

---

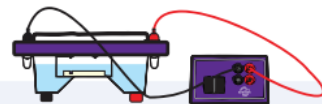
---

코로나 COVID-19 항체 검사 시뮬레이션 실험 키트

---

---

#ED1219



☎ 02-929-1110    ✉ info@koreasci.com  
🌐 www.koreasci.com

## [ 실험 요약 ]

이 키트는 가장 민감하게 반응하는 샌드위치 ELISA 를 사용합니다.

코로나 바이러스에 감염된 후 인체에서는 IgM과 IgG 항체가 만들어집니다.

키트에서 처음에 사용되는 시약은 환자의 몸에서 생성된 IgG/IgM 항체를 인지할 수 있습니다. 이 시약이 모든 구멍에 들어가면 마이크로 플레이트에 흡착되게 됩니다. (단백질과 플라스틱 특징)

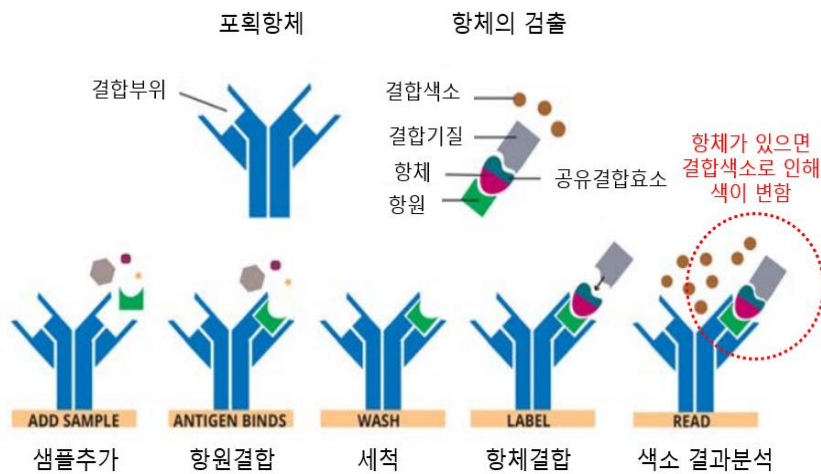
다음으로 음성, 양성 대조 샘플과 환자1, 환자2 샘플이 각 구멍에 섞입니다.

바이러스 감염으로 항체를 가진 환자의 샘플의 경우 이 과정에서 처음에 넣었던 항체와 붙게 됩니다. 그 후 세척과정을 통해 붙지 않은 항체를 씻어내지만 이 키트는 그 과정을 단순화했기에 생략되었습니다.

그 후 재조합된 코로나 항원을 추가하면 씻겨지지 않고 남은 항체에 붙게 됩니다.

마지막으로 기질을 추가하면 2차 항체에 붙어 색변화가 일어납니다.

양성과 음성대조군과 비교하여 감염여부를 확인하게 됩니다.



### · 실험 전 주의 사항

- 피펫에 남아있는 샘플이 다른 샘플을 오염시키지 않도록 하기 위해서 피펫 사용 후에는 피펫을 증류수로 헹궈줍니다.
- 피펫을 헹군 증류수는 곧바로 교체합니다.

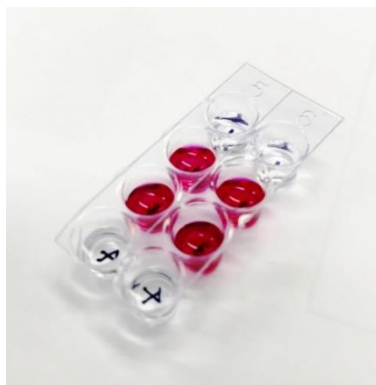
★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 (주)한국과학에 있습니다.

## [ 실험 과정 ]

1. 마이크로 플레이트를 뒤집어 아랫면에 1~4 번호를 표기합니다.
2. 비커에 증류수를 준비하고 피펫을 행구면서 한 방울씩 떨어뜨리는 연습을 하도록 합니다.



