



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년09월01일
(11) 등록번호 10-1773416
(24) 등록일자 2017년08월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/64 (2006.01) G01N 33/569 (2017.01)
G01S 19/14 (2010.01) G06T 7/00 (2017.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/6486 (2013.01)
G01N 21/645 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0115505
(22) 출원일자 2015년08월17일
심사청구일자 2015년09월18일
(65) 공개번호 10-2017-0021412
(43) 공개일자 2017년02월28일
(56) 선행기술조사문헌
US04943159 A*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
원광대학교산학협력단
전라북도 익산시 익산대로 460 (신동)
한국과학기술원
대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)
(72) 발명자
박현
경기도 용인시 수지구 죽전로238번길 22 101동
701호 (죽전동, 내대지마을GS자이아파트)
여선주
전라북도 익산시 하나로10길 25 704동 905호 (어양동, 주공7차아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
손민

전체 청구항 수 : 총 22 항

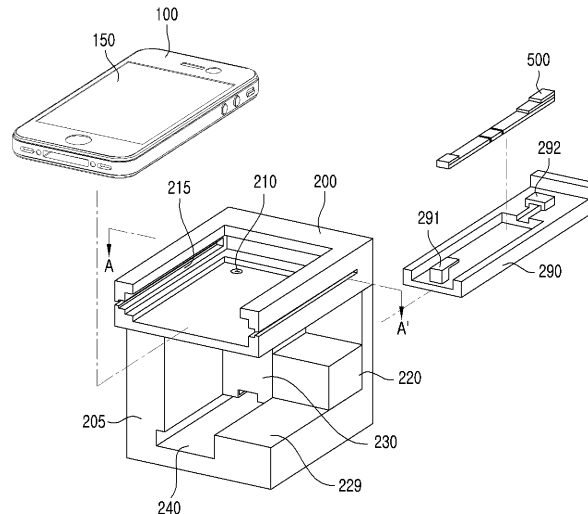
심사관 : 박준영

(54) 발명의 명칭 단말기 카메라를 이용한 휴대용 바이러스 감염 진단 시스템

(57) 요약

본 발명은, 진단기기(200) 및 이에 삽입될 수 있으며 샘플이 적용된 스트립(500)을 고정하는 스트립 홀더(290)를 포함하는 휴대용 진단 시스템으로서, 상기 진단기기(200)는, 단말기(100)가 고정되는 단말기 홀더(215); 상기 스트립 홀더(290)가 삽입되는 스트립 삽입구(240); 상기 스트립(500)에 발광하는 발광부(220); 및 상기 발광부(220)에 의해 상기 스트립(500)으로부터 발산되는 형광을 반사하는 반사부(230)를 포함하며, 상기 반사부(230)에서 반사된 형광이 상기 단말기(100)의 카메라(110)에서 영상으로 수집되는, 휴대용 진단 시스템을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 33/56983 (2013.01)
G01S 19/14 (2013.01)
G06T 7/0012 (2013.01)
G01N 2201/062 (2013.01)
G01N 2201/0636 (2013.01)
G01N 2201/0638 (2013.01)
G06T 2207/10004 (2013.01)
G06T 2207/10064 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020130131408 A*
 KR1020140127766 A
 US20130273528 A1
 KR1020140008792 A
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(72) 발명자

부이티, 쿡

전라북도 익산시 익산대로 460 (신동) 기숙사 학림관

정점규

충청남도 천안시 동남구 단대로 119 (안서동, 단국대학교천안캠퍼스)

유경식

대전광역시 유성구 문지로 14 3동 304호 (도룡동, 과학기술원교수아파트)

최경한

서울특별시 영등포구 신길 7동 한성아파트 103동 602호

권경목

경상북도 안동시 말구리길 33 301동 306호 (태화동, 삼성3차아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711018274
 부처명 미래창조과학부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 바이오 · 의료기술개발
 연구과제명 A형 인플루엔자 바이러스의 신속형광면역 스트립 키트 및 진단 시스템 개발
 기여율 1/2
 주관기관 원광대학교 산학협력단
 연구기간 2014.10.01 ~ 2015.09.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711014659
 부처명 미래창조과학부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 공공복지안전연구사업
 연구과제명 한국형 신 · 변종 인수공통전염병 대응기술
 기여율 1/2
 주관기관 원광대학교 산학협력단
 연구기간 2014.08.01 ~ 2015.07.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

단말기(100);

진단기기(200) 및 상기 진단기기(200)에 삽입될 수 있으며 샘플이 적용된 스트립(500)을 고정하는 스트립 홀더(290)를 포함하는 휴대용 진단 시스템으로서,

상기 진단기기(200)는,

상기 단말기(100)가 고정되는 단말기 홀더(215);

상기 스트립 홀더(290)가 삽입되는 스트립 삽입구(240);

상기 스트립(500)에 발광하는 발광부(220); 및

상기 발광부(220)에 의해 상기 스트립(500)으로부터 발산되는 형광을 반사하는 반사부(230)를 포함하며,

상기 반사부(230)에서 반사된 형광이 상기 단말기(100)의 카메라(110)에서 영상으로 수집되며,

상기 스트립(500)은,

라텍스를 매개체로 하여 항체와 형광 물질이 결합된 생체 복합체;

분석 대상 항원과 상기 생체 복합체가 반응한 항원-항체 결합체와 결합하며 제2 항체가 고정된 검사선; 및

상기 분석 대상 항원과 반응하지 않은 생체 복합체와 결합하며 이차 항체가 고정된 대조선;을 포함하며,

상기 단말기(100)는 상기 카메라(110)에서 수집된 검사선의 영상과 대조선의 영상을 비교하여 상기 샘플이 상기 분석 대상 항원을 포함하는지 여부를 연산하는 영상 처리부(120)를 포함하고,

상기 분석 대상 항원은 조류 인플루엔자 바이러스인 H5N3, H7N1, H9N2 및 H5N1 중 선택된 어느 하나이고, 상기 형광 물질은 쿠마린 유래 텐드리머인,

휴대용 진단 시스템.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 영상 처리부(120)는 상기 카메라(110)에서 수집된 검사선의 영상과 대조선의 영상의 픽셀을 확인하여 각 영상의 형광 강도를 연산하고, 상기 연산된 형광 강도를 비교함으로써 상기 샘플이 상기 분석 대상 항원을 포함하는지 여부를 연산하는,

휴대용 진단 시스템.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 단말기(100)는, 상기 단말기(100)의 위치정보를 확인하는 GPS 모듈(130); 및 송수신부(140)를 더 포함하며,

상기 송수신부(140)가, 상기 카메라(110)에서 수집된 영상 또는 상기 영상 처리부(120)에서 확인한 형광 강도를, 상기 GPS 모듈(130)에서 확인한 위치정보와 함께 데이터베이스(190)에 전송하는,

휴대용 진단 시스템.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 단말기(100)는 디스플레이부(150)를 더 포함하며,

상기 디스플레이부(150)가, 상기 카메라(110)에서 수집된 영상 또는 상기 영상 처리부(120)에서 확인한 형광 강도를 출력하는,

휴대용 진단 시스템.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 디스플레이부(150)는 상기 휴대용 진단 시스템을 이용하는 미리 설정된 순서를 출력하는,

휴대용 진단 시스템.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 발광부(220)는, LED(221); 및 상기 LED(221)로부터 발광된 빛을 여기하는 여기필터(222)를 포함하며,

상기 LED(221) 및 상기 여기필터(222)가 상기 스트립(500)을 지향하도록 위치하는,

휴대용 진단 시스템.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 반사부(230)는,

상기 스트립(500)으로부터 발산되는 형광을 반사하는 하부 반사체(231);

상기 하부 반사체(231)에서 반사한 형광을 방사하는 방사 필터(232); 및

상기 방사 필터(232)에서 필터링된 형광을 상기 카메라(110)를 향해 반사하는 상부 반사체(233)를 포함하는,

휴대용 진단 시스템.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 하부 반사체(231)는 파라볼릭 굴절거울이며,

상기 파라볼릭 굴절거울의 초점 평면에 상기 스트립(500)이 위치하는,

휴대용 진단 시스템.

청구항 9

제 7 항에 있어서,
상기 상부 반사체(233)는 복합체 파라볼릭 집중기(CPC)인,
휴대용 진단 시스템.

청구항 10

제 1 항에 있어서,
상기 단말기 홀더(215) 내측 하면에 광투과홀(210)이 위치하며,
상기 광투과홀(210)은 상기 단말기 홀더(215)에 삽입 고정되는 단말기(100)의 카메라(110)의 위치에 상응하는,
휴대용 진단 시스템.

청구항 11

제 10 항에 있어서,
상기 단말기 홀더(215)는 상하, 전후 또는 좌우 이동이 가능하며,
상기 광투과홀(210)은 전후 또는 좌우 이동이 가능한,
휴대용 진단 시스템.

청구항 12

제 1 항에 있어서,
상기 스트립 홀더(290)는 상기 스트립 삽입구(240) 내에서 전후 이동이 가능한,
휴대용 진단 시스템.

청구항 13

제 1 항에 있어서,
상기 스트립(500)에서 샘플로부터 바이러스 감염은 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay), 샌드위치 ELISA, 또는 샌드위치 FICT(fluorescent immunochromatographic test)로 검출하는 것인, 휴대용 진단 시스템.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

제 13 항에 있어서, 상기 휴대용 진단 시스템의 검출 한계는 (i) H5N3에 대해 6.25×10^3 PFU/mL, (ii) H7N1에 대해 5.34×10^2 PFU/mL, 또는 (iii) H9N2에 대해 5.23×10^1 PFU/mL인 것인, 휴대용 진단 시스템.

청구항 17

삭제

청구항 18

제 1 항에 있어서, 상기 휴대용 진단 시스템은 (i) 테이블탑(tabletop) FICT(fluorescent immunochromatographic test)에 비하여 2배 이상의 검출 민감도; 또는
(ii) ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)에 비하여 H5N3, H7N1, H9N에 대해 각각 128배, 511배, 10764 배 이상의 검출 민감도;를 가지는 것인, 휴대용 진단 시스템.

청구항 19

제 13 항에 있어서, 상기 휴대용 진단 시스템의 H5N1 바이러스에 대한 민감성(sensitivity)은 97% 이상 및 특이성(specificity)은 98% 이상인 것인, 휴대용 진단 시스템.

청구항 20

제 13 항에 있어서, 상기 휴대용 진단 시스템의 H9N2 바이러스에 대한 민감성 (sensitivity)은 76% 이상이고, 특이성(specificity)은 100% 이상인 것인, 휴대용 진단 시스템.

