

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2022년 10월 20일 (20.10.2022) WIPO | PCT



(10) 국제공개번호

WO 2022/220618 A1

(51) 국제특허분류:

A61B 5/097 (2006.01)

A61B 10/00 (2006.01)

A61B 5/08 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2022/005419

(22) 국제출원일:

2022년 4월 14일 (14.04.2022)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2021-0049049 2021년 4월 15일 (15.04.2021) KR

(71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION)
[KR/KR]: 02841 서울특별시 성북구 안암로 145, Seoul (KR).

(72) 발명자: 신세현 (SHIN, Se-Hyun); 06629 서울특별시 서초구 서운로 62 래미안리더스원 106동 503호, Seoul (KR).

(74) 대리인: 최훈식 (CHOI, Hoon-Sik); 08502 서울특별시 금천구 가산디지털1로 212 1410, Seoul (KR).

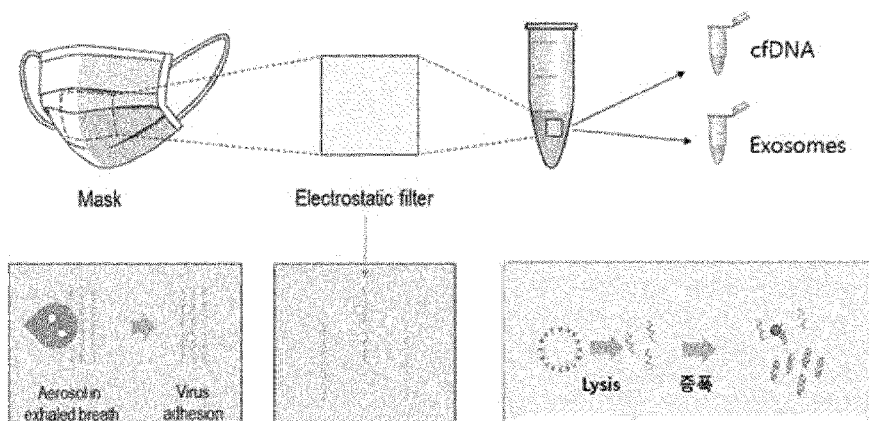
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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).

(54) Title: BREATH BIOPSY METHOD USING MASK AND BREATH BIOPSY APPARATUS USING SAME

(54) 발명의 명칭: 마스크를 이용한 호흡 생검 방법 및 이를 이용한 호흡 생검 장치

[도2]



(57) Abstract: The present invention relates to a breath biopsy method for extracting, amplifying, and detecting a target material included in exhaled gas by using a mask and a breath biopsy apparatus using same. According to the breath biopsy method and the breath biopsy apparatus, the target material can be captured in a non-invasive manner by a subject him/herself, even if not a skilled person, and a large amount of the target material can be captured according to the wearing time, leading to an increase in sensitivity of detection, and the captured target material can be stored for a long time and delivered over a long distance in a frozen condition, thereby enabling remote examination without the damage of the target material.

(57) 요약서: 본 발명은 마스크를 이용하여 호기에 포함된 타겟물질을 추출하고 증폭하여 검출하는 호흡 생검 방법 및 이를 이용한 호흡 생검 장치에 관한 것으로, 상기 호흡 생검 방법 및 호흡 생검 장치는 숙련된 기술자가 아닌 경우에도 피검자 자신이 비침습적인 방법을 이용하여 타겟물질을 포집할 수 있고, 착용시간에 따라 다량의 타겟물질을 포집할 수 있어서 검출 민감도를 높일 수 있고, 포집된 타겟물질을 냉동 조건에서 장기보관 및 원거리 배송이 가능하여 타겟물질의 손상 없이 원격 검진이 가능한 이점이 있다.

[다음 쪽 계속]

WO 2022/220618 A1

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 마스크를 이용한 호흡 생검 방법 및 이를 이용한 호흡 생검 장치

기술분야

- [1] 본 발명은 마스크를 이용하여 호기에 포함된 타겟물질을 추출하고 증폭하여 검출하는 호흡 생검 방법 및 이를 이용한 호흡 생검 장치에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 사람의 날숨에는 다양한 인체유래 물질이 포함되는 것으로 잘 알려져 있다. 특히 공기와 직접적으로 접촉하는 폐와 위, 식도 등에서 발생하는 물질이 날숨에 포함되어 대기 중으로 방출되는 사실을 토대로 이를 냄새로 특성을 분류하여 환자를 식별하려는 노력들이 진행되어 왔으며 관련기술을 전자코(electronic nose)라고 통칭할 수 있다. 즉, 센서를 이용하여 날숨에 포함된 특정 성분들을 탐지하고 분석하는 기술로서 대표적인 분석대상 물질은 휘발성 유기 화합물(VOCs)이 이에 해당한다. 그러나 이러한 기술은 센서기술의 한계와 검출된 특정 VOC 물질과 질환과의 연관성 등의 문제로 아직 임상기술로서 적용되고 있지 못한 상황이다.
- [3] 최근, 날숨을 장비로 포집한 후 이를 정밀한 질량분석기술로 VOCs를 정밀 검출하는 기술이 급부상하며 일부 업체에서 이를 상용화시키는데 성공하였다. 영국의 Owlstone사가 개발한 날숨 포집장치와 더불어 연결된 질량분석기에서 유기가스성분을 분석하는 기술은 현재 국제적 기업인 ThermoFisher의 지원을 받으면 본격적이 개발과 상업화에 이르고 있다. 그러나 상기의 기술은 여전히 VOCs와 환자와의 직접적 연관성에 대한 임상연구는 더 검증해봐야 되는 문제를 안고 있다.
- [4] 호흡생검(Breath Biopsy)라는 개념이 점차 확대되면서 다양한 선행기술들이 소개되고 있는데 대부분 분석 대상이 앞선 VOCs에 치중되고 있다. 선행문헌에서는 날숨을 포집하는 장치 및 분석하는 장치를 고안하였으며, 다양한 센서 들이 제안되고 있다. 이러한 장치들의 특징은 인체의 날숨을 직접 포집하여 다양한 센서에서 실시간으로 분석하는 기술로서 대부분 호기 중에 포함된 유기가스성분을 검출하는 것으로서 특징지어진다. 이러한 기술의 문제는 앞서 지적한 바와 같이 유기가스 성분과 질환과의 상관성이 환자별로 너무 차이가 커서 민감도 특이도가 저조한 값을 보일 뿐 아니라 또한 포집되는 호기의 양이 많지 않아 정밀한 연구를 위해서는 오랫동안 호기를 포집해야하는 불편함이 존재한다.
- [5] 최근 COVID-2 타겟물질 관련하여 다양한 진단기술이 소개되고 있는 중에서도 마스크를 이용하여 타겟물질 감염환자의 날숨에서 타겟물질을 포집하고 검출하는 기술이 제안되었다. 일부 연구에는 마스크를 착용한 사용자의 호기에

포함된 타겟물질을 신속 및 안전하게 포집할 수 있는 타겟물질 포집용 마스크를 제공하는 것으로서 비의료전문가인 피검자 자신이 용이하게 타겟물질을 무자각 무구속 상태에서 자가 포집할 수 있는 타겟물질 포집용 마스크를 제공할 수 있는 발명의 기술에 해당한다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [6] 본 발명은 상술한 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 사용자의 호기에 포함된 타겟물질을 마스크를 이용하여 포집하고 이를 신속 및 정밀하게 검출할 수 있는 호흡 생검 방법 및 이를 이용한 호흡 생검 장치를 제공한다.

과제 해결 수단

- [7] 본 발명은 포집 패드를 포함하는 마스크를 사용자가 착용하여 다공성 포집 패드에 호기에 포함된 타겟물질을 포집하는 타겟물질 포집 단계;
- [8] 상기 포집 패드를 용출용액에 넣어 마스크로부터 상기 타겟물질을 용출시키는 타겟물질 용출 단계; 및
- [9] 용출된 타겟물질을 포함하는 용액을 이용하여 타겟물질을 증폭시키는 타겟물질 검출 단계;를 포함하는 호흡 생검 방법을 제공한다.
- [10] 또한, 본 발명은 상술한 호흡 생검 방법을 이용한 호흡 생검 장치에 있어서,
- [11] 포집 패드를 포함하는 마스크를 구비하여 상기 마스크를 착용한 사용자의 호기로부터 타겟물질을 포집하는 타겟물질 포집부; 및
- [12] 상기 타겟물질 포집부의 포집 패드로부터 타겟물질을 용출시켜 분석하는 타겟물질 검출부;를 포함하는 호흡 생검 장치를 제공한다.

발명의 효과

- [13] 본 발명에 따른 호흡 생검 방법 및 호흡 생검 장치는 숙련된 기술자가 아닌 경우에도 피검자 자신이 비침습적인 방법을 이용하여 타겟물질을 포집할 수 있고, 착용시간에 따라 다량의 타겟물질을 포집할 수 있어서 검출 민감도를 높일 수 있다.
- [14] 또한, 본 발명에 따른 호흡 생검 방법은 포집된 타겟물질을 냉동 조건에서 장기보관 및 원거리 배송이 가능하여 타겟물질의 손상 없이 원격 검진이 가능한 이점이 있다.

도면의 간단한 설명

- [15] 도 1은 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법을 나타낸 흐름도이다.
- [16] 도 2은 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법을 나타낸 모식도이다.
- [17] 도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법을 이용하여 마스크 종류 및 마스크 착용 시간에 따라 검출된 GAPDH 유전자의 양을 나타낸 그래프와 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법 및 비교예의 액체 생검 방법을 이용하여 검출된 RPLPO 유전자의 양을 나타낸 그래프이다.
- [18] 도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법을 이용하여 마스크 착용

시간에 따라 검출된 총 DNA 농도값을 나타낸 그래프이다.

- [19] 도 5는 본 발명의 일실시에에 따른 호흡 생검 방법 및 비교예의 액체 생검 방법을 이용하여 타겟물질을 분석한 그래프이다:(a)는 마스크 착용시간에 따른 DNA 농도를 나타낸 그래프이고, (b)는 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 이용하여 분석한 DNA 순도(DNA purity, A260/280)을 나타낸 그래프이고, (c)는 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 이용하여 ACTB, B2M, GUSB 및 GAPDH 유전자의 양을 나타낸 그래프이고, (d)는 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 이용하여 겔 전기영동(gel electrophoresis)으로 분석한 DNA의 사이즈를 나타낸 그래프이다.
- [20] 도 6은 본 발명의 일실시에에 따른 호흡 생검 방법 및 비교예의 액체 생검 방법을 이용하여 분석한 let-7a 및 miR-142의 양을 나타낸 그래프이다.
- [21] 도 7은 본 발명의 일실시에에 따른 호흡 생검 방법에서 타겟물질 용출 단계를 도식화한 그래프이다.
- [22] 도 8은 본 발명의 일실시에에 따른 호흡 생검 방법을 이용하여 타겟물질 용출 방법에 따라 검출된 GAPDH 유전자의 양을 나타낸 그래프(a)와 타겟물질 용출 방법을 나타낸 모식도(b)이다.
- [23] 도 9 내지 도 11은 본 발명의 일실시에에 따른 호흡 생검 장치에서 타겟물질 포집부의 마스크를 도시한 개략도이다.
- [24] 도 12 내지 도 16는 도 9에 도시된 마스크 본체의 내면에 포집 패드가 배치되는 본 발명의 제1 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크의 단면도이다.
- [25] 도 17 및 도 18는 도 9에 도시된 마스크 본체의 내면에 포집 패드가 배치되는 본 발명의 제2 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크의 단면도이다.
- [26] 도 19 및 도 20은 도 9에 도시된 마스크 본체의 내면에 포집 패드가 배치되는 본 발명의 제3 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크의 단면도이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [27] 이하, 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위하여 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 첨부된 도면을 참조하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 본 발명은 여기서 설명되어지는 실시예에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있다.
- [28]
- [29] 본 발명에 따른 호흡 생검 방법은 도 1에 나타난 바와 같이 타겟물질 포집 단계(S100); 타겟물질 용출 단계(S200); 및 타겟물질 검출 단계(S300)를 포함한다.
- [30] 본 발명에서 타겟물질은 RNA 및 DNA 중 적어도 하나를 포함하는 핵산을 포함할 수 있다.
- [31] 본 발명에 따른 호흡 생검 방법은 폐암, 위암, 식도암, 결핵 또는 후두암과 같이 호흡기와 관련된 질병의 조기검진이 가능하고, 비침습적인 방법으로 사용자 또는 피검자가 불편함 없이 생검을 진행할 수 있는 장점이 있다.

- [32] 상기 타겟물질 포집 단계(S100)는 도 2에 나타난 바와 같이 포집 패드를 포함하는 마스크를 사용자가 착용하여 다공성 포집 패드에 호기에 포함된 타겟물질을 포집하는 단계이다.
- [33] 상기 타겟물질 포집 단계(S100)는 사용자가 10분 이상, 10분 내지 10시간, 20분 내지 5시간, 30분 내지 5시간 또는 30분 내지 2시간 동안 상기 마스크를 착용하고 호흡하여 사용자의 호기에 포함된 타겟물질을 포집할 수 있다.
- [34] 상기 타겟물질 포집 단계(S100)는 마스크 착용시간이 증가할수록 타겟물질 포집량은 동일하거나 증가할 수 있다.
- [35] 상기 타겟물질 포집 단계(S100)에서 상기 마스크는 사용자의 피부에 맞닿는 내피; 외부 공기와 접촉하는 외피; 및 상기 내피 및 상기 외피 사이에 구비되고, 호기 내 타겟물질을 흡착하도록 하는 포집 패드를 포함할 수 있다.
- [36] 구체적으로, 상기 포집 패드는 정전필터 및 수용성 필터 중 적어도 하나 이상을 포함하고, 상기 정전필터는 정전기적 인력에 의해 호기 내 타겟물질이 포집패드에 흡착되도록 하고, 상기 수용성 필터는 수용성 물질을 포함하여 호기 내 타겟물질이 포집패드에 흡착되도록 할 수 있다.
- [37] 상기 수용성 필터는 수용성 물질을 포함하여 포집 패드에 흡착된 타겟물질을 용출시킬 때 수용성 용액을 사용할 수 있도록 하고, 이에 따라 증류수를 사용하여 포집 패드에 흡착된 타겟물질을 용이하게 용출시킬 수 있다.
- [38] 상기 포집패드의 크기는 가로 길이가 5 내지 15cm, 5 내지 10cm 또는 10 내지 15cm이고, 세로 길이가 1 내지 10cm, 1 내지 5cm 또는 5 내지 10cm일 수 있다.
- [39] 상기 타겟물질 용출 단계(S200)는 도 2에 나타난 바와 같이 상기 포집 패드를 용출용액에 넣어 마스크로부터 상기 타겟물질을 용출시키는 단계이다.
- [40] 상기 타겟물질 용출 단계(S200)는 용출용액에 상기 포집 패드의 전체 또는 일부를 넣어 용해시킴으로써 상기 타겟물질을 용출시킬 수 있다.
- [41] 상기 용출용액은 제1 용리액, 단백질효소 K(proteinase K), 용해 완충액, 바인딩 완충액(binding buffer), 흡착물질, 세척 완충액 및 제2 용리액 중 적어도 하나 이상을 포함하고, 상기 용출용액은 수용성을 나타낼 수 있다.
- [42] 상기 용출용액에서 제1 용리액은 포집 패드로부터 흡착된 타겟물질을 분리하는 것으로, 구체적으로 용리액은 증류수를 사용할 수 있다.
- [43] 상기 단백질효소 K는 포집 패드에 타겟물질과 함께 흡착된 단백질에 결합하여 단백질을 절단함으로써 타겟물질을 포함하는 세포외 소포체 등을 분리해내는 역할을 한다.
- [44] 상기 용해 완충액은 포집 패드에 타겟물질과 함께 흡착된 세포외 소포체 등의 표면을 용해시켜 타겟물질을 추출해내는 역할을 한다.
- [45] 상기 바인딩 완충액은 타겟물질을 흡착물질 표면에 부착시키는 것이고, 상기 흡착물질은 바인딩 완충액에 노출된 타겟물질을 흡착하는 것이다.
- [46] 상기 세척 완충액은 흡착물질의 표면에 흡착된 단백질을 세정하여 흡착물질 표면에 타겟물질만 남도록 하는 것이고, 상기 제2 용리액은 흡착물질 표면에

흡착된 타겟물질만을 용리시키는 용액이다.

