

1. 연구개발과제의 필요성

○ 암의 위험성 및 조기 진단의 중요성

- 우리나라 사망 원인 1위로 많은 인명이 희생되고 있음.
- 암 발생률은 꾸준히 증가하고 있으며 20,30대 발생률도 급격히 증가함[1].
- 조기 진단은 암 환자의 생존률을 평균 40% 증가시킬 수 있는 사망 예방법임[2].

○ 암 스크리닝 검사의 제한성

- 스크리닝 검사는 대한민국 주요 호발암 10종 중 5종(위, 대장, 폐, 유방, 간)만 제공됨.
- 대장암은 40세 이상 매년이며, 위,폐,유방은 2년, 간암은 고위험군만 받게 됨.
- 호발암 10종 중 5종(췌장, 간, 담도 및 담낭, 전립선, 신장)은 국가암검진사업의 스크리닝이 없음. 따라서, 40대 이상도 매년 국가암검진 사업의 수혜를 받을 수는 없음

○ 다종암 스크리닝 검사의 필요성

- 국가암검진사업 스크리닝의 대상이 아닌 젊은 연령층 및 호발암 중 스크리닝 제공 대상이 아닌 암종에 대하여 정확도가 높고 가격 부담이 적은 스크리닝 검사를 개발할 필요가 있음.

○ 조기암 탐지 능력의 차별화 필요성

- 최근 액체생검 대표 기술인 ctDNA를 활용한 대규모 임상연구(영국: 우리나라와 같은 공보보험 체계)에서 조기암 민감도가 말기암 대비 크게 떨어지는 한계가 보고됨[3,4].
- 말기암은 대규모 임상시험 된 기존 액체생검 방법이 존재한다는 점에서 신규 개발 필요성 낮음.
- 말기암은 자각증상 등이 있어 사실상 스크리닝 없이 기존의 의료체계에서도 발견 가능성 높음.
- 말기암의 발견은 환자의 생존 및 보건의료 비용 부담 개선의 효과가 크지 않음.

○ 다종암 스크리닝 검사에 난소암 추가 필요성 (11종암 구성)

- 난소암은 여성암 중 사망률 1위이며[5], 국내 발병률이 20, 30대 중심으로 빠르게 증가하고 있음.
- 특별한 자각증상이 없어 대다수의 환자(70-80%)가 전이암 단계에서 발견됨.
- 난소암의 경우 조기암 발견시 생존률이 크게 증가하며, 말기 대비 조기암 생존률 증가가 모든 암종 중 가장 큼[6].
- 국내 환자가 급격히 증가하고 대부분 말기에 발견되며, 조기 발견시 생존 혜택이 가장 크다는 점에서 난소암의 다종암 스크리닝 추가가 필요하며 본 연구진 선행연구로 기 확보.

○ 혁신적 조기암 스크리닝의 기대효과

- 암을 조기에 발견하여 귀중한 생명을 지킬 수 있으며, 수술적 절제 및 적절한 치료를 통한 완치로 수 차례 항암치료 및 간병에 들어가는 사회적 노동력과 보건의료 기회비용을 줄일 수 있음.
- 조기암 스크리닝의 보급을 통하여 국가암검진 사업 및 국민건강보험의 효과를 배가할 수 있으며, 건강한 사회를 구축할 수 있음.
- 본 과제를 통하여 혈소판을 활용한 조기암 스크리닝 기술의 원천특허 및 상용화 제품을 확보할 수 있으며, 국내 및 해외 사업화를 통한 수익 및 일자리를 창출할 수 있음.

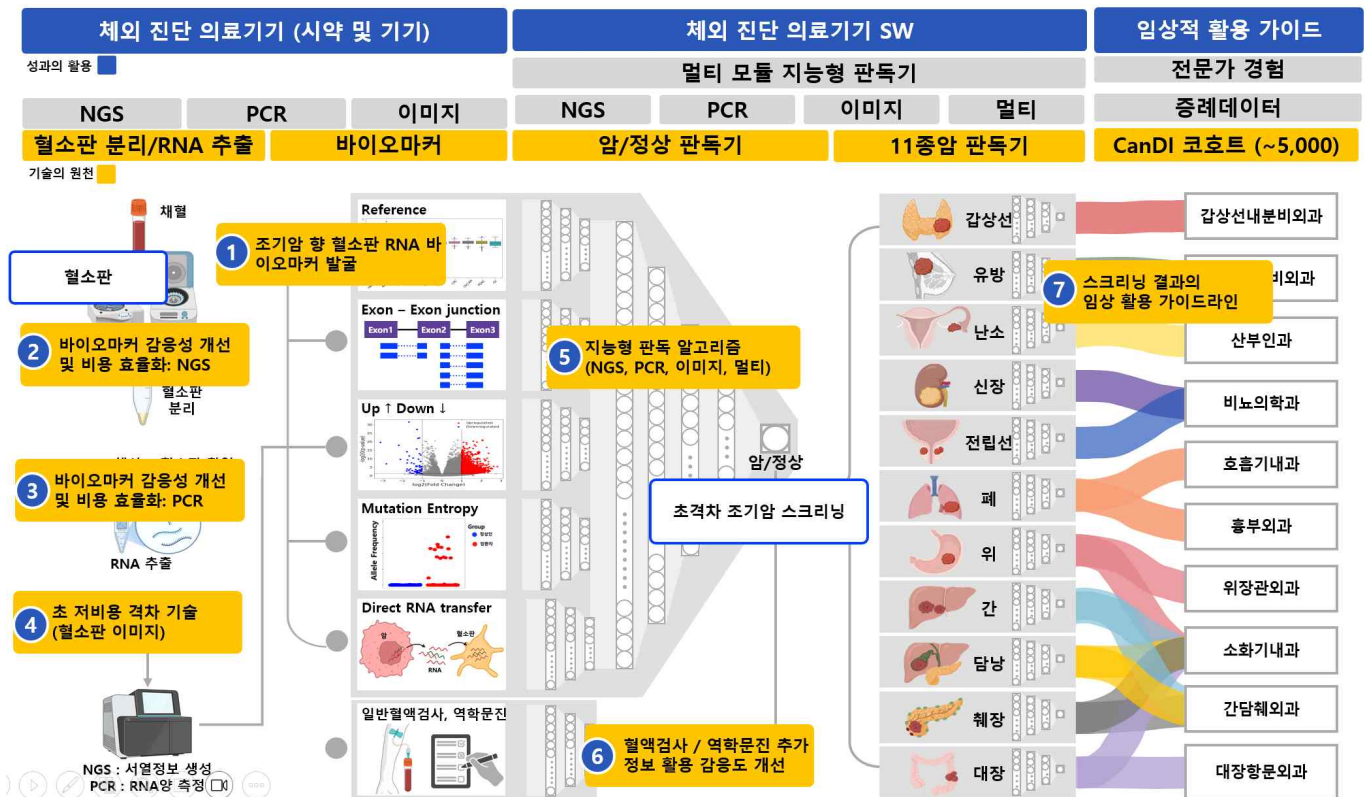
2. 연구개발과제의 목표 및 내용

1) 연구개발과제의 최종 목표

- 초격차 조기암 민감도를 가진 혈액 기반 암 스크리닝 체외진단 허가 제품 (11종암)
 - 11종암 조기암 병기 민감도: 0.9 이상, 특이도: 0.95 이상
 - 대량 보급을 위한 저비용 달성: 원가 35만원 이하 (10만원 이하 초 저비용 기술 도전)
 - 혈소판을 활용 고유 기술원천 확보 및 논문화 (특허 1, JCR 상위 1%: 1건)

○ 최종목표를 위한 기술개발의 구성 요소

- 사용자는 채혈(6ml)을 하게되고 11대 암의 존재여부 및 추가적인 진료절차를 알 수 있음[7].
- 혈액에서의 혈소판 분리 노하우 및 추출 시약, 조기암 진단능 확보를 위한 RNA 바이오마커, 이들의 감응성 개선 및 가격 최적화를 위한 NGS 시약, PCR 시약 및 방법을 개발 함.
- NGS 혹은 PCR 분자진단검사의 결과의 알고리즘을 개발하여 암/정상, 암종의 종류의 민감,특이도를 달성.



○ 대규모 보급을 위한 가격목표 필달을 위한 기술개발 (요약)

- NGS는 널리보급된 기기로 대규모적용을 위한 별도의 고가 장비인프라를 구축할 필요없음, 약 1G iga base 미만의 정보로 민감,특이도를 만족하는 마커 및 시약 조성 구축 (공급가 35만원 이하)
- 진단용 PCR 역시 널리보급된 기기로 대규모 선별검사를 위해 별도 고가 기기 구축 필요없음. 11 종암을 위해 선별된 암종당 15개 이하의 마커의 멀티플렉스 구성 및 시약 최적화 (공급가 10만원 이하)
- NGS 및 PCR은 다단계 분자진단으로 원가하락에 한계가 있음. 6ml의 혈액내 10^8 혈소판은 모양 및 특성이 암에서 변화되며[8] 해당 특징을 고해상도 카메라[9] 및 광학,전자기 분석[10]으로 빠르게 분석하여 초격차의 암 스크리닝 기술을 개발 (공급가 1만원 이하)

○ 조기암 스크리닝 민감,특이도 필달을 위한 기술개발 (요약)

- 혈소판은 암 초기부터 변화하는 종양미세환경의 영향을 받은 분자마커를 보유. 기 구축한 혈소판에서의 분자 프로파일 특징기술 (Fingerprint), PCR개발을 위한 마커선정 및 최적화 기술 (Pin-point)

활용 바이오마커 선별 및 시약 최적화를 통한 감응성 개선

- 공개데이터를 활용한 사전 학습 및 합성데이터 생성을 통한 알고리즘 강건성 개선을 통하여 추가 적 민감,특이도 개선

○ 조기암 스크리닝 능력의 임상적 유효성 검증을 위한 전략적 코호트 구축

- 조기암 진단을 위한 연구 코호트 구축 (제안서 작성 시점 기준, 6개 병원, 11종암, 35명 교수님 참여). 1단계 1,780명(조기암 570례), 2단계 3,600명(조기암 1,150례), 총 5,400명(조기암 1,750을 연구 동의 모집하여, 조기암향 바이오마커 발굴 및 임상적 유효성 평가 수행.
- 과제기간내 추가 협약을 통하여 조기암 검체의 집중 수집을 가속화 예정. 포어텔마이헬스 (주관 기관) 기 구축 해외네트워크 활용 아시아인 추가 검증.

암종	서울대학교병원 -본원	서울대학교병원 -보라매병원	국립암센터	명지병원	서울아산병원	신촌 세브란스 병원	총합
갑상선	60 (30)	60 (30)	180 (90)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	300 (150)
대장	90 (30)	90 (30)	240 (90)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	420 (150)
폐	150 (30)	150 (30)	300 (60)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	600 (120)
위	90 (45)	90 (45)	180 (90)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	360 (180)
유방	90 (45)	90 (45)	180 (90)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	360 (180)
전립선	90 (45)	90 (45)	90 (45)	180 (90)	0 (0)	0 (0)	450 (225)
간	120 (45)	120 (45)	150 (60)	0 (0)	120 (40)	0 (0)	510 (190)
췌장	0 (0)	150 (15)	450 (45)	0 (0)	300 (30)	150 (15)	1,050 (105)
담도	0 (0)	150 (30)	300 (60)	0 (0)	300 (60)	0 (0)	750 (150)
신장	90 (60)	90 (60)	90 (60)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	270 (180)
난소	150 (45)	0 (0)	150 (45)	90 (30)	0 (0)	0 (0)	390 (120)
암이 아닌 자			600				600 (0)
							5,460 (1,750)

표 3 과제기간 코호트 구축 목표

○ 최종 목표 달성을 위한 상세 목표 (Target Product Specification)

- 조기암 민감, 특이도를 우선화하여 저비용 스크리닝 방법을 도전적으로 달성

Target Product Specification	현존 액체 생검법 수준 ⁽¹⁾	자사의 수준			기술 개발 목표			기술 개발 내용
		NGS	PCR	혈소판 이미지	NGS	PCR	혈소판 이미지 분석	
암종	50+종	난소암	난소암	난소암, 대장암 등	10종+난소암 (총 11종)			
1기 민감도 (%)	11.9 ^(1,2)	100	100	-	90			조기암 진단향 바이오마커 발굴
민감도 (%)	47.9 ^(1,2)	100	93.3	80	90			다중 레퍼런스 마커 패널 구성 바이오마커 감응성 개선
특이도 (%)	99.5 ⁽¹⁾	96.1	98.1	77.8	95			다중 레퍼런스 마커 패널 구성 바이오마커 감응성 개선
위양성률 (%)	0.5 ⁽¹⁾	3.9	1.9	22.2	5			
1기 위음성률 (%)	88.1 ^(1,2)	0	0	-	10			
위음성률 (%)	52.1 ^(1,2)	0	6.7	20	10			
TOO 정확도 (%)	88.7 ⁽¹⁾	83.7	-	-	90			다중 레퍼런스 마커 패널 구성 혈소판 RNA 양 특이적 엑손-엑손 접합 특징 추출
LOD (%)	0.07~0.17 ⁽³⁾	8.45x10 ⁻⁵⁽⁴⁾	2.42x10 ⁻⁵⁽⁴⁾		1.0x10 ⁻⁵			Multiplex 1 step qPCR SOP 구축
TAT (시간)	~336 (~2주)	156 (6.5일)	7.5	1	120 (5일)	5.5	1	시퀀싱 SOP의 자동화 시설 구축 Multiplex 1 step qPCR SOP 구축
가격 (원)	132만/50+종	60만/11종	4만/1종	1만/11종	35만/11종	10만/11종	1만/11종	Multiplex 1 step qPCR SOP 구축 초저비용 격차 기술 도전적 확보

⁽¹⁾ Klein, Eric A., et al. "Clinical validation of a targeted methylation-based multi-cancer early detection test using an independent validation set." *Annals of Oncology* 32.9 (2021): 1167-1177.

⁽²⁾ 자사 기술 개발 목표의 11종 암에 대한 성능을 제시함.

⁽³⁾ Alexander, Gregory E., et al. "Analytical validation of a multi-cancer early detection test with cancer signal origin using a cell-free DNA-based targeted methylation assay." *PLoSOne* 18.4 (2023): e0283001.

⁽⁴⁾ 의약품등 분석법의 밸리데이션에 대한 가이드라인, 식품의약품안전청, (2004)의 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하는 검출한계 계산 방법.

2) 연구개발과제의 연차(단계)별 목표

가. 연구개발 목표

연차 (단계)	기관	목표
1차년도 (1단계)	주관기관	조기암 진단 향상 바이오마커 발굴 : 110종 (암종별 10개 x 11암종)
		바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS) : 45만원
		CANDi Cohort 구축 (전기관 공통): 300례 이상
		신규데이터 생성 (NGS) : 200 건
		공개데이터 구축 : 6,000 건 (누적)
		시제품 (SW) : 기능요구사항 정의
		특허출원 : 선행특허조사
	공동 1	일반혈액검사 및 문진 수집 : IRB 승인, 1만례 이상 수집
	공동 2	CANDi Cohort 구축 : 300례 이상
		표준증례기록서 작성 : 11개 암종
2차년도 (1단계)	주관기관	CANDi Cohort 구축 (전기관 공통): 300례 이상
		기존 선별검사 및 종양표지자 : 조기암 스크리닝 현수준 파악
	위탁기관	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR) : 17만원
		조기암 진단 향상 바이오마커 발굴 : 220종 (암종별 20개 x 11암종)
	주관기관	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS) : 40만원
		멀티 모달 지능형 판독 알고리즘 : 민감도 90이상, 특이 95이상
		- NGS
		- PCR
		- 혈소판 이미지
		- 일반혈액검사, 문진
		- 융합 (위 2개 항목 이상)
		CANDi Cohort 구축 (전기관 공통): 1,780례 이상
	공동 1	신규데이터 생성 (NGS, PCR) : 1,200 건 (800, 400) (누적)
		공개데이터 구축 : 7,000 건 (누적)
		시제품 (SW) : 제작 착수
	공동 2	특허출원 : 3건 이상 (바이오마커, NGS, PCR 감응성 개선)
		일반혈액검사 및 문진 수집 : IRB 승인, 1만례 이상 수집
		CANDi Cohort 구축 : 1,780례 이상
	공동 2	표준증례기록서 작성 : 11개 암종
		CANDi Cohort 구축 (전기관 공통): 1,780례 이상
	위탁기관	기존 선별검사 및 종양표지자 : 조기암 스크리닝 현수준 파악
		바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR) : 15만원

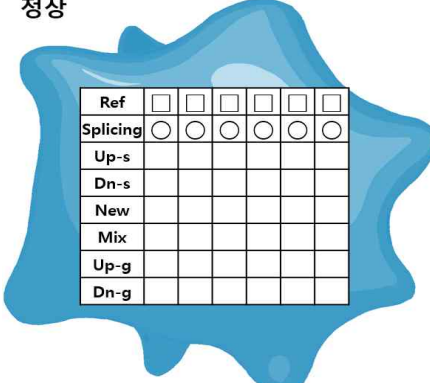
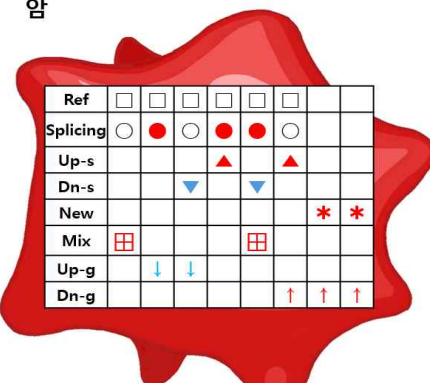
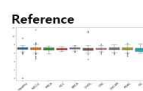
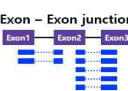
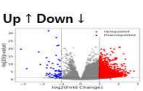
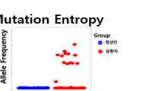
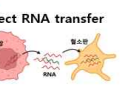
연차 (단계)	기관	목표
1차년도 (2단계)	주관기관	조기암 진단 향상 바이오마커 발굴 : 275종 (암종별 25개 x 11암종)
		바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS) : 35만원 이하
		멀티 모달 지능형 판독 알고리즘 : 민감도 90이상, 특이 95이상 (추가시 료 성능유지)
		- NGS
		- PCR
		- 혈소판 이미지
		- 일반혈액검사, 문진
		- 융합 (위 2개 항목 이상)
		CANDi Cohort 구축 (전기관 공통): 2,500례 이상
		신규데이터 생성 (NGS, PCR) : 1,800 건 (800, 1,000) (누적)

2차년도 (2단계)	공동 1	공개데이터 구축 : 8,000 건 (누적)
		시제품 (SW) : SW 등록
		특허출원 : 5건 이상 (누적) (바이오마커, NGS, PCR 감응성 개선)
		건강검진 및 역학 정보 수집 : 1.5만례 이상 수집 (누적)
		CANdi Cohort 구축 : 2,500례 이상
	공동 2	임상적 활용 가이드라인 : 임상적 유효성 비교평가를 위한 대조군 정의
		CANdi Cohort 구축 (전기관 공통): 2,500례 이상
		기존 선별검사 및 종양표지자 : 과제개발 스크리닝 검사와 성능비교
	위탁기관	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR) : 12만원
		바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS) : 35만원 이하 (최적화)
2차년도 (2단계)	주관기관	멀티 모달 지능형 판독 알고리즘 : 민감 90이상, 특이 95이상 (추가시료 임상적 유효성)
		- NGS
		- PCR
		- 혈소판 이미지
		- 일반혈액검사, 문진
		- 융합 (위 2개 항목 이상)
		체외진단 의료기기 인증/허가 : 품목질의, GMP, ISO, 임상시험계획서
		CANdi Cohort 구축 (전기관 공통): 4,500례 이상
		신규데이터 생성 (NGS, PCR) : 3,000 건 (1,200, 1,800) (누적)
		공개데이터 구축 : 10,000 건 (누적)
		시제품 (SW) : 허가 기술 문서
		논문 : JCR 상위 1% 투고
	공동 1	건강검진 및 역학 정보 수집 : IRB 승인, 1만례 이상 수집
		CANdi Cohort 구축 : 4,500례 이상
	공동 2	임상적 활용 가이드라인 : 임상 활용 시나리오 작성
		CANdi Cohort 구축 : 4,500례 이상
	위탁기관	CANdi Cohort 구축 : 시료 운반/보관 1,000례 이상
		바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR): 10만원

연차 (단계)	기관	목표
1차년도 (3단계)	주관기관	CANdi Cohort 구축 (전기관 공통): 5,400례 이상
		신규데이터 생성 (NGS, PCR) : 4,500 건 (2,000, 2,500) (누적)
		체외진단 의료기기 인증/허가 : 임상시험 결과보고서, 체외진단 의료기기 허가
		시제품 (SW) : 판매개시
		논문 : JCR 상위 1% 게재
	공동 1	CANdi Cohort 구축 : 5,400례 이상
	공동 2	임상적 활용 가이드라인 : 스크리닝 검사 제품의 결과 해석 및 진료권 고안
		CANdi Cohort 구축 (전기관 공통): 5,400례 이상
	위탁기관	사업화 : 판매개시

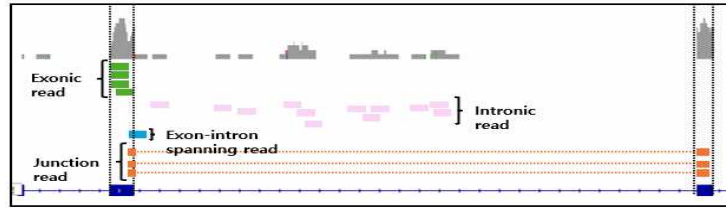
3) 연구개발과제의 내용

가. 연구개발 내용

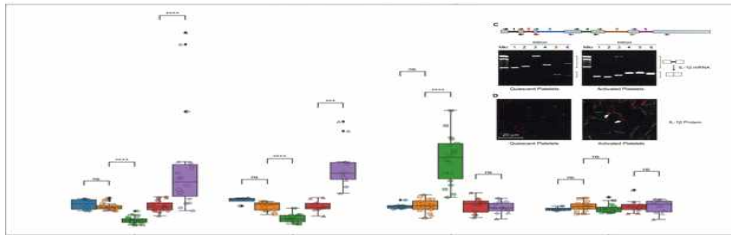
연차 (단계)	기관	내용																																																																																																																
1차년도 (1단계)	주관	<p>연구개발 내용 1: 조기암 진단 향상 바이오마커 발굴 (Fingerprint)</p> <ul style="list-style-type: none">- 혈소판 내 암과 정상 공통 발현 Reference 유전자 선정 유전자 공통성 등급화 시스템 구축 및 적용 NGS read 랜덤 추출 시뮬레이션 기반 합성 데이터 생성 및, 안정적 발현 유전자 검증 Reference 유전자의 RT-qPCR 검증- 혈소판 RNA 암 특이적 엑손-엑손 접합 후보 마커 검출 Exon 접합 부위 read 추출 암-정상 차등 발현 접합부위 계산 공개데이터, 신규생성 데이터 공통 후보 선정- 혈소판 RNA-seq 데이터 유전자 발현량을 이용한 암 정상 판별 유전자 발현량 데이터 전처리 및 보정 정상인 그룹 혈소판에 발현 유전자의 분포 모수 생성 분포모수 기반 암 환자의 이격도 계산 이격도 기반 암/정상 차등 발현 바이오마커 선정- 혈소판 RNA-seq 기반 암 체세포 변이 탐지 및 암/정상 판별 dbSNP을 활용한 알려진 SNP site 배제 정상인 혈소판에서의 백그라운드 allele frequency 처리 유전자 영역 구간별 체세포 변이(암 조직의 돌연변이 RNA가 혈소판에 전달된 것으로 가정)을 계산 암 특이적 변화로 체세포 변이율이 증가하는 hot-spot 영역 선별- 혈소판 내 축적된 암 유래 RNA 바이오 마커 식별 및 탐색 알려진 암 유래 RNA 탐지법 검증(예: EML4-ALK fusion RNA) 정상인 혈소판에는 발현하지 않으나, 암 환자에서 존재하는 novel RNA 바이오마커 발굴 (11종암 공개 및 신규데이터) Human unmapped read의 microbiome reference align을 통한 non-human 유래 RNA 비율 탐색 발굴 바이오마커를 암종 및 종류별로 목록화 제공 <p>Fingerprint : NGS 데이터로부터 RNA의 질적,양적 특징 추출 및 수치화</p> <div><div><p>정상</p><table><tr><td>Ref</td><td>□</td><td>□</td><td>□</td><td>□</td><td>□</td><td>□</td></tr><tr><td>Splicing</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td><td>○</td></tr><tr><td>Up-s</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Dn-s</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>New</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Mix</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Up-g</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Dn-g</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table></div><div><p>암</p><table><tr><td>Ref</td><td>□</td><td>□</td><td>□</td><td>□</td><td>□</td><td>□</td></tr><tr><td>Splicing</td><td>○</td><td>●</td><td>○</td><td>●</td><td>●</td><td>○</td></tr><tr><td>Up-s</td><td></td><td></td><td></td><td>▲</td><td>▲</td><td></td></tr><tr><td>Dn-s</td><td></td><td></td><td>▼</td><td></td><td>▼</td><td></td></tr><tr><td>New</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>* *</td></tr><tr><td>Mix</td><td>▣</td><td></td><td></td><td></td><td>▣</td><td></td></tr><tr><td>Up-g</td><td></td><td>↓</td><td>↓</td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Dn-g</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>↑</td><td>↑</td></tr></table></div></div> <div><div>Reference </div><div>Exon - Exon junction </div><div>Up ↑ Down ↓ </div><div>Mutation Entropy </div><div>Direct RNA transfer </div></div> <ul style="list-style-type: none">- 조기암 진단향 바이오마커 발굴: PCR (Pin-point) 혈소판 RNA-seq의 바이오마커 후보 중 PCR 개발 가능 유전자 영역	Ref	□	□	□	□	□	□	Splicing	○	○	○	○	○	○	Up-s							Dn-s							New							Mix							Up-g							Dn-g							Ref	□	□	□	□	□	□	Splicing	○	●	○	●	●	○	Up-s				▲	▲		Dn-s			▼		▼		New						* *	Mix	▣				▣		Up-g		↓	↓				Dn-g					↑	↑
Ref	□	□	□	□	□	□																																																																																																												
Splicing	○	○	○	○	○	○																																																																																																												
Up-s																																																																																																																		
Dn-s																																																																																																																		
New																																																																																																																		
Mix																																																																																																																		
Up-g																																																																																																																		
Dn-g																																																																																																																		
Ref	□	□	□	□	□	□																																																																																																												
Splicing	○	●	○	●	●	○																																																																																																												
Up-s				▲	▲																																																																																																													
Dn-s			▼		▼																																																																																																													
New						* *																																																																																																												
Mix	▣				▣																																																																																																													
Up-g		↓	↓																																																																																																															
Dn-g					↑	↑																																																																																																												

(정상 시료 대비 이격발현량의정도, exon 접합부위의 생성률, 특정 영역의 point mutation 증가) 생성
 후보 영역의 mapped read plot 생성 및 PCR primer 서열 제작
 Primer의 Thermodynamic property 선정 및 합성제작
 실험을 통한 Primer 정합성 검증
 일반적 혈소판 활성화 과제에서 변화하는 유전자 확인 및 배제

Pin-point : PCR 영역 및 서열 도출 및 검증



혈소판 특이적마커 패턴 인식, 최적 primer 서열 도출
 일반적 혈소판 활성화(예: Thrombin) 차별성 실험 검증

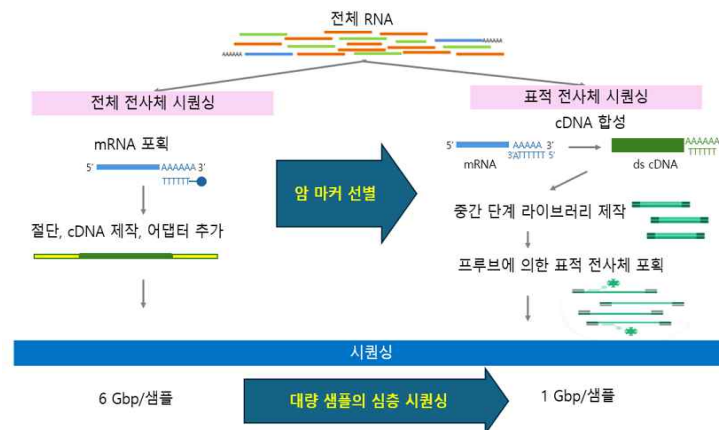


- 산출물: 바이오마커 110종 (암종별 10개 x 11암종)

