



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0171495
(43) 공개일자 2024년12월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 27/447 (2006.01)

(52) CPC특허분류
G01N 27/447 (2021.01)
G01N 2333/165 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0069518
(22) 출원일자 2023년05월30일
심사청구일자 2023년05월30일

(71) 출원인

가톨릭관동대학교산학협력단

강원특별자치도 강릉시 범일로579번길 24(내곡동, 가톨릭관동대학교)

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

강성호

경기도 수원시 영통구 매영로 366 현대아파트 725동 1901호

김수강

강원도 강릉시 교동 정원로 73-3 201호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

문중화

전체 청구항 수 : 총 10 항

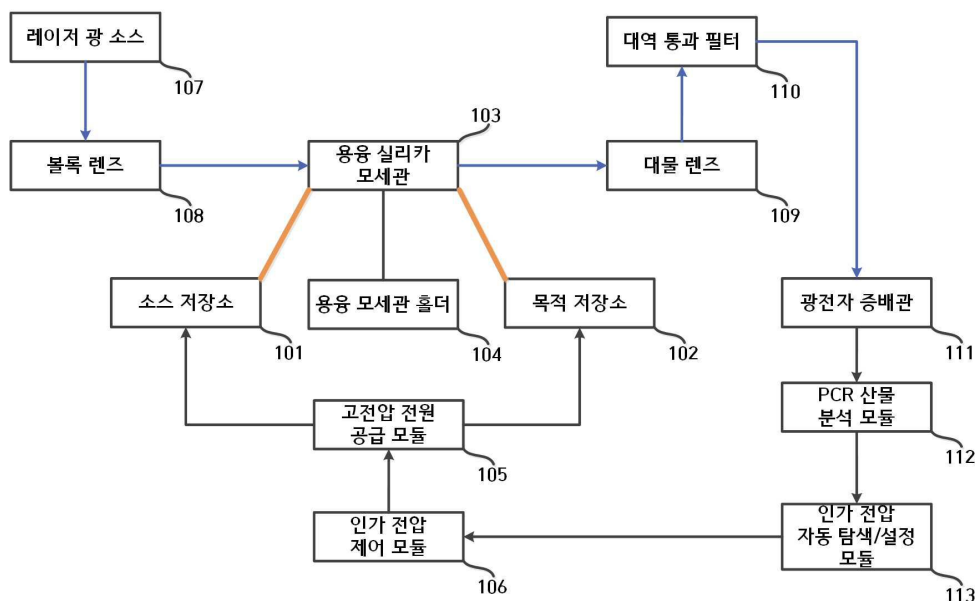
(54) 발명의 명칭 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치 및 방법

(57) 요약

전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치 및 방법이 개시된다. 전기 영동 겔이 수용되며, 수용된 전기 영동 겔에 PCR 산물이 투입되는 소스 저장소; 전기 영동 겔이 수용되는 목적 저장소; 상기 소스 저장소 및 상기 목적 저장소 간을 연결하는 용융 실리카 모세관; 상기 용 (뒷면에 계속)

대표도 - 도2

100



용 실리카 모세관을 지지하는 용융 모세관 홀더; 상기 소스 저장소에 투입된 PCR 산물이 상기 목적 저장소로 이동할 수 있도록 상기 소스 저장소 및 상기 목적 저장소 간에 인가 전원을 공급하는 고전압 전원 공급 모듈; 상기 고전압 전원 공급 모듈에서 공급되는 인가 전압을 제어하는 인가 전압 제어 모듈; 레이저 광을 생성하여 출력하는 레이저 광 소스; 상기 레이저 광 소스에 의해 출력된 레이저 광을 통과시켜 상기 용융 모세관을 조사하는 볼록 렌즈; 상기 볼록 렌즈에서 용융 모세관에 조사된 레이저 광이 도달하는 대물 렌즈; 상기 대물 렌즈에 도달된 레이저 광에 대해 대역 통과 필터링을 수행하는 대역 통과 필터; 상기 대역 통과 필터에서 대역 통과 필터링이 수행된 레이저 광의 광전자를 증배하여 광신호를 출력하는 광전자 증배관; 상기 광전자 증배관에서 출력된 광신호를 분석하여 PCR 산물을 분석하여 표적 물질(SARS-CoV-2)을 검출하는 PCR 산물 분석 모듈을 구성한다.

(72) 발명자

안창욱

서울 강남구 영동대로 22, 814동 2105호

박희선

강원 강릉시 관솔길 8 풀하우스 403호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1425165770
과제번호	S3128656
부처명	중소벤처기업부
과제관리(전문)기관명	중소기업기술정보진흥원
연구사업명	현장수요맞춤형방역물품기술개발
연구과제명	의료인의 감염방지를 위한 바이러스 샘플 분주 자동화 장치 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	주식회사 현대메디텍
연구기간	2022.06.15 ~ 2023.06.14

명세서

청구범위

청구항 1

PCR 산물이 이동하는 용융 실리카 모세관;

상기 용융 실리카 모세관에서 PCR 산물이 이동할 수 있도록 전압을 공급하는 고전압 전원 공급 모듈을 포함하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

전기 영동 겔이 수용되며, 수용된 전기 영동 겔에 상기 PCR 산물이 투입되는 소스 저장소;

전기 영동 겔이 수용되는 목적 저장소를 더 포함하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 용융 실리카 모세관이 상기 소스 저장소와 상기 목적 저장소 간에 연결되도록 지지하는 용융 모세관 홀더를 더 포함하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치.

