(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0131660
(43) 공개일자 2018년12월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01F 15/00 (2006.01) *B01F 15/02* (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01F 15/00123 (2013.01)
B01F 15/0261 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0066659
(22) 출원일자 2017년05월30일
심사청구일자 2017년05월30일

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이창수
대전광역시 서구 둔산로 223, 6동 601호 (둔산동, 청솔아파트)
이병진
대전광역시 서구 가장로 106, 105동 202호(가장동, 삼성 래미안아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김원준

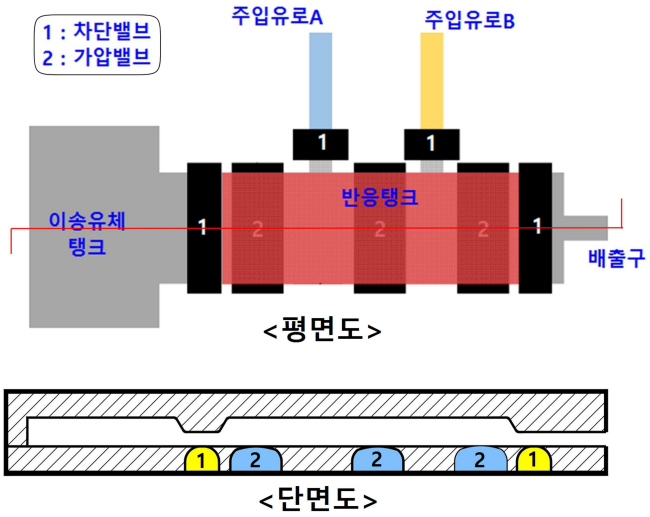
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **완전혼합형 미세 반응탱크를 가지는 미세유체장치**

(57) 요 약

본 발명은 완전혼합형 반응공간을 가지고 있어 반응액의 주입속도와 무관하게 원하는 반응시간의 시료를 획득할 수 있는 반응시간 조절이 용이한 새로운 구조의 미세유체장치에 관한 것으로, 보다 상세하게는 소정 반응시간의 균일한 시료를 일시에 획득하기 위한 미세유체장치로서, (A) 차단밸브를 매개로 하기 반응탱크에 연결되어 있는, 최소한 둘 이상의 반응물 주입유로; (B) 상기 주입유로와 연결되어 있고, 일측이 하기 이송유체탱크와 연결되고, 타측에 차단밸브를 매개로 배출구가 설치되어 있는 반응탱크; (C) 상기 반응탱크의 저면, 상면 또는 측면에 반응탱크와 공간적으로 분리 설치되어 있는 가압밸브; (D) 상기 반응탱크 내부의 반응액을 가압하여 상기 배출구로 배출되도록 하는, 차단밸브를 매개로 상기 반응탱크의 일측에 연결되어 있는 이송유체탱크; 및 (E) 상기 각 차단밸브 및 가압밸브의 온-오프를 제어하는 제어부;를 포함하는 미세유체장치에 관한 것이다.

대 표 도 - 도2



<평면도>

<단면도>

(52) CPC특허분류
B01F 15/0293 (2013.01)
(72) 발명자
이성식
스위스 취리히 오토-스턴-웨그 3, 8093 HPM E 14.1
마티아스 피터
스위스 취리히 오토-스턴-웨그 3, 8093 HPM G 8.1

명 세 서

청구범위

청구항 1

소정 반응시간의 균일한 시료를 일시에 획득하기 위한 미세유체장치로서,

(A) 차단밸브를 매개로 하기 반응탱크에 연결되어 있는, 최소한 둘 이상의 반응물 주입유로;

(B) 상기 주입유로와 연결되어 있고,

일측이 하기 이송유체탱크와 연결되고, 타측에 차단밸브를 매개로 배출구가 설치되어 있는 반응탱크;

(C) 상기 반응탱크의 저면, 상면 또는 측면에 반응탱크와 공간적으로 분리 설치되어 있는 가압밸브;

(D) 상기 반응탱크 내부의 반응액을 상기 배출구로 배출되도록 하는, 차단밸브를 매개로 상기 반응탱크의 일측에 연결되어 있는 이송유체탱크; 및

(E) 상기 각 차단밸브 및 가압밸브의 온-오프를 제어하는 제어부;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 미세유체장치.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 가압밸브는,

최소한 상기 반응탱크의 이송유체탱크 측과 배출구 측 인근에 하나씩 설치되어 있는 것을 특징으로 하는 미세유체장치.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

상기 가압밸브 사이에 미세기둥이 하나 이상 형성되어 있는 것을 특징으로 하는 미세유체장치.

청구항 4

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

상기 이송유체탱크에는 고압공기가 적재되어 있는 것을 특징으로 하는 미세유체장치.

청구항 5

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

상기 이송유체탱크에는 반응공간내 반응액의 반응을 중지시키는 소정의 용액이 적재되어 있는 것을 특징으로 하는 미세유체장치.

청구항 6

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

상기 배출구는 cryo-EM용 시료 분사를 위한 노즐인 것을 특징으로 하는 미세유체장치.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 미세유로 내의 유체의 흐름을 이용하는 미세유체장치에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 완전혼합형 반응공간을 가지고 있어 반응액의 주입속도와 무관하게 원하는 반응시간의 시료를 획득할 수 있는 반응시간 조절이 용이한 새로운 구조의 미세유체장치에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 미세유체공학(microfluidics)은 수십~수백 마이크로미터 너비와 깊이를 갖는 미세유로 내에 제한된 유체의 흐름을 다루는 것으로, 마이크로 단위의 유체는 표면장력, 에너지 소실, 저항 등 시스템의 많은 변수들이 통상의 매크로 단위의 유체와는 다른 양상을 나타낸다. 최근 미세가공기술의 발달과 더불어 미세유체공학을 이용한 미세유체장비들이 공학, 물리학, 화학, 마이크로공학, 생명공학 등 다양한 분야에서 관심을 받고 있으며, 실제 잉크젯 프린터 헤드, DNA 칩, 랩온어칩(lab-on-a-chip) 등에서 널리 사용되고 있다.

