



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0161465
(43) 공개일자 2022년12월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/543 (2006.01) G01N 33/569 (2017.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/54386 (2021.08)
G01N 33/54346 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7038156
(22) 출원일자(국제) 2021년03월31일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년10월31일
(86) 국제출원번호 PCT/US2021/025115
(87) 국제공개번호 WO 2021/202685
국제공개일자 2021년10월07일
(30) 우선권주장
63/002,873 2020년03월31일 미국(US)
63/051,668 2020년07월14일 미국(US)

(71) 출원인
업카라 인코포레이티드
미국 48109 미시간주 앤아버 알렘 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600
(72) 발명자
모한티 프라반수 에스.
미국 48109 미시간주 앤아버 알렘 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내
왕 주오란
미국 48109 미시간주 앤아버 알렘 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인

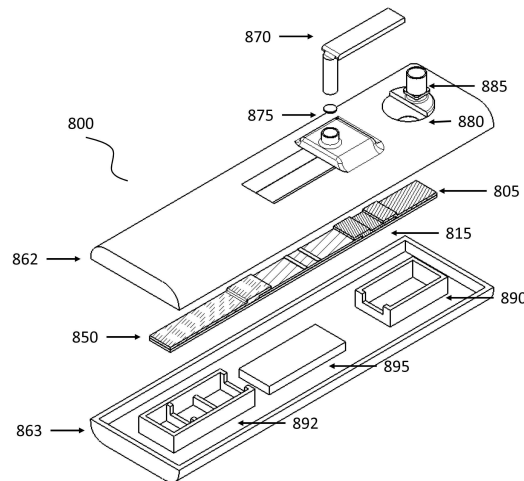
전체 청구항 수 : 총 52 항

(54) 발명의 명칭 생물학적 시료에서 표적 분석물의 신속 검출을 위한 장치 및 방법

(57) 요약

막 스트립(strip)을 포함하는 액체 생물학적 시료에서 표적 분자의 검출을 위한 신속 측면 유동(rapid lateral flow) 장치가 본원에 제공되며, 상기 막 스트립은 매트릭스; 상기 매트릭스 내로 유리화된(vitrified) 적어도 하나의 리포터를 갖는 접합체 패드(conjugate pad); 상기 매트릭스 내로 또는 매트릭스 상으로 유리화된 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 포착제를 포함하는 하나 이상의 시험 부위; 및 선택적으로 상기 매트릭스 내로 또는 매트릭스 상으로 유리화된 하나 이상의 포착제를 포함하는 제어선(control line)을 포함한다. 또한, 액체 생물학적 시료에서 표적 분석물의 신속 검출 방법이 제공된다.

대표도



(52) CPC특허분류

G01N 33/56983 (2013.01)

G01N 2333/165 (2013.01)

(72) 발명자

다스 서브헨두

미국 48109 미시간주 앤아버 알앰 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내

타버너 올란다

미국 48109 미시간주 앤아버 알앰 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내

레디 애런

미국 48109 미시간주 앤아버 알앰 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내

조시 팔라비

미국 48109 미시간주 앤아버 알앰 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내

아몰레 슈루티

미국 48109 미시간주 앤아버 알앰 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내

만틸라 제니

미국 48109 미시간주 앤아버 알앰 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내

브론사르트 라우라

미국 48109 미시간주 앤아버 알앰 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내

레슬라프 메리

미국 48109 미시간주 앤아버 알앰 2390 빌딩 520
하런 파크웨이 1600 업카라 인코포레이티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

하우징(housing); 및

상기 하우징 내의 실질적으로 건조한 막 층으로서, 상기 막 층은

제1 매트릭스; 및

제1 시험 부위에서 상기 제1 매트릭스 내로 또는 상으로 유리화된(vitrified) 포착제(capture agent);

선택적으로 상기 제1 매트릭스 내로 유리화된 적어도 하나의 리포터

를 포함하는, 막 층

을 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

실질적으로 건조한 기질 막을 추가로 포함하며, 상기 기질 막은 기질 막 내로 또는 기질 막 상으로 유리화된 기질을 포함하고, 상기 기질 막은 하우징과 회합(associated)되고 막 층과 접촉되도록 구성되는(configured), 신속 진단 장치.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 막 층에 근접하게 배치된 스크린 층을 추가로 포함하고,

상기 스크린 층은 스크린 층이 액체 생물학적 시료와 접촉될 때 상기 액체 생물학적 시료에 존재하는 오염물을 실질적으로 포착하도록 구성되는, 신속 진단 장치.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 리포터는 시료 패드와 제1 시험 부위 사이의 제1 매트릭스에 존재하되 그 내로 또는 상으로 유리화되는, 신속 진단 장치.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 포착제는 상기 제1 시험 부위에 제1 매트릭스에 공유적으로 또는 정전기적으로 결합되는, 신속 진단 장치.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 막 층의 제1 매트릭스는 니트로셀룰로스, 콜라겐, 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리(락틱-코-글리콜산), 또는 이들의 조합을 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 포착제는 핵산, 단백질, 펩타이드, 또는 이들의 단편을 포함하는 항원인, 신속 진단 장치.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 포착제는 바이러스 코트 단백질, 선택적으로 SARS-CoV-2 스파이크(S: spike) 단백질, SARS-CoV-2 뉴클레오패시드(N) 단백질, 또는 이들의 단편을 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 포착제는 바이러스 코트 단백질, 선택적으로 SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질, SARS-CoV-2 뉴클레오패시드(N) 단백질, 또는 이들의 단편에 선택적으로 결합하는 항체인, 신속 진단 장치.

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 리포터는 항체, 선택적으로 항-인간 IgG, 항-인간 IgM, 또는 이들의 조합을 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 11

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 리포터는 검출가능한 표지, 효소, 또는 둘 다를 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 12

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 리포터는 입자에 결합되는, 신속 진단 장치.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 입자는 나노입자, 선택적으로 나노셸 입자, 콜로이드 골드 입자, 또는 이들의 조합인, 신속 진단 장치.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 입자는 실리콘옥사이드 코어 및 상기 코어를 코팅하는 골드 셸 층을 포함하는 나노셸 입자이며, 상기 코어는 반경(radius)을 갖고, 상기 셸 층은 두께를 가지며, 선택적으로 상기 반경 : 두께의 비(ratio)는 3:1 내지 12:1인, 신속 진단 장치.

청구항 15

제12항에 있어서,

상기 리포터는 입자 및 효소, 검출가능한 표지, 또는 이들의 조합에 결합되는, 신속 진단 장치.

청구항 16

제12항에 있어서,

상기 리포터는 효소, 선택적으로 호스래디쉬 퍼옥시다제(horseradish peroxidase)에 공유 결합되는, 신속 진단 장치.

청구항 17

제12항에 있어서,

상기 리포터는 효소 또는 검출가능한 표지에 결합되지 않는 제2 항체를 추가로 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 리포터의 수 : 상기 제2 리포터 항체의 수의 비는 80:20 내지 20:80, 선택적으로 약 50:50인, 신속 진단 장치.

청구항 19

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 하우징은 시료 포트(port)를 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 시료 포트는 유리화된 검정 시약을 추가로 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 21

제19항에 있어서,

상기 시료 포트는 상기 막 층의 제1 말단(end)에 근접하게 위치하고, 상기 제1 표적 부위는 상기 막 층의 제2 말단에 근접하게 위치하는, 신속 진단 장치.

청구항 22

제21항에 있어서,

상기 실질적으로 건조한 기질 막을 추가로 포함하고, 상기 실질적으로 건조한 기질 막은 상기 시료 포트와 상기 제1 시험 부위 사이에서 상기 하우징에 위치하는, 신속 진단 장치.

청구항 23

제22항에 있어서,

상기 기질 막은 회전 위치 조정(rotational position adjustment)에 의해 상기 기질 막을 상기 막 층과 접촉하도록 구성되는 레버(lever)와 회합되는, 신속 진단 장치.

청구항 24

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 포착제는 항체, 항원 또는 앵타머인, 신속 진단 장치.

청구항 25

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 막 층과 상기 스크린 층 사이에 배치된 제거 가능한 세퍼레이터(separator) 층을 추가로 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 26

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 포착제는 생물학적 시료 내 표적 분석물에 특이적인 앵타머인, 신속 진단 장치.

청구항 27

제26항에 있어서,

상기 표적 분석물은 병원체를 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 28

제27항에 있어서,

상기 병원체는 바이러스, 박테리아, 또는 독소를 포함하는, 신속 진단 장치.

청구항 29

제27항에 있어서,

상기 병원체는 바이러스, 선택적으로 SARS-CoV-2 또는 인플루엔자 바이러스인, 신속 진단 장치.

청구항 30

제26항에 있어서,

상기 포착제는 인간 ACE2 단백질, 펩타이드, 또는 이의 단편을 포함하는 앵타머인, 신속 진단 장치.

청구항 31

액체 생물학적 시료에서 표적 분석물의 존재 또는 부재를 결정하는 방법으로서,

하우징, 및 상기 하우징과 회합된 유리화된 막 층을 포함하는 장치를 제공하는 단계로서, 상기 유리화된 막 층은 제1 매트릭스 및 제1 표적 부위에서 제1 매트릭스에 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 포착제를 포함하는, 단계;

상기 장치를 액체 생물학적 시료와 접촉시키는 단계로서, 상기 액체 생물학적 시료는 유리화된 막 층 또는 이의 일부를 재수화시켜, 표적 분석물이, 액체 생물학적 시료 내에 존재하는 경우, 포착제 및 리포터에 결합하는, 단계; 및

제1 표적 부위에서 검출가능한 신호의 존재 또는 부재에 의해 표적 분석물의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 32

제31항에 있어서,

상기 재수화된 유리화된 막 층 내의 액체가 상기 기질 막을 재수화시키도록, 상기 재수화된 유리화된 막 층을, 기질 막 내로 또는 기질 막 상으로 유리화된 기질을 포함하는 기질 막과 추가로 접촉시키는, 방법.

청구항 33

제32항에 있어서,

상기 기질을 표면 모세관 작용에 의해 상기 기질 막으로부터 상기 제1 표적 부위로 이동시키는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 34

제31항에 있어서,

상기 리포터제는 상기 유리화된 막 층 내로 또는 막 층 상으로 유리화되어, 상기 접촉시키는 단계가 제1 매트릭스로부터 적어도 하나의 리포터제를 방출시켜, 상기 리포터제는 상기 분석물에 결합할 수 있는, 방법.

청구항 35

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 리포터는 항체인, 방법.

청구항 36

제35항에 있어서,

상기 항체는 검출가능한 표지, 선택적으로 효소를 포함하는, 방법.

청구항 37

제35항에 있어서,

상기 리포터는 검출가능한 표지가 아닌 제2 항체를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 38

제37항에 있어서,

상기 리포터의 수 : 상기 제2 리포터 항체의 수의 비는 80:20 내지 20:80, 선택적으로 약 50:50인, 방법.

청구항 39

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 리포터는 입자에 결합되는, 방법.

청구항 40

제39항에 있어서,

상기 입자는 나노입자, 선택적으로 나노셸 입자, 콜로이드 골드 입자, 또는 이들의 조합인, 방법.

청구항 41

제40항에 있어서,

상기 입자는 실리콘옥사이드 코어 및 상기 코어를 코팅하는 골드 셸 층을 포함하는 나노셸 입자이며, 상기 코어는 반경을 갖고, 상기 셸 층은 두께를 가지며, 선택적으로 상기 반경 : 두께의 비는 3:1 내지 12:1인, 방법.

청구항 42

제39항에 있어서,

상기 리포터는 입자 및 효소, 검출가능한 표지, 또는 이들의 조합에 결합되는, 방법.

청구항 43

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 리포터는 효소, 형광단, 또는 둘 다로 이루어진 군으로부터 선택되는 검출가능한 표지에 공유 결합되는, 방법.

청구항 44

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 액체 생물학적 시료는 타액, 혈액, 혈청, 혈장, 기관지 폐포 세척액(bronchoalveolar lavage fluid), 가래(sputum), 또는 비강액(nasal fluid)을 포함하는, 방법.

청구항 45

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 막 층의 제1 매트릭스는 니트로셀룰로스, 콜라겐, 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리(락틱-코-글리콜산), 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.

청구항 46

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 포착제는 핵산, 단백질, 펩타이드, 또는 이들의 단편을 포함하는, 방법.

청구항 47

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 포착제는 바이러스 코트 단백질, 선택적으로 SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질, SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드(N) 단백질, 또는 이들의 단편을 포함하는, 방법.

청구항 48

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 리포터는 검출가능한 표지를 포함하는, 방법.

청구항 49

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 표적 분석물의 존재 또는 부재를 검출하는 단계는

상기 장치를 검출가능한 표지에 대한 기질과 접촉시키는 단계; 및

상기 기질에 검출가능한 표지가 결합할 때 생성되는 신호를 검출하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 50

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 신호는 형광 신호 또는 색상 변화를 포함하는, 방법.

청구항 51

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 장치는 상기 막 층 상에 배치된 스크린 층을 추가로 포함하고, 상기 스크린 층은 액체 생물학적 시료에 존재하는 오염물을 실질적으로 포착하도록 구성되는, 방법.

청구항 52

제31항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 표적 분석물의 존재 또는 부재는 약 20분 이내에 검출되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원에 대한 교차 참조

[0002]

본 출원은 3월 31일에 출원된 미국 임시 출원 63/002,873호 및 2020년 7월 14일에 출원된 미국 임시 출원 63/051,668호에 의존하고 이에 대해 우선권을 주장하며, 각각의 전문은 본원에 참조로서 포함된다.

[0003]

기술분야

[0004]

본 개시내용은 생물학적 시료에서 하나 이상의 표적 분석물의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 신속 진단 장치 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005]

생물학적 시료에서 항체, 효소 또는 병원체의 존재 또는 부재를 검출하기 위한 표준 혈청학적 진단 방법은 종종 복잡한 실험 절차를 수행하기 위해 숙련된 작업자, 특수 장비, 및 콜드-체인 운송 및 저장을 필요로 한다. 효소 연결 면역흡착 검정(ELISA), 중합효소 연쇄 반응, 또는 비드-기초 프로파일링 키트(예를 들어, Luminex® 검

정)와 같은 방법은 시험 결과를 수득하기 위해 최소 3시간을 필요로 하고 정확도는 위양성 또는 위음성을 유발하는 시료 분해 또는 오염으로 인해 떨어질 수 있다. 예를 들어 팬데믹 또는 유행병 사건 동안 시험 시료의 수가 작업 스태프 및 자원보다 훨씬 많을 때, 환자는 시험 결과를 수득하기 위해 수일 또는 심지어 수주 기다릴 수 있다. 정확한 시험 결과를 받는 데 있어서 지루한 지연은 병원체의 추가 전염을 용이하게 하여, 추가의 과도한 의학적 시설 및 열악한 환자 치유의 더 큰 위험을 초래할 수 있다.

[0006] 생물학적 시료에서 항체 또는 병원체를 포함한 하나 이상의 분석물의 검출을 위한 신속하고 완전한(robust) 검정에 대한 필요성이 계속해서 존재한다.

발명의 내용

[0007] 하기 내용은 본 개시내용에 독특한 혁신적인 특질 중 일부의 이해를 용이하게 하기 위해 제공되고, 완전한 설명인 것으로 의도되지 않는다. 개시내용의 다양한 양태의 완전한 이해는 전체 명세서, 청구범위, 도면, 및 요약을 한꺼번에 얻음으로써 획득될 수 있다.

[0008] 검정 물질이 콜드-체인 저장을 필요로 하지 않고, 심지어 55℃ 이상의 승온에서 수주 또는 수개월 동안의 연장된 저장 후에도 완전하며 활성을 보존하고, 선택적으로 인간 눈 이외의 복잡한 검출 기기 없이 현장 진료에서 직접 사용될 수 있는, 액체 생물학적 시료에서 하나 이상의 표적 분석물의 신속한 검출을 위한 장치 및 방법이 본원에 제공된다. 현재 개시된 장치는, 선택적으로 매트릭스에 공유적으로 결합될 수 있거나 없고 그 자체가 검출가능한 표지(예를 들어 효소), 및 선택적으로 장치의 매트릭스 또는 또 다른 매트릭스 층에 유리화된 하나 이상의 원하는 리포터 분자(예를 들어 항체, 핵산 등)를 포함할 수 있거나 없는 포착제(capture agent)를 포함하는 유리화된 매트릭스를 포함하는 막을 포함하고, 따라서 유리화된 매트릭스 및/또는 다른 매트릭스 층은 액체 생물학적 시료와 접촉 시 재수화될 수 있어서, 리포터가 방출되며, 시료 내 표적 분석물은 포착제 및 리포터에 결합하고, 표적 분석물의 존재 또는 부재가 검출된다. 일부 양태에서, 본원에 제시된 장치 및 방법은 정성적 및/또는 정량적 검출 결과를 제공한다. 개시된 장치는 시간 및 온도 안정하고, 콜드-체인 운송 또는 저장을 필요로 하지 않는다. 추가로, 개시된 장치 및 방법은 유리하게는 일부 양태에 따라 약 20분 이하 이내에 신속한 현장 진료 진단 결과를 허용한다.

[0009] 일부 양태에서, 막 스트립을 포함하는 측면 유동(lateral flow) 면역검정 장치가 제공되며, 막 스트립은: 매트릭스; 하나 이상의 검출가능한 표지, 선택적으로 표적 분석물에 대한 항원 또는 항체를 포함할 수 있는 적어도 하나의 리포터를 포함하는 접합체 패드로서, 상기 항원 또는 항체는 선택적으로 검출가능한 표지 또는 표지화 분자를 포함하며, 상기 리포터는 매트릭스 내로 유리화되는, 접합체 패드; 표적 분석물의 유형에 특이적인 공유적으로 결합된 포착 항체 또는 앵타머를 선택적으로 포함하는 하나 이상의 영역으로서, 상기 공유적으로 결합된 포착 항체 또는 앵타머는 매트릭스 내로 유리화되는, 하나 이상의 영역; 및 선택적으로, 매트릭스 내로 유리화된 하나 이상의 제2 포착제를 포함하는 대조군 영역으로서, 상기 대조군 영역은 선택적으로 접합체 패드에 추가로 포함될 수 있는 대조군 시약을 결합시키기에 적합한 제2 포착제를 포함하는, 대조군 영역을 포함한다.

[0010] 본 개시내용의 이들 및 다른 목적, 특질, 및 양태는 본원에 제시된 도면 및 상세한 설명을 참조로 하여 더 이해된다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도면에 제시된 양태는 예시적이고 예를 든 것이며, 청구범위에 의해 정의되는 주제를 제한하려는 의도가 아니다. 예시적인 양태의 하기 상세한 설명은 하기 도면과 함께 읽을 때 이해될 수 있으며, 도면에서 유사한(like) 구조는 유사한 참조 번호로 표시된다:

도 1은 개시내용에 따른 장치의 예시적인 양태를 도시하며, 포착 항원 및 리포터 항체는 막 층 매트릭스 내로 유리화된다.

도 2a는 본 개시내용에 따른 방법 단계를 도시하며, 도 1에 따른 장치는 분석물을 포함하는 액체 생물학적 시료와 접촉된다.

도 2b는 본 개시내용에 따른 방법 단계를 도시하며, 표적 분석물은 막 층 내의 리포터 항체 및 포착 항원에 결합한다.

도 2c는 본 개시내용에 따른 방법 단계를 도시하며, 기질은 장치에 첨가되고 신호가 검출된다.

도 3은 개시내용에 따른 장치의 예시적인 양태를 도시하며, 포착 항원은 막 층 내에서 유리화되고 리포터 항체

는 오염물 스크린 층 내로 혼입된다.

도 4는 본 개시내용에 따른 방법 단계를 도시하며, 도 3에 따른 장치는 액체 생물학적 시료와 접촉된다.

도 5는 개시내용에 따른 장치의 예시적인 양태를 도시하며, 제거 가능한 세퍼레이터 층은 2개의 채널 사이에 배치된다.

도 6은 ELISA 및 Luminex 검정의 표준 이용 가능한 방법과 비교하여 현재 개시된 장치 및 방법의 예시적인 대등한 이점을 도시한다.

도 7a는 본 개시내용에 따른 측면 유동 막 스트립의 예시적인 양태를 도시한다.

도 7b는 본 개시내용에 따른 측면 유동 막 스트립의 예시적인 양태를 도시한다.

도 7c는 본 개시내용에 따른 측면 유동 막 스트립의 예시적인 양태를 도시한다.

도 8은 본 개시내용에 따른 측면 유동 카세트의 예시적인 양태를 도시한다.

도 9a는 본 개시내용에 따른 측면 유동 카세트의 분해도이다.

도 9b는 본 개시내용에 따른 측면 유동 카세트의 분해도이다.

도 10은 본 개시내용에 따른 측면 유동 막 스트립의 예시적인 양태를 도시한다.

도 11a는 본 개시내용에 따른 방법 단계를 도시하며, 도 10에 따른 측면 유동 막 스트립은 액체 생물학적 시료와 접촉된다.

도 11b는 본 개시내용에 따른 방법 단계를 도시하며, 관심 분석물 및 비결합된 리포터 항체는 측면 유동 시험 스트립 상에서 포착되고 검출된다.

도 12는 복수의 측면 유동 막 스트립을 포함하는 본 개시내용에 따른 카세트의 예시적인 양태를 도시한다.

도 13a는 복수의 측면 유동 막 스트립을 포함하는 본 개시내용에 따른 카세트의 예시적인 양태의 분해도이다.

도 13b는 복수의 측면 유동 막 스트립을 포함하는 본 개시내용에 따른 카세트의 예시적인 양태의 분해도이다.

도 14는 본 개시내용에 따른 예시적인 다중-스트립 측면 유동 검정을 도시한다.

도 15a는 본 개시내용에 따른 복수의 막 스트립을 갖는 측면 유동 카세트를 도시하며, 각각의 스트립은 표적 분석물의 농도를 결정하기 위해 포착된 표적 분석물의 일련의 회석을 제공한다.

도 15b는 도 15a에 따른 카세트의 복수의 막 스트립을 도시한다.

도 16은 단일 스트립 상에 복수의 시험 영역을 갖는 본 개시내용의 일부 양태에 따른 예시적인 막 스트립을 도시한다.

도 17은 제공된 바와 같은 일부 양태에 따른 예시적인 시험 스트립을 도시하며; 도 17a는 예시적인 막 스트립의 다양한 영역을 도시하고; 도 17b는 막 스트립 전반에 걸쳐 예시적인 유체 유속 및 총 유동한 부피를 도시하며; 도 17c는 기질을 장치에 적용한 후 원하는 선형 선단(front line)을 도시한다.

도 18a는 기질을 막 층에 적용하기 위한 레버(lever) 상에 기질 막을 포함하는 본원에 제공된 바와 같은 일부 양태에 따른 장치의 확대도를 도시한다.

도 18b는 일부 양태에 따른 막 스트립에 비해 기질 막 및 레버의 위치를 예시하는 도 17a의 장치를 도시한다.

도 18c는 레버가 막 스트립과 기질 패드 사이에서의 접촉을 촉진하기 위해 작동될 때 일부 양태에 따른 막 스트립에 비해 기질 막 및 레버의 위치를 예시하는 도 17a의 장치를 도시한다.

도 18d는 일부 양태에 따른 완전히 조립된 예시적인 장치를 도시한다.

도 18e는 레버가 확대 영역일 수 있거나 이를 포함할 수 있는 본원에 제공된 바와 같은 일부 양태에 따른 완전히 조립된 예시적인 장치의 또 다른 예를 도시한다.

도 19는 재조합 SARS-CoV-2 S 단백질을 시료로서 사용하여 가공되고 10 pg/ml 미만까지 검출되는 본원에 제공된 바와 같은 일부 양태에 따라 제공된 장치를 도시한다.

도 20은 제조할 SARS-CoV-2 S 단백질을 시료로서 사용하여 가공되고 기질 TMBMX를 사용하여 발색될 때 1 pg/ml 미만까지 검출되는 본원에 제공된 바와 같은 일부 양태에 따라 제공된 장치를 도시한다.

도 21은 기질 TMBMX를 사용하여 발색될 때 생물학적 시료에서 예상된 것보다 100x를 능가한 부하(load)에서 검출되는 S 단백질 및 열 비활성화된 SARS-CoV-2를 시료로서 사용하여 가공되는 본원에 제공된 바와 같은 일부 양태에 따라 제공된 장치를 도시한다.

