



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0141952  
(43) 공개일자 2015년12월21일

- |  |  |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br/>G01N 33/70 (2006.01) G01N 21/62 (2006.01)<br/>G01N 33/543 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)<br/>G01N 35/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류<br/>G01N 33/70 (2013.01)<br/>G01N 21/62 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-7027368</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2014년03월11일<br/>심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2015년10월02일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2014/023055</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2014/164633<br/>국제공개일자 2014년10월09일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>13/797,275 2013년03월12일 미국(US)</p> | <p>(71) 출원인<br/>에피넥스 다이아그노스틱스, 인크.<br/>미국, 캘리포니아 92780, 터스틴, 유니트 제이,<br/>마이포드 로드 14351</p> <p>(72) 발명자<br/>리우 웡 티.<br/>미국 92780 캘리포니아주 터스틴 마이포드 로드<br/>14351 유닛 제이<br/>트란 티엔-토안<br/>미국 92780 캘리포니아주 어빙 마이포드 로드<br/>14351 유닛 제이<br/>(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인<br/>김진희, 김태홍</p> |
|--|--|

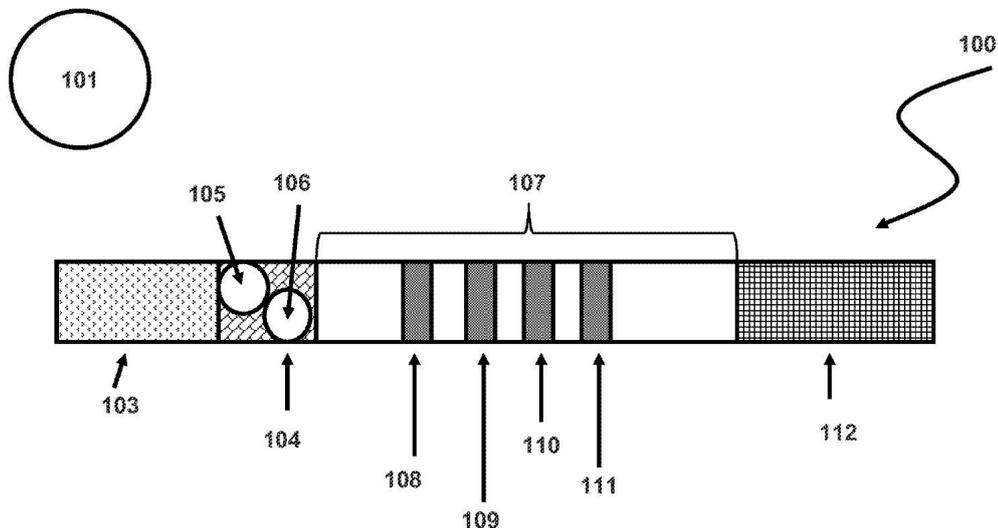
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 소변 알부민 및 소변 크레아티닌에 대한 신속 검사

(57) 요약

본원에서는 소변 샘플 중의 알부민과 크레아티닌을 측정하기 위한 면역크로마토그래피 시스템 및 시험 카세트로부터 시그널을 검출하고, 알부민 농도, 크레아티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌 비에 대한 결과를 계산하고 표시하는 판독기가 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

*G01N 33/54313* (2013.01)

*G01N 33/558* (2013.01)

*G01N 33/6827* (2013.01)

*G01N 35/00* (2013.01)

*G01N 2035/00108* (2013.01)

*G01N 2333/765* (2013.01)

(72) 발명자

**스콧 존**

미국 92780 캘리포니아주 터스틴 마이포드 로드  
14351 유닛 제이

**프라사드 스리취티**

미국 92780 캘리포니아주 터스틴 마이포드 로드  
14351 유닛 제이

**자이디 아즈라**

미국 92780 캘리포니아주 어빙 마이포드 로드  
14351 유닛 제이

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기를 포함하는, 인간 샘플에서 알부민-크레아티닌-비를 결정하기 위한 디바이스:

시험 스트립을 포함하는 시험 카세트로서, 시험 스트립이

고체 지지체 상에 배치된 샘플 웰(well)을 함유하는 단일 샘플 적용 패드;

크레아티닌 특이적 컨쥬게이트 및 알부민 특이적 컨쥬게이트가 내부에 배치되어 있는 컨쥬게이트 패드;

측방 유동(lateral flow) 멤브레인;

샘플 중에 존재하며 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트에 결합된 크레아티닌이 멤브레인과 결부된(associated) 크레아티닌 특이적 고정화제에 의해 보유되는 것인 크레아티닌 특이적 시험 영역;

크레아티닌 특이적 시험 영역에 의해 보유되지 않는 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 멤브레인과 결부된 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제에 의해 보유되는 것인 크레아티닌 특이적 대조 영역;

샘플 중에 존재하며 알부민 특이적 컨쥬게이트에 결합된 알부민이 멤브레인과 결부된 알부민 특이적 고정화제에 의해 보유되는 것인 알부민 특이적 시험 영역;

알부민 특이적 시험 영역에 의해 보유되지 않는 알부민 특이적 컨쥬게이트가 멤브레인과 결부된 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제에 의해 보유되는 것인 알부민 특이적 대조 영역;

레저버(reservoir)

를 포함하는 것인 시험 카세트;

샘플 중의 알부민의 농도, 샘플 중의 크레아티닌의 농도, 및 알부민-크레아티닌-비를 결정하기 위한 측정 디바이스.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 샘플이 소변 샘플인 디바이스.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 디바이스가 측방 유동 면역크로마토그래피 디바이스인 디바이스.

#### 청구항 4

제1항에 있어서, 측정 디바이스가 반사 분광분석기(reflectance spectrometer) 또는 형광분석기(fluorometer)인 디바이스.

#### 청구항 5

제1항에 있어서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 크레아티닌에 특이적인 항체인 디바이스.

#### 청구항 6

제1항에 있어서, 알부민 특이적 컨쥬게이트가 알부민에 특이적인 항체인 디바이스.

#### 청구항 7

제1항에 있어서, 크레아티닌 특이적 고정화제가 크레아티닌인 디바이스.

#### 청구항 8

제7항에 있어서, 크레아티닌이 캐리어에 결합되는 것인 디바이스.

**청구항 9**

제1항에 있어서, 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제가 크레아티닌 특이적 항체 종(species)에 특이적인 항체인 디바이스.

**청구항 10**

제1항에 있어서, 알부민 특이적 고정화제가 인간 혈청 알부민인 디바이스.

**청구항 11**

제1항에 있어서, 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제가 알부민 특이적 항체 종에 특이적인 항체인 디바이스.

**청구항 12**

제1항에 있어서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트 및 알부민 특이적 컨쥬게이트가 검출가능한 모이어티(moiety)로 표지되는 것인 디바이스.

**청구항 13**

제1항에 있어서, 검출가능한 모이어티가 미세입자 또는 염료인 디바이스.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 미세입자가 콜로이드 금 입자, 라텍스 입자, 폴리스티렌 입자, 아크릴 입자 또는 다른 고상 미세입자인 디바이스.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 미세입자가 형광 화합물로 착색되거나 태깅되는 것인 디바이스.

**청구항 16**

제1항에 있어서, 단일 샘플 적용 패드, 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 레저버가 모두 단일 시험 스트립 상에 배치되는 것인 디바이스.

**청구항 17**

제1항에 있어서, 시스템이 2개의 시험 스트립을 포함하는 것인 디바이스.

**청구항 18**

제17항에 있어서,

제1 시험 스트립이 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제1 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 및 제1 레저버를 포함하고;

제2 시험 스트립이 알부민 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제2 컨쥬게이트 패드, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 제2 레저버를 포함하며;

제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립이 단일 샘플 적용 패드를 공유하도록 서로에 대해 각을 이루거나 서로 맞은편에 평행한 구조로 배열되는 것인 디바이스.

**청구항 19**

샘플 중의 알부민-크레아티닌 비를 결정하는 방법으로서,

샘플을 제1항에 따른 시험 카세트의 샘플 적용 패드 내에 침착시키는 단계로서, 샘플이 컨쥬게이트 패드 안으로 통과해 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트 및 알부민 특이적 컨쥬게이트에 노출되며, 샘플 중의 크레아티닌이 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트에 결합하고 샘플 중의 알부민이 알부민 특이적 컨쥬게이트에 결합하며, 크레아티닌-

결합된 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 크레아티닌 시험 영역 내의 크레아티닌 특이적 고정화제에 결합하고 비결합 재료는 크레아티닌 특이적 고정화제에 비결합된 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 결합하는 크레아티닌 특이적 대조 영역으로 보내지고, 알부민-결합된 알부민 특이적 컨쥬게이트가 알부민 시험 영역 내의 알부민 특이적 고정화제에 결합하고 비결합 재료는 알부민 특이적 고정화제에 비결합된 알부민 특이적 컨쥬게이트와 결합하는 알부민 특이적 대조 영역으로 보내지며, 샘플이 컨쥬게이트와 반응하고 종점(endpoint)에 도달하는 시간이 약 2분 내지 약 30분인 단계;

시험 카세트를 측정 디바이스 내에 삽입하는 단계;

상기 샘플로부터의 크레아티닌 농도, 알부민 농도, 및 알부민-크레아티닌 비의 수치 결과를 제공하는 단계를 포함하는 방법.

**청구항 20**

제19항에 있어서, 샘플이 컨쥬게이트와 반응하고 종점에 도달하는 시간이 약 15분인 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 측방 유동 크로마토그래피를 이용하여 알부민 및 크레아티닌 수준, 및 알부민-크레아티닌 비를 측정하는 방법 및 디바이스가 제공된다.

**배경 기술**

[0002] 알부민-크레아티닌 비(albumin-creatinine ratio; ACR) 어세이는 소변 중의 두 분석물, 알부민과 크레아티닌을 동시에 측정한다. 신체가 적절히 기능하는 경우, 알부민은 신장의 작용에 의해 혈류에 보유되기 때문에 이는 정상적으로는 소변에 존재하지 않는다. 소량의 알부민이 신장으로부터 소변 중으로 배출되는 경우, 미세알부민뇨로 불리는 병태가 존재한다. 신장으로부터 소변 중으로 알부민의 비정상적인 누설이 존재하는 경우 미세알부민뇨가 생긴다.

[0003] 크레아티닌은 근육에서 크레아틴 포스페이트의 부산물이다. 정상적으로 기능하는 신체에서, 이는 일정한 속도로 소변 중으로 배출된다. 알부민이 크레아티닌과 동시에 측정되는 경우, 결과는 알부민-크레아티닌 비로서 알려져 있다. 소변 내의 알부민의 측정을 위한 ACR의 사용은 환자의 가변 이뇨성 배설 및 수화 상태로 인한 소변 농도를 보정한다.

[0004] 당뇨병 또는 고혈압이 있는 개체에서 미세알부민뇨는 신경병증, 심혈관 질환(CVD), 망막증, 임신 중독증, 염증성 병태, 및 죽음을 일으키는 증가된 위험과 연관되는 것으로 보고되고 있다. ACR 어세이는 치료 효능의 모니터링 방법뿐만 아니라 신장 손상에 대한 조기 검출 방법으로서 역할을 한다. ACR 어세이는 신부전 발생의 증가된 위험에 있는 당뇨병 및 고혈압과 같은 만성 질환을 가진 환자에서 빈번하게 사용된다.

[0005] 크레아티닌 측정을 위한 기존 방법은 알칼라인 피크리산을 이용하는 자페 반응(Jaffe's reaction)에 기초한 화학적 방법과, 크레아티닌을 크레아티나제로 전환하고, 퍼옥시다제와 반응성 기질에 의해 생성된 컬러 세기를 측정하는 효소적 방법을 포함한 비색적 어세이를 포함한다.

[0006] 소변 중의 알부민은 염료가 알부민 분자와 직접 반응하여 착색된 알부민-염료 복합체를 형성하는 비색법, 또는 혼탁법 또는 비탁법을 사용하는 면역학적 방법, 및 표지된 항체에 기초한 경쟁적 또는 샌드위치 면역어세이를 포함한 네가지 방법 중 하나에 의해 측정된다.

[0007] 알부민-크레아티닌 비에 대한 시험을 수행하기 위한 현존 방법은 수행이 복잡하거나 값비싼 설비를 요구하고 일반적으로 임상 실험실에서 수행된다. 현장 진단용(point-of-care) 또는 일반 의약품(over-the-counter product)일 수 있는 단순화된 어세이를 개발하는 것이 유리하다.

