(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017 년 12 월 28 일 (28.12.2017)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2017/222118 A1

(51) 국제특허분류:
G01N 21/78 (2006.01) *G01N 1/36* (2006.01)
G01N 33/00 (2006.01) *A62B 18/08* (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2016/012971

(22) 국제출원일: 2016 년 11 월 11 일 (11.11.2016)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2016-0078697 2016 년 6 월 23 일 (23.06.2016) KR

(71) 출원인: 경희대학교 산학협력단 **(UNIVERSITY-INDUSTRY COOPERATION GROUP OF KYUNG HEE UNIVERSITY)** [KR/KR]; 17104 경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, Gyeonggi-do (KR).

(72) 발명자: **이기자 (LEE, Gi Ja)**; 02447 서울시 동대문구 경희대로 26 경희대학교 의과대학 331호, Seoul (KR). **안용진 (AHN, Yong Jin)**; 56429 전라북도 고창군 고창읍 월곡로 83, 101동 910호, Jeollabuk-do (KR). **이영주 (LEE, Young Ju)**; 02458 서울시 동대문구 회기로12길 42 201호, Seoul (KR). **이재면 (LEE, Jae Myeon)**; 03417 서울시 은평구 연서로5길 20-3 301호, Seoul (KR). **이도연 (LEE, Do Yeon)**; 26506 강원도 원주시 신림면 신림황둔로 145, Gangwon-do (KR).

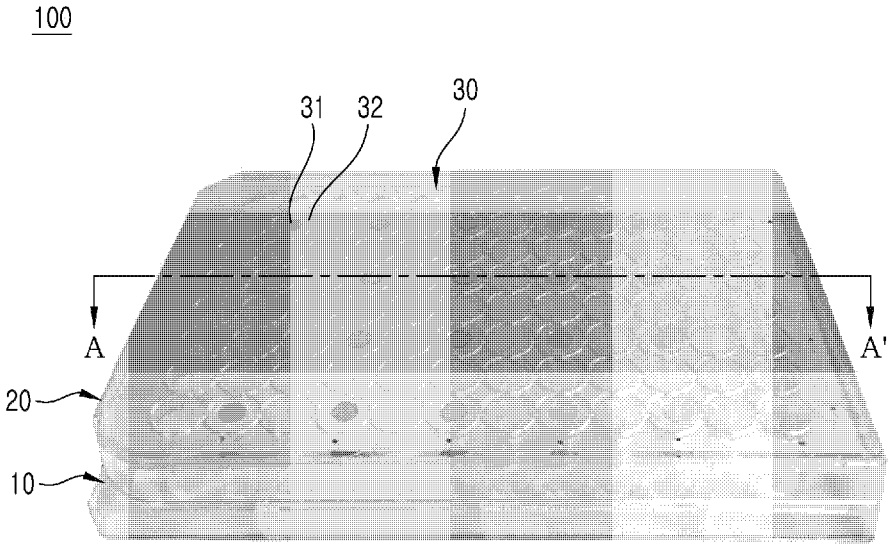
(74) 대리인: **손민 (SON, Min)**; 06302 서울시 강남구 양재천로163 6층 한얼국제특허사무소, Seoul (KR).

(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, JP, KE, KG, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

WO 2017/222118 A1

(54) Title: KIT AND CULTURE DEVICE FOR ANALYZING DISCHARGE GAS OF OBJECT TO BE CULTURED, AND MASK FOR ANALYZING ORAL DISCHARGE GAS OF WEARER

(54) 발명의 명칭: 배양 대상물의 배출 가스를 분석하기 위한 키트 및 배양기, 그리고 착용자의 구강 배출 가스를 분석하기 위한 마스크



(57) Abstract: Provided are a kit and a culture device for analyzing the discharge gas of an object to be cultured, and a mask for analyzing the discharge gas of a wearer. According to the present invention, the culture device capable of analyzing gas discharged from an object to be cultured can comprise: a culture device body including a plurality of culture cells in which the object to be cultured is cultured; a culture device cover for covering an upper side of the culture device body; and a gas-analyzing reagent coating provided at at least one location of an inner side surface of the culture device cover, and becoming discolored during a reaction with the gas.

[다음 쪽 계속]

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 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).

규칙 4.17에 의한 선언서:

— 신규성을 해치지 아니하는 개시 또는 신규성 상실의 예외에 관한 선언 (규칙 4.17(v))

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(57) 요약서: 배양 대상물의 배출 가스를 분석하기 위한 키트 및 배양기, 그리고 착용자의 배출 가스를 분석하기 위한 마스크를 제공한다. 본 발명에 따른 배양기는, 배양 대상물로부터 배출되는 가스를 분석할 수 있는 배양기로서 상기 배양 대상물이 배양되는 복수의 배양 셀을 포함하는 배양기 본체 상기 배양기 본체의 상측을 커버하는 배양기 커버 및 상기 배양기 커버의 내측면의 적어도 한 곳에 구비되며, 상기 가스와의 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅을 포함할 수 있다.

명세서

발명의 명칭: 배양 대상물의 배출 가스를 분석하기 위한 키트 및 배양기, 그리고 착용자의 구강 배출 가스를 분석하기 위한 마스크

기술분야

[1] 본 발명은, 가스를 정량분석하는 기술분야에 대한 발명으로, 보다 구체적으로는 세포와 조직 같은 배양 대상물에서 배출되는 가스를 분석하기 위한 키트 및 배양기, 그리고 착용자의 날숨 내 대상 가스를 분석하기 위한 마스크에 관한 것이다.

배경기술

[2] 일반적으로 생체 내 신호 전달 물질은 세포 간 신호 전달에 있어 전달자 역할을 한다. 가스 형태의 신호 전달물질로 알려져 있는 일산화질소(NO), 일산화탄소(CO) 및 황화수소(H_2S)는 일반 신호 전달 물질과 다르게, 막 수용체의 유무에 상관없이 세포막을 자유롭게 투과하면서 세포간의 신호전달, 혈관 항상성 유지, 감염에 대한 저항 등의 생리적 기능을 수행할 수 있다. 이러한 세포 간 신호전달에 이상이 생기는 경우 질환이 발병할 위험이 존재한다.

[3] 일 예로, 황화수소(H_2S)는 암이나 알츠하이머 질환의 발병에 관여하는 주요 신호 전달 물질이며 이러한 황화수소의 변화량을 측정함으로써 암이나 알츠하이머 질환의 발병 위험을 예측할 수 있다.

[4] 하지만, 황화수소는 생체 내에서 쉽게 확산되는 가스물질이므로, 현재의 분자생물학적 연구기법으로는 직접적인 정량화가 어려워 대부분의 경우 단백질의 발현을 측정하는 간접적인 방법을 이용하기 때문에 황화수소 자체의 직접적인 변화 양상을 정확히 파악하기 어렵다.

[5] 현재 황화수소를 측정하는 방법들은 다음과 같다.

[6] 첫째로, 메틸렌 블루를 이용하는 방법이다. 분석을 원하는 세포 또는 조직을 산성 조건하에 두어 황화수소를 발생하게 만들고, 황화수소와 아세트산아연($Zn(CH_3CO_2)_2$)을 반응시켜 황화아연(ZnS)을 생성한다. 형성된 황화아연(ZnS)을 Fe^{3+}조건 하에서 페닐렌디아민($C_6H_4(NH_2)_2$)과 반응시켜 메틸렌 블루를 만들고, 이를 분광학적으로 정량분석한다. 하지만, 이 방법에서 사용하는 페닐렌디아민은 독성이 있고 불안정한 시약일 뿐만 아니라, 산성 조건하에서 황화합물을 추가로 배출하여 황화수소량이 과측정되어 정확도가 높지 않다. 또한, 세포 또는 조직의 배양 시간이 오래 소요되며 여러 단계의 반응을 거쳐 번거롭다는 단점이 존재한다.

[7] 둘째로, 크로마토그래피를 이용하는 방법이다. 크로마토그래피는 혈청과 조직 내 황화수소량을 측정할 수 있지만, 생체 시료 내에서 실시간으로 측정할 수 없고, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)는 고가의 장비이며 측정 시간이 오래 소요되어 시료들 내에서 원치 않은 반응이 야기될 수 있다.

[8] 셋째로, 전기화학적 센서를 이용하는 방법이다. 이 경우, 높은 선택성과 빠른 반응시간 등의 장점을 가지나, 전문 측정장비가 필요하고 오랜 안정화 시간이 요구된다는 단점이 있다.

[9] 넷째로, 황화수소에 특이적으로 결합하는 형광 염료를 이용하여 이미징하여 살아있는 세포에서 황화수소를 측정하는 방법이 있으나, 특수 형광염료를 필요로 할 뿐만 아니라 고가의 이미징 장비와 전문인력이 필요하고 오랜 시간이 걸린다는 단점이 있다.

[10] (특허문헌 1) 한국특허등록문헌 제10-0385149호 (공개일 : 2000.12.05)

[11] (특허문헌 2) 한국특허등록문헌 제10-1025082호 (공개일 : 2010.10.18)

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[12] 본 발명은 배양 대상물의 배출 가스를 분석하기 위한 키트 및 배양기, 그리고 착용자의 배출 가스를 분석하기 위한 마스크를 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

[13] 본 발명은, 배양 대상물의 배출 가스를 분석하기 위한 키트 및 배양기, 그리고 착용자의 배출 가스를 분석하기 위한 마스크를 제공한다.

[14] 본 발명은, 배양 대상물로부터 배출되는 가스를 분석할 수 있는 키트 배양기(100)로서, 상기 배양 대상물이 배양되는 복수의 배양 셀(11)을 포함하는 배양기 본체(10) 상기 배양기 본체(10)의 상측을 커버하는 키트 배양기 커버(20) 및 상기 배양기 커버(20)의 내측면에 구비되며, 상기 가스와의 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅(31)을 포함하는 배양기 (100)를 제공한다.

[15] 상기 배양기 커버(20)의 내측면은 상기 복수의 배양 셀(11)에 대응하는 복수의 분석 셀(30)을 포함하며, 상기 복수의 분석 셀(30) 중 적어도 하나에는 상기 가스 분석용 시약 코팅(31)이 구비될 수 있다.

[16] 상기 복수의 분석 셀(30) 각각은 상기 배양 셀(11)의 상측 가장자리(12)를 밀봉하는 원형 돌기(32)에 의해 구획될 수 있다.

[17] 상기 가스 분석용 시약 코팅(31)은 상기 가스의 농도에 따라 다른 색으로 변색할 수 있다.

[18] 상기 가스는 황화수소(H_2S), 일산화질소(NO) 및 일산화탄소(CO) 중 어느 하나일 수 있다.

[19] 상기 가스가 황화수소(H_2S)인 경우 상기 가스 분석용 시약 코팅(31)은 질산은($AgNO_3$) 용액에 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 혼합한 물질인 것이 바람직하다.

[20] 상기 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 상기 나피온(Nafion)의 혼합 비율은 9:1인 것이 바람직하다.

[21] 상기 질산은($AgNO_3$) 용액의 농도는 0.05M 내지 0.1M 인 것이 바람직하다.

[22] 상기 배양 대상물은 S-Adenosyl methionine 처리한 C6 glioma 세포일 수 있다.

[23] 또한 본 발명은, 배양기 내의 배양 대상물로부터 배출되는 가스를 분석하기 위한 키트로서, 상기 배양기의 상면을 커버하는 내측면을 가진 시트 형태의 키트 몸체(50) 및 상기 내측면에 구비되며, 상기 가스와의 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅(51)을 포함하는 시트 타입 가스 분석 키트(200)를 제공한다.

[24] 상기 내측면은 상기 배양기의 복수의 배양 셀에 대응하는 복수의 분석 셀(50)을 포함하며, 상기 복수의 분석 셀(50) 중 적어도 하나에는 상기 가스 분석용 시약 코팅(51)이 구비될 수 있다.

[25] 상기 키트 몸체(40)는 종이 재질로 이루어진 것이 바람직하다.

[26] 상기 키트 몸체(40)에는 빨간색, 초록색 및 파란색을 띄는 표준색 물질(53)이 더 코팅될 수 있다.

[27] 상기 복수의 분석 셀(50)의 가장자리는 왁스 재질의 물질(52)이 코팅되고, 상기 왁스 재질의 물질(52) 안쪽에 상기 가스 분석용 시약 코팅(51)이 구비될 수 있다.

[28] 상기 가스는 황화수소(H_2S), 일산화질소(NO) 및 일산화탄소(CO) 중 어느 하나일 수 있다.

[29] 상기 가스가 황화수소(H_2S)인 경우, 상기 가스 분석용 시약 코팅은 질산은($AgNO_3$) 용액에 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 혼합한 물질인 것이 바람직하다.

[30] 상기 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 상기 나피온(Nafion)의 혼합 비율은 7:3인 것이 바람직하다.

[31] 상기 질산은($AgNO_3$) 용액의 농도는 0.2M 인 것이 바람직하다.

[32] 또한 본 발명은, 배양 대상물로부터 배출되는 가스를 분석할 수 있는 배양기(300)로서, 상기 배양 대상물이 배양되는 복수의 배양 셀(11)을 포함하는 배양기 본체(10) 상기 배양기 본체(10)의 상측을 커버하는 배양기 커버(20) 및 상기 시트 타입 가스 분석 키트(200)를 포함하는 배양기(300)를 제공한다.