도 22는 시험 부위(A)에의 포착제의 직접 결합을 포착제(B)에 결합하는 분자로 시험 부위를 사전코팅(precoating)하는 것과 비교하여 본원에 제공된 바와 같은 일부 양태에 따라 제공되는 장치를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0012] 액체 생물학적 시료에서 표적 분석물의 신속 진단 검출을 위한 장치 및 방법이 본원에 제공된다. 본원에 상술된 바와 같이, 매트릭스 내로의 결합된 포착제, 및 선택적으로 리포터의 유리화는 액체 생물학적 시료와 접촉 시 매트릭스의 신속한 재구성을 허용하여, 리포터 및 포착제를 방출시키고 콜드-체인 운송 또는 저장에 대한 필요성 없이 표적 분석물의 신속한 현장 진료 면역검정 검출을 가능하게 한다. 특정 분자는 막에 포매되거나, 이에 공유적으로 또는 정전기적으로 부착되거나, 이와 회합되고, 분자(들)를 효과적으로 안정화시키는 유리화 과정을 받아, 다르게는 혹독한 조건에서의 후속적인 저장에도 불구하고 이의 활성을 보존하고 통상적인 콜드-체인 저장 과정에 대한 필요성을 무시할 수 있는 것으로 발견되었다. 모든 분석 물질은 선택적으로 액체 생물학적 시료(예를 들어 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 기관지 폐포 세척액, 가래, 비강 분비물(nasal secretion), 피부 분비물, 완충액, 물, 또는 생물학적 시료 또는 이의 일부를 함유하거나 이것인 다른 액체) 또는 다른 액체와의 재구성성이 활성 손실이 거의 없거나 전혀 없는 유리화된 물질을 재구성하게 되도록 본원에 제공된 바와 같은 장치에서 또는 이와 함께 유리화되어, 생물학적 시료에 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있는 하나 이상의 분석물의 검출을 위한 완전한 검정 시스템을 제공할 수 있다.
- [0013] 대상체, 선택적으로 인간 대상체에서 감염성 병원체(infectious agent)(표적 분석물의 일례로서)의 존재의 검출은 진단자에게 수많은 과제를 제시한다. 예를 들어, 특히 감염이 최근이어서 바이러스 부하(virus load)가 낮다면, 또는 활성 감염이 해결되었지만(resolved) 감염이 이전에 일어났었는지 알기 원한다면 또는 대상체가 지속적인 면역력을 갖는다면 바이러스제(virus agent) 자체의 검출은 어려울 수 있다. 바이러스 감염은 대상체 내에서 바이러스에 대한 항체를 생성할 수 있다. 이들 항체의 검출은 바이러스에 대한 이전의 또는 현재의 노출과 관련된 정보를 제공할 수 있다. 비제한적인 예로서, *베타코로나바이러스*, *에컨대* 인간 코로나바이러스 SARS-CoV(중증 급성 호흡기 증후군(Severe Acute Respiratory Syndrome), 또는 SARS의 원인체(causative agent)) 및 MERS-CoV(중동 호흡기 증후군(Middle Eastern Respiratory Syndrome), 또는 MERS의 원인체)에 의한 감염은 새로운 균주(strain)의 출현(rise)으로 인해 몇몇 과제를 제시한다. 신속하게 전염 가능한 신규 코로나 바이러스 SARS-CoV-2(COVID-19 질환, 또는 COVID-19의 원인체)에서 이들 새로운 균주의 검출은 이러한 새로운 바이러스에 특이적인 진단 검정의 개발을 필요로 하였다.
- [0014] 본원에 제공된 바와 같은 장치 및 방법은 생물학적 시료에서 하나 이상의 표적 분석물의 신속하며 재현 가능하고 선택적으로 정량 가능한 검출을 제공한다. 본원에 제공된 바와 같이, 장치는 하우징, 및 상기 하우징 내의 실질적으로 건조한 막 층을 포함하고, 상기 막 층은 제1 매트릭스 및 제1 시험 부위에서 상기 제1 매트릭스 내로 또는 제1 매트릭스 상으로 유리화된 포착제를 포함한다. 장치는 측면 유동 검정의 형태로 존재할 수 있으며, 액체 생물학적 시료(또는 액체 내 표적 분석물)는 시료 적용 부위에 적용되고, 액체는 막을 습윤시키고 시료 적용 부위 이외의 위치에서 하나 이상의 시험 부위 쪽으로 이동한다. 시료 적용 부위와 시험 부위 사이의 액체는, 시험 부위에서 표적 분석물을 효과적으로 위치화시켜 생물학적 시료 내에서 표적 분석물의 존재 또는 부재의 검출을 제공할 수 있는 리포터 및/또는 포착제(또는 다른 원하는 분자)를 습윤시키고 재수화시킬 수 있다.
- [0015] 일부 양태에서, 장치는 실질적으로 건조한 막을 포함하는 측면 유동 장치이며, 상기 막은: 매트릭스; 상기 매트릭스 내로 유리화된 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 포착제(예를 들어 항원, 앵타머, 뉴클레오타이드, 또는 항체)를 갖는 집합체 패드; 선택적으로 상기 매트릭스 내로 유리화된 적어도 하나의 리포터 항체; 및 선택적으로 상기 매트릭스 내로 유리화된 하나 이상의 제2 포착제를 포함하는 제어 영역을 포함한다.
- [0016] 일부 양태에서, 액체 생물학적 시료에서 관심 분석물을 검출하기 위한 신속 진단 장치가 제공되며, 상기 신속 진단 장치는 막 층을 포함하고, 상기 막 층은 제1 매트릭스, 상기 제1 매트릭스 내로 유리화된 포착제, 및 상기 제1 매트릭스 내로 유리화된 적어도 하나의 리포터를 포함한다. 선택적으로, 장치는 추가로 막 층 상에 배치되

거나 다르게는 이와 접촉된 스크린 층을 포함한다. 스크린 층은 존재할 때 제2 매트릭스를 포함할 수 있고, 액체 생물학적 시료에서 오염물(예를 들어, 관심 분석물 이외의 분자)을 실질적으로 포착하고 격리시키는 필터로서 기능하도록 구성된다.

- [0017] 일부 양태에서, 액체 생물학적 시료에서 관심 분석물을 검출하기 위한 신속 진단 장치가 제공되며, 상기 신속 진단 장치는: 막 층으로서, 상기 막 층은 제1 매트릭스 및 상기 제1 매트릭스 내로 유리화된 포착제를 포함하는 막 층; 및 기질 막 내로 또는 기질 막 상으로 유리화된 기질을 포함하는 실질적으로 건조한 기질 막을 포함하고, 상기 기질 막은 원하는 경우, 하우징과 회합되고 선택적으로 막 층이 선택적으로 액체 생물학적 시료 단독으로부터의 또는 추가 습윤제와 함께 존재하는 액체 생물학적 시료로부터의 액체로 습윤된 후 막 층과 접촉하도록 구성된다.
- [0018] 본원에 제공된 바와 같이 막 층 또는 전체 장치는 선택적으로 실질적으로 건조하다. "실질적으로 건조한"은 0.1 이하, 선택적으로, 0.05 이하, 선택적으로 0.04 이하, 선택적으로 0.03 이하, 선택적으로 0.02 이하, 선택적으로 0.01 이하의 수분 잔류비(Moisture Residue Ratio)(H₂O 그램/건조 중량 그램)를 갖는 것으로 정의된다.
- [0019] "비정질" 또는 "유리(glass)"는 0.3 이하의 순서 파라미터(order parameter)를 지칭하는 원자의 위치의 장거리 규칙도(long-range order)가 존재하지 않는 비-결정질 물질을 지칭한다. 유리질(vitreous) 고체로의 액체의 변환(transformation)은 유리 전이 온도 T_g에서 발생한다. 일부 양태에서, 유리화 매질은 비정질 물질이거나 이를 형성할 수 있다. 다른 양태에서, 생물학적 물질은 비정질 물질일 수 있다.
- [0020] "유리 전이 온도"는, 이 온도보다 높은 온도에서는 물질이 액체처럼 거동하고 이 온도보다 낮은 온도에서는 물질이 고체상과 유사한 방식으로 거동하고 비정질/유리질 상태로 진입하는 온도를 의미한다. 이는 온도에서 고정점이 아니지만, 대신에 사용되는 측정의 시간 척도에 따라 가변적이다. 일부 양태에서, 유리질 상태는 생물학적 조성물이 이의 유리 전이 온도보다 낮게 하락 시 진입하는 상태를 지칭할 수 있다. 다른 양태에서, 유리질 상태는 유리화 혼합물의 상태를 지칭할 수 있으며 및/또는 유리화제(vitrification agent)는 이의 유리 전이 온도보다 낮게 하락 시 진입한다. 더욱 다른 양태에서, 유리질 상태는 결정 또는 겔의 기계적 강성(rigidity)을 가질 수 있으나, 액체를 특징화하는 분자의 무작위한 순서의 배열을 가질 수 있다.
- [0021] "결정"은 주기적으로 반복되고 격자 또는 단위 셀이라고 하는 하나의 특정한 정렬된 기하학적 어레이로 구성된 3-차원 원자, 이온 또는 분자 구조를 의미한다.
- [0022] "결정질"은 유리질 또는 비정질과 대조적으로 원자 수준에서 정렬된 구조로 배열된 구성분으로 이루어진 성분의 형태를 의미한다. 결정질 고체의 고체화는 결정화 온도 T_c에서 일어난다.
- [0023] 본원에 사용된 바와 같이 "유리화"는 물질을 비정질 물질로 전환시키는 과정이다. 비정질 고체는 임의의 결정질 구조가 없을 수 있다.
- [0024] 본원에 사용된 바와 같이 "유리화 혼합물"은 생물학적 물질(들)과 하나 이상의 유리화제, 선택적으로 용해제, 및 선택적으로 다른 물질을 함유하는 유리화 매질의 불균일 혼합물을 의미한다.
- [0025] 본원에 사용된 바와 같이 "생물학적 물질" 또는 "생물학적 시료"는 살아 있는 유기체(들)로부터 단리되거나 유래될 수 있는 물질을 지칭한다. 생물학적 물질의 예는 단백질(예를 들어 효소, 또는 비-효소적으로 기능적인 단백질), 세포, 조직, 기관, 세포-기초 작제물, 타액 또는 이의 분획, 혈액 또는 이의 분획, 핵산, 또는 이들의 조합을 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 일부 양태에서, 생물학적 물질은 포유류 세포를 지칭할 수 있다. 다른 양태에서, 생물학적 물질은 인간 중간엽 줄기세포, 무린 섬유아세포, 백혈구 세포, 적혈구 세포, 혈액 혈소판, 박테리아, 바이러스, 포유류 세포, 리포솜, 효소, 조직(예를 들어 창자, 간, 신경, 또는 기타), 또는 이들의 조합을 지칭할 수 있다. 다른 양태에서, 생물학적 물질은 정자 세포, 정모 세포, 난모 세포, 난자, 배아, 난핵포, 또는 이들의 조합을 포함한 생식 세포를 지칭할 수 있다. 다른 양태에서, 생물학적 물질은 전혈, 적혈구 세포, 백혈구 세포, 혈소판, 혈액 혈장, 혈액 혈청, 타액, 위액(gastric aspirate), 비강액, 조류(algae), 진균류, 또는 이들의 조합을 지칭할 수 있다.
- [0026] 본원에 사용된 바와 같이 "유리화제"는 유리화제와 다른 물질(들)의 혼합물이 냉각되거나 건조함에 따라 다른 물질(들)에서 결정의 형성을 억제시키거나 비정질 구조를 형성하는 물질이다. 유리화제(들)는 또한 삼투 보호를 제공하거나 다르게는 탈수 동안 세포 생존을 가능하게 할 수 있다. 일부 양태에서, 유리화제(들)는 생물학적 물질의 저장을 위해 적합한 비정질 구조를 산출하는 임의의 수용성 용액일 수 있다. 다른 양태에서, 유리화제는 세포, 조직, 또는 기관 내에 흡수될 수 있다.

- [0027] 본원에 사용된 바와 같이 "저장 가능한," "저장" 또는 "저장-안정한"은 이후의 사용을 위해 보존되고 생존된 채로 유지되는 생물학적 물질의 능력을 지칭한다.
- [0028] 본원에 사용된 바와 같이 "극저온 온도 초과"는 -80°C 를 초과하는 온도를 지칭한다. 본원에 사용된 바와 같이 실온은 18°C 이상 내지 37°C 이하의 온도 범위를 지칭한다.
- [0029] 본원에 사용된 바와 같이 "친수성"은 물 분자를 끌어 당기거나 이와 우선적으로 회합함을 의미한다. 물에 대한 특수한 친화도를 갖는 친수성 물질은 물과의 접촉을 최대화하고 물과 더 작은 접촉각을 갖는다.
- [0030] 본원에 사용된 바와 같이 "소수성"은 물에 대한 친화도가 결여됨을 의미한다. 소수성인 물질은 천연적으로 물을 반발시켜, 액적이 형성되게 야기하고, 물과 작은 접촉각을 갖는다.
- [0031] 본원에 사용된 바와 같이 "주위 온도"는 약 16°C 이상 내지 약 30°C 이하의 온도를 지칭한다.
- [0032] 본원에 사용된 바와 같이 "액체 생물학적 시료"는 관심 표적 분석물을 함유할 수 있는 액체 시료를 지칭한다. 양태에서, 액체 생물학적 시료는 대상체, 예시적으로 인간 환자로부터 획득된다. 양태에서, 대상체는 질환 또는 병태, 예컨대 SARS-CoV-2 감염(즉, COVID-19 질환), 또는 임의의 다른 감염성 질환, 예컨대 인플루엔자 또는 다른 바이러스, 박테리아, 또는 진균류 병태 등을 갖는 것으로 의심된다. 액체 생물학적 시료는 본원에 기재된 매트릭스를 통해 유동하고 잠재적으로 관심 분석물을 보유할 수 있는 임의의 시료일 수 있다. 일부 양태에서, 액체 생물학적 시료는 타액, 혈액, 혈청, 혈장, 기관지 폐포 세척액, 가래, 비강액, 피부 분비물, 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0033] 본원에 사용된 바와 같이 "대상체"는 동물, 선택적으로 인간, 비-인간 영장류, 말(equine), 소(bovine), 땀, 양(ovine), 돼지(porcine), 토끼, 또는 다른 포유류이다.
- [0034] 본원에 제공된 바와 같은 장치 및 방법은 생물학적 시료 내에서 표적 분석물의 존재 또는 부재를 검출하는 데 사용될 수 있다. 표적 분석물은 임의의 생물학적 물질일 수 있다. 선택적으로, 표적 분석물은 바이러스 또는 이의 일부이다. 다른 양태에서, 표적 분석물은 박테리아 또는 이의 일부일 수 있다. 선택적으로, 표적 분석물은 단백질, 선택적으로 효소적 활성 단백질일 수 있다. 예시적인 목적을 위해서만 본 개시내용에 전반에 걸쳐 사용되고 예시되는 예시적인 바이러스는 인간 코로나바이러스이다. 본원에 제공된 바와 같은 장치 및 방법은 임의의 다른 바이러스, 박테리아, 진균류, 또는 이의 일부에 관하여 동일하게 기재되는 것으로 이해된다. 인간 코로나바이러스(HCoVs)는 양성-센스의 길이가 긴($30,000\text{ bp}$) 단일-가닥 RNA 바이러스이다. HCoVs는 비-구조 단백질, 예컨대 프로테아제(nsp3 및 nsp5), 헬리카제(nsp13), 및 RNA 의존적 RNA 폴리머라제(RdRp, nsp12)에 더하여 구조 단백질, 예컨대 스파이크(S), 뉴클레오캡시드(N), 막 당단백질(M), 및 외피(E)를 특징으로 한다. 스파이크 단백질은 바이러스 부착 및 숙주 세포 내로의 진입을 위한 중요한 인식 인자인 것으로 알려져 있다. 본 개시내용은 특정하고 완전한 시스템에서 임의의 감염성 병원체 또는 다른 표적 분석물의 존재 또는 부재를 특이적으로 검출할 수 있는 장치 및 방법을 제공한다. 일부 양태에서, 이 시스템은 하나 이상의 HCoVs, 선택적으로 SARS-CoV-2의 검출에 적용된다.
- [0035] 본원에 사용된 바와 같이 포착제는 선택적으로 표적 분석물에 결합하는, 선택적으로 특이적으로 결합하는 항원, 효소, 항체 또는 앵타머이다. 일부 양태에서, 포착제는 항체이다. 선택적으로 포착제는 앵타머이다. 선택적으로, 포착제는 선택적으로 단백질, 핵산 또는 지방 물질 형태의 항원이다. 선택적으로, 포착제는 효소이다. 선택적으로, 포착제는 항체, 예컨대 표적 분석물에 특이적이고 선택적으로 리포터의 결합 부위와 상이한 표적 분석물 상의 결합 부위를 인식하는 항체이다. 선택적으로, 포착제는 항원, 예컨대 항체에 의해 표적 분석물로서 특이적으로 인식될 수 있는 항원이며, 상기 항체는 생물학적 시료 내의 감염성 병원체에 특이적일 수 있고, 상기 항체의 존재는 대상체 내의 감염성 병원체의 존재 또는 이력적 존재(historical presence)를 나타낸다. 다른 양태에서, 포착제는 하나 이상의 표적 분석물에 대해 생산되거나 선택되는 앵타머이다.
- [0036] 표적 분석물의 인식은 포착제, 표적 분석물, 및 리포터 사이에서 샌드위치를 형성함으로써 이루어질 수 있어서, 포착제와 리포터는 둘 다 표적 분석물에 결합하고, 따라서 표적 분석물은 포착제의 위치로 격리되고 리포터는 상기 포착제에 결합된 표적 분석물의 존재를 식별하기 위해 관찰 가능한 신호를 방출하거나 생성할 수 있다. 본원에 제공된 바와 같은 장치 및 방법은 또한 경쟁적 유형 검정에 사용될 수 있어서, 표적 분석물의 존재는 리포터와 포착제 사이의 회합을 방지하여(예를 들어 경쟁함) 시험 부위에서의 신호의 부재에 의해 생물학적 시료 내 표적 분석물의 존재를 검출하는 것으로 이해된다.
- [0037] 관심 표적 분석물은 선택적으로 바이러스 또는 이의 일부, 바이러스, 또는 바이러스 단백질 또는 항원의 표면

상에 존재하는 하나 이상의 단백질 분자에 관한 항체이다. 선택적으로, 이는 선택적으로 아레나바이러스과(Arenaviridae), 헤르페스바이러스과(Herpesviridae), 레트로바이러스과(Retroviridae), 코로나바이러스과(Coronaviridae), 폭스바이러스과(Poxviridae), 토가바이러스과(Togaviridae), 플라비바이러스과(Flaviviridae), 부니아바이러스과(Bunyaviridae), 필로바이러스과(Filoviridae), 오르토믹소바이러스과(Orthomyxoviridae), 파라믹소바이러스과(Paramyxoviridae) 또는 람도바이러스과(Rhabdoviridae)의 군으로부터의 외피-보유(enveloped) 바이러스일 수 있다. 코로나바이러스과는 콜라코바이러스, 데카코바이러스, 두비나코바이러스, 루차코바이러스, 미나코바이러스, 미누나코바이러스, 미오타코바이러스, 닥타코바이러스, 데다코바이러스, 리나코바이러스, 세트라코바이러스, 소라코바이러스, 수나코바이러스, 테가코바이러스, 엠베코바이러스, 히베코바이러스, 메르베코바이러스, 노베코바이러스, 사르베코바이러스, 브랑가코바이러스, 브랑가코바이러스, 이가코바이러스, 안데코바이러스, 볼데코바이러스, 또는 헤르데코바이러스로부터 선택될 수 있다. 선택적으로, 코로나바이러스과는 베타코로나바이러스, 선택적으로 중증 급성 호흡기 증후군-관련 코로나바이러스, 선택적으로 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스(SARS-CoV) 또는 중증 급성 호흡기 증후군 코로나바이러스 2(SARS-CoV-2), 또는 다른 관련 구성원이다. 선택적으로 아레나바이러스과는 라싸(Lassa) 바이러스, 후닌(Junin) 바이러스 또는 림프구성 맥락수막염 바이러스(LCMV: lymphocytic choriomeningitis virus)일 수 있다. 선택적으로, 헤르페스바이러스과는 단순 포진 바이러스, B형 간염 바이러스, 대상 포진 바이러스, 사이토메갈로 바이러스 또는 엡스타인-바 바이러스일 수 있다. 선택적으로, 레트로바이러스과는 인간 면역 결핍 바이러스 또는 인간 T-림프전환성 바이러스일 수 있다. 다른 예시적인 또는 대상체가 이에 대해 항체를 생성하도록 야기하는 바이러스 표적체는 천연두 바이러스, 풍진 바이러스, C형 간염 바이러스, 지카 바이러스, 웨스트 나일 바이러스, 뎡기 바이러스, 황열 바이러스, TBE 바이러스, 쉼리키 삼립열 바이러스, 리프트 열 뎡리 바이러스, 모래 파리 열 바이러스, 한탄 바이러스, 마르부르크 바이러스, 에볼라 바이러스, 인플루엔자 바이러스 A, 인플루엔자 바이러스 B, 인플루엔자 바이러스 C, 니파 바이러스, 인간 파라인플루엔자 바이러스, 홍역 바이러스, 유행성 이하선염 바이러스, 수포성 구내염 바이러스, 또는 광견병 바이러스를 포함하지만 이로 제한되지 않는다.

[0038] 일부 양태에서, 바이러스는 비-외피-보유 바이러스, 선택적으로 아데노바이러스과(Adenoviridae), 폴리오마바이러스과(Polyomaviridae), 유두종바이러스과(Papillomaviridae), 헤페바이러스과(Hepeviridae), 또는 리노바이러스(rhinovirus)이다.

[0039] 선택적으로, 바이러스 표적 분석물은 HCoV, 선택적으로 SARS-CoV-2이다.

[0040] 일부 양태에서, 본원에 제공된 바와 같이, 대상체로부터의 생물학적 시료에서 항체 표적 분석물이 검출될 수 있다. 일부 양태에서, 예컨대 대상체의 바이러스 감염의 검출은 대상체에 의해 바이러스에 대해 생성되는 항체의 검출을 포함할 수 있다. 바이러스, 박테리아, 진균류 또는 다른 감염성 병원체에 선택적으로 결합하는 항체에 특이적인 포착체는 시험 부위 또는 영역, 예컨대 시험선 또는 웰에서 막의 매트릭스에 공유적으로 또는 정전기적으로 부착될 수 있다. 리포터 분자(예를 들어 형광단, 발색단, 나노입자, 효소, 또는 다른 검출제)에 결합되거나 이를 포함하는 항-IgG, 항-IgM, 항-IgA, 또는 다른 리포터가 또한 시료 침착 영역에서 또는 그 부근에서 매트릭스에 포함된다.

[0041] 포착제 및 선택적인 리포터 분자는 매트릭스에서 유리화된다. 매트릭스와 액체 생물학적 시료와의 접촉은 유리화된 분자를 재구성할 것이다. 생물학적 시료 내 임의의 표적 분석물은 리포터에 결합되고 선택적으로는 모세관 또는 다른 작용에 의해 막을 따라 시험 영역으로 옮겨져서, 관심 표적 분석물에 특이적인 임의의 포착체는 분석물을 위치화시켜, 분석물의 존재는 또한 리포터에 의해 검출되어 시험 영역에 위치화될 수 있다. 대조군으로서, 대조군 스트립 내 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 대조군 포착체는 시험 영역의 다운스트림에 존재할 수 있어서, 예컨대 시험 영역을 지난 포착체의 이동을 검출함으로써 양성 대조군을 가능하게 한다. 양성 결과는 시험 영역에 위치화된 리포터로부터 방출되는 신호의 검출에 의해 달성된다.

[0042] 일부 양태에서, 장치 및 방법은 감염성 병원체 자체의 존재의 검출을 가능하게 한다. 비제한적인 예로서, 바이러스 코트 단백질, 예시적으로 스파이크 단백질 또는 뉴클레오캡시드 단백질, 또는 이의 일부에 특이적으로 결합하는 포착체는 시험 영역, 예컨대 시험선 또는 웰에서 막의 매트릭스에 공유적으로 또는 정전기적으로 부착된다. 포착 항체와 상이한 영역에서 감염성 병원체에 또한 결합하는 리포터 항체가 제공되어, 리포터 분자(예를 들어 형광단, 발색단, 효소, 또는 다른 검출제)에 결합된 리포터 항체가 또한 시료 침착 영역에서 또는 그 부근에서 매트릭스에 포함되거나, 시료 적용 전에 시스템으로부터 분리되어 유지된다. 매트릭스와 액체 생물학적 시료의 접촉은 유리화된 분자를 재구성할 것이다. 생물학적 시료 내 임의의 표적 분석물은 리포터 항체에 결합되고 모세관 또는 다른 작용에 의해 막을 따라 시험 영역으로 옮겨져서, 관심 표적 분석물에 특이적인 임의의 포착 항체는 분석물을 시험 영역으로 위치화시킨다. 선택적인 대조군으로서, 대조군 스트립 내 리포터 항체에 결

합할 수 있는 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 항체는 시험 영역의 다운스트림에 존재하여, 예컨대 양성 대조군을 가능하게 한다. 양성 결과는 시험 부위에 위치화된 리포터로부터 방출되거나 이에 의해 생성되는 신호의 검출에 의해 달성된다.

[0043] 본원에 제공된 바와 같이 장치는 매트릭스를 포함하며, 상기 매트릭스 내로 또는 매트릭스 상으로 하나 이상의 포착제가 하나 이상의 위치에서 회합될 수 있다. 매트릭스 물질의 예시적인 예는 선택적으로 콜라겐, 엘라스틴, 히알루론산 및 유도체, 소듐 알기네이트 및 유도체, 키토산 및 유도체, 젤라틴, 전분, 셀룰로스 중합체(예를 들어, 니트로셀룰로스(예를 들어 Sartorius CN95), 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필셀룰로스, 하이드록시프로필메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 셀룰로스 아세테이트 숙시네이트, 하이드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트), 폴리(디올 시트레이트)(예를 들어, 폴리(옥타디올 시트레이트) 등), 카제인, 텍스트란 및 유도체, 폴리(카프로락톤), 폴리(하이드록실산), 폴리(L-락타이드) 폴리(D,L 락타이드), 폴리(D,L-락타이드-코-글리콜라이드), 폴리(L-락타이드-코-글리콜라이드), 락트산과 글리콜산의 공중합체, ϵ -카프로락톤과 락타이드의 공중합체, 글리콜라이드와 ϵ -카프로락톤의 공중합체, 락타이드와 1,4-디옥산-2-온의 공중합체, 단량체 D-락타이드, L-락타이드, D,L-락타이드, 글리콜라이드, ϵ -카프로락톤, 트리메틸렌 카르보네이트, 1,4-디옥산-2-온 or 1,5-디옥세판-2-온, 폴리(글리콜라이드), 폴리(하이드록시부티레이트), 폴리(알킬 카르보네이트) 및 폴리(오르토에스테르), 폴리에스테르, 폴리(하이드록시발레르산), 폴리디옥사논, 폴리(에틸렌 테레프탈레이트), 폴리(말산), 폴리(타르트론산), 폴리무수물, 폴리포스파젠, 폴리(아미노산)의 잔기 단위 중 하나 이상을 포함하는 중합체와 공중합체, 및 상기 중합체의 공중합체뿐만 아니라 상기 중합체의 배합물 및 조합을 포함하지만 이로 제한되지 않는 중합체를 포함한다. 예시적으로 이러한 중합체는 미국 특허 출원 공개 2018/0125990호 및 Polymers in Controlled Drug Delivery (Illum, L. & Davids, S. S., eds., Wright, Bristol 1987); Arshady, J. Controlled Release 17:1-22 (1991); Pitt, Int. J. Phar. 59:173-96 (1990); Holland 등, J. Controlled Release 4:155-80 (1986)을 포함하여 상기 출원 공개에서 인용된 바와 같은 참조문헌에서 기재된 바와 같다. 구체적인 양태에서, 제1 매트릭스 및 제2 매트릭스는 독립적으로 콜라겐, 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리(락틱-코-글리콜산), 또는 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0044] 선택적으로, 매트릭스는 유체 또는 표적 분석물에 대한 다른 연속적인 또는 불연속적인 접근 경로 또는 채널을 정의하는 섬유성 무작위 또는 정연된 메쉬 형태로 존재한다. 선택적으로, 매트릭스는 높은 다공성(예를 들어 50 부피% 초과)을 갖는 부직포 섬유성 메쉬 형태로 존재한다.

