



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0063006
(43) 공개일자 2024년05월09일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>G01N 33/543</i> (2006.01) <i>A61M 1/36</i> (2006.01)
 <i>G01N 33/555</i> (2006.01) <i>G01N 33/569</i> (2017.01)
 <i>G01N 33/574</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>G01N 33/54326</i> (2013.01)
 <i>A61M 1/3618</i> (2024.05)</p> <p>(21) 출원번호 10-2023-0145964
 (22) 출원일자 2023년10월27일
 심사청구일자 2023년10월27일</p> <p>(30) 우선권주장
 1020220141702 2022년10월28일 대한민국(KR)</p> | <p>(71) 출원인
 울산과학기술원
 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50</p> <p>(72) 발명자
 강주현
 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
 박성진
 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
 주진명
 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50</p> <p>(74) 대리인
 리앤목특허법인</p> |
|--|---|

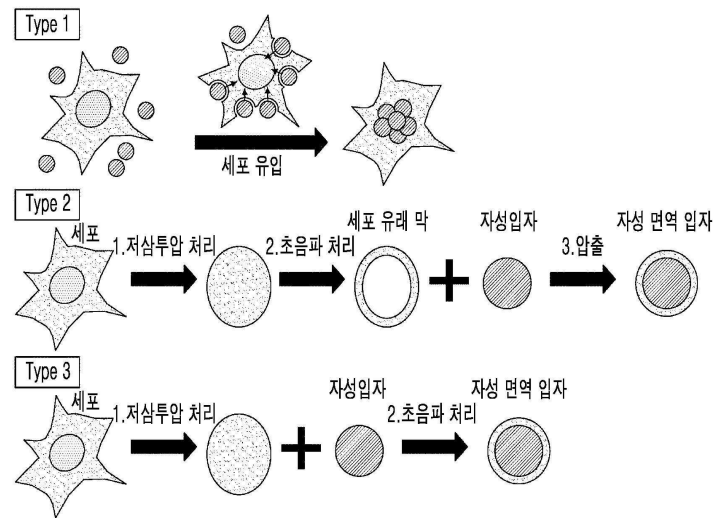
전체 청구항 수 : 총 28 항

(54) 발명의 명칭 **적혈구 유래 자성 면역 입자 및 이의 용도**

(57) 요약

적혈구 유래 자성 면역 입자 및 이의 용도와 관련된 것으로, 일 양상에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자는, 적혈구 유래의 세포막을 포함하므로 생체 내 부작용을 최소화할 수 있고, 다양한 종류의 물질 (예컨대, 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질 등)을 시료로부터 우수한 효율로 검출 및 제거할 수 있으며, 이로 인해, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등의 다양한 종류의 질병을 진단, 예방, 또는 치료하는데 유용하게 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61M 1/362 (2024.05)
A61M 1/362266 (2022.05)
G01N 33/54346 (2013.01)
G01N 33/555 (2013.01)
G01N 33/569 (2013.01)
G01N 33/574 (2013.01)
G01N 2333/4709 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711180695
과제번호	2021R1A4A3030597
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	집단연구지원
연구과제명	크리스퍼 기반 암전이 예측 환자유래 오가노이드 다중장기칩 연구실
기 여 율	40/100
과제수행기관명	울산과학기술원
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711183546
과제번호	2018K1A4A3A01063890
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	해외우수연구기관유치
연구과제명	UNIST-WFIRM-UniBase1 생체장기모사 연구센터
기 여 율	20/100
과제수행기관명	울산과학기술원
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711192934
과제번호	00070678
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	(재단)범부처재생의료기술개발사업단
연구사업명	범부처재생의료기술개발사업
연구과제명	혈관화된 3차원 자가유래 조직구조체 기반 대면적 피부 및 림프관 재건 기술 개발
기 여 율	40/100
과제수행기관명	울산과학기술원
연구기간	2023.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

적혈구 유래의 세포막; 및

상기 세포막에 부착된 자성 입자를 포함하는 자성 면역 입자.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 자성 입자는 철 (Fe), 니켈 (Ni), 코발트 (Co), 망간 (Mn), 비스무스 (Bi), 아연 (Zn), 스트론튬 (Sr), 란타넘 (La), 세륨 (Ce), 프라세오디뮴 (Pr), 네오디뮴 (Nd), 프로메튬 (Pm), 사마륨 (Sm), 유로퓸 (Eu), 가돌리늄 (Gd), 테르븀 (Tb), 디스프로슘 (Dy), 홀름 (Ho), 에르븀 (Er), 툴륨 (Tm), 이테르븀 (Yb), 루테튬 (Lu), 구리 (Cu), 은 (Ag), 금 (Au), 카드뮴 (Cd), 수은 (Hg), 알루미늄 (Al), 갈륨 (Ga), 인듐 (In), 탈륨 (Tl), 칼슘 (Ca), 바륨 (Ba), 라듐 (Ra), 백금 (Pt), 및 납 (Pd)으로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 자성 원소를 포함하는 것인, 자성 면역 입자.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 자성 면역 입자는 상기 세포막을 포함하는 외부 표면 및 상기 자성 입자를 포함하는 내부 코어를 포함하는 것인, 자성 면역 입자.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 세포막은 소낭 (vesicle)의 형태를 가지는 것인, 자성 면역 입자.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 세포막은 보체 수용체 (Complement receptor, CR), 분화 클러스터 분자 (Cluster of differentiation (CD) molecule), 글라이코포린 (Glycophorin), 더피 항원 수용체 (Duffy antigen receptor for chemokines, DARC), 포도당 전달체 (Glucose transporter), 및 모노카르복실산 수용체 (Monocarboxylate transporter)로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 것인, 자성 면역 입자.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 자성 면역 입자는, 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막과 자성 입자가 혼합된 혼합물을 압출 또는 초음파 처리하여 얻어진 것인, 자성 면역 입자.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 자성 입자는 단분산 자성 입자인 것인, 자성 면역 입자.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 단분산 자성 입자는 다분산 지수 (Polydispersity index, PDI)가 0.17 이하인 것인, 자성 면역 입자.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 자성 입자는 단분산 자성 입자인 것인, 자성 면역 입자.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 단분산 자성 입자는 다분산 지수가 0.17 이하인 것인, 자성 면역 입자.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 자성 면역 입자를 포함하는 조성물로서,

상기 조성물은 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질로 이루어지는 군으로부터 선택된 1종 이상을 검출 또는 제거하기 위한 것인, 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 병원성 물질은 박테리아, 진균류, 바이러스, 기생충, 프라이온, 및 독소로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 염증성 사이토카인은 종양괴사인자 알파 (tumor necrosis factor- α : TNF- α), 인터루킨 4 (Interleukin 4: IL-4), 인터루킨 6 (Interleukin 6: IL-6), 인터루킨-1 베타 (Interleukin-1 beta: IL-1 β), 인터루킨-1 알파 (Interleukin-1 alpha: IL-1 α), 인터루킨 8 (Interleukin 8: IL-8), 인터페론 감마 (Interferon gamma: IFN- γ), 및 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자 (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: GM-CSF)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 암 관련 물질은 암 세포, 암 세포 유래 세포막 소포체 (extracellular vesicles), 암 세포 유래 핵산, 또는 이의 조합을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 15

제11항에 있어서, 상기 뇌 질환 관련 물질은 아밀로이드 베타 (A β) 단백질, 타우 (Tau) 단백질, 또는 이의 조합을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 자성 면역 입자를 포함하는 질병의 진단용 조성물로서,

상기 질병은 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환인 것인, 조성물.

청구항 17

시료 내에 존재하는 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질로 이루어지는 군으로부터 선택된 1종 이상을 상기 시료로부터 검출 또는 제거하는 방법으로서,

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 자성 면역 입자와 시료를 접촉시켜 혼합하는 단계; 및 상기 혼합된 시료에 자기장을 인가하는 단계;를 포함하는, 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 방법은 상기 자기장을 인가하는 단계 이전에 흡소닌을 투입하는 단계를 더 포함하는 것인, 방법.

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 방법은 체외혈액순환 장치에 의해 수행되는 것인, 방법.

청구항 20

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 자성 면역 입자와 개체로부터 분리된 시료를 접촉시켜 혼합하는 단계; 및 상기 혼합된 시료에 자기장을 인가하는 단계;를 포함하는 질병의 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 질병은 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환인 것인, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 방법은 상기 자기장을 인가하는 단계 이전에 흡소닌을 투입하는 단계를 더 포함하는 것

인, 방법.

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 방법은 체외혈액순환 장치에 의해 수행되는 것인, 방법.

청구항 23

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 자성 면역 입자와 개체로부터 분리된 시료를 접촉시켜 혼합하는 단계; 상기 혼합된 시료에 자기장을 인가하여 자성 면역 입자를 상기 시료로부터 제거하는 단계; 및 상기 자성 면역 입자가 제거된 시료를 상기 개체로 다시 주입하는 단계;를 포함하는 개체의 질병을 예방 또는 치료하는 방법으로서,

상기 질병은 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환인 것인, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 방법은 상기 자기장을 인가하기 전에 옹소인을 투입하는 단계를 더 포함하는 것인, 방법.

청구항 25

제23항에 있어서, 상기 방법은 체외혈액순환 장치에 의해 수행되는 것인, 방법.

청구항 26

적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막과 자성 입자를 혼합하는 단계; 및

상기 혼합하는 단계에서 얻어진 혼합물을 압출 또는 초음파 처리하는 단계;를 포함하는 자성 면역 입자를 제조하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 자성 입자는 단분산 자성 입자인 것인, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 단분산 자성 입자는 다분산 지수가 0.17 이하인 것인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 적혈구 유래 자성 면역 입자 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전세계적으로 병원성 미생물 또는 이로부터 유래된 항원 등의 병원체는 수계 및 인간에 감염되어 많은 질병을 일으킨다.

[0003] 종래 혈액 내 존재하는 병원체를 검출하기 위해 개발된 방법들은 검출 시간이 오래걸리거나 검출 효율이 낮은 단점이 있었다. 예컨대, 미생물을 검출하기 위해 세포배양법과 유전자 검출법인 중합효소연쇄반응법 (PCR) 등이 개발되고 있다 (대한민국 공개특허 제10-2018-0023545호). 세포배양법은 병원성 바이러스와 비병원성 바이러스를 분리하여 동정하기 위한 방법으로 세포병변효과 (Cytopathic Effect; CPE)가 일어나는 여부에 의해 판단한다. 일반적으로 세포병변효과가 보일 때까지는 1~4주 정도의 오랜 시간이 필요하다. 따라서, 세포배양법은 유해 미생물이 존재하는가를 판단하여 그 대비책을 마련하는 데는 효용가치가 떨어진다. 또한, 유전자 진단법의 하나인 중합효소연쇄반응법은 적은 양의 DNA나 RNA를 증폭시키는 방법으로 민감도, 특이성, 신속성이 세포배양법에 비해 매우 뛰어나 세포배양법의 단점을 극복할 수 있지만, 시료에 미량의 유해 미생물이 존재하거나 핵산 추출과정에서 많은 양이 소실되었을 경우 중합효소연쇄반응법으로 검출하면 음성으로 판단할 수도 있는 단점이 있다. 즉 중합효소연쇄반응법으로 검출되지 않았다 하더라도 미생물이 존재할 가능성이 있다. 또한 중합효

소연쇄반응법이 가지는 근본적인 문제점으로 정량분석이 어렵고 오염에 의한 위양성의 위험성이 높은 단점이 있다. 한편, 감염에 의한 질병의 치료는 현재까지도 대부분 항생제 투여법에 의존하고 있다. 그러나 항생제 투여법은 혈액세포감소, 과민반응, 신경계, 심장, 신장 그리고 간 독성 부작용을 유발하는 치명적인 단점이 있다. 최근에는 항생제에 대한 내성을 갖는 '슈퍼 박테리아'의 출현으로 항생제 투여법 기반의 감염 질병 치료의 성공률도 매우 낮아지고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 병원체 검출 효율이 높으면서도 체내 투여시 부작용이 발생하지 않아 안전한 병원체의 검출 또는 제거 방법에 대한 개발이 요구되고 있다.

[0004] 또한, 병원체 등의 병원성 물질 외에도, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 세포 유래 세포막 소포체나 종양 세포 유래 핵산과 같은 암 관련 물질, 아밀로이드 베타 42, 아밀로이드 베타 40, 또는 타우 단백질과 같은 뇌 질환 관련 물질 등은 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등의 다양한 질병의 표지가 되거나 상기 다양한 질병을 유발 또는 악화시킬 수 있다. 다만, 종래 기술은 체내에 존재하는 이러한 다양한 질병 관련 물질들을 검출하기 위해서 해당 물질 각각에 대응되는 방법, 재료, 장치, 키트 등을 각각 적용할 수 밖에, 이로 인해, 고 비용, 검출 또는 분석 효율 감소 등의 문제가 발생된다. 따라서, 단일한 방식으로 간단하게 상기 체내에 존재하는 다양한 질병 관련 물질들을 검출 또는 제거하여 다양한 질병을 진단, 예방, 또는 치료할 수 있는 방법으로서, 넓은 스펙트럼을 가지면서 고 효율로 질병 관련 물질을 검출 또는 제거할 수 있는 방법이 요구되나 현재까지 개발된 바 없다.

[0005]

[0006] 이런 배경하에 본 발명자들은, 적혈구 유래의 자성 면역 입자를 개발하였고, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자는 적혈구 유래의 세포막을 포함하므로 생체 내 부작용을 최소화할 수 있고, 다양한 종류의 물질 (예컨대, 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질 등)을 시료로부터 우수한 효율로 검출 및 제거할 수 있으며, 이로 인해, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등의 다양한 종류의 질병을 진단, 예방, 또는 치료하는데 유용하게 활용될 수 있음을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 일 양상은 적혈구 유래의 세포막; 및 상기 세포막에 부착된 자성 입자를 포함하는 자성 면역 입자를 제공하는 것이다.

[0008] 다른 양상은 상기 자성 면역 입자를 포함하는 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 또는 뇌 질환 관련 물질을 검출 또는 제거하기 위한 조성물을 제공하는 것이다.

[0009] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자를 포함하는 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환의 진단용 조성물을 제공하는 것이다.

[0010] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자를 이용하는, 시료 내에 존재하는 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 또는 뇌 질환 관련 물질을 상기 시료로부터 검출 또는 제거하는 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자를 이용하는, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환의 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법 (또는 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환을 진단하는 방법)을 제공하는 것이다.

[0012] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자를 이용하는, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공하는 것이다.

[0013] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자를 이용하는, 키트 또는 장치를 제공하는 것이다.

[0014] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

[0015]

[0016] 본 출원의 다른 목적 및 이점은 첨부한 청구범위 및 도면과 함께 하기의 상세한 설명에 의해 보다 명확해질 것이다. 본 명세서에 기재되지 않은 내용은 본 출원의 기술 분야 또는 유사한 기술 분야 내 숙련된 자이면 충분히 인식하고 유추할 수 있는 것이므로 그 설명을 생략한다.

과제의 해결 수단

- [0017] 본 출원에서 개시된 각각의 설명 및 실시 형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 출원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 출원의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 출원의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.
- [0018]
- [0019] 일 양상은 적혈구 유래의 세포막; 및 상기 세포막에 부착된 자성 입자를 포함하는 자성 면역 입자를 제공한다.
- [0020] 상기 자성 면역 입자는, 각종 물질을 포획할 수 있는 적혈구 유래 세포막에 자성 입자가 부착된 것으로, 구체적으로는, 포획 대상 물질로서, 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 뇌 질환 관련 물질 등 다양한 물질을 포획할 수 있다. 또한, 상기 포획 대상 물질을 포획한 자성 면역 입자는, 자기장에 의해 혈액과 같은 시료로부터 분리 또는 제거될 수 있다. 따라서, 상기 자성 면역 입자는 혈액과 같은 시료로부터 상기 포획 대상 물질을 검출, 분리, 또는 제거하는데 사용될 수 있다. 본 명세서에서 용어 "자성 면역 입자"는, "자성 나노 입자", "자성 나노 면역 입자", "세포막-자성 입자 복합체", "적혈구 유래 자성 면역 입자" 등과 상호교환적으로 사용될 수 있다.
- [0021] 본 명세서에서 제안되는 기술은, 1) 자성 입자가 적혈구 유래 세포막에 부착된 자성 면역 입자를 준비하고, 2) 상기 자성 면역 입자를 시료와 접촉시킴으로써 자성 면역 입자에 시료 내 존재하는 상기 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질)이 포획되도록 한 후, 3) 상기 포획 대상 물질을 포획한 자성 면역 입자를 자기장에 의해 시료로부터 분리되도록 하여, 시료 내 상기 포획 대상 물질을 검출하거나, 시료로부터 상기 포획 대상 물질을 제거하는 것을 주요한 특징으로 한다.
- [0022] 본 명세서에서 용어 "부착"은 세포막 이중층의 바깥쪽 또는 안쪽에 위치하는 형태를 지칭할 수 있다. 예를 들어, 자성 입자가 세포막 이중층의 바깥쪽 또는 안쪽에 직접적으로 결합한 형태 또는 자성 입자가 세포막 내부로 흡수되어 포집 (또는 함유, 또는 봉입)된 형태를 지칭할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0023] 상기 병원성 물질은 박테리아, 진균류, 바이러스, 기생충, 프라이온, 및 독소로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것일 수 있으나, 세포막에 의하여 포획될 수 있는 병원성 물질이라면 제한 없이 포함한다. 상기 병원성 물질은 체내에서 감염성 질병, 예컨대 말라리아 등을 유발하는 것일 수 있다. 또한, 상기 병원성 물질은 상기 병원성 물질에 감염된 세포, 예컨대 말라리아 유충에 감염된 세포 등을 포함할 수 있다. 또한, 상기 병원성 물질은 병원체를 포함한다. 상기 병원성 물질에는, 질병 (예컨대, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등)에 걸린 환자로부터 분리된 생체 시료 (예컨대, 혈액) 내 존재하는 병원성 물질도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.
- [0024] 일 구체예에서, 상기 병원성 박테리아는 모든 종류의 그람 양성균 또는 그람 음성균일 수 있다. 보다 상세하게는, 엔테로박테리아시예 균계 (*Enterobacteriaceae* spp), 엔테로코커스 균계 (*Enterococcus* spp), 시트로박터 균계 (*Citrobacter* spp), 스테필로코커스 균계 (*Staphylococcus* spp), 클렙시엘라 균계 (*Klebsiella* spp), 슈도모나스 균계 (*Pseudomonas* spp), 아시네토박터균계 (*Acinetobacter* spp), 살모넬라 균계 (*Salmonella* spp), 스트렙토코커스 균계 (*Streptococcus* spp), 대장 균계 (*Escherichia* spp), 마이코박테리움 균계 (*Mycobacterium* spp), 마이코플라스마 균계 (*Mycoplasma* spp), 비브리오 균계 (*Vibrio* spp), 이질 균계 (*Shigella* spp), 캄필로박터 균계 (*Campylobacter* spp), 클라미디아 (*Chlamydia* spp), 및 항생제 내성을 획득한 상기 박테리아로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다.
- [0025] 또한, 일 구체예에서, 상기 병원성 진균류는 칸디다 균계 (*Candida* spp), 아스페질러스 균계 (*Aspergillus* spp), 트라이코파이톤 균계 (*Trichophyton* spp), 및 클라도피아로포라 균계 (*Cladophialophora* spp)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다.
- [0026] 또한, 일 구체예에서, 상기 병원성 바이러스는 아데노바이러스과 (Adenoviridae), 피코르나바이러스과 (Picornaviridae), 헤르페스바이러스과 (Herpesviridae), 헤파드나바이러스과 (Hepadnaviridae), 플라비바이러스과 (Flaviviridae), 레트로바이러스과 (Retroviridae), 오르토믹소바이러스과 (Orthomyxoviridae), 파라믹소바이러스과 (Paramyxoviridae), 파파로바이러스과 (Papovaviridae), 폴리오마바이러스 (Polyomavirus), 람도바이러스과 (Rhabdoviridae), 및 토가바이러스과 (Togaviridae)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다. 더욱 구체적으로는, 상기 병원성 바이러스는 RSV (Respiratory syncytial virus), ZIKV (Zika virus), HCov229E (Human Coronavirus 229E), HCoV-OC43 (Human coronavirus OC43), CMV

(Cytomegalovirus), SARS-CoV-1 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 1), SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), SARS-CoV-2의 변이 바이러스 (Alpha 변이, Beta 변이, Delta 변이 등), 에볼라 바이러스 (Ebola Virus), 및 뎡기 바이러스(Dengue virus)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0027] 또한, 일 구체예에서, 상기 기생충은 말라리아 유충을 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 또한, 일 구체예에서, 상기 프라이온은 스크래피, 광우병, 크리츠벨트-야콥병 등을 포함하는 감염성 질병을 야기하는 전염성 단백질 병원체를 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0029] 또한, 일 구체예에서, 상기 독소는 질병을 야기하는 등의 병원성을 갖는 것이라면 어떠한 것이라도 포함될 수 있으며, 상기 병원성 박테리아, 진균류, 바이러스, 또는 기생충으로부터 유래된 병원성 물질 (예컨대, 항원 단백질)을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 예컨대, 상기 독소는 LPS (Lipopolysaccharide, Endotoxin), ZIKV (Zika virus) Envelope Protein, SARS-CoV-2 Spike Protein, 또는 SARS-CoV-2 변이 바이러스 Spike Protein (Alpha 변이 Spike Protein, Beta 변이 Spike Protein, 또는 Delta 변이의 Spike Protein) 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0030] 상기 염증성 사이토카인은 염증을 유발하거나 악화시키는 사이토카인이라면 제한없이 포함될 수 있고, 예컨대, 상기 염증성 사이토카인은 종양괴사인자 알파 (tumor necrosis factor- α : TNF- α), 인터루킨 4 (Interleukin 4: IL-4), 인터루킨 6 (Interleukin 6: IL-6), 인터루킨-1 베타 (Interleukin-1 beta: IL-1 β), 인터루킨-1 알파 (Interleukin-1 alpha: IL-1 α), 인터루킨 8 (Interleukin 8: IL-8), 인터페론 감마 (Interferon gamma: IFN- γ), 및 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자 (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: GM-CSF)로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 염증성 사이토카인에는, 질병 (예컨대, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등)에 걸린 환자로부터 분리된 생체 시료 (예컨대, 혈액) 내 존재하는 염증성 사이토카인도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0031] 상기 혈중 포도당에는, 질병 (예컨대, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등)에 걸린 환자로부터 분리된 생체 시료 (예컨대, 혈액) 내 존재하는 포도당이 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0032] 상기 암 관련 물질은 암 (종양) 세포 (예컨대, 종양순환세포 (Circulating tumor cell, CTC), 혈액암 (Leukemia, Myeloma) 등), 암 유발 물질, 암 전이 유발 물질, 암 세포 유래 물질, 암 세포 대사 산물, 암 질환 발생 또는 진행에 따른 대사 산물 등을 포함할 수 있고, 예컨대, 암 세포 유래 세포막 소포체 (extracellular vesicles), 암 세포 (예컨대, 순환종양세포 등) 유래 핵산, 또는 이의 조합을 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다. 상기 암 관련 물질에는, 질병 (예컨대, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등)에 걸린 환자로부터 분리된 생체 시료 (예컨대, 혈액) 내 존재하는 암 관련 물질도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0033] 상기 뇌 질환 관련 물질은 뇌 질환 유발 물질, 뇌 질환 발생 또는 진행에 따른 대사 산물 등을 포함할 수 있고, 예컨대, 아밀로이드 베타 (A β) 단백질 (예컨대, 아밀로이드 베타 42 (A β 42), 아밀로이드 베타 40 (A β 40) 등), 타우 (Tau) 단백질, 또는 이의 조합을 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다. 상기 아밀로이드 베타 단백질에는 아밀로이드 베타 모노머, 아밀로이드 베타 다이머, 아밀로이드 베타 올리고머, 아밀로이드 베타 플라그 등이 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다. 상기 뇌 질환 관련 물질에는, 질병 (예컨대, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등)에 걸린 환자로부터 분리된 생체 시료 (예컨대, 혈액) 내 존재하는 뇌 질환 관련 물질도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0034] 본 명세서에서 용어 "포획"은 포획 대상 물질이 상기 자성 면역 입자와 결합 또는 연결되는 것을 의미한다. 구체적으로, 용어 "포획"은 포획 대상 물질이 상기 자성 면역 입자의 세포막의 표면 또는 내부에 결합 또는 연결되는 것을 의미할 수 있다. 본 명세서에서 용어 "포획"은 "포집", "흡착", "흡수", "결합", "연결" 등의 용어와 상호교환적으로 사용될 수 있다.