**발명의 내용**

[0008] 본원에서는 일회용 시험 스트립(들) 및 재사용가능한 측정 기기를 이용하는 분석물 비의 결정 및 분석물에 대한 단순화된 현장 진단용 어세이가 제공된다. 개시된 방법 및 디바이스는 단일 어세이에서 소변 알부민과 소변 크레아티닌 둘다를 측정하고 알부민-크레아티닌 비(ACR)를 결정하기 위한 측방 유동 면역크로마토그래피의 원리를

이용한다. 환자의 소변 샘플은 시험을 수행하기 위해 시약을 함유하는 시험 카세트에 놓인다. 이후, 시험 카세트는 결과를 판독하고, 계산하고 보고하는 시험 카세트 판독기(reader) 안으로 삽입된다.

- [0009] 일 실시양태에서, 시험 스트립(test strip)을 포함하는 시험 카세트로서, 시험 스트립이, 고체 지지체 상에 배치된 샘플 웰(well)을 함유하는 단일 샘플 적용 패드; 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트 및 알부민 특이적 컨쥬게이트가 내부에 배치되어 있는 컨쥬게이트 패드; 측방 유동(lateral flow) 멤브레인; 샘플 중에 존재하고 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트에 결합된 크레아티닌이 상기 멤브레인과 결부된(associated) 크레아티닌 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 크레아티닌 특이적 시험 영역; 크레아티닌 특이적 시험 영역에 의해 보유되지 않은 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 상기 멤브레인과 결부된 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 크레아티닌 특이적 대조(control) 영역; 샘플 중에 존재하고 알부민 특이적 컨쥬게이트에 결합된 알부민이 상기 멤브레인과 결부된 알부민 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 알부민 특이적 시험 영역; 알부민 특이적 시험 영역에 의해 보유되지 않은 알부민 특이적 컨쥬게이트가 상기 멤브레인과 결부된 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 알부민 특이적 대조 영역; 및 레저버(reservoir)를 포함하는 것인 시험 카세트; 및 샘플 중의 알부민 농도, 샘플 중의 크레아티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌-비를 측정하기 위한 측정 디바이스를 포함하는, 인간 샘플에서 알부민-크레아티닌-비를 측정하기 위한 디바이스가 개시된다.
- [0010] 디바이스의 또 다른 실시양태에서, 샘플은 소변 샘플이다. 또 다른 실시양태에서, 디바이스는 측방 유동 면역 크로마토그래피 디바이스이다. 또 다른 실시양태에서, 측정 디바이스는 결과를 샘플 중의 알부민 농도, 샘플 중의 크레아티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌-비로서 판독하고, 계산하고 표시한다. 다른 실시양태들에서, 측정 디바이스는 반사 분광분석기(reflectance spectrometer) 또는 형광분석기(fluorometer)이다.
- [0011] 디바이스의 다른 실시양태들에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트는 크레아티닌에 특이적인 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 고정화제는 크레아티닌이다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌은 캐리어 단백질 예컨대 소 혈청 알부민, 키홀 림펫 헤모시아닌, 또는 오브알부민에 결합된다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제는 크레아티닌 특이적 항체 종(species)에 특이적인 항체이다.
- [0012] 디바이스의 또 다른 실시양태에서, 알부민 특이적 컨쥬게이트는 알부민에 특이적인 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민 특이적 고정화제는 인간 혈청 알부민이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제는 알부민 특이적 항체 종에 특이적인 항체이다.
- [0013] 디바이스의 특정 실시양태들에서, 항체들 중 임의의 항체는 토끼, 닭, 염소, 기니피그, 햄스터, 말, 마우스, 래트, 또는 양으로부터의 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체이다.
- [0014] 디바이스의 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트 및 알부민 특이적 컨쥬게이트는 미세입자(microparticle) 또는 염료인 검출가능한 모이어티로 표지된다. 미세입자는 콜로이드 금 입자, 폴리스티렌 입자, 아크릴 입자, 자기 입자, 또는 다른 고상 미세입자이고 형광 화합물로 착색되거나 태깅될 수 있다.
- [0015] 디바이스의 또 다른 실시양태에서, 단일 샘플 적용 패드, 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 레저버는 모두 단일 시험 스트립 상에 배치된다. 또 다른 실시양태에서, 시험 스트립은 경질(rigid) 카세트 내에 넣어진다.
- [0016] 디바이스의 또 다른 실시양태에서, 디바이스는 2개의 시험 스트립을 포함하며, 여기서 제1 시험 스트립은 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제1 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 및 제1 레저버를 포함하고; 제2 시험 스트립은 알부민 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제2 컨쥬게이트 패드, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 제2 레저버를 포함하고; 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립이 단일 샘플 적용 패드를 공유하도록 서로 맞은편에 평행한 구조 또는 서로 각을 이룬 구조로 배열된다. 또 다른 실시양태에서, 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 단일 경질 카세트 내에 넣어진다.
- [0017] 또한 본원에서는 하기 단계를 포함하는, 샘플 중 알부민-크레아티닌 비의 측정 방법이 제공된다: 제1항의 시험 카세트의 샘플 적용 패드 내에 샘플을 침착시키는 단계로서, 샘플이 컨쥬게이트 패드 안으로 들어가 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 알부민 특이적 컨쥬게이트에 노출되고 샘플 중의 크레아티닌이 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트에 결합하고 샘플 중의 알부민이 알부민 특이적 컨쥬게이트에 결합하며, 크레아티닌-결합된 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 크레아티닌 시험 영역 내의 크레아티닌 특이적 고정화제에 결합하고, 비결합 재료(unbound material)는 크레아티닌 특이적 고정화제에 비결합된 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 결합하는 크레아티닌 특이적 대조 영역으로 보내지며, 알부민-결합된 알부민 특이적 컨쥬게이트는 알부민 시험 영역 내의 알부민 특이

적 고정화제에 결합하고 비결합 재료는 알부민 특이적 고정화제에 비결합된 알부민 특이적 컨쥬게이트와 결합하는 알부민 특이적 대조 영역으로 보내지며, 샘플이 컨쥬게이트와 반응하고 종점(endpoint)에 도달하는 시간이 약 2분 내지 약 30분인 단계; 시험 카세트를 측정 디바이스 내에 삽입하는 단계; 상기 샘플로부터의 크레아티닌 농도, 알부민 농도, 및 알부민-크레아티닌 비의 수치 결과를 제공하는 단계.

[0018] 방법의 또 다른 실시양태에서, 샘플은 소변 샘플이다. 또 다른 실시양태에서, 시험 카세트는 측방 유동 면역크로마토그래피 디바이스의 일부이다. 또 다른 실시양태에서, 측정 디바이스는 결과를 샘플 중의 알부민 농도, 샘플 중의 크레아티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌-비로서 판독하고, 계산하고 표시한다.

[0019] 방법의 또 다른 실시양태에서, 샘플이 컨쥬게이트와 반응하고 종점에 도달하는 시간은 약 7분 내지 약 25분, 약 10분 내지 약 20분, 또는 약 15분이다.

[0020] 방법의 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트는 크레아티닌에 특이적인 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 고정화제는 크레아티닌이다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌은 캐리어 분자 예컨대 소 혈청 알부민, 키홀 림펫 헤모시아닌, 오브알부민, 또는 덴드리머에 결합된다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제는 크레아티닌 특이적 항체 중에 대해 특이적인 항체이다.

[0021] 방법의 또 다른 실시양태에서, 알부민 특이적 컨쥬게이트는 알부민에 특이적인 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민 특이적 고정화제는 인간 혈청 알부민이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제는 알부민 특이적 항체 중에 특이적인 항체이다.

[0022] 방법의 또 다른 실시양태에서, 항체들 중 임의의 항체는 토끼, 닭, 염소, 기니피그, 햄스터, 말, 마우스, 래트, 또는 양으로부터의 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체이다.

[0023] 방법의 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 알부민 특이적 컨쥬게이트는 미세입자 또는 염료인 검출가능한 모이어티로 표지된다. 미세입자는 콜로이드 금 입자, 폴리스티렌 입자, 아크릴 입자, 자기 입자, 또는 다른 고상 미세입자이고 형광 화합물로 착색되거나 태깅될 수 있다.

[0024] 방법의 또 다른 실시양태에서, 단일 샘플 적용 패드, 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 레저버는 모두 단일 시험 스트립 상에 배치된다. 또 다른 실시양태에서, 시험 스트립은 경질 카세트 내에 넣어진다.

[0025] 방법의 또 다른 실시양태에서, 디바이스는 2개의 시험 스트립을 포함하며, 여기서 제1 시험 스트립은 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제1 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 및 제1 레저버를 포함하고; 제2 시험 스트립은 알부민 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제2 컨쥬게이트 패드, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 제2 레저버를 포함하고; 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립이 단일 샘플 적용 패드를 공유하도록 서로 맞은편에 평행한 구조 또는 서로 각을 이룬 구조로 배열된다. 또 다른 실시양태에서, 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 단일 경질 카세트 내에 넣어진다.

[0026] 본원에서는 또한 적어도 하나의 시험 카세트; 재사용가능한 측정 디바이스; 및 샘플로부터의 알부민-크레아티닌-비 측정을 위한 설명서를 포함하는, 알부민-크레아티닌 비 측정용 키트가 제공된다. 또 다른 실시양태에서, 키트는 런닝 버퍼(running buffer)를 더 포함한다.

[0027] 키트의 일 실시양태에서, 시험 카세트는 시험 스트립을 포함하며, 여기서 시험 스트립은 하기를 포함한다: 고체 지지체 상에 배치된 샘플 웰을 함유하는 단일 샘플 적용 패드; 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트 및 알부민 특이적 컨쥬게이트가 내부에 배치된 컨쥬게이트 패드; 측방 유동 멤브레인; 샘플 중에 존재하고 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트에 결합된 크레아티닌이 상기 멤브레인과 결부된 크레아티닌 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 크레아티닌 특이적 시험 영역; 크레아티닌 특이적 시험 영역에 의해 보유되지 않은 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 상기 멤브레인과 결부된 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 크레아티닌 특이적 대조 영역; 샘플 중에 존재하고 알부민 특이적 컨쥬게이트에 결합된 알부민이 상기 멤브레인과 결부된 알부민 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 알부민 특이적 시험 영역; 알부민 특이적 시험 영역에 의해 보유되지 않은 알부민 특이적 컨쥬게이트가 상기 멤브레인과 결부된 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 알부민 특이적 대조 영역; 및 레저버.

[0028] 키트의 또 다른 실시양태에서, 측정 디바이스는 시험 카세트로부터의 샘플 중의 알부민 농도, 샘플 중의 크레아

티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌-비를 측정한다. 또 다른 실시양태에서, 측정 디바이스는 결과를 샘플 중의 알부민 농도, 샘플 중의 크레아티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌-비로서 판독하고, 계산하고 표시한다. 또 다른 실시양태에서, 측정 디바이스는 반사 분광분석기 또는 형광분석기이다.

[0029] 키트의 또 다른 실시양태에서, 샘플은 소변 샘플이다. 또 다른 실시양태에서, 시험 카세트는 면역크로마토그래피 시험 카세트이다.

[0030] 키트의 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트는 크레아티닌에 특이적인 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 고정화제는 크레아티닌이다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌은 캐리어 분자 예컨대 소 혈청 알부민, 키홀 림팻 헤모시아닌, 오브알부민, 또는 덴드리머에 결합된다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제는 크레아티닌 특이적 항체 중에 특이적인 항체이다.

[0031] 키트의 또 다른 실시양태에서, 알부민 특이적 컨쥬게이트는 알부민에 특이적인 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민 특이적 고정화제는 인간 혈청 알부민이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제는 알부민 특이적 항체 중에 특이적인 항체이다.

[0032] 키트의 또 다른 실시양태에서, 항체들 중 임의의 항체는 토끼, 닭, 염소, 기니피그, 햄스터, 말, 마우스, 래트, 또는 양으로부터의 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체이다.

[0033] 키트의 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 알부민 특이적 컨쥬게이트는 미세입자 또는 염료인 검출가능한 모이어티로 표지된다. 미세입자는 콜로이드 금 입자, 폴리스티렌 입자, 아크릴 입자, 자기 입자, 또는 다른 고상 미세입자이고 형광 화합물로 착색되거나 태깅될 수 있다.

[0034] 키트의 또 다른 실시양태에서, 단일 샘플 적용 패드, 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 레저버는 모두 단일 시험 스트립 상에 배치된다. 또 다른 실시양태에서, 시험 스트립은 경질 카세트 내에 넣어진다.