연구개발 내용 2: 바이오마커의 추출,증폭,감응성 개선 (NGS)

- 바이오마커 서열 타겟 probe 및 bead capture 시료 제작
- 타겟 바이오마커 서열의 선택적 증폭법 개발 및 사이클 최적화
- 타겟 캡처 및 증폭시 활용되는 시약의 종류 및 사용량 최적화를 통한 비용 개선
- 총 read 생산량 조절을 통한 알고리즘 성능 평가 및 생산량 결정

NGS : 마커 서열 특이적 추출 및 증폭, 감응성 개선 및 비용 절감



- 산출물: 비용 45만원으로 절감한 NGS 라이브러리 생성 조건

연구개발 내용 3: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축

- 주관,공동 모든 기관이 참여하여 연구 참여자 모집 및 시료수집 11개 암종, 6개병원 35명 교수진 참여중
- 암종별 다기관 복수 교수진이 참여하여 시료수집 효율을 높이며, 시료 수집/보관/배송에 의한 bias를 조기에 검증하여 최소화
- 300례 이상 구축

연구개발 내용 4: 신규데이터 (NGS) 생성

- 200건 생성

연구개발 내용 5: 공개데이터 구축

		<ul style="list-style-type: none"> - 혈소판 RNA-seq 논문 추적 및 공개데이터 다운로드 (GEO, SRA) - 고유의 서열처리 pipeline으로 처리 및 Fingerprint 특징추출 - 누적 6,000건 구축
		연구개발 내용 6: 시제품 (SW) <ul style="list-style-type: none"> - 판독 알고리즘의 사용자, 데이터의 연동 방법, 사용하는 데이터 항목, 알고리즘의 특징, 알고리즘 output을 정의하여 인허가항 SW의 기능 범위를 도출 - 사용자 시나리오 작성 - 기능요구사항 정의
		연구개발 내용 7: 논문, 특허 <ul style="list-style-type: none"> - 바이오마커, 혈소판 및 RNA 분리절차, 혈소판을 활용한 암/정상 판정 관련 특허리뷰 및 특허맵화 - 선행 특허 조사
	공동1	연구개발 내용 1: 건강검진 및 역학 정보 수집 - 암종별 필요 검진 정보 탐색 및 데이터베이스 변수를 확정하고 후향적으로 10,000건 이상의 자료를 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 암종별 필요 검진 정보 탐색 및 데이터베이스 변수 확정 - 암종별, 성별 샘플 수 결정 - 연구 관련 IRB제출 - 일반혈액검사 및 기초역학(4종), 병력(기왕력, 가족력), 운동, 식이 역학문진 등 에 대한 10,000건 이상의 후향적 자료 수집
	공동2	연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 300례 이상 구축
위탁		연구개발 내용 1: 표준증례기록서 작성 <ul style="list-style-type: none"> - 11개 암종별 표준증례기록서 작성
		연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 300례 이상 구축
		연구개발 내용 3: 기존 선별검사 및 종양표지자 <ul style="list-style-type: none"> - 조기암 스크리닝 현수준 파악
		연구개발 내용 1: 바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR) - 암조기진단 스크리닝 PCR 원가 절감을 위한 multiplex qPCR 키트 전략 <ul style="list-style-type: none"> - multiplex qPCR 키트의 FAM, HEX, Cy5, Qasar705 형광의 간섭현상 제거를 위한 PCR 조건 세팅 PCR 조건에서 annealing 시간 조절 및 각 형광값 조절을 통해 간섭현상 제거 - 암종별 10 tube로 제한하여 검사시약의 원가 절감 <div data-bbox="622 1429 1189 1608"> <p>멀티플렉스 qPCR 키트 프로토콜 확립</p> </div> <ul style="list-style-type: none"> - 산출물: 17만원 상당의 PCR 검사
2차년도 (1단계)	주관	연구개발 내용 1: 조기암 진단 향상 바이오마커 발굴 (Fingerprint) <ul style="list-style-type: none"> - 혈소판 내 암과 정상 공통 발현 Reference 유전자 선정 신규 데이터 활용 reference 유전자 검증 및 수정 - 혈소판 RNA 암 특이적 엑손-엑손 접합 후보 마커 검출 보정 기준 설정 및 적용: 생성된 전체 read 수, mapped read 수, 특정 접합 부위 read 수를 종합적으로 고려하여 보정된 read 수 계산 표준 유전자 기준 접합 부위 분석: 정상에서 관찰 빈도가 희소하나 암에서 발현되는 접합 부위의 양적 증가 특징화 - 혈소판 RNA-seq 데이터 유전자 발현량을 이용한 암 정상 판별 신규 데이터에서의 암종별 유의미한 유전자 발현량 차이 분석 - 혈소판 RNA-seq 기반 암 체세포 변이 탐지 및 암/정상 판별 신규 데이터에서의 정상/암 차이나는 변이 검출 수행: 정상에서는

		<p>관찰되지 않으나 암에서만 관찰되는 변이를 hotspot으로 정의</p> <ul style="list-style-type: none"> - 혈소판 내 축적된 암 유래 RNA 바이오 마커 식별 및 탐색 신규 데이터에서의 알려진 암마커 및 추가적 발굴 - 조기암 진단항 바이오마커 발굴: PCR (Pin-point) Pin-point 기술을 통해 암종별 마커 선별 - 산출물: 220종 (암종별 20개 x 11암종) <p>연구개발 내용 2: 바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 신규데이터 기반으로 감응성 개선 - 비용을 40만원으로 절감 <p>연구개발 내용 3: 멀티 모달 지능형 판독 알고리즘</p> <ul style="list-style-type: none"> - NGS 활용 위험도 예측 모듈 추가 확보된 데이터에서 추출된 바이오 마커로 처리되어진 데이터 세트를 활용한 암/정상 판독 알고리즘, tissue of origin(TOO) 판독 알고리즘 개발 - PCR 활용 위험도 예측 모듈 임상 샘플이 수집되어 NGS 데이터가 생산되는 시점마다 자동화 알고리즘을 이용하여 암종당 50개 마커 탐색 암종별 reference 마커 최적화 및 알고리즘 적용 - 혈소판 이미지 활용 위험도 예측 모듈 YOLO 모형 기반의 cellular object detection model을 활용하여 자동화된 이미지 데이터 전처리 알고리즘 확보 텍스트-이미지 분야의 CIP 모형을 의료데이터 분야로 적용하여 통합 표현 모형 학습 혈소판 모양의 변화가 예상되는 질환자와 암환자의 혈소판 차이점을 데이터 학습에 반영 - 멀티모달 활용 위험도 예측 모듈 최종 확보된 건강검진(혈액,문진) 데이터를 활용하여, 판독 알고리즘의 사전학습단계 및 전이학습단계에 사용. 이를 통해 판독 알고리즘에 추가 정보를 전달함으로써 알고리즘의 성능 개선을 도모 <div data-bbox="470 1272 1377 1742"> </div> <ul style="list-style-type: none"> - 산출물: 민감 90이상, 특이 95이상 정상/암 및 11종암 판독 알고리즘 개발 <p>연구개발 내용 4: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1,780례 이상 구축 <p>연구개발 내용 5: 신규데이터 (NGS, PCR) 생성</p> <ul style="list-style-type: none"> - 누적 1,200건 (800, 400) 생성 <p>연구개발 내용 6: 공개데이터 구축</p> <ul style="list-style-type: none"> - 누적 7,000건 구축 <p>연구개발 내용 7: 시제품 (SW)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 제작 착수
--	--	--

		연구개발 내용 8: 특허 - 3건 이상(바이오마커, NGS, PCR 감응성 개선) 특허 출원
	공동1	연구개발 내용 1: 건강검진 및 역학 정보 수집 - 신규 유입 환자들로부터 전향적 코호트를 구성하고 기저질환자에 대한 후향적 코호트 구축 - 신규 유입 환자들로부터 전향적으로 추가 10,000건 이상의 자료가 수록된 DB를 구축 - IRB 연구계획서 승인
		연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 1,780례 이상 구축
	공동2	연구개발 내용 1: 표준증례기록서 작성 - 11개 암종별 표준증례기록서 작성
		연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 1,780례 이상 구축
	위탁	연구개발 내용 3: 기존 선별검사 및 종양표지자 - 조기암 스크리닝 현수준 파악 연구개발 내용 1: 바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR) - 암조기진단 스크리닝 PCR 원가 절감을 위한 multiplex qPCR 키트 전략 - multiplex qPCR 키트의 FAM, HEX, Cy5, Qsar705 형광의 간섭현상 제거를 위한 PCR 조건 세팅 - PCR 조건에서 annealing 시간 조절 및 각 형광값 조절을 통해 간섭현상 제거 - 시약 조성 및 사용량 최적화, tube 수량 효율화를 통한 비용 개선 - 산출물: 15만원 상당의 PCR 검사

연차 (단계)	기관	내용
1차년도 (2단계)	주관	연구개발 내용 1: 조기암 진단 향상 바이오마커 발굴 (Fingerprint) - 신규확보 데이터에서의 바이오마커 고도화 - 혈소판 RNA 암 특이적 엑손-엑손 접합 후보 마커 - 혈소판 RNA-seq 데이터 유전자 발현량 - 혈소판 RNA-seq 내 암으로 인한 체세포변이 Hosspot 영역 - 혈소판 내 축적된 암 유래 RNA 바이오 마커 식별 및 탐색 조기암 진단향 바이오마커 발굴: PCR (Pin-point) - 고도화된 Pin-point 기술을 통해 암종별 추가 마커 선별 - 산출물: 275종 (암종별 25개 x 11암종)
		연구개발 내용 2: 바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS) - 공개데이터, 신규데이터 기반 11종암 바이오마커 감응성 개선 - 비용 35만원으로 절감
		연구개발 내용 3: 멀티 모달 지능형 판독 알고리즘 Ver.3. 개발 - NGS 활용 위험도 예측 모듈 추가 확보된 데이터에서 추출된 바이오 마커로 처리되어진 데이터 세트를 활용한 암/정상 판독 알고리즘, tissue of origin(TOO) 판독 알고리즘 개발 - PCR 활용 위험도 예측 모듈 임상 샘플이 수집되어 NGS 데이터가 생산되는 시점마다 자동화 알고리즘을 이용하여 암종당 50개 마커 탐색 암종별 reference 마커 최적화 및 알고리즘 적용 - 혈소판 이미지 활용 위험도 예측 모듈 혈소판 이미지 전처리 알고리즘 고도화 및 AI 모형 고도화 - 멀티모달 활용 위험도 예측 모듈 1단계 2차년에 구축된 멀티모달 Ver.2 사전학습 모형을 backbone으로 사용 - 산출물: 민감 90이상, 특이 95이상 정상/암 및 11종암 판독 알고리즘 개발 (추가시료 성능유지)

		연구개발 내용 4: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 2,500례 이상 구축
		연구개발 내용 5: 신규데이터 (NGS, PCR) 생성 - 누적 1,800건 (800, 1,000) 생성
		연구개발 내용 6: 공개데이터 구축 - 누적 8,000건 구축
		연구개발 내용 7: 시제품 (SW) - SW 등록
		연구개발 내용 8: 논문, 특허 - 누적 5건 이상(바이오마커, NGS, PCR 감응성 개선) 특허 출원
	공동1	연구개발 내용 1: 건강검진 및 역학 정보 수집 - 신규 유입 환자들로부터 전향적 코호트를 구성하고 기저질환자에 대한 후향적 코호트 구축 - 신규 유입 환자들로부터 전향적으로 추가 누적 15,000건 이상의 자료가 수록된 DB를 구축
		연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 2,500례 이상 구축
	공동2	연구개발 내용 1: 임상적 활용 가이드라인 - 임상적 유효성 비교평가를 위한 대조군 정의
		연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 2,500례 이상 구축
	위탁	연구개발 내용 3: 기존 선별검사 및 종양표지자 - 과제개발 스크리닝 검사와 성능비교
		연구개발 내용 1: 바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR) - 암조기진단 스크리닝 PCR 원가 절감을 위한 multiplex qPCR 키트 전략 - 산출물: 12만원 상당의 PCR 검사
2차년도 (2단계)	주관	연구개발 내용 1: 바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS) - 신규데이터 기반으로 감응성 개선 - 비용을 35만원 으로 절감
		연구개발 내용 2: 멀티 모달 지능형 판독 알고리즘 - NGS 활용 위험도 예측 모듈 추가 확보된 데이터에서 최종 선택된 바이오 마커로 처리되어진 데이터세트를 활용한 암/정상 판독 알고리즘, tissue of origin(TOO) 판독 알고리즘 개발 - PCR 활용 위험도 예측 모듈 임상 샘플이 수집되어 NGS 데이터가 생산되는 시점마다 자동화 알고리즘을 이용하여 암종당 50개 마커 탐색 암종별 reference 마커 최적화 및 알고리즘 적용 - 혈소판 이미지 활용 위험도 예측 모듈 혈소판 이미지 전처리 알고리즘 고도화 및 AI 모형 최적화 - 멀티모달 활용 위험도 예측 모듈 2단계 1차년에 확보한 확보한 멀티모달 판독 알고리즘Ver.3을 back-bone으로 사용 - 산출물: 민감 90이상, 특이 95이상 정상/암 및 11종암 판독 알고리즘 개발 (추가시료 임상적 유효성)
		연구개발 내용 3: 체외진단 의료기기 인증/허가, 임상적 유효성 - 멀티 모듈 지능형 판독기의 체외진단 기기 SW 인증 및 허가를 위한 절차 수행 식약처의 가이드 라인에 따라 기술문서, 임상시험 계획서 작성 작성된 기술문서, 임상시험 계획서 기반 식약처 체외진단 의료기기 등급 품목질의 민원신청 진행 품목질의 결과 의료기기 등급에 따른 IRB 심의 신청 진행 승인 IRB 및 임상시험 계획서 검토 및 임상시험 계획서 접수 진행

		체외진단 의료기기 인증 (GMP) 진행
		체외진단 의료기기 인증 (ISO) 진행
		연구개발 내용 4: CANdi Cohort (전기관 공통) 구축 - 4,500례 이상 구축
		연구개발 내용 5: 신규데이터 생성 (NGS, PCR) - 누적 3,000건 (1,200, 1,800) 생성
		연구개발 내용 6: 공개데이터 구축 - 누적 10,000건 구축
		연구개발 내용 7: 시제품 (SW) - 허가 기술 문서
		연구개발 내용 8: 논문 - JCR 상위 1% 투고
	공동1	연구개발 내용 1: 건강검진 및 역학 정보 수집 - 신규 유입 환자들로부터 전향적 코호트를 구성하고 기저질환자에 대한 후향적 코호트 구축 - 신규 유입 환자들로부터 전향적으로 추가 10,000건 이상의 자료가 수록된 DB를 구축 - IRB 연구계획서 승인
		연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 4,500례 이상 구축
	공동2	연구개발 내용 1: 임상적 활용 가이드라인 - 임상 활용 시나리오 작성
		연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 4,500례 이상 구축
	위탁	연구개발 내용 1: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 시료 운반/보관 1,000례 이상 구축
		바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR): - 10만원

연차 (단계)	기관	내용
1차년도 (3단계)	주관	연구개발 내용 1: CANdi Cohort (전기관 공통) 구축 - 5,400례 이상 구축
		연구개발 내용 2: 신규데이터 생성 (NGS, PCR) - 누적 4,500건 (2,000, 2,500) 생성
		연구개발 내용 3: 체외진단 의료기기 인증/허가 - 체외진단 기기 인증/허가를 위한 임상시험 수행 및 식약처 인허가 신청 절차 수행 승인 임상시험 계획서 기반 임상시험 수행 임상시험 결과 분석 수행 및 결과 보고서 작성 식약처 체외진단기기 인허가 신청
		연구개발 내용 4: 시제품 (SW) - 판매개시
		연구개발 내용 5: 논문 - JCR 상위 1% 게재
		연구개발 내용 6: 논문 - JCR 상위 1% 투고
	공동1	연구개발 내용 1: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 5,400례 이상 구축
	공동2	연구개발 내용 1: 임상적 활용 가이드라인 - 스크리닝 검사 제품의 결과 해석 및 진료권고안
		연구개발 내용 2: CANdi Cohort(전기관 공통) 구축 - 5,400례 이상 구축
	위탁	연구개발 내용 1: 사업화 - 판매개시

4) 연구개발과제 수행일정 및 주요 결과물

1단계: 1차 년도														
추진내용		추진 일정												결과물
								1	2	3	4	5	6	
주관 주관	조기암 진단 향상 바이오마커 발굴													바이오마커 110종 (암종별 10개x11암종)
	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS)													검사비용 45만원
	시제품 (SW)													기능요구사항 정의
	특허출원													선행특허조사
	공개데이터 구축													6,000건
	신규데이터 생성 (NGS)													200건
공통 (주관, 공동)	시료수집 및 처리/배송													임상 사이트 별 인프라 점검 및 최적화
	CANdi Cohort 구축													IRB승인, 300례
공동1	일반혈액검사 및 문진 수집													IRB, 1만례
공동2	표준중례기록서													11개 암종 표준중례기록서
	기존 선별검사 및 종양표지자													조기암 스크리닝 현수준 파악
위탁	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR)													17만원
1단계: 2차 년도														
추진내용		추진 일정												결과물
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
주관	조기암 진단 향상 바이오마커 발굴													바이오마커 220종 (암종별 20개x11암종)
	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS)													검사비용 40만원

	멀티 모달 지능형 판독 NGS 알고리즘 개발												민감, 특이도 90, 95 NGS 알고리즘 Ver.1
	멀티 모달 지능형 판독 PCR 알고리즘 개발												민감, 특이도 90, 95 PCR 알고리즘 Ver.1
	멀티 모달 지능형 판독 이미지 알고리즘 개발												민감, 특이도 90, 95 이미지 알고리즘 Ver.1,
	멀티 모달 지능형 판독 융합형 알고리즘 개발												민감, 특이도 90, 95 판독 융합형 알고리즘 Ver.1
	시제품 (분자진단)												분자 진단 시제품 제작 착수
	논문, 특허												3건 이상 특허 출원
	공개데이터 구축												누적 7,000건
	신규데이터 생성 (NGS, PCR)												누적 1,200건 (800, 400)
공동 (주관,공동)	시료 수집 및 처리/배송												시료 수집 및 처리/배송 SOP
	CANdi Cohort 구축												1,780례
공동1	일반혈액검사 및 문진 수집												IRB 승인, 1만례 이상 수집
공동2	표준증례기록서												예후 모니터링용 증례기록서
	기존 선별검사 및 종양표지자												조기암 스크리닝 현수준 파악
위탁	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR)												15만원

2단계: 1차 년도

추진내용		추진 일정												결과물
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
주관	조기암 진단 향상 바이오마커 발굴													바이오마커 275종 (암종별 25개x11암종)
	바이오마커의 추출,증폭, 감응성 개선 (NGS)													35만원 이하
	멀티 모달 지능형 판독 NGS 알고리즘 개발													민감, 특이도 90, 95 NGS 알고리즘 Ver.2
	멀티 모달 지능형 판독 PCR 알고리즘 개발													민감, 특이도 90, 95 PCR 알고리즘 Ver.2
	멀티 모달 지능형 판독 이미지 알고리즘 개발													민감, 특이도 90, 95 이미지 알고리즘 Ver.2
	멀티 모달 지능형 판독 융합형 알고리즘 개발													민감, 특이도 90, 95 융합형 알고리즘 Ver.2
	시제품 (분자진단)													최적화

	시제품 (SW)													SW 등록
	논문,특허													누적 특허 5개 출원
	공개데이터 구축													누적 8,000건
	신규데이터 생성 (NGS, PCR)													누적 1,800건 (800, 1,000)
공통 (주관,공동)	시료수집 및 처리/배송													
	CANdi Cohort 구축													2,500례
공동1	건강검진 및 역학 정보 수집													누적 1.5만례
공동2	임상적 활용 가이드라인													임상적 유효성 비교평가를 위한 대조군 정의
	기존 선별검사 및 종양표지자													과제개발 스크리닝 검사와 성능비교
위탁	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR)													12만원
2단계: 2차 년도														
추진내용		추진 일정												결과물
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
주관	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (NGS)													35만원 이하
	멀티 모달 지능형 판독 NGS 알고리즘 개발													민감, 특이도 90, 95 NGS 알고리즘 Ver.3
	멀티 모달 지능형 판독 PCR 알고리즘 개발													민감,특이도 90, 95 PCR, 알고리즘 Ver.3
	멀티 모달 지능형 판독 이미지 알고리즘 개발													민감,특이도 90, 95 이미지 알고리즘 Ver.3
	멀티 모달 지능형 판독 융합형 알고리즘 개발													민감,특이도 90, 95 융합형 알고리즘 Ver.3
	신규데이터 생성 (NGS, PCR)													누적 3,000건 (1,200, 1,800)
	공개데이터 구축													누적 10,000건
	시제품 (SW)													허가 기술 문서
	논문													JCR 1% 이내 논문 게재
	체외진단 의료기기 인증/허가, 임상적유효성													품목질의, GMP, ISO, 임상시험계획서
공통 (주관,공동)	시료수집 및 처리/배송													
	CANdi Cohort 구축													4,500례

공동1	건강검진 및 역학 정보 수집													IRB, 1만례
공동2	임상적 활용 가이드라인													임상 활용 시나리오 작성
위탁	CANDi Cohort 구축													시료 운반/보관 1,000례 이상
	바이오마커의 추출, 증폭, 감응성 개선 (PCR)													10만원

3단계: 1차 년도														
추진내용		추진 일정												결과물
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
주관	체외진단 의료기기 인증/허가, 임상적유효성													임상시험 결과 보고서, 체외진단 의료기기 허가
	시제품 (SW)													판매개시
	신규데이터 생성 (NGS, PCR)													누적 4,500건 (2,000, 2,500)
공통 (주관,공동)	시료수집 및 처리/배송													
	CANDi Cohort 구축													5,400례
공동2	임상적 활용 가이드라인													스크리닝 검사 제품의 결과 해석 및 진료권고안
위탁	사업화													판매개시

3. 연구개발과제의 추진전략 · 방법 및 추진체계

요약목차	
1)	추진체계
2)	연구개발을 위한 데이터 확보 및 차별화 전략 2-1) 공개데이터 구축 및 활용 2-2) 다기관 조기암 스크리닝 연구 코호트 구축
3)	목표 달성을 위한 연구개발 방법 3-1) 조기암 진단항 바이오마커 발굴 : NGS (Fingerprint) 3-2) 조기암 진단항 바이오마커 발굴 : PCR (Pin-point) 3-3) 바이오마커 감응성 개선 및 비용 효율화 : NGS 3-4) 바이오마커 감응성 개선 및 비용 효율화 : PCR 3-5) 초 저비용 격차 기술 : 혈소판 이미지 3-6) 지능형 판독 알고리즘 : 민감/특이도 개선 3-7) 시제품의 제작 : 중앙형 실험실 및 시약구성 3-8) 시제품의 제작 : SW 의료기기
4)	지식재산권 확보 · 보호
5)	기술 도입 및 전문가 활용

1) 추진체계



- 기술개발-임상검증 효율적 Turn-around-time(TAT)을 위한 연구단 구성
- 단기간 바이오마커 발굴 및 검증의 최적화 구성.
 - 혈소판은 Banking시료가 희소하며, Banking된 전혈 시료에서 양질의 바이오마커 후보군(RNA)을 기대하기 어려우므로, 빠른 시간 전향적 모집이 필요함.
 - 국립암센터, 서울대병원(본원, 보라매) 공동연구 참여(11개 과 전 교수진) **조기암에 우선하여 적극적으로 참여자를 모집**하며, 주관기관 주도로 추가적 연구 참여 병원/교수진 모집(현: 아산, 세브란스 신촌, 명지병원) 교수진 협약. 서울대학교병원과 국립암센터 연구진은 주관연구기관과 혈소판을 활용한 암 조기진단 연구를 난소암, 대장암 중심으로 기수행중이며, 혈액 채취 후 혈소판 실험을 위한 보관/배송 고순도 혈소판 분리 등의 연구 이해도가 뛰어남.
 - 국립암센터 공동 연구진은 **암 위험도 역학 자료 분석의 전문성**이 있으며, 바이오마커에

더하여 일반혈액검사, 가족/기왕력, 문진 등의 정보를 추가 수집하여 예측 모형 구축 민감도, 특이도 향상에 기여함.

- 서울대학교 공동 연구진은 해당 암종 전문의로서 개발하는 스크리닝 검사와 비교되는 **표준 선별검사**(예: 각 암종의 종양표지자, 영상의학 선별검사)를 **임상적으로 분류**하며, 혈소판 기반 스크리닝 검사의 표준 증례 기록서 반영 및 선별능 조사를 담당하며 **임상적 사용 가이드라인**을 개발함.
- 위탁개발기관 **삼광랩트리**는 삼광의료재단의 분자진단 자회사로 **수탁된 혈액 시료에서 NGS, PCR 등 분자 진단 검사를 수행**. PCR 진단 개발, 인허가, 원가절감의 노하우 보유. 주관기관과 난소암 조기진단 PCR 제품을 공동 개발하여 상호 업무 이해가 높으며, 과제 기간 내 **발굴되는 바이오마커의 PCR 최적화 및 비용 효율화**를 수행함.
- 주관기관인 **포어텔마이헬스**는 **혈소판을 활용한 암의 조기진단 제품을 개발**하는 스타트업으로 창사후 **고순도 혈소판 분리 및 RNA 추출, RNA 바이오마커 발굴법 및 판별 알고리즘**을 개발하여, 난소암에서 1,2기의 조기암을 민감하게 진단할 수 있음을 전향적 임상 연구로 검증하였음. 해당 파이프라인을 다종암으로 확장하여 효율적 과제 진행을 수행함.

2) 연구개발을 위한 데이터 확보 및 차별화 전략

2-1) 공개데이터 구축 및 활용

- 혈소판의 RNA 특징을 활용하여 암 스크리닝 액체생검을 하는 연구는 2016년 이후 활발해지기 시작했으며, 28건의 논문, 12,977개의 시료가 보고 되었음. 그중 개인정보 등의 이슈를 제외한 공개데이터 포털에서 **5,388건의 정보를 획득**할 수 있음. 그중 **1,2기에** 해당하는 데이터는 540건(전체의 약 10%) 임.
- 현시점 **5,388건의 공개데이터는 모두 주관기관이 내부 서버에 구축하여 바이오마커 발굴 기술로 가공**되어 있으며, 과제 기간 중 지속적으로 매주 새롭게 나오는 공개데이터를 탐색, 구축, 활용함. 공개데이터와 신규 수집되는 데이터를 병행 활용하여, 바이오마커의 신뢰성을 높일 수 있으며, 향후 개발 기간을 단축할 수 있음.

전체 암 샘플 수

암종	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	Total
자궁내막암	39								39					78
담관암					14				23					37
췌장암					35				133					168
유방암					39				93					132
대장암					42				85					127
뇌암		130	39											169
비소세포폐암				436	60				535		172			1,203
교종		246			40									286
난소암						28			144					172
신세포암							24		28					52
소화기암								132						132
기타암								576			71	10		657
양성 종양		92		153		32	12	169	347					805
NA						9		21						30
정상인		366	41	237	60		13		404	88	51	25	5	1,290
Total	39	834	80	826	290	69	49	322	2,407	88	223	96	15	5,338

조기암 (1,2기) 샘플 수

암종	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	Total
자궁내막암	36								28					64
담관암					4				2					6
췌장암					11				73					84
유방암					14				30					44
대장암					6				4					10
뇌암		-	-											-
비소세포폐암				39	4				34		11			88
교종		-			39									39
난소암						9			54					63
신세포암							6		-					6
소화기암								73						73
기타암									56			-	7	63
양성 종양		-		-	-	-	-	-	-					-
NA						-	-	-						-
정상인		-	-	-	-		-		-	-	-	-	-	-
Total	36	-	-	39	78	9	6	73	281		11		7	540

<표 3-1: 공개데이터 포털에서 5,388건의 정보를 확보>

2-2) 다기관 조기암 스크리닝 연구 코호트 구축

- 혈액 액체생검 개발시 단일기관 연구의 한계점 및 치우침 현상이 다수 보고 됨[11-13].
- 본 연구단은 혈소판 분리 및 RNA 추출 보관 단계의 **72개 기록 변수, 8개의 핵심 제어 변수**로 이루어진 **표준운영지침을 운영**하고 있으며, 국립암센터, 서울대학교병원 암연구소 공동연구진이 미리형 장비로 표준적으로 수행한 이력이 있음.
- 연구 단계에서 **다기관 표준운영지침을 운영**하여, 단기간 내 다기관 분산적 참여자 모집을 통하여 **품질 관리된 조기암 시료를 빠르게 확보**함. 다기관에서의 채혈 및 혈소판 수집/보

관 관리 노하우를 축적하여 향후 임상시험, 상품화 단계에서 시료의 손실 및 오염, 제품 성능의 하락을 방지함.

