



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

(11) 공개번호 10-2023-0029612  
(43) 공개일자 2023년03월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C08J 3/075 (2006.01) G01N 15/14 (2006.01)  
G01N 33/543 (2006.01) G01N 33/544 (2006.01)  
G01N 33/545 (2006.01) G01N 33/548 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C08J 3/075 (2013.01)  
G01N 15/1434 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7042179
- (22) 출원일자(국제) 2021년05월04일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년11월30일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2021/030590
- (87) 국제공개번호 WO 2021/226036  
국제공개일자 2021년11월11일
- (30) 우선권주장  
63/019,478 2020년05월04일 미국(US)

- (71) 출원인  
슬링샷 바이오사이언시즈 인코포레이티드  
미국 캘리포니아 에머리빌 45쓰 스트리트 1250 스위트 330 (우: 94608)
- (72) 발명자  
킴, 제프리  
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 45 스트리트 1250 스위트 330 슬링샷 바이오사이언시즈 인코포레이티드  
옹우옌, 안 투안  
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 45 스트리트 1250 스위트 330 슬링샷 바이오사이언시즈 인코포레이티드  
밀러, 브랜든  
미국 94608 캘리포니아 에머리빌 45 스트리트 1250 스위트 330 슬링샷 바이오사이언시즈 인코포레이티드
- (74) 대리인  
특허법인 남앤남

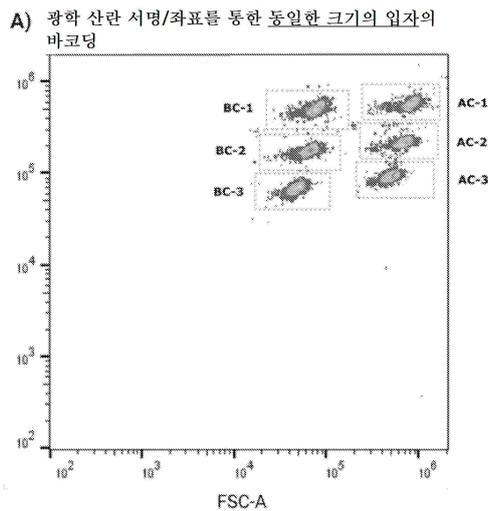
전체 청구항 수 : 총 23 항

(54) 발명의 명칭 **다중 검정을 위한 수동 광학 바코딩용 조성물 및 방법**

**(57) 요약**

실질적으로 동일한 직경을 갖지만, 세포 측정 기기를 사용하여 디컨볼루션될 수 있는 하나 이상의 수동 광학 특성에 대해 상이한 관련 값을 갖는 다수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 입자 하위그룹을 갖는 다수의 하이드로겔 입자를 포함하는 조성물. 다수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자는 표적 세트와 상이한 생화학적 또는 화학적 표적으로 작용기화될 수 있다. 하이드로겔 입자를 제조하는 방법은 선택적 작용기화와 함께 액적을 형성하고 액적을 중합하는 것을 포함한다.

**대표도** - 도7a



(52) CPC특허분류

*G01N 33/54313* (2013.01)

*G01N 33/54346* (2013.01)

*G01N 33/544* (2013.01)

*G01N 33/545* (2013.01)

*G01N 33/548* (2013.01)

*C08J 2333/26* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

복수의 하이드로겔 입자를 포함하는 조성물로서, 상기 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자가 실질적으로 동일한 직경을 갖고, 상기 복수의 하이드로겔 입자가 복수의 하이드로겔 입자 그룹을 포함하며, 상기 복수의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 각각의 하이드로겔 입자 그룹이 수동 광학 특성에 대해 상이한 관련 값을 갖는, 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 수동 광학 특성이 전방 산란인 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 수동 광학 특성이 측면 산란인 조성물.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자가 혼합물에 포함되고, 혼합물이 수동 광학 특성만을 사용하여 역다중화되도록 구성되는 조성물.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자가 혼합물에 포함되고, 혼합물이 (1) 수동 광학 특성 및 (2) 형광 특성을 사용하여 역다중화되도록 구성되는 조성물.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 하이드로겔 입자가 약 1.15 초과의 굴절률을 갖는 조성물.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 하이드로겔 입자가 약 1.3 초과의 굴절률을 갖는 조성물.

#### 청구항 8

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 하이드로겔 입자가 약 1.7 초과의 굴절률을 갖는 조성물.

#### 청구항 9

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자가 약 1000  $\mu\text{m}$  미만의 직경을 갖는 조성물.

#### 청구항 10

제7항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자가 약 100  $\mu\text{m}$  미만의 직경을 갖는 조성물.

#### 청구항 11

제8항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자가 약 10  $\mu\text{m}$  미만의 직경을 갖는 조성물.

**청구항 12**

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자가 나노입자를 포함하는 조성물.

**청구항 13**

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자가 화학적으로 작용기화되는 조성물.

**청구항 14**

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자가 유리 아민 기를 포함하는 조성물.

**청구항 15**

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자가 알릴아민을 포함하는 조성물.

**청구항 16**

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자가 액적을 중합함으로써 생성되는 조성물.

**청구항 17**

제1항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자가 하이드로겔 입자의 실질적으로 단분산성 집단인 조성물.

**청구항 18**

다중 검정을 수행하는 방법으로서, 상기 방법이

복수의 광학적으로 인코딩된 하이드로겔 입자를 사용하여 샘플을 검정하는 단계;

세포 측정 장치를 사용하고 복수의 하이드로겔 입자의 수동 광학 특성에 기초하여 복수의 하이드로겔 입자를 디컨볼루션하는 단계; 및

단일 반응으로부터 샘플에 대한 복수의 측정값을 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

**청구항 19**

제18항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자가 표적 세트와 상이한 생화학적 또는 화학적 표적으로 작용기화되는 방법.

**청구항 20**

제18항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자가 항원, 단백질, 소분자 또는 항체 중 적어도 하나로 작용기화되는 방법.

**청구항 21**

제18항에 있어서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 하이드로겔 입자 그룹이 수동 광학 특성에 대해 상이한 관련 값을 갖는 방법.

**청구항 22**

제21항에 있어서, 수동 광학 특성이 전방 산란인 방법.

**청구항 23**

제21항에 있어서, 수동 광학 특성이 측면 산란인 방법.

**발명의 설명**

**발명의 내용**

- [0001] 관련 출원의 전후 참조
- [0002] [0001] 본 출원은 2020년 5월 4일에 출원된 "다중 검정을 위한 수동 광학 바코딩용 조성물 및 방법"이라는 명칭의 미국 가특허 출원 번호 63/019,478에 대한 우선권 및 이익을 주장하며, 이의 개시는 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 분야
- [0004] [0002] 본 개시는 하이드로겔 중합체의 수동 광학 특성을 조작함에 의해 비드를 광학적으로 바코딩하는 것, 및 이의 용도에 관한 것이다.
- [0005] 배경
- [0006] [0003] 유세포 측정 및 고-처리량 세포 측정 분석(예를 들어, 고-함량 이미징)은 개별 세포의 신속한 분리, 계수 및 특성화를 가능하게 하는 기술이며, 다양한 적용을 위해 임상 및 실험실 환경에서 일상적으로 사용된다. 세포 측정 장치는 당 분야에 공지되어 있으며, 유세포 측정 및 FACS, 혈액학 및 고-함량 이미징을 수행하기 위한 상업적으로 이용 가능한 장치를 포함한다.
- [0007] 개요
- [0008] [0004] 일부 구체예에서, 조성물은 입자 자체의 크기(예를 들어, 직경)를 변경하지 않고 의도적으로 조작되거나, "조절된" 수동 광학 특성(예를 들어, FSC 및/또는 SSC)을 갖는 하이드로겔 입자를 포함한다. 이어서, 조작된 하이드로겔은 개별 비드 집단의 수동 광학 특성을 기반으로 디컨볼루션될 수 있는 단일 반응에서 다중 검정(예를 들어, 화학적 또는 생화학적)을 수행하기 위해, 선택적으로 형광과 같은 하나 이상의 추가 특성과 조합하여, 수동 광학 특성을 사용하여 다중화에 사용될 수 있다.
- [0009] [0005] 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자를 제조하는 방법은 선택적 작용기화와 함께, 액적을 형성하고 액적을 중합하는 것을 포함한다. 상기 방법은 실질적으로 동일한 직경을 갖지만 세포 측정 기기를 사용하여 디컨볼루션될 수 있는 상이한 연관된 미리-결정된 광학 특성(예를 들어, 수동 광학 특성)을 갖는 하이드로겔 입자를 생성한다.
- [0010] [0006] 일부 구체예에서, 다중 검정을 위한 방법이 제공된다. 상기 방법은 단일 검정에서 독특한 수동 광학 특성을 갖는 다수의 하이드로겔 입자의 집단을 사용하는 것을 포함한다. 다수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자는 고유한 연관된 하나 이상의 생화학적 표적을 갖는다. 다수의 하이드로겔 입자의 집단이 검정되고 하이드로겔 입자 및/또는 생화학적 표적은 이들의 수동 광학 특성에 기초하여 분리된다. 이어서, 수동 광학 특성에 기초하여 다중 검정의 결과가 결정된다. 본원에 기재된 방법은, 예를 들어, 고 처리량 세포 측정을 사용하여 단일 반응에서 고차원(>1) 다중 검정이 수행될 수 있게 한다.
- [0011] 도면의 간단한 설명
- [0012] [0007] 도면은 주로 예시를 위한 것이며 본원에 기술된 주제의 범위를 제한하려는 것이 아님을 이해해야 한다.
- [0013] [0008] 도 1은 일부 구체예에 따른 하이드로겔 입자를 제조하는 방법을 보여주는 흐름도이다.
- [0014] [0009] 도 2는 일부 구체예에 따른 생화학적 다중화를 수행하기 위한 방법을 보여주는 흐름도이다.
- [0015] [0010] 도 3a는 일부 구체예에 따른 세포 및 개시된 하이드로겔 입자(A)의 광학 특성을 예시하는 다이어그램이다.
- [0016] [0011] 도 3b는 폴리스티렌 비드(B,C)의 광학 특성을 예시하는 다이어그램이다.
- [0017] [0012] 도 4는 일부 구체예에 따른 특정 전방 및 측면 산란 "바코드"를 인코딩하도록 조정될 수 있는 변수를 보여주는 다이어그램이다.
- [0018] [0013] 도 5는 일부 구체예에 따른 미세 유체 채널에서 입자 형성을 보여주는 다이어그램이다.
- [0019] [0014] 도 6은 일부 구체예에 따른 수동 광학 특성을 사용하여 역다중화될 수 있는 유사한 크기의 비드의 집단

을 생성하는데 사용되는 인코딩 방식을 보여주는 다이어그램이다.

