



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0072702
(43) 공개일자 2012년07월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/569 (2006.01) C12Q 1/70 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01) G01N 33/533 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0134574

(22) 출원일자 2010년12월24일

심사청구일자 2010년12월24일

(71) 출원인

주식회사 메디센서김해

경상남도 김해시 주촌면 서부로1430번길 228

(72) 발명자

정재안

경상남도 김해시 주촌면 서부로1430번길 228

최재경

경상남도 김해시 주촌면 서부로1430번길 228

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

권혁수, 송윤호, 오세준

전체 청구항 수 : 총 22 항

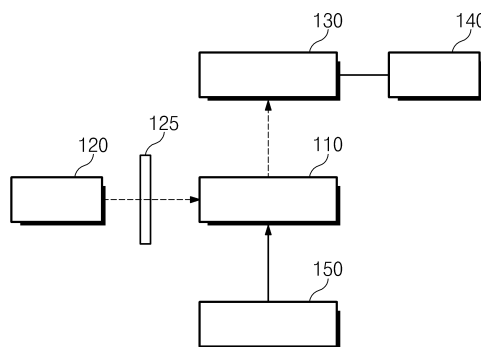
(54) 발명의 명칭 **호흡기 바이러스의 다중 동시 진단 장치 및 이를 이용한 진단 방법**

(57) 요약

진단 장치가 제공된다. 이 진단 장치는 인플루엔자 A형 바이러스의 H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2 아형들을 각각 검출하기 위한 각각의 항체가 제공된 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩, 미세유체 칩의 감지부로 생체시료에 포함된 5가지 아형들에 대한 중합효소 연쇄 반응물을 제공하기 위한 중합효소 연쇄 반응부, 미세유체 칩의 감지부의 항체에 특이 결합한 중합효소 연쇄 반응물에 광을 제공하여 형광 에너지를 발생시키기 위한 광원부, 및 항체에 특이 결합한 중합효소 연쇄 반응물로부터 발산되는 형광 에너지를 감지하는 센서부를 포함한다.

대표도 - 도1

100



(72) 발명자

김원정

경상남도 김해시 주촌면 서부로1430번길 228

구태희

경상남도 김해시 주촌면 서부로1430번길 228

대현미

경상남도 김해시 주촌면 서부로1430번길 228

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10035638

부처명 지식경제부

연구사업명 산업원천기술개발사업

연구과제명 호흡기 감염 질환 확진을 위한 초고속 초소형 실시간 유전자 진단 모듈 기술 개발

주관기관 (주)메디센서 김해

연구기간 2010.04.01 ~ 2013.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

인플루엔자 A형 바이러스의 H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2 아형들을 각각 검출하기 위한 각각의 항체가 제공된 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩;

상기 미세유체 칩의 상기 감지부로 생체시료에 포함된 상기 5가지 아형들에 대한 중합효소 연쇄 반응물을 제공하기 위한 중합효소 연쇄 반응부;

상기 미세유체 칩의 상기 감지부의 상기 항체에 특이 결합한 상기 중합효소 연쇄 반응물에 광을 제공하여 형광 에너지를 발생시키기 위한 광원부; 및

상기 항체에 특이 결합한 상기 중합효소 연쇄 반응물로부터 발산되는 상기 형광 에너지를 감지하는 센서부를 포함하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 중합효소 연쇄 반응물은 아형-프로브 결합물질인 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 프로브는 펩타이드, 나노 입자, 형광 입자 또는 이들의 조합 중에서 선택된 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 중합효소 연쇄 반응물은 상기 생체시료를 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법으로 처리하는 것에 의해 형성되는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 중합효소 연쇄 반응부는 역전사 효소, 중합효소, 프라이머 세트 및 사전혼합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 6

제 5항에 있어서,

상기 프라이머 세트는 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 7

제 5항에 있어서,

상기 중합효소는 Taq 중합효소인 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 8

제 5항에 있어서,

상기 사전혼합물은 주형 RNA, cDNA 합성 프라이머, dNTP 및 완충 용액을 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 9

제 1항에 있어서,

상기 미세유체 칩의 상기 감지부는 대조 영역을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 10

제 1항에 있어서,

상기 미세유체 칩은:

상기 중합효소 연쇄 반응물을 투입하기 위한 시료 투입구; 및

상기 중합효소 연쇄 반응물을 상기 감지부로 이송하기 위한 유로를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 11

제 1항에 있어서,

상기 센서부에 의해 감지된 상기 형광 에너지를 전기적 신호로 변환하는 측정부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 장치.