[0035] 상기 적혈구 또는 적혈구 유래의 세포막은 인간, 원숭이 등의 영장류, 래트, 마우스 등의 설치류, 말, 소, 돼지, 양, 염소 등의 우제류, 말과, 개과, 고양이과 등의 포유류, 조류, 어류, 파충류, 양서류, 갑각류, 및 곤충으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 개체의 세포로부터 유래할 수 있고, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 적혈구 유래의 세포막은 체내 투여시 면역 거부반응을 일으키기 않기 때문에, 생체 투여시 안전성이 우수하다.

[0036] 본 명세서에서 용어 "세포막"은 세포에 존재하는 세포막 자체, 또는 통상적인 방법, 예컨대 초음파 처리, 삼투압 차이 이용, 압출 (extrusion) 등을 통하여 세포로부터 분리된 세포막 (구체적으로, 본연의 형태가 유지된 세

포막, 세포막의 일부 또는 조각, 세포막의 일부 또는 조각이 재조립되어 형성된 막 등)을 칭한다.

[0037] 상기 적혈구 유래의 세포막은 보체 수용체 (Complement receptor: CR), 분화 클러스터 분자 (Cluster of differentiation (CD) molecule), 글라이코포린 (Glycophorin), 더피 항원 수용체 (Duffy antigen receptor for chemokines, DARC), 포도당 전달체 (Glucose transporter) (예컨대, GLUT1 (Glucose transporter 1) 등), 및 모노카르복실산 수용체 (Monocarboxylate transporter: MCT)로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 포함, 발현, 또는 과발현하는 것일 수 있지만 이에 제한되지 않는다. 상기 세포막이 상기 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 및 모노카르복실산 수용체로 구성된 군에서 선택된 1종 이상을 발현함으로써, 자성 입자 또는 포획 대상 물질을 포획 또는 흡수 (uptake, endocytosis)하거나, 자성 입자 또는 포획 대상 물질과 결합 또는 부착할 수 있다.

[0038] 상기 적혈구 유래의 세포막에는 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 모노카르복실산 수용체, 또는 이의 조합 (예컨대, CR1 (Complement receptor 1), GYPA (Glycophorin A), 또는 이의 조합)이 포함, 발현, 또는 과발현된 것일 수 있다. 여기서 과발현은 정상적인 적혈구의 세포막과 비교하여, 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 모노카르복실산 수용체, 또는 이의 조합 (예컨대, CR1, GYPA, 또는 이의 조합)의 발현이 더 증가된 상태를 의미할 수 있다.

[0039] 상기 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 모노카르복실산 수용체, 또는 이의 조합 (예컨대, CR1, GYPA, 또는 이의 조합)이 과발현된 세포막을 가지는 적혈구는 당업계에 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다. 예컨대, 유전자 공학을 이용하여 적혈구 전구체에 대하여 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 모노카르복실산 수용체, 또는 이의 조합 (예컨대, CR1, GYPA, 또는 이의 조합)의 발현이 증가되도록 유전자 재조합에 의한 형질전환을 수행한 후 형질전환된 적혈구 전구체를 적혈구로 분화시키는 방법 등을 이용할 수 있다. 구체적으로는, 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 모노카르복실산 수용체, 또는 이의 조합 (예컨대, CR1, GYPA, 또는 이의 조합)을 코딩하는 외래 유전자를 적혈구 전구체 세포 내로 트랜스펙션시켜 적혈구 전구체 내 상기 유전자의 카피수를 증가시키는 방법을 이용할 수 있으며, 상기 방법은 당업계에 알려진 임의의 방법, 예를 들면, 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 모노카르복실산 수용체, 또는 이의 조합 (예컨대, CR1, GYPA, 또는 이의 조합)을 코딩하는 유전자가 작동 가능하게 연결된 벡터로서, 숙주와 무관하게, 또는 적혈구 전구체 세포 내에서 복제되고 기능할 수 있는 벡터를 적혈구 전구체 세포 내에 도입함으로써 수행될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0040] 상술한 방법 등을 통해 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 모노카르복실산 수용체, 또는 이의 조합 (예컨대, CR1, GYPA, 또는 이의 조합)이 과발현된 세포막을 가지는 적혈구를 제조할 수 있고, 본 발명의 일 구체예에 따른 방법에 따라, 상기 적혈구로부터 세포막을 분리하고, 상기 분리된 세포막에 자성 입자를 부착함으로써, 보체 수용체, 분화 클러스터 분자, 글라이코포린, 더피 항원 수용체, 포도당 전달체, 모노카르복실산 수용체, 또는 이의 조합 (예컨대, CR1, GYPA, 또는 이의 조합)이 과발현된 적혈구 유래 세포막을 포함하는 자성 면역 입자를 제조할 수 있다.

[0041] 일 구체예에 따르면, 적혈구 유래 세포막을 포함하는 자성 면역 입자의 경우, 상기 세포막의 표면 분자인 CR1, GYPA, 또는 이의 조합이 상기 자성 면역 입자의 포획 대상 물질에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)에 크게 기여함을 확인하였다. 따라서, CR1, GYPA, 또는 이의 조합이 과발현된 적혈구 유래 세포막을 포함하는 자성 면역 입자의 경우, 포획 대상 물질에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)이 현저히 증가할 수 있다.

[0042] 본 명세서에서 용어 "자성 입자 (magnetic particle)"는 자기장에 반응할 수 있는 입자로서, 세포로 용이하게 흡수될 수 있거나, 세포막 외부 또는 내부에 결합, 부착, 유입, 함유, 봉입, 또는 포획될 수 있는 입자를 지칭한다. 구체적으로, 상기 자성 입자는 철 (Fe), 니켈 (Ni), 코발트 (Co), 망간 (Mn), 비스무스 (Bi), 아연 (Zn), 스트론튬 (Sr), 란타넘 (La), 세륨 (Ce), 프라세오디뮴 (Pr), 네오디뮴 (Nd), 프로메튬 (Pm), 사마륨 (Sm), 유로퓸 (Eu), 가돌리늄 (Gd), 테르븀 (Tb), 디스프로슘 (Dy), 홀름 (Ho), 에르븀 (Er), 툴륨 (Tm), 이테르븀 (Yb), 루테튬 (Lu), 구리 (Cu), 은 (Ag), 금 (Au), 카드뮴 (Cd), 수은 (Hg), 알루미늄 (Al), 갈륨 (Ga), 인듐 (In), 탈륨 (Tl), 칼슘 (Ca), 바륨 (Ba), 라듐 (Ra), 백금 (Pt), 및 납 (Pd)으로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 자성 원소를 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0043] 상기 자성 원소는 산화되거나 표면 개질된 것일 수 있다. 구체적으로, 철은 산화되어 산화철 형태로 자성 면역 입자에 포함될 수 있다. 상기 표면 개질은 금속에 의한 표면 개질, 카르복시기, 또는 아민기와 같은 작용기에 의한 표면 개질, 항체, 스트렙타비딘, 또는 아비딘과 같은 단백질에 의한 표면 개질, 탄수화물에 의한 표면 개

질, 폴리머에 의한 표면 개질, 지질에 의한 표면 개질일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 개질에 의해 자성 입자가 안정화될 수 있다.

- [0044] 상기 자성 입자는 공지된 방법을 통해 제조해서 사용할 수 있고, 상업적으로 구입해서 사용할 수도 있다.
- [0045] 상기 자성 입자는 그대로 사용되거나 적절한 용매 (예컨대, 버퍼 (PBS, saline, Tris-buffered saline 등)에 분산 또는 현탁된 상태로 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0046] 상기 자성 입자는 작은 입자 크기를 가짐으로써 입자 하나하나가 단일자기구역을 가질 수 있다. 이로 인해 외부 자기장이 존재 시에만 자성의 특성을 갖는 초상자성 (superparamagnetism)을 나타낼 수 있다. 초상자성을 나타내는 자성 입자로 자성 면역 입자를 만듦으로써, 외부 자기장 인가에 의해 자성 면역 입자를 간단하고도 용이하게 분리할 수 있다. 자기장 인가에 의한 분리는 pH, 온도, 이온 등과 같은 주변 환경에 영향을 받지 않으므로 안정성 및 민감성이 우수하다.
- [0047] 상기 자성 입자는 상기 포획 대상 물질을 포획할 수 있는 세포막에 부착, 유입, 함입, 또는 봉입될 수 있는 입자 크기를 갖고 자성을 띠는 모든 입자들 중에서 선택될 수 있다. 예컨대, 상기 자성 입자는 평균 입경이 약 100 내지 500 또는 100 내지 300 nm인 자성 입자일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0048] 상기 자성 입자는 용액에 포함된 것일 수 있다. 상기 자성 입자는 용액에 포함된 상태로 상기 세포막에 부착될 수 있다. 일 구체예에서, 상기 용액은 세포를 배양 또는 분화시키는데 사용되는 배지, 버퍼, 또는 이들의 조합을 포함할 수 있고, 자성 면역 입자의 매질과 동일할 수 있다.
- [0049] 상기 자성 면역 입자는 상기 세포막을 포함하는 외부 표면 (outer surface), 및 자성 입자를 포함하는 내부 코어 (inner core)를 포함할 수 있다.
- [0050] 상기 자성 면역 입자에서, 상기 내부 코어는 1개 이상, 예를 들어 1개 이상 1000000개 이하의 자성 입자를 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 내부 코어는 1개 이상 100000개 이하, 1개 이상 10000개 이하, 1개 이상 1000개 이하, 1개 이상 100개 이하, 또는 1개 이상 10개 이하의 자성 입자를 포함할 수 있다. 상기 내부 코어에 포함되는 자성 입자의 수는 자성 입자의 크기, 또는 자성 면역 입자의 크기에 따라서 적절하게 형성될 수 있다. 내부 코어가 2개 이상의 자성 입자를 포함하는 경우, 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질)의 포획, 검출, 또는 제거 효과가 향상될 수 있다.
- [0051] 상기 자성 면역 입자의 평균 직경은 약 1nm 내지 약 30000nm, 약 10nm 내지 약 30000nm, 약 50nm 내지 약 30000nm, 약 100nm 내지 약 30000nm, 약 200nm 내지 약 30000nm, 약 300nm 내지 약 30000nm, 약 400nm 내지 약 30000nm, 약 500nm 내지 약 30000nm, 약 1nm 내지 약 20000nm, 약 10nm 내지 약 20000nm, 약 50nm 내지 약 20000nm, 약 100nm 내지 약 20000nm, 약 200nm 내지 약 20000nm, 약 300nm 내지 약 20000nm, 약 400nm 내지 약 20000nm, 약 500nm 내지 약 20000nm, 약 1nm 내지 약 10000nm, 약 10nm 내지 약 10000nm, 약 50nm 내지 약 10000nm, 약 100nm 내지 약 10000nm, 약 200nm 내지 약 10000nm, 약 300nm 내지 약 10000nm, 약 400nm 내지 약 10000nm, 약 500nm 내지 약 10000nm, 약 1nm 내지 약 5000nm, 약 10nm 내지 약 5000nm, 약 50nm 내지 약 5000nm, 약 100nm 내지 약 5000nm, 약 200nm 내지 약 5000nm, 약 300nm 내지 약 5000nm, 약 400nm 내지 약 5000nm, 약 500nm 내지 약 5000nm, 1nm 내지 약 1000nm, 약 10nm 내지 약 1000nm, 약 50nm 내지 약 1000nm, 약 100nm 내지 약 1000nm, 약 200nm 내지 약 1000nm, 약 300nm 내지 약 1000nm, 약 400nm 내지 약 1000nm, 약 500nm 내지 약 1000nm, 약 1nm 내지 약 500nm, 약 10nm 내지 약 500nm, 약 50nm 내지 약 500nm, 약 100nm 내지 약 500nm, 약 200nm 내지 약 500nm, 약 300nm 내지 약 500nm, 약 400nm 내지 약 500nm, 약 150nm 내지 350nm, 또는 약 200nm 내지 300nm일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0052] 상기 자성 면역 입자에서, 상기 세포막은 소낭 (vesicle)의 형태를 가지는 것일 수 있다. 본 명세서에서 용어 "소낭"은 세포로부터 초음파 처리, 삼투압 차이 이용, 또는 압출과 같은 공지된 기술 의해 세포막을 추출 (분리)하는 단계에 의해 분리된 세포막이 자가 조립, 또는 압출에 의해 재조립하는 단계에 의하여 형성되는 형태의 입자를 지칭할 수 있다.
- [0053] 일 구체예에 따른 자성 면역 입자의 제조 과정의 일 예를 도 1에 모식적으로 나타내었다. 구체적으로, 도 1의 Type 1 방식에 따라, 개체에서 추출한 적혈구 세포를 자성 입자가 포함되어 있는 용액 (예컨대, 혈액, 수성용액, 정제수, 버퍼, 배지 등)에 투입하여, 세포 유입 (cellular uptake) 현상에 의하여 자성 입자가 세포 내부에 흡수 (또는 포함, 일체화)되도록 함으로써, 내부에 자성 입자를 함유하는 적혈구 세포 (예컨대, 자성 면역 세포) 혹은 적혈구 세포 유사체를 생성할 수 있다. 상기 내부에 자성 입자를 함유하는 적혈구 세포 (예컨대, 자성 면역 세포)는 적혈구 세포 본래의 기능을 수행함과 동시에 내부에 함유된 자성 입자에 의하여 자성을 나타

내거나 자기장의 영향을 받을 수 있다.

- [0054] 또한, 도 1의 Type 2 방식에 따라, 적혈구 세포에서 분리 (또는 정제)한 세포막을 이용하여 자성 먼역 입자를 형성할 수 있다. 구체적으로, 통상적인 방법 (예컨대, 삼투압 차이 이용, 초음파 처리, 압출 등)을 통하여 적혈구 세포로부터 세포막을 분리 (또는 정제)하고, 그로부터 얻어진 적혈구 유래 세포막과 자성 입자를 압출 (extrusion) 또는 초음파 처리하여, 자성 입자를 상기 적혈구 유래 세포막 내부에 포함시킴으로써, 적혈구 유래 세포막 내부에 자성 입자를 함유하는 자성 먼역 입자를 생성할 수 있다. 보다 구체적으로, 적혈구로부터 세포막을 분리 (또는 정제)하기 위해, 적혈구 세포를 저삼투압용액에 투여하여, 저삼투압용액이 적혈구 세포 내로 이동하여 적혈구 세포를 팽창하게 함과 동시에 적혈구 세포 내 소기관이 세포 밖 환경으로 빠져나가게 할 수 있는 기공을 세포막에 형성시킬 수 있다. 상기 기공을 통해, 빠져나온 세포 내 소기관을 원심분리를 이용해 따로 제거하고, 세포 유래 막만을 분리 (또는 정제)하여, 분리 (또는 정제)된 적혈구 유래 세포막에 초음파 처리를 이용하여 세포막을 더 작은 크기로 쪼갤 수 있다. 상기 적혈구 유래 세포막과 자성 입자를 섞어 압출 또는 초음파 처리 과정을 거쳐 세포막 내부에 자성 입자를 함유하는 자성 먼역 입자를 생성할 수 있다.
- [0055] 또한, 도 1에 나타난 바와 같이, Type 3 방식에 따라, 적혈구 세포에서 분리 (또는 정제)한 세포막을 이용하여 자성 먼역 입자를 형성할 수 있다. 구체적으로, 통상적인 방법 (예컨대, 삼투압 차이 이용, 압출 등)을 통하여 적혈구 세포로부터 세포막을 분리 (또는 정제)하고, 그로부터 얻어진 적혈구 유래 세포막과 자성 입자를 혼합한 후 초음파 처리하여 자성 입자를 상기 적혈구 유래 세포막에 포함시킴으로써, 적혈구 유래 세포막 내부에 자성 입자를 함유하는 자성 먼역 입자를 생성할 수 있다.
- [0056] 상기 자성 먼역 입자에 포함된 상기 자성 입자는 단분산 (monodispersed) 자성 입자인 것일 수 있다.
- [0057] 일 구체예에 따르면, 상기 자성 먼역 입자는, 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 상기 세포막과 상기 자성 입자 (예컨대, 단분산 자성 입자)가 혼합된 혼합물을 압출 및/또는 초음파 처리하여 얻어진 것일 수 있다.
- [0058] 상기 단분산 자성 입자는, 다분산 지수 (Polydispersity index, PDI)가 약 0.17 이하인 것으로, 입자 크기의 균일한 정도가 높은 (또는 균일한) 복수의 자성 입자들을 의미하는 것일 수 있다. 상기 다분산 지수는 입자 크기 (예컨대 직경)의 표준편차를 입자 크기 (예컨대 직경)의 평균으로 나눈 값의 제곱으로 정의되며 0과 1 사이의 값을 의미하고, 0에 가까울수록 (예컨대, 약 0.17 이하) 입자의 크기가 균일한 단분산 입자임을 의미할 수 있다. 또한, 상기 단분산 자성 입자는 약 200 내지 300 nm의 직경을 가지는 것일 수 있다. 상기 단분산 자성 입자는 당업계에 알려진 일반적인 방법으로 제조될 수 있고, 제조 방법에 제한되지 않는 크기가 균일한 (또는 균일한 정도가 높은) (예컨대, 직경 분포가 약 200 내지 300 nm이고, 약 0.17 이하의 다분산 지수를 가지는) 자성 입자(들)이라면, 제한 없이 상기 단분산 자성 입자로서 사용될 수 있다.
- [0059] 구체적으로, 상기 자성 입자는 약 0.17 이하, 약 0.1 이하, 약 0.05 이하, 약 0.03 이하, 약 0.02 이하, 약 0 초과 내지 0.17 이하, 약 0 초과 내지 0.1 이하, 약 0 초과 내지 0.05 이하, 약 0 초과 내지 0.03 이하, 약 0 초과 내지 0.02 이하, 약 0.01 내지 0.03, 또는 약 0.02의 다분산 지수를 가지는 자성 입자(들) (예컨대, 단분산 자성 입자(들))일 수 있다.
- [0060] 일 구체예에 따르면, 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 상기 세포막과 상기 단분산 자성 입자(들)이 혼합된 혼합물을 압출 및/또는 초음파 처리하여 얻어진 자성 먼역 입자의 경우, 다분산 자성 입자 (예컨대, 약 0.17 초과)의 다분산 지수를 가지는 입자의 크기가 불균일한 다분산 자성 입자(들))를 이용하여 제조된 자성 먼역 입자 대비 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 또는 뇌 질환 관련 물질에 대한 포획능 (검출능 또는 제거능)이 더욱 증가될 수 있다.
- [0061] 상기 자성 먼역 입자는, 외막에 적혈구 세포의 세포막 성분 (지질 이중층, 막 단백질, 수용체 등)을 포함하므로, 적혈구 세포와 유사한 기능을 수행할 수 있다. 또한, 상기 자성 먼역 입자는 내부에 함유된 자성 입자에 의하여 자성을 나타내거나 자기장의 영향을 받을 수 있다.
- [0062]
- [0063] 다른 양상은 상기 자성 먼역 입자를 포함하는, 포획 대상 물질을 검출 또는 제거하기 위한 조성물을 제공한다. 상기 포획 대상 물질은 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질로 이루어지는 군으로부터 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다. 상기 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질은 상술한 바와 같다.
- [0064] 또 다른 양상은 상기 자성 먼역 입자를 포함하는 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환의 진단용

조성물을 제공한다.

