



등록특허 10-2224686



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년03월08일

(11) 등록번호 10-2224686

(24) 등록일자 2021년03월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/543 (2006.01) G01N 33/548 (2006.01)

G01N 33/569 (2017.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/5438 (2013.01)

G01N 27/327 (2021.01)

(21) 출원번호 10-2019-0028391

(22) 출원일자 2019년03월12일

심사청구일자 2019년03월12일

(65) 공개번호 10-2020-0109188

(43) 공개일자 2020년09월22일

(56) 선행기술조사문헌

KR101776698 B1*

KR1020150014543 A*

US20140332407 A1*

KR1020120067967 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

유경화

서울특별시 강남구 선릉로 120, 2동 101호(대치동, 개포1,2차 우성아파트)

이선미

서울특별시 강서구 강서로 266, 108동 1702호(화곡동, 우장산아이파크이편한세상아파트)

송준호

서울특별시 서대문구 연희맛로 17-7, 204호(연희동)

(74) 대리인

특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 21 항

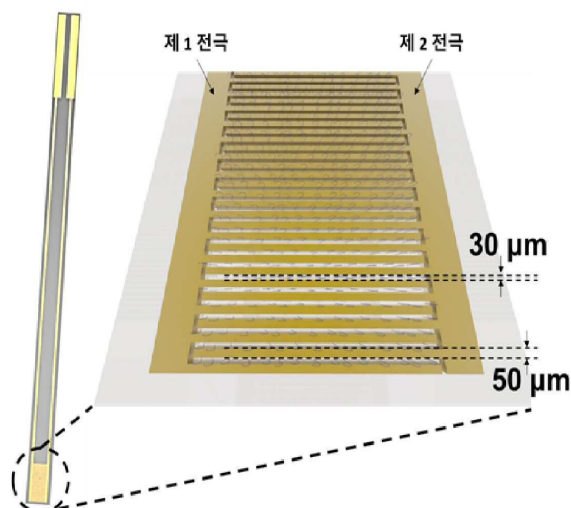
심사관 : 양경식

(54) 발명의 명칭 압타머 기능화 된 버티컬 바이오 센서 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 사전 배양 없이 혈액 내에 있는 미생물의 성장과 항생제 감수성을 실시간으로 검사할 수 있는 바이오 센서 및 이의 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 33/548 (2013.01)

G01N 33/56916 (2013.01)

G01N 33/56938 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R201801311

부처명 기타정부기관

과제관리(전문)기관명 범부처

연구사업명 범부처나노융합2020사업

연구과제명 [NANO](주)프로테옴텍/ 다공성 나노구조 플레이트 기반 실시간 항생제 감수성 검사

칩 개발(3/3)

기 여 율 1/2

과제수행기관명 연세대학교

연구기간 2018.06.01 ~ 2019.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016R1A2B3011980

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 중견연구자지원사업

연구과제명 신경세포/멤리스터 하이브리드 신경소자 연구(3/4)

기 여 율 1/2

과제수행기관명 연세대학교

연구기간 2018.04.01 ~ 2019.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

유리를 포함하는 기관;

상기 기관 상에 형성되고, 인터디지테이트(interdigitated)된 제1전극 및 제2전극을 포함하는 전극층; 및

상기 기관 상에 고정되고, 미생물과 특이적으로 결합하는 압타머;를 포함하는 바이오 센서로서,

상기 미생물은 황색포도상구균 또는 녹농균이며,

상기 압타머는 서열번호 2 또는 3의 서열을 포함하는 것인, 바이오 센서.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 제1전극과 제2전극의 이격 간격은 10 내지 100 μ m인 바이오 센서.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 압타머는 상기 전극층의 제1전극 및 제2전극 사이에 고정된 바이오 센서.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 바이오 센서는 검출 대상 시료를 내부에 수납할 수 있는 수납부;를 추가로 포함하는 것인, 바이오 센서.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 수납부는 유리, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌테트라프탈레이트 및 폴리카보네이트로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 재료로 이루어진 것인, 바이오 센서.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 시료는 미생물 배양배지(media), 혈액, 조직, 세포, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 림프액, 뇌척수액, 세포간액 또는 뇨인 것인, 바이오 센서.

청구항 9

제1항 및 제4항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 바이오 센서는 수직(vertical) 형태인 것인, 바이오 센서.

청구항 10

제1항 및 제4항 내지 제8항 중 어느 한 항의 바이오 센서를 포함하는, 미생물 검출용 키트.

청구항 11

삭제

청구항 12

제1항 및 제4항 내지 제8항 중 어느 한 항의 바이오 센서를 포함하는, 패혈증 진단용 키트.

청구항 13

a) 대상 시료와 제1항의 바이오 센서를 접촉하는 단계; 및

b) 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 미생물 검출 방법으로서,

상기 미생물은 황색포도상구균 또는 녹농균이며,

상기 바이오 센서의 애타머는 서열번호 2 또는 서열번호 3의 서열을 포함하는 것인, 미생물 검출 방법.

청구항 14

삭제

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 시료는 미생물 배양배지(media), 혈액, 조직, 세포, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 림프액, 뇌척수액, 세포간액 또는 노인 것인, 미생물 검출 방법.

청구항 16

제13항에 있어서,

상기 시료가 미생물 배양배지(media)인 경우,

커패시턴스 또는 컨덕턴스가 증가하면 미생물이 존재하는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 미생물 검출 방법.

청구항 17

제13항에 있어서,

상기 시료가 혈액인 경우,

커패시턴스 또는 컨덕턴스가 감소하면 미생물이 존재하는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 미생물 검출 방법.

청구항 18

a) 대상 환자 시료와 제1항의 바이오 센서를 접촉하는 단계; 및

b) 상기 바이오 센서의 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 변화를 측정하는 단계; 를 포함하는, 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 미생물은 황색포도상구균 또는 녹농균이며,

상기 바이오 센서의 애타머는 서열번호 2 또는 3의 서열을 포함하는 것인, 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 19

삭제

청구항 20

제18항에 있어서,

상기 시료는 미생물 배양배지(media), 혈액, 조직, 세포, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 림프액, 뇌척수액, 세 포간액 또는 뇨인 것인, 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 21

제18항에 있어서,

상기 시료가 미생물 배양배지(media)인 경우,

커패시턴스 또는 컨덕턴스가 증가하면 미생물에 감염된 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 22

제18항에 있어서,

상기 시료가 혈액인 경우,

커패시턴스 또는 컨덕턴스가 감소하면 미생물에 감염된 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법.

청구항 23

a) 대상 시료와 제1항의 바이오 센서를 접촉하는 단계;

b) 미생물에 대한 목적 항생제를 처리하는 단계; 및

c) 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 미생물의 항생제 감수성 측정 방법으로서, 상기 미생물은 황색포도상구균 또는 녹농균이며,

상기 바이오 센서의 압타머는 서열번호 2 또는 3의 서열을 포함하는 것인, 미생물의 항생제 감수성 측정 방법.

청구항 24

삭제

청구항 25

제23항에 있어서,

상기 시료는 미생물 배양배지(media), 혈액, 조직, 세포, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 림프액, 뇌척수액, 세 포간액 또는 뇨인 것인, 미생물의 항생제 감수성 측정 방법.

청구항 26

제23항에 있어서,

상기 시료가 미생물 배양배지(media)인 경우,

항생제 처리 후 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 증가가 나타나지 않으면 해당 항생제 처리 농도에서 감수성이 나타 나는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 미생물의 항생제 감수성 측정 방법.

