



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0134557
(43) 공개일자 2024년09월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2023.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/502761 (2013.01)
B01L 3/50273 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0027768
(22) 출원일자 2023년03월02일
심사청구일자 2023년03월02일

(71) 출원인
동서대학교 산학협력단
부산광역시 사상구 주례로 47(주례동,
동서대학교)
(72) 발명자
김호진
경상북도 포항시 북구 두호로 65, SK뷰푸르지오
201동 2502호
이재창
부산광역시 부산진구 엄광로 68, 112동 703호(가
야동, 벽산아파트)
(74) 대리인
김연권

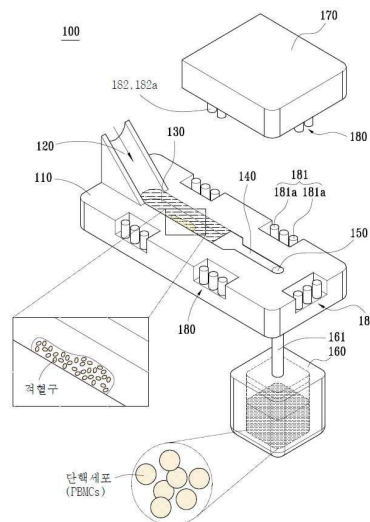
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 단핵세포 분리 미세유체 칩

(57) 요약

본 발명의 일측면에 따르면, 판형 플라스틱 베이스의 본체; 상기 본체의 일측에서 시약 및 혈액이 차례로 투입되도록 형성되는 용액 투입부; 상기 용액 투입부에 연장되어 시약 및 혈액이 수용되는 수용공간을 마련하여 시약 층 위에 얇은 혈액 필름을 도포하고, 중력에 의해 무거운 적혈구와 과립성 세포는 시약 층 아래로 가라앉도록 하며, 상대적으로 가벼운 단핵세포는 시약 층 위에 뜨도록 하는 혈액 분리챔버; 상기 용액 투입부를 통해 주입되는 세척액 및 시약 층 위의 단핵세포를 모세관력에 기반하여 배출구 측으로 이송하는 용액 이송부; 및 상기 본체 하부에서 배출구와 튜브로 연결되어 단핵세포를 회수하는 단핵세포 포집챔버;를 포함하는 단핵세포 분리 미세유체 칩이 제공될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

B01L 2200/0652 (2013.01)

B01L 2400/0406 (2013.01)

(72) 발명자

최규성

부산광역시 사상구 주례로 166-103, 리치룸 406호

김주영

부산광역시 부산진구 대학로75번길 18-1

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345356165

과제번호 LINC3.0-2022-60

부처명 교육부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 3단계 산학협력 선도대학 육성사업(LINC 3.0)

연구과제명 3단계 산학협력 선도대학 육성사업(LINC 3.0)

기 여 율 1/1

과제수행기관명 동서대학교 산학협력단

연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

관형 플라스틱 베이스의 본체;

상기 본체의 일측에서 시약 및 혈액이 차례로 투입되도록 형성되는 용액 투입부;

상기 용액 투입부에 연장되어 시약 및 혈액이 수용되는 수용공간을 마련하여 시약 층 위에 얇은 혈액 필름을 도포하고, 중력에 의해 무거운 적혈구와 과립성 세포는 시약 층 아래로 가라앉도록 하며, 상대적으로 가벼운 단핵세포는 시약 층 위에 뜨도록 하는 혈액 분리챔버;

상기 용액 투입부를 통해 주입되는 세척액 및 시약 층 위의 단핵세포를 모세관력에 기반하여 배출구 측으로 이송하는 용액 이송부; 및

상기 본체 하부에서 배출구와 튜브로 연결되어 단핵세포를 회수하는 단핵세포 포집챔버;를 포함하는 단핵세포 분리 미세유체 칩.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 본체 상부에서 혈액 분리챔버는 개방되도록 하고 용액 이송부만을 밀폐시켜 모세관력이 작용되도록 결합하는 커버를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 단핵세포 분리 미세유체 칩.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 커버는 저면에 용액 이송부와 혈액 분리챔버의 일부 영역에 대응하는 형상의 대면부를 형성하고, 상기 대면부 외측 둘레에 일정간격 이격된 모세관 밸브 현상을 유도하는 유도홈을 형성하는 것을 특징으로 하는 단핵세포 분리 미세유체 칩.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 본체와 커버 사이의 착탈 가능한 기구적 결합구조를 제공하는 마찰식 조립부를 형성하는 것을 특징으로 하는 단핵세포 분리 미세유체 칩.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 마찰식 조립부는, 원기둥형태를 갖는 복수 개의 제1마찰 보스들이 일정 간격 이격된 상태로 균집된 제1보스부를 본체의 상면 테두리부에 분산시켜 형성하고, 원기둥형태를 갖는 복수 개의 제2마찰 보스들이 일정 간격 이격된 상태로 균집된 제2보스부를 커버의 저면 테두리부에 분산시켜 형성하되,

상기 제1마찰 보스와 제2마찰 보스들은 상호 엇갈려서 대면 결합하고, 제1마찰 보스와 제2마찰 보스 사이의 마찰력에 의해 결합력이 유지되도록 하는 것을 특징으로 하는 단핵세포 분리 미세유체 칩.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 단핵세포 분리 미세유체 칩에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 혈액분리챔버 및 용액이송부, 포집챔버로 구성된 밀도기반 미세유체 칩 기술을 이용함으로써 원심분리기나 유체 펌프 등과 같은 별도의 장비를 사용하지 않고도 단핵세포 분리가 가능한 단핵세포 분리 미세유체 칩에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 혈액(whole blood)은 플라스마(액체 성분)와 혈액세포(적혈구(RBC), 백혈구(WBC), 혈소판)로 구성된다. 백혈구는 과립성 백혈구와 무과립성 백혈구로 나뉜다. 무과립성(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 백혈구에는 림프구(lymphocyte)와 단핵구(monocyte)로 다시 구분되며, 질병 진단 등 건강 상태에 대한 중요한 지표 중 하나로 활용된다.

[0003] 따라서, 혈액으로부터 단핵세포(PBMCs)의 분리는 선행필수과정이라 할 수 있다.

[0004] 이때, 표준분리방식은 밀도시약과 원심분리를 이용하는 방법으로, Ficoll(1.077 g/ml)보다 무거운 적혈구와 과립성 세포는 바닥에 가라앉고 Ficoll 시약보다 가벼운 단핵세포층이 플라스마와 시약 층 사이에 분리되는 원리를 활용한다.

[0005] 이러한 표준 방식의 경우, 분리 층 간 경계가 불분명하여 PBMCs의 분리 수율(yield)과 순도가 낮은 편이다.

[0006] 대한민국 공개특허 10-2011-0005963호에는 혈액 중에서 혈장 또는 혈청을 분리하는 미세유체 칩에 관한 선행기술이 공지되고 있다.

[0007] 상기한 선행기술은 혈액 중 혈장 또는 혈청을 분리하는 미세유체 칩으로서, 혈액을 주입하는 주입구; 주입된 혈액이 통과하는 주채널; 및 상기 주채널을 통과한 혈액이 배출되는 유출구를 포함하되, 상기 주채널의 측면에는 복수개의 미세채널이 연결되어 있어서, 상기 혈액 중에 포함된 혈장 성분 또는 혈청 성분이 상기 미세채널을 통하여 흐르게 되며, 상기 미세채널의 말단에는 상기 미세채널을 통하여 흐른 혈장 성분 또는 혈청 성분이 모이게 되는 챔버가 구비된다.

