

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014년 7월 3일 (03.07.2014)



(10) 국제공개번호
WO 2014/104830 A1

- (51) 국제특허분류: *C12Q 1/68* (2006.01) *G01N 33/58* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/012335
- (22) 국제출원일: 2013년 12월 27일 (27.12.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2012-0155242 2012년 12월 27일 (27.12.2012) KR
- (71) 출원인: 성균관대학교산학협력단 (RESEARCH BUSINESS FOUNDATION SUNGKYUNKWAN UNIVERSITY) [KR/KR]; 440-746 경기도 수원시 장안구 서부로 2066, 성균관대학교내, Gyeonggi-do (KR). 도시바삼성스토리지테크놀로지코리아 주식회사 (TOSHIBA SAMSUNG STORAGE TECHNOLOGY KOREA CORPORATION) [KR/KR]; 443-734 경기도 수원시 영통구 신원로 88, 102 동 14층, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 유재천 (YOO, Jae Chern); 427-739 경기도 과천시 원문동 레미안슈르아파트 330 동 702호, Gyeonggi-do (KR). 나원휘 (NA, Won Hwi); 138-844 서울시 송파구 석촌동 161-8 번지 세봉그린빌라 104호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 손민 (SON, Min); 135-855 서울시 강남구 양재천로 163 STX R&D 센터 6층 한얼국제특허사무소, Seoul (KR).

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

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

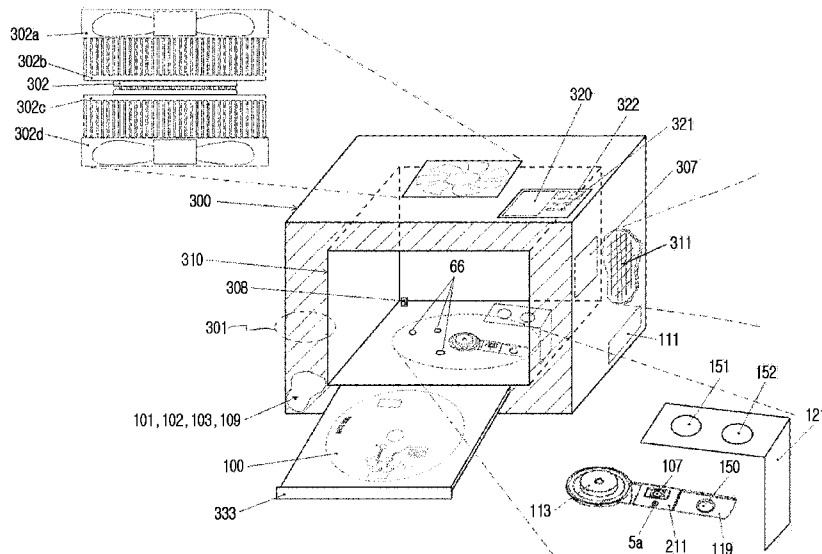
공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

[다음 쪽 계속]

(54) Title: NUCLEIC ACID AMPLIFICATION DISC DEVICE USING HEAT-SENSITIVE POLYMER COMPOSITE, AND ANALYSIS METHOD USING SAME

(54) 발명의 명칭: 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이를 이용한 분석 방법



(57) Abstract: The present invention relates to a nucleic acid amplification disc device using a heat-sensitive polymer composite and to an analysis method using same, and more specifically relates to a nucleic acid amplification disc device comprising: a nucleic acid amplification disc for amplifying genomic, viral, bacterial DNA or RNA required by various diagnostic devices, a nucleic acid mixed analysis device or an immunological investigation device; and a drive control unit for controlling the nucleic acid amplification disc. The present invention also relates to an analysis method using the device.

(57) 요약서: 본 발명은 온도 민감 폴리머 합성체를

[다음 쪽 계속]



WO 2014/104830 A1



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

이용한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이를 이용한 분석 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게, 본 발명은 각종 진단 분석장치, 핵산 혼성 분석 장치 또는 면역학적 검증 장치에 필요한 Genomic, Viral, Bacterial DNA 또는 RNA 를 증폭하기 위한 핵산 증폭 디스크, 상기 핵산 증폭 디스크를 제어하기 위한 구동제어부를 구비한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이들을 이용한 분석 방법에 관한 것이다.

명세서

발명의 명칭: 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이를 이용한 분석 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이를 이용한 분석 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게, 본 발명은 핵산 혼성 분석 장치 또는 면역학적 검증 장치에 필요한 DNA 또는 RNA를 증폭하기 위한 핵산 증폭 공정이 일괄 배치된 핵산 증폭 디스크와 상기 핵산 증폭 디스크를 제어하기 위한 구동제어부를 포함하는 핵산 증폭 디스크 장치 및 이들을 이용한 분석 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 최근까지 유체 내 소량의 핵산을 탐지를 위한 대부분의 임상 진단 분석 장치는 검체의 세포를 분쇄하기 위한 세포분쇄(cell-lysis) 공정, 분쇄된 세포로부터 DNA 샘플 또는 RNA 샘플을 추출하는 공정, RNA로부터 R-T(Reverse Transcription: 역전사)에 의한 DNA 샘플을 준비하기 위한 공정, 폴리머라아제(polymerase), dNTP 및 프라이머(primer)를 비롯한 각종 효소(enzyme)를 이용한 표적 DNA(template 혹은 target DNA)에 대한 핵산 증폭 공정 그리고 PCR(polymer chain reaction)의 산물(product)을 정량적으로 측정하는 검출(detection) 공정 등 일련의 공정들이 순서대로 차례로 전문가의 수작업에 의해 수행된다.

[4]

- [5] 그러나, 이러한 핵산 증폭 분석기는 비싸며, 복잡한 실험 절차 때문에 실험에 능숙한 실험자만 취급할 수 있고, 중앙집중 실험실과 병원만이 이들을 구매하여 실험을 진행할 수 있다. 따라서, 이러한 문제를 극복하기 위해 저렴하고 누구나 손쉽게 다룰 수 있는 전체 과정이 자동화된 핵산 증폭 장치가 절실히 필요하다.

[6]

- [7] 최근 콤팩트 디스크(Compact Disc)형태의 디스크 내에 많은 바이오 및 화학 공정을 집적화하여 설계함으로써 효율성 및 경제성이 개선되었으며, 이러한 콤팩트 디스크 분석장치는 미국 특허 "Devices and methods for using centripetal acceleration to drive fluid movement on a microfluidics system"(US 6,063,589); "Methods and devices for removal of organic molecules from biological mixture using an anion exchange material that includes a polyoxyalkylene"(US 2004/0209258 A1); "Biological sample processing methods and compositions that include surfactants"(US 6,617,136 B2); "Enhanced sample processing devices, systems and methods"(US 6,734,401 B2); "Apparatus and method for continuous centrifugal blood cell separation"(US 5,186,844) 및 "Modified siphons for improving metering

precision"(US 6,752,961)에 잘 예시된다.

[8]

[9] 이러한 형태의 디스크에 의한 실험 분석장치는 디스크 내에 바이오 및 화학공정을 수행하는 여러 챔버(chamber)들을 집적화하고 디스크의 회전에 의해 발생한 원심력을 이용하여 저가로 소량의 샘플과 시약을 가지고 여러 가지 분석을 자동으로 정확히 수행할 수 있는 장점을 가지고 있다.

[10]

[11] 그러나 핵산 증폭을 위해서는 DNA에 대한 가열(heating)이 필수적인데 상기 디스크들은 회전하기 때문에 회전중인 디스크 챔버 내의 DNA 시료의 온도를 측정하여 제어하는 것은 불가능한 기술로 여겨져 왔다. 따라서 디스크 기반의 과거 분석장치에서는 디스크 주변의 온도를 활용하여 디스크 내부의 온도를 간접적으로 계측하였고, 그 결과 디스크 내의 온도 계측에 대한 정확도가 크게 떨어지는 치명적인 문제를 갖고 있었다.

[12]

[13] 본 발명에서는 콤팩트 디스크(Compact Disc) 모양의 기관에 상기 핵산 증폭에 필요한 모든 공정 과 온도 민감 폴리머 합성체를 함께 집적화시킴으로써 디스크 챔버 내의 DNA 시료의 온도를 직접적으로 측정할 수 있는 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이를 이용한 분석 방법을 제공하고자 한다.

[14]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[15] 본 발명은 상기 종래기술의 문제점들을 해결하기 위하여 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 온도 민감 폴리머 합성체를 디스크 챔버 내에 집적화하여 챔버 내의 DNA 시료의 온도를 직접 측정하고 이에 따른 온도를 온도조절장치에 피드백(feedback) 하여 챔버 내의 온도를 제어함으로써, 핵산 증폭의 전(全) 공정을 자동으로 수행하기 위한 것으로, 구체적으로는 혈액, 바이러스, 바이오 물질이나 세균과 같은 검체 내에 포함된 DNA 또는 RNA를 증폭하기 위해 프렙(preparation) 공정부터 핵산 증폭 산출물(product)의 실시간 계측에 이르기까지 핵산 증폭의 전 공정이 집적화된 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이를 이용한 분석 방법을 제공하는 것이다.

[16]

과제 해결 수단

[17] 본 발명에서는 DNA 가열을 제어하기 위해 온도 민감 폴리머 합성체를 이용하여 DNA 시료의 온도를 측정한다.

[18]

[19] 이하, 본 발명에서 시료는 전혈, 혈장, 혈청, 분변, 소변, 음식물 및 세균 같은

검체로부터 얻어진 혈청, 혈장 또는 이들 검체로부터 찌꺼기를 제거한 액체를 통칭한다.

[20] 이하, 본 발명에서 상기 핵산 증폭 디스크는 "디스크"와 혼용한다.

[21]

[22] 발명에 따른 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치는 핵산 증폭 디스크; 및 상기 핵산 증폭 디스크를 회전시키기 위한 모터, 상기 핵산 증폭 디스크의 챔버 온도를 조절하기 위한 온도조절장치, 및 핵산 증폭 디스크의 챔버 온도를 측정하기 위한 광학 온도 센서로 구성된 구동제어부를 포함하며, 상기 핵산 증폭 디스크는 검체를 주입하기 위한 검체 주입구; 상기 검체를 저장하는 동시에 원심분리에 의해 전혈(whole blood)로부터 혈장(혹은 혈청)을 분리하거나 검체로부터 찌꺼기를 제거하여 시료를 얻기 위한 원심분리 챔버; 상기 찌꺼기를 저장하기 위한 찌꺼기 챔버(remnant chamber); 세척 버퍼(washing buffer)를 저장하고 있는 세척 챔버; 상기 시료 내의 세포를 분쇄(lysis)하고 상기 세척 용액에 의해 불순물을 제거하고 정제된 핵산(DNA, RNA)을 분리하거나 RNA로부터 R-T(Reverse Transcription: 역전사)에 의한 DNA 샘플을 준비하기 프렙(Preparation) 챔버; 핵산 증폭에 필요한 효소 및 버퍼 용액을 저장하고 있고 핵산 증폭(DNA amplification)을 수행하기 위한 핵산 증폭 챔버; 및 상기 챔버들을 연결하여 유체가 흐를 수 있는 통로를 제공하는 유로를 포함한다.

[23]

[24] 본 발명에 있어서, 상기 원심분리 챔버는 친수성(hydrophilic) 코팅되는 것이 선호된다.

[25] 상기 원심분리 챔버의 친수성 코팅은, 상기 검체 주입구를 통한 친수성 검체의 주입이 원활히 잘 되도록 돕는다. 일반적으로 검체는 친수성이다.

[26] 상기 핵산 증폭 디스크는 정량의 시료를 프렙 챔버에 공급하기 위한 미터링(metering) 챔버를 더 구비하는 것을 특징으로 한다.

[27] 상기 핵산 증폭 디스크는 친수성 유체 이동에 의해 시료가 이동하기 위한 시료 이동 채널을 더 구비한 것을 특징으로 한다.

[28] 상기 핵산 증폭 디스크는 원심분리 동안 원심분리 챔버 내에 시료가 그대로 억류되어 있도록 하기 위한 시료 억류 채널을 상기 원심분리 챔버와 시료이동 채널 사이에 더 구비한 것을 특징으로 한다.

[29] 상기 시료 이동 채널의 표면은 친수성(hydrophilic)으로 처리가 되어 있어, 상기 디스크의 회전시 시료 억류 채널에 의해 상기 시료 챔버 내에 억류되어 있던 시료가 디스크의 정지시 친수성 유체 이동에 의해 시료 이동 채널로 이동할 수 있다.

[30] 상기 핵산 증폭 챔버는 폴리머라아제, dNTP를 비롯한 프라이머(Primer) 등 각종 효소(enzyme)들을 포함하는 버퍼용액을 저장하는 것이 선호된다.

[31] 상기 프렙 챔버는 세포를 분해하기 위한 분쇄 버퍼(lysis buffer) 및 분쇄된 세포로부터 노출된 DNA와 친화력(affinity)에 의해 결합하는 자성체

비드(magnetic bead)를 포함하는 것이 선호된다. 이 경우 상기 핵산 증폭 디스크는 리서스펜션 버퍼(resuspension buffer) 내지 추출버퍼(Elution buffer)를 저장하기 위한 추출버퍼 챔버를 더 구비하는 것이 선호된다.

- [32] 상기 세척 버퍼를 이용하여 순차적으로 상기 자성체 비드를 세척하여 프랩 챔버로부터 불순물을 제거하고, 최종적으로 상기 리서스펜션 버퍼(resuspension buffer) 내지 추출버퍼(Elution buffer)를 프랩 챔버에 유입시켜 추출(Elution) 과정이 수행하면 순수하게 정제된 DNA가 얻어진다. 상기 정제된 DNA는 핵산 증폭 챔버로 이동하여 핵산 증폭 공정을 수행하게 된다. 상기 핵산 증폭 디스크는 DNA 이동 채널과 DNA 이동제어 밸브를 더 구비한 것을 특징으로 한다.

[33]

- [34] 본 발명의 또 다른 측면은 프랩 챔버는 상기 자성체 비드 대신에

- [35] 세포로부터 노출된 DNA와 친화력(affinity)에 의해 결합하는 실리카 비드(silica bead)로 대체될 수 있다. 이때 상기 프랩 챔버는 실리카 비드와 함께 자성체 볼(magnetic ball)을 더 포함할 수 있다.

- [36] 세척 버퍼를 이용하여 상기 실리카 비드를 세척하는 동안, 외부 영구 자석의 자력에 의해 상기 자성체 볼을 동요(stirring)시켜 프랩 챔버로부터 불순물을 효율적으로 제거하는 동시에 DNA와 실리카 비드의 효율적 결합을 유도 하고, 최종적으로 상기 리서스펜션 버퍼(resuspension buffer) 내지 추출버퍼(Elution buffer)를 프랩 챔버에 유입시켜 추출(Elution) 과정이 수행하면 순수하게 정제된 DNA가 얻어진다. 상기 정제된 DNA는 핵산 증폭 챔버로 이동하여 핵산 증폭 공정을 수행하게 된다.

- [37] 상기 실리카 비드 및 자성체 볼의 직경은 상기 DNA 이동 채널을 통과하지 못하는 크기가 선호된다.

[38]

- [39] 상기 핵산 증폭 챔버는 온도 민감 폴리머 합성체에 의해 박막 코팅되는 것이 선호된다.

[40]

- [41] 본 발명의 또 다른 측면은 핵산 증폭 챔버는 dNTP를 비롯한 프라이머(Primer) 등 각종 효소(enzyme)들을 포함하는 버퍼용액을 저장하고, 상기 핵산 증폭 디스크는 폴리머라아제(polymerase)의 저장을 위한 별도의 폴리머라아제 챔버를 구비하는 것을 특징으로 한다.

[42]

- [43] 상기 구동제어부는 상기 핵산 증폭 디스크를 올려놓기 위한 턴 테이블(turn table); 상기 턴 테이블 상의 핵산 증폭 디스크를 회전시키기 위한 모터; 상기 핵산 증폭 산출물(product)을 정량적으로 분석하기 위한 형광 센서; 상기 핵산 증폭 디스크 장치를 가열하거나 냉각하기 위한 온도조절장치; 핵산 증폭 디스크의 입/출입을 허용하는 트레이(tray); 주변 대기의 온도를 계측하기 위해 적어도

하나 이상의 대기 온도 센서; 및 상기 핵산 증폭 챔버의 내부의 온도를 측정하기 위한 광학 온도 센서로 구성되며 상기 구동제어부를 감싸는 케이스를 포함하는 것을 특징으로 한다. 상기 디스크의 직경은 120mm, 80mm, 60mm 또는 32mm의 원형 디스크가 선호되며, 두께는 1.2mm ~ 10mm가 바람직하다.

[44]

[45] 상기 형광 센서는 광원에 의해 여기(excitation)된 후, 핵산 증폭 챔버 내의 형광물질로부터 방사되는 형광을 감지한다.

[46] 상기 온도조절장치는 발열장치와 냉각 장치로 구성된 것이 선호된다.

[47]

[48] 상기 유체 이동은 상기 디스크의 회전에 의해 발생하는 원심력에 의한 유체 이동; 친수성 채널에 의한 친수성 유체 이동; 또는 유로의 모세관 현상에 의한 유체 이동에 의해 이루어질 수 있다.

[49] 상기 디스크는 사출 성형 공정 동안 디스크 표면에 유체가 흐를 수 있는 유로(channel) 및 액체를 저장할 수 있는 챔버(chamber)가 형성될 수 있다.

[50] 상기 케이스는 상기 핵산 증폭 진행 과정을 표시하기 위한 표시부; 및 동작 온/오프 내지 핵산 증폭 시간 및 사이클 횟수를 조절하기 위한 버튼 입력부를 더 구비한 것을 특징으로 한다.

[51]

[52] 상기 핵산 증폭 챔버 내에 저장된 액체의 온도 측정은 광학 온도 센서에 의한 것이 선호된다.

[53]

[54] 본 발명에 있어서, 상기 핵산 증폭 장치는 상기 케이스 내부의 대기를 가열하거나 냉각하는 함으로서 상기 핵산 증폭 챔버의 온도를 간접적으로 제어하는 것을 특징으로 한다.

[55]

[56] 본 발명의 또 다른 측면은, 온도조절장치로 상기 핵산 증폭 챔버를 직접적으로 제어하는 것을 특징으로 한다.

[57]

[58] 상기 온도조절장치는 가열과 냉각을 수행 할 수 있는 펠티어 소자(peltier device), 컴프레서(compressor)와 라디에이터(radiator)의 조합, 히팅 코일(heating coil)과 환기팬, 초음파 가열 장치, 발광 램프 또는 레이저 에 의한 빛 조사 가열장치의 조합 중에서 한 가지 이상을 선택하여 상기 핵산 증폭 챔버의 온도를 직접적 또는 간접적인 방법으로 가열 및 냉각하는 것이 선호된다.

[59]

[60] 상기 핵산 증폭 챔버는 검정색 필름을 더 구비하여 상기 빛 조사(light illumination) 가열장치에 의해 가열되는 것이 선호된다. 검정색 필름은 열을 흡수하여 빛 조사 가열장치에 의해 가열되어 핵산 증폭 챔버 내의 액체를 간접 가열한다.

