



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년06월27일
(11) 등록번호 10-1633569
(24) 등록일자 2016년06월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/70 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7017496(분할)
(22) 출원일자(국제) 2007년05월10일
심사청구일자 2014년07월15일
(85) 번역문제출일자 2014년06월25일
(65) 공개번호 10-2014-0096154
(43) 공개일자 2014년08월04일
(62) 원출원 특허 10-2013-7033688
원출원일자(국제) 2007년05월10일
심사청구일자 2013년12월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2007/068665
(87) 국제공개번호 WO 2007/134166
국제공개일자 2007년11월22일
(30) 우선권주장
11/746,535 2007년05월09일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
Anal. Chem., Vol. 77, No. 23, pp. 7673-7678
(2005.12.01.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
테라노스, 인코포레이티드
미국, 캘리포니아주 94304, 팔로 알토, 페이지 밀
로드 1701
(72) 발명자
홈즈 엘리자베스 에이.
미국 캘리포니아주 94301 팔로 알토 #118 채닝 애
비뉴 325
기본스 이안
미국 94023 캘리포니아 포틀라 벨리 라 메사 드라
이브 831
(74) 대리인
김태홍, 김진희

전체 청구항 수 : 총 26 항

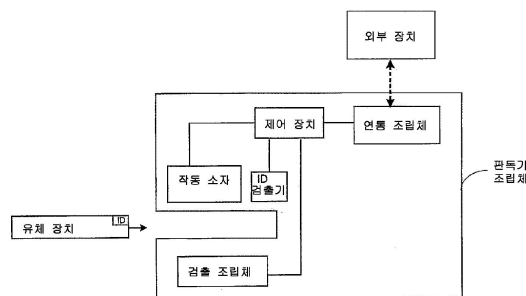
심사관 : 이준혁

(54) 발명의 명칭 인플루엔자 바이러스의 실시간 검출

(57) 요약

본 발명은 체액 샘플 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물을 검출하는 시스템 및 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 체액 샘플 중, 적어도 2개가 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 복수개의 피분석물을 검출하는 시스템 및 방법을 제공한다.

대표도



(30) 우선권주장

60/799,442 2006년05월10일 미국(US)

60/800,939 2006년05월16일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

피험체에 대해 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 농도에 대한 추이 분석(trend analysis)을 수행하는 방법으로서,

- a) 하나 이상의 샘플 수집 유닛, 및 면역분석 시약을 포함하는 면역분석 조립체를 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계로서, 상기 면역분석 시약이 헤마글루티닌에 특이적으로 결합하는 제1 항체 및 뉴라미니다제에 특이적으로 결합하는 제2 항체를 포함하는 것인 단계;
- b) 상기 유체 장치를 작동시켜 상기 유체 장치 내의 면역분석 시약을 송류하는 단계;
- c) 상기 피험체로부터 얻은 체액 샘플을 상기 면역분석 조립체 내에 포함된 면역분석 시약과 반응시켜, 상기 샘플 내의 동일 인플루엔자 바이러스 입자상의 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 동시 존재를 나타내는 하나 이상의 검출 가능한 신호를 산출하는 단계;
- d) 상기 체액 샘플 내에 수집된 동일 인플루엔자 바이러스 입자상의 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 동시 존재로부터 생성된 하나 이상의 검출 가능한 신호를 검출하는 단계; 및
- e) 일정 기간 동안 상기 피험체로부터 얻은 하나 이상의 추가의 체액 샘플에 대해 단계 a) 내지 d)를 반복하여 상기 기간 동안 동일 인플루엔자 바이러스 입자상에 동시에 존재하는 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 농도를 검출함으로써 추이 분석을 수행하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 헤마글루티닌이 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택되고, 상기 뉴라미니다제가 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 헤마글루티닌이 H5이고 상기 뉴라미니다제가 N1이거나, 상기 헤마글루티닌이 H1이고 상기 뉴라미니다제가 N1인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 것이 인플루엔자 A형 바이러스 감염, 인플루엔자 B형 바이러스 감염 및 인플루엔자 C형 바이러스 감염으로부터 선택되는 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 것인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 면역분석 조립체가 상기 샘플 수집 유닛 또는 상기 면역분석 조립체와 유체 연통하는 복수의 채널을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 하나 이상의 추가의 체액 샘플을 주 1회 및 주 2회로부터 선택되는 빈도로 얻는 것인 방법.

청구항 8

인플루엔자 바이러스 입자를 함유할 것으로 의심되는 피험체로부터 얻은 복수의 체액 샘플 각각에 대해 인플루엔자 바이러스 입자의 농도에 대한 추이 분석을 수행하는 방법으로서,

- a) 면역분석 조립체를 제공하는 단계로서, 상기 면역분석 조립체는 제1 항원에 특이적으로 결합하는 제1 항체를 포함하고, 상기 제1 항체는 면역분석 조립체의 표면에 결합되어 있는 것인 단계;
- b) 제1 항원과는 다른 제2 항원에 특이적으로 결합하는 제2 항체를 포함하는 면역분석 시약의 존재 하에 면역분석 조립체 내에서 상기 피험체로부터 얻은 체액 샘플을 반응시키는 단계로서, 상기 제2 항체는 검출 가능한 표지로 표지되어 있고, 상기 제1 항원은 헤마글루티닌을 포함하고 상기 제2 항원은 뉴라미니다제를 포함하거나, 또는 상기 제1 항원은 뉴라미니다제를 포함하고 상기 제2 항원은 헤마글루티닌을 포함하며, 상기 반응은 제1 항원에 결합된 제1 항체 및 제2 항원에 결합된 제2 항체를 포함하는 면역 복합체를 형성하고, 상기 면역 복합체는 동일 인플루엔자 바이러스 입자상의 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 동시 존재를 나타내는 하나 이상의 검출 가능한 신호를 산출하는 것인 단계;
- c) 과잉 면역분석 시약을 제거하기 위해 상기 면역분석 조립체를 세척하는 단계;
- d) 면역 복합체에 의해 생성된 하나 이상의 검출 가능한 신호를 검출함으로써 동일 인플루엔자 바이러스 입자상의 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 동시 존재를 나타내는 단계; 및
- e) 일정 기간 동안 상기 피험체로부터 얻은 하나 이상의 추가의 체액 샘플에 대해 단계 a) 내지 d)를 반복하여 상기 기간 동안 피분석물의 농도를 검출함으로써, 피험체 내의 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 동일 인플루엔자 바이러스 입자상의 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 동시 존재의 농도에 대한 추이 분석을 수행하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 헤마글루티닌이 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택되고, 상기 뉴라미니다제가 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 헤마글루티닌이 H5이고 상기 뉴라미니다제가 N1이거나, 상기 헤마글루티닌이 H1이고 상기 뉴라미니다제가 N1인 방법.

청구항 11

제8항에 있어서, 면역 복합체에 의해 생성된 하나 이상의 검출 가능한 신호를 검출하는 것이 인플루엔자 A형 바이러스 감염, 인플루엔자 B형 바이러스 감염 및 인플루엔자 C형 바이러스 감염으로부터 선택되는 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 것인 방법.

청구항 12

제8항에 있어서, 상기 면역분석 조립체가 샘플 수집 유닛 또는 면역분석 조립체와 유체 연통하는 복수의 채널을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제8항에 있어서, 상기 하나 이상의 추가의 체액 샘플을 주 1회 및 주 2회로부터 선택되는 빈도로 얻는 것인 방법.

청구항 14

피험체로부터 얻은 복수의 체액 샘플에 대한 인플루엔자 바이러스 입자의 농도에 있어서의 추이를 검출하는 방법으로서,

- a) 인플루엔자 바이러스 입자를 함유할 것으로 의심되는 체액 샘플을 제1 면역분석 시약 및 제2 면역분석 시약과 반응시키는 단계로서, 상기 제1 및 제2 면역분석 시약은 둘 다 카트리지의 면역분석 조립체 내에 포함되어 있고, 상기 제1 면역분석 시약은 헤마글루티닌 분자에 결합하여 상기 인플루엔자 바이러스 입자 상에 제1 면역복합체를 형성하고, 상기 제2 면역분석 시약은 뉴라미니다제 분자에 결합하여 상기 인플루엔자 바이러스 입자 상에 제2 면역복합체를 형성하며, 상기 면역복합체들은 동일 인플루엔자 바이러스 입자상의 헤마글루티닌과 뉴라미니다제의 동시 존재를 나타내는 하나 이상의 검출 가능한 신호를 산출하고, 상기 제1 또는 제2 면역분석 시약은 고체 지지체 상에 고정화되어 있는 것인 단계;
- b) 상기 면역복합체로부터 생성된 하나 이상의 검출 가능한 신호를 검출하는 단계로서, 헤마글루티닌과 뉴라미니다제의 동시 존재는 샘플 중의 인플루엔자 바이러스 입자의 존재 및 농도를 나타내는 것인 단계; 및
- c) 일정 기간 동안 상기 피험체로부터 얻은 하나 이상의 추가의 체액 샘플에 대해 단계 a) 및 b)를 반복하여 상기 기간 동안 피분석물의 농도를 검출함으로써 추이 분석을 수행하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 각각의 체액 샘플의 부피가 500 마이크로리터 미만인 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 검출이 인플루엔자 A형 바이러스 감염, 인플루엔자 B형 바이러스 감염 및 인플루엔자 C형 바이러스 감염으로부터 선택되는 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 것인 방법.

청구항 17

제14항에 있어서, 상기 헤마글루티닌이 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택되고, 상기 뉴라미니다제가 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 18

제14항에 있어서, 상기 헤마글루티닌이 H5이고 상기 뉴라미니다제가 N1이거나, 상기 헤마글루티닌이 H1이고 상기 뉴라미니다제가 N1인 방법.

청구항 19

제14항에 있어서, 상기 카트리지가 하나 이상의 샘플 수집 유닛, 및 면역분석 시약을 포함하는 면역분석 조립체를 포함하는 것인 방법.

청구항 20

제14항에 있어서, 상기 카트리지를 작동시켜 상기 카트리지 내의 면역분석 시약을 송류하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 21

제14항에 있어서, 상기 인플루엔자 바이러스 입자를 함유할 것으로 의심되는 체액 샘플이 외부 장치로부터 전송되는 프로토콜에 기초하여 상기 면역분석 조립체 내에 포함된 면역분석 시약과 반응하는 것인 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 프로토콜이 상기 외부 장치로부터 무선 전송되는 것인 방법.

청구항 23

제14항에 있어서, 상기 검출 가능한 신호를 외부 장치로 전송하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 외부 장치가 서버(server)인 방법.

청구항 25

제14항에 있어서, 상기 카트리지가 샘플 수집 유닛과 면역분석 조립체 사이에 유체 연통을 제공하는 복수의 채널을 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제14항에 있어서, 상기 카트리지는 식별자, 샘플 수집 유닛, 및 면역분석 시약을 포함하는 면역분석 조립체를 포함하고; 상기 식별자는 카트리지와 분리된 식별자 관독기에 의해 관독되고, 식별자 관독기는 상기 식별자의 정보를 외부 장치에 전송하는 연통 조립체와 연통하며; 식별자와 관련된 프로토콜은 상기 식별자의 정보의 상기 외부 장치로의 전송에 반응하여 상기 외부 장치로부터 전송되고; 상기 샘플 수집 유닛 내에 수집된 체액 샘플은 상기 프로토콜에 기초하여 면역분석 시약과 반응하여, 상기 바이러스 입자의 존재를 나타내는 검출 가능한 신호를 산출하는 것인 방법.

청구항 27

제14항에 있어서, 상기 하나 이상의 추가의 체액 샘플을 주 1회 및 주 2회로부터 선택되는 빈도로 얻는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

상호 참조

본 출원은 2006년 5월 10일 출원된 미국 가특허 출원 번호 제60/799,442호 및 2006년 5월 16일 출원된 미국 가특허 출원 번호 제60/800,939호(이들 각각의 전문은 모든 목적을 위해 본원에서 참고로 인용된다)에 대한 우선권을 주장한다. 본 출원은 2006년 3월 24일 출원된 출원 제11/389,409호(그의 전문이 본원에서 참고로 인용된다)에 관한 것이다.

배경 기술

인플루엔자("독감")는 새 및 포유동물을 포함하는, 매우 다양한 숙주에 위해를 가할 수 있는 감염성 질환이다. 독감은 오르토믹소비리다에(*orthomyxoviridae*) 과(일반적으로 A형, B형, 및 C형 인플루엔자 바이러스를 포함한다)의 RNA 바이러스에 의해 유발된다. 조류 독감은 새에 적응된 상기 과의 바이러스에 의해 유발되는 바, 따라서, 이는 또한 새 독감, 조류 인플루엔자, 또는 새 인플루엔자로도 명명된다. 현재 전국적으로 유행하는 위협은 아시아 및 유럽에서 인플루엔자 바이러스의 H5N1 균주의 전례없는 발발에서 기인한다. 이러한 균주는 새 및 포유동물을 포함하는, 매우 광범위한 숙주를 돌연변이화시키고, 그 자신에게 적응시키는 능력을 갖는다. 국토 안보 위원회(Homeland Security Council)는 2005년 11월 현재 전국적으로 유행하는 위협에 대한 반응으로 "전국적으로 유행하는 "인플루엔자에 대한 국가 전략(National Strategy for Pandemic Influenza)"("전략(The Strategy)")을 발행하였다. 상기 발안의 중요 부분은 환자 및 새에서 조류 독감을 신속하게 확인하는 것에 중점을 두고 있다. 상기 전략법은 조류 독감의 감시와 검출을 개선시키고자 한다.

2005년 11월 현재, 조류 독감의 전국적으로 유행하는 위협을 유발하는 바이러스가 4개국에서 121명의 사람을 감염시켰으며, 결국에는 지난 2년간에 걸쳐 62명을 사망시킨 것으로 알려졌다. 거의 모든 사례에서, H5N1로 감염된 사람은 감염된 새와 넓은 범위에 걸친 신체 접촉을 가졌다. 바이러스가 인간 사이에서 전염시킬 수 있는 능력을 아직까지는 나타내지 않았지만, 해마다 인간 인플루엔자 바이러스가 유행하는 것으로 보여지는 바, 이는 유전자 돌연변이 또는 인간 인플루엔자 바이러스에 의한 유전 물질의 교환을 통해 상기와 같은 능력을 습득하게 될 것이라는 심각한 문제를 일으킨다.

인플루엔자는 매년 미국에서만 대략 36,000명을 사망에 이르게 하였고, 200,000명 이상을 입원시켰으며, 미국에서 해마다 100억 달러 이상의 비용 손실을 가져왔다. 또한, 지난 1918년, 1957년, 및 1968년의 3번의 세계적인 유행병으로 인하여 각각 4억, 200만 및 100만명의 사람이 전세계적으로 사망하였다.

[0006] 질환의 만연을 포함하도록 유행병을 조기에 경고할 수 있는 조류 독감의 존재 여부를 정확하고 신속하게 검출할 수 있는 장치 및 방법이 절실히 필요하다. 이상적인 시스템은 (1) 상기 장치로부터 데이터를 검색, 전송, 및 분석할 수 있을 것이며; (2) 보건 관계자 및 국가 공무원에게 실시간 경고 시스템을 제공할 것이다. 본 발명은 이러한 필요 사항을 충족시켜 주며, 관련된 잇점을 제공한다.

발명의 내용

[0007] 본 발명은 피험체로부터 얻은 체액 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물을 검출하는 시스템을 제공한다. 본 시스템은 전형적으로 a) 샘플 수집 유닛 및 분석 조립체를 포함하는 유체 장치로서, 여기서, 상기 샘플 수집 유닛은 상기 피분석물을 함유할 것으로 추측되는 체액 샘플을 상기 분석 조립체 내에 함유되어 있는 반응물과 반응시켜 상기 피분석물의 존재를 나타내는 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 것인 유체 장치; b) 상기 검출 가능한 신호를 검출하기 위한 검출 조립체를 포함하는 판독기 조립체; 및 c) 외부 장치로 상기 검출된 신호를 전송하기 위한 연통 조립체를 포함한다. 본 시스템은 인플루엔자 A형, B형, 및/또는 C형 바이러스 감염을 검출할 수 있다. 일반적으로, 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질을 포함할 수 있는데, 이는 헤마글루티닌(예를 들면, H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16) 및/또는 뉴라미니다제 (예를 들면, N1, N2, N3, N4 및 N5)일 수 있다. 체액은 인간, 가금류 및 야생새로 구성된 군으로부터 선택되는 피험체로부터 추출될 수 있다.

[0008] 본 발명은 또한 피험체로부터 얻은 체액 중, 적어도 2개가 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 복수개의 피분석물을 검출하는 시스템을 제공한다. 본 시스템은 전형적으로 a) 샘플 수집 유닛 및 분석 조립체를 포함하는 유체 장치로서, 여기서, 상기 샘플 수집 유닛은 복수개의 피분석물을 함유할 것으로 추측되는 체액 샘플을 상기 분석 조립체 내에 함유되어 있는 반응물과 반응시켜 상기 적어도 2개의 피분석물의 존재를 나타내는 하나 이상의 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 것인 유체 장치; b) 상기 하나 이상의 검출 가능한 신호를 검출하기 위한 검출 조립체를 포함하는 판독기 조립체; 및 c) 외부 장치로 상기 검출된 신호를 전송하기 위한 연통 조립체를 포함한다.

[0009] 본 발명은 추가로 본 대상 시스템을 사용하는 방법을 제공한다. 하나의 측면에서, 본 발명은 피험체의 체액 중 인플루엔자 감염을 나타내는 피분석물을 검출하는 방법을 제공한다. 본 방법은 a) 대상 시스템을 제공하는 단계; b) 체액 샘플을 상기 분석 조립체 내에 함유되어 있는 반응물과 반응시켜 상기 피분석물의 존재를 나타내는 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 단계; 및 c) 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계를 포함한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 a) 적어도 하나의 샘플 수집 유닛, 면역분석 시약을 함유하는 면역분석 조립체, 상기 샘플 수집 유닛 및/또는 상기 면역분석 조립체와 유체 연통하는 복수개의 채널을 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; b) 상기 유체 장치를 작동시켜 상기 유체 장치 내의 상기 면역분석 시약을 송류(direct)하는 단계; c) 상기 피분석물을 함유할 것으로 추측되는 체액 샘플을 상기 분석 면역분석 조립체 내에 함유되어 있는 상기 면역분석 시약과 반응시켜 상기 샘플 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 상기 피분석물의 존재를 나타내는 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 단계; 및 d) 상기 체액 샘플에서 수집된 상기 피분석물로부터 생성된 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계를 포함한다. 바람직한 경우, 상기 검출에 사용되는 체액 샘플은 약 500 μ l 미만이다. 각종 인플루엔자 바이러스 감염이 검출될 수 있다. 이는 인플루엔자 A형, B형, 및 C형 바이러스 감염을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0010] 본 발명은 추가로 피험체로부터 얻은 샘플 중, 적어도 2개가 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 복수개의 피분석물을 검출하는 방법을 제공한다. 본 방법은 a) 적어도 하나의 샘플 수집 유닛, 면역분석 시약을 함유하는 면역분석 조립체, 상기 샘플 수집 유닛 및/또는 상기 면역분석 조립체와 유체 연통하는 복수개의 채널을 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; b) 상기 유체 장치를 작동시켜 상기 유체 장치 내의 상기 면역분석 시약을 송류하는 단계; c) 상기 복수개의 피분석물을 함유할 것으로 추측되는 체액 샘플을 상기 분석 면역분석 조립체 내에 함유되어 있는 상기 면역분석 시약과 반응시켜 상기 샘플 중 상기 적어도 2개의 피분석물의 존재를 나타내는 하나 이상의 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 단계; 및 d) 상기 체액 샘플에서 수집된 상기 복수개의 피분석물로부터 생성된 상기 하나 이상의 검출 가능한 신호를 검출하는 단계를 포함한다.