[0008] 그러나, 선행기술은 소량의 혈액 분리에는 적합하지 않고 마이크로 스케일에서의 정밀 유동 제어를 통한 단핵세포의 선택적 회수가 어려운 문제가 있었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 10-2011-0005963호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 종래의 문제점을 해결하여 혈액분리챔버 및 용액이송부, 포집챔버로 구성된 밀도기반 미세유체 칩 기술을 이용함으로써 원심분리기나 유체 펌프 등과 같은 별도의 장비를 사용하지 않고도 단핵세포 분리가 가능한 단핵세포 분리 미세유체 칩을 제공함에 있다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 별도의 장비를 사용하지 않기 때문에 장소에 구애받지 않고 사용이 가능한 단핵세포 분리 미세유체 칩을 제공함에 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 마이크로 두께의 혈액 필름을 제조함에 따라 소량의 혈액 분리에 용이한 단핵세포 분리 미세유체 칩을 제공함에 있다.

[0013] 본 발명의 또 다른 목적은 모세관력 기반의 용액 이송부의 구조를 통해서 마이크로 스케일에서의 정밀 유동 제어를 통한 단핵세포의 선택적 회수가 가능한 단핵세포 분리 미세유체 칩을 제공함에 있다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명의 일측면에 따르면, 판형 플라스틱 베이스의 본체;
- [0015] 상기 본체의 일측에서 시약 및 혈액이 차례로 투입되도록 형성되는 용액 투입부;
- [0016] 상기 용액 투입부에 연장되어 시약 및 혈액이 수용되는 수용공간을 마련하여 시약 층 위에 얇은 혈액 필름을 도포하고, 중력에 의해 무거운 적혈구와 과립성 세포는 시약 층 아래로 가라앉도록 하며, 상대적으로 가벼운 단핵 세포는 시약 층 위에 뜨도록 하는 혈액 분리챔버;
- [0017] 상기 용액 투입부를 통해 주입되는 세척액 및 시약 층 위의 단핵세포를 모세관력에 기반하여 배출구 측으로 이송하는 용액 이송부; 및
- [0018] 상기 본체 하부에서 배출구와 튜브로 연결되어 단핵세포를 회수하는 단핵세포 포집챔버;를 포함하는 단핵세포 분리 미세유체 칩이 제공될 수 있다.
- [0019] 여기서, 상기 본체 상부에서 혈액 분리챔버는 개방되도록 하고 용액 이송부만을 밀폐시켜 모세관력이 작용되도록 결합하는 커버를 더 포함할 수 있다.
- [0020] 이때, 상기 커버는 저면에 용액 이송부와 혈액 분리챔버의 일부 영역에 대응하는 형상의 대면부를 형성하고, 상기 대면부 외측 둘레에 일정간격 이격된 모세관 밸브 현상을 유도하는 유도홈을 형성할 수 있다.
- [0021] 또한, 상기 본체와 커버 사이의 착탈 가능한 기구적 결합구조를 제공하는 마찰식 조립부를 형성할 수 있다.
- [0022] 이때, 상기 마찰식 조립부는, 원기둥형태를 갖는 복수 개의 제1마찰 보스들이 일정 간격 이격된 상태로 균집된 제1보스부를 본체의 상면 테두리부에 분산시켜 형성하고, 원기둥형태를 갖는 복수 개의 제2마찰 보스들이 일정 간격 이격된 상태로 균집된 제2보스부를 커버의 저면 테두리부에 분산시켜 형성하되,
- [0023] 상기 제1마찰 보스와 제2마찰 보스들은 상호 엇갈려서 대면 결합하고, 제1마찰 보스와 제2마찰 보스 사이의 마찰력에 의해 결합력이 유지되도록 할 수 있다.

발명의 효과

- [0024] 본 발명은 혈액분리챔버 및 용액이송부, 포집챔버로 구성된 밀도기반 미세유체 칩 기술을 이용함으로써 원심분리기나 유체 펌프 등과 같은 별도의 장비를 사용하지 않고도 단핵세포 분리가 가능하기 때문에 경제적인 효과가 있다.
- [0025] 또한, 본 발명에 따른 미세유체 칩은 별도의 장비를 사용하지 않기 때문에 장소에 구애받지 않고 사용이 가능한 효과가 있다.
- [0026] 또한, 본 발명에 따른 미세유체 칩은 마이크로 두께의 혈액 필름을 제조함에 따라 소량의 혈액 분리에 용이한 효과를 갖는다.
- [0027] 또한, 본 발명에 따른 미세유체 칩은 모세관력 기반의 용액 이송부의 구조를 통해서 마이크로 스케일에서의 정밀 유동 제어를 통한 단핵세포의 선택적 회수가 가능한 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩 구조를 도시한 사시도.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩의 본체 구조를 도시한 평면도 및 평면도의 A-A선 단면도.
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩의 커버 구조를 도시한 저면도 및 저면도의 B-B선 단면도.
- 도 4는 본 발명에 따른 용액 이송부의 미세채널부의 모세관 밸브 현상을 설명하는 요부확대 단면도.
- 도 5a 내지 도 5h는 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩을 이용한 단핵세포 분리공정을 순차적으로 설명하는 공정도.
- 도 6은 중력에 의한 시약 층 내 적혈구 침전 현상을 설명하기 위한 실험 이미지.

도 7a는 본 발명의 혈액 분주량에 따른 혈액필름의 면적 및 두께 차이를 실험한 결과를 나타낸 그래프이고, 도 7b는 혈액 분주 이미지.

도 8a는 본 발명의 혈액 희석 배율에 따른 혈액필름의 면적 및 두께 차이를 실험한 결과를 나타낸 그래프이고, 도 8b는 혈액 분주 이미지.

