



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0073222
 (43) 공개일자 2009년07월02일

(51) Int. Cl.

G01N 33/52 (2006.01) *G01N 33/53* (2006.01)
G01N 33/535 (2006.01) *C12M 1/34* (2006.01)

- (21) 출원번호 10-2009-7009660
- (22) 출원일자 2007년10월10일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2009년05월11일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2007/080917
- (87) 국제공개번호 WO 2008/063770
 국제공개일자 2008년05월29일
- (30) 우선권주장
 11/549,558 2006년10월13일 미국(US)
 11/685,615 2007년03월13일 미국(US)

(71) 출원인

테라노스, 인코포레이티드

미국 캘리포니아주 94025 덴로 파크 수우트 에이
 치 오브리엔 드라이브 1430

(72) 발명자

기본즈 이안

미국 캘리포니아주 940283 포톨라 밸리 라 메사
 드라이브 831

오코넬 마이클

미국 캘리포니아주 95123 샌어제이 산 로렌조 드
 라이브 5692

(74) 대리인

김성기, 김진희

전체 청구항 수 : 총 69 항

(54) 유체 장치에서 광학 간섭의 감소

(57) 요약

본 발명은 의료 장치 분야에 속한다. 구체적으로, 본 발명은 생물학적 유체로부터 분석물을 실시간으로 검출할 수 있는 휴대용 의료 장치를 제공한다. 본 방법 및 장치는 다양한 의료 적용예에 대한 POA 테스트를 제공하는 데 특히 유용하다. 특히, 본 의료 장치는 체액 샘플 중의 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호의 간섭을 감소시킨다.

특허청구의 범위

청구항 1

체액 샘플 중의 분석물을 검출하기 위한 유체 장치로서,
 체액 샘플을 상기 유체 장치로 제공하는 샘플 포집 유닛;
 상기 샘플 포집 유닛과 유체 연통되며 체액 샘플 중의 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호를 발하는 분석 어셈블리; 및
 상기 분석 어셈블리와 유체 연통되며 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광 어셈블리를 포함하는 유체 장치.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 분석 어셈블리는 상기 분석에 사용되는 하나 이상의 시약을 포함하는 시약 챔버 및 상기 분석물을 결합시키는 반응물을 포함하는 하나 이상의 반응 부위를 포함하는 것인 유체 장치.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 하나 이상의 시약은 효소 접합체 및 효소 기질을 포함하는 것인 유체 장치.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 상기 반응 부위와 유체 연통되는 소광 부위 및 상기 소광 부위에서 소광제를 포함하는 것인 유체 장치.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 흡수제 물질을 더 포함하는 것인 유체 장치.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 흡수제 물질에는 상기 소광제가 함침되어 있는 것인 유체 장치.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 흡수제 물질은 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 및 한천으로 구성된 군에서 선택되는 것인 유체 장치.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 소광제는 상기 분석으로부터의 하나 이상의 시약을 불활성화시켜 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 것인 유체 장치.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 소광제는 4-아미노-1,11-아조벤젠-3,41-디설포산인 것인 유체 장치.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 분석 어셈블리는 화학 발광 분석을 실행하기 위한 것인 유체 장치.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 상기 간섭을 실질적으로 제거하기 위한 것인 유체 장치.

청구항 12

제1항에 있어서, 면역 분석을 실행하기 위한 것인 유체 장치.

청구항 13

제4항에 있어서, 상기 소광 부위를 포함하는 폐기물 챔버를 더 포함하는 것인 유체 장치.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 체액 샘플은 혈액인 것인 유체 장치.

청구항 15

분석물의 존재를 나타내는 광학 신호를 발하도록 구성된 분석 어셈블리 및 상기 분석 어셈블리와 유체 연통되며 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광 어셈블리를 포함하는 유체 장치,

및 상기 광학 신호를 검출하기 위한 검출 어셈블리를 포함하는, 샘플 중의 분석물을 검출하기 위한 시스템.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 광학 신호를 외부 장치에 전달하기 위한 통신 어셈블리를 더 포함하는 것인 시스템.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 분석 어셈블리는 상기 분석에 사용되는 하나 이상의 시약을 포함하는 시약 챔버 및 상기 분석물을 결합시키는 반응물을 포함하는 하나 이상의 반응 부위를 포함하는 것인 시스템.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 하나 이상의 시약은 효소 접합체 및 효소 기질을 포함하는 것인 시스템.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 상기 반응 부위와 유체 연통되는 소광 부위 및 상기 소광 부위에서 소광제를 포함하는 것인 시스템.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 흡수제 물질을 더 포함하는 것인 시스템.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 흡수제 물질에는 상기 소광제가 함침되어 있는 것인 시스템.

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 흡수제 물질은 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 및 한천으로 구성된 군에서 선택되는 것인 시스템.

청구항 23

제20항에 있어서, 상기 소광제는 상기 분석으로부터의 하나 이상의 시약을 불활성화시켜 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 것인 시스템.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 소광제는 4-아미노-1,11-아조벤젠-3,41-디설포산인 것인 시스템.

청구항 25

제17항에 있어서, 상기 분석 어셈블리는 화학 발광 분석을 실행하기 위한 것인 시스템.

청구항 26

제17항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 상기 간섭을 실질적으로 제거하기 위한 것인 시스템.

청구항 27

제17항에 있어서, 상기 유체 장치는 면역 분석을 실행하기 위한 것인 시스템.

청구항 28

제19항에 있어서, 상기 소광 부위를 포함하는 폐기물 챔버를 더 포함하는 것인 시스템.

청구항 29

제15항에 있어서, 상기 체액 샘플은 혈액인 것인 시스템.

청구항 30

분석물을 함유하는 것으로 의심되는 샘플을, 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호를 발하도록 구성된 분석 어셈블리 및 상기 분석 어셈블리와 유체 연통되며 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광 어셈블리를 포함하는 유체 장치에 함유된 하나 이상의 반응물과 반응시키는 단계, 및

상기 광학 신호를 검출하여 샘플 중의 분석물을 검출하는 단계

를 포함하는, 샘플 중의 분석물 검출 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 분석 어셈블리는 상기 분석에 사용된 하나 이상의 시약을 포함하는 시약 챔버 및 상기 분석물을 결합시키는 반응물을 포함하는 하나 이상의 반응 부위를 포함하는 것인 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 하나 이상의 시약은 효소 접합체 및 효소 기질을 포함하는 것인 방법.

청구항 33

제31항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 상기 반응 부위와 유체 연통되는 소광 부위 및 상기 소광 부위에서 소광제를 포함하는 것인 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 흡수제 물질을 더 포함하는 것인 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 흡수제 물질에는 상기 소광제가 함침되어 있는 것인 방법.

청구항 36

제34항에 있어서, 상기 흡수제 물질은 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 및 한천으로 구성된 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 37

제34항에 있어서, 상기 소광제는 상기 분석으로부터의 하나 이상의 시약을 불활성화시켜 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 것인 방법.

청구항 38

소광 어셈블리를 갖는 유체 장치의 제조 방법으로서,

복수의 유체 장치 층을 제공하는 단계;

상기 층들을 함께 부착하여 샘플 포집 유닛, 하나 이상의 시약 챔버, 하나 이상의 반응 부위 및 하나 이상의 소

광 어셈블리 사이에 유체 네트워크를 제공하는 단계
를 포함하는 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 부착 단계는 상기 층들을 함께 초음파 용접하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 40

제38항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 상기 하나 이상의 반응 부위와 유체 연통되는 소광 부위 및 상기 소광 부위에서 소광제를 포함하는 것인 방법.

청구항 41

제40항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 흡수제 물질을 더 포함하는 것인 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 흡수제 물질에는 상기 소광제가 함침되어 있는 것인 방법.

청구항 43

제41항에 있어서, 상기 흡수제 물질은 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 및 한천으로 구성된 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 44

제42항에 있어서, 상기 소광제는 4-아미노-1,11-아조벤젠-3,41-디설피산인 것인 방법.

청구항 45

샘플 포집 유닛;

표면 및 여기에 부동화된 분석물을 결합시키는 반응물을 포함하는 하나 이상의 반응 부위, 효소 접합체를 포함하는 제1 시약 챔버, 효소 접합체와 반응하여 발광 신호를 생성하는 효소 기질을 포함하는 제2 시약 챔버, 및 상기 시약 챔버들을 하나 이상의 반응 부위와 연결하는 유체 채널을 포함하는 분석 어셈블리;

효소 접합체 및 효소 기질 간의 반응을 감소시키는 소광제와 흡수 물질을 포함하는 소광 어셈블리; 및

샘플 포집 유닛 및 소광 어셈블리와 분석 어셈블리를 연결하는 복수의 유체 채널

을 포함하는, 샘플 중의 분석물을 검출하기 위한 유체 장치.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 유체 채널을 통하여 분석 어셈블리와 연결되고 흡수제 물질을 포함하는 폐기물 챔버를 더 포함하는 것인 유체 장치.

