

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017년 7월 6일 (06.07.2017)



(10) 국제공개번호
WO 2017/115989 A1

- (51) 국제특허분류:
G01N 33/558 (2006.01) C08L 61/26 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01) C08L 1/08 (2006.01)
C08L 29/04 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/011827
- (22) 국제출원일: 2016년 10월 20일 (20.10.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2015-0188043 2015년 12월 29일 (29.12.2015) KR
- (71) 출원인: 광주과학기술원 (GWANGJU INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [KR/KR]; 61005 광주광역시 북구 첨단과기로 123 (오룡동), Gwangju (KR).
- (72) 발명자: 김민곤 (KIM, Min Gon); 61005 광주광역시 북구 첨단과기로 123, 광주과학기술원 화학과 (오룡동), Gwangju (KR). 김가희 (KIM, Ka Hee); 61005 광주광역시 북구 첨단과기로 123, 광주과학기술원 화학과 (오룡동), Gwangju (KR). 한겨레 (HAN, Gyeo Re); 61005 광주광역시 북구 첨단과기로 123, 광주과학기술원 화학과 (오룡동), Gwangju (KR). 정효암 (JOUNG, Hyou Arm);

61005 광주광역시 북구 첨단과기로 123, 광주과학기술원 광공학응용물리학과 (오룡동), Gwangju (KR).

- (74) 대리인: 신용현 (SHIN, Yong Hyun) 등; 06158 서울특별시 강남구 테헤란로 437 삼성빌딩 9층 이-버드 국제특허법률사무소(삼성동), Seoul (KR).

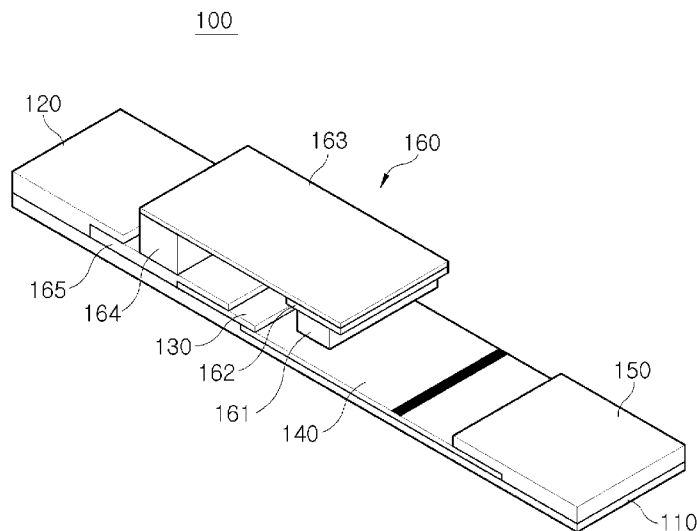
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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 국내 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,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: MEMBRANE STRIP SENSOR USING EXPANSION MEMBER

(54) 발명의 명칭 : 팽창재를 이용한 멤브레인 스트립 센서



(57) Abstract: A membrane strip sensor according to one embodiment of the present invention comprises: a support body; a sample pad attached to the upper surface of the support body to accommodate a liquid sample to be analyzed; a conjugate pad containing a primary reactant that specifically binds to an analyzed material contained in the liquid sample through the sample pad, the conjugate pad operating in conjunction with the sample pad; a reaction membrane for detecting whether an analyzed material exists in the liquid sample, the reaction membrane operating in conjunction with the conjugate pad; an absorption pad for absorbing the liquid sample for which the detection reaction has been completed, the absorption pad being located at the downstream side of the reaction membrane; and a secondary reactant pad located to be separate from the reaction membrane and connected to an expansion part that swells by means of the liquid sample accommodated in the sample pad, the secondary reactant pad being brought into contact with the reaction membrane by the swelling of the expansion part.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



WO 2017/115989 A1



MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, 공개:

TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,

KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서는, 지지체, 상기 지지체의 상부 표면에 부착되어 분석하고자 하는 액상 시료를 수용하는 샘플 패드, 상기 샘플 패드를 통해 액상 시료에 함유되어 있는 분석물질과 특이적으로 결합하는 1차반응물질을 함유하고, 상기 샘플 패드와 연동된 컨쥬게이트 패드, 상기 액상 시료에 분석물질을 존재하는 지의 여부를 검출하며 상기 컨쥬게이트 패드와 연동된 반응 멤브레인, 상기 검출반응이 종료된 액상 시료를 흡수하며, 상기 반응 멤브레인의 다운스트림에 위치하는 흡수 패드 및 상기 반응 멤브레인과 이격되어 위치하며 상기 샘플 패드에서 수용된 액상 시료에 의해 부풀어 오르는 팽창부에 연결되고, 상기 팽창부의 팽창에 의해 상기 반응 멤브레인과 접촉되는 2차 반응물질 패드를 포함한다.

명세서

발명의 명칭: 팽창재를 이용한 멤브레인 스트립 센서

기술분야

- [1] 본 발명은 팽창재를 이용한 멤브레인 센서에 관한 것으로, 보다 상세하게는 팽창재로서 수용성 플라스틱 테이프를 도입하여 두 가지 이상의 반응 조건을 갖는 생체 반응을 한 번의 시료 주입으로 순차적으로 일어나도록 설계한 멤브레인 스트립 센서에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 면역 크로마토그래피 분석법은 생물학적 물질 또는 화학적 물질이 서로 특이적으로 부착하는 성질을 이용하여 분석 물질을 단시간에 정성 및 정량적으로 검사할 수 있는 방법으로, 상기 면역 크로마토그래피 분석 기구는 분석 스트립 또는 상기 분석 스트립을 플라스틱 하우징 내부에 장착해 조립한 형태의 면역분석 키트가 일반적으로 사용된다.
- [4] 도 1은 종래의 면역크로마토그래피 분석 스트립의 대표적 구현 예를 보여주는 도면이다. 도 1에 도시된 바와 같이, 면역크로마토그래피 분석에 사용되는 분석 스트립은 접착성 플라스틱 지지체(60) 상에 검체 패드(40), 컨쥬게이트 패드(30), 신호검출 패드(20) 및 흡수 패드(50)를 포함하여 이루어진다. 상기 검체 패드(40)는 액상 검체(또는 분석시료)를 흡수하고 액상 검체의 균일한 유동을 보장한다. 상기 컨쥬게이트 패드(30)는 상기 액상 검체에 함유되어 있는 분석물질과 특이적으로 결합하는 유동성 컨쥬게이트를 포함하고 있으며, 상기 검체 패드(40)를 통해 도입된 액상 검체가 상기 컨쥬게이트 패드(30)를 통과하면서 분석물질과 유동성 컨쥬게이트 사이의 특이적 결합이 이루어진다. 상기 신호검출 패드(20)는 통상 검출영역(detection zone)(21)과 대조영역(control zone)(22)을 포함하여 이루어진다. 상기 검출영역(21)은 상기 액상 검체에 분석물질이 존재하는지의 여부를 확인하기 위한 영역이며, 상기 대조영역(22)은 액상 검체가 상기 검출영역(21)을 정상적으로 통과하였는지의 여부를 확인하기 위한 영역이다. 상기 신호검출 패드(20)의 상부에, 흡수 패드(50)가 위치한다. 상기 흡수 패드(50)는 상기 신호검출 패드(20)를 통과한 액상 검체를 흡수하며, 상기 분석 스트립에서의 상기 액상 검체의 모세관 유동을 도와준다. 정리하면, 상기 분석 스트립은 접착성 플라스틱 지지체(60)에 검체 패드(40), 컨쥬게이트 패드(30), 신호검출 패드(20) 및 흡수 패드(50) 순서로 부착하여, 액상 검체를 검체 패드(40)로부터 신호검출 패드(20)를 경유해, 흡수 패드(50)까지 이동시키고, 신호검출 패드(20)에서의 신호검출을 통해 면역분석을 수행한다. 변형된 다른 방법으로는 상기 컨쥬게이트와 신호검출물질을 하나의 다공성 패드에 통합하기도 한다. 그리고, 검체 패드, 컨쥬게이트 패드, 신호검출 패드 및

흡수 패드는 서로 중첩되어 배치되거나 또는 일정한 간격을 두고 플라스틱 지지체에 배열되기로 한다. 후자의 경우, 액상검체가 다른 매개체를 이용하여 모세관 현상으로 검체 패드와 컨จู게이트 패드, 신호검출 패드로 이동한다.

[5] 종래의 면역크로마토그래피 분석 방법은 그 검출 감도가 1ng/ml로서, 그 검출 감도의 향상이 필요하며, 나노입자를 이용한 샌드위치 방법을 제외하고 효소 발색반응, 형광, 화학발광 등의 고감도 반응을 한번의 시료 주입으로 가능한 단일 과정으로 구현하는 것이 어렵다는 단점이 있다.

[6] 또한 효소반응, 화학발광반응과 같은 2단계 이상의 반응 조건이 필요한 생체 반응의 경우 분석 스트립에서는 한번의 시료 주입으로서 원하는 결과를 얻기 어려우며, 화학발광 스트립의 경우 우선적으로 항원항체 반응이 이루어진 후에 루미놀 반응을 위하여 2차적으로 루미놀 반응액을 주입하는 2 단계 방법이나, 반응 멤브레인 위에 루미놀 반응 물질이 도포된 지지체를 위치하고 항원항체 반응이 완료된 시점에 반응부에 접촉하는 방식으로 구현되는 기술만이 알려져 있다.

[7] 따라서 한번의 시료 주입을 통하여 단일 과정으로 2단계 이상의 반응 조건을 갖는 생체 반응을 측정할 수 있는 스트립의 개발이 요구되는 실정이다.

[8]

[9] 상기한 배경기술로서 설명된 사항들은 본 발명의 배경에 대한 이해 증진을 위한 것일 뿐, 이 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 이미 알려진 종래기술에 해당함을 인정하는 것으로 받아들여져서는 안 될 것이다.

[10]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[11] 본 발명은 이러한 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 한번의 검출 시료 주입으로 2가지 이상을 반응조건을 갖는 생체 반응 또는 화학 반응 등을 구현하여 정량분석이 가능하고 높은 감도를 가지는 멤브레인 바이오 센서를 제공하는 데 있다.

