



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2020년08월26일
(11) 등록번호 10-2148602
(24) 등록일자 2020년08월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 27/62 (2006.01) A61B 5/00 (2006.01)
A61B 5/1486 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 27/62 (2013.01)
A61B 5/0059 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0036978
(22) 출원일자 2019년03월29일
심사청구일자 2019년03월29일
(56) 선행기술조사문헌
KR101204342 B1*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
(72) 발명자
변재철
서울특별시 서초구 잠원로 46-38, 101동 301호(잠원동, 브라운스톤잠원)
(74) 대리인
김권석

전체 청구항 수 : 총 15 항

심사관 : 인치현

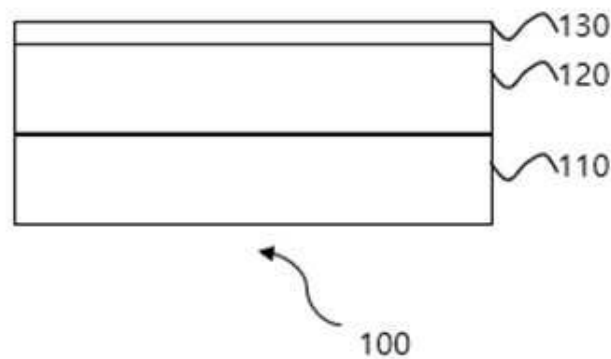
(54) 발명의 명칭 통풍 및 가성통풍 진단 키트 및 이를 진단하기 위한 정보 제공 방법

(57) 요약

본 발명은 나노 구조체에 의한 질량 분석을 이용한 통풍 및 가성통풍 진단 키트에 관한 것이다. 본 발명의 일 실시예에 따른 통풍 및 가성통풍 진단 키트는

기관, 상기 기관 상에 형성된 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, TiO_2 함유 나노선 구조체 및 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성된 매트릭스 층을 포함하는 샘플 플레이트를 포함하며, 상기 샘플 플레이트의 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 피분석 결정을 포함하는 피분석 층이 형성되고, 상기 피분석 층을 레이저 조사에 의한 질량 분석을 하여 monosodium urate(MSU) 또는 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61B 5/1486 (2013.01)

A61B 2562/12 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

W02018115381 A1

KR101783657 B1

KR101687949 B1

KR1020150052898 A

US20160158412 A1

Diagnosis of Gout and Pseudogout Using
Inorganic TiO₂ Matrices for LDI-TOF Mass
Spectrometry(M.J. Kim, MSACL 2018 EU, Sep.13,
2018)*

A customized Raman system for point-of-care
detection of arthropathic crystals in the
synovial fluid(Bolan Li, R.S. of Chem., 2014)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

통풍 또는 가성통풍의 진단을 위한 진단 키트로서,

기관 및 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, TiO_2 함유 나노선 구조체 및 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나를 포함하여 상기 기관 상에 형성된 매트릭스 층을 포함하는 샘플 플레이트를 포함하며,

상기 샘플 플레이트의 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 피분석 결정을 포함하는 피분석 층이 형성되고, 상기 피분석 층에 대하여 레이저 조사에 의한 질량 분석을 함으로써 monosodium urate(MSU) 또는 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출하는 진단 키트.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 TiO_2 함유 나노 입자의 지름은 16 nm 내지 25 nm이며, 상기 TiO_2 나노선은 그물망 구조를 가지고, 상기 그물망 구조의 기공의 평균 크기는 80 nm 내지 300 nm인 통풍 및 가성 통풍 진단 키트.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 TiO_2 나노선은, 티타늄(Ti) 평판을 KOH 용액에 침지시켜 상기 티타늄 평판의 표면을 부식시킨 후 상기 표면을 열처리하여 형성되는 통풍 및 가성 통풍 진단 키트.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 관절액을 분해 효소와 반응시켜 상기 관절액 내부의 물질을 분해하는 관절액 분해부;

상기 관절액 분해부로부터 제공되는 상기 분해된 관절액을 미세 여과막을 이용하여 여과하는 미세 여과부; 및

상기 미세 여과부로부터 제공되는 상기 미세 여과막 상에 남아있는 결정을 용매에 용해시키는 결정 용해부를 더 포함하는 진단 키트.

청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 분해 효소는, 히알루로니다아제(hyaluronidase) 및 단백분해효소 케이(proteinase K)를 포함하는 통풍 및 가성 통풍 진단 키트.

청구항 6

제 4 항에 있어서,

monosodium urate (MSU)를 검출하는 경우 상기 용매는 나트륨 이온(Na^+)을 가지는 염기성 용액이고, 상기 결정이 용해된 결정 용액을 산성 용액으로 중화시키는 단계를 더 포함할 수 있으며,

calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)를 검출하는 경우 상기 용매는 산성 용액인 통풍 및 가성 통풍 진단 키트.

청구항 7

통풍 또는 가성통풍 진단을 위한 정보 제공 방법으로서,

기관을 제공하는 단계;

상기 기관 상에 형성된 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, TiO_2 함유 나노선 구조체 및 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성된 매트릭스 층을 포함하는 샘플 플레이트를 제공하는 단계;

상기 샘플 플레이트 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 피분석 결정을 포함하는 피분석 층을 형성하는 단계; 및

상기 피분석 층을 레이저 조사에 의한 질량 분석을 하여 monosodium urate(MSU) 또는 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출하는 단계를 포함하는 정보 제공 방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체로 구성된 샘플 플레이트는,

상기 TiO_2 함유 나노선으로 이루어진 샘플 플레이트 위에 상기 TiO_2 나노 입자 용액을 적하시켜 형성하는 정보 제공 방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

상기 TiO_2 나노선은, 티타늄(Ti) 평판을 KOH용액에 침지시키는 단계;

상기 티타늄(Ti) 평판을 증류수로 세정시키는 단계; 및

상기 티타늄(Ti) 평판을 열처리하는 단계를 포함하는 정보 제공 방법.

청구항 10

제 7 항에 있어서,

상기 피분석 층을 형성하는 단계는,

상기 관절액을 특정 효소와 반응시켜 상기 관절액 내부의 물질을 분해하는 단계;

상기 분해된 관절액이 미세 여과막을 통하여 여과되고, 상기 미세 여과막 상에 남아있는 결정을 용매에 용해시키는 단계; 및

상기 결정이 용해된 결정 용액을 상기 샘플 플레이트 상에 결정화 시키는 단계를 포함하는 정보 제공 방법.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

monosodium urate (MSU)를 검출하는 경우, 상기 용매는 나트륨 이온(Na^+)을 가지는 염기성 용액이고, 상기 결정이 용해된 결정 용액을 산성 용액으로 중화시키는 단계를 더 포함할 수 있으며,

calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)을 검출하는 경우 상기 용매는 산성 용액인 정보 제공 방법.

청구항 12

제 10 항에 있어서,

상기 특정 효소는, 히알루로니다아제(hyaluronidase) 및 단백분해효소 케이(proteinase K)를 포함하는 정보 제공 방법.

청구항 13

제 7 항에 있어서,

상기 질량 피크를 검출하는 단계에서 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크가 검출되는 경우,

상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크의 크기로부터 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 농도를 분석하는 단계를 더 포함하는 정보 제공 방법.

청구항 14

통풍 또는 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공 방법으로서,

기관을 제공하는 단계;

상기 기관 상에 형성된 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, TiO_2 함유 나노선 구조체 및 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성된 매트릭스 층을 포함하는 샘플 플레이트를 제공하는 단계;

상기 샘플 플레이트 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 피분석 결정을 포함하는 피분석 층을 형성하는 단계; 및

calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출하는 단계를 포함하고,

상기 질량 피크를 검출하는 단계에서 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크가 검출되지 않는 경우,

monosodium urate(MSU)의 질량 피크를 검출하는 단계를 더 포함하는 정보 제공 방법.