- [0020] [0015] 도 7a-7b는 동일한 크기의 입자가 광학 산란 특성에 기초하여 디컨볼루션될 수 있음을 보여주는 플롯이다. 대조적으로, 이들 입자는 형광성 또는 생화학적 표적만으로는 구별될 수 없다. 이 도면은 일부 구체예에 따라, 일차 디컨볼루션 변수로서 수동 광학 특성을 사용하여 생화학적 다중화 및 역다중화를 수행하는 능력을 입증한다.
- [0021] [0016] 도 8a는 용해된 전혈의 예시적 집단에 대한 백혈구 수의 플롯이고, 도 8b는 생물학적으로 관련된 표적 집단에 대한 광학 조정의 명쾌한 시연으로서 실험적 예에 따른, 조정된 수동 광학 특성을 갖는 하이드로겔 입자에 대한 계수의 플롯이다.
- [0022] [0017] 도 9a-9b는 실험적 예에 따른 조정된 수동 광학 특성을 갖는 하이드로겔 입자에 대한 각각의 측면 산란 및 전방 산란의 플롯으로서, 측면 산란이 전방 산란과 독립적으로 조정될 수 있음을 보여준다.
- [0023] [0018] 도 10a-10c는 실험적 예에 따른 여러 단량체:공단량체 비율에 대한 측면 산란 대 전방 산란의 플롯으로서, 측면 산란에 대한 무시할 수 있는 영향을 가지며 전방 산란이 증가함을 보여준다.
- [0024] 상세한 설명
- [0025] [0019] 유세포 측정 및 고-처리량 세포 측정 분석은 또한 비드를 검정하는데 사용될 수 있다(예를 들어, 생화학적 측정을 위해). 이러한 일부 구현에서, 광 빔은 비드를 함유하는 집중된 액체 스트림으로 향한다. 이어서, 다수의 검출기는 스트림이 광 빔을 통과하는 지점을 겨냥하며, 하나의 검출기는 광 빔과 일직선이고(예를 들어, 전방 산란("FSC")를 검출하기 위해) 및 여러 검출기는 광 빔에 수직이다(예를 들어, 측면 산란("SSC")을 검출하기 위해). FSC 및 SSC 측정은 전형적으로 "수동 광학 특성"으로 지칭된다. 세포(예를 들어, 인간 세포)와 같은 입자의 경우, FSC는 전형적으로 세포 부피와 상관 관계가 있는 반면, SSC는 전형적으로 입자의 내부 복잡성 또는 입도(예를 들어, 핵의 형태, 세포질 과립의 양 및 유형, 또는 막 거칠기)와 상관 관계가 있다. 이러한 상관 관계의 결과로, 상이한 특정 세포 유형은 상이한 FSC 및 SSC를 나타낼 수 있으며, 따라서 세포 유형은 유세포 측정에서 이들의 수동 광학 특성에 기초하여 서로 구별될 수 있다. 이러한 측정-FSC 및 SSC-은 임상 및 연구 환경에서 세포 측정 분석의 기초를 형성한다. 이러한 세포 분석에 사용되는 대부분의 합성 또는 중합체 제품은 폴리스티렌 또는 라텍스 - 일반적으로 입자 자체의 직경에 기초하여 고정된 FSC 및 SSC 값을 갖는 불투명 중합체로 제조된다(또는 실질적으로 포함한다). 이와 같이, 동일한 직경의 폴리스티렌 입자는 일반적으로 수동 광학 특성(FSC 및 SSC)만으로는 서로 구별될 수 없다.
- [0026] [0020] 유사한 크기의 폴리스티렌 입자의 하위집단을 서로 구별하기 위해, 형광단을 입자에 첨가하여 다중(예를 들어, 다색) 검정을 허용할 수 있다. 상이한 농도의 상이한 형광단을 단일 비드로 조합시킴으로써, 비드가 뚜렷하게 염색된 비드의 집단 내에서 구별되도록 하는 고유 식별자를 생성할 수 있다. 고유한 검정 표적과 조합될 때, 이러한 형광 바코딩된 비드 집단은 다수의 표적의 동시 검정을 용이하게 할 수 있다(본원에서 "생화학적 다중화"로 지칭됨). 그러나, Luminex 비드와 같은 공지된 제품은 상이한 바와 같이 고정된 수동 광학 특성을 갖는 폴리스티렌으로 제조되기 때문에 형광 다중화에 제한된다. 폴리스티렌으로 제조된 기존 제품의 물질 제한 외에도, 이러한 비드를 측정하는데 사용되는 기기는 전형적으로 고정되고 제한된 수의 형광 검출기를 가지며, 이는 형광-구동 다중화 전략이 다를 수 있는 치수/표적의 수에 제한을 둔다. 현대의 생화학적 검정은 추가 차원의 다중화로부터 이익을 얻을 수 있지만, 기기 검출기 가용성에 의해 제한된다. 이와 같이, 수동 광학 특성을 사용하여 다중화의 추가 및 직교 차원을 허용하는 제품에 대한 요구가 있다. 본원에 기재된 구체예는 하이드로겔 기질의 수동 광학 바코딩을 통해 이러한 요구를 해결한다.
- [0027] [0021] LEGENDplex(BioLegend)와 같은 일부 알려진 제품은 >1 플렉스 검정을 수행하기 위해 다른 크기의 입자를 사용한다. 이러한 제품의 비드 집단은 수동 광학 특성(LEGENDplex, BioLegend)을 통해 구별될 수 있지만, 본질적으로 크기 차이의 결과로서 서로 다른 표면적, 유체역학적 및 생화학적 특성(예를 들어, 분석물의 농도)을 가지므로, 차선의 분석 성능 및 비-정량적 측정을 초래한다.
- [0028] **일반 개요**
- [0029] [0022] 유세포 측정기 및 고-함량 이미징 시스템 내에 존재하는 유체 조건의 관점에서, 생화학적 검정 또는 보정에 사용되는 입자는 전형적으로 입자 침강 및 유체의 관련 막힘(더 큰 입자에서 발생할 수 있음)을 피하고/거나, 액체 현탁액의 표면에 부유하는 입자를 방지하기 위해(작은 입자에서 발생할 수 있으며, 효과적인 샘플링을 어렵게 함) 제한된 크기 범위에 속한다. 이러한 크기 제한은 폴리스티렌 입자가 유발할 수 있는 전방 산란 범위를 제한한다. 폴리스티렌 입자와 달리, 본원에 개시된 하이드로겔 입자는 고정된 직경을 유지하면서 다양한 상

이한 광학 산란 특성을 나타낼 수 있으며, 이에 의해 유체 특성의 최적화 및 다중화의 추가 차원의 도입을 용이하게 한다.

[0030] [0023] 도 1은 일부 구체예에 따른 하이드로겔 입자를 제조하는 방법을 보여주는 흐름도이다. 도 1에 도시된 바와 같이, 방법(100)은 (110)에서의 액적 형성을 포함한다(예를 들어, 본원에 기재된 바와 같이 다분산성 복수의 액적 또는 단분산성 복수의 액적을 생성하기 위해). (112)에서, 하나 이상의 계면활성제가 선택적으로 액적에 첨가되고, (114)에서, 하나 이상의 공단량체가 액적에 첨가된다. 이어서, 액적은 (116)에서 중합되어 하이드로겔 입자를 형성하고, 이는 선택적으로 후속하여 (118)에서 작용기화된다(예를 들어, 하기 추가로 논의되는 바와 같이 하나 이상의 화학적 측기 또는 형광 염료에 의해).

[0031] [0024] 도 2는 일부 구체예에 따른 생화학적 다중화를 수행하기 위한 방법을 보여주는 흐름도이다. 도 2에 도시된 바와 같이, 방법(200)은 (220)에서 복수의 조작된 하이드로겔 입자를 제공하는 것을 포함하며, 복수의 조작된 하이드로겔 입자로부터의 각각의 조작된 하이드로겔 입자는 자체의 고유한 수동 광학 특성을 갖는다. 조작된 하이드로겔 입자는 투명하거나 반투명할 수 있다. (222)에서, 조작된 하이드로겔 입자 및 적어도 하나의 생화학적 표적을 포함하는 검정이 준비된다. (224)에서, 조작된 하이드로겔 입자의 하나 이상의 수동 광학 특성이 측정된다. 이러한 측정에 기초하여, 조작된 하이드로겔 입자 및/또는 적어도 하나의 생화학적 표적은 (226)에서 분리될 수 있고/있거나, 검정 결과는 (228)에서 결정될 수 있다.

[0032] [0025] 도 3a는 일부 구체예에 따른 세포 및 개시된 하이드로겔 입자의 광학 특성을 예시하는 다이어그램이다. 도 3a에 도시된 바와 같이, 본원에 기재된 조작된 하이드로겔은 반투명하며, 이의 내부 특징(즉, 세포 복잡성)이 측면 산란(SSC) 검출기를 사용하여 분석될 수 있게 한다. 대조적으로, 도 3b는 폴리스티렌 비드의 광학 특성을 예시하는 다이어그램이다. 도 3a와 대조적으로, 도 3b의 폴리스티렌 비드는 불투명하고 직경에 의해 결정되고 이의 내부 특징에 의해 영향을 받지 않는다(즉, 이에 기초하여 변하지 않는) 고정된 SSC를 갖는다. 이와 같이, 폴리스티렌 입자는 유세포 측정에서 사용되는 두 가지 가장 중요한 수동 광학 측정에서 제한적 유용성을 갖는다: 각각 표적의 크기 및 복잡성을 측정하는 FSC 및 SSC. 폴리스티렌의 이러한 한계로 인해, 사용자는 일반적으로 다중화 면역표현형 실험을 위해 형광에만 의존해야 한다.

[0033] [0026] 본원에 기재된 일부 구체예에서, 조성물은 FSC 및 SSC만을 사용하여 동일한 직경의 다른 입자(예를 들어, 하이드로겔 입자)의 광학적 특성과 구별될 수 있는 수동 광학 특성을 갖도록 조작된 하이드로겔 입자를 포함한다. 본 발명자들은 하이드로겔 입자의 조성을 변경함으로써 하이드로겔 입자의 광학 특성이 독립적으로 조절될 수 있음을 예기치 않게 발견하였다. 예를 들어, SSC는 실질적으로 FSC에 영향을 미치지 않고 조절될 수 있고, 그 반대의 경우도 마찬가지이다(즉, FSC는 SSC에 실질적으로 영향을 미치지 않고 조절될 수 있다). 또한, 하이드로겔 입자의 광학 특성(예를 들어, 굴절률)은 입자 자체의 밀도 또는 크기에 실질적인 영향을 미치지 않고 조절될 수 있다. 이는 놀랍고 유용한 기능인데, 이러한 특성이 동일한 크기의 여러 입자가 특정 FSC/SSC 비율로 "인코딩"되고, 나중에 형광 측정 기능이 없는 저가 계측을 포함하여, 모든 세포 측정 기기에서 발견되는 검출기와 같은 검출기를 사용하여 디컨볼루션될 수 있기 때문이다.

[0034] [0027] 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자를 제조하는 방법은 미리-결정된 광학 특성을 갖는 하이드로겔 입자를 생성한다. 일부 구체예에서, 다중 검정 방법은 단일 검정에서, 각각 고유한 생화학적 표적을 갖는, 고유한 수동 광학 특성을 갖는 복수(또는 집단)의 하이드로겔 입자를 사용하는 것을 포함한다. 집단의 하나 이상의 수동 광학 특성이 측정되고, 집단 및/또는 생화학적 표적은 측정된 수동 광학 특성에 기초하여 분리된다. 다중 검정의 결과는 측정된 수동 광학 특성에 기초하여 생성될 수 있다. 전술한 절차 및 하이드로겔 입자의 조작된 특성은 단일 반응에서 고차원 다중 검정을 수행하고, 고 처리량 세포 측정을 사용한 하이드로겔 입자 및/또는 생화학적 표적의 분리를 용이하게 한다.

[0035] **하이드로겔**

[0036] [0028] 본원에 기재된 하이드로겔 입자는 하이드로겔을 포함한다. 하이드로겔은 물의 존재시 팽창하고 물의 부재시(또는 양의 감소에 의해) 수축되지만, 물에 용해되지 않는 거대분자 3차원 네트워크를 포함하는 물질이다. 팽윤, 즉, 물의 흡수는 거대분자 네트워크에 부착되거나 분산된 친수성 작용기의 존재 때문이다. 인접한 거대분자 사이의 가교는 이들 하이드로겔의 수불용성을 초래한다. 가교는 화학적 결합(예를 들어, 공유) 또는 물리적 결합(예를 들어, 반 데르 발스 힘, 수소-결합, 이온 힘 등)에 기인할 수 있다. 중합체 산업의 일부는 본원에 기재된 거대분자 물질(들)을 건조 상태에서 "제로겔" 및 수화된 상태에서 "하이드로겔"로 간주할 수 있지만, 본 개시의 목적을 위해, 용어 "하이드로겔"은 탈수되거나 수화된 거대분자 물질을 지칭할 것이다. 특히 가치가 있는 하이드로겔의 특징은 물질이 탈수되든 수화되든 그 일반적인 모양/형태를 유지한다는 것이다. 따라서, 하이

드로겔이 탈수된 상태에서 대략 구형인 경우, 이는 수화된 상태에서도 구형일 것이다.

