(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0063000
(43) 공개일자 2017년06월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*G01N 33/569* (2017.01) *C12N 15/115* (2010.01)
*C12Q 1/70* (2006.01) *G01N 21/25* (2006.01)
*G01N 21/64* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*G01N 33/56983* (2013.01)
*C12N 15/115* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0168888
(22) 출원일자 2015년11월30일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
**고려대학교 산학협력단**
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
**구만복**
서울특별시 용산구 이촌로 100-8, 105동 1301호 (이촌동, 동아그린아파트)
(74) 대리인
**이처영, 장제환**

전체 청구항 수 : 총 16 항

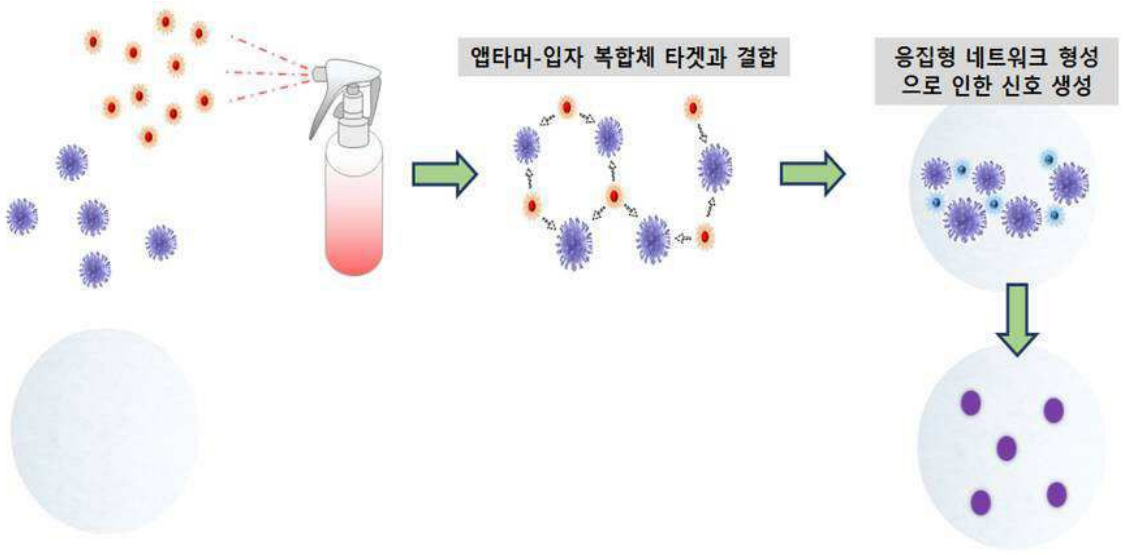
(54) 발명의 명칭 **바이러스 특이적 핵산앱타머-나노입자 복합체를 이용한 바이러스 검출방법**

## (57) 요 약

본 발명은 바이러스 특이적 핵산앱타머-나노입자 복합체를 이용한 바이러스 검출방법에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 포함하고, 상기 복합체가 바이러스와 결합할 경우 나노입자-핵산앱타머-바이러스

(뒷면에 계속)

*대 표 도* - 도5



형태의 응집형 그물망(network)을 형성하고, 상기 형성된 응집형 그물망으로 인해 신호가 생성되는 것을 특징으로 하는 바이러스 검출용 조성물, 키트, 센서 및 바이러스 검출방법에 관한 것이다.

본 발명에 따른 나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 포함하는 바이러스 검출용 조성물, 이를 포함하는 키트 및 센서를 이용하면 높은 정확도와 민감성으로 시료 중 바이러스를 검출할 수 있을 뿐만 아니라, 핵산앱타머를 고정시키는 나노입자의 종류, 핵산앱타머와 나노입자의 혼합 비율 조절을 통해, 표적 바이러스를 육안으로 쉽게 검출할 수 있다.

