

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2021년 7월 22일 (22.07.2021)



WIPO | PCT



(10) 국제공개번호

WO 2021/145580 A1

(51) 국제특허분류:

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/58 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2020/018928

(22) 국제출원일:

2020년 12월 22일 (22.12.2020)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2020-0005395 2020년 1월 15일 (15.01.2020) KR

(71) 출원인: 이화여자대학교 산학협력단 (EWhA UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) [KR/KR]; 03760 서울시 서대문구 이화여대길 52, Seoul (KR). 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 02841 서울시 성북구 안암로 145, 고려대학교, Seoul (KR).

(72) 발명자: 손아정 (SON, Ahjeong); 04197 서울시 마포구 백범로 230 102동 604호, Seoul (KR). 김다빈 (KIM, Dabin); 61967 광주광역시 서구 내방로240번길 10, Gwangju (KR). 채빌리 (CHUA, Beelee); 04197 서울시 마포구 백범로 230 102동 604호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 특허법인한얼 (HANOL INTELLECTUAL PROPERTY AND LAW); 05836 서울시 송파구 법원로 135 6층, 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, IT, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

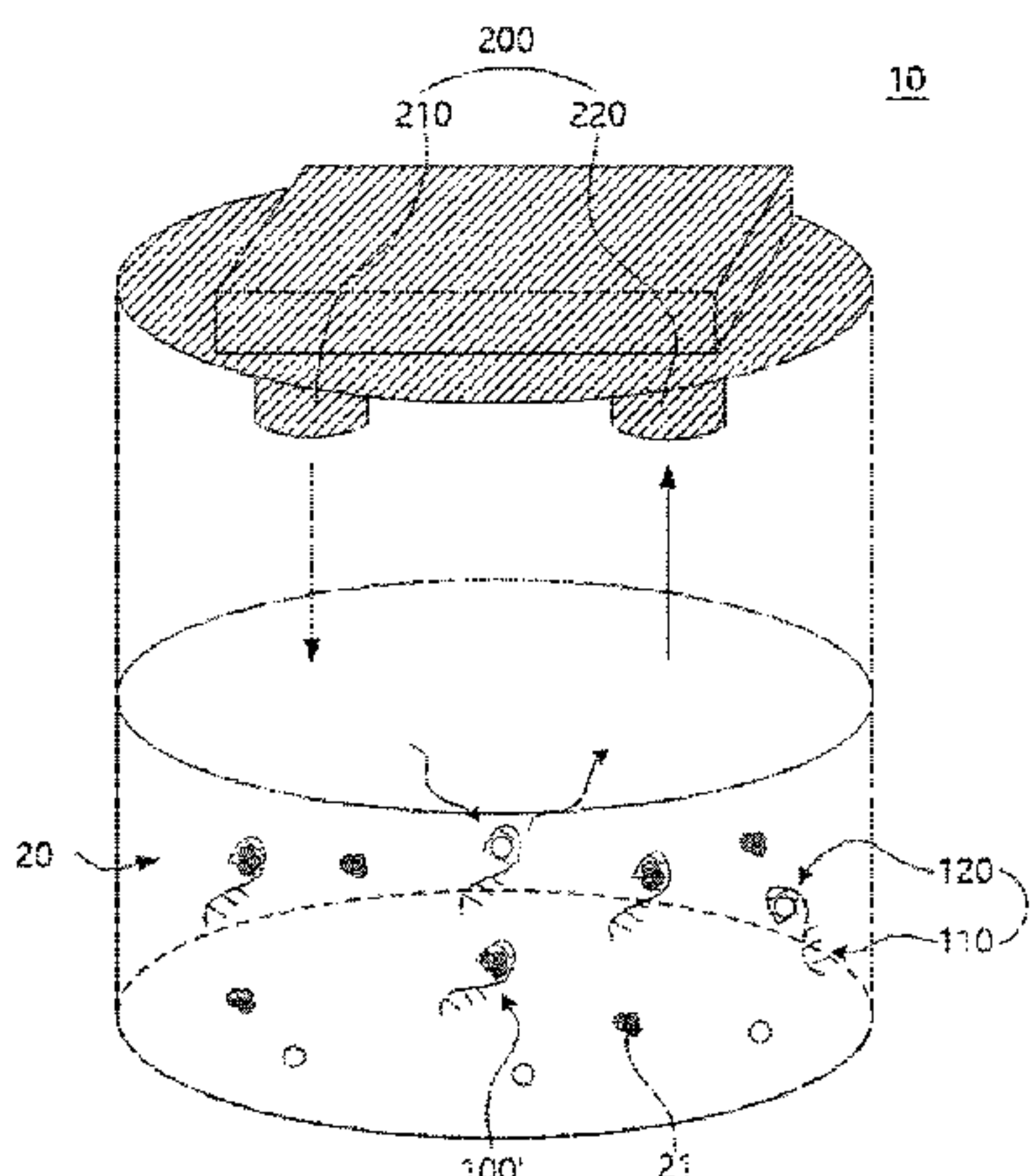
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

(54) Title: CHEMICAL SUBSTANCE DETECTION DEVICE AND CHEMICAL SUBSTANCE DETECTION METHOD

(54) 발명의 명칭: 화학물질 검출 장치 및 화학물질 검출 방법



(57) Abstract: Provided according to an embodiment of the present invention is a chemical substance detection device comprising: a probe which can bind to a chemical substance in a sample; and a sensing unit which senses a detection signal generated from the probe, wherein the sensing unit senses a rate of change in the intensity of the detection signal, which is generated from the probe when the probe binds to the chemical substance in the sample, to determine the quantity of the chemical substance in the sample, and the rate of change in the intensity of the detection signal is measured before the reaction between the chemical substance and the probe reaches an equilibrium state.

(57) 요약서: 본 발명의 일 실시예에 따르면, 시료 내 화학물질과 결합할 수 있는 탐지체; 상기 탐지체로부터 발생하는 탐지 신호를 감지하는 감지부를 포함하고, 상기 감지부는 상기 탐지체가 상기 시료 내 상기 화학물질과 결합하였을 때 상기 탐지체로부터 발생하는 탐지 신호의 세기의 변화율을 감지하여 상기 시료 내 상기 화학물질의 양을 판단하고, 상기 탐지 신호 세기의 변화율은 상기 화학물질과 상기 탐지체간 반응이 평형 상태에 도달하기 전에 측정되는, 화학물질 검출 장치가 제공된다.

WO 2021/145580 A1

명세서

발명의 명칭: 화학물질 검출 장치 및 화학물질 검출 방법 기술분야

- [1] 본 발명은 화학물질 검출 장치 및 화학물질 검출 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 플라스틱은 1900년대 초 발명된 이후로 우리 생활 곳곳에서 널리 사용되고 있다. 플라스틱은 내구성이 우수하면서도 다양한 형태로 성형하기 좋다는 점에서 분야를 가리지 않고 사용되고 있다.
- [3] 다만, 최근 플라스틱이 환경과 인체에 미치는 영향에 대한 연구가 늘어나면서, 무분별한 플라스틱 사용에 대한 경각심을 자극하고 있다. 특히 플라스틱에 첨가되는 소재 중 가소제는 인체에 흡수되었을 때 호르몬과 유사한 거동을 띠면서 내분비계를 혼란할 우려가 있다.
- [4] 가소제는 폴리염화비닐(PVC)과 같은 열가소성 플라스틱에 첨가되어 플라스틱의 기계적 강성을 높여주는 기능을 수행하는 물질이다. 이러한 가소제는 물과 같은 주변 물질에 침출되거나 휘발될 수 있다. 물과 같은 주변 물질에 존재하는 가소제는 먹이사슬을 따라 인간에게 전달될 수 있다.
- [5] 가소제가 인체에 전달되는 것을 막고 오염지역에 적절한 조치를 취하기 위하여, 가소제 등의 화학물질이 존재하는지 판단할 수 있는 검출 방법이 필요하다. 특히 화학물질을 빠르고 정확하게 검출할 수 있는 검출 방법, 검출 장치가 필요하다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명은 화학물질을 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 화학물질 검출 장치 및 화학물질 검출 방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 시료 내 화학물질과 결합할 수 있는 탐지체; 상기 탐지체로부터 발생하는 탐지 신호를 감지하는 감지부를 포함하고, 상기 감지부는 상기 탐지체가 상기 시료 내 상기 화학물질과 결합하였을 때 상기 탐지체로부터 발생하는 탐지 신호의 세기의 변화율을 감지하여 상기 시료 내 상기 화학물질의 양을 판단하고, 상기 탐지 신호 세기의 변화율은 상기 화학물질과 상기 탐지체간 반응이 평형 상태에 도달하기 전에 측정되는, 화학물질 검출 장치가 제공된다.
- [8] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 감지부는 상기 탐지체를 향해 상기 제1 파장 대역과 상이한 제2 파장 대역의 빛을 조사하는 광원 유닛; 상기 제1 파장 대역의 빛을 수광하여 상기 제1 파장 대역의 빛의 크기를 감지하는 감광 유닛을 포함하는, 화학물질 검출 장치가 제공된다.

- [9] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 탐지체는 상기 화학물질과 결합할 수 있는 압타머; 및 형광물질을 포함하고, 상기 탐지 신호는 상기 형광물질에 의해 발생하는 제1 파장 대역의 빛의 세기인, 화학물질 검출 장치가 제공된다.
- [10] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 형광물질은 상기 압타머와 결합되어 제공되고, 상기 화학물질과 상기 탐지체가 결합할 때, 상기 형광물질이 상기 탐지체로부터 해리되는, 화학물질 검출 장치가 제공된다.
- [11] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 화학물질은 프탈레이트 화합물(Phthalic Compounds)을 포함하는, 화학물질 검출 장치가 제공된다.
- [12] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 탐지체는 프탈레이트 화합물과 특이적으로 결합하는, 화학물질 검출 장치가 제공된다.
- [13] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 압타머 및 형광물질을 포함하는 탐지체를 화학물질을 포함하는 시료와 혼합하는 제1 단계; 상기 탐지체 및 상기 시료의 혼합물로부터 발생하는 탐지 신호를 감지하는 제2 단계; 및 시간에 따른 상기 탐지 신호의 세기 변화인 탐지 신호 변화량을 산출하고, 상기 탐지 신호 변화량을 토대로 상기 화학물질의 양을 확인하는 제3 단계를 포함하고, 상기 탐지 신호 변화량은 상기 압타머와 상기 화학물질간 반응이 평형 상태에 도달하기 전에 측정되는, 화학물질 검출 방법이 제공된다.
- [14] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 형광물질은 상기 압타머와 결합되어 제공되고, 상기 화학물질과 상기 탐지체가 결합할 때, 상기 형광물질이 상기 탐지체로부터 해리되는, 화학물질 검출 방법이 제공된다.
- [15] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 탐지 신호는 상기 형광물질에 의해 발생하는 제1 파장 대역의 빛의 세기인, 화학물질 검출 방법이 제공된다.
- [16] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 화학물질은 프탈레이트 화합물(Phthalic Compounds)을 포함하는, 화학물질 검출 방법이 제공된다.

발명의 효과

- [17] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 화학물질 검출 장치 및 화학물질 검출 방법을 이용하여 검출하고자 하는 표적 화학물질을 신속하고 정확하게 검출할 수 있다.
- [18] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따르면 비평형상태에서 프탈레이트 화합물(Phthalate Compound)을 검출할 수 있고, 이에 따라 프탈레이트 화합물을 신속하게 검출할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [19] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치를 나타낸 사시도이다.
- [20] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 방법을 나타낸 순서도이다.
- [21] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치의 유리한 효과를 나타낸 그래프이다.
- [22] 도 4a 및 도 4b는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치 내 탐지체의 구성을 나타낸 그래프이다.

[23] 도 5a 내지 도 5c는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치의 화학물질 검출 성능을 나타낸 그래프이다.

[24] 도 6a 및 도 6b는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치의 화학물질 검출 성능을 나타낸 그래프이다.

[25] 도 7a 내지 도 7f는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치의 화학물질 검출 성능을 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

[26] 본 발명은 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 형태를 가질 수 있는 바, 특정 실시예들을 도면에 예시하고 본문에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 개시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[27] 본 발명의 일 실시예에 따르면 탐지체와 표적 화학물질 간의 특이적 결합을 이용하는 화학물질 검출 장치 및 화학물질 검출 방법이 제공된다. 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치 및 화학물질 검출 방법은 탐지체와 표적 화학물질간 반응이 평형 상태에 이르기 전에 검출 작업을 완료할 수 있기 때문에 신속하게 화학물질을 검출할 수 있다.