[33] 상기 가스는 황화수소(H_2S), 일산화질소(NO) 및 일산화탄소(CO) 중 어느 하나일 수 있다.

[34] 상기 가스가 황화수소(H_2S)인 경우, 상기 가스 분석용 시약 코팅(51)은 질산은($AgNO_3$) 용액에 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 혼합한 물질인 것이 바람직하다.

[35] 또한 본 발명은, 사용자의 안면에 착용되는 마스크 본체(60) 및 상기 사용자의 날숨에 포함된 분석 대상 가스의 분석을 위해 상기 마스크 본체(60)에 구비되는 시트 타입 가스 분석 키트(70)를 포함하며, 상기 시트 타입 가스 분석 키트(70)의 일 측면에는 상기 가스와의 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅(71)이 구비된 마스크(400)를 제공한다.

[36] 상기 시트 타입 가스 분석 키트(70)는 상기 마스크 본체(60)에 분리 가능하게 설치될 수 있다.

[37] 상기 시트 타입 분석 키트(70)는 상기 시트 타입 분석 키트(70)를 관통하는 통공(72a)을 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

[38] 본 발명에 이용되는 가스 분석 시약 코팅은 황화수소 농도에 따라 다르게 변색하므로 육안 또는 리더기를 통해 황화수소의 정량분석이 가능하다.

[39] 또한, 본 발명에 따르면 시트 타입 가스 분석 키트에는 빨간색, 초록색 및 파란색을 띄는 표준색 물질이 코팅되어 비색정량의 기준을 제공함으로써, 별도의 분석장치 없이 스캐너 및 스마트폰 앱 등을 이용한 황화수소의 정량분석이 가능하다.

[40] 본 발명을 통해 살아있는 세포가 배출하는 황화수소량을 정량분석하여 암이나 알츠하이머 질환의 발병 위험을 예측가능하다.

[41] 또한, 본 발명은 마스크 형태로 구비되어 날숨에 포함된 황화수소량을 정량분석하여 비침습적으로 암이나 알츠하이머 질환의 발병 위험을 예측가능하다.

[42] 또한, 본 발명에 이용되는 가스 분석 시약 코팅은 황화수소에만 선택적 반응하기 때문에 황을 포함하는 다른 물질과 반응하지 않아 황화수소 측정의 정확도 및 신뢰도가 높다.

도면의 간단한 설명

[43] 도 1은 본 발명에 따른 배양기 제1 실시예의 사시도이다.

[44] 도 2는 도 1의 배양기의 배양기 커버의 사시도이다.

[45] 도 3은 도 1의 배양기의 배양기 본체의 사시도이다.

[46] 도 4는 도 1의 배양기의 A-A'선에 따른 단면도이다.

[47] 도 5는 가스 분석 시약 코팅에 포함된 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 혼합 비율을 변화시켜 측정한 흡광도의 그래프를 나타낸 도면이다.

[48] 도 6, 7은 도 1의 배양기에 구비되는 가스 분석 시약 코팅에 포함된 질산은 용액의 농도를 변화시켜 측정한 흡광도의 그래프를 나타낸 도면이다.

[49] 도 8은 가스 분석 시약 물질의 황화수소 반응 선택성을 실험한 결과를 나타낸 도면이다.

[50] 도 9는 도 1의 배양기를 이용하여 황화수소 농도에 따른 흡광도를 측정한 결과를 나타낸 도면이다.

[51] 도 10은 C6 glioma 세포에 황화수소 생성을 촉진하는 물질을 첨가시킨 후 황화수소량을 측정한 결과를 나타낸 도면이다.

[52] 도 11은 C6 glioma 세포 수를 변화하여 황화수소량을 측정한 결과를 나타낸 도면이다.

[53] 도 12는 본 발명에 따른 배양기 제2 실시예의 사시도이다

[54] 도 13은 도 12의 배양기에 포함된 시트 타입 분석 키트의 사시도이다.

[55] 도 14는 도 12의 배양기의 B-B'선에 따른 단면도이다.

[56] 도 15는 도 13의 시트 타입 분석 키트에 구비되는 가스 분석 시약 코팅에 포함된

질산은 용액의 농도를 변화시켜 측정한 흡광도의 그래프를 나타낸 도면이다.

[57] 도 16은 도 13의 시트 타입 분석 키트에 구비되는 가스 분석 시약 코팅에 포함된 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 혼합 비율을 변화시켜 황화수소의 농도에 따라 반응시킨 결과를 나타낸 도면이다.

[58] 도 17은 본 발명에 따른 마스크의 마스크 본체와 시트 타입 가스 분석 키트가 분리되어 있는 도면이다.

[59] 도 18은 도 17의 마스크 본체와 시트 타입 가스 분석 키트가 장착되는 모습을 나타낸 도면이다.

발명의 실시를 위한 형태

[60] 이하에서는 첨부된 도면들을 참조하여 본 발명의 실시예들에 대해 보다 구체적으로 설명한다.

[61] **1. 배양기의 제1 실시예**

[62] 먼저, 도 1 내지 도 4를 참조하여 배양기(100)의 제1 실시예에 대해 설명한다.

[63] 도 1는 본 발명에 따른 배양기 제1 실시예의 사시도이고, 도 2는 도 1의 배양기(100)의 배양기 커버(20)의 사시도이며, 도 3은 도 1의 배양기(100)의 배양기 본체(10)의 사시도이고, 도 4는 도 1의 배양기(100)의 A-A'선에 따른 단면도이다.

[64] 제1 실시예 배양기(100)는 배양 대상물이 배양되는 배양기 본체(10), 배양기 본체(10)의 상측을 커버하는 배양기 커버(20), 배양기 커버(20)의 내측면에 구비되는 가스 분석용 시약 코팅(31)을 포함한다.

[65] 상기 배양기 본체(10)는 배양 대상물이 배양되는 복수의 배양 셀(11)을 포함하며, 배양 대상물은 살아있는 세포 또는 조직인 것이 바람직하다. 배양 대상물은 배양 셀(11) 내에서 배양되면서 황화수소(H_2S), 일산화질소(NO) 및 일산화탄소(CO) 가스를 배출한다.

[66] 상기 배양기 커버(20)는 배양기 본체(10)의 상측을 커버하며, 배양기 커버(20) 내측면에는 가스 분석용 시약 코팅(31)이 구비된다.

[67] 가스 분석용 시약 코팅(31)은 상기 가스와의 반응 시 변색하며, 가스 농도에 따라 각기 다른 색으로 변색한다. 도 1 및 도 2에 도시된 바와 같이, 가스 분석용 시약 코팅(31)이 가스 농도에 따라 다른 색으로 변색함에 따라, 육안 관찰 및 흡광도를 측정하는 기기를 이용하여 배양 대상물이 배출하는 가스의 정량적 분석이 가능하다.

[68] 배양기 커버(20)는 복수의 분석 셀(30)을 포함할 수 있다. 분석 셀(30) 각각은 배양 셀(11) 각각에 대응되는 부분이며, 원형 돌기(32)에 의해 구획되고, 그 내부에는 가스 분석용 시약 코팅(31)이 구비된다. 도 1에 도시된 바와 같이, 원형 돌기(32)는 배양기 커버(20)의 내측면으로부터 돌출된 구조로 형성되며, 배양기 커버(20)가 배양기 본체(10)를 커버하는 경우, 원형 돌기(32) 각각은 배양 셀(11) 상측 가장자리를 밀봉하여 전체적으로 배양 셀(11) 각각을 커버하게 된다.

배양기 커버(20)의 내측면이 원형 돌기(32)를 포함하고 있어, 배양 셀(11)에 배양되는 배양 대상물이 배출하는 가스가 배양 셀(11)에 대응되는 분석 셀(30)의 가스 분석용 시약 코팅(31)과만 반응할 수 있다.

[69] 배양기(100)는 배양 대상물이 배출하는 가스를 분석할 수 있다. 이 때, 분석대상 가스가 황화수소(H_2S)인 경우, 가스 분석용 시약 코팅(31)은 질산은($AgNO_3$) 용액을 포함하는 것이 바람직하다.

[70] 질산은 용액을 포함하는 가스 분석용 시약 코팅(31)이 황화수소와의 반응 시 색 변화하는 원리에 대해 먼저 설명한다. 질산은 용액의 Ag^+와 황화수소(H_2S)가 반응하는 경우 Ag_2S가 생성되며, 이 Ag_2S가 색을 띄기 때문에 육안으로 색 변화를 관찰할 수 있다. 이를 화학식으로 표현하면 아래와 같다.

[71] $H_2S + 2Ag^+ \rightarrow 2H^+ + Ag_2S$

[72] 가스 분석용 시약 코팅은 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 더 포함할 수 있다.

[73] 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 비율을 조절하는 경우 황화수소와의 반응 시 색 변화의 정도가 다르게 나타나게 된다.

[74] 색 변화가 클수록 육안 또는 스캐너, 스마트폰 앱을 이용한 황화수소의 정량분석이 용이해지므로, 황화수소와의 반응 시 색 변화가 크게 되는 혼합 최적화비율을 찾기 위해 실험을 실시하였다. 도 5는 그 결과를 나타낸 도면이다.

[75] 실험은 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 비율을 1:9, 3:7, 5:5, 7:3, 9:1로 하여 100μM Na_2S 용액에서 흡광도 분석을 실시하였다. 실험결과, 도 5에 나타난 것처럼 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 비율은 9:1인 경우 흡광도가 가장 높게 측정되었다. 흡광도가 높게 측정된다는 것은 황화수소와 반응한 후 변색하는 정도가 크게 되어, 육안 또는 스캐너 및 스마트폰 앱을 이용하여 선명하게 구별이 가능하다는 것을 의미한다. 이와 같은 실험을 통해 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 비율은 9:1인 것이 바람직함이 확인되었다.

[76] 가스 분석용 시약 코팅(31)은 황화수소의 농도에 따라 다르게 색 변색하는 것이 바람직하다. 황화수소의 농도에 따라 다르게 변색함으로써, 육안 또는 스캐너, 스마트폰 앱을 이용한 황화수소의 정량분석이 용이해지므로, 황화수소 농도에 따라 변색하는 질산은 용액의 최적 농도를 찾기 위해 실험을 실시하였다. 도 6 및 도 7은 그 결과를 나타낸 도면이다.

[77] 실험은 질산은 용액의 농도를 다르게 하여 Na_2S 용액의 농도를 변화시킴에 따른 흡광도 변화량을 측정하였다. 구체적으로, 0μM 내지 100μM Na_2S 용액과 함께 0.01M, 0.025M, 0.05M, 0.1M, 0.2M, 0.4M 질산은 용액을 사용하여 흡광도 분석을 실시하였다.

[78] 도 6 및 도 7에 나타난 것처럼, 0.01M, 0.025M의 질산은 용액을 사용한 것과는 달리 0.05M, 0.1M, 0.2M, 0.4M 질산은 용액을 사용할 경우 Na_2S 용액의 농도가 증가함에 따라 흡광도가 비례하여 증가하는 것을 확인할 수 있다. 이와 같은

실험을 통해 가스 분석용 시약 코팅(31)의 질산은 용액은 0.05M 내지 0.4M 농도를 갖는 것이 바람직함이 확인되었다. 하지만, 농도가 높은 질산은 용액을 사용하기 위해서 질산은이 많이 투여되기 때문에 제조 단가가 상승하므로, 0.05M 내지 0.1M 농도의 질산은 용액을 사용하는 것이 더욱 바람직함을 충분히 예상가능 할 수 있을 것이다.

[79] 가스 분석용 시약 코팅(31)은 배양 대상물이 배출하는 가스의 정량분석을 위한 것이므로, 분석 대상 가스에 대해서만 선택적 반응하는 것이 바람직하다. 황화수소를 예로 들면, 황화수소가 아닌 황을 포함하는 물질과 반응하는 경우, 황화수소의 정량분석의 정확도가 떨어지기 때문에 황화수소에 대해서만 반응하는 반응 선택성을 가지는 것이 필수적이다.

[80] 이러한, 가스 분석용 시약 코팅(31)의 황화수소에의 반응 선택성을 확인하기 위해 실험을 실시하였다. 도 8은 그 결과를 나타낸 도면이다.

[81] 구체적으로, 황화수소(H_2S) 이외에 S를 함유하는 다른 물질에 의해서도 가스 분석용 시약 물질(31)이 반응하는지 알아보기 위해 GHS(glutathione), Cys(Cysteine), DTT(Dithiothreitol)를 대조군으로 하여 실험을 실시하였다.

[82] 도 8에 나타난 것처럼, 황화수소를 배출하는 용액인 Na_2S의 경우 농도가 증가할수록 흡광도 또한 비례하여 증가함을 확인할 수 있었으나, 그 외의 GHS, Cys, DTT는 농도가 증가하여도 흡광도 변화가 없음을 확인할 수 있었다.

[83] 실험을 통해, 가스 분석용 시약 코팅(31)은 황화수소(H_2S)에 대해서만 선택적 반응할 수 있음을 확인할 수 있었다.