청구항 27

제23항에 있어서,

상기 시료가 혈액인 경우,

항생제 처리 후 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 감소가 나타나지 않으면 해당 항생제 처리 농도에서 감수성이 나타 나는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함하는 것인, 미생물의 항생제 감수성 측정 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 사전 배양 없이 혈액 내에 있는 미생물의 성장과 항생제 감수성을 실시간으로 검사할 수 있는 바이오 센서 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세균의 성장을 억제할 수 있는 항생제를 알아보는 검사를 항생제 감수성 검사라고 한다. 항생제 감수성 검사는 세균에 사용할 항생제의 종류를 선택할 수 있게 해주는 직접적이고, 중요한 검사이다. 또한, 환자에 대하여 적절한 항생제를 처방할 때 처방 방법과 횟수, 비용, 부작용을 고려하여 맞춤 처방이 가능하게 해준다. 감수성 결과를 이용한다면 항생제를 경험적 처방을 하였을 때 생길 수 있는 치료 비용 증가와 보호자의 실망감을 줄여줄 수 있으며 세균의 내성 획득과 합병증의 감소 그리고 환자의 회복기간을 줄일 수 있는 기회를 제공한다.

[0003] 가장 보편적인 항생제 감수성 검사는 디스크 확산법(disk diffusion technique)과 액체 배지 희석법(broth dilution technique)이 있다. 그러나 이러한 방법들은 박테리아를 수일 동안 배양한 후, 세균을 동정한 후, 탁도를 측정하는 과정이 필요한데, 이러한 과정에 시간이 오래 걸리고, 많은 노동력이 필요한 단점이 있다.

[0004] 한편, 패혈증은 혈액이 세균에 감염되어 나타나는 질병으로, 신체 조직에 염증 반응을 일으켜 심각하면 빠른 시간 내에 사망에 이르게 한다. 패혈증을 일으키는 원인균은 대장균, 폐렴막대균, 황색포도상구균, 화농성연쇄상구균, 녹농균 등 다양하다. 상처를 통해 세균이 침투하여 혈액에 유입되기도 하고, 식품 섭취를 통해 감염되기도 하며, 염증 물질이 감염원에서 발생하여 패혈증의 원인이 되기도 한다. 특히 면역력이 약한 사람이나 신생아에게 발생하기 쉽다.

[0005] 기존의 패혈증 검사법은 채취된 혈액을 이용하여 24시간 이상 사전 배양을 한 후 세균의 존재여부를 확인하는 것으로 사전 배양 때문에 패혈증을 검사하는데 24시간 이상의 시간이 걸린다. 패혈증이라고 판정이 되면 항생제 감수성 검사를 하게 되는데 이는 사전 배양된 시료에 항생제 처리를 한 후 10 내지 24시간 뒤에 시료의 탁도와 같은 광학적인 특성 측정을 통해 하기 때문에 일반적으로 항생제 감수성 검사에 34 내지 48시간 정도의 장시간이 소요된다.

[0006] 항생제 감수성 검사 시간이 길기 때문에 대부분의 경우 임상경험을 바탕으로 항생제를 우선 처방한 후 항생제 감수성 검사가 나오면 감수성이 높은 항생제를 변경한다. 때문에 항생제 내성이 문제가 될 수 있으며, 또한 항생제 오남용이 야기될 수 있는 바, 보다 신속한 검사가 가능한 기술 개발이 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1776698호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명의 미생물과 특이적으로 결합하는 압타머를 포함하는 바이오 센서를 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 목적은 상기 바이오 센서를 포함하는 미생물 검출용 키트를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 바이오 센서를 이용한 미생물 검출 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 바이오 센서를 이용한 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 바이오 센서를 이용한 미생물의 항생제 감수성 측정 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은 유리를 포함하는 기관; 상기 기관 상에 형성되고, 인터디지테이트(interdigitated)된 제1전극 및 제2전극을 포함하는 전극층; 및 상기 기관 상에 고정되고, 미생물과 특이적으로 결합하는 압타머;를 포함하는 바이오 센서에 관한 것이다.
- [0014] 본 발명에서, “바이오 센서”는 생물의 기능을 이용하여 물질의 성질 등을 조사하는 기기, 장치 등을 말하며 그 형태는 제한되지 않는다. 구체적으로, 기관에 전극이 형성되어 있고, 상기 전극 사이에 타겟 물질이 결합하면 발생하는 커패시턴스(capacitance) 또는 컨덕턴스(conductance)의 변화를 측정하여 물질의 존재, 결합/분리 여부를 검출할 수 있다. 특히, 미생물의 존재 여부, 미생물의 성장 여부, 항생제에 대한 감수성을 측정 또는 검출할 수 있는 기기 또는 장치일 수 있으며, 나아가 상기 측정 또는 검출을 통해 미생물 감염 여부를 진단하는데 필요한 정보를 제공하는 기기 또는 장치일 수 있다.
- [0015] 본 발명의 바이오 센서는 전극층을 포함하며, 구체적으로 인터디지테이트형 미세전극을 포함할 수 있다. 상기 인터디지테이트형 미세전극은 일렬로 정렬된 막대가 하나의 극을 이루며, 두 개의 전극(제1전극 및 제2전극)이 서로 맞물린 상태로 마주보는 형태의 구조를 가질 수 있다. 상기 두 전극이 고전적인 형태의 임피던스 측정 전극과 같은 역할을 하게 된다.
- [0016] 상기 인터디지테이트형 미세전극을 이용한 센서에서, 제 1전극과 제 2전극의 이격 간격은 0.1 내지 1000 μm , 1 내지 500 μm , 혹은 10 내지 100 μm 일 수 있다. 제1 전극과 제2 전극의 이격 거리를 상기 범위로 조절함으로써, 마이크로 수준의 생체 분자에 대해서도 정밀한 측정이 가능하다. 또한, 각 전극의 높이는 50 내지 5,000 nm 범위이고, 각 전극의 폭은 1 내지 500 μm 또는 10 내지 100 μm 범위일 수 있다. 상기 전극들은 각각 독립적으로 금, 백금, 탄소 전극, 전도성 폴리머 및 ITO(Indium Tin Oxide)으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 일 수 있고, 일 예로 금일 수 있다.
- [0017] 상기 바이오 센서는 미생물 및/또는 이의 생체 분자 등을 모두 검출하거나 측정할 수 있으며, 구체적으로, 상기 미생물은 대장균(*Escherichia coli*), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 또는 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)일 수 있다.
- [0018] 본 발명에서 “압타머”는 높은 친화성 또는 특이적인 친화성으로 타겟 물질을 특이적으로 인지할 수 있는 작은 단일가닥 올리고 핵산을 의미한다.
- [0019] 상기 압타머의 종류에 따라서 특이적으로 결합하는 미생물의 종류가 상이하므로, 특정 미생물과 특이적으로 결합하는 압타머의 종류에 따라서 결합된 미생물을 탐지할 수 있다. 일 예로, 대장균에 특이적으로 결합하는 압타머를 상기 기관 상에 고정시키고, 대장균을 포함하는 시료를 상기 센서에 처리하는 경우, 시료에 대장균이 포함되어 있다면 압타머와 대장균의 결합 및 결합된 대장균의 증식에 의하여 커패시턴스 및 컨덕턴스의 변화가 전극에 의하여 감지될 것이므로, 상기 시료에 대장균이 포함되어 있음을 신속하게 감지할 수 있고, 상기 압타머의 표적 특이적 결합 특성을 통해 시료 내 미생물을 탐지할 수 있다. 구체적으로, 상기 압타머는 서열번호 1 내지 서열번호 3 중 선택된 하나 이상의 서열을 포함하는 것일 수 있다.
- [0020] 또한 구체적으로, 상기 제1전극과 제2전극의 이격 간격은 10 내지 100 μm 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며 제1전극과 제2전극의 이격 간격은 필요에 따라 적절히 변경할 수 있다.
- [0021] 또한, 본 발명의 바이오 센서는 커패시턴스 및/또는 컨덕턴스 측정 결과를 송출하는 무선 송출부를 더 포함할 수 있고, 이러한 송출방식은 USB와 같은 선을 이용한 유선으로 데이터 전송 또는 블루투스 방법을 이용한 무선 방법을 모두 포함하여 통상적으로 사용될 수 있는 방법에 의하여 수행될 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명의 바이오 센서는 커패시턴스 및 컨덕턴스의 측정이 가능한 LCR meter(LCR 측정기)에 연결되어 미생물의 농도 변화를 실시간으로 모니터링 할 수 있으며, 이때 이와 같은 미생물 센서에는 0.1 내지 100 kHz의 주파수를 지니는 1 내지 100 mV 교류 전압이 공급될 수 있다.
- [0023] 또한 구체적으로, 상기 압타머는 상기 전극층의 제1전극 및 제2전극 사이에 고정된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며 필요에 따라 압타머의 고정 위치를 적절히 변경할 수 있다.
- [0024] 또한 구체적으로, 상기 바이오 센서는 검출 대상 시료를 내부에 수납할 수 있는 수납부;를 추가로 포함할 수 있다. 상기 수납부는 유리, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌테트라프탈레이트 및 폴리카보네이트로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 재료로 이루어진 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며 필요에 따라 적절한 소재로 변경하여 적용할 수 있다.
- [0025] 또한, 상기 수납부는 상부가 막히거나 뚫려 있는 형태일 수 있고, 구체적으로, 기관에 수직 방향으로 형성될

