



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0061893
(43) 공개일자 2022년05월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/62 (2006.01) B01L 3/00 (2006.01)
C12Q 1/26 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12Q 1/62 (2013.01)
B01L 3/502715 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0151064
(22) 출원일자 2021년11월05일
심사청구일자 2021년11월05일
(30) 우선권주장
1020200147864 2020년11월06일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
윤대성
서울특별시 강남구 광평로10길 6, 101-201 (일원동, 한솔마을아파트)
김인수
서울특별시 성북구 인촌로24가길 4-11, B03호 (안암동5가)
이규도
세종특별자치시 조치원읍 섬골길 59, 102동 704호 (e-편한세상 세종)
(74) 대리인
위병갑

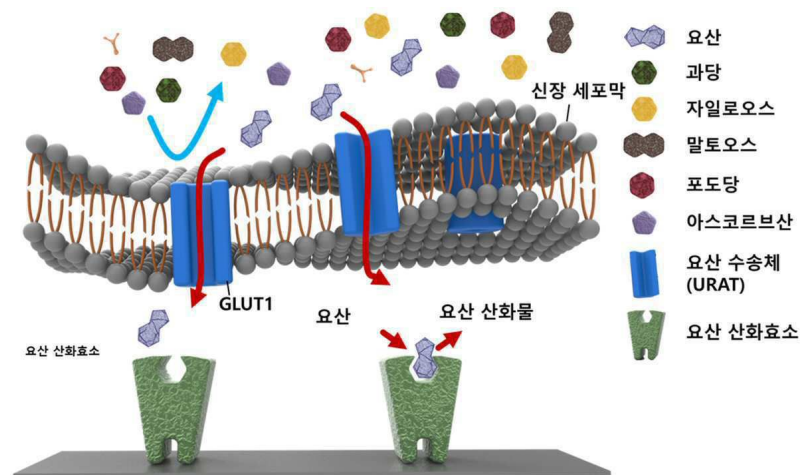
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 요산 측정용 바이오센서

(57) 요약

필터부를 포함하는 요산 측정용 바이오센서로서, 상기 필터부는 생물학적 시료 내 요산을 선택적으로 투과시키며, 상기 세포막은 요산 수송체(Urate transporter, URAT) 단백질을 포함하는 것을 특징으로 하는 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서가 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 1/26 (2013.01)

G01N 33/48 (2019.01)

B01L 2300/0681 (2013.01)

B01L 2400/0415 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

필터부를 포함하는 요산 측정용 바이오센서로서,

상기 필터부는 생물학적 시료 내 요산을 선택적으로 투과시키며, 상기 세포막은 요산 수송체(Urate transporter, URAT) 단백질을 포함하는 것을 특징으로 하는 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 필터부는 신장세포 및 암세포로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 세포로부터 분리되어 상기 요산 수송체가 풍부한 세포막 소낭인 것을, 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 생물학적 시료는 혈액, 소변, 땀, 눈물, 및 타액으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상인 것인, 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 바이오센서는

투과된 요산을 인식하는 센서부; 및

인식된 요산에 의한 신호를 해독하는 해독(read)부;를 더 포함하는 것인, 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서.

청구항 5

제5항에 있어서,

센서부와 해독부 사이에 인식된 요산을 신호로 변환하는 측정부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서.

청구항 6

제 4항에 있어서,

상기 센서부는 전극; 및 상기 전극에 고정화되어 상기 필터부를 통과한 요산과 반응하는 요산산화효소(UOx)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 바이오센서를 포함하는, 생물학적 시료 내 요산 측정용 키트.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 따른 바이오센서에 생물학적 시료를 접촉시키는 단계; 및

상기 접촉 후 검출되는 전기적 신호에 따라 요산 농도를 검출하는 단계를 포함하는, 생물학적 시료 내 요산 농도 측정 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 요산 측정용 바이오센서에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 생물학적 시료 내 요산을 선택적으로 투과시키는 필터부를 포함하는 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 요산(요산)은 간에서 핵산의 구성 성분인 퓨린 대사의 최종 분해 생성물이며 육류 제품에 존재한다. 혈액 요산 수준은 신장을 통해 요산을 배설하는 신장 시스템에 의해 조절된다. 높은 요산($\sim 350 \mu\text{M}$) 수준은 관절, 피부 및 기타 조직에 바늘 모양의 요산 결정이 침전되는 특징이 있는 질환인 통풍으로 이어질 수 있으며, 통풍 발병률은 최근 수십 년 동안 증가했습니다(Singh et al., 2019).

