(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년04월29일
(11) 등록번호 10-1389554
(24) 등록일자 2014년04월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 15/02 (2006.01) *C12Q 1/02* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0134686
(22) 출원일자 2012년11월26일
심사청구일자 2012년11월26일
(56) 선행기술조사문헌
KR100670590 B1*
KR1020050063236 A*
US07611309 B2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732, 국제캠퍼스 내 (서천동, 경희대학교)
(72) 발명자
이원구
경기도 수원시 영통구 영통로 498 황골마을1단지 아파트 136동 1402호
김기수
경기도 화성시 동탄문화센터로 38 서해그랑블 아파트 411동 2502호
윤호영
경기도 의정부시 장곡로 248 장암동아아파트 113동 1603호
(74) 대리인
김정대

전체 청구항 수 : 총 6 항 심사관 : 이달경

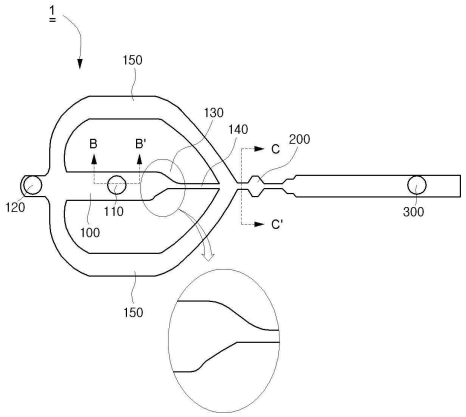
(54) 발명의 명칭 **유세포 계수기의 유체 채널 및 유세포 계수법**

(57) 요 약

본 발명은 유세포 시료 주입이 이루어지는 시료 주입구에서의 시료 침전 현상을 방지하는 한편, 세포 뭉침을 방지하며, 전체 처리 속도를 떨어뜨리지 않으면서 시료 감지부에서의 유세포 감지 효율을 증가시킴으로써, 유세포 계수의 효율적 수행 및 신뢰도 향상을 도모할 수 있도록 한 것이다.

이를 위해 본 발명은, 유세포의 감지 영역을 이루는 감지 채널; 그리고 시스유체(Sheath Fluid)가 주입되는 시스유체 주입구와 유세포 시료의 주입을 위해 상기 시스유체 주입구와 상기 감지 채널 사이의 구간에 형성되는 시료 주입구를 가지며, 상기 시스유체에 합류되는 상기 유세포 시료를 상기 감지 채널로 안내하는 메인 유동채널을 포함하여 구성되는 유세포 계수기의 유체 채널 및 이를 이용한 유세포 계수법을 개시한다.

대 표 도 - 도3



특허청구의 범위

청구항 1

시스유체(Sheath Fluid)가 주입되는 시스유체 주입구와 유체가 배출되는 유체 배출구 사이에 유세포 감지 영역을 이루도록 구비되는 감지 채널과;

상기 시스유체(Sheath Fluid)가 주입되는 시스유체 주입구와 유세포 시료의 주입을 위해 상기 시스유체 주입구와 상기 감지 채널 사이의 구간에 형성되는 시료 주입구를 가지며, 상기 시스유체에 합류되는 상기 유세포 시료를 상기 감지 채널로 안내하는 메인 유동채널과;

상기 유세포 시료를 상기 메인 유동채널의 중앙부로 집속시키는 지류 시스유체가 상기 메인 유동채널에 합류되도록, 상기 시료 주입구와 상기 감지 채널 사이의 구간에 상기 지류 시스유체를 안내하도록 연결되는 보조 유동채널을 포함하여 구성되되,

상기 메인 유동채널과 보조 유동채널이 동일 평면상에 위치하게 되고,

상기 감지 채널은 상기 메인 유동채널의 하류보다 확장된 유로 단면적을 가지며,

상기 시료 주입구와 상기 감지 채널의 사이 구간에는 비대칭 형상으로 유로 단면적이 좁아지는 비등방 채널이 구비되는 것을 특징으로 하는 유세포 계수기의 유체 채널.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 메인 유동채널에 주입되는 상기 유세포 시료가 상기 시스유체에 의해 상기 감지 채널측으로 쓸려가도록, 상기 시료 주입구는 상기 메인 유동채널의 벽에 수직하게 구비되는 것을 특징으로 하는 유세포 계수기의 유체 채널.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 유세포 시료가 상기 메인 유동채널의 천장에서 상기 메인 유동채널의 내부로 주입되도록, 상기 시료 주입구는 상기 메인 유동채널의 천장에 구비되는 것을 특징으로 하는 유세포 계수기의 유체 채널.

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 보조 유동채널은, 상기 시스유체 주입구를 통해 상기 메인 유동채널의 내부로 주입되는 상기 시스유체로부터 상기 지류 시스유체가 갈라지도록, 상기 메인 유동채널에서 분기되는 한 쌍의 시스 채널을 포함하여 구성되며; 상기 시스 채널의 상류는 상기 시료 주입구보다 상류 구간에서 상기 메인 유동채널에 연결되고, 상기 시스 채널의 하류는 상기 시료 주입구와 상기 감지 채널 사이의 구간에서 상기 메인 유동채널의 양측에 연결되는 것을 특징으로 하는 유세포 계수기의 유체 채널.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

메인 유동채널의 천장을 통해 상기 메인 유동채널의 내부로 주입되는 유세포 시료가 시스유체에 의해 감지 채널 측으로 쓸려가도록, 상기 메인 유동채널에 상기 시스유체와 상기 유세포 시료를 주입하는 (a)단계;

상기 메인 유동채널을 따라 상기 시스유체와 함께 유동하는 상기 유세포 시료의 양측에 지류 시스유체를 합류시켜서 상기 유세포 시료를 상기 메인 유동채널의 중앙부로 집속시키는 (b)단계; 그리고

감지 채널을 통과하는 상기 유세포 시료를 감지하여 유세포 계수를 수행하는 (c)단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 청구항 1의 유세포 계수기의 유체 채널을 이용한 유세포 계수법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 (a)단계에서 상기 유세포 시료가 상기 시스유체의 상층에 합류되도록, 상기 시스유체는 상기 유세포 시료보다 먼저 상기 메인유동채널에 주입되는 것을 특징으로 하는 유세포 계수법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 유세포 계수를 위한 미세유체시스템에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 채널 내부로 주입되는 세포의 침전을 방지하여 유세포 계수를 더욱 효율적으로 수행할 수 있는 유세포 계수기의 유체 채널 및 이를 이용한 유세포 계수법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 주지된 바와 같이, 바이오 관련 마이크로 소자분야, 예를 들면 랩온어칩(Lab on a chip) 분야는 소형화, 저가격화, 집적화, 자동화 및 실시간 진단 기능을 구현하기 위하여 현재에도 다양한 연구가 진행되고 있다.

