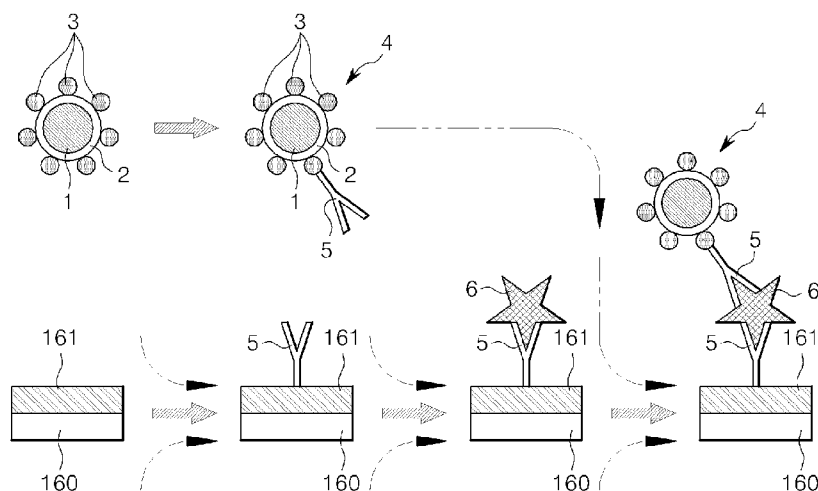




- (51) 국제특허분류:
G01N 27/327 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
G01N 33/15 (2006.01) *C07K 14/745* (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/011953
- (22) 국제출원일: 2016년 10월 24일 (24.10.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
 10-2015-0148162 2015년 10월 23일 (23.10.2015) KR
- (71) 출원인: 계명대학교 산학협력단 (INDUSTRY ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION KEIMYUNG UNIVERSITY) [KR/KR]; 42601 대구시 달서구 달구벌대로 1095, Daegu (KR).
- (72) 발명자: 허윤석 (HEO, Yun Seok); 42122 대구시 수성구 수성로 69길 14, 101동 510호, Daegu (KR). 김윤년 (KIM, Yoon Nyun); 41856 대구시 서구 달구벌대로 1707, 107동 1203호, Daegu (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 태백 (TAEBAEK INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM); 08506 서울시 금천구 가산디지털1로 151 이노폴lex 1차 601호, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 공개:
 — 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) Title: PORTABLE SYSTEM FOR MEASURING BLOOD COAGULATION FACTOR

(54) 발명의 명칭 : 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템



(57) Abstract: The present invention provides a portable system for measuring a blood coagulation factor, the system measuring, in order to perform rapid and accurate blood coagulation examination, factor X (Stuart-Prower factor) among blood coagulation factors with one device before and after taking an anticoagulant, respectively, and quantitatively calculating the measured values, thereby enabling the extent of a pharmacological effect of a blood anticoagulant, compared with a conventional system, to be rapidly and accurately measured, enabling the effect achieved by taking the blood anticoagulant to be rapidly and objectively ascertained, and preventing side effects due to drug misuse and abuse by providing a standard for the blood anticoagulant dosage thereafter.

(57) 요약서: 본 발명은 신속하고 정확한

[다음 쪽 계속]



혈액 응고 검사를 위해 혈액의 응고인자 중 제 X 인자(Factor X: Stuart-prower factor)를 하나의 장치로, 항응고제 복용 전, 후에 각각 측정하고, 측정된 수치를 정량적으로 산출함으로써, 혈액 항응고제의 약리효과 정도를 종래보다 빠르고 정확하게 측정할 수 있고, 항응고제의 복용에 따른 효과를 신속하게 객관적으로 확인 가능하며, 추후 항응고제의 복용량 기준을 제공하여, 약물 오남용에 따른 부작용을 방지하는 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템을 제공한다.

명세서

발명의 명칭: 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템

기술분야

- [1] 본 발명은 휴대가 가능한 정도의 크기로 혈액 중 응고인자인 제X인자(Factor X: Stuart-prower factor)를 측정하여, 항응고제의 복용에 따른 항응고제의 약리효과 및 추후 항응고제 복용량의 기준을 제공하는 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 심부정맥 혈전증이나 폐색전증, 인공판막이식 또는 심방세동 등 혈전에 의해 혈류의 흐름이 비정상적인 경우 항응고 치료를 받게 되는데 이러한 환자들은 복용하는 항응고제의 양을 지속적으로 조절 관리하여야 출혈이나 색전증이 일어나지 않는다.
- [3] 이때 체내에서 혈액응고 과정이 정상적으로 유지되고 있는지 확인하기 위해 혈액 응고 검사를 필수적으로 시행한다.
- [4] 혈액 응고 검사는 수술받는 환자의 출혈 감수성의 측정 및 혈액 응고를 예방하기 위한 항응고제 치료 환자의 모니터링 등 다양한 목적으로 실시할 수 있다.
- [5] 다수의 응고 시험이 현재 사용되고 있으며, 이들 중 하나가 프로트롬빈 시간(PT) 시험이다.
- [6] PT 시험은, PT 시험을 받는 혈액 샘플에 첨가된 트롬보플라스틴에 의한 외인성 응고 경로의 활성화에 의존한다.
- [7] 외인성 응고 경로의 활성화는, 피브리노겐이 피브린으로 전환되는 것을 촉매하는 단백질분해 효소인 트롬빈의 생성을 유도한다.
- [8] 트롬보플라스틴(TF)은 인자 VIIa와 함께 복합체를 형성하는 막 결합된 당단백질로서 인자 VIIa/TF 복합체는 혈액 응고 과정을 개시한다.
- [9] 일단 형성되면, 인자 VIIa/TF 복합체는 응고 캐스케이드의 외인성 및 내인성 경로에 수반되는 일련의 특이 효소를 활성화시키고, 이는 궁극적으로 트롬빈의 형성, 피브린, 혈소판 활성화 및 마지막으로 응혈 형성을 유도한다.
- [10] 참고할 만한 종래의 기술로는 특허등록 제10-1221296호(2013.01.04)에서는 (a) 볼록한(convex) 나노패턴이 형성된 수지 기판 및 (b) 상기 수지 기판 위에 위치하는 세 개의 전극을 포함하는 혈액 응고 측정 장치에서, 상기 전극 또한 볼록한 나노 패턴을 가지며 그 결과 볼록한 나노패턴이 2중으로 형성하는 혈액 응고 측정 장치를 제공하였다.
- [11] 상기와 같이 종래에는 혈액 응고인자 중 인자 VIIa를 활용하여 혈액 응고에 대한 검사가 이루어졌으나, 인자 VIIa를 활용한 혈액 응고 검사는 정성적인 측정법으로 이루어져 이상소견을 나와도 인자 VIIa가 정상인의 약 10% 이하가

되지 않으면 출현하지 않는다.