청구항 15

제 14 항에 있어서,

상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크가 검출되는 경우,

상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크의 크기로부터 상기 monosodium urate(MSU)의 농도를 분석하는 단계를 더 포함하는 정보 제공 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 질병의 진단 기술에 관한 것으로, 더욱 상세하게는, 통풍과 가성통풍을 구분하는 진단 키트 및 이를 진단하기 위한 정보 제공 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 통풍 및 가성통풍은 관절내에 결정이 생성되는 질환으로 결정생성 후 면역반응을 통해 염증이 유발되고, 이는 침상 결정이 관절을 자극하여 통증을 유발하는 질환이다. 그런데, 상기 통풍과 다른 질병인 상기 가성통풍은 상기 통풍과 비슷한 증상을 나타낸다. 급성 가성통풍의 경우 관절천자 시술을 통하여 통증을 줄일 수 있으나, 상기 급성 가성통풍이 수 주 지속되다가 만성 가성통풍이 되는 경우에는 치료가 어렵다. 이는 관절의 퇴행성변화를 동반할 수 있으므로 상기 가성통풍은 조기에 치료하는 것이 중요하다.

[0003] 상기 통풍과 상기 가성통풍은 관절 내 결정의 종류에 차이가 있다. 통풍은 monosodium urate (MSU)이 침상형 결정을 형성하여 진행되며 주로 발가락, 무릎관절 등에 발생한다. 가성통풍은 calcium pyrophosphate dihydrate (CPPD)가 입방형 결정을 형성하며 주로 무릎관절에 발생한다.

[0004] 상기 통풍 및 상기 가성통풍은 발병 원인과 결정 생성 물질이 다르므로 치료방법을 달리해야 하고, 치료를 위한 조기진단을 위해서는 상기 두 질환을 구분하는 신뢰도 높고 용이한 구별 방법의 개발이 요구된다. 기존 진단방법은 편광 현미경을 통해 상기 MSU 결정을 관절액에서 관찰하는 방법을 사용하는데 전문의의 관찰이 필요하고, 시료당 10분이상의 검사시간이 소요되며 잘못된 양성판정이 자주 일어나는 것으로 보고되고 있다. 또한, 상기 가성통풍의 원인이 되는 상기 CPPD 결정은 광학적 성질이 상기 MSU와 달라 편광 현미경으로 관찰이 어려운 단점

을 가지고 있다. 따라서, 상기 통풍 및 상기 가성통풍을 조기에 치료하기 위해서는 조기에 발견하는 것이 중요하며, 조기에 발견하기 위하여 용이하고 상용화될 수 있는 진단 방법의 개발이 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 발병 원인과 관절 내의 결정의 종류에 차이가 있는 상기 통풍 및 상기 가성통풍을 조기에 발견하여 치료하기 위하여 전문의의 관찰이 요구되지 않고, 검사시간이 짧으며, 용이하고 상용화 가능한 상기 통풍 및 상기 가성통풍의 진단 키트를 제공하는 것이다.
- [0006] 또한, 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 과제는 상기 이점을 제공하는 상기 통풍 및 상기 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0007] 상기의 과제를 해결하기 위한, 본 발명에 따른 통풍 및 가성통풍 진단 키트는 기관 및 상기 기관 상에 형성된 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, TiO_2 함유 나노선 구조체 및 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성된 매트릭스 층을 포함하는 샘플 플레이트를 포함하며, 상기 샘플 플레이트의 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 피분석 결정을 포함하는 피분석 층이 형성되고, 상기 피분석 층을 레이저 조사에 의한 질량 분석을 하여 monosodium urate(MSU) 또는 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출할 수 있다.
- [0008] 일부 실시예에서, 상기 TiO_2 함유 나노 입자의 지름은 16 nm 내지 25 nm이며, 상기 TiO_2 나노선은 그물망 구조를 가지고, 상기 그물망 구조의 기공의 평균 크기는 80 nm 내지 300 nm일 수 있고, 선택적으로, 상기 TiO_2 나노선은, 티타늄(Ti) 평판을 KOH 용액에 침지시켜 상기 티타늄 평면의 표면을 부식시킨 후 상기 표면을 열처리하여 형성될 수 있다.
- [0009] 다른 실시예에서는, 상기 관절액을 분해 효소와 반응시켜 상기 관절액 내부의 물질을 분해하는 관절액 분해부, 상기 분해된 관절액을 미세 여과막을 이용하여 여과하는 미세 여과부 및 상기 미세 여과막 상에 남아있는 결정을 용매에 용해시키는 결정 용해부를 더 포함할 수 있으며, 일 실시예에서, 상기 분해 효소는, 히알루로니다아제(hyaluronidase) 및 단백분해효소 케이(proteinase K)를 포함할 수 있다. 또한, 다른 실시예에서는, monosodium urate (MSU)를 검출하는 경우 상기 용매는 나트륨 이온(Na^+)을 가지는 염기성 용액이고, 상기 결정이 용해된 결정 용액을 산성 용액으로 중화시키는 단계를 더 포함할 수 있으며, calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)을 검출하는 경우 상기 용매는 산성 용액일 수 있다.
- [0010] 상기의 과제를 해결하기 위한, 본 발명에 따른 통풍 및 가성통풍 진단을 위한 정보 제공 방법은, 기관을 제공하는 단계 상기 기관 상에 형성된 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, TiO_2 함유 나노선 구조체 및 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성된 매트릭스 층을 포함하는 샘플 플레이트를 제공하는 단계, 상기 샘플 플레이트 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 피분석 결정을 포함하는 피분석 층을 형성하는 단계 및 상기 피분석 층을 레이저 조사에 의한 질량 분석을 하여 monosodium urate(MSU) 또는 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출하는 단계를 포함할 수 있으며, 선택적으로, 상기 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체로 구성된 샘플 플레이트는, 상기 TiO_2 함유 나노선으로 이루어진 샘플 플레이트 위에 상기 TiO_2 나노 입자 용액을 적하시켜 형성할 수 있다.
- [0011] 또한, 다른 실시예에서, 상기 TiO_2 나노선은, 티타늄(Ti) 평판을 KOH용액에 침지시키는 단계 상기 티타늄(Ti) 평판을 증류수로 세정시키는 단계 및 상기 티타늄(Ti) 평판을 열처리하는 단계를 포함할 수 있으며, 일 실시예에서는, 상기 피분석 층을 형성하는 단계는 상기 관절액을 특정 효소와 반응시켜 상기 관절액 내부의 물질을 분해하는 단계, 상기 분해된 관절액이 미세 여과막을 통하여 여과되고, 상기 미세 여과막 상에 남아있는 결정을 용매에 용해시키는 단계 및 상기 결정이 용해된 결정 용액을 상기 샘플 플레이트 상에 결정화 시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0012] 일 실시예에서는, monosodium urate (MSU)를 검출하는 경우, 상기 용매는 나트륨 이온(Na^+)을 가지는 염기성 용

액이고, 상기 결정이 용해된 결정 용액을 산성 용액으로 중화시키는 단계를 더 포함할 수 있으며, calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)을 검출하는 경우 상기 용액은 산성 용액일 수 있고, 다른 실시예에서, 상기 특정 효소는, 히알루로니다아제(hyaluronidase) 및 단백분해효소 케이(proteinase K)를 포함할 수 있다.

