

Diagnostic Techniques for SARS-CoV-2 Detection

Jong-Sik Kim¹, Na-Kyung Kang², Seon-Mi Park², Eun-Joo Lee¹ and Kyung Tae Chung^{2*}

¹Department of Biological Sciences and Biotechnology, Andong National University, Andong 36729, Korea

²Department of Clinical Laboratory Science, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

Received August 20, 2020 / Revised August 25, 2020 / Accepted August 26, 2020

Coronavirus disease 19 (COVID-19) is caused by SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2). To date, seven coronaviruses that can infect humans were reported. Among them, infections with four coronavirus strains (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, and HCoV-HKU1) resulted in mild symptoms such as common cold, whereas SARS-CoV and MERS-CoV caused severe symptoms and epidemics in 2002 and 2012, respectively. In the most recent, SARS-CoV-2 was first reported in Wuhan, China in December 2019 and became a notorious cause of the ongoing global pandemics. To diagnose, treat, and prevent COVID-19, the development of rapid and accurate diagnostic tools, specific therapeutic drugs, and safe vaccines essentially are required. In order to develop these powerful tools, it is prerequisite to understand a phenotype, a genotype, and life cycle of SARS-CoV-2. Diagnostic techniques have been developing rapidly around world and many countries take the fast track system to accelerate approval. Approved diagnostic devices are rapidly growing facing to urgent demand to identify carriers. Currently developed commercial diagnostic devices are divided into mainly two categories: molecular assay and serological & immunological assay. Molecular assays begins the reverse transcription step following polymerase chain reaction or isothermal amplification. Immunological assay targets SARS-CoV-2 antigen or anti-SARS-CoV-2 antibody of samples. In this review, we summarize the phenotype, genome structure and gene expression of SARS-CoV-2 and provide the knowledge on various diagnostic techniques for SARS-CoV-2.

Key words : COVID-19, diagnostic techniques, genome structure, SARS-CoV-2

서 론

코로나바이러스(Coronavirus, CoV)는 crown 모양의 바이러스로서 인간을 비롯한 다양한 동물들에게서 호흡기질환, 장질환 등 다양한 질병을 일으키는 것으로 알려진 외피 보유의 양성 단일가닥 RNA 바이러스이다[25, 49, 60, 61]. 지금까지 인간에게 감염을 일으키는 것으로 알려진 코로나바이러스인 HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, 그리고 HCoV-HKU1은 감기 등 비교적 가벼운 호흡기 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다[53]. 그러나, 대유행(pandemic)을 일으킨 코로나바이러스는 2002년 SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus), 2012년의 MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus), 그리고 현재 전세계적으로 대유행 상태인 2019년 SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2)이다[16, 64, 68]. 중국 우한에서 처음 보고된 SARS-CoV-2는 초기에는 2019-nCoV

(2019-novel coronavirus)로 불리웠으나, ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses)에 속해 있는 Coronaviridae Study Group (CSG)이 계통학적, 분류학적 연구결과에 근거하여 2020년에 대유행한 SARS-CoV와 유사하여 SARS-CoV-2로 명명하였다[14]. SARS-CoV-2는 SARS와 염기서열 유사성이 79.6%이며, 세포 수용체인 ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2)를 동일하게 바이러스 수용체로 이용한다는 공통점을 가지고 있다[67].

코로나바이러스는 분류학적으로 *Nidovirales* 목(order), *Coronaviridae*과(family), 그리고 *Coronavirinae* 아과(subfamily)에 속하며 아과는 4개속(genus)으로 다시 나누어 진다[15]. 4개의 속은 *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus*, 그리고 *Deltacoronavirus*로 이루어져 있으며[61, 62], 현재 대유행 중인 SARS-CoV-2를 비롯하여 SARS-CoV, MERS-CoV 모두 *Betacoronavirus* 속에 포함된다[5].

전염병의 전파를 방지하는 가장 좋은 방법은 전파원의 감별과 차단이다. SARS-CoV-2의 경우는 전파력이 아주 뛰어나며, 무증상 보균자를 통한 확산, 일반 감기와 약한 독감의 증세와 유사한 임상적 증세로 인한 혼란을 유발함으로써 전파원의 감별과 차단이 쉽지가 않다. 이 때문에 SARS-CoV-2 양성 환자를 감별하기 위한 정확한 진단검사방법이 필요하며, 여러 국가에서 조기 진단을 위한 분자진단법을 개발하여 공개하였으며, WHO에서도 홈페이지를 통해 각 국가의 진단법을 모아서 공

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-2681, Fax : +82-51-890-2622

E-mail : kchung@deu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

개하여 전세계가 공동 대처할 수 있도록 하고 있다[58-60]. SARS-CoV-2가 보여주고 있는 사상 초유의 전세계적 전파와 전파속도에 대응하기 위해서는 진단검사 시약 또는 장비의 보급이 필수적이다. 그러나 의료기기(진단시약 포함)의 제조와 사용 승인은 임상시험평가를 포함하는 여러 검토 절차에는 많은 시간이 소요되어 SARS-CoV-2의 전파에 대응하기가 불가능 하기 때문에 각국에서는 승인에 필요한 소요되는 시간을 최소한으로 단축시킨 “긴급사용승인(Emergency-Use-Authorization)” 제도를 통해 진단시약을 보급하고 있다[19, 31].

2020년 초에는 몇몇 국가에서만 제공되었던 소수의 진단시약의 종류가 현재는 백 여종이 넘게 사용승인이 되어 있으며, 검사 방식도 SARS-CoV-2의 RNA를 표적으로 한 초기의 분자진단법 외에도 면역혈청학적 방법도 많이 개발되어 있으며, 진단검사에 소요되는 시간도 짧아지고 있다[3, 7, 9-11, 19, 31, 65]. 또한, 자가 임신진단키트와 같은 현장신속키트도 개발되어 SARS-CoV-2의 전파를 방지하기 위한 보건자 감별에 사용되고 있다[19, 31]. 현재 사용되는 진단방법은 크게 두 종류로 대별된다. 한 종류는 PCR을 기반으로 한 분자진단 검사법과 다른 종류는 SARS-CoV-2에 감염된 환자가 생산하는 항체와 SARS-CoV-2 자체의 항원을 검사하는 면역혈청학적 검사법이다.

따라서, 본 총설에서는 SARS-CoV-2의 phenotype, genotype과 이들을 이용한 분자진단법과 면역혈청학적 진단법 중에서 대표적인 기술에 대한 정보를 제공하고자 한다.

본 론

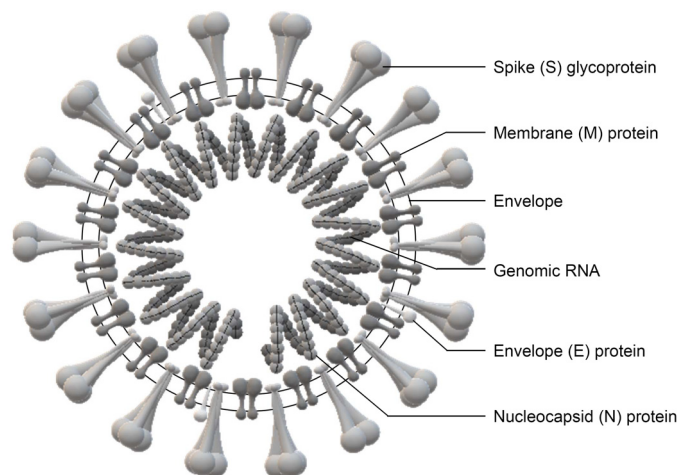
SARS-CoV-2의 phenotype

SARS-CoV-2는 외피(envelope)에서 돌출된 spike 단백질이 둘러 싸여져 있는 crown-like 모양으로 이루어진 바이러스이다(Fig. 1A). 현재 대유행중인 SARS-CoV-2를 비롯한 코로나바이러스는 전형적인 외피 보유 바이러스로써 유전체로는 양성 단일가닥의 RNA를 가지고 있으며, 이 유전체는 N 단백질(nucleoprotein)과 결합하여 나선형 모양의 nucleocapsid를 외피(envelope) 안에 가지고 있다[12, 39]. 외피에는 다양한 기능을 하는 바이러스 단백질이 있으며, 대표적으로 스파이크 단백질(Spike protein, S), 외피 단백질(Envelope protein, E), 막 단백질(Membrane protein, M)을 가지고 있으며 일부 코로나바이러스는 Hemagglutinin-esterase (HE)를 가지는 경우도 있다[27, 33].