[0003] 그 중에서 생화학적 분석을 위한 바이오칩 또는 바이오센서에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 이러한 바이오칩 또는 바이오센서는 최소량의 시료를 사용하여 정확도가 높은 분석을 수행할 수 있고, 저렴한 비용으로 제작될 수 있는 것이 바람직하며, 근래에는 마이크로칩 형태의 유체 채널, 즉 미세 유체채널에 대한 관심이 증가하고 있다.

[0004] 생화학적 분석의 일 예인 유세포 계수법(Flow Cytometry)은, 유동세포계수법으로 불리기도 하는데, 유액상태의 입자나 세포가 감지 영역을 통과할 때 각각의 입자나 세포의 특성(입자나 세포의 수, 크기, 세포 내부의 조성정도 등)을 분석하는 방법을 말하며, 이를 위한 장치를 유세포 계수기라 한다.

[0005] 미세 유체역학적 방법으로 유세포 계수를 구현하기 위해서 가장 이상적인 세포 집속의 형태는 3차원 세포집속(3 dimensional cell focusing, 시스유체가 유세포의 둘레를 감싸서 유동하는 구조의 세포집속, 즉 유체의 중심에 유세포가 집속된 형태)인데, 구현이 불가능한 것은 아니지만 실제로 구현하기가 매우 힘들고 구현을 위해서는 고가의 비용이 소요되는 실정이다.

[0006] 특히, 미세가공기술(microfabrication Technology)을 이용하여 3차원 세포집속을 구현하는 것은 매우 어려우며, 이러한 미세가공기술을 이용한 3차원 세포집속은 2단계 내지 3단계의 단차를 가지는 멀티 레이어(multi-layer) 구조의 마이크로채널을 사용해야 하기 때문에, 장치가 복잡해지고 제조가 힘들며 제조비용이 비싸다는 문제점이 있다.

[0007] 이에 대부분의 미세유체채널(Microfluidic Channel) 기반 유세포분석기(유세포계수기)는 유세포의 양측에 시스유체(Sheath Fluid)를 흐르게 하여 채널의 양측을 흐르는 시스유체의 사이에 유세포를 집속하는 구조(채널의 중앙부로 유세포를 집속하는 구조)인 2차원 세포 집속(Focusing)를 이용하고 있다.

[0008] 따라서, 유세포 시료를 2차원적으로 집속하여 채널의 Z방향(유체의 유동방향에 수직한 방향)에서 조사되는 광원(대부분 laser)에 대부분의 시료를 노출시킬 수 있지만, Z방향으로 동시에 여러 개의 세포가 들어올 경우 세포 측정오차(세포의 Coincidence로 인한 doublet)가 많이 생기게 된다.

[0009] 그리고 유세포 시료가 유동하는 유체 채널의 높이를 낮게 할 경우, 즉 미세유체채널의 높이를 낮게 할 경우에는 더블릿(Doublet)으로 인한 오차는 줄일 수 있지만, 낮은 채널높이로 인하여 채널 막힘(Channel clogging) 현상과 입구(유세포 주입구)에서의 세포침전(Cell sedimentation) 현상이 발생하게 된다.

[0010] 현재에는 FACS(Fluorescence Activated Cell Sorter)라는 공법으로 상용화된 장비도 많이 개발되어 있으며, 상기 유세포 계수에서 PBS(Phosphate Buffered Saline)나 물과 같은 세포 무해성 유체(Biocompatible fluid)인 시스유체(Sheath flows)를 이용하여 유세포를 집속시키는 방법이 주로 사용되고 있고, 미세유체 시스템의 발전을 통하여 미세유체채널을 통한 유세포 계수법이 개발되고 있다.

[0011] 이러한 미세유체채널을 통한 유세포 계수법은 과거에 비해 적은 양의 시료로 유세포 계수가 가능케 되었고 더 높은 민감도(Signal-to-noise)를 보여주므로 최근 많은 각광을 받고 있다. 그리고, 미세유체채널을 통한 유세포 계수법은 값싸게 검사를 구현할 수 있는 등의 장점을 지니고 있으나, 기존의 유체 채널, 즉 유세포 계수기의 미세유체채널에서는 다음과 같은 문제점들이 있었다.

[0012] 먼저, 상기 유체 채널은 채널의 단면적이 좁아지는 지역에서 세포가 뭉쳐서 채널을 막아 유체의 흐름을 방해하는 문제가 발생한다. 특히 민감도를 높이기 위해 채널의 폭을 줄일수록 이러한 문제점이 분명하게 나타난다.

[0013] 참고로, 유체 채널의 폭과 관계되는 집속도(Focusing flow)와 세포 입자 크기의 비(ratio)는 계수 정확도에 영향을 미치는 인자로서, 채널의 폭이 넓을수록 민감도(sensitivity)가 저하된다는 것은 세포 입자가 광원(light source)에 정확이 광학적으로 포커싱(optically focusing) 되지 않을 확률이 높다는 것을 의미한다.

[0014] 또 다른 문제점으로는, 유세포 계수법에서 세포를 정확히 계수하기 위해서는 시료로 투입되는 세포의 손실을 최소화해야 하나, 기존 미세유체채널을 이용한 유세포 계수법은 여전히 많은 세포 손실이 나타나는데, 그 이유는 세포가 들어오는 시료 주입구 영역에서 세포 침전이 크게 발생하기 때문이다. 이러한 문제 때문에 감지 영역에서의 세포 계수에 많은 오류가 나타나고 이에 따라 계수의 정확도도 떨어지는 문제점이 있다.

[0015] 즉, 도 1 및 도 2를 참조하면, 기존의 미세유체채널은 유세포 시료가 주입되는 시료 주입구 및 그 주변 영역, 더 나아가 유세포 시료가 유동하는 채널(메인 유동채널)에 유세포 시료의 침전이 쉽게 일어나며, 결과적으로 감지 영역에서 검출되는 유세포의 수가 줄어들게 하는 결과를 야기함으로써 측정 오류를 발생시키는 문제점이 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0016] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허 10-1183436호 (등록일자 2012년09월10일)

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 10-1183436호 (등록일자 2012년09월10일)

비특허문헌

[0017] (비특허문헌 0001) Junha Park , Seok Chung , Hoyoung Yun, Keunchang Cho, Chanil Chung, Dong-Chul Han, Jun Keun Chang. Asymmetric nozzle structure for particles converging into a highly confined region. Current Applied Physics 6 (2006) 992.995

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 본 발명은 상술한 유체 채널에 있어서의 제반 문제점을 해결하기 위한 것으로서, 유세포 시료에 의한 채널 막힘, 특히 유세포 시료 침전을 최소화 또는 방지할 수 있는 유세포 계수기의 유체 채널 및 이를 이용한 유세포 계수법을 제공하는데 그 목적이 있다.