- [0037] [0029] 본원에 기재된 하이드로겔은 약 30% 초과, 약 40% 초과, 약 50% 초과, 약 55% 초과, 약 60% 초과, 약 65% 초과, 약 70% 초과, 약 75% 초과, 약 80% 초과 또는 약 85% 초과를 물을 포함할 수 있다.
- [0038] [0030] 일부 구체예에서, 합성 하이드로겔은 단량체 물질("하이드로겔 단량체")을 중합하여 백본을 형성하고 백본을 가교제와 가교시킴으로써 제조될 수 있다. 적합한 하이드로겔 단량체는 다음을 포함한다(이에 제한되지 않음): 락트산, 글리콜산, 아크릴산, 1-하이드록시에틸 메타크릴레이트, 에틸 메타크릴레이트, 프로필렌 글리콜 메타크릴레이트, 아크릴아미드, N-비닐피롤리돈, 메틸 메타크릴레이트, 글리시딜 메타크릴레이트, 글리콜 메타크릴레이트, 에틸렌 글리콜, 푸마르산 등. 적합한 가교제는 테트라에틸렌 글리콜 디메타크릴레이트 및 N,N'-15 메틸렌비스아크릴아미드를 포함한다(이에 제한되지 않음). 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자는 아크릴아미드의 중합에 의해 생성된다.
- [0039] [0031] 일부 구체예에서, 하이드로겔은 적어도 하나의 단작용성 단량체와 적어도 하나의 이작용성 단량체의 혼합물을 포함한다.
- [0040] [0032] 단작용성 단량체는 단작용성 아크릴 단량체일 수 있다. 단작용성 아크릴 단량체의 비제한적인 예는 아크릴아미드; 메타크릴아미드; N-알킬아크릴아미드, 예를 들어, N-에틸아크릴아미드, N-이소프로필아크릴아미드 또는 N-3차-부틸아크릴아미드; N-알킬메타크릴아미드, 예를 들어, N-에틸메타크릴아미드 또는 N-이소프로필메타크릴아미드; N,N-디알킬아크릴아미드, 예를 들어, N,N-디메틸아크릴아미드 및 N,N-디에틸-아크릴아미드; N-[(디알킬아미노)알킬]아크릴아미드, 예를 들어, N-[3-디메틸아미노]프로필]아크릴아미드 또는 N-[3-(디에틸아미노)프로필]아크릴아미드; N-[(디알킬아미노)알킬]메타크릴아미드, 예를 들어, N-[3-디메틸아미노]프로필]메타크릴아미드 또는 N-[3-(디에틸아미노)프로필]메타크릴아미드; (디알킬아미노)알킬 아크릴레이트, 예를 들어, 2-(디메틸아미노)에틸 아크릴레이트, 2-(디메틸아미노)프로필 아크릴레이트, 또는 2-(디에틸아미노)에틸 아크릴레이트; 및 (디알킬아미노)알킬 메타크릴레이트, 예를 들어, 2-(디메틸아미노)에틸 메타크릴레이트이다.
- [0041] [0033] 이작용성 단량체는 본 개시의 단작용성 단량체와 중합하여 제2 반응, 예를 들어, 형광단의 컨쥬게이션에 참여할 수 있는 제2 작용기를 추가로 함유하는 본원에 개시된 바와 같은 하이드로겔을 형성할 수 있는 임의의 단량체이다.
- [0042] [0034] 일부 구체예에서, 이작용성 단량체는 알릴 알콜, 알릴 이소티오시아네이트, 알릴 클로라이드 및 알릴 말레이미드로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0043] [0035] 이작용성 단량체는 이작용성 아크릴 단량체일 수 있다. 이작용성 아크릴 단량체의 비제한적인 예는 N,N'-메틸렌비스아크릴아미드, N,N'-메틸렌비스메타크릴아미드, N,N'-에틸렌비스아크릴아미드, N,N'-에틸렌비스-메타크릴아미드, N,N' 프로필렌비스아크릴아미드 및 N,N'-(1,2-디하이드록시에틸렌)비스아크릴아미드이다.
- [0044] [0036] 고차 분지형 사슬 및 선형 공단량체는 그 내용 전체가 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함되는 "안과 임플란트용 고 굴절률 하이드로겔 조성물"이라는 명칭의 미국 특허 번호 6,657,030에 기재된 바와 같이 중합체 밀도를 유지하면서 굴절률을 조정하기 위해 중합체 혼합물에서 치환될 수 있다.
- [0045] [0037] 일부 구체예에서, 하이드로겔은 하이드로겔의 광학 특성을 조절하는 분자를 포함한다. 하이드로겔의 광학 특성을 변경할 수 있는 분자는 아래에서 추가로 논의된다.
- [0046] [0038] 본원에 기재된 구체예에 유용한 자연 발생 하이드로겔은 식물, 조류, 진균, 효모, 해양 무척추동물 및 절지동물과 같은 천연 공급원으로부터 이용 가능하거나 유래된 다양한 다당류를 포함한다. 본원에 기재된 구체예에서 사용하기에 적합한 다당류의 비제한적인 예는 아가로스, 텍스트란, 키틴, 셀룰로스-기반 화합물, 전분, 유도체화된 전분 등을 포함한다(이에 제한되지 않음). 이러한 다당류는 다당류 백본의 주요 부분으로서 복수의 반복 글루코스 단위를 포함할 수 있다.
- [0047] [0039] 하이드로겔의 중합은 퍼셀레이트에 의해 개시될 수 있다. 퍼셀레이트는 임의의 수용성 퍼셀레이트일 수 있다. 수용성 퍼셀레이트의 비제한적인 예는 암모늄 퍼셀레이트 및 알칼리 금속 퍼셀레이트이다. 알칼리 금속은 리튬, 소듐 및 포타슘을 포함한다. 일부 바람직한 구체예에서, 퍼셀레이트는 암모늄 퍼셀레이트 또는 포타슘 퍼셀레이트이다.
- [0048] [0040] 하이드로겔의 중합은 촉진제에 의해 가속화될 수 있다. 촉진제는 3차 아민일 수 있다. 3차 아민은 임의의 수용성 3차 아민일 수 있다. 바람직하게는, 3차 아민은 N,N,N',N'-테트라메틸에틸렌디아민(TEMED) 또는 3-디

메틸아미노)프로피오니트릴이다.

[0049] [0041] 도 4는 일부 구체예에 따른 하이드로겔 입자의 그룹 상에/내에서 특정 수동 광학(예를 들어, FSC 및/또는 SSC) "바코드"를 인코딩하도록 조정될 수 있는 변수를 보여주는 다이어그램이다. 도 4의 맨 위 줄(1)에 나타난 바와 같이, 단량체/공단량체 비율 및 가교 밀도의 조정은 하이드로겔 입자의 굴절률의 변화를 초래할 수 있다(예를 들어, 단량체::공단량체의 비율이 증가함에 따라 n에서 2\*n, 3\*n으로 증가). 도 4의 중간 줄(2)은 나노입자 조성 및 농도의 조정이 하이드로겔 입자의 SSC를 조정할 수 있음을 나타내고(예를 들어, 나노입자의 농도가 증가함에 따라 SSC가 증가함), 도 4의 아래 줄(3)은 하이드로겔 입자를 화학적 측기로 작용기화하는 것이 하이드로겔 입자에서 이차 표지(예를 들어, 형광단, 단백질, 항원, 항체)의 정확한 화학량론적 비를 초래할 있음을 보여준다. 이 특징은 정량적 평균 형광 강도(MFI)가 입자 상에서 제어될 수 있게 하며, 이는 본원에 기재된 입자의 독특한 특징이다.

[0050] [0042] 도 5는 일부 구체예에 따른 오일-충전된 미세 유체 채널에서 입자 형성을 보여주는 다이어그램이다.

[0051] **하이드로겔 입자**

[0052] [0043] 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자는 하이드로겔을 포함하고 액적을 중합함으로써 생성된다(도 5와 관련하여 "방울 형성"에 대한 논의 참조). 유체 및 강성 액적을 포함하는 복수의 액적을 생성하는 미세 유체 방법은 "액적 및 관련 종의 라이브러리의 생성"이라는 명칭의 미국 특허 출원 공개 번호 2011/0218123 및 "미세 가공된 직교류 장치 및 방법"이라는 명칭의 미국 특허 번호 7,294,503에 기재된 하나 이상의 방법을 포함할 수 있고, 이들 각각의 내용은 그 전체가 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다. 이러한 방법은 복수의 액적으로부터의 각각의 액적이 제2 유체에 의해 실질적으로 둘러싸인 제1 유체를 함유하는 복수의 액적의 생성을 제공하며, 여기서 제1 유체 및 제2 유체는 실질적으로 비혼화성이다(예를 들어, 수성-기반 액체를 함유하는 액적은 오일 기반 액체에 의해 실질적으로 둘러싸여 있음). 다른 구체예에서, 입자는 침전 중합 또는 막 에멀전화를 통해 생성될 수 있다.

[0053] [0044] 복수의 유체 액적(예를 들어, 미세 유체 장치를 사용하여 제조됨)은 다분산성(예를 들어, 상이한 크기의 범위를 가짐)일 수 있거나, 일부 경우에, 유체 액적은, 예를 들어, 균질한 직경 분포를 갖는 단분산성 또는 실질적으로 단분산성일 수 있어서, 액적의 약 10%, 약 5%, 약 3%, 약 1%, 약 0.03% 또는 약 0.01% 이하가 평균 직경의 약 10%, 약 5%, 약 3%, 약 1%, 약 0.03% 또는 약 0.01%보다 큰 평균 직경을 갖는다. 본원에서 사용되는 액적 집단의 평균 직경은 액적 직경의 산술 평균을 지칭한다.

[0054] [0045] 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자의 집단은 복수의 하이드로겔 입자를 포함하고, 하이드로겔 입자의 집단은 실질적으로 단분산성이다.

[0055] [0046] 용어 "미세 유체"는 1 mm 미만의 단면 치수 및 적어도 약 3:1의 길이 대 채널에 수직인 최대 단면 치수의 비를 갖는 적어도 하나의 유체 채널을 포함하는 장치, 기기 또는 시스템을 지칭한다. 미세 유체 채널을 포함하는 미세 유체 장치는 특히 복수의 단분산성 액적을 제조하는데 매우 적합하다. 직교류 막 에멀전화 및 침전 중합은 복수의 단분산성 액적을 생성하기 위한 다른 적합한 방법이다.

[0056] [0047] 본 발명과 함께 사용할 수 있는 미세 유체 시스템의 비제한적인 예는 문헌[U.S. Patent Application Publication No. 2006/0163385 ("Forming and Control of Fluidic Species"), U.S. Patent Application Publication No. 2005/0172476 ("Method and Apparatus for Fluid Dispersion"), U.S. Patent Application Publication No. 2007/000342 ("Electronic Control of Fluidic Species"), International Patent Application Publication No. WO 2006/096571 ("Method and Apparatus for Forming Multiple Emulsions"), U.S. Patent Application Publication No. 2007/0054119 ("Systems and Methods of Forming Particles"), International Patent Application Publication No. WO 2008/121342 ("Emulsions and Techniques for Formation"), and International Patent Application Publication No. WO 2006/078841 ("Systems and Methods for Forming Fluidic Droplets Encapsulated in Particles Such as Colloidal Particles")]에 개시된 것들을 포함하고, 이들 각각의 전체 내용은 그 전체가 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.