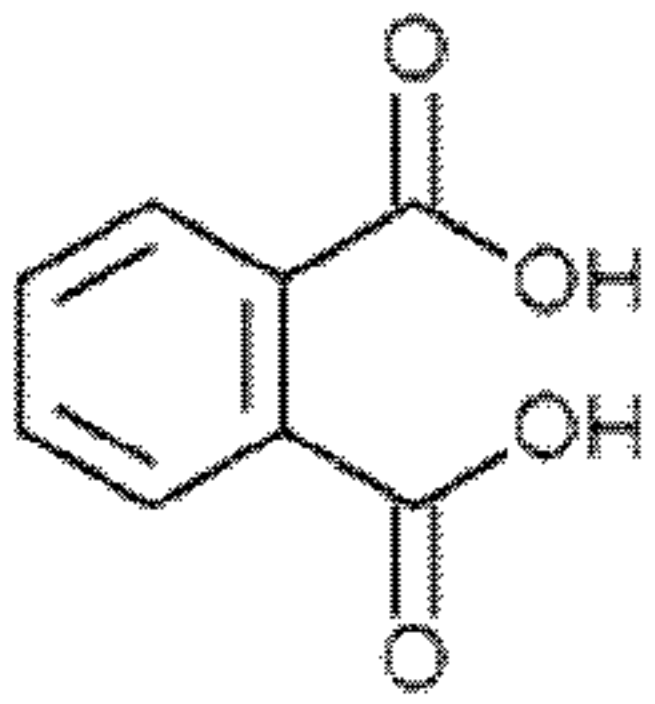
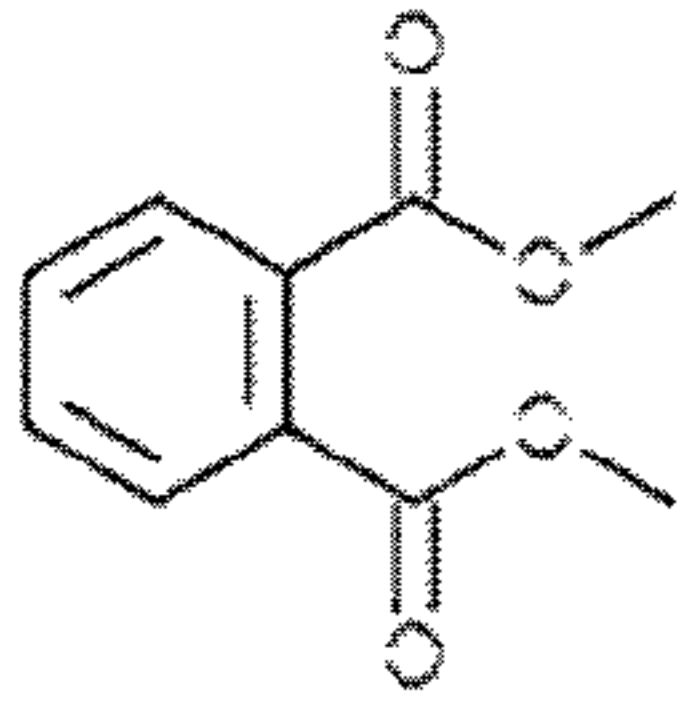
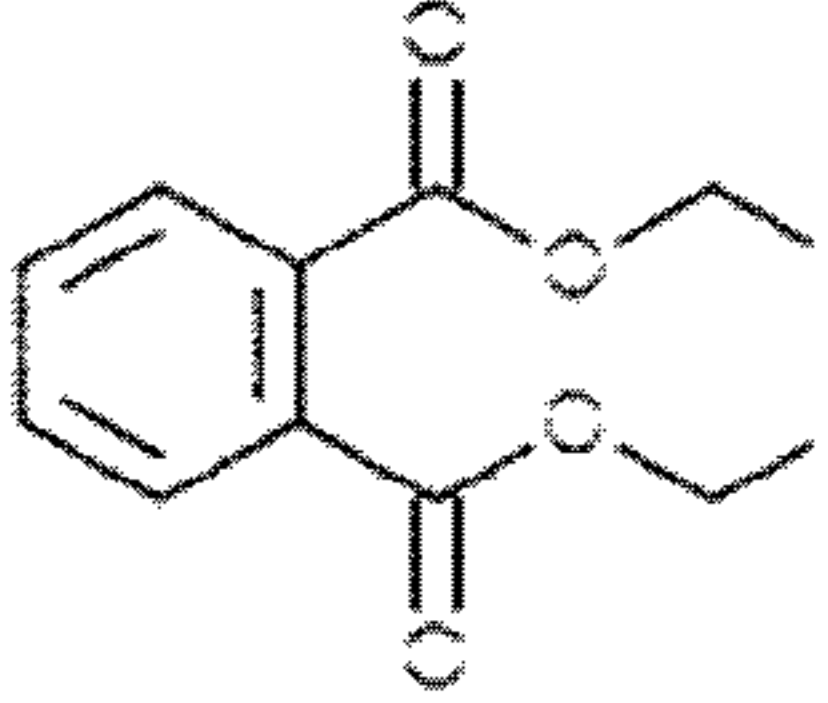
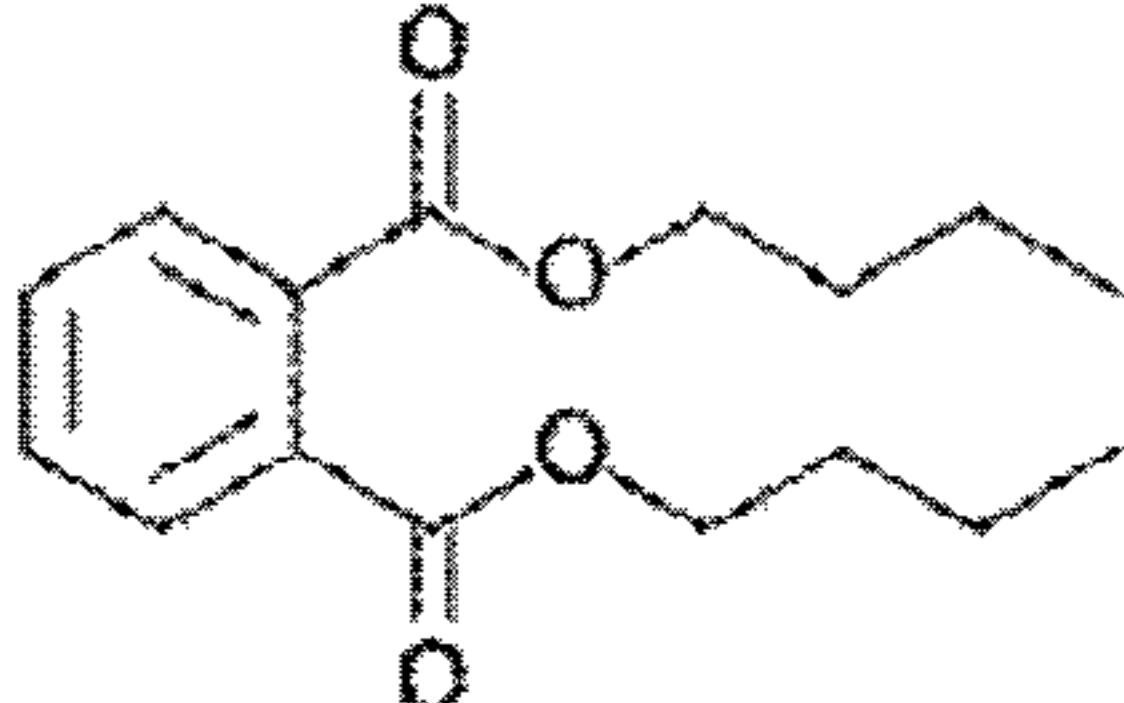
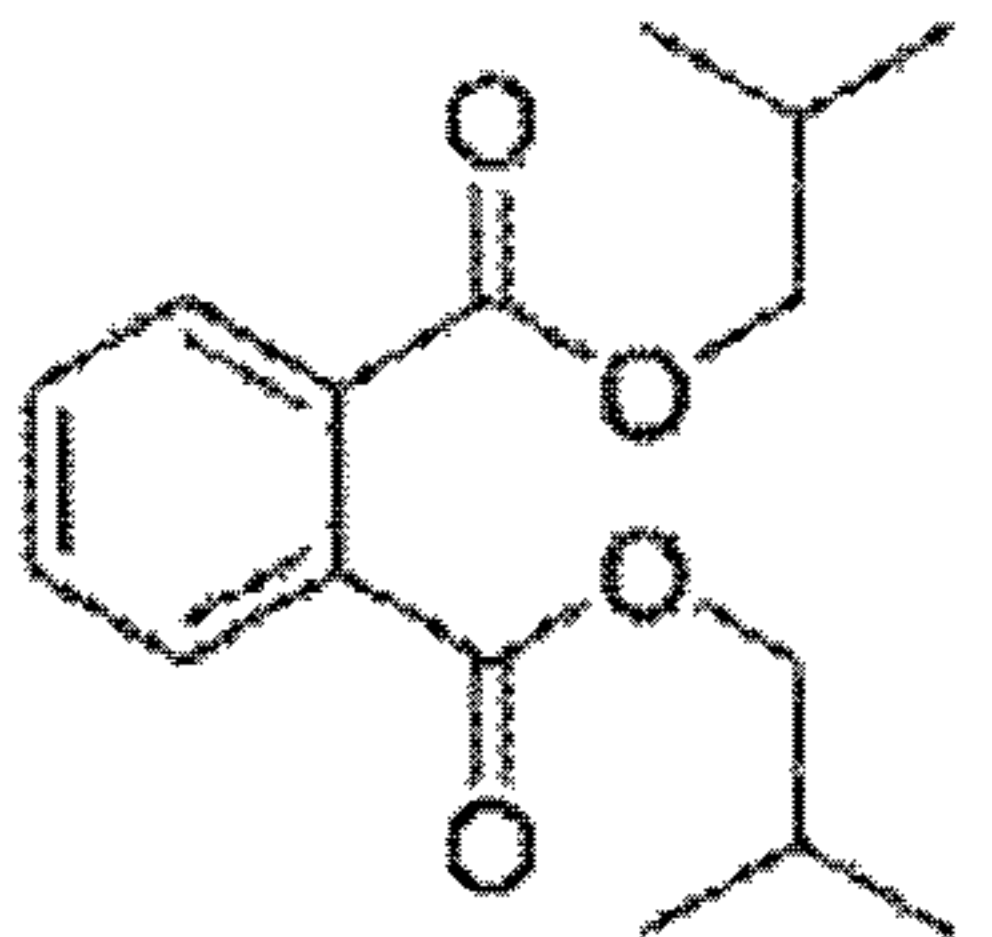
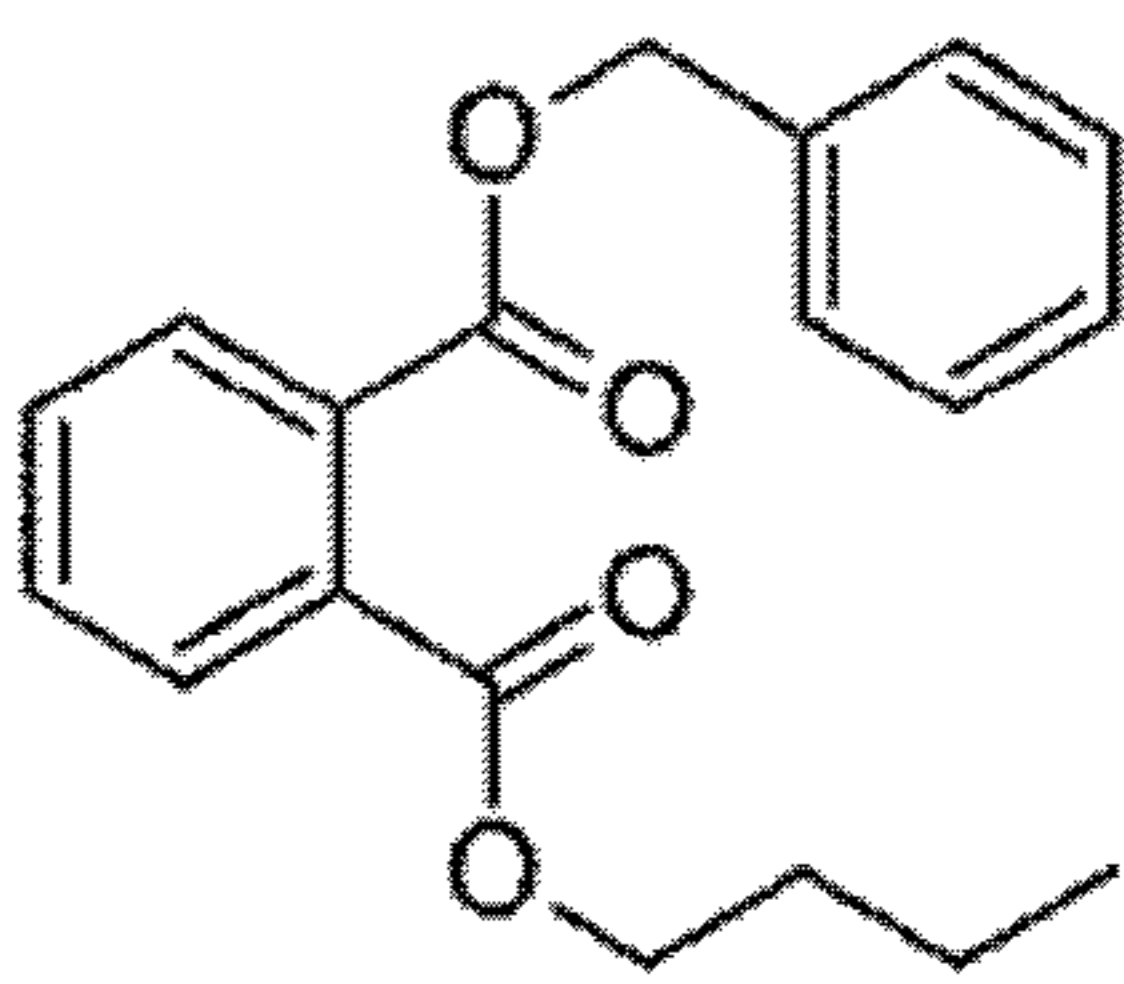
[28] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치를 나타낸 사시도이다.

[29] 화학물질 검출 장치(10)는 시료(20) 내에 특정 화학물질(21)이 존재하는지 확인하는데 사용될 수 있다.

[30] 화학물질 검출 장치(10)로 검사할 수 있는 시료(20)에는 제한이 없다. 예를 들어, 화학물질 검출 장치(10)는 대기 시료, 수질 시료, 토양 시료 등의 환경 시료일 수 있다. 시료(20)는 액체 상으로 제공될 수 있다. 예를 들어, 고체 상 또는 기체 상의 시료(20)의 경우 용매에 용해된 형태로 제공될 수 있다.

[31] 화학물질 검출 장치(10)로 검출할 수 있는 화학물질(21)은 플라스틱에 사용되는 첨가물일 수 있다. 예를 들어, 화학물질(21)은 가소제일 수 있으며, 가소제 중에서도 프탈레이트 화합물(Phthalate Compound)일 수 있다. 프탈레이트 화합물은 프탈릭 산의 에스터 화합물을 포함한다. 따라서, 화학물질(21)은 예를 들어 아래 표 1의 물질들을 포함할 수 있다.

[32] [표 1]

명 칭(약칭)	IUPAC 명 칭	화 학 식 (분 자 량, g/mole)	구 조 식
Phthalic acid (PA)	Benzene-1,2-dicarboxyl ic acid	C ₈ H ₆ O ₄ (166.13)	
Dimethyl phthalate (DMP)	Dimethyl benzene-1,2-dicarboxyl ate	C ₁₀ H ₁₀ O ₄ (194.18)	
Diethyl phthalate (DEP)	Diethyl benzene-1,2-dicarboxyl ate	C ₁₂ H ₁₄ O ₄ (222.24)	
Di-n-butyl phthalate (DBP)	Dibutyl benzene-1,2-dicarboxyl ate, 1,2-Benzenedicarbo xylic acid dibutyl ester, or Dibutyl 1,2-benzene-dicarboxyl ate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄ (278.34)	
Diisobutyl phthalate (DIBP)	Bis(2-methylpropyl) benzene-1,2-dicarboxyl ate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄ (278.34)	
Benzyl butyl phthalate (BBP)	2-o-benzyl 1-o-butyl benzene-1,2-dicarboxyl ate	C ₁₉ H ₂₀ O ₄ (312.36)	

Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP)	Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxyl ate	$C_{24}H_{38}O_4$ (390.56)	
--	--	----------------------------	--

- [33] 화학물질(21)에 포함된 상술한 프탈레이트 화합물은 내분비 교란을 야기할 수 있다. 프탈레이트 화합물은 남성 생식력 저하, 당뇨병, 인슐린 저항성 저하, 유방암, 비만 등 다양한 질병의 원인이 될 수 있다. 화학물질(21)에 포함된 프탈레이트 화합물은 특히 폴리염화바이닐(Polyvinylchloride) 등의 호스트 플라스틱과 화학적으로 결합되지 않기 때문에 가열, 유기 용매에 의한 침출 등으로 쉽게 추출되고 퍼져나갈 수 있다. 이에 따라 하수나 대기 중에 프탈레이트 화합물이 존재할 우려가 크다. 프탈레이트 화합물이 인체에 큰 악영향을 끼치기 때문에, 프탈레이트 화합물 제거를 위한 처리가 필요하고 이를 위해서는 시료(20) 내에 프탈레이트 화합물이 존재하는지 확인하는 신속한 검출 장치/방법이 필요하다. 화학물질 검출 장치(10)는 상술한 시료(20) 내 화학물질(21) 검출을 위하여, 탐지체(100) 및 감지부(200)를 포함한다. 탐지체(100)는 화학물질(21)과 특이적으로 결합함으로써, 시료(20) 내 화학물질(21)이 존재하는지 확인하는데 이용된다. 구체적으로, 탐지체(100)는 탐지 신호를 방출하는데, 탐지체(100)가 화학물질(21)과 결합하는 경우 탐지 신호의 세기가 변하게 된다. 탐지 신호 세기의 변화율을 감지함으로써 화학물질(21)의 존재 및 양을 판단할 수 있다.
- [34] 탐지체(100)는 시료(20) 내에 용해된 상태로 제공될 수 있다. 탐지체(100)는 예를 들어 액체 시약 형태로 제공되고, 시료(20) 내에 첨가되어 시료(20)와 균질하게 혼합될 수 있다. 탐지체(100)가 시료(20) 내에 균질하게 혼합됨으로써, 시료(20) 내에 존재하는 화학물질(21)과 탐지체(100)간의 반응이 보다 신속하게 일어날 수 있다.
- [35] 탐지체(100)는 압타머(110) 및 형광물질(120)을 포함할 수 있다.
- [36] 압타머(110)는 특정 표적 분자에 결합할 수 있는 올리고 뉴클레오타이드 또는 펩타이드 분자일 수 있다. 압타머(110)는 DNA 압타머, XNA 압타머, 및 RNA 압타머와 같은 핵산 압타머, 또는 펩타이드 압타머 등 다양한 형태일 수 있다.
- [37] 압타머(110)는 압타머 지지체와 압타머 태그를 포함할 수 있다. 압타머 지지체는 압타머(110)의 골격을 형성할 수 있으며, 압타머 태그는 타겟이 되는 화학물질(21)과 특이적으로 결합할 수 있다. 압타머(110)는 예를 들어 프탈레이트 화합물과 특이적으로 결합할 수 있다. 이에 따라, 시료(20) 내에 타겟이 되는 화학물질(21)과 함께 다양한 물질이 혼합되어 있는 경우에도, 압타머(110)는 특이적으로 프탈레이트 화합물을 포함하는 화학물질(21)과 결합할 수 있다. 따라서, 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치는 화학물질(21) 검출 민감도가 우수하다.

