

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 8월 6일 (06.08.2020)



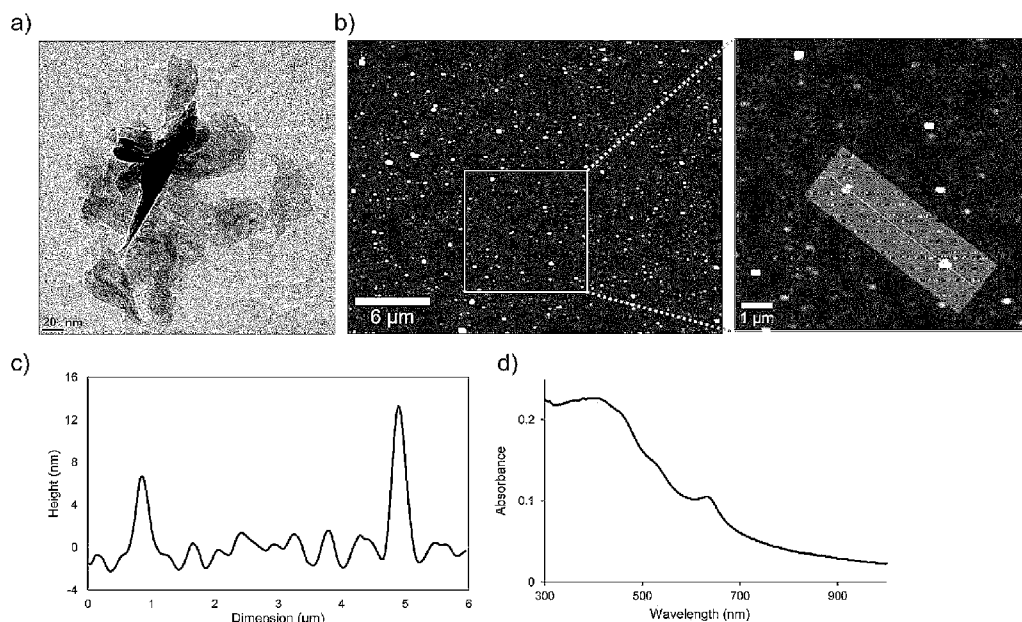
(10) 국제공개번호
WO 2020/159088 A1

- (51) 국제특허분류: *G01N 33/68* (2006.01) *H01J 49/04* (2006.01)
G01N 27/64 (2006.01) *G01N 27/62* (2006.01)
H01J 49/16 (2006.01) *G01N 33/49* (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/018683
- (22) 국제출원일: 2019년 12월 30일 (30.12.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2019-0011493 2019년 1월 29일 (29.01.2019) KR
10-2019-0098646 2019년 8월 13일 (13.08.2019) KR
- (71) 출원인: 한국표준과학연구원 (KOREA RESEARCH INSTITUTE OF STANDARDS AND SCIENCE) [KR/KR]; 34113 대전시 유성구 가정로 267, Daejeon (KR).
- (72) 발명자: 이태걸 (LEE, Tae Geol); 34130 대전시 유성구 대덕대로541번길 68, 103동 505호, Daejeon (KR). 나희경 (NA, Hee-Kyung); 34049 대전시 유성구 엑스포로 448, 406동 606호, Daejeon (KR). 조선희 (JOH, Sunho); 35211 대전시 서구 월평북로 11, 201동 915호, Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 플러스 (PLUS INTERNATIONAL IP LAW FIRM); 35209 대전시 서구 한밭대로 809, 10층, Daejeon (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: METHOD FOR MEASURING ORGANIC MATTER IN BLOOD BY USING LDI-MS, AND DEVICE THEREFOR

(54) 발명의 명칭: LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물 측정 방법 및 이를 위한 장치

[도1]



(57) Abstract: A method for detecting organic matter in the blood by using LDI-MS, and a device therefor, according to the present invention, are not complicated when performing measurement and do not require the passage of many steps, and facilitate, in real time, measurement and result collection through rapid analysis. In addition, the present invention enables precise analysis even at a lower sample concentration so as to have excellent sensitivity and accuracy, enables the detection of various types of organic matter at the same time and has high throughput, and enables the structural analysis of organic matter, having undergone metabolic processes in the blood, and quantitative analysis thereof to be accurately performed without interference from a matrix.

[다음 쪽 계속]

WO 2020/159088 A1

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

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK,
MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(57) 요약서: 본 발명에 따른 LDI-MS 를 이용한 혈액 내 유기물의 검출 방법 및 이를 위한 장치는 측정 시 복잡하지
않고 많은 측정 단계를 거칠 필요가 없으며, 빠른 분석으로 실시간으로 측정 및 결과 수집이 용이한 효과가 있다. 또한
보다 낮은 샘플의 농도에서도 정밀한 분석이 가능하여 민감성 및 정밀성이 우수하고, 동시에 다양한 종류의 유기물을
감지할 수 있는 것은 물론 높은 처리량을 가지며, 매트릭스에 의한 간섭 없이 혈액에서 대사 과정을 거친 유기물의
구조 분석 및 이의 정량적 분석이 정확하게 수행될 수 있는 효과가 있다.

명세서

발명의 명칭: LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물 측정 방법 및 이를 위한 장치

기술분야

- [1] 본 발명은 혈액 내 유기물의 검출 방법 및 혈액 내 유기물의 검출을 위한 장치에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 치료약물농도감시(Therapeutic drug monitoring, TDM)는 지정된 시간 간격으로 환자의 혈액 내의 약물 및 이들의 대사물질의 농도를 측정하는 것이다. 치료약물농도감시를 통해 개인별로 약물의 투여량이 조절될 수 있으며, 따라서 개인별 약물을 통한 치료 효과를 극대화시킬 수 있다. 혈액 농도와 치료 효과 사이의 관계를 포함하는 특징을 갖는 치료약물농도감시는 매우 중요하다.
- [3] 면역 억제 약물 등과 같은 다양한 종류의 약물이 있으며, 일 예로, 심장 활성화 약품에 관한 것이 있다. 치료약물농도감시를 통해 약력학(Pharmacokinetics), 협소 치료 창(narrow therapeutic window)에서의 개별 변동(Inter-individual variation)을 모니터링할 수 있다.
- [4] 면역 억제 약물은 기관 이식 후 환자에 대한 기관 거부 예방을 위한 면역 시스템의 억제를 유도하기 위해 의사들에 의해 처방될 수 있다. 약물의 효과를 유발하면서 부작용을 방지하기 위해 치료 창에 적절한 농도로 약물을 투여하는 것이 중요하다. 이들의 좁은 치료 창으로 인해, 면역 억제 약물이 정확한 농도로 주입될 필요가 있으며, 구체적으로, 주입 전 1 회 또는 2 회 시에 환자의 혈액에서 약물을 측정할 필요가 있다. 또한 면역 억제 약물은 약물 대사(Drug metabolism) 및 약물동력학(Pharmacokinetics)의 개인 간 차이로 인해 치료약물농도감시를 필요로 한다. 환자의 혈액에서 약물의 검출을 위한 가장 일반적으로 사용되는 종래의 방법은 액체 크로마토그래피-질량 분석법(Liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)이다. 그러나 LC-MS는 다수의 실험 단계들을 필요로 하고 복잡하며, 시간이 많이 소요되기 때문에 실시간으로 측정이 어렵고 즉각적으로 측정 데이터를 수집하는 것이 용이하지 않다. 따라서 임상 샘플에서 면역 억제 약물의 빠른 결과 수집이 요구되며, 정확성, 민감성의 향상은 물론, 직접적이고 높은 처리량 검출이 가능한 치료약물농도감시에 대한 연구가 필요하다.

[5] [선행기술문헌]

[6] [특허문헌]

[7] KR10-2018-0068280A (2018.06.21)

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명의 목적은 측정 시 복잡하지 않고 많은 측정 단계를 거칠 필요가 없으며,

빠른 분석으로 실시간으로 측정 및 결과 수집이 용이한 LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물의 검출 방법 및 이를 위한 장치를 제공하는 것이다.

- [9] 본 발명의 다른 목적은 보다 낮은 샘플의 농도에서도 정밀한 분석이 가능하여 민감성 및 정밀성이 우수하고, 동시에 다양한 종류의 유기물을 정밀하게 감지할 수 있는 것은 물론 높은 처리량을 가지며, 매트릭스에 의한 간섭 없이 혈액에서 대사 과정을 거친 유기물의 구조 분석 및 이의 정량적 분석이 정확하게 수행될 수 있는 LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물의 검출 방법 및 이를 위한 장치를 제공하는 것이다.

과제 해결 수단

- [10] 본 발명에 따른 LDI-MS를 이용한 유기물의 검출 방법은, 기관층; 및 상기 기관층 상에 적층되는 이황화텅스텐층;을 포함하는 LDI-MS 시료 안착 어레이의 이황화텅스텐층 상에 혈액을 포함하는 시료를 안착하는 시료 로딩 단계 및 상기 LDI-MS 시료 안착 어레이 상에 안착된 시료를 LDI-MS로 분석하여 시료 내 타겟 물질을 검출하는 분석 단계를 포함한다.
- [11] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 분석 단계는 타겟 물질의 함량을 계산하는 정량화 단계를 포함할 수 있다.
- [12] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 정량화 단계는 이황화텅스텐층에 존재하는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 농도를 얻는 제1 정량화 단계를 포함할 수 있으며, 상기 제1 정량화 단계에서 얻은 이황화텅스텐 나노박편 입자의 농도로부터 타겟 물질의 함량을 결정할 수 있다.
- [13] 본 발명의 일 예에 따른 LDI-MS를 이용한 시료 분석 방법은, 상기 시료 로딩 단계 이전에, 액상 시료에 내부 표준물질을 첨가하는 단계를 포함할 수 있으며, 상기 정량화 단계는 LDI-MS 스펙트럼에서 타겟 물질에 해당하는 피크강도 및 내부 표준물질에 해당하는 피크강도로부터 타겟 물질의 함량을 결정하는 제2 정량화 단계를 포함할 수 있다.
- [14] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 정량화 단계는 보정 스펙트럼을 얻는 단계를 포함하여, 상기 보정 스펙트럼에서 결정 계수(Coefficient of determination)가 0.9 이상일 수 있다.
- [15] 본 발명의 일 예에 따른 LDI-MS를 이용한 시료 분석 방법은, 검출 한계(Limit of detection; LoD)가 $0.01 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ (타겟 물질/혈액) 이하일 수 있다.
- [16] 본 발명에 따른 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이는, 기관층; 및 상기 기관층 상에 적층되되, 혈액을 포함하는 시료가 로딩되도록 하는 이황화텅스텐층;을 포함한다.
- [17] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐층은 상기 기관층에 접하는 다수의 이황화텅스텐 나노박편 입자들을 포함할 수 있다.
- [18] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐 나노박편 입자는 평균두께가 2 내지 15 nm일 수 있다.

- [19] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐층은 이황화텅스텐 나노박편 입자가 단위 면적당 0.0001 내지 100 mg/cm²로 존재할 수 있다.
- [20] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐층은 이황화텅스텐 나노박편 입자들이 분산된 수분산 용액으로부터 상기 기관층 위에 스포팅(Spotting)된 후 물이 증발되어 제조된 것일 수 있다.
- [21] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 수분산 용액은 이황화텅스텐 나노박편 입자를 0.001 내지 10 중량%로 포함할 수 있다.
- [22] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 수분산 용액은 0.001 내지 100 μ l 함량(25°C, 1 atm)으로 동일 영역에 2 회 이상 스포팅되는 것일 수 있다.
- [23] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐층의 평균두께는 0.001 내지 500 μ m일 수 있다.
- [24] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐 나노박편 입자는 하기 식 1을 만족할 수 있다. 하기 식 1에서, R_1 은 이황화텅스텐층의 임의 선택된 $2 \times 2 \mu$ m의 영역에서 측정된 라만 스펙트럼에서 340 내지 380 cm⁻¹ 범위의 피크면적이며, R_2 는 상기 라만 스펙트럼에서 400 내지 440 cm⁻¹ 범위의 피크면적이다.
- [25] 식 1 : $R_1/R_2 \geq 1.3$
- [26] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐 나노박편 입자는 이황화텅스텐(Tungsten disulfide; WS₂) 벌크 분말로부터 리튬-인터칼레이트(Lithium-intercalated) 화학적 박리 방법에 의해 제조된 것일 수 있다.
- [27] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 기관층은 알루미늄, 구리, 철, 니켈, 아연, 크롬, 은 및 실리콘(SiO₂) 등에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함할 수 있다.
- [28] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 시료 안착 어레이는 혈액 내 주입되는 타겟 물질의 정성 또는 정량 분석을 위한 용도로 사용될 수 있다.
- [29] 본 발명은 상기 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이를 포함하는 LDI-MS용 시료 안착 키트를 제공할 수 있다.
- [30] 본 발명은 상기 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이를 포함하는 레이저 탈착 이온화 질량 분석 장치를 제공할 수 있다.

발명의 효과

- [31] 본 발명에 따른 LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물의 검출 방법 및 이를 위한 장치는 측정 시 복잡하지 않고 많은 측정 단계를 거칠 필요가 없으며, 빠른 분석으로 실시간으로 측정 및 결과 수집이 용이한 효과가 있다.
- [32] 본 발명에 따른 LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물의 검출 방법 및 이를 위한 장치는 보다 낮은 샘플의 농도에서도 정밀한 분석이 가능하여 민감성 및 정밀성이 우수하고, 동시에 다양한 종류의 유기물의 감지가 가능한 것은 물론 높은 처리량을 가지며, 매트릭스에 의한 간섭 없이 혈액에서 유기물의 구조 분석 및 이의 정량적 분석이 정확하게 수행될 수 있는 효과가 있다.

