



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2018-0098685  
(43) 공개일자 2018년09월04일

- |  |  |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/>C12Q 1/68 (2018.01) B01L 7/00 (2006.01)<br/>C01G 49/08 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/>C12Q 1/68 (2018.05)<br/>B01L 7/52 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-7024314(분할)</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2015년08월28일<br/>심사청구일자 2018년08월23일</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2016-7034336<br/>원출원일자(국제) 2015년08월28일<br/>심사청구일자 2016년12월07일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2018년08월23일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/CN2015/088423</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2016/034082<br/>국제공개일자 2016년03월10일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>62/044,413 2014년09월02일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/>췌, 따빈<br/>타이완 701 (알오씨), 타이난 시티, 이스트 디스트릭트, 린셴 로드, 섹터 1, 레인 153, 넘버 36</p> <p>(72) 발명자<br/>췌, 따빈<br/>중국, 타이완 701, 타이난 시티, 이스트 디스트릭트, 린셴로드, 섹터 1, 레인 153, 넘버 36<br/>황, 즈자<br/>중국, 타이완 701, 타이난 시티, 이스트 디스트릭트, 린셴로드, 섹터 1, 레인 153, 넘버 36<br/>(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/>김윤배, 이상목</p> |
|--|--|

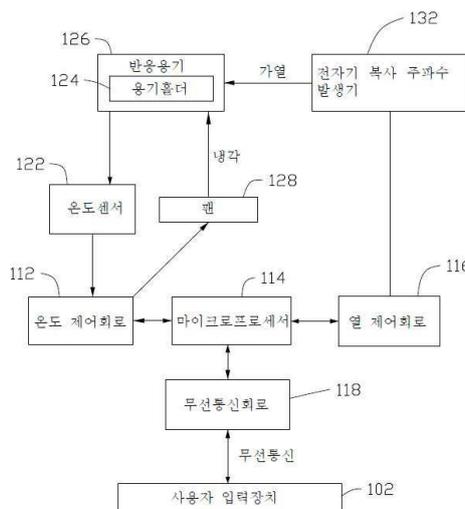
전체 청구항 수 : 총 32 항

(54) 발명의 명칭 **폴리메라아제 연쇄 반응의 방법 및 장치**

**(57) 요약**

폴리메라아제 연쇄 반응 중에서 반응 혼합물의 표적 핵산배열을 증폭하는 방법 및 장치. 본 방법은 반응 혼합물을 전이금속, 전이금속 산화물 또는 전이금속 수산화물, 또는 질화물, 인화물 또는 상기 전이금속 또는 전이금속산화물로 도핑된 제III족 금속화합물의 비소화물, 또는 전이금속으로 도핑된 이산화규소, 전이금속 산화물로 도핑된 이산화규소, 또는 전이금속 수산화물로 도핑된 이산화규소를 포함하는 재료로 형성 전자기복사 주파수를 흡수입자와 접촉시키는 것; 표적핵산배열을 증폭하기 위하여 약 200KHz 내지 500THz의 주파수의 전자기복사로 전자기복사 흡수입자를 조사하는 것을 포함하고, 여기에서 제III족 금속은 알루미늄(Al), 갈륨(Ga), 및 인듐(In) 중 어느 하나이고, 전이금속은 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co), 또는 구리(Cu) 중 어느 하나이다.

**대표도** - 도2



(52) CPC특허분류

**C01G 49/08** (2013.01)  
*B01L 2200/0647* (2013.01)  
*B01L 2200/147* (2013.01)  
*B01L 2300/023* (2013.01)  
*B01L 2300/027* (2013.01)  
*B01L 2300/1844* (2013.01)  
*B01L 2300/1861* (2013.01)  
*C01P 2004/62* (2013.01)  
*C01P 2004/64* (2013.01)

(72) 발명자

**장, 전민**

중국, 타이완 701, 타이난 시티, 이스트 디스트릭트, 린센로드, 섹터 1, 라인 153, 넘버 36

**리, 중루**

중국, 타이완 701, 타이난 시티, 이스트 디스트릭트, 린센로드, 섹터 1, 라인 153, 넘버 36

**장, 비양**

중국, 타이완 701, 타이난 시티, 이스트 디스트릭트, 린센로드, 섹터 1, 라인 153, 넘버 36

**췌, 밍치**

중국, 타이완 701, 타이난 시티, 이스트 디스트릭트, 린센로드, 섹터 1, 라인 153, 넘버 36

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

폴리메라아제 연쇄 반응중에서 핵산배열을 증폭하는 방법은,  
 반응용기에서, 표적 핵산을 포함하는 반응 혼합물을 전이금속을 포함하는 입자와 접촉시키고; 및  
 100THz 내지 500THz의 주파수의 전자기복사 (EMR)로 상기 입자를 조사하는 것을 포함하고,  
 상기 전이금속 재료는 하나 이상의 전이금속 산화물 및 전이금속 수산화물의 조합을 포함하고,  
 상기 전이금속 산화물 및 상기 전이금속 수산화물은 하나 이상의 FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, FeO(OH), Fe(OH)<sub>2</sub>, Fe(OH)<sub>3</sub>,  
 MnO, Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MnO(OH), MnO<sub>2</sub>, CoO, CoO(OH), Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 및 CuO를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 2**

제1항에 있어서,  
 상기 전이금속 재료는 전이금속으로 도핑된 제III족 금속화합물, 전이금속으로 도핑된 이산화규소, 전이금속 산  
 화물로 도핑된 이산화규소, 또는 전이금속 수산화물로 도핑된 이산화규소를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 3**

제2항에 있어서,  
 상기 제III족 금속화합물은 질화물, 인화물, 또는 비소화물 중 어느 하나이고, 및 상기 제III족 금속은 알루미늄 (Al), 갈륨 (Ga), 또는 인듐 (In) 중어느 하나인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 4**

제2항에 있어서,  
 상기 전이금속은 망간 (Mn), 철 (Fe), 코발트 (Co), 및 구리 (Cu) 중 어느 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는  
 방법.

**청구항 5**

제1항에 있어서, 상기 폴리메라아제 연쇄 반응에서 반응 혼합물의 온도는, 13°C/초 내지 15°C/초의 속도로 증가  
 되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 6**

제1항에 있어서, 상기 폴리메라아제 연쇄 반응에서 반응 혼합물의 온도는, 6°C/초 내지 7°C/초의 속도에서 감소  
 되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 7**

제1항에 있어서,  
 적어도 하나의 상기 입자의 역학적 직경은 10nm 내지 1,200nm인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 8**

제1항에 있어서,  
 적어도 하나의 상기 입자의 역학적 직경은 200nm 내지 1,200nm인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 9**

제1항에 있어서,

적어도 하나의 상기 입자의 역학적 직경은 60nm 내지 150nm인 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 10**

제1항에 있어서,

상기 입자를 조사하는 것은:

상기 반응 혼합물의 온도를 0.5분 내지 1분간 80 °C 내지 105 °C인 제1 온도범위까지 상승시키고, 이에 따라 상기 표적핵산을 변성시키는것;

상기 반응 혼합물의 온도를 0.5분 내지 1분간 35 °C 내지 65 °C 인 제2 온도범위까지 상승시키고, 이에 따라 한 쌍의 프라이머를 상기 변성된 표적핵산 배열과 교배시키는것; 및

상기 반응 혼합물의 온도를 0.5분 내지 5분간 40 °C 내지 80 °C 인 제3 온도범위까지 상승시키고, 이에 따라 연장합성의 방법에 의하여 표적핵산배열을 증폭시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 11**

폴리메라아제 연쇄 반응으로 표적핵산배열을 증폭하는 장치는,

사용자 입력 장치와 통신가능하게 연결되고, 상기 사용자 입력 장치에서 명령을 수신하고 수신한 명령을 실행하는 것을 구성하는 마이크로 프로세서,

상기 마이크로 처리기와 통신가능하게 연결되고, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)중의 하우스 시약 및 입자의 반응용기, 상기 반응용기 및 상기 마이크로프로세서와 통신가능하게 연결된 온도센서,

상기 마이크로프로세서와 통신가능하게 연결되고 100THz 내지 500THz의 주파수의 전자기복사는 상기 반응용기에 직접 구성된 전자기복사 발생기를 포함하고,

여기에서 상기 입자는 전이금속 재료를 포함하고,

상기 나노입자는 하나 이상의 전이금속 산화물 및 전이금속 수산화물의 조합을 포함하고,

상기 전이금속 산화물 및 상기 전이금속 수산화물은 하나 이상의 FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, FeO(OH), Fe(OH)<sub>2</sub>, Fe(OH)<sub>3</sub>, MnO, Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MnO(OH), MnO<sub>2</sub>, CoO, CoO(OH), Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 및 CuO를 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 12**

제11항에 있어서,

상기 전자기복사 발생기는 주파수가 300THz 내지 400THz의 전자기복사를 발생하는 것으로 구성되는 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 13**

제11항에 있어서,

상기 반응용기의 온도센서를 제어하기 위한 온도제어회로와; 및

상기 전자기복사 발생기에서 발생하는 전자기복사 주파수의 강도를 조절하기 위한 열제어회로를 포함하고,

상기 마이크로처리기는 상기 온도 제어회로 및 상기 열 제어회로와 연결되어 있는 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 14**