청구항 21

휴대용 진단 시스템을 이용한 휴대용 진단 방법으로서,

상기 시스템은,

단말기(100), 진단기기(200) 및 상기 진단기기(200)에 삽입될 수 있으며 샘플이 적용된 스트립(500)을 고정하는 스트립 홀더(290)를 포함하고,

상기 진단기기(200)는 단말기 홀더(215), 스트립 삽입구(240), 발광부(220) 및 반사부(230)를 포함하며,

상기 방법은,

(a) 상기 단말기(100)를 상기 단말기 홀더(215)에 삽입 고정하는 단계;

(b) 상기 스트립(500)이 고정된 상기 스트립 홀더(290)를 상기 스트립 삽입구(240)에 삽입하는 단계;

(c) 상기 발광부(220)가 상기 스트립(500)에 광을 조사하는 단계;

(d) 반사부(230)가 상기 발광부(220)에 의해 상기 스트립(500)의 샘플에서 발산된 형광을 반사하는 단계;

(e) 상기 반사부(230)에서 반사된 형광이 상기 단말기(100)의 카메라(110)에서 영상으로 수집되는 단계; 및

(f) 상기 단말기(100)의 영상 처리부(120)가 상기 카메라(110)에서 수집된 검사선의 영상과 대조선의 영상을 비교하여 상기 샘플이 분석 대상 항원을 포함하는지 여부를 연산하는 단계;를 포함하는 방법으로서,

상기 스트립(500)은,

라텍스를 매개체로 하여 항체와 형광 물질이 결합된 생체 복합체;

상기 분석 대상 항원과 상기 생체 복합체가 반응한 항원-항체 결합체와 결합하며 제2 항체가 고정된 검사선; 및
상기 분석 대상 항원과 반응하지 않은 생체 복합체와 결합하며 이차 항체가 고정된 대조선;을 포함하며,

상기 단말기(100)는 상기 카메라(110)에서 수집된 검사선의 영상과 대조선의 영상을 비교하여 상기 샘플이 상기 분석 대상 항원을 포함하는지 여부를 연산하는 영상 처리부(120)를 포함하고,

상기 분석 대상 항원은 조류 인플루엔자 바이러스인 H5N3, H7N1, H9N2 및 H5N1 중 선택된 어느 하나이고, 상기

형광 물질은 쿠마린 유래 텐드리머인,
휴대용 진단 방법.

청구항 22

제 21 항에 있어서,

상기 (f) 단계는,

(f1) 상기 영상 처리부(120)가 상기 검사선의 영상과 상기 대조선의 영상의 픽셀을 확인하여 각 영상의 형광 강도를 연산하는 단계; 및

(f2) 상기 영상 처리부(120)가 상기 연산된 형광 강도를 비교함으로써 상기 샘플이 상기 분석 대상 항원을 포함하는지 여부를 연산하는 단계;를 포함하는,

휴대용 진단 방법.

청구항 23

제 22 항에 있어서,

상기 (f2) 단계 이후,

(g) GPS 모듈(130)이 상기 단말기(100)의 위치정보를 확인하는 단계; 및

(h) 송수신부(140)가 상기 (e) 단계에서 수집된 영상 또는 상기 (f1) 단계에서 연산된 형광 강도를, 상기 (g) 단계에서 확인된 위치정보와 함께 데이터베이스(190)에 전송하는 단계를 더 포함하는,

휴대용 진단 방법.

청구항 24

제 22 항에 있어서,

상기 (f2) 단계 이후,

(i) 디스플레이부(150)가 상기 (e) 단계에서 수집된 영상 또는 상기 (f1) 단계에서 연산된 형광 강도를 출력하는 단계를 더 포함하는,

휴대용 진단 방법.

청구항 25

제 21 항에 있어서,

상기 (a) 단계 이후,

(j) 디스플레이부(150)가, 상기 휴대용 진단 시스템을 이용하는 미리 설정된 순서를 출력하는 단계를 더 포함하는,

휴대용 진단 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 스마트폰과 같은 휴대용 단말기를 이용하여 스트립을 이용한 바이러스 감염 진단을 용이하고 정확하게 이룩한 휴대용 진단 시스템에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 야생 조류나 가금류로부터 직접적으로 유래되는 인플루엔자 바이러스에 의한 인간 감염은 인간에게나 조류에게나 점점 심각한 위협이 되고 있다. 조류 독감 (avian influenza, AI) 바이러스는 인플루엔자 A 형에 속하는 바이러스로, 세계보건기구(WHO)에 의하면 고병원성 조류 인플루엔자(highly pathogenic avian influenza, HPAI) 종인 H5N1은 60% 이상의 인간 치사율을 나타낸 것으로 보고되었다. 중국에서 HPAI 종인 H7N9의 첫 발병이 있은 후, 2013년부터 2014년 동안 379 명의 환자와 135 명의 사망자가 있었다.

[0004] HPAI 종이 인간 및 조류를 감염시키는 주된 AI 바이러스가 되고 있어, 정확하고 효율적인 바이러스 감염 검사에 중요해졌다. 그러나, 보통 이러한 검사는 숙련된 기술자에 의해 실험실에서 이루어지는 경우가 대부분이기 때문에, 임상 샘플에서 AI 감염을 검사하는 신속한 진단 검사(rapid diagnostic test, RDT)를 개발하기 위해 많은 연구가 진행되었다.

[0005] 그러나, 현재까지 H5N1 RDT의 임상적 진단에 관한 소수의 보고만 있었으며, 일례로, H5N1에만 감염된 가금류에 대해 84.3%의 민감성 및 97.7%의 특이성을 가지는 RDT가 보고된 바 있다 (C. A. Meseko et al. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 68, 163-165, 2010, C. A. Meseko et al.). 또한, H5N1의 및 H9N2에 대한 임상적 연구는 아직 밝혀진 바 없다.

[0006] 더 나아가, 저병원성 조류 독감(low pathogenic avian influenza, LPAI) 바이러스에 대한 관측은 HPAT에 대한 예방 전략으로 고려될 수 있는데, 이는 H5N1 바이러스가 LPAI 바이러스 종인 H5N3으로부터 유래되기 때문이다. 상기와 같은 조류에서의 AI 발병은 중간 전염으로 인해 동물들에게 계속된 위협이 되나, 정확한 전염 경로는 여전히 밝혀지지 않았다. 따라서, 지역 단위에서 이루어지는 정확한 바이러스 감염의 초기 검출은, 특히 높은 병원성을 가지는 H5 및 H7의 아류가 관여되어 있을 때, AI의 예방, 관리 및 퇴치를 위해 중요하다.

[0007] 한편, 철새는 국가적으로나 국제적으로 AI 바이러스의 지역적 전파에 중요한 역할을 한다. 시간에 따른 AI 발병 및 전염에 관한 최신의 정보를 유지하기 위해, AI의 지역적 전파에 관한 최신의 진단 데이터를 저장하는 전 세계적으로 네트워크화된 데이터베이스가 매우 필요한 실정이다. 이러한 측면에서, 효율적인 광범위한 AI 관측 시스템을 구축하기 위해서는 높은 민감성을 가지면서 한정된 자원 및 샘플에도 적용할 수 있는 현장 적용 가능한 휴대용 진단 기기가 요구된다.

[0009] 이러한 배경하에서, 본 발명자들은 스마트폰과 같은 휴대용 단말기를 이용하여 실험실 수준으로 바이러스 감염 여부를 진단하고, 특히 상기 진단 결과를 바탕으로 바이러스의 감염 여부를 전 세계적으로 관측할 수 있는 시스템을 구현하기 위해 노력한 결과, 단말기 카메라를 이용하여 현장에서 신속하게 바이러스 감염 여부를 진단하고 이의 결과를 수집하여 분석할 수 있음을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 조류 독감(AI) 바이러스는 중간 전염이 가능하여 조류뿐 아니라, 인간에게도 위협이 되며, 이에 대한 신속한 대응을 위하여는 현장에서 실시 가능하고 신속하게 진단 결과를 확인할 수 있는 바이러스 감염 진단 기기가 요구된다. 또한, 광범위한 지역에서의 AI 발병 여부를 관측할 필요가 있으나, 현재 이러한 진단 시스템에 관한 연구는 보고되지 않았다.

[0012] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여 안출된 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기와 같은 과제를 해결하기 위한 본 발명의 일 실시예는, 진단기기(200) 및 이에 삽입될 수 있으며 샘플이 적용된 스트립(500)을 고정하는 스트립 홀더(290)를 포함하는 휴대용 진단 시스템으로서, 상기 진단기기(200)는, 단말기(100)가 고정되는 단말기 홀더(215); 상기 스트립 홀더(290)가 삽입되는 스트립 삽입구(240); 상기 스트립(500)에 발광하는 발광부(220); 및 상기 발광부(220)에 의해 상기 스트립(500)으로부터 발산되는 형광을 반사하는 반사부(230)를 포함하며, 상기 반사부(230)에서 반사된 형광이 상기 단말기(100)의 카메라(110)에서 영상

으로 수집되는, 휴대용 진단 시스템을 제공한다.

- [0015] 또한, 상기 단말기(100)는 영상 처리부(120)를 포함하며, 상기 영상 처리부(120)는 상기 카메라(110)에서 수집된 영상의 픽셀을 확인하여 형광 강도를 연산하는 것이 바람직하다.
- [0016] 또한, 상기 단말기(100)는, 상기 단말기(100)의 위치정보를 확인하는 GPS 모듈(130); 및 송수신부(140)를 더 포함하며, 상기 송수신부(140)가, 상기 카메라(110)에서 수집된 영상 또는 상기 영상 처리부(120)에서 확인한 형광 강도를, 상기 GPS 모듈(130)에서 확인한 위치정보와 함께 데이터베이스(190)에 전송하는 것이 바람직하다.
- [0017] 또한, 상기 단말기(100)는 디스플레이부(150)를 더 포함하며, 상기 디스플레이부(150)가, 상기 카메라(110)에서 수집된 영상 또는 상기 영상 처리부(120)에서 확인한 형광 강도를 출력하는 것이 바람직하다.
- [0018] 또한, 상기 디스플레이부(150)는 상기 휴대용 진단 시스템을 이용하는 미리 설정된 순서를 출력하는 것이 바람직하다.
- [0019] 또한, 상기 발광부(220)는, LED(221); 및 상기 LED(221)로부터 발광된 빛을 여기하는 여기필터(222)를 포함하며, 상기 LED(221) 및 상기 여기필터(222)가 상기 스트립(500)을 지향하도록 위치하는 것이 바람직하다.
- [0020] 또한, 상기 반사부(230)는, 상기 스트립(500)으로부터 발산되는 형광을 반사하는 하부 반사체(231); 상기 하부 반사체(231)에서 반사한 형광을 방사하는 방사 필터(232); 및 상기 방사 필터(232)에서 필터링된 형광을 상기 카메라(110)를 향해 반사하는 상부 반사체(233)를 포함하는 것이 바람직하다.
- [0021] 또한, 상기 하부 반사체(231)는 파라볼릭 굴절거울이며, 상기 파라볼릭 굴절거울의 초점 평면에 상기 스트립(500)이 위치하는 것이 바람직하다.
- [0022] 또한, 상기 상부 반사체(233)는 복합체 파라볼릭 집중기(CPC)인 것이 바람직하다.
- [0023] 또한, 상기 단말기 홀더(215) 내측 하면에 광투과홀(210)이 위치하며, 상기 광투과홀(210)은 상기 단말기 홀더(215)에 삽입 고정되는 단말기(100)의 카메라(110)의 위치에 상응하는 것이 바람직하다.
- [0024] 또한, 상기 단말기 홀더(215)는 상하, 전후 또는 좌우 이동이 가능하며, 상기 광투과홀(210)은 전후 또는 좌우 이동이 가능한 것이 바람직하다.
- [0025] 또한, 상기 스트립 홀더(290)는 상기 스트립 삽입구(240) 내에서 전후 이동이 가능한 것이 바람직하다.
- [0027] 상기와 같은 과제를 해결하기 위한 본 발명의 다른 실시예는, (a) 상기 단말기(100)를 상기 단말기 홀더(215)에 삽입 고정하는 단계; (b) 상기 스트립(500)이 고정된 상기 스트립 홀더(290)를 상기 스트립 삽입구(240)에 삽입하는 단계; (c) 상기 발광부(220)에 전원을 인가하여 발광시키는 단계; 및 (d) 상기 발광부(220)에 발광에 의해 상기 스트립(500)의 샘플에서 방사된 형광이 상기 반사부(230)에 의하여 반사되어, 상기 단말기(100)의 상기 카메라(110)에서 그 영상이 수집되는 단계를 포함하는, 진단 방법을 제공한다.
- [0028] 또한, 상기 (d) 단계 이후, (e) 상기 영상 처리부(120)가 상기 (d) 단계에서 수집된 영상의 픽셀을 확인하여 형광 강도를 연산하는 단계를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- [0029] 또한, 상기 (e) 단계 이후, (f) 상기 GPS 모듈(130)이 상기 단말기(100)의 위치정보를 확인하는 단계; 및 (g) 상기 송수신부(140)가 상기 (d) 단계에서 수집된 영상 또는 상기 (e) 단계에서 연산된 형광 강도를, 상기 (f) 단계에서 확인된 위치정보와 함께 상기 데이터베이스(190)에 전송하는 단계를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- [0030] 또한, 상기 (e) 단계 이후, (h) 상기 디스플레이부(150)가 상기 (d) 단계에서 수집된 영상 또는 상기 (e) 단계에서 연산된 형광 강도를 출력하는 단계를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- [0031] 또한, 상기 (a) 단계 이후, (i) 상기 디스플레이부(150)가, 상기 휴대용 진단 시스템을 이용하는 미리 설정된 순서를 출력하는 단계를 더 포함하는 것이 바람직하다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명의 휴대용 진단 시스템은 조류 독감(AI) 바이러스에 신속하게 대응할 수 있도록 현장에서 실시 가능하면서 높은 민감성을 가지며, 광범위한 지역에서의 AI 발병 여부 및 발병 지역에 관한 정보를 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0035] 도 1은 본 발명에 따른 시스템의 분해 사시도이다. 설명을 위하여 단말기(100), 스트립 홀더(290) 및 스트립

