



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년08월22일
(11) 등록번호 10-2435197
(24) 등록일자 2022년08월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/558 (2006.01) G01N 33/569 (2017.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/558 (2021.08)
G01N 33/56911 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7012044
(22) 출원일자(국제) 2015년10월05일
심사청구일자 2020년09월28일
(85) 번역문제출일자 2017년05월02일
(65) 공개번호 10-2017-0066550
(43) 공개일자 2017년06월14일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/053951
(87) 국제공개번호 WO 2016/057374
국제공개일자 2016년04월14일
(30) 우선권주장
62/060,618 2014년10월07일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020090029197 A*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
쓰리엠 이노베이티브 프로퍼티즈 컴파니
미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 피.오.박
스 33427 쓰리엠 센터
(72) 발명자
퍼시 네일
미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 피.오.박
스 33427 쓰리엠 센터
시튼 그레고리 더블유.
미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 피.오.박
스 33427 쓰리엠 센터
(74) 대리인
유미특허법인

전체 청구항 수 : 총 3 항

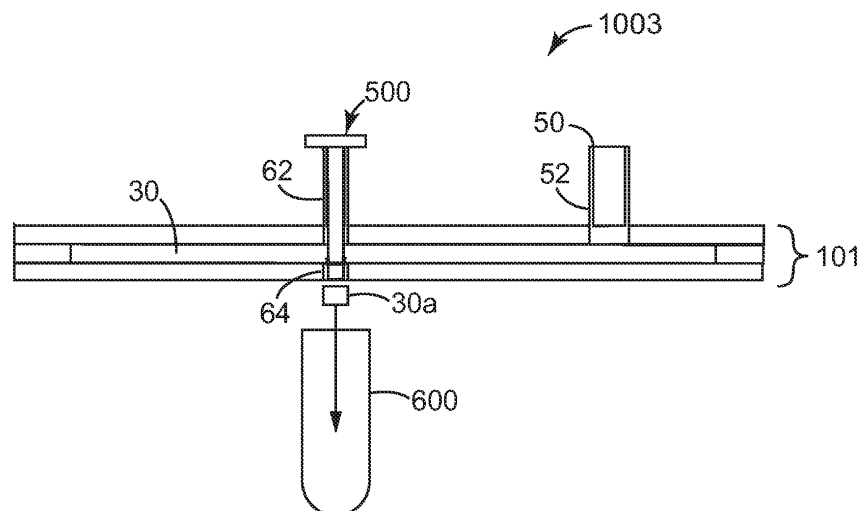
심사관 : 이수진

(54) 발명의 명칭 크로마토그래피 농축을 이용한 분석물 검출 방법

(57) 요약

장치가 제공된다. 장치는 내부, 제1 개구, 및 제2 개구를 포함하는 케이싱; 및 샘플-수용 구역 및 표적 분석물-결합 구역을 포함하는 다공성 캐리어를 포함한다. 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역까지 연장되는 제1 유체 통로를 한정한다. 다공성 캐리어의 적어도 일부는 케이싱의 내부에 배치된다. 중심 축을 포함하는 제2 유체 통로는 제1 개구 및 제2 개구로부터 케이싱을 통해 연장되며, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차한다. 중심 축은 다공성 캐리어에 대해 직교하게 배향된다. 장치를 사용하여 표적 분석물을 검출하는 방법이 또한 제공된다.

대표도 - 도12c



(56) 선행기술조사문헌

JP2003215126 A

US20040132211 A1

JP2003519362 A

JP2009540330 A

JP2011516819 A

W02012122088 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

표적 미생물을 검출하는 방법으로서,

액체 샘플을 샘플 제조 장치의 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계 - 상기 장치는,

제1 및 제2 개구를 포함하는 케이싱; 및

상기 다공성 캐리어를 포함하며;

상기 다공성 캐리어는 제1 미리 정해진 위치에 샘플-수용 구역 및 제2 미리 정해진 위치에 표적 분석물-결합 구역을 포함하고, 상기 다공성 캐리어는 상기 샘플-수용 구역으로부터 상기 표적 분석물-결합 구역을 통해 연장되는 제1 유체 통로를 한정하며;

상기 다공성 캐리어의 적어도 일부는 상기 케이싱 내에 배치되고;

제2 유체 통로가 상기 제1 개구로부터 상기 제2 개구까지 상기 케이싱을 통해 연장되며, 상기 제2 유체 통로는 상기 표적 분석물-결합 구역에서 상기 다공성 캐리어와 교차하고 탈착 부재(detachment member)와 결합하는 치수를 가짐 -;

상기 액체 샘플의 적어도 일부가 상기 샘플-수용 구역으로부터 상기 표적 분석물-결합 구역을 향하여 상기 다공성 캐리어를 통해 종방향으로 이동하게 하는 단계;

상기 액체의 상기 적어도 일부가 상기 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 상기 제1 개구로부터 상기 제2 개구로 상기 제2 유체 통로를 통해 상기 탈착 부재를 가압함(urgings)으로써 상기 표적 분석물-결합 구역의 일부를 배출시키는 단계; 및

상기 표적 분석물을 검출하기 위해 상기 표적 분석물-결합 구역의 상기 일부, 또는 그로부터 방출된(released) 세포를 처리하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 2

장치로서,

내부, 제1 개구, 및 제2 개구를 포함하는 케이싱;

샘플-수용 구역 및 표적 분석물-결합 구역을 포함하는 다공성 캐리어; 및

상기 제1 개구로부터 상기 제2 개구까지 제2 유체 통로를 횡단하는 치수를 가진 탈착 부재를 포함하며;

상기 탈착 부재의 일부는 상기 제2 유체 통로에 활주가능하게 결합되고;

상기 다공성 캐리어는 상기 샘플-수용 구역으로부터 상기 표적 분석물-결합 구역까지 연장되는 제1 유체 통로를 한정하고;

상기 다공성 캐리어의 적어도 일부는 상기 케이싱의 상기 내부에 배치되고;

제2 유체 통로는 상기 제1 개구 및 상기 제2 개구로부터 상기 케이싱을 통해 연장되는 중심 축을 포함하며, 상기 제2 유체 통로는 상기 표적 분석물-결합 구역에서 상기 다공성 캐리어와 교차하고 상기 탈착 부재와 결합하는 치수를 가지며;

상기 중심 축은 상기 다공성 캐리어에 직교하게 배향되는, 장치.

청구항 3

제2항의 장치 및 핵산 증폭용 시약을 포함하는 키트.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2014년 10월 7일자로 출원된 미국 가특허 출원 제62/060,618호에 대한 우선권을 주장하며, 이 출원의 개시 내용은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

배경 기술

[0003] 일부 경우에서, 복합 매트릭스(예를 들어, 식품, 상처 삼출물, 타액, 담, 대변) 내의 특정 세포(예를 들어, 미생물)의 검출은 어려울 수 있는데, 이는 매트릭스가 검출 시스템의 하나 이상의 컴포넌트와 간섭하는 물질들(예를 들어, 생체분자, 효소, 화학물질, 이온)을 함유하기 때문이다. 따라서, 조작자가 매트릭스에서 발견된 물질들의 억제 효과를 감소시키기 위해 다양한 과정을 사용하는 것이 일반적이다. 매트릭스 효과를 감소시키기 위한 하나의 접근법은 매트릭스-함유 샘플을 희석하여 억제 물질들의 농도를 감소시키는 것이다. 그러나, 이 접근법은 시험의 전체적인 검출 감도를 제한할 수 있다.

[0004] 샘플 매트릭스의 효과를 감소시키기 위한 다른 접근법은, 첸(Chen) 등에 의해 기술된 바와 같은, 면역자기 분리(immunomagnetic separation; IMS)를 사용하여 관심있는 세포를 분리 및/또는 정제하는 것이다 (참조: "Automated immunomagnetic separation for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 from spinach"; 2014; International Journal of Food Microbiology; 179:33-37). 이 접근법은, 그 과정이 매트릭스 물질로부터 표적 세포의 유용한 분리를 달성하기 위해 조작자 개입을 요구했던 단계들을 제거하도록 자동화되었기 때문에 인기를 얻게 되었다. 또한, IMS 과정의 사용은 검출 감도를 향상시켰다.

[0005] 샘플 제조의 발전에도 불구하고, 분석물(예를 들어, 표적세포와 연관된 분석물)을 검출하기 위해 샘플을 제조하기 위한 단순하고 신속한 과정이 여전히 필요하다.

발명의 내용

[0006] 일반적으로, 본 개시 내용은 표적 분석물(예를 들어, 특정 세포, 특정 미생물 또는 미생물들의 군의 존재와 연관된 분석물)을 검출하기 위한 방법 및 장치에 관한 것이다. 특히, 본 개시 내용은 크로마토그래피 장치를 사용하여 크로마토그래피 장치 내의 미리 결정된 위치에서 표적 분석물을 풍부화시키고, 후속적으로, 미리 결정된 위치 및/또는 표적 분석물을 장치로부터 방출하는(release) 것에 관한 것이다. 미리 결정된 위치 및/또는 표적 분석물을 장치로부터 방출한 후, 세포는 검출될 수 있으며, 선택적으로는 본 기술 분야에 공지된 다양한 검출 절차 중 하나 이상을 사용하여 식별될 수 있다. 유리하게는, 본 개시 내용의 방법 및 장치는 비-표적 분석물, 및 표적 분석물의 검출을 다른 식으로 방해할 수 있는 다른 입자 또는 분자에 비해 표적 분석물을 풍부화시킨다. 또한, 방법에 의해 달성된 풍부화는, 특히 표적 분석물이 샘플 내에서 낮은 농도로 존재할 때, 표적 분석물의 검출 감도를 증가시킨다.

[0007] 일 양태에서, 본 개시 내용은 표적 미생물을 검출하는 제1 방법을 제공한다. 방법은 액체 샘플을 샘플 제조 장치의 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계를 포함할 수 있으며; 장치는 제1 및 제2 개구를 포함하는 케이싱, 및 다공성 캐리어를 포함한다. 다공성 캐리어는 제1 미리 정해진 위치에 샘플-수용 구역 및 제2 미리 정해진 위치에 표적 분석물-결합 구역을 포함하며, 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 통해 연장되는 제1 유체 통로를 한정한다. 제2 유체 통로가 제1 개구로부터 제2 개구까지 케이싱을 통해 연장되며, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차한다. 제1 방법은 추가로, 액체 샘플의 적어도 일부가 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 향하여 다공성 캐리어를 통해 종방향으로 이동하게 하는 단계; 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 제1 개구로부터 제2 개구로 제2 유체 통로를 통해 탈착 부재(detachment member)를 가압함(urgening)으로써 표적 분석물-결합 구역의 일부를 배출시키는 단계; 및 표적 미생물의 표시(indication)를 검출하기 위해 표적 분석물-결합 구역의 일부, 또는 그로부터 방출된 세포를 처리하는 단계를 포함할 수 있다.

[0008] 다른 양태에서, 본 개시 내용은 표적 미생물을 검출하는 제2 방법을 제공한다. 방법은 액체 샘플을 샘플 제조 장치의 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계를 포함할 수 있으며; 장치는 제1 및 제2 개구를 포함하는 케이싱, 및

다공성 캐리어를 포함한다. 다공성 캐리어는 제1 미리 정해진 위치에 샘플-수용 구역 및 제2 미리 정해진 위치에 표적 분석물-결합 구역을 포함하며, 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 통해 연장되는 제1 유체 통로를 한정한다. 제2 유체 통로가 제1 개구로부터 제2 개구까지 케이싱을 통해 연장되며, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차한다. 제2 방법은 추가로, 액체 샘플의 적어도 일부가 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 향하여 다공성 캐리어를 통해 중방향으로 이동하게 하는 단계; 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 제2 유체 통로를 통해 표적 방출 용액(target release solution)을 가압함으로써, 제2 유체 통로에 존재하는 경우 표적 미생물을 포함하는 표적 방출 용액 부분을 장치로부터 배출시키는 단계; 및 표적 미생물의 표시를 검출하기 위해 방출 용액 부분을 처리하는 단계를 포함할 수 있다.

[0009] 제1 및 제2 방법의 상기 실시 형태들 중 임의의 것에서, 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 방법은 제2 유체 통로에 의해 다공성 캐리어를 통해 세척 용매를 통과시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 제1 및 제2 방법의 상기 실시 형태들 중 임의의 것에서, 방법은 제2 개구에 근접하게 리셉터클을 위치시키는 단계를 추가로 포함할 수 있고, 표적 분석물-결합 구역의 일부를 배출시키거나 방출 용액 부분을 배출시키는 단계는 리셉터클 내로 표적 분석물-결합 구역의 일부를 이동시키거나 방출 용액 부분을 이동시키는 단계를 추가로 포함한다.

[0010] 또 다른 양태에서, 본 개시 내용은 장치를 제공한다. 장치는 내부, 제1 개구, 및 제2 개구를 포함하는 케이싱; 및 샘플-수용 구역 및 표적 분석물-결합 구역을 포함하는 다공성 캐리어를 포함할 수 있다. 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역까지 연장되는 제1 유체 통로를 한정한다. 다공성 캐리어의 적어도 일부는 케이싱의 내부에 배치된다. 중심 축을 포함하는 제2 유체 통로는 제1 개구 및 제2 개구로부터 케이싱을 통해 연장되며, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차한다. 중심 축은 다공성 캐리어에 직교하게 배향될 수 있다.

[0011] 상기 실시 형태들 중 임의의 것에서, 케이싱은 샘플 포트로부터 케이싱의 내부로 통로를 따라 연장되는 제1 도관을 추가로 포함할 수 있다. 상기 실시 형태들 중 임의의 것에서, 케이싱은 제1 개구로부터 케이싱의 내부로 통로를 따라 연장되는 제2 도관을 추가로 포함할 수 있다. 상기 실시 형태들 중 임의의 것에서, 장치는 제2 개구에 근접하게 배치된 흡수체를 포함할 수 있으며, 흡수체는 다공성 캐리어로부터 이격된다. 상기 실시 형태들 중 임의의 것에서, 장치는 제1 개구로부터 제2 개구까지 제2 유체 통로를 횡단하는 치수를 가진 탈착 부재를 추가로 포함할 수 있으며, 탈착 부재의 일부는 제2 유체 통로에 활주가능하게 결합된다. 상기 실시 형태들 중 임의의 것에서, 탈착 부재는 절단 구조물(cutting structure)을 포함할 수 있다. 상기 실시 형태들 중 임의의 것에서, 탈착 부재는 제2 도관을 통해 수성 액체를 가압하도록 구성될 수 있다.

[0012] 또 다른 태양에서, 본 개시 내용은 키트를 제공한다. 키트는 상기 실시 형태들 중 임의의 것의 장치를 포함할 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 키트는 세척 액체를 추가로 포함할 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 키트는 방출 용액을 추가로 포함할 수 있다.

[0013] 용어 "포함한다" 및 그의 변형은 이들 용어가 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용 및 청구범위에서 나타날 경우 제한적 의미를 갖지 않는다.

[0014] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 단수형 용어("a", "an", "the"), "적어도 하나" 및 "하나 이상"은 상호교환적으로 사용된다. 따라서, 예를 들어, 결합 파트너는 "하나 이상의" 결합 파트너를 의미하는 것으로 해석될 수 있다.

[0015] 용어 "및/또는"은 열거된 요소들 중 하나 또는 전부, 또는 열거된 요소들 중 임의의 둘 이상의 조합을 의미한다.

[0016] 또한, 본 명세서에서 종점(endpoint)에 의한 수치 범위의 언급은 그 범위 내에 포함된 모든 수를 포함한다(예를 들어, 1 내지 5는 1, 1.5, 2, 2.75, 3, 3.80, 4, 5 등을 포함함).

[0017] 본 발명의 상기의 개요는 본 발명의 각각의 개시된 실시 형태 또는 모든 구현예를 설명하고자 하는 것은 아니다. 하기 설명은 예시적인 실시 형태를 더욱 구체적으로 예시한다. 본 출원 전체에 걸쳐 여러 곳에서, 예들의 목록을 통해 지침이 제공되며, 이 예들은 다양한 조합으로 사용될 수 있다. 각각의 경우에, 열거된 목록은 단지 대표적인 그룹으로서의 역할을 하며, 배타적인 목록으로 해석되어서는 안 된다.

[0018] 이들 및 다른 실시 형태의 추가 상세 사항이 첨부 도면 및 하기의 설명에서 설명된다. 다른 특징, 목적 및 이

점은 설명 및 도면으로부터, 그리고 청구범위로부터 명확하게 될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0019]

도 1은 본 개시 내용에 따른 샘플 제조 장치의 일 실시 형태의 부분 분해 사시도이다.

도 2는 도 1의 장치의 평면도이다.

도 3은 도 1의 장치의 저면도이다.

도 4는 선 4—4를 따라 취한 도 2의 장치의 측단면도이며, 이때 케이싱을 통해 연장되는 제2 유체 통로를 보여 주기 위해 커버 요소들 중 2개가 제거되어 있다.

도 5는 본 개시 내용에 따른 기재(substrate)에 의해 지지되는 다공성 캐리어의 일 실시 형태의 사시도이다.

도 6은 도 5의 기재-지지된 다공성 캐리어의 저면도이다.

도 7은 제2 개구에 인접하게 배치된 흡수체를 포함하는 샘플 제조 장치의 일 실시 형태의 측단면도이다.

도 8은 본 개시 내용에 따른 샘플을 로딩하기 위한 도관 및 제2 유체 통로를 따라 연장되는 도관을 포함하는 샘플 제조 장치의 일 실시 형태의 분해 사시도이다.

도 9는 도 8의 샘플 제조 장치의 평면도이다.

도 10은 선 10—10을 따라 취한 도 9의 장치의 측단면도이다.

도 11a는 본 개시 내용에 따른 탈착 부재를 포함하는 샘플 제조 장치의 부분 분해 측단면도이다.

도 11b는 도 11a의 탈착 부재의 팁의 상세도이다.

도 12a는, 내부에서 제1 동작 위치에 배치된 탈착 부재를 포함하는, 도 10의 샘플 제조 장치의 부분 단면의 측면도이다.