- [33] 본 발명에서 명시적으로 언급되지 않은 효과라 하더라도, 본 발명의 기술적 특징에 의해 기대되는 명세서에서 기재된 효과 및 그 내재적인 효과는 본 발명의 명세서에 기재된 것과 같이 취급된다.

도면의 간단한 설명

- [34] 도 1에서, a)는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 투과전자현미경(Transmission electron microscope; TEM) 이미지이고, b) 및 c)는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 원자간력현미경(Atomic force microscope; AFM) 이미지이며, d)는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 UV-Vis 스펙트럼이다.
- [35] 도 2에서, a)는 웨이퍼 상의 이황화텅스텐층에 대한 라만맵핑(Raman mapping) 결과를 나타낸 것이고, b)는 a)의 라만맵핑에서 선택된 영역($2 \times 2 \mu\text{m}$)으로부터 추출된 라만 스펙트럼이며, c)는 350 cm^{-1} (red) 및 420 cm^{-1} (green)의 파장에서의 피크를 갖는 라만맵핑 결과를 나타낸 것이고, d)는 라만맵핑으로부터 red 영역(좌측 스펙트럼), green 영역(중앙 스펙트럼) 및 yellow 영역(우측 스펙트럼)으로부터 추출된 라만 스펙트럼이다.
- [36] 도 3에서, a)는 이황화텅스텐 분산액의 스포팅 수에 따른 LDI-MS 분석을 이용한 CsA의 강도를 나타낸 것이며, b)는 LDI-MS 분석을 이용한 CsA의 강도와 스포팅의 수 사이의 관계를 나타낸 그래프이다.
- [37] 도 4에서, a)는 CsA와 그 내부 표준물질인 CsD의 구조를 나타낸 것이고, b)는 CsA($30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)와 CsD($30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)의 LDI-MS 분석 결과를 나타낸 것이며, c)는 CsA의 다양한 농도에 따른 전혈 추출물에서 LDI-MS 분석으로 얻은 보정 곡선 결과를 나타낸 것이다.
- [38] 도 5에서, a)는 TAC와 그 내부 표준물질인 ASC의 구조를 나타낸 것이고, b)는 TAC($30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)와 ASC($30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)의 LDI-MS 분석 결과를 나타낸 것이며, c)는 TAC의 다양한 농도에 따른 전혈 추출물에서 LDI-MS 분석으로 얻은 보정 곡선 결과를 나타낸 것이다.
- [39] 도 6에서, a)는 SIR 및 EVR의 구조를 나타낸 것이고, b)는 SIR($30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)과 내부 표준물질($30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)의 LDI-MS 분석 결과를 나타낸 것이며, c)는 EVR($30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)과 내부 표준물질($30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)의 LDI-MS 분석 결과를 나타낸 것이고, d)는 EVR의 다양한 농도에 따른 전혈 추출물에서 LDI-MS 분석으로 얻은 보정 곡선 결과를 나타낸 것이다.
- [40] 도 7에서, a)는 이온화를 위해 α -시아노-4-하이드록시신나믹산(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid; CHCA) 매트릭스를 사용하여 CsA의 정량 범위 (0.0075 - $30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)에 대한 측정 결과이고, b)는 상기 매트릭스를 사용하여 TAC에 대한 선형 정량의 범위 (0.0015 - $30 \text{ pmol}/\mu\text{l}$)에 대한 측정 결과이며, c)는 CHCA 처리된 샘플의 저분자량 영역 MALDI-MS 스펙트럼이며, d)는 본 발명에 따른 저 질량 영역 LDI-MS 스펙트럼이다.

- [41] 도 8은 실험예 3의 LDI-MS의 경우와 종래 LC-MS의 상관 관계를 나타낸 것으로, WS_2 기반 LDI-MS 분석(y-축) 및 HPLC-ESI-MS/MS (x-축)에 의한 세 종류의 면역억제제, CsA (a), TAC (b) 및 EVR (c)의 정량 결과 비교 분석한 데이터이다.
- [42] 도 9는 CsA와 TAC가 주입된 혈액 환자 샘플 총 80 개를 WS_2 LDI-MS로 분석한 측정값과 LC-MS/MS로 분석한 측정값에 대한 Passing-Bablok regression analyses 데이터를 나타낸 것이다. 구체적으로, 도 9에서 a)는 CsA가 주입된 혈액 환자 샘플의 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS의 비교 측정값에 대한 Passing-Bablok regression analyses(dashed lines represent 95% confidence intervals) 데이터이며, b)는 TAC가 주입된 혈액 환자 샘플의 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS의 비교 측정값에 대한 Passing-Bablok regression analyses(dashed lines represent 95% confidence intervals) 데이터이다. 또한 c)는 CsA가 주입된 혈액 환자 샘플의 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS의 비교 측정값에 대한 Bland-Altman plots 데이터이며, d)는 TAC가 주입된 혈액 환자 샘플의 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS의 비교 측정값에 대한 Bland-Altman plots 데이터이다.

발명의 실시를 위한 형태

- [43] 이하 첨부한 도면들을 참조하여 본 발명에 따른 LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물의 검출 방법 및 이를 위한 장치를 상세히 설명한다.
- [44] 본 명세서에 기재되어 있는 도면은 당업자에게 본 발명의 사상이 충분히 전달될 수 있도록 하기 위해 예로서 제공되는 것이다. 따라서 본 발명은 제시되는 도면들에 한정되지 않고 다른 형태로 구체화될 수도 있으며, 상기 도면들은 본 발명의 사상을 명확히 하기 위해 과장되어 도시될 수 있다.
- [45] 본 명세서에서 사용되는 기술 용어 및 과학 용어에 있어서 다른 정의가 없다면, 이 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 통상적으로 이해하고 있는 의미를 가지며, 하기의 설명 및 첨부 도면에서 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 설명은 생략한다.
- [46] 본 명세서에서 사용되는 용어의 단수 형태는 특별한 지시가 없는 한 복수 형태도 포함하는 것으로 해석될 수 있다.
- [47] 본 명세서에서 언급되는 s1, s2, s3, ...; a1, a2, a3, ...; b1, b2, b3, ...; a, b, c, ...; 등의 각 단계를 지칭하는 용어 자체는 어떠한 단계, 수단 등을 지칭하기 위해 사용되는 것일 뿐, 그 용어들이 지칭하는 각 대상들의 순서 관계를 의미하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [48] 본 명세서에서 특별한 언급 없이 사용된 %의 단위는 별다른 정의가 없는 한 중량%를 의미한다.
- [49] 본 명세서에서 언급되는 “층” 또는 “막”의 용어는 각 재료가 연속체(continuum)를 이루며 폭과 길이 대비 두께가 상대적으로 작은 디멘전(dimension)을 가짐을 의미하는 것이다. 이에 따라, 본 명세서에서 “층”

또는 “막”의 용어에 의해, 2차원의 편평한 평면으로 해석되어서는 안 된다.

- [50] 본 발명은 LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물의 검출 방법, 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이, 상기 어레이를 포함하는 LDI-MS용 시료 안착 키트, 상기 어레이를 포함하는 레이저 탈착 이온화 질량 분석 장치를 제공한다. 본 명세서에서 LDI-MS는 레이저 탈착/이온화 질량 분석법(Laser desorption/ionization mass spectrometry, LDI-MS)을 의미한다.
- [51] 본 발명에서는 균일하게 증착된 이황화텅스텐(Tungsten disulfide, WS_2) 나노박편(Nanoflake) 입자를 이용하여 칩-기반의 LDI-MS 어레이를 제조할 수 있음에 따라, 높은 처리량 분석을 위한 간단한 플랫폼을 제공할 수 있고, 시료 준비에 있어서 부분적인 또는 완전한 자동화가 가능하여 분석 시간을 획기적으로 줄일 수 있다. 또한 질량 분석법에서의 정확도 및 정밀도를 현저히 향상시킬 수 있다. 따라서 단계가 복잡하고 실시간 검출이 실질적으로 어려운 LC-MS/MS의 경우와는 달리, 본 발명은 유기물의 실시간 검출 및 분석이 가능하면서도 정성 분석 및 정량 분석의 정밀성이 보다 우수한 효과가 있다.
- [52] 본 발명에 따른 LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물의 검출 방법은, 기관층; 및 상기 기관층 상에 적층되는 이황화텅스텐층;을 포함하는 LDI-MS 시료 안착 어레이의 이황화텅스텐층 상에 혈액을 포함하는 시료를 안착하는 시료 로딩 단계 및 상기 LDI-MS 시료 안착 어레이 상에 안착된 시료를 LDI-MS로 분석하여 시료 내 타겟 물질을 검출하는 분석 단계를 포함한다.
- [53] 본 발명에서는 이황화텅스텐이 나노 입자 형태로서 LDI-MS 시료 플레이트의 표면층에 적용됨에 따라, 혈액 내 유기물의 정성 분석 및 정량 분석에 높은 정밀도를 가지며, 특히 정량 분석에 높은 정확도를 가져 분석하고자 하는 유기물, 즉, 타겟 분자의 함량을 정확하게 측정할 수 있는 효과가 있다. 따라서 높은 정밀도 및 정확도의 정성 분석 및 정량 분석이 가능하면서도 분석 방법이 간단하고 소요 시간이 매우 짧아 실시간으로 혈액 내 유기물을 정성 및 정량 분석할 수 있는 효과가 있다. 이러한 효과는 LDI-MS 시료 플레이트의 표면층에 나노 입자 형태로서 이황화텅스텐이 사용됨에 따른 것이며, 이황화텅스텐 외의 금속화합물이 사용될 경우, 예컨대 이황화몰리브덴(Molybdenum disulfide, MoS_2), 이산화텅스텐(Tungsten dioxide, WO_2) 등의 다른 금속화합물이 사용될 경우 구현되기 어렵다.
- [54] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 분석 단계는 타겟 물질의 함량을 계산하는 정량화 단계를 포함할 수 있다. 구체적으로, 이황화텅스텐 나노박편 입자의 농도로부터 타겟 물질의 함량을 분석하는 제1 정량화 단계 또는 내부 표준물질을 통한 제2 정량화 단계를 예로 들 수 있다.
- [55] 구체적인 일 예로, 제1 정량화 단계를 설명하면, 상기 정량화 단계는 이황화텅스텐층에 존재하는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 농도를 얻는 제1 정량화 단계를 포함할 수 있으며, 상기 제1 정량화 단계에서 얻은 이황화텅스텐 나노박편 입자의 농도로부터 타겟 물질의 함량을 결정할 수 있다.

- [56] 구체적인 일 예로, 제2 정량화 단계를 설명하면, 본 발명의 일 예에 따른 LDI-MS를 이용한 시료 분석 방법은, 상기 시료 로딩 단계 이전에, 액상 시료에 내부 표준물질을 첨가하는 단계를 포함할 수 있으며, 상기 정량화 단계는 LDI-MS 스펙트럼에서 타겟 물질에 해당하는 피크강도 및 내부 표준물질에 해당하는 피크강도로부터 타겟 물질의 함량을 결정하는 제2 정량화 단계를 포함할 수 있다. 상기 내부 표준물질은 분석 단계에서 타겟 물질과 구별될 수 있으면서 물리화학적 특성(이온화 특성 및 용해도)이 타겟 물질과 유사한 것이라면 무방하다. 이러한 내부 표준물질을 이용하여 분자량 차이에 의해 타겟 물질의 정밀한 정량 분석이 가능하다.
- [57] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 정량화 단계는 보정 스펙트럼을 얻는 단계를 포함하여, 상기 보정 스펙트럼에서 결정 계수(Coefficient of determination)가 0.9 이상, 구체적으로 0.93 이상, 보다 구체적으로 0.95 이상일 수 있다. 즉, 본 발명은 정량 분석의 정밀도가 현저히 우수한 효과가 있다. 이때 상한값은 1 이하이면 족하다.
- [58] 본 발명의 일 예에 따른 LDI-MS를 이용한 시료 분석 방법은, 검출 한계(Limit of detection; LoD)가 $0.01 \text{ pmol}/\mu\text{L}$ (타겟 물질/혈액) 이하일 수 있다. 즉, 본 발명은 극소량의 혈액을 사용하더라도 정밀한 정량 분석이 가능한 효과가 있다.
- [59] 본 발명에 따른 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이는, 기관층; 및 상기 기관층 상에 적층되되, 혈액을 포함하는 시료가 로딩되도록 하는 이황화텅스텐층;을 포함한다.
- [60] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐층은 상기 기관층에 접하는 다수의 이황화텅스텐 나노박편 입자들을 포함할 수 있다.
- [61] 상기 이황화텅스텐 나노박편은 이황화텅스텐이 단폭, 장폭 및 두께 중 적어도 하나 이상이 나노 사이즈로서 판 형태를 가진다. 이황화텅스텐 나노박편은 다양한 방법에 의해 제조될 수 있으며, 일 예로 화학적 박리 방법, 구체적으로 이황화텅스텐(Tungsten disulfide; WS_2) 벌크 분말로부터 리튬-인터칼레이트(Lithium-intercalated) 화학적 박리 방법을 제조하는 수단일 수 있으나, 이 외에도 나노 사이즈의 판형 이황화텅스텐을 제조할 수 있는 수단이라면 무방하다.
- [62] 상기 이황화텅스텐 나노박편 입자를 구체적으로 그 규격을 설명하면 다음의 예를 들 수 있으나, 이는 바람직한 일 예로서 설명된 것일 뿐, 이에 본 발명이 반드시 제한되어 해석되는 것이 아님은 물론이다. 바람직한 일 예로, 상기 이황화텅스텐 나노박편 입자는 평균두께가 1 내지 50 nm, 구체적으로 2 내지 15 nm일 수 있고, 그 평균 장폭이 1 내지 5,000 nm일 수 있으며, 단위 면적당 0.0001 내지 $100 \text{ mg}/\text{cm}^2$ 로 기관층 상에 존재할 수 있다. 또한 상기 이황화텅스텐층은 그 표면 거칠기(Surface roughness)가 1 내지 500 nm일 수 있다.
- [63] 상기 이황화텅스텐층은 이황화텅스텐 나노박편 입자들이 분산된 분산 용액으로부터 상기 기관층 위에 스폿팅(Spotting)된 후 분산 용액이 증발되어

제조된 것일 수 있다. 이때 분산 용액은 물 및 통상의 알려진 유기 용매 등에서 선택되는 어느 하나 이상의 분산매를 포함할 수 있으며, 바람직하게는 분산매가 물로서 수분산 용액이 좋을 수 있다. 분산 용액을 통해 스포팅 및 건조를 통해 기관층 상에 이황화텅스텐을 나노박편 입자들을 포함하는 이황화텅스텐층을 형성할 경우, 보다 안정적인 구조로 규칙적인 패턴의 분산 로딩된 상태를 유지할 수 있고, 보다 정밀한 정성 분석 및 정량 분석이 가능한 효과가 있다.