[0004] 통풍 진단을 위해서는 요산 결정의 확인이 필수적이며, 현재 편광현미경과 X선 영상의 두 가지 방법을 사용하여, 요산 결정을 감지한다.

[0005] 요산 결정은 편광 현미경을 통해 활액에서 시각적으로 감지할 수 있지만 활액 샘플링은 고통스러울 수 있다. 반면에 X선 영상은 요산 결정의 비침습적 관찰을 가능하게 하지만, 이러한 방법은 비용이 많이 들고 대형 장비와 일부 전문가가 필요하다. 또한, 요산 결정은 관절에 과도한 요산 결정 침착으로 인한 통풍의 급성 단계에서만 감지될 수 있다. 따라서 기존의 방법으로는 통풍을 조기에 진단하기 어렵다는 문제가 있다. 따라서, 보다 용이하게 검사가능한 새로운 요산 측정용 바이오 센서 개발이 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) KR 10-2009-0045491 A

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 제1 양태는 세포막으로 이루어진 필터부를 포함하는 요산 측정용 바이오센서로서, 상기 필터부는 생물학적 시료 내 요산을 선택적으로 투과시키는 것인, 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서를 제공한다.

[0009] 또한, 본 발명의 제2 양태는 상기 바이오센서를 포함하는, 생물학적 시료 내 요산 측정용 키트를 제공한다.

[0010] 또한, 본 발명의 제3 양태는 상기 바이오센서에 생물학적 시료를 접촉시키는 단계를 포함하는, 생물학적 시료 내 요산 농도 측정 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 필터부를 포함하는 요산 측정용 바이오센서로서, 상기 필터부는 생물학적 시료 내 요산을 선택적으로 투과시키며, 상기 세포막은 요산 수송체(Urate transporter, URAT) 단백질을 포함하는 것을 특징으로 하는 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서를 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 필터부는 신장세포 및 암세포로 이루어진 군으로부터 선택된 1 이상의 세포로부터 분리되어 상기 요산 수송체가 풍부한 세포막 소낭이다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 생물학적 시료는 혈액, 소변, 땀, 눈물, 및 타액으로 이루어진 군으로부터 선택

된 1종 이상이다.

[0015] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 바이오센서는 투과된 요산을 인식하는 센서부; 및 인식된 요산에 의한 신호를 해독하는 해독(read)부;를 더 포함하며, 상기 센서부와 해독부 사이에 인식된 요산을 신호로 변환하는 측정부를 더 포함한다.

[0016] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 센서부는 전극; 및 상기 전극에 고정화되어 상기 필터부를 통과한 요산과 반응하는 요산산화효소(UOx)를 포함한다.

[0017] 본 발명은 또한 상술한 바이오센서를 포함하는, 생물학적 시료 내 요산 측정용 키트와, 상술한 바이오센서에 생물학적 시료를 접촉시키는 단계; 및 상기 접촉 후 검출되는 전기적 신호에 따라 요산 농도를 검출하는 단계를 포함하는, 생물학적 시료 내 요산 농도 측정 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0019] 본 발명의 바이오센서는 생물학적 시료 내 요산을 선택적으로 투과시키는 세포막으로 이루어진 필터부를 포함하고 있어 종래에 상용화되어 있는 요산 측정센서에 비하여 요산 검출 민감성이 높고, 동시에 과당, 자일로오스, 말토오스, 글루코스 및 아스코르브산, 리포산 (lipoic acid) 글루타치온 (glutathione), 나이아신아마이드 (niacinamide) 등의 항산화물질 같은 신호방해물질의 첨가에도 생물학적 시료 내 요산 검출 특이성이 높다. 더욱이, 본 발명의 요산 측정용 바이오센서에 포함된, 세포막으로 이루어진 필터부는 수분, 습기 등 공기 중의 조건 변화에 크게 영향을 받지 않는바, 본 발명의 바이오센서는 1회용 요산 측정 시험지, 부착형 또는 체내 삽입형 요산 측정 기기 등 다양한 제품에 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 요산 측정용 바이오 센서의 동작 원리를 설명하는 모식도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 요산 측정용 바이오센서의 구조 및 제조공정 단계를 도식화하여 나타낸 도이다.