도 12b는, 내부에서 제2 동작 위치에 배치된 탈착 부재를 포함하는, 도 10의 샘플 제조 장치의 부분 단면의 측면도이다.

도 12c는, 내부에서 제3 동작 위치에 배치된 탈착 부재를 포함하는, 도 10의 샘플 제조 장치의 부분 단면의 측면도이다.

도 13은 본 개시 내용에 따른 케이싱 외부로 연장되는 샘플-수용 구역을 갖는 다공성 캐리어를 포함하는 샘플 제조 장치의 부분 분해 사시도이다.

도 14는 도 13의 장치의 평면도이다.

도 15는 선 15—15를 따라 취한 도 14의 장치의 측단면도이다.

도 16은 도 15의 장치의 측면도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020]

본 개시 내용의 임의의 실시 형태를 상세히 설명하기 전에, 본 발명은 그의 응용에 있어서 하기의 설명에 기재되거나 하기의 도면에 도시된 구성의 상세 사항 및 구성요소들의 배열로 제한되지 않음을 이해하여야 한다. 본 발명은 다른 실시 형태들이 가능하며 다양한 방식으로 실시되거나 수행될 수 있다. 또한, 본 명세서에서 사용된 어법 및 용어는 설명의 목적을 위한 것이며, 제한으로서 여겨져서는 안 된다는 것이 이해되어야 한다. 본 명세서에서 "구비하는", "포함하는", 또는 "갖는" 및 이들의 변형의 사용은 그 뒤에 열거된 항목 및 그 등가물 뿐만 아니라 추가 항목을 포괄하는 것으로 의미된다. 달리 명시되거나 제한되지 않는 한, 용어 "연결된" 및 "결합된" 및 이들의 변형은 광범위하게 사용되고, 직접 및 간접 둘 모두의 연결 및 결합을 포괄한다. 또한, "연결된" 및 "결합된"은 물리적인 또는 기계적인 연결 또는 결합으로 제한되지 않는다. 다른 실시 형태가 이용될 수 있으며, 구조적 또는 논리적 변화가 본 개시 내용의 범주로부터 벗어남이 없이 이루어질 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 더욱이, "전방", "후방", "상부", "하부" 등과 같은 용어는, 단지 요소들이 서로 관련될 때 요소들을 기술하기 위해 사용되지만, 결코 장치의 특정 배향을 말하거나, 필요한 또는 요구되는 장치의 배향을 암시하거나 나타내거나, 또는 본 명세서에 기술된 본 발명이 사용 중에 어떻게 사용, 장착, 디스플레이 또는 위치될 것인지를 명시함을 의미하지 않는다.

- [0021] 본 개시 내용은 일반적으로 표적 분석물(예를 들어, 특정 표적 세포, 표적 미생물 또는 미생물들의 군과 연관된 분석물)의 검출을 용이하게 하는 방법 및 장치에 관한 것이다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 "표적 세포"는, 샘플에서의 그 존재(또는 부재)가 결정되어야 하는 특정 세포(예를 들어, 정상 세포, 암세포)를 지칭한다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 "표적 미생물"은, 샘플에서의 그 존재(또는 부재)가 결정되어야 하는 특정 미생물을 지칭한다. 표적 미생물은 병원성 유기체일 수 있거나, 또는 그것은 그 존재가 다른 유기체들 - 그 중 일부는 병원성일 수 있음 - 의 존재와 연관되는 비병원성 유기체일 수도 있다. 특히, 본 개시 내용은 크로마토그래피 장치를 채용하는 방법에 관한 것이며, 크로마토그래피 장치는 크로마토그래피 장치를 분해하거나 부분적으로 분해할 필요 없이 그 내부에 포획된 표적 분석물의 제거를 용이하게 하도록 구성된다. 유리하게는, 본 개시 내용의 방법 및 장치는 조작자가 포획된 분석물들 중 적어도 하나를 추가 분석을 위해 방출할 수 있게 한다. 더욱더 유리하게는, 적어도 하나의 포획된 분석물은 그 일부를 잠재적인 오염원에 과도하게 노출시키지 않으면서 리셉터클(예를 들어, 반응 튜브) 내로 쉽게 그리고 직접적으로 방출될 수 있다.
- [0022] 본 개시 내용의 하나의 양태는, 그것이 다양한 샘플 물질에 존재하는 표적 분석물을 검출하기 위한 방법에 사용될 수 있다는 것이다. 본 개시 내용의 장치 및 방법은 세포(예를 들어, 샘플 물질(예를 들어, 식품 샘플, 토양 샘플, 물 샘플, 임상 샘플)에 존재하는 미생물)을 검출하는 것이 바람직한 다양한 응용에서 사용될 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 샘플 물질은 식품 표면(예를 들어, 소지육, 농산물의 외부 표면), 식품 가공 표면, 물 또는 수막 표면, 환자 표면, 환자 치료 표면, 병원 환경 표면, 임상 환경 표면, 및 법의학 환경 표면을 포함하지만 이로 제한되지 않는 다양한 표면으로부터 획득될 수 있다. 샘플은 실질적으로 고체, 반고체, 젤라틴성, 또는 액체 물질로, 단독으로 또는 다양한 조합으로 이루어질 수 있다. 본 개시 내용의 방법의 임의의 실시 형태에서, 샘플은 다공성 캐리어를 통해 (예를 들어, 모세관력에 의해) 이동할 수 있는 액체(예를 들어, 수성 액체) 중에 현탁된다. 본 개시 내용의 장치뿐만 아니라 본 발명의 방법은, 원래의 샘플로부터 하나 이상의 관심 있는 세포의 존재를 정성적으로 또는 정량적으로 결정하는 데 사용될 수 있다.
- [0023] 관심있는 예시적인 분석물(즉, "표적 분석물")은 특정 조건(예를 들어, 감염, 의학적 상태, 오염)을 나타내는 분석물을 포함한다. 예를 들어, 특정 미생물들은 식품-매개 질병을 일으킬 수 있으며, 따라서 식품 샘플 내에서의 그것들의 존재는 식품이 오염되어 소비에 부적합할 수 있음을 나타낸다. 본 개시 내용의 방법의 임의의 실시 형태에서, 표적 분석물은 특정 미생물 또는 미생물들의 군의 존재와 연관될 수 있다. 또한, 특정 비-미생물성 물질(예를 들어, 알레르겐)은, 식품에 불충분한 양으로 존재할 경우, 바람직하지 않은 영향을 일으킬 수 있다. 본 개시 내용의 방법의 임의의 실시 형태에서, 표적 분석물은 특정 알레르겐의 존재와 연관될 수 있다. 다른 예시적인 표적 분석물은 샘플 내의 특정 세포(예를 들어, 암세포)의 존재를 나타내는 분자일 수 있다. 본 개시 내용의 방법의 임의의 실시 형태에서, 표적 분석물은 특정 유형의 세포의 존재와 연관될 수 있다.
- [0024] 검출할 관심있는 예시적 세포는 황색 포도상구균(*S. aureus*)이다. 이것은 하기를 포함하는 광범위한 감염을 일으키는 병원체이다: 작은 피부 농양 및 창상 감염과 같은 표면적 병변; 심장 내막염, 폐렴, 및 패혈증과 같은 전신적이고 생명을 위협하는 질환; 및 생명 위협적인 상태; 식중독 및 독성 쇼크 증후군과 같은 중독증. 몇몇 균주(예를 들어, 메티실린 내성 황색 포도상구균 또는 MRSA)는 몇 가지를 제외한 모든 선택 항생제(select antibiotics)에 대해 내성을 갖는다.
- [0025] 식품 가공 영역 및 샘플에서 검출할 관심있는 예시적 분석물은 리스테리아(*Listeria*) 속의 구성원이다. 리스테리아는 그람 양성, 막대형 세균으로서 분류되며, 리스테리아 모노사이토제니스(*Listeria monocytogenes*), 리스테리아 이노쿠아(*L. innocua*), 리스테리아 웰쉬메리(*L. welshimeri*), 리스테리아 실리게리(*L. seeligeri*), 리스테리아 이바노비(*L. ivanovii*), 및 리스테리아 그레이(*L. grayi*) 종으로 이루어진다. 이들 중에서, 리스테리아 모노사이토제니스는 대부분의 인간 리스테리아증 사례의 원인이며, 면역억화된 임산부, 노인, 및 신생아는 감염에 대한 증가된 민감성을 갖는다. 리스테리아증의 가장 흔한 증상은 패혈증, 수막염, 및 유산이다.
- [0026] 분석 목적을 위한 특정한 관심있는 다른 미생물은 원핵 및 진핵 유기체, 특히 그람 양성 세균, 그람 음성 세균, 진균류, 마이코플라스마, 및 효모를 포함한다. 특히 관련 유기체에는 엔테로박테리아세아에(*Enterobacteriaceae*) 과, 또는 마이코코카세아에(*Micrococcaceae*) 과 또는 스태필로코커스 종(*Staphylococcus* spp.), 스트렙토코커스 종(*Streptococcus* spp.), 슈도모나스 종(*Pseudomonas* spp.), 엔테로코커스 종(*Enterococcus* spp.), 살모넬라 종(*Salmonella* spp.), 레지오넬라 종(*Legionella* spp.), 시겔라 종(*Shigella* spp.), 예르시니아 종(*Yersinia* spp.), 엔테로박터 종(*Enterobacter* spp.), 에세리키아 종(*Escherichia* spp.), 바실러스 종(*Bacillus* spp.), 비브리오 종(*Vibrio* spp.), 클로스트리듐 종(*Clostridium* spp.), 코리네박테리아 종(*Corynebacteria* spp.) 뿐만 아니라, 아스퍼길러스 종(*Aspergillus* spp.), 푸사리움 종(*Fusarium* spp.), 및 칸디다 종(*Candida* spp.) 속의 구성원이 포함된다. 특히 독성 유기체에는 스태필로코커

스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*; 메티실린 내성 스탕필로코커스 아우레우스(MRSA)와 같은 내성 균주 포함), 에스. 에피더미디스(*S. epidermidis*), 스트렙토코커스 뉴모니아에(*Streptococcus pneumoniae*), 에스. 아갈락티아에(*S. agalactiae*), 에스. 피오게네스(*S. pyogenes*), 엔테로코커스 파에칼리스(*Enterococcus faecalis*), 반코마이신 내성 엔테로코커스(Vancomycin Resistant *Enterococcus*; VRE), 반코마이신 내성 스탕필로코커스 아우레우스(VRSA), 반코마이신 중간-내성 스탕필로코커스 아우레우스(VISA), 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*), 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 대장균(*Escherichia coli*), 아스페길러스 니거(*Aspergillus niger*), 에이. 푸미가터스(*A. fumigatus*), 에이. 클라바터스(*A. clavatus*), 푸사리움 솔라니(*Fusarium solani*), 예프. 옥시스포룸(*F. oxysporum*), 예프. 클라미도스포룸(*F. chlamydosporum*), 비브리오 콜레라(*Vibrio cholera*), 브이. 파라헤몰리티커스(*V. parahaemolyticus*), 살모넬라 콜레라수이스(*Salmonella choleraesuis*), 에스. 티피(*S. typhi*), 에스. 티피무리움(*S. typhimurium*), 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 씨. 글라브라타(*C. glabrata*), 씨. 크루세이(*C. krusei*), 엔테로박터 사카자키(*Enterobacter sakazakii*), 대장균 O157, ESBL-함유 미생물, 및 다제 내성 그람 음성 간균(MDR)이 포함된다.

[0027] 도 1 내지 도 4는 본 개시 내용에 따른 샘플 제조 장치(1000)의 일 실시 형태의 다양한 도면을 도시한다. 샘플 제조 장치(1000)는 다공성 캐리어(30)의 적어도 일부를 둘러싸는 케이싱(100)을 포함한다. 임의의 실시 형태에서, 케이싱(100)은 중공형일 수 있다(즉, 그것은 다공성 캐리어(30)가 배치되는 공극 공간을 포함할 수 있다). 도 1 내지 도 4의 예시된 실시 형태에 도시된 바와 같이, 적어도 다공성 캐리어(30)의 부분의 측면에 배치되거나 전체 다공성 캐리어를 둘러싸는, 선택적 스페이서(40)가 있다. 본 명세서의 예시된 실시 형태에서 단일 부품으로 도시되었지만, 스페이서는 상호연결부를 가질 수도 있고 갖지 않을 수도 있는 복수의 부품(도시되지 않음)을 포함할 수 있다는 것이 고려된다. 스페이서(40)는 케이싱(100)의 부품들을 이격시켜 유지함으로써, 다공성 캐리어(30)가 배치되는 공극 공간을 생성하는 기능을 한다.

[0028] 다공성 캐리어(30)는 샘플-수용 구역(32) 및 샘플-수용 구역으로부터 이격된 표적 분석물-결합 구역(34)을 포함한다. 따라서, 다공성 캐리어(30)는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역까지 연장되는 제1 유체 통로(70)를 한정한다. 따라서, 액체 샘플(예를 들어, 수성 액체 샘플(도시되지 않음))이 다공성 캐리어(30)와 (예를 들어, 샘플-수용 구역(32)에서) 접촉할 때, 샘플 내의 액체의 적어도 일부는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역(34)으로 이동한다. 임의의 실시 형태에서, 액체는 예컨대 모세관력, 중력, 원심력, 또는 상기 힘들 중 임의의 둘 이상의 조합에 의해 다공성 캐리어(30)를 통해 이동한다. 임의의 실시 형태에서, 다공성 캐리어(30)는 일반적으로 편평할(즉, 시트형) 수 있고, 그에 의해 평면을 한정할 수 있다.

[0029] 도 1 내지 도 4의 예시된 실시 형태에서, 케이싱(100)은 케이싱의 제1 면을 한정하는 제1 부품(10) 및 케이싱의 제1 면 반대편의 제2 면을 한정하는 제2 부품(20)을 포함하는 2개의 개별적으로 형성된 부품의 조립체를 포함한다. 제1 부품(10)은 외향의 제1 면(12) 및 내향의 제2 면(14)을 갖는다. 제2 면(14)은 다공성 캐리어(30)에 대면한다. 제2 부품(20)은 외향의 제3 면(22) 및 외향의 제4 면(24)을 갖는다. 제3 면(22)은 다공성 캐리어(30)에 대면한다. 예시된 실시 형태의 케이싱(100)은 다공성 캐리어(30)를 둘러싸는 것을 돕는 선택적 스페이서(40)를 추가로 포함한다.

[0030] 임의의 실시 형태에서, 제1 부품(10)은 본 기술 분야에 공지된 공정(예를 들어, 압출, 성형, 주조, 스탬핑)을 사용하여 형성되는 금속, 유리, 또는 중합체 재료(예를 들어, 폴리올레핀, 폴리에스테르, 폴리스티렌, 또는 이들의 조합)를 포함할 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 제2 부품(20)은 본 기술 분야에 공지된 공정(예를 들어, 압출, 성형, 주조, 스탬핑, 3D 인쇄)을 사용하여 형성되는 금속, 유리, 또는 중합체 재료(예를 들어, 폴리올레핀, 폴리에스테르, 폴리스티렌, 또는 이들의 조합)를 포함할 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 제1 부품(10)은 제2 부품(20)과 동일한 재료 및/또는 제2 부품(20)과 상이한 재료를 포함할 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 케이싱(100)의 제1 부품(10) 전체 또는 그 일부, 및 제2 부품(20) 전체 또는 그 일부는 광투과성인 재료(예를 들어, 중합체 재료)로 제조된다. 따라서, 다공성 캐리어(30) 상에 그리고/또는 그 내에 배치된 광학적으로 검출가능한 표시기는 케이싱(100)을 통해 그것을 관찰함으로써 광학적으로(예를 들어, 시각적으로) 검출될 수 있다.

[0031] 바람직하게는, 제1 부품(10) 및 제2 부품(20)은 둘 다 내수성 재료를 포함하고/하거나 제2 면(14) 및 제3 면(22) 상에 배치된 내수성 코팅(예를 들어, 소수성 접착제의 코팅, 도시되지 않음)을 추가로 포함한다. 선택적 소수성 접착제는 제2 면(14) 상에 존재하는 경우, 제1 부품(10)을 스페이서(40), 다공성 캐리어(30), 및/또는 제2 부품(20)에 결합할 수 있다. 유사하게, 선택적 소수성 접착제(접착제 층(26))는, 제3 면(22) 상에 존재할 때, 제2 부품(20)을 스페이서(40), 다공성 캐리어(30), 및/또는 제1 부품(10)에 결합할 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 스페이서(40)는 스페이서(40)를 제1 부품(10) 및/또는 제2 부품(20)에 결합하는 것을 용이하게 하기

위해 어느 하나의 면 또는 두 면 상에 코팅된 선택적 접착제 층(도시되지 않음)을 가질 수 있다.

