



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년03월06일
(11) 등록번호 10-1712691
(24) 등록일자 2017년02월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 27/447 (2006.01) *G01N 33/483* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2012-7022024
- (22) 출원일자(국제) 2011년01월28일
심사청구일자 2016년01월28일
- (85) 번역문제출일자 2012년08월23일
- (65) 공개번호 10-2012-0112821
- (43) 공개일자 2012년10월11일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2011/023071
- (87) 국제공개번호 WO 2011/094648
국제공개일자 2011년08월04일
- (30) 우선권주장
61/299,301 2010년01월28일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
Fleger M et al., "Microfabricated polymer analysis chip for optical detection",
MICRO.tec, 2003, vol.151, pp.159-161
US20040246597 A1
US20030116436 A1
JP2004532384 A

- (73) 특허권자
아미르카니안, 베로우, 디.
미국 캘리포니아 91214 라크라센타 3831 이1 카미
니토 스트리트
사이, 소우-콴
타이완 타이펠 카운티 신-티엔 시티 레인 235 바
오치아오 로드 앤리 6 넘버 3, 7층
- (72) 발명자
아미르카니안, 베로우, 디.
미국 캘리포니아 91214 라크라센타 3831 이1 카미
니토 스트리트
사이, 소우-콴
타이완 타이펠 카운티 신-티엔 시티 레인 235 바
오치아오 로드 앤리 6 넘버 3, 7층
- (74) 대리인
최광호

전체 청구항 수 : 총 16 항

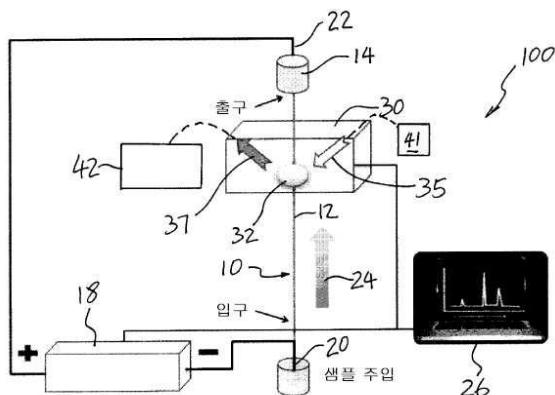
심사관 : 이경철

(54) 발명의 명칭 블엔드 입출력 광섬유를 이용한 생체분석 장치 및 방법

(57) 요약

본 발명은 샘플의 생체분리가 일어나는 생체분리장치의 검출시스템에 관한 것으로, 제1 종축선을 갖고, 제1 종축선을 따라 샘플을 다수의 샘플 성분들로 분리하는 분리채널; 샘플 성분들이 통과하는 분리채널을 따라 형성된 검출구역; 복사원; 디텍터; 복사원의 입사 복사선을 검출구역으로 향하도록 하여, 샘플 성분들이 검출구역을 통과 할 때 샘플 성분들에서 복사선이 출력되도록 하며, 제2 종축선을 갖는 입력 광가이드; 및 제3 종축선을 갖고, 검출구역에서 출력된 복사선을 수집해 디텍터로 향하게 하는 출력 광가이드;를 포함하고, 출력 광가이드와 입력 광가이드가 각각 분리채널의 양쪽에 위치하며, 상기 제1 내지 제3 종축선들이 검출구역에서나 검출구역 부근에서 동일 평면상에 있다.

대 표 도 - 도1



명세서

청구범위

청구항 1

샘플의 생체분리를 위한 생체분리장치의 검출시스템에 있어서:

제1 종축선을 갖고, 제1 종축선을 따라 샘플을 다수의 샘플 성분들로 분리하는 분리채널;

샘플 성분들이 통과하는 분리채널을 따라 형성된 검출구역;

복사원;

디텍터;

복사원의 입사 복사선을 검출구역으로 향하도록 하여, 샘플 성분들이 검출구역을 통과할 때 샘플 성분들에서 복사선이 출력되도록 하며, 제2 종축선을 갖는 입력 광가이드; 및

제3 종축선을 갖고, 검출구역에서 출력된 복사선을 수집해 디텍터로 향하게 하는 출력 광가이드;를 포함하고,

상기 출력 광가이드와 입력 광가이드가 각각 분리채널의 양쪽에 위치하며 광섬유를 포함하고, 이 광섬유는 끝에 볼이 달린 볼엔드 구조이면서 분리채널의 표면에서 떨어진 것을 특징으로 하는 검출시스템.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 복사원이 LED 또는 레이저인 것을 특징으로 하는 검출시스템.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제1 내지 제3 종축선들이 검출구역이나 그 부근에서 동일 평면에 있는 것을 특징으로 하는 검출시스템.

청구항 4

제3항에 있어서, 제2 종축선과 제3 종축선 중의 적어도 하나가 제1 종축선에 수직이 아닌 것을 특징으로 하는 검출시스템.

청구항 5

제4항에 있어서, 제2 종축선과 제3 종축선 각각이 제1 종축선에 예각을 이루는 것을 특징으로 하는 검출시스템.

청구항 6

제1항에 있어서, 분리채널이 모세관 분리칼럼으로 이루어진 것을 특징으로 하는 검출시스템.

청구항 7

제6항에 있어서, 생체분리장치가 모세관 전기영동 분리를 하는 것을 특징으로 하는 검출시스템.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중의 어느 하나에 있어서, 출력된 복사선이 형광 복사선이고, 입력 복사선은 검출구역을 통과하는 샘플 성분들에서 형광 복사선이 방출되도록 하여 복사선을 출력하는 것을 특징으로 하는 검출시스템.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중의 어느 하나에 따른 검출시스템; 및

분리된 샘플성분들이 검출구역을 통과하도록, 전기영동 분리를 위해 분리채널 단부에 전압을 공급하는 전원;을 포함하는 것을 특징으로 하는 전기영동 시스템.

청구항 10

제1 종축선을 따라 샘플이 샘플성분들로 분리되는 분리채널을 제공하는 단계;

샘플성분들이 통과하는 분리채널을 따라 검출구역을 형성하는 단계;

복사원을 제공하는 단계;

디텍터를 제공하는 단계;

제2 종축선을 갖는 입력 광가이드를 제공하고, 복사원의 입사 복사선을 검출구역에 향하도록 하여, 샘플성분들이 검출구역을 통과할 때 샘플성분들로부터 복사선이 출력되도록 하는 단계; 및

제3 종축선을 갖는 출력 광가이드를 제공하여, 검출구역에서 출력된 복사선을 수집해 디텍터에 향하도록 하는 단계;를 포함하고,

출력 광가이드와 입력 광가이드가 각각 분리채널의 양쪽에 위치하고, 제1 내지 제3 종축선들이 검출구역에서나 검출구역 부근에서 동일평면상에 있으며, 출력 광가이드와 입력 광가이드 각각이 끝에 볼이 달린 볼엔드 구조의 광섬유를 포함하는 것을 특징으로 하는 샘플의 생체분리 검출방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 광섬유가 분리채널의 외부에서 떨어져있는 것을 특징으로 하는 샘플의 생체분리 검출방법.