- [61] 상기 검정색 필름은 빛 조사 가열장치에 의해 녹지 않는 내열성 필름 내지는 검정색 페인트에 의한 검정색 코팅면을 갖는 금속 필름이 선호된다.
- [62] 상기 내열성 필름은 아라미드(aramid) 필름, PET(Polyethylene Terephthalate) 필름, 폴리이미드 필름(polyimide film)이 선호된다.
- [63] 본 발명의 또 다른 측면은 핵산 증폭 챔버는 검정색 페인트에 의한 검정색 코팅면을 더 구비하여 상기 빛 조사 가열장치에 의해 가열되는 것이 선호된다. 검정색 페인트는 열을 흡수하여 빛 조사 가열장치에 의해 가열되어 핵산 증폭 챔버 내의 액체를 간접 가열한다.
- [64]
- [65] 상기 검정색 페인트는 빛 조사 가열장치에 의해 녹지 않는 내열성 페인트가 선호된다.
- [66]
- [67] 상기 빛 조사 가열 장치는 근 적외선 램프, 고휘도 LED를 포함하는 발열 램프 또는 레이저 빔 발생 장치가 선호된다.
- [68] 상기 근적외선 램프는 20와트 내지 100와트급의 램프가 선호된다.
- [69] 상기 온도조절장치는 강제로 공기를 순환시킬 수 있는 순환 팬이 더 포함되는 것을 특징으로 한다.
- [70]
- [71] 상기 히팅 코일과 환기팬을 사용하는 경우는 히팅 코일에 순환 팬을 장착하여 상기 케이스 내부의 공기를 가열하고, 환기 팬을 이용하여 외부의 차가운 공기를 유입시키는 것으로 냉각을 수행한다.
- [72]
- [73] 상기 온도조절장치는 팬 셔터(fan shutter)를 더 구비하여, 상기 케이스 내부를 가열 하는 동안은 닫혀 있고, 냉각을 하는 동안만 선택적으로 개방되어 외부와의 단열과 환기를 전환할 수 있는 것을 특징으로 한다.
- [74]
- [75] 본 발명의 다른 측면은, 상기 히팅 코일이 상기 트레이 상에 배치 되는 것이 선호된다.
- [76]
- [77] 본 발명의 다른 측면은, 상기 핵산 증폭 챔버 내의 액체 물질의 쿨링(cooling)은 디스크의 회전에 의해 조절되는 것이 선호된다. 디스크의 회전 동안 챔버 표면에서의 열 방출 속도가 증가하여 쿨링(cooling)이 빠르게 일어난다.
- [78]
- [79] 본 발명의 다른 측면은, 상기 핵산 증폭 챔버는 핵산 증폭 챔버 내의 액체 물질이 가열 될 때, 액체가 고온이 되게 됨에 따라 증발작용이 활발 해져서 상기 핵산 증폭 챔버 이웃한 챔버로 액체가 이동하는 것을 방지하기 위하여, 상기 핵산 증폭 챔버 의 입구 및 출구에 PCM 도어(door)가 배치 되는 것이 선호된다.
- [80]

- [81] 상기 PCM 도어는 온도에 따라 고체나 액체상태로 물질의 상(phase)이 변하는 상 변화 물질(PCM)을 저장하는 PCM 챔버와 상기 PCM 챔버 가열시 PCM이 용융되어 PCM 챔버로부터 흘러나가 상기 핵산 증폭 챔버의 입구 및 출구에 밀폐시키기 위한 모세관 채널로 구성된다.
- [82] 상기 PCM 챔버는 챔버 내부가 흑체로 코팅되거나 상기 상 변화 물질에 빛을 가하면 빛을 흡수하여 열이 발생하는 미세 발열입자를 포함하는 것이 선호되며,
- [83] 이 경우 외부의 레이저 빔의 열을 흡수하여, PCM 챔버 내의 PCM이 쉽게 용융된다.
- [84]
- [85] 상기 PCM 챔버 내에 고체상태의 PCM으로 담겨있다가 상기 핵산 증폭 챔버의 입구 및 출구를 막아야 하는 순간에 레이저 가열로 상기 PCM 챔버를 가열하게 되면 상기 상 변화 물질이 액체상태가 되어, 상기 PCM 챔버와 상기 핵산 증폭 챔버와 연결된 통로를 연결하는 모세관 채널이 모세관 현상에 의해 채워지게 된다. 또한 액체 상태의 상 변화 물질이 상기 모세관 채널을 채우게 되면 레이저 가열을 중지하여 상 변화 물질이 고체상태가 되면 상기 핵산 증폭 챔버의 입구 및 출구는 이웃한 챔버로부터 밀폐 상태가 된다.
- [86]
- [87] 상기 광학 온도 센서는 핵산 증폭 챔버 내에 코팅된 온도 민감 형광(temperature sensitive fluorescence) 염료, 레이저 빔 발생 장치 및 광 센서로 구성된 것이 선호된다. 상기 온도 민감 형광 염료는 형광 염료의 방출강도(emission intensity)가 챔버 내의 액체 온도에 따라 변화한다. 따라서 레이저 여기(excitation)에 따른 형광의 방출 강도를 광 센서로 측정함으로써 온도를 알 수 있다.
- [88]
- [89] 본 발명에서 상기 온도 민감 형광 염료는 로다민 B(rhodamine B), 페릴렌(perylene), 플루오레세인(fluorescein), 인광체(燐光體, phosphor), 및 온도에 따라 형광 빛의 방출 강도가 달라지는 염료 중 어느 하나가 사용되는 것이 선호된다.
- [90]
- [91] 상기 로다민 B는 메탄올 속에 녹아 있을 때 약 파장 553nm 근처에서 여기(excitation)되어 627nm 파장의 형광빛을 방사(emission)하는 것이 선호된다.
- [92]
- [93] 상기 페릴렌은 테트라하이드로푸란(Tetrahydrofuran) 속에 녹아 있을 때 약 파장 436nm 근처에서 여기(excitation)되어 447nm 파장의 형광빛을 방사(emission)하는 특징을 갖는다.
- [94]
- [95] 상기 로다민 B 와 페릴렌은 온도가 증가함에 따라 방사하는 형광 빛의 양이 줄어드는 특징이 있어 형광량을 측정하여 온도를 측정할 수 있다.

[96]

[97] 본 발명에서 온도 민감 형광 염료는, 상기 핵산 증폭 챔버 내에 상기 온도 민감 형광 염료를 코팅하기 위해 온도 민감 형광 염료를 아세톤에 의해 녹인 후, 이를 포토레지스트(photo-resist)와 함께 혼합한 온도 민감 폴리머 합성체인 것이 선호된다.

[98]

[99] 상기 포토레지스트는 SU8이 선호된다.

[100]

[101] 본 발명에서 또 다른 측면은 온도 민감 형광 염료는, 상기 핵산 증폭 챔버 내에 상기 온도 민감 형광 염료를 코팅하기 위해 온도 민감 형광 염료를 휘발성 극성 용매에 의해 녹인 후 이를 폴리머(polymer)와 함께 혼합한 온도 민감 폴리머 합성체인 것이 선호된다.

[102]

[103] 상기 휘발성 극성 용매는 아세톤(acetone), 메탄올 또는 에탄올이 선호된다.

[104]

[105] 상기 폴리머는 PDMS(Polydimethylsiloxane), PMMA(Polymethyl methacrylate), 다공성 멤브레인, UV 경화성수지 중 어느 하나를 사용하는 것이 선호된다.

[106]

[107] 상기 폴리머는 폴리머 내부의 온도 민감 형광 염료 분자들을 여기시키는 광이 효과적으로 내부에 도달 할 수 있는 광학적으로 투명한 물질(optically transparent material)이 선호된다.

[108]

[109] 상기 다공성 멤브레인(막)은 PVDF(Polyvinylidene fluoride) 멤브레인 또는 NC(Nitrocellulose) 멤브레인 등이 사용되는 것이 선호된다.

[110]

[111] 상기 다공성 막의 두께는 10um 에서 0.1mm 사이가 선호되며,

[112] 상기 온도 민감 형광 염료를 극성 용매에 녹인 후 상기 다공성 막에 분무하여 흡착시킨 다공성 막을 상기 핵산 증폭 챔버 내부에 설치하는 것이 선호된다.

[113]

[114] 본 발명의 다른 측면은 모든 방향으로 방사되는 상기 온도 민감 형광 염료의 형광 빛을 집광하여 광 센서 방향으로 모아서 보내주기 위한 집광판이 상기 온도 민감 폴리머 합성체와 함께 설치 되는 것이 선호된다.

[115]

[116] 상기 집광판은 질산은 반응을 통하여 상기 온도 민감 폴리머 합성체의 표면에 침착 되거나, 스퍼터링(sputtering) 공정을 통하여 상기 온도 민감 폴리머 합성체의 표면에 직접 코팅되거나, 반사율이 높은 금속 필름을 상기 온도 민감 폴리머 합성체의 표면에 부착하는 방법 중 어느 한가지로 구성 하는 것이 선호된다.

[117]

[118] 상기 온도 민감 형광 염료의 형광빛을 측정하기 위해서 상기 광 센서 앞단에 여기시키는 빛은 차단하고, 발광하는 빛만을 통과시키는 광학 필터를 더 구비하는 것이 선호된다.

[119]

[120] 상기 광 센서는 광케이블을 더 구비하여 상기 광 센서에 광케이블의 한쪽 끝을 연결하고 다른 반대편 끝을 형광빛을 측정하고자 하는 곳에 근접한 위치에 배치시켜 측정을 하는 것을 특징으로 한다.

[121]

[122] 본 발명의 다른 측면은 상기 온도 민감 형광 염료는 카멜레온 잉크(Chameleon Ink) 또는 써모컬러(thermocolor) 잉크와 같은 특정온도에서 변색되는 감온 변색 도료(temperature sensitive pigment)를 배합하여 만든 변온 잉크에 의해 대체될 수 있으며, 상기 변온 잉크(thermochromic ink)를 상기 핵산 증폭 챔버 내에 코팅 하거나 상기 변온 잉크가 도포된 상기 다공성 막을 상기 핵산 증폭 챔버 내부에 설치하는 것이 선호된다. 이 경우, 온도조절장치에 의해 디스크가 가열 된 경우 핵산 증폭 챔버 내부의 액체의 특정 온도에서 상기 변온 잉크의 색이 변하게 되는 특성을 갖고 있다. 이때 레이저(laser)빔을 상기 변온 잉크를 통해 투과시키고 반대편에서 빛 투과량을 광 센서가 측정하게 된다. 상기 변온 잉크의 색상 변화에 따라 광 센서를 통해 감지되는 빛이 세기가 다르므로 상기 액체물질의 온도를 측정할 수 있다.

[123]

[124]

[125] 본 발명에 있어, 상기 디스크 상에는 주변 대기의 온도를 계측하기 위한 적어도 한 개 이상의 온도 센서 챔버를 더 구비한 것을 특징으로 한다.

[126]

[127] 상기 온도 센서 챔버에는 온도 민감 폴리머 합성체가 코팅되든지 내지 변온 잉크가 집적화되는 것을 특징으로 한다.

[128]

[129] 상기 온도 센서 챔버는 상기 핵산 증폭 챔버 와 동심원에 있는 것이 선호된다.

[130]

[131] 본 발명에서, 상기 온도 민감 형광 염료 내지 변온 잉크에 대한 온도 계측은 레이저 빔 발생장치와 광 센서로 구성된 광학 온도 센서 장치에 의한다.

[132]

[133] 본 발명의 또 다른 측면은, 주변 대기의 온도를 계측하기 위해 적어도 하나 이상의 대기 온도 센서가 케이스 내부에 배치되는 것이 선호된다.

[134]

[135] 상기 하나 이상의 상기 디스크 주변에 배치되어 온도 센서들의 평균 측정값 내지 가중치 평균값으로 케이스 내부의 온도를 측정하는 것이 선호된다.

[136]

[137] 상기 대기 온도 센서는 서모커플(thermocouple), 서미스터(thermistor), 레이저 온도 센서 중 어느 하나가 사용될 수 있다.

[138]

[139] 본 발명에서 상기 광 센서는 포토다이오드(photodiode), 포토다이오드 어레이(photodiode array), 스펙트로미터(spectrometer), CCD(charge-coupled device), CMOS(Complementary metal?oxide?semiconductor) 이미지 센서, 레이저 파워 미터(laser power meter) 중 어느 한 가지가 사용되는 것이 선호된다.

[140]

[141] 상기 광 센서는 형광 필터가 부착되어 온도 민감 형광 염료로부터 방출되는 형광량을 측정할 수 있다

[142]

[143] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 광 센서는 상기 형광 표지된 핵산 증폭 산출물(product)을 정량적으로 분석하기 위한 형광 센서로 병용될 수 있다.

[144]

[145] 본 발명에서는 디스크 회전 중 상기 광학 온도 센서 장치에게 상기 핵산 증폭 챔버 내의 온도를 실시간 측정하기 위한 방위각 정보를 제공하는 방위각 기준 구멍(azimuthal reference hole) 내지 기준 마커(marker)을 디스크에 구비한 것을 특징으로 한다. 상기 방위각 기준 구멍(azimuthal reference hole) 및 기준 마커는 상기 핵산 증폭 챔버와 같은 반경 상에 배치되는 것이 선호된다.

[146]

[147] 본 발명에서 상기 기준 마커는 바코드(bar code)가 선호된다.

[148]

[149] 상기 투과형으로 설치된 레이저 빔과 광 센서에 의한 빛 투과율은, 디스크와 방위각 기준 구멍에서 서로 다른 값을 갖기 때문에 투과율 측정에 의해 방위각 기준 구멍을 구별할 수 있어, 기준 구멍을 참조하여 회전 동안 핵산 증폭 챔버에 대한 방위각 공간 어드레싱이 가능하여, 핵산 증폭 챔버에 대한 온도 측정 신호만을 실시간으로 구별하여 추출할 수 있다.

[150]

상기 바코드는 빛이 투과하는 부분과 투과할 수 없는 정보로 구성된 2진 코드(binary code)의 조합이 디스크 상에 인쇄된 것이 선호된다.

[151]

[152] 상기 바코드는 방위각 정보 이외에 디스크 ID(Identification) 정보로도 쓰일 수 있다.

[153]

[154] 상기 방위각 기준 구멍 및 기준 마커는 레이저 빔과 광 센서에 의한 빛 투과율 측정으로, 회전 동안 핵산 증폭 챔버에 대한 방위각 공간 어드레싱이 가능하여 핵산 증폭 챔버에 대한 온도 측정 신호만을 실시간으로 구별하여 추출할 수 있다.

[155]

[156] 본 발명에서 상기 핵산 증폭은 PCR(Polymer Chain Reaction) 썬머 사이클(thermo cycle)을 반복적으로 수행함으로써 이루어지는 것을 특징으로 한다.

[157]

[158] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 핵산 증폭은 등온 증폭(isothermal amplification)에 의해 이루어지는 것을 특징으로 한다.

[159]

[160] 상기 PCR은 denaturation(~95oC), annealing(~50oC), 그리고 extension(~72oC)으로 구성되는 세가지 온도 주기반응을 반복적으로 수행하는 썬머 사이클을 진행함으로써 이루어지나, 상기 등온증폭은 한가지의 특정온도(예를 들면 60oC)에서 약 90분 동안 증폭이 이루어진다. 상기 PCR 은 3가지 온도 제어가 필요함으로 변온 잉크 사용시에는 각각의 온도에서 다른 색깔을 나타내는 3가지 변온 잉크를 섞어서 핵산 증폭 챔버를 코팅하여야 하나, 온도 민감 형광 염료 경우는 한가지 종류의 온도 민감 형광 염료만으로 세가지 온도에 대해 다른 형광 염료의 방출강도(emission intensity) 특성을 나타낸다.

[161]

[162] 등온 증폭의 경우는 한가지 온도의 변온 잉크를 핵산 증폭 챔버 내를 코팅하면 되고, 변온 잉크 대신 온도 민감 형광 염료 사용하는 경우는 온도에 따라 다른 형광 염료의 방출강도(emission intensity) 특성을 나타내므로 등온 증폭에 해당하는 형광 염료의 방출강도 측정이 필요하다.

[163]

[164] 상기 핵산 증폭 디스크 장치의 케이스는 외기와 단열을 시키기 위한 단열재를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[165]

[166] 상기 케이스는 이를 감싸는 외부 벽면과 내부 벽면으로 구성되며 그 사이를 단열재에 의해 채워지는 것이 선호된다.

[167]

[168] 상기 PCR 썬머 사이클(thermo cycle)을 수행하기 위해서는 상기 세가지 온도를 바꿔가며 진행해야 하는데, 대기 온도 가변에 따른 케이스 내부 벽면의 온도 변화 속도와 케이스내부의 대기 온도의 반응 속도차로 인해 온도 제어에 있어 오버슈트(overshoot) 및 언더슈트(undershoot)를 피하기 어렵다.

[169]

이러한 오버슈트(overshoot) 및 언더슈트(undershoot)는 상기 케이스 내부 벽면의 온도 변화속도가 케이스 내부의 대기의 온도 변화 속도보다 늦게 응답하기 때문에 발생하게 된다.

[170]

[171] 따라서 본 발명에서는 케이스 내부 벽면 자체의 온도를 반응속도를 빠르게 변화시키기 위해 케이스 가열 장치를 케이스 내부 벽면과 외부벽면 사이에

매설하는 것이 선호된다.

[172]

[173] 낮은 온도에서 높은 온도로 변화하는 과정에서는 케이스 내부의 대기의 온도를 올리기 위해 상기 온도조절장치가 가동되는 동시에 케이스 가열장치도 동시에 온(On) 시킨다.

[174]

[175] 상기 케이스 가열 장치는 열선, PTC(Positive Temperature Coefficient thermistor heating elements)이 선호된다.

[176]

[177] 또한 상기 케이스는 케이스 내부 벽면과 외부벽면 사이에 케이스 냉각장치를 더 구비한 것이 선호된다.

[178]

[179] 본 발명의 또 다른 측면은 케이스를 가열하고 냉각하기 위한 적어도 한 개 이상의 펠티어 소자를 케이스 내부 벽면과 외부 벽면 사이에 구비하는 것을 특징으로 한다.

[180]

[181] 본 발명의 핵산 증폭 디스크 장치 및 이를 이용한 분석 방법은 바이오 물질 검사, 식중독균 검사, 방사능 오염 검사, 육류 종류 및 원산지 식별 검사, 유전자 변형 식품 검사, DNA를 이용한 면역학 검사, 유전자에 의한 질병 검사, 대장균 및 살모넬라 같은 세균 검사, 친자확인, 육류 종류 및 원산지 식별 검사 같은 유체 내 DNA 탐지하는 분석 장치에 적합하다.

[182] 상기 DNA는 Genomic, Viral, Bacterial DNA중 선택된 어느 하나가 선호된다.

[183] 또한 본 발명은 면역학 검사, 잔류항생제 검사, 잔류 농약 검사, 식품 알레르기 검사, 오염 물질 검사와 결합될 수 있다.

[184] 상기 잔류농약은 야채나 채소, 과일 중에 포함된 농약 중 사용량이 가장 많은 유기인계, 카바메이트계 살충제를 검사하는 것을 특징으로 한다.

[185] 본 발명에 있어서, 상기 세균은 대장균, 녹농균, 포도상구균, 비브리오균, 살모넬라균이 선호된다.

[186] 본 발명에 있어서, 상기 방사능 오염 검사는 방사능 노출에 따른 유전자 변화량을 검사하는 것이 선호된다.