3. **Anti-Human IgG/IgM 항체(튜브 A)** 2방울을 1~4번의 모든 구멍에 떨어뜨립니다. 피펫을 증류수로 여러번 행귀낸 후 증류수를 교체합니다.
4. 5분간 실온에 놔두도록 합니다.
5. 음성대조 **Negative Control (튜브 B)** 2방울을 '1'번 구멍에 떨어뜨립니다. 피펫을 증류수로 여러번 행귀낸 후 증류수를 교체합니다.
6. 양성 대조 **Positive Control (튜브 C)** 2방울을 '2'번 구멍에 떨어뜨립니다. 피펫을 증류수로 여러번 행귀낸 후 증류수를 교체합니다..
7. 환자1 **Patient 1 (튜브 D)** 2방울을 '3'번 구멍에 떨어뜨립니다. 피펫을 증류수로 여러번 행귀낸 후 증류수를 교체합니다.
8. 환자 2 **Patient 2 (튜브 E)** 2방울을 '4'번 구멍에 떨어뜨립니다. 피펫을 증류수로 여러번 행귀낸 후 증류수를 교체합니다..
9. 5분간 실온에 놔둡니다. (이 키트는 ELISA의 과정을 단순화했습니다. 보통 이 과정은 부착되지 않은 1차 항체를 씻겨내게 됩니다.)
10. 새로운 피펫을 사용해 탐지시약(**Enzyme-Linked SARS-CoV-2 Antigen**) (튜브 F) 2방울을 1~4번의 모든 구멍에 떨어뜨립니다. 피펫을 증류수로 여러번 행귀낸 후 증류수를 교체합니다.
11. 5분간 실온에 놔둡니다. (보통 이 과정은 부착되지 않은 2차 항체를 씻겨내게 됩니다.)
12. 기질 Substrate (튜브 G) 2방울을 모든 구멍에 떨어뜨리고 색 변화를 관찰합니다.



★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 (주)한국과학에 있습니다.

## [ 실험 목적 ]

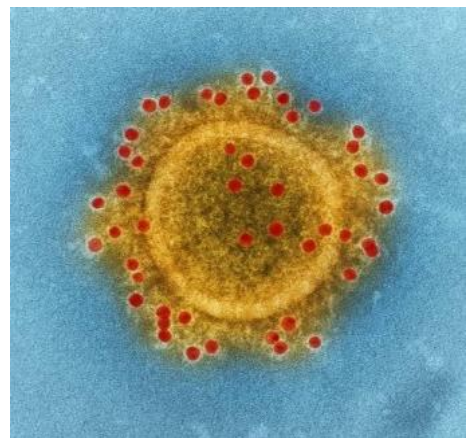
이 실험의 목적은 학생들이 다음의 내용을 배우는 것이다.

- 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 (주)한국과학에 있습니다.

사람이 코로나바이러스에 감염되면 콧물, 기침, 열 등 코감기 증상이 나타난다. 코로나바이러스는 기침이나 재채기를 통해 공기로 전염되며, 악수 등 신체접촉을 통해서도 옮길 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 (주)한국과학에 있습니다.

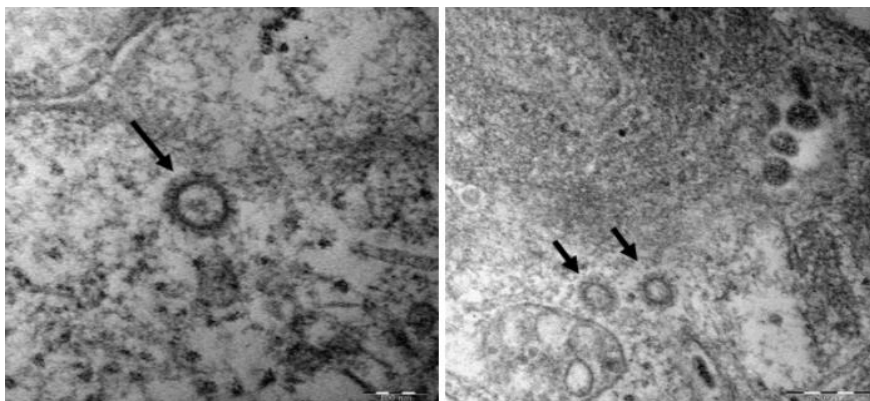
## 2. 코로나바이러스감염증-19 (COVID-19)

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°C) 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) 진행
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.