[0011] 인플루엔자 바이러스 감염의 유형을 검출하는 유체 장치 또한 본 발명에서 제공된다. 유체 장치는 복수개의 반응물 중 적어도 2개는 피험체로부터 얻은 체액 중에 존재하는 상이한 피분석물과 반응성이며, 여기서, 상기 상이한 피분석물이 인플루엔자 감염 유형을 나타내는 것인, 복수개의 반응물을 포함하는 카트리지를 포함한다. 하나의 측면에서, 적어도 2개의 반응물은 각각 인플루엔자 바이러스의 상이한 표면 당단백질에 결합한다. 상이한 표면 당단백질은 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제로 구성된 군으로부터 선택된 구성원일 수 있다. 하기의 표면 당

단백질 중 임의의 2개는 적어도 2개의 반응물의 표적 피분석물: 헤마글루티닌 1, 헤마글루티닌 2, 헤마글루티닌 3, 헤마글루티닌 4, 헤마글루티닌 5, 헤마글루티닌 6, 헤마글루티닌 7, 헤마글루티닌 8, 헤마글루티닌 9, 헤마글루티닌 10, 헤마글루티닌 11, 헤마글루티닌 12, 헤마글루티닌 13, 헤마글루티닌 14, 헤마글루티닌 15, 헤마글루티닌 16, 뉴라미니다제 1, 뉴라미니다제 2, 뉴라미니다제 3, 뉴라미니다제 4 및 뉴라미니다제 5일 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 적어도 2개의 반응물 중 하나는 헤마글루티닌 5에 결합하고, 나머지 하나는 뉴라미니다제 1에 결합한다. 바람직한 경우, 카트리지는 추가로 샘플 수집 유닛 및 분석 조립체를 포함할 수 있다. 몇몇 측면에서, 분석 조립체는 면역반응물을 포함하는 면역분석 조립체이다.

[0012] **참고 문헌 인용**

[0013] 본 명세서에서 언급된 모든 간행물 및 특허 출원은 각각의 개별 간행물 또는 특허 출원이 구체적이고 개별적으로 본원에 참고로 인용되는 것으로 나타난 바와 같이 본원에서 참고로 인용된다.

도면의 간단한 설명

[0014] 본 발명의 신규한 특징은 첨부한 특허 청구 범위에 개시된다. 본 발명의 원리가 사용된 예시적인 실시태양을 개시하는 하기의 상세한 설명과, 하기 첨부 도면을 참고함으로써 본 발명의 특징 및 잇점을 더 잘 이해할 수 있을 것이다.

도 1은 본 시스템의 복수의 구성 요소를 나타내는 하나의 실시태양이다.

도 2는 조립하기 전의 대표적인 유체 장치의 상이한 층들을 나타낸다.

도 3 및 4는 대표적인 유체 장치 내의 유체 네트워크를 도시한다.

도 5는 본 발명의 대표적인 시약 챔버의 상면도, 측면도, 및 하면도를 나타낸다.

도 6은 유체 장치와 유체 연통된 시약 챔버의 대표적인 측면도를 도시한다.

도 7은 시약으로 충전된 대표적인 시약 챔버를 도시한다.

도 8 및 9는 판독기 조립체의 작동 소자와 조합된 대표적인 유체 장치의 측면도를 도시한다.

도 10은 2 단계 분석법과 경쟁 결합 분석법의 비교를 보여준다.

도 11은 대표적인 2 단계 화학발광 효소 면역분석법을 나타낸다.

도 12는 2 단계 화학발광 효소 면역분석법의 민감도 증가를 나타낸다.

도 13은 덜 이상적인 샘플을 분석하고 바람직한 민감도를 유지할 수 있는 TOSCA의 능력을 보여준다.

도 14는 대표적인 ELISA를 나타낸다.

도 15는 바이러스에 대한 대표적인 ELISA를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 본 발명의 하나의 측면은 체액 샘플 중에 존재하는 인플루엔자 바이러스 감염의 존재를 나타내는 피분석물을 검출하는 시스템이다. 피분석물은 인플루엔자 A형, B형, 및/또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 적어도 하나의 표면 당단백질을 포함할 수 있다. 대표적인 표면 당단백질은 제한없이 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제이다. 헤마글루티닌 표면 단백질로는 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 비제한적인 뉴라미니다제 표면 단백질로는 N1, N2, N3, N4 및 N5를 포함한다. 피분석물은 또한 감염된 숙주에 의해 생성된 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질에 대한 항체를 포함할 수 있다.

[0016] 본 발명의 또다른 측면은 체액 샘플 중에 존재하는, 적어도 2개가 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 복수개의 피분석물을 검출하는 시스템이다. 유사하게, 피분석물은 인플루엔자 A형, B형, 및/또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 복수개의 표면 당단백질을 포함할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 복수개의 표면 당단백질은 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제를 포함할 수 있다. 헤마글루티닌은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 뉴라미니다제는 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 헤마글루티닌은 H5이고, 뉴라미니다제는 N1이다. 피분석물은 또한 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질에 대해 특이적인 복

수개의 항체일 수 있다. 본 시스템은 특히 관심의 대상이 되는 피분석물을 검출하고/하거나 정량할 수 있다.

- [0017] 본 발명의 하나의 추가적인 측면은 예로서, 바이러스 입자 또는 세포 또는 세포 단편과 같은 단일 실체로 혼입된 복수개의 피분석물을 검출하는 시스템이다. 이러한 측면에서, 복수개의 피분석물은 바람직하게는 체액 샘플 중의 피분석물의 조합(이 중 적어도 2개는 인플루엔자 바이러스 감염을 나타냄)이다. 피분석물은 인플루엔자 A형, B형, 또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 복수개의 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질의 조합을 포함할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 복수개의 피분석물은 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 조합을 포함하는 표면 당단백질의 조합일 수 있다. 헤마글루티닌은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 뉴라미니다제는 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 피분석물의 조합은 예로서, H5N1 조합과 같은 병독성 인플루엔자 균주와 결합한다. 본 발명의 이러한 측면은 복수개의 피분석물의 조합을 검출하는데 특이적이다. 이는 예로서 H5N1의 조합과 같은 병독성 균주에 의한 감염과, 상이한 피분석물의 조합에 의한 추정 감염을 식별할 수 있다. 본 발명의 이러한 측면의 한가지 변형은 하나 이상의 바이러스 항원에 반응성인 하나 이상의 반응물(예를 들면, 항-바이러스 표면 당단백질 항체)을 사용하여 반응 부위에 있는 바이러스 입자를 포획한 후, 또 다른 세트의 반응물(하나 또는 다수의 반응물 중 하나)을 적용시켜 결합된 바이러스 입자를 특이적으로 검출하는 것이다. 하나의 대표적인 셋업은 포획 항체로서 항-H2 항체를, 그리고 검출 시약으로서 항-N5 항체, 바람직하게는 효소-표지된 항-N5 항체를 사용할 것이다.
- [0018] 몇몇 실시태양에서, 본 시스템은 예로서, 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질에 대한 항체와 같이 바이러스 항원에 대한 복수개의 인간 항체를 검출한다. 이러한 인간 항체는 감염된 피험체에서 순환되는 것일 수 있다.
- [0019] 몇몇 실시태양에서, 관심의 대상이 되는 피분석물은 본원에 기술된 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 임의의 피분석물일 수 있지만, H5 헤마글루티닌, N1 뉴라미니다제, 또는 H5와 N1 표면 당단백질의 H5N1 복합체가 바람직하다.
- [0020] 본 발명의 추가의 측면은 적어도 하나의 피분석물이 체액 샘플 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내고, 적어도 하나의 피분석물이 바이러스 감염에 의해 인체에 부과된 스트레스를 나타내는 체액 샘플 중의 바이오마커인 복수개의 피분석물을 검출하는 시스템이다. 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 적어도 하나의 피분석물은 본원에 기술된 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 임의의 피분석물일 수 있다. 바이러스 감염에 의해 인체에 부과된 스트레스를 나타내는 대표적인 바이오마커로는 제한없이 CRP, TNF α , 인터루킨 등을 포함한다.
- [0021] 본 대상 시스템은 전형적으로 하기 구성 요소들: 샘플 수집 유닛, 분석 조립체, 판독기 조립체, 및 연통 조립체 중 하나 이상을 갖는 유체 장치를 포함한다. 샘플 수집 유닛은 전형적으로 관심의 대상이 되는 피분석물의 존재를 나타내는 신호를 생성하도록 피험체로부터 수집된 체액 샘플이 분석 조립체내 함유되어 있는 반응물과 반응할 수 있게 한다. 판독기 조립체는 신호를 검출하고, 이어서, 상기 신호는 연통 조립체를 통해 추가의 공정 처리를 위해 외부 장치로 전송된다.
- [0022] 관심의 대상이 되는 피분석물을 함유할 것으로 추측되는 임의의 체액은 본 대상 시스템 또는 장치와 함께 사용될 수 있다. 보편적으로 사용되는 체액은 혈액, 혈장, 혈액 혈청, 타액, 뇨, 위액 및 소화액, 눈물, 대변, 정액, 질액, 간질액 및 뇌척수액을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 바람직한 실시태양에서, 체액은 추가의 공정 처리없이 그에 존재하는 피분석물을 본 대상 유체 장치로 검출하는데 직접 사용된다. 그러나, 바람직한 경우, 체액은 본 대상 유체 장치로 분석을 실시하기 이전에 전처리될 수 있다. 최적의 전처리 방법은 사용되는 체액 유형 및/또는 조사 중인 피분석물의 성질에 따라 달라질 것이다. 예를 들면, 피분석물이 체액 샘플 중에 낮은 수준으로 존재할 경우, 샘플은 피분석물을 강화시키는 임의의 종래 수단을 통해 농축될 수 있다. 피분석물을 농축시키는 방법으로는 건조, 증발, 원심분리, 침강, 침전, 및 증폭을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 피분석물이 핵산일 경우, 이는 문헌 [Sambrook et al. ("Molecular Cloning: A Laboratory Manual")]에 기재된 방법에 따라 다양한 용해 효소 또는 화학 용액을 사용하거나, 제조품에 제공되는 첨부 설명서에 따라 핵산 결합 수지를 사용하여 추출할 수 있다. 피분석물이 세포 상에 또는 세포내 존재하는 분자일 경우, 예로서, SDS와 같은 변성 세정제, 또는 예로서, 테시트(Thesit)[®] 나트륨 데옥시콜레이트, 트리톤(Triton)[®]-100 및 트윈(TWEEN)[®] 20과 같은 비변성 세정제를 포함하나, 이에 한정되지 않는 용해제를 사용하여 추출을 실시할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 샘플을 전처리하는 것은 유체 장치내에서 자동으로 수행된다.
- [0023] 본 발명의 유체 장치와 함께 사용하고자 하는 체액의 부피는 일반적으로 약 500 μ l 미만, 전형적으로 약 1 내지 100 μ l 사이이다. 바람직한 경우, 본 대상 유체 장치를 사용하여 피분석물을 검출하기 위해서는 1 내지 50 μ l,

또는 1 내지 10 μl 의 샘플이 사용될 수 있다.

- [0024] 본 발명의 잇점은 동물에서 관심의 대상이 되는 피분석물을 검출하는데에 단지 극소량의 혈액이 필요하다는 점이다. 몇몇 실시태양에서, 약 1 μl 내지 약 50 μl 사이의 양을 추출한다. 바람직한 실시태양에서, 약 1 μl 내지 10 μl 사이의 양을 추출한다. 바람직한 실시태양에서, 약 5 μl 의 혈액을 피험체로부터 추출한다.
- [0025] 체액을 피험체로부터 추출할 수 있고, 랜싱(lancing), 주사, 또는 피펫팅을 포함하나, 이에 한정되지 않는 각종 방법을 사용하여 유체 장치내로 들여올 수 있다. 하나의 실시태양에서, 란셋은 피부를 천공시키고, 예를 들면, 중력, 모세관 작용, 흡인, 또는 진공력을 사용함여 유체 장치내로 샘플을 추출한다. 란셋은 유체 장치의 부분, 또는 판독기 조립체의 부분일 수 있거나, 표준 단독 구성 요소일 수 있다. 필요한 경우, 란셋은 각종의 기계적 메커니즘, 전기적 메커니즘, 전자기적 메커니즘, 또는 임의의 기타 공지 활성화 메커니즘, 또는 상기 방법의 조합에 의해 활성화될 수 있다. 또다른 실시태양에서, 비활성 메커니즘이 요구되는 경우, 예를 들면, 타액 샘플과 함께 발생할 수 있는 바, 피험체는 간단히 유체 장치에 체액을 제공할 수 있다. 수집한 체액을 유체 장치 내의 샘플 수집 유닛에 놓을 수 있다. 추가의 또다른 실시태양에서, 유체 장치는 피부를 천공시키는 적어도 하나의 미세바늘을 포함한다. 미세바늘은 단독으로 유체 장치와 함께 사용될 수 있거나, 유체 장치가 판독기 조립체내로 삽입된 후에 피부를 천공시킬 수 있다.
- [0026] 몇몇 실시태양에서, 미세바늘은 대략 인간 모발의 크기이고, 통합된 미세저장소 또는 큐벳을 갖는다. 미세바늘은 통증없이 피험체의 피부를 관통하여 미량의 혈액 샘플을 추출한다. 더욱 바람직하게, 미세바늘은 약 0.01 내지 약 1 μl , 바람직하게는 0.05 내지 약 0.5 μl , 더욱 바람직하게는 약 0.1 내지 약 0.3 μl 의 모세관 혈액을 수집한다. 몇몇 실시태양에서, 미세바늘은 실리콘으로 구성되고, 그의 직경은 약 10 내지 약 200 마이크로, 바람직하게는 약 50 내지 약 150 마이크로, 및 가장 바람직하게는 100 마이크로이기 때문에 실질적으로 통증없이 이를 피부에 사용할 수 있다. 바늘이 모세관을 실질적으로 찌르는 것을 보장하기 위하여, 복수개의 미세바늘이 샘플 수집을 위해 사용될 수 있다. 상기 미세바늘은 펠리칸(Pelikan)(캘리포니아주, 팔로 알토 소재) 및/또는 쿠메트릭스(Kumetrix)(캘리포니아주, 유니온 시티 소재)에 의해 시판되는 유형일 수 있다. 미국 특허 번호 제 6,503,231호는 본 발명과 함께 사용된 미세바늘을 개시한다.
- [0027] 본원에 개시되어 있는 미세바늘의 제조에서 사용될 수 있는 미세제작법은 리소그래피; 에칭 기법, 예로서, 습식 화학적 에칭 기법, 건식 에칭 기법, 및 광절연체 제거; 실리콘의 열적 산화; 전기도금 및 무전해 도금; 확산 공정, 예로서, 붕소, 인, 비소, 및 안티몬의 확산; 이온 주입; 필름 증착, 예로서, 증발(필라멘트, 전자빔, 플래시, 및 차폐성 및 도포성(step coverage)), 스퍼터링, 화학 기상 증착(CVD: chemical vapor deposition), 적층 성장(증기상, 액상, 및 분자빔), 전기도금, 스크린 인쇄, 및 적층을 포함한다. 일반적으로 문헌 ([Jaeger, Introduction to Microelectronic Fabrication (Addison-Wesley Publishing Co., Reading Mass. 1988)]; [Runyan, et al., Semiconductor Integrated Circuit Processing Technology (Addison-Wesley Publishing Co., Reading Mass. 1990)]; [Proceedings of the IEEE Micro Electro Mechanical Systems Conference 1987-1998]; [Rai-Choudhury, ed., Handbook of Microlithography, Micromachining & Microfabrication (SPIE Optical Engineering Press, Bellingham, Wash. 1997)])을 참조한다. 별법으로, 바늘을 실리콘 웨이퍼 내에서 주조한 후, 니켈, 금, 티타늄 또는 다양한 기타 생체적합성 금속을 사용한 종래 와이어 커팅 기법을 이용하여 플레이팅시킨다. 몇몇 실시태양에서, 바늘은 생중합체로부터 형성될 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 미세바늘은 문헌 [Mukerjee et al., Sensors and Actuators A: Physical, Volume 114, Issues 2-3, 1 Sep. 2004, Pages 267-275]의 방법에 따라 제작되어 청구된 장치에 사용될 수 있다.
- [0028] 바람직한 실시태양에서, 미세바늘은 1회만 사용한 후, 폐기처분한다. 몇몇 실시태양에서, 기계식 작동기는 미세바늘을 삽입하고 피험체로부터 미세바늘을 회수하고, 사용한 바늘은 폐기처분하고, 새로운 바늘을 재로딩할 수 있다. 극소형의 디스크 드라이브에 대하여 매우 큰 부피로 개발되고 제작된 기계적 기술은 유사한 작동 세트를 갖고, 저렴한 비용의 요건을 갖는다. 바람직한 실시태양에서, 작동기는 반도체 유사 배치 공정을 사용하여 제작된 MEMS(마이크로 규격의 전자기계적 시스템: micro machined electromechanical system) 장치이다. 그러한 작동기는 제한없이 니켈 티타늄 합금, 뉴마틱(neumatic) 또는 압전 전기 장치를 포함한다. 몇몇 실시태양에서, 미세바늘의 두께는 약 1 마이크로 내지 약 10 마이크로, 바람직하게, 약 2 마이크로 내지 약 6 마이크로, 및 가장 바람직하게 약 4 마이크로이다. 몇몇 실시태양에서, 미세바늘의 높이는 약 10 마이크로 내지 약 100 마이크로, 바람직하게 약 30 마이크로 내지 약 60 마이크로, 및 가장 바람직하게 약 40 마이크로이다.
- [0029] 도 1은 본 발명의 대표적인 시스템을 도시한다. 도시한 바와 같이, 유체 장치는 피험체로부터 얻은 체액을 제공하고, 판독기 조립체내로 삽입될 수 있다. 유체 장치는 각종 외형을 취할 수 있으며, 몇몇 실시태양에서, 유체

장치는 카트리지 형태일 수 있다. 식별자(ID: identifier) 검출기는 유체 장치 상의 식별자를 검출할 수 있다. 식별자 검출기는 제어 장치를 통해 외부 장치로 식별자를 제공하는 연통 조립체와 연통하도록 된다. 바람직한 경우, 외부 장치는 식별자에 기초하여 외부 장치에 저장된 프로토콜을 연통 조립체에 전송한다. 유체 장치 상에서 실행되는 프로토콜은 실행되는 특정 분석법 및 실시되는 검출 방법을 포함하나, 이에 한정되지 않는 유체 장치 상에서 프로토콜을 실시하기 위한 판독기 조립체의 제어 장치에 관한 명령을 포함할 수 있다. 일단 분석법이 유체 장치상에서 실시되면, 체액 샘플 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물을 나타내는 신호가 생성되고, 이는 검출 조립체에 의해 검출된다. 이어서, 검출된 신호는 연통 조립체로 전송될 수 있고, 여기서 검출된 신호는 제한없이 샘플 중 피분석물의 농도 산출 또는 피분석물의 존재 여부 측정을 비롯한 프로세싱을 위해 외부 장치로 전달될 수 있다.

