

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일

2025년 7월 3일 (03.07.2025)



(10) 국제공개번호

WO 2025/143914 A1

(51) 국제특허분류:

C12Q 1/689 (2018.01)

C12Q 1/6841 (2018.01)

C12Q 1/6883 (2018.01)

(21) 국제출원번호:

PCT/KR2024/021351

(22) 국제출원일:

2024년 12월 27일 (27.12.2024)

(25) 출원언어:

한국어

(26) 공개언어:

한국어

(30) 우선권정보:

10-2023-0197188 2023년 12월 29일 (29.12.2023) KR

(71) 출원인: 울산과학기술원 (UNIST(ULSAN NATIONAL INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY))

[KR/KR]: 44919 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 (KR). 대한민국(질병관리청 국립보건연구원장) (KOREA NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH) [KR/KR]: 28159 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명 2로 187 (KR).

(72) 발명자: 권태준 (KWON, Taejoon); 44919 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 (KR). 강주현 (KANG, Joohun); 44919 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 (KR). 김하진 (KIM, Hajin); 44919 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 (KR). 윤성민 (YUN, Seongmin); 44919 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 (KR). 최브라이언 (CHOI, Brian); 44919 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 (KR). 임재경 (IM, Jae Kyeong); 44919 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 (KR). 유정식 (YOO, Jung Sik); 28159 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명 2로 187 (KR).

(74) 대리인: 특허법인더웨이브 (THEWAVE IP LAW FIRM); 06097 서울특별시 강남구 선릉로 602 6층 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,

SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(54) Title: COMPOSITION FOR DETECTING ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA AND USE THEREOF

(54) 발명의 명칭: 항생제 내성균 검출용 조성물 및 이의 용도

mecA mRNA  2,007bp

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for detection of antibiotic-resistant bacteria and a composition for diagnosis or prognosis of bacterial infectious diseases. The composition for detection according to one aspect has excellent species discrimination on the basis of high target specificity, and thus can be advantageously used to detect antibiotic-resistant bacteria and also to diagnose bacterial infectious diseases caused thereby.

(57) 요약서: 항생제 내성균 검출용 조성물 및 세균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측용 조성물에 관한 것으로, 일 양상에 따른 검출용 조성물은 높은 타겟 특정성을 기반으로 우수한 종 판별력을 가져 항생제 내성균을 검출하는데 유용하게 사용될 수 있고, 이에 의해 유발되는 세균 감염성 질환의 진단에도 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.



WO 2025/143914 A1

발명의 설명

발명의 명칭: 항생제 내성균 검출용 조성물 및 이의 용도 기술분야

- [1] 항생제 내성균 검출용 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 항생제는 인류의 수명 연장에 가장 큰 공헌을 해온 것으로 평가받고 있음에도 불구하고, 끊임없는 내성균의 출현, 예를 들어 다종의 항생제로는 제어되지 않는 다제내성균 (multidrug resistant microbes; MDR)의 출현 등으로 인해 사회적 비용이 증가하고 있는 추세이다.
- [3] 전통적인 항생제 내성균 검출 방법은 배양을 기반으로 항생제에 따른 배양 억제 효과를 확인하는 것이다. 그러나, 배양을 기반으로 하는 검출 방법은 3 내지 5일의 시간이 필요하여 균혈증과 같이 빠른 진단이 필요한 경우에 적합하지 않다. 보다 빠르고 정확한 항생제 내성균의 검출 기술 개발을 위해, 본 연구자들은 이전에 이미 선행 연구를 통하여 배양을 거치지 않는 형광 프로브 신호 검출 방법을 이용한 세균 동정 기술을 개발한 바 있다 (Lee, Hyun, Kim, et al., Small Methods, 2022). 이 방법은 세균을 동정할 수 있는 16S rRNA 서열 특이적인 DNA 프로브를 사용하여 균을 동정하는 방법이다. 허나 DNA 프로브는 선택성을 갖기 위해 20-bp 이상의 긴 프로브를 사용해야 하며, DNA가 가지는 전하 특성으로 인하여 오랜 시간 hybridization 과 washing을 해야 한다는 기술적 한계가 여전히 존재한다.
- [4] 본 연구자들은 상기와 같은 한계가 극복된 개량된 검출 조성물을 발굴하고자 하였으며, 전하를 띠지 않는 peptide-bond 기반의 PNA 프로브의 효능을 확인함으로써 본 발명을 완성시켰다.

발명의 내용

기술적 과제

- [5] 일 양상은 서열번호 1 내지 10으로 이루어지는 균에서 선택되는 어느 하나의 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열을 포함하는 프로브를 포함하는, 항생제 내성균 검출용 조성물을 제공한다.
- [6] 다른 양상은 상기 검출용 조성물을 포함하는 항생제 내성균 검출용 키트를 제공한다.
- [7] 다른 양상은 개체로부터 분리된 시료에서 상기 검출용 조성물을 이용하여 *mecA* 유전자를 검출하는 단계를 포함하는 항생제 내성균의 검출 방법을 제공한다.
- [8] 다른 양상은 상기 검출용 조성물을 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측용 조성물을 제공한다.

- [9] 다른 양상은 상기 검출용 조성물을 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측용 키트를 제공한다.
- [10] 다른 양상은 개체로부터 분리된 시료에서 상기 검출용 조성물을 이용하여 *mecA* 유전자를 검출하는 단계를 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

과제 해결 수단

- [11] 일 양상은 서열번호 1 내지 10으로 이루어지는 균에서 선택되는 어느 하나의 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열을 포함하는 프로브를 포함하는, 항생제 내성균 검출용 조성물을 제공하는 것이다.
- [12] 다른 양상은 상기 검출용 조성물을 포함하는 항생제 내성균 검출용 키트를 제공하는 것이다.
- [13] 본 명세서에서 용어, “항생제 내성”은 미생물이 항생제에 노출되어도 항생제에 저항하여 생존할 수 있는 약물 저항성을 의미한다. 이는 항생제의 공격에 살아남기 위한 세균의 생존 전략으로써, 항생제를 복용할 경우 항생제에 민감한 균들은 죽게 되고 내성을 보이는 일부 균들, 즉 “항생제 내성균”이 살아남아 선택적 압력에 의한 증식을 하게 된다. 따라서 항생제의 사용은 내성을 초래하게 되고, 일부 내성유전자는 수평적 전달이 가능하여 다른 균으로 이동하여 내성을 전파시키기도 하여 숙주에게 큰 문제를 초래하게 된다.
- [14] 항생제의 내성 기전은 크게 항생제가 충분한 농도로 목표에 도달하지 못하게 하거나 항생제가 작용하는 대상을 변형시키거나 우회하게 하는 방법을 사용한다. 예를 들어, 항생제 불활성화(Drug inactivation), 항생제 표적 부위의 변화(Alternation of target site), 항생제의 세포 내 수송 저하(Decreased uptake), 항생제를 즉시 세포 밖으로 배출(Efflux pump), 새로운 생화학적 경로 개발(Alteration of metabolic pathway) 등의 내성기전이 존재한다.
- [15] 본 발명에서 검출하고자 하는 상기 항생제 내성균은 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)일 수 있다.
- [16] 황색포도상구균은 *mecA* 유전자 유무에 따라 메티실린 내성 황색포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA) 또는 메티실린 감수성 황색포도상구균(methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*; MSSA)으로 나뉠 수 있고, 본 발명에서 검출하고자 하는 상기 항생제 내성균은, 더욱 구체적으로, MRSA일 수 있다. MRSA는 메티실린 및 그 밖의 β -락탐계 항생제에 내성을 나타내는 황색포도상구균으로써, 메티실린 뿐만 아니라 옥사실린, 나프실린, 클록사실린 등과 같은 페니실린 분해효소 내성 페니실린(penicillinase-resistant penicillin; PRP)에 대해서 내성을 나타내는 모든 황색포도상구균을 일컫는다.
- [17] MRSA가 메티실린과 같은 PRP에 대해서 내성을 나타내는 가장 기본적인 기전은 약물이 결합하는 표적의 친화력 감소이다. 즉 MRSA는 PRP를 포함한 베타 락탐 계열의 항균제들과의 결합력(binding affinity)이 매우 낮은 수용체인 PBP2a