청구항 12

생체시료로부터 인플루엔자 A형 바이러스의 H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2 아형들에 대한 중합효소 연쇄 반응물을 형성하는 단계;

상기 생체시료의 상기 5가지 아형들을 각각 검출하기 위한 각각의 항체가 제공된 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩에 상기 중합효소 연쇄 반응물을 주입하여 상기 항체에 상기 중합효소 연쇄 반응물을 특이적으로 결합시켜 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질로 형성하는 단계;

상기 미세유체 칩에 광을 제공하여 상기 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질로부터 형광 에너지를 발생시키는 단계; 및

상기 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질로부터 발산되는 상기 형광 에너지를 포집하는 단계를 포함하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 중합효소 연쇄 반응물은 아형-프로브 결합물질인 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 14

제 12항에 있어서,

상기 중합효소 연쇄 반응물을 형성하는 단계는 상기 생체시료를 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법을 이용하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 15

제 14항에 있어서,

상기 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법은 역전사 효소, 중합효소, 프라이머 세트 및 사전혼합물로 구성된 용액에 상기 생체시료를 투입하여 중합효소 연쇄 반응을 진행하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 프라이머 세트는 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 17

제 15항에 있어서,

상기 프라이머 세트는 프로브가 표지된 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 18

제 17항에 있어서,

상기 프로브는 펩타이드, 나노 입자, 형광 입자 또는 이들의 조합 중에서 선택된 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 19

제 15항에 있어서,

상기 중합효소는 Taq 중합효소인 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 20

제 15항에 있어서,

상기 사전 혼합물은 주형 RNA, cDNA 합성 프라이머, dNTP 및 완충 용액을 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 21

제 12항에 있어서,

상기 미세유체 칩의 상기 감지부는 대조 영역을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

청구항 22

제 12항에 있어서,

포집된 상기 형광 에너지를 전기적 신호로 변환하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 호흡기 바이러스 진단 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 진단 장치 및 이를 이용한 진단 방법에 관한 것으로, 더 구체적으로 복수의 호흡기 바이러스들을 동시에 다중으로 검출할 수 있는 진단 장치 및 이를 이용한 진단 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 들어, 팬데믹(pandemic) 신종 인플루엔자(novel swine-origin influenza)와 H5N1 고병원성 조류 인플루엔자(avian influenza) 등과 같은 전파력 또는 병원성이 높은 신?변종 호흡기 감염 질환(respiratory infection disease)은 그 발생 빈도가 많이 증가함에 따라, 인류의 건강과 경제를 위협하는 주요 사안으로 급부상하고 있다. 특히, 과거와는 달리 현대는 교통의 발달과 생활 방식의 변화로 인해 전 세계적으로 지역 및 국가 사이의 인구 이동이 빠르게 이루어지고 있으므로, 인플루엔자 등과 같은 호흡기 감염 질환이 발생했을 때, 전 세계적인 대유행으로의 폭발적인 확산 가능성이 더욱 높아지고 있는 실정이다.

[0003] 실제로 2003년 발생한 중증 급성 호흡기 증후군(Severe Acute Respiratory Syndrome : SARS)의 전 세계적인 집단 발병과 현재의 신종 인플루엔자 H1N1 바이러스(virus)의 대유행은 1918년 팬데믹 인플루엔자(스페인 독감)와는 달리, 바이러스 자체가 가지고 있는 강한 전파력보다는 자동차와 항공기 등과 같은 교통 수단을 통한 인구 이동이 그 주요 원인으로 여겨지고 있다.

[0004] 또한, 신종 인플루엔자 H1N1 바이러스의 경우처럼, 신?변종 인플루엔자 바이러스에 의한 대유행이 발생했을

때, 현재의 백신(vaccine) 개발 기술력으로는 이른 시간 내에 예방 백신을 개발할 수 없으며, 현재 사용되고 있는 항바이러스(antiviral) 치료제들은 감염 초기(감염 후 최소 48 시간 이내)에 투약을 해야 하는 제한적 효능성의 한계가 있다.

[0005] 팬데믹 인플루엔자가 발생했을 때, 예방 백신의 개발 시점까지 항바이러스 치료제의 효능을 최대화하기 위하여, 의료 기관을 거치지 않고 실시간으로 감염 여부를 판단하여 적절한 치료를 받을 수 있도록, 현장에서 신속하게 조기 진단할 수 있는 장치의 개발이 절실히 필요하다. 이러한 장치의 개발은 국민의 불안감 해소와 의료비 절감 등과 같이, 국가·사회적으로 그 파급 효과가 매우 크다고 할 수 있다.

[0006] 신종 및 조류 인플루엔자를 포함하는 바이러스를 진단하기 위한 기술에는 바이러스 유전자를 분석하는 방법, 혈액을 추출하여 항체(antibody) 형성 유무를 분석하는 방법, 바이러스 항원(antigen) 자체를 분석하는 방법 등이 사용되고 있다. 기술별로 보면, 유전자 분석 방법이 전체 기술의 50%를, 혈액 내 항체를 검출하는 방법이 전체 기술의 19%를, 그리고 바이러스 항원 자체를 검출하는 방법이 전체 기술의 11%를 차지하고 있다. 이들 중, 유전자 분석을 이용한 바이러스 진단 방법은 가장 정확하게 바이러스 감염 여부를 진단할 수 있는 진단 방법으로 평가되고 있다. 그러나 이러한 유전자 분석 방법은 고가의 분석 장비가 추가로 요구되기 때문에, 다양한 현장에서 활용하기에는 어려움이 있다. 바이러스 항원을 직접 검출하는 방법은 빠르고 간편하게 진단할 수 있는 방법이나, 진단 성능이 낮아 크게 활용되지 못하고 있다.

