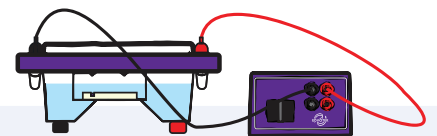

코로나 COVID-19 항체 검사 시뮬레이션 실험 키트

#ED1219



☎ 02-929-1110 ✉ info@koreasci.com

🛒 www.koreasci.com

※ 이 문서는 교육적 목적으로만 사용되어야 하며 그 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

· 사전 준비

- 마이크로 플레이트 스트립 뒷면에 번호를 적는다.(그림1)

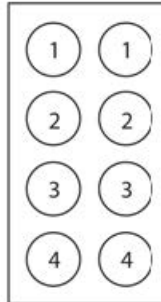


그림1. 마이크로 플레이트

- 증류수가 담긴 비커에서 마이크로 피펫을 행균 후 피펫을 천천히 눌러 한번에 한 방울 씩 떨어뜨리는 연습을 한다. (* 연습 후 피펫에 남아있는 증류수를 모두 제거한다.)

· 실험 전 주의 사항

- 피펫에 남아있는 샘플이 다른 샘플을 오염시키지 않도록 하기 위해서 피펫 사용 후에는 피펫을 증류수로 헹궈준다.
- 피펫을 행균 증류수는 바로 바로 교체한다.

· 실험 방법

1. 마이크로 플레이트 스트립의 8개의 구멍마다 anti-human IgG/IgM 항체를 2 방울 씩 넣는다.
2. 실온에서 5분간 항체를 배양한다.
3. 대조군(음성, 양성)과 실험군(환자1, 2)을 나누어 플레이트 구멍에 2방울 씩 넣는다. (그림2)
(* 각 과정에서 피펫에 남은 샘플은 튜브에 다시 넣는다. 증류수로 피펫을 헹궈고 사용한 증류수는 바로 교체한다.)

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

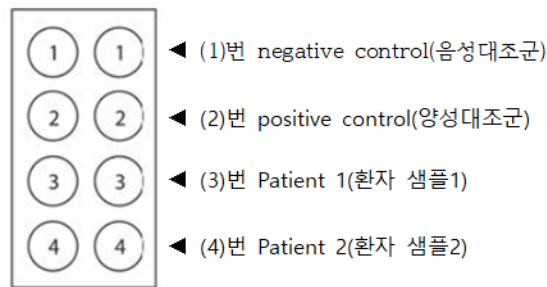


그림2. 대조군, 실험군 플레이트 순서

4. 실온에서 5분간 배양한다.

5. 새로운 피펫으로 검출 항체(Detection Antibody(F))를 마이크로 플레이트 스트립의 모든 구멍에 2방울 씩 넣는다.

(* 각 과정에서 피펫에 남은 검출 항체는 튜브에 다시 넣는다. 증류수로 피펫을 헹구고 사용한 증류수는 바로 교체한다.)

6. 실온에서 5분간 배양한다.

7. 기질(substrate)을 마이크로 플레이트 스트립의 모든 구멍에 2방울 씩 넣는다.

8. 대조군(음성, 양성)과 실험군(환자1, 2)의 변화를 관찰하고 기록한다.



★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

[실험 목적]

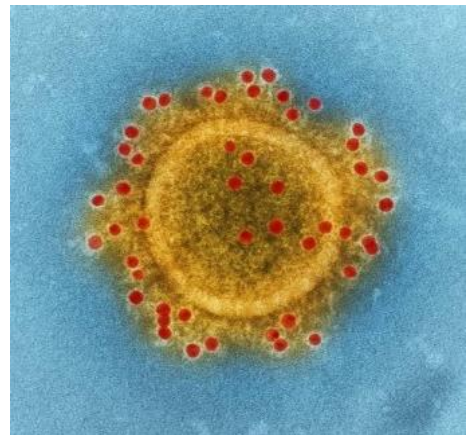
이 실험의 목적은 학생들이 다음의 내용을 배우는 것이다.

- 항원-항체 기반 검출 기술에 대해 알아보기
- 시뮬레이션 실험을 통해 COVID-19에 대한 현재 테스트 기술 이해

[배경지식]

1. 코로나바이러스 (Coronavirus)

코로나바이러스는 1930년대 닭에서 처음 발견된 뒤 개·돼지·조류 등의 동물에서 발견되었고, 1960년 대에는 사람에게서도 발견되었다. 바이러스 표면 모양이 태양의 바깥층을 구성하는 코로나와 비슷해 코로나바이러스라는 이름이 붙었다.