[12]

과제 해결 수단

[13] 위 목적을 달성하기 위하여 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서는, 지지체, 상기 지지체의 상부 표면에 부착되어 분석하고자 하는 액상 시료를 수용하는 샘플 패드, 상기 샘플 패드를 통해 액상 시료에 함유되어 있는 분석물질과 특이적으로 결합하는 1차반응물질을 함유하고, 상기 샘플 패드와 연동된 컨จู게이트 패드, 상기 액상 시료에 분석물질을 존재하는지의 여부를 검출하며 상기 컨จู게이트 패드와 연동된 반응 멤브레인, 상기 검출반응이 종료된 액상 시료를 흡수하며, 상기 반응 멤브레인의 다운스트림에 위치하는 흡수 패드 및 상기 반응 멤브레인과 이격되어 위치하며 상기 샘플 패드에서

- 수용된 액상 시료에 의해 부풀어 오르는 팽창부에 연결되고, 상기 팽창부의 팽창에 의해 상기 반응 멤브레인과 접촉되는 2차 반응물질 패드를 포함한다.
- [14] 상기 팽창부는 상기 컨쥬게이트 패드와 상기 샘플 패드 사이에 결합된 중간 멤브레인 위에 부착된 지지패드에 의해 지지되게 결합되고 상기 반응 멤브레인과 일정 간격 이격되어 형성되는 연결 멤브레인에 부착되는 것일 수 있다.
- [15] 상기 팽창부는 스며드는 액체에 의해 팽창될 수 있도록 기공이 형성되어 있는 플라스틱일 수 있다.
- [16] 상기 팽창부는 수용성 플라스틱일 수 있다.
- [17] 상기 수용성 플라스틱은 폴리비닐알코올(PVA), 폴리아크릴아마이드(PAM), 메틸롤화 요소수지, 메틸롤화 멜라닌수지, 카복시메틸 셀룰로스(CMC) 중에 선택되는 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [18] 상기 중간 멤브레인은 기공이 큰 부분과 작은 부분이 비대칭 구조로 되어 있으며, 기공이 작은 부분이 상기 지지 패드 측으로 위치하는 것일 수 있다.
- [19] 상기 연결 멤브레인은 기공이 큰 부분과 작은 부분이 비대칭 구조로 되어 있으며, 기공이 작은 부분이 상기 팽창부 측으로 위치하는 것일 수 있다.
- [20] 상기 시료와 반응하는 1차 반응 물질이 상기 컨쥬게이트 패드에 처리되고, 신호를 발생하는 2차 반응 물질이 상기 2차 반응물질 패드에 처리되는 것일 수 있다.
- [21] 상기 1차 반응 물질은 항체, 항원, 효소, 펩타이드, 단백질, DNA, RNA, PNA, 압타머 및 나노입자 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 접합체일 수 있다.
- [22] 상기 2차 반응 물질은 형광물질, 발광물질, 전기화학적 신호 발생물질 및 흡광, 형광, 발광, 전기화학적 신호의 세기를 증폭하는 신호 증폭 물질 중에서 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [23]

발명의 효과

- [24] 본 발명에 의한 에 따르면 다음과 같은 효과가 있다.
- [25] 첫째, 2가지 이상의 반응 조건을 갖는 효소반응, 항원항체반응, 화학반응 등을 한번의 검출 시료 주입으로 구현이 가능하므로, 기존의 검출감도가 높은 센서의 적용 범위를 보다 확대할 수 있다.
- [26] 둘째, 기존의 면역크로마토그래피 분석기의 장점을 유지하면서 간단한 구성으로 제조가 가능하여 비용이 절감되는 효과가 있다.

[27]

도면의 간단한 설명

- [28] 도 1은 본 발명에 종래 면역크로마토그래피 분석 스트립의 대표적 구현 예를 나타내는 도면이다.
- [29] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서의 기본 구성도이다.

- [30] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서의 작동관계를 나타낸 단면도이다.
- [31] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 팽창부의 선정하기 위한 실험방법을 간단하게 표시한 모식도이다.
- [32] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 팽창부의 선정하기 위한 실험결과를 나타낸 도면이다.
- [33] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 팽창부의 팽창실험 모식도와 그 결과를 나타낸 도면이다.
- [34] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 팽창부를 도입한 경우와 도입하지 않은 경우 2차 반응물질의 전달여부를 확인하기 위한 실험방법을 간단하게 표시한 모식도이다.
- [35] 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 팽창부를 도입한 경우와 도입하지 않은 경우 2차 반응물질의 전달여부를 확인하기 위한 실험결과를 나타낸 도면이다.
- [36] 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서를 이용하여 금 이온 증폭 반응을 실행한 결과를 나타낸 그래프이다.
- [37] 도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서를 이용하여 효소발색반응을 실행한 결과를 나타낸 그래프이다.
- [38] 도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서를 이용하여 화학발광반응을 실행한 결과(동일한 HRP 농도)를 나타낸 그래프이다.
- [39] 도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서를 이용하여 화학발광반응을 실행한 결과(다양한 HPP 농도)를 나타낸 그래프이다.
- [40] 도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서를 이용하여 인간 혈청에 존재하는 CRP를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.
- [41] 도 14는 종래의 멤브레인 스트립 센서를 이용하여 인간 혈청에 존재하는 CRP를 측정된 결과를 나타낸 그래프이다.

[42]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [43] 여기서 사용되는 전문용어는 단지 특정 실시예를 언급하기 위한 것이며, 본 발명을 한정하는 것을 의도하지 않는다. 여기서 사용되는 단수 형태들은 문구들이 이와 명백히 반대의 의미를 나타내지 않는 한 복수 형태들도 포함한다. 명세서에서 사용되는 "포함하는"의 의미는 특정 특성, 영역, 정수, 단계, 동작, 요소 및/또는 성분을 구체화하며, 다른 특정 특성, 영역, 정수, 단계, 동작, 요소, 성분 및/또는 군의 존재나 부가를 제외시키는 것은 아니다.
- [44] 다르게 정의하지는 않았지만, 여기에 사용되는 기술용어 및 과학용어를 포함하는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 일반적으로 이해하는 의미와 동일한 의미를 가진다. 보통 사용되는 사전에 정의된 용어들은 관련기술문헌과 현재 개시된 내용에 부합하는 의미를 가지는

것으로 추가 해석되고, 정의되지 않는 한 이상적이거나 매우 공식적인 의미로 해석되지 않는다.

[45] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예에 의한 멤브레인 스트립 센서에 대하여 설명하기로 한다.

[46] 본 발명의 핵심적인 구성은 2차 반응물질 패드와 이와 접합되어 있는 팽창부에 의해 성능이나 기능의 감소 없이 면역 크로마토그래피 구조에서 2번째 반응 시약의 처리 시간을 지연시키는 것이다.

[47] 도 2은 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서의 기본 구성도이다.

[48] 도 2에 도시된 바와 같이, 스트립 센서는 기존의 보편적인 면역크로마토그래피 분석 구조와 순차 반응이 일어나게 하기 위한 추가적인 구조를 포함한다. 즉 기존의 면역크로마토그래피 분석 구조인 지지체(110), 샘플 패드(120), 컨쥬게이트 패드(130), 반응 멤브레인(140), 흡수 패드(150)를 포함하며, 순차 반응이 일어나게 하기 위한 추가적인 구조(160)는 2차 반응물질 패드(161), 팽창부(162), 연결 멤브레인(163), 지지 패드(164), 중간 멤브레인(165)를 포함한다.

[49] 우선 지지체(110)위에 샘플 패드(120), 중간 멤브레인(165), 컨쥬게이트 패드(130), 반응 멤브레인(140), 흡수 패드(150)가 순차적으로 위치된다. 이러한 배열은 투입되는 액상시료의 진행방향과 같다. 중간 멤브레인(165) 상에 지지 패드(164)가 연결되고, 지지 패드(164) 상에 연결 멤브레인(163)의 일단이 연결되고, 타단에 팽창부(162)가 연결되며, 팽창부(162)에는 2차 반응물질 패드(161)가 결합된다.

[50] 지지체(110)는 본 발명에 따른 멤브레인 스트립 센서를 지지하는 역할을 수행하며, 접착성 플라스틱이 사용될 수 있다.

[51] 샘플 패드(120)는 액상 시료를 수용하여 중간 멤브레인(165) 또는 반응 멤브레인(140) 방향으로 전개하는 역할을 수행한다. 전혈, 혈장, 혈청, 눈물, 침, 소변, 콧물, 체액 등의 액상 시료가 사용될 수 있다. 이러한 샘플 패드(120)는 분석물질에 대한 선택성을 보다 향상시키기 위해 또는 액상 시료에 포함될 수 있는 간섭물질에 의한 영향을 최소화하기 위해 필터링 기능을 추가로 가질 수 있다. 예를 들면, 전혈을 액상 시료로 사용할 경우 적혈구를 걸러주는 역할을 할 수 있는 좀 더 조밀한 패드를 쓰거나, 이들을 걸러주는 역할을 돕는 보조물질을 추가로 함유할 수 있다. 필요한 경우, 샘플 패드의 업스트림에 분석물질과 1차 반응물질 사이의 반응을 증가시키거나 또는 간섭물질에 의해 영향을 배제할 수 있는 물질을 함유하는 보조 패드를 추가로 구비할 수 있다. 샘플 패드(120)는 액상 시료를 흡수할 수 있는 재료라면 그 종류가 제한되지 않으나, 바람직하게는 셀룰로오스, 폴리에스테르, 폴리프로필렌 또는 유리 섬유와 같은 재질로 이루어지는 것이 좋다.

[52] 컨쥬게이트 패드(130)는 분석대상물질에 선택적으로 결합할 수 있는 1차 반응물질이 도포된 후 건조되어 있는 것을 사용할 수 있다. 상기 1차 반응

물질로는 항체, 항원, 효소, 펩타이드, 단백질, DNA, RNA, PNA(Petide Nucleic Acid), 압타머(aptamer) 및 나노입자 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 접합체 등이 사용될 수 있다.

- [53] 한편, 1차 반응물질이 금속 나노입자일 경우에는 리셉터와 분석대상물질의 선택적인 반응에 의한 금속 나노입자의 색변화를 통해 분석대상물질을 검출할 수 있으며, 멤브레인 상에서 리셉터에 선택적으로 결합된 분석대상물질과 금속 나노입자의 결합체의 흡광도, 전기 전도도 등을 측정함으로써 분석대상물을 정량적으로 분석할 수 있다. 이러한 금속 나노입자는, 예를 들어, 금 나노입자, 은 나노입자, 구리 나노입자 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [54] 상기 1차 반응물질이 효소, 효소 기질 또는 효소반응 생성물질일 경우에는 리셉터와 분석대상물질의 선택적인 반응에 의해 분석대상물질 또는 리셉터와 상기 효소, 효소 기질 또는 효소반응 생성물질이 반응하여 산화환원반응 등과 같은 효소반응을 일으키게 된다. 이 때 상기 효소 반응에 의한 생성물의 흡광, 형광, 발광 등을 측정함으로써 분석대상물질을 검출할 수 있다. 이러한 효소는, 예를 들어 글루코스 옥시다아제, 글루코스 탈수소효소, 알칼리 포스파타제, 퍼옥시다제 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며, 효소 기질은 예를 들어 글루코스, 과산화수소 등일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [55] 컨쥬게이트 패드(130)로는 1차 반응물질을 도포하여 건조한 후, 컨쥬게이트 패드(130)가 액체 시료에 의해 젖을 경우 반응물질이 컨쥬게이트 패드(130)로부터 쉽게 떨어지는 물질이면 모두 사용할 수 있으며, 면역크로마토그래피 분석 스트립에서 일반적으로 사용되는 컨쥬게이트 패드라면 모두 사용될 수 있으며, 셀룰로오스, 폴리에스테르, 폴리프로필렌 또는 유리섬유와 같은 재질 뿐만 아니라, 니트로셀룰로오스, 나일론, 폴리술폰, 폴리에테르술폰 또는 PVDF(Polyvinylidene fluoride)와 같은 멤브레인 재질 모두 사용될 수 있다.
- [56] 반응 멤브레인(140)은 생체시료가 이송되는 통로 역할을 수행함과 동시에 원하는 화학, 생물학적 반응 결과를 확인할 수 있는 수평 흐름이 가능한 멤브레인 형태의 모든 재질을 포함한다. 니트로셀룰로오스, 나일론, 폴리술폰, 폴리에테르술폰 및 PVDF(Polyvinylidene fluoride) 중에서 선택된 재질의 멤브레인을 사용하는 것이 좋으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 액체 시료의 수평 흐름이 가능한 재질 중에서 적절히 선택될 수 있다.
- [57] 흡수 패드(150)은 반응 멤브레인으로 전개된 액상 시료를 흡수하는 역할을 한다. 흡수 패드(150)는 액상 시료를 흡수할 수 있는 재료라면 그 종류가 제한되지 않으나, 바람직하게는 셀룰로오스, 폴리에스테르, 폴리프로필렌 또는 유리 섬유와 같은 재질로 이루어지는 것이 좋다.
- [58] 2차 반응물질 패드(161)는 최초 주입된 시료에 의해 1차 반응이 이루어진 후, 일정 시간이 경과된 후 유도된 2차 반응에 필요한 반응물질을 저장하기 위한 것으로서, 생체시료, 화학시료, 반응조건 조절물질 등을 저장할 수 있다. 이러한

2차 반응물질 패드(161)는 수용액 상태의 반응물질을 처리하여 건조될 수 있는 모든 재질이 사용될 수 있고, 일반적으로 스트립 센서에 사용되는 흡수 패드, 멤브레인 등이 이에 포함될 수 있으며, 바람직하게는 셀룰로오스, 폴리에스테르, 폴리프로필렌 또는 유리 섬유와 같은 재질로 이루어지는 것이 좋다.