[187] 본 발명에 있어서, 상기 바이오 물질은 DNA, 올리고 뉴클레오티드, RNA, PNA, ligand, receptor, 항원, 항체, 우유, 오줌(Urine), 타액(saliva), 머리카락, 농작물 및 채소 샘플, 육류 샘플, 어류 샘플, 조류 샘플, 오수(오염된 물), 가축 샘플, 식재료, 식품 샘플, 구강 세포, 조직샘플, 타액, 정액 또는 단백질(Protein) 또는 생체물질에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징한다.

[188] 오줌 검체시, 상기 핵산 증폭 디스크 장치는 Leucocyte, Blood, Protein, Nitrite, pH, Specific gravity, Glucose, Ketone, Ascorbic acid, Urobilinogen, bilirubin 분석을 수행할 수 있다.

- [189] 모발(머리카락) 검체시, 혈액이나 노 분석에 비해 미네랄을 비롯한 신체의 영양물질 및 독성물질의 축적에 의한 **Historical Record**를 정확히 측정할 수 있는 장점이 있다. 장기간의 무기물 과다 및 결핍을 정확히 알 수 있으며 독성 중금속의 양을 알아내는데 표본이 되며, 이는 당업자에게 공지이다.
- [190]
- [191] 상기 식재료란, 음식을 만들기 위한 재료를 말하며, 더 상세하게는 찌개를 위한 식재료, 국수 및 면류를 위한 식재료, 김치를 만들기 위한 식재료, 국 내지 탕을 만들기 위한 식재료, 국물을 포함하는 식재료 등을 말한다.
- [192] 상기 찌꺼기 챔버는 상기 원심분리 챔버 보다 상기 핵산 증폭 디스크의 중심으로부터 더 바깥쪽에 위치한다.
- [193]
- [194] 본 발명에 있어서 바람직하게는 상기 찌꺼기 챔버(remnant chamber)와 원심분리 챔버 사이에 격리 채널을 더 구비하는 것을 특징으로 한다. 피를 원심 분리하면 크게 혈청과 혈병 내지 혈장과 적혈구로 분리된다. 혈병의 대부분은 적혈구가 차지한다. 따라서 피를 원심 분리하게 되면 원심 분리 챔버에는 혈청이 남게 되고, 찌꺼기 챔버에는 적혈구가 남게 된다. 피를 아무리 원심분리를 잘하더라도 회전을 멈추면 적혈구는 혈청과 다시 섞여 버린다. 즉, 원심분리 후, 혈청만 뽑아내기 위해서는 디스크의 회전을 멈추어야 하는데, 이 경우 적혈구와 혈청이 다시 섞여 버려 혈청만 뽑아내는 것이 어려워진다. 이러한 문제를 방지하기 위해, 본 발명은 상기 찌꺼기 챔버가 강한 모세관 특성을 갖도록 격리(isolation) 채널을 찌꺼기 챔버(remnant chamber)와 원심분리 챔버의 중간에 구성함으로써 모세관 현상 및 찌꺼기 챔버의 표면과 적혈구 간의 결합력에 의해, 적혈구가 찌꺼기 챔버에 그대로 잔류토록 하여 혈청과 다시 섞이지 않게 하였다. 상기 찌꺼기 챔버의 표면과 적혈구 간의 결합력은 적혈구의 강한 점도(viscosity)에 기인하며 이로 인해 원심분리된 적혈구는 회전을 멈추더라도 혈청과 다시 섞이지 않고 찌꺼기 챔버에 그대로 남아있게 된다.
- [195] 상기 핵산 증폭 디스크는 상기 핵산 증폭 산출물에 대한 판독 결과를 저장 및 송출하는 기능 또는 개인암호화 기능을 갖는 무선 주파수(RF, Radio Frequency) 직접회로(IC, Integrated Circuit)를 포함할 수 있다.
- [196]
- [197] 상기 구동제어부는 핵산 증폭 산출물에 대한 실시간 판독을 검출하기 위한 검출 수단을 포함하며 형광 센서가 선호된다.
- [198]
- [199] 본 발명에 있어서, 바람직하게는 상기 디스크에 상기 밸브 내지 상기 프랩 챔버의 방위각 방향 탐색을 위한 박막 원기둥 자석을 더 구비한 것을 특징으로 한다. 상기 박막 원기둥 자석 대신 박막 강자성체 금속 입자가 사용될 수 있다. 상기 박막 원기둥 자석 및 박막 강자성체 금속 입자의 직경은 1mm 내지 5mm 범위 내에 있고, 두께는 0.1mm 내지 1mm 범위가 선호된다.

- [200] 본 발명에 있어서 바람직하게는 상기 친수성 유로는 다공성 표면에 의한 표면 개질(surface modification) 혹은 수성 페인트 혹은 친수성 페인트 코팅에 의해 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [201] 본 발명에 따른 구동제어부는 상기 방사방향의 이동이 가능한 슬라이더(slides)와 이것의 이동을 제어키 위한 슬라이드 모터(slide motor)를 구비하고, 슬라이더(slides) 상에는 레이저 빔 발생 장치 및 영구 자석을 탑재되는 것을 특징으로 한다.
- [202]
- [203] 본 발명에서 바람직하게는 디스크에 대한 공간 어드레싱은 방사 방향 탐색과 방위각 방향 탐색을 통해 이루어지며, 상기 방사 방향 탐색은 슬라이드 모터의 제어에 의해 이루어지는 것이 선호되며, 방위각 방향 탐색은 상기 슬라이더를 정지시킨 채 스피들 모터의 짧은 회전 제어 내지 스텝(step) 모터의 제어 의해 디스크를 일정량 회전시킴으로써 이루어지는 것이 바람직하다. 스피들 모터의 짧은 회전 동안 상기 영구자석과 박막 원기둥 자석 간에 인력에 의해 디스크의 회전이 더 이상 일어나지 않고 정지하게 되어 박막 원기둥 자석 위치에서 방위각 탐색이 이루어 지게 된다.
- [204] 상기 스텝 모터는 몸체의 방위각 방향의 회전을 위해 스피들(spindle motor) 모터축 상에 기어로 연결 체결되어 동작하는 것이 바람직하다.
- [205]
- [206] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 구동제어부는 상기 프랩 챔버에 대한 공간 어드레싱을 기준으로, 상기 밸브에 대응하여 각각의 레이저 모듈 장치를 배치하여 일대일 대응하여 각각의 밸브의 개폐를 독립적으로 제어하는 것을 특징으로 한다.
- [207]
- [208] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 구동제어부는,
- [209] 상기 스텝 모터 회전에 의해 상기 핵산 증폭 챔버에 대한 방위각 방향 탐색이 이루어진 후 상기 빛 조사 가열 장치에 의해 핵산 증폭 챔버를 국부적으로 가열하는 것이 선호된다,
- [210]
- [211]
- [212] 본 발명에서 바람직하게는, 상기 슬라이더는 상기 자성체 비드의 세척 과정 동안 프랩 챔버를 공간 어드레싱(space addressing)하고, 디스크 회전 내지 슬라이더의 짧은 반복 이동 동작으로 슬라이더 상의 영구 자석과 상기 자성체 비드 간의 인력으로 자성체 비드의 움직임을 유도하여, 자성체 비드의 세척 효율을 증대시키는 것을 특징으로 한다.
- [213] 상기 디스크는 플라스틱, 유리, 실리콘 웨이퍼, 소수성(hydrophobic) 재료 등의 다양한 재료로부터 선택될 수 있다. 그러나, 플라스틱이 경제적 이유, 가공의 용이성 때문에 바람직하다.

- [214] 바람직하게, 상기 디스크는 실리콘 웨이퍼, 폴리프로필렌, 폴리아크릴레이트, 폴리비닐알콜, 폴리에틸렌, 폴리메틸메타크릴레이트(PMMA: polymethyl methacrylate), 고리형 올레핀 고분자(COC: cyclic olefin copolymer) 및 폴리카보네이트로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상으로 형성될 수 있다. 또한, 상기 디스크는 챔버 내에 저장된 액체의 증발을 방지하기 위하여 알루미늄 코팅될 수 있다. 상기 디스크는 상부 기질, 중간 기질 및 하부 기질로 이루어지며, 이들은 접착제에 의해 접합되는 것이 바람직하다.
- [215] 상기 접착제는 실리콘, 고무계, 변성 실리콘계, 아크릴계(acrylic), 폴리에스터 및 에폭시로 이루어진 군에서 선택되는 재료로 제조될 수 있다.
- [216] 상기 몸체는 상부 기질, 중간 기질 및 하부 기질이 적층 접합되어 이루어지고, 상기 상부 기질 및 중간 기질 사이에 적층되어 그들을 결합하는 일차 양면 접착 테이프; 및 상기 중간 기질 및 하부 기질 사이에 적층되어 그들을 결합하는 이차 양면 접착 테이프를 더 포함할 수 있다.
- [217] 상기 양면 접착 테이프는 종이, 비닐, 폴리에스테르 필름, 폴리에틸렌 필름 및 기타 합성 재질과 같은 이형지의 양쪽 면에 특수한 접착제(an adhesive; a gluing agent)로 표면 처리가 되어 있고, 필요로 하는 조건에 따라 높은 실링(sealing) 및 완충, 진동 완화, 내충격성, 내열성, 흡착성, 접착력 등의 특징을 가진 접착제 재료를 선정하여 사용할 수 있다.
- [218] 본 발명의 또 다른 측면은, 상기 양면 접착 테이프는 이형지 나 백킹(backing)을 사용하지 않고 접착제(an adhesive; a gluing agent) 자체가 양면 접착 테이프를 형성하는 것이 선호된다.
- [219]
- [220] 상기 양면 접착 테이프는 이형지 상에 접착제를 양면 코팅하거나 이형지를 사용하지 않는 접착제(an adhesive; a gluing agent) 형태가 선호되며, 접착제는 핫 멜트(hot melt), 실리콘, 고무계, 변성 실리콘계, 아크릴계(acrylic), 폴리 아마이드(polyamide), 폴리올레핀(polyolefin), 테프론계, 폴리에스터(polyester), 에폭시, 자외선 감응 경화성 접착제(UV curable adhesive), UV 접착제, 열 가소성 수지 등과 같은 재료가 사용될 수 있다.
- [221] 상기 열가소성수지는, COC, PE, PMMA, PC, PS, POM, PFA, PVC, PP, PET, PEEK, PA(polyamide), PSU 및 PVDF가 선호된다.
- [222]
- [223] 상기 접착제는 레이저 빔의 열에 의해 녹는 것이 선호되며, 상기 기질 접합 시 접착제에 의해 유공이 폐쇄되고, 레이저 빔의 열에 의해 유공부위의 접착제가 용융되어 밸브가 개방되는 것이 선호된다.
- [224]
- [225] 상기 핫 멜트 테이프 혹은 열 가소성 테이프는 레이저 빔에 의해 녹는 성질을 갖고 있다.
- [226]

- [227] 본 발명에 있어서, 바람직하게는 유로 형상이 설계된 양면 접착 테이프에 의해 기질들의 층 사이에 형성되는 테이프 채널을 더 구비한 것을 특징으로 한다.
- [228] 즉, 상기 기질들(1,2,3)은 양면 접착 테이프에 의해 서로 밀착 부착되어 하나의 디스크를 이루며, 이때 상기 테이프 채널은 기질층 사이에서 양면 접착 테이프가 빠진 부분에 의해 테이프 채널이 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [229] 테이프 채널의 유로 높이는 양면 접착 테이프의 두께에 의해 결정되며, 일반적으로 그 높이가 매우 낮기 때문에, 강한 모세관이 형성된다. 본 발명에 있어서, 상기 양면 접착 테이프의 두께는 0.001mm 내지 0.1mm 범위가 선호된다.

[230]

발명의 효과

- [231] 이상에서 본 바와 같이 본 발명은 본 발명은 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이를 이용한 분석 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게, 본 발명은 각종 진단 분석장치, 핵산 혼성 분석 장치 또는 면역학적 검증 장치에 필요한 Genomic, Viral, Bacterial DNA 또는 RNA를 증폭을 보다 손쉽게 효율적으로 하기 위해 핵산 증폭에 관련한 전 공정을 자동화한 핵산 증폭 디스크 장치 및 이들을 이용한 분석 방법을 제공한다.

[232]

도면의 간단한 설명

- [233] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따른 핵산 증폭 디스크에 필요한 레이저 버스트 밸브를 도시하는 단면도,
- [234] 도 1b 및 도 1c는 DNA 샘플로부터 DNA를 증폭하는 핵산 증폭 공정이 배치된 핵산 증폭 디스크의 실시예를 도시하고,
- [235]
- [236] 도 2는 핵산 증폭 공정이 일괄 배치된 핵산 증폭 디스크의 실시예를 도시하고,
- [237] 도 3a는 핵산 증폭 공정이 일괄 배치된 핵산 증폭 디스크의 상세도,
- [238] 도 3b 및 도 3c는 상기 빛 조사 가열 장치가 핵산 증폭 챔버를 가열하는 일 실시예,
- [239] 도 4는 핵산 증폭 장치의 외관에 대한 일 실시예,
- [240] 도 5는 영구 자석이 설치 배치된 본 발명의 일 실시예에 따른 슬라이더의 상부도, 및
- [241] 도 6은 도 2의 핵산 증폭 디스크를 구동 및 제어하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따른 구동제어부의 측면도를 도시한다.

[242]

발명의 실시를 위한 형태

- [243] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 상세하게 설명한다.

[244]

- [245] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따른 핵산 증폭 디스크에 필요한 레이저 버스트 밸브를 도시하는 단면도이다.
- [246]
- [247] 본 발명의 핵산 증폭 디스크 상에 설치된 핵산 증폭 공정에 필요한 유체의 흐름 또는 유량을 제어하기 위한 밸브는, 얇은 필름(film)(70)을 유공(10b) 부위에 설치하고 이 필름(70)을 레이저 빔의 열에 의해 녹이거나 찢음으로써 개방되는 레이저 버스트 밸브가 선호된다. 이 레이저 버스트 밸브는 필요 시점에서 디스크(100)상에 설치된 복수개의 유공(10b)들을 독립적으로 개폐가 제어할 수 있다. 본 발명의 상기 필름(film)의 직경은 바람직하게는 1mm~5mm가 선호되며, 두께는 0.001mm~0.2mm가 바람직하며, 레이저 모듈 장치(103)로부터 방사된 빛 에너지를 전부 흡수하여 낮은 레이저 파워(power)에서도 쉽게 녹거나 찢어지는 검정색 필름이나 비닐 또는 검정색 페인트(paint)에 의해 형성된 막(membrane)이 선호된다. 핵산 증폭 디스크(100)는 상부 기질(1)과 중간 기질(2) 과 하부 기질(3)로 구성되며, 이들 각각은 사출 성형 공정 동안 기질 표면에 유체가 흐를 수 있는 상기 유로(channel) 및 버퍼(buffer) 용액을 저장할 수 있는 챔버(chamber)와 상기 유로를 연결시키는 유공을 복수개 형성한다. 이들은 서로 밀착 부착되어 하나의 디스크(100)를 이룬다. 상기 디스크(100)는 상기 상부 기질(1) 및 중간 기질(2) 사이에 적층되어 그들을 결합하는 일차 양면 접착 테이프(1a); 및 상기 중간 기질(2) 및 하부 기질(3) 사이에 적층되어 그들을 결합하는 이차 양면 접착 테이프(2a)를 포함하여 밀착 부착하는 것이 선호된다.
- [248] 도 1a는 필름(70)에 의해 유공(10b)이 막혀 유로(22a,22c)가 서로 차단된 경우를 나타내고, 유공(10b)을 열어 상기 유로(22a,22c)를 연결시키려면 레이저 모듈 장치(103)를 온(On) 시켜 상기 필름(70)을 녹여 유공(10b)을 개방한다.
- [249] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 일차 양면 접착 테이프(1a)가 상기 필름(70) 역할을 하는 것을 특징으로 한다. 이 경우 상기 양면 접착 테이프(1a)는 흑체 이형지의 양쪽면에 점착제에 의한 박막 코팅 하는 것이 선호된다.
- [250] 상기 흑체 이형지 및 필름(70)은 PE(poly ethylene), PP(polypropylene.), PVC 비닐(polyvinyl chloride) 중 선택된 어느 하나가 선호된다. 본 실시예에서는 상기 필름은 검정색 필름이 선호된다.
- [251] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 일차 양면 접착 테이프(1a)의 유공(10b) 부위를 흑체 잉크로 인쇄하여 상기 검정색 필름을 형성하는 것을 특징으로 한다.
- [252] 레이저 빔은 평행광인데 상기 필름(70)에 레이저 빔의 초점을 맞추는 것이 바람직하다. 따라서 본 발명에서는 상기 유공(10b)부위의 하부 기질(3)이 볼록렌즈 형상을 갖는 것이 선호된다. 상기 볼록렌즈 형상은 양쪽 볼록렌즈 혹은 반구(hemisphere) 볼록 렌즈 중 선택된 어느 하나가 사용될 수 있다. 상기 볼록렌즈는 상기 디스크를 사출 성형 공정하는 동안, 유공(10b) 부위의 하부 기질(3)을 볼록렌즈 형상을 갖도록 디자인함으로써 가능하다.
- [253]

- [254] 따라서 본 발명의 또 다른 측면은 상기 유공(10b)부위의 상부 기질(1)에 반사막(reflector)가 더 구비되는 것이 선호된다.
- [255] 본 발명의 상기 상부 기질(1)은 유공 부위에 반사막(reflector)을 더 구비되는 것이 선호된다.
- [256]
- [257] 상기 흑체 잉크는 파라핀 왁스(paraffin wax), 합성 왁스(synthetic wax), 마이크로 크리스탈린 왁스(microcrystalline wax)가 선호된다.
- [258]
- [259] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 검정색 필름은 상기 점착제에 레이저 빔에 의한 에너지를 흡수하여 발열하는 다수의 미세 발열 입자를 유공부위(10b)에 인쇄하여 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [260] 상기 레이저 빔의 조사(illumination)에 의하여 발열된 다수의 미세 발열 입자가 상기 점착제를 용융시킨다.
- [261] 상기 미세 발열 입자는 강자성 물질, 자성유체(Magnetic Fluid) 또는 금속산화물 중 선택되는 적어도 어느 하나의 입자형태를 갖는 것이 선호된다.
- [262] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 흑체 잉크는 상기 미세 발열 입자를 섞은 것을 특징으로 한다.
- [263]
- [264] 상기 자성유체(Magnetic Fluid)는 초미립자(1 nm ~ 100 nm) 인 강자성체 분말을 활용하여, 지방산과 같은 계면활성제(Surfactant)를 이용하여 액체 자체가 자성을 갖도록 콜로이드(Colloid) 상태의 액체가 선호된다.
- [265] 상기 강 자성체는 Fe, Ni, Cr 및 이들의 산화물로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 성분으로 이루어진 것이 선호된다.
- [266] 상기 금속산화물은 Al₂O₃, TiO₂, Ta₂O₃, Fe₂O₃, Fe₃O₄ 및 HfO₂로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 선호된다.
- [267]
- [268] 본 발명의 또 다른 측면은 레이저 빔 발생장치(107)을 슬라이더에 탑재하여 개방하고자 하는 밸브를 공간 어드레싱한 후, 레이저 빔 발생 장치(107)에 의해 발생된 열에 의해 해당 밸브를 개방하는 것을 특징으로 한다.
- [269]
- [270] 도 1b 및 도 1c는 DNA 샘플로부터 DNA를 증폭하는 핵산 증폭 공정이 배치된 핵산 증폭 디스크의 실시예를 도시한다.
- [271] 도 1b는 한 개의 핵산 증폭 챔버(52a)를 가지고 있는 실시예인 반면, 도 1c는 두 개의 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)로 구성된 일실시예를 보인다.
- [272] 도면부호 25는 DNA 샘플 챔버로써 DNA 주입구(26)를 통해 증폭하고자하는 DNA 샘플을 받아들여 일시적으로 저장하기 위한 챔버이다. 디스크(100) 회전동안 채널(40)을 따라서 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)로 이동하게 된다. 이때 핵산 증폭 반응에 필요한 용량만큼 정량의 DNA 샘플만이 핵산 증폭 챔버(52a,

52b)를 채운 후, 그이상의 잉여 DNA 샘플은 오버플로우(overflow) 채널(47)을 따라서 트레쉬 챔버(23)으로 이동하게 된다. 그러나, 이상태에서 핵산 증폭 반응을 위하여 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)가 가열하게 되면 액상인 DNA 샘플의 증발이 활발하게 일어나 채널(40)과 오버플로우 채널(47)을 통해 주변부로 DNA 샘플의 일부가 이동하게 되어 신뢰성 있는 핵산 증폭 결과를 얻기 어렵다. 이를 막기 위하여 본 실시예에서는 PCM 챔버(50a, 50b, 50c)와 모세관 채널(53a, 53b, 53c)로 구성된 PCM 도어를 사용한다. PCM(phase change material) 챔버(50a, 50b, 50c) 내부에 상변환(phase change material) 물질(54)을 저장해 놓고, 상기 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)를 가열하기 시작하기 전에 상기 고체상태의 상 변화 물질(54)을 레이저 빔 발생장치(107)의 레이저 빔에 의해 가열하여 액체상태로 만들면 모세관 현상에 의하여 모세관 채널(53a, 53b, 53c)을 통해 이동하여 채널(40)과 오버플로우 채널(47)을 메우게 되고, 이후 가열을 중지하여 상기 상 변화 물질(54)이 다시 고체상태로 변화하여 상기 채널(40)과 오버플로우 채널(47)을 밀폐되도록 한다. 이렇게 함으로써 상기 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)는 DNA 샘플 챔버(25)와 트레쉬 챔버(23)로부터 차단되어 상기 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)의 가열 도중, 핵산 증폭 챔버(52a, 52b) 내의 액체의 손실을 막을 수 있다.