청구항 47

제45항에 있어서, 상기 흡수제 물질은 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 및 한천으로 구성된 군에서 선택되는 것인 유체 장치.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 소광제는 4-아미노-1,11-아조벤젠-3,41-디설피산이고 상기 효소 접합체는 알칼리성 인산 분해 효소 표지 시약인 것인 유체 장치.

청구항 49

제45항에 있어서, 상기 분석 어셈블리는 면역 분석을 실행하기 위한 것인 유체 장치.

청구항 50

분석물을 함유하는 것으로 의심되는 샘플을, 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호를 발하도록 구성된 분석 어셈블리 및 상기 분석 어셈블리와 유체 연통되며 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광 어셈블리를 포함하는 유체 장치에 함유된 하나 이상의 시약과 반응시키는 단계, 및
상기 광학 신호를 검출하여 샘플 중의 분석물을 검출하는 단계를 포함하는 샘플 중의 분석물의 검출 방법을.

청구항 51

제50항에 있어서, 상기 분석 어셈블리는 상기 분석에 사용된 하나 이상의 시약을 포함하는 시약 챔버 및 상기 분석물을 결합시키는 반응물을 포함하는 하나 이상의 반응 부위를 포함하는 것인 방법.

청구항 52

제51항에 있어서, 상기 하나 이상의 시약은 효소 접합체 및 효소 기질을 포함하는 것인 방법.

청구항 53

제51항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 상기 반응 부위와 유체 연통되는 소광 부위 및 상기 소광 부위에서 소광제를 포함하는 것인 방법.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 흡수제 물질을 더 포함하는 것인 방법.

청구항 55

제54항에 있어서, 상기 흡수제 물질에는 상기 소광제가 함침되어 있는 것인 방법.

청구항 56

제54항에 있어서, 상기 흡수제 물질은 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 및 한천으로 구성된 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 57

제54항에 있어서, 상기 소광제는 상기 분석으로부터의 하나 이상의 시약을 불활성화시켜 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 것인 방법.

청구항 58

소광 어셈블리를 갖는 유체 장치의 제조 방법으로서,
복수의 유체 장치 층을 제공하는 단계;
상기 층들을 함께 부착하여 샘플 포집 유닛, 하나 이상의 시약 챔버, 하나 이상의 반응 부위 및 하나 이상의 소광 어셈블리 사이에 유체 네트워크를 제공하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 59

제58항에 있어서, 상기 부착 단계는 상기 층들을 함께 초음파 용접하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 60

제58항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 상기 하나 이상의 반응 부위와 유체 연통되는 소광 부위 및 상기 소광 부위에서 소광제를 포함하는 것인 방법.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 흡수제 물질을 더 포함하는 것인 방법.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 흡수제 물질에는 상기 소광제가 함침되어 있는 것인 방법.

청구항 63

제61항에 있어서, 상기 흡수제 물질은 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 및 한천으로 구성된 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 소광제는 4-아미노-1,11-아조벤젠-3,41-디설피산인 것인 방법.

청구항 65

샘플 포집 유닛;

표면 및 여기에 부동화된 분석물을 결합하는 반응물을 포함하는 하나 이상의 반응 부위, 효소 접합체를 포함하는 제1 시약 챔버, 효소 접합체와 반응하여 발광 신호를 생성하는 효소 기질을 포함하는 제2 시약 챔버, 및 상기 시약 챔버들을 하나 이상의 반응 부위와 연결하는 유체 채널을 포함하는 분석 어셈블리;

효소 접합체 및 효소 기질 간의 반응을 감소시키는 소광제와 흡수 물질을 포함하는 소광 어셈블리; 및

샘플 포집 유닛 및 소광 어셈블리와 분석 어셈블리를 연결하는 복수의 유체 채널

을 포함하는, 샘플 중의 분석물을 검출하기 위한 유체 장치.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 소광 어셈블리는 유체 채널을 통하여 분석 어셈블리와 연결되고 흡수제 물질을 포함하는 폐기물 챔버를 더 포함하는 것인 유체 장치.

청구항 67

제65항에 있어서, 상기 흡수제 물질은 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 및 한천으로 구성된 군에서 선택되는 것인 유체 장치.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 소광제는 4-아미노-1,11-아조벤젠-3,41-디설피산이고 상기 효소 접합체는 알칼리성 인산 분해 효소 표지 시약인 것인 유체 장치.

청구항 69

제65항에 있어서, 상기 분석 어셈블리는 면역 분석을 실행하기 위한 것인 유체 장치.

명세서

배경 기술

<1> 다수의 질환 바이오마커의 발견 및 소형화된 유체 시스템의 개발은 POC(point-of-care) 환경에서 질환의 예방, 진단 및 치료 모니터링을 위한 방법 및 시스템을 고안하는 새로운 길을 열었다. POC 테스트는 환자 및 의료 전문가에게 결과를 신속히 제공하여 환자와 건강 관리자 사이에 빠른 상담이 이루어질 수 있게 하므로 특히 바람직하다. 조기 진단은 의료 전문가가 더 조기에 치료를 개시할 수 있게 하여 환자 병태의 방지 악화를 회피할 수 있게 한다. 바이오마커 레벨 및 치료제 농도와 같은 적절한 매개변수의 빈번한 모니터링은 약물 요법의 효과 인지 또는 환자가 요법에 의한 해를 입고 있는지의 조기 발견을 가능하게 한다. POC 분석의 예에는 글루코스, 프로트롬빈 시간, 남용 약물, 혈청 콜레스테롤, 임신 및 배란 테스트가 포함된다.

<2> 유체 장치는 대상체의 체액 샘플에서 대상 분석물을 검출하는 다수의 상이한 분석을 이용할 수 있다. ELISA 분석(특히 POC 상황에서 바람직한 임상 분석 기술)에서, 효소-항체 접합체 및 효소 기질과 같은 분석 시약이 분석

시행 후 유체 장치에 잔존하는 경우, 분석 포착면에 결합되지 않은 시약 또는 과량의 시약이 동일한 유체 장치에 수집되면 서로 반응하여 분석에 의하여 생성되는 대상 신호를 간섭할 수 있는 신호를 생성할 수 있다. 이것은 예컨대 흡광 또는 형광을 측정하는 분석과 대조적으로 분석 시약이 빛을 발생시키는 발광형성 분석에서 특히 그러하다. 다수의 발광형성 분석은 발광성 효소를 사용하므로 측정된 화학종의 증폭에 의하여 분석 감도를 개선시킨다. 또한, 작은 하우징에 폐기물 세정액을 비롯한 모든 분석 성분을 함유하는 분석 시스템에서, 발광형성 폐기물을 백열시키는 가능성이 더 증대된다. 이러한 분석 포맷에서, 과량의 또는 비결합의 효소 표지 시약은 효소 기질과 반응하여 바람직하지 않은 간섭 신호를 생성할 수 있다.

- <3> 일부 유체 장치 특징은 간섭 신호 문제를 어느 정도 완화시킬 수 있다. 예컨대, 체액 장치가 불투명하여 바람직하지 않은 백열을 광학적으로 분리시킬 수 있거나 또는 유체 장치 내 반응 부위로부터 유래하지 않는 빛을 거부하도록 검출 시스템을 구성할 수 있다. 그러나, 이러한 완화 특징은 빛이 유체 장치의 투명 부재를 통과하여 대상 신호를 간섭할 수 있으므로 간섭을 충분히 제거할 수 없다. 이것은 특히 분석으로부터 발생하는 신호간 비율이 단지 작은 분율, 예컨대 전체 신호 발생 시약 10,000부 중 1부 미만을 나타낼 수 있는 고감도가 필요한 분석에서 그러하다.
- <4> 따라서, 개선된 유체 장치, 특히 간섭 광학 신호를 최소화하도록 설계된 POC 장치가 매우 필요하다.