- [12] 따라서 종래와 같이 인자 VIIa를 활용하여 혈액 응고 검사를 실시하면, 정성적인 측정법에 의해 오진의 염려가 있었고, 오진에 따른 항응고제의 복용이 늘어나 약물 오남용으로 항응고제에 대한 부작용 발생이 증가할 수 있다.

- [13] 그러므로 종래와 같이 인자 VIIa를 활용한 혈액 응고 검사보다 정확하고, 정량적인 측정방식이 대두 되어야만 한다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [14] 본 발명은 신속하고 정확한 혈액 응고 검사를 위해 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X: Stuart-prower factor)를 하나의 장치로, 항응고제 복용 전, 후에 각각 측정하고, 측정된 수치를 정량적으로 산출함으로써, 혈액 항응고제의 약리효과 정도를 종래보다 빠르고 정확하게 측정할 수 있고, 항응고제의 복용에 따른 효과를 신속하게 객관적으로 확인 가능하며, 추후 항응고제의 복용량 기준을 제공하여, 약물 오남용으로 인한 부작용을 방지하는 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제 해결 수단

- [15] 본 발명에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정장치는 혈액을 인입하여 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X: Stuart-prower factor)가 반응실에 분포되도록, 상기 반응실에 금(Au)으로 이루어진 전극을 포함하는 채혈카트리지와, 일측에는 상기 채혈카트리지가 삽입되는 삽입공을 형성한 하우징과, 상기 하우징의 내부에 구비되어, 상기 삽입공을 통해 삽입된 채혈카트리지의 전극과 전기적으로 연결되고, 상기 채혈카트리지의 반응실에 분포된 제X인자에 대한 전기적 신호를 검출하여, 검출된 전기적 신호를 바탕으로 항응고제 복용 전, 후의 제X인자 수치를 측정/저장하고, 측정된 항응고제 복용 전, 후의 제X인자 수치를 토대로 활성 제X인자(Factor Xa: Active stuart-prower factor) 수치를 산출하는 연산부 및 상기 하우징의 일측 표면에 배치되고, 상기 연산부와 전기적으로 연결되어, 상기 연산부에서 측정 및 산출된 항응고제 복용 전, 후의 제X인자 수치들과 활성 제X인자 수치를 표시하는 디스플레이부를 포함한다.
- [16] 이때 본 발명에 따른 상기 채혈카트리지는 판 상의 몸체와, 상기 판 상의 몸체 전방측 상면에 형성되어, 채집된 혈액을 인입하는 인입구와, 상기 인입구에서 후방측으로 채널로 연장 형성되고, 상기 인입구를 통해 인입된 유체를 후방측으로 유동시키는 중심채널과, 상기 인입구 주변에서 중심채널과 연결되고, 상기 중심채널을 따라 유동하는 유체에 반응물을 제공하는 복수 개의 주입웰과, 상기 중심채널의 후방측 상에 배치되고, 중심채널을 따라 후방측으로 유동하는 유체 및 반응물을 서로 반응시키는 반응실과, 상기 중심채널의 말단과 연결되고, 상기 반응실을 지난 유체가 외부로 배출되도록 하는 배출구를 포함한다.

- [17] 여기서 본 발명에 따른 상기 채혈카트리지의 인입구 측에는 상기 인입구를 통해 인입된 전혈 중 혈장만을 분리하여 중심채널로 유동시키는 혈장분리부를 더 포함할 수 있다.
- [18] 또한 본 발명에 따른 상기 복수 개의 주입웰은 상기 중심채널을 따라 유동하는 유체에 버퍼용액을 제공하는 제1주입웰과, 상기 중심채널을 따라 유동하는 버퍼용액에 금나노입자를 제공하는 제2주입웰로 이루어진다.
- [19] 더불어 본 발명에 따른 상기 연산부는 상기 전극에서 발생하는 전기적 신호를 증폭하는 앰프와, 상기 전기적 신호를 디지털 신호로 변환하는 A/D컨버터와, 상기 디지털 신호를 입력받아 제X인자(Factor X) 수치를 측정하는 마이크로컨트롤유닛과, 상기 마이크로컨트롤유닛에서 측정한 제X인자(Factor X) 수치를 저장하는 메모리를 포함할 수 있다.
- [20] 본 발명의 일 실시예에 따른 혈액 응고인자 측정방법은 a)청구항 1에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정장치가 제공되는 단계와, b)제공된 제1 채혈카트리지에 채혈한 혈액을 인입한 후, 혈액이 인입된 제1 채혈카트리지를 하우징에 삽입하면, 하우징 내의 연산부가 항응고제 복용 전,후의 를 측정하는 단계와, c)상기 연산부에 의해 최초 항응고제 복용 전, $Fx_{\text{초}}$ 가 측정되면,

측정치를 메모리에 저장하는 단계와, d)항응고제 복용하고 적정 시간이 경과된 후, 제공된 제2 채혈카트리지에 채혈한 혈액을 인입한 후, 혈액이 인입된 제2 채혈카트리지를 하우징에 삽입하면, 하우징 내의 연산부가 항응고제 복용 후, Fx 를 측정하는 단계 및 f)상기 연산부가 Fx 를 측정하면, 메모리에 저장된 $Fx_{\text{초}}$ 를 도출하여, 상기 연산부는 $Fx_{\text{초}}$, Fx 를 하기의

[수학식1]에 대입하여 Fxa (Factor Xa: Active stuart-prower factor)를

산출하는 단계를 포함한다.

- [21] 이때 [수학식1]은 $Fx_{\text{초}} = Fx + Fxa$ 이고, 여기서 $Fx_{\text{초}}$: 초기 제X인자(Factor X) 수치이며, Fx : 항응고제 복용 후, 제X인자(Factor X) 수치이고, Fxa : 항응고제 복용 후, 활성제X인자(Factor Xa) 수치이다.