[0057] [0048] 액적 크기는 미세 유체 채널 크기, 기공 크기(막 에멀전화의 경우) 및/또는 유량과 관련될 수 있다. 미세 유체 채널은, 예를 들어, 약 5 mm 미만, 또는 약 2 mm 미만, 또는 약 1 mm 미만, 또는 약 500 μm 미만, 약 200 μm 미만, 약 100 μm 미만, 약 60 μm 미만, 약 50 μm 미만, 약 40 μm 미만, 약 30 μm 미만, 약 25 μm 미만, 약 10 μm 미만, 약 3 μm 미만, 약 1 μm 미만, 약 300 nm 미만, 약 100 nm 미만, 약 30 nm 미만, 또는 약 10 nm 미만의 유체 흐름에 수직인 최대 치수를 갖는 임의의 다양한 크기일 수 있다.

- [0058] [0049] 액적 크기는 상대 유량을 조정하여 조정될 수 있다. 일부 구체예에서, 액적 직경은 채널의 폭과 동일하거나, 채널 폭의 약 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 이내이다.
- [0059] [0050] 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자의 치수는 이것이 형성된 액적의 치수와 실질적으로 유사하다. 예를 들어, 이러한 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자는 약 1  $\mu\text{m}$  미만, 약 2  $\mu\text{m}$  미만, 약 5  $\mu\text{m}$  미만, 약 10  $\mu\text{m}$  미만, 약 15  $\mu\text{m}$  미만, 약 20  $\mu\text{m}$  미만, 약 25  $\mu\text{m}$  미만, 약 30  $\mu\text{m}$  미만, 약 35  $\mu\text{m}$  미만, 약 40  $\mu\text{m}$  미만, 약 45  $\mu\text{m}$  미만, 약 50  $\mu\text{m}$  미만, 약 60  $\mu\text{m}$  미만, 약 70  $\mu\text{m}$  미만, 약 80  $\mu\text{m}$  미만, 약 90  $\mu\text{m}$  미만, 약 100  $\mu\text{m}$  미만, 약 120  $\mu\text{m}$  미만, 약 150  $\mu\text{m}$  미만, 약 200  $\mu\text{m}$  미만, 약 250  $\mu\text{m}$  미만, 약 300  $\mu\text{m}$  미만, 약 350  $\mu\text{m}$ , 약 400  $\mu\text{m}$  미만, 약 450  $\mu\text{m}$  미만, 약 500  $\mu\text{m}$  미만, 약 600  $\mu\text{m}$  미만, 약 800  $\mu\text{m}$  미만, 또는 1000  $\mu\text{m}$  미만의 직경을 갖는다. 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자는 약 1  $\mu\text{m}$  초과, 약 2  $\mu\text{m}$  초과, 약 5  $\mu\text{m}$  초과, 약 10  $\mu\text{m}$  초과, 약 15  $\mu\text{m}$  초과, 약 20  $\mu\text{m}$  초과, 약 25  $\mu\text{m}$  초과, 약 30  $\mu\text{m}$  초과, 약 35  $\mu\text{m}$  초과, 약 40  $\mu\text{m}$  초과, 약 45  $\mu\text{m}$  초과, 약 50  $\mu\text{m}$  초과, 약 60  $\mu\text{m}$  초과, 약 70  $\mu\text{m}$  초과, 약 80  $\mu\text{m}$  초과, 약 90  $\mu\text{m}$  초과, 약 100  $\mu\text{m}$  초과, 약 120  $\mu\text{m}$  초과, 약 150  $\mu\text{m}$  초과, 약 200  $\mu\text{m}$  초과, 약 250  $\mu\text{m}$  초과, 약 300  $\mu\text{m}$  초과, 약 350  $\mu\text{m}$  초과, 약 400  $\mu\text{m}$  초과, 약 450  $\mu\text{m}$  초과, 약 500  $\mu\text{m}$  초과, 약 600  $\mu\text{m}$  초과, 약 800  $\mu\text{m}$  초과, 또는 1000  $\mu\text{m}$  초과와 직경을 갖는다. 전형적인 구체예에서, 하이드로겔 입자는 5  $\mu\text{m}$  내지 100  $\mu\text{m}$  범위의 직경을 갖는다.
- [0060] [0051] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자는 구형이다.
- [0061] [0052] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자는 하이드로겔 입자와 동일한 직경을 갖는 폴리스티렌 비드의 상응하는 물질 모듈러스 특성과 비교하여 표적 세포(예를 들어, 인간 표적 세포)의 상응하는 물질 모듈러스 특성과 더 근접하게 유사한 물질 모듈러스 특성(예를 들어, 탄성)을 갖는다.
- [0062] [0053] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자는 아가로스 포함하지 않는다.
- [0063] **광학 특성**
- [0064] 수동 광학 특성
- [0065] [0054] 유세포 측정을 위한 디컨볼루션의 세 가지 기본 모드는 입자의 두 가지 수동 광학 특성(전방 산란, FSC, 굴절률 또는 RI에 상응함; 및 측면 산란, SSC), 및 전형적으로 형광을 통해 측정되는 주어진 세포 유형의 표면에 존재하는 바이오마커이다. 이들 특성이 합리적으로 조작될 수 있도록 하는 본원에 기재된 조성물은 검정 다중화를 허용하거나, 디컨볼루션을 통해 한 번에 하나 초과 표적(예를 들어, 세포, 분자, 생화학적 표적 등)을 측정할 수 있게 한다.
- [0066] [0055] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 굴절률(RI)은 약 1.10 초과, 약 1.15 초과, 약 1.20 초과, 약 1.25 초과, 약 1.30 초과, 약 1.35 초과, 약 1.40 초과, 약 1.45 초과, 약 1.50 초과, 약 1.55 초과, 약 1.60 초과, 약 1.65 초과, 약 1.70 초과, 약 1.75 초과, 약 1.80 초과, 약 1.85 초과, 약 1.90 초과, 약 1.95 초과, 약 2.00 초과, 약 2.10 초과, 약 2.20 초과, 약 2.30 초과, 약 2.40 초과, 약 2.50 초과, 약 2.60 초과, 약 2.70 초과, 약 2.80 초과, 또는 약 2.90 초과이다.
- [0067] [0056] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 RI는 약 1.10 미만, 약 1.15 미만, 약 1.20 미만, 약 1.25 미만, 약 1.30 미만, 약 1.35 미만, 약 1.40 미만, 약 1.45 미만, 약 1.50 미만, 약 1.55 미만, 약 1.60 미만, 약 1.65 미만, 약 1.70 미만, 약 1.75 미만, 약 1.80 미만, 약 1.85 미만, 약 1.90 미만, 약 1.95 미만, 약 2.00 미만, 약 2.10 미만, 약 2.20 미만, 약 2.30 미만, 약 2.40 미만, 약 2.50 미만, 약 2.60 미만, 약 2.70 미만, 약 2.80 미만, 또는 약 2.90 미만이다.
- [0068] [0057] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 SSC는 세포 측정 장치에 의해 측정될 때 가능한 값의 전체 범위 내의 임의의 값일 수 있다.
- [0069] [0058] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 FSC는 세포 측정 장치에 의해 측정될 때 가능한 값의 전체 범위 내의 임의의 값일 수 있다.
- [0070] [0059] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 FSC는 하이드로겔에 고-굴절률 분자를 혼입함으로써 조정될 수 있다. 바람직한 고-굴절률 분자는 콜로이드 실리카, 알킬 아크릴레이트 및 알킬 메타크릴레이트를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 따라서, 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자는 알킬 아크릴레이트 및/또는 알킬 메타크릴레이트를 포함한다. 알킬 아크릴레이트 또는 알킬 메타크릴레이트는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸 또는 3차-부틸, 2-에틸헥실, 헵틸 또는 옥틸기와 같은 알킬기에 1 내지 18

개, 1 내지 8개 또는 2 내지 8개의 탄소 원자를 함유할 수 있다. 알킬 기는 분지형 또는 선형일 수 있다. 고 굴절률 분자는 또한 방향족 고리 상에서 메틸, 에틸 또는 3차-부틸과 같은 알킬 기로 선택적으로 치환되거나 클로로스티렌과 같이 할로겐으로 선택적으로 치환된 스티렌 및 메틸스티렌과 같은 비닐아렌을 포함할 수 있다.

[0071] [0060] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 FSC는 하이드로겔 형성 동안 존재하는 수분 함량을 조정함으로써 조절된다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 FSC는 하이드로겔의 가교 밀도를 조정함으로써 조절된다. 대안적으로 또는 추가로, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 FSC는 입자 부피와 관련될 수 있으며, 따라서 본원에 기재된 바와 같이 입자 직경을 변경함으로써 조절될 수 있다.

[0072] [0061] 일부 구체예에서, 하나 이상의 하이드로겔 입자의 SSC는 하이드로겔 내에 나노입자를 캡슐화함으로써 조 작될 수 있다. 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자는, 예를 들어, 폴리메틸 메타크릴레이트(PMMA) 나노입자, 폴 리스티렌(PS) 나노입자 및 실리카 나노입자로 구성된 군으로부터 선택되는 하나 이상의 유형의 나노입자를 포함 한다.

[0073] **하이드로겔 입자의 작용기화**

[0074] [0062] 일부 구체예에서, 특이적이고 조작된 수동 광학 특성을 갖는 것 외에도, 본원에 기재된 하이드로겔 입자 는 작용기화되어, 표지된 세포의 형광 특성을 모방할 수 있다. 일부 구체예에서, 하이드로겔 입자는 이작용성 단량체를 포함하고, 하이드로겔 입자의 작용기화는 이작용성 단량체를 통해 일어난다. 일부 구체예에서, 작용기 화된 하이드로겔 입자는 유리 아민 기를 포함한다. 다른 구체예에서, 하이드로겔은 항체를 포함하나 이에 제한 되지 않는, 시약을 사용하여 이차 표지를 허용하는 단백질 또는 펩티드로 작용기화될 수 있다.

[0075] [0063] 하이드로겔 입자는 문헌[The MolecularProbes® Handbook-A Guide to Fluorescent Probes and LabelingTechnologies]에 열거된 임의의 형광 염료를 포함하는 임의의 형광 염료로 작용기화될 수 있고, 이의 내용은 그 전체가 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다. 작용기화는 형성 과정 동안 하이드로겔 입자에 혼 입될 수 있는 유리 아민 기를 포함하는 화합물, 예를 들어, 알릴아민에 의해 매개될 수 있다.