도 9는 본 발명의 혈액 희석 배율에 따른 적혈구 침전 시간을 실험한 결과를 나타낸 이미지.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 이하 첨부된 도면을 참조하여, 바람직한 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩에 대해 상세히 설명하면 다음과 같다.
- [0030] 여기서, 동일한 구성에 대해서는 동일부호를 사용하며, 반복되는 설명, 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 공지 기능 및 구성에 대한 상세한 설명은 생략한다. 발명의 실시형태는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해서 제공되는 것이다. 따라서, 도면에서의 요소들의 형상 및 크기 등은 보다 명확한 설명을 위해 과장될 수 있다.
- [0031] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩 구조를 도시한 사시도이고, 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩의 본체 구조를 도시한 평면도 및 평면도의 A-A선 단면도이며, 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩의 커버 구조를 도시한 저면도 및 저면도의 B-B선 단면도이다.
- [0032] 도 1내지 도 3을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩(100)은 크게 본체(110), 용액투입부(120), 혈액 분리챔버(130), 용액 이송부(140), 단핵세포 포집챔버(160)로 구성된다.
- [0033] 먼저, 본체(110)에 대해 설명한다.
- [0034] 도 1을 참조하면, 상기 본체(110)는 일정 두께를 갖는 판형 플라스틱 베이스를 제공한다.
- [0035] 이와 같은 플라스틱 베이스의 본체(110)는 금형 제작될 수도 있지만 3D 프린팅 방식으로 제작함으로써, 제작공정의 간소화 및 제조비용의 절감이 이루어지도록 할 수 있다. 본 발명에서는 후술할 마찰식 조립부(180)의 구조를 통해서 커버(170)를 본체(110)에 착탈 가능하게 결합할 수 있는데, 이와 같은 결합구조를 제공함으로써, 고가의 금형 제작 방식 대신에 저가의 3D 프린팅을 이용한 제작 방식을 이용할 수 있게 된다. 상기 마찰식 조립부(180)에 대해서는 뒤에서 보다 자세히 설명하기로 한다.
- [0036] 다음, 상기 본체(110)의 일측에서 시약 및 혈액이 차례로 투입되도록 하는 용액 투입부(120)가 형성된다.
- [0037] 상기 용액 투입부(120)는 슬로프 경사면을 제공함으로써, 시약 및 혈액의 투입작업을 보다 섬세하게 수행할 수 있게 된다.
- [0038] 예컨대, 시약 및 혈액을 슬로프 경사면에 분주하게 되면 안정적인 투입이 가능해지기 때문에 시약 및 혈액이 낙하 충격에 의해 비산되는 것을 방지할 수 있다.
- [0039] 또한, 분주된 시약 및 혈액이 슬로프 경사면을 따라 서서히 이동하여 투입됨에 따라 작업자는 시약 및 혈액의 분주 양 및 속도를 섬세하게 조절할 수 있게 된다.
- [0040] 이때, 상기 슬로프 경사면은 반구형 단면으로 형성할 수 있는데, 반구형 단면으로 형성할 경우, 유체 마찰면적을 최대화할 수 있어 유체의 슬로프 이동속도를 조절에 적합한 속도로 지연시키는데 기여하게 된다.
- [0041] 다음으로, 상기 용액 투입부(120) 하단부에 연장되어 혈액 분리챔버(130)가 형성된다.
- [0042] 상기 혈액 분리챔버(130)는 수평방향으로 일정 체적의 수용공간을 제공함으로써 분주된 시약 및 혈액이 흘러서 수용되도록 한다.
- [0043] 이때, 상기 혈액 분리챔버(130) 내에는 시약이 먼저 분주되어 채워지고 이후 분주되는 혈액이 상기 시약 층 위에 얇은 혈액 필름을 형성하게 된다.
- [0044] 이후, 혈액 필름은 중력에 의해 무거운 적혈구와 과립성 세포는 시약 층 아래로 가라앉고, 상대적으로 가벼운 단핵세포는 시약 층 위에 떠서 상호 분리과정을 거치게 된다.
- [0045] 다음, 상기 혈액 분리챔버(130)의 후단에 용액 이송부(140)가 연장 형성된다.

- [0046] 상기 용액 이송부(140)는 상기 용액 투입부(120)를 통해 주입되는 세척액 및 시약 층 위의 단핵세포를 모세관력에 기반하여 배출구(150) 측으로 이송하게 된다.
- [0047] 다음, 상기 용액 이송부(140)의 끝지점에 배출구(150)를 형성하고, 상기 배출구(150)와 튜브(161)로 연결되어 단핵세포를 회수하는 단핵세포 포집챔버(160)가 상기 본체(110) 하부에 형성된다.
- [0048] 이때, 상기 단핵세포 포집챔버(160)는 배출구(150) 측과 튜브(161)로 착탈 가능하게 연결될 수 있다. 즉, 상기 단핵세포 포집챔버(160)는 소정 양의 단핵세포가 채워지게 되면 튜브(161)를 분리시켜 회수할 수 있고 새로운 단핵세포 포집챔버(160)를 연결시켜 단핵세포 포집작업을 계속해서 수행할 수 있는 것이다.
- [0049] 도 1, 도 3을 참조하면, 본체(110)의 상부에는 커버(170)가 결합될 수 있다.
- [0050] 상기 커버(170)는 본체(110) 상부의 혈액 분리챔버(130)는 개방되도록 하고 용액 이송부(140)만을 밀폐시키도록 결합하게 된다.
- [0051] 이때, 상기 커버(170)는 용액 이송부(140)와 결합되어 모세관력이 작용되는 미세채널부(143)을 형성하게 된다.
- [0052] 상기 커버(170)는 일정 두께를 갖는 플라스틱 기반 베이스를 형성한다.
- [0053] 상기 커버(170)는 저면에 용액 이송부(140)와 혈액 분리챔버(130)의 일부 영역에 대응하는 형상의 대면부(171)를 형성하고, 상기 대면부(171) 외측 둘레에 일정간격 이격된 모세관 밸브 현상을 유도하는 유도홈(172)을 형성할 수 있다.
- [0054] 이와 같은 플라스틱 베이스의 커버(170)는 금형 제작될 수도 있지만 3D 프린팅 방식으로 제작함으로써, 제작공정의 간소화 및 제조비용의 절감이 이루어지도록 할 수 있다. 본 발명에서는 후술할 마찰식 조립부(180)의 구조를 통해서 커버(170)를 본체(110)에 착탈 가능하게 결합할 수 있는데, 이와 같은 결합구조를 제공함으로써, 고가의 금형 제작 방식 대신에 저가의 3D 프린팅을 이용한 제작 방식을 이용할 수 있게 된다.
- [0055] 이하, 상기 마찰식 조립부(180)에 대해서 설명한다.
- [0056] 상기 본체(110)와 커버(170) 사이의 착탈 가능한 기구적 결합구조를 제공한다.
- [0057] 이와 같은 상기 마찰식 조립부(180)는, 본체(110)의 상면 테두리부에 분산시켜 형성된 제1보스부(181)와 상기 제1보스부(181)에 대향 결합하도록 상기 커버(170)의 저면 테두리부에 분산시켜 형성된 제2보스부(182)로 구성된다.
- [0058] 이때, 상기 제1보스부(181)는 원기둥형태를 갖는 복수 개의 제1마찰 보스(181a)들이 일정 간격 이격된 상태로 균집된 형태를 갖는다. 원기둥형태를 갖는 복수 개의 제2마찰 보스(182a)들이 일정 간격 이격된 상태로 균집된 형태를 갖는다.
- [0059] 이때, 상기 제1마찰 보스(181a)를 3개 형성하는 경우, 제2마찰 보스(182a)는 2개를 형성하여 제1마찰 보스(181a)들 사이에 제2마찰 보스(182a)들이 상호 접촉하도록 균등 배치되도록 할 수 있다.
- [0060] 예컨대, 제1마찰 보스(181a)를 2개 형성하는 경우에는 제2마찰 보스(182a)를 1개 형성하여 제1마찰 보스(181a) 2개 사이에 1개의 제2마찰 보스(182a)가 상호 접촉하도록 균등 배치될 수 있다.
- [0061] 이때, 상기 제1마찰 보스(181a)와 제2마찰 보스(182a)들은 상호 엇갈려서 대면 결합하고, 제1마찰 보스(181a)와 제2마찰 보스(182a) 사이의 마찰력에 의해 결합력이 유지되도록 할 수 있다.
- [0062] 이때, 마찰력을 높이기 위해 제1마찰 보스(181a) 및 제2마찰 보스(182a)를 상호 접촉 가능한 치수보다 큰 치수로 제작하여 과밀착이 유도되도록 할 수 있다.
- [0063] 이때, 상기 제1마찰 보스(181a)와 제2마찰 보스(182a)의 상대 위치를 설계함에 있어서, 본체(110)와 커버(170)의 얼라인먼트가 자동 정렬되는 위치에 제1마찰 보스(181a)와 제2마찰 보스(182a)의 상대 위치가 설정되도록 할 수 있다.
- [0064] 예컨대, 이와 같은 본 발명은 본체(110)와 커버(170)를 조립할 때, 별도의 얼라인 과정을 거치지 않아도, 제1보스부(181)와 제2보스부(182)의 결합관계에 의해 자동 정렬이 이루어지도록 한다.
- [0065] 이는, 용액 이송부의 미세채널부(143)와 커버(170)의 대면부(171) 및 유도홈(172) 사이에 미세 간격이 유지되도록 하여 모세관 밸브 현상이 유도되도록 할 수 있다.

