(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl. [7]
G01N 33/00

(11) 공개번호 특2002-0071853
(43) 공개일자 2002년09월13일

(21) 출원번호 10-2002-7004757
(22) 출원일자 2002년04월13일
번역문 제출일자 2002년04월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2000/28491
(86) 국제출원출원일자 2000년10월13일
(87) 국제공개번호 WO 2001/27610
(87) 국제공개일자 2001년04월19일

(81) 지정국 국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아-헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀랜드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기즈, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 라이베리아, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크메니스탄, 터어키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투칼, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 안티구아바부다, 코스타리카, 도미니카연방, 알제리, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 벨리즈, 모잠비크, 그레나다, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 유고슬라비아, 짐바브웨,
AP ARIPO특허: 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 모잠비크, 탄자니아,
EA 유라시아특허: 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크메니스탄,
EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴, 핀랜드, 사이프러스,
OA OAPI특허: 부르키나파소, 베넹, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기네, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기네비쏘,

(30) 우선권주장 60/159,175 1999년10월13일 미국(US)
60/191,702 2000년03월23일 미국(US)

(71) 출원인 시그나츄어 바이오사이언스 인코포레이티드
미국 캘리포니아 샌프란시스코 브라난 스트리트 475 (우:94107)

(72) 발명자 채프만,로버트,지.
미국94010캘리포니아버링갬마르코폴로웨이1721아파트먼트10
헤프티,존,제이.
미국94132캘리포니아샌프란시스코에스콘디도애브뉴21
바텔,바렛,제이.
미국94044캘리포니아퍼시피카웨스트아발론드라이브106
로데스,마크,에이.
미국94061캘리포니아레드우드시티사파이어스트리트735
자오,민
미국94404캘리포니아포스터시티카타마란스트리트651

(74) 대리인 남상선

심사청구 : 없음

(54) 테스트 샘플에서 분자 이벤트를 탐지 및 규명하는 시스템및 방법

요약

본 발명은 테스트 샘플내의 분자 이벤트의 존재 또는 부존재를 탐지하는 분자 탐지 시스템에 관한 것으로서, 그 시스템은 유체 저장용기, 신호 공급원, 측정 프로브 및, 신호 탐지부를 포함한다. 측정 프로브는 프로브 헤드 및 연결 단부를 포함한다. 프로브 헤드는 유체 저장용기의 탐지 영역 내에 있는 테스트 샘플에 입사 테스트 신호를 전자기적으로 커플링시키도록 구성된다. 입사 테스트 신호와 테스트 샘플의 상호작용은 변조된 테스트 신호를 생성하며, 그 변조된 테스트 신호의 적어도 일부를 프로브 헤드가 회수한다. 시스템은 측정 프로브의 연결 단부에 커플링된 신호 탐지부를 추가로 포함하며, 변조된 테스트 신호를 회수하도록 구성된다.

대표도

도 1a

명세서

기술분야

본 출원은 1999년 10월 13일자로 출원된 " 분자 상호반응의 탐지를 위해 유전체 계면을 이용하는 방법" 이라는 명칭의 미국 가명세서 출원 제 60/159,175 호 및 2000년 3월 23일자로 출원된 " 샘플내에서 분자 존재를 탐지하는 방법 및 장치" 라는 명칭의 60/191,702 호의 우선권 이익 향수를 주장한다.

배경기술

실질적으로 모든 생물학 분야는 관심 분자가 다른 분자와 상호작용할 수 있는 능력을 측정하는 시스템을 필요로 한다. 유사하게, 작은 크기의 생물학적 분자의 존재 및/또는 물리적 및 기능적 성질들을 탐지하는 능력이 크게 요구된다. 이하에서, 분자들의 기능적 및 물리적 성질 뿐만 아니라 분자 상호작용들을 분자 이벤트(event)라고 칭한다. 분자 이벤트 탐지 필요성은, 화학적 메신저 경로들을 조사하고 질병 과정과 관련한 그들의 기능을 조사하는 기초 과학 조사 실험으로부터, 잠재적인 생체내 유효성에 대해 후보(candidate) 약품들을 평가하는 임상전(pre-clinical) 조사까지, 요구된다. 물리적 및 기능적 성질을 탐지할 필요성은 또한, 새롭게 발견된 단백질의 기능적 분석 또는 생물학적 중요성이 알려

진 분자의 유전학적(또는 합성적인) 변형의 기능적인 분석과 같은 연구 분야에서도 존재한다. 분자 이벤트를 보다 잘 이해하는 것이 바람직한 기타 영역으로는, 약학 연구분야, 군사적 용도, 수의학, 식음료분야 및 환경 분야 등이 있다. 이러한 모든 경우에서, 특히 적은 양의 샘플로부터 정보를 얻어야 하는 경우에, 특정의 분석대상물이 목표 분자와 결합하는 능력에 관한 인식, 그러한 결합의 속성(예를 들어, 친화력(affinity) 및 온-오프 율(on-off rate))에 관한 정보, 기타 새로운 분자에 관한 기능적 정보는 매우 유용하다.

효소면역측정법(ELISA), 방사면역측정법(RIA), 여러 가지 형광측정법, 핵자기공명(NMR) 분광기, 비색측정법(colorimetric assays) 및 다수의 보다 특화된 측정법들과 같은 수 많은 방법론이 근년에 이러한 분야에서 개발되었다. 이러한 측정 기술들의 대부분은 특별한 준비작업, 정화작업, 또는 테스트되는 샘플의 증폭을 필요로 한다. 리간드와 항리간드(antiligand) 간의 결합 이벤드를 탐지하기 위해, 예를 들어, 결합의 존재 또는 정도(extent)를 알리는 탐지가능한 신호가 필요하다. 대개, 그 신호들은 관련 리간드 또는 항리간드에 부착된 라벨(label)에 의해 제공된다. 탐지 가능한 신호들을 위한 적절한 라벨이 존재하는 경우, 그 신호들을 생성하는 물리적 또는 화학적 효과는 방사능, 형광, 화학발광, 인광(燐光) 및 효소 활동도를 포함하며, 그 중 몇개를 지정한다. 그 후, 라벨은 분광적, 방사능적, 또는 광학적 추적 방법에 의해 탐지된다.

불행하게도, 많은 경우에, 특별한 분석에 필요한 분자들 모두 또는 그 중 하나에 라벨링(label)하는 것이 곤란하거나 심지어 불가능하기까지 하다. 또한, 공간적배치(steric) 효과를 포함한 여러 가지 이유로 인해, 일반적인 방식에서 라벨의 존재로 인해 두 분자들 사이의 분자를 인식하지 못할 수 있다. 또한, 이러한 라벨링 접근 방법 중 어느 것도 결합 이벤트의 정확한 본질을 측정하지 못함으로써, 예를 들어 수용기(receptor)로의 활성-사이트(active-site) 결합을 알로스테릭 (allosteric) 결합과 같은 비-활성-사이트 결합과 구분하지 못하며, 따라서 현재의 탐지 방법론을 통해 기능적인 정보를 얻지 못한다. 일반적으로, 대부분의 측정 시스템에서 특이성 및 민감성에 한계가 존재한다. 세포 잔해 및 비-특정 결합이 종종 측정에 잡음을 일으키며 정확하고 유용한 정보를 얻기 곤란하게 하거나 불가능하게 한다. 전술한 바와 같이, 밀부 시스템들은 너무 복잡하여 모든 관련 분석대상에 라벨을 부착할 수 없거나 또는 정확한 광학적 측정을 실행할 수 없게 된다. 따라서, 주어진 시스템내에서 실제로 발생하는 결합 이벤트 타입, 기능 및 정도(extent)와 같은 분석 대상의 존재를 라벨 없이 그리고 실시간으로 직접 모니터링할 수 있는, 실용적이고, 경제적이며, 범용적인 탐지 기술은 상당한 진전을 가져올 것이다.

특히, 생의학(biomedical)계는 핵산 결합, 단백질-단백질 상호작용, 및 소분자 결합, 기타 관심 화합물과 같은 다양한 수계(water-based) 또는 기타 유체계(fluid-based) 생리학 시스템에 널리 적용할 수 있는 개선된 일반적인 기반(基盤) 기술을 필요로 한다. 이상적으로는, 측정법은 특정 항체 또는 정확히 보체(complementary) 핵산 프로브(probe)와 같은 매우 특정된 프로브를 필요로 하지 않아야 한다. 전체 혈액 또는 세포질성(cytosolic) 혼합물, 및 기타 자연적 발생 시스템과 같은 본래의 환경에서 작동될 수 있어야 한다. 몇몇 용도에서, 주어진 혼합물이 특정 약제 수용기상의 주동근(agonist) 또는 길항근(antagonist)으로서 활성 사이트에 결합되는지의 여부, 또는 주어진 혼합물이 알로스테릭 사이트에 결합되고 결합 이벤트가 발생했는지의 여부를 나타내는 단순한 마커(marker)로서의 기능을 하지 않는지와 같은 결합 이벤트의 본질에 관한 정보를 제공할 수 있어야 한다. 많은 용도에서, 복잡한 생화학적 경로를 밝힐 수 있도록, 또는 극히 적고 또 많은 수의 결합 혼합물을 약제 선택 프로토콜(protocol)에 사용할 수 있도록, 그 기술은 극히 소형화할 수 있어야 하고 또 병렬적이어야 한다. 많은 용도에서, 정확한 동력학 및 친화력 정보를 거의 즉각적으로 얻을 수 있도록, 복잡한 일련의 반응을 실시간으로 모니터링할 수 있어야 한다. 아마 가장 중요한 것으로서, 대부분의 상업적 용도에서, 샘플 준비 단계가 적고, 전자부품이 적으며, 측정에 사용되고 버려지는 생물검정용 표면 칩과 같은 일회용 부품들이 적으면서도, 사용하기 쉽고 저렴하며, 다양한 측정 분야에 적용될 수 있어야 한다.

최근의 생물학적 및 생화학적 분야에서의 경향은 측정의 소형화에 있으며, 때때로 전자공학 분야(그 분야로부터 명칭이

유래되었다)에서 사용되는 크기의 장치인 " 칩" 상에서 측정이 실시되는 경우도 있다. 소위 칩 장치들 중에는, 칩상에서 다중적으로 동시에 분석을 실시하는 칩 장치(어레이 기술로 칭해지기도 한다) 및 분석 사이트를 지나도록 칩 상으로 유체를 이송시켜 분석을 실시하는 칩 장치(미세유동(microfluidics) 기술로 칭해지기도 한다)가 있다. 최근에 많은 회사들이 이러한 기술을 사용하여 실현하였으며, 어레이 기술 분야에서는 캘리포니아 산다 클라라에 소재하는 Affymetrix, 캘리포니아 팔로 알토에 소재하는 Incyte Pharmaceuticals Inc, 매릴렌드 록빌에 소재하는 Human Genome Sciences 가 있고, 미세유동 기술 분야에는 캘리포니아 마운틴 뷰에 소재하는 Caliper, 캘리포니아 마운틴 뷰에 소재하는 Aclara BioSciences Inc. 가 있다. 이러한 두 분야에서 많은 특허가 허여되었으며, 예를 들어 " 화학적 분석 및 합성을 위한 미세유동 조작을 수행하기 위한 장치 및 방법" 라는 명칭의 USPN 6,033,546 호, " 다수의 전기장을 가함으로써 분자를 이동시키는 방법 및 장치" 라는 명칭의 USPN 5,126,022 호, " 질량적 마이크로어레이 복합 측정" 이라는 명칭의 USPN 6,004,755 호, " 다수의 생물학적 칩 어레이를 동시에 처리하는 방법" 이라는 명칭의 USPN 5,874,219 호, " 연속적인 어레이 및 리쏘그래픽 마스크의 설계를 위한 컴퓨터 엔지니어링 시스템" 이라는 명칭의 USPN 5,593,839 호가 있다. 많은 수의 여러가지 어레이 구성 및 그 제조 방법들이 당업자에게 공지되어 있으며, 예를 들어 미국 특허 제 5,445,934; 5,532,128; 5,556,752; 5,242,974; 5,384,261; 5,405,783; 5,412,087; 5,424,186; 5,429,807; 5,436,327; 5,472,672; 5,527,681; 5,529,756; 5,545,531; 5,554,501; 5,561,071; 5,571,639; 5,593,839; 5,599,695; 5,624,711; 5,658,734; 및 5,700,637 호가 있으며, 이들 특허는 본 명세서에서 인용하고 있다. 미세유동 분야에서, 미국 특허(명칭과 함께)의 예를 들면, 6,012,902, 마이크로 펌프; 6,011,252, 낮은 빛 레벨을 탐지하는 방법 및 장치; 6,001,231, 미세유동 시스템에서 유속을 제어하고 모니터링하기 위한 방법 및 시스템; 5,989,402, 미세유동 시스템용 제어기/탐지기 인터페이스; 5,976,336, 채널의 기하학적 형상이 개선된 미세유동 장치; 5,972,187, 전기이동(electrophoretic) 바이어스를 위한 일렉트로피페터 및 보상 수단; 5,965,410, 미세채널에서의 유체 파라미터를 제어하기 위한 전류; 5,965,001, 전기력을 통한 유체-함유 구조물내의 일렉트로오스모틱(electroosmotic) 및/또는 전기이동 힘의 가변 제어; 5,964,995, 강화된 유체 이송을 위한 방법 및 시스템; 5,959,291, 저전력 신호 측정을 위한 방법 및 장치; 5,958,694, 미세유동 시스템에서 핵산을 시퀀싱하기 위한 장치 및 방법; 5,958,203, 전기이동 바이어스를 위한 일렉트로피페터 및 보상 수단; 5,957,579, 채널 크기가 가변적인 미세유동 시스템; 5,955,028, 분석 시스템 및 방법; 5,948,227, 전기이동식 분자 분류를 위한 방법 및 시스템; 5,942,443, 미세유동 장치에서의 고출력 선별 측정 시스템; 5,885,470, 미세 제조된 폴리머 기판에서의 제어된 유체 이송; 5,882,465, 미세유동 장치 제조 방법; 5,880,071, 전기이동 바이어스를 위한 일렉트로피페터 및 보상 수단; 5,876,675, 미세유동 장치 및 시스템; 5,869,004, 미세유동 시스템에서 물질의 자체 농축 및/또는 희석을 위한 방법 및 장치; 5,852,495, 미세채널내에서 이동하는 종(種)의 푸리에(Fourier) 탐지; 5,842,787, 채널 크기가 가변적인 미세유동 시스템; 5,800,690, 전기력을 통한 유체-함유 구조물내의 일렉트로오스모틱 및/또는 전기이동 힘의 가변 제어; 5,779,868, 전기이동 바이어스를 위한 일렉트로피페터 및 보상 수단; 및 5,699,157 미세채널내에서 이동하는 종(種)의 푸리에 탐지가 있으며, 이상의 특허는 본 명세서에서 인용하고 있다. 다른 특허를 포함한 여러가지 기타 간행물들로서 당업계의 현재 기술 수준을 나타내는 간행물들은 상기 특허들의 명세서내에 또는 인용된 종래기술의 리스트로서 기재되었다.

각 분석을 위한 샘플들을 유지하는 일련의 각각의 웰(well)(예를 들어, 미세타이터(microtitre) 플레이트 및 다른 형태의 다수 웰(multi well) 플레이트) 또는 각각의 용기(예를 들어, 시험관)를 사용하는 측정 시스템들 역시 상당히 개발되었다. 96개의 웰을 가지는 미세타이터 플레이트를 일반적으로 이용할 수 있으며, 그 플레이트들은 384-웰 플레이트와 같이 다른 수의 웰을 가질 수도 있다. 각각의 용기, 하나의 다중 웰 플레이트, 또는 다중 플레이트가 동시에 취급되는지에 관계없이, 각 용기의 내용물을 조작하고 분석하는 여러 가지 자동화 장치가 개발되어 있다. (통상적인 미세타이터 플레이트 시스템에 더하여) 다른 다중-웰 시스템이 있다. 각 샘플을 위한 여러 가지 형태의 용기내에서 측정을 조작 및 실시하도록 디자인된 시스템을 나타내는 미국 특허의 예를 들면, 6,033,911, 자동화된 측정 장치; 6,024,920, 미세 플레이트 스캐닝 판독 헤드; 5,993,746, 플레이트 홀더; 5,998,236, 액체 취급기를 이한 다중 시린지(syringe) 펌프; 5,985,214, 액체 샘플내의 유용한 화학물질을 신속히 규명하는 방법 및 장치; 5,976,470, 샘플 세척 스테이션 조립체; 5,972,295, 자동화된 분석 장치; 5,968,731, 생물학적 시편의 자동화된 테스팅 장치; 및 5,952,240, 단속적인 매트릭스 플레이트 배치장치가 있다. 다른 특허를 포함한 여러가지 기타 간행물들로서 당업계의 현재 기술 수준을 나타내는 간행물들은 상기 특허들의 명세서내에 또는 인용된 종래기술의 리스트로서 기재되었다.

생화학적 시스템을 연구하기 위해 사용된 역사적인 접근방법들 중에는 여러 가지 형태의 유전체 측정이 있다. 1950년대에는, 당시에 알려진 물질의 유전체 특성 측정 기술을 이용하여 생물학적 조직의 유전체 특성을 측정하기 위한 실험이 행해졌다. 그 이후로, 이러한 측정을 실시하기 위한 여러 가지 접근 방법이 있었는데, 이는 주파수 도메인(domain) 측정 방법, 시간 도메인 유전체 분광법(Time Domain Dielectric Spectroscopy)와 같은 시간 도메인 기술을 포함한다. 이러한 접근 방법들에서는, 물질의 유전체 특성화(charaterization)에서 여러 가지 형태의 동축적인 전송(transmission) 라인 또는 다른 전송 라인 및 통상적인 용도의 구조물을 이용하여 실험을 실시하였다. 이것은 넓은 범위의 생물학적 시스템의 유전체 특성의 이용 및 관련성을 조사하는 연구를 포함한다. 포유류의 여러 가지 기관에서 취한 조직 샘플로부터 세포막 및 세포기관 작용을 포함하는 세포 및 하부세포 시스템까지 관심이 걸쳐져 있었다. 가장 최근에, 어레이 조건에서 분자 시스템의 유전체 특성의 변화를 감지하기 위한, 전술한 기술들을 소형화하기 위한 시도(예를 들어, USP 제 5,653,939; 5,627,322 및 5,846,708 참조)가 있었다. 통상적으로, 이러한 것들은 전기 회로 위상(topology)에서의 측로 또는 일련의 요소와 같은 생물학적 샘플-조직, 세포 시스템, 분자 시스템일 수 있다-을 이용한다.

물체로부터의 방사선을 감지하고 지역적인 물질 특성을 측정하기 위한 라지 스케일(large scale) 필드(field) 프로브에 관한 많은 기술들이 있는 바, 예를 들어 IEEE Transaction on Microwave Theory and Techniques, 38 8-14(1990) 에 기재된 미스라(Misra) 등의 " 개방-단부형 축방향 라인을 이용한 마이크로파 주파수에서의 물질의 비침투적 전기 특성화: 개선된 교정 기술의 테스트(Noninvasive electrical characterization of material at microwave frequencies using an open-ended coaxial line: test of an improved calibration technique)" : Journal of Electromagnetic Waves and Applications, 6 1259-75(1992)에 기재된 " 개방-단부 웨이브가이드를 이용한 복합 물질의 고온 복합 유전율 측정" ; IEEE Transaction on Microwave Theory and Techniques, 40 1701-8(1992) 에 기재된 오소프스키 및 슈발츠(Osofsky and Schwarz)의 " 고주파 평탄 회로상에서 측정을 위한 비-접촉식 프로브의 디자인 및 성능" ; IEEE Transaction on Microwave Theory and Techniques, 40 143-50(1992) 에 기재된 주, 가노우치(Xu, Ghannouchi) 등의 " 개방 단부 타원형 동축 프로브를 이용한 마이크로웨이프 유전율 측정에 대한 이론적 및 실험적 고찰" ; Review of Scientific Instruments, 64 1614-21(1993)에 기재된 장 웡(Jiang Wong)의 " 저손 고체 및 액체에 대한 마이크로 웨이브 유전체 상수의 측정을 위한 개방-단부형 동축-라인 기술" ; Review of Scientific Instruments, 64 1622-6(1993)에 기재된 장 웡(Jiang Wong)의 " 개방-단부형 동축-라인 프로브를 이용하여 유한한 두께의 저손 샘플에 대한 마이크로 웨이브 유전체 상수의 측정" 이 있다. 현미경 팁(tip)에서 전자 전류에 더하여 무선 주파수 또는 마이크로웨이브 신호를 사용하는 전자 현미경에 관한 간행물들이 있으며, 예를 들어 Optic Communications 129 15-18(1996)에 개시된 카일만, 반 데어 바이데(Keilmann, van der Weide) 등의 " 스캐닝 무선-주파수 투과 현미경을 이용한 극한 서브-파장(sub-wavelength) 해상도" ; Applied Physics Letters, 69 3272-4(1996)에 기재된 브라하코스, 블랙(Vlahacos, Black) 등의 " 100.mu.m 해상도를 가지는 근접-필드 스캐닝 마이크로웨이브 현미경" ; Applied Physics Letters, 68 2506-8(1996)에 기재된 웨이 장(Wei, Xiang) 등의 " 스캐닝 팁 마이크로웨이브 근접-필드 현미경" 이 있다. 따라서, 유전체 물질의 특성을 테스트하기 위해 프로브(웨이브가이드 및 동축적인 프로브 모두)를 이용하는 것은 공지되어 있으며, 현미경적인 영상 수집 그리고 전자산업계에서 절연체 및 기타 물질의 유전체 측정과 같은 다른 기술 분야에서 일반적으로 실시된다.

발효와 같은 화학 공정을 분석 및 제어하기 위해 사용되는 비교적 라지-스케일인 장비의 일 형태는 최초에 오일 처리 및 천공 산업계에서 사용되기 시작했다. 예를 들어, USP 5,025,222 는 유체 매개체내의 상태를 모니터링하는 시스템 및 방법에 관한 것이다. 유체 매개체 흐름은 전송 라인 단편으로 전기적으로 구성되고 부하(load)에 전기적으로 커플링(coupling)되는 유체 용기를 통해 UHF 또는 마이크로웨이브 발진기까지 유동한다. 발진기는 부하로부터 절연되지 않고, 화학 반응이 진행됨에 따라, 유체 매개체의 유전율의 특히 강한 전환을 제공하도록 선택된 시동 주파수에서 프리러닝(freerunning) 작동된다. 바람직하게, 반응의 진행을 측정하기 위해, 발진기의 삽입손(insertion loss) 및 주파수를 모니터링한다. 이와 관련한 최근의 두개의 특허 즉, 테스트하의 시스템에 로드-풀(load-pulled) 발진기의 단일-단부 커플링을 이용하여 전자적 모니터링 및 특징화(charaterization)하기 위한 시스템, 방법 및 프로브가 개시된 USP 5,748,022 및 5,966,017 가 있다. 그러나, 이러한 특허들의 목적이 발효(및 다른 공정)에 의해 생산되는 화학적 종류의 탐지에 있다 하더라도, 그 특허 중 어느 것도 분자의 특성화에 대해 또는 분자 결합에 대해 특별히 고려하고 있지 않은 것으로 고려된다.

따라서, 형광표지염료(fluorophore) 또는 방사성동위원소과 같은 라벨을 필요로 하지 않고, 정량적 및 정성적이며, 대상 분자에 특이하며(specific), 매우 민감하며, 실행이 비교적 간단한 분자 이벤트 탐지 방법의 추가적인 개발이 요구된다. 본 발명은, 이하에서 설명하는 바와 같이, 전술한 요구사항 및 기타 요구사항을 충족시킨다.

발명의 상세한 설명

본 발명의 실험실에서의 초기 용도는, 단일 경로를 따라 커플링된 분자 결합 영역을 이용하여 분자 구조의 유전체 특성의 변화를 탐지하는 측정 기술에 관한 것이었다. 이러한 용도는 본 발명에 사용된 많은 일반적인 원칙들을 제시한다. 예를 들어, 1999년 8월 5일에 발행되고 본 발명과 함께 양도된 PCT WO99/39190 을 참조할 수 있다. 본 발명은 미세타이터 플레이트에 있는 것과 같은 유체 저장용기내의 또는 미세유동 장치에 있는 것과 같은 폐쇄된 유체 채널내의 분자 이벤트의 탐지를 일반적인 목적으로하고 있다는 점이 상이하다. 이 경우에, 이하에서 설명하는 바와 같이, 프로브의 오염을 피하기 위해, 통상적으로 샘플들은 유체 용기의 벽에 존재하는 공기 갭 및/또는 유전 물질에 의해 전자기 프로브로부터 분리된다.

대략적으로, 본 발명은, 분자 구조의 유전체 특성 및 조명 신호와의 상호작용을 이용하여, 특히 수성(水性) 상태에서, 분자 결합 이벤트내에서의 자체 분자구조로서의 또는 협력체로서의 분자 구조를 탐지하고 특징화하는 단일 포트 측정 방법 및 시스템을 제공한다. 본 발명의 시스템 및 방법은 또한 연속적인 유체 흐름에서 분자구조 및/또는 다른 분자들과의 결합을 식별할 수 있게하여, 공정의 자동화가 가능하게 한다. 분자들이 생리학적인 조건의 수성(水性) 환경에서 서로 결합하기 때문에, 생물학적 및 약제학적 분야에서 분자 식별과 같은 여러가지 선별 공정에 본 발명의 방법을 이용할 수 있다. 본 발명의 방법 및 장치에 의해, 결합 파트너들 중 하나에 라벨을 존치시키지 않고도 탐지를 할 수 있기 때문에, 라벨에 의한 결합의 변화를 계산할 필요가 없음으로해서 의도하는 약제 대상물을 탐지하는데 특히 적합하게 된다.

본 발명의 제 1 실시예에서, 수성 샘플내의 분자 구조를 탐지하는 방법이 개시된다. 이 방법은 (a) 샘플 유입 단부, 탐지 영역, 및 샘플 배출 단부를 가지는 유체 채널과 유체 이동 제어부를 가지는 유체 이송 시스템의 유체 채널내로 제 1 샘플을 도입하는 단계; (b) 유체 제어부의 제어하에서 샘플 유입 단부로부터 샘플 배출 단부를 향해 채널을 통해 샘플을 이동시키는 단계; (c) 유체 채널의 탐지 영역에 10 MHz 내지 1000 GHz 의 테스트 신호를 가하는 단계; 및 (d) 테스트 신호와 샘플의 상호작용 결과로서의 테스트 신호 변화를 탐지하는 단계를 포함한다. 유체 이동 제어의 비-제한적인 예를 들면, 표면효과(모세관), 중력, 관성효과(예를 들어, 기울임 또는 스피닝(spinning) 작업) 뿐만 아니라, 전기이동 펌핑과 같은 전기장의 제어하에서 액체를 이동시키는 것 및 기계적 펌프가 있다. 분자 구조를 포함하는 샘플이 분자 구조를 포함하지 않는 경우에 생성되는 탐지 전자기장과 상이한 탐지 전자기장을 생성하도록, 주파수(또는, 몇몇 경우에, 다수의 주파수 세트 또는 스펙트럼과 같은 연속주파수)가 선택된다.

다른 실시예에서, 상기 방법은 (e) 제 1 샘플 다음에 채널내로 간격(spacer) 물질을 도입하는 단계; (f) 간격 물질 다음에 채널내로 추가의 샘플을 도입하는 단계; (g) 상기 추가의 샘플을 유체 제어부의 제어하에서 채널을 통해 이동시킴으로써, 간격 물질에 의해 분리된 다수의 서로 상이한 샘플들을 서로 섞이지 않게 채널을 통해 이송하는 단계; 및 (f) 추가 샘플에 대해 상기 단계 (c) - (d) 를 반복하는 단계를 추가로 포함한다. 이러한 방식에서, 일련의 샘플들이 단일 탐지기에 제공됨으로써, 탐지 시스템의 디자인을 상당히 단순화시킬 수 있고, 일회성 분석 칩의 보다 용이한 디자인 뿐만 아니라 재생성을 크게 개선할 수 있다.

전술한 방법은 여러가지 장치에서 실행될 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 테스트 샘플내에 분자 이벤트가 있는지의 여부를 탐지하는 분자 탐지 시스템은 유체 저장용기, 신호 공급원, 측정 프로브, 및 신호 탐지기를 포함한다. 유체 저장용기는 별도로 분리된 용기(개방형 또는 폐쇄형)이거나 또는 샘플 유입 단부, 탐지 영역, 및 배출 단부를 포함하는 채널일 수 있다. 신호 공급원은 입사 테스트 신호를 전달하도록 작동된다. 측정 프로브는 신호 공급원에 커플링되고, 프로브 헤드 및 연결 단부를 포함한다. 프로브 헤드는, 탐지 영역에서, 입사 테스트 신호를 테스트 샘플에 전자기적으로 커플링하도록 구성된다. 입사 테스트 신호의 테스트 샘플과의 상호작용은 변조된 테스트 신호를 생성하며, 프로브 헤드는 그 변조된 신호의 적어도 일부를 회수하도록 구성된다. 그 시스템은 측정 프로브의 연결 단부에 커플링되는 신호 탐지기를 추가로 포함하며, 신호 공급원은 변조된 테스트 신호를 회수하도록 구성된다.

따라서, 개략적으로, 본 발명은 통상적으로 약 1 MHz 내지 1000 GHz 의 전자기 신호가 유체 저장용기내의 분자 이벤트와 상호작용하여 분자 자체의 구조적 및 기능적 특성들과 다른 분자와 결합하는 분자의 능력과 같은 분자 구조의 특성을 측정하는 것을 포함한다.

본 발명의 특질 및 이점들은 이하의 보다 상세한 설명 및 첨부 도면을 참조하면 보다 잘 이해될 것이다.

도면의 간단한 설명

도 1a 는 본 발명의 일 실시예에 따른 통합된 탐지기를 도시한 도면.

도 1b 는 본 발명의 일 실시예에 따른 유체 이송 시스템을 도시한 도면.

도 2a 는 본 발명의 일 실시예에 따른 측정 프로브의 도면.

도 2b 는 본 발명의 일 실시예에 따른 동축 프로브 상단의 도면.

도 2c 는 본 발명에 따른 측정 프로브의 제 2 실시예의 단면도.

도 2d 는 도 2c 에 도시된 측정 프로브의 평면도.

도 2e 는 본 발명의 일 실시예에 따른 비-공진형 동축 측정 프로브를 도시한 도면.

도 3a 는 본 발명의 일 실시예에 따른 분자 탐지 시스템의 도면.

도 3b 는 본 발명의 일 실시예에 따른 분석대상 탐지 방법.

도 3c 는 본 발명의 일 실시예에 따른 예시적인 분석대상 신호 응답을 도시한 그래프.

도 3d 는 본 발명의 일 실시예에 따라 테스트 샘플내에서 일어나는 분자 결합 이벤트를 탐지하는 방법을 나타낸 흐름도.

도 3e 는 베이스라인 버퍼 응답, 제 1 테스트 샘플 응답, 제 2 테스트 샘플 응답의 실시예와, 그리고 결합 및 비결합 조건에 대응하는 제 3 샘플 신호 응답의 두가지 가능한 실시예를 도시한 도면.

도 3f 는 본 발명에 따라 테스트 샘플내에서 일어나는 분자 결합 이벤트를 탐지하는 제 2 방법을 나타낸 도면.

도 3g 는 본 발명에 따라 도 3f 의 방법을 이용하여 결합 이벤트가 없는 것을 나타내는 제 1, 제 2 및 제 3 샘플 응답의 실시예를 도시한 도면.

도 4a 는 본 발명에 따른 분자 탐지 시스템의 제 2 실시예를 도시한 도면.

도 4b 는 본 발명에 따른 분자 탐지 시스템의 제 3 실시예를 도시한 도면.

도 5a 는 본 발명에 따른 전술한 각각의 방법을 실행하도록 디자인된 소프트웨어 프로그램을 실시하도록 작동될 수 있는 컴퓨터 시스템의 일 실시예를 도시한 도면.

도 5b 는 본 발명의 일 실시예에 따라 도 5a 에 도시된 컴퓨터 시스템의 내부 구조를 도시한 도면.

도 6a 는 본 발명에 따라 특정 실험에서 실행되는 분자 탐지 시스템의 도면.

도 6b - 6g 는 본 발명에 따른 특정 분석대상의 탐지시에 만들어지는 S_{11} 신호 응답을 도시한 그래프.

도 6h 는 본 발명에 따라 NaCl 의 상이한 농도 레벨의 탐지시에 만들어지는 S_{11} 신호 응답을 도시한 그래프.

도 6i - 6j 는 본 발명에 따른 도 3d 의 방법을 이용하여 특정 분자 결합 이벤트의 탐지시에 만들어지는 S_{11} 신호 응답을 도시한 그래프.

도 6k - 6l 는 본 발명에 따른 도 3f 의 방법을 이용하여 특정 분자 결합 이벤트의 탐지시에 만들어지는 S_{11} 신호 응답을 도시한 그래프.

도 6m 은 본 발명에 따라 만들어진 도즈(dose) 응답 곡선을 도시한 그래프.

