



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월28일
(11) 등록번호 10-2482228
(24) 등록일자 2022년12월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 27/416 (2006.01) G01N 1/40 (2006.01)
G01N 27/30 (2006.01) G01N 27/327 (2006.01)
G01N 33/483 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
G01N 27/416 (2021.01)
G01N 1/40 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-0186519
- (22) 출원일자 2021년12월23일
심사청구일자 2021년12월23일
- (56) 선행기술조사문헌
KR102159941 B1*
KR102314957 B1*
KR1020120126977 A
US20120244547 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
- (72) 발명자
장재성
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
넌 딘 응오
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
바르디와지 죠띠
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
- (74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 15 항

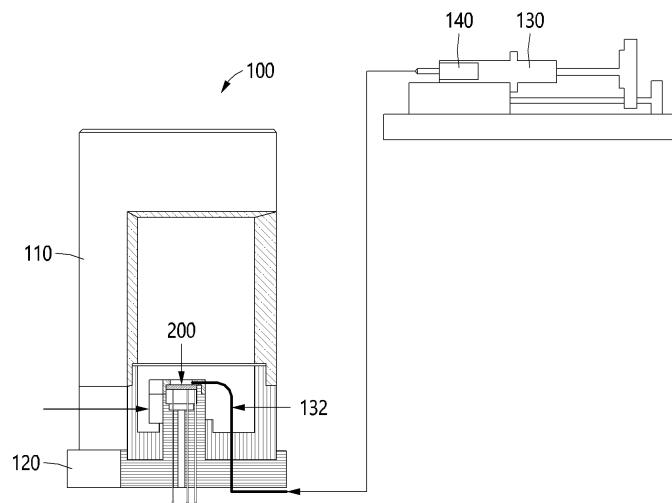
심사관 : 정아영

(54) 발명의 명칭 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기 및 바이오 입자 농축 및 검출 방법

(57) 요약

본 발명은, 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기 및 바이오 입자 농축 및 검출 방법에 관한 것으로, 바이오 입자 농축-측정기본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는, 상부 유입구 및 상부 유출구를 포함하는 상면과, 측면으로 구성되고 내부 공간을 형성하는 원통형 몸체; 상기 원통형 몸체의 내부 공간으로 일부가 삽입 형성되어 상기 원통형 몸체를 지지하는 하부 지지체; 상기 하부 지지체에 장착되어 전기식으로 공기 중에 포함된 바이오 입자를 포집 및 검출하는 면역 센서; 상기 공기 중에 포함된 바이오 입자를 측정하기 위한 액체 미디어; 상기 액체 미디어의 유량을 제어하는 시린지 펌프; 및 상기 액체 미디어를 상기 면역 센서로 주입하는 액체 미디어 주입 튜브;를 포함한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

- G01N 27/301 (2013.01)
- G01N 27/307 (2013.01)
- G01N 27/308 (2013.01)
- G01N 27/3272 (2013.01)
- G01N 27/3277 (2013.01)
- G01N 27/3278 (2013.01)
- G01N 33/483 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

- 과제고유번호 1345331876
- 과제번호 2020R1A6A1A03040570
- 부처명 교육부
- 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
- 연구사업명 이공학학술연구기반구축(R&D)
- 연구과제명 환경감시 자율무인시스템 연구센터
- 기 여 율 1/3
- 과제수행기관명 울산과학기술원
- 연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

- 과제고유번호 1711131499
- 과제번호 2020R1A2C1011583
- 부처명 과학기술정보통신부
- 과제관리(전문)기관명 한국연구재단
- 연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
- 연구과제명 대용량 바이러스 에어로졸의 실시간 정량화를 위한 미세 액막 기반의 면역 센서 시스템에 관한 연구
- 기 여 율 1/3
- 과제수행기관명 울산과학기술원
- 연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

- 과제고유번호 1711125791
- 과제번호 2017-0-01635-005
- 부처명 과학기술정보통신부
- 과제관리(전문)기관명 정보통신기획평가원
- 연구사업명 정보통신방송혁신인재양성(R&D)
- 연구과제명 자가충전형 초소형 전국단위 위치추적 시스템 원천기술 개발
- 기 여 율 1/3
- 과제수행기관명 울산과학기술원
- 연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31

공지에외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

상부 유입구 및 상부 유출구를 포함하는 상면과, 측면으로 구성되고 내부 공간을 형성하는 원통형 몸체;
 상기 원통형 몸체의 내부 공간으로 일부가 삽입 형성되어 상기 원통형 몸체를 지지하는 하부 지지체;
 상기 하부 지지체에 장착되어 전기식으로 공기 중에 포함된 바이오 입자를 포집 및 검출하는 면역 센서;
 상기 공기 중에 포함된 바이오 입자를 측정하기 위한 액체 미디어;
 상기 액체 미디어의 유량을 제어하는 시린지 펌프; 및
 상기 액체 미디어를 상기 면역 센서로 주입하는 액체 미디어 주입 튜브;
 를 포함하고,
 상기 면역 센서는,
 상부에 개구를 포함하는 상부 센서 홀더;
 상기 상부 센서 홀더의 내부 공간으로 일부가 삽입 형성되는 하부 센서 홀더;
 상기 하부 센서 홀더 내에 배치되는 3-전극 연결단자;
 상기 3-전극 연결단자 상에 배치되는 산화 환원 겔(redox gel); 및
 상기 산화 환원 겔 상에 배치되는 바이오 입자의 포집 및 분석을 위한 기준전극(reference electrode; RE), 작업전극(working electrode; WE) 및 상대전극(counter electrode; CE)이 있는 반응 영역을 포함하고, 액체 미디어가 흐를 수 있는 분석 기관 층;
 을 포함하는,
 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서,
 상기 3-전극 연결단자는, 상기 기준전극(reference electrode; RE), 작업전극(working electrode; WE) 및 상대전극(counter electrode; CE)을 연결하는 단자를 포함하는 것인,
 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 4

제3항에 있어서,
 상기 작업전극 및 상기 상대전극은, 각각, 탄소 물질을 포함하고,
 상기 탄소 물질은, 단일벽 탄소나노튜브(SWNT), 이중벽 탄소나노튜브(DWNT), 다중벽 탄소나노튜브(MWNT), 탄소나노섬유, 탄소나노리본, 탄소나노벨트, 탄소나노로드, 그래핀, 그래파이트, 환원된 그래핀옥사이드, 카본블랙, 활성탄 및 메조포러스 카본으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를

포함하고,

상기 기준전극에 Ag/AgCl, Ag/Ag₂SO₄ 및 포화 카멜 전극(Sat'd Camel Electrode; SCE)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나의 전극 페이스트를 포함하는 것인,
 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 분석 기관 층은, 상기 상대전극, 작업전극 및 기준전극 3 개의 측정 파트로 나누어지도록 패턴을 포함하는 것인,
 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 작업전극에 바이오 물질과 결합하는 항체를 더 포함하는,
 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 산화 환원 겔은,
 한천(agar), 소프트 한천(soft agar), 황산암모늄 (Ammoniumsulfate; (NH₄)₂SO₄), 단일염기인산칼륨 (Potassiumphosphate (monobasic); KH₂PO₄), 이염기인산칼륨 (Potassiumphosphate (dibasic); K₂HPO₄), 염화마그네슘육수화물 (Magnesiumchloridehexahydrate; MgCl₂ · 6H₂O), 염화칼슘무수물 (Calciumchlorideanhydrous; CaCl₂), 황산철(±) (Iron(II?)sulfateheptahydrate; FeSO₄ · 7H₂O), 미량원소, 효모 추출물, 감자전분, 글루코스 및 증류수로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것인,
 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 분석 기관 층은 박막이고,
 상기 분석 기관 층은, 종이, 실리콘, 섬유(fiber) 및 유리로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것인,
 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 분석 기관 층은, 상기 하부 지지체를 기준으로 0 ° 내지 180 ° 각도로 배치되는 것인,

연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 액체 미디어는, 인산 완충 식염수(Phosphate Buffered Saline; PBS), 아스코르브산(Ascorbic acid; AA), 비타민 E 유사체 및 칼슘 클로라이드로 이루어진 식염수 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것인,

연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 바이오 입자는, 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기타 유래의 병원균으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것인,

연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 바이러스는, 아데노 바이러스(adenovirus), 레비바이러스 엔테로박테리아 페이즈 MS2(levivirus, enterobacteria phase), 백시니아 바이러스(vaccinia virus), 헤르페스 단순 바이러스(herpes simplex virus), 파라인플루엔자 바이러스(parainfluenza virus), 라이노 바이러스(rhinovirus), 수두 바이러스(varicella Zoster Virus), 홍역 바이러스(measle virus), 호흡기 세포융합 바이러스(respiratory syncytial virus), 뎅기 바이러스(Dengue virus), HIV(human immunodeficiency virus), 인플루엔자 바이러스, 코로나 바이러스(Covid-19 virus; SARS-CoV-2), 일반적인 감기 코로나 바이러스(HKU1, OC43, NL63, 229E), 중증급성 호흡기 증후군 코로나 바이러스(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus; SARS-CoV), 중동 호흡기 증후군 코로나 바이러스(middle east respiratory syndrome coronavirus; MERS-CoV) 및 이들 바이러스의 변종 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것인,

연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 13

제1항에 있어서,

상기 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는,

상기 분석 기관 층을 흐르는 액상 유량 0.2 μl/min 내지 0.3 μl/min에서, 공기 중 바이오 입자를 6 X 10⁶ 이상의 농축비율로 포집 및 농축하는 것인,

연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기.