[0045] 본원에서 매트릭스에 사용될 수 있는 중합체는 선택적으로, 예컨대 필터 형태의 다공성 메쉬, 합성 메쉬, 또는 다른 이러한 다공성 시트-유사 물질로 형성될 수 있다. 예시적으로, 중합체는, 예컨대 전기방사(electrospinning)를 포함하는 방법에 의해 섬유성 네트워크로 형성된다. 전기방사에서, 원하는 중합체는 원하는 용매(예를 들어 2,2,2-트리플루오로에탄올(TFE) 또는 헥사플루오로이소프로판올(HFIP))에 녹이고 전기방사 과정을 받아 원하는 단면적 치수의 섬유를 형성하고 원하는 배향(선택적으로 무작위)으로 배열되어 물질, 분석물, 활성제 등이 중합체 네트워크 내에서 또는 네트워크에 의해 통과하거나 보유되게 하는 결과적인 공극 크기(가닥 사이의 평균 거리)를 갖는다.

[0046] 선택적으로, 매트릭스는 2개 이상의 중합체 층, 선택적으로 3, 4, 5, 6개 이상의 중합체 층을 포함한다.

[0047] 매트릭스는 선택적으로 친수성 물질로 만들어진다. 선택적으로, 매트릭스는 소수성 물질로 만들어진다. 매트릭스의 상대(relative) 소수성은 2개 이상의 매트릭스 물질을 상호혼합함으로써 및/또는 하나 이상의 매트릭스 물질의 형성-후(post-formation) 가공에 의해 원하는 수준으로 맞춰질 수 있다.

[0048] 일부 양태에서, 매트릭스는 공극 크기를 포함하며, 상기 공극 크기는 선택적으로 시스템을 통과할 수 있는 분자의 크기를 조절하거나 시료 유동을 제어하기에 적합하다. 일부 양태에서, 매트릭스 내의 공극 크기는 약 5 미크론 내지 약 500 마이크로미터(μm) 범위이거나 그 사이의 임의의 값 또는 범위이다. 매트릭스의 결과적인 공극 크기는 선택적으로 10 μm 내지 200 μm , 선택적으로 10 μm 초과 내지 40 μm , 선택적으로 10 μm 내지 35 μm , 선택적으로 10 μm 초과 내지 30 μm , 선택적으로 10 μm 초과 내지 30 μm , 선택적으로 10 μm 초과 내지 25 μm 이다. 일부 양태에서, 매트릭스의 공극 크기는 액체 생물학적 시료 및 상기 생물학적 시료에 존재하는 관심의 임의의 리포터 또는 표적 분석물의 유동을 허용하도록 선택된다. 다층 양태에서, 매트릭스 구성요소의 상이한 층은 상이한 공극 크기를 포함할 수 있다. 예를 들어, 스크린 층은 유체, 항체, 또는 다른 표적 분석물이 스크린 층을 통해 막 층으로 통과하는 것을 허용하는 한편, 세포(원한다면) 또는 다른 오염물을 포착하고 격리시키도록 선택되는 공극 크기를 갖는 매트릭스를 포함할 수 있다. 매트릭스의 예시적인 예는 매트릭스 내로 의 분자의 유리화 또는 혼입 방법을 또한 교시하는 국제 특허 출원 공개 WO 2020/086812에서 찾을 수 있다.

- [0049] 선택적으로, 매트릭스는 섬유성 메쉬, 선택적으로 부직포의 층을 포함한다. 섬유성 메쉬의 생성은 0.1 μm 내지 200 μm 의 섬유 직경을 갖는 섬유의 생성에 의해 달성될 수 있다. 선택적으로, 중합체는 0.5 μm 초과, 선택적으로 0.5 μm 초과 내지 4 μm , 선택적으로 0.5 μm 초과 내지 3 μm , 선택적으로 0.5 μm 내지 2 μm 의 섬유 직경을 갖는 섬유에 존재한다.
- [0050] 매트릭스는 선택적으로 0.1 μm 이상, 선택적으로 0.5 μm , 선택적으로 1 μm , 선택적으로 2 μm , 선택적으로 5 μm , 선택적으로 10 μm , 선택적으로 20 μm , 선택적으로 50 μm , 선택적으로 100 μm , 선택적으로 200 μm , 선택적으로 500 μm 이상인 두께를 갖는다.
- [0051] 일부 양태에서, 매트릭스는 폴리카프로락톤(PCL), 콜라겐, 또는 이들의 조합이거나 이를 포함한다. 이러한 물 안정성 중합체의 주된 특징은 이러한 중합체가 네트워크 또는 섬유를 형성할 수 있어서 하나 이상의 포착제가 그 위로 또는 그 안으로 유리화될 수 있다는 것이다. 그러므로, 매트릭스는 하나 이상의 원하는 분자, 예컨대 리포터 및/또는 포착제를 함유하는 수성 유리화 매질의 유리화에 적합한 표면으로서 역할을 하기 위해 수성 환경에서 충분한 안정성을 가져야 한다. 예시적으로, 매트릭스는 약 Mn 80,000 Da의 PCL을 포함한다.
- [0052] 일부 양태에서, 포착제(예를 들어 항원, 앵타머 또는 항체)는 선택적으로 시험 부위 또는 대조군 부위에서 매트릭스에 공유적으로 결합된다. 대안적으로, 포착제는 매트릭스에 정전기적으로 결합된다. 일례로 PCL 물 안정성 중합체에의 공유 결합은 광개시제 2-하이드록시-4'-(2-하이드록시에톡시)-2-메틸프로피오페논, 및 ACRL-PEG-SVA 5000을 포함한 포스페이트 완충 식염수에서 포착제를 폴리(에틸렌 글리콜) 디아크릴레이트와 반응시킴으로써 포착제(예를 들어, SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질 또는 뉴클레오캡시드(N) 단백질, 앵타머(예를 들어, ACE-2 펩타이드 또는 단백질), 또는 항체(예를 들어 항-인간 SARS 코로나바이러스 핵단백질 마우스 Mab(40143-MM05, Sino Biologicals) 또는 항-인간 SARS 코로나바이러스 핵단백질 토끼 Mab(40143-R001, Sino Biologicals)를 아크릴화시킴으로써 달성될 수 있다. 이는 그 후에, 하나의 면 또는 양면 상에서 코팅시키고 코팅된 층을 UV 광에 노출시켜 포착제를 매트릭스에 공유적으로 결합시킴으로써 PCL 층과 반응될 수 있다. 이는 매트릭스에 공유적으로 결합된 항원, 앵타머, 또는 항체를 초래한다. 결과적인 물질은 후속적으로 하나 이상의 추가제를 매트릭스 내로 유리화시키는 데 사용될 수 있거나, 본원에 기재된 바와 같이 매트릭스 내로 유리화된 하나 이상의 체제를 포함하는 별개의 층을 갖는 다층 시스템에 사용될 수 있다. 선택적으로, 포착제는 매트릭스 또는 이의 일부에 공유적으로 결합될 필요가 없다.
- [0053] 선택적으로, 포착제가 항체일 때, 시험 부위(또는 다른 원하는 위치)를 항-Fc 항체로 사전코팅시킴으로써, 해당 부위로의 포착 항체의 후속적인 위치화는 시료에서 분석물과 반응하는 포착 항체의 능력을 향상시켰음이 발견되었다. 그러므로, 시험 부위, 대조군 부위, 또는 다른 것은 선택적으로 우선 막을 항-Fc 항체와 접촉시킴으로써 형성되고, 건조된 다음, 동일한 부위에서 원하는 포착 항체와 접촉되었다. 일례로, 염소에서 생성된 항-마우스 IgG(Fc 특이적) 항체(Sigma Aldrich로부터의 M4280-1ML), 2 mg/mL는 우선 CN95 막 상에서 미국 캘리포니아주 엠파랜드 소재의 ClaremontBio로부터의 자동화된 측면 유동 시약 분배기(ALFRD: Automated Lateral Flow Reagent Dispenser)를 사용하여 0.291 $\mu\text{L}/\text{mm}$ 의 분배율(dispensing rate)/변역 속도(translating speed)로 스트리핑된다(striped). 제1 층이 건조된 후, 원하는 단일클론 항체(예를 들어 5% 이당류와 함께 1 mg/mL)는 미국 특허 제10,433,540호의 교시에 따라 제1 층의 상부 상에 코팅되고 유리화된다.
- [0054] 포착제는 매트릭스 또는 이의 일부와 회합되거나 또는 그 내에서 회합될 수 있는 유리화된 물질 층을 형성하기 위해 전기방사 과정 동안 직접 유리화될 수 있음이 발견되었다. 전기방사 장치에서 풀룰란(pullulan), 트레할로스(예시적인 유리화제로서), 및 원하는 리포터, 기질, 포착제 또는 이들의 조합을 조합함으로써, 풀룰란은 섬유 형성 스캐폴드로서 역할을 할 것이다. 이러한 방식으로, 포착제, 리포터, 기질 또는 이들의 조합은 전기방사 과정 동안 결정화하지 않지만, 대신에 유리화된 유리질 상태로 변역되어, 활성제는 매트릭스 또는 이의 일부에 포함되어 열 및 저장 시간 안정성으로 될 수 있다.
- [0055] 포착제 또는 리포터는 선택적으로 항체이다. 본원에 사용된 바와 같이 용어 "항체" 및 "항체"는 Fab 면역글로불린 발현 라이브러리의 생성물을 포함하여 단일클론 항체, 다중클론, 키메라, 단일 사슬, 이중특이적, 시미안화(simianized), 및 인간화 항체, 뿐만 아니라 Fab 단편을 포함한다. 무손상(intact) 항체, 이의 단편(예를 들어, Fab 또는 F(ab')₂), 또는 이의 조작된 변이체(예를 들어, sFv)가 또한 사용될 수 있다. 선택적으로, 항체는 당업계에 인식된 바와 같이 인간화된다. 선택적으로, 항체는 인간화되지 않는다. 항체는 IgG, IgM, IgE, IgA, IgD를 포함한 임의의 면역글로불린 부류 및 이의 임의의 하위부류일 수 있다.
- [0056] 포착제는 선택적으로 앵타머이다. 양태에서, 포착 앵타머는 인간 안지오텐신 전환 효소 2(ACE2) 단백질, 또는 이의 펩타이드 또는 단편이거나 이를 모방한다(예컨대 뉴클레오타이드 앵타머의 경우). 인간 ACE2 단백질은 예

를 들어 RayBiotech(Peachtree Corners, VA) 및 Novus Biologicals(Centennial, CO)를 포함하여 여러 가지 상업적인 공급업체로부터 입수 가능하다. 전장 인간 ACE2의 서열은 UniProt 기탁 번호 Q9BYF1 하에 입수 가능하다.

[0057] 본 개시내용의 장치 및 방법은 선택적으로 병원체 및 독소의 다양한 어레이를 포함하여 광범위하게 다양한 표적 분석물의 검출에 적합하다. 양태에서, 포착제는 뉴클레오타이드, 항체, 단백질, 펩타이드, 앵타머, 또는 이들의 단편을 포함한다. 일부 양태에서, 포착제는 바이러스 또는 박테리아 뉴클레오타이드, 단백질, 펩타이드, 또는 이의 단편이다. 일부 양태에서, 포착제는 예시적으로 인플루엔자 바이러스 항원(예를 들어, 헤마글루티닌, 뉴라미니다제(neuraminidase) 등), 코로나바이러스 항원(예를 들어, SARS-CoV 단백질, SARS-CoV-2 단백질, MERS-CoV 단백질 등), 에볼라 바이러스 항원, HIV 항원, 폭스바이러스 항원 등; 박테리아 항원; 진균류 항원; 독소 항원, 예컨대 박테리아 독소 또는 이의 하위단위(예를 들어 탄저병) 등을 포함한 바이러스 항원이다.

[0058] 일부 예시적인 양태에서, 표적 분석물은 바이러스 항원(들)(선택적으로 SARS-CoV-2 바이러스 항원), 또는 이에 대한 숙주 항체(예시적으로, 생물학적 시료에 존재하는 숙주 항-SARS-CoV-2 IgG 또는 IgM 분자)이다. 바이러스 항원에 대한 숙주 항체에 대한 적합한 포착제는 예를 들어, SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질 및 SARS-CoV-2 뉴클레오패시드(N) 단백질을 포함한다. SARS-CoV-2의 N 단백질과 S 단백질, 및 다른 바이러스는 예를 들어 RayBiotech(Peachtree Corners, VA)를 포함한 다양한 공급업체를 통해 상업적으로 입수 가능하다. 이러한 단백질은 전장일 수 있거나 전장 단백질의 펩타이드 또는 하위단위를 포함할 수 있다. 예를 들어, 양태에서, 포착 항원은 SARS-CoV-2 스파이크 단백질 S의 S1 또는 S2 하위단위를 포함할 수 있다. 그러나, 당업자는 다른 펩타이드 또는 이의 단편이 표적 분석물을 포착하는 데 유용할 수 있음을 이해할 것이다. SARS-CoV-2 스파이크 단백질은 Ou, 등, Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV, Nature Communications 11, article 1620 (2020); 및 Ibrahim, 등, COVID-19 spike-host cell receptor GFP78 binding site prediction, J. Infect. S0163-4453(20) (March 10, 2020)에 의해 특징화되었고, 이들은 각각 그 전문이 본원에 참조로서 포함된다.

[0059] 선택적으로, 포착제는 바이러스, 선택적으로 SARS-CoV-2 바이러스, 선택적으로 SARS-CoV-2 바이러스 스파이크 단백질에 특이적인 항체이다. 이러한 항체의 예시적인 예는 항-인간 SARS 코로나바이러스 핵단백질 마우스 Mab(40143-MM05, Sino Biologicals) 및 항-인간 SARS 코로나바이러스 핵단백질 토끼 Mab(40143-R001, Sino Biologicals)를 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 포착 항체는 본원에 사용된 바와 같이 시험 스트립, 예컨대 시험 영역의 하나 이상의 영역에 공유적으로 또는 정전기적으로 결합될 수 있다.

[0060] 리포터는 검출가능한 표지에 선택적으로 결합된다. 검출가능한 표지의 예시적인 예는 효소, 형광 표지, 인광 표지, 화학발광 표지, 비색 표지, 검출가능한 입자 또는 리간드, 비오틴 등을 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 적합한 리포터 효소 검출가능한 표지의 예는 우레아제, 알칼리 포스파타제, 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP), 글루코스 옥시다제 등을 포함하지만 이로 제한되지 않는다.

[0061] 리포터는 선택적으로 항체이거나 항체를 포함한다. 리포터 항체는 이 용어가 본원에 사용되는 바와 같이 검출가능한 표지를 포함하는 항-인간 항체 접합체를 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 일부 양태에서, 리포터 항체는 검출가능한 표지에 접합된 IgG 또는 IgM 항체를 포함한다. 표지화된 리포터 항체는 예를 들어 미국 펜실베이니아주 리머릭 소재의 Rockland Antibodies and Assays; 미국 미주리주 세인트루이스 소재의 Sigma-Aldrich를 포함하여 여러 가지 공급원으로부터 입수 가능하다. 예시적으로, 표지화된 리포터 항체는 효소, 선택적으로 호스래디쉬 퍼옥시다제에 결합된다. 항체를 호스래디쉬 퍼옥시다제 또는 다른 효소에 결합시키는 방법은 당업계에 알려져 있고, 항체와의 HRP의 접합은 미국 캘리포니아주 에르콜레스 소재의 Bio-rad antibodies로부터 입수 가능한 LYNX 신속 HRP 항체 접합 키트를 사용하여 수행될 수 있다.

[0062] 포착제, 리포터, 기질, 또는 임의의 다른 원하는 분자는 미국 특허 제10,433,540호 및 특허 출원 PCT/US2021/019887호의 교시에 따라 장치 중 임의의 일부 내로 또는 일부 상으로 유리화될 수 있다. 간략하게는, 매트릭스 내로 유리화될 하나 이상의 제제를 포함하는 유리화 매질은 매트릭스 내로 또는 매트릭스 상에서 조합되고 놓인다. 유리화 매질은 적어도 하나의 유리화제를 포함할 수 있다. 유리화제의 예시적인 예는 디메틸설폭사이드, 글리세롤, 당(sugar)(예를 들어 트레할로스 등), 폴리알코올, 메틸아민, 베타인(betine), 부동(antifreeze) 단백질, 합성 항-핵형성제, 폴리비닐 알코올, 사이클로헥산트리올, 사이클로헥산디올, 무기 염, 유기 염, 이온성 액체, 또는 이들의 조합을 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 양태에서, 1, 2, 3, 4개 이상의 유리화제가 유리화 매질에 포함된다.

[0063] 유리화제는 상기 유리화제의 정체성(identity)에 의존하는 농도에서 유리화 매질에 포함된다. 일부 양태에서,

이 농도보다 낮은 농도에서는 유리화제가 유리화되는 생물학적 시료에 독성이게 될 농도이다. 본원에 사용된 바와 같이, "독성"은 기능적인 또는 생물학적 생존력이 후속적인 시료 사용 시 달성되지 않거나, 생물학적 시료가 후속적인 분석에 적합하지 않음을 의미한다. 다양한 양태에서, 유리화제의 농도는 500 마이크로몰(μM) 이상 내지 6 몰(M) 이하, 또는 그 사이의 임의의 값이나 범위이다. 일례로서, 트레할로스는 다양한 양태에서, 1 밀리몰(mM) 이상 내지 6 M 이하, 선택적으로 150 mM 이상 내지 6 M 이하의 농도로 포함된다. 일부 양태에서, 조합될 때 모든 유리화제의 총 농도는 1 mM 이상 내지 6 M 이하, 선택적으로 1 mM 이상 내지 6 M 이하이다.

[0064] 일부 양태에서, 유리화 매질은 다른 구성요소, 예컨대 예로서 그리고 비제한적으로, 물 또는 다른 용매, 완충제, 하나 이상의 염, RNase 또는 DNase 저해제, 또는 이들의 조합을 추가로 포함할 수 있는 것으로 고려된다. 완충제는 25°C에서 6 내지 8.5의 pKa를 갖는 임의의 제제이다. 완충제의 예시적인 예는 다른 것들 중에서도 콜린, 베타인, HEPES, TRIS, PIPES, MOPS를 포함한다. 일부 양태에서, 완충제는 큰 유기 이온(120 kDa 초과), 예컨대 콜린, 베타인, 또는 HEPES를 함유하는 완충제이다. 완충제를 포함하는 양태에서, 완충제는 유리화 매질의 pH를 원하는 수준까지 안정화시키기에 적합한 농도로 제공된다.

[0065] 염은 예로서 그리고 비제한적으로, 나트륨염, 칼륨염, 클로라이드염, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 유리화 매질에 포함될 때, 염은 1 밀리몰(mM) 이상 내지 500 mM 이하의 농도로 제공될 수 있다. 예를 들어, 염은 1 mM 이상 내지 500 mM 이하, 1 mM 이상 내지 400 mM 이하, 1 mM 이상 내지 300 mM 이하, 1 mM 이상 내지 250 mM 이하, 1 mM 이상 내지 200 mM 이하, 1 mM 이상 내지 150 mM 이하, 1 mM 이상 내지 100 mM 이하, 1 mM 이상 내지 75 mM 이하, 1 mM 이상 내지 50 mM 이하, 1 mM 이상 내지 25 mM 이하, 25 mM 이상 내지 500 mM 이하, 25 mM 이상 내지 400 mM 이하, 25 mM 이상 내지 300 mM 이하, 25 mM 이상 내지 250 mM 이하, 25 mM 이상 내지 200 mM 이하, 25 mM 이상 내지 150 mM 이하, 25 mM 이상 내지 100 mM 이하, 25 mM 이상 내지 75 mM 이하, 25 mM 이상 내지 50 mM 이하, 50 mM 이상 내지 500 mM 이하, 50 mM 이상 내지 400 mM 이하, 50 mM 이상 내지 300 mM 이하, 50 mM 이상 내지 250 mM 이하, 50 mM 이상 내지 200 mM 이하, 50 mM 이상 내지 150 mM 이하, 50 mM 이상 내지 100 mM 이하, 50 mM 이상 내지 75 mM 이하, 또는 그 안에 포함된 임의의 그리고 모든 범위 또는 하위범위의 농도로 존재할 수 있다.

[0066] 포착제, 리포터, 기질, 또는 임의의 다른 원하는 물질은 선택적으로 미국 특허 제10,433,540호의 교시에 따라 특정 장치 내로 또는 장치 상으로 유리화될 수 있다. 선택적으로, 유리화될 분자(들)는 당(예를 들어 트레할로스)을 포함하는 유리화 용액에서 조합될 수 있고 2가 금속 이온과 킬레이터의 조합을 추가로 포함한다. 2가 금속 이온의 예시적인 예는 다른 것들 중에서도 Ca, Mg, Co, Fe, Zn, Mn의 염을 포함한다. 예시적인 염은 클로라이드, 설페이트 등을 포함한다. 킬레이터는 다른 것들 중에서도 폴리올, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA), 에그타르산(EGTA: egtazic acid)을 포함한다. 유리화 용액 내 2가 금속 염 : 킬레이터의 몰비는 10:90 내지 90:10, 선택적으로 50:50일 수 있다.

[0067] 분석물의 검출은 시험 부위 또는 대조군 부위에서 임의의 적합한 방법에 의한 리포터의 검출에 의해 수행될 수 있다. 예시적으로, 검출은 리포터 분자(예를 들어 골드 또는 기타), 화학발광 또는 다른 이러한 검정 시스템 상에서 표지의 직접 검출, 비색 검정, 리포터에 매칭된 형광 판독기를 포함한다. 일부 양태에서, 형광 판독기는 형광 방출이 검출을 위해 발생할 것하도록 검출가능한 표지를 여기시키기에 적합한 파장을 방출하는 광(light)이다.

[0068] 예시적으로 분석물의 검출은 ThermoFisher Scientific(Waltham, MA) 및 다른 상업적인 공급업체로부터 입수 가능한 4-클로로-1-나프톨(4-CN), 3,3'-디아미노벤지딘(DAB), p-니트로페닐 포스페이트(PNPP), CSPD 및 CDP-Star 기질, RapidGlow Enhancer와 함께 DynaLight 기질, o-페닐렌디아민 디하이드로클로라이드(OPD), 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB) 또는 이의 유도체(예를 들어 TMBM, TMBMX), 2,2'-아지노비스 [3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산]-디아모늄 염(ABTS), SuperSignal ELISA Pico 화학발광 기질, SuperSignal ELISA Femto 최대 민감도(Femto Maximum Sensitivity) 기질 등과 같은 기질과 커플링된 효소/기질 시스템(예를 들어 호스래디쉬 퍼옥시다제(HRP) 또는 알칼리 포스파타제(AP)을 사용하여 수행된다. 일부 양태에서, 표지는 형광단(예를 들어 Cy3, Cy5, alexafluor 488, alexafluor 647, 또는 기타)이다. 적절한 파장 공급원의 다른 것 또는 LED를 이용한 투광(illumination)은 원하는 관심 분자의 존재 또는 부재의 특이적 검출을 가능하게 할 것이다.

[0069] 선택적으로, 본원에 기재된 바와 같은 임의의 양태에 사용되는 기질은 TMB(3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘), ABTS(2,2'-아지노비스 [3-에틸벤조티아졸린-6-설폰산]-디아모늄 염), OPD(o-페닐렌디아민 디하이드로클로라이드), PNPP(p-니트로페닐 포스페이트), ONPG(o-니트로페닐- β -D-갈락토피라노사이드), 또는 이들의 임의의 조합이다. 이러한 기질은 예시적으로 리포터 상의 효소로서 알칼리 포스파타제 또는 HRP와 함께

기능적이다.

[0070] 일부 양태에서, 표적 분석물은 선택적으로 불용성 기질인 기질과 반응하는 HRP와 같은 효소이거나 이를 포함하는 리포터를 사용하여 검출된다. 불용성 기질은 불용성 생성물을 생성하여 고체상 검정, 예컨대 본원에 제공된 것에서 더욱 향상된 위치화를 제공하는 것이다. 본원에 제공된 바와 같이 불용성 기질은 본질적으로 기질 자체가 수성 시스템에서 불용성인 것을 필요로 하지는 않지만, 효소의 작용에 의해 생성되는 생성물은 불용성 생성물을 생성한다. 불용성 기질의 예시적인 비제한적 예는 미국 메릴랜드주 페서데나 소재의 MOSS, Inc.로부터 입수 가능한 TMBM, TMBMX, 및 3,3'-디아미노벤지딘(DAB)과 같은 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)의 유도체를 포함한다.

[0071] 다른 양태에서, 기질은 효소와 같은 표적 분석물에 의해 특이적으로 절단되는 분자일 수 있다. 일례로서, 표적 분석물이 효소일 때, 결합 포착체에 의한 시험 부위에서 표적 분석물의 위치화는 시험 부위에서 표적 기질의 특이적인 절단을 가능하게 한다. 일부 예시적인 예에서, 이러한 기질은, 표적 분석물과의 반응 전에, 형광단의 형광이 소광되도록 소광제(quencher) 및 형광단을 포함하는 분자일 수 있다. 효소 표적 분석물과 접촉될 때, 기질은 절단되어 형광단이 형광을 발하는 것을 가능하게 한다. 이러한 기질의 예시적인 예는 플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC)-표지화된 카제인, 예컨대 ABCAM(Cambridge, UK)으로부터 입수 가능한 프로테아제 활성 키트에서 발견되는 것을 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 대안적으로, 기질은 하이드로젠 퍼옥사이드(그 자체가 장치에서 제1 매트릭스 또는 다른 영역 내로 유리화될 수 있음)의 존재 하에 글루코시다제의 작용에 의해 글루코스 및 파라니트로페놀로 전환되는 파라니트로페닐- α -D-글루코피라노사이드이다. 그 후에, 포착체와의 상호작용 후 시험 부위에 존재할 때 글루코사이드는 활성이어서 파라니트로페닐- α -D-글루코피라노사이드를 절단하여, 황색 생성물을 생성한다. 반응은 선택적으로 알칼리 소듐 카르보네이트 용액의 첨가에 의해 중단될 수 있으나, 원한다면 이러한 중단이 본원에 사용된 바와 같은 측면 유동 검정 장치 및 방법에 절대적으로 필요한 것은 아니다.

