(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0141259
(43) 공개일자 2022년10월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/689 (2018.01) *C12Q 1/70* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/689 (2018.05)
C12Q 1/70 (2022.05)
(21) 출원번호 10-2022-0045297
(22) 출원일자 2022년04월12일
심사청구일자 없음
(30) 우선권주장
1020210047326 2021년04월12일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
임채승
경기도 안양시 동안구 동편로 135, 402동 903호 (관양동, 동편마을)
장웅식
서울특별시 동작구 여의대방로 28, 102동 108호 (신대방동, 현대아파트)
(74) 대리인
특허법인 다해

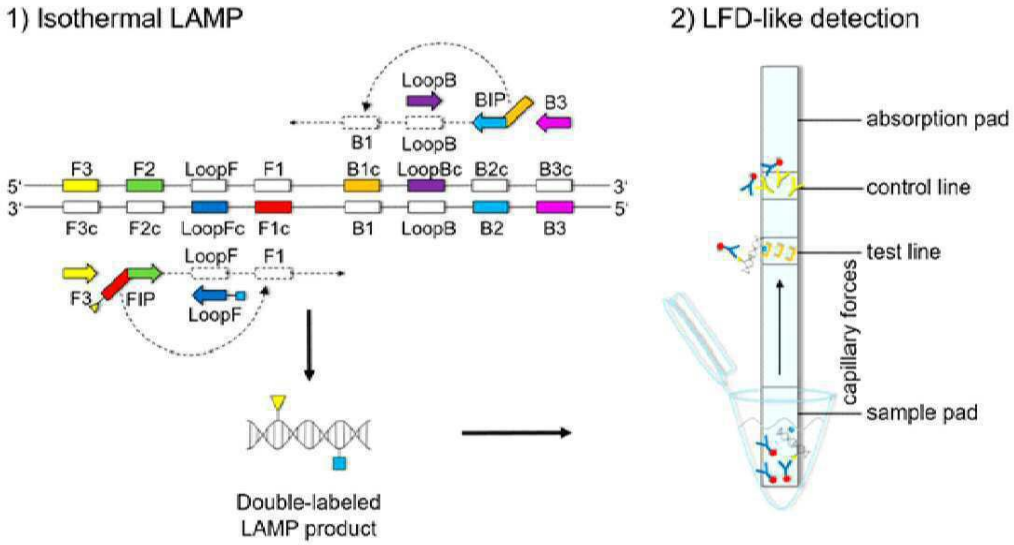
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 **감염성 호흡기 질환 진단을 위한 등온증폭반응용 프라이머 세트**

(57) 요 약

서열목록 1 내지 6의 프라이머 세트를 포함하는 결핵균 감별 검출용 LAMP 프라이머 세트가 제공된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12Q 2525/301 (2013.01)
C12Q 2527/101 (2019.08)
C12Q 2537/143 (2013.01)
C12Q 2563/107 (2013.01)
C12Q 2563/155 (2013.01)
C12Q 2565/625 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1465033049
과제번호 HR20C0021020021
부처명 보건복지부
과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원
연구사업명 연구중심병원육성(R&D)
연구과제명 신종 감염병 초고속 정밀진단기술 개발 및 사업화
기 여 율 1/1
과제수행기관명 고려대학교 구로병원
연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열목록 1 내지 6의 프라이머 세트를 포함하는 결핵균 감별 검출용 LAMP 프라이머 세트.

청구항 2

서열목록 7 내지 13의 프라이머 세트를 포함하는 비결핵항산균 감별 검출용 LAMP 프라이머 세트.

청구항 3

서열목록 14 내지 15의 프라이머 세트를 포함하는 SARS-CoV-2 균 감별 검출용 LAMP 프라이머 세트.

청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 따른 LAMP 프라이머 세트는, NALF(Nucleic Acid Lateral Flow) 시스템용 LAMP 프라이머 세트인 것을 특징으로 하는 LAMP 프라이머 세트.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 감염성 호흡기 질환의 진단을 위한 LAMP 프라이머 세트에 관한 것으로서, 보다 구체적으로 NALF(Nucleic Acid Lateral Flow) 방법에 제공되기 위하여 병원체의 타겟 유전자 증폭을 위한 LAMP 프라이머 세트 등에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 감염성 호흡기 질환의 정확한 원인은 증상과 징후만으론 파악하기 어려우므로 원인 병원체를 정확하게 규명할 수 있는 진단법의 개발이 필요하다. 현재까지 알려진 감염성 호흡기 질환의 표준 진단방법은 배양을 통한 균의 동정, 혈청학적 검사, 및 중합효소반응(PCR)을 통한 유전자 검사가 있다. 배양을 통한 균의 동정의 경우 균을 동정하는데 7~21일이 걸리며 40~90%에서만 배양되기 때문에 임상 현장에서 실제적으로 이용하는데 한계가 있다. 그리고 혈청학적 진단은 가장 널리 이용되고 있는 방법이지만 시간이 오래 걸리고 낮은 민감도를 나타내는 등 문제가 있다. 또한, real-time PCR은 장비와 시약이 매우 고가이고 숙련된 기술자가 필요하며 검사에 약 2시간이 소요되어 현장에 적용하는 것에 한계가 있다.