발명의 상세한 설명

<5> 발명의 개요

- <6> 본 발명의 일 측면은 체액 샘플 중의 분석물을 검출하기 위한 유체 장치이다. 유체 장치는 체액 샘플을 유체 장치로 제공하기 위한 샘플 포집 유닛, 상기 샘플 포집 유닛과 유체 연통되며 체액 샘플 중의 분석물의 존재 또는 양을 나타내는 광학 신호를 발하는 분석 어셈블리 및 상기 분석 어셈블리와 유체 연통되며 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광 어셈블리를 포함한다.
- <7> 일부 실시양태에서 상기 분석 어셈블리는 상기 분석에 사용되는 시약을 포함하는 시약 챔버 및 상기 분석물을 결합시키는 반응물을 포함하는 하나 이상의 반응 부위를 포함한다. 반응물은 효소 집합체 및 효소 기질일 수 있다.
- <8> 상기 소광 어셈블리는 상기 반응 부위와 유체 연통되는 소광 부위 및 상기 소광 부위에서 소광제를 포함할 수 있다. 상기 소광 어셈블리는 또한 예컨대 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 또는 한천일 수 있는 흡수제 물질을 포함할 수 있다.
- <9> 흡수제 물질에는 소광제가 함침될 수 있다. 상기 소광제는 상기 분석으로부터의 하나 이상의 시약을 불활성화하여 상기 간섭 광학 신호를 감소시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 소광제는 4-아미노-1,11-아조벤젠-3,41-디설피논산이다.
- <10> 일부 실시양태에서, 분석 어셈블리는 면역 분석의 실행을 위해 구성되며, 이것은 화학 발광 분석일 수 있다. 소광 어셈블리는 간섭을 실질적으로 제거하기 위해 구성될 수 있다.
- <11> 일부 실시양태에서, 유체 장치는 소광 부위를 포함하는 폐기물 챔버를 구비한다.
- <12> 본 발명의 또다른 측면은 샘플 중의 분석물을 검출하기 위한 시스템이다. 상기 시스템은 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호를 발하도록 구성된 분석 어셈블리 및 상기 분석 어셈블리와 유체 연통되며 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광 어셈블리를 구비하는 유체 장치 및 상기 광학 신호를 검출하기 위한 검출 어셈블리를 포함한다.
- <13> 일부 실시양태에서, 상기 시스템은 또한 상기 광학 신호를 외부 장치로 전달하기 위한 통신 어셈블리를 포함한다.
- <14> 일부 실시양태에서, 상기 분석 어셈블리는 분석에 사용되는 하나 이상의 시약을 갖는 시약 챔버 및 분석물을 결합시키는 반응물을 포함하는 하나 이상의 반응 부위를 포함한다. 하나 이상의 시약은 효소 집합체 및 효소 기질을 포함할 수 있다.
- <15> 일부 실시양태에서, 상기 소광 어셈블리는 상기 반응 부위와 유체 연통되는 소광 부위 및 상기 소광 부위에서 소광제를 포함한다. 상기 소광 어셈블리는 유리 섬유, 실리카, 종이, 폴리아크릴아미드 겔, 아가로스 또는 한천과 같은 흡수제 물질을 포함할 수 있다. 흡수제 물질에는 상기 분석으로부터의 하나 이상의 시약을 불활성화하여 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광제가 함침될 수 있다. 상기 소광제는 예컨대 4-아미노-1,11-아조벤

젠-3,41-디선폰산일 수 있다.

- <16> 시스템의 일부 실시양태에서, 분석 어셈블리는 면역 분석을 실행하기 위하여 구성되며 또한 화학 발광 분석일 수 있다.
- <17> 소광 어셈블리는 상기 간섭을 실질적으로 제거하도록 구성될 수 있다.
- <18> 시스템의 일부 실시양태에서, 소광 부위를 포함하는 폐기물 챔버가 존재한다.
- <19> 본 발명의 일 측면은 샘플 중의 분석물을 검출하는 방법이다. 상기 방법은 분석물을 함유하는 것으로 의심되는 샘플을, 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호를 발하도록 구성된 분석 어셈블리 및 상기 분석 어셈블리와 유체 연통되며 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광 어셈블리를 구비한 유체 장치에 함유된 시약과 반응시키는 단계, 및 상기 광학 신호를 검출하여 샘플 중의 분석물을 검출하는 단계를 포함한다.
- <20> 본 발명의 일 측면은 소광 어셈블리를 갖는 유체 장치의 제조 방법이다. 상기 방법은 복수의 유체 장치 층을 제공하는 것, 상기 층들을 함께 부착하여 샘플 포집 유닛, 하나 이상의 시약 챔버, 하나 이상의 반응 부위 및 하나 이상의 소광 어셈블리 사이에 유체 네트워크를 제공하는 단계를 포함한다.
- <21> 일부 실시양태에서, 부착 단계는 층들을 함께 초음파 용접하는 것을 포함한다.

<22> **참고 문헌 인용**

<23> 본 명세서에 언급된 모든 공개공보 및 특허 출원은 각 개개의 공개공보 또는 특허 출원이 참고 문헌으로 인용된다고 구체적으로 개별적으로 지시되는 동일한 범위로 참고 문헌으로서 본원에 인용된다.

<24> **도면의 간단한 설명**

- <25> 본 발명의 신규한 특징은 특히 첨부된 청구의 범위에 개시된다. 본 발명의 원리를 이용하는 예시적 실시양태를 개시한 이하의 상세한 설명 및 첨부 도면을 참조하면 본 발명의 특징 및 이점을 보다 잘 이해하게 될 것이다.
- <26> 도 1 및 2는 각각 유체 연통을 나타내는 예시적 유체 장치의 평면도 및 저면도이다.
- <27> 도 3 및 4는 각각 본 발명의 예시적 유체 장치의 평면도 및 저면도이다.
- <28> 도 5는 예시적 유체 장치의 상이한 부품 및 층을 나타낸다.
- <29> 도 6은 본 발명의 예시적 시스템을 도시한다.
- <30> 도 7은 2단계 분석을 도시한다.
- <31> 도 8은 예시적 화학 발광 분석을 도시한다.

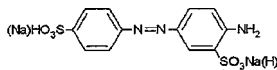
<32> **발명의 상세한 설명**

<33> **유체 장치**

- <34> WSGR Docket No 30696-715.201 분자량 폴리에틸렌, 폴리비닐리덴 플루오라이드, 에틸렌-비닐 아세테이트, 폴리테트라플루오로에틸렌, 스티렌-아크릴로니트릴, 폴리선폰, 폴라카르보네이트, 텍스트란, 무수 세파텍스, 폴리프탈레이트, 실리카, 유리 섬유 또는 기타 본원에 포함된 것과 유사한 물질. 추가로, 흡수제 물질은 본원에 개시된 물질의 임의의 조합일 수 있다.
- <35> 일반적으로, 흡수제 물질은 흡수성이고 공기의 부피 분율은 일반적으로 흡수제 물질의 약 10~70%이다. 흡수제 물질은 분석에 사용되는 폐기물액의 흡수를 도우므로 유체 장치로부터의 액 누수를 방지하여, 광학 신호의 검출을 위하여 유체 장치와 함께 사용되는 검출 장치의 오염을 방지하는 데 바람직할 수 있다.
- <36> 일부 실시양태에서, 흡수제 물질은 상기 분석 어셈블리로부터의 하나 이상의 시약과 반응하여 샘플 중의 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호의 간섭을 감소시키는 하나 이상의 소광제를 포함한다. 소광제는 시약간 결합을 억제할 수 있거나, 또는 바람직한 실시양태에서 소광제는 간섭 광학 신호의 원인이 될 수 있는 적어도 하나 이상의, 바람직하게는 모든 시약을 불활성화시킨다.
- <37> 소광 어셈블리에서 소광제와 반응하여 간섭을 감소시키는 시약 또는 시약들은 예컨대 비제한적으로 비결합 효소 및/또는 비결합 기질일 수 있다. 소광제와 반응하여 간섭을 감소시키는 시약은 일반적으로 간섭 자체의 감소만큼 중요하지는 않다. 소광 어셈블리 내 소광제는 유체 장치에서 실시되는 분석의 유형에 따라 달라질 수 있다. 바람직하게는, 대상 소광제는 간섭 광학 신호를 약 50% 이상, 약 60% 이상, 약 70% 이상, 약 80% 이상, 약 90%

이상, 또는 그 이상 감소시킨다. 바람직한 실시양태에서, 소광제는 간섭 광학 신호를 약 99% 감소시킨다. 또다른 바람직한 실시양태에서, 소광 어셈블리는 광학 간섭을 약 99.5% 이상 감소시킨다. 더 바람직한 실시양태에서, 소광제는 광학 간섭을 약 99.9% 이상 감소시킨다.