[0076] [0064] 적합한 형광 염료의 비제한적인 예는 다음을 포함한다: 6-카르복시-4',5'-디클로로-2',7'-디메톡시플루 오레세인 숙신이미딜에스테르; 5-(및-6)-카르복시에오신; 5-카르복시플루오레세인; 6-카르복시플루오레세인; 5-(및-6)-카르복시플루오레세인; 5-카르복시플루오레세인-비스-(5-카르복시메톡시-2-니트로벤질)에테르, -알라닌- 카르복사미드, 또는 숙신이미딜 에스테르; 5-카르복시플루오레세인숙신이미딜 에스테르; 6-카르복시플루오레세 인 숙신이미딜 에스테르; 5-(및-6)-카르복시플루오레세인 숙신이미딜 에스테르; 5-(4,6-디클로로트리아지닐)아 미노플루오레세인; 2',7'-디플루오로플루오레세인; 에오신-5-이소티오시아네이트; 에리트로신-5-이소티오시아네 이트; 6-(플루오레세인-5-카르복사미도)핵산산 또는 숙신이미딜 에스테르; 6-(플루오레세인-5-(및-6)-카르복사 미도)핵산산 또는 숙신이미딜에스테르; 플루오레세인-5-EX 숙신이미딜 에스테르; 플루오레세인-5-이소티오시아 네이트; 플루오레세인-6-이소티오시아네이트; OregonGreen® 488 카르복실산, 또는 숙신이미딜 에스테르; Oregon Green® 488이소티오시아네이트; Oregon Green® 488-X 숙신이미딜 에스테르; Oregon Green®500 카르 복실산; Oregon Green® 500 카르복실산, 숙신이미딜에스테르 또는 트리에틸암모늄 염; Oregon Green® 514 카 르복실산; Oregon Green® 514 카르복실산 또는 숙신이미딜 에스테르; RhodamineGreen™ 카르복실산, 숙신이미 디 에스테르 또는 하이드로클로라이드; Rhodamine Green™ 카르복실산, 트리플루오로아세트아미드 또는 숙신이 미딜에스테르; Rhodamine Green™-X 숙신이미딜 에스테르 또는 하이드로클로라이드; RhodolGreen™ 카르복실산, N,0-비스-(트리플루오로아세틸) 또는 숙신이미딜에스테르; 비스-(4-카르복시피페리디닐)설포로다민 또는 디(숙 신이미딜에스테르); 5-(및-6)카르복시나프토 플루오레세인, 5-(및-6)카르복시나프토플루오레세인 숙신이미딜 에 스테르; 5-카르복시로다민 6G 하이드로클로라이드; 6-카르복시로다민6G하이드로클로라이드, 5-카르복시로다민 6G 숙신이미딜 에스테르; 6-카르복시로다민 6G 숙신이미딜 에스테르; 5-(및-6)-카르복시로다민6G 숙신이미딜 에 스테르; 5-카르복시-2',4',5',7'-테트라브로모설포플루오레세인 숙신이미딜 에스테르 또는 비스-(디이소프로필 에틸암모늄) 염; 5-카르복시테트라메틸로다민; 6-카르복시테트라메틸로다민; 5-(및-6)-카르복시테트라메틸로다 민; 5-카르복시테트라메틸로다민 숙신이미딜 에스테르; 6-카르복시테트라메틸로다민 숙신이미딜 에스테르; 5-( 및-6)-카르복시테트라메틸로다민 숙신이미딜 에스테르; 6-카르복시-X-로다민; 5-카르복시-X-로다민 숙신이미딜 에스테르; 6-카르복시-X-로다민 숙신이미딜 에스테르; 5-(및-6)-카르복시-X-로다민 숙신이미딜 에스테르; 5-카 르복시-X-로다민 트리에틸암모늄 염; Lissamine™ 로다민 B 설포닐 클로라이드; malachite green; 이소티오시아 네이트; NANOGOLD® 노노(설포숙신이미딜 에스테르); QSY® 21카르복실산 또는 숙신이미딜 에스테르; QSY® 7 카르복실산 또는 숙신이미딜 에스테르; Rhodamine Red™-X 숙신이미딜 에스테르; 6-(테트라메틸로다민-5-(및- 6)-카르복사미도)핵산산; 숙신이미딜 에스테르; 테트라메틸로다민-5-이소티오시아네이트; 테트라메틸로다민-

6-이소티오시아네이트; 테트라메틸로다민-5-(및-6)-이소티오시아네이트; Texas Red® 설펜닐; Texas Red® 설펜닐 클로라이드; Texas Red®-X STP 에스테르 또는 소듐 염; Texas Red®-X 숙신이미딜 에스테르; Texas Red®-X 숙신이미딜 에스테르; 및 X-로다민-5-(및-6)-이소티오시아네이트.

[0077] [0065] 형광 염료의 다른 예는 BODIPY® FL; BODIPY® TMR STP 에스테르; BODIPY® TR-X STP 에스테르; BODIPY® 630/650-X STP 에스테르; BODIPY® 650/665-X STP 에스테르를 비제한적으로 포함하는 Invitrogen으로부터 상업적으로 이용 가능한 BODIPY® 염료; 6-디브로모-4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3,5-디프로피온산; 4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-펜탄산; 4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-펜탄산 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산; 4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산; 설펜숙신이미딜 에스테르 또는 소듐 염; 6-((4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피오닐)아미노)헥산산; 6-((4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피오닐)아미노)헥산산 또는 숙신이미딜 에스테르; N-(4,4-디플루오로-5,7-디메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피오닐)시스테인산, 숙신이미딜 에스테르 또는 트리에틸암모늄 염; 6-4,4-디플루오로-1,3-디메틸-5-(4-메톡시페닐)-4-보라-3a,4a,4-디플루오로-5,7-디페닐-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산; 4,4-디플루오로-5,7-디페닐-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-5-페닐-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산; 숙신이미딜 에스테르; 6-((4,4-디플루오로-5-페닐-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피오닐)아미노)헥산산 또는 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-5-(4-페닐-1,3-부타디에닐)-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-5-(2-피롤릴)-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산 숙신이미딜 에스테르; 6-((4,4-디플루오로-5-(2-피롤릴)-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-일)스티릴옥시)아세틸)아미노헥산산 또는 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-5-스티릴-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산; 4,4-디플루오로-5-스티릴-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산; 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-1,3,5,7-테트라메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-8-프로피온산; 4,4-디플루오로-1,3,5,7-테트라메틸-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-8-프로피온산 숙신이미딜 에스테르; 4,4-디플루오로-5-(2-티에닐)-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-프로피온산 숙신이미딜 에스테르; 6-(((4,4-디플루오로-5-(2-티에닐)-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-일)페녹시)아세틸)아미노)헥산산 또는 숙신이미딜 에스테르; 및 6-(((4,4-디플루오로-5-(2-티에닐)-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센-3-일)스티릴옥시)아세틸)아미노)헥산산 또는 숙신이미딜 에스테르를 포함한다.

[0078] [0066] 형광 염료는 또한, 예를 들어, Alexa Fluor® 350 카르복실산; Alexa Fluor® 430 카르복실산; Alexa Fluor® 488 카르복실산; Alexa Fluor® 532 카르복실산; Alexa Fluor® 546 카르복실산; Alexa Fluor® 555 카르복실산; Alexa Fluor® 568 카르복실산; Alexa Fluor® 594 카르복실산; Alexa Fluor® 633 카르복실산; Alexa Fluor® 647 카르복실산; Alexa Fluor® 660 카르복실산; 및 Alexa Fluor® 680 카르복실산을 비제한적으로 포함하는 Invitrogen으로부터 상업적으로 이용 가능한 Alexa fluor 염료를 포함할 수 있다. 적합한 형광 염료는 또한, 예를 들어, Cy3 NHS 에스테르; Cy 5 NHS 에스테르; Cy5.5 NHS 에스테르; 및 Cy7 NHS 에스테르를 비제한적으로 포함하는 Amersham-Pharmacia Biotech로부터 상업적으로 이용 가능한 시아닌 염료를 포함할 수 있다.

[0079] 실시예

[0080] 실시예 I: 하이드로겔 입자의 생성

[0081] [0067] UV 리소그래피용 포토마스크는 FineLine Imaging, Inc.에서 공급되었으며 AutoCad(AutoDesk, Inc.)를 사용하여 설계되었다. SU-8 포토레지스트(Microchem, Inc.)는 시준된 UV 광원(OAI, Inc.)을 사용하여 4" 실리콘 웨이퍼 상에서 사진 가교되어 미세 유체 장치 제조를 위한 마스터를 생성하였다. PDMS(폴리디메틸실록산, Sigma Aldrich, Inc.)를 연질 리소그래피 및 미세 유체 장치 제작 방법을 사용하여 제조하고 형성하였다(예를 들어, 문헌[McDonald JC, et al., 2000, Electrophoresis 21:27-40] 참조, 이의 내용은 그 전체가 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함됨).

[0082] [0068] 2개의 오일 채널이 수성 단량체 용액의 중심 스트림을 집중시켜 유중수 에멀전에서 액적을 분리하는 유동-집중 기하학을 사용하여 액적을 형성하였다. 플루오로카본-오일(Novec 7500 3M, Inc.)을 액적 형성을 위한 외부 연속상 액체로 사용하였다. 중합 전에 액적을 안정화시키기 위해, 계면활성제를 0.5% w/w로 오일 상에 첨

가하였다(Krytox 157 FSH의 암모늄 카르복실레이트 염, Dupont). 염기성 폴리아크릴아미드 겔 입자를 제조하기 위해, N-아크릴아미드(1-20% w/v)를 함유하는 수성 단량체 용액의 중심 상, 가교제(N,N'-비스아크릴아미드, 0.05-1% w/v), 촉진제 및 암모늄 퍼설페이트(1% w/v)를 사용하였다. 액적 형성 후 하이드로겔 입자 중합을 촉발시키기 위해 촉진제(N,N,N',N'-테트라메틸에틸렌디아민 2% vol%)를 오일 상에 첨가하였다.

- [0083] [0069] 작용성을 추가하기 위해 여러 공단량체를 기본 겔 제형에 첨가하였다. 알릴-아민은 겔 형성 후 이차 표지를 위한 일차 아민기를 제공하였다. 공단량체 알릴 아크릴레이트 및 알릴 메타크릴레이트를 첨가하여 겔의 굴절률을 조정함으로써 액적의 FSC를 조절하였다. 중합 전에 실리카 나노입자 및/또는 PMMA(폴리(메틸 메타크릴레이트)) 입자(약 100 nm)의 콜로이드 현탁액을 중심 수성 상에 첨가함으로써 액적의 SSC를 조정하였다.
- [0084] [0070] 하이드로겔 입자의 화학량론적 표지는 이차 표지를 위해 화학적으로 직교하는 측기(아민, 카르복실, 말레이미드, 에폭사이드, 알킨 등)를 함유하는 공단량체를 이용함으로써 달성되었다.
- [0085] [0071] 액적은 평균 5 kHz의 속도로 형성되었고 플루오로카본 오일 상에 수집되었다. 50°C에서 30분 동안 중합을 완료한 후, 생성된 하이드로겔 입자를 오일로부터 수용액으로 세척하였다.
- [0086] [0072] 도 6은 일부 구체예에 따른 수동 광학 특성을 사용하여 역다중화될 수 있는 유사한 크기의 비드의 집단을 생성하는데 사용되는 인코딩 방식을 보여주는 다이어그램이다. 수동 광학 바코딩은 FSC 및 SSC 조정을 통해, 및 FSC/SSC의 고유한 비율을 갖는 입자를 조합하여 달성되었다.
- [0087] [0073] 도 7a-7b는 동일한 크기의 입자가 별개의 수동 광학 특성으로 인코딩될 수 있음을 보여주는 특성화 플롯이다. 이는 수동 광학 특성만을 사용하여 다중 생화학적 검정을 디컨볼루션할 수 있다. 도 7b는 형광 신호만을 기초로 하여 입자 집단을 구별할 수 없음을 강조하고, 이에 의해 일부 구체예에 따라, 일차 디컨볼루션 변수로서 수동 광학 특성을 사용하는 생화학적 검정 다중화 및 역다중화를 입증한다. 도 7a는 동일한 크기이지만 별개의 수동 광학 산란 비율(FSC/SSC)을 갖는 다수의 합성 세포 집단을 보여준다. 별개의 표면 마커를 각 하위집단에 컨주게이션하고 FITC 컨주게이션된 동족 항체와 함께 공동-인큐베이션하였다. 각각의 바이오마커-변형된 비드 집단은 동일한 형광 프로파일을 나타내지만, 생화학적 검정을 역다중화하기 위해 이들의 뚜렷한 광학 특성에 기초하여 디컨볼루션될 수 있다.
- [0088] [0074] 일부 구체예에서, 조성물은 복수의 하이드로겔 입자를 포함하고, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자는 실질적으로 동일한 직경을 갖는다. 복수의 하이드로겔 입자는 복수의 하이드로겔 입자 그룹을 포함하고, 복수의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 각각의 하이드로겔 입자 그룹은 수동 광학 특성(예를 들어, 전방 산란 및/또는 측면 산란)에 대해 상이한 연관된 하나 이상의 값을 갖는다.
- [0089] [0075] 복수의 하이드로겔 입자는 혼합물에 포함될 수 있고, 혼합물은 수동 광학 특성만을 사용하여 역다중화되도록 구성될 수 있다.
- [0090] [0076] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자는 혼합물에 포함되고, 혼합물은 (1) 수동 광학 특성 및 (2) 형광 특성을 사용하여 역다중화되도록 구성된다.
- [0091] [0077] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 하이드로겔 입자는 약 1.15 초과의 굴절률(예를 들어, 평균 굴절률 또는 최대 또는 최소 굴절률)을 갖는다.
- [0092] [0078] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 하이드로겔 입자는 약 1.3 초과의 굴절률(예를 들어, 평균 굴절률 또는 최대 또는 최소 굴절률)을 갖는다.
- [0093] [0079] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자 그룹으로부터의 하이드로겔 입자는 약 1.7 초과의 굴절률을 갖는다.
- [0094] [0080] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자는 약 1000  $\mu\text{m}$  미만, 또는 약 100  $\mu\text{m}$  미만, 또는 약 10  $\mu\text{m}$  미만의 직경을 갖는다.
- [0095] [0081] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자는 나노입자를 포함한다.
- [0096] [0082] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자는 화학적으로 작용기화된다.
- [0097] [0083] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자는 유리 아민기를 포함한다.