- [47] 또한, 본 발명에 따른 호흡 생검 방법은 상기 타겟물질 포집 단계 이후와 상기 타겟물질 용출 단계 이전에 영하 10°C 이하, 영하 15°C 이하 또는 영하 20°C 이하의 온도에서 포집 패드를 보관하는 포집 패드 보관 단계(S110)를 더 포함할 수 있다.
- [48] 상기 포집 패드 보관 단계(S110)는 상기 타겟물질 포집 단계 이후의 단계로, 피검자가 마스크를 이용하여 타겟물질을 포집한 후 타겟물질이 포집된 마스크 또는 타겟물질이 포집된 포집 패드를 냉동 조건에서 장기보관 하도록 도와주고, 원거리 배송이 가능하게 하여 타겟물질의 손상 없이 검진센터 또는 연구실로 보낼 수 있도록 한다.
- [49] 상기 타겟물질 검출 단계(S300)는 도 2에 나타난 바와 같이 상기 포집 패드로부터 용출된 타겟물질을 분석하는 단계이다.
- [50] 상기 타겟물질 검출 단계(S300)는 상기 용출용액에 용출된 타겟물질을 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing, NGS), qPCR, dPCR(digital PCR), 큐빗(QUBIT), 겔 전기영동(gel electrophoresis), 테이프스테이션(Tapestation), 나노드랍(nanodrop) 및 바이오애널리라이저(Bioanalyzer) 중 적어도 하나 이상을 이용하여 분석할 수 있다.
- [51] 상기 타겟물질 검출 단계(S300)는 상기 용출용액에 용출된 타겟물질을 PCR 증폭을 통해 타겟물질의 양을 증가시켜 특정 질병을 진단하는데 사용할 수 있다.
- [52] 상기 PCR 증폭 방법은 검출부는 qPCR 및 dPCR 중 적어도 하나 이상을 이용하여 타겟물질을 증폭하여 분석할 수 있다.
- [53] 상기 타겟물질 검출 단계(S300)는 상기 용출용액에 용출된 타겟물질을 겔 전기영동(gel electrophoresis), 테이프스테이션(Tapestation) 및 바이오애널리라이저(Bioanalyzer) 중 적어도 하나 이상을 이용하여 전기영동을 통해 분석할 수 있다.
- [54] 상기 타겟물질 검출 단계(S300)는 상기 용출용액에 용출된 타겟물질을 큐빗(QUBIT) 및 나노드랍 중 적어도 하나 이상을 이용하여 형광 또는 흡광을 측정하여 정량분석할 수 있다.
- [55] 또한, 본 발명은 상술한 호흡 생검 방법을 위한 호흡 생검 장치를 제공한다.
- [56] 하나의 예로서, 본 발명은 포집 패드를 포함하는 마스크를 구비하여 상기 마스크를 착용한 사용자의 호기로부터 타겟물질을 포집하는 타겟물질 포집부; 및
- [57] 상기 타겟물질 포집부의 포집 패드로부터 타겟물질을 용출시켜 분석하는 타겟물질 검출부;를 포함하는 호흡 생검 장치를 제공한다.
- [58] 상기 타겟물질 포집부의 마스크는 사용자의 피부에 맞닿는 내피; 외부 공기와 접촉하는 외피; 및 상기 내피 및 상기 외피 사이에 구비되고, 호기 내 타겟물질을 흡착되도록 하는 포집 패드를 포함한다.
- [59] 상기 마스크는 도 9에 나타난 바와 같이 내면이 사용자의 안면 일부를 덮는

- 마스크 본체(100), 및 다공성 시트부(210)를 포함하고, 마스크 본체(100)에 배치되며, 사용자의 호기 내 타겟물질을 포집하는 포집 패드(200)를 포함한다.
- [60] 마스크 본체(100)는 사용자의 안면 중 일부분을 덮을 수 있도록 형성된다. 일례로, 마스크 본체(100)는 사용자의 코와 입을 덮을 수 있다. 마스크 본체(100)는 공기가 통과할 수 있는 직물 또는 펄프 재질 등의 시트로 이루어지고, 그 시트 구조는 단일 시트, 또는 다중 시트일 수 있다.
- [61] 마스크 본체(100)에는 고정 부재(300)가 설치될 수 있다. 고정 부재(300)는 마스크 본체(100)를 사용자의 안면에 고정시키기 위해 제공된다. 일례로, 고정 부재(300)는 마스크 본체(100)의 양측에 각각 설치되고, 사용자의 귀에 걸 수 있도록 페루프 형태의 끈으로 이루어질 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [62] 포집 패드(200)는 마스크를 착용한 사용자의 호기에 포함된 호기 내 타겟물질을 포집하는 부재로서, 마스크 본체(100)에 배치된다.
- [63] 포집 패드(200)는 마스크 본체(100)의 내면, 외면, 또는 내부에 각각 배치될 수 있다. 여기서, 마스크 본체(100)의 내면은 마스크 본체(100)의 표면 중 사용자의 안면을 향하는 부분을, 그 외면은 내면의 반대쪽 부분을, 그 내부는 내면과 외면 사이를 각각 의미한다.
- [64] 또한, 상기 마스크는 도 10 및 도 11에 나타낸 바와 같이 내면이 사용자의 안면 일부를 덮는 마스크 본체(100)의 중앙에 탈부착이 가능한 하나 이상의 필터부 캡(800)을 포함하고, 상기 마스크 본체(100)의 일측에 센서부(900)를 포함한다.
- [65] 상기 필터부 캡(800)은 다공성 시트부(210) 및 정전 흡착부(230)를 포함하는 포집필터(200)와 다공성 이물 필터부(400)를 포함하고, 상기 필터부 캡(800)의 전체가 마스크로부터 탈부착이 가능하거나, 필터부 캡(800)의 외면부가 오픈되어 내부에 구비되는 포집필터(200)와 다공성 이물 필터부(400)를 교체할 수 있다.
- [66] 상기 필터부 캡(800)에 포함되는 다공성 시트부(210), 정전 흡착부(230) 및 다공성 이물 필터부(400)의 크기는 필터부 캡(800)의 크기와 동일하거나 더 클 수 있다.
- [67] 상기 센서부(900)는 사용자의 호기에 포함된 타겟물질, 미생물, 바이러스 또는 균종 등에 의해 색상이 변한다. 예를 들면, 상기 센서부(900)는 핵산, 엑소좀과 같은 타겟물질과 반응하여 변색되는 물질을 포함할 수 있다.
- [68] 이하에서는 포집 패드(200)가 마스크 본체(100)의 내면에 배치되는 제1 실시 예를 들어 본 발명을 설명한다.
- [69] 도 12 내지 도 16은 도 9에 도시된 마스크 본체의 내면에 포집 패드가 배치되는 본 발명의 제1 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크의 단면도이다.
- [70] 도 12 내지 도 16을 참고로, 포집 패드(200)는 다공성 시트부(210)를 포함한다. 다공성 시트부(210)는 다수의 기공을 갖는 다공성 소재로 이루어질 수 있다. 일례로, 다공성 시트부(210)는 부직포와 같은 구조로 형성되어 공기 유동의

저항을 최소화할 수 있다.

- [71] 상기 포집 패드(200)는 사용자의 호기와 접촉되도록, 그 호기가 유동하는 방향을 가로질러 배치될 수 있다. 포집 패드(200)는 마스크 본체(100)의 내면에 위치하지만, 호기 및 공기가 다공성 시트부(210)의 기공을 통과하므로, 마스크 착용자의 호흡 저항이 최소화된다.
- [72] 한편, 다공성 시트는 호기 내 타겟물질(원형으로 표시)을 크기로 포집할 수 있다.
- [73] 일례로, 다공성 시트의 기공 크기가 180 ~ 220 nm일 때에 호기 내 타겟물질이 포집될 수 있다. 다만, 그 기공 크기가 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 다공성 시트부(210)는 하나 이상의 섬유 재질의 불규칙 다층구조로 구성될 수 있다. 이 경우, 다공성은 매우 높지만 호기 내 타겟물질이 쉽게 통과하지 못하며 그 표면에 부착될 수 있다.
- [74] 한편, 포집 패드(200)는 수용성(water-soluble) 물질을 포함할 수 있다. 수용성 물질을 포함하는 포집 패드(200)는 PCR(Polymerase Chain Reaction) 시약이 투입될 때, 용균(lysis)을 거쳐 PCR 증폭 과정을 거칠 수 있다. 이에 따라,
- [75] 수용성 물질은 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 방해하지 않는 물질이라면 제한이 없다. 예를 들면, 녹말, 수용성 고분자(일례로 polyvinyl alcohol, PVA) 등을 사용할 수 있다. 이와 달리, 포집 패드(200)는 비 수용성 물질을 포함할 수도 있다.
- [76] 한편, 도 13과 같이, 포집 패드(200)는 정전 흡착부(230)를 더 포함할 수 있다. 정전 흡착부(230)는 정전기적 인력에 의해 호기 내 타겟물질(원형으로 표시)이 포집 패드(200)에 흡착되도록 양전하를 띠 수 있다. 타겟물질의 표면 제타 전위(zeta potential)는 -20 ~ -40 mV일 수 있다. 이에 따라, 타겟물질은 음전하를 띠기에 양전하를 띠는 정전 흡착부(230)를 향해 이동할 수 있다. 실시예에서, 정전 흡착부(230)는 양전하 층을 포함할 수 있다.
- [77] 상기 양전하 층은 다공성 시트부(210) 상에 형성될 수 있다. 이에 따라, 상기 양전하 층은 필터부(210) 상에 위치될 수 있다. 상기 양전하 층은 양전하를 띠는 물질을 포함할 수 있다. 실시예에서, 상기 양전하 층은 양이온 물질을 포함할 수 있다. 예를 들면, 양이온 물질은 리포좀, PEI(polyethylenimine), PLL(poly-L-lysine), 덴드리머, 4차 암모늄(quaternary ammonium) 등과 같은 양이온 폴리머일 수 있다. 양이온 폴리머는 물에 잘 용해되고, 매우 높은 양전하를 가지고 있다. 이에 따라, 음전하를 띠는 타겟물질은 양전하를 띠는 양전하 층을 향해 이동할 수 있다.
- [78] 다른 실시예에서, 양전하 층은 양전하를 띠는 자성 비드 물질을 포함할 수 있다.
- [79] 여기서, 정전 흡착부(230)는 포집 패드(200)의 호흡 저항에 영향을 주지 않도록, 다공성 시트부(210)의 기공을 폐쇄하지 않는다. 이때, 정전기적 인력에 의해 호기 내 타겟물질이 부착되므로, 포집 패드(200)의 기공의 크기는 10 μ m까지 확장될 수 있다.
- [80] 이러한 정전 흡착부(230)의 채용으로, 타겟물질 포집용 마스크의 호기 내

타겟물질의 포집 효율이 향상된다.

- [81] 또한, 본 발명의 제1 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크는 변색 부재(600)를 더 포함할 수 있다. 변색 부재(600)는 사용자의 호기에 포함된 수분에 의해 색상이 변한다. 예를 들면, 변색 부재(600)는 일정량의 수분을 흡수하면 밝은 색에서 어두운 색으로 변색될 수 있다. 변색 부재(600)는 습기에 의해 변색되는 흡습성 물질을 포함할 수 있다. 일례로, 흡습성 물질은 코발트화합물, 철화합물 또는 알칼리금속이나 알칼리토금속과 결합된 화합물 등을 포함할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [82] 상기 흡습성 물질은 기 설정된 수분량을 흡수할 때, 변색될 수 있다. 예를 들면, 마스크를 한 사용자가 약 75리터(L)의 호기를 배출하는 경우, 포집 패드(200)는 검사 가능한 타겟물질 양을 포집할 수 있다. 또한, 검사자는 약 75리터의 호기 양에 포함된 수분량을 계산할 수 있다. 이에 따라, 변색 부재(600)에 포함된 흡습성 물질은 계산된 수분량보다 많은 수분량을 흡습하는 경우, 변색될 수 있도록 조절될 수 있다.
- [83] 상기 변색 부재(600)의 변색은 충분한 호기가 포집 패드(200)를 통과하였는지를 판단하는 인디케이터로 사용되므로, 외부에서 제3자가 그 변색을 확인할 수 있도록, 호기가 포집 패드(200)를 통과하여 도달하는 마스크 본체(100)의 외면에 배치될 수 있다.
- [84] 상기 변색 부재(600)는 상기 흡습성 물질을 포함하는 물질 층을 별도로 제조하여 마스크 본체(100)에 부착하거나, 또는 흡습성 물질을 마스크 본체(100)의 표면에 도포하여 형성할 수 있지만, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다.
- [85] 한편, 도 14와 같이, 본 발명의 제1 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크는 다공성 이물 필터부(400)를 더 포함할 수 있다. 다공성 이물 필터부(400)는 다공성 부재로서, 포집 패드(200)와 사용자의 안면 일부 사이에 배치된다.
- [86] 즉, 호기의 유동방향을 따라, 다공성 이물 필터부(400)와 포집 패드(200)가 순차적으로 배치될 수 있다. 다공성 이물 필터부(400)는 사용자의 호기에 포함된 이물질(도 14에서 사각형 및 삼각형으로 표현)을 필터링하되, 호기 내 타겟물질(원형으로 표시)을 통과시킬 수 있는 기공의 크기를 가진다. 따라서, 구강 및/또는 비강 등을 통해 배출되는 이물질이 다공성 이물 필터부(400)에서 걸러져 포집 패드(200)로 유입되지 않는다.
- [87] 또한, 도 15를 참고로, 본 발명의 제1 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크는 포집 패드(200)를 마스크 본체(100)에 착탈 가능하게 탈부착시키는 탈부착부(700)를 더 포함할 수 있다. 이에 따라, 포집 패드(200)는 마스크 본체(100)에 탈착 가능하게 부착된다.
- [88] 도 15의 (a)와 같이, 탈부착부(700)는 마스크 본체(100)와 포집 패드(200) 사이에 배치될 수 있다. 일 실시 예로서, 탈부착부(700)는 벨크로(velcro) 구조로 이루어질 수 있다. 다른 실시 예로는 갈고리, 걸림고리, 단추, 끈, 편 등과 같은

형태로 구현될 수 있다. 또 다른 실시 예로 접착 시트로 이루어질 수도 있다.