- 2단계에서 연구 코호트 모집에 참여하는 삼광의료재단은 수탁 검사기관으로서 **시료의 배송, 보관의 노하우**가 있으며, 임상시험 단계에서 **중앙 실험실로의 시료 배송 및 정도관리**에 기여함.

암종	서울대학교병원 -본원	서울대학교병원 -보라매병원	명지병원	국립암센터	서울아산병원	신촌세브란스 병원	삼광랩트리 (삼광의료재단 2단계참여)
갑상선	○	○		○			
대장	○	○		○			
폐	○	○		○			
위	○	○		○			
유방	○	○		○			
전립선	○	○	○	○			
간	○	○		○	○		
췌장		○		○	○	○	
담도		○		○	○		
신장	○	○		○			
난소	○		○	○			
암이아닌자	○	○	○	○			○

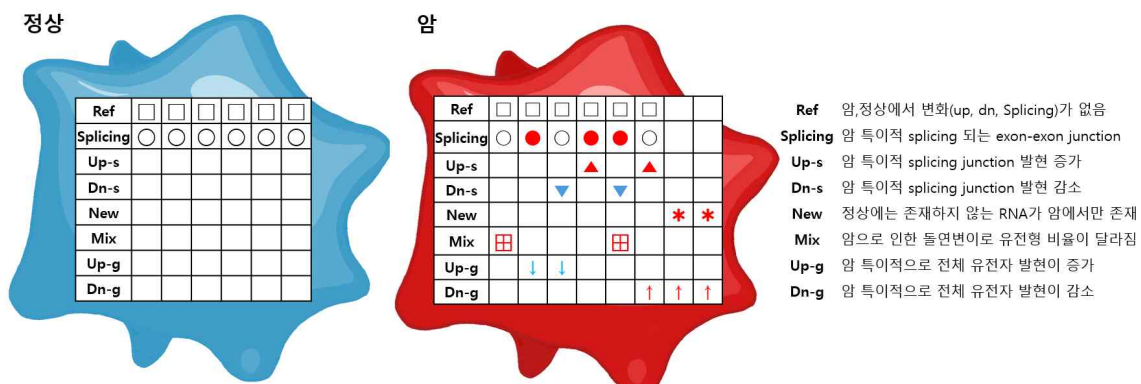
〈표 3-2: 과제 제안 시점 암 스크리닝 연구를 위한 참여자 모집 협약 연구진〉

3) 목표 달성을 위한 연구개발 방법

3-1) 조기암 진단항 바이오마커 발굴 : NGS (Fingerprint)

- 암은 혈소판과의 물리적인 접촉, Cytokine, Exosome을 통한 물질 전달 등을 통하여 **혈소판 내 RNA의 질적, 양적 변화를 야기함**[14-17]. 주관 기간은 혈소판 RNA-seq 데이터로부터, exon-exon의 접합 부위의 생성, intron의 감소, 암 돌연변이 증가로 인한 혈소판 내 체성 유전변이율, 암 특이적 fusion RNA 등을 **혈소판 내에서 관찰하고, 특정 유전자 전체의 발현량 정보 등을 처리하며, 정상인의 분포를 학습하여 이상치를 탐지할 수 있는 기술(Fingerprint)을 개발함.**
- 혈소판 RNA-seq 공개데이터를 통하여 Fingerprint 기술의 **자동화 처리 방법을 기구축**하였으며, 난소암의 임상연구를 통하여, Fingerprint 특징을 활용한 **난소암과 정상인, 난소의 악성종양과 양성종양도 구분됨을 검증함** (별첨: 선행 기술 및 특허 참조).
- 1단계 단기간 과제에서 수집되는 조기암 데이터와 기구축 공개데이터를 조합하여 해당 기술을 적용하여 **10종암 (난소암 기구축)의 암/정상을 구분할 수 있는 특징을 추출**하고, 해당 특징의 서열을 바이오마커로 한정하고 개발함.

Fingerprint : 암과 정상인의 혈소판 RNA의 상태 및 양적 차이를 관측하는 NGS 기반기술



✓ **혈소판에서 암과 정상 공통 발현 Reference 선정**

- NGS 데이터의 정규화와 저가형 모형 개발을 위해서는 reference 유전자가 필요함[18,19]. 그러나, 혈소판 특이적으로 reference 유전자에 대해서 선행 연구가 적기 때문에, 이에 본 연구에서는 혈소판에 특화된 reference 유전자를 정의함.

1. 유전자 등급화 시스템을 구축하여, 모든 샘플에서 최소 1개 이상의 read를 보이는 Tier 1 유전자 56개, 95% 이상에서 발현된 Tier2 유전자 4,812개, 90% 이상에서 발현된 Tier 3 유전자 1,521개, 80% 이상에서 발현된 Tier4 유전자 2,431개로 분류함.

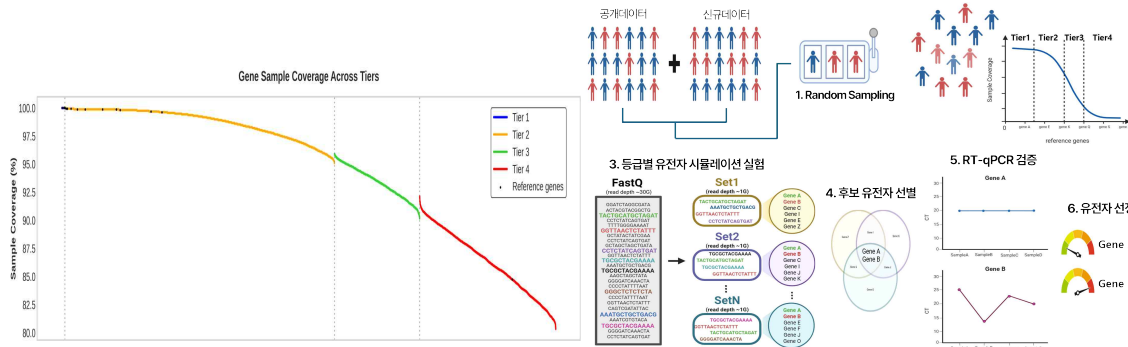


그림 3-2. 정상인 분포 기반 암 특이적 엑손-엑손 접합 마커 검출

2. 시뮬레이션 검증에서는 기존 및 신규 혈소판 샘플에서 다양한 시퀀싱 깊이(75%, 50%, 25%)로 안정성을 평가하고, 등급화 시스템을 통해 **발현 패턴의 일관성을 확인**함. RT-qPCR 검증에서는 후보 유전자의 발현 여부와 기존 reference 유전자와의 비교를 통해 **보편성과 안정성을 평가**함.
3. 이후 ANOVA 검정과 변이계수($CV < 10\%$) 분석을 통해 **암과 정상 혈소판 간 발현량이 일정한 유전자 후보 선정**함. 발굴된 유전자 중 발현량 분산이 1 이하인 유전자들을 구간별로 나누어 구간별 reference 유전자로 선정함. 최종적으로 각 암종별 일정한 발현을 보이는 reference 유전자와 암 공통 reference 유전자를 선정한 후, **시뮬레이션 실험과 반복 RT-qPCR 검증**을 통해 혈소판 기반 암 진단에 최적화된 reference 유전자를 검증하고 선정함으로써 진단의 정확도와 신뢰성을 높임

✓ **혈소판 RNA 암 특이적 엑손-엑손 접합 특징추출**

- 기구화된 엑손-엑손 접합 특징 추출 자동화 알고리즘은 다음의 방법으로 **혈소판 RNA내 암 특이적 엑손-엑손 접합의 특징을 추출**함.

1. Splice-aware aligner를 사용하여 RNA-seq의 read를 인간의 참조 유전체에 정렬하고, 인간 유전체 모든 참조 표준 transcript에 대하여, **엑손-엑손 접합을 지지하는 read의 수를 정량**함.
2. 공개된 선행연구의 데이터를 활용하여 정상 및 암 환자 혈소판의 RNA-seq 선정하고, 공개된 여러 연구코호트에서 발견되는 접합 부위 변이가 특정 **암종 특이적으로 발견**될 수 있는 최적의 유전체 정렬 및 exon-exon junction read의 정의 기준을 확보함.

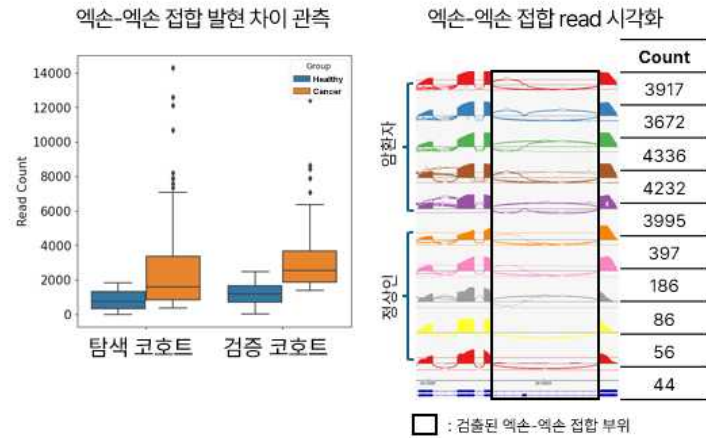


그림 3-3. 암/정상 간 엑손-엑손 접합 부위의 발현 차이 확인

3. 생성된 전체 read수, mapped read수, 해당 junction 부위의 read 수를 종합적으로 고려하여, 보정된 read 수를 구하며, 보정값을 기준으로 정상인 혈소판의 해당 영역 분포 특징을 모형화함. 모수화된 분포의 특징으로, 혈소판에서 발현되는 표준 유전자를 기준으로, 정상에서의 관찰 빈도 매우 희소하나 **암에서 관찰되는 접합 부위, 양적인 증가, 양적인 감소**를 특징화함.

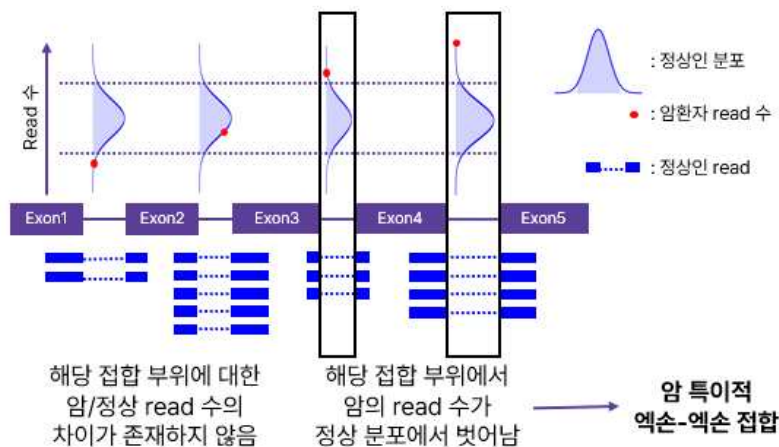


그림 3-4. 정상인 분포 기반 암 특이적 엑손-엑손 접합 마커 검출

✓ 혈소판 내 암 특이적 유전자 바이오마커 식별 및 탐색

- 공개된 선행연구의 데이터를 활용하여 정상 및 암 환자 간 혈소판의 유전자 발현량을 계산하고, 암환자에서만 발현되는 암 특이적 유전자를 찾기 위하여 최적의 발현 정의 기준을 확보함.
- 정의된 최적의 발현 정의를 기반으로 선별된 유전자에 대해서 카이 제곱 검정을 통해 그룹 간 유전자 발현 차이의 유의미성을 평가하고, 유의미한 유전자를 선별함.

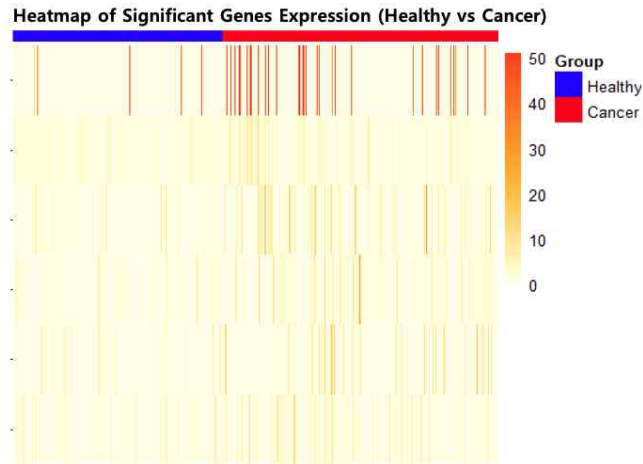


그림 3-5. 혈소판에서 암 특이적 유전자 검출

✓ 혈소판 내 암 특이적 fusion RNA 바이오마커 식별 및 탐색

- 암세포에서 서로 다른 RNA가 fusion되어 새롭게 생성되는 암 fusion RNA는 혈소판에서 발견될 수 있음. 이러한 선행 연구결과에 기반하여 혈소판 내에서 관찰되는 암종 특이적 암 fusion RNA를 식별함.

✓ 혈소판 내 암 특이적 microbiome RNA 바이오마커 식별 및 탐색

- 혈소판 RNA-seq 데이터를 인간 참조 게놈에 정렬한 후, unmapped read를 추출함. 해당 read들을 미생물 데이터베이스에 정렬하여 확보된 microbiome 유래 서열을 기반으로 암종 특이적 microbiome RNA를 식별함.

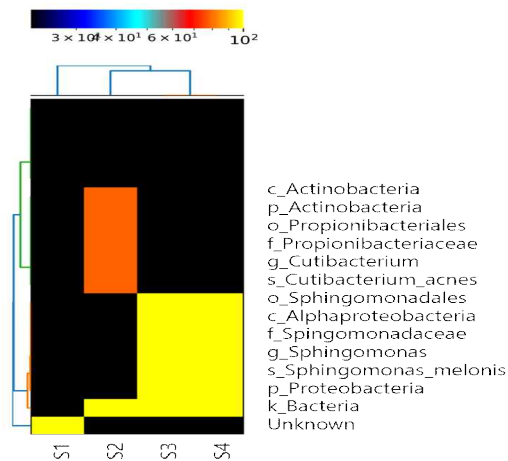


그림 3-6. 혈소판내 microbiome RNA

✓ 혈소판 RNA-seq 기반 암환자 체세포 변이 탐지 및 암/정상 판별

- RNA-seq read를 인간 참조 유전체에 mapping한 후, 복제된 reads와 제거 및 시퀀싱 오류 교정을 통해 더 정확하게 변이를 검출함.
- 검출된 변이들 중 생식 세포 돌연변이의 특징을 가지는 변이들과 dbSNP과 같은 데이터베이스에 존재하는 변이들을 제외하고, 해당 변이를 지지하는 read depth가 일정 기준 이상일 경우 체세포 변이로서 분석에 사용함.

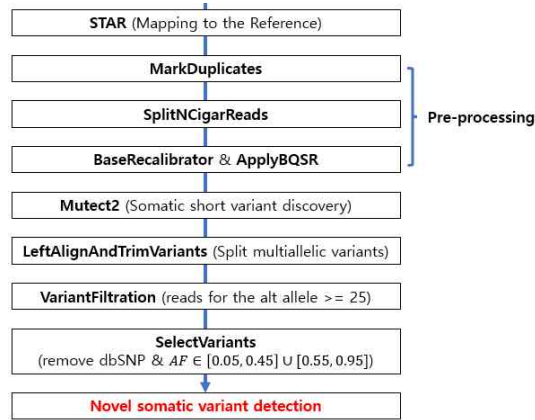


그림 3-7. 체세포 변이 탐지 파이프라인

- 각 그룹에서 변이 검출을 수행 후, 정상에서는 관측되지 않지만 암에서만 관측되는 변이들을 식별하여 hotspot으로 정의함.
- 변이 빈도와 검출된 변이 종류를 주요 특징으로 설정하여 데이터를 형성하고 머신러닝 모형의 학습에 사용하여 암과 정상을 구별함.

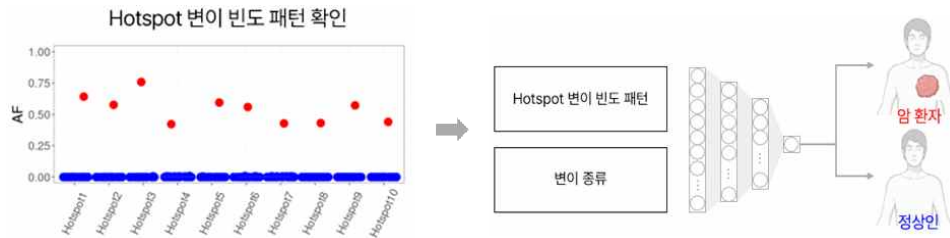


그림 3-8. 체세포 변이 기반 암 진단 파이프라인

✓ 혈소판 RNA-seq 데이터 기반 유전자 발현량 특징화

- 혈소판 RNA-seq 데이터 기반으로 계산된 유전자 발현량 데이터에서 유전자 발현량의 분포를 가정한 통계처리를 수행하여, RNA-seq에서 관찰되는 read 숫자를 실제 시료에서 존재하는 분자의 수로 추정하고, 추정된 발현량이 암에서 특이적으로 차이가 나는 유전자를 선정할 수 있음.
- 이러한 방법론을 확장하여 혈소판에서 발현하는 것으로 알려진 유전자들에만 한정하여, 정상인 혈소판 데이터의 발현량 특징을 모수화 하고 모형화 함.
- 일례로, 공개된 혈소판 RNA-seq 기반 유전자 발현량 데이터에 본 연구진의 기술을 적용하면, 유의미하게 차이 나는 유전자를 선별할 수 있으며, 9개의 암종에서 유의미한 유전자 발현량 차를 확인할 수 있음.

	난소암	폐암	췌장암	유방암	담낭암	대장암	전립선암	요로암	간암
암 시료 수	144	535	133	93	87	85	35	28	23
암 고발현	1,847	11	22	43	27	43	5,790	7,442	88
암 저발현	50	11,944	175	37,467	22,161	28,551	12,548	9,798	30,730

<표 3-3: 공개데이터에서 암과 정상 간 유의미한 발현 차이를 보이는 유전자 수>

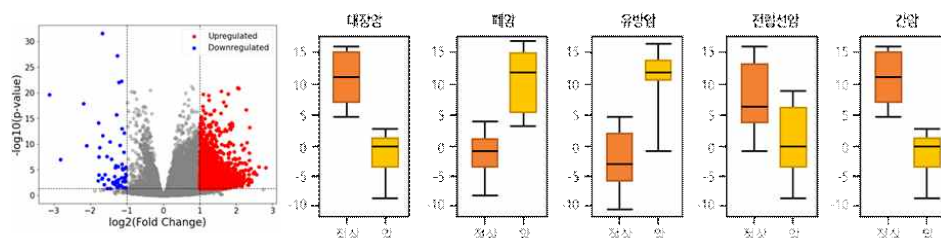


그림 3-9. 암과 정상 간 유전자 발현량 차이 시각화

- 이와 같이 혈소판 RNA를 기반으로 암 특이적 엑손-엑손 접합, 유전자, fusion, 체세포 변이 등의 특징을 추출하는 방법을 조합하여 단순히 암과 정상을 판별하는 마커뿐 아니라 각 암종의 특징을 가진 혈소판 RNA 바이오마커를 발굴함.

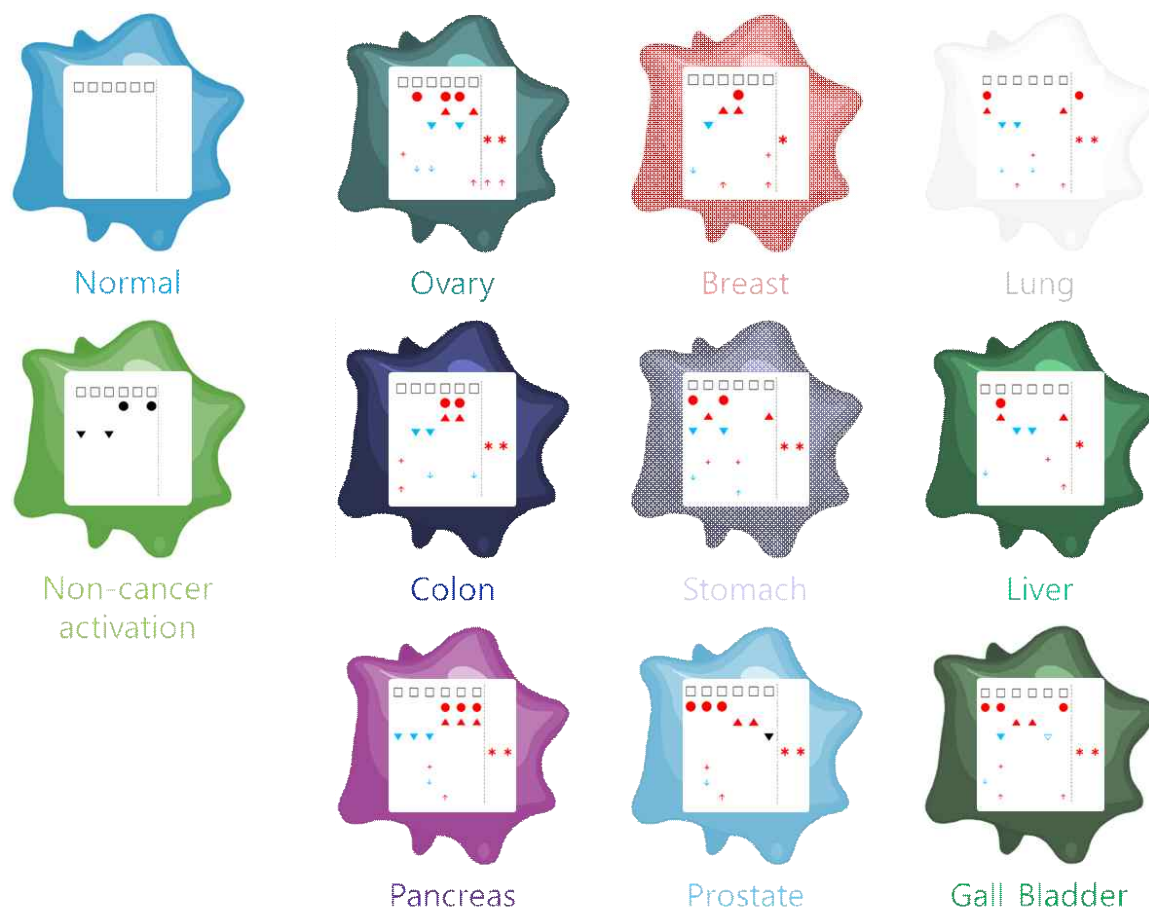


그림 3-10. 암종 특이적 혈소판 RNA 바이오마커 검출

3-2) 조기암 진단용 바이오마커 발굴 : PCR (Pin-point)

○ PCR기반 조기암 진단용 바이오마커 발굴 주요 전략

- 정상과 암에서 변화가 없는 마커를 이용하여 데이터를 정규화하는 것은 샘플간 정확한 발현 비교가 가능하게 하므로, 이러한 **레퍼런스 마커**를 찾는 것은 매우 중요함.
- 또한 시퀀싱 데이터와 PCR 실험에서 유사하게 암 특이적 패턴을 가지는 바이오마커를 선별하는 것은 PCR 마커 개발에 반드시 필요함[20,21].
- 주관기관은 혈소판 RNA 엑손접합 데이터 특성에 맞는 레퍼런스 마커를 선정하는 노하우를 가지고 있으며 엑손접합 발현량 영역에 따라 5개의 레퍼런스 마커를 기보유하고 있음.
- qPCR 실험을 통하여 시퀀싱 데이터로 선정한 레퍼런스 마커가 5% 미만의 안정적인 변동계수를 보임을 검증함 (별첨: 선행기술 및 특허 참조).
- 이를 토대로 본 과제에서는 다종암에서 **공통적으로 사용 가능한 레퍼런스 마커**와 **11개 암종별 맞춤형 레퍼런스 마커**를 병용하여 다종암 진단의 정밀도를 높이하고자 함.

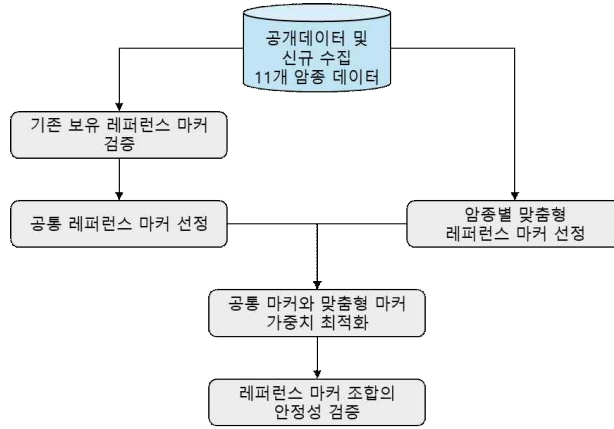


그림 3-11. 다중 레퍼런스 마커 패널 구성 전략

○ 혈소판 레퍼런스 마커 패널 구성

- 기보유 레퍼런스 마커를 1단계 단기간 과제에서 수집되는 조기암 데이터와 기구축 공개데이터를 이용하여 안정성을 검증하고, 모든 암종 및 정상 샘플에서 발현 수준이 일정하고 변동성이 적은 마커를 공통 레퍼런스 마커로 선정함. 동일한 데이터를 이용하여 각 암종에서 특히 더 안정적이고 변동이 적은 마커를 **암종별 맞춤형 레퍼런스 마커로 발굴함**.
- 암종별로 공통 마커+맞춤형 마커 최적의 조합과 가중치를 구하고, 이를 PCR로 검증하여 다중 레퍼런스 마커 패널 구성하는 것을 목표로 함. 공통 마커를 통해 모든 샘플에 적용할 수 있는 정규화 기준을 유지하면서, 각 암종의 특성을 반영하는 맞춤형 레퍼런스 마커로 암종별 진단의 정확도를 높임. 또한 새로운 암종 추가시 공통 마커는 유지한 상태에서 맞춤형 마커만 조정하면 되므로 쉽게 확장이 가능함.

○ PCR 실험에서 사용 가능한 암특이적 고성능 바이오마커 발굴

- 주관기관은 이상치 탐색 조건 라이브러리를 구축하여 정상 샘플에서는 발현량이 매우 적으며 일부 암 샘플에서만 큰 이상치를 가지는 마커를 신속히 선별하는 바이오마커 선별 자동화 파이프라인을 보유하고 있음. 특히, 오랜 PCR 마커 발굴 경험을 통해 시퀀싱 데이터를 이용하여 선별된 마커가 PCR 실험에서도 시퀀싱 데이터와 유사하게 암 특이적 패턴을 가지는지 판단할 수 있는 시각화 기준을 가지고 있음 (Pin-point).
- 난소암 임상연구를 통해 기보유 파이프라인을 활용하여 선별된 바이오마커와 레퍼런스 마커가 난소의 악성종양과 양성종양을 우수한 성능으로 구분할 수 있음을 검증함 (별첨: 선행기술 및 특허 참조).
- 본 과제에서는 Pin-point 기술을 고도화하여 마커 영역의 시각화 이미지 학습을 통해 암과 정상에서 다른 시각적 패턴을 가지며, 시퀀싱 데이터와 PCR 실험에서 유사한 패턴을 가진 고성능 바이오마커 발굴을 목표로 함.

