

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 8월 6일 (06.08.2020)



(10) 국제공개번호
WO 2020/159084 A1

(51) 국제특허분류:

C12Q 1/6844 (2018.01) *B01L 9/06* (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01) *B04B 5/10* (2006.01)
A61B 5/1455 (2006.01) *B04B 9/10* (2006.01)
B01L 3/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2019/018446

(22) 국제출원일: 2019년 12월 26일 (26.12.2019)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2019-0012630 2019년 1월 31일 (31.01.2019) KR

(71) 출원인: 한국과학기술원 (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [KR/KR]; 34141 대전시 유성구 대학로 291(구성동), Daejeon (KR).

(72) 발명자: 이문근 (LEE, Moon Keun); 34085 대전시 유성구 은구비남로 55, 704동 904호(지족동, 열매마을7단지), Daejeon (KR). 박유민 (PARK, Yoo Min); 03108 서울시 종로구 지봉로12길 91 (숭인동), Seoul (KR). 김지현 (KIM, Chi Hyun); 34065 대전시 유성구 반석로 142번길 15-28, B동 101호 (반석동), Daejeon (KR). 이

경균 (LEE, Kyoung Gyun); 34140 대전시 유성구 어은로 57, 127동 604호 (어은동, 한빛아파트), Daejeon (KR). 이태재 (LEE, Tae Jae); 28636 충청북도 청주시 서원구 장전로 51, 103동 901호 (성화동, 남양휴튼아파트), Chungcheongbuk-do (KR). 배남호 (BAE, Nam Ho); 34067 대전시 유성구 반석서로 98, 609동 1504호 (반석동, 반석마을6단지아파트), Daejeon (KR). 이석재 (LEE, Seok Jae); 34090 대전시 유성구 은구비남로 56, 904동 103호(노은동, 열매마을 아파트 9단지), Daejeon (KR).

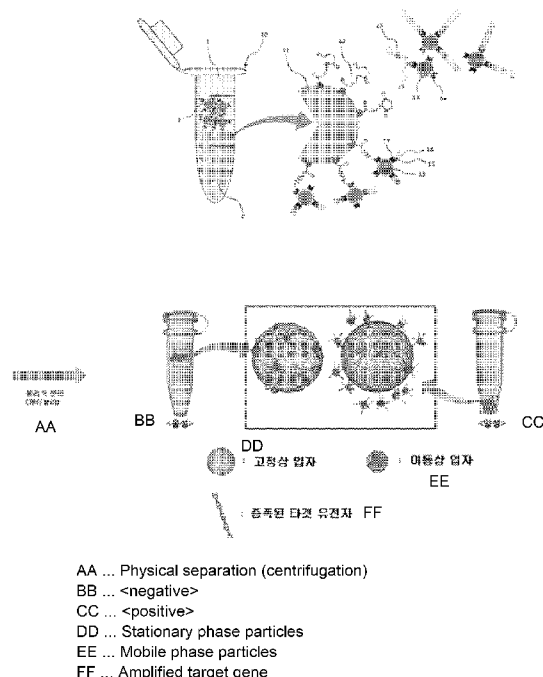
(74) 대리인: 특허법인도담 (DODAM IP LAW FIRM); 13494 경기도 성남시 분당구 판교역로 231, 에스동 909호 (삼평동, 에이치스퀘어), Gyeonggi-do (KR).

(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, JO, JP, KE, KG, KH, 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.

(54) Title: PATHOGEN DIAGNOSTIC SYSTEM INTEGRATED WITH MOBILE DEVICE

(54) 발명의 명칭: 모바일 기기와 통합된 병원체의 진단 시스템

[도1]



(57) Abstract: According to a specific embodiment of the present disclosure, a pathogen diagnostic system is disclosed, wherein a centrifuge that can be driven by power supplied from a mobile device can be used in detecting or diagnosing a target pathogen gene (specifically, an amplified gene of a target pathogen) in a sample through a simple method using visualizable mobile phase particles and stationary phase particles having specific functional groups attached thereto, and on-site analysis can be conveniently performed with low power by using an illuminance sensor in the mobile device.

(57) 요약서: 본 개시 내용의 구체예에 따르면, 시각화 가능한 이동상 입자 및 특이적 기능이 부착된 고정상 입자를 이용하여 간단한 방식으로 시료 내 타겟 병원체의 유전자(구체적으로, 타겟 병원체의 증폭 유전자)를 검출 또는 진단함에 있어서 모바일 기기로부터 공급된 전원에 의하여 구동 가능한 원심 분리 장치를 적용하고, 더 나아가 모바일 기기 내 조도 센서를 이용하여 저전력으로 간편하게 현장 분석을 수행할 수 있는 병원체의 진단 시스템이 기재된다.

(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 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 모바일 기기와 통합된 병원체의 진단 시스템

기술분야

- [1] 본 개시 내용은 모바일 기기와 통합된 병원체의 진단 시스템에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 개시 내용은 시각화 가능한 이동상 입자 및 특이적 기능기가 부착된 고정상 입자를 이용하여 간단한 방식으로 시료 내 타겟 병원체의 유전자(구체적으로, 타겟 병원체의 증폭 유전자)를 검출 또는 진단함에 있어서 모바일 기기로부터 공급된 전원에 의하여 구동 가능한 원심 분리 장치를 적용하고, 더 나아가 모바일 기기 내 조도 센서를 이용하여 저전력으로 간편하게 현장 분석을 수행할 수 있는 병원체의 진단 시스템에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 인간을 포함한 모든 온혈동물의 장 내에는 박테리아, 바이러스 등과 같은 다양한 병원체가 서식하는데 매우 좋은 환경이 제공되고 있다. 병원체는 주변 환경에서 널리 분포되어 있는 바, 구체적으로 박테리아 병원체는 흙, 동물 장기, 동물의 변에 의하여 오염된 물 주방, 주방도구, 책상, 식기 등 일상생활 속의 물건등에서 발견되고 있다. 인체 역시 평균적으로 인체 내외에 걸쳐 150 타입 이상의 박테리아를 갖고 있으며, 이중 많은 미생물들이 인체에 무해하기는 하나, 몇몇 종류는 식중독(botulism), 콜레라(cholera), 설사(diarrhea), 구토(emesis), 폐렴(pneumonia), 장티푸스(typhoid) 등을 포함하는 다양한 감염성 질환을 유발한다. 특히, 200 종류 이상의 질병이 음식 및 음용수 단독을 통하여 전염될 수 있다. 예를 들면, *Escherichia Coli*(또는 *E.coli*) 계열은 섭취시 큰 문제를 일으키지 않지만, 이중 몇몇은 설사 등을 유발하는 독소를 생성하는 병원체로 알려져 있다.
- [3] 특히, 병원성 대장균 *E.coli* O157:H7은 장 출혈성 대장균으로서 식중독의 원인균으로 널리 알려져 있으며, 전세계적으로 문제시되고 있다. 또한, 감염 시 용혈성 요독 증후군, 출혈성 대장염, 설사, 신장부전, 발작 등을 유발하며, 심한 경우에는 사망에 이르도록 한다(Reisner, A. *et al.*, 2006. *Journal of Bacteriology*. 188, 3572-3581; Barrientos, R. M. *et al.*, 2009. *Brain, Behavior, and Immunity*. 23, 450-454; Schrag, S. J. *et al.*, 2006. *PEDIATRICS*. 118, 570-576). 살모넬라속균(*Salmonella choleraesuis*, *Salmonella bongori*, *Salmonella typhimurium*) 역시 식중독을 일으키는 대표적인 병원체로서 장티푸스 및 파라티푸스의 원인균이며, 다양한 가축 및 동물 등에 오염될 수 있다. 또한, 적절한 세척, 가공온도 및 저장조건이 지켜지지 못한다면, 살모넬라균이 번식할 수 있으며, 이렇게 오염된 식수, 식품 등을 통하여 다른 식품과 교차 오염될 수 있다.
- [4] 한편, 병원체, 특히 식중독균은 일반적으로 오염된 식품을 통하여 쉽게 인간에게 감염될 수 있다. 통상의 조건 하에서 병원체의 번식속도는 매우 빠르기

때문에 아무리 적은 수의 병원체라도 일단 인체 내에 침입할 경우, 이의
생장환경에 매우 적합한 장 속에서 빠르게 성장하여 인간의 건강을 위협할 수
있는 수준까지 이르게 된다. 따라서, 오염된 환경으로부터 병원체(특히, *E.coli*)의
존재 여부를 정확하게 진단할 수 있는 기술이 요구되고 있다.

- [5] 이와 관련하여, 시료(예를 들면, 음식물, 식수 등) 내 병원체의 존재 유무를
진단하는 방법에 관한 다양한 연구가 진행되고 있는 바, 예를 들면
ATP(adenosine triphosphate) 및 루시페린(luciferin)/루시페라아제(luciferase)가
반응하여 발광하는 원리를 이용하는 ATP 측정법을 들 수 있다. 이러한 방법은
정확한 진단을 위하여는 음식물 등으로부터 유래하는 ATP를 제거하고, 검출
대상인 미생물-유래 ATP만을 측정해야 하는 만큼, 유해 미생물만을 포집하여
정확한 진단을 수행하는데 근본적인 한계를 갖고 있다. 다른 방법으로 DNA 및
RNA와 같은 핵산을 기반으로 하는 검출법이 알려져 있는 바, 핵산, 특히 DNA의
경우에는 PCR(polymerase chain reaction)이라는 강력한 증폭 기술에 의하여 진단
감도를 높일 수 있어 널리 이용되고 있다. 일반적으로, PCR은 체외에서 DNA
유전자 시료를 증폭하는 분자 생물학적인 방법으로서, DNA에 대한 감도를
증가시키기 위하여 DNA 시료의 양 및 농도를 높이는 기술이다. 이처럼,
유전학적 분석을 기반으로 하는 임상 진단 기술은 주로 박테리아(bacteria),
균류(fungus) 또는 바이러스(virus)로부터 핵산을 회수하여 증폭 반응을 수행한
다음, 다양한 검출 수단(예를 들면, 광학적, 전기화학적 또는 기계적 바이오센서
디바이스)을 이용하여 앰플리콘(amplicon) 분석을 수행하는 방식이다.
- [6] 한편, 자연발생적으로 입수되는 환경 시료의 경우, 진단 대상인 특정(타겟)
박테리아 또는 바이러스가 미량으로 존재하는 경우가 일반적이다. 특히, *E.coli*를
함유하는 환경 시료의 경우에 있어서, 진단하고자 하는 타겟 병원체가 제한된
량으로 존재하기 때문에 정확한 검출을 위하여는 시료 내 바이오물질의 핵산을
효과적으로 회수하는 것이 요구된다. 이에 대하여, 신속 정확하며 소량의 시료를
이용하여 검출할 수 있는 현장진료 테스트(point of care testing; POCT) 관련
기술에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. POCT 기술은 현재 각종 병원,
연구기관 등에서 널리 적용되고 있는 바, 특히 높은 감도 특성을 갖고 정확한
진단이 가능한 POCT를 구현하는 것은 임상 및 상용 의료 분야에서는 주된
관심사 중 하나이다.
- [7] 현재, 다양한 바이오 분석 플랫폼이 제시되고 있는 바, 바이오센싱 절차 및 장치
측면에서 POCT가 실제 활용될 수 있도록 관련 기술을 개선하고 있다. 최근
개발된 바이오 분석 플랫폼의 원리 및 장치로 인하여 종래에 비하여 진단 신뢰성을
높일 수 있음에도 불구하고, 전체 프로세스를 정확하게 수행하기 위하여는
복잡한 실험 방법 및 숙련된 전문가에 의한 수행이 요구되므로 여전히 병원 및
연구 설비 수준에서 이루어지고 있는 실정이다. 이러한 높은 기술 수준이 필요한
바이오센서는 일반 환자 및 사용자에게는 접근이 용이하지 않은 한계를 갖고
있다(Mabey et al., 2004; Peeling and Mabey, 2010).

- [8] 이처럼, 복잡한 바이오센싱 시스템의 간편화 및 비용 절감과 관련한 이슈로 인하여, 보다 간편한 분석 플랫폼이 요구되고 있다. 그러나, 종래 기술에서는 입수된 시료의 처리부터 분석 또는 진단까지의 일련의 과정을 현장에서 간편하게 수행하기 곤란한 바, 시료 분석을 위하여는 원심 분리와 같은 최소한의 물리적 조작이 수반되기 때문이다. 따라서, 현장에서 입수되는 시료 내 유전자를 간편하면서도 정확하게 진단할 수 있고, 더 나아가 진단에 수반되는 일련의 조작을 간편하게 수행할 수 있는 방안이 절실히 요구된다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [9] 본 개시 내용에 따른 구체예에서는 육안 검출이 가능한 분석 원리 또는 플랫폼을 기반으로 하여 시료 내 병원체(예를 들면, 식중독 균)를 현장에서 진단(또는 분석)할 수 있고, 더 나아가 시료 분석에 수반되는 일련의 조작 및/또는 판독 과정을 모바일 기기를 이용하여 간편하면서도 정확하게 구현할 수 있는 방안을 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

- [10] 본 개시 내용의 일 구체예에 따르면,
- [11] (A) 시각적 확인(identification)이 가능하고, 제1 기능기-함유 성분으로 수식된 복수의 이동상(mobile phase) 입자, 및 상기 제1 기능기-함유 성분과 결합능을 갖는 화학적 기능기에 의하여 활성화된 복수의 고정상(stationary phase) 입자를 포함하고, 상기 제1 기능기-함유 성분이 타겟 병원체의 유전자에 특이적인 프라이머와 접합된 제2 기능기-함유 성분과 바인딩 특성을 갖되, 상기 제2 기능기-함유 성분이 프라이머를 통하여 증폭된 타겟 병원체의 유전자와 접합되어 있는 경우에는 입체 장애로 인하여 상기 이동상 입자와 상기 고정상 입자 간의 바인딩이 억제되며, 그리고 상기 고정상 입자에 바인딩되지 않은 이동상 입자를 분리함으로써, 시각적으로 또는 조도 센서에 의하여 확인 가능하도록 구성된 병원체의 분석 플랫폼; 그리고
- [12] (B) (b1) 모바일 기기의 전원 입출력 단자와 연결되고 이로부터 공급된 전원에 의하여 상기 고정상 입자에 바인딩되지 않은 이동상 입자를 분리하는 휴대용 원심 분리 장치, 및 (b2) 모바일 기기에 내장된 조도 센서를 이용하여 상기 분석 플랫폼에 의하여 타겟 병원체를 분석하기 위한 센싱부 중 적어도 하나를 포함하는 병원체의 진단 시스템이 제공된다.
- [13] 예시적 구체예에 따르면, 상기 전원 입출력 단자는 USB 포트의 전원 입출력 단자일 수 있다.
- [14] 예시적 구체예에 따르면, 상기 휴대용 원심 분리 장치는,
- [15] 직립형 지지부의 상측에 설치되며, 모바일 기기로부터 공급된 전원에 의하여 구동되는 모터부;
- [16] 상기 직립형 지지부의 하측에 구비되어 상기 모바일 기기의 전원 입출력

- 단자에 전기적으로 연결 가능한 커넥터 단자;
- [17] 상기 모터부와 기계적으로 연결되어 모터부의 회전 시 수평 방향으로 회전하도록 구성된 적어도 하나의 고리 부재; 및
- [18] 상기 적어도 하나의 고리 부재와 고리 결합 또는 인터로킹(interlocking)되는 걸림부 및 튜브 시험관을 삽입하도록 형성된 튜브 수용부를 구비하는 제1 튜브 홀더;
- [19] 를 포함하며,
- [20] 상기 모터부의 회전 시 제1 튜브 홀더에 삽입된 튜브 시험관이 원심력에 의하여 수직 위치에서 수평 위치로 전환되면서 회전할 수 있다.
- [21] 예시적 구체예에 따르면, 상기 모바일 기기는 스마트 기기일 수 있다.
- [22] 예시적 구체예에 따르면, 상기 스마트 기기는 스마트폰, 태블릿 또는 노트북일 수 있다.
- [23] 예시적 구체예에 따르면, 상기 튜브 시험관은,
- [24] 상단부에 개구가 형성되고 하단부는 폐쇄되어 있는 광 투과성 재질의 시험관 본체; 및
- [25] 상기 시험관 본체의 개구에 체결되도록 구성되며, 상기 튜브 홀더의 튜브 수용부 내로 튜브 시험관이 삽입된 후에는 모터부의 구동 시 가해지는 원심력 하에서 고정 상태에 있도록 둘레를 따라 돌출되어 있는 걸림 턱이 구비된 개폐용 뚜껑;
- [26] 을 포함할 수 있다.
- [27] 예시적 구체예에 따르면, 상기 센싱부는,
- [28] 삽입 방식으로 모바일 기기와 체결되면서 상기 모바일 기기 내 조도 센서의 노출면을 수용하도록 하측에 연장된 관통 홈이 형성된 모바일 기기 홀더;
- [29] 튜브 시험관 내에 분석 플랫폼이 수용되어 있는 테스트 시험관을 삽입하기 위한 제2 튜브 홀더; 및
- [30] 상기 삽입된 테스트 시험관으로 광을 조사하기 위한 광원이 장착되는 광원 홀더;
- [31] 를 구비하는 센서 구조물을 포함하고,
- [32] 상기 센서 구조물 내에서 모바일 기기 홀더, 제2 튜브 홀더 및 광원 홀더는 광원으로부터 조사된 광이 테스트 시험관을 투과하여 조도 센서의 노출면으로 전달되도록 배열될 수 있다.
- [33] 예시적 구체예에 따르면, 상기 센서 구조물은 일체형 구조물일 수 있다.
- [34] 예시적 구체예에 따르면, 상기 센서 구조물은 3D 프린팅 방식으로 제작된 것일 수 있다.

발명의 효과

- [35] 본 개시 내용의 구체예에 따른 유전자 진단 시스템은, 기능화된 인터페이스를 통한 입자-기반의 DNA 선택적 운반을 수반하는 분석 플랫폼에, 물리적 분리

수단으로서 모바일 기기에 의하여 구동 가능한 휴대용 원심 분리 장치, 및/또는 모바일 기기에 내장된 조도 센서를 이용한 센싱부를 조합함으로써 시료 내 타겟 병원체의 양성/음성을 육안으로 또는 모바일 기기에 의하여 단시간에 정확하게 판독할 수 있는 장점을 제공한다. 특히, 다수가 휴대하고 있는 모바일 기기를 휴대용 원심분리 장치의 전원 공급원 및/또는 센싱부로 적용할 수 있기 때문에 현장 진단의 편의성을 극대화할 수 있다. 더 나아가, 조도 센서가 내장된 모바일 기기(예를 들면, 시판 중인 스마트 폰)를 사용할 경우, 단일 기기만으로도 원심분리의 전원 공급원 및 센싱부의 2가지 기능을 동시에 구현할 수 있다.

- [36] 따라서, 향후 임상 진단, 환경 모니터링 등의 다양한 분야에서 광범위한 활용이 기대된다.

