



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년11월23일  
(11) 등록번호 10-2330837  
(24) 등록일자 2021년11월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
G01N 33/53 (2006.01) C12Q 1/26 (2006.01)  
G01N 27/30 (2006.01) G01N 33/58 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
G01N 33/53 (2018.05)  
C12Q 1/26 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2019-0162730  
(22) 출원일자 2019년12월09일  
심사청구일자 2019년12월09일  
(65) 공개번호 10-2021-0072425  
(43) 공개일자 2021년06월17일  
(56) 선행기술조사문헌  
KR100816019 B1\*  
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
변재철  
서울특별시 서초구 잠원로 46-38, 101동 301호(잠원동, 브라운스톤잠원)  
(74) 대리인  
김권석

전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 차명훈

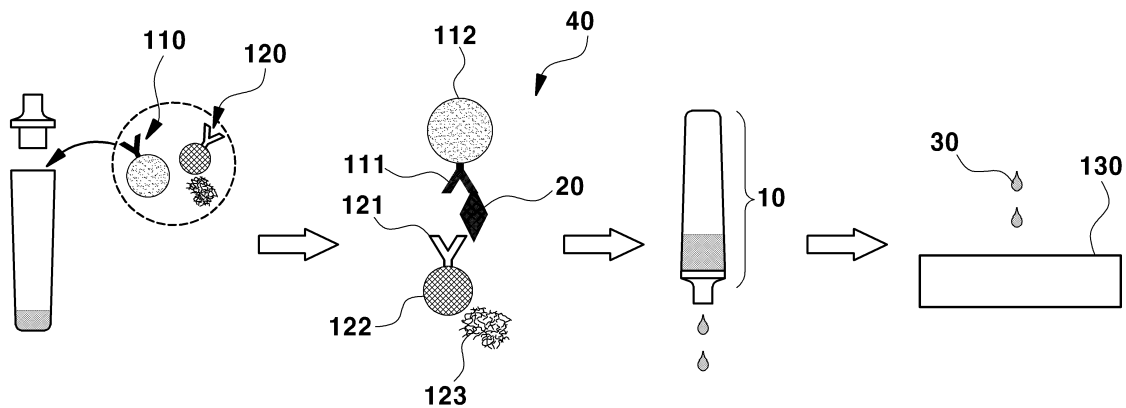
(54) 발명의 명칭 원스텝 임류노어세이 키트 및 이를 이용한 측정 방법

(57) 요약

본 발명은 원스텝 임류노어세이 키트 및 원스텝 임류노어세이 키트를 이용한 측정 방법에 관한 것이다. 본 발명의 일 실시예에 따른 원스텝 임류노어세이 키트는 분석 대상물 내의 타겟 항원의 식별 또는 농도를 분석하기 위해, 상기 분석 대상물이 인입되는 인입부를 갖는 반응 영역을 포함하는 원스텝 임류노어세이 키트로서, 상기 타

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 1 항체 및 상기 제 1 항체를 고정 지지하는 제 1 비드(bead)를 포함하고, 상기 반응 영역에 유지되는 제 1 항체 표지 비드, 상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 2 항체, 상기 제 2 항체를 고정 지지하는 제 2 비드 및 기질을 분해하는 효소를 포함하고, 상기 반응 영역 내에서 상기 제 1 항체 표지 비드와 함께 상기 타겟 항원과 결합되는 경우에는 복합 반응물을 형성하여 상기 반응 영역 내에 유지되고, 상기 타겟 항원과 결합되지 않는 경우에는 상기 반응 영역으로부터 분리되어 측정부로 전달되는 제 2 항체 표지 비드 및 상기 복합 반응물을 형성하지 않은 잔량의 제 2 항체 표지 비드 중 적어도 일부를 포함하는 처리 용액을 선택적으로 획득하여 효소의 기질 분해 반응을 측정하는 측정부를 포함할 수 있다.

(52) CPC특허분류

**G01N 27/302** (2013.01)

**G01N 33/5304** (2013.01)

**G01N 33/581** (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020120039345 A\*

KR1020130046637 A

KR1020160110701 A

KR1020190121247 A

KR1020190108005 A

KR1020200137666 A

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

분석 대상물 내의 타겟 항원의 식별 또는 농도를 분석하기 위해, 상기 분석 대상물이 인입되는 인입부를 포함하고, 항원-항체 반응의 반응 영역을 포함하는 원스텝 임뮤노어세이 키트로서,

상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 1 항체 및 상기 제 1 항체를 고정 지지하는 제 1 비드(bead)를 포함하고, 상기 반응 영역에 유지되는 제 1 항체 표지 비드;

상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 2 항체, 상기 제 2 항체를 고정 지지하는 제 2 비드 및 기질을 분해하는 효소를 포함하고, 상기 반응 영역 내에서 상기 제 1 항체 표지 비드와 함께 상기 타겟 항원과 결합되는 경우에는 복합 반응물을 형성하여 상기 반응 영역 내에 유지되고, 상기 타겟 항원과 결합되지 않는 경우에는 상기 반응 영역으로부터 분리되는 제 2 항체 표지 비드;

상기 제 1 항체 표지 비드 및 상기 제 2 항체 표지 비드를 함께 포함하는 상기 반응 영역을 제공하며, 상기 분석 대상물, 상기 제 1 항체 표지 비드 또는 상기 제 2 항체 표지 비드가 혼합되어 서로 반응하는 반응 용기; 및 상기 반응 용기에 연결되고, 상기 반응 용기 내의 상기 복합 반응물을 형성하지 않은 잔량의 상기 분리된 제 2 항체 표지 비드 중 적어도 일부를 포함하는 처리 용액을 선택적으로 획득하여 효소의 기질 분해 반응을 측정하는 측정부를 포함하고,

상기 제 2 비드는 상기 제 1 비드 보다 작은 크기를 갖고, 상기 효소는 상기 제 1 항체 표지 비드 및 상기 제 2 항체 표지 비드 중에서 상기 제 2 항체 표지 비드에만 결합되며,

상기 원스텝 임뮤노어세이 키트는 상기 반응 용기에 결합 가능하며 필터를 포함하는 리드부를 더 포함하고, 상기 필터의 투과 직경은 상기 제 1 비드의 평균 직경보다 작고 상기 제 2 비드의 평균 직경보다 크며,

상기 제 1 항체 표지 비드는 상기 반응 용기 내에 유지되고, 상기 복합 반응물을 형성하지 않은 상기 제 2 항체 표지 비드를 포함하는 상기 처리 용액은 상기 필터를 통과하도록 구성되며, 상기 분석 대상물에 포함된 상기 타겟 항원의 양이 증가할수록 상기 처리 용액에 포함된 상기 제 2 항체 표지 비드의 양은 감소하고,

상기 제 2 비드가 포함된 상기 처리 용액을 이용해서 상기 기질 분해 반응을 측정하도록 구성된 원스텝 임뮤노어세이 키트.

#### 청구항 2

삭제

#### 청구항 3

삭제

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 제 2 비드의 평균 직경은 5 nm 내지 100 nm의 범위 내인 원스텝 임뮤노어세이 키트.

#### 청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 제 1 비드의 평균 직경은 5  $\mu$ m 내지 50  $\mu$ m의 범위 내인 원스텝 임뮤노어세이 키트.

## 청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 기질 분해 반응은 산화-환원 반응, 발색 반응, 발광 반응, 형광 반응 또는 이들의 조합인 원스텝 임뮤노어세이 키트.

## 청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 효소는 상기 처리 용액의 pH를 변화시키며,

상기 측정부는 상기 처리 용액의 pH 변화를 측정하는 원스텝 임뮤노어세이 키트.

## 청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 측정부는 채널층 및 상기 채널층과 접하는 표면 절연막을 포함하며, 상기 표면 절연막이 상기 제 2 항체 표지 비드가 포함된 용액 내의 수소 이온 또는 수산화 이온과 반응하여 상기 채널층의 컨덕턴스를 변화시키는 트랜지스터 센서인 원스텝 임뮤노어세이 키트.

## 청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 측정부는 유리 전극, 반도체 전극 또는 리트머스 시험지, pH 측정 용액 또는 이들의 조합을 포함하는 원스텝 임뮤노어세이 키트.

## 청구항 11

제 9 항에 있어서,

상기 표면 절연막은 이산화 규소( $\text{SiO}_2$ )를 포함하는 원스텝 임뮤노어세이 키트.

## 청구항 12

분석 대상물 내의 타겟 항원의 식별 또는 농도를 분석하기 위한 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법으로서,

상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 1 항체 및 상기 제 1 항체를 고정 지지하는 제 1 비드(bead)를 포함하고, 상기 반응 영역에 유지되는 제 1 항체 표지 비드를 결합시키는 단계;

상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 2 항체, 상기 제 2 항체를 고정 지지하는 제 2 비드 및 기질을 분해하는 효소를 포함하고, 상기 반응 영역 내에서 상기 제 1 항체 표지 비드와 함께 상기 타겟 항원과 결합되는 경우에는 복합 반응물을 형성하여 상기 반응 영역 내에 유지되고, 상기 타겟 항원과 결합되지 않는 경우에는 상기 반응 영역으로부터 분리되어 측정부로 전달되는 제 2 항체 표지 비드를 결합시키는 단계; 및

상기 반응 영역을 제공하고, 상기 제 1 항체 표지 비드 및 상기 제 2 항체 표지 비드를 포함하는 반응 용기 내의 상기 복합 반응물을 형성하지 않은 잔량의 제 2 항체 표지 비드 중 적어도 일부를 포함하는 처리 용액을 선택적으로 획득하여 효소의 기질 분해 반응을 측정하는 단계를 포함하고,

상기 반응 용기에서 상기 분석 대상물, 상기 제 1 항체 표지 비드 또는 상기 제 2 항체 표지 비드가 혼합되어 반응하고,

상기 제 2 비드는 상기 제 1 비드 보다 작은 크기를 갖고, 상기 효소는 상기 제 1 항체 표지 비드 및 상기 제 2 항체 표지 비드 중에서 상기 제 2 항체 표지 비드에만 결합되며,

상기 원스텝 임뮤노어세이 키트는 상기 반응 용기에 결합 가능하며 필터를 포함하는 리드부를 더 포함하고, 상기 필터의 투과 직경은 상기 제 1 비드의 평균 직경보다 작고 상기 제 2 비드의 평균 직경보다 크며,

상기 제 1 항체 표지 비드는 상기 반응 용기 내에 유지되고, 상기 복합 반응물을 형성하지 않은 상기 제 2 항체

표지 비드를 포함하는 상기 처리 용액은 상기 필터를 통과하도록 구성되며, 상기 분석 대상물에 포함된 상기 타겟 항원의 양이 증가할수록 상기 처리 용액에 포함된 상기 제 2 항체 표지 비드의 양은 감소하고,

상기 제 2 비드가 포함된 상기 처리 용액을 이용해서 상기 기질 분해 반응을 측정하도록 구성된 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법.

#### 청구항 13

삭제

#### 청구항 14

제 12 항에 있어서,

상기 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법은

상기 처리 용액에 상기 기질을 제공하는 단계를 더 포함하는 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법.

#### 청구항 15

제 12항에 있어서,

상기 타겟 항원의 양이 많을수록 상기 효소의 기질 분해 반응은 감소하는 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법.

#### 청구항 16

제 12 항에 있어서,

상기 기질 분해 반응은 산화-환원 반응, 발색 반응, 발광 반응, 형광 반응 또는 이들의 조합인 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법.

#### 청구항 17

제 12 항에 있어서,

상기 효소는 상기 처리 용액의 pH를 변화시키는 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 센서 기술에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는, 원스텝 임뮤노어세이 키트 및 이를 이용한 측정 방법에 관한 것이다.