[0013] 또 다른 실시예에서는, 상기 질량 피크를 검출하는 단계에서 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크가 검출되는 경우, 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크의 크기로부터 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 농도를 분석하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0014] 상기의 과제를 해결하기 위한, 본 발명에 따른 통풍 및 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공 방법은, 기관을 제공하는 단계, 상기 기관 상에 형성된 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, TiO_2 함유 나노선 구조체 및 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성된 매트릭스 층을 포함하는 샘플 플레이트를 제공하는 단계, 상기 샘플 플레이트 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 피분석 결정을 포함하는 피분석 층을 형성하는 단계 및 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출하는 단계를 포함하고,

[0015] 상기 질량 피크를 검출하는 단계에서 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크가 검출되지 않는 경우, 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크를 검출하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 다른 실시예에서는, 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크가 검출되는 경우, 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크의 크기로부터 상기 monosodium urate(MSU)의 농도를 분석하는 단계를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 일 실시예에 따르면, TiO_2 함유 나노 구조체 및 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체들 중 적어도 어느 하나로 구성된 샘플 플레이트를 이용하여 레이저 조사에 의한 질량 분석을 함으로써 종래의 현미경을 이용한 진단 방법과 달리 신뢰도 높고 용이하게 쓰일 수 있는 상기 통풍 및 상기 가성통풍을 구분할 수 있는 진단 키트를 제공할 수 있다.

[0017] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 질량 분석 결과의 질량 피크의 세기는 상기 통풍 및 상기 가성통풍을 유발하는 관절 내 물질들의 농도에 비례하므로, 상기 질량 피크의 세기를 평가함으로써 질병의 심각도를 특정하는 상기 통풍 및 상기 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공 방법을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 플레이트(100)의 구조를 나타내는 단면도이고, 도 2a는 샘플 플레이트(100)를 구성하는 매트릭스 층(120)의 TiO_2 함유 나노 입자 구조체의 주사전자현미경(SEM, Scanning Electron Microscope; SEM) 이미지이고, 도 2b는 샘플 플레이트(100)를 구성하는 매트릭스 층(120)의 TiO_2 함유 나노선 구조체의 주사전자현미경 이미지이며, 도 2c는 샘플 플레이트(100)를 구성하는 매트릭스 층(120)의 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체의 주사전자현미경 이미지이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 통풍 및 가성통풍 진단 키트(1000)의 구성도이다.

도 4a는 케토-엔올 상호변이성(keto-enol tautomerization)에 의한 이양성자 요산(diprotic uric acid)의 분리 및 요산수소 음이온(hydrogen urate anion)으로부터 monosodium urate(MSU)가 형성되는 것을 나타낸 그림이고, 도 4b는 pH변화에 의한 피로인산(pyrophosphoric acid)의 분해를 나타낸 그림이다.

도 5는 본 발명의 실시예에 따른 상기 통풍 및 가성통풍을 위한 정보 제공 방법의 흐름도이며, 도 6는 샘플 플레이트 상에 피분석 층(130)을 형성하는 단계(S300)의 흐름도이다.

도 7은 상기 TiO_2 함유 나노 입자의 제타 전위(zeta-potential)를 나타낸 그래프이다.

도 8a는 매트릭스 층(120)의 종류에 따른 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD) 질량 분석 그래프이며, 도 8b는 매트릭스 층(120)의 종류에 따른 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 농도와 질량 피크의 크기 상관 관계를 나타낸 그래프이다.

도 9a는 매트릭스 층(120)의 종류에 따른 상기 monosodium urate(MSU) 질량 분석 피크 그래프이며, 도 9b는 매트릭스 층(120)의 종류에 따른 상기 monosodium urate(MSU)의 농도와 질량 피크의 상관 관계를 나타낸 그래프이다.

도 10은 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 통풍 및 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공 방법을 나타낸 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다.
- [0020] 본 발명의 실시예들은 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 본 발명을 더욱 완전하게 설명하기 위하여 제공되는 것이며, 하기 실시예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 오히려, 이들 실시예는 본 개시를 더욱 충실하고 완전하게 하고, 당업자에게 본 발명의 사상을 완전하게 전달하기 위하여 제공되는 것이다.
- [0021] 또한, 도면에서 각 층의 두께나 크기는 설명의 편의 및 명확성을 위하여 과장된 것이며, 도면상에서 동일 부호는 동일한 요소를 지칭한다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "및/또는"은 해당 열거된 항목 중 어느 하나 및 하나 이상의 모든 조합을 포함한다.
- [0022] 본 명세서에서 사용된 용어는 특정 실시예를 설명하기 위하여 사용되며, 본 발명을 제한하기 위한 것이 아니다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥상 다른 경우를 분명히 지적하는 것이 아니라면, 복수의 형태를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서에서 사용되는 경우 "포함한다(comprise)" 및/또는 "포함하는(comprising)"은 언급한 형상들, 숫자, 단계, 동작, 부재, 요소 및/또는 이들 그룹의 존재를 특정하는 것이며, 하나 이상의 다른 형상, 숫자, 단계, 동작, 부재, 요소 및/또는 그룹들의 존재 또는 부가를 배제하는 것이 아니다.
- [0023] 또한, 어떤 층이 다른 층 상에 형성 또는 배치되어 있다고 하는 경우에는, 이들 층 사이에 중간층이 형성되거나 배치될 수 있다. 이와 유사하게, 어떤 재료가 다른 재료에 인접한다고 하는 경우에도 이들 재료들 사이에 중간 재료가 있을 수 있다. 반대로, 층 또는 재료가 다른 층 또는 재료 상에 "바로" 또는 "직접" 형성되거나 배치된다고 하는 경우 또는 다른 층 또는 재료에 "바로" 또는 "직접" 인접 또는 접촉된다고 하는 경우에는, 이들 재료 또는 층들 사이에 중간 재료 또는 층이 없다는 것을 이해하여야 한다.
- [0024] 이하, 본 발명의 실시예들은 본 발명의 이상적인 실시예들을 개략적으로 도시하는 도면들을 참조하여 설명한다. 도면들에 있어서, 예를 들면, 부재들의 크기와 형상은 설명의 편의와 명확성을 위하여 과장될 수 있으며, 실제 구현시, 도시된 형상의 변형들이 예상될 수 있다. 따라서, 본 발명의 실시예는 본 명세서에 도시된 영역의 특정 형상에 제한된 것으로 해석되어서는 아니 된다.
- [0025] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 샘플 플레이트(100)의 구조를 나타내는 단면도이고, 도 2a는 샘플 플레이트(100)를 구성하는 매트릭스 층(120)의 TiO₂ 함유 나노 입자 구조체의 주사전자현미경(SEM, Scanning Electron Microscope; SEM) 이미지이고, 도 2b는 샘플 플레이트(100)를 구성하는 매트릭스 층(120)의 TiO₂ 함유 나노선 구조체의 주사전자현미경 이미지이며, 도 2c는 샘플 플레이트(100)를 구성하는 매트릭스 층(120)의 TiO₂ 함유 나노선 상에 TiO₂ 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체의 주사전자현미경 이미지이다.
- [0026] 도 1을 참조하면, 샘플 플레이트(100)는 기판(110), 매트릭스 층(120)을 포함할 수 있으며, 샘플 플레이트(130) 상에는 피분석 결정의 결정화로부터 형성되는 피분석 층(130)을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 기판(110)은 그 일부 또는 전부가 매트릭스 층(120)을 구성하는 금속 원자를 포함할 수 있다. 예를 들면, 매트릭스 층(120)이 금속 산화물을 포함하는 경우, 기판(110)의 표면 또는 전체가 상기 금속 산화물의 금속을 포함할 수 있으며, 기판(110)의 표면을 산화시켜 매트릭스 층(120)을 형성할 수 있다. 일 실시예에서, 기판(110)은 티타늄 플레이트(Ti plate)이며, 탄탈륨(Ta), 주석(Sn), 텅스텐(W), 아연(Zn), 바나듐(V), 루테튬(Ru), 이리듐(Ir), 철(Fe, 스테인레스 스틸) 또는 이들의 합금을 포함할 수 있다. 상기 티타늄(Ti) 산화물의 경우, 비교적 가격이 낮고, 공급이 원활하고, 광부식성이 없으며, 밴드갭이 3.2eV로 낮아 광분해 반응의 효율을 증가시키는 이점을 가진다. 그러나 기판(110)의 구성 원소가 전술한 재료들에 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 일 실시예에서, 매트릭스 층(120)은 나노 구조체들에 의하여 형성되며, 상기 나노 구조체는 나노 입자 구조체, 나노선 구조체 및 나노선 상에 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체(이하 '복합 나노 구조체') 중 적어도 어느 하나일 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 매트릭스 층(120)은 TiO₂ 함유 나노 입자 구조체, TiO₂ 함유 나노선 구조체 및 TiO₂ 함유 나노선 상에 TiO₂ 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성될 수 있다. 상기 나노 구조체들의 다공성 구조는 피분석 물질의 이온화 및 탈착을 촉진시켜 분자 크기가 작은