- [0066] 도 4는 본 발명에 따른 용액 이송부의 미세채널부의 모세관 밸브 현상을 설명하는 요부확대 단면도이다.
- [0067] 도 4를 참조하여, 모세관 밸브 현상에 대해 설명하면, 본 발명에서와 같이 미세채널부(143)의 외측 둘레를 커버(170)의 유도홈(172)이 미세간격 이격된 상태로 둘러싸는 형태로서, 미세채널부(143)의 외측 둘레가 유도홈(172)과의 미세간격 만큼 채널 확장되어 미세채널부(143) 내의 용액(액체)과 유도홈(172) 공간의 기체 사이에 계면을 형성하게 된다.
- [0068] 이때, 미세채널부(143) 내의 용액(액체)과 유도홈(172) 내의 기체가 만나는 계면에서는 외부 압력차(액체 내부 압력 ?? 기체 압력)에 따른 음의 값이 생성되어 용액이 유도홈(172) 측으로 이동되지 않고 계면을 유지한 상태를 유지하게 된다.
- [0069] 이처럼, 액체와 기체의 계면에서의 압력차를 이용해 일종의 모세관 방벽을 형성하는 현상을 모세관 밸브 현상이라 한다.
- [0070] 이때, 상기 용액 이송부(140)의 깊이를 D1이라하고, 혈액 분리챔버(130)의 깊이를 D2라 할 때, $D1=0.02\sim0.03\cdot D2$ 로 형성할 수 있다.
- [0071] 예컨대, 상기 용액 이송부(140)와 혈액 분리챔버(130)는 단차를 형성하는 것으로서, 혈액 분리챔버(130)는 혈액 필름의 침전과정이 유도될 수 있도록 충분한 깊이로 형성되도록 하고, 용액 이송부(140)는 시약 표층에 떠 있는 단핵세포를 이동시키기 위한 모세관력이 작용되는 최소의 높이로 형성되도록 하는 것이다.
- [0072] 또한, 상기 용액 이송부(140)의 평면 형상에 대해 살펴보면, 일정구간 혈액분리챔버(130)의 폭(W1)과 동일한 폭으로 형성되는 확장구간(141)을 형성하고, 상기 확장구간(141)의 일측으로 유로가 좁아지는 수렴구간(142)을 형성하며, 상기 수렴구간(142) 끝에서 배출구(150) 방향으로 연장되는 미세채널부(143)를 형성할 수 있다.
- [0073] 예컨대, 본 발명에 따른 용액 이송부(140)는 혈액 분리챔버(130)의 표층에 떠 있는 단핵세포가 수렴구간(142)의 좁은 통로를 지나면서 유속이 빨라져 미세채널부(143)의 좁은 통로를 신속하게 빠져나갈 수 있게 된다.
- [0074] 이때, 상기 확장구간(141)의 폭을 W2라 하고, 미세채널부(143)의 폭을 W3이라 할 때, $W3=0.3\sim0.5\cdot W2$ 로 형성되도록 할 수 있다.
- [0075] 본 발명에서는 밀도 시약 기반 단핵세포 분리 메커니즘과 미세유체 칩 내 유체 정밀 제어기술을 이용하여 단핵세포를 분리하는 기술에 대해 제안하는 것으로서, 제안하는 미세유체 칩은 Ficol1 시약 층 위에 얇은 혈액필름을 도포하여 별도의 원심분리과정 없이 무거운 적혈구와 과립성 세포는 가라앉게 하고 시약 층 위에 떠있는 단핵세포를 회수하는 것이다.
- [0076] 즉, 기존 미세유체 칩 기술의 크기 기반 분리 기술에서 탈피하고 밀도 기반으로 단핵세포를 분리할 수 있도록 한 것이다.
- [0077] 또한, 본 발명은 미세유체 칩의 정밀 액체 제어가 가능하기 때문에 고순도로 분리가 가능하고, 미세유체 칩의 커버를 용액 이송부에만 결합시켜 부분적 오픈 채널 형태로 구성함에 따라, 작업자가 용이하게 혈액 분리챔버(130)에 쉽게 접근할 수 있고, 혈액 분리챔버(130)에 침전된 적혈구를 용이하게 회수할 수 있는 이점을 제공할 수 있다.
- [0078] 이하, 도 5a 내지 도 5h를 참조하여 혈액 분리 원리 및 과정을 설명한다.
- [0079] 도 5a 내지 도 5h는 본 발명의 일 실시예에 따른 단핵세포 분리 미세유체 칩을 이용한 단핵세포 분리공정을 순차적으로 설명하는 공정도이다.
- [0080] 먼저, 도 5a에서는 보는 바와 같이 미세유체 칩(100)이 준비된다.
- [0081] 다음으로 도 5b에서 보는 바와 같이 용액 투입부(120)를 통해서 시약을 분주시켜 시약이 혈액 분리챔버(130)에 수용되도록 한다.
- [0082] 다음으로 도 5c에서 보는 바와 같이 용액 투입부(120)를 통해서 수십 마이크로리터의 혈액을 분주한다. 이때, 분주된 혈액은 시약이 수용된 혈액 분리챔버(130) 내로 유입되고 액체(시약)-액체(혈액)의 계면을 형성하면서 혈액은 시약 층 위로 퍼져서 마이크로 단위의 혈액필름을 형성한다.
- [0083] 이때, 혈액 분주량에 따라 혈액 필름의 두께가 결정될 수 있다.
- [0084] 다음으로, 도 5d에서 보는 바와 같이 혈액 분주 후 시간이 경과함에 따라 혈액 성분이 분리되기 시작하고, 도

5e에서 보는 바와 같이 10분 내로 혈액이 완전히 분리되어 무거운 세포는 중력에 의해 가라앉고(침전) 가벼운 단핵세포만 시약층 위에 떠있게 된다.

[0085] 다음으로 도 5f에서 보는 바와 같이 용액 투입부(120)를 통해 세척액(PBS)을 충분히 분주하도록 한다.

[0086] 도 5g에서 보는 바와 같이 분주된 세척액은 혈액 분리챔버(130)로 유입되어 표층에 떠 있는 단핵세포를 세척작용에 의해 용액 이송부(140)의 미세채널부(143)로 이송시키게 된다.

[0087] 다음으로, 도 5h에서 보는 바와 같이 용액 이송부(140)의 미세채널부(143)로 이송된 단핵세포는 배출구(150)를 거쳐서 단핵세포 포집챔버(160)로 회수된다.

[0088] 도 6은 중력에 의한 시약 층 내 적혈구 침전 현상을 설명하기 위한 실험 이미지이다.

[0089] 도 6을 참조하면, 중력 기반으로 수백 마이크로리터 이상의 혈액 분리과정을 보여준다. 적혈구 응집현상에 의해 초기에 신속하게 가라앉지만, 일부 응집되지 않은 세포들의 경우 서서히 가라앉는 것을 확인할 수 있었다.

[0090] 이때, 시약층의 두께를 얇게 하는 것을 통해 분리 시간을 단축할 수 있다.

[0091] 하지만, 시약층을 얇게 할수록 가라앉은 세포와 떠 있는 단핵세포 간 거리가 짧기 때문에 미세유체 정밀 유체 이송 방식을 도입하는 것이 필요하다.

[0092] 도 6의 실험조건에 대해 설명하면, 용기 내에 500 μ L의 Ficoll 시약 분주 후, 100 μ L의 전혈(EDTA 처리)을 분주하였다.