제13항에 있어서,

상기 마이크로프로세서는 상기 표적핵산을 변성시키기 위하여 상기 반응용기에 포함된 반응 혼합물의 온도를 0.5 내지 1분간 80 °C 내지 105 °C인 제1 온도범위까지 상승시키고;

한 쌍의 프라이머를 상기 변성된 표적핵산과 교배시키기 위하여 상기 반응 혼합물의 온도를 0.5분 내지 1분간

35 ℃ 내지 65 ℃인 제2 온도범위까지 상승시키고; 및

연장합성에 의하여 상기 표적핵산배열을 증폭시키기 위하여 상기 반응 혼합물의 온도를 0.5분 내지 5분간 40 ℃ 내지 80 ℃인 제3 온도범위까지 상승시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 15**

제11항에 있어서,

상기 사용자 입력 장치와 무선통신을 위한 무선통신회로를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 16**

제11항에 있어서,

상기 전이금속 재료는 전이금속으로 도핑된 제III족 금속화합물, 전이금속으로 도핑된 이산화규소, 혹은 전이금속 수산화물로 도핑된 이산화규소, 또는 전이금속 수산화물로 도핑된 이산화규소를 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 17**

제16항에 있어서,

상기 제III족 금속화합물은 질화물, 인화물, 또는 비소화물 등 어느 하나이고, 및 상기 제III족 금속은 알루미늄(Al), 갈륨(Ga), 및 인듐(In) 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 18**

제16항에 있어서,

상기 전이금속 재료는 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co), 및 구리(Cu) 중 어느 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 19**

제11항에 있어서,

적어도 하나의 상기 입자의 역학적 직경은 10nm 내지 1,200nm인 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 20**

제11항에 있어서,

적어도 하나의 상기 입자의 역학적 직경은 200nm 내지 1,200nm인 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 21**

제11항에 있어서,

적어도 하나의 상기 입자의 역학적 직경은 60nm 내지 150nm인 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 22**

제11항에 있어서,

상기 사용자 입력 장치는 휴대전화, 노트북 컴퓨터, 및 태블릿 컴퓨터 중의 하나인 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 23**

제11항에 있어서,

상기 장치는 500cm<sup>3</sup> 이하의 부피를 가지고 있는 것을 특징으로 하는 장치.

**청구항 24**

폴리메라아제 연쇄 반응 용기에 있어서, 상기 용기표면에 전이금속 재료를 포함하는 하나 이상의 막, 코팅, 나노입자의 층을 포함하고,

100THz 내지 500THz의 주파수의 전자기복사 (EMR)로 상기 나노입자를 조사하며,

상기 나노입자는 하나 이상의 전이금속 산화물 및 전이금속 수산화물의 조합을 포함하고,

상기 전이금속 산화물 및 전이금속 수산화물은 하나 이상의 FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, FeO(OH), Fe(OH)<sub>2</sub>, Fe(OH)<sub>3</sub>, MnO, Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MnO(OH), MnO<sub>2</sub>, CoO, CoO(OH), Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 및 CuO를 포함하는 것을 특징으로 하는 용기.

**청구항 25**

제24항에 있어서,

상기 전이금속 재료는 전이금속으로 도핑된 제III족 금속화합물, 전이금속으로 도핑된 이산화규소, 전이금속 산화물로 도핑된 이산화규소, 또는 전이금속 수산화물로 도핑된 이산화규소를 포함하는 것을 특징으로 하는 용기.

**청구항 26**

제25항에 있어서,

상기 제III족 금속화합물은 질화물, 인화물, 또는 비소화물중 어느 하나이고, 상기 제III족 금속은 알루미늄 (Al), 갈륨 (Ga), 및 인듐 (In) 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는 용기.

**청구항 27**

제25항에 있어서,

상기 전이금속 재료는 망간 (Mn), 철 (Fe), 코발트 (Co), 및 구리 (Cu)중 어느 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 용기.

**청구항 28**

제24항에 있어서,

적어도 하나의 입자의 역학적 직경은 10nm 내지 1,200nm인 것을 특징으로 하는 용기.

**청구항 29**

제24항에 있어서,

적어도 하나의 입자의 역학적 직경은 200nm 내지 1,200nm인 것을 특징으로 하는 용기.

**청구항 30**

제24항에 있어서,

적어도 하나의 입자의 역학적 직경은 60nm 내지 150nm인 것을 특징으로 하는 용기.

**청구항 31**

마이크로 유체 바이오칩에 있어서,

상기 제24항의 용기를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유체 바이오칩.

**청구항 32**

폴리메라아제 연쇄 반응장치로 300THz 내지 400 THz인 주파수의 전자기복사(EMR)로 조사한 후 열을 발생하기 위한 50nm 내지 200nm의 역학적 직경을 갖고 있는 나노입자에 있어서, 전이금속 산화물 또는 전이금속 수산화물을 포함하고,

상기 나노입자는 하나 이상의 전이금속 산화물 및 전이금속 수산화물의 조합을 포함하고,

상기 전이금속 산화물 및 전이금속 수산화물은 하나 이상의 FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, FeO(OH), Fe(OH)<sub>2</sub>, Fe(OH)<sub>3</sub>,

MnO, Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MnO(OH), MnO<sub>2</sub>, CoO, CoO(OH), Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 및 CuO를 포함하는 것을 특징으로 하는 나노입자.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 출원은 2014년 9월 2일에 출원된 미국 가특허출원 62/044,413호를 우선권으로 하며, 그 내용을 인용하여 본문에 포함한 것이다.

[0002] 본 발명은 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)에 의하여 핵산배열을 증폭시키는 것에 관한 것이다. 특히 본 발명은 전자기복사(EMR)와 전이금속 재료를 구비하는 입자를 흡수하는 전자기복사 주파수가 함께 가열원으로 사용되어 폴리메라아제 연쇄 반응 중에서 핵산배열을 증폭시키는 것에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0003] 폴리메라아제 연쇄 반응은 단일 혹은 복수개의 표적 템플레이트에서 DNA중 하나 이상의 단편의 복수개의 복사를 합성하기 위하여 발견된 기술이다. 오리지널의 폴리메라아제 연쇄 반응 공정은 테르무스 아쿠아티쿠스(Tag)에서의 내열성 DNA폴리메라아제에 의거하고, 상기 테르무스 아쿠아티쿠스(Tag)는 네가지 종류의 DNA염기(시토신, 구아닌, 아데닌, 티민) 및 한 쌍의 DNA프라이머를 포함하는 혼합물 중에 부여된 DNA사슬의 상보사슬을 합성할 수 있고, 각각의 프라이머는 표적 DNA 배열의 막단이다. 상기 혼합물을 가열하여 이중나선 DNA를 표적 DNA 배열을 포함하는 각각의 사슬로 분리하고, 그 후 분리한 사슬 중에서 상보적인 배열과 교배(hybridized)하기 위한 프라이머와 프라이머를 새로운 상보 사슬로 연장하기 위해 Tag폴리메라아제를 허용하기 위해 냉각된다. 반복되는 가열 및 냉각 사이클은 표적 DNA를 기하급수적으로 증가시키고, 새롭게 형성된 각각의 이중나선은 추가 합성을 위하여 두 개의 템플레이트로 되기 위해 분리된다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0004] 폴리메라아제 연쇄 반응의 전형적인 온도 프로파일은 (1) 95 °C 에서 15초 내지 30초간 변성; (2) 적합한 서냉 온도에서 30초 내지 60초간, 프라이머의 잡종형성(hybridization); 및 (3) 증폭해야할 DNA의 길이에 대응하여 일정한 시간, 일반적으로 약 30초 내지 60초간, 72 °C에서 교배시킨 프라이머의 신장(elongation) 혹은 연장(extension)을 포함한다. 변성 및 교배의 단계는 거의 순식간에 진행되지만 종래의 폴리메라아제 연쇄 반응장치로 열평형화를 위하여 금속의 가열 블록(heating block) 혹은 물을 사용할 때, 온도는 약 1 °C/초의 속도로 변화한다. 종래의 열 사이클은 DNA 샘플 자체 외의 재료의 가열 및 냉각을 요구하는 것에 대해 비효율적이다.

**과제의 해결 수단**

[0005] 본 발명의 설명은 첨부한 도면을 참조하면서 이하의 상세한 설명으로부터 더 잘 이해될 것이다.

**도면의 간단한 설명**

[0006] 도 1은 본 발명의 측면에 따라, 예시적인 소형 폴리메라아제 연쇄 반응 장치의 구조 및 그것의 사용자 장치와의 상호작용을 나타내는 평면도이다.

도 2는 본 발명의 측면에 따라, 소형 폴리메라아제 연쇄 반응 장치와 도1에 제시된 사용자의 장치 간의 예시적인 인터페이스를 나타내는 평면도이다.

도 3A는 본 발명의 측면에 따라, 테라헤르츠파의 파장에서 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 나노입자의 전자기복사 주파수 흡수 프로파일을 나타내는 평면도이다.

도 3B는 본 발명의 측면에 따라, 1.3MHz에서 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 나노입자의 전자기복사 주파수 흡수 프로파일을 나타내는 평면도이다.

도 4A는 본 발명의 측면에 따라, 실시예1.1의 입자의 온도변화의 시간경과이다.