- [64] 상기 분산 용액의 조성비는 최종적으로 기관층 상에 이황화텅스텐 나노박편 입자들이 분산되어 적정량이 로딩된 상태로 존재할 수 있도록 조절될 수 있으므로 크게 제한되는 것은 아니지만, 예컨대 상기 분산 용액은 이황화텅스텐 나노박편 입자를 0.001 내지 10 중량% 및 잔량의 분산매를 포함할 수 있다.
- [65] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 분산 용액은 0.001 내지 100 μl 함량(25°C, 1 atm)으로 동일 영역에 2 회 이상, 구체적으로 2 내지 10 회 스포팅되는 것이 보다 더 안정적인 구조로 규칙적인 패턴의 분산 로딩된 상태를 유지할 수 있고, 보다 더 정밀한 정성 분석 및 정량 분석이 가능한 효과가 있다.
- [66] 상기 이황화텅스텐층의 평균두께는 이황화텅스텐 나노박편 입자들의 로딩량 및 로딩 상태에 따라 적절히 제어될 수 있으며, 일 예를 든다면 0.001 내지 500 μm 일 수 있다. 이를 만족할 경우, 보다 안정적으로 로딩된 상태를 유지할 수 있고, 보다 정밀한 정성 분석 및 정량 분석이 가능한 효과가 있다. 또한 이황화텅스텐층의 폭(가로 또는 세로)은 분석/측정 규모에 따라 적절히 조절될 수 있으므로 크게 제한되지 않으며, 일 예로 0.001 내지 10 mm일 수 있다.
- [67] 본 발명의 일 예에 있어서, 상기 이황화텅스텐 나노박편 입자는 하기 식 1을 만족할 수 있다. 하기 식 1에서, R_1 은 이황화텅스텐층의 임의 선택된 $2 \times 2 \mu\text{m}$ 의 영역에서 측정된 라만 스펙트럼에서 340 내지 380 cm^{-1} 범위의 피크면적이며, R_2 는 상기 라만 스펙트럼에서 400 내지 440 cm^{-1} 범위의 피크면적이다.
- [68] 식 1 : $R_1/R_2 \geq 1.3$
- [69] 상기 기관층은 다양한 것이 사용될 수 있으며, 일 예로 알루미늄, 구리, 철, 니켈, 아연, 크롬, 은 등의 전도성 금속 및 실리콘(SiO_2) 등에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함할 수 있다. 하지만 이는 구체적인 일 예로서 설명된 것일 뿐, 본 발명이 이에 반드시 제한되어 해석되는 것은 아니다.
- [70] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따른 LDI-MS를 이용한 유기물 검출 방법 및 이를 위한 장치는 혈액 내의 타겟 물질 또는 혈액 내 주입되는 타겟 물질의 정성 또는 정량 분석을 위한 용도로 사용될 수 있다.
- [71] 본 명세서에서 언급되는 ‘시료’는 혈액 또는 혈액을 포함하는 것을 의미하며, 혈액은 혈액 자체가 사용될 수도 있고, 혈액으로부터 분리된 혈장이 사용될 수도 있으며, 혈액에 어떠한 처리를 한 것이 사용될 수도 있다.
- [72] 본 명세서에서 검출을 위한 “유기물”은 “타겟 물질”을 의미할 수 있으며, 타겟 물질은 바람직하게는 타겟 분자일 수 있다. 상기 타겟 물질은 혈액 내의 검출하고자 하는 유기 물질이라면 제한되지 않으며, 일 예로 면역억제제,

항이동제, 소염제, 혈관신생억제제, 세포증식억제제, 세포독성제, 항재협착제, 항악성 종양제, 항균제 및 항진균제 등 다양한 것들이 사용될 수 있다. 또한 상기 타겟 물질은 모니터링이 필요한 혈액 내 주입 용도로 사용될 수 있다.

- [73] 비제한적이며 구체적인 일 예로, 상기 타겟 물질은 사이클로스포린 A, 타크롤리무스, 시롤리무스, 에버롤리무스, 압시시맙(abciximab), 아세메타신, 아세틸비스미온 B, 아크라루비신(aclarubicin), 아테메티오닌, 아드리아마이신, 에스신(aescin), 아프로모손, 아카게린, 알데스류킨, 아미도론, 아미노글루테데미드, 암사크린, 아나킨라, 아나스트로졸, 아네모닌, 아미노프테린, 항진균제, 항혈전제, 아포시마린, 아르가트로반, 아리스토틀락탐-AII, 아리스톨로크산(aristolochic acid), 아스코마이신, 아스파라기나제, 아스피린, 아토르바스타틴, 아우라노핀, 아자티오프린, 아지트로마이신, 박카틴, 바필로마이신, 바실리시맙(basiliximab), 벤다무스틴, 벤조카인, 베르베린, 베틀린, 베틀린산, 빌로볼, 비스파르테놀리딘, 블레오마이신, 붐브레스타틴, 보스웰릭산 및 그의 유도체, 브루세아놀레스 A, B 및 C, 브리오필린 A, 부설판, 항트롬빈, 비바리루딘, 카드헤린, 캠프토테신, 카페시타빈, α -카르바모일-페녹시-아세트산, 카르보플라틴, 카르무스틴, 세레코십, 세파란틴, 세리바스타틴, CETP 억제제, 클로람부실, 클로로퀸 포스페이트, 시쿠톡신(cicutoxin), 시프로플록사신, 시스플라틴, 클라드리빈, 클라리트로마이신, 콜키신(colchicine), 콘카나마이신, 코우마딘, C-타입 나트ρίου레틱 펩티드(CNP), 쿠드라이소플라본 A, 커큐민, 사이클로포스파미드, 사이클로포린 A, 시타라빈, 다카르바진, 다크리주맙, 닥티노마이신, 답손, 다우노루비신, 디클로로페낙, 1,11-디메톡시칸틴-6-온, 도세탁셀, 독소루비신, 다우노마이신, 에피루비신, 에포틸론 A 및 B, 에리트로마이신, 에스트라무스틴, 에토포사이드, 펠그라스티م, 플루로블라스틴, 플루바스타틴, 플루다라빈, 플루다라빈-5'-디하이드로겐포스페이트, 플루로로우라실, 폴리마이신, 포스페스트롤, 겐시타빈, 가락키노시드(ghalakinocide), 긴크골, 긴크골릭산, 글리코시드 1a, 4-하이드록시옥시사이클로포스파미드, 이다루비신, 이포스파미드, 조사마이신, 라파콜, 로무스틴, 로바스타틴, 멜파란, 미데카마이신, 미토잔트론, 니무스틴, 피타바스타틴, 프라바스타틴, 프로카르바진, 미토마이신, 메토티렉세이트, 메르캅토피린, 티오구아닌, 옥사리플라틴, 이리노테칸, 토포테칸, 하이드록시카르바마이드, 밀테포신, 펜토스타틴, 페가스파르가제, 에세메스탄, 레트로졸, 포르메스탄, 미토잔트론, 미코페놀레이트 모페틸, β -라파콘, 포도필로톡신, 포도필릭산 2-에틸히드라지드, 몰그라모스틴(rhuGM-CSF), 페그인테르페론 α -2b, 레노그라스티(r-HuG-CSF), 마크로골, 셀렉틴(사이토카인 길항제), 사이토키닌 억제제, COX-2 억제제, 안지오펩틴, 근육세포 증식을 억제하는 모노클로날 항체, bFGF 길항제, 프로부콜, 플로스타글란딘, 1-하이드록시-11-메톡시칸틴-6-온, 스코포레틴, NO 공여제, 펜타에리트리톨 테트라나트레이트 및 시드노니민, S-니트로소 유도체,

타목시펜, 스타우로스포르인, β -에스트라디올, α -에스트라디올, 에스트리올, 에스트론, 에티닐에스트라디올, 메드록시프로게스테론, 에스트라디올 사이피오네이트, 에스트라디올 벤조에이트, 트라니라스트, 카메바카우린 및 암치료 요법에 사용되는 다른 테르페노이드, 베라파밀, 티로신 키나제 억제제(티르포스틴), 파클리탁셀 및 그의 유도체, 6- α -하이드록시-파클리탁셀, 탁소테레, 모페부타존, 로나졸락, 리도카인, 케토프로펜, 메페남산, 피록시캄, 멜로시캄, 페니실라민, 하이드록시클로로퀴인, 소듐 아우로티오말레이트, 옥사세프롤, β -시토스테린, 미르테카인, 폴리도칸올, 노니바미드, 레보멘톨, 엘립티신, D-24851 (칼비오켄), 콜세미드, 사이토카라신 A-E, 인다노신, 노카다줄, 바시트라신, 비트로벡틴 수용체 길항제, 아제라스틴, 금속 프로테이나제-1 및 -2의 구아니딜 사이클라제 촉진제 조직 억제제, 자유핵산, 바이러스 전달체 내에 혼입된 핵산, DNA 및 RNA 분절, 플라스미노겐 활성화제 억제제-1, 플라스미노겐 활성화제 억제제-2, 안티센스 올리고뉴클레오타이드, VEGF 억제제, IGF-1, 항생물질의 그룹으로부터 활성화제, 세파드록실, 세파졸린, 세파클로르, 세폭시틴, 토브라마이신, 젠타마이신, 페니실린, 디클록사실린, 옥사실린, 설폰아미드, 메트로니다졸, 에녹사파린, 헤파린, 히루딘, PPACK, 프로타민, 프로우로키나제, 스트렙토키나제, 와르파린, 우로키나제, 혈관확장제, 디피리다몰, 트라피딜, 니트로프루시드, PDGF 길항제, 트리아졸로피리미딘, 세라민, ACE 억제제, 캅토프릴, 시라자프릴, 리시노프릴, 에나라프릴, 로사르탄, 티오프로테아제 억제제, 프로스타사이클린, 바피프로스트, 인터페론 α , β 및 γ , 히스타민 길항제, 세로토닌 차단제, 아포토시스 억제제, 아포토시스 조절제, 할로푸기논, 니페디핀, 파라세타몰, 텍스판테놀, 클로피도그렐, 아세틸살리실산 유도체, 스트렙토마이신, 네오마이신, 프라미세틴, 파로모마이신, 리보스타마이신, 카나마이신, 아미카신, 아르베카신, 베카나마이신, 디베카신, 스펙티노마이신, 히그로마이신 b, 파로모마이신설페이트, 네틸미신, 시소미신, [74] 이세파미신, 베르다미신, 아스트로미신, 아프라마이신, 게네티신, 아목시실린, 암피실린, 베캄피실린, 피브메실리남, 플루클록사실린, 메즈로실린, 피페라실린, 아즈로실린, 테모실린, 티카르실린, 아목시실린, 클라부란산, 암피실린, 설박탐, 피페라실린, 타조박탐, 설박탐, 세파만돌, 세포티암, 세푸록심, 세프멘옥심, 세포디짐, 세포페라존, 세포탁심, 세프타지딤, 세프설로딘, 세프트리옥심, 세페뎀, 세프피롬, 세포시틴, 세포데탄, 세파렉신, 세푸록심 악세틸, 세피심, 세프포독심, 세프티부텐, 이미페넴, 메로페넴, 에르타페넴, 도리페넴, 아즈트레오남, 스피라마이신, 아지트로마이신, 텔리트로마이신, 퀴노프리스틴, 달포프리스틴, 클린다마이신, 테트라사이클린, 독시사이클린, 미노사이클린, 트리토프림, 설파메독사졸, 설파메트롤, 니트로푸란토인, 로메플록사신, 노르플록사신, 시프로플록사신, 오프록사신, 플레옥사신, 레보플록사신, 스파르플록사신, 목시플록사신, 반코마이신, 테이코플라닌, 리네졸리드, 답토마이신, 리팜피신, 부시딘산, 포스포마이신, 트로메탐올, 클로르암페니콜,