청구항 4

제2항에 있어서, 상기 고전압 전원 공급 모듈은,

상기 소스 저장소에 투입된 PCR 산물이 상기 목적 저장소로 이동할 수 있도록 상기 소스 저장소 및 상기 목적 저장소 간에 인가 전원을 공급하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 용융 실리카 모세관 상에서 이동하는 PCR 산물을 분석하여 PCR 산물 분석 모듈을 더 포함하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 PCR 산물 분석 모듈은,

상기 PCR 산물을 분석하여 SARS-CoV-2 검출하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치.

청구항 7

전기 영동 겔이 수용되는 소스 저장소에 PCR 산물이 투입되는 단계;

상기 PCR 산물이 투입된 소스 저장소와 전기 영동 겔이 수용되는 목적 저장소 간에 용융 실리카 모세관이 연결되는 단계;

고전압 전원 공급 모듈이 상기 소스 저장소에 투입된 PCR 산물이 상기 용융 실리카 모세관을 통해 상기 목적 저장소로 이동할 수 있도록 상기 소스 저장소 및 상기 목적 저장소 간에 인가 전원을 공급하는 단계를 포함하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

PCR 산물 분석 모듈이 상기 용융 실리카 모세관 상에서 이동하는 PCR 산물을 분석하는 단계를 더 포함하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 PCR 산물 분석 모듈이 상기 분석 결과에 기반하여 SARS-CoV-2를 검출하는 단계를 더 포함하도록 구성되는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 PCR 산물이 투입된 소스 저장소와 전기 영동 겔이 수용되는 목적 저장소 간에 용융 실리카 모세관이 연결되는 단계는,

용융 모세관 홀더가 상기 용융 실리카 모세관이 상기 소스 저장소와 상기 목적 저장소 간에 연결되도록 지지하는 것을 특징으로 하는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 방법.

발명의 설명**기술 분야**

[0001] 본 발명은 PCR 산물(Polymerase Chain Reaction product)의 고속/고감도 스크리닝 장치 및 방법에 관한 것으로, 구체적으로는 SARS-CoV-2(Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치 및 방법에 관한 것이며, 좀 더 구체적으로는 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동(capillary gel electrophoresis) 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 제2형 중증급성호흡기증후군 코로나바이러스(Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)는 2019년 발생한 이래 급속도로 확산되었다.

[0004] SARS-CoV-2는 전세계에서 가장 치명적인 감염성 바이러스 중 하나이며, 비정상적인 바이러스성 폐렴을 유발할

수 있다. 2023년 3월까지 7억 6,100만 명이 넘는 사람들이 SARS-CoV-2에 감염되었고 약 680만 명의 환자가 사망하였다.

- [0005] SARS-CoV-2는 다양한 변종이 발생하면서 통제가 어려워지고 있다.
- [0006] 팬데믹(pandemic)의 확산을 막고 적시에 치료를 받기 위해서는 신속하고 정확한 진단 도구가 요구된다. SARS-CoV-2를 정확하게 진단하기 위해서는 역전사 중합효소 연쇄 반응(Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)이 주로 이용된다.
- [0007] 역전사 중합효소 연쇄 반응(RT-PCR) 방식은 바이러스의 RNA(RiboNucleic Acid)를 cDNA(complementary DeoxyriboNucleic Acid)로 전환한 후 유전자를 증폭하여 판단하는 방식이다.
- [0008] 역전사 중합효소 연쇄 반응 방식은 표적 DNA 분자를 증폭하여 검출하기 때문에 기존의 5~10분이 소요되는 항체/항원 분석 방식보다 바이러스의 존재를 더 정확하게 검출할 수 있다는 장점이 있다.
- [0009] 그러나, 역전사 중합효소 연쇄 반응 방식은 30~40 사이클의 유전자 증폭 과정이 요구되며, 신속한 검출에는 불리한 방식이다. 검출 시간의 단축에 지속적인 개선이 이루어지고 있지만, 아직까지도 대략 4시간에서 6시간이 소요되고 있는 실정이다.
- [0010] 한편, 전기 영동(Electrophoresis)의 시간도 많이 소요되어 총 분석 시간은 3시간이 넘게 걸린다.
- [0011] 전기 영동 과정의 경우 전기장이 증가함에 따라 DNA 분석 물질의 이동 속도가 빨라지고 분해능(resolution)이 증가한다. 그러나, 전기장을 무작정 높게 형성하는 것은 주울 열(Joule heating)이 일어나 분해능을 오히려 감소시키고 기준선 분리의 손실이 발생하는 문제점이 있다.
- [0012] 아래의 수학적 식 1을 통해서도 확인될 수 있다.

수학적 식 1

$$R_s = 0.177(\mu_2 - \mu_1)[V/(\mu_{EP} + \mu_{EOF})D]^{\frac{1}{2}}$$

- [0013]
- [0014] 여기서, R_s 는 DNA 절편(DNA fragment)의 분해능이고, V 는 인가 전압이고, D 는 DNA 분석 물질의 확산 계수이며, μ_{EP} 는 겔(gel) 물질에서의 전기 영동 이동도(electrophoretic mobility), $\mu_2 - \mu_1$ 은 DNA 절편 이동도 차이(DNA fragment mobility difference)이다.
- [0015] 인가 전압 V 를 높이면, 확산 계수 D 나 전기 영동 이동도 μ_{EP} 가 증가하게 되는데, 이러한 경우 수학적 식 1을 통해 분해능 R_s 가 감소할 수 있음을 알 수 있다.
- [0016] 즉, 기존의 전기 영동 과정에서는 DNA 분리에 사용되는 확산 계수에 따라 분리 효율 및 분해능이 저하되어 결과적으로 높은 전기장을 가할 수 없게 되고, 이는 분석 시간을 줄이는 데 걸림돌로 작용하게 되는 문제점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0018] (특허문헌 0001) 등록특허공보 10-1874788
(특허문헌 0002) 공개특허공보 10-2021-0114761

발명의 내용

해결하려는 과제

[0019] 본 발명의 목적은 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치를 제공하는 데 있다.