실시예

목차

Ⅰ. 용어 정의

Ⅱ. 개요

Ⅲ. 탐지기 조립체

Ⅳ. 예시적인 분자 탐지 시스템

Ⅴ. 예시적인 용도

Ⅵ. 소프트웨어 실행

Ⅶ. 실험

Ⅰ. 용어 정의

본 명세서에서 사용되는 " 분자 결합 이벤트" (종종, " 결합 이벤트" 또는 " 결합" 으로 축약하여 칭한다)라는 용어는 대상(interest) 분자의 다른 분자와의 상호작용을 칭하는 것이다. " 분자 구조" 라는 용어는, (알파 헬릭스(helix) 영역, 베타 시트, 면역글로불린 영역, 기타 다른 형태의 분자 하부구조와 같은) 특정 분자 하부구조 뿐만 아니라, 용액에서의 분자 자체의 용매화 껍질(solvation shell)과 분자의 상호작용을 포함하여 (벤딩 또는 폴딩(bending or folding) 운동과 같은) 다른 분자와의 상호작용을 통한 분자의 전체적인 물리적 구조의 변화를 포함한, 대상 분자의 모든 구조적 특성을 나타낸다. " 분자 구조" 및 " 분자 결합 이벤트" 는 모두 " 분자 이벤트" 를 칭한다. 탐지/분석이 행해지는 영역 내의 대상 분자의 단순한 존재는 " 분자 이벤트" 로 간주되지 않고 " 존재" 로 언급된다.

분자 결합 이벤트의 예를 들면, (1) 리간드와 그 리간드의 항리간드 간에 발생하는 단순한, 비-공유결합, 및 (2) 효소가 기질과 반응할 때 종종 발생하는 바와 같은, 일시적인 공유 결합 형성이 있다. 관련된 결합 이벤트의 보다 상세한 예를 들면, 리간드/수용기, 항원/항체, 효소/기질, DNA/DNA, DNA/RNA, RNA/RNA, 핵산 부정합(mismatch), 보체 핵산 및 핵산/단백질이 있다. 그러나, 이러한 예에 한정되는 것은 아니다. 결합 이벤트는 1차적, 2차적, 또는 보다 고차원의 결합 이벤트로 발생할 수 있다. 1차 결합 이벤트는, 통상적으로 탐지 영역내의 표면이 되는 제 1 표면의 일부인 물질 또는 별도의 분자일 수 있는 임의 형태의 실체에 제 1 분자가 결합(특이적 또는 비-특이적)되어 제 1 분자 상호작용 복합체를 형성하는 것으로서 정의 된다. 2차 결합 이벤트는, 제 1 분자 상호작용 복합체로의 제 2 분자 결합(특이적 또는 비-특이적)으로서 정의 된다. 3차 결합 이벤트는 제 2 분자 상호작용 복합체로의 제 3 분자 결합(특이적 또는 비-특이적)으로서 정의되며, 보다 고차원적인 결합 이벤트도 마찬가지다.

관련 분자 구조의 예를 들면, 물리적 하부 구조의 존재(예를 들어, 알파 헬릭스 영역, 베타 시트, 면역글로불린 영역, 촉매 활성화 사이트, 결합 영역, 또는 분자내의 세븐-트랜스-멤브레인(seven-trans-membrane) 단백질 구조의 존재) 또는 일부 작용 가능성과 관련한 구조(예를 들어, 항체로서 작용할 능력, 특정 리간드를 이송할 능력, 이온 채널(또는 그 이온 채널의 구성부)로서 작용할 능력, 또는 신호 전달부로서 작용할 능력)가 있다.

통상적으로, 구조적 특질은 미지의 구조 및/또는 작용의 분자로부터 얻어지는 신호를 공지의 구조 및/또는 작용의 분자로부터 얻어지는 신호와 비교함으로써 탐지된다. 통상적으로, 분자 결합 이벤트는 전위(potential) 결합 파트너 중 하나를 포함하는 샘플로부터 얻어지는 신호(또는 각각이 하나의 전위 결합 파트너를 가지는 두개의 별도의 샘플로부터의 신호)를 두개의 전위 결합 파트너를 포함하는 샘플로부터 얻어지는 신호와 비교함으로써 탐지된다. " 분자 결합 이벤트" 또는 " 분자 구조" 의 탐지는 모두 " 분자 탐지" 로 종종 언급한다.

본 명세서에 기재된 방법론 및 장치들은 생리적 조건(세포막이나 하부세포막내의 또는 세포의 세포질내의)에서 발생하는 분자적 이벤트의 생물학적 및 약학적 중요성을 탐지하고 예상하는 것에 주로 관심을 두고 있다. 따라서, 생리학적 조건과 동일하지 않고 그와 유사한 조건들하에서의 분자들의 구조적 특성 또는 분자들 간의 상호작용들에 대해서는 보다 덜 관심을 가진다. 예를 들어, 전자 현미경의 진공 필드에서와 같은 비-생리적 조건하에서 각 분자의 복합체 형성은 본 명세서에서 사용된 용어로서의 바람직한 " 분자 결합 이벤트" 로 간주되지 않는다. 여기서, 바람직한 분자 이벤트 및 특성은, 자연적인 세포나 세포간 환경, 또는 생리적 조건을 모사하도록 디자인된 수성(水性) 버퍼와 같은 인공적인 환경에서 존재하는 " 생리적인 조건" 하에서 존재한다. 세포 및 조직내에서 위치마다 국부적인 생리학적 조건이 변할 것이며, 그러한 조건을 모사한 인공적인 조건에서도 역시 상당히 변한다는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 결합에 영향을 미치는 작은 분자 및 도움(helper) 단백질의 존재하에서 하부세포 격실내의 단백질과 리간드 간에 결합 이벤트가 발생할 것이다. 그러한 조건은, 예를 들어 " 규정 인산염 식염수" 또는 PBS로 칭해지는 인공적인 매개체와 같은 혈청에서의 생리적 조건과 상당히 상이할 것이다. 통상적으로, 본 발명의 바람직한 조건은, 테스트되는 일부 성분들의 용해를 돕기 위해 존재할 수 있는 DMSO 와 같은 유기 용매를 약간 그러나 최소한으로 가지는 수용액이 될 것이다. " 수용액" 은 50 중량 % 이상, 바람직하게는 80 중량 % 이상, 가장 바람직하게는 90 중량 % 이상의 물, 그보다 바람직하게는, 95 중량 % 이상의 물을 포함한다. 삼투질 농도, pH, 온도, 압력과 같은 다른 조건들은, 예를 들어 결합 이벤트가 일어나는 세포간 환경의 국부적인 조건을 모사하기 위해 상당히 변화될 수 있다. 예를 들어 세포의 세포질 및 그 세포의 리소좀내의 자연적인 조건은 서로 상당히 상이하며, 그러한 조건들을 모사하기 위해 상이한 인공 매체가 사용될 것이다. 여러가지 생물학적 이벤트 및 구조를 연구하기 위해 자연적인 것을 모방하도록 디자인된 인공적인 조건의 예들은 문헌에 많이 기재되어 있다. 다수의 그러한 인공적인 매체가 상업적으로 판매되고 있으며, 예를 들면 생물학 분야 연구에 주로 이용되는 3.73 내지 9.24 pH 의 60 개의 상업적으로 이용가능한 버퍼를 나열하고 있는, 2000/2001년 발행된 Calbiochem General Catalogue 81 내지 82 면과 같은 여러가지 과학관련 제품 카탈로그에 나타나 있다. 통상적인 매체의 제조와 관련한 일반적인 기록 즉, R. Ian Freshney, Wiley-Liss, New York(1994) 3판, Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Techniques 의 제 7 장(" The Culture Environment")과 같은 기록을 참조할 수 있다.

본 명세서에서 사용되는 " 분석대상(analyte)" 이라는 용어는 존재, 구조, 결합 능력, 등이 탐지되고 분석되는 분자 실체를 칭하는 것이다. 본 발명의 실질적으로 적절한 분석대상은 항체, 항원, 핵산(예를 들어, 자연적인 또는 합성의 DNA, RNA, gDNA, cDNA, mRNA, tRNA), 렉틴, 설탕, 글리코단백질, 수용기 및 그 수용기와 동종의 리간드(예를 들어, 성장 인자(factor) 및 관련 수용기, 사이토킨 및 관련 수용기, 신호(signaling) 분자 및 수용기), 현존 약제 및 의약품 성분들과 같은 작은 분자(개발되고 조합 라이브러리(library)에 기록된 자연 생산물 또는 유사한 합성물질), 신진대사 산물, 오용 약물 및 그들의 신진대사 부산물, 비타민 기타 자연 발생적 복합물 및 합성물과 같은 보조인자, 생리적 유체와, 세포와, 세포 구성부와, 세포막 및 관련 구조물내에서 발견되는 산소 및 기타 가스, 식물 및 동물로부터 발견되는 기타 자연 산물, 기타 부분적으로 및 전체적으로 합성된 제품, 등이 있다.

비록 본 명세서에 기술된 대부분의 측정이 하나의 분자 또는 용액내의 분자 쌍들에 대해 이루어 진 것이지만, 테스트 혼합물이 부동(不動)의 분자를 통과하여 유동하도록 하면서 전자기 복사를 받는 채널의 사이트에서 결합 쌍의 부재들 중 하나가 표면상에 고정되는 상황에 본 발명의 방법을 적용할 수도 있다. 결합 쌍의 부재의 하나가 움직이지 못할 때, 본 명세서에서 사용되는 " 항리간드(antiligand)" 라는 용어는 대개 표면상에 고정된 분자를 칭하는 것이다. 예를 들어, 항리간드는 항체일 수 있으며, 리간드는 항체에 특이적으로 결합하는 항원과 같은 분자일 수 있다. 항원이 표면에 결합되고 항체가 탐지되는 분자인 경우에, 본 발명의 목적을 위해, 항체는 리간드 및 항원 즉, 항리간드로 간주될 수 있다. 또한, 항리간드가 일단 리간드에 결합되면, 결과적인 항리간드/리간드 복합체는 이어지는 결합의 목적을 위한 항리간드로 간주될 수 있다.

본 명세서에서 사용된 " 분자" 라는 용어는 염 또는 다른 물질의 비-분자 형태에 대립하는 것으로서의 화학 분자 또는 분자들 형태로 존재하는 생물학적 또는 화학적 실체를 칭하는 것이다. 일부 분자들이 탄소를 포함하지 않지만(분자 산소와 같은 단순한 분자 기체 및 일부 황-기질 폴리머와 같은 보다 복잡한 분자들을 포함한다), 많은 분자들은 유기 분자(공유 결합에 의해 다른 원자와 연결된 탄소 원자를 포함하는 혼합물) 형태이다. " 분자" 라는 일반적인 용어는 단백질, 핵산, 수산화탄소, 스테로이드, 유기 약제, 수용기, 항체 및, 지질(脂質)과 같은 수많은 서술적인 분자 분류 또는 분자 그룹을 포함한다. " 분자" 의 일반적인 분류 및 단백질과 같이 소분류로 명명된 것 모두가 혼합물을 나타낸다는 원칙내에서, 본 발명의 방법을 분자의 소그룹에 적용할 때와 같이 필요한 경우에, 하나 또는 그 이상의 보다 상세한 용어(혼합물 그룹에 속하는 " 단백질" 이라는 용어와 같은)를 본 명세서에서 사용할 것이다. 가장 일반적인 의미로 사용될 때, " 분자" 는 또한 이하에서 설명하는 바와 같은 각 분자들의 결합 복합체를 포함한다. 주된 공유 결합 분자에도 이온 결합이 존재할 수 있으며(아미노산 잔기(殘基)에 금속 이온이 결합된 단백질 또는 카르복실산의 염과 같은 경우), 그러한 분자들 역시 여전히 분자 구조로 간주된다. 물론, 분자 구조를 포함하는 샘플내에 염(예를 들어, 염화나트륨)이 존재할 수도 있고, 그러한 염의 존재는 본 발명의 실시에 포함된다. 그러한 염은 전체적인 유전체 반응에 참가할 것이지만, 그 염들의 존재하에서도 분자 결합 이벤트 또는 특성이 탐지될 수 있다.

본 명세서에서 사용된 " 결합 파트너" , " 리간드/항리간드" , 또는 " 리간드/항리간드 복합체" 라는 용어는 서로 특이적(specifically)으로 접촉하여 결합 복합체를 형성하는 분자들의 쌍(또는 보다 큰 그룹; 이하 참조)을 의미한다. 통상적으로, 그러한 쌍 또는 그룹은, 대개의 경우 비-공유 결합(쌍극자-쌍극자 상호작용, 수소결합, 반데르발스 상호작용과 같은)의 형성에 의해, 서로 상호작용하는 둘 이상의 분자들로 구성된다. 당업계에 공지된 바와 같이, 유사한 결합 친화도를 가진 분자들의 경우에도, 상호작용 시간이 상당이 변한다(온-오프 시간으로 칭하기도 한다). 예를 들면, 항체-항원, 렉틴-수산화탄소, 핵산-핵산, 비오틴-아비딘(avidin) 쌍들이 있다. 생물학적 결합 파트너들은 단일 분자 쌍으로 한정할 필요는 없다. 따라서, 예를 들어, 둘 이상의 항-리간드의 배위(配位) 작용에 의해 단일 리간드가 결합될 수 있으며, 또는 제 1 항체에 특이적인 제 2 항체에 의해 제 1 항원/항체 쌍이 결합될 수 있다. 결합은, 액체(용액을 칭할 수도 있다) 또는 고체(표면으로 칭할 수도 있다) 상(相)내에서 일어날 수 있고, 3 이상의 개별적인 분자 실체의 연속적인 또는 동시적인 결합을 포함하는 복합체 결합을 포함할 수 있다. 가능한 예로서, GPCR/G-단백질 결합이 뒤따르는 GPCR-리간드 결합; 핵 수용기/보조인자/리간드/DNA 결합; 또는 작은 분자 리간드를 따라, 복합체 샤프롱(chaperone)

단백질의 목표에의 결합이 있다. 다른 예들도 당업자라면 잘 알 수 있을 것이다.

본 명세서에서, " 리간드" 라는 용어는 일반적으로, 리간드와 항리간드 간의 접촉시에 자유에너지의 유리한 변화(즉, 음의 값)에 의해 리간드에 결합하는 다른 분자(즉, " 항리간드")가 존재하는 임의의 분자를 의미한다. 상호작용하는 기질의 크기에는 제한이 없으며, 그에 따라 넓은 의미의 리간드(또는 항리간드)가 각각의 분자를 구성할 수도 있고 세포, 세포막, 세포기관 또는 그와 유사한 합성체에서 볼 수 있는 보다 큰 유기 분자 그룹을 구성할 수도 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, " 리간드" 및 " 항리간드" 는 모두 넓은 의미를 가지며 서로 바꿔서 사용될 수도 있다. 그러나, 생물학 분야에서 " 리간드" 라는 용어가 서로 상호작용하는 보다 작은 두개의 결합 파트너들을 의미하는 것으로 사용하는 일반적인 경향이 있다는 것을 알 수 있으며, 가능한 경우에 이러한 관행은 지켜진다.

본 명세서에서 사용된 바와 같이, " 리간드/항리간드 복합체" 는 항리간드에 결합된 리간드를 의미한다. 그 결합은 특이적 또는 비-특이적일 수 있고, 상호작용하는 리간드/항리간드 복합체는 통상적으로 수소 결합, 반데르발스 상호작용, 또는 다른 형태의 분자간 상호작용과 같은 비공유결합력을 통해 서로 결합된다.

본 명세서에서, " 특이적 결합" 이라는 용어는, 단백질, 핵산 기타 본 명세서에서 기재된 바와 같은 결합 파트너를 의미할 때, 이종(異種)적인 개체수의 잠재적인 리간드에서 관련 리간드를 위해 선택된 결합 반응을 의미한다. 따라서, 지정된 조건(예를 들어, 항체 경우의 면역측정법 조건)하에서, 특이 항리간드는 특정 " 목표(target)" 에 결합하고 샘플내에 존재하는 다른 잠재적인 리간드에는 극히 적은 양도 결합하지 않는다. 예를 들어, 호르몬 신호를 위한 세포 표면 수용기(예를 들어, 에스트로겐 수용기)는, 유사 구조의 다른 분자가 존재하더라도, 특이 호르몬(에스트리올(estriol)과 같은 유사한 스테로이드를 포함한 다른 스테로이드계 호르몬과 같은 호르몬)에 선택적으로 결합할 것이다. 유사하게, 완전한 보체인 핵산 배열은 미리 선택된 조건하에서 서로 교잡(hybridize)될 것이고, 그에 따라 단일 뉴클레오티드 위치에서 배열이 다른 기타 핵산 조차도 교잡하지 못한다.

본 명세서에서 사용된 바와 같이, " 분리된" , " 정화된(purified)" , 및 " 생물학적으로 정화된" 이라는 용어는 고유 상태에서 통상적으로 수반되는 성분들이 실질적으로 또는 본질적으로 없는 물질을 의미한다.

본 명세서에서 사용된 바와 같이, " 핵산" 이라는 용어는 디옥시리보뉴클레오티드 또는 단일-, 또는 이중- 나선 형태의 리보뉴클레오티드 폴리머를 의미하며, 다른 제한이 없다면, 자연적으로 발생하는 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 교잡될 수 있는 하나 이상의 자연 뉴클레오티드 유사체를 함유하는 폴리머를 포함할 수 있다.

본 명세서에서 사용된 바와 같이, " 폴리펩티드" , " 펩티드" , 및 " 단백질" 은 아미노산 잔기(殘基)의 폴리머를 상호교환가능하게 칭하는데 사용한다. 이러한 용어들은, 비록 주어진 차수(order)가 대체적으로 증가하는 크기 및 복잡성을 의미하기는 하지만, 분자의 크기와 관련하여 일관성있게 사용되지는 않는 것으로 보인다. 모든 이러한 용어들은, 하나 이상의 아미노산 잔기(residue) 또는 펩타이드 결합이 대응하는 자연 발생적 아미노산의 인공적인 화학 유사체 또는 자연 발생적 아미노산 폴리머로의 결합인, 아미노산 폴리머에 해당된다.

본 명세서에서 사용된 바와 같이, " 항체" 라는 용어는 면역글로불린 유전자의 단편 또는 면역글로불린 유전자에 의해 실질적으로 인코딩(encoded)된 하나 이상의 폴리펩티드 사슬으로 이루어진 단백질을 의미한다. 인지된 면역글로불린 유전자는 카파, 람다, 알파, 감마, 델타, 입실론, 및 뮤 상수 영역 유전자 뿐만 아니라, 미리어드 면역글로불린 가변 영역 유전자를 포함한다. 경 사슬(light chain)은 카파 또는 람다로 분류된다. 중 사슬은 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 입실론으로 분류되고, 그것은 각각 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 의 면역글로불린 분류를 규정한다.

" 항원-결합 사이트" 또는 " 결합 부분" 은 항원 결합에 참여하는 면역글로불린 분자의 부분을 의미한다. 항원 결합 사이트는 중(" H") 사슬 및 경(" L") 사슬의 N-말단 가변(" V") 영역의 아미노산 잔기에 의해 형성된다. 중 사슬 및 경 사슬의 V 영역내의 3개의 고분지(highly divergent) 스트레치(stretch)는, " 프레임워크 영역(framework regions)" 또는 " FRs" 로 알려진 보다 보존된 프랭킹(flanking) 스트레치들 사이의 배치된 " 초가변(hypervariable) 영역" 을 의미한다. 따라서, " FR" 이라는 용어는 면역글로불린내의 초가변 영역들에 인접하고 그 사이에서 자연적으로 발견되는 아미노산 배열을 의미한다. 항체 분자내에서, 경 체인의 3개의 초가변 영역 및 중 체인의 3개의 초가변 영역은 3차원 공간에서 서로 상대적으로 배치되어 항원 결합 " 표면" 을 형성한다. 이러한 표면은 목표 항원의 결합 및 인지를 중재한다. 각각의 중 사슬 및 경 사슬의 3 개의 초가변 영역들은 " 보체성(complementarity) 측정 영역" 또는 " CDRs" 로서 칭해지고, 예를 들어 매릴랜드 베데스다(Bethesda)의 미국 건강인간청(U.S. Department of Health and Human Service), 미국 보건성의 4 판에 기재된 카벳(Kabat) 등의 면역학적 관점에서의 단백질 배열에 의해 특징지어질 수 있다.

본 명세서에서 사용된 " 면역학적(immunological) 결합" 및 " 면역학적 결합 특성" 이라는 용어는 면역글로불린과 그 면역글로불린에 특이적인 항원 사이에 발생하는 형태의 비-공유적 상호작용을 의미한다.

본 명세서에서 사용된 " 효소" 라는 용어는 촉매로서 작용하고 하나의 화합물이 보다 작은 화합물로 나누어지는 화학 반응의 또는 기타 다른 화합물들 사이에 발생하는 화학 반응의 활성화 에너지를 낮추는 단백질을 의미한다. 효소의 영향하에서의 반응을 거치는 화합물은 " 기질" 이라 칭한다. 효소는 반응의 초기 물질 또는 최종 제품이 아니고, 반응이 완료된 후에도 변화되지 않는다.

본 명세서에서 사용된 " 테스트 샘플" 이라는 용어는 조사되는 물질(분석대상) 및 그 분석대상이 발견되는 매체/버퍼을 의미한다. 그러한 매체 또는 버퍼는 고체, 액체 또는 기체 상(相) 물질을 포함할 수 있으며, 가장 생리학적인 매체/버퍼의 주요 성분은 물이다. 고체상 매체는 수산화탄소, 단백질, 올리고뉴클리오티드, SiO_2, GaAs, Au, 또는 선택적으로, Nylon®, Rayon®, Dacryon®, 폴리프로필렌, Teflon®, 네오프렌, 델린(delin) 등과 같은 임의의 유기 폴리머 물질을 포함한 자연발생적 또는 합성된 분자로 이루어질 수 있다. 액상 매체는 수성(水性), 유기질 또는 기타 주요 성분, 겔, 기체 및 에멀젼을 함유하는 것을 포함한다. 예시적인 매체로서, 셀룰로즈, 덱스트란(dextran) 유도체, d-PBS 수성 용액, 트리스(Tris), 탈이온수, 혈액, 뇌척수액, 소변, 타액, 물, 유기 용매가 있다.

본 명세서에서 사용된 " 생물학적 샘플" 은, 건강한 및/또는 생리학적 상태로 관심 이벤트 또는 구조를 검사하게되는 생물학적 조직 또는 유체를 의미한다. 그러한 생물학적 샘플은 가래, 아미노(aminotic) 유체, 혈액, 혈액 세포(예를 들어, 적혈구), 조직 또는 미세바늘 생검(biopsy) 샘플을 포함한다. 그러나, 상기 나열된 것에 한정되는 것은 아니다. 생물학적 샘플은 또한 배양액내에서 생장된 포유류나 기타의 세포를 포함한다. 비록 생물학적 샘플이 대부분 환자로부터 취해지지만, 그에 한정되는 것은 아니다. 개, 고양이, 양, 소 및 돼지와 같은 다른 포유류 뿐만 아니라 다른 종의 동물(예를 들어, 닭이나 칠면조와 같은 조류) 및 식물(예를 들어, 옥수수나 밀과 같이 음식물로서 사용되는 식물 및 관상식물)로부터 얻어진 샘플에서 분자 이벤트를 탐지하는데 동일한 측정이 이용될 수도 있다. 필요에 따라, 적절한 이송 매체 용액으로 희석하거나 응축하여 생물학적 샘플을 예비처리할 수도 있으며, 이 경우에도 여전히 " 생물학적 샘플" 로서 칭한다. 수많은 표준 수성 이송 매체 용액 중에서, 바람직하게는 생리학적 pH 에 있는 인산염, 트리스 등과 같은 여러가지 이송 매체중 하나를 선택하여 이용할 수 있다. 생물학적 샘플의 경우와 마찬가지로, 공급 물질로부터 얻어진 보다 일반적인 샘플을 예비처리(희석, 추출 등에 의한)하더라도 그 공급 물질도 샘플로서 칭할 수 있다.

본 명세서에서 사용된 " 유체 저장용기" 는, 물리적 크기 또는 형상에 관계없이, 단일 경로에 커플링될 수 있는 위치에서 유체가 유지될 수 있는 곳을 의미하며, 그에 따라 " 유체 저장용기" 의 탐지 영역에서의 테스트 신호가 샘플과 상호작용한 결과로 얻어지는 신호를 탐지할 수 있게 된다. " 유체 저장용기" 는 유체가 위치하는 용기 자체 보다는 유체를 의미한다고 할 수 있다. 따라서, 가장 단순한 형태로, " 유체 저장용기" 는 평평한 표면에 형성되고 관성 및/또는 표면장력에 의해 유지되는 유체 방울 또는 층을 의미한다고 할 수 있다. 그러한 구성은, 표면상의 알려진 지점에 부착된 특정

분자 프로브(대개는 알려진 배열의 DNA 단편)를 가지는 칩의 표면에 걸쳐 샘플 유체가 통과하는 것과 같이 유전공학에 일반적으로 사용되는 여러 가지 칩 디자인에 주로 사용된다. 그러나, " 유체 저장용기" 는, 중력에 의한 확산을 억제하는 수직 벽들(시험관 또는 미세타이터 플레이트의 측벽과 같이), 완전히 둘러싸는 벽들(밀봉 용기와 같은), 제한된 방향으로의 이동을 허용하는 부분적으로 둘러싼 벽들(관 또는 채널의 벽들과 같은)과 같이 유체의 이동을 제한하는 물리적 벽들내에 저장된다. 상기 기재된 것들 중 마지막 것은 본 명세서에서 " 유체 채널" 로서 주로 칭해지고, 반응물을 포함하는 용액 및/또는 다른 샘플들과 상호작용할 수 있도록 또는 다수의 샘플들이 단일 탐지 영역을 통과해 이송될 수 있도록 하나의 지점에서 다른 지점(미세유체 칩과 같은)으로 유체가 이동하는 상황에 주로 해당된다.

본 명세서에서 사용된 " 단일 경로" 라는 용어는 의도된 테스트 신호의 전달을 지원하는 전송 매체를 의미한다. 전송 경로의 일 실시예는 전송 전자기(TEM) 신호를 지원할 수 있는 동축 케이블과 같은 2-전도부 구조이다. 마이크로스트립(microstrip) 라인, 스트립라인, 현수된 기판, 슬롯 라인, 동평면적인(coplanar) 웨이브가이드와 같은 기타 다중-전도부, TEM 구조 또한 이러한 정의에 포함된다. 와이어, 인쇄회로기판 트레이스(trace), 전도성 도는 유전성 웨이브가이드 구조, 다극(에를 들어 4극, 8극) 구조와 같은 다른 전송 매체 역시 이러한 정의에 포함된다.

본 명세서에서 사용된 바와 같이, " 탐지 영역" 이라는 용어는, 신호 경로로부터 복사되는 전자기 신호를 수용하고 사용 장비에 의해 탐지될 수 있는 방식으로 그 신호와 반응하는 유체 용기(예를 들어, 미세유체 칩내의 유체 이송 채널 또는 다중웰 플레이트의 웰(well))의 영역(모든 부분 또는 일 부분)을 의미한다. 따라서, 일부 신호가 다른 위치(예를 들어, 프로브 헤드로부터의 표유(stray) 전자기 복사에 의해 충돌되는 미세타이터 플레이트의 인접 벽)에서 샘플과 상호작용할 수도 있지만, 그러한 외부적인 상호작용이 사용되는 장비에 의해 탐지되지 않는다면, 인접 영역은 " 탐지 영역" 의 일부가 되지는 않는다. 한편, 신호가 벌크형(bulk) 샘플의 일부와 상호작용한다면, 신호와 상호작용하여 장비에 의해 탐지될 수 있는 변조 신호를 생성하는 벌크 샘플의 모든 체적은 " 탐지 영역" 의 일부로서 간주될 것이다. 통상적으로, 본 발명의 일차적인 목적을 위해 사용되는 장비의 탐지 영역은 상대적으로 작을 것이다. 이러한 것은, 특정 측정에 이용가능한 각각의 개별 화합물의 양이 적음에 따라, 목표 수용기와 상호작용할 수 있는 능력에 대해 테스트 화합물의 라이브러리로부터 잠재적인 후보 약품을 테스트하는데 목적이 있는 경우에, 특히 그러하다. 따라서, 1 ml(1×10^{-6} m^3) 이하의 탐지 영역 체적이 바람직하다. 1 μℓ(1×10^{-9} m^3), 1 nl(1×10^{-12} m^3), 또는 1 pl(1×10^{-15} m^3) 및 그러한 각 체적들 사이의 범위와 같이 보다 적은 탐지 영역이 보다 바람직하다. 그 보다 적은 체적도 사용될 수 있으나, 바람직하지는 않다. 이는 보다 적은 체적이, 생리학적 샘플에 통상적으로 사용되는 온도, 압력 및 농도 조건에 해당하는 대상 분자를 통계학적으로 충분한 수 만큼 포함하지 않을 수 있기 때문이다.

본 명세서에서 사용된 " 커플링" 이라는 용어는, 직접적 또는 간접적인 물리적연결부를 통하거나 또는 어떠한 형태의 신호 커플링을 통해서라도, 두 구조물 사이에서 전자기 에너지를 전송하는 것을 의미한다. 일반적인 용어로서의 " 커플링" 은, 분자 이벤트가 신호경로의 전도성 부분과 직접 물리적으로 접촉할 때(예를 들어, 대상 분자가 신호경로의 표면과 결합할 때) 발생하는 신호커플링과, 대상 분자 이벤트가 신호경로의 임의 표면으로부터 물리적으로 분리될 때(예를 들어, 유체 저장용기의 벽을 통해 샘플에 커플링되는 프로브를 이용하는 것으로 설명된 작동) 발생하는 신호커플링 모두를 포함한다. 이러한 두가지 형태의 커플링들은, 구별할 필요가 있는 경우에, 통상적으로 " 직접 커플링" 및 " 간접 커플링" 이라 칭한다.

본 명세서에서 사용된 " 테스트 신호" 라는 용어는 교류 시간 가변(ac time varying) 신호를 의미한다. 바람직하게, 특정 실시예에서, 테스트 신호는, 10 MHz, 20 MHz, 45 MHz, 100 MHz, 500 MHz, 1 GHz(1×10^{9} Hz), 2 GHz, 5 GHz, 10 GHz, 12 GHz, 15 GHz, 18 GHz, 20 GHz, 25 GHz, 30 GHz, 44 GHz, 60 GHz, 110 GHz, 200 GHz, 500 GHz, 또는 1000 GHz 및 그 사이와 같은 10 MHz(10×10^{6} Hz) 또는 그 이상과 1000 GHz(1×10^{12} Hz)또는 그 이하이다. 바람직한 범위는 10 MHz 내지 40 GHz 이며, 특히 바람직하게는 45 MHz 내지 20 GHz 이다.

Ⅱ. 개요

본 발명에 의해, 수많은 분자를 구별할 수 있게 되고, 분자 이벤트를 탐지하기 위해 종래에 사용되지 않았던 전자기 스펙트럼 영역내의 독특한 유전체 성질을 기초로하여 구조적 특징 및 결합 능력을 특정할 수 있게 된다. 이러한 유전체 성질은 관심 분석대상을 포함하는 테스트 샘플에 테스트 신호를 초기에 커플링함으로써 관찰될 수 있다. 분석체의 유전체 특성은 테스트 신호를 변조하고, 식별가능한 신호 응답을 생성한다. 이러한 응답은 회수(recover)되고, 저장될 수 있으며, 다른 테스트 샘플내의 분자를 탐지하고 식별하는데 이용될 수 있다. 또한, 테스트 신호가 제 2 분자의 제 1 분자와의 상호작용에 의해 추가로 변조됨에 따라, 제 1 분자와 다른 분자들의 상호작용(예를 들어, 분자 결합 이벤트)들을 탐지할 수도 있다. 분자 특성 및 결합 이벤트의 탐지 및 식별은 액체, 기체 또는 고체 상(相) 내에서 이루어질 수 있으나, 바람직하게는 생물학적 환경에서의 기능과 관련한 분자의 특성을 규명하기 위해 수성(水性)의 생리학적 환경에서 실시되는 것이 바람직하다.

본 발명의 탐지 조립체는 분자 이벤트가 일어나는 테스트 샘플에 테스트 신호를 커플링시키도록 작동될 수 있는 측정 프로브를 제공한다. 테스트 샘플은 유체 저장용기, 유체 채널 또는 다중웰 플레이트의 웰(well)내에 위치한다. 탐지 영역으로 칭해지는 유체 저장용기의 일부에는 테스트 신호가 조사(照射)된다. 분자 이벤트에 포함되는 분자의 유전체 특성은 테스트 신호를 변조시킴으로써, 분자 이벤트를 포함하지 않는 샘플에 동일한 신호를 인가한 경우에는 동일하게 탐지될 신호응답과는 상이한 신호 응답을 가지는 반사 신호를 제공한다. 그 후에, 신호 응답은 회수되고, 분자 이벤트에 포함된 분자 또는 분자들의 하나 이상의 특성에 관한 정보를 제공한다.