[0003] 최근, 온도 변화 없이 일정한 온도에서 유전자를 증폭하는 등온 증폭 반응법(loop-mediated isothermal amplification reaction, LAMP)이 개발되었다. LAMP법은 주형에 상보적인 프라이머 6개를 사용하여 각기 다른 8개의 부위를 인식하여 유전자 증폭을 진행한다. 기존의 PCR법과 비교하였을 때, 온도의 변화 없이 증폭할 수 있다는 점에서 검사 시간을 단축할 수 있고, 온도 변화를 위한 값비싼 장비 없이 검사를 진행할 수 있다.

[0004] 한편, 측면유동 면역분석법(Lateral Flow Immuno Assay, LFA)은 나노입자를 이용한 샌드위치 면역분석 기술과 멤브레인을 이용한 시료 유동을 통해 미지 시료 내 검체(표적물질)을 검출할 수 있는 분석기술이다. 측면유동 면역분석법은 검체를 판독함에 있어 분석 원리가 간단하고 분석 시간이 짧으며 생산 단가가 저렴하여 다양한 의료/환경 분야의 진단, 혹은 비의학적 자가 수행 검사를 목적으로 사용될 수 있다.

[0005] 본 발명자들은 감염성 호흡기 질환의 Point-Of-Care Testing (POCT)가 가능하게 하기 위하여 LAMP를 이용하여 바이러스 유전체를 증폭하고 증폭산물을 LFA을 이용하여 검출하는 NALF(Nucleic Acid Lateral Flow) 시스템을 개발하기 위하여 예의연구하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 감염성 호흡기 질환의 원인 병원체 검출을 위해 최적화된 NALF 시스템을 제공하는 것이다.

[0007] 또한. 본 발명은 감염성 호흡기 질환 진단을 위한 NALF 시스템에 적용되는 LAMP 프라이머 세트 제공을 목적으로 한다.

[0008] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 서열목록 1 내지 6의 프라이머 세트를 포함하는 결핵균 감별 검출용 LAMP 프라이머 세트를 제공한다.

[0011] 본 발명의 일 실시예에서, 서열목록 7 내지 13의 프라이머 세트를 포함하는 비결핵항산균 감별 검출용 LAMP 프라이머 세트를 제공한다.

[0012] 본 발명의 일 실시예에서, 서열목록 14 내지 15의 프라이머 세트를 포함하는 SARS-CoV-2 균 감별 검출용 LAMP 프라이머 세트를 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에서, 상술한 LAMP 프라이머 세트는, NALF(Nucleic Acid Lateral Flow) 시스템용 LAMP 프라이머 세트이다.

발명의 효과

[0014] 본 발명은 현장검사 가능한 호흡기 질환의 진단용 LAMP 프라이머 세트에 관한 것으로서, 병원체의 유전물질을 검출하여 진단하는 바 감염 초기에 진단결과를 제시할 수 있으며, 고가의 장비와 고도의 숙련자기 필요치 않은 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 LAMP법을 이용한 LFA의 원리를 도식화한 것이다.

도 2는 LFA를 이용한 검체 판독의 분석 원리를 도식화한 것이다.

도 3은 본 발명의 감염성 호흡기 질환의 병원체 검출을 위한 NALF 키트의 모식도이다.

도 4는 히트블록 상에서 LAMP를 수행하고 그 증폭산물을 NALF 래피트 키트에 적용하여 반응 결과를 확인한 도면이다(왼쪽 패널: TB 검체, 오른쪽 패널: NTM 검체).

도 5는 CFX96 상에서 LAMP를 수행하고 그 증폭산물을 NALF 래피트 키트에 적용하여 반응 결과를 확인한 도면이다(왼쪽 패널: TB 검체, 가운데 패널: NTM 검체, 오른쪽 패널: 음성 검체(NC)).

도 6 및 도 7은 CFX96 상에서 LAMP를 수행하고 그 증폭산물을 NALF 래피트 키트에 적용하여 반응 결과를 확인한 도면이다. 검출 패널의 각 라인은 검체 적하부에서 가까운 순서대로 Biotin-FAM 검출, DIG-FAM 검출, Control 검출 라인(line)이다. 도 6의 샘플은 KRISS 농도를 달리한 것과 양성 대조군(PC) 및 음성 대조군(NC)이고, 도 7은 임상검체이다.