[0072] 대안적인 양태에서, 기질은 예컨대 시험 부위에서의 다른 결합 시약에 의해 또는 공유 또는 정전기 결합에 의해 시험 부위에 위치화된다. 효소가 공동위치화되거나 다르게는 시험 부위에 걸쳐 이동할 때, 효소적 표적 분석물의 작용. 반응 생성물의 비색 부분이 위치화된 채로 남아 있기 위해서는 결과적인 신호는 시험 부위에 위치화된 채로 남아 있을 뿐만 아니라 완전한 색상 위치화 및 양성 판독물을 유발할 것이다.

[0073] 세척액은 비-특이적으로 결합된 면역 복합체를 제거하기 위해 첨가될 수 있다. 적합한 세척액은 물, 완충액 또는 다른 것을 포함한다. 선택적으로, 세척액의 사용은 부재한다. 측면 유동 검정 시스템에서, 세척액의 사용은 선택적으로 부재한다.

[0074] 일부 양태에서, 리포터는 입자, 예컨대 나노입자 형태의 검출가능한 표지에 결합된다. 나노입자는 나노규모 단면 치수, 예를 들어 1 nm 내지 1000 nm의 입자이다. 선택적으로 나노입자는 단면 치수 1-300 nm, 5-80 nm, 또는 8-60 nm를 갖는다. 많은 나노입자는, 단면 치수가 구체(spherical) 입자의 직경인 것으로 여겨질 수 있도록 모양이 대체로 구체이다. 유체 역학적(hydrodynamic) 반경 또는 직경은 또한 나노입자 크기를 한정(define)하는 데 사용될 수 있다.

[0075] 나노입자는 선택적으로 금속 또는 준금속, 라텍스, 자기 비드, 콜로이드 골드, 골드 나노셸 입자, 폴리스티렌, 탄소, 또는 이의 코어에 표지, 선택적으로 효소, 예컨대 HRP를 포함하는 미셀이다. 나노입자는 1차 아민에의 강한 공유 커플링을 가능하게 하기 위해 N-하이드록시숙신이미드(NHS)의 카르복실 또는 에스테르를 발현하도록 맞춰질 수 있다. 연결(linkage) 옵션의 다른 예는 말레이미드를 이용한 나노입자의 변형 및 노출된 티올(예를 들어, 리포터제를 머캅토에틸아민 또는 2-이미노티올란(트라우트 시약(Traut's reagent)으로 처리함으로써 생성됨)을 갖는 리포터제에의 후속적인 연결; 하이드라진을 이용한 나노입자의 변형 및 산화된 글리칸(알데하이드)을 이용한 리포터제의 연결; 또는 클릭(click) 화학(예를 들어, 스트레인드 알킨(strained alkyne)을 이용한 나노입자의 변형 및 아자이드로 변형된 리포터제에의 연결)의 사용을 포함한다. 이에 더하여 또는 대안적으로, 나노입자는 리포터제와의 비-공유 상호작용에 적합할 수 있다. 비-공유 연결의 일례는 비오틴-스트렙타비딘 연결이며, 여기서 접합체 중 하나의 구성원은 비오틴화되고 접합체 중 다른 구성원은 스트렙타비딘에 연결된다.

[0076] 일부 양태에서, 나노입자는 나노셸 입자, 선택적으로 코어(선택적으로 실리콘 옥사이드)가 골드 층으로 코팅된 나노셸 입자이다. 예시적인 나노셸 입자는 미국 캘리포니아주 샌디에고 소재의 NanoComposix로부터 수득될 수 있다. 코어의 반경에 대한 셸의 두께의 비를 조정하는 것은 입자의 결과적인 색상을 변경시킬 것으로 발견되었다. 예를 들어, 셸 두께에 대한 코어 반경의 비를 증가시키는 것은 입자의 색상을 적색으로 이동시킨다. 이와 같이, 셸 두께에 대한 코어 반경의 비를 맞춤으로써 입자의 색상은 효소적 반응에 의해 생성되는 생성물의 색상

을 매칭시키거나 실질적으로 매칭시켜 시험 부위에서 발견되는 신호를 개선하도록 조정될 수 있다. 일부 양태에서, 나노셀 입자 자체의 색상은 분석물의 양 pg/ml에서 육안으로 보이는 양성 신호를 생성하기에 충분했던 것으로 발견되었다. 셀 두께에 대한 코어 반경의 비는 선택적으로 3:1 내지 1:3, 선택적으로 1:3 내지 1:12 또는 이들 사이의 임의의 값 또는 범위이다.

[0077] 리포터/입자의 형성은 당업계에 인식된 기법을 사용하여 수행될 수 있다. 예를 들어, 리포터제는 우선 표지(예를 들어 효소 또는 기타)에 접합된 다음, 표지화된 리포터제는 입자, 예컨대 골드 입자 또는 나노셀 입자에 접합될 수 있다. 대안적으로, 입자는 우선 표지에 결합된 다음, 선택적으로 리포터제에 결합된 입자 또는 표지에 결합될 수 있다. BioRad(Hercules, CA)로부터의 접합 키트는 표지를 입자 또는 리포터제에 접합시키는 데 사용될 수 있다. NanoComposix로부터의 접합 키트는 표지 또는 표지화된 리포터제를 입자에 결합시키는 데 사용될 수 있다. 입자가 NHS 결합된다면, CytoDiagnostics로부터의 접합 키트는 표지 및/또는 표지화된 리포팅제(reporting agent)를 입자에 결합시키는 데 사용될 수 있다.

[0078] 당업계에서의 이해와 대조적으로, 향상된 신호는 리포터제를 나노입자에 커플링시킴으로써 생성될 수 있었고, 이에 의해 리포터제 중 일부는 표지에 결합되고 일부 리포터제는 표지에 결합되지 않았음이 발견되었다. 예를 들어, 효소, 예컨대 HRP에 결합된 리포터 항체가 사용될 때, 표적 분석물의 향상된 검출은, 시스템에서 향상된 신호뿐만 아니라 감소된 노이즈 둘 다를 초래한 비(ratio)의 특정 세트에서 비-효소 표지화된 항체와 더불어 효소 표지화된 항체를 둘 다 조합함으로써 달성될 수 있었다. 예시적으로, 표지화된 항체 : 비-표지화된 항체의 수의 비는 80:20 내지 20:80이다. 선택적으로 표지화된 항체 : 비-표지화된 항체의 비는 약 80:20: 70:30, 60:40, 50:50: 40:60, 30:70, 또는 20:80이다. 선택적으로, 일부 예시적인 양태에서, 리포터제는, 바이러스, 선택적으로 SARS-CoV-2 바이러스 스파이크 단백질에 특이적으로 결합하는 항체이다. 입자는 항체로 코팅될 수 있어서, 이에 의해 검출가능한 표지 또는 효소에 또한 결합된 항체의 수 : 검출가능한 표지 또는 효소에 결합되지 않은 항체의 수의 비는 80:20 내지 20:80, 선택적으로 50:50이다.

[0079] 일부 양태에서, 본원에 기재된 장치는 검정의 층, 채널 또는 영역 사이에 배치된 제거 가능한 세퍼레이터 층을 추가로 포함할 수 있다. 선택적으로, 세퍼레이터는 제거되어 분석물, 리포터, 및 포착 분자 사이에서의 접촉을 가능하게 한다.

[0080] 일부 예시적인 양태에서, 포착제는 효소일 수 있다. 효소 포착제는 하나 이상의 표적 부위에서 막 스트립 상에 고정된다. 표적 분석물 또는 표적 분석물에 결합된 분자가 표적 부위에서 효소와 상호작용할 때, 표적 분석물 또는 표적 분석물에 결합된 분자의 효소적 전환은 표적 부위에서 표적 분석물의 존재를 나타내는 검출가능한 신호를 생성할 수 있다. 비제한적인 예로서, 포착제는 효소적 캐스케이드의 업스트림 구성요소일 수 있어서, 이에 의해 포착제는 표적 분석물을 기능적 분자(예를 들어 효소) 자체로 전환시킨다. 기능적 분자에 특이적인 기질을 사용하여, 표적 분석물의 검출은 표적 부위에서 달성될 수 있다.

[0081] 하나의 예시적인 양태에서, 포착제는 효소(예를 들어 글루코스 데하이드로게나제 또는 디아포라제(diaphorase))이다. 시료는 생물학적 시료로부터 원하는 분자를 유리시킴(liberate) 세제(예를 들어 도데실트리메틸암모늄 브로마이드(DTAB))를 갖는 시료 패드에 적용될 수 있다. 유리화된 기질은 장치의 접합체 패드에 포함될 수 있어서, 접합체 패드의 습윤화는 유리화된 물질을 재수화시켜 기질이 표적 부위에서의 작용 부위로 이에 고정된 효소 포착제와 함께 운반되게 할 것이다.

[0082] 일부 양태에서, 본원에 제공된 바와 같은 장치 또는 방법은 표적 분석물의 존재 또는 부재의 검출을 위해 경쟁적 시스템을 활용할 수 있다. 하나의 비제한적인 예로서, 포착제 및 표적 항원은 표적 분석물 상의 동일한 부위에 대해 경쟁할 수 있거나(예를 들어 직접 경쟁적 상호작용), 리포터에의 표적 분석물의 결합은 리포터가 더 이상 포착제에 결합하지 않도록 리포터를 동요(perturb)시킬 수 있다(예를 들어 비-경쟁적 저해). 그러므로, 대조군 부위에서 양성 신호와 조합될 때 또는 표적 부위 단독에서 신호의 부재는 시료 내 표적 분석물의 존재를 나타낼 것이다.

[0083] 다른 양태에서, 포착제는 뉴클레오타이드일 수 있다. 본원에 제공된 바와 같은 뉴클레오타이드는 핵산의 서열이다. 포착제는 특정 서열을 갖는 비표지화된 핵산 가닥, 또는 선택적으로 소광제를 갖는 가닥일 수 있다. 검출가능한 표지를 갖는 표지화된 가닥은 표적 부위에서 비표지화된 가닥에 결합될 수 있다. 특정 서열을 갖는 뉴클레오타이드의 존재 하에, 표지화된 가닥은 표지화된 가닥과 비표지화된 가닥 사이의 상호작용과 함께 표적 분석물의 경쟁적 성질로 인해 해리될 것이고, 표지화된 가닥의 유리는 표적 분석물의 존재를 나타내는 검출가능한 신호를 생성할 것이다.

- [0084] 본원에 제공된 바와 같은 장치 및 방법에서, 생물학적 시료는 시료 패드에 적용될 수 있다. 시료 패드는 그 안에 하나 이상의 유리화된 검정 시약을 포함할 수 있다. 이러한 유리화된 검정 시약은 완충액, 세제, 염, 또는 임의의 다른 필요한 시약을 포함할 수 있다. 이러한 설명은 또한 본원에 다르게 기재된 바와 같은 시료 포트에 적용 가능하다. 일례로서, 시료 패드는 그 안에 유리화된 세제 및/또는 완충액을 포함할 수 있어서, 액체 생물학적 시료에 의한 시료 패드의 재수화는 저장된 검정 시약이 기능적이게 되게 하여, 적용된 시료의 하나 이상의 특징(예를 들어 pH 조정, 하나 이상의 구성요소의 용해 등)을 변경시킨다.
- [0085] 선택적으로, 표적 분석물은 박테리아이다. 하나의 비제한적인 예로서, 박테리아의 검출은 유리화된 세제(예를 들어 DTAB)를 포함하는 시료 패드(또는 시료 포트)에 생물학적 시료를 첨가함으로써 수행될 수 있다. 유리화된 세제의 재수화는 세제가 생물학적 시료 내 박테리아 세포를 용해시키는 것을 가능하게 하여, 세포내 표적 분석물(예를 들어 NAD)을 방출시킨다. 포착제는 표지화된 표적 분석물(예를 들어 HRP 또는 비오틴 표지화된 NAD)에 결합될 수 있어서, 표지화된 표적 분석물은 표적 부위에서 표적 분석물에 의해 경쟁적으로 제거된다. 기질의 도입 시 색상 감소는 생물학적 시료 내 표적 분석물의 양에 비례한다.
- [0086] 본원에 개시된 검정 및 방법의 검출 한계는 유리화제는 전형적인 ELISA 방법 및 고체상 검정보다 우수하다. 양태에서, 관심 분석물에 대한 검출 한계는 약 1000 pg/ml 미만, 선택적으로 약 100 pg/ml 미만, 선택적으로 약 10 pg/ml 미만, 선택적으로 약 5 pg/ml 미만, 선택적으로 약 2 pg/ml 미만, 선택적으로 약 1 pg/ml 미만, 선택적으로 약 0.9 pg/ml 미만, 선택적으로 약 0.8 pg/ml 미만, 선택적으로 약 0.7 pg/ml 미만, 선택적으로 약 0.50 pg/ml 미만, 선택적으로 약 0.4 pg/ml 미만, 선택적으로 약 0.30 pg/ml 미만, 선택적으로 약 0.2 pg/ml 미만, 선택적으로 약 0.1 pg/ml 미만이다.
- [0087] 본원에 제공된 바와 같이 측면 유동 검정은 분석물의 검출의 우수한 낮은 한계를 제공하는 한편 매우 신속하게 완료될 수 있다. 검출은 선택적으로 20분 이하, 선택적으로 약 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1분(들) 이하 이내에 수행된다. 이와 같이, 본원에 정의된 바와 같은 용어 "신속"은 선택적으로 20분 이하, 선택적으로 약 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1분(들) 이하이다.
- [0088] 표적 분석물은 많은 가능한 방법 중 하나에 의해 정량화될 수 있다. 예시적으로, 다수의 시험 스트립은 상이한 기지의 양의 포착 항원 또는 앵타머 또는 항체와 함께 매트릭스 상에 존재하여, 선택적으로 기지의 대조군, 예컨대 색상 지도(color map)와의 비교에 의해 시료 내 분석물의 정량적 결정을 가능하게 한다. 선택적으로, 직접적 정량화는 매트릭스 내에서 또는 매트릭스 상에서 단일 막 스트립 또는 다른 시험 영역 내 신호 수준에 의해 달성될 수 있다.
- [0089] 또 다른 양태에서, 키트가 제공되며, 상기 키트는 본원에 개시된 임의의 장치, 본원에 기재된 방법을 수행하는 데 필요한 시약, 및 선택적으로 사용 설명서를 포함한다.
- [0090] 도 1 내지 4를 참조로 하여, 일부 양태에서, 신속 진단 장치(100a, 100b) 및 사용 방법이 제공된다. 도 1은 선택적으로 제1 매트릭스(110)와 공유적으로 또는 정전기적으로 회합된 포착제(120), 제1 매트릭스(110) 내로 유리화된 포착 항원(120)을 갖는 제1 매트릭스(110)를 포함하는 막 층(105)을 포함하는 예시적인 다층 장치(100a)를 도시한다. 일부 구체적인 양태에서, 포착 항원은 SARS-CoV-2 항원, 예컨대 스파이크 또는 뉴클레오캡시드 단백질 또는 펩타이드 또는 다른 것들이다. 선택적으로, 스크린 층(155)은 막 층(105) 상에 배치되거나 다르게는 이와 접촉되어 배치되고, 상기 스크린 층은: 선택적으로 스크린 층(155)이 액체 생물학적 시료와 접촉될 때 액체 생물학적 시료에 존재하는 오염물을 실질적으로 포착하도록 구성된 제2 매트릭스(160)를 포함한다. 도 1에 도시된 바와 같이, 선택적으로 적어도 하나의 리포터는 제1 매트릭스(110) 내로 유리화된다. 일부 양태에서, 리포터는 표지화된 항-인간 IgM(130) 또는 표지화된 항-인간 IgG(140)를 포함하거나 이것이다.
- [0091] 도 2a는 표적 분석물(150)을 포함하는 액체 생물학적 시료, 예시적으로 혈액 또는 타액과 도 1의 장치(100a)를 접촉시키는 단계를 도시한다. 선택적으로, 표적 분석물(150)은 포착 항원(120), 예컨대 SARS-CoV-2 포착 항원 또는 앵타머에 특이적인 인간 IgG 및/또는 인간 IgM 항체를 포함한다. 도 2b를 참조로 하여, 액체 생물학적 시료와 접촉 시, 막 층(105)은 재수화되고, 리포터 항체(130, 140)는 매트릭스(110)로부터 방출되며 표적 분석물(150)과 결합하는 데 이용 가능한 시스템에서 이동성으로 된다. 도 2c를 참조로 하여, 적절한 기질의 첨가 시, 결합된 리포터 항체(130, 140)는 신호(170)를 통해 검출된다. 선택적으로, 신호(170)의 강도는 표적 분석물의 농도와 상관 관계가 있어서, 기지의 표준과 비교함으로써 시료 내 분석물의 정량화를 허용한다.
- [0092] 도 3은 선택적으로 제1 매트릭스(110)와 공유적으로 또는 정전기적으로 회합된 포착제(120), 제1 매트릭스(110)

내로 유리화된 항원 또는 앵타머 형태의 포착제(120)를 갖는 제1 매트릭스(110)를 포함하는 막 층(105)을 포함하는 예시적인 다층 장치(100b)를 도시한다. 선택적으로, 포착제는 바이러스 항원, 선택적으로 SARS-CoV-2 항원, 예컨대 스파이크 또는 뉴클레오펙시드 단백질 또는 펩타이드 또는 다른 것들이다. 스크린 층(155)은 막 층(105) 상에 배치되거나 다르게는 이와 접촉되어 배치되고, 상기 스크린 층은: 선택적으로 스크린 층(155)이 액체 생물학적 시료와 접촉될 때 액체 생물학적 시료에 존재하는 오염물을 실질적으로 포착하도록 구성된 제2 매트릭스(160)를 포함한다. 적어도 하나의 리포터(예시를 위해 표지화된 항체로서 도시됨)(130, 140)는 제2 매트릭스(160) 내로 유리화된다. 선택적으로, 리포터는 표지화된 항-인간 IgM(130) 또는 표지화된 항-인간 IgG(140)를 포함한다. 도 3이 분해도로써 제시되는 한편, 스크린 층(155)은 선택적으로 막 층(105) 상에 배치되거나 다르게는 이와 접촉되어 배치될 수 있는 것으로 이해된다.

[0093] 도 4는 예시적인 목적 단백을 위한 항체로서 도시된 표적 분석물(150)을 포함하는 액체 생물학적 시료, 예시적으로 혈액 또는 타액과 도 3의 장치(100b)를 접촉시키는 단계를 도시한다. 선택적으로, 표적 분석물(150)은 포착 항원(120)에 특이적인 인간 IgG 및/또는 인간 IgM 항체를 포함한다. 액체 생물학적 시료와 접촉 시, 막 층은 재수화되고, 리포터(130, 140)는 제2 매트릭스(160)로부터 방출되며 표적 분석물에 결합하는 데 이용 가능한 시스템에서 이동성으로 된다. 적절한 기질의 첨가 시, 결합된 리포터 항체(130, 140)는 도 2b 내지 도 2c에 도시된 바와 같이 신호(170)를 통해 검출된다.

[0094] 도 5는 개시내용의 일부 양태에 따른 장치의 예시적인 양태를 도시하며, 제거 가능한 세퍼레이터 층은 2개의 채널 사이에 배치된다. 채널(1)은 그 안에 매트릭스 섬유를 갖는 모세관 채널을 포함하며, 포착 분자(예시적으로, 포착 항체)는 매트릭스 섬유에 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된다. 채널(2)은 공유적으로 결합되지 않으나 그 안에 유리화된 리포터 항체를 갖는 매트릭스 섬유를 포함한다. 혈청은 모세관 채널(1) 내로 인출되고, 세퍼레이터가 제거될 때 채널(2)은 재수화되고 리포터 항체는 방출되고 자유롭게 된 다음 혈청 내 관심 분석물과 접촉하게 된다. 관심 분석물은 채널(1) 내 포착 분자에 의해 포착된다. 채널(1) 섬유의 확대된 이미지는 하단 좌측 패널에 도시된다. 상단 우측 패널은 리포터 항체의 재수화 및 방출 후 채널(2)에서 형광 신호를 보여주며, 이는 이의 이동을 도시한다. 하단 우측 패널은 리포터에 결합함으로써 표적 분석물(예시적으로, VEGF)의 존재를 검출하는 채널(1) 내 형광 신호를 도시한다.

[0095] 도 6은 표준 이용 가능한 방법과 비교하여 현재 개시된 장치 및 방법의 대등한 이점을 도시한다. 전형적인 ELISA는 5시간 초과를 필요로 하고, 6.4 pg/mL의 검출 한계를 갖는다. Luminex®는 3시간 초과를 필요로 하고, 약 10 pg/mL 이하의 검출 한계를 갖는다. 대조적으로, 개시된 장치 및 방법은 콜드-체인 운송 및 저장에 대한 필요성 없이, 그리고 약 15분 내에, 약 0.1 pg/mL 미만의 검출 한계에서 실온에서 표적 분석물의 신속 검출을 가능하게 한다.

[0096] 도 7a 내지 도 7c는 예시적인 측면 유동 막 스트립(200a, 200b, 200c) 형태의 다양한 장치를 도시한다. 예시된 장치에서, 막 스트립은, 표지화된 포착제가 그 안에서 유리화되는 접합체 패드(210), 시험 영역(220), 및 선택적인 대조군 영역(230)을 포함한다. 도 7a는 측면 유동 막 스트립(200a)을 도시하며, 시험 영역 및 대조군 영역(220, 230)은 막 상에서 스트립 또는 선으로서 존재한다. 도 7b 및 도 8c는 측면 유동 막 스트립(200b, 200c)을 각각 도시하며, 시험 영역 및 대조군 영역(220, 230)은 마찬가지로 막 스트립 상에 존재한다. 시험 영역 및 대조군 영역의 구성은 시험 신호 및 대조군 신호가 존재한다면 검출 가능하며 및/또는 식별 가능한 한 다양할 수 있는 것으로(즉, 스트립, 선, 웰, 원형, 모양 등) 이해되어야 한다.

[0097] 도 8은 측면 유동 검정 장치(300)를 도시하며, 막은 하우징 내에 포함된다. 도 9a, 도 9b는 하우징 카세트(300a, 300b)의 분해도를 도시하며, 각각은 기부(base)(310), 트레이(320), 막 스트립(325), 시료 패드(330), 폐기물 패드(340), 및 커버(350)를 갖는다. 도 9a에서, 형성된 막 스트립은 카세트의 트레이(320)에 삽입되기 전에 유리화된 물질을 포함한다. 막 스트립은 선택적으로 제거 가능하고 하우징 내에서 대체 가능하다. 도 9b에서, 막 스트립은 카세트의 조립 전에 카세트의 트레이(320) 상에서 유리화된다. 선택적으로, 막 스트립을 포함하는 트레이는 제거 가능하고 대체 가능하다. 선택적으로, 커버는 기저(underlying) 막 스트립에서 대조군 신호 및 스트립 신호를 보여주기 위한 슬롯(slot) 또는 개구(aperture)를 포함한다.

[0098] 도 10을 참조로 하여, 측면 유동 막 스트립(400)의 예시적인 양태가 제공된다. 막 스트립(400)은 액체 생물학적 시료를 수용하기 위한 시료 패드(405)를 포함할 수 있다. 시료 패드는 유리화된 매트릭스(425)를 포함하는 접합체 패드(410)와 유체적으로 접촉된다. 리포터제(선택적으로 항체)(430, 440)는 선택적으로 접합체 패드의 매트릭스(425) 내로 유리화된다. 리포터제는 본원에 기재된 바와 같이 입자에 결합될 수 있는 것으로 이해된다. 일부 양태에서, 장치는 접합체 패드 내로 또는 접합체 패드 상으로 유리화된 리포터제를 포함하지

않으나, 이들은 시료와 함께, 시료 다음에, 또는 시료를 시료 패드와 접촉시키기 전에 첨가될 수 있다. 접합체 패드의 다운스트림에서, 예시적인 막 스트립은 선택적으로 여기에 공유적으로 또는 정전기적으로 결합되거나 그 안에 또는 그 위에서 유리화된, 유리화된 고정된 포착제(예를 들어 항체, 항원 또는 앵타머)(420)를 포함하는 시험 부위 또는 선을 포함한다. 선택적인 대조군 부위 또는 선은 유리화된 고정된 포착제(예를 들어 항원, 앵타머 또는 항체)(435, 445)(예시적으로, 인간 IgG 또는 IgM)를 포함하는 시험 영역의 다운스트림에 배치될 수 있다. 폐기물 패드 또는 흡수 패드(450)는 측면 유동 검정을 통한 시약의 이동을 촉진하며 및/또는 과량의 시약을 수집하기 위해 막 스트립의 다운스트림 말단에 배치될 수 있다.

[0099] 도 11a는 관심 분석물(485a, 485b, 485c)을 포함하는 액체 생물학적 시료(480)와 막 스트립(400)을 접촉시키는 단계를 도시한다. 액체 생물학적 시료(480)가 시료 패드(405)를 적실 때, 액체 시료 내 유체 및 분석물은 막 스트립을 통해 모세관 작용에 의해 유리화된 매트릭스(425)로 이동한다. 생물학적 시료의 액체 분획은 유리화된 매트릭스(425)를 재구성하여, 리포터제(430, 440)를 방출시키며, 이는 시스템에서 이동 가능하게 된다. 도 11b에 도시된 바와 같이, 표적 분석물(485)은 시험선에서 포착제(420)에 의해 포착된다. 리포터 항체(430, 440)는 대조군선의 포착 항체 및/또는 표적 분석물(435, 445)에 결합한다. 과량의 시약은 폐기물 패드(450)에 의해 흡수된다. 리포터의 위치화 시 그리고 선택적으로 추가로 기질이 첨가될 때, 신호는 선택적으로 광원(470)을 사용하여 또는 색상 변화를 위한 시각적 조사, 또는 신호를 검출하기 위한 다른 수단에 의해 검출 가능하다.

