



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0033883
(43) 공개일자 2019년04월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/17 (2006.01) G01N 1/28 (2006.01)
G01N 1/30 (2006.01) G01N 1/36 (2006.01)
H01J 37/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/17 (2013.01)
G01N 1/2806 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0122587
(22) 출원일자 2017년09월22일
심사청구일자 2017년09월22일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
천홍구
서울특별시 성북구 인촌로 73, 인문사회계 하나과
학관 466호 (안암동5가, 고려대학교안암캠퍼스)
(74) 대리인
특허법인 누리

전체 청구항 수 : 총 17 항

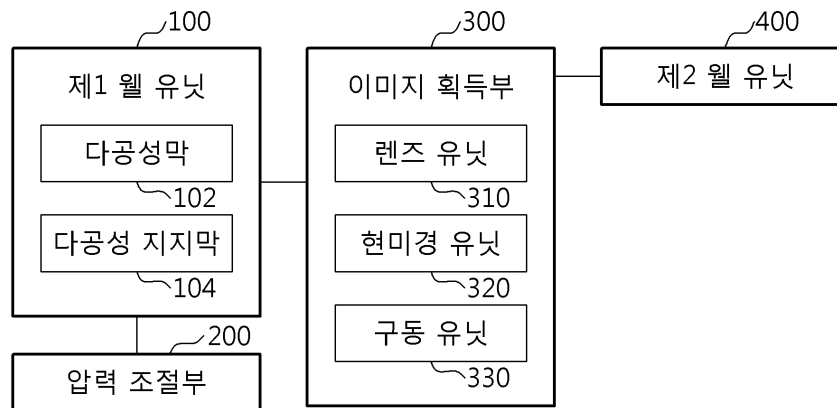
(54) 발명의 명칭 시료 분석 장치 및 방법

(57) 요약

일 실시예에 따른 시료 분석 장치는, 개방된 상단을 통해 검출 대상이 포함된 시료가 주입되고 하단에 상기 검출 대상을 상기 시료로부터 분리시키는 다공성막이 구비되는 웰 유닛; 상기 웰 유닛에 연결되어 상기 다공성막의 상하부 간의 압력차를 발생시키는 압력 조절부; 및 상기 웰 유닛 상에 배치되어 상기 검출 대상에 대한 이미지를 획득하는 이미지 획득부;를 포함하고, 상기 다공성막의 상하부 간의 압력차에 의해 상기 시료가 상기 다공성막을 통해 배출되어 상기 다공성막의 상부에 검출 대상이 위치되고, 상기 다공성막의 상부에 생성된 하이드로젤층에 의해 상기 검출 대상의 위치가 고정된 상태에서 상기 이미지 획득부에 의해 상기 검출 대상에 대한 이미지가 획득될 수 있다.

대표도 - 도1

10



(52) CPC특허분류

G01N 1/2813 (2013.01)

G01N 1/30 (2013.01)

G01N 1/36 (2013.01)

H01J 37/28 (2013.01)

G01N 2021/1765 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

개방된 상단을 통해 검출 대상이 포함된 시료가 주입되고 하단에 상기 검출 대상을 상기 시료로부터 분리시키는 다공성막이 구비되는 웰 유닛;

상기 웰 유닛에 연결되어 상기 다공성막의 상하부 간의 압력차를 발생시키는 압력 조절부; 및

상기 웰 유닛 상에 배치되어 상기 검출 대상에 대한 이미지를 획득하는 이미지 획득부;

를 포함하고,

상기 다공성막의 상하부 간의 압력차에 의해 상기 시료가 상기 다공성막을 통해 배출되어 상기 다공성막의 상부에 검출 대상이 위치되고,

상기 다공성막의 상부에 생성된 하이드로젤층에 의해 상기 검출 대상의 위치가 고정된 상태에서 상기 이미지 획득부에 의해 상기 검출 대상에 대한 이미지가 획득되는 시료 분석 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 웰 유닛은 제1 웰 유닛 및 제2 웰 유닛을 포함하고,

상기 검출 대상은 상기 제1 웰 유닛 내에서 상기 하이드로젤층이 제거된 후에 상기 제2 웰 유닛에 분주되는 시료 분석 장치.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 다공성막의 구멍 크기는 상기 검출 대상의 크기 또는 상기 이미지 획득부의 조사광의 파장에 해당하는 회절한계보다 작게 마련되는 시료 분석 장치.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 웰 유닛은,

상기 다공성막을 지지하는 다공성 지지막;

을 더 포함하고,

상기 다공성 지지막의 구멍 크기는 상기 다공성막의 구멍 크기보다 크게 마련되는 시료 분석 장치.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 이미지 획득부는,

일단이 상기 웰 유닛의 개방된 상단을 통해 삽입되어 상기 다공성막 상에 배치되는 렌즈 유닛; 및

상기 웰 유닛의 상부에서 상기 렌즈 유닛의 타단과 광학적으로 연결되는 현미경 유닛;
을 포함하고,

상기 렌즈 유닛에 의해 상기 검출 대상에 대한 이미지가 릴레이되어 상기 현미경 유닛에 전달되고, 상기 현미경 유닛에서 상기 검출 대상에 대한 이미지를 분석하는 시료 분석 장치.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 이미지 획득부는 상기 제1 웰 유닛의 상부에서 상기 현미경 유닛과 상기 렌즈 유닛을 통해 광을 조사함으로써 광조사와 이미지 획득의 개구수(numerical aperture)를 동일하게 하여 상기 검출 대상에 대한 이미지 해상도를 향상시키는 시료 분석 장치.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 이미지 획득부는,

상기 렌즈 유닛 또는 상기 현미경 유닛을 상기 웰 유닛 상에서 이동시키는 구동 유닛;

을 더 포함하고,

상기 웰 유닛은 어레이 형태로 마련되고,

상기 구동 유닛에 의해 상기 렌즈 유닛 및 상기 현미경 유닛이 상기 어레이 형태의 웰 유닛 상에서 함께 이동하는 시료 분석 장치.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 이미지 획득부는,

상기 렌즈 유닛 또는 상기 현미경 유닛을 상기 웰 유닛 상에서 이동시키는 구동 유닛;

을 더 포함하고,

상기 웰 유닛 및 상기 렌즈 유닛은 어레이 형태로 마련되고,

상기 구동 유닛에 의해 상기 어레이 형태의 렌즈 유닛이 상기 웰 유닛 내에 삽입된 후에, 상기 현미경 유닛이 상기 어레이 형태의 렌즈 유닛 상에서 스캔하는 시료 분석 장치.

청구항 9

미생물 세포가 포함된 시료를 하단에 다공성막이 구비된 제1 웰 유닛 내 주입하는 단계;

상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 상기 시료로부터 분리시키는 단계;

상기 제1 웰 유닛의 다공성막 상에 하이드로겔층을 생성하여 상기 미생물 세포의 위치를 고정시키는 단계;

상기 제1 웰 유닛 내에 상기 미생물 세포를 배양시키기 위한 배양액을 주입하는 단계;

제1 세포 이미지를 획득하는 단계; 및

상기 제1 세포 이미지를 분석하는 단계;

를 포함하고,
 상기 미생물 세포가 상기 하이드로젤층에 의해 위치 고정된 상태에서 상기 배양액에 의해 배양되고,
 상기 제1 세포 이미지를 획득하는 단계에서,
 상기 제1 세포 이미지는 시간차를 두고 복수 개의 이미지로 획득되고, 상기 복수 개의 이미지의 비교를 통해 상기 미생물 세포의 분열 여부 또는 존재 여부가 결정되는 시료 분석 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,
 상기 제1 세포 이미지를 분석하는 단계에서 상기 시료 내 미생물 세포가 존재하는 것으로 결정되면,
 상기 제1 웰 유닛 내에 생성된 하이드로젤층을 제거하여 상기 미생물 세포의 위치 고정을 해제하는 단계;
 상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 하이드로젤 및 배양액으로부터 분리시키는 단계;
 상기 제1 웰 유닛 내에 배양액을 추가 주입하는 단계;
 상기 미생물 세포 및 상기 배양액의 혼합물을 하단에 다공성막이 구비된 제2 웰 유닛에 분주시키는 단계;
 상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 상기 미생물 세포 및 상기 배양액의 혼합물로부터 분리시키는 단계;
 상기 제2 웰 유닛의 다공성막 상에 하이드로젤층을 생성하여 상기 미생물 세포의 위치를 고정시키는 단계;
 상기 제2 웰 유닛 내에 항생제를 주입하는 단계;
 제2 세포에 대한 이미지를 획득하는 단계; 및
 상기 제2 세포에 대한 이미지를 분석하는 단계;
 를 포함하고,
 상기 미생물 세포는 고정된 위치에서 상기 배양액 및 상기 항생제에 의해 분열 또는 사멸하고, 상기 제2 세포에 대한 이미지로부터 상기 미생물 세포의 항생제에 대한 감수성이 결정되는 시료 분석 방법.

청구항 11

제9항에 있어서,
 상기 제1 세포 이미지를 획득하는 단계는,
 상기 제1 웰 유닛 내에 렌즈 유닛을 위치시키는 단계; 및
 상기 렌즈 유닛에 현미경 유닛을 광학적으로 연결하는 단계;
 를 포함하고,
 상기 제1 웰 유닛 내에 렌즈 유닛을 위치시키는 단계에서,
 상기 렌즈 유닛의 일단은 상기 다공성막 및 상기 현미경 유닛 사이에서 상기 배양액 내에 배치되는 시료 분석 방법.

청구항 12

제11항에 있어서,
 상기 제1 웰 유닛 내에 렌즈 유닛을 위치시키는 단계 전에,
 상기 렌즈 유닛을 소독하는 단계;

를 더 포함하고,

상기 렌즈 유닛은 자외선 조사, 용액에 의한 세척, 초음파 세척 또는 가열에 의해 소독되는 시료 분석 방법.