- [22] 그리고 본 발명에 따른 f)단계인 하기의 [수학식1]을 이용하여 Fxa 를 산출하는 단계에서는, Fxa 를 산출한 후, 산출한 Fxa 와 Fx 를 $\frac{Fx}{Fxa}$ 에 대비하여 디스플레이를 통해 표시하여 항응고제의 약리효과를

판단하는 기준을 제공한다.

발명의 효과

- [23] 본 발명에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템은 다음과 같은 효과를 가진다.
- [24] 첫째, 하나의 장치로 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X)를 항응고제 복용 전, 후에 각각 측정하고, 측정된 수치를 이용해 활성 제X인자를 산출하여 정량적으로 제공함으로써, 신속 정확한 혈액 응고 검사가 가능하고, 혈액 항응고제의 약리효과 정도를 빠르고 정확하게 확인/판단할 수 있는 효과를 가진다.
- [25] 둘째, 휴대성이 높아 어디서나 빠르게 혈액 응고인자 측정이 가능해 환자를 위한 편의성이 증가 되고, 혈장 분리 및 금나노입자를 이용하여, 혈액 응고인자에 대한 민감도가 크게 향상되어, 고감도의 혈액 응고인자 측정장치를 제공할 수 있어, 장치에 대한 신뢰성이 확보될 수 있는 효과를 가진다.
- [26] 셋째, 항응고제의 복용에 따른 효과를 신속하게 정량적으로 확인 가능하고, 추후 항응고제 복용량 조절할 수 있어, 약물 오남용에 따른 부작용을 방지하는 효과를 가진다.

도면의 간단한 설명

- [27] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템을 보인 예시도이다.
- [28] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 채혈카트리지를 보인 예시도이다.
- [29] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 채혈카트리지에서 제X인자(Factor X: Stuart-prower factor)가 분포되는 상태를 보인 모식도이다.
- [30] 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템의 전기적 연결 관계를 보인 예시도이다.
- [31] 도 5는 본 발명의 다른 실시예로 면역효소반응을 기반으로 한 형광 측정의 실시를 보인 모식도이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [32] 본 발명은 혈액을 인입하여 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X)가 반응실에 분포되도록, 상기 반응실에 금(Au)으로 이루어진 전극을 포함하는 채혈카트리지와, 일측에는 상기 채혈카트릿지가 삽입되는 삽입공을 형성한 하우징과, 상기 하우징의 내부에 구비되어, 상기 삽입공을 통해 삽입된 채혈카트리지의 전극과 전기적으로 연결되고, 상기 채혈카트리지의 반응실에 분포된 제X인자에 대한 전기적 신호를 검출하여, 검출된 전기적 신호를 바탕으로 항응고제 복용 전, 후의 제X인자 수치를 측정/저장하고, 측정된 항응고제 복용 전, 후의 제X인자 수치를 토대로 활성 제X인자 수치를 산출하는 연산부 및 상기 하우징의 일측 표면에 배치되고, 상기 연산부와 전기적으로 연결되어, 상기 연산부에서 측정 및 산출된 항응고제 복용 전, 후의 제X인자

수치들과 활성 제X인자 수치를 표시하는 디스플레이부를 포함하여 하나의 장치로 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X)를 항응고제 복용 전, 후에 각각 측정하고, 측정된 수치를 이용해 활성 제X인자를 산출하여 정량적으로 제공함으로써, 신속 정확한 혈액 응고 검사가 가능하고, 혈액 항응고제의 약리효과 정도를 빠르고 정확하게 확인/판단할 수 있는 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템을 제공한다.

발명의 실시를 위한 형태

- [33] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 바람직한 실시 예를 상세히 설명하기로 한다. 이에 앞서, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니 되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여, 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.
- [34] 따라서 본 명세서에 기재된 실시예와 도면에 도시된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 실시 예에 불과할 뿐이고, 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원시점에 있어서 이들은 대체할 수 있는 균등한 변형 예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.
- [35] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템을 보인 예시도이고, 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 채혈카트리지를 보인 예시도이며, 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따라 채혈카트리지에서 제X인자(Factor X: Stuart-prower factor)가 분포되는 상태를 보인 모식도이고, 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템의 전기적 연결 관계를 보인 예시도이다.
- [36] 본 발명은 휴대가 가능한 정도의 크기로 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X)를 측정하여, 항응고제의 복용에 따른 효과 및 추후 항응고제 복용량의 기준을 제공하는 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템에 관한 것으로, 도면을 참조하여 살펴보면 다음과 같다.
- [37] 여기서 제X인자(Factor X: Stuart-prower factor)는 간에서 생성되는 비타민K 의존성 당단백질로서 인체 혈장내에 평균적으로 ~10ug/ml(~170nM) 존재하고, 활성 제X인자(Factor Xa: Active stuart-prower factor)는 항응고제를 복용함에 따라 제X인자가 활성화된 인자이다.
- [38] 본 발명에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정시스템은 도 1에 도시한 바와 같이 연산부(210) 및 디스플레이부(220)를 포함하는 하우징(200)에 채혈카트리지(100)를 체결함으로써 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X)의 수치 측정이 이루어진다.
- [39] 먼저 상기 채혈카트리지(100)는 일측을 통해 혈액을 내부로 인입하여 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X)를 반응실(160)에 분포시켜, 상기 하우징(200)의

반응실(160)에 분포된 제X인자(Factor X) 수치에 대한 정량적인 측정이 가능하게 한다.

