



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0032165
(43) 공개일자 2018년03월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2006.01) C12Q 1/24 (2017.01)
G01N 35/00 (2006.01) G01N 35/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/502761 (2013.01)
B01L 3/502715 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0066333
(22) 출원일자 2017년05월29일
심사청구일자 2017년05월29일
(30) 우선권주장
1020160120713 2016년09월21일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
심상준
서울특별시 강남구 선릉로 221, 301동 803호
성영준
서울특별시 영등포구 여의동로3길 10, 201동 501호
김영환
충청남도 서천군 장항읍 장산로101번길 75
(74) 대리인
정은열

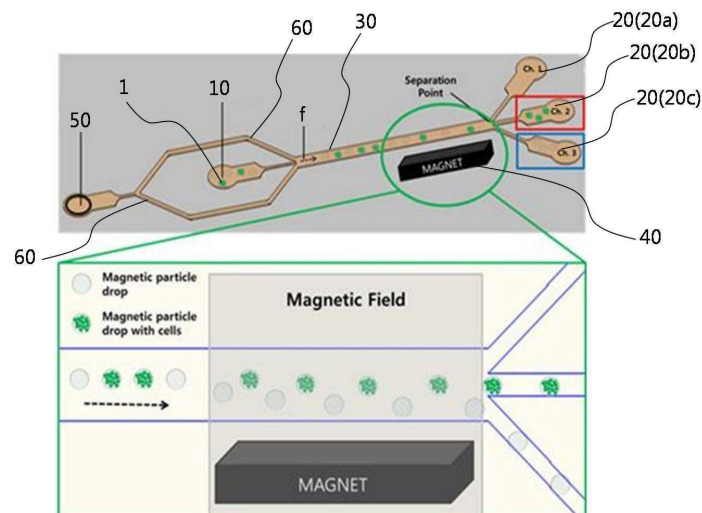
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치

(57) 요약

본 발명은 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 관한 것으로, 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 마이크로 채널 구조를 갖는 마이크로 장치에 있어서, 자성나노입자 및 미세조류 균주가 포함된 미세액적(1)이 주입되는 액적 주입구(10), 미세액적(1)이 분리 배출되는 다수의 액적 배출구(20), 액적 주입구(10)에서부터 액적 배출구(20)까지 연통되어, 상기 미세액적(1)을 수송하는 액적 수송채널(30), 및 액적 수송채널(30) 주변에 자기장을 형성하여, 미세조류 균주의 세포수에 따른 질량 차이에 따라 미세액적(1)을 분리하는 자석(40)을 포함한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12Q 1/24 (2013.01)
G01N 35/0098 (2013.01)
G01N 35/08 (2013.01)
B01L 2200/0652 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014M1A8A1049278
 부처명 미래창조과학부
 연구관리전문기관 (재)한국이산화탄소포집및처리연구개발센터
 연구사업명 거대과학연구개발사업(Korea CCS 2020사업)
 연구과제명 생물학적 이산화탄소 고속전환 유기 자원화 기술
 기 여 율 60/100
 주관기관 고려대학교 산학협력단
 연구기간 2016.06.01 ~ 2017.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016R1A2A1A05005465
 부처명 미래창조과학부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 중견연구자지원사업
 연구과제명 생물공정의 실시간 모니터링을 위한 나노플라즈몬 검지 플랫폼의 기술 개발
 기 여 율 20/100
 주관기관 고려대학교
 연구기간 2016.06.01 ~ 2017.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20152010201900
 부처명 산업통상자원부
 연구관리전문기관 한국에너지기술평가원
 연구사업명 에너지기술개발사업
 연구과제명 미세조류를 이용한 이산화탄소의 고부가가치 상품 전환
 기 여 율 20/100
 주관기관 한국지역난방공사
 연구기간 2016.06.01 ~ 2017.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

마이크로 채널 구조를 갖는 마이크로 장치에 있어서,
 자성나노입자 및 미세조류 균주가 포함된 미세액적이 주입되는 액적 주입구;
 상기 미세액적이 분리 배출되는 다수의 액적 배출구;
 상기 액적 주입구에서부터 상기 액적 배출구까지 연통되어, 상기 미세액적을 수송하는 액적 수송채널; 및
 상기 액적 수송채널 주변에 자기장을 형성하여, 상기 미세조류 균주의 세포수에 따른 질량 차이에 따라 상기 미세액적을 분리하는 자석;
 을 포함하는 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치.

청구항 2

청구항 1에 있어서,
 제1 유상(oil phase)이 주입되는 제1 유상 주입구; 및
 상기 제1 유상 주입구로부터 상기 액적 수송채널의 양측으로 연통되는 한 쌍의 제1 유상 채널;
 을 더 포함하는 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치.

청구항 3

청구항 1에 있어서,
 상기 미세액적을 생성하는 액적 생성기;
 를 더 포함하는 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치.

청구항 4

청구항 3에 있어서,
 상기 액적 생성기는
 마이크로 플루이드 본체;
 상기 마이크로 플루이드 본체의 일단에 형성되고, 액적 생성물질을 주입하는 물질 주입구;
 상기 마이크로 플루이드 본체 상에, 지그재그 형태로 형성되되, 일단이 상기 물질 주입구와 연통되어, 상기 미세액적을 생성하는 액적 생성채널;
 상기 액적 생성채널의 타단과 연통되어, 상기 미세액적을 수용하는 PCR 튜브;
 제2 유상이 주입되는 제2 유상 주입구; 및
 상기 제2 유상 주입구로부터 상기 액적 생성채널 일단의 양측으로 연통되는 한 쌍의 제2 유상 채널;
 을 포함하는 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 액적 생성물질은 자성나노입자 및 미세조류 균주를 포함하는 세포 서스펜션(cell suspension)인 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치.

청구항 6

청구항 4에 있어서,

상기 제2 유상에 계면활성제가 함유되는 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치.

청구항 7

청구항 1에 있어서,

상기 액적 주입구와 상기 액적 수송채널을 연통시키는 챔버; 및

상기 챔버 내부에 배치되어, 소정의 크기 이상의 상기 미세액적을 걸러내는 필터;

를 더 포함하는 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치.

청구항 8

청구항 7에 있어서,

상기 액적 수송채널은 상기 액적 배출구 방향으로 갈수록, 폭이 점점 넓어지는 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 미세조류는 식물플랑크톤(Phytoplankton)이라고 한다. 원래 뿌리, 줄기, 잎이 체계적으로 분화되지 않은 하등식물 중에서 엽록소를 광합성을 하는 식물을 조류라고 하며, 조류는 다시 단단한 구조물에 부착하여 서식하는 미역, 다시마와 같은 해조류와 육안으로 볼 수 없어 현미경을 통해서만 볼 수 있으며 물속에서 자유로이 부유하며 살아가는 생물인 미세조류로 나뉘어진다. 이러한 미세조류는 크기가 50 μm 이하의 단세포 조류이다. 또한 미세조류는 자연계의 먹이사슬에서 최하위에 위치하기 때문에 광합성을 통해 유기물을 생산하는 독립영양생물이다.

[0003] 이러한 미세조류를 보다 구체적으로 살펴보면, 상기 미세조류는 광합성이 가능한 원핵 또는 진핵 미세유기체로서 그들의 단세포적이거나 단순한 다세포적인 구조로 인해 혹독한 환경에서도 빠르게 성장이 가능하다. 또한 미세조류는 태양에너지를 화학에너지로 바꾸는 광합성을 이용해서 그들 스스로 번식하고 수 일 안에 전체의 성장 주기를 완성한다. 이러한 과정 중에 태양에너지를 이용하여 이산화탄소 및 무기물을 후에 바이오디젤로 전환이 가능한 다량의 중성지질로 축적할 수 있는 능력을 갖고 있기 때문에 화석연료 사용으로 급증하는 에너지자원 고갈문제 및 온실가스 배출문제를 해결할 수 있는 대안으로 주목받고 있다.

[0004] 이러한 미세조류를 바이오디젤 생산에 사용하는 것은 다른 바이오매스에 비해 여러 이점을 갖는다. 먼저, 실용적인 관점에서, 미세조류는 배양이 간편하다. 더욱이, 미세조류는 특정한 영양분이나 충분한 공기 주입을 통해 성장 속도를 증가시킬 수 있을 뿐만 아니라 태양빛과 간단한 영양분이 공급되는 단순한 환경에서도 쉽게 성장할

수 있다. 특정 미세조류 종들은 다양한 환경적 조건에서 살 수 있도록 적응할 수 있다. 따라서, 현재 바이오디젤의 공급 원료로 사용되는 대두, 해바라기 그리고 야자수의 성장이 불가능한 특정 환경에서도 성장이 가능한 미세조류 종들을 발굴하는 것이 가능하다. 뿐만 아니라, 미세조류는 현재 보편적인 바이오디젤 공급원료들에 비해 성장 속도 및 생산성이 뛰어나고 더 적은 재배 면적이 필요하다. 미세조류를 활용한 바이오디젤은 황을 포함하지 않기 때문에 미세먼지, 일산화탄소, 탄화수소 그리고 황산화물의 배출을 억제하면서 석유에서 얻어낸 디젤만큼의 효과를 발휘할 수 있다. 그리고 미세조류의 생고정 능력을 이용하면 바이오디젤을 생산하면서 배출되는 온실가스 및 이산화탄소의 양을 줄일 수 있다. 미세조류는 폐수에 포함된 오염 물질을 영양분으로 활용할 수 있기 때문에 폐수처리에도 큰 도움이 된다. 또한, 바이오디젤 추출 후 결과물로 남은 미세조류 바이오매스는 에탄올, 메탄, 가축의 원료 및 유기 비료로 사용될 수 있다. 이처럼 미세조류는 상업적으로 널리 사용되는 고부가가치 생물학적 부산물을 얻을 수 있기 때문에 생물공학분야에서 그 잠재적 가치가 매우 클 것으로 기대된다.

