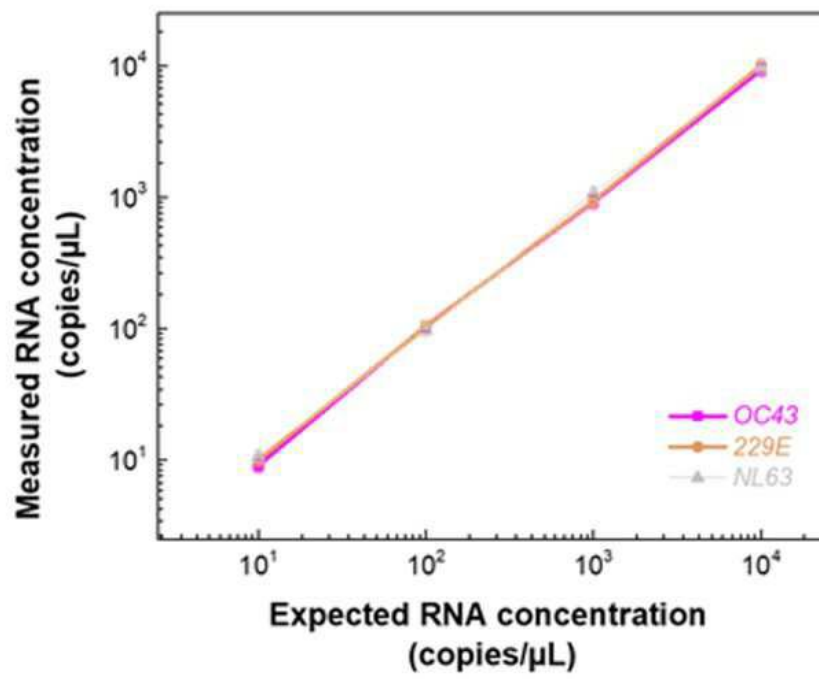
도면11



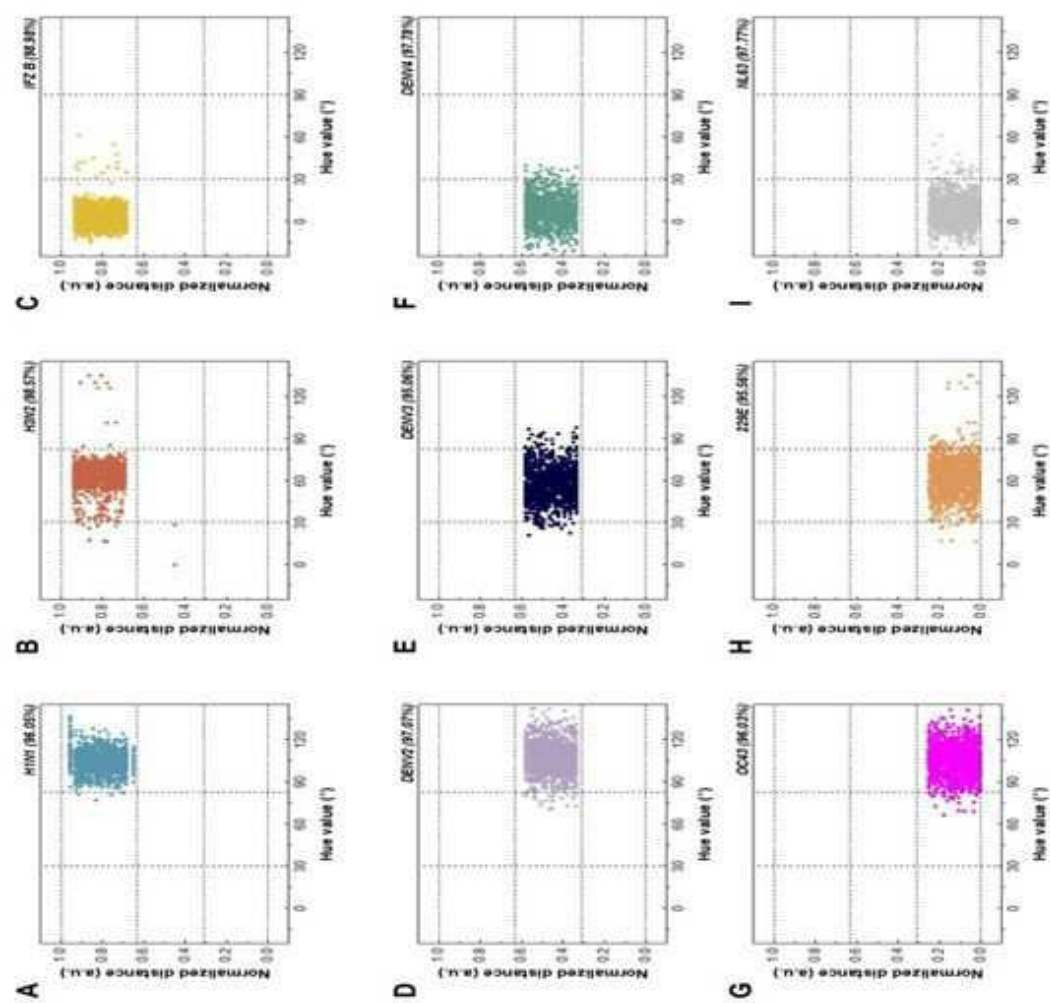
도면12



도면13



도면14



도면15