청구항 14

제1항의 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기를 이용하고,

상기 시린지 펌프로부터 액체 미디어를 상기 면역 센서의 상기 분석 기관 층으로 주입하는 단계;

상기 면역 센서의 분석 기관 층의 작업전극에 공기 중 바이오 입자를 포집/농축하는 단계; 및 전기화학 측정을 진행하여 상기 바이오 입자를 검출하는 단계; 를 포함하는, 바이오 입자 농축 및 검출 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 시린지 펌프로부터 액체 미디어를 상기 면역 센서의 상기 분석 기관 층으로 주입하는 단계는, 상기 액체 미디어를 1 μl/min 내지 10 μl/min 유량으로 주입하는 것인, 바이오 입자 농축 및 검출 방법.

청구항 16

삭제

청구항 17

제14항에 있어서, 상기 전기화학 측정을 진행하여 바이오 입자를 검출하는 단계 이후에, 상기 분석 기관 층을 세정하는 단계; 를 더 포함하고, 상기 세정은 상기 분석 기관 층으로 상기 액체 미디어를 4 μl/min 내지 6 μl/min 유량으로 주입하는 것인, 바이오 입자 농축 및 검출 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기 및 바이오 입자 농축 및 검출 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 인플루엔자 바이러스 및 코로나바이러스와 같은 공기 중 병원성 바이러스는 오랫동안 인간에게 심각한 건강 위협이었으며, COVID-19 대유행의 발생은 이러한 바이러스에 의해 세계적인 건강 위기가 발생할 수 있음을 보여주었다. 공기 중 바이러스 농도는 보통 매우 적지만, 이러한 바이러스에 직접 노출 및 흡입될 경우 소량으로 심각한 호흡기 질환을 유발할 수 있으므로 공기 중 바이러스에 대한 신속한 현장 측정 시스템의 중요성을 알 수 있다. 공기 중 바이러스를 정량화하기 위해서는 일반적으로 바이러스 에어로졸 입자를 액체 매질 또는 고체 표면에 포집한 후 액체에 넣어 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction; PCR) 및 성장 기반 분석을 통해 분석해야 한다.

[0004] 플라크 분석은 공기 샘플의 바이러스 농도를 감지하는 데 사용되어 왔다. 다만, 눈에 보이는 플라크를 형성하는 데 수 일 (24 시간 내지 72 시간)이 걸리고, 모든 공기 중 바이러스가 검출되지는 않고, 플라크를 생성할 수 있는 바이러스만 검출할 수 있다. PCR은 매우 민감하여 비감염성 에어로졸을 포함한 총 바이러스 에어로졸의 검출에 광범위하게 사용된다. 또한 PCR은 중 수준의 식별을 제공하며, 매우 작은 농도로 존재하기 때문에 특히 공기 중 바이러스 측정에 적합하다. 그러나, 그들은 생존 가능한 바이러스와 생존 불가능한 바이러스를 구별할 수 없으며, RNA 및 DNA 분리와 같은 여러 샘플 준비 단계와 전처리 단계가 불가피하고, 샘플 오염이 문제가 되는 것 외에도 측정에 2 시간 이상 소요된다.

- [0005] 극소수의 연구에서 1 TCID₅₀/140 μL의 검출 한계(limit of detection; LOD)를 가진 공기 중 인플루엔자 H1N1 바이러스의 검출을 위한 생존 가능한 바이러스 에어로졸 샘플러(viable virus aerosol sampler; VIVAS)와 역전사 루프 미디어 등은 증폭(reverse transcription loop-mediated isothermal amplification; RT-LAMP)과 같은 증폭 PCR 기술을 통합하였다. 표적에 대해 매우 특이적이지만, 여러 배양 단계 (세정, 항체-항원 결합, 블로킹 등)가 필요하고 살아있는 바이러스와 죽은 바이러스를 구별하지 않는다.
- [0006] 최근에는 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance; SPR), 전계 효과 트랜지스터(field effect transistor; FET) 및 전기화학적 바이오센서와 같은 공기 중 바이러스를 검출하기 위해 나노기술 기반 면역센서가 공기 샘플러와 통합되고 있다.
- [0007] 바이러스 에어로졸을 포함한 바이오 에어로졸의 전체 측정 시스템은 샘플러가 내부에 내장되어 있다. 대부분의 기존 및 고급 분석에서는 에어로졸을 수거하여 액체 미디어에서 준비하고 샘플링 후 수동으로 처리해야 한다. 사용된 액체 미디어의 부피는 일반적으로 수 밀리리터에서 수십 밀리리터까지이며, 이는 표본 추출이나 측정이 수평하고 고정된 위치에서 수행되어야 한다는 것을 요구한다. 이러한 방법은 측정 시스템이 바이러스 에어로졸의 실시간 또는 연속적 모니터링을 위해 이동하거나 수평하지 않은 곳에서는 적합하지 않다.
- [0008] 더욱이, 바이러스 에어로졸은 공기 중 바이러스 입자의 농도가 매우 낮기 때문에 바이러스 농축 없이는 효과적으로 검출할 수 없다: 농축은 공기상, 에어로졸-미디어상(aerosol-to-medium phase) 및 액체상과 같은 여러 가지 방법으로 수행될 수 있다. 필터, 임핀저, 사이클론, 응축-기반 및 정전기 샘플러와 같은 바이러스 에어로졸에 대해 많은 공기 샘플러가 제시되어 왔다. 그 중 정전기 샘플러는 농축 능력과 높은 포집 효율, 회수율 등이 높아 액체 미디어에서 바이러스성 에어로졸 검출에 활용되어 왔다.
- [0009] 휴대용 전기식 입자 농축기(electrostatic particle concentrator; EPC)는 이전에 서브 마이크로미터 크기의 MS2 및 T3 박테리오파지의 포집을 위해 위해 개발되었으며, 0.05 μm 내지 2 μm 직경의 폴리스티렌 입자 및 공기 중 바이러스에 대해 높은 농축 능력과 높은 수집 효율성을 보여주었다.
- [0010] 자동-형광체(auto-fluorophores)를 이용한 UVAPS (UV aerodynamic particle sizer)나 또는 ATP(adenosine triphosphate)를 사용한 실시간 바이오 에어로졸 모니터링이 일반적으로 사용되지만, 각각 바이러스의 크기가 작아 형광량이 작고, 바이러스에 ATP가 없기 때문에 바이러스 에어로졸 검출에는 사용할 수 없다. 게다가, 대부분의 면역감지기는 일회용 기기로 사용되어 왔으며, 면역센서 기반의 연속 측정은 현재까지 거의 연구되지 않았다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명은 상술한 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 목적은, 공기 중 바이오 입자의 연속적 기체상(gas phase) 포집 및 농축이 동시에 진행되고, 공기 중 바이오 입자의 정량화 및 휴대가 가능하며 반복적 사용이 가능한 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기, 그의 제조방법 및 바이오 입자 농축 및 검출 방법을 제공하는 것이다.
- [0013] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 것들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 분야 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는, 상부 유입구 및 상부 유출구를 포함하는 상면과, 측면으로 구성되고 내부 공간을 형성하는 원통형 몸체; 상기 원통형 몸체의 내부 공간으로 일부가 삽입 형성되어 상기 원통형 몸체를 지지하는 하부 지지체; 상기 하부 지지체에 장착되어 전기식으로 공기 중에 포함된 바이오 입자를 포집 및 검출하는 면역 센서; 상기 공기 중에 포함된 바이오 입자를 측정하기 위한 액체 미디어; 상기 액체 미디어의 유량을 제어하는 시린지 펌프; 및 상기 액체 미디어를 상기 면역 센서로 주입하는 액체 미디어 주입 튜브;를 포함한다.
- [0016] 일 실시형태에 있어서, 상기 면역 센서는, 상부에 개구를 포함하는 상부 센서 홀더; 상기 상부 센서 홀더의 내부 공간으로 일부가 삽입 형성되는 하부 센서 홀더; 상기 하부 센서 홀더 내에 배치되는 3-전극 연결단자; 상기 3-전극 연결단자 상에 배치되는 산화 환원 겔(redox gel); 상기 산화 환원 겔 상에 배치되는 바이오 입자의 포

집 및 분석을 위한 기준전극(reference electrode; RE), 작업전극(working electrode; WE) 및 상대전극(counter electrode; CE)이 있는 반응 영역을 포함하고, 액체 미디어가 흐를 수 있는 분석 기관 층;을 포함하는 것일 수 있다.