청구항 13

제9항에 있어서,

상기 제1 세포 이미지를 분석하는 단계는,

상기 미생물 세포에 대하여 특이적인 염색을 하는 단계;

를 포함하고,

상기 특이적인 염색은 그람 염색, 세포막에 특이적인 염색, 세포액에 특이적인 염색 또는 DNA 서열에 특이적인 염색을 포함하는 시료 분석 방법.

청구항 14

제9항에 있어서,

상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 상기 시료로부터 분리시키는 단계는,

상기 다공성막의 상하부 간의 압력차를 발생시키는 단계;

를 포함하고,

상기 다공성막의 상하부 간의 압력차에 의해 상기 미생물 세포가 상기 다공성막의 상부에 위치되고 상기 시료는 상기 다공성막을 통해 배출되는 시료 분석 방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 상기 시료로부터 분리시키는 단계는,

상기 제1 웰 유닛 내에 버퍼 용액을 주입하는 단계;

를 더 포함하고,

상기 다공성막의 상하부 간의 압력차에 의해 상기 버퍼 용액이 상기 다공성막을 통하여 배출되는 시료 분석 방법.

청구항 16

제10항에 있어서,

상기 제1 웰 유닛 내에 하이드로겔층을 생성하여 상기 미생물 세포의 위치를 고정시키는 단계는,

상기 제1 웰 유닛 내에 알지네이트 용액을 주입하는 단계; 및

상기 제1 웰 유닛 내에 칼슘 용액을 주입하는 단계;

를 포함하고,

상기 제1 웰 유닛 내에 생성된 하이드로겔층을 제거하여 상기 미생물 세포의 위치 고정을 해제하는 단계는,

상기 제1 웰 유닛 내에 1가 양이온 용액을 주입하는 단계;

를 포함하는 시료 분석 방법.

청구항 17

제10항에 있어서,

상기 제1 웰 유닛 내에 하이드로젤층을 생성하여 상기 미생물 세포의 위치를 고정시키는 단계는,

상기 제1 웰 유닛 내에 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)를 주입하는 단계; 및

상기 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드가 가교되도록 상기 제1 웰 유닛에 열을 가하는 단계;

를 포함하고,

상기 제1 웰 유닛 내에 생성된 하이드로젤층을 제거하여 상기 미생물 세포의 위치 고정을 해제하는 단계는,

상기 제1 웰 유닛의 온도를 낮추는 단계;

를 포함하는 시료 분석 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 시료 분석 장치 및 방법에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 혈액 샘플 내 박테리아의 존재 여부 및 박테리아의 항생제 감수성 검사를 수행할 수 있는 시료 분석 장치 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 박테리아 감염으로 인해 패혈증이 발생하는데, 현재 임상에서 사용되는 방법으로는, 증상 발현 이후 패혈증을 진단하는 데까지 혈액배양을 위해 하루 정도 시간이 소요되고, 진단 이후 적절한 항생제 투여를 위해 다양한 항생제 농도에 따른 박테리아의 항생제 감수성 검사를 실시하는 데 약 하루가 더 소요된다.

[0003] 이와 같이 패혈증 증상 발현 이후 항생제 투여까지 약 40시간 정도가 소모되는데, 1시간이 늦어질 때마다 환자의 생존율은 10% 정도 감소한다. 따라서 이 시간을 단축하기 위한 많은 연구들이 진행되고 있다.

[0004] 예를 들어, 2004년 10월 14일에 출원된 KR10-2014-0138535에는 '다양한 종류의 항생제 및 농도에서 반응하는 미생물 세포의 모양 및 성장 변화 분석을 이용한 신속한 항균제 감수성 검사 방법 및 이를 위한 자동화된 세포 이미지 분석 시스템'에 대하여 개시되어 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 일 실시예에 따른 목적은 빠른 시간 내에 저비용으로 혈액 샘플 내 박테리아의 존재 여부 및 박테리아의 항생제 감수성 검사를 수행할 수 있어, 질병 진단을 신속하게 수행할 수 있는 시료 분석 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

[0007] 일 실시예에 따른 목적은 환자로부터 혈액 샘플 채취 후에 혈액 배양 단계를 별도로 거치지 않고, 박테리아의 존재 유무를 1시간 내에 판단할 수 있으며, 총 4시간 내에 다양한 항생제의 다양한 농도에 대한 감수성 검사를 수행할 수 있는 시료 분석 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

[0008] 일 실시예에 따른 목적은 나노 다공성막을 이용하여 혈액 샘플로부터 박테리아를 신속하게 검출할 수 있는 시료 분석 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

[0009] 일 실시예에 따른 목적은 박테리아가 시료로부터 분리된 후 위치 고정된 상태에서 배양액에 의해 배양되고, 배양액 내에서 박테리아와 근접하게 렌즈 유닛을 위치시킴으로써 선명한 이미지를 획득할 수 있는 시료 분석 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

- [0010] 일 실시예에 따른 목적은 박테리아와 배양액이 혼합된 박테리아 샘플이 위치 고정된 상태에서 항생제와 반응하고, 항생제가 포함된 배양액 내에서 박테리아와 근접하게 렌즈 유닛을 위치시킴으로써 선명한 이미지를 획득할 수 있는 시료 분석 장치 및 방법을 제공하는 것이다.
- [0011] 일 실시예에 따른 목적은 웰 유닛 내에 용이하게 제거 가능한 하이드로젤층을 형성함으로써, 혈액 샘플 내 박테리아의 존재 여부를 검출한 후에 용이하게 미생물 세포 샘플을 분주시킬 수 있는 시료 분석 장치 및 방법을 제공하는 것이다.
- [0012] 일 실시예에 따른 목적은 패혈증 진단 및 적절한 항생제 투여를 위한 검사에 활용될 수 있고, 결핵균의 항생제 감수성 검사에도 활용될 수 있어 패혈증 또는 결핵에 의한 환자의 사망률을 감소시킬 수 있는 시료 분석 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 상기 목적을 달성하기 위한 일 실시예에 따른 시료 분석 장치는, 개방된 상단을 통해 검출 대상이 포함된 시료가 주입되고 하단에 상기 검출 대상을 상기 시료로부터 분리시키는 다공성막이 구비되는 웰 유닛; 상기 웰 유닛에 연결되어 상기 다공성막의 상하부 간의 압력차를 발생시키는 압력 조절부; 및 상기 웰 유닛 상에 배치되어 상기 검출 대상에 대한 이미지를 획득하는 이미지 획득부;를 포함하고, 상기 다공성막의 상하부 간의 압력차에 의해 상기 시료가 상기 다공성막을 통해 배출되어 상기 다공성막의 상부에 검출 대상이 위치되고, 상기 다공성막의 상부에 생성된 하이드로젤층에 의해 상기 검출 대상의 위치가 고정된 상태에서 상기 이미지 획득부에 의해 상기 검출 대상에 대한 이미지가 획득될 수 있다.
- [0014] 일 측에 의하면, 상기 웰 유닛은 제1 웰 유닛 및 제2 웰 유닛을 포함하고, 상기 검출 대상은 상기 제1 웰 유닛 내에서 상기 하이드로젤층이 제거된 후에 상기 제2 웰 유닛에 분주될 수 있다.
- [0015] 일 측에 의하면, 상기 다공성막의 구멍 크기는 상기 검출 대상의 크기 또는 상기 이미지 획득부의 조사광의 파장에 해당하는 회절한계보다 작게 마련될 수 있다.
- [0016] 일 측에 의하면, 상기 웰 유닛은, 상기 다공성막을 지지하는 다공성 지지막;을 더 포함하고, 상기 다공성 지지막의 구멍 크기는 상기 다공성막의 구멍 크기보다 크게 마련될 수 있다.
- [0017] 일 측에 의하면, 상기 이미지 획득부는, 일단이 상기 웰 유닛의 개방된 상단을 통해 삽입되어 상기 시료 내에 배치되는 렌즈 유닛; 및 상기 웰 유닛의 상부에서 상기 렌즈 유닛의 타단과 광학적으로 연결되는 현미경 유닛을 포함하고, 상기 렌즈 유닛에 의해 상기 검출 대상에 대한 이미지가 릴레이되어 상기 현미경 유닛에 전달되고, 상기 현미경 유닛에서 상기 검출 대상에 대한 이미지를 분석할 수 있다.
- [0018] 일 측에 의하면, 상기 이미지 획득부는 상기 제1 웰 유닛의 상부에서 상기 현미경 유닛과 상기 렌즈 유닛을 통해 광을 조사함으로써 광조사와 이미지 획득의 개구수(numerical aperture)를 동일하게 하여 상기 검출 대상에 대한 이미지 해상도를 향상시킬 수 있다.
- [0019] 일 측에 의하면, 상기 이미지 획득부는, 상기 렌즈 유닛 또는 상기 현미경 유닛을 상기 웰 유닛 상에서 이동시키는 구동 유닛;을 더 포함하고, 상기 웰 유닛은 어레이 형태로 마련되고, 상기 구동 유닛에 의해 상기 렌즈 유닛 및 상기 현미경 유닛이 상기 어레이 형태의 웰 유닛 상에서 함께 이동할 수 있다.
- [0020] 일 측에 의하면, 상기 이미지 획득부는, 상기 렌즈 유닛 또는 상기 현미경 유닛을 상기 웰 유닛 상에서 이동시키는 구동 유닛;을 더 포함하고, 상기 웰 유닛 및 상기 렌즈 유닛은 어레이 형태로 마련되고, 상기 구동 유닛에 의해 상기 어레이 형태의 렌즈 유닛이 상기 웰 유닛 내에 삽입된 후에, 상기 현미경 유닛이 상기 어레이 형태의 렌즈 유닛 상에서 스캔할 수 있다.
- [0021] 상기 목적을 달성하기 위한 일 실시예에 따른 시료 분석 방법은, 미생물 세포가 포함된 시료를 하단에 다공성막이 구비된 제1 웰 유닛 내 주입하는 단계; 상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 상기 시료로부터 분리시키는 단계; 상기 제1 웰 유닛의 다공성막 상에 하이드로젤층을 생성하여 상기 미생물 세포의 위치를 고정시키는 단계; 상기 제1 웰 유닛 내에 상기 미생물 세포를 배양시키기 위한 배양액을 주입하는 단계; 제1 세포 이미지를 획득하는 단계; 및 상기 제1 세포 이미지를 분석하는 단계;를 포함하고, 상기 미생물 세포가 상기 하이드로젤층에 의해 위치 고정된 상태에서 상기 배양액에 의해 배양되고, 상기 제1 세포 이미지를 획득하는 단계에서, 상기 제1 세포 이미지는 시간차를 두고 복수 개의 이미지로 획득되고, 상기 복수 개의 이미지의 비교를 통해 상기 미생물 세포의 분열 여부 또는 존재 여부가 결정될 수 있다.