[0100] 도 12는 복수의 막 스트립을 포함하는 측면 유동 검정 하우징 카세트(500)를 도시한다. 도 13a, 13b는 카세트(500a, 500b)의 분해도를 도시하며, 각각은 기부(510), 트레이(520), 복수의 막 스트립(525), 시료 패드(530), 폐기물 패드(540), 및 커버(550)를 갖는다. 도 13a에서, 막 스트립은 카세트의 트레이(520)에 삽입되기 전에 유리화된다. 막 스트립은 선택적으로 독립적으로 제거 가능하고 대체 가능하다. 도 13b에서, 막 스트립은 카세트의 조립 전에 카세트의 트레이(520) 상에서 유리화된다. 트레이(520)는 선택적으로 제거 가능하고 대체 가능하다. 시험선 및 대조군선은 막 스트립(525) 상에 예시되어 있는 한편, 시험 영역 및 대조군 영역은 신호의 준비가 된(ready) 검출을 허용하는 선, 웰 또는 임의의 다른 구성의 형태로 존재할 수 있다. 선택적으로, 커버는 기저 막 스트립에서 대조군 신호 및 스트립 신호를 보여주기 위한 슬롯 또는 개구를 포함한다.

[0101] 도 14 및 도 15는 하우징(15a) 내에서 또는 하우징(15b) 없이 본 개시내용의 일부 양태에 따른 예시적인 다중-스트립 측면 유동 검정(600)을 도시한다. 검정은 액체 생물학적 시료를 수용하기 위한 시료 패드(605)를 포함한다. 3개의 막 스트립이 도시되어 있는 한편, 2, 3, 4, 5개 이상의 막 스트립을 포함한 임의의 수의 막 스트립이 다중-스트립 검정에 포함될 수 있는 것으로 이해될 것이다. 각각의 막 스트립은 유리화된 매트릭스를 포함하는 접합체 패드(615), 하나 이상의 유리화된 리포터(630, 640), 및 선택적으로 하나 이상의 기질(645)을 포함한다. 포착제(620)(선택적으로 공유적으로 또는 정전기적으로 결합됨)를 갖는 시험선은 접합체 패드(615)의 다운스트림에 배치된다. 선택적으로, 개별 막 스트립은 동일한 또는 별개의 포착제(620)를 포함할 수 있다. 하나 이상의 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 대조군 포착제(655, 660)를 포함하는 대조군 스트립은 시험 스트립의 다운스트림에 배치된다. 폐기물 패드(650)는 과량의 시료 유체를 수용하기 위해 막 스트립의 다운스트림에 배치된다. 선택적으로, 폐기물 패드는 시험 완료를 나타내기 위해 단백질, 액체 또는 다른 지시약의 존재 하에 색상 변화를 제공하는 염료와 같은 지시약(675)을 포함한다. 예시적으로, 염료는 쿠마시 G-250을 포함한다.

[0102] 다중-스트립 측면 유동 검정(600)이 하나 이상의 액체 생물학적 시료와 접촉될 때, 시료의 액체 분획은 시료 패드(605)를 적시고, 다운스트림에서 막 스트립으로 유동한다. 시료 유체가 접합체 패드(615)를 재구성할 때, 유리화된 하나 이상의 리포터(630, 640) 및 기질(645)은 접합체 패드(615)의 매트릭스로부터 방출된다. 그 후에, 리포터는 자유롭게 되어 시료 내 표적 분석물에 결합한다. 유체 및 이동성 구성요소는 다운스트림으로 이동하고, 여기서 "샌드위치" 결합은 시험선 및 대조군선에서 검출 가능하다. 중단 용액이 시료 패드에 첨가되어, 리포터/기질 상호작용을 중단시킬 수 있다.

[0103] 선택적으로, 본원에 개시된 임의의 구현예에서, 대조군 영역(예를 들어, 스트립 또는 웰)은 포착제에 더하여 또는 포착제 대신에 쿠마시 G-250과 같은 지시약 염료를 포함할 수 있다. 이러한 양태에서, 지시약 염료는 액체 시료 내 임의의 단백질의 존재를 검출함으로써, 색상 변화와 같은 신호를 통해 시험의 완료를 나타낸다.

[0104] 선택적으로, 포착제는 앵타머, 예컨대 무손성 병원체에 결합하는 앵타머이다. 선택적으로, 앵타머는 바이러스 표면 단백질, 선택적으로 SARS-CoV-2 표면 단백질에 결합할 수 있는 ACE2 단백질 또는 펩타이드이다. 일부 양태에서, 막은 결합된 비리온/앵타머 복합체와 복합체화된 유리화된 발색제 및 유리화된 매트릭스를 포함할 수

있다. 예를 들어, 액체 생물학적 시료가 매트릭스에 접촉할 때, 매트릭스는 재구성되고 발색제는 방출된다. 표적 비리온은 포착 앵타머에 결합하며, 발색제는 복합체에 결합하고, 검출 신호가 생성된다.

- [0105] 선택적으로, 유리화된 포착제는 무손상 병원체에 결합하는 비오틴-표지화된 앵타머이다. 양태에서, 막은 유리화된 매트릭스, 유리화된 리포터, 및 유리화된 비오틴-표지화된 앵타머를 포함할 수 있다. 비오틴-표지화된 앵타머는 비리온(또는 다른 표적)에 결합하고, 복합체는 공유적으로 결합된 아비딘 또는 스트렙타비딘에 의해 시험 영역에서 포착된다. 리포터는 복합체에 결합하고 검출 신호가 생성된다.
- [0106] 선택적으로, 유리화된 포착제는 무손상 병원체, 선택적으로 바이러스, 선택적으로 SARS-CoV-2에 결합하는 올리고뉴클레오타이드(예를 들어 앵타머)이다. 막은 유리화된 매트릭스 및 유리화된 비콘(beacon) 앵타머를 포함할 수 있으며, 비콘 앵타머는 형광단 및 소광제를 갖는다. 비콘 앵타머가 표적 분석물에 결합되지 않을 때, 형광단은 소광제에 의해 소광되고 신호가 생성되지 않는다. 그러나, 비콘 앵타머가 SARS-비리온에 결합할 때, 복합체는 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 올리고에 의해 시험 영역에서 포착된다. 비콘 앵타머의 형광단이 앵타머-복합체 형성으로 인해 비소광될 때 신호가 생성된다.
- [0107] 선택적으로, 유리화된 포착제는 하나의 예시적인 예로서 무손상 병원체, 예컨대 바이러스 또는 이의 일부, 예컨대 SARS-CoV-2 S 또는 N 단백질에 결합하는 항체이다. 막은 유리화된 매트릭스 및 유리화된 포착 항체를 포함할 수 있다. 액체 시료가 포착 항체를 재구성할 때, 이는 자유롭게 되어 시스템 내의 임의의 분석물에 결합한다. 리포터제가 또한 분석물에 결합되는 일부 양태에서, 리포터는 포착제가 위치화되는, 선택적으로 공유적으로 또는 정전기적으로 위치화되는 영역에서 농축된다. 분석물의 존재 또는 부재의 검출은 선택적으로 검출가능한 생성물을 생성하기 위해 적합한 기질과 함께 리포터제에 결합된 효소와의 반응으로 인해 색상 변화 또는 농도에 의해 달성될 수 있다.
- [0108] 도 16a는 선택적으로 하우징 내에 복수의 막 스트립(610)을 포함하는 예시적인 진단 검정 장치(600)를 도시한다. 도 16a 및 16b에 도시된 바와 같이, 각각의 막 스트립(610)은 매트릭스 내로 유리화된 리포터를 갖는 접합체 패드(615), 및 표적 분석물을 포착하기 위한 유리화된 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 포착제를 포함하는 복수의 시험 영역(622)을 포함한다. 표적 분석물이 접합체 패드로부터 다운스트림으로 이동함에 따라, 포착 농도는 복수의 시험 영역(622)에 걸쳐 일련으로 희석되어, 표적 분석물의 농도를 결정하기 위해 색상 지도 또는 다른 기준 표준과 비교될 수 있는 복수의 신호를 제공한다.
- [0109] 도 16은 예시적인 진단 검정 장치(700)를 도시한다. 검정 장치(700)는 선택적으로 시료 패드(705) 및 선택적으로, 시료 패드(705) 다음에 배치되며 및/또는 이와 중첩되며 및/또는 이와 접촉된 기질 패드(702)를 포함한다. 선택적으로, 시료 패드는 액체 생물학적 시료, 예시적으로 혈액 시료 또는 타액 시료를 수용하며, 시료(존재한다면) 내 적혈구 세포를 격리시키거나, 제거하거나 파괴시킬 수 있고, 따라서 시료 및 표적 분석물의 잔여 구성 요소는 접합체 패드(715)로 이동할 수 있다. 접합체 패드(715)는 매트릭스(725) 및 선택적으로 상기 매트릭스 내로 유리화되고 선택적으로 입자에 결합된 적어도 하나의 리포터(730a, 730b)를 포함한다. 선택적으로, 접합체 패드(715)는 적어도 하나의 표지화된 리포터, 선택적으로 매트릭스 내로 유리화된 항원(730b)을 포함한다. 선택적으로, 접합체 패드(715)는 매트릭스 내로 유리화된 적어도 하나의 표지화된 대조군 항체(730a)를 포함한다. 접합체 패드(715)의 다운스트림에 그리고 이에 유체적으로 결합되어, 선택적으로 이에 내재적으로, 하나의 또는 복수의 시험 영역(722)을 포함하는 막 스트립이 존재하며, 각각의 시험 영역은 유리화된 고정된 포착제(720), 시험 분석물(예를 들어 인간 IgG, SARS-CoV-2 S 단백질 등)의 유형에 특이적이거나 대조군에 특이적인 포착제를 포함한다. 선택적으로, 각각의 시험 영역은 상이한 유리화된 포착제(720), 예컨대 포착 항원, 항체, 앵타머 등을 포함할 수 있다. 대조군 영역(745)은 선택적으로 막 스트립 상에, 선택적으로 시험 영역의 다운스트림에 배치된다. 일부 양태에서, 검정은 시료로부터 과량의 유체를 흡수하기 위한 폐기물 패드(750)를 추가로 포함한다.
- [0110] 일부 양태에서, 기질 패드(702)는 표지 또는 표지화 분자와 반응 시 색상 발색에 적합한 반응물에 결합하는 포매된(embedded) 또는 유리화된 기질을 포함한다. 비제한적인 예로서, 포착제는 HRP에 결합될 수 있다. 기질 패드는 HRP(또는 다른 효소적 표지)에 대한 하나 이상의 기질을 포함할 수 있어서, 기질이 HRP에 접촉할 때 그리고 막 스트립 상의 HRP의 위치에서, 양성 결과를 나타내는 색상이 생성될 것이다. 선택적으로, 생물학적 시료가 시료 패드에 첨가될 때, 완충액은 기질 패드에 첨가되어 기질을 재구성하고 방출시킬 수 있으며, 따라서 기질은 막 스트립을 통해 이동하여 적절한 리포터 분자에 결합할 수 있다.
- [0111] 일부 양태에서, 시료 패드(705)는 적혈구 세포를 격리시키며 및/또는 용해시켜, 혈장 및 표적 분석물이 막 스트립을 가로질러 이동하게 하는 제제를 추가로 포함할 수 있다. 다양한 적혈구 세포 용해제가 당업계에 알려져

있다. 예시적인 제제는 적혈구 세포 용해 완충액(다양한 공급업체로부터 입수 가능함); 또는 암모늄 클로라이드, 포타슘 비카르보네이트, 및 디소듐 EDTA 중 하나 이상을 포함하는 포매된 용액을 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 당업자는 적혈구 세포 용해제가 당업계에 잘 알려져 있음을 이해할 것이다.

[0112] 장치(700)가 표적 분석물, 예시적으로 감염성 병원체, 바이러스 자체 또는 이의 일부, 예컨대 바이러스 S 단백질에 대한 항체를 포함하는 생물학적 시료, 예시적으로 혈액 시료와 접촉될 때, 혈액은 시료 패드 상에 침착된다. 선택적으로, 완충액은 기질 패드에 첨가되어 기질 분자를 방출시킨다. 선택적으로, 시료 패드는 시료 내 적혈구 세포를 격리시키며 및/또는 용해시켜, 막 스트립을 가로질러 혈장 및 표적 분석물을 이동시키는 제제를 포함할 수 있다.

[0113] 유리화된 리포터, 예컨대 표지화된 바이러스 항원(730b), 및 유리화된 대조군 항체(730a)는, 생물학적 시료로부터의 액체가 매트릭스를 재구성할 때 접합체 패드(715)로부터 방출된다. 시료, 분석물, 리포터 분자, 및 대조군 분자는 시험 영역쪽으로 다운스트림에서 유동한다. 시험 영역에서, 별개의 표적 분석물은 각각의 시험 영역에서 포착 분자의 정체성(identity)에 따라 원하는 위치에서 포착된다. 대조군 항체는 대조군 영역 포착 항체에 결합하여, 시험이 완료되었으며 및/또는 성공적이었음을 확인한다. 일부 양태에서, 완충액은 기질에 첨가될 수 있으며, 선택적으로 시험 영역에서 "샌드위치" 복합체의 존재 하에 신호를 생성하기 위한 기질을 검출하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0114] 선택적으로, 생물학적 시료는 대상체로부터 수집되고, 생물학적 시료의 하나 이상의 특징을 조정하며 및/또는 생물학적 시료 내에서 하나 이상의 분석물을 유리시키기에 적합한 검정 완충액과 조합된다. 예시적인 양태로서, 시험 시료는 타액일 수 있다. 타액은 세제를 포함하는 검정 완충액과 조합되어, 원하는 단백질 또는 핵산 분석물을 표적 바이러스 시스템으로부터 유리시킬 수 있다. 그 후에, 결과적인 시료는 장치의 시료 패드에 적용될 수 있어서, 유체는 선택적으로 시료 패드 위치 또는 이의 다운스트림에서(예를 들어 접합체 패드에서) 리포터제를 재구성하며, 따라서 리포터제는 자유롭게 되어 시료 내의 관심 분석물에 결합할 수 있다. 시료의 측면 유동은, 관심 분석물에 또한 특이적으로 결합하여 분석물 및 리포터제를 포착하고 시험 부위로 위치화시키는 하나 이상의 포착제를 포함할 수 있는 시험 영역(722) 쪽으로 이동한다. 선택적으로, 기질은 시료 내에서 분석물의 검출을 위한 리포터제에 결합된 효소에 의해 촉매화되는 반응의 착색된 생성물의 생성을 위해 시험 부위 또는 이의 업스트림에 적용된다.

[0115] 일부 양태에서, 시료는 제제를 시료 패드에 접촉시키기 전에 또는 접촉시키면서 세제와 접촉된다. 세제는 단백질을 바이러스 입자로부터 유리시키기에 적합한 임의의 세제이다. 일부 양태에서, 예시적인 세제는 선택적으로 유체 내에서 1-5 중량%로 존재하는 Zwittergent 3-14(CAS 14933-09-6)이다. 선택적으로, 세제는 검정 시스템에서 신호 결과를 향상시키는 데 일조할 수 있는 디티오프레이톨(DTT)과 조합된다.

[0116] 대안적으로, 시료는 용해되어 시료 패드 상에서 하나 이상의 분석물을 유리시킬 수 있다. 선택적으로, 시료 패드는, 시료 패드에의 시료의 직접 적용이 시료에 포함된 임의의 필요한 공급원으로부터 분석물의 직접 유리를 가능하게 하는 세제를 재구성하도록 선택적으로 시료 패드 상에 유리화된 DTT, DTAB, 또는 다른 세제와 조합된 세제를 포함한다.

[0117] 표적 분석물의 유리(liberation)와 동시에 또는 그 후에, 시료는 리포터제와 접촉된다. 리포터제는 세제와 동일한 용액에 존재할 수 있거나, 나중에 시료와 조합되는 별개의 용액에 존재할 수 있거나, 리포터제는 유리화된 형태로 접합체 패드에 또는 접합체 패드 상에 수용(housed)될 수 있다. 그 후에, 선택적으로 입자에 결합된 리포터제, 선택적으로 항체는 자유롭게 되어 시료 내 분석물과 접촉된다. 접합체 패드를 통한 시료 이동 후, 시험 부위에서의 포착제는 시험 부위에서 분석물을 농축시키고 수집하여, 리포터제 상에 표지를 농축시켜 시험 부위에서 검출가능한 신호를 제공한다. 일부 양태에서, 표적 분석물의 존재의 양성 지표의 증강 또는 발달을 위해 표적 부위의 기질의 전달은 장치를 통한 기질의 유동 특징을 변경시킴으로써 향상될 수 있는 것으로 발견되었다. 측면 유동 검정 장치에서의 관독을 눈으로 수행하는 것이 전형적이며, 이는 기계 관독보다 덜 민감하다. 이는 민감한 색상, 형광, 발광 또는 다른 민감한 검출에 적합한 관독 장비와 함께 실험실 외부에서 또는 현장에서 사용될 때 장치에 대한 검출 한계를 위로 밀어올리는 경향이 있다. 효소적 증폭, 예컨대 효소 결합된 리포터(예를 들어 HRP 또는 기타)의 사용은 민감성을 강화시키지만, 신호 생성을 원하는 표적 부위로 효과적으로 위치화시키기 위해 다른 이슈(issue)를 유발한다.

[0118] 유체(즉, 액체 생물학적 시료 또는 이의 일부)가 막을 통해 유동하는 속도는 검정 성능에 영향을 미칠 수 있는 것으로 발견되었다. 감소된 유체 유속은 포착제와 표적 분석물 사이의 상호작용을 향상시킬 수 있을 뿐만 아니라, 표적 부위 이외의 위치에서 리포터가 보유되는 가능성을 증가시킬 수 있다. 이는 특히 골드 또는 다른 나

노입자를 리포터에서 시각화제(visual agent)로서 사용할 때 문제가 된다. 효소적/형광/발광 증폭을 사용할 때, 표적 부위 이외의 부위로의 리포터의 보유는, 이후에 기질 첨가에 의해 증폭되는 리포터의 비특이적 보유로 인해 높은 배경 및/또는 위음성을 유발할 수 있다. 실질적으로 본원에 기재된 바와 같은, 선택적으로 도 17a에 도시된 바와 같이 막 스트립과 회합된 기질 패드 및/또는 접합체 패드를 포함하는 측면 유동 장치를 사용할 때, 액체의 유속은 액체 적용으로부터의 시간 및 스트립 총 부피에 비해 시스템에 놓인 액체 시료의 양에 따라 변경된다. 도 17b에 도시된 바와 같이, 점선은 총 스트립 습윤 부피를 지칭한다. 유동 지속시간이 총 부피로 진행됨에 따라 스트립 하우스(strip house)는 증가한다. 그러나 고체선에 의해 도시된 바와 같이, 액체 부피가 막 스트립을 통해 유동하는 속도는 시료 적용으로부터의 시간에 따라 시간이 경과하면서 변한다. 이는 전체 유속을 도 17b에서 수직 파선에 의해 분절화된(segmented) 4개의 상이한 유동 레이짐(regime)으로 절단함으로써 설명될 수 있다. 레이짐(1)은 막 스트립 밖으로의 초기 습윤을 도시한다. 레이짐(2)는 막 스트립, 폐기물 패드 계면(interface)의 습윤화를 도시한다. 레이짐(3)은 폐기물 패드의 습윤(wet-out)을 도시한다. 마지막으로, 레이짐(4)는 폐기물 패드(임의의 것이라면)로부터의 증발로 인한 속도를 도시한다. 최대 유속은, 공극을 충전하고 유체를 접합체 패드로부터 막을 통해 이동시키는 막 스트립 물질의 초기 습윤을 나타내는 레이짐(1)에 도달된다. 막 스트립이 유체로 약 75 부피% 포화될 때, 유속은 실질적으로 거짓(false)이다. 본원에 제공된 바와 같은 장치에서, 채널 길이 및 폭은, 배경을 감소시키고 민감성을 향상시키기 위해 비결합된 리포터를 부위로부터 멀리 이동시키는 한편 시험 부위에서의 표적 분석물의 특이적 결합을 향상시키고 유체 유동 특징을 향상시키기 위해 조정될 수 있다. 기질이 첨가될 수 있거나 판독물이 선택적으로 도 17b에서 약 8-10분째에 도시된 레이짐(3)의 종료시 취해질 수 있다.

[0119] 이와 같이, 기질의 표면 유동을 특이적으로 생성함으로써, 효소/기질 반응의 위치화는 표적 부위로 더 효과적으로 위치화되어 검출의 하한을 감소시키며, 위음성을 감소시키고, 신호 : 노이즈 비를 향상시킬 수 있는 것으로 발견되었다. 효소적 증폭을 위한 기질 첨가는 추가 과정을 제기한다. 액체 기질의 첨가는 막 스트립 상에서 전반적인 액체의 유동 특징을 변경시킨다. 따라서, 액체 기질의 사용은 막 스트립을 덮어씌웠고, 이는 특히 레이짐(3) 후에 그러하다(기질 첨가를 위한 최적의 시간). 액체 기질이 사용된다면, 추가 액체 풀(pool)은 시험선 영역을 청소하는 데 상당한 시간이 소요될 것이고, 위양성을 유발하는 비-특이적 신호를 남길 수 있다.

[0120] 이러한 이슈는 본원에 제공된 바와 같이 일부 양태에 따라, 막 층이 생물학적 시료 또는 다른 것으로 습윤된 후 건조 형태의 기질이 선택적으로 막 층에 접촉할 때 해결될 수 있다. 이에 의해, 막 층 상에서/내에서 기질의 유동은 막 자체를 통한 감소된 양의 유동과 함께 표면 유동이다. 이와 같이, 일부 양태에 따르면, 기질은 실질적으로 건조한 기질 막 내로 유리화되고, 실질적으로 건조한 기질 막은 습윤 후에 막 층과 접촉된다. 막 층 내에서 유리화된 물질을 재수화시키는 데 사용된 습윤된 막 층 내의 유체가 또한 사용되어, 기질 막을 재수화시켜, 기질 막으로부터 향상된 신호 생성을 위한 원하는 표적 부위로의 기질의 유동을 가능하게 한다. 신호 및 위양성을 향상시키기 위해, 기질은 시험 부위의 업스트림에 있는 부위에 도입되어, 도 17c에 실질적으로 도시된 바와 같이 막에서 실질적으로 선행 기질 유동을 도입할 수 있다.

[0121] 이들 독특한 기질 유동 특징을 달성하기 위해, 도 18a 내지 도 18e는 막 층에서의 기질의 지연된 적용에 대한 예시적인 검정 장치(800)의 다양한 양태를 도시한다. 막 스트립은 시료 패드(805) 및 상기 시료 패드(805) 다음에 배치되며 및/또는 이와 중첩되며 및/또는 이와 접촉된 접합체 패드(815)를 포함한다. 접합체 패드(815)는 그 안에 하나 이상의 시험 부위(822)를 포함하는 막 스트립으로 유동할, 그 안에서 또는 그 위에서 유리화된 하나 이상의 리포터를 포함할 수 있다. 접합체 패드(815)의 다운스트림에 그리고 이에 유체적으로 결합되어, 선택적으로 이에 내재적으로, 하나의 또는 복수의 시험 영역(822)을 포함하는 막 스트립이 존재하며, 각각의 시험 영역은 유리화된 고정된 포착제, 시험 분석물(예를 들어 인간 IgG, SARS-CoV-2 S 단백질 등)의 유형에 특이적이거나 대조군에 특이적인 포착제를 포함한다. 선택적으로, 각각의 시험 영역은 상이한 유리화된 포착제, 예컨대 포착 항원, 항체, 앵타머 등을 포함할 수 있다. 대조군 영역(845)은 선택적으로 막 스트립 상에, 선택적으로 시험 영역의 다운스트림에 배치된다. 일부 양태에서, 검정은 시료로부터 과량의 유체를 흡수하기 위한 폐기물 패드(850)를 추가로 포함한다. 하우징(860)은 함께 피팅(fit)되어 막 스트립을 수용하는 상부(upper) 하우징(862) 및 하부(lower) 하우징(863)으로 형성될 수 있으나, 상부 하우징 및 하부 하우징은 내재적이고 단일 조각으로 형성될 수 있는 것으로 이해된다. 하우징은 이에 고정되거나 이에 내재적인 기질 패드(875)를 포함하는 기질 전달 레버(870)를 추가로 포함할 수 있다. 기질 패드는 임의의 원하는 수단, 예컨대 접착제, 선택적으로 방출 가능한 접착제에 의해, 또는 그 안에서 기질의 유리화에 적합한 막을 레버 내로 직접 혼입함으로써 기질 전달 레버에 고정될 수 있다. 기질 패드(875)는, 레버를 작동시키는 것이 기질 패드를 막의 일부와 접촉시켜 기질을 재수화시키고 이를 리포터와의 반응을 위해 동원시키도록 레버(870) 상에 놓인다.