- [0017] 일 실시형태에 있어서, 상기 3-전극 연결단자는, 상기 기준전극(reference electrode; RE), 작업전극(working electrode; WE) 및 상대전극(counter electrode; CE)을 연결하는 단자를 포함하는 것일 수 있다.
- [0018] 일 실시형태에 있어서, 상기 작업전극 및 상기 상대전극은, 각각, 탄소 물질을 포함하고, 상기 탄소 물질은, 단일벽 탄소나노튜브(SWNT), 이중벽 탄소나노튜브(DWNT), 다중벽 탄소나노튜브(MWNT), 탄소나노섬유, 탄소나노리본, 탄소나노벨트, 탄소나노로드, 그래핀, 그래파이트, 그래핀옥사이드, 환원된 그래핀옥사이드, 카본블랙, 활성탄 및 메조포러스 카본으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하고, 상기 기준전극에 Ag/AgCl, Ag/Ag₂SO₄ 및 포화 카멜 전극(Sat'd Camel Electrode; SCE)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나의 전극 페이스트를 포함하는 것일 수 있다.
- [0019] 일 실시형태에 있어서, 상기 분석 기관 층은, 상기 상대전극, 작업전극 및 기준전극 3 개의 측정 파트로 나누어 지도록 패턴을 포함하는 것일 수 있다.
- [0020] 일 실시형태에 있어서, 상기 작업전극에 바이오 물질과 결합하는 항체를 더 포함할 수 있다.
- [0021] 일 실시형태에 있어서, 상기 산화 환원 겔은, 한천(agar), 소프트 한천(soft agar), 황산암모늄(Ammoniumsulfate; (NH₄)₂SO₄), 단일염기인산칼륨 (Potassiumphosphate (monobasic); KH₂PO₄), 이염기인산칼륨 (Potassiumphosphate (dibasic); K₂HPO₄), 염화마그네슘육수화물 (Magnesiumchloridehexahydrate; MgCl₂ · 6H₂O), 염화칼슘무수물 (Calciumchlorideanhydrous; CaCl₂), 황산철(±) (Iron(II?)sulfateheptahydrate; FeSO₄ · 7H₂O), 미량원소, 효모 추출물, 감자전분, 글루코스 및 증류수로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [0022] 일 실시형태에 있어서, 상기 분석 기관 층은 박막이고, 상기 분석 기관 층은, 종이, 실리콘, 섬유(fiber) 및 유리로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [0023] 일 실시형태에 있어서, 상기 분석 기관 층은, 상기 하부 지지체를 기준으로 0 ° 내지 180 ° 각도로 배치되는 것일 수 있다.
- [0024] 일 실시형태에 있어서, 상기 액체 미디어는, 인산 완충 식염수(Phosphate Buffered Saline; PBS), 아스코르브산(Ascorbic acid; AA), 비타민 E 유사체 및 칼슘 클로라이드로 이루어진 식염수 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나의 식염수를 포함하는 것일 수 있다.
- [0025] 일 실시형태에 있어서, 상기 바이오 입자는, 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기타 유래의 병원균으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [0026] 일 실시형태에 있어서, 상기 바이러스는, 아데노 바이러스(adenovirus), 레비바이러스 엔테로박테리아 페이즈 MS2(levivirus, enterobacteria phase), 백신시아 바이러스(vaccinia virus), 헤르페스 단순 바이러스(herpes simplex virus), 파라인플루엔자 바이러스(parainfluenza virus), 라이노 바이러스(rhinovirus), 수두 바이러스(varicella Zoster Virus), 홍역 바이러스(measle virus), 호흡기 세포융합 바이러스(respiratory syncytial virus), 뎅기바이러스(Dengue virus), HIV(human immunodeficiency virus), 인플루엔자 바이러스, 코로나 바이러스(Covid-19 virus; SARS-CoV-2), 일반적인 감기 코로나 바이러스(HKU1, OC43, NL63, 229E), 중증급성 호흡기 증후군 코로나 바이러스(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus; SARS-CoV), 중동 호흡기 증후군 코로나바이러스(middle east respiratory syndrome coronavirus; MERS-CoV) 및 이들 바이러스의 변종 바이러스로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [0027] 일 실시형태에 있어서, 상기 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는, 분석기관층을 흐르는 액상 유량 0.2 μ l/min 내지 0.3 μ l/min에서, 공기 중 바이오 입자를 6 X 10⁶ 이상의 농축비율로 포집 및 농축하는 것일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 다른 실시예에 따른 바이오 입자 농축 및 검출 방법은, 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기를 이용하고, 상기 시린지 펌프로부터 액체 미디어를 상기 면역 센서의 상기 분석 기관 층으로 주입하는 단계; 상기 면역 센서의 분석 기관 층의 작업전극에 공기 중 바이오 입자를 포집/농축하는 단

계; 및 전기화학 측정을 진행하여 상기 바이오 입자를 검출하는 단계;를 포함한다.

- [0029] 일 실시형태에 있어서, 상기 시린지 펌프로부터 액체 미디어를 상기 면역 센서의 상기 분석 기관 층으로 주입하는 단계는, 상기 액체 미디어를 1 μ l/min 내지 10 μ l/min 유량으로 주입하는 것일 수 있다.
- [0030] 일 실시형태에 있어서, 상기 전기화학 측정을 진행하여 바이오 입자를 검출하는 단계는, 상기 샘플링 시간에 따른 상기 바이오 입자의 측정된 농도를 통해 공기 중 바이오 입자의 탐지를 확인하는 것일 수 있다.
- [0031] 일 실시형태에 있어서, 상기 전기화학 측정을 진행하여 바이오 입자를 검출하는 단계 이후에, 상기 분석 기관 층을 세정하는 단계;를 더 포함하고, 상기 세정은 상기 분석 기관 층으로 상기 액체 미디어를 4 μ l/min 내지 6 μ l/min 유량으로 주입하는 것일 수 있다.

발명의 효과

- [0033] 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는, 공기 중 바이오 입자의 연속적 기체상 (air phase) 농축 및 정량화가 가능하다.
- [0034] 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는 휴대 가능하고, 가볍고 저렴하며, EPC의 포집 장소에서 측정이 이루어지도록 하였다. 작업 전극을 고전압 공급 장치와 연결하여 유입되는 바이러스 에어로졸 입자가 정전기력에 의해 전기 화학적 센서의 작업 전극에 집중되고 농축될 수 있다.
- [0035] 또한, 종이 기반 면역센서는 소량의 매질을 지속적으로 제공하여, 센서 표면이 액체의 범람 및 건조 없이 젖어 있기 때문에 샘플링 및 측정 전반에 걸쳐 지속적인 항원-항체 상호 작용 및 비표적 입자 제거가 가능하게 하여 이동중이라도 공기 중 표적 바이러스의 연속적 및 실시간 정량화를 보장할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0037] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기를 설명하기 위한 개략적인 도면이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기내에 위치한 전기화학식 면역 센서를 설명하기 위한 개략적인 도면이다.
- 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기를 시험하기 위한 시스템의 개략적인 도면이다.
- 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 MS2 바이러스 서스펜션 분무에 의해 생성된 에어로졸 입자의 크기 분포도를 나타낸 도면이다.
- 도 5은 본 발명의 실시예에 따른 디자인 1 및 디자인 2의 면역 센서를 나타낸다.
- 도 6는 본 발명의 실시예에 따른 공기 중 MS2 바이러스 입자의 연속적인 포집 시간에 따른 디자인 1 및 디자인 2의 면역센서의 측정 농도를 나타낸 그래프이다.
- 도 7은 본 발명의 실시예에 따른 디자인 1 및 디자인 2의 면역센서에 직접 수집된 공기 중 폴리스티렌 비드의 형광 이미지이다.
- 도 8은 본 발명의 실시예에 따른 유량에 따른 MS2의 측정된 농도와 유량에 따른 센서측정의 일관성을 나타낸 그래프이다.
- 도 9는 본 발명의 실시예에 따른 MS2 측정용 면역센서의 공기 중 MS2 바이러스 입자에 대한 선택성을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0038] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.
- [0039] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또

는 "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.

- [0040] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 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] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0043] 또한, 실시 예의 구성 요소를 설명하는 데 있어서, 제 1, 제 2, A, B, (a), (b) 등의 용어를 사용할 수 있다. 이러한 용어는 그 구성 요소를 다른 구성 요소와 구별하기 위한 것일 뿐, 그 용어에 의해 해당 구성 요소의 본질이나 차례 또는 순서 등이 한정되지 않는다.
- [0044] 어느 하나의 실시 예에 포함된 구성요소와, 공통적인 기능을 포함하는 구성요소는, 다른 실시 예에서 동일한 명칭을 사용하여 설명하기로 한다. 반대되는 기재가 없는 이상, 어느 하나의 실시 예에 기재한 설명은 다른 실시 예에도 적용될 수 있으며, 중복되는 범위에서 구체적인 설명은 생략하기로 한다.
- [0045]
- [0046] 이하, 본 발명의 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기, 그의 제조방법 및 바이오 입자 농축 및 검출 방법에 대하여 실시예 및 도면을 참조하여 구체적으로 설명하도록 한다. 그러나, 본 발명이 이러한 실시예 및 도면에 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 본 발명은 공기 중 바이오 입자의 연속적 기체상 농축 및 정량화를 위한 젖은-종이 기반 전기화학적 면역센서와 본 연구를 위해 개질된 전기식 입자 농축기(EPC)로 구성된 전기식 공기 미디어 바이러스 정량 시스템을 제안한다. 종이 기반 센서는 휴대 가능하고, 가볍고 저렴하며, EPC의 포집 장소에 배치되었다. 작업 전극을 고전압 공급 장치와 연결하여 유입되는 바이러스 에어로졸 입자가 정전기력에 의해 전기 화학적 센서의 작업 전극에 집중되어 농축되었다.
- [0049] 게다가, 종이 기반 센서는 소량의 액체 미디어를 지속적으로 제공하여 종이 센서 표면에 범람 및 건조 없이 젖어 있기 때문에 샘플링 및 측정 전반에 걸쳐 지속적인 항원-항체 상호 작용 및 비표적 입자 제거가 가능하게 하여 공기 중 표적 바이러스의 연속적 또는 실시간 정량화를 보장한다.
- [0051] 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는, 상부 유입구 및 상부 유출구를 포함하는 상면과, 측면으로 구성되고 내부 공간을 형성하는 원통형 몸체; 상기 원통형 몸체의 내부 공간으로 일부가 삽입 형성되어 상기 원통형 몸체를 지지하는 하부 지지체; 상기 하부 지지체에 장착되어 전기식으로 공기 중에 포함된 바이오 입자를 포집 및 검출하는 면역 센서; 상기 공기 중에 포함된 바이오 입자를 측정하기 위한 액체 미디어; 상기 액체 미디어의 유량을 제어하는 시린지 펌프; 및 상기 액체 미디어를 상기 면역 센서로 주입하는 액체 미디어 주입 튜브;를 포함한다.
- [0052] 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는, 공기 중의 바이오 입자의 포집 및 농축하고 검출하는 것이다.
- [0053] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기를 설명하기 위한 개략적인 도면이다.
- [0054] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기(100)는, 원통형 몸체(110), 하부 지지체(120), 면역 센서(200), 시린지 펌프(130), 액체 미디어(140) 및 액체 미디어 주입 튜브(132)를 포함한다.
- [0055] 일 실시형태에 있어서, 상기 원통형 몸체(110)는, 상면과, 측면으로 구성될 수 있다. 상면과 측면으로 구성된 원통형 몸체는 아래를 향해 열린 내부 공간을 포함하는 구조로 구성될 수 있다.
- [0056] 일 실시형태에 있어서, 상기 상면에는 상면을 관통하도록 형성되어 공기를 내부로 유입하는 상부

유입구(미도시)와, 역시 상면을 관통하도록 형성되어 공기를 외부로 유출하는 상부 유출구(미도시)가 구비될 수 있다.