- [0065] 본 명세서에서 용어 "검출"은 시료 내에 포획 대상 물질이 존재하는지를 결정하거나, 시료 내에 존재하는 포획 대상 물질을 검출하는 것을 포함하는 의미일 수 있다.
- [0066] 본 명세서에서 용어 "제거"는 시료 내 존재하는 포획 대상 물질을 시료로부터 분리하여 제거하는 것을 의미한다.
- [0067] 상기 자성 면역 입자는 상기 포획 대상 물질을 포획할 수 있는 적혈구 유래 세포막을 이용하여, 상기 세포막이 유래된 적혈구 세포의 특성에 의해 상기 포획 대상 물질과 결합하거나 상기 포획 대상 물질을 세포막 내부로 포획할 수 있다. 또한, 상기 포획 대상 물질을 포획한 자성 면역 입자는 자기장 인가에 의하여 자기장 영역으로 수집 또는 농축될 수 있고, 이를 통해, 시료로부터 분리될 수 있다. 이러한 원리에 의해, 상기 자성 면역 입자를 포함하는 조성물은 시료 내 상기 포획 대상 물질을 검출하거나, 시료로부터 상기 포획 대상 물질을 제거하거나, 개체의 질병을 진단 또는 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0068] 종래의 타겟팅 물질 (예: 항체)을 이용하는 자성 면역 입자의 경우, 자성 입자의 표면 또는 내부에 병원성 물질과 결합할 수 있는 타겟팅 물질을 형성시킴으로써 병원성 물질에 결합할 수 있었다. 따라서, 타겟팅하고자 하는 병원성 물질에 대한 특정 항원의 정확한 정보 없이는 병원성 물질을 효과적으로 타겟팅할 수 없고, 동시에 여러 종류의 병원성 물질을 타겟팅하기에 큰 어려움이 있다. 또한 항체를 이용해야 하므로 합성이 매우 까다롭고 비용도 많이 소요되는 문제점이 존재하였다.
- [0069] 그러나, 상기 자성 면역 입자는 생체로부터 분리된 적혈구 세포 또는 이로부터 유래한 세포막을 그대로 사용할 수 있기 때문에, 적혈구 세포 자체의 시스템 및 특성을 이용하여 미지의 다양한 종류의 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 뇌 질환 관련 물질 등)을 한번에 포획할 수 있다는 장점을 가지므로, 다양한 물질의 검출 또는 제거에 유용하게 활용될 수 있다.
- [0070] 상기 조성물은 식수, 음료를 포함하는 다양한 식품, 위생 용품, 환경 시료 등에 극미량으로 존재하는 오염물질 (예컨대, 박테리아류, 진균류, 바이러스류, 기타 미생물, 독소 (예컨대, 내독성 물질 (endotoxin) 등), 오염 화합물 등)을 빠른 속도로 검출 또는 제거할 수 있으므로, 식품, 위생 용품, 환경 시료 등의 안전 평가 등에 사용될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 생체 시료 내에 존재하는 오염물질을 검출 또는 제거할 수 있다.
- [0071] 상기 진단용 조성물은, 상기 자성 면역 입자에 포획된 물질 (예컨대, 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 뇌 질환 관련 물질 등)을 검출함으로써 개체의 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환 등을 진단하는데 사용될 수 있다.
- [0072] 본 명세서에서 용어 "질병의 진단"은 개체가 현재 또는 이전에 특정 질병을 가지는지를 결정하거나, 개체가 특정 질병을 일으킬 수 있는 물질에 감염되었는지를 결정하는 것을 포함하는 의미일 수 있다.
- [0073] 상기 감염성 질병은 전신성 또는 국부성 감염 (예컨대, 병원성 박테리아 또는 바이러스 감염증), 염증, 패혈증, 및 독소에 의한 중독으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한 상술한 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질)에 감염되어 발생하는 질병이라면 제한 없이 포함한다. 구체적으로, 상기 감염성 질병은 말라리아 감염증, 마이코박테리아 결핵증, 폐렴, 식중독, 과상풍, 장티푸스, 디프테리아, 매독, 한센병, 클라미디아 감염증, 천연두, 인플루엔자, 유행성 이하선염, 홍역, 수두, 에볼라, 풍진, 코로나 바이러스 감염증, 스크래피, 광우병, 균혈증, 및 크리츠펠트-야콥병으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 감염성 질병에는, 다른 질병 (예컨대, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등)에 걸린 환자가 추가적으로 걸렸거나 걸릴 수 있는 감염성 질병도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.
- [0074] 상기 염증성 질병은 전신성 염증 반응, 사이토카인 방출 증후군 (예컨대, 사이토카인 폭풍), 아토피 피부염, 엔세팔리티스 (encephalitis), 염증성 장염, 만성 폐쇄성 폐질환, 폐혈병성 쇼크증, 폐섬유증, 미분화 척추관절증, 미분화 관절병증, 관절염, 염증성 골용해, 바이러스 또는 박테리아 감염에 의한 (만성) 염증 질환, 대장염, 염증성 장질환, 타입 1 당뇨병, 류마티스 관절염, 반응성 관절염 (Reactive Arthritis), 골관절염, 건선, 공피증, 골다공증, 아테롬성 동맥경화증, 심근염, 심내막염, 심낭염, 낭성 섬유증, 하시모토 갑상선염, 그라예브스병, 나병, 매독, 라임 질환 (Lyme), 보렐리아증 (Borreliosis), 신경성-보렐리아증, 결핵, 사르코이드증 (Sarcoidosis), 낭창, 원판성 낭창, 동창성 루프스, 루프스 신염, 전신성 홍반성 루프스, 황반변성, 포도막염, 과민대장증후군, 크로씨병, 쇼그렌 증후군, 섬유근통, 만성피로 증후군, 만성피로 면역부전 증후군, 근육통성 뇌척수염, 근위축성 측삭경화증, 파킨슨병, 및 다발경화증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할

수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 염증성 질병에는, 다른 질병 (예컨대, 감염성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등)에 걸린 환자가 추가적으로 걸렸거나 걸릴 수 있는 염증성 질병도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0075] 상기 당뇨에는, 다른 질병 (예컨대, 감염성 질병, 염증성 질병, 암, 뇌 질환 등)에 걸린 환자가 추가적으로 걸렸거나 걸릴 수 있는 당뇨도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0076] 상기 암은 세포가 정상적인 성장 한계를 무시하고 분열 및 성장하는 공격적 (aggressive) 특성, 주위 조직에 침투하는 침투적 (invasive) 특성, 또는 체내의 다른 부위로 퍼지는 전이적 (metastatic) 특성을 갖는 세포에 의한 질병을 총칭한다. 상기 암으로는 고형암 또는 비고형암을 모두 포함할 수 있으며, 예를 들어, 상기 암은 혈액암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 결장암, 폐암, 간암, 뇌암, 식도암, 전립선암, 췌장암, 갑상선암, 대장암, 및 신장암으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 암에는, 다른 질병 (예컨대, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 뇌 질환 등)에 걸린 환자가 추가적으로 걸렸거나 걸릴 수 있는 암도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0077] 상기 뇌 질환은 예컨대, 퇴행성 뇌 질환일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 구체적으로 상기 뇌 질환은 알츠하이머병 또는 파킨슨병 등을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 뇌 질환에는, 다른 질병 (예컨대, 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암 등)에 걸린 환자가 추가적으로 걸렸거나 걸릴 수 있는 뇌 질환도 포함될 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0078] 상기 조성물은 옵소닌을 더 포함할 수 있다. 상기 옵소닌은 MBL (Mannose binding lectin), FCN-1 (Ficolin-1), FCN-2 (Ficolin-2), FCN-3 (Ficolin-3), CL-10 (collectin-10), CL-11 (collectin-11), C3b, C1q (complement component 1q), Immunoglobulins, 항체, C4b, surfactant protein A, surfactant protein D, pentraxins, 및 C-reactive protein으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있으나, 이제 제한되지 않는다.

[0079] 일 구체예에 따르면, 상기 조성물에 포함된 상기 자성 면역 입자는 상기 옵소닌에 의해 상기 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)이 더욱 향상될 수 있다. 특히, 다른 옵소닌과 비교하여, MBL, FCN-1, FCN-2, FCN-3, CL-10, CL-11과 같은 특정한 옵소닌은 상기 자성 면역 입자의 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 더욱 향상시킬 수 있다.

[0080] 상기 조성물은 용제, 용매, 결합제, 활탁제, 분해제, 완충제, 현탁화제, 등장제, 점도 조절제, 담체, 분산제, 윤활제, 부형제, 안정화제, pH 조절제, 보존제 등을 더 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0081] 상기 조성물에서 언급된 용어 또는 요소 중 상기 자성 면역 입자에 대한 설명에서 언급된 것과 같은 것은, 앞에서 상기 자성 면역 입자에 대한 설명에서 언급된 바와 같은 것으로 이해된다.

[0082]

[0083] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자와 시료를 접촉시켜 혼합하는 단계; 및 상기 혼합된 시료에 자기장을 인가하는 단계;를 포함하는, 시료 내에 존재하는 포획 대상 물질을 상기 시료로부터 검출 또는 제거하는 방법을 제공한다. 상기 포획 대상 물질은 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질로 이루어지는 군으로부터 선택된 1종 이상을 포함할 수 있다. 상기 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질은 상술한 바와 같다.

[0084] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자와 개체로부터 분리된 시료를 접촉시켜 혼합하는 단계; 및 상기 혼합된 시료에 자기장을 인가하는 단계;를 포함하는 질병의 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법 (또는 질병을 진단하는 방법)을 제공한다.

[0085] 또 다른 양상은 상기 자성 면역 입자와 개체로부터 분리된 시료 (예컨대, 혈액)를 접촉시켜 혼합하는 단계; 상기 혼합된 시료에 자기장을 인가하여 자성 면역 입자를 상기 시료로부터 제거하는 단계; 및 상기 자성 면역 입자가 제거된 시료를 상기 개체로 다시 주입하는 단계;를 포함하는 개체의 질병을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[0086] 상기 질병은 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환을 포함할 수 있다. 상기 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 또는 뇌 질환은 상술한 바와 같다.

[0087] 상기 방법에 있어서, 상기 시료는 동물 (인간을 포함하거나 포함하지 않음)의 생체로부터 분리된 생물학적 시료 (예컨대, 혈액 (예컨대, 전혈), 혈장, 혈청, 림프액, 뇌척수액 등의 체액, 또는 세포, 또는 조직), 식수 (예컨대,

대, 지하수, 수돗물, 생수, 정수, 약수 등), 각종 식품, 생체에 직접 작용하는 각종 위생 용품, 식기, 주방 용품, 환경 시료 (예컨대, 토양, 해수, 하천수, 등) 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니고, 상기 포획 대상 물질의 검출 및/또는 제거가 필요한 모든 대상일 수 있다. 상기 시료는 그 자체가 유체이거나, 적절한 매질 (예컨대, 정제수, 멸균 버퍼 등)에 현탁된 현탁액 형태일 수 있다.

[0088] 상기 자성 면역 입자와 시료를 접촉시켜 혼합하는 단계는, 체외에서 수행될 수 있으며, 체외에서 상기 자성 면역 입자와 상기 시료를 함께 배양하는 단계를 포함할 수 있다. 이 단계에서는, 상기 자성 면역 입자가 시료 내에 존재하는 상기 포획 대상 물질과 결합 (즉, 포획)하는 것일 수 있다.

[0089] 상기 체외에서 배양하는 단계는 세포 배양에 통상적으로 사용되는 배지, 버퍼액, 식염수, 식수, 생물학적 시료 자체 등을 사용하여 통상적인 조건에서 수행될 수 있다. 예컨대, 약 0 내지 40℃ 또는 약 2 내지 38℃의 온도 조건에서 약 1초 내지 96시간, 약 1초 내지 48시간, 약 1초 내지 24시간, 예컨대, 약 1초 내지 12시간, 약 1초 내지 6시간, 약 1초 내지 120분, 또는 약 1초 내지 60분 동안 배양하는 단계를 포함할 수 있다.

[0090] 또한, 상기 자기장을 인가하는 단계는 체외에서 수행되는 것일 수 있다.

[0091] 상기 방법은, 상기 혼합된 시료에 자기장을 인가하는 단계 이후에, 인가된 자기장 (자기력)을 이용하여 자성 면역 입자를 시료로부터 분리 (또는 제거)하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이 때 분리된 자성 면역 입자는 시료 내의 상기 포획 대상 물질과 결합한 자성 면역 입자 뿐만 아니라 어떠한 물질과도 결합하지 못한 자성 면역 입자를 포함할 수 있다. 이 단계는 체외에서 수행되는 것일 수 있고, 이 단계를 통하여, 시료로부터 상기 포획 대상 물질 및 자성 면역 입자가 제거될 수 있다.

[0092] 상기 질병의 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법 (또는 질병을 진단하는 방법)은, 상기 자성 면역 입자에 결합 또는 포획된 물질을 검출 및/또는 분석하는 단계를 더 포함할 수 있다. 또한, 상기 질병의 진단에 필요한 정보를 제공하는 방법 (또는 질병을 진단하는 방법)은, 상기 검출 및/또는 분석하는 단계에서 얻어진 정보를 통해 시료를 제공한 개체의 질병의 종류를 결정 또는 예측하거나, 상기 결정 또는 예측을 위한 정보를 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다. 예컨대, 상기 자성 면역 입자에 결합 또는 포획된 물질이 상기 병원성 물질인 것으로 분석되고, 그 양이 일정 기준 이상인 것으로 분석되는 경우에는, 시료를 제공한 개체가 상기 감염성 질병에 걸렸거나, 걸릴 가능성이 있음을 결정 또는 예측할 수 있다. 또한, 예컨대, 상기 자성 면역 입자에 결합 또는 포획된 물질이 상기 염증성 사이토카인인 것으로 분석되고, 그 양이 일정 기준 이상인 것으로 분석되는 경우에는, 시료를 제공한 개체가 상기 염증성 질병에 걸렸거나, 걸릴 가능성이 있음을 결정 또는 예측할 수 있다. 또한, 예컨대, 상기 자성 면역 입자에 결합 또는 포획된 물질이 상기 혈중 포도당인 것으로 분석되고, 그 양이 일정 기준 이상인 것으로 분석되는 경우에는, 시료를 제공한 개체가 상기 당뇨병에 걸렸거나, 걸릴 가능성이 있음을 결정 또는 예측할 수 있다. 또한, 예컨대, 상기 자성 면역 입자에 결합 또는 포획된 물질이 상기 암 관련 물질인 것으로 분석되고, 그 양이 일정 기준 이상인 것으로 분석되는 경우에는, 시료를 제공한 개체가 상기 암에 걸렸거나, 걸릴 가능성이 있음을 결정 또는 예측할 수 있다. 또한, 예컨대, 상기 자성 면역 입자에 결합 또는 포획된 물질이 상기 뇌 질환 관련 물질인 것으로 분석되고, 그 양이 일정 기준 이상인 것으로 분석되는 경우에는, 시료를 제공한 개체가 상기 뇌 질환에 걸렸거나, 걸릴 가능성이 있음을 결정 또는 예측할 수 있다.

[0093] 상기 예방 또는 치료 방법은, 상기 혼합된 시료에 자기장을 인가하는 단계 또는 인가된 자기장 (자기력)을 이용하여 자성 면역 입자를 시료로부터 분리 (또는 제거)하는 단계 이후에, 상기 자성 면역 입자가 제거된 시료를 체외에서 다시 시료를 제공하였던 개체의 생체 내로 주입하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이 때 상기 시료로부터 제거된 자성 면역 입자는 시료 내의 상기 포획 대상 물질과 결합한 자성 면역 입자 뿐만 아니라 어떠한 물질과도 결합하지 못한 자성 면역 입자를 포함할 수 있다. 따라서, 상기 개체의 생체 내로 다시 주입되는 시료는, 상기 포획 대상 물질 및 자성 면역 입자가 모두 제거된 것일 수 있다.

[0094] 상기 방법은 상기 시료로부터 분리 (또는 제거)된 자성 면역 입자에 포획된 물질을 분석하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 상기 분석은 상기 포획 대상 물질의 분석에 통상적으로 사용되는 수단, 방식, 또는 장치를 통하여 수행될 수 있다.

[0095] 상기 방법에 있어서, 자성 면역 입자의 측정을 용이하게 하기 위하여, 상기 자성 면역 입자는 검출 가능한 표지 물질로 표지된 세포 (세포막) 및/또는 자성 입자를 사용하여 얻어진 것일 수 있다. 상기 표지 물질은 통상적인 방법으로 검출 가능한 모든 물질 (소분자 화합물 또는 단백질 또는 폴리/올리고 펩타이드 등) 일 수 있으며, 예컨대, 형광 물질, 발광 물질 등으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.

[0096] 상기 방법은, 상기 자기장을 인가하기 전에 읍소닌, 혈액, 및 혈장으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 투

입 또는 주입하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 옥소닌은 MBL (Mannose binding lectin), FCN-1 (Ficolin-1), FCN-2 (Ficolin-2), FCN-3 (Ficolin-3), CL-10 (collectin-10), CL-11 (collectin-11), C3b, C1q (complement component 1q), Immunoglobulins, 항체, C4b, surfactant protein A, surfactant protein D, pentraxins, 및 C-reactive protein으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함할 수 있으나, 이제 제한되지 않는다. 일 구체예에 따르면, 상기 방법에 있어서, 상기 옥소닌의 투입 또는 주입에 의해 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)이 더욱 향상될 수 있다. 특히, 다른 옥소닌과 비교하여, MBL, FCN-1, FCN-2, FCN-3, CL-10, CL-11과 같은 특정한 옥소닌은 상기 자성 면역 입자의 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 더욱 향상시킬 수 있다.

[0097] 상기 혈액 또는 혈장은, 상기 시료를 제공한 개체 또는 다른 개체 (예컨대 타인)로부터 분리된 혈액 또는 혈장일 수 있다. 예컨대, 상기 혈액 또는 혈장은 상기 시료를 제공한 개체가 질병에 걸리기 전 또는 후에 상기 개체로부터 분리된 것이거나, 특정 병원성 물질에 감염되었던 다른 개체 (예컨대 타인)로부터 분리된 것이거나, 특정 병원성 물질에 대한 백신을 접종받은 다른 개체 (예컨대 타인)로부터 분리된 것일 수 있다. 상기 혈액 또는 혈장에는 항체나 옥소닌이 풍부하여 상기 자성 면역 입자의 포획 대상 물질 (예컨대, 병원성 물질)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 더욱 향상시킬 수 있다.

[0098] 상기 방법에 있어서, 상기 옥소닌, 혈액, 및 혈장으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 투입 또는 주입하는 단계는, 자기장을 인가하기 전이라면 어느 단계에서나 수행될 수 있다. 예컨대, 상기 자성 면역 입자와 시료를 접촉시켜 혼합하는 단계 이전에, 자성 면역 입자 또는 시료에 상기 옥소닌, 혈액, 및 혈장으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 더하여 혼합하거나, 상기 자성 면역 입자와 시료를 접촉시켜 혼합하는 단계에서 또는 혼합 후에, 상기 옥소닌, 혈액, 및 혈장으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 추가로 더하여 혼합할 수 있다.

[0099] 상기 개체는 인간 또는 인간을 제외한 동물 (예컨대, 포유류 등)일 수 있다. 상기 방법은 체외에서 자성 면역 입자-기반 혈액 투석 또는 자성 면역 입자-기반 체외혈액순환 (extracorporeal circulation) 방법이 적용되어 수행되는 것일 수 있다.

[0100] 본 명세서의 용어 "예방 (prevention)"은 질병의 발생을 미리 차단하거나, 질병을 억제하거나 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.

[0101] 본 명세서의 용어 "치료 (treatment)"는 치료학적 치료 및 예방적 또는 예방조치 방법 모두를 의미한다. 또한, 질병의 증상이 호전, 완화, 또는 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0102] 상기 방법은, 상기 자성 면역 입자를 포함하는 키트 또는 상기 자성 면역 입자를 이용하는 장치의 형태로 구현될 수 있다. 상기 키트 또는 장치는, 상기 자성 면역 입자-기반 혈액 투석 키트 또는 장치, 또는 상기 자성 면역 입자-기반 체외혈액순환 키트 또는 장치일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 상기 키트 또는 장치는 유체 장치 (예컨대, 미세 유체 소자)의 형태로 구현되거나, 유체 장치 (예컨대, 미세 유체 소자)를 포함할 수 있다.

[0103] 일 구체예에 따르면, 상기 방법은 혈액 투석 키트 또는 장치, 또는 체외혈액순환 키트 또는 장치에 의해 수행되는 것일 수 있다.

[0104] 상기 키트 또는 장치 (예컨대, 혈액 투석 키트 또는 장치, 또는 체외혈액순환 키트 또는 장치)의 모식도를 도 6 및 도 9에 나타내었으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0105] 구체적으로, 상기 키트 또는 장치 (예컨대, 혈액 투석 키트 또는 장치, 또는 체외혈액순환 키트 또는 장치)는 반응부 및 자기장 형성부를 포함할 수 있다.

[0106] 상기 반응부는 상기 자성 면역 입자 및 시료를 접촉시켜 혼합, 배양, 또는 반응시키거나 자성 면역 입자와 시료가 접촉하여 반응이 일어난 반응물이 투입되는 부분을 지칭할 수 있다. 상기 키트 또는 장치에 있어서, 상기 자성 면역 입자는 반응부에 포함되어 있거나, 또는 미리 시료와 반응하여 반응물 형태로 반응부에 적용되거나, 또는 반응부와 구분되어 별도로 구비되는 것일 수 있으며, 적절한 매질 (예컨대 버퍼)에 분산된 분산액 형태로 구비될 수 있다. 상기 반응부에서는, 상기 자성 면역 입자가 시료 내에 존재하는 포획 대상 물질과 결합 (즉, 포획)하는 것일 수 있다.

[0107] 상기 자기장 형성부는 자기장을 형성하는 부분을 지칭할 수 있다. 예컨대, 상기 자기장 형성부는 자석 (예컨대, 전자기 유도에 의한 전자석, 영구자석 등)과 같이 자기장을 인가할 수 있는 수단을 하나 이상 포함할 수 있다. 상기 자기장 형성부는 반응부에 포함되어 있거나, 반응부와 구분되어 별도로 구비되거나, 반응부의 전부 또는

일부에 일체로 구비된 것일 수 있다. 상기 자기장 형성부가 반응부와 구분되어 존재하는 경우, 반응부와 자기장 형성부는 유체가 이동할 수 있는 채널로 연결된 것일 수 있다. 자성 면역 입자에 부착된 자성 입자가 자기장 형성부에 의해 형성된 자기장에 의해 자기장 형성부의 자석쪽으로 이동하게 되면 시료로부터 자성 면역 입자를 분리할 수 있다. 이 때, 상기 분리된 자성 면역 입자는 시료 내의 포획 대상 물질과 결합한 자성 면역 입자 뿐만 아니라 어떠한 물질과도 결합하지 못한 자성 면역 입자를 포함할 수 있다. 따라서, 자기장 형성부에서 시료로부터 포획 대상 물질 및 자성 면역 입자가 모두 제거될 수 있다.

[0108] 상기 일체형이거나 별도로 구비된 반응부 및/또는 자기장 형성부의 형태는 특별한 제한이 없으며, 웰 형태, 플레이트 형태, 채널 형태 등 다양한 형태를 가질 수 있다. 상기 일체형이거나 별도로 구비된 반응부 및/또는 자기장 형성부의 각각의 개수 역시 특별한 제한이 없으며, 각각 하나 이상일 수 있다. 예컨대, 반응부와 자기장 형성부가 별도로 구비된 경우, 하나 이상, 예컨대, 1 내지 10개의 반응부가 1 내지 10개의 자기장 형성부와 연결되거나, 반응부와 자기장 형성부가 일체를 형성하는 경우, 일체의 반응부와 자기장 형성부가 1 내지 10개 구비된 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0109] 상기 키트 또는 장치는, 시료 (혈액 등 유체 상태), 자성 면역 입자 (예컨대 분산액 상태), 그 외 추가 성분 (예컨대 흡소닌, 시료 외의 혈액 또는 혈장 등), 또는 이들의 반응물이 주입되는, 반응부와 연결된 하나 이상의 주입부를 포함할 수 있다. 상기 주입부의 반응부와 연결되지 않은 다른 일측은 개체와 직접 연결되거나, 분리된 시료와 연결될 수 있고, 그로 인해 상기 주입부를 통해, 시료가 주입될 수 있다. 또한, 상기 주입부의 반응부와 연결되지 않은 다른 일측을 통해 자성 면역 입자가 주입될 수 있다. 더하여, 상기 주입부의 반응부와 연결되지 않은 다른 일측을 통해 흡소닌, 시료 외의 혈액 또는 혈장 등의 추가 성분이 주입될 수 있다. 상기 주입부는 하나 이상의 펌프를 포함하거나 하나 이상의 펌프와 연결될 수 있다. 상기 펌프에 의해 상기 주입부를 통해, 상기 시료, 자성 면역 입자, 그 외 추가 성분, 및 이들의 반응물 중 선택된 하나 이상이 상기 반응부로 주입되는 것일 수 있다.

