

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구

국제사무국

(43) 국제공개일

2019년 1월 17일 (17.01.2019)



(10) 국제공개번호

WO 2019/013531 A1

(51) 국제특허분류:

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 35/08 (2006.01)

B01L 3/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2018/007819

(22) 국제출원일:

2018년 7월 10일 (10.07.2018)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2017-0088069 2017년 7월 11일 (11.07.2017) KR

(71) 출원인: 광주과학기술원 (GWANGJU INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [KR/KR]; 61005 광주 시 북구 첨단과기로 123 (오룡동), Gwangju (KR).

(72) 발명자: 양성 (YANG, Sung); 61005 광주 시 북구 첨단과기로 123 (오룡동) 광주과학기술원 기계공학부, Gwangju (KR). 최종찬 (CHOI, Jong Chan); 61005 광주 시 북구 첨단과기로 123 (오룡동) 광주과학기술원 기계공학부, Gwangju (KR).

(74) 대리인: 김기문 (KIM, Ki Moon); 06252 서울시 강남구 역삼로 114 현죽빌딩 6층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,

EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

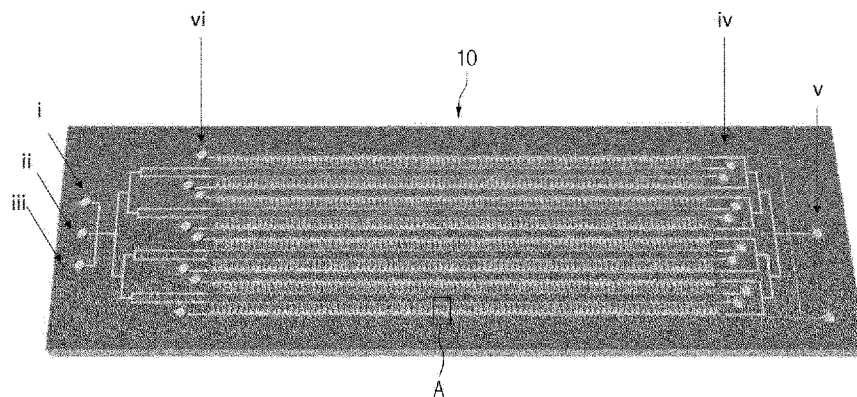
공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

(54) Title: SINGLE-CELL ANALYSIS CHIP FOR ANTICANCER AGENT COMBINATION

(54) 발명의 명칭: 항암제 조합에 대한 단일 세포 분석 칩



(57) Abstract: The analysis chip for determining an anticancer agent or an anticancer agent combination efficient with respect to a cancer cell, according to the present invention, comprises: a one-unit chamber for analyzing a single cancer cell; and a plurality of valves for controlling a fluid injected into the chamber, wherein the chamber comprises: a channel through which the fluid comprising an anticancer agent and a lysis buffer flows; a cell alignment unit for focusing on the cancer cell flowing through the channel; a cell capture unit for capturing the cancer cell focused on by the cell alignment unit; and an antibody array for capturing proteins secreted from the captured cancer cell, and intracellular proteins via lysis.

(57) 요약서: 본 발명에 따른 암세포에 효율적인 항암제 또는 항암제 조합을 결정하기 위한 분석 칩은 단일 암세포를 분석하기 위한 일 단위인 챔버, 상기 챔버에 주입되는 유체를 조절하기 위한 복수의 밸브를 포함하며, 상기 챔버는, 항암제 및 세포용해 버퍼를 포함하는 유체가 흐르는 채널, 상기 채널을 따라 흐르는 암세포를 포커싱하기 위한 세포 정렬부, 상기 세포 정렬부에 따라 포커싱된 암세포를 포획하는 세포 포획부 및 포획된 암세포로부터 분비되는 단백 질과 세포 용해를 통해 세포 내부 단백질을 캡처하는 항체 어레이를 포함한다.



WO 2019/013531 A1

명세서

발명의 명칭: 항암제 조합에 대한 단일 세포 분석 칩

기술분야

- [1] 본 발명은 암세포에 적절한 항암제 조합을 찾기 위한 칩에 관한 것이다. 구체적으로 본 발명은 암세포에 적절한 항암제 조합을 찾기 위한 칩의 구조 및 칩을 통한 적절한 항암제 조합 검출 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 최근 동형 세포 집단 내에서도 개별적 세포들 간의 이질성이 존재함이 드러나고, 다양한 질병의 근원이라는 주장이 거론되기 시작하면서, 기존의 집단 측정 대신 단일 세포 수준에서의 분석 필요성이 대두하기 시작하였다.
- [3] 미세 유체 공학은 미세 채널 내 유체의 거동을 연구하는 학문으로, 피코/나노 리터 수준의 소량의 액체를 정밀하게 제어할 수 있다는 장점을 앞세워 단일 수준에서 세포의 분리 및 배열 기술을 효과적으로 미세 유체 칩 상에 구현함으로써 단일 세포 분석을 위한 차세대 기술로 많은 각광을 받고 있다.
- [4] 이러한 기술들은, 그 작동 메커니즘에 따라 동유체력을 이용하는 수동적 방식과 전기학, 광학적 힘을 근간으로 하는 능동적 방식으로 나뉜다. 이들 중, 수동적 방식은 간단한 시스템 구성으로 작동이 가능하여 많이 개발되어 사용되고 있다. 생물학적 세포를 입자로 고려하고 미세 채널 내 특정한 크기의 입자를 포획할 수 있는 덫을 제작함으로써 원하는 위치에 세포를 배열할 수 있는 기술이다.
- [5] 종래의 암세포 포획 장치는 암세포를 단일 세포로 포획하는 효율이 상대적으로 낮았다. 구체적으로 종래 기술은 암세포 내부 단백질을 추출을 위해 세포용해시약(lysis buffer)을 확산을 통해 세포 용해를 수행하였다. 이 경우, 시간이 오래 걸리면 세포로부터 떨어진 거리에 따라 편차가 발생하는 문제가 있었다.

[6]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 단일 세포 수준에서 항암제 종류 및 조합에 대한 다중 단백질 측정 및 이를 이용한 환자 맞춤형 약물 스크리닝 플랫폼을 제공한다.

과제 해결 수단

- [8] 본 발명에 따른 암세포에 효율적인 항암제 또는 항암제 조합을 결정하기 위한 분석 칩은 단일 암세포를 분석하기 위한 일 단위인 챔버, 상기 챔버에 주입되는 유체를 조절하기 위한 복수의 밸브를 포함하며, 상기 챔버는, 항암제 및 세포용해 버퍼를 포함하는 유체가 흐르는 채널, 상기 채널을 따라 흐르는 암세포를 포커싱하기 위한 세포 정렬부, 상기 세포 정렬부에 따라 포커싱된

암세포를 포획하는 세포 포획부 및 포획된 암세포로부터 방출되는 10종류의 단백질을 캡처하는 항체 어레이를 포함한다.

발명의 효과

- [9] 본 발명의 일 실시 예에 따른 단일 세포 분석 칩은 고효율의 단일 세포 포획 구조를 제공할 수 있다.
- [10] 본 발명의 일 실시 예에 따른 단일 세포 분석 칩은 기존에 방법에 비해 빠른 속도로 세포 용해가 가능하다.
- [11] 본 발명의 일 실시 예에 따른 단일 세포 분석 칩은 고밀도 항체 어레이를 통해 단일 세포에서 분비되는 단백질이나 세포 내부 신호 전달 단백질을 다중으로 측정 가능하다. 또한, 본 발명의 일 실시 예에 따른 단일 세포 분석 칩은 다양한 약물에 대하여 일시에 효율성 검증을 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [12] 도 1은 본 발명의 일 실시 예에 따른 단일 세포에 대한 최적의 항암제 조합 검출 시스템을 나타낸다.
- [13] 도 2는 상술한 단일 세포 분석 칩을 구성하는 챔버의 구조를 나타낸다.
- [14] 도 3은 세포 정렬부의 구체적인 형상을 나타낸다.
- [15] 도 4는 포획된 세포의 수에 따른 포획률을 보여주는 결과이다. 도 4에 나타난 바와 같이, 상술한 세포 정렬부를 통해 높은 수준의 포획률을 확보할 수 있다.
- [16] 도 5는 항체 어레이의 구체적인 형상을 나타낸다.
- [17] 도 6은 믹싱 펌프의 동작을 나타낸다.
- [18] 도 7은 세포 용해 전/후 채널을 따라 분석한 형광 신호 측정 결과를 나타낸다.
- [19] 도 8은 본 발명의 일 실시 예에 따른 항암제 조합에 대한 단일 세포 분석 칩을 통한 분석 방법을 나타내는 흐름도이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [20] 이하에서는 도면을 참조하여 본 발명의 구체적인 실시예를 상세하게 설명한다. 그러나 본 발명의 사상은 이하의 실시예에 제한되지 아니하며, 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에 포함되는 다른 실시예를 구성요소의 부가, 변경, 삭제, 및 추가 등에 의해서 용이하게 제안할 수 있을 것이나, 이 또한 본 발명 사상의 범위 내에 포함된다고 할 것이다.
- [21] 첨부 도면은 발명의 사상을 이해하기 쉽게 표현하기 위하여 전체적인 구조를 설명함에 있어서는 미소한 부분은 구체적으로 표현하지 않을 수도 있고, 미소한 부분을 설명함에 있어서는 전체적인 구조는 구체적으로 반영되지 않을 수도 있다. 또한, 설치 위치 등 구체적인 부분이 다르더라도 그 작용이 동일한 경우에는 동일한 명칭을 부여함으로써, 이해의 편의를 높일 수 있도록 한다. 또한, 동일한 구성이 복수 개가 있을 때에는 어느 하나의 구성에 대해서만 설명하고 다른 구성에 대해서는 동일한 설명이 적용되는 것으로 하고 그 설명을 생략한다.