Spike (S) 단백질은 외피에서 돌출된 단백질로서 세포수용체인 ACE2와 직접결합함으로써 세포 내로 진입하는데 중요한 역할을 한다[54]. SARS-CoV-2의 경우 SARS-CoV와 동일하게 ACE2 수용체를 사용하나 SARS-CoV 보다 수용체에 대한 높은 친화력을 보여주는 것으로 보고되었다[55]. 또한, S 단백질은 SARS-CoV-2의 인체 감염 시 항체 생성을 유발하는 대표적인 항원으로 작용하는 단백질로써, 백신(vaccine) 개발과 치료제 개발에 매우 중요한 target 단백질이기도 하다[17, 50].

SARS-CoV-2의 E 단백질은 바이러스 외피에 박혀 있는 76~

A. The structure of SARS-CoV-2 virus



B. Genomic structure of SARS-CoV-2 virus

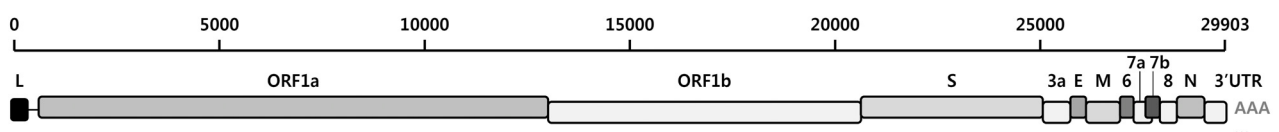


Fig. 1. The virion structure and genomic structure of SARS-CoV-2. (A) The schematic of virion structure of SARS-CoV-2 is adopted from ref. 39 and slightly modified. (B) The schematic of genomic structure of SARS-CoV-2 is adopted from ref. 29.

109개의 아미노산으로 구성된 작은 integral 단백질로써[4], 바이러스의 조립(assembly), budding, 외피형성, 병원성 등 바이러스의 생활사의 여러 단계에 관련이 있다. 따라서, E 단백질이 결손된 바이러스 입자는 잠재적인 백신의 후보가 될 수도 있다[45].

SARS-CoV-2의 M (membrane) 단백질은 바이러스 조립에 있어서 중심적인 역할을 하며, N (nucleocapsid) 단백질 혹은 E (envelope) 단백질과 공동 발현 시 virus-like particle (VLP)을 형성할 수 있다[52]. 이러한 SARS-CoV-2의 구조와 단백질의 기능을 이해하는 것은 진단키트 개발, 치료제 개발, 그리고 백신개발에 매우 중요하다고 생각된다.

SARS-CoV-2의 유전체 구조와 유전자 발현

SARS-CoV-2의 유전체는 단일가닥의 양성 RNA를 유전체로 가지고 있으며, 유전체의 크기는 약 26~32 kb로써 RNA 바이러스로는 유전체의 크기가 두번째 큰 편에 속한다[6, 32]. 가장 큰 RNA 바이러스는 최근에 보고된 41.1 kb의 유전체를 가진 planarian secretory cell nidovirus (PSCNV)이다[44]. 코로나바이러스 중 2000년 이후 대유행한 SARS-CoV, MERS-CoV, 그리고 SARS-CoV의 유전체의 크기는 각각 차례대로 29.7 kb, 30.1 kb, 그리고 29.8 kb이다[36]. 모든 코로나바이러스의 RNA 유전체구조는 유사하며 RNA는 비구조단백질(Non-Structural Protein, NSP)과 구조단백질(Structural Protein, SP)을 코딩한다[38].

SARS-CoV-2의 RNA 유전체는 mRNA 구조와 동일한 5'-cap 구조와 3'-poly(A)를 가지고 있다. 또한, 5'으로부터 약 2/3를 차지하는 ORF1a/b는 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)를 포함한 NSP 16개(NSP1 ~ NSP16)를 코딩하며, 그 후의 3'쪽으로 1/3의 유전체는 S, E, M, N 등의 구조 단백질을 순서대로 code한다(Fig. 1B). 일단, SARS-CoV-2가 감염되면 NSP를 코딩하는 두개의 ORF (ORF1a, ORF1a/b)로부터 번역이 일어난다. ORF1a로부터 번역이 일어나면 약 440~500 kDa의 polypeptide 1a가 만들어지며, protease에 의해 11개의 NSP로 만들어진다. ORF1a/b는 ORF1a의 종결 코돈의 바로 앞쪽에서 -1의 염기 미끄러짐 현상이 생기면서 종결코돈이 작동하지 못하고 계속 번역이 일어나면서 740~810 kDa의 polypeptide 1a/b가 만들어지면 이는 바이러스의 protease에 의해 15개의 NSP를 생산하게 된다[38, 66]. SARS-CoV-2의 RNA 유전체를 주형으로 nsp12에 위치하고 있는 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)의 작용에 의해 복제와 전사가 이루어진다[48]. 복제의 경우 연속적인 음성가닥의 RNA가 중간체로 만들어지고, 다시 이것을 주형으로 gRNA가 만들어지며 새로 합성되는 바이러스에 조립된다[20]. 전사의 경우는 비연속적인 음성가닥의 RNA가 중간체가 만들어지며[20], 구조단백질(S, E, M, N)과 보조단백질(3a, 6, 7a, 7b, 8, 10)의 주형으로 다양한 크기의 subgenomic RNA (sgRNA)의 합성이 이루어

진다[43]. 최근 한국인 환자로부터 분리한 SARS-CoV-2의 transcriptome과 epitranscriptome 분석 결과 canonical sgRNA와 non-canonical sgRNA에 대한 정확한 연구결과가 보고되었다[29].

SARS-CoV-2에 대한 정확한 표현형, 유전체, 전사체, life cycle 등을 연구하는 것은 COVID-19에 대한 진단법 개발, 치료제 개발 및 백신 개발에 매우 중요하다고 생각된다.

SARS-CoV-2의 진단방법

병원체의 진단은 항원으로 작용할 수 있는 병원체나 병원체가 생산하는 분자를 검출하거나 병원체의 항원에 대응하는 특이항체를 검출함으로써 감염 여부를 확인한다. 분자진단의 진보로 인하여 병원체의 핵산인 DNA 또는 RNA를 검출하여 진단하는 핵산검사법 또한 보편화 되어 있다. 유래없이 유병율이 높은 SARS-CoV-2 진단도 다른 감염성 질환과 마찬가지로 검사 기준은 검체에서 면역혈청학적인 항원 또는 항체 검출 그리고 핵산을 검출하는 방법이다. 다음에서 SARS-CoV-2에 대한 대표적인 핵산검출 진단검사법과 면역혈청학적인 진단검사법을 소개한다.

SARS-CoV-2의 분자진단(핵산 검출) 검사법

바이러스 검사는 대부분 분자진단법인 핵산검사법을 사용하며, PCR, RT-PCR, Multiplex PCR, PCR-RFLP 등이 있다[21, 23, 36, 37]. 이 방법들이 공통적으로 포함하고 있는 단계는 PCR 단계로서, DNA 증폭을 위해 DNA이중가닥에 열을 가하여 단일 가닥으로 분리한 후 온도를 낮추어 단일 가닥에 primer를 결합시킨다. 결합된 primer에서부터 DNA중합효소가 주형에 상보적인 새로운 단일 가닥을 합성하게 된다. 이 과정을 여러 번 수행하여 획득한 증폭된 DNA 즉, PCR 산물을 분석하는 것이다.