- [0057] 일 실시형태에 있어서, 상기 원통형 몸체(110)의 열린 내부 공간은 상기 하부 지지체(120)에 결합됨으로써 닫힌 공간을 형성할 수 있다.
- [0058] 일 실시형태에 있어서, 상기 하부 지지체(120)는, 원통형 몸체(110)의 측면과 연결되어 상기 원통형 몸체(110)를 하부에서 지지하는 구조를 형성할 수 있다.
- [0059] 일 실시형태에 있어서, 상기 면역 센서(200)는, 상기 하부 지지체(120)에 장착되어 전기식으로 공기 중에 포함된 바이오 입자(미도시)를 포집 및 검출하는 것일 수 있다.
- [0061] 일 실시형태에 있어서, 상기 면역 센서(200)는, 상부에 개구를 포함하는 상부 센서 홀더; 상기 상부 센서 홀더의 내부 공간으로 일부가 삽입 형성되는 하부 센서 홀더; 상기 하부 센서 홀더 내에 배치되는 3-전극 연결단자; 상기 3-전극 연결단자 상에 배치되는 산화 환원 겔(redox gel); 상기 산화 환원 겔 상에 배치되는 바이오 입자의 포집 및 분석을 위한 기준전극(reference electrode; RE), 작업전극(working electrode; WE) 및 상대전극(counter electrode; CE)이 있는 반응 영역을 포함하고, 액체 미디어가 흐를 수 있는 분석 기관 층;을 포함하는 것일 수 있다.
- [0062] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기내에 위치한 전기화학식 면역 센서를 설명하기 위한 개략적인 도면이다.
- [0063] 도 2를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 면역 센서(200)는, 상부 센서 홀더(210), 하부 센서 홀더(220), 3-전극 연결단자(232, 234, 236), 산화 환원 겔(240) 및 분석 기관 층(250)을 포함한다.
- [0064] 일 실시형태에 있어서, 상기 상부 센서 홀더(210)는, 상부에 개구(212)를 포함하고, 개구(212)를 통해 공기 중 바이오 물질이 포집되는 것일 수 있다.
- [0065] 일 실시형태에 있어서, 상기 하부 센서 홀더(220)는, 상기 상부 센서 홀더의 내부 공간으로 일부가 삽입 형성되는 것일 수 있다.
- [0066] 일 실시형태에 있어서, 상기 3-전극 연결단자(232, 234, 236)는, 상기 하부 센서 홀더 내에 배치되는 것일 수 있다.
- [0067] 일 실시형태에 있어서, 상기 3-전극 연결단자(232, 234, 236)는, 상기 분석기관층의 기준전극(reference electrode; RE), 작업전극(working electrode; WE) 및 상대전극(counter electrode; CE)을 연결하는 단자를 포함하는 것일 수 있다.
- [0068] 일 실시형태에 있어서, 상기 작업전극 상에 바이오 입자, 예를 들어, 바이러스 및 서로 다른 아형의 바이러스와 결합하는 항체가 고정화되어 전기화학적 측정영역이 형성되는 것일 수 있다.
- [0069] 일 실시형태에 있어서, 상기 작업전극 및 상기 상대전극은, 각각, 탄소 물질을 포함하는 것일 수 있다.
- [0070] 일 실시형태에 있어서, 상기 탄소 물질은, 단일벽 탄소나노튜브(SWNT), 이중벽 탄소나노튜브(DWNT), 다중벽 탄소나노튜브(MWNT), 탄소나노섬유, 탄소나노리본, 탄소나노벨트, 탄소나노로드, 그래핀, 그래파이트, 그래핀옥사이드, 환원된 그래핀옥사이드, 카본블랙, 활성탄 및 메조포러스 카본으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [0071] 바람직하게는, 상기 탄소 물질은, 다중벽 탄소나노튜브(MWNT)인 것일 수 있다.
- [0072] 일 실시형태에 있어서, 상기 기준전극에 Ag/AgCl, Ag/Ag₂SO₄ 및 포화 카멜 전극(Sat'd Camel Electrode; SCE)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나의 전극 페이스트를 포함하는 것일 수 있다.
- [0073] 바람직하게는, 상기 전극 페이스트는 Ag/AgCl인 것일 수 있다.
- [0074] 일 실시형태에 있어서, 상기 산화 환원 겔(240)는, 상기 3-전극 연결단자 상에 배치되는 것으로, 상기 분석기관 층(250)에서 전해질 역할을 하는 것일 수 있다.
- [0075] 일 실시형태에 있어서, 상기 산화 환원 겔(240)은, 한천(agar), 소프트 한천(soft agar), 황산암모늄(Ammoniumsulfate; (NH₄)₂SO₄), 단일염기인산칼륨 (Potassiumphosphate (monobasic); KH₂PO₄), 이염기인산칼륨

(Potassiumphosphate (dibasic); K_2HPO_4), 염화마그네슘육수화물 (Magnesiumchloridehexahydrate; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$), 염화칼슘무수물 (Calciumchlorideanhydrous; $CaCl_2$), 황산철(±) (Iron(II?)sulfateheptahydrate; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$), 미량원소, 효모 추출물, 감자전분, 글루코스 및 증류수로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.

- [0076] 일 실시형태에 있어서, 상기 분석 기관 층(250)는, 상기 산화 환원 겔 상에 배치되는 바이오 입자의 포집 및 분석을 위한 기준전극(reference electrode; RE), 작업전극(working electrode; WE) 및 상대전극(counter electrode; CE)이 있는 반응 영역을 포함하고, 액체 미디어(140)가 흐를 수 있다.
- [0077] 일 실시형태에 있어서, 상기 분석 기관 층(250)은, 상기 상대전극, 작업전극 및 기준전극 3 개의 측정 파트로 나누어지도록 패턴을 포함하는 것일 수 있다.
- [0078] 일 실시형태에 있어서, 상기 시린지 펌프(130)는, 상기 액체 미디어(140)의 유량을 제어하는 것일 수 있다. 상기 시린지 펌프(130)는 상기 액체 미디어(140)를 1 μ l/min 내지 10 μ l/min 유량으로 제어하는 것일 수 있다.
- [0079] 일 실시형태에 있어서, 상기 액체 미디어 주입 튜브(132)는, 상기 액체 미디어(140)를 상기 면역 센서(200)로 주입하는 통로를 제공한다.
- [0080] 일 실시형태에 있어서, 상기 액체 미디어(140)는, 상기 공기 중에 포함된 바이오 입자를 효과적으로 포집 및 측정하기 위해 상기 면역 센서(200)의 분석 기관 층(250)으로 흘러주는 것이다.
- [0081] 일 실시형태에 있어서, 상기 액체 미디어(140)는, 젖음에 의해서 확산만 되는 정도로 상기 분석 기관 층(250)의 표면은 액상인데 전체적으로 흘러내리는 용액 형태가 아닌 것일 수 있다. 따라서, 장치가 기울어지거나 움직여도 공기 중 바이오 입자의 측정이 가능하다.
- [0082] 일 실시형태에 있어서, 상기 액체 미디어(140)는, 인산 완충 식염수(Phosphate Buffered Saline; PBS), 혹은 아스코르브산(Ascorbic acid; AA), 비타민 E 유사체 및 칼슘 클로라이드로 이루어진 식염수 균으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [0083] 바람직하게는, 상기 액체 미디어(140)는, 인산 완충 식염수(PBS)인 것일 수 있다.
- [0084] 일 실시형태에 있어서, 상기 작업전극에 바이오 물질과 결합하는 항체를 더 포함할 수 있다.
- [0085] 일 실시형태에 있어서, 상기 바이오 입자는, 바이러스, 박테리아, 진균 또는 기타 유래의 병원균으로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [0086] 따라서, 상기 항체는, 상기 바이오 입자와 결합하는 항체인 것일 수 있다.
- [0087] 일 실시형태에 있어서, 상기 바이러스는, 아데노 바이러스(adenovirus), 레비바이러스 엔테로박테리아 페이즈 MS2(levivirus, enterobacteria phase), 백신니아 바이러스(vaccinia virus), 헤르페스 단순 바이러스(herpes simplex virus), 파라인플루엔자 바이러스(parainfluenza virus), 라이노 바이러스(rhinovirus), 수두 바이러스(varicella Zoster Virus), 홍역 바이러스(measle virus), 호흡기 세포융합 바이러스(respiratory syncytial virus), 뎅기바이러스(Dengue virus), HIV(human immunodeficiency virus), 인플루엔자 바이러스, 코로나 바이러스(Covid-19 virus; SARS-CoV-2), 일반적인 감기 코로나 바이러스(HKU1, OC43, NL63, 229E), 중증급성 호흡기 증후군 코로나 바이러스(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus; SARS-CoV), 중등 호흡기 증후군 코로나바이러스(middle east respiratory syndrome coronavirus; MERS-CoV) 및 이들 바이러스의 변종 바이러스로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.
- [0088] 일 실시형태에 있어서, 상기 항체의 고정화는 물리적인 흡착(physisoption), 화학적인 흡착(chemical adsorption), EDC/NHS(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide/N-hydroxy succinimide) 등과 같은 공유결합(covalent-binding), 전기적인 결합(electrostatic attraction), 공중합체(co-polymerization) 또는 아비딘-바이오틴 결합 시스템(avidin-biotin affinity system) 등이 이용될 수 있다.
- [0089] 일 실시형태에 있어서, 상기 분석 기관 층(250)의 상대전극, 작업전극, 기준전극이 전기화학적 3-전극 연결단자(232, 234, 236)와 연결하는 것일 수 있다.
- [0090] 일 실시형태에 있어서, 상기 분석 기관 층(250)은 박막이고, 상기 분석 기관 층(250)은, 종이, 실리콘, 섬유(fiber) 및 유리로 이루어진 균으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 포함하는 것일 수 있다.