[0005] 이와 같이 잠재적 활용성이 높은 미세조류이지만 상업적으로 이를 활용하기 위해서는 현재 미세조류의 야생종에 비해 좀 더 성장성이 좋고 지질 축적량이 많은 균주가 필요하다. 하지만 미세조류는 대장균 같은 미생물과 달리 일반적인 유전자조작 방법으로는 균주 개량에 어려움이 있다. 따라서 현재는 임의로 유전자를 삽입해 다양한 균주들을 얻고 이를 실제 배양시키면서 원하는 목적에 맞는 균주들을 선별하는 방법으로 우수한 미세조류 균주를 획득하고 있다. 하지만 일반적인 균주 선별 방법은 시간이 오래 걸리고 노동집약적이며 비용이 많이 들기 때문에 이를 해소하기 위한 다양한 연구가 진행되어오고 있다.

[0006] 마이크로 시스템에 쓰이는 고분자물질인 PDMS(Polydimethylsiloxane)는 생물체에 대한 독성이 없고 다공성으로 생물활성에 필요한 물질전달이 용이한 장점을 가지고 있다. PDMS를 이용한 마이크로 시스템은 분석하고자 하는 대상과 목적에 적합한 환경을 위한 맞춤형설계가 가능하다. 특히 높은 투명도 및 미세구조를 기반으로 광학현미경을 통한 개별 세포에 대한 지속적이고 자세한 모니터링 및 효율적인 고속선별을 가능하게 함으로써 성장성과 광합성 효율이 우수한 균주를 선별하는데 큰 기여를 할 수 있다.

[0007] 또한 마이크로 시스템은 내부에 미세조류 균주를 배양하는 공간인 미세액적을 포함하는 장치가 개발되었으며, 이러한 미세액적은 화학 및 생물학 연구에서 다양한 기회들을 제공할 수 있다. 피코리터 단위의 극도로 작은 부피를 갖는 하나의 미세액적 내부에는 단일 세포, 단일 입자 그리고 다양한 화학물질들이 포함될 수 있기 때문에 각각의 미세액적은 개별적인 반응기로 활용될 수 있다. 따라서 미세액적 내부에서 동시에 화학적, 생물학적 반응들의 개별적인 관찰이 용이하고 수~수백 Hz의 속도로 미세액적들을 생성하는 것이 가능하기 때문에 고속처리가 필요한 실험에도 매우 적합하다. 또한, 마이크로 장치의 설계에 따라 미세액적에 다양한 기계적, 전기적 그리고 자기적 자극을 가할 수 있고 이에 따라 단일 세포 및 입자들의 반응을 관찰하기에도 용이하다. 그리고 미세액적은 그 부피 및 무게가 매우 작기 때문에 관성보다 표면장력이 더 지배적이고 작은 부피를 갖는 미세액적은 일반적인 환경에 비해서 열 및 물질 전달률이 매우 크기 때문에 개별 세포의 빠른 성장 및 화학물질들의 빠른 반응 속도를 유발할 수 있다.

[0008] 한편, 상기 검토한 바와 같이 미세조류는 상업적으로 잠재적 가치가 크기 때문에, 성장성 및 광합성 능력이 우수한 미세조류 균주를 선별해 상업적으로 활용하는 것이 중요함에도 불구하고, 이러한 균주를 선별하기 위한 노력은 많이 부족한 실정이다. 뿐만 아니라 상기 미세액적을 활용하여 성장성 및 광합성 능력이 우수한 미세조류 균주를 선별하기 위한 연구는 크게 부족한 실정이다.

[0009] 본 발명과 관련된 선행기술문헌으로는 대한민국 공개특허 제10-2014-0106933호(특허문헌 1)가 개시되어 있는데, 상기 특허문헌 1에서는 메쉬-그리드가 도입된 미세액적 마이크로웰 어레이를 이용하여 목적 유용 효소 활성의 탐색 방법 등이 개시되어 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) KR 10-2014-0106933 A

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본 발명은 상술한 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 일 측면은 미세조류 균주를 배양하는 미세액적 내에 자성나노입자가 포함되고, 미세액적이 흐르는 마이크로 채널 주변에 자기장을 형성함으로써, 미세액적의 가속도 차이를 이용해 성장성이나 광합성 능력이 우수한 미세조류 균주를 선별하는 마이크로 장치를 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 마이크로 채널 구조를 갖는 마이크로 장치에 있어서, 자성나노입자 및 미세조류 균주가 포함된 미세액적이 주입되는 액적 주입구; 상기 미세액적이 분리 배출되는 다수의 액적 배출구; 상기 액적 주입구에서부터 상기 액적 배출구까지 연통되어, 상기 미세액적을 수송하는 액적 수송채널; 및 상기 액적 수송채널 주변에 자기장을 형성하여, 상기 미세조류 균주의 세포수에 따른 질량 차이에 따라 상기 미세액적을 분리하는 자석;을 포함한다.

[0013] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 있어서, 제1 유상(oil phase)이 주입되는 제1 유상 주입구; 및 상기 제1 유상 주입구로부터 상기 액적 수송채널의 양측으로 연통되는 한 쌍의 제1 유상 채널;을 더 포함한다.

[0014] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 있어서, 상기 미세액적을 생성하는 액적 생성기;를 더 포함한다.

[0015] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 있어서, 상기 액적 생성기는 마이크로 플루이드 본체; 상기 마이크로 플루이드 본체의 일단에 형성되고, 액적 생성물질을 주입하는 물질 주입구; 상기 마이크로 플루이드 본체 상에, 지그재그 형태로 형성되되, 일단이 상기 물질 주입구와 연통되어, 상기 미세액적을 생성하는 액적 생성채널; 상기 액적 생성채널의 타단과 연통되어, 상기 미세액적을 수용하는 PCR 튜브; 제2 유상이 주입되는 제2 유상 주입구; 및 상기 제2 유상 주입구로부터 상기 액적 생성채널 일단의 양측으로 연통되는 한 쌍의 제2 유상 채널;을 포함한다.

[0016] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 있어서, 상기 액적 생성물질은 자성나노입자 및 미세조류 균주를 포함하는 세포 서스펜션(cell suspension)이다.

[0017] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 있어서, 상기 제2 유상에 계면활성제가 함유된다.

[0018] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 있어서, 상기 액적 주입구와 상기 액적 수송채널을 연통시키는 챔버; 및 상기 챔버 내부에 배치되어, 소정의 크기 이상의 상기 미세액적을 걸러내는 필터;를 더 포함한다.

[0019] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 있어서, 상기 액적 수송채널은 상기 액적 배출구 방향으로 갈수록, 폭이 점점 넓어진다.

[0020] 본 발명의 특징 및 이점들은 첨부도면에 의거한 다음의 상세한 설명으로 더욱 명백해질 것이다.

[0021] 이에 앞서 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이고 사전적인 의미로 해석되어서는 아니되며, 발명자가 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

발명의 효과

[0022] 본 발명에 따르면, 미세조류 균주 및 자성나노입자를 포함하는 미세액적의 수송채널에 자기장을 형성함으로써, 성장속도가 다른 미세조류 균주의 세포수에 따라 질량이 서로 다른 미세액적의 가속도 차이를 이용하여, 성장성이나 광합성 능력이 우수한 미세조류 균주를 용이하게 선별하는 것이 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 사시도이다.

도 2는 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 분리 효율을 나타내는 그래프이다.

도 3은 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 액적 생성기를 도시한 평면도이다.

도 4는 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 평면도이다.

도 5는 도 4의 원 A를 확대한 확대도이다.

도 6a 내지 도 6d는 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 분리 효율을 나타내는 그래프이다.

도 7은 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의해 분리되는 미세액적의 사진이다.

도 8은 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 미세액적 분리 비율을 나타내는 그래프이다.

도 9는 본 발명의 제3 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 평면도이다.

도 10은 도 9의 원 B를 확대한 확대도이다.

도 11은 본 발명의 제3 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의해 분리되는 미세액적의 사진이다.