- [0022] 일 측에 의하면, 상기 제1 세포 이미지를 분석하는 단계에서 상기 시료 내 미생물 세포가 존재하는 것으로 결정되면, 상기 제1 웰 유닛 내에 생성된 하이드로젤층을 제거하여 상기 미생물 세포의 위치 고정을 해제하는 단계; 상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 하이드로젤 및 배양액으로부터 분리시키는 단계; 상기 제1 웰 유닛 내에 상기 배양액을 주입하는 단계; 상기 미생물 세포 및 상기 배양액의 혼합물을 하단에 다공성막이 구비된 제2 웰 유닛에 분주시키는 단계; 상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 상기 미생물 세포 및 상기 배양액의 혼합물로부터 분리시키는 단계; 상기 제2 웰 유닛의 다공성막 상에 하이드로젤층을 생성하여 상기 미생물 세포의 위치를 고정시키는 단계; 상기 제2 웰 유닛 내에 항생제를 주입하는 단계; 제2 세포에 대한 이미지를 획득하는 단계; 및 상기 제2 세포에 대한 이미지를 분석하는 단계;를 포함하고, 상기 미생물 세포는 고정된 위치에서 상기 배양액 및 상기 항생제에 의해 분열 또는 사멸하고, 상기 제2 세포에 대한 이미지로부터 상기 미생물 세포의 항생제에 대한 감수성이 결정될 수 있다.
- [0023] 일 측에 의하면, 상기 제1 세포 이미지를 획득하는 단계는, 상기 제1 웰 유닛 내에 렌즈 유닛을 위치시키는 단계; 및 상기 렌즈 유닛에 현미경 유닛을 광학적으로 연결하는 단계;를 포함하고, 상기 제1 웰 유닛 내에 렌즈 유닛을 위치시키는 단계에서, 상기 렌즈 유닛의 일단은 상기 다공성막 및 상기 현미경 유닛 사이에서 상기 배양액 내에 배치될 수 있다.
- [0024] 일 측에 의하면, 상기 제1 웰 유닛 내에 렌즈 유닛을 위치시키는 단계 전에, 상기 렌즈 유닛을 소독하는 단계;를 더 포함하고, 상기 렌즈 유닛은 자외선 조사, 용액에 의한 세척, 초음파 세척 또는 가열에 의해 소독될 수 있다.
- [0025] 일 측에 의하면, 상기 제1 세포 이미지를 분석하는 단계는, 상기 미생물 세포에 대하여 특이적인 염색을 하는 단계;를 포함하고, 상기 특이적인 염색은 그람 염색, 세포막에 특이적인 염색, 세포액에 특이적인 염색 또는 DNA 서열에 특이적인 염색을 포함할 수 있다.
- [0026] 일 측에 의하면, 상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 상기 시료로부터 분리시키는 단계는, 상기 다공성막의 상하부 간의 압력차를 발생시키는 단계;를 포함하고, 상기 다공성막의 상하부 간의 압력차에 의해 상기 미생물 세포가 상기 다공성막의 상부에 위치되고 상기 시료는 상기 다공성막을 통해 배출될 수 있다.
- [0027] 일 측에 의하면, 상기 다공성막에 의해 상기 미생물 세포를 상기 시료로부터 분리시키는 단계는, 상기 제1 웰 유닛 내에 버퍼 용액을 주입하는 단계;를 더 포함하고, 상기 다공성막의 상하부 간의 압력차에 의해 상기 버퍼 용액이 상기 다공성막을 통하여 배출될 수 있다.
- [0028] 일 측에 의하면, 상기 제1 웰 유닛 내에 하이드로젤층을 생성하여 상기 미생물 세포의 위치를 고정시키는 단계는, 상기 제1 웰 유닛 내에 알지네이트 용액을 주입하는 단계; 및 상기 제1 웰 유닛 내에 칼슘 용액을 주입하는 단계;를 포함하고, 상기 제1 웰 유닛 내에 생성된 하이드로젤층을 제거하여 상기 미생물 세포의 위치 고정을 해제하는 단계는, 상기 제1 웰 유닛 내에 1가 양이온 용액을 주입하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0029] 일 측에 의하면, 상기 제1 웰 유닛 내에 하이드로젤층을 생성하여 상기 미생물 세포의 위치를 고정시키는 단계는, 상기 제1 웰 유닛 내에 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)를 주입하는 단계; 및 상기 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드가 가교되도록 상기 제1 웰 유닛에 열을 가하는 단계;를 포함하고, 상기 제1 웰 유닛 내에 생성된 하이드로젤층을 제거하여 상기 미생물 세포의 위치 고정을 해제하는 단계는, 상기 제1 웰 유닛의 온도를 낮추는 단계;를 포함할 수 있다.
- 발명의 효과**
- [0030] 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법에 의하면, 빠른 시간 내에 저비용으로 혈액 샘플 내 박테리아의 존재 여부 및 박테리아의 항생제 감수성 검사를 수행할 수 있어, 질병 진단을 신속하게 수행할 수 있다.
- [0031] 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법에 의하면, 환자로부터 혈액 샘플 채취 후에 혈액 배양 단계를 별도로 거치지 않고, 박테리아의 존재 유무를 1시간 내에 판단할 수 있으며, 총 4시간 내에 다양한 항생제의 다양한 농도에 대한 감수성 검사를 수행할 수 있다.
- [0032] 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법에 의하면, 나노 다공성막을 이용하여 혈액 샘플로부터 박테리아를 신속하게 검출할 수 있다.
- [0033] 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법에 의하면, 박테리아가 시료로부터 분리된 후 위치 고정된 상태에서 배양액에 의해 배양되고, 배양액 내에서 박테리아와 근접하게 렌즈 유닛을 위치시킴으로써 선명한 이미지를 획득

득할 수 있다.

- [0034] 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법에 의하면, 박테리아와 배양액이 혼합된 박테리아 샘플이 위치 고정된 상태에서 항생제와 반응하고, 항생제가 포함된 배양액 내에서 박테리아와 근접하게 렌즈 유닛을 위치시킴으로써 선명한 이미지를 획득할 수 있다.
- [0035] 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법에 의하면, 웰 유닛 내에 용이하게 제거 가능한 하이드로젤층을 형성함으로써, 혈액 샘플 내 박테리아의 존재 여부를 검출한 후에 용이하게 미생물 세포 샘플을 분주시킬 수 있다.
- [0036] 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법에 의하면, 패혈증 진단 및 적절한 항생제 투여를 위한 검사에 활용될 수 있고, 결핵균의 항생제 감수성 검사에도 활용될 수 있어 패혈증 또는 결핵에 의한 환자의 사망률을 감소시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0037] 도 1은 일 실시예에 따른 시료 분석 장치의 구성을 도시한다.
- 도 2는 제1 웰 유닛을 도시한다.
- 도 3은 렌즈 유닛의 광학 설계 모습을 도시한다.
- 도 4(a) 내지 (c)는 어레이 형태의 웰 유닛 및 렌즈 유닛과 현미경 유닛에 의해 스캐닝되는 모습을 도시한다.
- 도 5 및 6은 일 실시예에 따른 시료 분석 방법을 나타내는 순서도이다.
- 도 7은 혈액 샘플 내 박테리아의 존재 여부를 검출하는 모습을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0038] 이하, 실시예들을 예시적인 도면을 통해 상세하게 설명한다. 각 도면의 구성요소들에 참조부호를 부가함에 있어서, 동일한 구성요소들에 대해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 부호를 가지도록 하고 있음에 유의해야 한다. 또한, 실시예를 설명함에 있어, 관련된 공지 구성 또는 기능에 대한 구체적인 설명이 실시예에 대한 이해를 방해한다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명은 생략한다.
- [0039] 또한, 실시예의 구성 요소를 설명하는 데 있어서, 제1, 제2, A, B, (a), (b) 등의 용어를 사용할 수 있다. 이러한 용어는 그 구성 요소를 다른 구성 요소와 구별하기 위한 것일 뿐, 그 용어에 의해 해당 구성 요소의 본질이나 차례 또는 순서 등이 한정되지 않는다. 어떤 구성 요소가 다른 구성요소에 "연결", "결합" 또는 "접속"된다고 기재된 경우, 그 구성 요소는 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되거나 접속될 수 있지만, 각 구성 요소 사이에 또 다른 구성 요소가 "연결", "결합" 또는 "접속"될 수도 있다고 이해되어야 할 것이다.
- [0040] 어느 하나의 실시예에 포함된 구성요소와, 공통적인 기능을 포함하는 구성요소는, 다른 실시예에서 동일한 명칭을 사용하여 설명하기로 한다. 반대되는 기재가 없는 이상, 어느 하나의 실시예에 기재한 설명은 다른 실시예에도 적용될 수 있으며, 중복되는 범위에서 구체적인 설명은 생략하기로 한다.
- [0041] 도 1은 일 실시예에 따른 시료 분석 장치의 구성을 도시하고, 도 2는 제1 웰 유닛을 도시하고, 도 3은 렌즈 유닛의 광학 설계 모습을 도시하고, 도 4(a) 내지 (c)는 어레이 형태의 웰 유닛 및 렌즈 유닛과 현미경 유닛에 의해 스캐닝되는 모습을 도시한다.
- [0042] 도 1을 참조하여, 일 실시예에 따른 시료 분석 장치(10)는 제1 웰 유닛(100), 압력 조절부(200), 이미지 획득부(300) 및 제2 웰 유닛(400)을 포함할 수 있다.
- [0043] 이때, 일 실시예에 따른 시료 분석 장치(10)는 시료 내 검출 대상의 존재 여부를 검출하고, 검출 대상의 기능을 검사하기 위한 것으로서, 이하에서는 시료가 혈액 샘플이고 검출 대상이 박테리아와 같은 미생물 세포인 경우를 예로 들어 설명하기로 한다.
- [0044] 특히, 도 2를 참조하여, 제1 웰 유닛(100)은 개방된 상단 및 다공성막(102)이 장착된 하단을 구비할 수 있다.
- [0045] 이때, 개방된 상단을 통해 박테리아가 포함된 혈액 샘플이 주입될 수 있다. 예를 들어, 혈액 샘플은 환자의 혈액 샘플에서 혈구 세포를 제거하고, 박테리아는 포함하고 있는 혈장(plasma)이 될 수 있다.
- [0046] 상기 다공성막(102)에 구비된 구멍 크기는 10nm 내지 1μm로 마련될 수 있으며, 예를 들어 1-2μm 수준인 박테리