- [0032] 임의의 실시 형태에서, 장치의 케이싱은 단일 부품(도시되지 않음)일 수 있다는 것이 고려된다. 단일형 케이싱은 예를 들어, 본 기술 분야에 공지된 공정(예를 들어, 사출 성형)을 사용하여 열가소성 중합체를 성형함으로써 형성될 수 있다. 단일형 케이싱은, 전체 다공성 캐리어 또는 그 일부가 케이싱 내로 삽입될 수 있는, 개구(예를 들어, 밀봉가능한 개구)를 포함할 수 있다.
- [0033] 도면을 참조하면, 케이싱(100)은 샘플 포트(50), 샘플 포트로부터 이격된 제1 개구(60), 및 제1 개구 반대편의 제2 개구(64)를 포함한다. 제1 개구(60) 및 제2 개구(64)는 바람직하게는, 물체가 제1 개구(60) 및 제2 개구(64) 둘 모두를 통과하는 실질적으로 직선(도시되지 않음)을 따라 지나갈 수 있도록, 정렬되거나 또는 부분적으로 정렬된다. 제1 개구(60)와 제2 개구(64)의 크기는 서로 상이하거나 또는 동일할 수 있다. 샘플 포트(50)는 제1 유체 통로(본 명세서에서 기술된 제1 유체 통로(70))의 원점에 근접하게 배치되며, 제1 유체 통로는 다공성 캐리어(30)를 통해 샘플 포트(50)로부터 제1 개구(60)로 그리고 그것을 넘어 연장된다.
- [0034] 샘플 포트(50) 및 제1 개구(60)는 선택적으로 케이싱(100)의 동일한 면 상에, 그리고 동일한 부품으로 배치된다. 샘플 포트(50)는 다공성 캐리어의 샘플-수용 구역(32)에 근접하게 다공성 캐리어(30)에의 접근을 제공한다. 따라서, 도 1 내지 도 4의 예시된 실시 형태에서, 샘플-수용 구역(32)은 케이싱(100)의 내부에 배치된다. 제1 개구 및 제2 개구(각각 제1 개구(60) 및 제2 개구(64))는 케이싱(100)을 통해 연장되는 제2 유체 통로의 말단들을 한정한다.
- [0035] 제2 유체 통로(74)(도 4)는 중심 축(75)을 포함하고 미리 결정된 위치(즉, 본 명세서에서 기술된 표적 분석물-결합 구역(34))에서 다공성 캐리어(30)와 교차한다. 임의의 실시 형태에서, 제2 유체 통로(74)의 경로는 실질적으로 직선이다. 따라서, 제1 개구(60) 및 제2 개구(64) 각각은 표적 분석물-결합 구역(34)에 근접하게 다공성 캐리어(30)에의 제2 유체 통로(74)를 통한 직접 접근을 제공한다. 본 개시 내용에 따른 장치의 임의의 실시 형태에서, 제2 유체 통로(74)의 중심 축(75)은 다공성 캐리어(30)에 의해 한정된 제1 유체 통로에 직교하게 배향된다.
- [0036] 제2 유체 통로(74)는 다음의 적어도 두 기능을 제공한다: i) 그것은 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역(34)을 통해 액체(예를 들어, 완충제와 같은 수성 액체)를 통과시키는 유체 통로를 제공하고, ii) 그것은, 탈착 부재(본 명세서에 기술됨)가 장치(1000) 내로 삽입되고 제2 유체 통로(74)를 통해 가압됨으로써, 다공성 캐리어(30)의 표적 분석물-결합 구역(34)의 적어도 일부, 또는 대안적으로 그 전체를 탈착시킬 수 있는 입구(예를 들어, 제1 개구(60))뿐만 아니라, 표적 분석물-결합 구역의 탈착된 부분이 장치로부터 배출될 수 있는 출구(예를 들어, 제2 개구(64))를 제공한다. 대안적으로, 제2 개구(64)는 입구로서 기능할 수 있고 제1 개구(60)는 출구로서 기능할 수 있다는 것이 고려된다.
- [0037] 임의의 실시 형태에서, 제1 개구(60) 및 제2 개구(64) 중 어느 하나 또는 둘 모두는 액체 분배 기구(예를 들어, 주사기)를 수용하는 형상 및 치수를 가질 수 있다. 개구(들)는 추가로, 액체 분배 기구와 (예를 들어, 마찰 끼워맞춤에 의해) 결합됨으로써 그 결합부가 액체 누출에 대해 실질적으로 밀봉되도록 하는 치수를 가질 수 있다. 유리하게는, 이러한 구성을 갖는 장치는 양압, 부압 또는 이들의 조합을 사용하여 다공성 매체(30)의 표적 분석물-결합 구역(34)을 통해 액체(예를 들어, 완충 용액)를 통과시키는 것을 용이하게 한다.
- [0038] 임의의 실시 형태에서, 샘플 제조 장치(1000)는 선택적으로, 샘플 포트(50), 제1 개구(60), 및/또는 제2 개구(64)를 각각 제거가능하게 덮는 하나 이상의 커버 요소(예를 들어, 각각 제1 커버 요소(68c), 제2 커버 요소(68a), 및 제3 커버 요소(68b))를 추가로 포함할 수 있다. 커버 요소들(68a 내지 68c)은 적합한 재료(예를 들어, 플라스틱)로 제조될 수 있고, 예를 들어, 포트 또는 개구에의 마찰 끼워맞춤, 스냅 끼워맞춤, 또는 스크류-인(screw-in) 연결을 제공하는 치수 및 형상을 가질 수 있다. 대안적으로, 임의의 실시 형태에서, 커버 요소는 예를 들어, 포트 또는 개구로부터 연장되는 플랜지(도시되지 않음)에의 마찰 끼워맞춤, 스냅 끼워맞춤, 또는 스크류-인 연결을 제공하는 치수를 가질 수 있다. 대안적으로, 임의의 실시 형태에서, 커버 요소들(68a 내지 68c)은, 개구 위에 놓이며, 선택적으로 도 1 내지 도 4에 도시된 바와 같이 커버 요소들을 케이싱(100)에 제거가능하게 고정하는 접착제 코팅(도시되지 않음)을 포함하는, 플라스틱 필름, 금속 호일 등의 얇은 층을 포함할 수 있다.
- [0039] 임의의 실시 형태에서, 커버 요소들(커버 요소들(68a 내지 68c)) 중 하나 이상은 파쇄성(frangible)일 수 있다. 따라서, 전술한 바와 같이 제2 유체 통로를 통해 탈착 부재를 가압하는 것은, 탈착 부재를 제2 커버 요소(68a) 및/또는 제3 커버 요소(68b)를 통해 가압하는 것을 추가로 포함한다.

- [0040] 다공성 캐리어(30)는 액체 샘플의 가용화된 및/또는 현탁된 성분들(예를 들어, 세포, 단백질, 핵산, 염)이 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 향하여 종방향으로(예를 들어, 측방향으로) 위킹(wicking) 또는 유동하는 것을 허용한다. 일반적으로, 측방향 유동 장치는 다공성 재료의 스트립(예를 들어, 4 내지 8 mm x 40 내지 80 mm 치수의)의 형태이다. 바람직하게는, 다공성 재료는 예를 들어, 니트로셀룰로오스 막, 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF), 나일론 또는 단일 다공성 재료 매트릭스(예를 들어, FUSION 5™(영국 미들섹스 소재의 와트만(Whatman))), 그리고 미국 특허 공개 제2006/0040408호에 기재된 바와 같은)로 구성된다.
- [0041] 샘플-수용 구역(32)은 샘플-함유 액체(도시되지 않음)가 그 위에 적용되는 다공성 캐리어(30)의 영역이고, 일단 적용되면, 샘플 함유 액체는 그로부터 종방향으로(예를 들어, 모세관 작용을 통해) 캐리어(30)를 통해 표적 분석물-결합 구역(34)을 향하여 이동한다. 막 필터를 통한 수직 유동과 관련하여, 예를 들어, 다공성 캐리어(30)를 통한 샘플의 종방향 이동은, 유리하게는, 그렇지 않으면 표적 분석물의 검출을 억제하거나 방해할 수 있는 입자(예를 들어, 토양, 먼지, 식품 입자, 비-표적 세포) 및/또는 분자(예를 들어, 단백질, 지방, 염, 킬레이트제)로부터 샘플 내의 표적 분석물(예를 들어, 미생물 또는 그와 연관된 분석물)을 분리하는 것을 개선한다. 본 명세서에서 사용된 "표적 분석물"은 관심있는 분자를 지칭한다. 임의의 실시 형태에서, "표적 분석물"은 특정 조건(예를 들어, 감염, 오염, 질병 상태)의 존재를 나타낼 수 있다. 도 1 내지 도 4의 예시된 실시 형태에서, 샘플-수용 구역은 샘플 포트(50)를 통해 접근가능하다.
- [0042] 사용 중, 예를 들어, 존재하는 경우 커버 요소(68c)는, 샘플 포트(50)를 노출시키도록 이동되거나 제거되며, 일정한 부피(예를 들어, 미리 결정된 부피)의 샘플-함유 액체가 다공성 캐리어(30)의 노출된 샘플-수용 구역(32) 상으로 부어지거나 피펫팅될 수 있다. 대안적으로, 샘플 포트(50)는, 샘플의 일부가 다공성 캐리어 내로 흡수되게 하기에 충분한 기간 동안 샘플(도시되지 않음) 내로 침지될 수 있다.
- [0043] 표적 분석물-결합 구역(34)은 고정화된 결합 파트너(예를 들어, 항체, 결합 단백질, 렉틴, 올리고뉴클레오타이드, 앵타머)를 포함하는 다공성 캐리어(30)의 미리 결정된 영역이다. 결합 파트너(도시되지 않음)는, 표적 분석물(예를 들어, 알레르겐, 단백질, 당단백질, 리포폴리사카라이드, 펩티도글리칸)을 우선적으로 결합한다. 따라서, 표적 분석물과 결합을 형성함으로써, 고정화된 결합 파트너는 다공성 캐리어(30)의 표적 분석물-결합 구역(34)에서 표적 분석물을 고정화시킨다. 결합 파트너는 본 기술 분야에 공지된 방법들을 사용하여 다공성 캐리어(30)로 그리고/또는 다공성 캐리어(30) 내에 고정화된다. 표적 분석물(도시되지 않음)이 다공성 캐리어(30)를 통해 이동하는 액체와 함께 표적 분석물-결합 구역(34)을 통해 운반됨에 따라, 표적 분석물은 결합 파트너에 결합하여, 표적 분석물로 하여금 표적 분석물-결합 구역(34)에서 고정화되게 한다. 따라서, 표적 분석물은 샘플 제조 장치(1000)의 표적 분석물-결합 구역에서 효과적으로 농축된다.
- [0044] 임의의 실시 형태에서, 본 개시 내용의 다공성 캐리어는 기재에 의해 지지될 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 다공성 캐리어는 추가로, 기재에 결합(예를 들어, 접착적으로 결합)될 수 있다. 유리하게는, 다공성 캐리어를 기재에 고정하는 것은 장치의 조립을 용이하게 할 수 있고, 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역을 케이싱의 제1 및 제2 개구와 정렬시키는 것을 용이하게 할 수 있다. 또한, 기재는 다공성 캐리어가 액체 샘플과 접촉한 후에 케이싱의 제1 및 제2 개구와 표적 분석물-결합 구역의 정렬을 유지하는 데 도움을 주며, 이는 다공성 캐리어의 팽윤을 야기할 수 있다.
- [0045] 또한, 도 5 및 도 6은 기재(35)에 의해 지지되는 다공성 캐리어(30)의 일 실시 형태의 다양한 도면을 도시한다. 기재(35)는 수분-흡수성이 아닌 재료를 사용하여 제조될 수 있다. 적합한 재료는 예를 들어, 유리, 플라스틱 필름, 금속 호일, 또는 이들의 조합을 포함한다. 임의의 실시 형태에서, 다공성 캐리어(30)는 기재(35)에 (예를 들어, 도시되지 않은, 접착제를 통해) 결합될 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 기재(35)는 다공성 캐리어(30)의 표적 분석물-결합 구역(34)에 근접한 취약 영역(36)을 포함할 수 있다. 취약 영역(36)은 기재(35)의 부분(37)의 분리를 용이하게 하는 하나 이상의 스코어링된 세그먼트, 하나 이상의 파쇄성 타이 포인트, 또는 천공을 포함할 수 있다. 조립된 장치에서, 취약 영역은 바람직하게는 제2 유체 통로와 정렬되어, 탈착 부재가 제2 유체 통로를 통해 가압될 때, 탈착 부재가 기재(35)의 부분(37)을 다공성 캐리어(30)의 전체 표적 분석물-결합 구역(34)(도 5에서 음영 영역으로 도시됨) 또는 그 일부(도시되지 않음)를 따라 탈착시키도록 한다.
- [0046] 도 1로 돌아가면, 임의의 실시 형태에서, 본 개시 내용의 샘플 제조 장치는 선택적으로, 액체 샘플이 다공성 캐리어(30)를 통해 샘플-수용 구역(32)으로부터 표적 분석물-결합 구역(34)으로 또는 그것을 넘어 이동했음을 나타내는 유동 표시기(80)를 포함할 수 있다. 유동 표시기(80)는 측방-유동 면역진단 장치의 분야에 공지되어 있으며, 예를 들어 마이크로입자를 포함할 수 있다. 마이크로입자는 유동 표시기 제어 구역(38)에서 고정화된 대응하는 결합 파트너(예를 들어, 아비딘)에 결합할 수 있는 표면 분자(예를 들어, 바이오틴)를 포함할 수 있다.

결합 파트너를 다공성 캐리어(30)에 고정화시키는 방법은 본 기술 분야에 공지되어 있다. 또한, 마이크로입자는 시각적으로 관찰가능한 착색된 또는 형광 염료 또는 안료를 포함할 수 있다. 유동 표시기(80)는 액체 샘플에 의해 다공성 캐리어(30)를 통해 유동 표시기 제어 구역(38)으로 운반될 수 있다. 유동 표시기 제어 구역(38)은 전형적으로 다공성 캐리어(30) 상에서 그리고/또는 그 내에서 소정 위치에 배치되는 미리 정해진 영역이며, 여기서 표적 분석물-결합 구역(34)은 샘플-수용 구역(32)과 유동 표시기 제어 구역(38) 사이에 배치된다.

[0047] 사용 중에, 액체 샘플은 다공성 캐리어(30)를 통해 샘플-수용 구역(32)으로부터 표적 분석물-결합 구역(34)을 향하여 그리고 그것을 넘어 이동하고, 그에 의해 유동 표시기(80)를 유동 표시기 제어 구역(38)을 향하여 이동시킨다. 유동 표시기(80)가 유동 표시기 제어 구역(38)에 도달하면, 그것은 대응하는 결합 파트너에 결합하여, 유동 표시기(80)의 관찰가능한 축적(예를 들어, 착색된 또는 형광 라인 또는 스팟으로서)을 야기한다.

[0048] 도 1로 돌아가면, 본 개시 내용에 따른 샘플 제조 장치(1000)의 임의의 실시 형태에서, 장치는 선택적으로 하나 이상의 표지(15)를 포함한다. 표지(15)는 다공성 캐리어(30)의 선택적 유동 표시기 제어 구역(38)과 정렬되며, 따라서 유동 표시기 제어 구역(38)의 위치를 나타낼 수 있으며, 이것은 그렇지 않으면 유동 표시기(80)가 유동 표시기 제어 구역(38)에 결합할 때까지 다공성 캐리어(30)의 다른 부분들과 구별가능하지 않을 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 샘플 제조 장치의 케이싱은, 그에 결합된 유동 표시기의 관찰을 용이하게 하기 위해 유동 제어 결합 구역에 근접한 선택적 관찰 윈도우(도시되지 않음)를 포함할 수 있다.

[0049] 임의의 실시 형태에서, 본 개시 내용의 샘플 제조 장치는 선택적으로 제2 개구에 인접하게 배치된 흡수체를 포함할 수 있다. 도 7은 흡수체(85)를 포함하는 샘플 제조 장치(1001)의 일 실시 형태를 도시한다. 장치(1001)는 제1 부품(10), 제2 부품(20), 및 선택적 스페이서(40)를 포함하는 케이싱(100)을 포함하며, 각각은 본 명세서에 기술된 바와 같다. 장치(1001)는 샘플 포트(50), 제1 개구(60), 제2 개구(64), 및 제2 유체 통로(74)를 추가로 포함하며, 각각은 본 명세서에 기술된 바와 같다. 흡수체(85)는 제2 개구(64)에 근접하게 배치되고 제2 유체 통로(74)와 유체 연통 상태에 있다. 따라서, 액체(예를 들어, 세척 용액)가 제2 유체 통로(74)에 의해 다공성 캐리어(30)의 표적 분석물-결합 구역(도 7에 도시되지 않음)을 통해 가압됨에 따라, 액체는 흡수체(85)에 의해 흡수 및 보유된다. 임의의 실시 형태에서, 흡수체(85)는 선택적으로 케이싱(100)에 (예를 들어, 도시되지 않은, 접착제를 통해) 결합될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 흡수체(85)는 제2 개구(64)를 덮는 커버 요소(예를 들어, 도 1의 예시된 실시 형태에 도시된 제3 커버 요소(68b))에 의해 제 위치에 유지될 수 있고, 선택적으로는 그에 결합될 수 있다.

[0050] 흡수체(85)는 다공성 캐리어(30)로부터 이격되어, 흡수체가 다공성 캐리어에 의해 한정된 제1 유체 통로(70)를 통과하는 액체와 유체 연통 상태에 있지 않도록 한다. 그러나, 흡수체(85)는 제2 유체 통로(74)와 유체 연통 상태에 있으며, 따라서 제2 유체 통로에 의해 장치(1001)를 통해 가압되는 액체를 수용한다.

[0051] 흡수체(85)는 제2 유체 통로(74)에 의해 장치(1001)를 통해 가압된 액체(예를 들어, 수성 액체)를 흡수할 수 있는 임의의 흡수성 재료를 사용하여 제조될 수 있다. 적합한 재료의 비-제한적인 예는 발포체(예를 들어, 개방-셀 발포체), 스폰지, 거즈, 면 등을 포함한다. 임의의 실시 형태에서, 재료는 초흡수성 중합체(예를 들어, 폴리아크릴레이트/폴리아크릴아미드 공중합체) 및/또는 그의 입자를 포함할 수 있다.

[0052] 임의의 실시 형태에서, 본 개시 내용의 샘플 제조 장치는 선택적으로 개구로부터 다공성 캐리어로 연장되는 적어도 하나의 도관을 포함할 수 있다. 도 8 내지 도 10은 복수의 도관을 포함하는 샘플 제조 장치(1002)의 일 실시 형태를 도시하며, 각각의 도관은 케이싱(101) 내의 개구로부터 다공성 캐리어(30)로 연장된다. 케이싱(101)은 본 명세서에 기술된 바와 같이, 제1 부품(10'), 제2 부품(20), 및 선택적 스페이서(40)를 포함한다. 다공성 캐리어(30)는 샘플-수용 구역(32), 표적 분석물-결합 구역(34)을 포함하고, 샘플-수용 구역(32)으로부터 표적 분석물-결합 구역(34)으로 그리고 그것을 넘어 연장되는 제1 액체 통로(70)를 한정한다. 제2 부품(20)은 제1 면 반대편의 제3 면(22) 및 제4 면(24)을 갖는다. 제2 부품(20)은 제2 개구(64), 및 제2 부품을 제1 부품(10') 및/또는 스페이서(40)에 결합할 수 있는 선택적 접착제 층(26)을 추가로 포함하며, 각각은 본 명세서에서 기술된 바와 같다. 장치(1002)는 케이싱(101) 외부에서 제2 개구(64)에 인접하게 배치된 흡수체(85)를 추가로 포함한다.