도 8 및 도 9는 incubator 상에서 LAMP를 수행하고 그 증폭산물을 NALF 래피트 키트에 적용하여 반응 결과를 확인한 도면이다. 검출 패널의 각 라인은 검체 적하부에서 가까운 순서대로 Biotin-FAM 검출, DIG-FAM 검출, Control 검출 라인(line)이다. 도 8의 샘플은 KRISS 농도를 달리한 것과 양성 대조군(PC) 및 음성 대조군(NC)이고, 도 9은 임상검체이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 발명자들은 현장에서 또는 자가 검사 가능한 감염성 호흡기 질환 진단 방법에 대해 예의연구하여 POCT에 이용될 수 있는 감염성 호흡기 질환의 진단을 위한 NALF 시스템을 완성하였다.

[0017] 종래 정확한 감염성 호흡기 질환의 병원체 검사 결과를 얻기 위해서는 PCR을 수행하는 것이 가장 일반적이었다. PCR을 통한 유전자 검사는 가장 정확한 검사 결과를 제공할 수 있으나 PCR을 수행하기 위한 장비가 매우 고가이고 이를 가동하기 위한 숙련된 기술자가 필요하며 비교적 장시간이 소요되는 문제가 있었다.

[0018] NALF(Nucleic Acid Lateral Flow) 시스템은 유전물질을 측면유동 면역분석을 이용하여 검출하는 시스템으로서, 본 발명자들은 등온증폭반응법(LAMP)를 이용하여 병원체 특이적인 유전자를 증폭하고 증폭산물의 양 말단에 biotin, digoxigenin, DNP 등의 small molecule과 FITC, FAM, Texas Red 등의 형광물질을 표지(labeling)하여 이를 측면유동 면역분석법을 통해 검출함으로서 현장에서 신속하게 검사 결과를 제시할 수 있는 방법을 제안한다.

[0019] NALF 시스템은 LFA용 스트립에 고정된 항체 등의 타겟 특이적 물질과 상기 소분자 및 형광물질로 표지된 유전물질 그리고 프로브 또는 금속나노입자의 샌드위치 결합에 의해 타겟을 검출하는 것으로서, 상기 소분자와 형광물질로 표지된 double strand 유전물질의 하이브리드 결합이 안정적으로 유지되는 것이 필요하다. 따라서, NALF 시스템에 제공되는 버퍼와 반응 조건은 타겟 유전물질의 길이 및 라벨링된 물질에 따라 섬세하게 조정되어야 한다.

[0020] 한편, 병원체의 유전자 증폭을 위해서는 유전체 외의 불순물을 제거하는 유전체 추출 과정이 수반되어야 한다. 본 발명은 원심분리 등의 과정 없이 시료의 chelex-100을 처리하고 boiling 단계를 수행하여 시료의 전처리 단계를 간소화하였다.

[0021] 상술한 전처리 단계를 수행한 시료는 LAMP 프라이머 세트를 포함하는 Mix와 혼합하여 타겟 유전자의 증폭반응을 유도한다. LAMP 프라이머는 안정적으로 타겟 유전자만을 증폭할 수 있도록 설계되어야 하며, 본 발명에서는 구체적으로 결핵 환자에서 결핵균과 비결핵항산균 감염 여부를 감별진단할 수 있도록 표 1의 프라이머 세트를 제공하고, SARS-CoV-2 감염 진단을 위하여 표 6의 프라이머 세트를 제공한다.

[0022] 각 타겟 유전자는 2 이상일 수 있으며, 타겟 유전자에 대응하는 LAMP 프라이머 세트를 2종 이상 혼합하여 multiplex-PCR을 수행할 수 있으며, 이 경우 1회의 검사로 결핵균 및 비결핵항산균 감염 여부를 감별하여 진단할 수 있으며, COVID-19 진단의 정확도를 향상시킬 수 있다.

[0023] 한편, LAMP 증폭 산물의 말단은 FAM, Cy5, Texas Red, 여러가지 형광물질로 표지될 수 있으며, 상기 형광물질은 제한이 없으나, 바람직하게는 FITC, FAM, 또는 Digoxigenin일 수 있다.

[0024] 아울러, LAMP 수행 이후에 증폭 산물이 포함된 시료는 버퍼와 혼합하여 본체의 검체 적하부에 투여될 수 있으며, 본 발명의 래피트 키트는 상기 버퍼를 포함할 수 있다.

[0025] 이어서, 적하부에 투여된 시료는 LFA용 스트립에 흡수되어 모세관현상을 통해 흡수 패드가 위치하는 스트립의 상부로 이동한다. 이때, 검체에 병원체가 포함된 경우 LAMP를 통해 증폭되고 라벨링된 타겟 유전자 증폭 산물은 검출 패널에 위치하는 밴드에 결합되어 가시적인 라인을 형성한다.

[0026] 검출 패널에 위치하는 밴드 영역에는 상기 형광물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질이 고정되어 있으며, 상기 물질은 형광물질과 특이적으로 결합할 수 있는 항체, 압타머, 리간드 등이 될 수 있으며, 바람직하게는 항체일 수 있다.