아의 크기보다 작게 마련될 수 있다.

- [0047] 또한, 이미지 분석을 위해 조사하는 조명광의 파장에 의한 회절한계(diffraction limit)보다 작게 마련될 수 있다. 구멍 크기가 회절한계보다 작아지면 각 구멍을 통해 산란되는 빛을 줄일 수 있어 선명한 이미지를 획득하는 데 도움이 될 수 있다.
- [0048] 제1 웰 유닛(100)의 개방된 상단을 통해 박테리아가 포함된 혈장이 주입되는 경우 다공성막(102)을 통해 혈장은 배출되는 반면, 박테리아는 다공성막(102)의 상측에 유지되어, 혈장으로부터 박테리아가 분리될 수 있다.
- [0049] 또한, 제1 웰 유닛(100)은 다공성 지지막(104)을 더 포함할 수 있다.
- [0050] 상기 다공성 지지막(104)은 다공성막(102)의 기계적 안정성을 높이기 위한 것으로서, 다공성막(102)의 하측에 배치되어 다공성막(102)을 지지할 수 있다.
- [0051] 이때, 다공성 지지막(104)에 구비된 구멍의 크기는 다공성막(102)에 구비된 구멍의 크기보다 크게 마련될 수 있다. 이에 의해 다공성막(102)에서 박테리아와 분리된 혈장이 다공성 지지막(104)에 구비된 구멍을 통해서 원활하게 배출될 수 있다.
- [0052] 상기 다공성 지지막(104)의 배치 및 구조는 다양하게 마련될 수 있으며, 다공성막(102)을 효과적으로 지지할 수 있고, 다공성막(102)에서 박테리아와 분리된 혈장이 다공성 지지막(104)에 구비된 구멍을 통해서 원활하게 배출될 수 있다면 어느 것이든지 가능하다.
- [0053] 전술된 제1 웰 유닛(100)에는 압력 조절부(200)가 연결될 수 있다.
- [0054] 상기 압력 조절부(200)는 제1 웰 유닛(100)에서 다공성막(102)의 상하부 간의 압력차를 발생시키기 위한 것으로서, 구체적으로 도시되지는 않았으나, 제1 웰 유닛(100)의 하단에 연결되어 제1 웰 유닛(100)에 대하여 음압이 걸리게 할 수 있다.
- [0055] 이러한 압력 조절부(200)의 석션 기능을 통해 혈장 샘플이 다공성막(102)을 통해서 배출되어, 다공성막(102)의 상부에는 혈장 샘플 내 포함된 박테리아가 위치되고 다공성막(102)의 하부에는 박테리아가 제거된 혈장 샘플이 배출될 수 있다.
- [0056] 이때, 압력 조절부(200)에 의해 가해지는 압력이 너무 강하게 되면, 박테리아가 파괴되어 다공성막(102)을 통하여 배출될 수 있으므로, 압력 조절부(200)는 제1 웰 유닛(100)에 박테리아가 파괴되지 정도의 압력을 가하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0057] 이와 같이 제1 웰 유닛(100)은 다공성막(102) 및 압력 조절부(200)를 이용함으로써, 일반적인 원심분리기(centrifuge)를 사용하지 않고도, 혈장으로부터 박테리아를 용이하게 분리시킬 수 있다.
- [0058] 한편, 전술된 제1 웰 유닛(100) 상에는 이미지 획득부(300)가 배치되어, 박테리아에 대한 이미지를 획득할 수 있다.
- [0059] 상기 이미지 획득부(300)는 이미지 분석을 통해서 박테리아의 존재 및 분열 여부를 검출하기 위한 것으로서, 렌즈 유닛(310), 현미경 유닛(320) 및 구동 유닛(330)을 포함할 수 있다.
- [0060] 상기 렌즈 유닛(310)은 비교적 짧은 working distance를 갖는 릴레이 렌즈(relay lens), 예를 들어, GRIN lens 형태의 rod lens로 마련될 수 있으며, 다공성막(102) 상의 박테리아 이미지를 릴레이시켜 현미경 유닛(320)으로 전달할 수 있도록 도 3에 도시된 바와 같이 광학 설계될 수 있다.
- [0061] 이때, 렌즈 유닛(310)의 공기 중 (현미경 유닛(320)의 대물렌즈 측) working distance는 0.97mm보다 작고, 물속 (제1 웰 유닛(100) 내부) working distance는 1.3mm보다 작게 마련될 수 있다.
- [0062] 또한, 렌즈 유닛(310)의 일단은 제1 웰 유닛(100)의 개방된 상단을 통해서 삽입되어 현미경 유닛(320)의 대물렌즈와 다공성막(102) 사이에 위치될 수 있다.
- [0063] 이때, 렌즈 유닛(310)은 다공성막(102)에 인접하게 배치될 수 있으며, 제1 웰 유닛(100) 내에 배양액이 주입되는 경우, 렌즈 유닛(310)을 배양액 내에 직접 담금으로써 다공성막(102) 상의 박테리아에 대한 선명한 이미지를 획득할 수 있다.
- [0064] 일반적으로 다공성막(102)은 투명하지 않기 때문에 제1 웰 유닛(100)의 하부에서 이미지를 획득하기 어렵고, 현미경 유닛(320)에 구비된 대물렌즈의 초점거리가 짧기 때문에 제1 웰 유닛(100)의 상부에서 선명한 이미지를 획득

득하기가 어려울 수 있다.