도 4B는 본 발명의 측면에 따라, 폴리메라아제 연쇄 반응의 사이클 중에서 실시예1.1의 입자의 온도를 상승시키는 속도를 나타내는 평면도이다.

도 4C는 본 발명의 측면에 따라, 폴리메라아제 연쇄 반응의 사이클 중에서 실시예1.1의 입자의 온도를 저하시키는 속도를 나타내는 평면도이다.

도 5A는 본 발명의 측면에 따라, 각종의 나노입자의 온도변화를 시간에 따라 나타내는 평면도이고, 여기에서 상기 나노입자농도는 1,250ppm이다.

도 5B는 본 발명의 측면에 따라, 각종의 나노입자의 온도변화를 시간에 따라 나타내는 평면도이고, 여기에서 상기 나노입자농도는 2,500ppm이다.

도 6은 본 발명의 측면에 따라, 폴리메라아제 연쇄 반응의 결과를 나타내는 평면도이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0007] 첨부한 도면에 관련되는 이하의 상세한 설명은 본 발명의 실시예의 설명이지만, 본 발명의 실시예에서 구성 혹은 사용될 수 있는 유일한 형태가 아니다. 설명은 실시예의 기능과 실시예를 구성하고 실행하는 단계의 배열을 설명한다. 하지만, 다른 실시예에 의하여 동일 혹은 동등한 기능 및 배열을 얻을 수 있다.

[0008] 폴리메라아제 연쇄 반응 절차는 제어 온도하에의 대량의 가열작업을 수반하고 이는 지루할 뿐만아니라 시간 및 에너지를 허비한다. 본 발명은 전자기복사 (EMR)와 전이 금속 재료를 구비한 입자를 흡수하는 전자기복사와 함께 가열원으로 사용되는, 약 13 °C/초 내지 15 °C/초의 속도로 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 혼합물의 온도를 상승시킬 수 있고, 따라서, 미니어처 장치 에서, 가장 빠르고 에너지 효율이 더 높은 방법으로 폴리메라아제 연쇄 반응을 진행한다. 또한, 하나의 온도에서 다른 온도까지의 고속변화는 샘플 (예컨데, 표적 DNA 배열)이 증폭된 DNA의 피델리티 및 순도를 최적화시키기 위해서 바람직하지 않은 중간 온도하에서 허비되는 시간을 최소화함을 보장한다.

[0009] 본 발명은 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)에 의하여 반응혼합물의 핵산배열을 증폭시키기 위한 방법에 관한 것이다. 본 방법은 반응혼합물을 전이금속, 또는 질화물(nitride), 인화물(phosphide), 또는 상기 전이금속을 도핑(doped)한 제III족 금속의 비소화물 (arsenide), 혹은 전이금속으로 도핑된 이산화 규소(silicon dioxide)를 구비한 재료로부터 형성된 입자와 접촉시키는 것을 포함한다. 본 방법은 약 200킬로헤르츠(kHz) 내지 500테라헤르츠(THz)의 주파수를 구비하는 전자기복사에 의하여 입자를 조사(irradiating)것도 포함하고, 표적핵산 배열이 증폭된다. 제III족 금속은 알루미늄(Al), 갈륨(Ga) 및 인듐(In)중 어느 하나일 수 있다. 상기 전이금속은 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co) 및 구리(Cu) 중 어느 하나일 수 있다.. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 중에서 반응 혼합물의 온도는 약 13 °C/초 내지 15 °C/초의 속도로 상승하고, 약 6 °C/초 내지 7 °C/초의 속도로 저하할 수 있다.

[0010] 본 발명은 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)에 의하여 반응혼합물의 핵산배열을 증폭시키는 방법에 더욱 관한 것이다. 본 발명은 반응 혼합물이 전이 금속 산화물, 전이 금속 수산화물, 전이 금속 산화물로 도핑된 이산화규소, 혹은 전이 금속 수산화물로 도핑된 이산화규소를 구비하고 있는 재료가 구비되어 있는 입자와 접촉하는 것을 포함한다. 본 방법은 약 200kHz 내지 500THz의 주파수를 구비하는 전자기복사로 입자를 조사하는 것을 더욱 포함하고, 표적 핵산배열이 증폭된다. 전이 금속, 전이 금속 산화물 및 전이 금속 수산화물의 전부 혹은 일부는 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co) 및 구리(Cu) 중 하나로 구성될 수 있다. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)중의 반응 혼합물의 온도는 약 13 °C/초 내지15 °C/초의 속도로 상승되고, 약 6 °C/초 내지 7 °C/초의 속도로 저하된다. 본 발명의 하나 이상의 실시예를 따르면, 전이 금속 산화물 혹은 수산화물은 FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, FeO(OH), Fe(OH)<sub>2</sub>, Fe(OH)<sub>3</sub>, MnO, Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MnO(OH), MnO<sub>2</sub>, CoO, CoO(OH), Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 및 CuO 중 어느 하나 이상이 될 수 있다.

[0011] 하나 이상의 구현예에 따르면, 입자는 FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 중 어느 하나 이상이 될 수 있다.

[0012] 하나 이상의 구현예에 따르면, 전이 금속, 혹은 금속 이온(metal ion)으로 도핑된 제III족 금속의 질화물, 인화물 혹은 비소화물은, 제한되지는 않지만, 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu)로 도핑된 질화갈륨(GaN); 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 이러한 전이 금속의 각각의 이온으로 도핑된 질화 알루미늄(AlN); 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 이러한 전이 금속의 각각의 이온으로 도핑된 인화 알루미늄(AlP); 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 이러한 전이 금속의 각각의 이온으로 도핑된 인화 인듐(InP); 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 이러한 전이 금속의 각각의 이온으로 도핑된 갈륨 비소(GaAs); 및 철

(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 이러한 전이 금속의 각각의 이온으로 도핑된 비화 인듐(InAs)을 포함한다.

- [0013] 입자를 조사하는 단계는, 반응 혼합물의 온도를 DNA변성에 필요한 제1온도범위, 일반적으로 약 0.5 내지 1분간 약 80 °C 내지 105 °C로 상승시키고; 반응 혼합물의 온도를 프라이머의 한쌍의 어닐링에 필요한 제2온도범위, 일반적으로 이에 따라 한쌍의 프라이머가 변성한 표적 핵산배열과 교배하기 위해 약 0.5 내지 1분간 35 °C 내지 65 °C로 상승시키고; 이에 따라 한쌍의 프라이머가 변성한 표적 핵산배열과 교배하는 스텝, 반응 혼합물의 온도를 폴리메라아제가 활성화할 수 있는 제3온도범위, 일반적으로 표적 핵산 배열이 성장 합성에 의해 증폭되기 위해 표적 증폭된 배열의 길이에 의존하는 약 0.5 내지 5분간 약 40 °C 내지 80 °C로 상승시키는 것을 포함한다.
- [0014] 일부 구현예에서, 입자는 반응 혼합물 중에서 표적 핵산과 직접 혼합되고, 반응 혼합물 중의 입자 각각의 역학적 직경(hydrodynamic diameter)은 약 100nm 내지 800nm이다.
- [0015] 다른 구현예에서, 전이금속을 구비하는 입자로 구성된 용기에 반응 혼합물을 담는다. 예컨대, 다른 구현예에서, 상기 입자를 구비하는 하나 이상의 막(film), 코팅(coatings), 또는 층(layer)은 용기의 표면에 처리될 수 있다. 하나 이상의 막(film), 코팅(coatings), 또는 층(layer)은 상기 입자 각각의 하나 이상의 단층으로 처리될 수 있다.
- [0016] 하나 이상의 막, 코팅 또는 층은 용기와 별도로 제작한 후 용기에 처리될 수 있다. 예컨대, 입자를 포함하는 박막은 행렬(matrix) 또는 담체 재료(carrier material)에 형성한 후 열적층, 냉적층 또는 용매적층 기술 중 어느 하나에 의하여 용기의 표면에 처리될 수 있다. 용기표면에서 박리 또는 층간의 박리를 방지하기 위하여 당업자는 하나 이상의 막(film), 코팅(coatings) 또는 층(layer)을 용기의 표면에 견고하게 접착시키는 방법중의 어느 하나의 방법을 인식할 것이다.
- [0017] 하나 이상의 막, 코팅 또는 층은 용기에 직접 형성될 수 있다. 하나 이상의 막, 코팅 또는 층은 화학 증착법(CVD), 물리 증착법, 스프레이 코팅(Spray Coating), 브러싱 (brushing), 침지코팅(dip coating) 또는 기타 임의의 적합한 방법 중 어느 하나에 의하여 용기에 직접 형성될 수 있다. 용기표면에서 박리 또는 층간의 박리를 방지하기 위하여 당업자는 하나 이상의 막, 코팅 또는 층을 용기의 표면에 견고하게 접착시키는 방법중의 어느 하나의 방법을 인식할 것이다.
- [0018] 따라서, 본 발명은 폴리메라아제 연쇄 반응중에 반응 혼합물의 표적 핵산배열을 증폭하는 장치도 포함한다. 이 장치는 반응 혼합물을 간접 또는 직접 본 발명의 입자와의 접촉을 허용하는 것으로 구성된 튜브 또는 용기홀더(container holder), 또는 반응용기를 포함하고; 입자를 조사하기 위한 샘플 홀더(sample holder) 또는 반응 용기에 차후에 연결되는 약 200kHz 내지 600THz의 주파수를 구비하는 방사선을 방출하는 것으로 구성된 전자기 복사 주파수 발생기; 및 샘플 홀더 또는 반응용기, 팬(fan) 및 전자기복사 주파수 발생기와 연결된 약 13 °C/초 내지 15 °C/초 및 약 6 °C/초 내지 7 °C/초 속도로 각각 반응 혼합물의 온도를 상승시키고 저하시키는 마이크로 프로세서를 포함한다.
- [0019] 위와 같이 발생된 전자기복사 주파수는 200kHz 내지 600THz의 범위이다. 혹은 발생된 전자기복사 주파수는 100THz 내지 600THz의 범위, 또는 200THz 내지 500THz의 범위, 및 또는, 300THz 내지 400THz의 범위일 수 있다.
- [0020] 위와 같이 장치는 반응 혼합물을 보유하는 반응용기를 포함하고; 반응 혼합물의 온도를 검출하기 위하여 용기에 연결되어 있는 온도센서를 포함한다. 이 장치는 전자기복사 주파수 발생기를 또한 포함한다. 장치는 온도센서를 제어하는 온도 제어회로를 또한 포함한다. 추가적으로, 장치는 전자기복사 주파수 발생기에서 발생된 전자기복사 주파수의 감도를 조절하는 것으로 구성된 온도 제어회로를 또한 포함한다. 적어도 하나의 구현에 있어서, 장치는 또한 온도제어회로 및 열제어회로에 연결되어 있는 마이크로프로세서를 포함한다. 마이크로프로세서는 표적핵산 배열변성을 위하여 반응 혼합물의 온도를 약 0.5 내지 1분간 약 80 °C 내지 105 °C인 제1 온도범위로 상승시키는 것으로 구성될 수 있다. 또한 마이크로프로세서는 한쌍의 DNA 프라이머를 변성한 핵산배열과 교배시키기 위하여 반응 혼합물의 온도를 약 프라이머의 어닐링(annealing)온도인 제2 온도범위, 일반적으로 약 0.5 내지 1분간 35 °C 내지 65 °C로 상승시키는 것으로 구성될 수 있다. 마이크로프로세서는 연장합성에 의하여 표적 핵산 배열을 증폭시키기 위하여 표적 배열의 길이에 대응하여 약 0.5 내지 1분간 약 40 °C 내지 80 °C인 제3 온도범위로 반응 혼합물의 온도를 상승시키는 것으로 구성될 수 있다.
- [0021] 이 장치는 또한 BLUETOOTH (상표등록), ZIGBEE (상표등록), 혹은 WIFI (상표등록) 회로 등의 무선통신회로를 포함하고, 사용자 입력장치와의 정보의 교환을 통하여 장치로 정보를 주고 받는다.