(52) CPC특허분류
***C12Q 1/701*** (2013.01)
***G01N 21/25*** (2013.01)
***G01N 21/6428*** (2013.01)
***G01N 21/6447*** (2013.01)
*C12N 2310/16* (2013.01)
*C12Q 2525/205* (2013.01)
*C12Q 2563/155* (2013.01)
*G01N 2333/005* (2013.01)

# *명 세 서*

## *청구범위*

### 청구항 1

나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 포함하는 바이러스 검출용 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 복합체는 바이러스와 결합할 경우 바이러스-핵산앱타머-나노입자 형태의 응집형 그물망(network)이 형성되고, 상기 형성된 응집형 그물망으로 인해 신호가 생성되는 것을 특징으로 하는 바이러스 검출용 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 나노입자는 실리카입자, 비자성입자, 양자점 및 자성입자로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 4

제2항에 있어서, 상기 응집형 그물망(network)은 상기 복합체의 핵산앱타머가 바이러스의 서로 다른 부위에 결합하여 형성되는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 바이러스의 서로 다른 부위는 바이러스 막단백질 또는 캡시드(capsid) 단백질인 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자가 금나노입자이고, 바이러스와의 반응으로 응집형 그물망(network)을 형성하면, 적색에서 청색으로 변화하는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자가 자성입자이고, 바이러스와의 반응으로 응집형 그물망(network)을 형성하면, 자성입자 간의 인력으로 흑색을 나타내는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자가 금나노입자 및 자성입자이고, 바이러스와의 반응으로 응집형 그물망(network)을 형성하면, 자성입자 간의 인력으로 적색을 나타내는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 9**

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 나노입자가 양자점 및 자성입자이고, 바이러스와의 반응으로 응집형 그물망(network)을 형성하면, 자외선 조사시 자성입자 간의 인력으로 형광을 나타내는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 10**

제2항에 있어서, 상기 신호는 발색반응 또는 형광반응으로 나타나는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 11**

제1항에 있어서, 상기 바이러스는 기체상, 액체상 또는 고체상에 존재하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**청구항 12**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 바이러스 검출용 키트.

**청구항 13**

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 바이러스 검출용 센서.

**청구항 14**

다음 단계를 포함하는 바이러스 검출방법:

(a) 제1항의 핵산앱타머-나노입자 복합체와 바이러스 함유 추정 시료를 반응시키는 단계; 및

(b) 상기 반응에 의한 발색 또는 형광 여부를 확인하는 단계.

**청구항 15**

제14항에 있어서, 상기 반응은 바이러스 존재시, 바이러스-핵산앱타머-나노입자 형태의 응집형 그물망(network)이 형성되고, 상기 형성된 응집형 그물망으로 인해 신호가 생성되는 것을 특징으로 하는 방법.

**청구항 16**

제14항에 있어서, 상기 응집형 그물망(network)은 상기 복합체의 핵산앱타머가 바이러스의 서로 다른 부위에 결합하여 형성되는 것을 특징으로 하는 방법.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 바이러스 특이적 핵산앱타머-나노입자 복합체를 이용한 바이러스 검출방법에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 포함하고, 상기 복합체가 바이러스와 결합할 경우 나노입자-핵산앱타머-바이러스 형태의 응집형 그물망(network)을 형성하고, 상기 형성된 응집형 그물망으로 인해 신호가 생성되는 것을 특징으로 하는 바이러스 검출용 조성물, 키트, 센서 및 바이러스 검출방법에 관한 것이다.

## 배 경 기 술

[0002] 전 세계적으로 신종플루, SARS(중증급성호흡기증후군), MERS(중동호흡기바이러스증후군) 에볼라바이러스 등으로 인명 피해가 속출하고 있다. 이외에도 조류인플루엔자(Influenza, AI), 구제역과 같은 가축전염병으로 인한 피해가 심각하다. 조류인플루엔자(Avian Influenza, AI, 이하 조류독감) 바이러스는 병원성 정도에 따라 고병원성 조류인플루엔자(Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI)와 저병원성 조류인플루엔자(Low Pathogenic Avian Influenza, LPAI) 바이러스로 구분할 수 있다. 고병원성 조류인플루엔자 바이러스의 경우 전염성이 강하며 95% 이상의 높은 치사율을 보여 전 세계적으로 큰 피해를 주고 있으며, 우리나라의 경우 2003년부터 올해까지 총 5차례 발생하여 막대한 경제적 피해를 초래하였다. 조류 인플루엔자는 조류와 돼지 이외의 동물에서는 감염이 안 되지만, 1997년에 홍콩에서 H5N1 바이러스의 인체 감염 사례, 2003년에는 홍콩, 네덜란드 등에서 인체 감염 사례가 있었고, 계속해서 중국 및 동남아시아 등 국가에서 인체 감염 사례가 보고되고 있다. 아직까지 우리나라에서는 인체 감염 사례가 보고되지 않았지만, 인체 감염 시 치사율이 최대 60%에 달하기 때문에, 공중보건학적 문제를 일으킬 수 있는 위험성을 가진다.