[0019] 즉, 본 발명의 목적은, 유세포 시료 주입이 이루어지는 시료 주입구에서의 시료 침전 현상을 방지하고, 더 나아가 유체 채널의 단면적이 좁아지는 지역에서의 세포 뭉침을 방지하며, 전체 처리 속도를 떨어뜨리지 않으면서 유세포 감지 효율을 증가시킬 수 있는 유세포 계수기의 유체 채널을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0020] 본 발명은 상기한 제반 문제점을 해결하기 위한 것으로서, 유세포의 감지 영역을 이루는 감지 채널; 그리고 시스유체(Sheath Fluid)가 주입되는 시스유체 주입구와 유세포 시료의 주입을 위해 상기 시스유체 주입구와 상기 감지 채널 사이의 구간에 형성되는 시료 주입구를 가지며, 상기 시스유체에 합류되는 상기 유세포 시료를 상기 감지 채널로 안내하는 메인 유동채널을 포함하여 구성되는 유세포 계수기의 유체 채널을 제공한다.

[0021] 상기 메인 유동채널에 주입되는 상기 유세포 시료가 상기 시스유체에 의해 상기 감지 채널측으로 쓸려가도록, 상기 시료 주입구는 상기 메인 유동채널의 벽에 수직하게 구비된다.

[0022] 보다 바람직하게는, 상기 유세포 시료가 상기 메인 유동채널의 천장에서 상기 메인 유동채널의 내부로 주입되도록, 상기 시료 주입구는 상기 메인 유동채널의 천장에 구비된다.

[0023] 상기 유세포 시료를 상기 메인 유동채널의 중앙부로 집속시키는 지류 시스유체가 상기 메인 유동채널에 합류되도록, 상기 시료 주입구와 상기 감지 채널 사이의 구간에는 상기 지류 시스유체를 안내하는 보조 유동채널이 연결된다.

[0024] 보다 구체적으로 설명하면, 상기 보조 유동채널은, 상기 시스유체 주입구를 통해 상기 메인 유동채널의 내부로 주입되는 상기 시스유체로부터 상기 지류 시스유체가 갈라지도록, 상기 메인 유동채널에서 분기되는 한 쌍의 시스 채널을 포함하여 구성된다. 그리고 상기 시스 채널의 상류는 상기 시료 주입구보다 상류 구간에서 상기 메인 유동채널에 연결되고, 상기 시스 채널의 하류는 상기 시료 주입구와 상기 감지 채널 사이의 구간에서 상기 메인 유동채널의 양측에 연결된다.

[0025] 상기 감지 채널은; 상기 메인 유동채널의 하류보다 확장된 유로 단면적을 갖는 것이 바람직하다. 그리고 상기 메인 유동채널은; 상기 시료 주입구와 상기 감지 채널의 사이 구간에 구비되고 비대칭 형상으로 유로 단면적이 좁아지는 비등방 채널을 갖는다.

[0026] 다른 일 형태로서, 본 발명은: 메인 유동채널의 천장을 통해 상기 메인 유동채널의 내부로 주입되는 유세포 시료가 시스유체에 의해 감지 채널측으로 쓸려가도록, 상기 메인 유동채널에 상기 시스유체와 상기 유세포 시료를 주입하는 (a)단계; 상기 메인 유동채널을 따라 상기 시스유체와 함께 유동하는 상기 유세포 시료의 양측에 지류 시스유체를 합류시켜서 상기 유세포 시료를 상기 메인 유동채널의 중앙부로 집속시키는 (b)단계; 그리고 감지 채널을 통과하는 상기 유세포 시료를 감지하여 유세포 계수를 수행하는 (c)단계를 포함하는 유세포 계수법을 제공한다.

[0027] 상기 (a)단계에서 상기 유세포 시료가 상기 시스유체의 상층에 합류되도록, 상기 시스유체는 상기 유세포 시료보다 먼저 상기 메인유동채널에 주입되는 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0028] 본 발명에 따른 유세포 계수기의 유체 채널 및 유세포 계수법의 효과는 다음과 같다.

[0029] 본 발명에 따르면, 시료 주입구 영역에서의 세포 침전과 이에 의한 채널의 막힘 현상이 최소화 또는 방지되므로, 정확한 유세포 계수가 가능해지고 유세포 계수 효율이 증가되는 효과가 있다.

[0030] 그리고 본 발명에 따르면, 유세포 시료가 시스유체에 실려서 감지 영역(감지 채널) 측으로 유동할 때 유로 단면적이 좁아지는 부분에 비등방성 채널(Asymmetric Channel)이 적용되어서, 채널 단면이 좁아지는 부분에서의 막힘 현상이 효과적으로 방지될 수 있다.

[0031] 결론적으로, 본 발명에 따르면, 적은 양의 시료로 고효율의 계수가 가능하고, 채널 막힘이 방지되므로 유세포 계수기의 사용 수명이 연장될 수 있으며, 사용 횟수의 증가로 인한 계수 효율 저하가 방지될 수 있고, 유세포 계수의 신뢰도를 높일 수 있게 되며, 1회 시료 취득으로 가능한 분석 횟수가 늘어날 수 있으므로 분석 실패로 인한 시료 재취득 등의 번거로움을 최소화 또는 방지할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0032] 도 1은 종래 기술에 따른 유세포 계수기의 유체 채널을 나타낸 평면도

도 2는 도 1의 A-A'선에 따른 시료 주입구 종단면도

도 3은 본 발명에 따른 유세포 계수기의 유체 채널을 나타낸 평면도

도 4는 도 3의 B-B'선에 따른 단면도

도 5는 도 3의 C-C'선에 따른 것으로서, 본 발명에 따른 유세포 시료의 집속 구조를 나타낸 단면도

도 6의 (가) 및 (나)는 시뮬레이션을 이용하여 기존 유체 채널과 본 발명에 따른 유체 채널에서의 유동 해석 결과를 보여주는 도면

도 7의 (가) 및 (나)는 기존 유체 채널에서의 시료 주입구와 본 발명에서의 시료 주입구를 관찰한 사진

도 8의 (가) 및 (나)는 기존의 유세포 계수법과 본 발명에 따른 유세포 계수법으로 샘플(마이크로 비즈) 계수 결과를 비교한 그래프

도 9는 본 발명의 유세포 계수 방법으로 CD4+ T세포를 계수한 결과를 보여주는 참고 그래프

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0033] 이하, 본 발명의 바람직한 실시 예에 대해 첨부도면 도 3 내지 도 9를 참조하여 상세히 설명하면 다음과 같다. 본 발명을 설명함에 있어서, 유세포계수기 그 자체의 원리나 감지 영역에서의 분석기법은 일반적으로 알려진 것이므로 그에 대한 부가적인 설명은 생략된다.