- [40] 상기 채혈카트리지(100)를 도 2를 참조하여 보다 상세하게 살펴보면, 합성수지와 같은 부도체로 몸체(110)가 판 상으로 구비되고, 상기 판 상의 몸체(110) 전방측 상면에는 인입구(120)를 형성하여, 피측정자에서 채혈된 혈액은 상기 인입구(120)를 통해 인입된다.
- [41] 이때 상기 몸체(110)는 폴리염화비닐(polyvinylchloride; PVC)로 구비될 수 있고, 상기 인입구(120)에는 상기 인입구(120)를 통해 인입된 전혈 중 혈장만을 분리하여 후방으로 유동시키는 혈장분리부(130)가 더 포함되는 것이 바람직하다.
- [42] 상기 혈장분리부(130)는 전혈 중 혈장만 필터링되도록, 혈액 중 적혈구, 백혈구 및 혈소판인 혈구의 크기보다 작은 폭을 갖는 다수의 미세채널이 집합되어 이루어지고, 상기 미세채널은 마이크로 구조물로 이루어지는 것이 바람직하다.
- [43] 이때 상기 혈장분리부(130)는 혈액이 인입되는 인입구(120)측에 배치되어, 상기 인입구(120)측에서 혈구를 사전에 배제시킨 후, 혈장만을 분리해 몸체의 후방으로 유동시킬 수도 있다.
- [44] 그리고 상기 몸체(110) 내부에는 상기 인입구(120) 및 혈장분리부(130)와 연결된 중심채널(140)이 형성되는데, 상기 중심채널(140)은 인입구(120)에서 몸체(110)의 후방측으로 채널로 연장 형성되고, 상기 인입구(120)를 통해 인입된 유체인 혈액을 후방측으로 유동시킨다.
- [45] 상기한 중심채널(140)은 통상의 마이크로플루이딕칩(microfluidics chip)의 채널과 같은 것으로, 중심채널(140)의 상세한 설명은 생략하기로 한다.
- [46] 또한 상기 인입구(120) 주변에는 복수 개의 주입웰(150)이 구비되어, 상기 중심채널(140)과 연결되는데, 상기 중심채널(140)을 따라 유동하는 혈장과 반응시킬 반응물을 제공한다.
- [47] 이때 상기 복수 개의 주입웰(150)은 중심채널(140)을 따라 유동하는 혈장에 버퍼용액을 제공하는 제1주입웰과, 버퍼용액에 금나노입자를 제공하는 제2주입웰로 이루어진다.
- [48] 여기서 도 3을 참조하여 상기 버퍼용액의 일례를 살펴보면, 혈장에 포함된 제X인자(Factor X)의 광학적 인식이 가능하게, 실리카(2)가 코팅된 색소 또는 형광물질(1)을 포함하고, 상기 실리카(2)가 코팅된 색소 또는 형광물질(1)에 제2주입웰에서 제공된 금나노입자(3)와 결합하여 복합체(4)를 이루도록 한다.
- [49] 이때 상기 복합체(4)는 실리카(2)가 코팅된 색소 또는 형광물질(1) 주변에 금나노입자(3)가 결합되어 이루어지고, 상기한 복합체(4)의 주변에 배치된 금나노입자(3)에 의해 항체(5)의 결합이 용이하여 항원항체반응의 감도가 향상된다.
- [50] 그리고 상기 중심채널(140)의 후방측에는 반응실(160)이 배치되는데, 상기 반응실(160)은 상기 중심채널(140)을 따라 후방측으로 유동한 혈장 및 복수 개의

주입웰(150)을 통해 주입된 반응물을 서로 반응시킨다.

- [51] 이때 상기 반응실(160)의 바닥에는 금(Au)으로 이루어진 전극(161)이 구비되는데, 상기 반응실(160)의 전극(161)을 금(Au)으로 형성하며, 상기 전극(161)에 항체(161)의 고정여 용이하고, 상기 전극(161)의 항원항체반응의 감도가 향상된다.
- [52] 따라서 도 3에 도시한 바와 같이 상기 반응실(160)의 전극(161)에 먼저 다수의 항체(5)가 고정배치되면, 중심채널(140)을 따라 유동하는 혈장 중 제X인자(Factor X)(6)가 상기 전극(161)에 고정된 항체(5)에 결합되어, 제X인자(Factor X)(6)가 상기 반응실(160)에서 체류함과 동시에, 제X인자(Factor X)(6)에는 상기 복합체(4)에 결합된 항체(5)를 통해 복합체(4)가 제X인자(Factor X)(6)에 연결됨으로써, 제X인자(Factor X)(6) 및 복합체(4)가 항원항체반응으로 상기 반응실(160)의 전극(161)에 분포하게 되고, 상기 복합체(4)의 금나노입자(3)에 의해 전기적 신호가 증폭되어, 고감도의 전기화학적 측정이 가능하다.
- [53] 또한 본 발명에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정장치는 전기화학적 측정방식을 기반으로 한 것을 주로 설명하나, 이에 한정하지 않고 다양한 방식이 적용될 수 있으나, 도 5와 같이 면역효소반응을 기반으로 한 형광 측정 방식을 실시할 수도 있다.
- [54] 여기서 반응물로는 형광물질만 이용한다.
- [55] 더불어 상기 중심채널(140)의 말단에는 배출구(170)가 연결되어, 상기 반응실(160)을 지난 유체가 외부로 배출되도록 한다.
- [56] 그리고 본 발명의 일 실시예에 따른 하우징(200)은 그 일측에 상기 채혈카트리지(200)가 삽입되는 삽입공(미부호)을 형성하고, 병원의 의료진 또는 필요로 하는 환자가 용이하게 휴대할 수 있도록 손으로 파지할 수 있을 정도의 크기로 이루어지며, 내부에는 연산부(210)가 구비될 수 있는 공간이 제공되고, 외부에는 디스플레이부(220)가 구비될 수 있는 공간이 제공되는 것이 바람직하다.
- [57] 이때 상기 연산부(210)는 상기 하우징(200) 내부에 구비되어, 삽입공을 통해 삽입된 채혈카트리지(100)의 전극(161)과 전기적으로 연결된다.
- [58] 여기서 상기 채혈카트리지(100)는 반응실(160)에 구비된 전극(161)에서 상기 채혈카트리지(100)의 외표면으로 단자부가 연장형성되는데, 상기 채혈카트리지(100)가 삽입공을 통해 하우징(200) 내부에 삽입됨에 따라 상기 연산부(210)의 단자와 서로 면접하여 전기적으로 연결되는 구조를 취한다.
- [59] 이때 채혈카트리지의 단자부와 연산부의 단자가 서로 면접된 상태를 디스플레이부(220)를 통해 표시될 수 있다.
- [60] 상기 연산부(210)는 채혈카트리지(100)의 전극(161)과 전기적으로 연결되어, 상기 채혈카트리지(100)의 반응실(161)에 분포된 제X인자(Factor X)에 대해 전기적 신호로 검출한다.
- [61]
- [62] *이때 검출하는 전기적 신호는 제X인자(Factor X)의 분포에 따른 임피던스 값

또는 전류 값일 수 있다.