도면의 간단한 설명

- [37] 도 1은 일 구체예에 따라 기능화된 인터페이스를 통한 입자-기반의 유전자 분석 플랫폼을 이용한 진단 원리를 예시적으로 도시하는 도면이고;
- [38] 도 2는 예시적 구체예에서 고정상 입자의 활성화를 위한 화학적 기능기로 NHS(N-hydroxysuccinimide)를 사용하는 경우의 분석 플랫폼을 구성하는 요소를 도시하는 도면이고;
- [39] 도 3은 예시적 구체예에 있어서 고정상 입자의 활성화를 위한 화학적 기능기로 NHS(N-hydroxysuccinimide)를 사용하는 경우에 있어서 진단 원리를 개략적으로 보여주는 도면이고;
- [40] 도 4는 일 구체예에 있어서 기능화된 인터페이스를 통한 입자-기반의 유전자 분석 플랫폼을 개략적으로 도시하는 도면이고;
- [41] 도 5a 및 도 5b 각각은 병원체 진단(분석) 시스템 내 휴대용 원심 분리 장치 및 이에 포함된 튜브 홀더의 예시적인 구성을 도시하는 도면이고;
- [42] 도 6은 모바일 기기로서 스마트폰의 전원 입출력 단자와 전기적으로 연결된 휴대용 원심 분리 장치의 작동 원리를 도시하는 도면이고;
- [43] 도 7a 및 도 7b 각각은 예시적 구체예에 있어서 휴대용 원심 분리 장치 내 튜브 홀더의 변형 예를 도시하는 도면이고;
- [44] 도 8은 예시적 구체예에 따라 기능화된 인터페이스를 통한 입자-기반의 유전자의 분석 플랫폼을 조도 센서에 의하여 양성 및 음성을 판정하는 원리를 개략적으로 도시하는 도면이고;
- [45] 도 9는 예시적 구체예에 있어서 센싱부를 구성하는 센서 구조물을 도시하는 도면이고;
- [46] 도 10a 및 도 10b 각각은 실시예 1에서 기능화된 인터페이스를 통한 입자-기반의 유전자 분석 플랫폼을 이용한 양성 및 음성 테스트 결과를 나타내는 사진이고;
- [47] 도 11은 실시예 1에서 기능화된 인터페이스를 통한 입자-기반의 유전자 분석 플랫폼을 이용한 *E. Coli O157:H7*의 검출 한계를 평가하기 위한 실험 결과 및

전기영동 테스트 결과를 나타내는 도면이고;

[48] 도 12는 실시예 1에서 기능화된 인터페이스를 통한 입자-기반의 유전자 분석 플랫폼을 이용하여 *E. Coli O157:H7*를 함유하는 우유 시료를 분석한 결과를 나타내는 도면이고;

[49] 도 13은 실시예 1에서 자성 입자(MP) 단독, 자성 입자에 증폭된 유전자가 접합된 상태(MP+DNA), 그리고 자성 입자에 GelRed가 삽입되어 증폭된 유전자가 접합된 상태(MP+DNA+GelRed) 각각에 대한 DLS(dynamic light scattering) 사이즈를 보여주는 그래프이고;

[50] 도 14a는 실시예 1에서 GelRed 희석 인자(dilution factor)에 따른 삽입 염료(GelRed)의 농도 최적화 실험 결과를 나타내는 사진이고;

[51] 도 14b는 실시예 1에서 원심 분리 중 회전 속도의 최적화 실험 결과를 나타내는 사진이고;

[52] 도 15a 및 도 15b 각각은 실시예 2에서 사용된 3D 프린팅에 의하여 제작된 튜브 홀더 및 이를 적용한 휴대용 원심 분리 장치의 외관을 보여주는 사진이고;

[53] 도 16은 실시예 2에서 수행된 병원체 진단 과정을 보여주는 사진이고;

[54] 도 17a 및 도 17b 각각은 실시예 2에 따라 시료로서 *E. Coli O157:H7*를 함유하는 브로스(broth) 및 우유(milk)를 사용하고, 도 15b에 도시된 휴대용 원심분리 장치에 의한 원심 분리로부터 얻은 분석 플랫폼의 전기영동 테스트 및 육안 관찰 결과를 보여주는 사진이고;

[55] 도 18은 사전 테스트로서 이동상 입자(자성 입자: MP) 및 고정상 입자(아가로오스) 각각에 대하여 스마트폰에 내장된 조도 센서를 이용하여 센서를 이용하여 측정한 조도를 스마트폰에 설치된 어플리케이션을 통하여 표시한 결과를 나타내는 사진이고;

[56] 도 19a 및 도 19b 각각은 실시예 3에서 3D 프린팅으로 제작된 센서 구조물에 광원, 배터리 및 테스트 시험관을 장착한 상태, 및 이를 스마트폰에 결합한 외관을 보여주는 사진이고; 그리고

[57] 도 20a 및 도 20b 각각은 실시예 3에서 스마트폰에 내장된 조도 센서를 이용하여 대장균의 진단 테스트를 수행한 결과를 보여주는 그래프이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[58] 본 발명은 첨부된 도면을 참고로 하여 하기의 설명에 의하여 모두 달성될 수 있다. 하기의 설명은 본 발명의 바람직한 구체예를 기술하는 것으로 이해되어야 하며, 본 발명이 반드시 이에 한정되는 것은 아님을 이해해야 한다.

[59] 또한, 첨부된 도면은 이해를 돕기 위하여 실제 층의 두께(또는 높이) 또는 다른 층과의 비율에 비하여 다소 과장되게 표현된 것일 수 있으며, 그 의미는 후술하는 관련 기재의 구체적 취지에 의하여 적절히 이해될 수 있다.

[60] 본 명세서에서 사용되는 용어는 하기와 같이 정의될 수 있다.

[61] "바인딩(binding)"은 표면에 공유 또는 비공유 방식으로 결합 또는 연결되는

것을 의미할 수 있다.

- [62] "시료"는 검출하고자 하는 타겟 병원체를 함유할 수 있는 한, 특정 종류 또는 형태로 한정되는 것은 아니다. 예시적으로, 시료는 생물학적 시료, 예를 들면 생물학적 유체(fluid) 또는 생물학적 조직일 수 있다. 생물학적 유체의 예로서, 뇨, 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 정액, 대변, 가래, 뇌척수액, 눈물, 점액, 양수 등을 들 수 있다. 생물학적 조직은 세포의 집합으로서, 대체적으로 인간, 동물, 식물, 세균, 진균 또는 바이러스 구조물의 구조적 물질의 하나를 형성하는 세포 내 물질들과 특정 종류의 집합으로서 연결 조직, 상피 조직, 근육 조직 및 신경 조직 등이 이에 해당될 수 있다. 또한, 생물학적 조직의 예에는 장기, 종양, 림프절, 동맥 및 개별적인 세포(들)도 포함될 수 있다. 이외에도, 시료는 바이오물질을 저농도로 함유하는 환경 시료(environmental sample)를 포함할 수 있으며, 예를 들면 식수, 음식물 등과 같이 다양한 형태 및 종류를 포함할 수 있다.
- [63] "프라이머"는 상보적 스트랜드의 합성이 폴리머라아제에 의하여 촉매화되는 조건 하에 있는 경우, 상보적 스트랜드를 따라 핵산의 합성 또는 복제 초기 지점으로 작용할 수 있는 올리고뉴클레오티드(합성 또는 천연)를 의미할 수 있다.
- [64] "타겟 유전자"는 수개, 수백 개, 수천 개 또는 수백만 개의 뉴클레오티드로 이루어질 수 있으며, 또한 DNA, RNA 등의 절편(fragment)도 해당될 수 있다.
- [65] "용해(lysis)"는 세포의 분해에 따라서 세포막이 파열되는 동시에 세포 내용물이 노출되는 현상을 의미할 수 있는 바, 통상적으로 PCR과 같은 증폭 과정의 전 단계에서 핵산을 분리하기 위하여 많이 사용되고 있다.
- [66] "박테리아"는 외막(bacterial envelope)은 구조에 따라 그람(Gram) 염색반응이 구별되는 바, 그람 음성 박테리아(얇은 뮤레인(murein) 또는 펩티도글리칸 층을 가지며 외막의 지질 이중층을 가짐)와 그람 양성 박테리아(두꺼운 뮤레인 또는 펩티도글리칸 층을 가지며 이로써 Crystal violet을 보유함)로 구분된다. 그람 음성 박테리아의 세포막은 포스포리피드(phospholipid)와 기타 글리코프로테인(glycoprotein)으로 이루어져 있으며, 포스포리피드의 대부분은 (-)의 하전을 띄고 있다(net negative charge). 그 종류로는 살모넬라균, 수막염균, 스피로헤타 콜레라균, 페스트균, 티푸스균, 이질균, 대장균, 임균 등이 있다. 반면, 그람 양성 박테리아의 경우, 세포벽은 주로 펩티도글리칸(peptidoglycan) 및 타이코산(teichoic acid)으로 구성되는 바, 그 표면은 거의 중성에 가까운 하전 특성을 갖고 있으며, 포도상구균, 연쇄상구균, 탄저균, 디프테리아균, 파상풍균, 폐렴균 등을 들 수 있다.
- [67] "증폭(amplification)"은 주형 분자의 적어도 하나의 세그먼트의 복수개 복제물을 형성하기 위하여 반복적으로 일어나는 반응을 의미할 수 있다.
- [68] "PCR"은 사이클 프로세스(가열 및 냉각이 교대로 이루어짐)에 의하여 하나의 최초 주형으로부터 다량의 동일한 DNA 스트랜드가 형성되는 반응을 의미하는 바, 통상적으로 PCR 혼합물은 (i) 증폭하고자 하는 염기서열을 갖는 주형인

이중나선형 DNA 분자, (ii) 프라이머(주형 DNA 내 상보적 DNA 염기서열과 결합할 수 있는 단일 스트랜드 DNA 분자), (iii) dATP, dTTP, dGTP, 및 dCTP의 혼합물(PCR 증폭 과정에서 새로운 DNA 분자를 형성하도록 합쳐지는 뉴클레오티드 서브유닛)인 dNTP, 및 (iv) Taq DNA 폴리머라아제(dNTP)를 사용하여 새로운 DNA 분자를 합성하는 효소)를 포함할 수 있다.

- [69] "상에" 및 "위에"라는 표현은 상대적인 위치 개념을 언급하기 위하여 사용되는 것으로 이해될 수 있다. 따라서, 언급된 층에 다른 구성 요소 또는 층이 직접적으로 존재하는 경우뿐만 아니라, 그 사이에 다른 층(중간층) 또는 구성 요소가 개재되거나 존재할 수도 있다. 이와 유사하게, "하측에", "하부에" 및 "아래에"라는 표현 및 "사이에"라는 표현 역시 위치에 대한 상대적 개념으로 이해될 수 있을 것이다. 또한, "순차적으로"라는 표현 역시 상대적인 위치 개념으로 이해될 수 있다.

[70]

[71] 병원체의 분석 플랫폼의 원리

- [72] 도 1은 본 개시 내용의 일 구체예에 따라 기능화된 인터페이스를 통한 입자-기반의 유전자 분석 플랫폼을 이용한 진단 원리를 예시적으로 도시한다. 또한, 도 2 및 도 3 각각은 고정상 입자의 활성화를 위한 화학적 기능기로 NHS(N-hydroxysuccinimide)를 사용하는 경우에 있어서 진단 시스템의 구성 요소 및 진단 원리를 개략적으로 도시한다.

- [73] 상기 도면을 참조하면, 일 구체예에 따른 병원체의 진단 플랫폼(10)은 크게 활성화된 복수의 고정상 입자(2) 및 시각적 확인 또는 인식이 가능하고, 제1 기능기-함유 성분으로 수식된 복수의 이동상 입자(3)를 포함한다. 이때, 진단은 튜브 시험관(1) 내에서 수행될 수 있는 바, 상기 튜브 시험관(1)은 가급적 외부에서 육안으로 관찰 가능한 특성을 갖는 재질, 구체적으로 투명성 재질로 구성될 수 있다. 일 예로서, 튜브 시험관(1)의 재질은 투명성 고분자, 글라스 등일 수 있는 바, 본 발명은 반드시 이에 한정되지 않는다.

- [74] 도시된 바와 같이, 복수의 활성화된 고정상 입자(2)는 각각 매트릭스 입자(11) 상에 특정 화학적 기능기(12)가 부착되어 활성화된 형태로서, 튜브 시험관(1) 내에 충전(또는 팩킹)되어 컬럼 형태로 적용될 수 있다.

- [75] 예시적 구체예에 따르면, 매트릭스 입자(11)는 수지, 금속 및 글라스로 이루어지는 균으로부터 선택되는 재질로 이루어질 수 있다. 이와 관련하여, 수지를 사용할 경우, 각종 천연수지(예를 들면, 아가로오스(세파로오스)) 또는 합성수지(예를 들면, 폴리스티렌 또는 폴리아크릴아미드)를 사용할 수 있으며, 또한 수지 성형물, 겔 등의 형태로 적용될 수 있다. 또한, 매트릭스 입자(11)는 정형(예를 들면, 구형, 타원형 등) 또는 비정형 형상을 가질 수 있고, 또한 대칭 또는 비대칭 형상을 가질 수 있다. 보다 전형적으로, 구체일 수 있다.

- [76] 특정 구체예에 따르면, 매트릭스 입자(11)는 다공성 구조, 구체적으로 균일한 다공성 구조를 가질 수 있는 바, 전형적으로는 매트릭스 입자 내에 플로우

포어를 갖는 것일 수 있다. 이때, 다공성 매트릭스 입자의 포어 사이즈(직경)는, 예를 들면 약 20 내지 100 nm, 구체적으로 약 30 내지 80 nm, 보다 구체적으로 약 40 내지 60 nm 범위일 수 있으나, 이는 예시적인 의미로 이해될 수 있다.

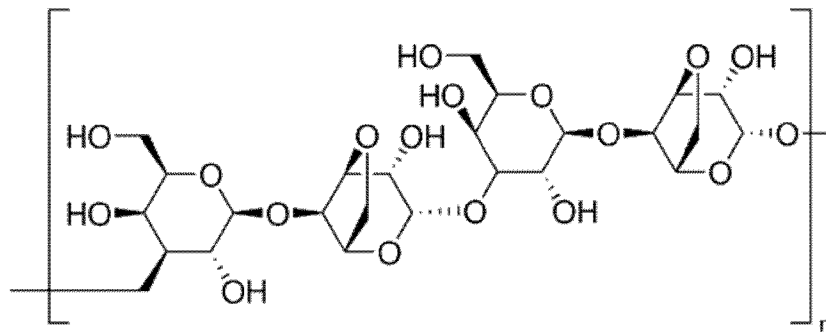
[77] 이외에도, 고정상 입자(2)의 사이즈(직경)는, 매트릭스 입자의 재질, 형상 등에 따라 변화 가능하며, 예를 들면 수 내지 수백 μm , 구체적으로 약 30 내지 400 μm , 보다 구체적으로 약 40 내지 250 μm , 특히 구체적으로 약 45 내지 200 μm 범위일 수 있다. 다만, 이는 예시적인 의미로 이해될 수 있다.

[78] 예시적 구체예에 따르면, 매트릭스 입자(11)는 가교된 비드 형상의 아가로오스(세파로오스) 겔일 수 있는 바, 아가로오스는 폴리사카라이드(하전 및/또는 중성)계 물질로 알려져 있다. 이때, 겔 내의 아가로오스의 함량은, 예를 들면 약 1 내지 10 중량%, 구체적으로 약 2 내지 6 중량%, 보다 구체적으로 약 3 내지 5 중량% 범위일 수 있는 바, 하기 일반식 1로 표시되는 반복 단위를 가질 수 있다.

[79]

[80] [일반식 1]

[81]



[82]

[83] 한편, 예시적 구체예에 있어서, 화학적 기능기는 매트릭스 입자의 표면에 부착 또는 결합될 수 있는 것으로서 제1 기능기-함유 성분과 결합하거나 커플링(예를 들면, 공유결합 등)할 수 있는 한, 다양한 종류로부터 선정될 수 있다.

[84] 이와 관련하여, 상술한 화학적 기능기로서 대표적으로

NHS(N-hydroxysuccinimide)를 적용할 수 있다. 택일적으로, 아민기, 카르복시기, 히드록시기, 실란올기(예를 들면, 메톡시기, 에톡시기 등), 말레이미드기, 티올기, 알데히드기, PEG(polyethylene glycol) 등으로부터 선택되는 적어도 하나의 모이티를 갖는 기능기를 적용할 수 있다. 이러한 화학적 기능기를 이용하여 매트릭스 입자를 활성화시킬 수 있으나, 이는 제1 기능기-함유 성분(14)에 따라 다양하게 변경할 수 있기 때문에 예시적으로 이해될 수 있을 것이다.

[85] 한편, 도 2에 도시된 바와 같이 복수의 이동상 입자(3)는, 베이스 입자(구체적으로, 비드 또는 구형의 입자; 13)가 제1 기능기-함유 성분(14)으로 수식된 형태일 수 있다. 이때, 베이스 입자(13)는, 시각적 확인이 가능한,

구체적으로 육안으로 식별 가능한 색을 갖는 한, 다양한 재질의 비드를 사용할 수 있다. 베이스 입자(13)의 예로서 자성 입자(자성 비드), 폴리스티렌 비드, 금 나노입자, 금속 입자, 글라스 비드, 실리카 비드 등으로부터 선택된 적어도 하나일 수 있다. 다만, 베이스 입자(13)는 후술하는 물리적 분리(구체적으로 원심분리) 과정에서 분리 효율성을 높이기 위하여 일정 수준 이상의 밀도를 갖는 것이 바람직할 수 있는 바, 예를 들면 약 0.01 내지 10 g/L, 구체적으로 약 0.5 내지 5 g/L, 보다 구체적으로 약 1 내지 2 g/L 범위일 수 있으나, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.

- [86] 예시적 구체예에 따르면, 베이스 입자(13)로서 자성 입자를 사용할 수 있는 바, 일시적 또는 영구적 자성을 나타낼 수 있다. 자성 입자로서, 예를 들면 철, 코발트, 니켈, 산화철, 수산화철 및/또는 기타 철 합금을 함유하는 자성 입자, 희토류 자성 입자 등을 사용할 수 있다. 택일적으로, 자성 철 코어를 고분자(예를 들면, 텍스트란)로 코팅한 입자를 사용할 수 있다.
- [87] 베이스 입자(13)의 사이즈는 특정 범위로 한정되는 것은 아니지만, 전형적으로 나노스케일에서 마이크론 스케일 범위 내일 수 있는 바, 예를 들면 약 0.01 내지 10 μm , 구체적으로 0.1 내지 6 μm , 보다 구체적으로 1 내지 3 μm 범위일 수 있다. 특정 구체예에 따르면, 입자(13) 사이즈 분포는 가급적 단일분산성을 갖는 것이 향후 물리적 분리(구체적으로 원심분리)의 효율성 및/또는 진단 정확도 확보에 있어서 유리할 수 있다.
- [88] 도시된 바와 같이, 이동상 입자(3)는 베이스 입자(13)가 제1 기능기-함유 성분(14)으로 수식되어 있다. 이때, 제1 기능기-함유 성분(14)은 후술하는 제2 기능기-함유 성분(15)과 바인딩 특성(즉, 높은 친화성(affinity))을 갖는 종류일 수 있다. 예시적 구체예에 있어서, 제1 기능기-함유 성분(14)은, 예를 들면 아비딘, 스트렙트아비딘, 바이오틴, 항원, 항체, 압타머(aptamer), 아민, 카르복시, 알데하이드, 유전자(예를 들면, 상보적 결합이 가능한 DNA) 등을 예시할 수 있고, 천연적으로 발생하거나 인공적으로 합성된 것 모두 포함하는 개념일 수 있다. 보다 구체적으로, 제1 기능기-함유 성분(14)은 바이오물질로서 아비딘 및/또는 스트렙트아비딘일 수 있는 바, 아비딘은 작은 사이즈의 수용성 바이오틴과 높은 친화성을 갖는 당 단백질(glycoprotein)에 해당하며, 스트렙트아비딘은 박테리아 *Streptomyces avidinii*로부터 분리된 단백질로서 역시 바이오틴에 대한 친화성이 높은 성분이며, 특히 당 단백질에 해당되지 않기 때문에 렉틴과 바인딩되지 않고, 또한 물리적 특성 면에서 아비딘보다 바람직할 수 있다. 이와 관련하여, 고정상 입자(2)에서 화학적 기능기(12)로서 NHS를 사용하고, 제1 기능기-함유 성분(14)으로서 아비딘 또는 스트렙트아비딘을 사용할 경우에는 NHS와 아비딘의 아민기 간의 이미드 결합이 이루어질 수 있다.
- [89] 기능화된 이동상 입자(3)는 활성화된 고정상 입자(2)의 컬럼에 첨가(또는 로딩)될 수 있다. 예시적 구체예에 따르면, 기능화된 이동상 입자(3)는, 예를 들면 액상 매질, 구체적으로 수계 매질 내에 분산된 형태(구체적으로 서스펜션)로

- 첨가될 수 있다. 이때, 서스펜션 내 이동상 입자(3)의 농도는, 예를 들면 약 1 내지 30 mg/mL, 구체적으로 약 5 내지 20 mg/mL, 보다 구체적으로 약 8 내지 15 mg/mL 범위일 수 있다. 또한, 이동상의 이동효율을 위하여 PBS 등을 더 첨가할 수 있다.
- [90] 이때, 타겟 병원체의 유전자를 진단하기 위하여, 이동상 입자(2)와 함께(예를 들면, 혼합물 형태로) 또는 별도로 제2 기능기-함유 성분과 프라이머의 접합체(음성인 경우) 또는 프라이머를 통하여 증폭된 유전자(양성인 경우)의 접합체가 첨가될 수 있다. 이때, 제2 기능기-함유 성분(15)은 전술한 제1 기능기-함유 성분(14)과 바인딩 특성을 갖는 종류에서 선택할 수 있는 바, 이와 유사하게 아비딘, 스트렙타아비딘, 바이오틴, 항원, 항체, 압타머(*aptamer*), 아민, 카르복시, 알데하이드, 유전자(예를 들면, 상보적 결합이 가능한 DNA) 등을 사용할 수 있다. 다만, 제1 기능기-함유 성분(14) 및 제2 기능기-함유 성분(15)은 서로 상이한 종류일 수 있는 바, 예시적 구체예에서는 제1 기능기-함유 성분(14)으로 아비딘 또는 스트렙타아비딘을 사용하고, 제2 기능기-함유 성분(15)으로 바이오틴을 사용할 수 있다. 이와 관련하여, 바이오틴은 비타민의 일종으로, 구체적으로 테트라하이드로티오펜 고리와 융합된 우레이도(테트라하이드로이미디잘론) 고리로 이루어지는 B-착체 비타민(*hexahydro-2-oxo-1H-thieno[3,4-d]imidazoline-4-valeric acid*)으로, 분자량은 약 244 g/mol이며, 테트라하이드로티오펜 고리의 탄소 원자 중 하나에 발레르산 치환기가 부착되어 있다. 바이오틴은 아비딘 또는 스트렙타아비딘과 강한 친화성에 의하여 특이적으로 결합할 수 있는 바, 예를 들면 1개의 스트렙타아비딘 분자에 4개의 바이오틴 분자가 결합할 수 있다.
- [91] 택일적 구체예에 따르면, 제1 기능기-함유 성분(14)이 입자(13) 상에 수식된 형태로 시판 중인 제품을 사용할 수도 있는 바, 예를 들면 Life Science사의 수식된 자성 입자인 상품명 Dynabeads[®] Myone[™] Streptavidin C1 등을 적용할 수 있다.
- [92] 이외에도, 제1 기능기-함유 성분(14)과 제2 기능기-함유 성분(15) 간의 바인딩은 항원-항체 간의 면역 반응, 비공유 결합, 유전자간 상보결합 등을 이용하여 달성될 수 있다.
- [93] 예시적 구체예에 따르면, 제2 기능기-함유 성분(15)은 타겟 병원체의 유전자에 특이적인 프라이머(16)와 접합되어 있으며, 이러한 접합체의 존재 하에서 시료에 대한 증폭 과정을 거치게 된다.
- [94] 이와 관련하여, 타겟 병원체는, 전형적으로 박테리아, 바이러스 등의 바이오물질로서, 그람-양성균 및 그람-음성균을 포함할 수 있는 바, 구체적으로 대장균 *E. coli* O157:H7, 살모넬라속균(*Salmonella choleraesuis*, *Salmonella bongori*, *Salmonella typhimurium*), 황색포도상구균, 리스테리아속균(*Listeria monocytogenes*, *Listeria denitrificans*, *Listeria grayi*, *Listeria murrayi*), 콜레라균, 적리균, 백일해균, 디프테리아균, 장티푸스균, 페스트균, 용혈성 연쇄구균 또는 스타필로코커스 아우레우스일 수 있으며, 보다 구체적으로는 *E. coli* O157:H7,

Salmonella choleraesuis, *Salmonella bongori*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria denitrificans*, *Listeria grayi*, *Listeria murrayi*, *S. enteritidis*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* 등일 수 있다.

