



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0115530
(43) 공개일자 2022년08월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/543 (2006.01) C08K 3/30 (2006.01)
C08K 9/02 (2006.01) C09K 11/02 (2006.01)
C09K 11/54 (2006.01) C09K 11/56 (2006.01)
G01N 33/545 (2006.01) G01N 33/58 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/54346 (2013.01)
C08K 3/30 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0016671
(22) 출원일자 2022년02월09일
심사청구일자 2022년02월09일
(30) 우선권주장
1020210019364 2021년02월10일 대한민국(KR)

(71) 출원인
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
박종남
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
김성환
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(74) 대리인
리엔목특허법인

전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 생적합성 양자점-폴리머 복합체 및 이를 이용한 진단 키트

(57) 요약

본 발명은 코어-셸 구조를 갖는 하나 이상의 양자점(quantum dot), 상기 양자점 표면에 배치된 표면 개질 리간드, 및 하나 이상의 폴리머 리간드로 이루어진 3차원 자기 조립 구조(3D selfassembly structure)의 양자 비드(quantum bead)를 포함하고, 상기 하나 이상의 양자점이 상기 양자 비드 내에 분산되고, 상기 코어는 인듐 인화물(InP)을 포함하고, 상기 셸의 두께는 3 nm 내지 9nm인, 양자점-폴리머 복합체를 포함하는 면역 검출용 접합체 및 이를 이용한 타겟 검체의 검출용 키트에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

C08K 9/02 (2013.01)
C09K 11/02 (2013.01)
C09K 11/54 (2013.01)
C09K 11/56 (2013.01)
G01N 33/54388 (2021.08)
G01N 33/545 (2013.01)
G01N 33/588 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711112384
과제번호	2019R1A2C1010435
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	발광소자 맞춤형 차세대 InxGa1-xN 양자점 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	울산과학기술원
연구기간	2020.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

양자점-폴리머 복합체; 및

상기 양자점-폴리머 복합체의 표면에 접합되고 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체;를 포함하는 면역 검출용 접합체로서,

상기 양자점 폴리머 복합체는 코어-셸 구조를 갖는 하나 이상의 양자점(quantum dot), 상기 양자점 표면에 배치된 표면 개질 리간드, 및 하나 이상의 폴리머 리간드로 이루어진 3차원 자기 조립 구조(3D selfassembly structure)의 양자 비드(quantum bead)를 포함하고,

상기 하나 이상의 양자점이 상기 양자 비드 내에 분산되고,

상기 코어는 인듐 인화물(InP)을 포함하고,

상기 셸의 두께는 3 nm 내지 9nm인, 면역 검출용 접합체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 셸은 징크텔로리움(ZnTe), 징크셀파이드(ZnS), 징크옥사이드(ZnO), 징크셀레나이드(ZnSe), 징크셀레늄셀파이드(ZnSeS), 인듐갈륨나이트라이드(InGaN), 인듐갈륨포스파이드(InGaP), 인듐징크포스파이드(InZnP), 카파셀레늄텔로루임(CuSeTe), 카파인듐셀레늄(CuInSe₂), 카파인듐셀파이드(CuInS₂), 실버인듐셀파이드(AgInS₂), 및 틴텔로리움(SnTe) 중 하나 이상의 무기 입자를 포함하는, 면역 검출용 접합체.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 셸은 서로 상이한 2종 이상의 무기 입자를 포함하는, 면역 검출용 접합체.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 셸은 제1셸층 및 제2셸층을 포함하고,

상기 제1셸층은 제1 무기 입자를 포함하고, 상기 제2셸층은 제2 무기 입자를 포함하는, 면역 검출용 접합체.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 제1셸층은 상기 양자점의 코어 및 상기 제2셸층 사이에 개재되고, 상기 제2 무기 입자의 밴드갭은 상기 제1 무기 입자의 밴드갭보다 큰, 면역 검출용 접합체.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 표면 개질 리간드는 하나 이상의 티올기를 포함한, 면역 검출용 접합체.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 폴리머 리간드는 랜덤 코폴리머(random copolymer), 블록 코폴리머(block copolymer), 그라프트 코폴리머(graft copolymer), 또는 이들의 조합 중에서 선택된, 면역 검출용 접합체.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 폴리머 리간드는 말단부에 아민 그룹, 아미드 그룹, 하이드록시 그룹, 말레이미드 그룹, 티올 그룹, 및 카르복실산 그룹 중 하나 이상을 포함하는, 면역 검출용 접합체.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 폴리머 리간드는 폴리스티렌, 폴리올레핀, 폴리비닐아세탈, 폴리에스테르, 폴리케톤, 폴리에테르, 폴리비닐피리딘, 폴리카보네이트, 폴리다이엔, 폴리아크릴산, 폴리아마이드, 및 폴리이미드; 이들의 랜덤 코폴리머, 및 블록 코폴리머; 폴리무수말레인산 그룹을 포함하는 폴리머; 및 폴리무수말레인산 그룹과 알킬아민으로 이루어진 그라프트 코폴리머; 중에서 선택된 하나 이상인, 면역 검출용 접합체.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 양자 비드의 유체 역학적 직경(Hydrodynamic Diameter: HD)은 50 내지 1000 nm인, 면역 검출용 접합체.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체는 제1 및 제2 펩티드 태그간 이소펩티드 결합(isopeptide bond)을 통해 상기 양자점-폴리머 복합체의 표면에 접합되는 것인, 면역 검출용 접합체.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 제1 및 제2 펩티드 태그는 SpyTag 및 SpyCatcher 쌍; SnoopTag 또는 SnoopTagJr 및 SnoopCatcher 쌍; RrgATag, RrgATag2 또는 DogTag 및 RrgACatcher 쌍, IsopepTag Pilin-C 쌍; IsopepTag-N 및 Pilin-N 쌍; PsCsTag 및 PsCsCatcher 쌍; 및 SnoopLigase에 의해 매개된 SnoopTagJr 및 DogTag 쌍 중 어느 하나인, 면역 검출용 접합체.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 제1 태그는 말단 영역에 시스테인(Cys)을 포함하고,

상기 제2 태그는 말단 영역에 상기 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체의 FC 영역과 결합하는 분자를 포함하는 것인, 면역 검출용 접합체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 면역 검출용 접합체를 포함하는, 타겟 검체의 검출용 키트.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 타겟 검체는 자가항체, 리간드, 천연 추출물, 펩타이드, 단백질, 금속 이온, 합성 약물, 천연 약물, 대사체, 유전체, 바이러스 및 바이러스에 의한 생성 물질, 및 박테리아 및 바이러스에 의한 생성 물질 중 하나 이상인, 키트.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 키트는 측방 유동 분석용 스트립인 것인, 키트.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 측방 유동 분석용 스트립은

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 따른 면역 검출용 접합체를 포함하는 접합 패드; 및

타겟 검체와 특이적으로 결합하는 제2 항체가 고정된 테스트 영역 및 상기 타겟 검체에는 특이적으로 결합하지 않으나 상기 면역 검출용 접합체 내 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 제1 항체와 결합하는 제3 항체가 고정된 대조 영역을 포함하는 검출부;를 포함하는, 키트.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 측방 유동 분석용 스트립은 흡수성 샘플 패드를 추가로 포함하고,

상기 흡수성 샘플 패드, 접합 패드, 및 검출부는 순차적으로 일단부터 타단 방향으로 배치된 것인, 키트.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 생적합성 양자점-폴리머 복합체 및 이를 이용한 진단 키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 광학적 특성을 보이는 반도체 나노입자는 바이오 이미징에 있어 응용 가능성이 매우 높다. 양자점(Quantum Dots; QDs)은 높은 양자 수득률로 형광을 나타내며, 크기를 조절함으로써 밴드 갭을 조절할 수 있기 때문에 발광되는 빛의 파장대를 용이하게 조절할 수 있는 장점이 있다. 이러한 광학적 특성은 상당히 밝은 이미지를 보

이고 안정적이기 때문에 세포의 이미징에 있어 기존에 사용되던 염료(dye)나 단백질 형광단보다 훨씬 효과적인 물질로 기대되고 있다.

- [0003] 종래에는 금 나노입자를 질병을 진단하는데 사용하였으나, 금 나노입자의 경우 색 변화가 크지 않기 때문에, 금 나노입자의 색을 통한 진단은 감도를 높이는데 한계가 있었다.
- [0004] 금 나노입자를 반도체 나노입자로 대체하기 위한 다양한 연구가 지속되고 있으며, 체외 진단 키트의 진단 감도를 향상시키기 위해서 CdSe 기반의 독성이 있는 양자점을 형광 소재로 사용하는 연구가 다수 보고되었다.
- [0005] 하지만, 체외 진단 키트의 경우 사람의 손으로 직접 핸들링 해야되기 때문에 독성 문제가 해결되지 않으면 상용화가 어려웠다
- [0006] 따라서, 생적합성 반도체 나노입자, 예를 들어 양자점에 대한 요구가 여전히 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 한 측면은 양자점-폴리머 복합체 및 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체를 포함하며, 우수한 생체 적합성 및 향상된 검출 효능을 갖는 면역 검출용 집합체를 제공하는 것이다.
- [0008] 다른 한 측면은 상기 면역 검출용 집합체를 포함하는, 타겟 검체의 검출용 키트를 제공하는 것이다.
- [0009] 다른 한 측면은 상기 면역 검출용 집합체와 타겟 검체를 포함하는 샘플을 접촉시키는 단계를 포함하는, 타겟 검체를 검출하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0010] 일 측면에서, 본 발명은, 양자점-폴리머 복합체; 및 상기 양자점-폴리머 복합체의 표면에 접합되고 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체;를 포함하는 면역 검출용 집합체로서,
- [0011] 상기 양자점 폴리머 복합체는 코어-셸 구조를 갖는 하나 이상의 양자점(quantum dot), 상기 양자점 표면에 배치된 표면 개질 리간드, 및 하나 이상의 폴리머 리간드로 이루어진 3차원 자기 조립 구조(3D selfassembly structure)의 양자 비드(quantum bead)를 포함하고, 상기 하나 이상의 양자점이 상기 양자 비드 내에 분산되고, 상기 코어는 인듐 인화물(InP)을 포함하고, 상기 셸의 두께는 3 nm 내지 9nm인, 면역 검출용 집합체를 제공한다.
- [0012] 일 실시예에 따르면, 상기 셸의 두께는 약 3 nm 내지 약 8nm, 약 3 nm 내지 약 7nm, 약 3 nm 내지 약 6nm, 약 3 nm 내지 약 5nm, 또는 약 3 nm 내지 약 4 nm일 수 있다.
- [0013] 일 실시예에 따르면, 상기 양자점의 셸은 징크텔로리움(ZnTe), 징크설파이드(ZnS), 징크옥사이드(ZnO), 징크셀레나이드(ZnSe), 징크셀레늄설파이드(ZnSeS), 인듐갈륨나이트라이드(InGa_N), 인듐갈륨포스파이드(InGaP), 인듐징크포스파이드(InZnP), 카파셀레늄텔로루임(CuSeTe), 카파인듐셀레늄(CuInSe₂), 카파인듐설파이드(CuInS₂), 실버인듐설파이드(AgInS₂), 및 틴텔로리움(SnTe) 중 하나 이상의 무기 입자를 포함할 수 있다.
- [0014] 예를 들어, 상기 양자점의 셸은 서로 상이한 2종 이상의 무기 입자를 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 양자점의 셸은 징크설파이드(ZnS) 및 징크셀레나이드(ZnSe)를 포함할 수 있다.
- [0015] 일 실시예에 따르면, 상기 양자점의 셸은 제1셸층 및 제2셸층을 포함하고, 상기 제1셸층은 제1 무기 입자를 포함하고, 상기 제2셸층은 제2 무기 입자를 포함할 수 있다. 상기 제1 무기 입자 및 상기 제2 무기 입자는 전술한 셸의 예시로 들은 무기 입자들 중에서 선택될 수 있다.
- [0016] 예를 들어, 상기 제1셸층은 상기 양자점의 코어 및 상기 제2셸층 사이에 개재되고, 상기 제2 무기 입자의 밴드갭은 상기 제1 무기 입자의 밴드갭보다 클 수 있다. 예를 들어, 상기 제1 무기 입자 및 상기 제2 무기 입자의 밴드갭은 InP의 밴드갭보다 클 수 있다. 이러한 밴드갭 구성으로부터 전자 및 홀이 제2 무기 입자로부터 제1 무기 입자를 거쳐 InP에 집중될 수 있고, 그 결과 광효율이 향상되는 효과를 얻을 수 있다.
- [0017] 일 실시예에 따르면, 상기 양자점이 둘 이상일 경우, 둘 이상의 양자점은 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0018] 일 실시예에 따르면, 상기 표면 개질 리간드는 하나 이상의 티올기를 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 표면 개

질 리간드는 하나 이상의 티올기를 관능기로 포함한 직쇄, 분지쇄, 또는 방향족 화합물로부터 유래된 리간드일 수 있다.