[0035] 키트의 또 다른 실시양태에서, 디바이스는 2개의 시험 스트립을 포함하며, 여기서 제1 시험 스트립은 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제1 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 및 제1 레저버를 포함하고; 제2 시험 스트립은 알부민 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제2 컨쥬게이트 패드, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 제2 레저버를 포함하고; 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립이 단일 샘플 적용 패드를 공유하도록 서로 맞은편에 평행한 구조 또는 서로 각을 이룬 구조로 배열된다. 또 다른 실시양태에서, 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 단일 경질 카세트 내에 넣어진다.

[0036] 본원에서는 또한 하기를 포함하는, 인간 샘플 중의 알부민-크레아티닌-비를 측정하기 위한 시스템이 제공된다: 시험 스트립을 포함하는 시험 카세트로서, 시험 스트립이, 고체 지지체 상에 배치된 샘플 웰을 함유하는 단일 샘플 적용 패드; 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트 및 알부민 특이적 컨쥬게이트가 내부에 배치된 컨쥬게이트 패드; 측방 유동 멤브레인; 샘플 중에 존재하고 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트에 결합된 크레아티닌이 상기 멤브레인과 결부된 크레아티닌 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 크레아티닌 특이적 시험 영역; 크레아티닌 특이적 시험 영역에 의해 보유되지 않는 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 상기 멤브레인과 결부된 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 크레아티닌 특이적 대조 영역; 샘플 중에 존재하고 알부민 특이적 컨쥬게이트에 결합된 알부민이 상기 멤브레인과 결부된 알부민 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 알부민 특이적 시험 영역; 알부민 특이적 시험 영역에 의해 보유되지 않는 알부민 특이적 컨쥬게이트가 상기 멤브레인과 결부된 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제에 의해 보유되는, 알부민 특이적 대조 영역; 및 레저버를 포함하는 것인 시험 카세트; 및 샘플 중의 알부민 농도, 샘플 중의 크레아티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌-비를 측정하기 위한 측정 디바이스.

[0037] 시스템의 또 다른 실시양태에서, 샘플은 소변 샘플이다. 또 다른 실시양태에서, 디바이스는 측방 유동 면역크로마토그래피 디바이스이다. 또 다른 실시양태에서, 측정 디바이스는 결과를 샘플 중의 알부민 농도, 샘플 중의 크레아티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌-비로서 판독하고, 계산하고 표시한다. 다른 실시양태에서, 측정 디바이스는 반사 분광분석기 또는 형광분석기이다.

[0038] 시스템의 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트는 크레아티닌에 특이적인 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 고정화제는 크레아티닌이다. 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌은 캐리어 분자 예컨대 소 혈청 알부민, 키홀 림팻 헤모시아닌, 오브알부민, 또는 덴드리머에 결합된다. 또 다른 실시양태

에서, 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제는 크레아티닌 특이적 항체 중에 특이적인 항체이다.

[0039] 시스템의 또 다른 실시양태에서, 알부민 특이적 컨쥬게이트는 알부민에 특이적인 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민 특이적 고정화제는 인간 혈청 알부민이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화제는 알부민 특이적 항체 중에 특이적인 항체이다.

[0040] 시스템의 특정 실시양태에서, 항체들 중 임의의 항체는 토끼, 닭, 염소, 기니피그, 햄스터, 말, 마우스, 래트, 또는 양으로부터의 모노클로날 항체 또는 폴리클로날 항체이다.

[0041] 시스템의 또 다른 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 알부민 특이적 컨쥬게이트는 미세입자 또는 염료인 검출가능한 모이어티로 표시된다. 미세입자는 콜로이드 금 입자, 폴리스티렌 입자, 아크릴 입자, 자기 입자, 또는 다른 고상 미세입자이고 형광 화합물로 착색되거나 태깅될 수 있다.

[0042] 시스템의 또 다른 실시양태에서, 단일 샘플 적용 패드, 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 레저버는 모두 단일 시험 스트립 상에 배치된다. 또 다른 실시양태에서, 시험 스트립은 경질 카세트 내에 넣어진다.

[0043] 시스템의 또 다른 실시양태에서, 디바이스는 2개의 시험 스트립을 포함하며, 여기서 제1 시험 스트립은 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제1 컨쥬게이트 패드, 크레아티닌 특이적 시험 영역, 크레아티닌 특이적 대조 영역, 및 제1 레저버를 포함하고; 제2 시험 스트립은 알부민 특이적 컨쥬게이트를 포함하는 제2 컨쥬게이트 패드, 알부민 특이적 시험 영역, 알부민 특이적 대조 영역, 및 제2 레저버를 포함하고; 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립이 단일 샘플 적용 패드를 공유하도록 서로 맞은편에 평행한 구조 또는 서로 각을 이룬 구조로 배열된다. 또 다른 실시양태에서, 제1 시험 스트립과 제2 시험 스트립은 단일 경질 카세트 내에 넣어진다.

**도면의 간단한 설명**

[0044] 도 1은 개시된 어세이 및 시험 카세트에서 사용하기 위한 시험 스트립의 제1 도이다.  
 도 2는 도 1의 시험 스트립의 측면도이다.  
 도 3은 도 1 및 2의 시험 스트립을 하우징하는 카세트를 나타내는 도면이다.  
 도 4는 도 3의 시험 카세트와 함께 사용되는 형광분석기의 사시도이다.  
 도 5는 시험 카세트 판독기의 개략적인 도면이다.  
 도 6은 개시된 시스템의 2-스트립 실시양태의 시험 카세트(도 6A) 및 시험 스트립(도 6B)을 도시한다.  
 도 7은 개시된 시스템의 또 다른 2-스트립 실시양태의 시험 카세트(도 7A) 및 시험 스트립(도 7B)을 도시한다.  
 도 8은 소변 알부민의 측정 곡선을 도시한 그래프이다.  
 도 9는 소변 크레아티닌의 측정 곡선을 도시한 그래프이다.  
 도 10은 면역비탁적 소변 알부민 어세이 방법과 면역크로마토그래피 측방 유동 소변 알부민 어세이 간의 상관성 (correlation)을 도시한 그래프이다.  
 도 11은 비색적 소변 크레아티닌 어세이 방법과 면역크로마토그래피 측방 유동 소변 크레아티닌 어세이 간의 상관성을 도시한 그래프이다.  
 도 12는 병용(combined) 면역비탁적 소변 알부민 어세이 및 비색적 소변 크레아티닌 어세이 방법과 면역크로마토그래피 측방 유동 소변 알부민 어세이 간의 상관성을 도시한 그래프이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0045] 본원에서는 일회용 시험 스트립(들) 및 재사용가능한 측정 기기를 이용하는 분석물 비의 결정 및 분석물에 대한 단순화된 현장 진단용 어세이가 제공된다. 개시된 방법 및 디바이스는 단일 어세이에서 소변 알부민과 소변 크레아티닌 둘다를 측정하고 알부민-크레아티닌 비(ACR)를 결정하기 위한 측방 유동 면역크로마토그래피의 원리를 이용한다. 환자의 소변 샘플은 시험을 수행하기 위해 시약을 함유하는 시험 카세트에 놓인다. 이후, 시험 카세트는 결과를 판독하고, 계산하고 보고하는 시험 카세트 판독기 안으로 삽입된다.

- [0046] 소변 알부민과 소변 크레아티닌을 위한 신속한 어세이는 상이한 시험 스트립들 상에서 또는 동일한 시험 스트립 상에서 알부민 및 크레아티닌 결합제를 이용하는 면역크로마토그래피 방법이다. 소변 크레아티닌에 대한 소변 알부민의 비를 측정하기 위해, 2개의 동시 측정이 실시된다. 제1 측정은 소변 알부민을 측정하기 위해 제1 세트의 면역크로마토그래피 시약을 사용하여 실시된다. 제2 측정은 소변 크레아티닌을 측정하기 위해 제2 세트의 면역크로마토그래피 시약을 사용하여 실시된다. 일 실시양태에서, 알부민과 크레아티닌을 측정하기 위한 두 시약 세트는 단일 시험 스트립과 단일 외부 카세트 내에 포함되며(도 1 및 2) 이는 시험 카세트 관독기 내에 삽입되어(도 4 및 5) 결과를 자동으로 판독하고, 계산하고, 표시한다. 이에, 어세이는 단일 시험 스트립으로부터 소변 알부민과 크레아티닌 둘다를 측정한다. 나아가, 본원에 개시된 어세이는 크레아티닌 또는 알부민을 검출하기 위해 촉매적 또는 화학적 반응을 사용하지 않으며, 크레아티닌과 알부민의 검출은 본원에 기재된 바와 같이 분석물 결합제로의 분석물의 결합을 수반한다. 모든 검출 활동은 시험 카세트 내의 시험 스트립 상에서 일어나며 시험 카세트 관독기는 단지 표시 세기를 측정한다. 시험 카세트는 어떠한 기계적 또는 무빙 부품을 가지지 않는다. 또한, 사용자에게 의해 수행되는 유일한 활동은 소변 샘플을 카세트에 첨가하는 것이며; 검출 및 측정 활동의 나머지 모두는 사용자에게 의한 추가 조작없이 수행될 수 있다.
- [0047] 소변 샘플(101)로부터 소변 크레아티닌과 알부민을 측정하기 위한 시험 스트립(100)의 일 실시양태가 도 1 및 2에 도시되어 있다. 시험 스트립(100)은 셀룰로스 니트레이트 멤브레인(이에 한정되지 않음)과 같은 재료로 이루어진 측방 유동 멤브레인(107)을 포함하며, 여기에 분석 시약이 고정 기체에 고정되어 있다. 샘플 적용 패드(103)가 표지(label)와 결합된 크레아티닌 특이적 결합제 및 알부민 특이적 결합제로 이루어진 표지된 컨쥬게이트를 함유하는 컨쥬게이트 패드(104)와 접촉한다. 컨쥬게이트 패드(104) 내에는, 알부민과 크레아티닌에 특이적인 컨쥬게이트가 경우에 따라 컨쥬게이트 패드(104)의 별개 부분들(105, 106) 각각 내에 배치된다. 컨쥬게이트는 형광 염료, 착색된 염료, 또는 자기 재료, 금, 폴리스티렌, 실리카, 또는 아크릴로 이루어진 미세입자(이에 한정되지 않음)와 같은 재료로 이루어진 검출가능한 표지를 포함한다.
- [0048] 대조 영역(109, 111)이, 샘플에 반응하지 않고 시험 영역(108, 110)에 고정화되지 않는 컨쥬게이트와 결합하도록 제공된다. 레저버 패드(112)가 과잉 샘플 유체 및 비결합 시약을 흡수하도록 멤브레인의 원위 단부에 제공된다. 시험 스트립은 시험 결과의 가시화 및 측정을 허용하기 위해 샘플 웰(115) 및 카세트 윈도우(116)를 함유하는 경질 카세트(114) 내에 넣어진다.
- [0049] 샘플 패드(103), 컨쥬게이트 패드(104), 멤브레인(107), 분석 영역들(108, 109, 110, 111), 및 레저버 패드(112)의 전체 어셈블리는 경질 백킹층(113)과 접촉제로 유지된다.
- [0050] 일 실시양태에서는, 런닝 버퍼가 샘플 적용 패드(103) 상에 직접 드라잉되고, 런닝 버퍼가 소변 샘플의 샘플 적용 패드로의 직접 적용에 의해 그러한 적용 이전에 런닝 버퍼로 소변 샘플을 희석할 필요없이 가용화된다.
- [0051] 시험을 실시하기 위해, 소변 샘플(101)은 런닝 버퍼로 희석되고 샘플 패드(103)에 적용된다. 완충(buffered) 소변 샘플은 컨쥬게이트 패드(104) 안으로 이동하고 컨쥬게이트 패드(104) 내에 배치된 드라잉된 컨쥬게이트를 용액으로 가용화시킨다. 일 실시양태에서, 컨쥬게이트 패드는 크레아티닌에 특이적인 적어도 하나의 컨쥬게이트 및 알부민에 특이적인 적어도 하나의 컨쥬게이트가 내부에 배치된다. 소변 샘플 내의 알부민과 크레아티닌은 컨쥬게이트와 혼합되고 각각 알부민- 및 크레아티닌-특이적 컨쥬게이트에 결합한다. 컨쥬게이트 패드로부터, 샘플-컨쥬게이트 복합체는 4개의 분석 영역들(108, 109, 110, 111)을 함유하는 멤브레인(107)을 통과한다. 4개의 분석 영역들(108, 109, 110, 111)은 멤브레인(107) 상에 특정의 고정화된 분석물-결합 시약을 함유한다.
- [0052] 샘플은 소변 크레아티닌 농도, 소변 알부민 농도, 및/또는 알부민-크레아티닌 비가 필요한 개체로부터 얻어진 소변 샘플이다. 소변 샘플은 약 5-50  $\mu\text{l}$ 의 부피를 포함한다. 특정 실시양태들에서, 소변 샘플 부피는 약 8-40  $\mu\text{l}$ , 약 10-30  $\mu\text{l}$ , 약 12-20  $\mu\text{l}$ , 또는 약 15  $\mu\text{l}$ 이다. 소변 샘플은 샘플 : 런닝 버퍼의 희석도 약 1:2, 약 1:3, 약 1:4, 약 1:5, 약 1:6, 약 1:7, 약 1:8, 약 1:9, 약 1:10, 약 1:11, 약 1:12, 약 1:13, 약 1:14, 약 1:15, 약 1:16, 약 1:17, 약 1:18, 약 1:10, 약 1:20, 약 1:21, 약 1:22, 약 1:23, 약 1:24, 또는 약 1:25에서 런닝 버퍼로 희석된다. 개시된 시스템, 방법 및 키트에서 사용하기 적합한 런닝 버퍼는 완충 염 용액, 세제, 단백질, 및 방부제를 포함한 버퍼를 포함한다. 일 실시양태에서, 완충 염 용액은 포스페이트 완충 식염수이다. 또 다른 실시양태에서, 세제는 폴리소르베이트-80이다. 또 다른 실시양태에서, 단백질은 카세인, 또는 나트륨 카세인이다. 또 다른 실시양태에서, 방부제는 나트륨 아지드이다. 또 다른 실시양태에서, 런닝 버퍼는 10 mM 포스페이트 버퍼(pH 7.4에서), 0.15 M NaCl, 0.5% (w/v) 폴리소르베이트-80 세제, 1% (w/v) 나트륨 카세인, 및 0.02% (w/v) 나트륨 아지드이다.