도 3은 본 발명의 요산 측정용 바이오센서를 제조하기 위하여, 세포로부터 세포막을 분리하여 센서부에 도포하는 과정을 도식화하여 나타낸 도이다.

도 4는 기본 전극 (bare sensor), 효소를 코팅한 전극 (UOx sensor), 및 세포막을 코팅한 전극 (KCM sensor)의 AFM, SEM 이미지를 나타낸 것이다.

도 5는 PBS에서 50mV/s의 스캔 속도, -0.2~0.6V의 스캔 범위에서 아무것도 z코팅하지 않은 베어, UOx 및 KCM 센서의 CV 분석결과이다.

도 6 및 7은 본 발명에 따른 KCM 코팅 바이오 센서를 사용하여 피크 전류에 대한 스캔 속도의 영향을 분석한 결과이다.

도 8을 참조하면, UOx센서와 KCM이 코팅된 센서로 PBS에 용해된 요산을 측정한 결과이다.

도 9는 요산과 방해물질을 더 포함할 때 센서의 신호를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 10은 400 μ M UA용 KCM 및 URAT1 차단 KCM 센서의 Ipc 분석결과이다.

도 11 내지 13은 각각 KCM 센서의 가능성, 안정성 및 재현성 분석 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 이하, 발명을 상세히 설명한다.

[0023] 본 발명은 상술한 문제를 해결하기 위하여 본 발명은 요산 산화효소(UOx)가 고정화된 센서(UOx 센서라고 함, 센싱부)와 URAT1이 풍부한 신장 세포막(URAT1-rich kidney cell membrane, KCM, 필터부)가 다층으로 코팅된 요산 검출 바이오 센서(KCM 센서라고 함)를 제공한다. 즉, 본 발명에서는 생물학적 시료 내 요산만을 선택적으로 투과시키기 위하여 요산 수송체(Urate transporter, URAT) 단백질을 포함하는 필터부와, 필터부를 통과한 요산과

반응하여 전기적 신호를 발생시키는 요산 산화효소(UOx)가 고정된 전극 기반 센싱부를 포함하는 생물학적 시료 내 요산 측정용 바이오센서를 제공한다.