[0027] 검출 패널에 밴드 영역은 검출하고자 하는 타겟의 개수와 대응하여 구비되며, 각 밴드에는 한 개의 타겟에 특이적인 물질이 고정되고, 각각의 밴드 영역은 서로 구분되도록 거리를 유지할 수 있다.

[0028] 한편, 본 발명의 LFA용 스트립은 검체 적체부에서 검출 패널로 시료가 이동하는 과정에서 비오틴으로 표지된 타겟 유전자의 증폭산물과 결합할 수 있도록 금속나노입자가 고정된 컨쥬게이트 패드(conjugate pad) 영역을 포함할 수 있다.

[0030] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0032] **실시예 1. TB NALF test**

[0033] 고려대학교 구로병원에서 결핵환자와 비결핵항산균 감염환자의 객담 및 기관지 흡인액 샘플을 제공받았다. 각 샘플은 chelex-100 및 boiling 전처리 하였으며, 이어서 등온증폭반응(LAMP)을 수행하고 및 반응 산물을 래피트 키트에 적용하여 NALF test를 수행하였다. 각 샘플의 감염원은 병원에서 real-time PCR로 확인하였다. LAMP을 위한 프라이머의 구체적인 정보는 하기 표 1에 나타내었으며, 반응 혼합물 조성은 하기 표 2 및 표 3과 같다.

표 1

[0034]

	/primer	Vol(ul)	Primer sequence
TB-IS6110_LAMP primer set	IS6110_F3	4	GGTCGGAAGCTCCTATGACA
	IS6110_B3	4	TAGGCAGCCTCGAGTTCG
	IS6110_FIP_Biotin	36	Biotin-AGGGCTTGCCGGGTTTGATCATGCACTAGCCGAGACGA
	IS6110_BIP_Biotin	36	Biotin-CGGTCCATCGAGGATGTCGAGTCGCCGCAGTACTGGTAGA
	IS6110_LF_FAM	20	FAM-CTCGGTCTTGTATAGGCCGT
	IS6110_LB_FAM	20	FAM-ACCGCGCGCTGGGTCGA
NTM-RpoB_LAMP primer set	rpoB_F3	4	CCGGTCACCGTGCTG
	rpoB_B3	4	GTARCGCTTCTCCTTGAAGAAC
	rpoB_FIP	36	TGTTGTCCTTCTCCAGIGTIIGCTGGACCAICGAGCA
	rpoB_BIP	36	TGGACATCTACCGCAAGCTGCGTTYTCCARCAGGGTCTGC
	rpoB_LF	14	DIG- CGGAGAAICCGAAICGCTC
	rpoB_LB	20	DIG- CCGCCGACCAAAGAGTCAGC
	rpoB_LF_PROBE4 FAM	6	FAM-CGGGCCCGTACAAAGGGAACACCCACACTCCGCGGAGAAICCGAAICGCTC

표 2

[0035]

BZ-IsoMDx TB/NTM kit	volume(㎕)
2X 1step LAMP Mix	14.5
PM	4.5
Template	6
TOTAL	25

표 3

[0036]

	Volume (ul)
PM	2.9 (DW)
	0.8 (IS6110-P2)
	0.8 (NTM2-P4)
Total	4.5

[0037] 1-1. 히트브록 (heatblock) 상에서 LAMP 수행히트블록 상에서 성공적인 LAMP 수행을 위하여 하기 표 4와 같이 반응 조건을설정하고 LAMP를 수행하였다. 이어서, 증폭 산물(LAMP product) 10ul와 버퍼 100ul를 혼합하여 제작된 래피트 키트의 검체 적하부에 떨어뜨리고 반응을 확인하였다(도 4).

표 4

[0038]

63℃	40 min
heatblock / 1.5ml eptube	

[0039] 1-2. CFX96 상에서 LAMP 수행성공적인 LAMP 수행을 위하여 하기 표 5와 같이 반응 조건을 설정하고 LAMP를 수행하였다. 이어서, 증폭 산물(LAMP product) 5ul와 버퍼 100ul를 혼합하여 제작된 래피트 키트의 검체 적하부에 떨어뜨리고 반응을 확인하였다(도 5).

표 5

[0040]

62℃	1 min	40 cycles
CFX96 / 불투명튜브		

[0041] **실시예 2. COVID19 NALF test**각 샘플은 chelex-100 및 boiling(60-100℃, 10분) 전처리 하였으며, 필터링 후 등온증폭반응(LAMP)을 수행하고 증폭 산물을 래피트 키트에 적용하여 NALF test를 수행하였다. 각 샘플의 감염원은 병원에서 real-time PCR로 확인하였다. LAMP을 위한 프라이머의 구체적인 정보는 하기 표 6에 나타내었으며, 반응 혼합물 조성은 하기 표 7과 같다.