- [0053] Crt-Test(크레아티닌 시험) 분석 영역(108)은 제1 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화 시약, 예컨대 니트로셀룰로스 멤브레인 상에 고정화된, 캐리어에 비결합되거나 결합된 크레아티닌을 포함한다. 소변 샘플이 크레아티닌을 함유하지 않는다면, 컨쥬게이트 패드(104)로부터의 비결합 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 Crt-Test 분석 영역에 최대한으로 결합한다. 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 소변 샘플 내의 크레아티닌에 결합했다면, Crt-Test 분석 영역(108)으로 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트의 결합이 방해되고, 그 결과 소변 샘플 내의 크레아티닌 농도에 정비례하는 Crt-Test 분석 영역 시그널 세기의 감소를 야기한다. Crt-Con(크레아티닌 대조) 분석 영역(109)은 Crt-Test 분석 영역에 의해 보유되지 않는 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트를 제2 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화 시약으로 포획하며, 이는 이들이 소변 크레아티닌에 결합했는지 결합하지 않았는지는 상관없다. 제1 크레아티닌 컨쥬게이트 특이적 고정화제를 위한 예시적인 캐리어는 소 혈청 알부민(BSA), 키홀 림프 헤모시아닌(KLH), 오브알부민(OA), 덴드리머, 등을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 캐리어는 환자 샘플 중의 분석물 또는 비분석물의 측정에 사용되는 시약들 중 임의의 시약과 교차-반응하지 않는 불활성 분자이다.
- [0054] Alb-Test(알부민 시험) 분석 영역(110)은 제1 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화 시약, 예컨대 인간 혈청 알부민(HSA)을 포함한다. 소변 샘플이 알부민을 함유하지 않는다면, 컨쥬게이트 패드(104)로부터의 비결합 알부민 특이적 컨쥬게이트가 Alb-Test 분석 영역에 최대한으로 결합한다. 알부민 특이적 컨쥬게이트가 소변 샘플 내 알부민에 결합했다면, Alb-Test 분석 영역(110)으로 알부민 특이적 컨쥬게이트의 결합이 방해되고, 그 결과 소변 샘플 내 알부민 농도에 정비례하는 Alb-Test 분석 영역 시그널 세기의 감소를 야기한다. Alb-Con(알부민 대조) 분석 영역(111)은 Alb-Test 분석 영역에 의해 보유되지 않는 알부민 특이적 컨쥬게이트를 제2 알부민 컨쥬게이트 특이적 고정화 시약을 사용하여 포획하며, 이는 이들이 소변 알부민에 결합했는지 결합하지 않았는지는 상관없다.
- [0055] 시험 영역을 위한 고정화제는 제1 분석물 컨쥬게이트 특이적 시약 예컨대 경쟁적 어세이를 위한 분석물(크레아티닌 또는 알부민) 또는 분석물 유도체(들), 또는 샌드위치 어세이를 위한 분석물 컨쥬게이트 특이적 시약이다. 일 실시양태에서, 크레아티닌을 위한 시험 영역 고정화제는 크레아티닌 또는 크레아티닌 유도체 예컨대 크레아티닌-캐리어 컨쥬게이트이다. 또 다른 실시양태에서, 알부민을 위한 시험 영역 고정화제는 정제된 인간 알부민, 재조합 인간 알부민, 알부민 특이적 컨쥬게이트와 결합할 수 있는 인간 알부민 단편, 알부민 특이적 컨쥬게이트와 결합할 수 있는 인간 알부민 도메인, 또는 인간 알부민 유도체 예컨대 HSA, 및 멤브레인에 HSA의 결합을 촉진하는 또 다른 단백질 또는 분자로 이루어진 인간 알부민 컨쥬게이트이다.
- [0056] 본원에서 사용된 용어 "유도체"는 그 본래 형태(conformation)의 적어도 95%를 보유하면서 분석물과 유사한 친화도로 분석물 결합제에 결합하는 제2 분자에 접합된(컨쥬게이트된) 분석물을 지칭한다. 예시적인 분석물 유도체는 캐리어 단백질에 접합된 분석물, 또는 작용기 예컨대 비오틴에 접합된 분석물이다.
- [0057] 대조 영역을 위한 고정화제는 일차 표지된 항-분석물 컨쥬게이트에 결합하는 제2 분석물 컨쥬게이트 특이적 시약이다. 일 실시양태에서, 대조 고정화제는 크레아티닌 또는 알부민 특이적 컨쥬게이트에 특이적인 폴리클로날 항체이다. 특정 실시양태들에서, 대조 고정화제는 크레아티닌 또는 인간 알부민 특이적 컨쥬게이트 항체 중에 특이적인 폴리클로날 항체이다. 대조 고정화제의 비제한적인 예는 염소 항-토끼 항체, 염소 항-마우스 항체, 염소 항-양 항체, 토끼 항-염소 항체, 토끼 항-마우스 항체, 토끼 항-양 항체, 마우스 항-염소 항체, 마우스 항-토끼 항체, 마우스 항-양 항체, 양 항-염소 항체, 양 항-토끼 항체, 또는 양 항-마우스 항체이다.
- [0058] 일 예시적인 실시양태에서, 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트가 토끼 항-크레아티닌 항체를 포함하고 알부민 특이적 컨쥬게이트가 마우스 항-인간 알부민을 포함한다면, 크레아티닌 특이적 대조 고정화제는 염소 항-토끼 항체이고 알부민 특이적 대조 고정화제는 염소 항-마우스 항체이다.
- [0059] 레저버 패드(112)는 시험 멤브레인(107)으로부터 회석된 소변 샘플의 흡수를 촉진하고, 모세관 작용이 컨쥬게이트 및 완충 소변을 멤브레인의 전체 길이를 따라 계속해서 이동시키고 임의의 비결합 컨쥬게이트의 멤브레인을 깨끗이 하도록 해준다. 레저버는 시험 멤브레인을 통한 분석물의 수송이 시험 멤브레인(107)의 위킹 부피(wicking volume)에만 의존하지 않도록 추가의 위킹 부피를 제공한다.
- [0060] 도 3은 2개의 컴포넌트, 시험 스트립(100) 및 임의적인 경질 케이스(150)를 포함하는 전체 시험 카세트(114)를 도시한다. 카세트의 경질 케이스는 회석된 소변 샘플이 놓이는 샘플 웰(115), 및 시험 멤브레인(107) 상의 분석 영역들(108, 109, 110, 및 111)의 시계(view)를 관독기(자)에 제공하는 카세트 윈도우(116)를 포함한다. 구조 지지체(113)는 시험 스트립과 결부되어, 스트립을 정확한 위치에 유지하고 시험 멤브레인과 시험 스트립의 다른 부분들 간의 접촉을 유지하는 역할을 담당한다. 시험 카세트는, 카세트 내부에 시험 스트립을 제자리에 고정시키기에 충분한 압력을 제공하고 시험 스트립 컴포넌트들(103, 104, 107, 및 112)을 물리적 접촉을 유지하

기 위해 이들 컴포넌트들 간의 중첩 영역에 충분한 압력을 제공하기 위해 다양한 위치에서 시험 스트립과의 물리적 접촉을 이루는 내부 구조물을 포함한다. 시험 카세트는 임의의 경질 재료 예컨대 성형성(moldable) 플라스틱, 열가소성 재료, 또는 라미네이팅 재료로 이루어질 수 있다.

[0061] 정해진 시간 이후에, 4개 분석 영역들(108, 109, 110, 111) 각각의 시그널 세기는 시험 카세트 판독기(117)로 정량화되고, 예시적인 실시양태가 도 4 및 5에 도시되어 있다. 알부민 특이적 및 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 결부된 표지의 종류에 따라, 시험 카세트 판독기(117)는 분석 영역들(108, 109, 110, 111)로부터 시그널 세기를 검출하고 측정하는 상응하는 검출 메커니즘을 갖는다.

[0062] 반응을 일으키고 분석물 농도를 확인하기에 충분한 강도의 시그널 세기를 얻는데 소요되는 시간은 약 2-30분, 약 5-25분, 약 7-20분, 약 10-17분, 또는 약 15분이다. 다른 실시양태들에서, 이 시간은 약 30분 미만, 약 25분 미만, 약 20분 미만, 약 15분 미만, 약 10분 미만, 또는 약 5분 미만이다. 다른 실시양태들에서, 이 시간은 약 5분, 약 6분, 약 7분, 약 8분, 약 9분, 약 10분, 약 11분, 약 12분, 약 13분, 약 14분, 약 15분, 약 16분, 약 17분, 약 18분, 약 19분, 또는 약 20분이다.

[0063] 시험 카세트 판독기는 반사 분광광도계, 형광분석기, 또는 광학 판독기이며, 분석물 특이적 컨쥬게이트와 결부된 표지에 기초하여 선택된다. 예를 들면, 컨쥬게이트가 형광 표지로 표지된다면, 시험 카세트 판독기는 형광 분석기이다. 컨쥬게이트가 염료 또는 착색된 비드로 표지된다면, 시험 카세트 판독기는 반사 분광광도계 또는 광학 판독기이다. 특정 실시양태들에서, 시험 카세트는 컨쥬게이트가 염료 또는 착색된 비드로 표지된다면 맨눈으로 판독될 수 있다. 시험 카세트가 맨눈으로 판독이 되면, 분석물의 정량은 착색된 표준과 비교함으로써 결정된다.

[0064] 일 실시양태에서, 컨쥬게이트는 형광 표지로 표지되고, 측정 기기는 시험 스트립(101) 상의 4개 분석 영역들(108, 109, 110, 111)의 형광 세기를 측정하고 이들 판독치로부터 결과를 계산하는 형광분석기이다. 각 분석 시험 영역(108 및 110)의 세기는 각 시험 라인 세기를 이의 각각의 분석 대조 영역(109 또는 111)과 구분함으로써 조정된다. 크레아티닌 및 알부민 농도는 조정된 값들을 순수한 크레아티닌 및 알부민 표준으로 확립되고 크레아티닌과 알부민 둘다의 표준화된 양을 갖는 소변의 대조 샘플로 확인된 보정 곡선과 비교함으로써 결정된다. 이후 결과는 알부민과 크레아티닌 표준에서 유도된 수학적 알고리즘에 따라 계산된다. 결과는 샘플 중에 존재하는 소변 알부민 농도, 소변 크레아티닌 농도, 및 크레아티닌에 대한 알부민의 비로서 표시된다.