[0020] 본 발명의 다른 목적은 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0022] 상술한 본 발명의 목적에 따른 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치는, PCR 산물이 이동하는 용융 실리카 모세관; 상기 용융 실리카 모세관에서 PCR 산물이 이동할 수 있도록 전압을 공급하는 고전압 전원 공급 모듈을 포함하도록 구성될 수 있다.

[0023] 이때, 전기 영동 겔이 수용되며, 수용된 전기 영동 겔에 상기 PCR 산물이 투입되는 소스 저장소; 전기 영동 겔이 수용되는 목적 저장소를 더 포함하도록 구성될 수 있다.

[0024] 그리고 상기 용융 실리카 모세관이 상기 소스 저장소와 상기 목적 저장소 간에 연결되도록 지지하는 용융 모세관 홀더를 더 포함하도록 구성될 수 있다.

[0025] 그리고 상기 고전압 전원 공급 모듈은, 상기 소스 저장소에 투입된 PCR 산물이 상기 목적 저장소로 이동할 수 있도록 상기 소스 저장소 및 상기 목적 저장소 간에 인가 전원을 공급하도록 구성될 수 있다.

[0026] 그리고 상기 용융 실리카 모세관 상에서 이동하는 PCR 산물을 분석하여 PCR 산물 분석 모듈을 더 포함하도록 구성될 수 있다.

[0027] 그리고 상기 PCR 산물 분석 모듈은, 상기 PCR 산물을 분석하여 SARS-CoV-2 검출하도록 구성될 수 있다.

[0028] 상술한 본 발명의 다른 목적에 따른 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 방법은, 전기 영동 겔이 수용되는 소스 저장소에 PCR 산물이 투입되는 단계; 상기 PCR 산물이 투입된 소스 저장소와 전기 영동 겔이 수용되는 목적 저장소 간에 용융 실리카 모세관이 연결되는 단계; 고전압 전원 공급 모듈이 상기 소스 저장소에 투입된 PCR 산물이 상기 용융 실리카 모세관을 통해 상기 목적 저장소로 이동할 수 있도록 상기 소스 저장소 및 상기 목적 저장소 간에 인가 전원을 공급하는 단계를 포함하도록 구성될 수 있다.

[0029] 여기서, PCR 산물 분석 모듈이 상기 용융 실리카 모세관 상에서 이동하는 PCR 산물을 분석하는 단계를 더 포함하도록 구성될 수 있다.

[0030] 그리고 상기 PCR 산물 분석 모듈이 상기 분석 결과에 기반하여 SARS-CoV-2를 검출하는 단계를 더 포함하도록 구성될 수 있다.

[0031] 한편, 상기 PCR 산물이 투입된 소스 저장소와 전기 영동 겔이 수용되는 목적 저장소 간에 용융 실리카 모세관이 연결되는 단계는, 용융 모세관 홀더가 상기 용융 실리카 모세관이 상기 소스 저장소와 상기 목적 저장소 간에 연결되도록 지지할 수 있다.

발명의 효과

[0033] 상술한 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치 및 방법에 의하면, 분리 체질 겔(separation sieving gel) 하에서 고전계를 가할 때 발생하는 줄열(Joule heating)을 최소화하면서 분해능의 감소없이 높은 감도로 DNA 분자를 빠른 시간 내에 검출할 수 있는 효과가 있다.

[0034] 특히, 특정 표적 물질의 검출을 위해 다양한 인가 전압과 인가 시간의 시나리오를 적용하여 검출하고, 검출 결과에 기반하여 최적화된 인가 전압 시나리오를 자동 탐색하여 찾아내고, 이를 해당 표적 물질을 검출하기 위한 인가 전압 시나리오로 자동 설정하도록 구성됨으로써, 새로운 변이 바이러스나 신규 물질에 대한 검출을 최적화할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0036] 도 1은 SARS-CoV-2 및 SARS-CoV-2 형태 구조에 대한 앰플리콘(amplicon) 표적의 상대적 위치를 나타내는 도면이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치의 블록 구성도이다.
- 도 3은 (a) 낮은 정전압(LCV), (b) 높은 정전압(HCV) 및 (c) 무작위 전압 프로그래밍(VP) 조건에 의해 생성된 50bp DNA 사다리의 대표적인 CGE 전기 영동도의 비교 그래프이다.
- 도 4는 최적의 VP-CGE 조건 하에서 SARS-CoV-2의 PCR 산물, (a) S 유전자 PCR 산물, (b) RdRp 유전자 PCR 산물, (c) 50 bp DNA 사다리의 대표적인 CGE 전기 영동도의 비교 그래프이다.
- 도 5는 40 사이클의 PCR에 의해 수행된 RdRp 및 S 유전자의 PCR 데이터이다.
- 도 6은 하향 계단 전압 프로그램(DSVP) 및 (b) 상향 계단 전압 프로그램(USVP) CGE 조건 하에서 50bp DNA 사다리 단편의 CGE 분리 형태를 나타내는 그래프이다.
- 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 방법의 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0037] 본 발명은 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 특정 실시 예들을 도면에 예시하고 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 각 도면을 설명하면서 유사한 참조부호를 유사한 구성요소에 대해 사용하였다.
- [0038] 제1, 제2, A, B 등의 용어는 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 상기 구성요소들은 상기 용어들에 의해 한정되어서는 안 된다. 상기 용어들은 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다. 예를 들어, 본 발명의 권리 범위를 벗어나지 않으면서 제1 구성요소는 제2 구성요소로 명명될 수 있고, 유사하게 제2 구성요소도 제1 구성요소로 명명될 수 있다. 및/또는 이라는 용어는 복수의 관련된 기재된 항목들의 조합 또는 복수의 관련된 기재된 항목들 중의 어느 항목을 포함한다.
- [0039] 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 "연결되어" 있다거나 "접속되어" 있다고 언급된 때에는, 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되어 있거나 또는 접속되어 있을 수도 있지만, 중간에 다른 구성요소가 존재할 수도 있다고 이해되어야 할 것이다. 반면에, 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 "직접 연결되어" 있다거나 "직접 접속되어" 있다고 언급된 때에는, 중간에 다른 구성요소가 존재하지 않는 것으로 이해되어야 할 것이다.
- [0040] 본 출원에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 출원에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.
- [0041] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0042] 이하, 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 첨부된 도면을 참조하여 상세하게 설명한다.
- [0043] 도 1은 SARS-CoV-2 및 SARS-CoV-2 형태 구조에 대한 앰플리콘(amplicon) 표적의 상대적 위치를 나타내는 도면이다.
- [0044] 도 1을 참조하여 먼저 SARS-CoV-2 구조에 대해 설명한다.