[0093] 이때, 10 두께 시약층과 2 두께의 혈액층으로 이루어진 이중 층이 생성되었으며, 초기 10분 동안은, RBC(적혈구) aggregates의 신속한 침전이 관찰되었다.

[0094] 그리고, 17분 경에는 RBC(적혈구) pellet이 형성되었으며, 17분 이후부터는 서서히 RBCs(single cells or small size aggregates) 침전되어 최종적으로 얇은 두께의 혈청(serum)과 단핵세포(PBMC) 층이 형성되는 것이 관찰되었다.

[0095] 도 7a는 본 발명의 혈액 분주량에 따른 혈액필름의 면적 및 두께 차이를 실험한 결과를 나타낸 그래프이고, 이고, 도 7b는 혈액 분주 이미지로서, 도 7a, 도 7b를 참조하면, 미세유체 칩에 Ficoll 시약 200 μ L 분주하여 최대 2 두께의 시약층을 형성한 후, EDTA 처리 전혈을 각각 10, 15, 20 μ L 분주한 경우를 비교 실험한 결과를 도시한다.

[0096] 도 7b를 통해 전혈 분주 후 1분 미만 동안 시약 표면 위 혈액이 신속하게 퍼지는 것을 볼 수 있고, 혈액 분주량에 비례하여 퍼진 면적 증가를 살펴보면, 10, 15, 20 μ L 분주한 경우에 대비해서 각각 34.50 , 43.92 , 56.69 로 면적이 증가됨을 볼 수 있었다.

[0097] 또한, 혈액 분주량에 따른 필름의 두께 차이는 각각 0.29 , 0.34 , 0.35 미미한 차이를 나타냈다.

[0098] 실험결과, 혈액 분주량이 증가함에 비례하여 혈액 필름의 면적은 증가하며, 혈액 필름의 두께는 0.3 ~ 0.35 mm 로 비슷함을 확인할 수 있었다.

[0099] 도 8a는 본 발명의 혈액 희석 비율에 따른 혈액필름의 면적 및 두께 차이를 실험한 결과를 나타낸 그래프이고, 도 8b는 혈액 분주 이미지로서, 도 8a, 도 8b를 참조하면, 세척용액(PBS)에 혈액을 각각 2, 4, 8배 희석 후 각각 6 μ L 분주한 실험결과를 도시한다.

[0100] 먼저, 희석 비율이 증가함에 따라 퍼진 면적이 각각 16.94 , 47.52 , 56.20 , 68.23 로 증가함을 볼 수 있었다.

[0101] 그리고, 희석 샘플의 필름 두께는 각각 0.35 , 0.13 , 0.11, 0.09 로 나타나 1/3 수준으로 감소한 것을 볼 수 있었다.

[0102] 이를 통해 혈액 퍼짐에 대한 중력과 함께 액체 점도가 미치는 영향을 실험적으로 확인할 수 있었다.

[0103] 실험결과, 혈액 희석 비율이 증가함에 따라 퍼진 혈액 필름의 면적은 증가하였으며, 희석 비율이 증가함에 따라 혈액 점도는 감소되었고, 혈액 필름의 두께는 8배 희석 기준 1/3 수준(0.09 mm)로 감소하는 것을 볼 수 있었다.

[0104] 도 9는 본 발명의 혈액 희석 비율에 따른 적혈구 침전 시간을 실험한 결과를 나타낸 이미지로서, 도 9를 참조하면 혈액과 세척용액의 2배 희석 혈액 샘플은 6~16분 내 적혈구(RBCs) 침전이 완료되었으며, 4배와 8배 희석 혈액 샘플의 경우, 느린 속도로 적혈구(RBCs) 침전이 진행되었고, 전혈 내 적혈구 응집현상에 따른 적혈구 층의

신속한 침전 현상이 관찰되었다.

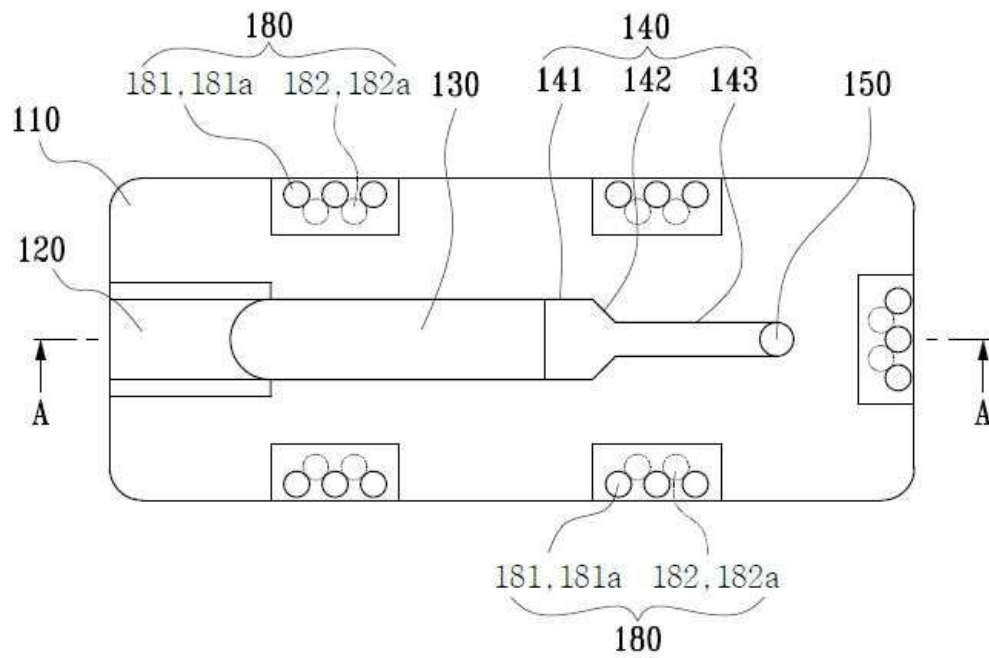
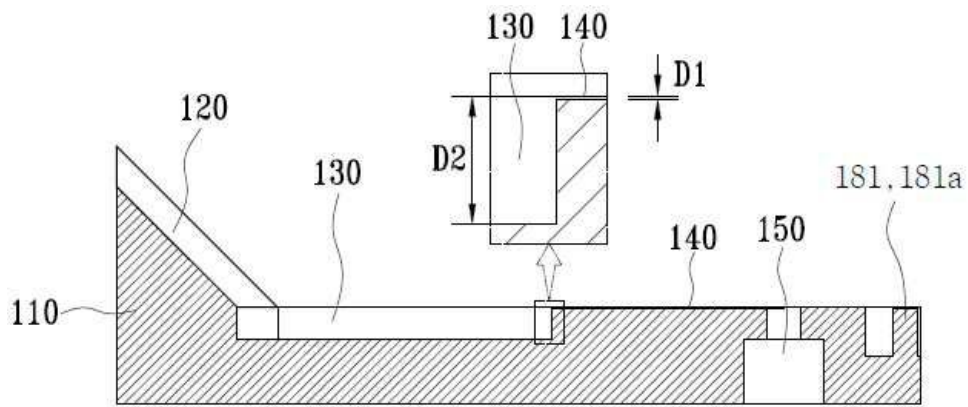
[0105] 앞서 살펴본 바와 같은 본 발명은 혈액분리챔버 및 용액이송부, 포집챔버로 구성된 밀도기반 미세유체 칩 기술을 이용함으로써 원심분리기나 유체 펌프 등과 같은 별도의 장비를 사용하지 않고도 단핵세포 분리가 가능하기 때문에 경제적인 효과가 있고, 별도의 장비를 사용하지 않기 때문에 장소에 구애받지 않고 사용이 가능하며, 마이크로 두께의 혈액 필름을 제조함에 따라 소량의 혈액 분리에 용이한 이점이 있고, 모세관력 기반의 용액 이송부의 구조를 통해서 마이크로 스케일에서의 정밀 유동 제어를 통한 단핵세포의 선택적 회수가 가능한 이점을 갖는다.