[0110] 상기 키트 또는 장치는, 상기 자기장 형성부와 연결된, 자기장에 의하여 포획된 자성 면역 입자를 배출하는 하나 이상의 배출부를 추가로 포함할 수 있다. 이 때, 상기 배출부를 통해 배출되는 시료로부터 분리된 자성 면역 입자는 시료 내의 포획 대상 물질과 결합한 자성 면역 입자 뿐만 아니라 어떠한 물질과도 결합하지 못한 자성 면역 입자를 포함할 수 있다. 상기 배출부는 배출된 자성 면역 입자가 포획한 물질을 검출할 수 있는 검출 수단을 포함하는 검출부를 추가로 구비할 수 있다.

[0111] 상기 키트 또는 장치에 있어서, 상기 자기장 형성부에서는 자성 면역 입자가 자기장에 의하여 시료로부터 분리되어 따로 수집 또는 농축될 수 있다. 상기 자성 면역 입자는 포획 대상 물질을 포획하였거나 포획하지 않은 모든 자성 면역 입자를 포함할 수 있다. 이 경우, 상기 자성 면역 입자는 배출되지 않고, 상기 자기장 형성부 내에서 또는 상기 자기장 형성부와 연결된 포집부에서 여과, 수집, 농축, 또는 제거될 수 있다.

[0112] 상기 키트 또는 장치는 시료 배출부를 더 포함할 수 있다.

[0113] 상기 시료 배출부는 시료에 자기장을 인가하여 분리된 시료가 배출되는 부분을 지칭할 수 있다. 상기 시료 배출부는 1개 이상일 수 있다. 유체의 흐름이 있는 상태에서 자기장 인가에 의해 한 곳으로 이동하여 분리된 시료, 예컨대 자성 면역 입자가 제거된 시료가 상기 시료 배출부를 통해 배출되어 따로 농축 또는 분리될 수 있다. 상기 자성 면역 입자는 포획 대상 물질을 포획하였거나 포획하지 않은 모든 자성 면역 입자를 포함할 수 있다. 따라서, 상기 시료 배출부를 통해 배출된 시료는 포획 대상 물질 및 자성 면역 입자 모두가 제거된 것일 수 있다.

[0114] 상기 키트 또는 장치에 있어서, 상기 시료 배출부는 상기 주입부와 연결되거나, 개체와 연결될 수 있다. 따라서, 상기 시료 배출부를 통해 배출된, 자성 면역 입자가 제거된 시료를 다시 상기 주입부를 통해 주입하여 시료 내 포획 대상 물질을 제거하는 과정을 반복하여 완전히 제거되지 않은 포획 대상 물질을 보다 더 효과적으로 제거할 수 있다. 또한, 상기 시료 배출부를 통해 배출된, 자성 면역 입자가 제거된 시료를 다시 개체에 주입할 수 있다. 상기 자성 면역 입자는 포획 대상 물질을 포획하였거나 포획하지 않은 모든 자성 면역 입자를 포함할 수 있다. 따라서, 상기 개체에 다시 주입되는 시료는 포획 대상 물질 및 자성 면역 입자 모두가 제거된 것일 수 있다.

[0115] 또 다른 양상은 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막과 자성 입자를 혼합하는 단계; 및 상기 혼합하는 단계에서 얻어진 혼합물을 압출 및/또는 초음파 처리하는 단계;를 포함하는 자성 면역 입자를 제조하는 방법을 제공한다.

[0116] 상기 자성 입자는 단분산 자성 입자일 수 있다. 상기 단분산 자성 입자는 다분산 지수가 약 0.17 이하일 수 있

다.

- [0117] 상기 세포막, 상기 자성 입자, 상기 자성 면역 입자, 상기 단분산 자성 입자, 상기 다분산 지수, 및 상기 자성 면역 입자를 제조하는 방법은 상술한 바와 같다.
- [0118] 상기 적혈구로부터 세포막을 분리하는 방법은 특별히 제한되지 않으며, 당업계에 공지된 일반적인 방법에 의해 수행될 수 있다. 예컨대, 적혈구를 포함하는 용액을 저삼투압 처리함으로써 (추가로 저삼투압 처리 후 원심분리를 수행할 수 있다), 적혈구로부터 분리된 세포막을 수득할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 적혈구로부터 분리된 세포막에 대하여 약 10 내지 30 kHz 및 약 100 내지 200 W의 초음파를 약 1 내지 30분 동안 처리하는 과정을 더 수행할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0119] 상기 혼합은 상기 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막을 포함하는 용액 (예컨대, 현탁액)과 상기 자성 입자를 포함하는 용액 (예컨대, 현탁액)을 혼합하는 것일 수 있다. 따라서, 상기 혼합물은 상기 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막, 및 상기 자성 입자를 포함하는 용액 (예컨대, 현탁액)일 수 있다.
- [0120] 상기 혼합물을 압출하는 것은, 예컨대, 약 0.05 내지 1 μm 의 포어 (pore) 사이즈를 가지는 한 개 또는 한 개 이상의 필터에 상기 혼합물을 압력을 가하면서 통과시킴으로써 수행될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니고, 상기 압출은 당업계에 일반적으로 알려진 압출기 (extruder), 압출 장비, 압출 키트 등에 의해 수행될 수 있다.
- [0121] 상기 혼합물을 초음파 처리하는 것은, 당업계에 일반적으로 알려진 방법 및 조건에 의해 수행될 수 있고, 상기 혼합물에 대하여 압출을 수행하지 않고 초음파 처리하는 것만으로도 상기 혼합물 내에 존재하는 상기 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막과 상기 자성 입자가 결합 또는 부착되거나, 상기 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막 내에 상기 자성 입자가 함입될 수 있다.
- [0122] 상기 혼합물을 압출하거나 초음파 처리하는 것은, 선택적으로 어느 하나만 수행되거나 상기 두 공정 모두 수행될 수 있으며, 상기 두 공정이 모두 수행되는 경우, 상기 두 공정은 동시에, 또는 순서에 제한없이 순차적으로 수행될 수 있다.
- [0123] 상기 혼합물을 압출 및/또는 초음파 처리하는 단계를 통해 상기 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막과, 한 개 또는 한 개 이상의 상기 자성 입자가 결합 또는 부착되거나, 상기 적혈구 또는 적혈구로부터 분리된 세포막 내에 한 개 또는 한 개 이상의 상기 자성 입자가 함입된 상기 자성 면역 입자가 수득되는 것일 수 있다.
- [0124] 상기 방법, 키트, 및 장치에서 언급된 용어 또는 요소 중 상기 자성 면역 입자 및 조성물에 대한 설명에서 언급된 것과 같은 것은, 앞에서 상기 자성 면역 입자 및 조성물에 대한 설명에서 언급된 바와 같은 것으로 이해된다.

발명의 효과

- [0125] 일 양상에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자는, 적혈구 유래의 세포막을 포함하므로 생체 내 부작용을 최소화할 수 있고, 상기 세포막이 유래된 적혈구의 특성에 의해 다양한 종류의 물질 (예컨대, 병원성 물질, 염증성 사이토카인, 혈중 포도당, 암 관련 물질, 및 뇌 질환 관련 물질 등)을 시료로부터 우수한 효율로 검출 및 제거할 수 있다. 또한, 상기 자성 면역 입자는 자성 입자를 포함하므로, 자기장을 인가함으로써 자성 면역 입자를 간단하게 분리해낼 수 있어, 상기 다양한 종류의 물질을 더욱 효과적으로 검출하고 제거할 수 있으며, 상기 자성 면역 입자를 치료에 사용하는 경우, 체내로의 자성 면역 입자의 주입 가능성을 최소화할 수 있어, 생체 내 부작용을 현저히 감소시킬 수 있다. 이로 인해, 상기 자성 면역 입자는 감염성 질병, 염증성 질병, 당뇨, 암, 뇌 질환 등의 다양한 종류의 질병을 진단, 예방, 또는 치료하는데 유용하게 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0126] 도 1은 일 실시예에 따른 자성 면역 입자의 생성 방법을 나타낸 모식도이다.
- 도 2는 일 실시예에 따라 생성된 자성 면역 입자를 나타낸 투과현미경사진 (TEM)이다. 좌측은 일 실시예에서 사용한 자성 입자를 나타내고, 우측은 일 실시예에 따라 생성된 자성 면역 입자를 나타낸다.
- 도 3은 일 실시예에 따른 자성 면역 입자의 병원성 박테리아 (A: MRSA 및 B: ESBL(+) *E.coli*)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 나타낸 도이다 (HL60(N): 호중구 유래 자성 면역 입자; U937(M): 대식세포 유래 자성 면역 입자; hHSEC: 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자; hRBC-MNVs: 적혈구 유래 자성 면역 입자).
- 도 4는 일 실시예에 따른 자성 면역 입자의 바이러스 (A: CMV 및 B: RSV)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을

나타낸 도이다 (HL60(N): 호중구 유래 자성 면역 입자; U937(M): 대식세포 유래 자성 면역 입자; hHSEC: 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자; hRBC-MNVs: 적혈구 유래 자성 면역 입자).

도 5는 일 실시예에 따른 자성 면역 입자의 바이러스 유래 항원 단백질 (A: ZIKV E Protein 및 B: SARS-CoV-2 S Protein)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 나타낸 도이다 (HL60(N): 호중구 유래 자성 면역 입자; U937(M): 대식세포 유래 자성 면역 입자; hHSEC: 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자; hRBC-MNVs: 적혈구 유래 자성 면역 입자).

도 6은 일 실시예에 따른 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 개략적으로 나타낸 모식도이다.

도 7은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 통해 시료 내 존재하는 항생제 내성 및 감수성 박테리아 (MRSA, VISA, *S. aureus*, ESBL(+), *E. coli*, Carbapenem-resistant *E. coli*, *E. coli*)를 제거한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 8은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 통해 시료 내 존재하는 내독소 (LPS)를 제거한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 9는 일 실시예에 따른 동물 모델에 연결된 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 개략적으로 나타낸 모식도이다.

도 10은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 통해 병원성 박테리아 감염 동물의 생체내 (in vivo) 혈액에 존재하는 병원성 물질을 제거한 결과를 나타내는 그래프이다 (A: MRSA 감염 동물의 생체내 혈액에 존재하는 MRSA 제거 수준; B: Carbapenem-resistant *E. coli* 감염 동물의 생체내 혈액에 존재하는 Carbapenem-resistant *E. coli* 제거 수준; C: Carbapenem-resistant *E. coli* 감염 동물의 생체내 혈액에 존재하는 내독소 (LPS) 제거 수준).

도 11은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 통해 병원성 박테리아 감염 동물의 생체내 (in vivo) 혈액에 존재하는 병원성 물질을 제거한 결과 상기 감염 동물의 생존율을 나타내는 그래프이다 (A: MRSA 감염 동물의 생존율; B: Carbapenem-resistant *E. coli* 감염 동물의 생존율).

도 12는 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 통해 시료 내 존재하는 인터루킨 6 (Interleukin 6: IL-6)을 제거한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 13은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 통해 병원성 박테리아 감염 동물의 생체내 (in vivo) 혈액에 존재하는 전염증성 사이토카인을 제거한 결과를 나타내는 그래프이다 (A: MRSA 감염 동물의 생체내 혈액에 존재하는 전염증성 사이토카인 제거 수준; B: Carbapenem-resistant *E. coli* 감염 동물의 생체내 혈액에 존재하는 전염증성 사이토카인 제거 수준).

도 14는 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자의 혈액 시료 내 혈당에 대한 포획능 (검출 또는 제거능) (A) 및 고 혈당 혈액 시료 내 병원성 박테리아에 대한 포획능 (검출 또는 제거능) (B)을 나타낸 도이다.

도 15는 일 실시예에 따른 세포막 표면 분자 (CR1 및/또는 GYPA)가 불활성화된 적혈구 유래 자성 면역 입자의 각종 병원체에 대한 포획능 (검출 또는 제거능) 감소 양상을 나타낸 도이다 (RBC-MNVs: 적혈구 유래 자성 면역 입자; CR1 blocked RBC-MNVs: CR1이 불활성화된 적혈구 유래 자성 면역 입자; GYPA blocked RBC-MNVs: GYPA가 불활성화된 적혈구 유래 자성 면역 입자; GYPA&CR1 blocked RBC-MNVs: GYPA 및 CR1이 불활성화된 적혈구 유래 자성 면역 입자; MNPs: 세포막 표면을 포함하지 않는 자성 입자).

도 16은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자를 병원성 물질을 포함하는 시료에 흡소닌과 함께 주입한 경우에 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 병원성 물질에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 분석한 결과를 나타낸 도이다 (A: 적혈구 유래 자성 면역 입자를 병원성 박테리아를 포함하는 TBS 버퍼에 흡소닌과 함께 주입; B: 적혈구 유래 자성 면역 입자를 바이러스 또는 바이러스 유래 항원 단백질을 포함하는 TBS 버퍼에 흡소닌과 함께 주입; C: 적혈구 유래 자성 면역 입자를 병원성 박테리아를 포함하는 혈액 시료에 흡소닌과 함께 주입).

도 17은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자의 인간 혈장 및 혈액 샘플에 존재하는 암 관련 물질 (암 세포주 유래 세포막 소포체)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 나타낸 도이다.

도 18은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자의 암 관련 물질 (종양세포 유래 핵산)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 나타낸 도이다 (A: 적혈구 유래 자성 면역 입자의 정상세포 유래 핵산 및 종양세포 유래 핵산에 대한 포획능 (검출 또는 제거능); B: 인간 적혈구 유래 자성 면역 입자와 마우스 적혈구 유래 자성 면역

입자의 종양세포 유래 핵산에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)).

도 19는 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자에 의해 포획된 정상세포 유래 핵산과 종양세포 유래 핵산의 용출 용액에 의한 회수율 (A) 및 상기 회수된 핵산의 순도 (B)를 나타낸 그래프이다.

도 20은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자의 뇌 질환 (알츠하이머) 관련 물질 (아밀로이드 베타 42)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 나타낸 도이다.

도 21은 일 실시예에 따른 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 통해 시료 내 존재하는 뇌 질환 (알츠하이머) 관련 물질 (A: 타우 단백질; B: 아밀로이드 베타 40; C: 아밀로이드 베타 42)을 제거한 결과를 나타내는 그래프이다.

도 22는 일 실시예에 따른 단분산 자성 입자 및 다분산 자성 입자의 직경을 나타내는 그래프이다.

도 23은 일 실시예에 따른 단분산 자성 면역 입자 및 다분산 자성 면역 입자의 암 관련 물질 (A: 순환종양세포 유래 핵산; B: 암 세포주 유래 세포막 소포체)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 나타낸 도이다.

도 24는 일 실시예에 따른 단분산 자성 면역 입자 및 다분산 자성 면역 입자의 뇌 질환 (알츠하이머) 관련 물질 (아밀로이드 베타 40, 아밀로이드 베타 42, 타우 단백질)에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)을 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0127] 이하에서는 실시예 및 실험예를 들어 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하고자 하나, 이는 예시적인 것에 불과할 뿐 본 발명의 범위를 제한하고자 함이 아니다. 아래 기재된 실시예 및 실험예들은 발명의 본질적인 요지를 벗어나지 않는 범위에서 변형될 수 있음은 당 업자들에게 있어 자명하다.

[0128]

[0129]

실시예 1. 적혈구 유래 자성 면역 입자의 준비

[0130]

인간 생체 내의 혈액중의 인간 적혈구 모델로 자성 면역 입자를 제작하였다. 적혈구 세포는 적십자 (적십자, South Korea)와 자발적 참여의사를 갖는 기증자의 혈액 (UNISTIRB-20-44-A)을 통해 분양 받았다. 적혈구 세포는 PBS (pH 7.2, Biosesang, South Korea)와 Distilled water (Biosesang, South Korea)의 약 25% v/v의 혼합액 약 1 mL에 약 10^6 개가 되도록 집중하여, 1시간 동안 4℃에서 저삼투압 처리 후 5분간 4℃에서 원심분리 (Centrifuge 5424R, Eppendorf, Germany) 한 후 $1\times$ PBS에 준비되었다. 또한, 저삼투압처리로 분리 (정제)된 세포막은 4℃, 20 kHz, 150 W로 약 10분간 초음파 처리 (Q700 Ultra-Sonicator, Qsonica, USA)하여 세포막을 더 작은 단위로 쪼개는 과정을 실시하였다. 그 후, 초음파 처리된 적혈구 유래 세포막은 Avanti mini extruder (Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, USA)에서 1 μ m, 0.4 μ m, 및 0.2 μ m pore size track-etched membrane filter를 이용하여 자성 입자와 압출하여, 자성 면역 입자를 준비하였다. 구체적으로, 도 1에 나타낸 타입 2 방식과 같이, 상기 준비된 세포막과 자성 입자 (약 0.5 mg/mL)를 혼합하고 압출하여, 상기 세포막 내부에 상기 자성 입자를 함입시킨 자성 면역 입자를 준비하였다. 자성 입자로는 표면에 카르복시산이 개질된 평균 입경 약 100 내지 300 nm (구체적으로는, 약 200 nm)의 산화철 자성 입자 (Carboxyl-Ademtech, France)를 사용하였다.

[0131]

그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이, 투과현미경사진 (TEM) 촬영을 통해, 자성 입자가 적혈구 유래 세포막에 함입된, 평균 직경 약 150 내지 350 nm (구체적으로는, 약 250 nm)의 자성 면역 입자 (도 2의 우측)가 생성된 것을 확인하였다.

[0132]

[0133]

실험예 1. 병원성 물질에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능) 평가

[0134]

상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자가 혈액 내에 존재하는 병원체 등을 포함하는 각종 병원성 물질을 포획 (검출 또는 제거)할 수 있는지 확인하기 위하여, 인간 혈액 샘플에 병원성 물질을 임의로 접종하고 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자를 주입한 후 자기장을 가해 상기 혈액 샘플내에서의 상기 병원성 물질의 농도 변화를 측정하였다.

[0135]

[0136]

1.1. 병원성 박테리아에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능) 평가

- [0137] 병원성 박테리아에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능)을 평가하였다.
- [0138] 구체적으로, 항응고 처리된 인간 혈액 (적십자, South Korea) 샘플 약 1 mL에 그람 양성 박테리아인 MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) 또는 그람 음성 박테리아인 ESBL(+) *E.coli* (Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing *Escherichia coli*)를, 약 10^4 CFU/mL 농도가 되도록 접종하고 약 37℃에서 약 10분 동안 배양하였다. 배양이 끝난 혈액 샘플에 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자를 주입하여, 상기 자성 면역 입자의 농도가 최종적으로 약 100 내지 200 $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 하였다. 그 후, 약 37℃에서 약 20분의 반응을 거친 후, 자석을 이용하여 혈액 샘플 내의 자성 면역 입자를 특정 위치에 고정하여 자성 면역 입자가 상층액에 포함되지 않도록 한 후, 상층액을 채취하여 상층액 내의 박테리아의 CFU (colony forming unit)를 확인하였다. 구체적으로, 상기 상층액 (약 100 μL)을 약 900 μL 의 생리 식염수에 희석하여 미생물 분석기 (EDDY JET2, IUL micro, USA)를 이용하여 LB agar 배지에 도말하고, 약 37℃에서 약 24시간 동안 배양한 후, 미생물 콜로니 카운터 (Sphereflash colony counter and zone reader, IUL micro, USA)를 이용하여 LB agar 배지상에 생성된 박테리아의 CFU를 측정하였다. 상술한 바와 동일한 방법으로 혈액 샘플에 상기 박테리아를 접종하여 배양한 시료로서, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자는 주입되지 않은 시료를 대조군으로 사용하였다. 상기 대조군에서 측정된 박테리아의 CFU 값을 기준으로 상기 실험군에서 측정된 박테리아의 CFU 값의 감소 수준을 백분율 (%)로 계산하여, 상기 박테리아에 대한 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획율 (또는 제거율, %)을 평가하였다. 또한, 실시예 1의 방법과 동일한 방법으로 제조된, 호중구 (HL60) 유래 세포막을 이용하는 호중구 유래 자성 면역 입자; 대식세포 (U937) 유래 세포막을 이용하는 대식세포 유래 자성 면역 입자; 및 인간 간 내피세포 (hHSEC) 유래 세포막을 이용하는 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자를 비교군으로 사용하였다.
- [0139] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자는 혈액 샘플 내 병원성 박테리아를 포획하여 검출 또는 제거할 수 있음을 확인하였고, MRSA 및 ESBL(+) *E.coli*와 같은 항생제 내성을 가지는 박테리아에 대해서도 현저히 우수한 포획율 (약 60 내지 90 %)을 나타냄을 확인하였다. 특히, 상기 호중구 유래 자성 면역 입자, 상기 대식세포 유래 자성 면역 입자, 및 상기 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자와 비교하여, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자는 MRSA 및 ESBL(+) *E.coli*와 같은 병원성 박테리아에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)이 더욱 우수함을 확인하였다.
- [0140]
- [0141] **1.2. 바이러스에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능) 평가**
- [0142] 바이러스에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능)을 평가하였다.
- [0143] 구체적으로, 항응고 처리된 인간 혈액 (적십자, South Korea) 샘플 약 1 mL에 CMV (cytomegalovirus) 또는 RSV (respiratory syncytial virus)를, 약 10^4 PFU/mL 농도가 되도록 접종하고 약 37℃에서 약 10분 동안 배양하였다. 배양이 끝난 혈액 샘플에 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자를 주입하여, 상기 자성 면역 입자의 농도가 최종적으로 약 200 $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 하였다. 그 후, 약 37℃에서 약 20분의 반응을 거친 후, 자석을 이용하여 혈액 샘플 내의 자성 면역 입자를 특정 위치에 고정하여 자성 면역 입자가 상층액에 포함되지 않도록 한 후, 상층액을 채취하여 상층액 내의 바이러스의 RNA 양을 측정하였다. QIAmp viral RNA mini kit (QIAGEN, Germany)를 이용하여 상층액 내에 존재하는 바이러스로부터 핵산을 추출하였고, SYBR PCR master mix (Toyobo, Japan)와 Real time PCR (CFX connect, BIO-RAD, USA)을 이용하여 추출된 핵산을 증폭하여 RNA 양을 측정하였다. 상술한 바와 동일한 방법으로 혈액 샘플에 상기 바이러스를 접종하여 배양한 시료로서, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자는 주입되지 않은 시료를 대조군으로 사용하였다. 상기 대조군에서 측정된 바이러스의 RNA 양을 기준으로 상기 실험군에서 측정된 바이러스의 RNA 양의 감소 수준을 백분율 (%)로 계산하여, 상기 바이러스에 대한 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획율 (또는 제거율, %)을 평가하였다. 또한, 실시예 1의 방법과 동일한 방법으로 제조된, 호중구 (HL60) 유래 세포막을 이용하는 호중구 유래 자성 면역 입자; 대식세포 (U937) 유래 세포막을 이용하는 대식세포 유래 자성 면역 입자; 및 인간 간 내피세포 (hHSEC) 유래 세포막을 이용하는 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자를 비교군으로 사용하였다.
- [0144] 그 결과, 도 4에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자는 혈액 샘플 내 병원성 바이러스를 포획하여 검출 또는 제거할 수 있음을 확인하였다 (포획율: 약 60 내지 80%). 특히, 상기 호중구 유래 자성 면역 입자, 상기 대식세포 유래 자성 면역 입자, 및 상기 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자와 비교하여, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자는 CMV 및 RSV와 같은 병원성 바이러스에 대한 포획능 (검출 또

는 제거능)이 더욱 우수함을 확인하였다.