Reverse transcription-quantitative real-time PCR (RT-quantitative rtPCR)

현재까지 SARS-CoV-2를 검출하는 보편적인 방법은 역전사 과정 후 정량적 real-time PCR (RT-quantitative rtPCR)로서 대부분의 국가에서 사용하고 있다[13, 47]. SARS-CoV-2는 단일사슬로 되어 있는 positive-sense RNA 바이러스로 검사 과정에 reverse transcriptase를 사용하여 cDNA를 만드는 단계가 필요하다[8]. 검사를 위한 검체는 주로 상기도 또는 하기도에서 채취를 하며, 경우에 따라서는 혈청이나 분변을 검체로 사용하기도 한다. 채취한 검체에서 RNA를 추출하고 reverse transcriptase를 사용하여 RNA에서 cDNA로 만든 후 SARS-CoV-2핵산의 특이 영역에 해당하는 곳에 상보적인 primer를 사용하여 증폭되는 DNA를 실시간으로 측정하여 DNA의 증폭 유무에 따라서 SARS-CoV-2 감염 여부를 판단하게 된다. 대부분의 국가에 사용하는 quantitative rtPCR을 위한

검사과정과 primer의 표적위치를 Fig. 2에 나타내었다[57]. 표적 핵산영역으로는 nucleocapsid (N), envelope (E), RdRP, ORF1b 영역을 대상으로 하며, primer를 2 내지 3 set를 사용하여 두 영역 이상을 증폭한다[57]. 증폭되는 각 핵산 영역은 서로 다른 형광 probe를 사용하여 모니터링 하고 있다. TaqMan probe를 사용할 경우 약 40 cycle이 진행되면 형광신호를 얻을 수 있다[9]. 표적 핵산 영역을 두 곳 이상으로 선정함으로써 SARS-CoV-2에 대한 특이도를 증가시킬 수가 있다. SARS-CoV-2 RT-PCR의 분석 정확도는 주로 primer 위치에 의존한다. 분석 표적 영역은 SARS-CoV-2 게놈의 E, N, S, Orf1ab 영역에서 선택되며 인간 RNase P가 내부 양성 대조군으로 사용된다. CDC에서는 N 유전자를 사용하는 반면, 다른 나라

에서는 E 유전자 뿐만 아니라 RdRp와 같은 다른 영역의 유전자를 표적으로 사용하고 있다[28, 57]. Quantitative rtPCR은 민감도와 특이도가 높다는 장점이 있지만 검사 시간이 오래 걸리고 잘 정비된 실험실에서 다양한 장비와 전문가를 필요로 한다는 단점이 있다.

Quantitative rtPCR 진단키트는 국외뿐만 아니라 국내의 진단 및 바이오 관련 회사에서도 승인 받아서 생산하고 있으며 (Table 1, Table 2), 하나의 이유로는 SARS-CoV-2 유전체 정보가 NCBI와 같은 데이터베이스에 공개되어 있으며, 지속적으로 새로운 유전체 정보가 공개되고 있기 때문에 primer 디자인이 빠를 수 있다는 것이다. 또 다른 이유는 SARS-CoV-2가 전 세계적으로 유행을 하고 있기 때문에 진단검사 키트가 신

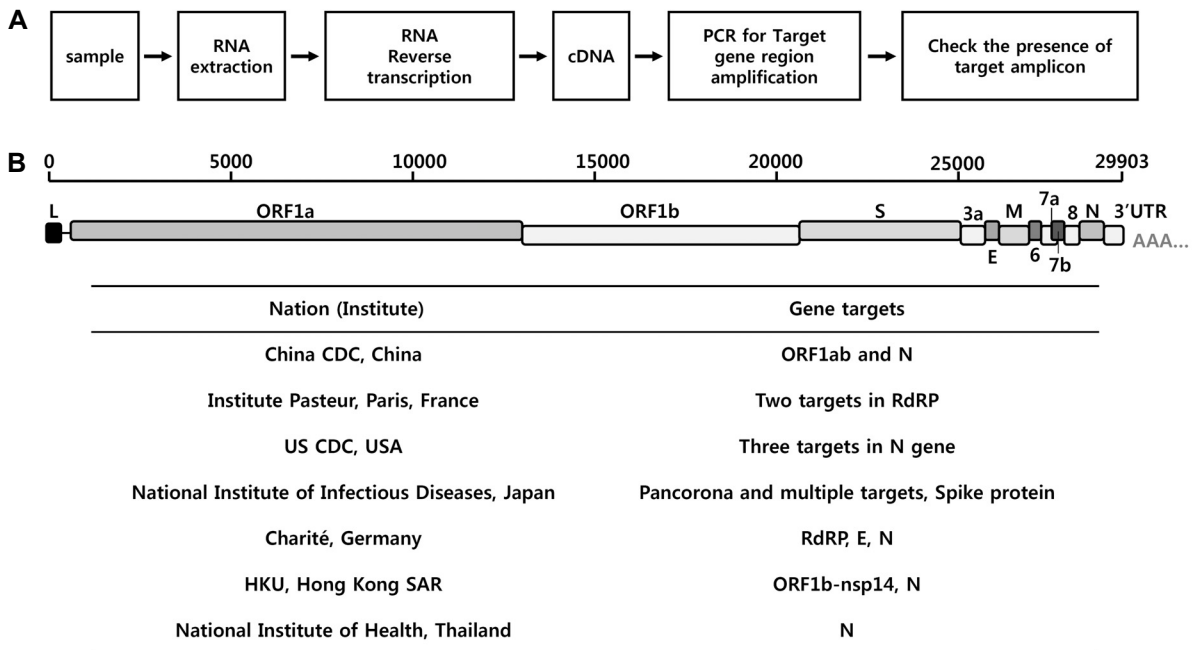


Fig. 2. Quantitative rRT-PCR diagnostic technique. A. Process flow of quantitative rRT-PCR. B. The gene targets of the primers for quantitative rRT-PCR. Locations of primers are different depending on the country. Primer location information from WHO (Ref. 57).

Table 1. Selected molecular technology devices approved by Korea MFDS (Aug. 06. 2020)

No.	Company	Device	Date of approval
1	KogeneBiotech Co., Ltd.	PowerCheck™2019-nCoV RT PCR kit	2020.2.12.
2	Seegene Inc.	Allplex™2019-nCoV Assay	2020.2.17.
3	SD Biosensor, Inc.	STANDARD M nCoV Real-Time Detection kit	2020.2.28.
4	SolGent Co., Ltd	DiaPlexQ™Novel Coronavirus (2019-nCoV) Detection Kit	2020.3.2.
...			
135	BioZentech, Co., Ltd	BZ IsoMDx COVID-19 kit	2020.8.3.
136	GREENCROSS MEDICAL SCIENCE	GENEDIA W COVID-19 Colorimetric LAMP premix kit	2020.8.3.
137	SeaSun Biomaterials	AQ-TOPTM COVID-19 Rapid Detection Kit Plus	2020.8.3.

* Selected devices among the early and most recently approved molecular technology devices by Korea Ministry of Food and Drug Safety out of total 138 devices as of Aug. 06. 2020.

Table 2. Selected molecular technology devices recently approved by FDA (Aug. 06. 2020)

No.	Company	Device	Date of approval
1	Roche Molecular Systems, Inc. (RMS)	Cobas SARS-CoV-2	2020.3.12.
2	Thermo Fisher Scientific, Inc.	TaqPath COVID-19 Combo Kit	2020.3.13.
3	Laboratory Corporation of America (LabCorp)	COVID-19 RT-PCR Test	2020.3.16.
4	Hologic, Inc	Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay	2020.3.16.
...			
131	Wren Laboratories LLC	Wren Laboratories COVID-19 PCR Test	2020.8.3.
132	Vela Operations Singapore Pte Ltd	ViroKey SARS-CoV-2 RT-PCR Test	2020.8.5.
133	Helix OpCo LLC (dba Helix)	Helix COVID-19 NGS Test	2020.8.6.