[0007] 사람을 감염시키는 H 아형(subtype)은 H1 및 H3에 국한되어 왔었지만, 근래에 들어 H5, H7 및 H9으로 확대되고 있는 추세이다. 또한, 동일한 아형의 바이러스라 할지라도, 그 바이러스의 유전자 배열에 따라 병원성 등과 같은 특성이 전혀 다를 수 있다. 이로 인해 정확한 항바이러스 치료제의 처방을 위해서는 신종 인플루엔자와 계절형 인플루엔자를 구별하고, 그리고 신종 및 후보 인플루엔자 바이러스 주(strain)와 조류 인플루엔자 바이러스를 구별하는 것에 대한 필요성이 대두하고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명이 해결하려는 과제는 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들(H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2)을 동시에 다중으로 검출하여, 이를 신속하고 간편하게 진단할 수 있는 호흡기 바이러스 진단 장치를 제공하는 데 있다.

[0009] 본 발명이 해결하려는 다른 과제는 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들(H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2)을 동시에 다중으로 검출하여, 이를 신속하고 간편하게 진단할 수 있는 호흡기 바이러스 진단 방법을 제공하는 데 있다.

[0010] 본 발명이 해결하려는 과제는 이상에서 언급한 과제들에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기한 과제를 달성하기 위하여, 본 발명은 호흡기 바이러스 진단 장치를 제공한다. 이 진단 장치는 인플루엔자 A형 바이러스의 H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2 아형들을 각각 검출하기 위한 각각의 항체가 제공된 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩, 미세유체 칩의 감지부로 생체시료에 포함된 5가지 아형들에 대한 중합효소 연쇄 반응물을 제공하기 위한 중합효소 연쇄 반응부, 미세유체 칩의 감지부의 항체에 특이 결합한 중합효소 연쇄 반응물에 광을 제공하여 형광 에너지를 발생시키기 위한 광원부, 및 항체에 특이 결합한 중합효소 연쇄 반응물로부터 발산되는 형광 에너지를 감지하는 센서부를 포함할 수 있다.

[0012] 중합효소 연쇄 반응물은 아형-프로브 결합물질일 수 있다. 프로브는 펩타이드, 나노 입자, 형광 입자 또는 이들의 조합 중에서 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0013] 중합효소 연쇄 반응물은 생체시료를 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법으로 처리하는 것에 의해 형성될 수 있다.

[0014] 중합효소 연쇄 반응부는 역전사 효소, 중합효소, 프라이머 세트 및 사전혼합물을 포함할 수 있다. 프라이머 세트는 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 중합효소는 Taq 중합효소일 수 있다. 사전혼합물은 주형 RNA, cDNA 합성 프라이머, dNTP 및 완충 용액을 포함할 수 있다.

- [0015] 미세유체 칩의 감지부는 대조 영역을 더 포함할 수 있다.
- [0016] 미세유체 칩은 중합효소 연쇄 반응물을 투입하기 위한 시료 투입구 및 중합효소 연쇄 반응물을 감지부로 이송하기 위한 유로를 더 포함할 수 있다.
- [0017] 센서부에 의해 감지된 형광 에너지를 전기적 신호로 전환하는 측정부를 더 포함할 수 있다.
- [0018] 상기한 다른 과제를 달성하기 위하여, 본 발명은 호흡기 바이러스 진단 방법을 제공한다. 이 방법은 생체시료로부터 인플루엔자 A형 바이러스의 H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2 아형들에 대한 중합효소 연쇄 반응물을 형성하는 단계, 생체시료의 5가지 아형들을 각각 검출하기 위한 각각의 항체가 제공된 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩에 중합효소 연쇄 반응물을 주입하여 항체에 중합효소 연쇄 반응물을 특이적으로 결합시켜 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질을 형성하는 단계, 미세유체 칩에 광을 제공하여 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질로부터 형광 에너지를 발생시키는 단계, 및 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질로부터 발산되는 형광 에너지를 포집하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0019] 중합효소 연쇄 반응물은 아형-프로브 결합물질일 수 있다.
- [0020] 중합효소 연쇄 반응물을 형성하는 단계는 생체시료를 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법을 이용하는 것일 수 있다. 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법은 역전사 효소, 중합효소, 프라이머 세트 및 사전 혼합물로 구성된 용액에 생체시료를 투입하여 중합효소 연쇄 반응을 진행하는 것일 수 있다.
- [0021] 프라이머 세트는 올리고뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 프라이머 세트는 프로브가 표시된 것일 수 있다.
- [0022] 프로브는 펩타이드, 나노 입자, 형광 입자 또는 이들의 조합 중에서 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [0023] 중합효소는 Taq 중합효소일 수 있다.
- [0024] 사전 혼합물은 주형 RNA, cDNA 합성 프라이머, dNTP 및 완충 용액을 포함할 수 있다.
- [0025] 미세유체 칩의 감지부는 대조 영역을 더 포함할 수 있다.
- [0026] 포집된 형광 에너지를 전기적 신호로 전환하는 단계를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0027] 상술한 바와 같이, 본 발명의 과제 해결 수단에 따르면 생체시료를 단일 단계(one-step) 역전사 중합효소 연쇄 반응(Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction : RT-PCR)으로 전처리 한 후, 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩으로 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들(H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2)을 분석함으로써, 복합적으로 조합된 인플루엔자 A형 바이러스의 아형들을 구별하여 다중으로 동시에 분석할 수 있다. 이에 따라, 사람을 감염시킬 수 있는 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들을 신속하고 간편하게 진단을 할 수 있는 호흡기 바이러스 진단 장치가 제공될 수 있다.
- [0028] 또한, 본 발명의 과제 해결 수단에 따르면 생체시료를 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응으로 전처리 한 후, 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩으로 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들(H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2)을 분석함으로써, 복합적으로 조합된 인플루엔자 A형 바이러스의 아형들을 구별하여 다중으로 동시에 분석할 수 있다. 이에 따라, 사람을 감염시킬 수 있는 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들을 신속하고 간편하게 진단을 할 수 있는 진단 방법이 제공될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0029] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치를 설명하기 위한 개략적인 구성 블록도;
- 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치에 사용되는 미세유체 칩을 설명하기 위한 개략적인 평면도;
- 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치의 동작을 설명하기 위한 개략적인 일부 구성에 대한 단면도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 이하, 첨부된 도면들을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면들과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예를 참조하면