표 6

[0042]

	Oligo	Vol (ul)	sequence (5'-3')
Corona19 orflab LAMP primer set	Wuhan_orf1ab_F3-1	4	CCG ATA AGT ATG TCC GCA AT
	Wuhan_orf1ab_B3	4	GCT TCA GAC ATA AAA ACA TTG T
	COVID19_RDRP_FIP_5biotin	32	BIOTIN - ATG CGT AAA ACT CAT TCA CAA AGT CCA ACA CAG ACT TTA TGA GTG TC
	COVID19_RDRP_BIP_5biotin	32	BIOTIN - TGA TAC TCT CTG ACG ATG CTG TTT AAA GTT CTT TAT GCT AGC CAC
	COVID19_RDRP_LB_5FAM	10	FAM - GTC TTG TCT TTA RCC A
	COVID19_RDRP_LF_5FAM	10	FAM - CCA GTG AGC GAG GAC TG
	DW	8	
	TOTAL	100	
Corona19_N gene_ LAMP primer set	Wu_LAMP_N_F3	4	TGGACCCCAAAATCAGCG
	Wu_LAMP_N_B3	4	GCCTTGTCCTCGAGGGAAT
	COVID19_N_FIP_FAM	32	FAM - CCACTGCGTTCTCCATTCTGGTAAATGCACCCCGCATTACG
	COVID19_N_BIP_FAM	32	FAM - CGCGATCAAAACAACGTCGGCCCTTGCCATGTTGAGTGAGA
	COVID19_N_LF_5DIG	10	DIG - TGAATCTGAGGGTCCACCAAA
	COVID19_N_LB_5DIG	10	DIG - GGTTTACCCAATAATACTGCGTCTT
	DW	8	
	TOTAL	100	

표 7

[0043]

LAMP Reagent (엘피스 바이오 LAMP)	Vol(ul)
MM	10
DW	3.125
PRIMER MIX	1.25 (RdRP)
	0.625 (N)
Template	5
TOTAL	20

[0044] 2-1. CFX96 상에서 LAMP 수행KRISS의 농도를 달리한 샘플(10^{-4}, 10^{-5} ,10^{-6}) 성공적인 LAMP 수행을 위하여 하기 표 8과 같이 반응 조건을 설정하고 LAMP를 수행하였다. 이어서, 증폭 산물(LAMP product) 10ul와 버퍼 100ul를 혼합하여 제작된 래피트 키트의 검체 적하부에 떨어뜨리고 10분 동안 반응을 확인하였다(도 6).

표 8

[0045]

62℃	40 min	template 5ul
CFX96 / 투명튜브		

[0046] 또한, 고려대학교 구로병원에서 COVID-19 감염 환자의 객담 및 기관지 흡인액 샘플을 제공받아 LAMP를 수행하고

증폭 산물을 래피트 키트의 적하부에 떨어뜨리고 10분 동안 반응을 확인하였다(도 7). 새로운 DW 사용하였다.

[0047] 2-2. incubator 상에서 LAMP 수행

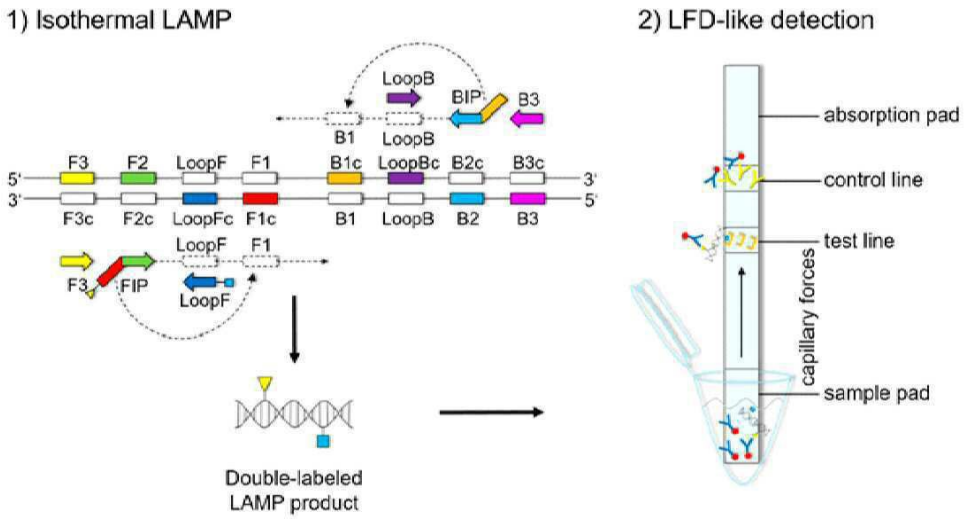
[0048] 성공적인 LAMP 수행을 위하여 상기 표 8과 동일한 반응 조건으로 LAMP를 수행하되 CFX96이 아닌 incubator에서 LAMP를 수행하였다. 이어서, 증폭 산물(LAMP product) 10ul와 버퍼 100ul를 혼합하여 제작된 래피트 키트의 검체 적하부에 떨어뜨리고 10분 동안 반응을 확인하였다(도 8).