[273] 도 1b(a)는 상기 채널(40)과 오버플로우 채널(47)가 밀폐되기전 상태이고, 도 1b(b)는 상기 채널(40)과 오버플로우 채널(47)가 PCM에 의해 밀폐된 상태를 보인다. 상기 PCM 챔버(50a, 50b, 50c)의 내부면은 흑체에 의해 코팅되는 것이 선호 된다.

[274] 도 1c(a)는 두개의 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)를 갖는 핵산 증폭 디스크(100)의 일실시예를 보인다. 이 실시예의 경우, 각각의 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)에 대해 상이한 프라이머(primer)를 사용함으로써 단일 샘플에 대한 다중 DNA 증폭이 가능하다.

[275] 도 1c(b)는 두개의 독립된 핵산 증폭 공정을 갖는 핵산 증폭 디스크(100)의 일실시예를 보인다. 이 실시예의 경우, 각각의 핵산 증폭 챔버(52a, 52b)에 대해 동일한 프라이머(primer)를 사용함으로써 다중 샘플에 대한 단일종 DNA 증폭이 가능하다.

[276]

[277]

[278] 도 2는 핵산 증폭 공정이 일괄 배치된 핵산 증폭 디스크(100)의 실시예를 도시하고 도 3a는 이에 대한 상세도이다.

[279] 보다 상세하게, 도 2와 3은 분석에 필요한 검체를 주입하기 위한 검체 주입구(11), 상기 검체를 저장하는 동시에 원심분리에 의해 전혈(whole blood)로부터 혈장(혹은 혈청)을 분리하거나 검체로부터 찌꺼기를 제거하여 시료를 얻기 위한 원심분리 챔버(20), 상기 찌꺼기를 저장하기 위한 찌꺼기 챔버(33), 세척 버퍼(washing buffer)를 저장하고 있는 세척 챔버(22), 상기 시료 내의 세포를 분쇄(lysis)하고 상기 세척 버퍼에 의해 찌꺼기(debris)를 제거하고

정제된 핵산(DNA, RNA)을 분리하거나 RNA로부터 R-T(Reverse Transcription: 역전사)에 의한 DNA 샘플을 준비하기 프랩(Preparation) 챔버(24), 핵산 증폭에 필요한 효소 및 버퍼 용액을 저장하고 있고 핵산 증폭(DNA amplification)을 수행하기 위한 핵산 증폭 챔버(52), 상기 챔버들을 연결하여 유체가 흐를 수 있는 통로를 제공하는 유로를 포함하는 핵산 증폭 디스크(100)의 일 실시예이다.

- [280] 도면부호 170은 디스크 공극을 나타내고, 도면 부호 45는 정량의 시료를 프랩 챔버(24)에 공급하기 위한 미터링(metering) 챔버(45)이다.
- [281] 도면 부호 49는 디스크의 원심분리 동안 원심분리 챔버(20) 내에 시료가 그대로 억류되어 있도록 하기 위한 시료 억류 채널로, 원심분리 챔버(20)와 시료이동 채널(40) 사이에 구비한 것을 특징으로 한다.
- [282] 바람직한 일 실시예로 항 응고제(anticogent)를 사용한 전혈(whole)을 검체로 사용하고 이를 원심분리하면, 비중의 작은 순서인 혈장, 백혈구 혈소판, 적혈구로 분리된다. DNA는 백혈구에 포함되어 있으므로 상기 시료 억류채널(49)은 백혈구를 먼저 받아들이도록 원심분리 챔버(20)와 연결시 높이 조절이 된다.
- [283] 이때 디스크(100)의 회전 정지시, 친수성 및 모세관 유체 이동에 의해 상기 미터링(metering) 챔버(45)에 백혈구가 먼저 채워져, 상기 프랩 챔버(24)에 공급되어 진다. 본 발명에서 상기 시료 이동 채널(40) 및 미터링 채널(45)은 친수성 코팅되어 있는 것이 선호된다.
- [284] 상기 시료이동채널(40)로 이동한 시료는 디스크 회전에 의해 트레쉬 챔버(23)로 이동하게 되고 이때 미터링 챔버(45)의 시료는 프랩 챔버(24)로 이동하게 된다.
- [285]
- [286] 본 발명에서 시료이동 채널(40)과 미터링 채널(45)이 "T"자 형태를 이루고, 디스크 회전시 미터링 챔버(45)에 정량의 시료를 남겨 놓은 채 시료 이동 채널(40) 내의 시료가 1차 원심력에 의해 트레쉬 챔버(23)로 이동하는 것이 선호된다. 미터링 챔버(45) 내의 시료는 더 높은 디스크의 회전 속도를 요구하는 2차 원심력에 의해 프랩 챔버(24)로 이동하는 것이 선호된다. 따라서 2차 원심력은 1차 원심력에 비해 더 빠른 디스크의 회전 속도를 요구한다. 바람직하게는 1차 원심력을 위한 디스크 회전 속도는 200~600rpm, 2차 원심력을 위한 디스크의 회전 속도는 600rpm~2000rpm이 선호된다.
- [287] 본 발명에서는 세포를 분해하기 위한 분쇄 버퍼(lysis buffer) 및 노출된 DNA와 결합하는 자성체 비드(magnetic bead)를 상기 프랩 챔버(24) 내에 포함하는 것이 선호되며, 이 경우 상기 세포 분쇄 과정에서 생긴 불순물 제거하기 위한 세척이 필요하다. 따라서, 세척 과정 동안 자성체 비드를 프랩 챔버(24)는 그대로 남겨 놓고 불순물만 트레쉬 챔버(23)로 이동할 수 있도록 하기 위한 네오디뮴(neodymium) 자석(60)이 상기 프랩 챔버(24) 내에 내장되어 있다. 세척

과정 동안 자성체 비드와 네오디뮴(neodymium) 자석(60) 간의 강한 인력으로 자성체 비드는 상기 프랩 챔버(24)에 그대로 남아있게 된다.

- [288] 상기 세척 과정은 상기 세척 챔버(22) 내의 세척 버퍼를 2~3차례 반복적으로 상기 프랩 챔버(24)에 공급하는 것에 의해 수행되며, 순차적으로 상기 자성체 비드를 세척한 후 불순물만 체크 채널(check channel)(46)을 경유하여 트레쉬 챔버(23)로 이동시킨다. 상기 세척 버퍼는 밸브(71)가 개방된 후, 세척 챔버(22)로부터 펌프 채널(7)을 통해 공급된다.
- [289] 본 발명에서 상기 펌프 채널(7)은 친수성 코팅되어 있는 것을 특징으로 하며, 디스크(100)의 회전과 정지의 반복 동작으로 친수성 및 모세관 현상에 의해 상기 세척 용액이 반복적으로 프랩 챔버(24)에 공급된다. 상기 디스크(100)의 회전 동안 펌프 채널(7)의 펌프 아암1(7a)에 의해 세척용액의 이동이 제지되고 디스크(100) 회전 정지시 친수성 유체 및 모세관 현상에 의해 펌프 아암1(7a)과 펌프 아암2(7b)가 채워지고, 디스크의 재차 회전시 펌프 아암2(7b) 내의 세척용액이 상기 프랩 챔버(24)로 이동하여 자성체 비드를 세척하게 된다. 상기 체크 채널(check channel)(46)은 친수성 코팅되어 있으며 역 "V"자 형상으로 디스크 회전 동안에는 프랩 챔버(24) 내의 불순물이 상기 프랩 챔버(24) 내에 머무르도록 하며, 디스크 정지시 체크 채널(46)을 통해 불순물이 트레쉬 챔버(23)로 이동한다, 상기 체크 채널(check channel)(46), 펌프 채널(7) 및 시료이동 채널(40)은 역 "V"자 형상을 따르는 것을 특징으로 한다.
- [290] 프랩 챔버(24) 내의 자성체 비드에 붙어있는 DNA의 추출은 상기 추출버퍼 챔버(21) 내의 리서스펜션 버퍼(resuspension buffer) 내지 추출버퍼(Elution buffer)을 상기 프랩 챔버(24)에 공급함으로써 이루어진다.
- [291] 구체적으로는 상기 DNA의 추출은 밸브(70)의 개방 후, 디스크(100) 회전에 의해 리서스펜션 버퍼(resuspension buffer) 내지 추출버퍼(Elution buffer)을 상기 프랩 챔버(24)로 공급한 후, 일정시간 경과 후 DNA 이동 제어 밸브(80)를 개방함으로써 이루어진다.
- [292] 즉, 추출 버퍼에 의해 자성체 비드로부터 이탈된 DNA는 디스크 회전에 의한 원심력에 의해 DNA 이동 채널(74)을 경유하여 핵산 증폭 챔버(52)로 이동한다. 상기 원심력에 의한 핵산 증폭 챔버(52)로의 DNA이동은 DNA 이동 제어 밸브(80)를 개방한 후에 이루어지는 것이 선호된다. DNA 이동 제어 밸브(80)의 역할은 프랩 챔버(24) 내의 자성체 비드가 세척이 되는 동안에 핵산 증폭 챔버(52)로의 어떠한 유체 이동을 막는다. 이 역할은 상기 추출버퍼에 의해 DNA를 자성체 비드로부터 이탈 시킬 때까지 지속된다.
- [293] 핵산 증폭 챔버(52) 내에는 배기구가 없기 때문에, DNA 이동 제어 밸브(80)가 폐쇄된 상황에서는, 적절하게 조절된 원심력 조건하에서는 프랩 챔버(24)로부터 핵산 증폭 챔버(52)로의 DNA이동은 일어나지 않는다.
- [294] 자성체 비드로부터 DNA추출이 된 후 DNA 이동 제어 밸브(80)를 개방한 후 디스크 회전에 의해 핵산 증폭 챔버(52)로 DNA가 이동시킨다.

- [295] 이때 자성체 비드는 네오디뮴(neodymium) 자석(60)에 의해 프랩 챔버(24) 내에 계속 남아있게 된다. 상기 DNA 이동 채널(74)은 테이프 채널에 의해 형성되는 것이 선호된다. 이 경우 테이프 채널에 형성된 강한 모세관 현상으로 핵산 증폭 챔버(52) 내의 유체가 프랩 챔버(24) 내로 역류하는 것이 방지된다. 본 발명의 또 다른 측면은 DNA 이동 채널(74)을 테이프 채널 대신에 레이저 버스트 밸브로 구성하는 것이다.
- [296] 이 경우, 레이저 빔에 의해 DNA 이동 채널(74)을 개방시킨 후, 디스크의 강한 회전에 의해 프랩 챔버(24) 내의 DNA를 핵산 증폭 챔버(52)로 이동시킨다. 이후 밸브(72)를 개방하여 폴리머라아제 챔버(51) 내에 저장된 폴리머라아제를 핵산 증폭 챔버(52)로 이동시킨다.
- [297] 상기 핵산 증폭 챔버(52)는 dNTP를 비롯한 프라이머(Primer) 등 각종 효소(enzyme)들을 포함하는 버퍼용액을 저장하고 있어, 이후 등은 증폭을 위한 가열 혹은 PCR 쉼 사이클(thermo cycle)을 수행하여 DNA를 증폭할 수 있다. 도면부호 90은 배기구이다.
- [298] 도면 부호 31은 원심분리 챔버(20) 내의 시료를 찌꺼기로부터 격리시키기 위한 격리 채널이다. 본 발명에 있어서 바람직하게는 상기 격리 채널(31) 및 DNA 이동 채널(74)은 테이프 채널에 의해 구성된 것을 특징으로 한다.
- [299] 상기 테이프 채널은 디스크 조립시, 1차 양면 접착 테이프(1a)와 이차 양면 접착 테이프(2a)를 원심분리 챔버(20)와 찌꺼기 챔버(33)의 중간에 삽입 배치함으로써 형성되는 것이 선호된다.
- [300] 상기 격리 채널(31)을 테이프 채널로 구성함으로써, 디스크의 정지 동안 찌꺼기 챔버(33) 내의 찌꺼기가 원심분리 챔버(20) 내로 재이동하는 것을 막을 수 있다. 즉, 디스크의 정지 동안, 격리 채널(31)에 형성된 강한 모세관으로 인해 찌꺼기 챔버(33) 내의 찌꺼기가 원심분리 챔버(20) 혹은 시료 역류 채널(49)로 자유로이 이동하는 것은 불가능하다.
- [301] 상기 각각의 공정(프랩 공정, 핵산 증폭 공정)의 시작시점과 종료 시점에서의 밸브의 개폐 제어는 레이저 모듈 장치(103)의 레이저 빔의 온(on)오프(off) 제어에 의해 이루어지고, 유체이동은 디스크의 회전력에 의한 원심력에 의한다.
- [302] 도면 부호 188는 무선 RF IC로 개인 암호화 정보가 저장될 수 있어, 타인이 함부로 사용할 수 없도록 할 수 있다.
- [303] 도면 부호 91은 상기의 기준 마커를 제공하거나 디스크의 제품 ID를 제공하는 바코드(bar code)이다.
- [304] 상기 바코드는 디스크의 제품 ID, 유효 기간, 분석 및 진단할 수 있는 질병의 종류 등에 관한 정보가 포함되는 것이 선호된다.
- [305] 상기 바코드는 상기 레이저 모듈장치(103) 내지 레이저 빔 발생장치(107)에 의해 판독될 수 있다.
- [306] 본 발명에 있어서, 바람직하게는 상기 방위각 방향 탐색을 위한 박막 원기둥 자석은 상기 네오디뮴 자석(60)에 의해 이루어지는 것이 선호된다.

[307]

[308] 도면 부호 172는 주변 대기의 온도를 계측하기 위해 온도 민감 폴리머 합성체가 코팅 매설된 온도 센서 챔버이다. 레이저 빔 발생 장치와 광 센서에 의해 폴리머 합성체로부터의 형광량을 측정하여 대기 온도를 측정할 수 있다.

[309]

[310] 상기 핵산 증폭 챔버(52)의 하부기질(3)은 온도 민감 폴리머 합성체에 의해 코팅되어, 온도 민감 폴리머 합성체로부터의 형광량을 광 센서에 의해 측정함으로써 핵산 증폭 챔버(52) 내의 액체의 온도를 계측할 수 있다.

[311]

[312]

[313] 도 3b는 빛 조사 가열 장치가 핵산 증폭 챔버(52)를 가열하는 일 실시예이다.

[314] 상기 상부 기질(1)과 중간 기질(2) 사이에는 빛 조사 가열 장치(303)로부터의 열을 흡수하여 핵산 증폭 챔버(52)를 가열하기 위한 검정색 필름 내지 검정색 페인트 코팅면(711)이 배치된다.

[315] 도면 부호 303a는 빛 조사 가열 장치(303)로부터 방사 되는 빛을 평행광으로 모으기 위한 콜리메이터(collimator)이다.

[316] 하부기질(3)의 윗면에는 핵산 증폭 챔버(52) 내의 액체 물질의 온도를 계측하기 위한 온도 민감 폴리머 합성체(712)가 코팅된다,

[317] 하부기질(3)을 통과한 레이저 빔 발생장치(107)의 광선은 상기 온도 민감 폴리머 합성체(712) 내의 형광물질을 여기시키고 그로부터 나오는 형광량을 광 센서(151) 또는 형광센서(152)에 의해 측정하고 이에 따라 상기 빛 조사 가열장치의 출력량을 피드백 제어 한다.

[318] 상기 빛 조사 가열 장치(303)의 출력량은 빛 조사 가열 장치에 공급되는 전압의 크기를 제어 하거나 열에 대한 차단 능력을 갖는 마스크 패턴을 빛 조사 가열 장치(303)와 핵산 증폭 챔버(52) 간에 설치하여 마스크 패턴의 온오프(On/Off) 간격에 의한 PWM(Pulse Width Modulation) 제어에 의해 이루어 지는 것이 선호된다.

[319]

[320] 도 3c는 빛 조사 가열 장치(303)가 핵산 증폭 챔버(52)를 가열하는 또 다른 일 실시예이다.

[321] 상부 기질(1)과 하부 기질 (3) 사이에는 빛 조사 가열 장치(303)로부터의 열을 흡수하여 핵산 증폭 챔버(52)를 가열하기 위한 검정색 필름 내지 검정색 페인트 코팅면(711)과, 온도 민감 폴리머 합성체(712), 그리고 온도 민감 폴리머 합성체(712)에서 발생되는 형광빛을 광센서(151) 내지 형광 센서(152) 방향으로 집광하기 위한 집광판(710)이 배치된다.

[322]

[323] 본 실시예에서는 상기 다공성 멤브레인 상에 상기 온도 민감 염료를 흡수 코팅한 온도 민감 폴리머 합성체(712)가 선호된다.