명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 여기서 설명되는 실시예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 형태로 구체화될 수도 있다. 오히려, 여기서 소개되는 실시예는 개시된 내용이 철저하고 완전해질 수 있도록 그리고 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다. 명세서 전문에 걸쳐 동일 참조 부호는 동일 구성 요소를 지칭한다.

[0031] 본 명세서에서 사용된 용어는 실시예들을 설명하기 위한 것이며 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 명세서에서, 단수형은 문구에서 특별히 언급하지 않는 한 복수형도 포함한다. 명세서에서 사용되는 '포함한다(comprises)' 및/또는 '포함하는(comprising)'은 언급된 구성요소, 단계, 동작 및/또는 소자는 하나 이상의 다른 구성요소, 단계, 동작 및/또는 소자의 존재 또는 추가를 배제하지 않는다. 또한, 바람직한 실시예에 따른 것이기 때문에, 설명의 순서에 따라 제시되는 참조 부호는 그 순서에 반드시 한정되지는 않는다. 이에 더하여, 본 명세서에서, 어떤 막이 다른 막 또는 기판 상에 있다고 언급되는 경우에 그것은 다른 막 또는 기판 상에 직접 형성될 수 있거나 또는 그들 사이에 제 3의 막이 개재될 수도 있다는 것을 의미한다.

[0032] 또한, 본 명세서에서 기술하는 실시예들은 본 발명의 이상적인 예시도인 단면도 및/또는 평면도들을 참고하여 설명될 것이다. 도면들에 있어서, 막 및 영역들의 두께는 기술적 내용의 효과적인 설명을 위해 과장된 것이다. 따라서, 제조 기술 및/또는 허용 오차 등에 의해 예시도의 형태가 변형될 수 있다. 따라서, 본 발명의 실시예들은 도시된 특정 형태로 제한되는 것이 아니라 제조 공정에 따라 생성되는 형태의 변화도 포함하는 것이다. 예를 들면, 직각으로 도시된 식각 영역은 라운드지거나 소정 곡률을 가지는 형태일 수 있다. 따라서, 도면에서 예시된 영역들은 개략적인 속성을 가지며, 도면에서 예시된 영역들의 모양은 소자의 영역의 특정 형태를 예시하기 위한 것이며 발명의 범주를 제한하기 위한 것이 아니다.

[0033] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치를 설명하기 위한 개략적인 구성 블록도이다.

[0034] 도 1을 참조하면, 면역분석 진단 장치(100)는 미세유체 칩(microfluidic chip, 110), 광원부(120), 센서부(sensing unit, 130), 측정부(140) 및 중합효소 연쇄 반응부(150)를 포함한다.

[0035] 미세유체 칩(110)은 5개의 감지 영역들(도 2의 113a, 113b, 113c, 113d, 113e 참조)로 구성된 감지부를 포함할 수 있다. 감지 영역들은 생체시료에 포함된 호흡기 바이러스인 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들(H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2)을 각각 검출하기 위한 각각의 항체를 가질 수 있다. 항체는 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들로부터 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 통해 형성된 중합효소 연쇄 반응물과 특이적으로 결합하여 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질을 형성할 수 있다.

[0036] 미세유체 칩(110)의 감지부는 5개의 감지 영역들로 구성되기 때문에, 미세유체 칩(110)은 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들을 동시에 검출할 수 있다.

[0037] 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질의 중합효소 연쇄 반응물은 아형-프로브(probe) 결합물질일 수 있다. 프로브는 펩타이드(peptide), 나노 입자(nano particle), 형광 입자(fluorescent particle) 또는 이들의 조합 중에서 선택된 적어도 하나를 포함할 수 있다. 프로브는 광원부(120)로부터 제공되는 광에 의해 형광 에너지를 발생시킬 수 있다. 프로브가 형광에너지를 발생시키는 것은 직접 형광 발광, 형광 공명 에너지 전이(Fluorescence Resonance Energy Transfer : FRET) 효과 등과 같은 다양한 방법에 의한 것일 수 있다. 형광 공명 에너지 전이 효과를 이용할 경우, 형광 입자는 양자 효율이 높은 형광체가 사용될 수 있고, 그리고 나노 입자는 금(Au), 은(Ag), 구리(Cu), 알루미늄(Al), 니켈(Ni), 코발트(Co), 철(Fe), 아연(Zn) 및 망간(Mn) 중에서 선택된 적어도 하나를 포함하는 금속 나노 입자일 수 있다.