[84] 상기 실험들을 통해, 제1 실시예 배양기(100)에 구비되는 가스 분석용 시약 코팅(31)은 황화수소와의 반응을 통해 변색함으로써, 육안 또는 스마트폰 앱 등을 통해 배양 대상물이 배출하는 황화수소를 정량적으로 분석하는 것이 가능함을 확인하였다.

[85] 제1 실시예 배양기(100)의 성능을 테스트하기 위해 실험을 실시하였다.

[86] 구체적으로, 배양기(100)를 이용하여 세포 배양 조건(섭씨 37도, CO_2 Incubator)에서 황화수소 공급물질인 Na_2S에서 방출된 황화수소 농도에 따라 변화하는 흡광도를 분석하는 실험을 실시하였다. 도 9는 그 결과를 나타낸 도면이다.

[87] 황화수소 농도가 증가함에 따라 흡광도 또한 증가함을 확인할 수 있고, 이를 함수로 나타내면 y=0.0169x-0.0122임을 확인할 수 있었다. 이와 같은 실험을 통해, 배양기(100)는 황화수소 농도 1μM 당 0.0169의 흡광도의 차이를 보이는 성능을 가짐을 확인할 수 있었다.

[88] 추가적으로, 살아있는 세포 또는 조직에서 배출되는 황화수소량을 측정하기 위해 실험을 실시하였다. 도 10은 그 결과를 나타낸 도면이다.

[89] 2 X 10^5 세포수를 가진 C6 glioma 세포군에 황화수소 생성을 촉진하는 물질인 SAM(S-Adenosyl methionine), Cystein, H-Cystein을 처리하여, C6 glioma 세포가 배출하는 황화수소량을 측정하였다.(2.5 mM SAM, 10 mM cysteine, 0.5mM

homo-cystein 처리)

[90] 도 10에 나타난 것처럼, 황화수소 생성을 촉진시키는 물질을 처리한 경우 처리하지 않은 대조군과 비교하여 황화수소 배출량이 증가함을 확인할 수 있었다.

[91] 또한, C6 glioma cell 세포수를 증가시켜 10만, 20만, 40만 세포수를 가진 C6 glioma 세포군에서 배출되는 황화수소량을 측정하는 실험을 실시하였다. 도 11은 그 결과를 나타낸 도면이다.

[92] 도 11에 나타난 것처럼, 세포수가 증가할수록 황화수소 배출량이 늘어남을 확인할 수 있었다.

[93] **2. 배양기의 제2 실시예**

[94] 이하에서는, 도 12 내지 도 14를 참조하여 배양기의 제2 실시예에 대해 자세히 설명한다.

[95] 도 12는 본 발명에 따른 배양기 제2 실시예의 사시도이고, 도 13은 도 12의 배양기(300)에 포함된 시트 타입 분석 키트(200)의 사시도이며, 도 14는 도 12의 배양기(300)의 B-B'선에 따른 단면도이다.

[96] 제2 실시예 배양기(300)는 배양기 본체(10)와 배양기 커버(20) 및 시트 타입 분석 키트(200)를 포함한다.

[97] 배양기 본체(10)는 배양 대상물이 배양되는 복수의 배양 셀(11)을 포함하며, 배양기 커버(20)는 상기 배양기 본체(10)의 상측을 커버한다. 배양기 본체(10) 및 배양기 커버(20)는 제1 실시예 배양기(100)에 포함된 배양기 본체(10) 및 배양기 커버(20)와 동일한 것을 사용할 수 있다. 배양기 본체(10) 및 배양기 커버(20)에 대한 자세한 설명은 제1 실시예 배양기(100)를 설명하면서 전술하였으므로 생략하기로 한다.

[98] 시트 타입 분석 키트(200)는 시트 형태로 형성되며, 배양기 본체(10)와 배양기 커버(20) 사이에 배치되어 복수의 배양 셀(11)에서 배양되는 배양 대상물이 배출하는 가스를 검출하는 부분이다.

[99] 시트 타입 가스 분석 키트(200)는 시트 형태의 키트 몸체(40)와 가스 분석용 시약 물질(51)을 포함한다.

[100] 키트 몸체(40)는 배양기의 상면을 커버하는 내측면을 포함한다. 내측면에는 가스와의 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅(51)이 구비된다. 키트 몸체(40)는 배양기(300)의 복수의 배양 셀(11)에 대응하는 복수의 분석 셀(50)을 포함하며, 복수의 분석 셀(50) 내부에 가스 분석용 시약 코팅(51)이 구비된다. 분석 셀(50)이 배양 셀(11)에 대응됨에 따라, 도 12에 나타난 것처럼 배양기 커버(20)가 배양기 본체(10)를 커버하는 경우, 배양 셀(11)에 배양되는 배양 대상물이 배출하는 가스가 배양 셀(11)에 대응되는 분석 셀(50)의 가스 분석용 시약 코팅(51)과만 반응할 수 있다.

[101] 도 13을 참조하면, 키트 몸체(40)에는 빨간색, 초록색 및 파란색을 띄는 표준색 물질(53)이 더 코팅된다. 모든 색은 삼원색인 빨간색, 초록색 및 파란색을

혼합하여 나타낼 수 있으므로, 키트 몸체(40)에 빨간색, 초록색 및 파란색을 띄는 표준색 물질(53)이 코팅됨으로써 가스 분석용 시약 코팅(51)이 가스와 반응하여 변색하는 경우, 그 변화한 색을 빨간색, 초록색 및 파란색의 비율로 정량화하는 것이 가능하다. 가스의 농도에 따라 가스 분석용 시약 코팅(51) 또한 다른 색으로 변색하므로, 각각의 분석 셀(50)은 배양 대상물의 종류, 상태에 따라 다른 색으로 표시된다. 각 분석 셀(50)이 표시하는 색을 분석함으로써 배양 대상물이 배출하는 가스의 정량 분석이 가능하다. 이러한 분석은 카메라, 스캐너 및 스마트폰의 앱을 통해 수행될 수 있고, 별도의 분석장비 없이 분석이 가능하므로 비용 면에서도 경제적이다. 분석 방법에 대한 자세한 설명은 본 발명의 주요한 특징이 아니므로 생략하기로 한다.

[102] 도 13을 다시 참조하면, 복수의 분석 셀(50) 가장자리는 왁스 재질의 물질(52)이 코팅되고, 왁스 재질의 물질(52)의 안쪽에 가스 분석용 시약 코팅(51)이 구비된다. 왁스 재질의 물질(52)에 의해 복수의 분석 셀(50) 각각이 구획된다. 왁스 재질의 물질(52)이 코팅됨으로써, 왁스 재질의 물질(52) 안쪽에 코팅된 가스 분석용 시약 코팅51)이 왁스 재질의 물질(52) 바깥으로 새어나가지 않도록 한다.

[103] 키트 몸체(40)는 종이 재질로 이루어진 것이 바람직하다. 키트 몸체(40)가 종이 재질로 이루어져 제조 단가가 절감되며, 왁스프린터 및 잉크젯 프린터 등으로 왁스 재질의 물질(52)을 정밀하게 코팅할 수 있다.

[104] 제2 실시예 배양기(300) 또한 배양 셀(11) 내에 배양되는 배양 대상물이 배출하는 가스를 분석할 수 있다. 분석대상 가스가 황화수소(H_2S)인 경우, 가스 분석용 시약 코팅(51)은 질산은($AgNO_3$) 용액과 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 혼합한 물질을 포함하는 것이 바람직하다. 가스 분석용 시약 코팅(51)이 상기 구성을 포함하고 있어, 황화수소 농도에 따라 다른 색으로 변색하므로 육안 또는 스마트폰 앱을 이용하여 황화수소의 정량분석이 가능하다.

[105] 가스 분석용 시약 코팅(51)은 황화수소의 농도에 따라 다르게 색 변색하는 것이 바람직하다. 황화수소의 농도에 따라 다르게 변색함으로써, 육안 또는 스캐너, 스마트폰 앱을 이용한 황화수소의 정량분석이 용이해지므로, 황화수소 농도에 따라 변색하는 질산은 용액의 농도를 찾기 위해 실험을 실시하였다. 도 15는 그 결과를 나타낸 도면이다.

[106] 실험은 질산은 용액의 농도를 다르게 하여 Na_2S 용액의 농도를 변화시킴에 따른 흡광도 변화량을 측정하였다. 구체적으로, 0μM 내지 100μM Na_2S 용액과 함께 0.5M, 1M, 2M 농도의 질산은 용액을 사용하여 흡광도 분석을 실시하였다.

[107] 질산은 용액을 2M 농도로 하였을 때 Na_2S 용액의 농도가 증가함에 따라 흡광도가 비례하여 증가하는 것을 확인할 수 있다. 실험을 통해, 2M 농도의 질산은 용액을 사용하는 것이 바람직함이 확인되었다. 또한, 살아있는 세포 또는 조직에서 배출되는 황화수소량으로 추정되는 0~50 μM Na_2S 농도 영역에서 2M 농도의 질산은 용액을 사용하는 것이 가장 높은 반응성을 나타내는 것을

확인하였다.

[108] 이와 같은 실험을 통해, 제2 실시예 배양기(300)에 이용되는 가스 분석용 시약 코팅(51)의 질산은 용액의 바람직한 농도는 0.2M인 것이 확인되었다.

[109] 또한, 가스 분석용 시약 코팅(51)에 포함된 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 비율을 조절하는 경우 황화수소와의 반응 시 색 변화의 정도가 다르게 나타나게 된다.

[110] 색 변화가 클수록 육안 또는 스캐너, 스마트폰 앱을 이용한 황화수소의 정량분석이 용이해지므로, 황화수소와의 반응 시 색 변화가 크게 되는 혼합 최적화비율을 찾기 위해 실험을 실시하였다. 도 16은 그 결과를 나타낸 도면이다.

[111] 실험은 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 비율을 5:5, 7:3, 9:1로 하여 Na_2S 용액의 농도에 따른 색 변화를 관찰하였다. 실험결과, 도 16에 나타난 것처럼 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 비율은 7:3인 경우 Na_2S 용액의 낮은 농도에서의 색 변화가 가장 뚜렷하고, 전체적으로 균일하게 색 변화가 관찰되었다. 이와 같은 실험을 통해 가스 분석용 시약 코팅(51)에 포함된 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)의 비율은 7:3인 것이 바람직함이 확인되었다.

[112] **3. 마스크의 설명**

[113] 도 17 및 도 18을 참조하여 본 발명의 실시예에 따른 마스크(400)에 대해 설명한다.

[114] 도 17은 본 발명에 따른 마스크(400)의 마스크 본체(60)와 시트 타입 가스 분석 키트(70)가 분리되어 있는 도면이고, 도 18은 도 17의 마스크 본체(60)와 시트 타입 가스 분석 키트(70)가 장착되는 모습을 나타낸 도면이다.

[115] 도 17을 참조하면, 마스크(400)는 마스크 본체(60)와 시트 타입 분석 키트(70)를 포함한다.

[116] 마스크 본체(60)는 사용자의 안면에 착용되는 부분이다. 마스크 본체(60)에는 사용자의 귀에 착용되어 마스크 본체(60)를 사용자의 안면에 고정하는 끈이 구비된다.

[117] 또한, 마스크 본체(60)에는 시트 타입 가스 분석 키트(70)가 구비된다.

[118] 시트 타입 가스 분석 키트(70)는 일 측면에 가스와 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅(71)이 구비되며 시트 형태로 구성된 키트 몸체(72)를 포함한다. 사용자의 날숨에는 황화수소 가스가 포함되어 있으므로 사용자가 숨을 내뱉는 경우, 키트 몸체(72)에 구비된 가스 분석용 시약 코팅(71)은 날숨에 포함된 황화수소와 반응하여 변색하게 된다. 황화수소 가스의 농도에 따라 가스 분석용 시약 코팅(71) 또한 다르게 변색하므로, 색 변화를 관찰하여 날숨에 포함된 황화수소를 정량분석할 수 있다.

[119] 황화수소를 분석하기 위한 가스 분석용 시약 코팅(71)은 질산은($AgNO_3$) 용액과 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 혼합한

물질을 포함하는 것이 바람직하다. 가스 분석용 시약 코팅(51)이 상기 구성을 포함하고 있어, 황화수소 농도에 따라 다른 색으로 변색하므로 육안 또는 스마트폰 앱을 이용하여 황화수소의 정량분석이 가능하다. 이에 관한 설명은 전술하였으므로, 생략하기로 한다.

[120] 상기 시트 타입 가스 분석 키트(70)는 마스크 본체(60)에 분리 가능하게 설치되는 것이 바람직하다. 도 18에 나타난 것처럼, 시트 타입 가스 분석 키트(70)가 분리 가능하게 설치되어, 가스 정량분석의 편리성이 증대된다.

[121] 키트 몸체(72)는 키트 몸체(72)를 관통하는 통공(72a)가 형성되는 것이 바람직하다. 키트 몸체(72)에 다수의 통공(72a)이 형성되어 사용자가 마스크(400)를 착용한채 호흡하더라도 공기의 흐름을 막지 않아 불편함을 느끼지 않게 된다.

[122] 이상, 본 명세서에는 본 발명을 당업자가 용이하게 이해하고 재현할 수 있도록 도면에 도시한 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당업자라면 본 발명의 실시예로부터 다양한 변형 및 균등한 타 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 보호범위는 청구범위에 의해서 정해져야 할 것이다.