- <38> 이러한 방식으로 소광 어셈블리는 특정 분석(들)을 염두에 두고 제조될 수 있으며 간섭 신호를 만족스럽게 감소시키는 소광제를 포함할 수 있다.
- <39> 일부 실시양태에서, 소광제는 트리클로로아세트산 또는 이의 트리클로로아세트산나트륨 염과 같은 강한 비휘발산인 화학 물질일 수 있다. 상기 물질은 또한 수산화나트륨과 같은 강한 알칼리일 수도 있다. 다른 강한 비휘발성 산 및 강알칼리를 본 발명에 따라 사용할 수 있다.
- <40> 일부 실시양태에서, 소광제는 효소를 억제함으로써 광학 간섭을 감소시킨다. 예컨대 ELISA에서, 소광제는 기질을 변환시켜 발광 신호를 생성시키는 효소의 능력을 방해할 수 있다. 예시적 효소 억제제는 인산 분해 효소를 억제하는 포스페이트 염 및 발광형성 갈락토시드에 대한 β-갈락토시다제의 작용을 억제하는 락토오즈를 포함한다.
- <41> 일부 실시양태에서, 소광제는 효소를 변성시킴으로써 간섭을 감소시킬 수 있다. 소광제는 효소를 변성시킴으로써 효소는 효소 작용을 수행할 수 없고 광학 간섭이 억제 또는 감소된다. 예시적 변성제에는 도데실황산나트륨(SDS)과 같은 세제, 아세트산수은과 같은 중금속염, 또는 알칼리성 인산 분해 효소와 같은 특정 효소의 활성화에 필수적인 금속 이온을 봉쇄할 수 있는 EDTA와 같은 킬레이트제가 포함된다. 양이온성 (CTMAB) 및 음이온성 (SDS)을 비롯한 모든 유형의 계면활성제를 사용할 수 있다.
- <42> 일부 실시양태에서, 소광제는 효소 활성화와 양립할 수 없는 비변성 화학 물질일 수 있다. 예시적인 화학 물질은 pH를 효소가 불활성이 되어 간섭 신호의 생성을 촉매할 수 없는 값으로 변화시키는 완충제 등을 포함한다.
- <43> 다른 실시양태에서, 소광제는 예컨대 7,7,8,8-테트라시아노퀴노디메탄(TCNQ), 2,3,5,6-테트라플루오로-7,7,8,8-테트라시아노퀴노디메탄(TFTCNQ), 카본 나노튜브, 매염제 옐로우 10(MY) 및 4-아미노-1,1-아조벤젠-3,4-디설포산(AB)을 포함하는 유기 전하 전달 분자일 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 아조벤젠 화합물은 MY 및 AB인데, 이들이 TCNQ, TFTCNQ 및 카본 나노튜브보다 더 수용성인 것으로 생각되기 때문이다. AB의 구조는 다음과 같다:



- <44>
- <45> 일부 실시양태에서, 소광제는 화학 발광 신호를 증대시키기 위하여 사용되는 형광 화학종을 소광시킴으로써 간섭을 감소시키는 요오드와 같은 무거운 원자일 수 있다. 다른 실시양태에서, 소광제는 화학 발광 신호를 증대시키기 위하여 사용되는 형광 화학종의 형광 방출 스펙트럼과 중첩되는 흡수 스펙트럼을 갖는 유기 화합물일 수 있다. 일부 실시양태에서, 이러한 소광제는 카본 입자(예컨대, 카본 블랙, 목탄)의 분산액과 같은 어두운 소광제이다. 탄소는 활성 화학종을 흡수함으로써 화학 발광을 불활성화시킬 수 있으며 실질적으로 형광 방출이 불가능한 매우 양호한 소광제이기도 하다.
- <46> 일부 실시양태에서, 소광제는 화학 발광 반응을 파괴함으로써 간섭을 감소시킬 수 있는 항산화제일 수 있다. 본 발명의 일부 실시양태에서 사용될 수 있는 소광제는 트롤록스, 부틸화 히드록시톨루엔(BHT), 아스코르브산, 시트르산, 레티놀, 카로테노이드 테르페노이드, 비카로테노이드 테르페노이드, 페놀산 및 이들의 에스테르 및 바이오플라보노이드를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.
- <47> 다른 실시양태에서, 소광제는 화학 발광 반응을 파괴함으로써 간섭을 감소시킬 수 있는 단일선 산소 소광 물질일 수 있다. 일부 단일선 산소 소광 물질은 1,4-디아자비시클로[2,2,2]옥탄, 메티오닌 또는 시스테인과 같은 티올 함유 화합물 및 리코펜과 같은 카로테노이드를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.
- <48> 흡수제 물질을 증만 또는 포화시키기 위하여 사용되는 물질은 바람직하게는 고농축의, 일반적으로 상당한 물과량의 분석 시약이다.
- <49> 일반적으로 소광 어셈블리는 예컨대 지금부터 일부 설명되는 바람직한 특정 특성을 가진다. 소광 어셈블리가 흡수제 물질을 포함하는 실시양태에서, 폐기물액의 흡수는 바람직하게는 분석 지속 시간에 비하여 빠르다. 바람직한 실시양태에서, 폐기물 액의 흡수는 수분 이내에, 더 바람직하게는 수초 이내에 일어난다.
- <50> 흡수제 물질은 바람직하게는 유체 장치에서 실질적으로 모든 폐기물액을 흡수한다. 바람직한 실시양태에서는,

폐기물 챔버에서 액체의 99% 이상이 흡수된다. 이것은 광학 간섭을 감소시키는 외에 분석이 완료된 후 액체가 유체 장치로부터 누수되는 것을 방지하는데 도움이 되어, 본원에 개시된 바와 같은 유체 장치와 함께 사용될 수 검출 장치의 오염 방지에 도움이 된다.

- <51> 소광 어셈블리의 효소 활성 억제제는 신속한 것이 바람직하며, 일반적으로 수분 이내, 더 바람직하게는 수초 이내이다.
- <52> 억제적 효소 반응은 간섭이 최대한 감소되도록 가능한 완전해야 한다. 바람직한 실시양태에서, 효소 반응의 불활성화는 샘플 중의 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호가 본원에 개시된 바와 같은 유체 장치와 함께 사용될 수 있는 임의의 검출 메커니즘에 의하여 검출되기 전에 99% 이상 완전해야 한다.
- <53> 바람직한 실시양태에서, 소광 어셈블리는 흡수제 물질을 포함하며, 따라서, 여기에 흡수되는 불활성화 물질은 흡수제 물질 내에서 안정한 것이 바람직하다. 또한, 소광제는 폐기물액에 노출된 지 수초 내지 수분 이내에 용해되는 것이 바람직하다.
- <54> 일부 실시양태에서, 소광 어셈블리는 폐기물 챔버를 포함한다. 폐기물 챔버는 일반적으로 분석 어셈블리의 반응 부위에 결합하지 않는 분석 시약 및 샘플이 분석 후 수집되는, 분석 어셈블리와 유체 연통되는 챔버 또는 웰이다. 폐기물액은 분석 후 유체 장치에 잔존하므로, 폐기물 챔버는 일반적으로 임의의 비결합 시약 또는 과량의 시약 및 샘플이 분석 후 수집되는 유체 장치 구역이다. 소광 어셈블리가 흡수제 물질을 포함하는 실시양태에서, 흡수제 물질은 폐기물 챔버 내에 수용되도록 구성될 수 있다. 흡수제 물질은 전체 폐기물 챔버를 완전히 채울 수도 있고 채우지 않을 수도 있으며 유체가 폐기물 챔버로 유입될 때 확산될 수 있다.
- <55> 소광 어셈블리는 또한 흡수제 물질을 유체 장치 내부에서 안정화 또는 고정하는 안정화 특징을 가질 수도 있다. 예컨대, 흡수제 물질을 수용하도록 구성된 폐기물 챔버는, 흡수제 패드와 접촉하여 이것을 안정화 또는 고정하는, 폐기물 챔버의 꼭대기로부터 돌출된 핀 또는 스테이크를 포함할 수도 있다.
- <56> 도 1 및 2는 각각 예시적 유체 장치를 조립한 후의 상기 예시적 유체 장치의 평면도 및 저면도이다. 상이한 층들을 설계 및 부착하여 3차원 유체 채널 네트워크를 형성한다. 샘플 포집 유닛(4)은 환자에서 유래하는 체액 샘플을 제공한다. 이하에서 더 상세히 설명하는 바와 같이, 판독 어셈블리는 유체 장치를 구동시켜 개시하고 유체 장치에서 체액 샘플 및 분석 시약의 흐름을 배향시킬 수 있는 구동 소자(미도시)를 포함한다. 일부 실시양태에서, 구동 소자는 먼저 유체 장치(2) 내 샘플의 흐름을 샘플 포집 유닛(4)으로부터 반응 부위(6)로 야기하고, 샘플을 유체 장치에서 상방으로 G' 지점으로부터 G 지점으로, 이어서 흡수제 물질(9)이 수용되는 폐기물 챔버(8)로 이동시킨다. 이후 구동 소자는 샘플과 동일한 방식으로 시약의 흐름을 시약 챔버(10)로부터 B' 지점으로, C 지점 및 D' 지점으로, 이어서 상방으로 각각 B, C 및 D 지점으로, 이어서 A 지점으로, 하방으로 A' 지점으로, 이어서 폐기물 챔버(8)로 유도한다. 샘플 및 시약은 폐기물 챔버(8)로 유입될 때 소광 어셈블리(9)를 거친다.
- <57> 반응 부위에서 생성되는 소정 양자 카운트를 샘플 내의 대상 분석물의 정확한 농도와 상관시키기 위하여, 바람직하게는 양자 검출 전에 유체 장치를 교정(calibration)하는 것이 유리하다. 예컨대 제조사의 유체 장치의 교정은 정확한 분석물 농도를 측정하는 데 불충분할 수 있는데, 그 이유는 유체 장치가 사용 전에 선적되어 예컨대 온도 변화를 거칠 수 있으므로 제조사 실시된 교정은 유체 장치 또는 유체 장치에 함유된 시약의 구조에 대한 임의의 후속적인 변화를 반영하지 않기 때문이다. 본 발명의 바람직한 실시양태에서, 유체 장치는 부품 및 설계에 있어서 분석 어셈블리와 비슷한 교정 어셈블리를 가지는데, 단 교정 어셈블리에는 샘플이 도입되지 않는다. 도 1 및 2를 참조하면, 교정 어셈블리는 유체 장치(2)의 대략 반을 차지하며 시약 챔버(32), 반응 부위(34), 폐기물 챔버(36), 유체 채널(38) 및 흡수제 물질(9)을 포함한다. 분석 어셈블리와 유사하게, 시약 챔버 및 반응 부위의 수는 유체 장치에서 실행되는 분석 및 검출할 분석물의 수에 따라 달라질 수 있다.
- <58> 도 3은 유체 장치의 또다른 예시적 실시양태의 평면도이다. 복수의 흡수제 물질(9)이 도시되어 있다. 도 4는 도 3의 실시양태의 저면도이다.
- <59> 도 5는 도 3 및 4에 도시된 예시적 유체 장치의 복수의 층을 도시한다. 흡수제 물질(9)의 위치는 유체 장치의 다른 부품 및 층에 대하여 도시된다.
- <60> 도 6에 도시된 바와 같은 검출 어셈블리는 샘플 중의 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호를 검출하며 검출된 신호는 샘플 중의 분석물의 농도를 측정하는 데 사용될 수 있다. 도 6은 샘플 중의 대상 분석물의 존재를 나타내는 유체 장치로부터의 광학 신호를 검출하는 데 사용될 수 있는 예시적 검출 어셈블리의 위치를 나타낸다. 검출 어셈블리는 유체 장치의 위 또는 아래에 또는 예컨대 실시되는 분석 유형 및 사용되는 검출 메커니즘을 기초