[0053] 샘플 제조 장치(1002)의 제1 부품(10')은 그로부터 연장되는 2개의 도관(예를 들어, 각각 제1 도관(52) 및 제2 도관(62))을 포함한다. 선택적 제1 도관(52)은 케이싱(101)의 말단 단부에 있는 샘플 포트(50)를 포함한다. 제1 도관(52)은 액체 샘플이 (예를 들어, 붓거나 피펫팅함으로써) 침착될 수 있는 내부 체적을 갖는다. 내부 체적은 제1 도관(52)의 길이 및 직경에 의해 한정되고, 따라서 조작자가 다공성 캐리어(30)를 통과시키기를 원하는 임의의 액체 부피를 유지하도록 구성될 수 있다. 유리하게는, 제1 도관(52)은, 조작자로 하여금 도관 내

로 샘플을 분배하고 액체가 다공성 캐리어(30) 내로 이동하는 동안에 떠날(walk away) 수 있게 한다. 임의의 실시 형태에서, 선택적 제3 도관(도시되지 않음)이 제2 개구(64)로부터 연장될 수 있다.

[0054] 선택적 제2 도관(62)은 케이싱(101)의 말단 단부에 있는 제1 개구(60)를 포함한다. 제2 도관(62)은 또한 액체가 (예를 들어, 붓거나 피펫팅함으로써) 침착될 수 있는 내부 체적을 갖는다. 예를 들어, 표적 분석물-결합 구역(34)에 존재하지만 표적 분석물-결합 구역에 고정화된 결합 파트너에 특이적으로 결합되지 않은 비-표적 생체 분자, 잔해, 및/또는 화학물질을 세척하기 위해 세척 용액이 사용될 수 있다. 내부 체적은 제2 도관(62)의 길이 및 직경에 의해 한정되고, 따라서 조작자가 다공성 캐리어(30)를 통과시키기를 원하는 임의의 액체 부피를 유지하도록 구성될 수 있다. 유리하게는, 제2 도관(62)은, 조작자로 하여금 제1 개구(60) 내로 액체(예를 들어, 세척 용액, 지시제 시약)를 분배하고 제2 유체 통로(74)에 의해 다공성 캐리어(30)를 통해 액체를 통과시킬 수 있게 한다. 예를 들어, 액체는 부압에 의해, 중력 유동에 의해 다공성 캐리어(30)를 통과할 수 있거나, 또는 대안적으로는, 본 명세서에 기술된 바와 같이 탈착 부재를 사용하여 양압에 의해 다공성 캐리어를 통해 가압될 수 있다.

[0055] 제2 유체 통로와 정렬된 제2 도관을 포함하는 본 개시 내용의 장치는 조작자로 하여금, 플러그-유동 과정에서, (다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역의 공극 부피에 비해) 상당한 부피의 세척 용매를 표적 분석물-결합 구역을 통해 통과시킬 수 있게 하는 것이 특히 유리하다. 예를 들어, 다공성 캐리어가 약 0.2 mm 두께이고 표적 분석물-결합 구역이 대략 6 mm의 면적에 배치되는 경우, 표적 분석물-결합 구역의 공극 부피는 약 5 내지 25 μ L일 수 있다. 이 예에서, 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역을 통해 500 μ L의 세척 용매를 통과시키는 것은, 대략 20 내지 100 부피의 액체로 다공성 캐리어를 세척하는 것을 야기한다. 이것은 표적 분석물-결합 구역으로부터 미결합 물질의 상당한 회석 및/또는 제거를 야기한다.

[0056] 임의의 실시 형태에서, 본 개시 내용의 샘플 제조 장치는 선택적 탈착 부재를 추가로 포함한다. 도 11a는 본 개시 내용에 따른 탈착 부재(500)를 포함하는 샘플 제조 장치(1003)의 일 실시 형태를 도시한다. 탈착 부재(500)는 제2 유체 통로(74)에 활주가능하게 결합되며, 본 명세서에 기술된 바와 같이 다공성 캐리어(30)의 일부(예를 들어, 도시되지 않은, 표적 분석물-결합 구역을 포함하는 일부)를 탈착시키고 그 일부를 장치(1003)로부터 배출시키는 데 사용될 수 있다. 탈착 부재(500)는 팁(592)을 포함하는 샤프트(591)를 포함한다. 샤프트(591)는 제1 개구(60)로부터 제2 개구(64)까지 적어도 제2 유체 통로(74)의 길이를 횡단하는 치수를 갖는다. 또한, 탈착 부재(500)는 선택적으로, 장치(1003)의 제2 유체 통로(74)를 통해 (예를 들어, 수동 압력을 사용하여) 샤프트(591)의 팁(592)을 가압하는 데 사용될 수 있는 핸들(595)을 포함한다.

[0057] 탈착 부재(500)는 플라스틱, 유리, 목재, 금속, 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 재료로부터 본 기술 분야에 공지된 공정(예를 들어, 압출 또는 성형 공정)을 사용하여 형성될 수 있다.

[0058] 도 11b는 도 11a의 탈착 부재(500)의 팁(592)의 상세도를 도시한다. 임의의 실시 형태에서, 팁은 장치의 제2 도관(62)과 실질적으로 액체-기밀 밀봉을 형성하도록 구성될 수 있다. 유리하게는, 이들 실시 형태에서, 탈착 부재(500)는 제2 도관(62)에 배치된 액체(도시되지 않음)를 제2 유체 통로(74)를 통해 가압하는 데 사용될 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 탈착 부재(500)의 샤프트(591)는 탈착 부재(500)와 제2 도관(62)의 벽들 사이의 활주가능한 접촉을 용이하게 하기 위한 선택적 밀봉(593)(예를 들어, 고무 O-링)을 포함할 수 있다.

[0059] 임의의 실시 형태에서, 탈착 부재(500)의 팁(592)은 샘플 제조 장치의 다공성 캐리어의 일부의 탈착을 용이하게 하도록 구성될 수 있다(즉, 팁(592)은 절단 구조물을 포함할 수 있다). 예를 들어, 팁(592)은 오목함으로써(도시되지 않음), 다공성 캐리어의 절단을 용이하게 하는 주연부 에지를 형성할 수 있다. 대안적으로, 팁(592)은 다공성 캐리어의 절단을 용이하게 하는 절단 특징부(예를 들어, 도시되지 않은, 톱니모양의 에지)를 포함할 수 있다. 대안적으로, 팁(592)은 절단 특징부가 실질적으로 없을 수 있다(즉, 팁(592)은 무딘 수 있다).

[0060] 탈착 부재는 본 개시 내용의 샘플 처리 장치에서 복수의 기능을 수행하는 데 사용될 수 있다. 따라서, 다양한 기능은 탈착 부재를 샘플 제조 장치의 케이싱에 대해 하나의 동작 위치로부터 다른 동작 위치로 이동시킴으로써 달성될 수 있다. 또한, 도 12a 내지 도 12c는 본 개시 내용의 샘플 처리 장치에서의 탈착 부재의 여러 동작 위치를 예시한다.

[0061] 도 12a는 샘플 제조 장치(1003)에 대해 제1 동작 위치에 배치된 탈착 부재(500)의 일 실시 형태를 도시한다. 예시된 실시 형태의 장치(1003)는 본 명세서에 개시된 바와 같은 다공성 캐리어(30)를 둘러싸는 케이싱(101)을 포함한다. 케이싱(101)은 본 명세서에 기술된 바와 같이, 일면 상의 제1 개구(60) 및 제1 개구 반대편의 제2 개구(64)를 갖는 것을 포함한다. 제1 개구는 본 명세서에 기술된 바와 같이 케이싱(101)으로부터 연장되는 제2

도관(62)의 단부에 배치된다. 이 실시 형태에서, 탈착 부재(500)의 팁(즉, 도 11a에 도시된 바와 같은 샤프트(591)의 팁(592))은 장치(1003)의 제1 개구(60)에 활주가능하게 결합된다. 제1 동작 위치에서, 탈착 부재는, 외부 물질이 제1 개구(60)를 통해 장치(1003)로 들어가고 샘플 제조 장치(1003)의 다공성 캐리어(30)의 일부(예를 들어, 도시되지 않은, 표적 분석물-결합 구역)를 잠재적으로 오염시키거나 다른 식으로 그와 간섭하는 것을 방지하는 폐쇄부로서 기능한다.

[0062] 도 12b는, 탈착 부재(500)가 제2 동작 위치에 배치된 상태인(즉, 탈착 부재의 팁이 다공성 캐리어(30)에 인접하게 배치된 상태인), 도 12a의 샘플 제조 장치(1003)를 도시한다. 탈착 부재(500)의 제1 동작 위치로부터 제2 동작 위치로의 이동은 다음의 적어도 2개의 기능을 달성할 수 있다: i) 탈착 부재를 이동시키는 것은 탈착 부재를 사용하여 다공성 캐리어의 일부를 절단 및/또는 탈착시키기 전에 탈착 부재(500)를 다공성 캐리어(30)에 근접하게 위치시키고, ii) 탈착 부재를 이동시키는 것은 액체(예를 들어, 진술한 바와 같은 세척 액체) - 제2 도관(62)의 내부 체적에 존재하는 경우 - 를 제2 유체 통로(예를 들어, 도 11a에 도시된 제2 유체 통로(74))에 의해 다공성 캐리어를 통해 가압할 수 있다. 제2 유체 통로에 의해 다공성 캐리어를 통해 액체를 가압함으로써, 조작자는, 그렇지 않으면 방법의 후속 단계에서 표적 분석물의 검출을 억제하거나 방해할 수 있는 비-표적 입자 및/또는 분자(예를 들어, 단백질, 지방, 핵산, 염, 킬레이트제)를 희석하거나 세척할 수 있다.

[0063] 도 12c는, 탈착 부재(500)가 제3 동작 위치에 배치된 상태인(즉, 탈착 부재의 팁이 제2 개구(64)에 근접하게 배치된 상태인), 도 12a의 샘플 제조 장치(1003)를 도시한다. 탈착 부재(500)의 제1 또는 제2 동작 위치로부터 제3 동작 위치로의 이동은, 다공성 캐리어의 일부(예를 들어, 다공성 캐리어(30)의 전체 분석물-결합 구역 또는 적어도 그것의 부분을 포함할 수 있는, 탈착된 부분(30a))를 탈착시키는 기능을 한다. 또한, 탈착 부재(500)의 제3 동작 위치로의 이동은 선택적으로, 분석물을 검출하기 위한 추가 처리를 위해 다공성 캐리어의 탈착된 부분(30a)을 케이싱(101)으로부터 배출시킨다. 도 12c는 또한, 제2 개구(64)에 근접하게 위치될 수 있고, 탈착된 부분(30a)이 탈착 부재(500)에 의해 그 내로 배출될 수 있는 리셉터클(600)(예를 들어, 반응 튜브)을 도시한다.

[0064] 임의의 실시 형태에서, 샘플 제조 장치는 샘플-수용 부분만을 액체 샘플 내에 침지시킴으로써 샘플을 획득하도록 특별히 구성될 수 있다. 또한, 도 13 내지 도 16은 침지에 의해 샘플을 획득하도록 특별히 구성된 샘플 제조 장치(1004)의 일 실시 형태의 다양한 도면을 도시한다. 장치(1004)는 제1 부품(10) 및 제2 부품(20) - 둘 모두 본 명세서에 기술된 바와 같음 - 을 포함하는 케이싱(102), 및 선택적 스페이서(41)를 포함한다. 스페이서(41)는 개방 단부(42)를 포함한다. 장치(1004)는 본 명세서에 기술된 바와 같은 표적 분석물-결합 구역(34)을 포함하는 다공성 캐리어(30)를 포함한다. 다공성 캐리어(30)의 샘플-수용 구역(32)은 스페이서(41)의 개방 단부(42)를 통해 그리고 케이싱(102) 외부로 연장된다. 따라서, 샘플-수용 구역(32)은, 샘플이 다공성 캐리어(30) 내로 그리고 그를 통해 이동하도록, 액체 샘플(도시되지 않음) 내로 용이하게 침지될 수 있다. 장치(1004)는 본 명세서에서 기술된 바와 같이 제2 유체 통로(74)의 말단들을 형성하는 제1 개구(60) 및 제2 개구(64)를 포함한다.

[0065] 다른 양태에서, 본 개시 내용은 샘플에서 표적 분석물을 검출하기 위한 키트를 제공한다. 키트는 본 명세서에 개시된 샘플 제조 장치의 임의의 실시 형태를 포함할 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 키트는 본 명세서에 기술된 탈착 부재의 임의의 실시 형태를 추가로 포함한다. 탈착 부재는 본 명세서에 기술된 바와 같이, 제1 개구로부터 제2 개구까지 잠재적(latent) 통로를 횡단하는 치수를 갖는다. 임의의 실시 형태에서, 탈착 부재는 샘플 제조 장치의 제2 유체 통로에 활주가능하게 결합된다. 임의의 실시 형태에서, 탈착 부재는 케이싱을 통해(예를 들어, 케이싱의 제2 도관을 통해) 수성 액체를 가압하도록 구성된다. 임의의 실시 형태에서, 키트는 세척 액체 및/또는 핵산 증폭용 시약(예를 들어, 프라이머, 리보뉴클레오타이드 트라이포스페이트, 테옥시리보뉴클레오타이드 트라이포스페이트, 폴리머라제 효소)을 추가로 포함한다. 임의의 실시 형태에서, 키트는 하기에서 기술된 바와 같은 방출 용액을 포함할 수 있다.

[0066] 다른 양태에서, 본 개시 내용은 샘플에서 표적 분석물(예를 들어, 표적 미생물)을 검출하는 제1 방법을 제공한다. 제1 방법은 액체 샘플을 본 명세서에 개시된 샘플 제조 장치의 임의의 실시 형태의 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계를 포함한다. 제1 방법의 임의의 실시 형태에서, 샘플 제조 장치는 제1 및 제2 개구를 포함하는 케이싱, 및 다공성 캐리어를 포함한다. 다공성 캐리어는 제1 미리 정해진 위치에 샘플-수용 구역 및 제1 미리 정해진 위치로부터 이격된 제2 미리 정해진 위치에 표적 분석물-결합 구역을 포함한다. 또한, 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역과 표적 분석물-결합 구역 사이에서 연장되는 제1 유체 통로를 한정한다. 다공성 캐리어의 적어도 일부는 케이싱 내에 배치된다. 제2 유체 통로는 제1 개구 및 제2 개구로부터 케이싱을 통해 연장되며, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차한다.

- [0067] 제1 방법의 임의의 실시 형태에서, 액체 샘플을 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계는 본 명세서에 기술된 바와 같이, 액체 샘플을 다공성 캐리어의 샘플-수용 구역과 접촉시키는 단계를 포함한다. 제1 방법의 임의의 실시 형태에서, 액체 샘플을 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계는 농축 배양물로부터의 액체 샘플을 다공성 캐리어와 (예를 들어, 샘플-수용 구역에서) 접촉시키는 단계를 포함한다. 유리하게는, 농축 배양물의 일부가 샘플 제조 장치 내로 직접 로딩될 수 있고, 농축 배양물에 존재하는 표적 분석물(예를 들어, 미생물 또는 그것의 부분)이 본 명세서에 기술된 바와 같이 추가 분석을 위해 표적 분석물-결합 구역에서 포획될 수 있다.
- [0068] 제1 방법은 추가로, 액체 샘플의 적어도 일부가 샘플-수용 구역으로부터 적어도 표적 분석물-결합 구역으로 다공성 캐리어를 통해 (예를 들어, 종방향으로) 이동하게 하는 단계; 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 제1 개구로부터 제2 개구로 제2 유체 통로를 통해 탈착 부재를 가압함으로써 전체 표적 분석물-결합 구역 또는 그 일부를 배출시키는 단계; 및 표적 미생물의 표시를 검출하기 위해 표적 분석물-결합 구역의 일부를 처리하는 단계를 포함한다.
- [0069] 액체가 표적 분석물-결합 구역으로 이동함에 따라, 그것은, 표적 분석물이 샘플 내에 존재하는 경우, 표적 분석물을 다공성 캐리어를 통해 운반한다. 또한, 액체는 다른 입자(예를 들어, 토양, 먼지, 식품 입자, 비-표적 분석물) 및 분자(예를 들어, 단백질, 지방, 핵산, 염, 킬레이트제)를 운반할 수 있다. 이들 비-표적 입자 및 분자는 잠재적으로, 샘플에 존재하는 표적 분석물을 검출하기 위해 추후에 사용될 수 있는 분석 과정(예를 들어, 핵산 증폭 과정)을 방해할 수 있다.
- [0070] 액체 샘플이 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역을 통해 이동함에 따라, 존재하는 경우 표적 분석물은 본 명세서에 기술된 바와 같이 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어에 부착된 결합 파트너(예를 들어, 항체, 렉틴, 핵산, 앵커머)에 결합할 수 있다. 샘플 내에 존재하는 비-표적 입자 및 분자의 적어도 일부는 액체가 다공성 캐리어를 통과함에 따라 표적 분석물에 비해 지연될 수 있으며, 따라서 표적 분석물-결합 구역에서 표적 분석물과 동시-축적되지(co-accumulate) 않을 수 있다. 또한, 비-표적 입자 및 분자 중 적어도 일부는 표적 분석물-결합 구역을 지나서 액체와 함께 계속 유동함으로써, 이들 비-표적 입자 및 분자를 표적 분석물로부터 분리한다. 따라서, 제1 방법은, 존재하는 경우 표적 분석물을, 표적 분석물을 검출하는 데 사용되는 과정(예를 들어, 핵산 증폭 검출 과정)을 방해하거나 다른 식으로 억제할 수 있는 비-표적 입자 및 분자로부터 분리한다.
- [0071] 제1 방법의 임의의 실시 형태에서, 액체의 적어도 일부가 샘플 제조 장치를 통해 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 방법은 제1 개구로부터 제2 개구로 제2 유체 통로를 통해 탈착 부재를 가압함으로써 표적 분석물-결합 구역의 일부를 탈착 및 배출시키는 단계를 포함한다. 제1 방법의 임의의 실시 형태에서, 표적 분석물-결합 구역의 일부를 탈착 및 배출시키는 단계는 전체 표적 분석물-결합 구역을 탈착 및 배출시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0072] 표적 미생물의 표시를 검출하기 위해 표적 분석물-결합 구역의 일부를 처리하는 것은, 배양 방법, 생화학적 방법(예를 들어, 표적 미생물과 연관된 효소 활성의 검출), 면역학적 방법(예를 들어, 면역염색, ELISA), 조직학적 방법(예를 들어, 조직학적 얼룩), 및 유전학적 방법(예를 들어, 핵산 증폭, 혼성화)을 포함하지만 이에 제한되지 않는, 본 기술 분야에 공지된 임의의 적합한 검출 과정을 사용하여 수행될 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 핵산 서열을 증폭시키는 것은 표적 미생물과 연관된 뉴클레오타이드 서열을 증폭시키는 것을 포함할 수 있다. 핵산 증폭의 특히 바람직한 방법은 쓰리엠 컴퍼니(3M Company)(미국 미네소타주 세인트 폴 소재)로부터 입수가 가능한 3M™ 분자 검출 시스템(Molecular Detection System)에서 구현된 등온 DNA 증폭 및 생체발광 검출 방법을 포함한다.
- [0073] 제1 방법의 임의의 실시 형태에서, 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 방법은 선택적으로 제2 유체 통로에 의해 다공성 캐리어를 통해 세척 용매를 통과시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 세척 용액의 목적은 임의의 미결합 불순물(예를 들어, 입자(예를 들어, 토양, 먼지, 식품 입자) 및/또는 비-표적 분자(예를 들어, 단백질, 지방, 핵산, 염, 킬레이트제))를 표적 분석물-결합 구역으로부터 세척하는 것이다. 다공성 캐리어를 통해 세척 용매를 통과시키는 것은, 예를 들어, 제2 유체 통로를 통해 세척 용매(예를 들어, 살균수, 완충 용액)를 (예를 들어, 주사기 또는 피펫에 의해) 가압함으로써 수행될 수 있다. 유리하게는, 샘플 제조 장치의 제2 유체 통로가 제1 유체 통로에 대해 직교하게 배향되기 때문에, 세척 용매는 미결합 물질(예를 들어, 단백질, 핵산, 세포 조각, 식품 입자, 염)을 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역으로부터 세척함으로써, 그렇지 않으면 표적 분석물-결합 구역에 결합된 표적 분석물의 검출을 방해할 수 있는 물질을 제거한다. 제2 도관이 본 명세서에 기술된 바와 같이 장치에 존재할 때, 세척 용매는 제2 도관 내로 로딩될 수 있고, 용매는 예를 들어, 중력 유동에 의해 다공성 캐리어를 통해, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같이 탈착 부재 또는 플