- [95] 한편, 증폭 반응은 타겟 병원체의 유전자(구체적으로, DNA)가 고정된 기재를 증폭용 혼합물(즉, PCR 혼합물) 내에 침지(immersion)시키는데, 이때 고정된 핵산은 증폭 과정 중 고온에 노출되어 분리되고, 유전 서열은 복제 준비 상태에 있게 된다. 증폭 반응을 위하여, 전술한 바와 같이 PCR(DNA 증폭 방식), NASBA(Nucleic Acid Sequence Based Amplification; RNA를 이용한 등온 조건 하에서의 증폭 방식) 등과 같이 당업계에서 공지된 임의의 증폭 기술을 활용할 수 있다. 예를 들면, PCR 방식은 국내특허번호 제593687호 등에 기재되어 있고, NASBA 방식은 EP 0 329 822 B1, 미국특허번호 제6,110,681호 등에 예시되어 있는 바, 전술한 선행문헌들은 본 발명의 참고자료로 포함된다. 또한, PCR 방식으로서, 어셈블리-PCR, 비대칭(asymmetric) PCR, 디지털(digital) PCR, 종점(endpoint) PCR, 인버스(inverse) PCR, 메틸화-특이성 PCR, 정성(qualitative) PCR, 정량화(quantitative) PCR, 실시간(real-time) PCR, RT(reverse transcription)-PCR, 등온-PCR 등을 예시할 수 있다.
- [96] 이때, 시료 내에 타겟 병원체가 존재하여 증폭된 경우(양성인 경우)에는 제2 기능기-함유 성분(15)은 프라이머의 작용에 의하여 타겟 병원체의 유전자가 증폭되고, 결과적으로 제2 기능기-함유 성분(15)은 타겟 병원체의 증폭 유전자(17)와 접합된 상태에 있게 된다.
- [97] 이처럼, 제2 기능기-함유 성분(15)과 접합된 프라이머를 통하여 증폭된 타겟 병원체의 유전자는 증폭 전에 비하여 긴 사슬을 갖게 된다. 이때, 이동상 입자(3) 상의 제1 기능기-함유 성분(14)은 타겟 병원체의 증폭 유전자(17)와 접합된 제2 기능기-함유 성분과의 강한 바인딩 특성으로 인하여 결과적으로 이동상 입자(3)에 고정되고, 그 결과 이동상 입자(3)의 사이즈(직경)가 증가하게 된다. 이와 같이 증가된 사이즈로 인하여 고정상 입자(2)와의 결합 또는 바인딩을 방해하는 입체 장애 효과가 유발된다. 이와 관련하여, DLS(dynamic light scattering)에 의한 측정 기준으로, 이동상 입자(3) 상에 부착되는 증폭 유전자의 사이즈는, 예를 들면 약 10 내지 150 nm, 구체적으로 약 30 내지 100 nm, 보다 구체적으로 약 50 내지 80 nm 범위일 수 있는 바, 이와 같이 벌키한 증폭 유전자 부착에 의하여 이동상 입자의 사이즈는 입체 장애 또는 공간 방해 효과를 제공할 수 있는 수준으로 증가하게 된다. 다만, 이러한 사이즈 증가 정도는 베이스 입자(13)의 종류, 증폭 반응의 정도 등에 따라 상이할 수 있는 만큼, 예시적인 의미로 이해될 수 있다.
- [98] 반면, 시료 내에 타겟 병원체가 존재하지 않을 경우(음성인 경우), 이동상 입자(3) 상의 제1 기능기-함유 성분(14) 중 일부가 제2 기능기-함유 성분(15)과 프라이머(16)의 접합체와 바인딩되는 한편, 나머지 일부는 고정상 입자(2)에 존재하는 화학적 기능기와 결합(예를 들면, 공유 결합)됨으로써, 결과적으로

이동상 입자(3)가 고정상 입자(2)에 고정된 상태에 있게 된다.

- [99] 이후, 고정상 입자(2)와 이동상 입자(3)는 물리적 수단에 의한 분리 조작 단계를 거칠 수 있는 바, 대표적인 물리적 분리 수단으로서 원심분리, 물리압착 등을 예시할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 다만, 본 구체예의 경우, 간편한 조작에 의한 진단 과정을 수행할 수 있도록 하는 만큼, 원심 분리 방식을 적용하는 것이 유리할 수 있다.
- [100] 예시적 구체예에 따르면, 원심 분리 조건은 진단 시스템 내의 컬럼 구조에 영향을 억제하면서 고정상 입자(2)에 결합되지 않은 이동상 입자(3)만을 원심력에 의하여 용기 하부로 운반할 수 있는 정도이면 충분할 수 있다. 이와 관련하여, 원심 분리 과정에서 회전 속도는 고정상 컬럼의 길이, 반경 등에 따라 변화 가능한 바, 예를 들면 약 500 내지 2000 rpm, 구체적으로 약 600 내지 1900 rpm, 보다 구체적으로 약 800 내지 1200 rpm 범위 내에서 적절히 조절 가능하며, 또한 원심 분리 시간은, 중력 가속도 등을 고려하여 정하여질 수 있는 바, 예를 들면 약 0.5 내지 5분, 구체적으로 약 1 내지 4분, 보다 구체적으로 약 1.5 내지 3분 범위일 수 있으나, 이는 예시적인 의미로 이해될 수 있다. 다만, 상술한 원심분리는 필요에 따라 1회 이상 반복 수행할 수도 있다.
- [101] 이처럼, 증폭된 타겟 병원체의 유전자와 결합된 이동상 입자(3)는 이의 표면에 존재하는 제1 기능기-함유 성분과 접합된 증폭 유전자에 의하여 공간적으로 고정상 입자(2)와 이격된 상태에 있는 경향을 나타내므로 고정상 입자(2)와는 결합하지 않게 된다. 따라서, 원심 분리 과정에서 복수의 고정상 입자(2)의 컬럼을 통과하면서 하측, 예를 들면 컬럼의 바닥까지 이동하여 침전될 수 있다.
- [102] 그 결과, 육안으로 이동상 입자(3)의 침전을 확인 또는 식별할 수 있으며, 이 경우 양성으로 판정할 수 있다. 반면, 시료가 타겟 병원체의 유전자를 함유하지 않을 경우, 이동상 입자(3)는 고정상 입자(2)와 결합되어 있기 때문에 원심 분리에 의하여도 고정상 입자의 컬럼 내, 구체적으로 고정상 입자의 컬럼 상부에 분포하게 되며, 이를 육안으로 확인할 수 있다. 이 경우는 음성으로 판단할 수 있다.
- [103] 한편, 본 개시 내용의 다른 구체예에 따르면, 증폭 반응 시 또는 증폭 반응 후 삽입 물질, 구체적으로 삽입 염료를 사용하여 증폭된 유전자 사슬에 강직성을 추가적으로 부여함으로써 증폭된 유전자와 결합된 이동상 입자(3)의 직경을 실질적으로 증가시켜 보다 큰 입체 장애 효과를 제공할 수 있다.
- [104] 특히, 타겟 유전자가 DNA(구체적으로 이중 스트랜드 DNA)인 경우, 증폭 과정 또는 후에 이중나선 구조 내에 해당 삽입 물질 또는 삽입 염료가 삽입되어 증가된 강성을 나타내는 만큼, 증폭된 유전자 사슬로 인한 직경 증가 정도가 더욱 현저하다.
- [105] 예시적 구체예에 따르면, 증폭 단계에 앞서, 증폭 과정 중 또는 증폭 반응 후에 삽입 물질 또는 삽입 염료가 증폭 혼합물 또는 증폭 생성물과 혼합되거나 이에 첨가될 수 있다. 이때, 증폭 대상이 이중 스트랜드 DNA인 경우, 삽입 염료는

이중 스트랜드 DNA(dsDNA) 사이에 삽입될 수 있다.

- [106] 삽입 염료는 증폭 과정 또는 증폭 후에 유전자(구체적으로 DNA)의 이중 스트랜드 내로 삽입 가능한 염료로서, GelRed, EtBr(ethidium bromide), GelGreen, SYBR Green, PicoGreen, Hoechst 시리즈(series), BOBO, TOTO, YOYO, JOJO, POPO, LOLO, PO-PRO, BO-PRO, YO-PRO, TO-PRO, JO-PRO, LO-PRO, SYTO 시리즈 등을 포함할 수 있으며, 이들을 단독으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이와 관련하여, 삽입 염료 중 이중나선 유전자에 대한 특이적 반응성을 갖는 종류를 사용하는 것이 유리할 수 있다. 상기의 점을 고려할 때, 삽입 염료로서 GelRed를 사용할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명이 상술한 삽입 물질로 한정되는 것은 아니며, 증폭 반응 과정 또는 증폭 생성물의 이중 스트랜드에 삽입되어 증폭 유전자 사슬의 강성을 증가시킬 수 있는 한, 다양한 종류를 사용할 수도 있다. 이외에도, 삽입 물질은 액상 매질, 구체적으로 수계 매질에 용해(희석)된 상태로 적용 가능하다. 예시적으로, 희석된 매질(용액) 내 삽입 물질의 농도는, 예를 들면 약 6 내지 19x, 구체적으로 약 7 내지 18x, 보다 구체적으로 약 8 내지 15x 범위일 수 있다. 다만, 삽입 물질의 농도 범위는 타겟 병원체(구체적으로 박테리아, 바이러스 등)의 종류에 따라 가변적인 만큼, 반드시 상기 수치 범위로 한정되는 것은 아니다.
- [107] 또한, 삽입 물질에 대한 증폭 생성물(증폭 혼합물 내에 유전자가 함유된 경우)의 체적 비는, 예를 들면 약 2 내지 8, 구체적으로 약 3 내지 6, 보다 구체적으로 약 3.5 내지 5의 범위 내에서 정하여질 수 있으나, 이는 예시적인 것으로 이해될 수 있다. 이와 관련하여, 삽입 물질의 사용량이 지나치게 많은 경우에는 응집 반응 등이 유발되어 의도하는 유전자 사슬 내 삽입이 곤란할 수 있는 반면, 삽입 물질의 사용량이 지나치게 낮은 경우에는 원하는 강성 증가 효과 및/또는 추가적인 색상 또는 형광 발현 효과를 나타내기 곤란한 만큼, 전술한 범위 내에서 적절히 조절하여 사용하는 것이 유리할 수 있다.
- [108] 이와 같이, 타겟 병원체의 증폭 유전자 내에 삽입 물질이 혼입(삽입)되고, 유전자 사슬의 강성이 커짐에 따라 삽입되지 않는 경우에 비하여 측정되는 접합체의 직경이 증가하게 된다. 따라서, 보다 높은 입체 장애를 부여할 수 있고, 이는 시료 내에 병원체가 존재하는 경우(양성인 경우), 이동상 입자(3)가 원심 분리 등과 같은 물리적 수단에 의하여 신속하게 분리되어 이동함으로써 육안 식별을 더욱 용이하게 할 수 있다. 예시적으로, DLS에 의한 측정 기준으로, 삽입 물질의 혼입(삽입) 없이 이동상 입자에 부착된 증폭 유전자의 사이즈에 비하여 삽입 물질의 혼입(삽입) 후 이동상 입자에 부착된 증폭 유전자의 사이즈 증가율은, 예를 들면 적어도 약 20%, 구체적으로 약 30 내지 80%, 보다 구체적으로 약 40 내지 50%의 범위일 수 있으나, 이는 예시적인 의미로 이해될 수 있다.
- [109] 상술한 바와 같이, 본 개시 내용의 구체예에 따른 분석 플랫폼은, 간단한 물리적 분리 조작(구체적으로 원심력만을 이용함)에 의하여 현장에서 육안으로 양성 및

음성을 판정할 수 있다. 특히, 형광 또는 전기영동 기반의 종래 방법이 갖는 문제점(즉, 양호한 민감도를 갖고 있으나, 장치 규모 및 절차가 복잡하고 상대적으로 긴 진단 시간을 요함)을 완화할 수 있고, 식중독 균 등의 병원체에 의한 감염을 현장에서 신속하게 진단할 수 있다.

[110] 이와 관련하여, 예시적 구체예에 따른 분석 플랫폼은, 예를 들면 약 10 내지 10^6 CFU/mL, 심지어 1.0×10^1 CFU 수준의 낮은 검출 한계(LOD)를 가질 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.

[111] 더 나아가, 삽입 물질을 이용할 경우, 타겟 병원체의 증폭된 유전자와 이동상 입자의 접합 시 증폭 유전자 사슬의 강성을 증가시켜 입체 장애에 따른 이동상 입자의 분리 효율을 추가적으로 높일 수 있다.

[112]

[113] 휴대용 원심 분리 장치

[114] 본 개시 내용의 일 구체예에 따른 유전자 진단 시스템은 전술한 분석 플랫폼을 적용하는데 요구되는 물리적 분리 수단으로서 휴대용 원심 분리 장치를 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 휴대용 원심 분리 장치는 모바일 기기로부터 공급되는 전원을 이용하여 구동될 수 있는 바, 이를 위하여 모바일 기기의 전원 입출력 단자와 착탈식으로 연결될 수 있다. 예시적으로, 스마트폰, 태블릿, 노트북 등과 같이 전원 입출력 단자가 구비되어 전원을 공급할 수 있는 기능을 제공하는 모바일 기기인 한 특별히 한정되는 것은 아니며, 휴대 가능한 보조 전원장치를 포함할 수 있다. 특히, 스마트폰, 태블릿 기기 등과 같이 조도 센서가 내장된 모바일 기기는 휴대용 원심 분리기의 전원 공급원으로 기능할 뿐만 아니라, 후술하는 바와 같이 광원 분석에 의한 판독 기기로서 기능할 수 있다는 점은 주목할 만하다.

[115] 이처럼, 앞서 기술한 분석 플랫폼에 있어서 제2 기능기-함유 성분이 프라이머를 통하여 증폭된 유전자(타겟 병원체의 유전자)와 접합된 결과, 고정상 입자에 바인딩되지 않은 이동상 입자가 원심 분리에 의하여 물리적으로 분리될 수 있다.

[116] 도 5a 및 도 5b 각각은 예시적 구체예에 따른 병원체(이의 유전자) 진단 시스템 내 휴대용 원심 분리 장치 및 이에 포함된 제1 튜브 홀더의 예시적인 구성을 도시한다. 또한, 도 6은 모바일 기기로서 스마트폰의 전원 입출력 단자와 전기적으로 연결된 휴대용 원심 분리 장치의 작동 원리를 도시한다.

[117] 상기 도면을 참조하면, 휴대용 원심 분리 장치(100)는 직립형 지지부(101)의 상측에는 모터부(A)가 설치되어 있다. 모터부는 모바일 기기로부터 공급된 전원으로 구동될 수 있으며, 크게 케이스에 둘러싸인 모터(102) 및 모터의 구동에 따라 함께 회전하는 회전 웜(103)을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 모터(103)는 당업계에서 공지된 소형 모터를 사용할 수 있고, 다만 휴대용에 적합하도록 가급적 낮은 전원, 구체적으로 모바일 기기 또는 보조 전원장치로부터 공급되는 전원 범위(예를 들면, 약 1 내지 5 V, 구체적으로 약 3 V 내외)에서 구동 가능한

종류를 사용할 수 있다. 이와 관련하여, 지지부(101)의 하측 단부(모터부의 반대측 단부; 110)에는 커넥터 단자(또는 전원 입력 단자)가 구비되어 모바일 기기 또는 보조 전원장치의 전원 입출력 단자와 전기적으로 연결될 수 있다. 이때, 전원 입출력 단자는, 전형적으로 USB 포트의 전원 입출력 단자일 수 있다. 또한, 휴대용 원심분리 장치에 내장된 모터(102)로서 시판 중인 소형 모터를 사용할 수 있는 바, 이러한 모터만으로도 전술한 회전 속도를 구현할 수 있다.

[118] 도시된 구체예에 따르면, 회전 링(103)은 모터의 케이스와 일체형으로 형성된 것이거나, 또는 모터의 케이스와 회전 링 각각이 개별적으로 제작된 후에 기계적으로 상호 결합된 것일 수도 있다. 이때, 직립형 지지부(101)를 중심으로, 모터부(A)에서 상호 대향하면서 배치된 한 쌍의 회전 링(103)이 모터(102)에 체결되어 있는 바, 이는 예시적인 것으로 1개 이상의 회전 링이 더 형성될 수도 있다(예를 들면, 2 쌍의 회전 링이 형성될 수 있음).

[119] 택일적 구체예에 있어서, 모터(102)와 후술하는 고리 부재(104)를 직접 연결하여 고리 부재(104)를 회전시킬 수 있다면 회전 링(103)을 생략할 수 있다.

[120] 예시적 구체예에 있어서, 각각의 회전 링(103)에는 고리 부재(104)가 기계적으로 연결(또는 체결)되어 있다. 이를 위하여, 회전 링(103)에 체결 홈이 형성되어 고리 부재(104)의 적어도 일부를 이에 삽입하는 방식으로 결합 또는 체결될 수 있으며, 필요에 따라서는 체결 홈에 턱(도시되지 않음)이 형성되어 원심 분리 과정에서 고리 부재가 이탈되는 것을 방지할 수도 있다. 이처럼, 고리 부재(104)는 모터(102)와 직접적으로 또는 간접적으로 체결되어 있기 때문에 모터(102) 구동에 따라 회전하는 바, 전형적으로는 수평 방향으로 회전하게 된다.

[121] 한편, 도시된 구체예에 따르면, 원심 분리 장치(100)의 경우, 제1 캐비티(106) 및 제2 캐비티(108)가 형성된 제1 튜브 홀더(B)가 제공된다. 이때, 제1 캐비티(106)는 고리 부재(104)와 고리 연결 또는 인터로킹(interlocking)됨으로써, 움직임의 자유도를 가지면서도 고리 부재(104)로부터 이탈되지 않도록 구성된다.

[122] 도 5b를 참조하면, 제1 튜브 홀더(B)는 제1 면(105) 및 제2 면(107)이 "L"자 형상으로 연결되어 있으며, 제1 면(105)에 제1 캐비티(106), 그리고 제2 면(107)에 제2 캐비티(108)가 각각 형성되어 있다. 예시적으로, 제1 튜브 홀더(B)는 금속 재질의 단일 프레임이 벤딩되어 형성된 것일 수도 있고, 또한 고분자 재료를 성형(예를 들면, 사출 성형) 또는 3D 프리팅에 의하여 제작한 것일 수도 있다. 예시적 구체예에 있어서, 제1 튜브 홀더(B)를 구성하는 고분자 재료는 열가소성 고분자로서, 폴리에스테르, 폴리올레핀(예를 들면, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌 등), 폴리아미드, 폴리비닐알코올, 폴리우레탄, 폴리스티렌, 폴리염화비닐 또는 이의 조합일 수 있다.

[123] 도시된 예에서, 제1 튜브 홀더(B)는 제1 면에 형성된 제1 캐비티(106)에 의하여 고리 부재(104)와 고리 연결 또는 인터로킹되어 있는 바, 제1 캐비티(106)는 걸림부로서 기능하게 된다. 한편, 제1 튜브 홀더(B)의 제2 면에 형성된 제2 캐비티(108)는 튜브 수용부로 기능하는 바, 이에 튜브 시험관(C)을 삽입한다.