[0038] 미세유체 칩(110)은 유체 형태의 시료, 즉, 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 용액 등과 같은 시료의 이동, 정지, 속도 변화, 시험 용액 등과 같은 다른 유체와의 혼합, 분리 및 교체 등과 같은 다양한 동작들이 가능할 수 있다. 미세유체 칩(110)은 유체의 흐름에 영향을 줄 수 있는 변수인 유체 채널(channel)의 폭, 깊이, 길이 등, 재료로 사용되는 고분자 물질의 종류, 검출에 사용되는 유체의 종류, 접촉 각도 등을 고려하여 구현될 수 있다. 또한, 미세유체 칩(110)은 유체의 능률적인 수송을 위한 펌프(pump) 및 밸브(valve)의 종류와 방식, 그리고 설치되어 있는 위치 등의 변수를 고려하여 구현될 수 있다.

[0039] 진단하고자 하는 감염 환자로부터 채취한 생체시료는 중합효소 연쇄 반응부(150)에서 전처리 과정을 거친 후, 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 용액 형태로 미세유체 칩(110)에 주입되고, 중합효소 연쇄 반응물은 유체 채널을 통해 이동하여 감지부의 감지 영역들 각각의 항체와 특이적으로 결합하여 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질을 형성한다.

[0040] 광원부(120)는 미세유체 칩(110)에 평면 균일 광을 제공할 수 있다. 광원부(120)에 의해 제공된 평면 균일 광

은 미세유체 칩(110)의 감지부의 감지 영역들 각각의 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질의 중합효소 연쇄 반응물인 아형-프로브 결합물질의 프로브로부터 형광 에너지를 발생시킬 수 있다. 미세유체 칩(110)의 감지부의 감지 영역들 각각의 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질의 프로브로부터 발생하는 형광 에너지를 이용하여 생체시료의 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들에 대한 감염 여부를 측정하기 때문에, 생체시료의 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들을 동시에 검출할 수 있다.

[0041] 광원부(120)로부터 미세유체 칩(110)에 평면 균일 광이 제공되기 때문에, 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질의 프로브로부터 발생하는 형광 에너지는 2차원 형태로 센서부(130)에 의해 감지될 수 있다.

[0042] 광원부(120)는 고휘도 발광 다이오드(Light Emitting Diode : LED) 및 도광관을 포함할 수 있다. 고휘도 발광 다이오드 및 도광관에 의해 다파장 평면 균일 광이 생성될 수 있다. 미세유체 칩(110)에 단일파장 평면 균일 광을 제공하기 위해 광원부(120)와 미세유체 칩(110) 사이에 광 필터(125)가 제공될 수 있다. 광원부(120)로부터 생성된 다파장 평면 균일 광은 광 필터(125)를 통과하면서 특정의 단일파장 평면 균일 광으로 바뀔 수 있다. 광 필터(125)는 초퍼(chopper) 형태일 수 있다. 즉, 여러 종류의 광 필터들(125)이 하나의 초퍼에 구비된 형태일 수 있다. 이에 따라, 미세유체 칩(110)에 여러 가지 특정의 단일파장 평면 균일 광이 제공될 수 있다.

[0043] 미세유체 칩(110)이 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖기 때문에, 5개의 감지 영역들로부터 서로 다른 형광 에너지들이 발생할 수 있다. 이에 따라, 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들 각각에 대한 형광 에너지가 발생할 수 있다.

[0044] 센서부(130)는, 앞서 설명되어진 것과 같이, 미세유체 칩(110)의 감지부의 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질의 프로브로부터 발생하는 형광 에너지를 2차원 형태로 감지할 수 있다. 센서부(130)는 특정한 방향성 없이 방사상으로 발산되는 형광 에너지를 감지하기 위해 미세유체 칩(110)과의 거리를 가깝게 유지하고, 삼면을 둘러싼 형태일 수 있다. 또한, 센서부(130)는 고감도 검출기(도 3의 137 참조)를 포함할 수 있다.

[0045] 측정부(140)는 센서부(130)에 의해 감지된 형광 에너지를 전기적 신호로 전환할 수 있다. 전기적 신호는 전류 피크(peak) 형태일 수 있다. 측정부(140)는 센서부(130)에 의해 감지된 형광 에너지를 전기적 신호를 전환하여 측정할 수 있다. 측정부(140)는 전류 피크 형태의 전기적 신호를 측정하여 측정하기 때문에, 미세유체 칩(110)의 감지부의 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질의 프로브로부터 발생하는 형광 에너지에 대한 검출 감도가 높아질 수 있다.

[0046] 미세유체 칩(110)이 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖기 때문에, 5개의 감지 영역들로부터 서로 다른 형광 에너지들이 발생할 수 있다. 이러한 서로 다른 형광 에너지들 각각은 서로 다른 전류 피크 형태의 전기적 신호들로 전환될 수 있다. 이에 따라, 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들 각각에 대한 전류 피크들을 포함하는 전기적 신호가 측정될 수 있다.