- [0045] SARS-CoV-2 전체 게놈은 약 30 kb이다. 도 1의 (A)에서 보듯이 SARS-CoV-2는 ORF1ad 다단백질을 암호화하는 유전자와 스파이크 당단백질(S), 외피 단백질(E), 막 단백질(M) 및 핵단백질(N)과 같은 표면 당단백질을 암호화하는 유전자로 구성된다.
- [0046] ORF1b를 암호화하는 유전자의 일부인 RNA 의존성 RNA 폴리머라제(RdRp) 유전자와 표면 당단백질 중 하나인 스파이크 당단백질(S)이 함께 존재하는 경우 SARS-CoV-2 바이러스가 체내에 존재하는 것으로 진단할 수 있다.
- [0047] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치의 블록 구성도이다.
- [0048] 도 2를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 장치는 소스 저장소(source vial)(101), 목적 저장소(destination vial)(102), 용융 실리카 모세관(103), 용융 모세관 홀더(104), 고전압 전원 공급 모듈(105), 인가 전압 제어 모듈(106), 레이저 광 소스(107), 볼록 렌즈(108), 대물 렌즈(109), 대역 통과 필터(110), 광전자 증배관(111), PCR 산물 분석 모듈(112), 인가 전압 자동 탐색/설정 모듈(113)을 포함하도록 구성될 수 있다.
- [0049] 이하, 세부적인 구성에 대하여 설명한다.
- [0050] 소스 저장소(101)는 전기 영동 겔이 수용되며, 수용된 전기 영동 겔에 PCR 산물이 투입되도록 구성될 수 있다.
- [0051] 목적 저장소(102)는 전기 영동 겔이 수용되도록 구성될 수 있다.
- [0052] 용융 실리카 모세관(103)은 소스 저장소(101) 및 목적 저장소(102) 간을 연결하도록 구성될 수 있다.
- [0053] 용융 모세관 홀더(104)는 용융 실리카 모세관(103)을 지지하도록 구성될 수 있다.
- [0054] 고전압 전원 공급 모듈(105)은 소스 저장소(101)에 투입된 PCR 산물이 목적 저장소로 이동할 수 있도록 소스 저장소(101) 및 목적 저장소(102) 간에 인가 전원을 공급하도록 구성될 수 있다.
- [0055] 인가 전압 제어 모듈(106)은 고전압 전원 공급 모듈(105)에서 공급되는 인가 전압을 제어하도록 구성될 수 있다.
- [0056] 이때, 인가 전압 제어 모듈(106)은 LabView 2016 소프트웨어(National Instruments, Austin, TX, USA)가 이용될 수 있다.
- [0057] 레이저 광 소스(107)는 레이저 광을 생성하여 출력하도록 구성될 수 있다. 레이저 광 소스(107)는 532 nm 파장의 레이저 광을 생성할 수 있으며, GL20-532D-30 모델(Shanghai Laser & Optics Century Co., Ltd., Shanghai, China)의 제품이 이용될 수 있다.
- [0058] 볼록 렌즈(108)는 레이저 광 소스(107)에 의해 출력된 레이저 광을 통과시켜 용융 모세관(103)을 조사하도록 구성될 수 있다.
- [0059] 대물 렌즈(109)는 볼록 렌즈(108)에서 용융 모세관(103)에 조사된 레이저 광이 도달하도록 구성될 수 있다. 대물 렌즈(109)는 NA = 0.25의 Nikon 모델이 이용될 수 있다.
- [0060] 대역 통과 필터(110)는 대물 렌즈(109)에 도달된 레이저 광에 대해 대역 통과 필터링을 수행하도록 구성될 수 있다.
- [0061] 광전자 증배관(111)은 대역 통과 필터(110)에서 대역 통과 필터링이 수행된 레이저 광의 광전자를 증배하여 광신호를 출력하도록 구성될 수 있다. 그리고 광전자 증배관(111)은 H7732-10(Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Shizuoka, Japan) 모델이 이용될 수 있다.
- [0062] PCR 산물 분석 모듈(112)은 광전자 증배관(111)에서 출력된 광신호를 분석하여 PCR 산물을 분석하도록 구성될 수 있다.
- [0063] 여기서, PCR 산물 분석 모듈(112)은 Autochro-3000 소프트웨어(버전 2.0.15, Young-Lin Instrument)가 이용될 수 있다.
- [0064] PCR 산물 분석 모듈(112)은 분석 결과에 기반하여 표적 물질을 검출할 수 있으며, 표적 물질은 SARS-CoV-2가 될 수 있다.
- [0065] 한편, 인가 전압 제어 모듈(106)은 최초 2분 동안 인가 전압을 26 kV로 적용하고, 이후 2.5분 동안 인가 전압을

22 kV로 적용하고, 이후 5.5 분 동안 인가 전압을 26 kV를 적용하도록 제어하여 최적화하였다.