- [89] 이와 달리, 도 15의 (b)와 같이, 탈부착부(700)는 전술한 다공성 이물 필터부(400)의 특유한 구조로서 구현될 수도 있다. 여기서, 다공성 이물 필터부(400)와 마스크 본체(100)의 내면과 결합되되, 그 사이에 포집 패드(200)가 삽입 배치될 수 있는 이격 공간이 마련되고, 가장자리 중 일부에 개구부가 형성됨으로써, 그 개구부를 통해 포집 패드(200)가 삽입될 수 있다. 포집 패드(200)가 삽입된 상태에서, 그 개구부는 지속적으로 개방되거나, 봉재 또는 접착되어 폐쇄될 수 있고, 나아가 벨크로(velcro), 갈고리, 걸림고리, 단추, 끈, 핀, 접착 시트 등과 같은 공지의 모든 결합 수단을 채용하여 개폐 가능하게 처리될 수 있다.
- [90] 한편, 도 16을 참고로, 본 발명의 제1 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크는 외부 타겟물질 필터부(500)를 더 포함할 수 있다. 외부 타겟물질 필터부(500)는 대기 중에 존재하는 타겟물질 또는 오염물질을 차단한다. 외부 타겟물질 필터부(500)는 사용자의 안면 일부와 멀어지는 원위방향, 즉 호기의 유동방향을 따라, 포집 패드(200)와 마주보도록 배치된다. 결국, 포집 패드(200)와 마스크 본체(100) 사이에 배치된다.
- [91] 따라서, 대기 중 타겟물질이 마스크 본체(100)를 통과하더라도, 외부 타겟물질 필터부(500)로 인해, 포집 패드(200)로 침투되지 못한다.
- [92] 상기 외부 타겟물질 필터부(500)는, 정전기적 인력에 의해 대기 중 타겟물질이 부착되는 정전 필터(510), 및 대기 중 타겟물질을 크기로 필터링하는 다공성 내부 필터(530) 중 적어도 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 정전 필터(510)와 다공성 내부 필터(530)가 함께 배치되는 경우에는, 다공성 내부 필터(530)가 상기 원위방향(호기의 유동방향)을 따라, 정전 필터(510)와 마주보도록 배치될 수 있다.
- [93] 상기 외부 타겟물질 필터부(500)는 대기 중 타겟물질이 착용자의 구강이나 비강 내로 유입되는 것을 차단함과 동시에, 포집 패드(200)로의 유입도 차단하므로, 대기 중 타겟물질과 구별하여 마스크 착용자의 호기 내 타겟물질을 효과적으로 포집할 수 있다.
- [94] 이러한 외부 타겟물질 필터부(500)는 공기 저항을 최소화하는 다공성 재질로 이루어지고, 포집 패드(200)와 일체로 통합될 수 있다. 이 경우, 외부로부터의 타겟물질 유입이 염려되는 개방된 환경에서 본 발명에 따른 타겟물질 포집용 마스크를 착용함으로써, 호흡 저항을 최소화하면서 마스크 착용자로부터 유래되는 타겟물질 유무만을 검사할 수 있다.
- [95] 이하에서는 포집 패드(200)가 마스크 본체(100)의 외면에 배치되는 제2 실시 예를 들어 본 발명을 설명하되, 제1 실시 예에서 전술한 사항은 설명을 생략하거나 간단하게만 기술하고, 차이점 위주로 설명한다.
- [96] 도 17 및 도 18은 도 9에 도시된 마스크 본체의 외면에 포집 패드가 배치되는 본 발명의 제2 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크의 단면도이다.

- [97] 도 17 및 도 18에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제2 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크는, 마스크 본체(100)의 외면에 포집 패드(200)가 배치될 수 있다. 여기서, 포집 패드(200)는 호흡 저항을 최소화하는 다공성 시트부(210)를 포함하여, 기공의 크기로서 호기 내 타겟물질(원형으로 표시)을 포집할 수 있다. 이때, 호기 내 타겟물질은 마스크 본체(100)를 통과하여 포집 패드(200)에 부착된다. 또한, 포집 패드(200)는 정전 흡착부(230)를 더 포함할 수 있고, 이로써 정전기적 인력에 의해 호기 내 타겟물질이 그 표면에 부착될 수 있다.
- [98] 한편, 마스크 본체(100)와 포집 패드(200) 사이에 다공성 이물 필터부(400, 도 14 참조)가 배치될 수 있다. 다만, 마스크 본체(100)가 사용자에게 의해 배출되는 이물질을 필터링할 수 있으므로, 다공성 이물 필터부(400, 도 14 참조)가 생략되어도 무방하다.
- [99] 상기 포집 패드(200)는 탈부착부(700)를 매개로 마스크 본체(100)에 착탈 가능하게 부착될 수 있다. 여기서, 탈부착부(700)는 탈부착부(700)는 벨크로(velcro) 구조로 이루어질 수 있다(도 15의 (a) 참조), 다른 실시 예로는 갈고리, 걸림고리, 단추, 끈, 핀 등과 같은 형태로 구현될 수 있다. 또 다른 실시 예로 접착 시트로 이루어질 수도 있다.
- [100] 또한, 도 18을 참고로, 호기의 유동방향을 따라, 외부 타겟물질 필터부(500)가 포집 패드(200)와 마주보도록 배치되어, 대기 중 타겟물질이 포집 패드(200)로 침투되는 것을 방지할 수 있다. 여기서, 외부 타겟물질 필터부(500)는 정전 필터(510), 및/또는 다공성 내부 필터(530)를 포함할 수 있고, 일례로 호기의 유동방향을 따라, 마스크 본체(100), 포집 패드(200), 정전 필터(510), 다공성 내부 필터(530)가 순차적으로 배치될 수 있다.
- [101] 한편, 변색 부재(600)가, 제3자가 육안으로 확인할 수 있도록 외곽에 배치될 수 있다. 변색 부재(600)는 호기에 함유된 수분에 의해 변색되는 인디케이터로서, 포집 패드(200), 또는 포집 패드(200) 상에 배치되는 외부 타겟물질 필터부(500)(이하, '포집 패드/외부 타겟물질 필터부'라 함) 상에 배치될 수 있다.
- [102] 또한, 호기의 유동방향을 따라, 포집 패드(200), 또는 포집 패드/외부 타겟물질 필터부를 커버하는 커버 부재(도시되지 않음) 상에 배치될 수 있다.
- [103] 이하에서는 포집 패드(200)가 마스크 본체(100)의 내부에 배치되는 제3 실시 예를 들어 본 발명을 설명하되, 제1 내지 제2 실시 예에서 전술한 사항은 설명을 생략하거나 간단하게만 기술하고, 차이점 위주로 설명한다.
- [104] 도 19 및 도 20은 도 9에 도시된 마스크 본체의 내부에 포집 패드가 배치되는 본 발명의 제3 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크의 단면도이다.
- [105] 도 19 및 도 20에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제3 실시 예에 따른 타겟물질 포집용 마스크는, 마스크 본체(100)의 내부에 포집 패드(200)가 배치될 수 있다. 여기서, 마스크 본체(100)는 내피(110)와 외피(120)가 서로 마주보게 배치되는 다층 시트 구조로 이루어질 수 있다. 이때, 마스크 본체(100)의 내피(110)가 마스크 본체(100)의 내면을 구성하고, 마스크 본체(100)의 외피(120)가 마스크

본체(100)의 외면을 구성하게 된다.

- [106] 상기 포집 패드(200)는 마스크 본체(100)의 내피(110)와 외피(120) 사이에 삽입 배치될 수 있다. 포집 패드(200)는 호흡 저항을 최소화하고, 기공의 크기로서 호기 내 타겟물질을 포집하는 다공성 시트부(210)를 포함할 수 있다. 이때, 호기 내 타겟물질은 마스크 본체(100)의 내피(110)를 통과하여 포집 패드(200)에 부착된다. 또한, 포집 패드(200)는 정전기적 인력에 의해 호기 내 타겟물질을 표면에 부착시키는 정전 흡착부(230)를 더 포함할 수 있다.
- [107] 상기 마스크 본체(100)의 내피(110)와 외피(120)는 서로 이격되어 그 사이에 내부 공간을 구비할 수 있다. 따라서, 포집 패드(200)가 그 내부 공간에 삽탈 가능하게 삽입될 수 있다. 여기서, 마스크 본체(100)의 내피(110)와 외피(120)의 가장자리는 봉합 또는 열압착으로 서로 결합되지만, 그 중 일부 구간에 내피(110)와 외피(120)가 결합되지 않은 개구부가 형성되어, 그 개구부를 통해 포집 패드(200)가 상기 내부 공간 내로 삽입될 수 있다. 여기서, 개구부가 형성된 마스크 본체(100)의 가장자리는, 포집 패드(200)가 삽입된 상태에서 지속적으로 개방되거나, 봉제 또는 접착되어 폐쇄될 수 있고, 나아가 벨크로(velcro), 갈고리, 걸림고리, 단추, 끈, 핀 등과 같은 모든 공지의 결합 수단을 채용하여 개폐 가능하게 처리될 수 있다.
- [108] 한편, 마스크 본체(100)의 내피(110)와 포집 패드(200) 사이에 다공성 이물 필터부(400, 도 14 참조)가 배치될 수 있다. 다만, 마스크 본체(100)의 내피(110)가 사용자에게 의해 배출되는 이물질을 필터링할 수 있으므로, 다공성 이물필터부(400, 도 14 참조)가 생략되어도 무방하다.
- [109] 또한, 도 20을 참고로, 마스크 본체(100)의 외피(120)와 포집 패드(200) 사이에, 외부 타겟물질 필터부(500)가 배치되어, 마스크 본체(100)의 외피(120)를 통과한 대기 중 타겟물질이 포집 패드(200)로 침투되는 것을 방지할 수 있다. 여기서, 외부 타겟물질 필터부(500)는 정전 필터(510), 및/또는 다공성 내부필터(530)를 포함할 수 있고, 일례로 마스크 본체(100)의 내피(110), 포집 패드(200), 정전 필터(510), 다공성 내부 필터(530), 및 마스크 본체(100)의 외피(120)가 순차적으로 배치될 수 있다.
- [110] 한편, 호기에 함유된 수분에 의해 변색되는 변색 부재(600)가, 제3자가 육안으로 확인할 수 있도록, 마스크 본체(100)의 외피(120)에 배치될 수 있다.
- [111] 상기 타겟물질 검출부는 상기 포집 패드를 용출용액에 넣어 상기 포집 패드로부터 타겟물질을 용출시키는 것이고, 상기 용출용액은 제1 용리액, 단백질효소 K, 용해 완충액(lysis buffer), 바인딩 완충액(binding buffer), 흡착물질, 세척 완충액 및 제2 용리액 중 적어도 하나 이상을 포함하고, 상기 용출용액은 수용성을 나타낼 수 있다.
- [112] 상기 용출용액에서 제1 용리액은 포집 패드로부터 흡착된 타겟물질을 분리하는 것으로, 구체적으로 용리액은 증류수를 사용할 수 있다.
- [113] 상기 단백질효소 K는 포집 패드에 타겟물질과 함께 흡착된 단백질에 결합하여

단백질을 절단함으로써 타겟물질을 포함하는 세포외 소포체 등을 분리해내는 역할을 한다.

- [114] 상기 용해 완충액은 포집 패드에 타겟물질과 함께 흡착된 세포외 소포체 등의 표면을 용해시켜 타겟물질을 추출해내는 역할을 한다.
- [115] 상기 바인딩 완충액은 타겟물질을 흡착물질 표면에 부착시키는 것이고, 상기 흡착물질은 바인딩 완충액에 노출된 타겟물질을 흡착하는 것이다.
- [116] 상기 세척 완충액은 흡착물질의 표면에 흡착된 단백질을 세정하여 흡착물질 표면에 타겟물질만 남도록 하는 것이고, 상기 제2 용리액은 흡착물질 표면에 흡착된 타겟물질만을 용리시키는 용액이다.
- [117] 상기 타겟물질 검출부는 용출용액에 의해 용출된 타겟물질을 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing, NGS), qPCR, dPCR(digital PCR), 큐빗(QUBIT), 젤 전기영동(gel electrophoresis), 테이프스테이션(Tapestation), 나노드랍(nanodrop) 및 바이오애널라이저(Bioanalyzer) 중 적어도 하나 이상을 이용하여 분석할 수 있다.
- [118] 상기 타겟물질 검출부는 qPCR 및 dPCR 중 적어도 하나 이상을 이용하여 타겟물질을 증폭하여 분석할 수 있다.
- [119] 상기 타겟물질 검출부는 젤 전기영동(gel electrophoresis), 테이프스테이션(Tapestation) 및 바이오애널라이저(Bioanalyzer) 중 적어도 하나 이상을 이용하여 전기영동을 통해 타겟물질을 분석할 수 있다.
- [120] 상기 타겟물질 검출부는 큐빗(QUBIT) 및 나노드랍 중 적어도 하나 이상을 이용하여 형광 또는 흡광을 측정하여 타겟물질을 정량분석할 수 있다.
- [121] 본 발명에 따른 호흡 생검 장치는 타겟물질이 포집된 포집 패드를 영하 10°C 이하, 영하 15°C 이하 또는 영하 20°C 이하의 온도로 보관하는 보관부를 더 포함한다.
- [122] 상기 보관부는 상기 온도로 유지되는 냉동장치를 포함하고, 밀폐하여 배송이 가능한 것이라면 특별히 제한하지 않는다.
- [123] 본 발명에 따른 호흡 생검 방법과, 비교예로서 혈장(plasma) 및 타액(saliva)을 이용한 액체 생검 방법을 이용하여 타겟물질을 분석하여 비교하였다.
- [124] 도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법을 이용하여 마스크 종류 및 마스크 착용 시간에 따라 검출된 GAPDH 유전자의 양을 나타낸 그래프와 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법 및 비교예의 액체 생검 방법을 이용하여 검출된 RPLPO 유전자의 양을 나타낸 그래프이다.
- [125] 도 3을 살펴보면, 포집 패드에 정전기 필터와 수용성 필터를 포함하였을 때 검출되는 GAPDH의 양이 거의 비슷한 것을 알 수 있다. 또한, 마스크 착용시간이 증가함에도 타겟물질(RPLPO)의 Ct값이 점진적으로 감소되는 것으로 보아 포집량이 마스크 착용시간에 비례하여 증가한다는 것을 확인할 수 있고, 혈장을 이용한 액체 생검 방법을 이용한 것과 비교하여 호흡 생검 방법이 해당 유전자를 기준으로 볼 때는 포집량에서는 우월하다고 볼 수 없다. 그러나 호흡과 관련된

암 질환의 경우에는 오히려 마스크에서 더 많은 타겟 유전자가 나올 것으로 예상된다.