도 12는 본 발명의 제3 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 미세액적 분리 비율을 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 본 발명의 목적, 특정한 장점들 및 신규한 특징들은 첨부된 도면들과 연관되어지는 이하의 상세한 설명과 바람직한 실시예들로부터 더욱 명백해질 것이다. 본 명세서에서 각 도면의 구성요소들에 참조번호를 부가함에 있어서, 동일한 구성 요소들에 한해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 번호를 가지도록 하고 있음에 유의하여야 한다. 또한, "제1", "제2" 등의 용어는 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하기 위해 사용되는 것으로, 구성요소가 상기 용어들에 의해 제한되는 것은 아니다. 이하, 본 발명을 설명함에 있어서, 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 관련된 공지 기술에 대한 상세한 설명은 생략한다.
- [0025] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시형태를 상세히 설명하기로 한다.
- [0026] 도 1은 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 사시도이다.
- [0027] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 마이크로 채널 구조를 갖는 마이크로 장치에 있어서, 자성나노입자 및 미세조류 균주가 포함된 미세액적(1)이 주입되는 액적 주입구(10), 미세액적(1)이 분리 배출되는 다수의 액적 배출구(20), 액적 주입구(10)에서부터 액적 배출구(20)까지 연통되어, 상기 미세액적(1)을 수송하는 액적 수송채널(30), 및 액적 수송채널(30) 주변에 자기장을 형성하여, 미세조류 균주의 세포수에 따른 질량 차이에 따라 미세액적(1)을 분리하는 자석(40)을 포함한다.
- [0028] 크기가 50 μm 이하의 단세포 조류인 미세조류는 물속에서 부유하며 살아가는데, 혹독한 환경에서도 성장이 가능하고, 광합성을 이용해 스스로 번식한다. 이러한 성장 과정에서 이산화탄소 및 무기물을 후에 바이오디젤로 전환이 가능한 다량의 중성지질로 축적할 수 있으므로, 장래 화석연료를 대용할 수 있는 에너지원으로 주목받고 있다.
- [0029] 다만, 미세조류는 일반적인 유전자조작 방법으로는 균주 개량이 어렵기 때문에 종래에는 임의로 유전자를 삽입하여 다양한 균주를 얻고 이를 실제 배양시키면서 원하는 목적에 맞는 균주를 선별하여 우수한 미세조류 균주를 획득하였다.
- [0030] 그러나, 일반적인 균주 선별방법은 시간이 오래 걸리고, 노동집약적이며, 비용이 많이 소요되는 문제가 있다. 이에, 종래 미세조류 균주의 선별 방법의 문제점을 개선하고자 본 발명에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치가 안출되었다.
- [0031] 본 발명에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 마이크로 채널 구조를 갖는 마이크로 장치에 있어서, 액적 주입구(10), 액적 배출구(20), 액적 수송채널(30), 및 자석(40)을 포함한다.
- [0032] 본 발명에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 마이크로플루이딕(microfluidic) 등과 같은 마이크로 시

시스템을 이용한 미세유체 장치로서, 미세조류 균주를 배양하는 공간인 미세액적(1)을 활용하여 분리함으로써 종국적으로 미세조류 균주를 선별한다.

[0033] 여기서, 미세액적(1)은 피코리터 단위의 극도로 작은 부피를 갖고 무게가 매우 작으므로, 관성보다 표면장력이 더 지배적이고, 열 및 물질 전달률이 매우 커서 개별 세포의 빠른 성장 및 화학물질들의 빠른 반응 속도를 유발할 수 있다. 나아가, 그 미세액적(1) 내부에는 단일 세포, 단일 입자 그리고 다양한 화학물질 등을 포함할 수 있으므로, 미세액적(1) 내부에서 화학적, 생물학적 반응들의 개별적 관찰이 가능하고, 다양한 기계적, 전기적, 자기적 자극을 가할 수 있다.

[0034] 본 발명에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 사용되는 미세액적(1)은 미세조류 균주뿐만 아니라, 자성나노입자를 포함한다. 여기서, 미세조류 균주는 미세액적(1) 내부에서 성장하는데, 성장속도가 각각 다르기 때문에 각각의 미세액적(1) 내부에서의 세포수가 다르다. 이러한 미세액적(1) 내부에서의 세포수 차이는 미세액적(1)의 질량 차이를 발생시킨다.

[0035] 또한, 각각의 미세액적(1)은 동일한 농도의 자성나노입자를 함유한다. 여기서, 자성나노입자는 덱스트란(Dextran)으로 코팅된 산화철 나노파티클로서, 그 직경은 20 nm이고, 농도는 5 mg/mL일 수 있다. 다만, 자성나노입자가 반드시 상술한 직경과 농도를 갖는 산화철 나노파티클에 한정되는 것은 아니다. 이때, 각각의 미세액적(1) 내부에 포함된 자성나노입자는 동일한 농도를 가지므로, 후술할 자석(40)에 의해 형성된 자기장 내에서 동일한 자력을 받게 된다.

[0036] 이렇게 질량 차이가 있고, 자기장에서 자력을 받는 미세액적(1)은 액적 주입구(10)로 주입되어, 액적 수송채널(30)을 따라 이동하다가, 가속도 차이로 인해 분리되어 다수의 액적 배출구(20a, 20b, 20c)로 배출된다.

[0037] 이때, 액적 수송채널(30)은 액적 주입구(10)에서부터 액적 배출구(20)까지 연통되어 형성되고, 액적 배출구(20)는 분리된 각각의 미세액적(1)을 배출하므로 다수 개가 구비된다. 즉, 액적 수송채널(30)의 일단은 액적 주입구(10)에 연결되고, 액적 수송채널(30)의 타단은 여러 갈래로 분기되어 다수의 액적 배출구(20a, 20b, 20c, 20d) 각각에 연결된다. 여기서, 각각의 미세액적(1)은 액적 수송채널(30)에서의 가속도 차이로 인해 분리되는데, 그 가속도 차이는 미세액적(1)에 포함된 미세조류 균주의 세포수 차이에 기인한다. 이러한 가속도 차이는 결국 자기장 내에서 미세액적(1)의 이동거리 차이를 유발하여, 미세액적(1)을 분리시킨다.

[0038] 구체적으로, 액적 수송채널(30)의 좌측, 또는 우측에 자석(40)이 배치됨으로써, 액적 수송채널(30) 주변에 자기장이 형성된다. 따라서, 자성나노입자를 포함하는 미세액적(1)은 액적 수송채널(30)을 이동하면서 자력을 받게 된다. 이때, 각각의 미세액적(1) 내부에 포함된 미세조류 균주의 세포수 차이에 따른 질량 차이는 뉴턴의 제2법칙에 따라 가속도 차이를 발생시키고, 그 가속도 차이로 인해 자석(40)이 배치된 일측 방향으로 이동하는 거리 차이가 생긴다. 따라서, 미세액적(1) 내 세포수가 많아 질량이 큰 미세액적(1)은 자기장에 크게 영향을 받지 않고 직진하여 액적 수송채널(30)과 동일 측 상에 배치된 어느 하나의 액적 배출구(20b)를 통해 빠져나가고, 세포수가 적어 질량이 작은 미세액적(1)의 경우는 자기장에 영향을 받아 자석(40)이 배치된 일측 방향으로 휘어지면서, 액적 수송채널(30)을 기준으로 자석(40)이 배치된 방향으로 분기된 다른 하나의 액적 배출구(20c)로 빠져나간다. 결국, 액적 수송채널(30)의 길이방향을 따라 직진하여 선별된 미세액적(1)을 획득함으로써, 미세액적(1) 내부에서 성장속도가 빨라 세포수가 많은 미세조류 균주를 선별할 수 있다.

[0039] 종합적으로, 본 발명에 따르면, 미세조류 균주 및 자성나노입자를 포함하는 미세액적(1) 수송되는 마이크로 채널 주변에 자기장을 형성함으로써, 성장속도가 다른 미세조류 균주의 세포수에 따라 질량이 서로 다른 미세액적(1)의 가속도 차이를 이용하여, 성장성이나 광합성 능력이 우수한 미세조류 균주를 용이하게 선별하는 것이 가능하다.

[0040] 또한, 본 발명에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 제1 유상 주입구(50), 및 제1 유상 채널(60)을 더 포함할 수 있다. 여기서, 제1 유상 주입구(50)를 통해 주입된 제1 유상(oil phase)은 제1 유상 채널(60)을 따라 이동하는데, 이때, 제1 유상 채널(60)은 한 쌍으로서, 제1 유상 주입구(50)로부터 액적 수송채널(30)의 양측, 즉 하나의 제1 유상 채널(60)은 액적 수송채널(30)의 우측에, 다른 하나의 제1 유상 채널(60)은 액적 수송채널(30)의 좌측에 각각 연통된다. 따라서, 액적 수송채널(30)의 양측으로 유입되는 제1 유상은 미세액적(1)의 플로우(flow)를 눌러서, 미세액적(1)이 액적 수송채널(30)의 중심을 따라 이동하게 함으로써, 미세액적(1)이 자기장에 의해 보다 효과적으로 분리되도록 한다.