- [63] 또한 상기 연산부(210)는 도 4에 도시한 바와 같이 앰프(211)를 구비하여 전기적 신호를 증폭하여 A/D컨버터(212)로 전달하고, 상기 A/D컨버터(212)는 상기 전기적 아날로그 신호를 디지털 신호로 변환한 후, 상기 마이크로컨트롤유닛(213)으로 전달할 수 있다.
- [64] 여기서 상기 마이크로컨트롤유닛(213)은 상기 A/D컨버터(212)에서 변환된 디지털 신호를 입력받아 상기 반응실(160)의 전극(161)에 분포된 제X인자(Factor X) 수치를 측정한다.
- [65] 그리고 상기 마이크로컨트롤유닛(213)이 측정한 제X인자(Factor X) 수치는 상기 디스플레이부(220)를 통해 표시됨과 동시에 메모리에 시간대별로 저장되어, 마이크로컨트롤유닛(213)이 추후에 사용할 수도 있다.
- [66]
- [67] 본 발명에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정장치를 이용한 혈액 응고인자 측정하는 방법의 일 실시예를 단계적으로 살펴보면 다음과 같다.
- [68] 먼저 a)단계로 본 발명에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정장치가 제공된다.
- [69] 이때 본 발명에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정장치는 상술한 바와 같고, 본 발명에 따른 혈액 응고인자 측정방법은 항응고제 복용 전, 후를 시점으로 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X: Stuart-prower factor)를 측정하고, 측정된 항응고제 복용 전, 후의 제X인자를 토대로 활성 제X인자(Factor Xa: Active stuart-prower factor)를 산출하여, 항응고제의 약리효과 정도의 판단 기준을 제공하는 것으로, 이에 항응고제 복용 전, 후를 시점으로 제X인자(Factor X)를 측정하기 위해 하나의 하우징(200)과, 두 개의 채혈카트리지(100)가 한 세트를 이루어, 하나의 하우징(200)에 항응고제 복용 전에는 제1 채혈카트리지(100)가 이용될 수 있고, 항응고제 복용 후에는 제2 채혈카트리지(100)가 이용될 수 있다.
- [70] 다음은 b)단계로, 피측정자에서 혈액을 채혈한 후, 제공된 제1 채혈카트리지(100)에 채혈한 혈액을 인입하고, 혈액이 인입된 제1 채혈카트리지(100)를 하우징(200)에 삽입하면, 하우징(200) 내의 연산부(210)가 최초 항응고제 복용 전, $Fx_{\text{초}}$ 를 측정한다.
- [71] 여기서 $Fx_{\text{초}}$ 는 초기 제X인자(Factor X) 수치이다.
- [72] 다음은 c)단계로, 상기 연산부(210)에 의해 최초 항응고제 복용 전, $Fx_{\text{초}}$ 가 측정되면, 측정치를 메모리에 저장한다.
- [73] 이때 메모리에 저장되는 $Fx_{\text{초}}$ 는 시간과 함께 저장되는 것이 바람직하고, 디스플레이부(220)를 통해 측정과 함께 표시될 수도 있다.

- [74] 다음은 d)단계로, 피측정자가 항응고제 복용하고 적정 시간이 경과된 후, 피측정자에서 혈액을 채혈하여, 제공된 제2 채혈카트리지(100)에 채혈한 혈액을 인입하고, 혈액이 인입된 제2 채혈카트리지(100)를 하우징(200)에 삽입하면, 상기 하우징(200) 내의 연산부(210)가 항응고제 복용 후, Fx 를 측정한다.
- [75] 여기서 Fx 는 항응고제 복용 후, 제X인자(Factor X) 수치이며, 항응고제 복용후 30분~1시간 경과 후에 채혈이 이루어지는 것이 바람직하고, 측정된 Fx 역시, 시간과 함께 메모리에 저장될 수 있다.
- [76] 다음은 f)단계로, 상기 연산부(210)가 Fx 를 측정하면, 메모리에 저장된 Fx 를 도출하여, 상기 연산부(210)는 $Fx_{\text{초}}$, Fx 를 하기의 [수학식1]에 대입하여 Fxa 를 산출한다.
- [77] 이때 [수학식1]은 $Fx_{\text{초}} = Fx + Fxa$ 이고, Fxa 는 항응고제 복용 후, 활성제X인자(Factor Xa) 수치이다.
- [78] 따라서 [수학식1] $Fx_{\text{초}} = Fx + Fxa$ 에서 Fx 가 치환되어, $Fx_{\text{초}} - Fx = Fxa$ 을 이용하여 Fxa 를 구할 수 있다.
- [79] 그리고 f)단계인 [수학식1]을 이용하여 Fxa 를 산출하는 단계에서는 Fxa 를 산출한 후, 산출한 Fxa 와 Fx 를 $\frac{Fx}{Fxa}$ 에 대비하여 디스플레이(220)를 통해 표시하여 항응고제의 약리효과를 판단하는 기준을 제공한다.
- [80] 본 발명에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정장치를 이용한 혈액 응고인자 측정하는 방법의 다른 실시예로 Fx 및 Fxa 를 각각 바로 측정하는 것도 가능하다.
- [81] 본 발명은 도면에 도시된 실시 예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 본 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시 예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여

정해져야 할 것이다.