(500)이 구분되어 도시된다.

도 2는 본 발명에 따른 시스템의 발광부(220)와 반사부(230)의 상세도이다. 설명을 위하여 각각의 하우징은 투명한 것으로 도시된다.

도 3은 도 1의 A-A에 따른 단면도이다.

도 4는 본 발명에 따른 시스템에서의 정보의 흐름을 설명하기 위한 개략도이다.

도 5a 내지 도 5f는 본 발명에 따른 시스템을 사용한 진단 방법을 사진으로 도시한다.

도 6은 본 발명에 따른 시스템에서 지도와 감염 여부가 함께 디스플레이부(150)에 의해 출력되는 예시적 화면이다.

도 7은 전통적인 방식의 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay), 테이블탑(table-top) 형광 면역 스트립 리더(FICT), 및 본 발명의 진단 시스템의 성능 비교를 나타낸 도이다.

도 8은 본 발명의 진단 시스템을 이용하여 임상 평가를 수행한 결과를 나타내는 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 이하, 도면을 참고하여 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0037] 이하에서, "시스템"은 물건을 의미하는 개념임을 언급하여 둔다.
- [0038] 이하에서, 도 1에 도시된 좌표계와 같이, 단말기(100)를 기준으로 그 디스플레이부(150)가 바라보는 방향이 상측이고 반대가 하측이며, 단말기(100)가 진단기기(200)에 삽입되도록 전진하는 방향이 전측이고 반대가 후측이며, 단말기(100)에서 진단기기(200)를 바라본 방향에서 오른쪽이 우측이고 반대가 좌측이다.
- [0040] 1. 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템의 설명
- [0041] 도 1 내지 도 4를 참조하여 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템을 설명한다.
- [0042] 휴대용 진단 시스템은, 크게 단말기(100)가 삽입 고정될 수 있는 진단기기(200)와, 진단을 위한 스트립(500)이 고정되어 상기 진단기기(200)에 삽입될 수 있는 스트립 홀더(290)로 이루어진다.
- [0043] 진단기기(200)는 전체적으로 육면체 형태인 것으로 도시되나, 그 형태에 제한이 없으며, 어떠한 입체 형상이어도 무방하다. 아래에서는 전체적인 진단기기(200)의 형태를 유지하기 위한 구조적인 부분을 지지체(205)로 지칭한다.
- [0044] 지지체(205)를 비롯한 진단기기(200)의 전체를 둘러싸서 외부로부터 보호하는 별도의 커버(미도시)가 존재하나, 도면에서는 설명을 위하여 도시하지는 않았다.
- [0046] 진단기기(200)의 상부의 좌우 양측에는 단말기(100)가 삽입되되 끼움 고정이 가능한 한 쌍의 단말기 홀더(215)가 위치한다. 본 발명에 따른 진단기기(200)는 단말기(100)의 카메라(110)를 이용하는데, 단말기 홀더(215)는 이를 위하여 단말기(100)를 진단기기(200)에 대하여 고정시키는 기능을 한다.
- [0047] 단말기(100)는 가급적 고사양 카메라를 구비한 것이 바람직하지만, 어떠한 제조사, 운영체제여도 무방하다. 후술하겠지만, 단말기(100)는 정보처리기능, GPS 기능 및 카메라가 있으면 어떠한 단말기도 사용 가능하다. 이에 따라, 어떠한 종류의 단말기(100)도 사용 가능하도록 단말기 홀더(215)의 상하, 전후 또는 좌우 이동이 가능한 것이 바람직하다.
- [0048] 진단기기(200)의 상부면에는 광투과홀(210)이 위치한다. 광투과홀(210)은, 단말기(100)가 고정될 경우 단말기(100)의 카메라(110)의 위치에 상응한 곳에 위치한다. 일반적으로 카메라(110)는 단말기(100)의 뒷면 좌측에 위치하는바, 도 1에 도시된 바와 같이, 광투과홀(210) 역시 진단기기(200)의 상부면 좌측에 위치하는 것이 바람직하다. 단말기(100)마다 카메라(110)의 위치가 상이한바, 어떠한 종류의 단말기(100)의 카메라(110)도 사용 가능하도록, 광투과홀(210)의 전후 또는 좌우 이동이 가능한 것이 바람직하다.
- [0049] 진단기기(200)의 광투과홀(210) 바로 아래에는 반사부(230)가 위치하며, 반사부(230)의 일측에는 발광부(220)가 위치한다. 발광부(220)는 발광부 거치대(229) 상에 안착되어 고정되는 형태이다. 발광부(220)와 반사부(230)는 아래에서 상술한다.
- [0051] 스트립(500)에는 샘플이 적용되어 있으며, 이는 스트립 홀더(290)에 고정될 수 있다. 스트립 홀더(290)의 후방

에는 제 1 스트립 고정체(291)가 구비되고 전방에는 제 2 스트립 고정체(292)가 구비되어, 스트립(500)을 단단히 고정 유지한다.

- [0052] 스트립 홀더(290)는 진단기기(200)의 전방 아래에 위치하는 스트립 삽입구(240)를 통하여 전방에서 후방을 향하여 진단기기(200)에 삽입될 수 있다.
- [0054] 도 2 및 도 3을 참조하여 발광부(220)와 반사부(230)를 보다 상세히 설명한다. 설명을 위하여 투명한 케이스으로 도시하였다.
- [0055] 발광부(220)는 별도의 전원부(미도시)로부터 전력을 공급받아 발광하는 LED(221) 및 이를 여기하는 여기필터(222)를 포함한다.
- [0056] LED(221) 및 여기필터(222)가 지향하는 방향은, 스트립 홀더(290)에 의하여 고정된 스트립(500) 상에 위치하는 샘플이다. 스트립(500), 다시 말해 샘플은 빛을 받아 형광을 발산한다.
- [0057] 반사부(230)는 하부 반사체(231), 방사 필터(232) 및 상부 반사체(233)를 포함한다. 샘플에 의해 발산된 형광은 하부 반사체(231), 방사 필터(232) 및 상부 반사체(233)를 차례로 통과하여 단말기(100)의 카메라(110)에 영상으로서 수집된다.
- [0058] 하부 반사체(231)로서 파라볼릭 굴절거울이 사용된다. 즉, 종래의 일반적인 굴절렌즈가 아니라 파라볼릭 굴절거울을 사용함으로써 형광 집광 효율을 증대시킬 수 있다. 보다 구체적으로, 하부 반사체(231)는 스트립(500) 상의 샘플이 하부 반사체(231)인 파라볼릭 굴절거울의 초점 평면에 놓이도록 위치한다.
- [0059] 방사 필터(232)는 하부 반사체(231)에서 반사한 형광을 방사한다. 이를 통하여 옆으로 들뜬 빛은 필터링되어 단말기(100)에 검출되지 않는다.
- [0060] 상부 반사체(233)로서, 실질적으로 이상적인 집광 효율을 갖는 비이미지화 빛 수집기인 복합체 파라볼릭 집중기(CPC)가 사용되어, 굴절된 형광을 수집한다. 이를 통하여 샘플에 의하여 발산되는 형광의 더 높은 부분을 수용할 수 있다.
- [0061] 상부 반사체(233)는 단말기(100)의 카메라(110)가 상부 반사체(233)의 파라볼릭 굴절거울의 초점 평면에 놓이도록 위치한다.
- [0062] 이와 같은 구조에 의하여, 단말기(100)의 카메라(110)는 수집된 형광을 획득하게 되며, 영상 처리부(120)는 단순한 영상 처리 알고리즘을 통해 수집된 영상의 평균 픽셀을 측정함으로써 샘플의 형광 강도를 연산할 수 있다. 이를 통하여 기 설정된 방법에 의하여 감염 여부가 확인된다.
- [0064] 도 4를 참조하여, 단말기(100)를 설명한다.
- [0065] 단말기(100)는, 카메라(110), 영상 처리부(120), GPS 모듈(130), 송수신부(140) 및 디스플레이부(150)를 포함하는 것이 바람직하다. 정보 처리 기능을 구비한 어떠한 종류의 스마트폰, 태블릿 등도 적용될 수 있다.
- [0066] 카메라(110)는 상부 반사체(233)를 통과한 영상을 수집한다.
- [0067] 영상 처리부(120)는 카메라(110)에서 수집된 영상을 기초로 평균 픽셀을 형광 강도를 연산한다. 측정하는 알고리즘은 어떠한 것이어도 무방하며, 일반적인 기술인바 상세한 설명은 생략한다.
- [0068] GPS 모듈(130)은 단말기(100)의 현재 위치, 다시 말해 진단기기(200)의 현재 위치에 대한 정보(이하, 위치정보)를 확인한다.
- [0069] 송수신부(140)는, 카메라(110)에서 수집된 영상 또는 영상 처리부(120)에서 확인한 형광 강도를, GPS 모듈(130)에서 확인한 위치정보와 함께 데이터베이스(190)에 전송하는 기능을 수행한다.
- [0070] 디스플레이부(150)는 세 가지 출력이 가능하다.
- [0071] 첫째로, 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템을 수행하는 단계들을 출력할 수 있다(도 5b, 도 5c). 이를 위하여, 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템을 수행하는 각 단계들을 단말기(100)에 미리 저장되어 있거나, 또는 외부 프로그램(어플리케이션)에 의하여 정보가 로딩됨으로써 출력될 수 있다.
- [0072] 둘째, 카메라(110)에서 수집된 영상 또는 영상 처리부(120)에서 확인한 형광 강도를 출력할 수 있다(도 5d, 도 5e 참조).