런저에 의해 액체에 가해진 양압을 통해 가압될 수 있다. 이러한 선택적 단계는, 표적 미생물의 표지를 검출하기 위해 표적 분석물-결합 구역의 일부를 처리하는 후속 과정을 방해하거나 그 감도를 다른 식으로 감소시킬 수 있는 원래의 샘플 내에 존재한 물질의 양을 상당히 감소시킬 수 있다.

[0074] 제1 방법의 임의의 실시 형태에서, 제2 유체 통로에 의해 다공성 캐리어를 통해 세척 용매를 통과시키는 것은 다공성 캐리어의 일부가 샘플 처리 장치로부터 배출되기 전 또는 후에 수행될 수 있다.

[0075] 대안적 실시 형태(도시되지 않음)에서, 제2 유체 통로를 통해 세척 용매를 끌어내기 위해 부압 공급원(예를 들어, 진공 호스)이 제2 개구에 동작가능하게 적용될 수 있다.

[0076] 본 개시 내용의 제1 방법의 임의의 실시 형태에서, 방법은 선택적으로, 세포 용해를 일으키기 위해 다공성 캐리어의 배출된 부분, 또는 그로부터 방출된 임의의 분석물을 처리하는 단계를 포함한다. 세포 용해를 일으키기 위한 다양한 적합한 수단은 본 기술 분야에 공지되어 있으며, 물리적 용해 방법(예를 들어, 비등, 초음파 처리, 프렌치 프레스(French press)를 통한 캐비테이션) 및 화학적 용해 방법(예를 들어, 샘플을 세제, 계면활성제, 4차 아민, 카오토로픽 시약, 또는 유기 용매와 접촉시키는 것)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 세포-용해 처리는 샘플이 샘플-제조 장치를 통과하기 전 또는 후에 수행될 수 있다(즉, 샘플이 크로마토그래피 장치에 적용되기 전에 표적 분석물을 방출하기 위해 세포 용해가 사용될 수 있거나, 또는 분석물이 표적 분석물-결합 구역에서 포획된 후에 세포 용해가 사용될 수 있다). 따라서, 다공성 캐리어의 배출된 부분 또는 그로부터 용리된 임의의 세포는, 표적 세포의 존재를 나타내는 검출가능한 생체분자(예를 들어, 폴리펩타이드, 효소, 당당류, 핵산과 같은 내부 또는 외부 생체분자)를 방출하기 위해, 또는 세포 내의 검출가능한 분자와 상호작용하기 위한 검출 모이어티(예를 들어, 프라이머, 폴리머라제, 표지된 항체, 앵타머)에 대해 접근을 제공하도록 세포를 투과 화시키기 위해, 세포 용해를 일으키기 위한 수단으로 처리될 수 있다. 유리하게는, 세포는 원위치에서(즉, 다공성 캐리어의 배출된 부분에서) 용해될 수 있거나, 또는 대안적으로, 세포는 세포 용해를 일으키도록 처리되기 전에 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역으로부터 방출될 수 있다.

[0077] 분석물은 본 기술 분야에 공지된 임의의 적합한 방법에 의해 표적 분석물 결합 구역으로부터 방출될 수 있다. 예를 들어, 표적 분석물을 포획하는 결합 파트너가 항체인 경우, 표적 분석물은 표적 분석물-결합 구역의 배출된 부분을 적합한 방출 용액(예를 들어, 항체에 결합되는 표적 분석물의 방출을 일으키기에 적절한 pH 및/또는 이온 강도를 갖는 수용액)과 접촉시킴으로써 방출될 수 있다. 따라서, 방출 용액이 표적 분석물이 결합되어 있는 표적 분석물-결합 구역을 통과함에 따라, 표적 분석물은 방출 용액 내로 방출된다.

[0078] 임의의 실시 형태에서, 제1 방법은 제2 개구에 근접하게 리셉터클을 위치시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 리셉터클은 생물학적 물질이 실질적으로 없을 수 있다. 이들 실시 형태에서, 제2 유체 통로를 통해 탈착 부재를 가압하여 표적 분석물-결합 구역의 적어도 일부를 탈착시키는 것은 추가로, 도 12c에 도시된 바와 같이, 다공성 캐리어의 일부(예를 들어, 전체 표적 분석물-결합 구역 또는 적어도 그것의 부분)를 리셉터클 내로 이동시키는 것을 포함할 수 있다. 유리하게는, 이러한 방식으로 다공성 캐리어의 일부의 이송을 수행하는 것은, 다공성 캐리어의 일부와, 케이싱 외부의 생물학적 물질의 잠재적인 공급원 사이의 접촉의 가능성을 제거할 수 있다. 표적 분석물-결합 구역의 배출된 부분을 처리하는 바람직한 방법은 쓰리엠 컴퍼니(미국 미네소타주 세인트 폴 소재)로부터 입수가능한 분자 검출 시스템(이하, "MDS")을 사용하여 일부를 처리하는 것을 포함한다. 따라서, 표적 분석물-결합의 일부는 MDS 용해 튜브 내로 직접 배출될 수 있고, 생성되는 용해물의 분취물은 핵산을 증폭 및 검출하기 위해 처리될 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 증폭된 핵산은 특정 세포(예를 들어, 특정 미생물)의 존재를 나타낼 수 있다.

[0079] 다른 양태에서, 본 개시 내용은 샘플에서 표적 분석물(예를 들어, 표적 미생물 또는 그 일부)을 검출하는 제2 방법을 제공한다. 제2 방법은 액체 샘플을 본 명세서에 개시된 샘플 제조 장치의 임의의 실시 형태의 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계를 포함한다. 제2 방법의 임의의 실시 형태에서, 샘플 제조 장치는 제1 및 제2 개구를 포함하는 케이싱, 및 다공성 캐리어를 포함한다. 다공성 캐리어는 제1 미리 정해진 위치에 샘플-수용 구역 및 제1 미리 정해진 위치로부터 이격된 제2 미리 정해진 위치에 표적 분석물-결합 구역을 포함한다. 또한, 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역과 표적 분석물-결합 구역 사이에서 연장되는 제1 유체 통로를 한정한다. 다공성 캐리어의 적어도 일부는 케이싱 내에 배치된다. 제2 유체 통로는 제1 개구 및 제2 개구로부터 케이싱을 통해 연장되며, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차한다.

[0080] 제2 방법의 임의의 실시 형태에서, 액체 샘플을 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계는 본 명세서에 기술된 바와 같이, 액체 샘플을 다공성 캐리어의 샘플-수용 구역과 접촉시키는 단계를 포함한다. 제2 방법의 임의의 실시 형태에서, 액체 샘플을 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계는 농축 배양물로부터의 액체 샘플을 다공성 캐리어와

(예를 들어, 샘플-수용 구역에서) 접촉시키는 단계를 포함한다. 유리하게는, 농축 배양물의 일부가 샘플 제조 장치 내로 직접 로딩될 수 있고, 농축 배양물에 존재하는 표적 분석물(예를 들어, 표적 미생물과 연관된 분석물)이 본 명세서에 기술된 바와 같이 추가 처리 및 분석을 위해 표적 분석물-결합 구역에서 포획될 수 있다.

[0081] 제2 방법은 추가로, 액체 샘플의 적어도 일부가 샘플-수용 구역으로부터 적어도 표적 분석물-결합 구역으로 다공성 캐리어를 통해 (예를 들어, 종방향으로) 이동하게 하는 단계; 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 제2 유체 통로를 통해 방출 용액을 가압함으로써, 제2 유체 통로 내에 있는 경우 표적 분석물을 포함하는 방출 용액 부분을 장치로부터 배출시키는 단계; 및 표적 분석물을 검출하기 위해 표적 분석물-결합 구역의 일부를 처리하는 단계를 포함한다.

[0082] 액체가 표적 분석물-결합 구역으로 이동함에 따라, 그것은, 표적 분석물이 샘플 내에 존재하는 경우, 표적 분석물을 다공성 캐리어를 통해 운반한다. 또한, 액체는 다른 입자(예를 들어, 토양, 먼지, 식품 입자) 및 비-표적 분자(예를 들어, 단백질, 지방, 핵산, 염, 킬레이트제)를 운반할 수 있다. 이들 비-표적 입자 및 분자는 잠재적으로, 샘플에 존재하는 표적 분석물을 검출하기 위해 추후에 사용될 수 있는 분석 과정(예를 들어, 핵산 증폭 과정)을 방해할 수 있다.

[0083] 액체 샘플이 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역을 통해 이동함에 따라, 존재하는 경우 표적 분석물은 본 명세서에 기술된 바와 같이 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어에 부착된 결합 파트너(예를 들어, 항체, 렉틴, 핵산, 앵타머)에 결합할 수 있다. 샘플 내에 존재하는 비-표적 입자 및 분자의 적어도 일부는 액체가 다공성 캐리어를 통과함에 따라 표적 분석물에 비해 지연될 수 있으며, 따라서 표적 분석물-결합 구역에서 표적 분석물과 동시-축적되지 않을 수 있다. 또한, 비-표적 입자 및 분자 중 적어도 일부는 표적 분석물-결합 구역을 지나서 액체와 함께 계속 유동함으로써, 이들 비-표적 입자 및 분자를 표적 분석물로부터 분리한다. 따라서, 제2 방법은, 존재하는 경우 표적 분석물을, 표적 세포를 검출하는 데 사용되는 과정(예를 들어, 핵산 증폭 검출 과정)을 방해하거나 다른 식으로 억제할 수 있는 비-표적 입자 및 분자로부터 분리한다.

[0084] 따라서, 제2 방법의 임의의 실시 형태에서, 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 방법은 선택적으로 제2 유체 통로에 의해 다공성 캐리어를 통해 세척 용매를 통과시키는 단계를 포함한다. 세척 용매의 목적은 임의의 미결합 불순물(예를 들어, 입자(예를 들어, 토양, 먼지, 식품 입자) 및/또는 비-표적 분자(예를 들어, 단백질, 지방, 핵산, 염, 킬레이트제))을 표적 분석물-결합 구역으로부터 세척하는 것이다. 다공성 캐리어를 통해 세척 용매를 통과시키는 것은, 예를 들어, 제2 유체 통로를 통해 세척 용매(예를 들어, 살균수, 완충 용액)를 (예를 들어, 주사기 또는 피펫에 의해) 가압함으로써 수행될 수 있다. 유리하게는, 샘플 제조 장치의 제2 유체 통로가 제1 유체 통로에 대해 직교하게 배향되기 때문에, 세척 용매는 미결합 물질(예를 들어, 단백질, 핵산, 세포 조각, 식품 입자, 염)을 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역으로부터 세척함으로써, 그렇지 않으면 표적 분석물-결합 구역에 결합된 표적 분석물의 검출을 방해할 수 있는 물질을 제거한다. 제2 도관이 본 명세서에 기술된 바와 같이 장치에 존재할 때, 세척 용매는 제2 도관 내로 로딩될 수 있고, 용매는 예를 들어, 중력 유동에 의해 다공성 캐리어를 통해, 또는 본 명세서에 기술된 바와 같이 탈착 부재 또는 플런저에 의해 액체에 가해진 양압을 통해 가압될 수 있다. 이러한 선택적 단계는, 표적 분석물을 검출하기 위해 표적 분석물-결합 구역의 일부를 처리하는 후속 과정을 방해하거나 그 감도를 다른 식으로 감소시킬 수 있는 원래의 샘플 내에 존재한 물질의 양을 상당히 감소시킬 수 있다.

[0085] 대안적 실시 형태(도시되지 않음)에서, 제2 유체 통로를 통해 세척 용매를 끌어내기 위해 부압 공급원(예를 들어, 진공 호스)이 제2 개구에 동작가능하게 적용될 수 있다.

[0086] 본 개시 내용의 제2 방법은, 제2 유체 통로를 통해 방출 용액을 가압함으로써, 제2 유체 통로에 존재하는 경우 표적 분석물을 포함하는 방출 용액 부분을 장치로부터 배출시키는 단계를 포함한다. 분석물은 본 기술 분야에 공지된 임의의 적합한 방출 용액을 사용하여 표적 분석물-결합 구역으로부터 방출될 수 있다. 예를 들어, 표적 분석물을 포획하는 결합 파트너가 항체인 경우, 표적 분석물은, 적합한 방출 용액(예를 들어, 항체에 결합되는 표적 분석물의 방출을 일으키는 적절한 pH 및/또는 이온 강도를 갖는 수용액)을 제2 유체 통로를 통해 (예를 들어, 양압, 부압, 또는 중력 유동에 의해) 가압하고, 제2 개구를 통해 제2 유체 통로를 빠져나가는 방출 용액 부분을 (예를 들어, 반응 튜브 내에) 수집함으로써 방출될 수 있다. 따라서, 방출 용액이 표적 분석물이 결합되어 있는 표적 분석물-결합 구역을 통과함에 따라, 표적 분석물은 방출 용액 내로 방출되고, 제2 개구를 통해 장치를 빠져나가는 방출 용액과 함께 수집된다.

[0087] 임의의 실시 형태에서, 제2 방법은 제2 개구에 근접하게 리셉터클을 위치시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

임의의 실시 형태에서, 리셉터클은 생물학적 물질이 실질적으로 없을 수 있다. 이들 실시 형태에서, 제2 유체 통로를 통해 방출 용액을 가압함으로써, 제2 유체 통로에 존재하는 경우 표적 분석물을 포함하는 방출 용액 부분을 장치로부터 배출시키는 단계는, 그것이 제2 개구(도시되지 않음)를 통해 샘플 처리 장치를 빠져나가기 전에 방출 용액 부분을 수집하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 유리하게는, 이러한 방식으로 방출 용액 부분을 수집하는 것은, 샘플 제조 장치를 빠져나가는 방출 용액과, 장치의 케이싱 외부의 생물학적 물질의 잠재적인 공급원 사이의 접촉의 가능성을 제거할 수 있다. 수집된 방출 용액을 처리하는 바람직한 방법은 쓰리엠 컴퍼니(미국 미네소타주 세인트 폴 소재)로부터 입수가 가능한 분자 검출 시스템(이하, "MDS")을 사용하여 수집된 용액(및 그 안의 표적 분석물)을 처리하는 것을 포함한다. 따라서, 수집된 방출 용액은 MDS 용해 튜브 내로 직접 배출되어; 선택적으로는, 방출 용액에 존재하는 임의의 세포를 용해시키고, 핵산을 증폭 및 검출하기 위해 용액을 처리할 수 있다.

[0088] 본 개시 내용의 제2 방법의 임의의 실시 형태에서, 방법은 선택적으로 방출 용액에 의해 방출된 세포를 용해시키는 단계를 포함한다. 세포 용해를 일으키기 위한 다양한 적합한 수단은 본 기술 분야에 공지되어 있으며, 물리적 용해 방법(예를 들어, 비등, 초음파 처리, 프렌치 프레스를 통한 캐비테이션) 및 화학적 용해 방법(예를 들어, 샘플을 세제, 계면활성제, 4차 아민, 카오트로픽 시약, 또는 유기 용매와 접촉시키는 것)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 따라서, 방출 용액에 의해 방출된 세포는, 검출가능한 표적 분석물(예를 들어, 폴리펩타이드, 효소, 다당류, 핵산과 같은 내부 또는 외부 생체분자)을 방출하기 위해, 또는 세포 내의 검출가능한 표적 분석물과 상호작용하기 위한 검출 모이어티(예를 들어, 프라이머, 폴리머라제, 표지된 항체)에 대해 접근을 제공하도록 세포를 투과화시키기 위해, 세포 용해를 일으키기 위한 수단으로 처리될 수 있다.