* Selected devices among the early and most recently approved molecular technology devices by FDA out of total 133 devices as of Aug.06. 2020.

속하게 공급되어야 함으로 각 국가에서 사용 승인을 빠르게 진행하고 있기 때문이다.

Reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP)

Quantitative rtPCR 뿐만 아니라 또 다른 핵산증폭 방법인 reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) 기술을 이용한 검사 방법도 사용되고 있다. Reverse transcriptase를 함께 사용하여 LAMP DNA 검사방법으로 RNA에서 cDNA를 먼저 만들고 증폭하는 방법이다. 따라서 RNA 바이러스를 진단하는데 사용된다. 주로 60~65°C 사이의 일정 온도에서 수행되기 때문에 고가의 real time PCR 장비가 필요하지 않으면서도 DNA를 증폭할 수 있다. 또한, PCR cycle 단계가 없기 때문에 검사과정이 쉽고, 약 30분 정도의 증폭 시간이 짧은 장점이 있다. 그러나 LAMP 방법을 통해서 DNA를 증폭하기 위해서는 일반 DNA polymerase 아닌 단일 DNA 가닥을 치환하면서 DNA를 합성할 수 있는 DNA polymerase (DNA polymerase with displacement activity)가 필요하며, 현재까지 이 특성을 가진 DNA polymerase는 고온성 *Bacillus* species만이 생산하며, 대표적으로 *Bst* DNA polymerase와 이 효소를 개조한 효소가 사용되고 있다. 증폭물의 검출은 증폭 과정에서 생겨난 magnesium pyrophosphate precipitate를 광도계를 이용하여 측정하거나, 또한 intercalating dye를 사용하여 증폭되는 형광을 실시간으로 추적할 수 있다[9]. 보통 4개 또는 6개의 primer를 사용하여 특이도가 높고, 과정의 단순성

이 주는 이점이 있기 때문에 SARS-CoV-2뿐만 아니라 다른 바이러스 검사에도 유용할 것으로 보고되고 있다[24](Fig. 3).

RT-LAMP를 이용하는 검사법 중에는 검사결과를 형광이나 색깔 선으로 나타내게 하여 육안으로 바로 확인할 수 있는 방법도 개발되어 있다. 이 경우에는 guide RNA와 결합된 CRISPR-Cas12가 일정 온도에서 증폭된 산물에 부착된 후 형광염료로 표지된 단일가닥 DNA (probe)를 절단시킨다. 이 반응물을 lateral flow strip에 적셔주면 strip에 이미 부착되어져 있는 상보적인 DNA 가닥에 결합하게 된다[7, 40]. Probe에는 형광염료 뿐만 아니라 biotin을 표지하여 효소반응으로 반응 선을 나타낼 수도 있다.

SARS-CoV-2-19의 면역혈청학적 진단법

면역혈청학적인 검사법은 면역반응에 기반을 두고 혈액, 객담과 같은 인체로부터 얻어지는 검체에서 항원 또는 항체를 검출하는 것이다. 핵산도 넓은 의미의 항원에 포함될 수 있으나 단백질 항원을 표적으로 검사하는 것이 일반적으로 면역혈청학적인 검사에 포함되며, 핵산검사법과 달리 항원을 추출하기 위한 전처리 단계가 거의 없이 인체검체를 바로 사용할 수 있는 장점이 있다. 표적분자가 항원 또는 항체이냐에 따라 검사장비 또는 검사키트를 개발하는 전략이 다르며, 그에 따른 결과의 해석 활용도도 달라지게 된다[56]. 항원이 표적분자일 경우와 항체가 표적분자일 경우의 대표적인 검사방법을 따로 소개하고자 한다.

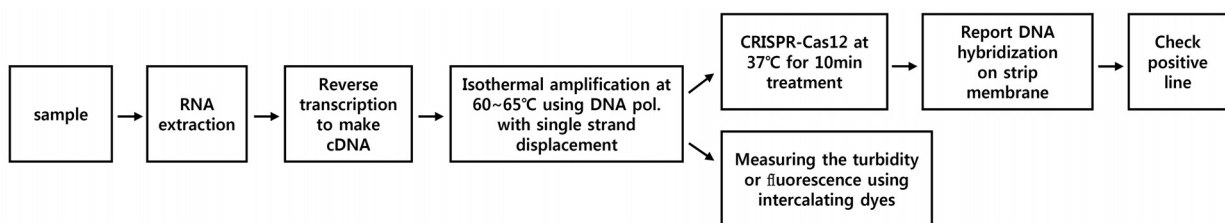


Fig. 3. Process flow of RT-LAMP. After reverse transcription with extracted RNA from patient’s sample, cDNA is amplified at a constant temperature. Amplified DNA is analyzed depending on detection system.

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 방법

ELISA법은 진단검사에서 사용되는 대표적인 면역혈청학 검사법이다. 이 방법은 검체에 존재하는 항체를 검사하는 indirect 방법과 항원을 검사하는 sandwich법이 보편적으로 사용된다. 항체를 검사하는 방법은 뒤쪽에서 설명할 Lateral Flow Immunochromatographic Assay와 비슷하기 때문에 sandwich법을 설명하기로 한다.

Sandwich 법을 이용한 ELISA방법은 먼저 microplate well에 anti-SARS-CoV-2 항체를 코팅한다. 코팅이 된 항체를 일반적으로 포획항체(capture antibody)라고 한다. 여기에 환자의 검체를 첨가하게 되면 검체 내에 존재하는 SARS-CoV-2 항원이 포획된다. 그 다음 효소(reporter)로 표지된 두 번째 anti-SARS-CoV-2항체를 첨가하게 되면 포획되어 있는 SARS-CoV-2 항원과 결합하고 표지된 효소가 반응을 하여 발색이 나타나게 된다(Fig. 4). 포획된 항원의 종류가 많을수록 발색이 진하게 나타나기 때문에 정량적 측정이 가능하다. 효소 대신에 다양한 reporter system을 사용할 수도 있다. 그러나, sandwich법은 동일한 표적항원에 대해 두 개의 서로 다른 특이성을 가진 항체, 포획항체와 reporter-결합 항체가 필요함으로

이들 항체의 개발에 많은 노력이 필요하다. 이런 이유 때문인지 현재 승인이 된 ELISA 방법은 대부분 항원검사가 아닌 항체검사가 주를 이루고 있다[18, 19]. 그러나 항원에 특이적인 항체가 개발되면 자동화 검사과정 뿐만 아니라 소규모 연구실의 수작업 과정에도 사용될 수 있어 활용의 범위가 넓다는 장점이 있다[9, 41]. Table 3은 국내에서, Table 4는 미국에서 사용 승인이 된 항원검출 진단 키트 또는 장비를 나타내고 있다[19, 31].