수 있다. 상업적으로 사용되는 일 예로 플라스틱 소재의 웰(well)일 수 있다. 상기 수납부의 용량은 10 μ l 내지 10 ml 일 수 있다. 상기 미생물은 배양배지와 함께 처리될 수 있다.

- [0026] 본 발명에서 “시료”는 미생물이 존재하거나, 존재할 것으로 추정 또는 예측되는 임의의 물질을 말한다. 시료는 천연 또는 합성된 것일 수 있고, 통상의 기술자에게 공지된 임의의 수단을 통해 수득될 수 있다. 이에 따라, 상기 시료는 미생물 배양배지(media), 혈액, 조직, 세포, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 림프액, 뇌척수액, 세포간액 또는 뇨 뿐만 아니라, 시험관 내 세포 배양 성분의 시료, 예를 들면, 세포 성분, 세포배양배지, 재조합 세포 등을 포함할 수 있다. 또한, 액체, 토양, 공기, 식품, 폐기물로부터 채취된 것일 수 있다.
- [0027] 상기 미생물 배양배지(media)는 미생물의 증식, 보존 등을 위해 사용되는 액체 또는 고형의 재료를 의미하는 것으로, 미생물의 종류에 따라 적절히 요구되는 형태로 변형하여 사용할 수 있다.
- [0028] 또한, 구체적으로, 상기 바이오 센서는 수직(vertical) 형태일 수 있다.
- [0029] 본 발명 일 실시예에서는 미생물과 특이적으로 결합하는 압타머를 결합시킨 바이오 센서를 이용하여 커패시턴스 및 컨덕턴스의 변화를 측정하여 박테리아의 성장 및 항생제 감수성을 실시간으로 측정하였으며, 특히 수직 형태의 바이오 센서를 이용하여 미생물을 분리 추출하여 배양하는 과정 없이 실시간으로 전기적인 신호를 측정함으로써 혈액 시료에서 즉시 미생물의 존재, 성장 및 항생제 감수성을 확인할 수 있음을 확인하였다.
- [0030] 본 발명의 다른 측면은 상기 바이오 센서를 포함하는 미생물 검출용 키트에 관한 것이다. 구체적으로, 상기 미생물은 대장균, 황색포도상구균 또는 녹농균인 것일 수 있다.
- [0031] 상기 검출용 키트는 용액, 동결건조 분말, 냉동 용액, 또는 스트립 형태를 가질 수 있으며, 각각의 형태는 당업계에서 통상적인 방법으로 제제화할 수 있다. 또한 키트를 사용하기 위한 설명서를 포함할 수 있다.
- [0032] 본 발명의 다른 측면은 상기 바이오 센서를 포함하는 패혈증 진단용 키트에 관한 것이다. 본 발명 일 실시예에서는 미생물 배양배지(media) 및 혈액 시료 내의 커패시턴스 및 컨덕턴스의 변화를 측정하여 패혈증의 원인균인 황색포도상구균 및 녹농균의 감염 여부를 검출할 수 있음을 확인하였는 바(도 6 및 도 7), 본 발명의 바이오 센서를 포함하는 키트를 이용하여 패혈증 여부를 진단해 낼 수 있다.
- [0033] 상기 진단용 키트는 용액, 동결건조 분말, 냉동 용액, 또는 스트립 형태를 가질 수 있으며, 각각의 형태는 당업계에서 통상적인 방법으로 제제화할 수 있다. 또한 키트를 사용하기 위한 설명서를 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 측면은 a) 대상 시료와 상기 바이오 센서를 접촉하는 단계; 및 b) 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 미생물 검출 방법에 관한 것이다. 구체적으로, 상기 미생물은 대장균, 황색포도상구균 또는 녹농균인 것일 수 있다.
- [0035] 또한 구체적으로, 상기 시료는 미생물 배양배지(media), 혈액, 조직, 세포, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 림프액, 뇌척수액, 세포간액 또는 뇨인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 액체, 토양, 공기, 식품, 폐기물로부터 채취된 것일 수 있다.
- [0036] 상기 미생물 검출 방법은 시료가 미생물 배양배지(media)인 경우, 커패시턴스 또는 컨덕턴스가 증가하면 미생물이 존재하는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0037] 또한, 상기 미생물 검출 방법은 상기 시료가 혈액인 경우, 커패시턴스 또는 컨덕턴스가 감소하면 미생물이 존재하는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0038] 본 발명 일 실시예에서는 미생물 배양배지(media) 및 혈액 시료 내의 커패시턴스 및 컨덕턴스의 변화를 측정하였으며, 미생물 배양배지에서 대장균, 황색포도상구균 또는 녹농균이 존재하는 경우 커패시턴스 및 컨덕턴스가 증가함을 확인하였다(도 6). 또한, 혈액 내에서 대장균, 황색포도상구균 또는 녹농균이 존재하는 경우 커패시턴스 및 컨덕턴스가 감소함을 확인하였다(도 7).
- [0039] 특히, 10^3 CFU/ml 부터 10 CFU/ml의 저농도까지 모두 검출 가능함을 확인하였는 바, 본 발명의 바이오 센서는 사전 배양 없이도 높은 민감도로 미생물을 검출해낼 수 있음을 확인하였다.
- [0040] 본 발명의 또 다른 측면은, a) 대상 환자 시료와 상기 바이오 센서를 접촉하는 단계; 및 b) 상기 바이오 센서의 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 변화를 측정하는 단계; 를 포함하는, 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법에 관한 것이다.
- [0041] 구체적으로, 상기 미생물은 대장균, 황색포도상구균 또는 녹농균인 것일 수 있으며, 더욱 구체적으로 패혈증 진

단에 필요한 정보를 제공하는 것일 수 있다.