[0003] 실험실에서 많이 이용되고 있는 조류인플루엔자 바이러스 진단법으로는 혈구응집억제 시험법(HI, Hemagglutination inhibition), 효소면역 시험법(ELISA, Enzyme Linked Immunosorbant Assay), 면역형광법(IFA, Immunofluorescence Assay), 바이러스 배양법(Plaque assay), 중합효소연쇄 반응법(PCR, polymerase Chain Reaction) 등이 있다. 바이러스 배양법(HI), 면역형광법(IFA)과 효소면역 시험법(ELISA)은 정확성이 높고 민감하지만, 많은 시간이 소요되는 것이 단점이다. PCR(중합효소연쇄반응) 기반의 검사는 정확도가 높고 민감성이 뛰어나지만, 조류인플루엔자 바이러스 표본 채취, 검사 및 결과확인까지에는 여러 절차와 시간이 소요되어 신속성, 간편성 및 현장성이 떨어지는 한계점이 존재한다.

[0004] 기존 바이오센서 분야에서 이용되는 다양한 감지 물질 중 민감도 면에서 우위에 있는 것이 항체를 이용한 타겟 물질의 검출이다. 이는 검출하고자하는 타겟 물질(항원)을 동물의 몸에 주입하여 생체의 면역시스템을 통해 만들어지는 항체를 확보한 후 정제 과정을 거치기 때문에 시간이 많이 들고 고비용이라는 점이 첫 번째 문제점이라 할 수 있다. 또한 타겟 물질에 있어 제약이 거의 없는 앱타머에 비해 항원으로 사용할 수 있는 타겟 물질이 제한적이어서 독성 물질과 같은 저분자 화학 물질들에 대한 항체의 제작에 어려움이 있다. 일반적으로 항체는 그 크기가 100kDa 이상인 매우 큰 단백질이기 때문에 전기화학 기반 등의 바이오센서로 응용 시에 신호 검출 부분에 있어 제약이 있고, 열 안전성이 DNA나 다른 화학 물질에 비해 현저히 떨어지는 문제가 있다. 그러므로 기존의 혈중 바이오마커의 진단에 있어 항체를 이용한 기술은 비용과 시간 면에서 효율적이지 않고, 적용범위가 다양하지 않으며 바이오센서로 응용하는 데에 있어 제한적인 문제점들이 있다. 이러한 문제점들을 개선하기 위한 새로운 감지 물질로서 다양한 타겟 물질에 대해 특이적으로 높은 친화도를 보이는 핵산 구조체인 앱타머를 이용하는 연구가 많이 이루어지고 있다.

[0005] 앱타머(aptamer)는 $10^{12\sim14}$ 정도의 다양성을 가지는 랜덤 핵산 라이브러리로부터 얻어지는 특정 타겟에 대해 높은 특이성과 친화도를 가지는 단일가닥 DNA 또는 RNA 분자 구조체를 말한다. 또한, 앱타머는 센서 분야에서 이용되는 기존의 감지 물질인 항체와는 달리 핵산구조체이므로 열 안정성이 우수하며, 시험관내(*in vitro*)에서 합성되기 때문에 동물이나 세포가 따로 필요하지 않아 생산 비용 면에서도 경제적이며, 타겟 물질에 제약이 없어 바이러스, 단백질, 아미노산 같은 생분자 물질부터 환경호르몬, 항생제, 잔류 의약품 등의 저분자 유기화학 물질, 박테리아, 바이러스 등의 다양한 타겟에 대한 앱타머를 합성할 수 있다. 따라서 다양한 타겟 물질에 대한 앱타머가 만들어지고 있으며, 표적 물질과 특이성과 강한 친화도를 가지고 결합하는 앱타머의 특성으로 인해 최근 들어 앱타머를 신약 개발, 약물 전달 시스템, 바이오센서 등에 응용하는 많은 연구가 이루어지고 있다.

[0006] 이러한 기술적 배경 하에서, 본 발명자들은 바이러스를 쉽게 검출할 수 있는 방법을 개발하고자 예의 노력한 결과, 나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체와 바이러스 함유 추정 시료를 반응시킨 다음, 상기 반응에 의한 발색(또는 형광) 여부를 확인함으로써 바이러스를 육안으로 쉽게 검출할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 바이러스를 용이하게 검출하기 위한 바이러스 검출용 조성물, 바이러스 검출용 키트, 바이러스 검출용 센서 및 바이러스 검출방법을 제공하는 데 있다.

### 과제의 해결 수단

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 포함하는 바이러스 검출용 조성물을 제공한다.

[0009] 본 발명은 또한, 상기 조성물을 포함하는 바이러스 검출용 키트 및 바이러스 검출용 센서를 제공한다.