- [0022] 적어도 하나의 구현예에 있어서, 장치는 약  $300\text{ cm}^3$  내지  $500\text{ cm}^3$  혹은 그 이하의 크기이다.
- [0023] 따라서, 본 발명의 측면에 따라, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)에서 반응 혼합물의 표적 핵산배열을 증폭시키는 방법을 제공한다. 본 방법은 전이금속 또는 전이금속 이온으로 도핑된 제III족 금속의 전이금속, 질화물, 인화물 또는 비소화물, 또는 전이금속으로 도핑된 이산화 규소인 금속으로 형성된 입자를 구비하는 전자기복사 주파수로 반응 혼합물 과 접촉시키는 것을 포함한다. 본 방법은 또한 표적핵산배열을 증폭시키기 위하여 약 200 kHz 내지 500 kHz의 주파수를 구비하는 전자기복사와 입자를 흡수하는 전자기복사를 조사(irradiating)것을 포함한다. 제III족 금속은 알루미늄, 갈륨, 및 인듐 중 어느 하나이다. 상기 전이금속은 망간, 철, 코발트 및 구리 중 어느 하나이고 전이 금속이온은 망간, 철, 코발트 및 구리 중 어느 하나이다. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)중에서 반응 혼합물의 온도는 약  $13\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$  내지  $15\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$  및 약  $6\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$  내지  $7\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$ 의 속도로 각각 상승되고 냉각된다.
- [0024] 본 발명의 다른 측면에 따라, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)으로 반응혼합물의 표적핵산배열을 증폭하는 방법을 제공한다. 본 방법은 전이금속 산화물 또는 전이금속 수산화물, 또는 전이금속 산화물 또는 전이금속 수산화물로 도핑된 이산화 규소인 금속으로 형성된 입자를 구비하는 전자기복사 주파수로 반응 혼합물을 접촉하는 것; 표적 핵산 배열을 증폭시키기 위한 약 200kHz 내지 500kHz의 주파수를 가지는 전자기복사와 입자를 흡수하는 전자기복사를 조사하는 것을 포함한다. 전이금속 산화물 또는 수산화물은 망간, 철, 코발트 및 구리 중 어느 하나로 구성될 수 있다. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)중에서 반응 혼합물의 온도는 약  $13\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$  내지  $15\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$  및 약  $6\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$  내지  $7\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$ 의 속도로 각각 상승되고 냉각된다.
- [0025] 일반적으로, 입자의 주변 구역에 흡수 및 방출할 수 있는 열(예컨데, 광 혹은 전자기복사 주파수에서 제공된)의 임의의 입자가 본 발명의 방법에 있어서 열원으로서 사용된다.
- [0026] 전이금속 산화물 또는 전이금속 수산화물로된 입자는  $\text{FeO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{FeO}(\text{OH})$ ,  $\text{Fe}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ,  $\text{MnO}$ ,  $\text{Mn}_3\text{O}_4$ ,  $\text{Mn}_2\text{O}_3$ ,  $\text{MnO}(\text{OH})$ ,  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{CoO}$ ,  $\text{CoO}(\text{OH})$ ,  $\text{Co}_3\text{O}_4$  및  $\text{Cu}$ 를 포함하지만 제한되지는 않는다. 적어도 하나의 실시예에 있어서, 입자는  $\text{FeO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , 또는  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 를 포함한다.
- [0027] 전이 금속 또는 금속 이온으로 도핑된 제III족 금속의 질화물, 인화물 혹은 비소화물인 입자는, 제한되지 않지만 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 이그것의 이온으로 도핑된 질화갈륨(GaN); 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 그것의 이온으로 도핑된 질화 알루미늄(AlN); 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 그것의 이온으로 도핑된 인화 알루미늄(AlP); 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 그것의 이온으로 도핑된 인화 인듐(InP); 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 그것의 이온으로 도핑된 갈륨 비소(GaAs); 및 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 혹은 그것의 이온으로 도핑된 비화 인듐(InAs)을 포함한다.
- [0028] 입자의 각 종류는 유사하거나 또는 독특한 에너지 전환특성을 구비할 수 있다. 본 발명의 구현예에 따르면, 전자기복사 흡수입자는  $\text{FeO}$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  및  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 로 구성된 군에서 선택된 산화철입자이다. 적어도 하나의 실시예에 있어서, 본 발명의 산화철 입자는 약 300THz 내지 400THz의 전자기복사 주파수, 특히 371THz에서 강력한 흡수능력을 나타낸다. 다른 실시예에서, 산화철 입자는 200kHz 내지 2MHz의 전자기복사 주파수, 특히 1.3MHz에서 강력한 흡수를 나타낸다. 본 발명의 산화철 입자의 높은 열전환효율로 인하여 전자기복사로 조사된 후 입자의 온도는  $13\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$  내지  $15\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$ 의 속도로 상승할 수 있다. 또한, 전자기복사가 오프(off)될 때, 산화철입자는 또한 약  $6\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$  내지  $7\text{ }^\circ\text{C}/\text{초}$ 의 속도로 급속히 냉각할 수 있다.
- [0029] 본 발명의 산화철입자의 직경은 약 10nm 내지 1,200nm; 또는, 약 50nm 내지 1,000nm; 또는 약 80nm 내지 800nm 일 수 있다. 하나의 구현예에서, 각각 다른 사이즈의 산화철입자의 두 가지 조제제가 조제된다.
- [0030] 산화철입자의 제1 조제방법은 직경이 약 60nm 내지 150nm; 직경이 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 또는 150nm 등; 또는 직경이 80nm 내지 120nm, 80, 90, 100, 110 또는 120nm 등; 또는 직경이 약 100nm이 되는 각각의 입자로, 비교적 작은 크기의 입자를 획득한다. 60nm 내지 150nm의 직경범위에 있는 입자는 용매내에 바람직한 분산 특성을 나타내고, 전자기복사 흡수를 위해 필요한 자기 특성을 구비한 획득한 층(layer), 코팅(coatings), 또는 박막(film)이 발견되었다.
- [0031] 산화철입자의 제2 조제방법은 직경이 약 200nm 내지 1,200nm; 직경이 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1,100 또는 1,200 nm등; 또는 직경이 약 400nm 내지 1,000nm; 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1,000nm 등; 또는 직경이 800nm이 되는 각각의 입자로 비교적 큰 크기의 입자를 획득한다. 200nm 내지

1,200nm의 직경범위에 있는 입자는 용매내에 분산이 감소하는 60nm 내지 150nm에 비해 더욱 훌륭한 자기특성을 나타낸다.