- [0042] 또한 구체적으로, 상기 시료는 미생물 배양배지(media), 혈액, 조직, 세포, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 림프액, 뇌척수액, 세포간액 또는 뇨인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 액체, 토양, 공기, 식품, 폐기물로부터 채취된 것일 수 있다.
- [0043] 상기 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법은 시료가 미생물 배양배지(media)인 경우, 커패시턴스 또는 컨덕턴스가 증가하면 미생물에 감염된 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0044] 또한, 미생물 감염 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법은 상기 시료가 혈액인 경우, 커패시턴스 또는 컨덕턴스가 감소하면 미생물에 감염된 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 또 다른 측면은 a) 대상 환자 시료와 상기 바이오 센서를 접촉하는 단계; 및 b) 상기 바이오 센서의 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 변화를 측정하는 단계; 를 포함하는, 패혈증 진단방법을 제공한다.
- [0046] 본 발명 일 실시예에서는 미생물 배양배지(media) 및 혈액 시료 내의 커패시턴스 및 컨덕턴스의 변화를 측정하여 패혈증의 원인균인 황색포도상구균 및 녹농균의 감염 여부를 검출할 수 있음을 확인하였는 바(도 6 및 도 7), 이를 이용하여 상기 균주를 동정함으로써 패혈증을 진단해낼 수 있다.
- [0047] 종래의 패혈증 진단법에 의하면 혈액을 채취하여 측정 배지에 수 일 동안 사전 배양한 다음 혈액 내의 성분을 분석한다. 이 과정에서 패혈증 진단까지 1 내지 3일 가량의 시간이 소요되고 노동력의 소모가 크다. 하지만 본 발명의 바이오 센서를 이용하는 경우 장시간의 사전 배양 없이 혈액 속에서 커패시턴스 및 컨덕턴스의 전기화학적 신호를 측정하여 실시간으로 결과를 확인할 수 있어 패혈증 진단 시간을 단축할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 또 다른 측면은 a) 대상 시료와 상기 바이오 센서를 접촉하는 단계; b) 미생물에 대한 목적 항생제를 처리하는 단계; 및 c) 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 변화를 측정하는 단계를 포함하는, 미생물의 항생제 감수성 측정 방법에 관한 것이다.
- [0049] 구체적으로, 상기 미생물은 대장균, 황색포도상구균 또는 녹농균인 것일 수 있다.
- [0050] 또한 구체적으로, 상기 시료는 미생물 배양배지(media), 혈액, 조직, 세포, 전혈, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 림프액, 뇌척수액, 세포간액 또는 뇨인 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 액체, 토양, 공기, 식품, 폐기물로부터 채취된 것일 수 있다.
- [0051] 본 발명에서, “항생제 감수성”은 항생제 민감성이라고도 하며, 해당 미생물(균주 등)이 특정 항생제에 의하여 생육의 억제 등의 영향을 받는 것을 말한다. 항생제를 처리하는 경우 항생제를 처리한 부분 주위로 미생물이 자라지 못하는 경우 감수성을 갖는다고 하며, 감수성이 있는 항생제를 사용하여 미생물에 의한 감염증을 치료할 수 있다.
- [0052] 상기 항생제 감수성은 목적 항생제 처리 전 커패시턴스 및 컨덕턴스 값과 항생제 처리 후 변화된 커패시턴스 및 컨덕턴스 값을 측정하여 그 변화 값에 따라 감수성에 따른 미생물의 사멸여부를 실시간으로 빠른 시간 내에 확인할 수 있고, 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화를 통해서 더욱 정밀하게 감수성을 측정할 수 있다. 일 예로, 항생제 농도에 따른 감수성 또한 신속하게 측정할 수 있어, 치료를 위한 투여 항생제 농도 및 투여량 등에서 최소량을 이용할 수 있어 항생제의 오남용 등을 막을 수 있고, 그에 따라 부작용 등을 낮출 수 있는 장점이 있다.
- [0053] 상기 항생제는 겐타마이신(gentamicin)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며 본 발명의 바이오 센서로 감수성을 측정할 수 있는 것이면 모두 포함될 수 있다.
- [0054] 구체적으로, 상기 시료가 미생물 배양배지(media)인 경우, 항생제 처리 후 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 증가가 나타나지 않으면 해당 항생제 처리 농도에서 감수성이 나타나는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0055] 또한 구체적으로, 상기 시료가 혈액인 경우, 항생제 처리 후 커패시턴스 또는 컨덕턴스의 감소가 나타나지 않으면 해당 항생제 처리 농도에서 감수성이 나타나는 것으로 판단하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.
- [0056] 본 발명 일 실시예에서는 미생물 배양배지(media) 및 혈액 시료 내의 커패시턴스 및 컨덕턴스의 변화를 측정하였으며, 대장균, 황색포도상구균 또는 녹농균이 존재하는 미생물 배양배지에 항생제를 처리하는 경우 커패시턴스 및 컨덕턴스가 증가가 나타나지 않음을 확인하였다(도 8). 또한, 대장균, 황색포도상구균 또는 녹농균이 존재하는 혈액에 항생제를 처리하는 경우 커패시턴스 및 컨덕턴스의 감소가 나타나지 않음을 확인하였다(도 9).

- [0057] 특히, 항생제 농도 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 의 저농도까지 감수성 측정이 가능함을 확인하였는 바, 본 발명의 바이오 센서는 사전 배양 없이도 높은 민감도로 항생제 감수성을 측정해낼 수 있음을 확인하였다.
- [0058] 이에 따라, 본 발명의 바이오 센서는 미생물과 특이적으로 결합하는 압타머를 이용하여 사전 배양 없이 혈액 내에서 센서의 민감도를 향상시킬 수 있고, 상기 미생물에 대한 항생제 감수성 및 감수 최저 농도를 바로 측정할 수 있어, 미생물의 동정 및 항생제 감수성 측정을 동시에 할 수 있는 효과가 있다.
- [0059] 또한, 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화 측정을 통해 미세한 수준의 변화도 감지가 가능하므로, 패혈증 진단 및 치료하기 위한 항생제의 투여 용량 및/또는 투여농도를 더욱 정밀하게 제시할 수 있다는 장점이 있다.