(penicillin-binding protein 2a)를 생산함으로써 베타 락탐 항균제의 영향을 받지 않고 증식을 계속할 수 있다. PBP2a (또는 PBP2'이라고도 불림)는 MRSA의 염색체 상에 존재하는 *mecA* 유전자에 의해서 발현된다.

[18] 본 명세서에서 용어, “검출”은 생물학적 시료에서 유전자들의 mRNA 존재 여부 및/또는 발현 정도를 확인하는 것을 의미한다.

[19] 본 명세서에서 사용된 용어, “프로브”란 시료 내의 검출하고자 하는 표적 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 물질을 의미하며, 상기 결합을 통하여 특이적으로 시료 내의 표적 물질의 존재를 확인할 수 있는 물질을 의미한다. 상기 프로브는 표적핵산 염기서열과 부분적으로 또는 전체적으로 상보적인 염기서열을 가진다.

[20] 프로브 분자의 종류는 당업계에서 통상적으로 사용되는 물질로서 제한은 없으나, 바람직하게는 PNA (peptide nucleic acid), LNA (locked nucleic acid), 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, RNA 또는 DNA 일 수 있고, 바이오 물질로서 생물에서 유래되거나 이와 유사한 것 또는 생체외에서 제조된 것을 모두 포함하는 개념일 수 있다.

[21] 본 발명의 검출용 조성물은 바람직하게는 PNA 프로브일 수 있다. 본 명세서에서 용어, “펩티드핵산(Peptide nucleic acid; PNA)”은 핵산 염기가 인산 결합이 아닌 펩티드 결합으로 연결된 유사 DNA로, 기본 골격이 폴리아미드(polyamide)로 구성되어 있다. LNA(Locked nucleic acid) 또는 MNA(Morpholino nucleic acid)와 같이 인공적으로 합성된 유전자 인식물질의 하나로, 1991년 Nielsen 등에 의해 처음으로 합성되었다.

[22] PNA는 타겟 유전자와의 친화도(affinity) 및 선택성(selectivity)이 매우 우수하다. DNA 뼈대 구조가 가지는 음전하의 성격을 띠지 않는 중성적인 구조로써, 전하를 띠지 않아 강한 결합력을 가질 수 있다. DNA 프로브는 전기적으로 음전하를 띠기 때문에 이중 나선구조를 이루기 위해서 DNA끼리 결합할 때, 같은 극끼리 밀어내는 힘이 존재하지만 PNA 프로브는 전하를 띠지 않는 중성의 뼈대를 가지므로 DNA나 RNA와 결합하는 과정에서 전기적 반발이 일어나지 않는다. PNA 프로브는 우수한 종 특이성(species specificity)을 가질 수 있다.

[23] PNA 프로브는 기존의 DNA 프로브에 비하여 더욱 빠르게 미생물에 침투하여 리보솜 RNA 시퀀스를 인식할 수 있고, 특정 미생물 종을 검출 또는 동정하는 시간을 현저히 단축시킬 수 있다. 일 구체예에 따르면, PNA 프로브를 사용하는 경우, 기존의 DNA 프로브를 사용하는 경우에 비하여 특정 미생물 종을 검출 또는 동정하는 시간을 현저히 감소시킬 수 있다. 구체적으로, DNA 프로브를 사용한 경우, 약 12 시간 동안 혼성화를 수행하여도 낮은 검출 효율을 나타내는 반면, PNA 프로브를 사용한 경우, 약 1 내지 10 분 동안 혼성화를 수행한 것만으로도 현저히 증가된 검출 효율을 나타낼 수 있다. 상기와 관련된 내용은 대한민국 등록특허공보 제10-2533260호에 자세히 기술되어 있으며, 상기 등록특허공보의 내용은 전체로써 본 명세서에 참조될 수 있다.