- [0091] 바람직하게는, 상기 분석 기관 층(250)은, 종이일 수 있고, 종이 기반 면역센서인 것일 수 있다.
- [0092] 일 실시형태에 있어서, 상기 종이 기반 다중 면역 센서(200)는, 구조가 간단하고, 제조공정이 간단하며, 측정속도가 빠르며, 값이 싸고, 사용 및 보관이 편리하며, 생체적합한 종이기반 센서로서, 정량적 진단이 가능하다.
- [0093] 일 실시형태에 있어서, 상기 종이는 와트만 크로마토그래피(Whatman Chromatography)에 이용되는 종이로 이루어질 수 있다.
- [0094] 일 실시형태에 있어서, 상기 분석 기관 층(250)은, 상기 하부 지지체를 기준으로 0 ° 내지 180 ° 각도로 배치되는 것일 수 있다. 따라서, 상기 분석 기관 층(250)이 수평이 아니더라도, 수직 또는 경사진 경우에도 무관하게 공기 중 바이오 물질 포집 및 검출이 가능하다.
- [0095] 일 실시형태에 있어서, 상기 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는, 분석기관층을 흐르는 액상 유량 0.2 μl/min 내지 0.3 μl/min에서, 공기 중 바이오 입자를 6 X 10⁶ 이상의 농축비율로 포집 및 농축하는 것일 수 있다.
- [0096] 종래의 바이오 입자 포집기는 대략 1X10³ 정도의 농축비로 공기 중 바이오 입자를 포집할 수 있어, 본 발명의 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는, 종래 것에 비하여 6,000 배 이상 포집 및 농축할 수 있다. 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는 연속적으로 농축 및 측정이 가능하다.
- [0097] 종래의 면역센서의 경우 대부분 일회용 센서이다. 그러나, 본 발명의 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기 내의 면역센서는, 하나의 센서로 여러 번 연속 측정이 가능하다.
- [0099] 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기를 시험하기 위한 시스템의 개략적인 도면이다.
- [0100] 도 3에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는 전기화학적 신호를 검출하기 위한 본 발명의 기술분야에서 적용되는 다양한 장치, 예를 들어, 전기화학적 분석기가 결합 또는 연결될 수 있고, 이외에도 열적, 광학적, 전기적, 화학적 또는 물리적 검출신호를 감지 및 분석을 위한 장치 및 전극 등이 더 연결 또는 배치될 수 있으나, 본 명세서는 구체적으로 언급하지 않는다.
- [0102] 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기는 공기 중 바이오 물질을 포집/농축하기 위한 장비와 측정하기 위한 장비를 따로 설치할 필요가 없이 하나의 장비를 통해 바이오 물질의 포집, 농축과 측정이 가능하다. 또한 별도의 전처리 및 농축 단계 없이, 공기 중 바이오 물질의 포집과 농축이 동시에 실시 간으로 이루어진다. 또한, 면역 센서가 표적별 항체로 코팅되어 있기 때문에 표적을 특정할 수 있으며, 샘플링 시간이 매우 짧다.
- [0104] 본 발명의 다른 실시예에 따른 바이오 입자 농축 및 검출 방법은, 본 발명의 일 실시예에 따른 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기를 이용하고, 상기 시린지 펌프로부터 액체 미디어를 상기 면역 센서의 상기 분석 기관 층으로 주입하는 단계; 상기 면역 센서의 분석 기관 층의 작업전극에 공기 중 바이오 입자를 포집/농축하는 단계; 및 전기화학 측정을 진행하여 상기 바이오 입자를 검출하는 단계;를 포함한다.
- [0105] 본 발명의 일 실시예에 따른 바이오 입자 농축 및 검출 방법은 상기 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기를 이용하는 것이다.
- [0106] 일 실시형태에 있어서, 상기 시린지 펌프로부터 액체 미디어를 1 μl/min 내지 10 μl/min; 1 μl/min 내지 8 μl/min; 1 μl/min 내지 5 μl/min; 1 μl/min 내지 3 μl/min; 3 μl/min 내지 10 μl/min; 3 μl/min 내지 8 μl/min; 3 μl/min 내지 5 μl/min; 5 μl/min 내지 10 μl/min; 5 μl/min 내지 8 μl/min; 7 μl/min 내지 10 μl/min; 또는 7 μl/min 내지 8 μl/min; 유량으로 제어하여 주입하는 것일 수 있다.
- [0107] 일 실시형태에 있어서, 상기 시린지 펌프로부터 액체 미디어를 상기 면역 센서의 상기 분석 기관 층으로 주입하는 단계는, 상기 액체 미디어를 2 μl/min 내지 3 μl/min 유량으로 주입하는 것일 수 있다.
- [0108] 일 실시형태에 있어서, 상기 면역 센서의 분석 기관 층에 공기 중 바이오 입자를 포집하는 단계는, 10 분 내지 120 분 동안 포집하는 것일 수 있다.
- [0109] 일 실시형태에 있어서, 상기 전기화학 측정을 진행하여 바이오 입자를 검출하는 단계는, 상기 샘플링 시간에 따른 상기 바이오 입자의 측정된 농도를 통해 바이오 입자의 탐지를 확인하는 것일 수 있다.

- [0110] 일 실시형태에 있어서, 상기 전기화학 측정을 진행하여 바이오 입자를 검출하는 단계 이후에, 상기 분석 기관 층을 세정하는 단계;를 더 포함할 수 있다.
- [0111] 일 실시형태에 있어서, 상기 세정은 상기 분석 기관 층으로 상기 액체 미디어를 4 $\mu\text{l}/\text{min}$ 내지 6 $\mu\text{l}/\text{min}$ 유량으로 주입하는 것일 수 있다.
- [0112] 일 실시형태에 있어서, 상기 세정에 의하여 비표적 입자 제거가 가능할 수 있다.
- [0113] 본 발명의 일 실시예에 따른 바이오 입자 농축 및 검출 방법은, 전기화학 기반의 측정법을 사용하기 때문에 기체상의 바이오 입자의 선택적 검출 및 정량적 측정이 가능하다.
- [0115] 이하, 실시예 및 비교예에 의하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다.
- [0116] 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0118] **[실시예]**
- [0119] 공기 중 질병 바이러스의 신속한 검출 또는 식별은 독특한 분석 과제를 제시하며, 이들의 핵산 및 면역분석 기반 검출은 먼저 액체 매질에 공기 중의 바이러스를 포집해야 (에어로졸에서 하이드로졸로 이동) 한다. 또한, 공기 중 바이러스의 기체 상에서의 검출은 안전한 포집 및 신뢰할 수 있는 검출 시스템의 부족으로 인해 여전히 어려운 과제로 남아 있다.
- [0120] 본 발명의 실시예에서는 에어로졸에서 다량의 하이드로졸로의 전달을 이용하지 않고도 기체상에서 공기 중 바이러스를 지속적으로 탐지할 수 있는 반-자동, 신규, 단순 및 항체 기반의 매우 구체적인 감지 시스템을 제시한다.
- [0121] 본 발명의 실시예에서, 공기 중 MS2 입자의 지속적인 검출을 위해 개인용 정전기 입자 농축기(electrostatic particle concentrator; EPC)의 포집 전극에 전기화학 종이 센서를 설계 및 설치하였다. 종이센서의 친수성 채널로 미량의 버퍼가 흐르게 하여 센서 표면이 액체의 범람 및 건조 없이 젖어 있기 때문에, 샘플링 및 측정 전반에 걸쳐 지속적인 항원-항체 상호 작용 및 비표적 입자 제거가 가능하게 하였다.
- [0122] 이전에 개발된 전기식 입자 농축기(electrostatic particle concentrator; EPC)를 이용하면, 포집된 감염성 MS2 및 T3 농도가 표준 상업용 바이오 에어로졸 임핀저(bioaerosol impinger)인 BioSampler보다 각각 7 배 및 1680 배 더 높은 것으로 나타났다. 전기화학적 종이 센서는 액체 흐름을 위한 친수성 채널, 3개의 전극 시스템 및 산화환원 미디어로서의 겔 전해질로 구성된다. 액체 흐름에 대한 추가적인 종이 채널이 있거나 없는 경우의 전기화학적 종이 센서의 두 가지 설계의 성능을 비교하였다. 종이 센서에 포집된 MS2 바이러스의 샘플링 시간 10 분 간격으로 총 60 분 (간격 간 측정시간 2분 제외하고)에 따라 선형적으로 변했다. 본 발명의 실시예에서는, 전기화학적 종이 면역 센서와 EPC를 사용하여 기체상에서 공기 중의 바이러스를 측정 가능함을 입증하였다.
- [0124] **종이-기반 센서의 제조**
- [0125] 친수성 종이 채널과 전기화학적 측정을 위한 3개의 전극으로 구성된 종이 센서 디자인은 AutoCAD를 사용하여 생성되었다. 왁스 프린팅을 이용해 친수성 채널 모양을 형성하고, screen printing을 이용해 3개의 전극을 제작하였다. 작업 전극(WE) 및 상대 전극(CE)을 구성하기 위한 탄소 페이스트를 준비했으며, 기준 전극과 접촉패드를 만들기 위해 은/염화은(Ag/AgCl) 잉크가 사용되었다. 산화 환원 겔은 아가로스를 10 mM의 페리/페로시안화물 및 0.5 M의 염화칼륨과 혼합하여 제조하였다.
- [0127] **공기 중 바이러스 포집 및 검출 실험**
- [0128] 에어로졸 생성, EPC 및 전기화학적 종이 센서를 이용한 정전기 바이러스 포집 및 측정의 실험 개략도는 도 3에 나와 있다. 분당 3리터(LPM)의 깨끗한 콤프레셔 공기는 질량 유량 컨트롤러(model 5850E, Brooks Instrument, PA)와 탈이온수(DI)에서 제조된 MS2 바이러스 서스펜션(10^6 PFU/mL)으로 조정되었다. 3-jet Collision nebulizer (Mesa Laboratories, Denver, CO)를 사용하여 분무하였다. 그 다음, 에어로졸화된 바이러스를 확산 건조기(HCT, South Korea)로 건조하고, 확산 증화기(Am-241, GRIMM, Germany)로 증화된 후 다른 청정한 공기 흐름(10 LPM)으로 희석하였다.
- [0129] EPC를 통한 유량은 1.2 LPM이었고 샘플링은 10분 간격으로 총 60분 동안 수행되었다. 산화 환원 겔이 부착된 전기화학적 종이 센서는 ABS로 만들어진 센서홀더에 고정됐고, EPC 하단 중앙 상에 위치하고, 전기화학적 측정 시 전해질로 산화 환원 겔을 사용했다. 작업전극(WE)은 -5 kV (SJ-2000S, Sejin electronics, Korea)