발명의 효과

- [0060] 본 발명의 압타머 기능화 된 버티컬 바이오 센서는 미생물의 동정 시간을 단축시킬 수 있으며 종래 수 일이 소요되던 항생제 감수성 검사 시간 역시 24시간 이내로 단축시킬 수 있다.
- [0061] 또한, 미생물 검출과 함께 감염 여부를 신속하게 판정할 수 있고, 감수성 항생제의 종류 및 투여에 필요한 최소 항생제 농도를 빠르게 확인할 수 있기 때문에 항생제를 이용한 맞춤 치료에 효과적으로 적용할 수 있다.
- [0062] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0063] 도 1은 본 발명의 제조예에 따라 제조된 압타머 기능화 된 버티컬 바이오 센서를 나타내는 모식도이다.
- 도 2는 압타머의 유무에 따른 바이오 센서의 성능 차이를 보여주는 결과로, 파란선은 박테리아를 처리하지 않은 혈액, 붉은선은 압타머 기능화 하지 않은 센서에 박테리아를 처리한 혈액, 검은선은 압타머 기능화 한 센서에 박테리아를 처리한 혈액의 커패시턴스 변화를 박테리아가 성장하는 동안 실시간으로 측정한 결과이다.
- 도 3은 압타머의 유무에 따른 바이오 센서의 형광 이미지로, 압타머가 성공적으로 기능화 된 경우 녹색의 형광을 나타낸다.
- 도 4는 압타머의 유무에 따른 박테리아의 형광 이미지로, 대장균의 측정 후 염색한 사진이며, 녹색의 형광은 박테리아를 나타낸다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 바이오 센서를 이용하여 혈액을 검사하는 상태의 사진이다.
- 도 6은 바이오 센서를 이용하여 측정한 미디어 상에서 박테리아의 성장을 낸 것으로, 미디어 상에서 박테리아의 종류 및 농도별 실시간 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화를 나타낸 것이다.
- 도 7은 바이오 센서를 이용하여 측정한 혈액 내에서 박테리아 성장을 나타낸 것으로, 혈액 상에서 박테리아의 종류 및 농도별 실시간 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화를 나타낸 것이다.
- 도 8은 바이오 센서를 이용하여 측정한 미디어 상에서 박테리아 별 항생제 감수성을 나타낸 것으로, 미디어 상에서 박테리아 별로 항생제의 농도를 다양하게 하면서 실시간으로 측정한 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화를 나타낸 것이다.
- 도 9는 바이오 센서를 이용하여 측정한 혈액 내에서 박테리아별 항생제 감수성을 나타낸 것으로, 혈액 상에서 박테리아 별로 항생제의 농도를 다양하게 하면서 실시간으로 측정한 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0064] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0065] 제조예 1. 실험의 준비

- [0066] 젠타마이신(gentamicin) 항생제를 Sigma Aldrich(US)에서 구입하였고, 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 준비하였다. 젠타마이신은 증류수에 녹여 사용하였다. 실험에서 사용된 균주는 대장균(*E. coli*, ATCC 25922), 녹농균(*P. aeruginosa*, ATCC 27853), 황색포도상구균(*S. aureus*, ATCC 29213)를 연세대학교 미생물학

교실에서 분양받아 사용하였고, Difco Nutrient Broth 미디어를 이용하였다.

[0067] Sheep blood는 시너지이노베이션(synergy innovation, 성남, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 압타머는 제노텍(xenotech, 대전, 한국)에서 구입하여 사용하였다.

[0068] **제조예 2. 압타머 기능화 된 바이오 센서 제작**

[0069] 박테리아를 검출하기 위한 압타머 기능화 된 바이오 센서를 제작하기 위하여, 유리 기판에 전극을 형성한 센서(비교예 1)와 유리 기판에 전극 형성 및 압타머 기능화 된 센서(실시에 1)를 각각 제작하였다.

[0070] 도 1에 나타난 바와 같이, 전극의 형성은 유리 기판에 포토리소(photolithography) 공정을 이용하여 전극을 형성하였으며, 구체적으로, 일렬로 정렬된 막대기 하나가 극을 이루며 다른 전극(제 1전극과 제 2전극)이 다른 극으로 서로 마주보는 형태의 쌍 구조를 가지는 인터디지테이트(interdigitated) 구조의 미세전극(microelectrode)을 전극의 폭이 50 μm , 이격 거리는 30 μm 가 되게 패터닝하여, 5 nm 두께의 크롬(Cr)과 50 nm 두께의 금(Au)을 증착하여 전극을 제작하였다.

[0071] 또한, 기판 위에 박테리아의 특이적 결합을 유도하는 압타머(제노텍, 대전, 한국)를 처리하였다. 상기 압타머는 박테리아와 특이적으로 결합하는 압타머로, 상기 압타머의 염기서열을 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

서열번호	박테리아	압타머 염기서열
1	대장균	5' -GCA ATG GTA CGG TAC TTC CCC ATG AGT GTT GTG AAA TGT TGG GAC ACT AGG TGG CAT AGA GCC GCA AAA GTG CAC GCT ACT TTG CTA A-3'
2	황색포도상구균	5' -GCA ATG GTA CGG TAC TTC CTC GGC ACG TTC TCA GTA GCG CTC GCT GGT CAT CCC ACA GCT ACG TCA AAA GTG CAC GCT ACT TTG CTA A-3'
3	녹농균	5'-CCC CCG TTG CTT TCG CTT TTC CTT TCG CTT TTG TTC GTT TCG TCC CTG CTT CCT TTC TTG-(CH ₂) ₃ '-SH-3'

[0073] 먼저 유리 기판에 피라냐(piranha; 황산(H₂SO₄) : 과산화수소(H₂O₂) = 3 : 1 v/v)를 처리하여 히드록시기(-OH)를 생성시키고 3-아미노프로필트리에톡시실란(3-aminopropyltriethoxysilane, APTES) 10% 에탄올 용액을 처리하여 히드록시기와 반응시켜 아미노기(-NH₂)를 생성하였다. 그 후에 숙시닉안하이드라이드(succinic anhydride) 0.1M 에탄올 용액을 처리하여 카르복시기(-COOH)를 생성하였다. 그 후 엔-(3-디메틸아미노프로필)-엔'-에틸카보디마이드하이드로클로라이드(N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC)/엔-하이드록시-숙시니마이드(N-Hydroxy-succinimide, NHS)를 1M의 2-(엔-모르폴리노)에탄설포산(2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid, MES) 용액에 2 : 1 v/v의 비율로 만든 용액을 처리하여 카르복시기를 활성화시킨 후 압타머 표면의 아미노기를 반응시켜 전극 위에 압타머를 고정시켰다.

[0074] **실험예 1. 압타머 유무에 따른 센서의 커패시턴스 변화 측정능 확인**

[0075] 상기 제조예 2에 따라 제조한 센서를 이용하여 센서의 커패시턴스 변화 측정능을 확인하였다. 구체적으로, 유리 기판에 전극을 형성한 센서(비교예 1) 및 유리 기판에 전극 형성 및 압타머 기능화 된 센서(실시에 1) 각각에 대하여 대장균(10³ CFU/ml)을 처리하여, 커패시턴스 변화를 측정하였다.

[0076] 도 2에 나타난 바와 같이, 혈액 내에 있는 박테리아가 결합/증식할수록 커패시턴스가 변화하는 것이 측정되었으며, 비교예 1의 유리(glass) 기판 센서(붉은색)와 비교해서 실시에 1의 압타머 기능화 된 유리기판 센서(검은색)에서 6시간 이후부터 커패시턴스가 급격하게 감소함이 나타났다.

[0077] 특히, 실시에 1의 경우 단 시간 내에 커패시턴스 변화가 측정되었는 바, 이는, 유리 기판에 압타머를 결합시킨 구조의 바이오 센서의 경우 현저하게 높은 민감도로 커패시턴스 변화의 측정이 가능함을 나타내는 것이다.

[0078] 또한, 도 3에 나타난 바와 같이, 압타머가 성공적으로 기능화 된 전극에서는 녹색의 형광이 관측되었으나, 그렇지 않은 전극에서는 녹색의 형광이 관측되지 않았으며, 도 4에 나타난 바와 같이, 압타머가 성공적으로 기능화 된 전극에 더 많은 박테리아가 압타머와 결합함으로써 더 많은 녹색 형광이 관측됨을 확인하였다.