1.3. 바이러스 유래 항원에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능) 평가

바이러스 유래 항원에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능)을 평가하였다.

구체적으로, 항응고 처리된 인간 혈액 (적십자, South Korea) 샘플 약 1 mL에, ZIKV (Zika virus) Envelope Protein (ZIKV E Protein) 또는 SARS-CoV-2 Spike Protein (SARS-CoV-2 S Protein)을 약 1 µg/mL의 농도로 접종하고, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자를 약 200 µg/mL의 농도가 되도록 주입하였다. 그 후, 자석을 이용하여 혈액 샘플 내의 자성 면역 입자를 특정 위치에 고정하여 자성 면역 입자가 상층액에 포함되지 않도록 한 후, 상층액을 채취하여 상층액 내의 상기 바이러스 유래 항원의 농도를 측정하였다. 상기 바이러스 유래 항원의 농도는 효소결합면역흡착검사법 (ELISA)으로 측정하였으며, 측정을 위해 Zika virus (strain Zika SPH2015) Envelope Protein (ZIKV-E) ELISA Kit(Sinobio, China) 또는 SARS-CoV-2 Spike protein ELISA kit (ab274342, abcam, USA)를 사용하였다. 상기 자성 면역 입자를 주입하기 전의 혈액 샘플 내 바이러스 유래 항원 농도를 기준으로, 상기 상층액에서 측정된 바이러스 유래 항원 농도의 감소 수준을 백분율 (%)로 계산하여, 상기 바이러스 유래 항원에 대한 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획율 (또는 제거율, %)을 평가하였다. 또한, 실시예 1의 방법과 동일한 방법으로 제조된, 호중구 (HL60) 유래 세포막을 이용하는 호중구 유래 자성 면역 입자; 대식세포 (U937) 유래 세포막을 이용하는 대식세포 유래 자성 면역 입자; 및 인간 간 내피세포 (hHSEC) 유래 세포막을 이용하는 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자를 비교군으로 사용하였다.

그 결과, 도 5에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자는 혈액 샘플 내 바이러스 유래 항원 단백질을 포획하여 검출 또는 제거할 수 있음을 확인하였다 (포획율: 약 50 내지 70%). 특히, 상기 호중구 유래 자성 면역 입자, 상기 대식세포 유래 자성 면역 입자, 및 상기 인간 간 내피세포 유래 자성 면역 입자와 비교하여, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자는 ZIKV E Protein 및 SARS-CoV-2 S Protein과 같은 바이러스 유래 항원 단백질에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)이 더욱 우수함을 확인하였다.

1.4. 분변 미생물군 이식 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT)에 사용되는 분변 샘플에서 발견된 137 종의 박테리아에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능) 평가

상기 실험에 1.1과 동일한 방법으로, 분변 미생물군 이식 (Fecal Microbiota Transplantation: FMT)에 사용되는 분변 샘플에서 발견된 137 종 (표 1 참고)의 박테리아에 대한, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능)을 평가하였고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

박테리아	제거율 (%)	박테리아	제거율 (%)
<i>Fusobacterium perfoetens</i>	99.99014	<i>Blautia argi</i>	99.76875
<i>Anaerobiospirillum succiniciproducens</i>	100	<i>Blautia obeum</i>	99.99168
<i>Phocaeicola plebeius</i>	99.98403	<i>Anaerotignum faecicola</i>	99.99667
<i>Mediterranea massiliensis</i>	99.97913	<i>Flavonifractor plautii</i>	99.97116
<i>Fusobacterium mortiferum</i>	99.95149	<i>Collinsella intestinalis</i>	99.81064
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	99.96941	<i>Bacteroides cellulosilyticus</i>	98.33818
<i>Mucispirillum schaedleri</i>	99.99316	<i>Allobaculum stercoricanis</i>	99.93248
<i>Phocaeicola coprophilus</i>	99.99233	<i>Fournierella massiliensis</i>	99.96307
<i>Brachyspira hampsonii</i>	100	<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	99.73614
<i>Bacteroides uniformis</i>	99.9847	<i>Hungatella xylanolytica</i>	99.98594
<i>Phocaeicola coprocola</i>	99.9615	<i>Ruminococcus lactaris</i>	99.94898
<i>Phocaeicola vulgatus</i>	99.97373	<i>Other</i>	99.97268
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	100	<i>Catenibacterium mitsuokai</i>	97.99739
<i>Sutterella massiliensis</i>	99.8365	<i>Clostridium methylpentosum</i>	99.96376
<i>Lachnospira eligens</i>	99.97393	<i>Flintibacter butyricus</i>	99.98363
<i>Lachnoclostridium pacaense</i>	99.98789	<i>Peptostreptococcus canis</i>	99.96395

<i>Corynebacterium lowii</i>	100	<i>Pasteurella stomatis</i>	100
<i>Prevotella stercorea</i>	99.9932	<i>Mediterraneibacter glycyrrhizinilyticus</i>	99.92791
<i>Blautia marasmi</i>	99.94649	<i>Helicobacter winthamensis</i>	100
<i>Peptacetobacter hiranonis</i>	99.84061	<i>Holdemanella bififormis</i>	98.94652
<i>Lachnospira pectinoschiza</i>	99.98531	<i>Bacteroides caccae</i>	99.98326
<i>Kineothrix alysoides</i>	99.96107	<i>Dialister invisus</i>	99.98326
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	99.97833	<i>Enterococcus gallinarum</i>	100
<i>Lactobacillus rogosae</i>	99.9878	<i>Blautia schinkii</i>	98.73838
<i>Eubacterium rectale</i>	99.97145	<i>Blautia wexlerae</i>	100
<i>Paraprevotella clara</i>	99.9821	<i>Pseudoflavonifractor phocaeensis</i>	100
<i>Ruminococcus gnavus</i>	99.93576	<i>Desulfovibrio simplex</i>	100
<i>Roseburia intestinalis</i>	99.97928	<i>Schaalia canis</i>	99.96615
<i>Pseudomonas matsuisoli</i>	99.98258	<i>Amedibacillus dolichus</i>	99.96264
<i>Corynebacterium confusum</i>	100	<i>Turicibacter sanguinis</i>	99.76724
<i>Megamonas funiformis</i>	98.34063	<i>Enterococcus faecalis</i>	100
<i>Bacteroides stercoris</i>	99.98891	<i>Monoglobus pectinilyticus</i>	99.95674
<i>Helicobacter canicola</i>	100	<i>Agathobaculum butyriciproducens</i>	99.96692
<i>Winkia neuui</i>	100	<i>Staphylococcus simulans</i>	100
<i>Aerococcus vaginalis</i>	100	<i>Enterococcus dispar</i>	100
<i>Roseburia inulinivorans</i>	99.98123	<i>Blautia luti</i>	100
<i>Porphyromonas cangingivalis</i>	99.86023	<i>Hespellia porcina</i>	100
<i>Bacteroides korensis</i>	99.98575	<i>Helicobacter bilis</i>	100
<i>Roseburia hominis</i>	99.99708	<i>Prevotella copri</i>	46.55614
<i>Sutterella stercoricanis</i>	99.99581	<i>Caproiciproducens galactitolivorans</i>	99.90683
<i>Gemmiger formicilis</i>	99.97684	<i>Romboutsia sedimentorum</i>	99.9634
<i>Alistipes putredinis</i>	99.98396	<i>Dorea formicigenerans</i>	100
<i>Parabacteroides merdae</i>	99.98566	<i>Klebsiella variicola</i>	100
<i>Blautia faecis</i>	99.96416	<i>Tyzzereella nexilis</i>	99.66837
<i>Eubacterium ventriosum</i>	99.99581	<i>Holdemania massiliensis</i>	99.98198
<i>Butyricicoccus pullicaecorum</i>	99.964	<i>Candidatus Pelagibacter ubique</i>	100
<i>Faecalimonas umbilicata</i>	99.93603	<i>Bifidobacterium catenulatum</i>	99.93315
<i>Escherichia fergusonii</i>	99.96595	<i>Campylobacter showae</i>	99.97247
<i>Staphylococcus felis</i>	100	<i>Erysipelatoclostridium ramosum</i>	99.98034
<i>Roseburia faecis</i>	99.9843	<i>Clostridium tertium</i>	99.9827
<i>Bacteroides pyogenes</i>	99.93792	<i>Peptococcus niger</i>	99.9243
<i>Helicobacter canis</i>	100	<i>Buchananella hordeovulneris</i>	100
<i>Bacteroides fragilis</i>	99.95284	<i>Eubacterium coprostanoligenes</i>	99.8517
<i>Parabacteroides distasonis</i>	99.98583	<i>Clostridium paraputrificum</i>	100
<i>Helicobacter cinaedi</i>	100	<i>Eubacterium ramulus</i>	100
<i>Staphylococcus intermedius</i>	100	<i>Dorea longicatena</i>	100
<i>Anaerostipes hadrus</i>	99.9976	<i>Demequina aestuarii</i>	100
<i>Phascolarctobacterium succinatutens</i>	100	<i>Streptococcus canis</i>	100
<i>Fusicatenibacter saccharivorans</i>	99.98648	<i>Lachnospira multipara</i>	100
<i>Clostridium spiroforme</i>	99.98289	<i>Anaerobium acetethylicum</i>	100
<i>Alistipes shahii</i>	99.95674	<i>Anaerobutyricum hallii</i>	100
<i>Frederiksenia canicola</i>	100	<i>Coproccoccus catus</i>	100
<i>Enterocloster clostridioformis</i>	100	<i>Nitrososphaera viennensis</i>	100
<i>Bacteroides xylanisolvens</i>	99.92538	<i>Paludibacter propionigenes</i>	100
<i>Longibaculum muris</i>	100	<i>Synechococcus rubescens</i>	100

<i>Oscillibacter ruminantium</i>	99.98621	<i>Dietzia maris</i>	100
<i>Corynebacterium auriscanis</i>	100	<i>Campylobacter upsaliensis</i>	100
<i>Agathobaculum desmolanis</i>	100	<i>Escherichia marmotae</i>	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100		

[0154] 그 결과, 표 1에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자는 다양한 종류의 박테리아에 대하여 현저히 우수한 포획능 (검출 또는 제거능)을 가지는 바, 박테리아 포획 (검출 또는 제거)에 있어서 상당히 넓은 스펙트럼을 가짐을 확인하였다.

[0155]

[0156] **실험예 2. 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 이용한 체외에서의 혈액 샘플 내 병원성 물질의 제거 확인**

[0157] 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 이용하여, 체외에서 혈액 샘플 내 존재하는 병원체 및 내독소와 같은 병원성 물질을 제거하였다. 구체적으로, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치는, 도 6에 나타난 바와 같이, 병원성 물질로 오염된 혈액과 적혈구 유래 자성 면역 입자가 주입되는 주입부 (시료 주입부 및 자성 면역 입자 주입부); 상기 주입된 혈액과 자성 면역 입자가 혼합되면서 상기 병원성 물질이 상기 자성 면역 입자에 포획 (또는 결합)되는 반응부 (혼합 유체소자 부분); 상기 병원성 물질이 포획 (또는 결합)된 자성 면역 입자 (및 상기 병원성 물질이 포획 (또는 결합)되지 않은 자성 면역 입자)가 자기장에 의하여 상기 혈액으로부터 제거되는 자기장 형성부 (자기 영동 분리 유체소자 부분); 및 상기 병원성 물질 및 상기 자성 면역 입자가 제거된 혈액이 배출되는 배출부를 포함한다.

[0158] 구체적으로, 항응고 처리된 인간 혈액 (자발적 참여의사를 갖는 기증자의 혈액, UNISTIRB-20-44-A) 샘플 약 1 mL에, 병원성 물질로서, 병원성 박테리아 (*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), MRSA, Vancomycin-intermediate resistant *S. aureus* (VISA), *Escherichia coli* (*E. coli*), ESBL(+) *E.coli* (ESBL-producing *E.coli*), 또는 Carbapenem-resistant *E.coli*; 약 10^4 CFU/mL) 또는 내독소 (endotoxin) (Lipopolysaccharide: LPS; 약 10 µg/mL)를 접종하고 약 37°C에서 약 10분 동안 배양하였다. 또한, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자를 약 0.1 내지 1 mg/mL 농도로 포함하는 식염수 용액을 준비하였다. 상기 배양이 끝난 혈액 샘플을 약 10 mL/hr 속도로 체외순환장치를 이용하여 순환하게 하고, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자를 포함하는 용액을 상기 체외순환장치에 약 0.5 mL/hr의 속도로 로딩하였다. 주입된 혈액 샘플과 자성 면역 입자 용액이 반응부 (혼합 유체소자 부분)를 흘러가면서 혼합과정을 거치는 동안, 혈액 샘플 내의 병원성 물질과 자성 면역 입자가 결합하였다. 상기 결합체를 포함하는 혈액 샘플이 자기장 형성부 (자기 영동 분리 유체소자 부분)를 통과하는 동안 자기장에 의하여 상기 결합체 (및 병원성 물질이 결합하지 않은 자성 면역 입자)는 자석쪽으로 캡처되어 혈액 샘플로부터 제거되었다. 병원성 물질 및 자성 면역 입자가 제거된 혈액 샘플은 배출 및 수집된 후 다시 상기 체외순환장치에 주입되었다. 이러한 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 통해 병원성 물질을 제거하는 과정을 약 5시간 동안 반복하였다. 동시에, 1 시간 단위로 혈액 샘플 내 병원성 물질의 농도를 측정하였다. 구체적으로, 혈액 샘플 내 박테리아의 농도 변화는 상기 실험예 1.1과 동일한 방법으로 박테리아의 CFU를 측정함으로써 확인하였고, 혈액 샘플 내 LPS의 농도 변화는 효소결합면역흡착검사법 (ELISA)으로 측정하였으며, LPS ELISA kit (LS-F55757-1, LSbio, USA)를 사용하였다. 또한, 상기 자성 면역 입자를 주입하지 않은 실험군을 대조군으로 사용하였다.

[0159] 그 결과, 도 7 및 도 8에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자는, 혈액과 같은 시료 내에 존재하는 병원체, 내독소 등의 병원성 물질, 예컨대, 항생제 내성 및 감수성 박테리아 (예컨대, MRSA, VISA, *S. aureus*, ESBL(+) *E.coli*, Carbapenem-resistant *E.coli*, *E.coli* 등) 및 내독소 (LPS)와 같은 병원성 물질을 매우 효과적으로 제거할 수 있음을 알 수 있었다. 또한, 상기 체외순환장치에 의하는 경우에도, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의, 병원성 물질에 대한 포획능 (검출 또는 제거능)이 온전히 발휘되어, 체외에서 시료로부터 병원체, 내독소 등의 병원성 물질을 충분히 제거할 수 있음을 알 수 있었다. 특히, 상기 체외순환장치에 의하는 경우, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자를 이용하여 시료로부터 병원성 물질을 제거하는 과정이 반복될 수 있어서, 시료 내 존재하는 병원체, 내독소 등의 병원성 물질이 약 90% 이상, 최대 100%까지 제거될 수 있음을 알 수 있었다.

[0160]

- [0161] **실험예 3. 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 이용한 인 비보 (in vivo) 혈액 내 병원성 물질의 제거 및 감염성 질병 치료 효과 확인**
- [0162] 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 동물 모델에 적용하여, 생체내의 혈액 내 존재하는 병원체, 내독소 등의 병원성 물질의 제거 효과, 및 이로 인한 감염성 질병 치료 효과를 확인하였다. 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 이용한 병원성 물질의 제거 방법은 상기 실험예 2에서 설명한 것과 동일하며, 단지 본 실험예에서는, 임의로 병원성 박테리아에 감염된 레트 동물 모델에 직접 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 연결하여 (도 9 참고) 인 비보 (in vivo) 평가를 수행하였다는 점에서 상기 실험예 2와 차이가 있다. 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치는 상기 실험예 2에서 설명된 바와 같다.
- [0163] 구체적으로, 도 9에 나타난 바와 같이, 정상 Wistar 레트 (10 주령, male)를 마취한 후 수술을 통하여 경정맥에 카테터를 삽입하였고, 상기 카테터를 통하여 임의로 MRSA (약 1×10^{10} CFU) 또는 Carbapenem-resistant *E.coli* (약 5×10^9 CFU)를 주입하여 레트 동물을 감염시켰다. 또한, Wistar 레트 (8 주령, male) 유래 적혈구의 세포막을 이용하여 제조된 자성 면역 입자를 약 0.5 mg/mL의 농도로 포함하는 자성 면역 입자 용액을 식염수에 준비하였다. 상기 카테터를 통하여 상기 감염된 레트와 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치의 시료 주입부가 연결되었고, 상기 시료 주입부를 통해, 상기 감염된 레트의 혈액이 상기 체외순환장치로 주입되었다. 또한 상기 준비된 자성 면역 입자 용액을, 상기 레트와 연결된 체외순환장치에 주입하여, 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 통해 병원성 물질을 제거하는 과정을 수행하였다. 병원성 물질 및 자성 면역 입자가 제거된 혈액은 상기 체외순환장치의 배출부를 통해 배출되고, 상기 배출부와 연결된 레트에 다시 주입되었다. 일정 시간 간격마다 레트의 전혈을 채취하여 혈액 내 MRSA, Carbapenem-resistant *E.coli*, 및 내독소 (LPS)의 농도 변화를 측정하였고, 레트의 생존율을 측정하였다. 혈액 샘플 내 박테리아의 농도 변화는 상기 실험예 1.1과 동일한 방법으로 박테리아의 CFU를 측정함으로써 확인하였고, 혈액 샘플 내 LPS의 농도 변화는 효소결합면역흡착검사법 (ELISA)으로 측정하였으며, LPS ELISA kit (LS-F55757-1, LSBio, USA)를 사용하였다. 또한, 상기 자성 면역 입자 대신에 항생제 (colistin)를 주입한 실험군 및 상기 자성 면역 입자를 주입하지 않은 실험군을 대조군으로 사용하였다.
- [0164] 그 결과, 도 10에 나타난 바와 같이, MRSA 또는 Carbapenem-resistant *E.coli*에 감염된 레트에 상기 체외순환장치를 통해 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 적용하는 경우, 감염 레트의 혈액에서 MRSA, Carbapenem-resistant *E.coli*, 및 내독소 (LPS)와 같은 병원성 물질이 매우 효과적으로 제거됨을 확인하였다. 특히, 이틀간 두 번에 걸쳐 감염된 레트에 상기 체외순환장치를 통해 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 적용하는 경우, 감염 레트의 혈중 MRSA, Carbapenem-resistant *E.coli*, 및 내독소 (LPS)의 농도가 측정한계 이하로 떨어져 병원성 물질의 제거 효율이 현저히 증가함을 확인하였다. 반면, 적혈구 유래 자성 면역 입자 대신 항생제 (colistin)를 주입한 경우, 감염 레트의 혈중 박테리아의 농도는 감소할 수 있었으나, 감염 레트의 혈중 내독소 (LPS)의 농도는 전혀 감소하지 못함을 확인하였다.
- [0165] 또한, 도 11에 나타난 바와 같이, 감염 레트의 생존율을 측정한 결과, 상기 체외순환장치를 통해 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 적용하는 경우, 감염 레트의 생존율이 현저히 증가하였고, 특히, 이틀간 두 번에 걸쳐 감염된 레트에 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 적용하는 경우, 감염 레트 전부 7일 동안 생존하여 100% 생존율을 나타냄을 확인하였다. 반면, 적혈구 유래 자성 면역 입자를 주입하지 않은 감염 레트 및 적혈구 유래 자성 면역 입자 대신 항생제 (colistin)를 주입한 감염 레트의 경우, 3일 내에 모두 죽어 생존율이 현저히 낮음을 확인하였다.
- [0166] 본 실험예를 통해, 적혈구 유래 자성 면역 입자를 이용한 체외혈액순환 장치 또는 방식에 의하여, 생체 내의 혈액 내 존재하는 병원체 (예컨대 병원성 박테리아 또는 바이러스 등), 내독소 등의 병원성 물질을 효과적으로 제거할 수 있고, 그로 인해, 항생제를 사용하는 경우 보다 더욱 효과적으로 감염성 질병 (예컨대, MRSA, Carbapenem-resistant *E.coli*와 같은 병원성 박테리아 또는 바이러스 감염증 등)을 치료할 수 있음을 확인하였다.
- [0167]
- [0168] **실험예 4. 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 이용한 혈액 내 전염증성 사이토카인 (pro-inflammatory cytokine)의 제거 확인**
- [0169] 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 이용하여, 체외의 혈액 샘플 및 병원성 박테리아 감염 동물 모델의 생체내 혈액에 존재하는 전염증성 사이토카인 (pro-inflammatory cytokine)을 제거하였다. 적혈구 유래

자성 면역 입자 기반 체외순환장치를 이용한 체외 혈액 샘플 및 생체내 혈액에서 전염증성 사이토카인을 제거하는 방법은, 상기 실험예 2 및 실험예 3에서 설명한 것과 동일하다. 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치는 상기 실험예 2 및 실험예 3에서 설명된 바와 같다.

[0170] 구체적으로, 상기 실험예 2와 동일한 방법으로, 레트 동물 (Wistar, male, 8 주령)로부터 채취한 혈액 샘플에, 전염증성 사이토카인으로서는, 인터루킨 6 (Interleukin 6: IL-6)을 접종한 후 배양하였고, 배양된 혈액 샘플 및 Wistar 레트 (8 주령, male) 유래 적혈구의 세포막을 이용하여 제조된 자성 면역 입자를 상기 체외순환장치에 주입하여 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 통해 상기 인터루킨 6을 제거하는 과정을 수행하였다. 그 후, 배출된 혈액 샘플 내 인터루킨 6의 농도를 측정하였다. 또한, 상기 자성 면역 입자를 주입하지 않은 실험군을 대조군으로 사용하였다.