의 DC 전압에 연결되거나 전기화학적 측정 시 전위차 기기에 번갈아 연결되었다. EPC 내부에 1 mm의 내경을 가진 튜브를 설치하였고, 센서를 젖게 만들기 위해 시린지 펌프 (HAVARD, model PHD-2000)에 의해 소량의 1XPBS를 2 μ l/min의 유량으로 센서에 제공하여 항원-항체 상호작용과 비특이성 표적의 세정이 가능하도록 하였다.

[0131] **젖은-종이 면역 센서의 공기 중 나노 입자 포집**

[0132] 종이 면역센서의 작업 전극 상의 공기 중 나노미터 크기 입자의 포집 효율을 계산하였고, 포집 또한 형광영상을 이용하여 확인하였다. 직경 0.3 μ m (10^6 particles/mL)의 폴리스티렌 비드 (R300; Thermo Scientific, USA)를 에어로졸화하고 10분 동안 종이 센서에 포집했다. 형광 이미지는 100 ms의 노출 시간과 20X 대물 렌즈를 가진 형광 현미경을 이용하여 얻었다.

[0133]

[0134] **바이러스 에어로졸의 입자 크기 분포**

[0135] 공기 중 병원체의 입자 크기는 공기를 통한 전파 및 호흡기관에서의 침착이 공기 중의 입자 크기 범위에 의존하기 때문에 전파에 중요한 역할을 한다. 탈이온수에 현탁된 MS2 입자의 크기 분포는 입자 수를 DMA(Differential Mobility Analyzer)의 입자 크기 빈(particle size bin)의 로그로 나누어 결정했다.

[0136] 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 MS2 바이러스 서스펜션 분무에 의해 생성된 에어로졸 입자의 크기 분포도를 나타낸 도면이다.

[0138] **바이오에어로졸 측정을 위한 두 가지 종이 면역센서 디자인의 비교**

[0139] 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 디자인 1 및 디자인 2의 면역 센서를 나타낸다.

[0140] 도 5를 참조하면, 디자인 1은 면역 센서 위에 추가의 종이 채널을 만들었고 디자인 2는 종이 센서 위에 추가 종이 채널이 없다.

[0142] 도 6는 본 발명의 실시예에 따른 공기 중 MS2 바이러스 입자의 연속적인 포집 시간에 따른 디자인 1 및 디자인 2의 면역센서의 측정 농도를 나타낸 그래프이다.

[0143] 도 6을 참조하면, 디자인 2가 신호의 크기가 더 크고 시간에 따라 신호가 선형적으로 증가함을 보였다.

[0145] 도 7은 본 발명의 실시예에 따른 디자인 1 및 디자인 2의 면역센서에 직접 수집된 공기 중 폴리스티렌 비드의 형광 이미지이다.

[0146] 도 7을 참조하면, 디자인 2에 더 많은 입자의 포집이 확인되었다. 이에 따라 추가 종이 채널 없이, 종이 센서 자체의 채널만으로도 충분히 효과적으로 측정이 가능하였다. 따라서 실험은 디자인 2가 사용되었다.

[0148] **유량의 영향**

[0149] 도 8은 본 발명의 실시예에 따른 유량에 따른 MS2의 측정된 농도와 유량에 따른 센서 측정의 일관성을 나타낸 그래프이다. 최적의 유량은 10분 내지 60분의 포집 시간으로 유량을 1 μ l/min 내지 5 μ l/min으로 변경하여 확인되었다. 2 μ l/min 내지 3 μ l/min의 유량에서 시간에 따른 선형적인 측정값을 보였다.

[0151] **간접 연구**

[0152] 본 발명의 실시예인 센서 시스템의 특이성은 다음과 같은 공기 중 입자에 대해 동일한 방식으로 평가되었다: 인플루엔자 A 바이러스(influenza A virus) (직경: 100-120 nm) (KBPV-VR-76) 아데노바이러스(adenovirus) (직경: 65-80 nm)(KBPV-VR-4), 슈도모나스 플루오레센스(*Pseudomonas fluorescens*) (길이: 1-2 μ m 및 폭: 0.3-0.6 μ m)(ATCC 13525) 및 대장균(*Escherichia. coli*) (직경: 0.5 μ m)(ATCC C300). 이러한 샘플 각각은 동일한 농도(10^5 PFU 혹은 CFU per mL)를 사용하여 개별적으로 또는 함께 에어로졸화 되었다. 연속 포집 및 검출은 10-60분 동안 수행하였고, 포집된 바이러스에 대한 신호는 10 분 간격으로 측정하였다.

[0153] 도 9는 본 발명의 실시예에 따른 MS2 측정용 면역센서의 공기 중 MS2 바이러스 입자에 대한 선택성을 나타낸 그래프이다.

[0154] 도 9를 참조하면, MS2 및 MS2 단독과 함께 미생물 혼합물의 농도 변화는 통계적으로 차이가 없었으며 ($p>0.05$), 이는 혼합물 내의 다른 바이러스 및 박테리아가 타겟인 MS2의 측정에 영향을 미치지 않았음을 의미한다.

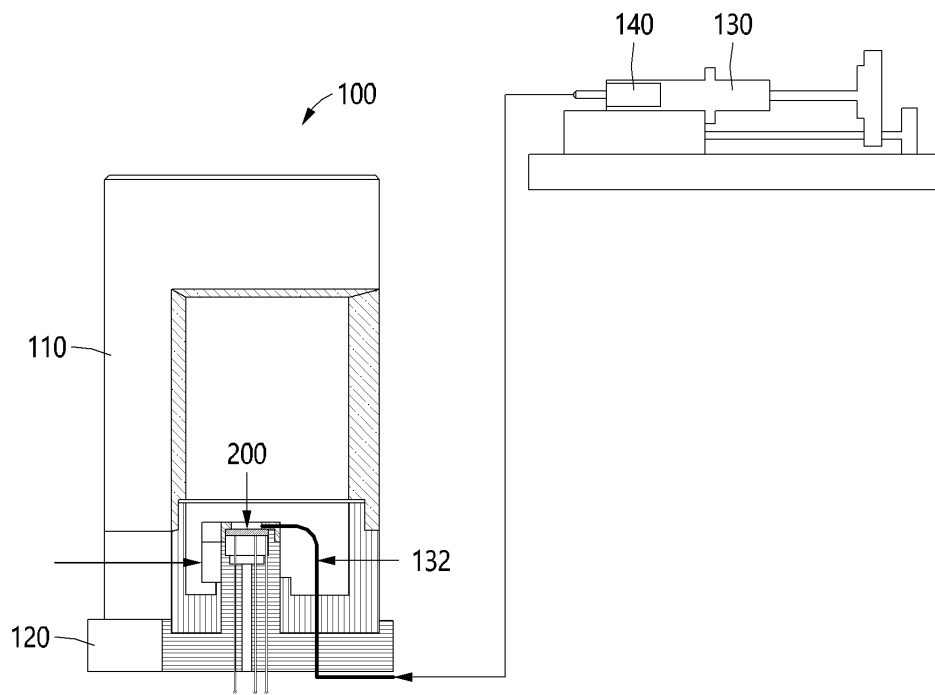
- [0156] 일반적인 센서들은 액상에서만 이런 결과를 보여주는데 본 발명의 면역센서는 기체상에서도 가능하다는 것을 보여준다.
- [0157] 선택성 데이터는 이 센서 시스템이 감지하는 동안 공기 중 다른 미생물의 간섭이 감소하고 MS2 파지에 대한 선택성이 높다는 것을 시사한다.
- [0159] 요약하면, 우리는 산화 환원 겔 기반 전기 화학 종이 면역 센서를 사용하여 MS2 파지의 기체상에서의 연속 포집, 농축 및 검출을 입증했다. MS2 박테리오파지는 그 형태가 구제역(FMD) 바이러스, 라이노바이러스, 소아마비 바이러스를 포함한 병원성 바이러스의 형태와 유사하기 때문에 공기 샘플러 성능을 평가하는 데 널리 사용되었다. EPC와 함께 전기화학적 종이 면역센서를 사용한 MS2의 이러한 연속 포집 및 검출은 기존 분석보다 거의 자동화되고, 선택적이고, 저비용이며, 휴대 가능하고 신속한 측정을 제공한다.
- [0161] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.
- [0162] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