청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서, 출력된 복사선이 형광 복사선이고, 입력 복사선은 검출구역을 통과하는 샘플 성분들에서 형광 복사선이 방출되도록 하여 복사선을 출력하는 것을 특징으로 하는 샘플의 생체분리 검출방법.

청구항 13

제10항 또는 제11항에 있어서, 제2 종축선과 제3 종축선 중의 적어도 하나가 제1 종축선에 수직이 아닌 특징으로 하는 샘플의 생체분리 검출방법.

청구항 14

제10항 또는 제11항에 있어서, 제2 종축선과 제3 종축선 각각이 제1 종축선에 예각을 이루는 것을 특징으로 하는 샘플의 생체분리 검출방법.

청구항 15

샘플의 생체분리를 위한 카트리지에 있어서:

몸체;

제1 종축선을 따라 샘플을 다수의 샘플 성분들로 분리시키고, 분리채널을 따라 형성되며 샘플 성분들이 통과하는 검출구역을 갖고, 상기 몸체내에 형성된 분리채널;

끝에 볼이 달린 볼엔드 구조의 제1 광섬유와 제2 종축선을 갖고, 외부 복사원의 입사 복사선을 검출구역으로 향하도록 하여, 샘플 성분들이 검출구역을 통과할 때 샘플 성분들에서 복사선이 출력되도록 하는 입력 광가이드; 및

끝에 볼이 달린 볼엔드 구조의 제2 광섬유와 제3 종축선을 갖고, 검출구역에서 출력된 복사선을 수집해 외부 디텍터로 향하게 하는 출력 광가이드;를 포함하고,

입력 광가이드와 출력 광가이드가 분리채널 양쪽에 위치하는 것을 특징으로 하는 카트리지.

청구항 16

제15항에 있어서, 제2 종축선과 제3 종축선 각각이 제1 종축선에 예각을 이루는 것을 특징으로 하는 카트리지.

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 생체분석 검출에 관한 것으로, 구체적으로는 분리채널을 통한 생체분석 검출, 더 구체적으로는 분리 칼럼인 모세관 칼럼을 따라 형성된 검출구역에 입력된 복사선과 출력된 복사선을 적용하는 광학계에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이런 검출방법을 적용한 생체분리장치, 구체적으로는 모관 전기영동 장치에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

현재 실험실에서 사용되는 대부분의 생체분리 기구들은 슬랩겔 전기영동법을 이용하고, 이 기술은 20여년 이상 생체분자(DNA, 단백질, 탄수화물)의 생체분석에 사용되었다. 그러나, 이런 슬랩겔 전기영동법은 시간과 노력이 많이 들고, 전력, 수율, 샘플당 비용의 관점에서 보면 크게 개선되어야 한다.

[0003]

CE(capillary electrophoresis)는 젤-전기영동을 위한 미세유체 방식으로서, 가장 큰 장점은 광범위한 적용에 있다. CE 기술은 핵산 테스트에서의 바이오분야에서는 신뢰성과 해상도와 감도가 높은 기술로 인정되고 있으며, 단백질이나 탄수화물이나 DNA 분석, 구체적으로는 올리고뉴클레오티드 분석, DNA 서열 및 dsDNA 분석 등에 응용된다. CE는 실패율이 높은 문제가 있기 때문에 일반적으로 정기검사에는 사용되지 않는다. 그러나, 제조업자들이 장치의 설계를 획기적으로 개선했고 전체적인 CE 지식이 향상되었기 때문에 더이상은 그렇지도 않다. 실패율을 줄이고 CE 데이터의 정확도를 높이는데는 3가지 핵심 요소가 있는데: 구체적으로는 작업자의 훈련도, 시스템 안정성, 그리고 유지관리비가 낮은 장치의 손쉬운 작동법에 있다.

[0004]

CEIA(Capillary Electrophoresis Immunoassay Analysis)는 새로운 분석법으로 최근에 급부상되었는데, 이 기술은 LIF(Laser Induced Fluorescence)와 같은 감도검출법과 결합되었을 때 종래의 방법에 비해 여러가지 장점이 있다. CEIA는 높은 감도로 신속한 분리를 함과 동시에, 다수의 분석물을 결정할 수 있으며, 자동화도 가능하다. CE와 형광라벨 단백질은 동물의 혈액에서 비정상적인 프리온 단백질을 검출하는데 사용될 수 있다. FITC(Fluorescein Isothiocyanate) 라벨 단백질 A를 형광탐침법으로 사용해 프리온 단백질을 검출하기 위한 이런 CE계 비경쟁적 면역법을 스크래피병에 걸린 양의 혈액샘플을 테스트하는데 적용했더니 성공적이었다.

[0005]

또, 면역법은 숙주 오염의 검출과 정량화를 위한 생체기술에도 많이 사용된다. 형광검출을 하는 CE에 의한 무용액 방식은 고체상태 면역법을 대신해 흥미를 일으켰다. 형광검출을 이용하는 CE 방법은 항원고정을 없애고 많은 고체상태에 관련된 문제들을 해결한다. 이 방법에 의하면, (FITC와 같은) 안정된 형광색소로 표시된 정화된 항원이나 이런 색소로 표시된 유시성 탐침을 이용할 수 있다.

[0006]

LIF 방식의 CE는 신속하고 고감도 고해상의 dsDNA 분석과 면역분석을 위한 가장 강력한 분석도구의 하나임이 분명하다. 그러나, CE형 LIF 시스템의 현재 판매가는 기존의 슬랩겔 장치에 비해 아주 비싼데, 이는 광학 검출 메커니즘이 복잡하기 때문이다. 이런 고가의 CE 시스템은 일반인이 쉽게 사용할 수 없고 자본이 많은 실험실이나 기업들만 사용할 수 있을 뿐이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 종래의 이런 문제점을 감안하여 안출된 것으로, 효율과 감도와 수율이 높으면서도 분석이 신속하고 동작이 간단하며 비용이 저렴한 덜 복잡한 광학검출 메커니즘을 갖춘 시스템을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 발명의 요약

[0009] 본 발명은 간단하고, 저렴하며, 효율적이고, 고감도이며, 움직이지 않고 안정적인 생체분리(예; 모관 전기영동)를 위한 정밀광학 검출 장치를 제공하는데, 이 장치는 완충제를 포함한 액체나 젤과 같은 분리지지매체로 채워진 분리채널을 통해 생체분리를 한다. 구체적으로, 본 발명은 샘플 분석물에서 방출된 복사선의 검출(예; 복사선 유도 형광방출)을 위해 분리채널을 따라 있는 검출구역으로부터의 출력 복사선과 검출구역으로의 입력 복사선을 안내하기 위한 광학계를 포함하는 개선된 검출장치에 관한 것이다.