[0019] 일 실시예에 따르면, 상기 표면 개질 리간드는 하나 이상의 티올기를 포함한 C_1 - C_{20} 알킬티올기일 수 있다.

[0020] 일 실시예에 따르면, 상기 폴리머 리간드는 랜덤 코폴리머(random copolymer), 블록 코폴리머(block copolymer), 그래프트 코폴리머(graft copolymer), 또는 이들의 조합 중에서 선택될 수 있다.

[0021] 일 실시예에 따르면, 상기 폴리머 리간드는 친유성(hydrophobic) 부분과, 친수성(hydrophilic) 부분을 포함할 수 있다.

[0022] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드의 친유성 부분은 상기 양자 비드의 중심 방향으로 배열되고, 상기 폴리머 리간드의 친수성 부분은 상기 양자 비드의 외부 방향으로 배열될 수 있다.

[0023] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드의 친수성 부분은 상기 양자 비드의 외부로 노출될 수 있다.

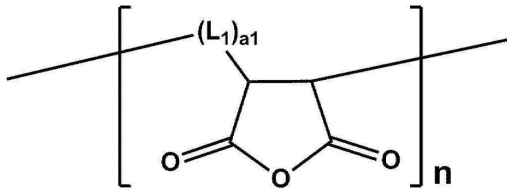
[0024] 일 실시예에 따르면, 상기 친수성 부분은 침(needle) 형태 또는 브러시(brush) 형태일 수 있다.

[0025] 일 실시예에 따르면, 상기 폴리머 리간드는 말단부에 아민 그룹, 아미드 그룹, 하이드록시 그룹, 말레이미드 그룹, 티올 그룹, 및 카르복실산 그룹 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0026] 일 실시예에 따르면, 상기 폴리머 리간드는 폴리스티렌, 폴리올레핀, 폴리비닐아세탈, 폴리에스테르, 폴리케톤, 폴리에테르, 폴리비닐피리딘, 폴리카보네이트, 폴리다이엔, 폴리아크릴산, 폴리아마이드, 및 폴리이미드; 이들의 랜덤 코폴리머, 및 블록 코폴리머; 폴리무수말레인산 그룹을 포함하는 폴리머; 및 폴리무수말레인산 그룹과 알킬아민으로 이루어진 그래프트 코폴리머; 중에서 선택된 하나 이상일 수 있다.

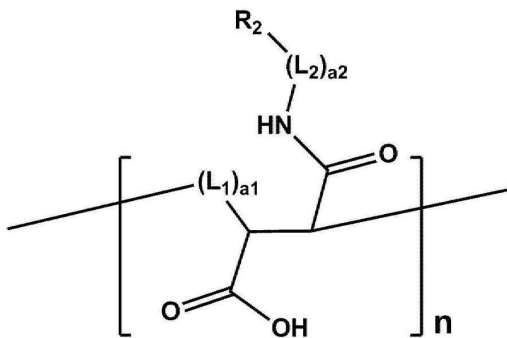
[0027] 예를 들어, 상기 폴리무수말레인산 그룹을 포함하는 폴리머는 하기 화학식 1로 표시되고, 상기 폴리무수말레인산 그룹과 알킬아민으로 이루어진 그래프트 코폴리머는 하기 화학식 1A 또는 1B로 표시될 수 있다:

[0028] <화학식 1>



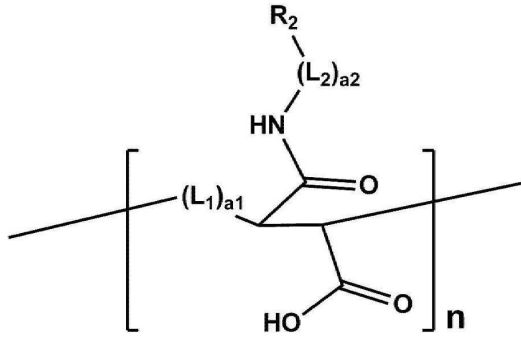
[0029]

[0030] <화학식 1A>



[0031]

[0032] <화학식 1B>



[0033]

[0034] 화학식 1, 1A 및 1B 중,

[0035] L_1 및 L_2 는 서로 독립적으로, C_1 - C_{20} 알킬기 또는 C_1 - C_{20} 알킬렌기; 및 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 시아노기, 니트로기, C_1 - C_{10} 알킬기, C_6 - C_{20} 아릴기, 및 C_1 - C_{10} 알콕시기 중 선택된 하나 이상으로 치환된 C_1 - C_{20} 알킬렌기 중에서 선택되고,

[0036] a_1 은 1 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

[0037] a_2 는 0 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

[0038] R_2 는 C_1 - C_{20} 알킬기; 및 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 시아노기, 니트로기, C_1 - C_{10} 알킬기, C_6 - C_{20} 아릴기, 및 C_1 - C_{10} 알콕시기 중 선택된 하나 이상으로 치환된 C_1 - C_{20} 알킬기 중에서 선택되고,

[0039] n 은 1 이상 1000 이하이다.

[0040] 일 실시예에 따르면, 상기 폴리머 리간드가 둘 이상일 경우, 둘 이상의 폴리머 리간드는 동일하거나 상이할 수 있다.

[0041] 일 실시예에 따르면, 상기 양자 비드의 유체 역학적 직경(Hydrodynamic Diameter: HD)은 50 내지 1000 nm일 수 있다.

[0042] 일 실시예에 따르면, 상기 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체는 제1 및 제2 펩티드 태그간 이소펩티드 결합(isopeptide bond)을 통해 상기 양자점-폴리머 복합체의 표면에 접합되는 것일 수 있다.

[0043] 예를 들어, 상기 상기 제1 및 제2 펩티드 태그는 SpyTag 및 SpyCatcher 쌍; SnoopTag 또는 SnoopTagJr 및 SnoopCatcher 쌍; RrgATag, RrgATag2 또는 DogTag 및 RrgACatcher 쌍, IsopepTag Pilin-C 쌍; IsopepTag-N 및 Pilin-N 쌍; PsCsTag 및 PsCsCatcher 쌍; 및 SnoopLigase에 의해 매개된 SnoopTagJr 및 DogTag 쌍 중 어느 하나일 수 있다.

[0044] 예를 들어, 상기 제1 태그는 말단 영역에 시스테인(Cys)을 포함하고, 상기 제2 태그는 말단 영역에 상기 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체의 FC 영역과 결합하는 분자를 포함하는 것일 수 있다.

[0045] 다른 일 측면에서, 본 발명은, 전술한 면역 검출용 집합체를 포함하는 타겟 검체의 검출용 키트를 제공한다.

[0046] 일 실시예에 따르면, 상기 타겟 검체는 자가항체, 리간드, 천연 추출물, 펩타이드, 단백질, 금속 이온, 합성 약물, 천연 약물, 대사체, 유전체, 바이러스 및 바이러스에 의한 생성 물질, 및 박테리아 및 바이러스에 의한 생성 물질 중 하나 이상일 수 있다.

[0047] 일 실시예에 따르면, 상기 키트는 측방 유동 분석용 스트립 형태로 구현될 수 있다.

[0048] 예를 들어, 상기 측방 유동 분석용 스트립은 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 제1 항체를 갖는, 전술한 면역 검출용 집합체를 포함하는 집합 패드; 및 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 제2 항체가 고정된 테스트 영역 및 상기 타겟 검체에는 특이적으로 결합하지 않으나 상기 면역 검출용 집합체 내 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 제1 항체와 결합하는 제3 항체가 고정된 대조 영역을 포함하는 검출부;를 포함하는 것일 수 있다.

[0049] 예를 들어, 상기 측방 유동 분석용 스트립은 흡수성 샘플 패드를 추가로 포함하고, 상기 흡수성 샘플 패드, 집합 패드, 및 검출부는 순차적으로 일단부터 타단 방향으로 배치된 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0050] 본 발명의 일 측면에 따른 면역 검출용 접합체는 뛰어난 광 안정성, 고발광 및 양자 효율을 갖는 양자점-폴리머 복합체를 포함하고, Fab 영역이 외부로 노출되도록 항체의 배향을 조절함으로써, 타겟 검체에 대한 검출 감도를 현격하게 향상시킬 수 있다.
- [0051] 또한, 검출하고자 하는 질병에 따라 상기 양자점-폴리머 복합체에 결합되는 항체의 종류를 달리하여, 다양한 질병의 조기 진단이 가능하며, 체외에서 진단이 가능한 바, 종래의 분석 방법에 비해서 진단 방법이 쉽고 빠르다.