[0041] 상술한 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 미세균주 선별 효과는 실험적으로 확인할 수 있는바, 이하에서 설명한다.

- [0042] 도 2는 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 분리 효율을 나타내는 그래프이다.
- [0043] 도 2에서는 실제 세포를 포함하고 있는 미세액적과 세포를 포함하지 않은 미세액적이 어느 정도의 효율로 분리되는지 확인하기 위해 실험을 진행하였다.
- [0044] 먼저, 자석이 존재하지 않는 상황에서 세포를 포함하는 미세액적과 세포를 포함하지 않은 미세액적은 100%의 확률로 Ch. 2의 액적 배출구(도 1의 20b)로 빠져나왔다. 이는 제1 유상이 미세액적을 액상 수송채널의 중심으로 모아주기 때문으로 사료된다.
- [0045] 다음으로, 자석을 위치시켜 자기장을 형성해 주었을 때, 미세액적의 이동경로를 관찰해본 결과, 세포를 포함하는 미세액적의 경우에는 95%가 Ch. 2의 액적 배출구로, 5%가 Ch. 3의 액적 배출구(도 1의 20c)로 유입되었고, 세포를 포함하지 않은 미세액적의 경우에는 4.8%가 Ch. 2로 빠져나왔으며, 95.2%는 Ch. 3으로 빠져나왔다. 따라서, 동일한 농도의 자성나노입자를 포함하는 미세액적은 내부에 포함된 미세조류 균주의 세포수에 따라 질량이 달라지면, 자기장 내에서 효과적으로 분리됨을 확인할 수 있다.
- [0046] 도 3은 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 액적 생성기를 도시한 평면도이다.
- [0047] 도 3에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제1 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 미세액적(1)을 생성하는 액적 생성기(70)를 더 포함할 수 있다. 여기서, 액적 생성기(70)는 미세액적(1) 내부에 자성나노입자와 미세조류 균주가 포함되도록 설계된다.
- [0048] 구체적으로, 액적 생성기(70)는 마이크로 채널 구조를 갖는 미세유체 장치로서, 마이크로 플루이드 본체(71), 액적 생성물을 주입하는 물질 주입구(72), 액적 생성물로부터 미세액적(1)을 생성하는 액적 생성채널(73), 생성된 미세액적(1)을 수용하는 PCR 튜브(74), 제2 유상을 주입하는 제2 유상 주입구(75), 및 한 쌍의 제2 유상 채널(76)을 포함할 수 있다.
- [0049] 여기서, 물질 주입구(72)는 마이크로 플루이드 본체(71)의 일단에 형성되고, 액적 생성채널(73)은 마이크로 플루이드 본체(71) 상에 지그재그 형태로 구불구불하게 형성되며 그 일단이 물질 주입구(72)와 연통되어 액적 생성물로부터 미세액적(1)을 생성한다. 여기서, 액적 생성물은 자성나노입자 및 미세조류 균주를 포함하는 세포 서스펜션(cell suspension)을 사용할 수 있다. 예를 들어, TAP-C 배지에 자성나노입자가 동일한 농도로 포함되고, 소정의 농도로 미세조류 세포를 포함할 수 있다. 이때, TAP-C 배지의 구성성분은 하기 표와 같다.
- [0050] [TAP-C 배지의 구성성분]

TAP-C Medium	
성분	함량 (in 1L water)
TAP salts (in 1L water)	25 ml
NH ₄ Cl 15.0 g	
MgSO ₄ · 7H ₂ O 4.0 g	
CaCl ₂ · 2H ₂ O 2.0 g	0.375 ml
Phosphate solution (in 100 ml water)	
K ₂ HPO ₄ 28.8 g	
KH ₂ PO ₄ 14.4 g	1.0 ml
Hutner's trace elements	
EDTA disodium salt 50 g (250 ml water)	
ZnSO ₄ · 7H ₂ O 22 g (100 ml water)	
H ₃ BO ₃ 11.4 g (200 ml water)	
MnCl ₂ · 4H ₂ O 5.06 g (50 ml water))	
CoCl ₂ · 6H ₂ O 1.61 g (50 ml water)	
CuSO ₄ · 5H ₂ O 1.57 g (50 ml water)	
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O 1.10 g (50 ml water)	
FeSO ₄ · 7H ₂ O 4.99 g (50 ml water)	2.42 g
Tris base	
HCl	1.0 ml

- [0051]
- [0052] 한편, PCR 튜브(74)는 액적 생성채널(73)의 타단과 연통되므로, 액적 생성채널(73)에서 생성된 미세액적(1)을 수용한다.
- [0053] 여기서, 한 쌍의 제2 유상 채널(76)은 제2 유상 주입구(75)로부터 액적 생성채널(73)의 일단의 양측으로 연통되어, 제2 유상 채널(76)을 따라 흐르는 제2 유상이 액적 생성채널(73)로 유입되는 액적 생성물을 모아준다.

이때, 제2 유상에는 계면활성제가 포함됨으로써, 에멀전의 안정성을 증가시켜, 액적 생성채널(73) 내에서의 미세액적(1)의 융합을 방지할 수 있다.

[0054] 종합적으로, 제2 유상과 액적 생성물이 펌프에 의해 flow-focusing 구조를 갖는 액적 생성기(70)로 주입되어 미세액적(1)을 생성하는데, 여기서 미세액적(1)은 약 160 μm 의 직경을 갖고, 40 Hz의 속도로 생성되며, 이때 제2 유상과 액적 생성물은 각각 170 mbar와 180 mbar의 압력으로 주입될 수 있다.

[0055] 도 4는 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 평면도이고, 도 5는 도 4의 원 A를 확대한 확대도이다.

[0056] 도 4 내지 도 5에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 액적 주입구(10)와 액적 수송채널(30)을 연통시키는 챔버(80), 및 챔버(80) 내부에 배치되는 필터(90)를 더 포함할 수 있다. 여기서, 필터(90)는 소정의 크기 이상의 미세액적(1)을 걸러내므로, 미세액적(1) 중 크기가 균일하지 않은 미세액적(1)이 분리된다.

[0057] 이때, 액적 수송채널(30)은 확장 채널 구조로서, 액적 배출구(20) 방향으로 갈수록 폭이 점점 넓어지도록 형성될 수 있다. 구체적으로, 액적 수송채널(30)의 중심을 지나는 중심선을 기준으로, 내측면이 약 2° 정도 비스듬히 기울어져 확장되고, 이때 액적 배출구(20)가 7개 구비되며, 그 폭은 약 200 μm 일 수 있다. 다만, 액적 수송채널(30)의 내측면의 기울기 및 액적 배출구(20)의 개수와 폭이 반드시 상술한 바와 같이 한정되어야 하는 것은 아니다.

[0058] 이하에서는 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 효과에 대해 실험 결과를 토대로 설명한다.

[0059] 도 6a 내지 도 6d는 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 분리 효율을 나타내는 그래프이고, 도 7은 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의해 분리되는 미세액적의 사진이며, 도 8은 본 발명의 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 미세액적 분리 비율을 나타내는 그래프이다.

[0060] 도 6a 내지 도 6d에서는 미세액적을 최적의 효율로 분리하기 위한 조건을 확보하기 위해서 상기 제2 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치를 활용하여 실험하였다.

[0061] 이때, 도 6a는 미세액적의 이동속도($447.35 \mu\text{m s}^{-1}$, $769.30 \mu\text{m s}^{-1}$, $820.14 \mu\text{m s}^{-1}$, $1677.56 \mu\text{m s}^{-1}$, $2419.75 \mu\text{m s}^{-1}$), 도 6b는 자석의 위치(앞, 중간, 뒤), 도 6c는 자력의 세기(자석과 액적 수송채널 사이의 거리 기준 $527.81 \mu\text{m}$, $1205.61 \mu\text{m}$, $1680.07 \mu\text{m}$, $2628.99 \mu\text{m}$, $3781.25 \mu\text{m}$), 도 6d는 미세액적의 직경 차이($80 \mu\text{m}$, $160 \mu\text{m}$)에 따른 Empty 미세액적과 High density 미세액적이 분리효율을 조사하였다. 여기서, Empty 미세액적은 미세조류 균주가 포함되지 않은 경우이고, High density 미세액적은 액적 생성물에 $2 \times 10^8 \text{ cell/mL}$ 의 농도로 미세조류 세포가 포함되어 생성된 미세액적을 의미한다.

[0062] 도 7에서는 도 6a 내지 도 6d로부터 확보된 조건들을 바탕으로 Empty 미세액적, Low density 미세액적, High density 미세액적을 분리하는 실험을 진행하였다. 이때, Low density 미세액적은 액적 생성물에 $1 \times 10^8 \text{ cell/mL}$ 의 농도로 미세조류 세포가 포함되어 생성된 미세액적을 의미한다.