- [324] 본 실시예에서는 상기 검정색 페인트 코팅면(711)과 집광판(710)은 금속 필름 내지 알루미늄 호일의 한쪽면을 검정색 페인트에 의해 코팅함에 의해 동시에 형성되는 것이 선호된다. 상기 금속 필름 내지 알루미늄 호일은 1 μ m에서 100 μ m의 두께가 선호된다.
- [325]
- [326] 상기 빛 조사 가열 장치(303)으로부터 발생하는 열은 상기 검정색 필름 내지 검정색 페인트 코팅면(711)에 의해 흡수되어 핵산 증폭 챔버(52) 내부에 채워진 시료와 접촉하여 전달이 되어 시료가 가열시키는 동시에 상기 집광판(710)을 통하여 상기 온도 민감 폴리머 합성체(712)로 전달이 된다.
- [327] 도면부호 92는 공기층(92)으로써 상기 온도 민감 폴리머 합성체(712)가 상부기질(1)과 접촉하여 열 에너지를 잃게 되어 온도 측정의 오차를 가져오는 것을 방지하기 위한 것이다.
- [328]
- [329] 도 4는 핵산 증폭 장치의 외관에 대한 일 실시예로, 온도조절장치로서 펠티어 소자(302)가 사용된 경우를 보인다. 301은 상기 핵산 증폭 장치의 케이스 외부 벽면(300)과 케이스 내부 벽면(310)으로 구성된 케이스이며 311은 케이스 외부 벽면(300)과 케이스 내부 벽면(310) 사이를 채우고 있는 단열재이다. 도면부호 333은 상기 핵산 증폭 디스크(100)를 턴 테이블(113)에 로딩하기 위한 트레이(tray)이다. 상기 케이스 외부 벽면(300)은 상기 핵산 증폭 진행 과정을 표시하기 위한 표시부(320), 전원 온/오프 버튼(322) 및 핵산 증폭 시간 및 PCR 켜머 사이클 설정을 위한 버튼 입력부(321)를 구비한다.
- [330]
- [331] 펠티어 소자(302)는 내부 순환팬(302d), 내부 방열판(302c), 외부 방열판(302b), 외부 팬(302a)를 더 구비한 것을 특징으로 한다.
- [332]
- [333] 상기 펠티어 소자(302)는 일종의 열 펌프(pump)로써 전압을 인가하여 주는 것으로 구동이 되고 전압을 인가하는 방향에 따라 어느 한 면은 차가워지고 반대쪽 면은 뜨거워지는 성질을 가지고 있다. 본 발명에서 PCR 켜머 사이클은 가열과 냉각을 모두 포함하고 있기 때문에 펠티어 소자의 양면 모두 대기 중으로 활발하게 열교환을 할 필요가 있다. 따라서 외부 방열판(302b)과 외부 팬(302a)을 이용하여 외부의 대기와의 열교환을 하도록 하고, 내부 방열판(302c)과 내부 순환팬(302d)을 이용하여 케이스(301) 내부의 대기와 열교환을 하도록 하는 것을 특징으로 한다.
- [334] 상기 내부 순환팬(302d)은 내부 대기와의 열 교환과 더불어 내부 대기의 순환을 활발하게 하여 빠른 시간 내에 균일한 온도분포를 갖도록 돕는 것을 특징으로 한다.
- [335]
- [336] 또한 도면 부호 308은 케이스 내부의 온도를 측정하기 위한 대기 온도 센서이다

- [337] 도면 부호 121은 광 센서(151)와 핵산 증폭 챔버(52) 내에 형광 물질에서 방출되는 형광량을 측정하기 위한 형광 센서(152)가 설치되어 있는 센서 지지대이다.
- [338]
- [339] 도면부호 151은 광 센서로 상기 레이저 빔 발생 장치(107)와 투과형 배치를 구성키 위해, 상기 센서 지지대(121) 상에 설치된다.
- [340]
- [341] 상기 레이저 빔 발생 장치(107)와 광 센서(151)는 광축에 대해 일렬로 정렬되도록 배치되어, 핵산 증폭 챔버(52) 내에 코팅된 온도 민감 형광 염료의 형광량을 측정하기 위한 광학 온도 센서를 구성하는 것 특징으로 한다.
- [342]
- [343] 상기 레이저 빔 발생 장치(107)와 광 센서(151)는 광축에 대해 일렬로 정렬되도록 배치되어, 온도 센서 챔버(172) 내의 온도 민감 형광 염료의 형광량을 측정하기 위한 대기 온도 센서를 구성하는 것 특징으로 한다.
- [344]
- [345] 상기 광원(150)과 형광 센서(152)는 광축에 대해 일렬로 정렬되도록 배치되어 핵산 증폭 챔버(52) 내에 핵산 증폭 산출물(product)을 형광 분석을 통해 정량적으로 분석하는 것을 특징으로 한다..
- [346]
- [347] 본 발명의 또 다른 측면은, 상기 레이저 빔 발생 장치(107)와 광 센서(151)는 반사형 구조로 배치되도록 변형될 수 있다.
- [348]
- [349] 본 발명의 또 다른 측면은, 상기 광원(150) 와 형광 센서(152)는 반사형 구조로 배치되도록 변형될 수 있다.
- [350]
- [351] 슬라이더(211) 상에는 레이저 빔 발생 장치(107) 및 영구 자석(5a)을 탑재되어 공간 어드레싱에 의해 개구부(119)를 통해 핵산 증폭 디스크(100)를 액세스(access) 한다.
- [352]
- [353] 상기 레이저 빔 발생장치(107)는 상기 핵산 증폭 챔버(52)는 검정색 필름 내지 검정색 페인트 코팅면을 상부기질(1)에 더 구비하여 핵산 증폭 챔버(52) 내의 액체를 가열하기 위한 빛 조사 가열장치로 사용될 수 있다.
- [354] 상기 검정색 필름 내지 검정색 페인트 코팅면은 레이저 빔 발생장치(107)에 의한 열을 흡수하여 핵산 증폭 챔버(52) 내의 액체를 간접 가열한다.
- [355]
- [356] 상기 검정색 필름 내지 검정색 페인트 코팅면의 두께는 10um~100um이 선호된다.
- [357]

[358] 도면 부호 66은 상기 박막 원기둥 자석(60)에 대한 공간 어드레싱을 기준으로, 상기 밸브에 일대일 대응하여 각각의 레이저 모듈 장치(103)를 상기 케이스 내부 벽면(310)과 외부 벽면(300) 사이에 매설하여 각각의 밸브(70,71,72,74,80)의 개폐를 독립적으로 제어하기 위한, 레이저 빔이 케이스 내부벽(310)을 통과 하기 위한 레이저 구멍이다. (여기에서, 도면부호 “70”은 “필름”을 지칭하나 선택적 개폐 수단이어서 밸브의 일종이며, 도면부호 “74”는 “DNA 이동 채널”을 지칭하나 역시 선택적 개폐 수단이어서 밸브의 일종인바, 도면부호 “71”, “72”, “80”과 함께 밸브로 지칭한다.)

[359]

[360] 또한, 슬라이드 모터(109), 핵산 증폭 디스크(100)을 회전시키기 위한 스텝 모터(102), 레이저 모듈 장치(103) 및 상기 각 부분을 제어하기 위한 중앙제어 장치(101)를 포함하는 구동제어부가 상기 케이스 외부벽면(300)과 내부벽면(310) 사이에 매설된다.

[361]

[362] 또한 상기 핵산 증폭 장치는 인터넷 망과의 접속 내지는 컴퓨터와의 접속을 허용하는 외부 입출력장치(111)를 구비하여 기존의 인터넷 망을 이용하여 핵산 증폭 장치의 핵산 증폭 결과 데이터에 대한 송수신 및 원격제어를 허용하는 것을 특징으로 한다. 또한 상기 핵산 증폭 장치는 상기 외부 입출력장치(111)를 통한 컴퓨터와의 접속을 통해 컴퓨터상의 그래픽 유우저 인터페이스(Graphic User Interface) 의 접근(access)을 허용하는 것을 특징으로 한다. 상기 주요공정(프렙 공정, 핵산 증폭 공정)에 따른 진행률을 퍼센트(%) 또는 막대 그래프(bar graph) 형식으로 상기 표시부(320) 내지 그래픽 유우저 인터페이스상 표시해 줄 수 있다.

[363] 또한 핵산 증폭에 대한 실시간 형광분석 결과를 상기 표시부(320) 내지 그래픽 유우저 인터페이스상 표시해 줄 수 있다.

[364]

[365] 도 4의 핵산 증폭 디스크 장치의 실시예는 핵산 증폭 디스크(100)의 프런트 로딩(front loading) 방식을 보이거나 탑 로딩(top loading) 방식을 하여토록 변형될 수 있다

[366]

[367] 도 5는 영구 자석(5a)이 설치 배치된 본 발명의 일 실시예에 따른 슬라이더(211)의 상부도이다. 상기 슬라이더(211)는 슬라이드 모터(109) 측에 연결된 웜(worm) 기어 연결부(109a,109b)에 의해 이동 제어된다.

[368] 상기 슬라이더는 슬라이드 아암(108a,108b)을 가이드(guide)로 사용하여 미끄러지듯 이동된다. 상기 슬라이드 아암(108a, 108b)은 나사(110a,110b,110c,110d)를 통해 구동제어부의 몸체에 체결된다. 도면 부호 116b은 플렉서블 케이블(flexible cable)이며 웨이퍼 또는 하네스(116a)를 통해 연결된다. 도면 부호 113은 상기의 스텝 모터(step motor)에 의해 회전하는 턴 테이블이다.

[369]

[370] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 레이저 빔 발생장치(107)을 밸브를 개방하기 위한 열원 장치, 핵산 증폭 챔버 내의 액체를 가열하기 위한 빛 조사 가열 장치, 핵산 증폭 챔버 내의 핵산 증폭 산출물(product)을 정량적으로 분석하기 위한 형광물질을 여기시키기 위한 광원 중 어느 하나의 장치로서 동작 하는 것을 특징으로 한다.

[371]

[372] 본 발명의 또 다른 측면은 상기 슬라이더(211)는 광량에 의해 밸브의 개방 여부를 파악하기 위한 광 센서, 형광량 계측에 의해 핵산 증폭 챔버(52) 내의 액체의 온도를 계측하기 위한 온도 센서, 형광량 계측에 의해 핵산 증폭 챔버(52) 내의 핵산 증폭 산출물(product)을 정량적으로 분석하기 위한 형광 센서 중 어느 장치를 더 구비한 것을 특징으로 한다.

[373]

[374] 도 6은 도 2의 핵산 증폭 디스크(100)를 구동 및 제어하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따른 구동제어부의 측면도를 도시한다. 도면 부호 350은 상기 구동제어부를 지지하고 있는 몸체이다. 구동제어부 밑면에는 회로 기판(140)이 상기 구동제어부의 몸체(350)에 이음 체결되어 있고, 회로 기판(140) 위에 구동제어부를 제어하기 위한 중앙제어 장치(101), 저장 장치(112) 및 입출력 장치(111)가 상기 회로 기판(140) 위에 배치 설계되어 있다. 상기 중앙제어 장치(101)는 상기 디스크(100)의 회전 또는 정지를 위해 스텝 모터(102)를 제어할 뿐만 아니라, 슬라이드 모터(109) 제어에 의해 슬라이더(211) 상에 설계 배치된 레이저 빔 발생 장치(107)의 이동을 제어뿐만 아니라 디스크(100)의 프랩 챔버(24) 및 밸브들에 대한 공간 어드레싱하기 위해 영구 자석(5a)의 위치를 이동시킨다. 상기 영구 자석(5a)은 상기 박막 원기둥 자석(60)에 인력을 효과적으로 발휘할 수 있다.

[375]

[376] 또한 상기 중앙제어장치(101)는 상기 슬라이드 모터(109), 스텝모터(102), 온도조절장치(302), 케이스 가열 장치(307), 표시부(320), 버튼 입력부(321)를 제어하고, 상기 대기 온도 센서(308) 와 광 센서(151) 및 형광 센서(152)로부터 받은 정보를 처리한다.

[377]

[378] 상기 온도조절장치는 펠티어 소자(peltier device), 컴프레서(compressor)와 라디에이터(radiator)의 조합, 히팅 코일(heating coil)과 환기팬, 초음파 가열 장치, 발광 램프에 의한 가열 장치 내지 빛 조사 가열장치의 조합 중에서 한 가지 이상선택되거나, 펠티어 소자 와 빛 조사 가열장치의 조합이 더욱 선호된다.

[379]

[380] 대기 온도가 너무 높거나 낮을 때는, 원하는 온도를 얻기 위해 펠티어 소자와 빛 조사 가열장치가 서로 조합되어 동작하는 것이 선호된다.

[381]

[382] 본 발명에 있어서, 바람직하게는 턴 테이블(113)에 디스크가 로딩(loading) 시점에서 디스크상의 무선 RF IC(188)를 통해, 상기 중앙 제어 장치(101)에 디스크(100)의 고유 ID를 무선 송신토록 함으로써 핵산 증폭 디스크(100)가 로딩되었음을 중앙제어 장치(101)가 인식하도록 하는 것을 특징으로 한다.

[383]

[384] 본 발명에 있어서, 바람직하게는, 상기 핵산 증폭 챔버(52)의 핵산 증폭 산출물에 대한 관독은 상기 회로기판(140) 위에 배치 설계된 형광 센서(152)에 의해 독출된 정보를 중앙 제어 장치(101) 또는 저장장치(112) 또는 입출력장치(111)로 보냄으로써 이루어질 수 있다. 도면 부호 104는 상기 디스크 공극(170)에 로딩된 디스크(100)의 압착 수단으로 턴 테이블(113)과의 자력인력에 의해 압착하는 것으로 수직 이동과 공회전이 허여토록 설계되는 것이 바람직하다. 도면 부호 108은 상기 RF IC(188)에 전원을 전자유도에 의해 공급하기 위한 RF 전원공급장치이다.

[385]

[386] 도면 부호 150는 핵산 증폭 챔버(52) 내의 형광물질을 여기(excitation)시키기 위한 광원으로 LED가 선호된다.

[387]

[388] 본 발명의 또 다른 측면은, 상기 LED(150)은 핵산 증폭 챔버(52) 내의 형광물질 또는 온도 민감 형광 염료를 여기(excitation) 시키는데 사용할 수 있다

[389]

[390] 도면 부호 66은 상기 밸브에 일대일 대응하여 각각의 레이저 모듈 장치(103)를 상기 케이스(300,310) 내에 매설하여 각각의 밸브(70,71,72,74,80)의 개폐를 독립적으로 제어하기 위한 레이저 빔이 케이스 내부벽(310)를 통과 하기 위한 레이저 구멍이다

[391]

[392] 도 2와 6을 참조하여, 검체로서 전혈을 사용하였을 때 상기 핵산 증폭 디스크(100)에 대한 주요 공정의 일 실시예는 다음과 같다.

[393]

[394] <프랩 공정>

[395] 상기 프랩 챔버(24)는 전혈(whole blood) 샘플로부터 DNA를 추출하기 위한 챔버로 프랩 공정의 일 실시예는 다음과 같다.

[396]

1) blood 10 μl (EDTA, ACD Tube) 또는 5 μl (Heparin Tube)을 상기 원심분리 챔버(20)에 설치된 검체 주입구(11)를 통해 주입한다.

[397]

[398] 2) 디스크(100)를 고속 회전시키면서 혈장, 백혈구 혈소판, 적혈구로 분리된다. 이때 대부분의 혈소판, 적혈구는 찌꺼기 챔버(33)에 모이게 되고, 시료는 원심분리 챔버(20) 내에 역류된다.

[399]

[400] 3) 디스크(100)를 정지시키면, 친수성 및 모세관 현상에 의해 원심분리 챔버 내의 시료가 이동하면서 미터링 챔버(45)를 채우고 시료 이동 채널(40)의 일부를 채우게 된다.

[401]

[402] 4) 1차 원심력에 대응하는 디스크의 회전에 의해 시료 이동 채널(40) 내의 시료가 트레쉬 챔버(23)로 이동하고, 이후 2차 원심력에 대응하는 디스크의 회전에 의해 미터링 챔버(45) 내의 시료가 프랩 챔버(24)로 이동한다.

[403]

[404] 5) 프랩 챔버(24)에는 세포(cell)를 깨뜨려 DNA를 추출하기 위한 세포 분쇄(cell-lysis) 버퍼용액과 추출된 DNA와 친화력(affinity)을 갖는 자성체 비드(bead)가 들어 있다. 5분간 프랩 챔버(24)에서의 인큐베이션(incubation) 후, DNA는 세포로부터 추출되어 DNA와 친화력을 갖는 상기 자성체 비드에 침착된다. 상기 자성체 비드는 네오디뮴(neodymium) 자석(60)에 의해 정치된다.

[405]

[406] 6) 밸브(71)를 개방하고, 디스크(100)를 회전시킨 후 정지시키면 세척 챔버(22)의 세척 버퍼가 펌프 채널(7)을 채우게 된다.

[407]

[408] 7) 이후, 디스크(100)를 재차 회전시키면 세척 버퍼가 프랩 챔버(24) 내로 유입된다.

[409] 디스크(100) 회전 중 상기 슬라이더(211)를 네오디뮴 자석(60)의 근방으로 이동시키면, 슬라이더상의 영구자석(5a)에 의해 자성체 비드가 영구자석을 만날 때 마다 요동쳐 세척이 효율적으로 일어난다.

[410]

[411] 8) 디스크의 회전을 멈추면 체크 채널(46)을 통해 세포 파괴시 생긴 불순물이 트레쉬 챔버(23)로 이동한다. 이때 세척 챔버(22) 내의 세척 용액은 상기 펌프 채널(7)을 다시 채우게 된다. 이후 2~3차례 상기 7)과 8)과정을 반복하여 자성체 비드의 세척을 수행한다.

[412]

[413] 9) 이후, 밸브(70)를 개방하고 디스크 회전에 의해 추출 챔버(21) 내의 추출버퍼 내지 리서스펜션(resuspension) 버퍼를 프랩 챔버(24)로 이동시킨다. 이를 통해 상기 자성체 비드에 붙어 있는 DNA를 이탈시킨다.

[414]

[415] <PCR 공정>

[416] 상기 핵산 증폭 챔버(52)는 DNA를 증폭하기 위한 챔버로 일 실시예는 다음과 같다.

[417] 1) 디스크(100)를 서서히 회전시키면서, 밸브(80), 밸브(74) 및 밸브(72)를 열어, 상기 프랩 공정에 의해 프랩 챔버(24) 내의 자성체 비드로부터 이탈된 DNA와

폴리머라아제 챔버(51)에 저장된 폴리머라아제를 상기 핵산 증폭 챔버(52)로 이동시킨다.

[418] 2) 상기 핵산 증폭 챔버(52)로의 DNA 이동 완료 후, 디스크(100)의 회전을 멈춘다.

[419] 3) 이후 상기 온도조절장치(302)에 의해 핵산 증폭 디스크(100)를 가열하게 된다

[420] 상기의 형광 센서(152) 혹은 광 센서(151)를 이용하여 시온 잉크 내지 온도 민감 형광(temperature sensitive fluorescence) 염료의 변화 계측을 통해 핵산 증폭 챔버(52) 내의 액체 온도를 계측한다. PCR 써머 사이클(thermo cycle)에 의해 증폭하는 경우 약 10~30회 반복하여 DNA를 증폭시킨다. 등온 증폭인 경우 1~2시간 동안 일정한 온도로 증폭하는 것이 선호된다.

[421]

[422] 4) 이후, 상기 핵산 증폭 챔버(52)의 핵산 증폭 산출물(product)은 실시간으로 형광 센서(152)에 의해 정량 분석되고 이의 결과는 RF IC(188)에 저장된다.

[423]

[424] 핵산 증폭 디스크(100)가 트레이(333)에 안착되면 턴 테이블(113)에 디스크가 자동 로딩(loading)된 후 핵산 증폭의 제반 공정을 시작한다.