[0030] 도 2는 하기에 보다 상세한 설명으로 개시되는 유체 장치 조립체에 앞서, 본 발명에 따른 유체 장치의 대표적인 층들을 도시한다. 도 3 및 4는 장치를 조립한 이후 대표적인 유체 장치의 상면도 및 하면도를 각각 나타낸다. 3차원 유체 채널 네트워크를 형성하기 위해 상이한 층들이 디자인되고 조립된다. 샘플 수집 유닛(4)은 피험체로부터 얻은 체액 샘플을 제공한다. 하기에 추가 설명으로 설명되는 바, 판독기 조립체는, 체액 샘플의 흐름을 개시하고 유도하기 위해 유체 장치를 작동시킬 수 있고, 유체 장치내 시약을 분석할 수 있는 작동 소자(나타내지 않음)를 포함한다. 몇몇 실시태양에서, 작동 소자는 먼저 유체 장치(2)내의 샘플이 샘플 수집 유닛(4)으로부터 반응 부위(6)로 흐르게 하고, 샘플을 유체 장치에서 위쪽으로 G'점으로부터 G점으로, 이어서, 폐기물 챔버(8)로 이동시킨다. 이어서, 작동 소자는 시약 챔버(10)로부터 B'점으로, C'점으로, 및 D'점으로, 이어서, 위쪽의 B점으로, C점으로, 및 D점으로 각각, 이어서, A점으로, 아래로 A'점으로, 이어서, 시약을 샘플과 동일한 방식으로 폐기물 챔버(8)로 흐르게 한다.

[0031] 유체 장치(2) 중 샘플 수집 유닛(4)은 상기 기술된 방법들 중 어느 것에 의해 피험체로부터 얻은 체액 샘플을 제공할 수 있다. 필요하다면, 샘플을 먼저 회석 챔버에서 체액을 회석시킴으로써 공정처리할 수 있고/거나, 여과 챔버에서 혈장을 적혈구 세포로부터 분리시킴으로써 여과시킬 수 있다. 몇몇 실시태양에서 샘플 수집 유닛, 회석 챔버, 및 여과 챔버는 동일한 구성 요소일 수 있고, 몇몇 실시태양에서는 상이한 구성 요소일 수 있거나, 임의의 2개는 동일한 구성 요소일 수 있고, 나머지는 별도의 구성 요소일 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 유체 장치 중 1 초과 샘플 수집 유닛이 존재할 수 있다.

[0032] 몇몇 실시태양에서, 세포 또는 바이러스 표면 상에, 세포 또는 바이러스 막 내에, 또는 세포 내에 있는 피분석물의 존재를 검출하는 것이 바람직할 수 있다. 그러한 피분석물을 검출하는 것의 어려움은 세포 및 형성된 다른 요소가 미립자이고, 용액 중의 피분석물과 작용하도록 디자인된 종래의 분석 화학 물질과 세포 구성 요소들이 용이하게 상호작용하지 못한다는 점이다. 세포-표면 피분석물은 표면 결합된 프로브와 천천히 그리고 비효율적으로 반응하고, 세포 내에 있는 피분석물은 결합된 프로브와는 결코 반응하지 못할 수 있다. 그러한 피분석물이 검출될 수 있도록 하기 위해, 몇몇 실시태양에서 유체 장치는 체액 샘플 중에 존재하는 세포를 용해시키는 용해 조립체를 포함할 수 있다. 용해 조립체는 샘플 수집 유닛, 회석 챔버, 및/또는 여과 챔버와 함께 통합될 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 샘플 수집 유닛, 회석 챔버, 및 용해 구성 요소는 유체 장치 중 동일 소자내 존재한다. 몇몇 실시태양에서, 용해 구성 요소는 하기 기술되는 분석 시약과 함께 통합될 수 있다.

[0033] 바람직한 경우, 용해제는 다공성 매트, 유리 섬유 매트, 소결 프릿 또는 입자, 예로서, 포렉스(Porex), 종이, 또는 다른 유사 물질 내에 스며들게 한 후 건조시킬 수 있다. 용해제를 편평한 표면 상에서 건조시킬 수 있다. 용해제를 또한 액상 회석제 또는 기타 시약에 용해시킬 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 다공성 물질은 용해제를 건조 상태로 매우 안정적으로 저장할 수 있다는 점에서 용해제를 저장하는데 다공성 물질이 사용된다. 이들 다공성 물질은 또한 체액 샘플이 다공성 물질을 통과해 지나갈 때에 샘플을 위해 구불구불한 경로를 제공하기 때문에 체액 샘플과 용해제의 혼합을 촉진시킨다. 바람직한 실시태양에서, 그러한 다공성 물질은 직경이 두께보다 더 큰 디스크 형상을 갖는다. 몇몇 실시태양에서, 용해제는 동결건조, 수동적 증발, 고온의 건조 유동 가스에 대한 노출 또는 기타 공지의 방법을 사용하여 다공성 물질 상에서 건조될 수 있다.

[0034] 각종 용해제가 당업계에서 이용가능하고, 본 대상 유체 장치와 관련하여 사용하기에 적합하다. 바람직한 용해제는 예로서, 비변성 세정제와 같은 비변성의 것이다. 비변성 세정제의 비제한적인 예로서 데시트[®] 나트륨 테옥시콜레이트, 트리톤[®]-100 및 트윈[®] 20을 포함한다. 상기 제제가 고체 다공성 물질로 주입되는 실시태양에서는 상기 제제가 비휘발성인 것이 바람직하다. 몇몇 실시태양에서, 용해제는 함께 혼합된다. 용해 효과를 개질시키기 위해 용해제와 함께 기타 물질을 혼합할 수 있다. 그러한 대표적인 물질은 제한없이, 완충제, 염, 및 단백질일 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 용해제는 세포를 용해시키는데 필요한 최소량을 초과하는 양으로 사용될 것이

다. 몇몇 실시태양에서, 혈액구 및 적혈구, 둘 모두를 용해시킬 수 있는 용해제가 사용될 것이다.

- [0035] 본 발명의 잇점들 중 하나는 본 발명에 따른 유체 장치 상에서 분석법을 실시하는데 필요한 임의 시약이 바람직하게는 분석 이전에, 분석 중에, 및 분석 이후에 유체 장치내 내장되어 있거나 하우징되어 있다는 점이다. 이러한 방식에 있어서, 유체 장치에서 단지 하나의 유입구 또는 유출구가 유체 장치에 의해 처음에 제공되는 체액 샘플을 위해 바람직하다. 이러한 디자인은 또한 모든 유체 또는 액체가 장치내 남아있는, 처리가 용이한 유체 장치 생산에 도움을 준다. 내장형 디자인은 또한 유체 장치로부터, 유체 장치로부터의 오염이 남지 않아야 하는 관독기 조립체내로의 누설을 막는다.
- [0036] 바람직한 실시태양에서, 적어도 하나의 시약 챔버가 존재한다. 몇몇 실시태양에서, 본 발명의 목적을 이행하는데 필요한 만큼 2, 3, 4, 5, 6개 이상, 또는 임의 갯수의 시약 챔버가 존재할 수 있다. 시약 챔버는 바람직하게 적어도 하나의 반응 부위와 유체 연통하며, 유체 장치가 본원에 기술된 바와 같이 작동하는 경우, 상기 시약 챔버에 함유되어 있는 시약은 유체 장치내 유체 채널로 방출된다.
- [0037] 본 발명에 따른 시약은 제한없이 세척 완충액, 효소 기질, 희석 완충액, 접합체, 효소 표지된 접합체, 샘플 희석제, 세척액, 예로서, 세정제와 같은 첨가물을 포함하는 샘플 전처리 시약, 중합체, 킬레이트제, 알부민 결합 시약, 효소 저해제, 효소, 항응고제, 적혈구 응집제, 항체, 또는 유체 장치 상에서 분석을 실시하는데 필요한 기타 물질을 포함한다. 효소 접합체는 적절한 기질과 반응할 때 검출 가능한 신호를 산출할 수 있는 효소로 표지되어 있는 폴리클로날 항체 또는 모노클로날 항체일 수 있다. 그러한 효소의 비제한적인 일례로는 알칼리성 포스파타제 및 호스래디쉬 퍼옥시다제가 있다. 몇몇 실시태양에서, 시약은 면역분석 시약을 포함한다.
- [0038] 몇몇 실시태양에서, 시약 챔버는 대략적으로 약 50 μ l 내지 약 1 ml의 유체를 함유한다. 몇몇 실시태양에서, 챔버는 약 100 μ l의 유체를 함유할 수 있다. 시약 챔버내 액체의 부피는 실시되는 분석 유형 또는 제공되는 체액 샘플에 따라 달라질 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 시약은 처음에는 건식 저장시키고, 유체 장치 상에서 실시되는 분석법을 개시할 때 액화된다(예를 들면, 용해되거나 용융된다).
- [0039] 도 5 및 6은 밀봉된 시약 챔버의 대표적인 실시태양을 도시한다. 도 5는 시약 챔버의 상면도, 측면도, 및 하면도를 나타낸다. 상부층(11)은 복수개의 블리스터 또는 파우치(13)를 함유한다. 하부층(15)은 도 6에 나타난 바와 같은 유체 장치 기부(17)에 결합되어 있는 하부 표면을 갖는다. 하부층(15)은 전체 표면에 두루 분산되어 있는 복수개의 유체 채널(19)을 갖는데, 각 채널은 하부층(15)을 횡단한다. 시약 챔버내 유체는 유체 채널(19)과 챔버(13) 사이에 있는 가압 파열성 밀봉재(21) 내에 함유된다. 파열성 밀봉재(21)는 소정의 압력하에서 밀봉재가 파열되어 챔버(13)내 유체가 유체 채널(19) 내로 유출될 수 있도록 디자인된 것이다.
- [0040] 도 7은 예를 들면, 시약으로 시약 챔버(13)를 충전시키는 대표적인 공정을 나타낸다. 충전 채널 및 진공 흡인 채널을 사용하여 시약 챔버(13)를 유체로 충전시킬 수 있다. 시약을 충전시키는 공정은 먼저 챔버에서 모든 공기를 제거하는 단계를 포함한다. 이는 진공 흡인 채널을 통해 진공을 흡인함으로써 수행된다. 일단 진공이 흡인되면, 충전 채널과 진공 흡인 채널 사이에 영구 밀봉재를 놓는다. 이어서, 충전 채널을 통해 챔버내로 필요한 시약을 분배한다. 이어서, 채널과 충전 채널 사이에 영구 밀봉재를 놓는다. 이는 챔버가 압착될 때에 유체가 파열성 밀봉재를 향해 한 방향으로만 흐를 수 있게 한다. 압착으로 인하여 밀봉재의 파열 압력보다 더 큰 압력을 받을 경우, 밀봉재는 파열되어 유체는 유체 채널 안으로 흘러 들어간다.
- [0041] 도 8 및 9는 본원에 기술된 본원에 기술된 작동 소자의 작동에 의해 작동하는 유체 장치의 실시태양을 도시한다. 유체 장치(2)는 시약 챔버(10), 및 시약 챔버를 둘러싸는 파열성 호일(12) 층을 함유한다. 파열성 호일(12) 위는 미세유체 회로(14)의 일부이다. 인성을 갖지만 탄성중합성을 띤 상부 커버(16)는 유체 장치(2)의 상부층으로서 작용을 한다. 관독기 조립체는 밸브 작동 플레이트(18)를 포함한다. 상기 플레이트(18)에는 논코어링 니들(non-coring needle)(20)이 고정 부착되어, 플레이트가 하강할 때에 니들의 날카로운 날이 탄성중합성 커버(16)와 접촉하게 된다. 이 상부 커버는 또한 수분 불투과성 밀봉재로서 기능을 할 수 있는 가요성 실리콘 물질로 이루어질 수 있다. 이러한 실시태양은 또한 분석이 개시될 때까지 임의의 건조 시약으로부터 장치 내의 임의의 액상 시약을 분리시킴으로써 유체 장치로부터의 액체의 증발 및 누설에 대한 해결책을 제공한다.
- [0042] 바람직한 실시태양에서, 시약 챔버 및 샘플 수집 유닛은 결합된 프로브가 분석을 이용하여 체액 샘플 내의 관심의 대상이 되는 피분석물을 검출할 수 있는 반응 부위와 유체 연통하도록 연결되어 있다. 그러면, 반응 부위는 하기에서 상세하게 설명하는 검출 장치에 의해 검출될 수 있는 관심의 대상이 되는 피분석물의 존재를 나타내는 신호를 제공할 수 있다.
- [0043] 몇몇 실시태양에서, 반응 부위는 평평하지만, 각종 대안적인 표면 구조를 취할 수도 있다. 반응 부위는 바람직

하게 반응물이 고정될 수 있는 강성의 지지체를 형성한다. 반응 부위 표면은 또한 적절한 광흡수 특성을 제공하도록 선택된다. 예를 들면, 반응 부위는 작용기화된 유리, Si, Ge, GaAs, GaP, SiO₂, SiN₄, 변형된 실리콘, 또는 (폴리)테트라플루오로에틸렌, (폴리)비닐리덴플루오라이드, 폴리스티렌, 폴리카보네이트, 폴리프로필렌, 또는 그의 조합과 같은 매우 다양한 겔 또는 중합체 중 어느 하나일 수 있다. 본 발명에 따라 기타 적절한 물질이 사용될 수 있다.

[0044] 반응 부위에 고정된 반응물은 체액 샘플 내의 관심의 대상이 되는 피분석물을 검출하는데 유용한 임의의 것일 수 있다. 예를 들면, 그러한 반응물은 제한없이 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 항체, 세포막 수용체, 모노클로날 항체, 및 특정 피분석물과 반응하는 항원형을 포함한다. 특정 피분석물을 위해 특별히 개발된 폴리클로날 항체 및 모노클로날 항체의 숙주와 같은 다양한 시판 중인 시약이 사용될 수 있다.

[0045] 바람직한 부류의 반응물은 항체이다. 본원에서 사용되는 바, "항체"(상호교환적으로 복수형으로도 사용됨)는 면역글로불린 분자의 다양한 부위에 위치하는 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해 체액 중의 피분석물과 같은 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본원에서 사용되는 바, 상기 용어는 무손상 항체 뿐만 아니라, 그의 단편(예로서, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 단일 쇠(ScFv)), 그의 돌연변이체, 융합 단백질, 인간화된 항체, 및 필요한 특이성을 띤 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 기타 다른 구조를 포함한다.

[0046] 본 대상 방법 및 기기 및 장치는 시판 중이거나, 새로 생성된 항체 반응물을 사용할 수 있다. 폴리클로날 항체 및 모노클로날 항체를 생산하는 실험실용 방법은 당업계에 알려져 있다. 예를 들면, 문헌 [Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1988) and Sambrook et al. (1989)]을 참조한다. 간단히 말하면, 본 발명에 유용한 모노클로날 항체는 인플루엔자 바이러스의 항원을 예를 들면, 마우스 또는 래트와 같은 동물 내로 도입시킴으로써 생물학적으로 생산될 수 있다. 동물에서 항체 생산 세포를 단리시키고, 골수종 세포 또는 이종골수종 세포와 융합시킴으로써 하이브리드 세포 또는 하이브리도마를 생산한다.

[0047] 모노클로날 항체의 특정 이소타입은 최초 융합물로부터 선택함으로써 직접 제조할 수 있거나, 문헌 ([Stepleski et al. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82:8653] 또는 [Spira et al. (1984) *J. Immunol. Methods* 74:307])에 기재되어 있는 방법을 사용하여 부류 전환 변이체를 단리시키는 동족(sib) 선별 기법을 사용하여 상이한 이소타입의 모노클로날 항체를 분비하는 모체 하이브리도마로부터 이차적으로 제조할 수 있다.

[0048] 항체 반응물은 특정 분석 반응에 따라 적합한 검출 가능한 표지에 연결(즉, 접합)될 수 있다.

[0049] 몇몇 실시태양에서, 반응물은 인플루엔자 A형, B형, 또는 C형 바이러스 감염을 나타내는 피분석물을 검출한다. 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 적어도 하나의 표면 당단백질을 포함할 수 있다. 대표적인 표면 당단백질은 제한없이 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제이다. 헤마글루티닌 표면 단백질은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16을 포함한다. 뉴라미니다제 표면 단백질은 N1, N2, N3, N4 및 N5를 포함한다.

[0050] 몇몇 실시태양에서, 반응물은 체액 샘플 중, 적어도 2개가 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 복수개의 피분석물을 검출한다. 피분석물은 인플루엔자 A형, B형, 또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 피분석물은 복수개의, 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질을 포함할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 복수개의 표면 당단백질은 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제를 포함한다. 헤마글루티닌은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 뉴라미니다제는 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 헤마글루티닌은 H5이고, 뉴라미니다제는 N1이다.