청구범위

- [청구항 1] 항응고제 복용 전, 후를 시점으로 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X: Stuart-prower factor)를 측정하고, 측정된 항응고제 복용 전, 후의 제X인자를 토대로 활성 제X인자(Factor Xa: Active stuart-prower factor)를 산출하여, 항응고제의 약리효과 정도의 판단 기준을 제공하는 혈액 응고인자 측정장치에 관한 것으로,
 혈액을 인입하여 혈액의 응고인자 중 제X인자(Factor X)가 반응실에 분포되도록, 상기 반응실에 금(Au)으로 이루어진 전극을 포함하는 채혈카트리지;
 일측에는 상기 채혈카트리지가 삽입되는 삽입공을 형성한 하우징;
 상기 하우징의 내부에 구비되어, 상기 삽입공을 통해 삽입된 채혈카트리지의 전극과 전기적으로 연결되고, 상기 채혈카트리지의 반응실에 분포된 제X인자에 대한 전기적 신호를 검출하여, 검출된 전기적 신호를 바탕으로 항응고제 복용 전, 후의 제X인자 수치를 측정/저장하고, 측정된 항응고제 복용 전, 후의 제X인자 수치를 토대로 활성 제X인자 수치를 산출하는 연산부; 및
 상기 하우징의 일측 표면에 배치되고, 상기 연산부와 전기적으로 연결되어, 상기 연산부에서 측정 및 산출된 항응고제 복용 전, 후의 제X인자 수치들과 활성 제X인자 수치를 표시하는 디스플레이부를 포함하는 휴대용 혈액 응고인자 측정장치.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서,
 상기 채혈카트리지는
 판 상의 몸체와;
 상기 판 상의 몸체 전방측 상면에 형성되어, 채집된 혈액을 인입하는 인입구와;
 상기 인입구에서 후방측으로 채널로 연장 형성되고, 상기 인입구를 통해 인입된 유체를 후방측으로 유동시키는 중심채널과;
 상기 인입구 주변에서 중심채널과 연결되고, 상기 중심채널을 따라 유동하는 유체에 반응물을 제공하는 복수 개의 주입웰과;
 상기 중심채널의 후방측 상에 배치되고, 중심채널을 따라 후방측으로 유동하는 유체 및 반응물을 서로 반응시키는 반응실과;
 상기 중심채널의 말단과 연결되고, 상기 반응실을 지난 유체가 외부로 배출되도록 하는 배출구를 포함하는 휴대용 혈액 응고인자 측정장치.
- [청구항 3] 청구항 2에 있어서
 상기 채혈카트리지의 인입구 측에는
 상기 인입구를 통해 인입된 전혈 중 혈장만을 분리하여 중심채널로 유동시키는 혈장분리부를 더 포함하는 휴대용 혈액 응고인자 측정장치.

- [청구항 4] 청구항 2에 있어서,
 상기 복수 개의 주입웰은
 상기 중심채널을 따라 유동하는 유체에 버퍼용액을 제공하는
 제1주입웰과;
 상기 중심채널을 따라 유동하는 버퍼용액에 금나노입자를 제공하는
 제2주입웰로 이루어진 휴대용 혈액 응고인자 측정장치.
- [청구항 5] 청구항 1에 있어서,
 상기 연산부는
 상기 전극에서 발생하는 전기적 신호를 증폭하는 앰프와,
 상기 전기적 신호를 디지털 신호로 변환하는 A/D컨버터와,
 상기 디지털 신호를 입력받아 제X인자(Factor X) 수치를 측정하는
 마이크로컨트롤유닛과,
 상기 마이크로컨트롤유닛에서 측정한 제X인자(Factor X) 수치를
 저장하는 메모리를 포함하는 휴대용 혈액 응고인자 측정장치.
- [청구항 6] a)청구항 1에 따른 휴대용 혈액 응고인자 측정장치가 제공되는 단계;
 b)제공된 제1 채혈카트리지에 채혈한 혈액을 인입한 후, 혈액이 인입된
 제1 채혈카트리지를 하우징에 삽입하면, 하우징 내의 연산부가 최초
 항응고제 복용 전, $Fx_{\text{초}}$ 를 측정하는 단계;
 c)상기 연산부에 의해 최초 항응고제 복용 전, $Fx_{\text{초}}$ 가 측정되면,
 측정치를 메모리에 저장하는 단계;
 d)항응고제 복용하고 적정 시간이 경과된 후, 제공된 제2 채혈카트리지에
 채혈한 혈액을 인입한 후, 혈액이 인입된 제2 채혈카트리지를 하우징에
 삽입하면, 하우징 내의 연산부가 항응고제 복용 후, Fx 를 측정하는
 단계; 및
 f)상기 연산부가 Fx 를 측정하면, 메모리에 저장된 $Fx_{\text{초}}$ 를
 도출하여, 상기 연산부는 $Fx_{\text{초}}$, Fx 를 하기의 [수학식1]에
 대입하여 Fxa 를 산출하는 단계를 포함하는 혈액 응고인자
 측정방법.
 이때 [수학식1]은 $Fx_{\text{초}} = Fx + Fxa$ 이다.
 여기서, $Fx_{\text{초}}$: 초기 제X인자(Factor X) 수치이고,

F_x : 항응고제 복용 후, 제X인자(Factor X) 수치이며,

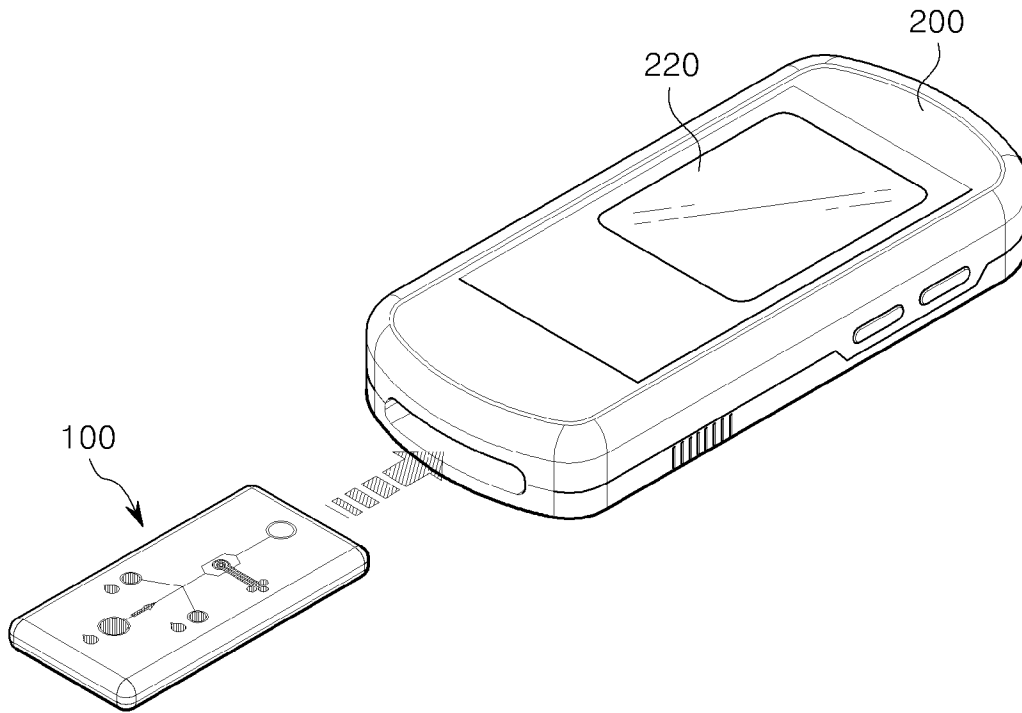
F_{xa} : 항응고제 복용 후, 활성제X인자(Factor Xa) 수치이다.