- [0066] 이처럼 초기의 짧은 시간 동안 인가 전압을 26 kV로 높게 설정하고, 이후 낮은 단계의 22 kV, 26 kV를 순차 적용하여 검출 정확도를 높게 유지하면서 전체적인 검출 시간을 줄일 수 있도록 구성될 수 있다. 여기서, 낮은 단계의 저전압 22 kV는 기존 보다는 좀 더 상향된 전압으로 적용될 수 있다.
- [0067] 도 3에서는 낮은 정전압, 높은 정전압, 무작위 전압을 인가하였을 때의 전기 영동도를 나타내고 도 4에서는 본 발명에 따른 최적화 전압을 인가하였을 때의 전기 영동도를 나타낸다.
- [0068] 먼저 도 3은 (a) 낮은 정전압(LCV), (b) 높은 정전압(HCV) 및 (c) 무작위 전압 프로그래밍(VP) 조건에 의해 생성된 50 bp DNA 사다리의 대표적인 CGE 전기 영동도의 비교 그래프이다.
- [0069] 도 3을 참조하면, (a)는 낮은 정전압(LCV), (b) 높은 정전압(HCV) 및 (c) 무작위 전압 프로그래밍(VP) 조건에 의해 생성된 50 bp DNA 사다리의 대표적인 CGE 전기영동도를 나타내고 있다.
- [0070] 여기서, CGE 조건은 코팅 겔(coating gel); 러닝 버퍼(running buffer) 중 1% PVP(Mr = 1,000,000); 체질 겔(sieving gel); 러닝 버퍼 중 1.25% PEO(Mr = 600,000); 러닝 버퍼, 0.5ppm EtBr 함유 1X TBE 버퍼(pH 8.5); 용융 실리카 모세관(103)의 전체 길이 50cm, 내경 75 μ m; 용융 실리카 모세관(103) 유효 길이 30cm; 인가 전압 LCV는 6kV, 분리 전압 HCV는 26kV이다. 그리고 RFI는 상대 형광 강도이다. 그리고 1 = 50bp, 2 = 100bp, 3 = 150bp, 4 = 200bp, 5 = 250bp, 6 = 300bp, 7 = 350bp, 8 = 400bp, 9 = 450bp, 10 = 500 bp, 11 = 550bp, 12 = 600bp, 13 = 650bp, 14 = 700bp, 15 = 750bp, 16 = 800bp, 17 = 2500bp DNA 절편이다.
- [0071] 도 4는 최적의 VP-CGE 조건 하에서 SARS-CoV-2의 PCR 산물, (a) S 유전자 PCR 산물, (b) RdRp 유전자 PCR 산물, (c) 50 bp DNA 사다리의 대표적인 CGE 전기 영동도의 비교 그래프이다.
- [0072] 도 4의 CGE 조건은 코팅 겔; 러닝 버퍼 중 1% PVP(Mr 1 000 000); 체질 겔, 러닝 버퍼 중 1.25% PEO(Mr = 600,000); 러닝 버퍼, 0.5ppm EtBr 함유 1X TBE 버퍼(pH 8.5); 용융 실리카 모세관(103) 전체 길이 50cm, 내경 75 μ m; 용융 실리카 모세관(103) 유효 길이는 30cm; 인가 전압은 0~2.0분 동안 26kV, 2.0~4.5분 동안 22kV, 4.5~7.0분 동안 26kV이다.
- [0073] 도 4에서 보듯이 SARS-CoV-2 PCR 산물은 본 발명의 VP-CGE 방법을 사용하여 최적 VP에서 분리되는 상태가 도시되어 있다. 196 bp RdRp 및 224 bp S 유전자가 모두 4분 이내에 분리되었으며, 이는 기존의 실시간 RT-PCR보다 최소 7.5배 빠른 것을 나타내고 있다.
- [0074] 최적의 VP-CGE 분리 조건에서 SARS-CoV-2 유전자(n = 3)의 이동 시간 및 피크 면적의 정밀도는 0.26~0.27%의 RSD 범위 내에서 계산되었으며, 그 결과, 분석 시간이 4분 미만인 VP-CGE 방법이 RSD<0.3의 높은 정밀도를 나타내어 좋은 재현성을 확인할 수 있다.
- [0075] 레이저 검출 방식은 높은 검출 감도를 보였기 때문에 VP-CGE는 소량의 분석물이라도 쉽게 검출할 수 있다. 표준 50 bp DNA 사다리의 알려진 농도를 기준으로 SARS-CoV-2 PCR 산물의 RdRp 및 S 유전자의 검출 한계는 1.34~3.46 pM로 나타났다.
- [0076] 본 발명에서는 레이저 검출 방식을 이용한 VP-CGE 방법을 이용하여 SARS-CoV-2 PCR 산물의 RdRp 및 S 유전자를 빠르게 검출하여 4분 이내에 COVID-19를 진단할 수 있다.
- [0077] VP-CGE 방법에서는 최적의 VP를 사용하여 표적 SARS-CoV-2 유전자(196 bp 및 224 bp DNA 분자)를 우수한 분해능($R_s > 1.75$)을 유지하면서 4분 만에 분석할 수 있었고, 이는 최소한 기존 실시간 RT-PCR 방식보다 7.5배 빠른 속도이다.
- [0078] 또한 레이저 검출을 이용하여 고감도 검출이 가능하였으며, SARS-CoV-2 PCR 산물의 RdRp 및 S 유전자의 검출 한계는 1.34~3.46 pM이었다. 레이저 검출을 이용한 VP-CGE 방법은 현재 코로나 진단에 널리 사용되는 실시간 RT-PCR에 비해 시간적 이점이 있다. SARS-CoV-2의 돌연변이로 인해 PCR 산물의 DNA 크기가 변하더라도 VP-CGE 방법을 쉽게 적용하여 인가 전압을 변경하는 것만으로 특정 DNA 분자를 빠르고 매우 민감하게 검출할 수 있는 장점이 있다.
- [0079] 따라서 본 발명의 레이저 검출 방식의 VP-CGE 방식은 코로나19의 변이뿐만 아니라 다양한 바이러스 관련 질병 진단을 빠르게 선별할 수 있는 플랫폼이 될 수 있다.
- [0080] 한편, 도 5는 40 사이클의 PCR에 의해 수행된 RdRp 및 S 유전자의 PCR 데이터이며, 도 6은 하향 계단 전압 프로