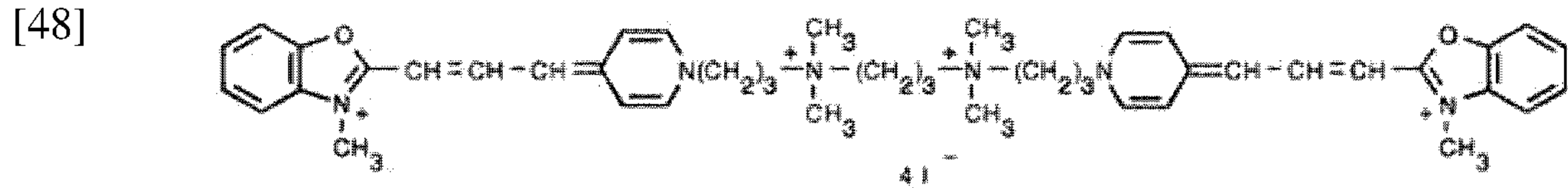
- [38] 압타머(110)가 예를 들어, 뉴클레오티드 압타머인 때, 압타머 태그는 압타머(110)의 리보스 위치(ribose position), 디옥시리보스 위치(deoxyribose position), 포스페이트 위치(phosphate position) 및 염기 위치(base position)로부터 독립적으로 적어도 하나의 위치에 제공될 수 있다.
- [39] 압타머(110)와 화학물질(21)은 또한 상술한 압타머 태그에서 2'-위치 당 변형(2'-position sugar modification), 2'-아미노 (2'-NH₂), 2'-플루오로 (2'-F), 2'-O-메틸 (2'-OMe), 5-위치 피리미딘 변형(5-position pyrimidine modification), 8-위치 퓨린 변형(8-position purine modification), 시토신 엑소사이클릭 아민(cytosine exocyclic amine)에서의 변형, 5-브로모우라실의 치환(substitution of 5-bromouracil), 5-브로모데옥시우리딘의 치환(substitution of 5-bromodeoxyuridine), 5-브로모디옥시시티딘의 치환(substitution of 5-bromodeoxycytidine), 골격(backbone) 변형, 메틸화(methylation), 3' 캡(3' cap) 및 5' 캡(5' cap)으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 적어도 하나의 화학적 변형에 의해 결합할 수 있다.
- [40] 압타머(110)의 종류 및 압타머 태그 위치, 압타머(110)와 화학물질(21)간 결합에 대한 상술한 내용은 모두 예시적인 것에 불과하다. 압타머(110)의 종류는 타겟으로 하는 화학물질(21)의 종류에 따라 달라질 수 있으며, 압타머 태그의 위치 및 압타머(110)와 화학물질(21)간 결합의 종류 또한 달라질 수 있다.
- [41] 압타머(110)는 또한 형광물질(120)과 결합할 수 있다. 따라서, 시료(20)와 혼합되는 탐지체(100)는 압타머(110)와 형광물질(120)이 결합한 형태로 제공될 수 있다.
- [42] 형광물질(120)은 특정 파장 대역의 빛을 방출하는 물질일 수 있다. 구체적으로 형광물질(120)은 제1 파장 대역의 빛을 수광하고 제1 파장 대역과 상이한 제2 파장 대역의 빛을 방출하는 물질일 수 있다. 이때 형광물질(120)이 방출한 제2 파장 대역의 빛은 화학물질(21)의 존재 및 양을 확인하기 위한 탐지 신호로 이용될 수 있다. 여기서 제1 파장 대역과 제2 파장 대역은 특정 파장 대역을 지칭하는 것이 아니며, 임의의 대역을 지칭한다. 따라서, 제1 파장 대역과 제2 파장 대역은 서로 상이하다는 의미만을 갖는다.
- [43] 형광물질(120)은 압타머(110)와 결합된 상태에서만 상술한 제2 파장 대역의 빛을 방출하는 물질일 수 있다. 구체적으로 형광물질(120)은 압타머(110)의 압타머 태그에 결합된 상태에서는 제1 파장 대역의 빛을 수광하여 제2 파장 대역의 빛을 방출할 수 있다. 그러나, 형광물질(120)이 압타머(110)로부터 해리된 상태에서는 형광물질(120)로부터 제2 파장 대역의 빛이 방출되지 않을 수 있다. 이에 따라, 형광물질(120)과 압타머(110)의 결합량에 따라 제2 파장 대역의 빛의 세기가 달라질 수 있고 이를 탐지 신호로 이용할 수 있다.
- [44] 형광물질(120)은 압타머(110)로부터 해리된 후 시료(20) 내에 존재하는 친수성 분자에 의해 둘러싸일 수 있다. 친수성 분자에 의해 둘러싸인 형광물질(120)은 제2 파장 대역의 빛을 방출하지 못할 수 있다. 이에 따라 해리된 형광물질(120)이

시료(20)에서 제거되지 않고 남아있어도 해리된 형광물질(120)로부터 제2 파장 대역 빛이 방출되어 화학물질 검출 장치의 검출 결과에 노이즈로 잡힐 우려가 없다.

- [45] 형광물질(120)과 화학물질(21)은 모두 압타머(110)의 특이적 결합 사이트인 압타머 태그에 결합될 수 있다. 이때 화학물질(21)과 압타머 태그 간 친화력은 형광물질(120)과 압타머 태그 간 결합력보다 강할 수 있다. 이에 따라 형광물질(120)과 압타머(110)의 결합체가 화학물질(21)을 만나면, 압타머(110)와 형광물질(120)이 해리되고 그 자리에 화학물질(21)이 결합할 수 있다. 이에 따라 압타머-화학물질 결합체(100')가 형성될 수 있다. 이러한 형광물질(120)과 화학물질(21)간의 치환 반응에 의해 탐지 신호의 세기가 달라질 수 있다. 구체적으로, 화학물질(21)과 압타머(110)간 결합량이 증가할수록 압타머(110)와 결합한 형광물질(120)의 양이 줄어들고, 이에 따라 형광물질(120)이 방출하는 제2 파장 대역의 빛의 세기 또한 줄어들 수 있다. 상술한 제2 파장 대역의 빛의 세기 변화량을 확인함으로써 시료(20) 내 화학물질(21)의 양을 산출할 수 있다.

- [46] 형광물질(120)은 따라서 압타머(110)와 특이적으로 결합할 수 있으면서도 화학물질(21)보다 압타머 태그에 대한 친화력이 낮은 물질일 수 있다. 상술한 물성을 만족하는 형광물질(120)은 아래 화학식 1의 화합물 또는 PoPo3를 포함할 수 있다.

- [47] [화학식 1]



- [49] 형광물질(120)이 상술한 화학식 1의 화합물을 포함하는 때, 형광물질(120)은 약 520 nm 내지 약 540 nm 파장의 빛을 수광하여, 약 560 nm 내지 약 580 nm 파장의 빛을 방출할 수 있다. 이에 따라, 약 560 nm 내지 약 580 nm 파장의 빛의 세기 변화량을 확인함으로써 시료(20) 내 화학물질(21)의 양을 산출할 수 있다.
- [50] 상술한 형광물질(120)로부터 탐지 신호를 감지하기 위하여, 화학물질 검출 장치(10)는 감지부(200)를 포함한다.
- [51] 감지부(200)는 앞서 서술한 것과 같이 형광물질(120)로부터 발생하는 탐지 신호를 감지한다. 감지부(200)는 구체적으로 탐지 신호의 변화량을 감지할 수 있다. 탐지 신호의 변화량은 특정 파장의 빛의 세기의 변화, 또는 특정 파장의 빛이 발생시키는 전압의 크기 변화 형태로 감지될 수 있다.
- [52] 감지부(200)는 상술한 기능을 수행하기 위하여 광원 유닛(210) 및 감광 유닛(220)을 포함할 수 있다.
- [53] 광원 유닛(210)은 시료(20)에 혼합된 탐지체(100)를 향해 제1 파장 대역의 빛을 조사할 수 있다. 제1 파장 대역의 빛에 의하여 형광물질(120)에 포함된 전자의 에너지 준위가 높아질 수 있다. 높은 에너지 준위에 위치한 전자가 낮은 에너지

준위로 떨어지면서 제1 파장 대역과 상이한 제2 파장 대역의 빛이 방출될 수 있다.

[54] 광원 유닛(210)은 제1 파장 대역의 빛을 방출하는 광원을 적어도 1개 포함할 수 있다. 광원은 예를 들어, 발광다이오드(LED), 유기발광다이오드(OLED) 등의 형태일 수 있다. 광원으로 발광다이오드(LED), 유기발광다이오드(OLED)를 이용하는 경우 방출되는 제1 파장 대역의 빛이 상대적으로 좁은 파장 폭을 가질 수 있다. 이에 따라, 광원 유닛(210)이 방출하는 빛의 제1 파장 대역과 형광물질(120)로부터 발산되는 빛의 제2 파장 대역이 중첩되어 노이즈가 발생할 우려가 없다.

[55] 광원 유닛(210)은 예를 들어 약 520nm 내지 약 540 nm 파장의 빛을 방출할 수 있다. 이를 위하여 광원 유닛(210)은 헬륨(He)-네온(Ne) 광원을 포함할 수 있다. 다만, 광원 유닛(210)이 방출하는 상술한 파장 대역 및 광원의 종류는 예시적인 것에 불과하다. 광원 유닛(210)은 경우에 따라 서로 다른 파장 대역의 빛을 방출할 수 있는 복수 개의 광원을 포함할 수 있다. 또한, 서로 다른 파장 대역의 빛을 방출하는 복수 개의 광원은 형광물질(120)의 종류에 따라 독립적으로 구동되어, 형광물질(120)이 수광할 수 있는 파장 대역의 빛을 조사할 수 있다.

[56] 광원 유닛(210)은 시료(20)가 제공되는 용기의 일측에 제공될 수 있다. 예를 들어, 시료(20)가 플라스크에 담긴 때, 광원 유닛(210)은 플라스크 상단을 커버하는 뚜껑과 같이 제공될 수 있다. 또는 광원 유닛(210)은 투명한 플라스크 외벽을 투과하여 시료(20)에 빛이 도달할 수 있도록 용기의 측면 또는 바닥면에 분리 가능하게 제공될 수도 있다. 광원 유닛(210)의 형태에는 특별한 제한이 없다.

[57] 광원 유닛(210)이 조사한 제1 파장 대역의 빛을 수광한 형광물질(120)은 제2 파장 대역의 빛을 방출한다. 형광물질(120)로부터 방출된 제2 파장 대역의 빛은 감광 유닛(220)에 의해 감지될 수 있다.

[58] 감광 유닛(220)은 제2 파장 대역의 빛을 흡수하고 감지할 수 있다. 감광 유닛(220)은 예를 들어 포토다이오드를 포함할 수 있다. 감광 유닛(220)은 이에 따라 제2 파장 대역의 빛을 흡수하고 제2 파장 대역의 빛의 세기에 비례하여 전류를 발생시킬 수 있다. 즉, 제2 파장 대역의 빛의 세기가 클수록 포토다이오드로부터 발생하는 전류(전압)의 크기가 커질 수 있다.

[59] 감광 유닛(220)은 제1 시점에서 제2 파장 대역의 빛의 세기 또는 제2 파장 대역의 빛에 의해 발생된 전압의 크기를 측정하고, 제1 시점 이후의 제2 시점에서 제2 파장 대역의 빛의 세기 또는 제2 파장 대역의 빛에 의해 발생된 전압의 크기를 측정하여, 탐지 신호 변화량을 측정할 수 있다. 탐지 신호 변화량은 아래 식 1에 의해 결정될 수 있다.

[60] [식 1]

[61]
$$\text{Rate of fluorescence change} \left(-\frac{\Delta \text{RFU}_{561}}{\Delta t} \right) = -\frac{F_{\text{high}} - F_{\text{low}}}{T_{\text{high}} - T_{\text{low}}}$$

- [62] 상기 식 1에서 F_{high} 는 제1 시점(T_{high})에서 형광물질(120)이 방출하는 제2 파장 대역의 빛의 세기 또는 제2 파장 대역의 빛에 의해 발생된 전압의 크기를 의미하고, F_{low} 는 제1 시점(T_{high}) 이후 제2 시점(T_{low})에서 형광물질(120)이 방출하는 제2 파장 대역의 빛의 세기 또는 제2 파장 대역의 빛에 의해 발생된 전압의 크기를 의미한다.
- [63] 식 1에서 제1 시점(T_{high})과 제2 시점(T_{low})은 약 10초 내지 약 5분의 시간 차이를 가질 수 있다. 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치(10)는 임의의 시점에서의 탐지 신호의 크기를 측정하는 것이 아니라, 탐지 신호 크기의 변화량을 측정하는 것이다. 이에 따라, 상대적으로 짧은 간격으로 반복하여 제2 파장 대역의 빛의 세기 또는 제2 파장 대역의 빛에 의해 발생된 전압의 크기를 측정할 수 있다. 또한, 상술한 것과 같이 짧은 간격으로 제2 파장 대역의 빛의 세기 또는 제2 파장 대역의 빛에 의해 발생된 전압의 크기를 측정함으로써 신속하게 화학물질(21)의 존재 여부 및 양을 측정 가능하다. 이에 대한 더 자세한 내용은 후술하고자 한다.
- [64] 감광 유닛(220)은 탐지 신호 크기의 변화량을 측정하는 것이기 때문에 탐지체(100)와 화학물질(21)간 반응이 평형에 이루기 전에 화학물질(21)의 존재 여부 및 양을 확인할 수 있다. 종래의 기술의 경우 화학물질(21)과 특이적으로 결합하는 탐지물질을 이용하는 경우에 화학물질(21)과 탐지물질간 특이적 결합 반응이 완료될 때까지 기다려야 했다. 탐지물질과 화학물질(21)간 특이적 결합이 평형에 이르러 완료되면, 탐지물질-화학물질(21)의 특이적 결합체를 분리한 후 그 양을 확인하는 순서로 검출 절차가 수행되었다. 이러한 방법은 반응이 평형에 이를 때까지 기다려야 하므로 신속한 화학물질 검출이 불가능하다는 문제가 있다. 그러나, 본원 발명의 일 실시예에 따르면 비평형 상태에서 탐지 신호 크기의 변화량을 측정함으로써 반응이 평형에 이루기 전에 신속하게 화학물질의 존재 여부 및 양을 확인할 수 있다. 이에 따라, 화학물질(21) 검출에 소요되는 시간을 대폭 줄일 수 있다.
- [65] 감광 유닛(220)은 광원 유닛(210)과 마찬가지로 시료(20)가 제공되는 용기의 일측에 제공될 수 있다. 예를 들어, 시료(20)가 플라스크에 담긴 때, 감광 유닛(220)은 플라스크 상단을 커버하는 뚜껑과 같이 제공될 수 있다. 감광 유닛(220)과 광원 유닛(210)은 따라서 서로 인접하여 제공되며, 순차적으로 작동할 수 있다. 예를 들어, 광원 유닛(210)이 제1 시간 동안 작동한 후, 광원 유닛(210)의 작동이 멈추고 다음으로 이어서 감광 유닛(220)이 작동할 수 있다. 이를 통해 광원 유닛(210)으로부터 출사된 빛이 곧바로 감광 유닛(220)에서 감지되는 것을 막을 수 있다.
- [66] 감지부(200)는 또한 경우에 따라 프로세서, 메모리 등을 더 포함할 수 있다. 이들은 감광 유닛(220)에서 감지된 탐지 신호의 크기의 변화량을 산출하고, 탐지 신호의 크기의 변화량으로부터 화학물질(21)의 양을 산출하는 등의 연산 동작을 수행할 수 있다.

- [67] 화학물질 검출 장치(10)는 상술한 바와 같이 탐지체(100)와 감지부(200)를 포함하는 간결한 구성만으로 작동될 수 있다. 이에 따라, 화학물질 검출 장치(10)는 소형화될 수 있으며 휴대성이 매우 우수하다.
- [68] 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치(10)는 탐지체(100)와 화학물질(21)의 특이적 결합에 따른 탐지 신호 크기 변화량을 측정함으로써 탐지체(100)와 화학물질(21)간 반응이 평형에 이르기 전에 화학물질(21) 검출을 완료할 수 있다. 이에 따라, 매우 신속한 화학물질(21) 검출이 가능하다. 또한, 화학물질 검출 장치(10)는 간결한 구성을 포함함으로써 휴대성이 매우 우수하다. 따라서, 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치(10)를 이용하면 시료 채취 현장에서 바로 화학물질(21)의 존재 여부를 판단할 수 있다.
- [69]
- [70] 이상에서는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치(10)의 구성에 대하여 살펴보았다. 이하에서는 화학물질 검출 방법을 방법적 특징을 중심으로 살펴보려고 한다.
- [71] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 방법을 나타낸 순서도이다.
- [72] 도 2에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 방법은 탐지체와 시료를 혼합하는 제1 단계(S100), 탐지 신호를 감지하는 제2 단계(S200), 및 탐지 신호 변화량을 산출하고 이를 바탕으로 화학물질의 양을 확인하는 제3 단계(S300)를 포함한다.
- [73] 제1 단계(S100)에 있어서, 탐지체와 시료를 혼합하기에 앞서 탐지체가 먼저 준비될 수 있다. 탐지체는 압타머와 형광물질을 혼합, 반응시켜 압타머와 형광물질이 결합하도록 함으로써 준비될 수 있다. 압타머와 형광물질은 부피비로 약 0.9:1 내지 1.1:1의 비율로 혼합될 수 있다. 상술한 비율로 형광물질과 압타머를 혼합함으로써, 화학물질 검출을 수행하기에 충분한 탐지 신호 크기를 확보하면서도 과도하게 첨가된 형광물질이 압타머와 분리된 후에도 탐지 신호를 발산함에 따라 노이즈가 발생하는 것을 막을 수 있다.
- [74] 제1 단계(S100)를 수행하기 위하여 다음으로 준비된 탐지체가 시료와 혼합될 수 있다. 시료는 물 등의 극성 용매에 의해 용해된 액상 형태로 제공될 수 있다. 탐지체와 시료가 혼합되면서 시료 내의 화학물질이 탐지체에 결합할 수 있다. 이에 대한 내용은 상술한 바와 같다.
- [75] 다음으로, 제2 단계(S200)가 수행된다. 제2 단계(S200)에 있어서, 감지부의 감광 유닛이 탐지 신호를 감지한다. 탐지 신호는 상술한 것과 같이 제2 파장 대역의 빛의 세기 또는 제2 파장 대역으로부터 발생한 전압의 크기일 수 있다. 이에 대한 내용은 상술한 바와 같다.
- [76] 다음으로, 제3 단계(S300)가 수행된다. 제3 단계(S300)에서 탐지 신호 변화량을 측정한다. 탐지 신호 변화량은 탐지체가 시료 내에 혼합된 후 경과한 시간에 따라 탐지 신호의 크기가 변화하는 양이다. 이에 대한 내용은 상술한 바와 같다. 본 발명의 일 실시예에 따르면 탐지체와 시료 내 화학물질 간 반응이 평형에

이르기 전에 탐지 신호 크기의 변화량을 확인한다.

[77] 본 발명의 일 실시예에 따르면 본 발명의 일 실시예에 따르면 탐지체와 시료 내 화학물질 간 반응이 평형에 이르기 전에 탐지 신호 크기의 변화량을 확인함으로써 신속한 화학물질 검출이 가능하다.

[78]

[79] 이상에서는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 방법에 대하여 살펴보았다. 이상에서는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치 및/또는 화학물질 검출 방법의 유리한 효과에 대하여 데이터를 토대로 더 자세히 살펴보고자 한다.