- [0032] 본 발명의 구현예에 따라, 본 발명의 산화철입자는 크기가 작거나 커도 훌륭한 에너지 전환 특성을 나타내고, 큰 사이즈의 산화철입자는 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응물의 온도를 15초 내에 약 100 °C로 상승시켜 최고의 에너지 전환특성을 나타낸다.
- [0033] 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 중 산화철입자를 가열원으로서 사용하는 하나의 방법은 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물에 충분한 양의 산화철입자를 직접적으로 추가한 후에 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)을 일반적 반응으로 계속 진행할 수 있다.
- [0034] 또한 본 발명의 산화철입자는 상기와 같은 용기에, 그 안에 직접적이거나 간접적으로 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 혼합물을 수용하기 위해 형성될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 “직접”은, 본 발명의 산화철입자를 포함하는 재료로 형성된 용기내 또는 용기상에 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 혼합물을 담는 것을 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 “간접”은, 본 발명의 산화철입자를 포함하는 재료로 형성된 용기에 배치되기전에, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 혼합물을 컨테이너(container)(예컨대, 에펜돌프 튜브(Eppendorf tube))에 담는것을 의미한다. 적어도 하나의 구현예에서, 본 발명의 산화철입자는 마이크로 유체 바이오칩(microfluidic biochip)의 반응챔버(reaction chamber)내에 형성되고, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물은 상기 반응 챔버에 직접 담기거나 또는 상기 반응챔버상에 코팅된다.
- [0035] 다른 구현예에 있어서, 본 발명의 산화철입자는 박막에 형성되고, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물을 각각 포함하는 복수개의 반응점(spots)에 배치되고, 각각의 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)이 박막 상에서 동시에 진행된다.
- [0036] 도 1은 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)을 진행하는 본 발명에 예시된 장치(100)를 나타내는 평면도이다. 구현예에 있어서, 장치(100)는 사용자 입력장치(102)(예컨대, 휴대전화, 노트북 컴퓨터(laptop computer), 태블릿 컴퓨터(tablet computer) 또는 기타 유사한 장치)내의 응용 프로그램에 의하여 무선으로 제어된다. 장치(100)는 약 9cm(길이)× 8cm(너비) 5cm(높이)의 크기 또는 그 이하이다.
- [0037] 도 2는 소형 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 장치와 도 1에 제시된 사용자의 장치 간의 예시적인 인터페이스를 나타내는 평면도이다. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)의 절차를 시작하기 위하여 증폭되어야하는 표적 DNA, 필수 시약(예컨대, 테르무스 아쿠아티쿠스(Tag), 네가지 종류의 뉴클레오티드(nucleotides), 한쌍의 DNA프라이머, 및 완충액(buffer solution)) 및 본 발명의 입자를 반응튜브 또는 컨테이너(예컨대, 에펜돌프 튜브)에 담고, 그 후, 튜브 또는 컨테이너 홀더(124)에 넣고, 및 그 후 상기 홀더(124)는 반응용기(126)에 배치된다. 표적 DNA 및 필수 시약은 본발명의 입자를 포함하는 재료로 구성된 상기 반응용기(126)에 직접 넣어진다.
- [0038] 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)의 사용자는 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)의 실행에 요구되는 모든 필수 파라미터(parameters)(예컨대, 반응온도 및 반응시간)을 도 1에서 예를 든 휴대전화기와 같은 사용자 입력장치(102)등의 휴대용 장치(hand-held device)에 설치된(installed) 응용프로그램에 입력되는 것에 의하여 공정이 시작될 수 있다. 이때, 정보는 사용자의 입력장치(102)에서 무선통신회로(118)에 송신된다. 마이크로프로세서(114)는 상기 무선통신회로(118)에서 필수 파라미터를 받자마자, 그 후 적합한 전자기복사 주파수를 방출하기 위해 전자기복사 주파수 발생기(132), 및 요구되는 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)을 개시하기 위한 온도 센서(122)를 실행하여 파라미터를 실행하기 위해 온도 제어회로(112) 및 열 제어회로(116)를 조절한다. 구체적으로, 상기 전자기복사 주파수 발생기(132)에서 방출된 전자기복사 주파수는 홀더(124)에 담긴 반응튜브, 컨테이너, 또는 용기(126)에 연결되고, 이에 따라서 그 중의 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물의 온도를 설정된 온도로 상승시킨다. 전자기복사 주파수는 상기 홀더(124)에 담긴 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물의 입자 또는 상기 용기(126)에 포함된 입자의 에너지 전환특성과 일치해야 한다. 예컨대, 본 발명의 산화철 입자를 사용할 때, 약 371THz의 전자기복사 주파수는 사용될 수 있다.
- [0039] 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물이 설정된 온도에 도달여부는 상기 마이크로프로세서(114)를 통하여 상기 온도 제어회로(112)에 제어된 상기 온도 센서(122)에 의하여 측정되고 결정된다. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물이 설정된 온도에 도달하면 설정된 시간동안 이 온도가 유지되고, 상기 마이크로프로세서(114)는 상기 열 제어회로(116)를 제어하고, 상기 전자기복사 주파수 발생기(132)에 명령을 내려 전자기복사 주파수의 발생을 정지시키고; 그 후 상기 온도센서(122)에 명령을 내려 팬(128)을 작동시켜, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 혼합물의 과열을 방지하거나 혹은 냉각 사이클을 시작한다. 즉, 가열 사이클 동안 폴리메라아제 연쇄

반응(PCR) 절차 바람직한 가열속도에 대응하여 상기 마이크로프로세서(144)는 상기 열 제어회로(116) 및 상기 온도 제어회로(112)를 각기 조절하고, 전자기복사가 발생하게끔 상기 전자기복사 주파수 발생기(132)에 명령을 내리고, 상기 팬(128)에 실행 혹은 실행하지 않는 명령을 내린다. 이와같이, 냉각 사이클 동안 상기 마이크로프로세서(114)는 상기 열 제어회로(116) 및 상기 온도 제어회로(112)를 조절하고, 상기 전자기복사 주파수 발생기(132)에 명령을 내려 전자기복사의 발생을 정지시키고, 상기 팬(128)에 실행명령을 내린다. 전자기복사 주파수와 본 발명의 입자를 조합하여 열원으로서 사용될 때, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 혼합물의 온도는 약 13 °C/초 내지 15 °C/초의 속도로 상승하고, 약 6 °C/초 내지 7°C/초의 속도로 저하할 수 있고 그에 따라서, 가열 및 냉각 사이클은 에너지면과 시간면에서 효율적인 방법으로 완성된다.

[0040] 적어도 하나의 구현예에 있어서, 매 사이클당의 279bp의 표적 DNA의 증폭은 60초보다 짧은 시간내에 완성되지만 종래의 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 장치는 적어도 180초 걸린다.

[0041] 본질적으로, 본 발명의 방법 및/또는 장치는 전자기복사 주파수와 전자기복사 주파수 흡수 입자를 이용하여 종래의 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)의 반응시간을 적어도 67% 현저히 단축하고, 그에 따라, 증폭된 DNA 산물의 최적한 정확도(fidelity) 및 순도에 영향주지 않고 DNA단편의 증폭은 에너지면과 시간면에서 효율적인 방법으로 완성된다. 또한, 본 발명의 장치는 그 크기가 500cm<sup>3</sup> 이하이고, 원격으로 작동될 수 있다. 따라서, 본 발명의 장치는 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 오퍼레이터(operator)가 가지는 장치를 물리적 작동으로 반응을 시작할 필요가 없다.

[0042] 특정의 이론에 제한되지 않지만, 현재의 나노입자의 여기(excitation)의 메카니즘(mechanism)은 다음과 같은 것을 고려해야 한다. 예컨대, 산화철 나노입자 등의 나노입자는 예정된 주파수를 구비하는 방사원에 의하여 조사될 수 있다. 방사선은 원자의 내부궤도 또는 셸(shell)에 있는 철원자의 전자를 보다 높은 에너지를 구비하는 비점유 궤도 또는 셸을 자극하는데 충분한 에너지를 구비한다. 내부궤도로부터 전자가 결실된 금속이온이 생성된다. 획득된 전자 배치는 불안정적이고, 보다 높은 에너지의 궤도전자는 반을 채운(half-filled) 궤도내에 낙하한다. 열 형태일 수 있는 에너지는 전자가 반을 채운 궤도로 낙하한 결과로 방출된다.

[0043] 또한, 특정의 이론에 제한되지 않지만, 현재의 나노입자의 자극의 메카니즘은 다음과 같은 것을 고려해야 한다. 예컨대, 산화철 나노입자 등의 나노입자는 예정된 주파수를 구비하는 방사원에 의하여 조사될 수 있다. 방사선은 상기 원자를 이온화하지 않고 나노입자의 원자에 의해 흡수될 수 있다. 이와 반대로, 흡수된 방사선은 자극을 일으키고 또한 나노입자의 분자간 결합 진동을 증가시키고, 나노입자를 주변 구역에 방출되는 열을 생성한다.

[0044] 본 발명은 이제 아래의 구현예를 참조로 더욱 상세히 설명될 것이고, 이는 제한보다는 설명을 목적으로 제공될 것이다.