[425] 그러나 검체 주입구(11)에 검체 주입 안된 채, 디스크가 턴 테이블에 로딩된 경우는 다시 트레이 추출(eject)하거나 경고 메시지를 사용자에게 보낸다. 상기 검체 주입여부는 상기 광원(150) 혹은 레이저 빔과 광 센서(151)에 의해 원심분리 챔버(20)의 투과율을 측정함으로써 알 수 있다. 검체가 주입된 경우, 주입이 안 되었을 때에 대비하여 투과율은 저하되기 때문에 검체의 주입 여부를 알 수 있다. 만약 핵산 증폭 디스크에 의한 핵산 증폭 진행 중에, 사용자에게 의한 중단 요구 시, 핵산 증폭장치는 이를 무시한 채 작업을 계속 진행한다. 이때 경고 메시지(warning message)를 사용자에게 알려주든가 패스워드를 요구한다. 패스워드가 맞는 경우 사용자의 중단 요구를 받아들인다.

[426] 또한 상기 RF IC(188)에는 이전에 사용했던 디스크 인지에 대한 정보 및 유효기간 정보, 탐지하고자 하는 DNA 정보 내지 진단하고자 하는 질병 정보가 저장되어 있다. 즉, 상기 RF IC(188)에 사용 이력(history)을 기록하여, 추후 재 로딩(loading)하였을 때 사용 가능성 여부를 사용자에게 알려 준다. 또한 유효기간이 지난 핵산 증폭 디스크에 대해서도 사용 불가임을 사용자에게 알려 준다.

[427]

[428] 본 발명은 구체예와 실시예로 본 발명을 설명하고 있으나 이에 본 발명을 국한시키하고자 함은 아니다. 또한, 여기에서 설명을 하는 것에 추가하여 다양한 변형 및 변화가 가능함을 당해 업자는 인지할 것이다. 이와 같은 변형 또한 첨부된 특허청구범위의 범위에 속한다.

청구범위

[청구항 1]

온도 높낮이에 따라 방출되는 형광량이 변화되는 온도 민감 형광 염료;
 상기 온도 민감 형광 염료를 폴리머에 코팅 내지 흡수시킨 온도 민감 폴리머 합성체;
 핵산 증폭(DNA amplification)이 이루어지며, 상기 온도 민감 폴리머 합성체를 내장한 핵산 증폭 챔버;
 상기 핵산 증폭 챔버 및 핵산 증폭에 필요한 챔버들을 포함하고, 상기 챔버들을 연결하는 유공 및 채널을 포함하여 주입된 검체로부터 분리된 핵산이 증폭되는 핵산 증폭 디스크; 및
 상기 핵산 증폭 디스크를 구동하는 구동제어부를 포함하며, 상기 구동제어부는,
 상기 핵산 증폭 디스크를 회전시키기 위한 모터;
 상기 핵산 증폭 챔버의 온도를 조절하기 위한 온도조절장치; 및
 상기 핵산 증폭 챔버 내의 상기 온도 민감 형광 염료의 형광 방출 강도를 측정함으로써 상기 핵산 증폭 챔버 내의 온도를 측정하는 센서들을 포함하는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 2]

제 1 항에 있어서,
 상기 챔버들은,
 검체 주입구를 통하여 주입된 검체를 저장하고, 원심분리에 의하여 찌꺼기를 제거함으로써 시료를 획득하는 원심분리 챔버;
 상기 원심분리 챔버에서 제거된 찌꺼기를 저장하기 위한 찌꺼기 챔버;
 세척 버퍼가 저장되는 세척 챔버;
 상기 원심분리 챔버에서 획득된 시료 내의 세포를 분쇄(lysis)하고
 상기 세척 버퍼에 의해 시료를 세척하여 DNA 시료를 얻는 프랩 챔버; 및
 상기 프랩 챔버에 공급할 리서스펜션 버퍼 또는 추출버퍼를 저장하는 추출버퍼 챔버를 포함하며,
 상기 프랩 챔버에서 얻어진 DNA 시료가 상기 핵산 증폭 챔버로 이동하여 핵산 증폭이 이루어지는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 3]

제 2 항에 있어서,
 상기 프랩 챔버는,
 시료 내의 세포를 분쇄하기 위한 분쇄 버퍼; 및
 상기 분쇄된 세포에서 노출된 핵산과 친화력(affinity)에 의해

[청구항 4]

결합하는 자성체 비드를 포함하고,
 상기 프랩 챔버 내에서는, 상기 세척 버퍼가 상기 자성체 비드를
 세척하고 상기 리서스펜션 버퍼 또는 추출버퍼가 추출(elution)
 과정을 수행함으로써 DNA 시료를 얻는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
 제 2 항에 있어서,
 상기 프랩 챔버는,
 시료 내의 세포를 분쇄하기 위한 분쇄 버퍼;
 상기 분쇄된 세포에서 노출된 핵산과 친화력(affinity)에 의해
 결합하는 실리카 비드; 및
 외부 자력에 의해 동요(stirring)되는 자성체 볼(magnetic ball) 를
 포함하고,
 상기 프랩 챔버 내에서는, 상기 세척 버퍼가 상기 실리카 비드를
 세척하고 상기 리서스펜션 버퍼 또는 추출버퍼가 추출(elution)
 과정을 수행함으로써 DNA 시료를 얻는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 5]

제 2 항에 있어서,
 상기 핵산 증폭 디스크는,
 상기 원심분리 챔버와 연결되며 상기 핵산 증폭 디스크의 회전시
 상기 원심분리 챔버 내에 시료를 억류시키는, 시료 억류 채널;
 상기 시료 억류 채널과 연결되는 시료 이동 채널; 및
 상기 시료 이동 채널과 상기 프랩 챔버 사이에 연결되며 미리
 설정된 시료의 양을 상기 프랩 챔버에 공급하기 위한 미터링
 채널을 더 포함하는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 6]

제 5 항에 있어서,
 상기 원심분리 챔버는, 친수성인 검체의 주입을 돕도록 친수성
 코팅되고,
 상기 시료 이동 채널은, 상기 핵산 증폭 디스크의 정지시 친수성
 유체 이동에 의하여 상기 시료 억류 채널에 억류된 시료의 이동을
 돕도록 친수성 코팅되는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 7]

제 2 항에 있어서,
 상기 원심분리 챔버와 상기 찌꺼기 챔버 사이에 모세관 특성을
 갖는 격리 채널이 구비되며,
 상기 찌꺼기 챔버와 적혈구 사이에서 적혈구의 점도(viscosity)에
 기인한 결합력 및 상기 격리 채널의 모세관 현상에 의하여, 상기
 핵산 증폭 디스크가 정지된 경우 분리된 찌꺼기가 상기 찌꺼기

- 챔버 내에 잔류하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 8] 제 2 항에 있어서,
상기 챔버들은, 상기 핵산 증폭 챔버에 연결되는
폴리머라아제(polymerase)를 저장하기 위한 폴리머라아제 챔버를
더 포함하고,
상기 핵산 증폭 챔버에는 dNTP 또는 프라이머(Primer)를 포함한
효소들을 포함하는 버퍼용액을 저장하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 9] 제 8 항에 있어서,
상기 세척 챔버와 상기 프랩 챔버 사이, 상기 프랩 챔버와 상기
추출 버퍼 챔버 사이, 상기 프랩 챔버와 상기 핵산 증폭 챔버 사이,
및 상기 핵산 증폭 챔버와 상기 폴리머라아제 챔버 사이 중 어느
하나 이상에 밸브가 구비되며, 그리고
상기 밸브는 레이저 빔의 열에 의하여 선택적으로 개폐되는 것을
특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 10] 제 1 항에 있어서,
상기 온도 민감 폴리머 합성체는,
상기 온도 민감 형광 염료로부터 방출되는 형광 빛을 상기 센서들
쪽으로 집광하기 위한 집광판을 포함하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 11] 제 10 항에 있어서,
상기 핵산 증폭 디스크는 유로 형상이 설계된 상기 양면 접착
테이프에 의해 상기 기질들의 층 사이에 형성되는 테이프 채널을
더 구비한 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 12] 제 1 항에 있어서,
상기 핵산 증폭 디스크 장치는 광원 또는 레이저 빔 발생 장치를 더
포함하고,
상기 센서들은, 광 센서를 포함하고, 그리고
상기 광 센서는, 상기 광원 또는 레이저 빔 발생 장치에 의하여
여기된 후, 상기 핵산 증폭 챔버 내의 상기 온도 민감 형광
염료로부터 방사되는 형광을 감지하는 것에 의해 상기 핵산 증폭
챔버 내의 액체의 온도를 측정하거나 상기 핵산 증폭 챔버 내의
핵산 증폭 산출물(product)을 정량적으로 분석하는 것을 특징으로
하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

- [청구항 13] 제 1 항에 있어서,
 상기 온도 민감 형광 염료는,
 로다민 B(rhodamine B), 페릴렌(perylene),
 플루오레세인(fluorescein), 인광체(燐光體, phosphor) 및 온도에
 따라 형광 빛의 방출 강도가 달라지는 염료 중 어느 하나를
 포함하는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 14] 제 1 항에 있어서,
 상기 온도 민감 폴리머 합성체는,
 형광 염료가 아세톤에 의해 녹은 후 포토레지스트(photo-resist)와
 함께 혼합되거나, 또는 형광 염료가 휘발성 극성 용매에 의해 녹은
 후 폴리머와 함께 혼합되거나 폴리머 상에 흡수코팅된 것을
 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 15] 제 14 항에 있어서,
 상기 휘발성 극성 용매는, 아세톤, 메탄올 또는 에탄올인 것을
 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 16] 제 14 항에 있어서,
 상기 폴리머는 PDMS(Polydimethylsiloxane), PMMA(Polymethyl
 methacrylate), 다공성 멤브레인 또는 UV 경화성수지인 것을
 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 17] 제 1 항에 있어서,
 상기 핵산 증폭 디스크 장치는 광원 또는 레이저 빔 발생 장치를 더
 포함하며,
 상기 센서들은, 상기 광원 또는 레이저 빔 발생 장치로부터 발생된
 광을 상기 핵산 증폭 챔버를 경유하여 수광하기 위한 광 센서를
 포함하며,
 상기 온도 민감 형광 염료는, 감온 변색 도료(temperature sensitive
 pigment)을 배합하여 만든 변온 잉크이며,
 상기 핵산 증폭 챔버 내부에 변온 잉크가 코팅되거나 변온 잉크가
 도포된 다공성 막이 부착되며,
 상기 온도조절장치에 의하여 상기 핵산 증폭 디스크가 가열된
 경우, 상기 변온 잉크의 색이 변하고, 상기 광 센서가 상기 변온
 잉크 색에 따라 상이한 빛 투과량을 감지하는 것에 의해 상기 핵산
 증폭 챔버 내의 액체 물질의 온도를 계측하는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

- [청구항 18] 제 1 항에 있어서,
 상기 챔버들은 상기 핵산 증폭 디스크의 주변 대기의 온도를
 측정하기 위한 적어도 한 개 이상의 온도 센서 챔버를 더 구비하고,
 상기 온도 센서 챔버 내에는 상기 온도 민감 폴리머 합성체 내지
 변온 잉크가 집적화되는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 19] 제 9항에 있어서,
 상기 유공에 위치하며 검정색 필름이나 비닐 또는 검정색
 페인트(paint)에 의해 형성된 막(membrane)에 의해 상기 밸브가
 폐쇄되며,
 상기 막을 레이저 빔의 열에 의하여 녹임으로써 상기 밸브가
 선택적으로 개방되는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 20] 제 1 항에 있어서,
 상기 센서들은 광 케이블 또는 형광 필터를 포함하여 형광량을
 측정할 수 있는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 21] 제 12 항에 있어서,
 상기 광원 또는 레이저 빔 발생장치는,
 상기 챔버들 사이에 위치하는 상기 유공을 개폐하기 위한 열원
 장치,
 상기 핵산 증폭 챔버를 가열하기 위한 빛 조사 가열 장치,
 상기 핵산 증폭 챔버에서 증폭된 DNA 산출물의 정량적 분석을
 위하여 형광 표지된 DNA의 형광 물질을 여기시키는 광원 장치 중
 어느 하나 이상의 기능을 수행 하는 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 22] 제 1 항에 있어서,
 상기 센서들은,
 상기 유공에 대한 투과 광량의 측정에 의해 상기 유공의 개방
 여부를 파악하거나 상기 온도 민감 폴리머 합성체로부터의
 형광량 측정에 의해 상기 핵산 증폭 챔버 내의 액체의 온도를
 측정하기 위한 광 센서,
 형광량 측정에 의해 상기 핵산 증폭 챔버 내의 핵산 증폭
 산출물(product)을 정량적으로 분석하기 위한 형광 센서 중 어느
 하나인 것을 특징으로 하는,
 온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 23] 제 1 항에 있어서,
 상기 핵산 증폭 디스크는,

- 상기 핵산 증폭 디스크의 사용 이력(history)에 대한 정보, 상기 핵산 증폭 디스크의 유효기간 정보, 분석하고자 하는 DNA 종류 또는 진단하고자 하는 질병 정보, 핵산 증폭 산출물에 대한 판독 결과 정보, 및 디스크 ID 중 어느 하나 이상을 저장하거나 송출하며, 그리고 개인암호화 기능을 갖는 무선 RF IC를 더 구비한 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 24] 제 1 항에 있어서,
상기 구동제어부는,
상기 핵산 증폭 디스크가 올려지는 턴 테이블;
상기 핵산 증폭 디스크의 입출입을 위한 트레이; 및
상기 구동제어부를 감싸는 케이스를 더 포함하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 25] 제 24 항에 있어서,
상기 온도조절장치는,
상기 케이스 내부의 대기를 가열하거나 냉각함으로써 상기 핵산 증폭 챔버의 온도를 간접 조절하는 장치이거나, 또는
상기 핵산 증폭 챔버에 빛 조사(light illumination)에 의해 상기 핵산 증폭 챔버의 온도를 직접 조절하는 빛 조사 가열장치인 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 26] 제 25항에 있어서,
상기 빛 조사 가열장치는 근 적외선 램프, 고휘도 LED, 발열 램프 및 레이저 빔 발생 장치 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 27] 제 25 항에 있어서,
상기 핵산 증폭 챔버는,
상기 빛 조사 가열장치에 의하여 가열되는 내열성 검정색 필름을 구비하거나,
또는
상기 빛 조사 가열장치에 의하여 가열되는 내열성 검정색 페인트로 코팅되는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 28] 제 27 항에 있어서,
상기 내열성 검정색 필름은 아라미드(aramid) 필름,
PET(Polyethylene Terephthalate) 필름, 검정색 페인트에 의한 코팅면을 갖는 금속 필름,

[청구항 29]

또는 폴리이미드 필름(polyimide film)인 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
제 1 항에 있어서,
상기 온도조절장치는,
상기 온도조절장치에 구비된 환기팬을 이용하여 외기를
유입시키거나,
상기 온도조절장치에 구비된 팬 서터를 개방하여 외기를
유입시키거나, 또는
상기 핵산 증폭 디스크의 회전에 의한 상기 챔버들의 열 방출을
이용하여 이루어지는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 30]

제 24 항에 있어서,
상기 핵산 증폭 디스크 장치는, 상기 케이스 내부에 위치하여 대기
온도를 측정하는 대기 온도센서를 더 포함하며,
상기 대기 온도센서는 서모커플, 서미스터 또는 레이저 온도
센서인 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 31]

제 1 항에 있어서,
상기 핵산 증폭 디스크 장치는 레이저 빔 발생 장치를 더 구비하고,
그리고,
상기 챔버들은,
DNA 샘플 주입구를 통하여 주입된 DNA 샘플을 일시 저장하기
위한 DNA 샘플 챔버;
상기 핵산 증폭 챔버의 입구와 출구에 설치되는 PCM 챔버와
모세관 채널로 구성된 PCM 도어(door);
상기 핵산 증폭 디스크 회전 동안 원심력에 의해 상기 핵산 증폭
챔버를 채운 후 잉여 DNA 샘플을 저장하기 위한 트레쉬 챔버; 및
상기 핵산 증폭 챔버에 저장되는 DNA 샘플의 정량을 결정하기
위한
오버플로우(overflow) 채널을 포함하며,
상기 PCM 챔버 내의 상 변화 물질(phase change material)이 고체
상태로 존재 하다가, 상기 레이저 빔 발생 장치에 의해 상기 PCM
챔버를 레이저 가열하게 되면 상기 상 변화 물질이 액체상태가
되어 모세관 현상에 의해 상기 모세관 채널을 채우게 되고, 레이저
가열을 중지하면 고체 상태로 상 변화 하여 상기 모세관 채널이
밀폐된 상태로 남아, 상기 핵산 증폭 챔버가 상기 챔버들 중 이웃한
챔버들로부터 밀폐되는 되는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

- [청구항 32] 제 24 항에 있어서,
상기 케이스에는, 상기 케이스를 가열하고 냉각하기 위한 적어도 한 개 이상의 펠티어 소자가 상기 케이스의 내부 벽면과 외부 벽면 사이에 구비되는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 33] 제 1 항에 있어서,
상기 구동제어부는,
상기 핵산 증폭 디스크의 방사방향으로 이동이 가능하며, 레이저 빔 발생장치, 광원 중 어느 하나를 탑재한 슬라이더;
상기 슬라이더의 이동을 제어하는 슬라이더 모터; 및
상기 레이저 빔 발생장치 또는 상기 광원에 의하여 여기된 상기 핵산 증폭 챔버 내의 상기 온도 민감 형광 염료의 형광 방출 강도를 측정하거나 상기 핵산 증폭 챔버 내의 핵산 증폭 산출물을 정량 분석하기 위한 형광 센서를 더 포함하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 34] 제 1 항에 있어서,
상기 구동제어부는,
상기 핵산 증폭 디스크의 방사방향으로 이동이 가능하며, 영구 자석을 탑재한 슬라이더;
상기 핵산 증폭 디스크 상에는 상기 챔버들 또는 상기 유공에 대한 공간 어드레싱 기준을 제공하는 박막 원기둥 자석이 더 구비되며,
상기 슬라이더 이동에 의해 상기 박막 원기둥 자석에 대한 방사 방향 탐색이 이루어 지고, 상기 영구 자석과 상기 박막 원기둥 자석 사이의 인력에 의하여 상기 챔버들 또는 상기 유공에 대한 방위각 탐색이 이루어질 수 있는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 35] 제 4 항에 있어서,
상기 구동제어부는, 영구 자석을 더 구비하여,
상기 세척 버퍼를 이용하여 상기 실리카 비드를 세척하는 동안,
상기 영구 자석과 상기 자성체 볼(magnetic ball) 간의 인력에 의해 상기 자성체 볼을 동요(stirring)시켜 상기 프랩 챔버로부터 불순물을 제거하는 동시에 DNA와 상기 실리카 비드의 결합을 유도하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
- [청구항 36] 제 1 항에 있어서,
상기 핵산 증폭 디스크 상에는, 상기 핵산 증폭 디스크의 회전 동안에 상기 핵산 증폭 챔버 내의 온도를 실시간 측정하기 위한 방위각 측정의 기준이 되는 방위각 기준 구멍 또는 기준 마커가

[청구항 37]

상기 핵산 증폭 챔버와 같은 반경 상에 위치하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.
제 36 항에 있어서,
상기 기준 마커는 바코드이며,
상기 바코드는 빛 투과성 부분과 빛 불투과성 부분으로 이루어지며,
상기 바코드는 상기 핵산 증폭 디스크의 ID 정보를 포함하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 38]

제 1 항에 있어서,
상기 유공은 한 개 이상이며,
상기 구동제어부는, 상기 한 개 이상의 유공에 대한 공간 어드레싱을 기준으로, 상기 유공들에 일대일 대응하여 각각의 레이저 모듈 장치를 더 구비하여, 레이저 빔의 열에 의해 상기 유공 각각의 개폐를 독립적으로 제어하는 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 39]

제 24 항에 있어서,
상기 트레이는 상기 핵산 증폭 챔버를 가열하기 위한 히팅 코일을 더 구비한 것을 특징으로 하는,
온도 민감 폴리머 합성체를 이용한 핵산 증폭 디스크 장치.