물질의 분석에 적합할 수 있다. 또한, 상기 나노 구조체들은 섬유상, 와이어상, 침상, 막대상, 기둥상, 또는 이들이 조합된 형상을 가질 수 있으며, 상기 나노 구조체들의 구조에 대한 상세한 설명은 도 2a 내지 도 2c를 참조하여 후술하기로 한다.

[0028] 말디톱 질량분석(Matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; MALDI-TOF MS)을 하기 위해서, 매트릭스 층(120) 상에 피분석 층(130)을 형성한다. 일반적으로 일 실시예에서는, 피분석 물질과 상기 나노 구조체들이 혼합된 용액을 타겟 금속판에 떨어트리거나, 상기 피분석 물질이 들어있는 용액을 매트릭스 층(120)이 형성된 기판(110) 상에 떨어뜨릴 수도 있다. 이후에 상기 피분석 물질 또는 상기 피분석 물질과 상기 나노 구조체들이 혼합된 용액을 건조시켜 피분석 층(130)을 형성한다.

[0029] 도 2a를 참조하면, 상기 TiO_2 함유 나노 입자의 지름은 16 nm 내지 25 nm일 수 있다. 또한, 말디톱 질량 분석에서 이온화 및 탈착에 효과적인 상기 TiO_2 함유 나노 입자의 지름은 시료의 종류, 용액의 성질, 금속의 종류, 나노 구조체의 종류에 따라 달라질 수 있다. 또한, 일 실시예에서, XRD 촬영 결과에 의하면 상기 TiO_2 함유 나노 입자는 루타일(rutile), 아나타제(anatase)의 결정 구조 또는 이들의 혼합된 결정 구조를 가질 수 있다.

[0030] 도 2b를 참조하면, 상기 함유 TiO_2 나노선은 그물망 구조를 가지고, 상기 그물망 구조의 기공의 평균 크기는 80 nm 내지 300 nm일 수 있으며, 상기 TiO_2 함유 나노선의 지름은 25 nm 내지 35 nm일 수 있다. 또한, 일 실시예에서, 상기 TiO_2 함유 나노선의 XRD 촬영 결과 티타늄(Ti) 피크를 관찰할 수 있고, 루타일(rutile), 아나타제(anatase), 층상(layered)의 결정 구조 또는 이들의 혼합된 결정 구조를 가질 수 있으며, 바람직하게는, 아나타제(anatase) 결정 구조를 가질 수 있다. 말디톱 질량 분석에서 샘플 플레이트(100)의 광촉매 작용은 전자-정공(hole)의 재결합 비율에 따라 달라지는데, 상기 재결합 비율은 계면에서의 전하 분리와 트래핑(trapping)의 영향을 받는다. 상기 TiO_2 함유 나노 입자 및 상기 TiO_2 함유 나노선은 다양한 결정 구조를 가지며, 상기 다양한 결정 구조들의 계면 덕분에 상기 전자-정공의 재결합 비율이 낮아짐으로써 샘플 플레이트(100)의 효율적인 광촉매 작용을 기대할 수 있다.

[0031] 도 2c를 참조하면, 상기 복합 나노 구조체는 상기 TiO_2 함유 나노선 상에 상기 TiO_2 함유 나노 입자들이 코팅되어 형성될 수 있다. 상기 복합 나노 구조체는 상기 피분석 물질과 접촉하는 면적이 넓은 이점을 가진다. 또한, 상기 TiO_2 나노 입자들은 상기 TiO_2 함유 나노선 상에 고르게 분포하거나 혹은 뭉침(aggregation)이 있을 수 있고, 상기 뭉침 현상은 상기 TiO_2 함유 나노 입자들의 크기나 농도에 따라 달라지며, 최적의 질량 피크를 얻기 위하여 상기 나노 입자들의 크기나 농도가 조절될 수 있다.

[0032] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 통풍 및 가성통풍 진단 키트(1000)의 구성도이다.

[0033] 도 3을 참조하면, 통풍 가성통풍 진단 키트(1000)는 샘플 플레이트(100), 관절액 분해부(200), 미세 여과부(300), 결정 용해부(400) 및 질량 피크 검출부(500)를 포함할 수 있으며, 말디톱 질량 분석기(1000a)를 이용하여 질량 분석을 수행할 수 있다.

[0034] 관절액 분해부(200)는 추출된 환자의 관절액을 분해 효소와 반응시켜 상기 관절액 내부의 물질을 분해할 수 있다. 상기 관절액은 높은 히알루론산(hyaluronic acid)의 농도로 인해 점성이 높아 정밀한 진단을 위해서는 상기 분해 효소에 의하여 상기 히알루론산 및 기타 체내 물질들이 분해되어야 한다. 일 실시예에서, 상기 분해 효소는 히알루로니다아제(hyaluronidase) 및 단백분해효소 케이(proteinase K)를 포함할 수 있다. 또한, 일 실시예에서 상기 관절액은 골관절염 혹은 류마티스성 관절염을 가지지 않은 환자로부터 추출될 수 있다.

[0035] 미세 여과부(300)는 상기 관절액 분해부로부터 제공된 상기 분해된 관절액을 미세 여과막을 이용하여 여과시킬 수 있다. 일 실시예에서, 상기 관절액을 상기 미세 여과막을 통하여 여과시키고 상기 여과된 용액을 상기 TiO_2 함유 나노 입자를 이용하여 질량 분석을 수행한 경우 질량 피크가 나타나지 않았으며, 이에 따라 상기 관절액 내부의 결정들은 상기 미세 여과막을 통과하지 못하고 상기 미세 여과막 상에 남는 것을 알 수 있으며, 상기 결정은 통풍의 원인이 되는 monosodium urate(MSU) 결정 및/또는 가성통풍의 원인이 되는 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD) 결정일 수 있다.

[0036] 결정 용해부(400)는 상기 미세여과부로부터 제공된 상기 미세 여과막 상에 남아있는 결정을 용매에 용해시킨다. 일 실시예에서는, 상기 결정이 monosodium urate(MSU)인 경우, 1M NaOH 용액으로 상기 결정을 60℃에서 30분간 용해시킨 경우 상기 결정이 모두 용해될 수 있다. 다른 실시예에서는, 상기 결정이 monosodium

urate(MSU)이고, 매트릭스 층(120)이 TiO_2 나노 입자로 형성되며, 상기 결정이 용해된 용액이 염기성인 경우, 질량 피크가 나타나지 않을 수 있다. 이는, 상기 결정과 매트릭스 층(120)의 전기적 반발 때문이며 자세한 사항은 이하 도 7을 참조하여 후술하기로 한다. 다른 실시예에서는, 상기 결정이 용해된 결정 용액을 산성 용액으로 중화시키는 단계를 더 포함할 수 있다. 예를 들면, 상기 결정이 용해된 용액에 HCl 용액을 첨가하여 pH를 7로 조절하는 경우 질량 피크가 나타날 수 있다. 또 다른 실시예에서는, 상기 결정이 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)이고, 상기 결정을 산성 용액, 예를 들면, 1M HCl 용액으로 60℃에서 30분간 용해시킨 경우 상기 결정이 모두 용해될 수 있다.