[0034] 먼저, 도 3 내지 도 5를 참조하면, 본 발명에 따른 유세포 계수기의 유체 채널(1)은 유세포 시료가 유동하는 통로로서, 유세포 시료를 감지 영역으로 안내하며 상기 유세포 시료의 유동로를 이루는 메인 유동채널(100)과 상기 감지 영역을 이루는 감지 채널(200)을 포함하여 구성된다.

[0035] 상기 메인 유동채널(100)에는 유세포 시료와 상기 유세포 시료의 유동을 돕는 보조 유체가 주입되며, 상기 보조 유체로는 PBS나 물 등과 같이 세포에 해롭지 않은 유체(Biocompatible Fluid)가 적용된다. 이를 위하여, 상기 메인 유동채널(100)에는 상기 유세포 시료의 주입을 위한 제1주입구(110)와 상기 보조 유체의 주입을 위한 제2주입구(120)가 구비된다. 따라서 상기 메인 유동채널(100)은 상기 유세포 시료의 유동이 시작되는 채널이라고 할 수 있다.

[0036] 상기 보조 유체로는 유체역학적 집속(Hydrodynamic Focusing)을 위한 시스 유체(Sheath Fluid)가 적용되며, 상기 유세포 계수법에서 시스 유체의 사용은 잘 알려진 것이므로, 상기 시스 유체 그 자체의 사용 목적이나 기능에 대한 부가적인 설명은 생략된다. 이하에서는 상기 제1주입구(110)를 시료 주입구라 칭하며 상기 제2주입구(120)를 시스유체 주입구라 칭한다.

[0037] 그리고 상기 시료 주입구(110)를 통해 상기 메인 유동채널(100)에 주입되는 유세포 시료는, 상기 메인 유동채널(100)의 내부를 흐르는 상기 시스 유체에 합류되고 상기 메인 유동채널(100)을 따라 상기 감지 채널(200) 측으로 유동하게 된다.

[0038] 본 발명에서는 상기 유세포 시료가 상기 시스 유체에 의해 상기 감지 채널(200) 쪽으로 쓸려갈 수 있도록, 보다 바람직하게는 상기 시스 유체에 합류되는 유세포 시료가 상기 시스 유체에 실려서 상기 감지 채널(200) 측으로 유동할 수 있도록, 상기 시료 주입구(110)보다 상류 측에 상기 시스유체 주입구(120)가 형성된다.

[0039] 보다 구체적으로 설명하면, 상기 메인 유동채널(100)의 전체 구간 중에서 상기 시스유체 주입구(120)와 상기 감지 채널(200) 사이의 구간에 상기 시료 주입구(110)가 형성된다. 다시 말해서 상기 메인 유동채널(100)의 하류에 상기 감지 채널(200)이 구비되고, 상기 메인 유동채널(100)에서는 상기 시스유체 주입구(120)보다 상대적으로 하류 구간에 상기 시료 주입구(110)가 형성된다.

[0040] 따라서, 상기 시스유체 주입구(120)를 통해 상기 시스 유체가 상기 메인 유동채널(100)에 주입되고, 상기 메인 유동채널(100)에 주입된 상기 시스 유체는 상기 메인 유동채널(100)을 따라 유동하면서 상기 시료 주입구(110)가 형성된 부분을 거쳐 상기 감지 채널(200)로 유동하게 된다.

[0041] 본 실시 예에 있어서는, 상기 메인 유동채널(100)에 주입되는 상기 유세포 시료가 상기 시스유체에 의해 상기 감지 채널(200)측으로 쓸려갈 수 있도록, 상기 시료 주입구(110)는 상기 메인 유동채널(100)의 벽에 수직하게 구비된다.

[0042] 보다 구체적으로 설명하면, 상기 유세포 시료가 상기 메인 유동채널(100)의 천장에서 상기 메인 유동채널(100)의 내부로 주입되도록, 상기 시료 주입구(110)는 상기 메인 유동채널(100)의 천장에 구비된다.

[0043] 이에 따라, 상기 시료 주입구(110)를 통해 상기 메인 유동채널(100)로 주입되는 유세포 시료는 상기 메인 유동

채널(100)의 내부에서 상기 시스 유체의 상측으로 집속(focusing)된 상태로 유동할 수 있다. 다시 말해서, 도 4에 도시된 바와 같이 상기 시스 유체의 유동층 위에 상기 유세포 시료의 유동층이 형성될 수 있다.

[0044] 그리고, 상기 감지 채널(200)은 상기 메인 유동채널(100)의 하류보다 확장된 유로 단면적을 갖는다. 즉, 상기 감지 채널(200)은 그보다 상류 측의 채널에 비해 유로가 확장되는 형상의 확장 채널(Expansion Channel)로 구성된다.

[0045] 기존의 유세포계수법은 유체의 속도에 따라 처리량과 민감도가 서로 반비례하여 유체의 속도를 조절하는 것이 어려웠다. 그 이유는 유체의 속도가 빨라지면 많은 수의 세포를 분석할 수 있지만, 빠른 속도 때문에 세포 흐림 현상(Dimmer)이 나타나 민감도가 떨어지게 된다. 그러나 상기 확장 채널은 감지 영역에서 유속을 줄여 처리량 감소를 최소화하고 민감도를 높일 수 있게 된다. 그 원리는 베르누이 법칙에 의해 채널의 폭이 좁으면 유체의 속도가 증가하고 폭이 넓으면 유체의 속도가 감소하는 데 기반한 것이다. 즉, 폭이 좁은 채널에서는 세포가 빠르게 지나가지만 감지 영역(감지 채널)만 폭을 넓혀 세포가 느리게 지나가게 함으로써 민감도를 향상시키고 그 이후에 다시 채널이 좁아져서 세포가 빠르게 이동한다.

[0046] 또한, 상기 메인 유동채널(100)은 상기 메인 유동채널(100)의 하류측으로 갈수록 비대칭, 특히 좌우 비대칭적으로 유로 단면적이 좁아지는 비등방 채널(Asymmetric Channel)을 포함하는데, 상기 비등방 채널(130)은 상기 시료 주입구(110)와 상기 감지 채널(200)의 사이 구간에 구비된다. 이에 따라 상기 비등방 채널(130)과 상기 감지 채널(200)의 사이에는 상대적으로 유로 단면적이 좁은 협(狹)채널(140)이 형성된다.

[0047] 상기 비등방 채널(130)은 유로가 좁아지는 지역에서 세포나 입자가 뭉쳐서 채널이 막히는 현상을 방지하는데, 상기 비등방 채널(130)을 통과할 때 비등방 채널을 지나는 유체의 양쪽 유속이 달라지기 때문에 세포의 뭉침을 방지된다.