- [126] 도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법을 이용하여 마스크 착용 시간에 따라 검출된 총 DNA 농도값을 나타낸 그래프이다.
- [127] 도 4를 살펴보면 마스크 착용 시간이 증가함에 따라 총 DNA의 농도는 증가하고, 구체적으로 2시간 증가한 경우 1.6배 정도 증가함을 알 수 있다. 즉, 시간대비 하여 선형적으로 핵산추출량이 비례하여 증가하지는 않는 것으로 보인다.
- [128] 도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법 및 비교예의 액체 생검 방법을 이용하여 타겟물질을 분석한 그래프이다:(a)는 용출 시간에 따른 DNA 농도를 나타낸 그래프이고, (b)는 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 이용하여 분석한 DNA 순도(DNA purity, A260/280)을 나타낸 그래프이고, (c)는 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 이용하여 ACTB, B2M, GUSB 및 GAPDH 유전자의 양을 나타낸 그래프이고, (d)는 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 이용하여 겔 전기영동(gel electrophoresis)으로 분석한 DNA의 사이즈를 나타낸 그래프이다.
- [129] 도 5를 살펴보면, 마스크로부터 타겟물질을 용출하는 시간이 증가함에 따라 DNA의 농도가 증가하는 것을 알 수 있고, 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 통해 용출된 타겟물질의 DNA 순도 및 유전자의 사이즈는 거의 유사한 것을 알 수 있다. 다만 추출된 유전자의 양은 마스크가 높은 Ct 값을 갖는 것으로 볼 때 다소 적은 양이 포집되는 것으로 보인다. 그러나, 호흡과 관련된 암 질환의 경우에는 오히려 마스크에서 더 많은 타겟 유전자가 나올 것으로 예상된다.
- [130] 도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법 및 비교예의 액체 생검 방법을 이용하여 분석한 let-7a 및 miR-142의 양을 나타낸 그래프이다.
- [131] 도 6을 살펴보면, 혈장을 이용한 액체 생검 방법으로 검출된 let-7a 및 miR-142가 마스크를 이용한 호흡 생검 방법으로 검출된 let-7a 및 miR-142의 양보다 더 빨리 검출되는 것으로 보아 양이 더 많은 것으로 볼 수 있다. 이는 let-7a 및 miR-142가 일반적인 엑소좀 내부의 대표적인 miRNA로서 호흡을 통해서도 혈장 수준만큼은 아니지만 어느정도 검출된다는 것에 의의가 있다고 할 수 있다.
- [132] 도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법에서 타겟물질 용출 단계를 도식화한 그래프이다.
- [133] 도 7은 마스크의 포집 패드를 용출용액에 넣은 후 Exo-CAS 방법을 이용하여 포집 패드로부터 타겟물질을 용출하는 방법을 나타낸 것이다.
- [134] 도 8은 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법을 이용하여 타겟물질 용출 방법에 따라 검출된 GAPDH 유전자의 양을 나타낸 그래프(a)와 타겟물질 용출 방법을 나타낸 모식도(b)이다.
- [135] 도 8을 살펴보면, 용해 완충액(800 μ l) 및 단백질분해효소 K(100 μ l)를 혼합한 용출용액을 사용한 경우(case1)와 용해 완충액(800 μ l), 단백질분해효소 K(100 μ l)

및 증류수 (1000 μ l)을 혼합한 용출용액을 사용한 경우(case2)와 수용성 필터를 사용한 경우에 호흡 생검 방법으로 검출된 GAPDH의 양은 거의 동일한 것을 알 수 있다.

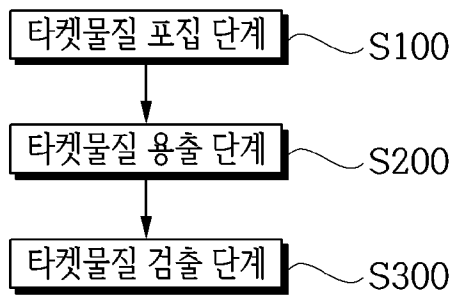
- [136] 본 발명의 일실시예에 따른 호흡 생검 방법은 마스크를 착용하는 시간이 증가함에 따라 DNA의 농도가 증가할 수 있고, 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 통해 용출된 타겟물질(TERT, NAGK, RPPH1, GAPDH)의 DNA 순도, 유전자의 양 및 유전자의 사이즈는 거의 유사할 수 있다.
- [137] 본 발명에 따른 호흡 생검 방법을 이용하여 얻은 세포외 소포체(EV)는 액체 생검 방법(LB)을 이용하여 얻은 세포외 소포체(EV)의 크기와 호흡 생검 방법(BB)을 이용하여 얻은 세포외 소포체(EV)의 크기는 유사하나, 입자의 농도와 단백질의 농도가 차이가 있을 수 있다.
- [138] 액체 생검 방법(LB)과 호흡 생검 방법(BB)을 이용하여 타겟물질을 검출하는 경우, 검출되는 타겟물질이 대부분 겹치므로 일부만 분리되는 것이 아니라 거의 전체가 다같이 분리될 수 있다. 다만, miRNA의 발현량을 비교한 것을 보면 서로 패턴이 다른데 이는 유래되는 위치(호흡기, 타액, 혈장)가 다르기 때문이다.
- [139] 본 발명에 따른 호흡 생검 방법으로 검출된 정상군과 환자군의 miR-21은 유사하나, miR-126와 let-7a는 상이하여 상기 miR-126와 let-7a의 패턴을 분석하여 호흡기 질환을 검진할 수 있다.
- [140] 본 발명에 따른 호흡 생검 방법을 이용하여 마스크를 착용하는 시간이 증가함에 따라 엑소좀의 농도가 증가할 수 있고, 호흡 생검 방법 및 액체 생검 방법을 통해 용출된 엑소좀의 크기는 150nm로 유사하고, 엑소좀 입자 농도와 단백질 농도는 마스크를 이용한 호흡 생검 방법이 가장 낮을 수 있다.
- [141] 혈장을 이용한 액체 생검 방법과 비교하여 본 발명에 따른 마스크를 이용한 호흡 생검 방법으로 검출된 RPLPO의 양이 많을 수 있고, 혈장으로 방출되는 cfDNA의 경우 혈장을 이용한 액체 생검 방법으로는 검출되나 마스크를 이용한 호흡 생검 방법으로는 검출되지 않아서 본 발명의 호흡 생검 방법은 호흡기 질환을 진단하기에 더 적합한 방법일 수 있다.

청구범위

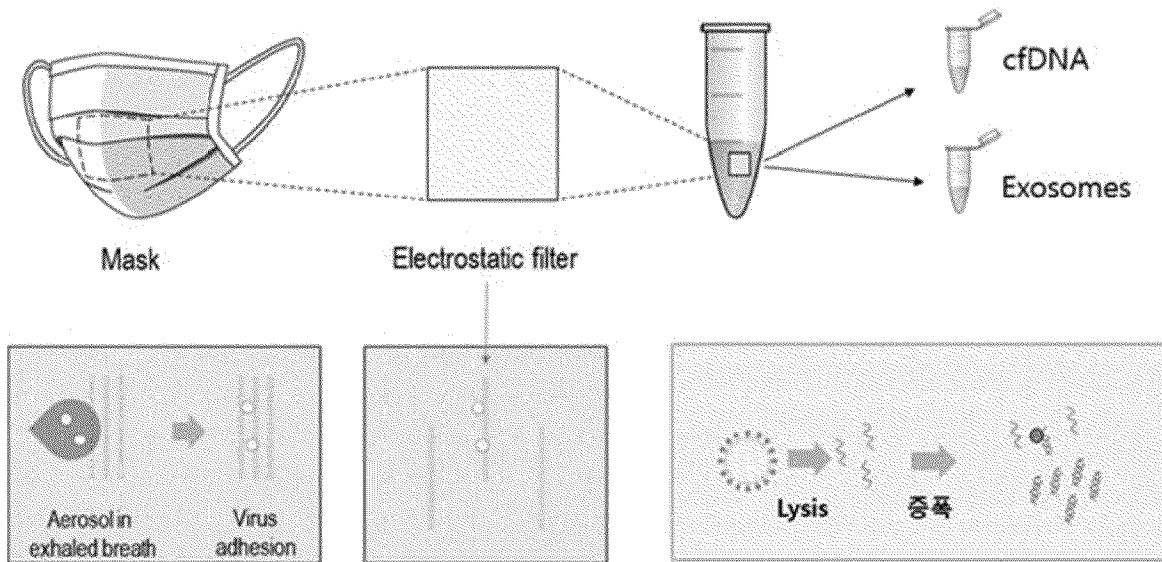
- [청구항 1] 포집 패드를 포함하는 마스크를 사용자가 착용하여 다공성 포집 패드에 호기에 포함된 타겟물질을 포집하는 타겟물질 포집 단계;
상기 포집 패드를 용출용액에 넣어 마스크로부터 상기 타겟물질을 용출시키는 타겟물질 용출 단계; 및
용출된 타겟물질을 이용하여 타겟물질을 증폭시키는 타겟물질 검출 단계;를 포함하는 호흡 생검 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 타겟물질 포집 단계는 사용자가 10분 이상 동안 상기 마스크를 착용하고 호흡하여 수행하는 것인 호흡 생검 방법.
- [청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 타겟물질 포집 단계는 마스크 착용시간이 증가할수록 타겟물질 포집량이 증가하는 것인 호흡 생검 방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 용출용액은 제1 용리액, 단백질효소 K(proteinase K), 용해 완충액, 바인딩 완충액(binding buffer), 흡착물질, 세척 완충액 및 제2 용리액 중 적어도 하나 이상을 포함하는 호흡 생검 방법.
- [청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 마스크는 사용자의 피부에 맞닿는 내피;
외부 공기와 접촉하는 외피; 및
상기 내피 및 상기 외피 사이에 구비되고, 호기 내 타겟물질을 흡착하도록 하는 포집 패드를 포함하는 호흡 생검 방법.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 포집패드는 정전필터 및 수용성 필터 중 적어도 하나 이상을 포함하고,
상기 정전필터는 정전기적 인력에 의해 호기 내 타겟물질이 포집패드에 흡착되도록 하고,
상기 수용성 필터는 수용성 물질을 포함하여 호기 내 타겟물질이 포집패드에 흡착되도록 하는 것인 호흡 생검 방법.
- [청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 호흡 생검 방법은 폐암, 위암, 식도암, 결핵 또는 후두암과 같이 호흡기와 관련된 질병에 대해 비침습적인 방법으로 조기검진이 가능한 것인 호흡 생검 방법.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
상기 타겟물질 포집 단계 이후와 상기 타겟물질 용출 단계 이전에 영하 10°C 이하의 온도에서 포집 패드를 보관하는 포집 패드 보관 단계를 더 포함하는 호흡 생검 방법.

- [청구항 9] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 따른 호흡 생검 방법을 위한 호흡 생검 장치에 있어서,
포집 패드를 포함하는 마스크를 구비하여 상기 마스크를 착용한 사용자의 호기로부터 타겟물질을 포집하는 타겟물질 포집부; 및
상기 타겟물질 포집부의 포집 패드로부터 용출된 타겟물질을 분석하는 타겟물질 검출부;를 포함하는 호흡 생검 장치.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 마스크는 사용자의 피부에 맞닿는 내피;
외부 공기와 접촉하는 외피; 및
상기 내피 및 상기 외피 사이에 구비되고, 호기 내 타겟물질을 흡착하도록 하는 포집 패드를 포함하는 호흡 생검 장치.
- [청구항 11] 제9항에 있어서,
상기 타겟물질 검출부는 상기 포집 패드를 용출용액에 넣어 상기 포집 패드로부터 타겟물질을 용출시키는 것이고,
상기 용출용액은 제1 용리액, 단백질을 분해하는 완충액(lysis buffer), 바인딩 완충액(binding buffer), 흡착물질, 세척 완충액 및 용리액 중 적어도 하나 이상을 포함하는 호흡 생검 장치.
- [청구항 12] 제11항에 있어서,
상기 타겟물질 검출부는 상기 용출용액에 의해 용출된 타겟물질을 차세대 염기서열분석(Next Generation Sequencing, NGS), qPCR, dPCR(digital PCR), 큐비트(QUBIT), 겔 전기영동(gel electrophoresis), 테이프스테이션(Tapestation), 나노드랍(nanodrop) 및 바이오애널라이저(Bioanalyzer) 중 적어도 하나 이상을 이용하여 분석하는 것인 호흡 생검 장치.
- [청구항 13] 제9항에 있어서,
상기 호흡 생검 장치는 타겟물질이 포집된 포집 패드를 영하 10°C 이하의 온도로 보관하는 보관부를 더 포함하는 호흡 생검 장치.