[59] 팽창부(162)는 상기 2차 반응물질 패드(161)와 접착되어 있으며, 흡수 패드(150)를 통하여 흡수된 수용액에 의해 팽창할 수 있도록 기공이 형성되어 있는 플라스틱일 수 있다. 팽창부(162)에 사용되는 플라스틱은 다양한 수용성 플라스틱이 사용될 수 있으며, 이러한 수용성 플라스틱은 폴리비닐알코올(PVA), 폴리아크릴아마이드(PAM), 메틸올화 요소수지, 메틸올화 멜라닌수지, 카복시메틸셀룰로스(CMC) 중에 선택되는 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 팽창부(162)는 접착성을 가지는 양면 테이프 형태로 이루어질 수 있으며, 공급되는 액상 시료에 의해 내부 기공에 침투되어 수직방향으로 팽창함에 따라 2차 반응물질 패드(161)가 반응 멤브레인과 접촉하도록 할 수 있다.

[60] 팽창부(162)에 액상 시료가 전달되고 2차 반응물질 패드(161)가 반응 멤브레인(140)과 이격되어 설치될 수 있도록 지지체(110) 상에 중간 멤브레인(165)이 연결되어 그 위에 지지 패드(164) 및 연결 멤브레인(163)이 순차적으로 연결되고 연결 멤브레인(163)에 팽창부(162)의 일면이 연결되도록 설치된다.

[61] 중간 멤브레인(165)은 샘플 패드(120)로부터 전달되는 액상시료를 팽창부(162) 쪽으로 전달하는 역할을 하며 기공이 큰 부분과 작은 부분이 비대칭 구조로 되어 있으며, 기공이 작은 부분이 지지 패드(164) 측으로 위치하는 것이 바람직하다. 또한, 연결 멤브레인(163)은 중간 멤브레인(165)과 지지 패드(164)로부터 공급되는 액상시료를 팽창부(162) 쪽으로 전달하는 역할을 하며 기공이 큰 부분과 작은 부분이 비대칭 구조로 되어 있으며, 기공이 작은 부분이 상기 팽창부(162) 측으로 위치하는 것이 바람직하다. 일반적으로 비대칭 멤브레인(asymmetric membrane, ASPM)을 사용하는 것은 수용액 액체가 기공이 큰 부분으로부터 작은 부분 쪽으로 흐르게 되고 그 반대 방향으로 흐르지 못하는 성질이 있는데 이는 모세관 현상에 의하여 설명될 수 있다. 따라서 일반적인 유체는 친수성을 갖는 다공성 멤브레인을 통하여 흐르게 되고, 이러한 다공성 구조가 비대칭적으로 이루어져 기공이 큰 쪽으로 액상 시료가 이동할 수 있다.

[62] 신호를 발생하는 2차 반응 물질이 상기 2차 반응물질 패드(161) 내에 처리될 수 있고, 상기 2차 반응물질로는 흡광물질, 형광물질, 발광물질, 전기화학적 신호 발생물질 또는 흡광, 형광, 발광, 전기화학적 신호의 세기를 증폭하는 신호 증폭 물질이 포함될 수 있으며, 보다 구체적으로 루미놀(luminol), 루미젠(lumigen), 루시페린(luciferin)과 같은 화학발광물질, ruthenium tris-bipyridine (Ru(Bpy)₃) 등과 같은 전기화학발광물질, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB), 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DBA), 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)(ABTA),

4-chloro-1-naphthol(CN), BCIP (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate)/NBT (nitro blue tetrazolium) 등과 같은 효소 발색기질, 유기형광물질(예, FITC, 로다민 그린, 티아디카르보시아닌, Cy2, Cy3, Cy5, Alexa 488, Alexa 546, Alexa 594 및 Alexa 647), 양자점(Quantum dot) 등과 같은 형광물질, 금속나노입자, 마그네틱나노입자, pH 조절 물질 (예, NaOH, HCl, 버퍼) 등이 사용될 수 있으며, 신호 증폭 물질 또는 저해 물질 등도 함께 사용될 수 있다.

[63] 주입 시료 내 분석대상물질을 포획할 수 있는 생체물질(리셉터)이 반응 멤브레인(140) 상에 처리된다.

[64] 결국 컨จู게이트 패드(130)에 1차 반응물질이 도포된 후 건조되어 있는 경우, 1차 반응물질과 2차 반응물질에 의한 반응이 순차적으로 일어남에 따라 신호발생물질의 신호로 액상 시료 내의 분석대상물질을 측정할 수 있으며, 상기 팽창부는 2차 반응 물질을 지연시켜 방출하는 역할을 한다.

[65] 본 발명에서 샘플 패드(120)를 통하여 주입되는 액상 시료는 분석대상물질이 포함되어거나 포함되지 않은 임의의 시료일 수 있으며, 샘플 패드(120)에서 흡수 패드(150)로 흘러 갈 수 있는 유체를 의미한다. 구체적으로는 혈액, 혈청 또는 특정 분석물질(DNA, 단백질, 화학물질, 독성물질 등)을 포함하는 액체 형태의 시료를 의미한다.

[66] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서의 작동관계를 나타낸 단면도이다. (a)는 초기에 액상시료를 투입하기 전의 상태이고, (b)는 액상시료가 투입된 후 일정시간이 경과하여 팽창부가 팽창하여 2차 반응물질 패드가 반응 멤브레인에 접촉한 상태를 나타낸 것이다. 특정 단백질 검출하고자 하는 경우를 예를 들어 본 발명의 일 실시예에 따른 멤브레인 스트립 센서의 작동관계를 자세하게 설명한다.

[67] 샘플 패드(120)를 통하여 흡수한 액상 시료는 중간 멤브레인(165)을 통하여 지지 패드(164)를 통해 연결 멤브레인(163)을 통하여 이동하는 경로와 컨จู게이트 패드(130)와 반응 멤브레인(140)을 통하여 흡수 패드(150)로 이동하는 경로를 통하여 이동하게 된다. 이 때, 컨จู게이트 패드(130)에 있는 1차 반응물질은 구조적 분리로 인하여 연결 멤브레인(163)으로 흐르지 않는다.

[68] 액상 시료가 반응 멤브레인(140)을 통하여 흐르는 경우에는, 예를 들어 혈청을 샘플 패드(120)에 주입할 경우 검출항원(target antigen)은 컨จู게이트 패드(130)에서 항원-항체 복합체를 형성하기 위해서 검출항체(detection antibody)와 결합한다. 반응 멤브레인(140)을 흐르는 복합체는 테스트 라인에서 포획항체(capture antibody)와 결합하게 된다.

[69] 액상 시료가 연결 멤브레인(140)을 통하여 흐르는 경우에는 최종적으로 팽창부(162)에 이르면 팽창부(162)는 액상시료에 의해 점점 팽창하게 되고 일정 시간이 도과하게 되면 2차 반응물질 패드(161)가 반응 멤브레인(140)과 닿게 된다. 이때 2차 반응물질 패드(161)에 존재하는 2차 반응 물질은 반응 멤브레인(140)으로 흘러나오게 된다. 이때 항원-항체 복합체와 2차 반응물질과

반응하여 신호를 발생시키게 된다. 팽창부(162)에 사용되는 물질의 성질에 따라서 센서의 반응 조건을 변화시킬 수 있다. 즉, 팽창부(162)의 팽창속도에 따라 2차 반응 물질이 흘러나오는 시간을 조절할 수 있으며, 2차 반응 물질 이외에 산, 염기 및 버퍼 조성물질을 포함시켜 반응 멤브레인(140)에서의 pH 조절 및 반응 조건의 변화가 가능하다.

[70] 실시예를 통하여 본 발명에 대해 보다 더 자세하게 설명한다.

[71]

[72] **실시예1: 팽창부의 선정 및 팽창성 측정**

[73] 본 발명의 팽창부에 사용될 수 있는 소재를 선정하기 위해 두 가지 종류의 수팽창성 테이프를 선정하였다. 각 테이프는 통상적인 면역크로마토그래피 스트립의 반응 멤브레인으로 사용되는 NC 멤브레인 위에 붙였다. PBS 용액(100 μ L)를 샘플 패드에 떨어뜨린 다음 20분 동안 길이 높이 및 길이 변화를 측정하였다. (도4 참조)

[74] 도 5는 팽창부 선정을 위한 팽창성 측정결과를 나타낸 도면이다. 도 5에 도시된 바와 같이, 실험결과 Tape B가 Tape A에 비하여 높은 높이 증가를 보였다. 특히 도 5(c)를 보면 Tape B는 Tape A 보다 많은 기공을 가지고 있는 것을 알 수 있다. 또한 Tape A는 용액 처리 이후에 구조의 변화가 나타나지 않은 반면에 Tape B의 기공은 쪼그라들고, 섬유 구조는 부풀어 오르는 것을 알 수 있다. 따라서 두 테이프의 팽창성의 차이는 각각의 기공 구조의 차이에서 오는 결과로 보여진다.

[75] 또한, 팽창부로 사용되는 수팽창성 테이프의 균일성을 설명하기 위해 원래 길이와 물에 닿은 후의 길이 변화의 비를 측정하였다. 이 때 사용되는 테이프의 길이는 8 mm로 선정하였고, 그 결과를 도 6에 도시하였다. 도 6에 도시된 바와 같이, 길이의 비는 테이프의 길이와 상관없이 0.43 ± 0.02 로 확인되었다. 팽창 후의 높이는 1.06 ± 0.11 mm로 확인되었다.

[76] 본 발명에 따른 면역크로마토그래피 스트립 센서에서 팽창부의 역할을 확인하기 위하여 청색 염료를 2차반응물질 패드(161)에 투입하고 반응 멤브레인(140)에 청색 염료가 방출되는 지를 확인 하였다. 도 7 (a)에서는 수팽창성 테이프로 된 팽창부(162)를 사용하였으며, 도 7 (b)에서는 일반 양면 테이프(166)를 사용하였다. 실험 결과를 도 8에 도시하였다. 도 8에 도시한 바와 같이 팽창부로서 수 팽창성 테이프를 사용한 구조에서는 2차 반응물질 패드에 포함된 청색 염료가 PBS 주입 후 5분 후에 방출되었다. 그러나 일반 양면 테이프를 사용한 경우 청색 염료가 방출되지 않았다. 이 결과 본 발명에 따른 면역크로마토그래피 스트립 센서의 작동이 팽창부의 특성에 의해 결정된다는 것을 알 수 있다. 팽창부로 사용되는 수팽창성 테이프는 그 테이프의 다공성 구조로 인하여 물에 닿으며 가로로 줄어드는 성질을 가지고, 그 결과 수직 팽창한다. 이러한 성질의 결과로 수팽창성 테이프의 팽창이 추가적인 주입없이 자동으로 순차 반응이 일어나 2차 반응물질이 방출되게 한다.

