

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl. ⁶ G01N 21/00	(11) 공개번호 특 1995-0006454	(43) 공개일자 1995년 03월 21일
(21) 출원번호	특 1994-0021253	
(22) 출원일자	1994년 08월 27일	
(30) 우선권주장	8/113.168 1993년 08월 27일 미국(US)	
(71) 출원인	8/266.061 1994년 07월 05일 미국(US) 에프. 호프만-라 룩슈 에이지 프리돌린 클라우스너, 롤란트 보러	
(72) 발명자	스위스연방 체히-4002 바슬 그렌짜헤르슈트라세 124 러셀 지. 히구치	
(74) 대리인	미합중국 캘리포니아 94501 알라메다 리버티 애브뉴 3258 로버트 엠. 왓슨 미합중국 캘리포니아 9470 버클리 버클리 웨이 1819 이병호, 최달용	

심사청구 : 없음

(54) 다중 증폭 반응의 동시 모니터링용 장치 및 이를 분석하는 방법

요약

본 발명은 다중 핵산 증폭을 동시에 모니터링하기 위한 장치에 관한 것이다. 다중 핵산 증폭의 증폭 생성물을 동시에 실제시간 모니터링하는 것을 제공하기 위해, 본 발명의 장치는 내부에 형성된 다수의 함몰부위를 갖는 열전도성 부재를 포함하는 열 사이클러(12)와 함몰부위로부터 방출되는 빛을 동시에 검출하기 위해 배열된 감지기(16)를 포함한다.

대표도

도2

명세서

[발명의 명칭]

다중 증폭 반응의 동시 모니터링용 장치 및 이를 분석하는 방법

[도면의 간단한 설명]

- 제2도는 본 발명의 원리에 따른 증폭장치의 투시도이다,
- 제4도는 제2도에 나타난 장치의 블록 모식도이다,
- 제14도는 부분단면으로 본 여기 광선 및 방출/형광 검출기 배치의 추가 양태를 설명하는 본 발명의 증폭 장치의 투시도이다,
- 제15도는 부분단면으로 제14도의 여기 광선 및 방출/형광검출기 배치의 사시도이다,
- 제16도는 본 발명의 원리에 따라 작제한 이색성 미러로 대표되는 투과성 대 파장 커브를 나타내는 도면이다,
- 제17도는 본 발명에 따른 반응 혼합물 함유 용기의 상층부에 대한 가열 윈도우(heating window)의 평면도이다.

본 내용은 요부공개 건이므로 전문 내용을 수록하지 않았음.

(57) 청구의 범위

청구항 1

내부에 형성된 다수의 함몰부위를 갖는 열전도성 부재를 포함하는 열 사이클러(thermal cycler)와 함몰부위로부터 방출되는 빛을 동시에 검출하도록 배열된 감지기(sensor)를 포함함을 특징으로 하는, 다중 핵산 증폭을 동시에 모니터링하기 위한 장치.

청구항 2

제1항에 있어서, 열 사이클러에 광학적으로 결합되고 내부에 형성된 다수의 함몰부위를 갖는 열전도성 부재의 특정 부위 전반에 걸쳐 빛을 분포시키도록 배열된 광원을 추가로 포함함을 특징으로 하는 장치.

청구항 3

제1항에 있어서, 각각의 광 방출 함몰부에 대해 감지기로 검출되는 빛에 대한 평균값을 생성시키는 수단을 추가로 포함함을 특징으로 하는 장치.

청구항 4

제1항에 있어서, 다중 사이클과 다중 핵산 증폭 반응 혼합물(혼합물은 함몰부위 중의 상이한 어느 하나에 배치된다)에 대해 선정된 온도 대 시간에 따라 열전도성 부재의 온도를 사이클링시키기 위한 수단(당해 수단은 형광 결합제를 포함한다)을 추가로 포함하고 광원이 열전도성 부재와 다수의 반응 혼합물의 특정 부분 전반에 걸쳐 실질적으로 균일한 광속(light flux)을 제공하고; 감지기가 광속에 의해 여기된 각각의 증폭 반응 혼합물로부터 방출된 형광을 검출하기 위한 열전도성 부재와 광학적으로 커플링됨을 특징으로 하는 장치.

청구항 5

제4항에 있어서, 검출되는 형광에 근거하여 각각의 여기된 반응 혼합물에 대한 평균 형광강도값을 산출하기 위한 수단을 추가로 포함함을 특징으로 하는 장치.

청구항 6

제5항에 있어서, 평균 형광강도값으로 부터 표준화된 형광강도값을 산출하기 위한 수단을 추가로 포함함을 특징으로 하는 장치.

청구항 7

제1항에 있어서, 열 사이클러의 열전도성 부재의 함몰부위가 핵산 증폭 반응 혼합물을 포함하는 반응 용기를 수용하기 위해 이들의 표면을 통해 형성되고; 감지기가, 반응 용기(vessel)가 열전도성 부재의 함몰부위에 배치될 때, 표면과 반응 용기의 영상을 발생시키기 위하여 열전도성 부재에 광학적으로 커플링된 영상화 장치임을 특징으로 하는 장치.