[0047] 측정부(140)는 전류 피크 형태의 전기적 신호를 해석하여 각각의 전류 피크들에 대응하는 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들의 종류 및 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들의 정도를 분석할 수 있다. 이에 따라, 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들 각각에 대한 정성적 및 정량적 분석이 가능해 질 수 있다. 또한, 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들을 동시에 분석하는 것이 가능해 질 수 있다.

[0048] 중합효소 연쇄 반응부(150)는 미세유체 칩(110)의 감지부로 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들에 대한 중합효소 연쇄 반응을 제공할 수 있다. 중합효소 연쇄 반응물은 아형-프로브 결합물질일 수 있다. 중합효소 연쇄 반응물은 생체시료를 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법으로 처리하는 것에 의해 형성될 수 있다. 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법은 역전사 효소(reverse transcriptase), 중합효소, 프라이머 세트(primer) 및 사전혼합물(premix)로 구성된 용액을 포함하는 중합효소 연쇄 반응부(150)에 생체시료를 투입하여 중합효소 연쇄 반응을 진행하는 것일 수 있다. 프라이머 세트는 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 포함할 수 있다. 프라이머 세트는 프로브가 표지된 것(probe labeled)일 수 있다. 중합효소는 Taq 중합효소일 수 있다. 사전혼합물은 주형(template) RNA, cDNA(complementary DNA) 합성 프라이머, dNTP(deoxyribonucleotide) 및 완충(buffer) 용액을 포함할 수 있다.

[0049] 인플루엔자 A형 바이러스의 당단백질(glycoprotein)에 해당하는 유전자 중에서 변이가 심한 지역을 아형별로 구분하여 다중 동시 역전사 중합효소 연쇄 반응 방법을 수행할 경우, 동일한 생체시료로부터 하나의 시험관 내에서 여러 바이러스를 동시에 진단 및 구분할 수 있다. 이로부터 본 발명에 따른 프라이머 세트에 사용된

프라이머인 올리고뉴클레오타이드는 데이터베이스(database)에 등록되어 있는 국내 및 국외 A/H1, A/H3, A/H5, A/H7 및 A/H9 분리주(isolate)에 대한 HA(hemagglutinin) 유전자의 염기 서열(base sequence)을 종합적으로 분석하여, 이의 염기 서열로부터 사용되도록 제작되었다.

[0050] 본 발명에 따른 프라이머의 서열은 형(type) 및 아형에 특이적으로 작용하도록 고안된 것이기 때문에, 본 프라이머를 제작할 때, 토대로 한 A/H1, A/H3, A/H5, A/H7 및 A/H9 아형들 사이의 교차 반응(cross reaction)은 없으며, 이외의 다른 인플루엔자 A형 바이러스는 M(matix protein) 유전자에 대한 특이 밴드(band)만 나타날 수 있다. 이에 따라, 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치(100)를 사용할 경우, 간과되는 새로운 인플루엔자 A형 바이러스의 출현을 없을 것으로 판단된다.

[0051] 중합효소 연쇄 반응부(150)는 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 아형들 동시에 증폭할 수 있는 하나의 시험관일 수 있다. 중합효소 연쇄 반응부(150) 내에서 프라이머의 서열은 인플루엔자 A형 바이러스의 유전자인 RNA로부터 cDNA를 합성하는 과정인 역전사 반응과 cDNA를 증폭하는 과정인 중합효소 반응에 의해 중합효소 연쇄 반응물로 형성될 수 있다.

[0052] 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치에 사용되는 미세유체 칩을 설명하기 위한 개략적인 평면도이다.

[0053] 도 2를 참조하면, 미세유체 칩(110)은 유체 형태의 생체시료, 즉 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료의 이동, 정지, 속도 변화, 시험 용액 등과 같은 다른 유체와의 혼합, 분리 및 교체 등과 같은 다양한 동작들이 가능할 수 있다. 본 발명의 실시예에 따른 미세유체 칩(110)은 기관 몸체의 내부에 시료 투입구(111), 유로(112) 및 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e)을 포함할 수 있다. 미세유체 칩(110)은 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e)로부터 검출되는 결과값들에 대한 검증을 위한 대조 영역(113r)을 더 포함할 수 있다.

[0054] 시료 투입구(111)는 미세유체 칩(110)으로 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료를 투입하기 위한 통로 역할을 하는 동시에, 투입된 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료를 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e)로 이송하는 유로 역할을 할 수 있다. 본 발명의 실시예에 따른 미세유체 칩(110)은 모세관력(capillary force)을 이용하여 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료를 이송시킬 수 있다. 하지만, 본 발명의 실시예에 따른 미세유체 칩(110)은 모세관력 외의 다른 다양한 방법들을 이용하여 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료를 이송시킬 수도 있다.

[0055] 유로(112)는 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료를 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e)로 이송할 수 있다. 유로(112)는 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e)로 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료를 이송하기 위해 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e)을 가로지르는 직선 형태를 가질 수 있다. 이와는 달리, 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e) 또는/및 대조 영역(113r)이 직렬로 배치되지 않을 경우, 유로(112)는 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e) 또는/및 대조 영역(113r) 각각에 따로 연결된 분기형 유로일 수 있다. 본 발명의 실시예에 따른 미세유체 칩(110)은 모세관력을 이용하여 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료를 이송시킬 수 있다. 하지만, 본 발명의 실시예에 따른 미세유체 칩(200)은 모세관력 외의 다른 다양한 방법들을 이용하여 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료를 이송시킬 수도 있다.