[0079] **실험예 2. 박테리아 농도별 성장의 실시간 측정**

[0080] 상기 제조예 2에 따라 제조된 바이오 센서를 이용하여, 박테리아의 농도별 성장을 실시간으로 확인하였다. 구체

적으로 도 5에 나타난 바와 같이 수직(vertical) 형태로 압타머 기능화 된 바이오 센서 전극을 2 ml 바이알(vial)에 고정하고, 박테리아를 포함하지 않는 미디어(대조군, 혈액)와 대장균(*Escherichia coli*), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 및 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)(각각 10^1 , 10^2 및 10^3 CFU/ml)을 각각 센서에 처리한 다음, 사전 배양 없이 37 °C의 인큐베이터(incubator)에서 박테리아의 덩어리짐을 막기 위해 셰이킹(shaking)을 해주면서 18시간 정도 혈액 내의 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화를 측정하였다.

[0081] 2-1. 미디어(media) 내에서의 실시간 박테리아 농도 측정

[0082] 상기 방법을 이용하여 미디어(media) 내에서의 실시간 박테리아 농도를 측정하였다. 그 결과, 도 6에 나타난 바와 같이, 박테리아를 포함하지 않는 미디어를 처리한 경우(대조군) 커패시턴스 및 컨덕턴스의 변화가 크게 없었고(녹색), 박테리아 특이적 압타머로 기능화 된 경우, 각각 박테리아 처리시 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화가 크게 나타났다. 또한 높은 농도(10^3 CFU/ml)부터 낮은 농도 (10 CFU/ml)까지의 농도 범위에서 모두 성공적으로 박테리아를 검출할 수 있음을 확인하였다.

[0083] 2-2. 혈액 내에서의 실시간 박테리아 농도 측정

[0084] 상기 방법을 이용하여 혈액 내에서의 실시간 박테리아 농도를 측정하였다. 그 결과, 도 7에 나타난 바와 같이, 혈액 속에 박테리아를 포함한 경우 커패시턴스 및 컨덕턴스가 감소하였는 바, 혈액 내에서도 박테리아를 포함하지 않은 경우와 박테리아를 포함한 경우를 구별할 수 있음을 확인하였다. 특히, 미디어에서와 마찬가지로 혈액 내에서도 역시 높은 농도(10^3 CFU/ml)부터 낮은 농도 (10 CFU/ml)까지의 농도 범위에서 모두 성공적으로 박테리아를 검출할 수 있음을 확인하였다. 이는 본 발명의 바이오 센서를 이용하여 다양한 농도 범위에서 성공적으로 박테리아를 검출할 수 있으며, 특히 사전 배양 없이도 상당히 짧은 시간인 24시간 이내로 박테리아를 동정할 수 있음을 나타내는 것이다.

[0085] 실험예 3. 항생제의 종류에 따른 감수성 측정

[0086] 상기 제조예 2에 따라 제조한 기관에 실험예 2와 같이 박테리아에 특이적인 압타머로 기능화 된 버티컬 바이오 센서를 이용하여 박테리아의 성장을 측정한 후, 항생제에 대한 감수성을 측정하였다.

[0087] 대조군으로 항생제 및 박테리아를 처리하지 않은 미디어 및 혈액(혈액 : 미디어 = 1 : 4)을 사용하였고, 겐타마이신(gentamicin)을 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 10 μ g/ml의 농도로 각 처리구에 처리한 다음, 37 °C의 인큐베이터(incubator)에서 셰이킹을 하면서 18시간 동안 시간에 따라 변화하는 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화를 측정하였다.

[0088] 3-1. 미디어(media) 내에서의 항생제 감수성 측정

[0089] 상기 방법을 이용하여 미디어 내에서의 항생제 감수성을 측정하였다. 그 결과, 도 8에 나타난 바와 같이, 센서에서 박테리아를 배양하고, 겐타마이신 항생제를 처리한 경우, 항생제 농도에 따라 커패시턴스 및 컨덕턴스 변화의 차이가 나타났다.

[0090] 박테리아마다 항생제 최소 발육 억제 농도(Minimal inhibitory concentration, MIC)에 따라 MIC 보다 높은 농도의 항생제의 경우 커패시턴스와 컨덕턴스의 변화 양상은 항생제와 박테리아를 처리하지 않은 미디어의 변화 양상과 비슷한 모양을 보였다. 이는 항생제에 의하여 박테리아의 성장이 억제되기 때문인 것으로서, 본 발명의 센서는 대장균의 경우 0.1 μ g/ml이상, 황색포도상구균의 경우 1 μ g/ml이상, 녹농균의 경우 0.1 μ g/ml이상의 항생제에서 발육이 억제되는 것을 검출할 수 있음을 확인하였다.

[0091] 또한, MIC 보다 낮은 농도의 항생제를 처리한 경우, 비록 박테리아의 성장이 저해되었지만, 결국 어느 정도 시간이 지난 후 일반적인 박테리아 성장 패턴을 나타내었다.

[0092] 3-2. 혈액 내에서의 항생제 감수성 측정

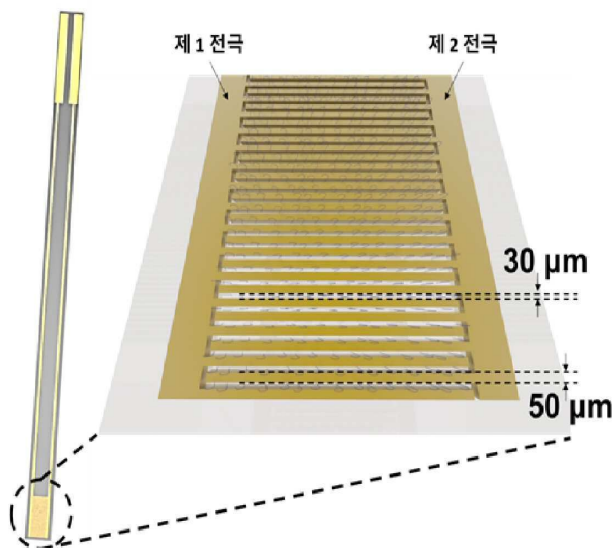
[0093] 상기 방법을 이용하여 혈액 내에서의 항생제 감수성을 측정하였다. 그 결과, 도 9에 나타난 바와 같이, 혈액 내에서도 MIC 보다 높은 농도의 항생제를 처리한 경우, 커패시턴스와 컨덕턴스의 변화 양상은 항생제와 박테리아를 처리하지 않은 혈액의 변화 양상과 비슷한 모양을 보였다. 반대로, MIC 보다 낮은 농도의 항생제를 처리한 경우, 어느 정도 시간이 지난 후 일반적인 박테리아 성장 패턴을 나타내었다.

[0094] 특히, 혈액 내에서 본 발명의 센서는 대장균의 경우 0.1 μ g/ml이상, 황색포도상구균의 경우 1 μ g/ml이상, 녹농균의 경우 1 μ g/ml이상의 항생제에서 발육이 억제되는 것을 검출할 수 있음을 확인하였다.