[0051] 당업자라면, 반응이 이루어질 수 있는 지지체 상에 각종 반응물을 고정시키는 수많은 방식이 있다는 것을 이해할 것이다. 그러한 고정 방식은 링커 부분을 통한 공유 결합식 또는 비공유 결합식이거나, 고정 부분에 반응물을 결합시키는 방식일 수 있다. 상기 방법은 고상 합성 및 마이크로 어레이 분야에 널리 공지되어 있다(문헌 [Beier et al., *Nucleic Acids Res.* 27:1970-1-977 (1999)]). 핵산 또는 항체와 같은 단백질질 분자를 고체 지지체에 부착하기 위한 대표적인 결합 부분으로는 스트렙타비딘 또는 아비딘/비오틴 링커지, 카바메이트 링커지, 에스테르 링커지, 아마이드, 티올에스테르, (N)-작용기화 티오우레아, 작용기화 말레이미드, 아마노, 이황화물, 아마이드, 히드라존 링커지 등이 있으며 이들에 한정되지는 않는다. 또한, 실릴 부분이 당업계에 공지된 방법

을 사용하여 유리와 같은 기관에 직접 핵산을 부착시키는데 이용될 수 있다.

- [0052] 몇몇 실시태양에서, 동일한 체액 샘플로부터 다수의 관심의 대상이 되는 피분석물을 검출할 수 있도록 하는 하나 이상의 반응 부위가 존재한다. 몇몇 실시태양에서, 본 발명의 목적을 수행하는데 필요하다면, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 이상의 반응 부위 또는 임의의 기타 갯수의 반응 부위가 존재한다.
- [0053] 유체 장치에 다수의 반응 부위를 갖는 실시태양에서, 각 반응 부위는 다른 반응 부위에 있는 반응물과는 다른 반응물이 고정될 수 있다. 예를 들면, 3개의 반응 부위를 갖는 유체 장치에서, 3개의 상이한 프로브가 존재할 수 있으며, 각각은 샘플에서 3가지의 상이한 관심의 대상이 되는 피분석물에 결합되도록 상이한 반응 부위에 결합된다. 몇몇 실시태양에서, 예를 들면, 다중 검출 영역을 갖는 CCD가 검출 장치로서 사용되는 경우, 단일 반응 부위에 상이한 시약을 결합하여, 단일 반응 부위에서 다수의 상이한 피분석물을 검출할 수 있다. 각각의 반응 부위에서 다수의 상이한 프로브를 사용하는 것 외에도 다수의 반응 부위를 사용할 수 있는 능력은 본 발명의 처리량 특성을 높게 할 수 있다.
- [0054] 본 발명의 바람직한 실시태양에서, 유체 장치는 분석에서 사용된 모든 액체를 포착하거나 포획하는 적어도 하나의 폐기물 챔버를 포함한다. 바람직한 실시태양에서, 1 초과개의 폐기물 챔버가 존재하는데, 이중 적어도 하나는 본원 하기에 기술하는 보정 조립체와 함께 사용되는 것이다. 내장형 폐기물 챔버는 또한 상기 장치의 처리를 용이하게 한다. 폐기물 챔버는 바람직하게 적어도 하나의 반응 부위와 유체 연통한다.
- [0055] 이들 채널 중 적어도 하나의 횡단면의 크기는 전형적으로 작을 것이다. 몇몇 실시태양에서, 크기는 약 0.01 mm 내지 약 5 mm, 바람직하게, 약 0.03 mm 내지 약 3 mm, 더욱 바람직하게, 약 0.05 mm 내지 약 2 mm이다. 유체 장치내 유체 채널은 제한없이, 예를 들면, 본 발명의 목적을 수행하도록 정밀 사출 성형, 레이저 에칭 또는 기타 당업계에 공지된 기법에 의해 생성될 수 있다.
- [0056] 반응 부위에서 생성된 주어진 분석 반응(예를 들면, 광자 계수)이 샘플 중 관심의 대상이 되는 피분석물의 정확한 농도와 관련이 있음을 보장하기 위해, 바람직하게는 반응을 검출(예를 들면, 광자를 검출)하기 전에 유체 장치를 보정하는 것이 유리하다. 예를 들면, 제조 시점에 유체 장치를 보정하는 것은, 유체 장치가 사용전에 수송될 수 있을 뿐만 아니라, 온도 변화를 겪을 수 있어, 제조시에 실시된 보정이 유체 장치의 구조 및 그 안에 함유된 시약에 대하여 그 후에 발생하는 변화에 대해 어떠한 영향도 미치지 않기 때문에, 정확한 피분석물의 농도를 측정하는 것을 보장하기에는 불충분할 수 있다. 본 발명의 바람직한 실시태양에서, 유체 장치는 샘플이 보정 조립체 내로 도입되지 않는다는 점을 제외하고 구성 요소 및 디자인에 있어서 분석 조립체를 모방한 보정 조립체를 갖는다. 도 3 및 도 4를 참조하면, 보정 조립체는 유체 장치(2)의 대략 절반을 차지하는 것으로서, 시약 챔버(32), 반응 부위(34), 폐기물 챔버(36) 및 유체 채널(38)을 포함하고 있다. 분석 조립체와 유사하게, 시약 챔버 및 반응 부위의 갯수는 유체 장치 상에서 실시되는 분석법 및 검출되는 피분석물의 갯수에 따라 달라질 수 있다.
- [0057] 바람직한 경우, 본 대상 유체 장치의 사용으로 체액 중 피분석물에 대한 분석의 신뢰성을 평가하기 위한 센서가 유체 장치, 판독기와 함께 및/또는 본 대상 시스템의 패키징 내에 제공될 수 있다. 이 센서는 본 대상 시스템이 정상적으로 작동하게 되는 작동 변수에서의 변화를 검출할 수 있다. 그러한 작동 변수로는 본 시스템의 성능에 영향을 미칠 수 있는 온도, 습도 및 압력을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0058] 유체 장치 및 판독기 조립체는 제조 후에 최종 사용자에게 함께 또는 개별적으로 수송될 수 있다. 판독기 조립체가 다수의 유체 장치와 함께 반복적으로 사용되기 때문에, 예를 들면, 수송 중에 상기와 같은 변화를 검출하도록 유체 장치와 판독기 조립체 둘 모두에 센서를 가질 필요가 있을 수 있다. 수송 중에, 압력 또는 온도의 변화는 본 시스템의 다수의 구성 요소들의 성능에 영향을 미칠 수 있으며, 따라서 유체 장치 또는 판독기 조립체 상에 배치된 센서는 그러한 변화를 예를 들면, 외부 장치에서 보정 또는 데이터 처리 중에 조정이 이루어질 수 있게 한다. 예를 들면, 유체 장치의 압력 또는 온도가 수송 중에 소정 수준에 도달할 경우, 유체 장치 상에 위치하는 센서는 이러한 변화를 검출하여, 유체 장치가 사용자에게 의해 판독기 조립체에 삽입될 때에 그 정보를 판독기 조립체로 전송한다. 이를 실시하기 위해 판독기 조립체에 추가적인 검출 장치가 존재하거나, 그러한 장치가 또다른 시스템 구성 요소에 통합될 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 정보는 판독기 조립체나 외부 장치로 무선으로 전송될 수 있다. 마찬가지로, 판독기 조립체 내의 센서가 유사한 변화를 검출할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 본 시스템 구성 요소에 배치하는 대신에 또는 이에 추가로 수송용 패키지에서도 센서를 갖는 것이 바람직할 수 있다.
- [0059] 유체 채널의 제조는 일반적으로 당업계에 공지된 많은 미세제조 기법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들면, 광리

소그래피 에칭, 플라즈마 에칭 또는 화학적 습식 에칭과 같은 반도체 제조 산업에서 널리 공지된 방법을 사용하는 리소그래피 기법이 예를 들면, 글래스, 석영, 또는 실리콘 기판을 제조하는데 임의로 사용될 수 있다. 별법으로, 예로서, 레이저 드릴링, 미세밀링 등과 같은 미세 기계 가공법이 임의로 사용된다. 유사하게, 중합체 기판에 대해 널리 공지된 제조 기법 또한 사용될 수 있다. 이들 기법은 사출 성형 또는 스탬프 몰딩 방법이 포함되며, 이들은 예를 들면, 미세규모의 기판의 큰 시트를 생성하는 롤링 스탬프를 사용하거나, 미세기계 가공된 몰드 내에서 기판을 중합시키는 중합체 미세주조 기법을 사용하여 많은 수의 기판을 임의로 생산하게 된다.

[0060] 몇몇 실시태양에서, 유체 장치의 상이한 층들 중 적어도 하나는 중합체 기판으로 구성될 수 있다. 중합체 물질로는 폴리스티렌, 폴리카보네이트, 폴리프로필렌, 폴리디메틸실록산(PDMS: polydimethylsiloxane), 폴리우레탄, 폴리비닐클로라이드(PVC: 폴리비닐클로라이드) 및 폴리설폰을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0061] 유체 장치는 스탬핑, 열 결합, 접착제에 의해 제조되거나, 특정 기판의 경우에는 유리, 반강성, 비강성 중합체 기판, 두 구성 요소 간의 자연적인 접합에 의해 제조될 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 유체 장치는 초음파 또는 음파 용접에 의해 제조될 수 있다.

[0062] 도 2는 유체 장치(2)가 7개의 층로 이루어진 본 발명의 하나의 실시태양을 나타낸다. 도시한 바와 같은 구조들이 예를 들면, 중합체 기판에서 절단되어, 층들이 조립될 때에 적절히 배치된 경우, 유체 네트워크를 형성할 것이다. 몇몇 실시태양에서, 더 많거나 더 적은 층이 본 발명의 목적을 수행하기 위한 유체 장치를 제작하는데 이용될 수 있다.

[0063] 본 발명의 하나의 목적은 유체 장치 내부의 유체가 건조 상태 및/또는 미오염 상태로 유지될 필요가 있을 수 있는 판독기 조립체의 구성 요소와 접촉하는 것을 방지하고, 또한 판독기 조립체 내의 검출 장치에 대한 오염을 방지하는데 있다. 유체 장치에서의 누설은 액체, 예를 들면, 시약 또는 폐기물이 유체 장치를 빠져나가 판독기의 오염을 초래할 수 있다. 다른 실시태양에서, 기저귀에서 발견할 수 있는 중합체 물질과 같은 액체 흡수 물질이 유체 채널의 일부 또는 폐기물 챔버 내에 배치되어 폐액을 흡수할 수 있다. 그러한 중합체로는 폴리아크릴산 나트륨이 있으나, 이에 한정되는 않는다. 그러한 중합체는 그 중량의 수백배에 달하는 유체를 흡수할 수 있다. 그러므로, 누설 유체를 흡수시킨다는 목표를 달성하는데는 단지 미소량의 중합체 물질만이 필요할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 폐기물 챔버는 초강력 흡수제로 충전될 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 누설 액체는 겔 또는 다른 고체 또는 반고체 형태로 전환될 수 있다.

[0064] 본 시스템의 또다른 목적은 유체 장치에서 각종 분석을 실시할 수 있는 유체 장치를 제공하는데 있다. 유체 장치의 식별에 따른 프로토콜이 외부 장치로부터 전송되어, 판독기 조립체가 유체 장치에서 특정 프로토콜을 수행할 수 있도록 판독기 조립체에 저장될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 유체 장치는 본원에서 기술된 식별자 검출기에 의해 검출 또는 판독되는 식별자(ID)를 갖는다. 이어서 식별자는 연통 조립체와 연통할 수 있으며, 이어서 외부 장치로 전달 또는 전송될 수 있다.

[0065] 몇몇 실시태양에서, 식별자는 일련의 흑색 및 백색 선으로 이루어져, 공지된 바코드 판독기와 같은 식별자 검출기에 의해 판독될 수 있는 바코드형 식별자일 수 있다. 다른 식별자로는 일련의 문자 숫자식 값, 색상, 돌출된 범프(bump), 또는 유체 장치 상에 배치되어 식별자 검출기에 의해 검출 또는 판독될 수 있는 임의의 기타 식별자일 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 식별자는 저장 장치 또는 메모리 장치를 포함할 수 있으며, 식별자 검출기로 정보를 전송할 수 있다. 몇몇 실시태양에서는 두 가지 기법 모두가 사용될 수 있다.

[0066] 일단 체액 샘플이 유체 장치에 제공되면, 유체 장치는 판독기 조립체에 삽입된다. 몇몇 실시태양에서, 유체 장치가 수작업으로 부분적으로 삽입되고, 이어서 판독기 조립체의 기계적 스위치가 유체 장치를 판독기 조립체 내에 자동적으로 적절히 배치하게 하게 된다. 디스크 또는 카트리지를 장치에 삽입하는 당업계에 공지된 임의의 기타 기구 역시 사용될 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 단지 수동 삽입만이 요구될 수 있다.

[0067] 몇몇 실시태양에서, 판독기 조립체는 유체 장치 상의 식별자를 검출 또는 판독하는 식별자 검출기와, 검출 조립체 뿐만 아니라, 예를 들면, 유체 장치를 통과하는 유체를 제어 또는 유도하기 위한 펌프 및/또는 밸브와 같은 판독기 조립체의 기계적 구성 요소를 자동적으로 제어하는 제어 장치와, 유체 장치에서 수행된 분석에 의해 생성된 신호를 검출하는 검출 장치와, 외부 장치와의 연통을 위한 연통 조립체를 포함한다.

[0068] 식별자 검출기는 연통 조립체로 전달되는 유체 장치 상의 식별자를 검출한다. 몇몇 실시태양에서, 식별자 검출기는 유체 장치 상의 바코드를 판독하는 바코드 스캐너형 장치일 수 있다. 식별자 검출기는 또한 빛을 방사하는 LED 일 수 있는데, 이 빛은 빛을 반사시키는 식별자와 상호 작용하여, 유체 장치를 식별하도록 식별자 검출기에 의해 측정된다.

- [0069] 바람직한 실시태양에서, 판독기 조립체는 유체 장치 내에서의 액체의 흐름을 제어 및 유도하는 펌프 및 일련의 밸브를 제어하는 제어 장치를 하우징하고 있다. 몇몇 실시태양에서, 판독기 조립체는 다수의 펌프를 포함할 수 있다. 샘플 및 시약은 바람직하게 판독기 조립체 내의 펌프를 활성화시키는 동안에 적어도 하나의 밸브를 순차적으로 개폐함으로써 생성되는 진공력에 의해 유체 채널을 통해 인출된다. 진공력을 생성하기 위해 적어도 하나의 밸브와 적어도 하나의 펌프를 사용하는 방법은 널리 공지되어 있다. 음의 인발력이 이용될 수 있지만, 본 발명에 따라 적어도 하나의 펌프 및 밸브에 의해 양의 가압력(pushing force)이 생성될 수도 있다. 다른 실시태양에서, 유체 장치에서의 유체의 이동은 전기 삼투 작용, 모세관 작용, 압전 작용 또는 미세작동기 작용에 의해 이루어질 수 있다.
- [0070] 도 8 및 도 9는 유체 장치 내의 시약의 흐름을 개시하기 위한 대표적인 순서를 도시한다. 판독기 조립체의 작동 플레이트(18)는 논코어링 니들 또는 핀(20)을 포함하며, 이는 하강할 때에 강하고 가요성을 띤 탄성 물질로 이루어지는 것이 바람직한 상부 커버(16)를 굴곡시키게 된다. 그러나, 그 후에 쉽게 파열될 수 있는 포일(12)이 상부 커버(16)의 굴곡에 의해 유도된 응력으로 인해 파열된다. 시약 챔버에 대해 하류 측에 위치한 밸브들은 유체 장치 내의 호일의 상이한 영역을 천공하게 되며, 그 후에 시약 챔버(6)에서 시약을 유체 채널 안으로 인출하고 이어서 시약의 흐름을 반응 부위로 유도하기 위해 진공력을 생성하도록 판독기 조립체 내의 펌프와 함께 작동하게 된다. 바람직하게는 적어도 하나의 밸브가 판독기 조립체 내에 하우징된 펌프와 유체 연통 상태로 연결된다. 논코어링 니들 또는 핀(20)은 유체 장치가 판독기 조립체로부터 제거될 때에 그 유체 장치로부터 제거된다. 이러한 실시태양의 잇점들 중 하나는 어떠한 온칩형의 펌프도 필요치 않아, 적어도 유체 장치의 크기 및 비용을 감소시키고 그 장치를 1회용으로 사용할 수 있게 한다.
- [0071] 반응 조립체는 바람직하게 유체 장치에서의 적어도 하나의 분석에 의해 생성된 신호를 검출하는 검출 조립체를 하우징한다. 도 1은 유체 장치와 관련하여 유체 장치 아래에 있는 본 발명의 검출 장치의 대표적인 위치를 도시한다. 검출 조립체는 예를 들면, 수행되는 분석의 유형 또는 이용되는 검출 기구에 따라 유체 장치 위에 있거나, 유체 장치에 대해 상이한 배향으로 배치될 수 있다.
- [0072] 바람직한 실시태양에서, 광학 검출기가 검출 장치로서 사용된다. 비제한적인 예로는 광다이오드, 광전자 증배관(PMT: photomultiplier tube), 광자 계수 검출기, 또는 전하 결합 소자(CCD: charge-coupled device)를 포함한다. 몇몇 실시태양에서, 핀 다이오드가 사용될 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 핀 다이오드는 PMT에 필적하는 감도를 갖는 검출 장치가 얻어지도록 증폭기에 결합될 수 있다. 몇몇 분석은 본원에 기술된 발광을 생성할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 화학 발광이 검출된다. 몇몇 실시태양에서, 검출 조립체는 CCD 검출기 또는 PMT 어레이에 다발로서 연결된 복수개의 광섬유 케이블을 포함할 수 있다. 이들 광섬유 다발은 개별 섬유로 이루어지거나, 중실 다발(solid bundle)을 형성하도록 함께 융합된 수많은 작은 섬유로 이루어질 수 있다. 이러한 중실 다발은 시판 중에 있으며, CCD 검출기에 용이하게 접속될 수 있다.
- [0073] 몇몇 실시태양에서, 검출 시스템은 피험체의 특정 변수를 검출하기 위한 비광학적 검출기 또는 센서를 포함할 수 있다. 그러한 센서는 예를 들면, O_2 , H_2O_2 , 및 I_2 , 또는 산화/환원성 유기 화합물과 같은 산화 또는 환원되는 화합물을 위한 온도 센서, 전도성 센서, 전위 센서, 및 전류 센서를 포함할 수 있다.
- [0074] 연통 조립체는 바람직하게 판독기 조립체 내에 하우징되어, 외부 장치와 무선으로 정보를 송수신할 수 있다. 그러한 무선 통신은 블루투스 또는 RTM 기술일 수 있다. 모뎀을 사용한 다이얼 업(dial-up) 유선 접속, T1, ISDN 또는 케이블선과 같은 직접 링크의 다양한 통신 방법이 이용될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 무선 접속은 이동전화, 인공 위성, 페이지 네트워크(pager network), GPRS, 또는 근거리 통신망에서의 이더넷(Ethernet) 또는 토큰링과 같은 근거리 데이터 전송 시스템과 같은 대표적인 무선 네트워크를 이용하여 달성된다. 몇몇 실시태양에서, 정보는 무선 네트워크를 통해 전송되지 전에 암호화된다. 몇몇 실시태양에서, 연통 조립체는 정보를 송수신하기 위한 적외선 무선 통신 구성 요소를 포함할 수 있다.
- [0075] 몇몇 실시태양에서, 연통 조립체는 수집된 정보가 저장될 수 있는 예를 들면, 국부 RAM(localized RAM)와 같은 메모리 또는 저장 장치를 가질 수 있다. 저장 장치는 정보가 예를 들면, 네트워크에 무선 접속하는데 있어서의 일시적인 접속 불능과 같은 주어진 시간에 정보가 전송될 수 없는 경우에 필요할 수 있다. 그 정보는 저장 장치 내의 유체 장치 식별자와 관련이 있을 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 연통 조립체는 소정 시간 후에 저장된 정보를 재전송하려 할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 메모리 장치는 정보가 삭제되기 전 십여일간의 기간 동안 정보를 저장할 수 있다.
- [0076] 바람직한 실시태양에서, 외부 장치는 판독기 조립체 내의 연통 조립체와 통신할 수 있다. 외부 장치는 판독기

조립체와 무선으로 통신을 할 수 있지만, 환자, 의료진, 임상, 실험실 연구원 또는 건강 관리 산업 분야의 다른 사람들을 포함하나, 이에 한정되지 않는 제3자와 통신을 할 수도 있다.