[0010] 본 발명에서, (LED나 레이저로부터의) 입력 복사선의 방향과, 검출구역에서의 분리채널의 축선과 출력 복사선의 방향이 모두 동일 평면상에 있다. 입력 복사선이 검출구역에 공급되고, 출력복사선이 검출구역으로부터 집합되는데, 이때 모두 광섬유 형태의 광가이드를 이용한다. 이를 광섬유는 분리채널의 검출구역 양쪽에 위치한다. 광섬유들은 고감도를 위해 서로 180도보다 작은 각도(예; 40도 내지 160도, 바람직하게는 120도)로 벌어져 있다.

[0011] 또, 본 발명의 광섬유들은 볼엔드 구조를 갖는다.

[0012] 또, 본 발명의 장치는 모세관 전기영동 장치와 같은 생체분리장치에 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 본 발명의 새로운 검출체계를 채택한 CE 시스템의 개략도;

도 2는 입출력 광섬유들과 분리칼럼의 구성을 보여주는 상세도;

도 3은 광섬유의 컴퓨터 시뮬레이션;

도 4A는 상단출구에 완충제 용기가 달려있는 싱글채널 카트리지의 사시도;

도 4B는 검출구역을 공동으로 둘러싼 카트리지 내부를 보여주는 단면도;

도 5~8은 광학검출 결과들을 보여주는 그래프;

도 9는 멀티채널 분리시스템의 검출구역의 사시도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 도 1은 본 발명의 새로운 검출체계를 채택한 CE(capillary electrophoresis) 시스템(100)의 개략도이다. CE 시스템(100)에 포함된 외경 $200\text{~}500\mu\text{m}$ 정도의 모관분리칼럼(10)은 외경 $25\text{~}150\mu\text{m}$ 정도의 내부 분리채널(12)을 형성한다. 모관분리칼럼(10)은 합성석영, 유리, 폴리아미드, 기타 세라믹/유리 재료로 이루어질 수 있다. 분리칼럼(10)의 내벽(즉, 분리채널(12)을 이루는 벽)은 샘플 성분의 전기영동이나 동전기 유입을 촉진하도록 정전하를 충적할 수 있는 재료로 코팅될 수 있다. 분리채널(12)은 분리를 지원하는 매질로 채워질 수 있는데, 그 예로는 당 분야에 잘 알려진 완충제나 (선형이나 비선형 고분자조성의) 충진젤 기질이 있다.

[0015] 분리칼럼(10)의 일단부는 완충제 용기(14)에 연결되고, 타단부는 다른 용기(16)에 연결되는데, 이 용기(16)에는 (분리채널(12)에 주입할) 샘플과 (샘플 주입 후 분리작업을 하는) 완충제가 들어있다. 전원(18)으로부터 전극(20,22)을 통해 양쪽 용기(14,16)에 고전압 전기가 공급된다.

[0016] 전기영동과 복사유기형광의 메커니즘은 본 발명의 범위를 벗어난다. 편의상 CE 시스템(10)의 동작에 대해 간단히 언급한다. 작동시, 준비된 생물학적 샘플에 공지의 형광태그를 부착해 검사구역에서 멀리 떨어진 분리칼럼의 단부에 주입하는데, 주입 방법(예; 샘플 용기로부터의 동전기 주입법이나 주사기를 이용한 강제주입법)은 본 발명의 범위가 아니다. 전원(18)으로부터 전극(20,22)에 1~30 kV 정도의 DC 전압이 걸리면, 샘플은 이런 전압하에 분리채널(12)을 통해 화살표(24) 방향으로 이동하고(도 1에 도시된 바와 같이 음전하 대전된 샘플이 양전극(22)을 향해 이동), 샘플 성분 대역별로 분리된다. 분리채널(12)을 통해 움직이는 거리와 분리도는 샘플성분의 유동성, 질량, 크기 또는 길이와 분리지원매체와 같은 여러 인자들에 의해 결정된다. 분리채널(12)에서의 샘플 분리를 위한 구동력이 전기영동, 압력 또는 EOF(electroosmotic flow) 수단일 수 있다.

[0017] 샘플이 검출구역(32)에 도착하면, 이 구역에서 여기용 복사선이 광섬유(34)를 거쳐 화살표(35) 방향으로 방사된

다. 샘플의 성분들은 성분별 농도에 비례하는 (형광 태그 물질의 양에 비례하는) 강도로 형광된다. 디텍터(42)는 입력 복사선의 파장과는 다른 파장으로 출력 광섬유(36)를 통해 화살표(37) 방향으로 출력되는 형광 강도를 검출한다. 검출된 복사선은 공지의 방법으로 분석된다. 자동화 시스템이라면, 프로세서를 갖춘 (노트북 컴퓨터나 데스크탑 컴퓨터와 같은) 컨트롤러(26)가 모세관 전기영동 분리와 데이터 수집을 위해 CE 시스템(100)내 여러 요소들의 동작을 제어한다. 이런 제어는 당업자에게 공지되어 있다.

[0018] 도 1의 실시예에서 검출구역(32)이 들어있는 영역(30)으로 표시된 검출광학계가 도 2에 도시되었다. 레이저나 LED로부터의 입력 방향(35), 검출구역에서의 분리채널의 축선 및 출력 방향(37)은 모두 동일 평면상에 있다. 본 발명의 검출 장치의 광섬유들은 검출구역내 분리채널의 양쪽에 위치한다. 일례로 입력 복사선은 검출구역에 제공되고, 출력 복사선은 검출구역에서 집합되는데, 이때 광섬유 형태의 광가이드, 그중에서도 미세한 볼이 섬유 일단부에 일체로 달려있는 볼엔드(ball-ended) 광섬유를 사용한다.

[0019] 도 2에 의하면, 볼엔드 광섬유(34)과 도 1에 도시된 LED나 레이저와 같은 방사원(41)에서부터 뻗어나와 검출구역(32)에서 화살표(35) 방향으로 여기용 복사선을 출력한다. 광섬유(34)의 볼 단부는 검출구역(32)에서 분리칼럼(10)의 표면 가까이 위치한다. 이 실시예에서는 광섬유(34)의 볼단부가 분리칼럼(10)의 표면에서 (비접촉 모드로) 떨어져 있다. 또, 출력용의 다른 볼엔드 광섬유(36)는 도 1의 디텍터(42)를 향하고, 검출구역(32)에서 화살표(37) 방향으로 출력된 복사선을 수집한다. 이 광섬유(36)의 볼단부도 검출구역(32)에서 분리칼럼(10)의 표면 가까이 위치하는데, 여기서는 (비접촉 모드로) 분리칼럼의 표면에서 떨어져 있다. 양쪽 광섬유(34,36)는 비접촉 모드로 분리칼럼(10)의 양쪽에 위치하므로, 배경 형광은 줄이고 모세관이나 미세 볼에 물리적인 손상을 전혀 일으키지 않는다.