- [0073] 셋째, 최종 처리 결과가 지도 및 감염여부로서 출력될 수 있다(도 5f, 도 6).
- [0075] 2. 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템을 이용한 진단 방법의 설명
- [0076] 먼저, 사용자는 생체 복합체를 미리 준비된 스트립(500)의 복합체 패드 상에 떨어뜨려 준비한다. 생체 복합체의 검사선 및 대조선의 방향으로 측면 유동이 유도된다. 결합 반응이 완료되기를 기다린 후(약 15분) 검사선(TL) 및 대조선(CL)의 형광 강도를 측정한다. 본 발명에 따른 스트립(500)에 포함되는 생체 복합체는 이하에서 상술한다.
- [0077] 한편, 단말기(100)를 진단기기(200)에 삽입 고정하고, 이와 동시에 단말기(100)에 미리 저장된 정보를 불러오거나 진단 도움 프로그램을 실행하여 디스플레이부(150) 상에서 각 단계별로 사용자가 취하여야 하는 절차가 설명될 수 있도록 한다(도 5b).
- [0078] 다음, 스트립 홀더(290)를 진단기기(200)에 삽입하고, 스트립(500)의 샘플이 하부 반사체(231)의 초점 평면에 이르도록 스트립(500)을 전후로 이동시켜 조절한다(도 5c).
- [0079] 다음, 별도의 전원부(미도시)를 스위치-온하여 LED(221)에 전력을 공급하면, LED(221) 및 여기필터(222)를 통과한 광원에 의하여 스트립(500)의 샘플로부터 형광이 발산되고, 단말기(100)의 카메라(110)가 반사부(230)를 통과한 영상을 수집하며, 단말기(100)의 디스플레이부(150)는 그 영상을 직접 출력될 수도 있으며, 또는 영상 처리부(120)에 의해 연산된 형광 강도를 출력할 수도 있다(도 5d).
- [0080] 다음, 스트립 홀더(290)를 전후로 이동시킴으로써 검사선(TL) 및 대조선(CL)의 형광 강도를 출력한다(도 5e).
- [0081] 측정된 결과는 사용자에게 의한 단말기(100)의 별도 조작에 의하여 데이터베이스(190)에 저장된다. 이 때에, 형광 강도는 물론 위치 정보까지 함께 저장될 수 있으며, 이러한 데이터들이 누적되어 지도의 형태로 저장되고 출력될 수 있다(도 5f).
- [0082] 예를 들어, 도 6의 형태로 저장될 수 있는데, 측정횟수마다의 위치정보 및 감염여부가 도시되며, 특히 감염여부는 색상으로 구분되어 가시성을 높일 수도 있다.
- [0084] 3. 형광 측면 유동 면역 어세이를 위한 스트립의 제작
- [0085] 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템은 라텍스를 매개체로 하여 항체와 형광물질이 결합된 생체 복합체를 포함하는 스트립(500)을 포함한다.
- [0086] 본 발명에서 사용되는 라텍스는 다수의 형광물질 및 항체와 결합할 수 있는 매개체로서 사용할 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 형광물질 및 항체와 결합할 수 있도록 표면에 다수의 반응성 아민기가 존재하는 라텍스를 사용할 수 있다. 항체와 형광물질이 직접 결합된 생체 복합체에 비해 라텍스를 매개체로 하여 항체와 형광물질이 결합된 생체 복합체는, 라텍스를 매개체로 하여 하나의 항체에 다수의 형광물질이 결합될 수 있어 상대적으로 형광신호가 증폭되므로 보다 효과적으로 검출여부를 판정할 수 있다.
- [0087] 본 발명에서 항체는 라텍스와 직접적으로 또는 링커를 이용하여 간접적으로 결합할 수 있는 한 특별히 제한되지 않고, 모든 종류의 항체를 사용할 수 있다. 상기 항체는 항체의 카르복실기와 라텍스의 반응성 아민을 반응시켜서 이미노 결합을 형성함으로써 상기 라텍스와 직접적으로 결합될 수 있는데, 항체의 구조에 따라 이러한 결합이 원활히 수행하지 못하게 될 수도 있다는 문제점이 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여, 펩타이드, 글루타르알데히드 등의 링커를 사용하여 간접적으로 항체와 라텍스를 결합시킬 수 있으며, 이때 사용되는 링커는 항체와 라텍스간의 결합을 매개할 수 있는 한 특별히 제한되지 않는다.
- [0088] 본 발명에 있어서, 상기 항체에 결합되는 형광물질은 항체에 결합되어 항원-항체 결합여부를 검출할 수 있게 하는 한, 특별히 이에 제한되지 않으나, 바람직하게는 플루오레세인, 6-카르복시플루오레세인, 헥사크로로-6-카르복시플루오레세인, 테트라크로로-6-카르복시플루오레세인, VIC, JOE, 5-(2'-아미노에틸)아미노 나프탈렌-1-술폰산, 쿠마린 및 이의 유도체, 시아닌-5, 루시퍼 엘로우, 텍사스 레드, 테트라메틸로다민, 야키마 엘로우, 칼 플루오르레드 610, 쿠마린 또는 이들의 유도체 등이 사용될 수 있고, 보다 바람직하게는 다수의 형광물질이 밀집되어 증폭된 형광신호를 나타낼 수 있는 덴드리머 형태의 형광물질이 사용될 수 있으며, 가장 바람직하게는 쿠마린 유래 덴드리머를 사용할 수 있다.
- [0089] 본 발명에 따른 스트립(500)은 상기 라텍스를 매개체로 하여 상기 항체와 상기 형광물질이 결합된 생체 복합체를 포함하여 목적하는 항원을 면역 검출할 수 있는 한 특별히 이에 제한되지 않는다. 바람직하게는 본 발명에 따른 스트립(500)은 상기 생체 복합체를 포함하는 ELISA 키트가 될 수 있고, 보다 바람직하게는 샌드위치 ELISA

키트가 될 수 있으며, 가장 바람직하게는 샌드위치 FICT(fluorescent immunochromatographic test kit) 키트가 될 수 있다.

[0090] 예를 들어, 본 발명에 따른 스트립(500)은 스트립 형태의 나이트로셀룰로오스 막에 유리 섬유(glass fiber), 코튼(cotton) 또는 셀룰로오스 재질의 패드를 결합시켜서 혈액시료를 투입할 수 있는 시료 주입부가 구비되고, 상기 시료 주입부로부터 일정 간격을 유지하면서 상기 라텍스를 매개체로 하여 상기 항체와 상기 형광물질이 결합된 생체 복합체, 상기 항체와 동일한 항원을 검출할 수 있는 다른 항체가 고정된 검사선 및 상기 생체 복합체에 포함된 항체를 검출할 수 있는 이차 항체가 고정된 대조선이 구비된 면역스트립 또는 FICT(fluorescent immunochromatographic test kit)가 될 수 있다.

[0091] 일 실시양태로서, 본 발명에 따른 스트립(500)은 라텍스를 매개체로 하여 항체와 형광물질이 결합된 생체 복합체, 검사선에 고정되고 항원을 검출할 수 있는 제2 항체, 대조선에 고정되고 상기 생체 복합체에 포함된 항체를 검출할 수 있는 이차 항체가 기판에 고정된 형태로 제작될 수 있으며, 이를 이용하여 샘플 내 목적하는 항원, 예컨대 조류 독감 바이러스 항원의 존재 여부를 확인할 수 있다.

[0092] 예시로서, 발명에 따른 스트립(500)을 이용하여 목적하는 항원을 검출하는 방법을 개략적으로 설명하면, 혈액 시료와 시료 희석액을 상기 스트립의 복합체 패드에 가하면, 이에 포함된 항원이 측면 유동 방식으로 항체와 형광물질이 결합된 생체 복합체에 도달하여 항원-항체 결합체를 형성하고, 상기 결합체는 검사선에 고정된 제2 항체와 결합하여 검사선에 고정된다. 또한, 상기 생체 복합체 중에서 항원과 결합하지 못한 복합체는 대조선에 고정된 이차 항체와 결합하여 대조선에 고정된다. 이러한 항원-항체 반응이 종료된 후, LED 광원으로부터 상기 형광물질에서 흡수할 수 있는 파장의 빛을 상기 검사선과 대조선에 가하면, 상기 검사선과 대조선에 결합된 각 복합체의 형광물질로부터 특정 파장의 형광이 방출되고, 이를 검출기를 통해 측정할 수 있다.

[0093] 본 발명에 따른 스트립(500)은 라텍스를 매개체로 하여 하나의 항체에 다수의 형광물질이 결합된 생체 복합체를 포함하여 미량의 샘플을 사용하더라도 목적하는 항원을 효과적으로 검출할 수 있으므로, 다양한 항원의 검출 및 이를 이용한 질환, 특히 조류 독감 바이러스의 감염 진단에 널리 활용될 수 있다.

[0094] 또한, 상기한 바와 같은 스트립(500)이 구비된 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템은 조류 독감(AI) 바이러스에 대한 감염 여부를 신속하게 진단할 수 있고 현장에서 용이하게 실시 가능하면서 높은 민감성을 가지고 있어, 광범위한 지역에서의 AI 발병 여부 및 발병 지역에 관한 정보를 제공할 수 있다.

[0095] 바람직한 일 실시양태에서, 본 발명의 조류 독감 바이러스의 검출을 위해 사용한 형광 측면 유동 면역 어세이는 샌드위치 면역 어세이 방법을 사용한다. 뉴클레오펙시드(NP) 항체에 연결된 아민 라텍스 비드와 쿠마린에서 유래된 덴드리머 형광단으로 구성된 생체 복합체(bioconjugates)의 생산을 위해 항 인플루엔자 A 뉴클레오펙시드 항체가 사용된다. 항체와 형광단은 아민 라텍스 비드에 공유 결합되어 있다. 또 다른 항 인플루엔자 A 뉴클레오펙시드 항체가 검사선(test line)에서 조류 독감 뉴클레오펙시드 항원을 검출하기 위해 나이트로셀룰로즈 멤브레인의 표면에 코팅되어 있다. 대조선에는, 생체 복합체의 항체 부분의 검출과 측면 유동 반응(lateral flow reaction)의 확인을 위해 염소에서 유래한 항 마우스 IgG 항체가 표면에 코팅된다. 샘플이 15분간 멤브레인 스트립(membrane strip)을 따라 유동하게 되면, 생체 복합체의 항체 부위가 조류 독감 바이러스와 반응하고 검사선에 포획되어 바이러스의 존재 여부를 확인할 수 있다.