- [24] 이외에도, 펩티드 결합물로 뼈대를 치환한 PNA는 화학적으로 핵산이기 보다는 단백질 (펩티드)에 가깝기 때문에 핵산분해효소에 대한 안정성이 높아 현존하는 제한효소(restriction enzyme)로 분해되지 않는 장점이 있다. 또한, 용해 온도(melting temperature)가 DNA 대비 약 2배 이상 높다는 등 열/화학적으로 물성 및 안정성이 높아 보관이 용이하고 쉽게 분해되지 않는 장점이 있다. PNA는 상보적인 염기서열의 천연 핵산과 혼성화(hybridization) 반응을 통해 이중가닥을 형성하며, 길이가 같은 경우 PNA/DNA 이중가닥은 DNA/DNA 이중가닥보다, PNA/RNA 이중가닥은 DNA/RNA 이중가닥보다 안정하다. PNA는 단일 염기 부정합(single base mismatch) 때문에 이중 가닥이 불안정해지는 정도가 크기 때문에 SNP (single nucleotide polymorphism)를 검출하는 능력이 천연핵산보다 더 뛰어나다. 아울러, 인위적 합성으로 만들어지므로 검출 표지나 유용한 분자들을 손쉽게 활용할 수 있도록 2 차 변형이 편리하다는 장점을 가진다. PNA의 화학구조에 특정 분자 또는 작용기를 연결해 물리화학적 성질을 용도에 맞게 변형하는 것이 가능하다.
- [25] 상기 검출용 조성물은 *mecA* 유전자를 검출하고자 하는 것일 수 있다.
- [26] 상기 검출용 조성물은 *mecA* 유전자의 일부와 혼성화할 수 있는 서열을 포함하는 프로브를 포함할 수 있다.
- [27] 상기 검출용 조성물은 *mecA* 유전자의 염기서열 중 10개 내지 20개의 연속된 염기서열 부위와 혼성화할 수 있는 서열을 포함하는 프로브를 포함할 수 있다.
- [28] 상기 검출용 조성물은 서열번호 11의 *mecA* 유전자의 상보적인 염기서열 중 10개 내지 20개의 연속된 염기서열로 이루어지고, 서열번호 1 내지 10 중 어느 하나의 염기서열을 포함하는 프로브를 포함하는 것일 수 있다.
- [29] 상기 검출용 조성물은 서열번호 11의 *mecA* 유전자의 일 말단의 188번째부터 202번째, 235번째부터 249번째, 318번째부터 332번째, 513번째부터 527번째, 920번째부터 934번째, 1352번째부터 1366번째, 1412번째부터 1426번째, 1547번째부터 1561번째, 1603번째부터 1617번째 및 1789번째부터 1803번째 뉴클레오티드 서열로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열을 포함하는 프로브를 포함할 수 있다.
- [30] 구체적으로, 상기 검출용 조성물은 서열번호 11의 *mecA* 유전자의 일 말단의 318번째부터 332번째 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열을 포함하는 프로브를 포함할 수 있다.
- [31] 구체적으로, 상기 검출용 조성물은 서열번호 11의 *mecA* 유전자의 일 말단의 920번째부터 934번째 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열을 포함하는 프로브를 포함할 수 있다.
- [32] 구체적으로, 상기 검출용 조성물은 서열번호 11의 *mecA* 유전자의 일 말단의 1412번째부터 1426번째 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열을 포함하는 프로브를 포함할 수 있다.

- [33] 상기 검출용 조성물은 상기 서열번호 1 내지 10 중 어느 하나의 염기 서열 또는 이의 상보적인 염기서열에 대해 적어도 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 상동성을 가지는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 상기 서열과 상동성을 갖는 서열로서 실질적으로 이와 동일하거나 상응하는 생물학적 활성을 갖는 폴리뉴클레오티드 서열이라면, 일부 서열이 결실, 변형, 치환 또는 부가된 폴리뉴클레오티드 서열을 갖는 경우도 역시 본 출원의 범주에 포함됨은 자명하다.
- [34] 구체적으로, 상기 검출용 조성물은 상기 서열번호 3의 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열에 대해 적어도 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 상동성을 가지는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있다.
- [35] 구체적으로, 상기 검출용 조성물은 상기 서열번호 5의 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열에 대해 적어도 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 상동성을 가지는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있다.
- [36] 구체적으로, 상기 검출용 조성물은 상기 서열번호 7의 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열에 대해 적어도 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상의 상동성을 가지는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있다.
- [37] 본 발명에서 용어 “혼성화(hybridization)”는 상보적 염기서열을 가진 단일 가닥 핵산들 간 수소결합에 의해 이중가닥 핵산이 형성되는 것을 의미하며, 어닐링(annealing)과 유사한 의미로 사용된다. 다만 조금 더 넓은 의미에서, 두 개의 단일 가닥 간 염기서열이 완전히 상보적인 경우(perfect match)와 더불어 예외적으로 일부의 염기서열이 상보적이지 않은 경우(mismatch)까지 포함할 수 있다.
- [38] 혼성화 반응의 분석 방법은 당업계에 알려진 방법, 예를 들어 조직화학, 면역조직화학, 면역형광, 발색 계내 혼성화, 형광 계내 혼성화 (FISH) 등에 의해서 수행될 수 있다. 구체적으로, 상기 검출하는 단계에서는 항생제 내성균과 혼성화된 프로브로부터 방출되는 신호가 존재하는 부분의 신호와 그 이외의 부분의 신호를 비교함으로써 항생제 내성균의 존재 유무나 항생제 내성균의 종류를 결정할 수 있다. 또한, 미리 알고 있는 농도의 항생제 내성균을 포함하는 표준 시료를 이용해 비교함으로써 시료 내 포함된 항생제 내성균의 농도를 구할 수 있다.
- [39] 본 명세서의 용어, "FISH (Fluorescent in situ Hybridization) 분석법"은 형광분자가 부착된 프로브를 이용하여 염색체에서 특정 DNA 서열을 탐지하는 분석법을 의미한다. 특정 염기서열의 존재 유무를 규명하기 위한 목적으로 이용되며, 교합, 교잡 또는 혼성화 반응(hybridization)이라 함은 염색체에 탐침자(probe)를 결합시키는 검사과정을 의미하고, 염색체에 결합하는 탐침자는 자외선을 받으면 형광을 내면서 대응하는 서열의 유무 및 위치를 보여주게 된다. DNA 탐침자에

표지물질을 결합시킨 후, 검사하고자 하는 세포의 DNA를 변성(denaturation)시켜서 단일가닥(single strand)으로 만든 후 반응시킨다. 이때 표적에 DNA 탐침자가 반응하고, 세척한 후 표지물질과 결합할 수 있는 형광물질을 첨가하면 DNA 탐침자가 접합 부위에서 형광을 나타낸다.