[0077] 몇몇 실시태양에서, 외부 장치는 컴퓨터 시스템, 서버 또는 정보를 저장하거나 정보를 처리할 수 있는 기타 전자 장치일 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 외부 장치는 하나 이상의 컴퓨터 시스템, 서버 또는 정보를 저장하거나 정보를 처리할 수 있는 기타 전자 장치를 포함한다. 몇몇 실시태양에서, 외부 장치는 예를 들면, 의료 기록 또는 피험체 병력, 임상 시험 기록, 또는 전임상 시험 기록을 포함하나, 이에 한정되지 않는 피험체 정보의 데이터베이스를 포함할 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 외부 장치는, 유체 장치가 판독기 조립체에 삽입되었음을 나타내는 식별자를 수신하는 경우에 판독기 조립체의 연통 조립체로 전송될 수 있는, 유체 장치에서 수행될 프로토콜을 저장한다. 몇몇 실시태양에서, 프로토콜은 유체 장치의 식별자에 달라질 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 외부 장치는 각각의 유체 장치에 대한 1 초과의 프로토콜을 저장한다. 다른 실시태양에서, 외부 장치 상의 대장자 정보는 1 초과의 프로토콜을 포함한다. 바람직한 실시태양에서, 외부 서버는 연통 조립체로부터 전송된 광자 계수를 처리하기 위한 수학적 알고리즘을 저장하며, 몇몇 실시태양에서는 체액 샘플 내의 피분석물의 농도를 산출하기 위한 수학적 알고리즘을 포함한다.

[0078] 몇몇 실시태양에서, 외부 장치는 당업계에 공지되어 있고 시판 중인 하나 이상의 서버를 포함할 수 있다. 그러한 서버는 서버의 이용가능성을 개선시키는 부하 조절, 작업 관리, 및 서버 중 하나 이상 또는 외부 장치의 기타 구성 요소의 고장 시의 백업 용량을 제공할 수 있다. 서버는 또한 당업계에 공지되어 있는 바와 같은 저장 및 프로세서 유닛의 분산형 네트워크 상에서 구현될 수 있으며, 여기서, 본 발명에 따른 데이터 처리가 컴퓨터와 같은 워크스테이션에서 이루어지며, 이로써 서버에 대한 필요성을 제거하게 된다.

[0079] 서버는 데이터베이스 및 시스템 프로세스를 포함할 수 있다. 데이터베이스는 서버 내에 존재하거나, 이 서버가 접속할 수 있는 또다른 서버 시스템에 존재할 수 있다. 데이터베이스 내의 정보가 민감한 정보를 포함할 수 있기 때문에, 보안 시스템이 구현되어, 권한이 부여되지 않은 사용자가 데이터베이스에 접근하는 것을 방지할 수 있다.

[0080] 본 발명의 하나의 잇점은 정보가 외부 장치로부터 다시 판독기 조립체로 전송될 수 있음은 물론, 예를 들면, 제한없이, PDA, 또는 휴대폰과 같은 외부 장치 또는 제3자에게 전송될 수 있다. 이러한 통신은 본원에서 개시된 무선 네트워크에 이루어질 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 산출된 피분석물 농도 또는 기타 피험체 정보는 제한하는 것은 아니지만, 예를 들면, 의료진 또는 피험체에게 전송될 수 있다.

[0081] 사용 방법

[0082] 본 대상 장치 및 시스템은 피험체로부터 얻은 체액 중에 존재하는 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물을 실시간으로 검출하는 유효 수단을 제공한다.

[0083] 본 발명의 하나의 측면은 체액 샘플 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물을 검출하는 방법을 제공한다. 피분석물은 인플루엔자 A형, B형, 또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 적어도 하나의 표면 당단백질을 포함할 수 있다. 대표적인 표면 당단백질은 제한없이 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제이다. 헤마글루티닌 표면 단백질은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16을 포함한다. 뉴라미니다제 표면 단백질은 N1, N2, N3, N4 및 N5를 포함한다. 피분석물은 또한 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질에 대한 항체를 포함할 수 있다.

[0084] 본 발명의 하나의 측면은 체액 샘플 중, 적어도 2개가 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 복수개의 피분석물을 검출하는 방법을 제공한다. 피분석물은 인플루엔자 A형, B형, 또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 복수개의 표면 당단백질을 포함할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 복수개의 표면 당단백질은 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제를 포함한다. 헤마글루티닌은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 뉴라미니다제는 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 본 방법은 헤마글루티닌 H5 및 뉴라미니다제 N1, 둘 모두를 검출한다. 하나의 실시태양에서, 본 방법은 동일 바이러스 입자(들) 에서 H5 및 N1을 검출한다(도 15 참조).

[0085] 본 발명의 하나의 추가적인 측면은 예로서, 바이러스 입자 또는 세포 또는 세포 단편과 같은 단일 실체로 혼입된 복수개의 피분석물을 검출하는 방법이다. 이러한 측면에서, 복수개의 피분석물은 바람직하게 복수개의 피분석물 중 적어도 2개는 체액 샘플 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 것인 피분석물의 조합 또는 복합체이다. 피분석물은 인플루엔자 A형, B형, 또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 복수개의 피분석물은 인플루

엔자 바이러스의 인플루엔자 바이러스의 조합 또는 복합체를 포함할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 복수개의 피분석물은 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제의 조합을 포함하는 표면 당단백질의 조합일 수 있다. 헤마글루티닌은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 뉴라미니다제는 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 피분석물의 조합은 예로서 H5N1의 조합과 같은 병독성 인플루엔자 균주와 결합한다. 본 발명의 이러한 측면은 복수개의 피분석물의 조합을 검출하는데 특이적이다. 이는 예로서 H5N1의 조합과 같은 병독성 균주에 의한 감염과, 상이한 피분석물의 조합에 의한 추정 감염을 식별할 수 있다.

[0086] 몇몇 실시태양에서, 본 방법은 예로서, 인플루엔자 바이러스의 표면 당단백질에 대한 항체와 같이 바이러스 항원에 대한 복수개의 인간 항체를 검출한다.

[0087] 몇몇 실시태양에서, 관심의 대상이 되는 피분석물은 체액 샘플 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물과 피분석물에 대한 인간 항체의 복합체일 수 있다. 피분석물은 본원에 기술된 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 임의의 피분석물일 수 있지만, H5 헤마글루티닌, N1 뉴라미니다제 또는 H5 및 N1 표면 당단백질의 H5N1 복합체가 바람직하다.

[0088] 본 발명의 추가의 측면은 적어도 하나의 피분석물이 체액 샘플 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내고, 적어도 하나의 피분석물이 바이러스 감염에 의해 인체에 부과된 스트레스를 나타내는 체액 샘플 중의 바이오마커이거나, 감염에 대한 신체 반응에 대한 지시자인 복수개의 피분석물을 검출하는 방법이다. 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 적어도 하나의 피분석물은 본원에 기술된 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 임의의 피분석물일 수 있다. 바이러스 감염에 의해 인체에 부과된 스트레스를 나타내는 대표적인 바이오마커로는 제한없이 CRP, TNF α , 인터루킨 등을 포함한다. 바이러스에 대한 신체의 방어 반응을 나타내는 대표적인 바이오마커로는 바이러스에 대한 항체, 특히, IgM 이소타입의 것을 포함한다.

[0089] 본 대상 장치 및 시스템은 예를 들면, 질환 진단 및 질환 검출에서 광범위한 유용성을 갖는다.

[0090] 따라서, 하나의 실시태양에서, 본 발명은 피험체로부터 얻은 체액 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물을 검출하는 방법으로서, 적어도 하나의 샘플 수집 유닛, 면역분석 시약을 함유하는 면역분석 조립체, 상기 샘플 수집 유닛 및/또는 상기 면역분석 조립체와 유체 연통하는 복수개의 채널을 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; 상기 유체 장치를 작동시켜 상기 유체 장치 내의 상기 면역분석 시약을 송류하는 단계; 상기 피분석물을 함유할 것으로 추측되는 체액 샘플을 상기 분석 면역분석 조립체 내에 함유되어 있는 상기 면역분석 시약과 반응시켜 상기 체액 중 상기 피분석물의 존재를 나타내는 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 단계; 및 먼저 상기 체액 샘플에서 수집된 상기 피분석물로부터 생성된 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 바람직하게, 이들 적용들 중 하나 이상에 대하여 약 500 μ l 미만의 체액 샘플이 사용된다.

[0091] 본원에서 사용되는 바, "피험체" 또는 "환자"라는 용어는 서로 상호교환적으로 사용되며, 이는 동물, 바람직하게는 조류(새) 또는 포유동물 중(예를 들면, 인간)을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바, 조류라는 용어는 가금류를 포함한다. 포유동물로는 뿔, 유인원, 인간, 가축, 스포츠 동물 및 애완동물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0092] 본원에서 사용되는 바, 몇몇 측면에서, "시약" 및 "반응물"이라는 용어는 상호교환적으로 사용된다.

[0093] 몇몇 실시태양에서, 체액 샘플은 본원에 기술된 본 방법들 중 어느 것에 의해 유체 장치에 먼저 제공될 수 있다. 이어서 유체 장치는 판독기 조립체에 삽입될 수 있다. 판독기 조립체에 하우징된 식별 검출기가 유체 장치의 식별자를 검출하고, 바람직하게는 판독기 조립체에 하우징된 연통 조립체로 식별자를 전송할 수 있다. 이어서 연통 조립체는 식별자를 외부 장치에 전송하고, 외부 장치는 식별자에 기초하여 유체 장치에서 실행될 프로토콜을 연통 조립체에 전송한다. 바람직하게는 판독기 조립체에 하우징된 제어 장치가 적어도 하나의 펌프와 하나의 밸브를 포함하는 작동 소자를 제어하며, 이들 작동 소자는 유체 장치 내부의 유체 이동을 제어하고 유도하도록 유체 장치와 상호작용한다. 몇몇 실시태양에서, 분석의 제1 단계는 세척 완충액을 사용하여 유체 장치 내의 모든 표면을 적시는 세척 사이클이다. 이어서 유체 장치는 교정 반응 부위를 통해 분석에서 사용되는 것과 같이 동일한 시약을 흘리면서 보정 조립체를 사용하여 보정되고, 반응 부위로부터의 발광 신호가 검출 수단에 의해 검출되며, 유체 장치를 보정하는데 신호를 사용한다. 피분석물을 함유하는 샘플을 유체 채널 내로 도입한다. 샘플을 희석시키고 필터에서 혈장 또는 기타 바람직한 성분으로 분리할 수 있다. 분리된 샘플은 이제 반응 부위를 통해 흐르고 그 안에 존재하는 피분석물은 반응 부위에 결합된 반응물에 결합할 것이다. 이어서 샘플 유체의 혈장은 반응 웰로부터 폐기물 챔버로 배출된다. 실행되는 분석법에 따라, 분석법을 수행하기 위해 적절한

시약을 반응 부위를 통해 유도할 수 있다. 보정 단계를 비롯한 다양한 단계에서 사용된 모든 세척 완충액과 다른 시약은 세척 탱크에 수집된다. 이어서, 반응 부위에서 생성된 신호는 본원에 기술된 방법들 중 어느 것에 의해 검출된다.

[0094] 샘플에서 관심의 대상이 되는 피분석물을 검출하도록 본 발명에 따라 유체 장치에서 각종 분석법을 실시할 수 있다. 본 대상 분석법을 수행하는데 사용될 수 있는 매우 다양한 표지가 당업계에서 이용가능하다. 몇몇 실시태양에서, 표지는 분광분석, 광화학, 생화학, 면역화학 또는 화학적 수단에 의해 검출될 수 있다. 예를 들면, 유용한 핵산 표지는 32P, 35S, 형광 염료, 고전자밀도 시약, 효소, 비오틴, 디곡시제닌, 또는 그에 대해 항혈청 또는 모노클로날 항체가 사용될 수 있는 합텐 및 단백질을 포함한다. 생물학적 구성 요소를 표지하기에 적합한 매우 다양한 표지는 과학 및 특허 문헌, 둘 모두에 공지되어 있고, 널리 보고되어 있으며, 일반적으로는 생물학적 구성 요소를 표지하는데 본 발명에 적용가능하다. 적합한 표지는 방사선택종, 효소, 기질, 보조인자, 저해제, 형광 부분, 화학발광 부분, 생체발광 표지, 열량측정 표지 또는 자분을 포함한다. 표지 물질은 예를 들면, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 단백질, 또는 친화성 매트릭스, 탄수화물 또는 지질과 같은 기타 중합체를 포함한다. 검출은 방사성 또는 형광 마커의 분광광도 또는 광학 추적을 비롯한 공지된 각종 방법, 또는 크기, 전하 또는 친화성에 따라 분자를 추적하는 기타 방법 중 어느 것에 의해 진행된다. 검출 가능한 부분은 검출 가능한 물리적 또는 화학적 성질을 갖는 임의 물질일 수 있다. 그러한 검출 가능한 표지는 젤 전기영동, 칼럼 크로마토그래피, 고체 기관, 분광 기법 등의 분야에서 널리 개발되었으며, 일반적으로 상기 방법에 유용한 표지가 본 발명에 적용될 수 있다. 따라서, 표지는 제한없이 분광, 광화학, 생화학, 면역화학, 전기, 광학, 열 또는 화학적 수단에 의해 검출될 수 있는 임의 조성을 포함한다.

[0095] 몇몇 실시태양에서, 표지는 당업계에 공지된 방법에 따라 생성물, 기질 또는 효소와 같은 검출되는 분자 분자에 직접 또는 간접적으로 결합된다. 전술한 바와 같이, 매우 다양한 표지가 사용되며, 표지의 선택은 필요한 민감도, 화합물의 접합의 용이성, 안정성 요건, 유용한 기기 조작 및 폐기 규정에 의존한다. 비방사성 표지는 흔히 간접 수단에 의해 부착된다. 일반적으로 리간드 분자는 중합체에 공유결합된다. 이어서 리간드는 검출 가능한 효소, 형광 화합물 또는 화학발광 화합물과 같이 고유하게 검출 가능하거나 신호 시스템에 공유결합되는 항-리간드 분자에 결합된다. 다수의 리간드와 항-리간드가 사용될 수 있다. 리간드가 예를 들어, 비오틴, 티록신 및 코티솔과 같은 천연 항-리간드를 갖는 경우, 이는 표지된 항-리간드와 함께 사용될 수 있다. 별법으로, 임의의 합텐 또는 항원 화합물은 항체와 조합하여 사용될 수 있다.

[0096] 몇몇 실시태양에서, 표지는 예를 들면, 효소 또는 형광단과의 접합체 의해 신호 발생 화합물에 직접 접합될 수 있다. 표지로서 관심의 대상이 되는 효소는 주로 하이드롤라제, 특히, 포스파타제, 에스테라제 및 글리코시다제, 또는 옥시도리덕타제, 특히, 퍼옥시다제일 것이다. 형광 화합물은 플루오레세인 및 그의 유도체, 로다민 및 그의 유도체, 단일 및 움베리페론을 포함한다. 화학발광 화합물은 루시페린, 및 2,3-디하이드로프탈라진디온, 예로서, 루미놀 및 디옥세탄을 포함한다.

[0097] 표지를 검출하는 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 따라서, 예를 들면, 표지가 방사성 표지인 경우, 검출 수단은 자가방사선술에서와 같이 섬광 계수기 또는 사진 필름을 포함한다. 표지가 형광 표지인 경우, 형광단을 적절한 파장의 빛으로 여기시켜, 생성된 형광을 예를 들면, 현미경 검사, 시각 검사, 사진 필름을 통해, 디지털 카메라, 전하 결합 소자(CCD) 또는 광전자 증배관, 및 광전관 또는 다른 검출 장치와 같은 전자 검출기를 사용하여 검출할 수 있다. 유사하게, 효소 표지는 적절한 효소용 기질을 제공하여 얻은 반응 생성물을 검출함으로써 검출한다. 마지막으로, 샘플 비색 표지는 흔히 표지와 관련된 색상을 단순히 관찰하여 검출한다. 예를 들면, 접합된 금빛은 흔히 분홍으로 보이지만, 다양한 접합된 비드는 비드의 색상을 띤다.

[0098] 몇몇 실시태양에서, 검출 가능한 신호는 발광원에 의해 제공될 수 있다. "발광"이란 온도 상승 이외의 다른 원인에 의해 기질로부터 빛이 방출되는 것을 지칭하는데 보편적으로 사용되는 용어이다. 일반적으로, 원자나 분자는 "여기된 상태"로부터 낮은 에너지 상태(일반적으로 바닥상태)로 전이할 때 전자기 에너지의 광자를 방출한다(예를 들면, 빛). 여기의 원인에는 여러가지가 있다. 여기의 원인이 광자일 경우, 발광 과정은 "광발광"으로 지칭된다. 여기 원인이 전자일 경우, 발광 과정은 "전계 발광"으로 지칭된다. 더욱 특히, 전계발광은 전자를 직접 주입 및 제거하여 전자-정공 쌍을 형성하고, 후속하는 전자-정공 쌍의 재결합에 의해 광자를 방출하는 것에 의해 발생한다. 화학반응에 의해 일어나는 발광은 보통 "화학 발광"으로 지칭된다. 생물체에 의해 생성되는 발광은 보통 "생물 발광"으로 지칭된다. 광발광이 스핀-허용 전이(예컨대, 단일항-단일항 전이, 삼중항-삼중항 전이)의 결과일 경우, 광발광 과정은 보통 "형광"으로 지칭된다. 전형적으로, 형광 방출은 상기 스핀-허용 전이를 통해 신속하게 이완될 수 있는 단기간 여기 상태 때문에 여기 원인이 제거된 후에는 지속되지 않는다. 광발광이 스핀-금지 전이(예컨대, 삼중항-단일항 전이)의 결과일 경우, 보통 광발광 과정은 "인광"으로 지칭된다.