- [22] 도 1은 본 발명의 일 실시 예에 따른 단일 세포에 대한 최적의 항암제 조합 검출 시스템을 나타낸다.
- [23]
- [24] 단일 세포 분석 칩(10)은 단일 세포 분석을 위한 복수의 챔버로 구성된다. 단일 세포 분석 칩(10)은 조합되는 항암제의 수에 따른 복수의 채널을 포함할 수 있으며, 채널은 복수의 챔버로 구성된다.
- [25] 단일 세포 분석칩 (10)의 i는 단일 세포 주입부, ii는 detection antibody 및 형광 probe 주입구, iii washing buffer가 주입된다. iv는 상기 3 용액에 대한 아웃렛 (출구부) 이다. v는 세포 용해 버퍼의 주입구이며, vi는 세포 용해 버퍼의 출구부이다. vi는 또한 복수의 항암제를 주사할 때 주입부로도 사용가능하며 이 때에는 v가 항암제의 공통 출구부로 배출부 역할을 한다. 이때, vi를 통해 주입되는 항암제는 단일의 항암제 또는 서로 다른 항암제가 조합된 항암제 조합 생성물일 수 있다.
- [26] 도 2는 상술한 단일 세포 분석 칩을 구성하는 챔버의 구조를 나타낸다.
- [27] 도 2에 도시된 바와 같이, 단일의 챔버(A)는 유체 채널(100), 세포 포획부(200), 항체 어레이(300), 세포 정렬부(400), 믹싱 펌프(500), 제1 밸브(600), 제2 밸브(700) 및 제3 밸브(800)를 포함한다.
- [28] 유체 채널(100)은 암세포를 포함하는 세포 주입액, assay용 주입액, 항암제 또는 세포용해 버퍼가 통과하는 채널이다. 유체 채널(100)은 세포 주입액 또는 assay 주입액이 흐르는 제1 채널(a) 및 세포용해 버퍼가 흐르는 제2 채널(b, 항암제는 같은 채널을 흐르나 세포용해 버퍼와 반대 방향으로 흐름)을 포함한다.
- [29] 단일 챔버에서 제1 채널은 상위 채널 및 하위 채널로 구분될 수 있다. 여기에서, 도 2에 도시된 제1 채널(a) 중, 좌측의 채널을 상위 채널, 우측의 채널을 하위 채널로 지칭한다. 유체 채널(100)은 항암제 조합 생성 장치(20)와 연결되거나, 세포용해 버퍼 공급 장치와 연결될 수 있다. 통상적으로 항암제는 상위 채널에서 하위 채널 방향으로 흐른다.
- [30] 세포 포획부(200)는 단일 암세포가 포획되는 부분이다. 세포 포획부(200)는 유체 흐름을 기준으로 상위 채널의 상류에 제공된다. 채널을 따라 이동하는 암세포는 세포 포획부(200)에 포획되며, 포획된 암세포는 식별을 위해 염색될 수 있다.
- [31] 항체 어레이(antibody array; 300)은 바코드 형상으로 상위 채널에 마련된다. 항체 어레이(300)는 복수의 서로 다른 항체가 마련된 어레이를 포함할 수 있다. 일 실시 예에서 항체 어레이(300)는 레퍼런스 어레이 한 개와, 세포 분석을 위한 어레이 열개를 포함할 수 있다. 이 때 레퍼런스 어레이와 세포 분석용 어레이의 형광 신호 색은 다르게 설정하여 식별할 수 있게 만든다. 항체 어레이(300)의 제조는 선행특허문헌 2를 참조한다.
- [32] 세포 정렬부(400)는 하위 채널에 마련된다. 세포 정렬부(400)는 복수의 정렬 소자를 포함할 수 있다. 바람직한 실시 예에서 정렬 소자는 원형의 형상을 가질

수 있으며, 정렬 소자의 배치 및 정렬 소자의 구체적인 역할에 대한 설명은 이하에서 추가로 하도록 하며 여기에서는 구체적인 설명을 생략한다.

- [33] 믹싱 펌프(500)는 상위 채널에 마련된다. 일 실시 예에서 믹싱 펌프(500)는 세 개의 펌프로 구성될 수 있으며, 상위 채널을 압박할 수 있는 형상으로 마련된다. 세 개의 펌프를 개별적인 동작으로, 그러나 주기를 갖게 동작시켜 이종의 유체를 효율적으로 혼합할 수 있다. 믹싱 펌프의 구체적인 동작에 대한 설명은 이하에서 추가로 하도록 하며 여기에서는 구체적인 설명을 생략한다.
- [34] 제1 밸브(600), 제2 밸브(700) 및 제3 밸브(800)는 유체의 흐름을 조절하고, 단일 세포에 대한 단백질 검출을 위해 챔버를 고립시키는 역할을 수행한다. 구체적으로 제1 밸브(600)와 제3 밸브(800)는 도 2를 기준으로 상하에서 채널을 닫아 챔버를 고립시킨다. 각 챔버마다 단일 암 세포가 포획되며, 각 암세포마다 발생하는 단백질을 검출해야 하는바, 챔버를 고립시키는 것이 필요하다.
- [35] 제2 밸브는 세포용해 버퍼의 유입을 제어하기 위한 밸브이다. 도 2를 기준으로 상단의 채널을 통해 챔버로 세포용해 버퍼가 투입되는데, 제2 밸브가 상위 채널 및 하위 채널의 상단에서 세포용해 버퍼의 유입을 제어한다. 제2 밸브가 열리는 경우 세포용해 버퍼가 챔버로 유입된다.
- [36] 여기까지, 단일 세포 분석 칩(10)을 구성하는 챔버(A)의 구성에 대하여 설명하였으며, 이하에서는 챔버 각 구성의 구체적인 형상 및 그에 따른 기능에 대하여 설명한다.
- [37] 먼저 도 3 내지 도 4에서 세포 포획부(200) 및 세포 정렬부(400)를 설명한다.
- [38] 도 3은 세포 정렬부의 구체적인 형상을 나타낸다.
- [39] 도 3(a)는 세포 정렬부를 통한 유체의 흐름 및 유체의 흐름에 따른 입자의 움직임を示나타낸다.
- [40] 도 3(a)에 도시된 바와 같이, 앞서 설명한 제1 채널에는 제1 흐름(c) 및 제2 흐름(d)이 존재한다. 여기에서 제1 흐름(c)은 세포 포획부에 의해 포획되는 제1 입자(e)를 움직이는 흐름이고, 제2 흐름(d)은 세포 포획부에 의해 포획되지 못하는 제2 입자(f)를 움직이는 흐름이다.
- [41] 도 3(a)에 도시된 바와 같이, 제1 입자(e) 및 제2 입자(f)가 채널로 주입되면, 세포 정렬부(400)에 의해 채널의 안쪽으로 입자의 흐름이 유도된다. 그러나, 제1 입자(e)의 경우 최초 주입될 때 제1 흐름(c)을 따라 주입된바, 제2 입자(f)에 우선하여 세포 포획부(200)에 포획된다. 제2 입자(f)는 세포 정렬부(200)에 의해 채널 안쪽으로 유도되기는 하나, 최초 주입될 때 제2 흐름(d)에 따라 주입되어 제1 입자에 비해 포획 우선도가 떨어질 수 밖에 없다. 그러나, 제2 입자(f)는 다음 세포 포획부에 대한 제1 흐름에 따라 움직이는 바, 다음 세포 포획부에 높은 확률로 포획된다.
- [42] 도 3(b) 내지 (c)는 도 3(a)에서 설명한 입자 움직임 유도를 위한 세포 정렬부의 구체적인 설계를 설명한다.
- [43] 도 3(b)에 도시된 바와 같이, 세포 정렬부(400)는 복수의 정렬 소자(410)을

포함한다. 그리고 바람직한 실시 예에서 정렬 소자(410)는 원형의 형상을 갖는다. 이때 정렬 소자는 일정한 간격을 가지고 사선으로 정렬된다. 채널 안쪽 방향의 사선으로 형성되는 정렬 소자는 입자(a, 예를 들어 암세포)의 흐름을 채널 안쪽으로 유도하는 역할을 한다.

[44] 이때, 정렬 소자간의 적절한 거리에 대하여 이하에서 설명한다.

[45] 정렬 소자간의 간격이 넓을수록 입자의 흐름이 용이할 수 있으나, 정렬 소자간의 간격이 넓다고 무조건 좋은 것은 아니다. 정렬 소자간의 간격이 넓을수록 입자가 채널 안쪽으로 유도될 여지가 줄어들어 정렬 소자의 제 기능을 발휘하지 못할 수가 있다. 따라서, 정렬 소자간의 적절한 거리를 결정하는 것이 중요하다.