- [40] 상기 프로브는 포스포르아미다이트 고체 지지체 방법 또는 기타 널리 공지된 방법을 사용하여 화학적으로 합성할 수 있다. 이러한 핵산 서열은 또한 당해 분야에 공지된 많은 수단을 이용하여 변형시킬 수 있다. 이러한 변형의 비-제한적인 예로는 메틸화, 캡화, 천연 뉴클레오티드 하나 이상의 동족체로의 치환, 및 뉴클레오티드 간의 변형, 예를 들면, 하전되지 않은 연결체(예: 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포로아미데이트, 카바메이트 등) 또는 하전된 연결체(예: 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로의 변형이 있다.
- [41] 상기 프로브는 보다 용이하게 검출하기 위하여 라벨링될 수 있다. 즉, 양 말단에 리포터(reporter) 또는 소광자(quencher)가 연결되어 있는 것을 특징으로 할 수 있다. 프로브는 리포터와 소광자 간 거리가 가까울 때에는 신호 발생이 억제되다가 리포터와 소광자 간 거리가 멀어지면서 신호 세기가 증가한다. 일반적으로 상기 프로브가 상보적 염기서열과 혼성화하였을 때에 리포터와 소광자 간 거리가 가장 멀어지므로 신호 발생 또는 신호 세기 증가를 통해 특정 염기서열을 검출할 수 있다. 상기 프로브가 상기 검출 표지(리포터, 소광자 등)와 연결됨으로써 미생물을 시각화(또는 이미징)하고, 미생물을 검출 또는 동정할 수 있다. 상기 검출 표지와 연결된 프로브를 사용하면, 각각의 검출 표지의 시그널의 변동에 의해, 단순 이미징만으로 프로브와 미생물의 혼성화 및 미생물과 혼성화된 프로브와 검출 표지의 해리를 용이하게 확인할 수 있다.
- [42] 상기 리포터는 플루오레신(fluorescein), 플루오레신 클로로트리아지닐(fluorescein chlorotriazinyl), 로다민 그린(rhodamine green), 로다민 레드(rhodamine red), 테트라메틸로다민(tetramethylrhodamine), FITC, 오레곤 그린(Oregon green), 알렉사 플루오로(Alexa Fluor), FAM, JOE, ROX, HEX, 텍사스 레드(Texas Red), TET, TRITC, TAMRA, 시아닌(Cyanine) 계열 염료 및 씨아디카르보시아닌(thiadicarbocyanine) 염료로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 형광물질임을 특징으로 할 수 있다.
- [43] 상기 소광자는 담실(Dabcyl), 탐라(TAMRA), 이클립스(Eclipse), DDQ, QSY, 블랙베리 퀸처(Blackberry Quencher), 블랙홀 퀸처(Black Hole Quencher), Qxl, 아이오와 블랙(Iowa black) FQ, 아이오와 블랙 RQ 및 IRDye QC-1으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상임을 특징으로 할 수 있다.
- [44] 본 발명에서 “키트”는 버퍼(buffer), DNA 중합효소(DNA polymerase), DNA 중합효소 조인자(DNA polymerase cofactor) 및 데옥시리보뉴클레오티드-5-트리포스페이트(dNTP)와 같은 표적핵산 증폭 반응(예컨대, 중합효소연쇄반응)을 실시하는데 필요한 시약을 선택적으로 포함할 수 있다. 선택적으로, 본 발명의 키트는 또한 다양한 올리고뉴클레오티드(oligonucleotide) 분자, 역전사효소(reverse

transcriptase), 다양한 버퍼 및 시약, 및 DNA 중합효소 활성을 억제하는 항체를 포함할 수 있다. 또한, 상기 키트의 특정 반응에서 사용되는 시약의 최적량은, 본 명세서에 개시사항을 습득한 당업자에 의해서 용이하게 결정될 수 있다. 전형적으로, 본 발명의 장비는 앞서 언급된 구성 성분들을 포함하는 별도의 포장 또는 컴파트먼트(compartment)로 제작될 수 있다.

- [45] 일 구체예에 있어서, 상기 키트는 샘플을 담는 구획된 캐리어 수단, 시약을 포함하는 용기 및 PNA 프로브를 포함하는 용기를 포함할 수 있다.
- [46] 상기 캐리어 수단은 병, 튜브와 같은 하나 이상의 용기를 함유하기에 적합하고, 각 용기는 본 발명의 방법에 사용되는 독립적 구성요소들을 함유한다. 본 발명의 명세서에서, 당해 분야의 통상의 지식을 가진 자는 용기 중의 필요한 제제를 손쉽게 분배할 수 있다.
- [47] 본 발명에서 "시료"는 다양한 시료를 포함하며, 바람직하게는, 본 발명의 방법을 이용하여 생물 시료(biological sample)를 분석한다. 상기 시료는 생체 시료, 환경 시료, 또는 식품 시료를 포함할 수 있다. 상기 생체 시료는 생체내 또는 시험관내로부터 수득한 생물학적 조직 또는 체액 기원의 시료를 포함하는 생물학적 대상체로부터 수득한 시료를 지칭할 수 있다. 구체적으로, 상기 생체 시료는 사람을 포함하는 포유동물로부터 단리된 체액 (예를 들어, 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 객담, 또는 소변), 기관, 조직, 분획, 및 세포일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다. 또한, 생체 시료로부터의 추출물, 예를 들어, 생물학적 유체 (예를 들어, 혈액 또는 소변)로부터의 항체, 단백질 등을 포함할 수 있다. 상기 환경 시료는 수질 시료 또는 토양 시료를 포함할 수 있다. 상기 시료는 미생물, 즉 항생제 내성균이 포함된 것일 수 있다.
- [48] 다른 양상은 개체로부터 분리된 시료에서 상기 검출용 조성물을 이용하여 *mecA* 유전자를 검출하는 단계를 포함하는 항생제 내성균의 검출 방법을 제공하는 것이다. 상기 조성물 및 키트에 대한 설명은 상기 검출 방법에도 공히 적용된다.
- [49] 상기 검출 방법은 PNA 프로브를 시료 내 항생제 내성균에 접촉시켜 항생제 내성균과 혼성화하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [50] 상기 검출 방법은 시료 내 항생제 내성균과 혼성화된 PNA 프로브로부터 방출되는 신호를 검출하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [51]
- [52] 다른 양상은 상기 검출용 조성물을 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측용 조성물을 제공하는 것이다.
- [53] 다른 양상은 상기 검출용 조성물을 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측용 키트를 제공하는 것이다.
- [54] 다른 양상은 개체로부터 분리된 시료에서 상기 검출용 조성물을 이용하여 *mecA* 유전자를 검출하는 단계를 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

- [55] 상기 검출용 조성물, 키트 및/또는 방법에 대한 설명은 상기 진단 또는 예후 예측용 조성물, 키트 및/또는 방법에도 공히 적용된다.
- [56] 본 명세서에서 “항생제 내성균 감염성 질환”은 항생제 내성균 감염에 의해 유발되는 모든 종류의 질환을 의미할 수 있다. 상기 항생제 내성균 감염성 질환은 균혈증, 패혈증(sepsis), 패혈성 쇼크(septic shock), 폐렴, 식중독, 세균성 이질, 농가진, 화농성 질환, 농양 및 궤양, 종기, 농피증, 모낭염, 피부염, 창상 감염, 심내막염, 골수염 및/또는 장염일 수 있다.
- [57] 상기 항생제 내성균 감염성 질환은 메티실린 내성 황색포도상구균(MRSA) 유발성 질환, 즉 MRSA 감염증일 수 있다.
- [58] 본 명세서에서 용어 “진단”은, 병리 상태의 존재 또는 특징을 확인하는 것을 의미한다. 본 발명의 목적상, 진단이란 세균 감염성 질환의 발병 여부를 판별하는 것을 의미하는 것일 수 있다.
- [59] 본 명세서에서의 용어 “예후”는 병세의 진행, 회복에 관한 예측을 의미하는 것으로, 전망 내지는 예비적 평가를 말한다. 본 발명의 목적상, 예후란 세균 감염성 질환의 치료 후 해당 개체에서 치료 성공 여부, 생존, 재발, 전이, 약물 반응성, 내성 등과 같은 여부를 판단하는 것을 의미한다. 즉, 의학적 귀추(예컨대, 장기 생존 가능성, 무병생존율 등)에 대한 예상을 의미하며, 양성적 예후(긍정적 예후) 또는 음성적 예후(부정적 예후)를 포함하며, 상기 음성적 예후는 재발, 전이, 약 저항성 등의 병의 진행 또는 치명성(mortality)을 포함하고, 양성적 예후는 질병이 없는 상태 등의 질병의 차도, 종양 퇴행 등의 질병의 개선 또는 안정화(stabilization)를 포함한다.