[0097] 4. 본 발명에 따른 휴대용 단말기를 기초로 한 형광 진단 장치의 설계

[0098] 종래 현미경의 빛의 수집 효율은 일반적으로 카메라의 접안 렌즈의 굴절 조리개의 수에 의하여 제한되며, 이는 광학 시스템에 대한 입사각의 범위를 제한한다. 그러나, 일반적인 광학 시스템은 비싸고 다수의 조리개 사용으로 인해 크기가 방대해지는 문제점이 있다. 심지어 상당히 많은 조리개를 가지는 접안 렌즈를 사용하여, 일반적인 형광 발광으로부터 발산하는 전방향의 빛을 수집하는 비율은 겨우 몇 퍼센트가 될 정도로 상당히 낮다. 선별의 목적을 위한 스크리닝에 사용되는 대부분의 면역 크로마토그래피 테스트는 일반적으로 형광원으로부터 형광이 발산되는 총 형광의 세기에 대하여만 관심이 있기 때문에 높은 성능을 가진 굴절 렌즈에 의한 정확한 이미지화는 불필요하다. 이러한 단계에 있어서, 일반적으로 빛의 수집 효율과 형광의 발산에 대한 최소한의 민감도는 더욱 중요하다.

[0099] 본 발명의 바람직한 일 실시양태에서는, 스마트폰 또는 다른 이동식 진단 장치와 연동될 수 있는 정도 이내의 높은 광 수집 효율을 달성하기 위해서 두 개의 파라볼릭(포물선 형태의) 거울을 사용한다. 본 발명의 진단 시스템의 설계에 있어서, 형광 집광 효율을 증대시키기 위한 비이미지화 반사 광학기구 등을 채용하는 대신 종래의 굴절렌즈를 사용하지 않는다.

- [0100] 형광 측면 유동 면역 어세이 샘플은 스트립(500)이 삽입되기 위해 초점 평면이 수평으로 잘려진 하부 반사체(231)의 초점 평면에 놓여질 수 있다. LED(221)에 의해서 생산된 여기광(excitation light)은 형광원을 여기시키고, 하부 반사체(231)에 의하여 반사되어 대략적으로 평행하게 된 형광빔은 방사 필터(232)를 통해 통과한다. 여기광은 방사 필터(232)에 의하여 여과되어, 예컨대 본 발명의 단말기 카메라(110)인 빛 검출기에 의해 검출되지 않는다. 상부 반사체(233)는 거의 이상적으로 볼 수 있는 집광 효율을 가진다. 이는 광수집기에 대한 하부 반사체(231)에 의한 반사된 형광을 수집하기 위해 사용된다. 그 후 단말기 카메라(110)는 수집된 형광을 얻게 되고, 그것의 총 세기는 단순한 이미지화 처리 알고리즘에 의한 평균 픽셀 세기 측정에 의하여 추정된다.
- [0102] 5. 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템의 작동
- [0103] 진단 검사를 수행하기 위하여, 상기와 같이 제작된 스트립(500)을 본 발명에 따른 휴대용 진단 시스템 내 스트립 홀더(290)에 장착하고, 생체 복합체를 상기 스트립 내에 적가한다. 스트립(500)을 스트립 홀더(290) 덮개로 덮은 후, 스트립 홀더(290) 덮개의 구멍 내로 샘플을 주입하고, 이어서 샘플 버퍼를 주입한다. 상기 스트립을 15분간 암흑 상태로 유지한 후 검사선(TL) 및 대조선(CL)에서의 형광 강도를 스마트폰 검출기로 검출한다.
- [0104] 상기 형광 샘플은 총 3단계로 객관적이고 정량적으로 측정되어, 분석될 수 있다. 먼저, 형광-방출 샘플이 올려진 스트립(500)을 진단기기(200)에 삽입한다. 상기 진단기기(200)는 이의 커버를 이용하여 외부 빛을 효율적으로 차단한다. 그 다음, 검사선과 대조선 사이의 밝기 비(ratio of brightness)를 단말기 카메라(110)의 카메라 모듈로 촬영하고, 영상 처리부(120)가 형광 강도를 계산한다. 마지막으로, 송수신부(140)가 형광 강도 및 위치 정보를 데이터베이스(190)에 무선으로 전송하여 측정 시간 및 지역을 포함하는 메타 데이터와 함께 분석한다. 상기 측정 지역은 단말기(100)의 GPS모듈(130)로부터 입수한다.
- [0105] 바람직한 일 실시양태에 따르면, 본 발명에 따른 측면 유동 면역 어세이 스트립(500)의 검사선과 대조선에 대해 획득된 이미지 및 형광 세기에 대한 판단이 이루어진다. 검사선과 대조선의 실험결과에서 형광 세기 측정 사이의 비율은 스트립에 올려진 샘플이 조류 독감 바이러스를 포함하는지 여부를 나타내는 지표가 된다.
- [0106] 한편, 본 발명에 따른 형광 측면 유동 면역 어세이에서 형광단의 효율적인 여기를 위해, 본 발명에 따른 진단 시스템은 바람직하게는 LED(221)를 사용할 수 있다. LED(221)는 형광을 기초로 한 POC 진단의 응용에서 레이저 또는 할로겐 램프 같은 다른 대체물질에 비하여 긴 수명, 적은 전력 소비, 그리고 적은 비용이 드는 다수의 장점이 있다. 형광의 집광 효율과 형광 측정의 민감도를 증대 시키기 위해서, 형광 신호를 수집하고 이를 가시광선 범위로 전달하기 위한 목적으로 측면 유동 스트립과 단말기 카메라(110) 사이에 한 쌍의 파라볼릭 반사체를 사용할 수 있다.
- [0107] 상기와 같은 본 발명의 진단 시스템은 실제적인 휴대용 단말기 기반의 조류 독감 진단과 감시를 가능케 하는 것으로 종래의 샌드위치 ELISA, 조류 독감의 RDT, FICT(fluorescent immunochromatographic test) 등에 사용하는 형광을 기초로 하는 스트립 판독기에 비해 더욱 높은 민감도 및 특이성을 나타내고 실시간으로 조류 독감의 위험성을 감시할 수 있다는 장점을 갖는다.
- [0109] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0111] 실시예 1: 형광 측면 유동 면역 어세이를 위한 스트립의 제작
- [0112] 본 발명에 따른 스트립(500)은 바이러스 검출을 위해, 쿠마린-유래 덴드리머(coumarin-derived dendrimer) 및 항체와 결합된 라텍스 비드를 포함하는 생체 복합체를 사용하였다. 상기 생체 복합체는 하기와 같은 방법으로 제작된다. 이때 생체 복합체에 사용된 지방족 아민 라텍스 비드(Aliphatic Amine Latex Beads, 2% w/v, 20 nm)는 Life technology에서 구입하였고, 단일클론항체(monoclonal antibody, mAb), 항-인플루엔자(anti-influenza) A-7307 및 A-7304는 Medix Biochemica에서 구입하였다. 수성 글루타르알데히드(aqueous glutaraldehyde, 8% in DW) 용액 및 염소 항-마우스 IgG는 Sigma-Aldrich에서 구입하였다.
- [0113] 라텍스 mAb와 쿠마린-유래 덴드리머의 공유 결합을 위해, 10 μ L의 지방족 아민 라텍스 비드(20 nm 지름) (2% w/v) (Life Technologies)를 인산염 완충 생리식염수(phosphate buffered saline, PBS) (pH 7.5)로 세척하였고, 100 μ L의 쿠마린-유래 덴드리머(1 mg/mL 디메틸 술폰(DMSO) 내)를 1 mL 결합(conjugation) 버퍼(0.1 M 탄산수소나트륨, sodium bicarbonate, pH 8.5)의 존재 하에서 라텍스와 실온에서 진탕 혼합하였다. 한 시간 후, 8% (v/v) 글루타르알데히드(0.5 mL)를 라텍스 비드 혼합물에 첨가하여, 30분간 인큐베이션하였다. PBS로 2회 라텍스 비드를 세척한 후, 쿠마린-유래 덴드리머-결합된 라텍스 비드를 50 μ L의 1 mg/mL 항-IA NP (nucleocapsid

protein) 용액에 현탁하였다. 볼텍싱(vortexing) 후, 결합체 혼합물을 2시간 동안 4℃에서 배양하였다. 27,237 × g에서 5분간 원심분리 한 후, 수집된 생체 복합체를 30분간 블라킹하고, 1 mL의 저장 버퍼(0.1% (w/v) Sucrose에 1시간동안 재현탁한뒤, 17,000rpm으로 5분간 원심분리로 침전시킨뒤, 0.1% 소 혈청 알부민(bovine serum albumin, BSA) 4℃에서 보관하였다.

[0115] 한편, 스트립(500)의 대조선(CL) 및 검사선(TL)의 항체 코팅은 하기와 같은 방법으로 이루어졌다.

[0116] 나이트로셀룰로스 멤브레인(Nitrocellulose membrane, EMD Millipore)을 이용하여 RDT(rapid diagnostic test)를 위한 항체 코팅을 수행하였다. 나이트로셀룰로스 멤브레인(EMD Millipore, Billerica, MA, USA)의 대조선(CL)은 염소 항-마우스 IgG(Life Technologies) 0.5 mg/mL로 코팅하였고, 검사선(CL)은 2.6 mg/mL의 항-인플루엔자 A NP(Medix Biochemica)로 코팅하였다.

[0117] 복합체 패드로서, 유리 섬유는 2% (w/v) BSA, 2% (w/v) 수크로스, 및 0.1% (w/v) NaN₃로 코팅하였다. 30℃에서 2시간 동안 멤브레인을 건조시켰다.

[0118] 상기와 같이 제작된 형광 측면 유동 면역 어세이를 위한 스트립을 구비한 본 발명의 진단 시스템을 이용하여 하기와 같이 바이러스 감염 진단 시험을 수행하였다.

[0120] 실시예 2: 본 발명의 진단 시스템을 이용한 조류 독감 바이러스의 진단

[0121] 2-1. 임상 그룹의 선정

[0122] 임상 연구를 통해 본 발명의 진단 시스템의 성능을 평가하고자, NIHE(National Institute of Hygiene and Epidemiology, 베트남, 하노이)에서 H5N1으로 감염된 것으로 확인된 환자들로부터 인후 면봉법(throat swab)으로 채취한 샘플을 이용하여 테스트하였다.

[0123] 표 1에 H5N1 감염으로 확인된 29명의 환자 사례를 WHO 사례 번호(case number)로 기재하였다.