코로나바이러스의 전자현미경 사진. (출처: CDC)

코로나바이러스는 유전물질로 단일가닥의 RNA를 가지고 있으며 외피로 둘러싸여 있다. 코로나바이러스의 게놈 크기는 26~32kb로, RNA 바이러스 중 큰 게놈 크기를 가지고 있다. 코로나바이러스는 숙주에 들어가 자신의 RNA를 복제하고 필요한 단백질을 만들어 낸다.

개·돼지·소·조류 등이 코로나바이러스에 감염되면 호흡기와 소화기에 질병을 일으키기도 한다. 닭에 감염되는 코로나바이러스의 한 종류인 infectious bronchitis virus (IBV)의 경우 처음 호흡기에 감염되더라도 신장 등 다른 장기로 옮겨 감염된다. 고양이와 쥐에 감염되는 일부 코로나바이러스 중에는 치사율이 높은 것도 있다. 코로나바이러스는 보통 가까운 종끼리 감염된다고 알려졌지만, SARS를 일으키는 SARS-CoV의 경우 사람에서 원숭이, 개, 고양이 등 다른 포유류에게도 전염될 수 있다. MERS를 일으키는 MERS-CoV의 경우, 사우디아라비아 내 단봉낙타 접촉에 의해 사람이 감염된 사례가 보고된 바 있다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

사람이 코로나바이러스에 감염되면 콧물, 기침, 열 등 코감기 증상이 나타난다. 코로나바이러스는 기침이나 재채기를 통해 공기로 전염되며, 악수 등 신체접촉을 통해서도 옮을 수 있다. 대부분 시간이 지나면 증상은 저절로 낫지만 기침과 통증을 가라앉히기 위해 약을 먹기도 한다. 그러나 SARS-CoV에 감염되면 다른 코로나바이러스에 감염됐을 때보다 열과 기침, 두통 등 증상이 심하게 나타난다.

중증급성호흡기증후군(Severe Acute Respiratory Syndrome:SARS, 사스)을 일으키는 'SARS-CoV'도 코로나바이러스 중 하나다. 지난 2003년에는 세계적으로 약 8,000여 명의 사람이 SARS-CoV에 감염됐으며 이 중 약 10%가 사망하였다. SARS 이후 사람 코로나바이러스 연구가 계속되었고 코로나 바이러스 NL6, HKU1가 새로 발견되었다. 하지만 아직까지 사람에게 쓸 수 있는 코로나바이러스 백신은 연구 중이다.

또한 중동호흡기증후군(Middle East Respiratory Syndrome:MERS, 메르스)을 일으키는 'MERS-CoV'도 코로나바이러스 중 하나다. 2012년부터 2015년 7월까지 세계적으로 1,472명이 감염되었으며, 이 중 약 37%인 557명이 사망하였다. 한국에서는 2015년 5월 첫 감염자가 발견된 후 2015년 7월까지 186명이 감염되었으며, 이 중 약 19%인 36명이 사망하였다.

2019년 12월에는 중국 우한에서 일명 신종 코로나바이러스(2019-nCoV)로도 불리는 코로나바이러스-19(COVID-19, 약칭 코로나19)가 발생하였으며, 7번째 인체 감염 코로나 바이러스로 확인되었다. 중증 폐렴을 유발할 가능성이 있는 것으로 알려졌다.

[출처] [네이버 지식백과] 코로나바이러스 [Coronavirus] (두산백과)

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

2. 코로나바이러스감염증-19 (COVID-19)

2019년 12월 중국 우한에서 처음 발생한 이후 중국 전역과 전 세계로 확산된, 새로운 유형의 코로나바이러스(SARS-CoV-2)에 의한 호흡기 감염질환이다. 코로나바이러스감염증-19는 감염자의 비말(침방울)이 호흡기나 눈·코·입의 점막으로 침투될 때 전염된다. 감염되면 약 2~14일(추정)의 잠복기를 거친 뒤 발열 (37.5℃) 및 기침이나 호흡곤란 등 호흡기 증상, 폐렴이 주증상으로 나타나지만 무증상 감염 사례도 드물게 나오고 있다.