발명의 효과

- [60] 일 양상에 따른 검출용 조성물은 타겟 특정성이 높고 균질한 표지가 가능하여 개별 박테리아에 대한 높은 종 판별력을 가지므로, 항생제 내성균을 검출하는데 유용하게 사용될 수 있을 뿐만 아니라, 항생제 내성균에 의해 유발되는 세균 감염성 질환의 진단에도 유용하게 사용될 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [61] 도 1은 서열번호 1 내지 10의 PNA 프로브의 설계 위치를 순서대로 나타낸 모식도이다.
- [62] 도 2는 일 구체예에 따른 PNA 프로브의 개별 박테리아에 대한 종 판별력을 비교 분석한 이미지이다.
- [63] 도 3은 일 구체예에 따른 PNA 프로브의 개별 박테리아에 대한 종 판별력을 비교 분석한 그래프이다.
- [64] 도 4는 일 구체예에 따른 PNA 프로브의 MSSA 테스트 및 MRSA 테스트 결과를 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 형태

[65] 이하 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[66]

[67] 실시예 1. PNA 프로브의 제조

[68] 본 발명의 일 구체예에 따른 항생제 저항성 mRNA 이미징 프로브는 해당 유전자의 알려진 변이에 영향을 받지 않도록 보존된 영역만 선택하고, 대표 세균 유전체 (genomic DNA)에 2 bp 이상 불일치를 허용했을 때 표적 특이성을 갖도록 설계하였다. 최종적으로 선별된 10개의 검출용 PNA 프로브의 설계 위치는 순서대로 도 1에 나타내었으며, 구체적으로 하기 표 1과 같이 설계하였다.

[69]

[70] [표1]

번호	서열
mecA-01(서열번호 1)	CTGAACGTCCGATAA
mecA-02(서열번호 2)	AACATTCAGGATCGT
mecA-03(서열번호 3)	TAACATTGATCGCAA
mecA-04(서열번호 4)	AGGCATCGTTCCAAA
mecA-05(서열번호 5)	ATACAATCGCACATA
mecA-06(서열번호 6)	GTAATATCGACTTAA
mecA-07(서열번호 7)	CACTCGAATTAGGCA
mecA-08(서열번호 8)	ATTCAGGTTACGGAC
mecA-09(서열번호 9)	TATAGCGCATTAGAA
mecA-10(서열번호 10)	AAATCCGGTACTGCA

[71]

[72] 실험예 1. PNA 프로브의 종 판별력 평가

[73] 일 구체예에 따른 PNA 프로브가 높은 종 판별력을 가짐을 확인하기 위해 하기와 같은 Fluorescence in situ hybridization (FISH) 실험을 수행하였다.

[74] 구체적으로, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* 등 7종의 박테리아 종에 대해 실험을 진행하였다. 모든 박테리아 종은 LB agar 플레이트에 37°C에서 20시간동안 배양한 후, 단일 콜로니를 3ml LB 배지에 접종하고 37°C에서 성장시켰다. UV-Vis 분광계를 사용하여 30분마다 측정하여 600 nm의 흡광도가 0.4~0.6 (log phase)에 도달하면 배양을 중단하였다. 배양된 박테리아 종을 2-4배 농축하여 10 µL를 poly-L-lysine 코팅된 공초점 현미경 슬라이드에 넣었다. 공초점 현미경용 슬라이드는 1 M 질산으로 실온에서 1시간 동안 초

음과 처리하고, 3차 탈이온수로 3회 세척한 후 질소로 건조시킨 이후, 슬라이드를 0.01% poly-L-lysine 용액에 37°C에서 1시간 동안 담가 두었다가 3차 탈이온수로 3회 세척하고 진공 챔버에서 1시간 동안 완전히 건조시켜 준비한 것을 사용하였다.

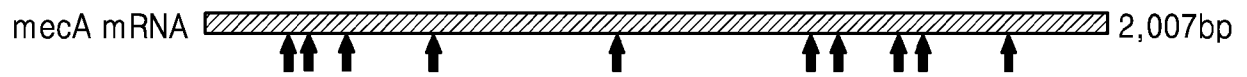
- [75] 상기 슬라이드를 실온에서 30분간 배양한 후 뉴클레아제가 없는 물로 먼저 세척하고, 3.7% 포름알데히드 용액 200 μ L로 박테리아 세포를 실온에서 30분간 고정하고 뉴클레아제가 없는 물로 3회 세척하였다. 뉴클레아제가 없는 물에 녹인 5 mg/ml 라이소자임 용액 200 μ L로 실온에서 30분 동안 박테리아 세포를 투과화시켰다. 이후 10% w/v 덱스트란 황산염, 10 mM NaCl, 30% 포름아미드, 0.1% w/v 피로인산나트륨, 0.1% Triton X-100, 50mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.2% w/v 폴리비닐피롤리돈, 0.2% w/v Ficoll, 5 mM disodium EDTA, 실시예 1의 200 nM PNA 프로브를 포함하는 100 μ L 용액으로 습한 챔버에서 55°C에서 30분간 PNA 프로브와 혼성화시켰다. 샘플은 15% 포름아미드, 5 mM Tris-base (pH 10), 15 mM NaCl 및 0.1% Hoechst 33342가 포함된 200 μ L 세척 용액에 담가 55°C에서 15분 동안 두 번 세척하였다.
- [76] 이미지는 40x 수침 대물렌즈 (Carl Zeiss, NA 1.0)를 사용하여 Zeiss LSM 880 공초점 현미경으로 획득하였다. Cy3, Cy5 및 DAPI 채널에 각각 561 nm, 633 nm 및 405 nm 레이저를 사용하였으며, 세포의 경계는 DAPI 채널 이미지로부터 결정하고 각 세포의 형광 신호는 감지된 경계 내에서 배경 수준을 뺀 것의 평균으로 측정하였다. 이 평균값의 세포간 분포를 산점도 및 히스토그램으로 그리고 평균, 분산, 신뢰구간 등의 통계 값을 추출하고 종 간의 혼선을 계산하여 그 결과를 도 2 및 도 3에 나타내었다.
- [77] 도 2 및 도 3에 나타난 바와 같이, 일 구체예에 따른 PNA 프로브는 *S.aureus*에 대한 타겟 특정성은 높은 반면, 16S rRNA에 소량의 시퀀스 변이를 갖는 타균종에 거의 붙지 않는 것을 관찰하였다.
- [78] 이상과 같은 결과는, PNA 프로브가 *Staphylococcus aureus*에 대해 높은 타겟 특정성을 가져 개별 박테리아에 대한 높은 종 판별력을 가진다는 것을 의미한다.
- [79]
- [80] **실험예 2. PNA 프로브의 mecA 유전자 발현신호 검출능력 평가**
- [81] 일 구체예에 따른 PNA 프로브의 mecA 유전자 발현신호의 검출 능력을 평가하기 위해 MSSA 테스트 및 MRSA 테스트를 수행하였다.
- [82] 구체적으로, 메티실린 내성 황색포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA)의 배양, 메티실린 감수성 황색포도상구균 (methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*; MSSA)의 배양 및 이미징용 슬라이드의 준비 과정은 실험예 1.의 방법과 동일하게 진행되었으며, 다만 박테리아 부착 전 메티실린을 64 μ g/mL 농도로 더하여 1 시간 동안 배양하였다. MSSA 테스트 및 MRSA 테스트 결과는 도 4에 나타내었다.