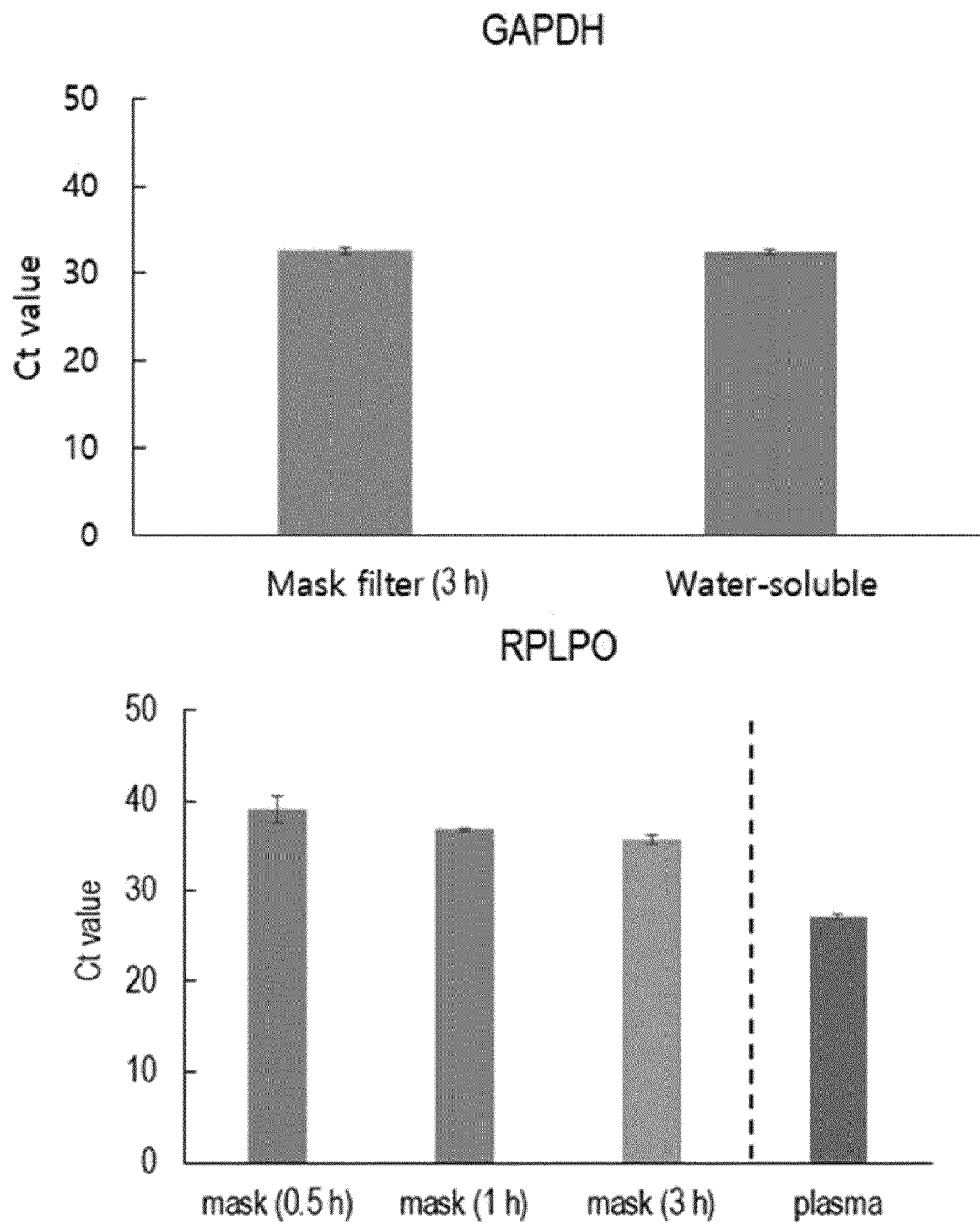
[도1]



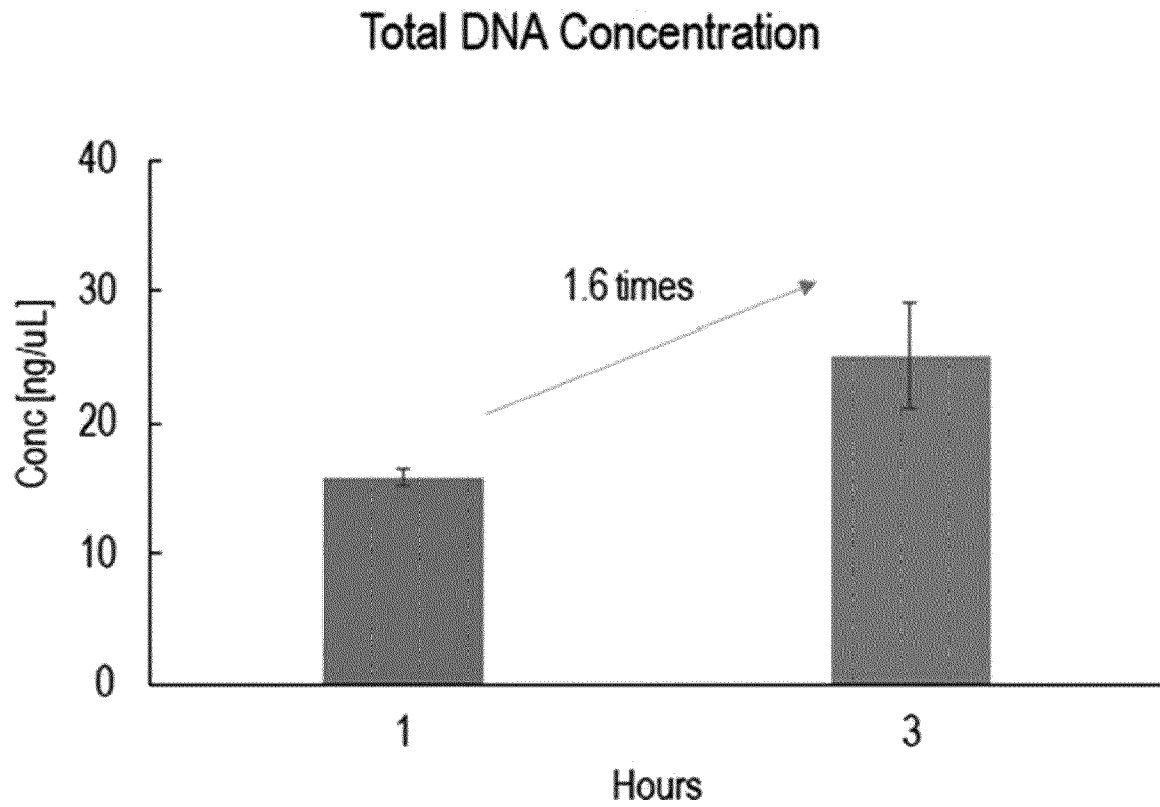
[도2]



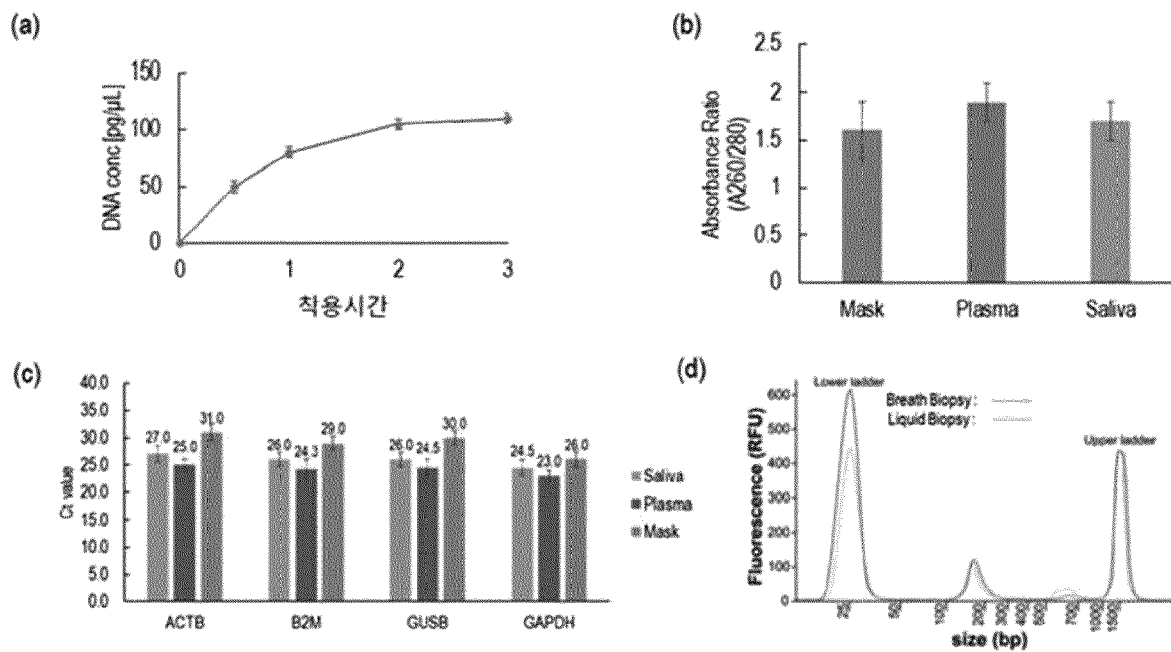
[도3]



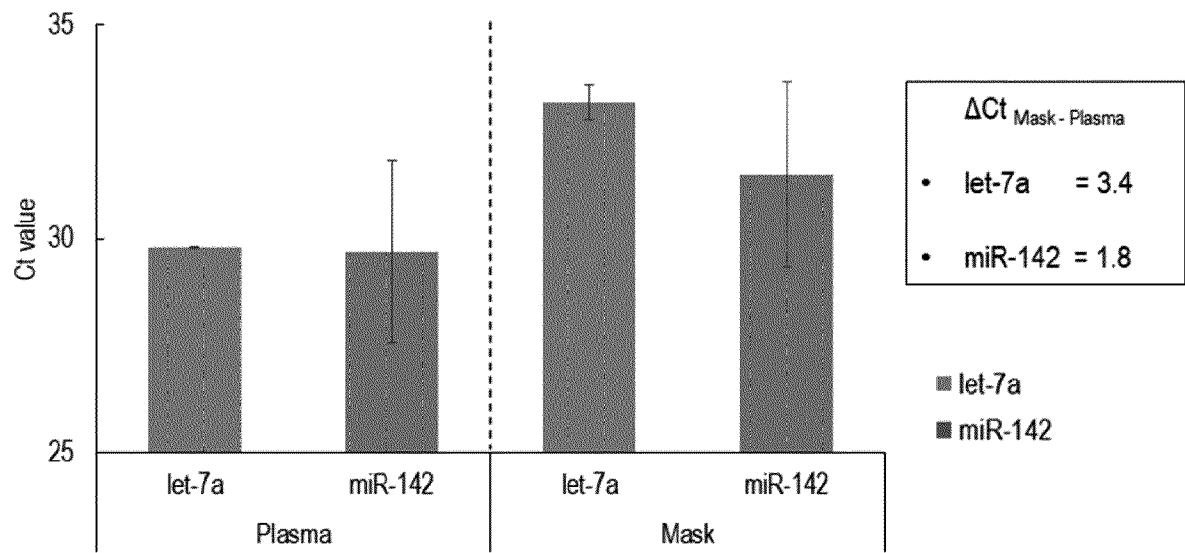
[도4]



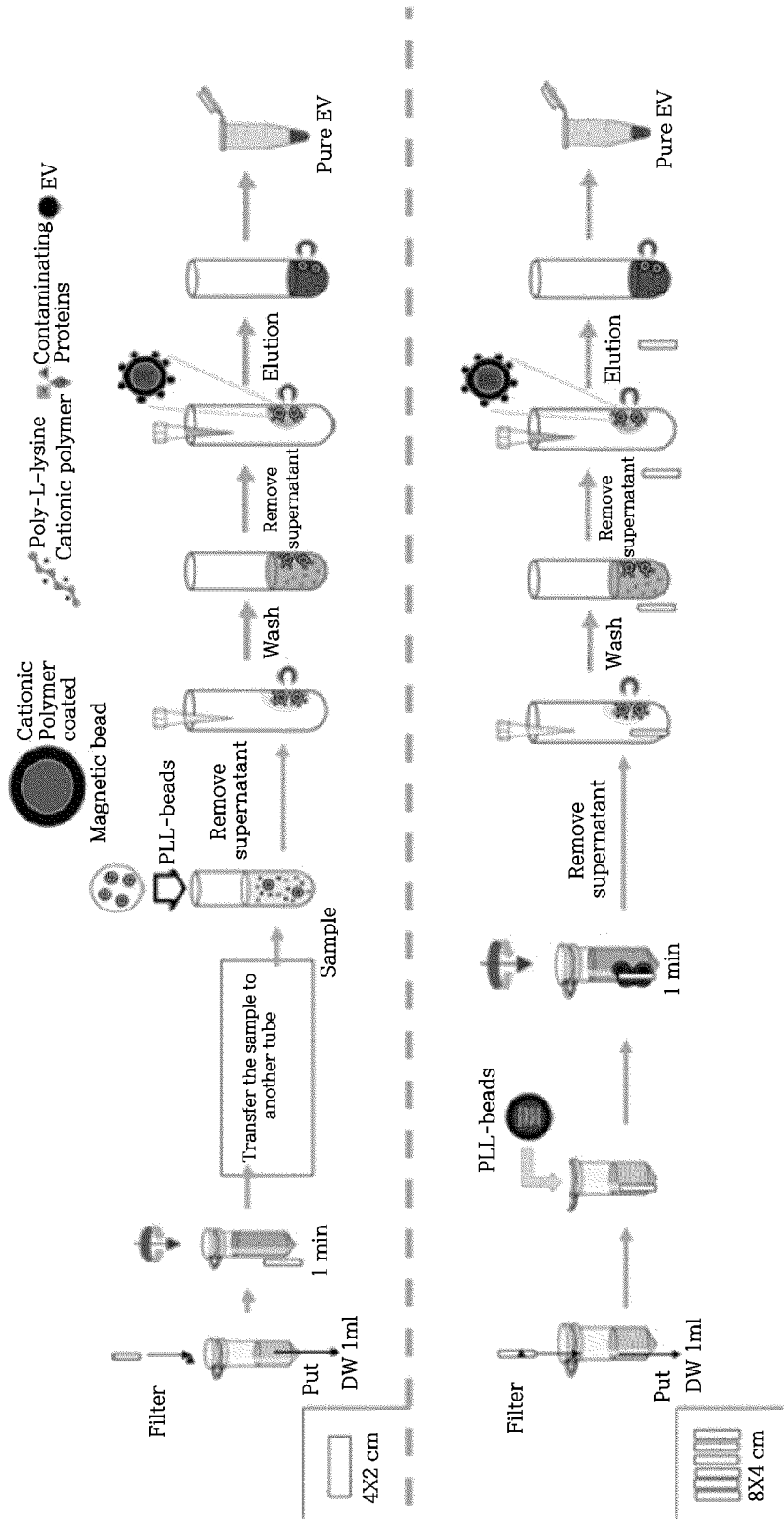
[도5]