외국어 표기	corona virus disease 19, COVID-19(영어)
최초 발생	2019년 12월 중국 후베이(湖北)성 우한(武漢)
질병 분류	•법정감염병 : 제1급감염병 신종감염병증후군 •질병 코드 : U07.1
병원체	SARS-CoV-2: Coronaviridae에 속하는 RNA 바이러스
전파경로	현재까지는 비말, 접촉을 통한 전파로 알려짐 • 기침이나 재채기로 호흡기 비말 등 • 오염된 물건을 만진 뒤 눈, 코, 입을 만짐
잠복기	1~14일 (평균 4~7일)
증상	발열, 권태감, 기침, 호흡곤란 및 폐렴 등 경증에서 중증까지 다양한 호흡기 감염증이 나타남. 그 외 가래, 인후통, 두통, 객혈과 오심, 설사 등도 나타남.
치료	아직 백신이나 치료제는 없음. 따라서 환자의 증상에 따른 대증치료(수액 보충, 해열제 등 보존적 치료) 진

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

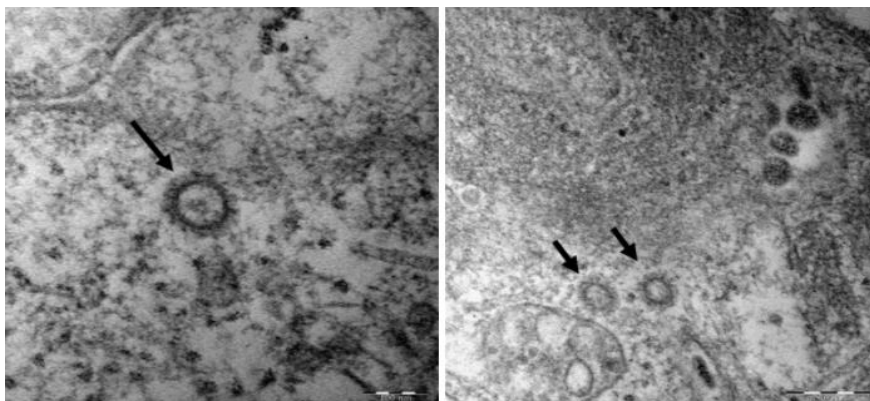
행

치명률

- 전세계 치명률은 약 3.4%(WHO, 3.5 기준). 단, 국가별 · 연령별 치명률 수준은 매우 상이함
 - 고령, 면역기능이 저하된 환자, 기저질환을 가진 환자가 주로 중증, 사망 초래
-

2019년 12월 중국 우한에서 처음 발생한 뒤 중국 전역과 전 세계로 확산된 호흡기 감염질환이다. 초기에는 원인을 알 수 없는 호흡기 전염병으로만 알려졌으나, 세계보건기구(WHO)가 2020년 1월 9일 해당 폐렴의 원인이 새로운 유형의 코로나바이러스(SARS-CoV-2, 국제바이러스분류위원회 2월 11일 명명)라고 밝히면서 병원체가 확인됐다.

중국 정부는 2020년 1월 21일 우한 의료진 15명이 확진 판정을 받았으며 코로나19의 사람 간 감염 가능성을 공식 확인했는데, 이 의료진 감염 여부는 사람 사이의 전염을 판별하는 핵심 지표로 알려져 있다. 이후 감염 확산세가 이어지자, WHO는 1월 30일 '국제적 공중보건 비상사태'(PHEIC)를 선포했다. 그러다 코로나19 확진자가 전 세계에서 속출하자 WHO는 3월 11일 홍콩독감(1968), 신종플루(2009)에 이어 사상 세 번째로 코로나19에 대해 팬데믹(Pandemic, 세계적 대유행)을 선포했다.



★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

국내 6명의 코로나19 환자로 부터 얻은 바이러스 고해상 전자현미경 사진(2020.2.27).

코로나바이러스 입자 크기: 80-100nm (출처: 질병관리본부)

이 질환은 초기 '우한 폐렴'이라고 불려졌으나, 세계보건기구(WHO)가 2015년 내놓은 ▷지리적 위치 ▷사람 이름 ▷동물·식품 종류 ▷문화 ▷주민·국민 ▷산업 ▷직업군이 포함된 병명을 사용하지 말라는 권고에 따라, '신종코로나바이러스감염증'으로 불렸다. 그러다 WHO는 2020년 2월 11일 신종코로나바이러스감염증의 공식 명칭을 'COVID-19'로 정했다고 발표했는데, 여기서 'CO'는 코로나(corona), 'VI'는 바이러스(virus), 'D'는 질환(disease), '19'는 신종 코로나바이러스 발병이 처음 보고된 2019년을 의미한다. 이에 우리 정부는 2월 12일 '신종코로나바이러스감염증'의 한글 공식 명칭을 '코로나바이러스감염증-19'(국문 약칭 코로나19)로 명명한다고 발표했다.