[0037] 질량 피크 검출부(500)는 상기 결정 용해부로부터 제공된 상기 결정이 용해된 용액을 상기 매트릭스 층(120)이 형성된 기관(110) 상에 떨어뜨리거나, 상기 결정이 용해된 용액을 상기 나노입자 구조체들과 혼합한 뒤 상기 기관(110) 상에 떨어뜨림으로써, 상기 샘플 플레이트 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 상기 피분석 결정을 포함하는 피분석 층(130)을 형성하고, 상기 말디톱 질량 분석을 수행하여 monosodium urate(MSU) 또는 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출한다. 상기 MSU의 검출부와 상기 CPPD의 검출부는 인접하거나 격리되어 있을 수 있으며, 상기 MSU의 검출과 상기 CPPD 검출은 둘 중 하나가 먼저 실행될 수 있고, 동시에 실행될 수도 있다. 본 발명의 일 실시예에서 질량 피크 검출의 순서는 변경될 수 있으며 특정 실시예에 한정되지 않는다.

[0038] 도 4a는 케토-엔올 상호변이성(keto-enol tautomerization)에 의한 이양성자 요산(diprotic uric acid)의 분리 및 요산수소 음이온(hydrogen urate anion)으로부터 monosodium urate(MSU)가 형성되는 것을 나타낸 그림이고, 도 4b는 pH변화에 의한 피로인산(pyrophosphoric acid)의 분해를 나타낸 그림이다.

[0039] 도 4를 참조하면, 이양성자 요산(diprotic uric acid)은 pK_a 5.75와 pK_a 10.3에 해당하는 이온화 상수를 가질 수 있다. 헨더슨-하셀바흐(Henderson-Hasselbalch) 식에 의하면, 상기 이양성자 요산은 주로 pH 7.4의 인체 내부의 생물학적 조건에서 단일 탈양자 상태(mono-deprotonated)로 존재하게 되고, 상기 단일 탈양자 상태의 요산은 나트륨(Na) 이온과 반응하여 monosodium urate(MSU)를 형성한다. 인체 내부에는 요산 분해 효소가 존재하지 않기 때문에, 푸린 대사의 산물인 요산 및 monosodium urate(MSU)가 상기 인체에 축적되어 농도가 높아지고, 그 결과 상기 monosodium urate(MSU)의 결정이 생성되어 통풍을 유발한다.

[0040] calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)은 아데노신삼인산(ATP)이 아데노신일인산(AMP)으로 변형되는 경우에 여분의 피로인산(pyrophosphate)에 의하여 생성될 수 있으며, 상기 CPPD는 막대 혹은 정사방형의 모양을 가지는 결정이며, 상기 가성통풍의 원인이 된다.

[0041] 이하에서는, 도 5 내지 도 10을 참조하여 본 발명의 일 실시예에 따른 통풍 및 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공 방법에 대하여 상세하게 설명한다. 이하, 본 발명의 실시예에 따른 상기 통풍 및 가성통풍의 진단 방법의 각 단계는, 자동화 장치이거나 자동화된 진단 시스템일 수 있다. 단, 설명의 편의를 위해, 상기 통풍 및 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공 방법의 수행 주체는 그 기재가 생략될 수 있다.

[0042] 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 통풍 및 가성통풍을 위한 정보 제공 방법의 흐름도이며, 도 6는 샘플 플레이트 상에 피분석 층(130)을 형성하는 단계(S300)의 흐름도이다.

[0043] 도 5를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에서는, 기관(110)이 제공될 수 있다(S100), 기관(110)은 매트릭스 층(120)을 구성하는 금속 원자를 포함할 수 있으며, 기관(110)의 표면 일부를 부식시켜 매트릭스 층(120)을 형성할 수 있다. 예를 들면, 기관(100)의 표면 또는 전체가 상기 금속 원자를 포함할 수 있으며, 상기 기관의 표면 일부를 부식시켜 매트릭스 층(120)을 형성할 수 있다.

[0044] 다음으로, 기관(110) 상에 매트릭스 층(120)을 형성한다(S200). 일 실시예에서는 매트릭스 층(120)은 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체로 형성될 수 있다. 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체를 포함하는 용액(이하 'TiO₂ 나노 입자 용액'이라 함)을 30분 이상 상기 피분석 결정이 용해되어 있는 피분석 결정 용액과 혼합할 수 있으며, 상기 혼합된 용액을 말디톱 타겟 플레이트에 점적하여 질량 분석을 수행할 수 있다.

[0045] 다른 실시예에서는, 매트릭스 층(120)이 상기 TiO_2 함유 나노입자 구조체로 형성될 수 있다. 먼저, 산화성 용매에 기관(110)을 침지시켜 기관(110)의 표면을 부식시킨다. 예를 들면, 상기 산화성 용매는 KOH, NaOH와 같은 알칼리 용액일 수 있다. 일 실시예에서는, 기관(110)을 상기 산화성 용매에 침지시키기 전에 기관(110)의 표면을 연마하는 단계가 추가적으로 수행될 수도 있다. 상기 산화성 용매의 농도는 2M 내지 20M일 수 있고, 예를 들면 10M일 수 있다. 이후, 세정액을 이용하여 기관(110)을 세정한다. 예를 들면, 상기 세정액은 알코올 또는

증류수를 포함할 수 있다. 일 실시예에서는, 나노 스케일의 기공을 갖는 다공성 구조에서 상기 산화성 용매를 완전히 치환시키기 위하여 기관(110)을 상기 세정액에 48시간 동안 침지시키고, 3번 이상의 세정 과정을 실행할 수 있다. 다음으로, 상기 세정 처리된 기관을 열처리할 수 있고, 일 실시예에서, 상기 열처리는 약 200 °C 내지 1,200 °C의 범위 내에서 수행될 수 있으며, 상기 열처리의 온도는 부식된 기관(110)의 표면 층이 소정 주파수의 광 조사에 대해 상기 광촉매 반응을 유도하기에 적합한 결정 구조나 미세 구조를 갖도록 조절될 수 있다. 또한, 일 실시예에서, 불활성 가스 분위기, 예를 들면, 아르곤(Ar) 가스 분위기에서, 약 600 °C에서 소정 시간, 예를 들면, 2 시간 동안 기관(110)을 열처리할 수 있다.

[0046] 또 다른 실시예에서는, 매트릭스 층(120)이 상기 TiO_2 함유 나노선 상에 상기 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체로 형성될 수 있다. 일 실시예에서는, 상기 TiO_2 함유 나노선을 포함하고 있는 매트릭스 층(120) 위에 상기 TiO_2 나노 입자 용액을 적하시켜 형성할 수 있다. 또한, 다른 실시예에서는, 상기 TiO_2 나노 입자 용액과 상기 피분석 결정 용액을 미리 혼합하고, 상기 혼합된 용액을 TiO_2 함유 나노선 구조체로 형성된 매트릭스 층(120) 상에 적하시켜 형성할 수 있다.