이때, 도 6을 참조하면, 삽입된 튜브 시험관(C)은 모터(103)가 구동되지 않은 경우에는 수직 위치(예를 들면, 중력 방향)에 있게 되며, 모터부(A)의 구동 시, 고리 부재(104)의 회전에 따라 원심력에 의하여 수평 위치(horizontal position)로 전환되어 회전한다.

[124] 도 7a 및 도 7b 각각은 예시적 구체예에 있어서 휴대용 원심 분리 장치 내 제1 튜브 홀더의 변형 예를 도시한다.

[125] 상기 도면에 도시된 제1 튜브 홀더의 구조는 원심력을 균일하게 가해주기 위하여 튜브 홀더의 무게 중심이 중앙에 정렬할 수 있도록 설계된 것이다.

[126] 도 7a를 참조하면, 제1 튜브 홀더(B)의 상측 부위에 상당하는 제1 면(115) 내에 걸림부로서 제1 캐비티(116)가 형성되어 있다. 한편, 제1 튜브 홀더(B)의 하측 부위에는 제1 면(115)의 면 방향과 수직의 면 방향을 갖는 바닥면으로서, 예를 들면 사각형(구체적으로 정사각형)의 제2 면(117)에 튜브 수용부로서 제2 캐비티(118)가 형성되어 있다. 이때, 제1 면(115)과 같은 폭을 갖는 한 쌍의 제1 연결 면(121) 각각이 제1 면(115)의 하측 모서리와 소정 각도를 유지하며 연결(연장)되어 있고, 또한 제2 면(117)으로부터 점차적으로 폭이 감소되는 사다리꼴 형상을 갖도록 형성된 한 쌍의 제2 연결 면(122) 각각의 상측 모서리가 제1 연결 면(121)의 하측 모서리와 만나도록 구성된다. 도시된 예에 있어서, 제1 연결 면 및 제2 연결 면은 단일 부재가 벤딩되거나, 성형 또는 3D 프린팅에 의하여 일체적으로 형성된 것일 수도 있다.

[127] 한편, 상기 도면에서는 제2 면(117)이 사각형의 평면 부재로 구성되어 있으나, 다각형의 평면 부재로 변형 가능하다. 이 경우, 제2 연결 면은 사각 형상(예를 들면, 제2 연결 면의 폭이 제1 연결 면의 폭과 동일한 경우) 또는 역 사다리꼴 형상의 면(예를 들면, 제2 연결 면의 폭이 제1 연결 면의 폭보다 작은 경우)을 갖도록 구성될 수도 있다.

[128] 도 7b에 도시된 제1 튜브 홀더(B)의 경우, 바닥면(127)으로부터 복수의 빔 부재(125) 각각이 바닥면(127)의 중앙 상측 공간을 향하도록 소정 각도로 연장 형성되어 서로 접합한다. 도시된 예에 따르면, 사각형(구체적으로 정사각형)의 바닥면(127) 중 4개의 꼭짓점 또는 이의 근처 부위로부터 4개의 빔 부재(125) 각각이 연장 형성되어 있다. 이때, 바닥면(127)과 빔 부재(125)를 용이하게 상호 부착할 수 있도록 바닥면의 모서리(도면에서는 대향하는 한 쌍의 모서리)에 턱이 형성되어 빔 부재의 부착면을 제공할 수 있다. 상기 도면에서는 한 쌍의 턱이 형성되어 있으나, 필요 시 바닥면의 모서리 전부에 부착용 턱이 형성될 수도 있다.

[129] 한편, 도시된 예에서 4개의 빔 부재(125) 각각은 바닥면(127)으로부터 연장되는 방향으로 점차적으로 감소된 폭을 가질 수 있다. 이와 같이 4개의 빔 부재(125)가 서로 만나는 접합부(126)는 전술한 고리 부재(104)와 고리 결합 또는 인터로킹되는 걸림부를 형성하게 된다. 상기 도면의 경우, 바닥면은 사각형 면으로 이루어져 있으나, 경우에 따라서는 원형 또는 사각형 이외의 다각형

면으로 이루어질 수 있다. 원심 분리 시 안정적인 회전이 가능하도록 균형을 제공할 수 있는 한, 빔 부재의 개수 역시 변경될 수 있다. 또한, 바닥면(127)의 하측 방향으로 실린더 형상의 캐비티(128)가 형성되어 튜브 수용부로서 기능할 수 있다. 이와 관련하여, 캐비티(128)의 하단은 폐쇄되거나(즉, 포켓 형태) 또는 개방될 수 있다. 이외에도, 도 7a 및 도 7b에 도시된 제1 튜브 홀더는 성형 또는 3D 프린팅 방식으로 제작될 수 있다.

[130] 튜브 홀더는 원심분리 동안 시험 튜브를 안정적으로 잡아두어야 하며, 튜브 홀더의 튜브 수용부의 직경은 사용되는 튜브 시험관의 직경과 실질적으로 동일하도록 제작할 수 있다.

[131] 한편, 예시적 구체예에 있어서, 튜브 시험관(C)은 전체적으로 공지된 형상의 형상을 갖는 바, 크게 시험관 본체(109') 및 내용물을 수용하거나 배출하기 위한 개폐용 뚜껑(109'')을 포함할 수 있다. 이와 관련하여, 튜브 시험관 본체(109')는 제1 튜브 홀더(B)에 구비된 튜브 수용부로 삽입하는데 적합한 치수를 갖는 한, 특별히 한정되는 것은 아니다. 다만, 튜브 시험관(C) 내에 분석 플랫폼, 즉 복수의 이동상 입자, 복수의 고정상 입자, 그리고 시료의 증폭 생성물(구체적으로 증폭 유전자)을 수용하고, 이를 외부에서 시각적으로 또는 조도 센서에 의하여 확인 가능해야 하는 만큼, 튜브 시험관 본체(109')는 투명 재질로 구성하는 것이 바람직하다. 예시적으로, 튜브 시험관 본체(109')는, 다양한 무기물 재질(예를 들면, 글라스) 또는 고분자 재질을 사용할 수 있다.

[132] 개폐용 뚜껑(109'')의 경우, 제1 튜브 홀더(B)의 튜브 수용부 내로 튜브 시험관이 삽입된 후에는 모터부(102)의 구동 시 가해지는 원심력 하에서 튜브 홀더(B)로부터 이탈되지 않고 고정된 상태로 유지되는 것으로 바람직할 수 있다. 이를 위하여, 예시적 구체예에 따르면, 개폐용 뚜껑(109'')의 둘레를 따라 걸림턱 또는 돌출부가 형성되어 있다.

[133] 예시적 구체예에 따르면, 튜브 시험관(C)의 수용 체적 또는 용량은, 예를 들면 약 200 내지 2000 μl , 구체적으로 약 300 내지 1000 μl , 보다 구체적으로 약 350 내지 600 μl 의 범위일 수 있으나, 이는 예시적인 의미로 이해될 수 있다. 다만, 소형 모터를 이용하는 만큼, 지나치게 수용 체적이 큰 튜브 시험관은 이동상(구체적으로 자성 입자)의 원심 분리에 적합하지 않을 수 있다. 예시적으로, 튜브 시험관(C)의 직경은, 예를 들면 약 5 내지 15 mm, 구체적으로 약 6 내지 12 mm 범위 내에서 정하여질 수 있으며, 이는 예시적인 의미로 이해될 수 있다.

[134]

[135] 모바일 기기의 조도 센서를 이용한 센싱부

[136] 일 구체예에 따르면, 전술한 분석 플랫폼에 있어서 물리적 분리 수단(구체적으로 원심 분리 수단)에 의하여 고정 상과 바인딩되지 않은 이동 상 입자를 육안에 의하여 시각적으로 확인 가능할 뿐만 아니라, 조도 센서를 이용하여 정성적 및 정량적으로 보다 정확하게 판독할 수 있다.

- [137] 도 8은 예시적 구체예에 따라 조도 센서에 의하여 분석 플랫폼으로부터 양성 및 음성을 판정하는 원리를 개략적으로 도시한다.
- [138] 상기 도면을 참조하면, 광원과 조도 센서 사이에 물리적 분리, 구체적으로 원심 분리를 거친 테스트 튜브(분석 플랫폼을 수용한 튜브 시험관)를 위치시키고, 테스트 튜브 내 이동상의 분리 정도에 따라 다른 값을 나타내는 투과도를 조도 센서에 의하여 측정함으로써 판독을 수행할 수 있다.
- [139] 이때, 광원으로부터 조사된 광은 테스트 튜브(구체적으로 테스트 튜브의 하측 영역)를 투과하도록 하고, 이를 투과한 광이 조도 센서에 의하여 감지되도록 배열하는 것이 바람직하다.
- [140] 양성인 경우, 원리 분리에 의하여 이동상 입자가 테스트 튜브의 하측에 농축되고, 농축된 이동상 입자가 광 투과도를 저감시켜 조도 센서에 도달하는 광의 조도를 감소시킨다. 반면, 음성인 경우에는 이동상 입자가 고정상 입자에 결합되어 있으므로 테스트 튜브의 하측 부위에서 이동상 입자의 농축은 상대적으로 낮은 수준이다. 따라서, 조사된 광의 투과도에 미치는 정도가 작기 때문에 조도 센서로 도달하는 광의 조도는 양성인 경우에 비하여 높다.
- [141] 이처럼, 조도 센서에 도달하는 조도를 측정하면 시료 내 타겟 유전자를 정성적 및 정량적으로 판독(또는 진단)할 수 있는 것이다.
- [142] 더욱이, 조도 센서로서 모바일 기기, 구체적으로 스마트폰 또는 태블릿 기기에 내장된 조도 센서를 이용하고, 모바일 기기에 조도 측정용 어플리케이션을 설치함으로써 조도 센서에 도달하는 광의 양을 정확하면서도 용이하게 확인할 수 있다.
- [143] 이처럼, 본 구체예에서는 모바일 기기에 내장된 조도 센서를 이용하여 전술한 판독 원리를 구현할 수 있는 센싱부를 제공한다.
- [144] 센싱부는 판독이 수행되는 센서 구조물 및 조도 센서를 포함하는 개념으로서, 센서 구조물(200)에 조도 센서에 필요한 광을 제공하는 광원, 그리고 판독 대상인 테스트 튜브를 도입 또는 삽입하고, 센서 구조물(200)이 조도 센서가 노출되는 면을 커버하도록 모바일 기기에 부착함으로써 전술한 판독 원리를 구현할 수 있다.
- [145] 이때, 광원은 이동상 입자, 특히 자성 입자의 분리 정도를 광학 분석하기 위하여 사용되는 것으로, 예를 들면 백색 광원을 적용할 수 있다. 다만, 백색 광원에 한정되는 것은 아니며, 자성 입자 및 스마트 기기 내 조도 센서의 특성 상 가시광 범위 내 다양한 파장의 광을 방출하거나 조사할 수 있는 다양한 광원을 사용할 수 있다. 특정 구체예에 따르면, 광원으로서 통상적으로 알려진 발광 다이오드(LED) 소자를 사용할 수 있으며, 조사되는 광의 세기는, 예를 들면 약 100000 Lux 이하, 구체적으로 약 100 내지 30000 Lux 범위 내에서 선정될 수 있고, 또한 파장 대역은, 예를 들면 약 400 내지 1100 nm, 구체적으로 약 500 내지 800 nm 범위일 수 있다.
- [146] 한편, 예시적 구체예에서 센싱부를 구성하는데 적용 가능한 센서 구조물은 도

9에 도시된 바와 같다.

- [147] 상기 도면을 참조하면, 센서 구조물(200)은 크게 조도 센서가 내장된 모바일 기기에 부착하기 위한 모바일 기기 홀더(201), 테스트 시험관을 삽입하기 위한 제2 튜브 홀더(202) 및 광원을 장착하기 위한 광원 홀더(203)를 포함한다. 도시된 예에서 센서 구조물(200)은 전체적으로 6면체 형상을 갖고 있다.
- [148] 도시된 구체예에 따르면, 통상적으로 모바일 기기, 특히 스마트 폰의 상측 부위에 조도 센서가 내장되어 조도 센서의 노출면이 형성되어 있다. 이점을 고려하여, 모바일 기기의 상측 부위를 삽입할 수 있도록 센서 구조물(200)의 하측 부위 또는 하단 면에 연장된 관통 홈 형태로 모바일 기기 홀더(201)가 제공된다. 도시된 예의 경우, 관통 홈은 센서 구조물 하면의 중앙보다는 광원 홀더(203)가 형성된 면에 대향하는 면 측으로 치우친 지점 또는 위치를 가로질러 형성되는 바, 전체 폭을 기준으로 관통 홈의 중앙이 대략 광원 홀더(203)가 형성된 면으로부터 약 0.55 내지 0.9, 구체적으로 약 0.6 내지 0.8에 상당하는 위치에 형성될 수 있다. 이는 제2 튜브 홀더(202)의 형성 공간 및 광원 홀더(203)를 통한 광원의 장착 공간을 제공하기 위함이다. 이때, 관통 홈의 폭은 삽입에 의하여 모바일 기기 내 조도 센서의 노출면을 커버할 수 있는 한, 특정 수치로 한정되는 것은 아니며, 삽입되는 모바일 기기의 폭, 삽입 용이성 등을 고려하여 정하여질 수 있다.
- [149] 한편, 센서 구조물(200)의 상측 면에는 테스트 시험관(즉, 분석 플랫폼 및 증폭 유전자가 도입된 튜브 시험관)을 삽입하기 위한 제2 튜브 홀더(202)가 형성되어 있다. 도시된 예에서 제2 튜브 홀더(202)는 전형적으로 원형 단면의 홀(hole) 형태로 형성될 수 있는 바, 이러한 제2 튜브 홀더(202)를 통하여 테스트 시험관이 삽입될 수 있다. 도시된 예에서는 홀의 하측은 뚫려 있으면서 바닥은 폐쇄되어 있기 때문에 삽입된 테스트 시험관의 수용 공간을 형성하면서 센서 구조물 아래로 빠져 나가지 않는다. 택일적으로, 홀의 하측 공간의 단부는 개방될 수 있는 바, 이러한 태양에서는 전술한 바와 같이 튜브 시험관의 기폐용 뚜껑(109")에 형성된 걸림 턱에 의하여 고정시킬 수 있다. 제2 튜브 홀더(202)의 위치 및 치수는 테스트 시험관의 치수, 센서 구조물 내 모바일 기기 홀더 및 광원 홀더의 위치 및 간격 등을 고려하여 적절히 조절할 수 있다.
- [150] 또한, 센서 구조물(202)에 있어서 제2 튜브 홀더(202)를 기준으로 모바일 기기 홀더(201) 측 방향의 대향 면에 광원 홀더(203)가 사각 형상의 홀로 형성되어 있다. 도시된 예에서 광원 홀더(203)는 사각 형상의 홀이 센서 구조물(200)의 중앙 쪽으로 연장 형성되어 제2 튜브 홀더(202)의 하측 방향으로 뚫려 있는 공간, 그리고 모바일 기기 홀더(201)의 연장된 관통 홈의 측면과 연통될 수 있다. 이러한 연통 구조는 광원으로부터 조사된 광이 테스트 튜브를 투과한 후에 모바일 기기의 조도 센서에 전달될 수 있는 경로를 제공한다. 도시된 예에서는 광원 홀더의 형상이 사각 형상을 갖고 있으나, 이는 예시적인 것으로서 광원을 장착할 수 있는 한, 다양한 형상의 단면이 가능하다.

- [151] 그 결과, 센서 구조물(200)의 모바일 기기 홀더(201)를 모바일 기기의 상측 부위(즉, 내장된 조도 센서의 노출면이 위치하는 부위)에 삽입할 경우, 광원 홀더(203)에 장착된 광원으로부터 조사된 광은 테스트 시험관(구체적으로, 원심 분리에 의하여 고정상과 결합되지 않은 이동상이 농축되는 테스트 시험관의 하측 부위)를 투과하여 조도 센서의 노출면으로 전달될 수 있다. 이와 같이 전달된 광은 조도 센서에 의하여 측정되며, 측정된 값은 특히 모바일 기기에 설치된 어플리케이션에 의하여 처리되어 모바일 기기의 화면에 측정된 조도를 디스플레이할 수 있다. 따라서, 화면에 표시된 조도가 낮으면 양성으로 판단할 수 있는 것이다.
- [152] 한편, 예시적 구체예에 따르면, 센서 구조물(200)은 일체형 구조물일 수 있는 바, 이를 위하여 몰드(또는 성형) 또는 3D 프린팅 방식으로 제작할 수 있으나, 작은 사이즈의 입체 구조 내에 복수의 홀 및 이의 연통 구조를 형성하는 것이 요구되는 만큼, 3D 프린팅 방식을 이용하여 간편하게 제작할 수 있다. 예시적 구체예에 따르면, 3D 프린팅 방식으로 제작 가능한 센서 구조물(200)의 재질은 공지되어 있는 바, 전형적으로는 합성 고분자 또는 플라스틱을 사용할 수 있으며, 보다 전형적으로 폴리우레탄, 탄소섬유, 열가소성 수지, 광경화성 수지 또는 이의 조합을 예시할 수 있다.
- [153] 이와 같이 센서 구조물이 제작되면, 이에 광원(예를 들면 LED 소자), 및 광원의 구동에 필요한 전기를 공급하기 위한 배터리를 센서 구조물(200)에 설치하고, 모바일 기기 홀더(201)를 이용하여 모바일 기기에 삽입한다. 이후, 판독 대상인 테스트 튜브를 제2 튜브 홀더(202) 내로 삽입하고 광원을 조사하면 설치된 어플리케이션이 실행되어 모바일 기기의 화면 상에 조도가 표시된다. 이때, 모바일 기기에 설치되는 조도 측정용 어플리케이션은 특별히 한정되는 것은 아니며, 해당 분야에서 공개된 다양한 종류를 특별한 제한없이 적용 가능하다. 또한, 전술한 절차는 예시적인 것으로서 일부 순서는 변경 가능하다.

발명의 실시를 위한 형태

- [154] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위해 바람직한 실시예를 제시하지만, 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.
- [155]
- [156] 실시예
- [157]
- [158] 실시예에서 사용된 물질 및 장치는 하기와 같다:
- [159] - The N-Hydroxysuccinimidyl sepharose[®] 4 Fast Flow (4B)는 Sigma Aldrich로부터 구입하였다(Cat # H 8280).
- [160] - 자성입자(Dynabeads[®] Myone[™] Streptavidin C1)는 미국 Life Science사로부터 구입하였다(Cat #65001).

- [161] - 테스트 튜브로서 Axygen, Cat # AXY-MCT-060를 사용하였다.
- [162] - PCR 혼합물로서 Qiagen HotStartTaq[®] Plus Master Mix Kit를 사용하였다(Valencia, USA, Cat # 203643).
- [163] - 수식된 프라이머 합성물은 Bioneer(Daejeon, Korea)로부터 구입하였다.
- [164] - GelRed[™] Nucleic Acid Gel stain(10,000X)은 Biotium으로부터 구입하였다(Cat # 41002)
- [165] - 원심분리기는 Hanil사(Combi-514R)로부터 구입하여 사용하였다.
- [166] - DLS은 Malvern로부터 구입하여 사용하였다(Zetasizer nano zs).
- [167] - NMR 또는 IR, Quick Exrtact[™] DNA 추출 용액 1.0은 상품명 Epicentri[®] (Cat # QE09050, USA)를 사용하였다.
- [168] - PBS 완충액은 Gibco사 제품(Cat #70013-032)을 4°C에서 저장하여 사용하였다.
- [169] - PCR 장치로서 C1000 Touch[™] thermal cycler PCR System (Bio-rad, CA, USA)을 사용하였다.

[170]

[171] 실시예 1

[172]

[173] A. 실험 절차

[174]

[175] *E.coli* O157:H7 제조 및 DNA 추출

[176] *E.coli*는 Luria-Bertani (LB) 배지 내에 37°C에서 16 시간 동안 배양하였다. 그 다음, 콜로니 계수 기법(colony counting method)을 이용하여 *E.coli*의 CFU(colony forming unit)를 확인하였다. *E.coli*는 원심분리기(13000 rpm)을 이용하여 테스트 튜브 내에서 수집하였고, Quick Exrtact[™] DNA 추출 용액 1.0을 이용하여 98°C에서 15분에 걸쳐 *E.coli* 펠렛으로부터 DNA를 추출하였다.

[177]

[178] *E.coli* O157:H7에 대한 PCR 반응

[179] 타겟 DNA 앰플리콘을 신속하게 시각적으로 확인하는 개념에 대한 증명을 위하여, *E.coli*에 대한 PCR을 수행하였다. 프라이머는 stx 2 gene DNA (ref)에 기반하여 설계하였다. 역방향 프라이머는 염기서열의 5' 말단에서 Cy3으로 라벨링하였다. 바이오틴은 정방향 프라이머의 5' 말단에서 라벨링되어 스트렙트아비딘-라벨링된 자성 비드에 의하여 포획될 수 있도록 하였다. 정방향 프라이머 및 역방향 프라이머의 염기서열 각각은 하기 표 1과 같다.