#### 배경 기술

[0002] 바이오 기술 분야에서 다양한 면역진단검사 또는 환경모니터링과 같은 바이오 검사를 위하여 임뮤노어세이가 사용되고 있다. 상기 임뮤노어세이는 항원-항체 반응의 특이성을 이용하여 특정 물질의 정량적 분석이 가능하며, 다른 분석방법에 비하여 높은 민감도를 갖는 이점을 갖는다.

[0003] 상기 임뮤노어세이는 암 마커, 감염성 질환, 갑상선 기능, 빈혈, 알레르기, 임신, 약물남용 또는 통풍 진단과 같은 다양한 진단에 이용될 수 있다. 상기 임뮤노어세이에서, 항원과 항체를 반응시키고, 반응하지 않은 항원 또는 항체를 제거하기 위하여 용액의 주입 단계 또는 세척 단계와 같은 다수의 처리 단계가 요구된다. 상기 다수의 처리 단계가 요구되는 종래의 임뮤노어세이는 사용 용이성이 저하되고, 전문가가 아닌 일반인이 이용하기는 어려운 한계가 있다.

[0004] 또한, 종래의 임뮤노어세이는 타겟 물질의 정량적 분석을 위하여 광학적, 전기적, 역학적 또는 화학적 반응을 측정하기 위한 측정 장비가 요구된다. 예를 들면, 전위차 센서, 발색 측정 센서 또는 질량 센서가 요구된다. 상기 측정 장비가 요구되는 경우, 상기 측정 장비가 구비된 실험실과 같은 공간으로 측정 장소가 한정되고, 상기 측정 장비를 사용할 수 있는 전문가에 의해 수행되어야만 하는 문제가 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0005] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는, 처리 과정이 간소화되어 사용 용이성이 향상되고, 실험실 외부에서도 사용 가능하며, 소형화된 원스텝 임뮤노어세이 키트를 제공하는 것이다.
- [0006] 본 발명이 이루고자 하는 다른 기술적 과제는, 전술한 이점을 갖고, 타겟 물질에 대한 민감도가 향상되어 분석 신뢰도 및 정확도가 향상된 원스텝 임뮤노어세이 키트를 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

- [0007] 상기의 과제를 해결하기위 한 본 발명의 일 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트는 분석 대상물 내의 타겟 항원의 식별 또는 농도를 분석하기 위해, 상기 분석 대상물이 인입되는 인입부를 포함하고, 항원-항체 반응의 반응 영역을 포함하는 원스텝 임뮤노어세이 키트로서, 상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 1 항체 및 상기 제 1 항체를 고정 지지하는 제 1 비드(bead)를 포함하고, 상기 반응 영역에 유지되는 제 1 항체 표지 비드, 상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 2 항체, 상기 제 2 항체를 고정 지지하는 제 2 비드 및 기질을 분해하는 효소를 포함하고, 상기 반응 영역 내에서 상기 제 1 항체 표지 비드와 함께 상기 타겟 항원과 결합되는 경우에는 복합 반응물을 형성하여 상기 반응 영역 내에 유지되고, 상기 타겟 항원과 결합되지 않는 경우에는 상기 반응 영역으로부터 분리되어 측정부로 전달되는 제 2 항체 표지 비드 및 상기 복합 반응물을 형성하지 않은 잔량의 제 2 항체 표지 비드 중 적어도 일부를 포함하는 처리 용액을 선택적으로 획득하여 효소의 기질 분해 반응을 측정하는 측정부를 포함할 수 있다.
- [0008] 일 실시예에서, 상기 원스텝 임뮤노어세이 키트는 상기 반응 영역을 제공하는 반응 용기 및 상기 반응 용기에 결합 가능하며, 필터를 포함하는 리드부를 더 포함하며, 상기 제 1 항체 표지 비드는 상기 반응 용기 내에 유지되고, 상기 처리 용액은 상기 필터를 통과할 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 필터의 투과 직경은 상기 제 1 비드의 평균 직경보다 작고, 상기 제 2 비드의 평균 직경보다 클 수 있다. 또 다른 실시예에서, 상기 반응 용기는 상기 제 1 항체 표지 비드 및 상기 제 2 항체 표지 비드를 포함할 수 있다.
- [0009] 일 실시예에서, 상기 제 2 비드의 평균 직경은 5 nm 내지 100 nm의 범위 내일 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 제 1 비드의 평균 직경은 5  $\mu$ m 내지 50  $\mu$ m의 범위 내일 수 있다.
- [0010] 일 실시예에서, 상기 기질 분해 반응은 산화-환원 반응, 발색 반응, 발광 반응, 형광 반응 또는 이들의 조합일 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 효소는 상기 처리 용액의 pH를 변화시키며, 상기 측정부는 상기 처리 용액의 pH 변화를 측정할 수 있다.
- [0011] 일 실시예에서, 상기 측정부는 채널층 및 상기 채널층과 접하는 표면 절연막을 포함하며, 상기 표면 절연막이 상기 제 2 항체 표지 비드가 포함된 용액 내의 수소 이온 또는 수산화 이온과 반응하여 상기 채널층의 컨덕턴스를 변화시키는 트랜지스터 센서일 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 측정부는 유리 전극, 반도체 전극 또는 리트머스 시험지, pH 측정 용액 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 또 다른 실시예에서, 상기 표면 절연막은 이산화 규소( $\text{SiO}_2$ )를 포함할 수 있다.
- [0012] 상기의 과제를 해결하기위 한 본 발명의 일 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법은 상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 1 항체 및 상기 제 1 항체를 고정 지지하는 제 1 비드(bead)를 포함하고, 상기 반응 영역에 유지되는 제 1 항체 표지 비드를 결합시키는 단계, 상기 타겟 항원과 특이적으로 반응하는 제 2 항체, 상기 제 2 항체를 고정 지지하는 제 2 비드 및 기질을 분해하는 효소를 포함하고, 상기 반응 영역 내에서 상기 제 1 항체 표지 비드와 함께 상기 타겟 항원과 결합되는 경우에는 복합 반응물을 형성하여 상기 반응 영역 내에 유지되고, 상기 타겟 항원과 결합되지 않는 경우에는 상기 반응 영역으로부터 분리되어 측정부로 전달되는 제 2 항체 표지 비드를 결합시키는 단계 및 상기 복합 반응물을 형성하지 않은 잔량의 제 2 항체 표지 비드 중 적어도 일부를 포함하는 처리 용액을 선택적으로 획득하여 효소의 기질 분해 반응을 측정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0013] 일 실시예에서, 상기 원스텝 임뮤노어세이 키트는 상기 분석 대상물, 제 1 항체 또는 제 2 항체가 혼합되어 반응하는 반응 용기 및 상기 반응 용기에 결합 가능하며, 필터를 포함하는 리드부를 더 포함하며, 상기 효소의 기질 분해 반응을 측정하는 단계에서, 상기 제 1 항체 표지 비드는 상기 반응 용기 내에 고정되고, 상기 처리 용액은 상기 필터를 통과하는 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용할 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 원스텝 임뮤

노어세이 키트를 이용한 측정 방법은 상기 처리 용액에 상기 기질을 제공하는 단계를 더 포함하는 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용할 수 있다.

- [0014] 일 실시예에서, 상기 타겟 항원의 양이 많을수록 상기 효소의 기질 분해 반응은 감소할 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 기질 분해 반응은 산화-환원 반응, 발색 반응, 발광 반응, 형광 반응 또는 이들의 조합일 수 있다. 또 다른 실시예에서, 상기 효소는 상기 처리 용액의 pH를 변화시킬 수 있다.

### 발명의 효과

- [0015] 본 발명의 일 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트는, 항원과 특이적으로 반응하는 제 1 항체 및 상기 제 1 항체와 결합된 제 1 비드를 포함하는 제 1 항체 표지 비드 및/또는 상기 항원과 특이적으로 반응하는 제 2 항체, 상기 제 2 항체와 결합된 제 2 비드 및 상기 제 2 비드에 결합되고 기질을 분해하는 효소를 포함하는 제 2 항체 표지 비드를 항원과 특이적으로 반응시켜 항원과 결합하지 않은 제 2 항체 표지 비드를 포함하는 처리 용액을 선택적으로 획득함으로써, 복잡한 처리 과정을 거치지 않고 분석 대상물을 처리하여 효소의 기질 분해 반응을 발생시킬 수 있고, 사용 용이성이 향상되며, 소형화가 가능한 이점이 있다.
- [0016] 또한, 기질 분해 반응을 측정부에서 측정함으로써, 별도의 측정 장비 없이도 분석이 가능한 이점이 있다.
- [0017] 본 발명의 다른 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법은, 전술한 이점을 갖고, 신속하게 수행 가능하고, 정확도 및 신뢰도 높은 분석이 가능한 이점이 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0018] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트를 나타낸 도면이다.
- 도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따른 제 1 항체 표지 비드와 제 2 항체 표지 비드를 나타낸 도면이고, 도 2b는 다른 실시예에 따른 제 1 항체 표지 비드와 제 2 항체 표지 비드를 나타낸 도면이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 반응 용기 및 리드부를 나타낸 도면이다.
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 측정부의 단면도이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용한 측정 방법의 흐름도이다.
- 도 6a는 본 발명의 일 실시예에 따른 타겟 항원의 농도에 따른 발색 반응의 크기를 분석한 그래프이고, 도 6b는 본 발명의 다른 실시예에 따른 타겟 항원의 농도에 따른 발색 반응의 크기를 분석한 그래프이다.
- 도 7a는 본 발명의 다양한 실시예에 따른 다른 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용하여 각 분석 대상물에 따른 처리 용액의 pH를 측정한 그래프이다.
- 도 8a 및 8b는 본 발명의 다양한 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트를 이용하여 각 분석 대상물에 따른 처리 용액의 pH를 측정한 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다.
- [0020] 본 발명의 실시예들은 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 본 발명을 더욱 완전하게 설명하기 위하여 제공되는 것이며, 하기 실시예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 오히려, 이들 실시예는 본 개시를 더욱 충실하고 완전하게 하고, 당업자에게 본 발명의 사상을 완전하게 전달하기 위하여 제공되는 것이다.
- [0021] 도면에서 동일 부호는 동일한 요소를 지칭한다. 또한, 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 해당 열거된 항목 중 어느 하나 및 하나 이상의 모든 조합을 포함한다.
- [0022] 본 명세서에서 사용된 용어는 실시예를 설명하기 위하여 사용되며, 본 발명의 범위를 제한하기 위한 것이 아니다. 또한, 본 명세서에서 단수로 기재되어 있다 하더라도, 문맥상 단수를 분명히 지적하는 것이 아니라면, 복수의 형태를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 "포함한다(comprise)" 및/또는 "포함하는(comprising)"이란 용어는 언급한 형상들, 숫자, 단계, 동작, 부재, 요소 및/또는 이들 그룹의 존재를 특정하는 것이며, 다른 형상, 숫자, 동작, 부재, 요소 및/또는 그룹들의 존재 또는 부가를 배제하는 것이 아니다.