청구항 8

제7항에 있어서, 열전도성 부재의 표면에 빛을 제공하도록 배열된 광원을 포함하는 장치.

청구항 9

제8항에 있어서, 광원이 열전도성 부재의 표면을 따라 빛을 필수적으로 균일하게 분포시키도록 배열되는 장치.

청구항 10

제8항에 있어서, 광원이 UV램프를 포함하는 장치.

청구항 11

제7항에 있어서, 영상화 장치가 CCD-영상화 어레이(array)를 포함하는 장치.

청구항 12

제1항에 있어서, 열 사이클러의 열전도성 부재가 내부에 형성되어 핵산 증폭 반응 혼합물을 수용하도록 제작된 다수의 함몰부위를 가지며; 열전도성 부재에 위치하고 열 사이클러와 커플링된 하우징(housing), 이러한 하우징 내에서 빛이 함몰부위를 향하여 방출되도록 배열된 광원 및 제1파장을 갖는 빛에 대해서는 투과성이고 이러한 제1파장과는 상이한 제2파장을 갖는 빛에 대해서는 반사성인, 하우징 속과 함몰부위 위에 위치하는 이색성 미러(dichroic mirror)를 추가로 포함하며; 감지기가 이색성 미러의 제2표면으로부터 반사된 빛을 수용하도록 배열됨을 특징으로 하는 장치.

청구항 13

제12항에 있어서, 이색성 미러가, 핵산 증폭 혼합물을 함몰부위 중의 하나에 배치하고 광원으로부터 빛에 노출시킬 때, 여기 광원으로부터 발생하는 빛의 파장에 상응하는 파장을 갖는 빛에 대해서는 투과성이고 핵산 증폭 혼합물로부터 방출되는 형광의 파장에 상응하는 파장을 갖는 빛에 대해서는 반사성인 장치.

청구항 14

제12항에 있어서, 이색성 미러가, 파장의 범위가 약 200내지 550nm인 빛에 대해 투과성인 장치.

청구항 15

제12항에 있어서, 하우징이 불투과성 재질로 되어 있으며 그 내부에 이색성 미러와 감지기가 배열되는 차광 챔버를 형성하도록 제작된 장치.

청구항 16

제12항에 있어서, 열전도성 부재가 상층부 표면을 가지며 이색성 미러가 이러한 상층부 표면과 약 45°의 각도를 이루는 장치.

청구항 17

제12항에 있어서, 감지기가 전하결합소자(CCD)를 포함하는 장치.

청구항 18

제12항에 있어서, 함몰부위가 광원에 대해 선정된 간격만큼 노출되도록 하기 위해 광원 및 하우징 중의 하나와 커플링된 셔터를 추가로 포함하는 장치.

청구항 19

제12항에 있어서, 함몰부위 위에, 이색성 미러 아래에 배치되고, 투과성 재질과 이에 커플링된 가열 부재를 포함하는 윈도우를 추가로 포함하는 장치.

청구항 20

제12항에 있어서, 이색성 미러와 감지기 사이에 배열된 시역 렌즈(field lens)를 추가로 포함하는 장치.

청구항 21

제12항에 있어서, 감지기에 커플링된 필터 휠(filter wheel)을 추가로 포함하는 장치.

청구항 22

제1항에 있어서, 열 사이클러의 열전도성 부재가 내부에 형성되고 핵산 서열과 형광 결합제를 포함하는 핵산 증폭 반응 혼합물을 수용하도록 제작된 다수의 함몰부위를 가지며; 열전도성 부재 위에 위치하고 열 사이클러에 커플링된 하우징, 이러한 하우징 속으로 빛을 방출하도록 배치된 광원, 하우징 속에 배치된 감지기, 및 혼합물을 열전도성 부재 속에 형성된 함몰부위 중의 하나에 배치시키고 여기 광원으로부터 터의 빛에 노출시킬 때 여기 광원에서 발생하는 빛의 파장에 상응하는 파장을 갖는 빛에 대해서는 투과성이고 형광 결합제를 포함한 핵산 증폭 혼합물로부터 방출된 형광의 파장에 상응하는 파장을 갖는 빛에 대해서는 반사적이며, 함몰부위와 감지기 사이에 광로(optical path)가 형성되도록 배향된, 하우징 속에, 함몰부위 위에 위치하는 이색성 미러를 추가로 포함함을 특징으로 하는 장치.

청구항 23

제22항에 있어서, 이색성 미러가 일반적으로 광원을 향하고 있는 제1표면과, 일반적으로 함몰부위가 감지기를 향하고 있는 제2표면을 포함하는 장치.