전형적으로, 인광 방출은 스핀-금지 전이를 통해서만 이완될 수 있는 장기간 여기 상태 때문에 여기 원인이 제거된 후에도 오래 지속된다. "발광 표지"는 상기 기술한 성질들 가운데 어느 하나를 가질 수 있다.

[0099] 적합한 화학발광원은 화학 반응에 의해 전기적으로 여기된 후에 검출 가능한 신호로 작용하거나 형광 수령체에 에너지를 제공하는 빛을 방출 할 수 있는 화합물을 포함한다. 다양한 조건하에 화학발광을 제공하는 다수의 화합물 계열이 발견되었다. 한 화합물 계열은 2,3-디하이드로-1,4-프탈라진디온이다. 흔히 사용되는 화합물은 루미놀로서 이는 5-아미노 화합물이다. 상기 계열의 다른 화합물로는 5-아미노-6,7,8-트리메톡시- 및 디메틸아미노[카]벤즈 유사체이다. 이들 화합물은 알칼리 과산화수소 또는 차아염소산칼슘과 염기로 발광하게 될 수 있다. 또다른 화합물 계열은 2,4,5-트리페닐이미다졸로서, 모체 생성물의 일반명은 로핀이다. 화학발광 유사체는 파라-디메틸아미노 및 -메톡시 치환기를 포함한다. 화학발광은 염기 조건하에서 수산화물로, 보통은 옥살릴 활성 에스테르, 예를 들면, p-니트로페닐 및 과산화수소와 같은 과산화물로 얻을 수 있다. 공지된 다른 유효한 화학발광 화합물로는 N-알킬 아크리디늄 에스테르 및 디옥세탄을 포함한다. 별법으로, 생체발광을 제공하는 루시페라제 또는 루시게닌과 함께 사용할 수 있다.

[0100] 몇몇 실시태양에서, 면역분석법은 유체 장치에서 실행된다. 당업계에 널리 공지되어 있는 경쟁 결합 분석법이 몇몇 실시태양에서 실행될 수 있지만, 특정 실시태양에서는 접합체와 샘플의 혼합물을 항체에 노출시키기 이전에 접합체와 샘플을 혼합시켜야 하는 필요성을 제거시킨 2 단계 방법이 사용되는데, 이는 본 발명의 유체 장치에서와 같이 매우 소량의 샘플과 접합체를 사용할 때에는 바람직할 수 있다. 2 단계 분석법은 본원에 기술된 유체 장치와 함께 사용하면 경쟁 결합 분석법보다 우수한 추가의 잇점을 갖는다. 이는 사용의 편의성 및 샌드위치(경쟁 결합) 면역분석법의 고감도와 함께 소분자 분석 능력을 조합한 것이다.

[0101] 도 10에 나타난 대표적인 2 단계 분석법에서, 피분석물("Ag")을 함유하는 샘플은 먼저 항체("Ab")를 함유하는 반응 부위 위로 흐른다. 항체는 샘플 내에 존재하는 피분석물에 결합한다. 샘플이 표면을 지나간 후에, 피분석물이 고농도로 마커("표지된 Ag")에 접합된 용액이 표면을 지나간다. 접합체는 미처 피분석물에 결합하지 못한 임의의 항체를 포화시킨다. 평형에 도달하여 미리 결합된 비표지 피분석물의 대체가 생기기 전에, 고농도의 접합체 용액을 세척한다. 이어서 표면에 결합된 접합체의 양을 적절한 기법으로 측정하고, 검출된 접합체는 샘플 내에 존재하는 피분석물의 양과 반비례한다.

[0102] 2 단계 분석법을 위한 대표적인 측정 기법은 도 11에 나타난 화학발광 효소 면역분석법이다. 당업계에 공지되어 있는 바와 같이, 마커는 발광성이 아니지만, 예를 들면, 알칼리성 포스파타제에 의해 가수분해된 후 발광성을 갖는 디옥시탄-포스페이트와 같은 시판용 마커일 수 있다. 마커가 발광성을 띠도록 하기 위해 예를 들면, 알칼리성 포스파타제와 같은 효소를 기질에 통과시킨다.

[0103] 몇몇 실시태양에서, 기질 용액은 발광체 단독인 것보다 더욱더 밝은 신호를 발생하는, 제한없이 혼합 미셀 내의 플루오레세인, 가용성 중합체 또는 PVC와 같은 증진제로 보충된다. 또한, 상업적인 분석법에서 사용되는 것보다 더 높은 전환수를 갖는 알칼리성 포스파타제 접합체가 사용된다. 이를 통해 더욱더 신속하게 신호 발생을 처리할 수 있고 더 높은 전체 신호를 달성한다. 2 단계 화학발광 효소 면역분석법(TOSCA: two-step chemiluminescent enzyme immunoassay)의 향상된 민감성을 도 12에 도시한다. 도 12는 피코몰랄 농도의 피분석물에 대한 것을 나타내며, TOSCA는 경쟁 결합 분석법보다 더욱 확고한 신호(높은 민감도)를 제공할 수 있다. 따라서, 2 단계 결합 분석법을 사용함으로써 본 발명의 더욱 고감도 능력을 갖게 된다.

[0104] 추가로, TOSCA는 다른 방법들보다 매트릭스 효과에 덜 민감하다. 이에 따라 예를 들면, 고체상 추출과 크로마토그래피와 같은 표준 실험 기법을 사용하여 광범위하게 전처리되지 않은 샘플을 사용하여 작업할 수 있다. 덜 이상적인 샘플을 분석할 수 있고 바람직한 민감도를 유지할 수 있는 TOSCA의 능력은 도 13에 도시한다. 경쟁 결합 분석법과 비교할 때, 모든 샘플 표본(및 희석액)의 경우 TOSCA가 경쟁 결합보다 더 우수한 민감도를 갖는다.

[0105] 유체 장치에서 실행될 수 있는 하나의 유용한 면역분석법은 ELISA(효소 면역 측정법: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)이다. ELISA를 실시하는 것은 일반적으로 관심의 대상이 되는 항원(즉, 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물)에 결합할 수 있는 적어도 하나의 항체를 포함한다. 관심의 대상이 되는 항원을 함유하거나, 함유할 것으로 추측되는 샘플을 지지체(예를 들면, 미세역가 플레이트, 웰 또는 고정화를 위한 표면을 갖는 기타 지지체) 상에 비특이적으로(예를 들면, 표면에 대한 흡착을 통해) 또는 특이적으로(예를 들면, "샌드위치" ELISA에서 동일 항체에 대해 특이적인 또다른 항체에 의한 포획을 통해) 고정시킨다. 항원을 고정시킨 후, 검출 항체를 가하여 항원과 결합체를 형성한다. 검출 항체는 효소에 접합될 수 있거나, 그 자체가 결합에는 효소에 접합되는 2차 항체에 의해 검출될 수 있다. 접합된 효소에 대한 기질을 첨가할 때 샘플 내 항원의 존재 및/또는 양을 나타내는 검출 가능한 신호가 생성된다. 기질 선택은 접합된 효소에 따라 달라질 것이다.

적합한 기질로는 형광발생성 또는 발색성 기질을 포함한다. 당업자는 변형을 통해 검출되는 신호를 증가시킬 수 있는 변수 뿐만 아니라, 당업계에 공지된 ELISA의 기타 변형법에 관해 잘 알고 있을 것이다.

[0106] 도 14는 전형적인 ELISA를 도시한다. 나타낸 바와 같이, 고체상 포획 표면은 희석된 혈장(샘플)이 첨가될 수 있는 부착된 1차 항체를 포함할 수 있다. 샘플 중에 존재할 경우, 피분석물은 1차 항체 결합할 수 있고, 고정된다. 예를 들면, 효소(예를 들면, 알칼리성 포스포타제)에 커플링되거나 접합된 항체를 포함하는 효소 시약을 첨가할 수 있다. 효소 시약의 항체 부분이 피분석물에 결합할 수 있다면, 이때 효소 시약 또한 포획 표면에 고정된다. 효소에 대한 기질을 첨가함으로써 예를 들면, 측정할 수 있고, 나타낸 바와 같이 플로팅할 수 있는 빛과 같은 효과를 나타내는 생성물을 수득할 수 있다. 이러한 방식으로 샘플 중에 존재하는 피분석물의 양을 측정할 수 있다.

[0107] 도 15는 본 발명의 유체 장치와 함께 사용하는 대표적인 ELISA를 도시한다. 나타낸 바와 같이, 장치의 고체상 포획 표면은 1차 항체인, 표면에 고정되어 있고, 시험 항원에 대하여 특이적인 "고체상 항체 1"(예를 들면, 바이러스 상의 뉴라미니다제에 대해 특이적인 항체)을 포함할 수 있다. 시험 항원이 고체상 항체 1에 노출된 시험 샘플(예를 들면, 혈액)에 존재하는 경우, 시험 항원은 포획 표면에 고정(포획)될 수 있다. 이어서, "효소 표지된 항체 2"(예를 들면, 바이러스 상의 헤마글루티닌에 대하여 특이적인 효소 표지된 항체)로서 나타낸, 제2 시험 항원에 대해 특이적이고, 접합된 검출 가능한 화합물을 포함하는 2차 항체를 제공하며, 이는 시험 샘플(예를 들면, 혈액) 이후에 첨가될 수 있다. 포획 표면에서의 2차 접합된 항체의 결합 및 이후의 검출이 시험 샘플 중 제1 및 제2 시험 항원의 존재를 나타낼 수 있다. 사용시, 제1 및 제2 시험 항원은 본원에 기술된 뉴라미니다제 또는 헤마글루티닌 유형들 중 어느 것을 포함할 수 있다.

[0108] 예시된 실시예에서는 상이한 제1 및 제2 항원(및 항체)가 사용되지만, 단일 유형의 시험 항원이 2가지 형태(즉, 항원 포획용의 고정된 고체상 형태, 및 검출용의 효소 표지된 형태)의 동일 항체를 사용함으로써 검출될 수 있다는 것이 고려된다.

[0109] 본 발명에 따른 "피분석물"이라는 용어는 제한없이, 약물, 프로드럭, 약제학적 제제, 약물 대사물질, 발현된 단백질 및 세포 마커와 같은 바이오마커, 항체, 항원, 바이러스, 혈청 단백질, 콜레스테롤, 다당질, 핵산, 생물학적 피분석물, 바이오마커, 유전자, 단백질, 호르몬 또는 그의 조합을 포함한다. 분자 수준으로, 피분석물은 폴리펩티드 당단백질, 다당질, 지질, 핵산 및 이들의 조합일 수 있다.

[0110] 특정 질환 또는 특정한 질병 단계와 관련된 바이오마커가 관심의 대상이 된다. 그러한 피분석물로는 자기면역 질환과 관련된 것을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0111] 미생물을 나타내는 피분석물 또한 관심의 대상이 된다. 대표적인 미생물로는 세균, 바이러스, 진균 및 원생동물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0112] 피분석물이 인플루엔자 A형, B형, 또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 적어도 하나의 표면 당단백질을 포함할 수 있다. 대표적인 표면 당단백질은 제한없이 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제이다. 헤마글루티닌 표면 단백질은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16을 포함한다. 뉴라미니다제 표면 단백질은 N1, N2, N3, N4 및 N5를 포함한다.

[0113] 본 발명의 하나의 측면은 체액 샘플 중, 적어도 2개가 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 복수개의 피분석물을 검출하는 시스템이다. 피분석물이 인플루엔자 A형, B형, 또는 C형 바이러스 감염을 나타낼 수 있다. 피분석물은 인플루엔자 바이러스의 복수개의 표면 당단백질을 포함할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 복수개의 표면 당단백질은 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제를 포함한다. 헤마글루티닌은 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 및 H16으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있고, 뉴라미니다제는 N1, N2, N3, N4 및 N5로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 실시태양에서, 헤마글루티닌은 H5이고, 뉴라미니다제는 N1이다. 본 시스템은 특히 관심의 대상이 되는 피분석물을 검출 및/또는 정량할 수 있다.

[0114] 예를 들면, 유체 장치는 바이러스 항원 또는 상기 항원에 대한 항체의 존재를 검출함으로써 피시험체로부터 얻은 체액 샘플 중 한 유형의 인플루엔자 바이러스의 존재를 검출할 수 있다.

[0115] 본 대상 방법에 의해 검출될 수 있는 피분석물로는 또한 스태필로코커스 에피더미디스(*Staphylococcus epidermidis*), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 메티실린 내성 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)(MSRA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), 스태필로코커스 아우레우스, 스태필로코커스 호미니스(*Staphylococcus hominis*), 엔테로코커스 패칼리스(*Enterococcus faecalis*), 슈도모나스 애루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 스태필로코커스 캐피티스(*Staphylococcus capitis*), 스태필로코커스

위내리(*Staphylococcus warneri*), 클레브시엘라 뉴모니에(*Klebsiella pneumoniae*), 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*), 스태필로코커스 시뮬란스(*Staphylococcus simulans*), 트랩토코커스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*) 및 캔디다 알비칸스(*Candida albicans*)로 구성된 비제한적인 군으로부터 선택되는 혈액-매개 병원체를 포함한다.

[0116] 본 대상 방법에 의해 검출될 수 있는 피분석물로는 또한 하기: 임질(나이세리아 고노리아(*Neisseria gonorrhoeae*), 매독(트레포네마 팔리둠(*Treponema pallidum*)), 클라미디아증(클라미디아 트라코마티스(*Chlamydia trachomatis*)), 비임균성 요도염(*Ureaplasma urealyticum*)), 효모 감염(캔디다 알비칸스), 무른 궤양(헤모필루스 듀크레이(*Haemophilus ducreyi*)), 트리코모나스증(질 트리코모나스(*Trichomonas vaginalis*)), 성기 헤르페스(HSV I & II형), HIV I, HIV II 및 A, B, C, G형 감염 뿐만 아니라, TTV에 의해 유발된 감염으로부터 선택되는 각종 성 매개 질환을 포함한다.

[0117] 몇몇 실시태양에서는 본 발명이 직접적으로 병원체의 검출을 통해서, 또는 예를 들면, 병원체와 관련된 피분석물(예를 들면, 바이러스 항원)의 검출에 의해, 또는 심지어 병원체와 관련된 구성 요소 또는 생성물에 대한 항체(예를 들면, 바이러스 항원에 대한 항체)의 검출에 의해 간접적으로 병원체에 의한 감염을 모니터링하는 것을 제공한다는 것이 고려된다. 또한, 병원체는 병원체에 대한 면역 관련 반응을 통해 간접적으로 검출될 수 있다는 것도 고려된다. 병원체 검출은 병원체에 대해 무증상이거나, 증상을 나타내는 피험체로부터 얻은 시험 샘플에 대해 실시될 수 있다. 병원체 검출은 병원체로 감염되기 이전, 그중, 또는 그 이후의 피험체로부터 얻은 시험 샘플에 대해 실시될 수 있다. 그 자체로서, 초기 단계의 감염(예를 들면, 몇몇 사례에서 무증상 감염), 또는 임의의 후기 단계의 감염은 관심의 대상이 되는 병원체에 대해 모니터링될 수 있다.

[0118] 피험체로부터 얻은 샘플 중의 매우 광범위한 병원체의 농도는 본 발명을 사용하여 상기 논의된 바와 같이 직접 또는 간접적으로 검출될 수 있다. 시험 샘플 중에 존재하는 병원체의 양은 당업계에 널리 공지되는 다수의 방법들 중 어느 것에 의해 나타낼 수 있다. 비제한적인 일례로 병원체의 수는 바이러스 부하량(예를 들면, 감염이 바이러스 감염일 경우), 감염유발량 단위(IU: infectious unit), 및/또는 100만개의 세포당 또는 1 밀리리터당 감염유발량 단위(IUPM: infectious unit per million cells or milliliter)로 나타낼 수 있다. 일례로, 병원체는 본 발명을 사용하여 샘플 1 ml당 100 IU 내지 샘플 1 ml당 1×10^9 IU까지의 농도로 시험 샘플 중에서 검출될 수 있다는 것이 고려된다. 또다른 일례로, 병원체는 본 발명을 사용하여 샘플 1 ml당 100 IU 내지 샘플 1 ml당 1000 IU까지로 검출될 수 있다. 추가의 또다른 일례로, 병원체는 본 발명을 사용하여 샘플 1 ml당 1,000 IU 내지 샘플 1 ml당 1×10^6 IU까지로 검출될 수 있다.

[0119] 별도의 실시태양에서, 본 발명은 항-인플루엔자 치료제의 효능 및/또는 독성을 평가하는데 유용한 1 초과의 약물학적 변수를 모니터링하는 방법을 제공한다. 본 방법은 항-인플루엔자 치료제를 투여받은 피험체로부터 얻은 체액 샘플을 상기 1 초과의 약물학적 변수를 모니터링하는 유체 장치에 가하는데, 유체 장치는 적어도 하나의 샘플 수집 유닛, 및 반응 시약을 포함하는 분석 조립체를 포함하는 것인 단계; 상기 유체 장치를 작동시켜 상기 유체 장치 내의 상기 면역분석 시약을 송류하는 단계; 상기 체액 샘플을 면역분석 시약과 반응시켜 상기 샘플로부터의 1 초과의 약물학적 변수의 값을 나타내는 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 단계; 및 상기 체액 샘플로부터 생성된 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계를 포함한다. 바람직한 경우, 본 방법은 추가로 피험체에 전송되는 무선 신호에 의해 유발되는 시간 간격으로 상기 단계들을 반복하는 것을 포함한다.

[0120] 본 발명의 목적을 위해서, "치료제"는 치료 유용성 및/또는 잠재력을 갖는 임의의 물질을 포함하는 것이다. 그러한 물질은 예로서, 단순 또는 복합 유기/무기 분자, 펩티드, 단백질(예컨대, 항체) 또는 폴리뉴클레오티드(예컨대, 안티센스)와 같은 생물학적 또는 화학적 화합물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 예로서, 폴리펩티드 및 폴리뉴클레오티드와 같은 중합체 및 다양한 코어 구조에 기초한 합성 유기 화합물을 비롯한 매우 길게 배열된 화합물을 합성할 수 있고, 이들 또한 "치료제"에 포함된다. 또한, 예로서, 식물, 동물 배설물 등과 같은 다양한 천연 원료가 스크린용 화합물을 제공할 수 있다. 비록 항상 명백히 언급하는 것은 아니지만 제제는 단독으로 사용되거나, 본 발명의 스크린에 의해 식별되는 제제와 동일하거나 다른 생물학적 활성을 갖는 또다른 제제와 조합하여 사용된다는 것을 이해하여야 한다. 또한, 제제 및 방법은 다른 요법과 함께 조합시키고자 한다.