III. 탐지기 조립체

도 1a 는 본 발명에 따른 통합 탐지 조립체(100)의 실시예를 도시한다. 탐지 조립체(100)는 측정 프로브 조립체(230)와 통합된 유체 이송 시스템(150)을 포함한다. 이러한 유체 이송 시스템(150)은 유입 단부(152) 및 배출 단부(154)를 가지는 유체 채널(151)을 포함한다. 채널(151)을 통한 테스트 샘플의 이동은 유체 제어부(156)에 의해 제어되며, 그 제어부는 사용자에 의해 선택된 조건하에서 및 적절한 시간에 채널을 통해 테스트 샘플을 이송시키는 작용을 한다. 선택적으로, 저장용기(158)는 유체 채널(151)내로 도입됨에 따라 저장용기(157)내에 저장된 테스트 샘플과 혼합될 수 있는 제 2 분석대상 또는 테스트 샘플을 포함할 수 있다. 탐지기에 인접한 두 개의 테스트 샘플들을 혼합할 수 있는 능력에 의해, 이러한 형태의 데이터로부터 결합 이벤트의 운동(kinetics)을 용이하게 측정할 수 있게 된다. 유제 제어부(156)는 테스트 샘플을 전진 및 후진의 일방향으로 이동시키거나, 예를 들어 감도 (sensitivity) 개선을 위해 탐지 영역에서 소정 시간동안 테스트 샘플을 정지시킬 수 있다.

프로브 조립체(230)는 프로브 헤드(230a) 및 연결 단부(230b)를 포함한다. 프로브 헤드(230a)는 유체 채널(151)의 탐지 영역(155)에 인접 배치되고, 탐지 영역(155)을 통과하는 테스트 샘플에 입사 테스트 신호를 전자기적으로 커플링 시키는 작용을 한다. 테스트 샘플은 테스트 신호를 변조시키며, 그 중 일부는 프로브 헤드(230a)로 반사된다. 이어서, 반사된 변조 신호는 이하에서 보다 상세하게 설명하는 탐지기 조립체에 의해 회수된다. 일 실시예에서, 프로브 헤드는, 탐지 영역(155)을 통과하는 테스트 샘플로 테스트 신호를 전달하고 그 샘플로부터의 변조된 반사신호를 회수하는, 동축 케이블의 개방-단부 부분일 수 있다. 마이크로웨이브 공학계의 당업자라면, 본 발명의 다른 실시예에서 기타 단부(단락된(shorted) 또는 부하식(loaded) 단부) 및 기타 회로 구성(스트립라인, 마이크로스트립, 동평면적인 웨이브가이드, 슬롯 라인 현수형 기판 또는 웨이브가이드와 같은)이 사용될 수 있다는 것을 알 수 있을 것이다.

연결 단부(230b)는 이하에서 설명하는 분자 탐지 시스템의 측정 포트에 전기적으로(직접 또는 중간회로를 통해) 연결된다. 측정 프로브가 동축형 구조인 예시적인 실시예에서, 연결 단부(230b)는 분자 탐지 시스템으로부터 연장하는 동축 케이블, 고주파 측정 분야의 당업자에게 익숙한 SMA-형 연결부 또는 기타 연결부와 같은 적절한 동축형 연결부일

수 있다. 상이한 형태의 프로브 구조(예를 들어, 마이크로스트립 등)가 사용되는 본 발명의 다른 실시예에서, 연결 포트는 분자 탐지 시스템으로의 신호 연통부를 제공하기 위한 적절한 연결부를 포함할 수 있다.

유체 이송 시스템

도 1a 에 도시된 바와 같이, 유체 이송 시스템(150)은 테스트 샘플이 통과하는 유체 채널(151)을 포함한다. 용도에 따라, 유체 채널(151)은 여러가지 형태를 가질 수 있다. 예를 들어 일 실시예에서, 유체 채널(151)은 탐지 영역(155)내외로 테스트 샘플을 이송하는 Tefron? (폴리테트라플루오로에틸렌;PTFE) 또는 기타 경질 플라스틱이나 폴리머 관(예를 들어, TEZEL™ (ETFE)관)일 수 있다. 다른 실시예에서, 채널(151)은 이하에서 보다 상세히 설명하는 미세유체 이송 시스템내의 하나 이상의 에칭된 채널(개방형 또는 폐쇄형)을 포함한다. 탐지 감도의 향상을 위해, 둘 이상의 채널을 이용하여 보다 큰 탐지 영역(155)을 제공할 수도 있다. 다른 실시예에서, 유체 채널(151)은 공지된 반도체 처리 기술을 통해 형성된다. 당업자는 본 발명하에서 유체 채널(151)의 다른 구성 및 구조를 적용할 수 있다는 것을 이해할 것이다.

이송 매체는 특정 분석대상에 따라 여러가지 용액, 기체, 또는 다른 매체로 이루어진다. 예를 들어, 본 발명의 탐지 시스템이 생물학적 분석 대상의 존재 및/또는 결합을 탐지하기 위해 사용된다면, 둘베코(Dulbecco)의 인산염-이송 매체 함염물(saline)(d-PBS) 또는 유사 매체를 이송 용액으로 사용하여 생물학적 분자의 자연 환경과 유사한 환경을 제공할 수 있다. 당업자가 알 수 있는 바와 같이, DMSO, 인산나트륨(Na3PO4), MOPS, 인산염, 시트르산염, 글리신, 트리스, 오테이트(autate), 붕산염, 및 기타 물질이 본 발명의 다른 실시예에서 사용될 수 있다.

유체 채널(151)은 프로브(230)가 샘플을 조사(照射)하는 탐지 영역(155)을 포함한다. 탐지 영역(155)의 면적은, 유체 채널(151)의 물질 조성 및 구조, 분석대상의 농도, 의도하는 탐지 시간, 테스트 샘플이 채널을 통과하는 속도 및, 당업자가 예상할 수 있는 다른 요소들을 포함하는 몇가지 요소들에 의해 영향을 받는다. 탐지 영역(155)에서 부동화(immobilized) 탐지방식이 채용되는 실시예에서, 결합 표면은 탐지 영역(155)내에 형성되고, 그 면적은 결합 표면의 화학적 성질, 결합 표면의 물질 및 형상, 기타 당업자가 예상할 수 있는 요소들에 의해 영향을 받을 것이다. 결합 표면의 예시적인 크기는 10^{-1} m^2, 10^{-2} m^2, 10^{-3} m^2, 10^{-4} m^2, 10^{-5} m^2, 10^{-6} m^2, 10^{-7} m^2, 10^{-8} m^2, 10^{-9} m^2, 10^{-10} m^2, 10^{-11} m^2, 10^{-12} m^2, 10^{-13} m^2, 10^{-14} m^2, 10^{-15} m^2 또는 그 사이의 크기가 될 것이다. 바람직하게, 이러한 범위의 대부분은 나선형 또는 다공성 표면의 사용에 의해 작은 체적내에서 달성된다. 이상에서 나열된 범위의 적은 수는 반도체 처리 기술을 이용하여 제조한 시스템 및 미세유체 장치의 전형이 될 것이다. 그 대신에, 당업계에 공지된 단백질학(proteomics)용 칩과 같은 다른 진단용도에 사용될 수 있도록 탐지 영역(155)을 변경할 수도 있다. 탐지 영역의 크기 및 형상은 신호 전송 및 분석대상 통과가 가능하기만 하면 되고, 기타 다른 제한은 이하에서 설명한다.

탐지 조립체(100)의 도시된 실시예에서, 유체 제어부(156)는 저장용기(157)에 연결된다. 유체 제어부(156)는 채널(151)을 통해 테스트 샘플을 이동시키기 위해 저장용기(157)로부터의 유체를 이용하며, 이러한 것이 채널을 통해 샘플만을 단순히 펌핑하는 것 보다 적은 양의 테스트 샘플을 필요로 하게 된다.

제 2 저장용기(158)를 이용하여, 저장용기(157) 테스트 샘플과의 혼합을 위해 제 2 분석 대상 또는 테스트 샘플을 저장할 수 있다. 이러한 실시예에서, 유체 제어부(156)는 두개의 테스트 샘플을 신속하게 혼합하고 그 혼합물을 탐지 영역(155)으로 공급하도록 구성될 수도 있다. 이러한 기술(유체 이동 시스템 분야에서 정지식-유동 운동학(stopped-flow kinetics)으로 공지되어 있는 바와 같다)에 의해, 두개의 테스트 샘플로 이루어진 분석대상들 사이에서 결합 이벤트가 발생함에 따라 신호 응답의 변화를 관찰자가 고나찰하고 기록할 수 있게 된다. 이러한 데이터는 또한 두 샘플의 분석대상들 사이에 발생하는 결합 이벤트의 운동역학을 측정하는데 이용될 수 있다. 오스트랄리아, 빅토리아에 소제하는 Varian Australia Pty Ltd. 에 의해 유통되는 모델 번호 제 Cary 50 와 같은 통상적인 정지식-유동 운동역학 시스템의 유체계를 본 발명내에서 운용하는데 또는 통합 탐지 조립체(100)내에 적용할 수 있다. 정지식-유동 유체계 시스템에 관한 추가 정보는www.hi-techsci.co.uk/scientific/index.html 를 참조할 수 있다.

채널(151)을 통한 테스트 샘플 유동을 제어하기 위한 다른 부품들을 포함할 수 있다. 유체 제어부(156), 유체 저장용기(157 및 158), 유체계 이동과 관련한 기타 부품들은 유체 이송 시스템(150)의 별도의 부품으로 구성되거나, 부분적으로 또는 완전히 통합될 수 있다.

도 1b 는 유체 이송 시스템의 다른 실시예를 도시한다. 도시된 바와 같이, 유체 이송 시스템(170)은 구동 회로(172), 구동 부재(174), 시린지(syringe) 조립체(176), 및 유체 채널(178)을 포함한다. 바람직하게, 유체 이송 시스템(170)은 측정 프로브 조립체(230)의 외부에서 조립되고 작동된다. 그러나, 본 발명의 다른 실시예에서, 유체 이송 시스템(170)의 일부 또는 모든 부품들이 측정 프로브 조립체(230)에 통합될 수도 있다.

작동 중에, 구동 회로(172)는 작업자로부터 명령을 수신하여 테스트 샘플(175)을 측정 프로브 조립체(230)에 제공한다. 그 명령은 샘플의 특정 양을 제공하기 위한 및/또는 특정 속도로 샘플을 제공하기 위한 지시일 수 있다. 응답에 따라, 구동 회로(172)는 구동 부재(174)(일 실시예에서 나사일 수 있다)를 진행시키고, 이에 따라, 시린지 조립체(176)의 플런저를 진행시킨다. 플런저는 의도된 양의 샘플을 유체 채널(178)(일 실시예에서 PTFE 관 이다)로 공급하며, 샘플은 측정 프로브로부터 방출되는 테스트 신호에 의해 조사되는 탐지 영역으로 상기 채널을 통해 이송된다.

액체 상내의 분자를 탐지 또는 식별하기 위해 본 발명이 사용되는 경우, 서로 상이한 샘플을 분리하기 위해 몇가지 기술이 사용될 수 있다. 하나의 기술에서, 적은 양(예를 들어, 5μℓ)의 하나 이상의 샘플 플러그(plug)가 보다 큰 체적(예를 들어 15 μℓ)의 주 샘플 플러그에 선행하거나 또는 뒤따를 수 있다. 지속시간이 짧은 샘플 플러그일 수록 주 샘플 플러그가 샘플 농도 변화로부터 절연(insulate)되도록 한다. 유체의 혼합을 더욱 최소화하기 위해 또는 농도 변화를 최소화하기 위해, 샘플 플러그 전에 및/또는 후에, 공기 플러그를 간격 물질로서 도입할 수도 있다. 공기 플러그는 또한 유체 채널내의 테스트 샘플의 위치를 테스트 시스템(또는 작업자)에게 알려주기 위한 지시부로서 사용될 수도 있다.

다른 기술에서, 서로 상이한 테스트 샘플을 각각 분리하기 위해, 이송 매체(공기일 수도 있다)를 간격 물질로서 이용할 수도 있으며, 이때 그 이용방식은 USP 제 6,033,456, 5,858,187, 5,126,022 호에 개시된 미세유체계 장치 및 기술과 같은 장치 및 기타 탐지 시스템에서 일반적으로 실행된다. 이러한 방식으로 작동될 때, 간격 물질은 제 1 테스트 샘플 후에 채널내로 도입되고, 추가의 테스트 샘플(또는 샘플들)은 상기 간격 물질 후에 채널내로 도입되며, 테스트 샘플들은 유체 제어부의 제어하에서 채널을 통해 이동됨으로써, 간격 물질에 의해 분리된 일련의 서로 상이한 테스트 샘플들이 채널을 통해 이송된다. 그러한 이송은 테스트 샘플들이 서로 섞이지 않고 이송되게 함으로써, 각 테스트 샘플이 탐지 영역(155)을 통과(또는 일시적으로 정지되어)함에 따라 각 테스트 샘플에 대해 개별적으로 탐지 영역(155)상의 측정이 이루어진다.

본 발명의 유체 이동 제어 시스템내에서 적당한 크기의 펌핑 장치를 이용할 수도 있다. 그러한 펌프는 쇼지(Shoji) 등이 Eletronics and Communications in Japa, Part 2, 70:52-59(1998)에서 발표한 " 통합 화학 분석 시스템을 위한 펌프 제조(Fabrication of a Pump for Integrated Chemical Analyzing Systems)" 및, 에사시(Esashi)등이 Sensors and Actuators, 20:163-169(1989)에 기재한 " Normally closed microvalve and pump fabricated on a Silicon Wafer" 와 같은 마이크로일렉트로미케니칼 시스템(MEMS); 또는 모로니(Moroney)등이 Proc. MEMS, 91:227-282(1991)에 발표한 " Ultrasonically Induced Microtransport" 에 기재된 바와 같은 압전-전기 펌프를 포함한다. 그러나, 수 많은 미세유체계 장치에서, 펌프(유체 이동 제어부)는 이동 부분을 구비하지 않고 전극 및 정전기력을 이용하여 액체를 이동시킨다. 그러한 전극-기초 펌핑의 적어도 두가지 형태가 " 전자기유체역학 펌프" (EHD) 및 " 전자삼투압(electroosmisis)" (EO) 이라는 명칭으로 설명된다. EHD 펌핑은 바트(Bart) 등이 Sensors and Actuators, A21-A23:193-197(1990)에 발표한 " 미세제조된(microfabricated) 전자기유체역학 펌프" 및 리치터(Richter) 등이 Sensors and Actuators, A29:159-168(1991)에 발표한 " 미세가공된(A Micromachined) 전자기유체역학 펌프" 에 개시되어 있다. EO 펌프는 다스굽타(Dasgupta)등이 Anal. Chem. 66:1792-1798(1994)에서 발표한 " 전자

삼투압: 유동 분사 분석을 위한 신뢰성있는 유체 추진 시스템(A Reliable Fluid Propulsion System for Flow Injection Analysis)" 에 개시되어 있다. 액체 공급 시스템에서 전극에 의해 유체를 이동시키는 EO 및 EHD 와 같은 펌프를 작동시키기 위한 실제적인 고찰은 PCT 출원 제 WO95/14590 호에 개시되어 있다. WO95/14590 출원은 적절한 전극, 그러한 전극을 형성하는 방법, 및 그러한 펌프를 어떻게 작동시키는가에 대한 추가적인 지침을 제공하는 이론적인 고찰에 대해 설명하고 있다. 미세유체계 장치에서의 유체 이동에 관한 추가적인 지침은, 그 분야에서 측허된 수많은 특허들을 참조할 수 있을 것이다. USP 6,033,546, 5,858,187 및 5,126,022 에 개시된 미세유체계 장치 및 기술에 설명된 바와 같이 유체 이동 제어부가 유체의 전기이동(electrophoretic) 운동을 이용하는 경우에, 매우 적은 샘플(0.001 μℓ 또는 그 이하)을 용이하게 취급할 수 있다.

미세유체계 장치들(테스트 샘플 도입, 추가적인 테스트 혼합물이나 반응제와의 혼합, 및 혼합된 혼합물의 분리와 같은 여러가지 형태의 유체 이동을 허용하는 채널들을 가지는 분석 칩들 뿐만 아니라, 샘플링 장치, 온도 제어부, 탐지부 및 분석 전자장비와 같은 관련 장비들 모두)이 개발되어 있다. 본 발명이 현재의(및 변형된) 유체 이송 시스템에 적용될 수 있는 새로운 탐지 시스템에 관한 것이기 때문에, 기계적인 펌프 및 버블(bubble) 간격부를 이용하는 밀리리터-크기의 샘플을 이송하는 이전의 대형(lafge-scale) 장치 및 미세유체계 모두는 그 자체가 본 발명의 일 양태가 아니며, 그 장치 및 미세유체계는 본 발명의 탐지 기술이 용이하게 적용될 수 있는 장치 및 방법이다. 이러한 공지된 분야의 기초에 대해서는, 전술한 인용 특허들(및 그 배경 특허와 그 특허에 인용된 기타 참증들)과 같은 유체 운용에 관한 기발행 간행물을 참조할 수 있다. 본 명세서는 이러한 공지된 시스템과 이하에서 설명하는 탐지기 및 분석 시스템의 조합에 관해 주로 설명하고, 그러한 조합은 이하에서 설명하고 이하의 예에서 나타나는 바와 같은 새로운 결과를 제공한다. 그러나, 본 발명의 방법이 이전의 유체 이송 시스템에 어떻게 적용되는지를 설명하기 위해, 일반적인 설명을 곁들일 것이다.

예를 들어, 실질적으로 비장전식(uncharged)인 샘플이 전기이동 미세유체계 장치에 사용될 때, 미세유체계 장치의 전기장이 간격 유체의 흐름내로 분사된 플러그로서의 테스트 샘플을 용이하게 이동시키도록, 샘플에 비해 상대적으로 높은 이온 세기(ionic strength)를 가지는 간격 물질이 종종 이용된다. 몇몇 경우에, 테스트 샘플과 실질적으로 혼합되지 않는 간격 유체를 이용하는 것이 유용하다. 그러나, 유체가 상대적으로 신속하게 이동하는 경우(그에 따라, 의도하는 측정에 부정적인 영향을 미칠 정도로 인접 테스트 샘플과 혼합되는 효과를 낳는 확산에 필요한 시간이 없는 경우), 대개 0.1 내지 500 ㎛(바람직하게는 5 내지 50 ㎛)의 단면 직경을 가지는 미세유체계 채널의 전체 내용물이 난류 혼합 없이 연속적인 흐름으로서 이동함에 따라, 일반적으로 혼합은 문제가 되지 않는다. 부동(不動)의 간격 물질은 난류 혼합이 발생할 수 있을 정도로 충분히 규모가 큰 작동에서 보다 일반적이다. 그러한 시스템내에서 가장 일반적인 간격부는 기체 버블이며, 이 때 유체 이동 제어부는 주로 연동(peristalic) 펌프와 같은 형태로 유체를 물리적으로 펌핑한다. 그러한 큰 규모의 시스템은 한때 의료분석 시스템(예를 들어, SMA1260으로 알려진 상업적인 임상 분석 시스템)에서 일반적이었으나, 상당 부분이 미세유체계에 의해 대체되고 있다. 그러나, " 제어된 버블 형성에 의한 미세유체계 장치내의 유동 제어" 라는 명칭의 USP 제 5,992,820 호에 개시된 바와 같이, 미세유체계 시스템 역시 간격부로서 버블을 이용한다.

이러한 유체계 시스템이 일련의 다수의 테스트 샘플을 분석하기 위한 경우에(비록, 하나의 물리적 장치내에서 하나 이상의 일련의 측정이 이루어질 수 있지만), 그 시스템은 유체 이송 시스템내의 제 1 채널과 교차하는 하나 이상의 채널을 일반적으로 포함한다. 그 시스템에서, 테스트 혼합물 또는 간격 물질에 의해 분리된 일련의 테스트 혼합물을 포함하는 제 2 유체 채널내의 유체의 이동을 개별적으로 제어한다. 제 2 유체 채널로부터의 테스트 혼합물(들)은 탐지 영역(155)으로부터 충분히 상류에서 제 1 유체 채널내의 테스트 샘플내로 도입되며, 그에 따라 테스트 샘플이 탐지 영역(155)에 도달하기 전에 테스트 혼합물이 제 1 유체 채널내의 테스트 샘플의 분자 구조와 반응할 시간을 가지게 된다. 그 후에, 테스트 신호의 추가적인 변화에 의해, 상호작용이 일어났는지의 여부가 측정된다. 만약 상호작용이 두개의 분자종들 사이에 발생하는 것으로 알려져 있는 것이라면(두 분자의 종들이 공지된 결합 쌍의 두개의 요소일 때와 같은 경우), 그 테스트 신호는 제 1 채널내의 분자 분석대상 또는 제 2 채널내의 테스트 혼합물의 존재를 감지하는데 사용될 수도 있다. 또한, 약제 선별에서 일반적인 것과 같이, 결합 쌍의 요소로서 공지되지 않은 분자들을 결합(또는 기질과의 효소

반응과 같은 다른 상호작용)에 대해 테스트할 수도 있다.

바람직한 장치에서, 유체 이송 시스템은 또한 액체(예를 들어, 세척 이송 매체)나 기체(예를 들어, 버블)일 수 있는 간격 물질에 의해 분리된 일련의 테스트 샘플들을 탐지 채널내로 도입하는 자동 샘플링 장치를 추가로 포함할 수 있다. 다수의 테스트 샘플의 취급에 대해서는 전술한 미세유체계와 관련된 수 많은 특허 및 기타 간행물과, 공지된 자동화 시스템에 개시되어 있다. 예를 들어, 다수의 테스트 샘플 웰(well)이 하나의 칩상에 마련될 수도 있고, 자동 피펫팅 시스템이 상이한 테스트 샘플을 각각의 테스트 샘플 웰에 공급할 수도 있다. 그러한 탐지기 조립체에서, 각 채널은 각 웰로부터 탐지 채널이 시작되는 공통 위치(또는 추가의 반응제나 테스트 혼합물과의 혼합이 필요한 경우에 그 보다 약간 앞쪽의 위치)로 인도하며, 테스트 샘플들은 유체 제어 시스템에 의해 공통 위치로 연속적으로 이동된다. 그 후에, 유체 제어부는 테스트 샘플을 공통 위치로부터 장치의 다른 부분으로 연속적으로 이동시킨다. 다른 형태의 탐지 장치에 사용하기 위한 다른 형태의 소량 테스트 샘플의 자동화 취급가 개시되어 있으며, 이는 본 발명의 장치에 테스트 샘플을 공급하는데 용이하게 적용할 수도 있으며; 예를 들어, " 액체 크로마토그래피 분리를 위한 방법 및 시스템" 이라는 명칭의 USP 제 4,468,331 호를 참조할 수 있다.

측정 프로브

측정 프로브는 탐지 영역(155)을 점유하는 테스트 샘플을 향해 테스트 신호를 발진시키도록 작동된다. 테스트 샘플의 유전체 특성은 테스트 신호를 변조시키고, 그 변조된 신호의 적어도 일부는 측정 프로브(230)를 향해 반사된다. 반사된 변조 신호는 측정 프로브에 의해 회수되고, 이하에서 보다 상세히 설명하는 탐지 시스템으로 전달된다. 그 후에, 탐지 시스템은 입사 테스트 신호를 반사된 변조 신호와 비교하고, 마이크로웨이브 공학분야에서 일반적으로 칭해지는 바와 같은, 복귀 손실 또는 " S_{11} " 응답을 생성한다. 대부분의 분자 이벤트의 유전체 특성이 상이하기 때문에, 각 분석대상의 복귀 손실 응답 또한 구별될 수 있으며, 비공지된 테스트 샘플내의 분자 이벤트를 탐지 및 규명하는 역할을 할 수 있다.

측정 프로브(230)는 원하는 주파수(들)의 테스트 신호를 전파하기에 적당한 여러가지 상이한 형태로 구성될 수 있다. 특정 실시예에서 측정 프로브(230)가 동축 케이블이지만, 마이크로스트립, 스트립라인, 현수된 기판, 슬롯 라인, 동평면적인(coplanar) 웨이브가이드, 웨이브가이드등이 본 발명에서 선택적으로 사용될 수 있다. 여러 가지 형태의 일부 예시적인 실시예는, 1966년에 McGraw-Hill 출판사에서 발행된 R. E. Collins 의 마이크로웨이브 공학 기초및; Les Besser and Associates, Inc. 의 에스. 마치(S. March)의 1986년도 마이크로웨이브 전파 라인 및 그 물리적 실현(Microwave Transmission Lines and Their Physical Realizations) 를 참조할 수 있다.

측정 프로브가 작동하는 주파수 또는 주파수들은 프로브(230)의 구조에 따라 달라질 것이지만, 일반적으로 10 MHz 내지 110 GHz 일 것이다. 측정 프로브가 동축적으로 구성되는 특정 실시예에서, 통상적으로 작동 주파수는 45 MHz 내지 20 GHz 일 것이다. 당업자는 본 발명에 따라 구성된 프로브가 본 발명의 다른 실시예에서의 다른 주파수 범위에서도 사용될 수 있다는 것을 알 수 있을 것이다.

도 2a 는 본 발명의 일 실시예에 따른 공명(resonant) 동축 형태로 구현된 측정 프로브(230)의 제 1 실시예를 도시한다. 도시된 바와 같이, 프로브(230)는 두개의 포트: 즉 프로브 헤드(230a) 및 연결 단부(230b)를 구비한다. 특정 실시예에서, 프로브 헤드(230a)는 개방-단부형 동축 단면부이고 연결 단부(230b)는 동축-형태의 연결부이며, 동축-형태의 연결부의 일 실시예는 SMA 연결부가 있다. 당업자는 다른 회로 구성(마이크로스트립, 스트립라인, 슬롯 라인, 동평면적인 웨이브가이드, 웨이브가이드 등과 같은) 및 다른 단부들(단락된(shorted) 또는 부하식(loaded) 단부)이 본 발명의 다른 실시예에 사용될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

프로브(230)는, 중앙 전도부(235), 유전체 절연부(236), 및 외측 전도부(237)(통상적으로 접지 전위 기준(ground

potential reference을 제공하기 위해 사용된다)를 각각 구비하는 두개의 동축부(232 및 234)를 추가로 포함한다. 제 1 부분은 전술한 프로부 헤드(230a) 및 그 헤드에 대향하여 위치되는 제 1 갭(gap) 단부(232a)로 이루어지며, 각각은 동축 케이블의 개방-단부형 단면으로서 구현된다. 선반부(바람직하게는 전도성인)(231)는 프로브 헤드(230a)의 외측 전도부(237)와 동일한 높이로 부착된다(바람직하게는 납땜, 전도성 에폭시 또는 기타 전도성 부착 물질에 의해 부착된다).

제 2 부분(234)은 중앙 전도부(235)와 외측 전도부(237) 사이에 위치하는 유전체 절연부(236)를 가지는 제 1 부분(232)과 유사한 구성을 가진다. 제 2 부분(234)은 제 2 갭 단부(234a) 및 그에 대향하여 위치한 연결 단부(230b)를 추가로 포함한다. 제 2 갭 단부는 동축 케이블의 개방형-단부 단면으로서 구현된다. 연결 단부(230b)는 이하에서 추가로 설명하는 분자 탐지 시스템에 연결되도록 작동되는 연결부(특정 실시예에서의 SMA-형태)로서 실체화 된다. 예시적인 실시예에서, 제 1 부분 및 제 2 부분은 각각 RG401형 반-강성 동축 케이블을 포함하며, 이 때 크거나 또는 작은 직경의 케이블이 사용될 수 있다. 제 1 부분(232)의 길이는, 이하에서 보다 상세히 설명하는 바와 같이, 원하는 공명 주파수의 파장의 약 절반으로 산출될 수 있다. 이러한 설명에서, 제 1 부분은 약 4 인치이고, 이는 1 GHz 테스트 주파수에서의 파장의 약 절반에 상당한다.

본 발명의 특정 실시예에서, 프로브(230)는, 제 1 및 제 2 갭 단부(232a 및 234a) 사이에서 조절가능하게 맞물려서 그들 사이에 가변적인 갭 거리를 제공하는 전환 부재(233)를 포함한다. 그 갭은 제 1 및 제 2 부분(232 및 234) 사이에 용량(容量)성 효과를 제공하며, 제 1 부분(232)의 전기적 길이와 조합하여, 프로브(230)가 이송되는 (분석대상이 없는)매체를 조사할 때 공명 신호 응답을 제공하도록 디자인된다. 전환 부재(233)는 제 1 및 제 2 부분(232 및 234) 사이의 갭을 연신 또는 수축시키도록 회전될 수 있어, 그에 따라 측정 프로브(230)의 공명 주파수를 원하는 주파수로 변화시킨다.

예시적인 실시예에서, 갭 거리가 0 인치에서 0.050 인치 사이에서 가변될 수 있으며, 또한 본 발명의 다른 실시예에서 사용되어 공명 응답을 원하는 주파수 지점에 맞출 수 있는 다른 갭 크기도 가질 수 있다. 추구하는 공명 응답은, 테스트 신호의 반사된 부분이 실질적으로 널(null)이 되는 것 즉, 회수 손실 또는 S_{11} 의 크기가 최소화되는 때이다. 이하에서 설명하는 바와 같이, 분석대상의 존재는 공면 신호 응답을 상당히 변형시킬 것이며, 그에 따라 분석대상 결합 및/또는 하부구조의 탐지 및 규명이 가능하다.

바람직하게, 전환 부재(233)는 작동 테스트 주파수에서 제 1 및 제 2 부분 사이의 접지 전위를 유지하기 위해 상대적으로 큰 전도성을 가지는 물질로부터 제조된 중공(中空) 관이다. 또한, 전환 부재는, 제 1 및 제 2 갭 단부(232a 및 234a) 부근에서 제 1 및 제 2 부분의 외측 전도부에 배치된 외측 나사(238)와 맞물리는 내측 나사(233a)를 포함할 수 있다. 본 발명의 다른 실시예에서, 전환 부재(233)를 생략할 수 있으며, 이 경우 제 1 및 제 2 단부(232 및 234)는 하나의 연속적인 동축 전송 라인 구조를 포함할 수 있다.

당업자는, 본 발명의 다른 실시예에서 다른 신호 응답을 제공하기 위해, 프로브(230)가 다른 회로 소자를 포함할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 또한, 집합(lumped) 소자 형태, 분산된 형태, 또는 양자의 조합된 형태의 다른 회로가 프로브(230)를 따라 포함될 수 있다. 예를 들어, 전환 부재 내에서, 제 1 및/또는 제 2 부분(232 및 234)을 따라, 또는 프로브 헤드(230a)에서, 임피던스 매칭 회로 및/또는 전송 매체 증폭 회로가 연결 단부에 채용될 수 있다. 선택적으로 또는 추가적으로, 출력 신호의 강화를 위해 임피던스 매칭 회로 및/또는 하나 이상의 출력 증폭기가 포함될 수도 있다.

도 1 에 도시된 바와 같은 본 발명의 일 실시예에서, 프로브 헤드(230a)는 테스트 샘플에 인접하여 그러나 중간 물질에 의해 물리적으로 분리되어 배치된다. 이러한 예에서, 전자기 커플링을 통해, 입사 신호가 테스트 샘플로 전달되고, 반사된 신호가 그 테스트 샘플로부터 회수된다. 테스트 샘플로부터 프로브 헤드(230a)를 물리적으로 분리하는 중간 물질(들)은 PTFE, 알루미나, 유리, 사파이어, 다이아몬드, Lexan ?, 폴리이미드, 또는 고주파 회로 디자인 분야에서 유전체 물질로 이용되는 기타 물질과 같은 고체상 물질; 또는 소정 작동 주파수에서 상대적으로 높은 정도의 신호 전송율을 가지는 다른 공지된 물질을 포함한다. 특정 실시예에서, 중간 물질은 전기 절연 물질일 수 있으며, 그러한 물질 중 일부는 상기한 바와 같다. 선택적으로 또는 추가적으로, 상대적으로 높은 정도의 테스트 신호 전송성을 가지는 액체 및/또는 기체 상 물질은 또한 중간 물질을 구성할 수 있다.

중간 물질의 두께 및 유전체 특성은 채용된 유체계 시스템 및 사용된 측정 프로브에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 분리 거리가 큰 시스템에서는, 테스트 샘플과 프로브(230) 사이에 최대 커플링을 제공하기 위해 저손실의 고유전체 물질이 바람직하다. 분리 거리가 상대적으로 작은 시스템에서는, 높은 손실 및 적은 유전체 상수의 물질이 허용된다. 0.031 인치 내경, 0.063 인치 외경, 0.016 인치 두께, 및 유전체 상수가 약 2 인 TPFE 관이 채널(151)인 특정 실시예에서, 분리 거리는 대략적으로 관의 벽 두께인 약 0.016 인치이다. 다른 탐지 조립체에서, 분리 거리는 10^{-1} m, 10^{-2} m, 10^{-3} m, 10^{-4} m, 10^{-5} m, 10^{-6} m 일 수 있고, 예를 들어 몇몇 경우(기판의 표면내로 에칭된 채널내에서 그리고 채널의 제 4 측면으로 작용하는 테스트 샘플 측면상에 얇은 폴리머 층을 가지는 금속 신호 경로 부재를 가지는 경우 등)에는 10^{-9} m 정도로 아주 작을 수도 있다. 분리 거리를 증가시키거나 탐지 영역(155)을 증가시키면, 샘플 체적 또는 분석대상 농도는 탐지 감도를 좋게하는 작용을 할 것이다. 전술한 바와 같은 분리 물질은 고체상 물질 일 수 있고, 선택적으로(또는 추가적으로) 액체나 기체 상 물질 또는 그 조합으로 이루어 질 수도 있다.

도 2b 는 프로브(230)에 대향 배치되어 프로브와의 사이에 테스트 샘플이 배치되도록 하는 덮개(240)를 도시한다. 일 실시예에서, 덮개(240)는, 중앙 전도부(235)로부터 복사되는 전자기장이 종료되는 접지 면을 제공하도록 작동 주파수에서의 접지 전위로 설정되는 전도성 물질(황동, 구리, 알루미늄 등)로 이루어진다. 덮개(240)는 측정에 영향을 미칠 수 있는 외부 공급원으로부터의 차폐기능을 추가로 제공한다.