메트로니다졸, 콜리스틴, 뮤피로신, 바시트라신, 네오마이신, 플루코나졸,
 이트라코나졸, 보리코나졸, 포사코나졸, 암포테리신 b, 5-플루사이코신,
 카스포펑긴, 아니둘라펑긴, 토코페롤, 트라니라스트, 몰시도민, 티이
 폴리페놀(tea polyphenol), 에피카테킨 갈레이트, 에피갈로카테킨 갈레이트,
 레프루노미드, 에타네르셉트, 설파살아진, 에토포시드, 디클록사실린,
 테트라사이클린, 트리암시놀론, 뮤타마이신, 프로카인이미드, 레티노산, 퀴니딘,
 디소피르아미드, 플레카이니드, 프로파페논, 소톨롤, 천연 및 합성으로 얻어진
 스테로이드, 이노토디올(inotodiol), 마퀴로사이드 A, 갈락티노사이드, 만소닌,
 스트레블로시드, 하이드로코르티손, 베타메타손, 텍사메타손, 비-스테로이드
 물질(NSAIDS), 페노프로펜, 이부프로펜, 인도메타신, 나프록센, 페닐부타존,
 아시클로비르, 간시클로비르, 지도부딘, 클로트리마졸, 플루사이토신,
 그리세오폴빈, 케토코나졸, 미코나졸, 니스타틴, 테르비나핀, 항원충제,
 클로로퀸, 메플로퀸, 퀴닌, 천연 테르페노이드, 힙포카에스쿨린,
 바링토게놀-C21-angelat, 14-디히드로아그로스티스타친, 아그로스케린,
 아그로스티스타친, 17-하이드록시아그로스티스타친, 오바토디올리드,
 4,7-옥시사이클로아니소멜산, 바카리노이드 B1, B2, B3 및 B7, 튜베이모시드,
 브루세안티노시드 C, 야다지오시드 N 및 P, 이소데옥시에레판토피, 토멘판토피
 A 및 B, 코로나린 A,B,C 및 D, 우르솔산, 히프타틱산(hyptatic acid) A,
 이소-이리도게르마날, 메이텐폴리올, 에퓨산틴 A, 엑스시사닌 A 및 B,
 롱기카우린 B, 스컬포네아틴 C, 케메바우닌, 류카메닌A 및 B,
 13,18-데하이드로-6-알파-세네시오일옥시차파린, 타사마이린 A 및 B, 리게니롤,
 트리프트리드, 시마린, 하이드록시아노프테린, 프로토아네모닌, 체리부린
 클로라이드, 시노코컬린 A 및 B, 디하이드로니티딘, 니티딘 클로라이드,
 12-베타-하이드록시프레그나디엔-3,20-디온, 헤레날린, 인디신,
 인디신-N-옥사이드, 라시오카핀, 이노토디올, 포도필로톡신, 저스티시딘 A 및 B,
 라레아틴, 말로테린, 말로토크로만올, 이소부티릴말로토크로만올, 마퀴로시드
 A, 마르찬틴 A, 메이탄신, 리코리디신, 마르게틴, 판크라티스타틴,
 리리오데닌(liriodenine), 비스파르테놀리딘, 옥소우신서닌(oxoushinsunine),
 페리프로코시드 A, 우르솔산, 데옥시프소로스페르민, 사이코루빈(psycorubin),
 리신 A, 생귀나린, 만우휘트산(manwuwheat acid), 메틸소르비폴린,
 스파텔리아크로멘(sphatheliachromen), 스티조필린(stizophyllin), 만소닌,
 스트렘로시드(strebloside), 디하이드로우삼바라엔신(dihydrousambaraensine),
 하이드록시우삼바린, 스트리크노펜타민, 스트리크노필린(strychnophylline),
 우삼바린, 우삼바렌신, 리리오데닌(liriodenine), 옥소우신수닌(oxoushinsunine),
 다프노레틴, 라리시레시놀(lariciresinol), 메톡시라리시레시놀, 시린가레시놀,
 바이오리무스 A9, 미오리무스, 노보리무스(novolimus), 피메크로리무스,
 리다포르리무스, 데옥소라파마이신, 템시로리무스 및 조타로리무스,
 소마토스타틴, 타크로리무스, 로시트로마이신,

트로레안도마이신(troleandomycin), 심바스타틴, 로수바스타틴, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 빈데신, 테니포시드, 비노렐빈, 트로포스파미드, 트레오설판, 테모조로마이드, 티오테파, 트레티노일, 스피라마이신, 움벨리페론, 테스아세틸비스미온 A, 비스미온 A 및 B, 제오린 및 황 함유아미노산 예를 들어 시스틴은 물론 염, 수화물, 용매화물, 에난티오머, 라세메이트, 에난티오머 혼합물, 디아스테레오머 혼합물 등의 다양한 성분을 들 수 있다. 하지만 이는 구체적인 일 예로서 설명된 것일 뿐, 본 발명이 이에 반드시 제한되어 해석되는 것은 아니다.

[75] 상기 면역억제제는 생체의 면역 체계의 활성을 막거나 억제하는 약제로서 면역 억제 치료에 사용될 수 있는 물질로서, 본 발명에 따른 검출 방법 또는 측정 장치로 검출될 수 있는 분자일 수 있다. 상기 면역억제제는 그 종류가 제한되는 것은 아니며, 이해를 돕기 위해 일 예를 든다면, 사이클로스포린(Cyclosporine), 타크로리무스(Tacrolimus), 아자치오프린(Azathioprine), 마이코페노릭산(Mycophenolic acid), 시롤리무스(Sirolimus; Rapamycin), 에버로리무스(Everolimus), 템시롤리무스, 데포롤리무스, 리툭시맙(Rituximab), 스테로이드(Steroid), 마이크로페놀레이트 모페틸, 항CD3 항체, 사이클로포스파미드, 이포스파미드 및 이들의 유도체 등에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함할 수 있다. 하지만 이는 구체적인 일 예로서 설명된 것일 뿐, 본 발명이 이에 제한되어 해석되지 않음은 물론이다.

[76] 본 발명에 따른 분석/측정 방법 및 장치는 다양한 분야에 다양한 형태로서 적용 또는 응용될 수 있다. 일 예로, 본 발명은 LDI-MS 시료 안착 어레이를 포함하는 LDI-MS용 시료 안착 키트로서 제공될 수도 있고, LDI-MS 시료 안착 어레이를 포함하는 레이저 탈착 이온화 질량 분석 장치로서 제공될 수도 있다.

[77] 이하 본 발명을 제조에 및 실시예를 통해 상세히 설명하나, 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 권리범위가 하기의 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[78] [제조예 1]

[79] <이황화텅스텐 나노박편 입자의 제조>

[80] 평균입경이 90 nm인 이황화텅스텐(Tungsten disulfide; WS_2) 분말로부터 리튬-인터칼레이트(Lithium-intercalated)된 화학적 박리 방법에 의해, 이황화텅스텐 나노박편(Nanoflake) 입자를 다음과 같이 합성하였다.

[81] 염화리튬을 포함하는 헥산(1:1 몰비) 20 ml에 이황화텅스텐 벌크 분말 2.5 g을 분산하고, 120 분 동안 초음파 처리하여 리튬-이황화텅스텐 화합물(Li_xWS_2)을 포함하는 분산액을 제조하였다. 상기 분산액을 4,000 rpm 에서 10 분 동안 원심분리하여 헥산 및 미반응물을 제거하였다. 리튬-이황화텅스텐 화합물을 디메틸포름아미드(Dimethylformamide, DMF)에 분산한 후 원심분리하고 세척하여 용매화된 리튬-이황화텅스텐 화합물($(Li-solvent)_xWS_2$)을 수득하였다. 상기 용매화된 리튬-이황화텅스텐 화합물을 실온에서 가벼운 초음파 처리를

통해 디메틸포름아미드 500 ml에서 이황화텅스텐을 박리하였다. 이렇게 분산 용매의 존재 하에 인터칼레이트된 리튬이 용매화(solvated)되고 물리적 충격에 의해 박리됨으로써 이황화텅스텐 나노박편 입자가 제조된다.

[82] [실시예 1]

[83] <LDI-MS 어레이 제조>

[84] 재현성 및 균일한 분석 플랫폼을 위해 미세 액적 분배기를 사용하여 이황화텅스텐 나노박편 입자를 포함하는 분말 5 g이 물 50 g에 분산된 이황화텅스텐 분산액을 제조하였다. 이어서 상기 이황화텅스텐 분산액을 사용하여 칩-기반의 LDI-MS 어레이를 준비하였다. 구체적으로, 미세액적 분배기를 이용하여 이황화텅스텐 분산액을 1 mm 두께의 스테인레스스틸 웨이퍼에 스포팅(Spotting)하고 충분히 건조하여 이황화텅스텐 나노박편 입자가 웨이퍼에 균일하게 증착되어 형성된 이황화텅스텐층을 포함하는 LDI-MS 어레이를 제조하였다. 이때 각 스포팅 당 이황화텅스텐 분산액의 부피는 0.1 μl 로 조절되었다.

[85] [실험예 1] 이황화텅스텐 나노박편 입자의 특성 평가

[86] 도 1에서, a)는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 투과전자현미경(Transmission electron microscope; TEM) 이미지이고, b) 및 c)는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 원자간력현미경(Atomic force microscope; AFM) 이미지이며, d)는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 UV-Vis 스펙트럼이다.

[87] 도 1에 도시된 바와 같이, 약 2 내지 14 nm 범위의 박편 두께를 가지는 이황화텅스텐 나노박편 입자를 큰 스케일로 물에 분산시켜 이황화텅스텐 분산액을 제조하였다. 박리된 이황화텅스텐 나노박편 입자의 제타 전위 값은 18.3(± 0.5) eV였다. 이황화텅스텐 분산액의 UV-Vis 스펙트럼(Nd : YAG laser)은 350 내지 450 nm 파장에서 강한 흡수를 나타내었다.

[88] 도 2에서, a)는 웨이퍼 상의 이황화텅스텐층에 대한 라만맵핑(Raman mapping) 결과를 나타낸 것이고, b)는 a)의 라만맵핑에서 선택된 영역($2 \times 2 \mu\text{m}$)으로부터 추출된 라만 스펙트럼이며, c)는 350 cm^{-1} (red) 및 420 cm^{-1} (green)의 파장에서의 피크를 갖는 라만맵핑 결과를 나타낸 것이고, d)는 라만맵핑으로부터 red 영역(좌측 스펙트럼), green 영역(중앙 스펙트럼) 및 yellow 영역(우측 스펙트럼)으로부터 추출된 라만 스펙트럼이다.

[89] 도 2에 도시된 바와 같이, E_{1g} 모드 및 A_{1g} 모드에 대응하는 350 및 420 cm^{-1} 파장에서의 피크들과의 맵핑으로부터 세기를 비교함으로써, 몇 개의 계층화된 이황화텅스텐 나노박편 입자의 존재를 확인할 수 있다.

[90] 이와 같이, 도 1 내지 도 3으로부터, 스포팅 후 기판 상의 이황화텅스텐 나노박편 입자가 규칙적인 패턴으로 어레이를 형성함을 확인할 수 있다.

[91] [실험예 2] 이황화텅스텐층의 두께 분석

[92] 도 3에 도시된 바와 같이, 스포팅 횟수를 조절하여 이황화텅스텐층의 최적 두께를 확인하였다. 이때 각 스포팅 당 이황화텅스텐 분산액의 부피는 0.1 μl 로

조절하였으며, 층의 수와 질량 신호 강도의 관계는 도 3에 도시되었다. 도 3에 도시된 바와 같이, 스포팅이 3 회 수행된 경우의 피크 강도가 가장 강함에 따라, 이러한 조건을 이용하여, 혈액 내 4 개의 면역억제제의 정량적 분석을 수행하였다.

[93] [실험예 3] LDI-MS 어레이를 이용한 타겟 물질의 정량 분석 평가

[94] 분자들의 예측 불가능한 이온화 거동으로 인하여 직접 약물의 농도를 결정하는 것은 어려우므로, 유사한 탈착/이온화 특성을 갖는 내부 표준물질의 추가가 요구된다. 즉, 임상 샘플에서 타겟 물질의 함량을 정량화하기 위해서는 표적 분자와 유사한 물리화학적 특성(이온화 특성 및 용해도 등)을 갖는 내부 표준물질을 사용하였다. 내부 표준물질을 이용하여 분자량 차이에 의해 타겟 물질의 질량 분석이 가능하다.

[95] 장기 이식 후의 치료 중 환자의 혈액 내 타겟 물질 농도를 모니터링하기 위해, 이황화텅스텐 나노박편 입자에 대한 민감도(Sensitivity)를 LDI-MS용 물질로서 확인하였다. 상기 타겟 물질로 일반적으로 사용되는 면역억제제인 사이클로스포린 A(Cyclosporine A; CsA), 타크롤리무스(Tacrolimus; TAC), 시롤리무스(Sirolimus; SIR) 및 에버롤리무스(Everolimus; EVR)가 사용되었다.

[96] <CsA의 정량 분석>

[97] 사이클로스포린 A(Cyclosporine A; CsA)를 면역억제제로 하여 혈액 내 CsA의 정량화를 위해, 도 4에 도시된 바와 같이, CsA와 유사한 내부 표준물질로서 시클로스포린 D(cyclosporine D; CsD)가 사용되었다. 상세하게, 30 pmol/ μ l 농도의 CsA가 첨가된 전혈 추출물 0.5 μ l를 실시예 1의 LDI-MS 어레이의 이황화텅스텐층 위에 스포팅하였다. 그리고 이를 LDI-MS로 측정하고 그 결과를 도 4에 도시하였다.

[98] 도 4에서, a)는 CsA와 그 내부 표준물질인 CsD의 구조를 나타낸 것이고, b)는 CsA(30 pmol/ μ l)와 CsD(30 pmol/ μ l)의 LDI-MS 분석 결과를 나타낸 것이며, c)는 CsA의 다양한 농도에 따른 전혈 추출물에서 LDI-MS 분석으로 얻은 보정 곡선 결과를 나타낸 것이다.

[99] 도 4의 b)로부터 1240.81 및 1254.82 m/z에서 타겟 물질인 CsA와 내부 표준물질인 CsD에 해당하는 피크가 명확하게 구별될 수 있음을 확인할 수 있다. 또한 도 4의 c)로부터 CsA에 해당하는 피크와 CsD에 해당하는 피크에 대한 강도의 상관관계로서, 0.983의 결정 계수(Coefficient of determination; R^2)를 갖는 일정한 교정 곡선을 나타냈다. 검출 한계(Limit of detection; LoD)는 CsA로 면역억제 치료를 받는 환자의 전혈에서 치료 농도 범위(0.1~0.3 pmol/ μ l)보다 훨씬 낮은 0.0075 pmol/ μ l에서 측정되었다.