[0010] 본 발명은 또한, 상기 핵산앱타머-나노입자 복합체와 바이러스 함유 추정 시료를 반응시키는 단계; 및 상기 반응에 의한 발색 또는 형광 여부를 확인하는 단계를 포함하는 바이러스 검출방법을 제공한다.

### 발명의 효과

[0011] 본 발명에 따른 나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 포함하는 바이러스 검출용 조성물, 이를 포함하는 키트 및 센서를 이용하면 높은 정확도와 민감성으로 시료 중 바이러스를 검출할 수 있을 뿐만 아니라, 핵산앱타머를 고정시키는 나노입자의 종류, 핵산앱타머와 나노입자의 혼합 비율 조절을 통해, 표적 바이러스를 육안으로 쉽게 검출할 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 표적 바이러스에 특이적으로 결합가능한 DNA 앱타머의 스크리닝 및 제조과정의 모식도이다.

도 2는 표적 바이러스에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 나노입자에 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 사용하는 표적 바이러스의 검출방법을 나타낸 것이다.

도 3은 서로 다른 2종의 핵산앱타머 쌍이 나노입자에 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 사용하여 표적 바이러스를 용액상에서 검출한 모식도이다.

도 4는 서로 다른 2종의 핵산앱타머 쌍이 나노입자에 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 함유하는 바이오나노용액을 사용하여 표적 바이러스를 섬유상에서 검출한 모식도이다.

도 5는 서로 다른 2종의 핵산앱타머 쌍이 나노입자에 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 함유하는 분무용 바이오나노용액을 사용하여 표적 바이러스를 기체상에서 검출한 모식도이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[0014] 본 발명은 일 양태에서 나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체가 바이러스에 결합하여, 나노입자 중심으로 바이러스 입자들이 핵산앱타머를 통하여 연결되는 '바이러스-핵산앱타머-나노입자' 형태의 응집형 그물망 형성으로 인한 신호생성을 통하여 표적 바이러스를 검출하는 방법이다. 특히, 본 발명은 핵산앱타머 쌍을 금나노입자, 자성입자 또는 양자점에 고정하여, 기존의 바이러스 검출 방식으로는 가능하지 않은 공기 중의 바이러스를 검출하였고, 나노입자의 종류, 나노입자에 고정되어 있는 핵산앱타머의 종류 및 개수, 상기 복합체 내 핵산앱타머와 나노입자의 혼

합 비율 및 상기 복합체의 농도조절을 통해, 바이러스를 육안으로 판별할 수 있었다.

[0015] 따라서, 본 발명은 일 관점에서, 나노입자에 바이러스의 서로 다른 부위에 특이적으로 결합하는 서로 다른 핵산앱타머 쌍이 고정되어 있는 핵산앱타머-나노입자 복합체를 포함하는 바이러스 검출용 조성물에 관한 것이다.

[0016] 본 발명에 있어서, 상기 복합체는 바이러스와 결합할 경우 바이러스-핵산앱타머-나노입자 형태의 응집형 그물망(network)이 형성되고, 상기 형성된 응집형 그물망으로 인해 신호가 생성되는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0017] 본 발명의 바이러스 검출용 조성물에 포함된 핵산앱타머-나노입자 복합체는 물 또는 유기용매에 용해 또는 분산되어 바이오나노용액으로 제조될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 복합체에 포함된 나노입자의 종류, 나노입자에 고정되어 있는 핵산앱타머의 종류 및 개수, 상기 복합체 내 핵산앱타머와 나노입자의 혼합 비율 및 상기 복합체의 농도조절을 통해, 다양한 종류의 복합체 제조가 가능하다.

[0018] 본 발명은 다른 관점에서, 상기 조성물을 포함하는 바이러스 검출용 키트 및 바이러스 검출용 센서에 관한 것이다.

[0019] 본 발명의 바이러스 검출용 키트는 바이러스를 포획할 수 있는 매체(재질)를 포함하며, 상기 매체는 면, 모, 유리섬유, 합성섬유 또는 셀룰로오스를 기반으로 하는 필터 계열일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 매체의 구성형태(form)는 패드(pad) 또는 스트립일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0020] 본 발명의 바이러스 검출용 키트는 병, 통(tub), 작은 봉지(sachet), 봉투(envelope), 튜브, 앰플(ampoule) 등과 같은 형태를 취할 수 있으며 이들은 부분적으로 또는 전체적으로 플라스틱, 유리, 종이, 호일, 왁스 등으로부터 형성될 수 있다. 용기는, 처음에는 용기의 일부이거나 또는 기계적, 접착성, 또는 기타 수단에 의해 용기에 부착될 수 있는, 완전히 또는 부분적으로 분리가 가능한 마개를 장착할 수 있다. 용기는 또한 주사바늘에 의해 내용물에 접근할 수 있는, 스토퍼가 장착될 수 있다. 상기 키트는 외부 패키지를 포함할 수 있으며, 외부 패키지는 구성 요소들의 사용에 관한 사용설명서를 포함할 수 있다.