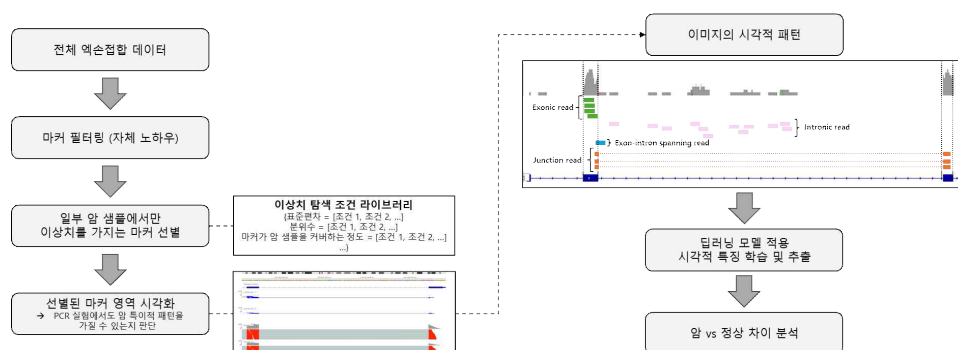


그림 3-12. NGS와 PCR간 높은 상관성을 보이는 고성능 바이오마커 발굴 파이프라인

○ PCR기반 조기암 진단항 바이오마커 이용 알고리즘 고도화

- 본 과제에서 수집되는 조기암 데이터와 기구축 공개데이터를 이용하여 기구축 파이프라인을 통해 **마커를 1차 선별**함.
- 선별된 마커의 영역을 Integrative Genomics Viewer (IGV)로 커버리지 그래프, 리드의 매핑된 양상, 스플라이싱 변이 그래프 등으로 **시각화**함.
- 각 이미지에 Convolutional Neural Network(CNN) 모델을 적용하여 암과 정상간 스플라이싱 패턴, 엑손과 인트론의 커버리지 차이 등 시각적 특징을 학습함. CNN 모델을 통해 학습된 이미지에서 주요 시각적 특징을 추출하여 통계 테스트, 머신러닝 등을 통해 분석함.
- 이를 바탕으로 암과 정상을 구분하는데 중요도가 높은 시각적 특징을 바탕으로 **최종 고성능 마커를 발굴**함.
- 고도화된 pin-point 기술을 통해 엑손접합 마커의 발현을 엑손 영역, 인트론 영역의 발현 수준과 함께 비교하며, 엑손-인트론 접합부위에 매핑된 exon-intron spanning read도 함께 고려하여 접합변이 발생 여부를 더욱 정밀하게 탐지할 수 있음.
- 특히 **시퀀싱 데이터와 PCR 실험에서 높은 상관성을 보이는 마커를 선별**하기 위해서는 엑손접합 마커의 발현과 엑손 영역의 발현 수준을 시각화로 비교하는 것은 매우 중요하므로, 고도화된 Pin-point 기술을 통해 발굴한 바이오마커는 실제 PCR 검증 실험에서도 암 특이적 패턴을 보일 것으로 예상함.

3-3) 바이오마커 감응성 개선 및 비용 효율화 : NGS

- **전체 전사체 시퀀싱**을 통해 암 특이적 마커를 선별함. 먼저 전체 RNA에서 mRNA를 포획하고, 이를 절단하여 cDNA를 합성한 후 어댑터를 추가하여 전체 전사체 시퀀싱을 수행함. 대량의 샘플에 대해 심층 시퀀싱을 통해 6 Gbp 정도의 데이터를 얻으며, 이를 바탕으로 암 특이적 마커를 선별함.
- **암 특이적 마커 패널을 제작**함. 탐색된 암 특이적 마커에 대해 Illumina 및 Twist 등의 회사에서 제공하는 다양한 패널 제작 방법을 활용하여 표적 전사체 시퀀싱을 수행함. 이는 전체 RNA에서 mRNA를 선택적으로 포획한 뒤 이에 기반하여 cDNA를 합성하고 중간 단계 라이브러리 제작 과정을 거쳐 어댑터를 추가하는 것으로 시작함. 그 후 프로브를 사용하여 관심 있는 표적 전사체만을 잡아내어 시퀀싱을 수행하고 1 Gbp의 데이터를 획득함. 이를 통해 불필요한 데이터의 양을 줄임으로써 비용 효율성을 높이고 암 특이적 마커를 더욱 효율적으로 탐지할 수 있을 것으로 기대함.

- 실험 방법을 최적화함. Unique Molecular Identifier(UMI)를 사용하여 multiplexed deep sequencing을 적용하여 시퀀싱 효율을 높이고 전체적으로 실험 비용을 낮추는 방안을 마련함. 각 회사의 시약 비용, 샘플당 시퀀싱 데이터 양, 시퀀싱 정확도, 적용 가능한 표적 영역의 범위 등을 비교함으로써 실험 효율성을 극대화할 수 있는 최적의 패널 제작 방법을 선택함. 예를 들어 결합 포획 패널을 활용하여 암 특이적 융합 유전자 검출의 민감도를 크게 향상시킬 수 있음.

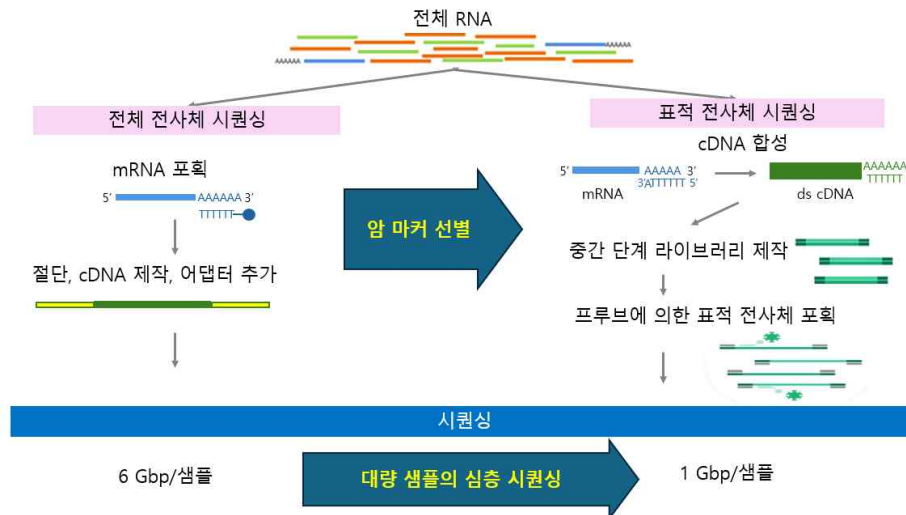


그림 3-13. 전체 전사체 및 표적 전사체 시퀀싱을 통한 암 특이적 바이오마커 탐색 전략

3-4) 바이오마커 감응성 개선 및 비용 효율화: PCR

- Exon 접합 부위 사이에 intron이 혼입되지 않도록 exon 접합 부위에 Target Probe가 걸치도록 probe를 제작하여 암특이적으로 혈소판 유전자의 스플라이싱 패턴이 변화하는 것을 정확히 측정함.



그림 3-14. Exon 접합부위 Target Probe 제작

- 개인 특이적인 유전 변이를 회피하는 서열을 선택하여 프로브를 제작하며, 만일 회피가 어려운 경우 inosine을 사용하여 degenerated primer를 제작함.



그림 3-15. 개인 유전변이 회피가 어려운 경우 Inosine 사용한 degenerated primer 제작

- 2step qPCR 방법보다 감도가 좋고 cDNA 합성 과정 시간을 절약할 수 있는 **1step qPCR** 방법으로 SOP를 구축함.
- 한 번의 qPCR run에서 한 샘플에 대한 모든 암종 분석이 가능할 수 있도록 **Multiplex**로 구성함.
- 이때 민감도를 높일 수 있도록 형광 시약 간의 간섭을 최소화 하는 구성을 최적화 하며, 분석 알고리즘에서도 간섭에 의한 측정값의 변화를 사후보정 할 수 있도록 함.

멀티플렉스 qPCR 키트 프로토콜 확립

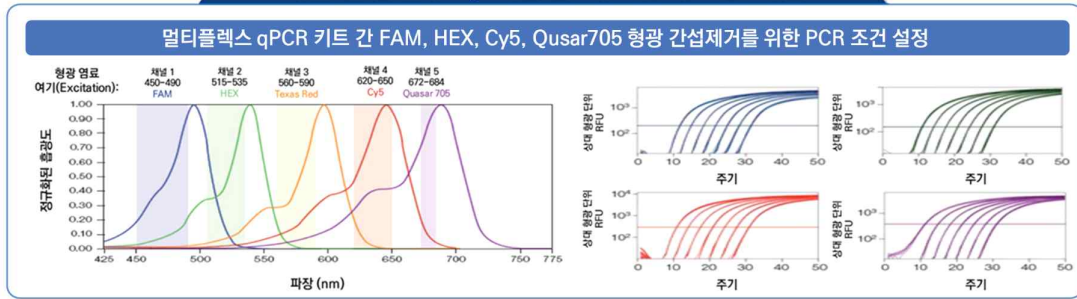


그림 3-16. Multiplex qPCR 키트 전략

3-5) 초 저비용 격차 기술: 혈소판 이미지

- Flow cytometry 기반 이미지 처리 장비를 이용하여 **대량의 혈소판 사진을 고속 획득**함.
- 선행 연구에서 이미지 형태 분석이 가능한 실험 조건을 확립하였으며 **혈소판 사진 10⁴장 획득에 1분 미만**이 소요됨.
- **10uL** 미만의 매우 소량의 platelet rich plasma 만을 이용하여 분석이 가능함.

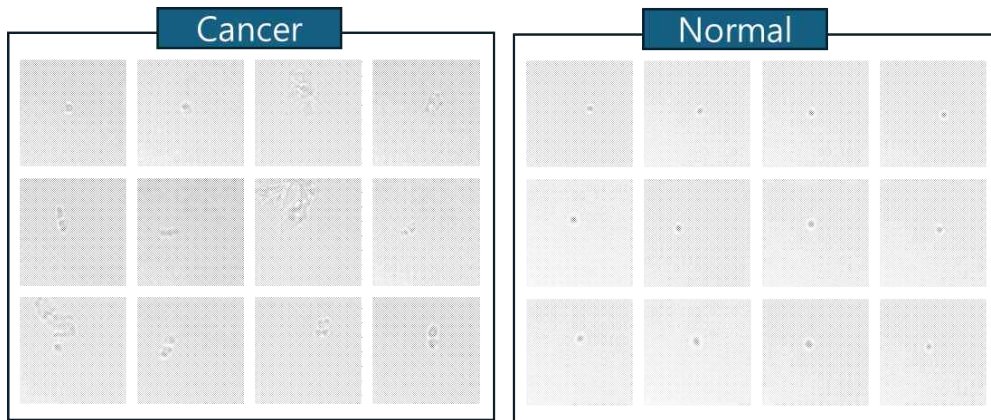


그림 3-17. 암과 정상에서 차이를 보이는 고속 촬영된 혈소판 이미지

- 혈소판 이미지 전처리는 진단 성능에 크게 영향을 끼치며, 이미지 전처리 최적화를 위해 YOLO 모형 기반의 cellular object detection model을 활용하여 자동화된 이미지 데이터 전처리를 진행함.
- 전처리된 데이터 기반으로 image representation model 디자인을 진행함.
- 특별히 혈소판 모양의 변화가 예상되는 기저 질환자나 감염 질환자의 혈소판과 암환자 혈소판의 차이점을 데이터 학습에 반영하여 민감도와 특이도를 높임.
- 기확보한 혈소판 품질관리 지표들을 바탕으로 이미지 획득을 위한 혈소판 품질관리 수행.

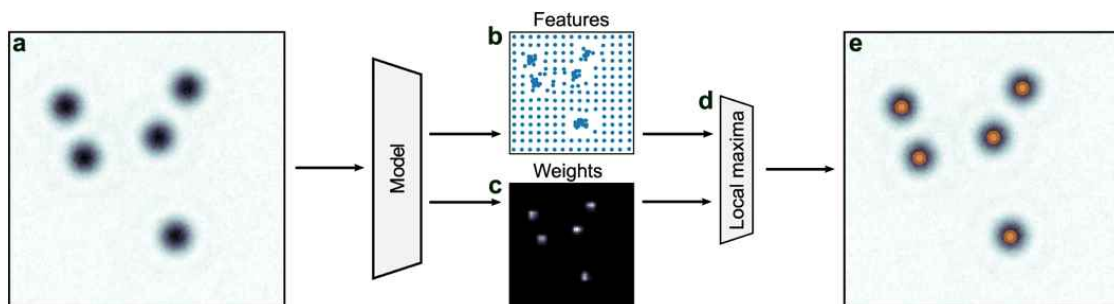


그림 3-18. 인공지능 기반 혈소판 이미지 분석 알고리즘 개발

3-6) 지능형 판독 알고리즘 : 민감/특이도 개선

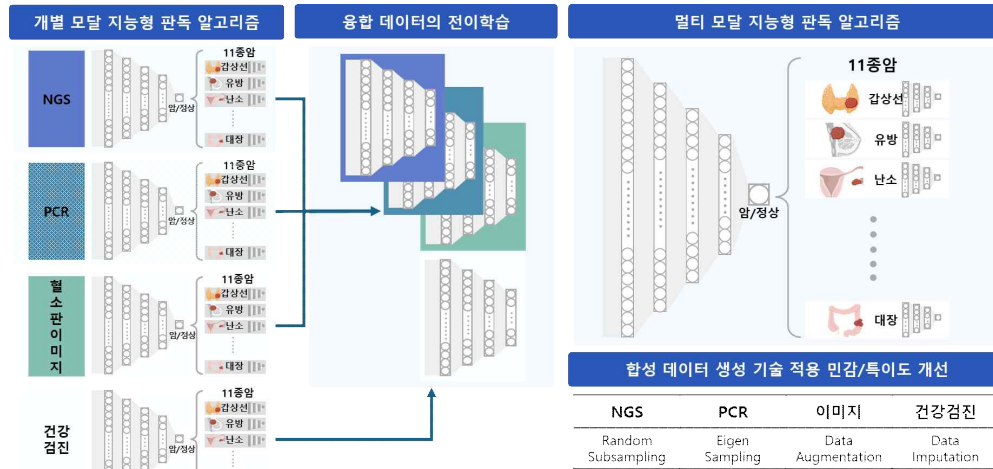


그림 3-19. 지능형 판독 알고리즘 개발

- 본 과제에서는 NGS, PCR에서 발굴한 조기암 진단항 바이오마커와 혈소판 이미지, 건강검진(일반혈액, 문진) 정보를 활용하여 암 진단의 민감도 특이도를 개선하기 위한 접근법으로 지능형 판독 알고리즘을 개발하고자 함
- NGS, PCR 그리고 혈소판 이미지 각각의 데이터세트에 대하여 두 종류의 알고리즘을 개발하고자 함. 암종 구별 없이 암/정상을 판독하는 알고리즘과 11암종에 대하여 tissue of origin(이하 TOO)을 판독하는 알고리즘을 개발하고자 함
- 암/정상 판독 알고리즘과, 11암종 TOO 판독 알고리즘의 고도화 전략으로 학습과정에서 NGS, PCR 그리고 혈소판 이미지 모두 사용하는 멀티 모달 지능형 판독 알고리즘 또한 개발하여, 각 모달리티 간의 상보적인 효과를 통해 민감/특이도 개선을 도모하고자 함.
- 건강검진(일반혈액, 문진) 데이터는 각 모달리티와 페어링되지 않는 데이터를 포함하고 있어, 이 정보를 최대한 활용성을 높이기 위해 전이학습 패러다임을 적용하고자 함. 건강검진 데이터를 활용하여 판독 알고리즘을 암/정상과 TOO 목적에 맞추어 사전학습하고, 사전학습된 알고리즘의 구조를 NGS, PCR 또는 혈소판 이미지 알고리즘으로 옮겨(전이) 추가 학습을 수행하여 판독 알고리즘 전체의 민감/특이도 개선을 기대함.

3-7) 시제품의 제작 : 중앙형 실험실 및 시약구성

- 본 과제를 통해 개발되는 기술을 기반으로 하여 **소량의 혈액만으로 11종 암 조기 스크리닝이 가능한** 세상에 없던 액체생검 제품을 시장에 제공하고자 함.
- 이를 위하여 위탁연구개발기관 삼광랩트리의 실험실을 **중앙형 실험실로** 구축하여 대규모 샘플 처리 및 통합 분석을 진행함.
- **질병청 유전자 신고 후 암 조기 선별 검사 서비스 런칭** (유전자검사평가원의 외부정도관리 및 현장실사 포함)
- 병원, 연구소, 검진센터에서 나오는 혈액 검체는 모두 중앙형 실험실로 이동하여 **중앙 집중형 QC 시스템**을 통해 모든 단계의 데이터 정확성을 보장함.
- 서비스를 위한 홍보자료 및 검사 SOP를 설정함.
- 검사관리시스템의 자동화, 병원 프로그램과의 Interface 등을 구축함.
- 또한 암종별 바이오마커 15종으로 구성된 멀티플렉스 PCR 패널을 **키트화하여 저비용으로 단일 반응 내 다종암 스크리닝이 가능하도록 함.**

3-8) 시제품의 제작 : SW 의료기기

- 본 과제를 통해 개발된 지능형 판독 알고리즘은 **소프트웨어 의료기기**로 시제품을 제작함.
- 해당 소프트웨어는 자동으로 **암 조기 스크리닝 검사 결과보고서를 생성 및 관리**를 돕는 **프로그램**으로, 관리자와 사용자(병원, 연구소, 건강검진센터 등)로 나누어 사용됨.
- 각 기관별로 혈액 검체의 정보를 관리하고 자동 보고서 생성 기능을 통해 **업무 효율성 극대화**를 목표로 함.

4) 지식재산권 확보 · 보호

- 침해사실을 적발가능한 바이오마커 및 체외진단 SW 등록을 위한 핵심알고리즘 보호
 - 바이오마커의 서열, 바이오마커의 특징을 만들어낼 수 있는 처리방법, 정상인과 암을 구별할 수 있는 정보처리 기술은 지식재산권으로 확보하여 보호할 예정이다.
 - 포어텔마이헬스는 여성과학기술인 전담멘토 지원사업을 통해 바이오 전담 특허법인 시원국제특허법률사무소와 협력하여, 국내외 경쟁업체의 중복 기술 특허 조사 및 특허 전략 수립 멘토링을 진행하여 특허맵을 구축함. 이를 기반으로 선행기술 회피 및 전략적 핵심 기술을 출원하고 있음.
 - 이후 창업기업의 지원제도를 적극 활용하여 지재권 연계 연구개발 전략지원, IP 나래 프로그램, 스타트업 특허 바우처 등 지원사업을 통하여 본 과제의 국내외 특허 전략을 체계적으로 수립할 계획임.
 - 기술 확보를 위하여 기술 이전을 고려할 수 있음. 책임연구자는 지난 2년간 포항산업과학 기술연구소 (RIST)와 혈소판의 분광분석을 통한 암/정상의 구분 및 조기암 진단 과제를 진행하였으며, 해당 기술의 유망성을 인지 연구결과의 기술이전을 고려하고 있음. 기술 이전이 성사된다면, 혈소판의 이미지 분석에 더하여, 분광분석 특성으로 더욱 정밀한 스크리닝 기법을 확립할 수 있을 것으로 기대.
 - 책임 연구자는 암 RNA 발현패턴을 특징화 하는 연구를 다년간 수행하여 왔으며 이들 중 일부 등록 특허를 기술이전하여 과제에 활용할 수 있음.

• 기확보 특허

출원국	상태	등록(출원)번호	등록(출원)일	지식재산권의 명칭
대한민국	출원	10-2023-0138881	2023.10.17	혈액 내 RNA의 엑손-접합 정보를 이용한 암 진단 방법
WO	PCT 국제출원	PCT/KR2023/016067	2023.10.17	혈액 내 RNA의 엑손-접합 정보를 이용한 암 진단 방법
대한민국	출원	10-2024-0059941	2024.05.07	엑손-접합 부위의 염기서열을 포함하는 암 진단 마커 및 레퍼런스 마커
대한민국	출원	10-2024-0059937	2024.05.07	혈구분석 결과를 활용하여 암 진단 또는 종양의 양악성 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법

• 기술이전 고려 대상

출원국	상태	등록(출원)번호	등록(출원)일	지식재산권의 명칭
대한민국	등록	10-20244-0940000	2019.11.06	딥 러닝 기반 유전체 발현량 해석을 통한 암 또는 정상 판별 방법 및 그 장치
대한민국	출원	10-2020-0120165	2020.09.18	유전자 기능 모듈을 학습한 뉴럴 네트워크를 활용한 암의 진단과 치료 결정 방법 및 그 장치
대한민국	출원	10-2023-0184676	2023.12.18	혈소판 분광분석 데이터를 활용한 암/정상 진단 전처리 및 알고리즘

• 출원 예정 특허

분류	대상 암종	등록(출원) 예정일	지식재산권의 명칭(가제)
바이오마커	난소암	24.12	PCR 기반 난소암 조기 진단 바이오마커 및 검출 방법
	갑상선암	26.12	갑상선암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	폐암	26.12	폐암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	위암	26.12	위암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	유방암	26.12	유방암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	전립선암	26.12	전립선암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	간암	26.12	간암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	췌장암	26.12	췌장암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
진단 알고리즘	담낭암	26.12	담낭암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	신장암	26.12	신장암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	난소암	26.12	난소암 조기 진단을 위한 바이오마커 패널 및 분석법
	다종암	28.01	시퀀싱 데이터 기반 암 진단 알고리즘 및 시스템
	다종암	28.01	PCR 분석 데이터를 활용한 암 진단 알고리즘
	다종암	28.01	혈구 분석 데이터 기반 암 진단 알고리즘
	다종암	28.01	역학문진 데이터를 이용한 암 위험 평가 알고리즘
	다종암	28.01	암 진단 데이터의 지능형 판독 및 결과 해석 알고리즘

4. 연구개발 성과의 활용방안 및 기대효과

1) 연구개발 성과의 활용방안

○ 초격차 조기암 스크리닝 연구개발 성과 모듈화를 통한 활용 극대화

- 다종암 동시 스크리닝 NGS, PCR 다중 패널
- 단일암 저가형 PCR
- 초저가형 혈소판 이미지 기반 스크리닝
- 일반혈액 검사, 문진을 활용한 고위험군 선별 SW
- 혈소판 RNA 바이오마커 원천 기술을 활용한 추가 연구/개발

	대규모스크리닝	TAT	활용방안
다종암 동시 스크리닝 NGS, PCR 다중 패널	기구축	NGS: 120(5일) PCR: 5.5	기 구축된 유전자 분석 인프라를 활용해 별도의 시설 증설 없이, 기존 국가 암검진 비대상 암과 비대상자도 NGS, PCR 다중패널로 저예산 대규모 스크리닝이 가능함.
단일암 저가형 PCR	기구축	PCR: 5.5	저예산의 PCR로 특정 단일암 선별 검사 기술을 공급할 수 있음
초저가형 혈소판 이미지 기반 스크리닝	기기생산, 증설필요	2	혈소판 이미지를 활용해 저예산으로 신속한 결과 제공이 가능하며 이를 통해 빠른 임상적 조치를 취할 수 있음
일반혈액 검사, 문진을 활용한 고위험군 선별 SW	기구축	수분 내	간단한 일반혈액검사 및 문진을 기반으로 별도의 추가 설비 없이 수분 내 암 위험 신호 탐지, 추가 진단 검사 및 임상적 조치를 취할 수 있음
혈소판 RNA 바이오마커 원천 기술을 활용한 추가 연구/개발	-	-	혈소판 RNA 바이오마커와 탐지방법을 특허화하고, 이를 암 예후 관찰과 신약 개발 등의 응용연구에 활용 가능함

○ 다종암 동시 스크리닝 NGS, PCR 다중 패널

- 국가암검진 선별검사가 존재하지 않는 암, 국가암검진 대상이 아닌 자 (격년 검진, 젊은 연령층 20, 30대)에 활용될 수 있음.
- 기술 완성도에 따라 NGS(35만원), PCR(10만원)에 공급이 가능하며, 소비자 가격 NGS(45만원), PCR(20만원)이내 활용될 수 있음.
- 국내 마크로젠, 테라젠바이오, 랩지노믹스, 디엔에이링크 등 다수 유전자 검사기관 인증기관이 존재하며, Illumina사 Novaseq 장비 약 30여대 이상이 보급되어 있음. 이는 1년 기준, WGS(100Gb) 50만 건을 생산할 수 있는 양(5×10^7 Gb)으로, 본 기술이 1Gb 단위로 구현되어, 약 5천만 건을 수행할 수 있는 분량임. 기구축된 시퀀싱 유전자분석 인프라를 활용하여 대규모 스크리닝을 적용할 수 있음.
- PCR은 코로나로 진단 인프라가 충분히 검증되었음. 따라서, NGS 및 PCR 기술은 대규모로 스크리닝을 위한 별도의 시설 증설 없이 최소한의 추가 인프라 구축으로, 대규모 활용이 가능함. 과제에서 확보된 시료 채취, 보관 기술 및 수탁 검사기관을 통한 검증은 성과 활용을 위한 별도의 추가 검증을 최소화하여, 적극적 활용을 가능하게 함.

○ 단일암 저가형 PCR

- 국가암검진 선별검사가 존재하지 않는 암, 국가암검진 대상이 아닌 자 (격년 검진, 젊은 연령층 20, 30대) 중 특정 암에 대하여 고위험인 경우가 있을 수 있음.
- PCR은 마커의 구성에 따라 단일 암 패널로 분리할 수 있으며, 단일 암에 대하여 소비자가 4-5만원에 공급이 가능하며, 연령, 가족력 등 기본적인 암 위험도를 고려하여 특정 암에 대한 빈도를 조절한 선별검사 기술을 공급할 수 있음.

○ 초저가형 혈소판 이미지 기반 스크리닝

- 고순도로 분리된 혈소판의 일 인당 수만 장 수준의 고화질 이미지 촬영은 특수 장비가 필요하며 연구용 목적 이외에는 보급되어 있지 않음. 과제 기간의 연구 성과를 바탕으로 소수의 설비에서 해당 기술을 활용 개시할 수 있으며, 설비의 양산 증설로 대규모 스크리닝에 활용함.

- 혈소판 이미지는 매우 빠른 시간내에 결과를 얻을 수 있어, 건강검진센터에 내원한 환자가 2-3시간의 검진을 마치고 돌아가기 전 결과를 알 수 있으며, 바로 추가적인 검사 및 종합병원 방문 등의 임상적 조치를 취할 수 있음.

○ 일반혈액검사, 문진을 활용한 고위험군 선별 SW

- 일반 병의원, 건강검진 센터에서 손쉽게 실시할 수 있는 일반혈액검사 (혈소판 수, 혈소판의 용적률, 백혈구 수 등의 18개 주요 지표)를 판독하여 암 위험신호를 탐지할 수 있고 추가적인 분자 진단 스크리닝 검사를 권고할 수 있음.
- 일반혈액검사 정보를 연동하여 사용하기 때문에, 별도의 설비 증설 없이 정보인프라만으로 대규모 적용할 수 있음. 분자 진단 검사 대비 상대적으로 저비용인 범용적인 일반혈액 검사로부터 위험군을 선별할 수 있어, 국민 전체 보건 의료 비용을 효율화시킬 수 있음.
- 건강검진센터에 내원한 환자가 빠르게 채혈을 진행할 경우, 혈구 분석기에서 수 분 만에 결과를 얻을 수 있어, 2~3시간의 검진을 마치고 돌아가기 전 결과를 알 수 있으며, 바로 추가적인 검사 및 상담의 임상적 조치를 취할 수 있음.

○ 혈소판 RNA 바이오마커 원천 기술을 활용한 추가 연구/개발

- 본 연구 결과로, 암으로 인하여 특이적으로 변화하는 혈소판 내 유전자 및 그 탐지 방법을 원천 특허화할 수 있으며, 해당 유전자의 기능을 활용하여 추가적인 암의 예후 관찰, 재발 모니터링에 활용할 수 있음.
- 암이 혈소판의 RNA에 영향을 주는 기전들도 많은 기초 연구가 수행 중이며, 해당 기전 및 그로 인하여 변화하는 유전자를 대상으로 기초 및 신약 개발 등의 응용연구에 활용될 수 있음. 특별히, 혈소판의 변화가 암의 전이에 필요충분하다는 결과들이 있어, 추가적인 예후 관찰 및 타겟 신약 연구가 가능함.
- 주관기관은 혈소판-암 상호작용을 막아 암 전이를 막는 신약 개발 스타트업과 비밀 유지 계약 및 업무 약정을 완료하였으며, 기술 개발 진행 중.

2) 연구개발성과의 기대효과

○ 과학 · 기술적 측면

- 혈소판 RNA 바이오마커 원천 특허를 통해 암진단뿐 아니라 예후 예측, 재발 모니터링, 신약 개발 등 다양한 연구의 기반을 제공.
- 고해상도 혈소판 이미지 분석 기술, 일반혈액검사 기반 SW는 분자 진단의 시간 및 비용적 한계를 보완.
- 또한 NGS, PCR, 혈소판 이미지 데이터, 일반혈액검사 및 문진 데이터를 통합 분석하는 지능형 판독 알고리즘은 데이터의 축적을 통한 지속적 개선 혁신화 할 수 있음.