[0056] 제 1 내지 제 5 감지 영역들(113a, 113b, 113c, 113d, 113e) 각각에 포함된 항체는 이송된 중합효소 연쇄 반응물을 포함하는 시료의 중합효소 연쇄 반응물과 특이적으로 결합할 수 있다.

[0057] 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치의 동작을 설명하기 위한 개략적인 일부 구성에 대한 단면도이다.

[0058] 도 3을 참조하면, 미세유체 칩(110)은 생체시료에 포함된 호흡기 바이러스인 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들(H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2)을 각각 검출하기 위한 각각의 항체를 갖는 5개의 감지 영역들(도 2의 113a, 113b, 113c, 113d, 113e 참조)로 구성된 감지부를 포함하고, 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들로부터 중합효소 연쇄 반응을 통해 형성된 중합효소 연쇄 반응물과 5개의 감지 영역들의 항체 사이의 특이적 결합에 의해 형성된 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질을 포함한다. 미세유체 칩(110)의 감지부는 5개의 감지 영역들로 구성되기 때문에, 미세유체 칩(110)은 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들 각각에 대한 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질을 포함할 수 있다.

[0059] 광원부(120)로부터 평면 균일 광이 제공된다. 광원부(120)로부터 제공되는 평면 균일 광은 센서부(130)의 빔

스플리터(beam splitter, 132)를 통해 미세유체 칩(110)의 감지 영역들의 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질로 입사된다. 미세유체 칩(110)의 감지 영역들의 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질로 입사된 평면 균일 광은 미세유체 칩(110)의 감지 영역들의 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질의 중합효소 연쇄 반응물인 아형-프로브 결합물질의 프로브로부터 형광 에너지를 발생시킬 수 있다. 미세유체 칩(110)의 중합효소 연쇄 반응물의 프로브로부터 발생된 형광 에너지가 방사상으로 발산된다. 방사상으로 발산된 형광 에너지는 대물 렌즈(131)를 통과하여 형광 빔 형태로 거울(133)로 전달된다. 거울(133)에 의해 반사된 형광 빔은 필터(134)를 통과하면서 특정의 단일파장 형광 빔이 집속 렌즈(135)로 전달된다. 특정의 단일파장 형광 빔은 집속 렌즈(135)에 의해 수렴되고, 공초점 조리개(confocal pinhole, 136)을 통과하면서 발산하여 센서부(130)의 검출기(137)에 의해 감지된다.

[0060] 센서부(130)는 광원부(120)로부터 제공된 평면 균일 광에 의한 에너지 교란을 피하기 위해 시간차 검출 기술을 사용할 수 있다. 또한, 센서부(130)는 감지된 형광 빔에 대한 산란광 처리, 잡음 제거 및 패턴 인식 기술을 사용할 수 있다.

[0061] 형광 공명 에너지 전이 효과를 이용하여 미세유체 칩(110)의 감지 영역들의 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질에 대한 형광 에너지를 측정할 경우, 검출 한도 및 감도가 향상될 수 있다. 이에 따라, 극미량(10^{-9} ~ 10^{-12} l)의 생체시료 내에 아주 낮은 농도($<10^{-17}$ mol)로 존재하는 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들에 대한 검출이 가능할 수 있다.

[0062] 광원부(120)로부터 미세유체 칩(110)에 평면 균일 광이 제공되기 때문에, 중합효소 연쇄 반응물-항체 결합물질의 프로브로부터 발생된 형광 에너지는 2차원 형태로 센서부(130)의 검출기(137)에 의해 감지될 수 있다.

[0063] 필터(134)는 초퍼 형태일 수 있다. 즉, 여러 종류의 필터들(134)이 하나의 초퍼에 구비된 형태일 수 있다. 이에 따라, 여러 가지 특정의 단일파장 형광 빔이 센서부(130)의 검출기(137)에 의해 감지될 수 있다.

[0064] 미세유체 칩(110)이 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖기 때문에, 5개의 감지 영역들로부터 서로 다른 형광 에너지들이 발생할 수 있다. 이에 따라, 생체시료에 포함된 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들 각각에 대한 형광 에너지가 발생할 수 있다.

[0065] 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치는 생체시료를 역전사 과정과 중합효소 연쇄 반응 과정을 하나의 시험관에서 수행하는 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응으로 전처리 한 후, 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩으로 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들(H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2)을 동시에 분석함으로써, 호흡기 질환 의심 환자의 생체시료로부터 RNA 및 DNA를 직접 검출하여 매우 신속하고 정확하게 다양한 호흡기 바이러스를 진단할 수 있다. 이에 따라, 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치는 호흡기 질환에 대한 정확한 유행 양상 및 역학 조사를 수행할 수 있다. 또한, 호흡기 바이러스에 대한 진단 정보는 호흡기 바이러스 백신 연구에 매우 유용한 자료로 이용될 수 있다.