[180]

[181] [표1]

프라이머	염기서열
정방향	5'-GGG CAG TTA TTT TGC TGT GGA-3'
역방향	5'-TGT TGC CGT ATT AAC GAA CCC-3'

[182]

[183] *E.col*의 증폭을 위하여, HotStartTaq[®] Plus Master Mix Kit를 이용하여 수행하였다. 반응 혼합물은 2X 마스터 믹스, 0.08 μ M의 정방향 프라이머, 0.08 μ M의 역방향 프라이머, 1 μ L의 추출된 DNA 및 탈이온수를 함유하였다. DNA 증폭을 위하여, C1000 Touch[™] thermal cycler PCR System을 사용하였다. 열적 사이클 조건은 95°C에서 5분, 30초 동안 95°C, 30초 동안 60°C 및 30초 동안 72°C의 열적 사이클을 35회 반복한 다음, 5분 동안 72°C에서 최종 연장 반응(final extension)을 수행하여 유전자 증폭 반응을 완료하였다. 타겟 DNA는 바이오틴으로 라벨링된 정방향 프라이머 및 역방향 프라이머를 이용하여 120-bp 사이즈의 앰플리콘에 대하여 증폭되었다.

[184]

[185] 증폭된 DNA의 시각화

[186] 도 4에 도시된 바와 같이, PCR 증폭 반응 후, 4 μ L의 바이오틴화 증폭 DNA, 4 μ L의 자성 비드 서스펜션(10 mg/mL, Dynabeads[®] Myone[™] Streptavidin C1) 및 1 μ L의 GelRed (20x, Biotium, Hayward, CA, USA)의 혼합물을 개별 젤 컬럼(Ortho BioVue system polycassettes) 내로 피펫팅하였고, 37°C에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 젤 카드를 1000 rpm에서 2분 동안 1회 원심분리하였다. 시각적 확인은 30초, 60초, 120초 및 300초에서 수행되었다. 젤 매트릭스에서 플랫 라인(flat line)에 대응하는 로딩 부위는 유입 현상이 일어나지 않았음을 지시하며, 음성 결과를 보여준다. 양성 결과는 앰플리콘-운반 자성 비드(민감화-처리된 자성 비드)가 젤 매트릭스를 통과하며 젤 컬럼의 바닥까지 이동하였음을 지시한다.

[187]

[188] **B. 결과 분석**

[189]

[190] 기능화된 세파로오스 기반의 바이오 분석 플랫폼의 원리

[191] 특정 분석 장치 없이 PCR 생성물을 분석하기 위하여, 육안 식별 가능한 센싱 원리를 설계하였고, 리간드 친화성 크로마토그래피-기반의 광학 센싱 플랫폼을 개발하였다. 스트렙타아비딘-접합된(conjugated) 자성 입자(MP)를 이동상으로 사용하였고, 또한 이의 고유한 붉은색을 띠는 갈색에 기반하는 분자 시그널을 위하여 사용하였다. PCR 방법에 의한 유전자 증폭에 있어서, MP 및 PCR 생성물과 직접 바인딩하도록 바이오틴화 프라이머를 합성하였다. NHS-기능화된 세파로오스를 고정상으로 사용하였다. 육안 식별 가능한 광학 센싱 시스템을 확립하기 위하여, 통상의 PCR 장치를 이용하여 먼저 병원체로부터의 유전자를 증폭시켰고 제조된 자성 입자와 혼합하였는 바, MP 표면의 모이티프가 PCR로부터의 증폭된 유전자를 바인딩함에 따라 변화하였다. 그 다음, MP 혼합물과 PCR의 혼합물을 NHS-수식된 세파로오스 컬럼에 적용하였다. 음성 테스트에 있어서, 자성 입자 표면 상의 스트렙타아비딘이

노출되었고, 스트렙트아비딘 상의 아민기가 세파로오스의 NHS기와 반응할 수 있었다. 그러나, 양성 테스트에 있어서는 스트렙트아비딘이 증폭된 유전자에 의하여 피복되어 있고, 이후 자성 입자가 세파로오스 네트워크 구조로부터부터 분리되었다. 이러한 특성에 기반하여, 세파로오스 겔 내의 자성 입자의 이동(migration) 범위는 원심 분리 과정에서 점차적으로 변화하였고, 자성 입자의 붉은색을 띄는 갈색으로 인하여 자성 입자의 움직임을 육안 관찰할 수 있었다.

[192] 결과적으로, 타겟 유전자는 육안 관찰에 의하여 간단히 진단할 수 있었다.

[193]

[194] 육안 관찰에 의한 PCR 생성물의 분석

[195] 본 실시예에서는 식품 유래의 병원체에 대한 바이오마커로서 *E.coli*를 선택하였다. 1.0×10^5 CFU의 *E.coli*를 제조하였고, 이의 유전자 DNA(gDNA)를 추출하여 정제하였다. 탈이온수를 음의 대조군 테스트로서 사용하였고, 상기 용액을 30분 동안 자성 입자와 혼합하였다. 그 다음, 10배로 희석된 GelRed를 10분 동안 반응시켰다. 제조된 200 μ L NHS-수식된 세파로오스를 테스트 튜브 내에서 조심스럽게 팩킹하였다. 용액 내에서 부유된 세파로오스로 인하여, 테스트 튜브를 30초 동안 원심분리시켰다. 이후, 각각의 제조된 테스트 시료를 세파로오스 컬럼에 적용하였고, 상기 컬럼을 2분 동안 1000 rpm에서 원심분리시켰다.

[196] 그 결과, 양성 테스트에서 자성 입자는 도 10a에서와 같이 자성 입자는 명확하게 세파로오스 컬럼을 통과하여 이동하였고, 붉은색을 띄는 갈색 입자가 육안으로도 관찰되었다. 반면, 음성 테스트에서는 도 10b에서와 같이 자성 입자의 움직임은 관찰되지 않았는 바, 이는 자성 입자가 세파로오스와 견고하게 바인딩되어 있음을 지시한다.

[197] 상기 결과는 실시예에 따른 분석 플랫폼이 의도된 바와 같이 성공적으로 작동하고, 타겟 병원체로부터 증폭된 유전자가 육안으로 용이하게 검출 또는 확인될 수 있음을 보여준다.

[198]

[199] 분석 플랫폼의 *E.coli*에 대한 검출 한계(LOD) 평가

[200] 음식물 내 극히 소량의 *E.coli*를 포함하는 박테리아가 식중독을 유발하기 때문에 높은 감도 특성을 나타낼 것이 요구된다. *E.coli* 분석 시 검출 한계를 확인하기 위하여 *E.coli*를 1.0×10^6 CFU에서부터 1.0×10^1 CFU까지 순차적으로 희석시켰고, 전술한 절차와 같이 DNA를 추출하였다. 각각의 시료로부터 증폭된 PCR 생성물에 대하여 동일 조건 하에서 본 실시예에 따른 분석 시스템을 적용하였으며, 그 결과를 전기영동 테스트 결과와 함께 도 11에 나타내었다. 상기 도면에 따르면, 음성 대조군 테스트를 제외하고는 자성 입자의 이동이 관찰되었는 바, 이는 본 실시예에 따른 검출 시스템을 이용할 경우, 육안 관찰에 의하여 *E.coli*를 진단할 수 있음을 지시한다. 또한, 1.0×10^1 CFU 미만의 *E.coli* 농도에서는 자성 입자는 약간 이동하였다. 이와 같이 낮은 *E.coli* 농도에서도 MP

레벨이 변화하였으며, 육안으로 평가하기에 음성 시료 테스트(대조군) 결과에 비하여 뚜렷하게 구별된다. 따라서, 검출 한계(LOD)는 1.0×10^1 CFU로 판단하였다.

[201]

[202] 실제 시료에 기반한 육안 관찰 분석

[203] *E.coli*가 식중독의 주된 요인인 만큼, 실제 시료에 기반하는 *E.coli* 분석 실험을 수행하여 본 실시예에 따른 분석 플랫폼의 실제 적용 가능성을 평가하였다. 본 실시예에서는 $10 \mu\text{L}$ 의 우유 내로 1.0×10^6 CFU에서부터 1.0×10^1 CFU까지의 *E.coli*를 주입하여 인위적으로 감염된 실제 시료를 제조하였다. 박테리아-주입된 우유 시료를 용해시키고, 용해된 용액을 통상의 PCR에 적용하였다. PCR 생성물을 본 실시예에 따른 시스템에 적용하였는 바, 재현성 확보를 위하여 동일 조건 하에서 적어도 3회에 걸쳐 분석 실험을 수행하였다. 그 결과를 도 12에 나타내었다.

[204] 상기 도면을 참조하면, 전체 사진에서 MP의 이동이 관찰되었는 바, 이는 본 실시예에 따른 시스템에 실제 음식물 시료에 기반한 *E.coli*가 효과적으로 검출 가능함을 뒷받침한다. 구체적으로, MP는 1.0×10^1 CFU를 이상의 *E.coli* 농도에서는 명확하게 이동한 반면, 음성 대조군에서는 MP 변화가 관찰되지 않았다. 1.0×10^1 CFU 농도의 경우, 자성 입자는 약간 이동하였으나, 음성 대조군에 비하여 뚜렷한 이동이 관찰되었다. 따라서, 실제 시료에 있어서, 검출 한계는 1.0×10^1 CFU *E.coli*로 결정할 수 있다.

[205]

[206] DLS(dynamic light scattering)을 이용한 DNA 유연성 평가

[207] 본 실시예에서 제시된 바이오센싱 원리에 따르면, 양성 테스트에서 자성 입자에 부착된 증폭된 PCR 생성물이 스트렙타아비딘의 아민기와 세파로오스 상의 NHS기의 바인딩이 입체 장애에 의하여 간섭받는다. 따라서, 이중 스트랜드 DNA(dsDNA)의 구조를 강성 형태로 유지하는 것이 반응 효율을 증가시키는데 중요하다. 그러나, DNA의 이중 스트랜드는 수계 상에서 높은 유연성을 갖고 있어 정확한 분석이 방해받는다. dsDNA-특정 삽입 물질(분자)의 결합 시, DNA 유연성이 변화하는 바, 본 실시예에서는 GelRed를 사용하여 평가하였다.

[208] GelRed가 염기 쌍 사이에 스택킹될 수 있기 때문에, DNA 움직임은 수계 상 내에서 구속될 수 있다. GelRed 반응에 따른 DNA 유연성을 평가하기 위하여, DLS 방법을 통하여 DNA 사이즈 변화를 분석하였는 바, 상기 방법은 바이오분자의 역학(dynamics)을 측정하여 사이즈 변화를 관찰한다. 약 100개의 염기 쌍으로서 증폭된 DNA 주형의 경우, 작은 사이즈의 길이 변화를 명확하게 검출하기 위하여 100 nm의 스트렙타아비딘-접합된 자성입자를 사용하였다. 1.0×10^5 CFU *E.coli*는 추출 및 정제되었고, 제조된 유전자는 바이오틴화 프라이머를 함유하는 PCR 혼합물과 혼합되었다. PCR 수행 후, 증폭된 유전자는 100 nm 자성 입자와 반응하였고, 이후 GelRed를 상기 용액과 혼합하였으며, DLS(dynamic light scattering) 사이즈를 측정하여 그 결과를 도 13에 나타내었다.

[209] 상기 도면에 나타낸 바와 같이, 초기 자성 입자의 사이는 158 nm이었다. 자성 입자 표면 상의 전체 스트렙트아비딘 사이즈(약 20 nm) 및 입자의 수력학적 직경을 고려하면, 상기 사이즈는 신뢰할 수 있다. 또한, DNA가 바인딩된 MP는 191 nm로 측정되었다. 증폭된 유전자는 평균 100 bs이었고, 이론 사이즈는 약 34 nm이었다. 증폭된 DNA가 MP 표면과 균일하게 바인딩된다는 것을 가정하면, 전체 사이즈는 68 nm 증가하였다. 그러나, 전술한 바와 같이, DNA 길이는 수용액 내에서 변화가능한 만큼, 얻어진 결과는 DNA가 유연성을 나타냄을 뒷받침한다. GelRed, DNA 및 MP 테스트 결과에 있어서 관찰된 사이즈는 약 224 nm이었다. 상기 결과는 dsDNA의 염기 쌍 사이에 GelRed가 성공적으로 삽입되었고, GelRed가 증폭된 DNA의 유연성을 효과적으로 감소시켰음을 보여준다.

[210]

[211] GelRed 농도 및 반응 시간의 최적화

[212] GelRed의 기능성을 이중 스트랜드 DNA의 유연성 변화로 고려할 때, 유전자 분석에서 세파로오스와 MP 바인딩 친화성은 GelRed의 농도와 밀접하게 관련되어 있다. GelRed 농도를 최적화하기 위하여, 세파로오스-충진(팩킹)된 테스트 튜브 및 1.0×10^5 CFU *E.coli*는 앞선 테스트와 동일한 방법으로 제조하였다. PCR에 의하여 증폭된 유전자는 동일 농도의 MP와 반응시켰다. 그 다음, 5배, 10배, 20배, 50배 및 100배 희석된 GelRed를 순차적으로 10분 동안 적용하였고, 이와 같이 제조된 테스트 튜브는 2분 동안 1000 rpm에서 원심분리되었다. 도 14a에 나타낸 바와 같이, 5배 희석된 GelRed 테스트에서는 MP의 응집 현상이 관찰되었다. 이처럼, 지나치게 높은 농도의 GelRed는 세파로오스 상에서 응집되어 MP 상의 아민과 세파로오스 상의 NHS의 반응에 관계없이 MP의 이동이 교란되는 것으로 판단된다. 그러나, 10배 희석된 GelRed 테스트에 있어서, MP는 양성 테스트에서 명확하게 이동한 반면, 음성 컨트롤 테스트에서는 MP의 움직임 변화는 관찰되지 않았다.

[213] 20배, 50배 및 100배 희석된 GelRed 테스트에 있어서, 음성 컨트롤에서의 MP 레벨은 효과적으로 변화하지 않았고, 양성 테스트에서의 MP는 초기 상태와 유사하였는 바, 이는 사용된 GelRed가 증폭된 타겟 유전자에 따른 시그널 변화를 차별화하는데 불충분함을 지시한다. 상술한 테스트 결과, 약 10배 희석된 GelRed를 사용하는 것이 적합하다는 결론을 내릴 수 있다.

[214] 한편, 최적화된 원심 분리 조건을 도출하기 위한 실험을 수행하였으며, 그 결과를 도 14b에 나타내었다.

[215] 상기 도면에 나타낸 바와 같이, 모든 테스트 결과 중 양성 테스트에서 자성 비드의 이동 레벨은 순차적으로 변화한 반면, 음성 테스트에서 자성 비드 움직임의 현저한 변화는 검출되지 않았는 바, 이는 본 개시 내용에서 제안된 바이오 분석 플랫폼의 작동 원리가 적절하다는 것을 지시한다. 이는 PCR 생성물과 자성 비드의 접합에 따른 표면 기능기의 차이때문으로 판단된다. 양성 테스트 및 음성 테스트에 따른 자성 비드의 이동 변화는 30초에서 60초까지의

반응 시간에서 관찰되었음에도 불구하고, 자성 비드 이동 변화가 적기 때문에 질병 감염을 결정하는데 불충분하였다. 반면, 120초 동안 반응시킨 경우, 양성 테스트 및 음성 테스트 모두에서의 비드 변화가 명확히 확인되었는 바, 이는 육안으로도 *E.coli* PCR 생성물을 신뢰성 있게 진단할 수 있도록 한다. 300초의 반응 시간에서는 충분한 진단 결과를 확보할 수 있었으나, 이러한 원심 분리 조건은 현장 테스트에 적합하지 않다. *E.coli*의 경우, 약 2분의 반응 시간이 가장 이상적임을 알 수 있다.

[216]

[217] 실시예 2

[218] 스마트 폰을 전원공급원으로 하는 휴대용 원심 분리 장치를 이용한 병원체의 진단

[219]

[220] 본 실시예에서는 실시예 1에서와 동일한 절차에 따라 *E.coli* 분석 플랫폼을 제조하였는 바, 구체적으로 시험 튜브에 NHS-수식된 세파로오스를 충전하였고, 증폭된 유전자와 반응된 스트렙타아비딘-접합된 자성 입자(MP)를 이에 적하하였다. 이때, 실제 시료로서 브로스(broth) 및 우유(milk)를 각각 사용하였다(1.0×10^4 - 1.0×10^6 CFU, *E. coli* O157:H7)[221] 후속적으로, 도 15a에서와 같이 3D 프린팅으로 제작된 제1 튜브 홀더를 이용하여 도 15b와 같이 휴대용 원심 분리 장치에 앞서 제조된 분석 플랫폼을 함유하는 시험 튜브를 삽입하였다. 그 다음, 도 16에 나타낸 바와 같이 휴대용 원심 분리 장치의 지지부의 하단에 설치된 전원 커넥터를 스마트폰(LG사 제품명 G4)의 USB 단자에 연결시켜 2분에 걸쳐 원심분리를 수행하였다. 이때, 시험 튜브의 체적은 400 μ L이었고, 회전 속도는 2000 rpm이었다.

[222] 그 결과를 도 17a 및 도 17b에 각각 나타내었다.

[223] 상기 도면에서 확인되는 바와 같이, 기능화된 입자 기반의 분석 플랫폼과 스마트폰으로 구동되는 휴대용 원심분리 장치를 조합하여 물리적 분리를 수행함으로써 양성 테스트 및 음성 테스트 결과를 육안으로 관찰할 수 있었으며, 이는 2가지의 실제 시료(브로스 및 우유)에서 유효하게 적용되었다. 특히, 실시예 1에서 확인되는 검출 한계와 동등한 수준의 진단 정확성을 확보할 수 있었다.

[224]

[225] 실시예 3

[226] 스마트 폰에 내장된 조도 센서를 이용한 병원체의 진단

[227]

[228] 실시예 2에서 원심 분리된 테스트 튜브를 육안으로 관찰하는 대신에 스마트폰에 내장된 조도 센서를 이용하여 양성 및 음성 판독을 수행하였다.

[229] 본 분석 플랫폼이 이동 상(자성 입자; MP)과 고정 상(세파로오스) 간의 흡광도 및 투과도 차이를 이용하여 진단을 수행하는 만큼, 사전 실험으로서 스마트폰에 내장된 조도 센서의 노출 면 상에 세파로오스 및 자성 입자(MP) 각각이 충전된

투명한 기판을 위치시킨 후 LED를 조사하여 광량의 차이를 분석하였다. 그 결과를 도 18에 나타내었다.

- [230] 상기 도면에서 확인되듯이, 자성 입자는 조사된 광의 투과도가 낮기 때문에 스마트 폰 화면에서 표시된 조도는 낮은 수준인 반면, 세파로오스는 조사된 광의 투과도가 상대적으로 높기 때문에 높은 조도 값이 표시되었다. 이처럼, 본 분석 플랫폼에 기반하고, 스마트 폰에 내장된 조도 센서를 이용하여 진단할 수 있을 것으로 판단된다.
- [231] 상술한 사전 실험 결과를 고려하여, 도 19a에 나타낸 바와 같이 3D 프린팅을 이용하여 센서 구조물(몰드)를 제작하였다. 이와 같이 제작된 센서 구조물의 광원 홀더에 광원으로서 LED 소자를 부착하였고, 광원은 측면에 부착된 3V 배터리에 의하여 작동하도록 하였다. 또한, 실시예 2에서 2가지 시료(10^1 내지 10^6 CFU 범위의 *E. coli* O157:H7)에 대하여 분석 플랫폼을 적용하고 원심 분리를 거친 시험 튜브를 센서 구조물의 제2 튜브 홀더에 삽입하였다.
- [232] 이후, 도 19b에서와 같이 테스트 튜브가 삽입된 센서 구조물에 의하여 스마트 폰의 조도 센서 노출 면을 커버하도록 하였으며, 조도 센서를 이용하여 테스트 튜브를 투과한 LED 광의 조도를 측정하고, 설치된 어플리케이션을 구동함으로써 스마트 폰의 화면에 표시된 조도 값을 확인하였다. 그 결과를 도 20a 및 도 20b에 나타내었다.
- [233] 상기 도면에 따르면, 스마트 폰에 내장된 조도 센서를 이용하여 측정한 결과, 양성인 경우에는 모두 자성입자가 침전되어 낮은 광량을 보였으나, 음성의 경우 광원이 세파로오스를 투과하여 높은 광량을 보였다. 즉, 음성군과 테스트군의 광량 차이가 뚜렷하여 재현성 및 민감도를 확보할 수 있음을 확인하였다.
- [234] 이처럼, 모바일 기기를 이용하여 간편하게 현장에서 분석 가능할 수 있으며, 이에 사용된 센서 구조물은 간단한 구조를 갖고 있어 저렴하게 제작할 수 있는 등, 상용화 가능성이 높은 것으로 판단된다.
- [235] 본 발명의 단순한 변형 내지 변경은 이 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의하여 용이하게 이용될 수 있으며, 이러한 변형이나 변경은 모두 본 발명의 영역에 포함되는 것으로 볼 수 있다.