- [0122] 계속해서 도 18을 참조하여, 레버(870)는 하우징(862) 내에서 레버 슬롯(881) 내로 피팅될 수 있다. 레버(870)와 레버 슬롯(881) 사이의 피트(fit)는 레버의 작동 및 기질 패드와 막 스트립의 접촉을 가능하게 할 수 있다. 일부 양태에서, 레버는, 도 18c에 도시된 바와 같이 레버를 회전시키는 것이 제1 위치로부터 막 스트립과 접촉되는 제2 위치로 기질 패드를 이동시키도록 레버 슬롯 내의 스크류 요소 또는 형상과 상보적인 스크류 요소 또는 형상을 포함한다. 다른 양태에서, 레버(780)는, 원하는 양의 힘의 적용이 막 스트립과 접촉하도록 기질 패드(875)를 이동시킬 레버 슬롯(881) 내로의 마찰 피트일 수 있다. 일부 양태에서, 원하는 시간에 막 스트립을 제1 위치로부터 막 스트립과 접촉하는 제2 위치로 이동시키기 위해 사용자에게 의해 작동될 수 있는 시스템을 포함하는 것이 요망되긴 하지만, 이는 기질 막의 우연적인 움직임에 저항적이다. 하우징 내에서 기질 패드의 위치는 임의의 원하는 위치에서 막 스트립과 접촉하도록 맞춰질 수 있음을 주목한다. 선택적으로, 도 18b에 도시된 바와 같이, 레버는 기질 패드(875)를 접합체 패드(815)에서 또는 그 부근에서 막 스트립에 접촉하도록 놓인다. 대안적으로 또는 이에 더하여, 레버는 시료 패드(805)에서 또는 그 부근에서 기질 패드를 막 스트립에 접촉하도록 놓인다. 대안적으로 또는 이에 더하여, 레버는 시료 패드 시험 부위에서 또는 그 부근에서 기질 패드를 막 스트립과 접촉하도록 놓이거나, 재수화 시 기질이 기질 패드로부터 시험 부위(들)로 표면 모세관 작용에 의해 유동할 수 있도록 시험 부위의 업스트림의 임의의 위치에 놓인다.
- [0123] 하우징(862)은 선택적으로, 사용자가 생물학적 시료를 시료 패드에 쉽게 위치화시킬 수 있도록 실질적으로 시료 패드(805) 부근에 놓이는 시료 포트(880)를 추가로 포함한다. 시료 포트(880)는 검정 시약 전달 포트(885)를 추가로 포함할 수 있다. 검정 시약 전달 포트는 그 안에서 유리화된, 생물학적 시료를 보충하거나 다르게는 하나 이상의 첨가제를 막 스트립에 전달하는 데 사용될 수 있는 하나 이상의 검정 시약을 포함할 수 있다. 검정 시약의 예시적인 예는 많은 다른 것들 중에서도 완충제(예를 들어 포타슘 포스페이트, HEPES, TRIS 등), 세제(예를 들어 tween 등)를 포함하지만 이로 제한되지 않는다. 사용자는 생물학적 시료, 또는 이의 일부를 취하고 이를 전달 포트(885)에 첨가할 수 있으며, 상기 전달 포트는 첨가제를 재수화시켜 첨가제가 생물학적 시료와 조합되게 하고 전반적인 검정 또는 장치 성능을 향상시킨다. 선택적으로, 장치는 검정 시약 전달 포트를 포함한다. 선택적으로, 장치는 검정 시약 전달 포트를 배제한다.
- [0124] 계속해서 도 18을 참조하여, 장치 하우징은 막 스트립을 상기 하우징 내에서 수용하고 이의 배향을 유지시키기 위해 하나 이상의 막 스트립 슬롯(890, 892)을 포함하는 하부 하우징(863)을 추가로 포함할 수 있다. 판독 선반(readout shelf)(895)가 또한 존재하여, 막의 위치를 하부 하우징에 비해 유지시키고 선택적으로 레버(870)의 작동 시 막의 편향(deflection)을 방지하여 레버(870)가 작동될 때 막 스트립을 기질 패드(875)와 접촉시킬 수 있다.
- [0125] 도 18e를 참조로 하여, 레버(870)는, 시험 부위의 판독이 사용자에게 의해 더 쉽게 수행될 수 있도록 상기 레버(870)의 작동 시 하나 이상의 시험 부위(822)에 걸쳐 놓일(rest) 수 있는 확대 영역(871)을 포함할 수 있다. 도 17c 및 도 17e로부터 명백하듯이, 레버의 다른 움직임의 회전량은, 시료 패드와 막 스트립의 접촉이 원하는 회전 수준에서 달성되도록 설계될 수 있다. 도 17c에 도시된 바와 같이 시료 패드와 막 스트립의 접촉은 대략 90° 이다. 도 17e에 도시된 바와 같이 시료 패드와 막 스트립의 접촉은 대략 180° 이다. 이와 같이, 레버의 회전은 기질 패드와 막 스트립의 접촉에 영향을 미치기 위해 0° 내지 180° 중 임의의 양일 수 있다.
- [0126] 본원에 제공된 바와 같은 장치 또는 과정은 유체 생물학적 시료에서 표적 분석물의 존재 또는 부재를 신속하게 검출할 수 있다. 선택적으로, 표적 분석물은 액체 생물학적 시료를 장치에 적용한 지 30분 이내에, 선택적으로 25분 이하, 선택적으로 10분 이하, 선택적으로 15분 이하, 선택적으로 10분 이하 이내에 검출 가능하다. 일부 양태에서, 예컨대 기질이 액체 생물학적 시료의 적용 후 막 층에 적용될 때, 액체 생물학적 시료는 기질의 적용 전에 막 층을 통해 약 10분 내지 약 20분, 선택적으로 약 15분 동안 이동하게 된다. 그 후에, 기질은 막 층에 접촉하도록 적용될 수 있고, 표적 분석물의 존재 또는 부재의 검출은 약 1분 내지 약 10분, 선택적으로 약 5분 동안 발생되게 될 수 있으며 이후에 검출가능한 표지는 시각적으로 또는 검출 기계에 의해 검출될 수 있다. 이와 같이 본원에 제공된 바와 같은 장치 및 방법은 선행 방법, 예컨대 ELISA 기초 시스템 또는 화학발광 기초 시스템보다 실질적으로 더 신속하다.
- [0127] 본 개시내용의 다양한 양태는 하기 비제한적인 실시예에 의해 예시된다. 실시예는 예시적인 목적을 위한 것이고 본 개시내용의 임의의 실시에 대한 제한이 아니다. 변화 및 변형은 개시내용의 사상 및 범위로부터 벗어나지 않으면서 이루어질 수 있는 것으로 이해될 것이다. 당업계에 알려진 유사한 기법 및 다른 기법은 실시예를 쉽게 번역한다. 본원에 예시된 시약은 상업적으로 입수 가능하고, 당업자는 이러한 시약이 수득될 수 있음을 쉽게 이해한다.

- [0128] 실시예
- [0129] 시료 패드에 걸쳐 위치화된 시료 적용 포트, 시료 패드의 업스트림 영역에 걸쳐 위치화된 제2 시약 포트, 및 막 스트립 상의 시험 부위와의 접근을 가능하게 하는 시험 부위 포트를 포함하는 중합체성 하우징에 수용된 시료 장치가 실질적으로 도 17a에 도시된 바와 같이 형성된다. 접합체 패드와 막은 독일 괴팅겐 소재의 Sartorius의 셀룰로스 니트레이트(CN95)로 만들어진다. 시료 패드는 핀란드 헬싱키 소재의 AHLSTROM-MUNKSJÖ로부터 물질 8951로서 판매되는 결합제(binder)가 포함된 잘게 썬 유리이다. 흡수 패드 또는 폐기물 패드는 핀란드 헬싱키 소재의 AHLSTROM-MUNKSJÖ로부터 물질 222로 판매되는 면 섬유로 형성되었다.
- [0130] 접합체 패드(25 mm x 5 mm)는 캘리포니아주 엠파드 소재의 ClaremontBio로부터의 자동화된 측면 유동 시약 분배기(ALFRD)를 사용하여 형성된다. 코팅 용액 분배 속도는 분배기가 니트로셀룰로스 표면에 걸쳐 번역하는 동안 주사기 펌프에 의해 정밀하게 제어된다. 0.291 $\mu\text{L}/\text{mm}$ 내지 0.401 $\mu\text{L}/\text{mm}$ 의 번역 속도비에 대한 분배 부피는 약 1 mm 폭의 시험선을 유발한다. 시험 스트립선을 형성하기 위해, 먼저 항-Fc 항체를 원하는 지점에서 니트로셀룰로스 상에 코팅한다. 첫 번째 코팅층이 건조된 후, 동일한 지점에서 두 번째 항-뉴클레오프시드 항체가 코팅된다. 예를 들어, 염소(Sigma Aldrich의 M4280-1ML)에서 생성된 항-마우스 IgG(Fc 특이적) 항체, 2 mg/mL는 0.291 $\mu\text{L}/\text{mm}$ 의 분배 속도/번역 속도로 CN95에 먼저 스트라이프된다. 첫 번째 층이 건조된 후, 마우스 MAb SARS-CoV/SARS-CoV-2 뉴클레오프시드 항체(SinoBio 40143-MM05), 1 mg/mL, 5% 이당류가 첫 번째 층 위에 코팅되고 미국 특허 번호 10,433,540호의 교시에 따라 유리화된다.
- [0131] 시료 패드(18 mm x 5 mm)는 PBS 중 2% 카세인, 0.5% Tween-20으로 전처리된 다음 장치를 조립하기 전에 건조된다. 폐기물 패드는 21 mm x 5 mm이며 제조사에서 받은 그대로 사용된다. 이 장치는 양면 테이프로 코팅된 투명 폴리카보네이트 지지 카드 상에 형성된다. 시료 패드, 접합체 패드 및 흡수 패드는 테이프에 배열되고 장치의 원하는 영역을 노출시키는 커버로 덮여 있다.
- [0132] 분석물의 검출을 위해, 포스페이트 완충 식염수 중 0.1 중량% Tween-20, 1 중량% BSA에 SARS-CoV-2(2019-nCoV) S 단백질(Sino Biological, Chesterbrook, PA)을 포함하는 시료 용액이 제조된다. 대안적으로, PBS 중 0.1 중량% BSA에서 열적으로 비활성화된 SARS-CoV-2(2019-nCoV)(VR1986HK, ATCC)가 사용된다. 비활성 바이러스가 사용될 때, TCID50 0.625 x102/ml의 바이러스 부하는 시료 패드에 적용하기 전에 5분 동안 20 mM DTT(20 μl) 및 2 중량% zwittergent 3-14(0.2 g)를 포함하는 인공 타액(960 μl)에서 소화된다.
- [0133] 골드-Ab-HRP 접합체는 항-인간 SARS 코로나바이러스 핵단백질 마우스 MAb(40143-MM05, Sino Biologicals) 또는 항-인간 SARS 코로나바이러스 핵단백질 토끼 Mab(40143-R001, Sino Biologicals)를 사용하여 형성된다. 항체는 먼저, 안정화를 위한 임의의 단백질 첨가제(예를 들어 BSA), 보존제로서의 염(예를 들어 소듐 아자이드) 또는 저장 완충액 중 염(예를 들어 PBS)을 제거하기 위해 정제된다. 항체를 원심분리 방법을 사용하여 정제하고 완충액을 1 mg/mL 이상의 농도를 갖는 10 mM 포타슘 포스페이트, pH 7.4로 대체한다. HRP에 접합된 항체 시료를 입자에 접합하기 위한 동일한 양의 비표지된(unabled) 항체와 상호혼합한다. 접합을 위한 항체를 100 μg Ab/500 μL OD=20 골드의 비로 골드와 혼합하고, 혼합물을 흔들거나 회전하면서 실온에서 30분 동안 배양한다. 예를 들어, Ab-HRP 50%/Ab 50% 혼합물의 경우, 500 μL OD=20 골드를 50 μg 의 Ab-HRP 및 50 μg 의 Ab(비표지됨)와 혼합한다. 차단 용액(10% BSA가 포함된 25 mM 보레이트, pH 8.0)을 200 μL 차단 완충액/500 μL 접합 용액에서 첨가하고 실온에서 30분 동안 흔들거나 회전시키면서 인큐베이션한다. 접합된 물질을 3600 RCF의 원심분리기에서 10분 동안 회전시킨 후 상층액을 제거한다. 펠렛을 1% BSA, pH 8.0, 50:50mM FeSO₄-EDTA 및 600 mM 트레할로스 이당류를 포함하는 25 mM 보레이트를 함유하는 유리화 매트릭스에 재현탁시키고, 이를 그 후에 미국 특허 제10,433,540호의 교시에 따라 시료 패드 상으로 유리화시킬 수 있다.
- [0134] 시험 연구를 위해, 30 μL 시료를 카세트의 시료 포트에 로딩한 다음, 70 μl 의 실행 완충액(running buffer)(1 중량% BSA, PBS 중 1 중량% Tween-20)을 시료 패드에 걸쳐 시료 포트로부터 업스트림에 위치한 실행 완충액 포트에 첨가한다. 검정을 15분 동안 진행시킨다. 일부 예에서, 10 μL 기질 TMBM 또는 TMBX(Moss Bio)를 니트로셀룰로스 시험선 상으로 첨가하고 5분 동안 발색되게 한다.
- [0135] 선택적으로, 건조 기질 막을 막 스트립에 접촉시킴으로써 기질을 적용한다. 건조 기질 패드는 250 mM 트레할로스, 2.5 mM EDTA, 0.5 중량% PEG, 62.5 μl TMB(기질) 스톱, 399.4 μl 재구성 완충액 및 5 μl 의 30 중량% H₂O₂를 조합하여 형성될 수 있다. 재구성 완충액은 0.4 중량% 소듐 니트로페리시아네이트, pH 3.3을 포함하는 0.03 M 아세테이트이다. 물질을 미국 특허 제10,433,540호의 교시에 따라 와류에 의해 용해시키고 니트로셀룰로스 막 내로 유리화시킨다. 기질을 적용하기 위해, 유리화된 기질 막을 시험 부위의 업스트림에서 막 스트립

에 접촉시킨다.

- [0136] 단리물을 사용한 결과는 TMBM 기질을 사용한 결과를 도시하는 도 19 및 TMBMX 기질을 사용한 결과를 도시하는 도 20에 예시되어 있으며 SARS-CoV-2 S 단백질이 시스템에서 1 pg/ml 미만으로 검출될 수 있음을 실증한다. 비활성화된 SARS-CoV-2를 표적 분석물로 사용한 결과는 $0.625 \times 102/\text{ml}$ 및 $0.625 \times 100/\text{ml}$ 에서 회색을 실증하는 도 21 및 준비된 검출을 예시하는 음성 대조군에 예시된다.
- [0137] 추가 연구에서, 30 μL 시료를 카세트의 시료 포트에 로딩한다. 시료 패드 내에서 유리화된 물질은 실행 완충액(모두 실행 완충액을 산출하기 위한 농도의 BSA, 인산 완충액 중 Tween-20, 나트륨 염)이다. 실행 완충액 물질을 시료 첨가에 의해 재수화시킨다. 검정을 15분 동안 진행되게 한다. 일부 실시예에서, 10 μL 기질 TMBM 또는 TMBMX(Moss Bio)를 니트로셀룰로스 시험선 상에 첨가하고 5분 동안 발색되게 한다. 유사한 결과가 관찰될 것으로 예상된다.
- [0138] 동일한 연구를 반복하였으나, 포착제의 결합을 단독으로 또는 시험 부위에서 사전코팅된 항-IgG 항체의 상위에 결합하는 것을 비교하였다. 니트로셀룰로스 막 스트립을 상위에서 1.5 mg/ml 인간 SARS 코로나바이러스 핵단백질/NP Ab(40144-MM05, Sino Biological)로 스트라이프하고, 원하는 표적 부위에 5% 수크로스를 첨가한다. SARS-CoV-2 핵단백질을 1000 ng/ml로부터 제로 1 중량% BSA/0.1 중량% PBST까지 10배 연속 희석으로 희석시킨다. 40 nm GNP(수동 접합)에 접합된 0.25 μL 의 50 중량% R001 + 50 중량% R001-HRP와 함께 각각의 희석제 30 μL 를 시료 패드에 첨가하였다. 70 μL 의 1 중량% BSA/1 중량% PBST를 시료 포트에 실행 완충액으로 첨가하였다. 테스트는 20분 동안 실행된다. 그 후 15 μL 의 TMBMX(Moss)를 시험 부위의 업스트림에서 매트릭스에 첨가하였다. 5분 후, 결과적인 시험 장치의 사진을 도 22a에 예시된 결과와 함께 촬영하였다.
- [0139] 비교자로서, 니트로셀룰로스 CN95를 2 mg/ml의 항-마우스 IgG(Fc 특이적)Ab(M4280, Sigma)로 먼저 코팅한 다음 1 mg/ml 인간 SARS 코로나바이러스 핵단백질/NP Ab(40144-MM05, Sino Biological)로 상부 상에서, 그리고 각각의 코팅층에 5% 수크로스를 첨가함으로써 표적 부위를 제조한다. 나머지 시험을 위와 같이 수행한다. 결과를 도 22b에 도시한다. 연구 둘 다는 기질 첨가의 부재 시 양성 신호가 없음을 보여준다. 항체 포착제의 첨가에 사전코팅된 항체의 사용은 검출 하한을 거의 10배 감소시켰다.
- [0140] 추가 예
- [0141] 1. 신속 진단 장치로서,
- [0142] 하우징; 및
- [0143] 상기 하우징 내의 실질적으로 건조한 막 층을 포함하고, 상기 막 층은
- [0144] 제1 매트릭스; 및
- [0145] 제1 시험 부위에서 상기 제1 매트릭스 내로 또는 상으로 유리화된 포착제;
- [0146] 선택적으로 상기 제1 매트릭스 내로 유리화된 적어도 하나의 리포터
- [0147] 를 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0148] 2. 양태 1에 있어서, 실질적으로 건조한 기질 막을 추가로 포함하며, 상기 기질 막은 기질 막 내로 또는 기질 막 상으로 유리화된 기질을 포함하고, 상기 기질 막은 선택적으로 막 층과 기질이 접촉되도록 구성되고 이에 적합한 레버 또는 다른 장치 상에서 하우징과 회합되는, 신속 진단 장치.
- [0149] 3. 양태 1 또는 2에 있어서, 상기 막 층에 근접하게 배치된 스크린 층을 추가로 포함하고, 선택적으로 막 층을 접촉시키고, 상기 스크린 층은 스크린 층이 액체 생물학적 시료와 접촉될 때 상기 액체 생물학적 시료에 존재하는 오염물을 실질적으로 포착하도록 구성되는, 신속 진단 장치.
- [0150] 4. 양태 1 내지 3 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 리포터는 시료 패드와 제1 시험 부위 사이의 제1 매트릭스에 존재하고 그 내로 또는 상으로 유리화되는, 신속 진단 장치.
- [0151] 5. 양태 1 내지 4 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 포착제는 상기 제1 시험 부위에서 제1 매트릭스에 공유적으로 결합되는, 신속 진단 장치.
- [0152] 6. 양태 1 내지 5 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 막 층의 제1 매트릭스는 니트로셀룰로스, 콜라겐, 폴리카프롤락톤, 폴리락트산, 폴리(락틱-코-글리콜산), 또는 이들의 조합을 포함하는, 신속 진단 장치.

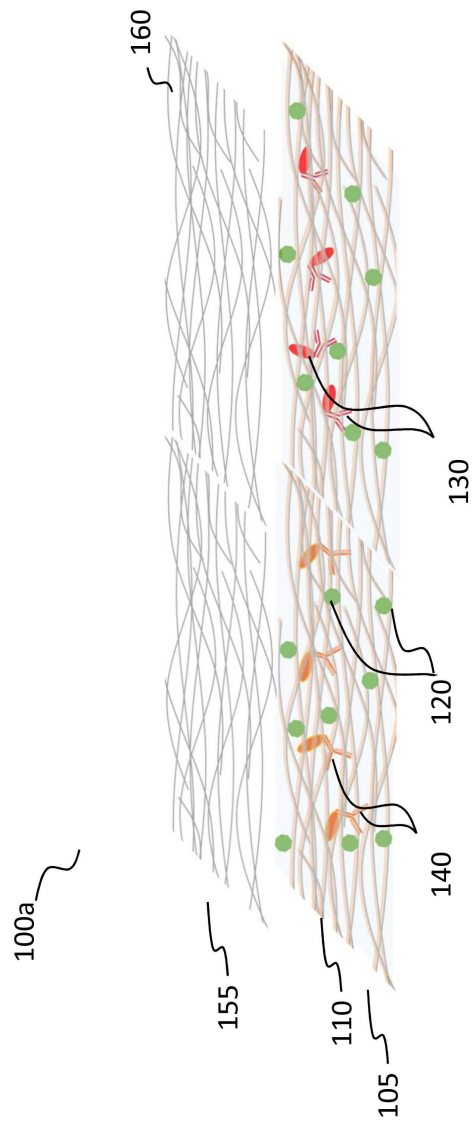
- [0153] 7. 양태 1 내지 6 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 포착제는 핵산, 단백질, 펩타이드, 또는 이들의 단편을 포함하는 항원인, 신속 진단 장치.
- [0154] 8. 양태 7에 있어서, 상기 포착제는 바이러스 코트 단백질, 선택적으로 인플루엔자 코트 단백질, 선택적으로 코로나바이러스 코트 단백질, 선택적으로 SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질, SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드(N) 단백질, 또는 이들의 단편을 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0155] 9. 양태 1 내지 6 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 포착제는 바이러스 코트 단백질, 선택적으로 SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질, SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드(N) 단백질, 또는 이들의 단편에 선택적으로 결합하는 항체인, 신속 진단 장치.
- [0156] 10. 양태 1 내지 9 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 적어도 하나의 리포터는 항체, 선택적으로 IgG, IgM, 또는 이들의 조합을 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0157] 11. 양태 1 내지 10 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 적어도 하나의 리포터는 검출가능한 표지, 효소, 또는 둘 다를 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0158] 12. 양태 1 내지 11 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 리포터는 입자에 결합되는, 신속 진단 장치.
- [0159] 13. 양태 12항에 있어서, 상기 입자는 나노입자, 선택적으로 나노셸 입자, 콜로이드 골드 입자, 또는 이들의 조합인, 신속 진단 장치.
- [0160] 14. 양태 13항에 있어서, 상기 입자는 실리콘옥사이드 코어 및 상기 코어를 코팅시키는 골드 셸 층을 포함하는 나노셸 입자이며, 상기 코어는 반경(반경)을 갖고, 상기 셸 층은 두께를 가지며, 선택적으로 상기 반경 : 두께의 비(ratio)는 3:1 내지 12:1인, 신속 진단 장치.
- [0161] 15. 양태 12에 있어서, 상기 리포터는 입자 및 효소, 형광 검출가능한 표지, 발광 검출가능한 표지, 방사성 동위원소 검출가능한 표지, 또는 이들의 조합에 결합되는, 신속 진단 장치.
- [0162] 16. 양태 12에 있어서, 상기 리포터는 효소, 선택적으로 호스래디쉬 퍼옥시다제 또는 알칼리 포스파타제에 공유적으로 또는 정전기적으로 결합되는, 신속 진단 장치.
- [0163] 17. 양태 1 내지 16 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 리포터는 효소 또는 검출가능한 표지에 결합되지 않는 제2 항체를 추가로 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0164] 18. 양태 17에 있어서, 상기 리포터의 수 : 상기 제2 리포터 항체의 수의 비는 80:20 내지 20:80, 선택적으로 약 50:50인, 신속 진단 장치.
- [0165] 19. 양태 1 내지 18 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 하우징은 시료 포트(port)를 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0166] 20. 양태 19에 있어서, 상기 시료 포트는 유리화된 검정 시약을 추가로 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0167] 21. 양태 19에 있어서, 상기 시료 포트는 상기 막 층의 제1 말단에 근접하게 위치하고, 상기 제1 표적 부위는 상기 막 층의 제2 말단에 근접하게 위치하는, 신속 진단 장치.
- [0168] 22. 양태 1 내지 21 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 실질적으로 건조한 기질 막을 추가로 포함하고, 상기 실질적으로 건조한 기질 막은 상기 시료 포트와 상기 제1 시험 부위 사이에서 상기 하우징에 위치하는, 신속 진단 장치.
- [0169] 23. 양태 22에 있어서, 상기 기질 막은 회전 위치 조정에 의해 상기 기질 막을 상기 막 층과 접촉하도록 구성되는 레버와 회합되는, 신속 진단 장치.
- [0170] 24. 양태 1 내지 23 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 포착제는 항체, 항원 또는 앵타머인, 신속 진단 장치.
- [0171] 25. 양태 1 내지 24 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 막 층과 상기 스크린 층 사이에 배치된 제거 가능한 세퍼레이터 층을 추가로 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0172] 26. 양태 1 내지 25 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 포착제는 생물학적 시료 내 표적 분석물에 특이적인 앵타머인, 신속 진단 장치.
- [0173] 27. 양태 26에 있어서, 상기 표적 분석물은 병원체를 포함하는, 신속 진단 장치.
- [0174] 28. 양태 27에 있어서, 상기 병원체는 바이러스, 박테리아, 또는 독소를 포함하는, 신속 진단 장치.