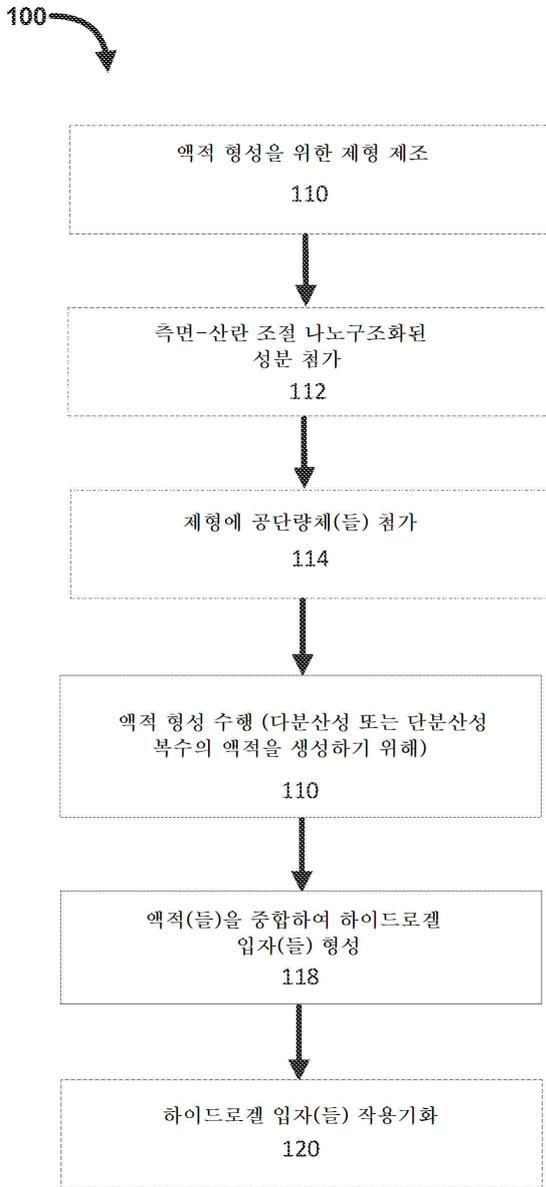
- [0098] [0084] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 적어도 하나의 하이드로겔 입자는 알릴아민을 포함한다.
- [0099] [0085] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자는 액적을 중합함으로써 생성된다.
- [0100] [0086] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자는 실질적으로 단분산성 하이드로겔 입자 집단이다.
- [0101] [0087] 일부 구체예에서, 다중 검정을 수행하는 방법은 복수의 광학적으로 인코딩된 하이드로겔 입자를 사용하여 샘플을 검정하고, 세포 측정 장치를 사용하고 복수의 하이드로겔 입자의 수동 광학 특성에 기초하여 복수의 하이드로겔 입자를 디컨볼루션하고, 단일 반응으로부터의 샘플에 대한 복수의 측정값을 결정하는 것을 포함한다. 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자는 표적 세트와 상이한 생화학적 또는 화학적 표적으로 작용기화될 수 있다. 대안적으로 또는 추가로, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자는 항원, 단백질, 소분자 또는 항체 중 적어도 하나로 작용기화될 수 있다.
- [0102] [0088] 일부 구체예에서, 복수의 하이드로겔 입자로부터의 각각의 하이드로겔 입자 그룹(복수의 그룹으로부터)은 수동 광학 특성(예를 들어, 전방 산란 및/또는 측면 산란)에 대해 상이한 관련 값을 갖는다.
- [0103] 실시예 1: 하이드로겔 입자의 수동 광학 조정
- [0104] [0089] 도 4 및 6에 도시된 바와 같이, 하이드로겔 입자는 수동 광학 특성에 기초하여 별개의 비드 집단을 생성하기 위해 다차원으로 조정된다. 비드는 FSC 및 SSC의 조합을 사용하여 디컨볼루션될 수 있다. 입자 크기와 무관하게 수동 광학 특성을 조정함으로써 백혈구(림프구, 단핵구 및 과립구(호중구))의 3개의 일차 하위집단의 예시 매칭이 도 8a-8b에 도시되어 있다. 명확성을 위해, 도 8a-8b의 예에서 모든 입자는 동일한 직경이다. 도 8a는 실제 용해된 혈액 세포 집단(3개의 하위집단을 나타냄)에 대한 백혈구(WBC) 수의 플롯이고, 도 8B는 조정된 수동 광학 특성을 갖는 하이드로겔 입자에 대한 수 및 이들이 용해된 전혈의 거동을 모방하는 방법을 보여주며, 데이터 수집 간에 기기 설정(예를 들어, 이득, 전압)에는 변화가 없다. 일부 최종 사용자 적용은 생물학적 세포 집단과 광학적으로 유사하게 보이기 위해 검정 비드를 필요로 한다. 본원에 기술된 핵심 기술은 광학 인코딩을 통해 다중화 능력을 확장하면서 관심 표적 집단에 대한 정확한 검정 비드의 배치를 용이하게 한다.
- [0105] 실시예 2: 하이드로겔 입자 측면 산란의 조정
- [0106] [0090] 콜로이드 실리카를 중합체 혼합물의 수성 분획에 12.5%, 6.25%, 3.125% 및 0%로 첨가하고 실시예 1에 기재된 바와 같이 하이드로겔 입자를 형성하였다. 유세포 측정기를 사용하여 전방 및 측면 산란 데이터를 얻었다. 결과는 측면 산란 신호(도 9a)가 캡슐화된 나노입자의 백분율이 높을수록 증가하는 반면, 전방 산란 신호(도 9b)는 일반적으로 변하지 않았음을 보여주며, 이는 측면 산란이 전방 산란과 독립적으로 조정될 수 있음을 입증한다.
- [0107] 실시예 3: 하이드로겔 입자 전방 산란의 조정
- [0108] [0091] 이 실험에서, 하이드로겔 조성물 중 아크릴아미드:비스-아크릴아미드의 백분율은 유세포 측정기에서 전방 산란에 의해 측정된 바와 같이 하이드로겔 입자의 굴절률을 조정하기 위해 20 내지 40%로 다양하였다. 도 10a-10c에 도시된 바와 같이, 전방 산란은 아크릴아미드:비스-아크릴아미드의 백분율이 증가함에 따라 증가하였다.
- [0109] [0092] 본 출원에 인용된 모든 간행물, 특허, 특허 출원 및 기타 문서는 각각의 개별 간행물, 특허, 특허 출원 또는 기타 문서가 개별적으로 모든 목적을 위해 참조로 포함되는 것으로 표시된 것과 동일한 정도로 그 전체가 모든 목적을 위해 본원에 참조로 포함된다.
- [0110] [0093] 다양한 특정 구체예가 예시되고 설명되었지만, 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양한 변경이 이루어질 수 있음을 이해할 것이다.
- [0111] [0094] 시스템, 방법 및 장치의 다양한 구체예가 위에서 설명되었지만, 이들은 단지 예로서 제시된 것이며 제한이 아님을 이해해야 한다. 상기 설명된 방법 및 단계가 특정 순서로 발생하는 특정 이벤트를 나타내는 경우, 본 개시의 이점을 갖는 당 분야의 숙련자는 특정 단계의 순서가 수정될 수 있고 이러한 수정이 본 발명의 변형에 따른다는 것을 인식할 것이다. 추가로, 특정 단계는 가능한 경우 병렬 공정으로 동시에 수행될 수 있을 뿐만 아니라 전술한 바와 같이 순차적으로 수행될 수 있다. 구체예가 특히 제시되고 기술되었지만, 형태 및 세부 사항에 있어서 다양한 변경이 이루어질 수 있음이 이해될 것이다. 구체예가 특히 제시되고 기술되었지만, 형태 및

세부 사항에 있어서 다양한 변경이 이루어질 수 있음이 이해될 것이다. 다양한 구체예가 특정 특징 및/또는 구성 요소의 조합을 갖는 것으로 설명되었지만, 상기 논의된 임의의 구체예로부터 임의의 특징 및/또는 구성 요소의 조합을 갖는 다른 구체예가 가능하다.

- [0112] [0095] 본원에서 사용되는 바와 같이, 다음 용어 및 표현은 다음 의미를 갖는 것으로 의도된다:
- [0113] [0096] 부정 관사 및 정관사는 이들이 사용되는 문맥이 달리 명시하지 않는 한 단수 및 복수를 모두 포함하는 것으로 의도된다.
- [0114] [0097] "적어도 하나" 및 "하나 이상"은 물품이 열거된 요소 중 하나 또는 하나 초과를 포함할 수 있음을 의미하기 위해 상호 교환적으로 사용된다.
- [0115] [0098] 달리 지시되지 않는 한, 성분, 반응 조건 등의 양, 비율 및 수치적 특성을 나타내는 모든 숫자는 모든 경우에 용어 "약"에 의해 수식될 수 있는 것으로 고려된다는 것을 이해해야 한다.
- [0116] [0099] 본원에서 사용되는 용어 "약" 및 "대략"은 일반적으로 언급된 값의 플러스 또는 마이너스 10%를 의미하며, 예를 들어, 약 250  $\mu\text{m}$ 는 225  $\mu\text{m}$  내지 275  $\mu\text{m}$ 를 포함할 것이고, 약 1,000  $\mu\text{m}$ 는 900  $\mu\text{m}$  내지 1,100  $\mu\text{m}$ 를 포함할 것이다.
- [0117] [00100] 본 개시에서, 단수 항목에 대한 언급은 달리 명시적으로 언급되거나 문맥으로부터 명확하지 않은 한 복수 항목을 포함하는 것으로 이해되어야 하며, 그 반대의 경우도 마찬가지이다. 문법적 접속사는 달리 언급되거나 문맥으로부터 명확하지 않은 한, 이어진 절, 문장, 단어 등의 임의의 및 모든 분리적이고 결합적인 조합을 표현하기 위한 것이다. 따라서, 용어 "또는"은 일반적으로 "및/또는" 등을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 예, 또는 예시적인 언어("예를 들어", "이를 테면", "포함하는" 등)의 사용은 단지 구체예를 더 잘 조명하기 위한 것이며, 구체예 또는 청구 범위의 범위를 제한하지 않는다.