[0171] 또한, 상기 실험예 3과 동일한 방법으로, 정상 Wistar 레트에 임의로 MRSA 또는 Carbapenem-resistant *E.coli* 를 주입하여 상기 레트를 감염시킨 후, 상기 감염된 레트를 상기 체외순환장치에 연결하였고, 상기 감염된 레트의 혈액 및 Wistar 레트 (8 주령, male) 유래 적혈구의 세포막을 이용하여 제조된 자성 면역 입자를 상기 체외순환장치에 주입하여 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 통해 전염증성 사이토카인을 제거하는 과정을 수행하였다. 그 후, 배출된 혈액은 상기 체외순환장치에 연결된 레트에 다시 주입되었다. 이러한 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 수행하기 전/후로 상기 감염 레트의 전혈을 채취하여, 혈액 내 전염증성 사이토카인 (종양괴사인자 알파 (tumor necrosis factor- α : TNF- α), 인터루킨 4 (Interleukin 4: IL-4), IL-6, 인터루킨-1 베타 (Interleukin-1 beta: IL-1 β), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자 (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: GM-CSF))의 농도를 측정하였다. 또한, 상기 자성 면역 입자 대신에 항생제 (colistin)를 주입한 실험군을 대조군으로 사용하였다.

[0172] 그 결과, 도 12 및 도 13에 나타난 바와 같이, 적혈구 유래 자성 면역 입자는, 혈액과 같은 시료 내에 존재하는 전염증성 사이토카인을 매우 효과적으로 제거할 수 있음을 알 수 있었다. 특히, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반 체외순환장치에 의하는 경우, 체외의 혈액 샘플 뿐만 아니라, 생체내 혈액에 존재하는 전염증성 사이토카인까지 매우 효과적으로 제거할 수 있음을 알 수 있었다. 더하여, 적혈구 유래 자성 면역 입자 대신 항생제 (colistin)를 주입한 감염 레트의 경우, 오히려, 혈중 전염증성 사이토카인의 농도가 증가함을 확인하였는 바, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자를 이용한 체외혈액순환 장치 또는 방식에 의하는 경우, 기존의 항생제 사용 치료법보다 더욱 효과적으로 혈중 전염증성 사이토카인을 제거하여, 염증성 또는 감염성 질환의 증세 완화 (예컨대 염증 완화, 사이토카인 폭풍 완화 등) 또는 치료에 있어서 더욱 우수한 효과를 나타낼 수 있음을 확인하였다.

[0173]

[0174] **실험예 5. 고혈당혈액 내 존재하는 혈당 및 병원성 물질에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능) 평가**

[0175] 적혈구 유래 자성 면역 입자가 고혈당혈액 내에 존재하는 혈당 및 병원성 박테리아와 같은 병원성 물질을 포획 (검출 또는 제거)할 수 있는지 확인하기 위하여, 임의로 포도당 (D-glucose, Sigma-Aldrich, USA)을 첨가한 혈액 샘플에 임의로 병원성 박테리아를 접종하여 배양하였고, 상기 배양액에 적혈구 유래 자성 면역 입자를 주입한 후 자기장을 가해 상기 혈액 샘플내에서의 혈당 및 병원성 박테리아의 농도 변화를 측정하였다.

[0176] 구체적으로, 레트 동물 (Wistar, male, 8 주령)로부터 채취한 혈액 샘플 약 1 mL에 D-glucose를 약 400 내지 약 450 mg/dL 농도가 되도록 첨가하고 약 37℃에서 약 10분 동안 배양하였다. 배양이 끝난 혈액 샘플에 MRSA를 약 10^4 내지 10^5 CFU/mL의 농도가 되도록 접종하고 약 37℃에서 약 10분 동안 배양하였다. 배양이 끝난 혈액 샘플에 Wistar 레트 (8 주령, male) 유래 적혈구의 세포막을 이용하여 제조된 자성 면역 입자를 주입하여, 자성 면역 입자의 농도가 최종적으로 약 100 내지 200 μ g/mL가 되도록 하였다. 그 후, 약 37℃에서 약 20분의 반응을 거친 후, 자석을 이용하여 혈액 샘플 내의 자성 면역 입자를 특정 위치에 고정하여 자성 면역 입자가 상층액에 포함되지 않도록 한 후, 상층액을 채취하여 상층액 내의 D-glucose 및 MRSA의 농도를 측정하였다. 또한, 상기 상층액에 대하여 상기 자성 면역 입자를 재주입하여 반응시킨 후 자석에 의해 상기 자성 면역 입자를 분리하는 과정을 수회 반복하였다. MRSA의 농도 변화는 상기 실험예 1.1과 동일한 방법으로 박테리아의 CFU를 측정함으로써 확인하였고, D-glucose의 농도 변화는 상용화된 혈당측정기 (ACCU-CHEK, Roche, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. 또한, 상기 자성 면역 입자를 주입하지 않은 실험군을 대조군으로 사용하였다.

[0177] 그 결과, 도 14에 나타난 바와 같이, 적혈구 유래 자성 면역 입자를 이용한 제거 과정을 반복할수록 고혈당혈액

샘플 내 존재하는 D-glucose 및 MRSA 병원체의 농도가 대조군 대비 현저하게 감소함을 확인하였다.

[0178] 본 실험예를 통해, 적혈구 유래 자성 면역 입자는 현저히 우수한 혈당 검출 및 제거 효과를 나타내므로, 적혈구 유래 자성 면역 입자는 (예컨대, 적혈구 유래 자성 면역 입자를 이용한 체외혈액순환 장치 또는 방식은), 체외에서 혈액 내 혈당을 검출하고, 혈액 정화에 의한 혈당 제거가 가능하며, 혈당이 제거된 혈액을 다시 생체 내로 주입함으로써 고혈당 또는 당뇨 환자의 혈당을 낮추는데 유용하게 활용될 수 있음을 알 수 있었다. 이로 인해, 적혈구 유래 자성 면역 입자는 당뇨 질환을 진단, 예방, 또는 치료 (예컨대, 당뇨 질환의 증세 완화 등) 하는데 유용하게 활용될 수 있음을 알 수 있었다. 더하여, 적혈구 유래 자성 면역 입자는 고혈당 또는 당뇨 환자의 혈액 내 존재하는 병원성 박테리아와 같은 병원성 물질을 매우 효과적으로 제거할 수 있으므로, 고혈당 또는 당뇨 환자의 감염성 질병 치료에 유용하게 활용될 수 있음을 알 수 있었다.

[0179]

[0180] **실험예 6. 적혈구 유래 자성 면역 입자의 표면에 존재하여 병원성 물질의 포획에 기여 하는 분자의 확인**

[0181] 적혈구 유래 자성 면역 입자의 세포막 표면에 고정화 (부착)되어 존재하는 각종 수용체를 포함하는 다양한 표면 분자들 중, 병원성 물질 포획에 기여하는 분자가 무엇인지 규명하기 위하여, 세포막 표면에서 특정 표면 분자가 불활성화된 적혈구 유래 자성 면역 입자를 제조하여 병원성 물질 제거율을 분석하였다.

[0182] 구체적으로, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자에서, 세포막 표면 분자인 CR1 (complement receptor 1) 및/또는 GYPA (glycophorin A)를 각각 그에 맞는 항체로 불활성화시켜, CR1 및/또는 GYPA가 불활성화된 적혈구 유래 자성 면역 입자를 수득하였다.

[0183] 또한, 인간 혈장 샘플에, 각종 병원성 물질 (MRSA, ESBL(+) *E.coli*, RSV, CMV, ZIKV E Protein, HCoV-OC43 (Human coronavirus OC43), 또는 SARS-CoV-2 S Protein)를 각각 접종하고 (박테리아는 약 10^4 CFU/mL의 농도가 되도록 접종하고, 바이러스는 약 10^4 PFU/mL의 농도가 되도록 접종하고, 단백질은 약 1 μ g/mL의 농도가 되도록 접종함), 상기 수득된 여러 종류의 자성 면역 입자를 각각 주입한 후, 각 자성 면역 입자의 병원성 물질 제거율 (%)을 측정하였다. 구체적인 실험 방법은 상기 실험예 1에서 수행된 방법과 동일하고, 상기 주입된 자성 면역 입자의 종류는 하기와 같다:

[0184] 1) 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자 (RBC-MNVs)

[0185] 2) 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자에서 세포막 표면 분자인 CR1이 불활성화된 자성 면역 입자 (CR1 blocked RBC-MNVs)

[0186] 3) 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자에서 세포막 표면 분자인 GYPA가 불활성화된 자성 면역 입자 (GYPA blocked RBC-MNVs)

[0187] 4) 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자에서 세포막 표면 분자인 CR1 및 GYPA가 불활성화된 자성 면역 입자 (GYPA&CR1 blocked RBC-MNVs)

[0188] 5) 세포막 표면을 포함하지 않는 자성 입자 (MNVs).

[0189] 그 결과, 도 15에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자에서 세포막 표면 분자인 CR1 또는 GYPA가 불활성화되는 경우, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자에 의한 병원성 물질 제거율이 감소함을 확인하였다. 구체적으로, 세포막 표면 분자인 CR1이 불활성화되는 경우, MRSA, ESBL(+) *E.coli*, RSV, CMV, ZIKV E Protein, HCoV-OC43, 및 SARS-CoV-2 S Protein 전부에 대한 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (또는 제거능)이 현저히 감소함을 확인하였고, 세포막 표면 분자인 GYPA가 불활성화되는 경우, MRSA, ESBL(+) *E.coli*, 및 CMV에 대한 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (또는 제거능)은 현저히 감소한 반면, RSV, ZIKV E Protein, HCoV-OC43, 및 SARS-CoV-2 S Protein에 대한 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (또는 제거능)은 큰 변화가 없었음을 확인하였다. 또한, 세포막 표면 분자인 CR1 및 GYPA가 모두 불활성화되는 경우, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자에 의한 병원성 물질 제거율이 가장 감소함을 확인하였다. 이를 통해, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자에 있어서, 세포막 표면에 존재하는 CR1 및/또는 GYPA (특히, CR1)이 병원성 물질 포획에 크게 기여함을 알 수 있었다.

[0190] 따라서, 본 실험예를 통해, CR1 및/또는 GYPA이 발현 (또는 과발현)된 적혈구 유래 세포막을 이용하여 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자의 경우, 병원성 물질 포획능 (검출 또는 제거능)이 현저히 증가될 수 있음을 알 수

있었다.

[0191]

[0192] **실험예 7. 옥소닌 추가로 인한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 병원성 물질 포획능 (검출 또는 제거능) 향상 효과 확인**

[0193] 옥소닌 추가로 인한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 병원성 물질 포획능 (검출 또는 제거능) 향상 효과를 확인하였다.

[0194] 구체적으로, TBS 버퍼 또는 인간 혈액 샘플에, 각종 병원성 물질 (MRSA, ESBL(+) *E.coli*, RSV, CMV, ZIKV E Protein, HCoV-OC43, 또는 SARS-CoV-2 S Protein)을 각각 접종하고, 더하여 각종 옥소닌 (MBL (mannose binding lectin), FCN-1 (Ficolin-1), FCN-2, FCN-3, CL-10 (collectin-10), CL-11, C3b, 또는 C1q (complement component 1q))을 각각 주입한 후, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자를 주입하여, 상기 자성 면역 입자의 병원성 물질 포획율 (또는 제거율, %)을 측정하였다. 구체적인 실험 방법은 TBS 버퍼 또는 인간 혈액 샘플에, 상기 옥소닌을 주입한 것을 제외하고는, 상기 실험예 1에서 수행된 방법과 동일하다.

[0195] 그 결과, 도 16에 나타난 바와 같이, 병원성 박테리아, 바이러스, 바이러스 유래 항원 단백질 등과 같은 병원성 물질을 포함하는 TBS 버퍼 또는 인간 혈액 샘플에, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자와 함께 MBL 또는 FCN-1의 옥소닌을 주입하는 경우, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 병원성 물질 포획능 (검출 또는 제거능)이 현저히 향상됨을 확인하였다. 또한, 병원성 물질을 포함하는 TBS 버퍼에, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자와 함께 FCN-2, FCN-3, CL-10, 또는 CL-11의 옥소닌을 주입하는 경우에도, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 병원성 물질 포획능 (검출 또는 제거능)이 향상됨을 확인하였다. 다만, C3b 또는 C1q의 옥소닌을 주입하는 경우에는, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 병원성 물질 포획능 (검출 또는 제거능)의 증가 수준이 상대적으로 현저히 낮음을 확인하였다. 이를 통해, 모든 종류의 옥소닌이 아닌, MBL 또는 FCN-1와 같은 특정한 옥소닌이 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 병원성 물질 포획능 (검출 또는 제거능)을 강하게 향상시킬 수 있음을 알 수 있었다.

[0196] 본 실험예를 통해, 적혈구 유래 자성 면역 입자를 이용하여 개체의 시료 (예컨대, 혈액 등) 내 병원성 물질 (예컨대, 병원성 박테리아, 바이러스, 바이러스 유래 항원 단백질 등)을 검출 또는 제거함에 있어서, MBL, FCN-1, FCN-2, FCN-3, CL-10, CL-11 등의 특정한 옥소닌 (특히, MBL 또는/및 FCN-1)을 추가로 주입하는 경우, 적혈구 유래 자성 면역 입자의 병원성 물질 포획능 (검출 또는 제거능)이 더욱 향상되어, 시료 내 병원성 물질 검출 또는 제거 효과 및 이로 인한 감염성 질병의 진단 또는 치료 효과가 더욱 향상될 수 있음을 알 수 있었다.

[0197]

[0198] **실험예 8. 암 관련 물질에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능) 평가**

[0199] 적혈구 유래 자성 면역 입자가 체외에서 혈액 샘플 내에 존재하는 암과 관련된 물질을 포획 (검출 또는 제거)할 수 있는지 확인하여, 적혈구 유래 자성 면역 입자의 암의 진단, 예방, 개선, 또는 치료를 위한 적용 가능성을 분석하였다.

[0200] 구체적으로, 인간 혈장 또는 인간 혈액 샘플에 유방암 세포주 유래 세포막 소포체 (extracellular vesicles), 정상세포 유래 핵산, 또는 종양세포 유래 핵산을 접종한 후 일정 시간 동안 혼합 및 반응시켰다. 그 후, 상기 각 샘플에 상기 실시예 1에서 제조된 인간 적혈구 유래 자성 면역 입자 (또는 마우스 적혈구 유래 자성 면역 입자)를 주입하고 약 37℃에서 약 20분의 반응을 거친 후, 자석을 이용하여 각 샘플 내의 자성 면역 입자를 특정 위치에 고정하여 자성 면역 입자가 상층액에 포함되지 않도록 한 후, 상층액을 채취하였다. 그 상층액에서 유방암 세포주 유래 세포막 소포체, 정상세포 유래 핵산, 또는 종양세포 유래 핵산의 양을 측정하였고, 해당 측정값을 최초 각 샘플에 접종한 유방암 세포주 유래 세포막 소포체, 정상세포 유래 핵산, 또는 종양세포 유래 핵산의 양과 비교하여 상기 자성 면역 입자의 유방암 세포주 유래 세포막 소포체, 정상세포 유래 핵산, 및 종양세포 유래 핵산에 대한 제거 효율 (즉, 검출율 또는 포획율 (binding efficiency))을 측정하였다.

[0201] 그 결과, 도 17 및 도 18에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자는 인간 혈장 또는 인간 혈액 샘플에 존재하는 암 세포주 유래 세포막 소포체 및 종양세포 유래 핵산과 우수한 효율로 결합함을 확인하였고, 이를 통해, 적혈구 유래 자성 면역 입자는 인간 혈장 또는 인간 혈액에 존재하는 암 세포주 유래 세포막 소포체 및 종양세포 유래 핵산과 같은 암 관련 물질을 우수한 효율로 검출 또는 제거할 수 있음

을 알 수 있었다. 더하여, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자는 정상세포 유래 핵산에 대한 결합율은 낮았으나, 종양세포 유래 핵산에 대한 결합율은 현저히 높았는 바, 이를 통해, 적혈구 유래 자성 면역 입자는 인간 혈장 또는 인간 혈액에 존재하는 암 세포주 유래 세포막 소포체 및 종양세포 유래 핵산과 같은 암 관련 물질만을 선택적으로 포획 및 제거할 수 있어 암 특이적 검출, 암의 진단 (예컨대, 암 전이 또는 암 재발 진단, 암 치료제 약물 반응성 예측 등), 또는 암의 예방 또는 치료 (예컨대, 암 전이 또는 암 재발의 예방 또는 치료, 암 치료제 약물 반응성 개선, 암 치료 예후 개선, 항암 치료와 병용하는 보조 치료 등) 등에 유용하게 활용될 수 있음을 알 수 있었다. 또한, 인간 적혈구 유래 자성 면역 입자와 마우스 적혈구 유래 자성 면역 입자 모두 인간 혈액 샘플에 존재하는 종양세포 유래 핵산과 우수한 효율로 결합함을 확인하였는 바, 암 관련 물질의 검출 또는 제거에 있어서 종간의 차이 없이 적혈구 유래 자성 면역 입자를 적용할 수 있음을 알 수 있었다.

[0202] 다음으로, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자에 결합 (즉, 포획)되어있는 정상세포 유래 핵산과 종양세포 유래 핵산에 대하여 상용화된 용출 용액 (Elution)을 이용하여 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자로부터 상기 핵산을 회수한 후 회수율을 측정하였다. 또한, 회수된 핵산에 대하여 260 nm와 280 nm 파장에서 흡광도를 측정한 뒤 그 비율을 이용하여 회수된 핵산의 순도를 분석하였다.

[0203] 그 결과, 도 19에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자에 결합 (즉, 포획)되어있는 정상세포 유래 핵산과 종양세포 유래 핵산은 모두 상기 용출 용액에 의해 약 80% 이상의 우수한 효율로 회수됨을 확인하였고, 또한, 회수된 핵산의 상기 흡광도 비율 값은 약 1.677 (정상세포 유래 핵산) 및 약 1.7 (종양세포 유래 핵산)로 확인되어 높은 DNA 순도를 보임을 확인하였다 (일반적으로 순수 DNA의 상기 흡광도 비율 값은 1.6 내지 1.8 임). 이를 통해, 적혈구 유래 자성 면역 입자를 이용하여 종양세포 유래 핵산과 같은 암 관련 핵산을 검출하는 경우, 검출된 핵산을 높은 순도로 용이하게 회수할 수 있어 검출된 핵산에 대하여 PCR 등 분자 수준의 분석이 가능함을 알 수 있었고, 이로 인해, 적혈구 유래 자성 면역 입자를 암 특이적 검출 및 암의 진단 등에 적용하는 경우 분석 효율 및 정확도를 더욱 증진시킬 수 있음을 알 수 있었다.

[0204]

[0205] **실험예 9. 뇌 질환 관련 물질에 대한 적혈구 유래 자성 면역 입자의 포획능 (검출 또는 제거능) 평가**

[0206] 적혈구 유래 자성 면역 입자가 체외에서 혈액 샘플 내에 존재하는 뇌 질환 (예컨대, 알츠하이머)과 관련된 물질을 포획 (검출 또는 제거)할 수 있는지 확인하여, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자의 뇌 질환의 진단, 예방, 개선, 또는 치료를 위한 적용 가능성을 분석하였다.

[0207] 구체적으로, 인간 혈액 샘플에 알츠하이머 관련 단백질인 아밀로이드 베타 42 ($A\beta 42$)를 접종한 후 일정 시간 동안 혼합 및 반응시켰다. 그 후, 상기 샘플에 상기 실시예 1에서 제조된 인간 적혈구 유래 자성 면역 입자를 주입하고 약 37℃에서 약 20분의 반응을 거친 후, 자석을 이용하여 상기 샘플 내의 자성 면역 입자를 특정 위치에 고정하여 자성 면역 입자가 상층액에 포함되지 않도록 한 후, 상층액을 채취하였다. 그 상층액에서 아밀로이드 베타 42의 양을 측정하였고, 해당 측정 값을 최초 샘플에 접종한 아밀로이드 베타 42의 양과 비교하여 상기 자성 면역 입자의 아밀로이드 베타 42에 대한 제거 효율 (즉, 검출율 또는 포획율 (binding efficiency))을 측정하였다.

[0208] 또한, 마우스 혈액 샘플에 알츠하이머 관련 단백질인 아밀로이드 베타 42 ($A\beta 42$), 아밀로이드 베타 40 ($A\beta 40$), 또는 타우 (Tau) 단백질을 접종한 후 일정 시간 동안 혼합 및 반응시킨 후, 상기 실험예 2와 동일한 방법으로, 상기 반응된 혈액 샘플 및 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 제조된 마우스 적혈구 유래 자성 면역 입자를 상기 실험예 2의 체외순환장치에 주입하여 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환을 통해 혈액 샘플로부터 상기 알츠하이머 관련 단백질을 제거하는 과정을 수행하였다. 그 후, 일정 시간 간격마다 배출된 혈액 샘플 내 상기 알츠하이머 관련 단백질의 농도를 측정하였다.

[0209] 그 결과, 도 20 및 도 21에 나타난 바와 같이, 상기 실시예 1에서 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자 및 이와 동일한 방법으로 제조된 마우스 적혈구 유래 자성 면역 입자는 모두 혈액 샘플에 존재하는 아밀로이드 베타 42, 아밀로이드 베타 40, 및 타우 단백질에 우수한 효율로 결합함을 확인하였고, 이를 통해, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자는 혈액에 존재하는 아밀로이드 베타 42, 아밀로이드 베타 40, 및 타우 단백질과 같은 뇌 질환 (예컨대, 알츠하이머) 관련 물질을 우수한 효율로 검출 또는 제거할 수 있음을 알 수 있었다. 특히, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자 기반-체외혈액순환 시스템을 이용하면, 혈액 샘플 내 존재하는 타우 단백질은 약 1시간 내에 초기 접종량의 약 70%까지 제거될 수 있으며, 혈액 샘플 내 존재하는 아밀로이드 베타 40 및 아밀로이드 베타 42는 약 1시간 내에 초기 접종량의 약 100%에 가까운 양이 제거되어 상용화된 효소결합면역흡착 검사 키트의 검

출한게 미만까지 제거될 수 있음을 확인하였다.

[0210] 본 실험예를 통해, 상기 적혈구 유래 자성 면역 입자는, 혈액에 존재하는 아밀로이드 베타 42, 아밀로이드 베타 40, 및 타우 단백질과 같은 뇌 질환 (예컨대, 알츠하이머) 관련 물질을 우수한 효율로 검출 또는 제거할 수 있으므로, 뇌 질환 (예컨대, 알츠하이머)의 진단, 예방, 또는 치료 등에 유용하게 활용될 수 있음을 알 수 있었다.