[0020] 도 2에 도시된 요소들은 모두 동일 평면상에 위치한다. 특히, 광섬유(34,36)의 축선과 분리채널(12)의 축선이 적어도 검출구역(32)에서는 동일 평면상에 위치한다. 즉, 광섬유(34,36)와 분리칼럼(10)이 전체적으로 휘어질 수는 있지만, 적어도 검출구역 부근에서는 이들의 모든 축선이 동일 평면상에 위치하여, 검출구역(32)내에서 광섬유(34,36)를 통해 화살표(35,37) 방향으로 흐르는 복사선들은 모두 동일평면상에 있게된다.

[0021] 또, 검출구역(32) 내에서 2개의 광섬유(34,36)는 일직선이 아니라 각도를 이루되, 어느 한쪽 광섬유나 양쪽 광섬유가 분리채널(12)에 직각은 아니다. 도 2의 실시예에서는 양쪽 광섬유(34,36) 각각이 검출구역(32)에서 분리채널에 대해 직각이 아닌 각도(39,40)를 이루고 있다. 양 각도(39,40)는 같거나 다를 수 있지만, 분리채널(12)이나 분리칼럼(10)에 대해 90도보다 작거나 크다. 예를 들어, 각도(39)는 90도보다 작고, 각도(40)는 90도보다 클 수 있다.

[0022] 광섬유(34,36)의 광가이드로서의 코어는 직경이 $200\mu\text{m}$ 이고 외피로 둘러싸여있으며, 볼의 직경은 $350\mu\text{m}$ 이고, 코어와 볼의 직경비는 1:1.75이며, 볼은 코어와 외피에 융합되어 있다. 볼은 구형이다. 볼엔드 광섬유는 융착기로 제작되고, 시중에서 쉽게 구할 수 있다. 분리칼럼(10)의 외경은 $200\mu\text{m}$ 이상 $370\mu\text{m}$ 이하(예; $360\mu\text{m}$)이고, 내경은 $20\mu\text{m}$ 이상 $150\mu\text{m}$ 이하(예; $75\mu\text{m}$)이다. 광섬유(34)의 단부는 분리칼럼의 표면에서 $50\sim500\mu\text{m}$ 떨어져 있고, 광섬유(36)의 단부는 분리칼럼의 표면에서 $10\sim500\mu\text{m}$, 바람직하게는 $50\sim200\mu\text{m}$ 떨어져 있다. 한편, 광섬유(36)는 코어의 직경이 $300\mu\text{m}$ 이고 볼의 직경이 $500\mu\text{m}$ 로서, 코어와 볼의 직경비는 1:2.5이다. 양쪽 각도(39,40)의 크기는 각각 0도보다는 크고 90도보다는 작되, 20~70도가 바람직하고, 30~45도가 더 바람직하다. 도 2의 실시예의 양쪽 각도(39,40)의 크기는 70도 정도이다.

[0023] FITC 항체단편 검출을 위한 방사원으로 로열블루 LED(예; Cree CLamp)를 사용한다. 모듈형 디자인과 광섬유 커플링이기 때문에 (LIF 적용을 위한) 레이저 모듈이나 다른 종류의 저렴한 광원을 쉽게 교환할 수 있다는 점에서 유통성이 높다.

[0024] 단부가 평평한 광섬유(볼이 달리지 않은 나섬유)에 비해, 도 4의 볼엔드 광섬유의 경우, 입력 광섬유(34)는 입력 복사선의 포커싱(광 집중도/파워밀도)이 좋았고, 출력 광섬유(36)는 집적효율이 높아 개구수(NA; Numerical Aperature)가 높았는데, 이는 마치 형광신호 집적도가 높고 검출도가 개선된 하이앵글 형광 컬렉터와 같다. 코어 직경이 $100\sim1000\mu\text{m}$ 정도로 크고 NA가 높은 멀티모드 광섬유를 사용하면, LED나 레이저에서 나온 고출력 빛을 광섬유(34)에 쉽게 입력할 수 있다. 광섬유(34)의 일단부에 마이크로 볼렌즈를 일체로 형성하면, $20\sim200\mu\text{m}$ 정도의 분리채널(12) 내부에서의 결합효율이 개선되어 형광 검출감도를 높일 수 있다.

[0025] 코어 직경이 $200\mu\text{m}$ 이고 볼 직경이 $330\sim350\mu\text{m}$ 인 광섬유(34)로 분리채널(12)을 조준했더니 광밀도가 더 높은 작은 촛점이 생겨, 형광여기신호를 최적화할 수 있었다. 코어직경이 $300\mu\text{m}$ 이고 볼의 직경이 $500\mu\text{m}$ 인 광섬유(36)를 사용하면, 출력 복사선의 집합효율이 높아진다. 도 3은 코어 직경 $300\mu\text{m}$ 이고 볼 직경 $500\mu\text{m}$ 인 광섬유에서 빛이 실

리카 분리칼럼으로 향하는 기하학적 형상을 컴퓨터로 시뮬레이션한 것을 보여준다. 분리칼럼의 외경은 360 μm 이고 내경은 75 μm 이다.

[0026] 입출력 광섬유들이 동일평면을 벗어나 90도로 벌어져있는 선행 특허(예; 미국특허 6,184,990; 6,828,567; 6,870,165)에 소개된 검출장치에 비해, 본 발명에서는 입력 광섬유와 출력 광섬유와 분리채널이 동일평면에 있다. 이때문에 유리 모세관인 유동채널에 대해 미세한 광학계들을 기계적으로 정렬하기가 간단하다.

[0027] 결과 같은 분리지원 매체를 가질 수 있는 모세관 카트리지의 본체/어셈블리 안에 광섬유들을 미리 고정시킬 수 있다. 볼엔드 광섬유를 이용한 2개의 광섬유 검출구조를 완충제 용기가 일체로 되어있는 1회용 싱글채널의 단일 카트리지에 적용했다.

[0028] 도 4A는 상단출구에 완충제 용기(62)가 달려있는 싱글채널 카트리지(60)의 사시도로서, 완충제 용기는 압력포트(640를 통해 외부의 공기 압력펌프(도시 안됨)에 직접 연결된다. 이 압력펌프(또는 기체탱크)는 분리칼럼(10)내의 모관 분리채널(12)을 채우는데 필요한 공기압을 제공하고, 분리용 완충제는 용기(62)에 들어있다. 완충제의 점도에 따라, 분리칼럼(10)의 내부압력을 완충제 용기(62)를 통해 최대 60psi까지 상승된다. 이 용기(62)는 양극 전극(66)을 제공한다. 카트리지(60)의 하단부에는 음극인 전극(67)이 달려있다. 카트리지(60)를 끼우도록 설계된 CE 장비에 카트리지를 설치하면 양쪽 전극(66,67)이 전기영동을 위한 외부의 고전압원(도시 안됨)에 자동으로 연결된다.

[0029] 도 4B는 검출구역(68)을 공동(69)으로 둘러싼 카트리지(60) 내부를 보여주는 단면도이다. 양쪽 광섬유(34,36)는 분리칼럼(10)에 형성된 검출구역을 조준하도록 지지되고, 이들은 모두 동일 평면상에 위치한다. 광섬유(34,36)는 원통형 커넥터(70,72)에 있는 원통형 채널(71,73)에 각각 지지되어 보호된다. 광섬유(34,36)의 볼엔드는 분리칼럼(10)에 닿지 않는다.