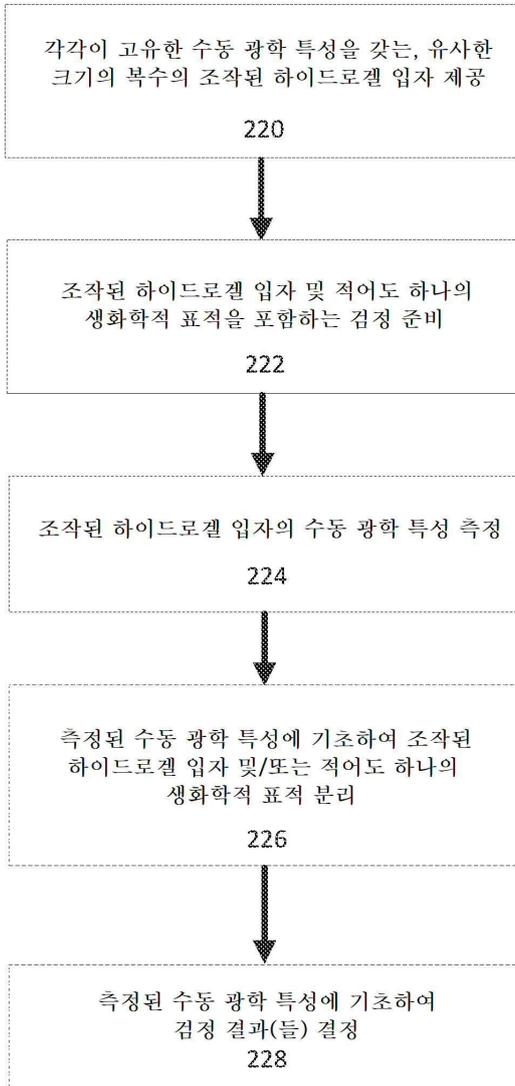
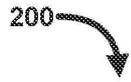
도면