[0066] 특히, 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치는 고도로 숙련되지 않은 시험자에 의해서도 용이하게 호흡기 바이러스를 진단할 수 있으며, 그리고 중합효소 연쇄 반응에서 문제가 되는 오염을 최소화할 수 있다는 이점이 있다. 이에 따라, 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치는 호흡기 바이러스 진단에 매우 효율적으로 이용될 수 있다.

[0067] 이에 더하여, 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 방법은 생체시료를 역전사 과정과 중합효소 연쇄 반응 과정을 하나의 시험관에서 수행하는 단일 단계 역전사 중합효소 연쇄 반응으로 전처리 한 후, 5개의 감지 영역들로 구성된 감지부를 갖는 미세유체 칩으로 인플루엔자 A형 바이러스의 5가지 아형들(H1N1, H3N2, H5N1, H7N3 및 H9N2)을 동시에 분석함으로써, 호흡기 질환 의심 환자의 생체시료로부터 RNA 및 DNA를 직접 검출하여 매우 신속하고 정확하게 다양한 호흡기 바이러스를 동시에 진단할 수 있다. 이에 따라, 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 방법은 유행 호흡기 바이러스 주의 확보 및 이의 분자생물학적 특성 연구에 이용될 수 있다.

[0068] 게다가, 본 발명의 실시예에 따른 호흡기 바이러스 진단 장치는 신종 인플루엔자, 조류 인플루엔자, 계절 인플루엔자, 호흡기 세포 융합 바이러스, 중증 급성 호흡기 증후군 등의 호흡기 감염 질환의 실시간 규명 및 조기 확산을 예방하는 데 사용될 수 있고, 그리고 식품 원인균 감염 검색 및 동?식물 병충해 안전 관리에 적용될 수 있고, 그리고 축산물 생산 이력 추적 및 특용작물 관리와 같은 농축산물 원산지 현장 감별 등에도 적용 가능할 수 있다. 또한, 친자 신원 규명 및 범죄자 규명 등과 같은 법의학에도 응용 가능하며, 그 밖에도 환경

모니터링, 생화학 전쟁 등과 같은 군사적 용도에도 적용 가능하기 때문에, 그 파급 효과가 클 수 있다.

[0069]

이상, 첨부된 도면들을 참조하여 본 발명의 실시예들을 설명하였지만, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들에는 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

부호의 설명

[0070]

100 : 진단 장치

110 : 미세유체 칩

111 : 시료 투입구

112 : 유로

113a, 113b, 113c, 113d, 113e : 감지 영역

113r : 대조 영역

120 : 광원부

125 : 광 필터

130 : 센서부

131 : 대물 렌즈

132 : 빔 스플리터

133 : 거울

134 : 필터

135 : 집속 렌즈

136 : 공초점 조리개

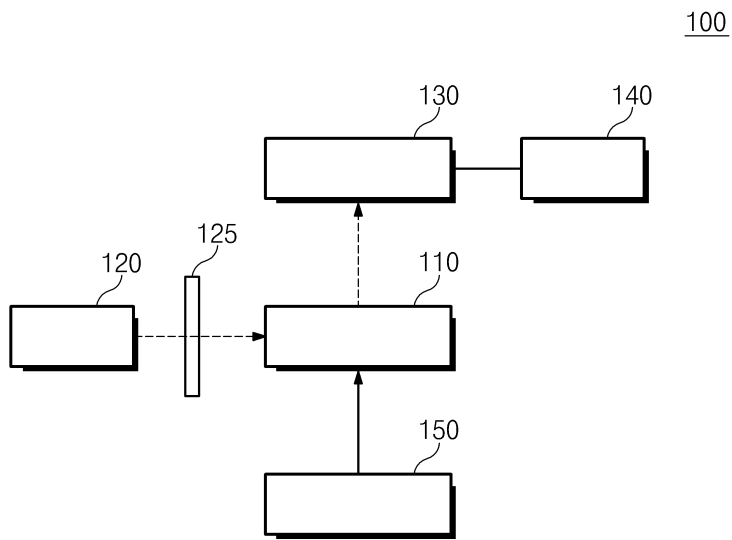
137 : 검출기

140 : 측정부

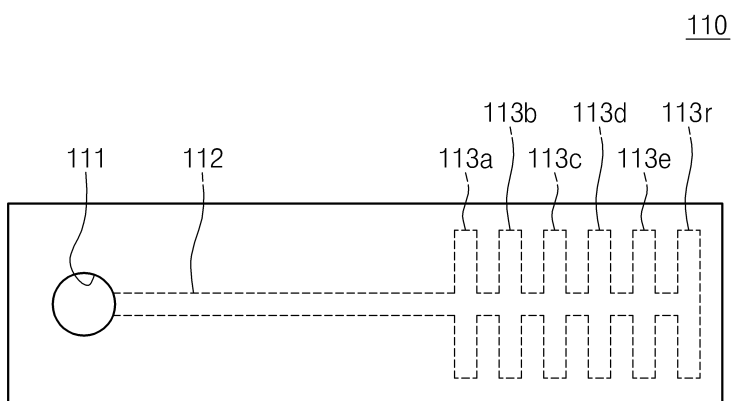
150 : 중합효소 연쇄 반응부

도면

도면1



도면2



도면3