부호의 설명

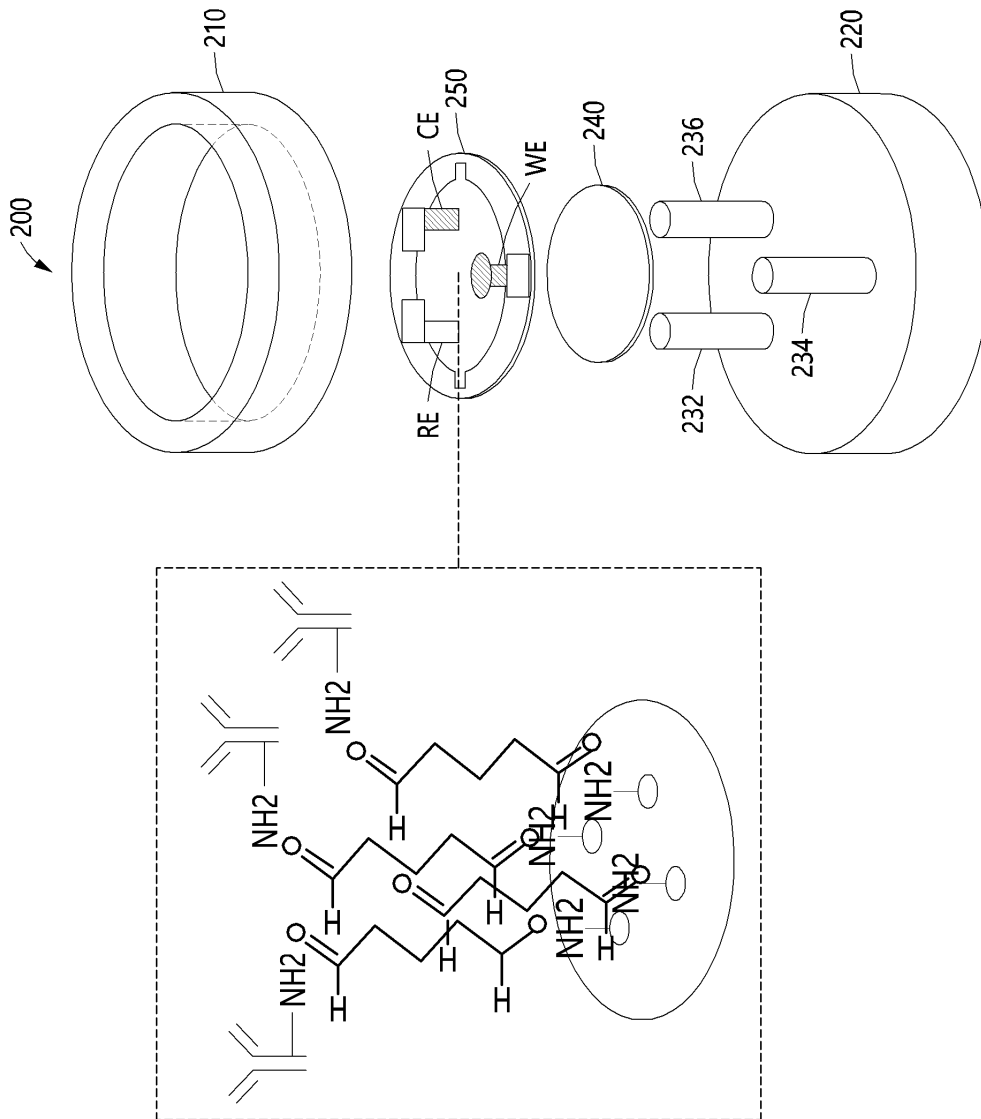
- [0164] 100: 연속적 전기식 바이오 입자 농축-측정기
- 110: 원통형 몸체
- 120: 하부 지지체
- 130: 시린지 펌프
- 132: 액체 미디어 주입 튜브
- 140: 액체 미디어
- 200: 면역 센서