[0048] 한편, 상기 유세포 시료를 상기 메인 유동채널(100)의 중앙부로 집속시키는 지류 시스유체(도 5의 시스유체2)가 상기 메인 유동채널(100)에 합류되도록, 상기 시료 주입구(110)와 상기 감지 채널(200) 사이의 구간에는 상기 지류 시스유체(Branch Of Sheath Fluid)를 안내하는 보조 유동채널(150)이 연결되며, 이에 따라 상기 지류 시스유체가 상기 시료 주입구(110)와 상기 감지 채널(200) 사이의 구간에 유입된다.

[0049] 보다 구체적으로 설명하면, 상기 시스유체 주입구(120)를 통해 상기 메인 유동채널(100)의 내부로 주입되는 시스유체로부터 상기 지류 시스유체가 파생되는데, 이를 위하여 상기 보조 유동채널(150)은 상기 메인 유동채널(100)에서 분기되는 한 쌍의 시스 채널(150)을 포함하여 구성된다.

[0050] 여기서, 상기 시스 채널(150)의 상류는 상기 시료 주입구(110)보다 상류 구간에서 상기 메인 유동채널(100)에 연결되고, 상기 시스 채널(150)의 하류는 상기 시료 주입구(110)와 상기 감지 채널(200) 사이의 구간에서 상기 메인 유동채널(100)의 양측에 연결된다.

[0051] 이에 따라, 상기 시스유체 주입구(120)를 통해 상기 메인 유동채널(100)의 내부로 주입되는 시스유체는 상기 메인 유동채널(100)과 상기 시스 채널(150)로 갈라져서 3갈래의 채널로 유동하게 되며, 상기 시스 채널(150)을 통해 상기 메인 유동채널(100)로 유입되는 시스유체, 즉 지류 시스유체는 상기 유세포 시료의 좌측과 우측으로 합류되어서 상기 유세포 시료를 중앙부로 집속시키고, 상기 메인 유동채널(100)을 따라 유동하는 시스유체(도 5의 시스유체1)는 상기 유세포 시료를 상측으로 집속시키므로, 상기 메인 유동채널(100)의 내부에 도 5와 같은 층상 유동이 형성된다.

[0052] 본 실시 예에 있어서, 상기 시스 채널(150)의 하류는 상기 비등방 채널(130)과 상기 감지 채널(200)의 사이 구간, 즉 상기 협채널(140)에 연결된다. 한편, 상기 감지 채널(200)을 지난 유세포 시료 등의 유체는 유체 배출구(300)를 통해 외부로 배출된다.

[0053] 상술한 구조를 갖는 유세포 계수기의 유체 채널본 발명에 이와 같이 구성된 본 발명의 미세유체채널(1)의 구성 원리 및 작용은 다음과 같다.

[0054] 본 발명은 미세입자나 세포와 같은 시료가 유체 채널에 주입이 될 때 시료 주입구(110)에서 시료들의 침전이 많이 생기는 것을 방지할 수 있는 채널 구조이다. 그 원리는 상기 시료 주입구(110)보다 상류측에서 다른 유체, 즉 시스 유체와 같은 보조 유체의 유동을 일으키고, 상기 메인 유동채널(100)을 따라 유동하는 시스유체에 의해 시료(유세포 시료)가 메인 유동채널(100)의 바닥에 닿지 않은 상태로 흐르거나 바닥에 닿더라도 상기 시스유체에 의해 상기 감지 채널(200)로 쓸려가게 하는 것이다.

[0055] 본 발명은 상기 메인 유동채널(100)을 통해 유동하면서 상기 유세포 시료와 합류하는 첫 번째 시스유체(시스유

체1)를 이용하여 상기 유세포 시료를 시스유체1의 위쪽으로 집속시키고, 상기 메인 유동채널(100)에서 좌우로 분기되어 흐르다가 다시 메인 유동채널(100)에 합류하는 두 번째 시스유체(지류 시스유체, 시스유체2)를 이용하여 상기 메인 유동채널의 중앙부로 상기 유세포 시료를 집속시키므로, 간단한 단일채널에서도 3차원적 집속이 가능하게 된다.

[0056] 보다 상세하게 설명하면, 유세포 시료가 주입되는 시료 주입구(110)의 이전 영역에서 시스유체의 유동이 시작되고, 도 4에서와 같이 상기 메인 유동채널(100)을 통해 흐르는 시스유체1의 유동에 유세포 시료가 합류되어서 유체의 본류(Main Stream)를 형성하게 함으로써, 상기 시스유체1에 의해 유세포 시료는 메인 유동채널(100)에서 상기 시스유체1의 상층으로 집속될 수 있고, 상기 시스유체1에 가라앉는다 하더라도 상기 시스유체1에 의해 상기 감지 채널(200) 쪽으로 쓸려가게 된다.

[0057] 즉, 상기 유세포 시료는 시스유체1에 의해 메인 유동채널(100)의 바닥에 잘 닿지 않게 되며, 바닥에 닿더라도 시스유체1의 흐름에 따라 쓸려가게 되므로, 상기 시료 주입구(110)나 그 주변 영역에서의 시료 침전이 효과적으로 방지된다.

[0058] 그리고, 상기 유세포 시료는 비등방 채널(130)을 지나 상기 비등방 채널(130)의 상류구간보다 단면적이 좁은 협채널(140)로 흘러가게 되는데, 본 발명은 상기 비등방 채널(130)에서의 난류 유동에 의해 유로가 좁아지는 부분에서의 막힘 현상이 효과적으로 방지된다.

[0059] 다음으로, 도 5를 참조하면, 상기 비등방 채널(130)과 상기 감지 채널(200) 사이의 구간에서 상기 메인 유동채널(100)의 좌측과 우측에 연결되는 시스 채널(150)을 통해서 유체의 지류, 즉 지류 시스유체(시스유체2)가 상기 메인 유동채널(100)로 유입되면, 도 5에 도시된 바와 같이 상기 유세포 시료가 상기 메인 유동채널(100)의 가운데 부분으로 집속된다.

[0060] 그리고 상기 유세포 시료가 상기 감지 채널(200)을 지날 때 유세포 분석, 즉 유세포 계수가 수행된다.

[0061] 이하에서는, 도 6 내지 도 9를 참조하여, 본 발명에 따른 유세포 계수기의 유체 채널(1)의 작용 효과를 입증하는 유동 시뮬레이션 및 실험 예가 설명된다.

[0062] 도 6의 (가) 및 (나)는 유동 시뮬레이션(Fluent Simulation)(Ansys, USA)을 이용하여 기존 미세유체채널과 본 발명에 따른 유체채널, 즉 미세유체채널에서의 유선(流線)을 보여준다.