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

코로나바이러스 입자 크기: 80-100nm (출처: 질병관리본부)

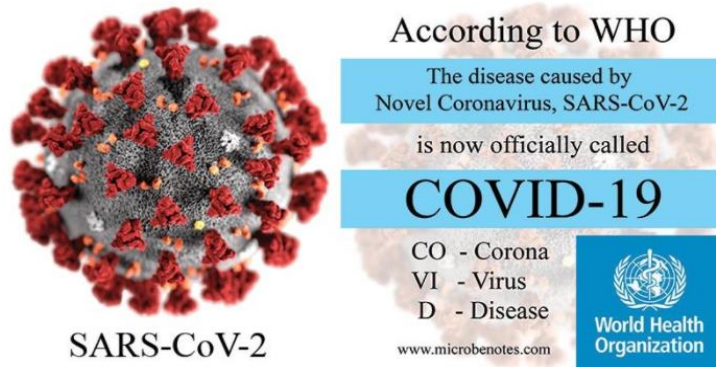
이 질환은 초기 '우한 폐렴'이라고 불려졌으나, 세계보건기구(WHO)가 2015년 내놓은 ▷지리적 위치 ▷사람 이름 ▷동물·식품 종류 ▷문화 ▷주민·국민 ▷산업 ▷직업군이 포함된 병명을 사용하지 말라는 권고에 따라, '신종코로나바이러스감염증'으로 불렸다. 그러다 WHO는 2020년 2월 11일 신종코로나바이러스감염증의 공식 명칭을 'COVID-19'로 정했다고 발표했는데, 여기서 'CO'는 코로나(corona), 'VI'는 바이러스(virus), 'D'는 질환(disease), '19'는 신종 코로나바이러스 발병이 처음 보고된 2019년을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

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 (주)한국과학에 있습니다.

을 '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 평가를 받는다.

#### 2) 항원·항체 검사법

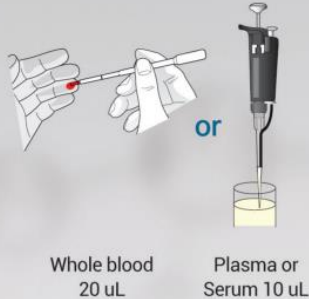
항원 (바이러스)을 검사하거나, 신종코로나19 바이러스가 체내에 들어온 뒤 형성되는 항체를 확인하는 방식이다. 통상 인체 내에서 특정 감염병에 대한 항체가 생기려면 2~4주 정도 걸리기 때문에, 감염 초기에는 '코로나19' 확진 여부 판정이 어렵다. 하지만 무증상(무자각) 확진자 혹은 '음성' 전환 뒤의 항체 형성 여부 등을 확인해볼 수 있다는 장점이 있다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 (주)한국과학에 있습니다.