[0047] 샘플 플레이트(100)가 제공된 다음, 샘플 플레이트(100) 상에 피분석 층(130)을 형성한다(S300). 이하에서는 피분석 층(130)을 형성하는 단계를 도 6을 참조하여 상세히 설명한다. 일 실시예에서는, 환자의 관절액을 추출하여 상기 관절액을 특정 효소와 반응시켜 상기 관절액 내부의 물질을 분해하고(S301), 상기 분해된 관절액이 미세 여과막을 통하여 여과되고(S302), 상기 미세 여과막 상에 남아있는 결정을 용매에 용해시킨다(S303). 상기 피분석 층(130)을 형성하는 단계에 대한 설명은 모순되지 않는 한 전술한 개시 사항을 참조할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서, 상기 미세 여과막은 0.1 μm 기공 크기(pore size)의 폴리테트라플루오르에틸렌(polytetrafluoroethylene; PTFE) 멤브레인 필터(membrane filter)가 사용될 수 있다.

[0048] 상기 결정을 용매에 용해시키는 경우(S303), 일 실시예에서, 상기 용매는 상기 monosodium urate(MSU)를 검출하는 경우 나트륨 이온(Na^+)을 가지는 염기성 용액을 이용하고, 상기 용해된 결정을 산성 용액으로 중화시키는 단계를 더 포함한다. 상기 염기성 용액에 용해된 결정으로 피분석 층(130)을 형성하고, 상기 TiO_2 함유 나노 입자로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용하여 말디툼 질량 분석을 수행하는 경우, 질량 분석 피크가 관찰되지 않음을 알 수 있다.

[0049] 도 7은 상기 TiO_2 함유 나노 입자의 제타 전위(zeta-potential)를 나타낸 그래프이다.

[0050] 도 7을 참조하면, 강한 염기 조건에서 상기 TiO_2 함유 나노 입자의 제타 전위가 음의 값을 가지는 것을 볼 수 있다. 일 실시예에서, monosodium urate(MSU) 결정이 NaOH 용액에 의하여 용해된 경우 -22.80mV의 값을 가지고, 상기 용해된 monosodium urate(MSU) 결정은 pH가 10.3이상인 조건에서 음의 전하를 가지게 되므로 상기 TiO_2 함유 나노 입자와 상기 monosodium urate(MSU)사이에 전기적 반발이 일어날 수 있다. 반면에, 상기 염기성 용액에 용해된 monosodium urate(MSU)결정에 산성 용액을 첨가하여 중화시키는 경우 상기 TiO_2 함유 나노 입자를 이용하여 말디툼 질량 분석을 하면 질량 피크가 관찰될 수 있다.

[0051] 다른 실시예에서는, calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD) 결정이 산성 용액, 예를 들면 HCl 용액에 의하여 용해되고, 상기 복합 나노 구조체를 이용하여 질량 분석을 수행하는 경우에는 질량 피크가 존재할 수 있다. 도 7에서 보듯이, 상기 TiO_2 함유 나노 입자는 강한 산성 조건에서 양의 제타 전위를 가지고, 예를 들면, 상기 HCl 용액에 의해 용해된 경우 +31.79mV의 제타 전위를 가진다. 그리고 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD) 결정은 pH 2.10 이하의 조건에서 음의 전하를 가진다. 따라서 상기 TiO_2 함유 나노 입자와 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD) 결정 사이에 전기적 인력이 형성될 수 있다. 이와 같이, 상기 TiO_2 함유 나노 입자의 pH에 따라 제타 전위가 변화하는 특성에 기반하여, 상기 결정을 용해시키는 용매의 종류와 상기 말디툼 질량 분석에서 관찰되는 질량 피크를 분석한다면, 전문의의 노력이 필요하지 않고, 용이하고 상용화 가능한 통풍 및 가성통풍의 진단 키트 및 이를 이용한 진단 방법이 제공될 수 있다.

[0052] 다시 도 6을 참조하면, 상기 결정이 용해된 결정 용액을 샘플 플레이트(100) 상에서 결정화시킨다(S304). 이후, 상기 결정 용액이 샘플 플레이트(100) 상에서 결정화되어 피분석 층(130)이 형성된 이후, 상기 말디툼 질량 분석을 하여 상기 monosodium urate(MSU) 또는 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출한다(S400).

- [0053] 도 8a는 매트릭스 층(120)의 종류에 따른 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD) 질량 분석 그래프이며, 도 8b는 매트릭스 층(120)의 종류에 따른 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 농도와 질량 피크의 크기 상관 관계를 나타낸 그래프이다.
- [0054] 일 실시예에서는, 도 8a와 도 8b 모두에서, 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용하여 그래프 a를 얻고, 상기 TiO_2 함유 나노선 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용하여 그래프 b를 얻었으며, 상기 TiO_2 함유 나노선 상에 TiO_2 나노 입자들이 코팅된 복합 나노 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용하여 그래프 c를 얻을 수 있다.
- [0055] 도 8a를 참조하면, 그래프 a의 경우 질량 피크가 관찰되지 않고, 그래프 b와 그래프 c의 경우 질량 피크가 관찰되며, 특히 상기 그래프 c에서 151.22의 높은 S/N비를 얻을 수 있다. 다른 실시예에서는, 상기 TiO_2 함유 나노선으로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용하는 경우, 상기 TiO_2 함유 나노선의 형성 과정에서 상기 산화성 용액으로 KOH가 쓰임으로 potassium adduct 질량 분석이 수행될 수 있다. 그러나, 본원 발명에서 상기 산화성 용액은 특정 용액으로 한정되지 아니하며, 염기성 용액이라면 모두 적용 가능하다. 따라서 질량 분석은 potassium adduct로 제한되지 아니한다.
- [0056] 도 8b를 참조하면, 다른 실시예에서, 그래프 a에서는 질량 분석 피크가 관찰되지 않고, 그래프 b에서는 0.94의 선형 상수(linearity factor, R^2)를 가지고, 그래프 c에서는 0.96의 선형 상수를 가질 수 있다. 따라서, 상기 TiO_2 함유 나노선 구조체로 형성된 매트릭스 층(120) 혹은 상기 복합 나노 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)에 의한 질량 분석에서 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크가 검출된 경우 상기 질량 피크의 크기는 농도를 검출하는데 이용될 수 있다. 또한, 바람직하게는, 상기 복합 나노 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용할 수 있다. 이는 상기 복합 나노 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)의 경우 상기 TiO_2 함유 나노선 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)에 비하여 표면적이 넓어 상기 피분석 결정을 흡착하기에 용이하기 때문이다.
- [0057] 도 9a는 매트릭스 층(120)의 종류에 따른 상기 monosodium urate(MSU) 질량 분석 피크 그래프이며, 도 9b는 매트릭스 층(120)의 종류에 따른 상기 monosodium urate(MSU)의 농도와 질량 피크의 상관 관계를 나타낸 그래프이다. 일 실시예에서는, 도 9a와 도 9b 모두에서, 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용하여 그래프 a를 얻고, 상기 TiO_2 함유 나노선 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용하여 그래프 b를 얻었으며, 상기 복합 나노 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용하여 그래프 c를 얻을 수 있다.
- [0058] 도 9a를 참조하면, 그래프 a의 경우 sodium adduct의 질량 피크가 존재할 수 있으며, 그래프 b와 그래프 c의 경우 상기 sodium adduct의 질량 피크 및 potassium adduct의 질량 피크가 추가로 존재할 수 있다. 이는, 상기 sodium adduct의 경우 상기 monosodium urate(MSU) 결정이 NaOH 용액에 용해되기 때문이고, 상기 용매는 NaOH에 한정되지 않으며 염기성 용액이라면 모두 적용 가능하다. 또한, 상기 potassium adduct의 질량 피크에 대한 설명은 전술한 개시 사항을 참조할 수 있다. 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 분석은 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체를 이용하는 그래프 a에서 가장 큰 S/N비를 가질 수 있다.
- [0059] 상기 말디툼 질량 분석에서, 매트릭스 층(120)에 묶여 있는 분석 대상 시료가 탈착되기까지 걸리는 시간은 상기 분석 대상 시료의 흡착 위치에 따라 다르고, 상기 흡착 위치는 상기 분석 대상 시료의 질량에 따라 다르다. 따라서, 이온의 형성과 상기 이온이 추출될 때까지의 사이 시간 간격이 긴 것이 바람직하며, 일 실시예에서 소정의 상기 시간 간격은 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체를 이용하는 경우에는 충분할 수 있고, 상기 TiO_2 함유 나노선 구조체 및 상기 복합 나노 구조체를 이용하는 경우에는 불충분할 수 있다. 상기 소정 시간 간격이 충분하지 않은 경우 상기 말디툼 질량 분석의 해상도가 떨어지기 때문에, 일 실시예에서는, TiO_2 함유 나노 입자의 S/N 비가 가장 클 수 있다.
- [0060] 도 9b를 참조하면, 다른 실시예에서, 그래프 a에서는 0.99의 선형 상수(linearity factor, R^2)를 가지고, 그래프 b에서는 0.98의 선형 상수를 가지며, 그래프 c에서는 0.95의 선형 상수를 가질 수 있다. 따라서, 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, TiO_2 함유 나노선 구조체 및 상기 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성된 매트릭스 층(120)에 의한 질량 분석에서 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크가 검출된 경우 상기 질량 피크의