- [0175] 29. 양태 27에 있어서, 상기 병원체는 바이러스, 선택적으로 SARS-CoV-2 또는 인플루엔자 바이러스인, 신속 진단 장치.
- [0176] 30. 양태 26에 있어서, 상기 포착제는 인간 ACE2 단백질, 펩타이드, 또는 이의 단편을 포함하는 앵타머인, 신속 진단 장치.
- [0177] 31. 액체 생물학적 시료에서 표적 분석물의 존재 또는 부재를 결정하는 방법으로서,
- [0178] 하우징, 상기 하우징과 회합된 유리화된 막 층을 포함하는 장치를 제공하는 단계로서, 상기 유리화된 막 층은 제1 매트릭스 및 제1 표적 부위에서 제1 매트릭스에 공유적으로 또는 정전기적으로 결합된 포착제를 포함하는, 단계;
- [0179] 상기 장치를 액체 생물학적 시료와 접촉시키는 단계로서, 상기 액체 생물학적 시료는 유리화된 막 층 또는 이의 일부를 재수화시켜, 표적 분석물은 액체 생물학적 시료에 존재한다면 포착제 및 리포터에 결합하는, 단계; 및
- [0180] 제1 표적 부위에서 검출가능한 신호의 존재 또는 부재에 의해 표적 분석물의 존재 또는 부재를 검출하는 단계
- [0181] 를 포함하는, 방법.
- [0182] 32. 양태 31에 있어서, 상기 재수화된 유리화된 막 층 내의 액체가 상기 기질 막을 재수화시키도록, 상기 재수화된 유리화된 막 층을 기질 막 내로 또는 기질 막 상으로 유리화된 기질을 포함하는 기질 막과 추가로 접촉시키는, 방법.
- [0183] 33. 양태 31 또는 32에 있어서, 상기 기질을 표면 모세관 작용에 의해 상기 기질 막으로부터 상기 제1 표적 부위로 이동시키는 단계를 추가로 포함하는, 방법.
- [0184] 34. 양태 31 내지 33 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 리포터는 상기 유리화된 막 층 내로 또는 막 층 상으로 유리화되어, 상기 접촉시키는 단계는 제1 매트릭스로부터 적어도 하나의 리포터제를 방출시켜, 상기 리포터제는 상기 분석물에 결합할 수 있는, 방법.
- [0185] 35. 양태 31 내지 34 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 리포터는 항체인, 방법.
- [0186] 36. 양태 35에 있어서, 상기 항체는 검출가능한 표지, 선택적으로 효소를 포함하는, 방법.
- [0187] 37. 양태 35에 있어서, 상기 리포터는 검출가능한 표지가 아닌 제2 항체를 추가로 포함하는, 방법.
- [0188] 38. 양태 37에 있어서, 상기 리포터의 수 : 상기 제2 리포터 항체의 수의 비는 80:20 내지 20:80, 선택적으로 약 50:50인, 방법.
- [0189] 39. 양태 31 내지 34 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 리포터는 입자에 결합되는, 방법.
- [0190] 40. 양태 39에 있어서, 상기 입자는 나노입자, 선택적으로 나노셀 입자, 콜로이드 골드 입자, 또는 이들의 조합인, 방법.
- [0191] 41. 양태 40에 있어서, 상기 입자는 실리콘옥사이드 코어 및 상기 코어를 코팅시키는 골드 셸 층을 포함하는 나노셀 입자이며, 상기 코어는 반경을 갖고, 상기 셸 층은 두께를 가지며, 선택적으로 상기 반경 : 두께의 비는 3:1 내지 12:1인, 방법.
- [0192] 42. 양태 39 내지 41 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 리포터는 입자 및 효소, 검출가능한 표지, 또는 이들의 조합에 결합되는, 방법.
- [0193] 43. 양태 31 내지 42 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 리포터는 효소, 형광단, 또는 둘 다로 이루어진 군으로부터 선택되는 검출가능한 표지에 공유 결합되는, 방법.
- [0194] 44. 양태 31 내지 43 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 액체 생물학적 시료는 타액, 혈액, 혈청, 혈장, 기관지 폐포 세척액, 가래, 또는 비강액을 포함하는, 방법.
- [0195] 45. 양태 31 내지 44 중 어느 한 양태 또는 양태 1 내지 30 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 막 층의 제1 매트릭스는 니트로셀룰로스, 콜라겐, 폴리카프로락톤, 폴리락트산, 폴리(락틱-코-글리콜산), 또는 이들의 조합을 포함하는, 방법.
- [0196] 46. 양태 31 내지 45 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 포착제는 핵산, 단백질, 펩타이드, 또는 이들의 단편을 포함하는, 방법.

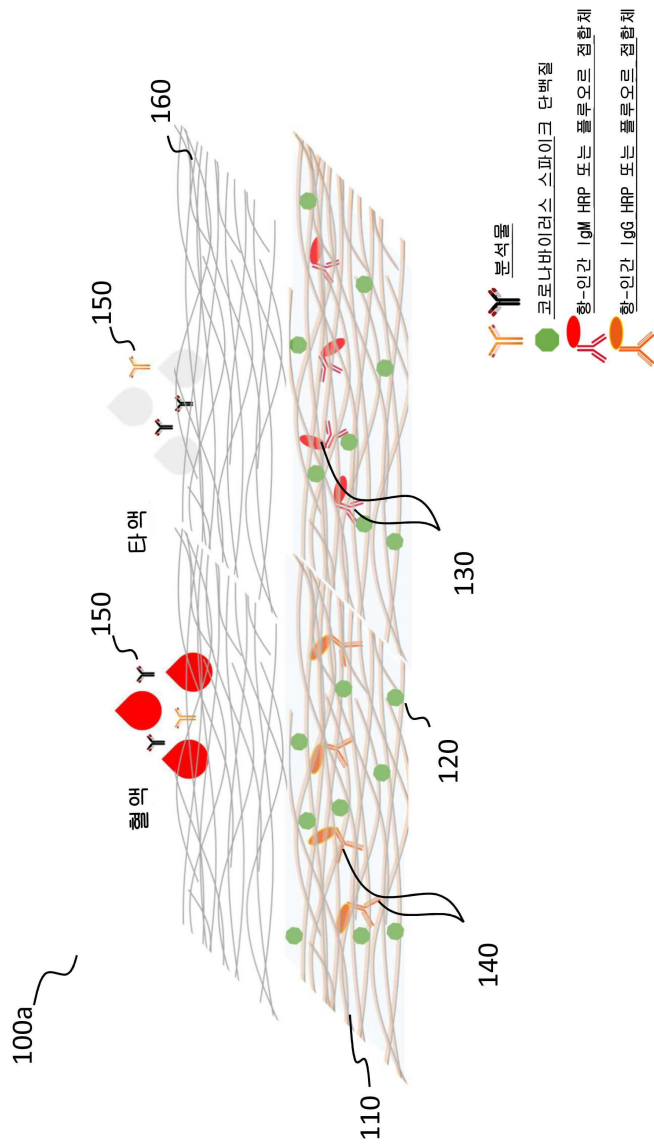
- [0197] 47. 양태 31 내지 46 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 포착제는 바이러스 코트 단백질, 선택적으로 SARS-CoV-2 스파이크(S) 단백질, SARS-CoV-2 뉴클레오캡시드(N) 단백질, 또는 이들의 단편을 포함하는, 방법.
- [0198] 48. 양태 31 내지 47 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 적어도 하나의 리포터는 검출가능한 표지를 포함하는, 방법.
- [0199] 49. 양태 31 내지 48 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 표적 분석물의 존재 또는 부재를 검출하는 단계는
- [0200] 상기 장치를 검출가능한 표지에 대한 기질과 접촉시키는 단계; 및
- [0201] 상기 기질에 검출가능한 표지가 결합할 때 생성되는 신호를 검출하는 단계
- [0202] 를 포함하는, 방법.
- [0203] 50. 양태 31 내지 49 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 신호는 형광 신호 또는 색상 변화를 포함하는, 방법.
- [0204] 51. 양태 31 내지 50 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 장치는 상기 막 층 상에 배치된 스크린 층을 추가로 포함하고, 상기 스크린 층은 액체 생물학적 시료에 존재하는 오염물을 실질적으로 포착하도록 구성되는, 방법.
- [0205] 52. 양태 31 내지 51 중 어느 한 양태에 있어서, 상기 표적 분석물의 존재 또는 부재는 약 20분 이하 이내에 검출되는, 방법.
- [0206] 본원에 기재된 장치 및 방법은 현재 예시적인 양태를 나타내며, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 그 안에서의 변화 및 다른 용도는 당업자에게 발생할 것이다. 그러한 변화 및 다른 용도는 본 발명의 범위를 벗어나지 않고 이루어질 수 있다.
- [0207] 본원에서 사용된 용어는 단지 특정한 구현예를 설명하기 위해 사용된 것으로 제한하려는 의도가 아니다. 본원에 사용된 바와 같이, 단수형("a", "an" 및 "the")은 내용이 달리 명시하지 않는 한 "적어도 하나의"를 포함하는 복수형을 포함하는 것으로 의도된다. "또는"은 "및/또는"을 의미한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 관련된 나열된 항목의 하나 이상의 임의의 그리고 모든 조합을 포함한다. 본 명세서에서 사용될 때 용어 "포함한다(comprises)" 및/또는 "포함하는(comprising)" 또는 "포함한다(includes)" 및/또는 "포함하는(including)"은 언급된 특질, 영역, 정수, 단계, 동작, 요소 및/또는 성분의 존재를 명시하지만, 하나 이상의 다른 특질, 영역, 정수, 단계, 동작, 요소, 성분 및/또는 이들의 군의 존재 또는 추가를 배제하지 않는 것으로 추가로 이해될 것이다. 용어 "또는 이들의 조합"은 전술한 요소 중 적어도 하나를 포함하는 조합을 의미한다.
- [0208] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 용어(기술적 용어 및 과학적 용어 포함)는 본 개시내용이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 또한, 일반적으로 사용되는 사전에 정의된 것과 같은 용어는 관련 기술 및 본 개시내용의 맥락에서 그 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하며, 본원에 명시적으로 정의되지 않는 한 이상화되거나 지나치게 형식적인 의미로 해석되지 않을 것이다.
- [0209] 본원에 도시되고 기재된 것 이외에 본 발명의 다양한 변형은 상기 설명의 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다. 이러한 변형은 또한 첨부된 청구항의 범위에 속하는 것으로 의도된다.
- [0210] 명세서에 언급된 특허, 간행물 및 출원은 본 발명이 속하는 기술 분야의 숙련자의 수준을 나타낸다. 이들 특허, 간행물 및 출원은 각각의 개별 특허, 간행물 또는 출원이 참조에 의해 구체적이고 개별적으로 본원에 포함된 것과 동일한 정도로 본원에 참조로 포함된다.
- [0211] 전술한 설명은 본 발명의 특정 구현예를 예시하지만, 본 발명의 실시에 대한 제한을 의미하지 않는다. 모든 등가물을 포함하는 하기 청구범위는 본 발명의 범위를 정의하기 위한 것이다.

도면

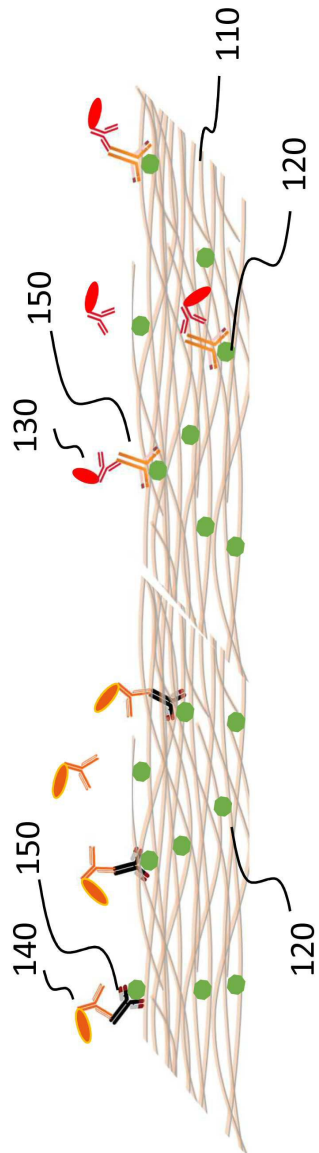
도면1



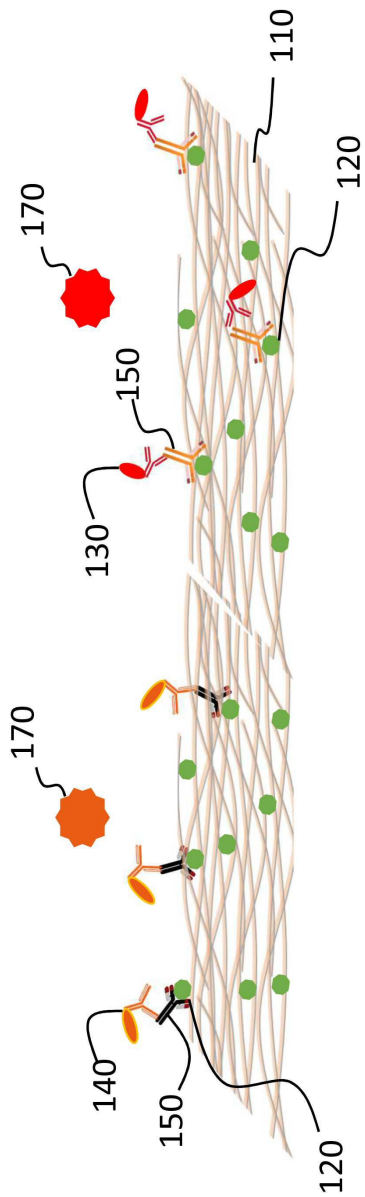
도면2a



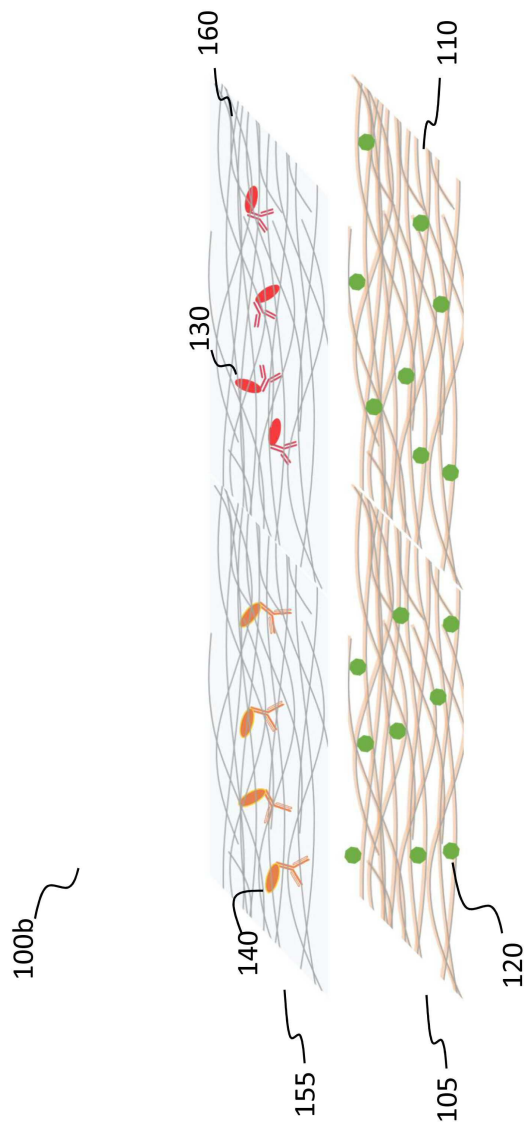
도면2b



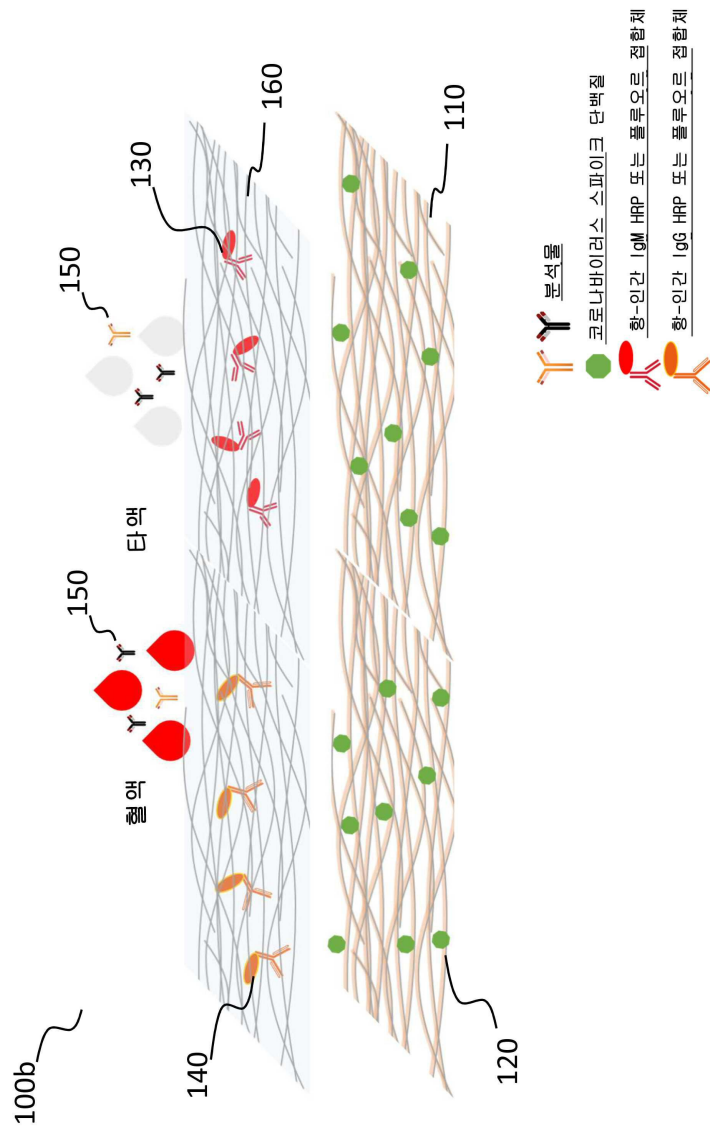
도면2c



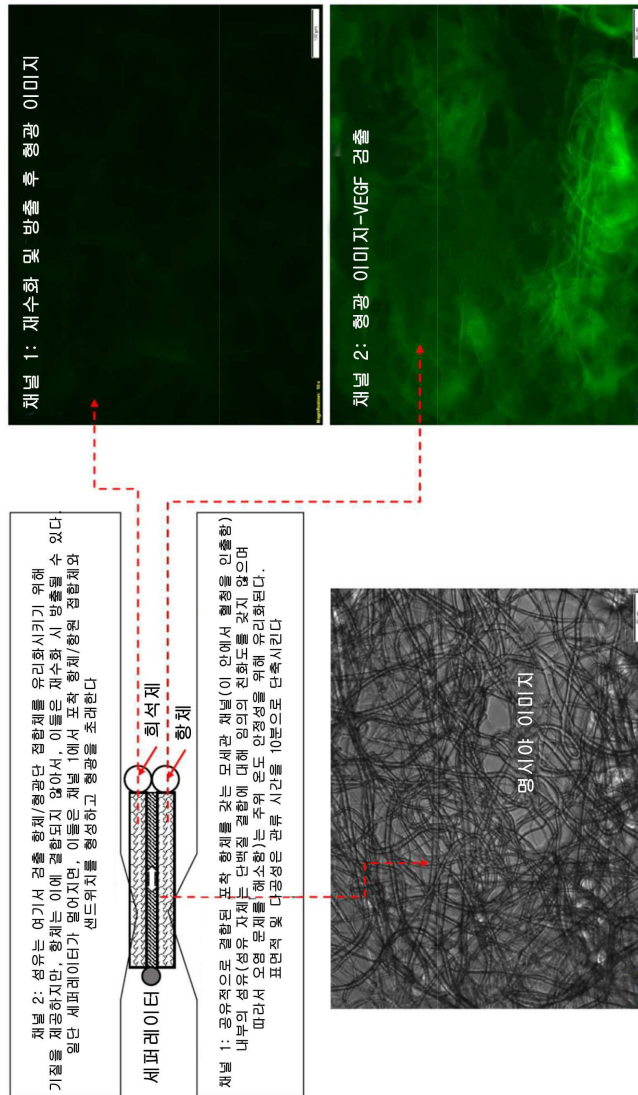
도면3



도면4



도면5



도면6

```

graph TD
    A[검출 한계] --> B[검출 시간]
    A --> C[표준/대조군/시료/인큐베이션]
    C --> D[접합체 인큐베이션]
    D --> E[용액 인큐베이션을 중단함]
    E --> F[검출 한계]
    
```