Lateral Flow Immunochromatographic Assay (LFIA) 방법

Lateral Flow Assay는 포획분자가 부착된 nitrocellulose와 같은 반응막을 기반으로 한 검사방법으로 액상검체를 한쪽 끝으로부터 이동시키면 검체 내에 존재하는 표적분자가 포획분자와 결합하면 표적분자-포획분자 복합체를 형성하게 된다. 이 복합체를 인식하는 효소나 형광물질(reporter)이 결합된 두 번째 분자가 작용하여 색소 형성 또는 형광발광으로 표적분자의 존재 여부 결과를 나타낸다. 저렴한 개발 비용과 사용의 편리성, 신속한 검사결과 획득과 같은 장점이 있어 병원과 검

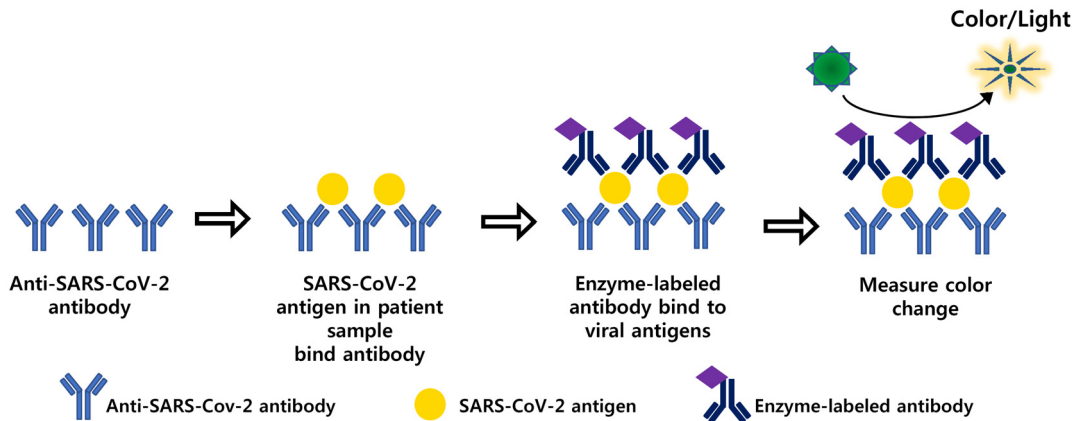


Fig. 4. Detect of SARS-Cov-2 antigen using sandwich technique. Matrix-attached anti-SARS-CoV-2 antibody binds to the SARS-Cov-2 antigen in the patient sample. The second enzyme-conjugated antibody binds to this antigen. The enzyme reaction develops color or light.

Table 3. Selected SARS-CoV-2 antigen-target devices approved by Korea MFDS (Aug. 06. 2020)

No.	Company	Device	Date of approval
17	SD Biosensor, Inc	STANDARDTMQ COVID-19 Ag Test	2020.3.25.
18	SD Biosensor, Inc.	STANDARDTMF COVID-19 Ag FIA	2020.3.25.
25	PCL, Inc	PCL COVID19 Ag Rapid FIA	2020.3.30.
49	RapiGEN, INC	BIOCREDIT COVID-19 Ag	2020.4.21.
...			
103	Boditech Med Inc.	AFIAS COVID-19 Ag	2020.6.22.
119	GenBody Inc.	GenBody COVID-19 Ag	2020.7.13.
130	GenBody Inc.	GenBody Influenza/COVID-19 Ag Multi	2020.7.21.

* Selected devices among total 10 of antigen-target devices approved by Korea Ministry of Food and Drug Safety as of Aug. 06. 2020.

Table 4. SARS-CoV-2 antigen-target devices approved by FDA (Aug. 06. 2020)

No.	Company	Device	Date of approval
1	Becton, Dickinson and Company (BD)	BD Veritor System for Rapid Detection of SARS-CoV-2	2020.2.7.
2	Quidel Corporation	Sofia SARS Antigen FIA	2020.5.8.

사센터에서 검사방법으로 많이 사용되는 방법이다. 항원과 항체 뿐만 아니라 증폭된 DNA도 표적분자가 될 수 있으며, 항원과 항체를 대상으로 할 경우를 Lateral Flow Immunochromatographic Assay (LFIA) 방법이라고 하며 표적분자가 DNA일 경우를 Nucleic acid Lateral Flow Assay (NALFA)라고 한다 [62]. 앞에서 기술한 RT-LAMP와 CRISPR-Cas12를 결합시킨 방법이 NALFA의 한 방법이다. 여기서는 LFIA에 대해 초점을 두고 서술하겠다.

LFIA에는 항원을 검출하는 방법과 항체를 검출하는 방법으로 나눌 수 있다. 항원을 검사하는 방법은 SARS-CoV-2 바이러스의 구성 분자를 검사 표적으로 하며, 현재 감염을 진단하는데 적용된다. 항원검사법은 Sandwich법과 원리적으로 동일하기 때문에 여기서는 항체를 검사하는 방법을 소개한다. 항체는 SARS-CoV-2 바이러스의 감염 후에도 일정기간 동안 인체 내에 존재함으로써 현재(현성) 감염 뿐만 아니라, 환자의 회복 상태 추정하거나, 치료 효과, 역학 조사, 백신의 유용성 등을 평가하는데 사용될 수 있다[46].

SARS-CoV-2 바이러스에 대응하는 항체는 감염 3~4 주에 IgM에서 IgG로 혈청 내 전환이 나타나서 감염 7 주재에는 IgM이 거의 사라지며, IgG는 지속적으로 존재하는 것으로 알려져 있다[35]. 따라서 항체검사를 통해 IgM과 IgG의 혈청 내 존재 여부를 안다면 환자의 감염 시기 추정할 수 있는 자료가 될 수 있다. Fig. 5가 보여 주는 것은 IgM과 IgG를 동시에 검사할 수 있는 키트의 검사원리를 나타낸 것이다[22]. Nitrocellulose

막에 anti-SARS-CoV-2 항체를 포획하기 위해 anti-human IgM과 anti-human IgG를 부착시키고, 대조군으로 anti-animal (i.e, rabbit) IgG를 부착시킨다. 키트의 한 쪽 끝에 검체 흡수 패드와 reporter 분자가 결합된 anti-SARS-CoV-2 항체와 결합할 수 있는 항원 복합체, reporter 분자가 결합된 animal IgG가 흡수되어 있다. anti-SARS-CoV-2 항체와 결합할 수 있는 항원으로 spike 또는 nucleocapsid protein이 사용되고 있으며, reporter 분자로는 colloid gold 또는 발색 유도체와 같은 물질을 사용하여 nitrocellulose 막에 선이 나타나도록 한다. 따라서 환자의 검체를 흡수 패드에 떨어뜨리게 되면 환자의 검체가 패드를 따라 흘러가면서 환자의 검체에 anti-SARS-CoV-2 antibody가 존재할 때 reporter-SARS-CoV-2 antigen 복합체와 결합해 측면으로 이동하고 항체의 종류에 따라 anti-human IgG 또는 IgM에 결합하게 되면서 선으로 나타난다 [26, 35]. 검사 결과는 항체가 존재하지 않을 경우에는 control 선만 나타나게 되고, 항체가 존재하는 경우 IgM과 IgG 선 두 개 모두가 나타나거나 어느 하나만 나타나게 된다. 결과적으로 이 방법은 항체의 존재 여부를 정성적으로 알 수 있다. 이 검사법은 과정의 단순하고, 고가의 검사장비가 필요하지 않으며, 항체의 존재 여부를 빠른 시간(15분 이내) 내에 알 수 있기 때문에 검사법으로서 장점이 있으며, 현장검사법(point-of care test, POCT)으로써 최적의 검사법이 될 수 있다. 대표적인 항체검사 키트를 Table 5와 Table 6과 같다.

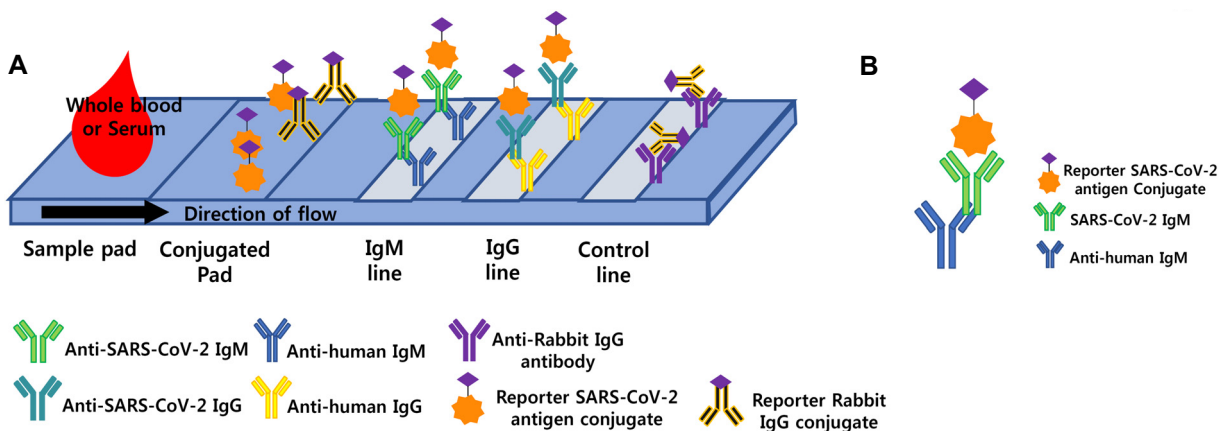


Fig 5. Diagram of lateral flow immune assay. A. When whole blood or serum sample is added to the sample pad, the sample diffuses and reacts with the antibodies bound on the membrane. B. If the patient's sample contains anti-SARS-Cov-2 antibody, the patient's antibody is captured by anti-human IgM or IgG antibody which is produced in an animal such as rabbit. Colloidal gold-conjugated SARS-Cov-2 antigen binds to the captured antibody and develops color lines.