- [0024] 본 발명의 일 실시예에 따른 KCM이 필터로 코팅된 센서(KCM 센서)의 표면 형태를 주사전자현미경(SEM), 원자간력현미경(AFM), 공초점현미경을 통해 확인하였으며, 순환전압전류법(CV)을 이용하여 전기화학적 특성을 연구하였다.
- [0025] 본 발명에 따른 요산 측정용 바이오센서인 KCM 센서의 감지 성능은 0~1000 μ M 농도 범위인 것으로 확인되었다. 그 선택성은 인간 혈청에서 5가지 항산화제를 테스트하여 입증되었으며(Shindyapina et al., 2017). 마지막으로 KCM 센서의 실용화 평가를 통해 실현가능성, 안정성, 재현성을 검증하였다.
- [0026] 따라서, 이상의 구성과 결과는 본 발명은 요산 검출의 정확도를 향상시키기 위해 URAT1으로 기능화된 신장 모방 전기화학 바이오센서를 제공할 수 있음을 확인시켜준다.
- [0028] 본 발명에 있어서, '바이오센서'는 생물이 가지고 있는 기능을 이용하여 물질의 성질 등을 조사하는 기계로서 피분석물의 검출을 위해 사용하는 분석장치를 지칭하는 것으로, 크게 감지성 생물적 요소(sensitivity biological element), 전도체 또는 검출 요소(transducer or the detector element) 및 바이오센서 해독 장치(biosensor reader device)를 가지는 것이 특징이며, 본 발명의 목적상 상기 바이오센서는 요산 센서로 해석될 수 있다.
- [0029] 본 발명에 있어서, 바이오센서는 체내 이식형, 패치형 또는 1회용 요산 시험지에 적용되는 형태일 수 있으며, 요산 측정을 목적으로 하는 한 어떠한 형태로든 제한되지 않는다.
- [0030] 본 발명에 있어서, 바이오센서는 생물학적 시료 내 요산을 선택적으로 투과시키는 필터부; 투과된 요산을 인식하는 센서부 뿐만 아니라, 센서부에 의하여 인식된 요산에 의한 신호를 해독하는 해독(read)부;를 포함하며, 센서부와 해독부 사이에 인식된 요산을 신호로 변환하는 측정부를 더 포함할 수 있다.
- [0031] 본 발명에 있어서, '생물학적 시료'는 요산을 포함하고 있는 분석대상을 지칭하는 것으로, 혈액, 눈물, 소변, 타액 및 땀 등을 포함하며, 바람직하게는 혈액이나 이에 제한되지 않는다.
- [0032] 본 발명에 있어서, '필터부'는 생물학적 시료를 정제하는 구역을 의미하는 것으로, 생물학적 시료 내 요산을 선택적으로 투과시키는 역할을 한다. 본 발명에 따른 '필터부'는 '세포막 물질'로 이루어져있으며, 상기 세포막은 신장세포 또는 암세포로부터 유래될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0033] 상기 세포막은 바람직하게는 막 단백질, 요산 수송체(Urate transporter, URAT) 단백질을 포함할 수 있다.
- [0034] 본 발명에 있어서, '센서부'는 필터부에 의하여 투과된 생물학적 시료 내 요산을 인식하는 구역을 의미한다.
- [0035] 본 발명에 있어서, '측정부'는 센서부와 해독부 사이에 위치하면서 센서부에 의하여 인식된 요산을 신호로 변환하는 구역이다. 일례로 상기 센서부 내 효소와 전자 전달 매개체(mediator) 간의 일련의 산화환원반응을 통하여 요산을 전자(e^-) 형태의 신호로 변환시키고, 이에 따른 산화전위를 전극으로 인가시켜 전류를 발생시킬 수 있다.
- [0036] 이때, 상기 전자 전달 매개체는 페로센(ferrocene), 페로센 유도체, 퀴논(quinones), 퀴논 유도체, 유기 전도성 염(organic conducting salt) 또는 비오로젠(viologen), 포타슘헥사시아노페레이트(III)(Potassium hexacyanoferrate III), 포타슘 페리시아나이드(potassium ferricyanide), 포타슘페로시아나이드(potassium ferrocyanide) 또는 헥사아민루세늄(III)(hexaammineruthenium III) 등일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 상기 전극은 금(Au), 은(Ag) 또는 구리(Cu) 전극일 수 있고, 전기적인 신호의 정확성을 고려할 때 금 전극이 바람직하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0037] 본 발명에 있어서, '해독부'는 인식된 요산에 의한 신호를 해독하는 구역이다. 일례로, 요산을 변환하여 얻은 전류 신호를 객관적인 수치로 표시하여 정보를 제공할 수 있다.
- [0038] 본 발명의 다른 실시예에서는, 측정부를 거치지 않고 요산 자체를 수치화하여 정보를 제공하도록 하였다.
- [0039] 본 발명의 다른 양태는 상기 바이오센서를 포함하는, 요산 측정용 키트를 제공한다.
- [0040] 본 발명에 따른 키트는 보다 효과적으로 요산을 측정할 수 있도록 본 발명의 바이오센서 외에 채혈 또는 채뇨 등을 도와주는 도구 등을 추가로 포함할 수 있다. 상기 키트는 외부패키지를 포함할 수 있으며, 외부패키지는

구성요소들의 사용에 관한 사용설명서를 포함할 수 있다.