청구범위

[청구항 1] 배양 대상물로부터 배출되는 가스를 분석할 수 있는 배양기(100)로서,
상기 배양 대상물이 배양되는 복수의 배양 셀(11)을 포함하는 배양기 본체(10);
상기 배양기 본체(10)의 상측을 커버하는 배양기 커버(20); 및
상기 배양기 커버(20)의 내측면에 구비되며, 상기 가스와의 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅(31);을 포함하는,
배양기(100).

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 배양기 커버(20)의 내측면은 상기 복수의 배양 셀(11)에 대응하는 복수의 분석 셀(30)을 포함하며, 상기 복수의 분석 셀(30) 중 적어도 하나에는 상기 가스 분석용 시약 코팅(31)이 구비된,
배양기(100).

[청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 복수의 분석 셀(30) 각각은 상기 배양 셀(11)의 상측 가장자리(12)를 밀봉하는 원형 돌기(32)에 의해 구획되는,
배양기(100).

[청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 가스 분석용 시약 코팅(31)은,
상기 가스의 농도에 따라 다른 색으로 변색하는,
배양기(100).

[청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 가스는 황화수소(H_2S), 일산화질소(NO) 및 일산화탄소(CO) 중 어느 하나인 것인,
배양기(100).

[청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 가스가 황화수소(H_2S)인 경우,
상기 가스 분석용 시약 코팅(31)은 질산은($AgNO_3$) 용액에 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 혼합한 물질인,
배양기(100).

[청구항 7] 제6항에 있어서,
상기 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 상기 나피온(Nafion)의 혼합 비율은 9:1인,
배양기(100).

[청구항 8] 제6항에 있어서,
상기 질산은($AgNO_3$) 용액의 농도는 0.05M 내지 0.1M 인,

배양기(100).

[청구항 9] 제1항에 있어서,
상기 배양 대상물은 S-Adenosyl methionine 처리한 C6 glioma 세포인,
배양기(100).

[청구항 10] 배양기 내의 배양 대상물로부터 배출되는 가스를 분석하기 위한 키트로서,
상기 배양기의 상면을 커버하는 내측면을 가진 시트 형태의 키트 몸체(40); 및
상기 내측면에 구비되며, 상기 가스와의 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅(51);을 포함하는,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 11] 제10항에 있어서,
상기 내측면은 상기 배양기의 복수의 배양 셀에 대응하는 복수의 분석 셀(50)을 포함하며, 상기 복수의 분석 셀(50) 중 적어도 하나에는 상기 가스 분석용 시약 코팅(51)이 구비된,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 12] 제10항에 있어서,
상기 키트 몸체(40)는 종이 재질로 이루어진,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 13] 제11항에 있어서,
상기 키트 몸체(40)에는 빨간색, 초록색 및 파란색을 띄는 표준색 물질(53)이 더 코팅된,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 14] 제11항에 있어서,
상기 복수의 분석 셀(50)의 가장자리는 왁스 재질의 물질(52)이 코팅되고,
상기 왁스 재질의 물질(52)의 안쪽에 상기 가스 분석용 시약 코팅(51)이 구비된,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 15] 제10항에 있어서,
상기 가스는 황화수소(H_2S), 일산화질소(NO) 및 일산화탄소(CO) 중 어느 하나인 것인,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 16] 제15항에 있어서,
상기 가스가 황화수소(H_2S)인 경우,
상기 가스 분석용 시약 코팅(51)은 질산은($AgNO_3$) 용액에 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 혼합한 물질인,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 17] 제16항에 있어서,
상기 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 상기 나피온(Nafion)의 혼합 비율은 7:3인,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 18] 제16항에 있어서,
상기 질산은($AgNO_3$) 용액의 농도는 0.2M 인,
시트 타입 가스 분석 키트(200).

[청구항 19] 배양 대상물로부터 배출되는 가스를 분석할 수 있는 배양기(300)로서,
상기 배양 대상물이 배양되는 복수의 배양 셀(11)을 포함하는 배양기 본체(10);
상기 배양기 본체(10)의 상측을 커버하는 배양기 커버(20); 및
제10항 내지 제18항 중 어느 한 항에 따른 시트 타입 가스 분석 키트로서,
상기 배양기 본체(10)와 상기 배양기 커버(20) 사이에 배치되는 시트 타입 가스 분석 키트를 포함하는,
배양기(300).

[청구항 20] 제19항에 있어서,
상기 가스는 황화수소(H_2S), 일산화질소(NO) 및 일산화탄소(CO) 중 어느 하나인 것인,
배양기(300).

[청구항 21] 제20항에 있어서,
상기 가스가 황화수소(H_2S)인 경우,
상기 가스 분석용 시약 코팅(51)은 질산은($AgNO_3$) 용액에 폴리비닐피롤리돈(Polyvinylpyrrolidone) 및 나피온(Nafion)을 혼합한 물질인,
배양기(300).

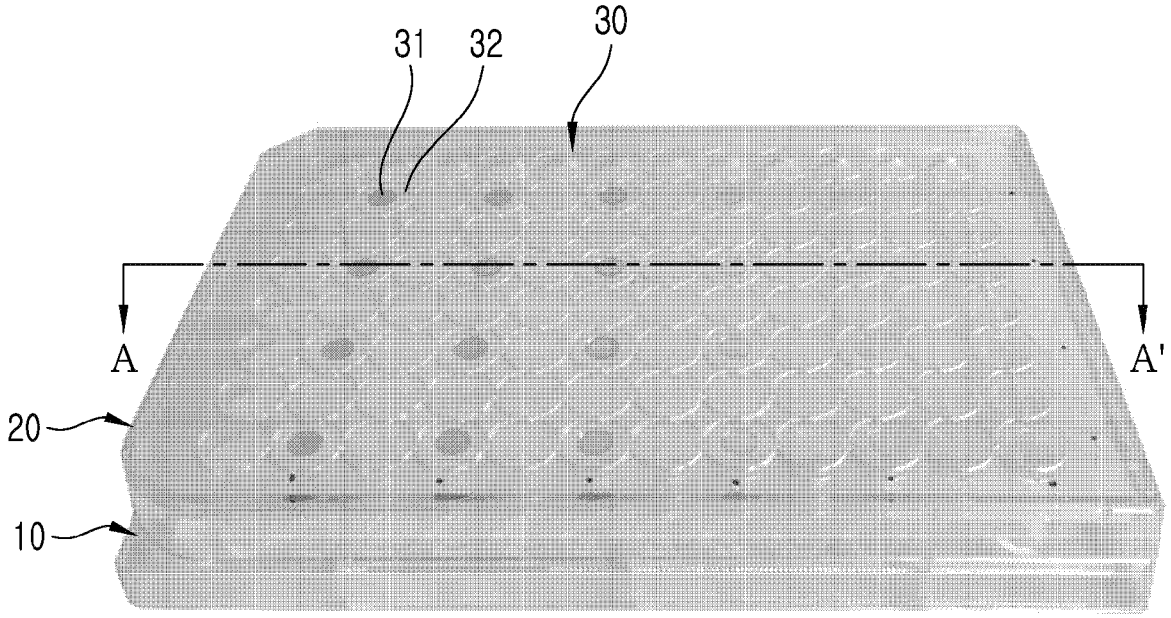
[청구항 22] 사용자의 안면에 착용되는 마스크 본체(60); 및
상기 사용자의 날숨에 포함된 분석 대상 가스의 분석을 위해 상기 마스크 본체(60)에 구비되는 시트 타입 가스 분석 키트(70);를 포함하며,
상기 시트 타입 가스 분석 키트(70)의 일 측면에는 상기 가스와의 반응 시 변색하는 가스 분석용 시약 코팅(71)이 구비된,
마스크(400).

[청구항 23] 제22항에 있어서,
상기 시트 타입 가스 분석 키트(70)는 상기 마스크 본체(60)에 분리 가능하게 설치되는,
마스크(400).

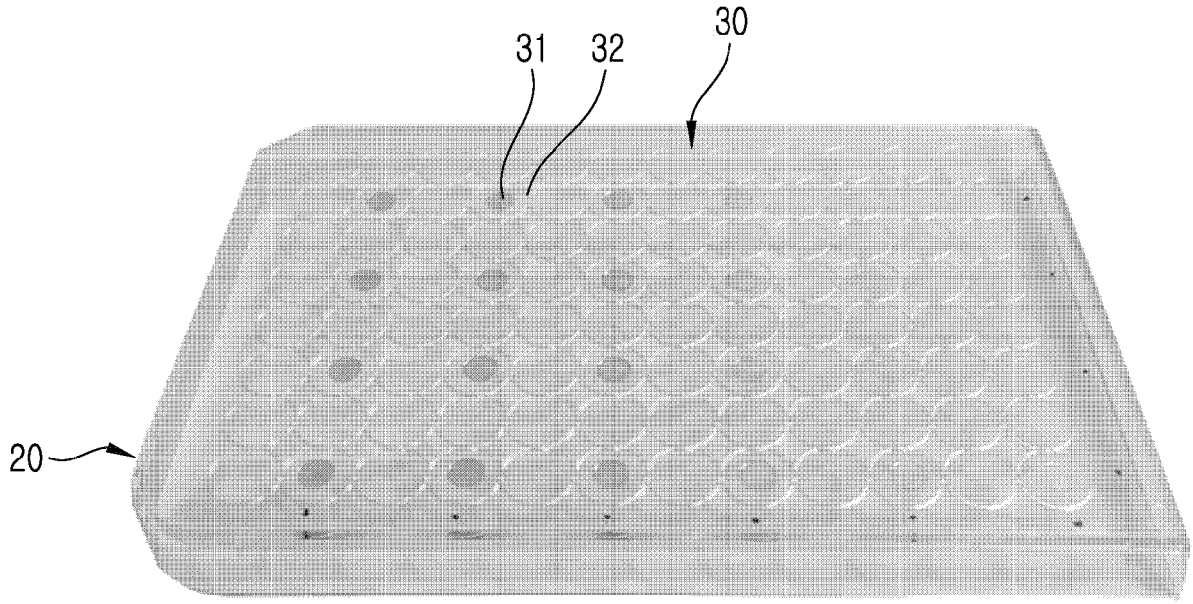
[청구항 24] 제22항에 있어서,
상기 시트 타입 분석 키트(70)를 관통하는 통공(72a)을 더 포함하는,
마스크(400).

[도1]