○ 경제 · 산업적 측면

- 다종암 스크리닝 기술과 혈소판 RNA 바이오마커 기반 기술은 국내외 암진단 시장에서 차별성을 가지며 국내외 시장의 빠른 점유 가능
- 특히 저비용 PCR 기술 및 소프트웨어의 상용화는 암 스크리닝 비용을 절감하여 암진단 관련 의료 산업을 활성화.
- 저비용 기술로 고위험군을 선별하고 추가 검사로 연계함으로써 불필요한 검사를 줄여 의료 비용을 절감하며, 조기진단을 통한 암 치료비용을 절감, 국민 보건 의료비 효율화.
- 본 과제를 통해 개발된 기술의 상용화로 관련 의료기기 및 소프트웨어의 수출 및 수익을 증대시킴.

○ 사회적 측면

- 국가암검진 대상이 아닌 젊은 연령층(20~30대)과 검진 비대상 암에 대해 효과적인 스크리닝이 가능해져, 국민 전반의 암 조기 발견율을 높여 귀중한 인명을 구할 수 있음,
 - 저비용 검사 기술의 보급으로 소외 계층 및 저소득층의 암진단 접근성을 개선
 - 일반혈액검사와 문진을 통한 고위험군 선별 기술은 건강검진센터와 일반 병원에서 간편히 활용이 가능하여 공공 의료의 효율화가 예상됨.
 - 저비용의 빠르고 간단한 다종암 스크리닝 기술은 국민의 암 검진 참여율을 높여 암 예방 및 조기 치료 문화 정착에 기여함.
 - 글로벌 암 조기진단 기술 시장에서 국가적인 기술 우위를 확보하며, 암 스크리닝 기술을 선도하는 의료 기술 강국으로 발돋움할 것으로 예상. 암 조기진단 기술의 국제 표준화 및 상용화를 통해 의료 기술 분야에서의 국제적 리더십을 강화할 것으로 기대됨.
-

5. 연구개발성과의 사업화 전략 및 계획

1) 국내외 시장 동향

(1) 국내외 시장규모 및 수출입 현황

○ 글로벌 시장규모

- 2023년 전 세계 액체생검 시장에서 북아메리카는 46.3%로 가장 큰 비중을 차지했으며, 유럽은 24.5%로 두 번째로 큰 시장을 형성했고, 아시아태평양 지역은 연평균 성장률 14.2%로 가장 빠르게 성장할 것으로 예측함.
- 기술에 따른 시장 규모 예측 결과에 따르면, multi-gene parallel analysis를 이용한 시장의 규모가 single gene analysis를 이용한 시장의 규모보다 2024년에는 약 5.5배 크고, 2029년에는 약 6배 가량 클 것으로 예측하였음.

○ 국내 시장규모

- 국내에서 액체생검 기술을 개발 및 상용화하는 주요기업의 2020년도 매출은 다음과 같음.

기업명	제품명	매출
파나진 (Panagene)	PANA Mutyper™ R EGFR kit: 폐암 환자의 혈액에서 EGFR 돌연변이를 검출하는 액체생검 진단 키트	약 163억 원 (2020)
이원다이애그노믹스 (EDGC)	온코캐치(OncoCatch): 혈액 내 순환종양 DNA(ctDNA)를 분석하여 암을 조기에 진단하는 액체생검 서비스	약 943억 원 (2022)
테라젠지놈케어 (Theragen Etex)	유전체 분석, 개인유전체 진단 서비스	약 1,000억 원 (2020)
지노믹트리 (Genomictree)	얼리텍® 대장암 검사(EarlyTect® Colon Cancer): 혈액을 이용하여 대장암을 조기에 진단하는 액체생검 검사	약 50억 원 (2020)
싸이토젠 (Cytogen)	혈액 내 순환종양세포(CTC)를 분리 및 분석하여 암을 진단하고 모니터링하는 서비스	약 100억 원 (2020)
젠큐릭스 (Gencurix)	드롭플렉스(Droplex): 액체 생검 기반 동반진단제품. 암 환자의 유전자 변이를 분석하여 맞춤형 치료를 지원함.	약 30억 원 (2020)
랩지노믹스 (LabGenomics)	액체생검기반 암 진단 서비스	약 500억 원 (2020)
아이엠비디엑스 (IMBdx)	알파리퀴드(AlphaLiquid): NGS에 기반하여 암 환자의 혈액에서 유전자 변이 분석을 통해 정밀 진단을 제공	약 20억 원 (2020)
베르티스 (Veritas)	마스토체크(MASTOCHECK): 단백체학 기반의 액체생검 기술을 활용하여 유방암을 조기에 진단하는 검사	약 10억 원 (2020)

○ 수출입 현황

- 현재 국내 기업들은 액체생검 기반 제품 및 서비스를 가지고 해외 시장에 진출하고 있음.
- 일례로, 싸이토젠의 경우, 2023년 1월, 미국 텍사스에 위치한 클리아랩(CLIA Lab)을 인수하여 미국 시장에서 액체생검 서비스를 본격적으로 제공하고 있음.

(2) 국내외 주요 수요처 현황

○ 액체생검은 체액을 활용한 비침습적 진단 방법으로, 국내 주요 수요처는 다음과 같음.

1. 의료기관

- 대형 병원 및 종합병원: 서울아산병원, 삼성서울병원 등 주요 의료기관에서 액체생검을 활용한 암 조기 진단 및 치료 모니터링을 도입하고 있음.

2. 연구기관 및 대학

- 의과대학 및 연구소의 경우, 서울대학교병원, 연세대학교 세브란스병원 등에서 액체생검 관련 연구를 활발히 진행하고 있으며, 임상 적용을 위한 연구도 병행하고 있음.

3. 제약 및 바이오 기업

- 신약 개발 및 임상시험 시 액체생검을 활용하여 치료 효과를 모니터링에 사용 중임.

4. 건강검진 서비스 제공업체

- 종합검진센터: 일부 건강검진 센터에서는 액체생검을 포함한 정밀 검진 패키지를 제공함.
- 건강검진 선택항목 혹은 세트항목 구성 (2024년 국내시장규모 100억 예상) 되어 판매되고 있으며, 조기암 선별 관련하여 다수의 기관에서 비급여 항목 수요가 높아지고 있음.
- 대형 건강검진센터 거래처 (하트스캔의원, 메디피움, 다운 헬스케어, 한국의학연구소 등)

-
- 중형 건강검진센터 거래처 (중앙대학교병원, 성모병원, 동아대학교병원 등)

5. 환자 및 일반 소비자

- 개인 건강 관리: 액체생검을 통해 암 위험도를 평가하고 건강 모니터링을 실시함.
 - 암 조기선별 스크리닝은 고가의 가격 정책 (공급가 40만원, 병원서비스 80만원 ~100만원)으로 인해 VIP 검진에만 판매되고 있음. 이에 저가의 암 조기 선별 스크리닝이 검진센터의 정식 세트 항목에 포함되면, 정상인 대상 연간 5만건 이상의 검사 건수 달성이 예상됨.
-

(3) 국내외 경쟁기관 및 기술 현황

○ 국내 경쟁기관

- 지노믹트리
 - DNA 메틸화 기반 바이오마커 기술 보유 기업으로, 대장암(SDS-2), 방광암(PENK), 폐암(PCDHGA-12) 유전자에 대한 조기진단키트를 개발하고 대장암 키트는 시장 출시됨.
 - 대장암 키트인 얼리텍트C는 민감도와 특이도 측면에서 경쟁제품과 유사하거나 높은 결과를 보였으며 가격 측면에서 경쟁력을 보유하고 있음.
- 베르티스
 - 마스토체크(MASTOCHECK)는 세계 최초의 프로테오믹스 기반 유방암 조기 진단 검사로써, 혈액 내 유방암 관련 3종의 단백질 바이오마커를 통해 조기 유방암을 진단함.
 - 후속 제품인 '마스토체크2'는 9종의 바이오마커와 딥러닝 알고리즘을 활용하여, 기존 검사 성능 AUC 83%를 91%로 개선하였고, 현재 상용화를 위한 확증 임상이 진행 중임.
- 아이엠비디엑스
 - '캔서파인드(CancerFind™)'는 혈액 검사만으로 8가지 주요 암을 조기 진단 가능한 다종암 스크리닝 서비스로, 2023년 10월 출시 후 국내 주요 건강검진센터에 도입됨.
 - 캔서파인드는 혈액 10ml만으로 대장암, 폐암, 위암, 간암, 췌장암, 유방암, 난소암, 전립선암을 조기에 검진할 수 있으며, 평균 민감도 86%, 특이도 96%의 성능을 보임.

○ 국외 경쟁기관

- 그레일
 - 세계적 유전체 장비기업인 일루미나(Illumina) 자회사인 그레일(Grail)은 제프베저스 아마존 창립자와 빌 게이츠 마이크로소프트 공동창립자 등에게서 1억 달러를 투자받아 창업 1년만에 약 1조 원의 투자로 임상연구 자금을 확보한 유망 바이오텍 중 하나임.
 - 혈액기반 다종암 진단 대표제품 Galleri를 이용한 PATHFINDER 연구는 50세 이상 참가자 6,662명을 대상으로 한 전향적 임상 연구로, 참가자의 1.4%에서 암 신호를 검출했으며, 검출된 암 중 71%는 기존 표준 암 스크리닝 검사로는 검출할 수 없는 유형이었음.
 - 암 신호 기원(CSO)의 예측 정확도는 97%에 달해 양성 예측값(PPV)은 43.1%, 특이도는 99.5%로, 낮은 거짓 양성 비율을 나타내었음.
 - 가던트 헬스
 - 미국 유전자 분석 기업으로 혈액에 떠돌아다니는 암세포 유래 DNA 조각(Cell-free DNA; cfDNA)를 NGS로 분석하는 서비스를 세계최초로 시작하였고 기업가치를 8조 원으로 평가받으며 소프트뱅크로부터 약 4,000억 원의 투자를 받음
 - 가던트360(Guardant360)는 진행성 고형암 환자를 대상으로 하는 액체생검 검사로, 혈액 내 순환 종양 DNA(ctDNA)를 분석하여 암 특이 유전자 돌연변이를 검출함. 이 검사는 미국 식품의약국(FDA)으로부터 모든 고형암에 대한 포괄적 유전체 검사로 허가받았으며, 비소세포폐암 치료에 사용되는 타그리소, 엔허투 등 항암제의 동반진단법으로 지정되어 있음.
 - 최근 (2024년 7월) FDA로부터 암 스크리닝 서비스 실드(Shield)를 45세 이상 성인의 대장암 1차 검진에 쓸 수 있도록 승인받으면서, 앞으로 미국 임상 현장 대장암 표준검사에 대변·내시경에 이어 혈액 검사가 포함될 가능성이 높아짐.
-

2) 지식재산권, 표준화 및 인증기준 현황

○ 포어텔마이헬스의 특허 보유 현황

- 포어텔마이헬스는 액체생검 기반 암 진단 관련 특허 출원 실적을 4개 보유하고 있음.

출원국	상태	등록(출원)번호	등록(출원)일	지식재산권의 명칭
대한민국	출원	10-2023-0138881	2023.10.17	혈액 내 RNA의 엑손-접합 정보를 이용한 암 진단 방법
WO	PCT 국제출원	PCT/KR2023/016067	2023.10.17	혈액 내 RNA의 엑손-접합 정보를 이용한 암 진단 방법
대한민국	출원	10-2024-0059941	2024.05.07	엑손-접합 부위의 염기서열을 포함하는 암 진단 마커 및 레퍼런스 마커
대한민국	출원	10-2024-0059937	2024.05.07	혈구분석 결과를 활용하여 암 진단 또는 종양의 양악성 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법

○ 경쟁기관 및 선행연구기관의 지식재산권 보유 현황

- 기존 액체생검 기반 암 진단 특허와 경쟁기관의 특허는 주로 DNA 메틸화나 단백질과 같은 특정 바이오마커에 집중된 반면, 포어텔마이헬스는 RNA 엑손-접합이라는 새로운 바이오마커를 활용해 범용적인 암 진단 플랫폼을 구축하고, 경쟁기관 특허와의 중복성을 회피하면서도 독보적인 기술적 우위를 확보하였음. 해외 특허 중 VUMC의 특허가 혈소판을 사용한다는 점에서 포어텔마이헬스와 유사하나, 데이터 처리 기술과 사용하는 바이오마커가 상이하므로 추후 권리의 침해 또는 피침해로 인한 분쟁은 없을 것으로 판단됨.

기관명	출원국	상태	등록(출원)번호	등록(출원)일	지식재산권의 명칭
베르티스	대한민국	등록	1022892780000	2021.08.06	채장암 진단용 바이오마커 패널 및 그 용도
지노믹트리	대한민국	등록	1011421310000	2012.04.25	장암 진단을 위한 장암 특이적 메틸화 마커 유전자의 메틸화 검출방법
아이엠비디엑스	대한민국	등록	1024787200000	2022.12.14	혈액 기반 대장암 진단용 DNA메틸화 바이오마커 패널
MD 헬스케어	대한민국	등록	1019952310000	2019.06.26	세균 메타게놈 분석을 통한 채장암 진단방법
STICH-TING VUMC	WO	등록	WO2018151601A1	2018.08.23	Swarm intelligence-enhanced diagnosis and therapy selection for cancer using tumor-educated platelets

3) 표준화 전략

○ 국제 표준 요구사항 분석 및 위험 관리 계획 수립

- 본 연구를 통해 개발하는 의료기기 소프트웨어의 안전성과 규제 적합성을 확보하기 위해 위험 분석과 관리 체계를 체계적으로 수립
- ISO 14971에 따라 소프트웨어 사용 중 발생할 수 있는 위험을 식별, 평가, 통제
- SIO 62304에 따라 소프트웨어 생명주기 단계별(설계, 개발, 유지보수) 관리 체계 구축

○ 소프트웨어 설계 및 구현

- ISO 62304 준수를 통해 소프트웨어 설계 및 구현의 품질과 안전성 확보
- 본 연구를 통해 개발하는 의료기기 소프트웨어의 지능형 판독 알고리즘 반복 검증 및 성능 평가를 통해 신뢰성과 정확도 보장
- 알고리즘 업데이트 시마다 성능 검증 절차를 수행하여 품질 관리

○ 데이터 보안 체계 구축

- ISO 80001에 따라 병원 네트워크와 통합하여 사용시 발생할 수 있는 보안 및 기능적 위험 평가
- 데이터 전송 및 저장 중 발생 가능한 위변조 방지 보안 프로토콜을 적용하여 데이터 무결성 보장
- 사용자 인증 및 접근 제어 기능을 설계하여 데이터 접근 권한을 제한하여 데이터 보안 보장

○ 성능 검증

- 소프트웨어의 성능과 품질을 체계적으로 관리, 규제 요구사항을 충족
- ISO 13485 기반 소프트웨어의 개발, 생산 및 유지보수 단계에 대한 품질 관리 시스템 확립
- 내부 품질 감사 및 검토를 통해 지속적으로 시스템의 효과성 평가
- 소프트웨어 성능 검증 결과와 품질 관리 문서를 체계적으로 기록하여 규제 기관 제출용 데이터 준비

4) 사업화 계획

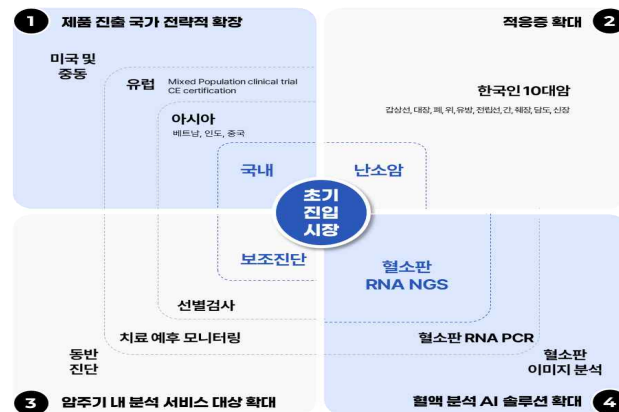
(1) 사업화 전략

○ 차별화된 제품을 시장에 제공

- 소량의 혈액으로 암을 조기에 진단할 수 있는 액체생검 제품 및 서비스를 개발하여 의료 기관에 제공함으로써, 개선된 암 생존율을 기대할 수 있음.
- 비교적 저렴하고(소비자가 NGS 45만원, PCR 17만원, 이미지 2만원 이내) 편리하고(소량의 혈액 채취) 빠른(일주일 이내) 암 보조 진단 수단을 확보하여 의료고객에게 서비스를 제공할 수 있음.

○ 동일 기술기반 시장 확장 전략

- 대상암의 확장 : 당사는 현재 난소암 조기 진단 성능을 확보하여, 기존 난소암 진단 제품 대비 이점을 제공할 수 있음. 현재 암종을 확장하여 다기관 임상시료를 확보하고 있음.
- 서비스 분야의 확장 : 암 진단 제품에 적용된 기술을 활용하여, 암 환자의 생애주기 내의 다양한 제품과 서비스를 개발함으로써, 동일 기술로 시장을 확대하여 점유할 수 있음. 암 수술 및 약물치료 후 예후 검토 제품 및 동반 진단 제품 개발에 적용 가능함.



○ 시제품 제작을 위한 추진전략 및 방법

- 20-30대를 위한 12종의 암을 선정하고, 암 조기 진단을 위한 혈소판 RNA 전처리, 농축, 자동화 분주 기술을 확립하고, 혈소판 RNA 탐지 One-step multiplex qPCR 법을 최적화하여 암 신속 조기 스크리닝 기술의 민감도 및 특이도를 높임.
- 검사 시약과 타 검사방법인 NGS 기법 교차검증 통해 검사 시약의 우수한 성능을 확인.

○ 사업화 성공을 위한 Flowchart



사업화 성공을 위한 Flow Chart

- 의료기기 개발

- 각 기술개발 단계의 전문가와 함께 검체채취부터 검사결과까지 과정의 간편성, 정확성, human-error를 줄이기 위한 방법 등을 고안하여 암 조기 스크리닝 기술을 개발함.

- 삼광랩트리는 생명과학연구소에서 질병예측 검사 (GeneBTI 검사) 서비스를 연간 5만 건 이상 제공하고 있으며, Real-time PCR부터 NGS까지 다양한 방법을 이용한 시약 개발을 삼광의료재단(관계계열사)과 공동으로 연구하고 있는 기업임.
- 의료기기 인허가 경험
 - 식품의약품안전처에 고시된 고위험성 감염체 유전자 검사 시약에 포함되는 바이러스 및 세균검출 시약에 대한 가이드라인을 확인하고 이에 따라 인허가를 시행해야 함.
 - 참여기관 삼광랩트리 환경아 연구원은 인허가 기준을 모두 만족하는 허가제품을 다수 개발, 상용화 경험을 기반으로 본 과제의 기술사업화를 충실히 진행할 역량을 보유함.
- 신사업 창출 및 활성화
 - 학회 및 전시회 참가를 통한 제품 홍보 : 국내외 다수의 분석 장비/바이오/의료 관련 학회 및 전시회에 꾸준히 참가하여 부스를 설치하고 제품과 기술에 관한 마케팅을 실시함.
 - 고객을 대상으로 한 시연 및 세미나 : 국내의 경우, 고객의 요청에 따라 직접 내방하여, 초고속 스크리닝 기술 관련 세미나를 실시할 예정임. 해외의 경우 해외 영업 인력을 내년에 수급하여 세미나를 통해 고객의 신뢰도와 만족도를 높일 예정임.
 - 경쟁 제품과의 비교논문 게재 작업을 통한 제품 홍보 : 국내외 경쟁 암조기 스크리닝 기술과의 차별성 (저가 검사 가능, 고민감도, 최대 암종 스크리닝 검사 항목)을 국제 논문에 게재 및 홍보를 통한 기술 홍보함.
- TRL에 따른 성과목표(인허가 등) 달성방안
 - 본 기술은 20-30대를 위한 저가용 10종 암 조기 스크리닝 진단 기술로써 진단시약은 의료기기에 속하며 그 중, 분자진단제품으로 체외 진단용 의료기기 포함되어 ‘의료기기 허가·신고·심사 등에 관한 규정(식약청 고시 제2조 제 13호)’에 따라 인증이 필요함.
 - 제품 개발 완료 후, 식약처의 의료기기 질의(의료기기 해당여부 및 등급확인)을 통해 제품의 품목과 등급 문의 후 인증절차를 진행해야 하며, 제품의 사용목적, 모양 및 구조, 원재료, 성능, 사용방법 등에 대한 자료를 증빙으로 제출할 예정임.

(2) 투자 계획

- 투자 현황
 - Seed 투자금 5.6억원 수주 및 TIP 지원사업 선정을 통한 5억원의 연구개발 자금을 확보함.
- Pre-A (2024)
 - Post value 100억원 목표로 15억원 투자유치 라운드 진행 중임.
 - 투자금 사용 계획: 국내 임상시험 확대, 아시아지역 임상시험 확대 및 제품 출시 기획, 소프트웨어 의료기기 GMP 시스템·시설 구축, 추가 암종 제품 개발을 위한 임상시험 도입
- Series A (2025)
 - Post value 200-500억원 및 스케일업 팁스 지원 사업 20억원 수주 목표
 - 투자금 사용 계획: 시제품 생산 및 검증, 국내 및 아시아 지역 인허가 획득, 유럽 임상시험 수행 및 진단 제품 출시 기획, 유전체 검사기관 구축 및 허가, 암 주기 내 서비스 분야 확대 기획 및 시제품 제작 (암 치료 예후 모니터링 및 동반진단 제품 개발)
- Series B (2026)
 - Post value 1000-1500억원 목표, 아기 유니콘 지원 사업 50억원 특별 보증
 - 투자금 사용 계획: 유럽 인허가 획득을 통한 진단 제품 출시, 미주지역 다종암 진단 제품 임상시험 수행 및 제품 출시 기획, 유전체 검사기관 국제 인증, 신규 시제품의 아시아 지역 임상시험 확대 (암 치료 예후 모니터링 및 동반진단 제품)
- Pre IPO (2027)
 - 기준가 1500억원
 - 투자금 사용 계획: 미주지역 인허가 획득을 통한 제품 출시, 신규 제품 및 서비스 국내 및 아시아 출시 (암 치료 예후 모니터링 및 동반진단 제품)

(3) 생산 계획

○ 인증 및 규제 승인 획득

1. 국내 인증 (식약처)

- 기술문서 (STED) 확보
 - 제품 설명: 제품 목적, 작동 원리, 성능.
 - 소프트웨어 개발 문서: IEC 62304 준수 여부.
 - 위험 관리 보고서: ISO 14971에 따른 위험 분석 및 경감 조치.
 - 임상시험 데이터: 민감도, 특이도 등 성능 데이터.
- 품질관리 시스템(QMS) 확보
 - ISO 13485 인증, 설계·개발·생산·유지보수 전 과정에 대한 품질관리.

2. 미국 인증 (FDA)

- 규제 경로 인지
 - Class II 의료기기: 510(k) 제출 필요. 비교 가능 기제품(Substantial Equivalence) 증명.
 - Class III 의료기기: De Novo 경로 또는 PMA(Premarket Approval) 필요.
- 주요 요구사항 충족
 - 소프트웨어 검증 문서 확보, 알고리즘 검증 프로세스 설명 및 Cybersecurity 관련 사항.
- 임상 데이터 확보
 - 성능 평가(민감도, 특이도)·안전성 데이터 확보, FDA의 SaMD 가이드라인 준수.

3. 유럽 인증 (CE)

- MDR(Medical Device Regulation) 적용된 규제 프레임워크 적용
- 주요 요구사항 충족
 - 임상 평가 보고서(CER): 임상 시험 데이터 요약 및 분석.
 - 기술 문서: 제품 정의, 성능 데이터, 사용 매뉴얼.
 - 품질 인증: ISO 13485 기반 QMS 구축 필요.
- CE 인증 획득: 인증기관(Notified Body) 선정, 기술문서 검토 및 제품 시험, MDR Class IIa 이상 (임상 시험 필수).

○ 생산 및 배포

1. 생산

- 소프트웨어 개발 수명 주기 (SDLC)에 따라 설계 및 구현된 내용에 대하여 검증을 진행함.
 - 요구사항 정의: 사용자 요구사항 명세서(URS) 작성. 규제 요구사항 포함.
 - 설계 검토: 기능 사양(FS) 및 상세 설계(DS) 문서화.
 - 구현: 코드 작성 및 단위 테스트.
 - 검증 (V&V): 독립적 테스트 팀을 통해 기능 확인함.
- 생산 인프라 구축: 서버, 스토리지 등 IT 인프라 확보하고, 데이터 보안 시스템 구축.

2. 배포

- 온프레미스 설치: 대형병원·클리닉에 서버 설치 후, 전담설치 및 유지보수 팀 운영함.
- 클라우드 서비스 제공: Software-as-a-Service 모형기반 월간/연간 구독료를 부과함.

(4) 해외시장 진출 계획

○ 인도, 베트남 등 아시아 시장 동시 진출 계획

- 인도 진단 시장 현황과 성장
 - 인도 체외 진단(IVD) 시장 규모는 2024년 기준 약 17억 달러 규모로 추정되며 연평균 6.58%씩 성장하여 2029년이면 약 23억 달러 규모에 달할 것으로 예상함.
 - 인도 현지 기업과 전략적 파트너십을 구축하여, 기존 영업 네트워크에 접근함으로써 인도 의료 부문의 충족되지 않은 첨단 분자 진단에 대한 필요를 만족시킬 수 있음. 인도 현지 기업과 현지 R&D 센터를 구축하여 인도 시장 제품 맞춤화를 추진함.

- 미러링 임상시험 체계를 구축하여 단기간내 아시아 시장 진출 목표
 - 베트남 임상 진행 협력 기관 MOU 기체결
 - 중국 및 인도 바이오텍 진단제품 공동개발 및 현지 임상협력 체계 기구축
- 국내와 동시에 현지 파트너십과 협력하여 정부 인허가 절차 진행
- 유럽 시장 진출 계획
 - 아시아 인종과 유럽 인종의 Mixed population 임상시험 디자인을 통하여 충분한 검체수를 확보하고 이를 기반으로 CE 인증을 추진하고자 함.
- 미국 시장 진출 계획
 - 유럽 CE 인증으로 추가 미주 임상시험을 기획하여 미주 진출 비용 절감 효과를 목표함.
 - 미 유전체 검사기관 구축 후 CLIA & CAP 인증 획득으로 현지 사업을 진행하고자 함.



(5) 사업화에 따른 기대효과

- 고용 창출 효과
 - 연구 및 개발(R&D) 인력: 액체생검 기술 개발을 위하여 유전체 분석, 데이터 과학, 인공지능(AI) 등 전문 기술 인력을 필요로 하며, 본 제품의 개발 과정에서 바이오 의약품 개발, 생물정보학, 임상시험 전문 인력 증가하게 되어 고급 인력망을 형성할 수 있음.
 - 제조 및 생산 인력: 시약, 키트, 소프트웨어 개발 관련 생산직 채용 증가가 예상되며, 규제 대응을 위한 품질관리(QC) 전문가와 인증 프로세스 담당 인력을 필요로 함.
 - 서비스 및 지원 인력: 병원, 건강검진센터에서 액체생검 서비스를 제공·운영하는 인력을 필요로 하며, 특히 소프트웨어 유지보수 및 데이터 해석 전문가 채용을 필요로 함.
- 경제 기여도
 - 매출 성장 및 세수 확대
 - 액체생검 기술은 연평균 성장률(CAGR)이 약 15~20%로 전망되는 분야로, 국내외 매출 성장에 기여할 수 있을 것으로 기대함.
 - 기술 및 제품이 글로벌 시장에 진출함으로써 수출을 통한 외화를 획득할 수 있음.
 - 기업의 수익 증가로 법인세, 부가가치세 증가하여 정부 세수가 증가할 수 있음.
 - 관련 산업 활성화
 - 혈액 분석 장비와 같은 의료기기 및 데이터 관리 소프트웨어와 같이 하드웨어 및 소프트웨어 산업이 활성화될 수 있음.
 - 바이오마커 연구와 단백질 분석 기술 수요 증가하여 바이오 산업이 활성화될 수 있음.
 - 대규모 임상 데이터를 분석하기 위한 AI 솔루션 개발을 위하여 AI 및 데이터 분석 산업이 활성화될 수 있음.
 - 의료비 절감
 - 암 조기 발견 시 치료비용이 대폭 절감되어 사회적 비용 경감될 수 있음.
 - 병원의 진단 및 치료 과정 최적화로 의료 자원 절약 및 효율적인 배분이 가능해짐.