[0063] 도 6에 따르면, 기존의 미세유체채널에서는 감지 영역으로 흘러가지 못한 시료(샘플, 마이크로 비즈)가 채널의 벽과 바닥에 정체되어 있음(바닥에 붙어 있음)을 알 수 있으나, 본 발명에 따른 미세유체채널에서는 시료의 침전이 방지되고 감지 영역으로 유체의 원활한 유동이 형성됨을 알 수 있다. 참고로, 도 6의 그래프에서는 파란색에서 빨간색으로 갈수록 유체의 속도가 빨라지는 것을 의미하며, 속도 단위는 m/s 이고 최소 0 m/s에서 최대 0.28 m/s의 속도를 나타내고 있다.

[0064] 따라서, 상기 시료 주입구(110)를 지나는 시스 유체(시스유체1)가 상기 시료 주입구(100)를 통해 상기 메인 유동채널(100)로 주입되는 시료 세포의 침전을 방지하여, 기존에 비해 더 많은 수의 유세포 시료가 감지 영역으로 흘러가게 된다.

[0065] 한편, 도 7의 (가) 및 (나)는 실험적으로 관찰된 기존 미세유체채널의 시료 주입구(100)와 본 발명에서의 시료 주입구의 내부 사진으로서, 샘플로 사용된 마이크로 비즈를 이용한 침전 실험 결과의 비교 이미지이다.

[0066] 도 7의 (가)를 참조하면 마이크로 비즈(Micro beads)를 이용한 침전 실험 결과, 기존에는 시료 주입구와 그 주변 영역에 전체적으로 마이크로 비즈가 침전이 많이 이루어진 것을 볼 수 있다.

[0067] 반면, 도 7의 (나)를 참조하면 본 발명에 따른 유체 채널에서는 시료 주입구(110)에 마이크로 비즈의 침전이 거의 보이지 않음을 알 수 있다. 즉, 본 발명에 따른 유세포 계수기의 유체 채널(1)에서는 시료 주입구(110)에 유체 입자의 침전이나 뭉침이 방지 또는 최소화될 수 있음을 확인할 수 있다.

[0068] 한편, 도 8의 (가) 및 (나)는 기존의 미세유체채널과 본 발명에 따른 유체 채널(1)을 각각 이용한 마이크로 비즈의 계수 결과를 비교한 그래프로서, 도 8에 의하면 본 발명에 따른 유체 채널(1)에서는 기존의 미세유체채널에 비해 더 적은 양이 세포 침전이 발생하는 결과를 예측할 수 있다.

[0069] 구체적으로, 동일한 양의 시료를 사용하여 공지의 유세포 계수법을 통해 기존 미세유체채널 및 본 발명의 유체 채널(1)에서 각각 계수되는 마이크로 비즈의 수를 비교한 결과, 기존 구조에서는 10,000개의 마이크로 비즈가 카운트 되었고, 본 발명 구조에서는 40% 증가된 14,000개의 마이크로 비즈가 카운트 되었다. 감지 영역에서의

유세포 카운팅 방법은 유세포 계수분야에서 공지된 것이므로 이에 대한 부가적인 설명은 생략된다.

[0070] 상술한 바와 같이 마이크로 비즈가 더 많이 카운트 되었다는 것은 그만큼 시료 주입구(110)에서의 침전이 줄고 더 많은 양의 유세포 시료가 감지 영역으로 흘러 간다는 것을 의미하는 것으로, 본 발명에 따르면 시료 주입구(110)에서의 세포 침전이 최소화될 수 있고 기존에 비해 더 많은 수의 세포가 감지 영역으로 흘러가게 됨을 알 수 있다.

[0071] 그리고, 상술한 바와 같이 향상된 결과는 적은 양의 시료를 이용하여 많은 세포를 계수할 수 있고 세포에 관해서 보다 정확한 정보를 얻어낼 수 있다는 것을 의미하므로, 기술적 측면뿐 아니라 이용 가능성 측면에서 매우 유의미한 것이다.

[0072] 한편, 도 9는 본 발명의 구조가 적용된 유세포 계수 방법으로 CD4+ T세포를 계수한 결과를 보여주는 참고 그래프로서, 에이즈를 진단하기 위한 세포인 CD4+ T세포에 대한 계수 실험을 수행한 결과, 안정적으로 세포를 계수할 수 있었음을 보여주는데, 이는 기존의 채널 막힘 문제를 해결한 것에 따른 결과라고 볼 수 있다.

[0073] 요약하면, 세포를 정확하게 측정하기 위해 채널의 높이를 작게 할수록 향상된 결과를 얻을 수 있지만 채널이 막히는 문제점이 있고, 그에 반면 채널 높이를 높게 할 경우 에러가 현저히 증가하는 문제점이 있다. 그러나 본 발명에 의하면 간단한 구조를 통해 세포들을 3차원적 집속(Focusing)에 가깝게 집속할 수 있고 채널에서 세포가 막히는 것을 방지할 수 있으므로, 세포 분석의 정확도가 향상될 수 있다.

[0074] 이상에서와 같이, 본 발명에 따른 바람직한 실시 예를 살펴보았으며, 앞서 설명된 실시 예 이외에도 본 발명이 그 취지나 범주에서 벗어남이 없이 다른 특정 형태로 구체화될 수 있다는 사실은 해당 기술에 통상의 지식을 가진 이들에게는 자명한 것이다.

[0075] 그러므로, 상술된 실시 예는 제한적인 것이 아니라 예시적인 것으로 여겨져야 하고, 이에 따라 본 발명은 상술한 설명에 한정되지 않고 첨부된 특허청구범위의 범주 및 그 동등 범위 내에서 변경될 수도 있음은 물론이다.

산업상 이용가능성

[0076] 본 발명의 유체 채널은 바이오 미세 전기기계 소자분야, 특히 랩온어칩(Lab on a chip) 분야, 생화학적 분석을 위한 바이오칩 또는 바이오센서 등에 적용 가능하며, 생체시료에서 특정 바이오물질을 감지 또는 분석하기 위하여 사용되는 반응시료의 가격이 고가인 경우가 많은데 꼭 필요한 최소량의 반응시료로 신뢰성 높은 분석을 수행할 수 있는 미세유체 이송 장치를 구현토록 하므로 산업상 이용가능성이 매우 높은 발명이다.