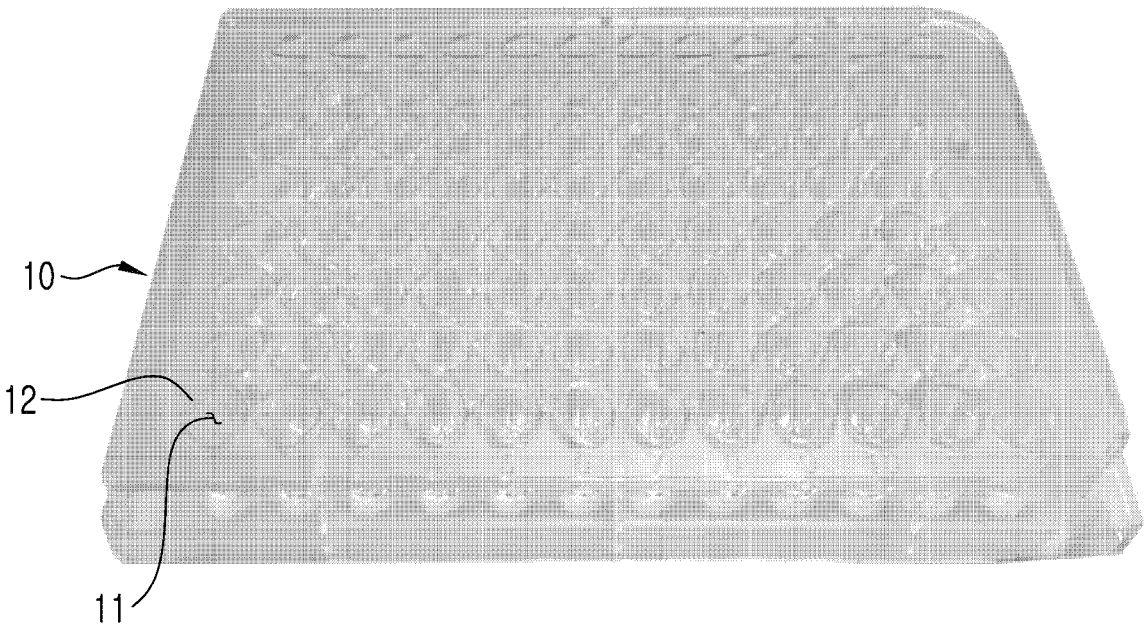
100



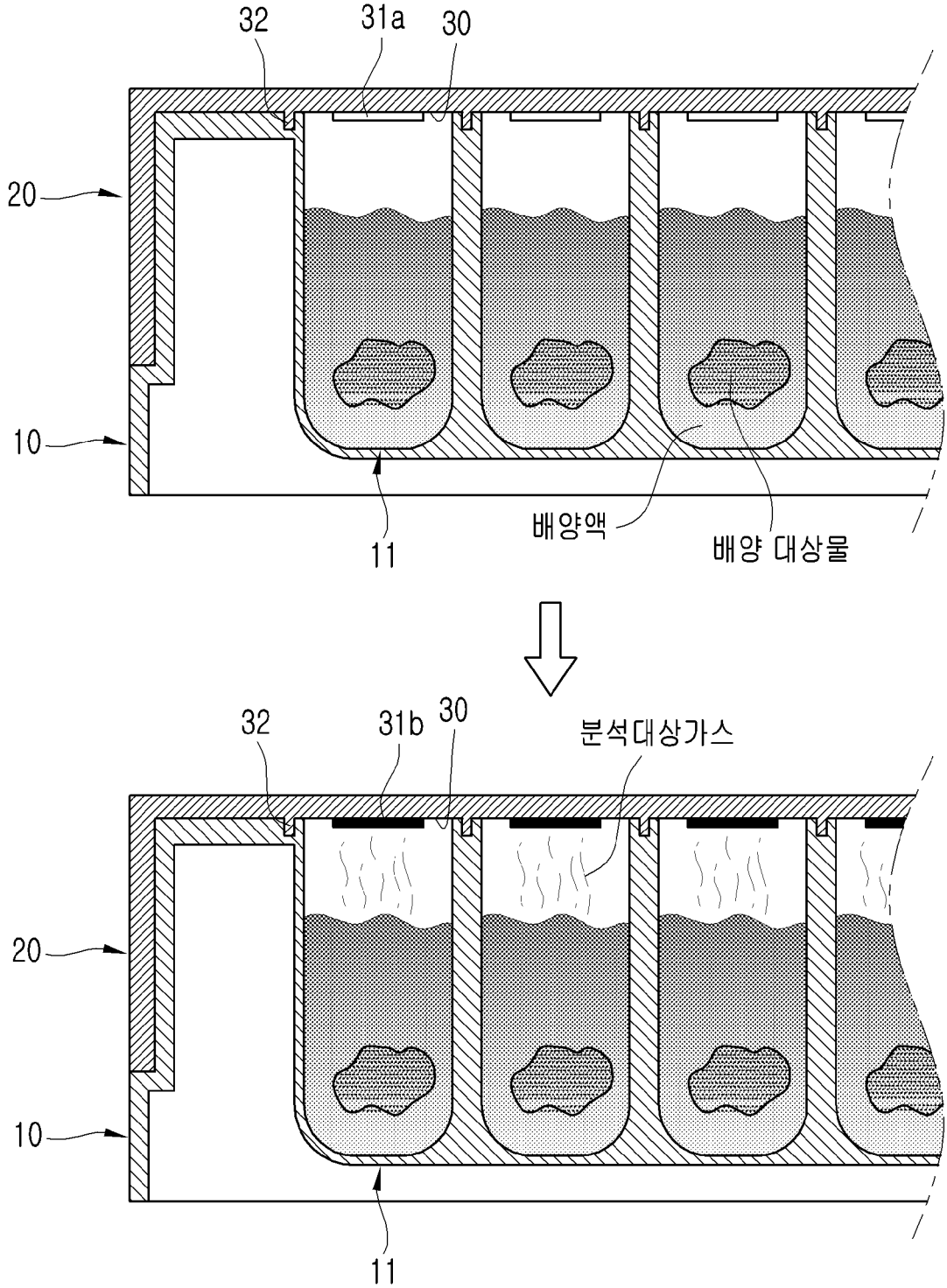
[도2]



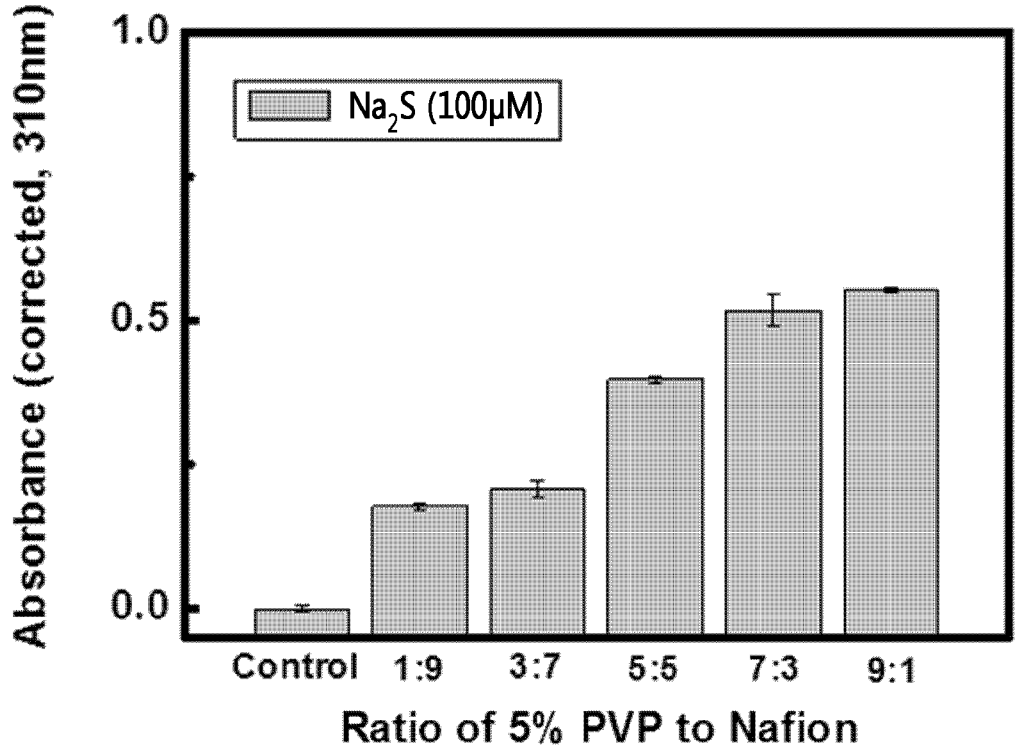
[도3]



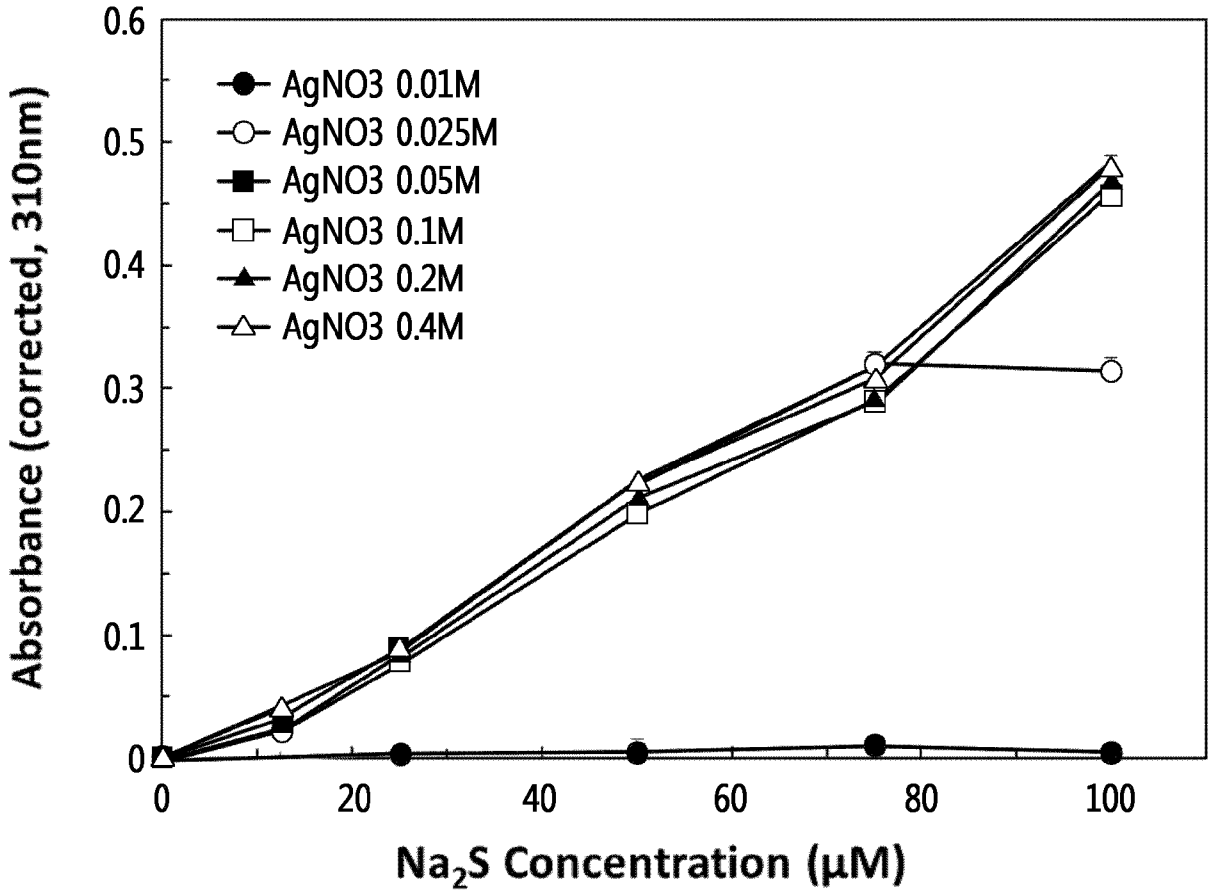
[도4]



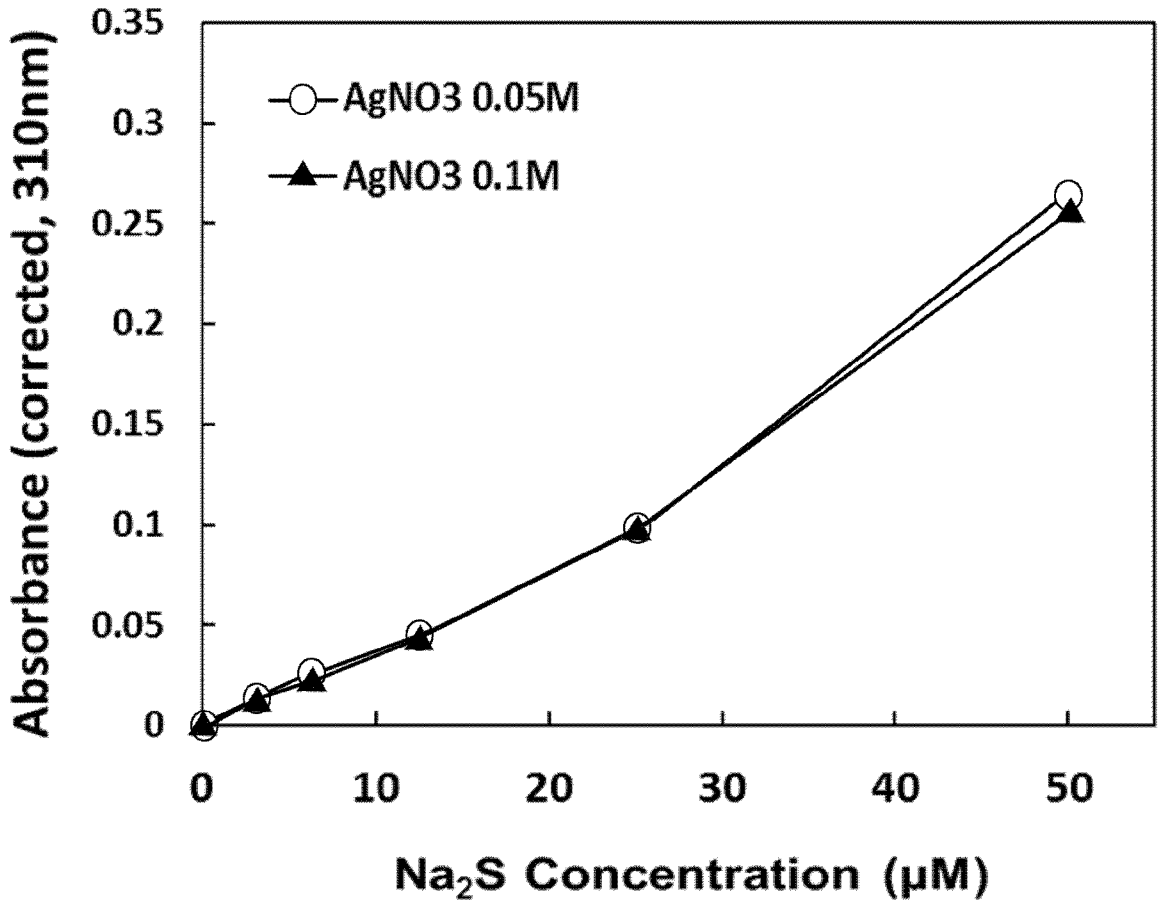
[도5]


Absorbance (corrected, 310nm)
1.0
0.5
0.0
Na2S (100μM)
Control
1:9
3:7
5:5
7:3
9:1
Ratio of 5% PVP to Nafion