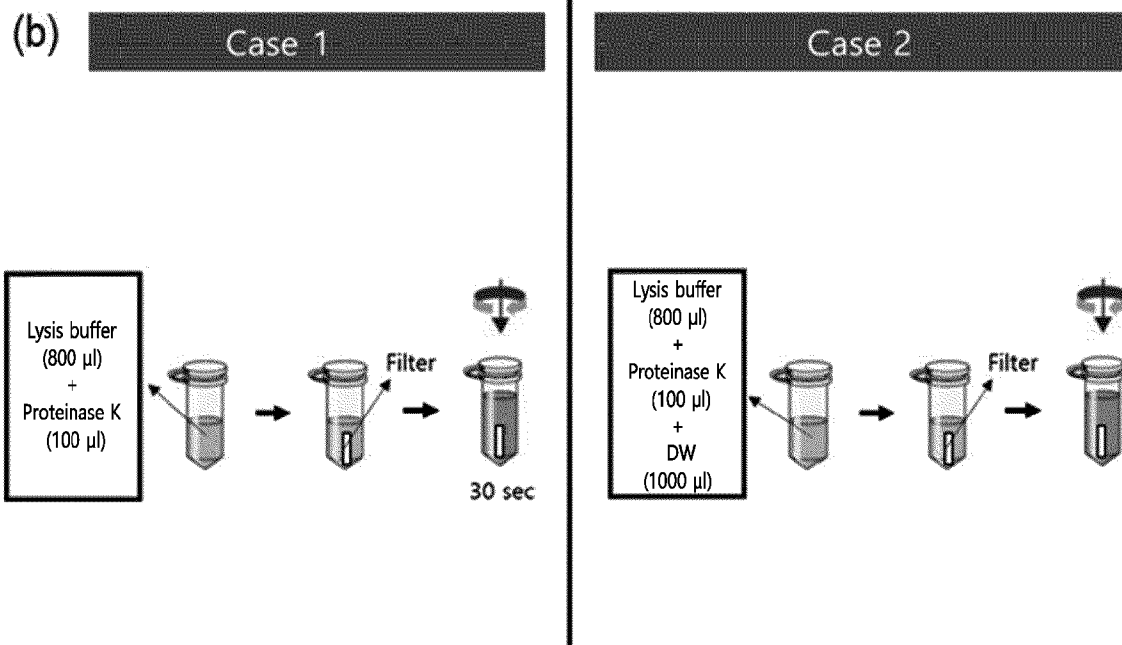
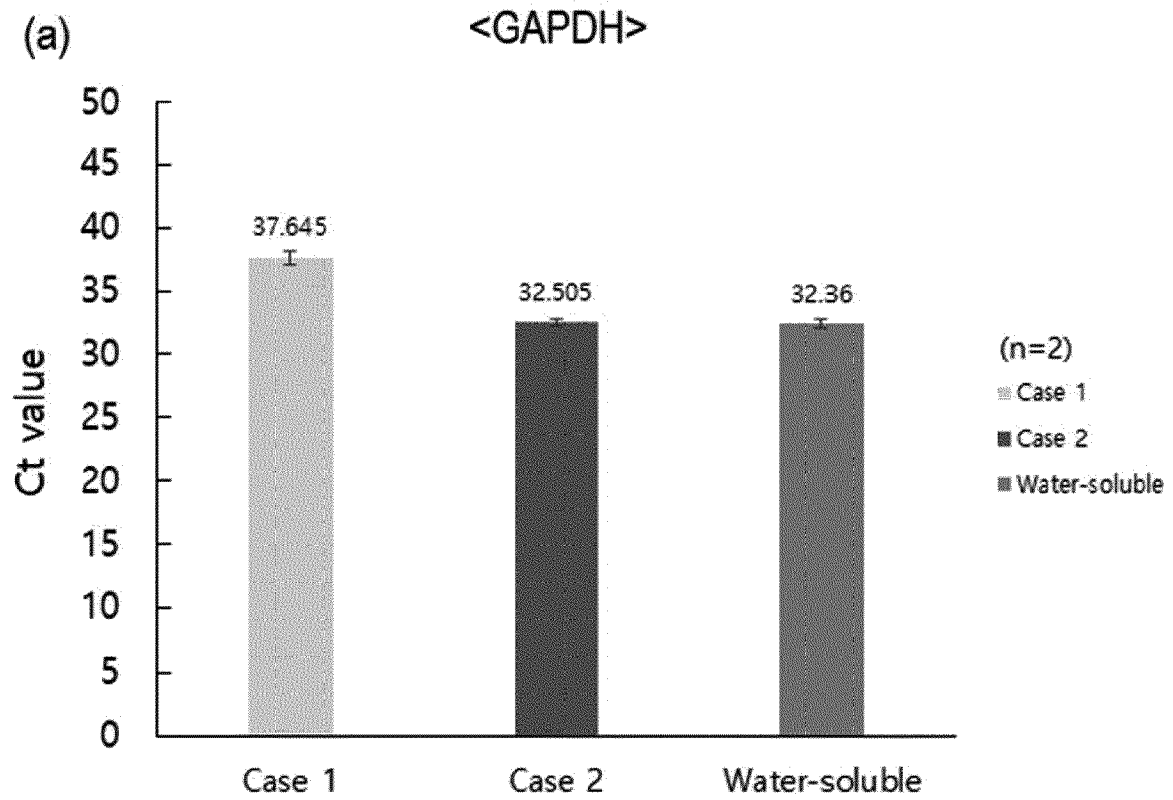
[도6]



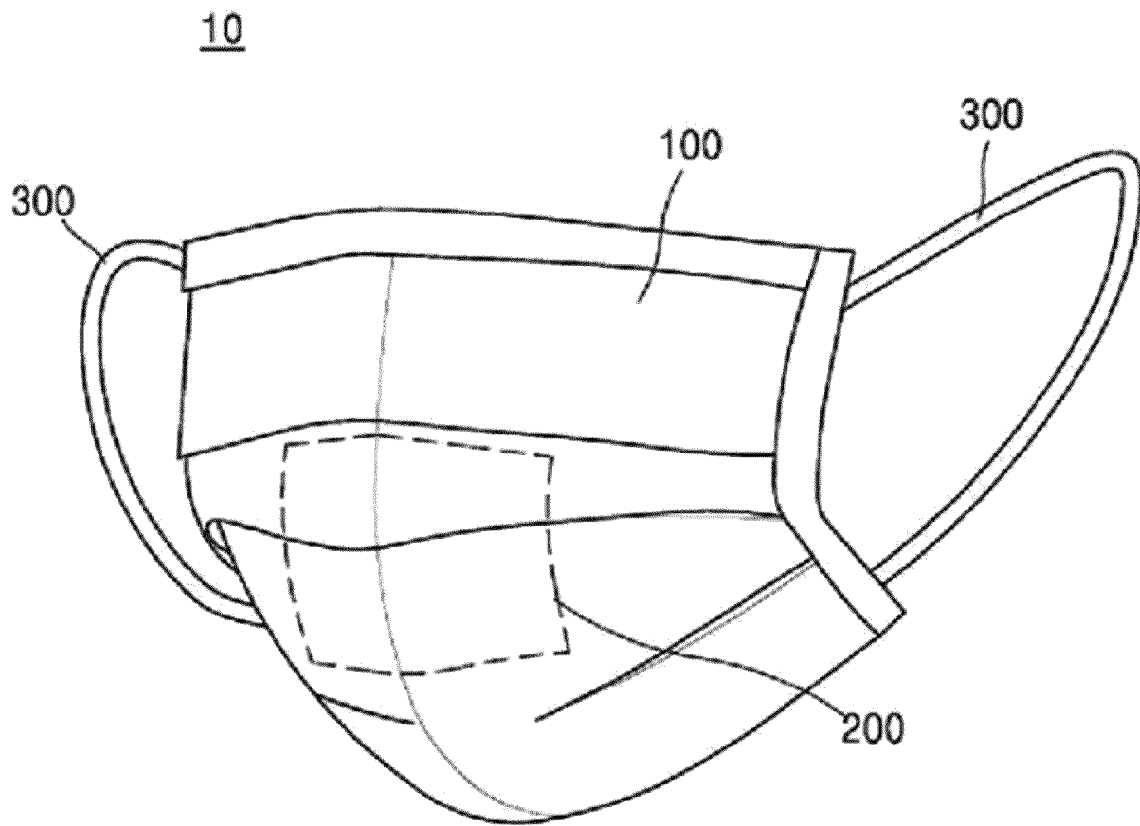
[도7]



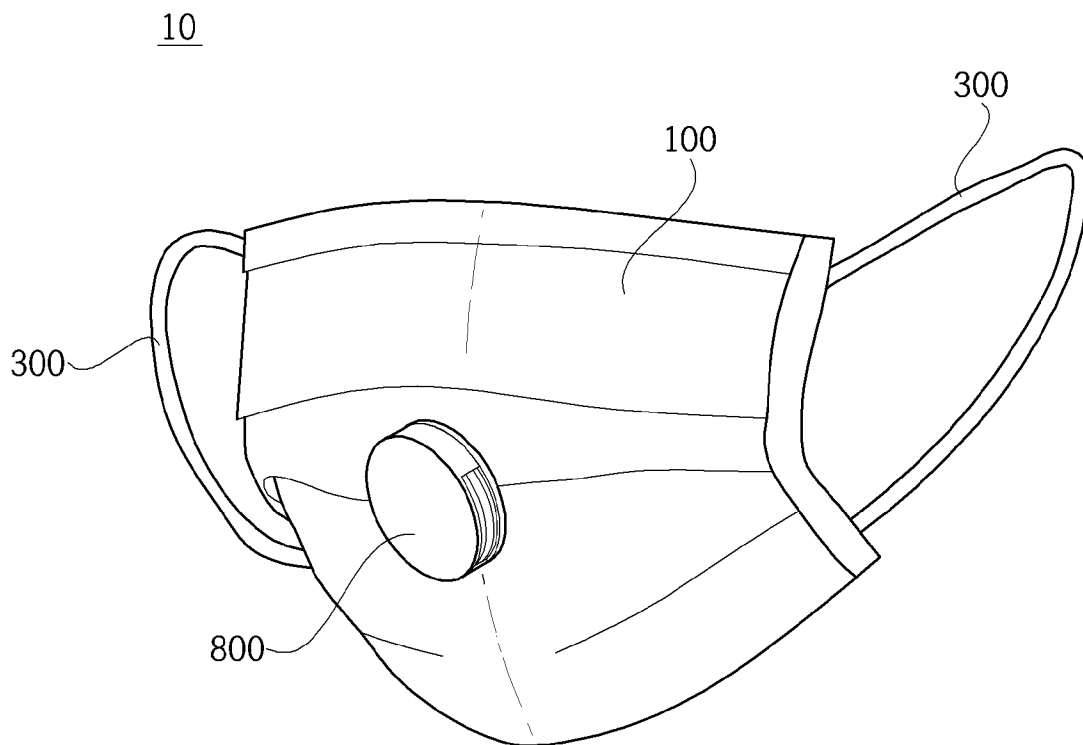
[도8]



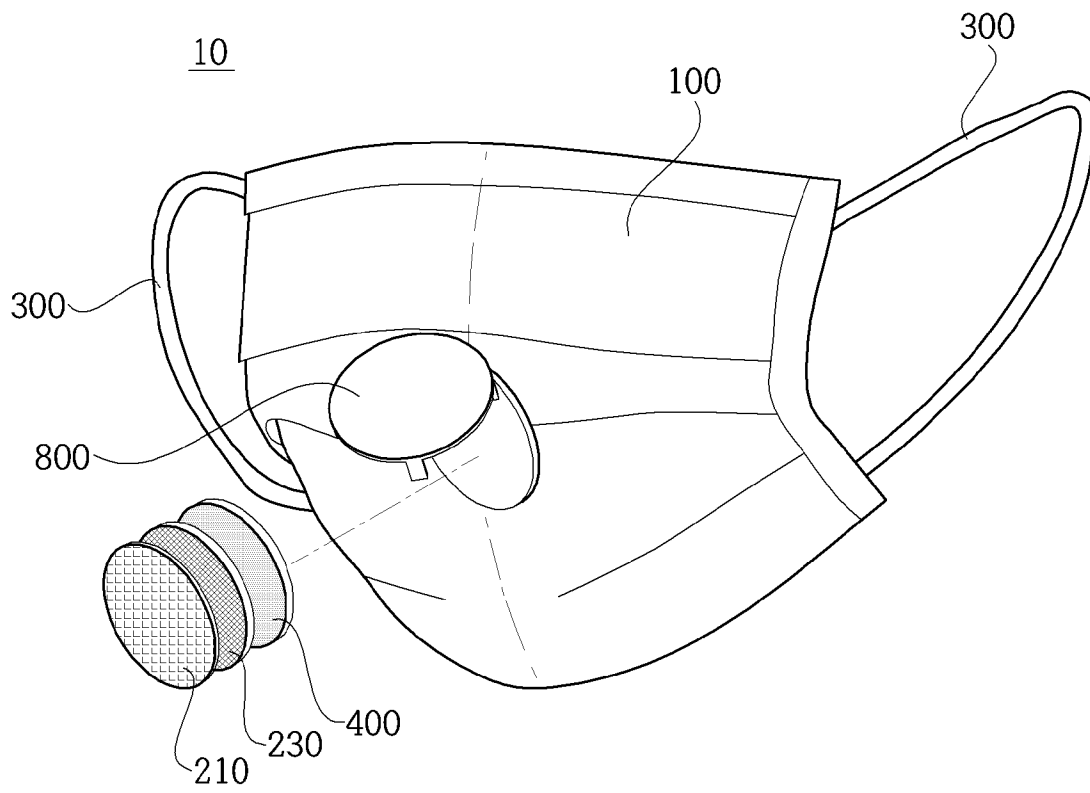
[도9]



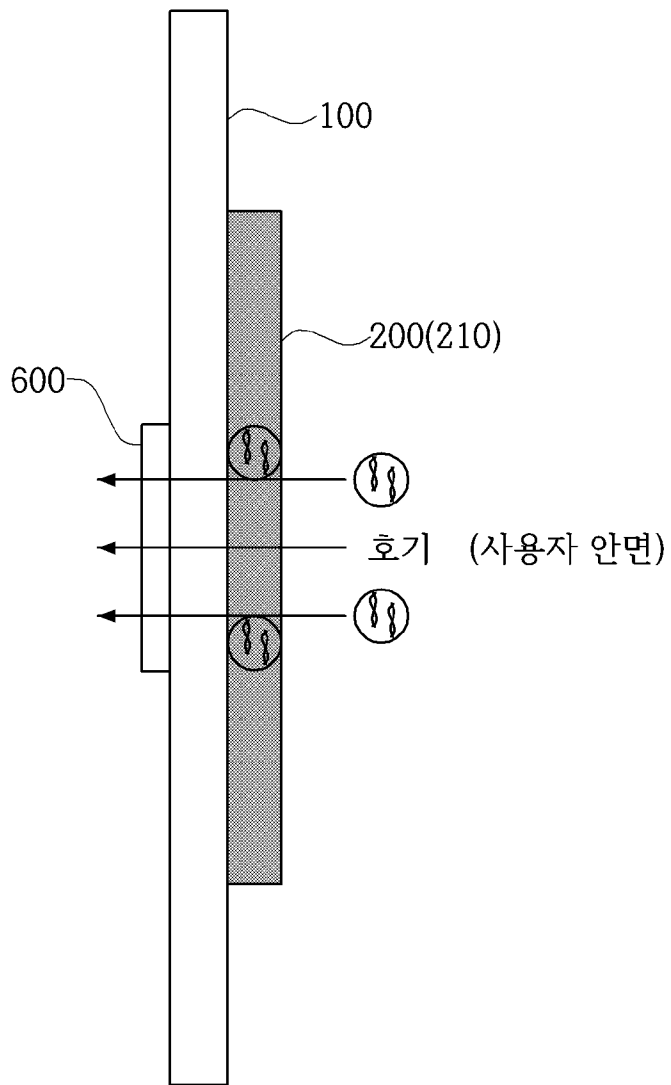
[도10]