- [0023] 본 명세서에서 기관 또는 다른 층 "상에(on)" 형성된 층에 대한 언급은 상기 기관 또는 다른 층의 바로 위에 형성된 층을 지칭하거나, 상기 기관 또는 다른 층 상에 형성된 중간 층 또는 중간 층들 상에 형성된 층을 지칭할 수도 있다. 또한, 당해 기술 분야에서 숙련된 자들에게 있어서, 다른 형상에 "인접하여(adjacent)" 배치된 구조 또는 형상은 상기 인접하는 형상에 중첩되거나 하부에 배치되는 부분을 가질 수도 있다.
- [0024] 본 명세서에서, "아래로(below)", "위로(above)", "상부의(upper)", "하부의(lower)", "수평의(horizontal)" 또는 "수직의(vertical)"와 같은 상대적 용어들은, 도면들 상에 도시된 바와 같이, 일 구성 부재, 층 또는 영역들이 다른 구성 부재, 층 또는 영역과 갖는 관계를 기술하기 위하여 사용될 수 있다. 이들 용어들은 도면들에 표시된 방향뿐만 아니라 소자의 다른 방향들도 포괄하는 것임을 이해하여야 한다.
- [0025] 용어 "항체"에는 항체, 항체 유도체 또는 이의 단편이 포함될 수 있고, 항체에 관한 상세한 설명은 본 발명의 항체 선별 방법에도 적용된다. 항체는 상기 단편들 중 폴리펩타이드와 같은 항체의 등가물 또는 항체 동족체들은 Fc 영역, 면역글로불린 결합 도메인, 결합 도메인을 모방하는 펩타이드, Fc 영역에 상동성인 영역 또는 적어도 이의 일부를 포함한다. 또한, 항체는 다른 폴리펩타이드에 융합된 면역글로불린 결합 도메인을 포함하는 키메라 분자 또는 그의 등가물을 포함할 수 있다. 상기 항체들은 온전한(intact) 면역글로불린 분자일 수 있고, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fc 및 F(v) 및 N-글리칸 구조 및 파라토프와 같은 상기 항체의 구성 부분들 및 상기 구성 부분들 중 적어도 일부를 포함할 수도 있다.
- [0026] 상기 항체는 혈청의 기본 구성요소이며, 상기 항체들, 면역글로불린분자들 또는 이의 단편들의 집합체일 수 있고, 항체 또는 면역글로불린의 단일 분자일 수 있다. 상기 항체 분자는 항원 또는 상기 항원의 에피토프와 같은 특이적인 항원 결정기에 결합되거나 상기 항원 결정기와 반응함으로써 면역학적 이펙터 메카니즘을 유도할 수 있다. 상기 항체는 단일특이(monospecific)적일 수 있으며, 상기 항체들의 조성물은 동일한 항체들로 구성되어 모노클로날일 수 있고, 동일한 항원의 다른 에피토프들 또는 다른 항원들의 에피토프들과 반응하는 다른 종류의 항체들을 포함하여 폴리클로날일 수 있다. 각 항체는 상기 항체의 대응하는 항원에 대한 특이적인 결합을 가능케 해주는 독특한 구조를 가질 수 모든 천연 항체 분자들은 2개의 동일한 경쇄와 2개의 동일한 중쇄라는 전체적으로 동일한 기본 구조를 가질 수 있다.
- [0027] 이하에서, 본 발명의 실시예들은 본 발명의 이상적인 실시예들(및 중간 구조들)을 개략적으로 도시하는 단면도들을 참조하여 설명될 것이다. 이들 도면들에 있어서, 예를 들면, 부재들의 크기와 형상은 설명의 편의와 명확성을 위하여 과장될 수 있으며, 실제 구현시, 도시된 형상의 변형들이 예상될 수 있다. 따라서, 본 발명의 실시예는 본 명세서에 도시된 영역의 특정 형상에 제한된 것으로 해석되어서는 아니 된다. 또한, 도면의 부재들의 참조 부호는 도면 전체에 걸쳐 동일한 부재를 지칭한다.
- [0028] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)를 나타낸 도면이다.
- [0029] 도 1을 참조하면, 일 실시예에서, 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)는 분석 대상물 내의 타겟 항원(20)의 식별 또는 농도를 분석할 수 있다. 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)는 제 1 항체 표지 비드(110), 제 2 항체 표지 비드(120) 및 효소(123)의 기질 분해 반응을 측정하는 측정부(130)를 포함할 수 있다. 제 1 항체 표지 비드(110)는 제 1 항체(111) 및 제 1 항체(111)를 고정 지지하는 제 1 비드(bead)(112)를 포함할 수 있다. 제 1 항체는 타겟 항원(20)과 특이적 또는 선택적으로 반응할 수 있다. 제 1 항체가 타겟 항원(20)과 특이적으로 반응하여 결합하여 제 1 항체 표지 비드(110)는 타겟 항원(20)과 결합될 수 있다. 제 1 비드(112)에 제 1 항체(111)를 고정시키는 반응 및/또는 제 2 비드(122)에 제 2 항체(121)를 고정시키는 반응에는 여하의 공지 기술들이 참조될 수 있다.
- [0030] 일 실시예에서, 제 1 항체 표지 비드(110)는 반응 영역(10) 내에 유지될 수 있다. 예를 들면, 반응 영역(10) 내의 반응물이 외부로 추출되는 개구부의 직경보다 제 1 항체 표지 비드(110)의 직경이 더 클 수 있다. 또는, 제 1 항체 표지 비드(110) 및/또는 제 1 비드(112)는 반응 영역(10) 내에 고정될 수 있다. 예를 들면, 반응 영역(10) 내의 고체 지지체에 고정될 수 있다. 전술한 예시들은 비제한적인 예로서, 제 1 항체 표지 비드(110)가 반응 영역(10) 외부로 유출되지 않는 다양한 공지 기술들이 참조될 수 있다.
- [0031] 일 실시예에서, 제 2 항체 표지 비드(120)는 제 2 항체(121), 제 2 항체(121)를 고정 지지하는 제 2 비드(bead)(122) 및 효소(123)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 제 2 항체(121)는 제 2 비드(122)와 결합되고, 효소(123)는 제 2 항체(121)에 결합되거나, 제 2 비드(122)에 결합될 수 있다. 바람직하게, 효소(123)는 제 2 비드(122)에 결합될 수 있다. 일 실시예에서, 효소(123)는 제 2 항체(121)의 Fc 영역에 공유결합에 의하여 결합될 수 있다.



- [0032] 일 실시예에서, 제 2 항체(121)는 타겟 항원(20)과 특이적 또는 선택적으로 반응할 수 있다. 제 2 항체(121)는 제 1 항체(111)와 동일한 항체이거나, 다른 종류의 항체일 수도 있다.
- [0033] 일 실시예에서, 제 1 항체가 타겟 항원(20)과 결합되고, 제 2 항체(121)가 타겟 항원(20)과 결합되는 경우, 도 1에 도시된 것과 같이, 제 1 항체 표지 비드(110)가 타겟 항원(20)과 결합되고, 제 2 항체 표지 비드(120)도 타겟 항원(20)과 결합되어 타겟 항원(20)이 제 1 항체 표지 비드(110) 및 제 2 항체 표지 비드(120)와 샌드위치 형태의 복합 반응물(40)을 형성할 수 있다. 복합 반응물(40)의 샌드위치 형태는 비제한적 예시이며, 제 1 항체 표지 비드(110), 제 2 항체 표지 비드(120) 및 타겟 항원(20)의 결합체는 다양한 형태를 가질 수 있다.
- [0034] 다른 실시예에서, 타겟 항원(20)에는 1 개의 제 1 항체 표지 비드(110)와 2 개 이상의 제 2 항체 표지 비드(120)가 결합될 수 있다. 또 다른 실시예에서, 타겟 항원(20)에는 1 개의 제 2 항체 표지 비드(120)와 2 개 이상의 제 2 항체 표지 비드(120)가 결합될 수 있다. 타겟 항원(20)과 제 1 항체 표지 비드(110) 또는 제 2 항체 표지 비드(120)의 결합 비 또는 결합 형태는 다양하게 적용될 수 있다.
- [0035] 도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따른 제 1 항체 표지 비드(110)와 제 2 항체 표지 비드(120)를 나타낸 도면이고, 도 2b는 다른 실시예에 따른 제 1 항체 표지 비드(110)와 제 2 항체 표지 비드(120)를 나타낸 도면이다.
- [0036] 도 2a를 참조하면, 일 실시예에서, 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)는 분석 대상물이 인입되는 인입부를 갖는 반응 영역(10)을 포함할 수 있다. 상기 인입부는 반응 영역(10)으로부터 처리 용액(30)이 추출되는 추출부(10c)의 반대 측 말단(10a)에 형성되어 상기 인입부로부터 인입되는 분석 대상물이 반대 측의 추출부(10c)를 통해 측정부(130)로 전달될 수 있다. 또는, 인입부는 추출부(10c)와 동일한 방향의 말단에 형성될 수도 있다. 이 경우, 인입부로 분석 대상물이 인입되고 추출부(10c)를 포함하는 리드부를 반응 영역(10), 예를 들면 한쪽이 막혀 있는 반응 용기에 결합시킬 수 있다.
- [0037] 일 실시예에서, 반응 영역(10)에서 항원-항체 반응이 일어날 수 있다. 예를 들면, 반응 영역(10) 내에서 분석 대상물에 제 1 항체 표지 비드(110) 및/또는 제 2 항체 표지 비드(120)가 제공되어 제 1 항체와 타겟 항원(20)의 특이적 결합 반응 또는 제 2 항체(121)와 타겟 항원(20)의 특이적 결합 반응이 일어나는 영역일 수 있다. 예를 들면, 반응 영역(10)은 실린더, 반응 용기, 셀, 웰(well), 플라스크, 비커, 스트립(strip) 또는 유체가 흐르는 유로일 수 있다. 반응 영역(10)은 항원-항체 반응이 일어날 수 있는 모든 종류의 영역이 적용될 수 있으며, 전술한 예시들은 본 발명을 한정하지 않는다.
- [0038] 일 실시예에서, 제 2 비드(122)는 항원과 결합되지 않는 경우 반응 영역(10)으로부터 분리될 수 있다. 도 2a는 분석 대상물이 타겟 항원(20)을 포함하지 않는 경우를 도시한다. 분석 대상물에 타겟 항원(20)이 포함되지 않는 경우, 제 1 항체 표지 비드(110) 및 제 2 항체 표지 비드(120)는 타겟 항원(20)과 결합되지 않고, 제 1 항체 표지 비드(110)와 제 2 항체 표지 비드(120)는 복합 반응물(40)을 형성하지 않으므로 각각 개별적으로 반응 영역(10) 내에 존재할 수 있다. 이후, 타겟 항원(20)과 결합되지 않고, 복합 반응물(40)을 형성하지 않은 잔량의 제 2 항체 표지 비드(120) 중 적어도 일부는 처리 용액(30)에 포함되어 측정부(130)로 전달될 수 있다.
- [0039] 일 실시예에서, 처리 용액(30)을 선택적으로 획득하는 경우, 제 1 비드(112)가 반응 영역(10)내에 유지되므로, 제 1 비드(112)를 포함하는 제 1 항체 표지 비드(110)는 반응 영역(10) 내에 잔류할 수 있다. 반면에, 제 2 항체 표지 비드(120)의 경우, 제 2 비드(122)는 반응 영역(10)으로부터 분리되기 때문에 제 2 항체 표지 비드(120)는 반응 영역(10)으로부터 제거되거나 반응 영역(10)으로부터 선택적으로 획득될 수 있다. 처리 용액(30)을 선택적으로 획득하는 방법에 관한 상세한 설명은 후술하기로 한다.
- [0040] 도 2b를 참조하면, 전술한 것과 같이, 분석 대상물이 타겟 항원(20)을 포함하는 경우에는 제 1 항체 표지 비드(110)의 제 1 항체가 타겟 항원(20)과 결합되고, 제 2 항체(121)가 타겟 항원(20)과 결합되어 제 1 항체 표지 비드(110)와 제 2 항체 표지 비드(120)와 타겟 항원(20)을 통해 복합 반응물(40)을 형성할 수 있다. 이 경우, 제 1 항체가 반응 영역(10)에 고정되므로, 제 2 항체 표지 비드(120)도 제 1 항체 표지 비드(110)와 함께 반응 영역(10)에 고정될 수 있다.
- [0041] 일 실시예에서, 처리 용액(30)은 복합 반응물(40)을 형성하지 않은 잔량의 제 2 항체 표지 비드(120)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 도 2a와 같이, 분석 대상물에 타겟 항원(20)이 포함되지 않는 경우, 처리 용액(30)에는 제 2 항체 표지 비드(120)가 포함될 수 있다. 도 2b와 같이, 분석 대상물에 타겟 항원(20)이 포함된 경우, 처리 용액(30)에는 제 2 항체 표지 비드(120)가 포함되지 않을 수 있다.