[46] 도 3(b)는 채널에 복수의 정렬 소자들이 마련되는 경우, 유체 흐름을 나타낸다. 이때, 유체가 정렬 소자에 의해 두 부분으로 나뉘는 때 원형 소자로부터 유체 너비(β , critical streamline)가 정의된다. 이때, 입자가 포커싱(채널 안쪽으로 유도되어 세포 포획부에 포획되기 좋은 흐름(제1 흐름)을 따라 움직임을 뜻함)되기 위해 정렬 소자들(410) 간의 관계를 정해야 한다. 구체적으로 포커싱을 원하는 암세포보다 D_c 값이 작도록 정렬 소자(410)간의 관계를 설계해야 한다. 일반적으로 D_c 를 원형 소자로부터의 유체 너비의 2배로 근사하는데, 구체적인 D_c 값은 수학식 1을 통해 획득할 수 있다.

[47] [수식1]

$$D_c = 1.4 \times G \times N^{-0.48}$$

[48]

[49] 여기에서 G 는 $\lambda \cdot D$ 이며, λ 및 D 는 도 3(c)에 정의되어 있다. 그리고 N 은 $\lambda/\Delta \lambda$ 이다.

[50] 결과적으로, 정렬 소자간의 간격은 가장 큰 암세포의 크기보다 커야 하며, D_c 값은 가장 작은 암세포의 크기보다 작아야 한다.

[51] 도 4는 단일 세포 포획을 위한 세포 포획부의 설계 및 그에 따른 포획률을 나타낸다.

[52] 도 4 (a)는 세포 포획부(200)의 구체적인 형상을 나타낸다. 세포 포획부(200)는 상기 세포 정렬부(400)를 통해 정렬되어 흐르는 세포를 자동으로 포획되도록 구성된다. 이를 위해 세포 포획부는 상위 채널과 하위 채널을 연결하는 구조로 되어 있으며, 이를 통해 유체 채널에는 세포 포획부를 통한 제1 흐름과 세포 포획부를 우회하는 제2 흐름이 생성된다.

[53] 이때 단일 세포를 효율적으로 포획하기 위해서, 제1 흐름이 단일 세포 크기와 같은 크기를 갖는 것이 필요하다. 따라서 이를 위해 제1 흐름의 유량과 제2 흐름의 유량 비를 결정하는 것이 중요하다.

[54] 도 4(a)에 도시된 바와 같이 A 점과 B 점이 있으며, 제1 흐름의 유량(Q_1)과 제2 흐름의 유량(Q_2)가 정의된다. 그리고 A 점과 B 점간의 유압 강하는 수학식 2와

같이 표현된다.

[55] [수식2]

$$TRIANGLEP_{AB}=QR$$

[56]

[57] 여기서 R은 유체 저항이며 수학식 3과 같이 표현된다.

[58] [수식3]

$$R=\frac{12\mu L}{wh^3(1-0.63\frac{h}{w})}$$

[59]

[60] 여기서, w는 채널의 너비, h는 채널의 높이, L은 채널의 길이, 그리고 μ 는 유체 점도를 나타낸다.

[61] 이때, A 점에서 B 점으로의 유압 강하 값은 제1 흐름 및 제2 흐름에서 동일한 것으로 볼 수 있으며, 수학식 4과 같은 식이 성립한다.

[62] [수식4]

$$Q_b R_b = Q_t R_t$$

[63]

[64] 그리고, 수학식 4를 수학식 5와 같이 정리할 수 있다.

[65] [수식5]

$$Q_b/Q_t = R_t/R_b$$

[66]

[67] 결과적으로, 단일 세포를 세포 포획부가 잘 포획하기 위해서는 단일 세포 크기에 대응하도록 제1 흐름과 제2 흐름의 유량비를 조절해야 하며, 제1 흐름과 제2 흐름의 유량비는 채널의 너비, 길이, 높이 또는 점도의 조절을 통한

[68] 그림 (b)는 포획된 세포의 수에 따른 포획률을 보여주는 결과이다. 도 4(b)에 나타난 바와 같이, 상술한 세포 정렬부를 통해 높은 수준의 포획률을 확보할 수 있다.

[69] 도 5는 항체 어레이의 구체적인 형상 및 최종 assay를 나타낸다.

[70] 도 5(a)에 도시된 바와 같이, 항체 어레이(300)는 레퍼런스 어레이 및 캡처 어레이로 구성될 수 있다. 여기에서 레퍼런스 어레이는 암세포가 방출하는 단백질과 무관하게 형광 신호가 나올 수 있는 어떠한 probe를 사용해도 된다. 다만 암세포 단백질을 측정하기 위한 캡처 어레이와의 형광 색과는 달라야 신호 구분이 가능하다..

[71] 캡처 어레이는 복수의 서로 다른 항체가 마련된 어레이일 수 있다. 바람직한 실시 예에서, 캡처 어레이는 10개로 구성될 수 있으며, 암세포가 세포용해

- 버퍼에 의해 용해되기 전 단백질을 검출하는 어레이 3개와 용해된 후 단백질을 검출하는 어레이 7개로 구성될 수 있다.
- [72] 도 5(b)는 분석기를 통한 분석을 위해 캡처된 단백질에 형상 표지자를 붙인 최종 assay를 나타낸다.
- [73] 캡처 어레이에는 가장 먼저 항체(310)이 부착되어 있다. 그리고, 항암제 또는 세포용해 버퍼 처리를 통해 방출되는 단백질(320)이 부착되어 있던 항체와 결합한다. 그리고 캡처된 단백질을 분석하기 위해 형광 표지자(330)이 단백질에 부착된다.
- [74] 구체적인 실시 예에서, 캡처 어레이를 통해 단백질이 모두 결합되면 10 종류 단백질을 검출하기 위한 biotinylated detection antibody를 주입하고, 형광 신호를 획득하기 위하여 streptavidin-Cy5(형광염색제)를 주입하여 형광 신호를 획득하기 위한 최종 assay를 형성 할 수 있다.
- [75] 항체 어레이(300)에 캡처된 단백질 및 최종 획득하는 형광 신호에 기초하여 환자에게 효율적인 항암제 조합을 선택할 수 있다. 특정 암세포에 항암제가 효과가 있을 때 방출되는 단백질의 종류는 앞선 연구에서 알려진 것으로, 이를 통해 항체 어레이(300)에 캡처된 단백질을 분석하여 환자에게 효율적인 항암제 조합을 결정할 수 있다.
- [76] 도 6은 믹싱 펌프의 동작을 나타낸다.
- [77] 도 6에 도시된 바와 같이, 믹싱 펌프(600)는 상위 채널을 압박하는 형태로 마련된다. 그리고 유체(세포용해 버퍼 또는 위상액)가 채널로 주입되는 경우, 도 6(a)에 도시된 바와 같이, 믹싱 펌프(600)의 동작으로 상위 채널에 먼저 유체가 주입된다. 그리고 믹싱 펌프(600)의 지속적인 동작을 통해 도 6(a)에 도시된 순서로 유체가 순환 및 혼합된다.
- [78] 도 6(b)는 세 개의 펌프로 구성된 믹싱 펌프의 동작 일 예를 나타낸다. 본 발명의 일 실시 예에서 믹싱 펌프(600)는 도 6(b)에 도시된 바와 같이 동작하여 유체를 순환 및 혼합시킬 수 있다.
- [79] 도 7은 세포 용해 전/후 채널을 따라 분석한 형광 신호 측정 결과를 나타낸다. 도 7의 결과처럼 시간이 지나면서 세포 용해 물질이 고르게 퍼짐을 확인할 수 있다.
- [80] 도 8은 본 발명의 일 실시 예에 따른 항암제 조합에 대한 단일 세포 분석 칩을 통한 분석 방법을 나타내는 흐름도이다.
- [81] 분석 칩의 채널로 암세포가 주입된다(S1001). 이때, 주입되는 암세포는 효율적인 항암제 조합을 알고자 하는 암환자의 암세포일 수 있다.
- [82] 주입된 암세포가 채널을 통해 흐르는 과정에서 세포 포획부에 포획된다(S1003). 암세포는 복수의 챔버를 통과하고, 챔버에 포함된 세포 정렬부에 의해 포커싱된다. 포커싱된 암세포는 단일 세포의 형태로 셀 트레퍼에 포획된다. 이때, 포획된 암세포는 식별을 위해 염색될 수 있다.
- [83] 분석 칩의 복수의 채널로 서로 다른 조합으로 혼합된 항암제가