로 유체 장치에 대하여 상이한 배향으로 존재할 수 있다.

<61> 바람직한 실시양태에서, 광학 검출기는 검출 소자로서 사용된다. 비제한적인 예에는 광증배관(PMT), 광다이오드, 광자 계측 검출기 또는 전하 결합 소자(CCD)가 포함된다. 일부 분석은 본원에 개시된 바와 같은 발광을 발생시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 화학 발광이 검출된다. 일부 실시양태에서, 검출 어셈블리는 CCD 검출기 또는 PMT 어레이에 다발로서 연결된 복수의 광섬유 케이블을 포함할 수 있다. 광섬유 다발은 개개의 섬유 또는 다수의 작은 함께 융합된 섬유로 구성되어 고체 다발을 형성할 수 있다. 이러한 고체 다발은 시판되며 CCD 검출기에 용이하게 인터페이스 접속된다.

<62> 유체 장치와 함께 사용될 수 있는 예시적 검출 어셈블리는 본원에 그 전체가 참고 문헌으로 인용된 2006년 3월 24일자 특허 출원 11/389,409호에 개시되어 있다.

<63> 본원에 개시된 바와 같은 간섭 또는 광학 간섭은 일반적으로 대상 분석물의 존재를 나타내는 결합된 반응물에 의하여 생성되는 광학 신호를 방해하는 유체 장치에서 생성되는 광학 신호를 의미한다. 일반적으로, 이러한 간섭 신호는 반응 부위에 결합하지 않는 시약이 축적하여 서로 서로 만나는 폐기물 챔버에서 생성된다. 예컨대 분석 감도를 증가시키기 위하여 분석에 사용되는 효소가 비결합 기질과 반응하여 결합된 반응물에 의하여 생성되는 광학 신호를 방해하는 광학 신호를 생성할 때, 폐기물액의 축적에 의하여 이러한 간섭 신호가 생성될 수 있다.

<64> **사용 방법**

<65> 본 발명의 또다른 측면은 샘플 중의 분석물을 검출하는 방법이다. 본 방법은 분석물을 함유하는 것으로 의심되는 샘플을, 분석물의 존재를 나타내는 광학 신호를 발하도록 구성된 분석 어셈블리 및 상기 광학 신호의 간섭을 감소시키는 소광 어셈블리를 구비한 유체 장치에 함유된 반응물과 반응시키는 단계, 및 상기 광학 신호를 검출하여 샘플 중의 분석물을 검출하는 단계를 포함한다.

<66> 대상 분석물을 함유하는 것으로 의심되는 임의의 체액 샘플을 대상 시스템 또는 장치와 함께 사용할 수 있다. 보통 사용되는 체액은 혈액, 혈청, 타액, 뇨, 위액과 소화액, 누액, 변, 정액, 질액, 종양 조직에서 유래하는 간질액 및 뇌척수액을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일부 실시양태에서, 체액은 추가 처리 없이 유체 장치에 직접 제공된다. 그러나, 일부 실시양태에서, 체액은 대상 유체 장치로 분석을 실시하기 전에 전처리될 수 있다. 전처리의 선택은 사용되는 체액의 유형 및/또는 조사할 분석물의 성질에 따라 달라진다. 예컨대, 분석물이 체액 샘플 중에 저농도로 존재하는 경우, 샘플을 임의의 종래 수단에 의하여 농축하여 분석물을 농후화할 수 있다. 분석물이 핵산일 경우, 문헌[Sambrook 등의 "Molecular Cloning A Laboratory Manual"]에 개시된 절차에 따라 각종 용균 효소 또는 화학적 용액을 사용하거나 또는 제조자가 제공하는 지침에 따라 핵산 결합 수지를 사용하여 추출할 수 있다. 분석물이 세포 상에 또는 세포 내에 존재하는 분자일 경우, SDS와 같은 변성 세제 또는 Thesit®, 나트륨 데옥실레이트, 트리톤 X-100 및 트윈-20과 같은 비변성 세제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 용혈제를 사용하여 추출할 수 있다.

<67> 체액은 환자로부터 인출되어 란싱, 주입 또는 피펫팅을 포함하나 이에 한정되지 않는 여러 방식으로 유체 장치에 도입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 란셋으로 피부에 구멍을 내어 예컨대 중력, 모세관 작용, 흡인 또는 진공력을 이용하여 유체 장치로 샘플을 인출한다. 활성 메카니즘을 요하지 않는 또다른 실시양태에서는, 예컨대 혈액 또는 타액 샘플의 경우와 같이 환자가 간단히 체액을 유체 장치에 제공할 수 있다. 포집된 유체는 유체 장치가 분석에 사용되는 필요한 부피의 샘플을 자동적으로 검출할 수 있는 유체 장치 내부의 샘플 포집 유닛에 위치할 수 있다. 또다른 실시양태에서, 유체 장치는 피부에 구멍을 내는 하나 이상의 미세침을 포함한다. 미세침은 단독으로 유체 장치와 함께 사용될 수 있거나 또는 유체 장치가 판독 어셈블리에 삽입된 후 피부에 구멍을 낼 수 있다. 본원에서 사용될 수 있는 샘플 포집 기술은 본원에 그 전체가 참고 문헌으로 인용되어 있는 2006년 3월 24일자 출원된 특허 출원 11/389,409호에 개시되어 있다.

<68> 일부 실시양태에서, 체액 샘플은 먼저 본원에 개시된 임의의 방법에 의하여 유체 장치에 제공될 수 있다. 이후 유체 장치를 도 6에 도시된 바와 같은 판독 어셈블리에 삽입할 수 있다. 판독 어셈블리에 수용된 확인 검출기는 유체 장치의 확인 물질을 검출하여 이 확인 물질을 판독 어셈블리에 수용되는 것이 바람직한 통신 어셈블리로 전달할 수 있다. 통신 어셈블리는 이후 상기 확인 물질을 외부 장치에 전달하며, 상기 외부 장치는 확인 물질을 기초로 유체 장치에서 실행되는 프로토콜을 통신 어셈블리에 전달한다. 판독 어셈블리에 수용되는 것이 바람직한 제어기는 유체 장치와 상호작용하여 장치 내부에서 유체 운동을 제어하고 배향시키는 하나 이상의 펌프 및 하나의 밸브를 포함하는 구동 소자를 제어한다. 도 6에 도시된 판독 어셈블리 및 그 부품은 본원에 그 전체가

참고 문헌으로 인용되어 있는 2006년 3월 24일자 출원된 특허 출원 11/389,409호에 더 완전히 개시되어 있다.