[80] 실시예 1. 압타머-형광물질이 혼합된 탐지체 제조

[81] 탐지체 제조를 위하여 약 10 μ M 농도를 갖는 PoPo3 20 μ L과 약 25 μ M 농도를 갖는 압타머 약 20 μ L를 혼합하였다. 형광물질과 압타머의 혼합물은 다시 약 160 μ L의 약 0.02 M 트리스-염산(Tris-HCl) 버퍼에 용해되었다. 이때 압타머는 단일가닥 DNA로 5'-CTT TCT GTC CTT CCG TCA CAT CCC ACG CAT TCT CCA CAT-3'의 서열을 갖는 것을 사용하였다.

[82] 상술한 탐지체를 이용하여 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치 및/또는 화학물질 검출 방법의 유리한 효과를 확인하였다.

[83] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치의 유리한 효과를 나타낸 그래프이다.

[84] 실시예 2. 형광물질의 시료 내 거동 확인

[85] 형광물질의 시료 내 거동을 확인하기 위하여, 버퍼 수용액(약 160 μ L의 약 0.02 M 트리스-염산(Tris-HCl) 버퍼), 버퍼와 형광물질의 혼합 용액(약 20 μ L의 약 10 μ M 형광물질과 약 160 μ L의 약 0.02 M 트리스-염산(Tris-HCl) 버퍼 혼합), 및 실시예 1의 혼합 용액의 시간에 따른 형광 신호 변화(Δ RFU₅₆₁)를 측정했다. 혼합 용액의 형광은 SpectraMax M2 분광 형광계를 이용하여 측정하였다.

[86]

[87] 버퍼와 형광물질의 혼합용액(도 3에서 역 삼각형)의 범위는 탐지신호의 크기는 약 42.43 ± 0.80 내지 약 47.16 ± 1.42 로 실시예 1에 따른 혼합 용액의 탐지 신호 크기인 약 65.80 ± 5.33 내지 약 72.18 ± 4.75 보다 낮은 것을 확인하였다.

[88] 이는 압타머와 결합하지 않은 소수성 염색 물질은 버퍼의 친수성 분자에 의해 둘러싸이고 이에 따라 형광물질이 탐지 신호(제2 파장 대역의 빛)를 방출하지 못함을 의미한다. 따라서, 본 발명의 일 실시예에 따르면 압타머로부터 해리되어 시료 내에 존재하는 형광물질을 행굼으로 제거하지 않고도 정확하게 탐지 신호 변화량을 측정 가능하다.

[89]

[90] 도 4a 및 도 4b는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치 내 탐지체의 구성에 따른 형광 신호의 크기를 나타낸 그래프이다.

[91] 실시예 3. 탐지체 제조를 위한 형광물질과 압타머의 최적 비율 확인

- [92] 탐지체 제조를 위한 형광물질과 압타머간 최적의 배합 비율을 찾기 위하여 다양한 비율로 형광물질과 압타머를 혼합하였다. 구체적으로, 다양한 농도의 PoPo3 염료 (최종 농도 0, 약 0.1 μM , 약 1 μM , 약 5 μM 및 약 10 μM) 및 다양한 농도의 압타머 (최종 농도 0, 약 0.05 μM , 0.25, 0.5 및 2.5 μM)를 버퍼(약 0.02 M 트리스-염산 버퍼)와 함께 총 약 200 μL 이 되도록 혼합하였다. 혼합 용액은 상온에서 약 3분 동안 흔들지 않고 배양되었다. 혼합 용액의 형광 신호는 SpectraMax M2 분광 형광계를 이용하여 측정하였다.
- [93] 도 4a를 참고하면, 혼합 용액의 형광 신호(RFU_{561nm})는 첨가된 PoPo3의 농도 증가에 비례하여 증가하였다. 결정 계수(r^2)는 압타머의 농도에 대한 PoPo3의 형광과 PoPo3의 농도 사이에서 얻어졌다. 압타머 농도가 약 0.05 μM , 약 0.25 μM , 약 0.5 μM 및 약 2.5 μM 인 경우에 대하여 측정 계수(r^2)는 각각 0.88, 0.92, 0.95 및 0.98로 나타났다. 따라서, 화학물질 검출 방법에 의한 화학물질 검출을 위해 가장 적절한 압타머 농도는 PoPo3 농도 증가에 대하여 형광 신호 크기 증가가 가장 높은 선형성을 갖는 약 2.5 μM 압타머 용액($r^2 = 0.98$)인 것으로 확인되었다.
- [94] 도 4b를 참고하면, 약 2.5 μM 의 압타머와 다양한 농도의 PoPo3 염료(최종 농도 0, 약 0.1 μM , 약 1 μM , 약 5 μM 및 약 10 μM)를 혼합 후 약 10분동안 형광 신호를 측정하였다. 도 4b를 참고하면 약 1 μM 보다 높은 농도의 PoPo3를 첨가하였을 때, 광표백(photo-bleaching) 현상이 발생하는 것을 확인할 수 있었다. 구체적으로, 약 10 μM 농도의 PoPo3를 혼합한 경우, 형광 신호가 혼합 직후 약 224.12 ± 1.70 에서 약 10분후 197.66 ± 0.48 로 변하는 것을 확인했다(약 11.8 % 감소). 또한, 약 5 μM 농도의 PoPo3를 혼합한 경우, 형광 신호가 혼합 직후 약 93.81 ± 6.74 에서 약 10분후 85.00 ± 7.17 로 변하는 것을 확인했다(약 9.4 % 감소).
- [95] 반면, 약 1 μM 농도의 PoPo3를 혼합한 경우, 형광 신호가 혼합 직후 약 33.33 ± 2.93 에서 약 10분 후 약 31.81 ± 0.95 로 변하는 것을 확인했다(약 4.6 % 감소). 이에 따라, PoPo3 농도가 약 1 μM 를 초과하는 경우, 프탈레이트 화합물과 같은 화학물질의 영향 없이도 형광 신호가 크게 변하는 광표백 현상이 나타날 수 있음을 알 수 있었다. 이러한 현상은 탐지 신호 크기 변화량을 기초로 화학물질의 양을 확인하는 본 발명의 화학물질 검출 방법/장치의 검출 정확도를 크게 저하시킬 수 있다.
- [96]
- [97] 도 5a 내지 도 5c는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치의 화학물질 검출 성능을 나타낸 그래프이다.
- [98] 도 5a에 따르면, 화학물질과 압타머의 특이적 결합 여부를 확인할 수 있다.
- [99] 실시예 4. 압타머와 화학물질의 특이적 결합 확인
- [100] 압타머와 화학물질의 특이적 결합을 확인하기 위하여, 단일가닥 DNA 압타머의 화학물질과 결합 전후의 CD 스펙트럼을 분석하였다. 본 실시예에서 화학물질로서 약 30 μL 의 프탈레이트 화합물을 이용하였다. 압타머는 5'-CTT TCT GTC CTT CCG TCA CAT CCC ACG CAT TCT CCA CAT-3'의 서열을 갖는

것을 사용하였다.

- [101] 도 5a의 CD 스펙트럼은 압타머가 약 240 nm 및 약 280 nm에서 각각 음성 밴드 및 양성 밴드를 갖는 전형적인 B-형태의 DNA를 가짐을 나타낸다. 그러나, 프탈레이트 화합물과 반응 후 화살표로 표시된 바와 같이, 약 280 nm에서 CD 스펙트럼이 변화하는 것을 확인할 수 있다. 프탈레이트 화합물을 약 1 $\mu\text{g/L}$ 첨가한 후 약 280 nm에서 양성 CD 밴드가 0.749(대조군: 압타머만 존재)에서 0.391로 감소하였다. 또한, 프탈레이트 화합물을 약 10 $\mu\text{g/L}$ 첨가한 후 약 280 nm에서 양성 CD 밴드가 약 0.414로 감소하였다.
- [102] 이는 프탈레이트 화합물이 DNA 압타머 결합하여 DNA 압타머의 구조를 변화시킴을 나타낸다.
- [103] 도 5b 및 도 5c에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치 및/또는 화학물질 검출 방법의 화학물질 검출 한계를 확인할 수 있다.
- [104] 실시예 5. 압타머에 의한 화학물질 검출 한계 확인
- [105] 약 1 μM PoPo3 및 약 2.5 μM 압타머로 구성된 혼합 용액(약 40 μL)을 마이크로 플레이트로 옮기고 약 140 μL 의 약 0.02 M 트리스-염산 완충액과 혼합했다. PoPo3와 압타머를 약 3분간 반응시킨 후, 다양한 농도 (약 0.1 $\mu\text{g/L}$, 약 1 $\mu\text{g/L}$, 약 5 $\mu\text{g/L}$, 약 50 $\mu\text{g/L}$ 및 약 200 $\mu\text{g/L}$)의 프탈레이트 화합물 20 μL 를 마이크로 플레이트에 첨가했다.
- [106] 프탈레이트 화합물에는 프탈산(PA), 디메틸프탈레이트(DMP), 디에틸프탈레이트(DEP), 디-n-부틸프탈레이트(DBP), 디아이소부틸프탈레이트(DIBP), 벤질부틸프탈레이트(BBP) 및 디-2-에틸헥실이 포함된다. 음성 대조군 (NC)의 경우, 프탈레이트 화합물 없이 초순수 증류수(Ultrapure™ DNase / RNase 유리 증류수, Invitrogen)를 마이크로 플레이트에 첨가 하였다.
- [107] PoPo3의 형광은 SpectraMax M2 분광 형광 계에 의해 2 분 간격으로 30 분 동안 측정되었다. PoPo3의 형광 신호 크기 감소는 형광 변화율($-\Delta\text{RFU}_{561} / \Delta t$)로서 정규화되었다.
- [108] 도 5b를 참고하면, PoPo3의 형광 신호($\text{RFU}_{561\text{nm}}$)는 시간이 지남에 따라 크기가 감소하였다. 이러한 감소는 압타머에 대한 PoPo3의 친화도보다 압타머에 대한 프탈레이트 화합물의 친화도가 강하기 때문이다. 구체적으로, 시간에 따라 압타머와 결합한 PoPo3가 프탈레이트 화합물로 대체된 것이다.
- [109] 도 5b를 참고하면 또한 또 다른 관찰은 PoPo3 형광 신호가 초기 약 2분 동안 빠르게 증가하고 다음 시간 동안 천천히 감소하는 것을 확인할 수 있다. 프탈레이트 화합물의 농도가 클수록 이러한 경향이 두드러지고 이에 따라 형광 변화율($-\Delta\text{RFU}_{561}/\Delta t$)이 더 큰 것을 확인할 수 있다.
- [110] 도 5c를 참조하면, 형광 변화율로 대표되는 프탈레이트 화합물의 정량 분석 결과는 첨가된 프탈레이트 화합물의 농도에 선형 비례한다($r^2=0.71$ 인 $y=0.048 \log(x)+1.23$). 여기서 프탈레이트 화합물의 정량 분석 한계(LOQ)는 약 0.1

$\mu\text{g/L}$ 이다. 이는 수생 환경에 통상적으로 포함되어 있는 프탈레이트 화합물의 농도인 약 $0.1 \mu\text{g/L}$ 내지 약 $1472 \mu\text{g/L}$ 를 커버하는 것이다. 따라서 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치/방법은 수생 환경에서 신뢰할 수 있는 프탈레이트 검출 범위를 제공함을 알 수 있다.

[111]

[112] 도 6a 및 도 6b는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치의 화학물질 검출 성능을 나타낸 그래프이다.

[113] 도 6a 및 도 6b를 참고하면, 시료 내에 타겟 화학물질 외에 다른 화학물질이 존재하는 경우에도 압타머가 타겟 화학물질과 특이적으로 결합함을 확인할 수 있다.

[114] 실시예 6. 압타머와 타겟 화학물질의 특이적 결합 여부 확인

[115] 압타머와 타겟 화학물질의 특이적 결합 여부를 확인하기 위하여, 타겟 화학물질인 프탈레이트 화합물(PA, DMP, DEP, DBP, DIBP, BBP 및 DEHP) 및 비프탈레이트 화합물(비스페놀 A 및 4-노닐 페놀)을 준비하였다.

[116] 탐지체는 약 $1 \mu\text{M}$ PoPo3 및 약 $2.5 \mu\text{M}$ 압타머를 약 $140 \mu\text{L}$ 의 약 0.02 M 트리스-염산 버퍼와 혼합하여 준비하였다. 다음으로, 프탈레이트 화합물과 비프탈리에트 화합물을 각각 탐지체 혼합 용액에 첨가하였다.

[117] 도 6a를 참고하면 대조군으로서 7개의 프탈레이트 화합물을 첨가한 경우의 형광 변화량을 100%로 설정 한 경우, 각각 PA, DMP, DEP, DBP, DIBP, BBP 및 DEHP만을 첨가하였을 때는 형광 변화량이 각각 약 96%, 약 86%, 약 86%, 약 85%, 약 84%, 약 85% 및 약 88%으로 나타났다. 프탈레이트 화합물 없이 초순수만을 첨가한 대조군(NC)과는 큰 차이를 보였다.

[118] 도 6b에서, BPA를 첨가한 경우와 4-NP를 첨가한 경우 모두 형광 변화율은 약 77%로 나타났다. 이는 7개의 프탈레이트 화합물을 첨가한 경우의 형광 변화량인 100% 또는 프탈레이트 화합물을 첨가한 경우의 형광 변화량과 큰 차이가 있는 수치이다.

[119] 따라서, 상술한 결과를 통해, 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치 및/또는 화학물질 검출 방법은 타겟 화학물질을 특이적으로 검출할 수 있음을 알 수 있다.

[120]

[121] 도 7a 내지 도 7f는 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 장치의 화학물질 검출 성능을 나타낸 그래프이다.

[122] 도 7a를 참고하면, 본 발명의 일 실시예에 따르면 전압의 변화량을 측정함으로써 타겟 화학물질 존재를 확인할 수 있음을 알 수 있다. 전압의 변화량은 형광신호의 변화량에 비례하여 설정될 수 있다. 상술한 것과 같이 포토다이오드는 형광신호를 전류/전압으로 변환할 수 있기 때문이다.

[123] 다음으로는 화학물질(프탈레이트 화합물)의 농도에 따른 전압 변화 양상을 확인할 수 있다.

- [124] 실시예 7. 전압 변화를 통한 화학물질 농도 확인
- [125] 약 30 μL 의 약 1 μM PoPo3와 약 30 μL 의 약 2.5 μM 압타머로 구성된 약 60 μL 의 탐지체를 큐벳(Q-Vettes semi-micro, Ratiolab®, Hessen, Germany)으로 옮기고 약 210 μL 의 약 0.02 M 트리스-염산 버퍼와 혼합 후 3분간 반응시켰다.
- [126] 다음으로 다양한 농도(약 1 $\mu\text{g/L}$, 약 10 $\mu\text{g/L}$, 약 50 $\mu\text{g/L}$, 및 약 100 $\mu\text{g/L}$)를 갖는 약 30 μL 의 프탈레이트 화합물을 큐벳에 첨가하여 총 부피가 약 300 μL 가 되도록 하였다.
- [127] 큐벳을 분석기의 큐벳 홀더에 놓고 불투명 한 덮개로 덮어 주변 광이 큐벳에 들어 가지 못하게 하였다. 이어서, 흔들리지 않는 상태에서 약 30초, 약 1분, 약 3분, 및 약 5분 동안 전압을 적분하도록 분석기를 설정 하였다. 분석기의 LED 광원 전압은 측정 시간 동안 약 8.6V로 일정했다. 결과는 데이터 로거 (MadgeTech 4, MadgeTech Inc., Merrimack County, NH)에 의해 자동으로 기록되었다. 청색 및 녹색 포토다이오드의 출력 전압은 데이터 레코더에 의해 각각 CH1 및 CH2로서 기록되었다. 출력 전압은 3 회 측정되었다.
- [128] 도 7b를 참고하면, 출력 전압 변화($\Delta V_{\text{out}} / \Delta t$)는 그림에서 프탈레이트 화합물의 농도 범위(약 1 $\mu\text{g/L}$ 내지 약 100 $\mu\text{g/L}$)에 걸쳐 점차 감소했다.
- [129] 도 7c 내지 도 7f를 참고하면, 분석기에 의한 측정 시간이 각각 약 30초, 약 1분, 약 3분, 및 약 5분인 때 모두 출력 전압이 변화하는 패턴은 유사하다는 것을 확인할 수 있다. 구체적으로, 도 7c 내지 도 7f에 도시된 그래프에서 방정식 및 선형성(r^2)은 약 30초, 약 1분, 약 3분, 및 약 5분인 때 모두 거의 동일하다.
- [130] 따라서, 도 7b 내지 도 7f를 참고하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 방법이 약 30초 내에 수행될 수 있음을 알 수 있다.
- [131] 이는 아래 표 2에서 확인할 수 있듯이 기존의 화학물질 탐지 방법에 비하여 본 발명의 일 실시예에 따른 화학물질 검출 방법이 현저하게 짧은 검출 시간 내에 수행될 수 있음을 의미한다.