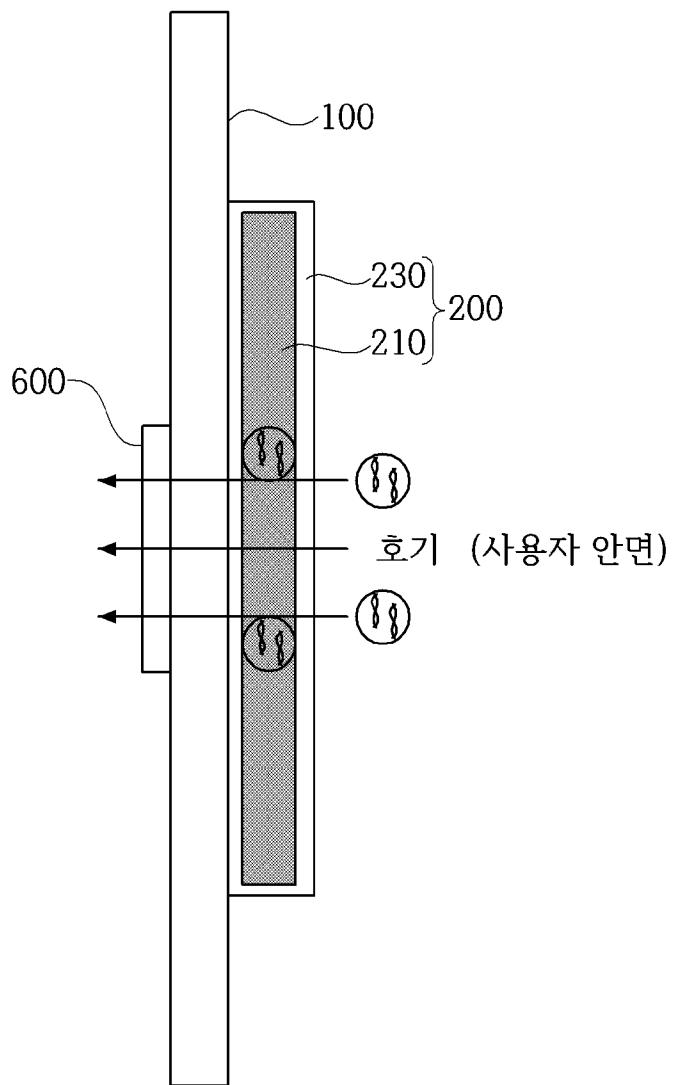
[도11]



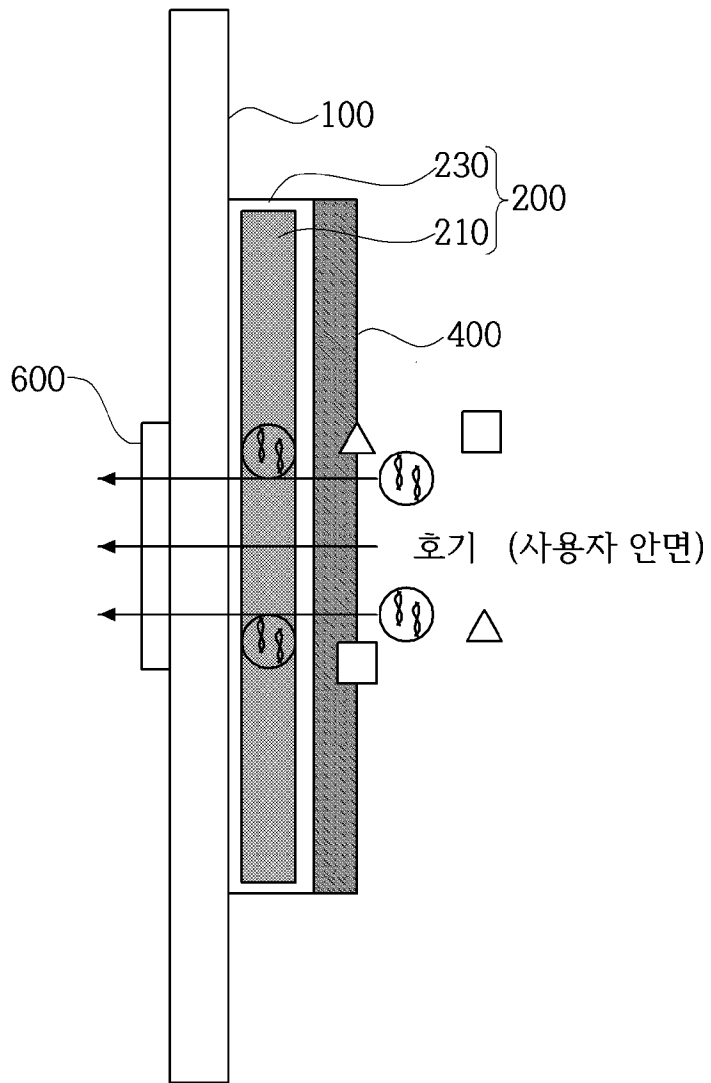
[도12]



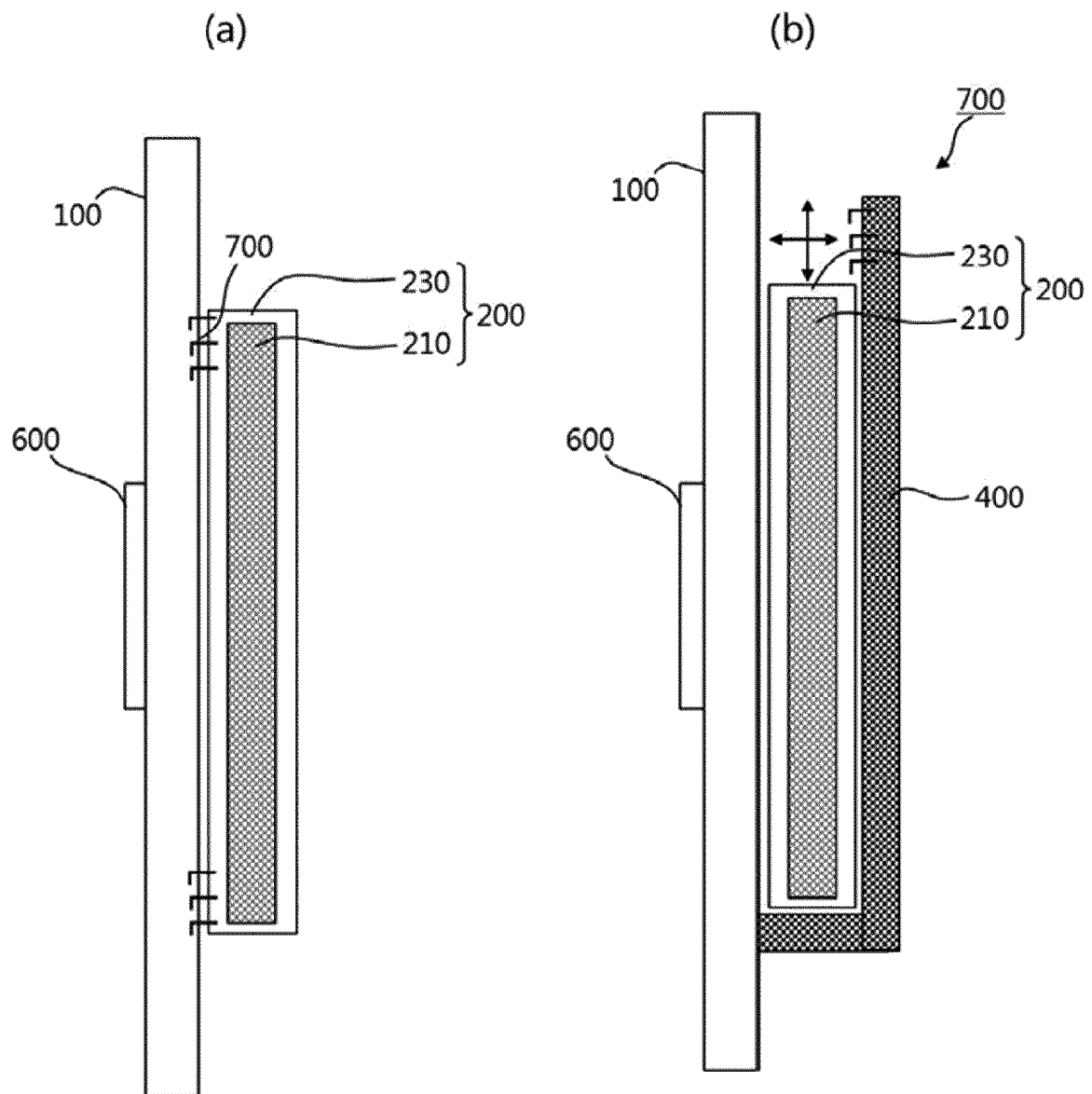
[도13]



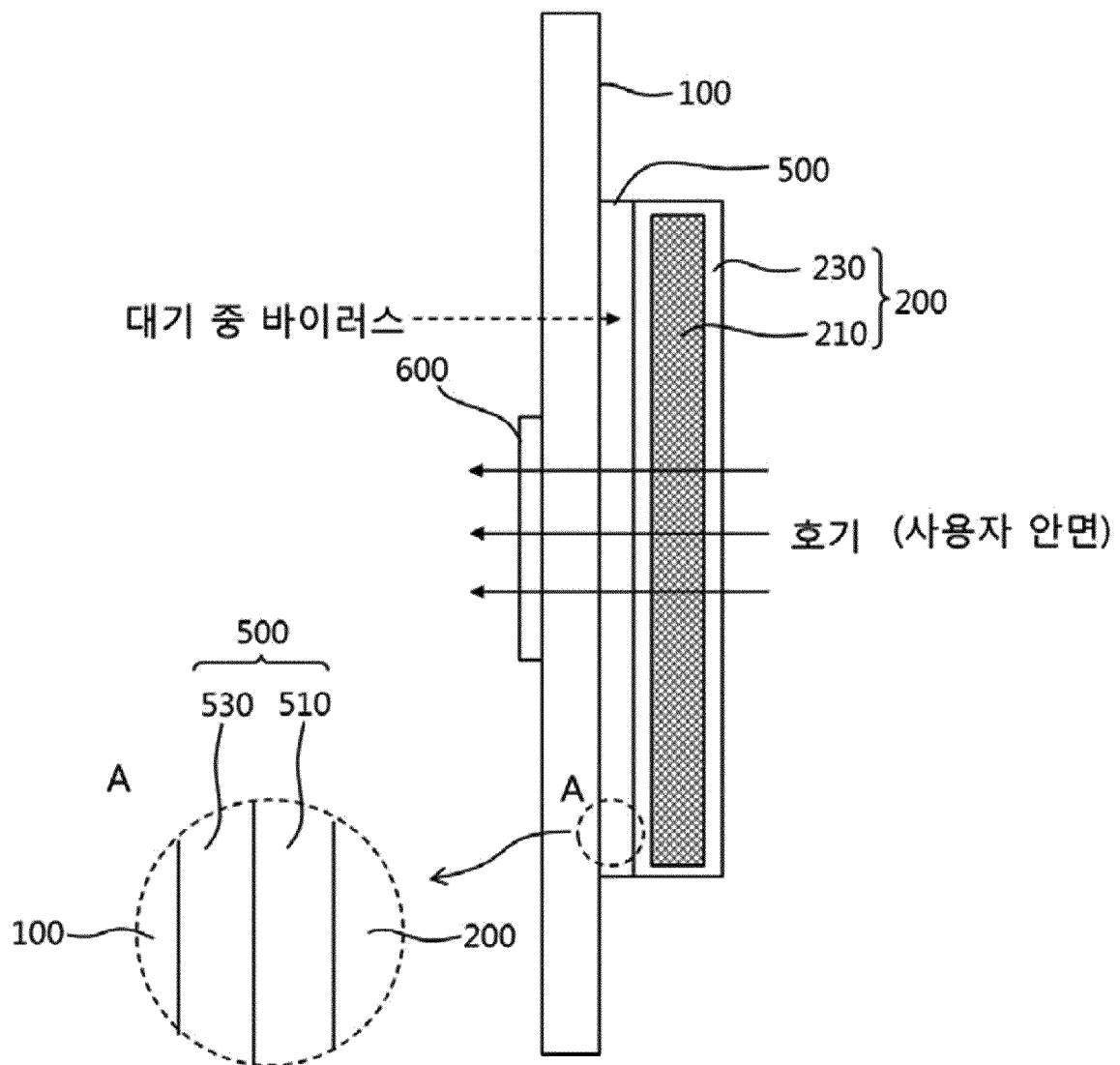
[도14]



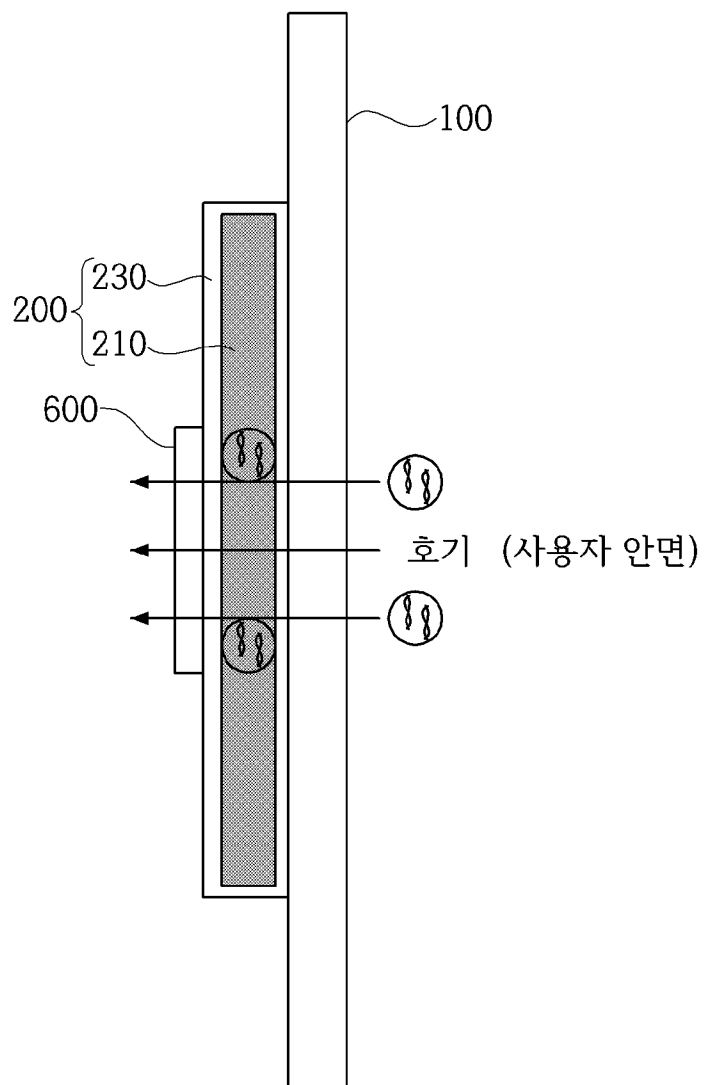
[도15]