- <69> 유체 장치는 처음에 교정 반응 부위를 통해 분석에 사용되는 것과 동일한 시약을 돌림으로써 교정 어셈블리를 사용하여 교정하는 것이 바람직하며, 이후 반응 부위로부터의 광학 신호를 검출 수단에 의하여 검출하고, 상기 신호를 유체 장치의 교정에 사용한다. 본원에서 유체 장치에 사용될 수 있는 교정 기술은 본원에 그 전체가 참고 문헌으로 인용되어 있는 2006년 3월 24일자 출원된 특허 출원 11/389,409호에서 찾을 수 있다. 분석물을 함유하는 샘플은 유체 채널에 도입된다. 상기 샘플은 희석되고, 혼합되고 및/또는 필터를 사용하여 혈장 또는 다른 소정 성분으로 더 분리될 수 있다. 이후 상기 샘플은 반응 부위를 통과하여 유동하며 이 안에 존재하는 분석물은 여기에 결합된 반응물에 결합된다. 이후 샘플액은 반응 웰로부터 폐기물 챔버내로 흘러들린다. 실행되는 분석에 따라, 적당한 시약을 채널을 통하여 반응 부위를 통과하도록 배향시켜 분석을 실시한다. 교정 단계를 비롯한 여러 단계에서 사용되는 임의의 세정 완충액 및 다른 시약은 하나 이상의 폐기물 챔버에 포집된다. 반응 부위에서 생성되는 신호는 이후 본원에 개시된 임의의 검출 방법에 의하여 검출된다.
- <70> 본 발명에 따른 유체 장치에서 다양한 분석을 실시하여 샘플 중의 대상 분석물을 검출할 수 있다.
- <71> 검출 분석은 발광, 특히 화학 발광에 의존한다. 한 실시양태에서, 분석은 예컨대 효소와 접합된 단백질을 포함하는 효소 접합체를 사용한다. 효소는 기질과 반응하여 발광 신호를 생성할 수 있다. 분석은 분석물에 결합되지 않은 반응물을 효소에 접합된 분석물 분자를 포함하는 시약에 노출시키는 경쟁 분석 또는 직접 분석일 수 있다. 또한, 형광성 화합물은 반응의 신호 출력을 선형적으로 증배시키기 위하여 화학 발광 반응과 병용되거나 또는 이와 결합하여 사용될 수 있다.
- <72> 도 7에 도시된 예시적인 2단계 분석에서, 분석물("Ag")을 함유하는 샘플을 먼저 항체("Ab")를 함유하는 반응 부위 위로 유동시킨다. 항체는 샘플 내에 존재하는 분석물과 결합한다. 샘플이 표면을 통과한 후, 마커("표지된 Ag")에 접합된 분석물을 고농도로 포함하는 용액을 상기 표면에 통과시킨다. 접합체는 아직 분석물에 결합하지 않은 임의의 항체를 포화시킨다. 평형에 도달하기 전에 그리고 미리 결합된 비표지 분석물의 임의의 변위가 일어나기 전에, 고농도 접합체 용액을 세정해 버린다. 이후 표면에 결합된 접합체의 양을 적절한 기술로 측정하며 검출되는 접합체는 샘플 중에 존재하는 분석물의 양에 반비례한다.
- <73> 예시적인 2단계 분석 측정 기술은 도 8에 도시된 바와 같은 화학 발광 효소 면역 분석이다. 당업계에 공지된 바와 같이, 마커는 발광성이 아니지만 예컨대 알칼리성 인산 분해 효소에 의한 가수분해 후 발광성이 되는 디옥세탄-포스페이트와 같은 시판 마커일 수 있다. 알칼리성 인산 분해 효소와 같은 효소는 접합체에 노출되어 기질을 발광시킨다. 일부 실시양태에서, 기질 용액에는 비제한적으로 발광단 단독보다 훨씬 더 밝은 신호를 생성하는 혼합 미셀 중 플루오레세인, 가용성 중합체 또는 PVC와 같은 증대제가 보충된다. 소광 어셈블리의 간섭 감소 메카니즘은, 간섭이 충분한 양으로 감소되는 한, 본 발명의 기능에 중요하지 않다.
- <74> ELISA는 광학적 소광 물질을 사용하여 반응 부위로 반응물에 의하여 발생하는 간접 신호를 제거할 수 있는 또 다른 예시적 분석이다. 일반적인 ELISA에서는, 대상 항원을 함유하는 샘플을 반응 부위 위로 통과시키며, 반응 부위에는 샘플 중의 대상 분석물이 반응 부위에 흡착되는 (항원을 향하는) 항체 분자에 의하여 결합된다. 이후, (항원을 향하며 반응 부위에 결합된 항체가 접합체의 결합을 차단하지 않도록 선택되는) 효소 표지된 항체 접합체는 반응 부위 위를 통과하여 결합된 다음 기질에 의하여 대체된다. 효소는 기질이 광학 신호를 생성하도록 한다. 결국 폐기물 챔버로 들어가는 비결합 시약은 유사하게 간접 신호를 생성할 수 있다.
- <75> 일부 실시양태에서, 표지는 당업계에 널리 공지된 방법에 따라 생성물, 기질 또는 효소와 같은 검출 분자에 직접적으로 또는 간접적으로 결합된다. 상기 개시한 바와 같이, 매우 다양한 표지가 사용되며, 표지는 필요한 감도, 화합물의 접합 용이성, 안정성 요건, 이용 가능한 도구 및 폐기 조건에 따라 선택된다. 비방사성 표지는 종종 간접적인 수단에 의하여 부착된다. 일반적으로, 리간드 분자는 중합체에 공유 결합된다. 이후 리간드는 본질적으로 검출 가능하거나 또는 검출 가능한 효소와 같은 신호 시스템 또는 화학 발광 화합물에 공유 결합되는 항리간드 분자에 결합된다. 다수의 리간드 및 항리간드를 사용할 수 있다. 리간드가 천연 항리간드, 예컨대 비오틴, 티록신 및 코르티솔을 함유하는 경우, 이것은 표지된 항리간드와 함께 사용될 수 있다. 대안적으로, 임의의 합텐 화합물 또는 항원 화합물을 항체와 함께 사용할 수 있다.
- <76> 일부 실시양태에서, 표지는 또한 예컨대 효소와의 접합에 의하여 신호 발생 화합물에 직접적으로 접합될 수 있다. 표지로서의 대상 효소는 1차적으로 가수분해 효소, 특히 인산 분해 효소, 에스테르 분해 효소와 당 분해 효소 또는 산화 환원 효소, 특히 과산화 효소이다. 화학 발광 화합물은 루시페린 및 2,3-디히드로프탈라진디온, 예컨대 루미놀, 디옥세탄 및 아크리디늄 에스테르를 포함한다.