[출처] [네이버 지식백과] 코로나바이러스감염증-19
(시사상식사전, pmg 지식엔진연구소)



[질환 영문명(WHO): COVID-19 | 바이러스명(ICTV): SARS-CoV-2] (이미지 출처: The Biology Notes)

3. 코로나바이러스 검사방법

1) 세포 배양 검사법

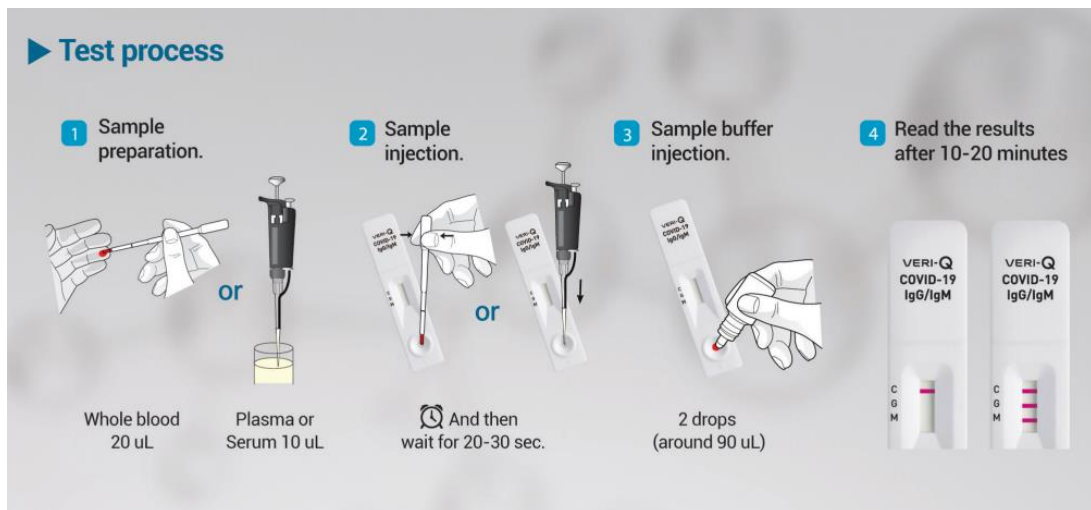
검사 시간이 오래 걸리고, 대용량 검사를 하기에는 적절하지 않다는 단점이 있다. 바이러스를 분리해서 다른 작업에 쓰는 목적으로는 좋지만. 통상적인 진단검사로는 부적절하고 위험하다는 평

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

가를 받는다.

2) 항원·항체 검사법

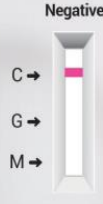
항원 (바이러스)을 검사하거나, 신종코로나19 바이러스가 체내에 들어온 뒤 형성되는 항체를 확인하는 방식이다. 통상 인체 내에서 특정 감염병에 대한 항체가 생기려면 2~4주 정도 걸리기 때문에, 감염 초기에는 '코로나19' 확진 여부 판정이 어렵다. 하지만 무증상(무자각) 확진자 혹은 '음성' 전환 뒤의 항체 형성 여부 등을 확인해볼 수 있다는 장점이 있다.



★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

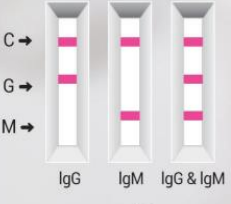
▶ Test results

Negative



C →
G →
M →


Positive



C →
G →
M →

IgG IgM IgG & IgM

Invalid



C →
G →
M →

Negative

A pink colored band only at the control region (C) represents "COVID-19 negative".

Positive

Pink colored bands at control region (C) and IgG (G) and /or IgM (M) region indicate "COVID-19 positive".

- 1) Pink colored bands at both IgM (M) and IgG (G): "COVID-19 positive".
- 2) Pink colored bands at IgM (M) alone: "COVID-19 positive".
- 3) Pink colored bands at IgG (G) alone: "COVID-19 positive".