Table 5. Selected SARS-CoV-2 antibody-target devices approved by Korea MFDS (Aug. 06. 2020)

No.	Company	Device	Date of approval
8	SD Biosensor, Inc.	STANDARD™ COVID-19 IgM/IgG Duo Test	2020.3.11.
14	Sugentech, Inc.	SGTi-flex COVID-19 IgM/IgG	2020.3.24.
21	GenBody Inc.	GenBody COVID-19 IgM/IgG	2020.3.27.
22	Humasis Co., Ltd.	Humasis COVID-19 IgG/IgM Test	2020.3.27.
...			
132	MiCoBioMed, Co., Ltd	VERI-Q COVID-19 IgG/IgM Rapid Test	2020.7.23.
134	BioZentech, Co., Ltd	BZ COVID-19 IgM/IgG	2020.7.29.
138	SG Medical, Inc	R-FIND COVID-19 IgM ELISA	2020.8.6.

* Selected devices among total 48 of antibody-target devices approved by Korea Ministry of Food and Drug Safety as of Aug. 06. 2020.

Table 6. Selected SARS-CoV-2 antibody-target devices approved by FDA (Aug. 06. 2020)

No.	Company	Device	Date of approval
1	Cellex Inc.	qSARS-CoV-2 IgG/IgM Rapid Test	2020.1.4.
2	Ortho Clinical Diagnostics, Inc.	VITROS Immunodiagnostic Products Anti-SARS-CoV-2 Total Reagent Pack	2020.4.14.
3	Mount Sinai Laboratory	COVID-19 ELISA IgG Antibody Test	2020.4.15.
4	DiaSorin Inc.	LIAISON SARS-CoV-2 S1/S2 IgG	2020.4.24.
...			
35	Siemens Healthcare Diagnostics Inc.	ADVIA Centaur SARS-CoV-2 IgG (COV2G)	2020.7.31
36	Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.	WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA	2020.8.5.
37	bioMérieux SA.	VIDAS SARS-CoV-2 IgG/IgM	2020.8.6.

* Selected devices among total 37 of antibody-target devices approved by FDA as of Aug. 06. 2020.

결론

SARS-CoV-2의 전세계적 대유행이 언제, 어떻게 종식이 될지는 아무도 예측하기가 어렵다. 2020년 초에 중국 우한에서부터 인접 아시아 국가로 퍼져 나갈 때 국제 공공의료기구인 WHO조차도 세계적 위급상황(Public Health Emergency of International Concern, PHEIC)이 아니라고 했지만 현재 거의 모든 국가가 SARS-CoV-2의 감염 우려에서 벗어나지 못하고 있다. 유행의 지속성도 문제지만 전파의 속도와 범위가 너무 빠르고 광범위하다는 것이 더 큰 문제가 되고 있다. 이에 대응하기 위해 SARS-CoV-2의 백신 개발, 치료제의 개발, 진단시약의 개발이 지속적으로 진행되고 있다[1, 2, 34, 51, 63]. 이러한 기술들을 개발하기 위해서는 원인 바이러스인 SARS-CoV-2에 대한 표현형, 유전형, 그리고 생활 주기 등을 정확히 이해하는 것이 요구된다. SARS-CoV-2는 2002년에 대유행한 SARS-CoV와 유전적으로 약 80%의 유사성을 가지며, 숙주세포의 ACE2 단백질을 수용체로 사용한다는 공통점을 가지고 있다. 즉, 감염 시 SARS-CoV-2의 spike 단백질이 ACE2 단백질과 직접 결합함으로써 감염이 이루어진다. 따라서, 이러한 결합을 방해하는 역할을 하는 약물은 치료제의 후보물질로서 개발이 가능하다. 또한, spike 단백질 자체는 다양한 플랫폼의 백신

개발에 있어서 중요한 후보 단백질이다.

진단시약의 개발은 SARS-CoV-2의 전파 방지와 감염자 확인을 통한 치료를 위해서도 최우선적으로 요구되면 그 요구에 따라 지속적으로 개발되었고 상용화가 되었다. 국내외적으로 사용되고 있는 SARS-CoV-2 검사키트 또는 검사기기는 국내에서는 긴급사용승인제도를 통해 식품의약품안전처에서 승인을 받았으며, 미국 FDA의 경우 역시 emergency-use-authorization (EUA) 조건으로 승인을 받아 사용 중에 있다. 2020년 8월 6일 기준 분자진단법으로는 138개, 면역혈청학적 진단법으로는 37개가 FDA에서 승인을 받았으며, 분자진단법으로는 80개, 면역혈청학적 진단법으로는 58개가 식품의약품안전처에서 승인을 받은 것으로 각 기관의 홈페이지에 공지가 되어 있다[19, 31].

이 총설에서 소개하였듯이 현재 주된 핵산검사법은 quantitative rt-PCR이 주종을 이루고 있고[8], RT-LAMP법은 상대적으로 적은 수의 제품이 FDA승인을 받은 상태이지만 향후 더욱 개발되어 다양하게 사용될 것으로 예상된다. 이 두 방법 외에도 진단과 연구를 위한 분자진단법이 개발 중에 있으나 짧은 시간 내의 상용화는 어려울 것으로 예상된다. 그러나 최근 연구에 따르면 SARS-CoV-2의 변이체가 나타나고 있기 때문에[42] screening (1차 선별검사)과 서열 분석을 통한 con-

firmation 검사(변이체 감별을 포함하는 2차 확진검사)로 검사 방법이 나아갈 수도 있다.

면역혈청학적인 검사법은 분자진단법에 비해 상대적으로 항원과 항체 생산에 소요되는 개발 비용과 시간이 더 요구된다. 그러나 이 검사법이 확립이 되면 의심환자의 진단검사뿐만 아니라 백신을 통한 면역력 생성 여부를 확인, 집단 내의 면역 여부와 같이 예방을 예측하기 위해선 필수 검사법으로 사용될 수 있는 장점이 있다. 분자진단법과는 약간의 시차를 두고 개발되고 있지만 상업용 검사키트가 점점 더 많아지고 있다. 다만, 생산되는 항원과 항체의 성능에 따라서 민감도와 특이도가 영향을 받을 수 있다는 것이 고려되어야 한다.

면역혈청학적인 검사법의 가장 큰 장점은 신속한 현장검사(point-of-care test, POCT)키트화가 가능한 점이다. 우리에게 가장 친숙한 현장검사키트는 임신여부를 확인하는 키트로서 개인이 언제 어디서나 사용 가능하다. 즉, 고가의 검사기와 전문인력이 필요하지 않으며, 검사 방법이 간단하고, 검사 결과를 10~30 분 이내로 신속히 현장에서 확인할 수 있다. 이런 장점으로 인하여 SARS-CoV-2에 대해서도 POCT키트가 개발되고 있으며[46], 앞으로도 확장될 것으로 예상된다.