[0045] 실시예

[0046] 재료 및 방법

[0047] 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물은 다음의: 5pmol의 프라이머(배열번호1: 5'-gcgaaagtctggttgagctgag-3', 배열번호2: 5'- aacccaaggcccatgcataca-3'), 1 μg의 형판 DNA(template DNA), 폴리메라아제(polymerase), 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 완충제, 소혈청알부민(BSA), 뉴클레오티드(nucleotides), 탈염수(deionized water)를 포함한다. 이것들의 총 부피는 20 μL이다.

[0048] 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 절차. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)을 다음의 온도 프로파일에 의하여 진행한다.

[0049] (1) 15초 내지 30초간 95 °C에서의 변성;(2) 15초 내지 30초간의 56 °C에서의 프라이머의 교배(hybridization); 및

[0050] (3) 15초 내지 30초간의 72 °C에서의 교배된 프라이머의 신장과 연장

[0051] 실시예 1 입자의 제조 및 특성

[0052] 1.1 산화철(Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) 입자의 조제

[0053] 간단히 설명하면 FeCl<sub>2</sub>(10mL, 50mM), 트리메스산(4.5mL, 25mM), 구연산염(0.15g), 수산화나트륨(18mg) 및 N<sub>2</sub>H<sub>2</sub>(100 μE)과 젤라틴을 155 °C에서 12시간 동안 혼합하고 반응시킨다. 이에 의하여 생성된 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 나노입자의 크기 및 형태는 투과 전자현미경(TEM) 및 주사 전자 현미경(SEM)에 의하여 결정된다. 약 103±43nm의 평균직경 및

약  $828 \pm 559 \text{nm}$ 의 평균직경을 각각 갖고 있는 비교적 작은  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  나노입자와 비교적 큰  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  나노입자가 생성된다.

[0054] 생성된  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  나노입자는 두가지 부동한 주파수 범위에서 전자가 복사를 흡수하는 것이 발견되었고, 하나는 테라헤르츠 범위내(도 3A 최대 흡수가 약 371THz)이고, 또 다른 하나는 메가헤르츠 범위내(도 3(b), 1.3MHz)이다.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  입자는 371THz의 전자기 주파수로 입자를 조사하는 것에 의한 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)에서 일반적으로 사용되는 가열 및 냉각 사이클이 되고, 도 4A는 온도변화의 시간경과가 제시되어 있고, 반면에 도 4B와 도 4C에는 실시예1.1의 입자의 각각의 가열 및 냉각속도가 제시되어 있다. 실시예1.1의 입자는  $13.93 \pm 0.65 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 평균 가열속도(도 4B) 및  $6.39 \pm 0.50 \text{ }^\circ\text{C}$ /초(도 4C)의 평균 냉각속도를 갖고 있음을 발견하였다.

[0055] 평균 가열속도에 있어서, 동일한 실험 파라미터를 사용하여 복수개의 실험을 진행한 후, 실시예1.1의 입자에는  $14.7 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 최대 가열속도,  $13.0 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 최소 가열속도,  $13.9 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 중간 가열속도, 실험의 제1/4분위수 (quartile) 에는  $13.3 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 가열속도, 실험의 제3/4 분위수에는  $14.5 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 가열속도가 발견되었다(도 4B 참조).

[0056] 평균 냉각온도에 있어서, 동일한 실험 파라미터를 사용하여 복수개의 실험을 진행한 후, 실시예1.1의 입자에는  $7.24 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 최대 냉각속도,  $5084 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 최소 냉각속도,  $6.17 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 중간 냉각속도, 실험의 제1/4분위수에는  $5.95 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 냉각속도, 실험의 제3/4분위수에는  $6.80 \text{ }^\circ\text{C}$ /초의 냉각속도가 발견되었다(도 4C 참조).

[0057] 1.2 금 나노입자의 조제

[0058] 금 나노로드를 실시예1.1과 유사한 방법으로 생성되고 또한 특정화 된다. 금 나노로드의 합성은 B. Nikoobakht 및 M. A. El-Sayed, Chem. Mater. 2003, 15, 1957-1962.에서 설명된 절차와 유사한 방법에 따른다. 간단히 설명하면 핵사테실트리메틸암모늄브로마이드(CTAB)(5ml, 0.2M) 및  $\text{HAuCl}_4$ (5ml, 0.0005M)를 포함하는 시드 용액 (seed solution)(12  $\mu\text{L}$ )을 핵사테실트리메틸암모늄브로마이드(CTAB)(5ml, 0.2M) 및  $\text{AgNO}_3$ (5 ml, 0.004 M)를 포함하는 10ml의 성장용액을 추가한다. 생성된 금 나노로드의 사이즈는 이후의 TEM에 의하여 결정된다. 생성된 금 나노로드 각각의 길이는 약 45nm이고, 너비는 10nm이다.

[0059] 1.3 실시예 1.1, 1.2의 입자 및 탄소나노튜브(CNT)의 광열특성의 특징

[0060] 본 실시예에 있어서, 부동한 농도의 입자(1,250 또는 2,500ppm)로 250, 500 또는 1,000밀리와트(mW)의 발광 다이오드(LED)로부터 방출된 전자기복사가 방출되고, 시간의 변화에 대응하여 온도변화를 측정하는 것으로 실시예 1.1의 광열특성은 실시예1.2의 금 나노로드 및 탄소나노튜브(CNT) (Golden Innovation Business Co., Ltd. Taiwan)를 포함하는 기타입자와 비교된다. 결과는 도 5A 및 도 5에 설명되었다.

[0061] 전자기복사 주파수 발생기(250mW, 371THz)로 조사되자마자,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자, 금 나노로드 및 탄소나노튜브의 각각의 온도는 실온보다 조금 높음(예컨데, 약  $29 \text{ }^\circ\text{C}$ )(도 5A를 참조)을 알 수 있다. 전자기복사 주파수 발생기의 전력이 500mW로 상승될 때 작은 크기의  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자(약 50nm 내지 200nm) 및 금 나노로드의 온도는 약  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , 탄소나노튜브는  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ , 큰 크기의  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자(약 250 nm 내지 1400nm 범위)의 온도는 약  $79$ 도로 상승한다. 전력을 1000mW로 상승시키면, 작은 크기의  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자 및 금 나노로드의 온도는 약  $85 \text{ }^\circ\text{C}$ , 탄소나노튜브는  $110 \text{ }^\circ\text{C}$ , 큰 크기의  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자의 온도는 약  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ 로 상승한다. 즉 각종의 입자의 온도는 전자기복사 주파수 발생기의 전력에 비례되어 상승하고, 세가지 종류의 입자중 에서  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자, 특히 큰 크기의  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자는 최고의 에너지 전환특성을 나타낸다.

[0062] 각각 종류의 입자의 농도를 2,500ppm로 상승시키면 유사한 결과가 관찰된다(도 5B를 참조).

[0063] 실시예2 실시예1.1의  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자를 사용하여 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 실험

[0064] 2.1 실시예1.1의  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자를 포함하는 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)의 반응 혼합물

[0065] 실시예에 있어서, 1000ppm의 실시예1.1의  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 입자는 반응튜브에서 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물과 직접적으로 혼합되고, 그 후 튜브는 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 사이클에 응용되고, (1) 튜브는 온도가  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  도달하기까지 레이저 다이오드(Laser Diode)(700mW)에서 방출되는 방사선 주파수 371THz로 조사되며, 15초 내지 30초간(500mW) 유지시키고, (2) 온도가  $56 \text{ }^\circ\text{C}$ 에 도달하기까지 팬 시스템(fan system)을 작동시켜 온도를 저하시

키고, 15초 내지 30초간(250mW) 유지시키며, (c) 온도가 72 °C에 도달하기까지 전자기복사 주파수 371THz로 튜브를 다시 조사하고, 15초 내지 30초간 유지시킨다. 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 사이클을 30회 반복하고, 그리고 증폭된 산물을 전기이동(electrophoresis)(도 6, 선(Lane) 4)에 의하여 검출된다. 100 bp YEA Ladder DNA Marker II (Yeastern Biotech Co., Ltd., Cat. No. FYD009-1ML)를 참조로 사용되었다(도 6, 선 1).