[100] 아울러 이러한 결과로부터 면역억제제의 $[M+K]^+$ 에 대응하는 1240.805 m/z에서의 피크의 세기가 스포팅된 층의 수에 의해 영향을 받았음을 알 수 있다.

[101] <TAC의 정량 분석>

[102] 타크롤리무스(Tacrolimus; TAC)를 면역억제제로 하여 혈액 내 TAC의 정량화를

위해, 도 5에 도시된 바와 같이, TAC와 유사한 내부 표준물질로서 아스코마이신(Ascomycin; ASC)이 사용되었으며, 정량 분석 방법은 상기 CsA의 정량 분석과 동일하다.

- [103] 도 5에서, a)는 TAC와 그 내부 표준물질인 ASC의 구조를 나타낸 것이고, b)는 TAC(30 pmol/ μ l)와 ASC(30 pmol/ μ l)의 LDI-MS 분석 결과를 나타낸 것이며, c)는 TAC의 다양한 농도에 따른 전혈 추출물에서 LDI-MS 분석으로 얻은 보정 곡선 결과를 나타낸 것이다. TAC 및 ASC는 각각 842.45 및 830.45 m/z에서 검출되었으며, 두 분자에 대한 $[M+K]^+$ 에 상응한다. 표준화된 피크 강도와 스파이크(Spike)된 TAC 농도 사이의 관계는 결정 계수와 선형상관관계(Linear correlation)가 0.97이었다. 검출 한계는 0.0015 pmol/ μ l로 측정되었으며, TAC 치료 환자의 혈액에서 치료 범위인 0.006-0.025 pmol/ μ l)과 비교하여 매우 민감한 것임을 알 수 있다. 특히 이러한 결과는 낮은 이온화 특성뿐만 아니라 까다로운 검출 한계에 대한 문제를 현저히 완화할 수 있음을 알 수 있다.

[104] <SIR 및 EVR의 정량 분석>

- [105] 도 6 a)에 도시된 시롤리무스(Sirolimus; SIR) 및 에버롤리무스(Everolimus; EVR)를 각각 면역억제제로 하여 혈액 내 SIR의 정량화를 위해, 동위원소 표지된 SIR 및 EVR이 각각 내부 표준물질로서 사용되었으며, 정량 분석 방법은 상기 CsA의 정량 분석과 동일하다.

- [106] 도 6에서, a)는 SIR 및 EVR의 구조를 나타낸 것이고, b)는 SIR(30 pmol/ μ l)과 내부 표준물질(30 pmol/ μ l)의 LDI-MS 분석 결과를 나타낸 것이며, c)는 EVR(30 pmol/ μ l)과 내부 표준물질(30 pmol/ μ l)의 LDI-MS 분석 결과를 나타낸 것이고, d)는 EVR의 다양한 농도에 따른 전혈 추출물에서 LDI-MS 분석으로 얻은 보정 곡선 결과를 나타낸 것이다.

- [107] 도 6에서와 같이, SIR 및 동위원소 표지된 SIR-d₃은 각각 $[M+Na]^+$ 에 대응하는 936.56 및 939.57 m/z에서 검출되었으며, 보정 곡선은 0.0015 내지 30 pmol/ μ l의 농도 범위에서 내부 표준물질과 함께 SIR의 분석에 의해 얻어졌다. 검출 한계는 전혈 에서의 치료 범위인 0.005-0.011 pmol/ μ l보다 훨씬 낮은 0.0015 pmol/ μ l로 결정되었다.

- [108] EVR의 경우, 그 내부 표준물질은 $[M+Na]^+$ 에 해당하는 980.57 및 984.59 m/z에서 검출되었다. 검출 한계는 환자의 전혈에서 EVR을 정량할 만큼 민감한 0.0015 pmol/ μ l로 측정되었다.

- [109] MADLI-MS는 생물학적 시료에서 약물 및 대사산물을 검출하는 데 보편적인 방법으로 빠른 분석에서는 유리하지만 매트릭스에 의한 간섭의 문제가 존재한다. 도 7에 도시된 바와 같이, 혈액 샘플에서 CsA를 검출하기 위한 매트릭스로서 α -시아노-4-하이드록시신나믹산(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid; CHCA)을 사용하여 분석한 결과, CHCA 자체 및 그 단편에 상응하는 190.09, 172.07 및 212.06 m/z 주변의 다중 피크가 발견되었다. ($[M]^+$, $[M-OH]^+$ 및 $[M+Na]^+$)

- [110] 즉, MADLI-MS의 경우, 분석을 통해 분자의 단편화 패턴 정도는 확인할 수는 있으나, 매트릭스로 인한 다양한 피크의 존재로 인해 정밀한 분석이 어렵다. 또한, 매트릭스를 사용하여 분석물과 함께 결정화를 필요로 하는 종래의 MADLI-MS로는 Sweet Spot과 Silent Spot을 형성하여 재현성 및 정량화가 특히 어렵다.
- [111] 도 7에서, a)는 이온화를 위해 α -시아노-4-하이드록시신나믹산(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid; CHCA) 매트릭스를 사용하여 CsA의 정량 범위 (0.0075-30 pmol/ μ l)에 대한 측정 결과이고, b)는 상기 매트릭스를 사용하여 TAC에 대한 선형 정량의 범위 (0.0015-30 pmol/ μ l)에 대한 측정 결과이며, c)는 CHCA 처리된 샘플의 저분자량 영역 MALDI-MS 스펙트럼이며, d)는 본 발명에 따른 저 질량 영역 LDI-MS 스펙트럼이다.
- [112] 도 7 a) 및 b)에서, CHCA를 사용한 CsA 및 TAC의 MALDI-MS 분석 결과는 낮은 R^2 값(각각 0.88 및 0.84)으로 불량한 보정 곡선을 나타냈다. 또한 TAC 분석 결과에 따르면 시료 내 변동으로 인해 변동 계수의 60%로 나타났다. 이러한 결과로부터 본 발명에 따른 LDI-MS 플랫폼은 MALDI-MS 기술에 비해 높은 감도를 가능하게 하는 향상된 성능을 보여줌을 확인할 수 있다. 또한 CHCA 매트릭스를 이용한 CsA와 TAC의 분석에서 검출 한계는 각각 0.015 및 0.03 pmol/ μ l로 결정되었다. 따라서 본 발명에 따른 LDI-MS를 이용한 혈액 내 유기물의 측정은 쉬운 실험 및 분석을 포함하며, 매트릭스를 이용하는 분석법과 비교하여 민감하고 재현성이 우수함을 알 수 있다.
- [113] [실험예 4] 면역억제제의 정량 분석에 대한 종래 LC-MS와의 비교 평가
- [114] 도 8은 실험예 3의 LDI-MS의 경우와 종래 LC-MS의 상관관계를 나타낸 것으로, WS_2 기반 LDI-MS 분석(y-축) 및 HPLC-ESI-MS/MS (x-축)에 의한 세 종류의 면역억제제, CsA (a), TAC (b) 및 EVR (c)의 정량 결과 비교 분석한 데이터이다. 구체적으로, 내부 표준물질을 사용한 치료 약물의 절대 정량화를 기반으로 LDI-MS 분석을 통해 혈액 내 유기물 정량화할 수 있었다. CsA가 주입된 혈액에서 CsA를 정량화한 LDI-MS 결과(a)는 LC-MS 결과와 우수한 상관관계를 나타내었으며, TAC의 경우(b)와 EVR의 경우(c)도 필요한 LoD 및 치료 농도에도 불구하고 허용 가능한 상관관계를 갖는 치료 약물의 정량화를 가능하게 하였다.
- [115] 또한 사이클로스포린 A(Cyclosporine A; CsA)가 주입된 혈액 환자 샘플 40 개 및 타크롤리무스(Tacrolimus; TAC)가 주입된 혈액 환자 샘플 40 개를 포함하는 총 80 개의 혈액 환자 샘플을 실험예 3의 방법의 WS_2 LDI-MS로 분석한 측정값과 LC-MS/MS로 분석한 측정값을 비교한 후 Passing-Bablok regression과 Bland-Altman plot을 통하여 두 측정값 간의 일치도를 평가하였으며, 이에 대한 결과를 도 9에 나타내었다.
- [116] Passing-Bablok regression은 두 data set의 correlation plot으로부터 95% 신뢰 구간(confidence interval)에 해당하는 직선의 기울기와 절편 값을 계산하는

선형회귀분석법이다. Lower 95% confidence interval 직선과 upper 95% confidence interval 직선의 기울기 및 절편 값 사이에 각각 1 과 0이 포함되면 두 data set의 측정값은 일치하는 것으로 판단할 수 있다.

- [117] 도 9는 CsA와 TAC가 주입된 혈액 환자 샘플 총 80 개를 WS_2 LDI-MS로 분석한 측정값과 LC-MS/MS로 분석한 측정값에 대한 Passing-Bablok regression analyses 데이터를 나타낸 것이다. 구체적으로, 도 9에서 a)는 CsA가 주입된 혈액 환자 샘플의 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS의 비교 측정값에 대한 Passing-Bablok regression analyses(dashed lines represent 95% confidence intervals) 데이터이며, b)는 TAC가 주입된 혈액 환자 샘플의 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS의 비교 측정값에 대한 Passing-Bablok regression analyses(dashed lines represent 95% confidence intervals) 데이터이다. 또한 c)는 CsA가 주입된 혈액 환자 샘플의 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS의 비교 측정값에 대한 Bland-Altman plots 데이터이며, d)는 TAC가 주입된 혈액 환자 샘플의 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS의 비교 측정값에 대한 Bland-Altman plots 데이터이다.
- [118] 도 9에서, CsA 분석 결과의 경우(a), lower 95% confidence interval 직선과 upper 95% confidence interval 직선의 기울기는 각각 0.9666과 1.0317이므로 1이 이 범위 내에 포함된다. 또한 lower 95% confidence interval 직선과 upper 95% confidence interval 직선의 절편값은 각각 -1.1676 과 2.9968이므로 0이 이 범위 내에 포함된다. 아울러 TAC 분석 결과의 경우(b)도 마찬가지로의 결과를 나타내었다. Bland-Altman plot도 두 측정값 간의 일치도를 평가하는 기법으로서, 95% confidence interval bias 값에 0이 포함될 시 두 측정값이 일치한다고 볼 수 있다. CsA 데이터 분석 결과의 경우(c), 95% confidence interval bias 값은 -2.356과 2.628 (파란색 점선)이며, 이 값 사이에 0이 포함되므로 WS_2 LDI-MS와 LC-MS/MS 측정결과가 서로 일치함을 알 수 있다. 아울러 TAC 분석 결과의 경우(d)도 마찬가지로의 결과를 나타내었다. 따라서 WS_2 LDI-MS를 통하여 얻은 측정값이 LC-MS/MS 측정값과 통계적으로 일치함을 알 수 있다.
- [119] 이러한 결과로부터 본 발명에 따른 WS_2 LDI-MS 측정 방법은 LC-MS/MS와 비교하여 분석이 간단하고 제조 공정이 간단한 플랫폼으로서 비용 및 시간에 매우 효율적이며, 즉각적으로 실시간으로 정량 분석이 가능한 이점이 있는 것은 물론, LC-MS/MS와 동일한 정밀도 또는 이를 초과하는 정밀도로서 정성 및 정량 분석이 가능한 효과가 있으며, 높은 효율 및 경제성의 이점을 통해 복잡하고 효율이 떨어지는 LC-MS/MS를 대체할 수 있음을 알 수 있다.