이 총설에서 현재까지 승인을 받은 모든 제품의 원리와 기술에 대해서 서술을 하지는 못했지만 대표적인 방법을 소개함으로써 SARS-CoV-2 검사에 대한 이해를 돕고자 하였다. 여기서 다 소개하지 못한 검사키트에 대한 것은 긴급사용승인을 획득한 제품군을 공지고 있는 국가기관의 웹사이트를 참고하면 더욱 많은 정보를 얻을 수 있을 것으로 여겨진다[10, 11, 18, 30]. 한국의 경우 138종이 모두 공개되어 있으며, 미국의 경우도 175종이 공개되어 있다.

전세계적으로 유행하고 있는 SARS-CoV-2에 대응하기 위한 국가를 초월한 여러 분야에서 지속적인 연구가 진행 중이며, 진단검사 방법도 민감도와 특이성이 높으면서도 사용이 쉬우면서 신속한 검사법이 더 개발될 것으로 생각된다.

References

- Ahn, D. G., Shin, H. J. and Kim, M. H. 2020. Current status of epidemiology, diagnosis, therapeutics, and vaccines for novel coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J. Microbiol. Biotechnol.* **30**, 313-324.
- Amanat, F. and Krammer, F. 2020. SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity* **52**, 583-589.
- APHL. Public Health Considerations: Serologic Testing for COVID-19. 2020. <https://www.aphl.org/programs/preparedness/crisis-management/documents/serologic-testing-for-COVID-19.pdf>
- Arbely, E., Khatari, Z., Brotons, G., Akkawi, M., Salditt, T. and Arkin, I. T. 2004. A highly unusual palindromic transmembrane helical hairpin formed by SARS coronavirus E protein. *J. Mol. Biol.* **341**, 769-779.
- Ashour, H. M., Elkhatib, W. F., Rahman, M. M. and Elshabrawy, H. A. 2020. Insights into the recent 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) in light of past human coronavirus outbreaks. *Pathogens* **9**, 186.
- Brian, D. A. and Baric, R. S. 2005. Coronavirus genome structure and replication. *Coronavirus Replication and Reverse Genetics* **287**, 1-30.
- Broughton, J. P. and Deng, X. 2020. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nat. Biotechnol.* **38**, 870-874.
- Bustin, S. A. and Nolan, T. 2020. RT-qPCR testing of SARS-CoV-2: a primer. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 3004.
- Carter, L. J., Garner, L. V., Smoot, J. W., Li, Y., Zhou, Q., Saveson, C. J., Sasso, J. M., Gregg, A. C., Soares, D. J., Beskid, T. R., Jervey, S. R. and Liu, C. 2020. Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. *ACS Cent. Sci.* **6**, 591-605.
- CDC. 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel. 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/virus-requests.html>
- CDC. Antibody Testing Interim Guidelines. 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>
- Chang, C. K., Hou, M. H., Chang, C. F., Hsiao, C. D. and Huang, T. H. 2014. The SARS coronavirus nucleocapsid protein-forms and functions. *Antiviral Res.* **103**, 39-50.
- Corman, V. M., Landt, O. and Kaiser, M. 2020. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* **25**, 2000045.
- Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 2020. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* **5**, 536-544.
- Cui, J., Li, F. and Shi, Z. L. 2019. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* **17**, 181-192.
- Drosten, C., Günther, S., Preiser, W., van der Werf, S., Brodt, H. R., Becker, S., Rabenau, H., Panning, M., Kolesnikova, L. and Fouchier, R. A., et al. 2003. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N. Engl. J. Med.* **348**, 1967-1976.
- Du, L., He, Y., Zhou, Y., Liu, S., Zheng, B. J. and Jiang, S. 2009. The spike protein of SARS-CoV—a target for vaccine and therapeutic development. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 226-236.
- FDA. Policy for diagnostic tests for coronavirus disease-2019 during the public health emergency. 2020. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/policy-coronavirus-disease-2019-tests-during-public-health-emergency-revised>.
- FDA. List of COVID-19 *in-vitro* diagnostic devices approved by FDA. 2020. <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/vitro-diagnostics-euas#individual-antigen>
- Fehr, A. R. and Perlman, S. 2015. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.* **1282**, 1-23.
- Golfetto, L., Alves, E. V., Martins, T. R., Sincero, T. C. M., Castro, J. B. S., Dannebroc, C. K., Oliveira, J. G., Levi, J.

- E., Onofre, A. S. C. and Bazzo, M. L. 2018. PCR-RFLP assay as an option for primary HPV test. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **51**, e7098.
22. Hou, H., Wang, T., Zhang, B., Luo, Y. and Mao, L. 2020. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin. Transl. Immunol.* **9**, e01136.
23. Huang, H. S. Tsai, C. L. Chang, J. Hsu, T. C. Lin, S. and Lee, C. C. 2017. Multiplex PCR system for the rapid diagnosis of respiratory virus infection: systematic review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* **24**, 1055-1063.
24. Huang, W. E., Lim, B., Hsu, C. C., Xiong, D., Wu, W., Yu, Y., Jia, H., Wang, Y., Zeng, Y., Ji, M., Chang, H., Zhang, X., Wang, H. and Cui, Z. 2020. RT-LAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. *Microb. Biotechnol.* **13**, 950-961.
25. Hussain, S., Pan, J., Chen, Y., Yang, Y., Xu, J., Peng, Y., Wu, Y., Li, Z., Zhu, Y., Tien, P. and Guo, D. 2005. Identification of novel subgenomic RNAs and noncanonical transcription initiation signals of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Virol.* **79**, 5288-5295.
26. Jacofsky, D., Jacofsky, E. M. and Jacofsky, M. 2020. Understanding antibody testing for COVID-19. *J. Arthroplasty* **35**, S74-S81.
27. Jin, Y., Yang, H., Ji, W., Wu, W., Chen, S., Zhang, W. and Duan, G. 2020. *Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19.* *Viruses* **12**, 372.
28. Kilic, T., Weissleder, R. and Lee, H. 2020. Molecular and immunological diagnostic tests of COVID-19: current status and challenges. *iScience* **23**, 101406.
29. Kim, D., Lee, J. Y., Yang, J. S., Kim, J. W., Kim, V. N. and Chang, H. 2020. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell* **181**, 914-921.
30. Korea Ministry of Food and Drug Safety. Public Report for Emergency-use-authorization. 2020. https://www.mfds.go.kr/brd/m_99/view.do?seq=44010&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1
31. Korea Ministry of Food and Drug Safety. List of COVID-19 *in-vitro* diagnostic devices approved by MFDS ("20.8.6). 2020. https://www.mfds.go.kr/eng/brd/m_65/view.do?seq=20&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1
32. Lai, M. M. 1990. Coronavirus: organization, replication and expression of genome. *Annu. Rev. Microbiol.* **44**, 303-333.
33. Li, G., Fan, Y., Lai, Y., Han, T., Li, Z., Zhou, P., Pan, P., Wang, W., Hu, D., Liu, X., Zhang, Q. and Wu, J. 2020. Coronavirus infections and immune responses. *J. Med. Virol.* **92**, 424-432.
34. Li, H., Zhou, Y., Zhang, M., Wang, H., Zhao, Q., Liu, J. and Li, H., *et al.* 2020. Updated approaches against SARS-CoV-2. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, e00483-20.
35. Li, Z., Yi, Y., Luo, X., Xiong, N., Liu, Y. and Li, S. 2020. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J. Med. Virol.* **92**, 1-3
36. Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B. and Wu, H. 2020. Genomic characterisation and *epidemiology* of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* **395**, 565-574.
37. Lu, R. and Wu, X. 2020. A novel reverse transcription loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of SARS-CoV-2. *Int. J. Mol.* **21**, 2826.
38. Masters, P. S. 2006. The molecular *biology* of coronaviruses. *Adv. Virus Res.* **66**, 193-292.
39. Mousavizadeh, L. and Ghasemi, S. 2020. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis *J. Microbiol. Immunol. Infect.* doi: 10.1016/j.jmii.2020.03.022. Online ahead of print.
40. Mukama, O., Wu, J., Li, Z., Liang, Q., Yi, Z., Lu, X., Liu, Y., Liu, Y., Hussain, M., Makafe, G. G., Liu, J., Xu, N. and Zeng, L. 2020. An ultrasensitive and specific point-of-care CRISPR/Cas12 based lateral flow biosensor for the rapid detection of nucleic acids. *Biosens. Bioelectron.* **159**, 112143.
41. Özçürümez, M. K., Ambrosch, A., Frey, O., Haselmann, V., Holdenrieder, S., Kiehntopf, M., Neumaier, M., Walter, M., Wenzel, F., Wölfel, R. and Renz, H. 2020. SARS-CoV-2 antibody testing-questions to be asked. *J. Allergy Clin. Immunol.* **146**, 35-43.
42. Pachetti, M., Marini, B., Benedetti, F., Giudici, F., Mauro, P., Storici, E., Masciovecchio, C., Angeletti, S., Ciccozzi, M., Gallo, R. C., Zella, D. and Ippodrino, R. 2020. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J. Transl. Med.* **18**, 179.
43. Perlman, S. and Netland, J. 2009. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 439-450.
44. Saberi, A., Gulyaeva, A. A., Brubacher, J. L., Newmark, P. A. and Gorbalenya, A. E. 2018. A planarian nidovirus expands the limits of RNA genome size. *PLoS Pathog.* **14**, e1007314.
45. Schoeman, D. and Fielding, B. C. 2019. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol. J.* **16**, 69.
46. Sethuraman, N., Jeremiah, S. S. and Ryo, A. 2020. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* **323**, 2249-2251.
47. Shen, M., Yin, Z., Jiawei, Y. and AL-maskri, A. A. A. 2020. Recent advances and perspectives of nucleic acid detection for coronavirus. *J. Pharm. Anal.* **10**, 97-101.
48. Sola, I., Almazán, F., Zúñiga, S. and Enjuanes, L. 2015. Continuous and discontinuous RNA synthesis in coronaviruses. *Annu. Rev. Virol.* **2**, 265-288.
49. Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A. C. K., Zhou, J., Liu, W., Bi, Y. and Gao, G. F. 2016. *Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses.* *Trends Microbiol.* **24**, 490-502.
50. Tai, W., He, L., Zhang, X., Pu, J., Voronin, D., Jiang, S., Zhou, Y. and Du, L. 2020. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol. Immunol.* **17**, 613-620.
51. Tang, Y. W., Schmitz, J. E., Persing, D. H. and Stratton, C. W. 2020. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. *J. Clin. Microbiol.* **26**, e00512-520.