크기는 농도를 검출하는데 이용될 수 있다. 또한, 바람직하게는 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체로 형성된 매트릭스 층(120)을 이용할 수 있다.

[0061] 도 10은 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 통풍 및 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공 방법을 나타낸 흐름도이다. 기관이 제공되고(S100), 상기 기관 상에 형성된 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체, 상기 TiO_2 함유 나노선 구조체 및 상기 복합 나노 구조체 중 적어도 어느 하나로 형성된 매트릭스 층(120)을 포함하는 샘플 플레이트(100)를 제공하고(S200), 샘플 플레이트(100) 상에 환자의 관절액으로부터 추출된 상기 피분석 결정을 포함하는 피분석 층(130)을 형성하며(S300), 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크를 검출한다(S400). 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크가 존재하는 경우에는, 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 농도를 분석하며(S500), 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크가 존재하지 않는 경우에는, 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크를 검출하는 단계를 더 포함한다(S600). 이후, 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크가 존재하는 경우에는, 상기 monosodium urate(MSU)의 농도를 검출하고(S700), 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크도 존재하지 않는 경우에는 통풍 및 가성통풍이 없다는 진단 정보를 얻을 수 있다. 전술한 실시예에 따르면, 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)를 먼저 검출하여 상기 가성통풍의 해당 여부를 확인할 수 있고, 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크의 검출은 선택적으로 실시될 수 있다. 이에 따라, 통풍 또는 가성통풍의 구분이 문제되는 경우, 상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크를 검출하는 추가적인 단계 없이 상기 가성통풍인지 여부에 대한 신속하고 정확한 진단이 가능하며, 전문의의 관찰이 요구되지 않고, 용이하며, 상용화 가능한 통풍 및 가성통풍의 진단을 위한 정보 제공이 가능하다.

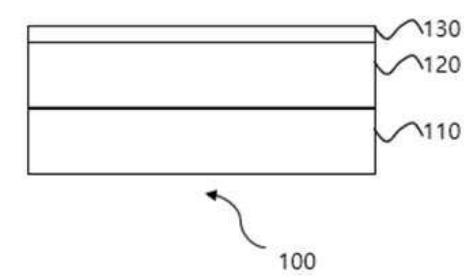
[0062] 다른 실시예에서, 상기 피분석 층을 형성하는 단계(S300)에서 산성 용매를 이용하고, 매트릭스 층(120)이 상기 TiO_2 함유 나노 입자 구조체로 형성된 경우에는, 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)의 질량 피크가 검출되지 않더라도 상기 calcium pyrophosphate dihydrate(CPPD)를 포함할 수 있다. 따라서, 전술한 경우에는, 상기 TiO_2 함유 나노선 구조체 및 상기 복합 나노 구조체를 이용한 질량 분석이 추가적으로 요구될 수 있다.

부호의 설명

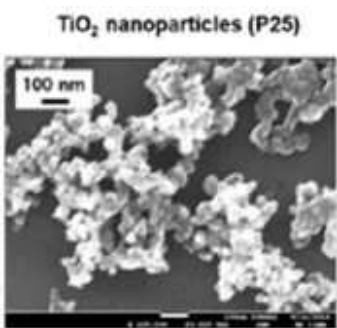
[0063] 100: 샘플 플레이트
110: 기관
120: 매트릭스 층
130: 피분석 층
1000: 통풍 및 가성통풍 진단 키트
200: 관절액 분해부
300: 미세 여과부
400: 결정 용해부
500: 질량 피크 검출부
1000a: 말디툼(Matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight; MALDI-TOF) 질량 분석기