도면의 간단한 설명

- [0052] 도 1은 LFA 시스템을 설명하기 위한 모식도이다.
- 도 2a는 브러시 형태의 폴리머 리간드를 포함하는 양자점-폴리머 복합체의 모식도이고, 도 2b는 침 형태의 폴리머 리간드를 포함하는 양자점-폴리머 복합체의 모식도이고, 도 2c는 브러시 형태의 폴리머 리간드를 포함하는 양자점-폴리머 복합체의 높은 감도를 보여주는 모식도이다.
- 도 3a는 폴리머 리간드의 일 실시예인 블록 코폴리머와 랜덤 코폴리머의 구조를 나타낸 모식도이고, 도 3b는 폴리머 리간드의 다른 실시예인 그래프트 코폴리머의 구조를 나타낸 모식도이다.
- 도 4a는 합성예 1에서 합성한 양자점의 TEM 이미지이고, 도 4b는 합성예 2에서 합성한 양자점의 TEM 이미지이다.
- 도 5a는 실시예 1에서 제조한 양자-비드의 TEM 이미지(좌측: 200 nm 스케일; 우측: 500nm 스케일)이고, 도 5b는 비교예 1에서 제조한 양자-비드의 TEM 이미지(좌측: 200 nm 스케일; 우측: 100nm 스케일)이다.
- 도 6a는 합성예 1 및 2의 양자점, 실시예 1 및 2의 양자-비드의 상전환성을 보여주는 이미지이고, 도 6b는 합성예 2의 양자점의 발광 효율에 대하여 정규화한 실시예 1 및 2의 양자-비드의 발광 효율을 보여주는 그래프이다.
- 도 7은 Fab 영역이 외부로 노출되도록 항체의 배향이 조절된 면역 검출용 접합체의 제조 과정을 나타낸 모식도이다.
- 도 8a는 일 실시예에 따른 면역 검출용 접합체에서, 양자-비드 당 접합된 항체의 수를 산출한 결과를 보여주는 그래프이고, 도 8b는 양자-비드 당 활성화된 Fab 영역의 수를 산출한 결과를 보여주는 그래프이고, 도 8c는 Fab 영역에 대한 접근률(%)을 보여주는 그래프이다.
- 도 9는 일 실시예에 따른 측방 유동 분석용 스트립의 구조를 나타낸 모식도이다.
- 도 10은 일 실시예에 따른 측방 유동 분석용 스트립에서, 반응 메커니즘을 개략적으로 나타낸 모식도이다.
- 도 11은 일 실시예에 따른 측방 유동 분석용 스트립의 검출 효능을 형광 강도를 통해 분석한 결과를 보여주는 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0053] 이하, 첨부한 도면을 참고로 하여 본 발명의 여러 실시예들에 대하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예들에 한정되지 않는다.
- [0054] 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 동일 또는 유사한 구성요소에 대해서는 동일한 참조 부호를 붙이도록 한다.
- [0055] 또한, 도면에서 나타난 각 구성의 크기 및 두께는 설명의 편의를 위해 임의로 나타내었으므로, 본 발명이 반드시 도시된 바에 한정되지 않는다.
- [0056] 또한, 이하에서 사용되는 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 창의적 사상을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 이하에서, "포함한다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품, 성분, 재료 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 나타내려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나, 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품, 성분, 재료 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다. 이하에서 사용되는 "/"는 상황에 따라 "및"으로 해석될 수도 있고 "또

는"으로 해석될 수도 있다.

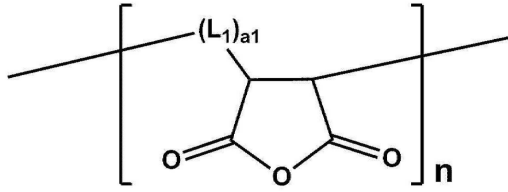
- [0058] 일 측면에 따르면, 양자점-폴리머 복합체; 및 상기 양자점-폴리머 복합체의 표면에 접합되고 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체;를 포함하는 면역 검출용 접합체로서,
- [0059] 상기 양자점 폴리머 복합체는 코어-셸 구조를 갖는 하나 이상의 양자점(quantum dot), 상기 양자점 표면에 배치된 표면 개질 리간드, 및 하나 이상의 폴리머 리간드로 이루어진 3차원 자기 조립 구조(3D selfassembly structure)의 양자 비드(quantum bead)를 포함하고, 상기 하나 이상의 양자점이 상기 양자 비드 내에 분산되고, 상기 코어는 인듐 인화물(InP)을 포함하고, 상기 셸의 두께는 3 nm 내지 9nm인, 면역 검출용 접합체가 제공된다.
- [0060] 본 명세서에서 용어, "면역 검출용 접합체"는 광의로는 특정 물질 및 이에 접합된 표지(label)를 의미할 수 있다. 본 발명에서, 상기 특정 물질은 특이적인 결합을 통해 샘플 내 검체를 검출할 수 있는 물질로서 면역 검출용 접합체 내 항체를 지칭하며, 상기 표지는 면역 검출용 접합체 내 양자점-폴리머 복합체를 지칭하는 것일 수 있다. 여기서, "특이적인 결합"은 항체로부터 비롯된 특이성을 의미하는 것으로, 정의된 타겟 검체 또는 타겟 물질에 우선적으로 결합하는 것을 의미할 수 있다.
- [0061] 본 명세서에서 용어, "항체"는 완전한 다클론(또는 폴리클론) 또는 단클론(모노클론) 항체 뿐만 아니라, 이의 단편(예를 들면, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일사슬 (ScFv), 다이아바디, 나노바디, 항체 단편들로 형성된 다중특이적 항체, 그의 돌연변이, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 요망되는 특이성의 항체 인식 부위를 포함하는 면역 글로불린 분자의 임의의 기타 변형 배열을 의미할 수 있다. 항체로는 임의의 범주에 해당되는 항체, 예를 들면 IgG, IgA, 또는 IgM (또는 그의 서브클래스), 및 특정 클래스에 속하지 않는 항체를 포함할 수 있다.
- [0062] 본 명세서에서 용어, "타겟 검체"는 검출될 샘플 내 분자 또는 기타 물질을 의미할 수 있다. 예를 들어, 상기 타겟 검체는 항원성 물질, 리간드(모노- 또는 폴리에피토프), 합텐(haptens), 항체 및 이들의 조합을 포함할 수도 있다. 또한, 상기 타겟 검체는 독소, 유기 화합물, 단백질, 펩티드, 미생물, 아미노산, 핵산, 호르몬, 스테로이드, 비타민, 약물, 약물 중간체 또는 부산물, 세균, 바이러스 입자, 효모, 진균, 원생 동물 및 상기 물질들의 대사물 또는 그에 대한 항체를 포함할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게, 상기 타겟 검체는 예를 들어, 페리틴; 크레아티닌키나아제 MB(CK-MB); 디곡신; 페니토인; 페노바르비탈; 카르바마제핀; 반코마이신; 젠타마이신; 테오필린; 발프로산; 퀴니딘; 황체화 호르몬(LH); 소포 자극 호르몬(FSH); 에스트라디올, 프로게스테론; C-반응성 단백질(C-reactive protein; CRP); 리포 칼린; IgE 항체; 사이토카인; 비타민 B2 마이크로-글로블린; 당화 헤모글로빈(Gly.Hb); 코르티솔; 디지톡신; N-아세틸프로카인아미드(NAPA); 프로카인아미드; 풍진-IgG 및 풍진 IgM과 같은 풍진에 대한 항체, 예를 들면 독(독소-IgG) 및 독소포자충증 IgM과 같은 독소포자충증에 대한 항체; 테스토스테론; 살리실레이트; 아세트아미노펜; 간염 B 바이러스 표면 항원(HBsAgs); 간염 B 코어 항원에 대한 항체, 예를 들면 항-간염 B 코어 항원 IgG 및 IgM(항-HBC); 인간 면역 결핍 바이러스 1 및 2(HIV 1 및 2); 인간 T-세포 백혈병 바이러스 1 및 2(HTLV); 간염 Be 항원(HBeAg); 간염 B e 항원에 대한 항체(항-HBe); 코로나바이러스; 인플루엔자 바이러스; 갑상선 자극 호르몬(TSH); 티록신(T4); 총 트리요오도티로닌(총 T3); 자유 트리요오도티로닌(자유 T3); 암종배아 항원(CEA); 지질 단백질, 콜레스테롤, 및 트리글리세리드; 및 알파 페토단백질(AFP)을 예시할 수 있다.
- [0063] 전술한 바와 같이, 종래 체외 진단 키트용 물질로 주로 사용하였던 금 나노입자의 경우, 진단 감도가 떨어져서 질병의 초기 진단이 어려운 문제점이 있었다. 이에, 다양한 유형의 양자점 복합체를 진단 키트용 물질로 사용하려는 시도가 이루어졌으나, 수분에 민감한 양자점의 고유의 속성 및 무기 입자의 독성으로 인한 인체 적용의 한계점이 존재하였다.
- [0064] 본 발명에 따른 양자점-폴리머 복합체는 생체 적합성을 갖는 인듐 인화물(InP)을 코어로 포함하고, 카드뮴(Cd), Pb(납) 등과 같이 독성을 갖는 것으로 알려진 원소를 포함하지 않는 생체적합성 양자점을 사용함으로써, 인체의 질병을 진단하기 위한 진단 키트로의 적용이 가능할 뿐만 아니라, 특유의 구조를 가짐으로써, 뛰어난 광안정성 및 양자 효율을 발휘할 수 있으며, 이를 통해 발광 세기 및 항원-항체 결합력이 극대화되는 효과를 발휘할 수 있다.
- [0065] 도 2a 내지 2b는 본 발명의 면역 검출용 접합체에 적용되는 양자점-폴리머 복합체의 모식도이다. 이하에서, 도 2a 내지 2b를 통해 본 발명의 양자점-폴리머 복합체의 구조를 구체적으로 설명한다.
- [0066] 도 2a 내지 2b를 참조하면, 상기 양자점-폴리머 복합체(10, 20)는 하나 이상의 양자점 및 하나 이상의 폴리머

리간드로 이루어진 3차원 자기 조립 구조(3D self-assembly structure)의 양자 비드를 포함한다.