[0030] 카트리지(60) 내부의 공동(68)이 검출구역(68)을 둘러싸고 있다. 광섬유(34,36)는 분리칼럼(10)에 형성된 검출구역과 일치되도록 지지된다. 광섬유(34,36)와 분리칼럼은 동일평면상에 있다. 도시된 실시예에서, 광섬유(34,36)는 원통형 커넥터(70,72)의 채널(71,73) 안에 배치되어 보호된다. 양쪽 광섬유의 볼엔드는 분리칼럼(10)에 닿지 않는다.

[0031] 테스트 샘플들은 동전기 주입법으로 분리칼럼(10)에 주입된다. 동전기주입과 생체분자의 분리를 위해 고압 전원(예; EMCO)을 이용해 500V 내지 20kV의 전기장을 분리칼럼에 걸어준다. 광대역 빛에너지(FWHM=50nm)와 시야각 100도를 갖는 LED를 코어직경 100~1000 μm 정도의 여기용 광섬유의 평탄한 단부에 연결한다. 배경 노이즈를 줄이기 위해 코어직경 200 μm 이고 볼 직경 350 μm 인 볼엔드 광섬유에 빛을 보내기 전에 LED 앞에 라인필터(FWHM=2~50nm 대역통과 라인필터)를 배치한다. 볼엔드 광섬유에 의해, 분리칼럼의 내부의 분리채널에 여기용 복사에너지지를 보내기 위한 NA와 광점크기가 생성된다. 분리된 분석물에서 생긴 형광 출력신호가 볼직경 500 μm 의 볼엔드 광섬유에 의해 분리채널의 검출구역에서 수집되어 외부의 디텍터 모듈(도시 안됨)로 보내지는데, 이런 디텍터 모듈은 PMT나 SiPMT나 CCD를 이용하고 FITC 색소 관련해 사용할 출력필터(520nm의 대역통과필터)에 설치된다(도 5~8 참조).

[0032] 볼엔드 광섬유들은 CE 시스템용의 디텍터들을 대량생산할만큼 튼튼하고, 배경 노이즈도 크게 줄어들어, S/N이 개선되며, 단백질이나 DNA나 탄수화물이나 면역검정 분석은 물론 생체분자 분석에 있어서 높은 검출감도를 보인다. 도 5~8은 본 발명을 이용한 검출결과를 보여주는 그래프들이다. 도 5는 4분간 분리하고 검출된 FITC(Fluorescein Isothiocyanate; 농도 2×10^{-5} M)를 보여주는데, 베이스라인 노이즈(p-p)=0.028 RFU이고 신호=7.5 RFU로서 S/N=268이다. 이 테스트를 통해 실제 테스트 샘플들을 운용하기 전에 디텍터 성능을 위한 베이스라인이 설정된다. 도 6은 10분 후와 10시간 후의 다른 시간에서의 BSA(Bovine Serum Albumin)와 결합된 FITC와 FITC 단독의 분리와 검출을 보여준다. 도 7은 FITC 테스트 마커를 위한 재생 결과(피크와 이동 시간의 주입)를 보여준다. 도 8은 10%의 저장용액으로 희석한 시그마 FITC에 대한 안티-휴먼 IgA를 새로운 CE 형광검출 시스템으로 분석한 결과를 보여주는데, 분리는 4.5분내에 이루어졌고, 베이스라인 노이즈(p-p=0.044RFU)이며 신호=3.4RFU로서 S/N=80이다.

[0033] 섬유를 미리 설치한 카트리지가 높은 검출감도로 정확하고 고정된 결합을 보이지만, 이때는 비용이 많이 들고, 1회용 카트리지의 경우 비용이 특히 많이 듈다. 한편, 자동장치(예; 수동 래칭, 공압 래칭, 압전식이나 솔레노이드 작동형)를 사용해 여기용/출력 광섬유들을 외부에서 분리칼럼의 검출구역 가까이 가져올 수도 있다. 즉, 카트리지에 검출용 광섬유를 미리 설치하지 않고, 카트리지를 생물분리 장비에 설치할 때 이런 광섬유들을 카트리지에 연결한다. 이 방식은 카트리지의 설계를 단순화할 수 있다. 즉, 1회용 카트리지에 광섬유들을 미리 설치

할 필요가 없으며, 볼엔드 광섬유들을 카트리지에 필요할 때 자동으로 연결할 수 있다. 이 방식은 조립이 쉽고 비용을 절감할 수 있다.

[0034] 배경 노이즈를 줄이고 감도를 높이기 위해 분리채널과의 광결합에 다른 형태의 광섬유, 예컨대 볼이 아닌 원추형이나 평평한 형태의 단부를 갖는 광섬유를 사용할 수도 있다.

[0035] 마이크로-옵티컬 검출을 단수화하면 12채널과 같은 다채널형이어서 수율이 더 높은 겔-카트리지의 설계에 있어 유통성이 더 확보되면서도, 카트리지(60) 안에 광섬유를 설치할 필요가 없어, 1회용 카트리지의 설계비용을 절감할 수 있다. 도 9는 볼엔드 광섬유(34,36)가 분리칼럼(10)에 대해 정렬되어 있는 다채널 광학검출 구조를 보여주는 사시도이다.

[0036] 따라서, 본 발명에 따른 새로운 형광 광섬유계 검출법에 의하면 설계가 간단하고, 작동이 쉬우며 비용도 절감된다. 본 발명은 연구실과 병원진단용에 특히 적절하다.

[0037] 이런 설계의 단순화로 인해, 다채널 전기영동 시스템에 광섬유들을 연결해 사용할 수 있어, 다채널 카트리지 안에 광섬유나 기타 마이크로 광학계를 미리 조립할 필요가 없어진다. 설계상의 유연성으로 인해 설계가 단순화되어 미국특허 6,828,567에 소개된 카트리지와 검출시스템에 비해 비용을 크게 절감할 수 있다. 광섬유를 카트리지에서 배제한 본 발명의 방법에 의하면, 전체적인 조립 비용이 10배 내지 20배까지 절감된다.

[0038] 본 발명에 따른 2개의 광섬유를 이용한 검출 구조는 CE 장치의 전체적인 구조에 유연성을 더해주는데, 이는 복사원과 디텍터가 장치의 일부분일 수도 있고, 외부에서 추가될 수도 있기 때문이다. 이런 종류의 유연성 때문에, 최종 사용자가 여기용 광원(예; LED, 레이저, 기타 광대역 광원)이나 출력 디텍터(예; PMT, Si 포토다이오드, CCD 디텍터 등)를 교체하여 사용할 수 있는 것이다.

[0039] 이상의 실시예는 어디까지나 예를 든 것일 뿐이고, 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다. 당업자라면 본 발명의 범위를 벗어나지 않고도 다양하게 변형이나 변경을 할 수 있을 것이다.