[청구항 40]

(1) 핵산 증폭 디스크가 회전하여, 프랩 챔버 내의 핵산과 폴리머라아제 챔버에 저장된 폴리머라아제가 핵산 증폭 챔버로 이동하는 단계;
(2) 상기 핵산 증폭 디스크가 정지하고, 온도조절장치가 상기 핵산 증폭 디스크를 가열하는 단계;
(3) 형광 센서 또는 광 센서가 상기 핵산 증폭 챔버에 코팅된 온도 민감 형광 염료의 형광 방출 강도를 측정함으로써, 핵산의 온도를 실시간 측정하고 핵산 증폭 산출물을 정량 분석하는 단계;
를 포함하는 것을 특징으로 하는,
분석 방법.

[청구항 41]

제 40 항에 있어서,
상기 (1) 단계 이전에,
(a) 검체가 상기 핵산 증폭 디스크의 원심분리 챔버에 주입되는 단계;
(b) 상기 핵산 증폭 디스크가 회전하여, 상기 주입된 검체 중 시료만이 상기 원심분리 챔버에 역류되는 단계;
(c) 상기 핵산 증폭 디스크가 정지되어, 친수성 및 모세관 현상에

의하여 시료 중 일부가 미터링 챔버로 이동하고 다른 일부가 시료 이동 채널로 이동하는 단계;

(d) 상기 핵산 증폭 디스크가 1차 원심력으로 회전하여, 상기 시료 이동 채널로 이동한 다른 일부의 시료가 트레쉬 챔버로 이동하는 단계;

(e) 상기 핵산 증폭 디스크가 상기 1차 원심력보다 큰 2차 원심력으로 회전하여, 상기 미터링 챔버로 이동한 일부의 시료가 상기 프랩 챔버로 이동하는 단계;

(f) 상기 핵산 증폭 디스크가 정지되고, 상기 프랩 챔버 내에서, 상기 일부의 시료가 분쇄(lysis)되어 핵산이 추출된 후 자성체 비드에 침착되는 단계;

(g) 상기 핵산 증폭 디스크가 회전한 후 정지되어, 세척 챔버의 세척 버퍼가 펌프 채널을 채우는 단계;

(h) 상기 핵산 증폭 디스크가 회전하여, 상기 세척 버퍼가 상기 펌프 채널로부터 상기 프랩 챔버로 유입되는 단계;

(i) 상기 핵산 증폭 디스크의 회전 중, 상기 자성체 비드가 외부의 영구 자석을 만날 때 마다 요동쳐 세척이 일어나는 단계;

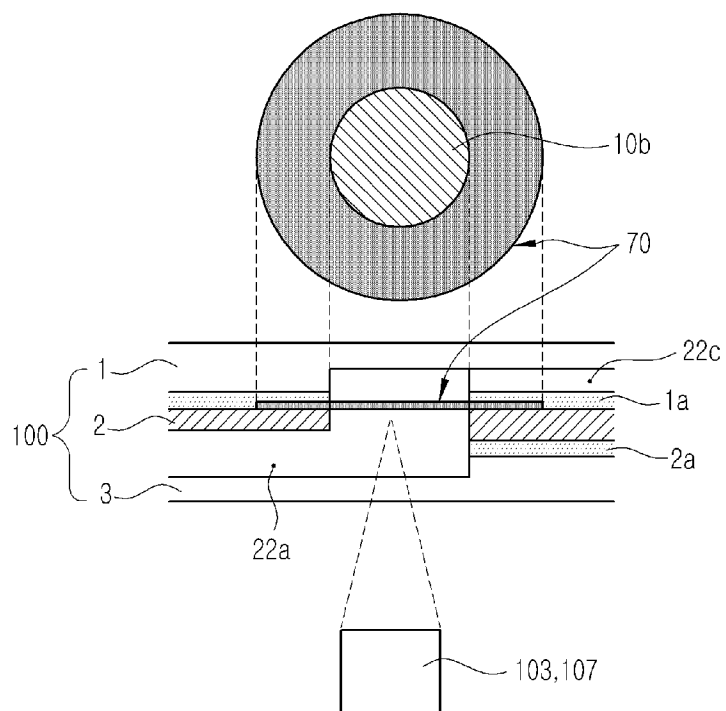
(j) 상기 핵산 증폭 디스크가 정지되고, 상기 프랩 채널 내에서 핵산 이외의 물질이 트레쉬 챔버로 이동하는 단계;

(k) 상기 (g) 내지 (j) 단계를 미리 정해진 회수만큼 반복하는 단계; 및

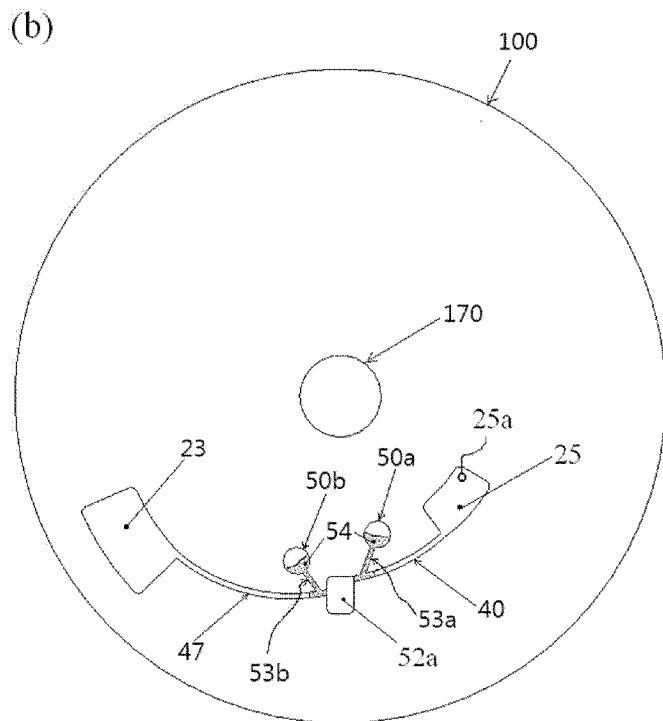
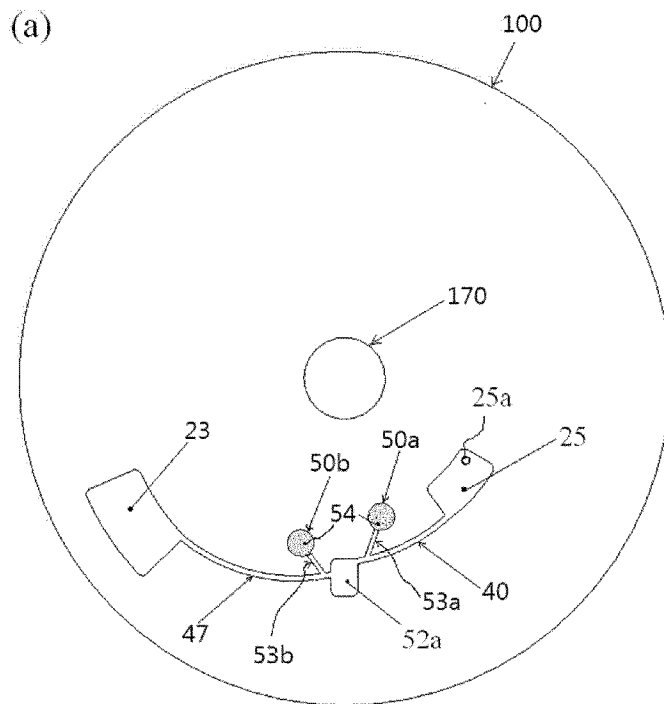
(l) 추출 챔버 내의 추출버퍼 또는 리서스펜션 버퍼가 상기 프랩 챔버로 이동하여 핵산이 이탈되는 단계;

를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 분석 방법.

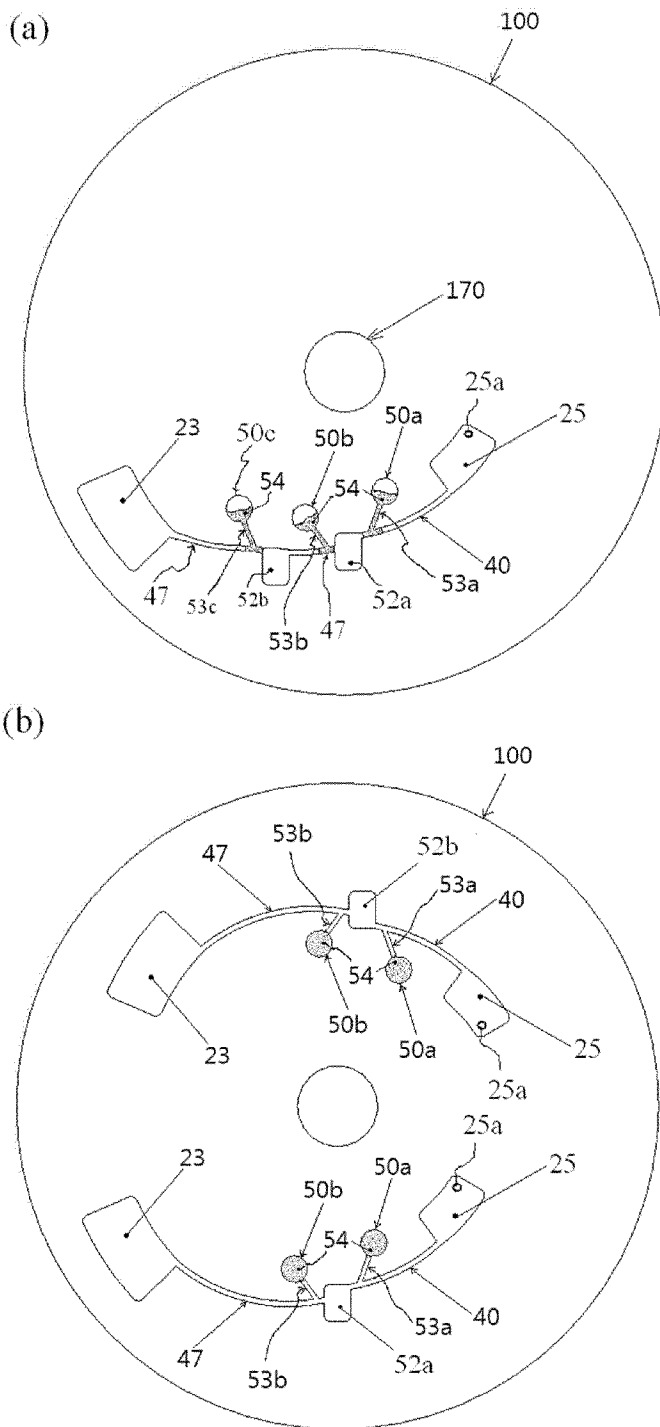
[Fig. 1a]



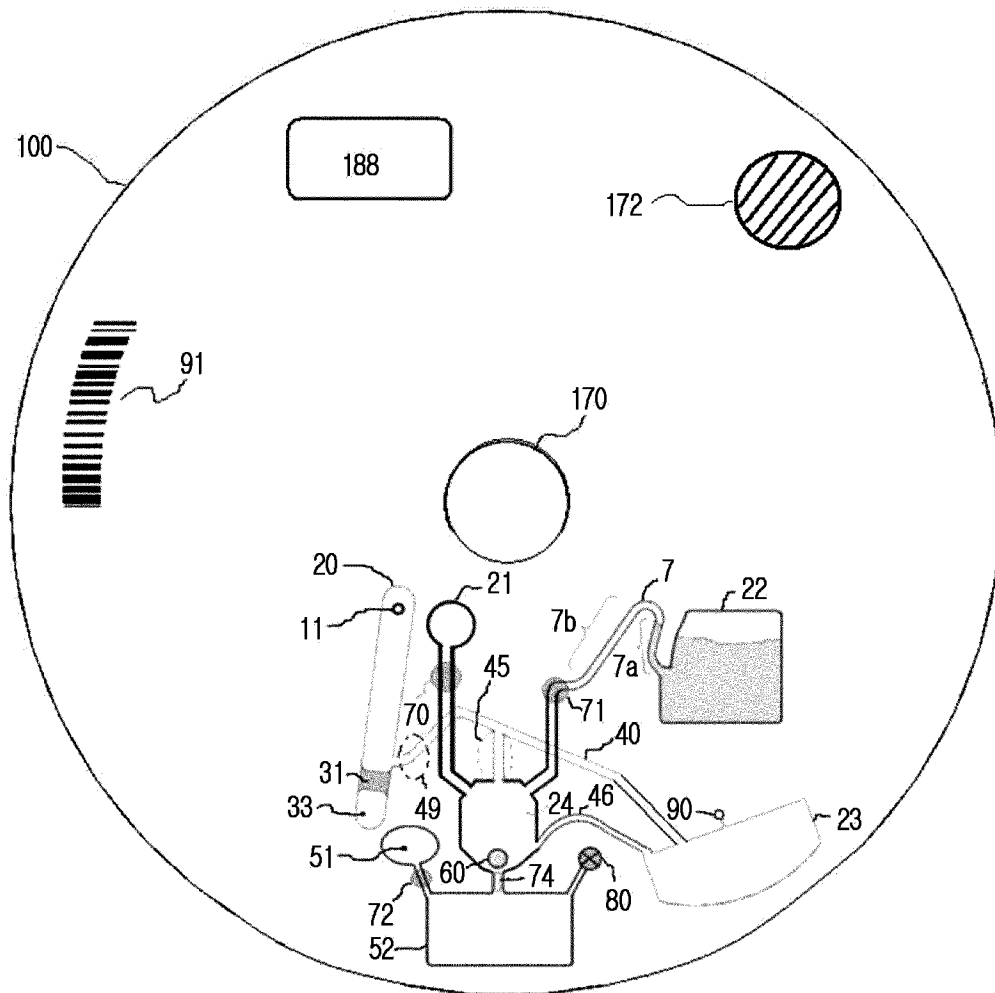
[Fig. 1b]



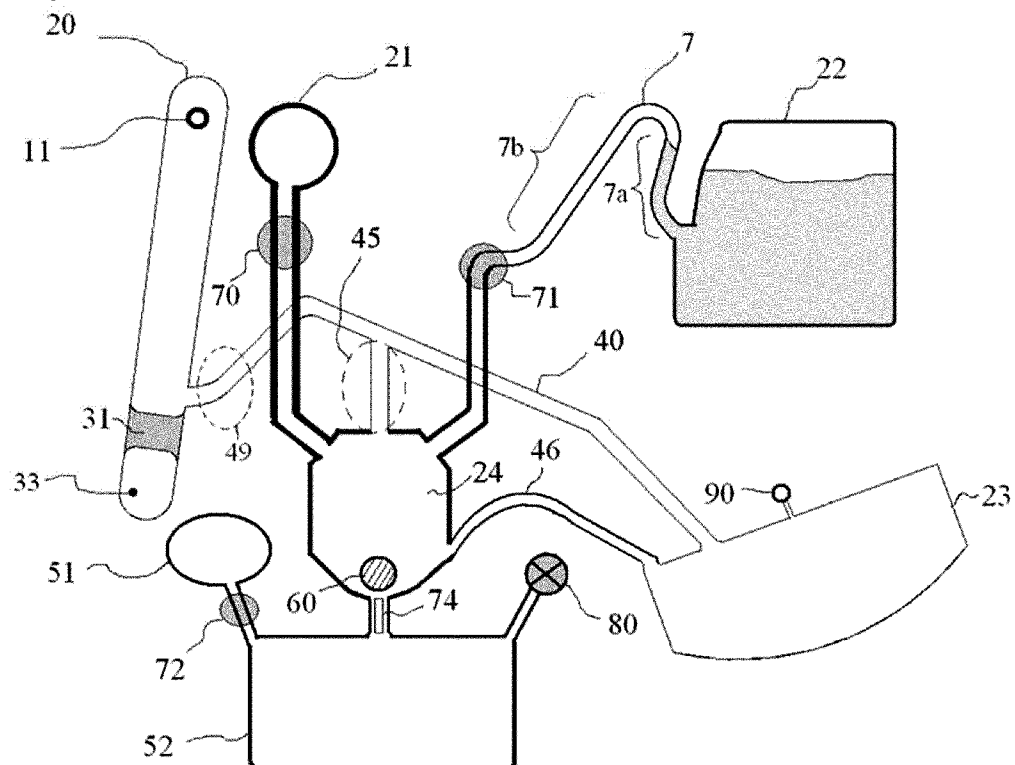
[Fig. 1c]



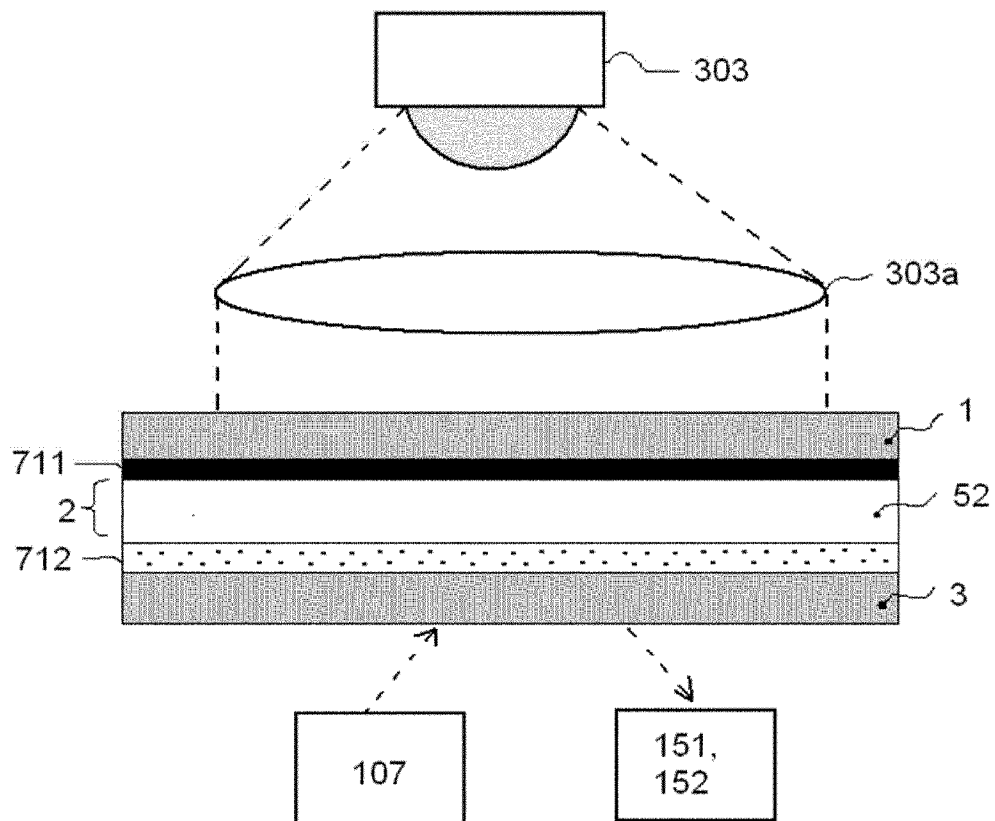
[Fig. 2]