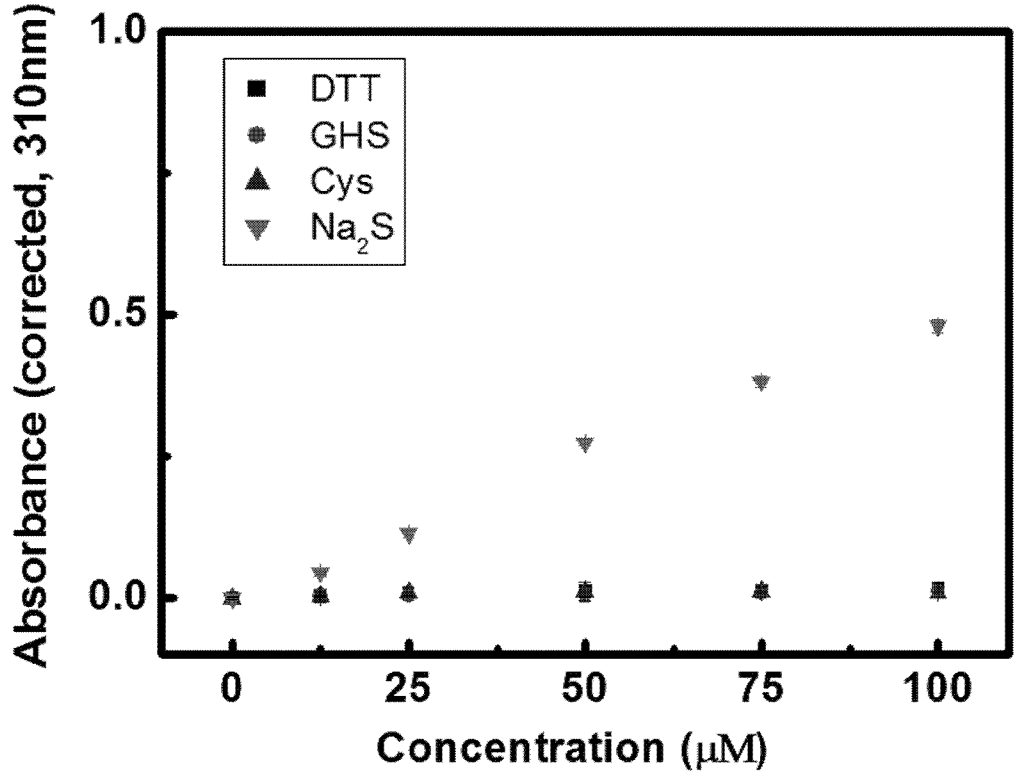
[도6]


Absorbance (corrected, 310nm)
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
AgNO3 0.01M
AgNO3 0.025M
AgNO3 0.05M
AgNO3 0.1M
AgNO3 0.2M
AgNO3 0.4M
0
20
40
60
80
100
Na2S Concentration (μM)

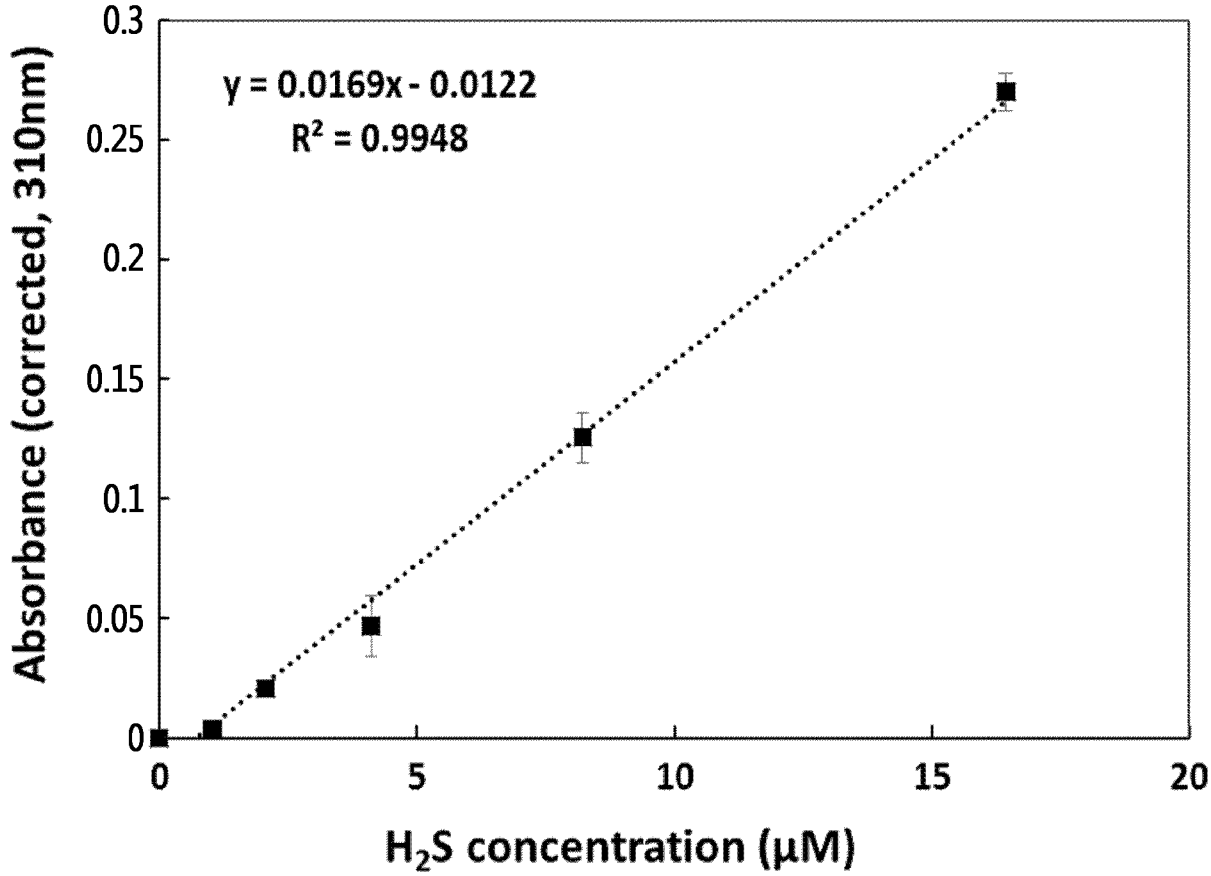
[도7]


AgNO3 0.05M
AgNO3 0.1M
Absorbance (corrected, 310nm)
0.35
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
0
10
20
30
40
50
Na2S Concentration (μM)

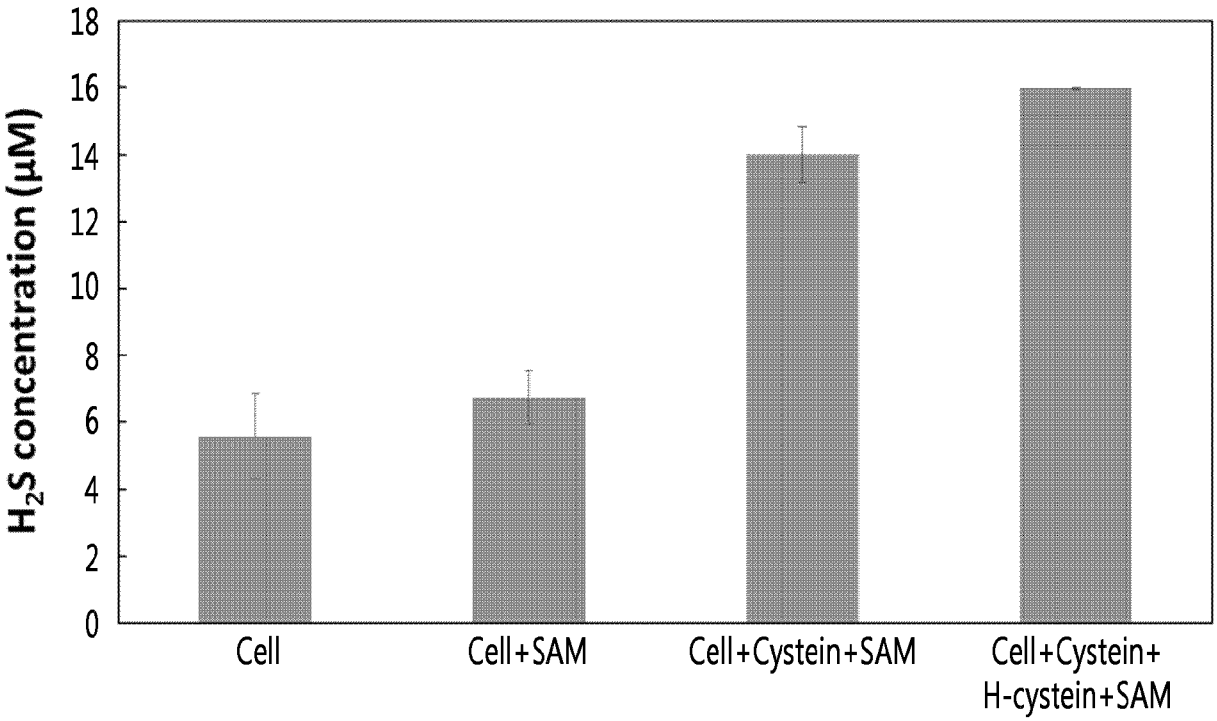
[도8]


DTT
GHS
Cys
Na2S
Absorbance (corrected, 310nm)
1.0
0.5
0.0
0
25
50
75
100
Concentration (μM)

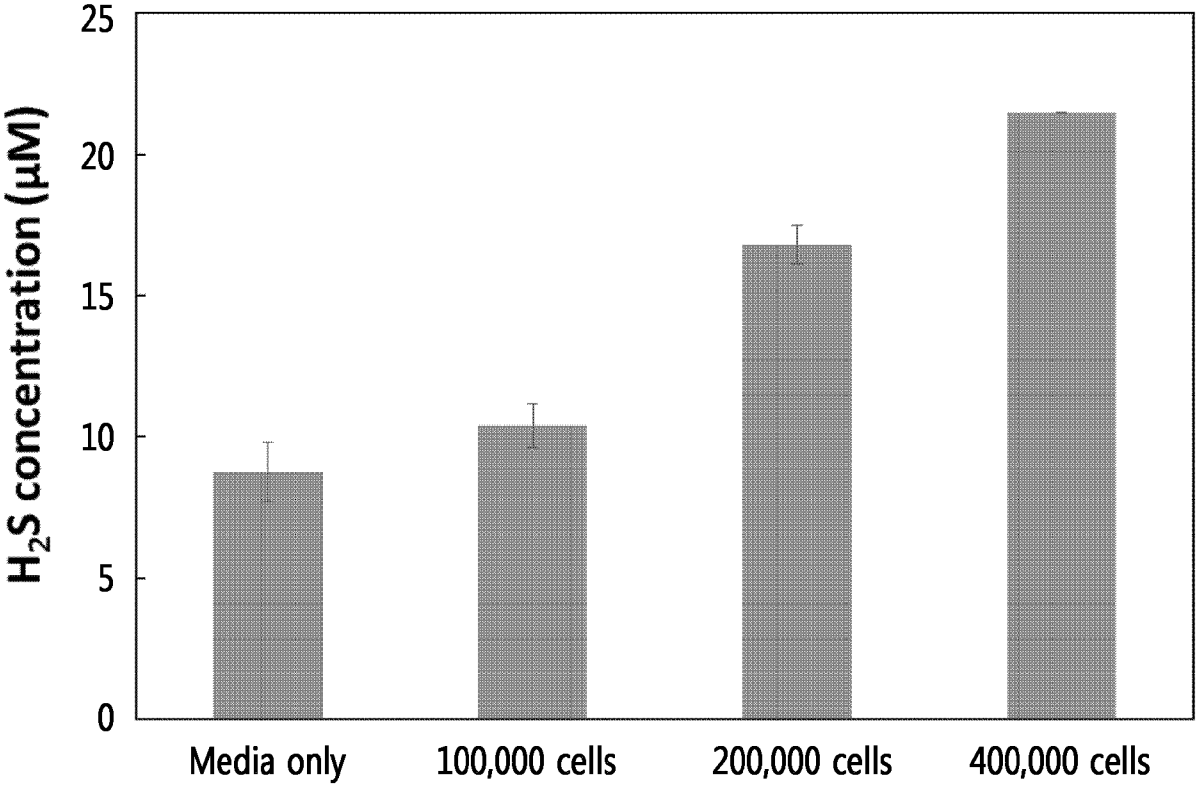
[도9]


y = 0.0169x - 0.0122
R² = 0.9948
Absorbance (corrected, 310nm)
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
0
5
10
15
20
H2S concentration (μM)