[0211]

[0212] 실험예 10. 단분산 (monodispersed) 자성 면역 입자 및 다분산 (polydispersed) 자성 면역 입자의 비교

[0213] 단분산 (monodispersed) 자성 면역 입자 및 다분산 (polydispersed) 자성 면역 입자의 체외 혈액 샘플 내에 존재하는 암 관련 물질 및 뇌 질환 관련 물질에 대한 포획능 (검출능 또는 제거능)을 비교 분석하였다.

[0214] 먼저, 단분산 자성입자(들)은 (주)비엘리먼트 (BEelement Inc., South Korea)로부터 제공받아 준비되었다. 또한, 다분산 자성입자(들)를 구매하여 준비하였다 (Cat: 02121, Ademtech, France). 상기 단분산 자성입자(들) 및 다분산 자성입자(들)에 대하여 Zeta size 장비 (Nano ZS Zetasizer, Malvern analytical, UK)를 사용하여 입자 크기 (직경) 분포 및 다분산 지수 (Polydispersity index, PDI)를 측정하였다. 상기 다분산 지수는 입자 크기 (직경)의 표준편차를 입자크기 (직경)의 평균으로 나눈 값의 제곱으로 정의되며 0과 1 사이의 값을 갖고 0에 가까울수록 (예컨대, 약 0.17 이하) 입자의 크기가 균일한 단분산 입자임을 의미한다.

[0215] 그 결과, 도 22에 나타난 바와 같이, 상기 단분산 자성입자(들)은, 직경 분포가 약 200 내지 300 nm 사이에서 측정되었으며, 특히, 다분산 지수가 약 0.05 이하 (구체적으로는, 약 0.03 이하, 약 0.02 이하, 또는 약 0.02)로 현저히 낮아 입자의 크기가 매우 균일한 상태임을 확인하였다. 반면, 상기 다분산 자성입자(들)은, 직경 분포가 약 150 내지 500 nm 사이에서 측정되었고, 다분산 지수 또한 약 0.176으로 측정되어 상기 단분산 자성입자(들) 대비 입자의 크기가 매우 불균일한 상태임을 확인하였다.

[0216] 다음으로, 상기 단분산 자성입자(들) 또는 다분산 자성입자(들)과 적혈구 유래 세포막을 이용하여 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 적혈구 유래 자성 면역 입자를 제조하였다. 상기 단분산 자성입자(들)과 적혈구 유래 세포막을 이용하여 제조된 자성 면역 입자는 '단분산 자성 면역 입자'로 분류되고, 상기 다분산 자성입자(들)과 적혈구 유래 세포막을 이용하여 제조된 자성 면역 입자는 '다분산 자성 면역 입자'로 분류되었다.

[0217] 또한, 인간 혈액 샘플에 유방암 세포주 유래 세포막 소포체, 정상세포 유래 핵산, 순환종양세포 유래 핵산, 아밀로이드 베타 42, 아밀로이드 베타 40, 또는 타우 단백질을 접종한 후 일정 시간 동안 혼합 및 반응시켰다. 그 후, 상기 각 샘플에 상기 단분산 자성 면역 입자 및 다분산 자성 면역 입자 각각을 주입하고 약 37℃에서 약 20분의 반응을 거친 후, 자석을 이용하여 각 샘플 내의 자성 면역 입자를 특정 위치에 고정하여 자성 면역 입자가 상층액에 포함되지 않도록 한 후, 상층액을 채취하였다. 그 상층액에서 상기 유방암 세포주 유래 세포막 소포체, 정상세포 유래 핵산, 순환종양세포 유래 핵산, 아밀로이드 베타 42, 아밀로이드 베타 40, 또는 타우 단백질의 양을 측정하였고, 해당 측정 값을 최초 각 샘플에 접종한 양과 비교하여 상기 자성 면역 입자의 유방암 세포주 유래 세포막 소포체, 정상세포 유래 핵산, 순환종양세포 유래 핵산, 아밀로이드 베타 42, 아밀로이드 베타 40, 또는 타우 단백질에 대한 제거 효율 (즉, 검출율 또는 포획율 (binding efficiency))을 측정하였다.

[0218] 그 결과, 도 23에 나타난 바와 같이, 상기 단분산 자성 면역 입자는 인간 혈액 샘플에 존재하는 순환종양세포 유래 핵산 및 암 세포주 유래 세포막 소포체와 우수한 효율로 결합함을 확인하였고, 정상세포 유래 핵산에 대한 결합을 보다 순환종양세포 유래 핵산에 대한 결합율이 현저히 높음을 확인하였다. 이를 통해, 상기 단분산 자성 면역 입자는 인간 혈액에 존재하는 암 관련 물질을 특이적으로 포획하여 높은 효율로 검출 또는 제거할 수 있음을 알 수 있었다. 특히, 상기 단분산 자성 면역 입자는, 상기 다분산 자성 면역 입자 대비 현저히 우수한 암 관련 물질에 대한 포획능 (검출능 또는 제거능)을 나타냄을 확인하였다.

[0219] 더하여, 도 24에 나타난 바와 같이, 상기 단분산 자성 면역 입자는 인간 혈액 샘플에 존재하는 아밀로이드 베타 42, 아밀로이드 베타 40, 및 타우 단백질과 우수한 효율로 결합함을 확인하였다. 이를 통해, 상기 단분산 자성 면역 입자는 인간 혈액에 존재하는 뇌 질환 (예컨대, 알츠하이머) 관련 물질을 포획하여 높은 효율로 검출 또는 제거할 수 있음을 알 수 있었다. 특히, 상기 단분산 자성 면역 입자는, 상기 다분산 자성 면역 입자 대비 더욱 우수한 뇌 질환 (예컨대, 알츠하이머) 관련 물질에 대한 포획능 (검출능 또는 제거능)을 나타냄을 확인하였다.

[0220] 본 실험예를 통해, 입자 크기의 균일한 정도가 더 높은 단분산 자성입자(들)을 이용하여 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자는, 다분산 자성입자(들)을 이용하여 제조된 적혈구 유래 자성 면역 입자 대비 암 관련 물질 및 뇌

질환 관련 물질에 대한 포획능 (검출능 또는 제거능)이 더욱 우수함을 알 수 있었다.

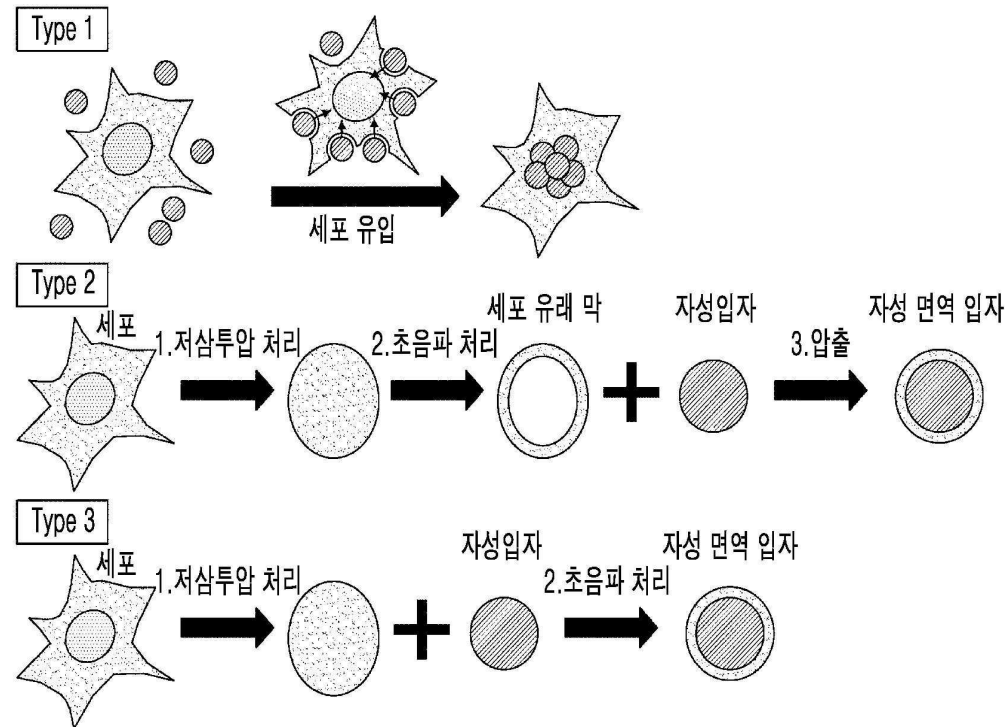
[0221]

[0222]

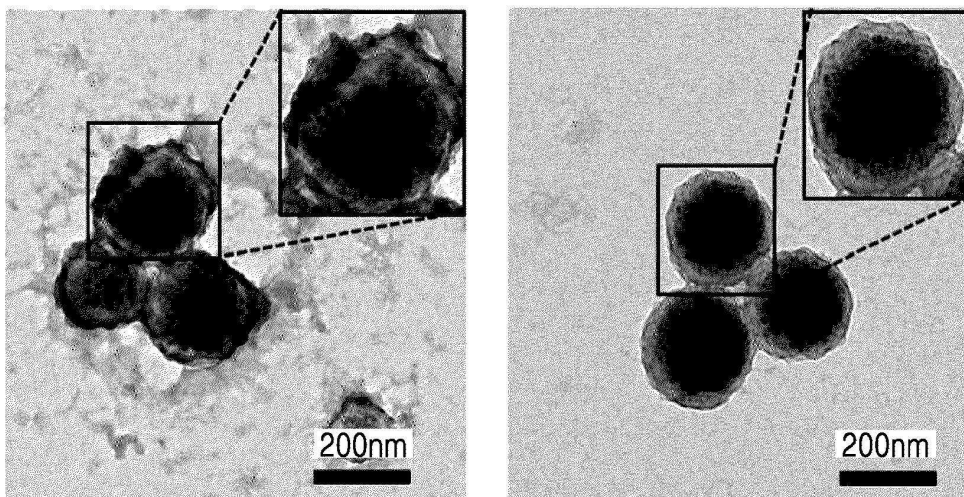
전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예 및 실험예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