○ 사회 가치 기여도

- 의료 서비스 접근성 향상
 - 환자의 신체적, 심리적 부담 감소하는 비침습적 진단 도구로 활용할 수 있음.
 - 기존 조직 생검에 접근이 어려운 지역에서도 활용할 수 있음.
 - 헬스케어 패러다임 전환
 - 조기 진단 및 모니터링을 통해 예방 중심의 의료가 발전할 수 있음.
 - 액체생검을 통해 검출된 암 특이적 유전자를 활용하여 개인 맞춤형 치료를 가능케 함.
 - 공중보건 향상
 - 국가 암 검진 프로그램에 액체생검을 포함하여 암 예방 및 조기 발견을 통한 암 관련 사망률이 감소할 수 있음. 또한, 농어촌 및 저소득층에서도 손쉽게 사용할 수 있는 진단 도구 제공함으로써 의료 불평등을 완화할 수 있음.
-

6. 연구개발 안전 및 보안조치 이행계획

(연구개발과제 협약 시 제출하는 계획입니다)

1) 안전조치 이행계획

7. 참고문헌

- [1]. Miller, Kimberly D., et al. "Cancer statistics for adolescents and young adults, 2020." *CA: a cancer journal for clinicians* 70.6 (2020): 443-459.
- [2]. Crosby, David, et al. "Early detection of cancer." *Science* 375.6586 (2022): eaay9040.
- [3]. Heitzer, Ellen, et al. "Current and future perspectives of liquid biopsies in genomics-driven oncology." *Nature Reviews Genetics* 20.2 (2019): 71-88.
- [4]. Chen, Maoshan, et al. "Platelet detection as a new liquid biopsy tool for human cancers." *Frontiers in Oncology* 12 (2022): 983724.
- [5]. Gaona-Luviano, Patricia, Lourdes Adriana Medina-Gaona, and Kassandra Magaña-Pérez. "Epidemiology of ovarian cancer." *Chinese clinical oncology* 9.4 (2020): 47-47.
- [6]. Menon, Usha, et al. "Ovarian cancer population screening and mortality after long-term follow-up in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial." *The Lancet* 397.10290 (2021): 2182-2193.
- [7]. Best, M. G., A. Vancura, and T. Wurdinger. "Platelet RNA as a circulating biomarker trove for cancer diagnostics." *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 15.7 (2017): 1295-1306.
- [8]. Lucotti, Serena, and Ruth J. Muschel. "Platelets and metastasis: new implications of an old interplay." *Frontiers in oncology* 10 (2020): 1350.
- [9]. Montague, Samantha J., et al. "Imaging Platelet Processes and Function—Current and Emerging Approaches for Imaging in vitro and in vivo." *Frontiers in immunology* 11 (2020): 78.
- [10]. Tang, Zhenwei, et al. "Contributing to liquid biopsy: Optical and electrochemical methods in cancer biomarker analysis." *Coordination Chemistry Reviews* 415 (2020): 213317.
- [11]. Best, Myron G., et al. "RNA sequencing and swarm intelligence-enhanced classification algorithm development for blood-based disease diagnostics using spliced blood platelet RNA." *Nature protocols* 14.4 (2019): 1206-1234.
- [12]. Kammers, Kai, et al. "Transcriptional profile of platelets and iPSC-derived megakaryocytes from whole-genome and RNA sequencing." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 137.7 (2021): 959-968.
- [13]. Best, Myron G., et al. "RNA-Seq of tumor-educated platelets enables blood-based pan-cancer, multiclass, and molecular pathway cancer diagnostics." *Cancer cell* 28.5 (2015): 666-676.
- [14]. Wang, Xia, et al. "Exosomes and cancer-Diagnostic and prognostic biomarkers and therapeutic vehicle." *Oncogenesis* 11.1 (2022): 54.
- [15]. Lazar, S., & Goldfinger, L. E. (2021). Platelets and extracellular vesicles and their cross talk with cancer. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 137(23), 3192-3200.
- [16]. Plantureux, Léa, et al. "The interaction of platelets with colorectal cancer cells inhibits tumor growth but promotes metastasis." *Cancer Research* 80.2 (2020): 291-303.
- [17]. Clancy, L., Beaulieu, L. M., Tanriverdi, K., & Freedman, J. E. (2017). The role of RNA uptake in platelet heterogeneity. *Thromb Haemost*, 117(5), 948-961. doi:10.1160/TH16-11-0873
- [18]. Wen, Xiaoxia, et al. "Selection and Validation of Reference Genes for Pan-Cancer in Platelets Based on RNA-Sequence Data." *Frontiers in Genetics* 13 (2022): 913886.
- [19]. Bednarz-Misa, Iwona, et al. "Whole blood ACTB, B2M and GAPDH expression reflects activity of inflammatory bowel disease, advancement of colorectal cancer, and correlates with circulating inflammatory and angiogenic factors: Relevance for real-time quantitative PCR." *Advances in Clinical & Experimental Medicine* 29.5 (2020).
- [20]. Nevone, Alice, et al. "A strategy for the selection of RT-qPCR reference genes based on publicly available transcriptomic datasets." *Biomedicines* 11.4 (2023): 1079.
- [21]. Osman, Abdimajid, and Knut Fälker. "Characterization of human platelet microRNA by quantitative PCR coupled with an annotation network for predicted target genes." *Platelets* 22.6 (2011): 433-441.

별첨 1. Target Product Specification

	현존 액제 생검법 수준 ⁽¹⁾	자사의 수준			기술 개발 목표			기술 개발 내용
		NGS	PCR	혈소판 이미지	NGS	PCR	혈소판 이미지	
암종	50+종	난소암	난소암	다종암	10종+난소암 (총 11종)			
1기 민감도 (%)	11.9 ^(1,2)	100	100	-	90			조기암 진단항 바이오마커 발굴
민감도 (%)	47.9 ^(1,2)	100	93.3	80	90			다중 레퍼런스 마커 패널 구성
								바이오마커 감응성 개선
특이도 (%)	99.5 ⁽¹⁾	96.1	98.1	77.8	95			다중 레퍼런스 마커 패널 구성
								바이오마커 감응성 개선
위양성률 (%)	0.5 ⁽¹⁾	3.9	1.9	22.2	5			
1기 위음성률 (%)	88.1 ^(1,2)	0	0	-	10			
위음성률 (%)	52.1 ^(1,2)	0	6.7	20	10			
TOO 정확도 (%)	88.7 ⁽¹⁾	83.7	-	-	90			다중 레퍼런스 마커 패널 구성 혈소판 RNA 암 특이적 엑손-엑손 접합 특징 추출
LOD (%)	0.07~0.17 ⁽³⁾	8.45x 10 ⁻⁵⁽⁴⁾	2.42x 10 ⁻⁵⁽⁴⁾		1.0x10 ⁻⁵			Multiplex 1 step qPCR SOP 구축
TAT (시간)	~336 (~2주)	156 (6.5일)	7.5	1	120 (5일)	5.5	1	시퀀싱 SOP의 자동화 시설 구축
								Multiplex 1 step qPCR SOP 구축
가격 (원)	132만 /50+종	60만 /11종	4만 /1종	1만 /11종	35만 /11종	10만 /11종	1만 /11종	Multiplex 1 step qPCR SOP 구축
								초저비용 격차 기술 도전적 확보

⁽¹⁾ Klein, Eric A., *et al.* "Clinical validation of a targeted methylation-based multi-cancer early detection test using an independent validation set." *Annals of Oncology* 32.9 (2021): 1167-1177.

⁽²⁾ 자사 기술 개발 목표의 11종 암에 대한 성능을 제시함.

⁽³⁾ Alexander, Gregory E., *et al.* "Analytical validation of a multi-cancer early detection test with cancer signal origin using a cell-free DNA-based targeted methylation assay." *PLoSOne* 18.4 (2023): e0283001.

⁽⁴⁾ 의약품등 분석법의 밸리데이션에 대한 가이드라인, 식품의약품안전청, (2004)의 반응의 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하는 검출한계 계산 방법.

○ 자사의 현재 보유 기술 수준에 대한 추가 설명

- 자사의 NGS 기반 기술과 PCR 기반 기술의 성능지표들은 양성종양 샘플들을 대조군에 포함한 기술 검증에서 나온 수치임.

- 임상 현장에서 양성종양이 악성종양보다 수가 훨씬 더 많은 점을 감안하여 높은 특이도를 확보하면서도 민감도를 높여 악성종양을 구분하는 기술임.

■ NGS 기반 기술

- 모형 개발에 사용되지 않은 44개의 검증 샘플을 이용하여 기술을 검증함. 양성종양과 정상 샘플 36, 난소암 1기 샘플 3개, 난소암 전체 샘플 8개를 사용함.
- 공개된 혈소판 RNA 데이터를 활용해 부인과 종양과 비부인과 종양의 원발부위를 구분하는 알고리즘 개발함. 개발된 알고리즘은 부인과 종양과 비부인과 종양을 구분하는 데 있어 정확도 83.7%, 민감도 94.2%, 특이도 80.1%, AUC 0.94의 성능을 보임.
- 식약처 가이드라인에 따라 혈소판 RNA 엑손접합 바이오마커의 최저 검출한계(LOD)를 계산한 결과, 1.42×10^{-7} 개의 리드 중 12 카피 수를 확인하였으며, 이는 $8.45 \times 10^{-5}\%$ 의 LOD를 나타냄.
- TAT(Turnaround Time)은 검체 채취부터 결과 확인까지 약 6.5일(156시간)이 소요됨. 세부적으로는 채혈 및 혈소판 RNA 추출에 1.5일, 시퀀싱 및 데이터 처리에 약 5일이 걸림. 병렬적 다중 샘플 처리가 가능한 자동화 설비를 구축하여 주간 수집 샘플을 야간에 분석 단계까지 진행하면 TAT를 약 2일 단축하여 목표치인 120시간(5일)을 달성할 수 있음.
- 현재 NGS 분석의 원가는 다중암 11종 분석 기준 60만 원으로 책정되어 있음. 시약 변경을 통해 원가 절감을 추진하며, 최종적으로 35만 원으로 낮추는 것을 목표로 함.

■ PCR 기반

- PCR 기반 모형은 난소암 진단을 위한 모형으로, 평가 데이터는 난소암 1기 샘플 5개, 난소암 전체 샘플 15개, 대조군은 양성종양 및 정상 샘플 54개로 구성됨.
- 식약처 가이드라인에 따라 qPCR 기반 혈소판 RNA 엑손접합 바이오마커의 LOD를 계산한 결과, 1.42×10^{-7} 개의 리드 중 3.43 카피수를 확인하였으며, 이는 $2.42 \times 10^{-5}\%$ 의 LOD를 나타냄.
- TAT은 검체 채취부터 PCR 결과 확인까지 약 7.5시간이 소요됨. 세부적으로는 채혈 약 15분, 혈소판 추출 약 60분, RNA 추출 약 90분, cDNA 합성 약 120분, PCR 실험 약 160분으로 구성됨. 현재 프로토콜에서 cDNA 합성 단계를 제외하면 약 2시간 단축이 가능하여 최종적으로 TAT를 5.5시간으로 줄이는 것을 목표로 함.

- 현재 PCR 분석의 원가는 RNA prep 키트, cDNA 합성 시약, qPCR 반응 시약의 가격에 따라 결정되며, 난소암 1종 분석 기준 약 4만 원임. 11종 암을 분석할 경우 Multiplex를 사용하지 않을 때는 13만 원, Multiplex를 사용할 경우 10만 원으로 가격을 낮추는 것을 목표로 함.

■ 혈소판 이미지 분석 기반

- 혈소판 이미지 분석은 고속으로 측정한 대량의 혈소판 이미지 데이터를 기반으로 암과 정상 여부를 판별하는 알고리즘임. 이 모형은 암 환자 샘플 10례와 정상인 샘플 9례를 활용하여 개발 및 평가되었음. 각 샘플마다 혈소판 이미지가 최소 6,000건 이상 포함되어 있으며, 이러한 데이터를 활용하여 CNN(Convolutional Neural Network) 모형을 LOOCV(Leave-One-Out Cross-Validation) 방식으로 학습함.
- TAT은 검체 채취 후 혈소판 추출, 혈소판 이미지 측정, 알고리즘 적용까지 약 1시간이 소요됨.
- 현재 비용은 기계의 러닝 코스트, 채혈 비용, 실험 인건비 등을 포함하여 샘플 당 약 10,000원으로 계산됨.

○ 기술 개발 목표

- 현재 개발 중인 NGS, PCR, 혈소판 이미지 분석 기반 모형들은 혈소판 내 RNA 엑손 접합 변수와 혈소판 이미지를 활용하여 암을 진단하는 것을 목표로 함. 각 모형의 특징을 바탕으로, 최종적으로 10대암 및 난소암 총 11종 암에 대한 다중 동시 스크리닝 검사를 개발하는 것이 목표임. 이 스크리닝 검사에서는 다음과 같은 성과 목표를 달성하고자 함:
 1. 민감도 90% 이상: 모든 11종 암에서 조기 진단의 정확성을 높이기 위해 각 암종의 민감도를 90% 이상으로 유지하는 것을 목표로 함.
 2. 특이도 95% 이상: 특이도를 95% 이상으로 유지하여 암이 아닌 대조군에서의 위양성을 최소화하는 것을 목표로 함.
 3. 위양성을 5% 이하: 비암 환자가 암으로 잘못 진단되는 비율을 5% 이하로 유지하여 부정확한 진단으로 인한 불필요한 검사를 줄이는 것을 목표로 함. 이때 암이 아닌 만성 질환 등이 있는 경우를 대조군으로 포함하여, 실제 임상에서의 성능이 보다 잘 나타날 수 있도록 할 것임.
 4. 위음성을 10% 이하: 암 환자가 비암으로 잘못 진단되는 비율을 10% 이하로 유지하여 조기암 발견을 놓치는 사례를 최소화하는 것을 목표로 함.
 5. 최저검출한계(LOD): PCR 기반 기술에서 one-step PCR을 구현, 최적의 검출 민감도 (1.0×10^{-5}) 달성.
 6. TAT(시간): 전체 검사 소요 시간을 줄이는 것이 목표이며, NGS 기반 검사의 TAT는 5일 이내(120시간), PCR 기반 검사는 5.5시간으로 줄이는 것을 목표로 함.
 7. 비용 절감: 다종암 11종에 대한 분석 기준으로, NGS 기반 검사는 35만 원, PCR 기반 검사는 10만 원, 혈소판 이미지 분석은 10,000원으로 비용을 낮추어 대중화 가능성을 높이는 것을 목표로 함.
- 이와 같은 목표를 통해 다종암에 대해 조기 진단을 가능하게 하고, 민감도와 특이도를 고루 갖춘 효과적인 암 스크리닝 검사를 실현하고자 함. 이를 통해 대중적인 접근성과 비용 효율성을 모두 확보하여 조기암 진단의 접근성을 높이는 데 기여할 계획임.

별첨 2. 접근법의 혁신성 및 연구자(연구단)의 차별적 역량

1. 전체 요약

1.1. 접근법의 혁신성

구분	주요 내용
기존 스크리닝 방법론의 한계	<ul style="list-style-type: none"> 조기암은 크기가 작아 직접 용출되는 바이오마커(ctDNA, exosome, CTC, 단백질)는 양이 극미량임 암의 위치가 혈관에서 먼 경우 내피조직에서 혈관까지 용출되기 어렵기 때문에 혈액내 검출이 어려움
바이오마커로서 혈소판의 활용	<ul style="list-style-type: none"> 혈소판은 암과 직접 접촉하거나 암에서 유래한 신호에 의해 수와 형태가 변화함 암에 의해 변화된 혈소판은 암의 성장 및 전이에 기여 혈액 내 양이 많아 검출법 개발이 용이 10일 정도 생존하여 암을 진단하기에 적당한 반감기를 가짐 핵이 없지만 스플라이소좀(spliceosome)이 있음 질병 신호에 의한 RNA 스플라이싱 변화 탐지 가능
암 탐지 이론적 배경	<ul style="list-style-type: none"> 혈소판은 암세포 유래 엑소좀을 선택적으로 흡수 매 1분마다 신체를 한바퀴 돌며, 10일 동안 14,400번 신체를 돌기 때문에 암세포 주변을 물리적으로 접촉할 수 있음 암세포 주변 혈관에서는 암세포로 인한 투과성이 증가하여 백혈구보다 훨씬 작은 혈소판은 암 근처 깊숙한 조직까지 침투가 가능 핵이 없는 혈소판은 정상인이라면 별다른 변화 없이 대기 상태의 RNA를 유지하나, 암 특이적 신호 및 암 유래 RNA 첨가로 변화 시 RNA 스플라이싱에 의한 질적 양적 변화를 일으킴 매우 작은 크기의 초기 암이라도 많은 수의 혈소판 RNA 변화시킴
임상 검증 결과 (타 연구, 본 연구진)	<ul style="list-style-type: none"> 비소세포폐암 및 정상인의 공개 혈소판 RNA 데이터를 통해 암/정상 구분 확인 높은 I, II기 조기암 탐지 능력 보유(기존 ctDNA 기반 기술 대비 우수) 자체 수집 임상 샘플 이용 난소암과 정상인 구별에서 97% 특이도, 조기 난소암 탐지 가능성 검증
저비용 기술 가능성	<ul style="list-style-type: none"> 바이오마커를 한정하여 1Gb (Giga base) 이내의 targeted 시퀀싱으로 효율화 바이오마커의 multiplex PCR 효율화 (NGS와 PCR은 설비보급률이 높아 별도 설비 증설 없이 대규모 스크리닝 검사 수행 가능)
초저비용 기술 가능성	<ul style="list-style-type: none"> 혈소판 수, 크기, 모양 등의 특징을 활용한 탐지 기술개발 혈소판 이미지를 통한 label-free 스크리닝 기술 검증
기술적 이점	<ul style="list-style-type: none"> 관측 가능한 변화 다양 (분자, 단백질, 모양 등) ctDNA, 엑소좀 기반 기술 대비 경쟁사 및 특허 출원 적음 원천특허 확보 및 확장 운용 (예: 예후, 재발 모니터링)
목표	<ul style="list-style-type: none"> 과제를 통해 저비용 스크리닝 기술 상용화 및 혁신적 조기암 검진 실현

1.2. 연구단의 차별적 역량

연구단	차별적 역량
공통	<ul style="list-style-type: none"> • 암종 당 다기관 참여, 수탁 검사기관 수집/배송
포어텔마이헬스	<ul style="list-style-type: none"> • 혈소판 RNA 특성에 맞는 레퍼런스 마커 발굴 노하우 보유 • 바이오마커 선별을 위한 최적화 파이프라인 구축 • 혈소판 RNA의 엑손접합을 활용한 부인과 종양과 비부인과 종양 원발부위 구분 알고리즘 개발 • 혈구분석(CBC) 데이터를 이용한 저비용 암 판별 분석법 확보 • 혈소판 RNA 시퀀싱 분석 SOP 구축 • 대량의 혈소판 사진 고속 획득 방법론 구축 및 혈소판 이미지 기반 분석 모형 확립 • 혈구분석 AI 난소암 위험도 예측 검사보고서 생성 기술 • 혈소판 RNA 시퀀싱 기반 난소암 여부 판별 보고서 생성 기술
서울대학교 병원	<ul style="list-style-type: none"> • 임상 전문성, 기존 주관기관과 혈소판 연구 경험
국립암센터	<ul style="list-style-type: none"> • 역학 모형 및 중개 연구, 임상 전문성, 다종암 코호트 관리, 기존 주관기관 혈소판 연구 경험
삼광랩트리	<ul style="list-style-type: none"> • PCR 프라이머, 멀티플렉스 키트 개발, 인증 및 사업화

1.3. 주요 연구책임자 약력

1.3.1. 안태진 CEO (주관 - 포어텔마이헬스)

- 現 포어텔마이헬스, CEO
- 現 한동대학교 생명과학부, 부교수
- 삼성전자 종합기술원, 전문연구원 (창업육성리더, 의료기기사업부 파견 및 삼성병원 협업)
- AI/딥러닝 기반 조기암 및 타 질병 예측 연구 진행
- 20건의 국내 특허, 16건의 미국 특허 등록
- DNA 정보 저장/분석, 암 진단 마커, AI 기반 질병 진단 시스템 등 관련 SCI(E) 논문 30편 이상 게재

1.3.2. 신루미 교수 (공동 - 서울대학교 보라매병원)

- 現 서울특별시보라매병원 외과, 부교수
- 現 서울특별시보라매병원 홍보실, 대외홍보담당
- 항문질환, 대장암, 신경내분비 종양 등을 진료하고 연구
- Seoul International Symposium of Surgical Oncology 2017 Best Poster Presentation 수상
- 제9회 한국로슈종양학술상 수상 (2010년)
- 대장암 관련 SCI(E) 논문 27편 이상 게재

1.3.3. 김미경 교수 (공동 - 국립암센터)

- 現 국립암센터 암역학연구과, 수석 연구원 및 최고 연구원
- 現 국립암센터 국제암대학원대학교 암의생명과학과, 겸임교수
- 국립암센터 발암연구과/암역학연구과/발암성연구과/임상역학연구과, 책임연구원
- 국립암센터 암예방조기검진연구과, 책임연구원
- 암역학, 영양역학, Metagenomics, Metabolomics 관련 SCI(E) 논문 100편 이상 게재
- 3건의 국내 특허, 3건의 미국 특허 등록 및 출원
- International Health Professional of the Year 2010 등재
- MARQUIS WHO' s WHO 2009-2010년도 판에 등재
- 유방암 환자를 위한 치료 안내서 저서 출판 (2008)

1.3.4. 황경아 본부장 (위탁 - 삼광랩트리)

- 삼광랩트리 생명과학 연구소, 연구소장 및 유전체 전략사업본부 총괄
- 에스엠엘제니트리, 연구소장 및 RA 업무 총괄
- 총 30건의 식약처 허가 진행 및 상용화
- 세계 최초 HPV 바이러스 Genotyping NGS kit 개발 및 상용화
- 연 10,000건의 건강검진용 유전자 검사 서비스 진행
- WHO-PQ 인증을 위한 임상적 성능시험 가이드라인 작성
- 국내 최초 SARS-CoV-2 오미크론 검진 키트 개발 및 상용화

1.4. 주관연구개발기관 포어텔마이헬스 보유 특허

출원국	상태	등록(출원)번호	등록(출원)일	지식재산권의 명칭
대한민국	출원	10-2023-0138881	2023.10.17	혈액 내 RNA의 엑손-접합 정보를 이용한 암 진단 방법
WO	PCT 국제 출원	PCT/KR2023/016067	2023.10.17	혈액 내 RNA의 엑손-접합 정보를 이용한 암 진단 방법
대한민국	출원	10-2024-0059941	2024.05.07	엑손-접합 부위의 염기서열을 포함하는 암 진단 마커 및 레퍼런스 마커
대한민국	출원	10-2024-0059937	2024.05.07	혈구분석 결과를 활용하여 암 진단 또는 종양의 양악성 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법

2. 접근법의 혁신성

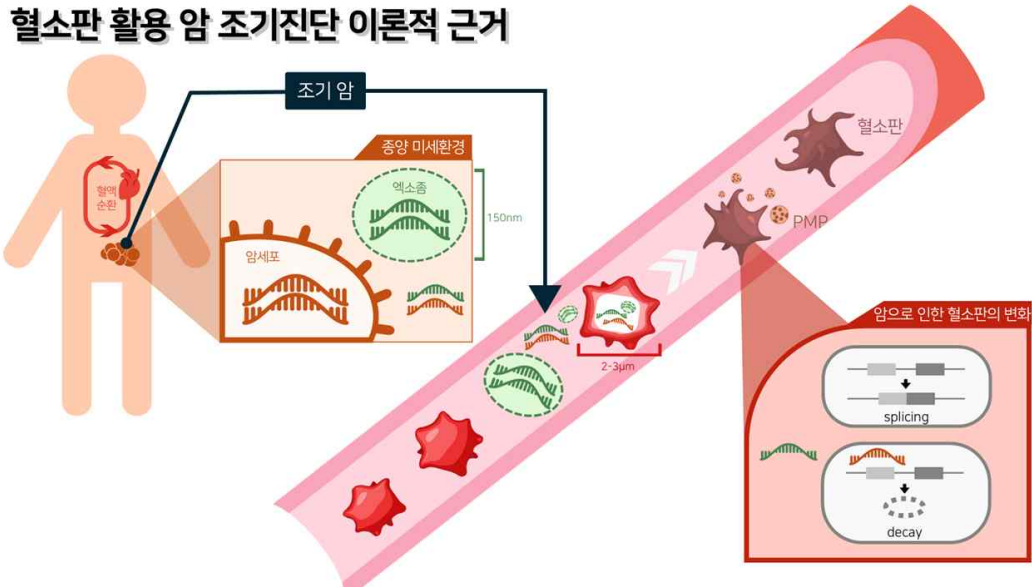
2.1. 기존 스크리닝 방법론의 한계

- 기존 다종암 선별 스크리닝은 암에서 직접 흘러나온 바이오마커를 Target 하고 있어 그 양이 매우 극미량으로 조기암 검출이 어려움.
- 혈관에서 먼 조직에서는 혈액으로 용출되기 어렵기 때문에 인체 내 깊숙이 있는 조직의 경우 암에서 직접 흘러나온 바이오마커를 혈액에서 조기암 때부터 검출이 어려움.

2.2. 바이오마커로서 혈소판의 활용

- 혈소판은 암과 직접 접촉하거나, 암에서 유래한 신호에 의해 그 수와 형태가 변화됨.
- 본래는 암에 저항하는 면역 기능을 도와야 하지만, 암에 의해 변화된 혈소판은 암의 성장을 돕는 기능을 하게 됨.
- 암이 시작될 때 암세포를 죽이는 면역체계가 무너지고 암의 면역 회피를 도와주는 분기점에서 혈소판은 함께 변함.
- 혈액 내에 양이 적절구 다음으로 많아 검출법 개발에 용이함.
- 혈소판은 핵이 없는 세포로, 거대핵세포(Megakaryote)가 여러 개로 분절되면서 생성되며, 약 10일 동안 생존하므로 암을 진단하기에 적당한 반감기를 가짐.
- 식이 등에 민감하게 변하며 반감기가 너무 짧으면 변동성이 크고, 반감기가 너무 길면 인체에서 현재 일어나고 있는 생리적 변화를 탐지하지 못함.
- 2000년 초반, 핵이 없는 혈소판에 단백질을 신규 합성할 수 있음이 증명되었으며, 2005년 스플라이소좀(spliceosome)이 혈소판 내에 존재하여 체외 신호를 인식하여 혈소판 내에서 RNA가 스플라이싱되고, 단백질이 신규 생성되는 것이 밝혀짐.
- 2010년대, 혈소판이 암 및 종양 미세환경으로 교육되고(Tumor Educated Platelet), 암의 성장, 암과의 점착력 증가, 세포 사멸 저항, 혈관 생성, 면역 회피, 혈관 내 침투 및 전이에 도움을 준다는 것이 밝혀짐.
- 2020년대 혈소판 RNA의 분자적 변화를 탐지하여 액체생검으로 암을 진단하고자 하는 임상 연구가 다종암에서 진행되기 시작하였으며, 24년 현재 총 28편의 임상 연구 논문, 12,977건의 혈소판 RNA-seq 결과가 보고 되었음. 혈소판의 RNA 변화를 사용하여 primary cancer의 암/정상의 구분이 가능하며, 암종 간의 구분(암 원발부위의 예측) 가능성이 보고됨.
- 본 연구진은 암 발생 초기부터 종양 미세환경이 생성되고 혈소판이 영향을 받게 되므로, 이를 민감하게 탐지하여 조기암 진단 민감도를 크게 높이는 전략을 수립하고, 공개된 혈소판 데이터, 참여자 모집을 통하여 신규로 구축해 온 난소암, 자궁내막암에서 조기암의 민감한 검진이 가능함을 검증하였음.