[0106] 본 발명은 첨부된 도면에 도시된 일 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 타 실시예가 가능하다는 점을 이해할 수 있을 것이다. 따라서, 본 발명의 진정한 보호 범위는 첨부된 청구 범위에 의해서만 정해져야 할 것이다.

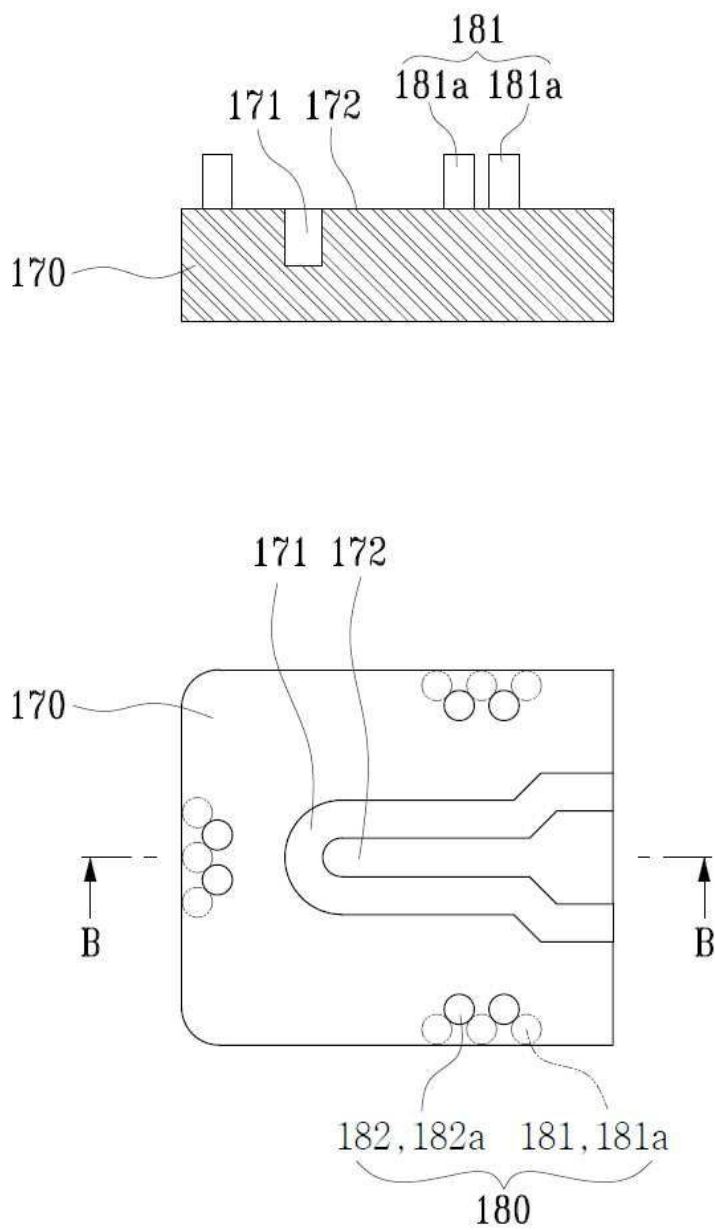
부호의 설명

[0107] 100: 미세유체 칩 110: 본체
120: 용액 투입부 130: 혈액 분리챔버
140: 용액 이송부 141: 확장구간
142: 수렴구간 143: 미세채널부
150: 배출구 160: 포집챔버
161: 튜브 170: 커버
171: 대면부 172: 유도홈
180: 마찰식 조립부 181: 제1보스부
181a: 제1마찰 보스 182: 제2 보스부
182a: 제2마찰 보스 D1: 용액 이송부 깊이
D2: 혈액 분리챔버 깊이 W1: 혈액 분리챔버 폭
W2: 확장구간 폭 W3: 미세채널부 폭