- <77> 표지 검출 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 디지털 카메라, 전하 결합 장치(CCD) 또는 광증배기 및 광전관 또는 기타 검출 장치와 같은 전자 검출기를 사용하여 검출할 수 있다. 유사하게는, 효소에 대한 적절한 기질을 제공하는 단계 및 생성되는 반응 생성물을 검출하는 단계에 의하여 효소 표지를 검출한다. 최종적으로, 간단한 표색 표지는 흔히 간단히 표지와 관련된 색을 관찰함으로써 검출한다. 예컨대, 접합된 금은 흔히 핑크빛을 띠는 반면, 여러 접합 비드는 비드색을 띤다.
- <78> 적당한 화학 발광 공급원은 화학 반응에 의하여 전자 여기되는 화합물을 포함하며 검출 가능한 신호로서 작용하는 빛을 방출할 수 있다. 다양한 조건하에서 화학 발광을 제공하는 다수의 화합물 부류가 발견되었다. 한 부류의 화합물은 2,3-디히드로-1,4-프탈라진디온이다. 빈번히 사용되는 화합물은 루미놀이며, 이것은 5-아미노 화합물이다. 상기 부류의 다른 멤버에는 5-아미노-6,7,8-트리메톡시- 및 디메틸아미노[ca]벤즈 유사체가 포함된다. 이들 화합물은 알칼리성 과산화수소 또는 차아염소산칼슘 및 염기로 발광하도록 제조될 수 있다. 또다른 부류의 화합물은 2,4,5-트리페닐이미다졸이며 이의 모 생성물의 통상명은 로핀이다. 화학 발광 유사체는 파라-디메틸아미노 및 파라-메톡시 치환기를 포함한다. 화학 발광은 또한 염기성 조건하에서 옥살레이트, 통상적으로 옥살릴활성 에스테르, 예컨대 p-니트로페닐 및 과산화수소와 같은 과산화물로 얻을 수 있다. 다른 유용한 공지된 화학 발광 화합물은 -N-알킬 아크리디늄 에스테르 및 디옥세탄을 포함한다. 대안적으로, 루시페린을 루시페라제 또는 루시게닌과 함께 사용하여 생발광을 제공할 수 있다.
- <79> 일부 실시양태에서, 면역 분석은 유체 장치에서 실행된다. 당업계에 널리 공지된 경쟁 결합 분석이 실시될 수 있으며, 일부 실시양태에서는, 혼합물을 항체에 노출시키기 전에 접합체와 샘플을 혼합할 필요가 없는 2단계 방법을 이용하며, 이것은 본 발명의 유체 장치에서와 같이 매우 적은 부피의 샘플과 접합체를 사용하는 경우 바람직할 수 있다. 2단계 분석은 본원에 개시된 바와 같은 유체 장치를 사용하는 경우 경쟁 결합 분석에 비하여 추가의 이점을 가진다. 이것은 사용의 용이성과, 소분자 분석능을 갖는 샌드위치 (경쟁 결합) 면역 분석의 고감도를 겸비한다.
- <80> 도 8에 도시된 예시적인 2단계 분석을 본원에서 개시하였으며, 마찬가지로 상기 2단계 분석을 위한 예시적 측정 기술 - 도 8에 도시된 바와 같은 화학 발광 효소 면역 분석도 본원에 개시하였다.
- <81> 본 발명에 따르면 용어 "분석물"은 약물, 전구 약물, 약학 제제, 약물 대사물, 발현 단백질 및 세포 마커와 같은 바이오마커, 항체, 혈청 단백질, 콜레스테롤, 다당류, 핵산, 생물학적 분석물, 바이오마커, 유전자, 단백질 또는 호르몬 또는 이들의 임의의 조합을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 분자 수준에서, 분석물은 폴리펩티드, 단백질, 당단백질, 다당류, 지질, 핵산 및 이들의 조합일 수 있다.
- <82> 본원에 개시된 유체 장치 및 방법을 사용하여 검출할 수 있는 분석물의 더 완전한 목록은 본원에 그 전체가 참고 문헌으로 인용된 2006년 3월 24일자 특허 출원 11/389,409호에 포함되어 있다.
- <83> 본 발명의 일 측면은 소광 어셈블리를 갖는 유체 장치의 제조 방법이다. 본 방법은 복수의 유체 장치 층을 제공하는 단계 및 상기 층을 부착시켜 샘플 포집 유닛, 하나 이상의 시약 챔버, 하나 이상의 반응 부위 및 소광 어셈블리를 포함하는 하나 이상의 폐기물 챔버 사이에 유체 네트워크를 제공하는 단계를 포함한다.
- <84> 일부 실시양태에서, 상이한 유체 장치 층 중 적어도 하나는 중합체 기질로 제작될 수 있다. 중합체 물질의 비제한적 예에는 폴리스티렌, 폴리카르보네이트, 폴리프로필렌, 폴리디메틸실록산(PDMS), 폴리우레탄, 폴리비닐클로라이드(PVC), 폴리메틸메타크릴레이트 및 폴리설폰이 포함된다.
- <85> 유체 채널은 일반적으로 당업계에 널리 공지된 임의의 수의 마이크로 제조 기술에 의하여 제조될 수 있다. 예컨대, 리소그래피 기술은 포토리소그래피 에칭, 플라즈마 에칭 또는 습식 화학 에칭과 같은 반도체 제조 공업에서 널리 공지된 방법을 사용하는 예컨대 유리, 석영 또는 규소 기체의 제조에 임의로 사용된다. 대안적으로, 레이저 드릴링, 마이크로밀링 등과 같은 마이크로 가공법이 임의로 사용된다. 유사하게, 중합체 기질에 대해서, 널리 공지된 제조 기술을 또한 사용할 수도 있다. 이들 기술은 사출 성형을 포함한다. 예컨대 마이크로 규모 기체의 큰 시트를 제조하기 위한 압연 스탬프를 사용하여 임의로 다수의 기체를 제조하는 스탬프 몰딩 및 엠보싱 방법 또는 마이크로 가공된 몰드 내에서 기체를 중합하는 중합하는 중합체 마이크로캐스팅 기술이 포함된다. 건식 캐스팅도 또한 사용할 수 있다.
- <86> 바람직한 실시양태에서, 상이한 유체 장치 층들은 당업계에 공지된 방법에 따라 함께 조음과 용접된다. 상기 층들은 또한 비제한적으로 스탬핑, 서멀 본딩, 접착제 또는 예컨대 유리 또는 반경질 및 비경질 중합체 기체와 같은 특정 기체의 경우 두 성분간 천연 접착을 비롯한 기타 방법을 사용하여 함께 결합될 수 있다.

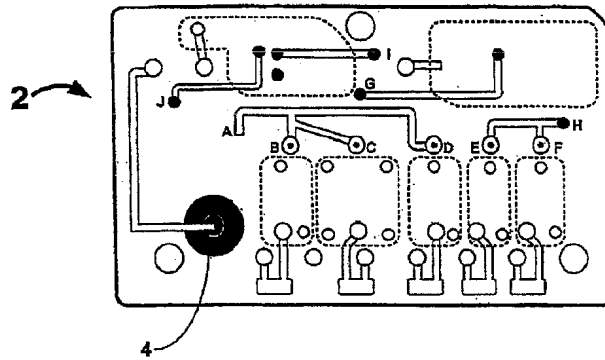
- <87> 도 5는 유체 장치(2)가 복수의 상이한 물질 층을 포함하는 본 발명의 실시양태를 나타낸다. 도시된 바와 같은 특징부는 예컨대 중합체 기재로 컷팅되어, 층을 적절히 배치하는 경우 어셈블리가 유체 네트워크를 형성한다. 일부 실시양태에서는, 본 발명의 목적을 달성하기 위하여 유체 장치의 제조에 더 많거나 더 적은 층을 사용할 수 있다.
- <88> 소광 어셈블리는 본원에 개시되었고 일부 실시양태에서 흡수제 물질을 포함할 수 있다. 이러한 실시양태에서, 소광제를 흡수제 물질에 적용함으로써 소광 어셈블리를 제조할 수 있다. 이것은 액이 흡수제 물질에 실질적으로 흡수될 때까지 액을 흡수제 물질에 피펫으로 첨가하거나 또는 단순히 흡수제 물질에 소광 물질을 흡수시키는 것과 같은 당업계에 널리 공지된 임의의 수의 기술에 의하여 달성될 수 있다. 흡수제 물질의 포화량은, 충분한 양의 소광제를 흡수제 물질에 도입하여 적어도 분석 시약에 대한 억제 효과를 생성하는 한 여러가지로 할 수 있다.
- <89> 소광제를 흡수제 물질에 첨가한 후, 흡수제 물질을 건조시킨다. 건조 단계는 동결 건조, 승온하에 유동 기체 하의 건조 또는 흡수제 물질 중의 수분을 증발시키는 것에 의한 단순 수동 건조와 같은 임의의 적당한 기술에 의하여 달성할 수 있다.
- <90> 흡수제 물질을 사용하여 유체 장치에서 실행된 분석에서 광학 간섭을 감소시킬 수 있는 제조 공정 동안 소광제를 포함하는 무수 흡수제 물질을 개시된 바와 같은 유체 장치에 배치할 수 있다. 임의의 공지된 기술에 의하여 유체 장치 내부에 배치할 수 있으며 단순히 유체 장치에 수동으로 배치할 수 있다. 상기 개시된 바와 같이, 흡수제 물질은 유체 장치 내부에서 사용된 비결합 액을 수거하기 위한 폐기물 챔버에 배치하는 것이 바람직하다.

실시예

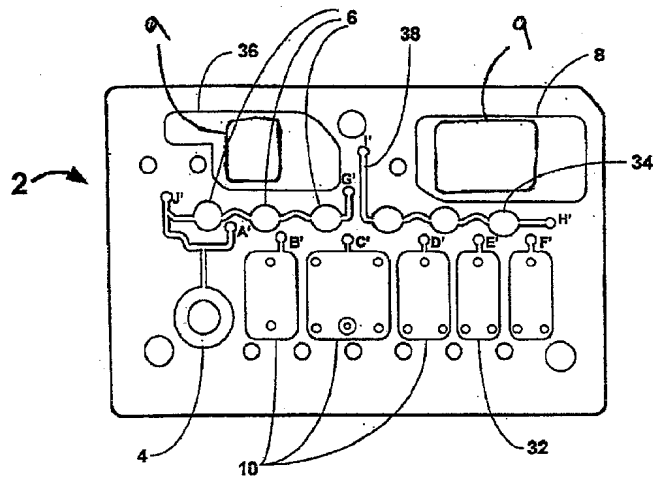
- <91> A 1 x 0 5 인치 조각의 Whatman #32 유리 섬유 매트(아이템 10 372 968)를 수중 50 uL의 15% w/v 4-아미노-1,1-아조벤젠-3,4-디설포산(0.4 M)으로 함침시킨 다음 "드라이 박스" 내에서 건조시킨다.
- <92> (소의 장에서 얻은) 알칼리성 인산 분해 효소로 표지된 시약(희석 트리스 완충액 중 약 10 ug/mL 이하의 농도로 합텐 또는 항체에 결합된 APase) 및 공급자가 공급하는 바(디옥세탄 중 100 uM)와 같이 사용되는 Lumigen의 Lumiphos™ 530 또는 KPL Phosphoglow™ AP 기질(둘다 디옥세탄이며 효소가 작용하는 에스테르화 인산염 잔기를 가짐)를 사용하는 분석에서, 결과는 폐기물 챔버 중 효소가 약 200 uL, 기질이 200 uL였으므로, 흡착제 물질에 노출시켰다.
- <93> 38,550 count/sec (폐기물 챔버가 조회되도록 Molecular Devices M5 발광 분석기에 유체 장치를 배치하여 관찰 함)의 초기 백열 속도 후, 흡착제 물질을 첨가한 후 수초 이내에 강도가 약 100 count/sec로 떨어졌다(발광 분석기의 노이즈 레벨은 약 100 count/sec였음). 즉, 광학 간섭의 99% 이상이 제거되었다.
- <94> 아조벤젠은 효소 및 기질 모두에서 억제적으로 작용하였다. 효소는 시약의 산성도에 의해서 그리고 다른 메카니즘에 의해서도 불활성화되었다. 기질은 아조벤젠에 의하여 화학적으로 변성되어 더 이상 알칼리성 인산 분해 효소에 대한 기질이 아니었다.
- <95> 본원에서는 본 발명의 바람직한 실시 양태를 도시 및 개시하였으나, 이러한 실시 양태는 단지 예시적으로 제공된 것임은 당업자에게 명백할 것이다. 본 발명으로부터 이탈하지 않는 한 다수의 변형, 변경 및 치환이 당업자에게 가능하다. 본원에 개시된 본 발명의 실시 양태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있음을 이해하여야 한다. 이하의 청구 범위는 본 발명의 범위를 정의하는 것이며 본 청구 범위의 범위내의 방법과 구조 및 이들과 등가의 방법과 구조는 청구 범위에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