[0063] 그 결과, Empty 미세액적은 7개의 액적 배출구 중 2번 액적 배출구(outlet)로, Low density 미세액적은 2, 3번 액적 배출구의 중간으로, High density 미세액적은 3번 액적 배출구로 향하고, 미세액적들은 y 축 방향, 즉 자석을 향하는 방향으로 약 80 μm 의 거리 차이를 갖는 것을 확인했다.

[0064] 도 8에서는 실제 Empty 미세액적, Low density 미세액적, High density 미세액적이 분리되는 비율을 확보하였다. 결과적으로, Empty 미세액적의 경우에는 1번 액적 배출구로 20.93%, 2번 액적 배출구로 72.09%, 3번 액적 배출구로 6.98%가 빠져나가며, Low density 미세액적의 경우에는 1번 액적 배출구로 1.72%, 2번 액적 배출구로 37.93%, 3번 액적 배출구로 60.34%가 빠져나가고, High density 미세액적의 경우에는 3번 액적 배출구로 77.27%, 4번 액적 배출구로 22.73%가 빠져나갔다.

[0065] 따라서, 미세액적의 밀도 차이에 의해 서로 다른 액적 배출구로 미세액적이 선별됨을 확인할 수 있다.

[0066] 도 9는 본 발명의 제3 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 평면도이고, 도 10은 도 9의 원 B를 확대한 확대도이다.

[0067] 도 9 내지 도 10에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제3 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치는 액적 수송채널(30)이 소정의 구간별로 약 2° 씩 단계적으로 확장되는 구조로 형성될 수 있다. 이때, 확장되는 구간은 각각 4,000 μm 의 길이를 가지고, 액적 배출구(20)는 9개까지 증가될 수 있으며, 액적 배출구(20) 각각의 폭은 200 μm 일 수 있다.

[0068] 이하는 본 발명의 제3 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치의 효과에 대해 실험 결과이다.

[0069] 도 11은 본 발명의 제3 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의해 분리되는 미세액적의 사진이고, 도 12는 본 발명의 제3 실시예에 따른 미세조류 균주 선별용 마이크로 장치에 의한 미세액적 분리 비율을 나타내는 그래프이다.

[0070] 도 11에서는 Empty 미세액적(droplets), Low density 미세액적, High density 미세액적이 각각 1, 2, 3번 액적 배출구로 빠져나가는 것을 확인하였고, 이를 바탕으로 실제 미세액적의 분리비율(%)을 조사한 바, 그 결과는 하기 [표 1] 및 도 12와 같다.

표 1

액적 배출구(outlet)	Empty droplets (%)	Low density droplets (%)	High density droplets (%)
1	91.90 $\pm$ 3.37	6.50 $\pm$ 2.47	
2	8.10 $\pm$ 3.37	87.12 $\pm$ 0.66	9.34 $\pm$ 1.90
3		6.38 $\pm$ 1.90	90.66 $\pm$ 1.90

[0072] Empty 미세액적, Low density 미세액적, High density 미세액적들은 각각, 91.90 $\pm$ 3.37 %, 87.12 $\pm$ 0.66 %, 90.66 $\pm$ 1.90 %의 확률로, 순서대로 1, 2, 3번 액적 배출구로 빠져나갔다.

[0073] 이상 본 발명을 구체적인 실시예를 통하여 상세히 설명하였으나, 이는 본 발명을 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명은 이에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 그 변형이나 개량이 가능함이 명백하다.

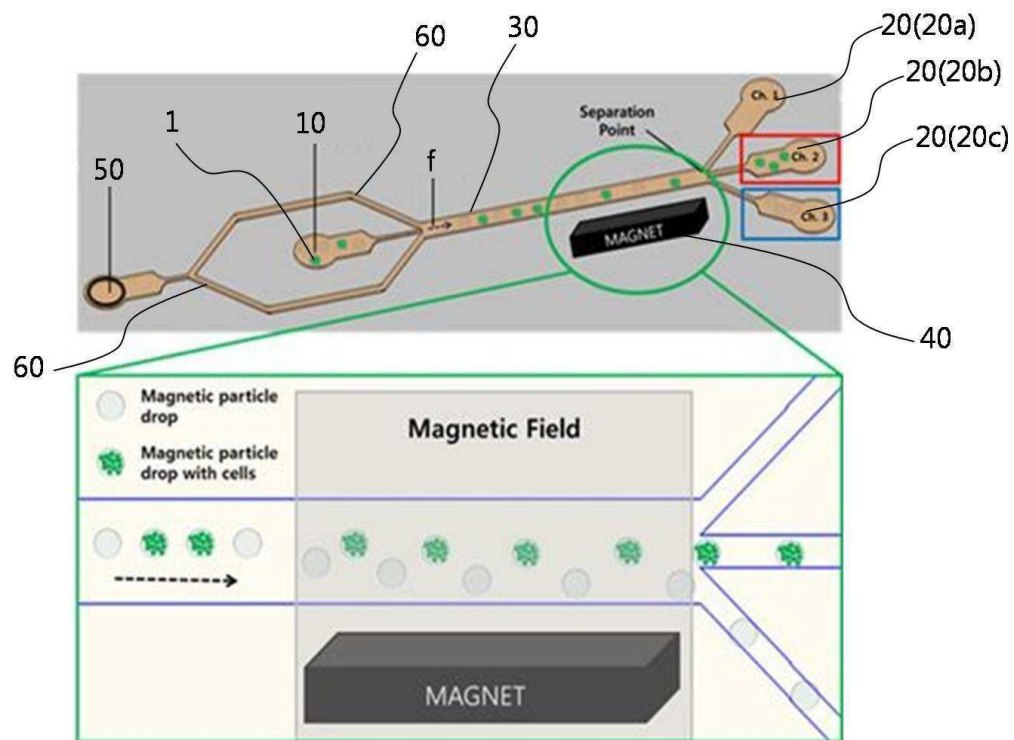
[0074] 본 발명의 단순한 변형 내지 변경은 모두 본 발명의 영역에 속한 것으로 본 발명의 구체적인 보호 범위는 첨부된 특허청구범위에 의하여 명확해질 것이다.

부호의 설명

[0075] 1: 미세액적 10: 액적 주입구
 20: 액적 배출구 30: 액적 수송채널
 40: 자석 50: 제1 유상 주입구
 60: 제1 유상 채널 70: 액적 생성기
 71: 마이크로 플루이드 본체 72: 물질 주입구
 73: 액적 생성채널 74: PCR 튜브
 75: 제2 액상 주입구 76: 제2 유상 채널
 80: 챔버 90: 필터