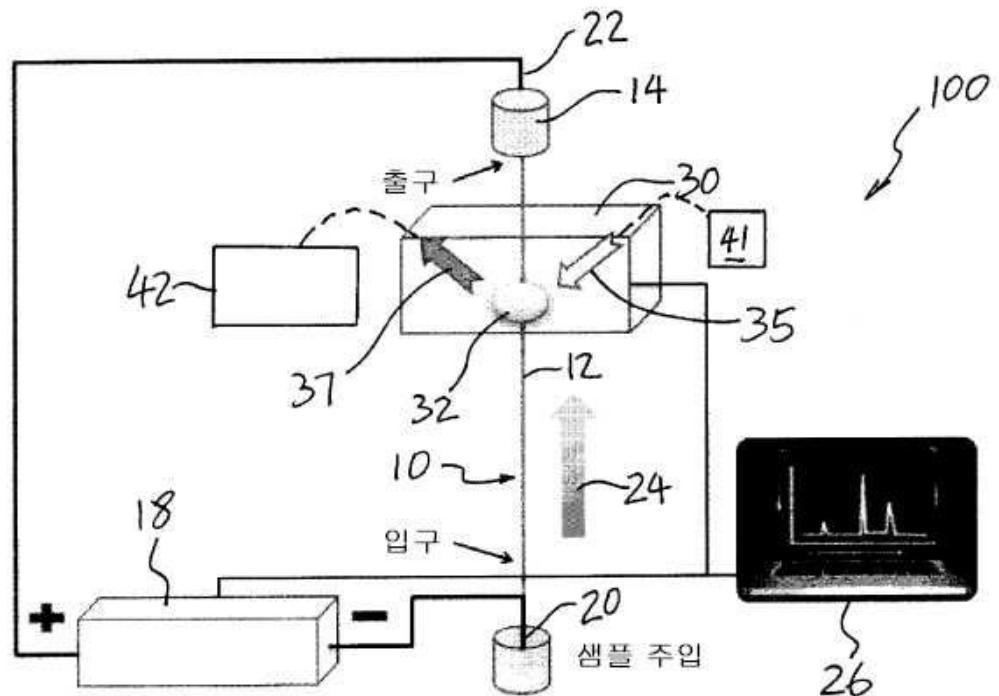
[0040] 예를 들어, 여기용 복사원을 LED, 레이저 다이오드(반도체 고체상태 레이저), 펄스 레이저(예; 고체상태 레이저, 기체 레이저, 색소레이저, 광섬유 레이저) 등을 사용할 수 있다. 한편, 본 발명에 비교적 저렴한 광원으로서 가시광, UV 또는 적외선 범위의 레이저 다이오드를 사용할 수도 있는데, 예를 들면 400~900nm 범위, 바람직하게는 400~600nm 범위의 레이저 다이오드를 사용할 수 있다.

[0041] 당업자라면 본 발명을 구현한 장치를 면역검정이나 DNA 분석 외에 생체분자 분석에도 활용할 수 있다. 본 발명은 이상 설명한 전기영동 이외의 생물분리 현상을 기초로 분리된 분석물의 검출 분야는 물론, 형광출력 이외의 다른 복사선 출력의 검출에도 응용할 수 있다.

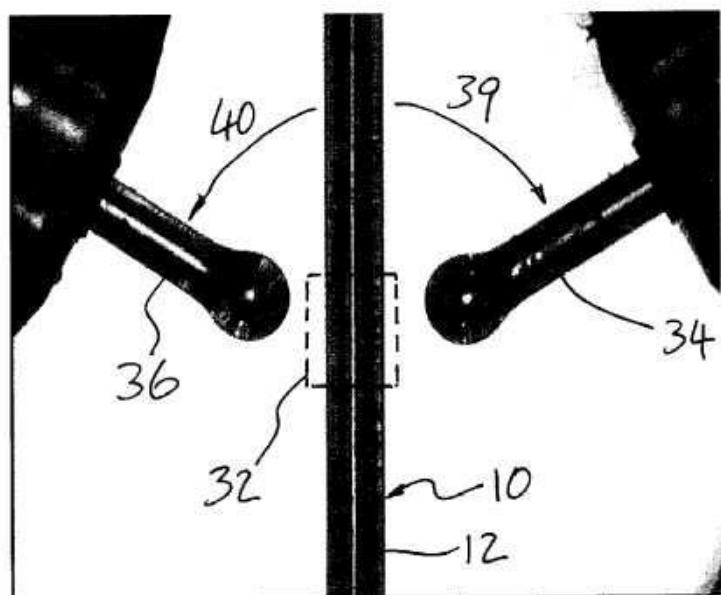
[0042] 또, 전술한 바와 달리 입출력 공섬유들이 동일평면을 벗어난 것도 본 발명의 범위에 속할 수 있다.