청구범위

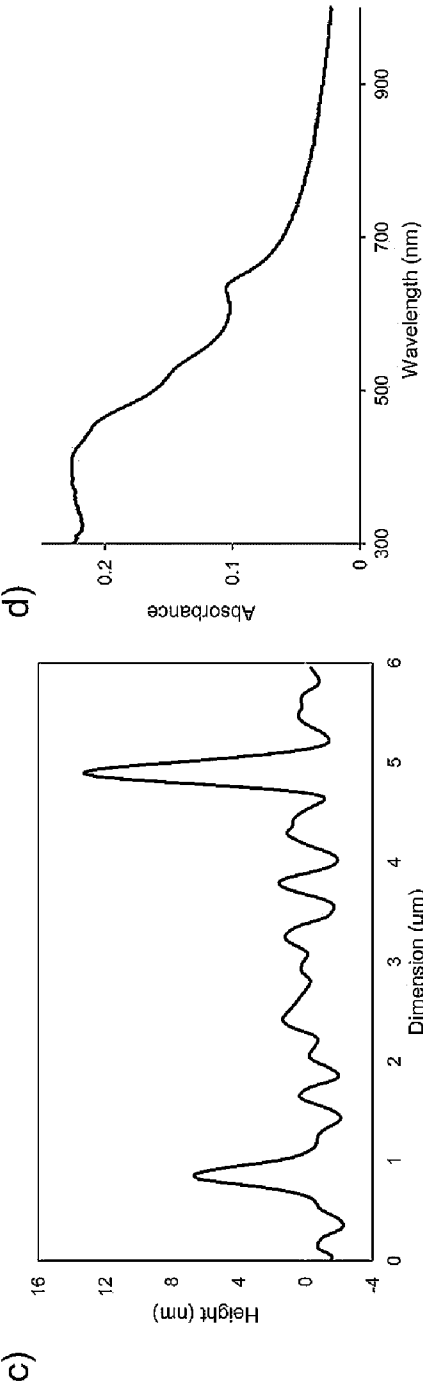
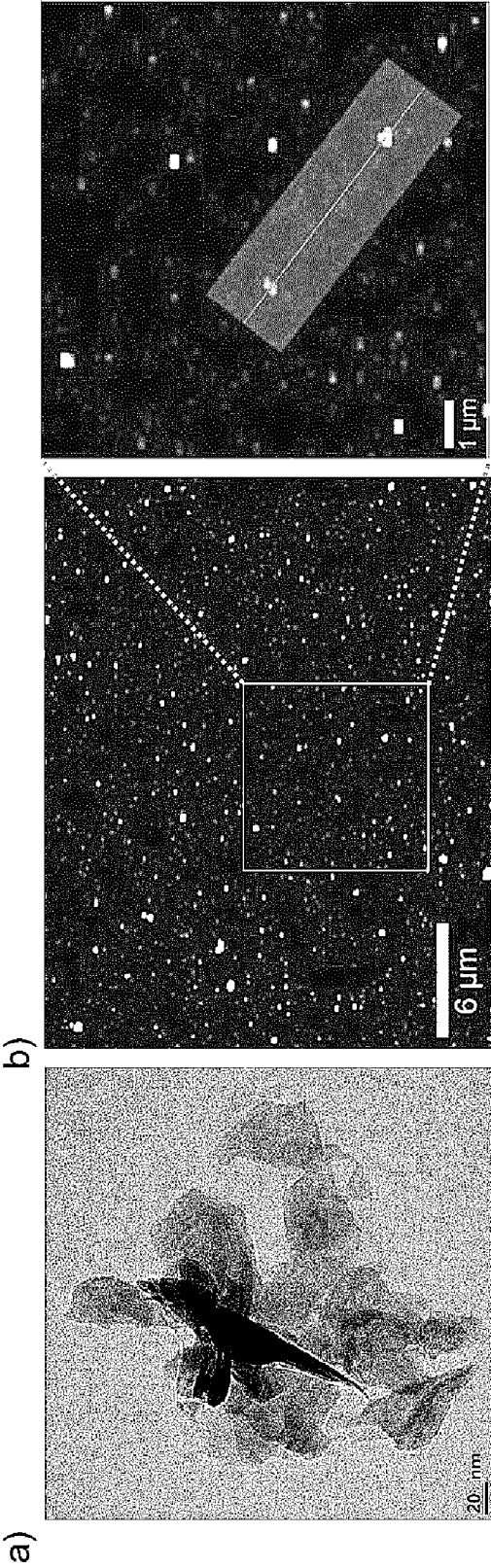
- [청구항 1] 기관충; 및 상기 기관충 상에 적층되는 이황화텅스텐층;을 포함하는 LDI-MS 시료 안착 어레이의 이황화텅스텐층 상에 혈액을 포함하는 시료를 안착하는 시료 로딩 단계 및
상기 LDI-MS 시료 안착 어레이 상에 안착된 시료를 LDI-MS로 분석하여 시료 내 타겟 물질을 검출하는 분석 단계를 포함하는 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 이황화텅스텐층은 상기 기관충에 접하는 다수의 이황화텅스텐 나노박편 입자들을 포함하는 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 분석 단계는 타겟 물질의 함량을 계산하는 정량화 단계를 포함하는 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법.
- [청구항 4] 제3항에 있어서,
상기 정량화 단계는 이황화텅스텐층에 존재하는 이황화텅스텐 나노박편 입자의 농도를 얻는 제1 정량화 단계를 포함하며,
상기 제1 정량화 단계에서 얻은 이황화텅스텐 나노박편 입자의 농도로부터 타겟 물질의 함량을 결정하는 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법.
- [청구항 5] 제3항에 있어서,
상기 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법은, 상기 시료 로딩 단계 이전에, 액상 시료에 내부 표준물질을 첨가하는 단계를 포함하며,
상기 정량화 단계는 LDI-MS 스펙트럼에서 타겟 물질에 해당하는 피크강도 및 내부 표준물질에 해당하는 피크강도로부터 타겟 물질의 함량을 결정하는 제2 정량화 단계를 포함하는 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법.
- [청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 정량화 단계는 보정 스펙트럼을 얻는 단계를 포함하여, 상기 보정 스펙트럼에서 결정 계수(Coefficient of determination)가 0.9 이상인 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법.
- [청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법은, 검출 한계(Limit of detection; LoD)가 $0.01 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ (타겟 물질/혈액) 이하인 LDI-MS를 이용한 혈액 내 시료 분석 방법.
- [청구항 8] 기관충; 및 상기 기관충 상에 적층되되, 혈액을 포함하는 시료가 로딩되도록 하는 이황화텅스텐층;을 포함하는, 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.

- [청구항 9] 제8항에 있어서,
상기 이황화텅스텐층은 상기 기관층에 접하는 다수의 이황화텅스텐 나노박편 입자들을 포함하는 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 이황화텅스텐 나노박편 입자는 평균두께가 2 내지 15 nm인 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 11] 제9항에 있어서,
상기 이황화텅스텐층은 이황화텅스텐 나노박편 입자가 단위 면적당 0.0001 내지 100 mg/cm²로 존재하는 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 12] 제9항에 있어서,
상기 이황화텅스텐층은 이황화텅스텐 나노박편 입자들이 분산된 수분산 용액으로부터 상기 기관층 위에 스포팅(Spotting)된 후 물이 증발되어 제조된 것인 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 13] 제12항에 있어서,
상기 수분산 용액은 이황화텅스텐 나노박편 입자를 0.001 내지 10 중량%로 포함하는 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 14] 제13항에 있어서,
상기 수분산 용액은 0.001 내지 100 μ l 함량(25°C, 1 atm)으로 동일 영역에 2 회 이상 스포팅되는 것인 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 15] 제8항에 있어서,
상기 이황화텅스텐층의 평균두께는 0.001 내지 500 μ m인 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 16] 제9항에 있어서,
상기 이황화텅스텐 나노박편 입자는 하기 식 1을 만족하는 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
식 1 : $R_1/R_2 \geq 1.3$
(상기 식 1에서, R_1 은 이황화텅스텐층의 임의 선택된 $2 \times 2 \mu$ m의 영역에서 측정된 라만 스펙트럼에서 340 내지 380 cm⁻¹ 범위의 피크면적이며, R_2 는 상기 라만 스펙트럼에서 400 내지 440 cm⁻¹ 범위의 피크면적이다)
- [청구항 17] 제9항에 있어서,
상기 이황화텅스텐 나노박편 입자는 이황화텅스텐 벌크 분말로부터 리튬-인터칼레이트 화학적 박리 방법에 의해 제조된 것인 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 18] 제8항에 있어서,
상기 기관층은 알루미늄, 구리, 철, 니켈, 아연, 크롬, 은 및 실리콘 중에서

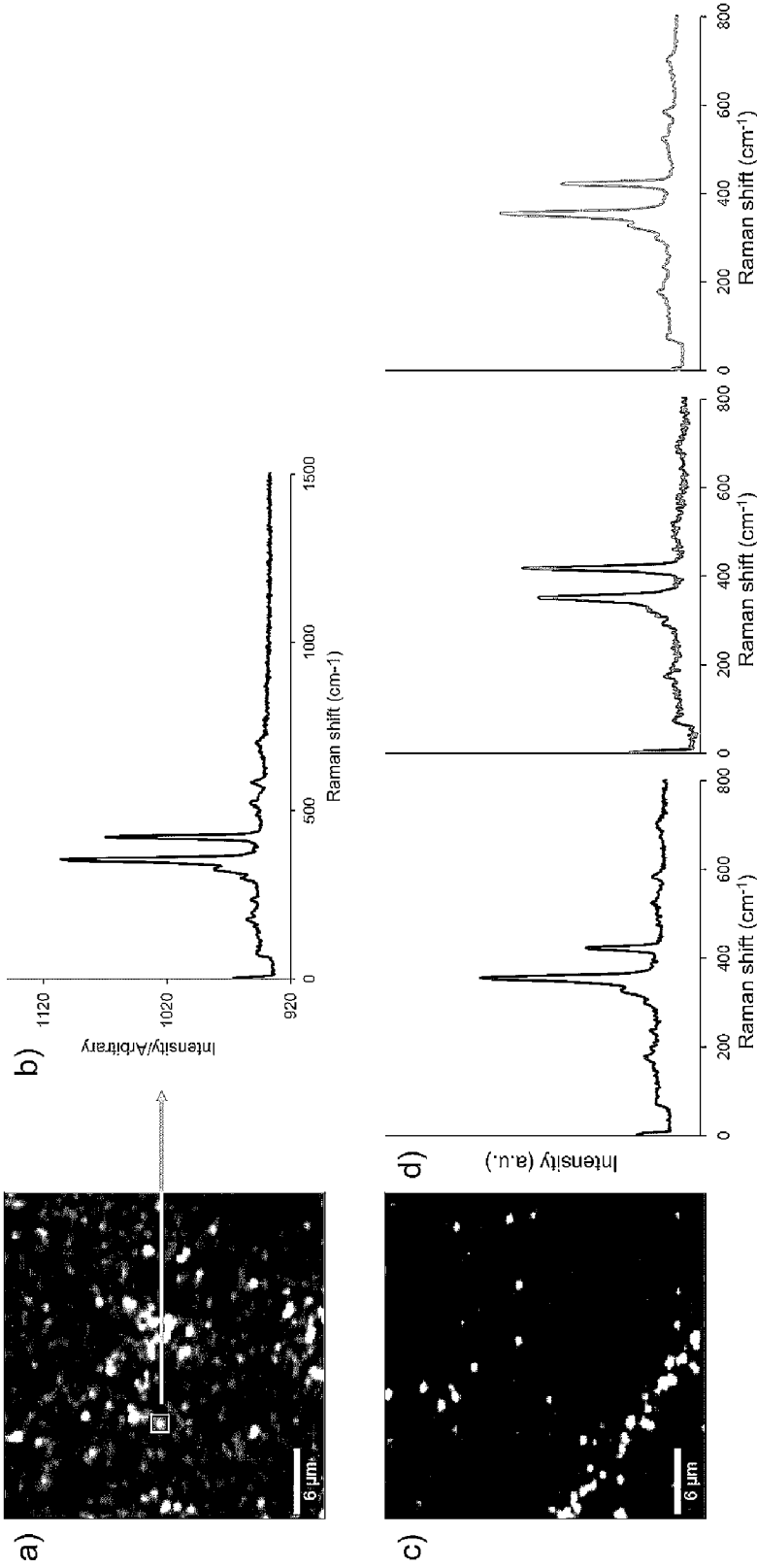
선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 포함하는 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.

- [청구항 19] 제8항에 있어서,
상기 시료 안착 어레이는 혈액 내 주입되는 타겟 물질의 정성 또는 정량 분석을 위한 용도로 사용되는 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이.
- [청구항 20] 제8항 내지 제19항에서 선택되는 어느 한 항의 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이를 포함하는 LDI-MS용 시료 안착 키트.
- [청구항 21] 제8항 내지 제19항에서 선택되는 어느 한 항의 혈액 내 유기물 검출용 LDI-MS 시료 안착 어레이를 포함하는 레이저 탈착 이온화 질량 분석 장치.

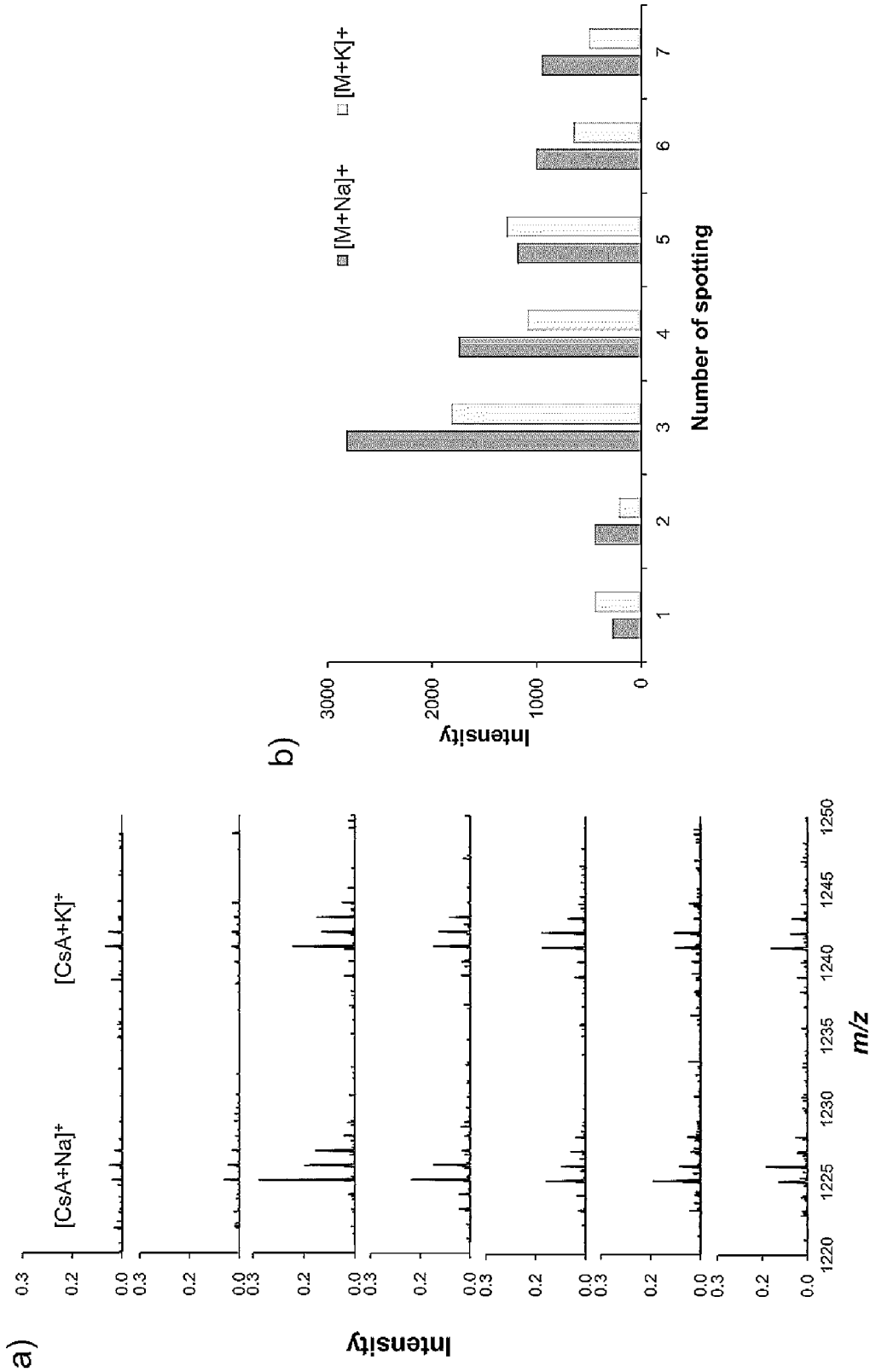
[도 1]