[0021] 본 발명의 키트 및 센서에서 사용되는 특정 반응용 시약의 최적량은 본 명세서에 개시사항을 습득한 당업자에 의해서 용이하게 결정될 수 있다.

[0022] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자는 실리카입자, 비자성입자, 양자점 및 자성입자로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되지 아니하고, 바람직하게는 상기 나노입자는 $SiO_2$, 금(Au), 은(Ag), 알루미늄(Al), 구리(Cu), CdS, CdSe, CdTe, PbS, ZnS, InP, GaAs, $Fe_3O_4$ 및 $\gamma$-$Fe_2O_3$로 구성된 군에서 선택되는 하나 이상인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0023] 본 발명에 있어서, 상기 응집형 그물망(network)은 상기 복합체의 핵산앱타머가 바이러스의 서로 다른 부위에 결합하여 형성되는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 바이러스의 서로 다른 부위는 바이러스 막단백질 또는 캡시드(capsid) 단백질인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0024] 본 발명에 있어서, 상기 복합체는 핵산앱타머 쌍과 나노입자의 종류를 달리하여 2 종류 이상 포함하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0025] 본 발명에 따른 바이러스 검출용 조성물 및 키트는 도 2~4에 도시하였다.

[0026] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자가 금나노입자이고, 바이러스와의 반응으로 응집형 그물망(network)을 형성하면, 적색에서 청색으로 변화하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 여기서, 상기 금나노입자는 핵산앱타머에 의해 안정화되어 있으므로 금나노입자 고유의 표면 플라스몬 공명(Surface Plasmon Resonance, SPR) 현상에 의해 적색을 띠고 있다.

[0027] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자가 자성입자이고, 바이러스와의 반응으로 응집형 그물망(network)을 형성하면, 자성입자 간의 인력으로 흑색을 나타내는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 형성된 '바이러스-핵산앱타머-나노입자(자성입자)' 형태의 응집형 그물망은 자석을 통하여 한곳으로 모아 흑색의 강도를 증가시킴으로써 바이러스의 검출이 가능하다.

[0028] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자가 금나노입자 및 자성입자이고, 바이러스와의 반응으로 응집형 그물망(network)을 형성하면, 자성입자 간의 인력으로 적색을 나타내는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 형성된 '바이러스-핵산앱타머-나노입자(금나노입자)' 및 '바이러스-핵산앱타머-나노입자(자성입자)' 형태의 응집형 그물망은 자석을 통하여 한곳으로 모아 적색의 강도를 증가시킴으로써 바이러스의 검출이 가능하다.

[0029] 본 발명에 있어서, 상기 나노입자가 양자점 및 자성입자이고, 바이러스와의 반응으로 응집형 그물망(network)을 형성하면, 자외선 조사시 자성입자 간의 인력으로 형광을 나타내는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 형성된 '바이러스-핵산앱타머-나노입자(양자점)' 및 '바이러스-핵산앱타머-나노입자(자성입자)' 형태의 응집형 그물망은 자석을 통하여 한곳으로 모아 자외선을 조사함으로써 방출되는 형광을 통해 바이러스의 검출이 가능하다.

[0030] 본 발명에 있어서, 상기 신호는 발색반응 또는 형광반응으로 나타나는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 신호는 육안 또는 광학측정으로 확인하는 것을 특징으로 할 수 있다. 상기 광학측정은 효소면역분석법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)으로 확인할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명에 있어서, 상기 바이러스는 기체상, 액체상 또는 고체상에 존재하는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 기체상, 액체상 또는 고체상은 에어로졸(aerosol), 공기, 물, 토양, 폐기물, 식품, 동식물 조직 및 동식물 체액 중 어느 하나 이상에서 유래된 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 이때, 상기 물은 강수(江水), 해수(海水), 호수(湖水) 및 우수(雨水) 등을 포함하고, 폐기물은 하수, 폐수 등을 포함하며, 상기 동식물은 인체를 포함한다.