[청구항 7] 청구항 6에 있어서,
f)단계인 [수학식1]을 이용하여 F_{xa} 를 산출하는 단계에서는,

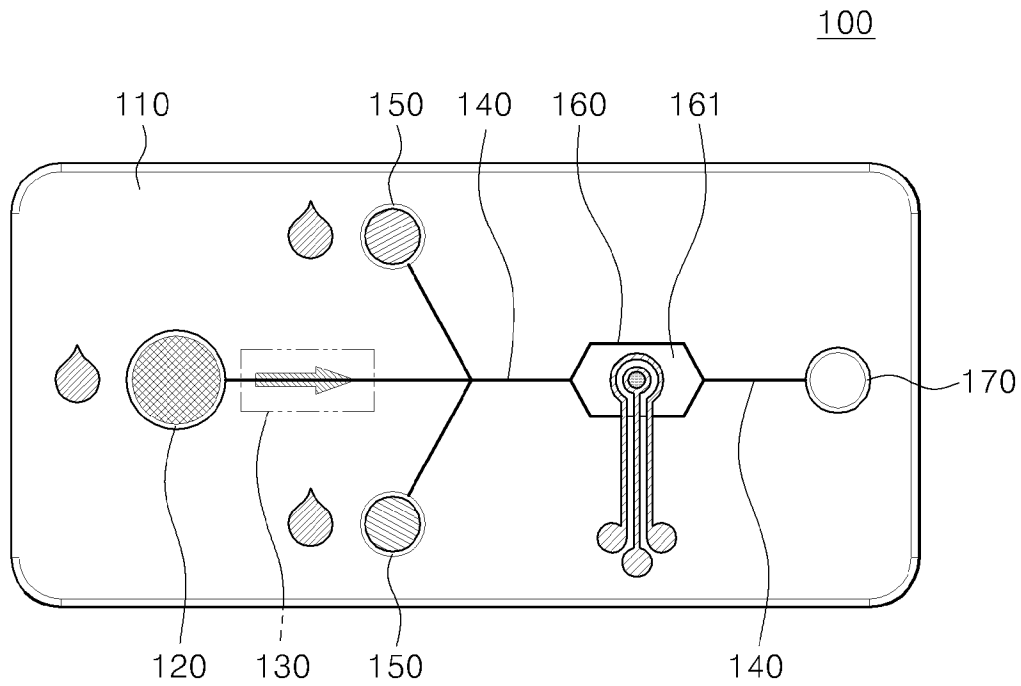
$$F_{xa} \text{를 산출한 후, 산출한 } F_{xa} \text{와 } F_x \text{를 } \frac{F_x}{F_{xa}} \text{에}$$

대비하여 디스플레이를 통해 표시하여 항응고제의 약리효과를 판단하는
기준을 제공하는 혈액 응고인자 측정방법.

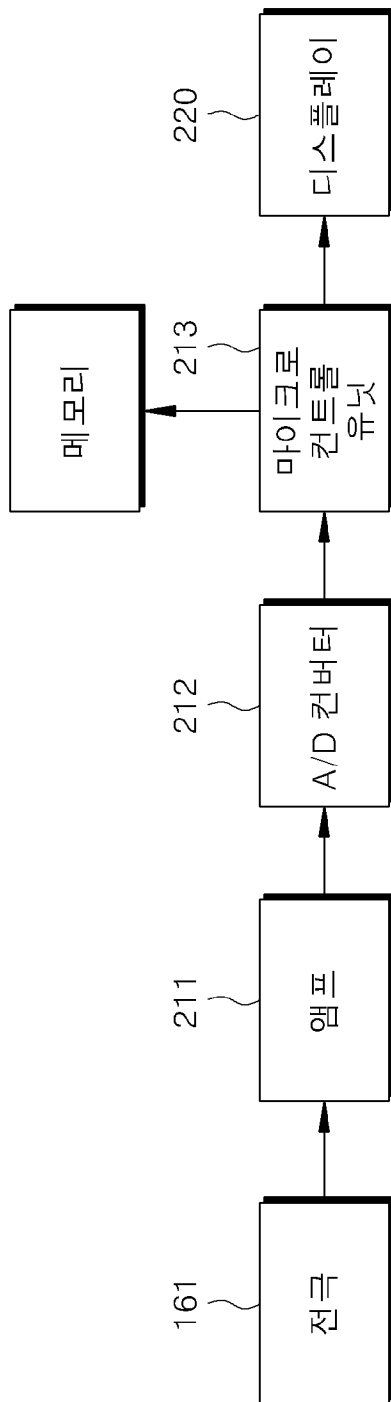
[도1]



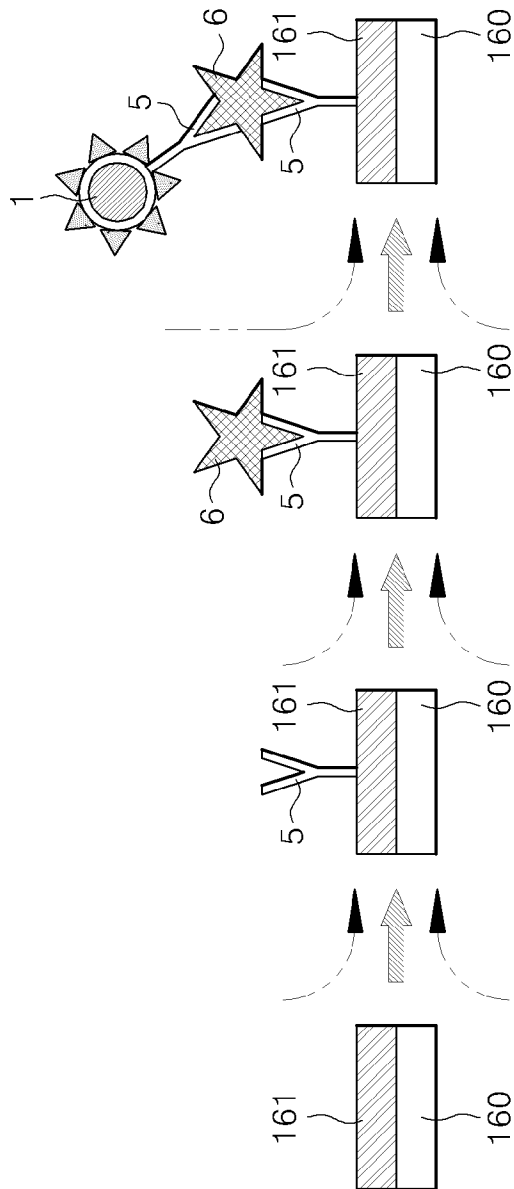
[도2]