[77]

- [78] 실시예 2: 팽창부를 이용한 멤브레인 스트립 센서의 제작
- [79] 샘플 패드, 흡수 패드, 2차 반응물질 패드는 absorbent type 133으로 제조하였고, 컨쥬게이트 패드로 Fusion 5를 사용하였다. 반응 멤브레인으로 NC 멤브레인을 사용하였고, 지지패드로 absorbent paper type 165를 사용하였다. 또한 중간 멤브레인 and 연결 멤브레인으로 Vivid plasma separation-GX 멤브레인을 사용하였다.
- [80] 흡수 패드(4 mm X 20 mm)는 반응 멤브레인(4 mm X 25 mm)의 위쪽에 붙이고, 컨쥬게이트 패드(4 mm X 8 mm), 중간 멤브레인(4 mm X 15 mm) 및 샘플 패드(4 mm X 25 mm)는 연속하여 접착성 플라스틱 지지체에 붙였다. 이 때, 중간 멤브레인의 경우 기공이 작은 부분을 위쪽으로 위치하도록 하였다. 연결 멤브레인(4 mm X 20 mm)은 양면테이프를 이용하여 슬라이드 글래스에 붙이고, 그 위에 PVA 테이를 이용하여 팽창부를 형성시켰다. 이 때 연결 멤브레인은 기공이 큰 부분을 팽창부와 접하도록 하였다. 2차 반응물질 패드는 팽창부 위에 붙이되, 팽창부와 접하는 부분에 실링 테이프를 붙인다. 조립된 스트립의 양쪽 옆에 슬라이드 글래스를 고정시키기 위한 배리어를 설치하고, 스트립을 배리어와 지지패드 위에 올린 후 양면테이프로 고정시켰다.
- [81] 2차 반응물질은 다른 신호 생성 반응을 위한 구성요소로서 테스트 하였으며, 이것들은 각각 플로우 분석을 위한 색소, 금속 이온 증폭 반응을 위한 금 이온, 효소 발색법을 위한 NBT/BCIP, 및 화학 발광법은 위한 루미놀이다. 모든 2차 반응물질들은 각각의 2차 반응물질 용액을 2차반응물질 패드에 떨어 뜨리고 65°C에서 30분 동안 건조시킨다. 이 패드를 실링 테이프 위에 붙이고, 4.0 mm X 3.8 mm로 자른다. 2차반응 물질의 투입에 관한 내용은 분석 실시예에서 보다 자세하게 후술한다.
- [82]
- [83] 실시예 3: 금속 이온 증폭 반응 수행
- [84] 본 발명에 따른 면역크로마토그래피 스트립 센서의 작동을 확인하기 위해 금속 이온 증폭 반응을 수행하였다. gold(III) chloride trihydrate (0.1 M in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)) 용액을 2차 반응물질 패드에 처리하고, 이를 건조시켰다. 투입되는 용액에는 환원제로서 hydroxylamine hydrochloride (10 mM) (in 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0))가 포함되어 있다. 다양한 농도의 금 나노입자(15nm)를 반응 멤브레인에 1 cm^μL⁻¹로 처리하였다.
- [85] 금 이온 증폭법은 hydroxyl amine (NH₂OH)에 의해 Au³⁺이 금 이온 표면에 환원되면서 Au NP의 크기가 커지는 반응이다. 이 방법을 기반으로 한 다양한 면역크로마토그래피 분석기에서의 신호 증폭 방법이 보고되어 있다. 본 발명에 이 방법을 적용시키기 위해서, NH₂OH는 solution 상에 포함시키고, Au³⁺을 2차 반응물질 패드에 처리하였다. NH₂OH 용액은 반응 멤브레인을 지나서 흐르고, 동시에 팽창부는 점점 팽창하기 시작한다. 수 분 뒤, 금 이온을 포함한 2차 반응물질 패드는 반응 멤브레인에 닿고, 금 이온은 방출된다. 반응

멤브레인에서의 Au NP와의 반응은 Au NP signal을 증폭시킨다. 금 이온과 NH_2OH 이 만나는 시간이 팽창부에 의해 지연되기 때문에, 증폭된 신호는 다른 의도하지 않는 신호 없이 나타나게 된다. 도 9에 도시된 바와 같이, 증폭된 신호 세기는 Au NP 농도에 따라 증가하는 것으로 나타난다.

[86]

[87] **실시예 4: 효소발색 반응 수행**

[88] 본 발명에 따른 면역크로마토그래피 스트립 센서의 작동을 확인하기 위해 효소 발색 반응을 수행하였다. alkaline phosphatase에 의한 NBT와 BCIP의 반응을 발색반응으로 선정하였다. 50 μL NBT와 20 μL BCIP를 포함하는 용액을 0.5 M Tris-HCl buffer (pH 9.5) 930 μL 와 섞은 후, 2차 반응물질 패드에 처리한 후 건조시킨다. Tris-HCl buffer (0.1 M, pH 8.5)를 투입 용액으로 사용하였다. 다양한 농도의 streptavidin labeled AP ($1 \mu\text{L cm}^{-1}$)을 반응 멤브레인에 처리 하였다.

[89]

Alkaline phosphatase에 의해 촉매 되는 NBT와 BCIP의 반응은 주로 면역블로팅(immunoblotting), in situ hybridization, 그리고 면역조직화학(immunohistochemistry)에 사용 되는데, 이 반응은 눈으로 관측이 가능하게 하는 청색에서 보라색의 색상 변화를 일으키게 하는 불용성의 NBT diformazan 라는 최종 산물을 생산한다. NBT와 BCIP 사이의 효소의 촉매반응에 의한 반응은 높은 pH를 요구하고, 이러한 조건은 면역분석법에 부적합하다. 본 발명에서는 높은 pH의 NBT/BCIP 용액을 2차 반응물질 패드에 처리하여 건조시킨다. 반응 시, 샘플 용액이 반응 멤브레인을 흐르며 NBT/BCIP 혼합물은 팽창재의 팽창에 의해 방출된다. 반응 멤브레인의 pH는 2차 반응물질 패드가 닿을 때 바뀌어, NBT/BCIP 반응이 가능하게 한다. 도 10에 도시한 바와 같이, 금 이온 증폭반응의 결과와 마찬가지로, streptavidin-AP의 신호 세기는 AP의 농도가 높을수록 증가한다.

[90]

[91] **실시예 5: 화학 발광 반응 수행**

[92] 본 발명에 따른 면역크로마토그래피 스트립 센서의 작동의 균일성을 확인하기 위해 화학발광반응을 수행하였다. 콜린(choline)과 콜린 옥시다제(choline oxidase)의 반응은 과산화수소(hydrogen peroxide)를 발생 시키기 위해서 사용하였다. 10 μL anti-choline oxidase antibody (10 mg mL^{-1})와 2.5 μL choline oxidase (10 mg mL^{-1})를 포함하는 용액은 37.5 μL 0.1 M Tris-HCl (pH 8.5)와 섞었다. 그리고 반응 멤브레인 위의 포획 항체(capture antibody)와 2차 반응물질 패드 사이에 1 μL 를 스포팅한다. 100 μL luminol (0.5 M in 50 mM NaOH), 30 μL choline chloride (1 M in DW), and 1 μL p-coumaric acid (0.5 M in dimethylformamide (DMF))를 870 μL 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.5)와 섞었다. 섞은 후에, 65 μL 용액을 샘플 패드에 처리한 후, 건조시켰다.

[93]

HRP labeled antibody ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$) 1 μL 와 choline oxidase antibody mixture 1 μL 를 반응 멤브레인에 스포팅한다. 투입 용액은 0.5 % (v/v) S10G와 1 % (w/v) PVP

10K가 포함된 0.1 M Tris-HCl (pH 8.5)를 사용하였다. 이 용액을 샘플 패드에 로딩하고, 신호 세기의 변화를 40분 동안 측정하였다. HRP 농도에 따른 신호 세기는 다양한 농도의 HRP labeled antibody 1 μ L를 사용하여 20분 동안 신호 세기를 측정하였다.

- [94] 본 발명에 따른 스트립의 균일성과 2차 반응물질의 방출 타이밍을 가늠하기 위해서, 시간에 따른 신호 변화를 확인하였다. 화학발광법은 chemi-doc system을 이용한 신호 분석이 용이하다는 점에서 실험 방법으로 선정되었다.
- [95] 도 11에 도시된 바와 같이, 같은 농도의 antibody-HRP를 이용하여 시간에 따른 신호 세기 변화를 40분간 관측하였다. 신호 세기는 같은 농도의 antibody-HRP임에도 불구하고 초반에는 약간 다르게 나타났다. 그러나 20분 이후, 신호 세기는 CV 5% 이내의 값으로 도달하였다.
- [96] 도 12에 도시된 바와 같이, 다른 농도의 HRP를 사용한 실험에서도, 신호 세기는 20분 이내에 HRP 농도에 따라 일정하게 도달하였다. 이러한 결과는 방출 시간과 2차 반응물질의 양이 신호 세기에 영향을 준다는 것을 보여준다.

[97]

[98] **실시예 6: 인간의 혈청에서의 CRP 측정**

- [99] 본 발명에 따른 면역크로마토그래피 스트립 센서의 작동을 확인하기 위해 인간의 혈청에 있는 CRP를 검출하였다. CRP는 120kDa의 오량체로, 가장 중요한 염증 marker로 알려져 있으며, 심혈관계 질환의 독립적 예측 변수로도 사용된다. CRP를 검출하기 위해서, 농도별 CRP를 처리한 혈청을 사용하였다.

- [100] 120 sec cm^{-1} 의 반응 멤브레인 위에 CRP 포획 항체 (1 $\mu\text{L cm}^{-1}$)와 콜린 옥시다제 혼합체(choline oxidase mixture)를 고정하고, 0.05 % (v/v) S10G를 처리한 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 건조시킨다. 다양한 농도의 CRP를 CRP-free human serum에 처리하여 CRP 샘플 용액을 준비한다. 용액 180 μL 를 본 발명에 따른 멤브레인 스트립 센서에 주입한 후 신호 세기를 20분동안 측정한다.

- [101] 추가적으로, 새로운 센서에서 측정된 결과를 기존 ICA를 사용하여 얻은 결과와 비교하였다. Au NP conjugate를 준비하기 위해서, PBS에 희석된 Anti-CRP antibody (10 μL , 1 mg mL^{-1})를 0.9 mL의 40 nm Au NP 과 0.1 mL의 borate buffer (0.1 M, pH 8.5) 혼합액에 넣는다. 실온에서 30분동안 배양(incubation)을 한 후, Au NP표면을 블로킹 하기 위해 0.1 mL의 100 mg mL^{-1} BSA in PBS를 넣어준다. 실온에서 60분간 배양한 후, 20분간 10 $^{\circ}\text{C}$ 에서 8000 rpm으로 원심 분리한다.

- [102] 상층 액을 버린 후, Au NP conjugate를 다시 1 mg mL^{-1} BSA를 포함하는 10mM borate buffer (pH 8.5)를 이용하여 재부유(re-suspension)한다. 원심분리와 재부유(re-suspension) 단계를 10mM borate buffer (pH 8.5)를 이용하여 2번 반복한다. 이 Au NP conjugate를 10 mM borate buffer (pH 8.5)를 이용하여 100 μL 로 suspend하고, 2 % (w/v) PVP 10K와 1 % (v/v) S10G를 포함하는 PBS를 이용하여 2배로 희석한다. 이를 컨쥬게이트 패드에 5 μL 처리한 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 15분간 건조시킨다. 샘플 패드에 100 μL 의 샘플을 주입하고, 15분 뒤에 신호

세기를 측정한다.

[103] CRP를 검출하기 위해서, 농도별 CRP를 처리한 혈청을 사용하였다. 화학 발광의 신호 세기는 본 발명에 따른 스트립에 혈청을 주입한 후, 20분 동안 측정하였다. 도 13은 본 발명에 따른 멤브레인 스트립 센서의 CRP 검출결과를 나타낸 그래프이며, 도 14는 종래의 멤브레인 스트립 센서의 CRP 검출결과를 나타낸 그래프이다. 검출한계 (LOD, blank signal + 3 standard deviations)는 0.03 ng mL^{-1} 로 계산되었고, 이는 기존 ICA의 검출 한계인 13.65 ng mL^{-1} 보다 뛰어나다.

[104]

[105] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예를 설명하였지만, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다.