- [0041] 본 발명의 다른 양태는 상기 바이오센서에 생물학적 시료를 접촉시키는 단계를 포함하는, 생물학적 시료 내 요산 농도 측정 방법을 제공한다.
- [0042] 상기 방법의 목적상 요산 농도 측정을 통해 통풍의 진단 또는 예후를 판단할 수 있다.
- [0043] 본 발명의 다른 양태는 하기 단계를 포함하는, 요산 측정용 바이오센서의 제조방법을 제공한다:
- [0044] (1) 세포를 원심분리하여 세포막을 수득하는 단계;
- [0045] (2) 상기 (1) 단계에서 수득한 세포막을 초음파 처리 또는 압출하여 소낭 상태로 제조하는 단계; 및
- [0046] (3) 상기 (2) 단계에서 제조한 소낭 상태의 세포막을 센서부에 도포하는 단계.
- [0047] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 요산 측정용 바이오 센서의 동작 원리를 설명하는 모식도이다.
- [0048] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 요산 측정용 바이오 센서의 KCM층은 UO_x 고정 센서에 코팅된다. 여기에서 KCM은 선택적 필터로 작용하여 URAT1을 통해 UA를 선택적으로 수송하고 항산화제의 침투를 방지한다.
- [0049] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 요산 측정용 바이오센서의 구조 및 제조공정 단계를 도식화하여 나타낸 도이다.
- [0050] 도 2를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 요산 측정용 바이오센서는 폴리에스테르 기관 상에 형성된 기준전극(Reference electrode), 상대전극(counter electrode) 및 작업전극(working electrode)로 구성되며, 여기에서 작업전극 상에는 요산 산화효소(UO_x)층과, 상기 요산 산화효소층(UO_x) 상부에는 요산만을 선택적으로 투과시키는 기능성 막인 URAT1-풍부 신장 세포막(KCM) 소낭층이 형성되어 있다. 따라서, 도 1에서 도시된 바와 같이 요산만이 선택적으로 투과되어 요산 산화효소(UO_x)와 반응하여 요산을 정량적으로 검출할 수 있다.
- [0052] 실시예
- [0053] 본 발명의 일 실시예에 따른 스크링 프린트 탄소 전극(SPCE)의 작업 전극은 0.5M 황산을 사용하여 CV를 통해 전기화학적으로 활성화되어 부동태화 층을 제거하여 제조된다. 전위는 안정적인 전압전류도를 달성하기 위해 200mV/s의 스캔 속도에서 -0.4V에서 1.4V(Ag/AgCl 대비)로 12번 순환하였으며, 이 순환은 Ag 전극에 영향을 미치지 않았다.
- [0054] 상기 전자 전달 매개체는 페로센(ferrocene(Fc), 5 mg)를 1 mL의 5% Nafion 117(Naf)에 첨가하였다(Fc-Naf). 이후 Fc-Naf를 작업 전극(2 μ L)에 캐스팅하고 건조하였다. 여기서 Fc는 Naf 박막에 물리적으로 갇혔으며, 그 결과 Fc는 제조 중 확산이 방지되었다.
- [0055] 요산 산화효소(UO_x)층을 형성하기 위해 10 mg/mL UO_x , 8.0 mg/mL BSA 및 1.25% glutaraldehyde를 포함하는 UO_x 혼합물을 작동전극에 주조하고 실온에서 건조하였다. 이후 PBS로 세척하여 결합되지 않은 UO_x 를 제거하였다.
- [0056] 이후 PBS를 이용하여 KCM 농축액을 0.5%로 희석하여 URAT1-풍부 신장 세포막(URAT1-rich kidney cell membrane, KCM) 용액을 제조하였다. 다시 KCM 용액을 5분 동안 초음파 처리하여 KCM 소낭을 제조하고, 소낭을 37°C에서 30분 동안 공지된 소낭 융합 방법을 사용하여 UO_x 층에 코팅하였고, 소낭은 지질 이중층 형태의 고체 표면에 코팅되었으며, 배양 후 센서는 실온에서 2시간 동안 건조되었다(Perry et al., 2006). 도 3은 본 발명의 요산 측정용 바이오센서를 제조하기 위하여, 세포로부터 세포막을 분리하여 센서부에 도포하는 과정을 도식화하여 나타낸 도이다.
- [0058] 실험예
- [0059] 표면분석
- [0060] 도 4는 기본 전극 (bare sensor), 효소를 코팅한 전극 (UO_x sensor), 및 세포막을 코팅한 전극 (KCM sensor)의 AFM, SEM 이미지를 나타낸 것이다.
- [0061] 도 4를 참조하면, 기본전극 (bare sensor), 효소를 코팅한 전극 (UO_x sensor), 및 KCM 소낭의 지질 이중층 세포막을 코팅한 전극 (KCM sensor)의 AFM, SEM 이미지로, 본 발명에 따라 KCM 소낭의 지질 이중층 세포막이 필터

부로 낮은 조도로 잘 코팅되었음을 확인할 수 있다.

[0063] 전기화학분석

[0064] 도 5는 PBS에서 50mV/s의 스캔 속도, -0.2~0.6V의 스캔 범위에서 아무것도 z코팅하지 않은 베어, UOx 및 KCM 센서의 CV 분석결과이다.

[0065] 도 5를 참조하면, 각 센서의 Ipc는 120.8, 72.6 및 58.9 μ A이고 양극 피크 전류(Ipa)는 각각 -136.18, -89.3 및 -76.9 μ A이다. 즉, UOx 및 KCM 센서의 Ipc 값은 베어 센서에 비해 각각 40% 및 51% 감소하였는데, 이것은 UOx 및 KCM 코팅이 센서의 전자 전달 능력을 지연시킴을 확인해준다.