[도4]



[도5]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/011953**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****G01N 27/327(2006.01)i, G01N 33/15(2006.01)i, G01N 33/543(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, C07K 14/745(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 27/327; A61B 5/145; G01N 33/49; G01N 33/86; G01N 27/22; C12N 15/11; G01N 33/53; G01N 33/15; G01N 33/543; G01N 33/68; C07K 14/745

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: coagulation factor, reaction chamber, blood collection cartridge, calculation part, electrode, display part, factor X

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2015-028500 A (SONY CORP.) 12 February 2015 See paragraphs [0024], [0041]-[0068], claim 1 and figures 3, 9-10.	1-7
Y	KR 10-1462019 B1 (CENTER FOR INTEGRATED SMART SENSORS FOUNDATION) 18 November 2014 See paragraphs [0013]-[0050], claims 1-3 and figures 2-12.	1-7
Y	KR 10-2015-0085721 A (KOREA INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 24 July 2015 See claims 1-6 and figure 4.	4
A	KR 10-2005-0093794 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.) 23 September 2005 See claims 1-14 and figures 1-4, 6-10.	1-7
A	KR 10-2003-0004933 A (INFOPIA CO., LTD.) 15 January 2003 See claims 1-5 and figures 3-8.	1-7



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 JANUARY 2017 (25.01.2017)

Date of mailing of the international search report

25 JANUARY 2017 (25.01.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/011953

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2015-028500 A	12/02/2015	CN 102308203 A	04/01/2012
		CN 102308203 B	26/08/2015
		EP 2375244 A1	12/10/2011
		JP 2010-181400 A	19/08/2010
		JP 5691168 B2	01/04/2015
		US 2012-0035450 A1	09/02/2012
		WO 2010-079845 A1	15/07/2010
KR 10-1462019 B1	18/11/2014	NONE	
KR 10-2015-0085721 A	24/07/2015	KR 10-1612095 B1	26/04/2016
		US 2015-0198532 A1	16/07/2015
KR 10-2005-0093794 A	23/09/2005	AU 2004-207928 A1	12/08/2004
		CA 2514540 A1	12/08/2004
		CA 2514540 C	06/07/2010
		EP 1443325 A1	04/08/2004
		EP 1588161 A1	26/10/2005
		EP 1588161 B1	24/10/2007
		JP 2006-516720 A	06/07/2006
		JP 4320324 B2	26/08/2009
		US 2006-0035298 A1	16/02/2006
KR 10-2003-0004933 A	15/01/2003	WO 2004-068138 A1	12/08/2004
		CN 1527938 A	08/09/2004
		CN 1527938 C	08/02/2006
		EP 1405063 A1	07/04/2004
		KR 10-0426638 B1	08/04/2004
		US 2004-0146958 A1	29/07/2004
		US 7297248 B2	20/11/2007
		WO 03-005015 A1	16/01/2003

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 27/327(2006.01)i, G01N 33/15(2006.01)i, G01N 33/543(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, C07K 14/745(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 27/327; A61B 5/145; G01N 33/49; G01N 33/86; G01N 27/22; C12N 15/11; G01N 33/53; G01N 33/15; G01N 33/543; G01N 33/68; C07K 14/745

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 응고인자, 반응실, 채혈카트리지, 연산부, 전극, 디스플레이부, 제X인자

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	JP 2015-028500 A (SONY CORP.) 2015.02.12 단락 [0024], [0041]-[0068], 청구항 1 및 도면 3, 9-10 참조.	1-7
Y	KR 10-1462019 B1 (재단법인 다차원 스마트 아이티 융합시스템 연구단) 2014.11.18 단락 [0013]-[0050], 청구항 1-3 및 도면 2-12 참조.	1-7
Y	KR 10-2015-0085721 A (한국과학기술연구원) 2015.07.24 청구항 1-6 및 도면 4 참조.	4
A	KR 10-2005-0093794 A (에프. 호프만-라 로슈 아게) 2005.09.23 청구항 1-14 및 도면 1-4, 6-10 참조.	1-7
A	KR 10-2003-0004933 A (주식회사 인포피아) 2003.01.15 청구항 1-5 및 도면 3-8 참조.	1-7

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2017년 01월 25일 (25.01.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 01월 25일 (25.01.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

이현길

전화번호 +82-42-481-8525



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2015-028500 A	2015/02/12	CN 102308203 A CN 102308203 B EP 2375244 A1 JP 2010-181400 A JP 5691168 B2 US 2012-0035450 A1 WO 2010-079845 A1	2012/01/04 2015/08/26 2011/10/12 2010/08/19 2015/04/01 2012/02/09 2010/07/15
KR 10-1462019 B1	2014/11/18	없음	
KR 10-2015-0085721 A	2015/07/24	KR 10-1612095 B1 US 2015-0198532 A1	2016/04/26 2015/07/16
KR 10-2005-0093794 A	2005/09/23	AU 2004-207928 A1 CA 2514540 A1 CA 2514540 C EP 1443325 A1 EP 1588161 A1 EP 1588161 B1 JP 2006-516720 A JP 4320324 B2 US 2006-0035298 A1 WO 2004-068138 A1	2004/08/12 2004/08/12 2010/07/06 2004/08/04 2005/10/26 2007/10/24 2006/07/06 2009/08/26 2006/02/16 2004/08/12
KR 10-2003-0004933 A	2003/01/15	CN 1527938 A CN 1527938 C EP 1405063 A1 KR 10-0426638 B1 US 2004-0146958 A1 US 7297248 B2 WO 03-005015 A1	2004/09/08 2006/02/08 2004/04/07 2004/04/08 2004/07/29 2007/11/20 2003/01/16