[0032] 본 발명에 있어서, 상기 바이러스는 인플루엔자 바이러스일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0033] 본 발명은 또 다른 관점에서, 상기 핵산앱타머-나노입자 복합체와 바이러스 함유 추정 시료를 반응시키는 단계; 및 상기 반응에 의한 발색 또는 형광 여부를 확인하는 단계를 포함하는 바이러스 검출방법에 관한 것이다.

[0034] 본 발명에 있어서, 상기 반응은 바이러스 존재시, 바이러스-핵산앱타머-나노입자 형태의 응집형 그물망(network)이 형성되고, 상기 형성된 응집형 그물망으로 인해 신호가 생성되는 것을 특징으로 할 수 있으며, 상기 응집형 그물망(network)은 상기 복합체의 핵산앱타머가 바이러스의 서로 다른 부위에 결합하여 형성되는 것을 특징으로 할 수 있고, 상기 복합체는 2 종류 이상 사용하여, 2 종류 이상의 바이러스 함유 추정 시료와 반응시키는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0035] 본 발명에 따른 바이러스 검출용 방법은 도 2~4에 도시하였다.

[0036] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0037] **실시예 1: 인플루엔자 바이러스에 특이적인 핵산앱타머 Duo의 스크리닝**

[0038] 바이러스에 특이적인 핵산앱타머 Duo 스크리닝을 다음과 같이 수행하였다.

[0039] ① 랜덤 라이브러리를 인플루엔자 바이러스와 반응시키는 단계;

[0040] ② 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여, 인플루엔자 바이러스와 결합하는 DNA pool을 증폭시키는 단계;

[0041] ③ PAGE(polyacrylamide gel electrophoresis)를 통해 이중가닥 DNA를 단일 가닥 DNA로 분리시키는 단계;

[0042] ④ ①~③ 단계에서, 선별과 분리과정을 반복 수행하는 단계;

[0043] ⑤ 최종적으로 얻어진 단일 가닥 DNA pool을 클로닝하는 단계;

[0044] ⑥ 클로닝된 DNA pool의 염기서열 분석을 통해 인플루엔자 바이러스와 선택적으로 결합하는 핵산앱타머 후보군을 확보하는 단계; 및

[0045] ⑦ 상기 핵산앱타머 후보군의 성능 분석 및 핵산앱타머 Duo 선별하는 단계.

[0046] **실시예 2: 핵산앱타머 Duo 및 핵산앱타머-나노입자 복합체의 제조**

[0047] 다음과 같은 과정으로 금나노입자, 자성나노입자 및 자성마이크로입자를 합성하고, 각각의 핵산앱타머 Duo-파티

클 복합체(핵산앱타머-나노입자 복합체)를 제조하였다.

[0048] a. 금나노입자 합성

[0049] b. 자성나노입자 합성

[0050] c. Linker 길이에 따른 핵산앱타머와 입자 간의 거리변화 영향 평가

[0051] d. Linker 길이의 최적화

[0052] e. 금나노입자에 기 개발된 핵산앱타머 Duo 고정

[0053] f. 자성나노파티클에 기 개발된 핵산앱타머 Duo 고정

[0054] g. 자성마이크로파티클에 기 개발된 핵산앱타머 Duo 고정

[0055] h. 양자점에 기 개발된 핵산앱타머 Duo 고정

[0056] **실시예 3: 핵산앱타머 Duo-나노입자 복합체를 이용한 액상에서의 인플루엔자 바이러스 검출방법**

[0057] ① 액상에서 인플루엔자 바이러스에 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체(핵산앱타머-나노입자 복합체)를 첨가한 다음, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 특이적 결합 및/또는 색변화 여부로 바이러스 검출.

[0058] ② 액상에서 인플루엔자 바이러스에 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체를 농도별로 반응시킨 다음, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 특이적 결합 및/또는 색변화 여부로 검출.

[0059] 그 결과, 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체(핵산앱타머-나노입자 복합체) 및 바이러스 간의 특이적 결합, 색변화 및 형광변화로 바이러스를 액상에서 검출할 수 있었다.

[0060] **실시예 4: 핵산앱타머 Duo-나노입자 복합체를 이용한 섬유표면에서의 인플루엔자 바이러스 검출방법**

[0061] ① 섬유표면에서 인플루엔자 바이러스에 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체(핵산앱타머-나노입자 복합체)를 첨가한 다음, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 특이적 결합 및/또는 색변화 여부로 바이러스 검출.

[0062] ② 섬유표면에서 인플루엔자 바이러스에 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체를 농도별로 반응시킨 다음, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 결합 및/또는 색변화 여부로 바이러스 검출.