도면

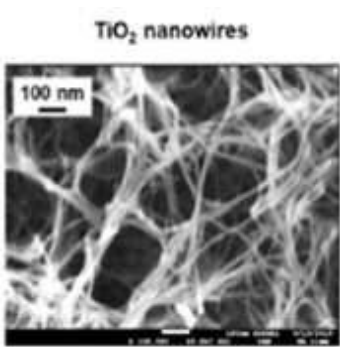
도면1



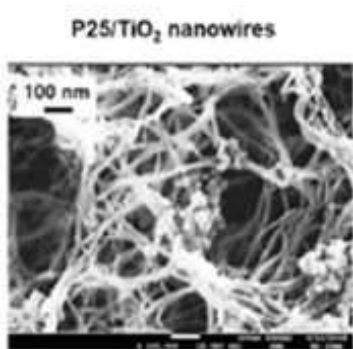
도면2a



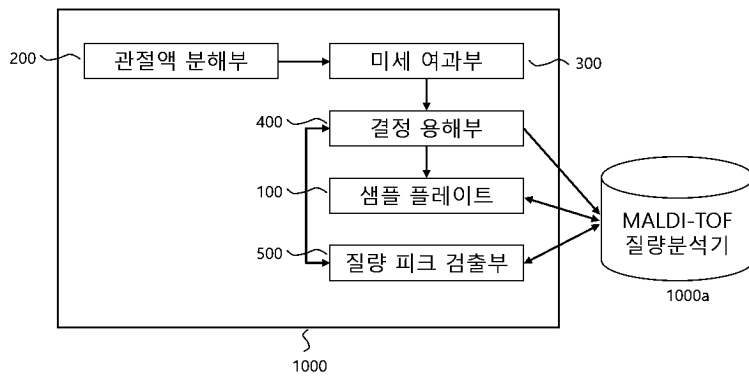
도면2b



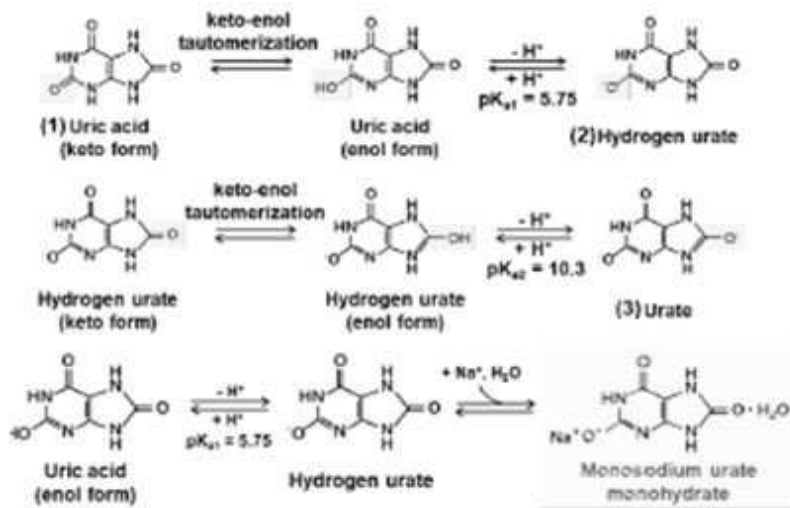
도면2c



도면3



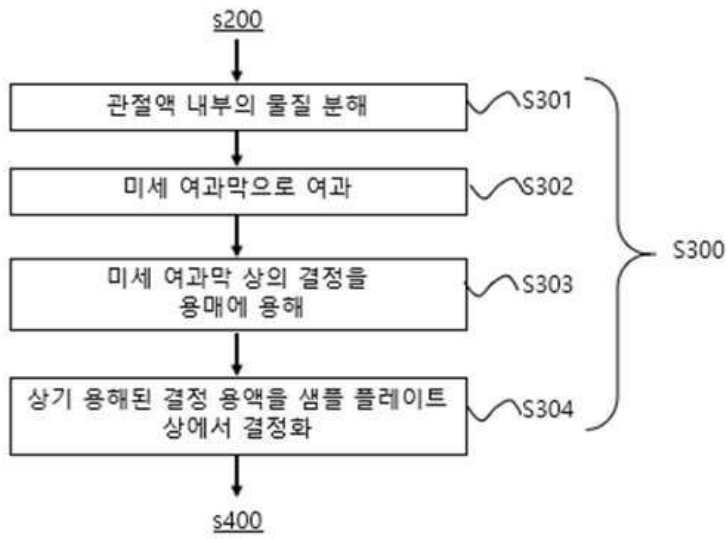
도면4



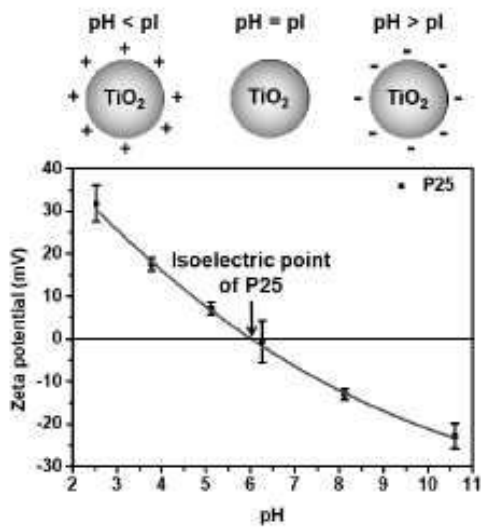
도면5



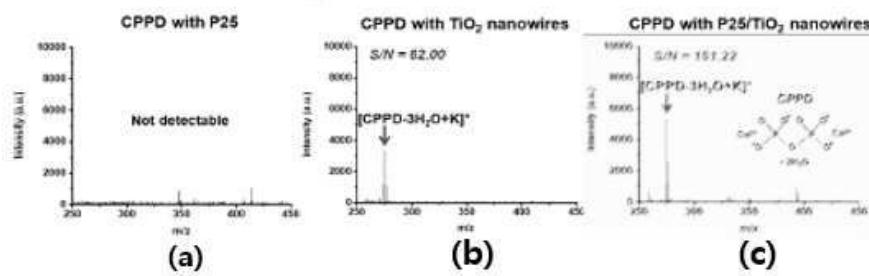
도면6



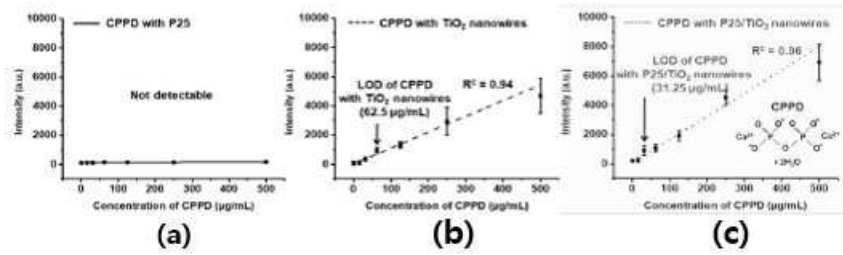
도면7



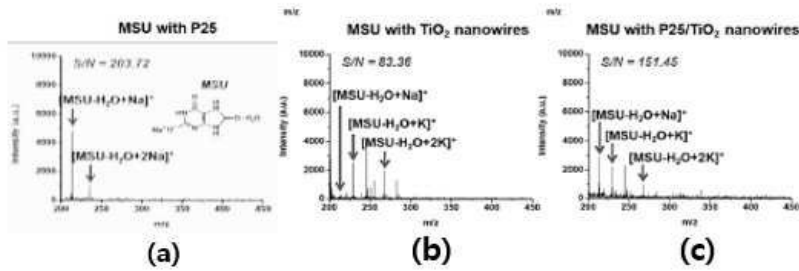
도면8a



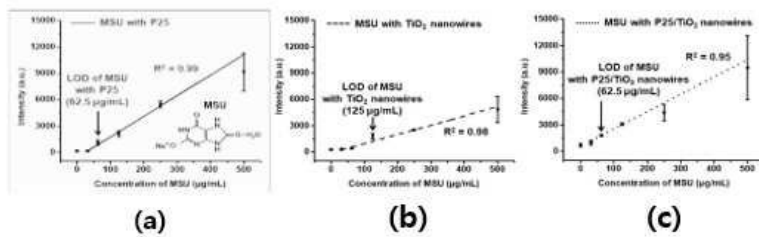
도면8b



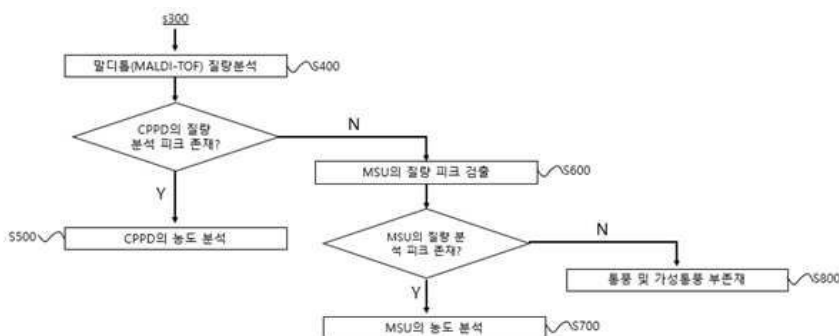
도면9a



도면9b



도면10



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 15

【변경전】

제 14 항에 있어서,

상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크가 검출되는 경우,

상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크의 크기로부터 상기 monosodium urate(MSU)의 농도를 분석하는 단계
를 더 포함하는 정보 제공 방법.

【변경후】

제 14 항에 있어서,

상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크가 검출되는 경우,

상기 monosodium urate(MSU)의 질량 피크의 크기로부터 상기 monosodium urate(MSU)의 농도를 분석하는 단계
를 더 포함하는 정보 제공 방법.

【직권보정 2】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 3

【변경전】

제 1 항에 있어서,

상기 TiO_2 나노선은, 티타늄(Ti) 평판을 KOH 용액에 침지시켜 상기 티타늄 평면의 표면을 부식시킨 후 상기 표면을 열처리하여 형성되는 통풍 및 가성 통풍 진단 키트.

【변경후】

제 1 항에 있어서,

상기 TiO_2 나노선은, 티타늄(Ti) 평판을 KOH 용액에 침지시켜 상기 티타늄 평판의 표면을 부식시킨 후 상기 표면을 열처리하여 형성되는 통풍 및 가성 통풍 진단 키트.