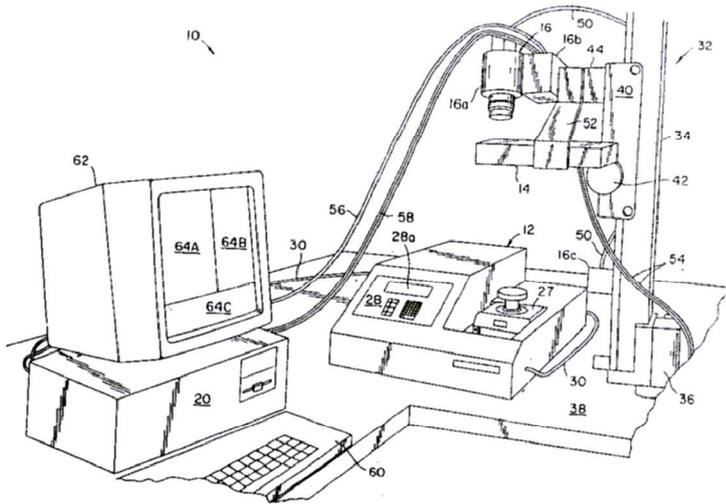
청구항 24

서로 상이하지만 공지된 농도를 갖는 특정 핵산 서열과 형광 결합제를 포함하는 다중 증폭 반응 혼합물을 제공하는 단계; 공지되지 않은 농도의 특정 핵산 서열과 형광 결합제를 갖는 증폭 반응 혼합물을 제공하는 단계; 다중 사이클을 위해 공지된 핵산 농도와 공지되지 않은 핵산 농도의 증폭 반응 혼합물을 병행해서 열 사이클링시키는 단계; 특정 강도값에서 형광을 내기 위해 각각의 반응 혼합물에 필요한 사이클의 수를 결정하는 단계 및 공지되지 않은 농도의 혼합물중의 특정 핵산 서열의 최초량을 수득하기 위해, 공지되지 않은 핵산 농도의 혼합물이 특정 강도값에 도달하는데 필요한 사이클 수와 다수의 공지된 핵산 농도의 혼합물이 특정 강도값에 도달하는데 필요한 사이클 수를 비교하는 단계를 포함하여 샘플 중의 특정 핵산 서열의 양을 정량화하는 방법.

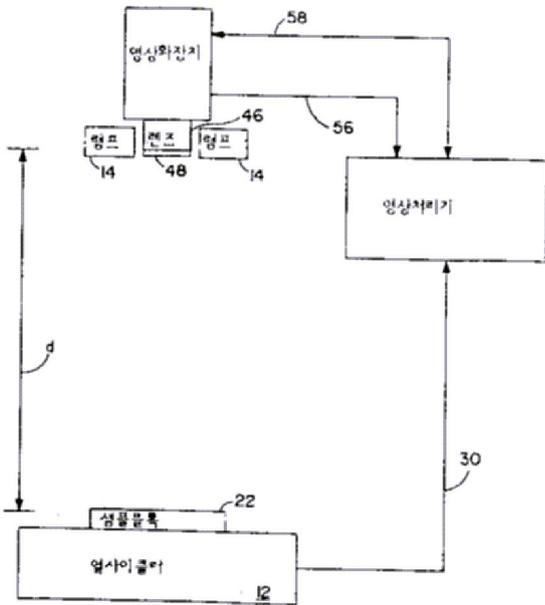
※ 참고사항 : 최초출원 내용에 의하여 공개하는 것임.

도면

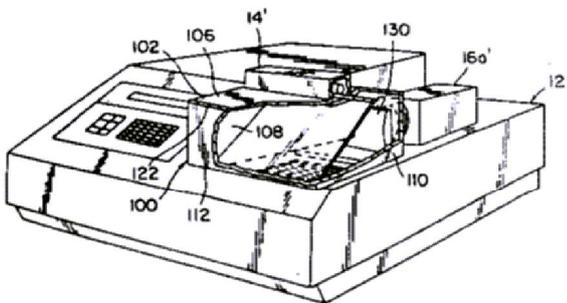
도면2



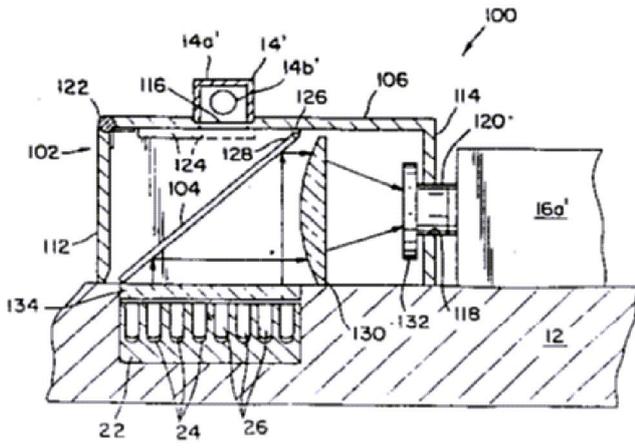
도면4



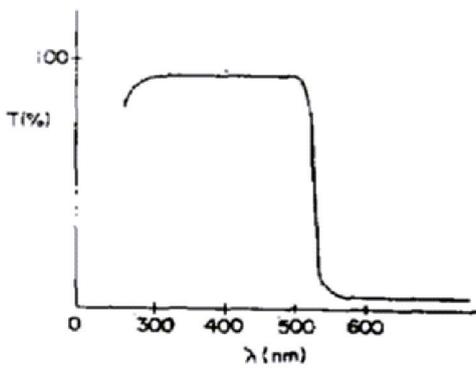
도면14



도면15



도면16



도면17