표 1

Year	Specimen #	WHO case No	ID No	Gender	Age	Location
2003	1	VN 1	3028.00	F	12	Hà Nam
	2	VN 3	3040.00	M	10	Bắc Ninh
2004-2005	3	VN 7	3058.00	F	8	Hà Tây
	4	VN 5	3062.00	M	19	Bắc Giang
	5	VN 21	TH001	M	15	Thanh Hóa
	6	VN 25	30262.00	F	1	Hà Tây
	7	VN 24	30259.00	M	4	Hà Tây
	8		30402.00	M	19	Thái Bình
	9	VN46	30408.00	M	14	Thái Bình
	10	VN92	30850.00	M	35	Hà Nội
	11	VN 94	HN 31203	M	29	Vinh Phuc
	12	VN 95	HN 31209	M	19	Thai Nguyen
2007	13	VN 97	HN 31242	M	20	Ha Tay
	14	VN 98	HN31244	F	28	Ha Nam
	15	VN 99	HN31312	F	22	Ha Tay
	16	VN 100	HN31323	M	15	Thanh Hoa
	17	VN 101	HN31388	M	4	Son La
	18	VN 102	HN 31394	M	32	Tuyen Quang
2008	19	VN 104	HN 31412	M	40	Hai Duong
	20	VN 103	HN 31413	M	27	Ninh Binh
	21		HN 31633			Quảng Ninh
	22	VN 105	HN 31432	F	22	Phu Tho
	23	VN 106	HN 31461	M	11	Ha Nam
	24	VN 107	HN 31604	F	8	Thanh Hóa
2009	25	VN 109	HN 31641	M	30	Ninh Binh
	26	VN 110	HN 31673 I, II, III	M	3	Sóc Trăng
	27	VN 116	HN 36250	F	25	Hà Nội
	28	VN 118	HN 36282	M	22	Bắc Kan
	29	VN 119	HN 36285	F	2	Bắc Kan

[0125]

- [0127] 음성 대조군으로서, 29개의 정상적인 샘플 역시 NIHE에서 테스트하였다. 추가적인 음성 대조군으로서, 원광대학교 병원의 윤리심의위원회의 승인(Approval No. 1263) 하에서, 4가지 다른 바이러스성 호흡기 질환을 가진 환자들 중 10개 사례를 대한민국 익산시 원광대학교 병원에서 선택하였다. 상기 4가지 다른 질환은 아데노바이러스(n=10), 파라인플루엔자 바이러스(n=10), 호흡기 세포 융합 바이러스(respiratory syncytial virus, n=10), 및 메타뉴모바이러스(metapneumovirus, n=10)이다.
- [0129] 2-2. AI 바이러스 및 샘플의 준비
- [0130] 양성 AI 바이러스로서, Ya-Lake ChungCho 10-3-F1(2011)(H5N3), Ya-Jeju, Youngsoori-12-2F4 (2012) A/common teal/Korea/KNU YSR12/2012(H71N), 및 Jae-Songwoorijang-chicken-TR-TR A/chicken/Korea/KNUSWR09/2009 (H9N2)를 배아 난자(embryonic egg)에서 증식시키고, 그 양(abundance)을 PFU/mL로 측정하여 배양 후 바이러스 역가를 정량화하였다.
- [0131] 또한, 어세이의 분변 시료 내 바이러스 검출 성능을 비교하기 위해, 정상인 닭 분변 시료를 면 면봉(cotton swab)으로 채취한 후 이를 1 mL의 물(H₂O)에 10번 휘저어(swirl) 용해시켰다.
- [0132] 5분간 실온에서 배양시킨 다음, 상층액을 실험되는 각 바이러스 종류의 회석을 위한 용액으로 사용하였다. 모든 바이러스 종류는 상기 분변 용액에 회석되었다.
- [0133] 본 발명의 진단 장치는 가금류와 조류에 대하여 현장 수준의 검출에 있어서 중국적인 응용을 위한 샘플의 최적화를 위해 고안되었다. 따라서 야생의 조류 샘플의 실험 환경과 유사하게 만들기 위해, 각 바이러스 종류형을 증류수(distilled water)와 배설물에서 연속적으로 회석하여 샌드위치 ELISA 분석을 수행하였다.
- [0135] 2-3. 본 발명의 진단 시스템을 이용한 임상 진단
- [0136] 본 발명의 진단 시스템을 이용하여 바이러스를 검출할 수 있는지 여부를 임상적으로 확인하기 위한 샌드위치 ELISA는 하기와 같이 수행하였다.
- [0137] 100 μ L의 50 mM 중탄산염(bicarbonate)/탄산염(carbonate) 코팅 버퍼와 함께 항-인플루엔자 NP(7304, Medix Biochemica) (10 μ g/mL)로 코팅된 96-웰 플레이트를 밤새 4°C에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 상기 플레이트의 각 웰을 0.1% Tween® 20을 함유한 200 μ L의 PBS(PBS-T)로 두 번 세척한 후, 2시간 동안 37°C에서 5% (w/v) BSA로 블라킹하였다. PBS-T 버퍼로 세척한 후, DW 또는 정상 닭 분변으로 회석된 바이러스를 각 웰에 로딩하고, 1시간 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 100 μ L 호스래디쉬 퍼옥시다제(horseradish peroxidase) 결합된 항-인플루엔자 NP 항체 (7307, Medix Biochemica) (20 μ g/mL)를 각 웰에 첨가하고 1시간 동안 37°C에 놓아 두었다. 상기 웰 플레이트를 PBS-T로 5회 세척한 후, 100 μ L 3,3',5,5'-테트라 메틸 벤지딘 기질 용액(3,3',5,5'-tetra methyl benzidine substrate solution)을 각 웰에 첨가하여 어두운 곳에서 15분간 놓아 두었다. 최종적으로, 각 웰에 100 μ L 0.5 M 황산을 가하여 반응을 중단시켰다. 광학 밀도(optical density, OD)는 마이크로플레이트 리더를 이용하여 450 nm에서 결정하였다. 데이터는 평균 $\pm$ 표준편차를 이용하여 나타내었다.
- [0138] 상기와 같이 본 발명의 진단 시스템을 이용하여 바이러스 감염 진단 성능을 확인하기 위해 20개의 H5N1 양성 환자 샘플 및 26개의 음성 건강한 검체의 샘플을 선택하여 테스트하였다. 75 μ L의 인후 및 분변 샘플을 직접 시스템에 적용하여 15분 뒤에 형광 강도를 측정하였다. NIHE에서 ROC 분석에 의한 컷-오프 값을 결정한 후, 동일한 컷-오프 값을 원광대학교 병원에서 테스트 된 사례들에 적용하였다. 기존의 RDT 키트의 성능과 본 발명의 진단 시스템의 성능을 비교하고자, 상업화된 RDT(대한민국, Bionote)를 사용하였다. RDT 테스트를 위해, 100 μ L의 면봉채취(swab) 샘플 및 바이러스 용액을 샘플 버퍼(25 mM 2-[4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일]에탄술포산, 0.2 M NaCl, 50 mM MgCl₂, 및 0.1% [v/v] NP-40)의 존재 하에 사용하였으며, 육안으로 20분 내에 관찰하였다.
- [0139] 상기 실험 결과를 분석하기 위한 평균, 표준편차, 선형 회귀, 스튜던츠 t-검정(Student's t-test), 및 원웨이 ANOVA는 Graphpad Prism으로 수행하였다. 또한 ROC 및 95% 신뢰구간을 어세이의 민감성 및 특이성을 위해 계산하였다.
- [0141] 2-4. 최저 검출 가능한 바이러스 역가의 비교
- [0142] 도 7에서 보이는 것과 같이 전통적인 ELISA, 테이블탑 형광 면역 스트립 리더(FICT), 및 본 발명에 따른 스마트폰 검출기의 성능을 비교하였다.
- [0143] 도 7A는 각 바이러스 종류(H5N3, H7N1, 및 H9N2)를 증류수 또는 분변에 회석하여 준비된 각 샘플의 바이러스 역

가를 샌드위치 ELISA를 이용하여 정량화한 결과를 나타낸다. 도 7A는 증류수와 배설물에 용해된 최저의 검출가능한 H5N3, H7N1, 그리고 H9N2의 양에 대한 흥미로운 ELISA 분석 결과를 보여준다. 바이러스가 배설물에 용해되었을 때에는, ELISA에 의해서 거의 검출되지 않았는, H5N3 아종에 대한 최저의 광학 밀도(OD) 값은 물과 배설물에서 각각 1.00×10^5 PFU/mL과 8.00×10^5 PFU/mL이었다. H7N1에 대한 최저의 OD 값은 물과 배설물에서 각각 6.84×10^4 와 2.73×10^5 PFU/mL이었다. H7N2에 대한 최저의 OD 값은 물과 배설물에서 각각 3.52×10^3 과 5.63×10^5 PFU/mL이었다.

[0144] 도 7B는 분변에 용해된 각 바이러스 아류에 대해, 테이블탑 형광 면역 어세이 스트립 리더(FICT) 및 본 발명의 진단 시스템을 이용하여 각 어세이의 정량화 범위를 결정하여 나타낸 도이다. 각 어세이의 컷-오프 값은 수평의 점선으로 나타내었다. 각 데이터 포인트는 평균 $\pm$ 표준편차를 표시한다 (n=3).

[0146] 배설물에 용해된 바이러스 샘플은 ELISA에 의해 신뢰성 있게 검출되지 않기 때문에, 형광을 이용한 측면 유동 면역 어세이가 분변의 H5N3, H7N1, 그리고 H9N2를 검출하기 위해 사용하였다. FICT에서 검사선과 대조선의 형광 세기 사이의 비율은 상기 기술된 바와 같이 결정되어 있고, 실험대상 샘플의 검사선/대조선 값은 음성 대조군 샘플의 값에 대하여 정상화되어 있다.

[0147] 본 발명의 진단 시스템과 테이블탑 FICT 실험 모두는 H5N3 바이러스에 대하여 $3.12 \times 10^3 - 8.00 \times 10^5$ PFU/mL 범위의 선형범위를 나타낸다. 본 발명의 진단 시스템과 FICT 실험에 의하여 검출 가능한 최하의 H5N3 바이러스 역가는 각각 6.25×10^3 과 1.25×10^4 PFU/mL 이었다.

[0148] H7N1에 대하여, 상기 두 실험에서, 바이러스 역가에 대하여 각각 $2.67 \times 10^2 - 6.83 \times 10^4$ PFU/mL의 선형 범위를 나타내었다. 상기 두 실험에 의하여 검출 가능한 최저 H7N1 바이러스 역가는 각각 5.34×10^2 와 1.06×10^3 PFU/mL이었다.

[0149] H9N2의 경우, 두 실험에서 바이러스 역가의 검출 범위는 $1.37 \times 10 - 2.81 \times 10^5$ PFU/mL 사이의 선형 범위에 해당하였다. 상기 두 실험에 의하여 검출 가능한 최저의 H9N2 바이러스 역가는 각각 5.23×10 과 1.09×10^2 PFU/mL이었다.

[0150] FICT 실험과 비교할 때, 본 발명의 진단 시스템은 H5N3, H7N1, 그리고 H9N2에 대하여 최저 검출가능 한 바이러스 역가가 약 2배 향상되었음을 확인하였다(표 2).

표 2

어세이 종류	ELISA		FICT	본 발명의 진단 시스템
	DW	Feces	Feces	Feces
H5N3 (PFU/mL)	1.00×10^5	8.00×10^5	1.25×10^4	6.25×10^3
H7N1 (PFU/mL)	6.80×10^4	2.73×10^5	1.07×10^3	5.34×10^2
H9N2 (PFU/mL)	3.52×10^3	5.63×10^5	1.09×10^2	5.23×10^1

[0154] 두 어세이에서 최저의 검출 가능한 최저의 바이러스 역가는 음성 샘플 값에 대하여 통계적으로 유의미한 차이가 있었다(one way ANOVA, Bonferroni's correction for multiple comparison, $p < 0.05$). 상기 표 2에서 확인되는 바와 같이, 본 발명의 진단 시스템은 FITC 실험에 비해 H5N3, H7N1 및 H9N에 대해 모두 2배 향상된 검출 민감도를 나타내었고, 특히 분변 검체에서는 ELISA에 비해 H5N3, H7N1 및 H9N에 대해 각각 128배, 511배 및 10,764배 향상된 검출 민감도를 나타내었다.