그램(DSVP) 및 (b) 상향 계단 전압 프로그램(USVP) CGE 조건 하에서 50bp DNA 사다리 단편의 CGE 분리 형태를 나타내는 그래프이다.

- [0081] 그리고 도 6은 하향 계단 전압 프로그램(DSVP) 및 (b) 상향 계단 전압 프로그램(USVP) CGE 조건 하에서 50bp DNA 사다리 절편(DNA ladder fragment)의 CGE 분리 상태를 나타내며, 구체적인 조건은 코팅 겔, 러닝 버퍼에서 1% PVP(Mr = 1,000,000); 체질 겔; 러닝 버퍼 중 1.25% PEO(Mr = 600,000); 러닝 버퍼, 0.5ppm EtBr 함유 1X TBE 버퍼(pH 8.5); 용융 실리카 모세관(103) 전체 길이 50cm, 내경 75 μ m; 용융 실리카 모세관(103) 유효 길이는 30cm; 인가 전압은 0-2.5분 동안 26kV, 2.5-3.5분 동안 21kV, 3.5-4.5분 동안 16kV, 4.5-5.5분 동안 11kV 및 DSV의 경우 5.5-10분 동안 6kV 및 0분 동안 6kV -20분, 20-22분 동안 11kV, 22-24분 동안 16kV, 24-26분 동안 21kV 및 USV의 경우 26-30분 동안 26kV가 적용되었다. 여기서, 1 = 50bp, 2 = 100bp, 3 = 150bp, 4 = 200bp, 5 = 250bp, 6 = 300bp, 7 = 350bp, 8 = 400bp, 9 = 450bp, 10 = 500 bp, 11 = 550bp, 12 = 600bp, 13 = 650bp, 14 = 700bp, 15 = 750bp, 16 = 800bp, 17 = 2500bp의 DNA 절편이며, RFI는 상대 형광 강도를 나타낸다.
- [0082] 도 6에서는 초기에는 고전압을 인가하고 점차 단계적으로 인가 전압을 낮추는 방식이 더 분리가 잘되는 것을 나타내고 있다.
- [0083] 다시 도 2를 참조하면, 인가 전압 자동 탐색/설정 모듈(113)은 PCR 산물 분석 모듈(112)에서 소정의 표적 물질이 검출된 경우, 해당 표적 물질의 검출을 위해 인가 전압 제어 모듈(106)의 제어에 따른 인가 전압을 자동으로 변경하여 탐색하도록 제어할 수 있다.
- [0084] 이때, 인가 전압 자동 탐색/설정 모듈(113)은 그 탐색 결과에 기반하여 인가 전압 및 인가 시간으로 구성되는 인가 시나리오를 자동 설정하도록 구성될 수 있다.
- [0085] 인가 전압 자동 탐색/설정 모듈(113)은 인가 시나리오를 다양하게 변경하면서 적용하고, 이때, 동일한 표적 물질이 검출된 인가 시나리오 중에서 최적의 인가 시나리오로 자동 설정할 수 있다. 최적의 인가 시나리오는 표적 물질이 소정 기준 이상으로 검출되고 검출 시간이 가장 짧게 나타났을 때의 인가 전압 및 인가 시간으로 구성될 수 있다.
- [0086] 여기서, 인가 전압 자동 탐색/설정 모듈(113)은 기본적으로 26 kV의 인가 전압으로 최초 인가 후 전압 하향 방식으로 인가 전압을 변경하면서 탐색하도록 구성될 수 있다. 이는 26 kV 이상에서는 주열 열로 인해 분해능이 떨어지므로 최초에 26 Kv를 적용하며, 전압 하향 방식에서 검출 시간이 더 짧게 나타나기 때문이다.
- [0087] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 전압 프로그래밍된 모세관 겔 전기영동 분리에 의한 SARS-CoV-2 PCR 산물의 고속/고감도 스크리닝 방법의 흐름도이다.
- [0088] 도 7을 참조하면, 전기 영동 겔이 수용되는 소스 저장소에 PCR 산물이 투입된다(S101).
- [0089] 다음으로, PCR 산물이 투입된 소스 저장소(101)와 전기 영동 겔이 수용되는 목적 저장소(102) 간에 용융 실리카 모세관(103)이 연결된다(S102). 이때, 용융 모세관 홀더(104)가 용융 실리카 모세관(103)이 소스 저장소(101)와 목적 저장소(102) 간에 연결되도록 지지할 수 있다.
- [0090] 다음으로, 고전압 전원 공급 모듈(105)이 소스 저장소(101)에 투입된 PCR 산물이 용융 실리카 모세관(103)을 통해 목적 저장소(102)로 이동할 수 있도록 소스 저장소(101) 및 목적 저장소(102) 간에 인가 전원을 공급한다(S103).
- [0091] 다음으로, PCR 산물 분석 모듈(112)이 용융 실리카 모세관(103) 상에서 이동하는 PCR 산물을 분석한다(S104).
- [0092] 다음으로, PCR 산물 분석 모듈(112)이 분석 결과에 기반하여 SARS-CoV-2를 검출한다(S105).
- [0093] 이상 실시예를 참조하여 설명하였지만, 해당 기술 분야의 숙련된 당업자는 하기의 특허청구범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