- 주입된다(S1005). 서로 다른 조합으로 혼합된 항암제는 각각 서로 다른 채널을 통해 주입된다.
- [84] 각 약물이 채널에 완전히 주입되며, 제1 밸브 및 제3 밸브가 닫히면서 챔버가 고립된다(S1007). 상술한 바와 같이 챔버는 단일 암세포마다 적절한 항암제를 판단하기 위한 일 테스트 단위로서, 서로 다른 암세포에서 방출되는 단백질들이 섞여 테스트 결과에 오류가 발생하는 것을 막기 위한 것이다.
- [85] 항암제의 의해 포획된 암세포에서 방출되는 단백질을 캡처한다(S1009). 항암제와의 작용을 통해 암세포는 특정의 단백질을 배출할 수 있으며, 이때 방출되는 단백질은 항암제의 적합 여부를 판단하는 일 기준이 될 수 있다. 암세포에서 방출되는 단백질은 항체 어레이에서 캡처된다.
- [86] 세포 용해 전에 방출되는 단백질의 캡처가 완료되면, 제1 밸브를 열고 제2 밸브를 닫은 후 세포용해 버퍼를 준비한다(S1011). 제2 밸브는 챔버 내 상위 채널 및 하위 채널을 한번에 닫을 수 있는 밸브이다. 이때도 제3 밸브는 닫혀있는 상태를 유지한다. 그리고 제1 밸브를 열어 모든 챔버에 세포용해 버퍼가 주입되도록 준비될 수 있다.
- [87] 세포용해 버퍼의 준비가 끝나면, 다시 제1 밸브를 닫아 챔버를 고립시킨다(S1013). 단계 S1007과 마찬가지로 챔버마다 포획된 암세포로부터 방출되는 단백질이 서로 섞이지 않기 위해 챔버를 고립시킨다.
- [88] 챔버가 고립된 상태에서 제2 밸브를 열어 세포용해 버퍼를 챔버에 주입한다(S1015). 세포용해 버퍼는 암세포에 작용하여 암세포의 멤브레인을 파괴해 암세포를 용해시키는 작용을 한다. 이때, 세포용해 버퍼는 믹싱 펌프를 통해 빠르게 확산될 수 있다.
- [89] 세포용해 버퍼에 의해 파괴된 암세포로부터 방출되는 단백질을 캡처한다(S1017). 단계 S1009와 마찬가지로, 방출되는 단백질은 항체 어레이에 의해 캡처된다. 또한, 효율적인 항암제에 노출되었던 암세포가 파괴시 방출하는 단백질은 앞선 연구에서 알려진 것으로, 이때 캡처되는 단백질 또한 효율적인 항암제를 판단하기 위한 또 다른 일 기준이 될 수 있다.
- [90] 단백질 캡처가 완료되면, 형광 신호 획득을 위한 형광 표지자를 캡처된 단백질에 붙인다(S1019). 구체적으로, 형광 신호를 획득하기 위한 형광 표지자(예를 들면, biotinylated detection antibody 및 streptavidin-Cy5)를 주입하고, 주입된 형광 표지자가 캡처된 단백질과 결합하여 최종 assay를 형성한다.
- [91] 최종 assay가 형성된 복수의 항체 어레이를 포함하는 분석 칩을 분석기에 삽입하여 가장 효율적인 항암제 조합을 판단한다 (S1021). 상술한 바와 같이, 효율적인 항암제에 노출된 암세포가 방출하는 단백질과 그렇지 않은 암세포가 방출하는 단백질에 차이가 있음을 앞선 연구에서 밝혀진바, 이를 이용하여 테스트 대상인 환자에게 가장 효율적인 항암제 조합을 판단할 수 있다.
- [92] 이때, 항체 어레이에 캡처된 단백질에 부착된 형광 표지자를 통해 형광 신호를 측정할 수 있다. 측정된 형광 신호는 캡처된 단백질을 나타낼 수 있으며, 이러한

형광 신호 기반의 다중 immunoassay를 통해 단일 세포 기반의 다중 단백질 측정 및 신호 획득이 가능하다.

- [93] 전술한 본 발명은, 프로그램이 기록된 매체에 컴퓨터가 읽을 수 있는 코드로서 구현하는 것이 가능하다. 컴퓨터가 읽을 수 있는 매체는, 컴퓨터 시스템에 의하여 읽혀질 수 있는 데이터가 저장되는 모든 종류의 기록장치를 포함한다. 컴퓨터가 읽을 수 있는 매체의 예로는, HDD(Hard Disk Drive), SSD(Solid State Disk), SDD(Silicon Disk Drive), ROM, RAM, CD-ROM, 자기 테이프, 플로피 디스크, 광 데이터 저장 장치 등이 있다. 따라서, 상기의 상세한 설명은 모든 면에서 제한적으로 해석되어서는 아니되고 예시적인 것으로 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 첨부된 청구항의 합리적 해석에 의해 결정되어야 하고, 본 발명의 등가적 범위 내에서의 모든 변경은 본 발명의 범위에 포함된다.

청구범위

- [청구항 1] 암세포에 효율적인 항암제 또는 항암제 조합을 결정하기 위한 분석 칩에 있어서,
 단일 암세포를 분석하기 위한 일 단위인 챔버; 및
 상기 챔버에 주입되는 유체를 조절하기 위한 복수의 밸브를 포함하며,
 상기 챔버는,
 항암제 및 세포용해 버퍼를 포함하는 유체가 흐르는 채널;
 상기 채널을 따라 흐르는 암세포를 포커싱하기 위한 세포 정렬부;
 상기 세포 정렬부에 따라 포커싱된 암세포를 포획하는 세포 포획부; 및
 포획된 암세포로부터 방출되는 단백질을 캡처하는 항체 어레이를 포함하는
 분석 칩.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서,
 상기 챔버는 세포용해 버퍼의 확산 및 동시의 단일 세포 용해를 촉진하기 위한 미세유체기반의 믹싱 펌프를 더 포함하는
 분석 칩.
- [청구항 3] 제 1 항에 있어서,
 상기 세포 정렬부는 암세포를 포커싱하기 위한 복수의 정렬 소자를 포함하고,
 상기 복수의 정렬 소자는 항암제 흐름을 기준으로 사선으로 배열되는
 분석 칩.
- [청구항 4] 제 3 항에 있어서,
 상기 복수의 정렬 소자는 특정 간격으로 배치되며,
 상기 특정 간격은 테스트하고자 하는 암세포의 크기, 정렬 소자의 크기에 기초하여 결정되는
 분석 칩.
- [청구항 5] 제 4 항에 있어서,
 상기 정렬 소자는 원형의 형상을 갖는
 분석 칩
- [청구항 6] 제 1항에 있어서,
 상기 항체 어레이는 상기 암세포가 세포용해 버퍼에 의해 파괴되기 전 방출하는 단백질을 캡처하는 제1 어레이 및 세포용해 버퍼에 의해 파괴된 후 방출하는 단백질을 모두 캡처하는 제2 어레이를 포함하는
 분석 칩.
- [청구항 7] 제 6 항에 있어서,
 상기 항체 어레이는 암세포가 방출하는 단백질과 무관한 형광 신호 방출을 위한 레퍼런스 어레이를 더 포함하는

분석 칩.

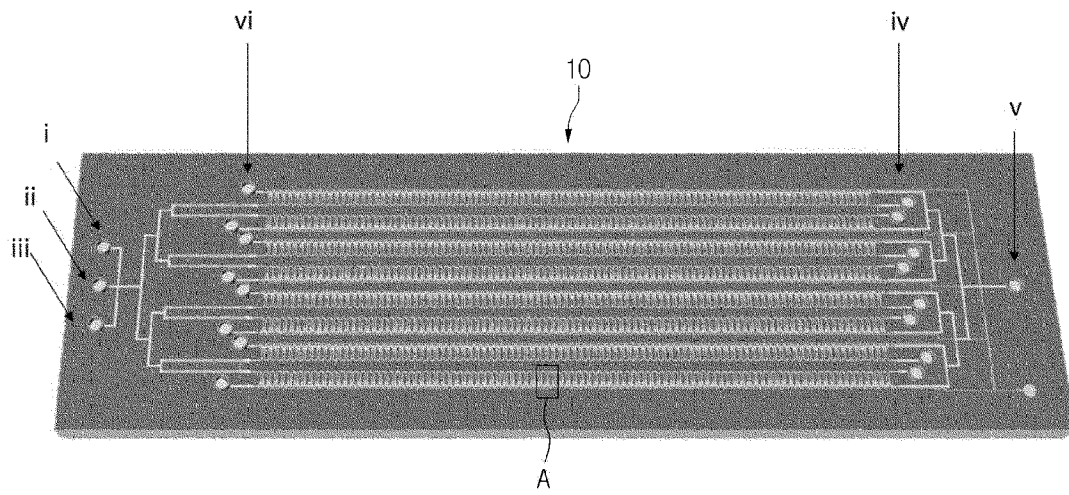
- [청구항 8] 암세포에 효율적인 항암제 또는 항암제 조합을 결정하기 위한 분석 방법에 있어서,
 분석 칩에 분석하고자 하는 환자의 암세포를 주입하는 단계;
 주입된 단일 암세포가 한 쪽 채널 벽으로 정렬되어 세포 포획부에 의해 포획되는 단계;
 복수의 약물 조합이 분석 칩을 구성하는 각각의 채널로 주입되는 단계;
 각 채널에 약물이 주입된 상태에서 밸브를 닫아 챔버를 고립시키는 단계;
 포획된 암세포가 항암제와의 반응에서 방출하는 단백질을 캡처하는 단계;
 세포용해 버퍼를 주입하여 암세포를 파괴하는 단계;
 파괴된 암세포로부터 방출되는 단백질을 캡처하는 단계; 및
 단백질이 캡처된 항체 어레이를 포함하는 분석 칩을 분석기에 삽입하여 환자에게 가장 효율적인 항암제 또는 항암제 조합을 판단하는 단계를 포함하는
 분석 방법.

- [청구항 9] 제7 항에 있어서,
 상기 항체 어레이에 캡처된 단백질에 형광 프로브를 연결하는 단계를 더 포함하고,
 상기 환자에게 가장 효율적인 항암제 또는 항암제 조합을 판단하는 단계는,
 상기 형광 프로브를 통해 측정할 수 있는 형광 신호에 기초하여 가장 효율적인 항암제 또는 항암제 조합을 판단하는 단계를 포함하는
 분석 방법.