[132] [표2]

기술		타겟 프탈레이트	검출 시간	검출 민감도 (LOQ 및 정량적 검출 범위, µg/L)
프탈레이 트 그룹 검출	본 발명	PA, DMP, DEP, DBP, DIBP, BBP, DEHP	30 sec	0.1-200
	Immunoassay	DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP, DCHP, DnOP, DNP	0.67 h	0.01-100
개별 프탈레이 트 검출	Immunoassay	DEHP	~ 6 h	0.001-1,000 DEHP
		DIBP	~ 18 h	10-357 DiBP
		DBP	~ 17 h	0.1-100 DBP
		DBP	~ 21 h	5-250 DBP
	Apta-sensor	DEHP	~ 3 h	0.0039-39 DEHP
		DEHP	~ 6 h	0.0005-100 DEHP
	기타 센서	DBP	~ 0.5 h	1,391-13,917 DBP
		DEHP	~ 2 h	781-7,030 DEHP

[133] 이상에서는 본 발명의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하였지만, 해당 기술 분야의 숙련된 당업자 또는 해당 기술 분야에 통상의 지식을 갖는 자라면, 후술될 특허청구범위에 기재된 본 발명의 사상 및 기술 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.따라서, 본 발명의 기술적 범위는 명세서의 상세한 설명에 기재된 내용으로 한정되는 것이 아니라 특허청구범위에 의해 정하여져야만 할 것이다.

청구범위

- [청구항 1] 시료 내 화학물질과 결합할 수 있는 탐지체;
상기 탐지체로부터 발생하는 탐지 신호를 감지하는 감지부를 포함하고,
상기 감지부는 상기 탐지체가 상기 시료 내 상기 화학물질과 결합하였을 때 상기 탐지체로부터 발생하는 탐지 신호의 세기의 변화율을 감지하여
상기 시료 내 상기 화학물질의 양을 판단하고,
상기 탐지 신호의 세기의 변화율은 상기 화학물질과 상기 탐지체 간
반응이 평형 상태에 도달하기 전에 측정되는, 화학물질 검출 장치.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 탐지체는
상기 화학물질과 결합할 수 있는 압타머; 및
형광물질을 포함하고,
상기 탐지 신호는 상기 형광물질에 의해 발생하는 제2 파장 대역의 빛의
세기인, 화학물질 검출 장치.
- [청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 감지부는
상기 탐지체를 향해 상기 제2 파장 대역과 상이한 제1 파장 대역의 빛을
조사하는 광원 유닛;
상기 제1 파장 대역의 빛을 수광하여 상기 제2 파장 대역의 빛의 크기를
감지하는 감광 유닛을 포함하는, 화학물질 검출 장치.
- [청구항 4] 제2항에 있어서,
상기 형광물질은 상기 압타머와 결합되어 제공되고,
상기 화학물질과 상기 탐지체가 결합할 때, 상기 형광물질이 상기
탐지체로부터 해리되는, 화학물질 검출 장치.
- [청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 화학물질은 프탈레이트 화합물(Phthalic Compounds)을 포함하는,
화학물질 검출 장치.
- [청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 탐지체는 프탈레이트 화합물과 특이적으로 결합하는, 화학물질
검출 장치.
- [청구항 7] 압타머 및 형광물질을 포함하는 탐지체를 화학물질을 포함하는 시료와
혼합하는 제1 단계;
상기 탐지체 및 상기 시료의 혼합물로부터 발생하는 탐지 신호를
감지하는 제2 단계; 및
시간에 따른 상기 탐지 신호의 세기 변화인 탐지 신호 변화량을 산출하고,
상기 탐지 신호 변화량을 토대로 상기 화학물질의 양을 확인하는 제3
단계를 포함하고,

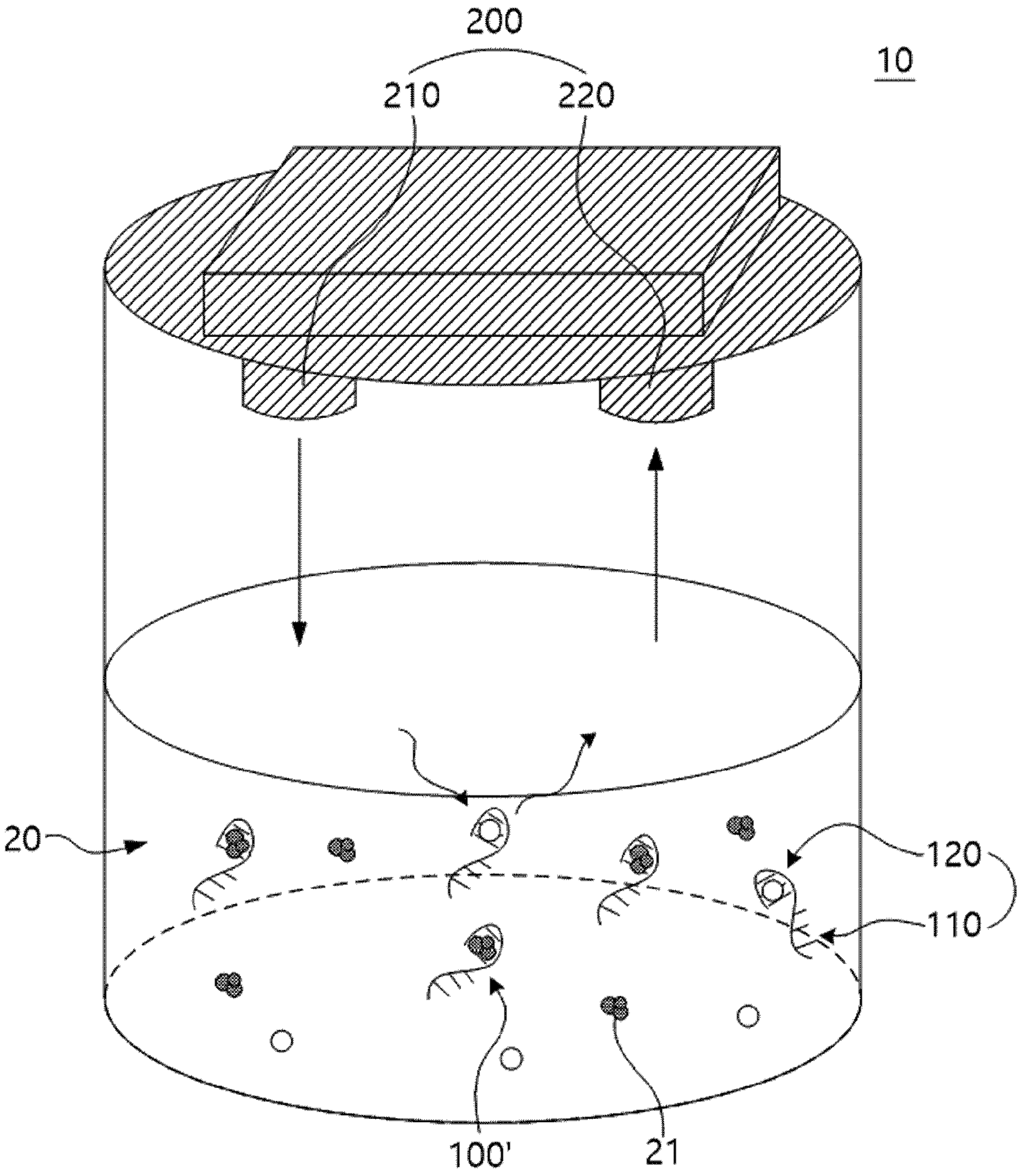
상기 탐지 신호 변화량은 상기 압타머와 상기 화학물질간 반응이 평형 상태에 도달하기 전에 측정되는, 화학물질 검출 방법.

[청구항 8] 제7항에 있어서,
상기 형광물질은 상기 압타머와 결합되어 제공되고,
상기 화학물질과 상기 탐지체가 결합할 때, 상기 형광물질이 상기 탐지체로부터 해리되는, 화학물질 검출 방법.

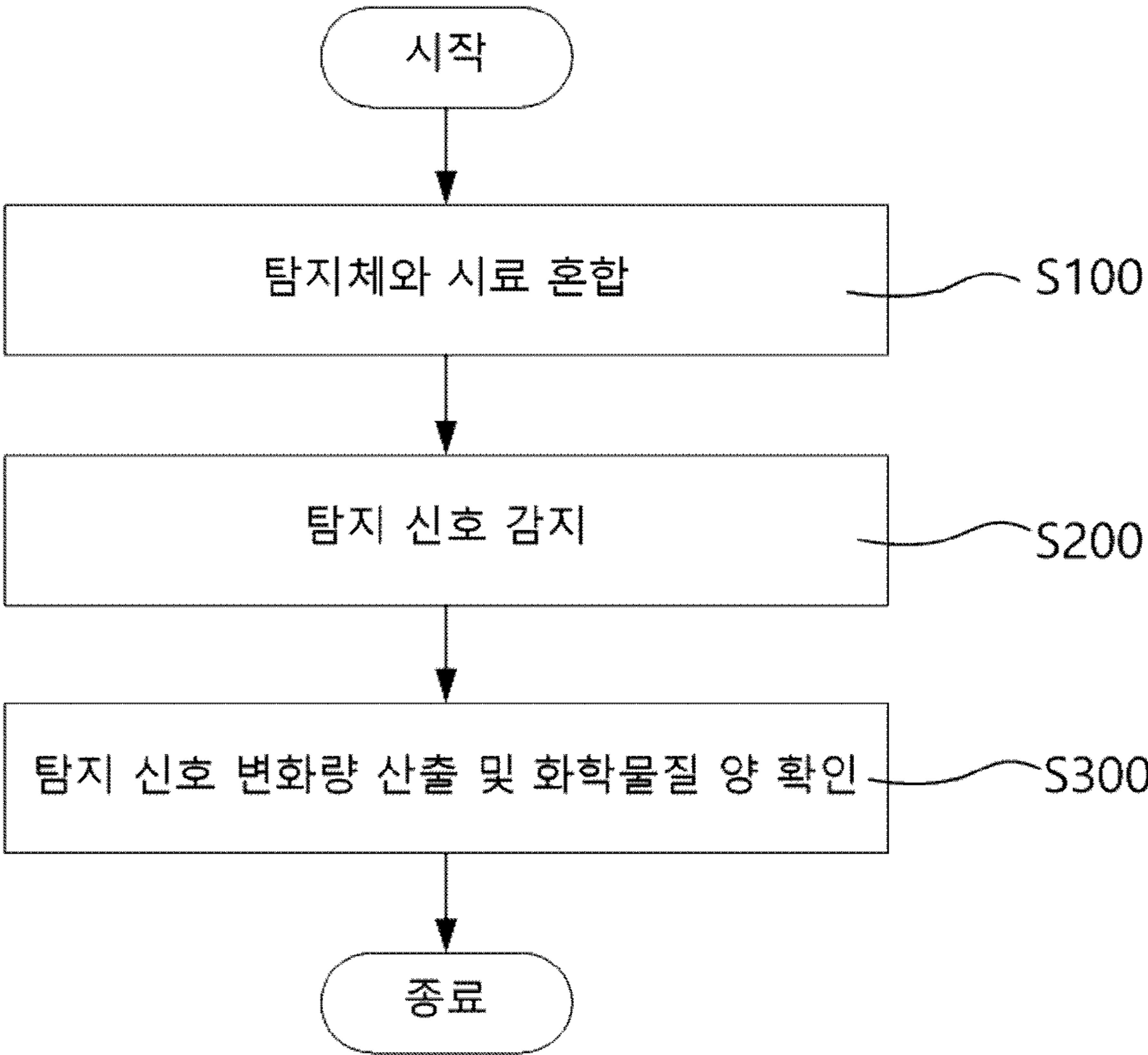
[청구항 9] 제7항에 있어서,
상기 탐지 신호는 상기 형광물질에 의해 발생하는 제2 파장 대역의 빛의 세기인, 화학물질 검출 방법.

[청구항 10] 제7항에 있어서,
상기 화학물질은 프탈레이트 화합물(Phthalic Compounds)을 포함하는,
화학물질 검출 방법.

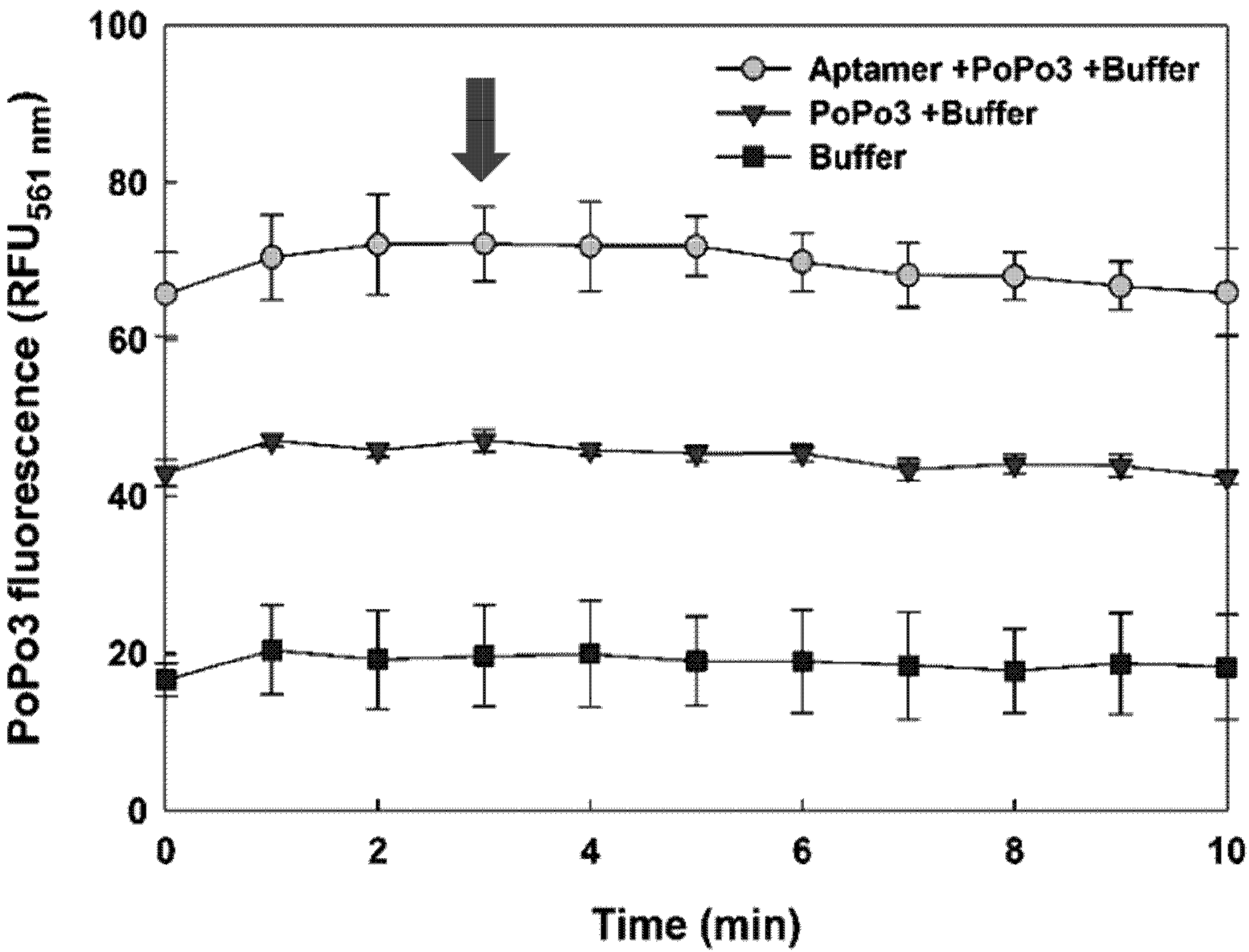
[도1]



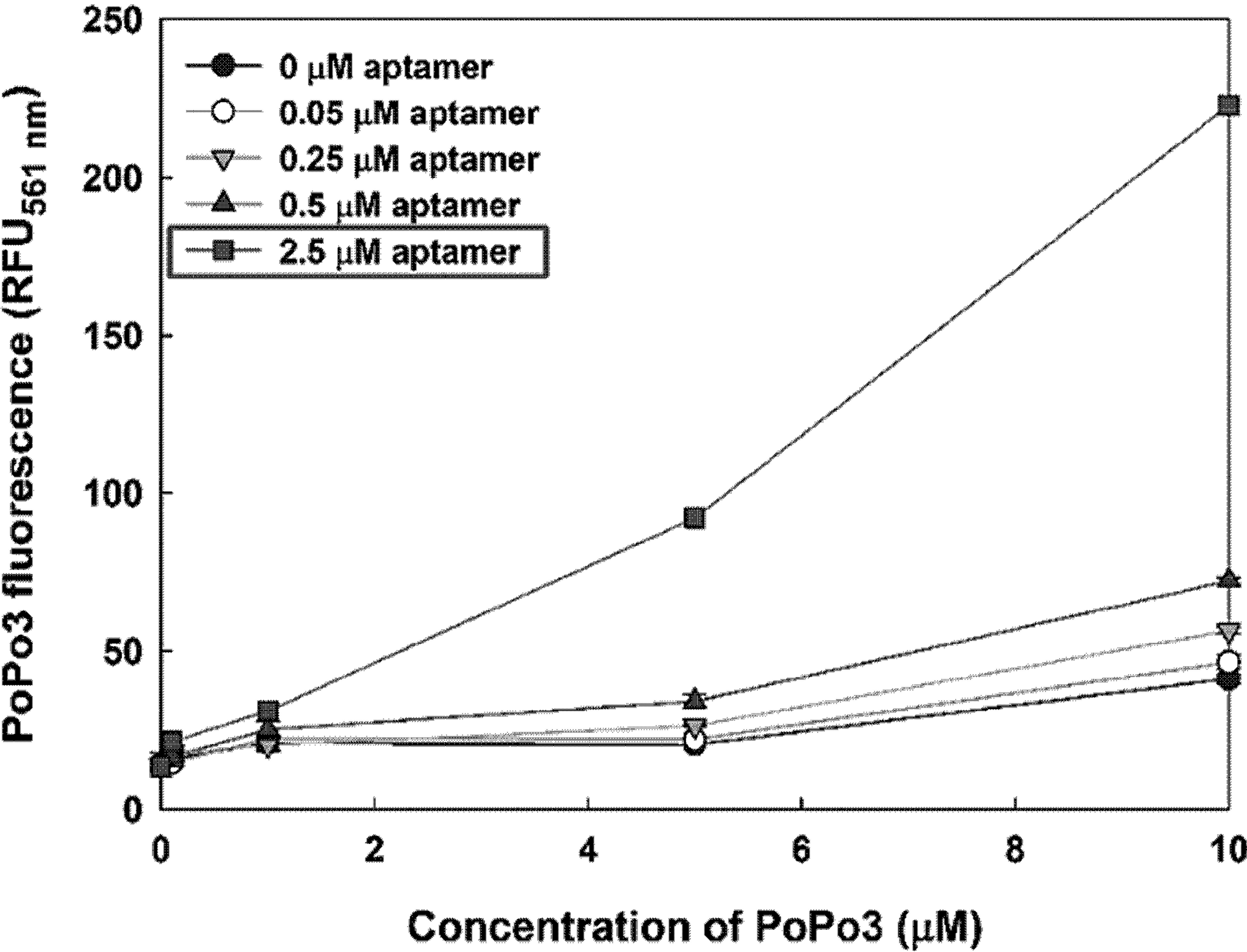
[도2]