[0089] 제2 방법의 임의의 실시 형태에서, 방출 용액에 의해 방출된 분석물을 처리하는 것은, 생화학적 방법(예를 들어, 미생물과 같은 특정 세포와 연관된 효소 활성의 검출), 면역학적 방법(예를 들어, 면역염색, ELISA), 조직학적 방법(예를 들어, 조직학적 얼룩), 및 유전학적 방법(예를 들어, 핵산 증폭, 혼성화)을 포함하지만 이에 제한되지 않는 본 기술 분야에 공지된 임의의 적합한 검출 과정을 사용하여 수행될 수 있다. 임의의 실시 형태에서, 핵산 서열을 증폭시키는 것은 특정 세포(예를 들어, 미생물)와 연관된 뉴클레오티드 서열을 증폭시키는 것을 포함할 수 있다. 핵산 증폭의 특히 바람직한 방법은 쓰리엠 컴퍼니(미국 미네소타주 세인트 폴 소재)로부터 입수가 가능한 3M™ 분자 검출 시스템에서 구현된 등온 DNA 증폭 및 생체발광 검출 방법을 포함한다.

[0090] 예시적인 실시 형태

[0091] 실시 형태 A는 표적 분석물을 검출하는 방법으로서,

[0092] 액체 샘플을 샘플 제조 장치의 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계 - 장치는,

[0093] 제1 및 제2 개구를 포함하는 케이싱; 및

[0094] 다공성 캐리어를 포함하며;

[0095] 다공성 캐리어는 제1 미리 정해진 위치에 샘플-수용 구역 및 제2 미리 정해진 위치에 표적 분석물-결합 구역을 포함하고, 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 통해 연장되는 제1 유체 통로를 한정하며;

[0096] 다공성 캐리어의 적어도 일부는 케이싱 내에 배치되고;

[0097] 제2 유체 통로는 제1 개구로부터 제2 개구로 케이싱을 통해 연장되며, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차함 -;

[0098] 액체 샘플의 적어도 일부가 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 향하여 다공성 캐리어를 통해 종방향으로 이동하게 하는 단계;

[0099] 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 제1 개구로부터 제2 개구로 제2 유체 통로를 통해 탈착 부재를 가압함으로써 표적 분석물-결합 구역의 일부를 배출시키는 단계; 및

[0100] 표적 분석물을 검출하기 위해 표적 분석물-결합 구역의 일부를 처리하는 단계를 포함한다.

[0101] 실시 형태 B는 실시 형태 A의 방법이며, 장치는 제1 개구를 덮는 제1 커버 요소 또는 제2 개구를 덮는 제2 커버 요소를 추가로 포함하고, 제2 유체 통로를 통해 탈착 부재를 가압하는 단계는 제1 커버 요소 또는 제2 커버 요소를 통해 탈착 부재를 가압하는 단계를 포함한다.

- [0102] 실시 형태 C는 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나의 실시 형태의 방법이며, 캐리어는 기재에 의해 지지되고, 제2 유체 통로를 통해 탈착 부재를 가압하여 표적 분석물-결합 구역의 적어도 일부를 탈착시키는 단계는 탈착 부재를 사용하여 기재의 일부를 탈착시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0103] 실시 형태 D는 표적 분석물을 검출하는 방법으로서,
- [0104] 액체 샘플을 샘플 제조 장치의 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계 - 장치는,
- [0105] 제1 및 제2 개구를 포함하는 케이싱; 및
- [0106] 다공성 캐리어를 포함하며;
- [0107] 다공성 캐리어는 제1 미리 정해진 위치에 샘플-수용 구역 및 제2 미리 정해진 위치에 표적 분석물-결합 구역을 포함하고, 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 통해 연장되는 제1 유체 통로를 한정하며;
- [0108] 다공성 캐리어의 적어도 일부는 케이싱 내에 배치되고;
- [0109] 제2 유체 통로는 제1 개구 및 제2 개구로부터 케이싱을 통해 연장되며, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차함 -;
- [0110] 액체 샘플의 적어도 일부가 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역을 향하여 다공성 캐리어를 통해 중 방향으로 이동하게 하는 단계;
- [0111] 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 제2 유체 통로를 통해 방출 용액을 가압함으로써, 제2 유체 통로에 존재하는 경우 표적 미생물을 포함하는 방출 용액 부분을 장치로부터 배출시키는 단계; 및
- [0112] 표적 분석물을 검출하기 위해 방출 용액 부분을 처리하는 단계를 포함한다.
- [0113] 실시 형태 E는 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나의 실시 형태의 방법이며, 액체의 적어도 일부가 표적 분석물-결합 구역으로 이동한 후, 방법은 제2 유체 통로에 의해 다공성 캐리어를 통해 세척 용매를 통과시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0114] 실시 형태 F는 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나의 실시 형태의 방법이며, 제2 개구에 근접하게 리셉터클을 위치시키는 단계를 추가로 포함하고, 표적 분석물-결합 구역의 일부를 배출시키거나 방출 용액 부분을 배출시키는 단계는 리셉터클 내로 표적 분석물-결합 구역의 일부를 이동시키거나 방출 용액 부분을 이동시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0115] 실시 형태 G는 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나의 실시 형태의 방법이며, 액체 샘플을 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계는 농축 배양액으로부터의 액체 샘플을 다공성 캐리어와 접촉시키는 단계를 포함한다.
- [0116] 실시 형태 H는 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나의 실시 형태의 방법이며, 표적 미생물의 표지를 검출하기 위해 분석물-결합 구역의 일부를 처리하거나 방출 용액 부분을 처리하는 단계는, 표적 분석물을 검출하기 위해 분석물-결합 구역의 일부를 처리하거나 방출 용액 부분을 처리하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0117] 실시 형태 I는 실시 형태 G의 방법으로서, 표적 분석물을 검출하는 단계는 폴리펩타이드, 핵산, 효소, 또는 항원성 생체분자를 검출하는 단계를 포함한다.
- [0118] 실시 형태 J는 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나의 실시 형태의 방법이며, 표적 분석물-결합 구역의 일부를 처리하거나 방출 용액 부분을 처리하는 단계는 핵산 서열을 증폭시키는 단계를 포함한다.
- [0119] 실시 형태 K는 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나의 실시 형태의 방법이며, 표적 분석물은 특정 세포와 연관된다.
- [0120] 실시 형태 L은 장치이며, 장치는,
- [0121] 내부, 제1 개구, 및 제2 개구를 포함하는 케이싱; 및
- [0122] 샘플-수용 구역 및 표적 분석물-결합 구역을 포함하는 다공성 캐리어를 포함하며;
- [0123] 다공성 캐리어는 샘플-수용 구역으로부터 표적 분석물-결합 구역까지 연장되는 제1 유체 통로를 한정하고;
- [0124] 다공성 캐리어의 적어도 일부는 케이싱의 내부에 배치되고;

- [0125] 제2 유체 통로는 제1 개구 및 제2 개구로부터 케이싱을 통해 연장되는 중심 축을 포함하고, 제2 유체 통로는 표적 분석물-결합 구역에서 다공성 캐리어와 교차하고;
- [0126] 중심 축은 제1 유체 통로에 직교하게 배향된다.
- [0127] 실시 형태 M은 실시 형태 L의 장치이며, 샘플-수용 구역에의 접근을 제공하는 샘플 포트를 추가로 포함하며, 샘플-수용 구역은 케이싱의 내부에 배치된다.
- [0128] 실시 형태 N은 실시 형태 L 또는 실시 형태 M의 장치이며, 케이싱은 샘플 포트로부터 케이싱의 내부로 연장되는 제1 도관을 추가로 포함한다.
- [0129] 실시 형태 O는 실시 형태 L 내지 실시 형태 N 중 어느 하나의 실시 형태의 장치이며, 케이싱은 제1 개구로부터 케이싱의 내부로 연장되는 제2 도관을 추가로 포함한다.
- [0130] 실시 형태 P는 실시 형태 L 내지 실시 형태 O 중 어느 하나의 실시 형태의 장치이며, 다공성 캐리어에서 제1 유체 통로 내에 배치된 유동 표시기를 추가로 포함한다.
- [0131] 실시 형태 Q는 실시 형태 P의 장치이며, 유동 표시기 제어 구역을 추가로 포함하며, 유동 표시기 제어 구역은 다공성 캐리어에서 제1 유체 통로에 배치되고, 표적 분석물-결합 구역은 제1 유체 통로에서 샘플-수용 구역과 유동 표시기 제어 구역 사이에 배치된다.
- [0132] 실시 형태 R은 실시 형태 L 내지 실시 형태 Q 중 어느 하나의 실시 형태의 장치이며, 제1 개구를 제거가능하게 덮는 제거가능한 제1 커버 요소를 추가로 포함한다.
- [0133] 실시 형태 S는 실시 형태 L 내지 실시 형태 R 중 어느 하나의 실시 형태의 장치이며, 제2 개구를 제거가능하게 덮는 제거가능한 제2 커버 요소를 추가로 포함한다.
- [0134] 실시 형태 T는 실시 형태 L 내지 실시 형태 S 중 어느 하나의 실시 형태의 장치이며, 샘플 포트를 제거가능하게 덮는 제거가능한 제3 커버 요소를 추가로 포함한다.
- [0135] 실시 형태 U는 실시 형태 L 내지 실시 형태 T 중 어느 하나의 실시 형태의 장치이며, 제2 개구에 근접하게 배치된 흡수체를 추가로 포함한다.
- [0136] 실시 형태 V는 실시 형태 S에 종속적인 실시 형태 U의 장치이며, 흡수체가 제2 커버 요소에 결합된다.
- [0137] 실시 형태 W는 실시 형태 T 또는 실시 형태 U의 장치이며, 흡수체는 다공성 캐리어로부터 이격된다.
- [0138] 실시 형태 X는 선행하는 실시 형태들 중 어느 하나의 실시 형태의 장치이며, 장치는 제1 개구로부터 제2 개구까지 제2 유체 통로를 횡단하는 치수를 가진 탈착 부재를 추가로 포함하며, 탈착 부재의 일부는 제2 유체 통로에 활주가능하게 결합된다.
- [0139] 실시 형태 Y는 실시 형태 X의 장치이며, 탈착 부재는 절단 구조물을 포함한다.
- [0140] 실시 형태 Z는 실시 형태 X 또는 실시 형태 Y의 장치이며, 탈착 부재는 제2 도관을 통해 수성 액체를 가압하도록 구성된다.
- [0141] 실시 형태 AA는 실시 형태 L 내지 실시 형태 W 중 어느 하나의 실시 형태의 장치를 포함하는 키트이다.
- [0142] 실시 형태 AB는 실시 형태 AA의 키트이며, 제1 개구로부터 제2 개구까지 제2 유체 통로를 횡단하는 치수를 가진 탈착 부재를 추가로 포함한다.
- [0143] 실시 형태 AC는 실시 형태 AB의 키트이며, 탈착 부재는 절단 구조물을 포함한다.
- [0144] 실시 형태 AD는 실시 형태 AB 또는 실시 형태 AC의 키트이며, 탈착 부재는 케이싱을 통해 수성 액체를 가압하도록 구성된다.
- [0145] 실시 형태 AE는 실시 형태 AA 내지 실시 형태 AD 중 어느 하나의 실시 형태의 키트이며, 세척 액체를 추가로 포함한다.
- [0146] 실시 형태 AF는 실시 형태 AA 내지 실시 형태 AE 중 어느 하나의 실시 형태의 키트이며, 방출 액체를 추가로 포함한다.
- [0147] 실시 형태 AG는 실시 형태 AA 내지 실시 형태 AF 중 어느 하나의 실시 형태의 키트이며, 핵산 증폭용 시약을 추

가로 포함한다.

[0148]

실시에

[0149]

본 발명의 목적 및 이점은 하기의 실시예에 의해 추가로 예시되지만, 이들 실시예에 인용된 특정 물질 및 그 양 뿐만 아니라 기타 조건이나 상세 사항은 본 발명을 부당하게 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 달리 표시되지 않는 한, 모든 부 및 백분율은 중량 기준이며, 모든 물은 증류수이고, 모든 분자량은 중량 평균 분자량이다.

[0150]

참조 실시예 1. 측방 유동 다공성 기재에 포획된 미생물로부터의 핵산의 검출.

[0151]

급속 살모넬라 측방 유동 딥스틱(dipstick)(부품 번호 3000034)을 로머랩(Romer Labs)(미국 미주리주 유니온 소재)으로부터 입수하였다. 살모넬라 균주를 완충 펩톤수(Buffered Peptone Water)에서 하룻밤 성장시키고 버터필드 완충제(Butterfields Buffer)에서 희석하였다(즉, 연속 10배 희석물들). 1 밀리리터의 10^{-7} 희석물을 사용하여 페트리필름(PETRIFILM™) 엔테로박테리아세아에 카운트 플레이트(Count Plate)(미국 미네소타주 세인트 폴 소재의 쓰리엠 컴퍼니)를 접종하였다. 플레이트를 제조업자의 지시에 따라 배양하였고 110 콜로니 형성 단위(colony-forming unit)를 함유하는 것으로 확인되었다.

[0152]

딥스틱들 중 하나를 살모넬라 배양물의 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 및 10^{-7} 연속 희석물들 각각 내에 넣고, 제조업자의 지시에 따라 처리하였다. 각각의 딥스틱으로부터의 "대조(control)" 라인 및 "표적" 라인(살모넬라 미생물을 결합함)을 면도날로 절단하였다. 교차 오염을 피하기 위해 새 장갑과 면도날을 사용하여 각각의 라인을 절단하였다. 각각의 절단된 라인을 1.5-mL 마이크로원심분리 튜브 내의 100 μ L의 SS2 완충제(KCl, 3.19 g/L; (NH₄)₂SO₄, 1.41 g/L; 트리스 베이스(Tris base), 2.72 g/L; 프로클린(ProClin)® 950, 0.526 g/L; 폴리비닐피롤리돈 0.43 g/L, 트리톤(Triton™) X-100, 80 g/L) 중에 재현탁시켰다. 튜브를 100℃에서 10분 동안 가열 블록(heat block)에 두어, 라인에 결합된 임의의 세포를 용해시켰다. 비등 후, 샘플을 (마이크로피펫을 사용하여) 혼합하고, 20 μ L 분취물들을 취출하고 이를 사용하여 3M 분자 검출 시스템의 별도의 살모넬라 시약 정제(부품 번호 MDAS96NA, 미국 미네소타주 세인트 폴 소재의 3M 컴퍼니로부터 입수가가능함)를 재구성하였다.

[0153]

비교를 위해, 살모넬라 배양물의 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 및 10^{-7} 연속 희석물들의 20 μ L 분취물들을 사용하여 3M 분자 검출 시스템의 별도의 살모넬라 시약 정제를 재구성하였다. 재구성된 검정(assay)들 모두를 제조업자의 지시에 따라 3M 분자 검출 시스템 기구(미국 미네소타주 세인트 폴 소재의 3M 컴퍼니로부터 입수가가능함)에서 처리하였다. 각각의 검정 내의 검출가능한 살모넬라의 존재 또는 부재가 표 1에 도시된다.

[0154]

표 1. 측방 유동 딥스틱에 결합된 살모넬라의 검출. "+" 부호는 샘플 내의 살모넬라 미생물의 양성 검출을 나타낸다. "-" 부호는 샘플 내의 살모넬라 미생물의 미검출을 나타낸다.

희석물	측방 유동 딥스틱으로부터 절단된 부분		비교(액체 현탁액)
	"대조" 라인	"표적" 라인	
10^{-3}	+	+	+
10^{-4}	+	+	+
10^{-5}	+	+	+
10^{-6}	+	+	-
10^{-7}	-	-	-

[0155]

결과는, 측방 유동 장치의 표적 분석물-결합 구역에서 표적 미생물을 농축시키는 방법이, 표적 미생물의 검출에 있어서 적어도 약 10배 증강되었음을 나타낸다.

[0157]

실시예 1. 측방 유동 샘플 제조 장치의 구성.

[0158]

3M 양면 테이프의 층이 케이싱의 제1 부품과 스페이서 요소 사이에 삽입되었다는 것을 제외하고는, 도 11a에 도시된 장치와 유사한 장치를 구성하였다. 구멍들을 그것들이 제1 및 제2 도관과 정렬될 수 있도록 양면 테이프 내로 절단하여, 제1 및 제2 도관으로부터 다공성 캐리어로의 액체의 통과를 허용하도록 하였다. 스페이서 요소는 다공성 캐리어를 둘러싸기에 충분히 큰 개구를 갖는 PET 필름(0.254 mm 두께)의 스트립이었다.

[0159]

PET 필름(두께 0.254 mm)을 사용하여 케이싱의 제1 부품을 구성하였다. 제1 부품을 관통해 2개의 구멍을 뚫었다. 뒤집어진 마이크로원심분리 튜브의 개구를 (미국 미네소타주 세인트 폴 소재의 쓰리엠 컴퍼니로부터 입수

가능한 3M™ 접착 전사 테이프(Adhesive Transfer Tape) 6035PC를 사용하여) 구멍들 중 하나에 접착하여 제1 도관을 형성하였다. 튜브의 바닥을 절단하여 튜브를 중공 실린더로 전환시켰다. 1-밀리리터 일회용 플라스틱 주사기의 배럴을 (3M™ 접착 전사 테이프 6035PC를 사용하여) 다른 구멍에 접착하여 제2 도관을 형성하였다. 일회용 주사기의 플런저를 탈착 부재로서 사용하였다. 다공성 캐리어는 와트만으로부터의 FUSION 5™ 측방 유동 재료의 스트립(4 mm 폭)이었다. 제2 부품은 접착제(3M™ 접착 전사 테이프 6035PC)로 코팅된 PET 필름(0.254 mm 두께)의 스트립이었으며, 접착제는 제2 부품을 스페이스 요소에 접합시켰다. 제2 부품은 제2 도관과 정렬된 톱니모양의 구멍을 가져서, 팁이 다공성 지지부와 접촉할 때까지 탈착 부재가 제2 도관을 통해 가압될 때, 탈착 부재 상의 추가의 압력은 다공성 캐리어를 톱니모양의 에지에 대해 가압함으로써, 다공성 캐리어의 일부를 절단하고 그 일부를 톱니모양의 구멍을 통해 배출시키도록 하였다.