도면

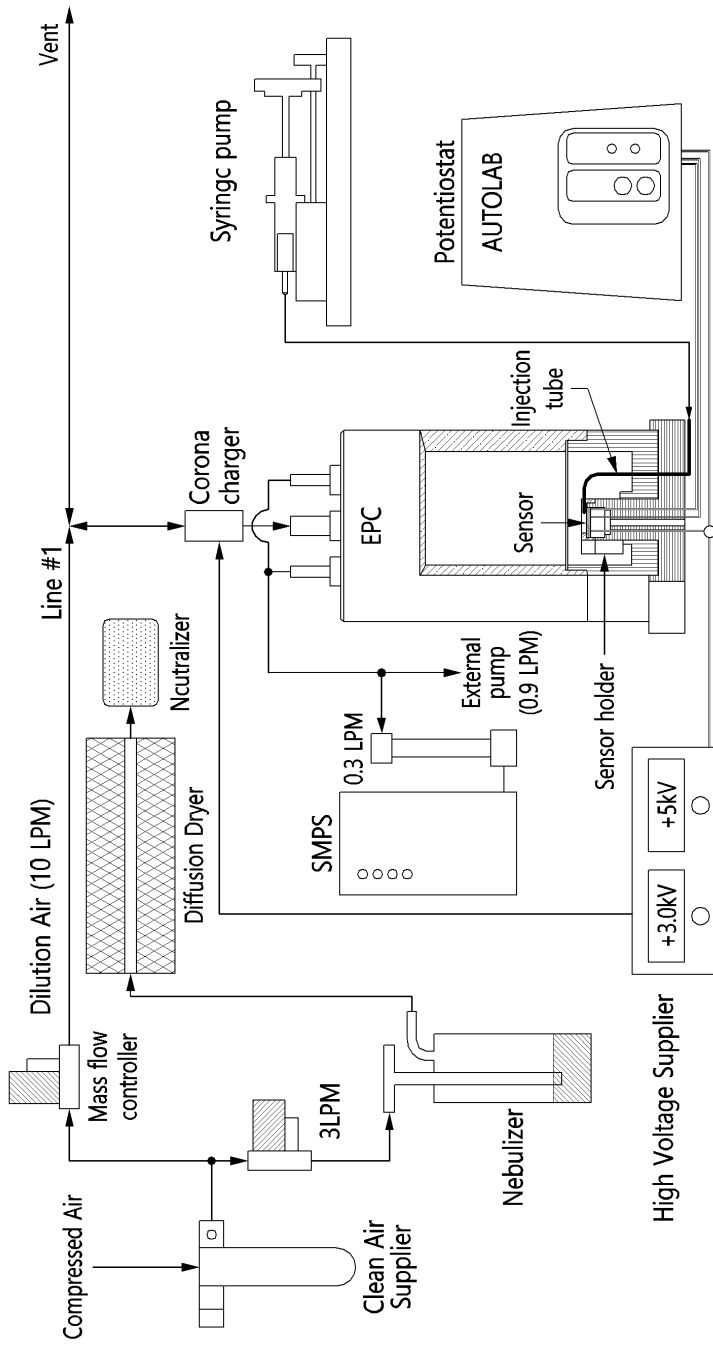
도면1



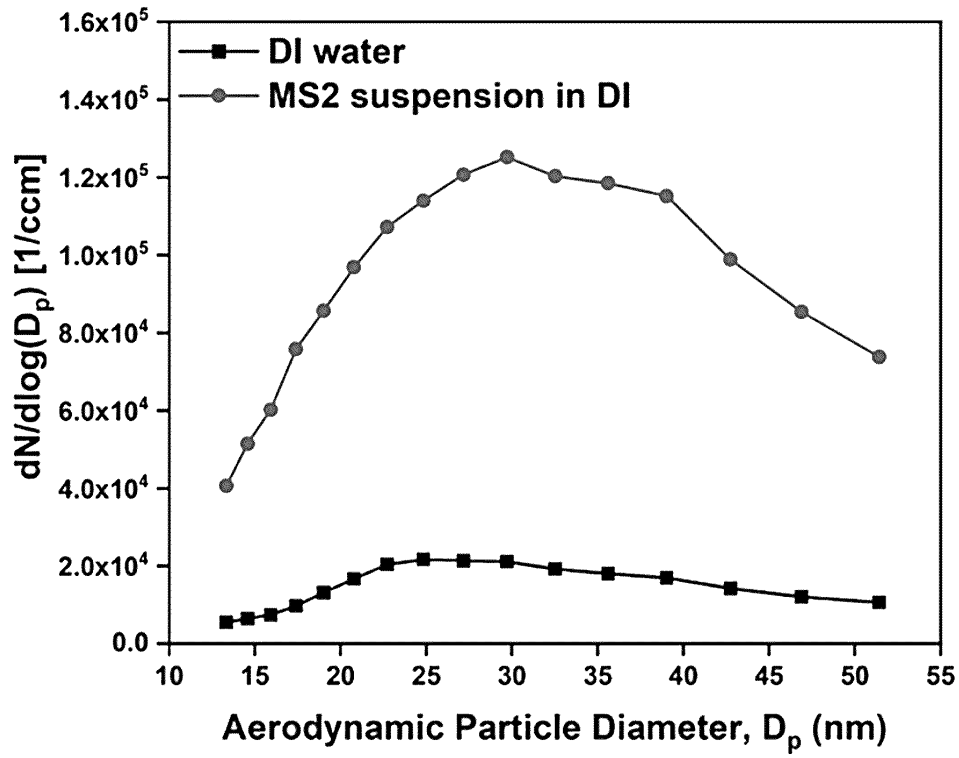
도면2



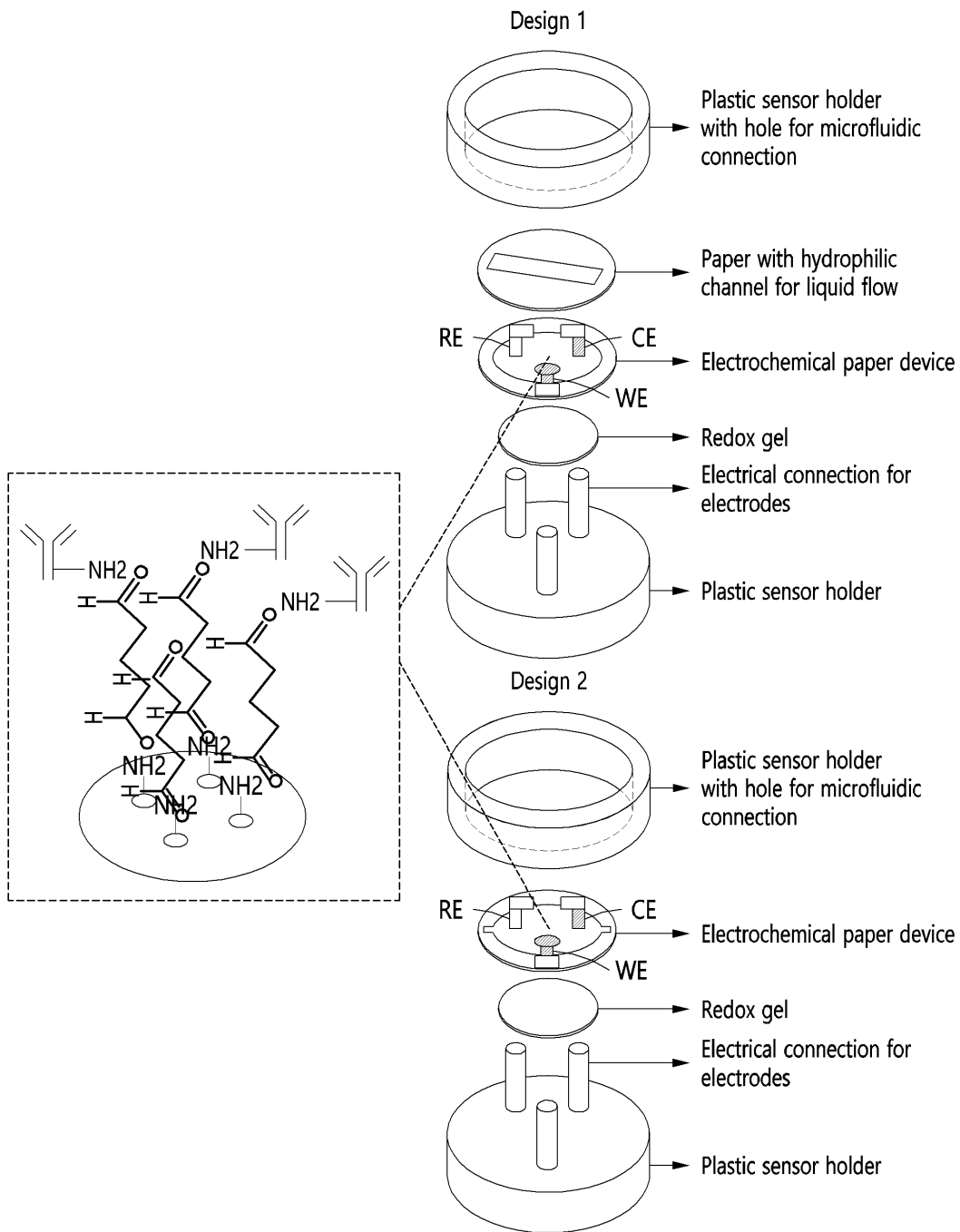
도면3



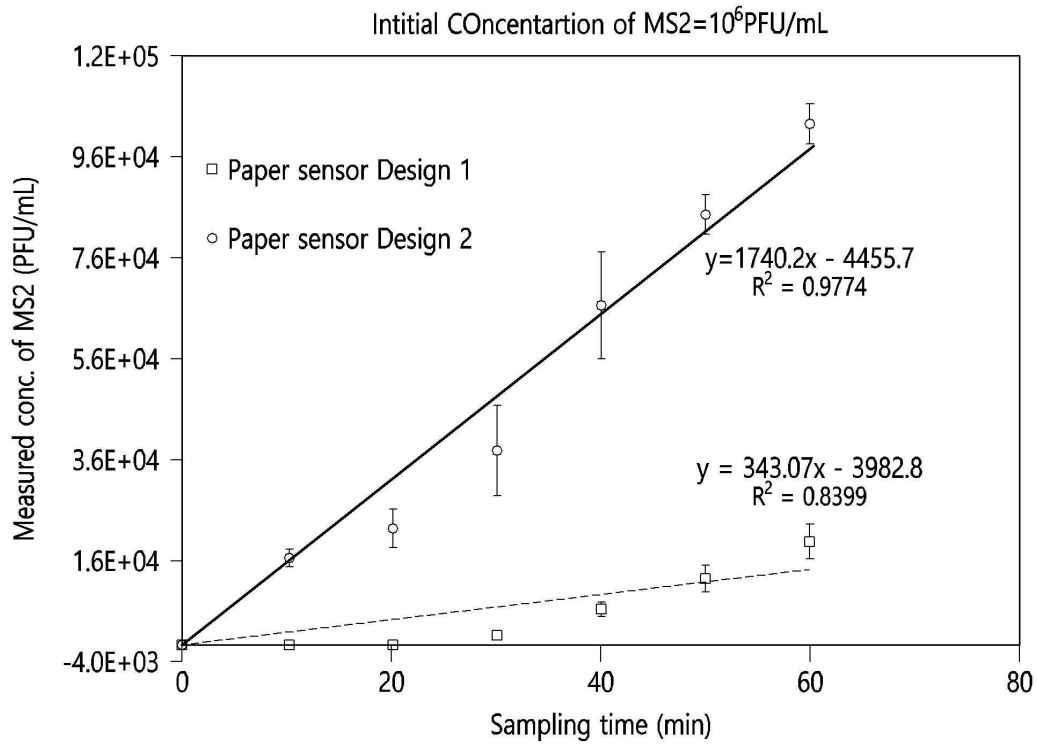
도면4



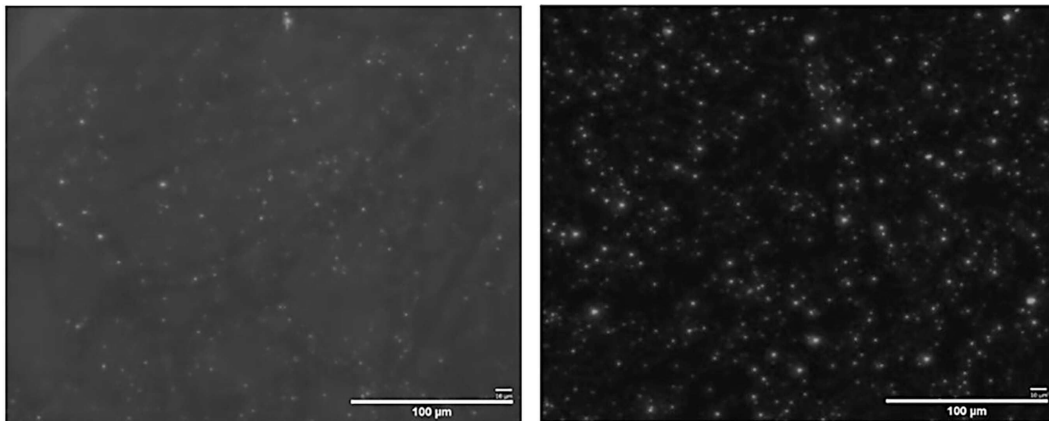
도면5



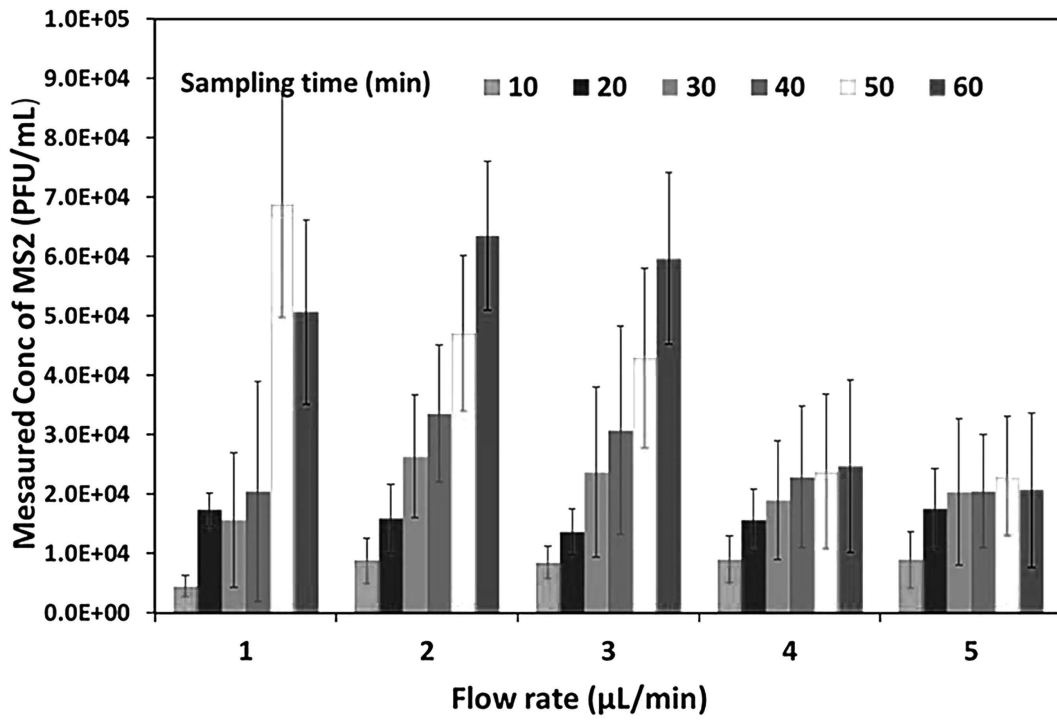
도면6



도면7



도면8



도면9