- [0042] 다른 실시예에서, 분석 대상물에 포함된 타겟 항원(20)의 양이 증가할수록 처리 용액(30)에 포함된 제 2 항체 표지 비드(120)의 양은 감소할 수 있다. 상기 타겟 항원(20)의 양은 분석 대상물 내의 타겟 항원(20)의 농도가 높거나, 분석 대상물의 용액 부피에 비하여 제 2 항체 표지 비드(120)가 포함된 용액의 양이 작은 경우일 수 있다. 상기 타겟 항원(20)의 양이 증가할수록 많은 양의 제 2 항체 표지 비드(120)가 제 1 항체 표지 비드(110)와 결합하여 반응 영역(10)에 고정되므로 처리 용액(30)에 포함되는 제 2 항체 표지 비드(120)의 양은 감소하게 된다. 본 발명의 실시예에 따르면, 처리 용액(30)에 포함된 제 2 항체 표지 비드(120)의 양을 측정함으로써, 분석 대상물에 타겟 항원(20)이 포함되어있는지 여부를 식별할 뿐만 아니라, 타겟 항원(20)을 정량할 수 있는 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)가 제공될 수 있다.
- [0043] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 반응 용기(140) 및 리드부(150)를 나타낸 도면이다.
- [0044] 도 3을 참조하면, 일 실시예에서, 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)는 반응 용기(140) 및 반응 용기(140)에 결합 가능한 리드부(150)를 더 포함할 수 있다. 반응 용기(140)는 제 1 항체(111) 또는 제 2 항체(121)가 혼합되어 반응하는 반응 영역(10)을 제공할 수 있다.
- [0045] 일 실시예에서, 리드부(150)는 분석 대상물, 제 1 항체 표지 비드(110) 및 제 2 항체 표지 비드(120)의 혼합 용액을 필터링할 수 있는 필터(151)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 제 1 항체 표지 비드(110)는 필터(151)를 통과하지 못해 반응 용기(140) 내부에 잔류하고, 제 2 항체 표지 비드(120)는 필터(151)를 통과하여 반응 용기(140) 외부로 배출될 수 있다. 일 실시예에서, 필터(151)의 투과 직경은 제 1 비드(112)의 평균 직경보다 작고, 제 2 비드(122)의 평균 직경보다 클 수 있다. 상기 투과 직경은 제 1 비드(112) 또는 제 2 비드(122)의 크기에 따라 적절히 조절될 수 있다.
- [0046] 일 실시예에서, 필터(151)는 멤브레인 필터 또는 시린지 필터일 수 있다. 예를 들면, 필터(151)는 정성 여과지, 크로마토그래피 필터, 유리섬유 필터, 석영섬유 필터(151), 폴리테트라플루오르에틸렌(PTFE) 필터 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 멤브레인 필터는 셀룰로오스 섬유, 유리 섬유, 석영 섬유, 플라스틱 섬유 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 필터(151)의 종류는 제 1 항체 표지 비드(110) 및/또는 제 2 항체 표지 비드(120)의 화학적 성질 또는 평균 직경에 따라 적절히 선택될 수 있다.
- [0047] 일 실시예에서, 반응 용기(140)는 제 1 항체 표지 비드(110) 및 제 2 항체 표지 비드(120)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 반응 용기(140) 내부에 제 1 항체 표지 비드(110) 및 제 2 항체 표지 비드(120)가 장착된 상태로 제공될 수 있다. 본 발명의 실시예에 따르면, 제 1 항체 표지 비드(110) 및/또는 제 2 항체 표지 비드(120)가 반응 용기(140) 내부에 구비되어 제공됨으로써, 제 1 항체 표지 비드(110) 및/또는 제 2 항체 표지 비드(120)를 처리하는 추가적인 처리 단계 없이도, 분석 대상물을 반응 용기(140)에 제공하는 원스텝(one-step)에 의하여 신속한 임뮤노어세이 분석이 가능하고, 간소화된 구성으로 소형화가 가능하며, 휴대성이 향상된 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)가 제공될 수 있다.
- [0048] 다시 도 1a를 참조하면, 제 1 비드(112)의 평균 직경은 5  $\mu\text{m}$  내지 50  $\mu\text{m}$ 의 범위 내일 수 있다. 상기 평균 직경이 5  $\mu\text{m}$  미만인 경우에는 제 1 비드(112)보다 작은 제 2 비드(122)를 제조하는데 어려움이 있고, 제 1 비드(112)보다 작은 크기의 제 2 비드(122)를 제조하더라도, 제 2 비드(122)에 제 2 항체(121) 및/또는 효소(123)를 결합시키는 것이 불가능할 수 있다. 또한, 상기 평균 직경이 50  $\mu\text{m}$ 를 초과하는 경우, 제 1 항체 표지 비드(110)의 크기 및 무게가 증가하며, 제 1 항체의 특이적 반응성에 의하여 분석 대상물 내 타겟 항원(20)을 정량하기 충분한 양의 제 1 항체 표지 비드(110)를 구비하는 경우, 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)의 소형화에 장애가 될 수 있다.
- [0049] 일 실시예에서, 제 2 비드(122)의 평균 직경은 5 nm 내지 100 nm의 범위 내일 수 있다. 상기 평균 직경이 5 nm 미만인 경우, 제 2 비드(122) 상에 충분한 표면적이 확보되지 않아 제 2 항체(121) 및/또는 효소(123)가 결합되기 어렵다. 상기 평균 직경이 100 nm를 초과하는 경우, 제 1 항체 표지 비드(110)와 크기 차이가 충분하지 않아 제 2 항체 표지 비드(120) 중 일부가 제 1 항체 표지 비드(110)와 함께 반응 영역(10)에 잔류할 수 있다.
- [0050] 일 실시예에서, 제 1 비드(112) 또는 제 2 비드(122)는 고분자 비드(bead) 또는 금속 비드(bead)를 포함할 수 있다. 예를 들면, 제 1 비드(112) 또는 제 2 비드(122)는 금(Au) 나노 비드 또는 폴리스티렌계 비드일 수 있다. 전술한 물질들은 비제한적 예시이며, 본원 발명을 한정하지 않는다.
- [0051] 일 실시예에서, 제 2 항체(121)에 결합된 효소(123)는 기질을 분해하여 산화-환원 반응, 발색 반응, 발광 반응, 형광 반응 또는 이들의 조합을 발생시킬 수 있다. 예를 들면, 효소(123)는 홀스래디시 퍼옥시다아제(horseradish peroxidase; HRP)일 수 있고, 상기 기질은 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(3,3',5,5'-

tetramethylbenzidine; TMB)일 수 있고, 과산화수소와 같은 과산화물을 함께 제공할 수 있다. 다른 실시예에서, 상기 기질은 상기 HRP 및 상기 TMB와 함께 상기 과산화수소를 발생시키기 위한 글루코스 산화 효소를 더 포함할 수도 있다. 이 경우, 상기 과산화물은 환원되고, 상기 TMB는 3,3', 5,5'-테트라메틸벤지딘아민으로 산화되며 수소 공여체로 작용한다. 상기 TMB가 산화 또는 환원되는 경우, 색변화가 발생하여 발생 반응을 발생시킬 수 있다.

[0052] 다른 실시예에서, 효소(123)가 상기 홀스래디시 퍼옥시다아제(horseradish peroxidase; HRP)인 경우, 상기 기질은 0-페닐렌디아민(o-Phenylenediamine; oPD), 2,2-Azino-di(3-ethyl benzothiazol)-6-sulfonate(ABTS), 3-(p-hydroxyphenyl) propionic acid(HPPA), 루미놀(luminol) 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 상기 기질에는 과산화수소와 같은 과산화 화합물이 추가적으로 제공될 수도 있다. 선택적으로는, 상기 과산화 화합물을 발생시키기 위하여 글루코스 산화 효소를 제공할 수 있다. 전술한 물질들은 비제한적인 예시로서, 본 발명을 제한하지 않으며, 효소(123)와 반응하는 다양한 종류의 기질들에 대한 공지 기술들이 적용될 수 있다.

[0053] 또 다른 실시예에서, 효소(123)는 알칼라인 포스파타아제(Alkaline phosphatase; AP)일 수 있고, 상기 기질은 파라-니트로페닐인산염(p-nitrophenyl phosphate; pNPP), 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-galactopyranoside(MUP), 브로모클로로인돌일 포스페이트(bromo-chloroindoxyl phosphate; BCIP)일 수 있다. 또 다른 실시예에서, 효소(123)는  $\beta$ -갈락토시다아제( $\beta$ -galactosidase)일 수 있고, 상기 기질은 4-methylumbelliferyl phosphate(oNPG) 또는 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-galactopyranoside(MUP)일 수 있다.

[0054] 일 실시예에서, 효소(123)는 글루코스 산화 효소를 포함하고, 상기 기질은 상기 HRP 및 상기 TMB를 포함할 수도 있다. 다른 실시예에서, 효소(123)는 글루코스 산화 효소를 포함하고, 상기 기질은 비제한적인 예시로서, 상기 HRP 및 상기 HRP와 반응하는 상기 oPD, 상기 ABTS, 상기 HPPA, 상기 루미놀 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 전술한 예시들은 본원 발명을 한정하는 것은 아니다.

[0055] 일 실시예에서, 효소(123)의 기질 분해 반응은 발색 반응일 수 있다. 예를 들면, 효소(123)가 상기 HRP이고, 상기 기질이 상기 ABTS, 상기 oPD 또는 상기 TMB인 경우, 효소(123)가 상기 AP이고, 상기 기질이 pNPP 또는 상기 BCIP인 경우 또는 상기 효소(123)가 상기  $\beta$ -갈락토시다아제이고, 상기 기질이 상기 oNPG인 경우에 상기 효소(123)의 기질 분해 반응은 발색 반응일 수 있다. 본 발명의 실시예에 따르면, 효소(123)의 기질 분해에 의하여 발색 반응이 나타남으로써, 반응이 종료된 이후에도 색을 띠는 최종 산물이 비교적 오랜 시간 안정적으로 유지될 수 있고, 시각적으로 신속하게 색 변화를 인지할 수 있으며, 상대적으로 저비용의 광도계로 발색 반응을 정량할 수 있는 이점이 있다.

[0056] 다른 실시예에서, 효소(123)의 기질 분해 반응은 형광 반응일 수 있다. 예를 들면, 효소(123)가 상기 HRP이고, 상기 기질이 상기 HPPA인 경우, 상기 효소(123)가 상기 AP이고, 상기 기질이 상기 MUP인 경우, 상기 효소(123)가  $\beta$ -갈락토시다아제이고, 상기 기질이 상기 MUG인 경우에 상기 효소(123)의 기질 분해 반응은 형광 반응일 수 있다. 또 다른 실시예에서, 상기 효소(123)가 HRP이고, 상기 기질이 Amplex Red 형광 물질인 경우, 상기 Amplex Red는 과산화 화합물 및 상기 HRP에 의해 산화되어 레조루핀(resorufin)을 발생시킬 수 있다. 상기 레조루핀은 붉은 형광을 발생시킬 수 있다.