도면

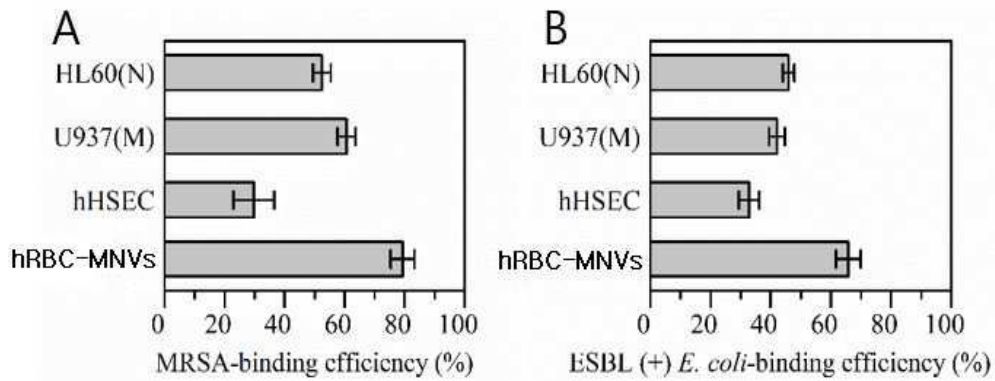
도면1



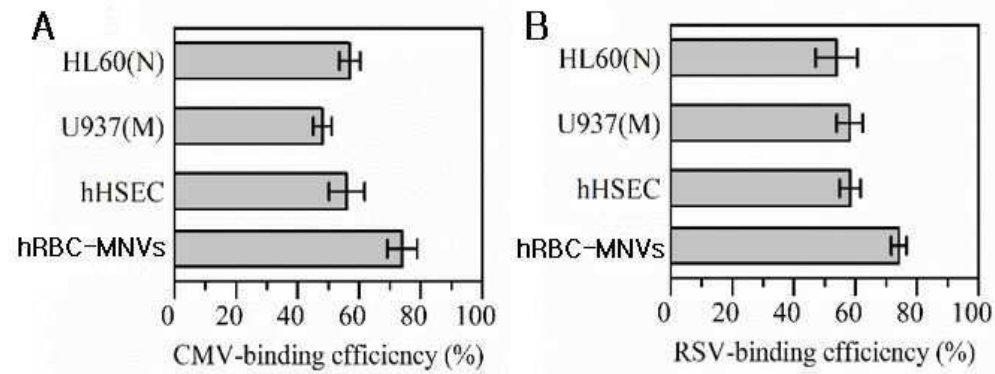
도면2



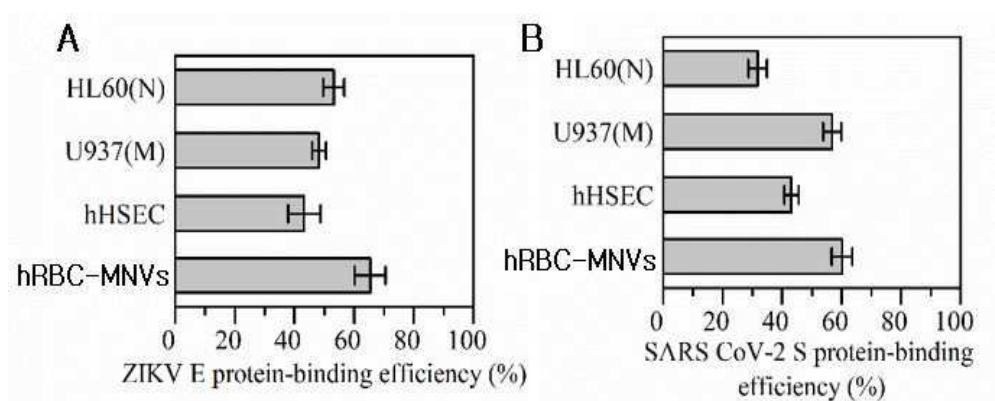
도면3



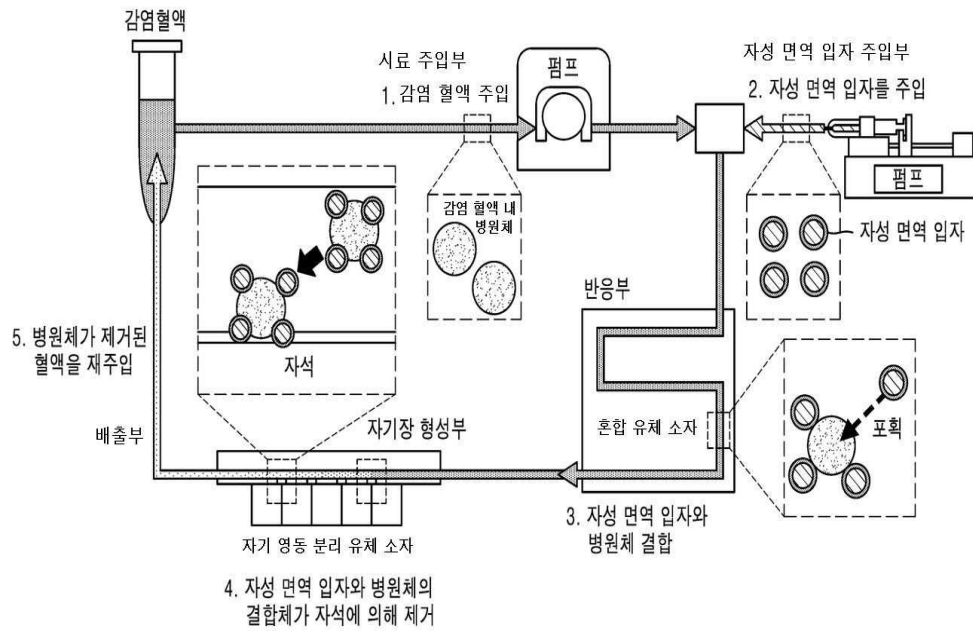
도면4



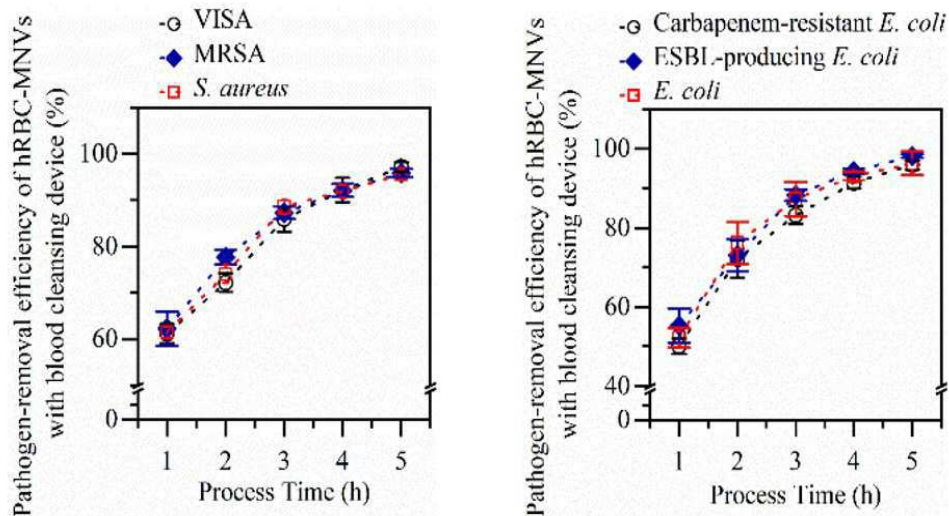
도면5



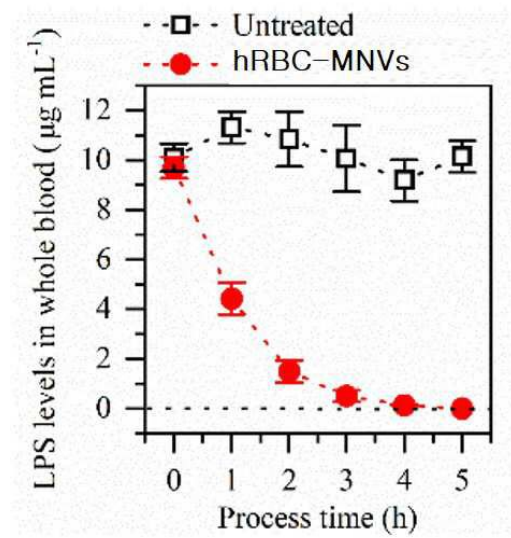
도면6



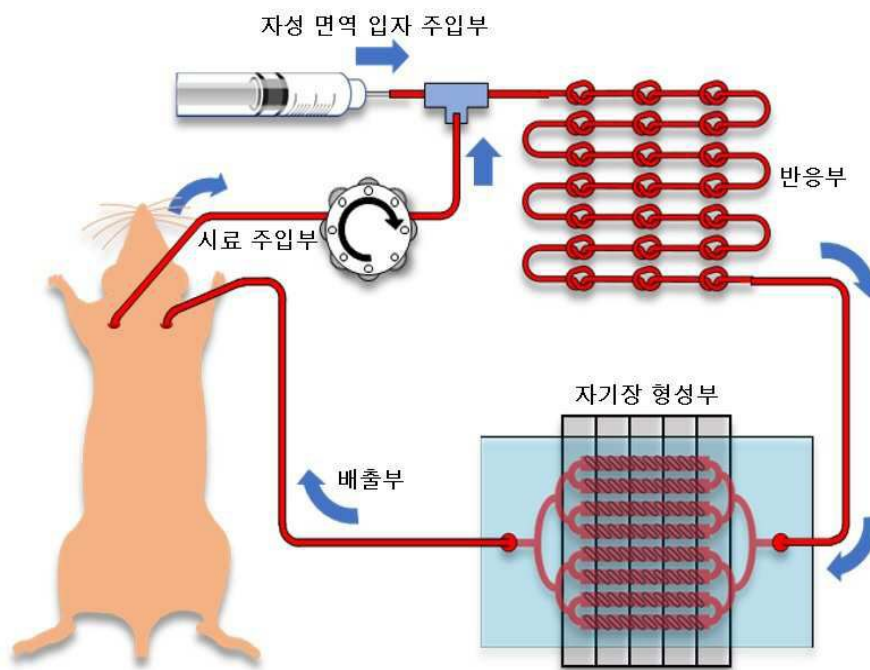
도면7



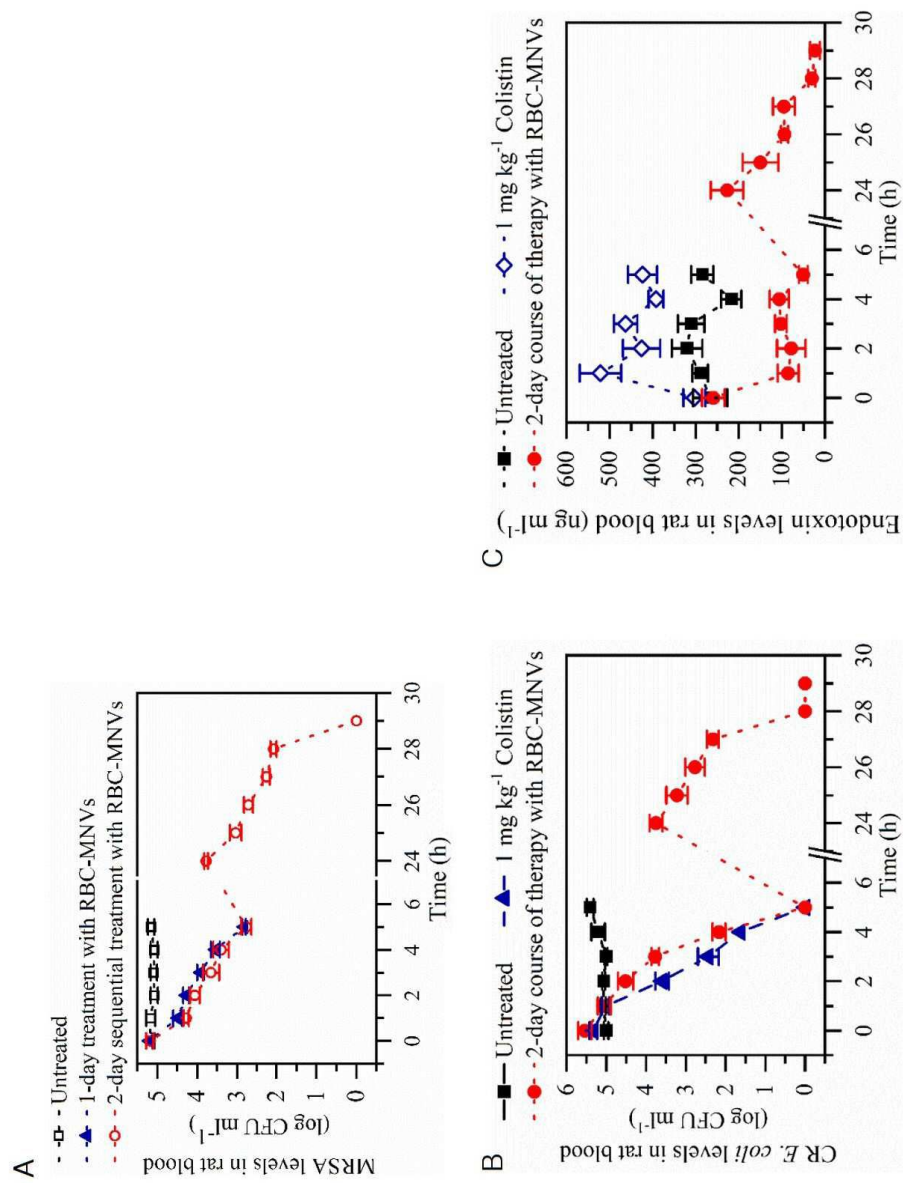
도면8



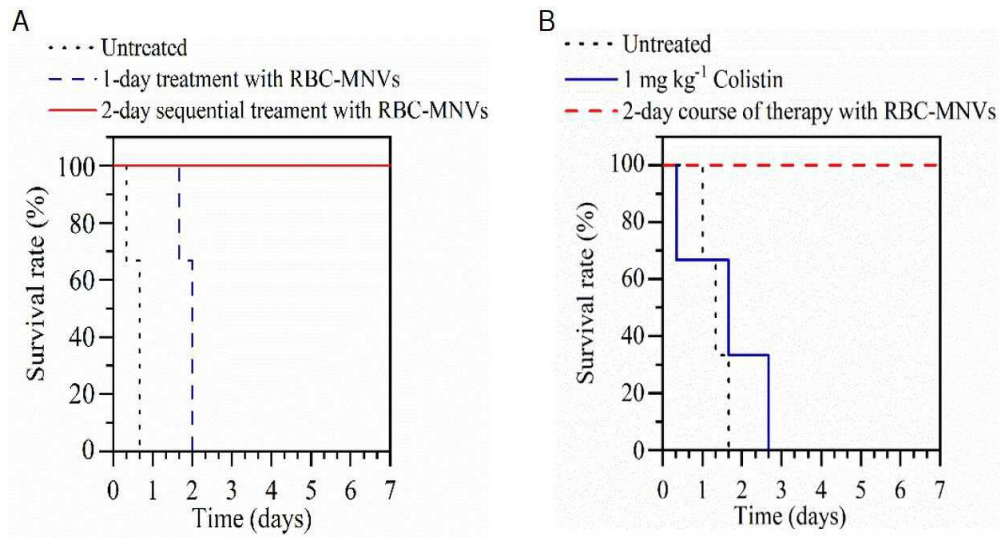
도면9



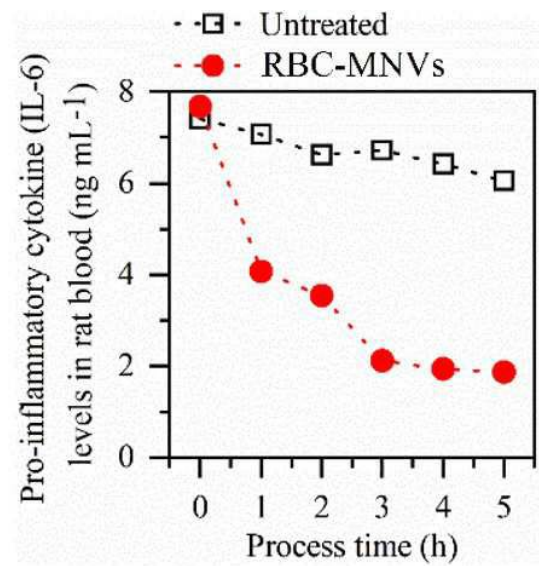
도면10



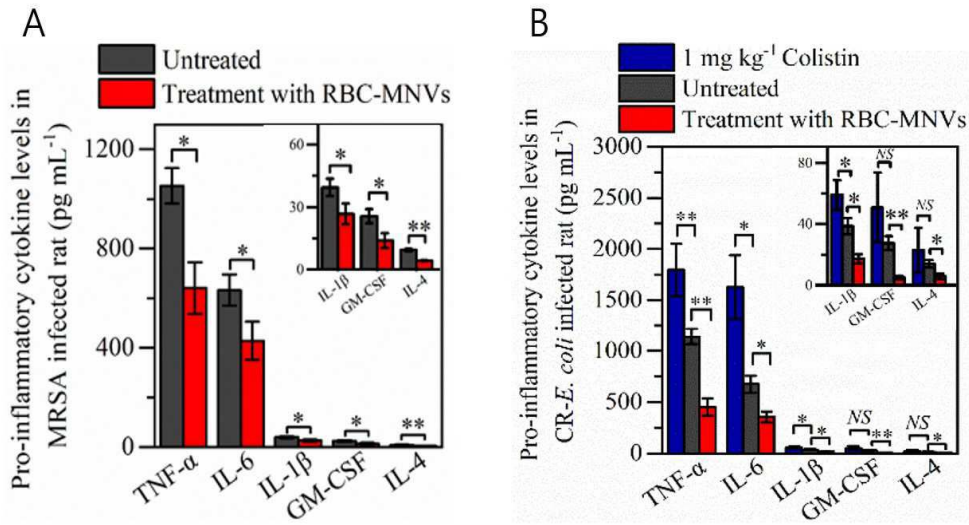
도면11



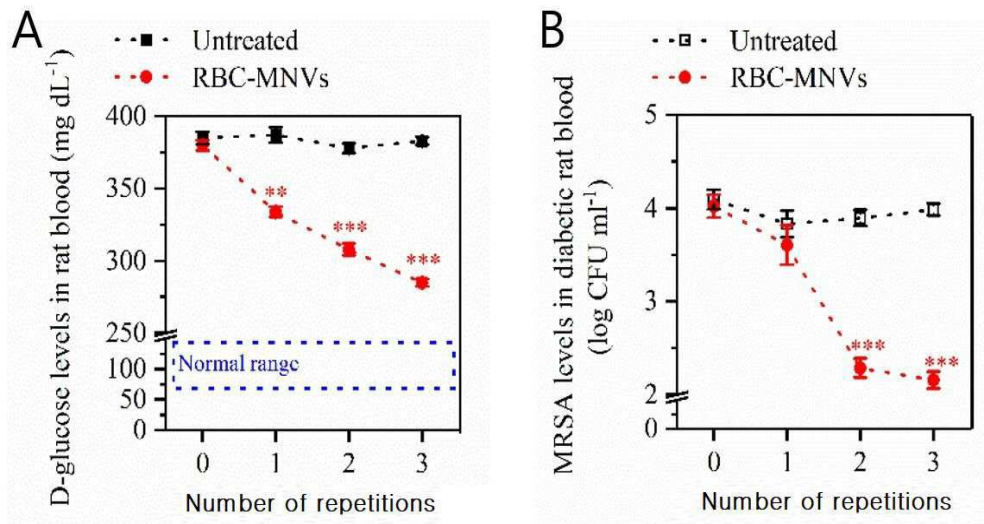
도면12



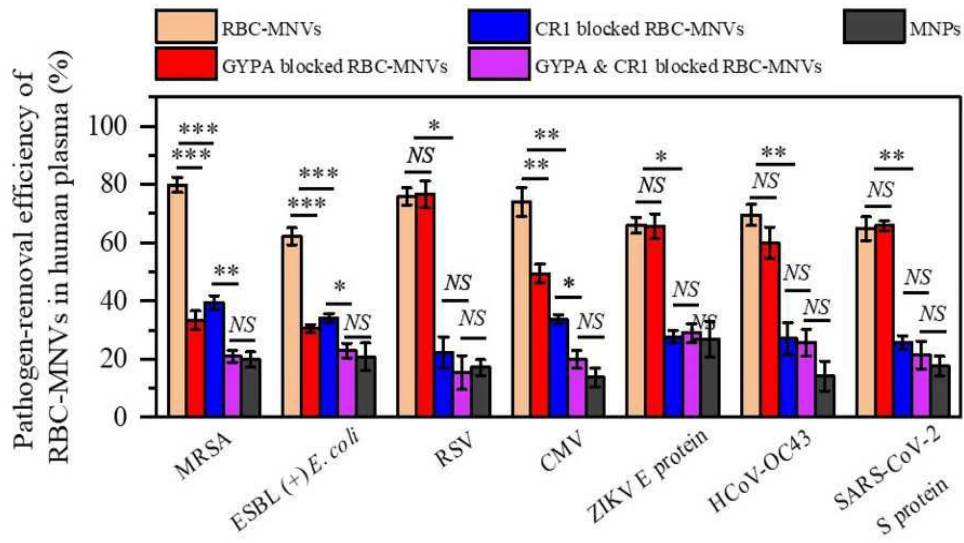
도면13



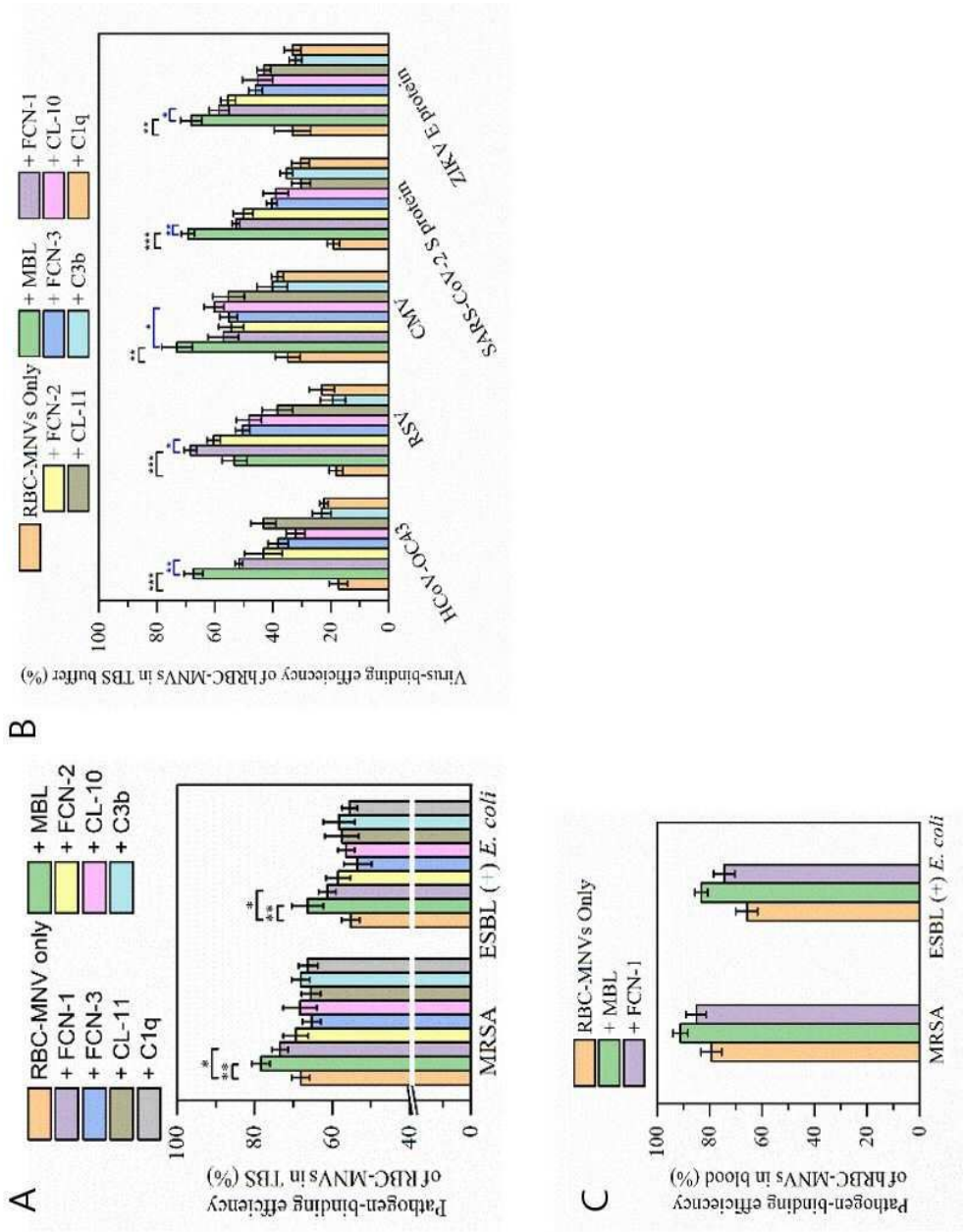
도면14



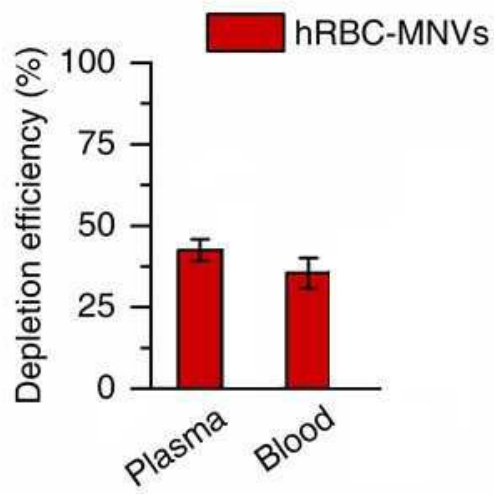
도면15



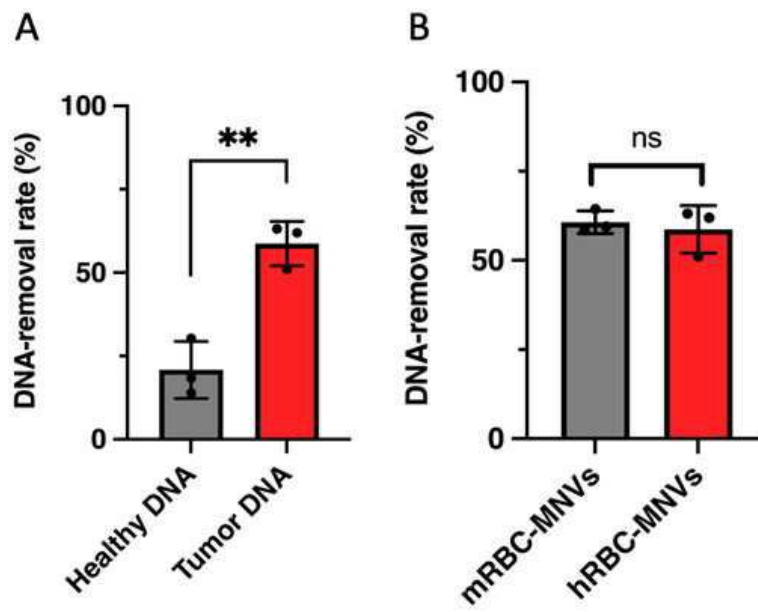
도면16



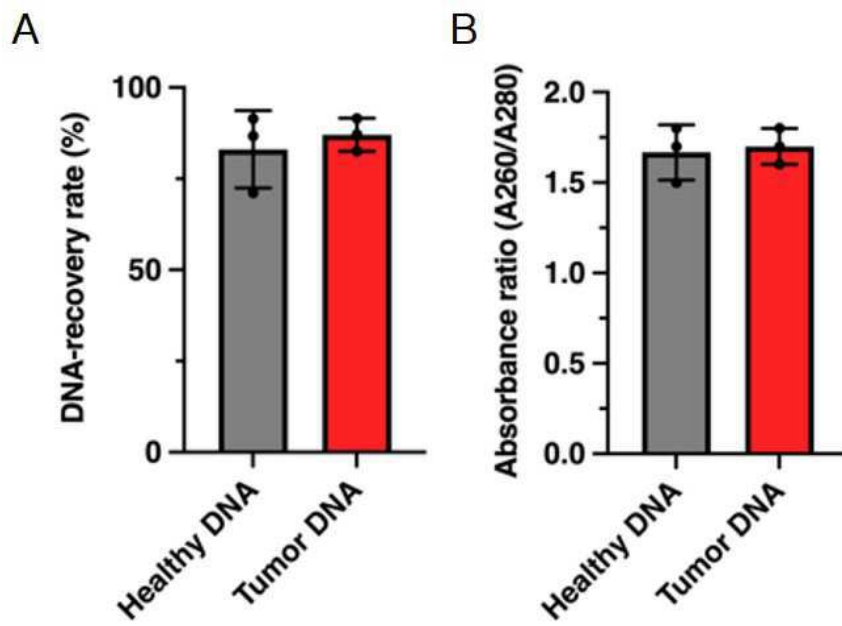
도면17



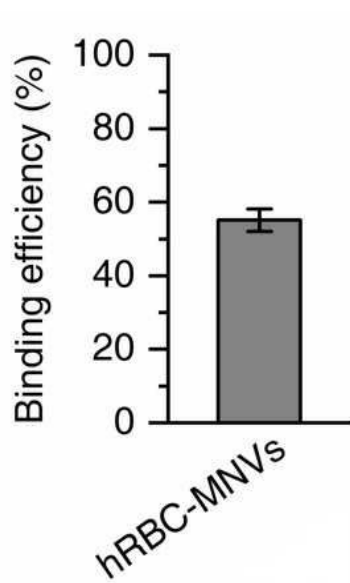
도면18



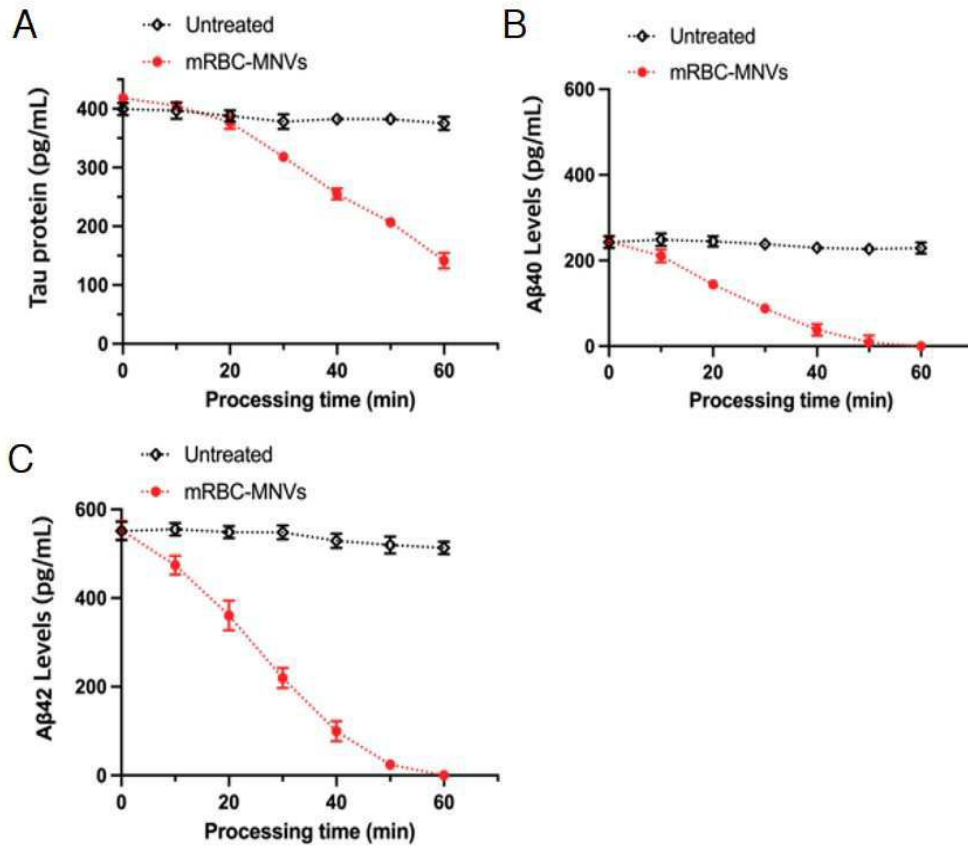
도면19



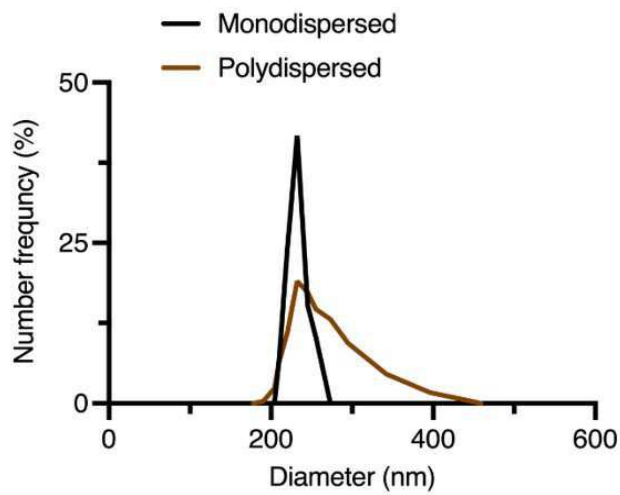
도면20



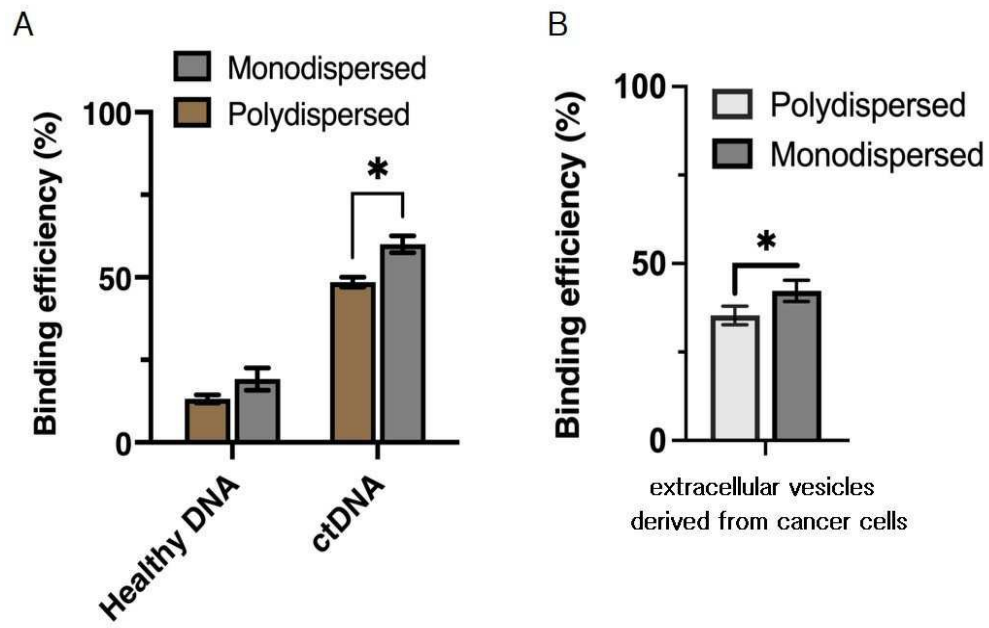
도면21



도면22



도면23



도면24