검출 한계

검출 시간

표준/대조군/시료/인큐베이션

접합체 인큐베이션

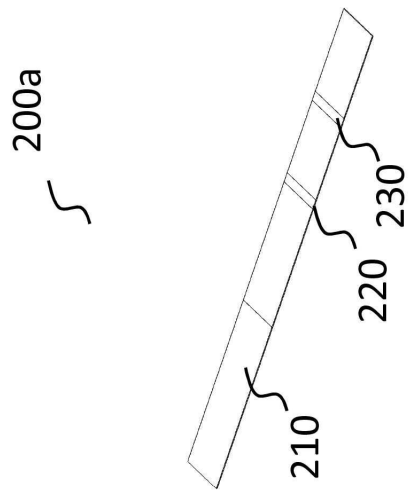
용액 인큐베이션을 중단함

6.4 pg/ml

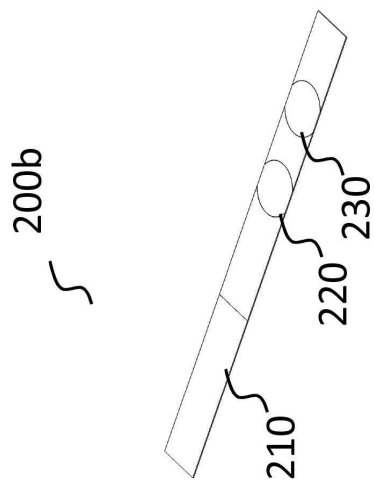
<10 pg/mL

~2 pg/mL

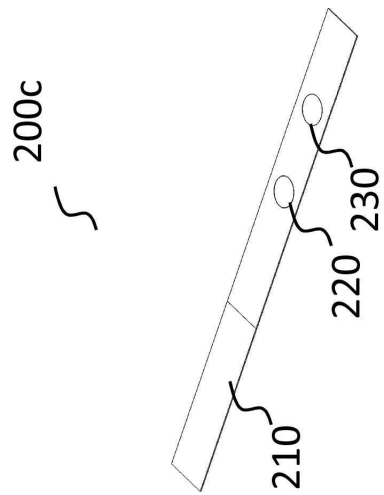
도면7a



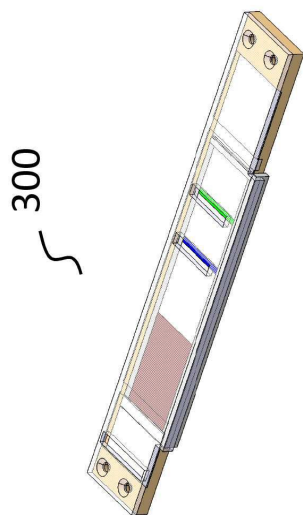
도면7b



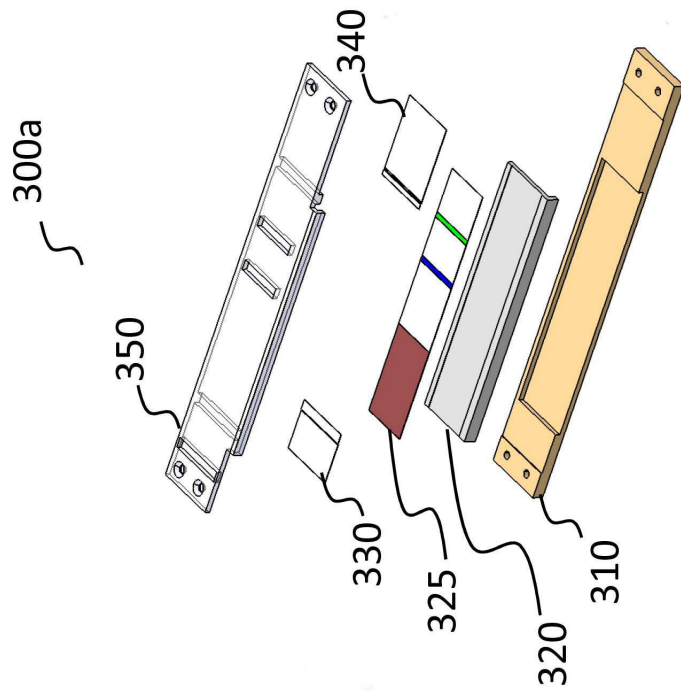
도면7c



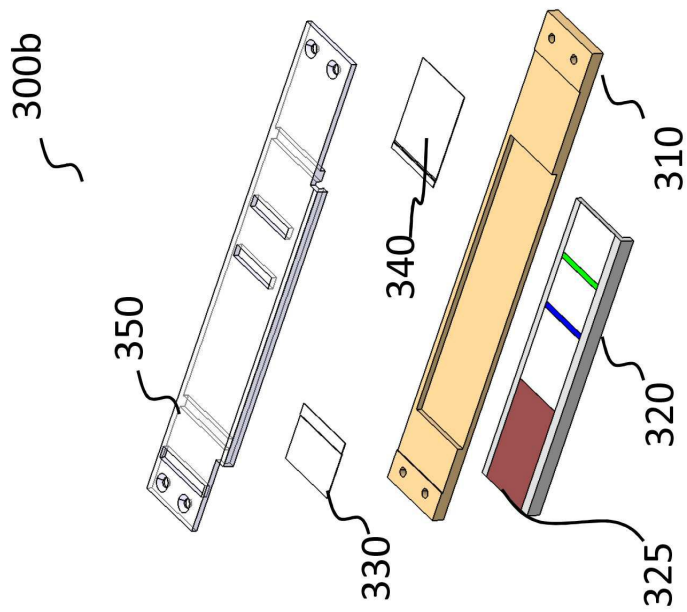
도면8



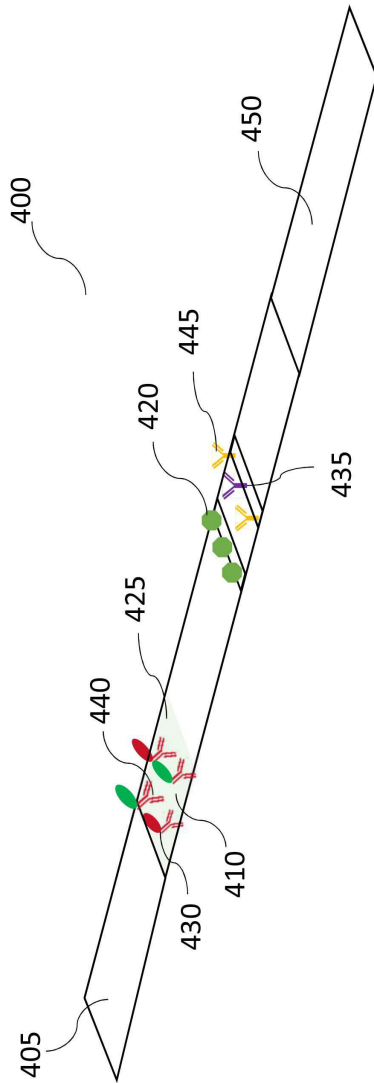
도면9a



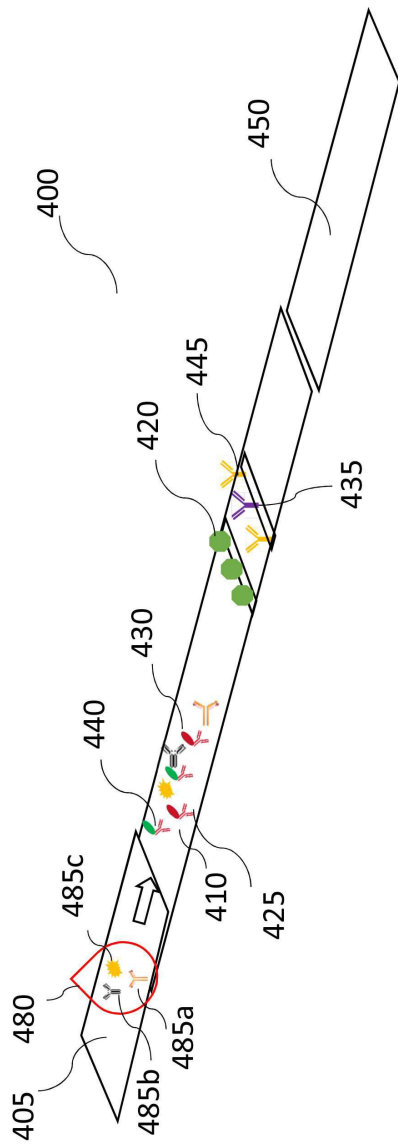
도면9b



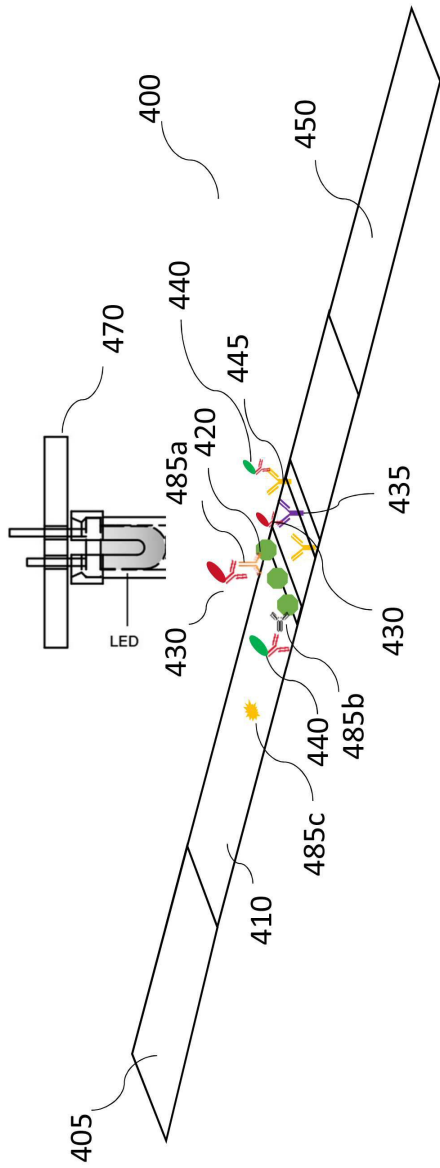
도면10



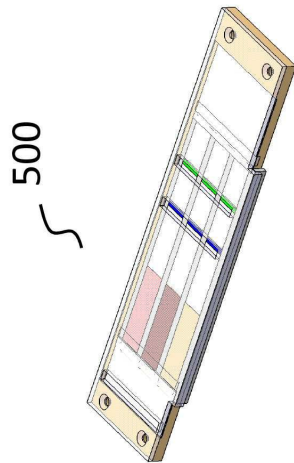
도면11a



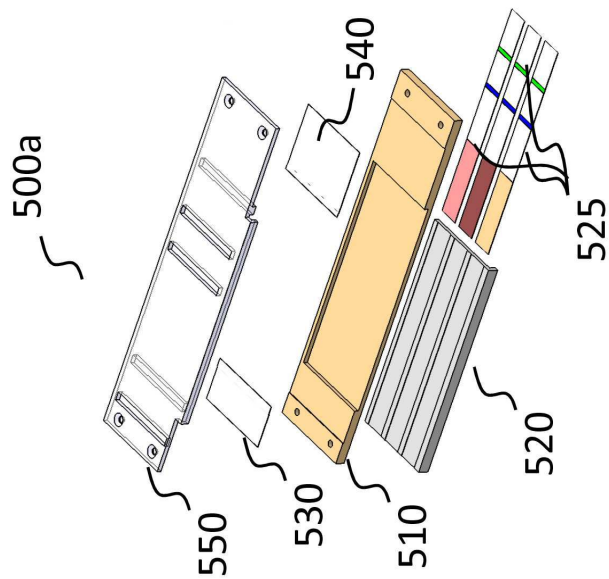
도면11b



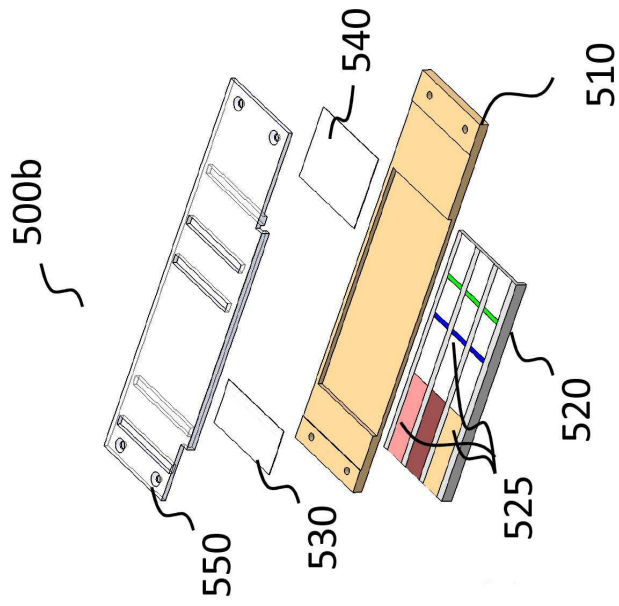
도면12



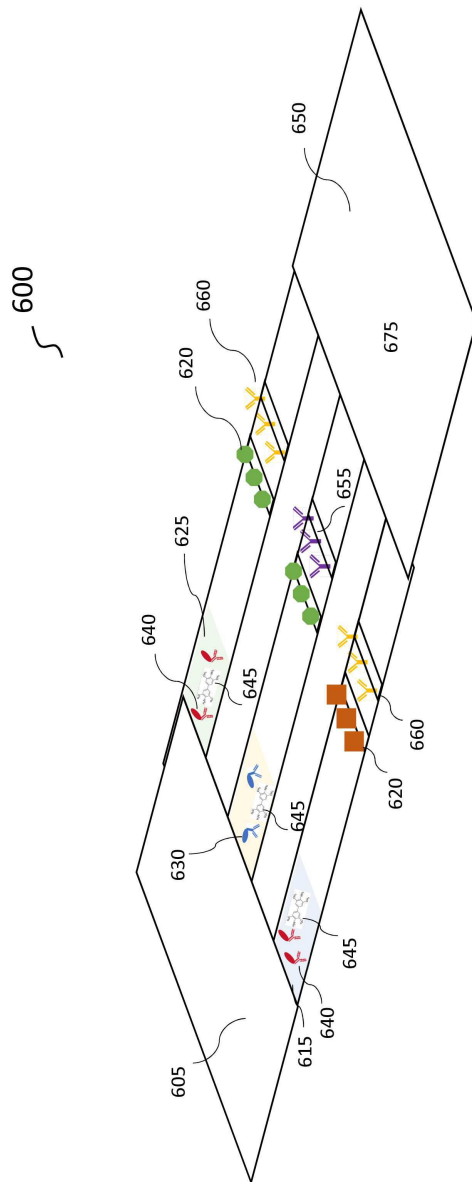
도면13a



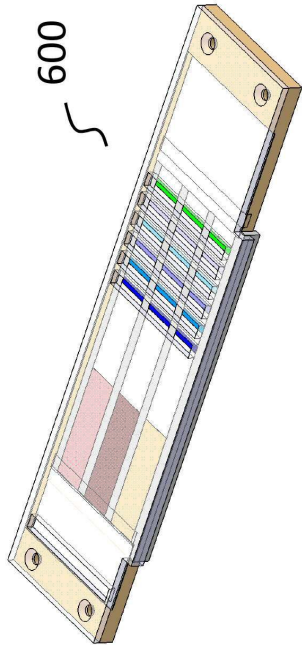
도면13b



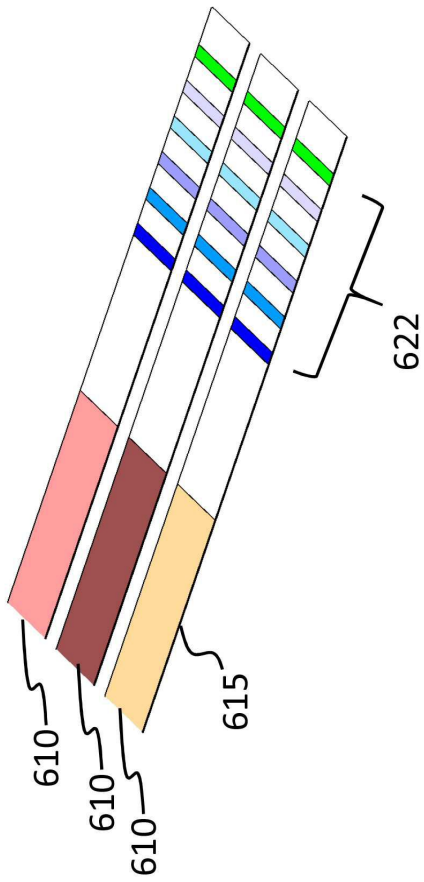
도면14



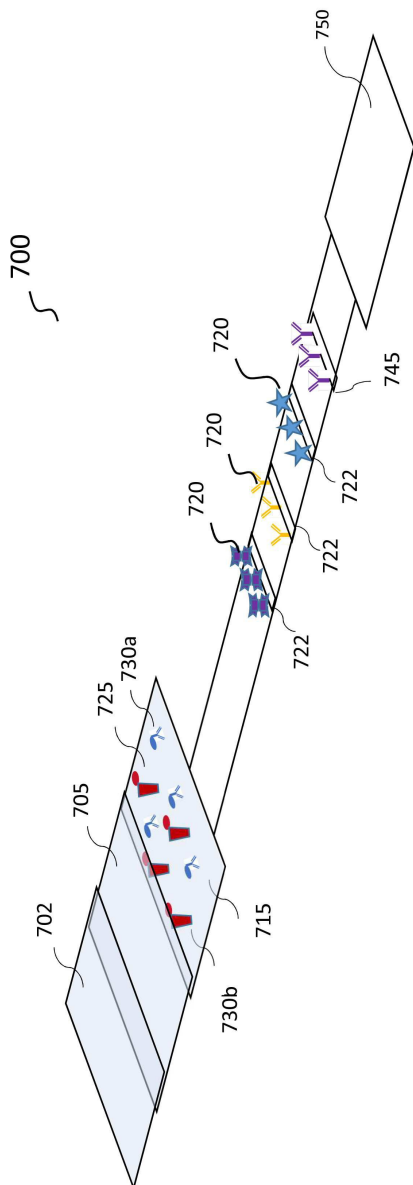
도면15a



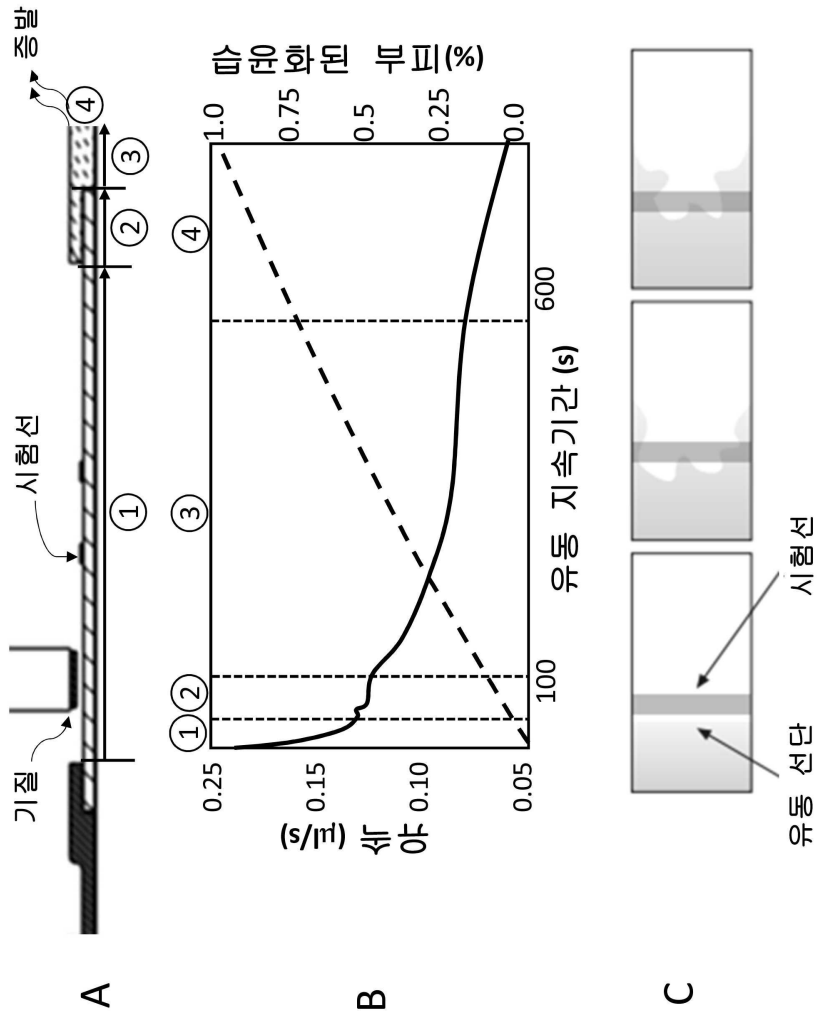
도면15b



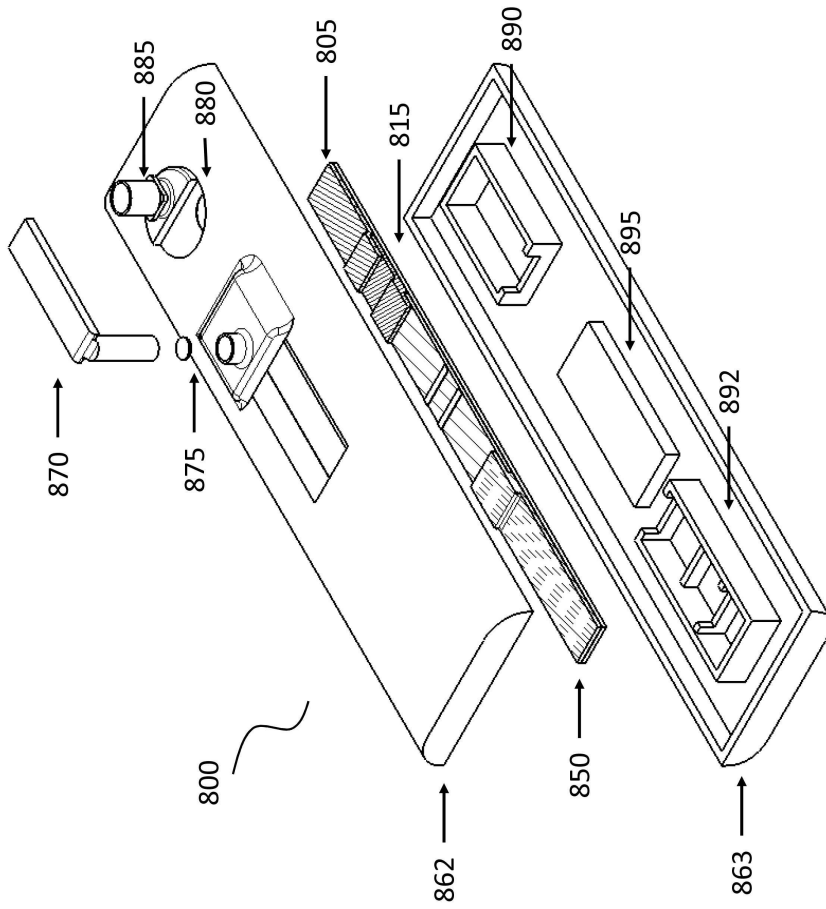
도면16



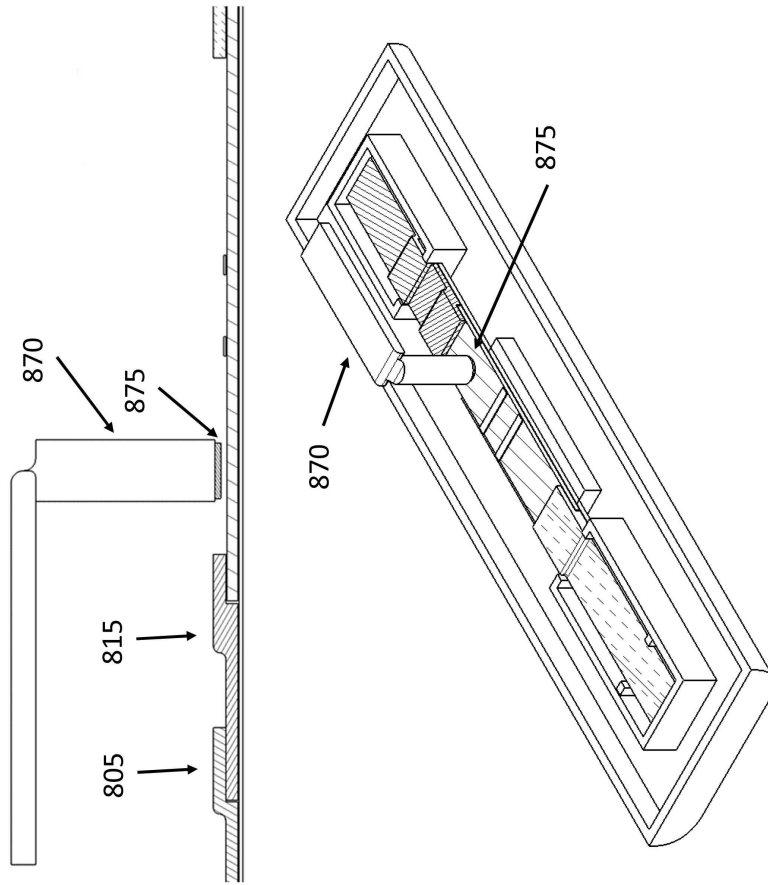
도면17



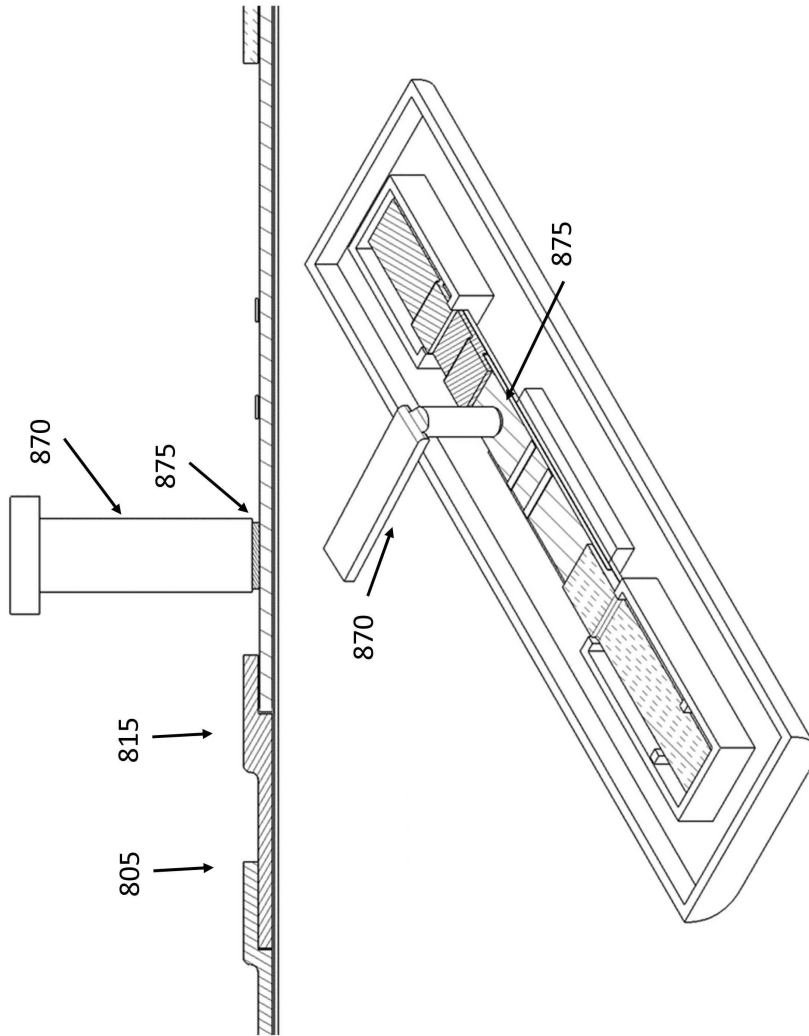
도면18a



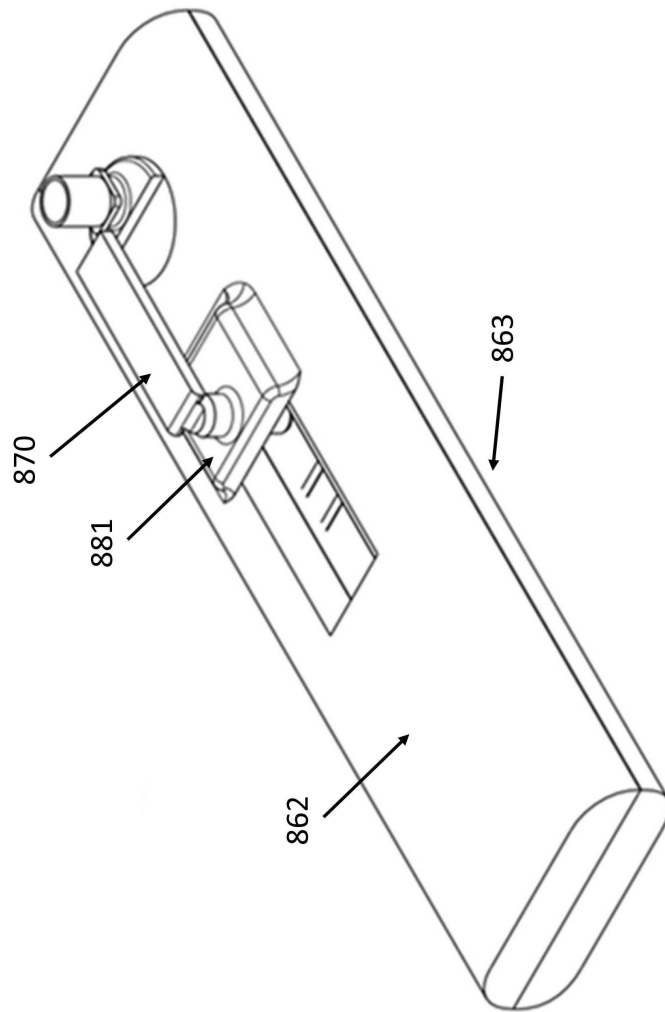
도면18b



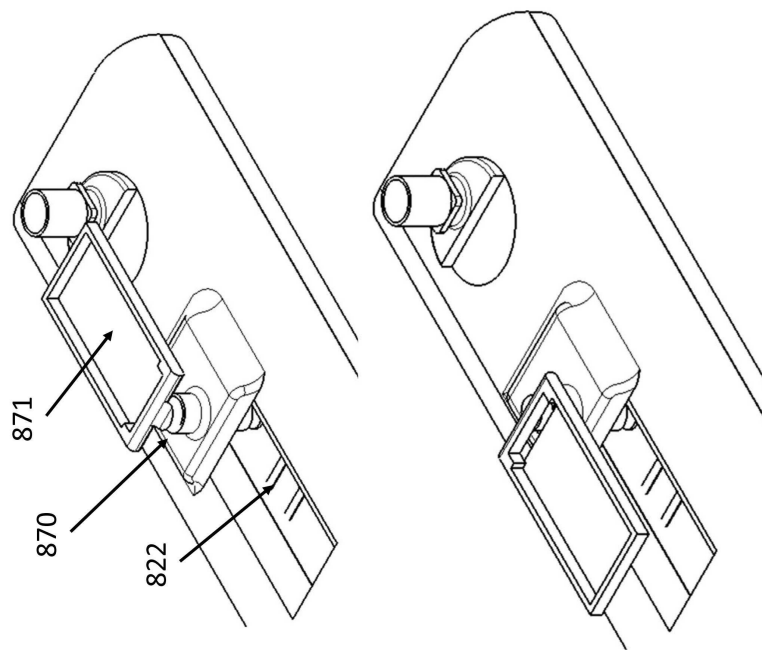
도면18c



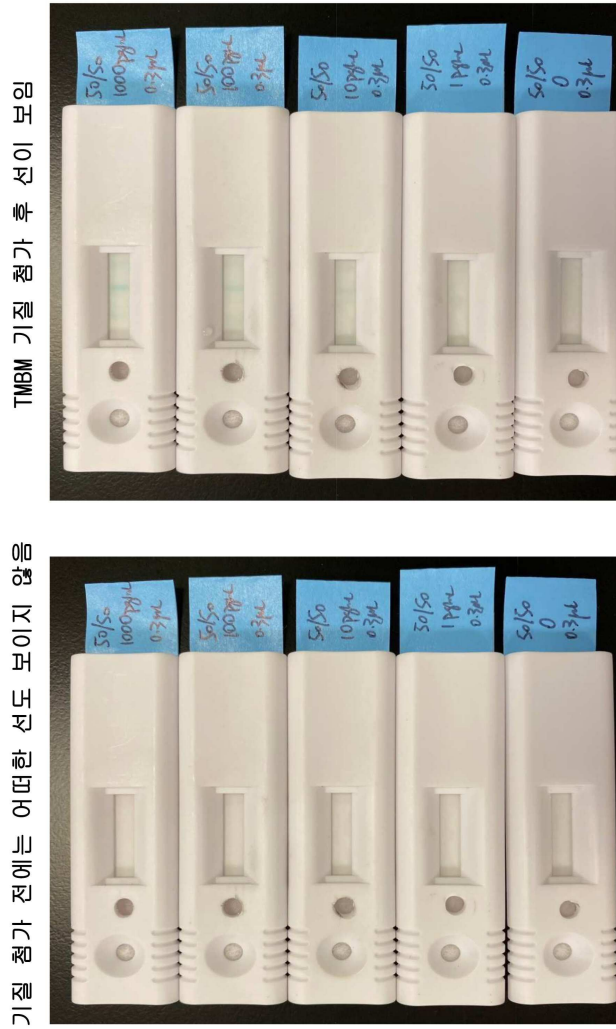
도면18d



도면18e



도면19



도면20



도면21



도면22

B



A