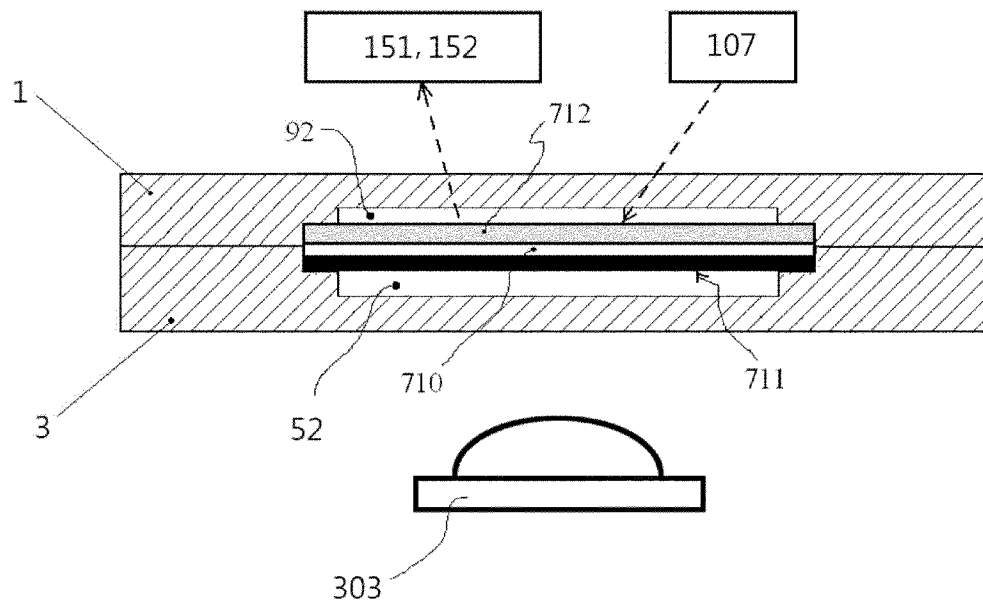
[Fig. 3a]



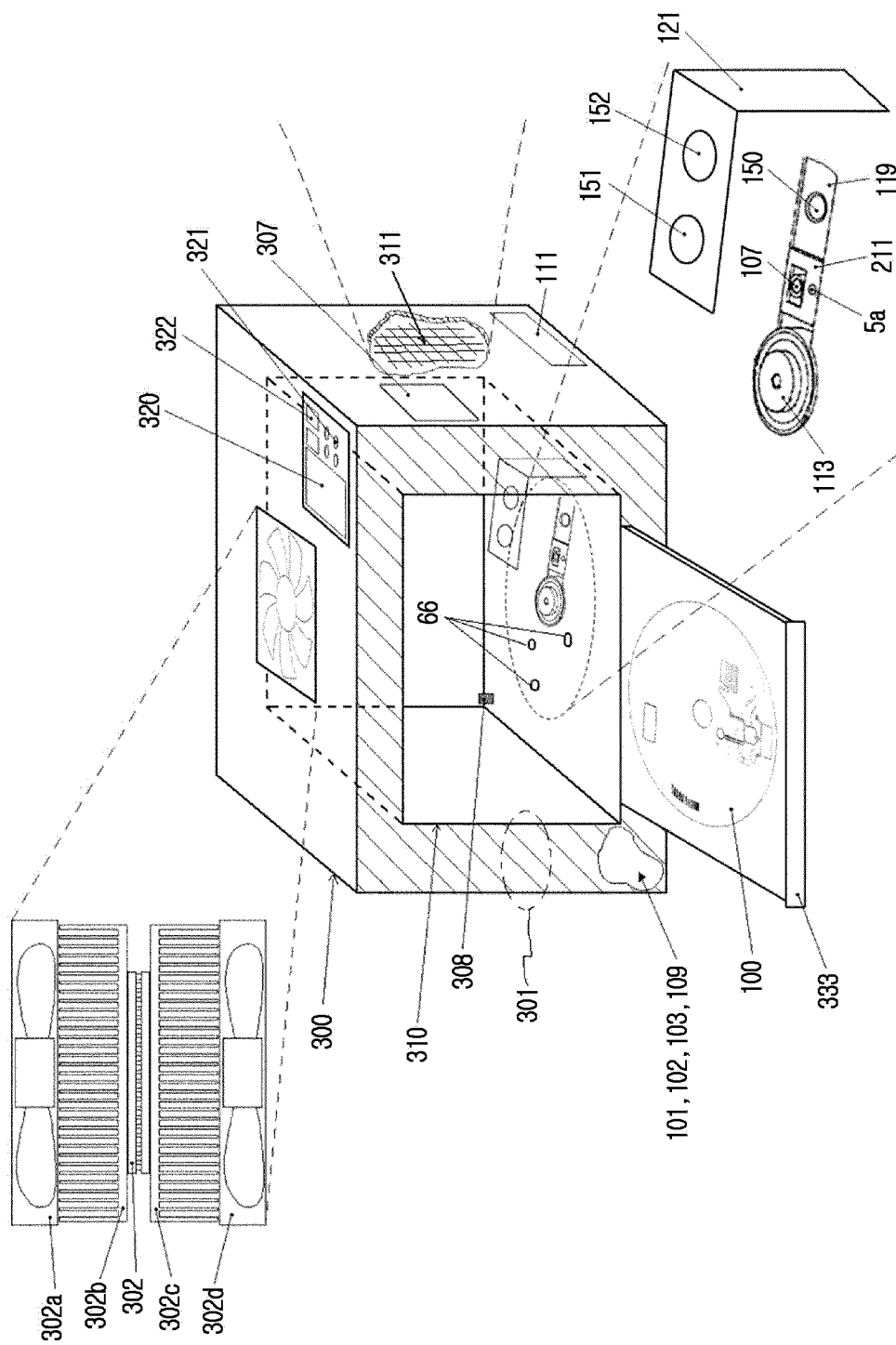
[Fig. 3b]



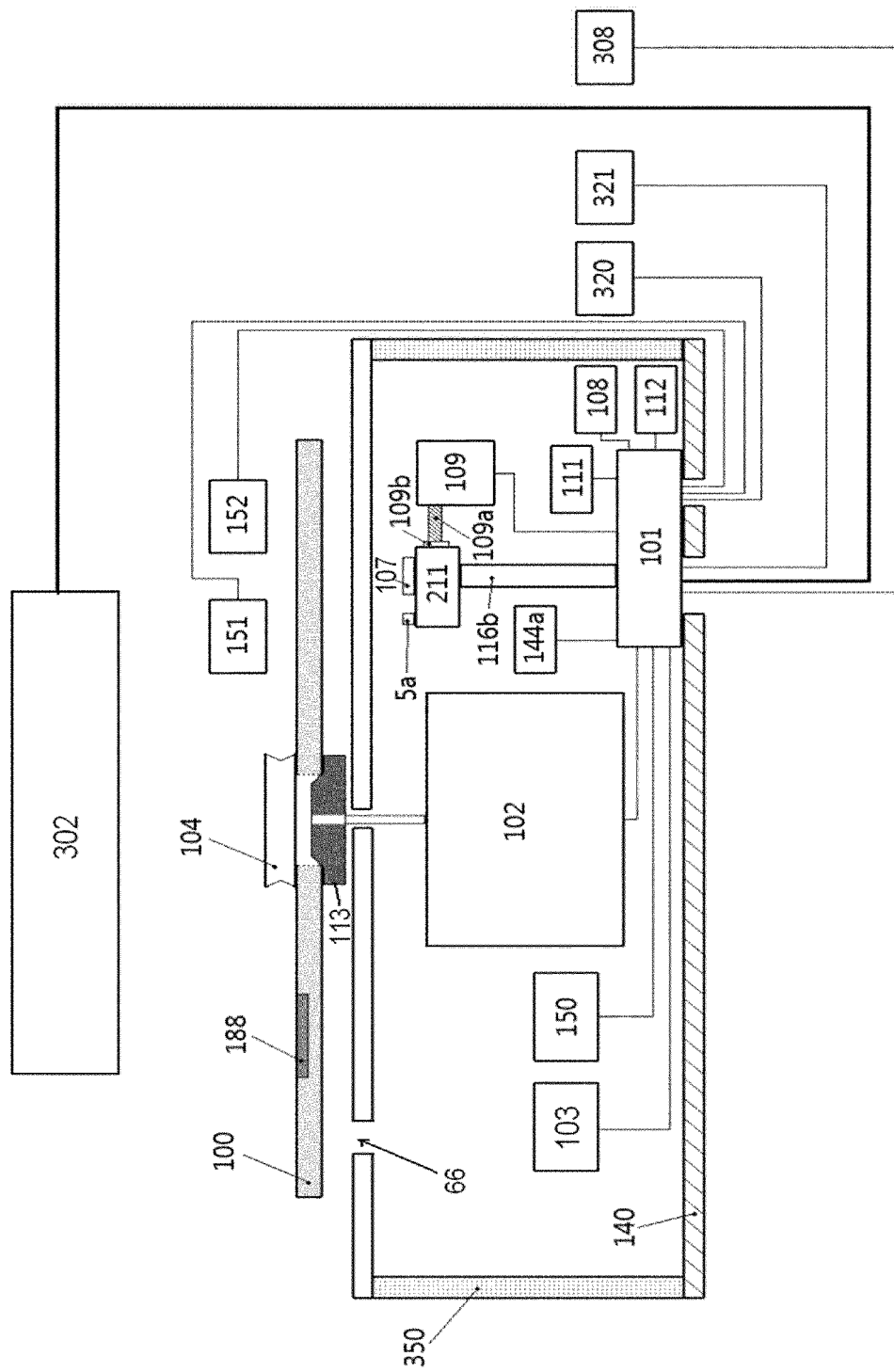
[Fig. 3c]



[Fig. 4]



[Fig. 6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/012335**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 33/58(2006.01)i***

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q 1/68; G01N 21/78; G01N 33/48; G01N 35/02; G06F 19/20; G01N 33/50; C12M 1/34; G01N 33/58

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

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

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

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

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: rhodamine, perylene, fluorescein, phosphor, polymer, PDMS, Polydimethyl siloxane, PMMA, Polymethyl methacrylate, resin, amplification, pcr, fluorescene, disk, chamber, temperature, sensitive, heat, thermo

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2008-0005224 A (YOO, Jae Chern) 10 January 2008 See the entire document	1-41
A	KR 10-0855996 B1 (YOO, Jae Chern) 02 September 2008 See the entire document	1-41
A	KR 10-2007-0075742 A (TOSHIBA SAMSUNG STORAGE TECHNO et al.) 24 July 2007 See the entire document	1-41
A	KR 10-2009-0035465 A (YOO, Jae Chern) 09 April 2009 See the entire document	1-41
A	KR 10-2001-0015854 A (THE SECRETARY OF STATE FOR DEFENCE et al.) 26 February 2001 See the entire document	1-41
A	KR 10-2006-0091708 A (LG CHEMICALS LTD.) 21 August 2006 See the entire document	1-41
A	JP 2006-517801 A (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 03 August 2006 See the entire document	1-41



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 APRIL 2014 (28.04.2014)

Date of mailing of the international search report

28 APRIL 2014 (28.04.2014)

Name and mailing address of the ISA/KR

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

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/012335

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	NA, Won Hwi et al. The Measurement of temperature field for nanoporous thin film using two-color laser-induced fluorescence method. Journal of CICS 2012 Information and Control Conference. April 2012, pages 202-203 See the entire document	1-41
A	BAEK, In Gi. The Measurement of temperature field for nanoporous thin film using two-color laser-induced fluorescence method. Ajou University Graduate School, Master Thesis. 2007 See the entire document	1-41

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/012335

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2008-0005224 A	10/01/2008	CN 101171346 A0	30/04/2008
		CN 101171346 B	09/11/2011
		EP 1888778 A1	20/02/2008
		EP 1888778 B1	14/11/2012
		JP 04-896127 B2	14/03/2012
		JP 2008-541043 A	20/11/2008
		US 2009-0221431 A1	03/09/2009
		US 8263386 B2	11/09/2012
		WO 2006-121266 A1	16/11/2006
KR 10-0855996 B1	02/09/2008	NONE	
KR 10-2007-0075742 A	24/07/2007	NONE	
KR 10-2009-0035465 A	09/04/2009	CN 101522916 A	02/09/2009
		CN 101522916 B	05/09/2012
		EP 2046992 A1	15/04/2009
		EP 2046992 B1	03/04/2013
		JP 05-161218 B2	13/03/2013
		JP 2009-545742 A	24/12/2009
		US 2009-0317896 A1	24/12/2009
		US 8097450 B2	17/01/2012
		WO 2008-016271 A1	07/02/2008
KR 10-2001-0015854 A	26/02/2001	AU 1999-13425 A1	16/06/1999
		AU 1999-13425 B2	31/01/2002
		CA 2311952 A1	10/06/1999
		CA 2311952 C	06/10/2009
		EP 1049802 A1	08/11/2000
		EP 1049802 B1	02/02/2005
		EP 1489190 A2	22/12/2004
		EP 1489190 A3	07/06/2006
		EP 1489190 B1	04/11/2009
		GB 2333359 A	21/07/1999
		GB 2346972 A	23/08/2000
		JP 04-540844 B2	08/09/2010
		JP 2003-500001 A	07/01/2003
		JP 2009-195238 A	03/09/2009
		US 2002-0119450 A1	29/08/2002
		US 6833257 B2	21/12/2004
		WO 99-28500 A1	10/06/1999
KR 10-2006-0091708 A	21/08/2006	US 2006-0183148 A1	17/08/2006
		US 7417138 B2	26/08/2008
		WO 2006-088290 A1	24/08/2006
JP 2006-517801 A	03/08/2006	AT 448327 T	15/11/2009
		AU 2004-215006 A1	10/09/2004
		CA 2515155 A1	10/09/2004

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/012335

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		CA 2515155 C	19/11/2013
		CN 1771335 A	10/05/2006
		CN 1771335 C0	10/05/2006
		DE 602004024038 D1	24/12/2009
		DK 1599609 T3	29/03/2010
		EP 1599609 A2	30/11/2005
		EP 1599609 A4	31/10/2007
		EP 1599609 B1	11/11/2009
		EP 2161343 A1	10/03/2010
		EP 2161343 B1	23/10/2013
		EP 2351856 A1	03/08/2011
		JP 04-740111 B2	03/08/2011
		JP 2006-517801 T	03/08/2006
		US 2005-003386 A1	06/01/2005
		WO 2004-077014 A2	10/09/2004
		WO 2004-077014 A3	14/07/2005

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C12Q 1/68(2006.01)i, G01N 33/58(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C12Q 1/68; G01N 21/78; G01N 33/48; G01N 35/02; G06F 19/20; G01N 33/50; C12M 1/34; G01N 33/58 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: rhodamine, perylene, fluorescein, phosphor, polymer, PDMS, Polydimethyl siloxane, PMMA, Polymethyl methacrylate, resin, amplification, pcr, fluorescence, disk, chamber, temperature, sensitive, heat, thermo		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2008-0005224 A (유재천) 2008.01.10 문헌 전체 참조	1-41
A	KR 10-0855996 B1 (유재천) 2008.09.02 문헌 전체 참조	1-41
A	KR 10-2007-0075742 A (도시바삼성스토리지테크놀로지코리아 주식회사 외 1명) 2007.07.24 문헌 전체 참조	1-41
A	KR 10-2009-0035465 A (유재천) 2009.04.09 문헌 전체 참조	1-41
A	KR 10-2001-0015854 A (더 세크리터리 오브 스테이트 포 디펜스 외 1명) 2001.02.26 문헌 전체 참조	1-41
A	KR 10-2006-0091708 A (주식회사 엘지화학) 2006.08.21 문헌 전체 참조	1-41
A	JP 2006-517801 A (더 리 젠쓰 오브더 유니버시티 오브 캘리포니아) 2006.08.03 문헌 전체 참조	1-41
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2014년 04월 28일 (28.04.2014)		국제조사보고서 발송일 2014년 04월 28일 (28.04.2014)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140		심사관 김정희 전화번호 +82-42-481-3344 

C (계속). 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	나원휘 외 2명. 2색 레이저 형광유도법을 이용한 형광 나노 포러스 박막의 온도장 측정. CICS 2012 정보 및 제어 학술대회 논문집. 2012.04, 페이지 202-203 문헌 전체 참조	1-41
A	백인기. 2색 레이저 형광유도법을 이용한 형광 나노 포러스 박막의 온도장 측정. 아주대학교 대학원, 석사학위논문. 2007 문헌 전체 참조	1-41

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2008-0005224 A	2008/01/10	CN 101171346 A0 CN 101171346 B EP 1888778 A1 EP 1888778 B1 JP 04-896127 B2 JP 2008-541043 A US 2009-0221431 A1 US 8263386 B2 WO 2006-121266 A1	2008/04/30 2011/11/09 2008/02/20 2012/11/14 2012/03/14 2008/11/20 2009/09/03 2012/09/11 2006/11/16
KR 10-0855996 B1	2008/09/02	없음	
KR 10-2007-0075742 A	2007/07/24	없음	
KR 10-2009-0035465 A	2009/04/09	CN 101522916 A CN 101522916 B EP 2046992 A1 EP 2046992 B1 JP 05-161218 B2 JP 2009-545742 A US 2009-0317896 A1 US 8097450 B2 WO 2008-016271 A1	2009/09/02 2012/09/05 2009/04/15 2013/04/03 2013/03/13 2009/12/24 2009/12/24 2012/01/17 2008/02/07
KR 10-2001-0015854 A	2001/02/26	AU 1999-13425 A1 AU 1999-13425 B2 CA 2311952 A1 CA 2311952 C EP 1049802 A1 EP 1049802 B1 EP 1489190 A2 EP 1489190 A3 EP 1489190 B1 GB 2333359 A GB 2346972 A JP 04-540844 B2 JP 2003-500001 A JP 2009-195238 A US 2002-0119450 A1 US 6833257 B2 WO 99-28500 A1	1999/06/16 2002/01/31 1999/06/10 2009/10/06 2000/11/08 2005/02/02 2004/12/22 2006/06/07 2009/11/04 1999/07/21 2000/08/23 2010/09/08 2003/01/07 2009/09/03 2002/08/29 2004/12/21 1999/06/10
KR 10-2006-0091708 A	2006/08/21	US 2006-0183148 A1 US 7417138 B2 WO 2006-088290 A1	2006/08/17 2008/08/26 2006/08/24
JP 2006-517801 A	2006/08/03	AT 448327 T AU 2004-215006 A1 CA 2515155 A1	2009/11/15 2004/09/10 2004/09/10

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		CA 2515155 C	2013/11/19
		CN 1771335 A	2006/05/10
		CN 1771335 C0	2006/05/10
		DE 602004024038 D1	2009/12/24
		DK 1599609 T3	2010/03/29
		EP 1599609 A2	2005/11/30
		EP 1599609 A4	2007/10/31
		EP 1599609 B1	2009/11/11
		EP 2161343 A1	2010/03/10
		EP 2161343 B1	2013/10/23
		EP 2351856 A1	2011/08/03
		JP 04-740111 B2	2011/08/03
		JP 2006-517801 T	2006/08/03
		US 2005-003386 A1	2005/01/06
		WO 2004-077014 A2	2004/09/10
		WO 2004-077014 A3	2005/07/14