[0049] 또한, 고려대학교 구로병원에서 COVID-19 감염 환자의 객담 및 기관지 흡인액 샘플을 제공받아 LAMP를 수행하고 증폭 산물을 래피트 키트의 적하부에 떨어뜨리고 10분 동안 반응을 확인하였다(도 9).

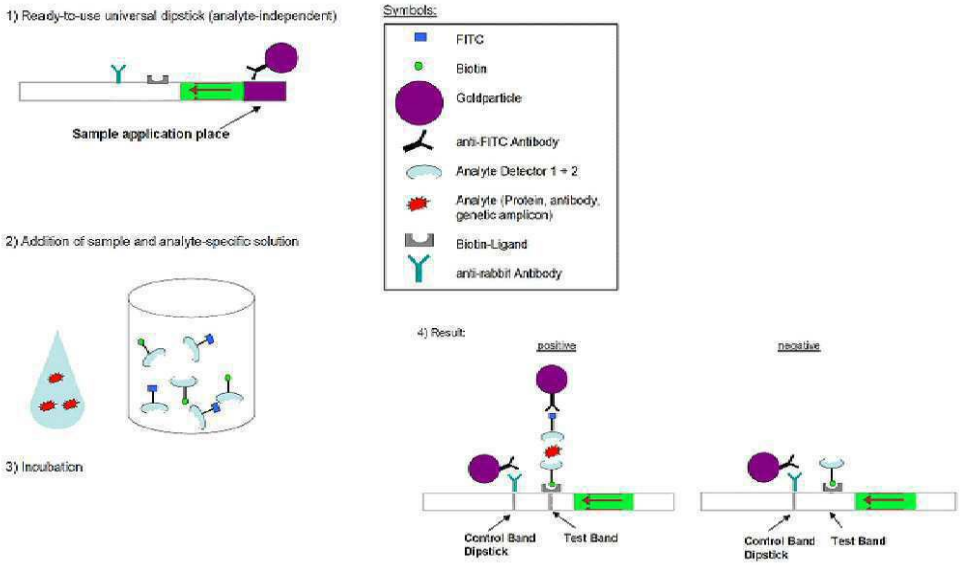
[0051] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