[0065] 또 다른 실시양태에서, 시험 카세트 판독기는 알부민 특이적 및 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 결부되어진 착색된 미세입자로부터 반사된 광의 특정 파장을 측정하는 반사 분광분석기이다. 시험 밴드와 대조 밴드 부위에서 측정된 반사 광의 양은 각 부위에서 균집된 미세입자의 밀도에 정비례한다. 데이터 환산 및 결과 보고는 형광 분석기에 대해 앞서 기재된 바와 같다.

[0066] 또 다른 실시양태에서, 판독기 디바이스는 자기장을 검출하고 분석물 특이적 컨쥬게이트에 사용되는 표지는 초상자성 입자이다. 데이터 환산 및 결과 보고는 형광분석기에 대해 앞서 기재된 바와 같다.

[0067] 도 5에 도시된 판독기의 일 실시양태에서, 마이크로컨트롤러(121)가 시험 카세트(114) 내의 시험 스트립(100)의 분석 영역들(108, 109, 110, 111)로부터의 시그널 세기의 측정, 앞서 기재된 바와 같이 시그널 세기의 프로세싱, 시험 결과 및 사용자 옵션의 저장, 물리적 통신 포트(124)를 통한 결과의 전송, 결과의 무선 전송, 결과를 작동자에게 표시, 다양한 사용자 명령의 프로세싱, 등의 프로세스들을 조화시키는 역할을 담당한다.

[0068] 알부민 농도, 크레아티닌 농도, 및 알부민-크레아티닌 비에 대한 계산은 수학적 알고리즘 및 기준 표준 곡선에 기초한다. 표준 곡선은 값 할당된 표준으로부터 유도되고 기기는 배치 이전에 제조 설비에서 미리-보정된다. 결과는 소변 알부민 농도, 소변 크레아티닌 농도, 및 소변 알부민 : 크레아티닌의 비로서 나타내어지고 액정 디스플레이(126) 상에 표시된다. 시간에 따라 얻어진 연속 결과가 기기에 저장되고 필요시 검색될 수 있으며 수치 포맷 또는 그래프 포맷으로 표시된다. 전형적으로, 결과는 시험 일자에 따라 표시될 것이다. 사용자는 이전에 저장된 시험 결과 모두와 이들의 표시 날짜를 가지거나 또는 그래프로서 표시된 모든 결과를 가지도록 선택할 수 있으며 이에 어떠한 트랜드를 확인할 수 있다. 내부 컴퓨터에 명령어를 입력하기 위해 기기는 이의 외부 케이스 상에 버튼 또는 키보드를 포함할 수 있다.

[0069] 결과는 또한 외부 포트(124)를 통해 외부 컴퓨터에 다운로드되고/되거나 외부 프린터 상에 프린팅될 수 있다. 기기의 전자기술은 내부 배터리(125) 및/또는 외부 전원(123)에 의해 작동된다. 컴포넌트는 디스플레이 모니터(126)를 위한 윈도우 및 시험 카세트(114)를 판독기 디바이스 내부에 삽입하기 위한 시험 카세트 슬롯(119)을 갖춘 경질 외부 케이스(118)에 하우징된다. 시험 카세트 판독기는 파워 스위치(122)를 사용하여 켜지거나 꺼

질 수 있다.

- [0070] 또 다른 실시양태에서, 시험 카세트 관독기는 소형의, 콤팩트형, 경량, 휴대가능하며, 핸드-헬드(hand-held) 디바이스이도록 패키징된다. 일반적으로, 이는 외관 및 디자인에 있어 흔히 사용되는 다양한 휴대용 글루코미터와 유사하다. 이러한 변형은 본래 가능한 것이며 본 개시의 범위 내인 것으로 간주된다.
- [0071] 시험 카세트의 또 다른 실시양태에서, 2개의 별개 시험 스트립, 및 시험 샘플 유체가 도 6 및 7에 도시된 바와 같이 시험 스트립 둘다를 동시에 가로질러 이동하도록 배치된 단일 샘플 적용 패드를 포함하는 시험 카세트가 개시된다. 2개 시험 스트립 실시양태에서, 2개의 시험 스트립은 평행한 배열이거나 또는 방사형(radial) 구조일 수 있다. 도 6은 서로 정반대로 위치한 시험 스트립 배열을 도시하고 도 7은 서로에 대해 각을 이룬 시험 스트립을 도시한다. 이들 예에서 시험 카세트는 직사각형 또는 정사각형 구조의 형상이다. 이들 카세트를 삽입하기 위한 측정 기기에서의 구경(aperture)은 이들 카세트의 형상에 적합하도록 조정된다.
- [0072] 도 6에 도시된 바와 같이, 시험 카세트(214)는 시험 카세트 케이스(201), 및 서로 정반대로 위치하고 단일 샘플 적용 패드(203)에 의해 연결된 2개의 시험 스트립(200 및 200')을 포함한다. 시험 카세트 케이스는 또한 사용자가 시험 스트립(200 및 200') 각각을 살펴볼 수 있도록 하기 위해 카세트 윈도우(216 및 216')를 포함한다. 샘플 웰(215)은 샘플 적용 패드(203)로의 접근을 허용한다. 시험 스트립(200)은 제1 분석물에 특이적이며 컨쥬게이트 패드(204), 분석 영역들(208)(제1 분석물 시험 영역) 및 (209)(제1 분석물 대조 영역)을 포함한 멤브레인(207) 및 레저버(212)를 포함한다. 시험 스트립(200')은 제2 분석물에 특이적이며 컨쥬게이트 패드(204'), 분석 영역들(210)(제2 분석물 시험 영역) 및 (211)(제2 분석물 대조 영역)을 포함한 멤브레인(207') 및 레저버(212')를 포함한다.
- [0073] 도 7에 도시된 바와 같이, 시험 카세트(314)는 시험 카세트 케이스(301), 및 서로 수직이고 단일 샘플 적용 패드(303)에 의해 연결된 2개의 시험 스트립(300 및 300')을 포함한다. 시험 카세트 케이스는 또한 사용자가 시험 스트립(300 및 300') 각각을 살펴볼 수 있도록 하기 위해 카세트 윈도우(316 및 316')를 포함한다. 샘플 웰(315)은 샘플 적용 패드(303)로의 접근을 허용한다. 시험 스트립(300)은 제1 분석물에 특이적이고 컨쥬게이트 패드(304), 분석 영역들(308)(제1 분석물 시험 영역) 및 (309)(제1 분석물 대조 영역)을 포함한 멤브레인(307) 및 레저버(312)를 포함한다. 시험 스트립(300')은 제2 분석물에 특이적이고 컨쥬게이트 패드(304'), 분석 영역들(310)(제2 분석물 시험 영역) 및 (311)(제2 분석물 대조 영역)을 포함한 멤브레인(307') 및 레저버(312')를 포함한다.
- [0074] 알부민 특이적 및 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트는 알부민 또는 크레아티닌에 특이적으로 결합하면서 나머지와는 교차-반응하지 않는 임의의 작용제(agent)를 포함한다. 예시적인 결합체는 항체, 압타머, 화학물질(chemicals), 및/또는 결합 펩티드를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일 실시양태에서, 결합체는 알부민 또는 크레아티닌에 특이적인 항체이다.
- [0075] 본원에서 사용된 용어 "항체"는 일반적으로 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 단백질을 지칭한다. 항원 인식 및 결합은 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 내에서 일어난다. 하나의 중쇄와 하나의 경쇄를 가진 단일 도메인 항체 및 경쇄가 없는 중쇄 항체가 또한 알려져 있다. 주어진 항체는 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 불리는 5종의 중쇄 중 하나를 포함하고, 이러한 분류는 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열에 기초한다. 이들 다양한 종류의 중쇄는 5 부류의 항체, IgA (IgA1 및 IgA2 포함), IgD, IgE, IgG (IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4) 및 IgM, 각각을 생기게 한다. 주어진 항체는 또한 카파 또는 람다로 불리는 2종의 경쇄 중 하나를 포함하며, 이러한 분류는 경쇄 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초한다. IgG, IgD, 및 IgE 항체는 일반적으로 2개의 동일한 중쇄 및 2개의 동일한 경쇄 및 2개의 항원 결합 도메인을 함유하며, 각각은 중쇄 가변 영역(VH)과 경쇄 가변 영역(VL)으로 이루어진다. 일반적으로 IgA 항체는 2개의 모노머로 이루어지며, 각 모노머는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄로 이루어지고(IgG, IgD, 및 IgE 항체의 경우와 마찬가지로); 이러한 방식으로 IgA 분자는 4개의 항원 결합 도메인을 가지며, 각각은 VH 및 VL로 이루어진다. 특정 IgA 항체는 2개의 중쇄와 2개의 경쇄로 이루어진 모노머이다. 분비된 IgM 항체는 일반적으로 5개의 모노머로 이루어지고, 각 모노머는 2개의 중쇄와 2개의 경쇄로 이루어지며(IgG 및 IgE 항체의 경우와 마찬가지로); 이러한 방식으로 IgM 분자는 10개의 항원 결합 도메인을 가지며, 각각은 VH 및 VL로 이루어진다. IgM의 세포 표면 형태가 또한 존재하고 이는 IgG, IgD, 및 IgE 항체에 유사한 2개의 중쇄/2개의 경쇄 구조를 가진다.
- [0076] 본원에서 사용되는 용어 "모노클로날 항체"는 몇개의 상이한 B 림프구로 제조된 폴리클로날 항체와 달리, 모두 유일한 모(parent) B 림프구의 클론인 동일한 B 림프구로 제조되기 때문에 동일한 단일특이적 항체를 지칭한다. 모노클로날 항체는 동일한 에피토프에 결합하는 점에서 1가 친화성을 갖는다.