[0066] 도 6 및 7은 본 발명에 따른 KCM 코팅 바이오 센서를 사용하여 피크 전류에 대한 스캔 속도의 영향을 분석한 결과이다.

[0067] 도 6 및 7을 참조하면, Ipc 및 Ipa 대 평균 제곱근 스캔 속도는 회귀 계수(R2)가 각각 0.999 및 0.9934인 매우 선형 특성을 보였다. Randles-Sevcik 방정식은 이러한 결과가 화학적으로 가역적인 산화환원 과정에 대한 증거를 제공한다.

[0068] 도 8을 참조하면, UOx센서와 KCM이 코팅된 센서로 PBS에 용해된 요산을 측정된 결과를 나타낸 것으로, KCM 코팅된 센서가 농도 증가에 따라 센서의 신호도 증가하는 것이 확인할 수 있다.

[0069] 도 9는 요산과 방해물질을 더 포함할 때 센서의 신호를 확인한 결과를 나타낸 것이다. 즉, 각 항산화제(AA: 아스코르브산, BA: 바르비투르산, LA: 리포산, GSH: 글루타티온, NA: 나리아신아미드) 40 μ M과 혼합된 400 μ M 수준의 요산을 측정하기 위한 KCM 센서의 선택성을 측정된 값이다.

[0070] 도 9를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따라 신장세포막인 KCM을 도포한 센서는 방해물질이 있음에도 요산만 존재하는 상태와 유사한 결과가 나왔고, KCM이 도포되지 않은 대조군 센서는 방해물질에 영향을 받아 신호가 더 강하게 나타나는 것을 알 수 있다.

[0071] 도 10은 400 μ M UA용 KCM 및 URAT1 차단 KCM 센서의 Ipc 분석결과이다.

[0072] 도 10을 참조하면, URAT1을 통해 KCM 센서의 UA 투과성을 확인하기 위해 KCM에서 URAT1을 억제하였다. 즉, URAT1 억제제인 Verinurad는 URAT1의 잔기(Ser-35, Phe-365 및 Ile-481)에 결합하는데, 이러한 억제제가 URAT1에 결합하면 UA는 더 이상 KCM을 통해 이동할 수 없음을 확인할 수 있다

[0074] 가능성, 안정성 및 재현성 분석

[0075] 도 11 내지 13은 각각 KCM 센서의 가능성, 안정성 및 재현성 분석 결과를 나타낸 것이다.

[0076] 도 11 내지 13은 각각 KCM 센서를 사용한 인간 혈청의 UA 검출 가능성, 40 μ M BA가 있거나 없는 400 μ M UA를 감지하기 위한 KCM 센서의 안정성, 400 μ M UA로 검증된 4개의 KCM 센서 배치의 재현성 분석 결과이다.

[0077] 도 11을 참조하면, 0.1 x 혈청에서 UA를 측정했을 때 KCM 센서의 감도가 감소했지만 Ipc는 UA의 농도에 따라 선형적으로 증가하였으며 결정 계수는 0.9839였다.

[0078] 도 12를 참조하면, UA를 측정하여 3주 보관 후 센서의 안정성을 분석한 결과, KCM 센서는 새로 만든 KCM 센서와 비교하여 100 $\pm$ 1.0%의 Ipc를 보였다. 이 결과는 UOx의 효소 활성과 URAT1의 UA 수송 능력이 3주 동안 안정적인 임을 보여줍니다

[0079] 도 13을 참조하면, 3주 보관 후 KCM 센서의 선택성을 테스트하였다. 즉, UA 및 BA 혼합물을 테스트한 후 3주 동안 보관된 KCM 센서의 Ipc는 새로 준비된 KCM 센서의 Ipc의 100 $\pm$ 0.3%이었다. 따라서 3주 보관 후에도 KCM 유래의 선택성이 유지됨을 확인할 수 있으며, 재현성은 독립적으로 제작된 KCM 센서의 활동을 비교하여 평가되었다. 이러한 결과는 이는 독립적으로 제작된 KCM 센서의 전기화학적 특성이 매우 일관적임을 나타낸다.