- [0067] 구체적으로, 상기 양자 비드는 양자점과 폴리머 리간드의 친유성 부분에 의해 형성된 양자 비드의 코어부(11, 21)와 후술되는 폴리머 리간드의 친수성 부분(12, 22)을 포함한다. 이때, 이해의 편의를 위해 양자 비드 내에 포함되는 하나 이상의 양자점 및 양자점 표면에 배치된 표면 개질 리간드의 표시는 생략하였다.
- [0068] 예를 들어, 상기 양자 비드는 양자점과 폴리머 리간드의 친유성 부분에 의해 형성된 양자 비드의 코어부(11, 21)와 폴리머 리간드의 친수성 부분(12, 22)을 포함하는 셸부를 포함하는 코어-셸 구조일 수 있다.
- [0069] 예를 들어, 상기 양자점은 코어로서 인듐 인화물(InP)의 나노입자를 사용하고, 셸은 징크텔로리움(ZnTe), 징크설파이드(ZnS), 징크옥사이드(ZnO), 징크셀레나이드(ZnSe), 징크셀레늄설파이드(ZnSeS), 인듐갈륨나이트라이드(InGa₃N), 인듐갈륨포스파이드(InGaP), 인듐징크포스파이드(InZnP), 카파셀레늄텔로루임(CuSeTe), 카파인듐셀레늄(CuInSe₂), 카파인듐설파이드(CuInS₂), 실버인듐설파이드(AgInS₂), 및 틴텔로리움(SnTe) 중 하나 이상의 무기 입자를 포함할 수 있다. 상기 양자점은 카드뮴(Cd), 납(Pb)와 같이 독성을 갖는 것으로 알려진 원소를 포함하지 않음으로써, 생체 적합성을 가지므로 인체 질병 진단 키트의 재료로서 사용가능하다.
- [0070] 인듐 인화물(InP)은 본질적으로 수분, 산소 등의 외부환경에 쉽게 열화되는 문제점이 있을 뿐만 아니라, 이러한 InP의 불안정성을 보완하기 위한 표면처리 과정에서 광특성이 저하되는 한계점이 존재하였다. 따라서, 인듐 인화물계 양자점의 활용에 여러가지 제약이 따른다.
- [0071] InP의 불안정성을 보완하기 위한 노력으로 InP 코어 입자 표면에 셸을 적용한 코어-셸 양자점이 알려져 있다. 이러한 InP 양자점은 셸에 의한 InP의 저하가 억제되나, 셸의 두께가 증가하는 경우 격자 결함의 생성, 중간 결정 구조의 부정합에 따른 결함의 발생량 증가, 또는 코어 입자로부터 전환되어 방출된 광이 광 방출 경로에 존재하는 셸의 결정에 의한 광 산란 또는 광 차단 효과로 인해 광 효율 감소를 유발할 수 있으므로, 양자점의 제조에서 셸의 두께를 적절히 조절하는 것은 매우 중요한 작업이며, 일반적으로 셸의 두께가 증가하는 경우 광 효율이 감소한다고 알려져 있다.
- [0072] 이와 관련하여 통상적으로 입수가능한 InP 코어-셸 양자점의 셸 두께는 약 2 nm ± 0.5 nm이고, 이 정도의 셸 두께를 갖는 InP 양자점은 다른 양자점과 대등한 정도의 광 효율을 갖는 것으로 알려져 있다.
- [0073] 이러한 통상적인 InP 양자점은 본 발명에 따른 양자 비드를 형성하는 과정에서 본질적 불안정성에 기인한 결함이 발생될 뿐만 아니라, 폴리머 리간드와의 상호작용이 충분하지 못하여 양자점이 비드 내로 충분히 분산되지 못하여, 양자-비드의 광효율이 저하되는 문제점이 존재했다.
- [0074] 이에, 본 발명의 발명자는 이러한 문제점을 해결하기 위한 다양한 방법을 모색하는 과정에서, InP 양자점 셸의 두께를 3 nm 내지 9 nm로 구성하며, 양자점의 표면을 표면 개질 리간드, 예를 들어 하나 이상의 티올기를 포함하는 티올계 화합물 유래 리간드로 개질하는 경우, 인듐 인화물계 양자점이 양자 비드 내에 충분히 포함되고 분산되어, 면역 검출용 접합체 및 이를 포함하는 진단 키트에 적용하기에 충분한 발광 효율을 갖는 것을 발견하여 본 발명의 양자점-폴리머 복합체를 발명하기에 이르렀다.
- [0075] 일 실시예에 따르면, 상기 양자 비드는 하나 이상의 양자점을 포함하는데, 이때 상기 양자점이 둘 이상일 경우, 둘 이상의 양자점은 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0076] 또한, 상기 폴리머 리간드는 양자점과 상호작용하여 양자 비드의 중심부를 형성하는 친유성 부분(도면에 구체적으로 도시되지는 않음)과 수계 분산성에 도움을 주며, 진단 키트에 적용하기 위하여 사용되는 항체(13, 23)와의 결합에 사용되는 친수성 부분(12, 22)을 포함할 수 있다.
- [0077] 이때, 상기 폴리머 리간드는 랜덤 코폴리머(random copolymer), 블록 코폴리머(block copolymer), 그래프트 코폴리머(graft copolymer), 또는 이들의 조합일 수 있다. 여기서, 랜덤 코폴리머란 서로 다른 두 종류 이상의 단위체가 랜덤하게 나열되어 있는 형태의 코폴리머를 의미한다. 또한, 블록 코폴리머란 서로 다른 두 종류 이상의 고분자 사슬이 화학 결합을 통해 연결되어 있는 형태의 코폴리머를 의미한다.
- [0078] 도 3a는 폴리머 리간드의 일 실시예인 블록 코폴리머와 랜덤 코폴리머의 구조를 나타낸 모식도이고, 도 3b는 폴리머 리간드의 다른 실시예인 그래프트 코폴리머의 구조를 나타낸 모식도이다.
- [0079] 도 3a를 먼저 참조하면, 상기 블록 코폴리머는 친수성 단위체끼리 결합된 고분자 사슬과 친유성 단위체끼리 결합된 고분자 사슬이 연결된 형태이고, 상기 랜덤 코폴리머는 친수성 단위체와 친유성 단위체가 랜덤하게 배치되어 중합된 형태이다.

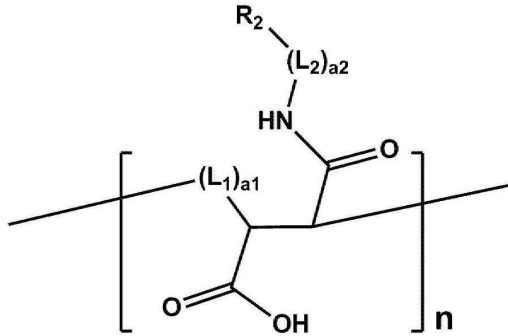
- [0080] 또한, 도 3b를 참조하면, 상기 그래프트 코폴리머는 기존에 형성되어 있는 폴리머에 다른 단위 모노머가 중합된 형태이다.
- [0081] 한편, 다시 도 2a 내지 2b를 참조하면, 상기 양자 비드는 양자점과 폴리머 리간드의 친유성 부분과의 소수성 상호작용(hydrophobic interaction)에 의해서 형성될 수 있으며, 양자점과 폴리머 리간드의 친유성 부분에 의해서 형성된 양자 비드의 코어부(11, 21) 표면으로 뻗어있는 폴리머 리간드의 친수성(hydrophilic) 부분(12, 22)에 의해서 수계 분산 및 항체와의 결합력이 확보된다.
- [0082] 일 구현예에 따르면, 상기 폴리머 리간드의 친유성 부분(구체적으로 도시되지 않음)은 상기 양자 비드의 중심 방향으로 배열되고, 상기 폴리머 리간드의 친수성 부분(12, 22)은 상기 양자 비드의 외부 방향으로 배열될 수 있다.
- [0083] 일 구현예에 따르면, 상기 폴리머 리간드의 친수성 부분(12, 22)은 침(needle) 형태(22) 또는 브러시(brush) 형태(12)일 수 있다.
- [0084] 여기서, "침 형태"는, 도 2b에 도시된 바와 같이 폴리머 리간드의 친수성 부분(22)이 대체적으로 짧고 단일 기능기(functional group)을 가진 형태를 의미하며, "브러시 형태"는, 도 2a에 도시된 바와 같이 폴리머 리간드의 친수성 부분(12)이 대체적으로 길고, 수 개 이상의 기능기를 가진 형태를 의미한다.
- [0085] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드의 친수성 부분은 특별히 한정되지는 않으나, 브러시 형태일 수 있다. 상기과 같이 폴리머 리간드의 친수성 부분이 브러시 형태일 경우, 침 형태일 때와 비교하여, 후술되는 바와 같이 항체가 결합할 때, 폴리머 리간드의 친수성 부분과 항체가 결합할 수 있는 표면적이 넓어지기 때문에 더 많은 양의 항체와 결합할 수 있다.
- [0086] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드는 특별히 한정되지는 않으나, 블록 코폴리머일 경우 브러시 형태일 수 있고, 랜덤 코폴리머와 그래프트 코폴리머일 경우, 침 형태일 수 있다.
- [0087] 구체적으로, 도 2a 내지 2b를 참조하면, 항체(13, 23)의 함량을 늘릴 때의(좌측에서 우측으로 갈수록 항체 함량 증가함), 각각의 양자점-폴리머 복합체(10, 20) 중의 항체(13, 23)의 결합 형태를 확인할 수 있다. 브러시 형태의 폴리머 리간드의 친수성 부분(12)을 포함하는 도 2a의 양자점-폴리머 복합체(10)의 경우, 항체(13)의 함량을 늘리더라도, 전술한 바와 같이 폴리머 리간드의 친수성 부분(12)과 항체(13)가 결합할 수 있는 표면적이 넓기 때문에, 항체(13)들이 폴리머 리간드의 친수성 부분(12)의 표면에 잘 결합한다.
- [0088] 반면에, 침 형태의 폴리머 리간드의 친수성 부분(22)을 포함하는 도 2b의 양자점-폴리머 복합체(20)의 경우, 항체(23)의 함량을 늘릴 경우, 폴리머 리간드의 친수성 부분(22)과 항체(23)가 결합할 수 있는 표면적이 충분하지 않기 때문에, 항체(23)들이 폴리머 리간드의 친수성 부분(22)의 표면이 아닌, 항체(23)들끼리 응집하기 때문에, 항체 결합 효율이 브러시 형태의 폴리머 리간드의 친수성 부분에 비해 다소 떨어질 수 있다.
- [0089] 또한, 도 2c를 참조하면, LFA 시스템에 본 발명의 양자점-폴리머 리간드 복합체를 적용할 경우, 폴리머 리간드의 친수성 부분이 브러시 형태인 경우(상단)가 폴리머 리간드의 친수성 부분이 침 형태인 경우(하단)에 비해, 항원(31)이 항체(13, 23)에 보다 많이 결합함을 확인할 수 있다.
- [0090] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드는 말단부에 아민 그룹, 아미드 그룹, 하이드록시 그룹, 말레이미드 그룹, 티올 그룹, 및 카르복실산 그룹 중 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0091] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드는 폴리스티렌, 폴리올레핀, 폴리비닐아세탈, 폴리에스테르, 폴리케톤, 폴리에테르, 폴리비닐피리딘, 폴리카보네이트, 폴리다이엔, 폴리아크릴산, 폴리아마이드, 및 폴리이미드; 이들의 랜덤 코폴리머, 및 블록 코폴리머; 폴리무수말레인산 그룹을 포함하는 폴리머; 및 폴리무수말레인산 그룹과 알킬아민으로 이루어진 그래프트 코폴리머 중에서 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0092] 예를 들어, 상기 폴리무수말레인산 그룹을 포함하는 폴리머는 및 블록 코폴리머; 폴리무수말레인산 그룹을 포함하는 폴리머; 및 폴리무수말레인산 그룹과 알킬아민으로 이루어진 그래프트 코폴리머 중에서 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0093] 예를 들어, 상기 폴리무수말레인산 그룹을 포함하는 폴리머는 하기 화학식 1로 표시되고, 상기 폴리무수말레인산 그룹과 알킬아민으로 이루어진 그래프트 코폴리머는 하기 화학식 1A 또는 1B로 표시될 수 있다:

[0094] <화학식 1>



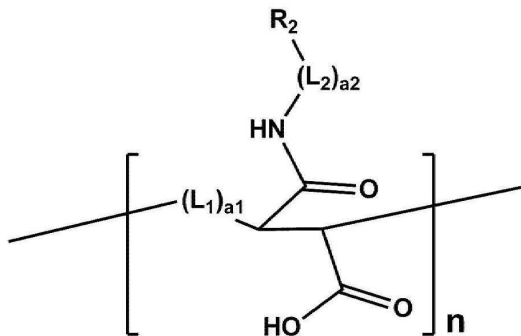
[0095]

[0096] <화학식 1A>



[0097]

[0098] <화학식 1B>



[0099]

[0100] 화학식 1, 1A 및 1B 중,

[0101] L_1 및 L_2 는 서로 독립적으로, C_1 - C_{20} 알킬렌기; 및 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 시아노기, 니트로기, C_1 - C_{10} 알킬기, C_6 - C_{20} 아릴기, 및 C_1 - C_{10} 알콕시기 중 선택된 하나 이상으로 치환된 C_1 - C_{20} 알킬렌기 중에서 선택되고,

[0102] a_1 은 1 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

[0103] a_2 는 0 내지 5 중에서 선택된 정수이고,

[0104] R_2 는 C_1 - C_{20} 알킬기; 및 중수소, -F, -Cl, -Br, -I, 시아노기, 니트로기, C_1 - C_{10} 알킬기, C_6 - C_{20} 아릴기, 및 C_1 - C_{10} 알콕시기 중 선택된 하나 이상으로 치환된 C_1 - C_{20} 알킬기 중에서 선택되고,

[0105] n 은 1 이상 1000 이하이다.