- [0077] 원하는 모노클로날 항체를 분비하는 불멸화 세포주는 일반적으로 알려진 바와 같이 림프구 또는 비장 세포의 불멸화를 유도하는 표준 방법 또는 변형을 이용하여 제조될 수 있다. 원하는 항체를 분비하는 불멸화 세포주는 항원이 펩티드 합텐, 폴리펩티드 또는 단백질인 면역어제이에 의해 스크리닝된다. 원하는 항체를 분비하는 적절한 불멸화 세포 배양물을 동정한 경우, 세포는 시험관내에서 또는 복수(ascites)액에서의 생산에 의해 배양될 수 있다. 원하는 모노클로날 항체는 이후에 배양 상청액으로부터 또는 복수 상청액으로부터 회수된다.
- [0078] 본원에서 사용되는 용어 "폴리클로날 항체"는 상이한 B 림프구들로부터 얻어진 항체를 지칭한다. 이에 반해, 모노클로날 항체는 단일의, 클로날 B 림프구 세포주에서 유래한다. 폴리클로날 항체는 전형적으로 적당한 동물, 예컨대 토끼, 닭, 염소, 기니피그, 햄스터, 말, 마우스, 래트, 또는 양의 접종에 의해 생성된다. 수집될 수 있는 혈청의 양이 많을수록 보다 큰 동물이 종종 바람직하다.
- [0079] 항체는, 충분한 길이라면, 또는 원한다면, 또는 면역원성을 증진시킬 것이 요구된다면, 적당한 캐리어에 접합된 펩티드, 폴리펩티드 또는 단백질을 사용하는 적절한 면역화 프로토콜에서 적당한 동물 호스트를 면역화시킴으로써 제조될 수 있다. 이는 B 림프구를 유도하여 항원에 특이적인 면역글로불린을 생성한다. 캐리어 예컨대 BSA, KLH, 또는 다른 캐리어 단백질을 갖는 면역원성 컨주게이트의 제조 방법은 업계에 익히 알려져 있다. 몇몇 상황에서는, 예를 들면, 카보디이미드 시약을 이용한 직접적인 컨주게이션이 효과적일 수 있고; 다른 상황에서는 연결 시약 예컨대 Pierce Chemical Co.(일리노이주 록포드)에 의해 공급되는 연결 시약이 합텐에 대한 접근성을 제공하는데 바람직할 수 있다. 합텐 펩티드는 예를 들면, 캐리어로의 연결을 촉진하기 위해, 시스테인 잔기를 갖거나 또는 사이 사이에 시스테인 잔기를 갖는 아미노 또는 카복시 말단에서 연장될 수 있다. 면역원의 투여는, 일반적으로 업계에서 이해되고 있는 바와 같이, 일반적으로 적당한 시간에 걸쳐 적당한 아주먼트의 사용과 함께 주입에 의해 이루어진다. 실험실 동물에서 항체 생성의 일차 목표는 실험 또는 진단 시험에서 사용하기 위한 고 역가, 고 친화성 항혈청을 얻는 데 있다. 이에 따라, 항원에 대한 면역 반응을 개선 또는 증강시키기 위해 아주먼트가 종종 사용된다. 대부분의 아주먼트는 배출 림프절로 항원의 서방출을 허용하는 주입 부위, 항원 데포(depot)를 제공한다. 면역화 스케줄 동안, 항체 형성의 적당성을 확인하기 위해 항체의 역가가 취해진다.
- [0080] 본원에서 항체를 언급하면서 사용된 용어 "단편" 또는 "항체 단편"은 전장 항체 폴리펩티드를 포함하지 않지만, 전장 항체 폴리펩티드의 적어도 일부를 포함하는 항체 폴리펩티드 분자(예를 들면, 항체 중쇄 또는 경쇄 폴리펩티드)에서 유래한 폴리펩티드를 지칭한다. 항체 단편은 종종 전장 항체 폴리펩티드의 절단된 일부를 포함하는 폴리펩티드를 포함하지만, 이 용어는 이러한 절단된 단편에 한정되지 않는다. 단편은, 이 용어가 항체를 본원에서 언급하면서 사용될 때, 항체 폴리펩티드(예를 들면 중쇄 또는 경쇄 항체 폴리펩티드)에서 유래한 단일 폴리펩티드 쇄를 포함하는 단편을 포괄하기 때문에, 항체 단편은 그 자신 상에서 항원과 결합할 수 있거나 결합하지 않을 수 있음을 이해할 것이다. 예를 들면, 항체 단편은 Fab 단편에 함유되는 중쇄 항체 폴리펩티드의 그 부분을 포함할 수 있으며; 이러한 항체 단편은 항원-결합 부위가 재구축되도록 경쇄 항체 폴리펩티드에서 유래한 또 다른 항체 단편(예를 들면, Fab 단편에 함유되는 경쇄 항체 폴리펩티드의 그 부분)과 결부되지 않는 한 전형적으로 항원에 결합하지 않을 것이다. 항체 단편은 예를 들면, Fab 단편, F(ab')<sub>2</sub> 단편, scFv (단일 쇄 Fv) 단편, 디아바디, 선형 항체, 다중특이성 항체 단편 예컨대 이중특이성, 삼중특이성, 및 다중특이성 항체(예를 들면, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디), 미니바디, 킬레이팅 제조항체, 트리바디 또는 비바디, 인트라바디, 나노바디, 작은 조절 면역약물(SMIP), 결합-도메인 면역글로불린 융합 단백질, 낙타화(camelized) 항체, 및 VH8 함유 항체에 함유된 폴리펩티드를 포함할 수 있다. "항체 단편" 또는 "항체 폴리펩티드 단편"은 "항원-결합 항체 단편" 및 "항원-결합 항체 폴리펩티드 단편"을 포함하는 것으로 인식될 것이다.
- [0081] 특정 실시양태들에서, 항-크레아티닌 컨주게이트는 크레아티닌에 대한 폴리클로날 또는 모노클로날 항체이다. 다른 실시양태들에서, 항-알부민 컨주게이트는 인간 알부민에 대한 폴리클로날 또는 모노클로날 항체이다. 크레아티닌 또는 알부민에 대한 전체 폴리클로날 항혈청, 또는 IgG 정제된 분획, 또는 친화성 정제된 항체가 이용될 수 있다.
- [0082] 항체는 수동 흡착에 의해, 화학적 접합 예컨대 공유 결합에 의해, 또는 중간 제제, 예컨대 단백질 A-코팅된 미세입자에 결합을 통해 표지 분자 또는 미세입자에 접합된다. 항체-표지 컨주게이트의 제조 방법은 당업자에 숙지된 표준 실험실 절차에 따라 수행된다.
- [0083] 항체의 작용을 모방하고 본원에 기재된 항체 컨주게이트를 대체할 수 있는 크레아티닌 및 알부민에 대한 다른 결합제도 또한 본원에 개시된 시험 카세트 및 방법의 범위 내이다.
- [0084] 게다가 실질적으로 동일한 기능을 수행하는 다른 재료 및 화학 시약이 본원에 기재된 것들 대신에 사용될 수 있다. 마찬가지로, 판독 및 측정 디바이스는 외관 및 취급 특성에 있어 상이할 수 있다. 이들은 주로 본질상 표현

적이며 본 개시내용의 범위 내에 또한 포함된다.

[0085] 실시예 1

[0086] 소변 알부민 시험

[0087] 시험을 수행하기 위해, 소변 샘플을 런닝 버퍼로 희석하고, 이를 시험 카세트의 샘플 적용 패드에 적용한다. 완충 소변 샘플은 컨쥬게이트 패드 안으로 이동하고 건조된 항-알부민 및 항-크레아티닌 항체 컨쥬게이트를 가용화시킨다. 소변 샘플 중의 알부민과 크레아티닌은 컨쥬게이트 패드 내의 알부민 특이적 및 크레아티닌 특이적 컨쥬게이트와 혼합되어, 각각의 항체-컨쥬게이트에 결합한다. 컨쥬게이트 패드로부터, 컨쥬게이트는 니트로셀룰로스 멤브레인을 통과해 4개의 분석 영역들 위를 통과한다.

[0088] Alb-Test 분석 영역은 니트로셀룰로스 멤브레인에 결합된 재조합 인간 혈청 알부민(rHSA)을 포함한다. 소변 샘플이 알부민을 함유하지 않는다면, 항-알부민 항체 컨쥬게이트는 Alb-시험 영역에 최대한으로 결합한다. 항-알부민 항체 컨쥬게이트가 소변 샘플 내 알부민에 결합했다면, 항-알부민 컨쥬게이트가 Alb-Test 분석 영역에 결합하는 것이 방해되어, 소변 샘플 내 알부민 농도에 비례하는 Alb-Test 분석 영역 시그널 강도의 감소를 야기한다. Alb-Con 분석 영역은 Alb-Test 분석 영역에 결합하지 않은 항-알부민 컨쥬게이트와만 결합하며, 이들이 소변 알부민에 결합을 했는지 안했는지는 상관이 없다.

[0089] 정해진 시간 이후에, Alb-Test 및 Alb-Con 분석 영역들 각각의 시그널 강도를 시험 카세트 판독기를 사용하여 정량한다.

[0090] 실시예 2

[0091] 소변 크레아티닌 시험

[0092] 소변 크레아티닌 시험은 실시예 1의 소변 알부민 시험과 동일한 시험 스트립상에서 동시에 수행된다. 크레아티닌 시험을 위해, 항-크레아티닌 항체 컨쥬게이트가 컨쥬게이트 패드에 존재하고 분석 영역들, Crt-Test 및 Crt-Con이 소변 샘플 내에 존재하는 크레아티닌을 포획하도록 포함된다.

[0093] Crt-Test 분석 영역은 니트로셀룰로스 멤브레인에 결합된 크레아티닌-BSA를 포함한다. 소변 샘플이 크레아티닌을 함유하지 않는다면, 항-크레아티닌 항체 컨쥬게이트는 Crt-Test 영역에 최대한으로 결합한다. 항-크레아티닌 항체 컨쥬게이트가 소변 샘플 내의 크레아티닌에 결합했다면, 항-크레아티닌 컨쥬게이트가 Crt-Test 분석 영역에 결합하는 것이 방해되어, 소변 샘플 중의 크레아티닌 농도에 비례하는 Crt-Test 분석 영역 시그널 강도의 감소를 야기한다. Crt-Con 분석 영역은 Crt-Test 분석 영역에 결합하지 않은 항-크레아티닌 컨쥬게이트와만 결합하며, 이들은 소변 크레아티닌에 결합했는지 결합하지 않았는지는 상관이 없다.

[0094] 정해진 시간 이후에, Crt-Test 및 Crt-Con 분석 영역들 각각의 시그널 강도를 시험 카세트 판독기를 사용하여 정량한다.

[0095] 실시예 3

[0096] 소변 알부민 및 소변 크레아티닌에 대한 신속 검사의 선형성(linearity)

[0097] 정제된 인간 알부민 표준 샘플 및 정제된 크레아티닌 샘플 각각을 다양한 농도에서 제조하고 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이 소변 알부민과 소변 크레아티닌에 대한 신속 검사를 이용하여 시험하여 알부민(도 8) 및 크레아티닌(도 9) 각각에 대한 표준 곡선을 만들었다.

[0098] 샘플을 하기 과정에 따라 실행시켰다:

[0099] 1. 1부의 각 샘플을 14부의 런닝 버퍼로 희석한다;

[0100] 2. 샘플과 런닝 버퍼를 혼합한다;

[0101] 3. 75  $\mu$ L의 희석된 소변 샘플을 도 1에 도시된 시험 카세트의 샘플 웰 상에 첨가한다;

[0102] 4. 15분 후에, 시험 카세트 판독기를 사용하여 시험 카세트를 판독한다;

[0103] 5. 소변 알부민 및 크레아티닌 분석 시험 및 대조 영역들 둘다에 대해 [시험 영역/(시험 + 대조)]를 계산한다.

[0104] 도 8 및 9에 따르면, 알부민과 크레아티닌 둘다에 대한  $R^2$  값이 0.95를 초과하는데, 이는 어세이가 알부민과 크레아티닌의 대수(logarithmic) 농도에 대해 선형 응답을 나타내는 것을 시사한다.

- [0105] 실시예 4
- [0106] 소변 알부민 및 크레아티닌을 검출하는 개시된 방법 및 기존 방법 간의 상관성(correlation)
- [0107] 병용 면역비탁적 소변 알부민 및 비색적 소변 크레아티닌 어세이 방법들과 본원에 개시된 면역크로마토그래피 측방 유동 소변 알부민 어세이 간의 상관성을 36개의 인간 소변 샘플을 사용하여 확인하였다 (도 10-12).
- [0108] 각 소변 샘플을 개시된 시험 카세트 및 방법을 사용하여 분석하고, 소변 알부민 농도를 Olympus AU400e 자동분석기 상에서 면역비탁적 방법을 사용하여 측정하거나, 또는 소변 크레아티닌 농도를 Olympus AU400e 자동분석기 상에서 비색적 방법(자폐 반응)을 사용하여 측정했다.
- [0109] 36개의 소변 샘플을 개시된 신속 검사 방법 및 실시예 3에서 만든 표준 곡선을 사용하여 분석했다. 이들 표준 곡선으로부터, 소변 알부민 및 소변 크레아티닌 농도를 계산했다. 크레아티닌에 대한 알부민의 비는 소변 알부민의 농도를 소변 크레아티닌의 농도로 나누어 계산했다.
- [0110] 도 10-12는 소변 알부민 농도(도 10), 소변 크레아티닌 농도(도 11), 및 소변 크레아티닌에 대한 소변 알부민의 비(도 12)에 대한  $R^2$  값이 0.85를 초과하는 결과를 도시하며, 이는 개시된 방법 및 시험 카세트를 사용한 결과가 소변 알부민, 소변 크레아티닌, 및 소변 알부민-크레아티닌 비 측정을 위한 기존 방법들과 상관성이 있음을 시사한다.
- [0111] 달리 언급하지 않는 한, 명세서 및 청구범위에서 사용된 성분들의 양, 성질 예컨대 분자량, 반응 조건, 등을 표시하는 모든 수치는 모든 상황에서 용어 "약"에 의해 변경되는 것으로 해석될 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "약" 및 "대략"은 10 내지 15% 이내, 바람직하게는 5 내지 10% 이내를 의미한다. 따라서, 반대로 나타내지 않는 한, 명세서 및 청구범위에 제시된 수치 파라미터는 본 발명에 의해 얻고자 하는 원하는 성질에 따라 달라질 수 있는 근사치이다. 적어도, 그리고 청구범위에 대한 균등 이론의 적용을 제한하는 시도없이, 각 수치 파라미터는 적어도 보고된 유효 자릿수의 수를 고려하여 그리고 통상의 기법을 적용함으로써 해석된다. 본 발명의 광범위를 제시하는 수치 범위 및 파라미터가 근사치임에도 불구하고, 구체적인 실시예에 제시된 수치 값은 가능한 정확하게 보고된 것이다. 그러나, 임의의 수치 값은 본래 이들 각각의 시험 측정에서 확인된 표준 편차로 인해 특정 오차를 필연적으로 내포한다.
- [0112] 본 발명을 기재하는 문맥에서 (특히 하기 청구범위의 맥락에서) 사용된 용어 "하나("a", "an")", "그(the)" 및 유사 지시어는 본원에서 반대로 지시하거나 문맥상 명확히 모순되지 않는 한, 단수와 복수 둘다를 커버하는 것으로 해석될 수 있다. 본원에서 값들의 범위의 언급은 단순히 그 범위 내에 속하는 각각의 개별 값을 개별적으로 언급하는 속기법으로서 역할을 하는 것으로 의도된다. 본원에서 달리 언급하지 않는 한, 각각의 개별 값은 마치 개별적으로 본원에서 언급된 것과 마찬가지로 명세서 내에 도입된다. 본원에 기재된 모든 방법들은 본원에서 반대로 지시하거나 문맥상 명확히 모순되지 않는 한 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에서 제공된 임의의 그리고 모든 예들, 또는 예시적인 언어(예를 들면, "예컨대")의 사용은 단지 본 발명을 보다 잘 설명하기 위한 의도이며 청구된 본 발명의 범위를 제한하는 의도가 아니다. 명세서에 기재된 어떠한 언어도 본 발명의 실시예에 필수적인 임의의 비-청구된 엘리먼트를 지시하는 것으로 해석되지 않아야 한다.
- [0113] 본원에 기재된 본 발명의 택일적인 엘리먼트들 또는 실시양태들의 그룹핑은 제한적인 것으로 해석될 수 없다. 각 그룹 멤버는 개별적으로 또는 본원에서 확인되는 그룹의 다른 멤버 또는 다른 엘리먼트와 임의의 조합으로 지칭되고 청구될 수 있다. 그룹의 하나 이상의 멤버는 편의성 및/또는 특허성을 이유로 그룹 내에 포함되거나 또는 그룹으로부터 제거될 수 있음이 예상된다. 임의의 이러한 포함 또는 제거가 일어나는 경우, 명세서는 변형된 그룹을 포함하는 것으로 해석되며 이에 청구범위에서 사용된 모든 마쿠시 그룹의 기재를 달성한다.
- [0114] 본 발명의 특정 실시양태들은 본 발명을 수행하기 위해 본 발명자들에게 공지된 최상의 방식을 포함하는 것으로 본원에 기재되어 있다. 물론, 기재된 실시양태들에 대한 변형은 상기 상세한 설명을 숙지한 당업자에게는 자명할 것이다. 본 발명자는 당업자들이 적절한 경우 이러한 변형을 채택할 것을 예상하며, 본 발명자들은 본원에 구체적으로 기재된 것 이외에 다른 식으로 본 발명이 실시되는 것을 의도한다. 따라서, 본 발명은 적용가능한 법에 의해 허용되는 첨부된 청구범위에서 언급된 주제의 모든 변형 및 균등물을 포함한다. 게다가, 본원에서 반대로 지시하거나 문맥상 명확히 모순되지 않는 한 앞서 언급된 엘리먼트들의 모든 가능한 변형에 의한 임의의 조합이 본 발명에 포함된다.
- [0115] 본원에 개시된 특정 실시양태들은 구성되는 또는 실질적으로 구성되는 이란 용어를 사용하여 청구범위에서 더 한정될 수 있다. 청구범위에서 사용되는 경우, 본래 제출된 것이든 보정에 의해 추가된 것이든, 전이