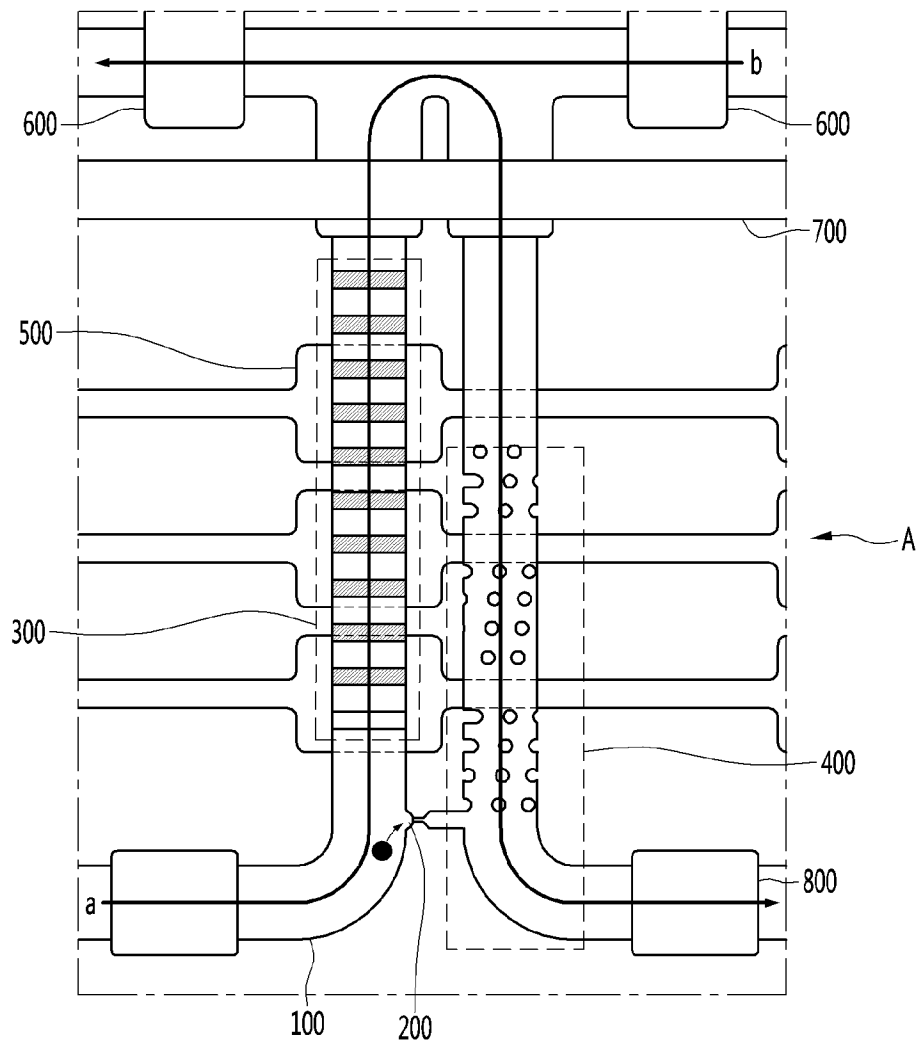
- [청구항 10] 단일 암세포를 분석하기 위한 일 단위인 챔버 및 상기 챔버에 주입되는 유체를 조절하기 위한 복수의 밸브를 포함하는 분석 칩; 및
 상기 분석 칩에 형광 프로브를 연결하여 형광 신호를 측정하고, 측정 결과에 기초하여 효율적인 항암제 조합을 판단하는 항암제 조합 생성 장치를 포함하는
 항암제 조합 검출 시스템.

- [청구항 11] 제 10 항에 있어서,
 상기 챔버는,
 항암제 및 세포용해 버퍼를 포함하는 유체가 흐르는 채널;
 상기 채널을 따라 흐르는 암세포를 포커싱하기 위한 세포 정렬부;
 상기 세포 정렬부에 따라 포커싱된 암세포를 포획하는 세포 포획부; 및
 포획된 암세포로부터 방출되는 단백질을 캡처하는 항체 어레이를 포함하는
 항암제 조합 검출 시스템.

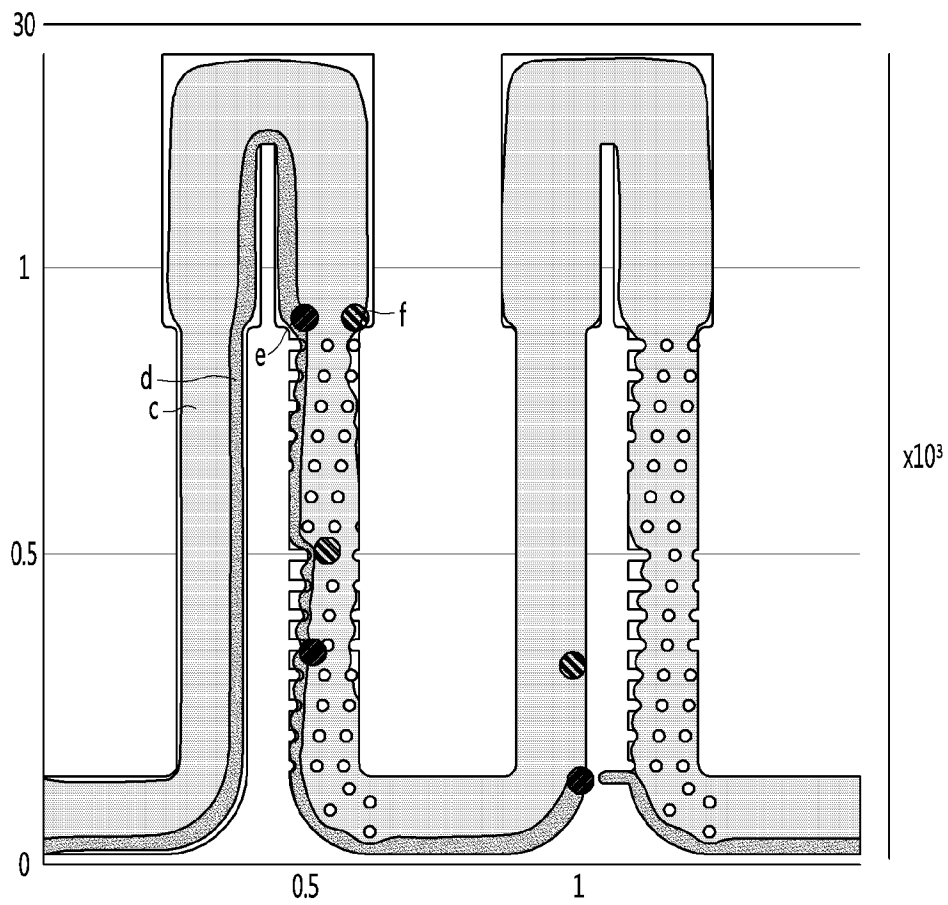
[도1]



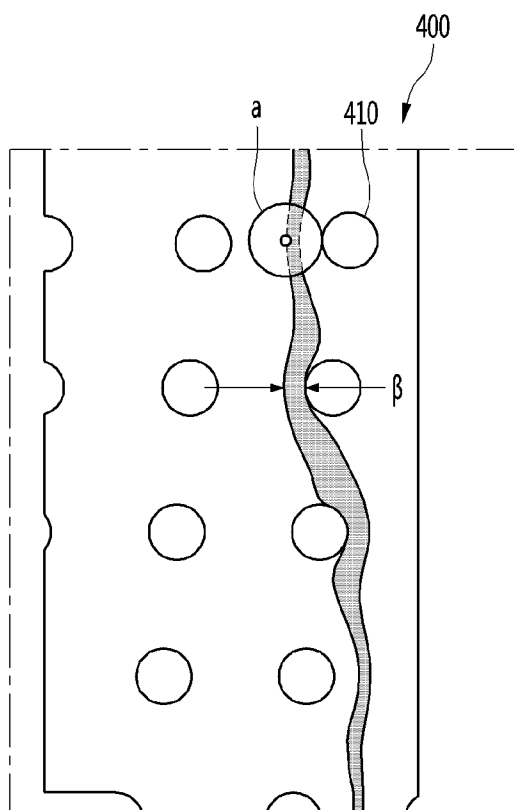
[도2]



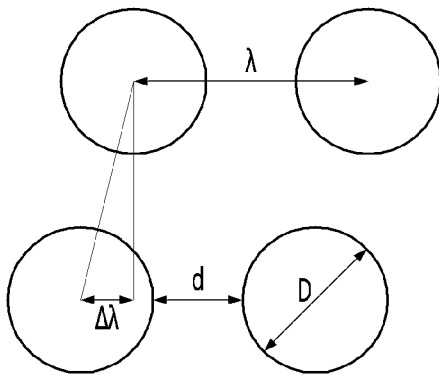
[도3a]