[0106] 예를 들어, 상기 화학식 1A 및 1B 중,

[0107] L_1 및 L_2 는 서로 독립적으로, 메틸렌기, 에틸렌기, 프로필렌기, 이소프로필렌기, 부틸렌기, 이소부틸렌기, 펜틸렌기, 헥실렌기, 헵틸렌기, 옥틸렌기, 노닐렌, 및 데실렌; 및 메틸기, 에틸기, 프로필기, 부틸기, 펜틸기, 헥실기, 페닐기, 메톡시기, 및 에톡시기 중에서 선택된 하나 이상으로 치환된, 메틸렌기, 에틸렌기, 프로필렌기, 이소프로필렌기, 부틸렌기, 이소부틸렌기, 펜틸렌기, 헥실렌기, 헵틸렌기, 옥틸렌기, 노닐렌, 및 데실렌 중에서 선택될 수 있다.

[0108] 예를 들어, 상기 화학식 1A 및 1B 중,

- [0109] R₂는 메틸기, 에틸기, 프로필기, 이소프로필기, 부틸기, 이소부틸기, 펜틸기, 헥실기, 헵틸기, 옥틸기, 노닐기, 및 데실기 중에서 선택될 수 있다.
- [0110] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드는 알킬렌무수말레인산 모노머와 알킬아민 모노머의 랜덤 코폴리머일 수 있다.
- [0111] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드는 폴리알킬렌무수말레인산 폴리머와 알킬아민 모노머의 그래프트 코폴리머일 수 있다.
- [0112] 예를 들어, 상기 폴리머 리간드는 폴리이소부티렌무수말레인산 (poly(isobutylene-alt-maleic anhydride))-헥사 데실아민 그래프트 코폴리머일 수 있다.
- [0113] 이때, 상기 폴리머 리간드가 둘 이상일 경우, 둘 이상의 폴리머 리간드(12, 22)는 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0114] 일 구현예에 따르면, 상기 양자 비드의 유체 역학적 직경(Hydrodynamic Diameter: HD)은 50 내지 1000 nm일 수 있다.
- [0115] 이때, 상기 범위를 벗어나, 상기 양자 비드의 유체 역학적 직경이 50 nm 미만일 경우에는, 내부에 포함된 양자 점의 개수가 적어 발광 세기가 약한 문제점이 있으며, 반면에 상기 양자 비드의 유체 역학적 직경이 1000 nm를 초과할 경우에는, 입자의 분산성이 떨어지는 문제점이 있다.
- [0116] 상기 양자 비드의 발광 파장은 450~700nm인 것이 바람직하지만, 이에 한정하는 것은 아니다.
- [0117] 일 구현예에 따르면, 상기 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체는 제1 및 제2 펩티드 태그간 이소펩티드 결합(isopeptide bond)을 통해 상기 양자점-폴리머 복합체의 표면에 접합되는 것일 수 있다.
- [0118] 예를 들어, 상기 제1 및 제2 펩티드 태그는 SpyTag 및 SpyCatcher 쌍; SnoopTag 또는 SnoopTagJr 및 SnoopCatcher 쌍; RrgATag, RrgATag2 또는 DogTag 및 RrgACatcher 쌍, IsopepTag Pilin-C 쌍; IsopepTag-N 및 Pilin-N 쌍; PsCsTag 및 PsCsCatcher 쌍; 및 SnoopLigase에 의해 매개된 SnoopTagJr 및 DogTag 쌍 중 어느 하나일 수 있으며, 바람직하게, 제1 및 제2 펩티드 태그는 SpyTag 및 SpyCatcher 쌍일 수 있다.
- [0119] 구체적으로, 도 7을 참조하면, 상기 제1 태그는 양자점-폴리머 복합체의 표면에 접합되고, 상기 제2 태그는 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체와 접합되는 것일 수 있다. 이를 위하여, 상기 제1 태그는 말단 영역에 적어도 1 이상의 시스테인(Cys)을 포함할 수 있고(SC-Cys), 상기 제2 태그는 말단 영역에 상기 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체의 FC 영역과 결합하는 분자를 포함할 수 있다(ST-Nb). 상기 항체의 FC 영역과 결합하는 분자는, 타겟 검체와는 결합을 형성하지 않되, 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 항체의 FC 영역에 특이적인 결합을 형성함으로써, 항체의 Fab 영역이 외부로 노출되도록 하는 기능성을 부여할 수 있다. 상기 분자로는 예를 들어, 전술한 특이적인 결합을 갖는 또 다른 항체 또는 이의 단편들이 적용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0120] 여기서, 상기 제1 태그의 말단 영역은 제2 태그와 결합을 형성하는 영역을 제외한 영역으로서, 양자점-폴리머 복합체 내 표면 개질 리간드와 접합, 구체적으로, 표면 개질 리간드의 티올기와 이황화 결합을 형성하는 것일 수 있다. 또한, 상기 제2 태그의 말단 영역은 제1 태그와 결합을 형성하는 영역을 제외한 영역으로서, 항체의 FC 영역과 결합하는 분자를 포함함으로써, Y 자형 구조를 갖는 항체를 양자점-폴리머 복합체 표면에 보다 조밀하게 접합시킬 수 있을 뿐만 아니라, Fab 영역이 외부로 노출되도록 항체의 배향을 조절할 수 있다. 이러한 양자점-폴리머 복합체와 항체간 접합 구조는 궁극적으로 타겟 검체에 대한 검출 감도를 향상시키는데 기여할 수 있다.
- [0122] 다른 한 측면에 따르면, 상기 면역 검출용 접합체를 포함하는, 타겟 검체의 검출용 키트가 제공된다.
- [0123] 타겟 검체의 검출용 키트에 언급된 용어 또는 요소 중 면역 검출용 접합체에 대한 설명에서 언급된 것과 동일한 것은, 상기한 바와 같다.
- [0124] 상기 타겟 검체의 검출용 키트는, 타겟 검체의 기능 및 용도에 따라, 용어, "진단 키트", "판별 키트", "검정 키트"와 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 상기 타겟 검체의 검출용 키트는, 타겟 검체의 검출 및 이의 표지로서 상기 면역 검출용 접합체를 일 구성 요소로 포함한다면, 당업계 공지의 기술적 구성을 채용하여 그 형태를 변형하여 사용할 수 있다.
- [0125] 일 구현예에 따르면, 상기 타겟 검체의 검출용 키트는 항원-항체 시스템에 적용 가능한 항원을 검출하기 위한

것으로서, 상기 항원에 기반한 체외 진단용 키트일 수 있다. 예를 들어, 상기 체외 진단용 키트는 다양한 질병(암, 심장병, COVID-19, 말라리아 등 감염병)의 조기 진단을 위한 것일 수 있다.

[0126] 일 구현예에 따르면, 상기 타겟 검체의 검출용 키트(220)는 측방 유동 분석용(Lateral flow assay, LFA) 스트립의 형태로 구현될 수 있다.

[0127] 예를 들어, 상기 측방 유동 분석용 스트립(220)은 상기 면역 검출용 접합체를 포함하는 접합 패드(222); 및 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 제2 항체가 고정된 테스트 영역(231), 및 상기 타겟 검체에는 특이적으로 결합하지 않으나 상기 면역 검출용 접합체 내 타겟 검체와 특이적으로 결합하는 제1 항체와 결합하는 제3 항체가 고정된 대조 영역(232)을 포함하는 검출부(230);를 포함할 수 있다,

[0128] 예를 들어, 도 9를 참조하면, 상기 측방 유동 분석용 스트립(220)은 흡수성 샘플 패드(221), 접합 패드(222), 및 검출부(230)를 포함할 수 있다. 상기 흡수성 샘플 패드(221)는 시료(검액)가 흡수될 수 있는 것으로, 상기 흡수성 샘플 패드(221)는 시료가 잘 흡수될 수 있도록 건조하여 제조될 수 있다. 상기 접합 패드(222)는 상기 흡수성 샘플 패드(221) 하단 또는 인접한 면에 위치하는 것으로, 타겟 검체와 반응하는 면역 검출용 접합체를 포함할 수 있다. 상기 흡수성 샘플 패드(221)에서 흡수된 시료는 상기 접합 패드(222)로 이동되며, 상기 시료에 타겟 검체가 있으면, 상기 접합 패드(222) 내 면역 검출용 접합체의 반응, 구체적으로 항원-항체 반응을 통해 면역 복합체를 형성하게 된다. 상기 검출부(230)는 상기 형성된 면역 복합체와 결합할 수 있는 물질이 코팅되어 있는 테스트 영역 또는 테스트 선(231)과 대조군에 사용되는 원료 물질이 코팅되어 있는 대조 영역 또는 대조 선(232)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 대조선(232)은 가시성(눈에 보이는) 밴드로 이루어질 수 있으며, 상기 테스트 선(231)은 반응에 의해 가시성(눈에 보이는) 밴드로 변화될 수 있는 것일 수 있다. 상기 검출부(230)는 멤브레인으로도 지칭될 수 있으며, 재질은 나이트로 셀룰로오스로 이루어지는 것일 수 있으나, 필요에 따라 다른 재질이 사용될 수도 있다.

[0129] 예를 들어, 도 10을 참조하면, 상기 검출부(230)의 테스트 선(231)에서, 테스트 선에 고정된 제2 항체는 [타겟 검체(항원)-제1 항체를 포함하는 면역 검출용 접합체]와 결합을 형성할 있다. 또한, 상기 검출부(230)의 대조 선(231)에서, 대조선에 고정된 제3 항체는 상기 접합 패드(222)에서 면역 복합체를 형성하지 못한 잔여 면역 검출용 접합체와 결합을 형성할 수 있다. 따라서, 진술한 면역 검출용 접합체 기반의 항원-항체 반응을 통해 타겟 검체의 유무를 확인할 수 있을 뿐만 아니라, 필요에 따라, 타겟 검체의 수준을 정량적으로 평가할 수 있다.

[0130] 예를 들어, 상기 측방 유동 분석용 스트립(220)에서, 상기 흡수성 샘플 패드(221), 접합 패드(222), 및 검출부(230)는 순차적으로 일단부터 타단 방향으로 배치되는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 흡수성 샘플 패드(221), 상기 접합 패드(222), 및 상기 검출부(230)는, 일측에서부터 상기 흡수성 샘플 패드(221), 상기 접합 패드(222), 상기 검출부(230)가 중첩 또는 근접하도록 결합되도록 배치할 수 있다.

[0131] 예를 들어, 상기 측방 유동 분석용 스트립(220)은 상기 접합 패드(222)와 상기 검출부(230)에서 반응하지 않은 시료를 흡수할 수 있는 흡습 패드(223)를 더 포함할 수 있다. 상기 흡습 패드(223)는 상기 검출부(230)에 구비된 대조선과 근접한 영역에서 접촉되면서 상기 접합 패드(222)와 상기 검출부(230)에서 반응하지 않은 시료를 흡수할 수 있다. 상기 흡습 패드(223)는 셀룰로오스 소재로 이루어질 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 상기 흡습 패드(223)는 시료가 잘 흡수될 수 있도록 건조하여 제조될 수 있다.

[0133] 다른 한 측면에 따르면, 상기 면역 검출용 접합체와 타겟 검체를 포함하는 샘플을 접촉시키는 단계를 포함하는, 타겟 검체를 검출하는 방법이 제공된다.

[0134] 타겟 검체를 검출하는 방법에 언급된 용어 또는 요소 중 면역 검출용 접합체, 또는 타겟 검체의 검출용 키트에 대한 설명에서 언급된 것과 동일한 것은, 상기한 바와 같다.