[106] 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변경된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

[107]

[108] [부호의 설명]

[109] 110: 지지체 120: 샘플 패드

[110] 130: 컨쥬게이트 패드 140: 반응 멤브레인

[111] 150: 흡수 패드 161: 2차 반응물질 패드

[112] 162: 팽창부 163: 연결 멤브레인

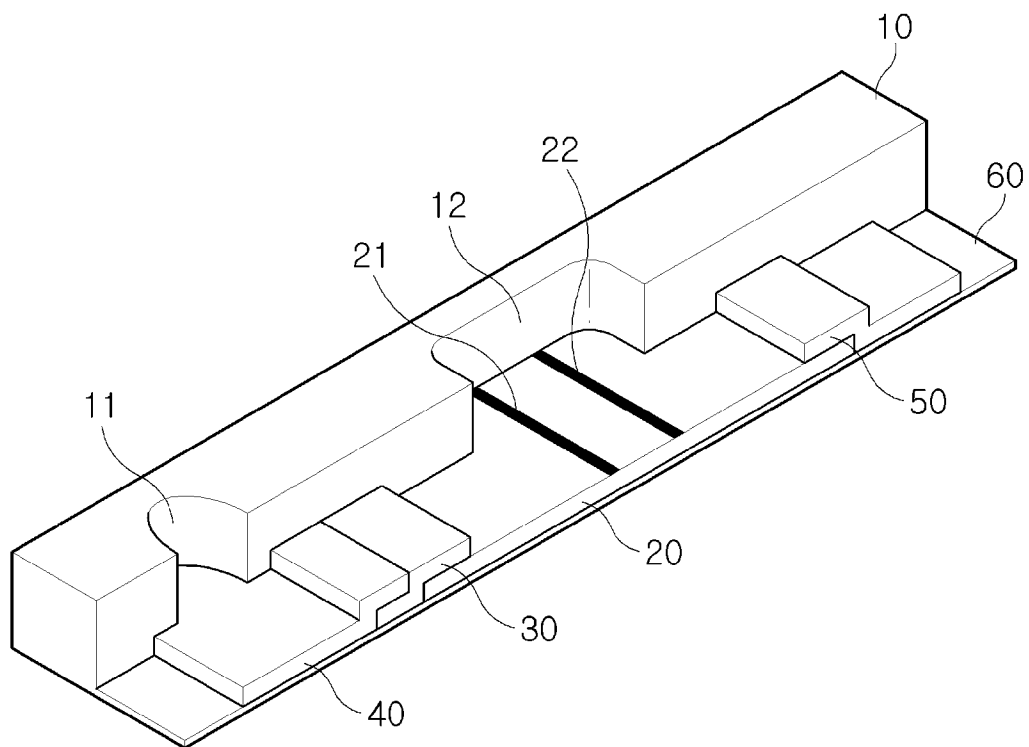
[113] 164: 지지 패드 165: 중간 멤브레인

청구범위

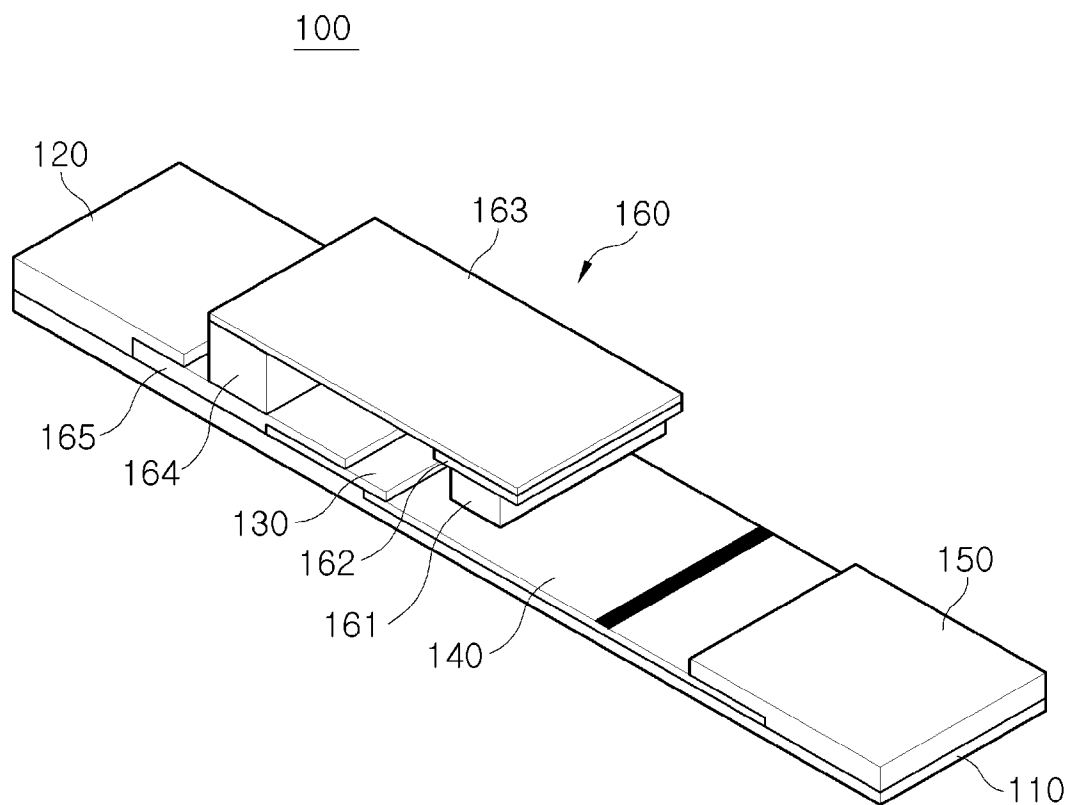
- [청구항 1] 지지체;
 상기 지지체의 상부 표면에 부착되어 분석하고자 하는 액상 시료를 수용하는 샘플 패드;
 상기 샘플 패드를 통해 액상 시료에 함유되어 있는 분석물질과 특이적으로 결합하는 1차반응물질을 함유하고, 상기 샘플 패드와 연동된 컨쥬게이트 패드;
 상기 액상 시료에 분석물질을 존재하는지의 여부를 검출하며 상기 컨쥬게이트 패드와 연동된 반응 멤브레인;
 상기 검출반응이 종료된 액상 시료를 흡수하며, 상기 반응 멤브레인의 다운스트림에 위치하는 흡수 패드; 및
 상기 반응 멤브레인과 이격되어 위치하며 상기 샘플 패드에서 수용된 액상 시료에 의해 부풀어 오르는 팽창부에 연결되고, 상기 팽창부의 팽창에 의해 상기 반응 멤브레인과 접촉되는 2차 반응물질 패드를 포함하는 멤브레인 스트립 센서.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서,
 상기 팽창부는 상기 컨쥬게이트 패드와 상기 샘플 패드 사이에 결합된 중간 멤브레인 위에 부착된 지지패드에 의해 지지되게 결합되고 상기 반응 멤브레인과 일정 간격 이격되어 형성되는 연결 멤브레인에 부착되는 것을 특징으로 하는 멤브레인 스트립 센서.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서,
 상기 팽창부는 스며드는 액체에 의해 팽창될 수 있도록 기공이 형성되어 있는 플라스틱인 것을 특징으로 하는 멤브레인 스트립 센서.
- [청구항 4] 청구항 3에 있어서,
 상기 팽창부는 수용성 플라스틱인 것을 특징으로 하는 멤브레인 스트립 센서.
- [청구항 5] 청구항 4에 있어서,
 상기 수용성 플라스틱은 폴리비닐알코올(PVA), 폴리아크릴아마이드(PAM), 메틸롤화 요소수지, 메틸롤화 멜라닌수지, 카복시메틸셀룰로스(CMC) 중에 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 멤브레인 스트립 센서.
- [청구항 6] 청구항 2에 있어서,
 상기 중간 멤브레인은 기공이 큰 부분과 작은 부분이 비대칭 구조로 되어 있으며, 기공이 작은 부분이 상기 지지 패드 측으로 위치하는 것을 특징으로 하는 멤브레인 스트립 센서.

- [청구항 7] 청구항 2에 있어서,
상기 연결 멤브레인은 기공이 큰 부분과 작은 부분이 비대칭 구조로 되어 있으며, 기공이 작은 부분이 상기 팽창부 측으로 위치하는 것을 특징으로 하는 멤브레인 스트립 센서.
- [청구항 8] 청구항 1에 있어서,
상기 시료와 반응하는 1차 반응 물질이 상기 컨쥬게이트 패드에 처리되고, 신호를 발생하는 2차 반응 물질이 상기 2차 반응물질 패드에 처리되는 것을 특징으로 하는 멤브레인 스트립 센서.
- [청구항 9] 청구항 8에 있어서,
상기 1차 반응 물질은 항체, 항원, 효소, 펩타이드, 단백질, DNA, RNA, PNA, 압타머 및 나노입자 중에서 선택된 1종 또는 2종 이상의 접합체인 것을 특징으로 하는 멤브레인 스트립 센서.
- [청구항 10] 청구항 8항에 있어서,
상기 2차 반응 물질은 흡광물질, 형광물질, 발광물질, 전기화학적 신호 발생물질 및 흡광, 형광, 발광, 전기화학적 신호의 세기를 증폭하는 신호 증폭 물질 중에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 멤브레인 스트립 센서.

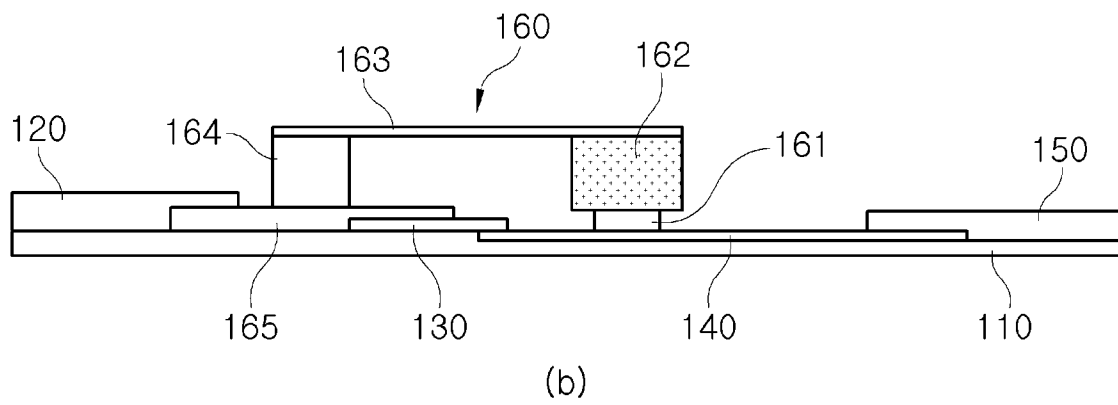
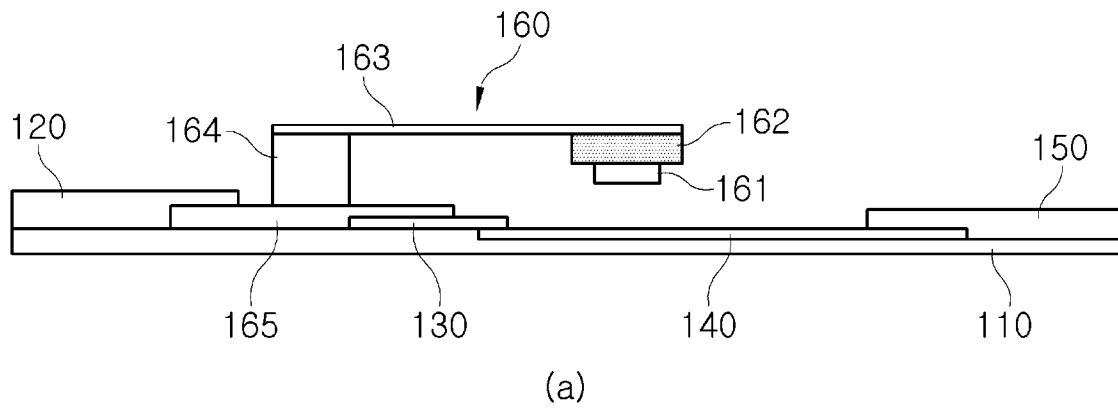
[Fig. 1]