다른 실시예에서, 프로브 헤드(230a) 또는 측정 프로브(230)의 중앙 전도부(235)가 채널(151)내로 연장하여, 중앙 전도부(235)는 채널(151)을 따라 유동하는 테스트 샘플과 직접 접촉한다. 이러한 실시예에서, 중앙 전도부(235)는 테스트 신호의 전파를 지원할 수 있고 분석대상에 부정적인 영향을 미치지 않을 수 있는 물질로 형성된다. 그러한 물질은, 금, 인듐 주석 산화물, 구리, 은, 아연, 주석, 안티몬, 갈륨, 카드뮴, 크롬, 망간, 코발트, 이리듐, 플래티늄, 수은, 티타늄, 알루미늄, 납, 철, 텅스텐, 니켈, 탄탈륨, 레늄, 오스뮴, 탈륨 또는 이상의 합금들을 포함한다. 그러나, 이상 열거된 것으로 한정되는 것은 아니다. 이러한 동일한 물질들은 당업자에게 자명한 다른 물질과 함께 외측 프로브를 형성하는데 이용될 수도 있다.

도 2c 및 도 2d 는 각각 본 발명에 따른 프로브의 제 2 실시예의 단면도 및 평면도이다. 도 2c 의 단면도에 도시된 바와 같이, 측정 프로브(250)는 제 1 동축 부분(251), 브라켓(252), 부착 플랫폼(253), 접촉 링(255), 튜닝 갭(256), 제 2 동축 부분(257), 전도성 접지 관(258), 및 유체계 선반(259)을 포함한다.

제 1 동축 부분(251)은 이하에서 설명하는 신호 탐지부(도시 안함) 및 신호 공급원에 커플링된다. 일 실시예에서, 제 1 동축 부분은 RG401 반-강성 케이블이다. 당업자는 다른 형태의 반-강성 케이블 및 기타 전송 구조가 본 발명의 다른 실시예에 사용될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

제 1 동축 부분(251)은 브라켓(252)내에 고정적으로 유지되어 유체계 선반(259)의 바닥 부근에서 갭 영역(254)내로 연장된다. 접촉 링(255a 및 255b)은 제 1 동축 부분(251)의 외측면 둘레에 선택적으로 부착되어 제 1 동축 부분(251)과 접지 관(258)의 내측면 사이에 접지 전도성을 제공한다. 다른 실시예에서, 접촉 링들은 높은 전도성의 스프링일 수 있고, 또한 다른 구조가 사용될 수도 있다. 다른 실시예에서, 제 1 동축 부분(251)의 외측면은 접지 관(258)(일 실시예에서 구리)의 내측면에 충분한 정도로 접촉되어, 접촉 링(255)이 필요하지 않게 할 수도 있다.

제 1 및 제 2 동축 부분(251 및 257)은 전기적으로 작동되어 전술한 공명 응답을 제공하는 튜닝 갭(256)에 의해 분리된다. 도시된 실시예에서, 제 2 동축 부분(257)은 유체계 선반(259)내에서 접지 관(258)내에 고정된다. 제 1 동축 부분(251)의 외측면이 접지 관(258)의 내측면과 전기적으로 접촉하도록 제 1 동축 부분(251)이 갭 영역(254)내로 삽입되어, 그들 사이에 연속적인 접지 전위가 제공된다. 제 1 동축 부분(251) 및 제 2 동축 부분(257) 사이에 형성된 튜닝 갭(256)은 브라켓(252)을 위쪽으로 또는 아래쪽으로 이동시킴으로써 짧아지거나 또는 길어질 수 있다. 전도성 접지 관(258)내의 제 2 동축 부분(257)의 위치가 조절될 수 있고, 선택적으로 또는 추가적으로 제 1 동축 부분(251)도 조절될 수 있다는 것을 알 수 있을 것이다. 부착 플랫폼(253)은, 제 1 동축 부분(251)이 브라켓내에 삽입되거나 또는 제 1 동축 부분(251)이 브라켓으로부터 분리될 수 있게 하면서, 유체계 선반(259)에 부착되어 그 선반을 고정적으로 유지한다. 일 실시예에서, 브라켓(252)은 모터에 의해 구동되고, 캘리포니아 어빈에 소재하는 뉴포트(Newport) 코포레이션이 유통하는 정밀 모터구동식 중계 스테이지 조립체내에 포함된다.

도 2e 는 본 발명에 따라 비-공명식 동축 형태로 구현된 측정 프로브의 실시예를 도시한다. 이러한 실시예에서, 프로브(280)는 개방-단부형 동축 라인(281) 부분, 상호작용 고정물 베이스(283), 상호작용 기판(285), 유체 계면(界面)부(287)로서 그 계면부로 부터 연장하는 하나 이상의 유체 관(289)을 포함한다. 특정 실시예에서, 프로브(280)는 입사 신호 및 반사된 신호 특성을 측정할 수 있는 벡터 네트워크 분석기 또는 유사 테스트 장비에 커플링된다.

유체 관(289)은 유체 계면부(287)내로 샘플이 유입될 수 있게 한다. 상호 작용 기판(285)은 공급된 샘플을 동축 부분(281)의 단부로부터 분리하는데 선택적으로 사용될 수 있다. 상호작용 기판(285)은 예를 들어 유리, 석영, 폴리이미드, PTFE 또는 이산화규소, 갈륨 아세나이드(gallium arsenide) 또는 반도체 공정에서 사용되는 기타 물질과 같은 여러 가지 물질로 구성될 수 있다. 다른 실시예에서, 상호작용 기판(285)이 제거되고, 샘플은 동축 부분(281)과 직접 접촉한다. 베이스 고정물(283)은 유체 계면부(287)(및 상호작용 기판(285)이 사용된다면 그 기판(285))를 동축 부분(281)의 개방 단부와 정렬시키고 고정적으로 부착시키는데 사용된다. 특정 실시예에서, 베이스 고정물은 알루미늄이며, 또한 본 발명의 다른 실시예에서는 다른 물질이 사용될 수 있다.

작동 중에, 샘플(베이스라인 응답을 위해 사용된 분석대상이 없는 버퍼일 수도 있다)의 체적이 유체 관(289)을 통해 유체 계면부(287)내로 도입된다. 이어서, 테스트 신호가 테스트 세트(290)로부터 동축 부분(281)에 인가된다. 전술한 바와 같이, 공급된 샘플의 유전체 특성은 입사 신호를 변조시킬 것이다. 동축 부분(281)의 개방-단부형 구조는 변조된 신호의 적어도 일부를 변조된 신호가 회수되는 테스트 신호를 향해 반사한다. 통상적으로 입사 신호의 진폭 및 위상의 변화(또는 부족(lack))로 표시되는 변조는 분자 이벤트의 존재(또는 부존재)를 나타낸다.

전술한 유체계 이송 시스템이 제공된다면, 당업자는 작업할 분자 샘플의 선택을 위한 생물학 및 화학 관련 문헌들을 용이하게 알 수 있을 것이다. 생물학적 시스템에 대한 일반적인 안내는, Greene Publishing Associates, Inc. 및 John Wiley & Sons, Inc. 의 조인트 벤쳐인 Current Protocol 편집편인 에프.엠. 오수벨(F.M. Ausubel) 등의 Current Protocols in Molecular Biology (1997년 증보)(오수벨); 캘리포니아 멘로 파크에 소재하는 The Benjamin/Cummings Publishing CO. 가 발행한 왓슨(Watson) 등의 (1987) 유전자의 분자 생물학(Molecular Biology of the Gene) 4판; 뉴욕에 소재하는 Second Edition Garland Publishing 이 발행한 알버트(Alberts) 등의(1989) 세포의 분자 생물학; 뉴저지 래스웨이에 소재하는 Merck & Co. 의 The Merck Manual of Diagnosis and Therapy 가 있다. 생물학적 반응제 및 실험 장비의 제조업자들이 제공하는 제품 정보 역시 생물학적 시스템을 측정하는데 유용한 정보를 제공한다. 그러한 제조업자들은, 예를 들어, SIGMA chemical company(미조리, 세인트 루이스 소재), R & D systems(미네소타 미니아폴리스), Pharmacia LKB Biotechnology(뉴저지 피스카다웨이), CLONTECH Laboratories, Inc.(캘리포니아 팔로 알토), Aldrich Chemical Company(위스콘신 밀워키), GIBCO BRL Life Technologies, Inc.(매릴랜드 개더스버그), Fluka Chemica-Biochemika Analytika(스위스, 부흐, Fluka Chemie AG), Applied Biosystems (캘리포니아, 포스터 시티), 기타 당업자에게 알려진 수 많은 다른 회사들이 있다.

생물학적 샘플들은 정맥 천자(venipuncture), 요추 천자(lumbar puncture), 타액이나 소변과 같은 유체 샘플, 또는 조직 생체검사법과 같은 공지 기술을 이용하여 환자로부터 얻어진다. 생물학적 물질이 상업적으로 적당한 가축류와 같은 인간외로부터 얻어지는 경우, 혈액 및 조직 샘플들은 가축류 처리 설비로부터 용이하게 얻을 수 있다. 유사하게, 본 발명에 사용되는 식물 물질은 농업이나 원예 분야 및 자연의 기타 공급원에서 용이하게 얻을 수 있다. 선택적으로, 생물학적 샘플은 세포 및/또는 혈액을 저장하는 세포 또는 혈액 은행, 또는 세포배양과 같은 생체외 공급원으로부터 얻을 수도 있다. 생물학적 물질의 공급원으로 사용하기 위한 세포 배양 기술은 당업자에게 잘 알려져 있다. 뉴욕에 소재하는 Wiley-Liss 가 발행한 Freshney 의 Culture of Animal Cells, a Manual of Basic Technique, 4판 (1994)은 세포배양에 관한 일반적인 개요를 제공한다.

탐지 영역의 화학적 성질

탐지 영역(155) 표면에의 결합이 없이 분석대상 결합 또는 구조의 탐지가 이루어지는 실시예에서, 일반적으로 탐지 영역(155)의 화학적 성질은 채널의 벽(도시된 실시예 중 하나에서 Teflon ? 관)이 테스트 샘플의 통로와 반응하지 않도록 선택된다. 탐지 영역 표면에 결합되어 탐지가 이루어지는 다른 실시예에서, 항-분석대상 (anti-analyte)과 분석대상 사이의 전위 결합 상호작용의 탐지를 위해 유체 이송 시스템에 의해 하나 이상의 테스트 샘플이 이송될 수 있도록, 탐지 영역 표면이 활동적이되어 항-분석대상과 결합된다. 그러한 경우에, 탐지 영역(155)의 표면은 양호한 분자 결합 성질을 가지는 물질로 제조된다. 리간드는 다른 분자 구조를 통해 직접, 간접적으로 채널의 벽에 결합될 수 있다. 확인된 결합 상호작용의 가능한 형태를 나열하면, 단백질/단백질 상호작용, DNA/단백질 상호작용, RNA/단백질 상호작용, 핵산 교잡(hybridization), 베이스 쌍 부정합 분석, RNA/RNA 상호작용, tRNA 상호작용, 효소/기질 시스템, 항원/항체 상호작용, 작은 분자/단백질 상호작용, 약제/수용기 상호작용, 박막/수용기 상호작용, 및 지질/단백질 상호작용이 있다. 그러나 이상 나열된 것으로 제한되는 것은 아니다. 부착의 화학적 성질은 표면에 부착된 하나의 종류의 분자들만을 포함할 수도 있고, 표면에 부착된 여러가지 상이한 분자들의 전체 열(array), 또는 표면에 직접 부착된 종들 간의 다수의 결합 이벤드 및 용액내의 대상 리간드를 포함할 수도 있다.

IV. 예시적인 분자 탐지 시스템

도 3a 는 본 발명에 따른 분자 탐지 시스템(300)의 일 실시예를 도시한다. 그 탐지 시스템(300)은 신호 공급원(302), 신호 탐지부(304), 및 탐지 조립체(100)를 포함한다. 탐지 조립체(100)는 예를 들어 케이블, 전송 라인 또는 의도된 테스트 주파수의 신호의 전파를 지원할 수 있는 기타 매체(310)과 같은 신호 경로를 통해 신호 공급원(302) 및 탐지부(304)에 커플링된다. 공급원(302)은 탐지 조립체(100)를 향해 입사 테스트 신호(312)를 전달하도록 작동된다. 입사 테스트 신호는 테스트 샘플의 유전체 특성에 의해 변조되고, 그 변조된 테스트 신호의 적어도 일부는 공명 프로브(230)를 향해 반사된다. 반사된 신호는 프로브에 커플링되고 입사 신호와 비교되어 신호 응답을 생성한다. 마이크로웨이브 공학계의 당업자는 이러한 측정을 단일-포트 S_{11} 반사 측정으로서 인식할 것이다.

특정 실시예에서, 신호 공급원(302) 및 신호 탐지부(304)는 벡터 네트워크 분석기 테스트 세트내에 포함될 것이며, 그 세트의 예를 들면, 캘리포니아 팔로 알토에 소재하는 Agilent Technologies 사의 모델 번호 8510 및 8714 가 있다. 전송된 신호 및 반사된 신호를 기초로 신호 정보를 제공하는 시스템 또는 스칼라 네트워크 분석기와 같은 다른 고주파 측정 시스템도 본 발명의 다른 실시예에서 사용될 수 있다. 예시적인 탐지 시스템(300)을 단일-포트 반사 측정 시스템으로 기재하였지만, 본 발명의 다른 실시예에서, 추가적인 신호 공급원(및/또는 탐지부)을 이용하여 반사된 변조 신호 또는 테스트 샘플을 통과한 변조 신호(당업계에서 S_{21} 또는 " 통과" 측정으로 칭한다)를 회수할 수 있다.

본 발명의 일 실시예에서, 공명 프로브(230)는 분자 탐지 시스템(300)과 함께 사용되어 테스트 샘플내의 분자 이벤트의 존재 또는 부존재를 탐지한다. 그 방법은 먼저 공명 프로브(230)에 대한 베이스라인 응답(공기, 버퍼, 또는 분석대상이 없는 기타 매체를 이용하여)을 측정하고 이어서 탐지 영역(155)내로 분자 이벤트가 도입되었을 때 베이스라인 응답의 변화를 측정하는 단계를 포함한다. 이러한 방법은 도 3b 에 보다 상세히 도시되어 있다.

먼저, 단계(320)에서, 프로브(230)는 미리 정해진 주파수에서 또는 그 근방의 주파수에서 공명 응답 S_{11} 을 가지도록 디자인된다. 특정 실시예에서, 당업자에게 공지된 바와 같이 이하의 계산식을 이용하여 제 1 동축 부분(332)의 길이가 의도하는 공명 주파수에서의 파장의 절반이 되도록 함으로써 이러한 단계가 달성된다: 즉,

$\lambda/2 = c[2 \times f_{des} \times \varepsilon_r^{1/2}]$,

이때:

$\lambda/2$ = 제 1 동축 부분(332)의 길이(meter 단위)

c = 빛의 속도 3×10^8 m/s

f_{des} = 의도하는(desired) 공명 주파수(Hz)

ε_r = 절연 물질(336)의 상대 유전체 상수

의도된 공명 주파수가 1 GHz 이고 절연 물질(Teflon®)(336)dml 상대 유전체 상수가 약 2.1 인 개시된 실시예에서, 제 1 동축 부분(332)의 길이는 4 인치가 되도록 선택된다. 고주파 회로 설계 분야의 당업자는 설명된 디자인 기술 및 결과적인 공명 신호 응답은 단지 많은 가능성 중 하나라는 것을 알 수 있을 것이다. 다른 실시예에서, 다른 공지된 회로 디자인(단락-회로 1/4-파장 라인 등과 같은)을 이용하여 공명 신호 응답을 얻을 수도 있다.

다음 단계(321)에서, 프로브 헤드(230a)는 탐지 영역(155)에 인접 배치되어 그 영역에 전자기적으로 커플링될 수 있게 한다. 통상적으로, 이러한 작동은 프로브 헤드(230a)를 탐지 영역(155)에 가능한한 가깝게 위치시키는 것을 포함한다. 전술한 바와 같이, 프로브 헤드(230a)와 탐지 영역(155)을 분리하는 중간 물질은 PTFE, 알루미나, 유리, 사파이어, 다이아몬드, Lexan®, 폴리이미드, 또는 고주파 회로 디자인 분야에서 유전체 물질로 이용되는 기타 물질과 같은 고체상 물질; 또는 소정 작동 주파수에서 상대적으로 높은 정도의 신호 전송율을 가지는 다른 공지된 물질을 포함한다. 특정 실시예에서, 중간 물질은 유리, PTFF 또는 그 변형체, 석영, 이산화규소, 갈륨 아세나이드, 기타 전술한 물질들과 같은 전기 절연 물질일 수 있다. 선택적으로 또는 추가적으로, 상대적으로 높은 정도의 테스트 신호 전송성을 가지는 액체 및/또는 기체 상 물질도 사용될 수 있다.

이어서, 단계(322)에서, 유체 이송 시스템(150)은 분석대상이 없는 이송 매체를 탐지 영역(155)으로 공급한다. 그 다음의 단계(323)에서, 테스트 신호가 탐지 영역(155)에 커플링되고, 결과적인 베이스라인 응답이 얻어진다. 여기서 설명된 예시적인 실시예에서, 베이스라인 응답은 분석대상이 없는 버퍼가 탐지 영역(155)을 점유하는 경우의 입사 신호 및 반사된 신호(312 및 314)의 진폭 및 위상 데이터를 비교함으로써 얻어지는 S_{11} 응답이다. 본 발명의 다른 실시예에서, 공지된 데이터 비교 기술을 이용하여 다른 신호 응답을 얻을 수도 있다. 테스트 중에, 유체 이동이 연속적(예를 들어, 단일 주파수 또는 작은 주파수 그룹의 신호가 측정될 때 또는 탐지 감도가 높을 때, 측정 시간이 짧은 경우)이거나, 또는 유체 유동이 중단될 수 있다. 선택적으로, 감도 향상을 위해, 다수의 스캔이 실행되고 평균을 구할 수도 있다.

다음 단계(324)에서, 도 3c 의 궤적(334)으로 예시되어 도시된 저점에 베이스라인 응답의 크기가 도달할 때까지 튜닝 소자가 조절된다(시계방향 또는 반시계방향으로, 또는 도 2d 에 도시된 바와 같은 모터구동 조립체를 이용한 전진). 베이스라인 S_{11} 응답이 최소 지점에 도달하는 주파수 지점(point)을 f_{res} 로 칭한다. 이 지점은 신호 세기의 가장 작은 양이 탐지 시스템(300)으로 반사되는 경우의 주파수를 나타낸다. 통상적으로, 프로브 헤드(230a)의 개방-단부형 부분에 위치한 샘플 및 장치의 유전체 효과로 인해, 공명 주파수(f_{res})는 미리 정해진 주파수(f_{des})로부터 벗어나게 된다. 주파수(f_{des}) 지점은, 분자 이벤트가 샘플의 유전체 특성의 급격한 변화를 나타낼 것으로 기대되는 범위의 주파수로 또는 하나의 주파수로 선택된다. 탐지 공정을 설명하기 위해 예시적인 실시예에서 1 GHz 가 선택되었지만, 본 발명에서, 많은 분자 이벤트의 유전체 특성은 10 MHz, 20 MHz, 45 MHz, 100 MHz, 250 MHz, 500 MHz, 1 GHz, 2.5 GHz, 5 GHz, 7.5 GHz, 10 GHz, 12 GHz, 15 GHz, 20 GHz, 25 GHz, 30 GHz, 40 GHz, 50 GHz, 60 GHz, 80 GHz, 100 GHz, 110 GHz 및 그 주파수들 사이의 주파수에서 탐지가 가능하다. 당업자는 본 발명의 다른 실시예에서 기타 주파수 및 주파수 범위를 사용할 수 있다는 것을 이해할 것이다.

공명 주파수(f_{res}) 지점 근방에서의 회수 손실 또는 S_{11} 응답은 상당히 급격히 변할 것이다. 공명 주파수 지점 부근에서의 보다 점진적인 응답을 얻기 위해, 프로브는 공명 지점(f_{res})으로부터 먼쪽으로 튜닝(튜닝 소자를 회전시킴으로써)될 수 있다. 이러한 단계(및 튜닝 소자(333) 자체)는 튜닝된 S_{11} 응답을 나타내는 다른 실시예(예를 들어, 제조된 IC 칩)에서 생략될 수도 있다.

다음 단계(325)에서, 테스트 샘플은 전술한 수단 중 어느 하나를 이용하여 탐지 영역(155)으로 도입된다. 단계(326)에서, 테스트 신호는 탐지 영역(155)에 커플링되고 결과적인 테스트 샘플 응답이 얻어진다.

여기서 설명된 예시적인 실시예에서, 베이스라인 응답은 유체 채널 및 분석대상이 없는 버퍼의 존재하에 이루어진 S_{11} 응답이다. 당업자는 다른 측정(2개-포트 S_{21} 측정과 같은)이 베이스라인 응답으로 사용될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 또한, 예를 들어 버퍼가 공지된 분석대상을 포함하거나, 또는 응답이 버퍼 및/또는 유체 채널이 없는 상태에서 이루어지는 것과 같은 상이한 조건을 이용하여 베이스라인 응답을 측정할 수도 있다. 수 많은 베이스라인 응답이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 전술한 바와 같이, 테스트 샘플은 측정 중에 정지상태로 유지되거나 또는 탐지 영역(155)을 통해 이동될 수 있다.

도 3c 는 탐지 영역(155)내에서 분자 이벤트가 발생하는 경우의 테스트 샘플 응답(335)을 도시한다. 도시된 바와 같이, 테스트 샘플 응답(335)는 보다 얕은 널(null)을 나타낸다. 전기적으로, 테스트 샘플내의 분석대상의 유전체 특성은 공명 신호 응답을 변경시키고, 베이스라인 응답(334)에 비해 테스트 샘플 응답(335)의 진폭을 감소시킨다. 다른 실시예에서, 테스트 샘플 응답(335)은 주파수 이동 즉, 최소 S_{11} 응답이 발생하는 주파수가 f_{res} 위로 또는 아래로 이동되고, 몇몇 실시예에서, 베이스라인 응답의 진폭 및 주파수 모두가 변화될 것이다. 결합 이벤트가 탐지 영역내에서 일어나는 경우에, 그 응답은 실시간(즉, 반응이 일어남에 따라)으로 모니터링될 수 있다. 당업자는 도시된 테스트 샘플 응답(335)은 가능한 응답의 하나의 예에 불과하며, 본 발명하에서 기타 응답을 관찰할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 예를 들어, 몇몇 실시예에서, 테스트 샘플은 버퍼 공명 지점 보다 더 깊은 널(null)을 만들 수 있다. 이 것은 예를 들어 초기 베이스라인 응답(334)이 최소 공명 지점으로부터 먼쪽으로 튜닝되었을 때이다.

이어지는 단계(327)에서, 베이스라인 및 테스트 샘플 응답(334 및 335)이 미리 정해진 양 이상으로 상이한지에 대한 결정이 이루어진다. 이러한 단계는, 베이스라인 및 테스트 샘플 응답(334 및 335)의 진폭, 주파수, 및/또는 위상 데이터를 비교하고, 그 차이가 미리 정해진 또는 미리 프로그램된 양을 초과하였을 때 변화가 발생하였다는 것을 나태냄으로써 이루어질 수 있다. 1 GHz 의 f_{res} 에서의 예시적인 양은 진폭이 0.1 dB, 0.5 dB, 1 dB, 3 dB, 5 dB, 10 dB (또는 그 값들 사이); 위상이 1 도, 10 도, 25 도, 45 도, 90 도, 180 도(또는 그들 사이); 주파수가 1 KHz, 3 KHz, 5 KHz, 10 KHz, 1 MHz, 10 MHz, 100 MHz(또는 그 사이); 또는 이러한 양들의 둘 이상의 조합의 범위내에서 변화된다. 전술한 주파수들은 보다 높은 또는 보다 낮은 f_{res} 주파수에 따라 증감될 수 있다. 예를 들어, 10 MHz의 f_{res} 에 대한 미리 프로그램된/미리 정해진 주파수는 10 Hz 내지 1 MHz가 될 것이다.

만약, 단계(327)에서 베이스라인 및 테스트 샘플 응답 간의 차이가 미리 정해진 양을 초과하지 않는다면, 탐지 시스템(300)은 f_{start} 내지 f_{stop} 의 주파수 범위내에서 분자 이벤트가 탐지되지 않았다는 것을 나타낸다(단계 328). 이러한 표시는 예를 들어 사용자에게 전술한 메세지를 전달하는 것, 응답(334)과 응답(335) 간의 측정된 진폭, 주파수 및/또는 위상 차이를 그림으로 표시하는 것, 측정 데이터 또는 다른 출력 수단을 공급하는 것과 같은 여러 가지 방법으로 사용자에게 전달할 수 있다. 설명된 f_{start} 내지 f_{stop} 의 주파수 범위는 결합 이벤트 또는 하부구조의 탐지를 기대할 수 있는 둘 이상의 보다 작은 주파수를 포함할 수 있다는 것을 주지하여야 한다.

만약, 단계(327)에서 베이스라인 반응과 테스트 샘플 반응 사이의 차이가 미리 정해진 양을 초과한다면, 탐지 시스템(300)은 분자 이벤트가 탐지 영역(155)내에서 탐지되었다는 것을 나타낸다(단계 329). 이러한 표시는 전술한 것과 유사한 방식으로 사용자에게 전달된다. 바람직한 실시예에서, 테스트 샘플 반응(325)는 추후의 검색 및 다른 테스트 샘플 응답과의 비교를 위해 저장된다(단계 330).

탐지된 분석대상의 규명에 관한 정보는 여러 가지 방법으로 수득될 수 있다. 만약, 탐지 영역(155)이 작용되어 특정 분석대상에 특이적으로 결합된다면, 결합된 분석대상에 대한 규명은 그 것으로부터 결정될 수 있다.

탐지 영역(155)내에서 비-특이적 결합이 일어나거나 또는 분자 결합이 일어나지 않는 다른 실시예에서, 탐지된 결합 이벤트의 규명은 다-단계 공정으로 이루어 진다. 먼저, 공지된 분석대상이 버퍼에 첨가되고 유체 채널의 탐지 영역으로 공급된다. 다음에, 전술한 측정 프로브 및 방법론을 이용하여, 공지된 테스트 샘플의 신호 응답(335)이 얻어지고 저장된다. 분석대상의 식별자(identifier)(분석대상의 명칭, 기호식 코드나 배열, 또는 할당된 다른 식별자)가 연속적으로 테스트 샘플 응답(335)과 연관되고 데이터베이스에 저장되며, 그 데이터베이스로부터 검색되고 다른 테스트 샘플 응답

과 비교된다. 다른 테스트 샘플 응답이 저장된 응답(335)과 밀접하게 연관되는 경우, 다른 테스트 샘플내의 분자 이벤트의 식별이 이루어질 수 있다.

다른 측정이 계속될 것이지의 여부를 결정하는 단계(331)가 이어진다. 이러한 단계는 예를 들어 생산량이 많은 자동화된 분자 탐지 시스템에서 채용될 수 있을 것이다. 하나 이상의 측정이 남아 있다면, 전술한 단계들 중 하나를 이용하여 다른 테스트 샘플을 탐지 영역(155)으로 도입하는 단계(324)로 돌아간다. 만약 다른 측정이 필요 없다면, 측정 공정을 단계(332)에서 종료된다.

설명된 실시예의 연장선에서, 탐지 시스템(300)은 N 개의 측정 프로브(230_i) 예를 들어, 각각이 96개 웰 마이크로 타이터 플레이트내의 하나의 웰에 커플링되는 96개의 프로브를 포함할 수 있다. 각 프로브는 각각의 N 개의 탐지 영역(155_i)에, 예를 들어 마이크로 타이터 플레이트내의 각 웰의 바닥부에, 커플링될 것이다. 이러한 실시예에서, 바람직하게 탐지 시스템은 테스트 신호를 N 개의 탐지 영역(155_i) 중 하나로 전달하는 1 ×N 스위치 매트릭스와, N 개의 가능한 탐지 영역 중 하나로부터의 변조된 신호를 신호 탐지부로 전달하는 N ×1 스위치 매트릭스를 포함한다. 다른 실시예에서, 각각의 프로브(230_i) 및 탐지 영역(155_i)이 서로 다른 공명 주파수를 가지도록 디자인될 수 있으며, 이 경우 모든 탐지 영역(155_i)은 연속적인 주파수 스펙트럼에 걸쳐 탐지될 수 있다. 다른 구성의 탐지 시스템(300)도 당업자에게 자명할 것이다.

도 3d 는 본 발명에 따라 테스트 샘플내에서 발생하는 분자 결합 이벤트를 탐지하는 방법을 도시하고 있다. 이러한 공정은 전술한 도 3b 와 유사한 방식으로 시작된다: 즉,

미리 정해진 주파수에서 또는 그 근방의 주파수에서 공명 응답을 가지도록 프로브를 디자인하고, 프로브 헤드를 채널의 탐지 영역에 인접 배치시키고, 분석대상이 없는 버퍼를 탐지 영역으로 공급하며, 버퍼 공명 지점(point)으로 또는 그 근방으로 프로브를 튜닝한다(단계 340-343).

다음 단계(344)에서, 제 1 분석대상을 포함하는 제 1 테스트 샘플을 탐지 영역으로 공급한다. 바람직한 실시예에서, 분석대상은 예를 들어 6 mg/ml 의 1×농도로 공급된다. 응답(353, 도 3e 에서 표시됨)이 얻어지고 저장된다(단계 345). 다음 단계(346)에서, 바람직하게는 제 1 분석대상과 농도가 동일한(설명된 실시예에서 6mg/ml) 제 2 분석대상을 포함하는 제 2 테스트 샘플이 탐지 영역으로 공급된다. 바람직하게, 탐지 영역은 제 1 분석대상의 잔류물을 제거하기 위해 세척제로 세척된다. 이러한 공정은 전술한 간격 물질을 이용하여 실행될 것이다. 이어서, 제 2 테스트 샘플에 대한 응답(355, 도 3e 에 도시됨)이 얻어지고 저장된다(단계 347).

다음 단계(348)에서, 제 1 및 제 2 분석대상은 제 3 샘플내로 혼합된다. 바람직하게, 제 1 및 제 2 분석대상은 0.5×농도(설명된 예에서 각각 3 mg/ml)로 혼합되어, 측정된 제 1 및 제 2 샘플에 대해 분석대상의 전체적인 농도를 동일하게 유지한다. 그 후에, 제 3 샘플이 탐지 영역으로 공급되고, 응답이 얻어지고 저장된다(단계 349). 선택적으로, 신호 응답의 변화를 실시간으로 모니터링하기 위해, 2 개의 분석대상을 탐지 영역에서/그 영역에 인접하여 도입하고 혼합할 수도 있다(예를 들어, 전술한 단계식-유동 시스템을 이용한다).

제 1 및 제 2 분석대상 간에 일어나는 결합 이벤트의 탐지는 버퍼 베이스라인 응답, 제 1 테스트 샘플 응답(353), 제 2 테스트 샘플 응답(355), 및 제 3 테스트 샘플 응답(357 또는 359)의 비교에 의해 측정된다.

도 3e 는 베이스라인 버퍼 응답(351), 제 1 테스트 샘플 응답(353), 제 2 테스트 샘플 응답(355)의 실시예, 및 제 3 샘플 신호 응답(비결합 상태에 대응하는 357 또는 제 1 및 제 2 분석대상 간의 결합 상태에 대응하는 359)의 두개의 가능한 실시예를 도시한다. 궤적(353, 355, 357)으로부터 알 수 있는 바와 같이, 두개의 분석대상이 제 3 테스트 샘플내에서 결합되지 않는 경우, 제 3 테스트 샘플 응답(357)은 제 1 및 제 2 테스트 샘플 응답(353 및 355) 간의 실질적

인 평균 값을 나타낸다. 제 1 및 제 2 분석대상이 제 3 테스트 샘플내에서 결합하는 경우, 응답(359)은 두 샘플의 평균과 크기 및 주파수(위상 뿐만 아니라)가 구별된다.

테스트 시스템은, 주어진 제 1 및 제 2 테스트 샘플 응답의 평균 응답을 계산하고, 계산된 응답과 측정된 테스트 샘플 응답 간의 차이를 계산하며, 그 차이로부터 결합이 일어났는지의 여부를 결정(계산된 응답과 측정된 응답이 서로 밀접하게 연관될수록 결합이 발생하지 않은 경우가 많다)하도록, 미리 프로그램될 수 있다. 특정 실시예에서, 미리 정해진 진폭 및 주파수 윈도우(window)가 두개의 응답의 계산된 평균 값에 대해 계산된다. 미리 정해진 진폭/주파수 윈도우의 외부에서 발생한 측정 응답은 결합을 나타내며, 그 윈도우 내에서 발생하는 측정 응답은 결합을 암시한다. 1 GHz 에서의 진폭/주파수 윈도우는 진폭이 0.1 dB, 0.3 dB, 0.5 dB, 1 dB, 3 dB, 5 dB, 10 dB (또는 그 값들 사이) 범위이고, 주파수가 0.1 KHz, 0.5 KHz,1 KHz, 3 KHz, 5 KHz, 10 KHz, 30 KHz, 50 KHz, 100 KHz, 1 MHz, 3 MHz, 10 MHz, 100 MHz(또는 그 사이) 범위일 것이다. 전술한 주파수들은 보다 높은 또는 보다 낮은 f_{res} 주파수에 따라 증감될 수 있다. 예를 들어, 10 MHz의 f_{res} 에 대한 미리 프로그램된/미리 정해진 주파수는 10 Hz 내지 1 MHz가 될 것이다.