[0057] 또 다른 실시예에서, 효소(123)의 기질 분해 반응은 발광 반응일 수 있다. 예를 들면, 효소(123)가 상기 HRP이고, 상기 기질이 루미놀(luminol)인 경우, 효소(123)의 기질 분해 반응은 발광 반응일 수 있다. 상기 루미놀은 산화제에 의하여 산화되는 경우, 푸른 광을 발생시킬 수 있다.

[0058] 본 발명의 실시예에 따르면, 효소(123)의 기질 분해 반응이 형광 반응 또는 발광 반응인 경우, 발색 반응에 비하여 측정 민감도를 수 배 향상시킬 수 있는 이점이 있다. 또한, 상기 형광 반응 또는 발광 반응은 발색 반응에 비하여 상대적으로 낮은 검출 한계를 가짐으로써, 검출을 위하여 적은 양의 시료만으로 높은 정확도의 타겟 항원(20) 검출이 가능하며, 고신뢰도의 분석이 가능한 이점이 있다.

[0059] 또 다른 실시예에서는, 효소(123)에 의한 상기 기질의 산화-환원 반응을 측정할 수도 있다. 예를 들면, 효소(123)가 상기 HRP이고, 상기 기질이 상기 TMB인 경우, 상기 TMB는 무색이고, 무색의 TMB가 산화되면 약 650nm 파장의 푸른색의 TMB가 생성되며, 상기 푸른색의 TMB가 산화되면 약 450 nm의 노란색의 TMB가 생성된다. 상기 푸른색의 TMB는 산성 조건에서 빠른 속도로 상기 노란색의 TMB로 산화될 수 있다. 상기 TMB의 산화-환원 반응 시에 발생하는 전기적 신호를 측정하여 용액 내의 상기 효소(123)를 식별 또는 정량할 수 있다. 본 발명의 실시예에 따르면, 상기 전기적 신호를 이용하여 처리 용액(30) 내의 효소(123)의 농도를 분석함으로써, 높은 측정 민감도 및 신뢰도로 분석이 가능한 이점이 있다.

- [0060] 일 실시예에서, 제 2 항체 표지 비드(120)의 효소(123)는 과산화 수소와 같은 과산화 화합물을 발생시키는 효소(123)이고, 상기 HRP는 상기 기질에 포함되어 제공될 수 있다. 예를 들어, 제 2 항체 표지 비드(120)에는 글루코스 산화 효소가 포함되고, 글루코스 산화 효소와 반응하는 기질은 글루코스 산화 효소에 의해 발생하는 과산화 화합물과 반응하는 상기 HRP를 포함하고, 상기 oPD, 상기 ABTS, 상기 HPPA, 상기 루미놀 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.
- [0061] 다른 실시예에서, 제 2 항체 표지 비드(120)의 효소(123)는 상기 HRP일 수 있고, 상기 과산화 화합물을 발생시키는 효소(123)는 기질로서 제공될 수 있다. 예를 들면, 제 2 항체 표지 비드(120)에는 상기 HRP가 포함되고, 상기 기질에 상기 글루코스 산화 효소가 포함되고, 상기 oPD, 상기 ABTS, 상기 HPPA, 상기 루미놀 또는 이들의 조합이 더 포함될 수 있다. 상기 글루코스 산화 효소는 예시일 뿐이며, 과산화 수소와 같은 과산화 화합물을 발생시킬 수 있는 다양한 종류의 물질들이 적용될 수 있다.
- [0062] 일 실시예에서, 효소(123)는 처리 용액(30)의 pH를 변화시킬 수 있다. 예를 들어, 효소(123)가 글루코스 산화 효소인 경우, 상기 글루코스 산화 효소는 처리 용액(30) 내의 포도당을 산화시켜 글루콘산(gluconic acid)를 생성할 수 있다. 상기 글루콘산은 처리 용액(30)의 pH를 낮출 수 있다. 다른 실시예에서, 효소(123)가 유레이스(urease)인 경우, 상기 유레이스는 요소와 반응하여 암모니아를 생성할 수 있다. 상기 암모니아에 의하여 처리 용액(30)의 pH는 상승할 수 있다. 전술한 효소(123)들은 비제한적 예시이며, 처리 용액(30)의 pH를 변화시킬 수 있는 다양한 종류의 효소(123) 또는 기질들이 적용될 수 있다.
- [0063] 일 실시예에서, 효소(123)는 처리 용액(30) 내의 물질과 반응하여 처리 용액(30)의 pH를 변화시킬 수 있다. 예를 들면, 분석 대상물이 생체로부터 채취한 혈액 또는 혈장인 경우, 분석 대상물로부터 추출된 처리 용액(30) 내에는 포도당, 아미노산 또는 요소와 같은 혈액 내 물질들이 포함될 수 있다. 효소(123)는 상기 혈액 내 물질들과 반응하여 수소 이온 또는 아미노산 이온을 발생시킬 수 있다. 본 발명의 실시예에 따르면, 효소(123)가 기존의 분석 대상물 또는 처리 용액(30) 내에 포함된 물질들과 반응함으로써, 처리 용액(30) 내의 효소(123)의 양을 분석하기 위하여 추가적으로 기질이 포함된 용액을 제공하는 단계가 생략될 수 있어 신속한 분석이 가능하고, 사용 용이성이 향상된 원소칩 임्यू노어세이 키트(100)가 제공될 수 있다.
- [0064] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 측정부(130a)의 단면도이다.
- [0065] 도 4를 참조하면, 일 실시예에서, 측정부(130a)는 채널층(132) 및 채널층(132)과 접하는 표면 절연막(133)을 포함할 수 있다. 채널층(132)은 적어도 하나 이상의 소스/드레인 전극(131)과 연결될 수 있다. 채널층(132)의 일 면에는 기판(136)이 제공되고, 상기 일 면의 반대 면 상에는 게이트 절연막인 표면 절연막(133)이 형성될 수 있다. 측정부(130)의 각 구성에 관한 상세한 설명은 이온 감응성 전계 효과 트랜지스터(ISFET)에 관한 여하의 공지 기술들을 참조할 수 있다.
- [0066] 일 실시예에서, 표면 절연막(133)은 제 2 항체 표지 비드(120)가 포함된 용액 내의 수소 이온 또는 수산화 이온과 반응하여 채널층(132)의 컨덕턴스를 변화시킬 수 있다. 예를 들어, 처리 용액(30) 내의 수소 이온 또는 수산화 이온이 표면 절연막(133) 상에 흡착되거나 표면 절연막(133)의 표면에 결합되면 표면 절연막(133)은 상기 수소 이온 또는 수산화 이온에 감응하여 표면 절연막(133)과 접하는 채널층(132)에 전계 효과를 미침으로써 채널층(132)의 컨덕턴스를 변화시킬 수 있다. 상기 컨덕턴스의 변화에 의하여 측정부(130)의 게이트 전압의 변화에 따른 소스-드레인 전류가 변하고, 이를 측정하여 처리 용액(30)의 pH를 측정할 수 있다.
- [0067] 일 실시예에서, 표면 절연막(133)의 문턱 전압( $V_{th}$ )은 처리 용액(30) 내의 pH에 따라 달라질 수 있다. 상기 pH의 변화량이 증가할수록 처리 용액(30) 내의 산 농도의 변화도 증가할 수 있다. 이에 따라, 측정부(130)는 게이트 전압 및 소스-드레인 전류를 측정하여 처리 용액(30)의 pH 변화를 측정하고, 상기 pH 변화에 의하여 처리 용액(30) 내의 효소(123)를 식별 또는 정량할 수 있다.
- [0068] 일 실시예에서, 표면 절연막(133)은 이온 감응형 절연막일 수 있다. 예를 들면, 상기 이온 감응형 절연막은 처리 용액(30) 내의 수산화 이온 또는 수소 이온과 반응할 수 있다. 일 실시예에서, 표면 절연막(133)은 고 유전율을 갖는 물질일 수 있다. 예를 들면, 탄탈륨 산화물( $Ta_2O_5$ ), 하프늄 산화물( $HfO_2$ ), 알루미늄 산화물( $Al_2O_3$ ), 바륨 티타늄 산화물( $BaTiO_3$ ), 스트론튬 티타늄 산화물( $SrTiO_3$ ), 실리콘 질화물( $Si_3N_4$ ) 또는 이들의 조합일 포함할 수 있다. 또는, 표면 절연막(133)은 전술한 물질들을 임의의 순서로 쌓은 적층체일 수 있다. 또 다른 실시예에서, 표면 절연막(133)은 이산화 규소( $SiO_2$ )를 포함할 수 있다. 예를 들면, 표면 절연막(133) 절연 층 및 상기 절연 층 상에 코팅된 상기 이산화 규소를 포함할 수 있다.