[0121] 본 발명에 따른 약력학(PD: pharmacodynamic) 변수는 제한없이 예로서, 온도, 심장박동수/맥박, 혈압 및 호흡수, 및 예로서, 단백질, 세포 및 세포 마커와 같은 바이오마커와 같은 물리적 변수를 포함한다. 바이오마커는 질환을 나타낼 수 있거나 약물의 작용 결과일 수 있다. 본 발명에 따른 약동학(PK: pharmacokinetic) 변수는 제한없이, 약물 및 약물 대사산물의 농도를 포함한다. 샘플 용적으로부터 실시간으로 PK 변수를 식별하고 정량화하는 것은 약물의 적절한 안전과 효능을 위해 매우 바람직할 수 있다. 약물과 대사산물의 농도가 바람직한 범

위를 벗어나고/거나, 약물의 예기치 않은 반응에 따라 예기치 않은 대사산물이 생성된다면, 피험체의 안전을 확보하기 위해서는 즉각적인 조치가 필요할 수 있다. 유사하게, 임의의 약력학(PD)의 변수가 치료 요법시 바람직한 범위를 벗어나면, 즉각적인 조치가 또한 취해져야 할 수 있다.

[0122] 바람직한 실시태양에서, 물리적 변수 데이터는 독성 및 용량의 결정을 위해 약물유전학 및 약동학 데이터를 그 모델에 통합하는 외부 장치 상에 존재할 수 있는 바이오정보 시스템에 저장되거나 물리적 변수 데이터의 프로파일을 저장하도록 비교된다. 이를 통해 현재 처리 과정보다 몇년 이전에 임상 시험용 데이터를 작성할 수 있을 뿐만 아니라, 실시간 연속 모니터링을 통해 약물의 겉보기 효능과 실제 독성 사이의 현 불일치를 제거할 수 있다. 임상 연구에서 지속/중단 결정 과정 중에, 데이터베이스에 저장된 데이터로 대량의 비교 집단 연구를 수행할 수 있다. 이와 같은 데이터 편집과 실시간 모니터링에 의해 더 많은 피험체가 현재 가능한 것보다 일찍 안전하게 임상 시험에 착수할 수 있다. 또다른 실시태양에서, 인체 조직에서 발견된 바이오마커를 장치의 표적으로 하여 암 연구에서 약물 경로와 효능 결정에 있어서 정밀도를 개선시킬 수 있다.

[0123] 또다른 실시태양에서, 본 발명은 샘플 수집 유닛, 분석 조립체, 상기 샘플 수집 유닛 및/또는 상기 분석 조립체와 유체 연통하는 복수개의 채널을 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; 체액 샘플을 상기 분석 조립체 내에 함유되어 있는 복수개의 반응물과 반응시켜 상기 적어도 2개의 피분석물의 농도를 나타내는 신호가 산출되도록 하는 단계; 및 적어도 2개의 상이한 피분석물의 존재 또는 부재를 나타내는 상기 신호를 검출하며, 여기서, 상기 신호는 3 자릿수의 범위에서 검출 가능하는 것인 단계를 포함하는, 피험체로부터 얻은 체액 샘플 중 상이한 농도의 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 적어도 2개의 상이한 피분석물을 검출하는 방법을 제공한다.

[0124] 현재, 하나의 피분석물이 pg/ml 농도로 있고, 또다른 피분석물이 ng/ml 농도로 있어서 피분석물이 매우 넓은 농도 범위로 존재할 경우, 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 1 초과 2의 피분석물을 검출하는 것이 필요하다. 화학발광-ELISA는 광범위한 농도 범위로 동일 샘플 중에 존재하는 피분석물을 동시에 분석할 수 있는 능력을 갖는다. 광범위한 농도 범위로 존재하는 상이한 피분석물의 농도를 검출할 수 있는 것에 관한 또다른 잇점은 이들 피분석물의 농도와 피험체에게 투여된 다중 약물의 안전성 및 효능에 대한 비를 연관시킬 수 있는 능력이다. 예를 들면, 예기치 못한 약물-약물 간의 상호 작용은 약물유해반응의 공통된 원인이 될 수 있다. 상이한 피분석물을 측정하기 위한 실시간 동시 측정 기법은 유해한 약물-약물간 상호작용의 잠재적인 비참한 결과를 피하는데 도움이 된다.

[0125] 소정의 기간 동안 단일 단일 피험체의 피분석물 농도, PD 또는 PK의 변화율을 모니터링하거나, 약물 또는 그 대사산물의 농도, PD 또는 PK의 추이 분석을 수행하면, 잠재적인 위험한 상황을 방지하는 것에 도움을 줄 수 있다. 예를 들어, 포도당이 관심의 대상이 되는 피분석물인 경우, 주어진 시간의 샘플 내의 포도당 농도와 주어진 기간 동안 포도당 농도의 변화율은 예를 들면, 저혈당 상황을 예측하고 방지하는데 매우 유용할 수 있다. 이와 같은 추이 분석은 약물 투약 요법에서 광범위하게 유리한 관계를 갖는다. 다수의 약물과 그들의 대사산물에 관한 경우, 추이를 알아맞히고 사전 조치를 취할 수 있는 능력이 종종 바람직할 수 있다.

[0126] 따라서, 본 발명은 피험체의 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물의 농도에 대한 추이 분석을 실시하는 방법을 제공한다. 본 방법은 a) 적어도 하나의 샘플 수집 유닛, 면역분석 시약을 함유하는 면역분석 조립체, 상기 샘플 수집 유닛 및/또는 상기 면역분석 조립체와 유체 연통하는 복수개의 채널을 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; b) 상기 유체 장치를 작동시켜 상기 유체 장치 내의 상기 면역분석 시약을 송류하는 단계; c) 체액 샘플을 상기 분석 면역분석 조립체 내에 함유되어 있는 상기 면역분석 시약과 반응시켜 상기 샘플 중 상기 피분석물의 존재를 나타내는 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 단계; d) 상기 체액 샘플에서 수집된 상기 피분석물로부터 생성된 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계를 포함하는 단계; 및 e) 일정 기간에 걸쳐 단일 피험체에 대해 단계 a) 내지 단계 d)를 반복하여 상기 피분석물의 농도를 검출함으로써 상기 추이 분석을 실시하는 단계를 포함한다.

[0127] 몇몇 실시태양에서, 외부 장치로부터 전송된 분석을 사용하여 피험체로부터 얻은 체액 중 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물을 검출하는 방법을 제공한다. 본 방법은 적어도 하나의 샘플 수집 유닛 및 면역분석 시약을 함유하는 면역분석 조립체를 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; 상기 유체 장치를 검출하여 면역분석 프로토콜을 상기 장치에 무선으로 전송하는 단계; 체액 샘플을 면역분석 시약과 반응시켜 전송된 면역분석 프로토콜을 사용하여 상기 피분석물의 존재를 나타내는 검출 가능한 신호를 산출하는 단계; 및 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계를 포함한다.

[0128] 판독기 조립체와 외부 저장 장치 사이에 전송이 이루어져 본 발명의 판독기 조립체는 유체 장치 특이 프로토콜을 다운로드하여 유체 장치의 정제에 기초하여 유체 장치에서 실행시킬 수 있다. 이로써 판독기 조립체는 본원

에 기술된 임의의 적절한 유체 장치와 상호교환적으로 사용될 수 있다. 또한, 외부 장치는 주어진 유체 장치와 관련된 복수개의 프로토콜을 저장할 수 있고, 예를 들면, 피험체의 치료 요법 또는 계획에 따라서 상이한 프로토콜이 외부 장치로부터 판독기 조립체에 전송되어 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 각종 피분석물을 검출하도록 유체 장치에서 실행될 수 있다. 외부 장치는 또한 유체 장치 뿐만 아니라, 특정 피험체 또는 피험체들과 관련된 복수개의 프로토콜을 저장할 수 있고, 이로써, 프로토콜은 피험체 뿐만 아니라, 유체 장치와 관련될 수 있다.

[0129] 본 발명에 따르면 피험체의 약물학적 변수의 자동 정량화, 및 변수와 예를 들면, 모니터된 변수의 병력을 포함할 수 있는 피험체의 의료 기록, 또는 또다른 군의 피험체의 의료 기록과의 자동 비교가 가능하다. 피분석물을 실시간으로 모니터링하는 것을, 데이터 저장이 가능하고 모든 유형의 데이터 처리 또는 알고리즘을 수행할 수 있는 외부 장치와 커핑하면 예를 들어, 현재 피험체 데이터를 과거 피험체 데이터와 비교하는 것을 포함할 수 있는 전형적인 피험체 관리에 도움을 줄 수 있는 장치를 제공한다. 그러므로, 본 발명은 의료 요원에 의해 현재 수행되는 피험체 모니터링의 적어도 일부를 효과적으로 수행할 수 있는 영업 방법을 안출한다.

[0130] 안출된 네트워크의 두드러진 잇점들 가운데 하나를 도 20에 도시된다. 모든 정보는 인터넷을 통해 안전하게 전달되므로, 정보를 다수의 이해관계인과 함께 동시에 공유하면서 적절한 의료, 조정 및 사업적 필요를 만족시킬 수 있다.

[0131] 몇몇 실시태양에서, 본 발명은 적어도 하나의 샘플 수집 유닛 및 분석 조립체를 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; 체액 샘플을 분석 조립체 내에 함유되어 있는 반응물과 반응시켜 인플루엔자 바이러스를 나타내는 상기 피분석물의 존재를 나타내는 검출 가능한 신호가 산출되도록 하는 단계; 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계; 상기 신호를 외부 장치에 전송하는 단계; 상기 외부 장치에서 신호를 처리하는 단계; 및 상기 처리된 신호를 휴대용 장치에 의해 전송하는 단계를 포함하는, 휴대용 장치에 의해 피험체의 약물학적 변수를 전송하는 방법을 제공한다.

[0132] 본 발명의 한가지 잇점은 분석 결과를 받으면 유리할 임의의 제3자에게 실질적으로 즉각 결과를 전송할 수 있다는 점이다. 예를 들어, 일단 피분석물 농도가 외부 장치에서 측정되고 나면, 추가 조치할 필요가 있는 환자나 의료 요원에게 전송될 수 있다. 제3자에게 전송하는 단계는 본원에 기술되어 있는 바와 같이 무선으로 실시될 수 있고, 데이터가 제3자의 휴대용 장치로 전송되면, 제3자는 시간과 장소에 거의 구애받지 않고 분석 결과를 고지 받을 수 있다. 따라서, 시간에 민감한 상황에서는 긴급 의료 행위가 필요한 경우 환자가 어디 있건 즉각 접촉할 수 있다.

[0133] 몇몇 실시태양에서, 유체 장치에서 실행될 프로토콜을 자동으로 선택하는 방법은 식별자 검출기와 식별자를 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; 상기 식별자 검출기로 상기 식별자를 검출하는 단계; 상기 식별자를 외부 장치에 전송하는 단계; 및 유체 장치에서 실행할 프로토콜을 상기 식별자와 관련된 상기 외부 장치 상의 복수개의 프로토콜로부터 선택하는 단계를 포함한다.

[0134] 유체 장치와 관련된 식별자를 판독기 조립체에 삽입한 후에 식별자에 기초하여 각각의 유체 장치를 검출하면, 본 발명의 시스템은 유체 장치 특이 프로토콜이 외부 장치로부터 다운로드되어 유체 장치에서 실행되도록 할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 외부 장치는 유체 장치와 관련되거나 특정 피험체 또는 피험체 군과 관련된 복수개의 프로토콜을 저장할 수 있다. 예를 들면, 식별자가 외부 장치로 전송되면, 외부 장치의 소프트웨어는 식별자를 획득할 수 있다. 일단 획득하면, 데이터베이스와 같은 외부 장치의 소프트웨어는 식별자와 관련된 데이터베이스에 저장된 프로토콜을 식별하도록 식별자를 사용할 수 있다. 오직 하나의 프로토콜이 식별자와 관련되면, 예를 들어, 데이터베이스는 프로토콜을 선택할 수 있고, 이어서 외부 장치의 소프트웨어는 프로토콜을 판독기 조립체의 연통 조립체에 전송할 수 있다. 유체 장치와 특별한 관련된 프로토콜을 사용할 수 있는 능력을 통해 임의의 적절한 유체 장치를 단일의 판독기 조립체와 함께 사용할 수 있고, 이로써, 실질적으로 임의의 관심의 대상이 되는 피분석물을 단일의 판독 조립체로 검출할 수 있다.

[0135] 몇몇 실시태양에서, 복수의 프로토콜이 단일의 식별자와 관련될 수 있다. 예를 들어, 동일한 피험체로부터 하나의 피분석물을 1주마다 검출하고 또다른 피분석물을 2주마다 검출하는 것이 유익한 경우에, 식별자와 관련된 외부 장치의 프로토콜들은 또한 서로 다른 요일에 각각 관련됨으로써, 식별자가 검출되면, 외부 장치의 소프트웨어는 요일에 관련된 특정 프로토콜을 선택할 수 있다.

[0136] 몇몇 실시태양에서, 피험체는 각종 피분석물 검출에 사용되는 복수개의 유체 장치를 제공받을 수 있다. 피험체는 예를 들면, 서로 다른 요일에 상이한 유체 장치를 사용할 수 있다. 몇몇 실시태양에서, 식별자를 프로토콜과

관련시키는 외부 장치의 소프트웨어는 현재 날짜를, 유체 장치를 예를 들면, 임상 시험에 기초하여 사용할 날짜와 비교하는 과정을 포함할 수 있다. 예를 들면, 2개 요일이 동일하지 않다면, 외부 장치는 본원에 기술되거나 당업계에 공지된 임의의 방법에 따라 무선으로 피험체에게 고지를 보냄으로써, 부정확한 유체 장치가 판독기 조립체 내에 있다는 것과 당일 정확한 유체 장치를 사용할 것을 알린다. 이는 일례일 뿐이며, 예를 들면, 유체 장치가 정확한 날짜에 사용되지 않고 있다고 피험체에게 고지할 수 있는 것과 같이, 용이하게 확장할 수 있다.

[0137] 몇몇 실시태양에서, 본 발명은 시험 동물로부터의 항-인플루엔자 약제학적 제제의 효능 및/또는 독성을 평가하는데 유용한 약물학적 데이터를 수득하는 방법을 제공한다. 본 방법은 a) 적어도 하나의 샘플 수집 유닛, 분석 조립체, 및 상기 샘플 수집 유닛 및/또는 상기 분석 조립체와 유체 연통하는 복수개의 채널을 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; b) 약 50 μL 미만의 생물학적 유체 샘플을 상기 분석 조립체 내에 함유되어 있는 반응물과 반응시켜 약물학적 변수를 나타내는, 상기 샘플 중에서 먼저 수집된 인플루엔자 바이러스 감염을 나타내는 피분석물로부터 생성된 검출 가능한 신호를 산출하는 단계; 및 c) 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계; 및 d) 동일 시험 동물로부터 얻은 생물학적 유체의 제2 샘플을 사용하여 반응 및 검출 단계를 반복하는 단계를 포함한다. 관련 실시태양에서, 본 발명은 a) 적어도 하나의 샘플 수집 유닛, 분석 조립체, 및 상기 샘플 수집 유닛 및/또는 상기 분석 조립체와 유체 연통하는 복수개의 채널을 포함하는 유체 장치를 제공하는 단계; b) 생물학적 유체 샘플을 상기 분석 조립체 내에 함유되어 있는 반응물과 반응시켜 약물학적 변수를 나타내는, 상기 샘플 중에서 먼저 수집된 피분석물로부터 생성된 검출 가능한 신호를 산출하는 단계; 및 c) 상기 검출 가능한 신호를 검출하는 단계; 및 d) 마취되지 않은 동일 시험 동물로부터 얻은 생물학적 유체의 제2 샘플을 사용하여 반응 및 검출 단계를 반복하는 단계를 포함한다.

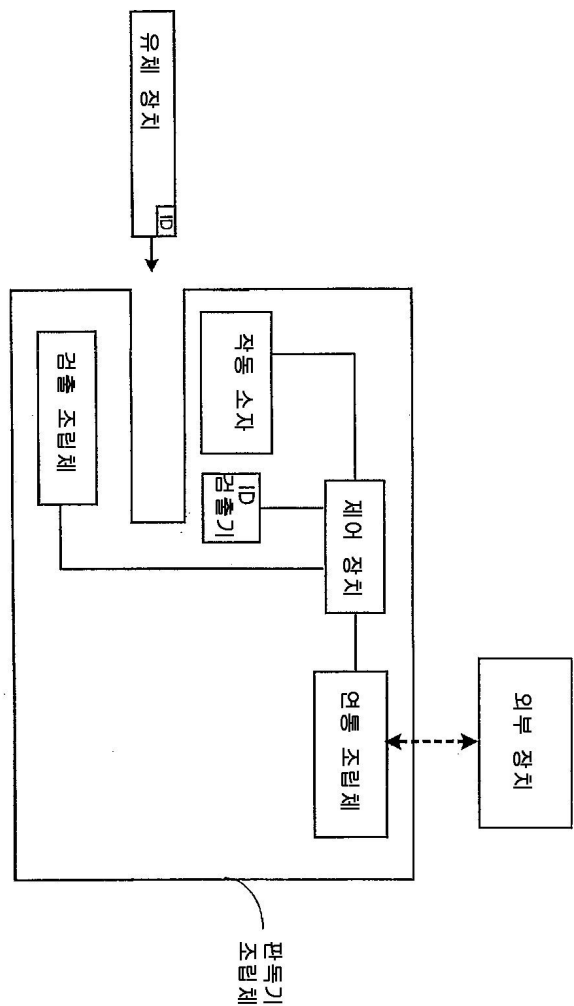
[0138] 실험 동물을 항-인플루엔자 약제학적 제제의 임상전 시험에 사용할 때, 관심의 대상이 되는 피분석물을 검출하는 분석법을 실시하기에 충분한 양의 혈액을 추출하기 위해서는 시험 피험체를 죽일 필요가 종종 있다. 이는 제정 및 윤리 문제와 연루되며, 본 발명은 동물을 죽이지 않을 양 만큼의 혈액을 추출할 수 있어서 유리할 수 있다. 또한, 동일 실험 동물을 상이한 시간에 복수의 약제학적 제제로 시험할 수 있어서 더욱 효과적인 임상전 시험이 가능하다. 평균적으로, 마우스의 혈액 총량은 예를 들면, 체중 100 g 당 6-8 mL의 혈액이다. 본 발명의 장점은 마우스 또는 다른 작은 실험 동물의 임상전 시험에 단지 극소량의 혈액이 필요하다는 점이다. 몇몇 실시태양에서, 약 1 μL 내지 약 50 μL 가 추출된다. 바람직하게는, 약 1 μL 내지 10 μL 가 추출된다. 바람직한 실시태양에서, 약 5 μL 의 혈액이 추출된다.