- [0065] 따라서 렌즈 유닛(310)이 릴레이 렌즈로 마련되어 제1 웰 유닛(100) 내에서 다공성막(102)과 현미경 유닛(320)에 구비된 대물렌즈 사이에 위치됨으로써 렌즈 유닛(310)을 통해 획득된 다공성막(102) 상의 박테리아에 대한 선명한 이미지가 현미경 유닛(320)에 전달될 수 있다.
- [0066] 또한, 렌즈 유닛(310)이 제1 웰 유닛(100)의 개방된 상단을 통해서 삽입되기 전에, 제1 웰 유닛(100)의 다공성막(102) 상에 하이드로젤층을 생성하여 다공성막(102) 상에 분리된 박테리아의 위치를 고정하고 제1 웰 유닛(100) 내에 배양액을 주입하여 박테리아를 배양하여, 렌즈 유닛(310)과 일정한 거리에 박테리아가 위치되게 함으로써 auto focusing 등과 같은 이미지 획득 작업이 더욱 수월하게 될 수 있다.
- [0067] 전술된 렌즈 유닛(310)에는 현미경 유닛(320)이 광학적으로 연결될 수 있다.
- [0068] 구체적으로, 현미경 유닛(320)은 제1 웰 유닛(100)의 상부에서 렌즈 유닛(310)의 타단과 광학적으로 연결될 수 있다. 예를 들어, 렌즈 유닛(310)의 타단과 현미경 유닛(320)의 대물렌즈가 서로 인접하게 배치되어, 렌즈 유닛(310)에 의해 릴레이된 다공성막(102) 상의 박테리아 이미지가 대물렌즈에 전달될 수 있다.
- [0069] 또한, 현미경 유닛(320)은 렌즈 유닛(310)에 의해 릴레이된 다공성막(102) 상의 박테리아 이미지를 분석할 수 있다. 예를 들어, 현미경 유닛(320)은 다공성막(102) 상의 박테리아 이미지를 분석함으로써 박테리아에 대한 이미지를 획득하여 박테리아의 존재 및 분열 여부를 검출할 수 있다.
- [0070] 이때, 현미경 유닛(320)은 렌즈 유닛(310)을 통해서 시간차를 두고 복수 개의 이미지를 획득하고, 복수 개의 이미지의 비교를 통하여 박테리아의 존재 여부 또는 박테리아의 분열 여부를 검출할 수 있다.
- [0071] 게다가, 제1 웰 유닛(100)의 상부에서 현미경 유닛(320) 및 렌즈 유닛(310)을 통해 광을 조사함으로써 광조사와 이미지 획득의 개구수(numerical aperture)를 동일하게 하여 박테리아에 대한 이미지 해상도를 향상시킬 수 있다.
- [0072] 한편, 렌즈 유닛(310) 또는 현미경 유닛(320)에는 구동 유닛(330)이 연결될 수 있다.
- [0073] 상기 구동 유닛(330)은 예를 들어 XY 또는 XYZ축 구동 스테이지로 마련될 수 있으며, 렌즈 유닛(310) 또는 현미경 유닛(320)을 제1 웰 유닛(100) 상에서 이동시킬 수 있다.
- [0074] 구체적으로, 구동 유닛(330)은 렌즈 유닛(310)을 제1 웰 유닛(100) 내에 삽입시킨 후에, 현미경 유닛(320)을 렌즈 유닛(310)에 광학적으로 연결시킬 수 있다.
- [0075] 특히, 도 4(a) 내지 (c)에 도시된 바와 같이, 제1 웰 유닛(100) 및 렌즈 유닛(310)이 어레이 형태로 마련된 경우, 구동 유닛(330)에 의해 어레이 형태의 렌즈 유닛(310)이 어레이 형태의 제1 웰 유닛(100)(예를 들어, 96 well plate) 내에 삽입된 후에, 구동 유닛(330)에 의해 현미경 유닛(320)이 어레이 형태의 렌즈 유닛(310) 상에서 이동되면서 렌즈 유닛(310)에 의해 획득된 이미지를 스캐닝할 수 있다.
- [0076] 또는, 제1 웰 유닛(100)이 어레이 형태(예를 들어, 96 well plate)로 마련된 경우, 구동 유닛(330)에 의해 렌즈 유닛(310) 및 현미경 유닛(320)이 어레이 형태의 제1 웰 유닛(100) 상에서 함께 이동할 수 있다.
- [0077] 예를 들어, 렌즈 유닛(310) 및 현미경 유닛(320)이 어레이 형태의 제1 웰 유닛(100) 중 하나에서 제1 이미지를 획득한 후에, 어레이 형태의 제1 웰 유닛(100) 외부에 위치한 또는 어레이 형태의 제1 웰 유닛(100) 중 다른 하나에 위치한 세척부로 이동해 렌즈 유닛(310)을 세척하고, 어레이 형태의 제1 웰 유닛(100) 중 다른 하나로 이동한 후에, 제2 이미지를 획득할 수 있다.
- [0078] 다시, 도 1을 참조하여, 제2 웰 유닛(400)은 제1 웰 유닛(100)과 유사한 구성을 구비할 수 있다.
- [0079] 구체적으로, 도 2에 도시된 바와 같이 제2 웰 유닛(400) 또한 제1 유닛(100)과 마찬가지로 다공성막을 구비하고 하단으로 용액을 배출시켜 박테리아만 다공성막에 위치시킨 후 하이드로젤층을 생성하여 박테리아의 위치를 고정하고 항생제를 처리하여 이미지 분석을 수행할 수 있다.
- [0080] 상기 제2 웰 유닛(400)은 개방된 상단을 구비하고, 개방된 상단을 통해서 제1 웰 유닛(100)으로부터 분주된 박테리아 샘플(예를 들어, 박테리아 및 배양액의 혼합물)이 내부에 수용될 수 있다.
- [0081] 구체적으로, 이미지 획득부(300)에 의해 제1 웰 유닛(100)에 위치한 다공성막 상의 이미지 또는 박테리아에 대한 이미지를 획득한 후에, 제1 웰 유닛(100) 내에 형성된 하이드로젤층을 제거한다. 그리고 제1 웰 유닛(100) 하단에 음압을 가해 박테리아는 다공성막을 통과하지 못하는 상태에서 녹은 하이드로젤을 배출시키고 다시 배양

액을 주입하여 박테리아가 배양액 내에 회수되게 한 후에, 박테리아 및 배양액이 혼합된 박테리아 샘플이 제1 웰 유닛(100)으로부터 제2 웰 유닛(400)에 분주될 수 있다.

- [0082] 전술된 바와 같이 제2 웰 유닛(400)에서 박테리아의 항생제 감수성 검사를 수행하기 위해서, 제2 웰 유닛(400) 내에는 박테리아와 반응하여 박테리아를 사멸시킬 수 있는 항생제가 주입될 수 있고, 박테리아와 항생제가 반응한 후에 전술된 이미지 획득부(300)가 제2 웰 유닛(400) 내에 배치되어 박테리아에 대한 이미지를 획득할 수 있다.
- [0083] 이때, 제2 웰 유닛(400) 내에 항생제가 주입되기 전에, 제2 웰 유닛(400)의 다공성막 상에 하이드로젤층을 생성하여 박테리아의 위치를 고정시킬 수 있다.
- [0084] 한편, 제2 웰 유닛(400)에 항생제를 주입하고 일정 시간 경과 후에, 렌즈 유닛(310)의 일단이 제2 웰 유닛(400)의 개방된 상단을 통해 삽입되어 다공성막 상에 배치되고, 제2 웰 유닛(400)의 상부에서 렌즈 유닛(310)의 타단과 현미경 유닛(320)이 광학적으로 연결될 수 있다. 그런 다음, 렌즈 유닛(310)에 의해 박테리아 샘플의 이미지 또는 다공성막 상의 이미지가 텔레이되어 현미경 유닛(320)에 전달되고, 현미경 유닛(320)에서 박테리아 샘플의 이미지 또는 다공성막 상의 이미지가 분석될 수 있다.
- [0085] 이때, 제2 웰 유닛(400)이 어레이 형태(예를 들어, 96 well plate)로 마련된 경우, 구동 유닛(330)에 의해 렌즈 유닛(310) 및 현미경 유닛(320)이 어레이 형태의 제2 웰 유닛(400) 상에서 함께 이동할 수 있다.
- [0086] 예를 들어, 렌즈 유닛(310) 및 현미경 유닛(320)이 어레이 형태의 제2 웰 유닛(400) 중 하나에서 제1 이미지를 획득한 후에, 어레이 형태의 제2 웰 유닛(400) 외부에 위치한 또는 어레이 형태의 제2 웰 유닛(400) 중 다른 하나에 위치한 세척부로 이동해 렌즈 유닛(310)을 세척하고, 어레이 형태의 제2 웰 유닛(400) 중 다른 하나로 이동한 후에, 제2 이미지를 획득할 수 있다.
- [0087] 또는, 도 4(a) 내지 (c)에 도시된 바와 같이, 제2 웰 유닛(400) 및 렌즈 유닛(310)이 어레이 형태로 마련된 경우, 구동 유닛(330)에 의해 어레이 형태의 렌즈 유닛(310)이 어레이 형태의 제2 웰 유닛(400) 내에 삽입된 후에, 현미경 유닛(320)이 어레이 형태의 렌즈 유닛(310) 상에서 스캐닝함으로써 현미경 유닛(320)에서 제2 웰 유닛(400)의 다공성막 상의 박테리아 샘플의 이미지가 분석될 수 있다.
- [0088] 이때, 현미경 유닛(320)은 렌즈 유닛(310)을 통해서 시간차를 두고 복수 개의 이미지를 획득하고, 복수 개의 이미지의 비교를 통하여 박테리아 및 항생제의 반응 결과 또는 박테리아의 항생제 감수성 검사 결과를 도출할 수 있다.
- [0089] 특히, 제2 웰 유닛(400)이 어레이 형태(예를 들어, 96 well plate)로 마련된 경우, 각각의 제2 웰 유닛(400)에 서로 다른 항생제가 서로 다른 농도로 주입될 수 있으므로, 여러 가지 항생제의 여러 가지 농도에 따른 박테리아의 항생제 감수성 검사를 수행할 수 있다.
- [0090] 또한, 제2 웰 유닛(400)에 다공성막이 구비됨으로써, 박테리아를 다공성막 상에 하이드로젤로 고정하고 배양하면서 분열을 관찰함으로써 박테리아의 수가 충분히 늘어나기 전에 조기에 판단할 수 있으므로, 박테리아의 항생제 감수성 검사를 신속하게 수행할 수 있다.
- [0091] 이상 일 실시예에 따른 시료 분석 장치에 대하여 설명되었으며, 이하에서 일 실시예에 따른 시료 분석 방법에 대하여 설명된다.
- [0092] 도 5 및 6은 일 실시예에 따른 시료 분석 방법을 나타내는 순서도이고, 도 7은 혈액 샘플 내 박테리아의 존재 여부를 검출하는 모습을 도시한다.
- [0093] 도 5 내지 7을 참조하여, 일 실시예에 따른 시료 분석 방법이 다음과 같이 수행될 수 있다.
- [0094] 우선, 도 5 및 7을 참조하여, 미생물 세포(B)가 포함된 시료(A)를 하단에 다공성막(102)이 구비된 제1 웰 유닛(100) 내 주입한다(S10).
- [0095] 이때, 미생물 세포(B)는 박테리아가 될 수 있으며, 시료(A)는 혈액 샘플, 특히 혈액 샘플에서 혈구 세포를 제거하고, 박테리아는 포함하고 있는 혈장(plasma)이 될 수 있다.
- [0096] 그런 다음, 다공성막(102)에 의해 미생물 세포(B)를 시료(A)로부터 분리시킨다(S20).
- [0097] 구체적으로, 다공성막(102)의 상하부 간에 압력차를 발생시킴으로써, 다공성막(102)의 상하부 간의 압력차에 의해 미생물 세포(B)가 다공성막(102)의 상부에 위치되고, 시료(A), 특히 미생물 세포(B)가 제거된 시료(A)는

다공성막(102)을 통해 배출될 수 있다.