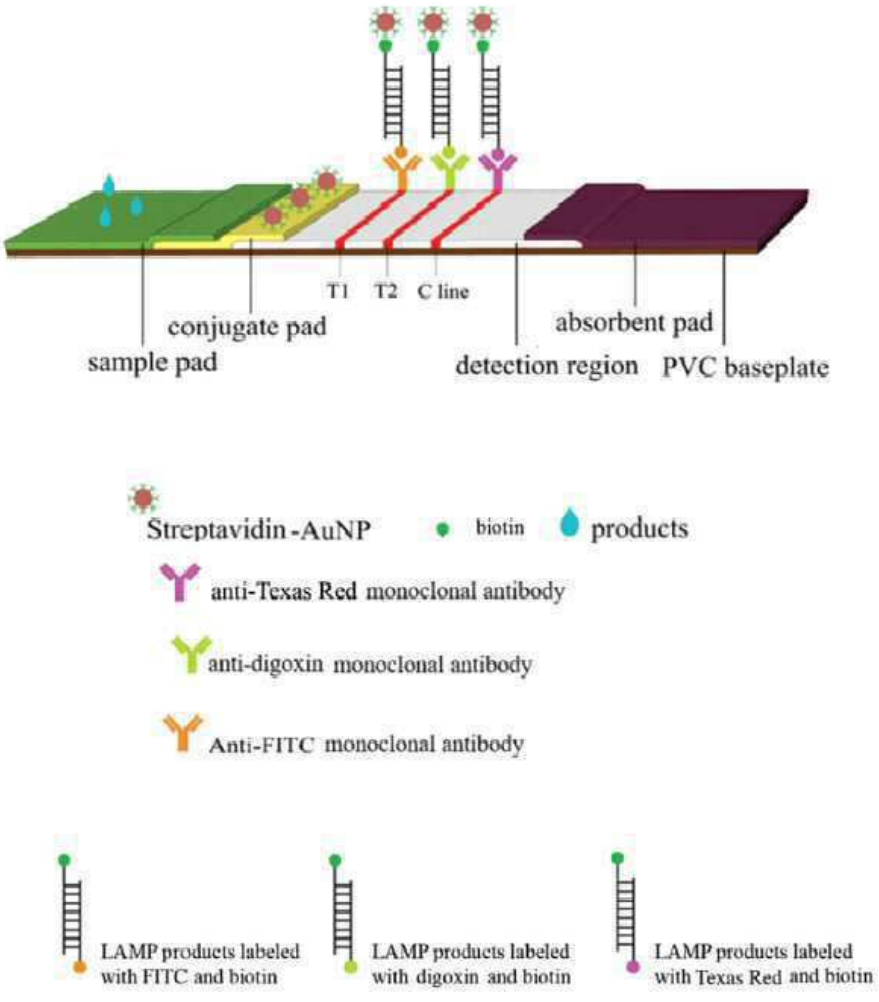
도면1



도면2


1) Ready-to-use universal dipstick (analyte-independent)
Sample application place
2) Addition of sample and analyte-specific solution
3) Incubation
Symbols:
FITC
Biotin
Goldparticle
anti-FITC Antibody
Analyte Detector 1 + 2
Analyte (Protein, antibody, genetic amplicon)
Biotin-Ligand
anti-rabbit Antibody
4) Result:
positive
negative
Control Band
Dipstick
Test Band
Control Band
Dipstick
Test Band

도면3


T1
T2
C line
conjugate pad
sample pad
absorbent pad
detection region
PVC baseplate
Streptavidin-AuNP
biotin
products
anti-Texas Red monoclonal antibody
anti-digoxin monoclonal antibody
Anti-FITC monoclonal antibody
LAMP products labeled with FITC and biotin
LAMP products labeled with digoxin and biotin
LAMP products labeled with Texas Red and biotin