- [0069] 본 발명의 실시예에 따르면, 이온 감응형 전계 효과 트랜지스터를 이용하여 처리 용액(30) 내의 pH를 측정함으로써, 표면 절연막(133) 상에 항체를 결합시켜 상기 항체에 결합되는 항원의 전하량을 측정하는 경우에 상기 항체의 크기에 의하여 디바이 차폐(debye shielding) 효과에 의하여 상기 항원과 표면 절연막(133) 사이의 거리가 디바이 길이(debye length)를 초과하여 측정 감도가 떨어지는 것과 달리, 처리 용액(30)의 pH 변화를 높은 민감도로 분석할 수 있는 이점이 있다. 또한, 수소 이온 또는 수산화 이온이 표면 절연막(133) 상에 비교적 균일하게 분포하여 채널층(132)의 컨덕턴스의 국지적인 차이가 발생하는 것을 방지할 수 있다.
- [0070] 일 실시예에서, 측정부(130)는 처리 용액(30)에 접하는 참조 전극(135)을 더 포함할 수 있다. 참조 전극(135)에는 게이트 전압이 인가될 수 있다. 참조 전극(135)은 처리 용액(30)에 완전히 잠길 수 있다. 일 실시예에서, 참조 전극(135)은 표면 절연막(133)으로부터 소정 거리 이격될 수 있다. 다른 실시예에서, 참조 전극(135)은 표면 절연막(133)에 접할 수도 있다.
- [0071] 일 실시예에서, 측정부(130)는 전압 검출부(137) 및/또는 전류 검출부(138)를 더 포함할 수 있다. 전압 검출부(137)는 게이트 전압을 측정하고, 전류 검출부(138)는 소스-드레인 전류를 측정할 수 있다.
- [0072] 다시 도 1을 참조하면, 일 실시예에서, 측정부(130)는 발색 반응, 형광 반응, 화학 발광 반응 또는 표면 플라즈몬 공명을 측정하기 위한 광학 측정부(130)일 수 있다. 예를 들면, 시분할형광 면역분석법(time-resolved fluorescence immunoassay: TR-FIA)일 수 있다. 다른 실시예에서, 측정부(130)는 전위, 전류, 임피던스, 정전 용량, 전기전도도 측정 중 적어도 어느 하나 이상을 측정하기 위한 전기화학적 측정부(130)일 수 있다. 전술한 측정 기기들은 예시적인 것으로, 광학적, 화학적 또는 전기적인 효소(123)와 기질의 반응을 측정하기 위한 다양한 종류의 공지 기술들이 참조될 수 있다.
- [0073] 다른 실시예에서, 측정부(130)는 처리 용액(30)의 pH 변화를 측정하기 위한 유리 전극, 반도체 전극 또는 리트머스 시험지, pH 측정 용액 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. pH 변화를 측정하기 위한 측정 수단들은 처리 용액(30)의 pH 범위에 따라서 적절히 선택될 수 있다. 전술한 예시들은 비제한적인 예시이며, 용액의 pH 측정을 위한 모든 종류의 공지 기술들이 참조될 수 있다. 본 발명의 실시예에 따르면, 다양한 종류의 pH 측정 기기 또는 장비를 이용하여 처리 용액(30)의 pH를 측정함으로써, 측정 수단의 제한 없이 다양한 수단에 의한 타겟 항원(20)의 정량 및 분석이 가능할 수 있다.
- [0074] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)를 이용한 측정 방법의 흐름도이다.
- [0075] 일 실시예에서, 타겟 항원(20)과 특이적으로 반응하는 제 1 항체(111) 및 제 1 항체와 결합되고, 제 1 비드(112)를 포함하며, 반응 영역(10) 내에 유지되는 제 1 항체 표지 비드(110)를 제공하여 타겟 항원(20)과 제 1 항체 표지 비드(110)를 결합시킬 수 있다(S100). 분석 대상물에는 타겟 항원(20)이 포함될 수도 있고, 포함되지 않을 수도 있다. 분석 대상물은 생체로부터 채취된 혈액, 혈청 또는 혈장이거나, 면봉과 같은 도구를 이용하여 스왑(swab) 채취된 시료일 수 있다. 원스텝 임뮤노어세이 키트(100)를 이용한 측정 방법에 대한 상세한 설명은 도 1 내지 도 4에 대한 개시 사항들이 참조될 수 있다.
- [0076] 일 실시예에서, 분석 대상물이 액체 상태이거나, 용액 내에 존재하는 경우, 분석 대상물에 제 1 항체 표지 비드(110)를 제공할 수 있다. 다른 실시예에서, 제 1 항체 표지 비드(110)가 용액 내에 포함되어 제공되는 경우, 분석 대상물과 제 1 항체 표지 비드(110)가 포함된 용액을 혼합할 수 있다. 또 다른 실시예에서, 분석 대상물이 고체 상태인 경우, 제 1 항체 표지 비드(110)와 함께 혼합하여 혼합 용액을 제조할 수 있다. 또는, 제 1 항체 표지 비드(110)가 포함된 용액이 제공되는 경우, 상기 용액에 넣어 혼합할 수 있다. 일 실시예에서는, 제 1 항체와 타겟 항체의 반응성을 향상시키기 위한 인큐베이션 단계가 추가적으로 진행될 수 있다.
- [0077] 일 실시예에서, 타겟 항원(20)과 특이적으로 반응하는 제 2 항체(121), 제 2 항체(121)를 고정 지지하는 제 2 비드(122) 및 제 2 비드(122) 또는 기질을 분해하는 효소(123)를 포함하며, 반응 영역(10) 내에서 제 1 항체 표지 비드(110)와 함께 타겟 항원(20)과 결합되는 경우에는 복합 반응물(40)을 형성하여 반응 영역(10) 내에 유지되고, 타겟 항원(20)과 결합되지 않는 경우에는 반응 영역(10)으로부터 분리되어 측정부(130)로 전달되는 제 2 항체 표지 비드(120)를 제공하여 타겟 항원(20)과 제 2 항체 표지 비드(120)를 결합시킬 수 있다(S200). 분석 대상물과 제 2 항체 표지 비드(120)를 혼합하는 방법에 관한 상세한 설명은 모순되지 않는 범위 내에서 제 1 항체 표지 비드(110)에 관한 개시 사항들이 참조될 수 있다.
- [0078] 일 실시예에서, 분석 대상물과 제 1 항체 표지 비드(110)를 결합시키는 단계(S100)가 먼저 진행되고, 이후, 분석 대상물과 제 2 항체 표지 비드(120)를 결합시키는 단계(S200)가 수행될 수 있다. 다른 실시예에서는, 분석 대상물과 제 2 항체 표지 비드(120)를 결합시키는 단계(S200)가 먼저 수행되고, 이후, 분석 대상물과 제 1 항체

표지 비드(110)를 결합시키는 단계(S100)가 수행될 수 있다. 또 다른 실시예에서는, 제 1 항체 표지 비드(110) 및/또는 제 2 항체 표지 비드(120)는 소분되어 수 회에 걸쳐 분석 대상물에 제공될 수 있고, 소분된 제 1 항체 표지 비드(110) 및/또는 제 2 항체 표지 비드(120)는 교번하여 제공될 수도 있다. 제 1 항체 표지 비드(110)를 결합시키는 단계(S100) 및 제 2 항체 표지 비드(120)를 결합시키는 단계(S200)의 순서는 특정되지 않으며, 전술한 예시들은 본 발명을 제한하지 않는다.

[0079] 일 실시예에서, 제 1 항체 표지 비드(110)를 결합시키는 단계(S100) 및 분석 대상물과 제 2 항체 표지 비드(120)를 결합시키는 단계(S200)는 동시에 진행될 수 있다. 예를 들면, 전술한 것과 같이, 반응 용기(140) 내에 제 1 항체 표지 비드(110) 및 제 2 항체 표지 비드(120)가 수용되고, 반응 용기(140)에 분석 대상물이 제공될 수 있다. 본 발명의 실시예에 따른 윈스텝 임뮤노어세이 키트(100)의 구동 방법은, 제 1 항체 표지 비드(110) 및 제 2 항체 표지 비드(120)를 제공하기 위한 별도의 표지 단계가 생략됨으로써, 신속한 항원의 분석이 가능하고, 전문가가 아닌 일반인들도 용이하게 사용 가능한 이점이 있다.

[0080] 다음으로, 복합 반응물(40)을 형성하지 않은 잔량의 제 2 항체 표지 비드(120) 중 적어도 일부를 포함하는 처리 용액(30)을 선택적으로 획득하여 효소(123)의 기질 분해 반응을 측정할 수 있다. 일 실시예에서, 처리 용액(30)은 분석 대상물이 타겟 항원(20)을 포함하지 않는 경우, 제 2 항체 표지 비드(120)를 포함하며, 분석 대상물이 타겟 항원(20)을 포함하는 경우, 제 2 항체 표지 비드(120)를 포함하지 않을 수 있다. 전술한 것과 같이, 분석 대상물 내에 타겟 항원(20)이 포함된 경우에는, 제 1 항체 표지 비드(110), 타겟 항원(20) 및 제 2 항체 표지 비드(120)의 복합 반응물(40) 형성할 수 있다. 이에 따라, 모든 제 2 항체 표지 비드(120)가 복합 반응물(40)을 형성하는 경우에는 처리 용액(30) 내에 제 2 항체 표지 비드(120)가 포함되지 않을 수 있다. 다른 실시예에서, 일부의 제 2 항체 표지 비드(120)만이 복합 반응물(40)을 형성하는 경우에는, 복합 반응물(40)을 형성하지 않은 일부의 제 2 항체 표지 비드(120)가 처리 용액(30)에 포함될 수 있다.

[0081] 일 실시예에서, 제 1 항체 표지 비드(110)는 반응 영역(10) 내에 유지될 수 있다. 예를 들면, 제 1 항체 표지 비드(110)의 제 1 비드(112)는 높은 밀도를 갖는 비드일 수 있다. 이에 따라, 제 1 비드(112)와 제 2 비드(122)의 밀도 차이를 이용하여 제 1 비드(112)는 반응 영역(10)에 고정되고, 제 2 비드(122)는 반응 영역(10)으로부터 분리될 수 있다. 예를 들면, 제 1 항체 표지 비드(110), 제 2 항체 표지 비드(120) 및 타겟 항원(20)의 혼합 용액을 원심 분리하여 상부의 제 2 항체 표지 비드(120)만을 분리해낼 수 있다.

[0082] 다른 실시예에서, 전술한 것과 같이, 윈스텝 임뮤노어세이 키트(100)는 분석 대상물, 제 1 항체(111)또는 제 2 항체(121)가 혼합되어 반응하는 반응 용기(140) 및 반응 용기(140)에 결합 가능하며, 필터(151)를 포함하는 리드부(150)를 더 포함하며, 효소(123)의 기질 분해 반응을 측정하는 단계(S300)에서, 상기 제 1 항체 표지 비드(110)는 상기 반응 용기(140) 내에 고정되고, 타겟 항원(20)과 결합하지 않은 제 2 항체 표지 비드(120)를 포함하는 처리 용액(30)은 필터(151)를 통과할 수 있다.

[0083] 일 실시예에서, 반응 용기(140)에 소정의 압력을 가할 수 있다. 예를 들면, 반응 용기(140)가 변형 가능한 경우, 반응 용기(140)에 압력을 가하여 부피를 수축시킬 수 있다. 다른 실시예에서, 처리 용액(30)이 추출되는 용기에 진공 상태를 형성할 수 있다. 또는, 처리 용액(30)이 추출되는 용기의 공기를 일부 빼낼 수 있다. 본 발명의 실시예에 따르면, 처리 용액(30)의 추출 속도를 향상시켜 신속한 필터링이 가능한 이점이 있다.

[0084] 일 실시예에서, 윈스텝 임뮤노어세이 키트(100)를 이용한 측정 방법은 처리 용액(30)에 상기 기질을 제공하는 단계를 더 포함할 수 있다. 처리 용액(30)에는 타겟 항원(20)과 결합하지 않은 제 2 항체 표지 비드(120)만이 포함되어 있으므로, 처리 용액(30)에 기질을 제공하고, 효소(123)와의 반응을 측정하는 경우, 타겟 항원(20)의 식별 또는 정량이 가능할 수 있다.

[0085] 일 실시예에서, 타겟 항원(20)의 양이 많을수록 효소(123)의 기질 분해 반응은 감소할 수 있다. 타겟 항원(20)의 양이 많을수록, 반응 영역(10) 내에서 많은 양의 제 2 효소 표지 비드(120)가 제 1 효소 표지 비드(110) 및 타겟 항원(20)과 결합하여 복합 반응물(40)을 생성할 수 있다. 그 결과, 반응 영역(10)으로부터 분리되어 측정부(130)로 전달되는 처리 용액(30) 내의 제 2 효소 표지 비드(120)의 양이 감소하고, 제 2 효소 표지 비드(120)에 포함되는 효소(123)의 양도 감소하므로 효소(123)의 기질 분해 반응이 감소할 수 있다.

[0086] 도 6a는 본 발명의 일 실시예에 따른 타겟 항원(20)의 농도에 따른 발색 반응의 크기를 분석한 그래프이고, 도 6b는 본 발명의 다른 실시예에 따른 타겟 항원(20)의 농도에 따른 발색 반응의 크기를 분석한 그래프이다.

[0087] 도 6a 및 도 6b를 참조하면, 일 실시예에서, 효소(123)는 글루코스 산화 효소일 수 있고, 기질은 HRP 및 TMB를 포함할 수 있다. 발색 반응의 크기는 450 nm의 파장을 기준으로 측정되었다. 도 6a는 타겟 항원(20)으로 인플

루엔자 A를 사용한 그래프이며, 도 6b는 타겟 항원(20)으로 인플루엔자 B를 사용한 그래프이다. 상기 인플루엔자 A는 인플루엔자 A 바이러스 핵 단백질(nucleoprotein; NP)일 수 있으며, 상기 인플루엔자 B는 인플루엔자 B 바이러스 핵 단백질일 수 있다. 이는 비제한적인 예시로서, 본 발명을 한정하는 것은 아니다.

[0088] 도 6a의 x축은 인플루엔자 A의 농도를 나타내며, y축은 발색 반응의 세기를 나타낸다. 도 6a 및 도 6b를 참조하면, 타겟 항원(20)의 농도가 증가할수록 상기 발색 반응의 크기가 감소하는 경향을 보이는 것을 알 수 있다. 도 6b의 x축은 인플루엔자 B의 농도를 나타내며, y축은 발색 반응의 세기를 나타낸다. 이에 따라, 본원 발명의 원스텝 임류노어세이 키트(100)는 타겟 항원(20)의 존재 여부를 식별하는 것뿐만 아니라, 타겟 항원(20)의 양을 정량할 수 있음을 알 수 있다.