- [83] 도 4에 나타낸 바와 같이, 일 구체예에 따른 PNA 프로브가 MRSA 검출능력이 뛰어남을 확인하였다.
- [84] 이상과 같은 결과는 일 구체예에 따른 PNA 프로브가 항생제 내성 유전자인 *mecA* 유전자 발현 신호의 우수한 검출 능력을 가져 항생제 내성균의 검출 및 관련 질환의 진단에 사용될 수 있음을 의미한다.
- [85]
- [86] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 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 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

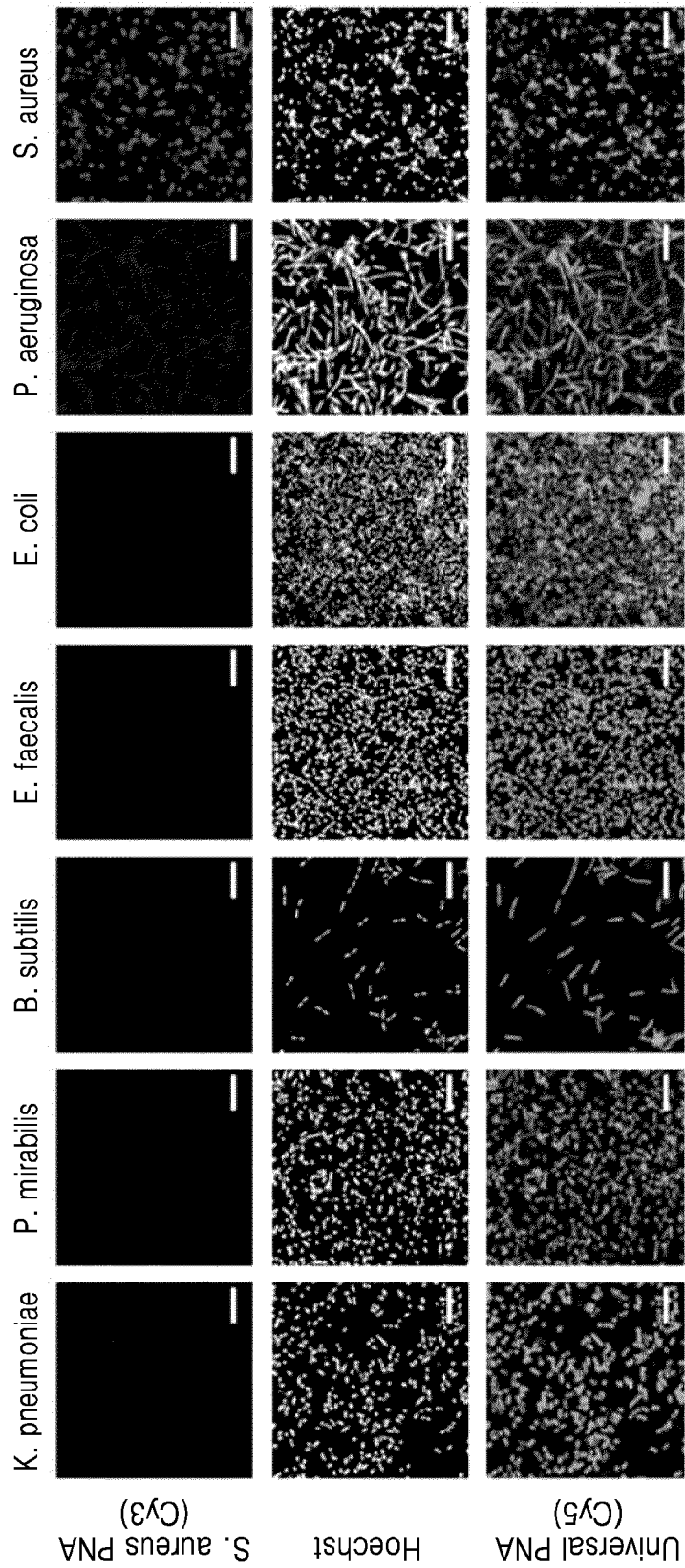
청구범위

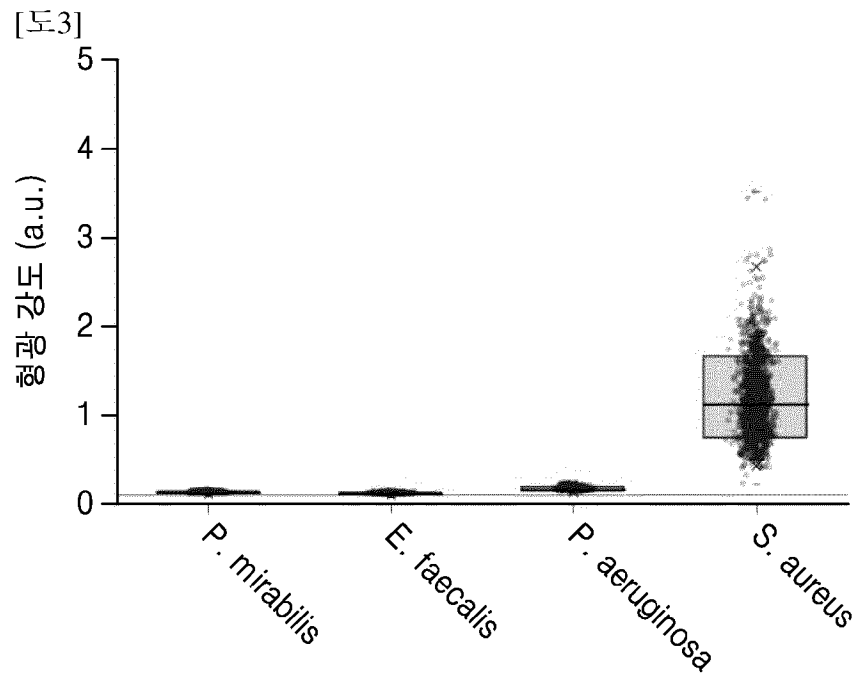
- [청구항 1] 서열번호 1 내지 10으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나의 염기서열 또는 이의 상보적인 염기서열을 포함하는 프로브를 포함하는, 항생제 내성균 검출용 조성물.
- [청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 프로브는 PNA 프로브인, 검출용 조성물.
- [청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 항생제 내성균은 메티실린 내성 황색포도상구균 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA)인, 검출용 조성물.
- [청구항 4] 청구항 1 내지 3 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 항생제 내성균 검출용 키트.
- [청구항 5] 개체로부터 분리된 시료에서 청구항 1 내지 3 중 어느 한 항의 조성물을 이용하여 *mecA* 유전자를 검출하는 단계를 포함하는 항생제 내성균의 검출 방법.
- [청구항 6] 청구항 1 내지 3 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측용 조성물.
- [청구항 7] 청구항 1 내지 3 중 어느 한 항의 조성물을 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측용 키트.
- [청구항 8] 개체로부터 분리된 시료에서 청구항 1 내지 3 중 어느 한 항의 조성물을 이용하여 *mecA* 유전자를 검출하는 단계를 포함하는 항생제 내성균 감염성 질환의 진단 또는 예후 예측을 위한 정보를 제공하는 방법.