부호의 설명

[0077] 1: 유체 채널

100: 메인 유동채널

110: 시료 주입구

120: 시스유체 주입구

130: 비등방 채널

140: 협채널

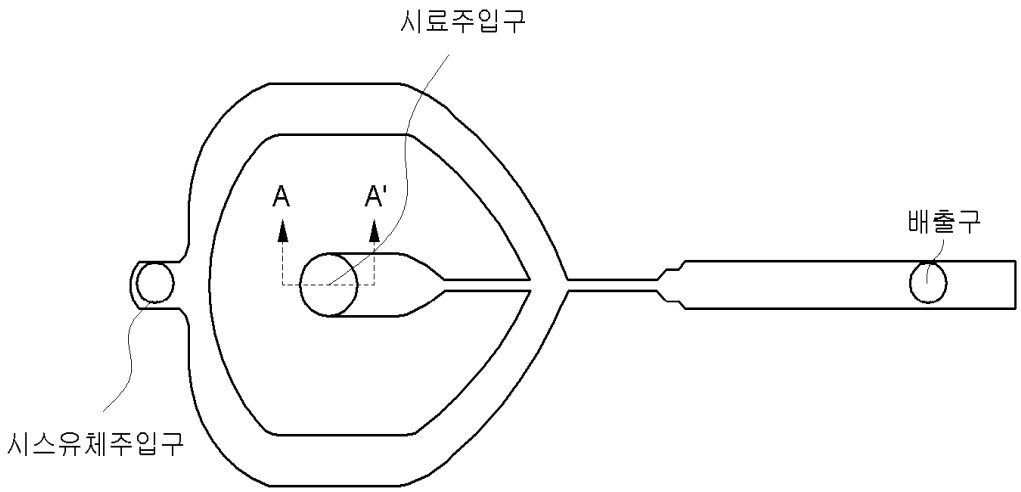
150: 보조 유동채널(시스 채널)