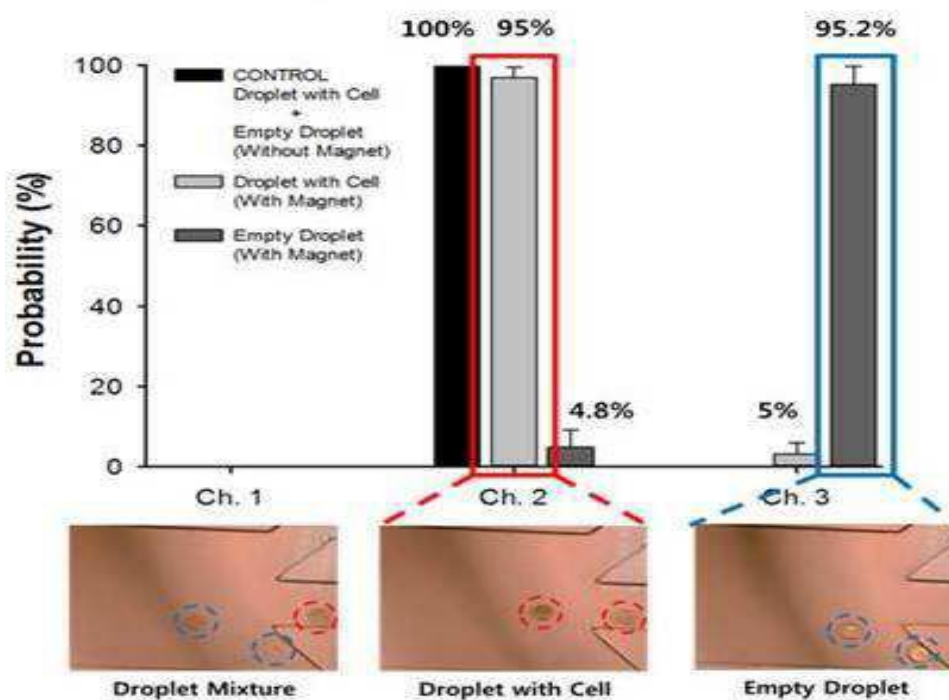
도면

도면1

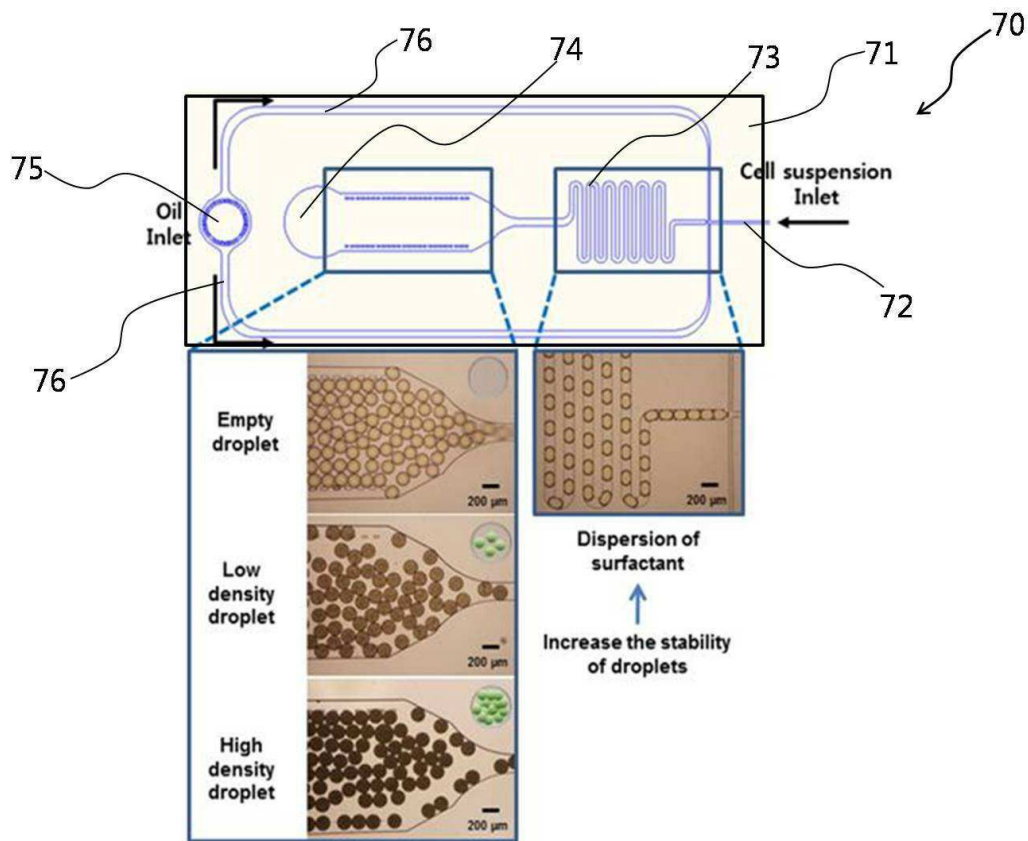


도면2

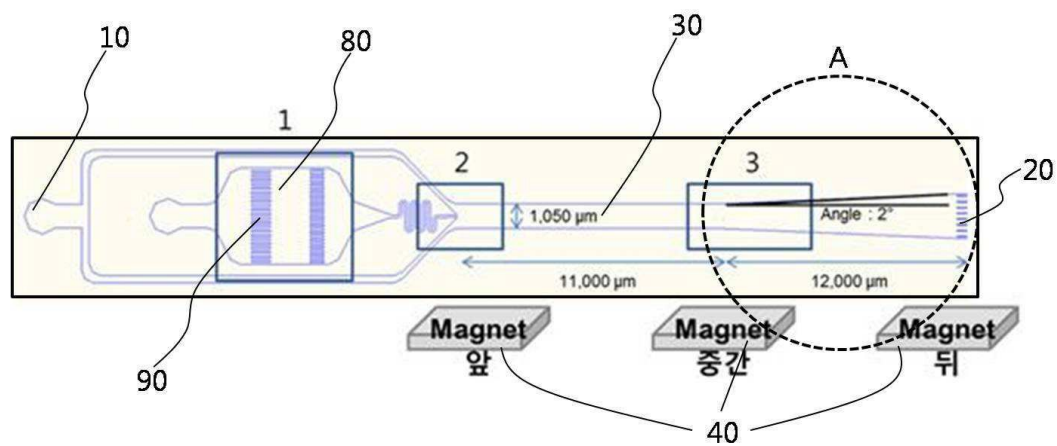
• Probability of system



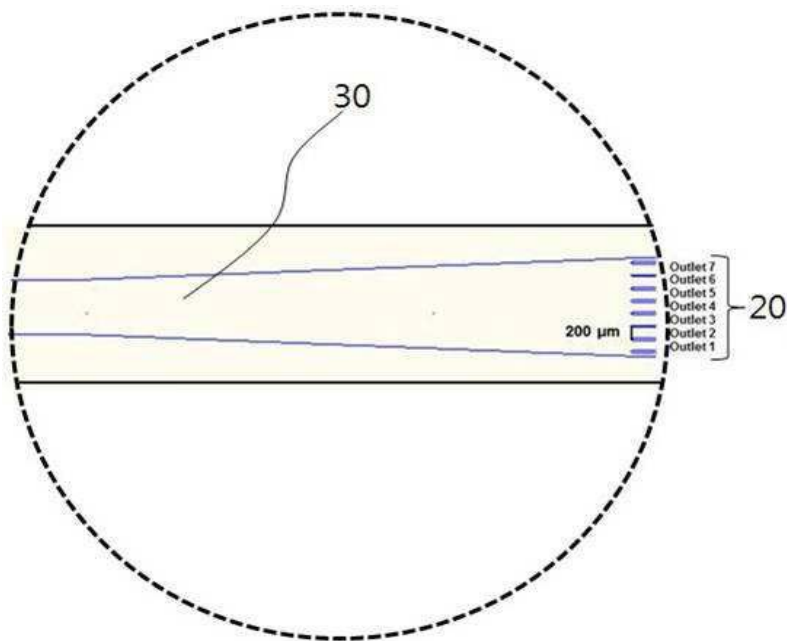
도면3



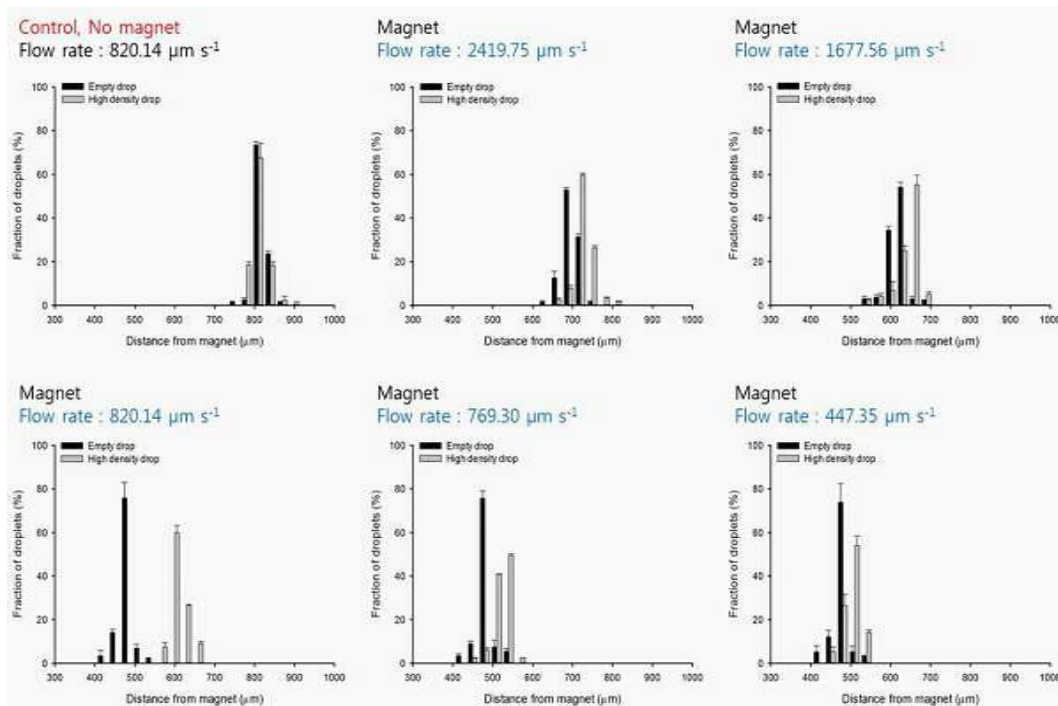