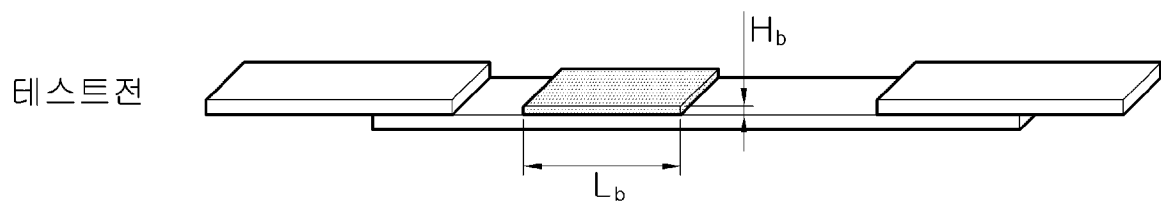
[Fig. 2]



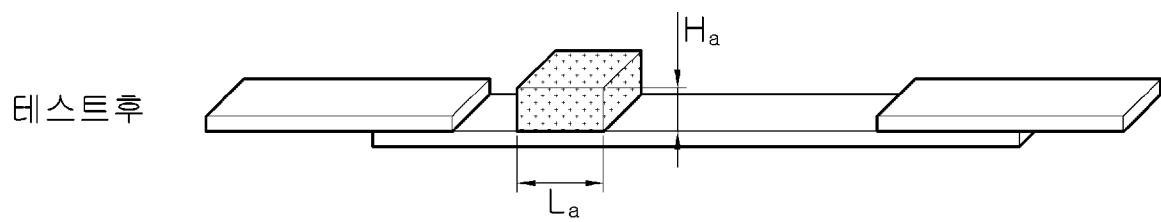
[Fig. 3]



[Fig. 4]

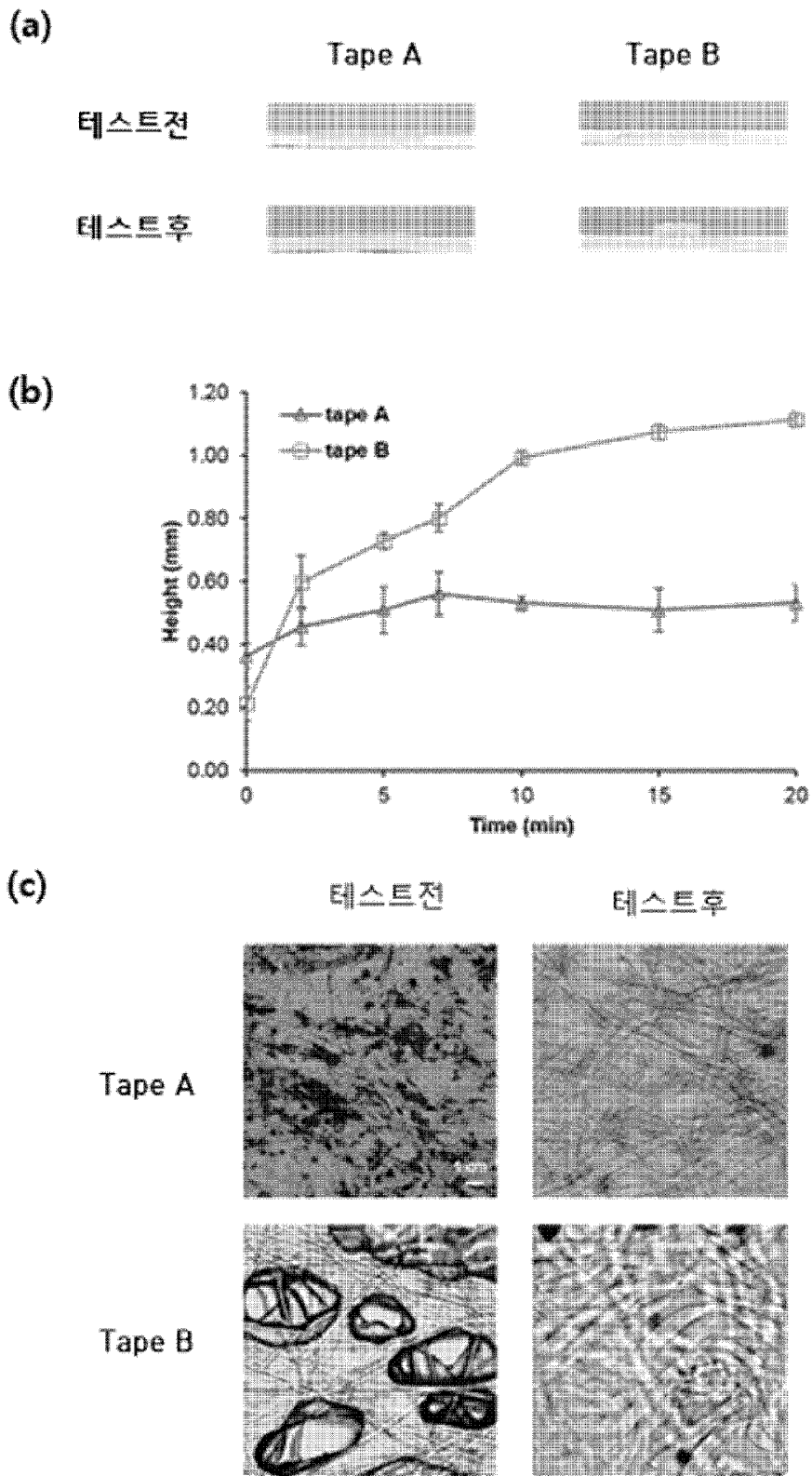


(a)

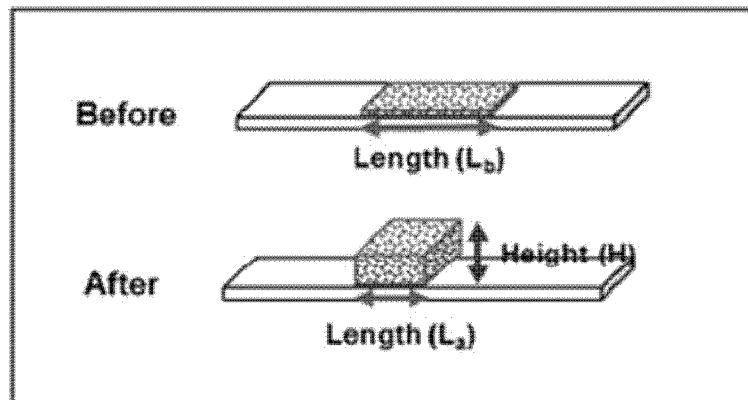


(b)

[Fig. 5]

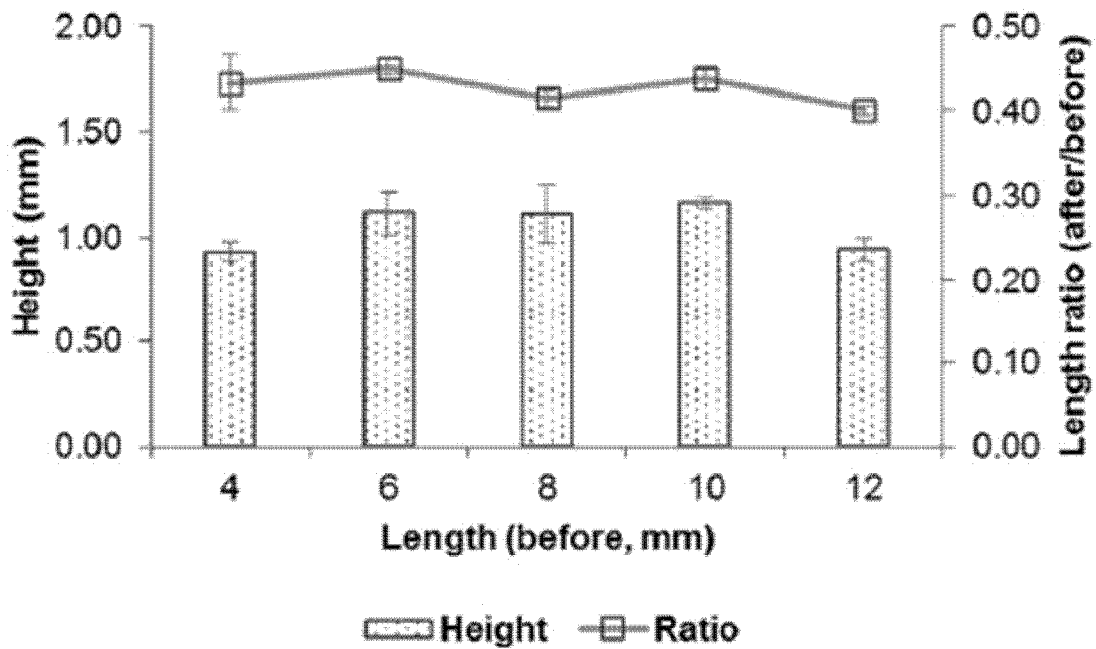


[Fig. 6]

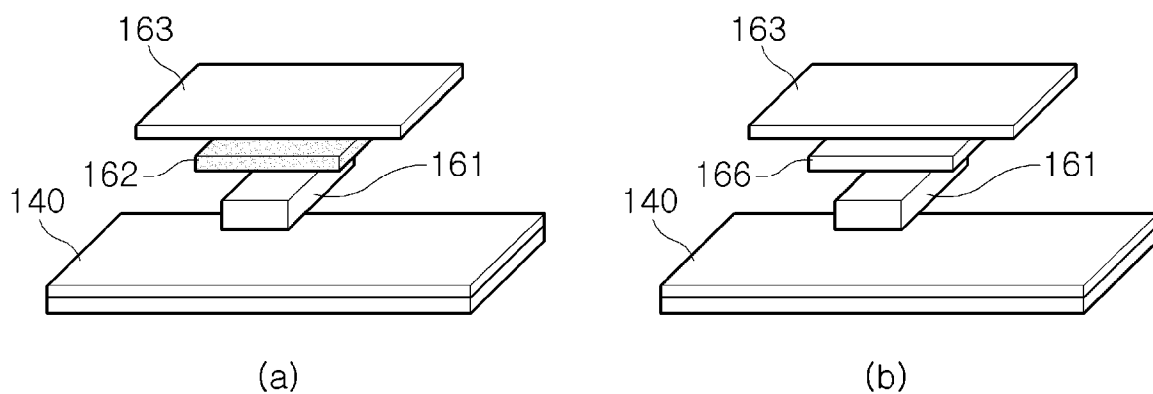


✓ Length ratio : L_a / L_b

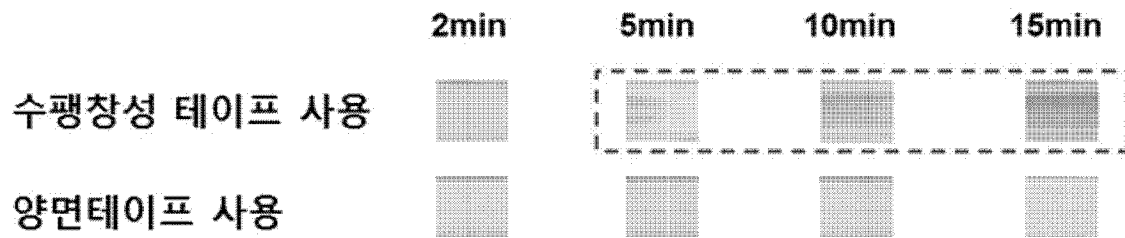
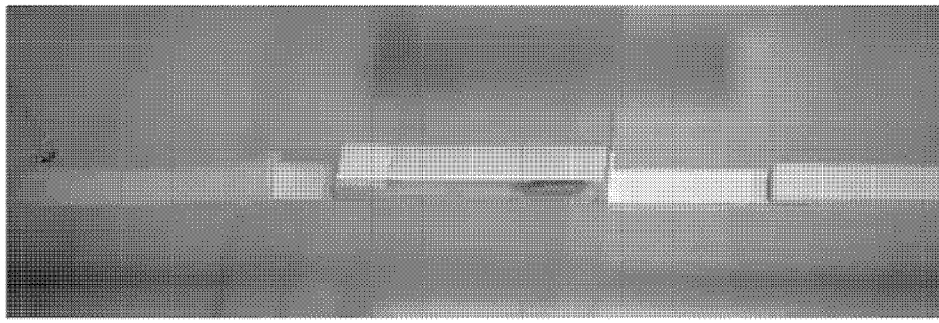
✓ Height : H