[0089] 도 7a는 본 발명의 다양한 실시예에 따른 다른 원스텝 임류노어세이 키트(100)를 이용하여 각 분석 대상물에 따른 처리 용액(30)의 pH를 측정한 그래프이다.

[0090] 도 7a를 참조하면, 일 실시예에서, 타겟 항원은 인플루엔자 A이고, 제 1 막대(a1), 제 2 막대(a2), 제 3 막대(a3) 및 제 4 막대(a4)는 각각 인플루엔자 A를 포함하지 않은 분석 대상물, 10 ng/ml, 100 ng/ml, 1000ng/ml 농도의 인플루엔자 A를 포함하는 분석 대상물의 분석 결과를 나타내며, 비교예(r1)로서 글루코스(glucose) 5 mg/ml의 분석 결과를 나타낸다. 도 7b를 참조하면, 다른 실시예에서, 타겟 항원은 인플루엔자 B이고, 제 1 막대(b1), 제 2 막대(b2), 제 3 막대(b3) 및 제 4 막대(b4)는 각각 인플루엔자 B를 포함하지 않은 분석 대상물, 10 ng/ml, 100 ng/ml, 1000ng/ml 농도의 인플루엔자 B를 포함하는 분석 대상물의 분석 결과를 나타내며, 비교예(r2)로서 글루코스(glucose) 5 mg/ml의 분석 결과를 나타낸다. 상기 인플루엔자 A는 인플루엔자 A 바이러스 핵 단백질(nucleoprotein; NP)일 수 있으며, 상기 인플루엔자 B는 인플루엔자 B 바이러스 핵 단백질일 수 있다. 전술한 물질들은 비제한적인 예시로서, 본 발명의 제한하는 것은 아니다.

[0091] 도 7a 및 도 7b를 참조하면, 일 실시예에서, 글루코스 산화 효소에 의하여 글루콘산(gluconic acid)이 형성되는 실시예들(a1~a4, b1~b4)의 경우, 효소(123)인 글루코스 산화 효소가 기질의 글루코스와 반응함으로써 상기 글루콘산을 형성하여 pH가 낮아질 수 있다. 따라서, 실시예들(a1~a4, b1~b4)은 글루코스 산화 효소와 반응하지 않은 글루코스를 이용한 비교예(r1, r2)에 비하여 낮은 pH를 나타낼 수 있다. 또한, 실시예들의 경우, 분석 대상물 내의 인플루엔자 A의 농도가 낮을수록 처리 용액(30)의 pH가 낮고, 산성도가 높은 것을 볼 수 있다. 이에 따라, 분석 대상물 내의 타겟 항원(20)인 인플루엔자 A의 농도가 낮을수록 많은 양의 제 2 항체 표지 비드 및 효소(123)가 처리 용액(30)에 포함되고, 많은 양의 효소(123)의 작용에 의하여 처리 용액(30)의 pH가 낮아지는 것을 알 수 있다. 이에 따라, 처리 용액(30)의 pH를 측정하여 분석 대상물 내의 타겟 항원(20)의 검출 및 농도 분석이 가능함을 알 수 있다.

[0092] 도 8a 및 8b는 본 발명의 다양한 실시예에 따른 원스텝 임류노어세이 키트(100)를 이용하여 각 분석 대상물에 따른 처리 용액(30)의 pH를 측정한 그래프이다.

[0093] 도 8a를 참조하면, 일 실시예에서, 타겟 항원(20)은 인플루엔자 A이고, 제 1 막대(c1), 제 2 막대(c2), 제 3 막대(c3) 및 제 4 막대(c4)는 각각 인플루엔자 A를 포함하지 않은 분석 대상물, 10 ng/ml, 100 ng/ml, 1000ng/ml 농도의 인플루엔자 A를 포함하는 분석 대상물의 분석 결과를 나타내며, 비교예(r1)로서 인산완충생리식염수(Phosphate-buffered saline; PBS)의 분석 결과를 나타낸다. 도 8b를 참조하면, 다른 실시예에서, 타겟 항원(20)은 인플루엔자 B이고, 제 1 막대(d1), 제 2 막대(d2), 제 3 막대(d3) 및 제 4 막대(d4)는 각각 인플루엔자 B를 포함하지 않은 분석 대상물, 10 ng/ml, 100 ng/ml, 1000ng/ml 농도의 인플루엔자 B를 포함하는 분석 대상물의 분석 결과를 나타내며, 비교예(r2)로서 인산완충생리식염수(Phosphate-buffered saline; PBS)의 분석 결과를 나타낸다. 상기 인플루엔자 A는 인플루엔자 A 바이러스 핵 단백질(nucleoprotein; NP)일 수 있으며, 상기 인플루엔자 B는 인플루엔자 B 바이러스 핵 단백질일 수 있다. 전술한 물질들은 비제한적인 예시로서, 본 발명의 제한하는 것은 아니다.

[0094] 도 8a 및 도 8b를 참조하면, 효소(123)는 요소 분해 효소인 유레이스(urease)일 수 있다. 상기 유레이스는 기질인 요소와 반응하여 암모니아를 생성할 수 있다. 이에 따라, 상기 암모니아에 의하여 용액의 pH가 증가할 수 있고, 효소(123)의 양이 많을수록 많은 양의 암모니아가 발생하여 처리 용액(30)의 pH가 높아질 수 있다.

[0095] 일 실시예에서, 분석 대상물 내의 타겟 항원(20)의 양이 많을수록 처리 용액(30)의 pH가 낮은 것을 볼 수 있다. 타겟 항원(20)의 양이 많을수록 많은 양의 제 2 항체 표지 비드(120)가 타겟 항원(20) 및 제 1 항체 표지 비드(110)와 복합 반응물을 형성하고, 이에 따라, 많은 양의 제 2 항체 표지 비드(120)가 반응 영역(10) 내에 유지되어 처리 용액(30) 내의 제 2 항체 표지 비드(120) 또는 효소(123)의 양이 작아질 수 있다. 따라서, 처리 용



액(30) 내의 효소(123)의 양이 작아지면 요소 분해 반응이 적게 나타나므로, 처리 용액(30)의 pH가 낮아질 수 있다. 본 발명의 실시예에 따르면, 처리 용액(30)의 pH를 측정함으로써, 타겟 항원(20)의 검출 및 농도 분석이 가능함을 알 수 있다.

[0096]

이상에서 설명한 본 발명이 전술한 실시예 및 첨부된 도면에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 여러가지 치환, 변형 및 변경이 가능하다는 것은, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 명백할 것이다.

### 부호의 설명

[0097]