200: 감지 채널

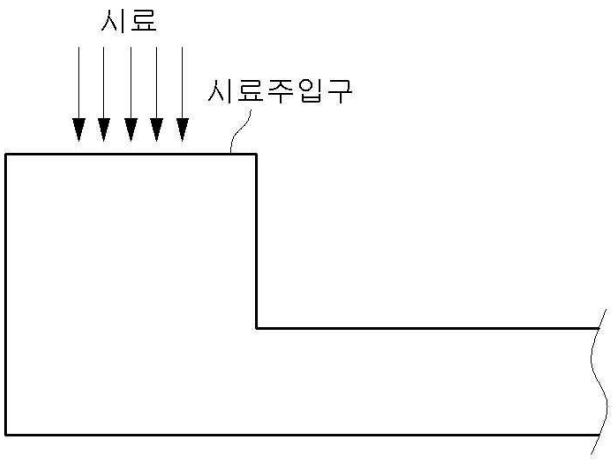
300: 유체 배출구

도면

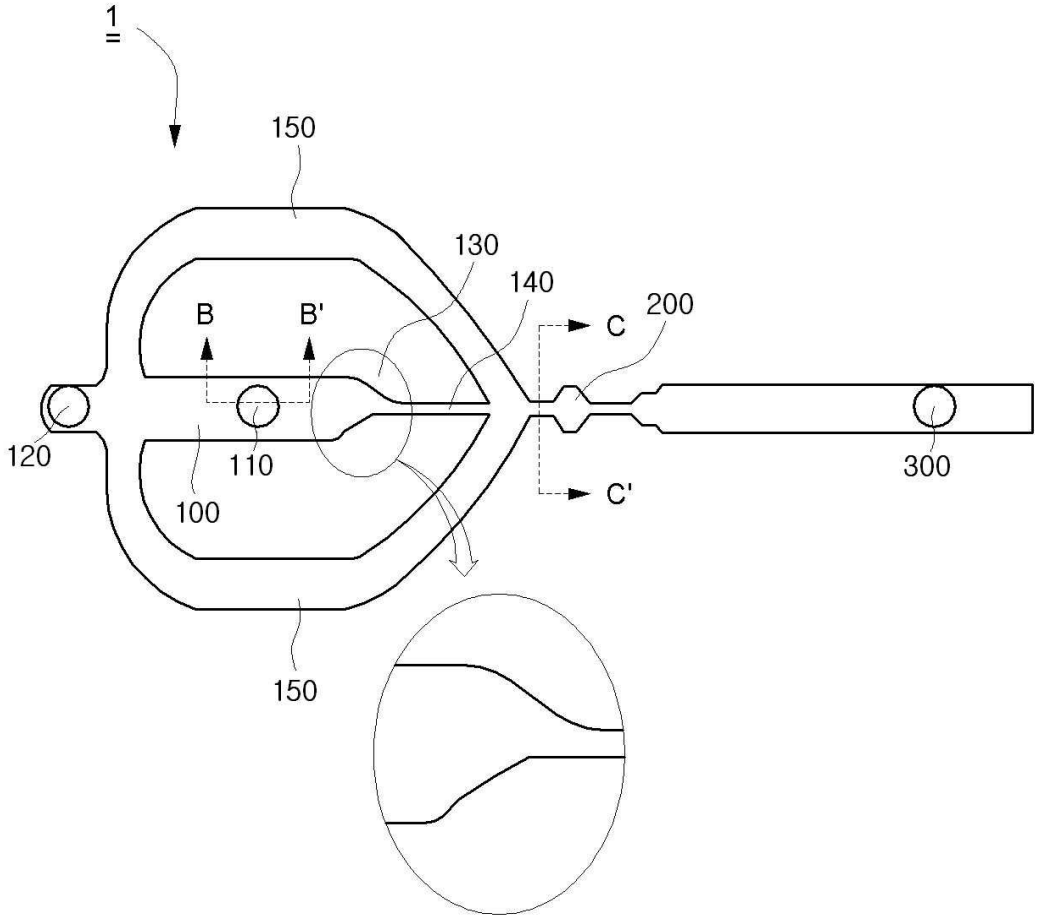
도면1



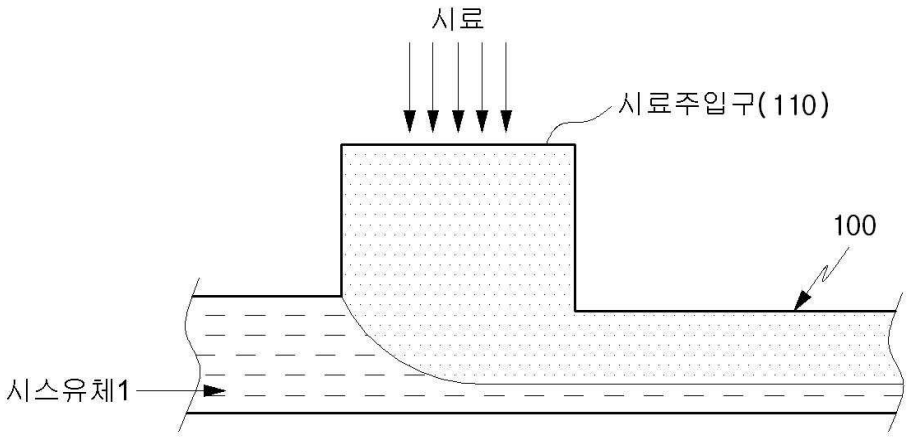
도면2



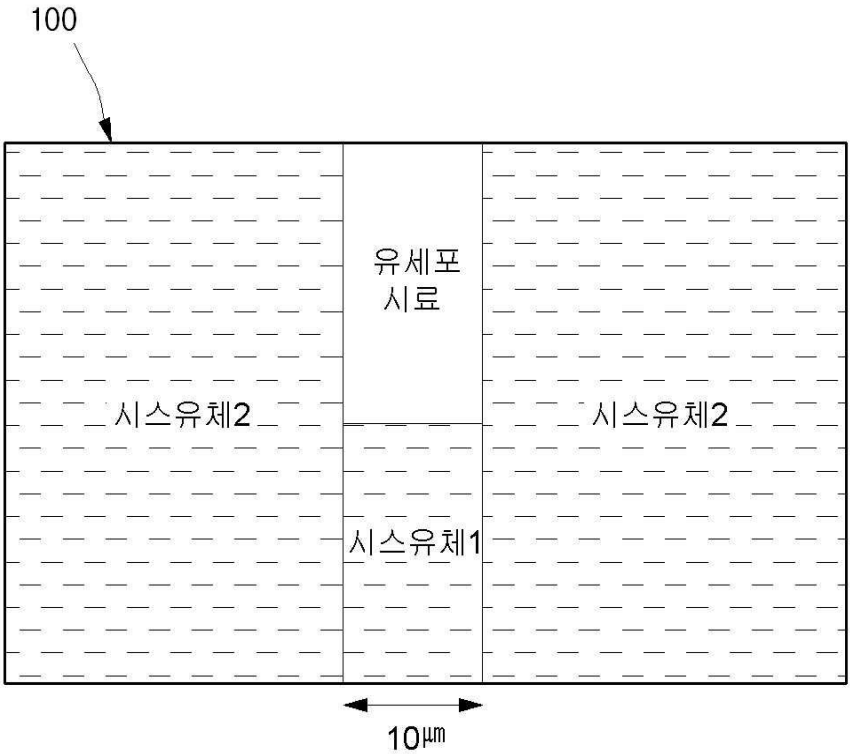
도면3


1
150
130
140
200
B
B'
C
C'
120
110
100
300
150

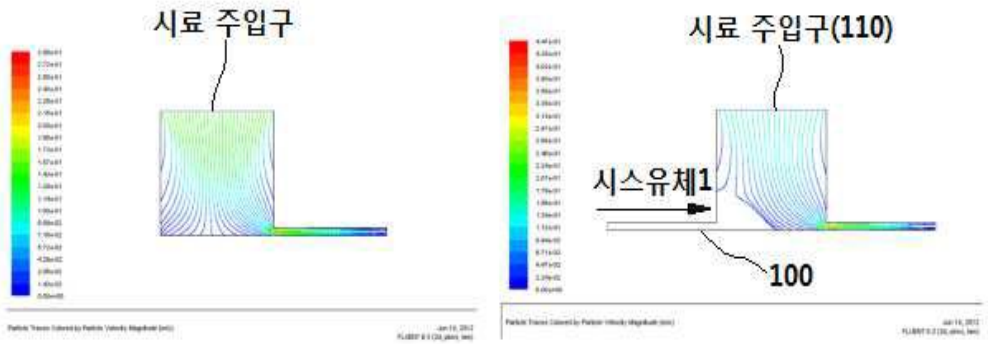
도면4


시료
시료주입구(110)
100
시스유체1

도면5

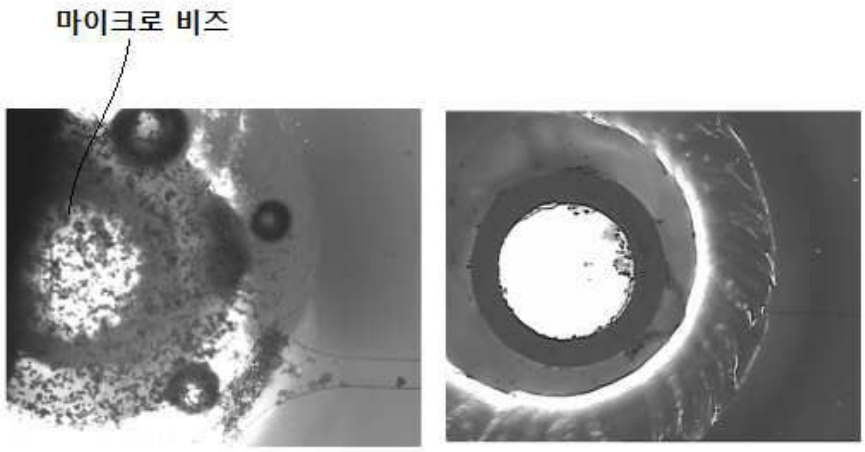


도면6



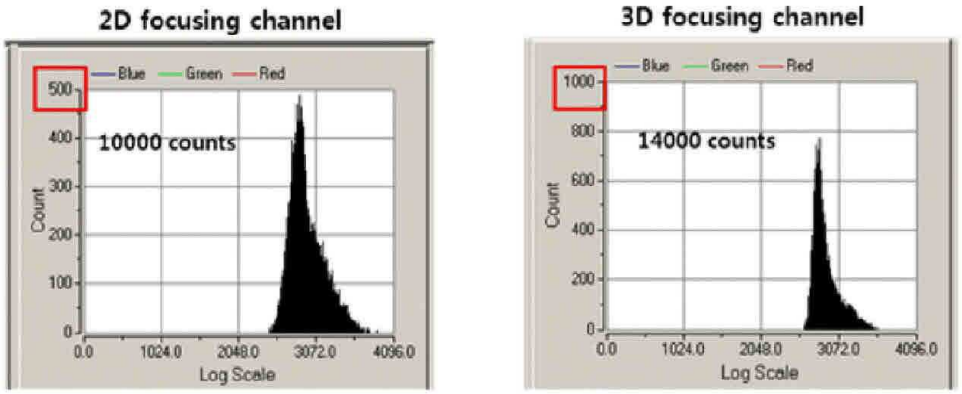
(가) 기존 (나) 본 발명

도면7



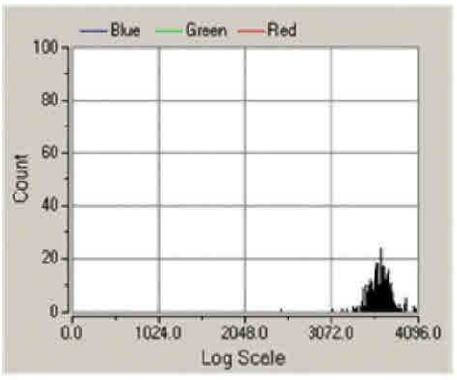
(가) 기존 (나) 본 발명

도면8



(가) 기존 (나) 본 발명

도면9



- Mean: 2648.464
- Std. Dev.: 176.12
- CV%: 6.65
- Condition: 9994 counts/ 68 sec
- Threshold: 5.5
- Pump: 3(high speed)
- PMT gain 8
- Throughput: 147 cells/sec

< 실험예 >