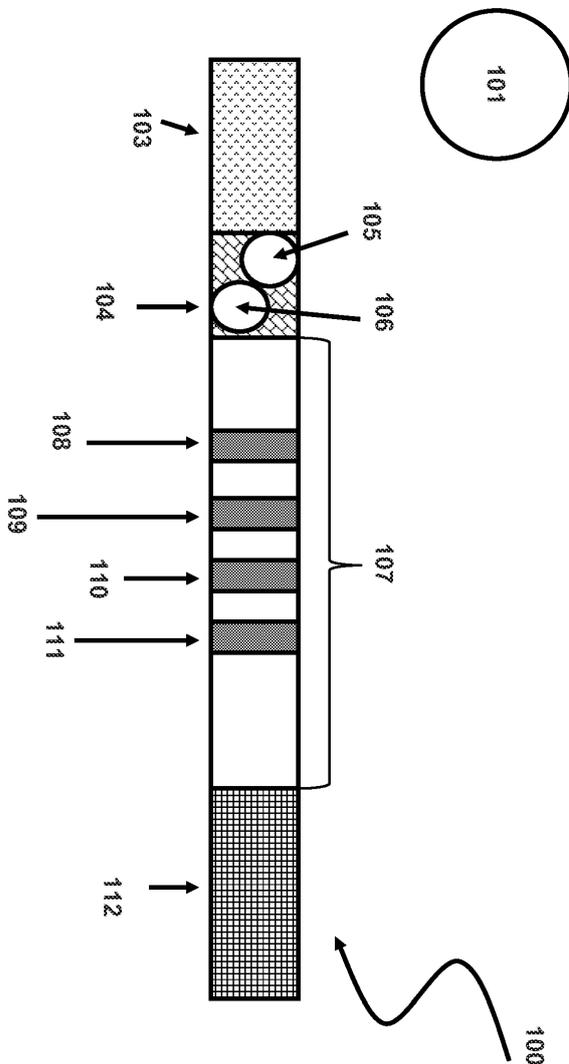
(transition) 용어 "구성하는"은 청구범위에 명시되지 않은 임의의 엘리먼트, 단계, 또는 성분을 배제한다. 전이 용어 "실질적으로 구성되는"은 청구 범위를 명시된 재료 또는 단계 및 기본 및 신규 특성(들)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것들로 한정한다. 청구된 본 발명의 실시양태들은 본원에서 본질적으로 또는 명시적으로 기재되고 실현가능하다.

[0116] 또한, 본 명세서 전반에 걸쳐 특허 및 인쇄된 공보에 대한 다수의 언급이 이루어지고 있다. 앞서 언급된 참고 문헌 및 인쇄된 공보 각각은 개별적으로 본원에서 그 전문이 참고적으로 인용된다.

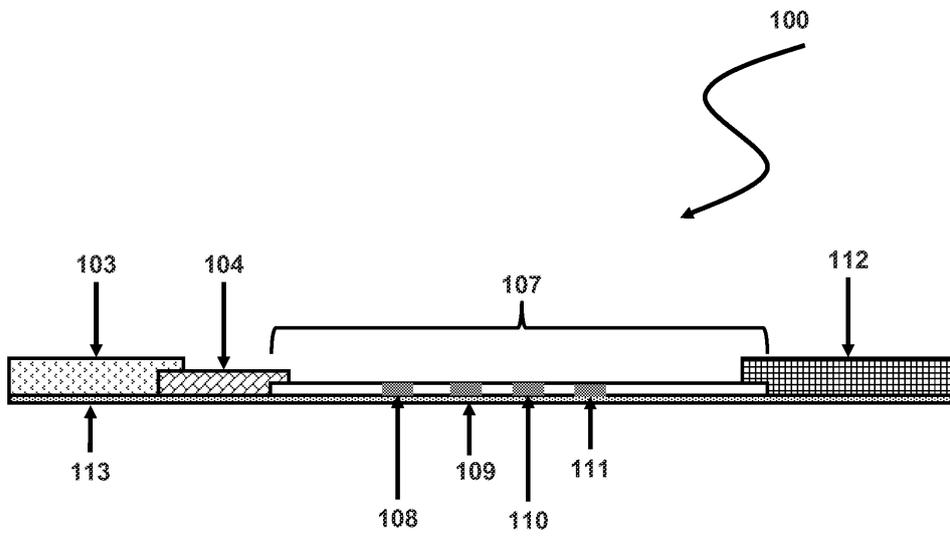
[0117] 마지막으로, 본원에 개시된 본 발명의 실시양태들은 본 발명의 원리에 대한 실례로서 해석된다. 이용될 수 있는 다른 변형들도 본 발명의 범위 내이다. 이에, 예를 들면, 비제한적으로, 본 발명의 택일적 구성은 본원의 교시에 따라 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 정확하게 도시되고 기재된 것에 한정되지 않는다.