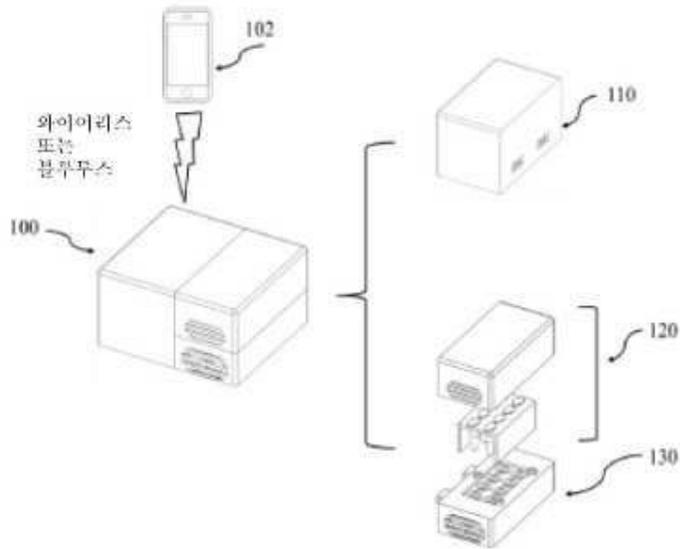
- [0066] 상기 절차와 종래의 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)의 절차(도 6, 선 5)를 비교되었다. 종래의 절차는 다음과 같이 진행되었다. 제1 절차, DNA샘플의 변성을 위하여 DNA샘플을 포함하는 반응 혼합물은 95 °C로 10분간 가열된다. 제2 절차에 있어서, 변성은 30회 반복되고, 각각의 사이클은 95 °C로 30초간 진행된다. 제3 절차에 있어서, 대응하는 DNA프라이머와의 교배는 56 °C로 30초간 진행된다. 제4 절차에 있어서, 교배된 프라이머는 72 °C로 30초간 연장된다. 마지막으로, 도 6의 선 5에 제시하는 최종의 산물을 형성하기 위한 연장단계는 72 °C로 10분간 진행된다.
- [0067] 2.2 실시예 1.1의 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>입자로 구성된 용기내에서 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)을 진행
- [0068] 실시예에 있어서, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 사이클은 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 반응 혼합물을 실시예 1.1의 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>입자를 포함하는 재료로 구성되는 용기에 배치하여 진행한다. 그 후, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR) 사이클은 상기 단계에 따라 시작된다.
- [0069] 상기 구현예의 설명은 단지 예시의 방법으로 주어진 것이라는 것이 이해될 것이고, 당업자에 의해 다양한 변경이 일어날 수 있다. 상기 설명, 실시예 및 데이터는 실시예의 구조 및 사용의 완전한 설명을 제공한다. 어느 정도의 특수성을 가지고 혹은 하나 이상의 각종의 구현예를 참조하여 상기 기재된 각종의 구현예에도 불구하고, 당업자는 본 발명의 취지 또는 범위내에서 이탈하지 않는 구현예들에 대한 복수개의 변경을 진행할 수 있다.
- [0070] 본 발명의 설명
- [0071] 설명1: 반응용기에서, 표적 핵산을 포함하는 반응 혼합물을 전이금속 재료를 포함하는 입자와 접촉시키고, 약 200KHz 내지 500THz의 주파수의 전자기 방사선(EMR)으로 입자를 조사하는 방법인, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)에서 핵산배열을 증폭하는 방법.
- [0072] 설명2: 설명1에 있어서, 전이금속재료는 전이금속, 전이금속 산화물, 전이금속 수산화물, 전이금속 또는 전이금속 이온으로 도핑된 제III족 금속화합물, 전이금속으로 도핑된 이산화 규소, 전이금속 산화물로 도핑된 이산화 규소, 혹은 전이금속 수산화물로 도핑된 이산화 규소를 포함하는, 방법.
- [0073] 설명3: 설명 1 또는 2 중 어느 하나에 있어서, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)중의 반응 혼합물의 온도는 약 13 °C/초 내지 15 °C/초 속도에서 상승되는 방법.
- [0074] 설명4: 설명 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)중의 반응 혼합물의 온도는 약 6 °C/초 내지 7 °C/초 속도에서 저하되는 방법.
- [0075] 설명5: 설명 2 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 제III족 금속 화합물은 질화물, 인화물 또는 비소화물중 어느 하나이고, 및 제III족 금속은 알루미늄(Al), 갈륨(Ga), 및 인듐(In)중 어느 하나인 방법.
- [0076] 설명6: 설명 1 내지 5 중 어느 하나에 있어서, 전이금속 재료는 하나 이상의 전이금속 산화물 및 전이금속 수산화물의 조합을 포함하는 방법.
- [0077] 설명7: 설명 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 전이금속 재료는 하나 이상의 FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, FeO(OH), Fe(OH)<sub>2</sub>, Fe(OH)<sub>3</sub>, MnO, Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MnO(OH), MnO<sub>2</sub>, CoO, CoO(OH), Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 및 CuO를 포함하는 방법.
- [0078] 설명8: 설명 2 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 전이금속 재료는 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 중 어느 하나를 포함하는 방법.
- [0079] 설명9: 설명 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 입자는 약 10nm 내지 1,200nm의 역학적 직경을 가지는 방법.
- [0080] 설명10: 설명 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 입자는 약 200nm 내지 1,200nm의 역학적 직경을 가지는 방법.
- [0081] 설명11: 설명 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 입자는 약 60nm 내지 150nm의 역학적 직경을 가지는 방법.

- [0082] 설명12: 설명 1 내지 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 입자를 조사(irradiating)하는 것은 상기 반응 혼합물의 온도를 약 80 °C 내지 105 °C인 약 0.5분 내지 1분간 제1 온도범위까지 상승시키고, 이에 따라 상기 표적DNA를 변성시키는것; 반응 혼합물의 온도를 약 0.5분 내지 1분간 35 °C 내지 65 °C인 제2 온도범위까지 상승시키고, 이에 따라 상기 한 쌍의 프라이머를 상기 변성된 표적핵산 배열과 교배시키는것 및 약 0.5분 내지 5분간 반응 혼합물의 온도를 40 °C 내지 80 °C인 제3 온도범위까지 상승시키고, 이에 따라 연장합성의 방법에 의하여 표적 핵산 배열을 증폭하는것을 포함하는 방법.
- [0083] 설명13: 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)으로 표적핵산배열을 증폭하는 장치는: 사용자 입력 장치와 통신가능하게 연결되고, 상기 사용자 입력 장치에서 명령을 수신하고 수신한 명령을 실행하는 구성인 마이크로프로세서; 마이크로프로세서와 통신가능하게 연결되고, 폴리메라아제 연쇄 반응(PCR)중의 하우스 시약 및 입자의 반응용기 반응용기 및 마이크로프로세서와 통신가능하게 연결되어 있는 온도센서; 마이크로프로세서와 통신가능하게 연결되고 전자기복사는 반응용기에 직접 구성된 전자기복사(EMR) 발생기를 포함하고, 여기에서 입자는 전이금속 재료를 포함하는 장치.
- [0084] 설명14: 설명 13에 있어서, 전자기복사 발생기는 주파수가 100THz 내지 600THz의 전자기복사를 발생하는 것으로 구성된 장치.
- [0085] 설명15: 설명 13에 있어서, 전자기복사 발생기는 주파수가 300THz 내지 400THz의 전자기복사를 발생하는 것으로 구성된 장치.
- [0086] 설명16: 설명 13에 있어서, 전자기복사 발생기는 주파수가 1MHz 내지 2MHz의 전자기복사를 발생하는 것으로 구성된 장치.
- [0087] 설명17: 설명 13 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 반응 하우징의 온도센서를 제어하기 위한 온도제어회로; 및 전자기복사 주파수 발생기에서 발생하는 전자기복사 주파수의 강도를 조절하기 위한 열제어회로를 더 포함하고, 여기에서 마이크로프로세서는 온도제어회로 및 열제어회로와 연결되어 구성된 장치.
- [0088] 설명18: 마이크로프로세서는 상기 표적DNA를 변성시키기 위하여 상기 반응 혼합물의 온도를 약 0.5분 내지 1분간 약 80 °C 내지 105 °C인 제1 온도범위까지 상승시키고; 한 쌍의 프라이머를 상기 변성된 표적핵산배열과 교배시키기 위하여 상기 반응 혼합물의 온도를 약 0.5분 내지 1분간 약 35 °C 내지 65 °C인 제2 온도범위까지 상승시키고; 연장합성에 의하여 표적핵산배열을 증폭시키 위하여 상기 반응 혼합물의 온도를 약 0.5분 내지 5분간 약 40도 내지 80도인 제3 온도범위까지 상승시키는 것으로 구성된 장치.
- [0089] 설명19: 설명 13 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 사용자 입력 장치와 무선통신을 위해 무선통신회로를 더 포함하는 장치.
- [0090] 설명20: 설명 13 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 전이금속 재료는 전이금속, 전이금속 산화물, 전이금속 수산화물, 전이금속 또는 전이금속 이온으로 도핑된 제III족 금속화합물, 전이금속으로 도핑된 이산화규소, 혹은 전이금속 수산화물로 도핑된 이산화규소를 포함하는 장치.
- [0091] 설명21: 설명 13 내지 20 중 어느 하나에 따라서, 전이금속 재료는 하나 이상의 FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, FeO(OH), Fe(OH)<sub>2</sub>, Fe(OH)<sub>3</sub>, MnO, Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, MnO(OH), MnO<sub>2</sub>, CoO, CoO(OH), Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 및 CuO를 포함하는 장치.
- [0092] 설명22: 제III족 금속화합물은 질화물, 인화물, 또는 비소화물 중 어느 하나이고, 및 상기 제III족 금속은 알루미늄(Al), 갈륨(Ga), 및 인듐(In) 중 어느 하나인 장치.
- [0093] 설명23: 설명 13 내지 22 중 어느 하나에 있어서, 전이금속 재료는 하나 이상의 전이금속 산화물 및 전이금속 수산화물의 조합을 포함하는 장치.
- [0094] 설명24: 설명 13 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 전이금속 재료는 망간(Mn), 철(Fe), 코발트(Co) 또는 구리(Cu) 중 어느 하나를 포함하는 장치.
- [0095] 설명25: 설명 13 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 입자의 역학적 직경은 약 10nm 내지 1,200nm 인 장치.
- [0096] 설명26: 설명 13 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 입자의 역학적 직경은 약 200nm 내지 1.200nm 인 장치.
- [0097] 설명27: 설명 13 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 적어도 하나의 입자의 역학적 직경은 약 60nm 내지 150nm인