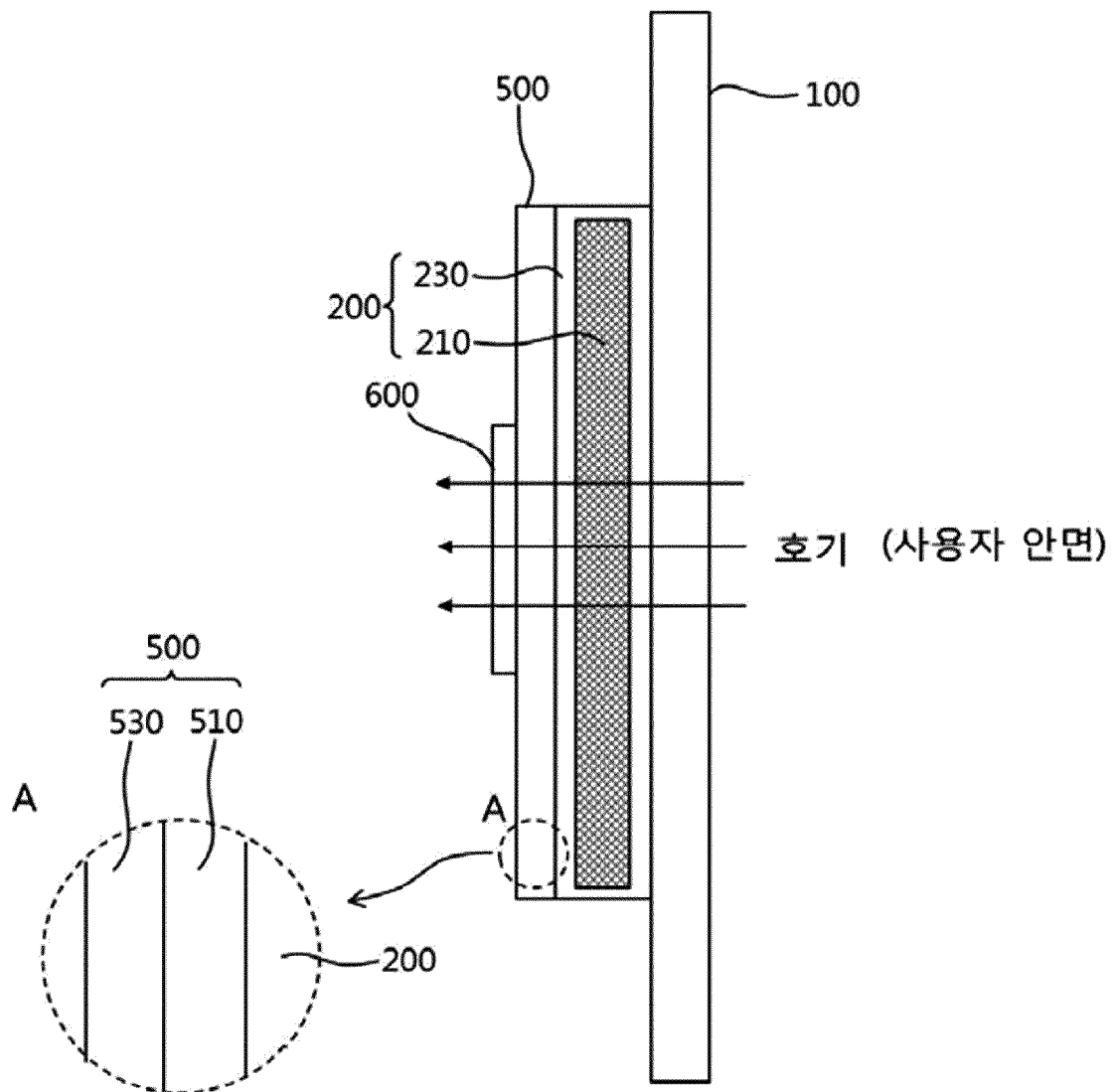
[도16]



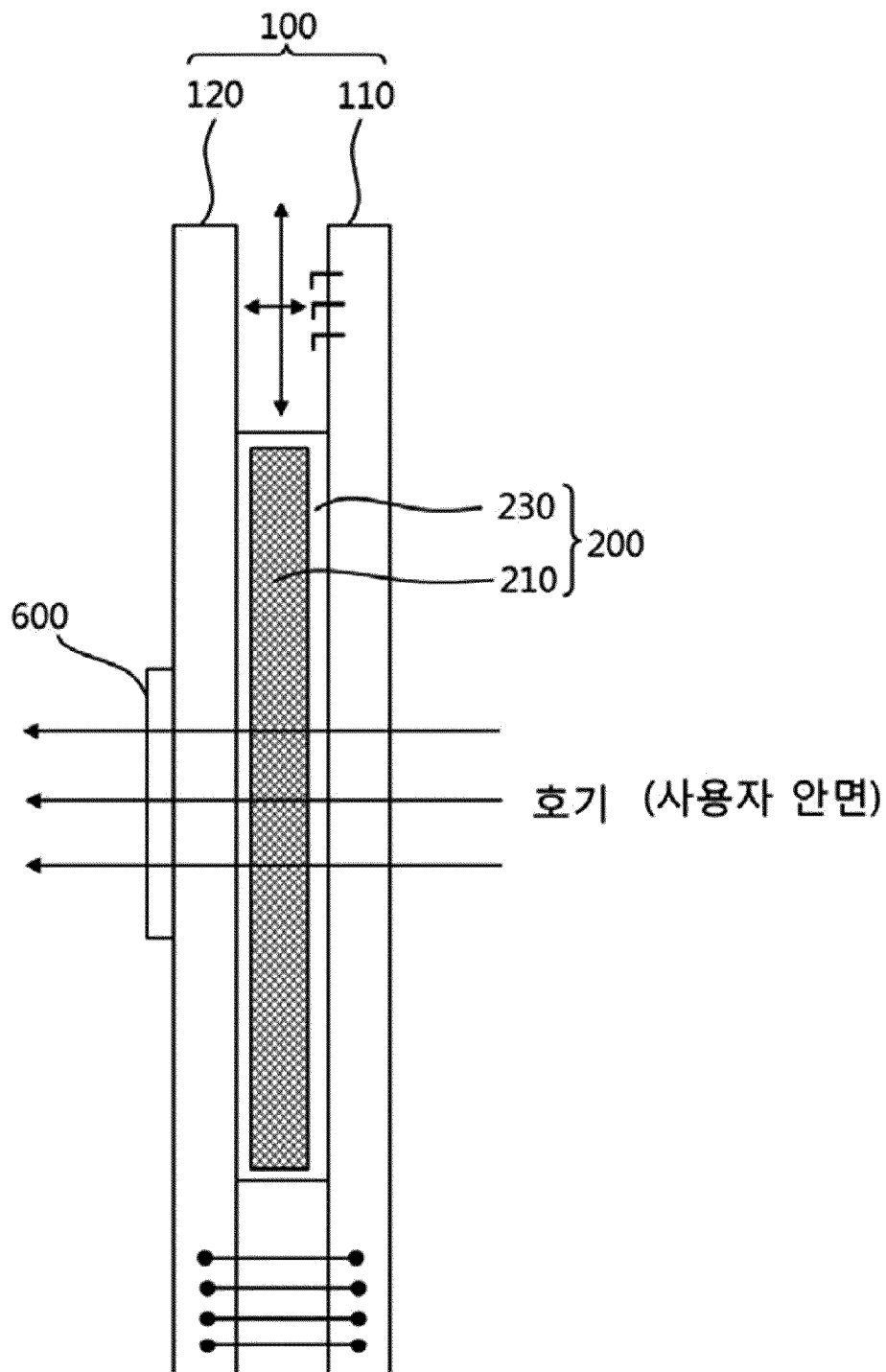
[도17]



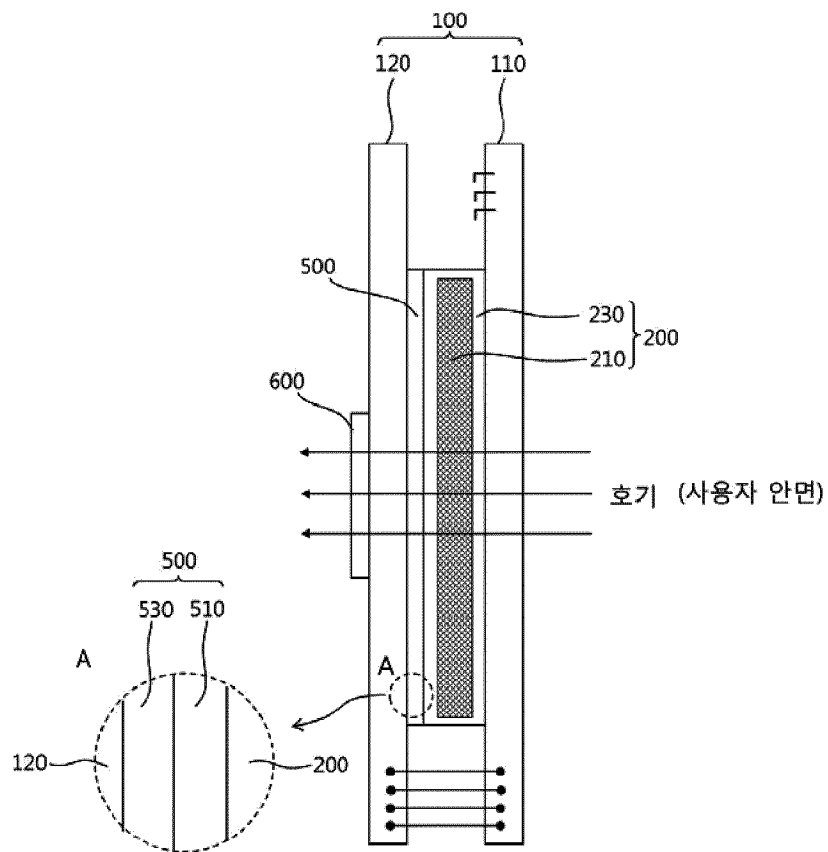
[도18]



[도19]



[도20]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/005419

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61B 5/097(2006.01)i; A61B 5/08(2006.01)i; A61B 10/00(2006.01)i; A61B 5/00(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) A61B 5/097(2006.01); B01D 53/02(2006.01); G01N 30/88(2006.01); G01N 33/497(2006.01); G01N 33/574(2006.01) 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: 생검(biopsy), 마스크(mask), 호흡(breath), 완충액(buffer), 중합효소 연쇄반응(PCR)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2010-0087749 A1 (TOVEY, Euan Roger) 08 April 2010 (2010-04-08) See paragraphs [0009]-[0091]; and figures 1-8.	1-13
A	US 2017-0303822 A1 (OWLSTONE MEDICAL LIMITED) 26 October 2017 (2017-10-26) See paragraphs [0015]-[0146]; and figures 1-11.	1-13
A	US 2014-0127326 A1 (SOOD, Anil K. et al.) 08 May 2014 (2014-05-08) See paragraphs [0035]-[0083]; and figures 1-3C.	1-13
A	US 2017-0215764 A1 (QUINTRON INSTRUMENT COMPANY, INC.) 03 August 2017 (2017-08-03) See paragraphs [0010]-[0022]; and figures 1-6.	1-13
A	KR 10-2020-0088293 A (IP2IPO INNOVATIONS LIMITED) 22 July 2020 (2020-07-22) See paragraphs [0069]-[0093]; and figure 1.	1-13
☐ 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 "D" document cited by the applicant in the international application "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 19 July 2022		Date of mailing of the international search report 22 July 2022
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/005419

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2010-0087749	A1	08 April 2010	WO	2008-092198	A1	07 August 2008
US	2017-0303822	A1	26 October 2017	CN	109310368	A	05 February 2019
				EP	3448256	A1	06 March 2019
				JP	2019-516113	A	13 June 2019
				JP	6861270	B2	21 April 2021
				US	11033203	B2	15 June 2021
				WO	2017-187120	A1	02 November 2017
US	2014-0127326	A1	08 May 2014	WO	2012-122128	A2	13 September 2012
				WO	2012-122128	A3	15 November 2012
US	2017-0215764	A1	03 August 2017	AU	2016-231652	A1	17 August 2017
				AU	2016-231652	B2	16 September 2021
				CA	2944099	A1	03 August 2017
				CN	107036852	A	11 August 2017
				EP	3202321	A1	09 August 2017
				EP	3202321	B1	11 December 2019
				US	10413216	B2	17 September 2019
KR	10-2020-0088293	A	22 July 2020	AU	2018-332171	A1	23 April 2020
				CA	3075595	A1	21 March 2019
				CN	111602055	A	28 August 2020
				EP	3682243	A1	22 July 2020
				GB	2566681	A	27 March 2019
				GB	2566681	B	28 July 2021
				JP	2020-533602	A	19 November 2020
				US	2020-0378973	A1	03 December 2020
				WO	2019-053414	A1	21 March 2019

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61B 5/097(2006.01)i; A61B 5/08(2006.01)i; A61B 10/00(2006.01)i; A61B 5/00(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61B 5/097(2006.01); B01D 53/02(2006.01); G01N 30/88(2006.01); G01N 33/497(2006.01); G01N 33/574(2006.01) 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: 생검(biopsy), 마스크(mask), 호흡(breath), 완충액(buffer), 중합효소 연쇄반응(PCR)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	US 2010-0087749 A1 (EUAN ROGER TOVEY) 2010.04.08 단락 [0009]-[0091]; 및 도면 1-8	1-13
A	US 2017-0303822 A1 (OWLSTONE MEDICAL LIMITED) 2017.10.26 단락 [0015]-[0146]; 및 도면 1-11	1-13
A	US 2014-0127326 A1 (ANIL K. SOOD 등) 2014.05.08 단락 [0035]-[0083]; 및 도면 1-3C	1-13
A	US 2017-0215764 A1 (QUINTRON INSTRUMENT COMPANY, INC.) 2017.08.03 단락 [0010]-[0022]; 및 도면 1-6	1-13
A	KR 10-2020-0088293 A (아이피투아이피오 이노베이션스 리미티드) 2020.07.22 단락 [0069]-[0093]; 및 도면 1	1-13
☐ 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 “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2022년07월19일(19.07.2022)		국제조사보고서 발송일 2022년07월22일(22.07.2022)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 박혜련 전화번호 +82--

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2010-0087749 A1	2010/04/08	WO 2008-092198 A1	2008/08/07
US 2017-0303822 A1	2017/10/26	CN 109310368 A	2019/02/05
		EP 3448256 A1	2019/03/06
		JP 2019-516113 A	2019/06/13
		JP 6861270 B2	2021/04/21
		US 11033203 B2	2021/06/15
		WO 2017-187120 A1	2017/11/02
US 2014-0127326 A1	2014/05/08	WO 2012-122128 A2	2012/09/13
		WO 2012-122128 A3	2012/11/15
US 2017-0215764 A1	2017/08/03	AU 2016-231652 A1	2017/08/17
		AU 2016-231652 B2	2021/09/16
		CA 2944099 A1	2017/08/03
		CN 107036852 A	2017/08/11
		EP 3202321 A1	2017/08/09
		EP 3202321 B1	2019/12/11
		US 10413216 B2	2019/09/17
KR 10-2020-0088293 A	2020/07/22	AU 2018-332171 A1	2020/04/23
		CA 3075595 A1	2019/03/21
		CN 111602055 A	2020/08/28
		EP 3682243 A1	2020/07/22
		GB 2566681 A	2019/03/27
		GB 2566681 B	2021/07/28
		JP 2020-533602 A	2020/11/19
		US 2020-0378973 A1	2020/12/03
		WO 2019-053414 A1	2019/03/21