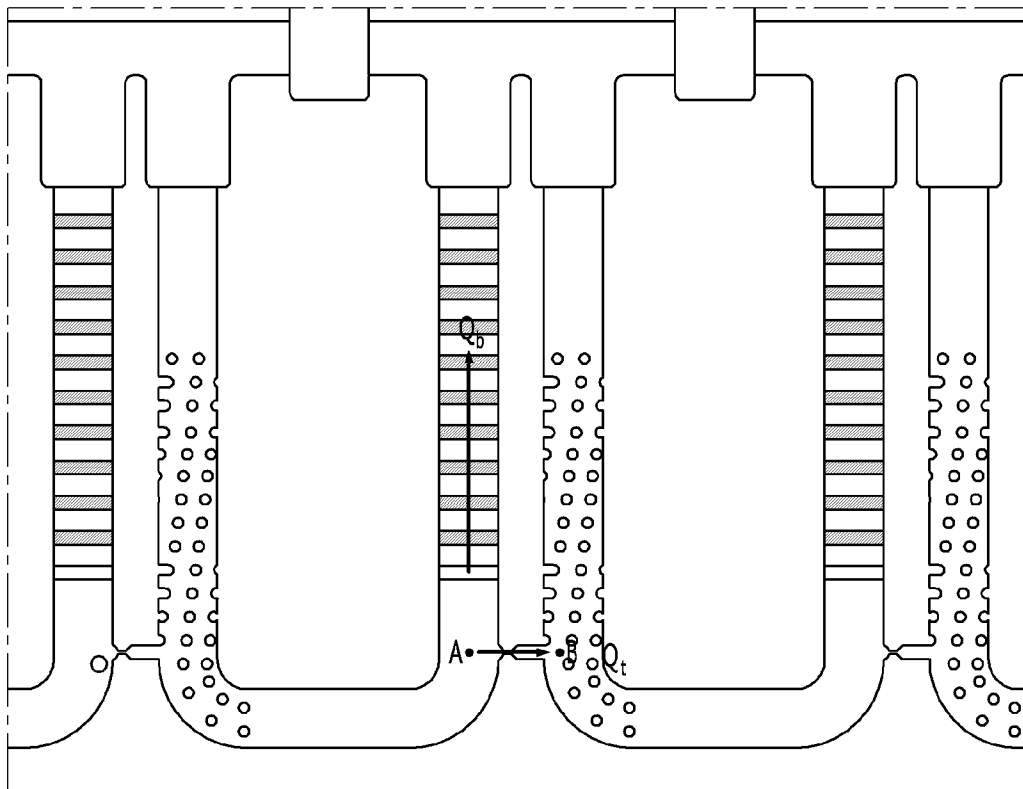
[도3b]



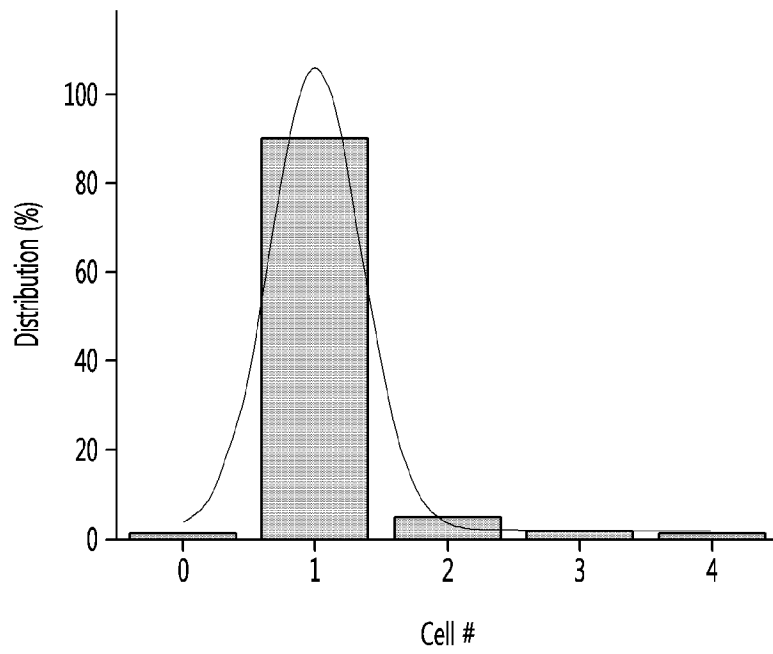
[도3c]



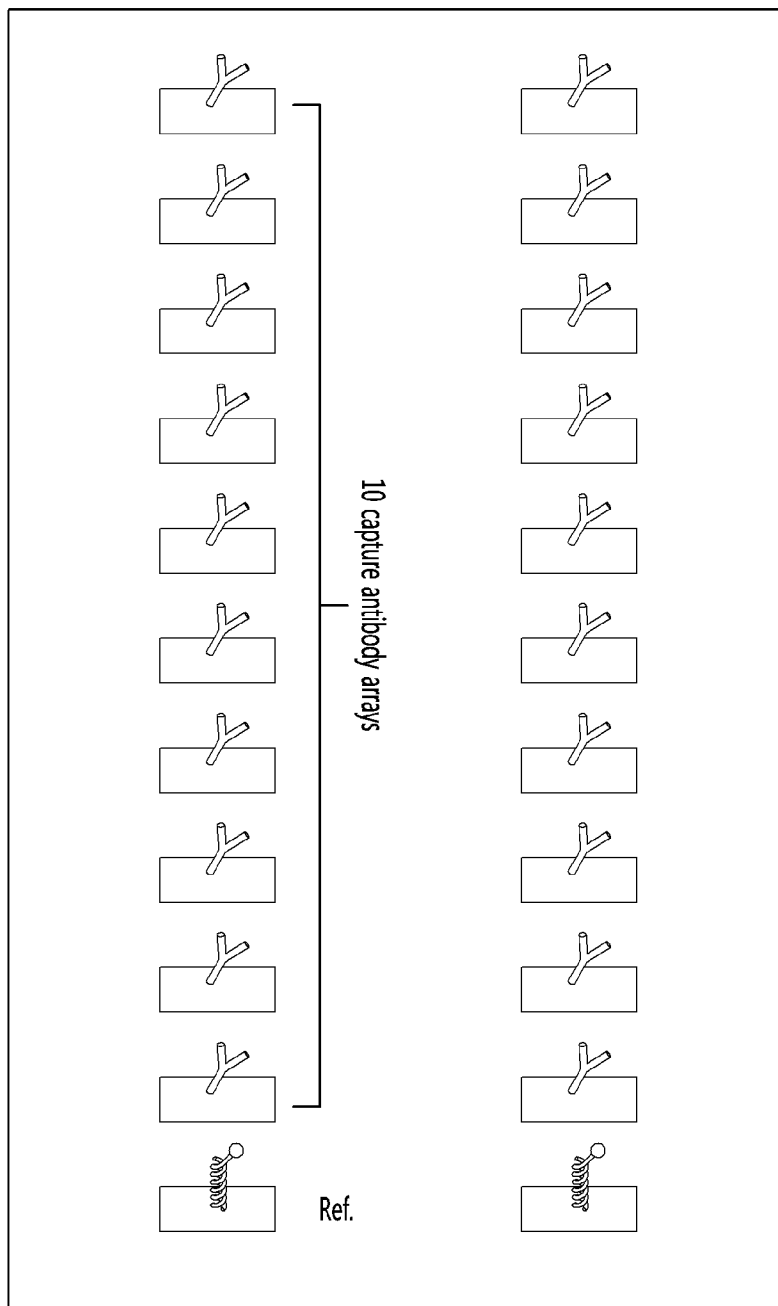
[도4a]



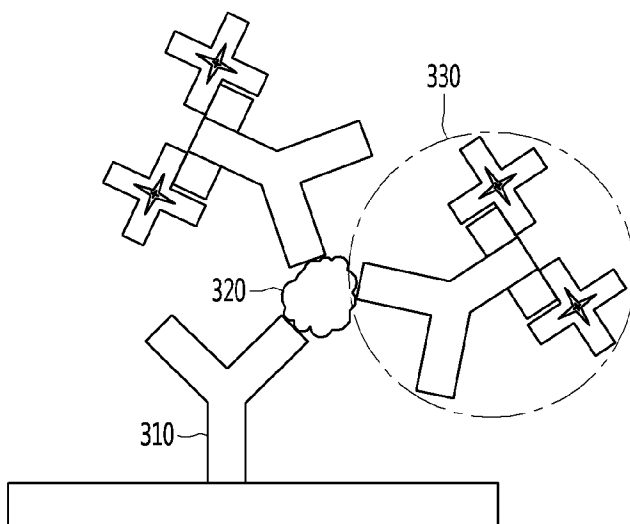
[도4b]



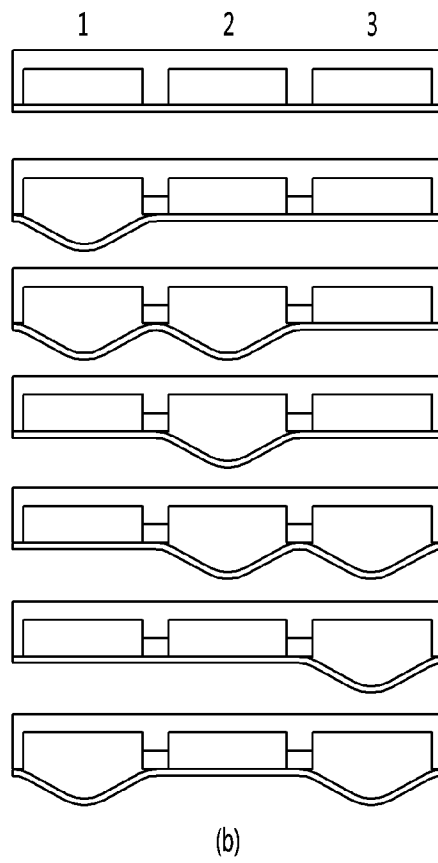
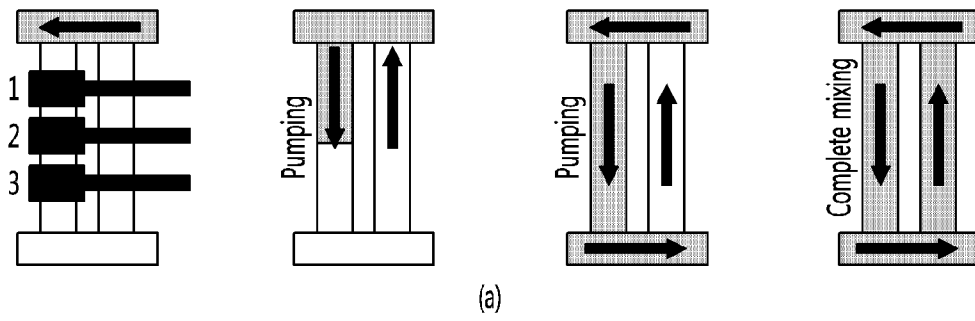
[도5a]