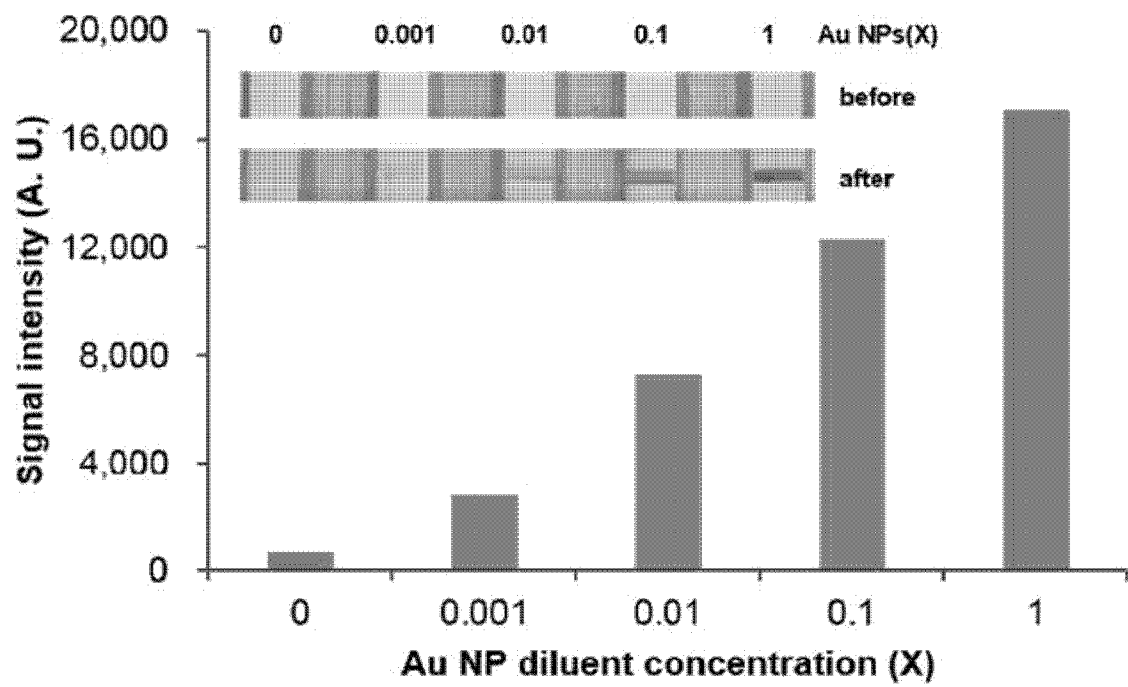
[Fig. 7]



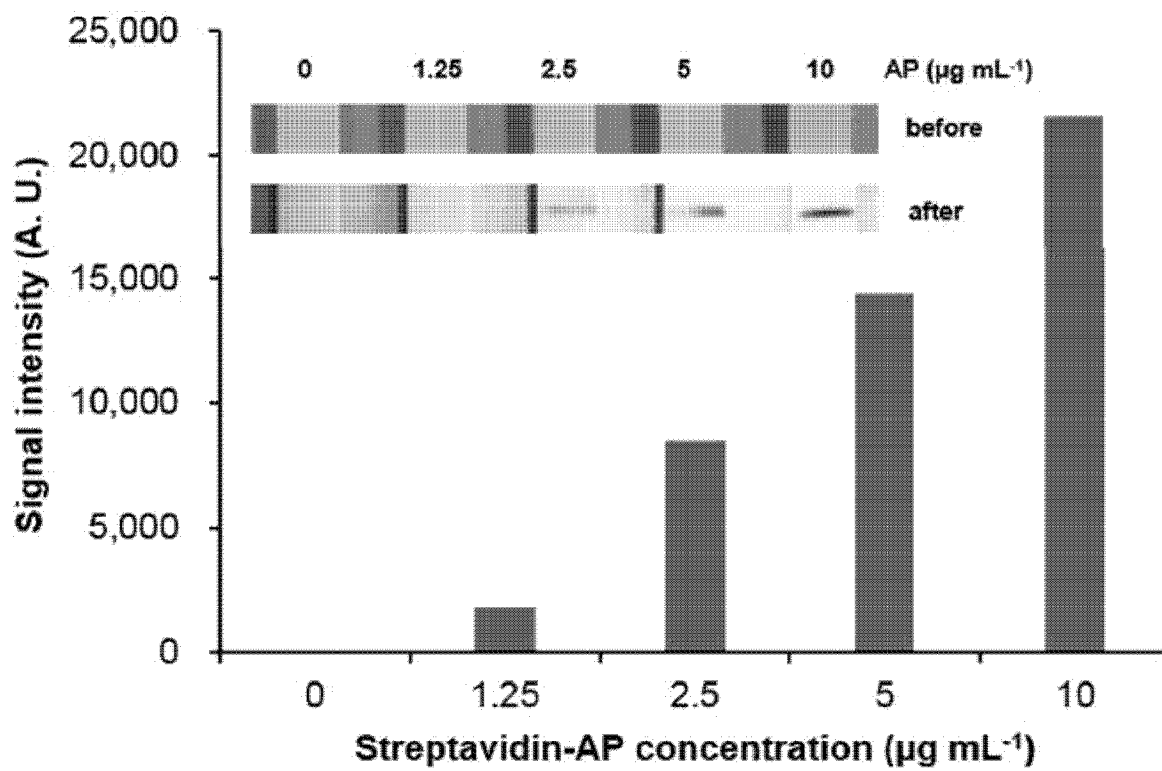
[Fig. 8]



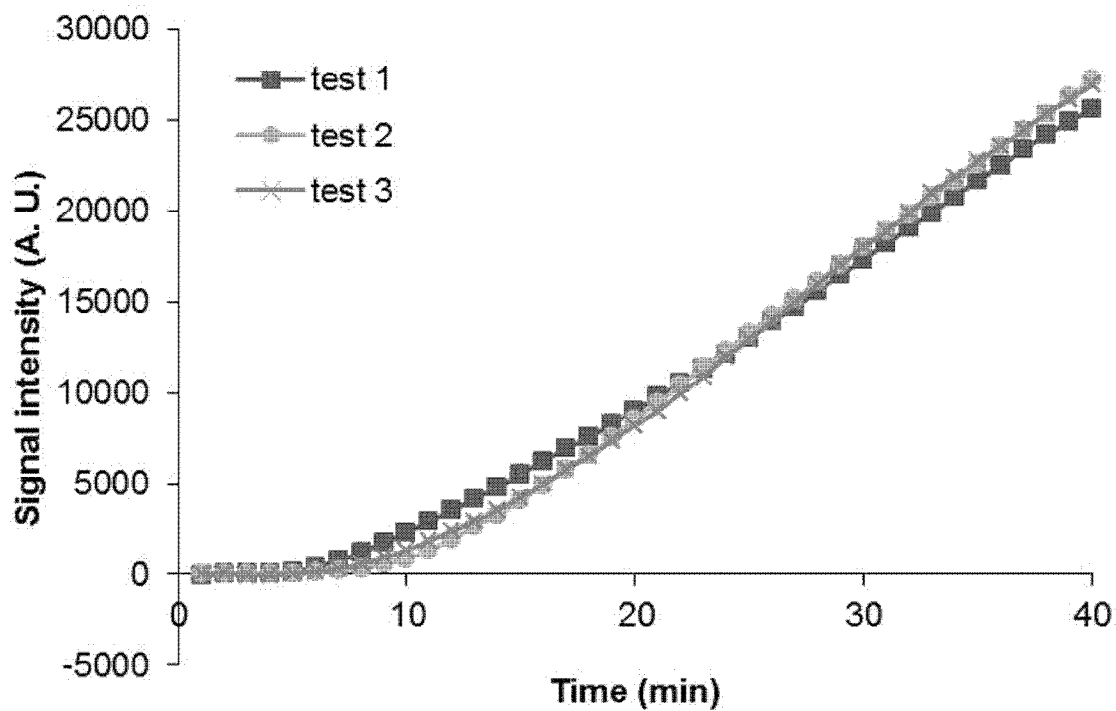
[Fig. 9]



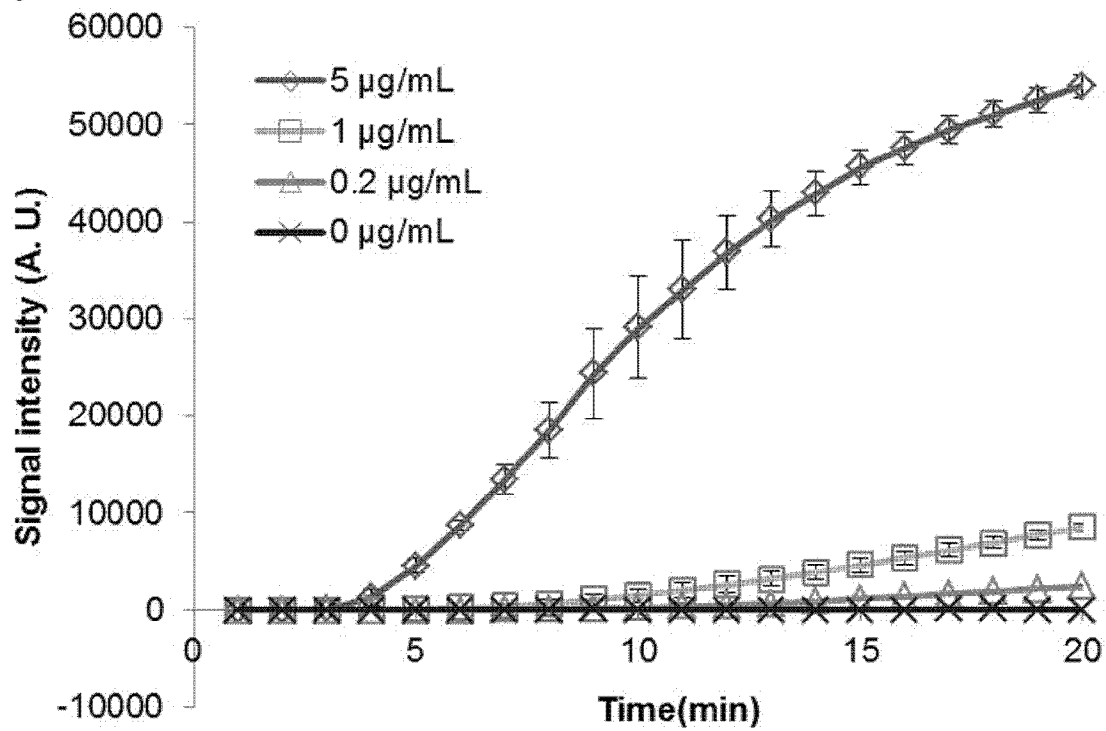
[Fig. 10]