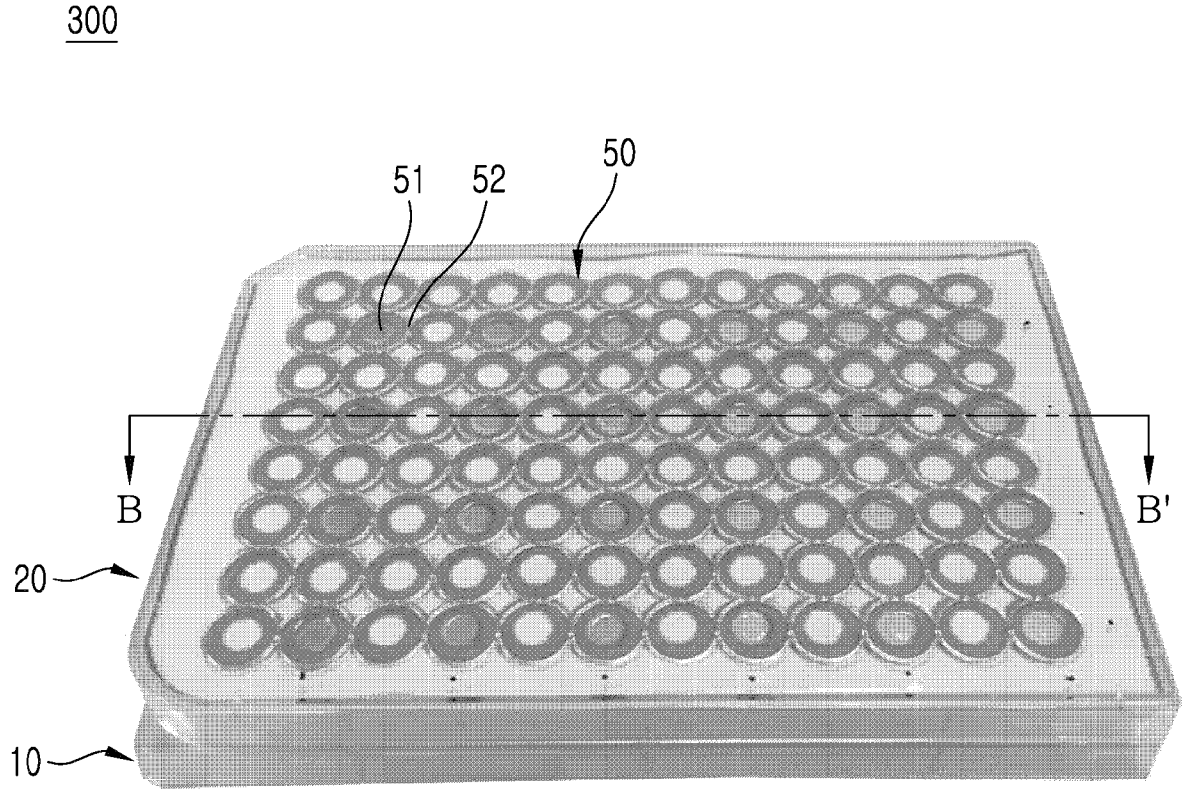
[도10]


H2S concentration (μM)
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
Cell
Cell+SAM
Cell+Cystein+SAM
Cell+Cystein+
H-cystein+SAM

[도11]

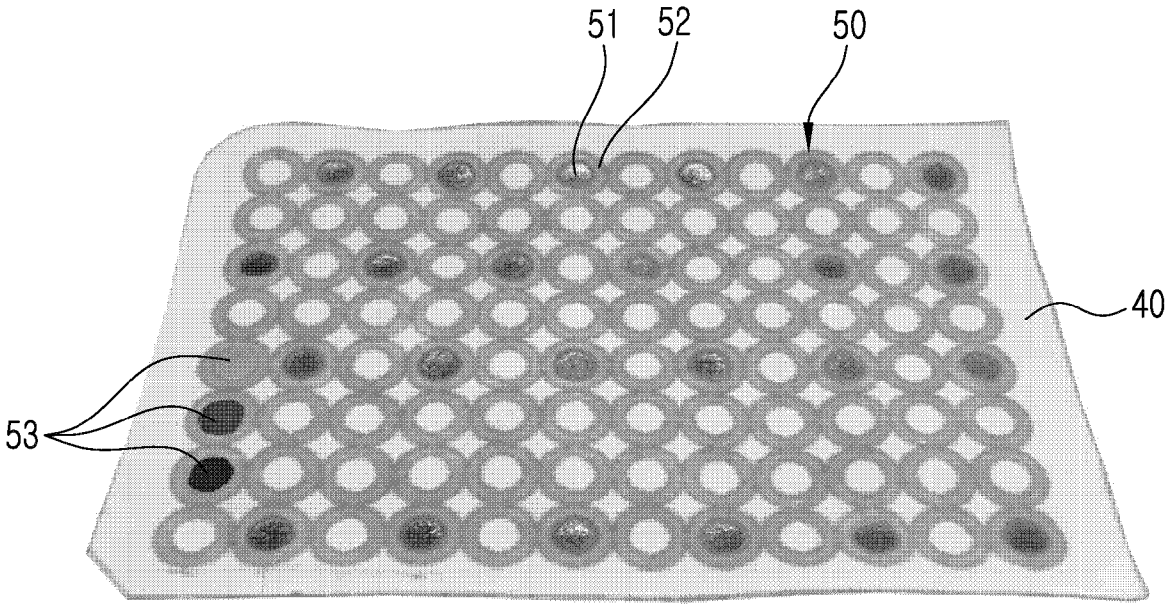

25
20
15
10
5
0
H_2S concentration (μM)
Media only
100,000 cells
200,000 cells
400,000 cells

[도12]

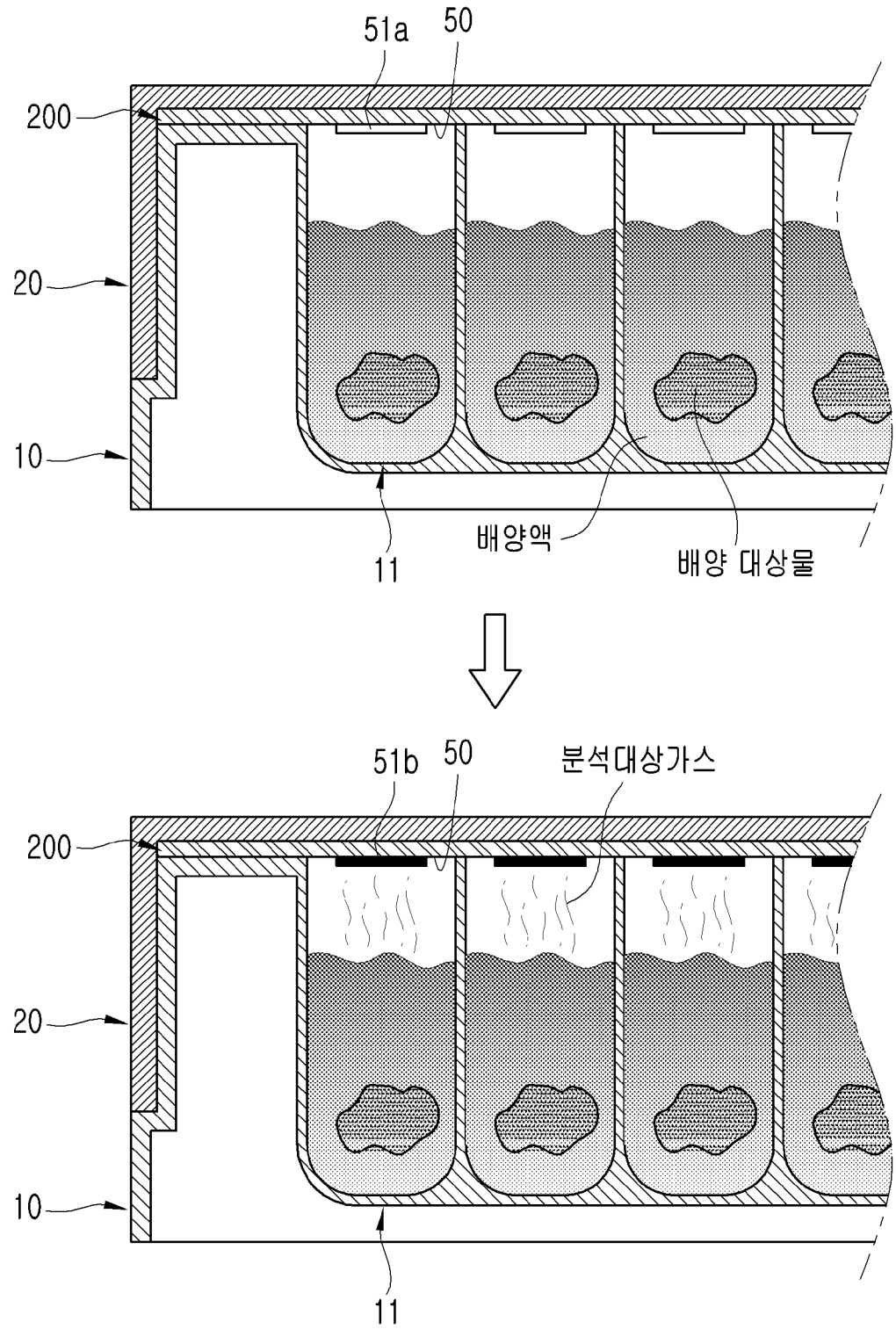

300
51
52
50
B
B'
20
10

[도13]

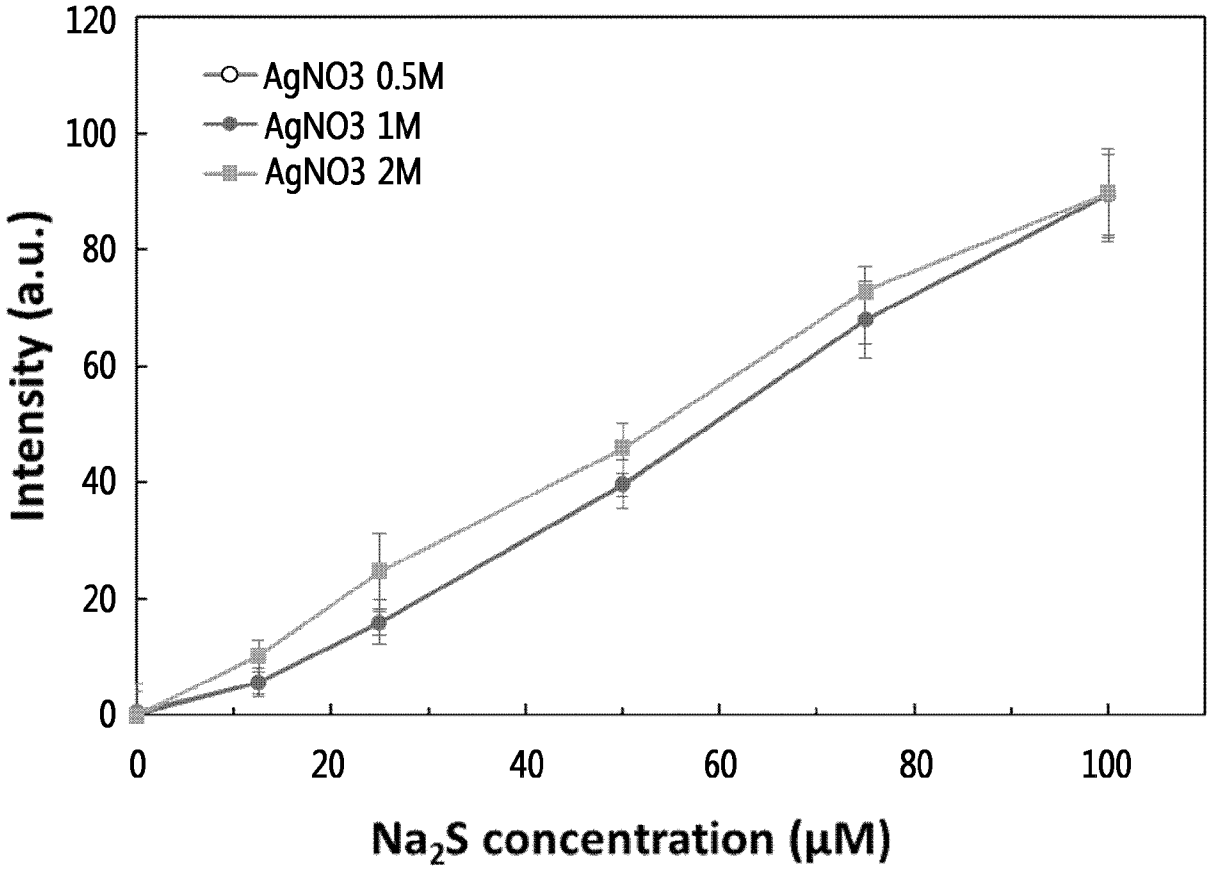
200



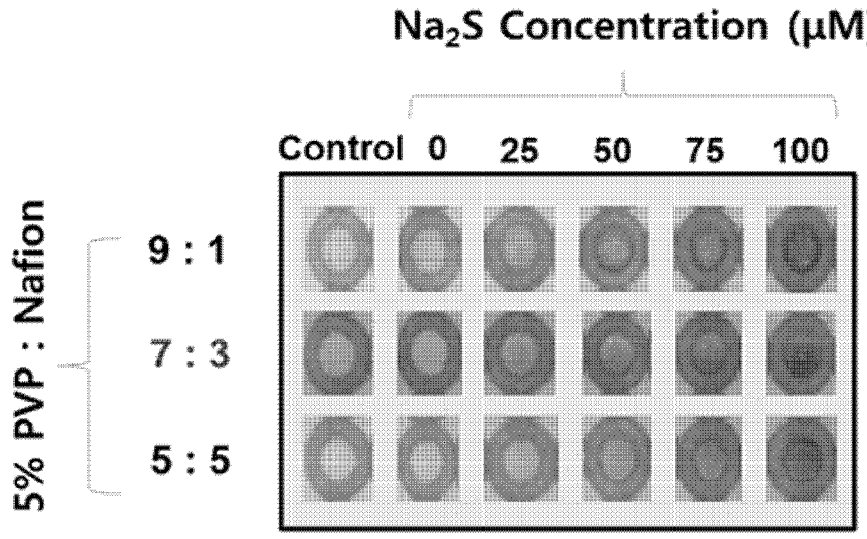
[도14]