**도면**

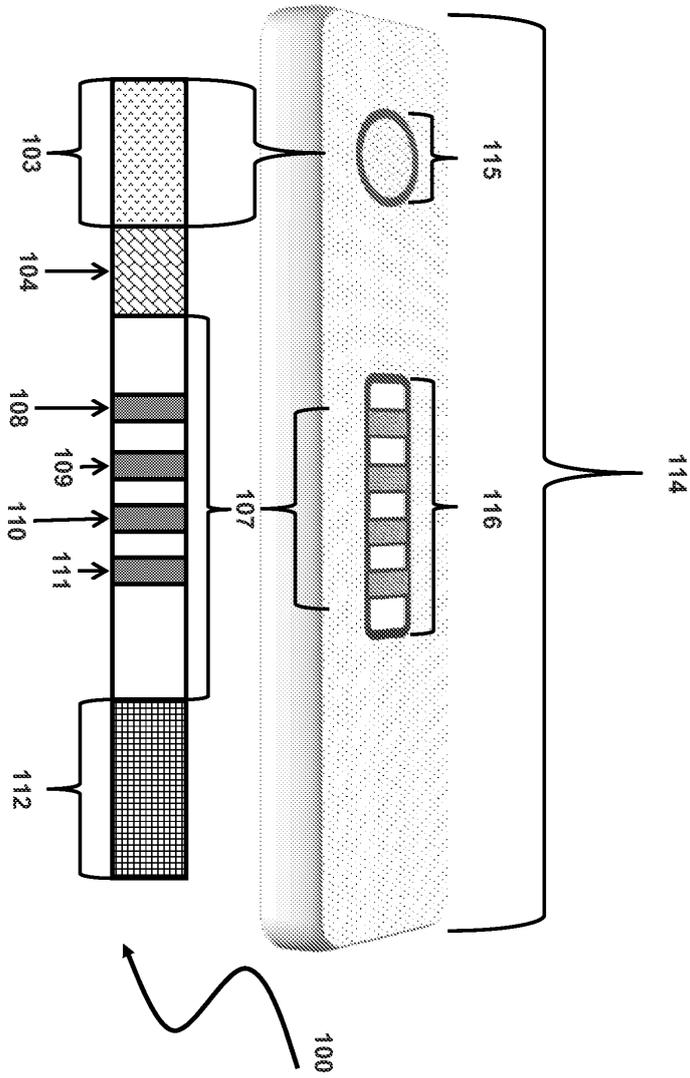
**도면1**



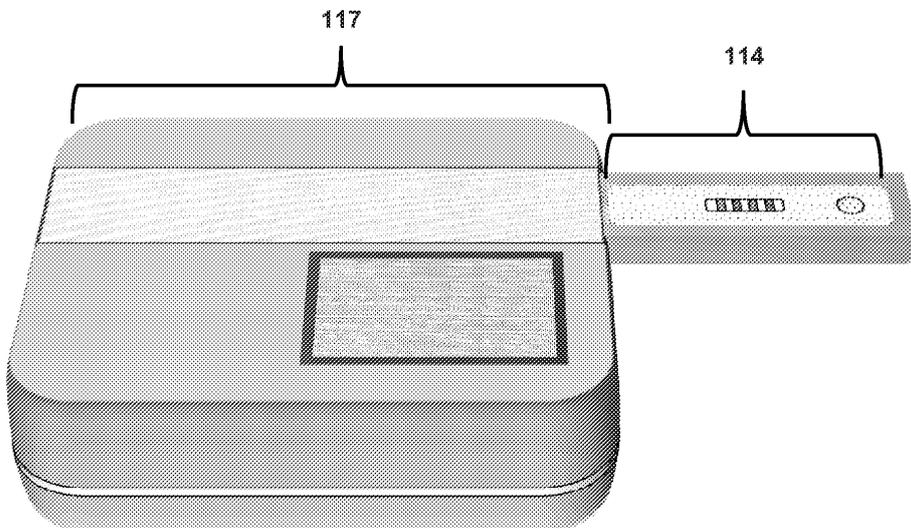
도면2



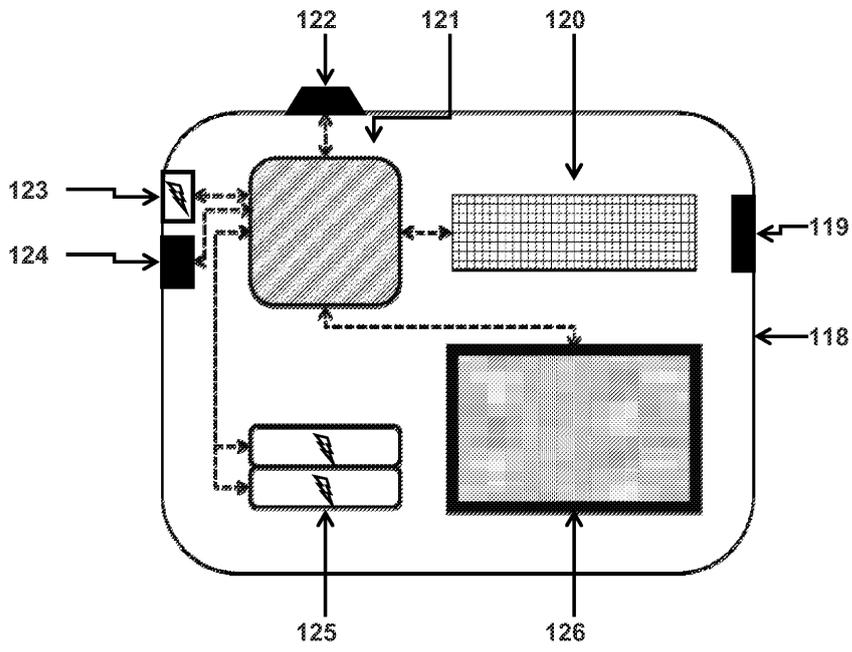
도면3



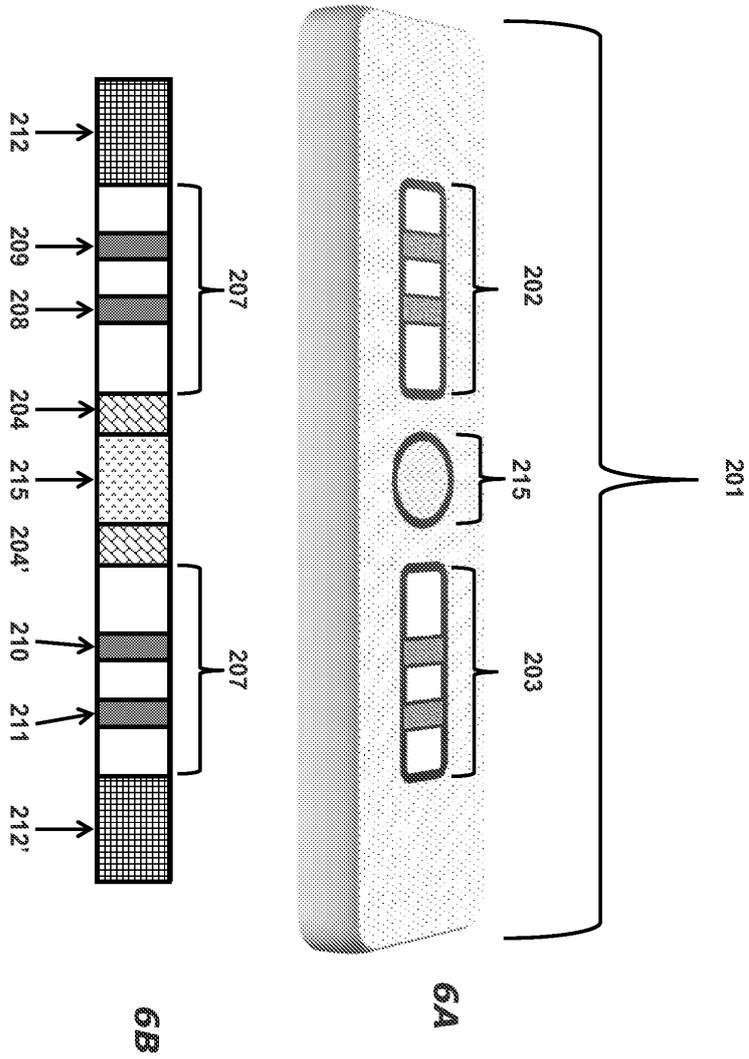
도면4



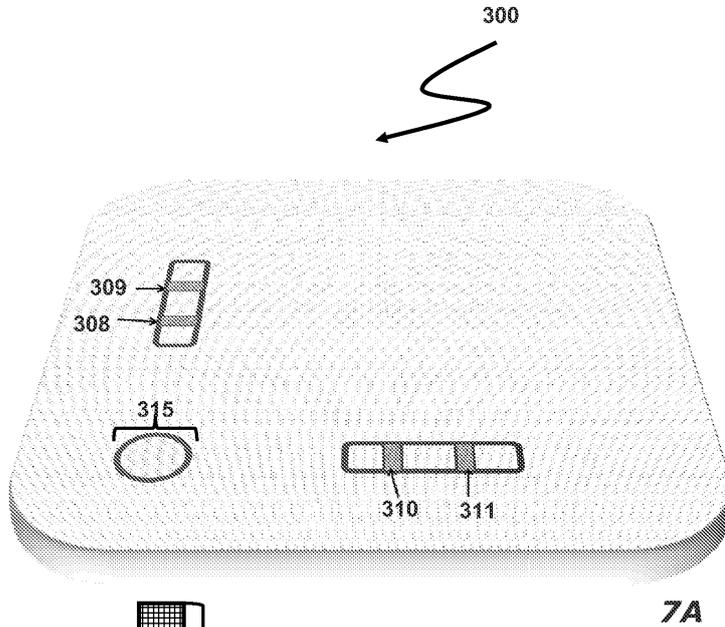
도면5



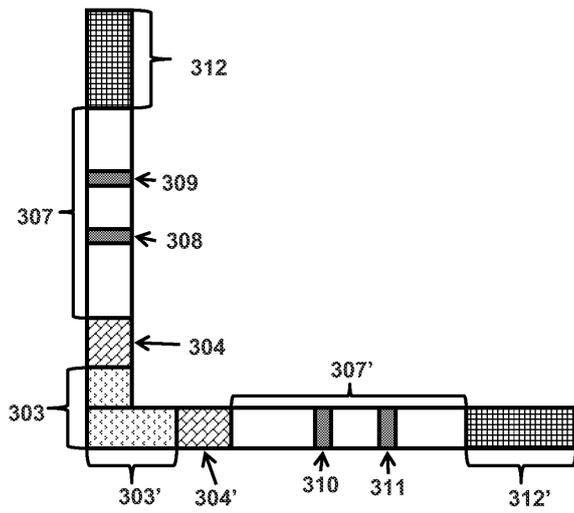
도면6



도면7

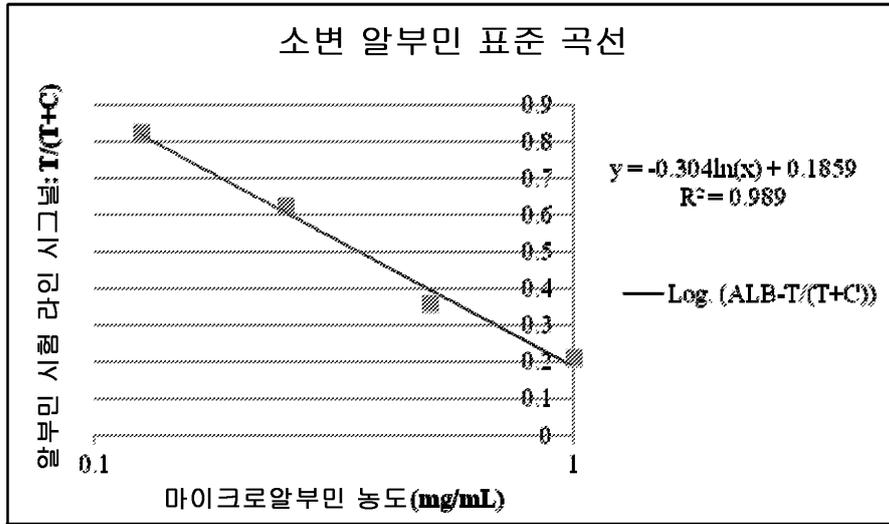


7A

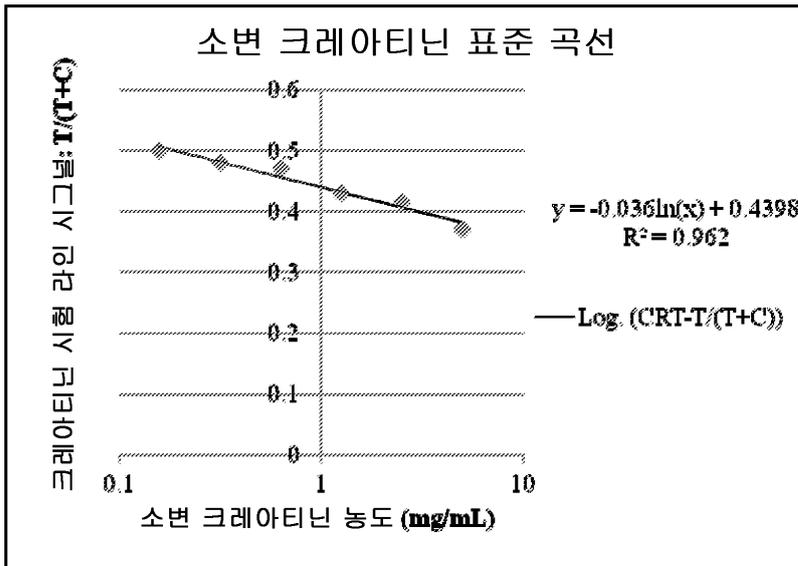


7B

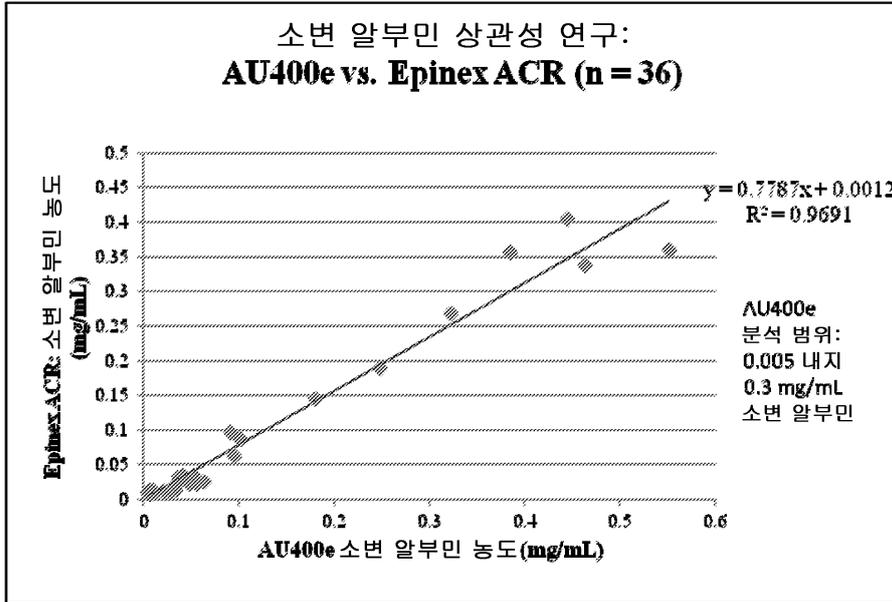
도면8



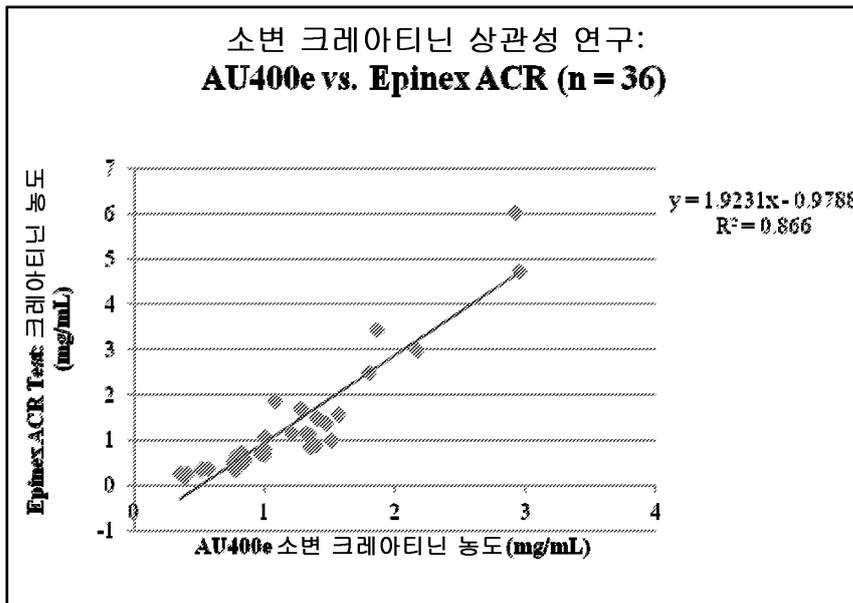
도면9



도면10



도면11



도면12