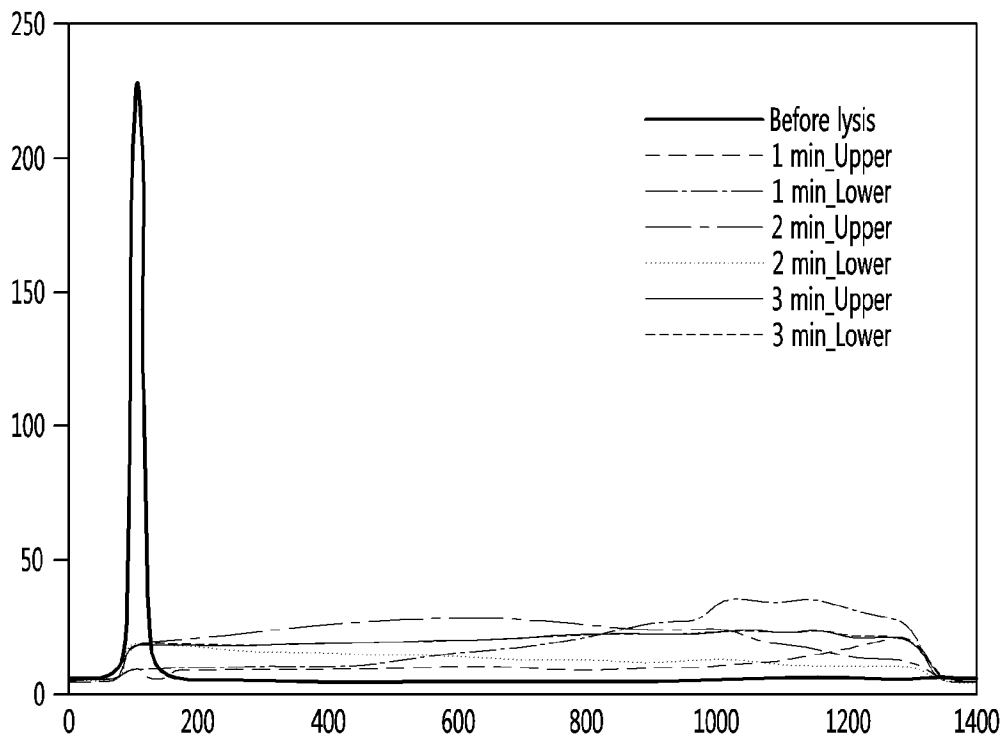
[도5b]



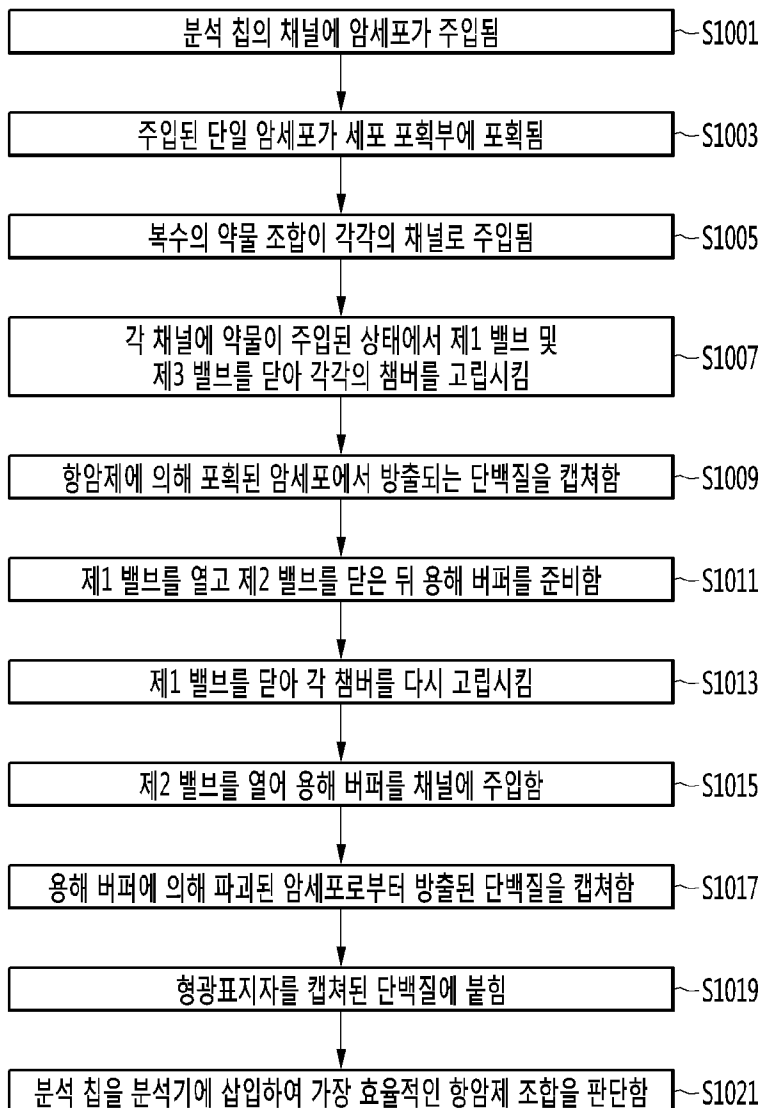
[도6]



[도7]



[도8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/007819

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/50(2006.01)i, G01N 35/08(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, B01L 3/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 33/50; B01L 3/00; B82Y 5/00; C12M 1/24; C12N 5/09; G01N 33/48; G01N 35/00; G01N 35/08; G01N 33/68

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: anticancer agent, combination, single cell, one unit, chamber, valve, channel, alignment part, capturing part, antibody array

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2010-0083987 A (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 23 July 2010 See paragraphs [0036]-[0038]; and claim 1.	10
A		1-9,11
Y	"Identifying Novel Drug Combinations to Overcome Treatment Resistance", National Cancer Institute, 21 December 2016, pages 1-6, [URL: https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/drug-combo-resistance] See pages 1, 2, 4, 5.	10
Y	AL-LAZIKANI, B. et al., "Combinatorial Drug Therapy for Cancer in the Post-genomic Era", Nature Biotechnology, July 2012, vol. 30, no. 7, pages 679-692 (inner pages 1-13) See pages 5, 6.	10
A	KR 10-2016-0052282 A (POSTECH ACADEMY-INDUSTRY FOUNDATION) 12 May 2016 See the entire document.	1-11
A	KR 10-0968640 B1 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY FOUNDATION) 06 July 2010 See the entire document.	1-11
A	KR 10-2010-0063011 A (PROMETHEUS LABORATORIES INC.) 10 June 2010 See the entire document.	1-11



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

07 NOVEMBER 2018 (07.11.2018)

Date of mailing of the international search report

07 NOVEMBER 2018 (07.11.2018)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2018/007819

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2010-0060471 A (KOREA ADVANCED INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 07 June 2010 See the entire document.	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2018/007819

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2010-0083987 A	23/07/2010	KR 10-1068672 B1	28/09/2011
KR 10-2016-0052282 A	12/05/2016	KR 10-1649348 B1	18/08/2016
KR 10-0968640 B1	06/07/2010	KR 10-2009-0035401 A	09/04/2009
KR 10-2010-0063011 A	10/06/2010	AU 2007-299774 A1	27/03/2008
		AU 2007-299774 B2	24/10/2013
		AU 2008-276251 A1	22/01/2009
		AU 2008-276251 B2	24/04/2014
		AU 2010-273319 A1	23/02/2012
		AU 2010-273319 B2	22/01/2015
		AU 2013-202682 A1	02/05/2013
		AU 2013-202682 B2	16/07/2015
		BR P10717416 A2	12/11/2013
		BR P10813583 A2	30/12/2014
		CA 2664108 A1	27/03/2008
		CA 2664108 C	26/01/2016
		CA 2693013 A1	22/01/2009
		CA 2768013 A1	20/01/2011
		CN 101563609 A	21/10/2009
		CN 101563609 B	03/09/2014
		CN 101802618 A	11/08/2010
		CN 101802618 B	25/02/2015
		CN 104198705 A	10/12/2014
		CN 104198705 B	09/06/2017
		DK 2064549 T3	04/02/2013
		DK 2551672 T3	25/07/2016
		EP 2064549 A2	03/06/2009
		EP 2064549 B1	24/10/2012
		EP 2179291 A2	28/04/2010
		EP 2179291 B1	22/10/2014
		EP 2454598 A1	23/05/2012
		EP 2454598 B1	22/03/2017
		EP 2551672 A1	30/01/2013
		EP 2551672 B1	27/04/2016
		EP 3023789 A1	25/05/2016
		EP 3023789 B1	16/05/2018
		ES 2398596 T3	20/03/2013
		ES 2526211 T3	08/01/2015
		ES 2583079 T3	19/09/2016
		ES 2627909 T3	01/08/2017
		HK 1135178 A1	30/01/2015
		IL 197730 A	30/04/2013
		IL 197730 B	30/04/2013
		IL 203201 A	31/10/2010
		IL 203201 B	31/08/2015
		IL 225305 A	30/04/2013
		IL 225305 B	31/12/2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2018/007819