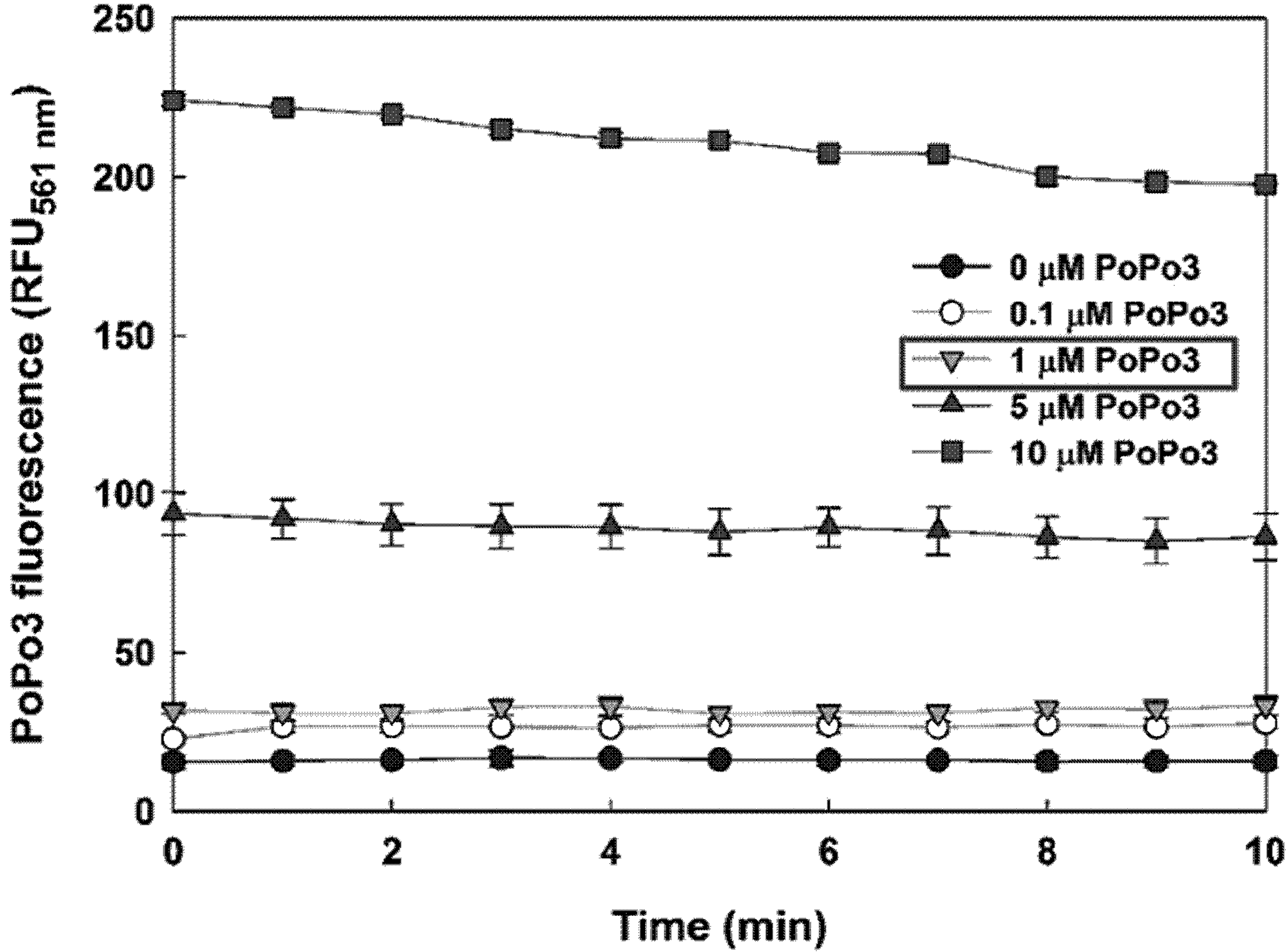
[도3]



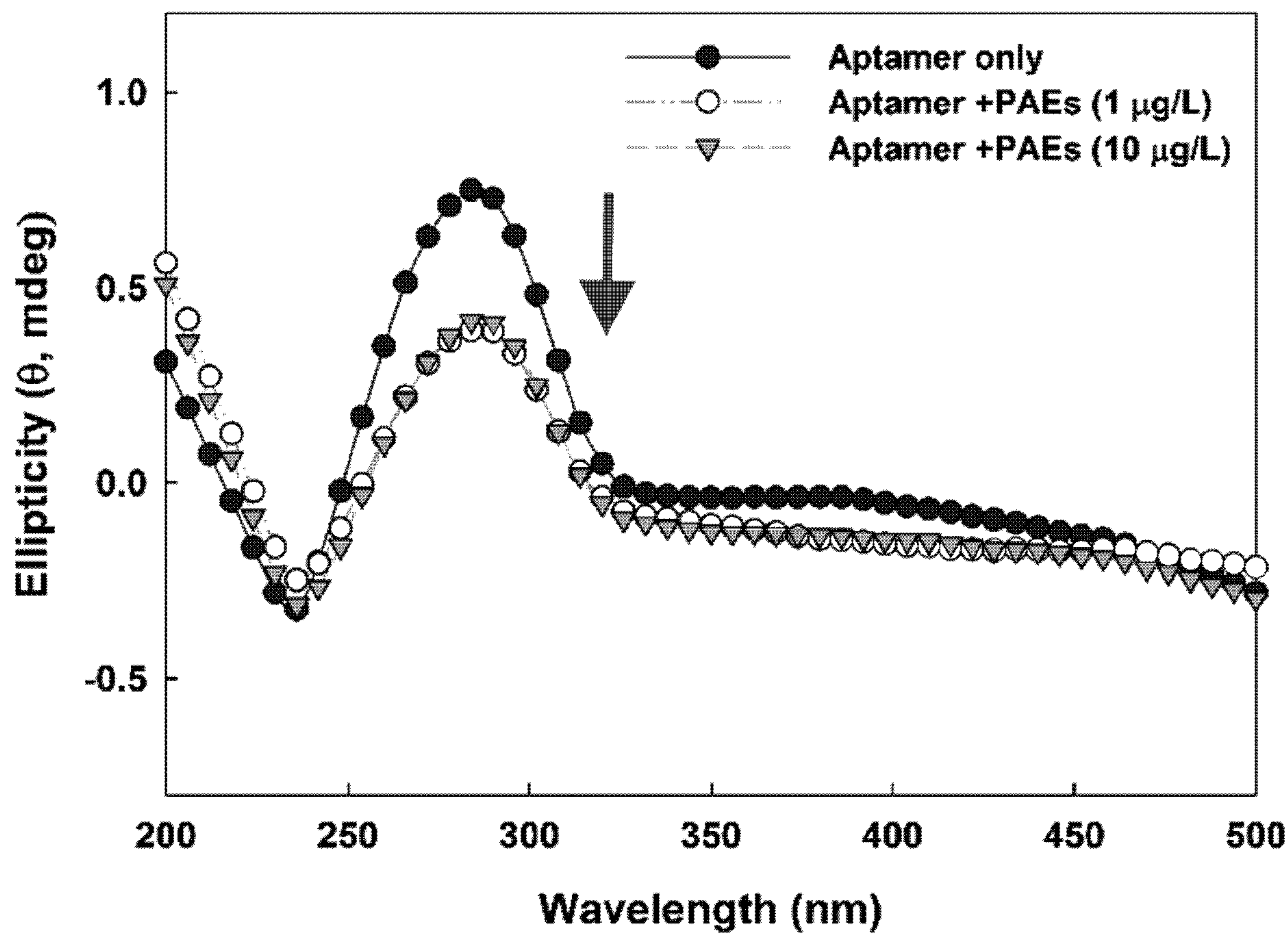
[도4a]



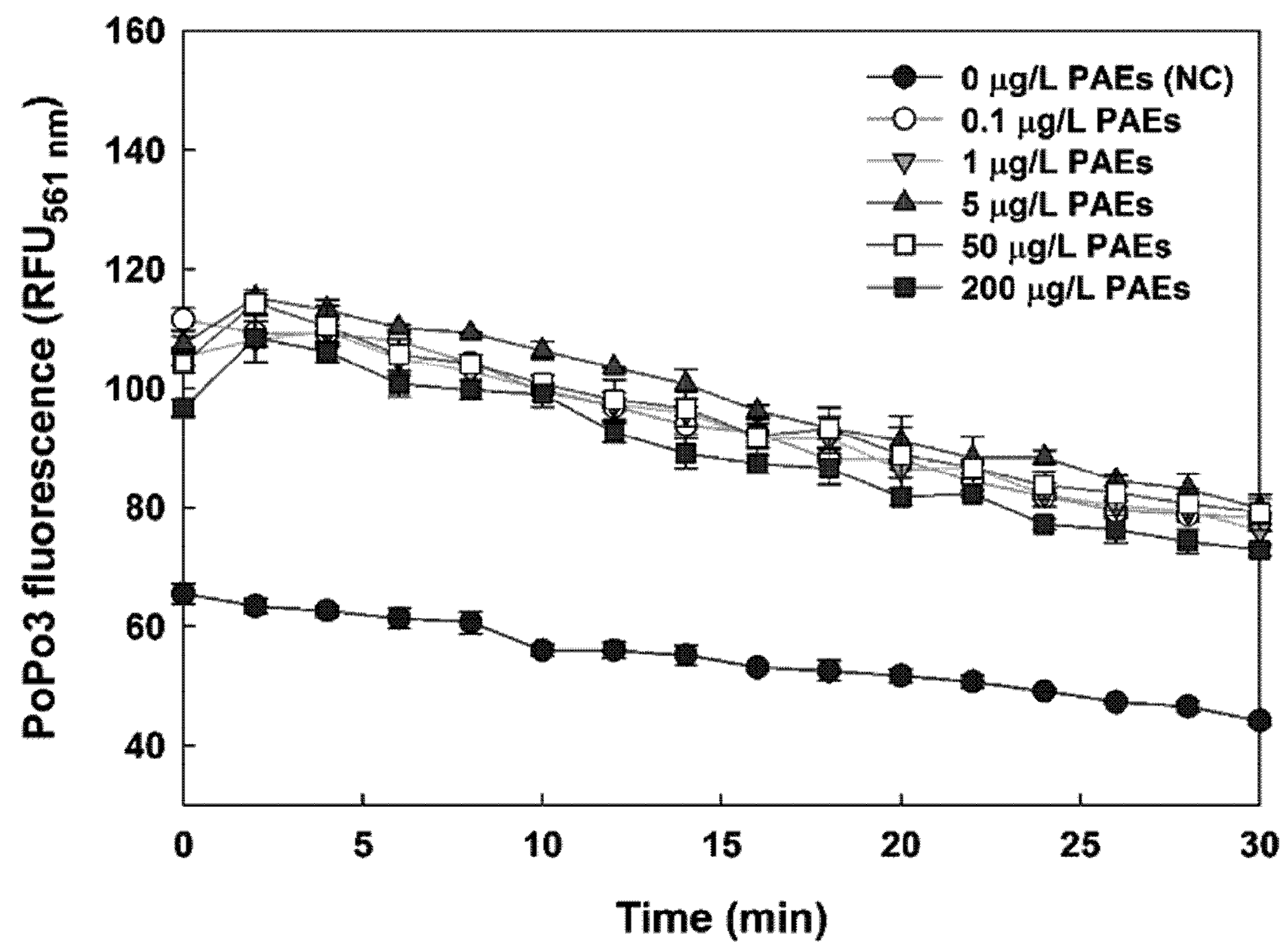
[도4b]



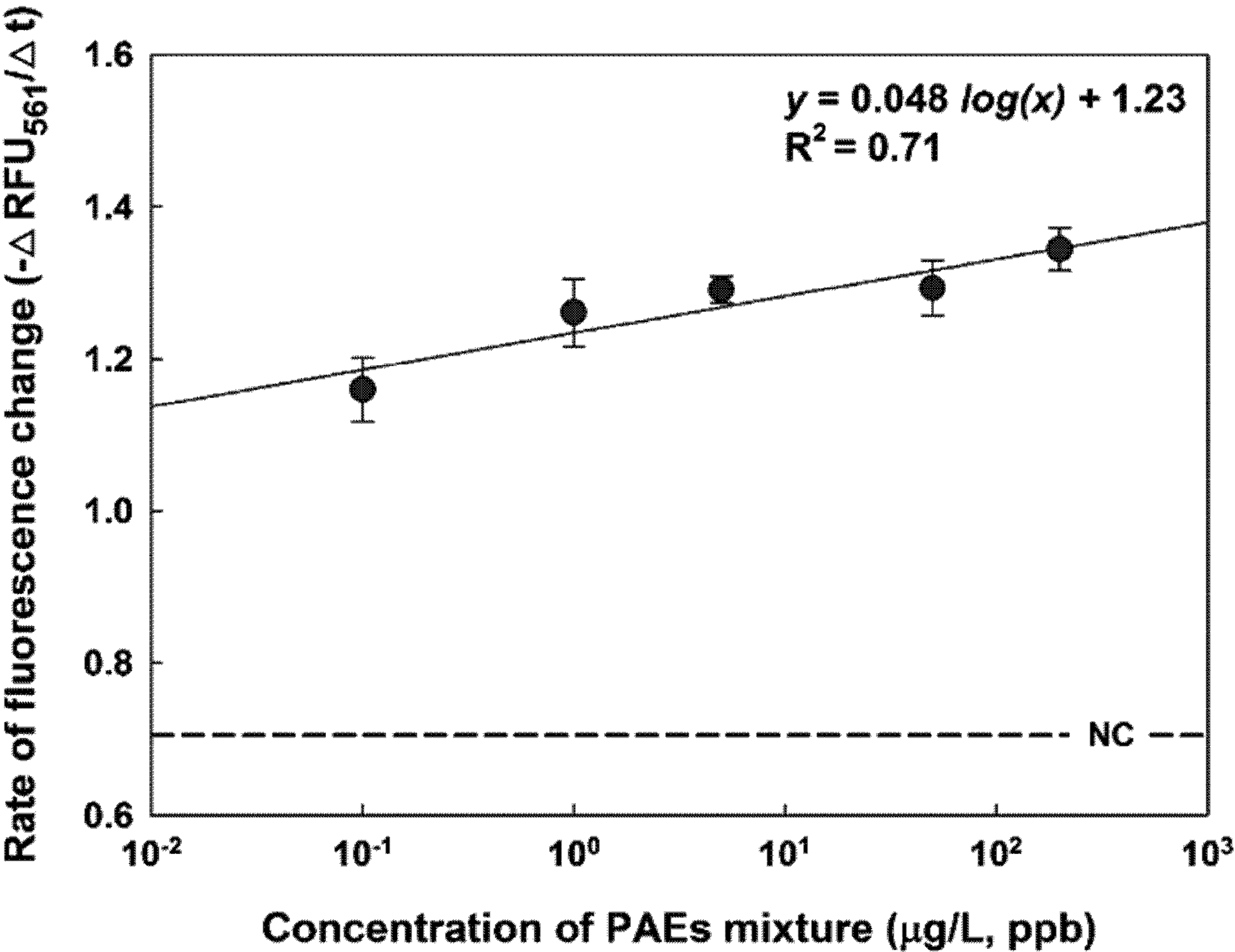
[圖5a]