52. Tseng, Y. T., Wang, S. M., Huang, K. J., Lee, A. I., Chiang, C. C. and Wang, C. T. 2010. Self-assembly of severe acute respiratory syndrome coronavirus membrane protein. *J. Biol. Chem.* **285**, 12862-12872.
53. van der Hoek, L. 2007. Human coronaviruses: what do they cause? *Antivir. Ther.* **12**, 651-658.
54. Wang, S., Guo, F., Liu, K., Wang, H., Rao, S., Yang, P. and Jiang, C. 2008. Endocytosis of the receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein together with virus receptor ACE2. *Virus Res.* **136**, 8-15.
55. Wang, Q., Zhang, Y., Wu, L., Niu, S., Song, C., Zhang, Z., Lu, G., Qiao, C., Hu, Y., Yuen, K. Y., Wang, Q., Zhou, H., Yan, J. and Qi, J. 2020. Structural and functional Basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. *Cell* **181**, 894-904.
56. Whitman, J. D., Hiatt, J., Mowery, C. T., Shy, R. B., Yu, R., Yamamoto, T. N., Rathore, U., Goldgof, G. M. and Whitty, C., et al. 2020. Test performance evaluation of SARS-CoV-2 serological assays. *medRxiv*. 20074856.
57. WHO. Molecular assays to diagnose COVID-19: Summary table of available protocols. 2020 January 24. <https://www.who.int/publications/m/item/molecular-assays-to-diagnose-covid-19-summary-table-of-available-protocols>
58. WHO. Country & Technical Guidance - Coronavirus disease (COVID-19) <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance-publications>
59. WHO. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: interim guidance. 2020 March 21. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509>
60. Woo, P. C., Lau, S. K., Huang, Y. and Yuen, K. Y. 2009. Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **234**, 1117-1127.
61. Woo, P. C., Lau, S. K., Lam, C. S., Lau, C. C., Tsang, A. K., Lau, J. H., Bai, R., Teng, J. L., Tsang, C. C., Wang, M., Zheng, B. J., Chan, K. H. and Yuen, K. Y. 2012. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *J. Virol.* **86**, 3995-4008.
62. Xu, Y., Liu, Y., Wu, Y., Xia, X., Liao, Y. and Li, Q. 2014. Fluorescent probe-based lateral flow assay for multiplex nucleic acid detection. *Anal. Chem.* **86**, 5611-5614
63. Younes, N., Al-Sadeq, D. W., Al-Jighefee, H., Younes, S., Al-Jamal, O., Daas, H. I., Yassine, H. M. and Nasrallah, G. K. 2020. Challenges in laboratory diagnosis of the novel coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses* **12**, 582.
64. Zaki, A. M., van Boheemen, S., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D. and Fouchier, R. A. 2012. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* **367**, 1814-1820.
65. Zhao, J., Yuan, Q., Wang, H., Liu, W., Liao, X. and Su, Y. 2020. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin. Infect. Dis.* ciaa344.
66. Ziebuhr, J., Snijder, E. J. and Gorbalenya, A. E. 2000. Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales. *J. Gen. Virol.* **81**, 853-879.
67. Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. D., Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., Zheng, X. S., Zhao, K., Chen, Q. J., Deng, F., Liu, L. L., Yan, B., Zhan, F. X., Wang, Y. Y., Xiao, G. F. and Shi, Z. L. 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* **579**, 270-273.
68. Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F. and Tan, W. 2020. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* **382**, 727-733.

초록 : SARS-CoV-2의 진단기술

김종식¹ · 강나경² · 박선미² · 이은주¹ · 정경태^{2*}

(¹국립안동대학교 생명공학부, ²동의대학교 임상병리학과)

코로나바이러스감염증-19(COVID-19)는 SARS-CoV-2에 의해 발병된다. 지금까지 인간에게 감염되는 7 가지 종류의 코로나 바이러스가 보고되었다. 그 중, HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, 그리고 HCoV-HKU1 등 4종류의 코로나바이러스는 감기와 같은 단순 호흡기 질환을 유발한다고 보고되었다. 반면, SARS-CoV는 2002년에, MERS-CoV는 2012년에 각각 대유행을 일으킨 바 있다. 가장 최근에는 2019년 12월 중국 우한에서 처음 보고된 SARS-CoV-2가 전세계적인 대유행의 원인이 되고 있다. 이러한 SARS-CoV-2를 진단하고, 치료하고, 예방하기 위해서는 신속 정확한 진단키트, 치료제, 그리고 안전한 백신의 개발의 필수적으로 요구된다. 이러한 강력한 도구들을 개발하기 위해서는 SARS-CoV-2의 표현형, 유전자형, 그리고 생활주기 등의 연구가 선행되어야 한다. SARS-CoV-2의 진단기술은 현재 크게 두가지의 큰 분야인 분자진단과 면역혈청학적 진단으로 구분할 수 있다. 분자진단의 경우 SARS-CoV-2의 유전체를 대상으로 하며, 면역혈청학적 진단은 SARS-CoV-2의 항원 단백질 혹은 SARS-CoV-2에 대한 항체를 대상으로 한다. 본 총설에서는 SARS-CoV-2의 표현형, 유전체 구조, 그리고 유전자 발현에 대해서 정리하고, SARS-CoV-2에 대한 다양한 진단 기술 등에 대한 기초지식을 제공하고자 한다.