도면1

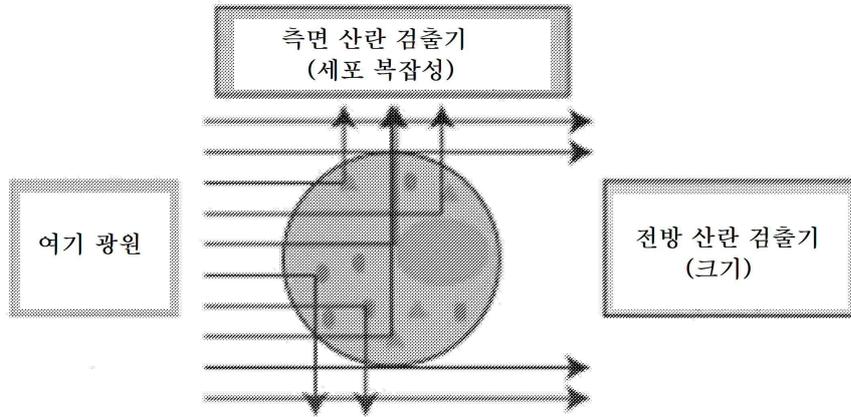


도면2

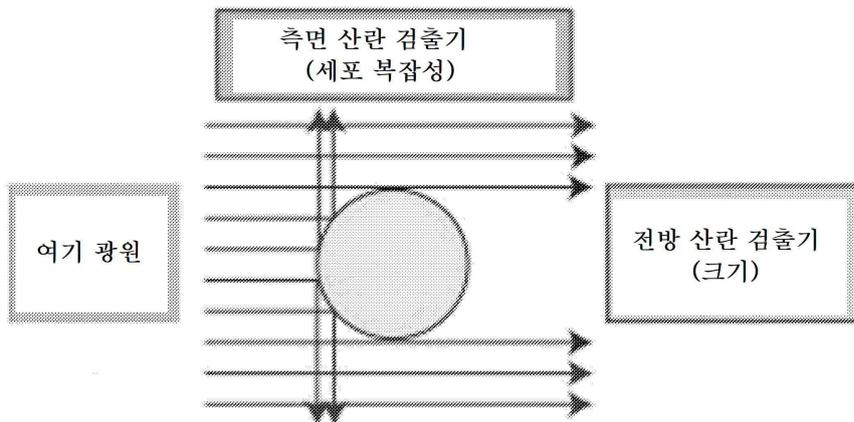
200



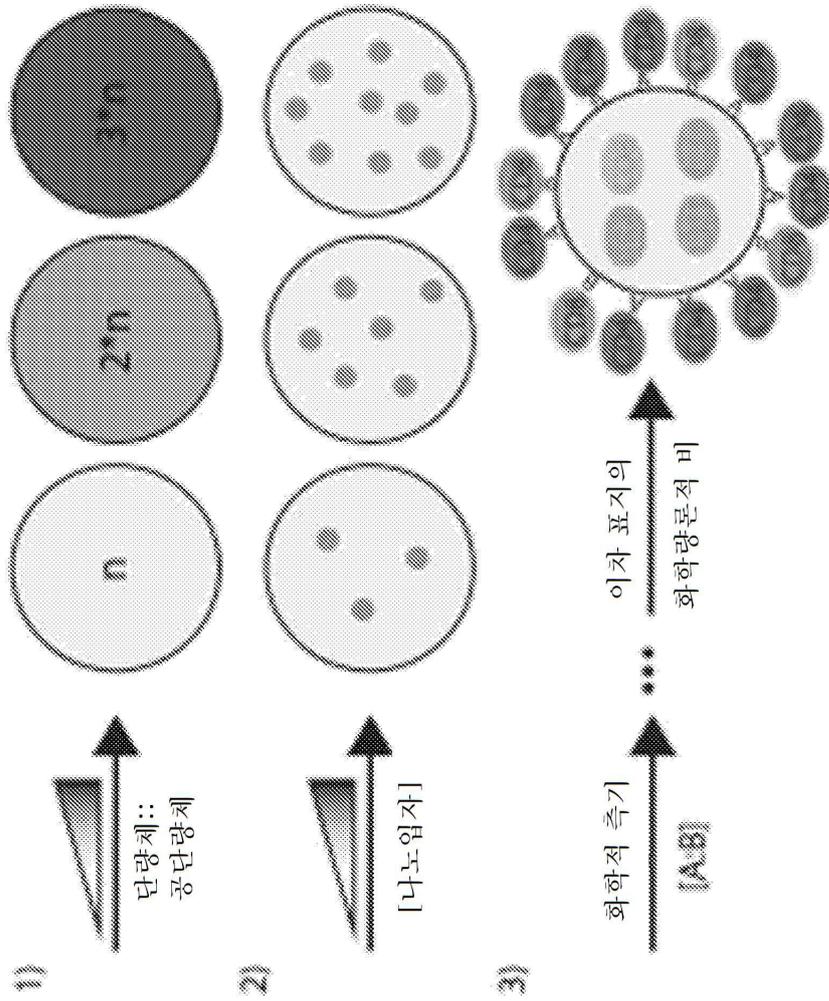
도면3a



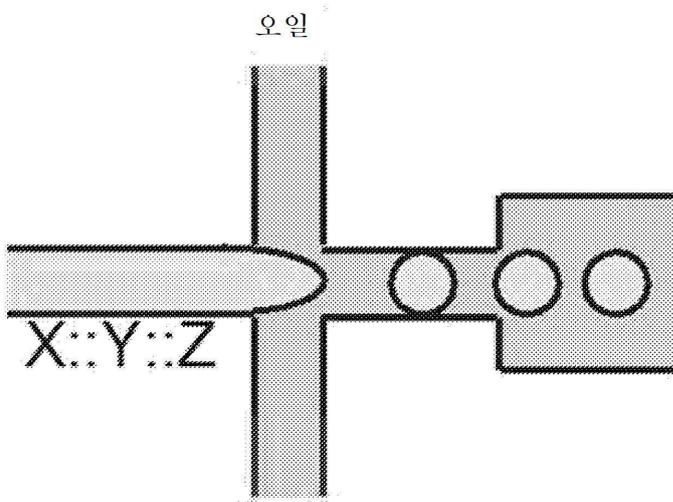
도면3b



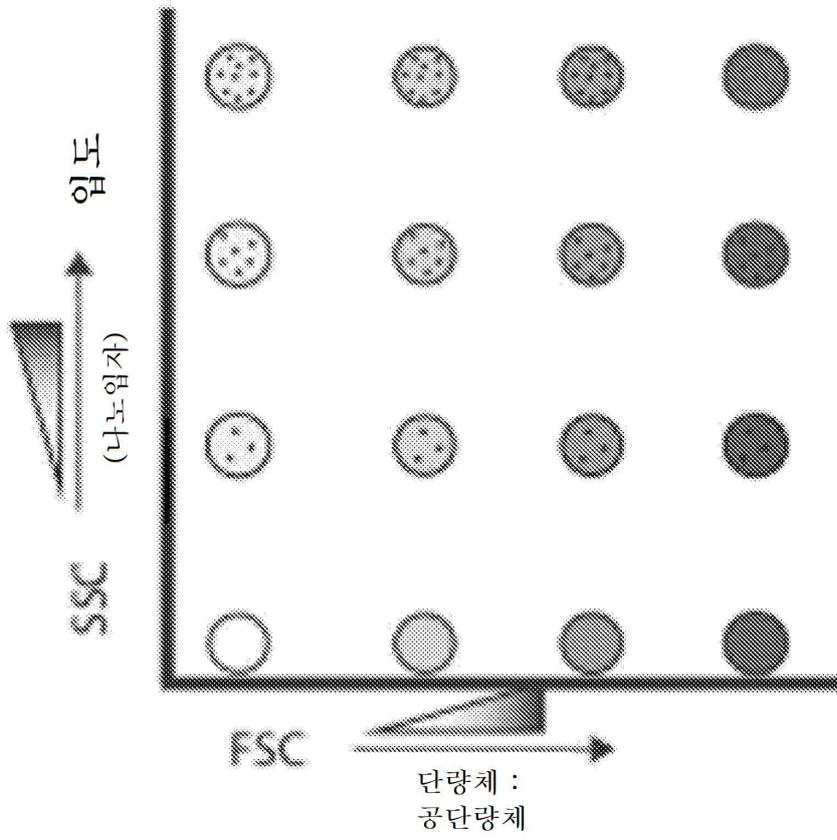
도면4



도면5

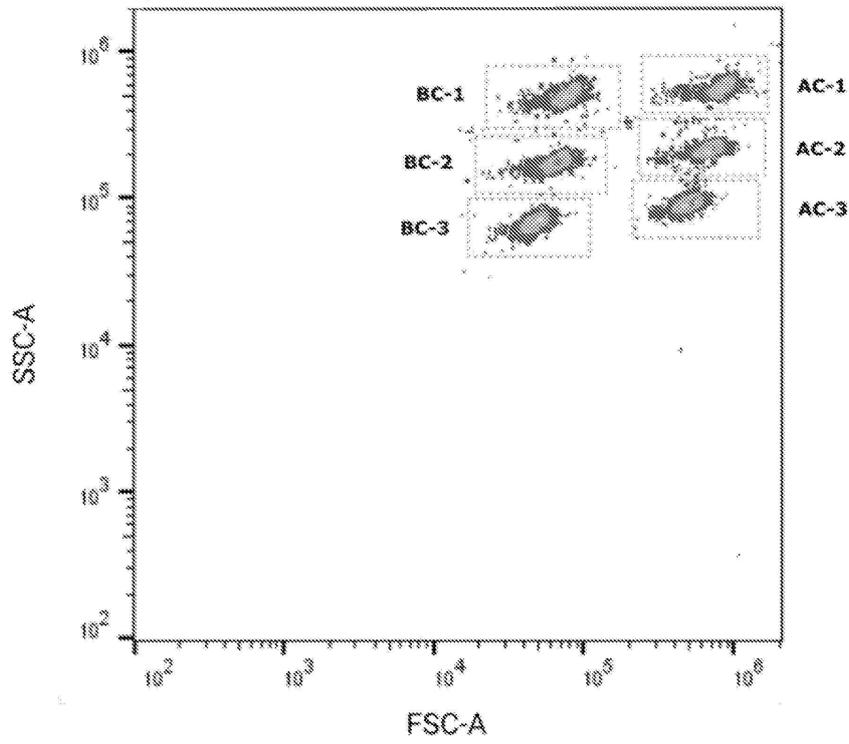


도면6



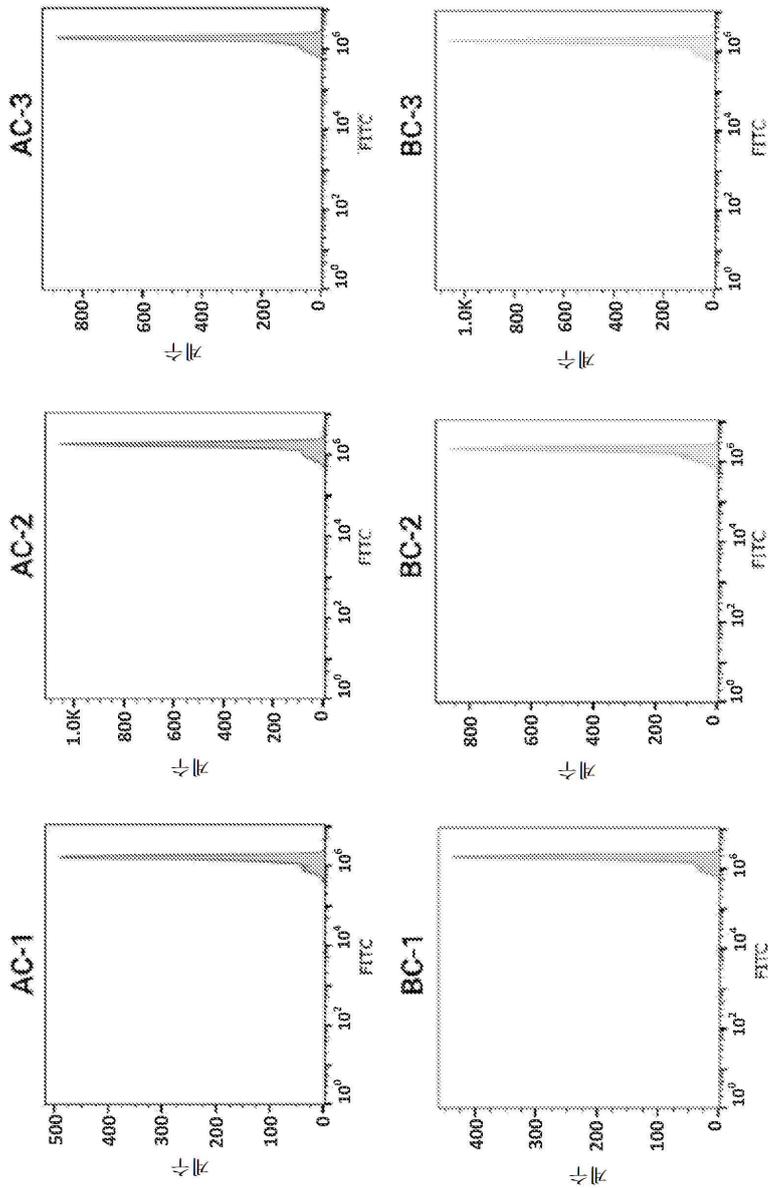
도면7a

A) 광학 산란 서명/좌표를 통한 동일한 크기의 입자의  
마코딩

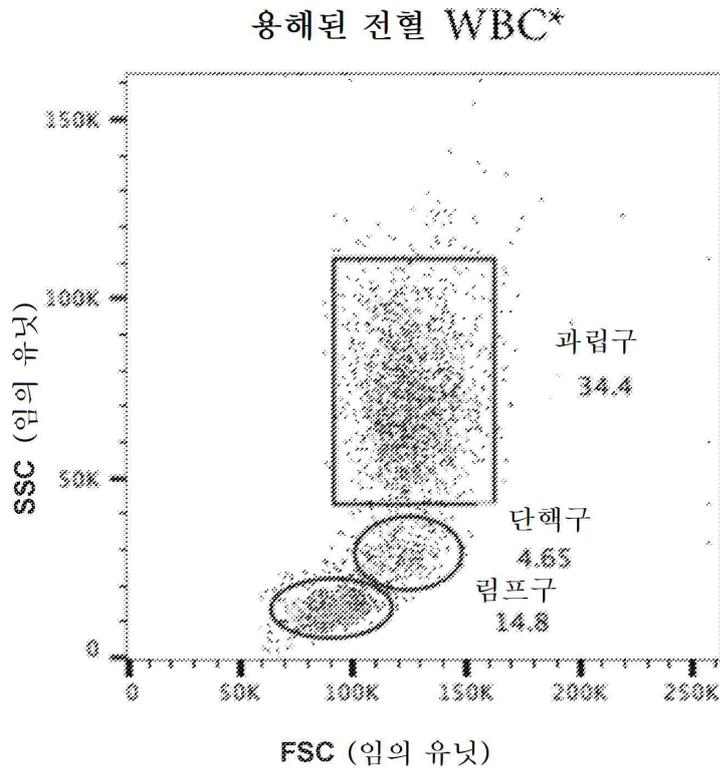


도면 7b

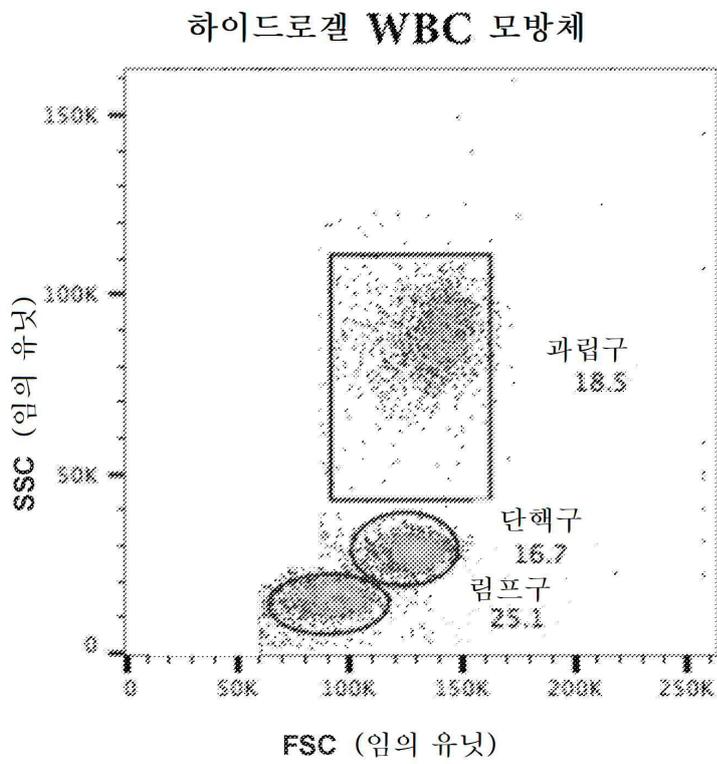
B) 각 비드 집단의 형광 검출



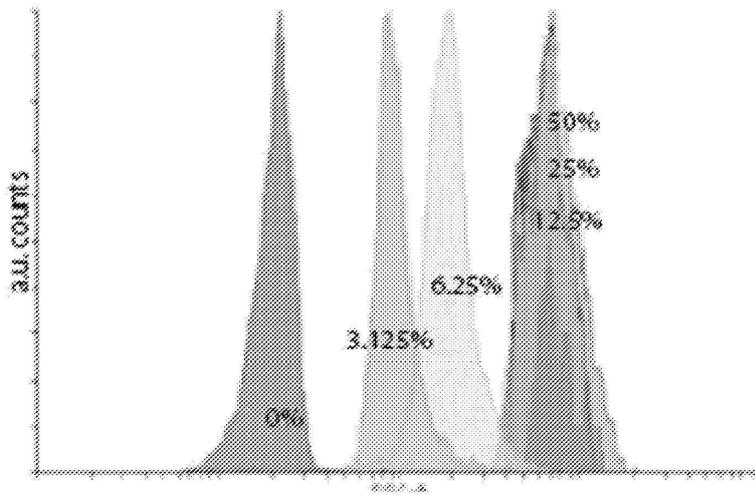
도면8a



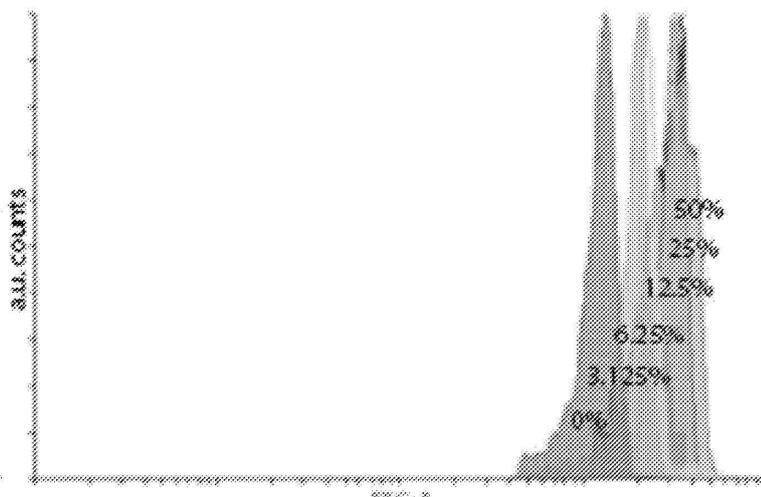
도면8b



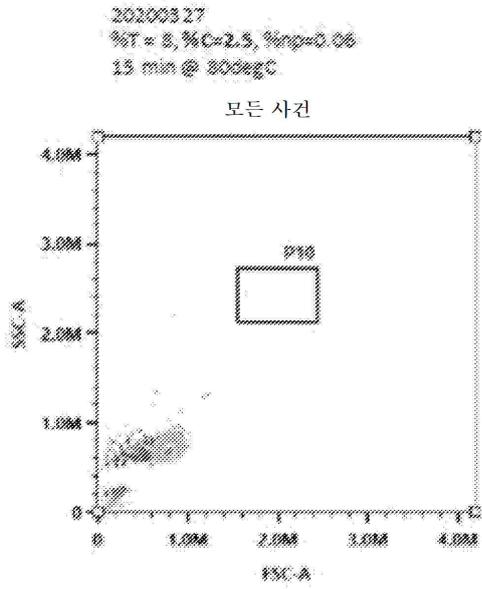
도면9a



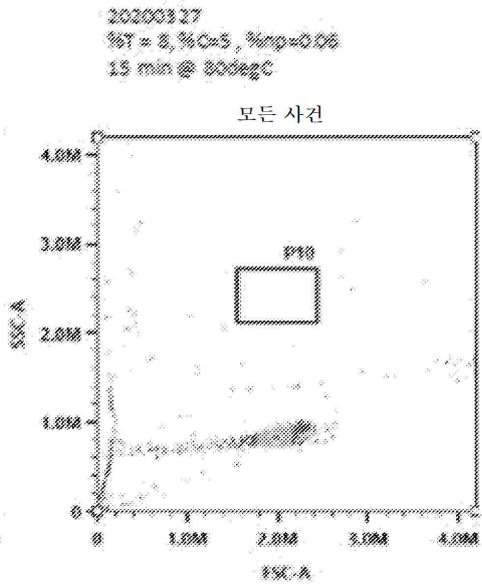
도면9b



도면10a



도면10b



도면10c