- [0098] 예를 들어, 다공성막(102)의 상하부 간에 압력차는 전술된 압력 조절부를 통해서 유도될 수 있다.
- [0099] 또는, 제1 웰 유닛(100) 내에 버퍼 용액을 주입하여(S22), 다공성막(102)의 상하부 간의 압력차를 발생시켜서(S24) 버퍼 용액이 다공성막(102)을 통하여 배출되게 할 수 있다. 이때, 버퍼 용액이 다공성막(102)을 통해서 배출되면서, 미생물 세포(B)가 제거된 시료(A) 또한 다공성막(102)을 통해 배출될 수 있다.
- [0100] 이와 같이 시료(A)로부터 미생물 세포(B)가 분리된 후에, 제1 웰 유닛(100)의 다공성막(102) 상에 박막 형태의 하이드로젤층(H)을 생성하여 미생물 세포(B)의 위치를 고정시킨다(S30).
- [0101] 이때, 하이드로젤층(H)은 다양한 방식으로 생성될 수 있다.
- [0102] 첫째, 하이드로젤층(H)은 아가로스로 마련될 수 있으며, 제1 웰 유닛(100) 내에 아가로를 주입함으로써 다공성막(102)의 상부에 미생물 세포(B)의 위치가 고정될 수 있다.
- [0103] 둘째, 하이드로젤층(H)은 칼슘 알지네이트(calcium alginate)로 될 수 있다.
- [0104] 구체적으로, 칼슘 알지네이트를 가교시키기 위해서, 제1 웰 유닛(100) 내에 알지네이트(alginate) 용액을 주입하고, 제1 웰 유닛(100) 내에 칼슘 용액 또는 칼슘이 포함된 용액을 순차적으로 주입할 수 있다. 또는, 제1 웰 유닛(100) 내에 칼슘 용액 또는 칼슘이 포함된 용액을 주입하고, 제1 웰 유닛(100) 내에 알지네이트(alginate) 용액을 순차적으로 주입할 수 있다.
- [0105] 이때, 칼슘이 포함된 용액은 CaCl_2 이 될 수 있다.
- [0106] 셋째, 하이드로젤층(H)은 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)로 마련될 수 있다.
- [0107] 구체적으로, Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)를 가교시키기 위해서, 제1 유닛(100) 내에 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)를 주입하고, 제1 웰 유닛(100)에 열을 가한다. 예를 들어, 제1 웰 유닛(100)의 온도를 특이점 이상으로 유지시킴으로써 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)로 마련된 하이드로젤층(H)을 생성할 수 있다.
- [0108] 이와 같이 다양한 방법으로 제1 웰 유닛(100)에 하이드로젤층(H)을 생성한 후에, 제1 웰 유닛(100) 내에 미생물 세포(B)를 배양시키기 위한 배양액(미도시)을 주입한다(S40).
- [0109] 이때, 미생물 세포(B)의 위치가 하이드로젤층(H)에 의해 고정된 상태에서 배양액이 주입되므로, 미생물 세포(B)는 고정된 위치에서 배양될 수 있다.
- [0110] 그런 다음, 이미지 획득부(300)에 의해 제1 세포 이미지(I_1)를 획득한다(S50).
- [0111] 구체적으로, 제1 세포 이미지(I_1)를 획득하기 위해서, 렌즈 유닛(310)을 소독하고(S52), 제1 웰 유닛(100) 내에 렌즈 유닛(310)을 위치시키고(S54), 렌즈 유닛(310)에 현미경 유닛(320)을 광학적으로 연결한다(S56).
- [0112] 이때, 렌즈 유닛(310)의 일단은 다공성막(102) 및 현미경 유닛(320) 사이에서 배양액 내에 배치될 수 있다.
- [0113] 이와 같이 렌즈 유닛(310)이 배양액 내에 직접 삽입되고, 미생물 세포(B)와 렌즈 유닛(310) 사이의 거리가 일정하게 유지됨으로써, 도 7에 비교된 바와 같이 보다 선명한 이미지를 획득할 수 있다.
- [0114] 또한, 렌즈 유닛(310)의 소독은 자외선 조사, 용액(알코올 또는 물)에 의한 세척, 초음파 세척 또는 가열 등과 같이 다양한 방법으로 수행될 수 있다.
- [0115] 상기 렌즈 유닛(310) 및 현미경 유닛(320)에 의해서 제1 세포 이미지(I_1)는 시간차를 두고 복수 개의 이미지로 획득될 수 있다.
- [0116] 이와 같이 획득된 제1 세포 이미지(I_1)를 분석한다(S60).
- [0117] 구체적으로, 렌즈 유닛(310) 및 현미경 유닛(320)에 의해서 시간차를 두고 획득된 복수 개의 제1 세포 이미지(I_1)를 비교 분석함으로써 미생물 세포(B)의 분열 여부 또는 존재 여부가 결정될 수 있다.
- [0118] 이때, 제1 세포 이미지(I_1)의 분석을 보다 효과적으로 수행하기 위해 미생물 세포(B)에 대해서 특이적인 염색이 수행될 수 있다(S62).

- [0119] 예를 들어, 미생물 세포(B)에 대한 특이적인 염색은 그람 염색, 미생물 세포(B)의 세포막에 특이적인 형광 염색, 미생물 세포(B)의 세포핵에 특이적인 형광 염색, 미생물 세포(B)의 DNA 서열에 특이적인 형광 염색 등을 포함할 수 있다.
- [0120] 여기에서는 제1 세포 이미지(I₁)를 분석하는 단계에서 미생물 세포(B)에 대한 특이적인 염색을 수행하는 경우를 예로 들어 설명하였으나, 미생물 세포(B)에 대한 특이적인 염색이 하이드로젤층(H)을 형성하기 전 단계, 제1 세포 이미지(I₁)를 획득하는 단계 중에 또는 전에 수행될 수 있음은 당연하다.
- [0121] 이와 같이 제1 세포 이미지(I₁)의 분석을 통해서 시료 내 미생물 세포(B)의 존재 여부 또는 분열 여부가 판단된다(S70).
- [0122] 도 6을 참조하여, 제1 세포 이미지(I₁)의 분석을 통해서 시료 내 미생물 세포(B)의 존재 또는 분열이 결정되면, 제1 웰 유닛(100) 내에 생성된 하이드로젤층(H)을 제거하여 미생물 세포(B)의 위치 고정을 해제한다(S80).
- [0123] 이때 존재가 확인된 미생물 세포(B)의 개체수를 충분히 하기 위하여 일정 분열 시간이 더 지난 뒤에 하이드로젤층(H) 제거가 수행될 수 있다.
- [0124] 제1 웰 유닛(100) 내에 생성된 하이드로젤층(H)을 제거하여 미생물 세포(B)의 위치 고정을 해제하는 방법은 다양하게 구현될 수 있다.
- [0125] 첫째, 하이드로젤층(H)이 칼슘 알지네이트로 마련된 경우, 제1 웰 유닛(100) 내에 1가 양이온 용액을 주입함으로써 하이드로젤층(H)을 제거할 수 있다.
- [0126] 예를 들어, 1가 양이온 용액은 탄산나트륨(sodium carbonate)으로 될 수 있다.
- [0127] 둘째, 하이드로젤층(H)이 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)로 마련되는 경우, 제1 웰 유닛(100)의 온도를 낮춤으로써 하이드로젤층(H)을 제거할 수 있다.
- [0128] 구체적으로, Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)를 가교시키기 위해서 제1 웰 유닛(100)의 온도를 특이점 이상으로 유지시켰다면, 제1 웰 유닛(100)의 온도를 특이점 이하의 온도로 낮추면 Poly-N-이소프로필 아크릴 아미드(poly NIPAM)의 가교를 녹일 수 있다.
- [0129] 이와 같이 하이드로젤층(H)이 제거되면 미생물 세포(B)의 고정 상태가 해제되고, 미생물 세포(B)가 배양액 또는 버퍼용액과 혼합될 수 있는 상태가 된다.
- [0130] 구체적으로, 미생물 세포(B)의 존재 여부 또는 분열 여부를 검출하는 과정에서는, 제1 웰 유닛(100) 내에서 다공성막(102)에 의해 미생물 세포(B)가 시료(A)로부터 분리된 상태에서 하이드로젤층(H)에 의해 미생물 세포(B)가 배양액 또는 버퍼용액과 혼합될 수 없는 상태이었으나, 하이드로젤층(H)이 제거됨으로써 제1 웰 유닛(100)의 개방된 상단을 통해서 미생물 세포(B)가 배양액 또는 버퍼용액과 혼합된 상태로 제2 웰 유닛에 분주될 수 있다.
- [0131] 전술된 바와 같이, 제1 웰 유닛(100) 내에 생성된 하이드로젤층(H)을 제거하여 미생물 세포(B)의 위치 고정을 해제한 다음, 제1 웰 유닛(100) 내에 구비된 다공성막(102)에 의해 미생물 세포(B)를 하이드로젤 및 배양액으로부터 분리시킨다(S90).
- [0132] 구체적으로, 다공성막(102)의 상하부 간에 압력차를 발생시킴으로써, 다공성막(102)의 상하부 간의 압력차에 의해서 미생물 세포(B)가 다공성막(102)의 상부에 위치되고, 제1 웰 유닛(100) 내에 수용된 하이드로젤 및 배양액은 다공성막(102)을 통해 배출될 수 있다.
- [0133] 그런 다음, 제1 웰 유닛(100) 내에 배양액을 추가로 주입하고(S100), 미생물 세포 및 배양액의 혼합물을 하단에 다공성막이 구비된 제2 웰 유닛(도 1의 400)에 분주시킨다(S110).
- [0134] 이어서, 다공성막에 의해 미생물 세포를 미생물 세포 및 배양액의 혼합물로부터 분리시킨다(S120).
- [0135] 전술된 바와 같이, 압력 조절부에 의해 다공성막의 상하부 간에 압력차를 발생시킴으로써, 다공성막의 상하부 간의 압력차에 의해서 미생물 세포(B)가 다공성막의 상부에 위치되고, 미생물 세포(B)가 제거된 배양액이 다공성막을 통해 배출될 수 있다.
- [0136] 또는, 제2 웰 유닛 내에 버퍼 용액을 주입하여, 다공성막의 상하부 간의 압력차를 발생시켜서 버퍼 용액이 다공성막을 통하여 배출되게 할 수 있다. 이때, 버퍼 용액이 다공성막을 통해서 배출되면서, 미생물 세포(B)가 제

거된 배양액 또한 다공성막을 통해 배출될 수 있다.