청구범위

- [청구항 1] (A) 시각적 확인(identification)이 가능하고, 제1 기능기-함유 성분으로 수식된 복수의 이동상(mobile phase) 입자, 및 상기 제1 기능기-함유 성분과 결합능을 갖는 화학적 기능기에 의하여 활성화된 복수의 고정상(stationary phase) 입자를 포함하고, 상기 제1 기능기-함유 성분이 타겟 병원체의 유전자에 특이적인 프라이머와 접합된 제2 기능기-함유 성분과 바인딩 특성을 갖되, 상기 제2 기능기-함유 성분이 프라이머를 통하여 증폭된 타겟 병원체의 유전자와 접합되어 있는 경우에는 입체 장애로 인하여 상기 이동상 입자와 상기 고정상 입자 간의 바인딩이 억제되며, 그리고 상기 고정상 입자에 바인딩되지 않은 이동상 입자를 분리함으로써, 시각적으로 또는 조도 센서에 의하여 확인 가능하도록 구성된 병원체의 분석 플랫폼; 그리고
- (B) (b1) 모바일 기기의 전원 입출력 단자와 연결되고 이로부터 공급된 전원에 의하여 상기 고정상 입자에 바인딩되지 않은 이동상 입자를 분리하는 휴대용 원심 분리 장치, 및 (b2) 모바일 기기에 내장된 조도 센서를 이용하여 상기 분석 플랫폼에 의하여 타겟 병원체를 분석하기 위한 센싱부 중 적어도 하나를 포함하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 전원 입출력 단자는 USB 포트의 전원 입출력 단자인 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 휴대용 원심 분리 장치는, 직립형 지지부의 상측에 설치되며, 모바일 기기로부터 공급된 전원에 의하여 구동되는 모터부; 상기 직립형 지지부의 하측에 구비되어 상기 모바일 기기의 전원 입출력 단자에 전기적으로 연결 가능한 커넥터 단자; 상기 모터부와 기계적으로 연결되어 모터부의 회전 시 수평 방향으로 회전하도록 구성된 적어도 하나의 고리 부재; 및 상기 적어도 하나의 고리 부재와 고리 결합 또는 인터로킹(interlocking)되는 걸림부 및 튜브 시험관을 삽입하도록 형성된 튜브 수용부를 구비하는 제1 튜브 홀더;를 포함하며, 상기 모터부의 회전 시 제1 튜브 홀더에 삽입된 튜브 시험관이 원심력에 의하여 수직 위치에서 수평 위치로 전환되면서 회전하는 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 제1 튜브 홀더는 걸림부로서 제1 캐비티가 구비된 제1 면, 및 튜브 수용부로서 제2 캐비티가 구비된 제2 면이 "L"자 형상을 이루도록 금속 재질의 단일 프레임이 밴딩되어 형성되거나, 또는 고분자 재료가 성형 또는 3D 프린팅에 의하여 형성된 것을 특징으로 하는

- 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 5] 제3항에 있어서, 상기 제1 튜브 홀더의 재질은 열가소성 고분자로서, 폴리에스테르, 폴리올레핀, 폴리아미드, 폴리비닐알코올, 폴리우레탄, 폴리스티렌, 폴리염화비닐 또는 이의 조합인 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 6] 제3항에 있어서, 상기 제1 튜브 홀더는, 상측 부위에는 걸림부로서 제1 면에 형성된 제1 캐비티; 및 하측 부위에는 제1 면의 면 방향과 수직의 면 방향을 갖는 바닥면으로서 제2 면에 형성된 제2 캐비티; 를 포함하고, 여기서, 제1 면과 같은 폭을 갖는 한 쌍의 제1 연결 면 각각이 제1 면의 하측 모서리와 소정 각도를 유지하며 연결되어 있고, 또한 제2 면으로부터 점차적으로 폭이 감소되는 단면을 갖도록 형성된 한 쌍의 제2 연결 면 각각의 상측 모서리가 제1 연결 면의 하측 모서리와 만나도록 구성된 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 7] 제3항에 있어서, 상기 제1 튜브 홀더는, 바닥면; 및 상기 바닥면으로부터 소정 각도로 각각 연장 형성되어 바닥면의 중앙 상측 공간에서 서로 접합하는 복수의 빔 부재; 를 포함하며, 여기서, 상기 빔 부재가 서로 만나는 접합부가 걸림부를 형성하며, 또한 바닥면의 하측 방향으로 튜브 수용부로서 캐비티가 형성되는 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 8] 제7항에 있어서, 상기 빔 부재 각각은 바닥면으로부터 연장되는 방향으로 점차적으로 감소된 폭을 갖는 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 9] 제7항에 있어서, 상기 캐비티의 하단은 폐쇄되거나, 또는 개방되어 있는 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 10] 제2항에 있어서, 상기 튜브 시험관은, 상단부에 개구가 형성되고 하단부는 폐쇄되어 있는 광 투과성 재질의 시험관 본체; 및 상기 시험관 본체의 개구에 체결되도록 구성되며, 상기 제1 튜브 홀더의 튜브 수용부 내로 튜브 시험관이 삽입된 후에는 모터부의 구동 시 가해지는 원심력 하에서 고정 상태에 있도록 둘레를 따라 돌출되어 있는 걸림 턱이 구비된 개폐용 뚜껑; 을 포함하는 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 튜브 시험관의 수용 체적은 200 내지 2000 μl 범위인 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.
- [청구항 12] 제2항에 있어서, 상기 센싱부는,

삽입 방식으로 모바일 기기와 체결되면서 상기 모바일 기기 내 조도 센서의 노출면을 수용하도록 하측에 연장된 관통 홈이 형성된 모바일 기기 홀더;

튜브 시험관 내에 분석 플랫폼이 수용되어 있는 테스트 시험관을 삽입하기 위한 제2 튜브 홀더; 및

상기 삽입된 테스트 시험관으로 광을 조사하기 위한 광원이 장착되는 광원 홀더;

를 구비하는 센서 구조물을 포함하고,

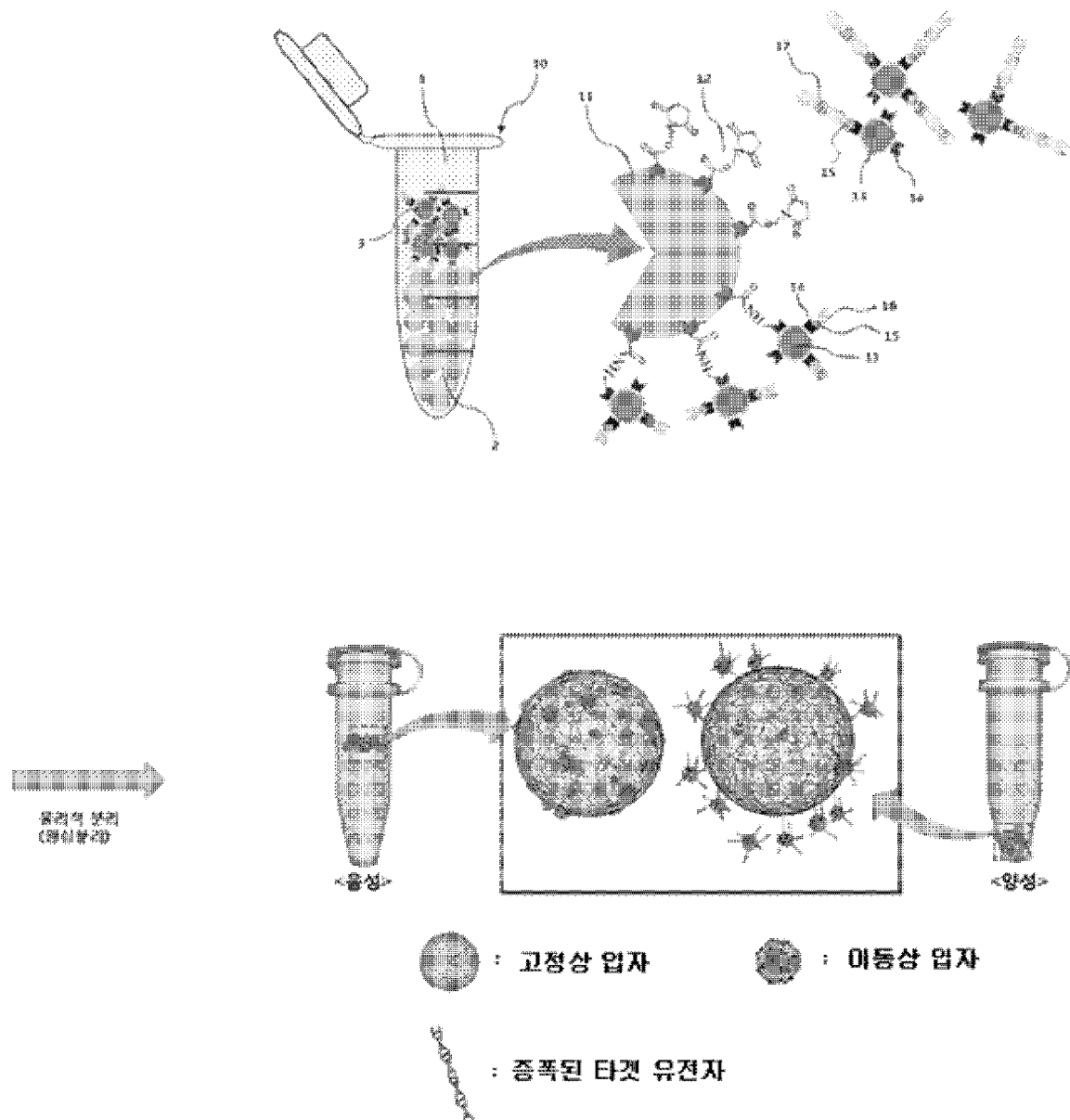
상기 센서 구조물 내에서 모바일 기기 홀더, 제2 튜브 홀더 및 광원 홀더는 광원으로부터 조사된 광이 테스트 시험관을 투과하여 조도 센서의 노출면으로 전달되도록 배열되는 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.

[청구항 13] 제12항에 있어서, 상기 센서 구조물은 일체형 구조물인 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.

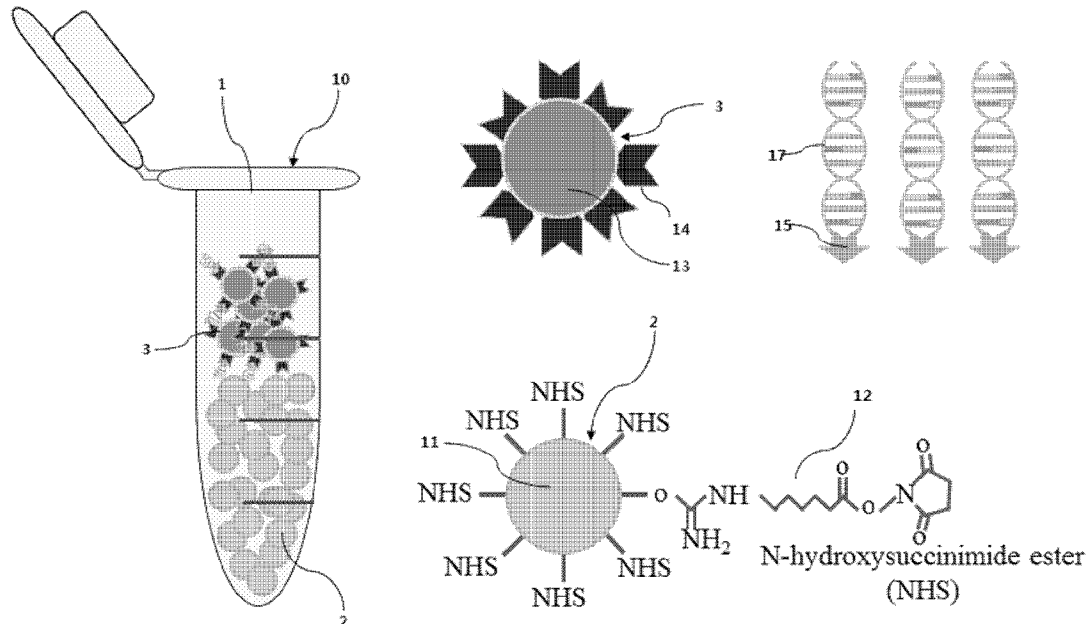
[청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 센서 구조물은 3D 프린팅 방식으로 제작된 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.

[청구항 15] 제12항에 있어서, 상기 광원은 발광 다이오드(LED) 소자로서 이의 파장 대역은 400 내지 1100 nm 범위인 것을 특징으로 하는 병원체의 진단 시스템.

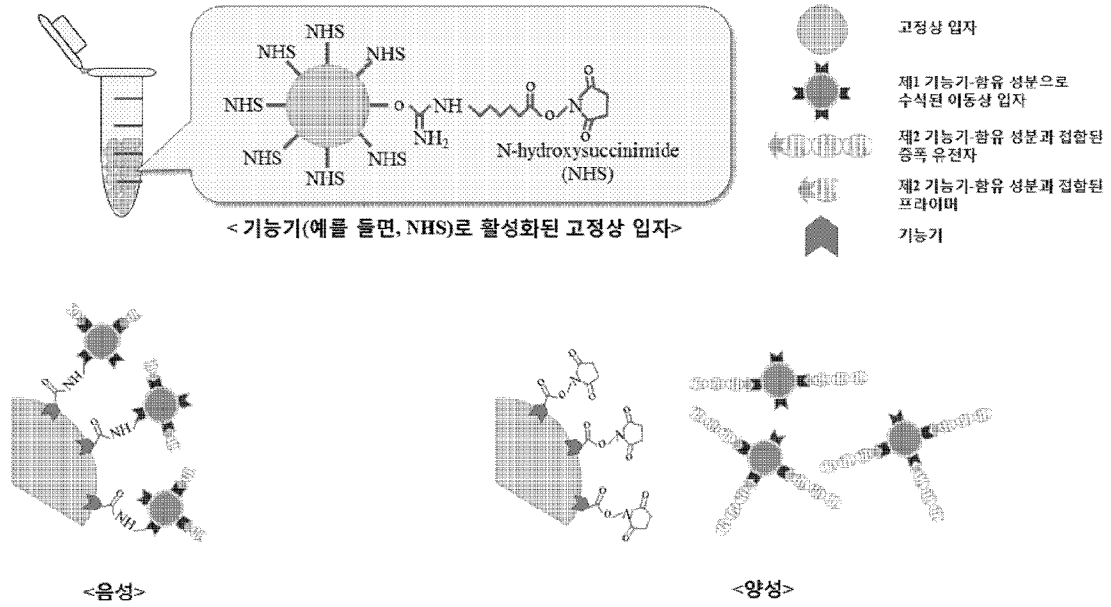
[도1]



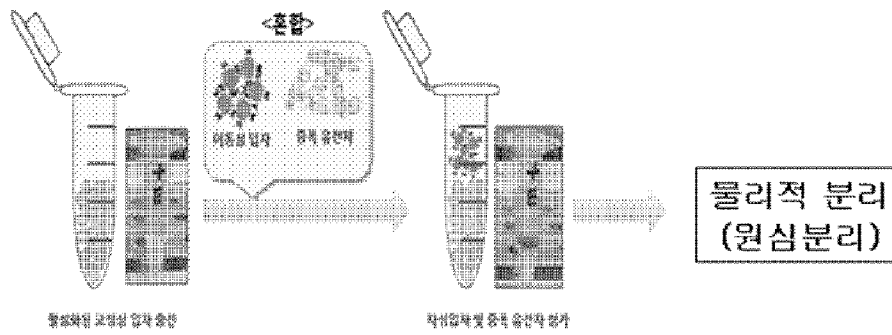
[도2]



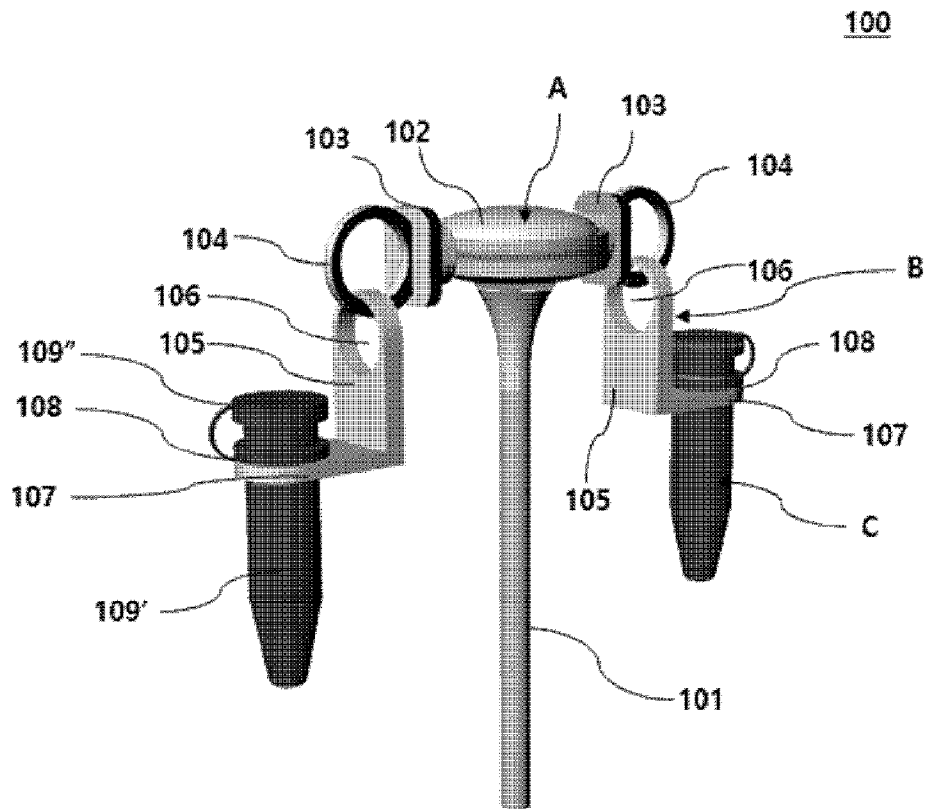
[도3]



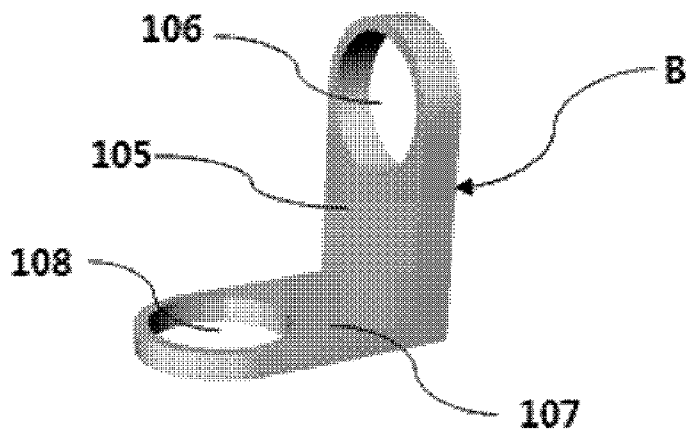
[도4]



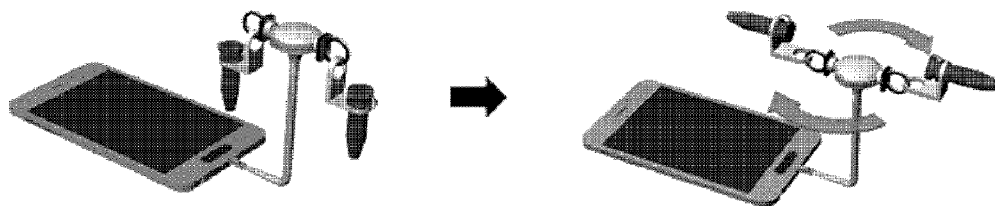
[도5a]



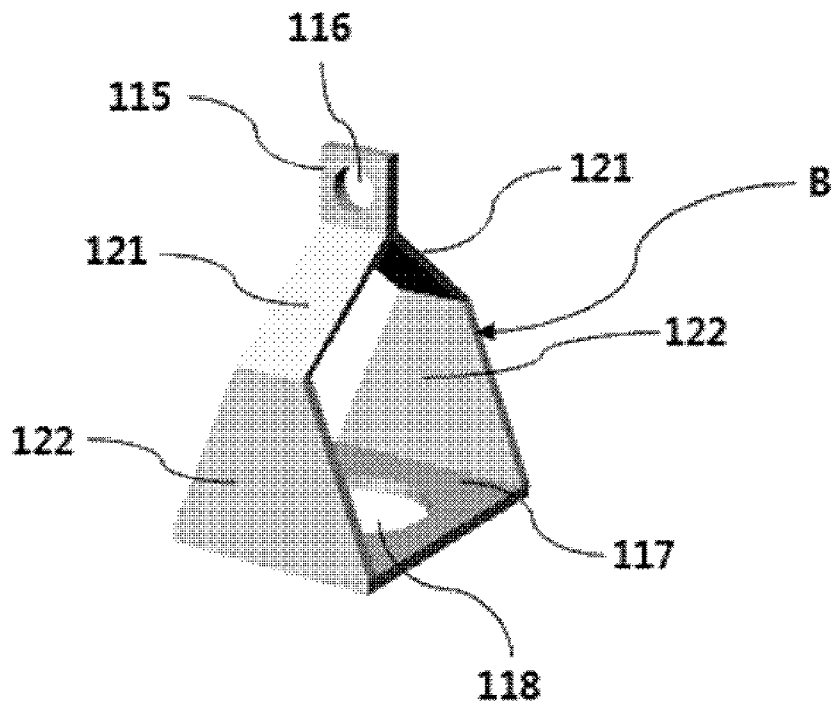
[도5b]