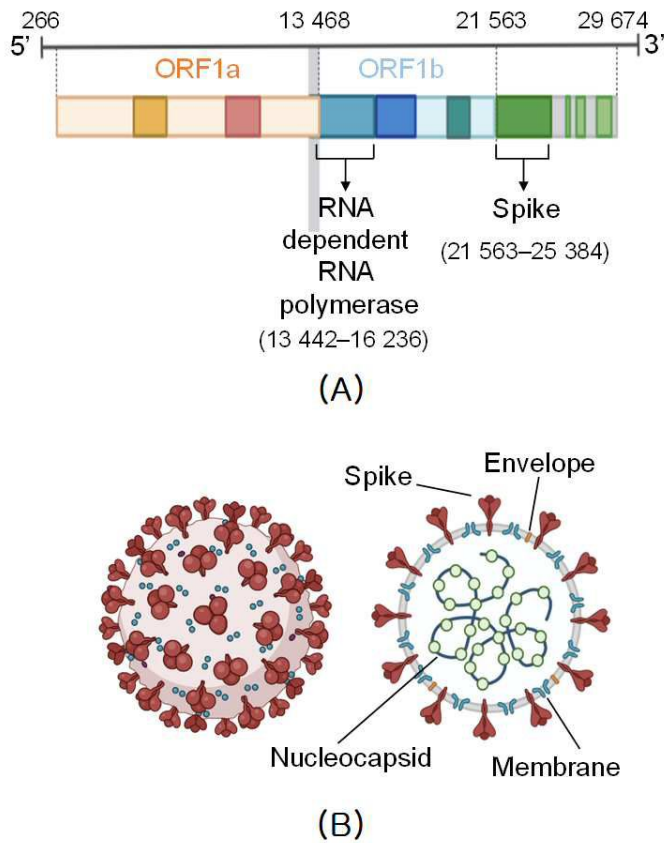
부호의 설명

- [0095] 101: 소스 저장소

- 102: 목적 저장소
- 103: 용융 실리카 모세관
- 104: 용융 모세관 홀더
- 105: 고전압 전원 공급 모듈
- 106: 인가 전압 제어 모듈
- 107: 레이저 광 소스
- 108: 블록 렌즈
- 109: 대물 렌즈
- 110: 대역 통과 필터
- 111: 광전자 증배관
- 112: PCR 산물 분석 모듈
- 113: 인가 전압 자동 탐색/설정 모듈