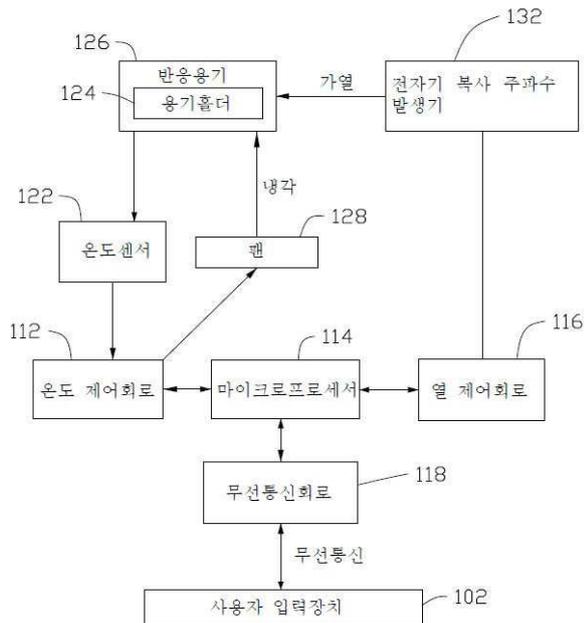


도면

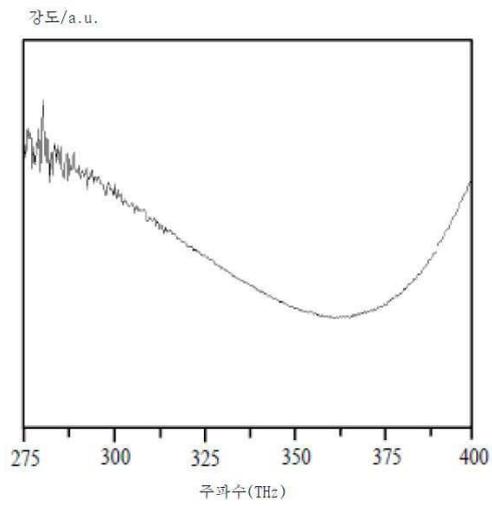
도면1



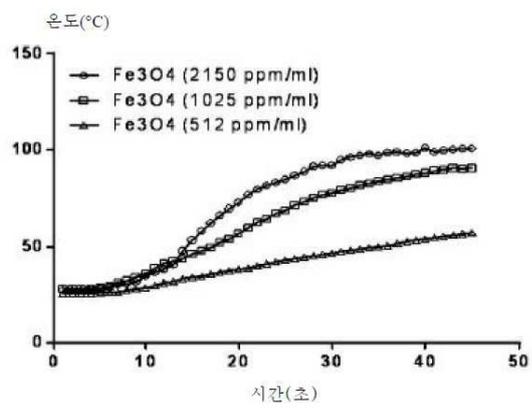
도면2



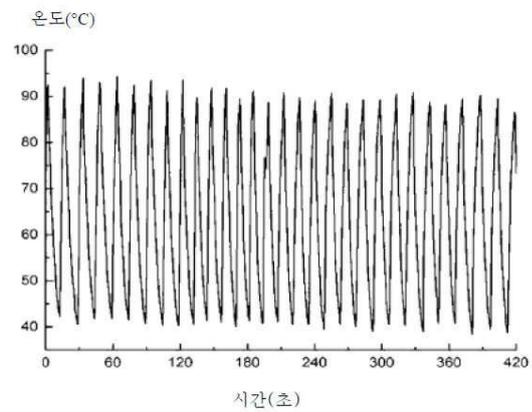
도면3a



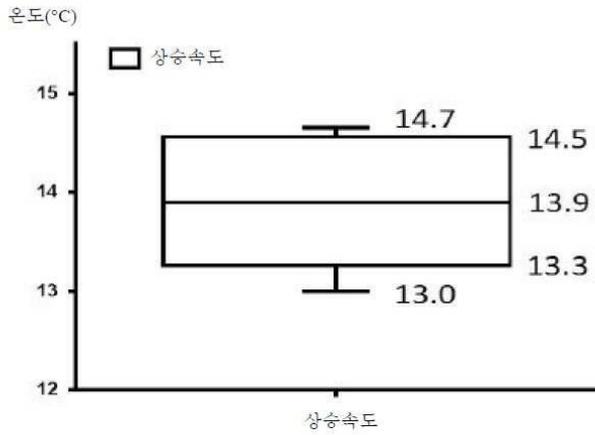
도면3b



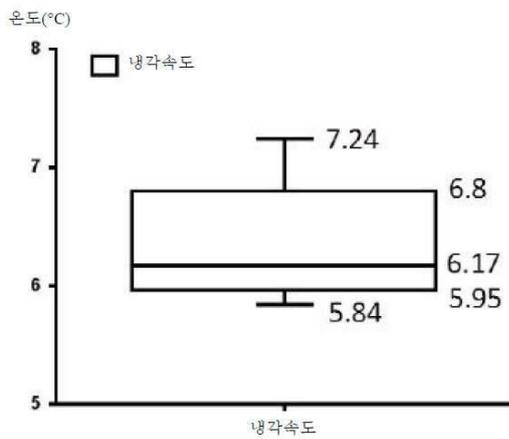
도면4a



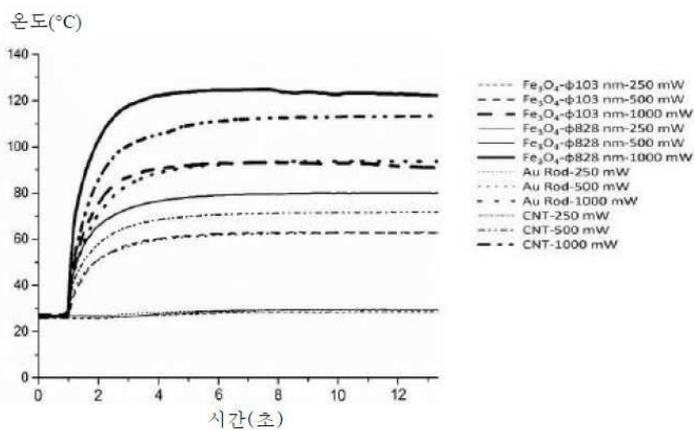
도면4b



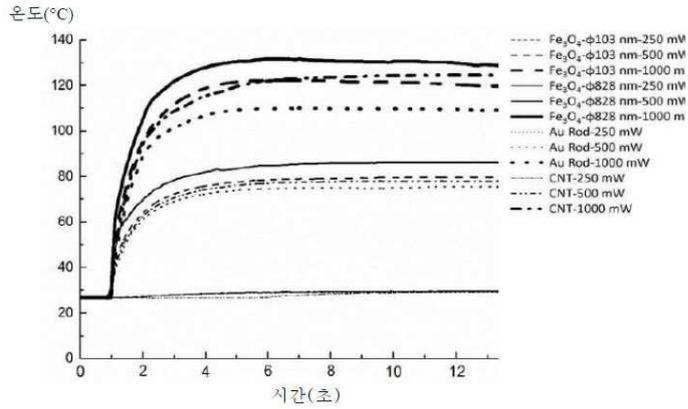
도면4c



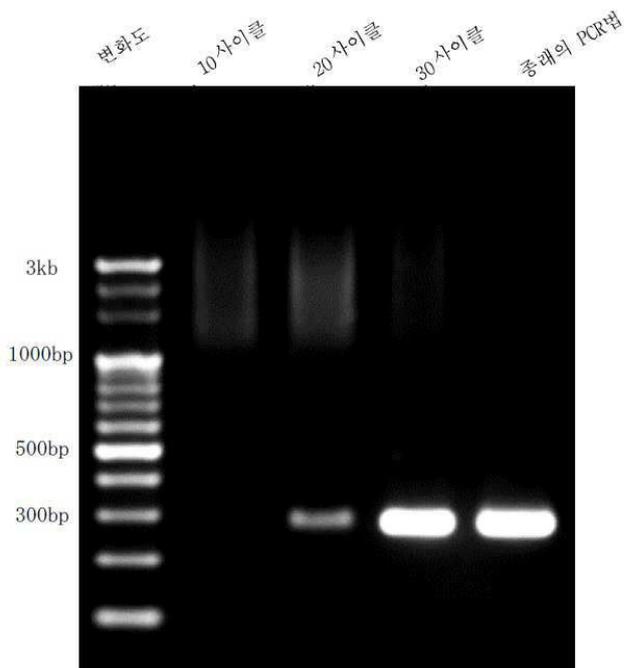
도면5a



도면5b



도면6



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> SHIEH, Darbin
- <120> METHOD AND DEVICE FOR POLYMERASE CHAIN REACTION
- <130> 2016
- <160> 2
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 1

gcgaaagtcc tggttgagct gag

23

<210> 2

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 2

aaccaagge ccatgcatac a

21