[도1]

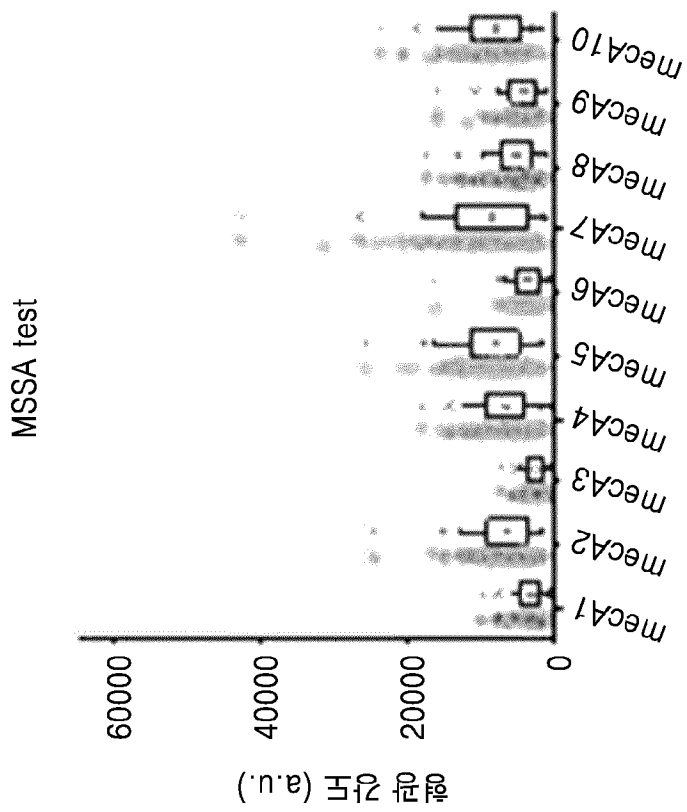
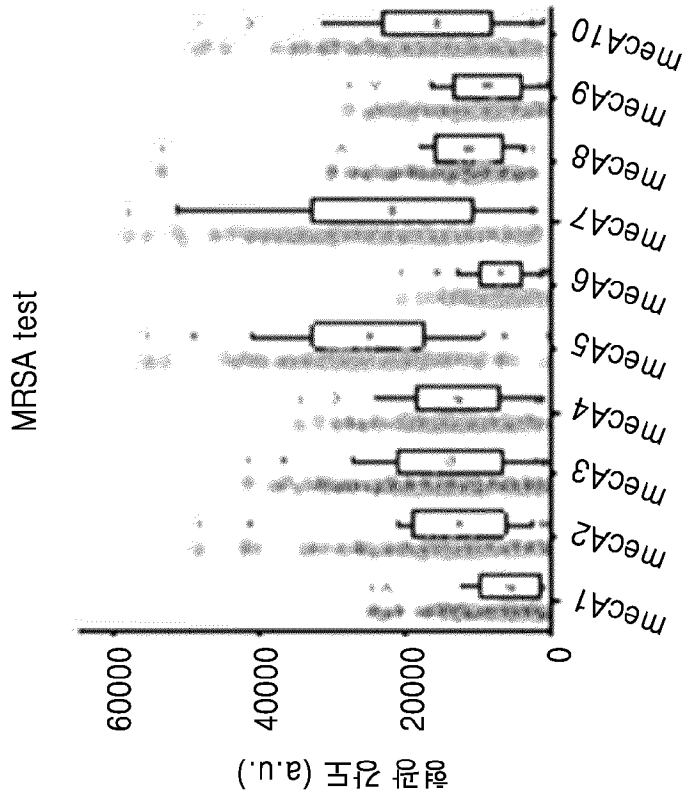


[도2]





[도4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/021351

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/689(2018.01)i; C12Q 1/6883(2018.01)i; C12Q 1/6841(2018.01)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)

C12Q 1/689(2018.01); C12N 15/11(2006.01); C12Q 1/00(2006.01); C12Q 1/04(2006.01); C12Q 1/68(2006.01);
C12Q 1/686(2018.01); G01N 33/53(2006.01); G01N 33/569(2006.01)

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

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 항생제 내성균(antibiotic-resistant bacteria), PNA, 프로브(probe), 검출(detectio
n), 항생제 내성균 감염성 질환(antibiotic-resistant bacteria infectious disease), 진단(diagnosis), 예후(prognosis), 예측
(prediction), mecA 유전자(mecA gene)**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2023-508100 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AKTIENGESELLSCHAFT) 28 February 2023 (2023-02-28) See abstract, claims 1, 13 and 23, paragraphs [0001], [0005]-[0007], [0015] and [0022]; and SEQ ID NO: 2.	1-8
X	KR 10-2020-0046106 A (MITSUI CHEMICALS, INC.) 06 May 2020 (2020-05-06) See abstract; claims 1-6; and SEQ ID NOs: 5, 6, 12 and 13.	1-8
X	WO 2015-037769 A1 (M&D, INC. et al.) 19 March 2015 (2015-03-19) See abstract; claims 1-10; and SEQ ID NO: 39.	1-8
X	WO 2018-074762 A1 (OPTIPHARM. CO., LTD. et al.) 26 April 2018 (2018-04-26) See abstract; claims 1-6; and SEQ ID NO: 98.	1-8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

“D” document cited by the applicant in the international application

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

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

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

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

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 March 2025

Date of mailing of the international search report

31 March 2025

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsan-ro, Seo-gu, Daejeon 35208