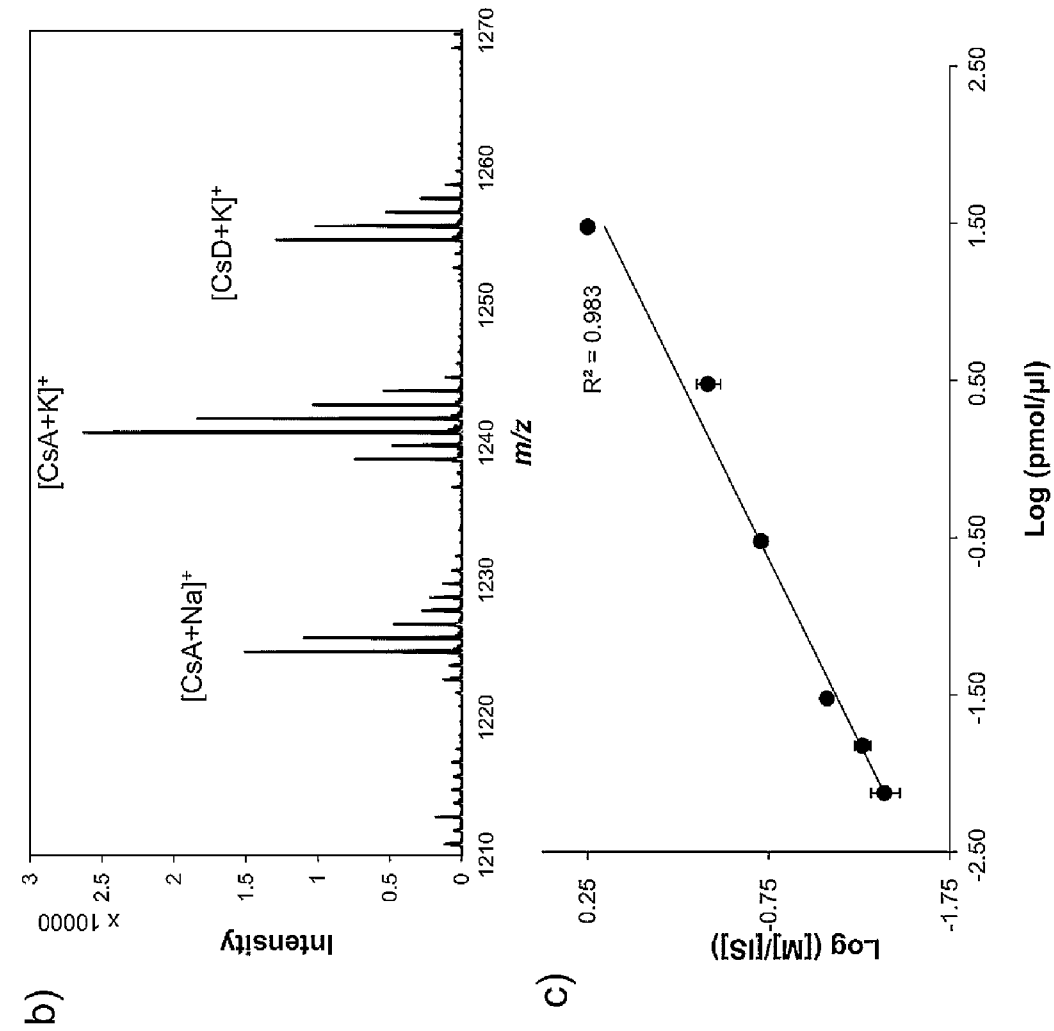
[도2]



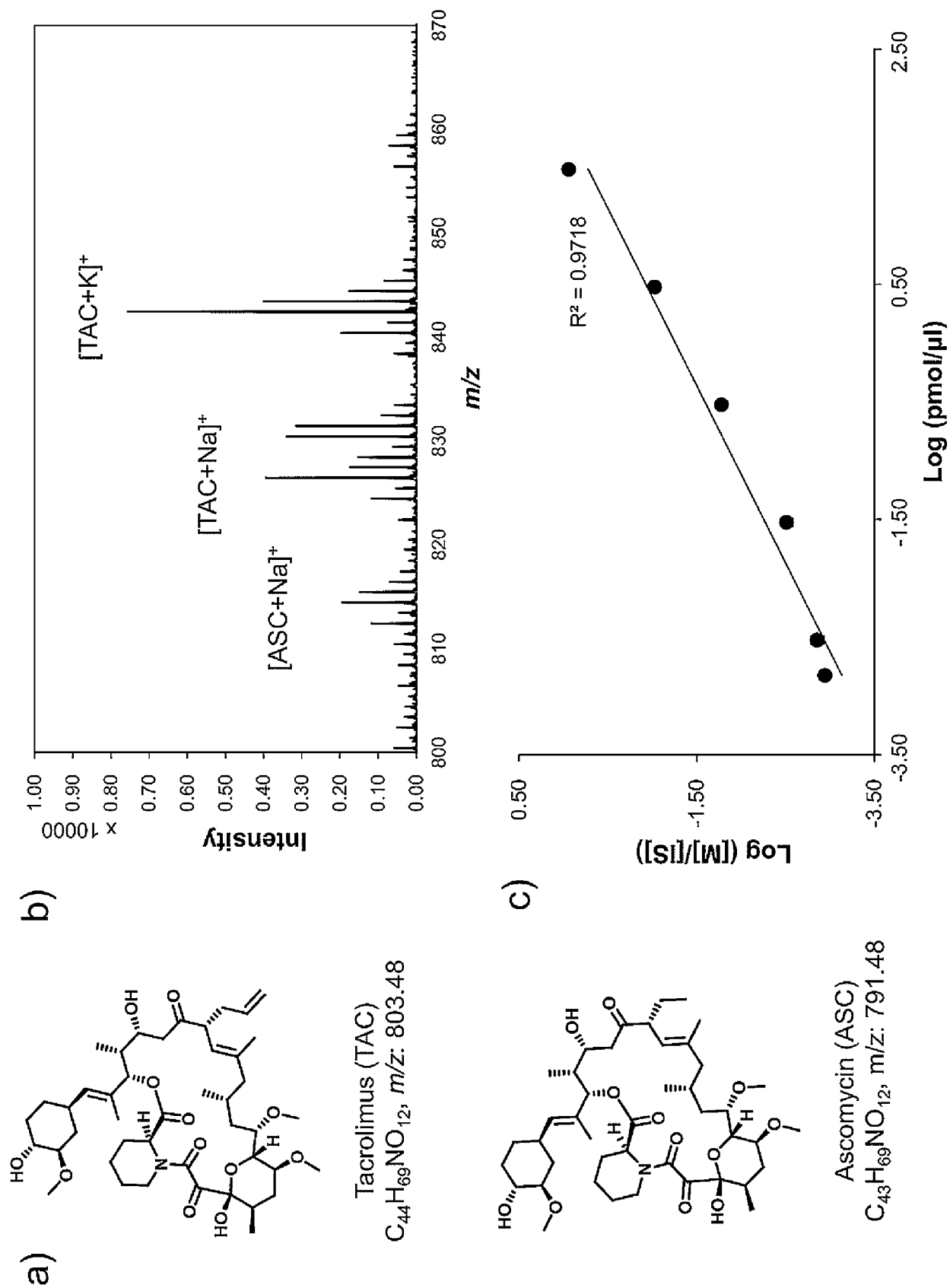
[도3]



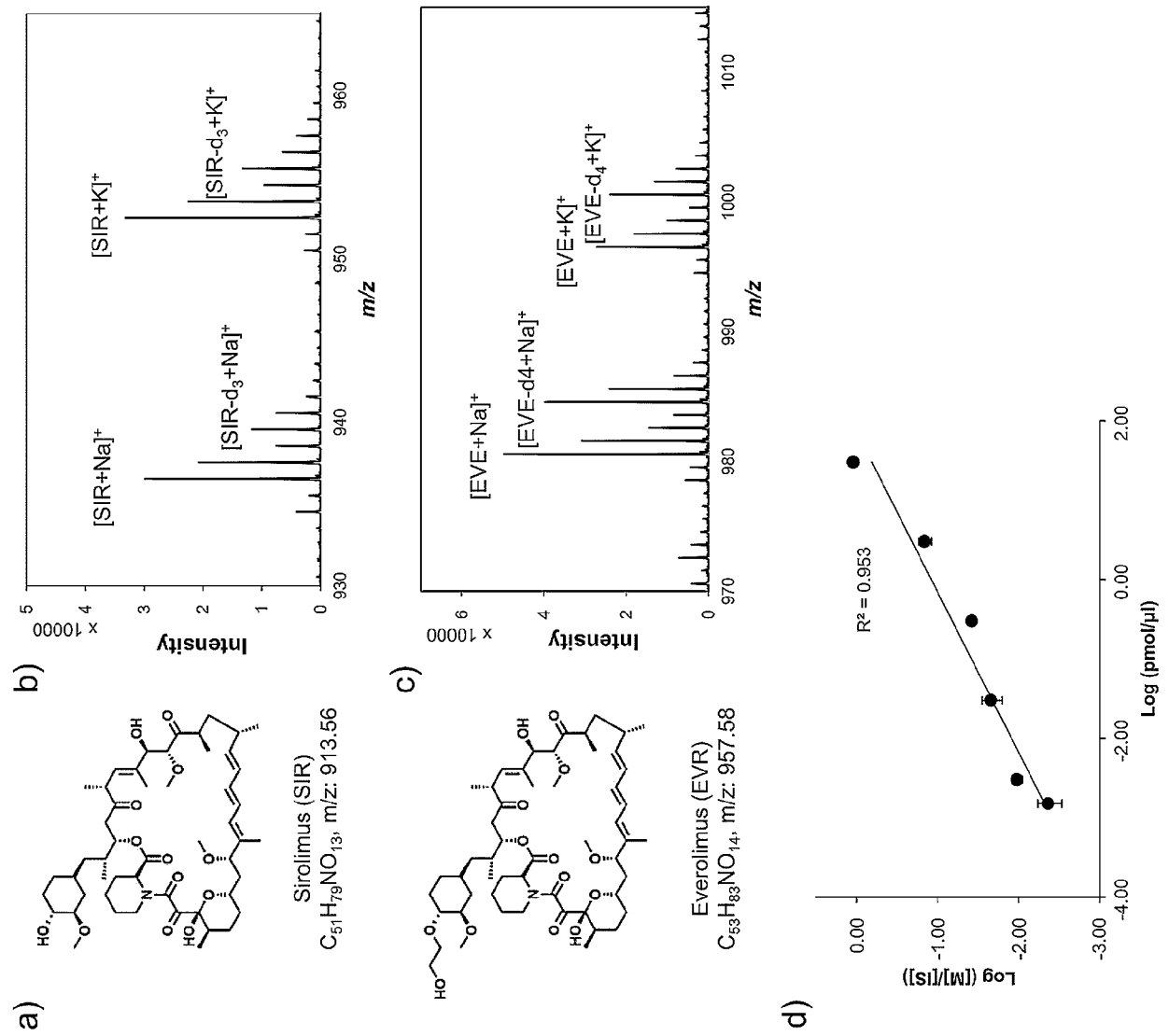
[도4]