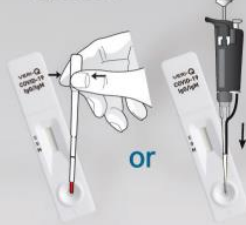


## ▶ Test process

1 Sample preparation.



2 Sample injection.



3 Sample buffer injection.



4 Read the results after 10-20 minutes



## ▶ Test results

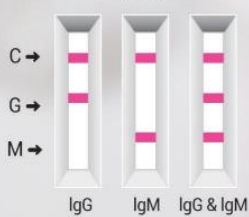
Negative



**Negative**

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

Positive



**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



**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.

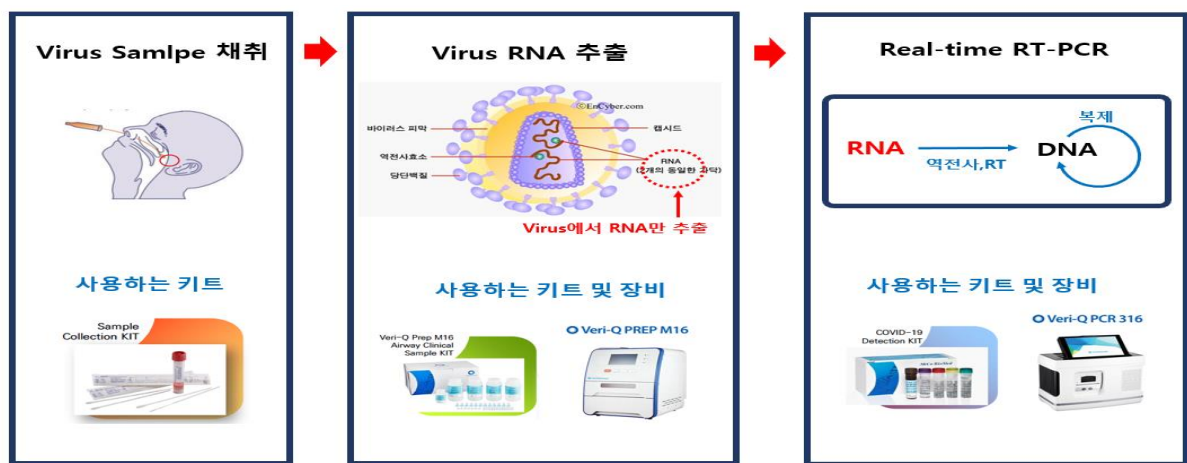
항원-항체 검사법을 활용한 SARS-CoV-2 신속진단 키트

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

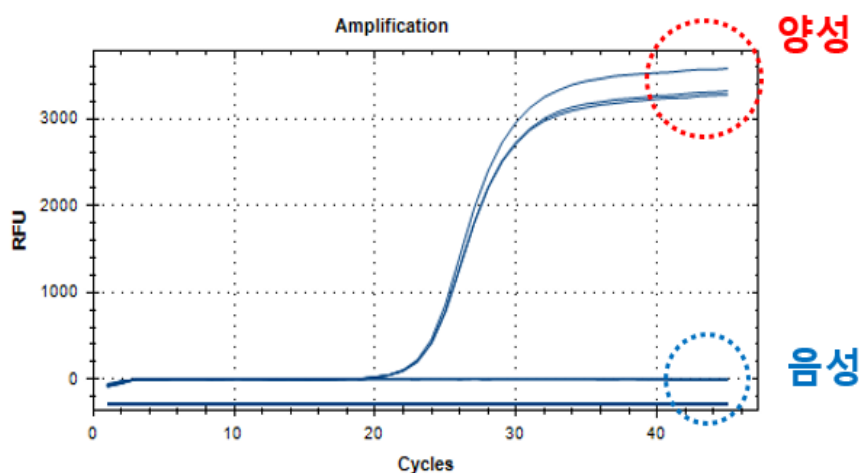
실시간 역전사 중합효소 연쇄반응(Real-time reverse transcription PCR; Real-time RT-PCR)은 "PCR 반응에 의해 증폭되는 DNA를 실시간으로 확인하며 전기영동 없이 샘플 내의 target DNA 유무 뿐 아니라 DNA의 양까지 정량분석이 가능한 방법"이다. 달리 말해, 실시간 유전자증폭 검사 기술

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 (주)한국과학에 있습니다.

은 "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.



Real-time RT-PCR을 활용한 SARS-CoV-2 진단과정



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

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 (주)한국과학에 있습니다.

## [ ELISA 를 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.

### ※ 효소 면역 측정법의 종류

#### 직접법(Direct Assay)

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

#### 간접법(Indirect Assay)

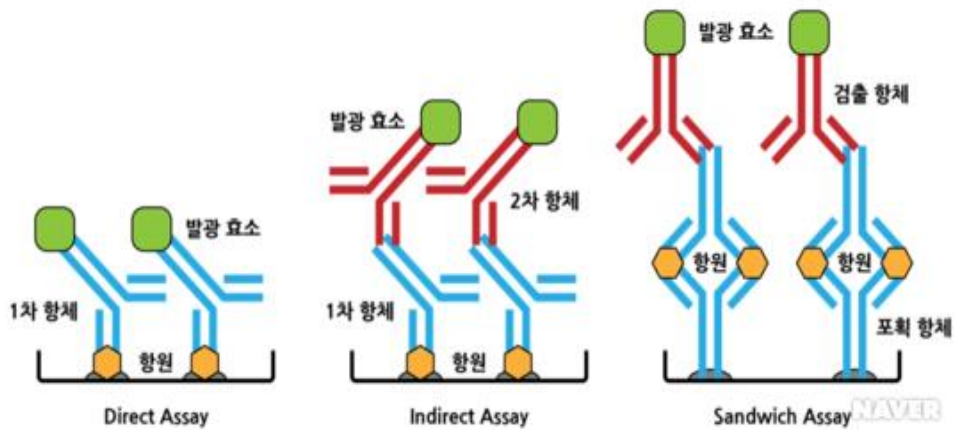
직접법과 같이 항원을 표면에 결합시키지만, 항원과 결합하는 1차 항체에 효소를 결합시키지 않고, 2차 항체에 결합된 효소를 통해 기질과의 색 반응을 정량한다.

#### 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 )

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 (주)한국과학에 있습니다.



효소 면역 측정법의 종류 (그림: 서창완/서울대)

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.