도면4



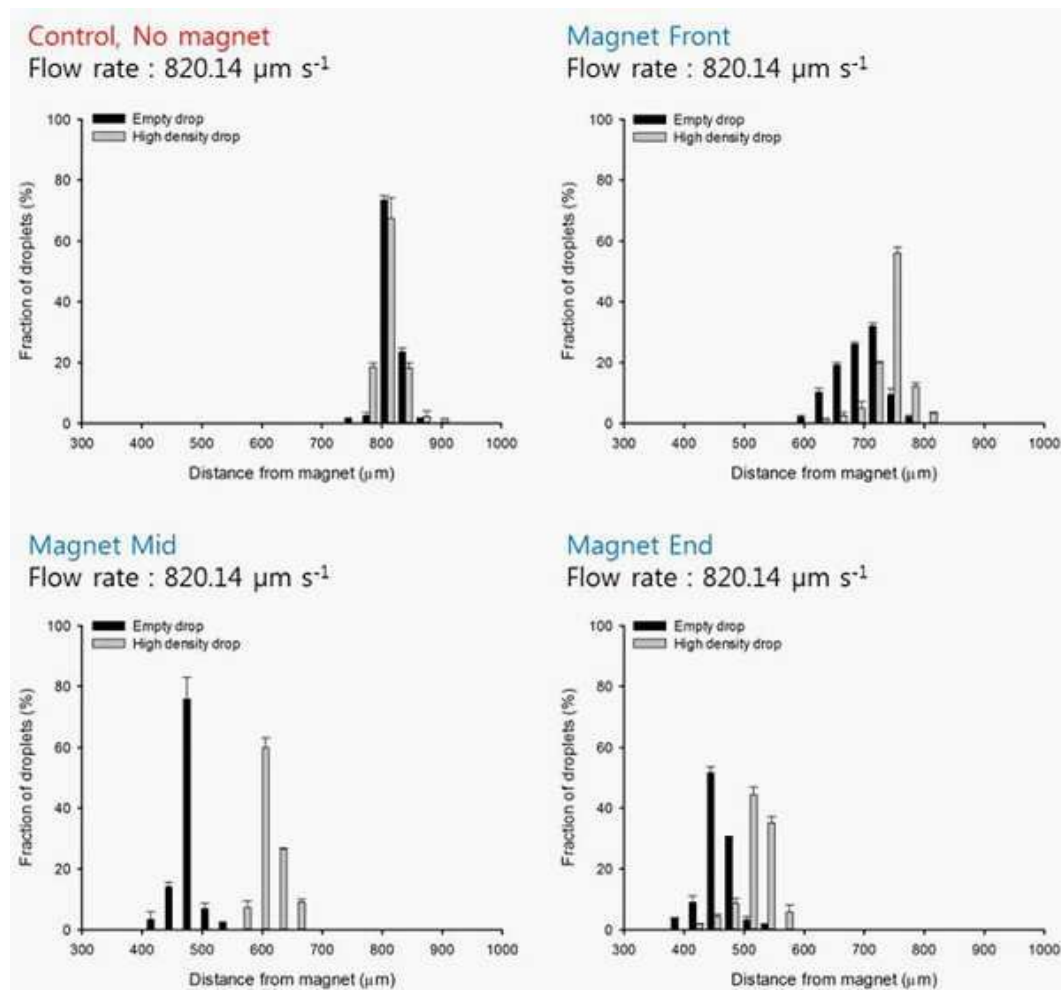
도면5



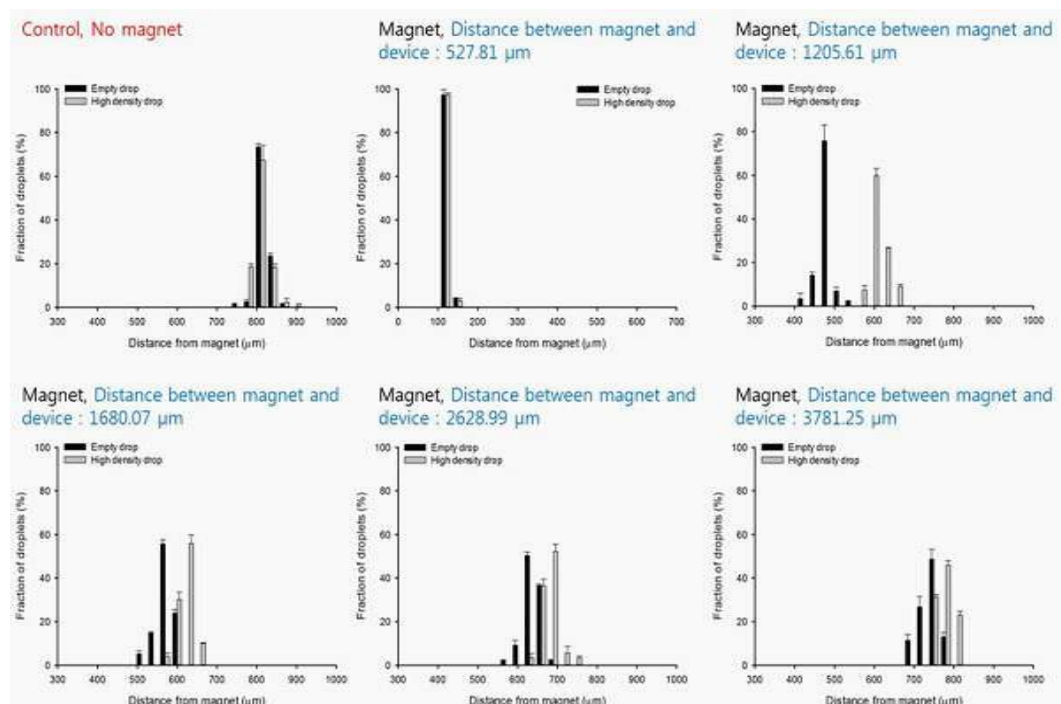
도면6a



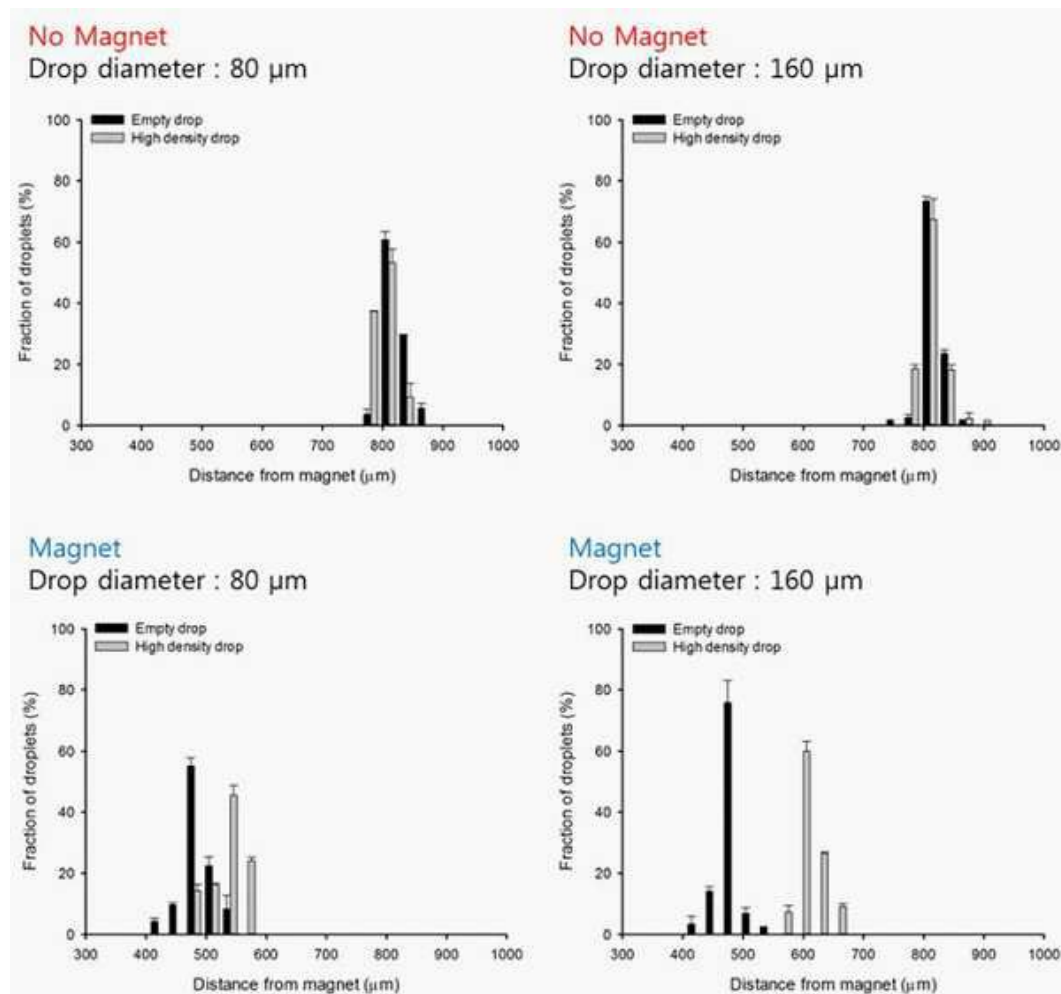
도면6b



도면6c

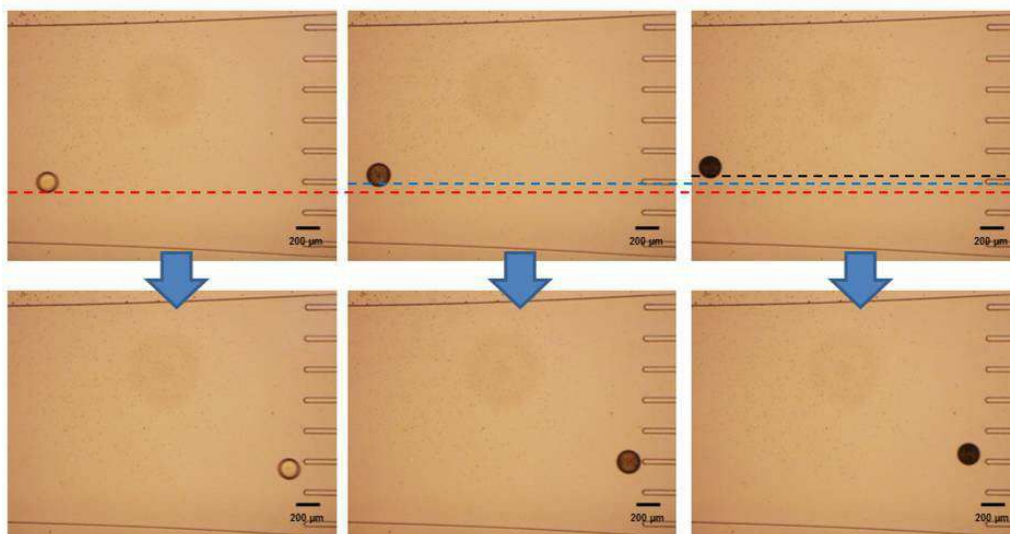


도면6d

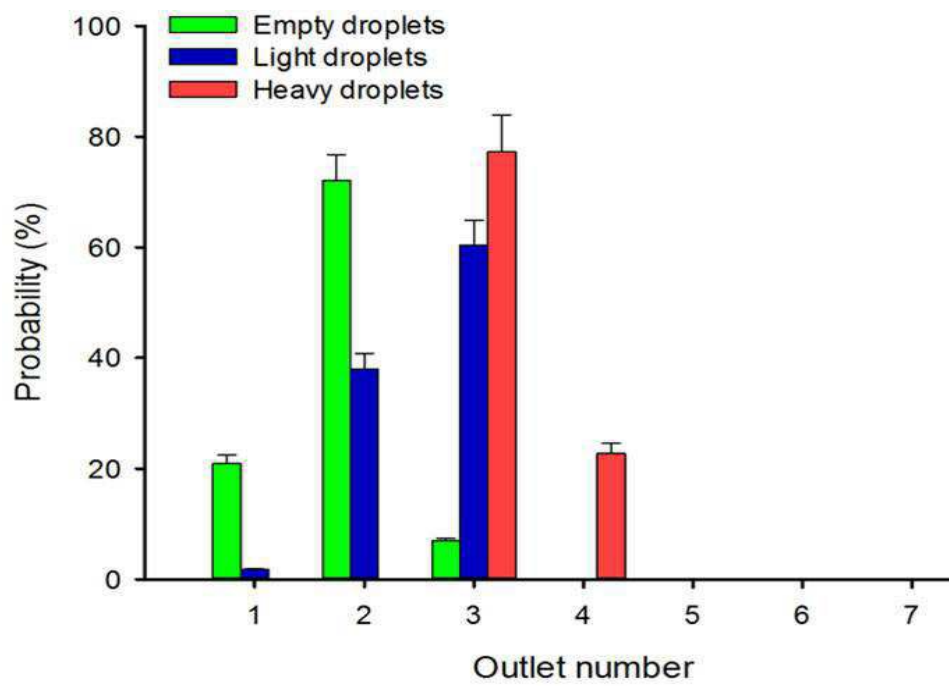