[0156] 2-5. H5N1과 H9N2의 임상적 진단

[0157] HPAI에 대한 엄격한 제한에 따라서, 모든 H5N1이 확인된 임상적 샘플은 베트남 하노이의 NIHE(National Institute of Hygiene and Epidemiology) 내 BSL3(Biosafety level 3) 실험 설비에서 용해되고 실험되었다. 단 말기를 기초로 한 장치의 실제적 측정을 위해서 75 μ L의 각 환자의 인후 샘플이 숙련자에 의해 준비되었다.

- [0159] 검사선/대조선 비율의 관점에서 H5N1에 감염된 사람의 샘플들의 컷-오프 값은 ROC(receiver-operating characteristic) 곡선 분석에 의해서 0.84로 결정되었다. 본 발명자들은 동일한 원광대학교 병원에서 실험된 서로 다른 바이러스 호흡기 질병의 컷-오프 값에 적용하였다.
- [0160] 본 발명의 진단 시스템은 인간 환자에서 H5N1의 검출에서 97.14%(28/29)의 민감성을 나타냈다. H5N1에 감염되지 않은 인간의 대조군 그룹 사이에서 파라인플루엔자(Parainfluenza) 감염의 실험은 1개의 위양성(false-positive) 사례를 나타냈고, 이것은 파라인플루엔자 바이러스의 검출에 있어서 98.55%(68/69)의 특이성을 나타냈다(도 8A 및 8B).
- [0162] 닭의 배설물을 실험하기 위해, 특정 무병원체(Specific pathogen free) 닭을 격리시키고 H9N2에 감염된지 3, 5, 그리고 7일 후에 배설물을 채취하였다. H9N2에 감염된 닭 배설물의 RNA 복제수는 RT-PCR(real-time reverse transcription polymerase chain reaction)에 의하여 확인되었고, 배설물 샘플에서 전반적인 RNA 사이클 한계 값(Ct)은 20 - 39였다.
- [0163] 결과적으로, 본 발명의 진단 시스템은 닭의 H9N2에 대하여 76%(19/25)의 진단 민감성을 보였고, 100%(23/23)의 특이성을 나타냈다.
- [0164] 동일한 샘플에 대하여 60%(15/25)의 민감성과 100%(23/23)의 특이성을 나타내는 종래의 금 콜로이드(gold colloidal) RDT 어세이에 비교해 볼 때, 제안된 방법은 배설물 샘플에서 H9N2 바이러스의 진단에서 상당히 개량된 민감성을 보여준다(도 8C 및 8D). ROC 곡선 분석으로 H5N1 환자에 대하여 곡선하면적(AUC)은 0.9915이고, H9N2 감염된 SPF 닭에 대해서는 0.8965을 얻었다(표 3).

표 3

Subtype	Sample	Country	Host	Specimen type	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	AUC of ROC (95% CI)
H5N1	Positive (n=29)	Vietnam	Human	Throat swab	97.14% (85.08% to 99.93%)	98.55% (92.19% to 99.96%)	0.9915 (0.9778 to 1.005)
	Negative (n=69)	Republic of Korea					
H9N2	Positive (n=25)	Republic of Korea	Chicken	Fecal swab	76% (54.87% to 90.64%)	100.0% (85.18% to 100%)	0.8965 (0.7920 to 1.001)
	Negative (n=23)	Republic of Korea					

- [0166]
- [0168] 이상, 본 명세서에는 본 발명을 당업자가 용이하게 이해하고 재현할 수 있도록 도면에 도시한 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당업자라면 본 발명의 실시예로부터 다양한 변형 및 균등한 타 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 보호범위는 특허청구범위에 의해서 정해져야 할 것이다.

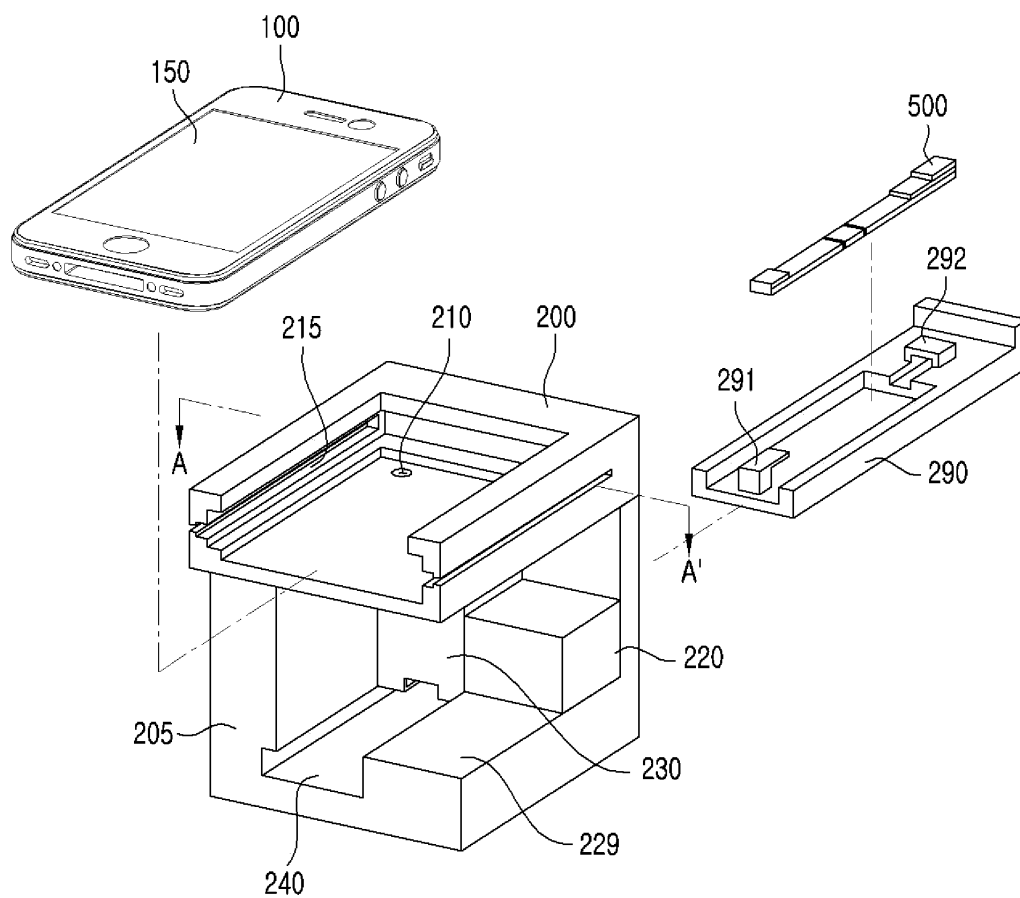
부호의 설명

- [0170] 100: 단말기
110: 카메라
120: 영상 처리부
130: GPS 모듈
140: 송수신부
150: 디스플레이부
200: 진단기기
205: 지지체

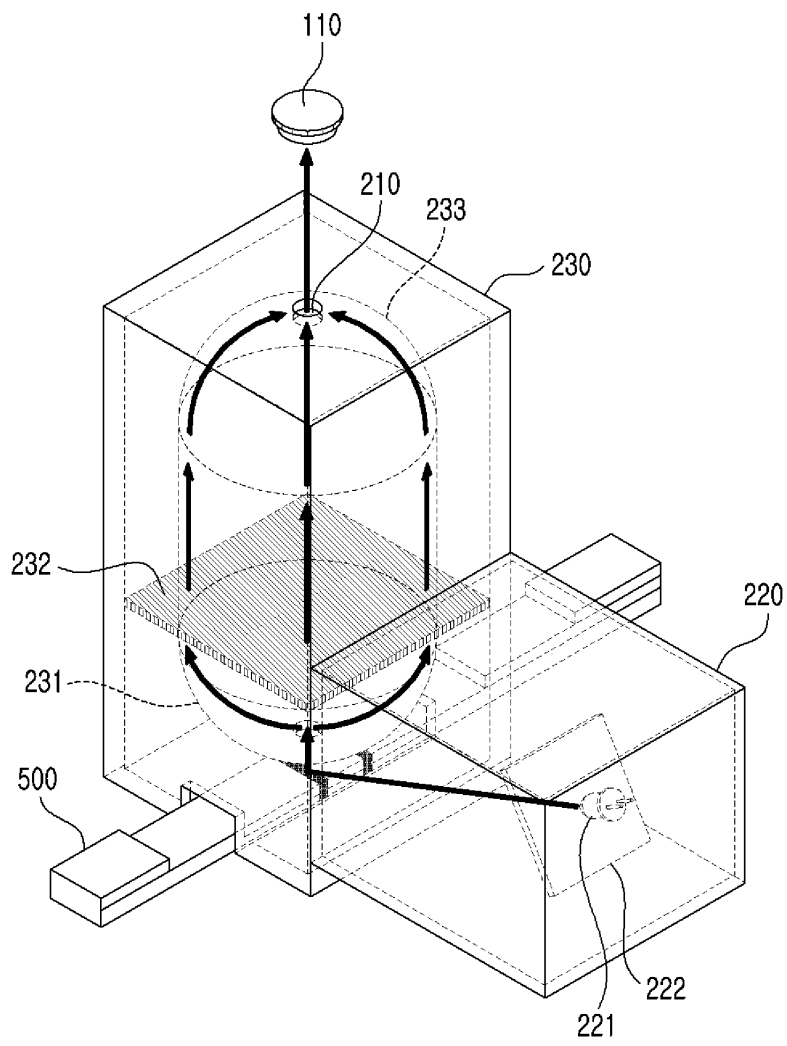
- 210: 광투과홀
- 215: 단말기 홀더
- 220: 발광부
- 221: LED
- 222: 여기 필터
- 230: 반사부
- 231: 하부 반사체
- 232: 방사 필터
- 233: 상부 반사체
- 240: 스트립 삽입구
- 290: 스트립 홀더
- 291: 제 1 스트립 고정체
- 292: 제 2 스트립 고정체
- 500: 스트립