[0063] 그 결과, 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체(핵산앱타머-나노입자 복합체) 및 바이러스 간의 특이적 결합, 색변화 및 형광변화로 바이러스를 섬유표면상에서 검출할 수 있었다.

[0064] **실시예 5: 핵산앱타머 Duo-나노입자 복합체를 이용한 기체상에서의 인플루엔자 바이러스 검출방법**

[0065] ① 에어로졸 상태의 인플루엔자 바이러스에 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체(핵산앱타머-나노입자 복합체)를 첨가한 다음, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 특이적 결합 및/또는 색변화 여부로 바이러스 검출.

[0066] ② 에어로졸 상태의 인플루엔자 바이러스에 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체를 농도별로 반응시킨 다음, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 특이적 결합 및/또는 색변화 여부로 바이러스 검출.

[0067] ③ 에어로졸 상태의 인플루엔자 바이러스에 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체 솔루션을 스프레이(분사)하여, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 특이적 결합 및/또는 색변화 여부로 바이러스 검출.

[0068] ④ 에어로졸 상태의 인플루엔자 바이러스 농도별로 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체 솔루션을 스프레이(분사)하여, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 특이적 결합 및/또는 색변화 여부로 바이러스 검출.

[0069] ⑤ 실제 대기 상태에서 에어로졸 상태의 인플루엔자 바이러스에 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체를 반응시켜, 상기 복합체의 인플루엔자 바이러스 특이적 결합 및/또는 색변화 여부로 바이러스 검출.

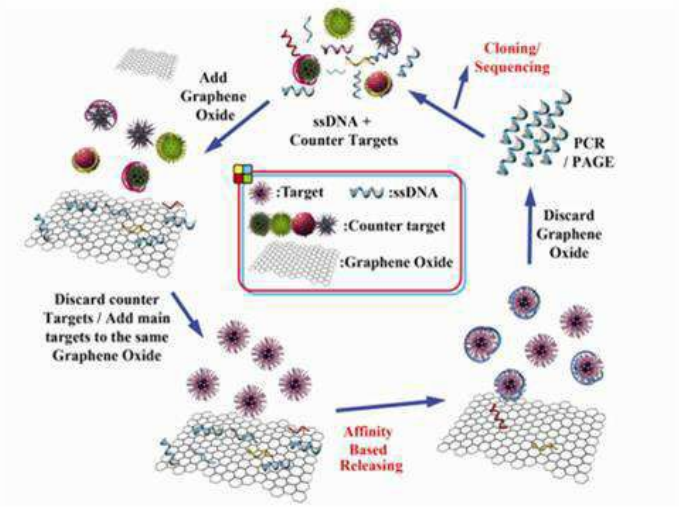
[0070] ⑥ 실제 기체상 바이러스 진단 시에는 스프레이 용액 살포 시 아래에 종이 등 가벼운 페이퍼를 사용, 색도변화 및/또는 형광변화 여부로 바이러스 검출.

[0071] 그 결과, 핵산앱타머 Duo-파티클 복합체(핵산앱타머-나노입자 복합체) 및 바이러스 간의 특이적 결합, 색변화 및 형광변화로 바이러스를 기체상에서 검출할 수 있었다.