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		JP 2010-504532 A	12/02/2010
		JP 2010-533842 A	28/10/2010
		JP 2012-533738 A	27/12/2012
		JP 2013-068627 A	18/04/2013
		JP 2015-148624 A	20/08/2015
		JP 2016-001187 A	07/01/2016
		JP 5154557 B2	27/02/2013
		JP 5352585 B2	27/11/2013
		JP 5722298 B2	20/05/2015
		JP 5795311 B2	14/10/2015
		KR 10-1424304 B1	06/08/2014
		KR 10-1485303 B1	22/01/2015
		KR 10-2009-0074048 A	03/07/2009
		KR 10-2014-0031374 A	12/03/2014
		MX 2009003048 A	07/09/2009
		MX 2010000405 A	04/03/2010
		NZ 575827 A	24/02/2012
		NZ 582618 A	27/07/2012
		RU 2009114851 A	27/10/2010
		RU 2010105037 A	20/08/2011
		RU 2013142450 A	27/03/2015
		RU 2442171 C2	10/02/2012
		RU 2519647 C2	20/06/2014
		US 2008-0076139 A1	27/03/2008
		US 2008-0261829 A1	23/10/2008
		US 2009-0035792 A1	05/02/2009
		US 2011-0275097 A9	10/11/2011
		US 2011-0281748 A1	17/11/2011
		US 2012-0270745 A1	25/10/2012
		US 2013-0237436 A9	12/09/2013
		US 2014-0187445 A1	03/07/2014
		US 2015-0051107 A1	19/02/2015
		US 2017-0184592 A1	29/06/2017
		US 8658388 B2	25/02/2014
		US 9250243 B2	02/02/2016
		US 9285369 B2	15/03/2016
		US 9575066 B2	21/02/2017
		WO 2008-036802 A2	27/03/2008
		WO 2008-036802 A3	08/05/2008
		WO 2009-012140 A2	22/01/2009
		WO 2009-012140 A3	05/03/2009
		WO 2011-008990 A1	20/01/2011
		ZA 200902132 B	30/06/2010
		ZA 201000310 B	28/04/2011
		ZA 201002075 B	24/11/2010
KR 10-2010-0060471 A	07/06/2010	KR 10-0967415 B1	01/07/2010

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 33/50(2006.01)i, G01N 35/08(2006.01)i, G01N 33/68(2006.01)i, B01L 3/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 33/50; B01L 3/00; B82Y 5/00; C12M 1/24; C12N 5/09; G01N 33/48; G01N 35/00; G01N 35/08; G01N 33/68

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 항암제, 조합, 단일 세포, 일 단위, 챔버, 밸브, 채널, 정렬부, 포획부, 항체 어레이

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2010-0083987 A (한국과학기술원) 2010.07.23 단락 [0036]-[0038]; 및 청구항 1 참조.	10
A		1-9, 11
Y	"Identifying novel drug combinations to overcome treatment resistance", National Cancer Institute, 2016.12.21, 페이지 1-6 [URL: https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/drug-combo-resistance] 페이지 1, 2, 4, 5 참조.	10
Y	AL-LAZIKANI, B. 등, "Combinatorial drug therapy for cancer in the post-genomic era", Nature Biotechnology, 2012.07., 30권, 7호, 페이지 679-692 (내부페이지 1-13) 페이지 5, 6 참조.	10
A	KR 10-2016-0052282 A (포항공과대학교 산학협력단) 2016.05.12 전체 문헌 참조.	1-11
A	KR 10-0968640 B1 (재단법인서울대학교산학협력재단) 2010.07.06 전체 문헌 참조.	1-11
A	KR 10-2010-0063011 A (프로메테우스 레버러터리스 인코포레이티드) 2010.06.10 전체 문헌 참조.	1-11

☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2018년 11월 07일 (07.11.2018)

국제조사보고서 발송일

2018년 11월 07일 (07.11.2018)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



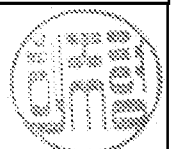
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



C(계속). 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2010-0060471 A (한국과학기술원) 2010.06.07 전체 문헌 참조.	1-11

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2010-0083987 A	2010/07/23	KR 10-1068672 B1	2011/09/28
KR 10-2016-0052282 A	2016/05/12	KR 10-1649348 B1	2016/08/18
KR 10-0968640 B1	2010/07/06	KR 10-2009-0035401 A	2009/04/09
KR 10-2010-0063011 A	2010/06/10	AU 2007-299774 A1	2008/03/27
		AU 2007-299774 B2	2013/10/24
		AU 2008-276251 A1	2009/01/22
		AU 2008-276251 B2	2014/04/24
		AU 2010-273319 A1	2012/02/23
		AU 2010-273319 B2	2015/01/22
		AU 2013-202682 A1	2013/05/02
		AU 2013-202682 B2	2015/07/16
		BR PI0717416 A2	2013/11/12
		BR PI0813583 A2	2014/12/30
		CA 2664108 A1	2008/03/27
		CA 2664108 C	2016/01/26
		CA 2693013 A1	2009/01/22
		CA 2768013 A1	2011/01/20
		CN 101563609 A	2009/10/21
		CN 101563609 B	2014/09/03
		CN 101802618 A	2010/08/11
		CN 101802618 B	2015/02/25
		CN 104198705 A	2014/12/10
		CN 104198705 B	2017/06/09
		DK 2064549 T3	2013/02/04
		DK 2551672 T3	2016/07/25
		EP 2064549 A2	2009/06/03
		EP 2064549 B1	2012/10/24
		EP 2179291 A2	2010/04/28
		EP 2179291 B1	2014/10/22
		EP 2454598 A1	2012/05/23
		EP 2454598 B1	2017/03/22
		EP 2551672 A1	2013/01/30
		EP 2551672 B1	2016/04/27
		EP 3023789 A1	2016/05/25
		EP 3023789 B1	2018/05/16
		ES 2398596 T3	2013/03/20
		ES 2526211 T3	2015/01/08
		ES 2583079 T3	2016/09/19
		ES 2627909 T3	2017/08/01
		HK 1135178 A1	2015/01/30
		IL 197730 A	2013/04/30
		IL 197730 B	2013/04/30
		IL 203201 A	2010/10/31
		IL 203201 B	2015/08/31
		IL 225305 A	2013/04/30
		IL 225305 B	2014/12/31

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		JP 2010-504532 A	2010/02/12
		JP 2010-533842 A	2010/10/28
		JP 2012-533738 A	2012/12/27
		JP 2013-068627 A	2013/04/18
		JP 2015-148624 A	2015/08/20
		JP 2016-001187 A	2016/01/07
		JP 5154557 B2	2013/02/27
		JP 5352585 B2	2013/11/27
		JP 5722298 B2	2015/05/20
		JP 5795311 B2	2015/10/14
		KR 10-1424304 B1	2014/08/06
		KR 10-1485303 B1	2015/01/22
		KR 10-2009-0074048 A	2009/07/03
		KR 10-2014-0031374 A	2014/03/12
		MX 2009003048 A	2009/09/07
		MX 2010000405 A	2010/03/04
		NZ 575827 A	2012/02/24
		NZ 582618 A	2012/07/27
		RU 2009114851 A	2010/10/27
		RU 2010105037 A	2011/08/20
		RU 2013142450 A	2015/03/27
		RU 2442171 C2	2012/02/10
		RU 2519647 C2	2014/06/20
		US 2008-0076139 A1	2008/03/27
		US 2008-0261829 A1	2008/10/23
		US 2009-0035792 A1	2009/02/05
		US 2011-0275097 A9	2011/11/10
		US 2011-0281748 A1	2011/11/17
		US 2012-0270745 A1	2012/10/25
		US 2013-0237436 A9	2013/09/12
		US 2014-0187445 A1	2014/07/03
		US 2015-0051107 A1	2015/02/19
		US 2017-0184592 A1	2017/06/29
		US 8658388 B2	2014/02/25
		US 9250243 B2	2016/02/02
		US 9285369 B2	2016/03/15
		US 9575066 B2	2017/02/21
		WO 2008-036802 A2	2008/03/27
		WO 2008-036802 A3	2008/05/08
		WO 2009-012140 A2	2009/01/22
		WO 2009-012140 A3	2009/03/05
		WO 2011-008990 A1	2011/01/20
		ZA 200902132 B	2010/06/30
		ZA 201000310 B	2011/04/28
		ZA 201002075 B	2010/11/24
KR 10-2010-0060471 A	2010/06/07	KR 10-0967415 B1	2010/07/01