[0135] 본 명세서에서 용어, “샘플”은 검출하고자 하는 타겟 검체를 함유할 수 있는 한, 특별히 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 상기 샘플은 생물학적 샘플, 예를 들면 생물학적 유체(fluid) 또는 생물학적 조직일 수 있다. 생물학적 유체의 예로서, 뇨, 혈액(전혈), 혈장, 혈청, 타액, 정액, 대변, 가래, 뇌척수액, 눈물, 점액, 양수 등을 들 수 있다. 생물학적 조직은 세포의 집괴로서, 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.

[0136] 본 명세서에서 용어, “접촉”은 2개의 물질간의 직접적인 접촉을 의미하기는 하나, 광의로는 구성 요소와 액체 흐름 간의 접촉이 이루어지는 한, 임의의 추가 구성 요소가 개재될 수 있는 것으로 이해될 수 있다.

[0138] 이하의 합성에 및 평가예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 단, 합성예는 본 발명을 예시하기 위한 것이지 이들만으로 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

[0140] I. 양자점-폴리머 복합체의 합성 및 특성 평가

[0141] 합성예 1(일반 셸 두께를 갖는 InP QD의 합성)

[0142] InP 0.8 mmol, 1.6 ml의 트리옥틸포스핀(Trioctylphosphine), 3.6 mmol의 아연(Zinc oleate가 트리옥틸아민(TOA)에 용해된 용액 5.97 ml), 0.5 mmol의 셀레늄(셀레늄이 트리옥틸포스핀에 용해된 용액 0.25 ml)을 3-neck flask에 넣고 진공 펌프를 통해 탈기(Degassing)을 진행하였다.

[0143] 이후, 아르곤으로 퍼징한 후 아르곤 가스 분위기에서 180℃로 승온 하였으며, 부피 비 1:1의 불화수소산-트리옥틸아민(Hydrofluoric acid-Trioctylamine) 혼합 용액 0.15 ml를 주입하여 30분간 반응을 진행하였다.

[0144] 이후 340℃로 승온하여 1.4 mmol의 아연 (Zinc oleate가 트리옥틸아민에 용해된 용액 2.33 ml)를 한 번, 0.5 mmol의 셀레늄 (셀레늄이 트리옥틸포스핀에 용해된 용액 0.25 ml)을 한 번 주입하여 ZnSe 셸을 형성하고, ZnS 셸 형성을 위해 320℃로 온도를 낮춰 1.2 mmol의 아연(Zinc oleate가 트리옥틸아민에 용해된 용액 2.0 ml)와 0.25 mmol의 황(황이 트리옥틸포스핀에 용해된 용액 0.125 ml)를 번갈아 가며 각각 한 번, 두 번 주입한 후 합성을 종료하였다.

[0145] 상기 양자점의 TEM 이미지를 도 4a에 나타내었고, 상기 양자점의 크기에서 InP 나노입자의 직경(3nm)을 고려하여 셸 두께를 계산하였으며, 셸의 두께는 약 2.2 nm 임을 확인했다.

[0147] 합성예 2(두꺼운 셸을 갖는 InP QDs의 합성)

[0148] InP 0.8 mmol 및 1.6 ml의 트리옥틸포스핀(Trioctylphosphine)과 3.6 mmol의 아연(Zinc oleate가 트리옥틸아민에 용해된 용액 5.97 ml), 0.5 mmol의 셀레늄(셀레늄이 트리옥틸포스핀에 용해된 용액 0.25 ml)을 3-neck flask에 넣고 진공 펌프를 통해 탈기(Degassing)을 진행하였다.

[0149] 이후, 아르곤으로 퍼징한 후 아르곤 가스 분위기에서 180℃로 승온 하였으며, 부피 비 1:1의 불화수소산-트리옥틸아민 (Hydrofluoric acid-Trioctylamine) 혼합 용액 0.15 ml를 주입하여 30분간 반응을 진행하였다.

[0150] 이후 340℃로 승온하여 1.4 mmol의 아연(Zinc oleate가 트리옥틸아민에 용해된 용액 2.33 ml)을 1회, 0.5 mmol의 셀레늄 (셀레늄이 트리옥틸포스핀에 용해된 용액 0.25 ml)을 2회 주입하여 두꺼운 ZnSe 셸을 형성하고, ZnS 셸 형성을 위해 320℃로 온도를 낮춰 1.2 mmol의 아연(Zinc oleate가 트리옥틸아민에 용해된 용액 2.0 ml)과 0.25 mmol의 황(황이 트리옥틸포스핀에 용해된 용액 0.125 ml)을 번갈아 가며 각각 두 번과 여덟 번 주입하였다.

[0151] 이후 0.5 mmol의 황(황이 트리옥틸포스핀에 용해된 용액 0.25 ml)을 한 번 더 주입하고 260℃에서 반응을 1시간 유지하였으며, 온도를 180℃로 낮춰 1-도데칸티올(1-Dodecanethiol) 0.15 ml를 주입하여 양자점 표면에 리간드를 추가하고 합성을 종료하였다.

[0152] 상기 양자점의 TEM 이미지를 도 4b에 나타내었고, 상기 양자점의 크기에서 InP 나노입자의 직경(3nm)을 고려하여 셸 두께를 계산하였으며, 셸의 두께는 약 3.75 nm 임을 확인했다.

[0154] (양자-비드의 제조)

[0155] 실시예 1

[0156] 합성예 2에서 합성된 양자점 (0.6 mg)과 폴리스티렌-폴리아크릴산 블록 코폴리머 (4 mg) (폴리머 리간드)를 테트라하이드로퓨렌(tetrahydrofuran) (1 ml)에 분산시킨 뒤 교반한 상태에서 물 (1 ml)을 첨가해준 뒤 이를 정제

하여, 양자 비드를 제조하였다.

[0158] 비교예 1

[0159] 합성예 1에서 합성된 양자점 (0.6 mg)과 폴리스티렌-폴리아크릴산 블록 코폴리머 (4 mg) (폴리머 리간드)를 테트라하이드로퓨렌(tetrahydrofuran) (1 ml)에 분산시킨 뒤 교반한 상태에서 물 (1 ml)을 첨가해준 뒤 이를 정제하여, 양자 비드를 제조하였다

[0161] 평가예 1(양자-비드 내 양자점 분산성 확인)

[0162] 실시예 1 및 비교예 1에서 제조한 양자-비드의 TEM 이미지를 얻어서 각각 도 5a 및 5b에 나타내었다.

[0163] 도 5a 및 5b에서 확인한 바와 같이, 실시예 1의 양자-비드는 비교예 1의 양자-비드에 비해 더 많은 양의 양자점이 균일하게 분산되어 있음을 확인하였다. 이는 실시예 1에서 사용한 셸이 두꺼운 양자점이 양자-비드 형성 과정에서 폴리머와의 상호작용이 우수할 뿐만 아니라 용매에 대한 양자점의 안정성이 비교예 1에서 사용한 셸이 얇은 양자점에 비해 우수하다는 점을 증명한다.

[0165] 평가예 2(양자-비드의 상변화 안정성 확인)

[0166] 실시예 1 및 비교예 1에서 제조한 양자-비드의 상변화 안정성을 확인하기 위하여, 합성예 1 및 2에서 얻은 양자점 및 실시예 1 및 비교예 1에서 얻은 양자-비드 각각을 헥산/물의 혼합물이 포함된 시험관 내에 각각 첨가하였다.

[0167] 이어서, 시험관에 UV 광을 조사하여 양자점으로부터의 방출광을 각각 측정하여 합성예 2의 양자점의 광 효율 대비 실시예 1 및 2의 양자-비드의 광효율을 계산하여 그래프로 나타내었고, 시험관을 육안으로 관찰하였다.

[0168] 각 시험관의 사진은 도 6a에서 확인이 가능하며, 광 효율 그래프는 도 6b에서 확인이 가능하다.

[0170] 도 6a 및 도 6b에서 보는 바와 같이, 얇은 셸 두께를 갖는 InP 양자점을 양자-비드로 제조하는 경우 수성으로 상 전환이 성공적으로 이루어졌으나, 발광 효율이 현저히 감소하였음을 확인할 수 있다. 이는 얇은 셸 두께로 인해 양자-비드로 개질되는 과정에서 InP 양자점이 열화되고, 비드 내에 충분히 분산되지 못했기 때문이다.

[0172] II. 면역 검출용 접합체의 제조 및 이의 기능성 평가

[0173] 본 실시예에서는 상기 제조된 양자-비드를 이용하여, 상기 양자-비드의 표면에 항체가 접합된 면역 검출용 접합체를 제조하고, 이의 기능성을 평가하였다. 구체적으로, 항체의 Fab 영역이 외부로 노출되도록 항체의 배향이 조절된 면역 검출용 접합체를 제조하였으며, 상기 면역 검출용 접합체를 포함하는 측방 유동 분석용 스트림의 검출 효능을 평가하였다.

[0175] 실시예 2. 면역 검출용 접합체의 제조 및 기능성 평가

[0176] (2.1) 면역 검출용 접합체의 제조

[0177] 타겟 물질의 검출에 사용되는 항체는 공유 결합 커플링 방법에 의해 상기 실시예 1에서 제조된 양자-비드(QB)의 표면에 접합되었다. 구체적으로, 수용성 양자-비드 (0.1mg), EDC (59.94 μ g) 및 sulfo-NHS (135.80 μ g)를 200 μ L의 MES 완충액 (0.01M, pH 6.0)에 혼합하였으며, 이때, EDC와 sulfo-NHS의 몰비는 1: 2로 조절하였다. 뒤이어, 상기 혼합물을 열혼합기 (25 $^{\circ}$ C, 300rpm)에서 30분 동안 활성화시킨 후, 상기 양자 비드를 원심분리로 분리하고, 200 μ L의 PBS(0.01M, pH 8.0)에 재분산시켰다. 이후, 상기 양자-비드에 anti-hCG mAb1 (25 μ g)를 첨가하고, 3시간 동안 혼합하였다. 합성된 면역 검출용 접합체를 원심분리 (13,000rpm, 10분)로 정제하고 200 μ L의 차단 완충액(0.1%(w/v) Tween-20 및 3%(w/v) BSA를 함유하는 1x PBS)을 첨가한 뒤, 30분 동안 반응시켜, 양자-비드 표면에서의 추가적인 반응을 차단하였다. 반응이 차단된 면역 검출용 접합체를 원심분리하고 (13,000rpm,

10분), 상층액을 버린 후, 펠릿화된 면역 검출용 접합체를 100 μ L의 상기 차단 완충액에 재현탁시켰다.

[0179] (2.2) 항체의 배향이 조절된 면역 검출용 접합체의 제조

[0180] Fab 영역이 외부로 노출되도록 항체의 배향이 조절된 면역 검출용 접합체는 도 7에 도시한 바와 같이, 전술한 면역 검출용 접합체의 합성 과정을 채용하되, Fc 영역-특이적으로 결합하는 나노바디 (Nb)를 도입하는 단계를 추가하는 방식으로 제조되었다. 상기 Fc 영역-특이적으로 결합하는 나노바디로서, IgG1 항체의 FC 영역을 특이적으로 포획/결합하도록 설계된, 낙타과-유래 단일의 단량체 가변적인 항체 도메인(a single monomeric variable Ab domain)을 사용하였다. 구체적으로, 실시예 1로부터 제조된 양자-비드 (QB), EDC (59.94 μ g), sulfo-NHS (135.80 μ g) 및 AEM (276.11 μ g)를 200 μ L의 1x PBS(0.01M, pH 7.4)에 혼합하였다. 활성화 후 1시간 후, 혼합물을 원심분리 (13,000rpm, 10분)하여 잔여 반응 시약을 제거 하였다. 펠릿화된 양자-비드에 나노 바디의 코팅을 수행하기 위하여 SC-Cys (SpyCatcher-Cys, 43.48 μ g) 및 ST-Nb (SpyTag-Nb, 52.21 μ g)를 순차적으로 첨가하였다. 12시간 동안 반응시킨 후, 상기 Nb로 코팅된 양자-비드를 원심분리 (13,000 rpm, 10분)하고 세척한 뒤, 200 μ L의 1x PBS (pH 7.4)에 재분산시켰다. 이후, 최종적인 접합을 위해 anti-hCG mAb1을 첨가하였으며, 후속 단계는 상기 실시예 (2.1)과 동일한 방식으로 진행하였다.