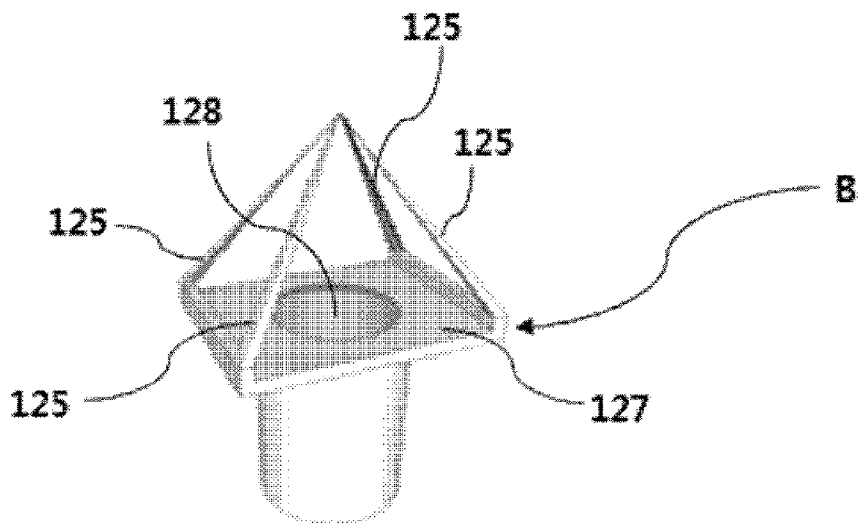
[도6]



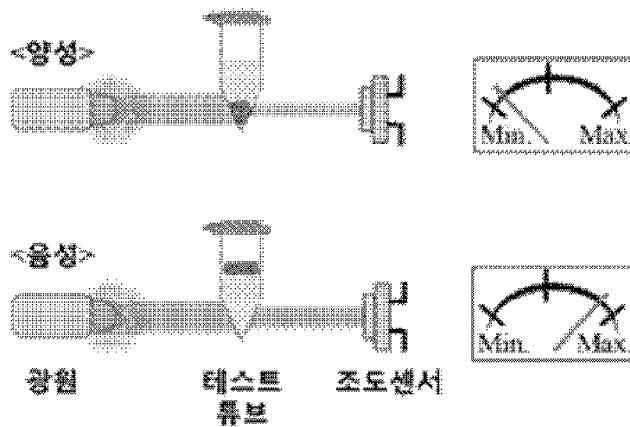
[도7a]



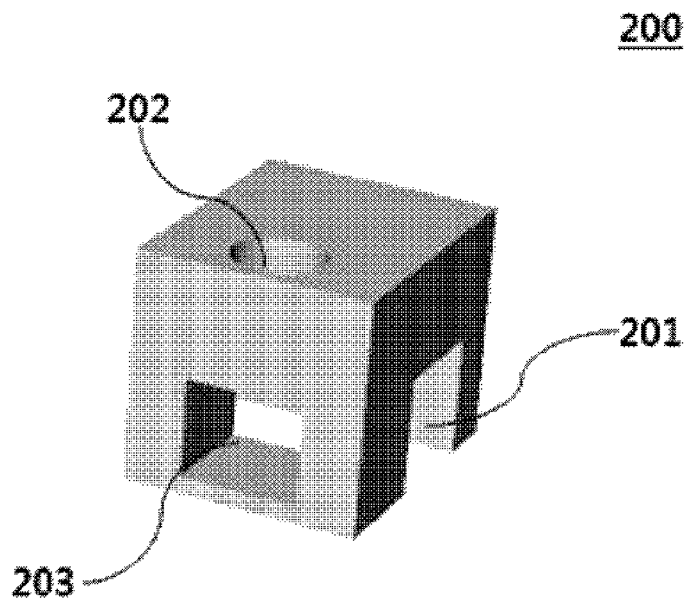
[도7b]



[도8]

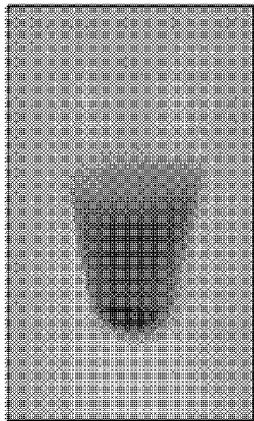


[도9]

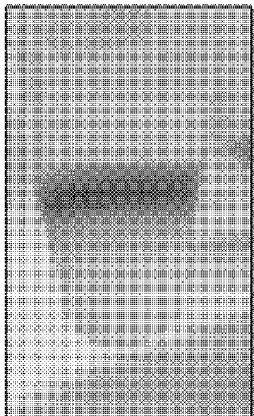


[도10]

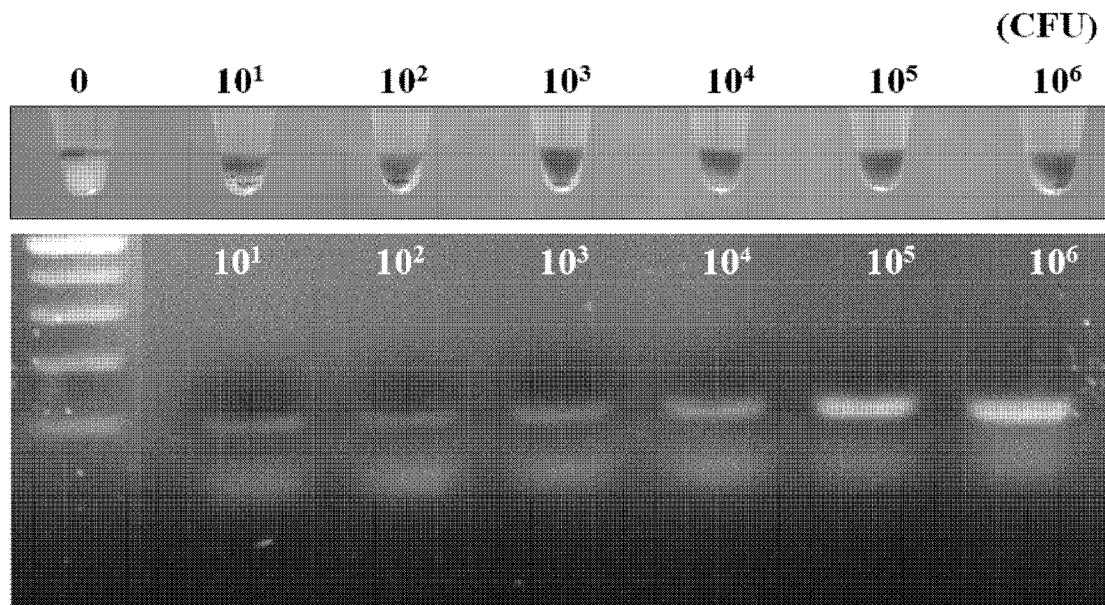
(a)



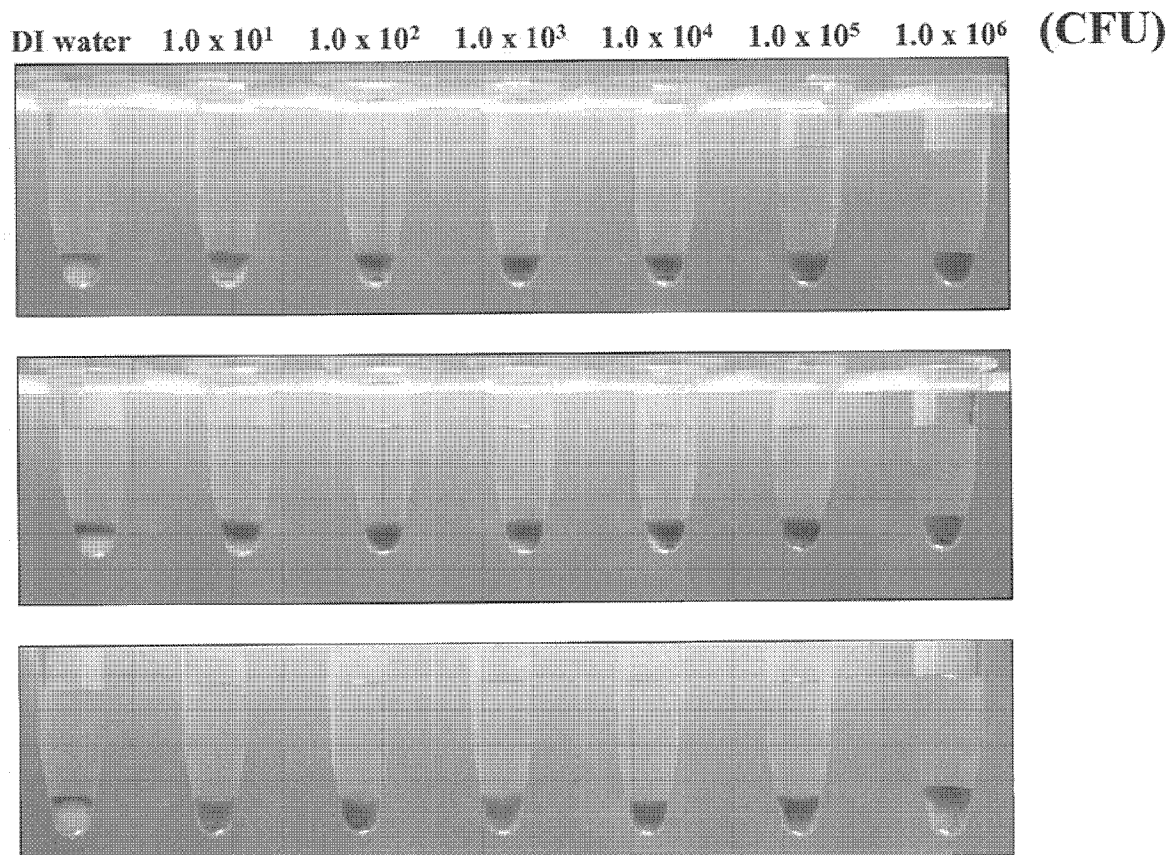
(b)



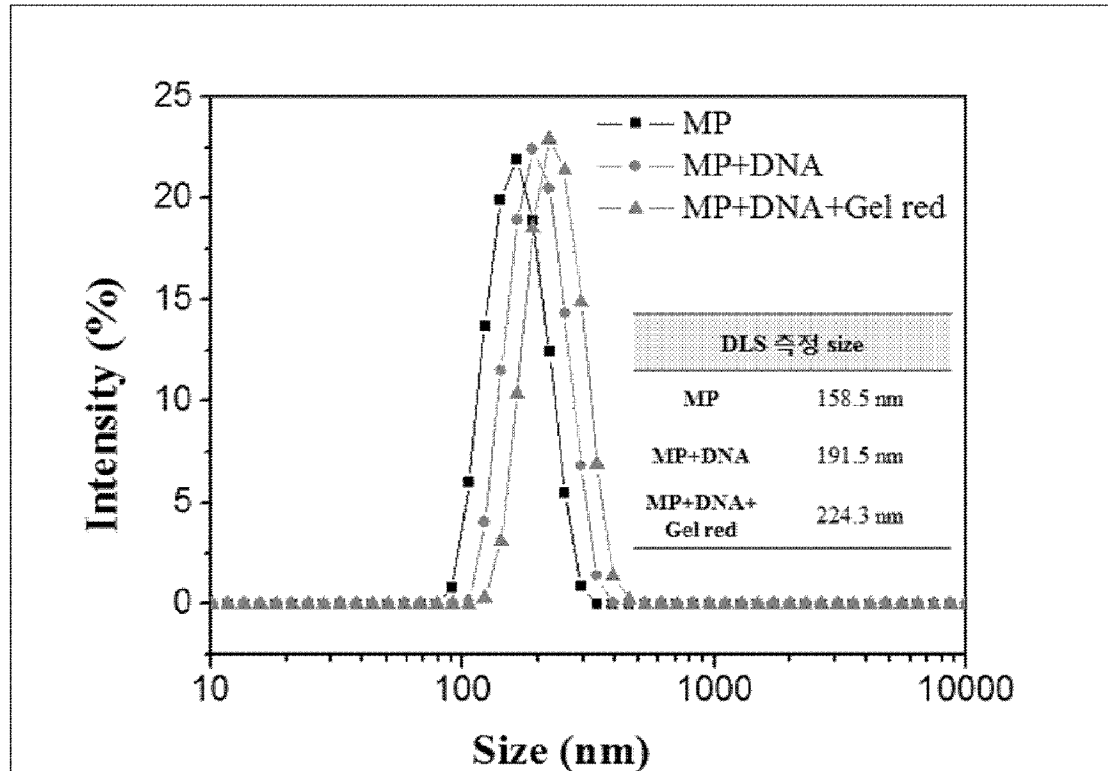
[도11]



[도12]

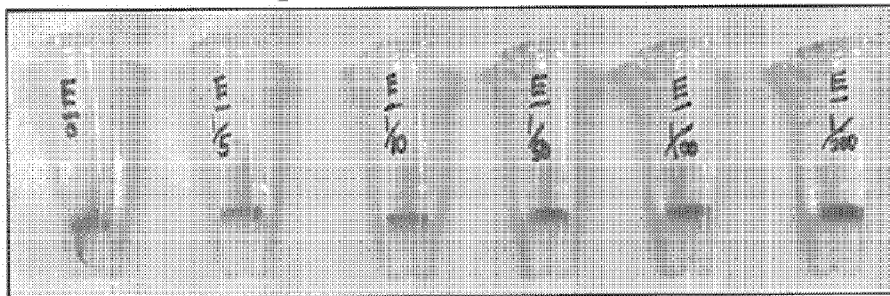


[도13]

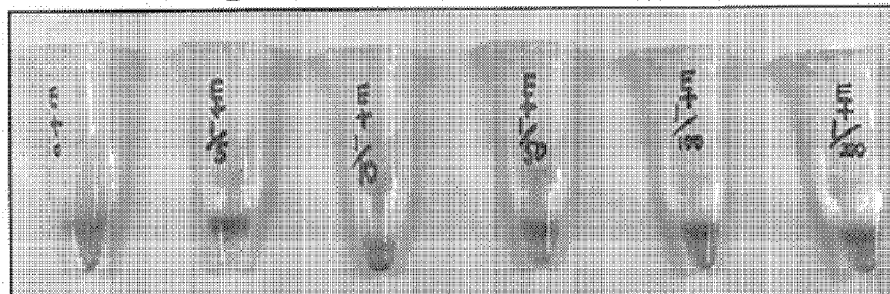


[도14a]

<Without PCR product>

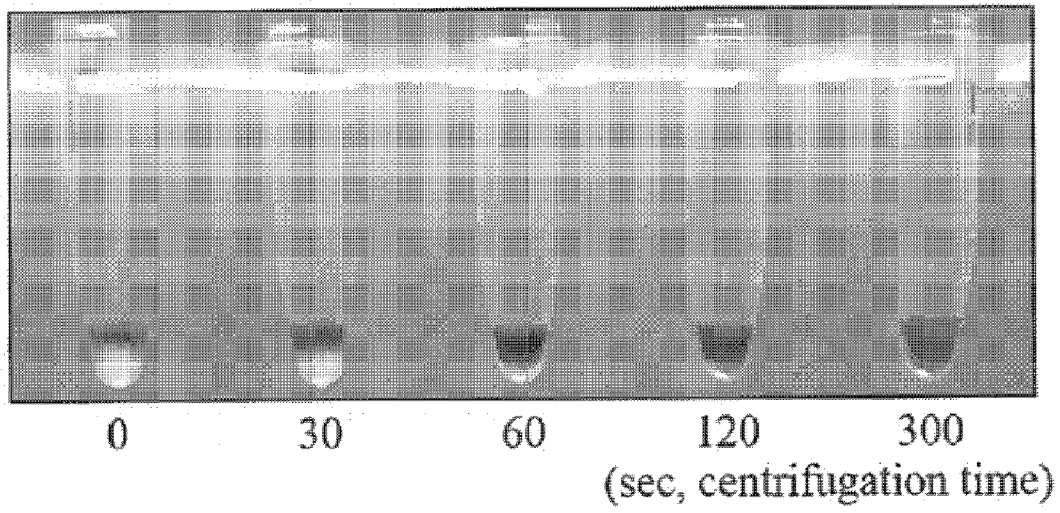


<With PCR product>

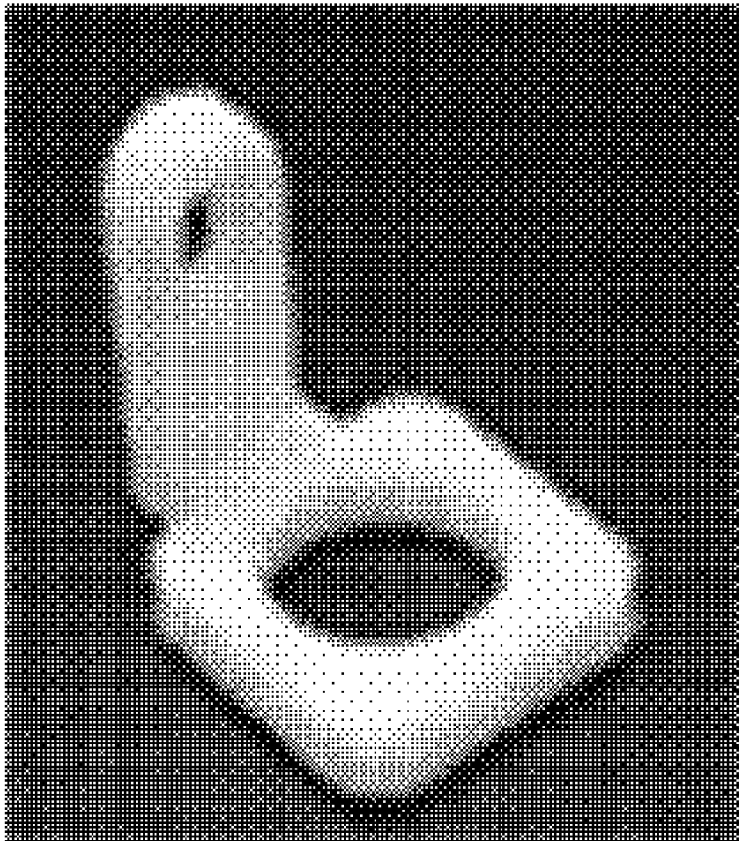


w/o 1/5 1/10 1/50 1/100 1/200
(GelRed Dilution factor)

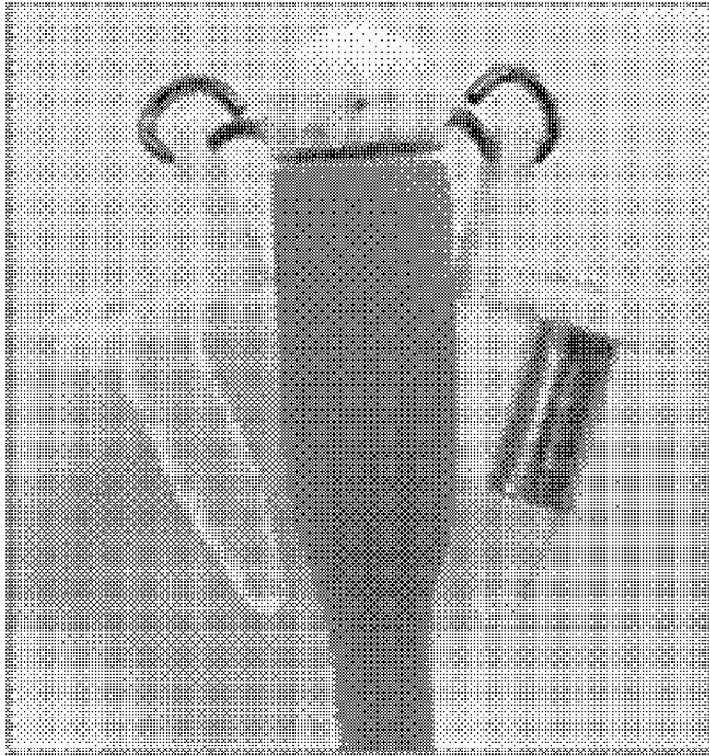
[도14b]



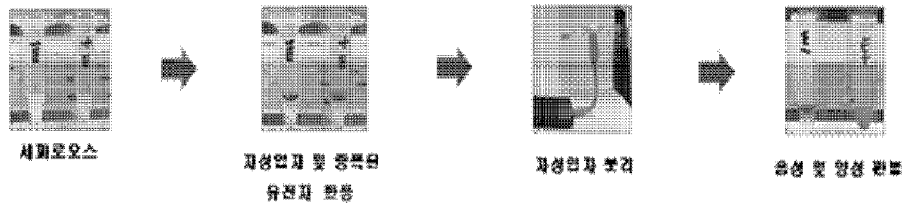
[도15a]