도면

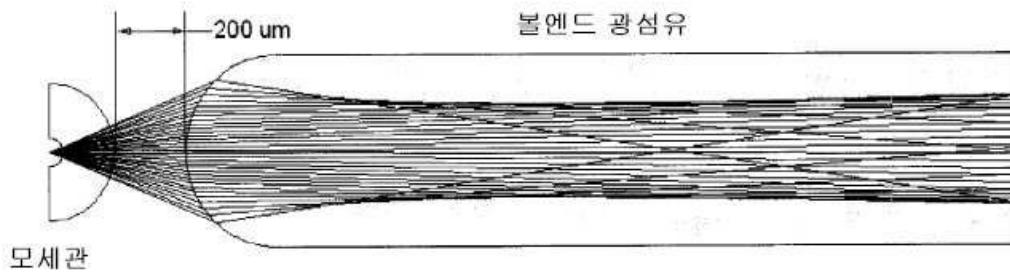
도면1



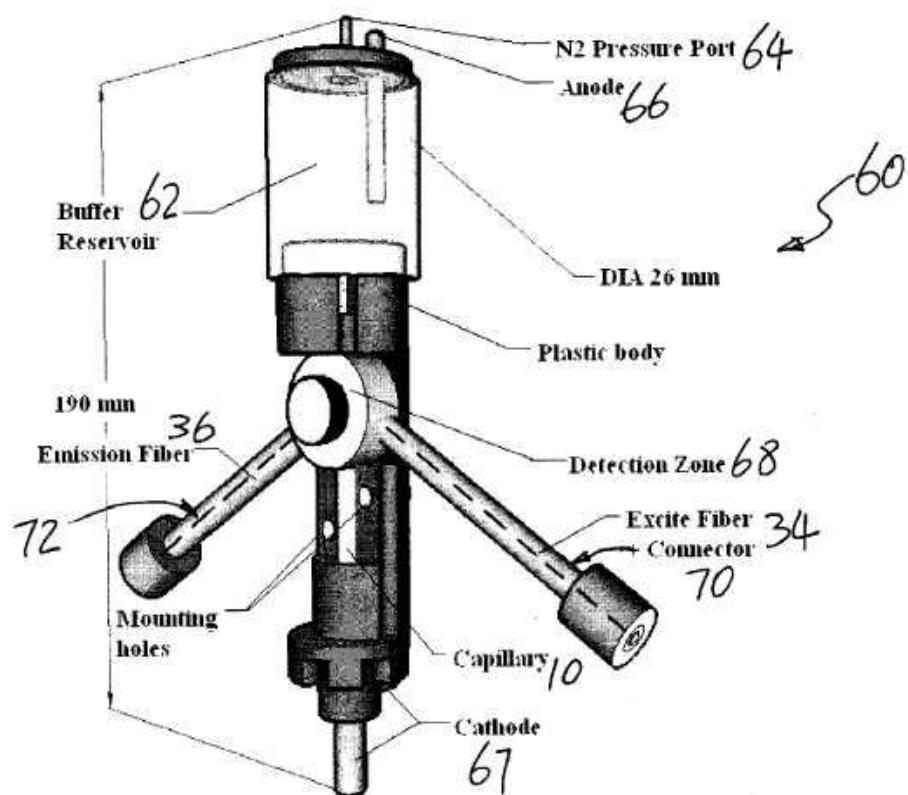
도면2



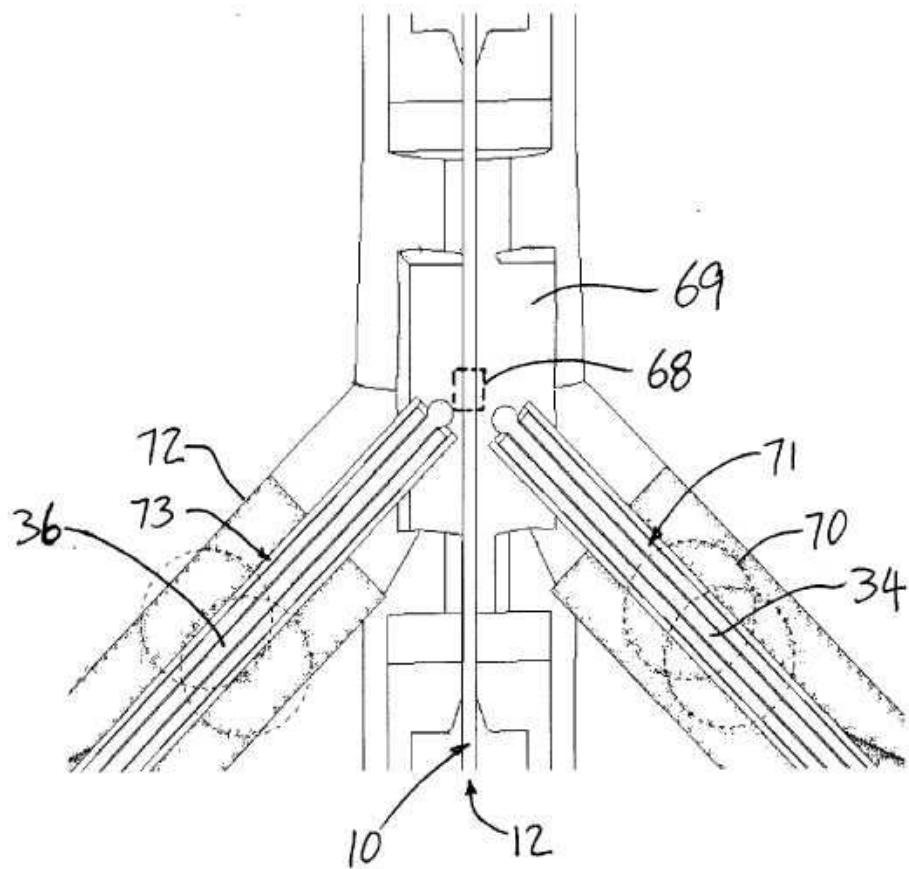
도면3



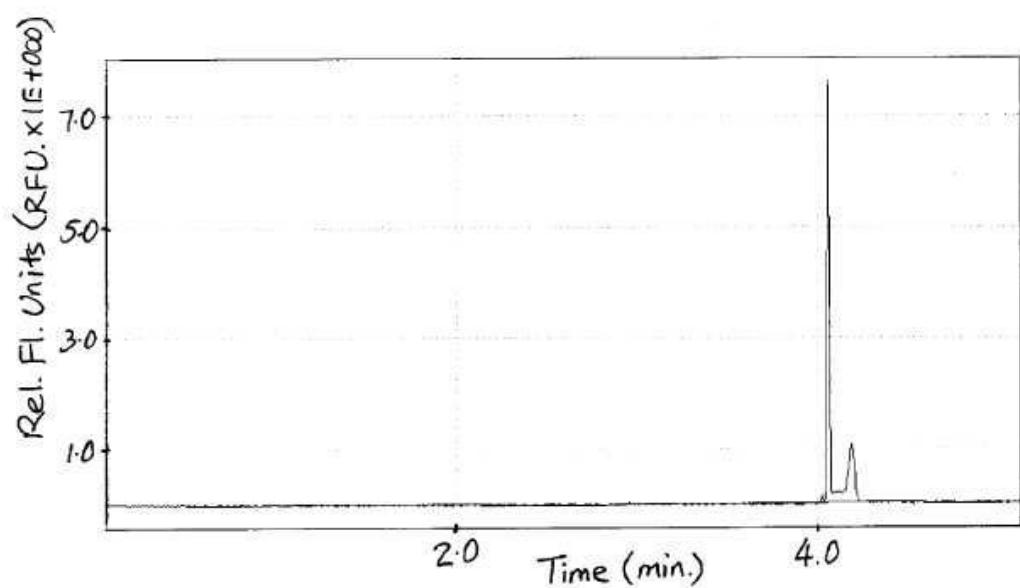