[도15]

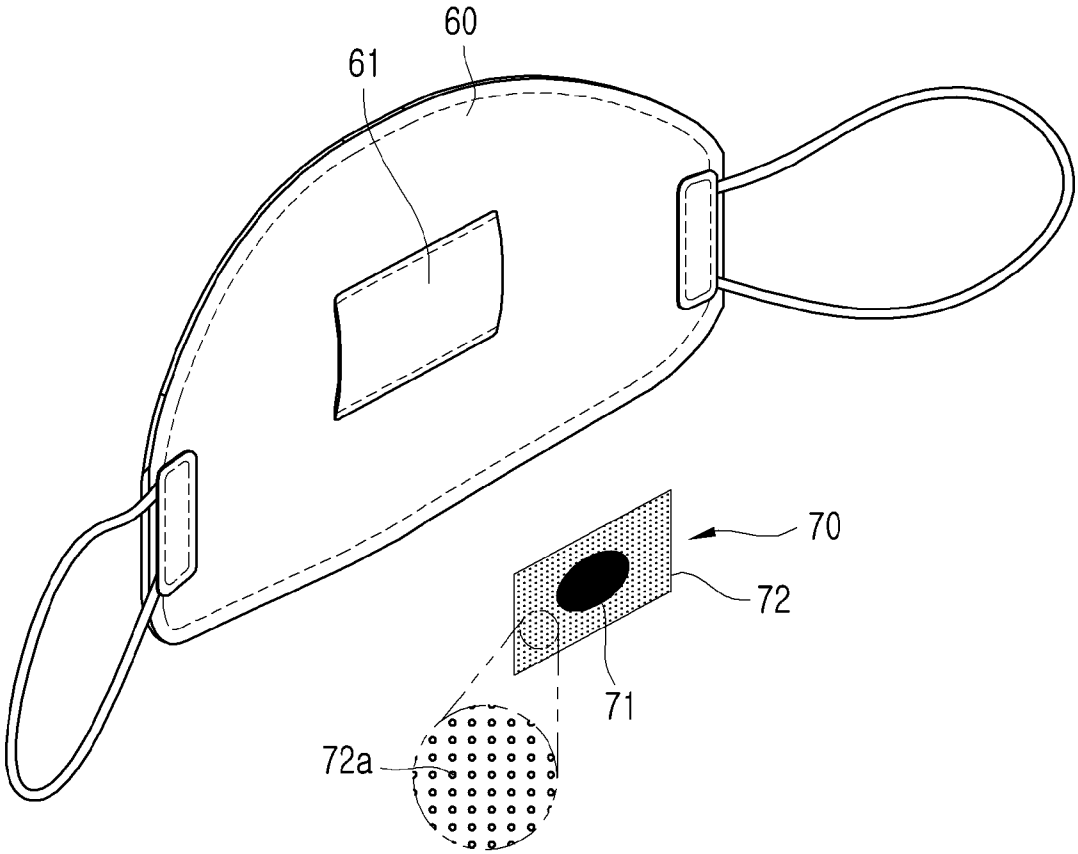

AgNO3 0.5M
AgNO3 1M
AgNO3 2M
Intensity (a.u.)
0
20
40
60
80
100
120
Na2S concentration (μM)

[도16]


Na2S Concentration (μM)
Control
0
25
50
75
100
5% PVP : Nafion
9 : 1
7 : 3
5 : 5

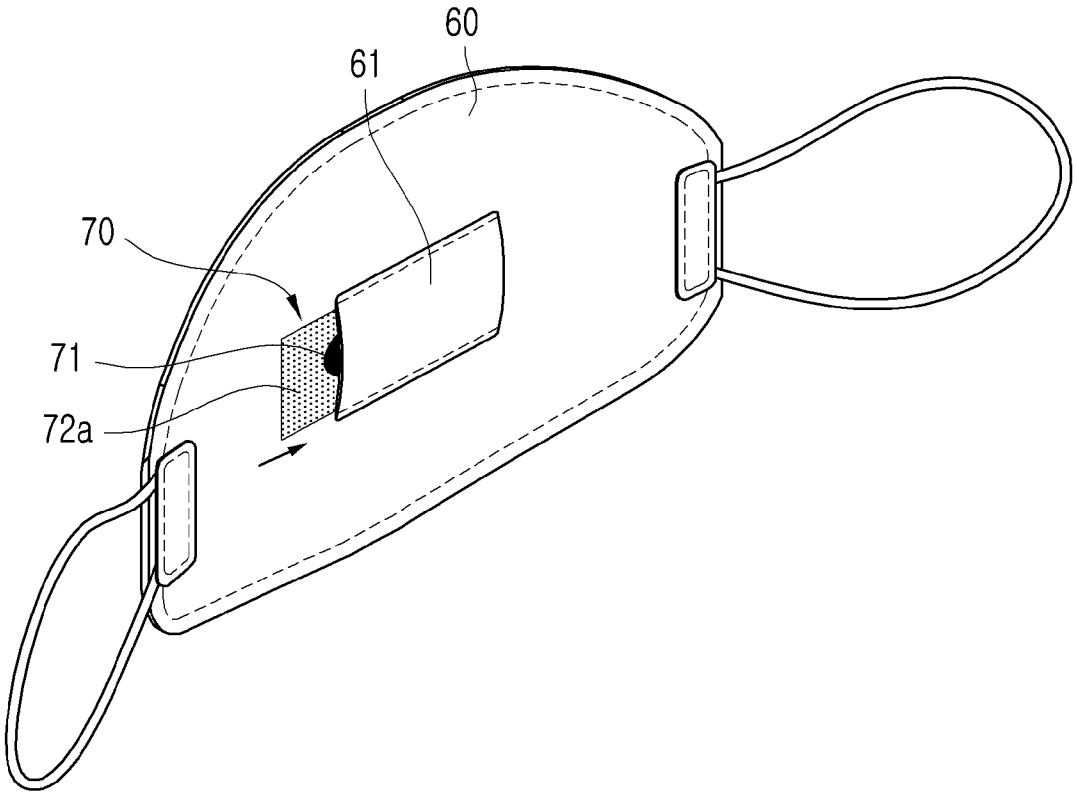
[도17]

400



[도18]

400



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2016/012971

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 21/78(2006.01)i, G01N 33/00(2006.01)i, G01N 1/36(2006.01)i, A62B 18/08(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 21/78; C12Q 1/02; A61B 10/00; G01N 33/48; G01N 30/91; G02B 6/02; C08F 8/30; G01N 33/50; G01N 33/00; G01N 1/36; A62B 18/08

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: cultivation medium, gas, mouth, mask, reagent, polyvinylpyrrolidone and nafion

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2009-0003156 A (MESO SCALE TECHNOLOGIES, LLC.) 09 January 2009 See abstract, paragraphs [0085]-[0087] and figures 5a-7b.	1-5,9-13,15,19,20
Y		22-24
A		6-8,14,16-18,21
Y	JP 08-211049 A (UEDA, Hideo et al.) 20 August 1996 See abstract, paragraphs [0014]-[0019], claims 1-5 and figures 1, 2.	22-24
A	US 5315673 A (STETTER, Joseph R. et al.) 24 May 1994 See abstract and claims 1-9.	1-24
A	KR 10-2012-0026999 A (LEE, Moo-Yeal et al.) 20 March 2012 See abstract, claims 1-34 and figures 1-9.	1-24
A	KR 10-1025082 B1 (HYUNDAI HEAVY INDUSTRIES CO., LTD.) 25 March 2011 See abstract, claims 1-3 and figures 1, 2.	1-24
X	AHN et al., "Colorimetric Detection of Hydrogen Sulfide Utilizing Silver in Gas Permeable Membrane", IBEC 2015 (12 November 2015) See the drawings. ※ The above document is a known document declaring exceptions to lack of novelty by the applicant.	1-24

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
22 MARCH 2017 (22.03.2017)	**22 MARCH 2017 (22.03.2017)**

Name and mailing address of the ISA/KR
Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea
Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2016/012971

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2009-0003156 A	09/01/2009	AU 2007-330913 A1	05/07/2007
		AU 330913 B2	27/10/2011
		CA 2634522 A1	05/07/2007
		CA 2634522 C	29/09/2015
		CN 101389960 A	18/03/2009
		CN 101389960 B	27/03/2013
		EP 1963853 A2	03/09/2008
		EP 1963853 A4	14/05/2014
		EP 1963853 B1	09/03/2016
		EP 3032257 A1	15/06/2016
		HK 1128527 A1	25/10/2013
		IL 192156 A	31/10/2013
		IL 228029 A	30/11/2015
		JP 2009-521686 A	04/06/2009
		JP 2015-232568 A	24/12/2015
		JP 5345854 B2	20/11/2013
		KR 10-1489804 B1	05/02/2015
		MX 2008008280 A	06/11/2008
		US 2007-0202538 A1	30/08/2007
		US 2011-0015091 A1	20/01/2011
		US 2013-0065788 A1	14/03/2013
		US 7807448 B2	05/10/2010
		US 8298834 B2	30/10/2012
		WO 2007-076023 A2	05/07/2007
		WO 2007-076023 A3	21/02/2008
JP 08-211049 A	20/08/1996	NONE	
US 5315673 A	24/05/1994	NONE	
KR 10-2012-0026999 A	20/03/2012	KR 10-2013-0100149 A	09/09/2013
		US 2012-0088693 A1	12/04/2012
		US 2014-0011711 A1	09/01/2014
		WO 2012-034022 A2	15/03/2012
		WO 2012-034022 A3	02/08/2012
KR 10-1025082 B1	25/03/2011	KR 10-2010-0111872 A	18/10/2010

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2016/012971

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 21/78(2006.01)i, G01N 33/00(2006.01)i, G01N 1/36(2006.01)i, A62B 18/08(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
G01N 21/78; C12Q 1/02; A61B 10/00; G01N 33/48; G01N 30/91; G02B 6/02; C08F 8/30; G01N 33/50; G01N 33/00; G01N 1/36; A62B 18/08

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: 배양기, 가스, 구강, 마스크, 시약, 폴리비닐피롤리돈 및 나피온

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2009-0003156 A (메소 스케일 테크놀러지즈, 엘엘시) 2009.01.09 요약, 단락 [0085]-[0087] 및 도면 5a-7b 참조.	1-5,9-13,15,19,20
Y		22-24
A		6-8,14,16-18,21
Y	JP 08-211049 A (UEDA, HIDEO et al.) 1996.08.20 요약, 단락 [0014]-[0019], 청구항 1-5 및 도면 1, 2 참조.	22-24
A	US 5315673 A (STETTER, JOSEPH R. et al.) 1994.05.24 요약 및 청구항 1-9 참조.	1-24
A	KR 10-2012-0026999 A (이무렬 등) 2012.03.20 요약, 청구항 1-34 및 도면 1-9 참조.	1-24
A	KR 10-1025082 B1 (현대중공업 주식회사) 2011.03.25 요약, 청구항 1-3 및 도면 1, 2 참조.	1-24
X	AHN et al., "Colorimetric Detection of Hydrogen Sulfide utilizing Silver in Gas Permeable Membrane", IBEC 2015 (2015.11.12) 도면 참조.	1-24
	* 위 문헌은 출원인이 신규성 상실의 예외로서 선언한 공지문헌임.	

☐ 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

"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	국제조사보고서 발송일
2017년 03월 22일 (22.03.2017)	2017년 03월 22일 (22.03.2017)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
이헌길
전화번호 +82-42-481-8525

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2016/012971

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2009-0003156 A	2009/01/09	AU 2007-330913 A1	2007/07/05
		AU 330913 B2	2011/10/27
		CA 2634522 A1	2007/07/05
		CA 2634522 C	2015/09/29
		CN 101389960 A	2009/03/18
		CN 101389960 B	2013/03/27
		EP 1963853 A2	2008/09/03
		EP 1963853 A4	2014/05/14
		EP 1963853 B1	2016/03/09
		EP 3032257 A1	2016/06/15
		HK 1128527 A1	2013/10/25
		IL 192156 A	2013/10/31
		IL 228029 A	2015/11/30
		JP 2009-521686 A	2009/06/04
		JP 2015-232568 A	2015/12/24
		JP 5345854 B2	2013/11/20
		KR 10-1489804 B1	2015/02/05
		MX 2008008280 A	2008/11/06
		US 2007-0202538 A1	2007/08/30
		US 2011-0015091 A1	2011/01/20
		US 2013-0065788 A1	2013/03/14
		US 7807448 B2	2010/10/05
		US 8298834 B2	2012/10/30
		WO 2007-076023 A2	2007/07/05
		WO 2007-076023 A3	2008/02/21
JP 08-211049 A	1996/08/20	없음	
US 5315673 A	1994/05/24	없음	
KR 10-2012-0026999 A	2012/03/20	KR 10-2013-0100149 A	2013/09/09
		US 2012-0088693 A1	2012/04/12
		US 2014-0011711 A1	2014/01/09
		WO 2012-034022 A2	2012/03/15
		WO 2012-034022 A3	2012/08/02
KR 10-1025082 B1	2011/03/25	KR 10-2010-0111872 A	2010/10/18