[0080] 상기 결과와 같이 본 발명의 바이오센서는 시료 내 요산을 선택적으로 측정 가능함을 확인하였다

[0082] 중복되는 내용은 본 명세서의 복잡성을 고려하여 생략하며, 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발

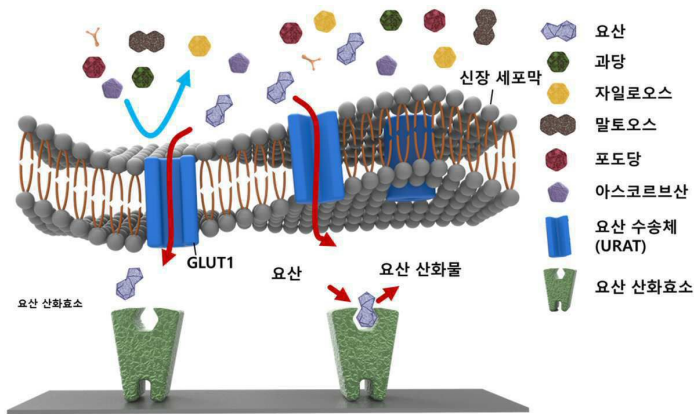
명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.

[0083]

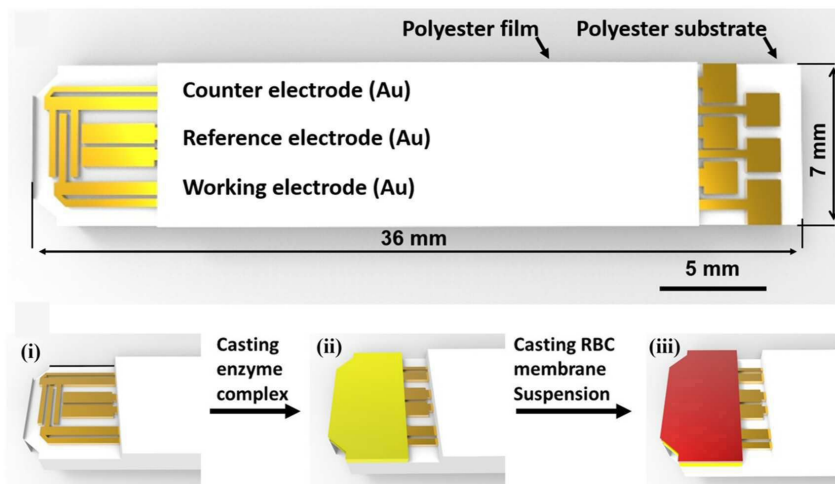
이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