도면4a



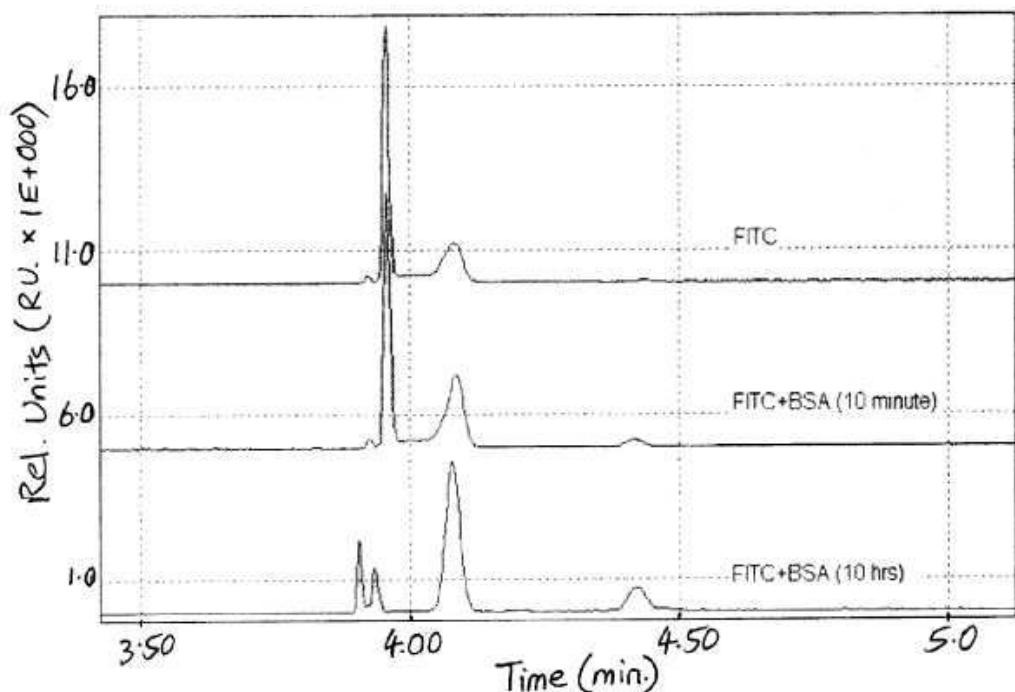
도면4b



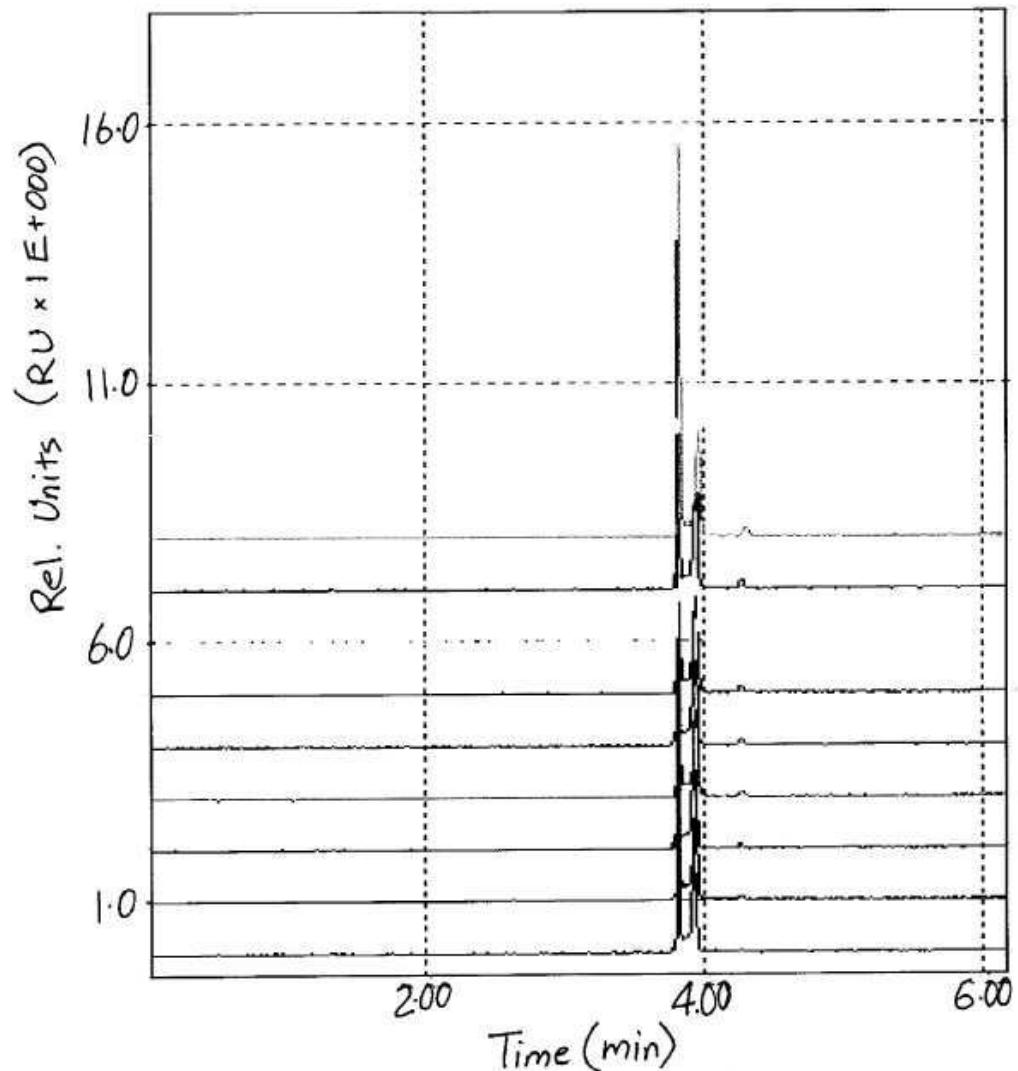
도면5



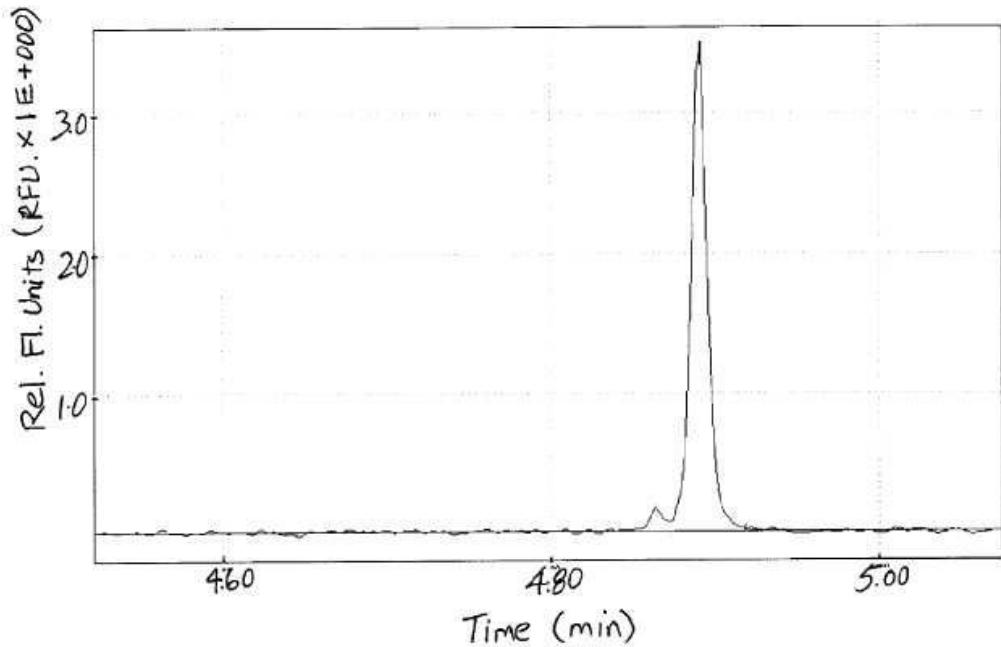
도면6



도면7



도면8



도면9