[0182] (2.3) 양자 비드에 접합된 항체의 정량화 및 Fab 영역 접근성 평가

[0183] 양자-비드에 접합된 항체의 수는 ma (항체의 첨가량)와 mr (활성화된 양자-비드에 항체를 첨가한 후 상층액에 남아 있는 항체의 양) 간의 차이로 산출되었다. mr은 항체의 농도와 총 부피를 곱하여 산출하였다. BCA 분석은 항체의 농도를 계산하는데 사용되었으며, BCA 보정 곡선은 60°C에서 30분 동안 배양한 후 562 nm의 BSA 단백질 표준물질 (0-200 μ g mL⁻¹)에서 흡광도를 측정하여 결정하였다. 또한, Fab 영역에 대한 접근성, 즉, 외부로의 노출 정도를 평가하기 위하여, 차단 완충액 내 면역 검출용 접합체 (QB-mAb1, 50 μ L)와 1x PBS(0.01M, pH 7.4) 내 anti-mouse Fab 영역 염소 항체-Alexa 647(50 μ L)을 혼합하고 1시간 동안 결합되도록 한 다음 원심분리 (13,000rpm, 10분)하였다. 접근 가능한 Fab 영역의 수로 간주되는, 상층액 내 항마우스 Fab 영역 염소 Ab-Alexa 647의 첨가량과 잔류량의 차이는 652 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다.

[0185] 그 결과, 도 8a에서 보는 바와 같이, 일 실시예에 따른 면역 검출용 접합체가 성공적으로 합성되었음을 알 수 있었으며, 특히, 실시예 (2.2) 면역 검출용 접합체의 경우, Y 자형 구조를 갖는 항체의 접합되는 배향을 조절함으로써, 보다 조밀하게 항체를 양자-비드의 표면에 접합시킬 수 있음을 확인하였다. 또한, 도 8b 및 도 8c에서 보는 바와 같이, 항체의 배향이 조절된 실시예 (2.2)의 면역 검출용 접합체는 실시예 (2.1)의 면역 검출용 접합체에 비해 접근 가능한 Fab 영역/QB 값 및 Fab 영역에 대한 접근률(%)이 약 5배 가량 높게 확인되었다.

[0186] 상기의 결과는 실시예 (2.2)에 언급된 순차적인 화학적 접합 및 혼합 과정을 통하여, 항체의 배향(QB-SC-ST-Nb-mAb1)이 조절된 면역 검출용 접합체를 성공적으로 제조할 수 있고, 이를 통해 검출 효능을 향상시킬 수 있음을 시사하는 것이다.

[0188] 실시예 3. 측방 유동 분석용 스트립의 타겟 검체 대한 검출 효능 평가

[0189] 본 실시예에서는 상기 배향이 조절된 면역 검출용 접합체를 사용하여, 타겟 검체로서 SARS-coV-2 NP를 검출하는 측방 유동 분석용 스트립을 제조하였다. 이를 위하여, 멤브레인(Nupore), 샘플 패드(Milipore), 접합 패드(Boreda biotech), 흡수 패드(Boreda biotech), 라미네이트 카드(Boreda biotech)를 각각 입수하였다. 이후, 30 cm 길이의 라미네이트 카드에 멤브레인을 부착시키고, 테스트 선(농도 1.5 mg/mL), 대조 선(농도 0.5 mg/mL)을 멤브레인 상에 형성시킨 후, 이를 37°C 에서 2시간 동안 건조시켰다. 이후, 건조된 멤브레인을 블로킹 버퍼 (2% BSA 를 함유하는 1XPBS)에 20분간 침지시킨 뒤, 상기 블로킹된 멤브레인을 세척액 (0.05 % 소듐 도데실 설페이트를 함유하는 1XPBS)에 다시 30 분 동안 침지시켰다. 세척된 멤브레인은 37°C의 오븐에서 2시간 동안 건조시킨 후, 여기에 미리 준비된 샘플 패드, 접합 패드, 흡수 패드를 부착시킨 뒤, 이들을 각각 4 mm 크기로 잘라주었다. 한편, 상기 접합 패드는 1.2 μ L의 상기 면역 검출용 접합체와 10.8 μ L의 희석 완충액(0.1% Tween-20, 1% BSA 및 10% 수크로스를 함유하는 1x PBS)의 혼합물을 접합 패드에 분주한 뒤, 실온의 진공 오븐에서 30

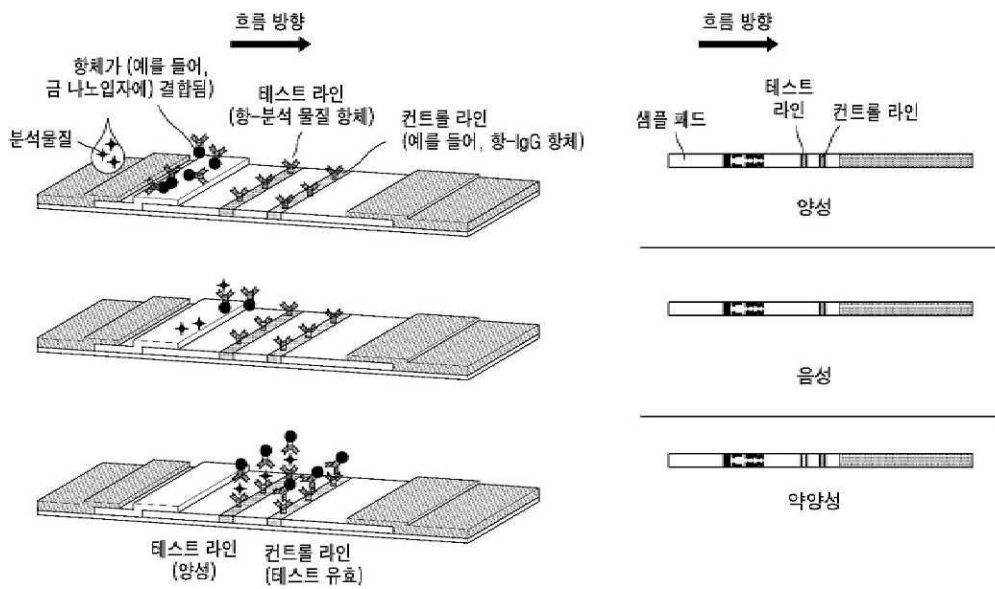
분 동안 건조시키는 방식으로 제조하였다.

[0190] 이후, SARS-CoV-2 NP 저장용 용액을 1X PBS로 희석하여 제조한 80 μ L의 샘플 용액을 제작된 측방 유동 분석용 스트립의 샘플 패드에 떨어뜨리고, 모세관 작용에 의해 멤브레인을 통과하도록 하였다. 상기 샘플 용액 내 SARS-CoV-2 NP의 농도는 각각 200ng/ml, 20ng/ml, 2ng/ml, 200pg/ml, 100pg/ml, 50pg/ml, 및 20pg/ml으로 조정하였다. 모든 용액은 20분 이내에 흡수 패드에 흡수되었으며, 그 결과는 휴대용 UV 램프 (UVITec LF-206. LS) 및 Samsung Galaxy S20 스마트폰을 사용하여 측정 및 기록하였다. 이후, 이미지를 스캔하고 AXIO ZOOM 실체 현미경 (Zeiss)으로 형광 강도를 측정하여 정량적인 분석을 실시하였다.

[0192] 그 결과, 도 11에서 보는 바와 같이, 일 실시예에 따른 면역 검출용 접합체를 포함하는 측방 유동 분석용 스트립은 50 pg/mL 수준의 타겟 검체를 포함하는 샘플에서도 유효한 검출 효능이 발휘될 수 있음을 보여 주었다.