Invalid

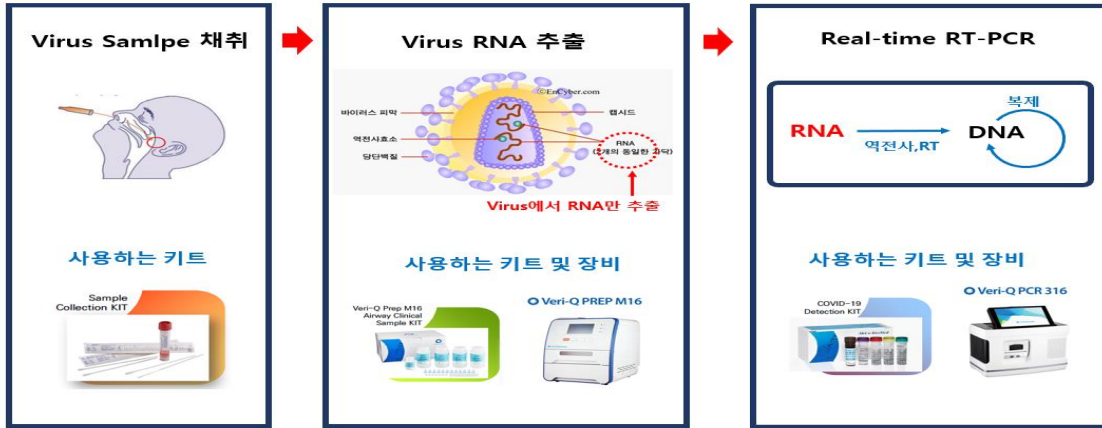
No visible band at the control region (C). Repeat with a new test device.
If test still fails, please contact the distributor with the lot number.

항원·항체 검사법을 활용한 SARS-CoV-2 신속진단 키트

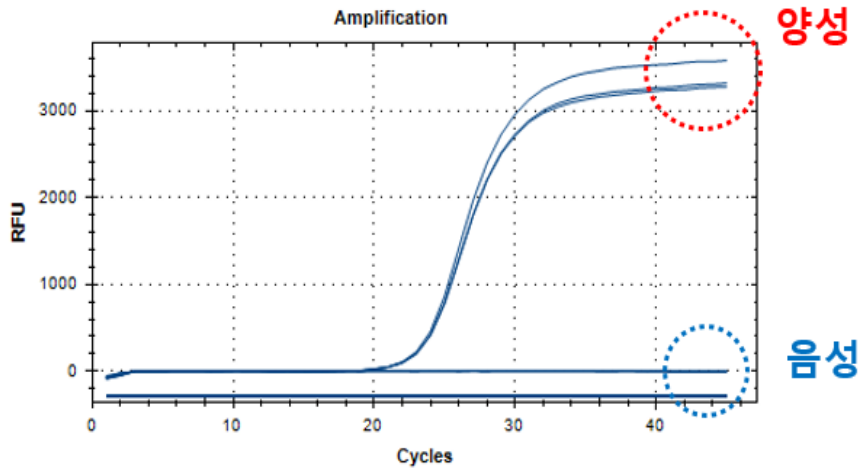
3) 실시간 역전사 중합효소 연쇄반응법 (Real-time RT-PCR)

실시간 역전사 중합효소 연쇄반응(Real-time reverse transcription PCR; Real-time RT-PCR)은 "PCR 반응에 의해 증폭되는 DNA를 실시간으로 확인하며 전기영동 없이 샘플 내의 target DNA 유무 뿐 아니라 DNA의 양까지 정량분석이 가능한 방법"이다. 달리 말해, 실시간 유전자증폭 검사 기술은 "PCR 기술에 신종 코로나바이러스에만 존재하는 염기서열" 2개에 달라붙는 '프라이머' 혹은 '탐침'을 붙이는 방식이다. 이는 신종코로나19용 진단시약 역할을 하며, 이 프라이머가 특정 유전자에 결합해야 증폭 반응이 일어난다. 따라서 진단시약을 주입한 뒤, 유전자 증폭장비를 돌렸을 때, 해당 검체(검사체)가 일정 값에 이를 만큼 증폭되면 신종코로나가 존재한다고 판정하고(양성), 반대의 경우 음성이다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.