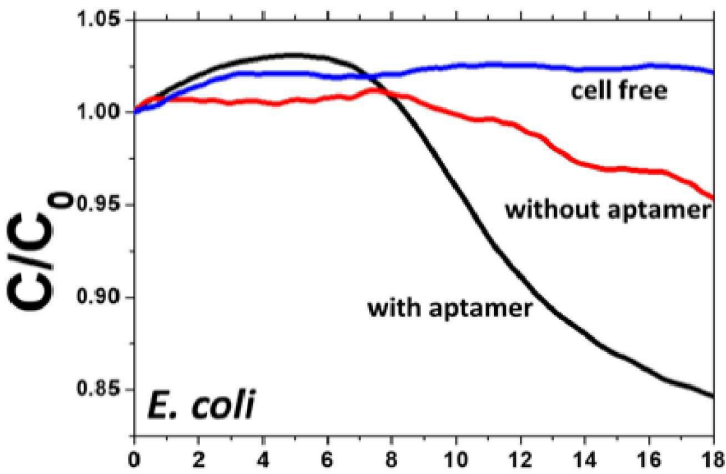
- [0095] 상기 결과는 본 발명의 압타머 기능화 된 바이오 센서를 이용하여, 장시간의 배양이 없이도 낮은 농도의 박테리아를 검출할 수 있을 뿐 아니라 항생제에 대한 감수성까지 민감하게 검출해 낼 수 있음을 나타내는 것이다. 이는 항생제의 감수성을 민감하게 검출함으로써 항생제의 투여용량을 확인하는 용도로도 활용될 수 있음을 시사하는 것이다.
- [0096] 특히, 혈액 내에서 검출 대상이 되는 박테리아를 분리 및 배양하는 단계 없이도 바로 검출 단계를 진행하면서도 민감도 및 감수성이 높은 본 발명의 바이오 센서는 균주의 감염 및 치료에 대한 모니터링 및 스크리닝이 실시간으로 이루어질 수 있도록 한 것이다.
- [0097] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.
- [0098] 본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

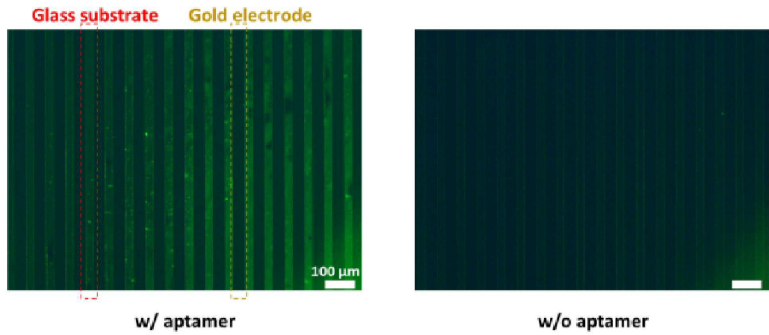
도면1



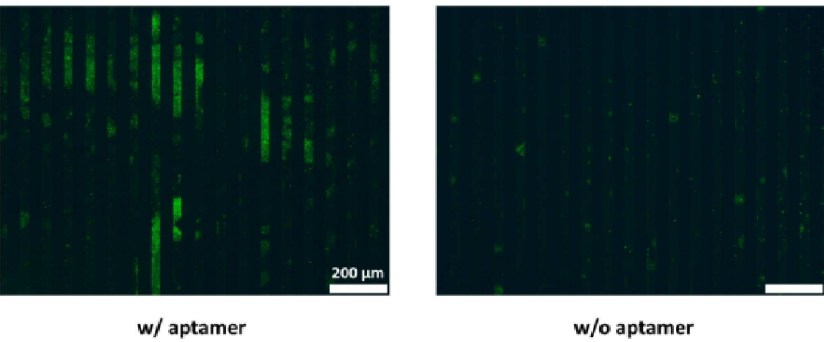
도면2



도면3



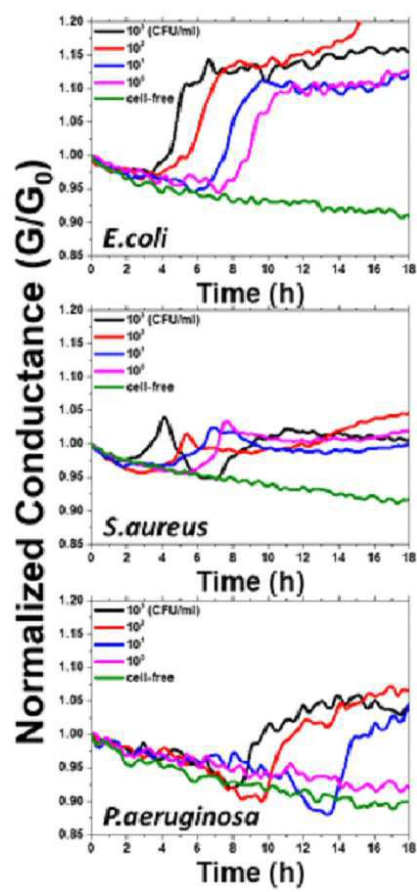
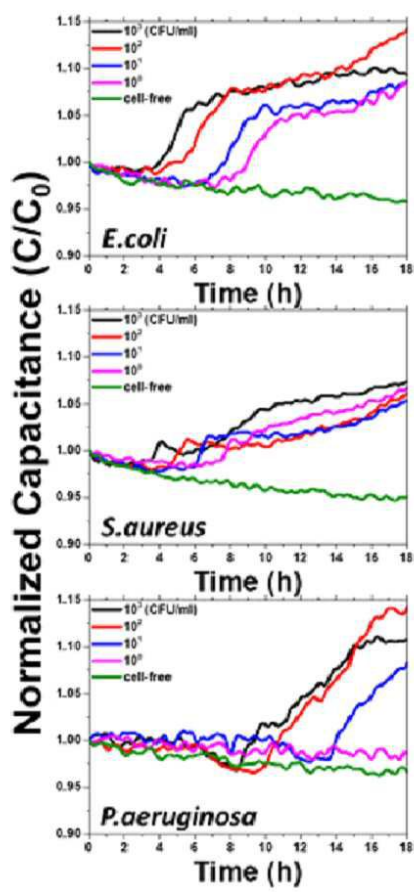
도면4