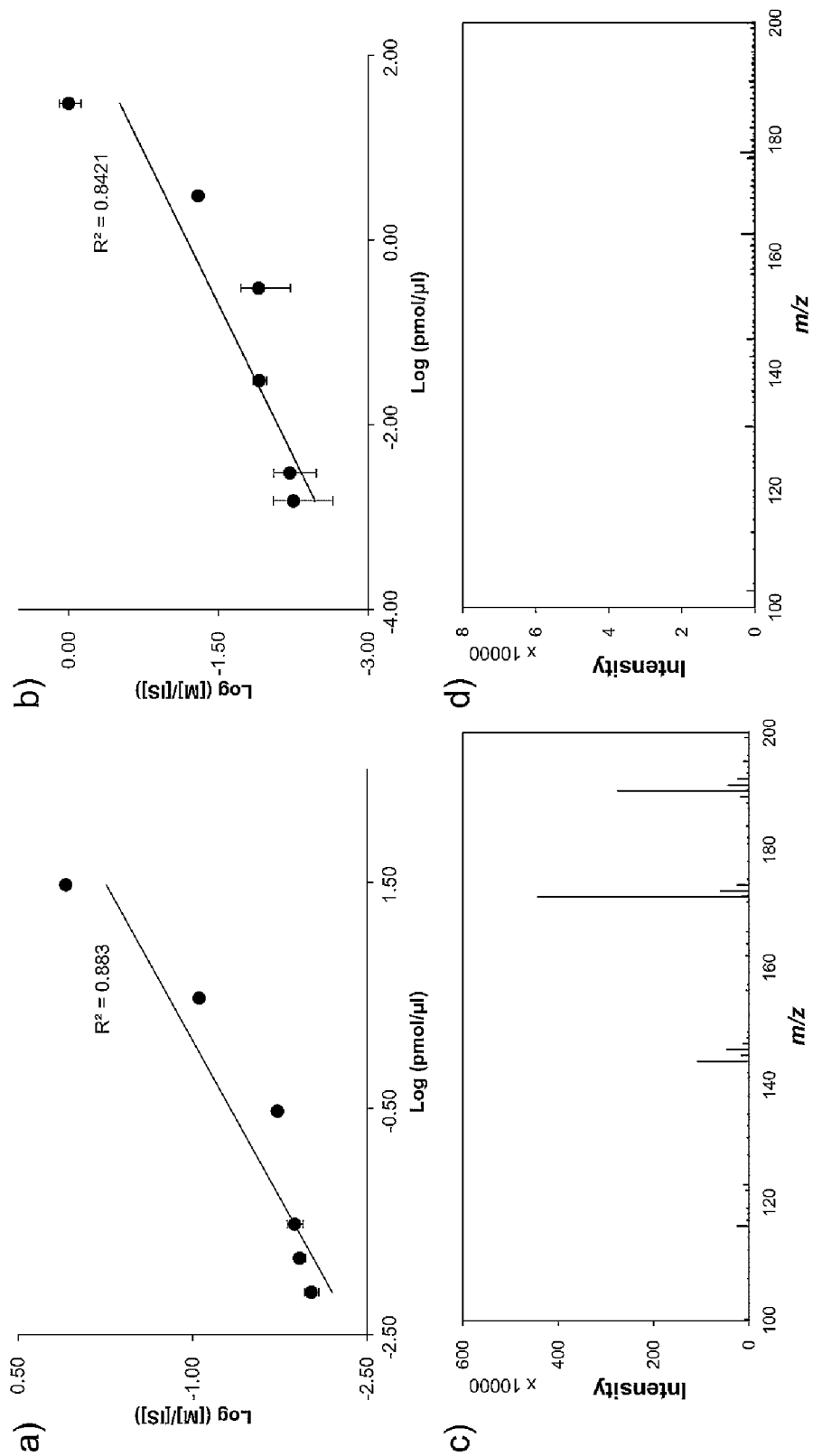
[도5]



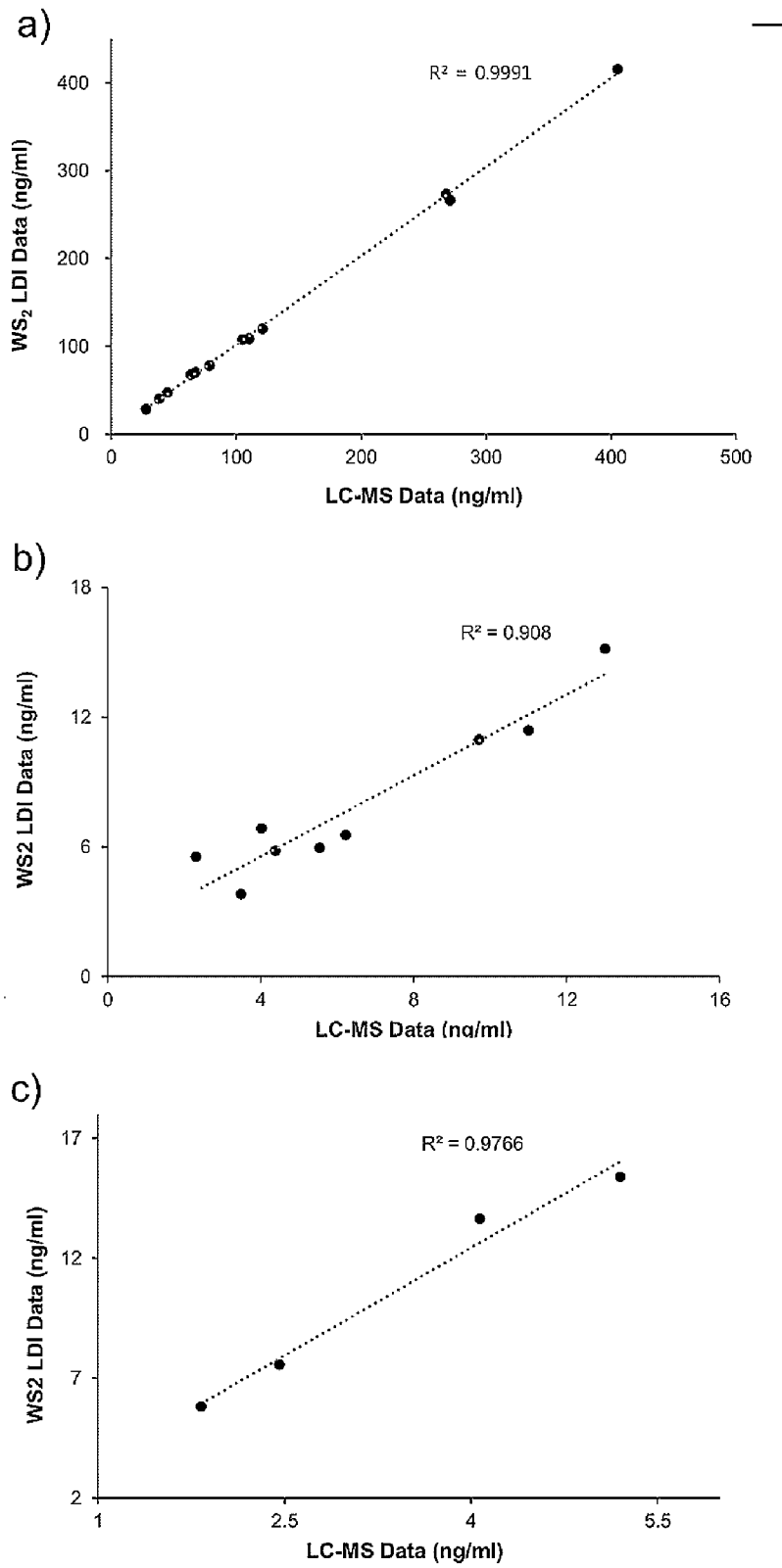
[도6]



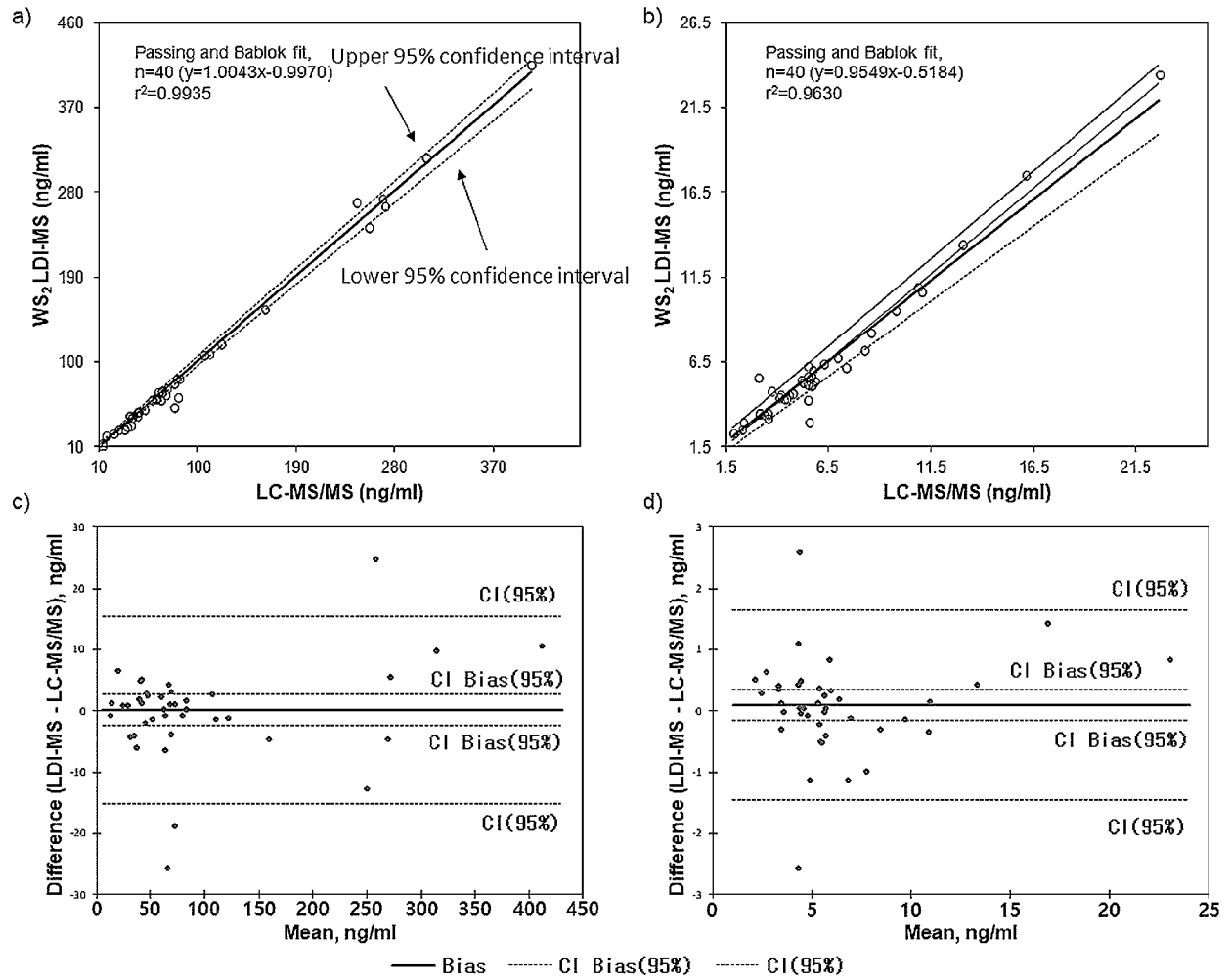
[도7]



[도8]



[도9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/018683

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/68(2006.01)i, G01N 27/64(2006.01)i, H01J 49/16(2006.01)i, H01J 49/04(2006.01)i, G01N 27/62(2006.01)i, G01N 33/49(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 33/68; G01N 27/62; G01N 27/64; H01J 49/02; H01J 49/16; H01J 49/04; G01N 33/49

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

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

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

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

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: LDI-MS, wolfram disulfide(WS₂), organic matter

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KIM, Y.-K. et al. A layer-by-layer assembled MoS ₂ thin film as an efficient platform for laser desorption/ionization mass spectrometry analysis of small molecules. <i>Nanoscale</i> , 2017, vol. 9, no. 30, pages 10854-10860, HHS Public Access Author Manuscript Version. inner pages 1-18 See abstract; figures 1, 4; pages 2, 4-7.	1-21
Y	CN 103592361 A (NANKAI UNIVERSITY) 19 February 2014 See abstract; claim 1.	1-21
A	KR 10-2018-0068280 A (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) 21 June 2018 See abstract; claims 1-19.	1-21
A	JP 2005-083784 A (SHIMADZU CORP.) 31 March 2005 See abstract; claims 5-6, 12-1.	1-21
A	KR 10-1592517 B1 (KYUNGPOOK NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION et al.) 11 February 2016 See the entire document.	1-21



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 APRIL 2020 (10.04.2020)

Date of mailing of the international search report

10 APRIL 2020 (10.04.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsu-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/018683

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
CN103592361 A	19/02/2014	CN 103592361 B	02/09/2015
KR 10-2018-0068280 A	21/06/2018	KR 10-2019561 B1	09/09/2019
JP 2005-083784 A	31/03/2005	JP 4432411 B2	17/03/2010
KR 10-1592517 B1	11/02/2016	KR 10-2016-0002279 A	07/01/2016

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

G01N 33/68(2006.01)i, G01N 27/64(2006.01)i, H01J 49/16(2006.01)i, H01J 49/04(2006.01)i, G01N 27/62(2006.01)i, G01N 33/49(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

G01N 33/68; G01N 27/62; G01N 27/64; H01J 49/02; H01J 49/16; H01J 49/04; G01N 33/49

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: LDI-MS, 이황화텅스텐(tungsten disulfide, Wolframdisulfid, WS₂), 유기물(organic matter)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KIM, Y.-K. 등, `A layer-by-layer assembled MoS <sub>2</sub> thin film as an efficient platform for laser desorption/ionization mass spectrometry analysis of small molecules`, Nanoscale, 2017, 9권, 30호, 페이지 10854-10860, HHS Public Access Author Manuscript Version 내부 페이지 1-18 초록; 도면 1, 4; 페이지 2, 4-7	1-21
Y	CN 103592361 A (NANKAI UNIVERSITY) 2014.02.19 요약; 청구항 1	1-21
A	KR 10-2018-0068280 A (연세대학교 산학협력단) 2018.06.21 요약; 청구항 1-19	1-21
A	JP 2005-083784 A (SHIMADZU CORP.) 2005.03.31 요약; 청구항 5-6, 12-1	1-21
A	KR 10-1592517 B1 (경북대학교 산학협력단 등) 2016.02.11 전체 문헌	1-21

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X”에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2020년 04월 10일 (10.04.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 04월 10일 (10.04.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



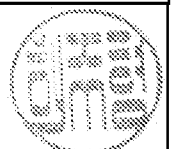
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
CN103592361 A	2014/02/19	CN 103592361 B	2015/09/02
KR 10-2018-0068280 A	2018/06/21	KR 10-2019561 B1	2019/09/09
JP 2005-083784 A	2005/03/31	JP 4432411 B2	2010/03/17
KR 10-1592517 B1	2016/02/11	KR 10-2016-0002279 A	2016/01/07