도면7

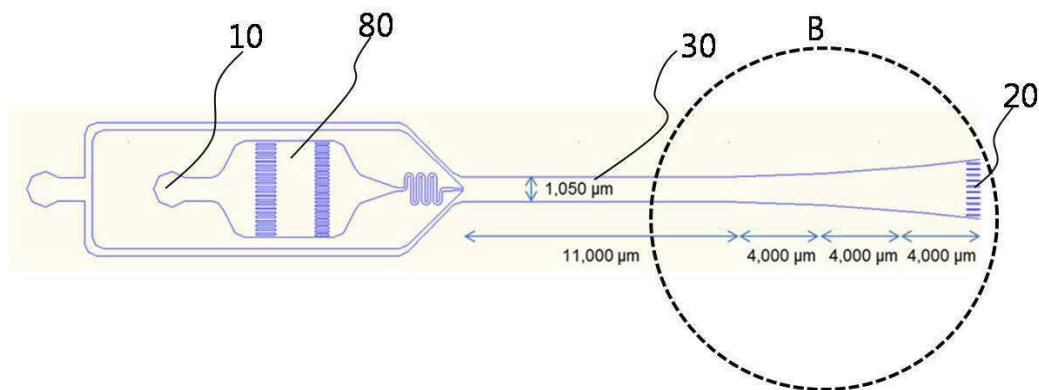
- Droplet separation using magnetic force



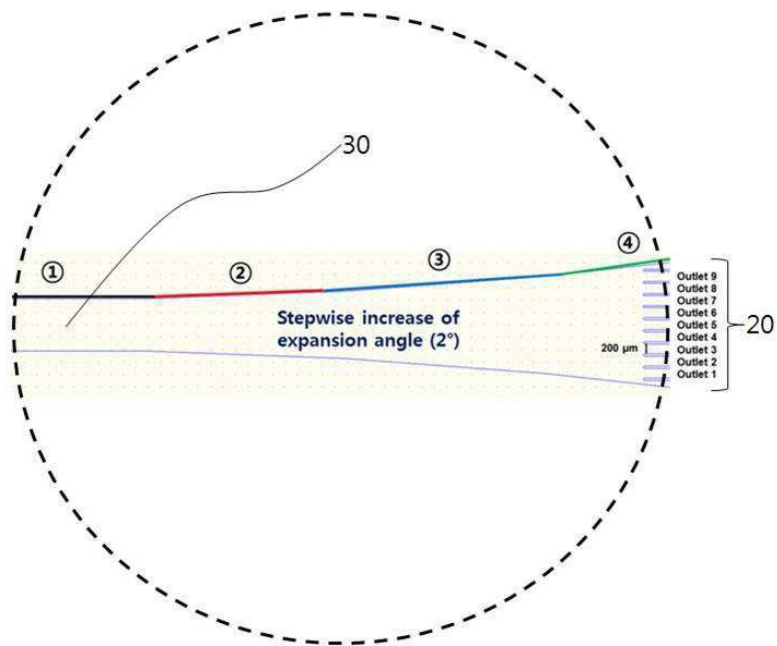
도면8



도면9

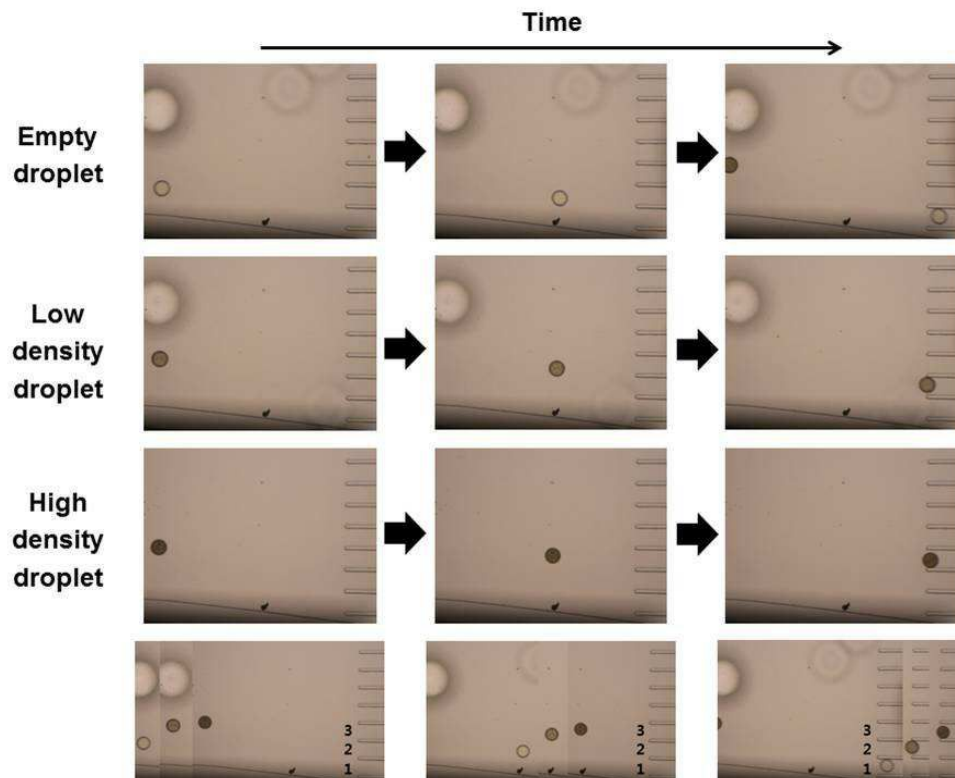


도면10



도면11

- Droplet separation by magnetic force



도면12