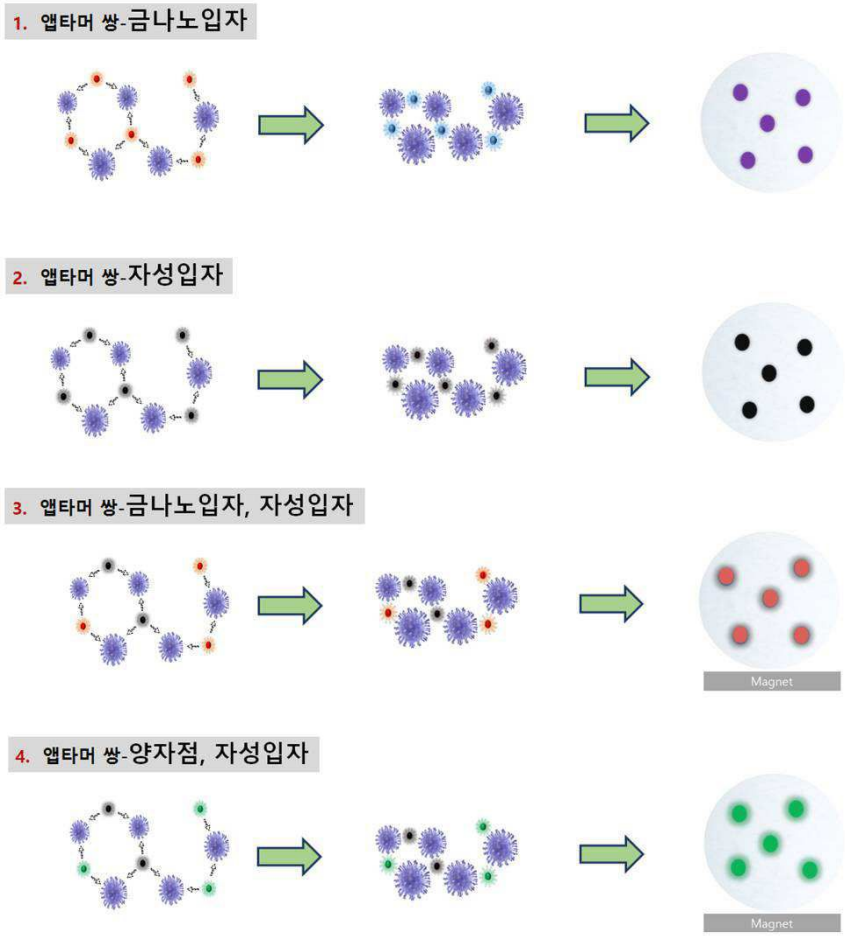
[0072] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

## 도면

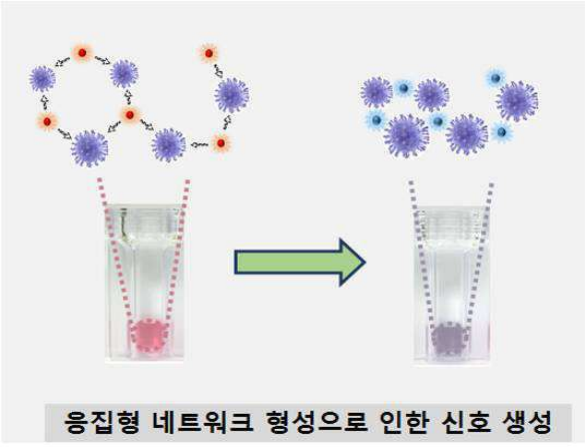
### 도면1



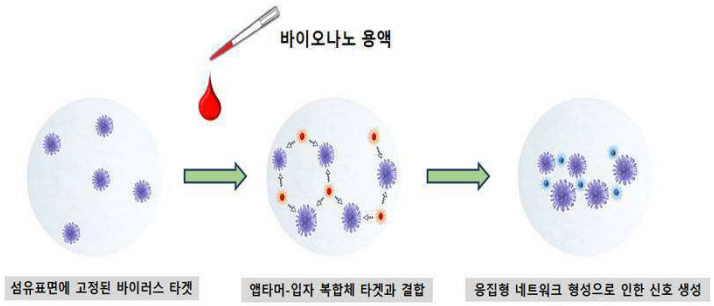
도면2


1. 앱타머 쌍-금나노입자
2. 앱타머 쌍-자성입자
3. 앱타머 쌍-금나노입자, 자성입자
Magnet
4. 앱타머 쌍-양자점, 자성입자
Magnet

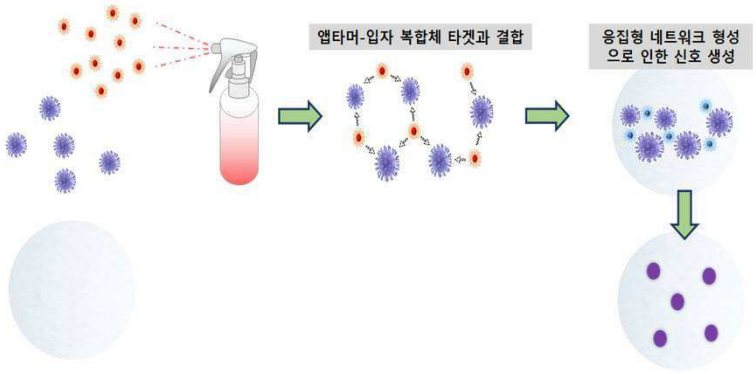
도면3


응집형 네트워크 형성으로 인한 신호 생성

도면4


바이오나노 용액
섬유표면에 고정된 바이러스 타겟
앱타머-입자 복합체 타겟과 결합
응집형 네트워크 형성으로 인한 신호 생성

도면5


앱타머-입자 복합체 타겟과 결합
응집형 네트워크 형성으로 인한 신호 생성