도 3d 에 도시된 공정의 다른 실시예에서, 측정 단계(345)는 제 1 테스트 샘플의 존재하에서 프로브가 공명 응답으로 튜닝되도록 튜닝 소자(233)를 재조절하는 것을 포함한다. 이어서, 이러한 응답은 저장되고 제 2 테스트 샘플 측정치(347) 및/또는 조합된 테스트 샘플 측정치(349)로부터 산술적으로 차감된다.

도 3f 는 두개의 분석대상을 포함하는 샘플에서의 분자 결합 이벤트를 탐지하는 제 2 방법을 도시한다. 이러한 방법은 단계(367)에서 제 1 및 제 2 분석대상이 제 3 샘플내에서 1×농도(즉, 각각 6 mg/ml)들로 혼합된다는 점을 제외하고는 도 3d 의 방법과 거의 유사하다.

이러한 실시예에서, 결합의 부존재는 공명 주파수의 변화를 분석함으로써 탐지될 수 있다. 특히, 제 3 샘플내에서 제 1 및 제 2 분석대상 간에 결합이 발생하지 않은 경우, 제 3 샘플의 신호 응답은 실질적으로 f_{res} 에 제 1 및 제 2 샘플 응답의 공명 주파수 지점의 변화 합을 더한 공명 주파수를 나타낼 것이다. 제 1 , 제 2 및 제 3 샘플 응답의 예가 도 3g 에 도시되어 있다. 결합이 발생하면, 제 3 샘플의 공명 주파수 응답은 도 3g 에 도시된 공명 주파수 총합으로부터 상당히 변할 것이다. 전술한 바와 같은 진폭/주파수 윈도우는 제 1 및 제 2 샘플의 측정된 응답으로부터 계산될 것이다. 미리 정해진 윈도우내에서 발생하는 신호 응답은 두개의 분석대상들 간에 결합이 발생하지 않았다는 것을 나타낸다.

프로브의 공명 신호 응답 변화를 모니터링함으로써, 공명 프로브를 이용하여 분석대상을 탐지 및 규명하는 것을 이상에서 설명하였다. 고주파 회로 및 시스템의 당업자들은 비-공명 프로브(일 실시예가 도 2e 에 도시되어 있음)를 이용하여 분석대상을 탐지하고 규명할 수 있다는 것을 알 것이다. 그 공정은, 베이스라인 및 테스트 샘플 응답이 통상적으로 수백 MHz 또는 GHz 의 광역 주파수 범위에 걸쳐 취해진다는 점을 제외하고는, 도 3b 및 3d 에 도시된 단계들과 매우 유사하다. 넓은 대역 응답은 넓은 주파수 범위에 걸쳐 샘플의 유전체 특성을 탐색함으로써 광역 주파수 범위에 걸쳐 신호 응답을 상당히 변화시킨다는 이점을 제공한다. 측정된 응답의 큰 변화는 테스트 샘플내에서 분자 이벤트가 발생하였다는 것을 나타내는데 사용될 수 있다. 또한, 신호 응답이 분자 이벤트와 연관된 경우, 응답은 이어지는 미지의 샘플의 테스트에서 특정 분자 이벤트를 규명하는데 이용될 수도 있다.

도 4a 는 시간 영역(domain) 측정 시스템(400)을 포함하는 분자 탐지 시스템의 다른 실시예를 도시한다. 그 시스템(400)은 펄스 신호 공급원(410) 및 탐지부(412)를 포함하며, 그 탐지부는 동축 케이블, 전송 라인 또는 기타 전송 매체(420)와 같은 신호 경로를 통해 탐지 조립체에 커플링된다. 부가적인 펄스 공급원 및 탐지부를 사용하여 완전한 2-포트 측정 능력을 제공할 수도 있다. 특정 실시예에서, 펄스 신호 공급원(410) 및 탐지부(412)는 오리곤 비버톤에 소재하는 Tektronix Corporation 이 제조한 모델 번호 11801 과 같은 시간 영역 반사계 시스템내에 통합될 수 있다. 시간 영역 측정 모드를 가지는 네트워크 분석기와 같은 다른 고주파 측정 시스템을 이용할 수도 있다.

시간 영역 측정 중에, 펄스화된 입사 신호(422)가 생성되고 전송 라인(420)을 따라 탐지 조립체(100)를 향해 발진된다. 일 실시예에서 펄스는 사각파로 구성되나, 본 발명의 다른 실시예에서 다른 펄스 형상을 이용할 수도 있다. 용액내의 분자(들)의 유전체 특성은 입사 펄스의 일부를 신호 탐지부(412)를 향해 반사시킨다. 그 반사된 신호(424)는 분자 유전체 특성의 특징이 되는 특이 형상 및/또는 시간 지연을 나타낼 것이다. 따라서, 반사 신호(424)의 펄스 형상 및 지연은 용액내의 분자(들)를 특징짓고 규명하는데 사용될 수 있다. 시간 영역 테스트 시스템(400)은 스칼라 또는 벡터 네트워크 분석기와 조합하여 또는 별도로 사용되어 용액내의 하나 이상의 미지 분자를 규명할 수 있다.

당업계에 공지된 바와 같이, 분자의 유전체 완화(relaxation) 주파수는 분자에 전기장이 가해졌을 때 분자 레벨의 유전체 특성 변화율이다. 분자의 유전체 특성과 마찬가지로, 유전체 완화 주파수는 각 분자에 독특한 구조 및 분자의 기하학적 형상에 의해 주로 정해진다. 따라서 측정되면, 분자의 유전체 완화 주파수는 분자를 규명하는데 사용될 수 있다.

유전체 완화 주파수는 분석 대상이 주파수에 걸쳐 에너지를 흡수하는 비율을 측정함으로써 결정될 수 있다. 도 4b 는 이러한 형태의 측정을 위한 시스템(450)의 일 실시예를 도시한다. 그 시스템(450)은 도 2a 에 도시된 시간 영역 측정 시스템(450)과 유사하고, 탐지 조립체(100)에 커플링된 탐지부(462) 및 펄스 신호 공급원(460)을 포함한다. 부가적인 펄스 공급원 및 탐지부를 이용하여 완전한 2-포트 측정 능력을 제공할 수도 있다. 특정 실시예에서, 측정 시스템(450)은, 펄스 간격을 조절할 수 있는 펄스 트레인(train)을 입력 신호가 포함하는 전술한 바와 같은 시간 영역 반사계로 구성된다. 당업자는 유사한 펄스 트레인을 생성할 수 있고 그에 상응하는 결과적인 신호를 탐지할 수 있는 기타 장치를 본 발명의 다른 실시예에 사용할 수 있다는 것을 이해할 것이다.

입사 신호(480)는 분리된 펄스 그룹(482 및 484)로 이루어지고, 그 각각의 펄스 그룹은 둘 이상의 입사 펄스 및 상이한 펄스 간격을 가진다. 펄스 그룹(482 및 484)은 전송라인을 따라 전송라인의 일부를 향해 즉, 탐지 영역(155)을 향해 발진된다. 만약 펄스 그룹(482)이 분석 대상의 유전체 완화 시간(period)(완화 주파수의 역수)과 실질적으로 동일한 펄스간격을 가진다면, 분석 대상은 이어지는 펄스에서 계속적으로 적은 에너지를 흡수할 것이다. 신호 흡수의 감소는 탐지부(462)에서 반사된 응답(490)으로서 측정될 수 있다. 다른 대안적인 측정 양으로서, 남아있는 신호 에너지가 탐지부(462)에서 측정될 수 있다.

변화가 발생하는 펄스 간격 및 신호 흡수 변화율을 표시할 수 있으며, 미지의 분석 대상 및/또는 분석 대상을 포함하는 결합 이벤트를 특정하고 규명하는데 이용할 수 있다. 이러한 시스템 특징은 전술한 시간 및/또는 주파수 영역 테스트 시스템과 함께 또는 독립적으로 사용될 수 있다.

전술한 시스템들 모두에서, 당업자는 Microwave Monolithic Integrated Circuit(MMIC) 등의 기술을 이용하여 상기 시스템들을 칩 레벨로 스케일을 줄일 수 있을 것이다. 그러한 소형화 시스템은 수백, 수천 또는 수만의 혼합물을 동시에 탐지하고 측정할 수 있는 병렬적인 시스템으로 용이하게 확장될 수 있다. 이러한 시스템들은, 특징적인 임피던스 및 그에 따른 전송 및/또는 반사 계수를 변경함으로써, 또는 회로의 대역 통과 특성을 변경시키고 그 회로를 온/오프 게이트로 사용함으로써 결합 이벤트 자체에 의해 스위칭되는 " 논리 게이트" 를 구성할 수도 있다.

Ⅴ. 예시적인 용도

전술한 시스템 및 방법을 이용하여, 본 발명을 여러 가지 용도에 사용할 수 있다. 일 양태에서, 본 발명은 1차 결합 단계의 단백질과 같은 분석 대상을 포함하는 결합 이벤트 또는 하부구조를 규명하는데 사용될 수 있다. 교정 단계에서, 공지된 많은 수의 단백질의 응답을 측정하고 저장할 수 있다. 미지의 단백질을 탐지 영역에 도입한 후에, 시스템의 유전체 특성을 측정할 수 있고 신호의 유전체 특성을 사용하여 단백질의 특성을 규명할 수 있다. 각 단백질의 지문(fingerpri

nt) 응답이 저장되기 때문에, 미지의 응답이 저장된 응답과 비교될 수 있고, 패턴 인식 방법을 사용하여 미지의 단백질을 규명할 수 있다.

다른 실시예에서, 본 발명은 병렬 측정 포멧으로 사용될 수 있다. 그 장치는 다수의 어드레스할 수 있는(addressable) 채널을 가지며, 각 채널은 독립적을 탐색될 수 있다. 테스트 샘플 또는 샘플들은 장치에 공급한 후에, 각 지점(site)에서의 응답을 측정하고 특징화(charaterization)한다. 예를 들어, 이러한 형태의 장치를 이용하여, 항리간드로서의 독특한 핵산 배열을 탐지 영역 또는 그 일부에 부착시킴으로써, 테스트 샘플내의 특정 핵산 배열의 존재를 측정 및/또는 규명할 수 있다. 테스트 샘플에 노출되었을 때, 보체(補體) 배열은 적절한 지점에 결합될 것이다. 각 지점에서의 응답은 배열이 결합되었는지를 나타낼 것이다. 그러한 측정은 또한 결합 배열이 항리간드 배열과 완전히 정합되었는지 또는 하나 이상의 부정합이 존재하는지의 여부를 나타낼 것이다. 이러한 실시예는 또한 단백질 및 단백질의 종류를 규명하는데 이용될 수 있다.

다른 실시예에서, 본 발명은 특정 분석 대상의 미지 농도를 측정하는데 이용될 수 있는 표준 곡선 또는 적정(滴定) 곡선을 결정하는데, 또는 리간드 결합 곡선을 결정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 항체는 탐지 영역에 부착될 수 있다. 그 장치는 분석 대상의 여러 가지 상이한 농도 및 각각의 측정된 농도에 대한 응답에 노출될 수 있을 것이다. 그러한 곡선은 또한 당업자에게 도즈(dose) - 응답 곡선으로 알려져 있다. 미지의 테스트 샘플은 장치 및 측정된 응답에 노출될 수 있다. 그 응답은 표준 곡선과 비교되어 미지의 테스트 샘플내의 분석 대상의 농도를 결정할 수 있다. 유사하게, 상이한 리간드의 결합 곡선을 비교하여 여러개의 상이한 리간드 중 어느 것이 특정 단백질 또는 다른 분자로의 결합에 대한 가장 큰(작은) 친화력 상수를 갖는지를 결정할 수 있다.

다른 실시예에서, 본 발명은 시효(aging) 및 기타 안정성 문제로 인한 손실에 대해 내부적인 자체-교정을 하는데 이용될 수 있다. 예를 들어, 항체-항원 시스템에서, 본 발명에 의해, 활동성을 알 수 없는 테스트 샘플에 노출되기 전에 1차 응답을 측정함으로써, 테스트 샘플내의 활성 항체의 양을 측정할 수 있다. 그 응답을 비교하여 남아 있는 활성 항체의 양을 측정한다.

탐지 조립체를 사용하여 분자 결합 이벤트의 탐지 및 규명, 벌크형 테스트 샘플의 유전체 특성 변화, 탐지된 결합 이벤트의 분류, 등과 같은 테스트 샘플의 여러 가지 특성에 관한 정보를 얻는다. 또한, 탐지 조립체는 자체-교정 능력을 가지며, 그 능력은 사용시의 품질 제어 및 보장의 측면에서 유용하다. 이러한 방법 및 능력에 대해서는 이하에서 보다 자세히 설명한다. 기술된 방법 및 구조를 기초로, 당업자는 용이하게 개량 및 부가를 할 수 있을 것이다.

분자 구조 탐지

본 발명에 의해 탐지 시스템의 탐지 영역(155)내의 분자 결합 이벤트의 존재 또는 분자 구조의 존재를 탐지할 수 있다. 탐지 가능한 결합 이벤트는 1차, 2차, 및 그 보다 고차원의 결합 이벤트를 포함한다. 예를 들어, 두개의 테스트 샘플의 혼합에 의해 리간드/항리간드 쌍 간의 결합을 탐지할 수 있다. 예를 들어, 대상 분자 또는 분자 구조를 포함하는 용액이 제공된다. 테스트 신호가 신호 경로를 따라 전파된다. 선택적으로, 결합 이벤트의 결과로서 발생하는 신호 응답을 실시간으로 관찰할 수 있도록 혼합 작업 중에 또는 그 직후에 테스트 신호가 가해진다. 테스트 신호가 회수되고, 그 신호의 응답은 분석 대상, 하부구조 또는 결합 이벤트의 탐지를 나타낸다.

테스트 샘플의 유전체 특성은, 각각이 분자 결합을 나타내는 임의 개수의 신호 응답들을 유도하는데 기여한다. 예를 들어, 테스트 샘플의 분산(dispersive) 특성은 주파수에 걸쳐 크게 변화될 수 있다. 이러한 경우에, 신호 응답은, 분자 이벤트가 탐지 영역내에서 발생하였을 때 주파수에 걸쳐 진폭 및/또는 위상 응답의 큰 변화를 나타내고, 그에 따라 분자 결합 이벤트 또는 테스트 샘플의 혼합 후의 다른 시간 의존성 이벤트를 탐지하는 수단을 제공한다.

다른 실시예에서, 탐지 영역내의 테스트 샘플의 유전체 완화 특성은 입력 신호의 펄스 시간(주기)의 함수로서 변화될 것이다. 이러한 경우에, 테스트 신호 응답은, 특정 펄스 시간에서 또는 그에 근접하여, 흡수된 에너지의 변화 또는 위상이나 진폭과 같은 테스트 신호의 일부 다른 파라미터의 변화를 나타낼 것이다. 흡수된 에너지 또는 다른 파라미터의 변화를 관찰함으로써, 결합 이벤트를 탐지할 수 있다. 특징적인 임피던스, 전파 속도, 진폭, 위상, 분산, 손실, 투과성, 감수율 (susceptibility), 주파수, 및 유전 상수와 같은 다른 양들 또한 분자 존재 또는 결합 이벤트의 지표가 될 수 있다. 또한, 분자 구조의 환경 변화(pH 또는 이온 세기의 변화와 같은)가 탐지되는 동안에 신호를 측정함으로써, 분자 특성에 관한 중요한 정보를 결정할 수도 있다.

전술한 방법을 이용하여 항리간드 및 리간드의 1차 결합을 탐지할 수 있다. 유사하게, 그 방법은 또한 리간드와 항리간드의 2차 결합을 탐지하는데 이용할 수도 있다. 그 방법은 신호 경로를 따라 발생하는 1차 또는 2차 결합 이벤트의 탐지에 한정되지 않는다. 실질적으로, 신호 경로를 따라 또는 용액내에 현수되어 발생하는 3차 및, 그 이상의 차수의 결합 이벤트도 이러한 방법으로 탐지할 수 있다.

예를 들어, 먼저, 이상에서 설명한 바와 같이 1차 결합 이벤트가 탐지되고 신호 응답이 측정된다. 이어서, 1차 결합 이벤트 신호 응답이 저장되고 베이스라인 응답으로서 사용된다. 다음에, 제 2 분자 용액을 측정 장치에 첨가한다. 탐지 단계들을 반복하여 제 2 신호 응답을 얻는다. 이어서, 제 2 신호 응답 및 베이스라인 응답을 비교한다. 약간의 변화 또는 무변화는 두개의 신호 응답들이 매우 근접되었다는 것을 의미하고, 이것은 새로운 용액내의 분자의 부가에 의해 테스트 샘플의 구조 및 유전체 특성이 변화되지 않았다는 것을 나타낸다. 이 경우, 2차 결합이 상당한 정도로 발생하지 않은 것이다. 비교 결과 변화가 소정 범위를 벗어난다면, 테스트 샘플의 구조 및/또는 유전체 특성이 변경된 것이고, 그에 따라 2차 결합 이벤트를 나타낸다. 2차 결합 이벤트를 나타내는데 사용될 수 있는 양은 전술한 양 예를 들어, 진폭, 위상, 주파수, 분산, 손실, 투과성, 감수율, 임피던스, 전파속도, 유전 상수 및 기타 다른 인자들과 유사하다. 3차 또는 그 이상의 차수의 결합 이벤트는 이러한 방식을 이용하여 탐지할 수 있다.

2차 또는 고차원적인 결합 이벤트를 탐지하는 다른 방법은 특정의 1차 결합 이벤트의 사전 지식을 필요로 하지 않는다. 이러한 실시예에서, 측정 장치는, 측정 진행 단계에서 공지의 파라미터들로 작동되어 그 파라미터들 중 하나의 미리 정해진 변화가 탐지되었을 때, 사용상의 관점에서 예를 들어, 결합 이벤트 또는 이벤트들이 발생한 것으로 알도록 디자인된다. 이러한 실시예에서, 초기의 특징화는 제조시에 또는 디자인시에 미리 이루어지기 때문에, 1차 결합 이벤트의 예비-측정은 필요하지 않다.

2차 결합 이벤트 역시 1차 분자 구조의 구조변화를 탐지함으로써 얻어질 수 있다. 분자가 결합되기 시작할 때, 비결합 상태에 대해 분자 구조의 조합 및 기타 변화가 일어난다. 이러한 변화는 1차 결합 분자의 유전체 특성에 영향을 미칠 뿐만 아니라 주변 용액의 변화를 유발하며, 그러한 용액의 변화는 전술한 바와 같이 탐지될 수 있다. 1차 결합 분자의 유전체 특성의 변화를 나타낼 수 있도록 모니터링되는 양은 전술한 양들, 예를 들어 진폭, 위상, 주파수, 분산, 손실, 투과성, 감수율, 임피던스, 전파속도, 유전 상수 및 기타 다른 인자들을 포함한다.

테스트 샘플의 유전체 특성의 변화를 탐지

본 명세서에서 설명된 탐지 시스템은 또한 온도, pH, 이온 세기 등의 결과 변화로서의 테스트 샘플의 유전체 변화를 측정하는데 사용될 수도 있다. 이러한 방법은, 결합 이벤트에 관련 없이 테스트 샘플의 유전체 특성 변화의 탐지 및 정량화를 할 수 있다는 점을 제외하고, 전술한 결합 이벤트 규명 방법과 매우 유사하다.

용액이 초기 유전체 특성을 가지는 공정이 탐지 조립체에 부가된다. 전술한 바와 같이, 신호 응답이 측정되고 저장된다. 소정 시간 또는 작업 후에, 제 2 측정이 이루어지고 제 2 신호 응답이 기록된다. 그 후에, 제 1 및 제 2 신호를 서로 비교하여 두개의 신호들이 미리 정해진 범위내에서 연관되는지의 여부를 결정한다. 만약, 그 범위내에 있다면, 용액의 특성은 어떠한 유전체 변화도 격지 않은 것으로 간주된다.

만약, 신호 응답이 미리 정해진 범위내에서 연관되지 않는다면, 적어도 용액의 유전체 특성이 변화되었을 것이다. 선택적으로, 유전체 특성의 변화를 정량화할 수 있다. 예를 들어, 제 2 신호가 저장되고 공지된 신호 응답과 연관된다. 가장 연관된 응답은 용액의 유전체 특성을 규명할 것이고 제 1 신호 응답은 유전체 특성의 초기 값과 연관되며, 그 차이는 규명된 유전체 특성의 변형량을 결정하는데 사용될 수 있다.

분자 구조 규명

전술한 탐지 조립체를 이용하여, 공지된 분석 대상를 특징화하고 이어서 미지의 분석 대상 구성을 가지는 용액내에서 그 공지의 분석 대상을 식별할 수 있다. 예를 들어, 이하에서 설명하는 측정 시스템을 이용하여, 많은 수의 분자 구조 및/또는 하부구조들이 측정되고 그 응답이 저장된다. 각각의 저장된 응답은 용액내의 하나의 구조/하부구조 또는 동일한 용액내의 다수의 구조/하부구조에 대응할 것이다. 이어서, 미지 용액의 측정이 이루어진다. 다음에, 그 용액의 신호 응답을 저장된 신호 응답과 비교하여 그들 사이의 연관도를 결정한다. 미지의 분자 구조는, 미지의 응답에 가장 연관된 저장 응답을 선택함으로써, 식별된다. 그러한 비교는, 하나 또는 그 이상의 저장된 응답 간의 연관을 결정하기 위해 하나 또는 그 이상의 데이터 점(point)을 이용하여 실시되며, 연관을 결정하기 위한 패턴 인식 소프트웨어 또는 유사한 수단의 이용을 포함할 수도 있다. 그 공정은 각 구조/하부구조 뿐만 아니라, 1차, 2차, 및 고차원의 결합 분자 구조를 규명하는데 이용될 수 있다.

분자 구조의 분류 규명

핵산에서의 배열 상동관계(homologies) 또는 유사한 단백질 분류에서 공통적인 구조적 상동관계 또는 도메인(domain)과 같은 공지된 분자 하부구조를 특징화할 수 있다. 일 실시예에서, 수 많은 분자 하부구조가 측정되고 그 응답이 저장된다는 점을 제외하고, 상기 D 부분에 도시된 바와 같이 공정이 진행된다. 각각의 저장된 신호 응답은 하나 또는 그 이상의 하부구조에 대응할 것이다. 미지 혼합물를 규명하기에 충분한 개수의 구조가 탐지되고 특징화될 때까지 공정이 계속된다. 충분한 개수의 상호연관이 발생하면, 미지의 분자 구조를 분류할 수 있다. 미지의 분석 대상을 분류할 수 있는 다른 공정이 있다. 하나의 공정은, 미지의 화합물의 구조적 모티프(motif)에의 결합을 탐지함으로써 미지의 분석 대상을 식별한다. 먼저, 탐지 조립체는, 각각이 탐지 영역에서 결합된 특이 리간드 하부구조를 위한 항리간드를 가지는 다수의 어드레스할 수 있는 병렬 채널들을 구비할 수 있다. 다음에, 특별한 하부구조들의 존재는 그 하부구조 각각을 각각의 항리간드에 결합시키고 이어서 특징화함으로써 탐지된다. 일 실시예에서, 이러한 단계는 전술한 바와 같이 실행되나, 다른 변형을 실시할 수도 있다. 이어서, 각각의 결합 이벤트는 친화도, 운동역학, 및 스펙트럼 응답과 같은 양의 식별에 의해 특징화된다. 공지 및 미지의 응답 간의 연관이 이루어진다. 만약, 각각의 미지 응답이 공지 응답과 연관된다면, 리간드는 공지의 응답에 상응하는 리간드로 식별된다. 만약, 하부구조가 연관 및 비연관 모두를 나타낸다면, 연관된 응답은 미지 리간드의 보다 일반적인 분류를 구축하기 위해 사용된다. 이러한 공정은, 동일한 분류내에서 발생하는 또는 재발생 구조적 상동관계를 가지는 단백질과 같은 임의의 분자 구조를 식별하는데 사용될 수 있다.

공지 구조에 대한 비교가 이루어짐에 따라, 주어진 미지의 혼합물의 강도 스펙트럼 분석에 의해 구조 및 기능을 조사할 수 있고, 어느 정도의 분류를 추정할 수 있다.

특이적(specific) 결합 대 비특이적 결합

결합 이벤트의 스펙트럼 지문에 의해 특이 결합과 비특이 결합이 구분될 수 있다. 실제로, 서로 다른 상태에서 하나의

분자가 두개의 서로 유사하면서도 상이한 분자 파트너와 결합하는 경우와 같은 임의의 2 개의 결합 이벤트는 두개의 결합 이벤트의 스펙트럼 지문에 의해 일반적으로 구분된다. 예를 들어, 항원에의 항체 결합과 같은 주어진 결합 이벤트는 먼저 대상 리간드 및 그 리간드에 특이적인 항리간드만을 포함하는 정류된 용액내에서 특징지워질 수 있다. 그 후, 광역 스펙트럼 검사를 실시하여 스펙트럼내에서 가장 강한 응답이 발견되는 때를 찾는다. 그 후, 용도에 따라 발견되는 전체 혈액과 같은 용액에 대해 측정을 반복하여, 비특이 결합이 응답에 미치는 영향을 결정한다. 그리고 나서, 특이 결합을 나타내는 여러 지점들을 찾고, 비특이 결합을 나타내는 각각의 지점들 세트를 찾으며, 실제 측정을 위해 이러한 주파수 지점들의 하부세트(subset)를 선택한다. 특이 결합에 기인한 응답을 비특이 결합에 기인한 응답과 비교함으로써, 특이 결합의 정도가 결정된다.

주어진 분석 대상의 특징화

때때로, 주어진 분자의 특정 양을 결정하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 단백질이 속하는 분류를 결정하는 것 또는 주어진 유전자나 핵산 배열이 어떠한 형태의 동질이상인지를 결정하는 것을 포함한다. 이러한 것은 여러 가지 방법으로 이루어진다. 대개, 단백질은 구조적 상동관계의 개수 및 형태, 또는 동일하거나 유사한 단백질 분류에서 발견되는 특정 하부구조에 의해 분류된다. 예를 들어, 세포막에서 주로 발견되고 세포외 환경과 세포내 환경 사이의 신호 전달 경로를 구성하는 G-단백질은 세포막을 7번 횡단하는 구조를 항상 가진다. 그러한 구조는 결정적으로 G-단백질을 규정한다. 이와 유사하게 다른 단백질 분류들도 구조적 상동관계를 가지고 있으며, 그에 따라, 그러한 상동관계를 기초로 하나의 단백질 분류를 다른 단백질 분류와 구분하는 방법이 수 많은 생물학적 연구 분야에서 사용된다. 주어진 분자의 유전체 특성이 분자의 전하분포의 기하학적 형상에 의해 결정되고, 대부분의 단백질이 독특한 구조 또는 기하학적 형상을 가진다면, 단백질의 유전체 특성을 측정함으로써 각 단백질을 식별할 수 있을 것이다. 따라서, 본 발명에 의해 생성되는 것과 같은 단순한 유전체 표식(signature)은 주어진 단백질을 각각 식벽할 수 있게 하며, 또한 몇몇의 공지된 단백질 분류로 그 단백질을 분류할 수 있게 한다. 주어진 단백질의 특정 하부구조에 대해 특이적인 탐지 조립체상의 항리간드 그룹을 이용함으로써, 상기 분류 방법론에 보다 정밀도를 부가할 수 있다. 예를 들어, 도메인과 같이 특정 하부구조에 특이적인 항체 그룹을 이용하여 하부구조의 존재 또는 비존재를 결정할 수 있다. 따라서, 어떠한 주어진 단백질도 특정 하부구조의 존재 및 비존재를 결정함으로써 그리고 단백질 자체의 유전체 특성을 결정함으로써 특정될 수 있다. 이러한 분류 방식에 더하여 온도, pH, 이온 세기, 및 전술한 특성들에 미치는 다른 환경적인 영향들을 조사하면 보다 정밀도를 부가할 수 있다.

상기와 유사한 전형적인 방식을 따름으로써 핵산 역시 특정될 수 있다. 예를 들어, 주어진 유전자가 특정 베이스 쌍 배열을 가지는 것을 알 수 있다. 자연적으로 배열에 약간의 편차가 있을 수 있다. 예를 들어, 많은 세포막에서의 염소 이온 이송 채널에 대한 정보를 가지고 있는 유전자에서, 일반적인 단일 베이스-쌍 돌연변이 또는 변형이 존재한다. 그러한 변형은 인간의 낭성 섬유종(cystic fibrosis)이라는 질병을 유발한다. 따라서, 약간의 변형에 대한 주어진 핵산 배열을 특징화하는 것은 매우 중요하다. 그러한 변형들은 종종 동질이상으로 불려지며, 현재 그러한 동질이상은 각각의 공지된 동질이상에 대한 보체(補體) 섬유(strand)를 형성함으로써 탐지된다. 임의의 주어진 유전자가 수백 또는 수천의 동질이상 중 하나의 형태를 취할 수 있기 때문에, 각각의 동질이상에 대한 보체 섬유를 만드는 것은 매우 곤란한 일이다. 본 발명을 이용하여, 전술한 바와 같이 많은 동일한 물리적 성질을 측정함으로써 비-보체 결합 및 교잡(hybridization)을 탐지하고 식별할 수 있다. 교잡 이벤트의 유전체 특성을 특정하고 그리고 공지된 데이터와 연관시킬 수 있고, 그에 따라 완전하게 또는 불완전하게 이루어진 교잡의 형태를 결정할 수 있다. 따라서, 주어진 핵산 배열로 이루어진 항리간드를 이용하여, 결합 이벤트의 특징화에 의해 수백개의 상이한 동질이상을 (리간드로서) 탐지할 수 있다. 당업자는, 교잡 공정을 변경시키기 위해 보다 엄격한 조건을 적용하거나 또는, 교잡 공정의 본질을 나타내는 다른 지표로서 작용하는 융점을 결정하고 온도를 변화시키는 것과 같이, 추가적인 정밀도를 부여하는 것이 가능하다는 것을 이해할 것이다.

유사한 방식으로, 수용기가 작동 또는 비작동(turn on or off) 되도록 하는, 또는 일부 다른 형태의 알로스테릭 효과를 유발하도록 하는 주어진 결합 이벤트를 결정하기 위해, 약제-수용기 상호작용을 특징화할 수 있다. 예를 들어, 주어진

수용기가 항리간드로 사용될 수 있고, 공지된 항원이 제 1 리간드로서 사용될 수 있다. 그 후에, 유전체 응답에 따라 상호작용이 특정되고, 그 응답이 저장된다. 이어서, 약제 후보를 위해 선별된 혼합물을 수용기와의 결합특성에 대해 관찰한다. 결합되고 유사한 유전체 응답을 야기하는 분자는 공지된 항원으로서 수용기에 유사한 영향을 미치는 것으로 판단하고, 따라서 항원인 가능성이 한층 높게 된다. 이러한 예는 목표-수용기 결합 이벤트의 어떠한 형태든지 결국 특징화하는데 사용될 수 있으며, 결합 이벤트가 발생하였는지의 여부만을 측정하는 현재의 탐지 방법을 상당히 개선한 것이다. 당업자는 수 많은 다른 결합 이벤트 분야에도 본 발명을 적용할 수 있다는 것을 이해할 것이다.

전술한 방법에 사용될 수 있는 하부구조의 예를 들면: 알파 헬릭스(helices), 베타 시트, 트리플 헬릭스, 도메인, 배럴(barrel) 구조, 베타-턴(beta-turn)과 같은 단백질 2차 및 3차 구조, 및 C_2 대칭(對稱), C_3 대칭, C_4 대칭, D_2 대칭, 입방체 대칭, 20면체 대칭과 같은 4차 구조에서 발견되는 여러 가지 대칭 그룹이 있다. [1979년에 발행된 지.로즈(G. Rose)의 Heirarchic Organization of Domains in Globular Proteins, J.Mol.Biol. 134:447-470] 분석될 수 있는 핵산의 하부구조는 배열 상동관계 및 배열 동질이상, A, B 및 Z DNA, 단일 및 이중 섬유 형태, 초코일(supercoiling) 형태, 안티코돈 루프, D 루프, tRNA내의 TΨC 루프, 상이한 분류의 tRNA 분자.[뉴욕에 소재하는 스프링거-벨락(Springer-Verlag)이 1984년에 발행한 더블유. 생거(W.Saenger)의 Principles of Nucleic Acid Structure; 및 뉴욕 콜드 스프링 하버에 소재하는 콜드 스프링 하버 연구 출판사에서 1979년에 발행한 피. 심머(P.Schimmel), 디.솔(D.Soll), 및 제이.아벨슨(J.Abelson)의 Transfer RNA]

농도 정량화

본 명세서에서 설명된 탐지 조립체는 또한 분석대상의 농도를 정량화 (quantitate)하는데 이용할 수 있다. 장치가 미리 교정되지 않는 이러한 방법의 일 실시예에서, 먼저 측정된 분석대상에 대해 결합 친화도 및 운동(kinetic)과 같은 적절한 결합 특성을 갖는 항리간드가 선택된다. 항리간드의 평형 상수가 선형 작용 영역의 중간 부근에 오도록, 이러한 특성들을 선택한다. 하나의 항리간드를 사용하기에는 농도 범위가 지나치게 넓은 경우에, 친화도 및/또는 선형 작용 영역이 상이한 몇개의 항리간드를 사용할 수 있으며, 그에 따라 보다 넓은 범위에 걸쳐 농도 값을 얻을 수 있다.