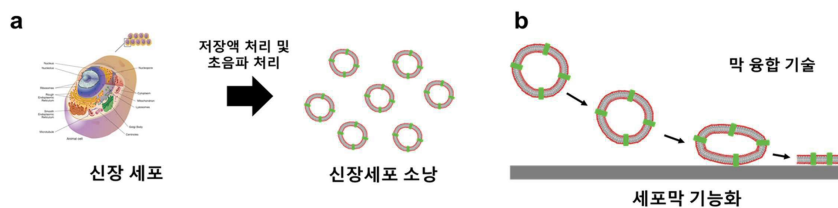
도면1



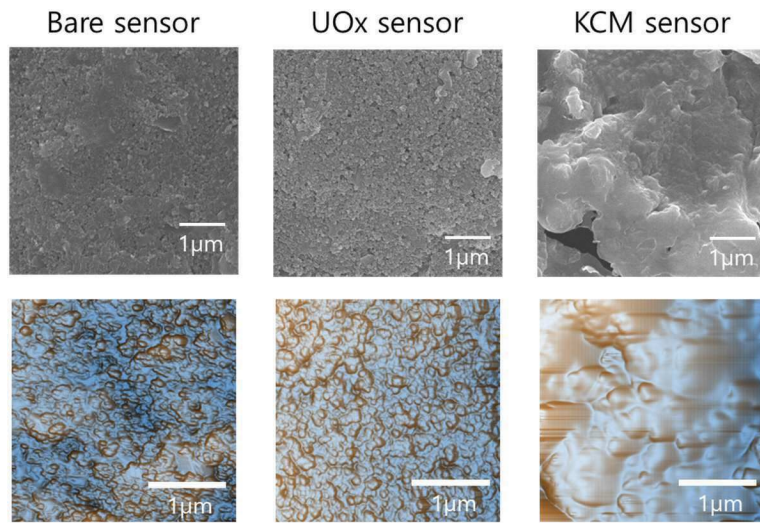
도면2



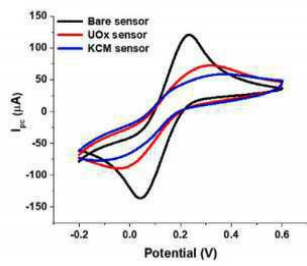
도면3



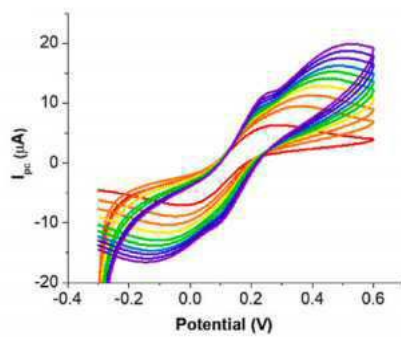
도면4



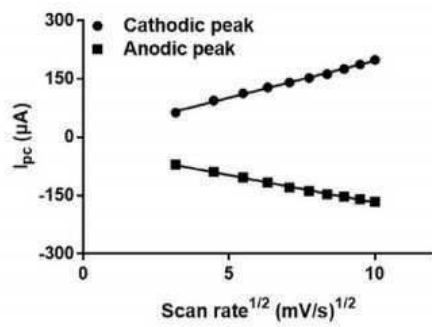
도면5



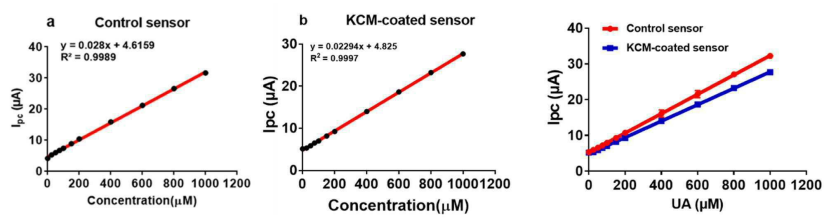
도면6



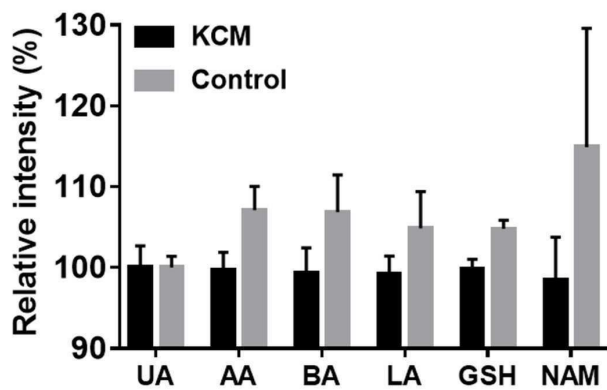
도면7



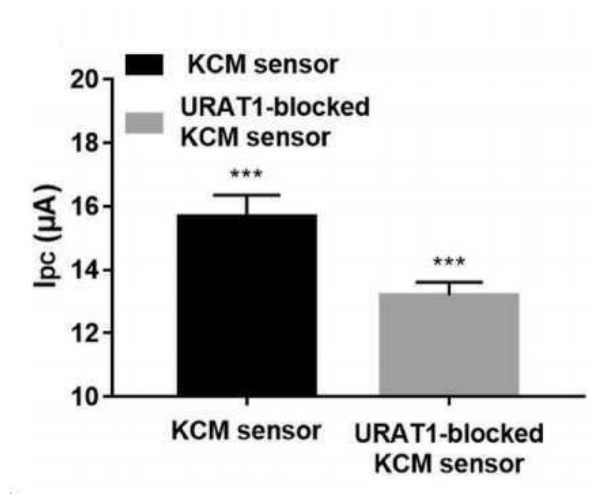
도면8



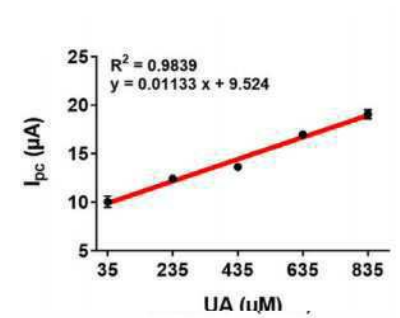
도면9



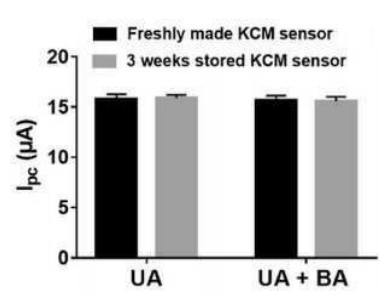
도면10



도면11



도면12



도면13