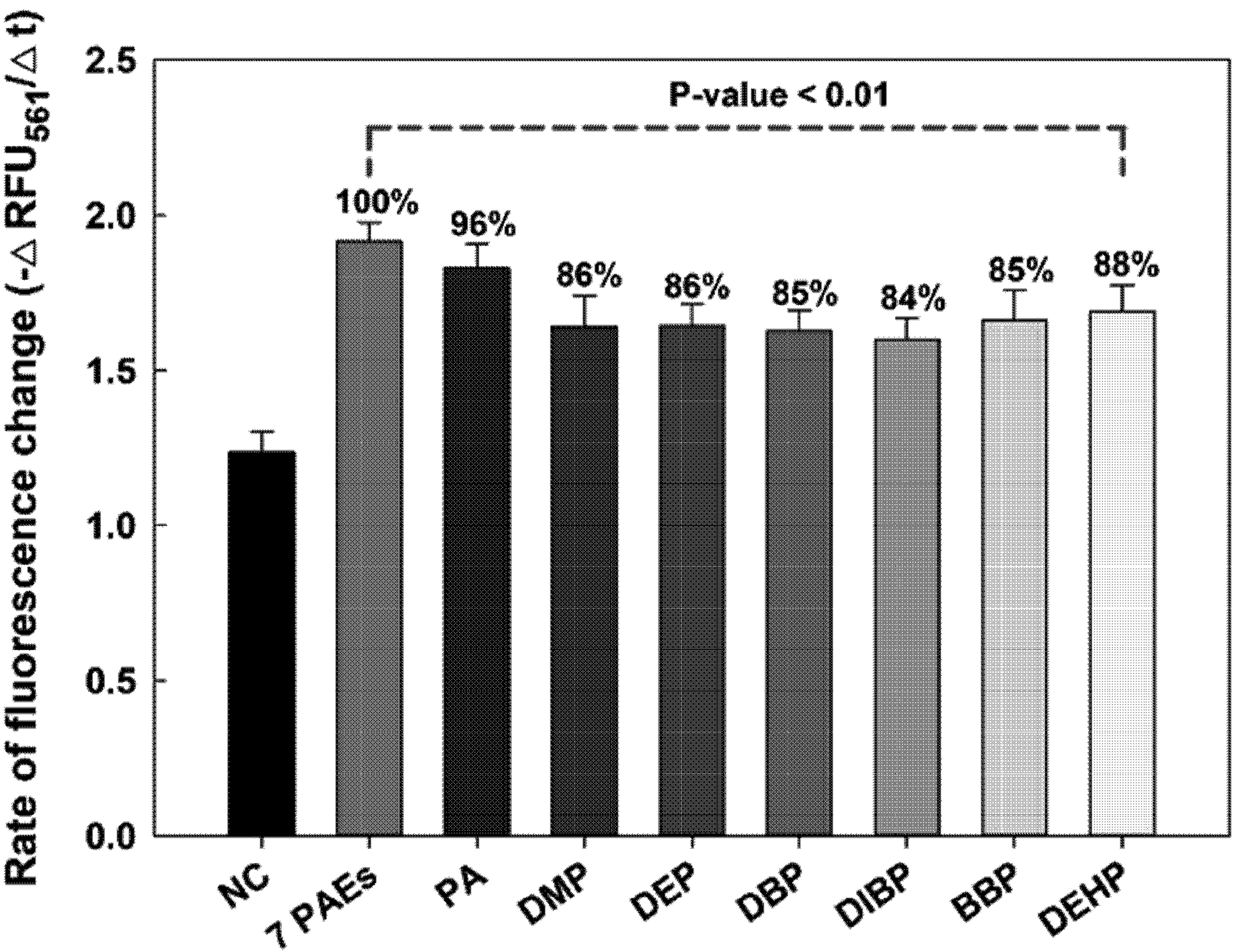
[圖5b]



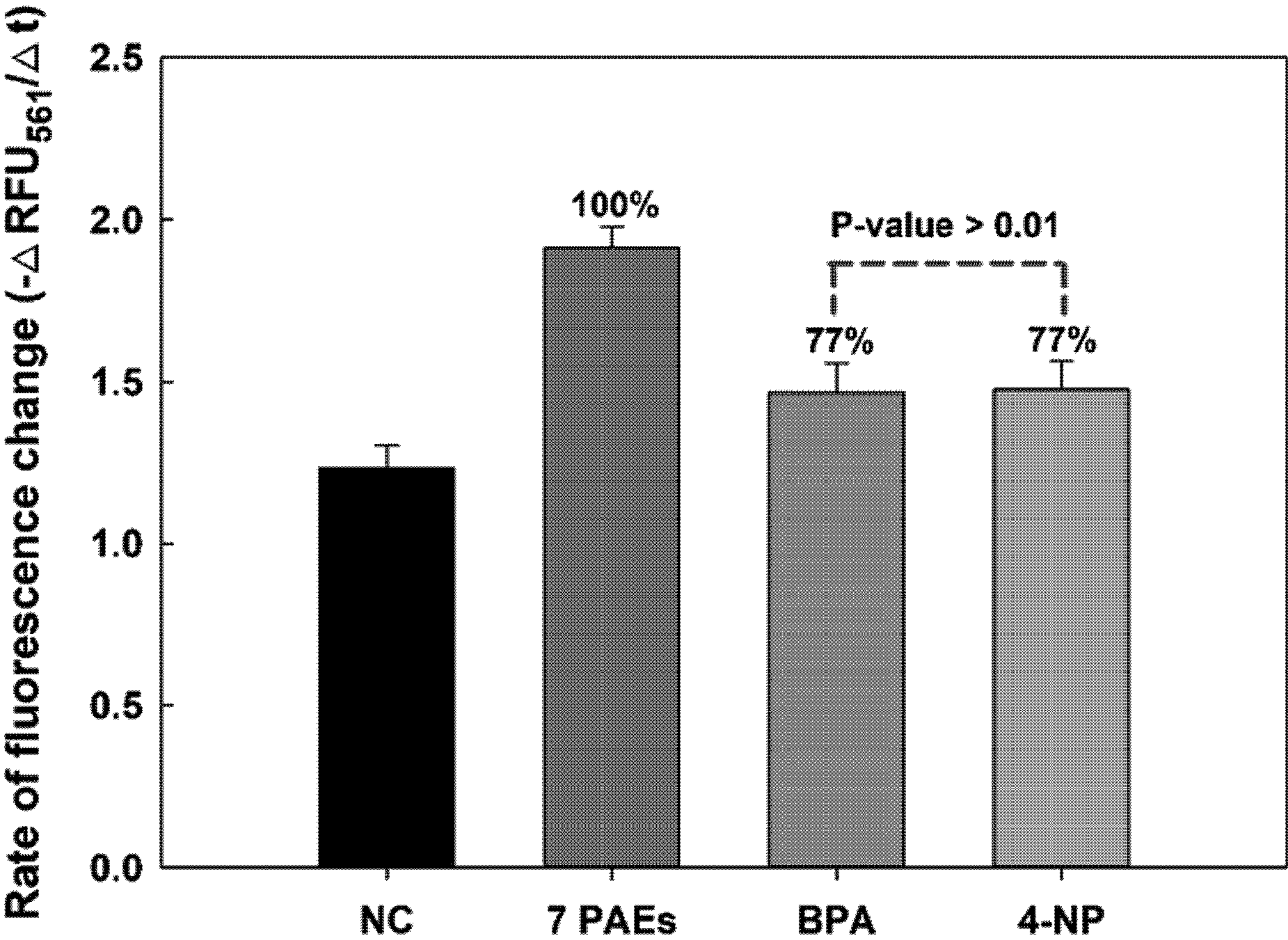
[도5c]



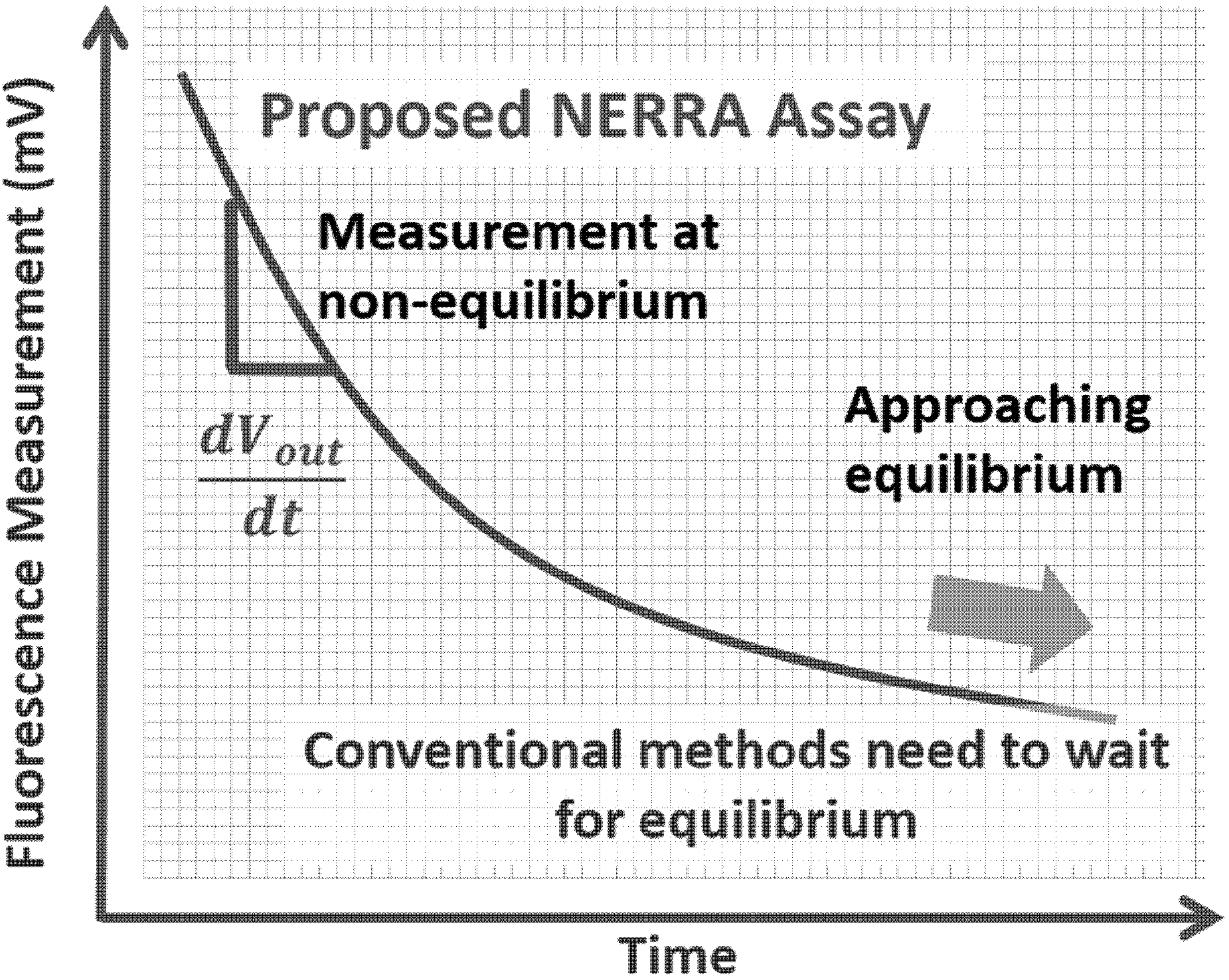
[도6a]



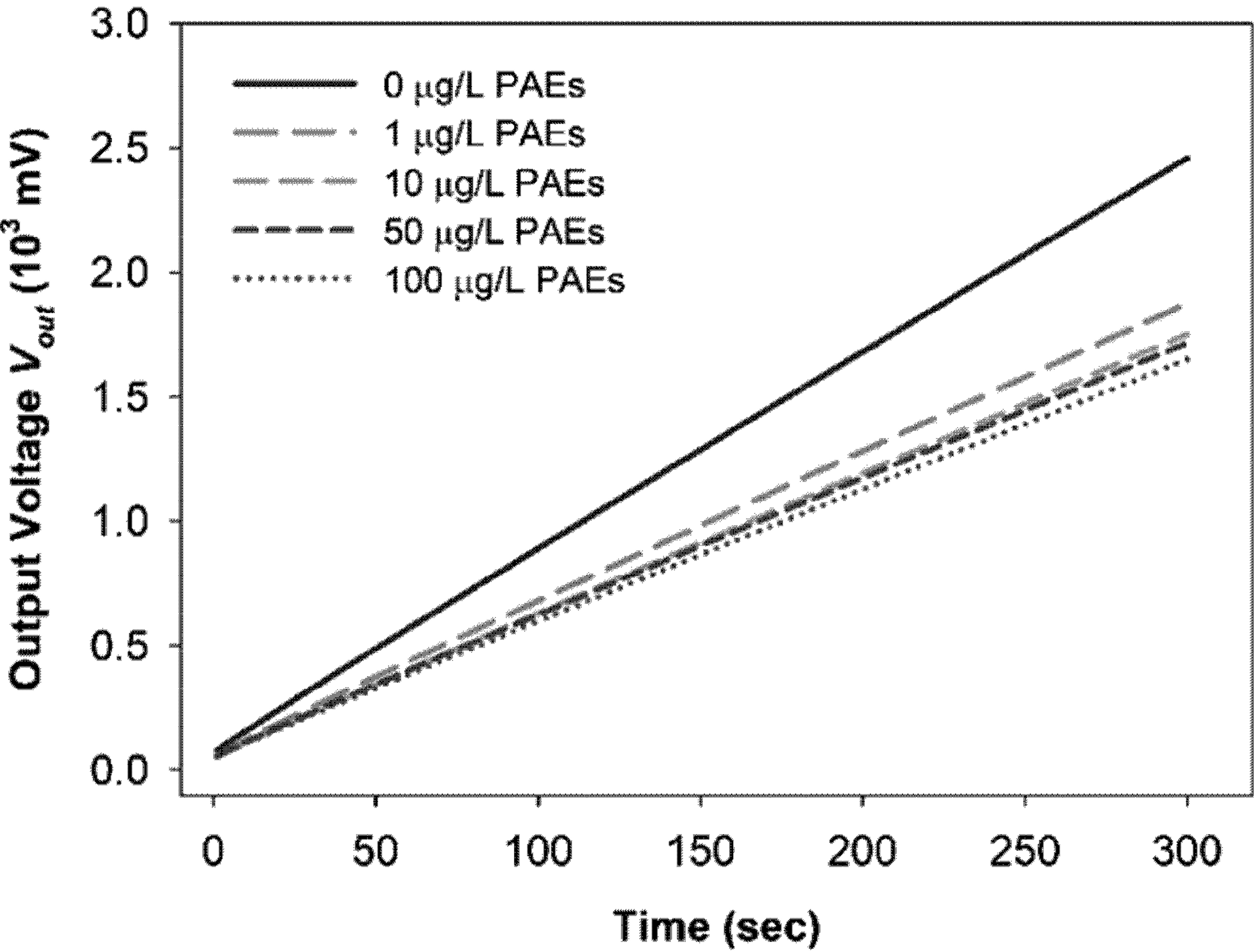
[도6b]



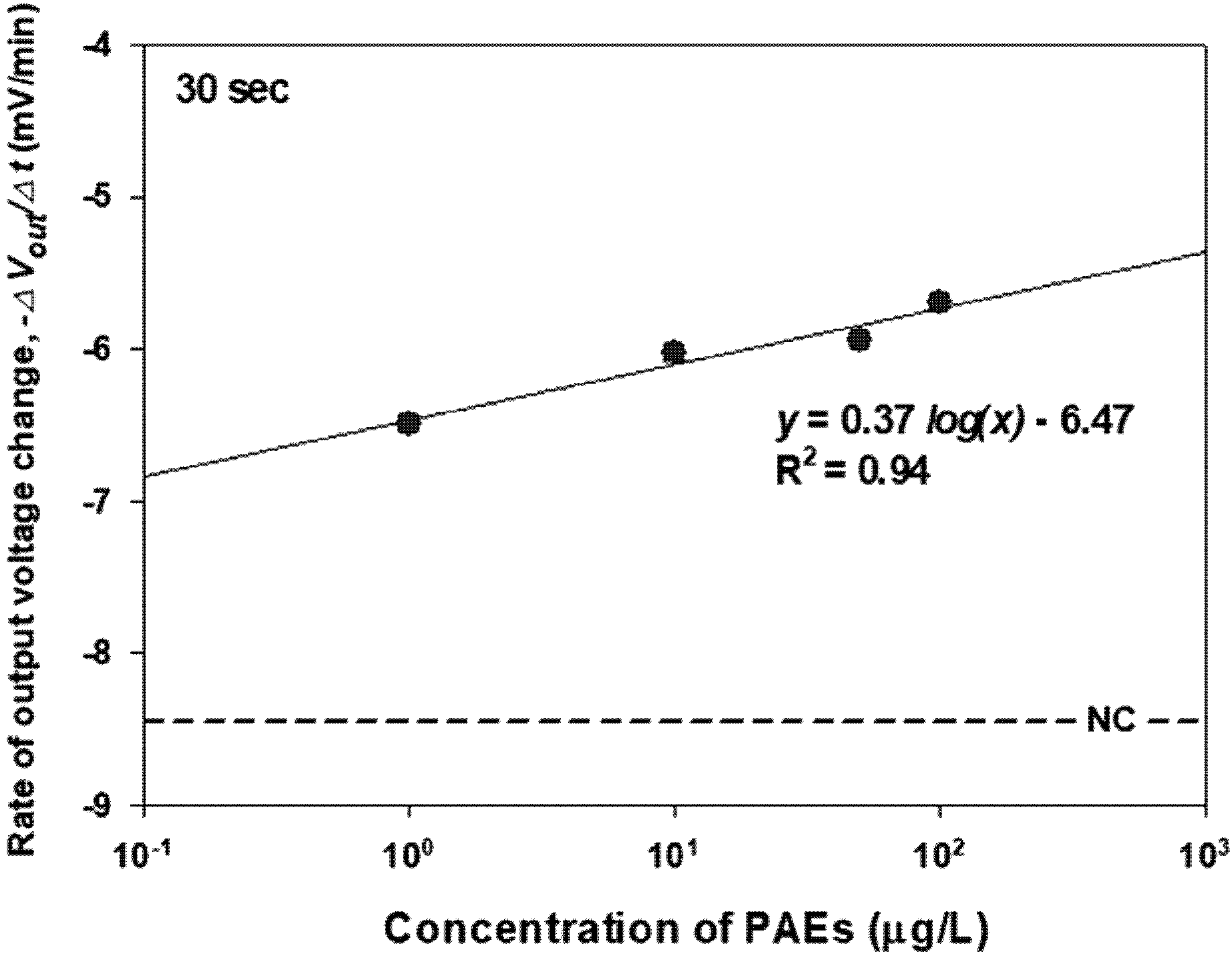
[도7a]