Real-time RT-PCR을 활용한 SARS-CoV-2 진단과정



Real-time RT-PCR의 결과 그래프를 활용한 SARS-CoV-2 진단방법

[ELISA를 활용한 SARS-CoV-2 진단방법]

이 실험키트는 항원-항체 기반의 ELISA(효소결합 면역흡착 측정법 또는 효소 면역 측정법) 기법을 활용하여 SARS-CoV-2 진단한다.

ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)는 항체-항원 반응을 이용하여 시료에 존재하는 물질 (일반적으로 단백질)의 양과 항원-항체 반응 강도를 정량적으로 측정할 수 있는 방법이다. 일반적으로 시료의 항원을 마이크로플레이트(microplate) 표면에 부착시킨 후, 항원에 결합할 수 있는 항체를 결합시키게 되는데, 이때 항체에 특정 효소를 결합시켜 기질-효소 반응에 의한 색깔 변화가 나타내게 되어 이를 마이크로플레이트 분광광도계를 통해 정량적으로 계산할 수 있다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

※ 효소 면역 측정법의 종류

직접법(Direct Assay)

항원을 표면에 결합시킨 후, 색 반응을 나타내는 효소가 결합 된 1차 항체를 넣어 항원-항체 결합을 이룬다. 기질을 추가하여 색 반응을 정량한다.

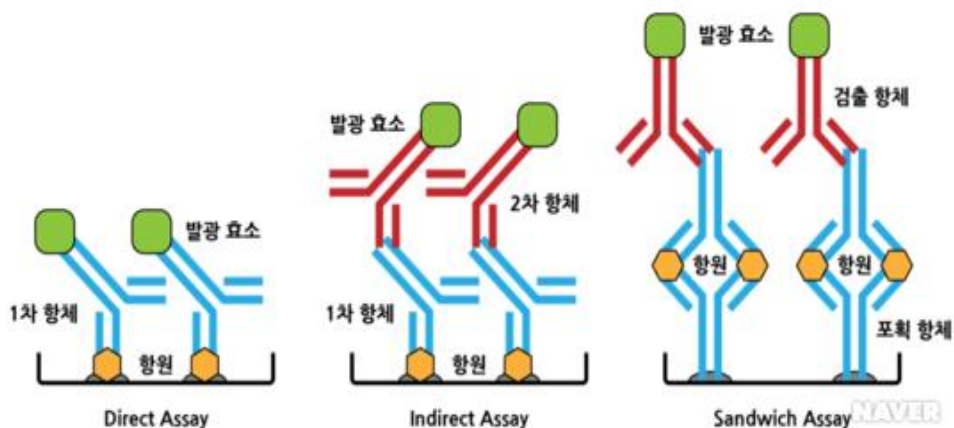
간접법(Indirect Assay)

직접법과 같이 항원을 표면에 결합 시키지만, 항원과 결합하는 1차 항체에 효소를 결합시키지 않고, 2차 항체에 결합된 효소를 통해 기질과의 색 반응을 정량한다.

샌드위치법(Sandwich Assay)

특정 항원에 대한 항체를 표면에 앞서 결합시키고, 실험하고자 하는 항원을 결합시킨 다음, 2차 항체와 효소가 결합되어 있는 3차 항체를 결합시킨다. 역시 효소에 대한 기질을 넣어 색 반응을 정량한다. 샌드위치법은 항원이 적거나 예측되지 않은 항원을 검출하고자 할 때 사용된다.

[네이버 지식백과] 효소 면역 측정법 [ELISA] (미생물학백과)



효소 면역 측정법의 종류 (그림: 서창완/서울대)

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

이 실험키트는 샌드위치법(Sandwich Assay)을 활용하여 가상의 환자 혈액샘플에서 SARS-CoV-2로 만들어지는 2개의 항체(IgM & IgG)를 검사하는 모의실험이다. IgM 항체는 SARS-CoV-2에 대응하는 첫 번째 항체로 SARS-CoV-2에 직접 결합하여 바이러스의 활성을 막아낸다. 그리고 IgG 항체는 SARS-CoV-2에 감염될 경우 면역 글로불린을 대량으로 만들어 분비하는 Plasma B-cell을 생산한다.

만약 환자가 SARS-CoV-2에 감염되었다면 항체가 생성되어 ELISA를 통해 색이 변하는 결과를 확인할 수 있다. 그리고 환자가 SARS-CoV-2에 감염되지 않았다면 항체가 생성되지 않아 색의 변화는 없다.