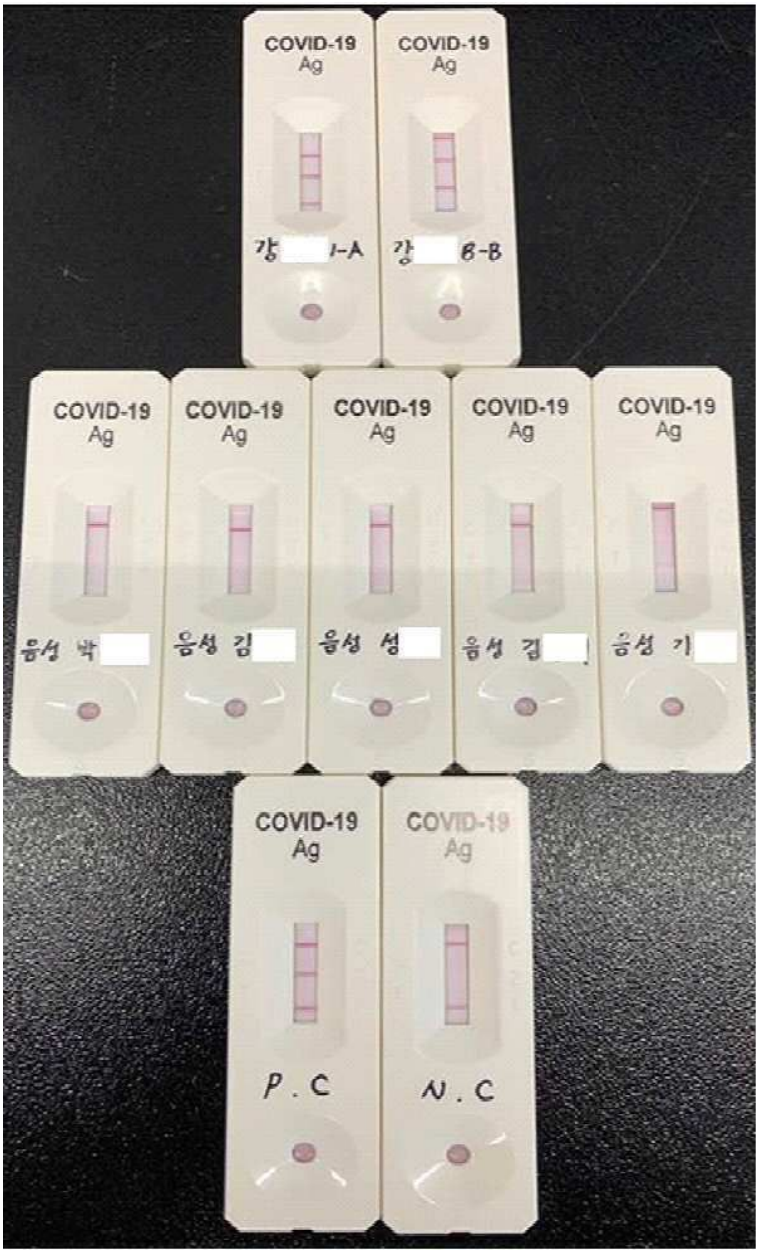
도면4

도면5

도면6

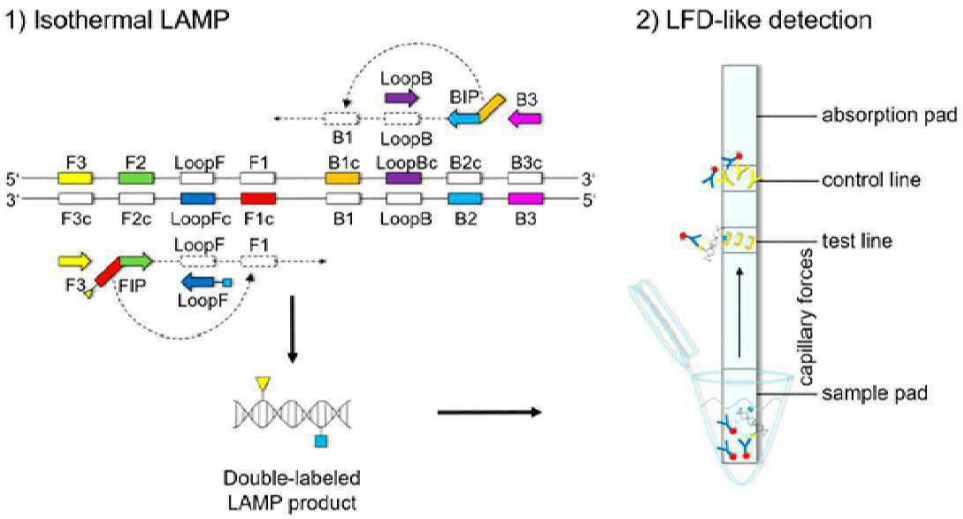
COVID-19
Ag
KRISS 10⁴
COVID-19
Ag
KRISS 10⁵
COVID-19
Ag
KRISS 10⁶
COVID-19
Ag
P.C
COVID-19
Ag
N.C

도면7


COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
COVID-19
Ag
P . C
N . C

도면8

도면9



서 열 목 록

<110> Korea University Research and Buisness Foundation

<120> Primer set for loop-mediated isothermal amplification reaction for diagnosing infectious respiratory diseases

<130> DHP21-185

<140> 10-2021-0047326

<141> 2021-04-12

<160> 25

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS2_F3

<400> 1

ggtcggaagc tcctatgaca 20

<210> 2

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS2_B3

<400> 2

taggcagcct cgagttcg 18

<210> 3

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS2_FIP

<400> 3

gggcttgccg ggtttgatca tgcactagcc gagacga 37

<210> 4

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS2_BIP

<400> 4

cggtccatcg aggatgtcga gtcgccgcag tactggtaga 40

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS2_LF

<400> 5

ctcggtcttg tataggccgt 20

<210> 6

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS2_LB

<400> 6

accgcgcgct gggtcga 17

<210> 7

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS_LAMP3_BL_P3 (FAM)

<400> 7

ccggtcaccg tgctg 15

<210> 8

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> P3_QUANCHER

<400> 8

gtarcgcttc tccttgaaga ac 22

<210> 9

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IC_LAMP_7_F3

<400> 9

tgttgtcctt ctccaggtgc tggaccacga gca 33

<210> 10

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IC_LAMP_7_B3

<400> 10

tggacatcta ccgcaagctg cgttytccar cagggtctgc 40

<210> 11

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IC_LAMP_7_FIP

<400> 11

cggagaaccg aacgctc 17

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> C_LAMP_7_BIP

<400> 12

ccgccgacca aagagtcagc 20

<210> 13

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IC_LAMP_7_FLP

<400> 13

cgggcccgta caaagggaac acccacactc cgcggagaac cgaacgctc 49

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IC_LAMP_7_BLP

<400> 14

ccgataagta tgtccgcaat 20

<210> 15

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IC_LAMP_7_BLP_PROBE3_HEX

<400> 15

gcttcagaca taaaaacatt gt 22

<210> 16

<211> 47

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> P3_QUANCHER

<400> 16

atgcgtaaaa ctcattcaca aagtccaaca cagactttat gagtgtc 47

<210> 17

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS_REF_F3

<400> 17

tgatactctc tgacgatgct gtttaaagtt ctttatgcta gccac 45

<210> 18

<211> 16

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS_REF_B3

<400> 18

gtcttgtctt tarcca 16

<210> 19

<211> 17

<212> DNA

<

213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS_REF_FIP

<400> 19

ccagtgagcg aggactg 17

<210> 20

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS_REF_BIP

<400> 20

tggaccccaa aatcagcg 18

<210> 21

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS_REF_LF

<400> 21

gccttgtcct cgagggaat 19

<210> 22

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SFTS_REF_LB

<400> 22

ccactgcgtt ctccattctg gtaaatgcac cccgcattac g 41

<210> 23

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> probe

<400> 23

cgcgatcaaa acaacgtcgg cccttgccat gttgagtgag a 41

<210> 24

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> probe

<400> 24

tgaatctgag ggtccaccaa a 21

<210> 25

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> probe

<400> 25

cgcgatcaaa acaacgtcgg cccttgccat gttgagtgag a 41