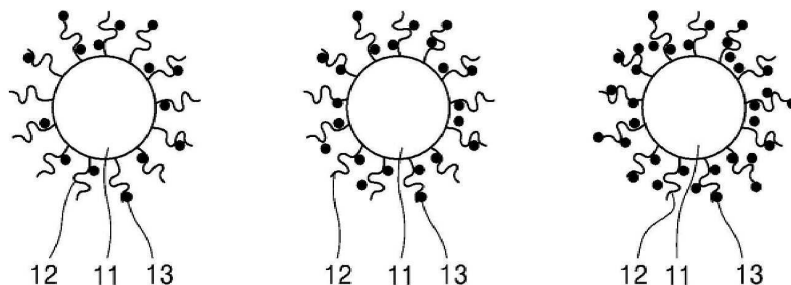
도면

도면1



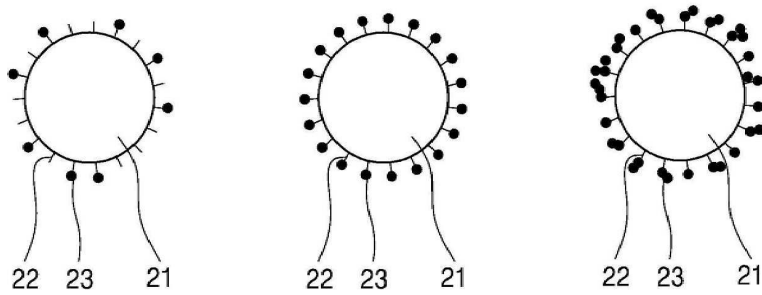
도면2a

10

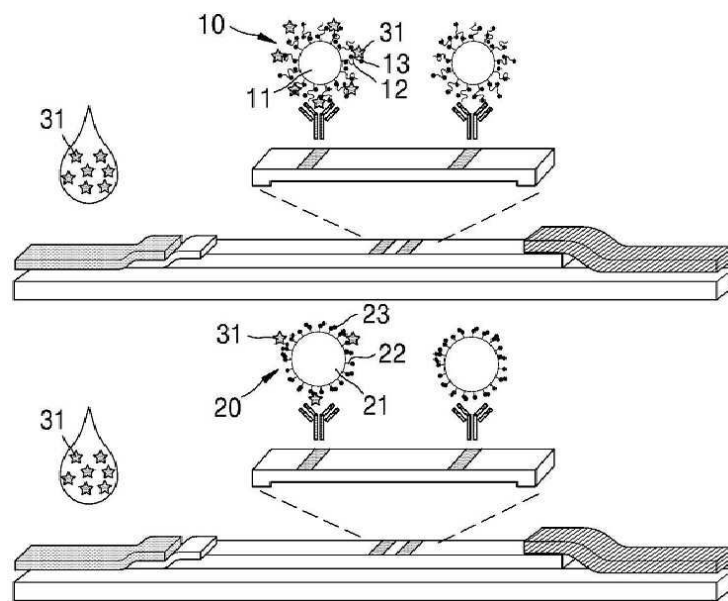


도면2b

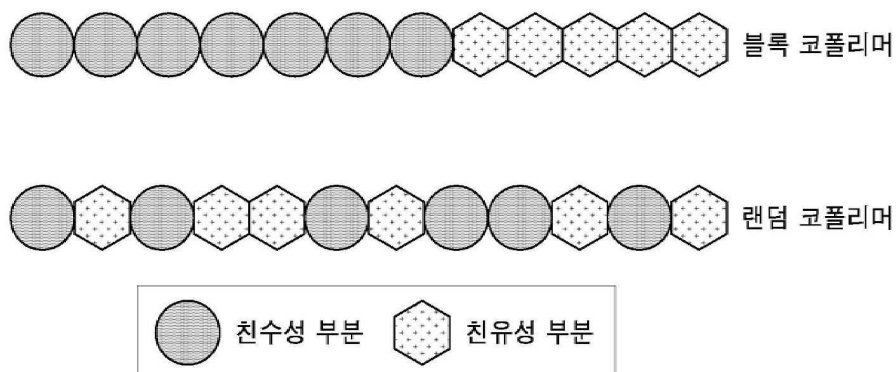
20



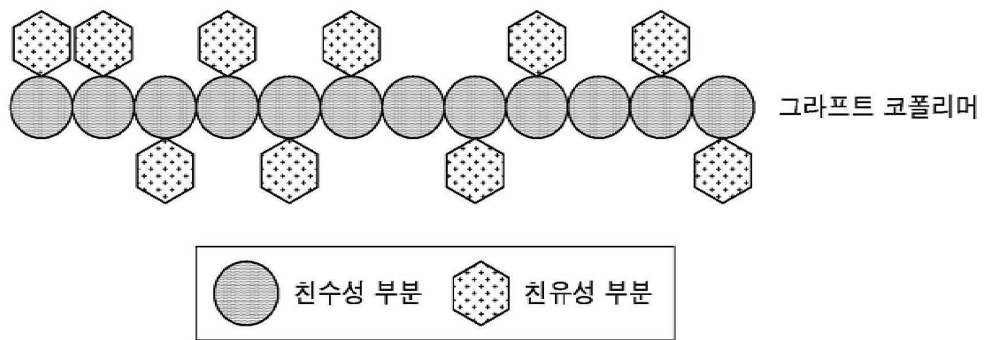
도면2c



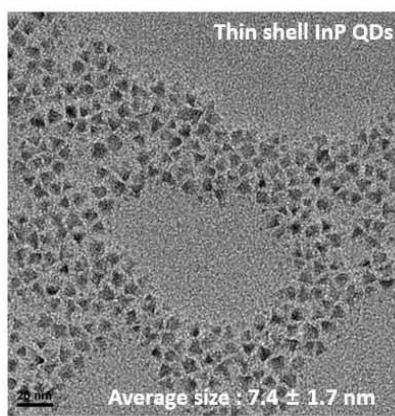
도면3a



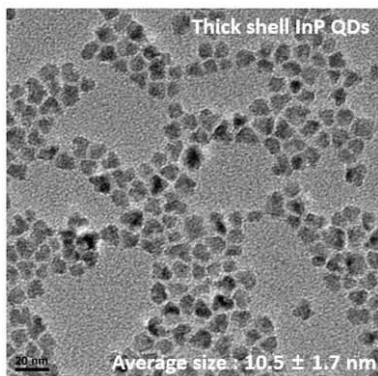
도면3b



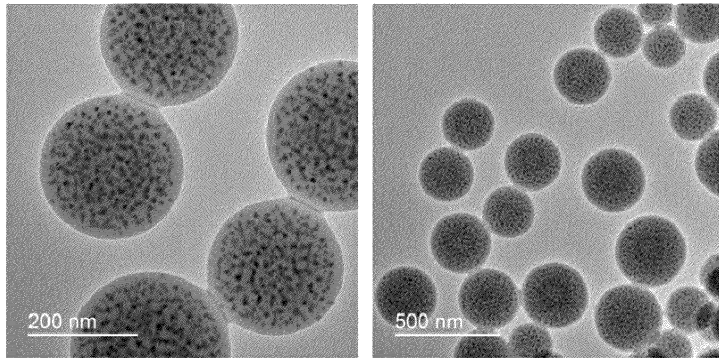
도면4a



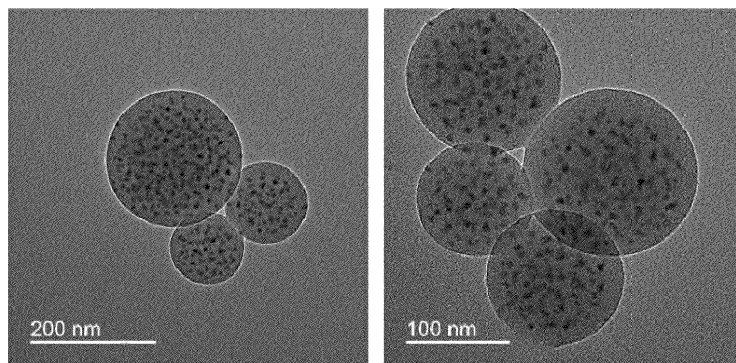
도면4b



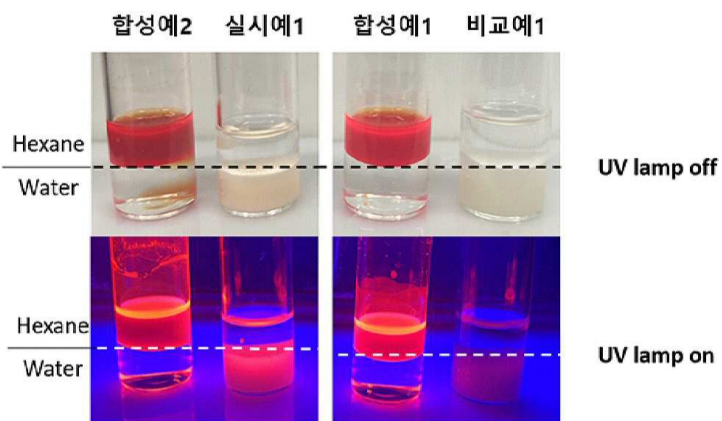
도면5a



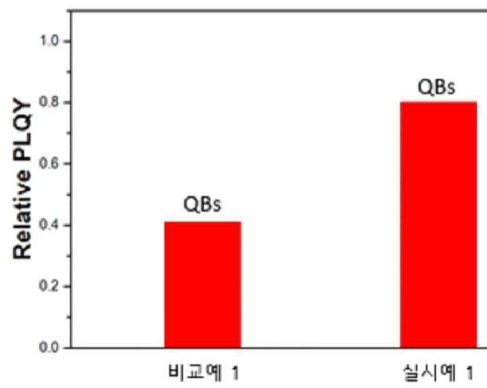
도면5b



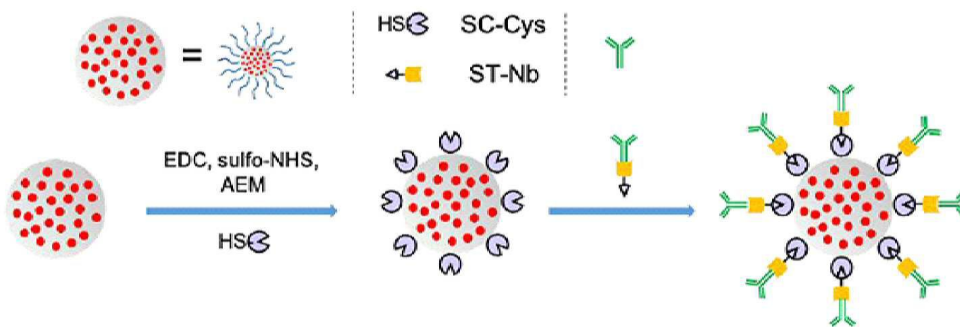
도면6a



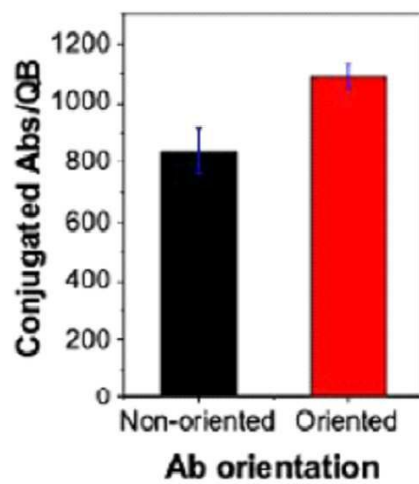
도면6b



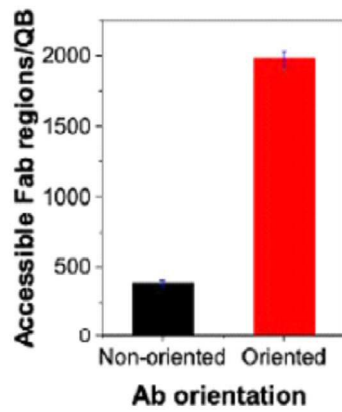
도면7



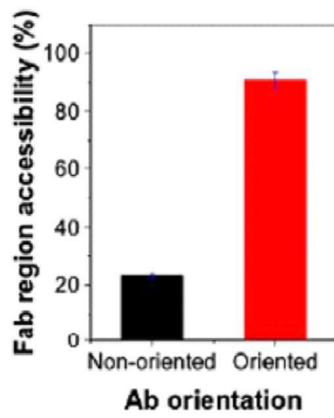
도면8a



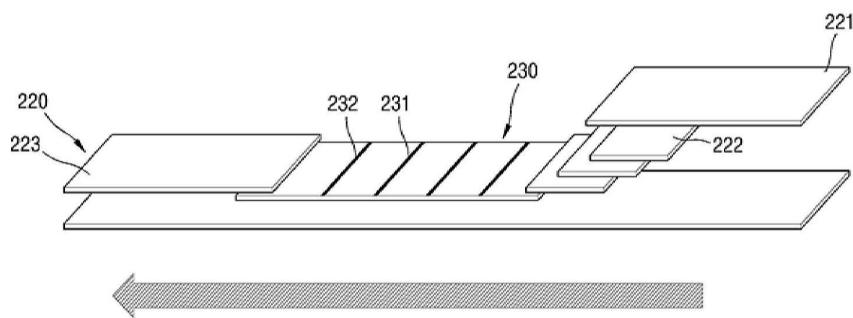
도면8b



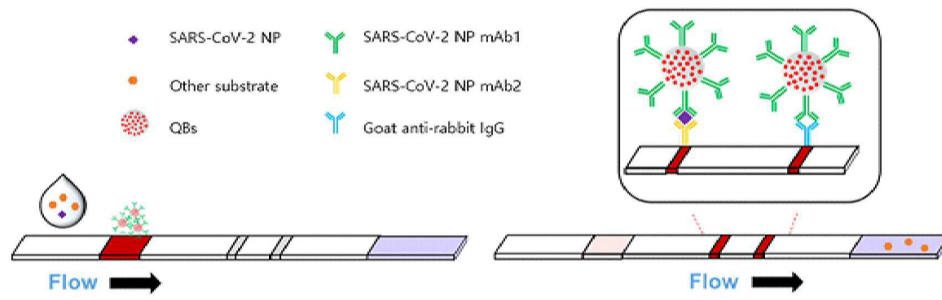
도면8c



도면9



도면10



도면11