[0160] 장치를 조립한 후, 각 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역을 제조하였다. 2-마이크로미터 박트라스(BACTRACE™) 항-대장균 0157 라텍스 응집 비드의 현탁액(미국 메릴랜드주 게이터스버그 소재의 KPL로부터 입수됨) 2 마이크로리터를 500 μ L의 탈이온수에 첨가하고, 혼합하고, 장치의 제2 도관(즉, 주사기 배럴)에 첨가하였다. 탈착 부재(즉, 주사기 플런저)를 도관 내에 삽입하고 천천히 누름으로써, 비드를 다공성 캐리어 내로 가압하였다. 플런저를 장치로부터 빼내고, 장치를 진공 하에 40℃에서 2시간 동안 건조시켰다. 이것은 다공성 매트릭스에 비드를 고정시켰다.

[0161] 실시예 2. 샘플을 제조하고 상기 제조된 샘플에서 미생물을 검출하는 방법에서의 측방 유동 샘플 제조 장치의 사용.

[0162] 샘플 제조 장치들을 실시예 1에 따라 제조하였다. 대장균 0157의 세균 콜로니(혈액 한천 플레이트로부터 취함)를 버터필드 완충제 중에 현탁시키고 초기 현탁액을 버터필드 완충제에서 연속적으로 희석함으로써(10배 희석물들) 세균 현탁액을 제조하였다. 10^{-2} 희석물 내지 10^{-6} 희석물 각각의 6개의 20-마이크로리터 분취물들을 제조업자의 지시에 따라 3M 분자 검출 시스템을 사용하여 대장균 0157의 존재에 대해 분석하였다. 표 2에 도시된 결과는 세균 현탁액의 10^{-2} 내지 10^{-5} 희석물들로부터 취한 분취물들 내의 대장균 0157의 재현가능한 검출을 나타내었다. 그 결과는 또한 세균 현탁액의 10^{-6} 희석물로부터 취한 분취물 내의 대장균 0157의 재현가능한 검출의 부재(lack)를 나타내었다.

[0163] 표 2. 세균 현탁액의 연속 희석물들 내의 대장균 0157의 존재의 검출. 분자는 각각의 희석물에 대해 대장균 0157이 양성으로 검출된 샘플들의 수를 나타낸다. 분모는 각각의 희석물에 대해 시험된 샘플들의 수를 나타낸다.

희석물	시험 결과 (# 양성/# 샘플)
10^{-2}	6/6
10^{-3}	6/6
10^{-4}	6/6
10^{-5}	6/6
10^{-6}	0/6

[0164]

[0165] 대장균 0157을 검출하도록 구성된 개별 샘플 처리 장치들의 제1 도관 내에 10^{-5} , 10^{-6} , 및 10^{-7} 연속 희석물들의 250 마이크로리터 분취물들을 로딩하였고, 샘플 액체가 10분 동안 다공성 캐리어를 통해 유동하도록 하였다. 10분 후, 탈착 부재(즉, 플런저)를 사용하여 각각의 장치로부터 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 부분을 배출시켰다. 각각의 표적 분석물-결합 부분을 별도의 반응 튜브 내로 배출시켰다. 100 마이크로리터의 SS2 용액을 각각의 반응 튜브에 첨가하였고, 튜브를 100℃에서 10분 동안 가열 블록에 두어, 표적 분석물-결합 부분에 결합된 임의의 세포를 용해시켰다. 튜브를 냉각시킨 후, 20 μ L를 반응 튜브로부터 제거하고, 3M 분자 검출 시스템의 대장균 0157 시약 정제를 재구성하는 데 사용하였다. 재구성된 용액들 모두를 제조업자의 지시에 따라 3M 분자 검출 시스템 기구에서 처리하였다. 각각의 검정 내의 검출가능한 대장균 0157의 존재 또는 부재가 표 3에 도시된다.

[0166] 표 3. 실시예 2에서 시험된 샘플 처리 장치로부터 배출된 표적 분석물-결합 부분 내의 대장균 0157의 존재의 검출. "+" 부호는 샘플 내의 대장균 미생물의 양성 검출을 나타낸다. "-" 부호는 샘플 내의 대장균 미생물의 미검출을 나타낸다.

시험된 회석물	결과
10^{-5}	+
10^{-6}	+
10^{-7}	-

[0167]

[0168]

표 2에 도시된 결과와 표 3에 도시된 결과의 비교는, 본 개시 내용의 샘플 처리 장치를 사용하여 미생물을 검출하는 방법이 종래의 검출 방법보다 민감하다는 것을 나타낸다.

[0169]

실시예 3. 측방 유동 장치에서 세척 단계를 포함하는 샘플을 제조하는 방법에서의 측방 유동 샘플 제조 장치의 사용.

[0170]

샘플 제조 장치를 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조하였다. 표적 분석물-결합 구역 내에 항-대장균 0157 라텍스 응집 비드(KPL로부터 입수됨)를 갖는 하나의 장치를 제조하였고, 표적 분석물-결합 구역 내에 항-대장균 026 라텍스 응집 비드(KPL로부터 입수됨)를 갖는 다른 장치를 제조하였다. 대장균 0157 및 대장균 026의 무균성 현탁액들을 각각 제조하였고 실시예 2에 기술된 바와 같이 회석하였다. 각각의 세균 현탁액의 10^{-5} 회석물의 250 마이크로리터 분취물들을, 대응하는 세균을 검출하도록 구성된 샘플 처리 장치 내에 로딩하였고, 샘플들이 다공성 캐리어를 통해 10분 동안 침투하게 하였다. 10분 후, 500 μ L의 세척 용매(버터필드의 완충제)를 제2 도관 내로 피펫팅하였고, 후속적으로 탈착 부재(즉, 플런저)를 사용하여 다공성 캐리어의 표적 분석물-결합 구역을 통해 가압하였다. 세척 용매를 다공성 부재에 통과시킨 후, 다공성 부재의 일부(표적 분석물-결합 구역)가 장치로부터 반응 튜브 내로 배출될 때까지 탈착 부재를 다공성 부재에 대해 가압하였다. 100 마이크로리터의 SS2 용액을 각각의 반응 튜브에 첨가하였고, 튜브를 100℃에서 10분 동안 가열 블록에 두어, 표적 분석물-결합 부분에 결합된 임의의 세포를 용해시켰다. 튜브를 냉각시킨 후, 20 μ L를 반응 튜브로부터 제거하고, 3M 분자 검출 시스템의 대응하는 시약 정제(즉, 대장균 0157 시약 정제 또는 대장균 026 시약 정제)를 재구성하는 데 사용하였다. 재구성된 용액들 모두를 제조업자의 지시에 따라 3M 분자 검출 시스템 기구에서 처리하였다. 각각의 검정 내의 검출가능한 대장균의 존재 또는 부재가 표 4에 도시된다.

[0171]

표 4. 실시예 3에서 시험된 샘플 처리 장치로부터 배출된 표적 분석물-결합 부분 내의 대장균의 존재의 검출. "+" 부호는 샘플 내의 대장균 미생물의 양성 검출을 나타낸다. "-" 부호는 샘플 내의 대장균 미생물의 미검출을 나타낸다.

시험된 회석물	검출 비드	
	대장균 O157	대장균 O26
10^{-5}	+	-

[0172]

[0173]

결과를, 샘플 처리 장치에서의 원위치에서 표적 분석물-결합 영역을 세척한 후에도, 장치가 표적 분석물-결합 영역에 결합된 대장균 0157 미생물을 검출할 수 있었음을 나타낸다.

[0174]

본 명세서에서 언급된 모든 특허, 특허 출원, 및 공보, 그리고 전자적으로 입수가능한 자료의 완전한 개시 내용이 참고로 포함된다. 본 출원의 개시 내용과 본 명세서에 참고로 포함된 임의의 문헌의 개시 내용(들) 사이에 임의의 모순이 존재하는 경우, 본 출원의 개시 내용이 좌우할 것이다. 전술한 상세한 설명 및 예들은 단지 명확한 이해를 위해 주어졌다. 이로부터의 어떠한 불필요한 제한도 없음이 이해되어야 한다. 당업자에게 명백한 변형이 청구범위에 의해 한정되는 본 발명 내에 포함될 것이므로, 본 발명은 도시되고 설명된 정확한 상세 사항으로 한정되지 않는다.

[0175]

모든 표제는 독자의 편의를 위한 것이며, 그렇게 명시되지 않는 한, 표제 이후의 본문의 의미를 제한하기 위해 사용되어서는 안 된다.

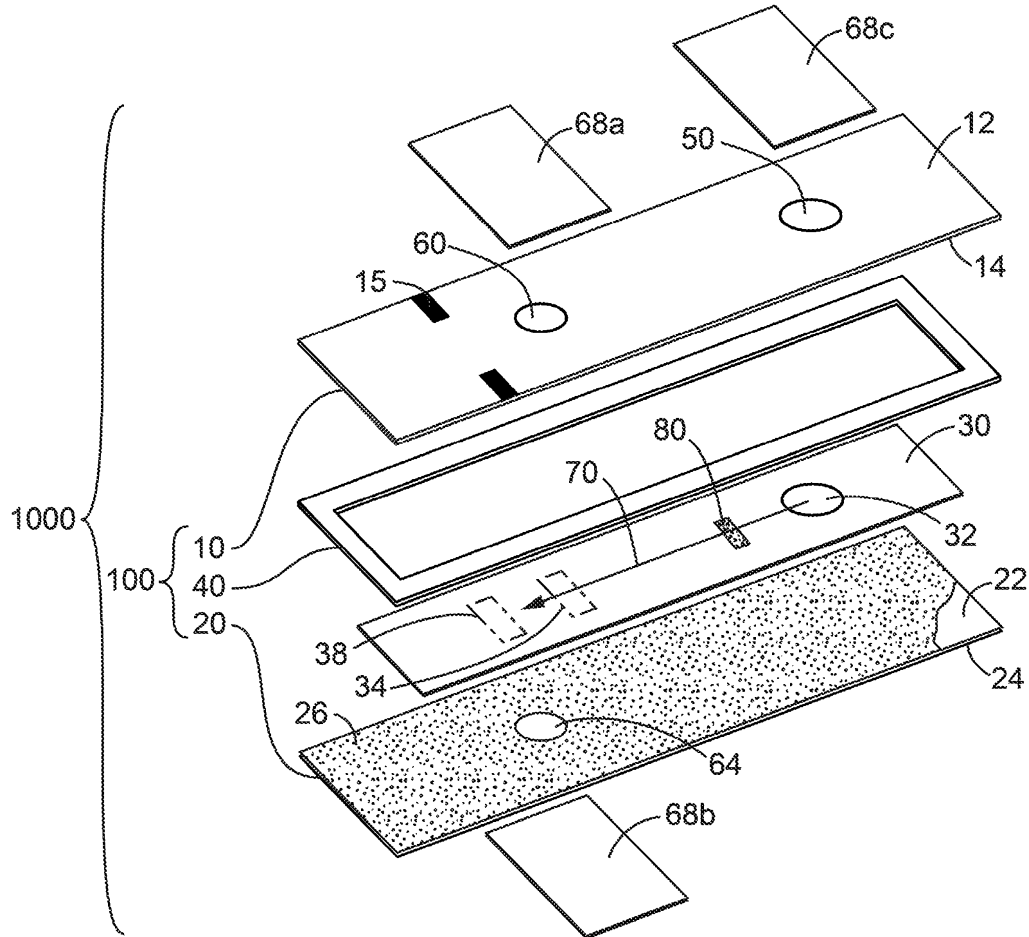
[0176]

본 명세서에 예시적으로 기술된 본 발명은 본 명세서에 구체적으로 개시되지 않은 임의의 요소(들)의 부재 시에도 적합하게 실시될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 본 명세서의 각각의 경우에서, 용어들 "포함하는", "본질적으로 ~로 이루어지는", 및 "~로 이루어지는" 중 임의의 것은 다른 두 용어 중 어느 하나로 대체될 수 있다. 채용된 용어들 및 표현들은 제한이 아닌 설명의 관점에서 사용되며, 이러한 용어들 및 표현들의 사용에 있어서, 도시되고 기술된 특징들 또는 그 부분들의 임의의 등가물을 배제할 의도는 없지만, 다양한 수정들이 청구된 본 발명의 범위 내에서 가능하다는 것이 인식된다. 따라서, 본 발명이 바람직한 실시 형태들 및 선택적 특징들에 의해 구체적으로 개시되었지만, 본 명세서에 개시된 개념들의 수정 및 변형은 당업자에 의해 의존될 수 있고,

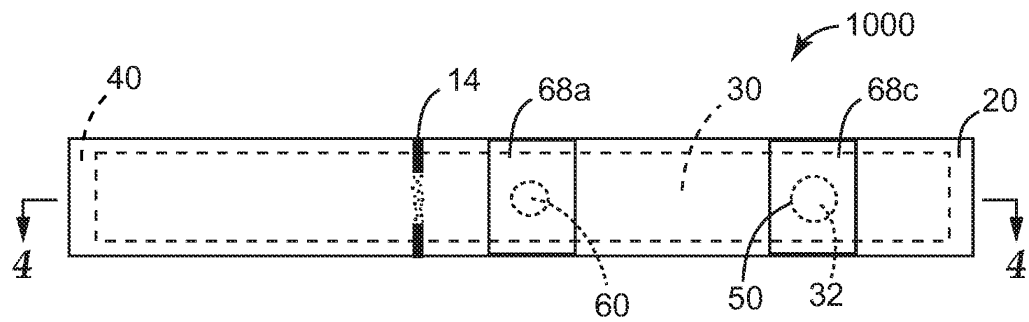
그러한 수정들 및 변형들은 첨부된 청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주된다는 것이 이해되어야 한다.