도면

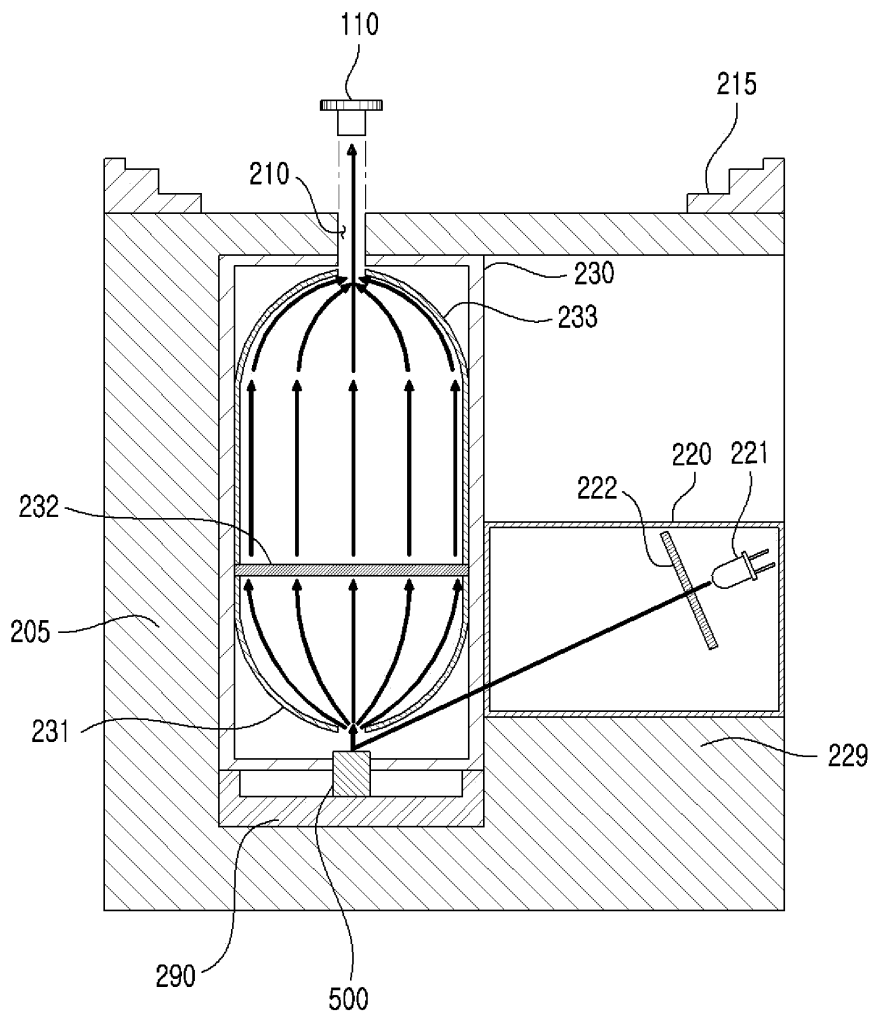
도면1



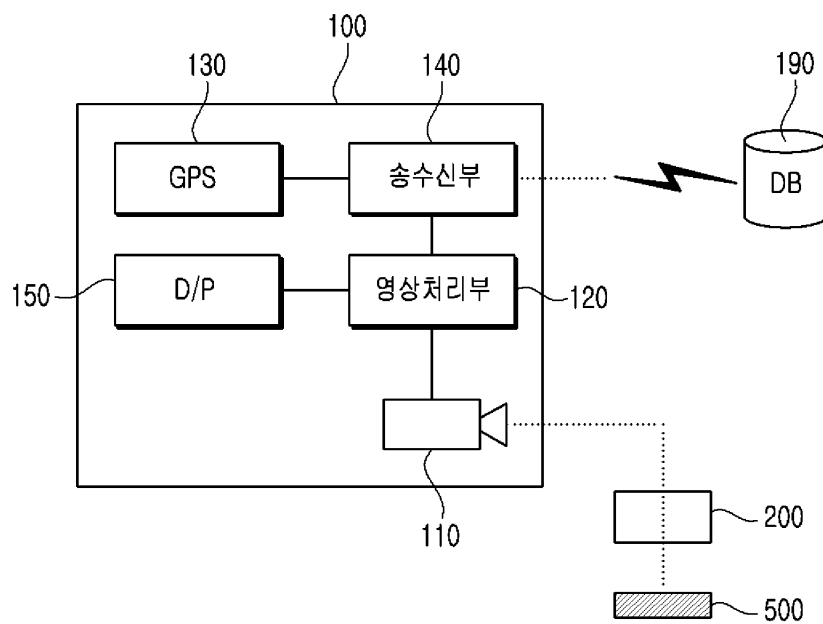
도면2



도면3



도면4



도면5a



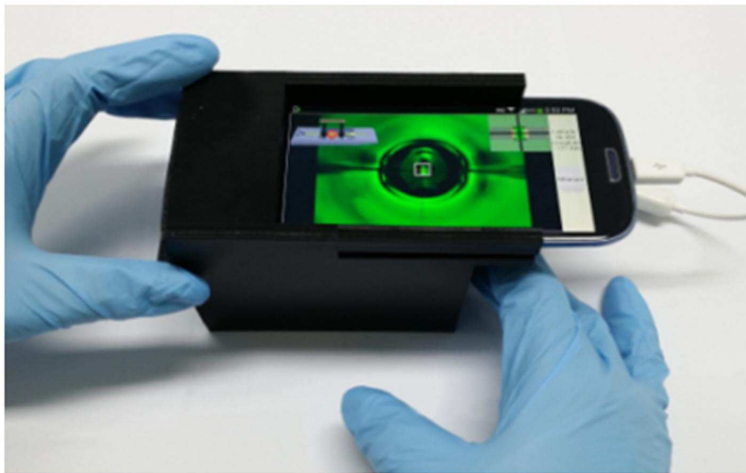
도면5b



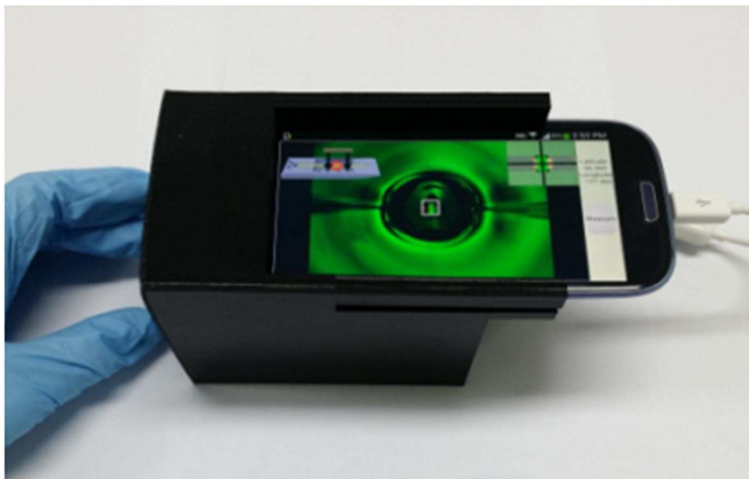
도면5c



도면5d



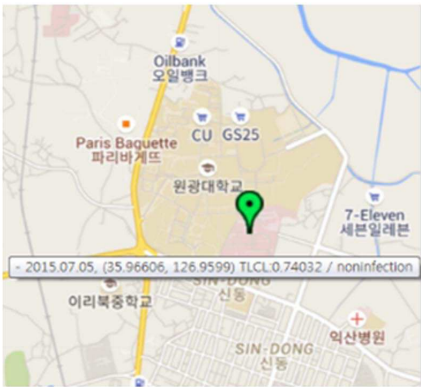
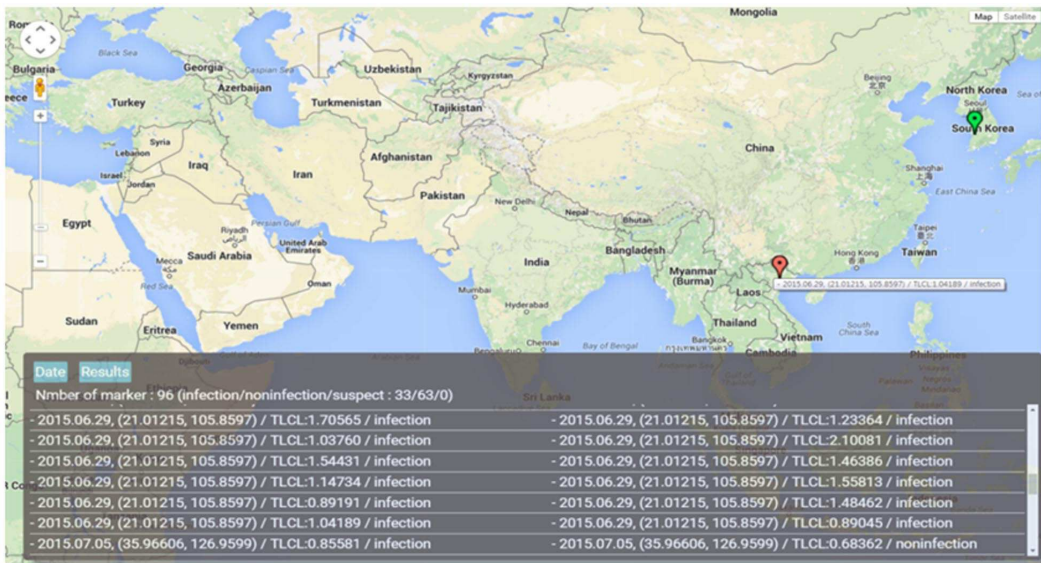
도면5e



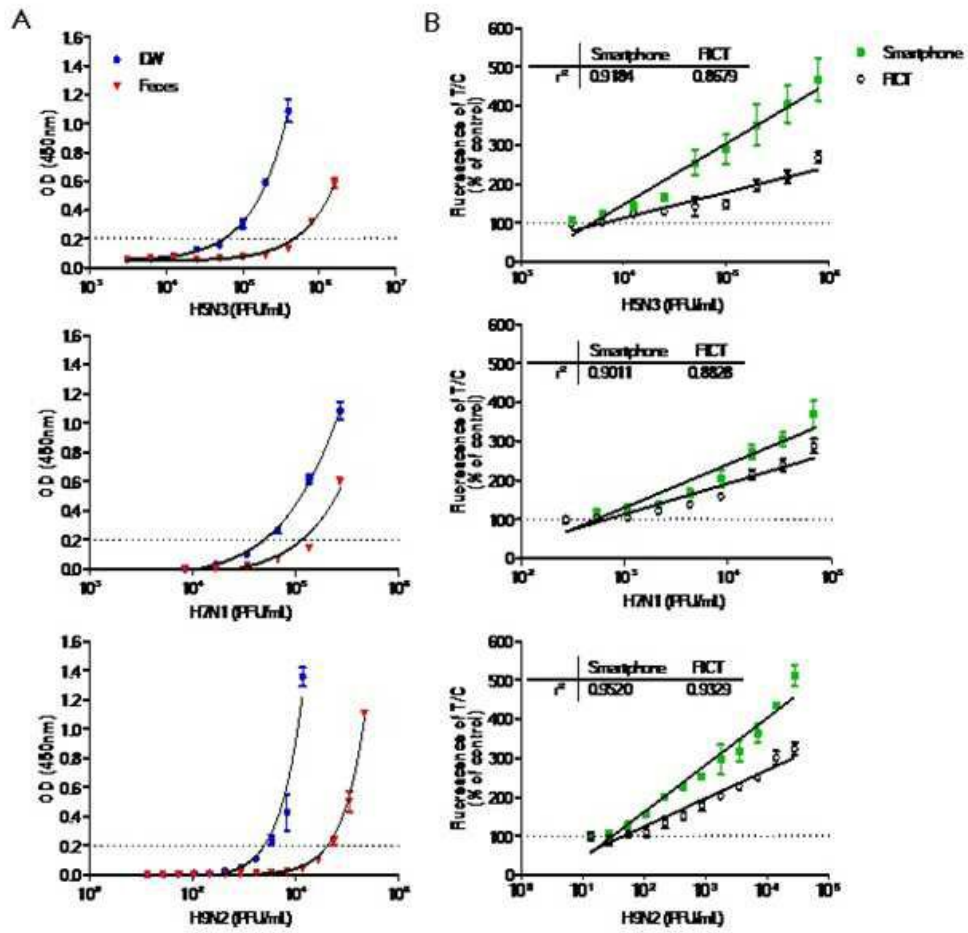
도면5f



도면6



도면7



도면8