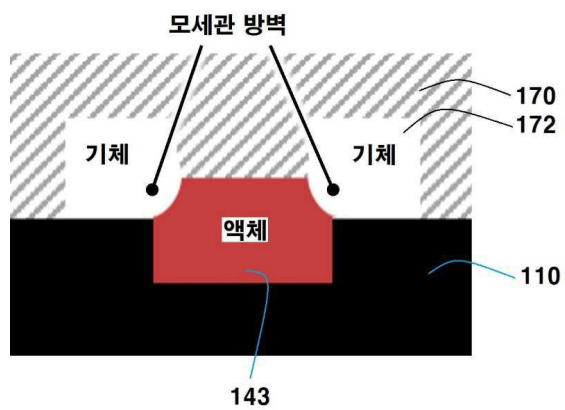
도면2



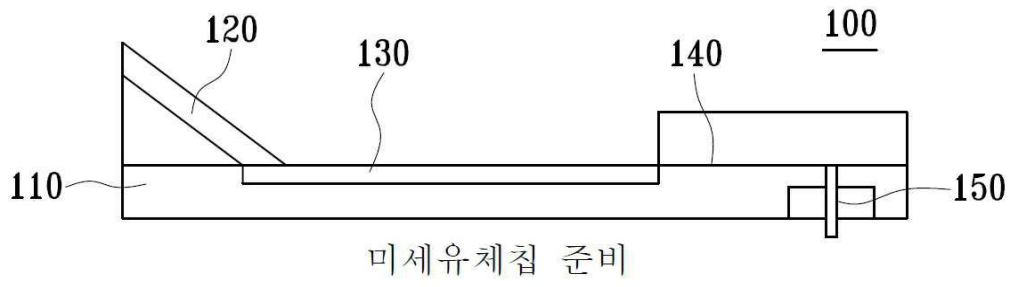
도면3



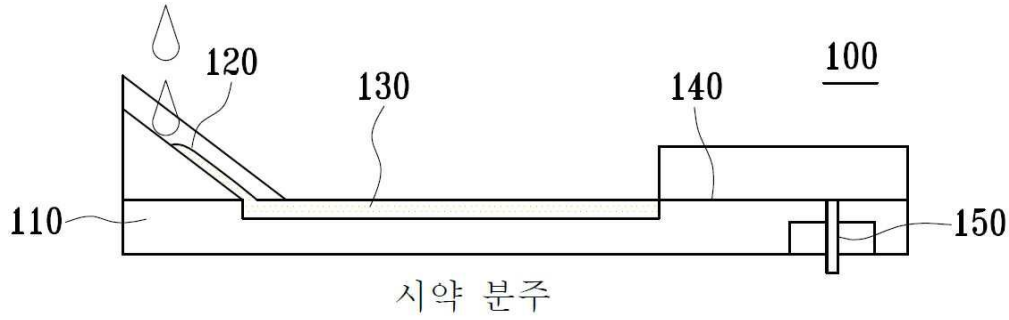
도면4



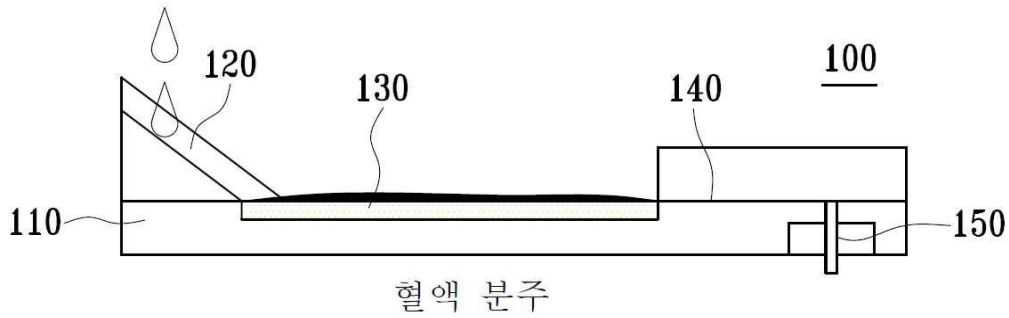
도면5a



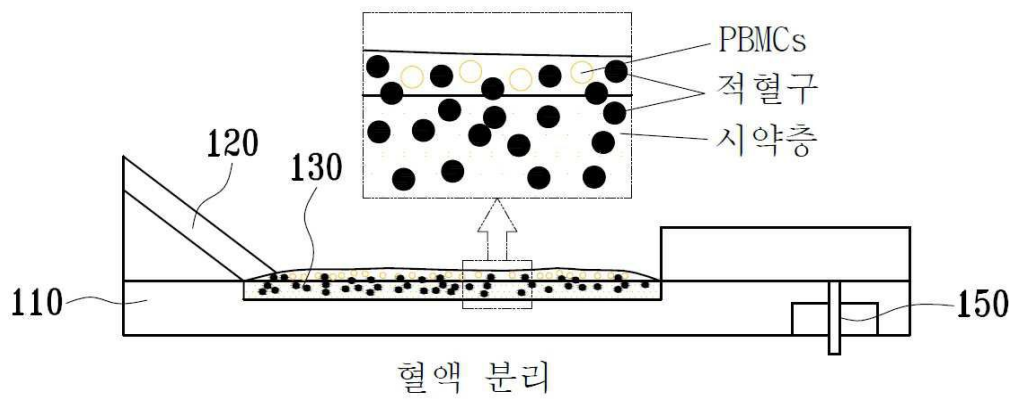
도면5b



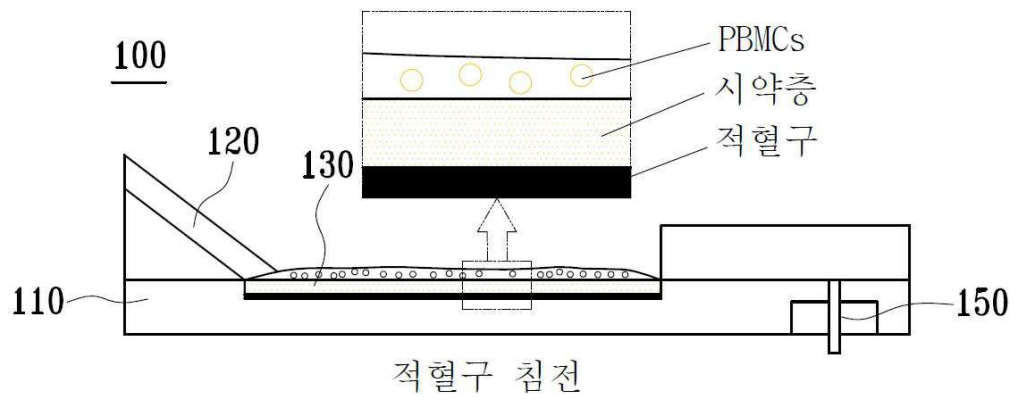
도면5c



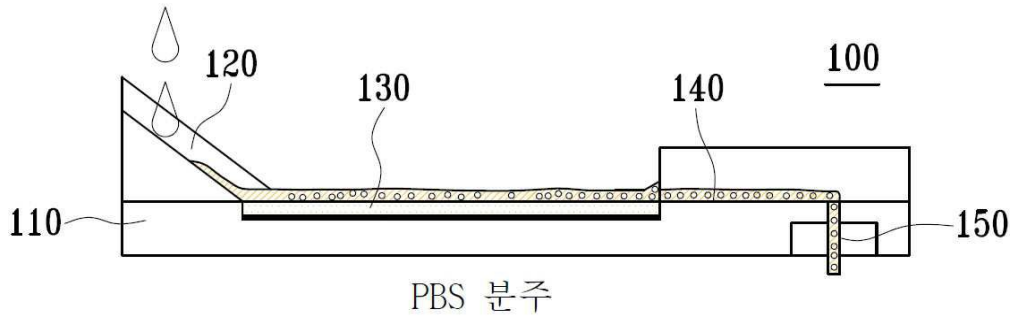
도면5d