도면

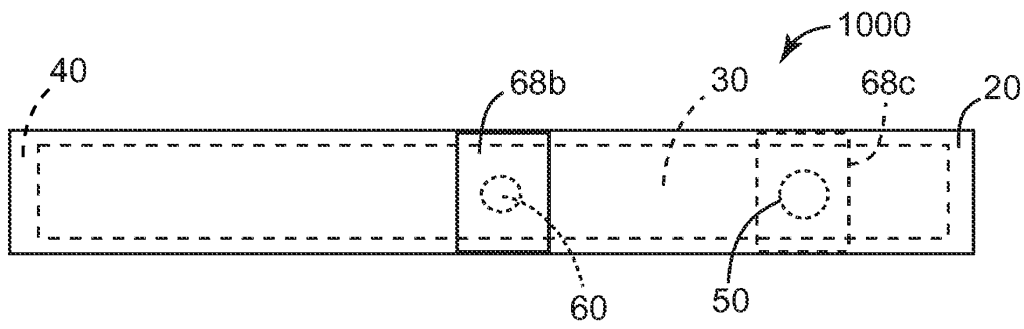
도면1



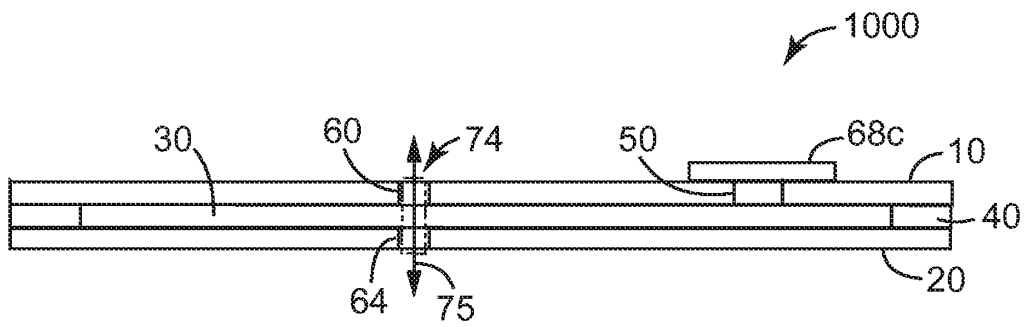
도면2



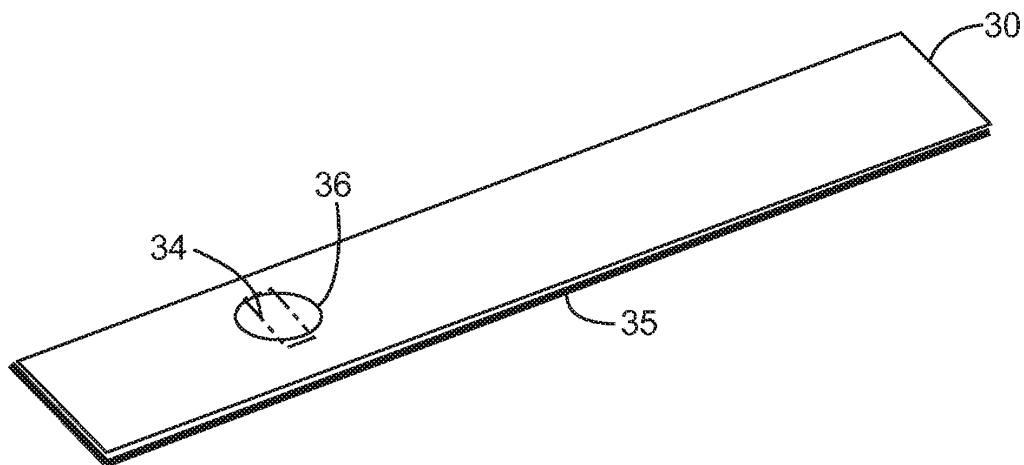
도면3



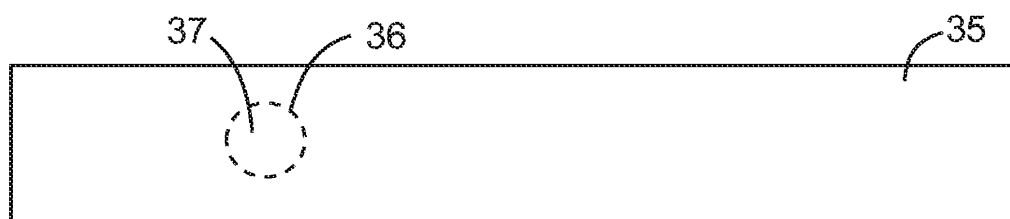
도면4



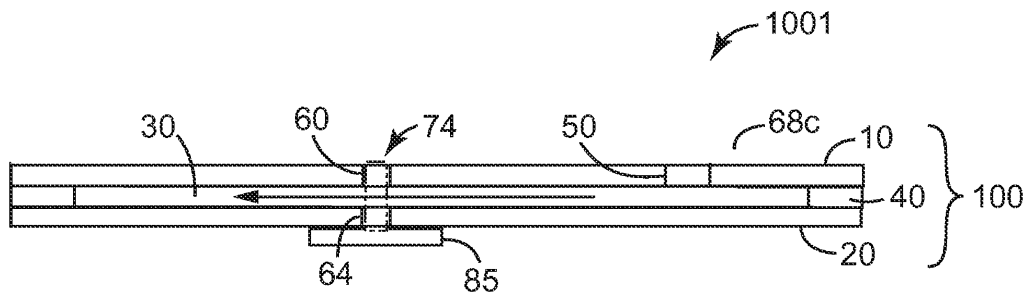
도면5



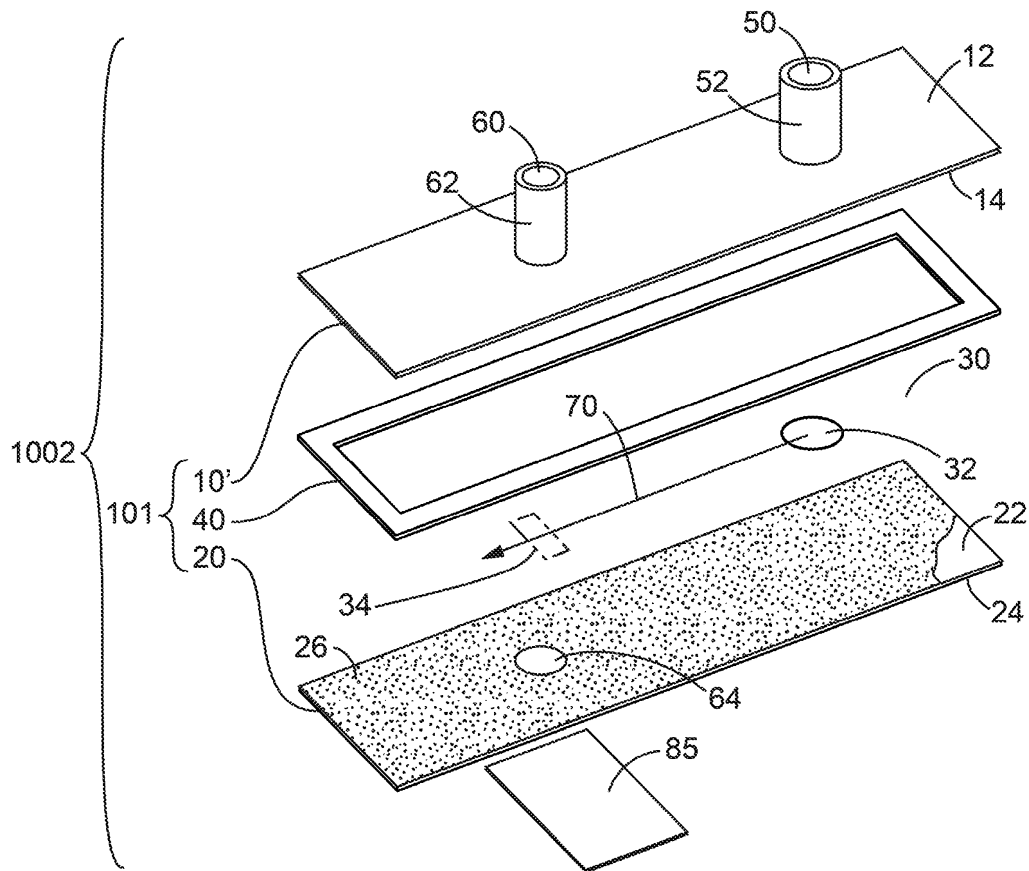
도면6



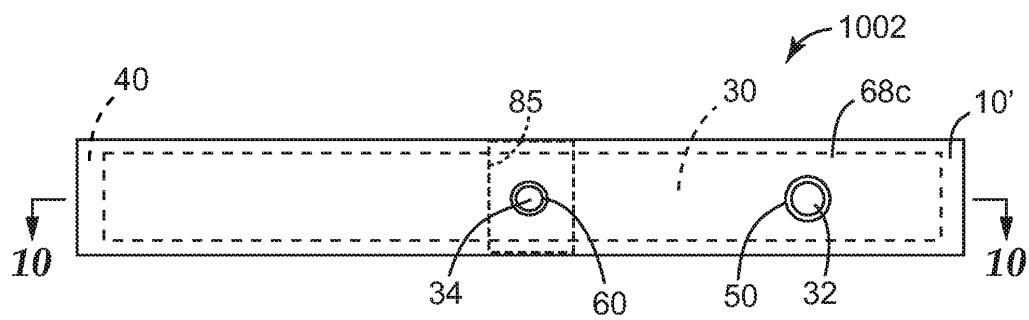
도면7



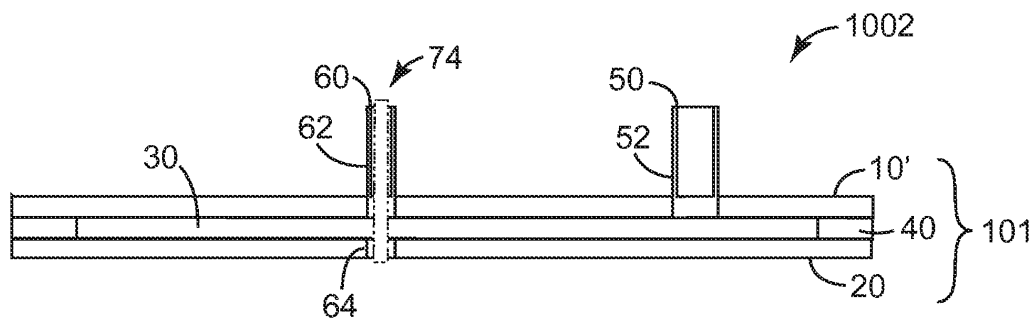
도면8



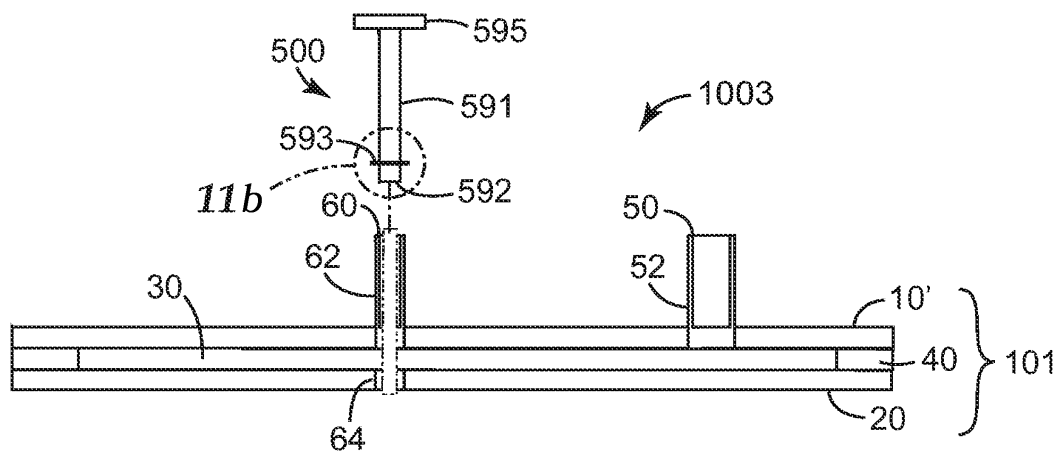
도면9



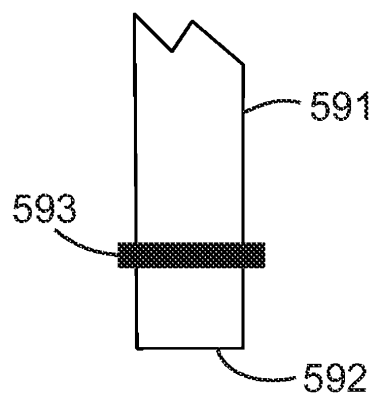
도면10



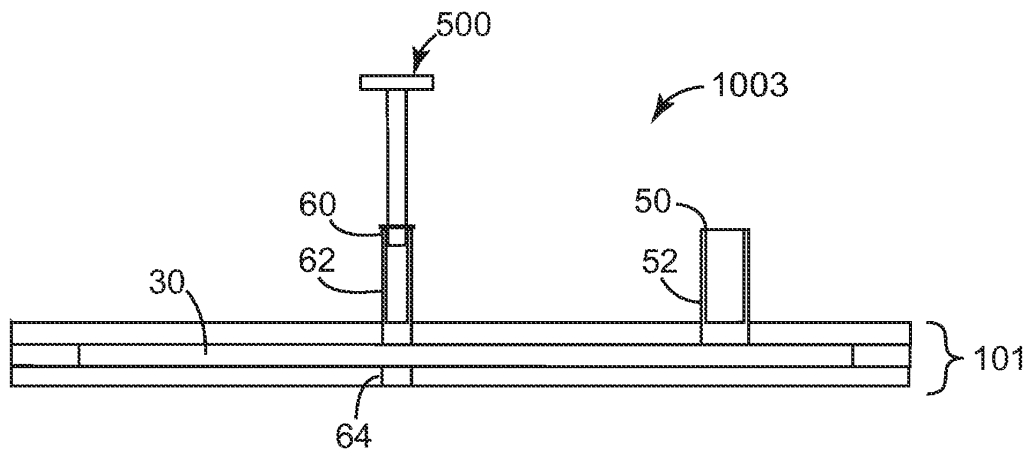
도면11a



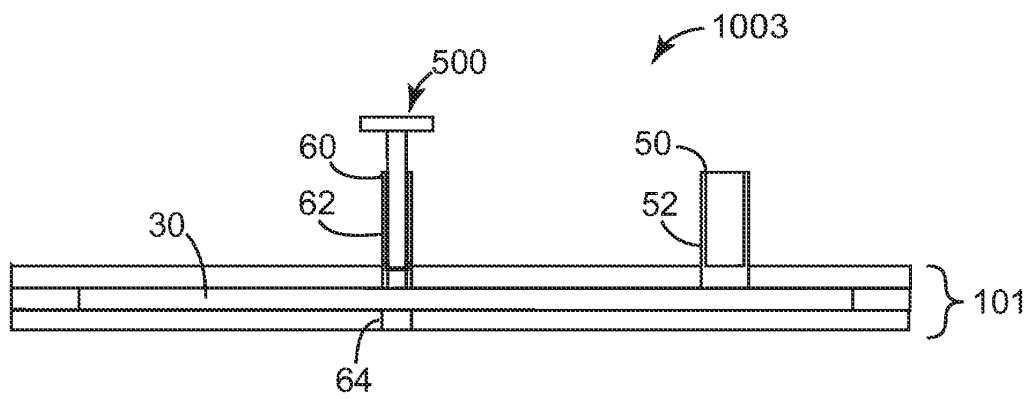
도면11b



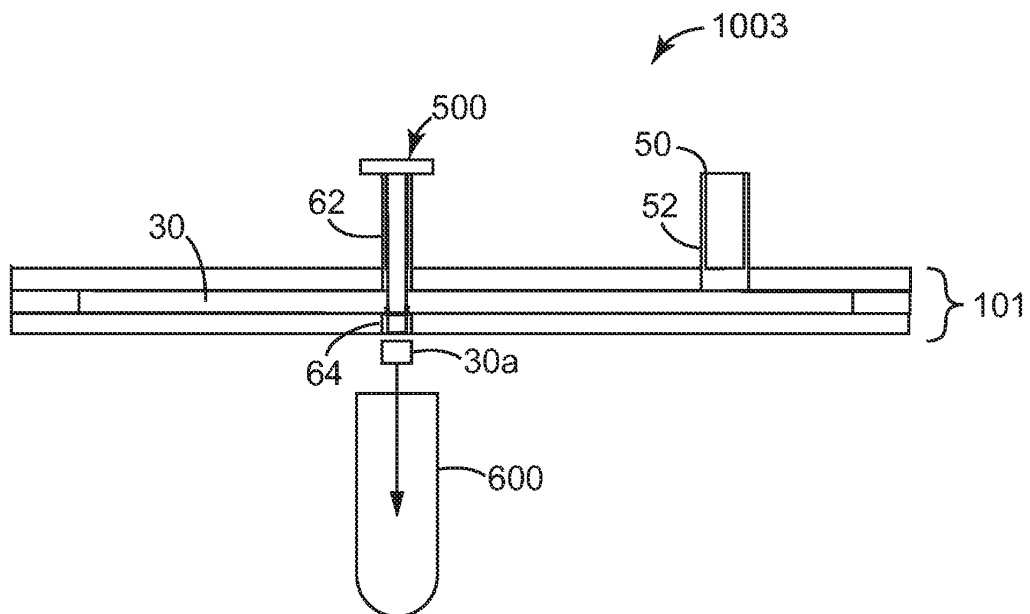
도면12a



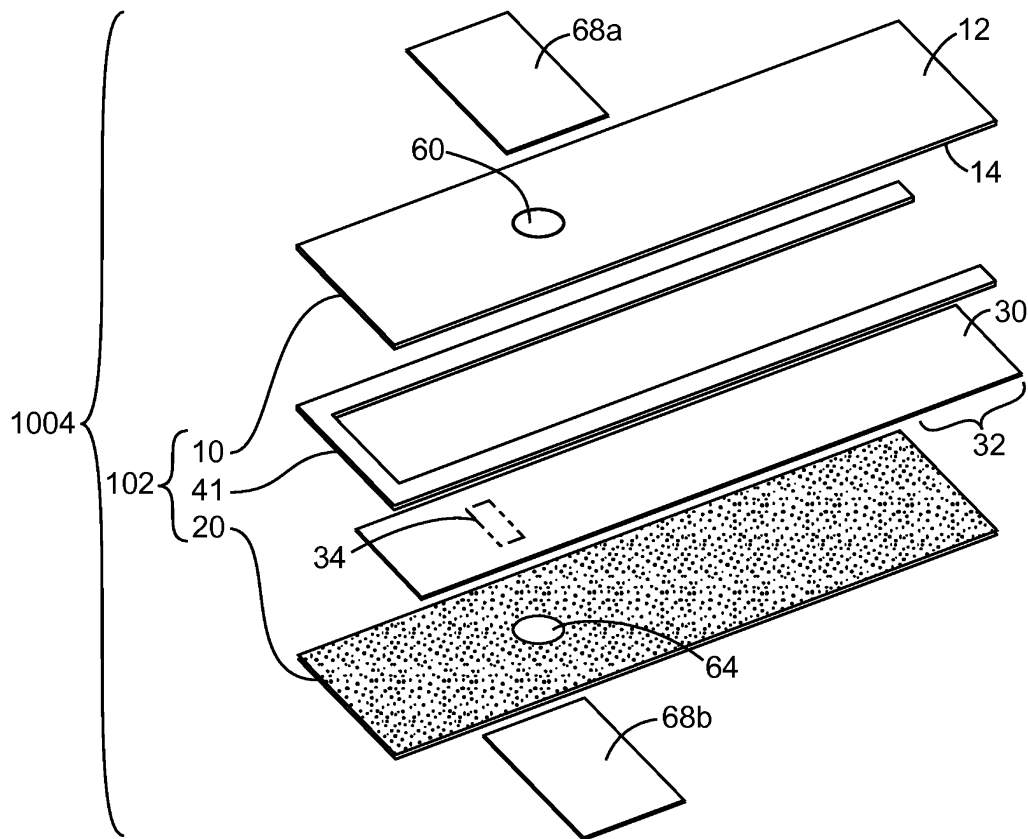
도면12b



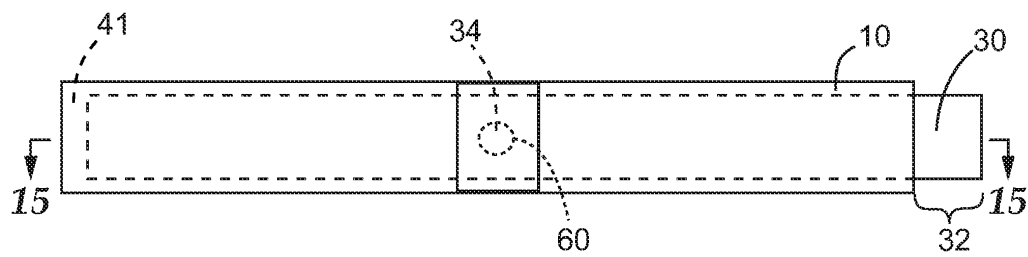
도면12c



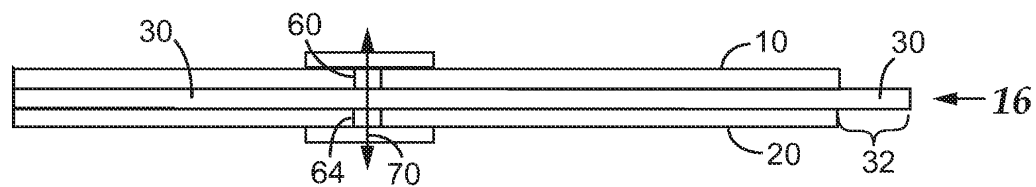
도면13



도면14



도면15



도면16