[0139] 실험 동물의 생존시키는 것의 추가의 잇점은 임상전 과정 연구에서 두드러진다. 예를 들면, 복수의 마우스를 이용하여 시간에 따른 시험 피험체의 체액 중 피분석물의 수준을 모니터링할 때, 시험은 다수의 피험체를 사용하는 추가 변수를 갖는다. 그러나, 시간이 경과함에 따라 그 자신의 대조군으로서 단일 시험 동물을 사용하는 경우, 더욱 정확하고 유익한 임상전 시험을 실시할 수 있다.

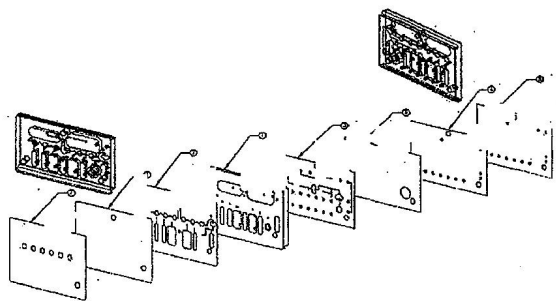
[0140] 본 발명의 바람직한 실시태양을 본원에 나타내고 기술하였지만, 그러한 실시태양은 단지 예시적인 것으로 제공되었다는 것은 당업자에게 자명할 것이다. 이에 당업자에게 본 발명으로부터 벗어나지 않으면서 다수의 변형, 변화 및 치환이 일어날 수 있다. 본원에 기술된 본 발명의 실시태양에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는데 사용될 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 하기의 특허 청구 범위는 본 발명의 범주를 정의하고, 이들 하기의 특허 청구 범위내의 방법 및 구조물 및 그의 등가물이 그에 의해 포함될 수 있도록 한다.

도면

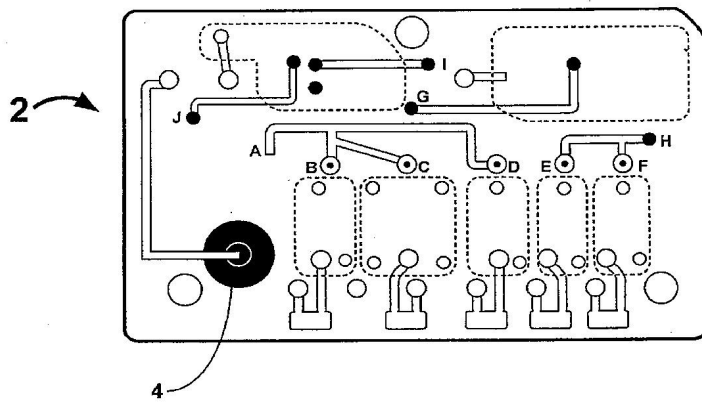
도면1



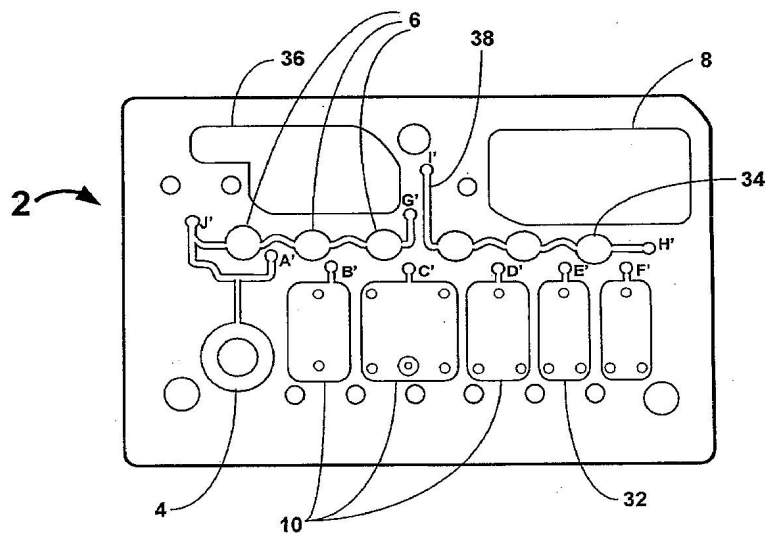
도면2



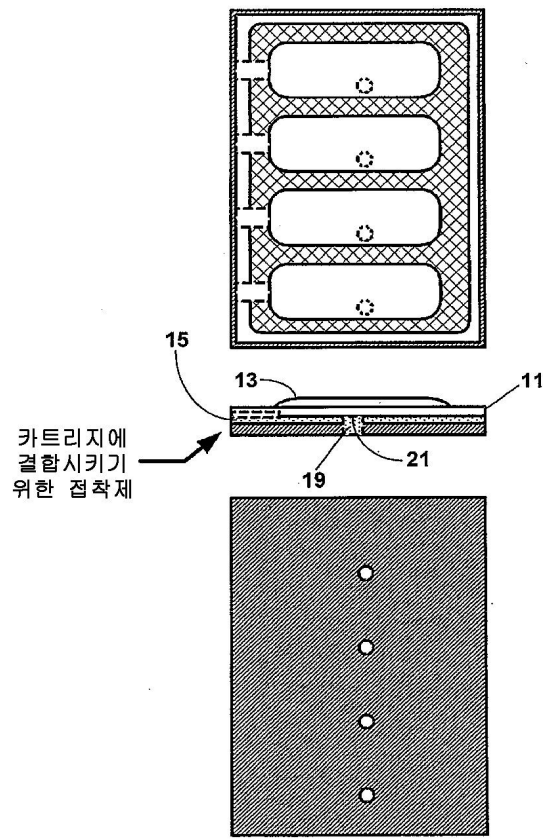
도면3



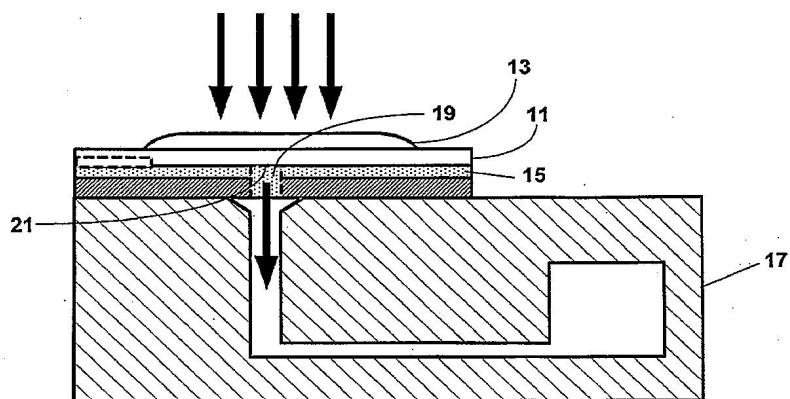
도면4



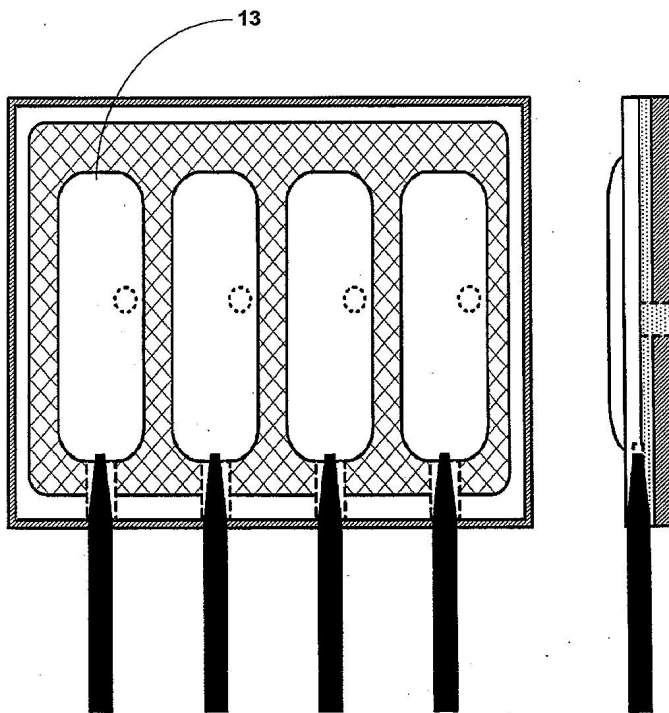
도면5



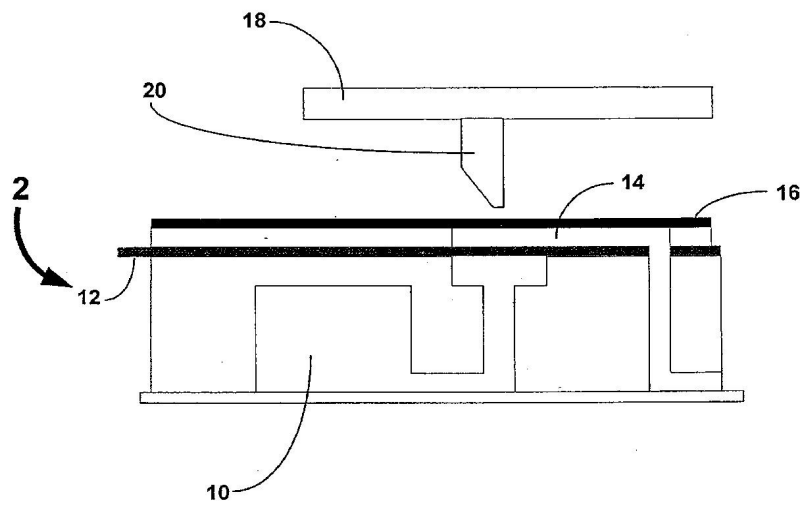
도면6



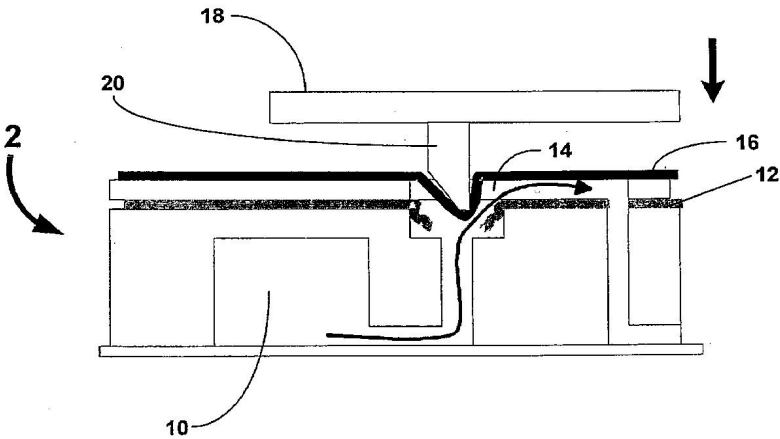
도면7



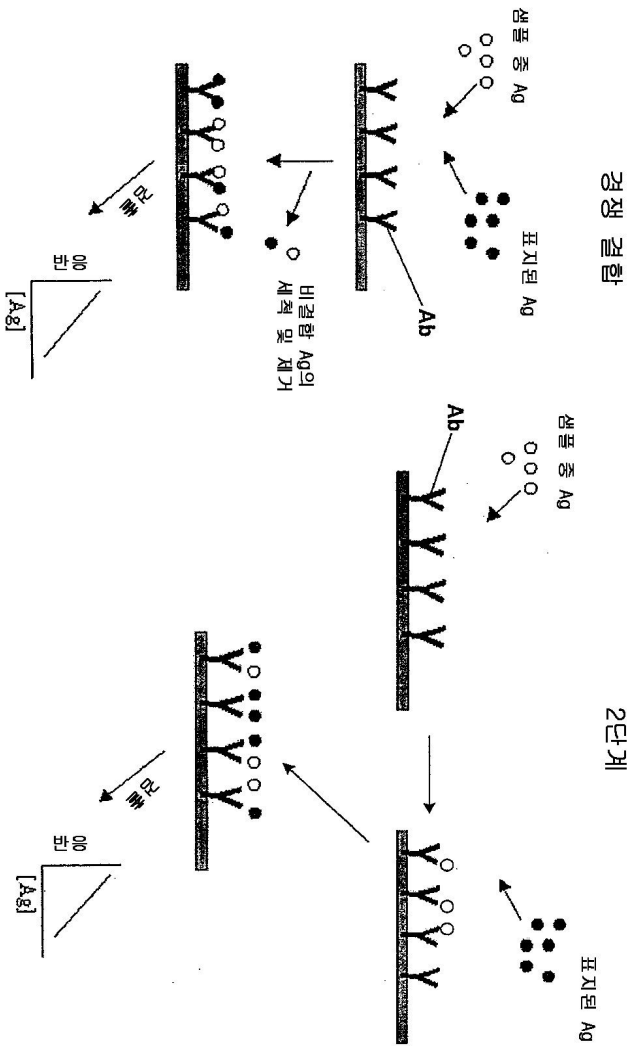
도면8



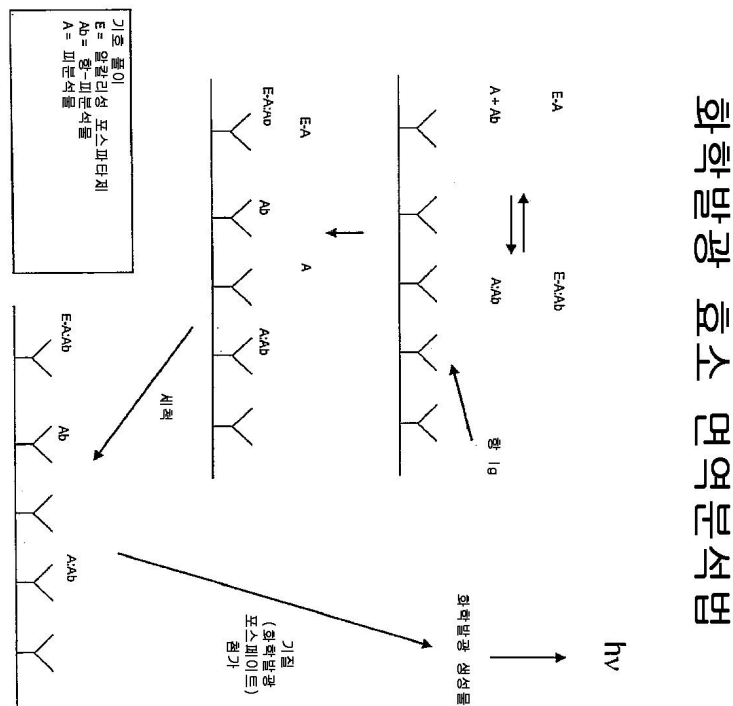
도면9



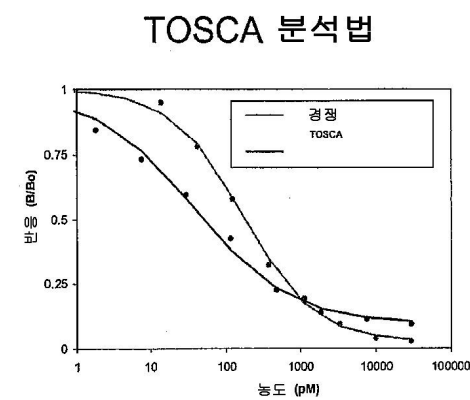
도면10



도면11

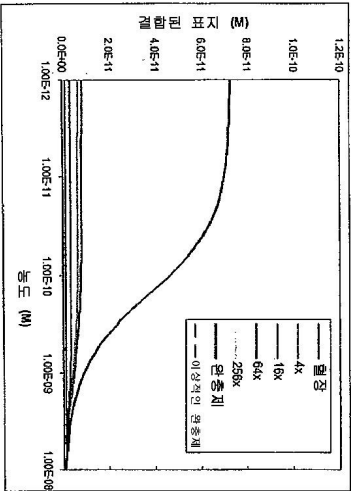


도면12

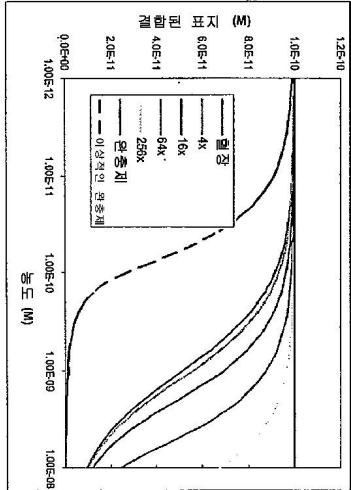


월장 효과

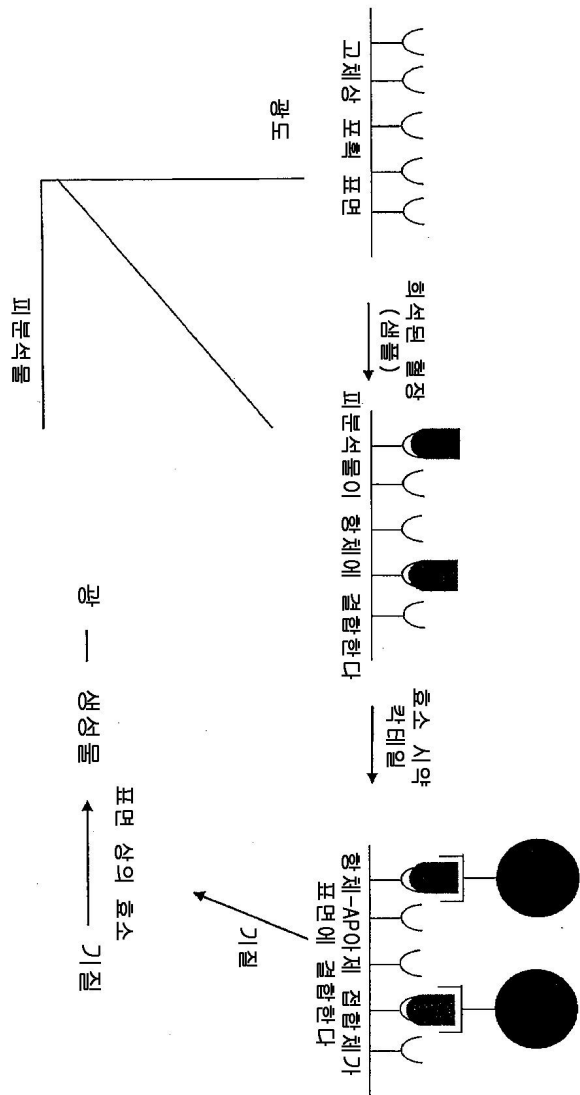
경쟁 결합



2단계



도면14



도면15