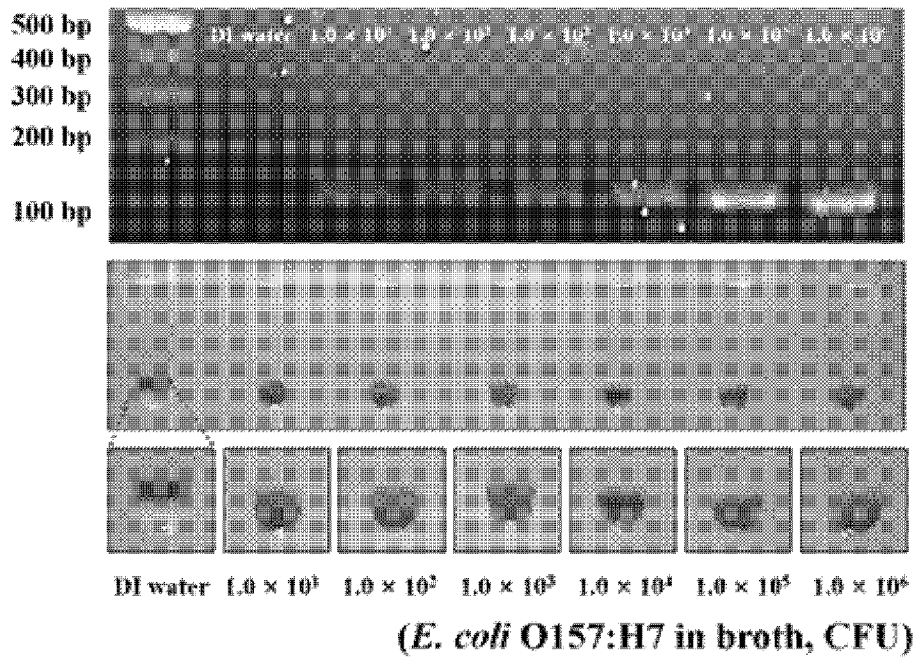
[도15b]



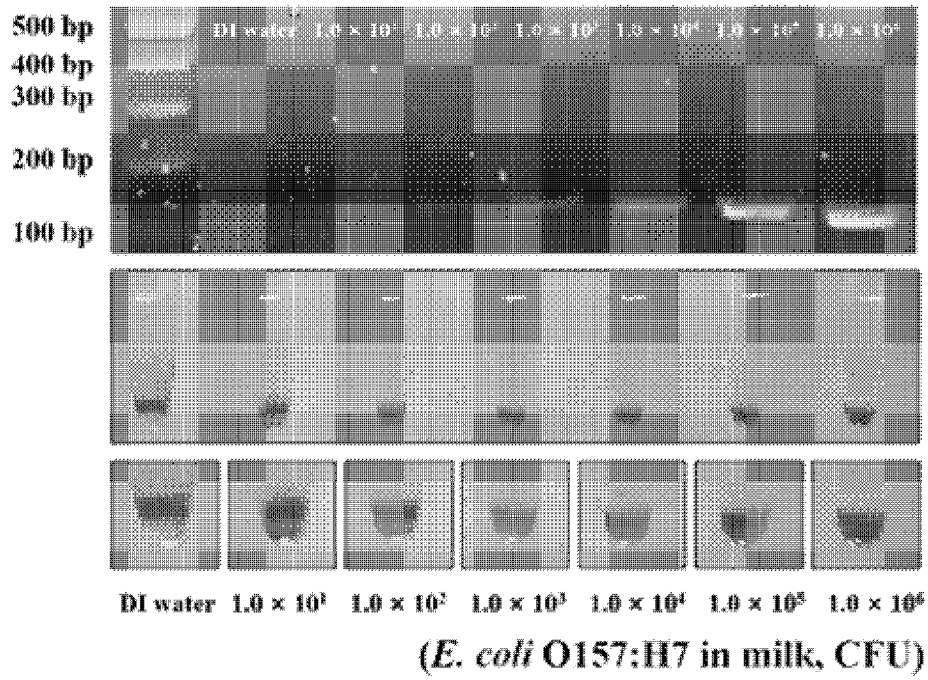
[도16]



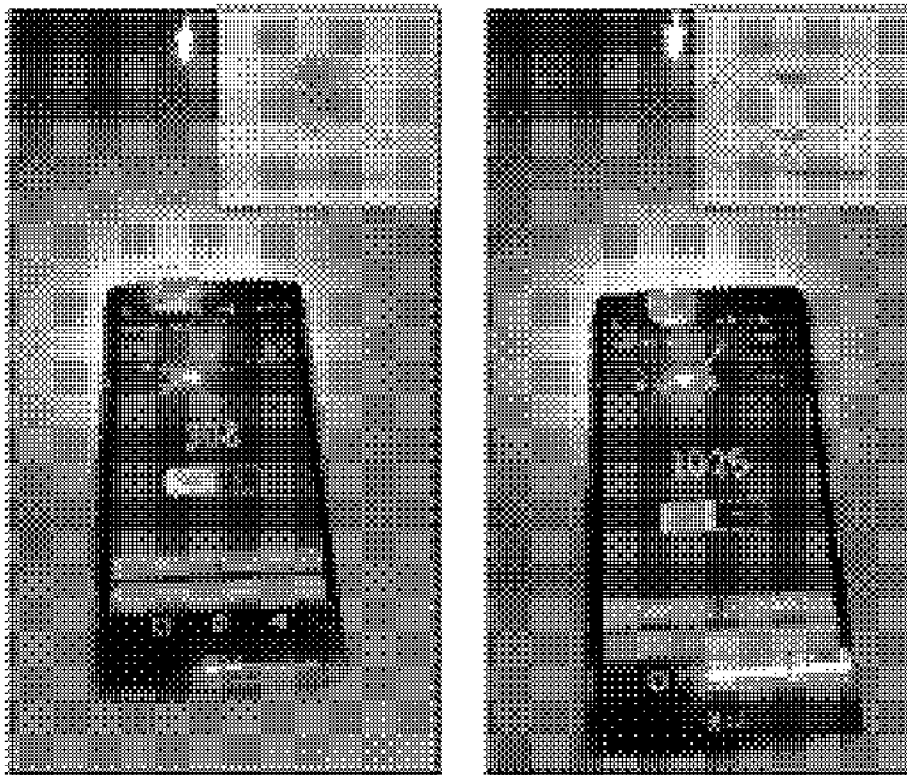
[도17a]



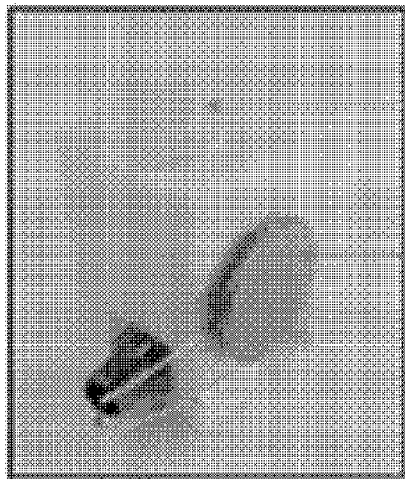
[도17b]



[도18]



[도 19a]

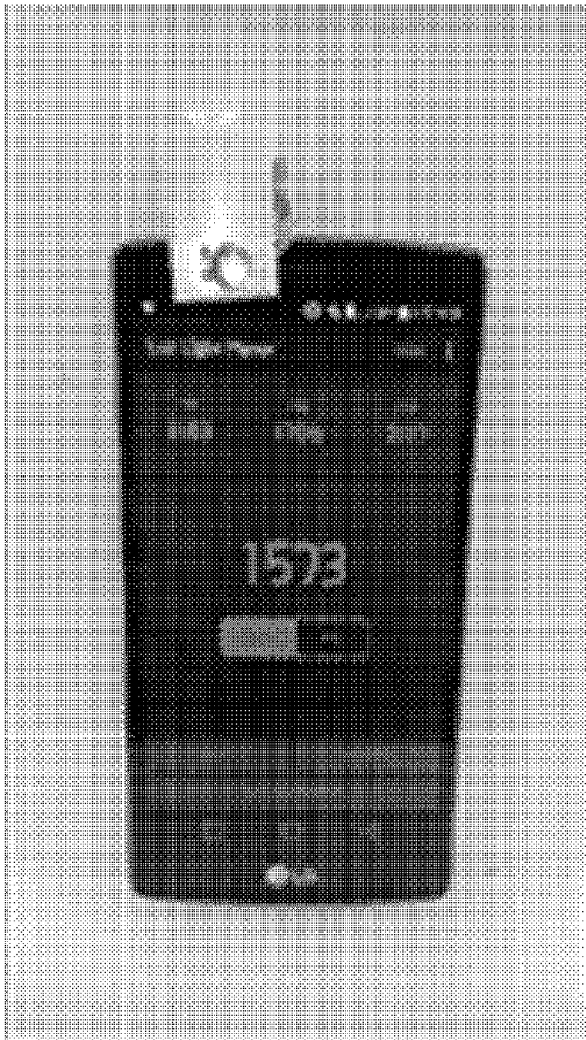


테스트 튜브

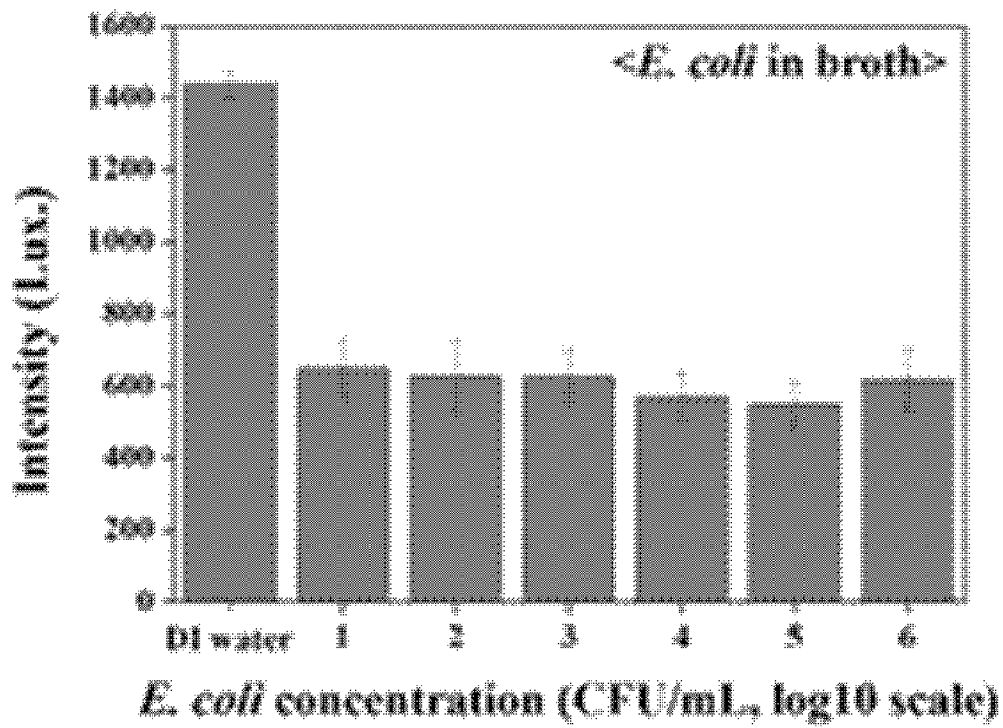
3V 배터리

광원(LED)

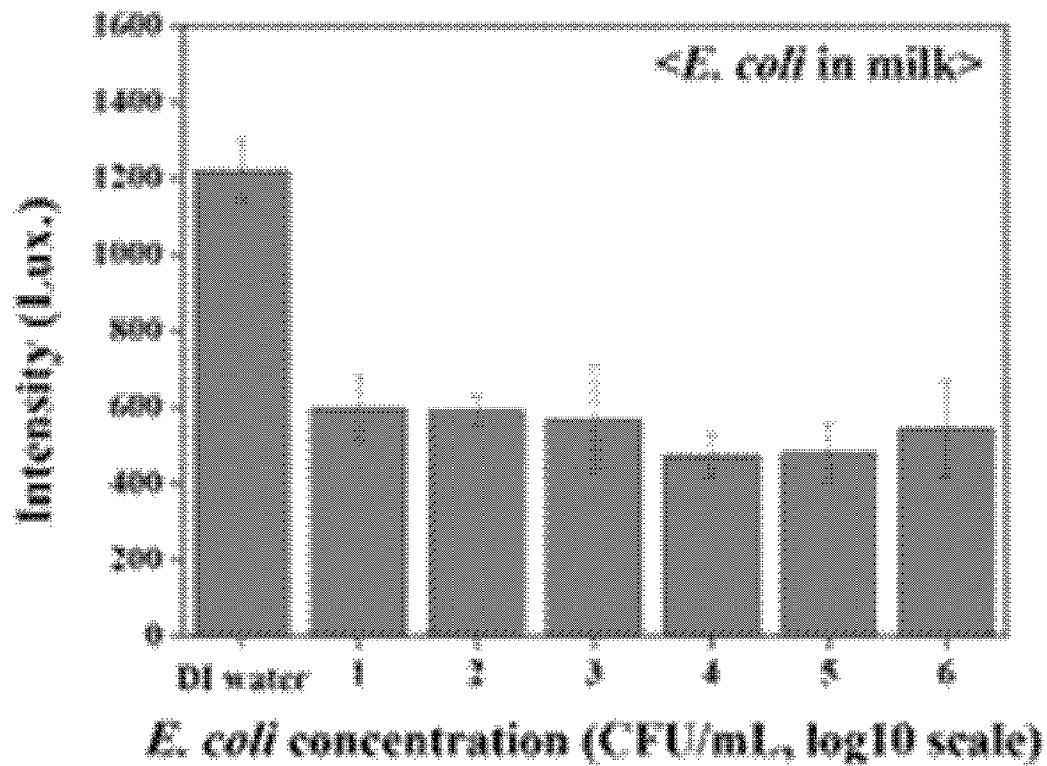
[도 19b]



[도20a]



[도20b]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/018446

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/6844(2018.01)i, C12Q 1/6806(2018.01)i, A61B 5/1455(2006.01)i, B01L 3/00(2006.01)i, B01L 9/06(2006.01)i, B04B 5/10(2006.01)i, B04B 9/10(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)

C12Q 1/6844; B04B 5/02; B82B 3/00; B82Y 15/00; C12Q 1/68; F21V 8/00; G01N 17/02; G01N 21/80; G01N 33/80; C12Q 1/6806; A61B 5/1455; B01L 3/00; B01L 9/06; B04B 5/10; B04B 9/10

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: mobile device, pathogens, diagnosis, functional group, mobile phase, stationary phase, primers, power supply, centrifugal separation, illuminance sensors

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2017-0008131 A (NATIONAL CANCER CENTER) 23 January 2017 See claims 1, 2, 14, 18, 19; example 4; paragraph [0005]; and figure 6.	1
A		2-15
Y	KR 10-1732875 B1 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY et al.) 08 May 2017 See claim 1; paragraph [0002]; and figures 1-5.	1
A	KR 10-0771554 B1 (RAPLEGENE INC.) 01 November 2007 See the entire document.	1-15
A	KR 10-1397793 B1 (INTELLECTUAL DISCOVERY CO., LTD.) 27 May 2014 See the entire document.	1-15
A	WO 99-50673 A1 (STICHTING SANQUIN BLOEDVOORZIENING) 07 October 1999 See the entire document.	1-15
A	KR 10-2006-0083506 A (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.) 21 July 2006 See the entire document.	1-15
A	KR 10-1824621 B1 (DAYUNENC. CO., LTD. et al.) 14 March 2018 See the entire document.	1-15



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

14 APRIL 2020 (14.04.2020)

Date of mailing of the international search report

14 APRIL 2020 (14.04.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/018446

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2017-0008131 A	23/01/2017	CN 107873059 A	03/04/2018
		KR 10-1817155 B1	11/01/2018
		US 2018-0201986 A1	19/07/2018
		WO 2017-009719 A2	19/01/2017
		WO 2017-009719 A3	11/05/2017
		WO 2017-010854 A1	19/01/2017
KR 10-1732875 B1	08/05/2017	None	
KR 10-0771554 B1	01/11/2007	KR 10-2007-0060592 A	13/06/2007
KR 10-1397793 B1	27/05/2014	CN 103717754 A	09/04/2014
		CN 103717754 B	09/03/2016
		EP 2740802 A2	11/06/2014
		KR 10-2013-0015810 A	14/02/2013
		US 2014-0295567 A1	02/10/2014
		WO 2013-022203 A2	14/02/2013
		WO 2013-022203 A3	13/06/2013
WO 99-50673 A1	07/10/1999	AT 310956 T	15/12/2005
		AU 3059499 A	18/10/1999
		DE 69928507 T2	17/08/2006
		EP 1064556 A1	03/01/2001
		EP 1064556 B1	23/11/2005
		ES 2255253 T3	16/06/2006
		KR 10-2013-0015810 A	14/02/2013
		NL 1008738 C2	28/09/1999
KR 10-2006-0083506 A	21/07/2006	CN 100469455 C	18/03/2009
		CN 1817475 A	16/08/2006
		EP 1681098 A2	19/07/2006
		EP 1681098 A3	16/08/2006
		EP 1681098 B1	17/02/2010
		JP 2006-198614 A	03/08/2006
		KR 10-0624458 B1	19/09/2006
		US 2006-0160688 A1	20/07/2006
KR 10-1824621 B1	14/03/2018	US 7645223 B2	12/01/2010
		None	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12Q 1/6844(2018.01)i, C12Q 1/6806(2018.01)i, A61B 5/1455(2006.01)i, B01L 3/00(2006.01)i, B01L 9/06(2006.01)i, B04B 5/10(2006.01)i, B04B 9/10(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12Q 1/6844; B04B 5/02; B82B 3/00; B82Y 15/00; C12Q 1/68; F21V 8/00; G01N 17/02; G01N 21/80; G01N 33/80; C12Q 1/6806; A61B 5/1455; B01L 3/00; B01L 9/06; B04B 5/10; B04B 9/10

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: 모바일 기기(mobile device), 병원체(pathogens), 진단(diagnosis), 기능기(functional group), 이동상(mobile phase), 고정상(stationary phase), 프라이머(primers), 전원(power supply), 원심분리(centrifugal separation), 조도센서(illuminance sensors)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2017-0008131 A (국립암센터) 2017.01.23 청구항 1, 2, 14, 18, 19; 실시예 4; 단락 [0005]; 및 도면 6	1
A		2-15
Y	KR 10-1732875 B1 (경상대학교산학협력단 등) 2017.05.08 청구항 1; 단락 [0002]; 및 도면 1-5	1
A	KR 10-0771554 B1 (래플진(주)) 2007.11.01 전체문헌	1-15
A	KR 10-1397793 B1 (인텔렉추얼디스커버리 주식회사) 2014.05.27 전체문헌	1-15
A	WO 99-50673 A1 (STICHTING SANQUIN BLOEDVOORZIENING) 1999.10.07 전체문헌	1-15
A	KR 10-2006-0083506 A (삼성전자주식회사) 2006.07.21 전체문헌	1-15
A	KR 10-1824621 B1 (다윈이엔씨 주식회사 등) 2018.03.14 전체문헌	1-15

☐ 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
- “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌
- “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가진 국제출원일 이후 “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
- “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2020년 04월 14일 (14.04.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 04월 14일 (14.04.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



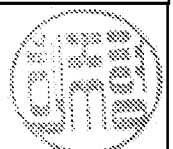
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2017-0008131 A	2017/01/23	CN 107873059 A KR 10-1817155 B1 US 2018-0201986 A1 WO 2017-009719 A2 WO 2017-009719 A3 WO 2017-010854 A1	2018/04/03 2018/01/11 2018/07/19 2017/01/19 2017/05/11 2017/01/19
KR 10-1732875 B1	2017/05/08	없음	
KR 10-0771554 B1	2007/11/01	KR 10-2007-0060592 A	2007/06/13
KR 10-1397793 B1	2014/05/27	CN 103717754 A CN 103717754 B EP 2740802 A2 KR 10-2013-0015810 A US 2014-0295567 A1 WO 2013-022203 A2 WO 2013-022203 A3	2014/04/09 2016/03/09 2014/06/11 2013/02/14 2014/10/02 2013/02/14 2013/06/13
WO 99-50673 A1	1999/10/07	AT 310956 T AU 3059499 A DE 69928507 T2 EP 1064556 A1 EP 1064556 B1 ES 2255253 T3 KR 10-2013-0015810 A NL 1008738 C2	2005/12/15 1999/10/18 2006/08/17 2001/01/03 2005/11/23 2006/06/16 2013/02/14 1999/09/28
KR 10-2006-0083506 A	2006/07/21	CN 100469455 C CN 1817475 A EP 1681098 A2 EP 1681098 A3 EP 1681098 B1 JP 2006-198614 A KR 10-0624458 B1 US 2006-0160688 A1 US 7645223 B2	2009/03/18 2006/08/16 2006/07/19 2006/08/16 2010/02/17 2006/08/03 2006/09/19 2006/07/20 2010/01/12
KR 10-1824621 B1	2018/03/14	없음	