2.3. 암 탐지 원리



〈그림1. 혈소판 활용 암 조기진단 이론적 근거〉

- 조기암 발견이 가능한 이론상의 배경은 혈소판의 개수 및 혈액의 순환에 있음.
- 1분당 1회 심장으로 순환하며 인체를 한바퀴 돌게 되는 혈소판의 개수는 10^{13} 개로, 혈소판 수명 10일 동안 약 14,400바퀴를 순환함.
- 1cm^3 조기암의 주변 혈관이 접촉할 수 있는 단면 중의 한면(1cm^2)만 혈관이 접촉하고 있다고 하면 총 혈관의 면적 $3,000\text{cm}^2$ 의 약 0.03%임.
- 이를 혈액의 전체 용적 4L 중 0.03%에 해당하는 부피인 1.2mL로 어림잡아 생각하면, 1.2mL에 해당하는 용적을 지나가는 혈소판은 종양 미세환경에 노출되었다고 볼 수 있고, 14,400바퀴를 순환할 동안 1.2mL을 지나치지 않을 확률은 $0.9997^{14400} = 0.013$ 으로 약 1%임.
- 즉, 단 1cm^3 조기암이 존재하여도 99%의 확률로 혈소판은 10일 동안 한 번 이상 종양 미세환경에 노출이 됨.
- 또한 혈소판은 BBB를 통과하며 혈류가 공급되는 깊숙한 조직까지 침투가 가능함.
- 암세포에 의해 혈관 투과성이 증가된 암세포 주변 혈관에서는 조직으로의 혈소판 누출이 일어나게 되므로 혈관에서 접근이 어려운 깊숙한 조직의 암세포도 혈소판을 변화시킬 수 있음.
- 혈소판은 암세포 유래 엑소좀을 인공 엑소좀 대비 10배, fibroblast 대비 2~3배 선택적으로 더 잘 흡수하여, 다른 세포에서 만들어낸 엑소좀보다 암세포 유래 엑소좀에 의한 영향을 더 받게 됨.
- 이를 종합하여, 1cm^3 크기 미만 조기 종양도 혈소판의 RNA를 변화시킬 수 있으며, 조기암 검증에 혈소판이 사용될 수 있음을 시사함.
- 유전자 수준의 발현량을 사용하지 않고 다른 바이오마커를 사용하여 혈소판 특이적인 혈소판 RNA 스플라이싱 패턴 변화를 탐지함.

2.4. 임상 검증 결과

2.4.1. 공개데이터

- 조기암 발견이 가능한 실질적 검증을 위하여, 500명 이상의 정보가 존재하는 Non-small cell lung cancer의 공개된 혈소판 RNA 데이터와 300명 이상의 정상인을 가공하고, 암/정상에서 특이적으로 다르게 나타나는 엑손접합 부위의 양적 차를 추출할 시 암/정상 구분이 가능하며, I, II기 조기암의 탐지 능력이 높음을 확인할 수 있으며, 이는 기존 액체생검 방법인 ctDNA (Grail사)의 공개된 폐암 탐지력보다 우수한 수준임.

2.4.2. 자체 임상데이터

- 본 연구진은 암이 없는 자 및 부인암 진료를 위하여 서울대학병원에 내원한 참여자를 모집하여 난소암과 정상인, 부인과 양성종양 환자의 구별이 가능하며, 97% 이상의 높은 특이도를 유지하며, 조기 난소암 (I, II기)를 모두 탐지할 수 있음을 검증하였음. 소수 시료이지만 판별 알고리즘을 개발한 후 고정된 채 신규로 모집되는 시료를 평가하여 결과를 검증하였으므로, 혈소판을 활용한 암의 조기 탐지 능력이 우수할 것으로 기대함.

2.5. 초저비용 기술 가능성

- 암으로 인한 혈소판 RNA의 분자적 변이 뿐만 아니라 암으로 인한 혈소판 수의 증가, 혈소판의 모양 변화, 암-혈소판의 aggregation 등이 보고 되어 있으며, 이러한 특징을 활용하여 기존 분자 진단의 한계를 뛰어넘는 초 저비용 탐지 기술이 가능할 수 있을 것으로 기대함.
- 본 연구진은 선행 연구에서 일반혈액검사로 탐지되는 혈소판의 개수, 크기, 용적률, 백혈구와의 상대적인 비율 등의 종합 특성이 암/정상에서 유의하게 다름을 확인하고, 이를 학습하여 암 위험도를 예측하는 모형을 개발하였음. 이를 통하여 조기암 탐지에 보조적 지표로 민감도를 개선할 수 있으며, 독립적인 스크리닝 방법으로 활용하여 고위험군을 선별하여 정확한 분자 진단을 유도할 수 있을 것으로 기대함.
- 또한 혈소판 이미지를 단시간에 대량으로 촬영하여 암 환자와 정상인의 혈소판 모양 및 특징의 분포가 다르며, 육안으로 확인될 정도의 특이적 모양이 다른 빈도로 관찰되는 것을 확인하여 혈소판 이미지를 활용한 초저비용 label free 스크리닝 기술의 잠재성을 확인함.
- 조기암은 크기가 작아 직접적으로 암으로부터 유래한 물질을 탐지하는 것에 기술상의 제약이 크지만, 혈소판은 그 숫자가 많아 탐지에 유리한 이점이 있음. 또한 분자적 변화, 활성의 변화, 모양의 변화 등 다양한 변화를 관측할 수 있으므로 분자 진단뿐 아니라 분광학적 검출, 이미지 분석 등으로 확장하여 초저가 진단 기술개발이 가능할 수 있는 이점이 있음.

2.6. 기술적 이점

- 혈소판 기반 암 조기진단 분야는 ctDNA, exosome, 암 유래 단백질 대비 신생 연구이며, 경쟁사나 특허의 출원이 많지 않아 원천성을 확보할 수 있는 이점이 있음.

2.7. 목표

- ARPA-H 과제를 통하여 기존 스크리닝 방법 대비 우월한 조기진단 능력을 검증/확보하고, 단계적 저비용 스크리닝 기술을 상용화하여 기술의 원천성 확보 및 혁신적 조기암 검진을 이룰 수 있음.

3. 연구자(연구단)의 차별적 역량

3.1. 외과 교수 다량 참여 코호트

3.1.1. 상세 설명

- 연구에 참여하시는 교수님들은 국내 최대의 암 전문 병원들에서 임상 진료를 활발히 하고 계신 교수님들임.
- 특히 각 암 종별 **외과적 수술**을 하시는 교수님들이 모두 포함이 되어 있음.
- 1~2차 병원에서 암이 의심되어 3차 병원에 온 환자들을 여러 과에서 협진을 하지만, 1기 암으로 추정이 되는 환자들의 경우 외과에서 수술하는 비율이 높음.

3.1.2. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 조기암 환자의 방문이 잦은 외과에서 임상 진료를 하고 계신 교수님들이 다량 참여하여 **조기암 시료를 잘 모을 수 있음**.
- 국소적인 1기 암을 발견하게 되면 높은 비율로 수술로 제거하게 되므로 조기암 환자에게 외과적 치료 방안에 대한 **임상적 가이드라인**을 제시해 줄 수 있음.

3.2. 혈소판 RNA 특성에 맞는 레퍼런스 마커 발굴 노하우 보유

3.2.1. spec

시퀀싱 데이터 변동계수	~5%
PCR 데이터 변동계수	~3%

3.2.2. 상세 설명

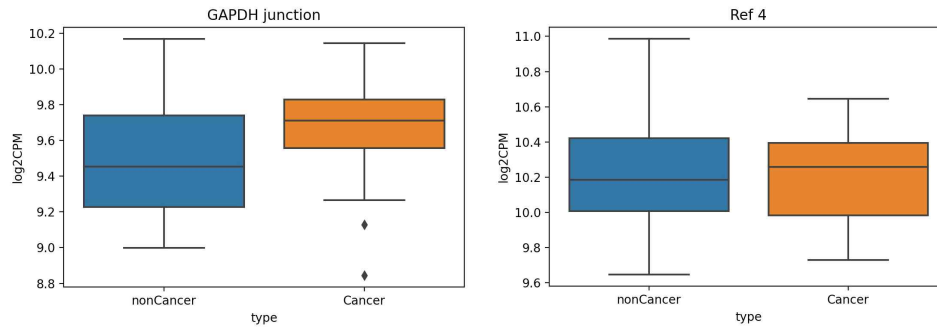
- 기존 PCR 레퍼런스 마커로 널리 사용되는 GAPDH는 혈소판 RNA에서 정상과 암 샘플 간 변동성이 크게 나타나 레퍼런스 마커로 적합하지 않음.
- **혈소판 특이적 레퍼런스 개발이 필요함**.

3.2.3. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 변동계수(CV), Foldchange 및 독자적 설정 기준으로 혈소판 RNA 특성에 맞는 레퍼런스 마커를 발굴하는 노하우를 보유하고 있음.
- 기확보한 노하우를 기반으로 **발현 영역별 레퍼런스 마커 5종을 발굴**하였으며, 이에 대한 특허를 보유함(보유특허 4.3).

3.2.4. GAPDH와 자체 선정 레퍼런스 마커의 비교

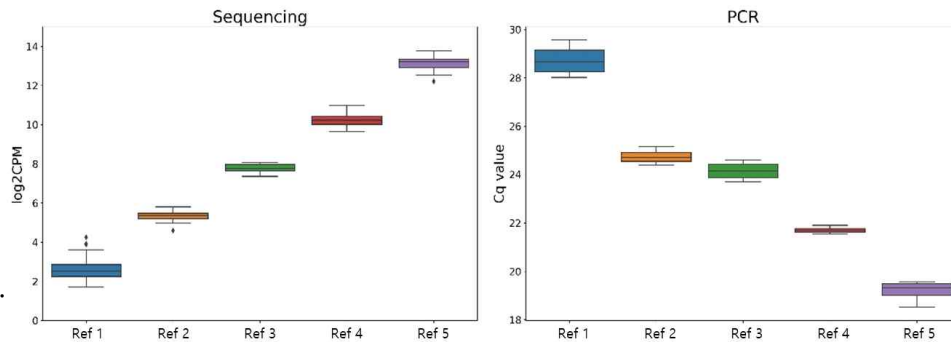
- 암환자 22명, 정상인 24명의 혈소판 RNA 엑손접합 데이터를 이용하여 GAPDH와 자체 선정 레퍼런스 마커를 비교함.
- GAPDH는 암환자와 정상인에서 변동성이 크게 나타나지만, **자체 선정 레퍼런스 마커는 두 그룹에서 발현이 비슷한 수준으로 나타남**.
- 자체 선정 레퍼런스 마커를 이용하여 데이터 정규화시 그룹간 더욱 정확한 비교가 가능함.



〈그림 2. 혈소판 RNA 데이터의 GAPDH(좌), 자체 선정 레퍼런스(우) 변동성〉

3.2.5. 발현 영역별 자체 선정 레퍼런스 마커의 안정성 분석 및 검증

- 기보유한 발현 영역별 레퍼런스 마커 5종을 혈소판 RNA 시퀀싱 데이터와 PCR 실험에서 각각 **안정성을 검증**하였음.
- 시퀀싱 데이터 CV 5% 미만, PCR 실험 CV 3% 미만으로 매우 안정적인 결과를 보임.
- 기보유 레퍼런스 마커와 마커 발굴 노하우를 활용해 다중 레퍼런스 마커 패널 구성 시 각 암종과 정상인의 더욱 정확한 비교가 가능할 것으로 예상함.



〈그림 3. 시퀀싱 데이터와 PCR 실험에서의 자체 선정 레퍼런스 마커 안정성〉

3.3. 바이오마커 선별을 위한 최적화 파이프라인 구축

3.3.1. 상세 설명

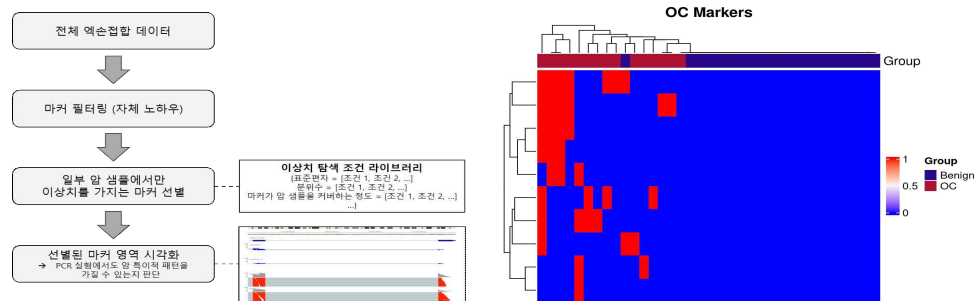
- 혈소판 RNA 엑손접합은 2백만 개 이상 존재하므로 암과 정상에서 차이를 보이는 바이오마커를 신속히 선별할 수 있는 효율적인 프로세스가 필요함.
- 암 진단의 민감도와 특이도 향상을 위해 정상인에게서는 낮은 발현량, 암 샘플에서는 큰 이상치를 보이는 마커를 선별함.
- **다양한 이상치 탐색 조건을 라이브러리화하여 신속 적용 가능한 파이프라인을 구축함.**

3.3.2. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 본 연구단은 고차원 데이터에서 특징적 패턴을 가진 마커를 선별하는 다양한 방법론을 연구한 오랜 경험이 있음.
- 암 진단의 민감도, 특이도 향상을 위해 필요한 마커의 특징을 알고 있으며, 이를 선별하는 **노하우를 보유함.**
- 시퀀싱 데이터를 이용해 선별된 바이오마커가 PCR 실험에서도 동일하게 암 특이적 패턴을 가질 수 있는지 판단하는 시각화 기준을 보유함.

3.3.3. 최적화 파이프라인을 통해 선별한 마커의 성능

- 난소암 샘플 14개, 양성종양 샘플 16개의 혈소판 RNA 엑손접합 데이터를 이용하여 **최적화 파이프라인을 통해 암 특이적 마커 선별**하였음.
- 해당 마커에 대해 시퀀싱 데이터뿐 아니라 PCR 검증 실험에서도 암과 정상 샘플을 매우 높은 성능으로 구별할 수 있음을 확인하였음 (민감도 93%, 특이도 98%).



<그림 4. 마커 선별 파이프라인(좌)과 파이프라인을 통해 선별한 마커의 성능(우)>

3.4. 혈소판 RNA의 엑손접합을 활용한 부인과 종양과 비부인과 종양 원발부위 구분 알고리즘 개발

3.4.1. 상세 설명

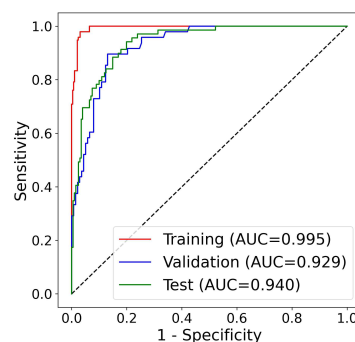
- 부인과 종양 특징을 가지는 혈소판 RNA 엑손접합 바이오마커를 확보함.
- 부인과 종양과 비부인과 종양을 구분하는 머신러닝 알고리즘 모델을 개발하여 성능을 평가함.

3.4.2. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 20여 개의 암종 및 정상 포함 총 5,338개 **혈소판 RNA 공개데이터 기 확보**함.
- NGS 분석을 위한 자체 파이프라인을 구축했으며, 엑손접합 정보로 데이터를 가공할 수 있는 기술을 보유하고 있음.
- 기 확보된 5,338개 전체 샘플들에 대해 엑손접합 정보를 **분석 가능한 형태로 계산 완료**함.
- 암종 간의 차이를 보이는 엑손접합 **바이오마커를 발굴**할 수 있는 기술을 보유함.
- 암종 간의 차이를 이용해 **암 원발부위를 판정**하는 알고리즘 개발 기술을 보유함.

3.4.3. 부인과 종양 vs 비부인과 종양 원발부위 판별 알고리즘 성능

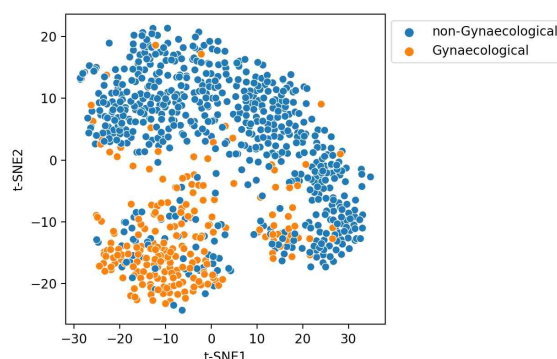
- 기 확보된 공개데이터에서 부인과 종양과 비부인과 종양 샘플을 사용함.
- 바이오마커 선정과 모델 개발에 565개 샘플(부인과 144개, 비부인과 431개)을 사용했으며, 모델 평가를 위해 270개 샘플(부인과 69개, 비부인과 201개)을 활용함.
- 머신러닝 알고리즘 모델 학습에 사용되지 않은 독립 샘플로 성능 평가 결과, 정확도 83.7%, 민감도 94.2%, 특이도 80.1%, AUC 94.0으로 **우수한 성능**을 보임.



<그림 5. 부인과 종양 vs 비부인과 종양 원발부위 판별 알고리즘 성능>

3.4.4. 원발부위 구분 바이오마커

- 두 단계의 방식으로 바이오마커 선정함:
 - 1단계: 부인과 종양과 비부인과 종양 두 그룹으로 나눠 엑손접합 발현 차이를 분석해 바이오마커 선정
 - 2단계: 1단계에서 선정된 바이오마커 중 원발부위별로 부인과 그룹과의 발현 차이를 분석하여 원발부위별로 유의미한 바이오마커를 최종 선정함.
- 선정된 엑손접합 바이오마커를 기반으로 시각화한 결과, 부인과 종양과 비부인과 종양 그룹 간 **명확한 클러스터링**이 관찰됨.
- 11종 암에서 발현 차이를 보이는 접합변이를 선정해 암종별 바이오마커 데이터베이스를 구축할 예정임.



<그림 6. 엑손 접합 바이오마커 기반 부인과/비부인과 종양 클러스터링>

3.5. 혈구분석(CBC) 데이터를 이용한 저비용 암 판별 분석법 확보

3.5.1. 상세 설명

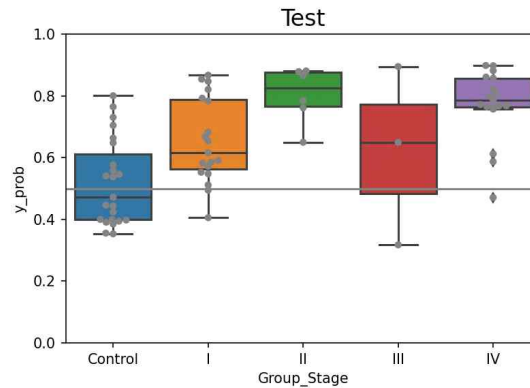
- CBC 검사는 간단한 혈액 검사로, 병원 대부분에서 저비용으로 쉽게 받을 수 있어 접근성이 좋음.
- 혈액 내 세포들은 자신의 역할에 따라 암에 대한 방어와 공격을 하거나, 때로는 암의 성장과 전이에 관여하기도 함.
- 현재 혈구 분석기를 통해 백혈구, 적혈구, 단핵구, 호중구, 대식세포 수, 림프구 등 **다양한 특징값**(수, 부피, 용적률 등)을 추출할 수 있음.
- 이러한 특징값들을 기반으로 **암의 유무, 종양의 유무, 종양의 양·악성 여부를 판별하는 알고리즘을 개발함.**
- 간단한 혈액 검사만으로 암 환자와 정상인 구분이 가능해 높은 접근성과 편리성을 제공함.

3.5.2. 연구자(연구단)의 보유 역량

- **일반혈액검사로 측정되는 백혈구, 적혈구, 혈소판 등의 세포 개수와 부피 데이터를 활용하여 암의 유무 및 종양의 양·악성 여부를 판별하는 예측 모형을 개발함.**
- 다기관에서 수집한 189건의 혈액 검사 데이터를 분석하여 부인 종양의 유무와 양·악성 여부에 유의한 차이를 보이는 주요 변수를 선정함. 이를 기반으로 혈구분석 결과를 활용하여 암 진단 또는 종양의 양악성 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법에 대한 **특허를 보유하고 있음**(보유특허 4.4).
- 시스멕스 XP-300 자동 혈구분석기로 측정한 데이터를 머신러닝 알고리즘으로 분석하여 **난소암 위험도를 예측하고, 난소암 조기진단에 도움을 줄 수 있는 소프트웨어 개발 중임.**

3.5.3. 혈구분석 데이터를 이용한 다종암 여부 판별 모형 성능

- 다종(8종)의 암 환자와 정상인의 CBC 데이터를 활용하여 암 유무 판별 모형을 개발함.
- 모형 개발에 445개 샘플(암 365개, 비암 80개)을 사용했으며, 모형 평가를 위해 105개 샘플(암 82개, 비암 23개)을 활용함.
- 모형 성능 평가 결과 Training AUC 0.846, Validation AUC 0.75, Test AUC 0.723의 성능을 보이며, 암일 확률값이 병기에 따라 증가하는 경향을 나타냄.
- 2개 이상의 변수를 조합한 조합 변수를 추가로 활용함으로써 예측 모형을 고도화함.

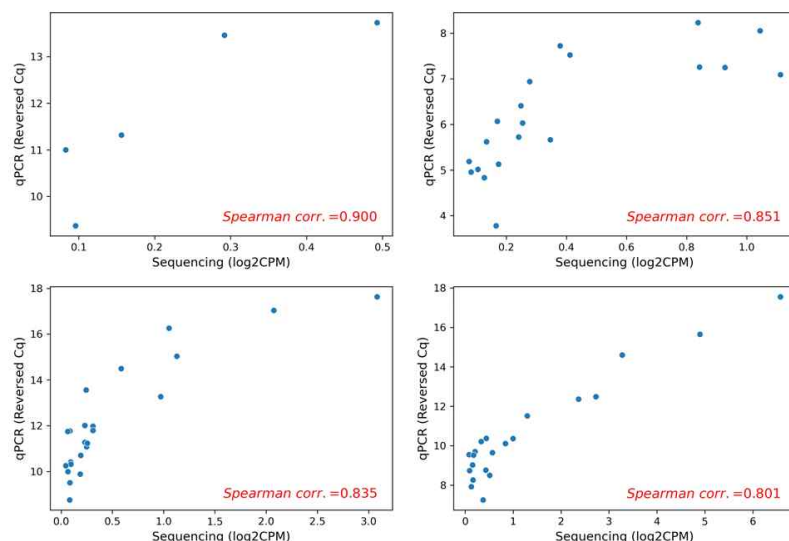


<그림 7. 병기별 암 확률값 분포>

3.6. 2-step qPCR 확립 및 가격 최적화

3.6.1. 상세 설명

- 시퀀싱 데이터에서 찾은 바이오마커를 qPCR에서 구현을 하기 위해 시퀀싱 라이브러리 제작에 사용이 되는 고가의 시약을 사용하면 유사한 SOP를 운용하게 되어 정량 정보가 그대로 보존되는 것에 이득이 있으나, 고가의 시약을 사용하게 되므로 qPCR에서의 가격 경쟁력이 크게 떨어짐.
- 당사는 이러한 고가의 시약들을 대체하면서도 시퀀싱 데이터에서 찾은 바이오마커를 qPCR에서 사용할 수 있도록 정량 정보를 보존하는 저가의 시약들을 발굴하여 기존 20만원/1종암 원가를 4만원/1종암으로 낮춤.



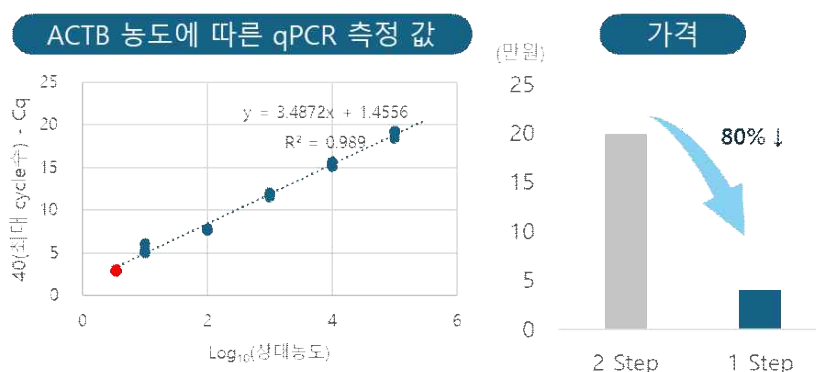
<그림 8. 시퀀싱에서 측정된 정량값(CPM)값과 qPCR에서 측정된 정량값(Cq) 값의 정량값 순서가 보존되는 것을 보여주는 예시>

3.6.2. 연구자(연구단의) 보유 역량

- 저가형 모형 기술개발 역량을 보유하여 고가의 시약을 대체하면서도 분석의 품질이 동일한지 검증하는 기술개발을 수행한 경험이 있음.
- qPCR reference 마커와 SOP의 제어인자들을 확립하여 샘플의 QC 기준을 보유하고 있음.

3.6.3. 낮은 검출 한계 (LOD)

- 저가의 시약들로 대체한 SOP에서도 시퀀싱 분석보다 검출한계가 3배 이상 낮은 2-step qPCR SOP를 구축함. (LOD: $2.42 \times 10^{-5}\%$)



<그림 9. 포어텔마이헬스의 2-step qPCR 검출한계 계산을 위한
검량선 측정 결과 및 가격 최적화 결과>

3.7. 혈소판 RNA 시퀀싱 분석 SOP 구축

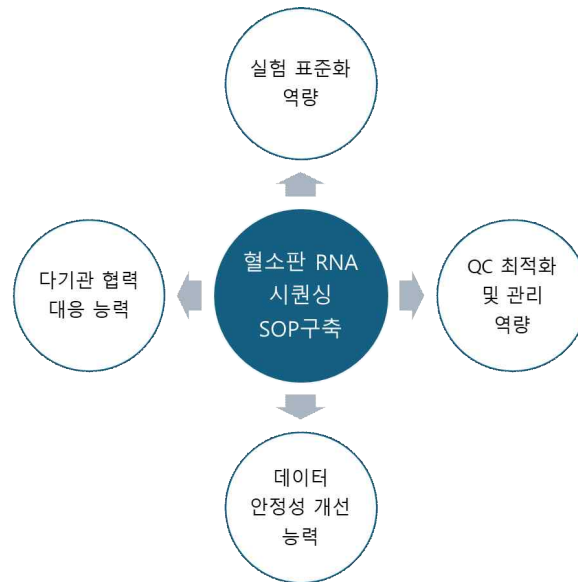
3.7.1. 상세 설명

- 주요 실험 단계에 대해 체계적인 **Standard Operation Procedure (SOP)**를 구축함.
- 약 1,000례 이상의 시료를 처리하며 주요 제어인자 도출 및 모니터링 체계를 구축하여 데이터의 일관성과 신뢰도를 강화함.
- SOP1: 혈소판 추출 단계에서 56개의 변수를 기록하며, 이 중 Quality Control을 위해 관리되는 주요 인자는 4개임.
- SOP2: 혈소판 RNA 추출 단계에서 18개의 변수를 기록하며, 이 중 Quality Control을 위해 관리되는 주요 인자는 4개임.
- SOP3: RNA 시퀀싱 단계에서 22개의 변수를 기록하며, 이 중 Quality Control을 위해 관리되는 주요 인자는 1개임.

3.7.2. 연구자(연구단의) 보유 역량

- 다양한 실험 조건에서 재현성을 보장하기 위한 **SOP**를 설계, 운영할 수 있는 능력 보유함.
- 약 1,000례 이상의 시료 처리 경험을 통해 **주요 제어인자를 도출**하고 관리 체계를 확립함.
- 실험 각 단계에서 제어해야 할 주요 인자를 식별하고 관리하여, 높은 품질의 RNA를 지속해서 확보함.
- SOP 기반 관리 프로세스를 활용하여 혈소판 RNA의 integrity 개선 및 QC 통과율 증가를 실현함.

- 여러 병원 및 임상 환경에서도 일정한 RNA 추출 성과를 낼 수 있는 **관리 체계를 확보**, 다기관 연구 협력을 원활히 지원할 수 있는 역량을 보유함.



〈그림 10. 혈소판 RNA 시퀀싱 SOP 구축을 통한 연구자의 차별적 역량〉

3.8. 대량의 혈소판 사진 고속 획득 방법론 구축 및 혈소판 이미지 기반 분석 모형 확립

3.8.1. spec

magnification	20X
Pixel Size	0.3 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ (800 nm particles)
Imaging Rate	Up to 6000 Obj/Sec

3.8.2. 상세 설명

- 대량의 혈소판 사진을 고속 획득할 수 있음.
- Platelet 사진 10^4 장 획득에 1분 미만 소요됨.
- 극소량의 시료(10uL 미만의 platelet rich plasma)만 필요함.