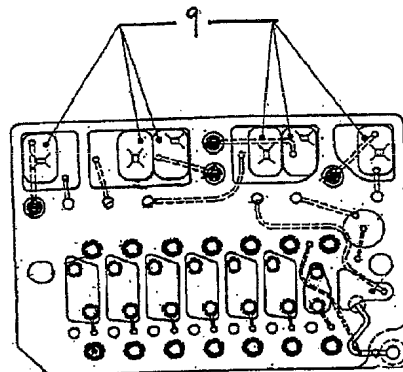
도면1



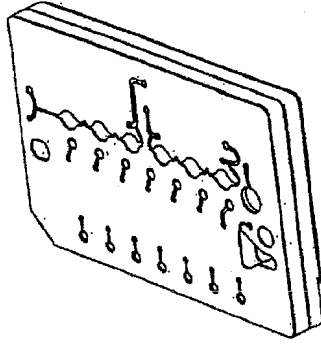
도면2



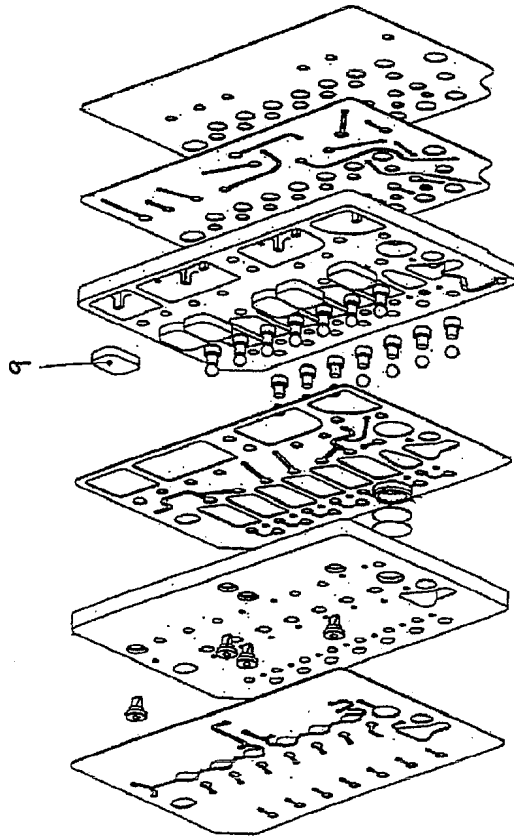
도면3



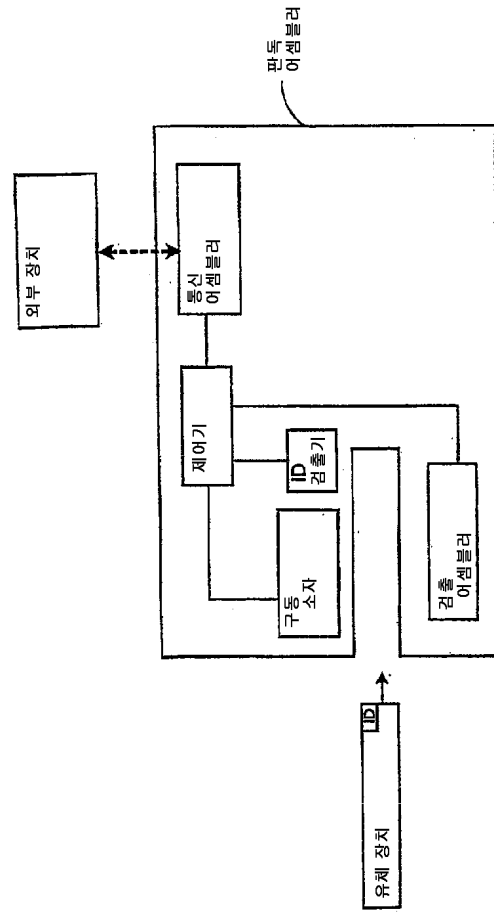
도면4



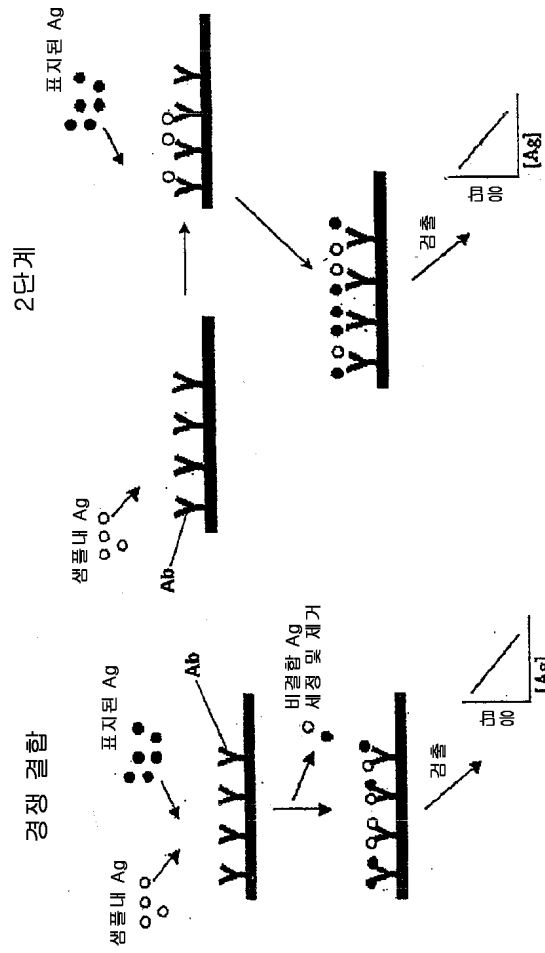
도면5



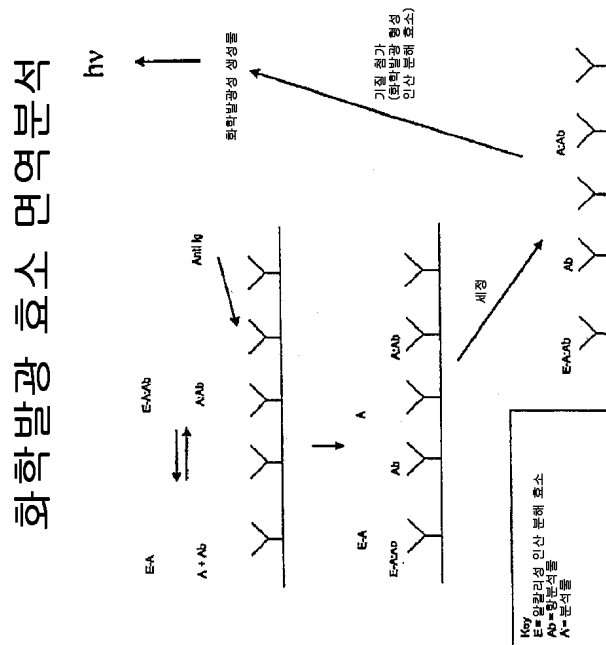
도면6



도면7



도면8



专利名称(译)	减少流体装置中的光学干扰		
公开(公告)号	KR1020090073222A	公开(公告)日	2009-07-02
申请号	KR1020097009660	申请日	2007-10-10
[标]申请(专利权)人(译)	赛拉诺斯股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	北特拉公司		
当前申请(专利权)人(译)	北特拉公司		
[标]发明人	GIBBONS IAN 기본즈이안 OCONNEL MICHAEL 오코넬마이클		
发明人	기본즈이안 오코넬마이클		
IPC分类号	G01N33/52 G01N33/535 C12M1/34 G01N33/53 B01L99/00		
CPC分类号	B01L3/00 G01N33/542 B01L3/5027 B01L2200/10 B01L2200/14 B01L2300/0887 Y10T156/10 G01N33/483 G01N33/52 G01N33/533 G01N35/08		
代理人(译)	Gimseonggi Gimjinhoe		
优先权	11/549558 2006-10-13 US 11/685615 2007-03-13 US		
其他公开文献	KR101445409B1		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

ÒKIPO0026 #WIPO 2009