- [0137] 그런 다음, 제2 웰 유닛의 다공성막 상에 박막 형태의 하이드로젤층을 생성하여 미생물 세포의 위치를 고정시킨다(S130). 이때, 제2 웰 유닛 내에 하이드로젤층은 전술된 바와 같이 다양한 방식으로 생성될 수 있다. 하이드로젤층의 생성에 대한 상세한 설명은 생략하기로 한다.
- [0138] 그런 다음, 제2 웰 유닛 내에 항생제를 주입한다(S140).
- [0139] 이때, 제2 웰 유닛이 어레이 형태로 마련되는 경우, 각각의 제2 웰 유닛에 서로 다른 항생제가 서로 다른 농도로 주입될 수 있다. 이에 의해 여러 가지 항생제의 여러 가지 농도에 따른 미생물 세포의 항생제 감수성 검사를 수행할 수 있다.
- [0140] 이후, 이미지 획득부(300)에 의해 제2 세포에 대한 이미지를 획득하고(S150), 제2 세포에 대한 이미지를 분석한다(S160).
- [0141] 구체적으로, 이미지 획득부(300)에 의해 제2 세포에 대한 이미지를 획득하는 단계는(S140), 이미지 획득부(300)에 의해 제1 세포에 대한 이미지를 획득하는 단계(S50)와 유사하다.
- [0142] 구체적으로, 제2 세포 이미지를 획득하기 위해서, 렌즈 유닛(310)을 소독하고, 제2 웰 유닛 내에 렌즈 유닛(310)을 위치시키고, 렌즈 유닛(310)에 현미경 유닛(320)을 광학적으로 연결한다.
- [0143] 또한, 렌즈 유닛(310)의 소독은 자외선 조사, 용액(알코올 또는 물)에 의한 세척, 초음파 세척 또는 가열 등과 같이 다양한 방법으로 수행될 수 있다.
- [0144] 예를 들어, 렌즈 유닛(310) 및 현미경 유닛(320)에 의해서 제2 세포 이미지는 시간차를 두고 복수 개의 이미지로 획득될 수 있다.
- [0145] 이와 같이 획득된 복수 개의 제2 세포 이미지를 비교 분석하여 분열 또는 사멸 여부를 확인함으로써 미생물 세포(B)의 항생제에 대한 감수성이 결정될 수 있다.
- [0146] 그러나, 미생물 세포(B)의 항생제에 대한 감수성 검사를 위한 제2 세포 이미지의 획득 및 분석 방법은 이에 국한되지 아니하며 다양한 방법으로 될 수 있음은 당연하며, 예를 들어, 렌즈 유닛(310) 및 현미경 유닛(320)에 의해서 하나의 제2 세포 이미지를 획득하고, 하나의 제2 세포 이미지를 정밀 분석함으로써 미생물 세포(B)의 항생제에 대한 감수성을 결정할 수 있다.
- [0147] 이때, 제2 세포 이미지의 분석을 보다 효과적으로 수행하기 위해 미생물 세포(B)에 대해서 특이적인 염색이 수행될 수 있다.
- [0148] 예를 들어, 미생물 세포(B)에 대한 특이적인 염색은 그람 염색, 미생물 세포(B)의 세포막에 특이적인 형광 염색, 미생물 세포(B)의 세포액에 특이적인 형광 염색, 미생물 세포(B)의 DNA 서열에 특이적인 형광 염색 등을 포함할 수 있다.
- [0149] 여기에서는 제2 세포 이미지를 분석하는 단계에서 미생물 세포(B)에 대한 특이적인 염색을 수행하는 경우를 예로 들어 설명하였으나, 미생물 세포(B)에 대한 특이적인 염색이 하이드로젤층(H)을 형성하기 전 단계, 제2 세포 이미지를 획득하는 단계 중에 또는 전에 수행될 수 있음은 당연하다.
- [0150] 전술된 바와 같이 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법은, 웰 유닛 내의 다공성막 상에 용이하게 제거 가능한 하이드로젤층을 형성함으로써, 혈액 샘플 내 박테리아의 존재 여부를 검출한 후에 용이하게 박테리아 샘플을 분주시킬 수 있고, 환자로부터 혈액 샘플 채취 후에 혈액 배양 단계를 별도로 거치지 않고, 박테리아의 존재 유무를 1시간 내에 판단할 수 있으며, 총 4시간 내에 다양한 항생제의 다양한 농도에 대한 감수성 검사를 수행할 수 있다.
- [0151] 더 나아가, 일 실시예에 따른 시료 분석 장치 및 방법은, 패혈증 진단 및 적절한 항생제 투여를 위한 검사에 활용될 수 있고, 결핵균의 항생제 감수성 검사에도 활용될 수 있어 패혈증 또는 결핵에 의한 환자의 사망률을 감소시킬 수 있다.
- [0152] 이상과 같이 본 발명의 실시예에서는 구체적인 구성 요소 등과 같은 특정 사항들과 한정된 실시예 및 도면에 의해 설명되었으나 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상적인 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다. 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니 되며, 후술하

는 청구범위뿐 아니라 이 청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 것들은 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