다음에, 항리간드가 탐지 조립체 또는 칩에 부가 또는 부착되며, 장치가 측정 시스템에 연결된다. 그 후에, 응답이 최대 특이성(specificity)에 대해 특징화할 필요가 있는지에 대해 결정한다. 만약 특징화가 필요하다면, 분석대상 결합이 신호에 최대로 영향을 미치는 주파수 또는 주파수들이 결정되고, 비특이적 결합이 최대로 영향을 미치는 영역이 결정되며, 분석대상 결합으로 인한 응답이 결정되는, 스펙트럼 분석이 실시된다. 특징화가 필요하지 않다면, 또는 필요한 경우에는 그 완료 후에, 장치가 교정된다. 이러한 단계는 공지 농도의 리간드를 탐지 조립체에 공급하고 결과적인 응답을 측정하는 일 실시예에서 실시된다. 선택적으로, 만약 교정을 위해 그 이상의 데이터 점(point)이 요구된다면, 다른 농도의 테스트 샘플이 선택될 수 있고, 이 농도에 대한 응답이 측정될 수 있다. 이어서, 전술한 응답으로부터 교정 점을 기록함으로써 외삽(extrapolation) 알로리즘이 생성된다. 다음에, 미지의 분석대상 농도의 테스트 샘플이 측정된다. 이러한 단계는, 미지의 테스트 샘플을 탐지 조립체에 공급하고, 응답을 적정(滴定) 알고리즘에 연관시키고, 그로부터 분석대상 농도를 결정한다.

주어진 탐지 조립체가 디자인단계에서 예비-교정된 또는 교정된 경우에, 결합 쌍들을 혼합하고 응답을 측정하는 단계만이 필요하다. 그러한 탐지 조립체는 여러 가지 방법으로 실현될 수 있다. 예를 들어, 공명 회로의 특정 주파수 또는 임피던스와 같은 몇몇 회로 파라미터가 결합 이벤트가 발생한 경우에 미리 정해진 방식으로 변화되도록 디자인될 수 있고, 또 파라미터를 변화시키는 양이 도즈-응답을 가지도록 디자인 될 수 있다. 따라서, 적절한 알고리즘을 통해 분석될 때, 회로 파라미터의 측정은 주어진 분석대상 또는 리간드의 농도에 대한 정량적인 값을 즉각적으로 제공한다.

탐지 조립체 자가-교정

탐지 조립체는 자가-진단 능력을 가지며, 그에 따라 사용상의 관점에서 품질 제어 및 보장을 제공한다. 주어진 특정 용도에서, 특정 리간드(1차 결합종)는 용액내의 몇몇 대상 리간드(2차 결합종)에 대해 항리간드로서 작용할 것이다. 1차 결합종은 제조시에 부착될 수 있고, 2차 결합종은 사용시에 부착될 수 있다. 따라서, 제조시의 편차는 - 특히 1차 종의 부착은 - 특이 리간드를 결합시키는 장치의 능력에 편차를 유발할 것이다. 그러나, 결합 리간드의 양은 결합된 항리간드의 양에 직접 비례할 것이고, 그에 따라 두개의 비례적인(ratiometic) 측정이 가능하다.

그 방법의 일 실시예에서, 여러가지 상이한 농도의 적절한 항체를 결합시키고 그리고 각 농도에 대하여 결과적인 응답을 특정함으로써, 분자 결합 표면은 신호 경로를 따라 형성되며, 각 농도에 대한 어떤 값 " x" 가 얻어진다. 다음에, 여러 가지 상이한 농도의 리간드에 대해 항체/리간드 결합 응답을 측정함으로써 리간드에 대한 유사 적정 곡선이 얻어지며, 리간드 적정 곡선이 미리-정해진다. 다음에, 리간드에 결합된 항체의 응답 비를 취함으로써, 크기(scale) 인자(A)가 얻어진다. 사용상의 관점에서, 교정되지 않은 측정을 먼저 검사하여 결합된 항체의 양 " x" 및 그로부터 얻어지는 크기 인자 " y" 를 결정한다. 그 후에, 리간드가 측정에 가해지고 응답이 측정되며, 응답 및 미리 정해진 적정 곡선을 크기 인자 " y" 로 스케일 조절하여 미지의 농도를 결정한다.

이러한 공정을 개선하여, 용액내의 결합의 양을 정량화할 수도 있다. 이러한 개량 실시예에서, 탐지 조립체의 결합 표면은 미리 정해진 친화도 및 리간드 특이성을 가지는 항리간드를 포함한다. 이어서, 용액이 장치에 가해지며, 응답이 측정된다. 신호 응답은 결합된 리간드의 양에 비례할 것이다. 따라서, 적절한 선형 작용 범위의 항리간드를 선택함으로써, 임의의 주어진 리간드의 적정이 이루어진다. 이 때 상기 작용 범위는 평형 상수가 탐지되는 농도의 의도하는 범위의 로그(log) 단위 결합(couple)내의 있는 범위이다. 전술한 바와 같이 동일한 비례적인 분석을 적용하고, 신뢰성을 보장하는데 필요한 내부 제어 및 교정을 통해, 확실하고도 정확한 정량 분석을 얻을 수 있다.

VI. 소프트웨어 실행

본 명세서에서 기술된 각각의 측정 및 탐지 방법은 여러 가지 방법(즉, 소프트웨어, 하드웨어, 또는 그 조합) 및 여러 가지 시스템으로 실행될 수 있다. 일 실시예에서, 전술한 방법을 소프트웨어 프로그램으로 실행할 수 있다.

도 5a 는 각각의 전술한 방법을 실행하도록 디자인된 소프트웨어 프로그램을 실행하도록 작동되는 컴퓨터 시스템(510)의 개략적인 블록도를 도시한다. 컴퓨터 시스템(510)은 모니터(514), 스크린(512), 캐비넷(518), 및 키보드(534)를 포함한다. 입/출력 명령을 제공하기위해, 마우스(도시 안함), 광선 펜, 또는 가상 현실 인터페이스와 같은 기타 입/출력 인터페이스를 포함할 수 있다. 캐비넷(518)은 CD-ROM 드라이브(516), 하드 디스크 드라이브(도시 안함) 또는, 디지털 데이터 및 본 발명의 방법을 포함하는 소프트웨어 프로그램를 저장하고 읽는데 사용될 수 있는 다른 저장 데이터 매체를 수용한다. 비록 분리 가능한 매체로서 CD-ROM(516)을 도시하였지만, 플로피 디스크, 테잎, 및 플래시 메모리를 포함하는 다른 분리가능한 매체를 이용할 수도 있다. 캐비넷(518)은 또한 프로세서, 메모리 등의 기타 일반적인 컴퓨터 부품들(도시 안함)을 수용하고 있다.

도 5b 는 컴퓨터 시스템(510)의 내부 구성을 도시한다. 컴퓨터 시스템(510)은 선택적으로 입/출력 제어부(524)와 상호작용하는 모니터(514)를 포함한다. 컴퓨터 시스템(510)은 또한 시스템 메모리(526), 중앙 프로세서(528), 스피커(530), 분리가능한 디스크(532), 키보드(534), 고정 디스크(536), 및 네트워크 인터페이스(538)와 같은 하부시스템을 포함한다. 전술한 방법에 사용하기에 적합한 다른 컴퓨터 시스템은 추가적인 하부시스템을 포함하거나 또는 그보다 적은 하부시스템을 포함할 수 있다. 예를 들어, 다른 컴퓨터 시스템은 디지털 데이터 처리를 위해 하나 이상의 프로세서(528)(즉, 다중-프로세서 시스템)를 포함할 수 있다. 화살표(540)등은 컴퓨터 시스템(510)의 시스템 버스(bus) 구

조를 나타낸다. 그러나, 이러한 화살표(540)는 하부 시스템들을 연결하는 임의의 상호연결 구성을 예시한 것이다. 예를 들어, 중앙 프로세서(528)를 시스템 메모리(526)에 연결하기 위해 로컬(local) 버스를 이용할 수도 있다. 도 6 에 도시된 컴퓨터 시스템(510)은 본 발명에 사용하기에 적합한 컴퓨터 시스템의 예에 불과하다. 당업자는 본 발명에 사용하기에 적합한 다른 하부시스템 구조를 용이하게 이해할 것이다.

Ⅶ. 실험

본 발명의 시스템 및 방법을 이용하여, 이송 매체내의 분석대상을 탐지하고 규명하기 위한 몇몇 실험을 실시하였다. 도 6a 는 채용된 분자 탐지 시스템을 도시하고, 도 6b-6f 는 측정 결과를 나타낸다.

도 6a 는 이하의 실험에 사용된 분자 탐지 시스템을 도시하며, 그 시스템은 Agilent Technologies, Inc.(종전의 휴렛 패커드사)가 공급하는 모델 번호 HP 8714 의 벡터 네트워크 분석기, 컴퓨터, 측정 프로브를 포함하며, 상기 프로브는 탐지 영역이 위쪽에 형성되는 홈(grooved) 덮개 편과, 이송 매체 및 테스트 샘플을 측정 프로브의 탐지 영역까지 이송하는 유체 채널로서 이용되는 소정 길이의 PTFE 관(일리노이즈 버논 힐에 소재하는 Cole-Parner Instrument Company)을 포함한다. 도 2a 에 도시된 공명 프로브(230)가 이 실험에 사용되었다. 그 공명 프로브는 1GHz 의 f_{des} 로 디자인되었고, 버퍼 용액을 포함하는 유체 채널(PTFE)이 존재하고 조립되었을 때 약 1.163 GHz 의 f_{res} 를 나타낸다.

컴퓨터는 Labveiw™ 소프트웨어를 실행하여 네트워크 분석기의 작동을 제어하고 그로부터 얻어지는 데이터를 디스플레이 및 저장한다. 도 2a 에 도시되고 설명된 바와 같은 동축-형태의 측정 프로브가 사용되었다. PTFE 관(0.031" 내경, 0.063" 외경, 벽두께 0.016")이 측정 프로브의 탐지 영역에 걸쳐 배치되고, 측정 프로브의 선반에 나사결합되는 홈이 형성된 상부 덮개를 이용하여 고정된다. 관은 측정 프로브로부터 두 방향으로 연장한다. 관의 일 단부는 시린지 펌프(도시 안함)에 연결되고, 타 단부는 분석되는 유체 테스트 샘플내로 담겨진다. 시린지 펌프는, 관을 통해 테스트 샘플을 탐지 영역으로 끌어 당기기 위한 부압(negative pressure)을 제공한다. 이하의 실험에서는, 테스트 샘플을 탐지 영역(155)상에서 이동시키면서, 여러 가지 테스트 샘플의 스펙트럼을 측정하였다. 시린지 펌프로 유체를 ~ 0.05 mL/분의 속도로 흡입하면서, 관의 단부를 제 1 테스트 샘플로부터 분리하고, ~ 1cm 길이의 공기 갭이 유입되도록 ~ 1 초 동안 기다리며, 다음에 관의 일단부를 제 2 테스트 샘플내에 위치시킴으로써, 상이한 유체 테스트 샘플들을 관내로 도입하였다. 공기 갭은 관내의 두개의 테스트 샘플들이 서로 섞이는 것을 방지하기 위해 사용된다. 유체가 탐지 영역에 걸쳐 정지상태로 유지되었을 때(즉, 시린지 펌프가 꺼졌었을 때) 또는 전술한 관이 0.020" 내경, 0.063" 외경, 0.021" 벽두께의 PTFE 와 같은 보다 작은 내경의 관으로 대체되었을 때 얻어진 측정과 유사한 결과가 얻어졌다.

도 6b-6h 에 도시된 실험에 사용된 분석대상은 탄산탈수효소Ⅱ(CA, 소과(bovine)), 피브리노겐(I-S 타입, 소과), 리소짐(달걀 흰자), 펩신(돼지 위 점막), 페리틴(ferritin)(I 타입, 말의 지라), 소의 혈청 알부민(BSA), 물(18 메가 오옴), 소듐 도데실설파이트(sodium dodecylsulfate)(SDS) 및 이송 매체 인산염이며, 함염 용액은 Sigma 사(미조리 세인트 루이스에 소재)로부터 구입하였다. 1염기 인산나트륨 및 2염기 인산나트륨를 EM Science(뉴저지 깁스타운에 소재)로부터 구입하였다. PBS 이송 매체는 구입한 그대로 사용하였고, 25mM 인산나트륨 이송 매체는 사용 직전에 물(18 메가 오옴)을 사용하여 pH 7.8 로 준비하였다. CA, 피브리노겐, 리소짐, BSA 및 펩신의 1.0 % 용액(w/w)은 사용직전에 pH 7.8 로 맞춰진 25mM 인산나트륨 이송 매체로 마련된다. 1.0 % 용액(w/w) 페리틴 및 5 %(w/w) SDS 사용 직전에 PBS 내에서 마련된다.

제 1 실험에서, PBS 이송 매체는 관내로 도입되고 S_{11} (회수 손실) 측정이 취해지는 탐지 영역으로 이송된다. 다음에, 페리틴 테스트 샘플(PBS 에서의 1 % w/w)이 탐지 영역으로 이송되고 제 2 S_{11} 측정을 실시하였다. 페리틴 측정은 측정 신뢰성을 위해 4차례 실시하였다. PBS 용액 내의 S_{11} 응답 및 4개의 페리틴 응답을 도 6b(db 크기로) 및 도 6c(위상 각도로)에 도시하였다.

도 6b 에 도시된 바와 같이, PBS 용액과 관련한 S_{11} 응답은 1.163 GHz 에서 깊은 널(null)을 가진다. 또한, PBS 및 페리틴 S_{11} 사이의 차이를 도 6b 에서 볼 수 있다. 특히, 페리틴 S_{11} 응답은 PBS 응답에 비해 덜 두드러지고 주파수 변환된 널을 나타낸다. 이러한 차이 모두 또는 하나는 전술한 공정에서 설명한 바와 같이 분석대상의 존재를 탐지하는 파라미터로서 사용될 수 있다. 또한, 페리틴 S_{11} 응답(크기 및/또는 위상)은, 전술한 공정에서와 같이, 저장되고 다른 테스트 샘플내의 미지의 분석대상을 식별하기 위한 식별 표식으로서 사용될 수 있다.

도 6c 는 주파수에 걸친 PBS 및 페리틴 S_{11} 응답들 사이의 크기 차이를 추가로 도시한다. 최대 점에서, 차이는 20 dB 에 접근하며, 그 것은 테스트 샘플내에 존재하는 분석대상을 나타낼 수 있을 정도로 큰 차이이다. 또한, 페리틴 측정들 사이의 작은 편차를 볼 수 있으며, 이는 높은 측정 반복성 및 안정성을 나타내는 것이다.

도 6d 는 PBS 및 페리틴 샘플의 S_{11} 응답의 위상을 도시하며, 도 6e 는 그들 사이의 차이를 보여준다. PBS와 페리틴 측정 사이의 위상차는 명백하며, 페리틴 샘플 측정들의 반복성 또한 명백하다. 따라서, 위상 정보는 전술한 공정에 따른 용액내의 분석대상을 탐지하는 파라미터로서 사용될 수 있다.

다음에, 전술한 분자 탐지 시스템은 상이한 분석대상의 탐지를 명시하게 위해 사용되었다. 도 6f 및 6g 는, 탄산탈수효소, 피브리노겐, 리조짐, BSA, 및 펩신 그리고 이송 매체(25 mM 인산나트륨 이송 매체, pH 7.8)의 6 개의 분석대상으로부터 취한 크기 및 위상 S_{11} 측정을 도시한다. 그 도면에서 볼 수 있는 바와 같이, 각 분석대상은 사로 상이하고 식별될 수 있는 신호 응답을 제공하며, 그에 따라 전술한 바와 같이 테스트 샘플내의 각각의 대상을 탐지 및 규명할 수 있다.

도 6h 에는 전술한 시스템을 이용하여 얻은 염화나트륨의 5 개 용액의 S_{11} 응답(크기)이 도시되어 있다. 그 용액들은 1.0 M 모용액(stock solution)으로부터 탈이온수를 이용하여 계속적으로 희석하여 얻어졌다. 유체 샘플들은 전술한 바와 같은 관을 통해 동축적인 공명 구조물의 탐지 영역으로 도입된다. 먼저, 탈이온수가 1.2 GHz 의 f_{des} 에서 작동하는 공명 프로브의 상부로 도입된다. 이어서, 프로브는 -65 dB 크기의 반사 측정을 얻도록 도시된 fres 로 튜닝된다. 그 후, 각각의 염화나트륨 용액이 도입되고 신호 응답이 기록된다. 도 6h 에 도시된 바와 같이, 테스트 시스템은 0.010 mM NaCl 용액과 탈이온수를 식별할 수 있다.

도 6i 및 6j 는 본 발명에 따라(1/2 x 의 동일한 중량 농도를 사용하여) 도 3d 의 방법을 사용하여 특이 분자 결합 이벤트를 탐지할 때 발생되는 S_{11} 신호 응답을 도시한다. 도 6i 는 변성된 HSA, SAL, 및 비결합 혼합물에 대한 신호 응답을 도시하며, 도 6j 는 본래의 HSA, SAL, 및 본래의 HSA 및 본래의 SAL 의 혼합물에 대한 신호 응답을 도시한다. 진폭 공명(최소 진폭 점) 및 주파수 공명(최소 진폭이 측정되는 곳에서의 주파수)를 나타내는 각각의 측정된 응답을 이하에서 설명한다.

인간의 혈청 알부민(HSA) 및 살부타몰(salbutamol)은 위스콘신 밀워키에 소재하는 Aldrich Chemical Company 로부터 구입하였다. 인산 식염수(PBS)는 뉴욕 그랜드 아일랜드에 소재하는 Life Technologies, Inc. 로부터 구입하였다. SAL 의 모용액은 50μM 농도의 1×PBS(pH7.2)에서 마련하였다. HSA 의 모용액은 50μM 농도의 1×PBS(pH7.2)에서 마련하였다. 50μM 농도 HSA 는 60 도C 에서 15 분간 1×PBS 버퍼에서 변성되었다. 새롭게 마련된 50μM HSA(본래의 및 변성된)는 동일한 체적의 50μM SAL 에서 10분간 예비 배양되었다. 1×PBS(pH7.2) 에서 50μM HSA(본래의 및 변성된)에 대해, 1×PBS(pH7.2) 에서 50μM SAL 을 포함하는 용액에 대해, 그리고 동일 체적의 용액 혼합물로서 1×PBS(pH7.2) 에서 25μM HSA 및 25μM SAL 의 최종 농도를 가지는 혼합물에 대해, 신호 응답들이 얻어졌다. 신호 응답들은 캘리포니아 팔로 알토에 소재하는 Agilent Technologies 사의 모델 번호 8714 의 벡터 네트워크 분석기를 이용하여 상온에서 얻어졌다. 1.2 GHz 의 f_{res} 를 가지는 공명 동축 프로브를 측정 프로브로서 이용하였다.

도 6i 를 참조하면, 버퍼 응답은 약 1232.86 MHz 에서, 약 -62 dB 에서의 진폭 공명에 달하는 f_{res} 를 나타낸다. SAL 용액은 약간 증가한 공명 진폭(-60 dB)을 나타내고, 공명 주파수의 변화는 무시할 수 있을 정도이다. 변성된 HSA 용액은 -73 dB 로 약간 감소된 진폭을 나타내고, 주파수는 버퍼 f_{res} 로부터 약 +3.5 KHz 변환된 것을 나타낸다. 혼합물은 약 -67 dB 의 진폭에서 버퍼 f_{res} 로부터 약 +1.9 KHz 의 주파수 공명을 나타낸다. 도시된 바와 같이, 비결합 신호 응답은 변성된 HSA 및 SAL 응답 사이의 평균값에 근접한 진폭 및 주파수 공명을 나타낸다.

도 6i 에 도시된 바와 같이, 버퍼 및 SAL 응답들이 도 6j 에 비교 도시되어 있다. 본래의 HSA 는 버퍼 f_{res} 로부터 약 +2.3 KHz 변환되고, -55 dB 의 측정된 진폭 공명을 가진다. 조합된(결합된) 혼합물은 버퍼 f_{res} 로부터 약 +2.3 KHz 변환된 주파수 및, -53 dB 의 진폭 공명을 가지며, 이러한 양들은 SAL 및 본래의 HSA 응답의 평균값과 확실히 구별된다.

도 6k 및 6l 은 본 발명에 따라(조합된 혼합물에서 동일 체적의 1×농도를 이용함) 도 3f 의 방법을 이용하여 특이 분자 결합 이벤트를 탐지할 때 얻어지는 S_{11} 신호 응답을 도시한다. 도 6k 는 변성된 HSA, SAL, 및 비결합 혼합물에 대한 신호 응답들을 도시하고, 도 6l 은 본래의 HSA, SAL, 및 본래의 HSA가 SAL과 결합한 조합 혼합물의 신호 응답을 도시한다. 이하에서 설명하는 바와 같이, 각각의 측정된 응답은 진폭 공명(최소 진폭 점) 및 주파수 공명(최소 진폭이 측정되는 곳에서의 주파수)를 나타낸다.

살부타놀 및 HSA 의 모용액은 200 μM 농도의 1×PBS(pH7.2) 로 마련된다. 최종 농도가 200 μM 인 HSA 는 pH 가 2.73 으로 조절된 1×PBS 버퍼에서 밤새 변성되었다. 결합 실험에 앞서서, PBS 버퍼는 박막 여과에 의해 pH 7.2 로 신속하게 변환되었다.

새롭게 마련된 100μM 최종 농도의 HSA는 100μM 최종 농도의 살부타몰에서 10분간 예비 배양되었다. 1×PBS(pH7.2) 에서 100μM HSA(본래의 또는 변성된)에 대해, 1×PBS(pH7.2) 에서 100μM SAL 을 포함하는 용액에 대해, 그리고 1×PBS(pH7.2) 에서 100μM HSA 및 100μM SAL 를 가지는 용액에 대해, 신호 응답들이 얻어졌다. 신호 응답들은 캘리포니아 팔로 알토에 소재하는 Agilent Technologies 사의 모델 번호 8714 의 벡터 네트워크 분석기를 이용하여 상온에서 얻어졌다. 1.2 GHz 의 f_{res} 를 가지는 공명 동축 프로브를 측정 프로브로서 이용하였다.

도 6k 를 참조하면, 버퍼 응답은 약 1232.86 MHz 에서, 약 -62 dB 에서의 진폭 공명에 달하는 f_{res} 를 나타낸다. SAL 용액은 약간 증가한 공명 진폭(-60 dB)을 나타내고, 공명 주파수의 변화는 무시할 수 있을 정도이다. 변성된 HSA 용액은 -87 dB 로 감소된 진폭을 나타내고, 주파수는 버퍼 f_{res} 로부터 약 +7.2 KHz 변환된 것을 나타낸다. 비결합 혼합물은 약 -63 dB 의 진폭에서 버퍼 f_{res} 로부터 약 7.2 KHz 의 주파수 공명을 나타낸다. 도시된 바와 같이, 비결합 신호 응답은 HSA(약 7.2 KHz) 및 SAL(약 0 Hz)의 비결합 성분들로 인한 주파수 변환의 합에 f_{res} 를 더한 것과 거의 같은 주파수 공명(f_{res} + 7.2 KHz)를 나타낸다.

도 6l 에 도시된 바와 같이, 버퍼 및 SAL 응답들이 도 6k 에 비교 도시되어 있다. 본래의 HSA 는 버퍼 f_{res} 로부터 약 +6.3 KHz 변환되고, -61 dB 의 측정된 진폭 공명을 가진다. 결합 혼합물은 버퍼 f_{res} 로부터 약 10.8 KHz 변환된 주파수를 나타내며, 이 주파수는 SAL(0 Hz) 및 HSA(6.3 KHz)의 집합적인 기여 범위를 명백하게 벗어난다.

도 6m 은 본 발명에 따라 얻어진 도즈 응답 곡선을 도시한다. HSA 는 위스콘신 밀워키에 소재하는 Aldrich Chemical Company 로부터 구입하였고, PBS 는 뉴욕 그랜드 아일랜드에 소재하는 Life Technologies, Inc. 로부터 구입하였으며, 16-메캅토헥사데카노 산(mecaptohexadeccanoic acid)(C16)은 미조리 세인트 루이스에 소재하는 Gateway Chemical Technology, Inc. 로부터 구입하였다. C16 의 모용액은 1 mM 농도의 DMSO 에서 마련되었다. HSA 의 모용액은 200μM 농도의 1×PBS(pH7.2)에서 마련하였다. HSA 는 10μM 의 최종로 준비되고,0.1 내지 1000μM 의 최종 농도의 C16 과 함께 10분간 예비 배양되었다. 모든 최종 농도는 5 % DMSO 를 포함한다. 5 % DMSO(pH7.2)를 포함하는 1×PBS 용액에 대한 베이스라인 응답이 얻어진다. 5 % DMSO(pH7.2)를 포함하는 1×PBS 에서 C16 의 여러가지 농도를 포함하는 용액에 대한 측정 응답이 얻어진다. 신호 응답들은 캘리포니아 팔로 알토에 소재하는 Agilent Technologies 사의 모델 번호 8714 의 벡터 네트워크 분석기를 이용하여 상온에서 얻어졌다. 1.2 GHz 의 f_{res} 를 가지는 공명 동축 프로브를 측정 프로브로서 이용하였다.

HSA, C16, 및 HSA 와 여러 가지 양의 C16 혼합물에 의해 생성되는 공명 주파수 변화가 측정되고, PBS/5%DMSO 용액의 베이스라인 응답의 f_{res} 에 대해 평균이 얻어지며(나누어 지며), C16 의 농도에 대해 좌표가 도시된다. 응답(도 6m)은, C16 에 대해 약 50μM 의 포화점을 가지는 포화 곡선을 명확히 나타낸다.

산업상 이용 가능성

이상에서 본 발명의 가능한 실시예를 완전히 설명하였지만, 여러 가지 변형 실시예, 변경 실시예, 및 균등물을 이용할 수 있다. 예를 들어, 전도성 또는 유전성 웨이브가이드와 같은 다른 전송 매체 뿐만 아니라 다른 유체 이송 시스템을 선택적으로 사용할 수 있다. 또한, 본 출원에서 인용된 모든 간행물 및 특허 관련 서류는, 그 간행물 및 특허 서류 각각이 개별적으로 지시된 한도내에서 여하한 목적을 위해 전체가 인용된다. 특히, 본 출원은 이하에 기재된 본 출원인의 계류중인 출원들과 관련되며, 그 출원들 모두는 본 명세서에서 인용한다: 즉,

1999년 2월 1일에 출원된 " 분자 결합 이벤트의 탐지를 위한 방법 및 장치" 라는 명칭의 09/243,193 호(대리인 서류 번호 19501-000200US);

1999년 2월 1일에 출원된 " 분자 결합 이벤트의 탐지를 위한 방법 및 장치" 라는 명칭의 09/243,196 호(대리인 서류 번호 19501-000300US);

1999년 8월 2일에 출원된 " 분자 결합 이벤트의 탐지를 위한 방법 및 장치" 라는 명칭의 09/365,578 호(대리인 서류 번호 19501-000210);

1999년 8월 2일에 출원된 " 분자 결합 이벤트의 탐의 탐지를 위한 테스트 시스템 및 센서" 라는 명칭의 09/365,978 호(대리인 서류 번호 19501-000500);

1999년 8월 2일에 출원된 " 핵산 분석 방법" 라는 명칭의 09/365,581 호(대리인 서류 번호 19501-000600);

1999년 8월 2일에 출원된 " 단백질 결합 이벤트의 분석 방법" 라는 명칭의 09/265,580 호(대리인 서류 번호 19501-000700);

2000년 1월 10일에 출원된 " 분자 결합 이벤트의 탐지를 위한 방법 및 장치" 라는 명칭의 09/480,846 호(대리인 서류 번호 19501-000310);

2000년 1월 10일에 출원된 " 분자 결합 이벤트의 탐지를 위한 방법 및 장치" 라는 명칭의 09/480,315 호(대리인 서류 번호 19501-000320).

(57) 청구의 범위

청구항 1.

테스트 샘플내에서 분자 이벤트를 탐지하는 분자 탐지 시스템으로서:

(1) 체적이 1.0 mL 미만인 탐지 영역을 포함하는 유체 저장용기;

(2) 10 MHz 내지 1000 GHz 주파수의 전자기 입사 테스트 신호를 전송하도록 작동되는 신호 공급원;

(3) 측정 프로브로서,

(a) (ⅰ) 상기 신호 공급원에 커플링된 웨이브 가이드, 또는 (ⅱ) 상기 신호 공급원에 커플링된 전송라인, 접지 면, 및 상기 전송라인과 접지 면 사이에 배치된 유전체 층을 포함하는 프로브 헤드로서, 상기 프로브 헤드는 입사 테스트 신호를 탐지 영역내의 테스트 샘플에 전자기적으로 커플링하도록 구성되며, 상기 입사 테스트 신호의 테스트 샘플과의 상호작용은 변조된 테스트 신호를 생성하며, 상기 프로브 헤드는 상기 변조된 테스트 신호의 일부를 회수하도록 구성된, 프로브 헤드와,

(b) 연결 단부를 포함하는, 측정 프로브;

(4) 상기 측정 프로브의 연결 단부에 커플링되고 변조된 테스트 신호를 회수하도록 구성된 신호 탐지부를 포함하는 시스템.

청구항 2.

제 1 항에 있어서, 0.3 μg 또는 그 이하의 피브리노겐을 포함하는 제 1 수성 샘플이 탐지 영역에 존재하는 동안에 제 1 변조 테스트 신호가 얻어지고 피브리노겐을 포함하지 않는 다는 점을 제외하고 상기 제 1 수성 샘플과 동일한 제 2 수성 샘플이 탐지 영역에 존재하는 동안에 제 2 변조 테스트 신호가 얻어 질 때, 상기 신호 탐지부가 상기 제 1 변조 테스트 신호와 제 2 변조 테스트 신호 간의 차이를 탐지할 수 있을 정도로 높은 감도로 구성되는 시스템.

청구항 3.

제 1 항에 있어서, 상기 프로브 헤드는 상기 탐지 영역내의 샘플과 물리적으로는 분리되고 전자기적으로는 커플링되는 시스템.

청구항 4.

제 3 항에 있어서, 상기 프로브 헤드는 동축 전송 라인의 개방-단부형 단면부를 포함하는 시스템.

청구항 5.

제 3 항에 있어서, 상기 측정 프로브는:

상기 프로브 헤드와 제 1 갭 단부를 포함하는 제 1 동축 부분;

제 2 갭 단부 및 상기 연결 단부를 포함하는 제 2 동축 부분;

상기 제 1 및 제 2 갭 단부사이에 조절가능하게 결합되고 그 단부들 사이에 가변적인 갭 거리를 제공하도록 구성된 튜닝 소자를 포함하는 시스템.

청구항 6.

제 5 항에 있어서, 상기 튜닝 소자는 상기 갭 단부를 둘러싸는 중공의 전도성 관을 포함하는 시스템.

청구항 7.

제 1 항에 있어서, 상기 신호 공급원 및 신호 탐지부는 벡터 네트워크 분석 시스템, 스칼라 네트워크 분석 시스템, 또는 시간 영역 반사계에 포함되는 시스템.

청구항 8.

제 1 항에 있어서, 상기 유체 저장용기는 미세타이터 플레이트의 웰을 포함하는 시스템.

청구항 9.

제 1 항에 있어서, 상기 유체 저장용기는 유체를 일 지점으로부터 다른 지점으로 이송하도록 구성된 채널을 포함하는 시스템.

청구항 10.

제 9 항에 있어서, 상기 유체 채널은 PTFE 관의 내부 채널을 포함하는 시스템.

청구항 11.

제 9 항에 있어서, 상기 유체 저장용기는 미세유체 이송 시스템내의 하나 이상의 채널을 포함하는 시스템.

청구항 12.

제 9 항에 있어서, 상기 채널을 통해 유체를 이동시키도록 구성된 유체 이송 시스템을 추가로 포함하며,

상기 유체 이송 시스템은:

이송 유체를 저장하도록 구성된 유체 저장용기; 및

상기 유체 저장 용기에 그리고 상기 유체 채널에 연결된 유체 제어부를 포함하고,

상기 유체 제어부는 상기 유체 저장용기로부터 상기 유체 채널을 통한 유체의 이송 속도를 제어하도록 구성된 시스템.

청구항 13.