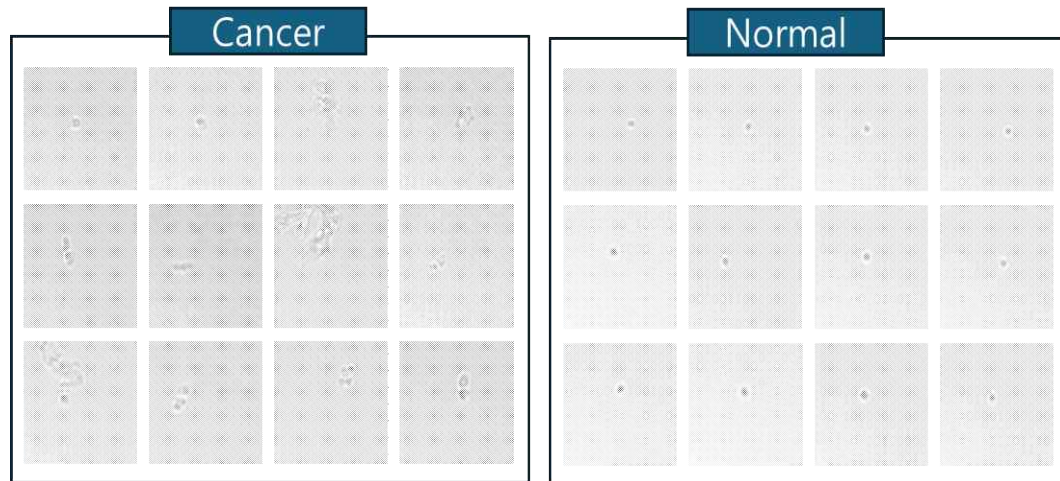
3.8.3. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 안은용 CTO는 single cell 대사체 분석을 위한 이미지 대량 고속 획득 관련 프로젝트를 이스라엘 Technion-IIT 에서 수행하였음.
- 기확보한 혈소판 품질 관리 지표를 바탕으로 이미지 획득을 위한 **혈소판 품질 관리 노하우**를 확보하고 있음.

3.8.4. 암 환자 정상인 혈소판 실험 결과

- 암 환자 10명, 정상인 9명의 **혈소판 이미지를 이용하여 분석**을 수행함.
- 민감도 80%, 특이도 78%의 성능을 보임.
- 암 환자 혈소판에서는 심하게 형태가 달라진 이미지가 0~5%, 비정형의 이미지가 5~25% 관찰되었으나 정상인 샘플에서는 혈소판의 모습이 대체로 매우 균질하였음.
- 혈소판의 형태학적 특성은 혈소판의 QC, 암 진단 바이오마커로 사용될 수 있음.
- 혈소판 사진을 각 3만 장 획득하여 AI 이미지 분석을 수행하였음.
- 약 90%의 accuracy로 어느 사람의 혈소판인지 test data set에서 맞춤.
- 반면에 동일 데이터에 무작위 Label을 주었을 때는 모형 학습이 되지 않았음.

- 혈소판 이미지를 활용하여 질환의 진단 및 개인 특이적인 병리적 상태에 대한 예측이 가능할 것으로 예상함.



〈그림 11. 포어텔마이헬스가 촬영한 암 환자와 정상인의 혈소판 사진〉

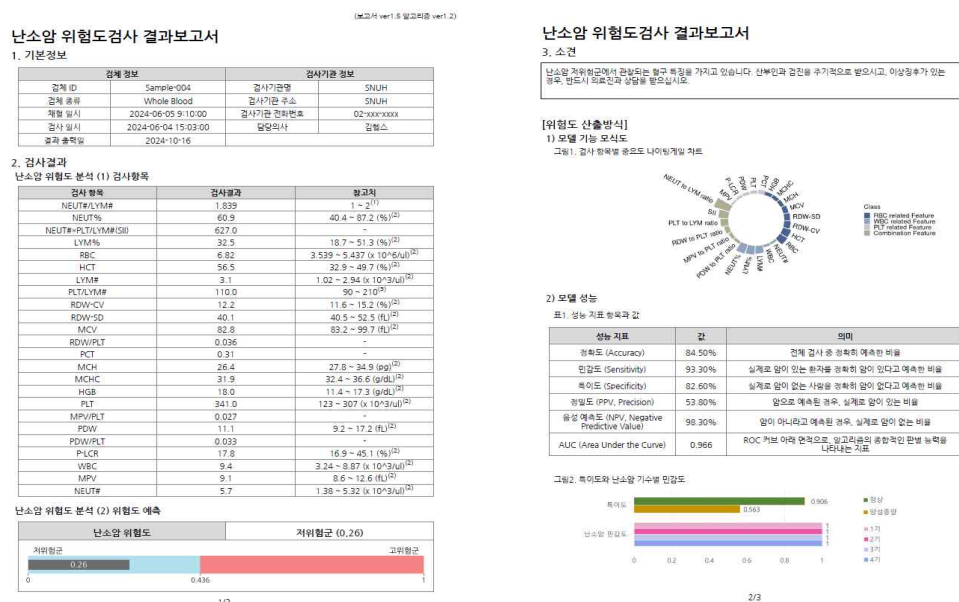
3.9. 혈구분석 AI 난소암 위험도 예측 검사보고서 생성 기술

3.9.1. 상세 설명

- 자동 혈구분석기에서 측정한 데이터를 기반으로, 머신러닝 알고리즘을 활용해 난소암 위험도를 예측하는 기술을 개발함.
- 채혈된 혈액 검체는 냉장 보관 후 자동 혈구분석기로 백혈구, 적혈구, 혈소판 등 주요 혈구 특성(수, 부피, 용적률 등)을 정량적으로 측정하여 데이터화함.
- 수집된 데이터는 사전에 학습된 머신러닝 알고리즘에 입력되어 난소암 위험도를 자동으로 예측함.
- 이 과정에서 자동화된 검사보고서 생성 기능을 제공함.
- 보고서에는 혈구분석 결과, 정상범위 참고치 및 난소암 위험도 점수가 포함됨.
- 검사보고서를 통해 저위험군 또는 고위험군 해당 여부와 종합적인 소견을 제시함.

3.9.2. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 혈구분석 데이터를 기반으로 암 관련 바이오마커를 발굴한 경험과 노하우를 가지고 있음.
- 난소암 관련 데이터의 특성을 이해하고, 이를 바탕으로 높은 예측 정확도를 가진 알고리즘을 개발할 수 있는 역량을 보유함.
- 측정값과 예측 결과를 보고서 형식으로 자동 생성하는 기술과 소스코드를 보유함.



〈그림 12. 난소암 위험도 검사 결과보고서 예제〉

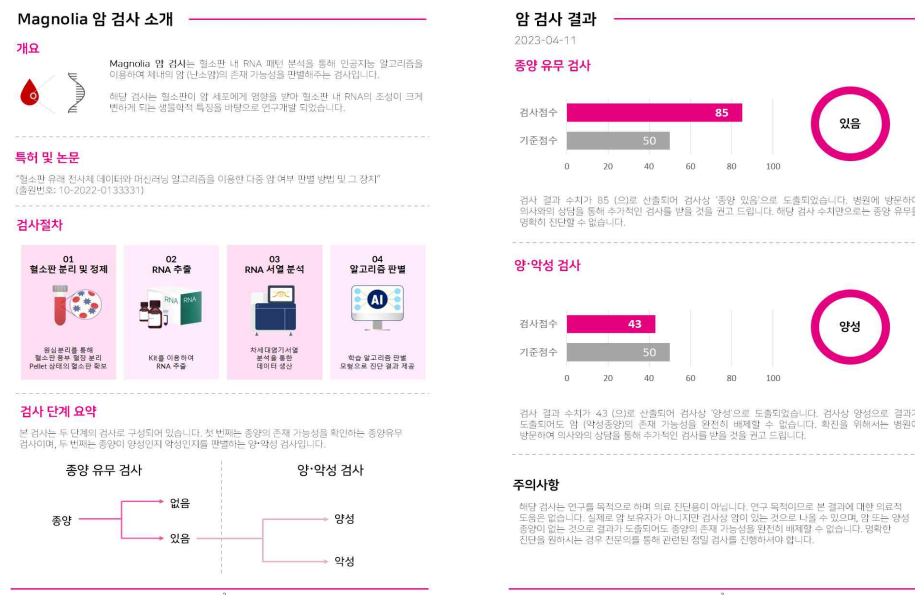
3.10. 혈소판 RNA 시퀀싱 기반 난소암 여부 판별 보고서 생성 기술

3.10.1. 상세 설명

- 혈소판 RNA 시퀀싱 데이터를 기반으로 난소암 여부를 판별하고, 검사 결과를 자동으로 생성하여 보고서 형태로 제공하는 기술을 보유함.
- 검사보고서에는 검사자, 검사기관 정보, 암 검사 소개, 검사 절차 및 단계 요약이 포함됨.
- 검사 절차는 채혈된 혈액 검체에서 RNA를 추출하고 시퀀싱을 통해 데이터를 생성한 뒤, 파이프라인 처리 및 전처리 과정을 거쳐 진행됨.
- 처리된 데이터는 사전에 학습된 두 단계의 알고리즘 모형에 입력되어 결과를 산출함.
- 첫 번째 단계에서는 종양 유무를 판별하고, 두 번째 단계에서는 종양이 있는 경우, 양성 또는 악성 여부를 예측함.
- 보고서에는 종양 유무 및 양·악성 여부에 대한 점수와 결과를 제공하며, 이를 바탕으로 종합적인 소견을 제시함.

3.10.2. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 혈소판 RNA 시퀀싱 데이터를 기반으로 난소암 관련 바이오마커를 발굴한 경험을 보유함.
- 두 단계의 복합적인 머신러닝 알고리즘을 설계 및 최적화하여 난소의 종양 유무와 양·악성 여부를 판별할 수 있는 기술을 보유함.
- 검사 절차와 데이터 분석 과정을 관리하며, 검사 결과를 자동으로 리포트로 생성하는 기술과 소스코드를 확보함.



〈그림 13. 혈소판 RNA 시퀀싱 기반 난소암 여부 판별 보고서 예제〉

3.11. 역학 모형과 분자생물학적 접근을 통한 암의 조기 발견 및 예후 예측

3.11.1. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 공동연구 책임자인 김미경 교수는 18년 암 관련 임상자료 연구 경력을 보유하고 있음.
- 암 연구에서 대사체, 전사체, 유전체 등의 오믹스 자료, 식이, 역학 및 검진 정보 등을 다년간 연구하였음.
- 소수의 암종만을 분석한 것이 아니라, 10여 종이 넘는 다수의 암종 코호트를 관리하고 이를 분석하는 여러 연구의 책임자로 오랜 기간 국립암센터에서 연구해 왔음.

- 대표적인 연구들로 혈중 무세포 DNA 기반 간암 치료 예후 예측 방법 연구, 유방암과 관련된 유전적 바이오마커 제시, 유방암 예후 지표 제시, 대장암 세포의 세포 주기 진행 관련 바이오마커 제시 등이 있으며, **암의 조기 발견 및 예후 예측 연구에 전문성을 보유함.**
- 또한 유방암에 대한 유전적 요인-환경적 요인의 상호작용 연구 및 ergosterol peroxide(β -catenin 경로)에 의한 대장암의 항암 효과 연구 등 유전자-환경 상호작용 연구 등을 수행하였으며, 오픈 데이터와 역학 및 검진 데이터 등을 **통합하여 연구하는 것에 전문성을 보유함.**
- 국내외 6건의 특허를 등록 및 출원 하였으며 수행한 연구에서 확립된 기술의 특허 작성에 대한 경험과 전문성도 보유하고 있음.

3.12. 프라이머 및 Multiplex 플랫폼 개발 최적화 노하우 보유

3.12.1. 연구자(연구단)의 보유 역량

- 위탁연구개발기관 연구책임자인 황경아 본부장은 20년 동안 분자 진단 시약개발, 진단검사 서비스, 연구검사 서비스 등의 업무를 수행한 경험이 있음.
- 호흡기 바이러스, 코로나바이러스 등의 PCR 진단 시약을 개발하고 식약처 허가 진행 및 **상용화를 이룬 경험이 있어 PCR 프라이머, 프로브 최적화에 대한 강력한 노하우를 보유함.**
- 오미크론 진단 시약을 국내 최초 개발한 경력이 있음.
- 또한 NGS 패널 중 세계 최초로 HPV 바이러스 Genotyping kit를 개발하고 상용화하였으며, NGS 기반으로 multiplex amplicon 방식의 **다양한 플랫폼을 개발한 바 있음.**

제니트리리서치, HPV 진단 키트 식약처 허가 획득

※ 오인규 기자 | © 일석 2019.01.29 05:58 | © 우정 2019.01.30 10:01 | 불특정

『이지플렉스 HPV NGS KIT』 한 번 검사로 최대 100종 16시간 동안 최대 480명까지 분석

【의학신문 일간포스=오인규 기자】제니트리리서치(대표 안지훈)는 최근 세계 최초로 HPV를 자체 대량기(서열분석(NGS) 방식)로 진단하는 '이지플렉스 HPV NGS KIT'에 대해 식품의약품안전처로부터 의료기기 허가 및 인허가 인증을 받았다고 28일 밝혔다.



제니트리리서치 이지플렉스 HPV NGS KIT

인유두종바이러스(HPV)는 유두종을 일으키는 바이러스로 현재까지 약 100여 종이 발견됐다. HPV의 일부 유형은 자궁경부암과 두경부암 등의 직접적 원인이 되는 것으로 알려져 있는데, 특히 자궁경부암의 경우 발병 원인의 99% 이상이 HPV에 의한 것으로 보고되고 있다.

제니트리리서치의 HPV NGS 키트는 기존 HPV 검사 대비 분석 결과를 도출하는 데 걸리는 시간을 단축시키면서도 분석 정확도는 훨씬 높다는 장점이 있다. HPV를 유전적학적으로 구분할 수 있는 검사는 종양표지자검사(PCR)이나 어레이(Array) 방식이 있으나 최대 20~40종만 검출해 낼 수 있었다.

분석 결과도 양성인지 음성인지에 대해서만 도출이 가능했으나, HPV NGS KIT은 45종(수출용 포함 최대 100종)의 HPV를 DNA 검출량에 따라 1~3단계로 양성의 결과값을 제공하는 수준의 반정량 검사가 가능하다. 이지플렉스는 HPV 타입이 확인된 검체로 임상적 유효성을 평가한 결과, 약 90.1%~100%의 특이도와 97.7%~100%의 민감도를 가진다.

NGS 방식은 기존의 열기서열분석법과 달리 수 많은 DNA를 고속으로 분석해 치료시간과 검사비용 등을 획기적으로 줄일 수 있는 정밀로기술로 잠재력을 높게 평가받았다. 이지플렉스 HPV NGS KIT은 써모피셔사이언티픽의 시퀀싱 및 라이브러리 자동화 제작 시스템(On5, Chef)을 활용해 전자통에 가까운 매우 높은 자동화 수준을 갖췄다.

제니트리리서치 황경아 박사는 "자체 테스트 진행결과 한 번의 분석으로 16시간 내에 최대 480명까지 분석할 정도로 시간을 단축시켰다"며 "이번 허가를 통해 정교하게 구분이 어려웠던 HPV 중의 구분이 가능해짐으로써, 자궁경부암 두경부암 등 HPV가 원인이 되는 질환 연구에 새로운 전기를 마련하는데 도움이 되기를 기대한다"고 말했다.

SML제니트리 코로나19 진단키트 美 FDA 긴급 사용승인 획득

SML제니트리(에스엠엘제니트리)가 국내 바이오기업 최초로 위험검사(Pooling Test)가 가능한 코로나19진단키트를 美 식품의약품(FDA)로부터 긴급 사용승인(EUA) 받았다고 밝혔다.

해당 제품은 위험검사(Pooling Test)가 가능하여 대량의 선별검사에 활용될 수 있다. 위험검사는 5명 단위로 검체를 취합하여 검사하고 양성일 경우 개별검사를, 음성일 경우 모두 음성판정을 내는 방식으로 이루어진다. 특히 다수의 검체를 한번에 검사하기 때문에 기존 진단키트 대비 높은 민감도와 특이도를 가져야만 해당 검사가 가능하다.

FDA에 따르면, 개별검사와 위험검사의 결과 비교 Test에서 100%의 일치도를 보였으며 세계에서 20번째, 대한민국 기업으로는 최초로 해당 Test를 통과한 것으로 확인되었다. 현재, 한국을 비롯하여 미국, 유럽 등은 위험검사를 통해 대규모 진단검사를 진행 중이며, 이는 감염예방을 위한 주기적인 검사에 효과적일 것으로 향후 백신과 치료제가 보급된 이후 보편적인 검사방법으로 자리잡을 것으로 보여진다.

SML제니트리는 이와 같은 R&D역량의 경쟁우위와 창사 이후 꾸준히 지속된 높은 매출, 수익 성장성을 바탕으로 내년 상반기 코스닥 상장을 추진할 계획이며, IPO주관사는 미래에셋대우에서 맡아 진행할 예정이다.

SML제니트리 안지훈 대표는 "아직도 심각하게 진행 중인 미국의 상황에 위험검사법이 가능한 'Eplex® SARS-CoV-2 G Real-Time PCR Kit'가 큰 역할을 할 것이라고 기대한다"면서, "SML제니트리는 진단키트 뿐만 아니라 호흡기를 비롯한 다양한 감염증과 암 조기진단 기술 등 분자진단 영역에서 수준 높은 제품 파이프라인을 보유하고 있으며, 이번 FDA 긴급사용승인을 기점으로 글로벌 시장에 당사가 보유한 혁신적인 제품을 순차적으로 공급할 계획이다"라고 말했다.

<그림 14. 황경아 본부장이 직접 참여한 사업 성과 기사>

4.3. KR10-2024-0059941, “엑손-접합 부위의 염기서열을 포함하는 암 진단 마커 및 레퍼런스 마커”, 주식회사 포어텔마이헬스, 2024년 5월 7일 출원.

관 인 생 략

출 원 번 호 통 지 서

출 원 일 자 2024.05.07
특 기 사 항 심사청구(우) 공개신청(우) 참조번호(NP240033)
출 원 번 호 10-2024-0059941 (접수번호 1-1-2024-0494125-27)
(DAS접근코드5099)
출원인 명칭 주식회사 포어텔마이헬스(1-2022-064958-8)
대리인 성명 이희숙(9-2002-000221-5)
발명자 성명 안태진 안은용 박성민 김사라
발명의 명칭 엑손-접합 부위의 염기서열을 포함하는 암 진단 마커 및 레퍼런스 마커

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로
출원번호(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통정된 납입명수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가
까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
3. 납부자번호 : (과제) (과제) - 접수번호
4. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고려번호 정보변경(경정), 정정신고서)를 제출하
여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
5. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고려상담센터☎ 1544-8080)에
문의하여 주시기 바랍니다.
※ 심사제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 지식재산제도

4.4. KR10-2024-0059937, “혈구분석 결과를 활용하여 암 진단 또는 종양의 양악성 판단에 필요한 정보를 제공하는 방법”, 주식회사 포어텔마이헬스, 2024년 5월 7일 출원.

관 인 생 략

출 원 번 호 통 지 서

출 원 일 자 2024.05.07
특 기 사 항 심사청구(우) 공개신청(우) 참조번호(NP240025)
출 원 번 호 10-2024-0059937 (접수번호 1-1-2024-0494078-79)
(DAS접근코드A346)
출원인 명칭 주식회사 포어텔마이헬스(1-2022-064958-8)
대리인 성명 이희숙(9-2002-000221-5)
발명자 성명 안태진 안은용 박성민 김사라
발명의 명칭 혈구분석 결과를 활용하여 암 진단 또는 종양의 양악성 판단에 필요한 정보를 제공하는 방
법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로
출원번호(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통정된 납입명수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가
까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
3. 납부자번호 : (과제) (과제) - 접수번호
4. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고려번호 정보변경(경정), 정정신고서)를 제출하
여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
5. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고려상담센터☎ 1544-8080)에
문의하여 주시기 바랍니다.
※ 심사제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 지식재산제도

별첨 3. 진단이나 검사법 관련 임상평가, 식약처허가, 사업화경력 전문인력 포함

- 본 과제에 참여하는 핵심 연구 인력은 진단 및 검사법 관련 임상 평가, 식약처 허가 절차, 사업화 경험에 있어 탁월한 역량을 보유함.

○ 안태진 (주관연구개발기관 연구책임자)

- 한동대학교 생명과학부 부교수 및 포어텔마이켈스 대표이사, Bioinformatics 학문과 AI/딥러닝 기반 조기암 및 다 질병 예측 연구 진행 중임.
- RNA-seq 기반 암-정상 조직 분류 시스템, 난소암 백금 저항성 예측 딥러닝 모형 그리고 혈소판 RNA를 활용한 암 조기진단 기술 등 다양한 진단법 개발 및 임상적 검증 경험을 보유함.
- 진단법 개발 과정에서 대규모 임상 데이터를 분석하고, 모형의 민감도와 특이도를 체계적으로 평가하여 진단법의 신뢰성과 정확성을 입증해 온 바 있음.
- 혈소판 RNA 기반 조기암 진단 기술의 개발 과정에서 다양한 임상적 성능평가를 통해 진단법이 조기 발견 및 치료 결정에 중요한 역할을 할 수 있음을 입증함.

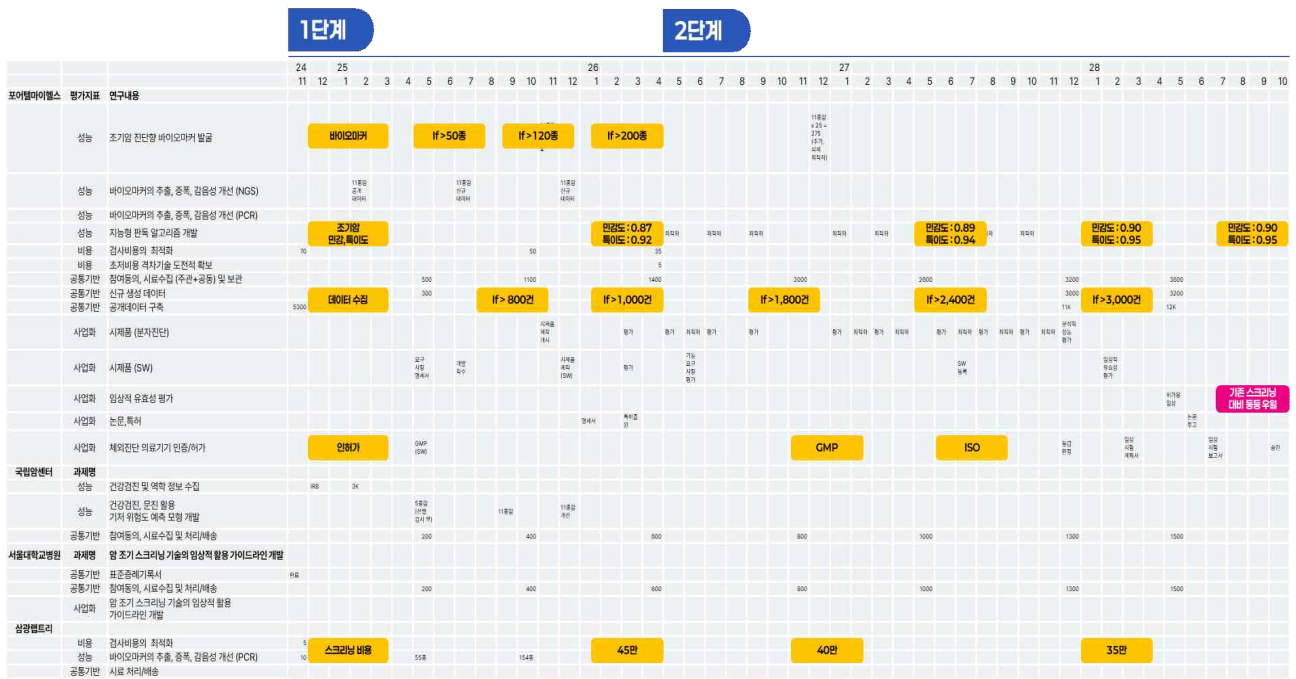
○ 황경아 (위탁연구개발기관 연구책임자)

- 20여 년간 분자 진단 시약개발 및 검사 서비스 분야에서 풍부한 경험을 쌓아왔으며, 총 30건의 식약처 허가와 상용화를 성공적으로 이끈 바 있음.
- NGS 기반 진단 기술 개발 및 상용화에 있어 선구적 역할을 했으며, 세계 최초로 HPV Genotyping NGS 키트를 상용화한 경력을 보유하였으며 HLA Typing Kit와 같은 혁신적 기술을 국내 기술로 최초 개발하였음.
- 코로나바이러스 진단 시약의 FDA 긴급 사용승인 경험이 있으며, 연간 50만 건 이상의 진단 검사를 진행해 온 삼광의료재단 내 생명과학연구소 연구소장으로서 임상적 성능시험 및 규제 대응 능력을 입증하였음.
- 건강검진용 유전자 검사 서비스 런칭 및 WHO-PQ 인증을 위한 임상적 성능시험 기술 지원 등 사업화와 글로벌 표준화를 위한 실질적인 성과를 창출함.

별첨 4. 과제 주요 마일스톤 및 Decision Flow

○ 과제 주요 마일스톤

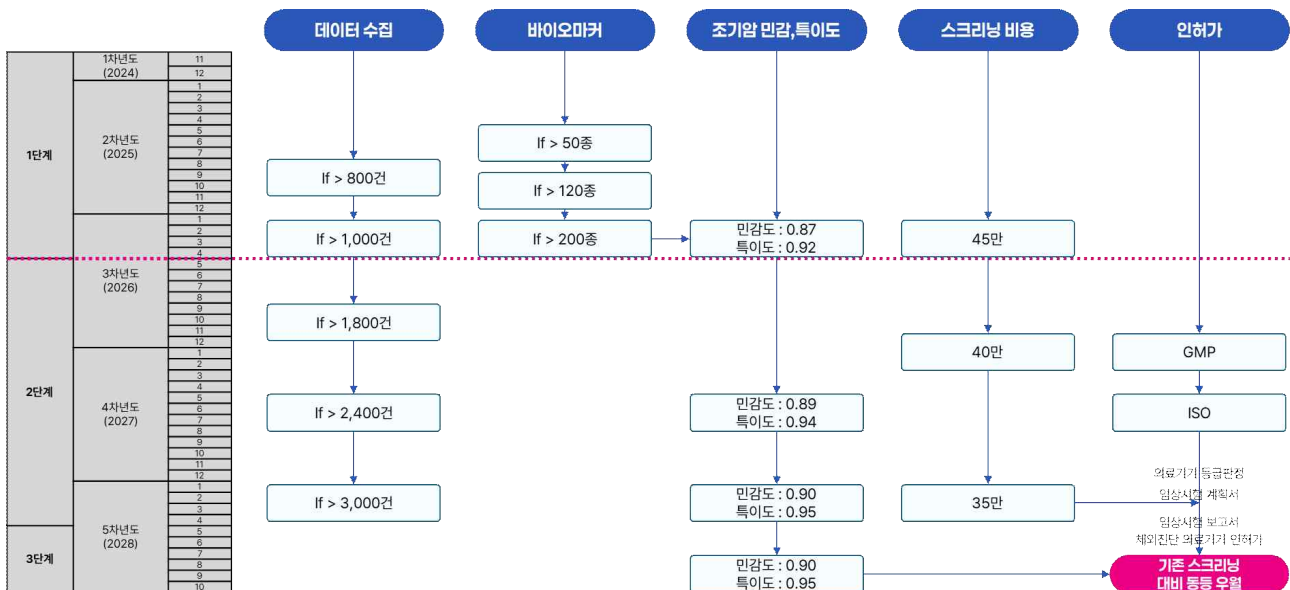
- (주) 포어텔마이헬스 주도 다기관(6개 병원, 11개 암종, 35명 교수진 참여) 임상 시료 수집 및 증례 기록 관리 체계 구축 → 과제 기간 총 3,600명 모집
- 바이오마커 발굴 및 감응성 개선, 비용 효율화 및 독립적인 기술로 초저비용 격차 기술 확보 → 고유 바이오마커 활용, 조기암 민감도 90%, 특이도 95% 목표 달성



〈그림 1. 과제 주요 마일스톤〉

○ 마일스톤 별 No/Go Decision 주요 항목

- 1단계: 주요 마일스톤 4건
 - 임상 시료 1,000건
 - 조기 암향 바이오마커 200종
 - 민감도, 특이도 최종목표 $\pm 5\%$ 달성
 - 비용 효율 +10만 원
- 2단계: 주요 마일스톤 4건
 - 임상 시료 3,000건
 - 조기암 민감도, 특이도 최종 목표 달성
 - 비용 효율 달성 (NGS 원가 35만, PCR 원가 10만, 이미지 분석 원가 1만)
 - 임상적 유효성 및 인허가 준비 (GMP, ISO)
 - 인허가



<그림 2. 마일스톤 별 decision flow chart>