부호의 설명

10: 시료 분석 장치

100: 제1 웰 유닛

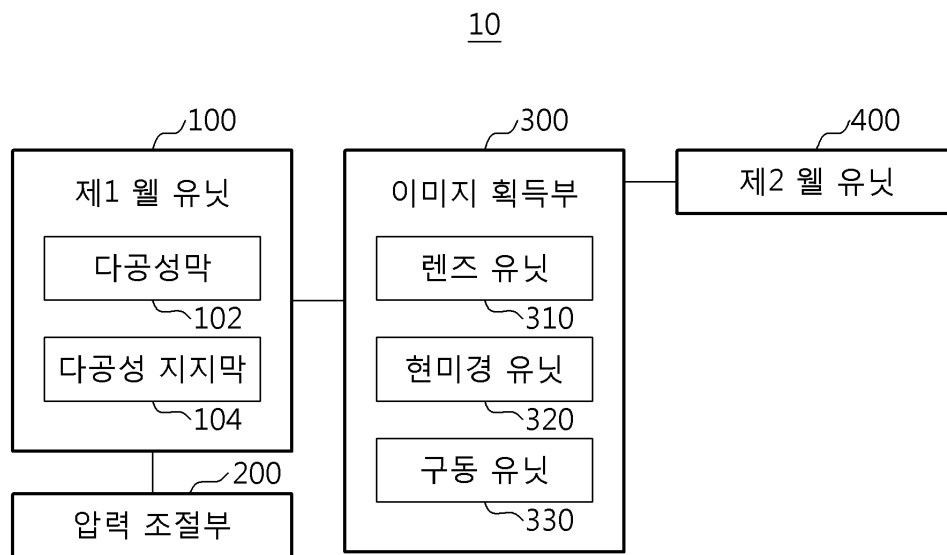
200: 압력 조절부

300: 이미지 획득부

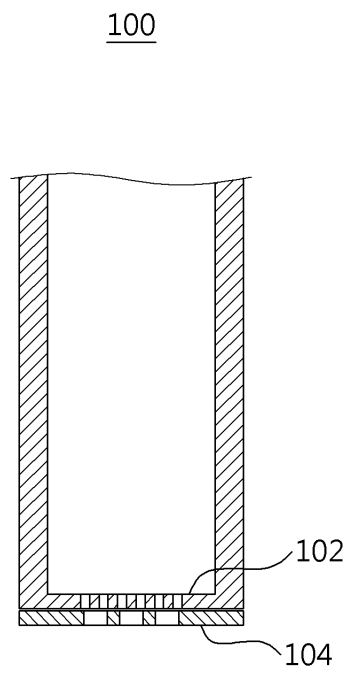
400: 제2 웰 유닛

도면

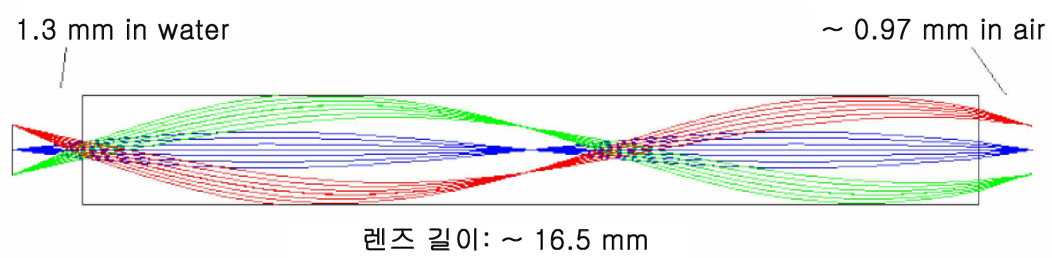
도면1



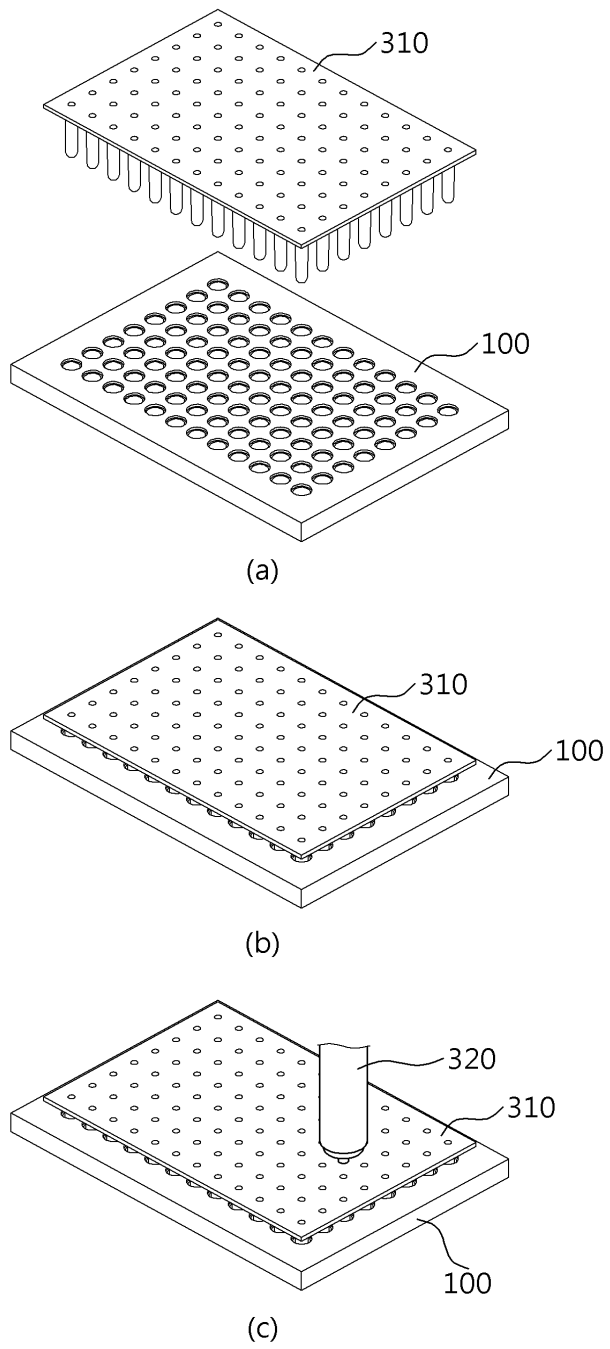
도면2



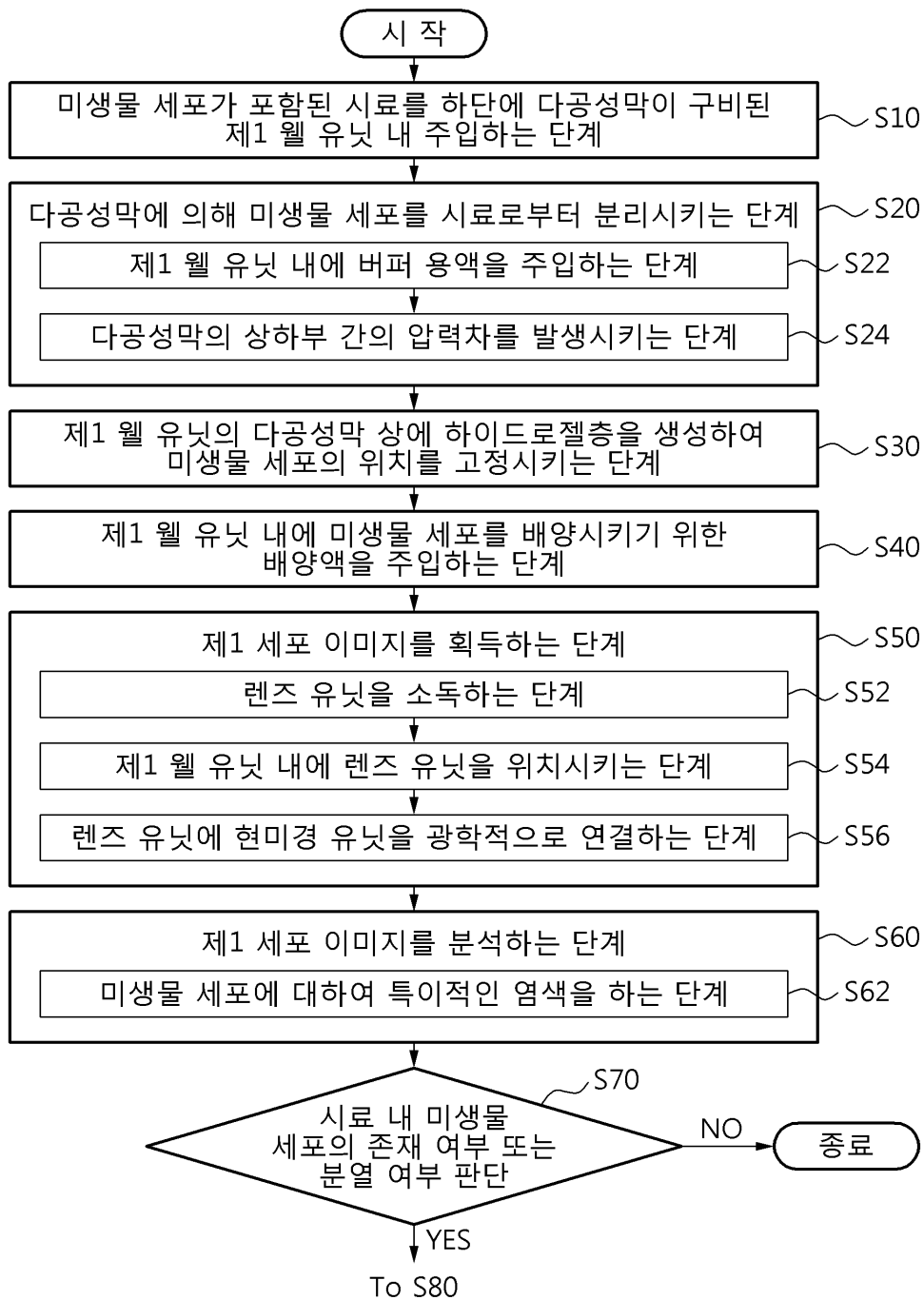
도면3



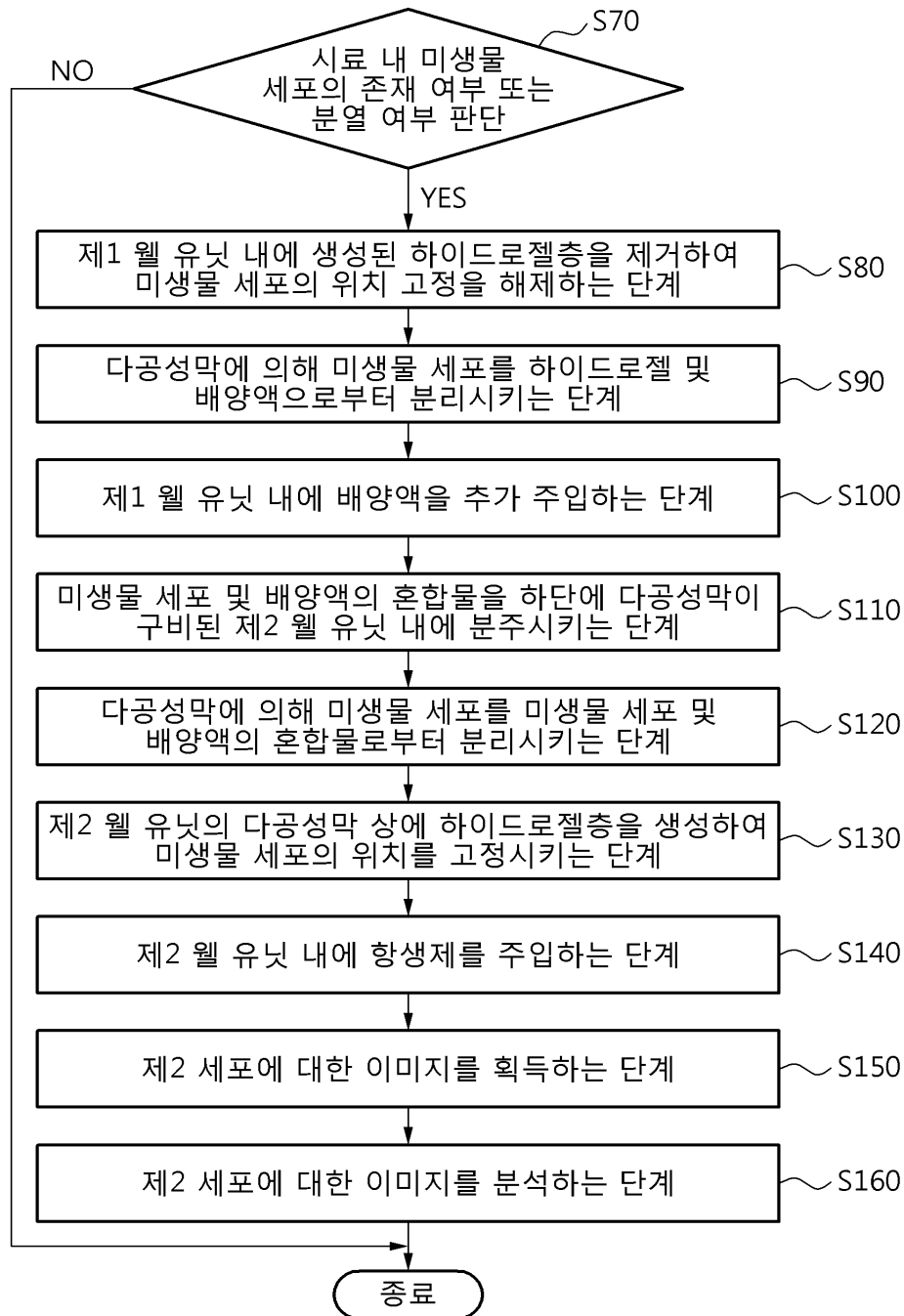
도면4



도면5



도면6



도면7