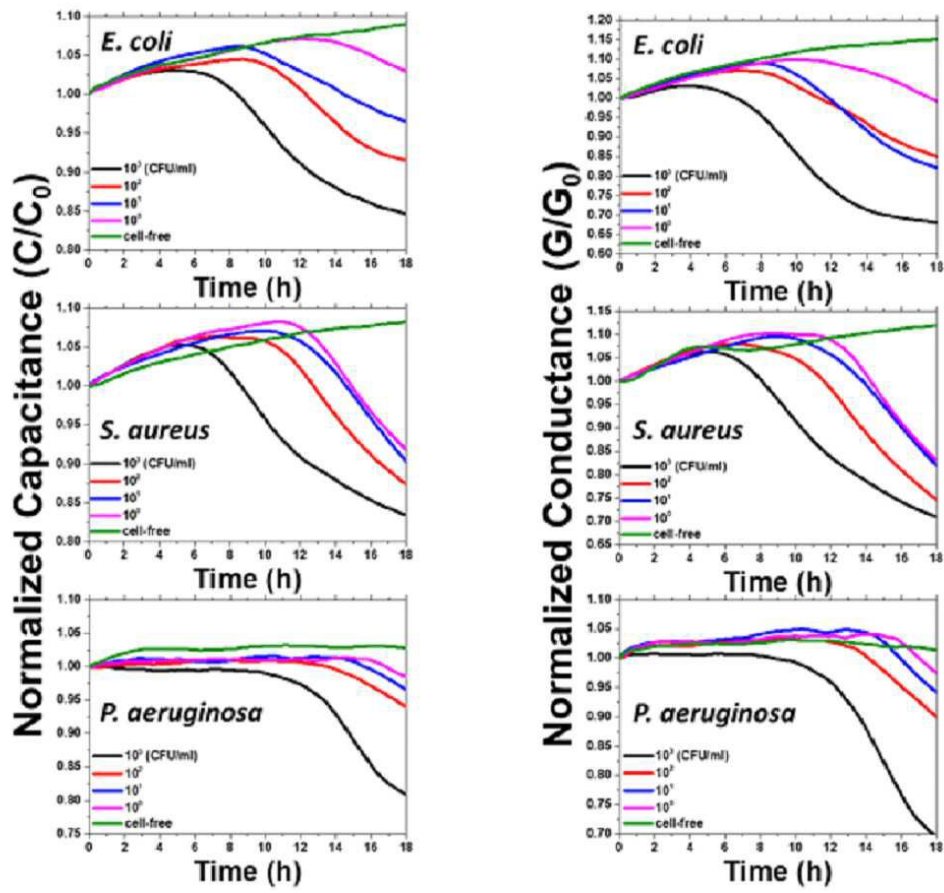
도면5



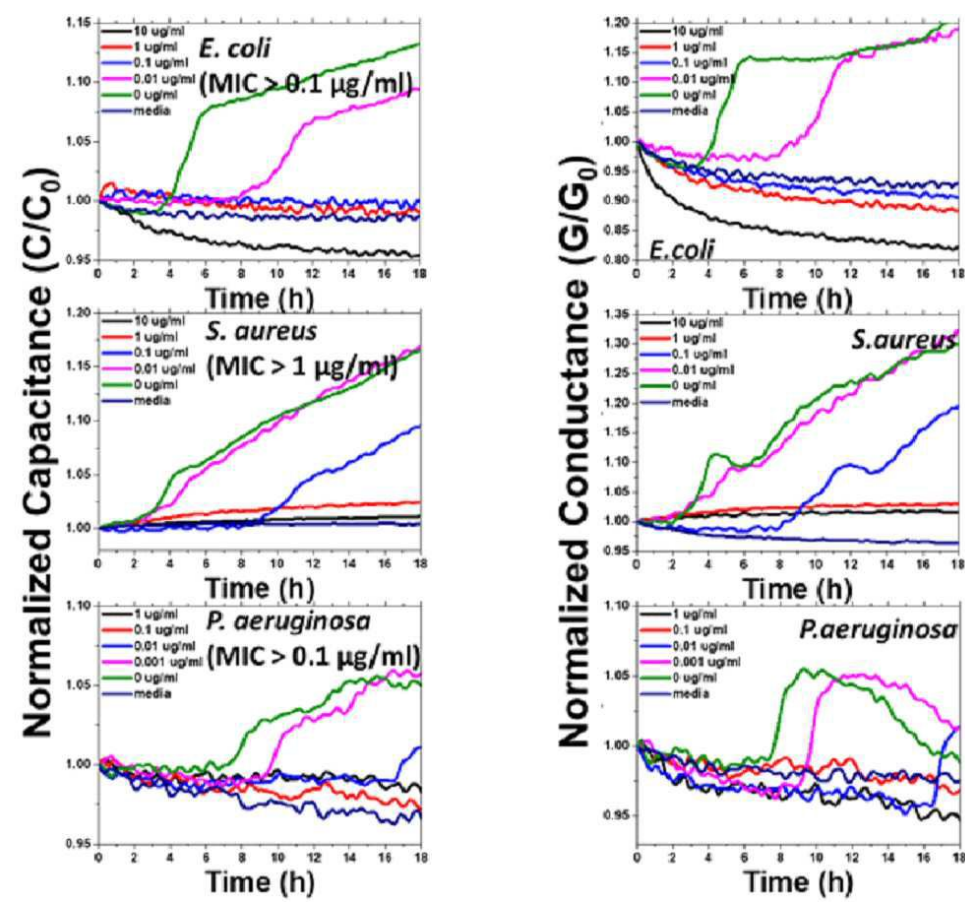
도면6



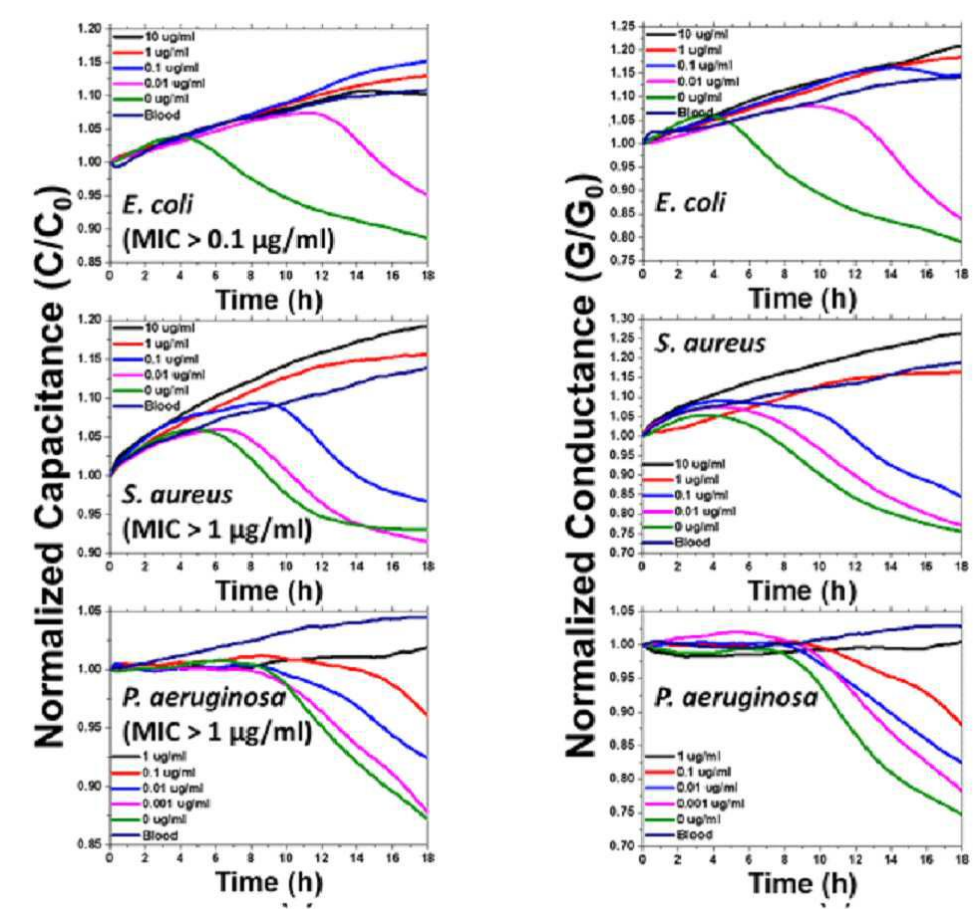
도면7



도면8



도면9



서열 목록

<110>	Industry-Academic Cooperation Foundation, Yonsei University	
<120>	APTAMER FUNCTIONALIZED VERTICAL BIOSENSOR AND USE THEREOF	
<130>	18PP31204	
<160>	3	
<170>	KoPatent In 3.0	
<210>	1	
<211>	88	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	aptamer of E.coli	
<400>	1	
	gcaatggtac ggtacttccc catgagtgtt gtgaaatgtt gggacactag gtggcataga	60
	gccgcaaaag tgcacgctac ttgtctaa	88
<210>	2	
<211>	88	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> aptamer of *S. aureus*

<400> 2

gcaatgggtac ggtacttcct cggcaggttc tcagtagcgc tcgctggtca tcccacagct 60

acgtcaaaag tgcacgctac ttgctaa 88

<210> 3

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> aptamer of *P. aeruginosa*

<400> 3

cccccgttgc tttegtttt ctttctgtt ttgttcgttt cgtccctgct tcctttcttg 60

60