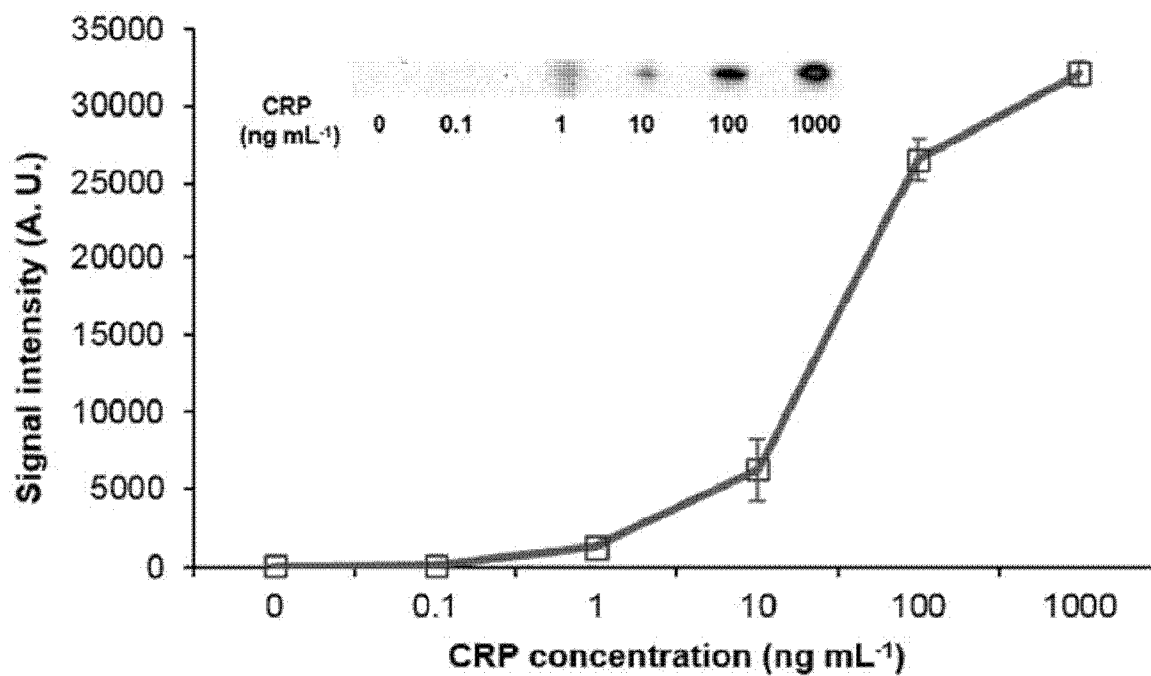
[Fig. 11]



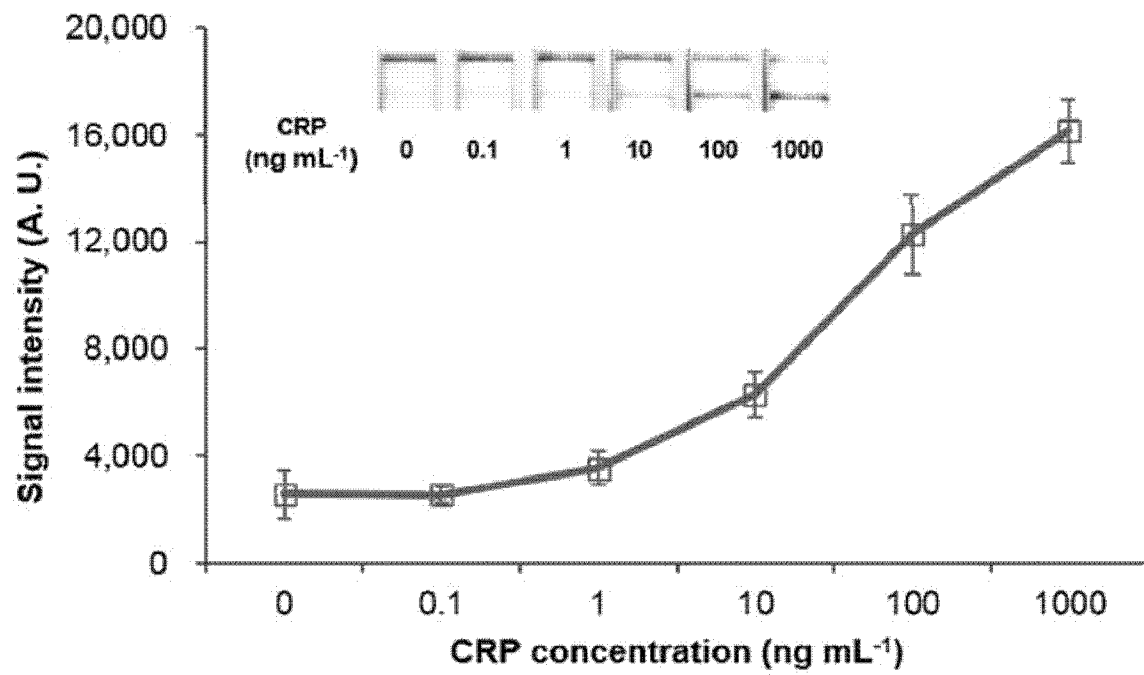
[Fig. 12]



[Fig. 13]



[Fig. 14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/011827**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****G01N 33/558(2006.01)i, G01N 33/58(2006.01)i, C08L 29/04(2006.01)i, C08L 61/26(2006.01)i, C08L 1/08(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 33/558; G01N 33/52; G01N 33/541; G01N 33/538; G01N 33/53; G01N 33/553; G01N 33/532; G01N 33/58; C08L 29/04; C08L 61/26; C08L 1/08

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: support, sample pad, conjugate pad, reactive membrane, absorbing pad, expansion part, water-soluble plastic, strip sensor, diagnostic kits, polyvinyl alcohol, polyacrylamide, methylol urea resin, methylol melamine resin, carboxy methyl cellulose

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2013-0037647 A (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF BIOSCIENCE AND BIOTECHNOLOGY et al.) 16 April 2013 See paragraphs [0021]-[0037], [0052]-[0056]; claims 1, 2, 4, 6-12; and figures 1, 2.	1-10
A	KR 10-2010-0128550 A (INFOPIA CO., LTD.) 08 December 2010 See paragraphs [0001], [0009]-[0012], [0022]-[0032]; claims 5, 7-9; and figure 2.	1-10
A	KR 10-2012-0029549 A (INFOPIA CO., LTD.) 27 March 2012 See paragraphs [0012], [0023], [0028]-[0031], [0039], [0042], [0043]; claims 1, 6-11; and figures 1, 3.	1-10
A	KR 10-2010-0076938 A (INFOPIA CO., LTD.) 06 July 2010 See paragraphs [0014], [0017]-[0019], [0035], [0041]; claim 9; and figure 2.	1-10
A	KR 10-2004-0093048 A (BIO DIGIT LABORATORIES CORP.) 04 November 2004 See claims 1, 15, 16; and figures 1, 7a, 7b.	1-10



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

19 JANUARY 2017 (19.01.2017)

Date of mailing of the international search report

19 JANUARY 2017 (19.01.2017)

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/KR2016/011827

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2013-0037647 A	16/04/2013	CN 103874924 A	18/06/2014
		CN 103874924 B	06/01/2016
		EP 2765422 A2	13/08/2014
		EP 2765422 A4	17/06/2015
		KR 10-1394221 B1	14/05/2014
		US 2014-0255958 A1	11/09/2014
		WO 2013-051889 A2	11/04/2013
		WO 2013-051889 A3	04/07/2013
KR 10-2010-0128550 A	08/12/2010	CN 102449482 A	09/05/2012
		CN 102449482 B	01/04/2015
		EP 2437058 A2	04/04/2012
		EP 2437058 A4	23/01/2013
		KR 10-1027036 B1	11/04/2011
		US 2012-0070822 A1	22/03/2012
		WO 2010-137807 A2	02/12/2010
		WO 2010-137807 A3	03/03/2011
KR 10-2012-0029549 A	27/03/2012	NONE	
KR 10-2010-0076938 A	06/07/2010	CN 102227631 A	26/10/2011
		CN 102227631 B	23/04/2014
		EP 2376906 A1	19/10/2011
		EP 2376906 A4	04/07/2012
		EP 2376906 B1	01/01/2014
		KR 10-1212935 B1	14/12/2012
		US 2011-0229913 A1	22/09/2011
		WO 2010-061992 A1	03/06/2010
KR 10-2004-0093048 A	04/11/2004	AT 403869 T	15/08/2008
		CN 1781022 A	31/05/2006
		EP 1618383 A1	25/01/2006
		EP 1618383 A4	10/01/2007
		EP 1618383 B1	06/08/2008
		JP 2006-524815 A	02/11/2006
		JP 4546462 B2	15/09/2010
		KR 10-0599420 B1	10/07/2006
		US 2004-0214253 A1	28/10/2004
		US 7300802 B2	27/11/2007
		WO 2004-097419 A1	11/11/2004

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 33/558(2006.01)i, G01N 33/58(2006.01)i, C08L 29/04(2006.01)i, C08L 61/26(2006.01)i, C08L 1/08(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 33/558; G01N 33/52; G01N 33/541; G01N 33/538; G01N 33/53; G01N 33/553; G01N 33/532; G01N 33/58; C08L 29/04; C08L 61/26; C08L 1/08

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: 지지체, 샘플 패드, 컨쥬게이트 패드, 반응 멤브레인, 흡수 패드, 팽창부, 수용성 플라스틱, 스트립 센서, 진단 키트, 폴리비닐알콜, 폴리아크릴아마이드, 메틸올화 요소 수지, 메틸올화 멜라닌 수지, 카르복시메틸셀룰로스

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2013-0037647 A (한국생명공학연구원 등) 2013.04.16 단락 [0021]-[0037], [0052]-[0056]; 청구항 1, 2, 4, 6-12; 및 도면 1, 2 참조.	1-10
A	KR 10-2010-0128550 A (주식회사 인포피아) 2010.12.08 단락 [0001], [0009]-[0012], [0022]-[0032]; 청구항 5, 7-9; 및 도면 2 참조.	1-10
A	KR 10-2012-0029549 A (주식회사 인포피아) 2012.03.27 단락 [0012], [0023], [0028]-[0031], [0039], [0042], [0043]; 청구항 1, 6-11; 및 도면 1, 3 참조.	1-10
A	KR 10-2010-0076938 A (주식회사 인포피아) 2010.07.06 단락 [0014], [0017]-[0019], [0035], [0041]; 청구항 9; 및 도면 2 참조.	1-10
A	KR 10-2004-0093048 A (주식회사 바이오디지트) 2004.11.04 청구항 1, 15, 16; 및 도면 1, 7a, 7b 참조.	1-10

☐ 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 19일 (19.01.2017)

국제조사보고서 발송일

2017년 01월 19일 (19.01.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



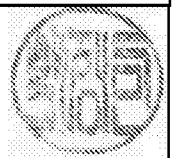
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

박정민

전화번호 +82-42-481-3516



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2013-0037647 A	2013/04/16	CN 103874924 A CN 103874924 B EP 2765422 A2 EP 2765422 A4 KR 10-1394221 B1 US 2014-0255958 A1 WO 2013-051889 A2 WO 2013-051889 A3	2014/06/18 2016/01/06 2014/08/13 2015/06/17 2014/05/14 2014/09/11 2013/04/11 2013/07/04
KR 10-2010-0128550 A	2010/12/08	CN 102449482 A CN 102449482 B EP 2437058 A2 EP 2437058 A4 KR 10-1027036 B1 US 2012-0070822 A1 WO 2010-137807 A2 WO 2010-137807 A3	2012/05/09 2015/04/01 2012/04/04 2013/01/23 2011/04/11 2012/03/22 2010/12/02 2011/03/03
KR 10-2012-0029549 A	2012/03/27	없음	
KR 10-2010-0076938 A	2010/07/06	CN 102227631 A CN 102227631 B EP 2376906 A1 EP 2376906 A4 EP 2376906 B1 KR 10-1212935 B1 US 2011-0229913 A1 WO 2010-061992 A1	2011/10/26 2014/04/23 2011/10/19 2012/07/04 2014/01/01 2012/12/14 2011/09/22 2010/06/03
KR 10-2004-0093048 A	2004/11/04	AT 403869 T CN 1781022 A EP 1618383 A1 EP 1618383 A4 EP 1618383 B1 JP 2006-524815 A JP 4546462 B2 KR 10-0599420 B1 US 2004-0214253 A1 US 7300802 B2 WO 2004-097419 A1	2008/08/15 2006/05/31 2006/01/25 2007/01/10 2008/08/06 2006/11/02 2010/09/15 2006/07/10 2004/10/28 2007/11/27 2004/11/11