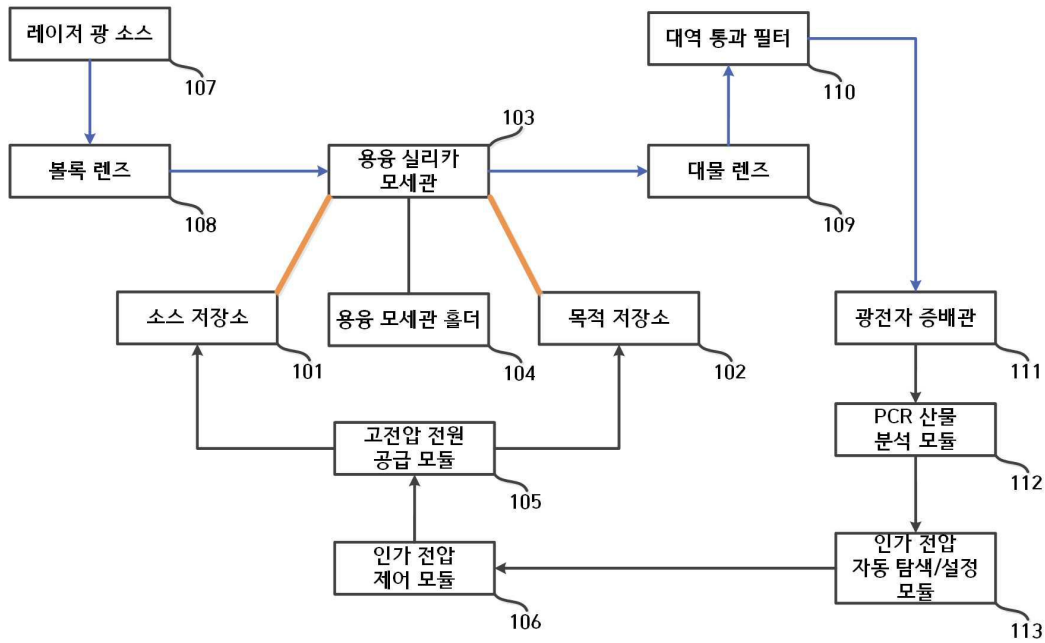
도면

도면1

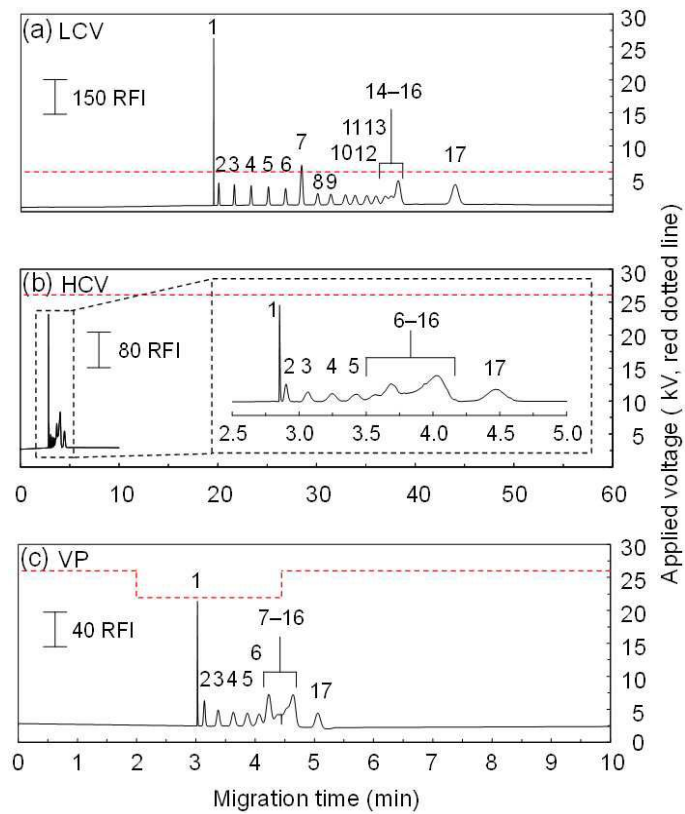


도면2

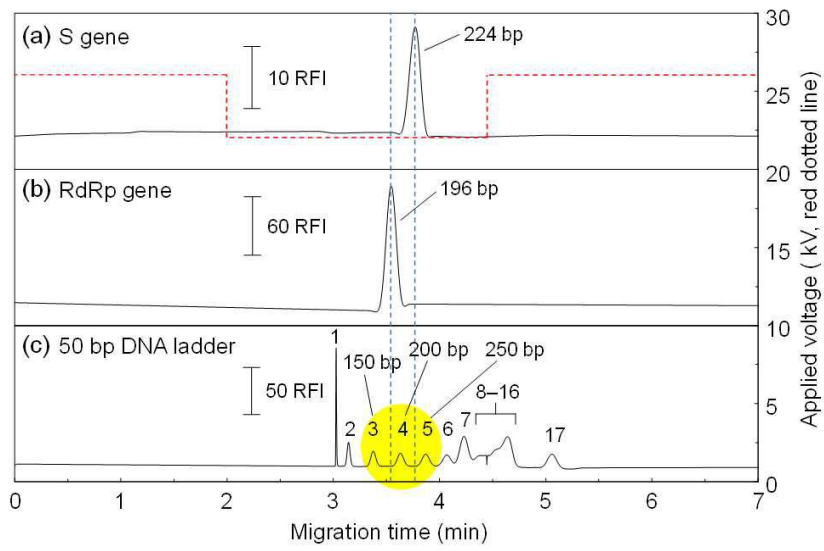
100



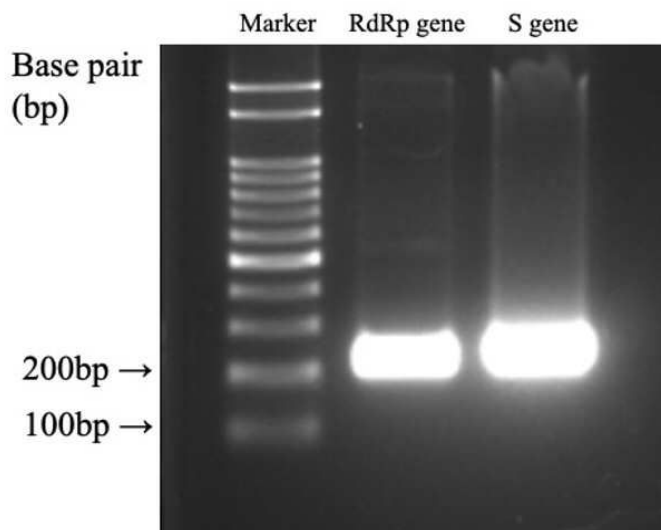
도면3



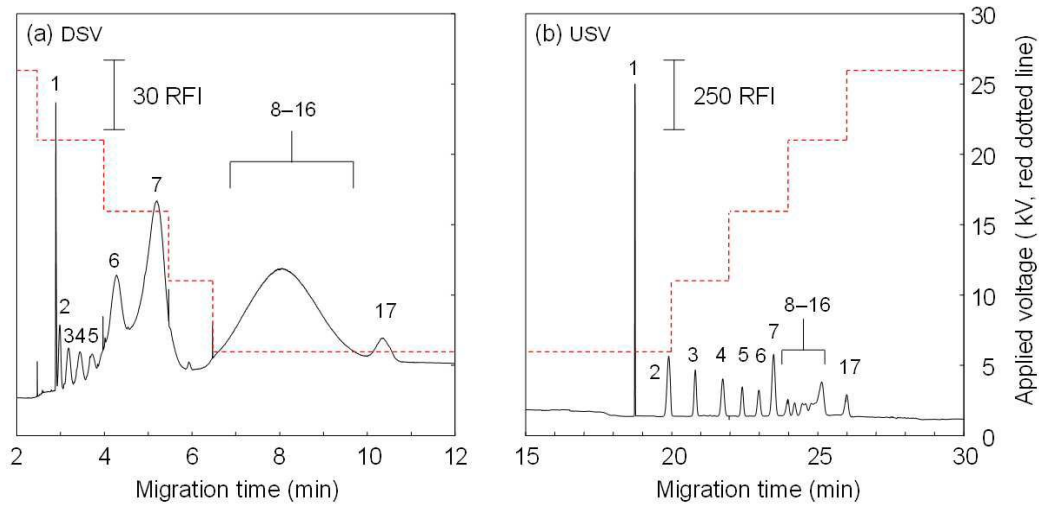
도면4



도면5



도면6



도면7