수성 테스트 샘플내의 분자 이벤트를 탐지하는 방법으로서:

(1) 제 1 샘플을 체적이 1.0 mL 인 탐지 영역을 가지는 유체 저장용기내로 도입하는 단계;

(2) 상기 탐지 영역에 신호를 인가하는 단계로서:

(a) 측정 프로브로서:

(A) (ⅰ) 신호 공급원에 커플링된 웨이브 가이드, 또는 (ⅱ) 상기 신호 공급원에 커플링된 전송라인, 접지 면, 및 상기 전송라인과 접지 면 사이에 배치된 유전체 층을 포함하는 프로브 헤드로서, 상기 프로브 헤드는 입사 테스트 신호를 탐지 영역내의 테스트 샘플에 전자기적으로 커플링하도록 구성되며, 상기 입사 테스트 신호의 테스트 샘플과의 상호작용은 변조된 테스트 신호를 생성하며, 상기 프로브 헤드는 상기 변조된 테스트 신호의 일부를 회수하도록 구성된, 프로브 헤드와;

(B) 연결 단부를 포함하는, 측정 프로브, 및

(b) 상기 측정 브로브의 연결 단부에 커플링되고 상기 변조된 신호를 회수하도록 구성된 신호 탐지부;

를 이용하여, 10 MHz 내지 1000 GHz 의 테스트 신호를 상기 탐지 영역에 인가하는 단계;

(3) 상기 테스트 신호의 상기 샘플과의 상호작용의 결과로서 테스트 신호의 변화가 발생하였는지의 여부를 측정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 14.

제 13 항에 있어서, 상기 분자 이벤트는 기준 분자 기질에 대한 제 1 분자 기질의 구조적 또는 기능적 유사성이며, 상기 유사성은 상기 샘플이 제 1 분자 기질을 포함할 때 탐지한 테스트 신호와 상기 샘플이 기준 분자 기질을 포함할 때 탐지되는 테스트 신호를 비교함으로써 측정되는 방법.

청구항 15.

제 13 항에 있어서, 상기 분자 이벤트는 제 1 분자 기질의 기준 분자 기질로의 결합인 방법.

청구항 16.

수성 테스트 샘플내의 분자 이벤트를 탐지하는 방법으로서:

(a) 샘플 유입 단부, 체적이 1 mL 미만인 탐지 영역, 및 샘플 배출 단부를 가지는 유체 채널과 그리고 유체 이동 제어부를 구비하는 유체 이송 시스템의 유체 채널내로 제 1 샘플을 도입하는 단계;

(b) 상기 유체 제어부의 제어하에서 상기 샘플을 상기 샘플 유입 단부로부터 상기 샘플 배출 단부를 향해 채널을 통해 이동시키는 단계;

(c) 10 MHz 내지 1000 GHz 의 테스트 신호를 상기 유체 채널의 탐지 영역에 인가하는 단계; 및

(d) 상기 테스트 신호의 상기 샘플과의 상호반응 결과로서의 테스트 신호 변화를 탐지하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 17.

제 16 항에 있어서,

(e) 제 1 테스트 샘플 이후에 상기 채널내로 간격 물질을 도입하는 단계,

(f) 상기 간격 물질 이후에 상기 채널내로 추가의 테스트 샘플을 도입하는 단계,

(g) 상기 유체 제어부의 제어하에서 상기 채널을 통해 상기 추가의 테스트 샘플을 이동시킴으로써, 간격 물질에 의해 서로 이격된 다수의 상이한 샘플들이 서로 혼합되지 않고 채널내에서 이송되도록 하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 18.

제 17 항에 있어서, 상기 간격 물질은 일렉트로오스모틱 펌프에 의해 이송될 수 있을 정도로 큰 이온 세기의 용액을 포함하고, 상기 유체 이동 제어부는 일렉트로오스모틱 펌프를 이용하여 유체를 펌핑하는 방법.

청구항 19.

제 17 항에 있어서, 상기 간격 물질은 테스트 샘플과 실질적으로 혼합되지 않는 유체를 포함하는 방법.

청구항 20.

제 17 항에 있어서, 상기 간격 물질은 기체 버블을 포함하며, 상기 유체 이동 제어부는 물리적 펌프를 이용하여 유체를 펌핑하는 방법.

청구항 21.

제 16 항에 있어서,

상기 제 1 유체 채널과 교차하는 추가의 제 2 유체 채널을 제공하는 단계로서, 상기 유체 이송 시스템은 테스트 혼합물 또는 일련의 테스트 혼합물들을 포함하는 제 2 유체 채널내의 유체 이동을 개별적으로 제어하는, 제 2 유체 채널 제공 단계,

테스트 신호로부터 충분히 상류에 위치하는 제 1 유체 채널내에 있는 테스트 샘플내로 상기 제 2 유체 채널로부터 테스트 혼합물을 도입하여, 테스트 샘플이 테스트 신호에 도달하기 전에 테스트 혼합물이 제 1 유체 채널내의 테스트 샘플의 분자 구조와 결합할 충분한 시간을 가지도록, 테스트 혼합물을 도입하는 단계,

테스트 신호의 변화에 의해 결합을 탐지하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 22.

유체 저장용기의 탐지 영역내의 테스트 샘플내의 분자 결합을 탐지하는 방법으로서:

10 MHz 내지 1000 GHz 의 미리 정해진 주파수에서 공명 신호 응답을 나타내는 측정 프로브를 탐지 영역에 인접 배치하여 그 탐지 영역에 신호를 전자기적으로 커플링하는 단계;

상기 탐지 영역에 기준 매체를 공급하는 단계;

상기 탐지 영역에 테스트 신호를 커플링시키고 베이스라인 신호 응답을 기록하는 단계;

분자 이벤트를 포함하거나 포함하고 있다고 생각되는 테스트 샘플을 탐지 영역으로 공급하는 단계;

테스트 신호를 탐지 영역에 커플링시키고 테스트 샘플 응답을 얻는 단계;

테스트 샘플 응답과 베이스라인 응답 사이에 차이가 있다면 그 차이를 측정하는 단계; 및

상기 차이를 분자 이벤트에 연관시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 23.

제 22 항에 있어서, 상기 측정 프로브는 S_{11} 공명 응답을 나타내는 방법.

청구항 24.

제 22 항에 있어서, 상기 테스트 신호를 탐지 영역에 커플링시키고 베이스라인 신호 응답을 얻는 단계는:

입사 신호를 발생시키는 단계;

입사 신호를 탐지 영역에 커플링시키는 단계;

탐지 영역으로부터 반사된 신호를 회수하는 단계; 및

입사 신호의 진폭 또는 위상을 반사된 신호의 진폭 또는 위상과 비교하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 25.

제 24 항에 있어서,

제 1 테스트 샘플 응답을 저장하는 단계; 및

추후의 테스트 샘플 응답을 상기 저장된 제 1 테스트 샘플 응답과 비교하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 26.

테스트 샘플내의 분자 이벤트를 탐지하도록 구성된 측정 프로브로서:

개방-단부형 동축 단면부를 가지는 프로브 헤드 및 제 1 갭 단부를 가지며, 길이방향으로 연장하는 중앙 전도부, 상기 중앙 전도부의 종축 둘레로 배치된 유전체 절연부, 및 상기 유전체 절연부의 종축 둘레로 배치된 외측의 접지 면을 포함하는 제 1 동축 부분과;

개방-단부형 동축 단면부를 가지는 제 2 갭 단부 및 동축 연결부를 가지는 연결단부를 포함하고, 길이방향으로 연장하는 중앙 전도부, 상기 중앙 전도부의 종축 둘레로 배치된 유전체 절연부, 및 상기 유전체 절연부의 종축 둘레로 배치된 외측의 접지 면을 포함하는 제 2 동축 부분과; 그리고

상기 제 1 및 제 2 갭 단부사이에 조절가능하게 결합되고 그 단부들 사이에 가변적인 갭 거리를 제공하도록 구성된 튜닝 소자를 포함하는 측정 프로브.

청구항 27.

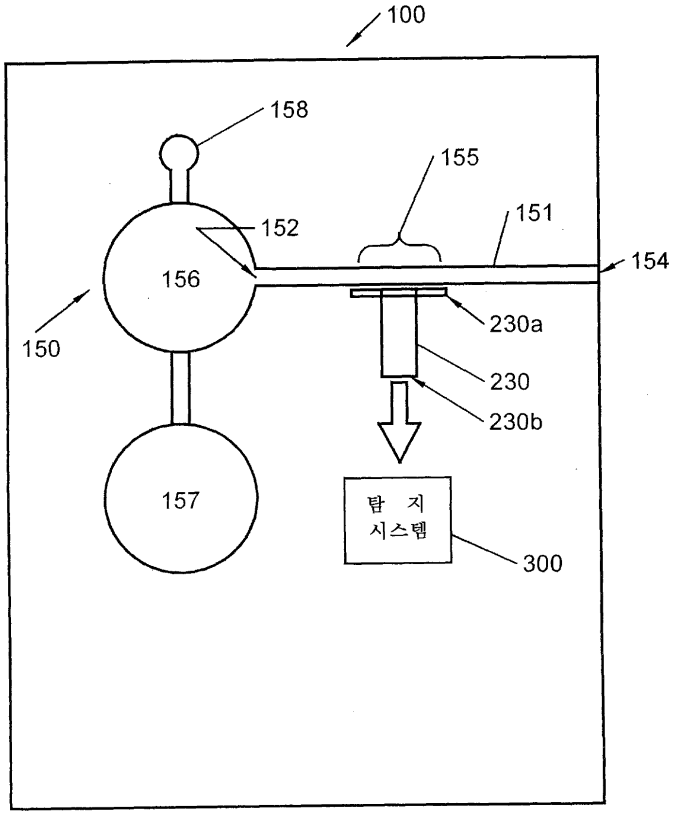
제 26 항에 있어서, 상기 제 1 동축 부분은, 외측 전도부에 전도가능하게 부착되고 상기 프로브 헤드의 개방 단부와 같은 높이를 갖는 선반을 포함하는 측정 프로브.

청구항 28.

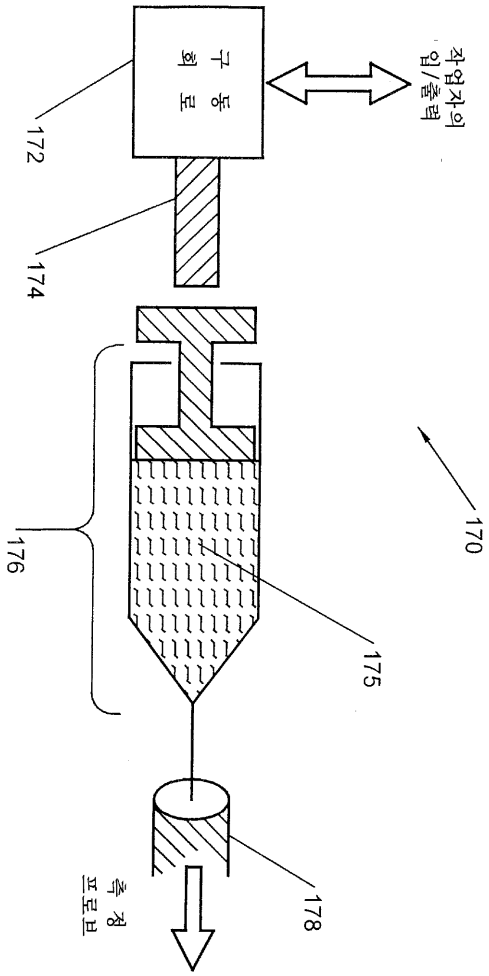
제 13 항의 방법에 의해 얻어지는 정보를 포함하는 컴퓨터-판독가능 저장 매체.

도면

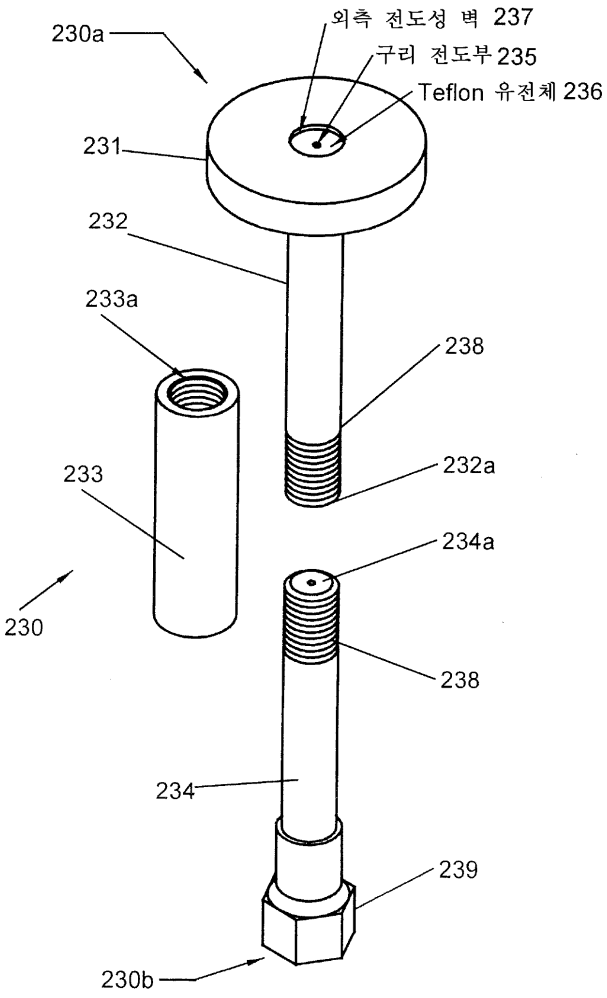
도면 1a



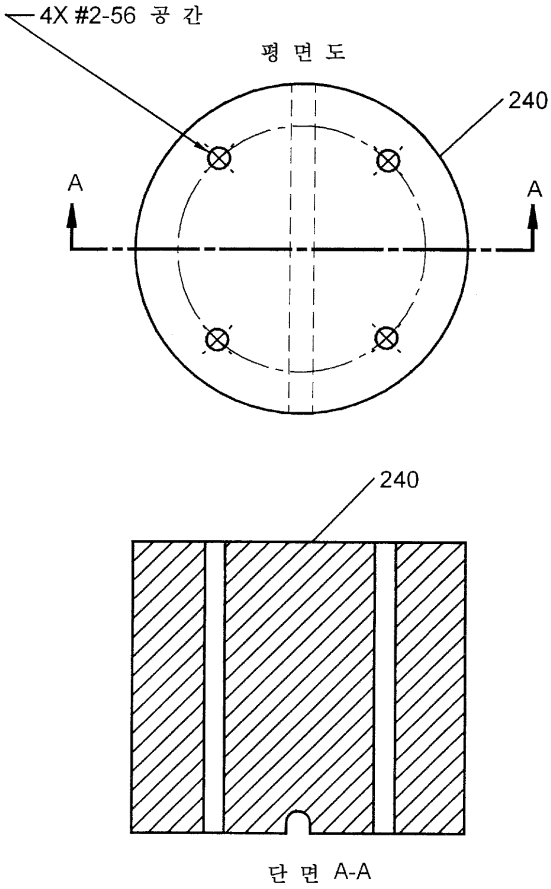
도면 1b



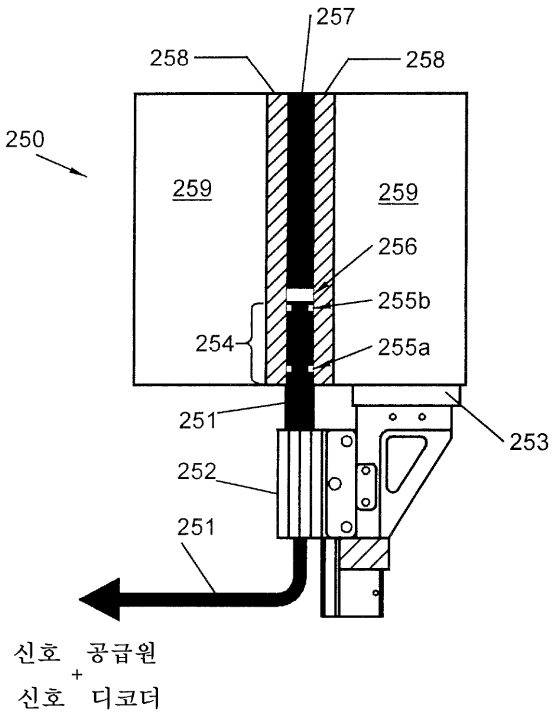
도면 2a


230a
외측 전도성 벽 237
구리 전도부 235
Teflon 유전체 236
231
232
233a
238
232a
233
234a
230
238
234
239
230b

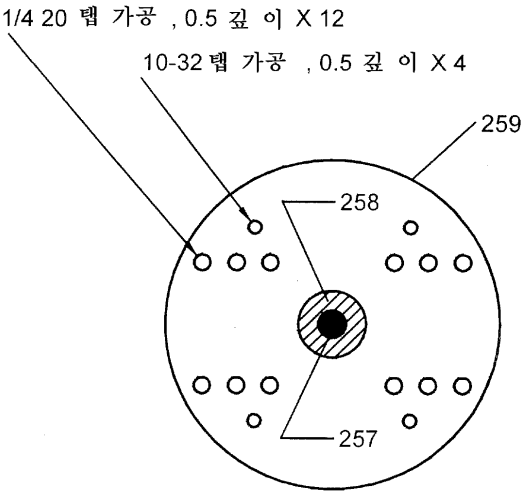
도면 2b



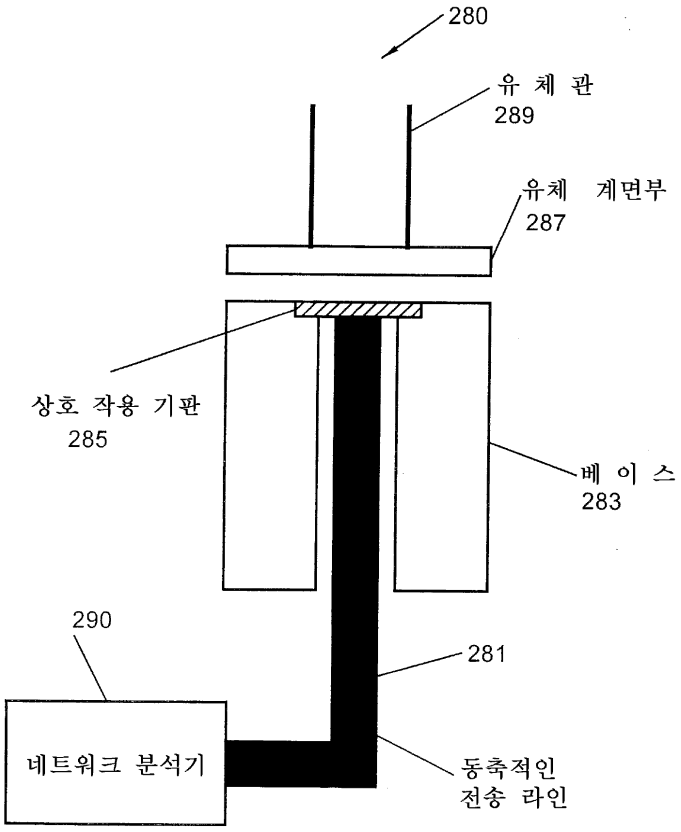
도면 2c


257
258
258
250
259
259
256
255b
254
255a
251
253
252
251
신호 공급원
+
신호 디코더

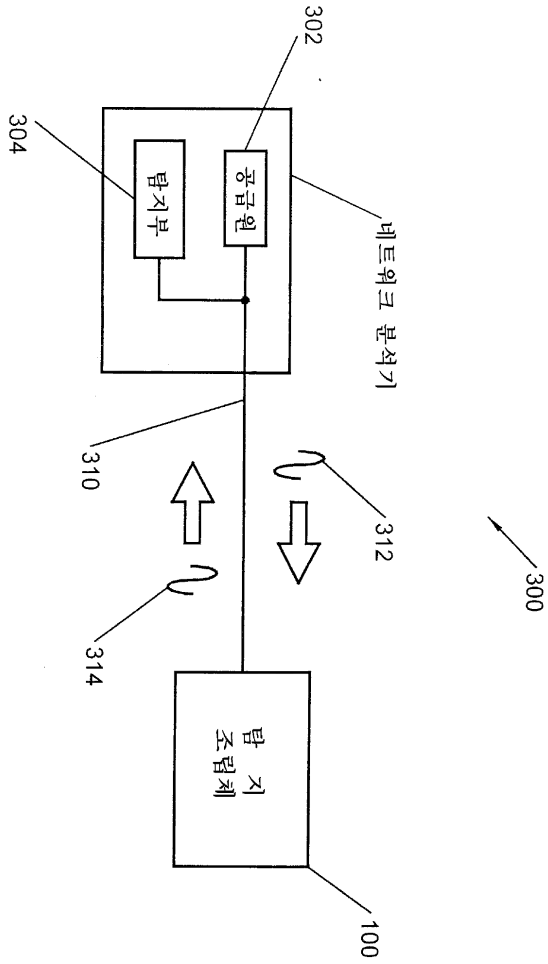
도면 2d


1/4 20 탭 가공 , 0.5 깊 이 X 12
10-32 탭 가공 , 0.5 깊 이 X 4
259
258
257

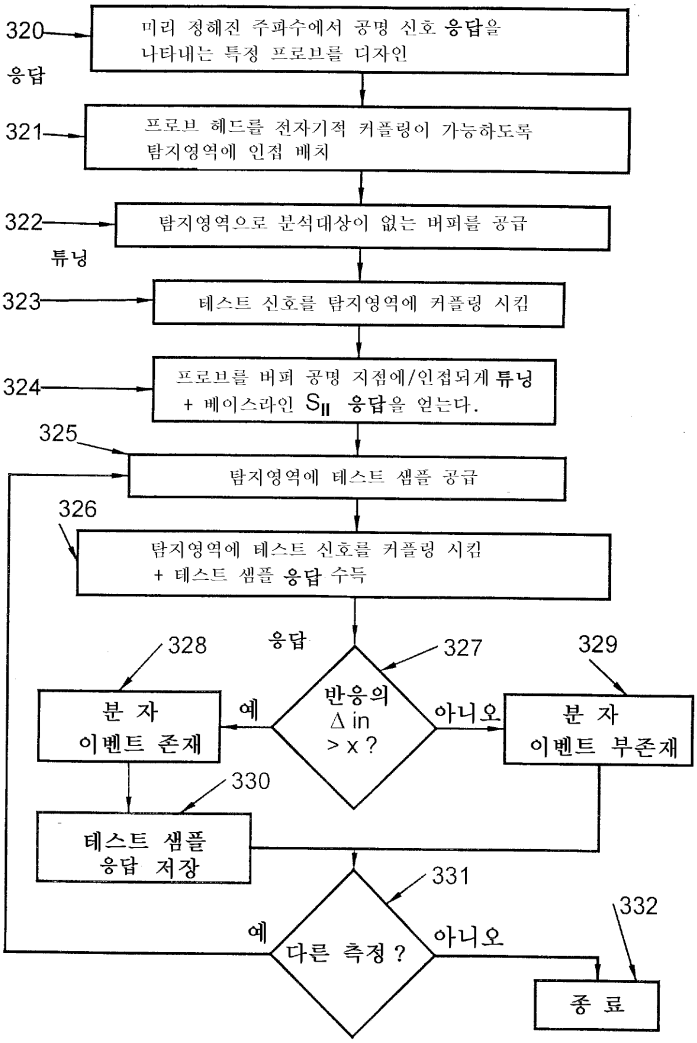
도면 2e


280
유 체 관
289
유체 계면부
287
상호 작용 기판
285
베 이 스
283
290
281
네트워크 분석기
동축적인
전송 라인

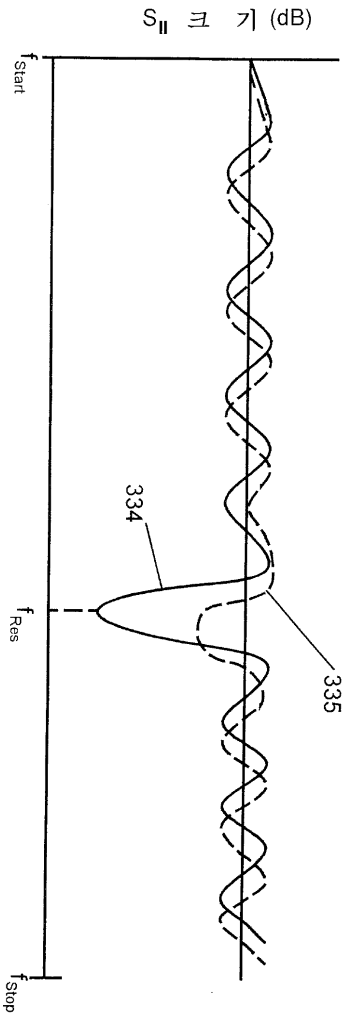
도면 3a



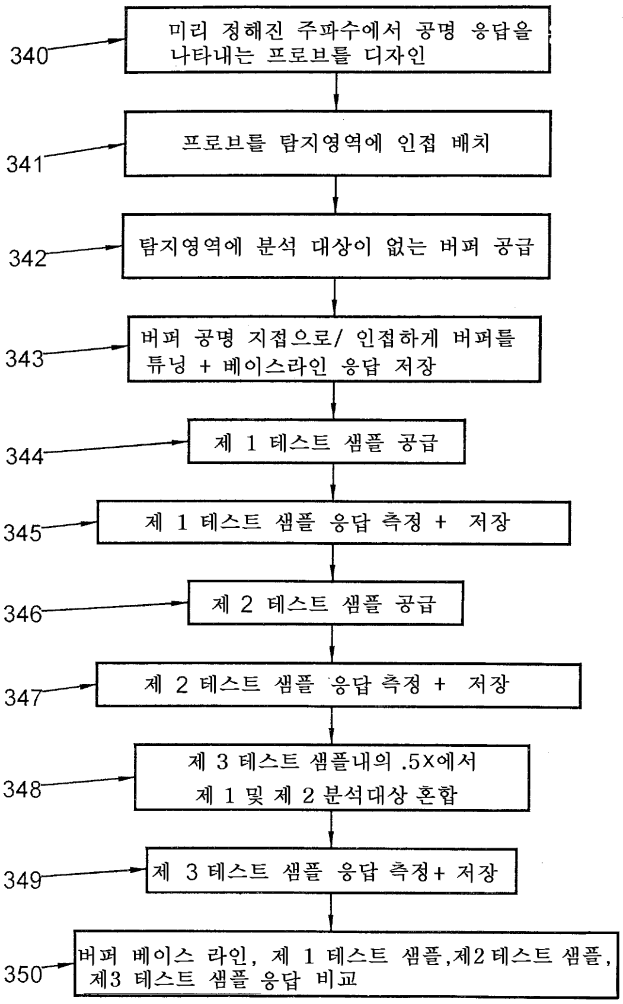
도면 3b


320
미리 정해진 주파수에서 공명 신호 응답을 나타내는 특정 프로브를 디자인
응답
321
프로브 헤드를 전자기적 커플링이 가능하도록 탐지영역에 인접 배치
322
탐지영역으로 분석대상이 없는 버퍼를 공급
튜닝
323
테스트 신호를 탐지영역에 커플링 시킴
324
프로브를 버퍼 공명 지점에/인접되게 튜닝 + 베이스라인 S_{11} 응답을 얻는다.
325
탐지영역에 테스트 샘플 공급
326
탐지영역에 테스트 신호를 커플링 시킴 + 테스트 샘플 응답 수득
응답
327
반응의 Δ in > x ?
328
분 자 이벤트 존재
예
329
분 자 이벤트 부존재
아니오
330
테스트 샘플 응답 저장
331
다른 측정 ?
예
아니오
332
종 료

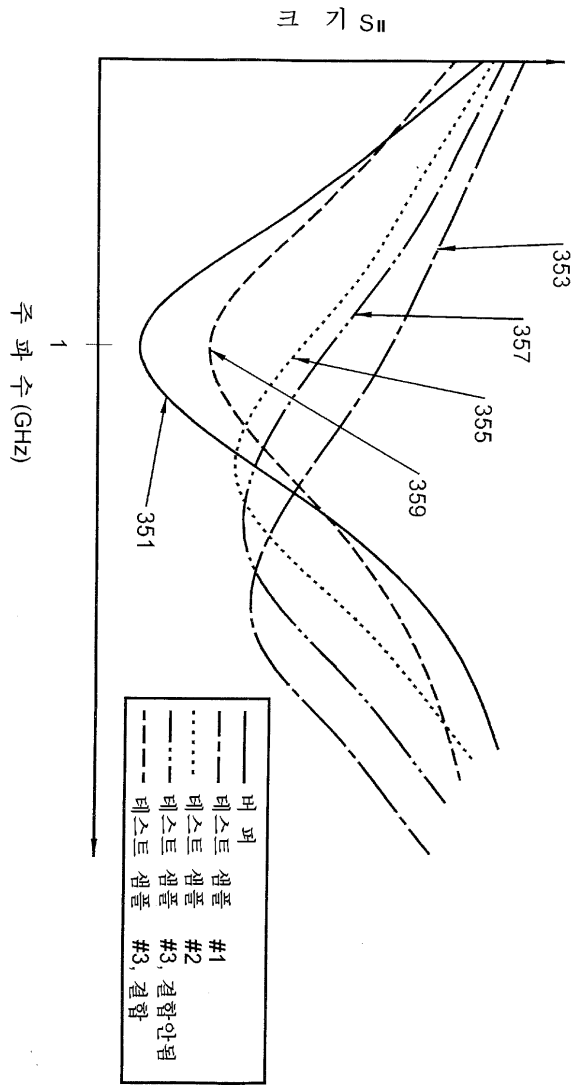
도면 3c



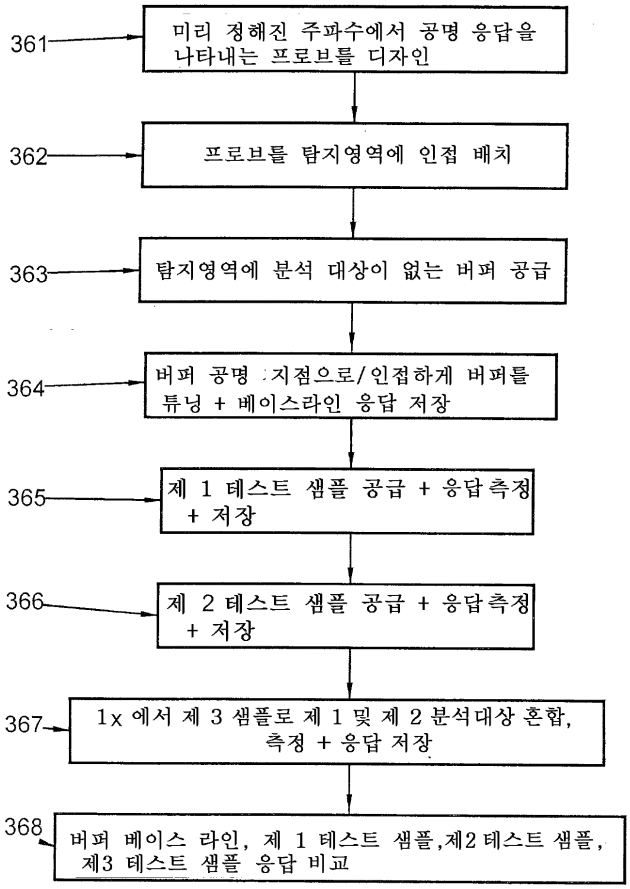
도면 3d


340
미리 정해진 주파수에서 공명 응답을 나타내는 프로브를 디자인
341
프로브를 탐지영역에 인접 배치
342
탐지영역에 분석 대상이 없는 버퍼 공급
343
버퍼 공명 지점으로/ 인접하게 버퍼를 튜닝 + 베이스라인 응답 저장
344
제 1 테스트 샘플 공급
345
제 1 테스트 샘플 응답 측정 + 저장
346
제 2 테스트 샘플 공급
347
제 2 테스트 샘플 응답 측정 + 저장
348
제 3 테스트 샘플내의 .5X에서 제 1 및 제 2 분석대상 혼합
349
제 3 테스트 샘플 응답 측정+ 저장
350
버퍼 베이스 라인, 제 1 테스트 샘플,제2 테스트 샘플, 제3 테스트 샘플 응답 비교

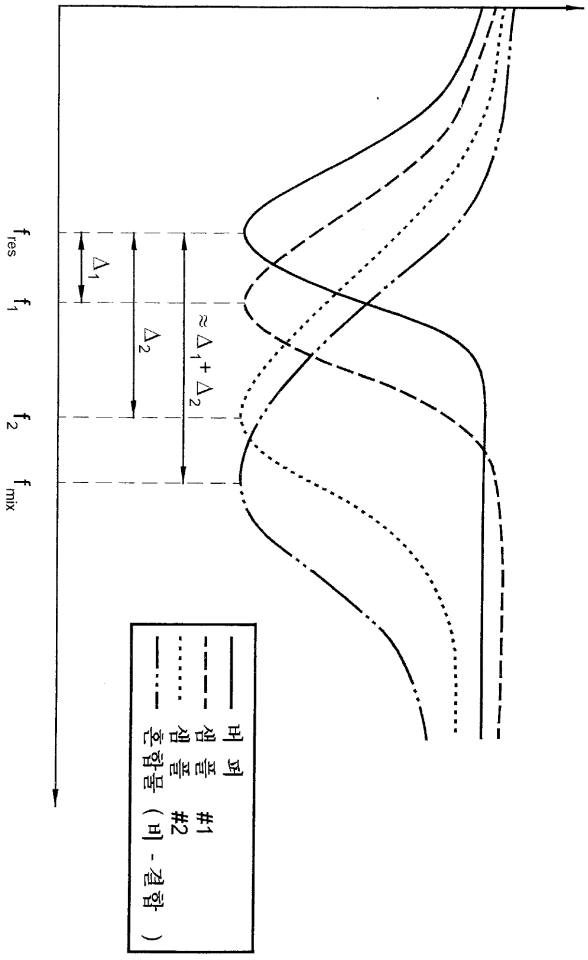
도면 3e


크 기 S11
353
357
355
359
351
1
주 파 수 (GHz)
버 퍼
테스트 샘플 #1
테스트 샘플 #2
테스트 샘플 #3, 결합안됨
테스트 샘플 #3, 결합