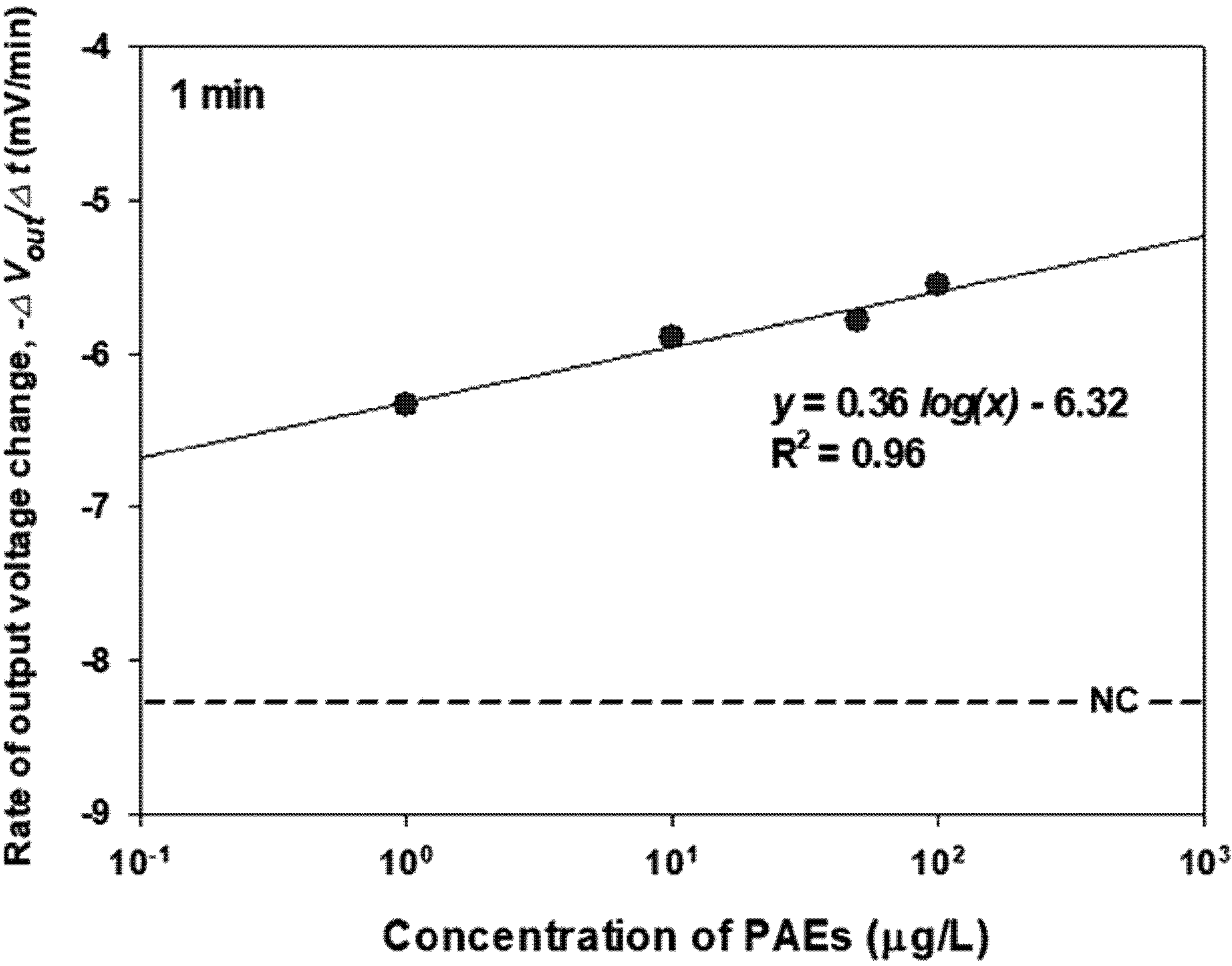
[도7b]



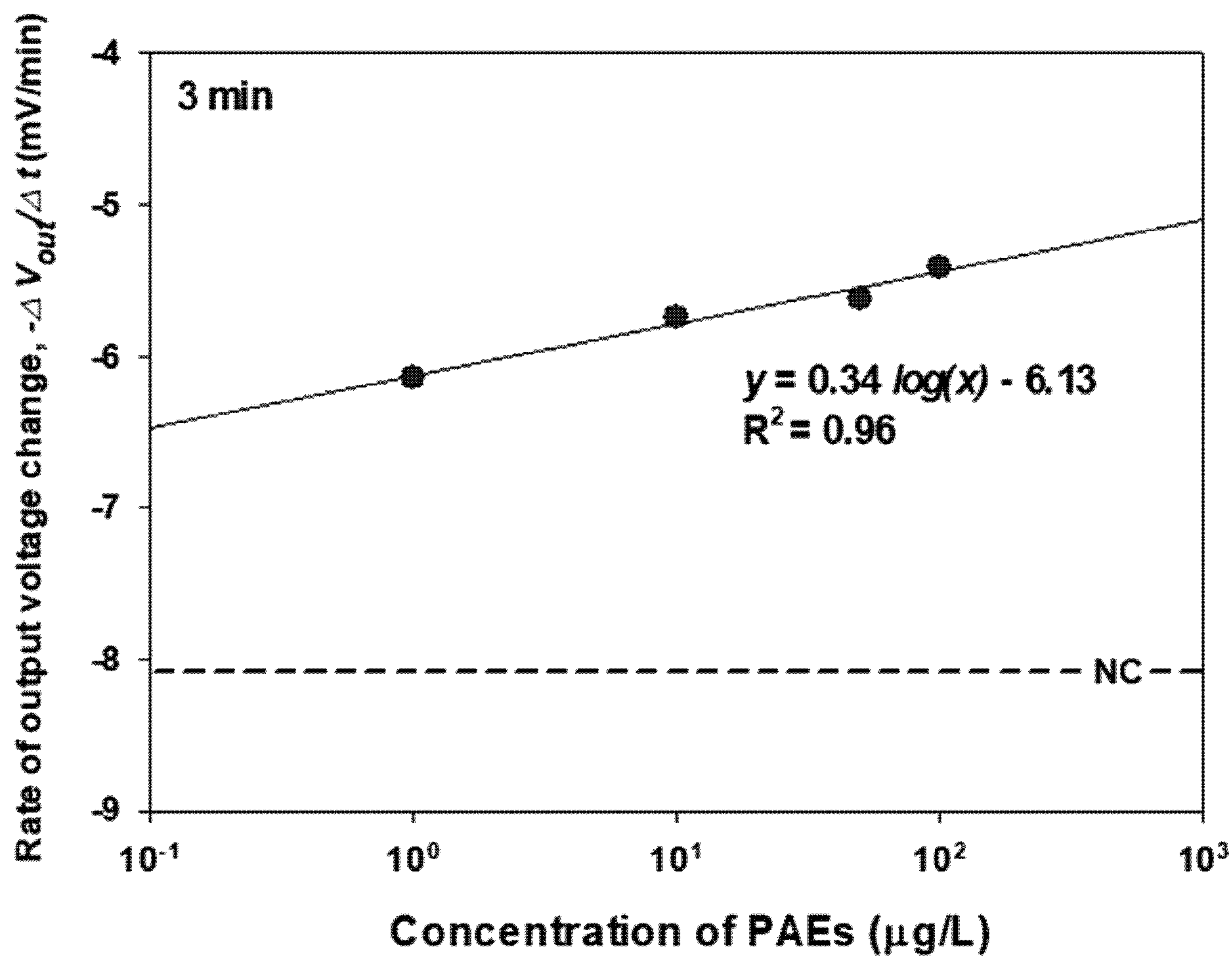
[도7c]



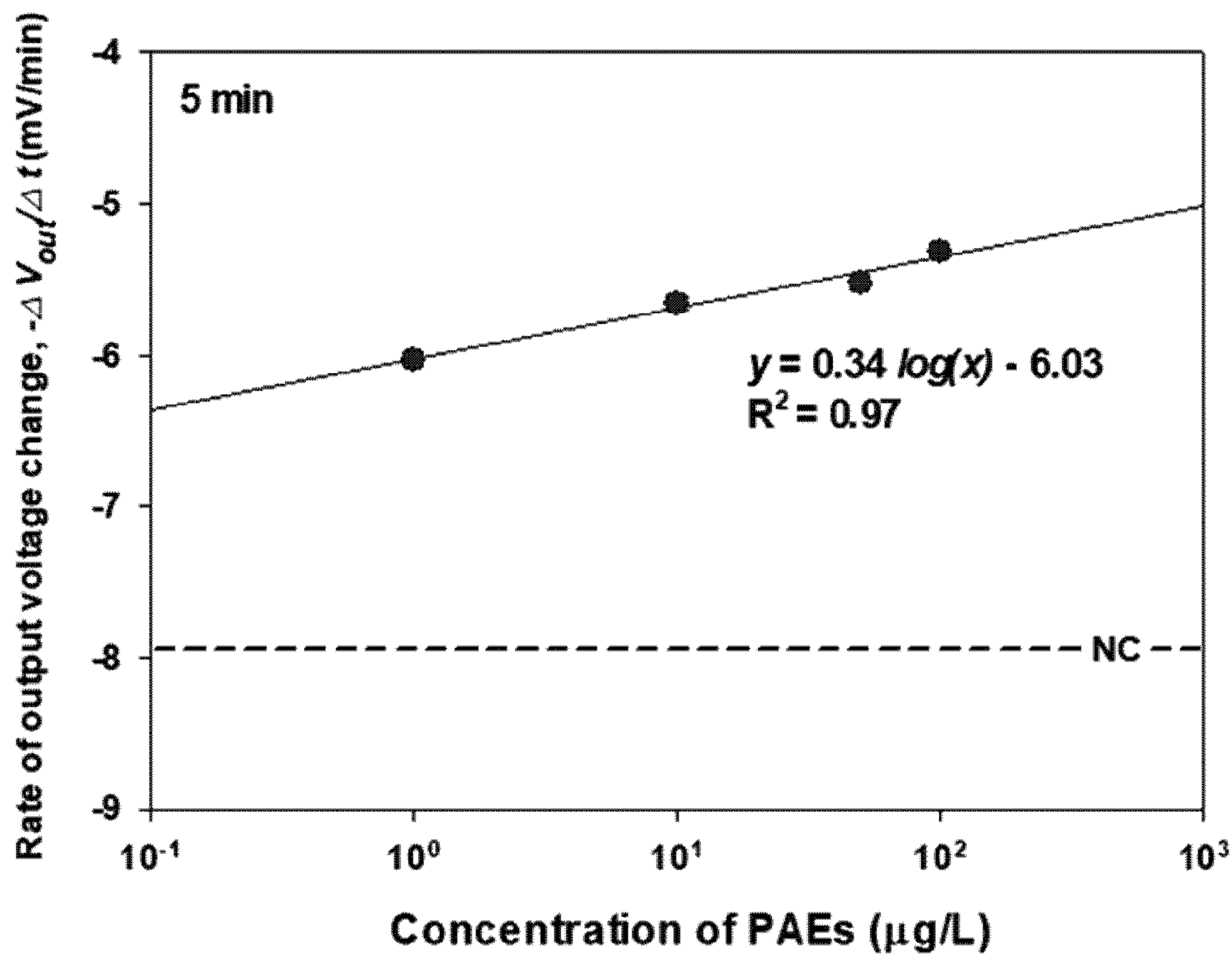
[도7d]



[Figure 7e]



[도7f]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2020/018928

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/543(2006.01)i; G01N 33/53(2006.01)i; G01N 33/58(2006.01)i; G01N 21/64(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 33/543(2006.01); B82B 3/00(2006.01); C12N 15/10(2006.01); C12N 15/115(2010.01); G01N 21/64(2006.01); G01N 31/00(2006.01); G01N 33/553(2006.01)

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: 압타머(aptamer), 형광 염료(fluorescent dyes), 검출(detect), 감지(sensor)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2018-0089326 A (IUCF-HYU (INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION HANYANG UNIVERSITY)) 08 August 2018 (2018-08-08) See claims 1-13; and paragraphs [0061], [0062] and [0105]-[0110].	1-10
Y	KR 10-2011-0004961 A (PCL, INC. et al.) 17 January 2011 (2011-01-17) See claims 1-3, 12, 15-19, 21-25 and 27; and paragraphs [0052] and [0054].	1-10
A	KR 10-2018-0089974 A (IUCF-HYU (INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION HANYANG UNIVERSITY)) 10 August 2018 (2018-08-10) See claims 1-8.	1-10
A	KR 10-2009-0061786 A (INDUSTRY FOUNDATION OF CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY) 17 June 2009 (2009-06-17) See claims 1-12.	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
“D” document cited by the applicant in the international application
“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

09 June 2021

Date of mailing of the international search report

09 June 2021

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2020/018928

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2010-0093502 A (DONGGUK UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION) 25 August 2010 (2010-08-25) See claims 1-18.	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2020/018928

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2018-0089326	A	08 August 2018	KR	10-2018-0089848	A	09 August 2018
				US	10801960	B2	13 October 2020
				US	2018-0217062	A1	02 August 2018
KR	10-2011-0004961	A	17 January 2011	None			
KR	10-2018-0089974	A	10 August 2018	None			
KR	10-2009-0061786	A	17 June 2009	None			
KR	10-2010-0093502	A	25 August 2010	CN	102395684	A	28 March 2012
				CN	102395684	B	03 June 2015
				EP	2397562	A2	21 December 2011
				EP	2397562	B1	23 August 2017
				EP	3192881	A1	19 July 2017
				EP	3192881	B1	17 April 2019
				EP	3495501	A1	12 June 2019
				KR	10-1437616	B1	04 September 2014
				US	2012-0040865	A1	16 February 2012
				US	2015-0212038	A1	30 July 2015
				US	9075053	B2	07 July 2015
				US	9329178	B2	03 May 2016
				WO	2010-093223	A2	19 August 2010
				WO	2010-093223	A3	24 February 2011

A.발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
G01N 33/543(2006.01)i; G01N 33/53(2006.01)i; G01N 33/58(2006.01)i; G01N 21/64(2006.01)i

B.조사된 분야
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
G01N 33/543(2006.01); B82B 3/00(2006.01); C12N 15/10(2006.01); C12N 15/115(2010.01); G01N 21/64(2006.01); G01N 31/00(2006.01); G01N 33/553(2006.01)
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: aptamer(아타머), fluorescent dyes(형광 염료), detect(검출), sensor(감지)

C.관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2018-0089326 A (한양대학교 산학협력단) 2018.08.08 청구항 1-13; 단락 [0061], [0062], [0105]-[0110]	1-10
Y	KR 10-2011-0004961 A (피씨엘(주) 등) 2011.01.17 청구항 1-3, 12, 15-19, 21-25, 27; 단락 [0052], [0054]	1-10
A	KR 10-2018-0089974 A (한양대학교 산학협력단) 2018.08.10 청구항 1-8	1-10
A	KR 10-2009-0061786 A (전남대학교산학협력단) 2009.06.17 청구항 1-12	1-10
A	KR 10-2010-0093502 A (동국대학교 산학협력단) 2010.08.25 청구항 1-18	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
“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌
“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일 2021년06월09일(09.06.2021)	국제조사보고서 발송일 2021년06월09일(09.06.2021)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	심사관 정다원 전화번호 +82-42-481-5373

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2019년 7월)

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2018-0089326 A	2018/08/08	KR 10-2018-0089848 A	2018/08/09
		US 10801960 B2	2020/10/13
		US 2018-0217062 A1	2018/08/02
KR 10-2011-0004961 A	2011/01/17	없음	
KR 10-2018-0089974 A	2018/08/10	없음	
KR 10-2009-0061786 A	2009/06/17	없음	
KR 10-2010-0093502 A	2010/08/25	CN 102395684 A	2012/03/28
		CN 102395684 B	2015/06/03
		EP 2397562 A2	2011/12/21
		EP 2397562 B1	2017/08/23
		EP 3192881 A1	2017/07/19
		EP 3192881 B1	2019/04/17
		EP 3495501 A1	2019/06/12
		KR 10-1437616 B1	2014/09/04
		US 2012-0040865 A1	2012/02/16
		US 2015-0212038 A1	2015/07/30
		US 9075053 B2	2015/07/07
		US 9329178 B2	2016/05/03
		WO 2010-093223 A2	2010/08/19
		WO 2010-093223 A3	2011/02/24