100: 원스텝 임뮤노어세이 키트

110: 제 1 항체 표지 비드

111: 제 1 항체

112: 제 1 비드

120: 제 2 항체 표지 비드

121: 제 2 항체

122: 제 2 비드

123: 효소

130: 측정부

131: 소스/드레인 전극

132: 채널층

133: 표면 절연막

134: 보호 절연막

135: 참조 전극

136: 기판

10: 반응 영역

20: 타겟 항원

30: 처리 용액

40: 복합 반응물

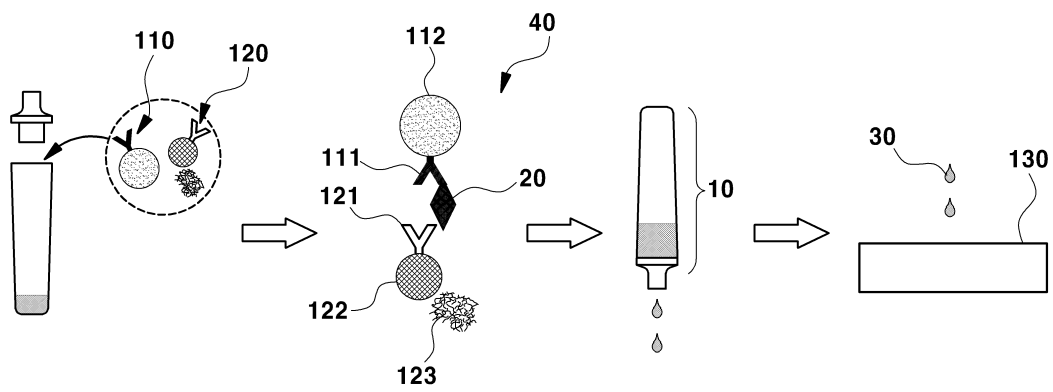
140: 반응 용기

150: 리드부

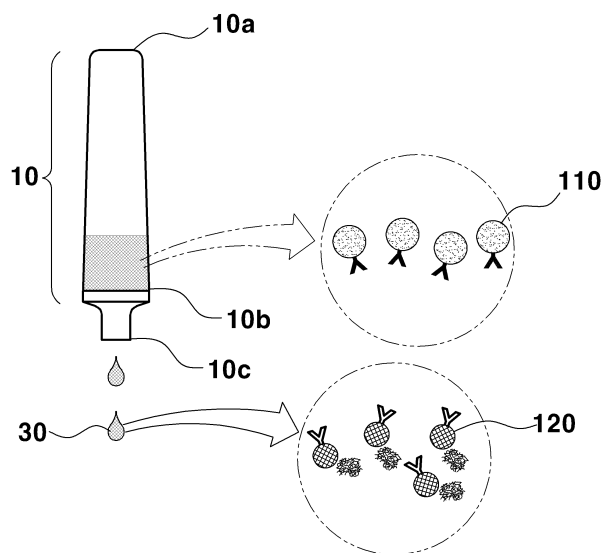
151: 필터

도면

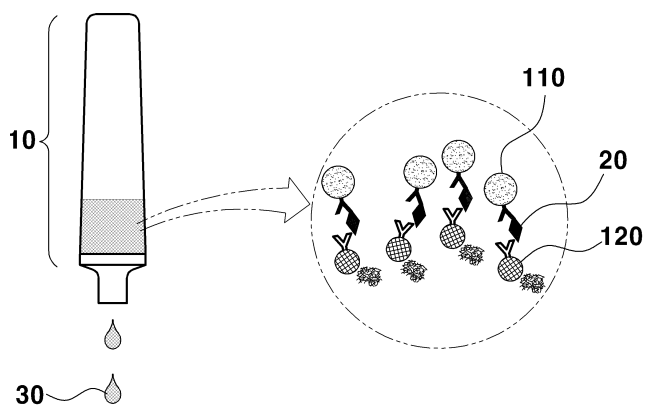
도면1



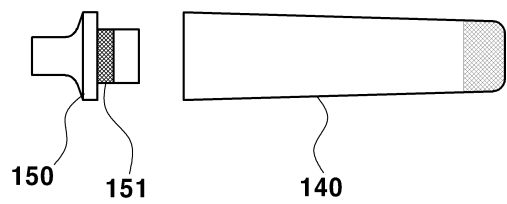
도면2a



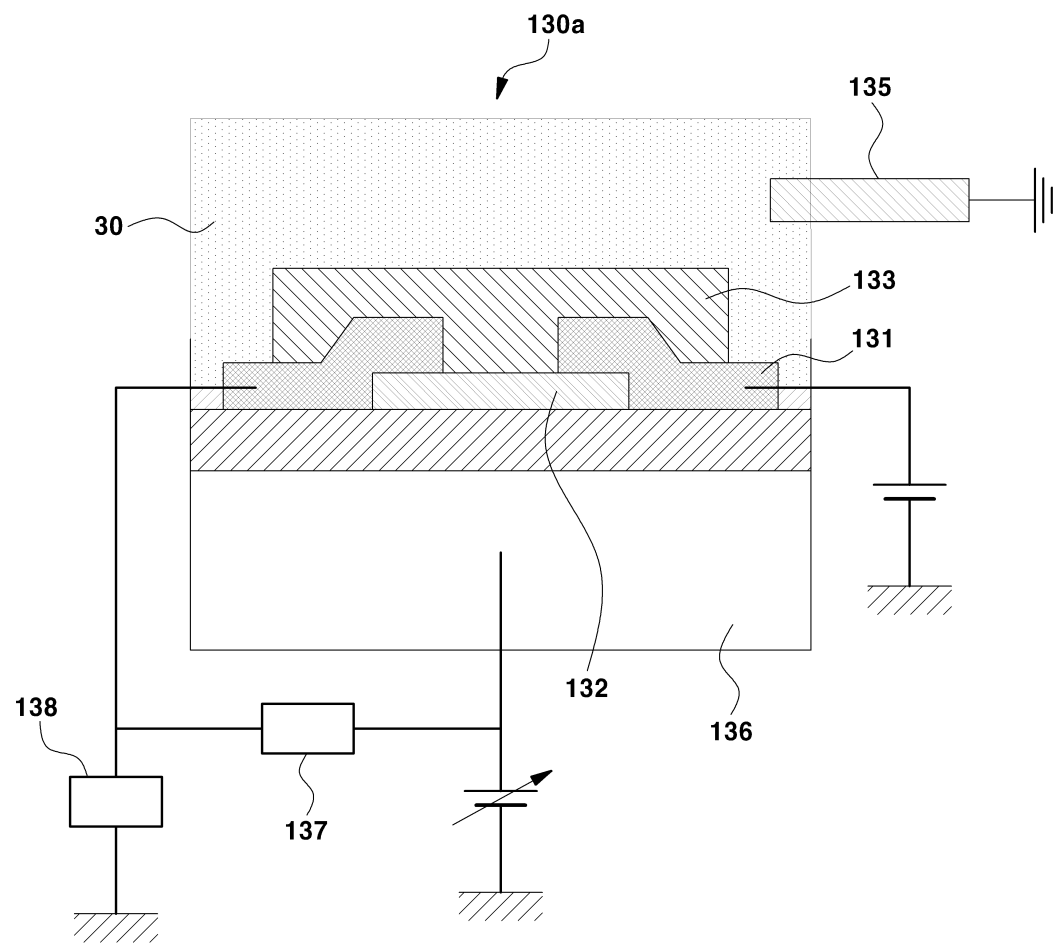
도면2b



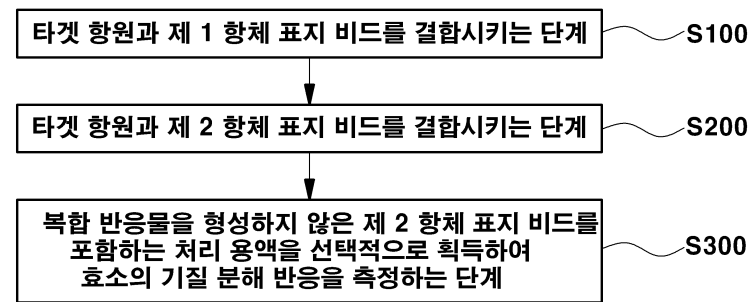
도면3



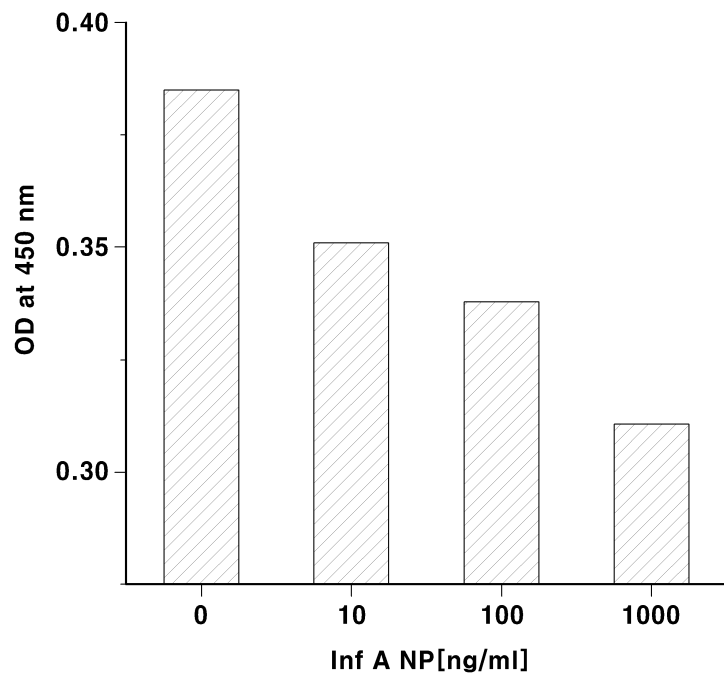
도면4



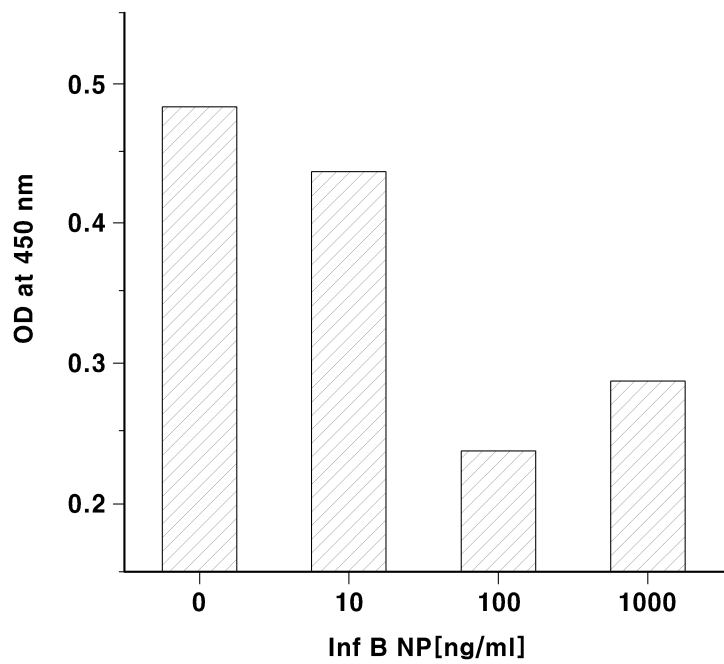
도면5



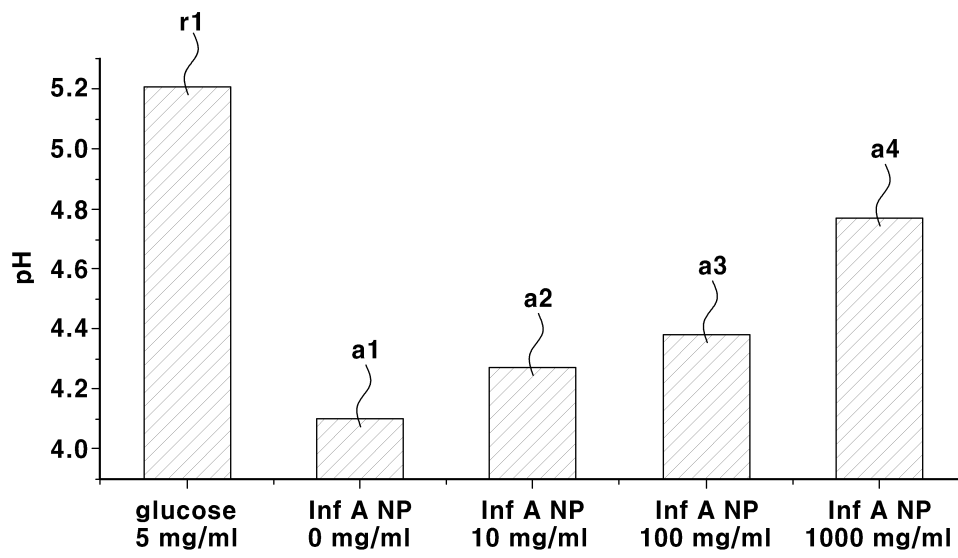
도면6a



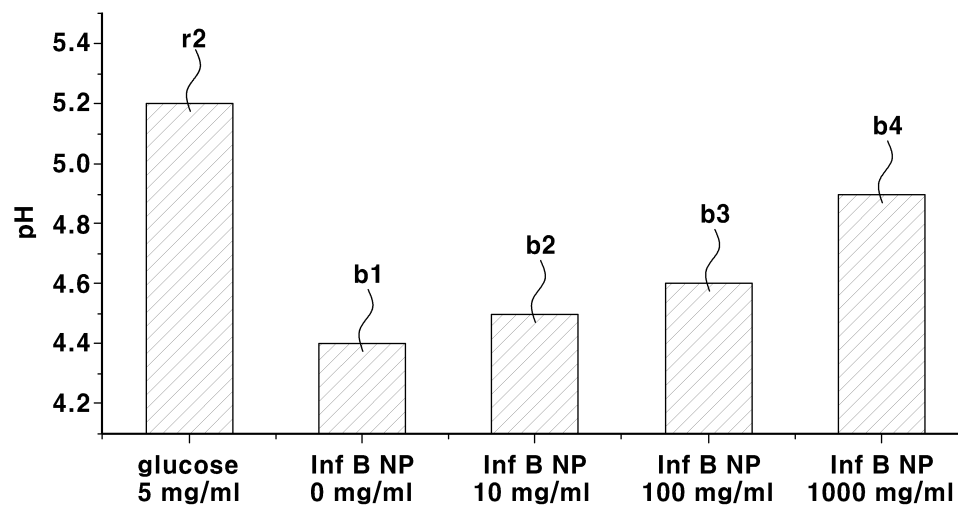
도면6b



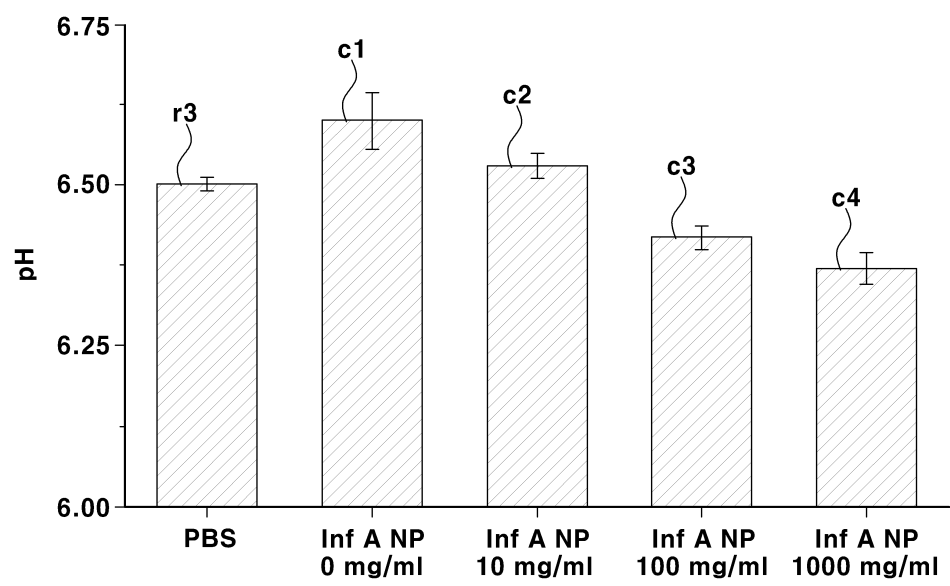
도면7a



도면7b



도면8a



도면8b