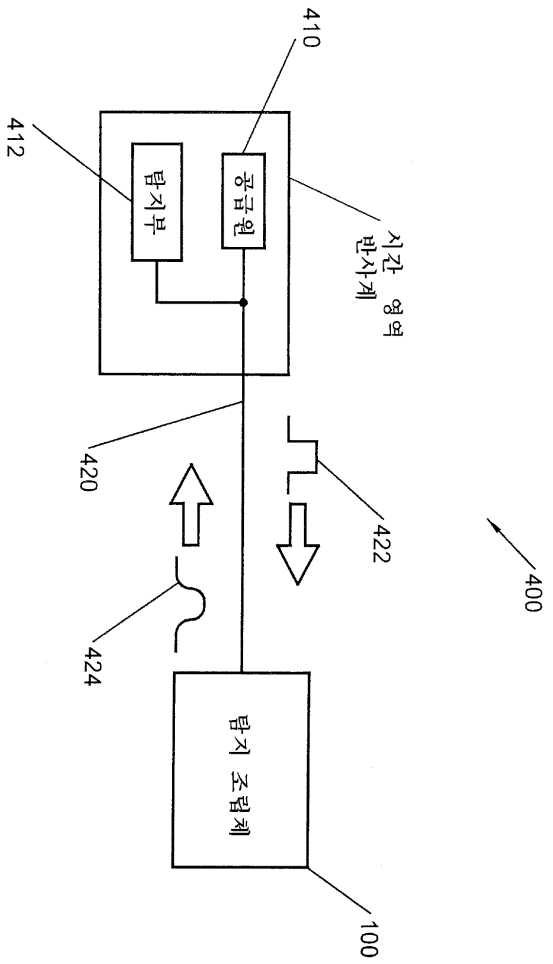
도면 3f


361
미리 정해진 주파수에서 공명 응답을 나타내는 프로브를 디자인
362
프로브를 탐지영역에 인접 배치
363
탐지영역에 분석 대상이 없는 버퍼 공급
364
버퍼 공명 지점으로/인접하게 버퍼를 튜닝 + 베이스라인 응답 저장
365
제 1 테스트 샘플 공급 + 응답측정 + 저장
366
제 2 테스트 샘플 공급 + 응답측정 + 저장
367
1x 에서 제 3 샘플로 제 1 및 제 2 분석대상 혼합, 측정 + 응답 저장
368
버퍼 베이스 라인, 제 1 테스트 샘플,제2 테스트 샘플, 제3 테스트 샘플 응답 비교

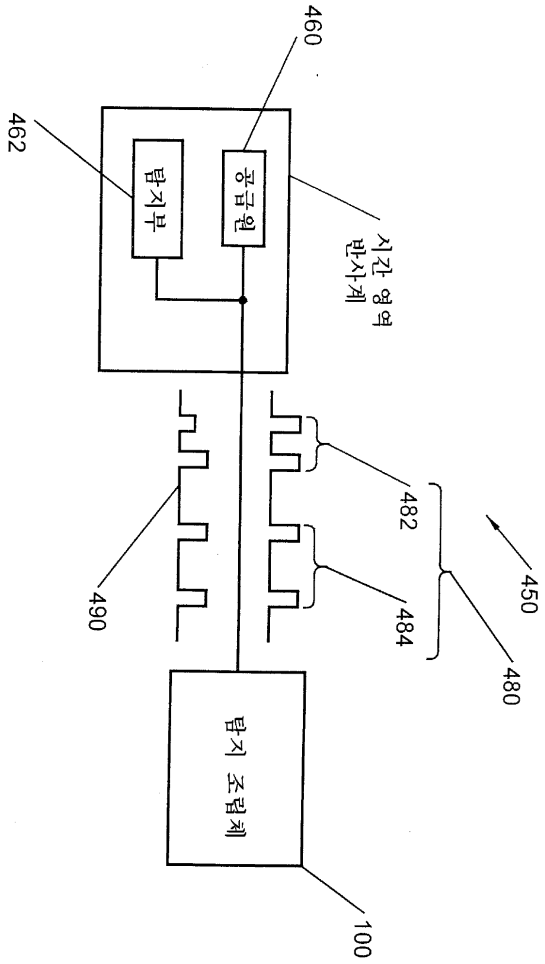
도면 3g


f_{res}
f_1
f_2
f_{mix}
Δ_1
Δ_2
$\approx \Delta_1 + \Delta_2$
버퍼
샘플 #1
샘플 #2
혼합물 (비 - 결합)

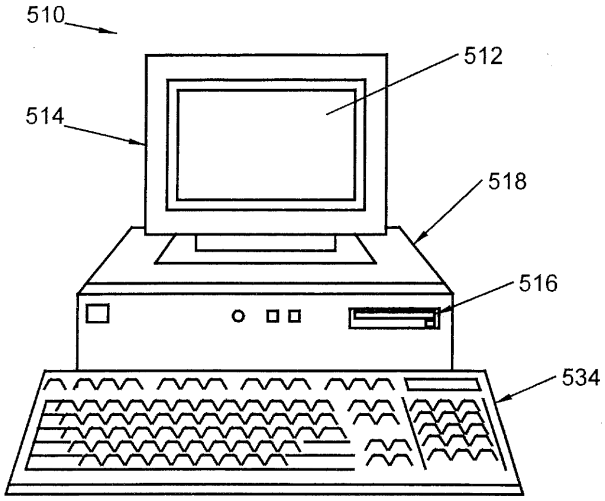
도면 4a



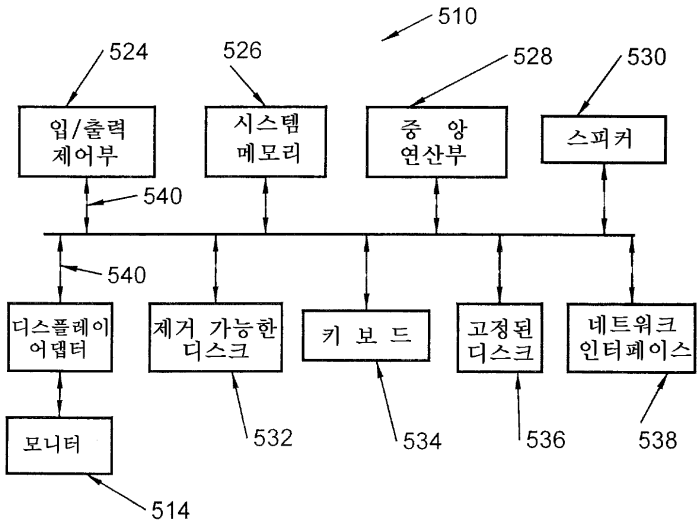
도면 4b



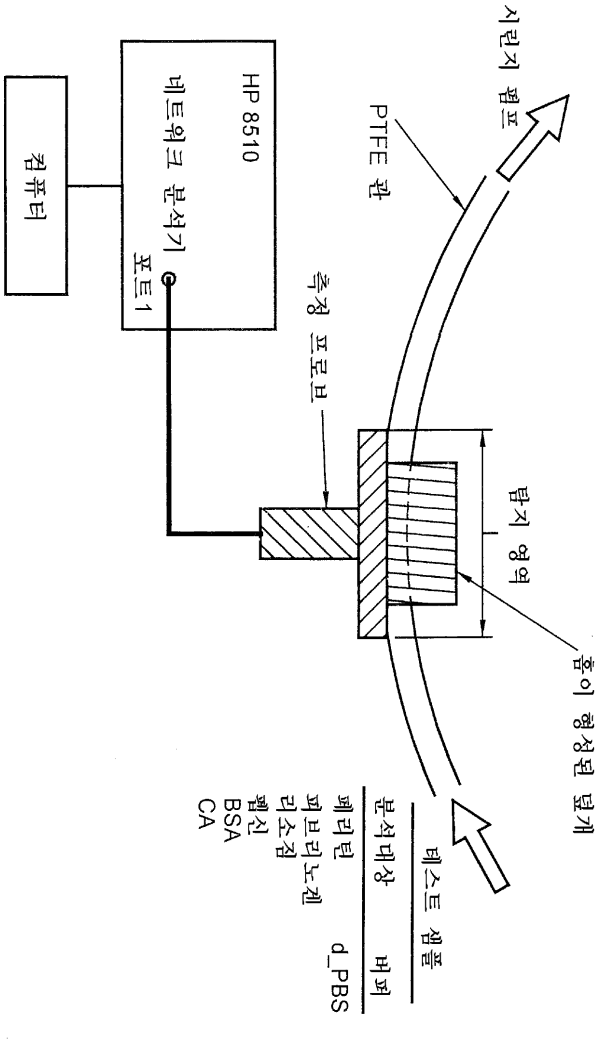
도면 5a


510
512
514
518
516
534

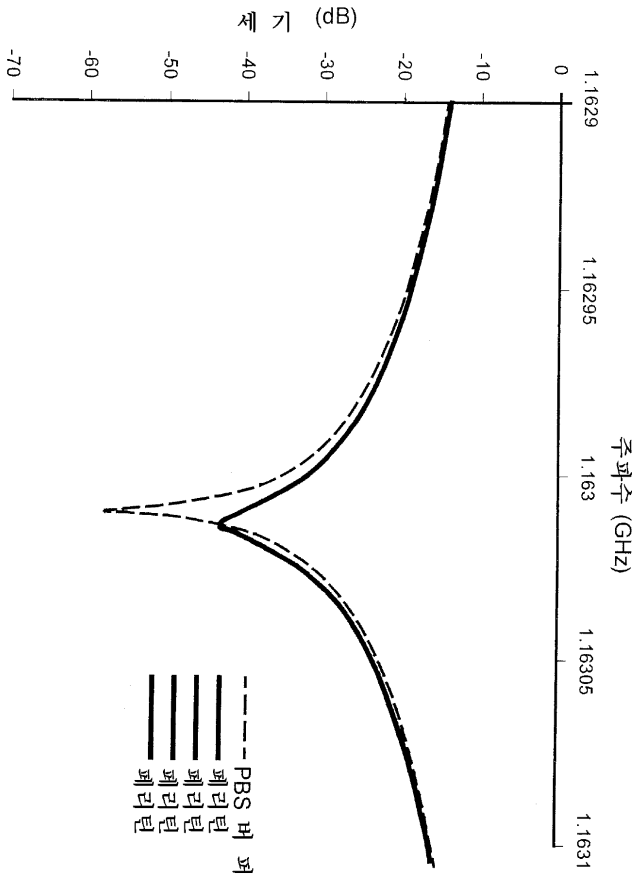
도면 5b


510
524
526
528
530
입/출력 제어부
시스템 메모리
중 앙 연산부
스피커
540
540
디스플레이 어댑터
제거 가능한 디스크
키 보 드
고정된 디스크
네트워크 인터페이스
모니터
532
534
536
538
514

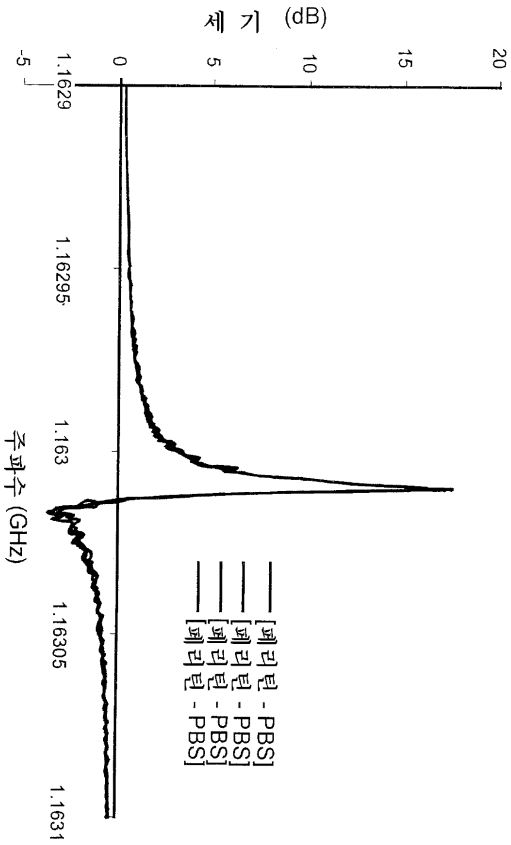
도면 6a


시린지 펌프
PTFE 관
HP 8510
네트워크 분석기
포트1
컴퓨터
측정 프로브
탑지 영역
흡이 형성된 덮개
테스트 샘플
분석대상
버퍼
페리틴
피브리노겐
리소짐
펩신
BSA
CA
d_PBS

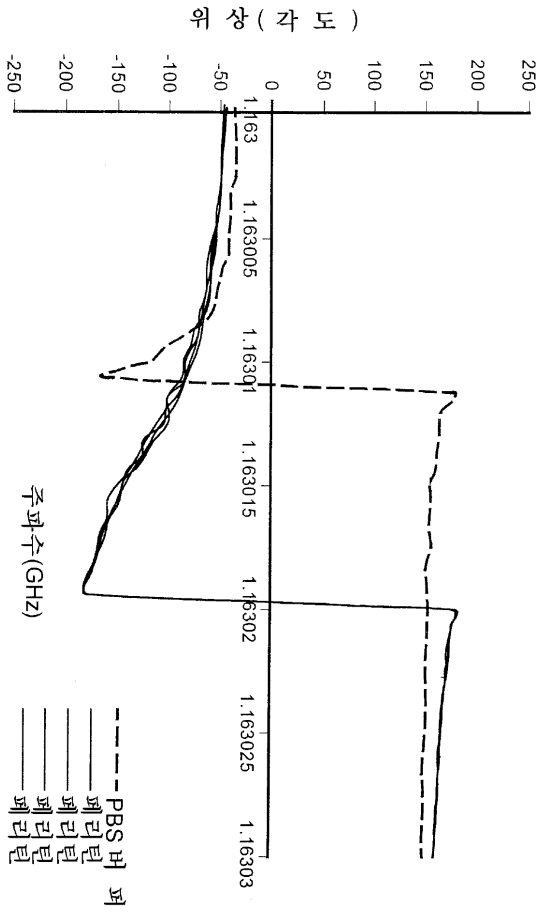
도면 6b


세 기 (dB)
-70
-60
-50
-40
-30
-20
-10
0
1.1629
1.16295
1.163
1.16305
1.1631
주파수 (GHz)
PBS 버퍼
페리틴
페리틴
페리틴

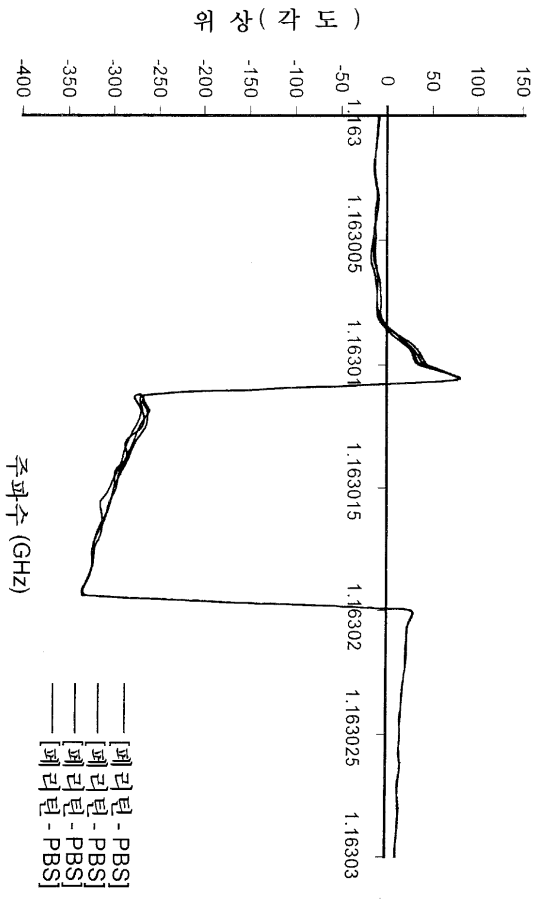
도면 6c


세 기 (dB)
-5
0
5
10
15
20
주파수 (GHz)
1.1629
1.16295
1.163
1.16305
1.1631
[폐리틴 - PBS]
[폐리틴 - PBS]
[폐리틴 - PBS]
[폐리틴 - PBS]

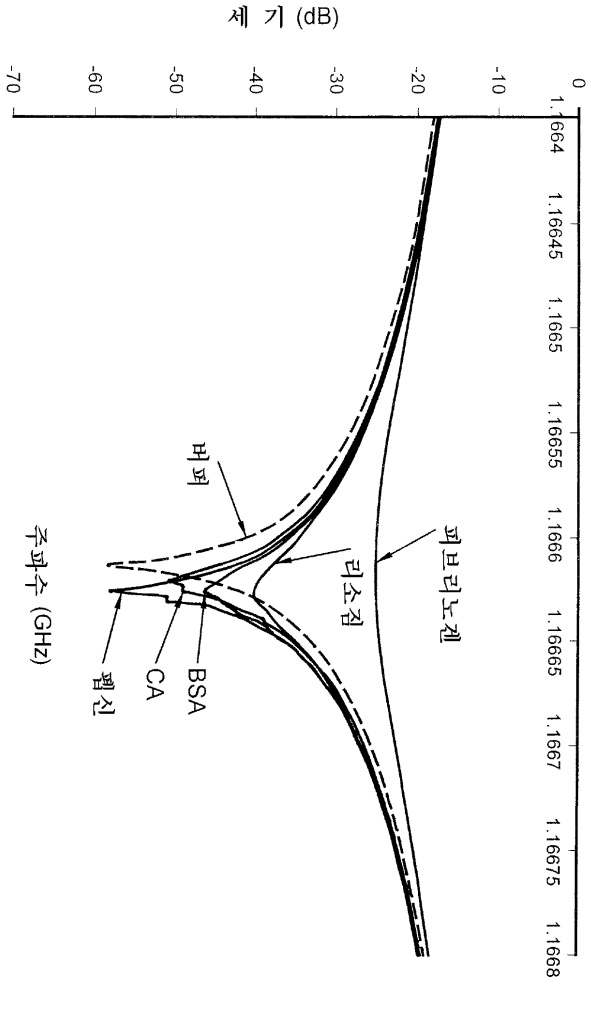
도면 6d


위 상 (각 도)
-250
-200
-150
-100
-50
0
50
100
150
200
250
1.163
1.163005
1.16301
1.163015
1.16302
1.163025
1.16303
주파수(GHz)
PBS 버퍼
페리틴
페리틴
페리틴
페리틴

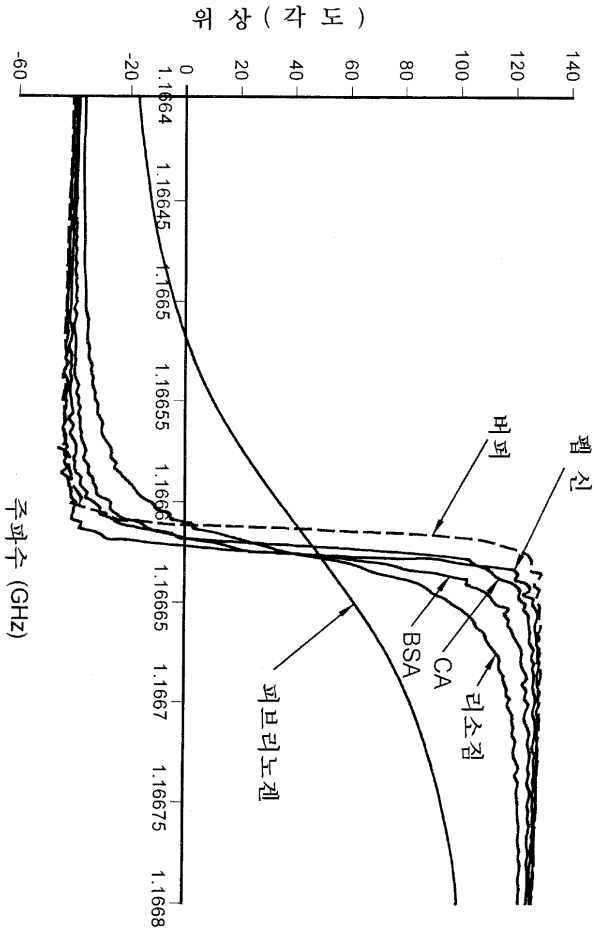
도면 6e


위 상(각 도)
-400
-350
-300
-250
-200
-150
-100
-50
0
50
100
150
1.163
1.163005
1.16301
1.163015
1.16302
1.163025
1.16303
주파수 (GHz)
[페리틴 - PBS]
[페리틴 - PBS]
[페리틴 - PBS]
[페리틴 - PBS]

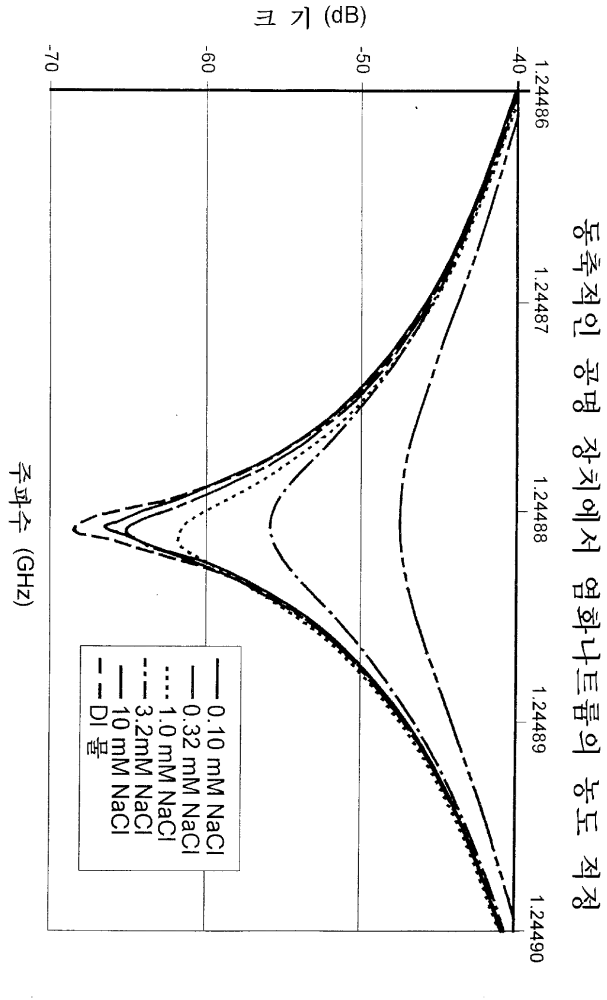
도면 6f


세 기 (dB)
0
-10
-20
-30
-40
-50
-60
-70
1.1664
1.16645
1.1665
1.16655
1.1666
1.16665
1.1667
1.16675
1.1668
주파수 (GHz)
버퍼
피브리노겐
리소짐
BSA
CA
펩신

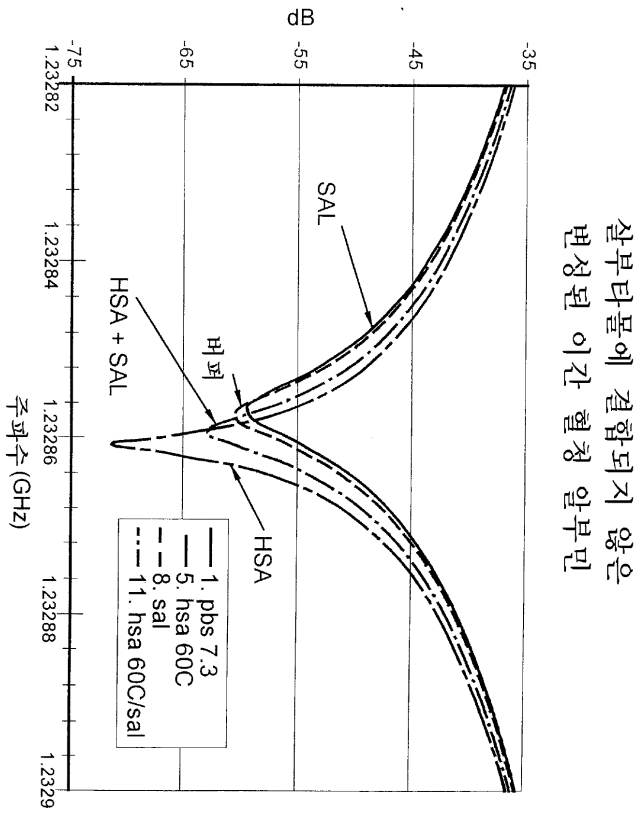
도면 6g


위 상 (각 도)
-60
-20
0
20
40
60
80
100
120
140
주파수 (GHz)
1.1664
1.16645
1.1665
1.16655
1.1666
1.16665
1.1667
1.16675
1.1668
버퍼
펩 신
BSA
CA
리소짐
퍼브리노겐

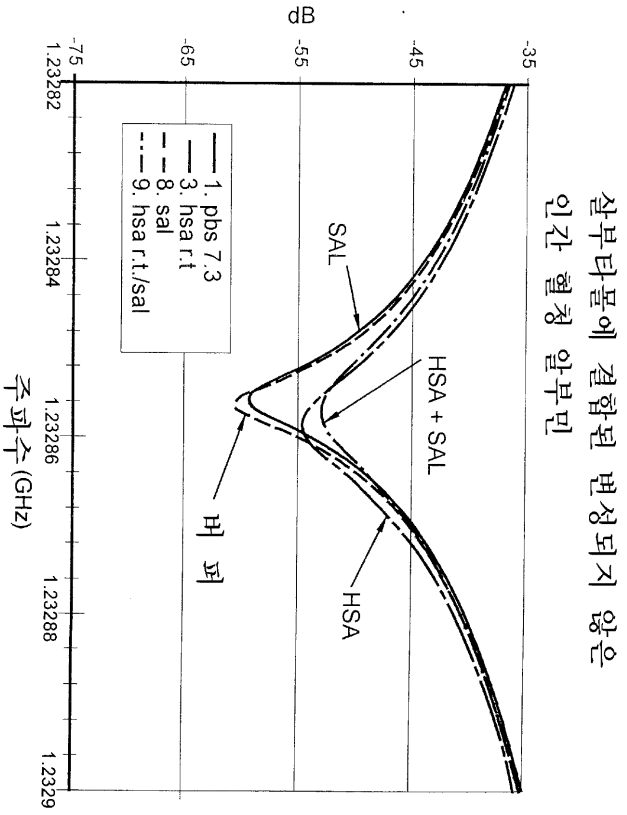
도면 6h


동축적인 공명 장치에서 염화나트륨의 농도 적정
크 기 (dB)
-40
-50
-60
-70
주파수 (GHz)
1.24486
1.24487
1.24488
1.24489
1.24490
0.10 mM NaCl
0.32 mM NaCl
1.0 mM NaCl
3.2mM NaCl
10 mM NaCl
DI 물

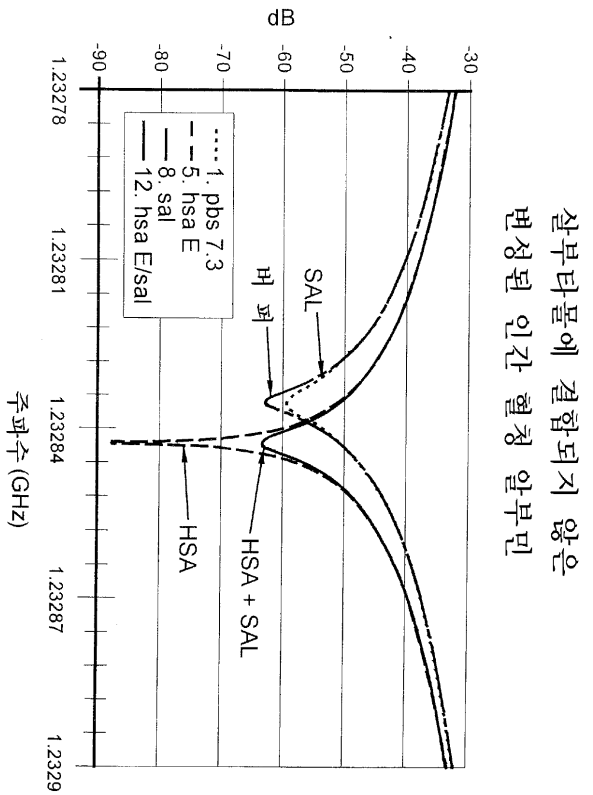
도면 6i


살부타몰에 결합되지 않은
변성된 이간 혈청 알부민
dB
-35
-45
-55
-65
-75
SAL
버퍼
HSA + SAL
HSA
1. pbs 7.3
5. hsa 60C
8. sal
11. hsa 60C/sal
1.23282
1.23284
1.23286
1.23288
1.2329
주파수 (GHz)

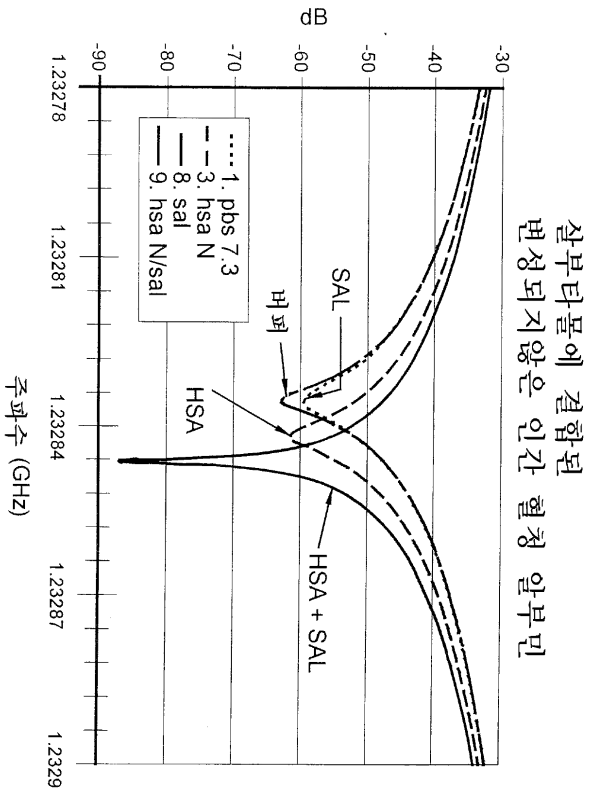
도면 6j


살부타몰에 결합된 변성되지 않은
인간 혈청 알부민
dB
-35
-45
-55
-65
-75
1.23282
1.23284
1.23286
1.23288
1.2329
주 파수 (GHz)
SAL
HSA + SAL
HSA
버 퍼
1. pbs 7.3
3. hsa r.t
8. sal
9. hsa r.t./sal

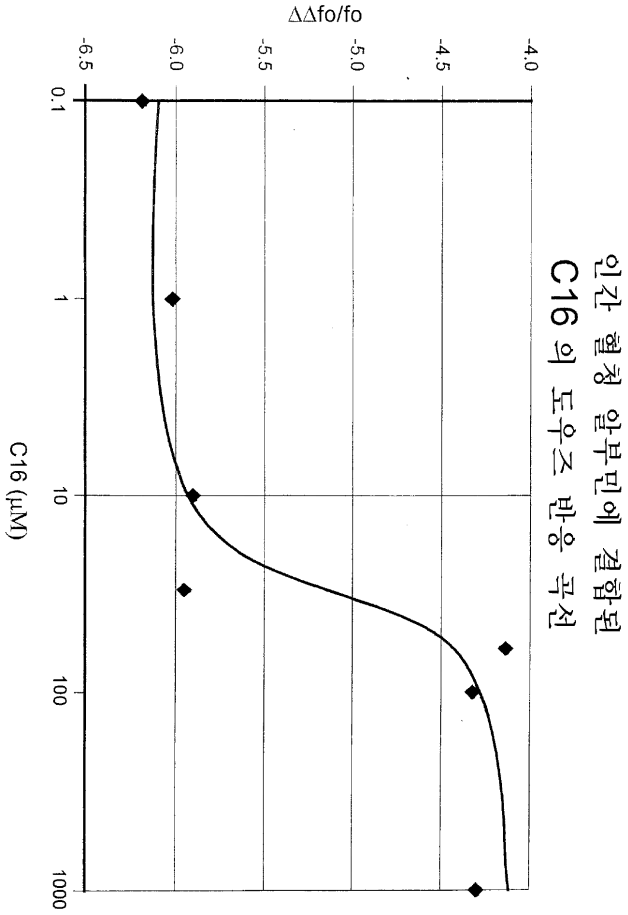
도면 6k


살부타몰에 결합되지 않은
변성된 인간 혈청 알부민
dB
-30
-40
-50
-60
-70
-80
-90
1.23278
1.23281
1.23284
1.23287
1.2329
주파수 (GHz)
1. pbs 7.3
5. hsa E
8. sal
12. hsa E/sal
SAL
버 퍼
HSA + SAL
HSA

도면 6l


살부타몰에 결합된
변성되지않은 인간 혈청 알부민
dB
-30
-40
-50
-60
-70
-80
-90
1.23278
1.23281
1.23284
1.23287
1.2329
주파수 (GHz)
1. pbs 7.3
3. hsa N
8. sal
9. hsa N/sal
SAL
버퍼
HSA
HSA + SAL

도면 6m


인간 혈청 알부민에 결합된
C16 의 도우즈 반응 곡선
ΔΔfo/fo
-4.0
-4.5
-5.0
-5.5
-6.0
-6.5
0.1
1
10
100
1000
C16 (μM)