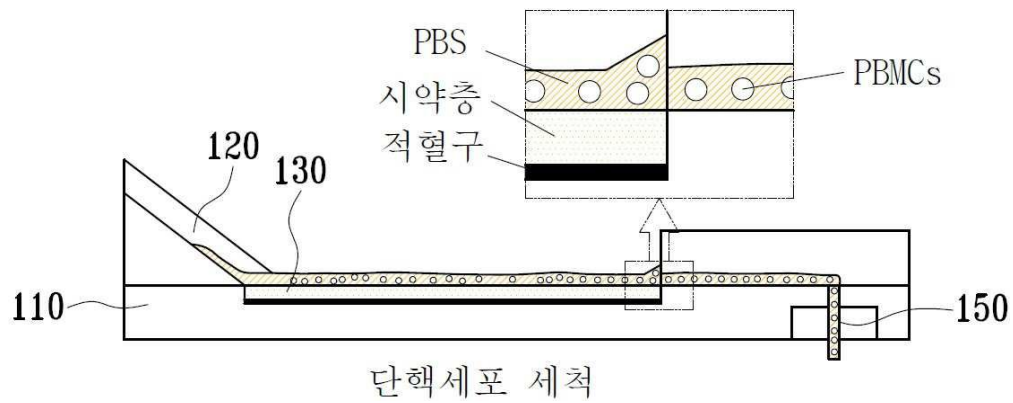
도면5e



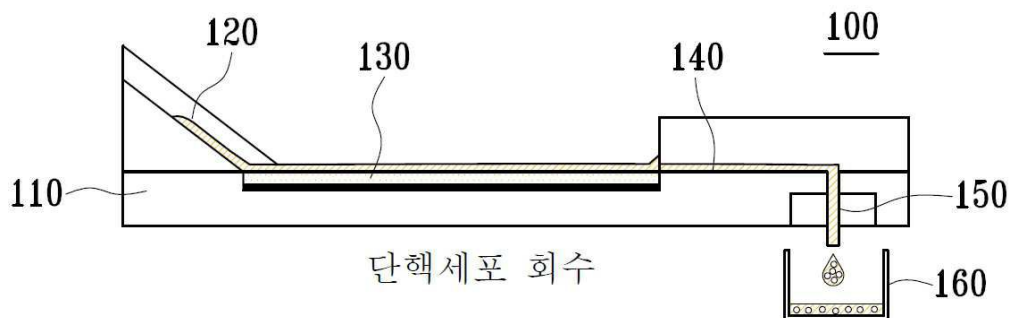
도면5f



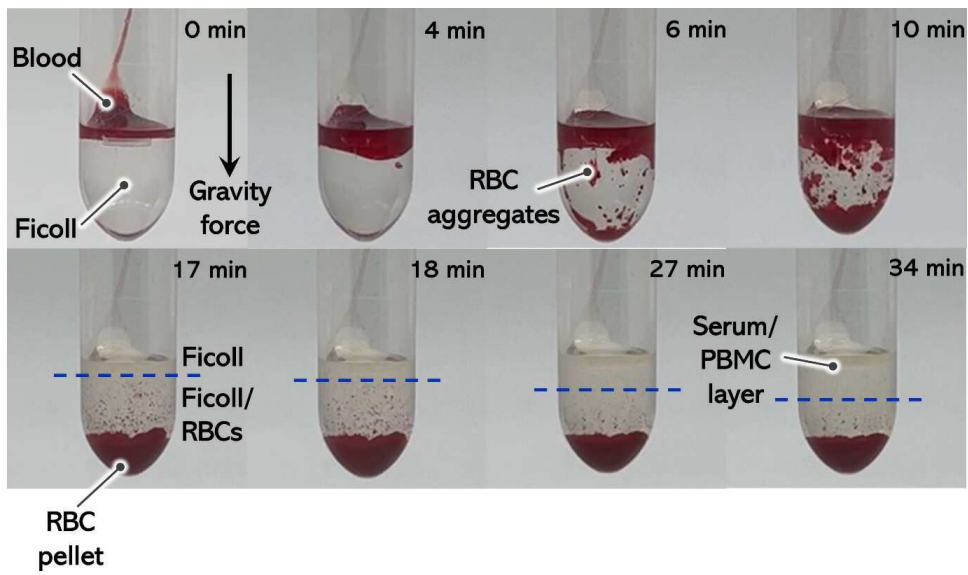
도면5g



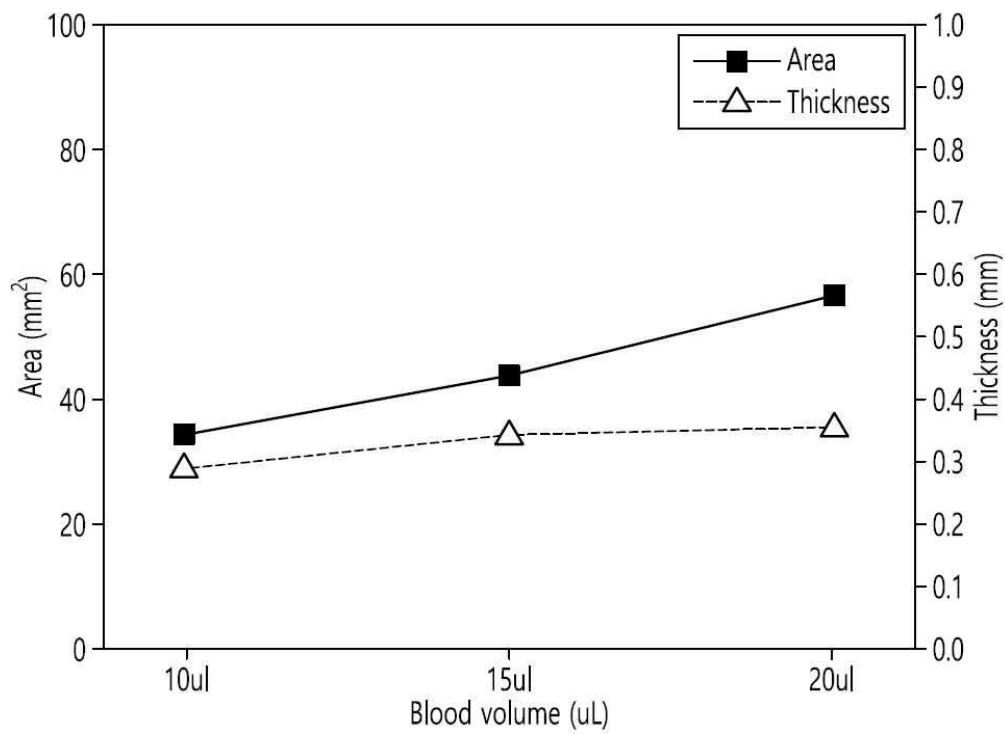
도면5h



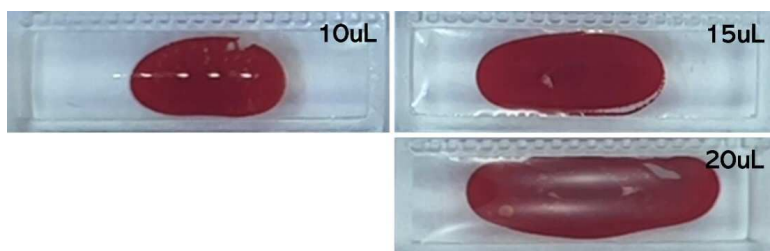
도면6



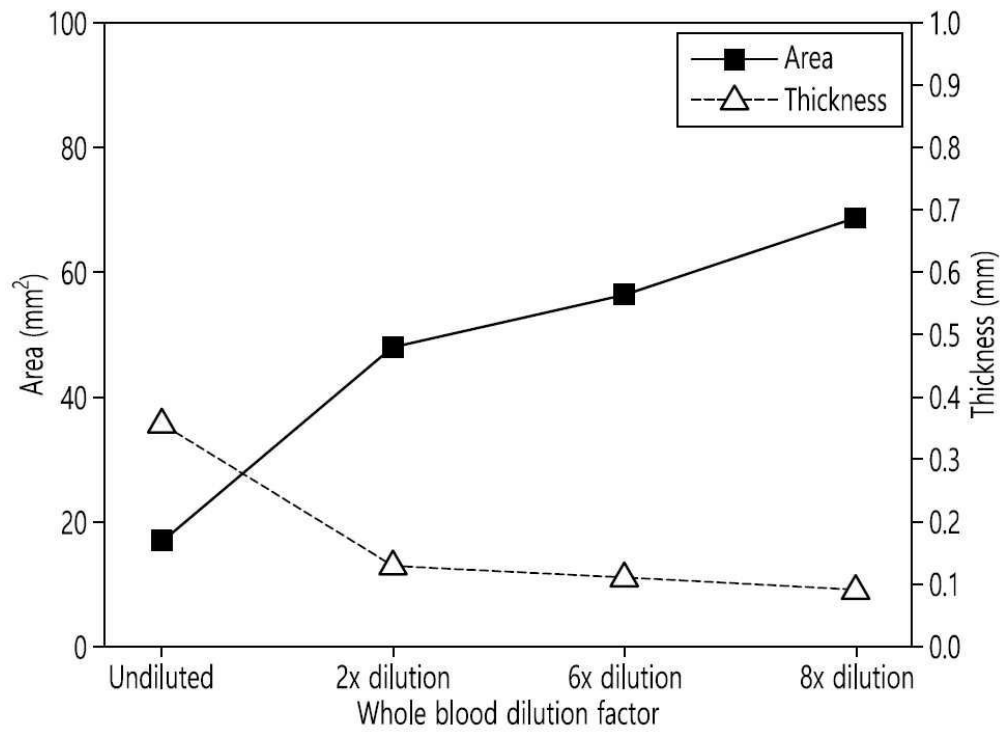
도면7a



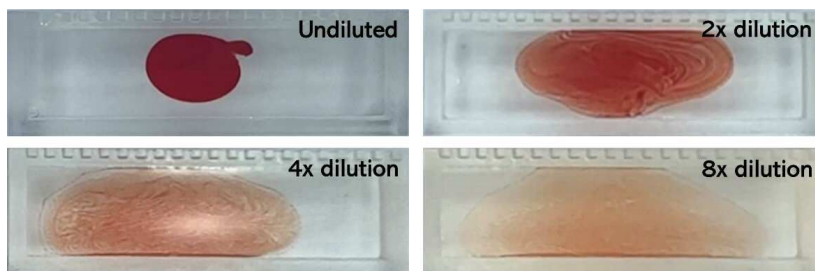
도면7b



도면8a



도면8b



도면9