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-1492561 B1 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY et al.) 11 February 2015 (2015-02-11) See abstract; claims 1-7; and SEQ ID NOs: 1052-1062.	1-8
X	KR 10-1398890 B1 (M&D, INC. et al.) 27 May 2014 (2014-05-27) See abstract; claims 1, 4 and 5; and SEQ ID NO: 35.	1-8
X	KR 10-0625759 B1 (KIM, Keun Sung) 26 September 2006 (2006-09-26) See abstract; claims 1 and 7; and SEQ ID NO: 4.	1-8
X	KR 10-2010-0006282 A (PARK, Min Koo) 19 January 2010 (2010-01-19) See abstract; claims 1-13; and SEQ ID NOs: 36 and 37.	1-8
A	NCBI. Reference Sequence : NG_047945.1 (15 December 2022). See entire document.	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2024/021351

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2024/021351

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
JP	2023-508100	A	28 February 2023	CN	114867871	A	05 August 2022
				EP	4081666	A2	02 November 2022
				EP	4081666	B1	21 August 2024
				US	2023-0056677	A1	23 February 2023
				WO	2021-130199	A2	01 July 2021
				WO	2021-130199	A3	05 August 2021
KR	10-2020-0046106	A	06 May 2020	CN	111183223	A	19 May 2020
				CN	117721228	A	19 March 2024
				EP	3696268	A1	19 August 2020
				JP	2022-025117	A	09 February 2022
				JP	7199367	B2	05 January 2023
				KR	10-2021-0134421	A	09 November 2021
				KR	10-2023-0128154	A	01 September 2023
				KR	10-2593021	B1	31 October 2023
				KR	10-2757284	B1	21 January 2025
				US	2020-0308628	A1	01 October 2020
				US	2023-0242978	A1	03 August 2023
				WO	2019-074091	A1	18 April 2019
WO	2015-037769	A1	19 March 2015	KR	10-1520931	B1	15 May 2015
				KR	10-2015-0031735	A	25 March 2015
				US	2015-0087540	A1	26 March 2015
WO	2018-074762	A1	26 April 2018	KR	10-1850854	B1	20 April 2018
KR	10-1492561	B1	11 February 2015	KR	10-2013-0131944	A	04 December 2013
KR	10-1398890	B1	27 May 2014	KR	10-2013-0107449	A	02 October 2013
KR	10-0625759	B1	26 September 2006	KR	10-2005-0117281	A	14 December 2005
KR	10-2010-0006282	A	19 January 2010	KR	10-1145616	B1	16 May 2012

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C12Q 1/689(2018.01)i; C12Q 1/6883(2018.01)i; C12Q 1/6841(2018.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C12Q 1/689(2018.01); C12N 15/11(2006.01); C12Q 1/00(2006.01); C12Q 1/04(2006.01); C12Q 1/68(2006.01); C12Q 1/686(2018.01); G01N 33/53(2006.01); G01N 33/569(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 항생제 내성균(antibiotic-resistant bacteria), PNA, 프로브(probe), 검출(detection), 항생제 내성균 감염성 질환(antibiotic-resistant bacteria infectious disease), 진단(diagnosis), 예후(prognosis), 예측(prediction), mecA 유전자(mecA gene)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JP 2023-508100 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AKTIENGESELLSCHAFT) 2023.02.28 요약, 청구항 1, 13, 23, 단락 [0001], [0005]-[0007], [0015], [0022]; SEQ. NO. 2	1-8
X	KR 10-2020-0046106 A (미쓰이 가가쿠 가부시카이가이샤) 2020.05.06 요약, 청구항 1-6; SEQ NOS. 5, 6, 12, 13	1-8
X	WO 2015-037769 A1 (M&D, INC. 등) 2015.03.19 요약, 청구항 1-10; SEQ. NO. 39	1-8
X	WO 2018-074762 A1 (OPTIPHARM.CO.,LTD 등) 2018.04.26 요약, 청구항 1-6; SEQ. NO. 98	1-8
X	KR 10-1492561 B1 (경상대학교산학협력단 등) 2015.02.11 요약, 청구항 1-7; SEQ. NOS. 1052-1062	1-8
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2025년03월31일(31.03.2025)		국제조사보고서 발송일 2025년03월31일(31.03.2025)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-1398890 B1 (엘앤디 (주) 등) 2014.05.27 요약; 청구항 1, 4, 5; SEQ. NO. 35	1-8
X	KR 10-0625759 B1 (김근성) 2006.09.26 요약; 청구항 1, 7; SEQ. NO. 4	1-8
X	KR 10-2010-0006282 A (박민구) 2010.01.19 요약; 청구항 1-13; SEQ. NO. 36, 37	1-8
A	NCBI, Reference Sequence : NG_047945.1 (2022.12.15) 전체 문헌	1-8

제1기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.
 - a. ☒ 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록
 - b. ☐ 국제조사를 목적으로 국제출원일 이후에 제출된 서열목록(규칙 13의3.1(a))

☐ 서열목록이 출원시 국제출원의 개시 범위를 넘지 않는다는 취지의 진술서를 첨부
2. ☐ 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열에 대해, 본 보고서는 WIPO 표준 ST.26을 준수하는 서열목록이 없이 유효한 조사를 할 수 있는 범위에서 작성되었습니다
3. 추가 의견:

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2023-508100 A	2023/02/28	CN 114867871 A	2022/08/05
		EP 4081666 A2	2022/11/02
		EP 4081666 B1	2024/08/21
		US 2023-0056677 A1	2023/02/23
		WO 2021-130199 A2	2021/07/01
		WO 2021-130199 A3	2021/08/05
KR 10-2020-0046106 A	2020/05/06	CN 111183223 A	2020/05/19
		CN 117721228 A	2024/03/19
		EP 3696268 A1	2020/08/19
		JP 2022-025117 A	2022/02/09
		JP 7199367 B2	2023/01/05
		KR 10-2021-0134421 A	2021/11/09
		KR 10-2023-0128154 A	2023/09/01
		KR 10-2593021 B1	2023/10/31
		KR 10-2757284 B1	2025/01/21
		US 2020-0308628 A1	2020/10/01
		US 2023-0242978 A1	2023/08/03
		WO 2019-074091 A1	2019/04/18
WO 2015-037769 A1	2015/03/19	KR 10-1520931 B1	2015/05/15
		KR 10-2015-0031735 A	2015/03/25
		US 2015-0087540 A1	2015/03/26
WO 2018-074762 A1	2018/04/26	KR 10-1850854 B1	2018/04/20
KR 10-1492561 B1	2015/02/11	KR 10-2013-0131944 A	2013/12/04
KR 10-1398890 B1	2014/05/27	KR 10-2013-0107449 A	2013/10/02
KR 10-0625759 B1	2006/09/26	KR 10-2005-0117281 A	2005/12/14
KR 10-2010-0006282 A	2010/01/19	KR 10-1145616 B1	2012/05/16