[0003] 미세유체장비에서는 미세유로 내의 유체의 흐름을 이용하여 마이크로입자를 제조하거나 다양한 반응 및 분석을 행할 수 있다. 미세유로 내에서는 물질의 확산, 열전달 속도가 매우 빠르고 단위 부피당 활성면적이 매우 넓어 월등히 균일한 온도 및 압력 구배에서 매우 적은 양의 촉매 및 반응물질을 이용하여 높은 수율로 원하는 생성물을 얻을 수 있다는 장점이 있다. 특히 미세유로 내에서는 소량의 물질을 사용하여 반응과 분석이 가능하다는 장점이 있기 때문에 특히 고가의 시약을 사용하거나, 미량의 시료로 분석이 요구되는 바이오, 생화학, 화공, 의약, 의학 등 분야에서의 응용에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.

[0004] 한편, 생화학 분야에서 단백질과 기질의 반응 중에 수십~수천 ms(micro-second)의 짧은 시간에 단백질 분자의 배위 변화가 나타나기 때문에 그 변화를 경시적(time-resolved)으로 관찰하기 쉽지 않다. 이러한 단백질 반응 중의 배위 변화를 관찰하기 위해서 미세유체 장치를 이용하여 특정 체류시간을 부여한 후 즉시 반응을 종결하고 구조를 관찰하는 방식이 활용되고 있다. 이러한 관찰방식 중 반응액을 급속동결하여 반응을 종결하고 전자현미경으로 관찰하는 방식을 저온 전자현미경 검사(cryo-electron microscopy; cryo-EM)라 한다.

[0005] cryo-EM 등 시료의 경시적 관찰법(이하 대표하여 'cryo-EM'이라 함)에서는 반응을 위한 체류시간을 다양하게 조절한 후, 각 구조를 분석하여 전체적인 구조의 경시적 변화를 알아내게 되는데, 경시적으로 관찰된다는 의미에서 time-resolved cryo-EM이라 불린다. 이를 위해 소정의 규격으로 제작된 미세유체 반응장치에서 반응혼합물의 유속을 조절하는 방식으로 체류시간, 즉 반응시간을 결정하게 된다. 예를 들면, Zonghuan Lu 등에 의한 선행기술(도 1 참조)에 의하면, 반응결과물의 분무/동결 소요시간은 거의 일정하게 확정되므로 반응시간은 각 반응용액의 혼합시점에서 분무될 때까지의 체류시간에 의해 결정되는 것이다.

[0006] 이 경우 다양한 반응시간의 시료를 얻기 위해 반응용액의 주입속도를 달리하고 안정화시간을 거쳐야만 한다. 따라서 주입속도를 달리하는 여러 번의 사이클을 돌아야 하는 불편함이 있다. 또한 반응시간이 긴, 따라서 체류시간이 긴 시료를 충분히 획득을 위해서는 장기간 기다려야 하는데, 이는 시료가 적어 분무하기에 충분하지 못하거나 충분한 시료 획득을 위해 별도의 반응중지 수단이 필요하다. 즉 일정한 반응시간이 경과된 시료를 일시에 충분한 양으로 획득하는 것이 불가능하였다. 또한, 주입속도를 변경하고 안정화한 후 일정 반응시간이 경과된 시료를 수집하는 동안 반응환경이 미세하게 변할 가능성이 있기 때문에 엄밀하게 볼 때 획득된 시료가 일정한 조건에서 반응이 이루어진 것이 아닐 수도 있다는 점이다. 나아가 미세유체장치에서 반응액의 주입속도는 통상 수~수십 ㎕/초 정도인데, 이를 미세하고 일정한 간격으로 제어하는 것은 매우 어렵고 성가신 작업이었다.

[0007] 그러나 현재까지 time-resolved cryo-EM 등을 위한 다양한 반응시간에 따른 시료채취를 목적으로 하는 미세유체장치에서 '반응액 주입속도'를 조절하는 것이 아닌 다른 방법으로 반응시간을 제어하는 방식이나 장치에 관해서는 알려진 바가 없다. 또한 원하는 반응시간이 경과된 시료를 '일시에' 획득하는 방법에 대해서도 알려진 바 없다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Zonghuan Lu 등, 2009. Monolithic microfluidic mixing-spraying devices for time-resolved cryo-electron microscopy. Journal of Structural Biology 168, 388-395

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 하나의 장치로부터 반응액의 주입속도를 제어하지 않아도 원하는 반응시간이 경과된 시료의 채취가 가능한 미세유체장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0010] 또한 본 발명은 원하는 반응시간이 경과된 시료를 일시에 획득할 수 있는 미세유체장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0011] 전술한 목적을 달성하기 위한 본 발명은

[0012] 소정 반응시간의 균일한 시료를 일시에 획득하기 위한 미세유체장치로서,

[0013] (A) 차단밸브를 매개로 하기 반응탱크에 연결되어 있는, 최소한 둘 이상의 반응물 주입유로; (B) 상기 주입유로와 연결되어 있고, 일측이 하기 이송유체탱크와 연결되고, 타측에 차단밸브를 매개로 배출구가 설치되어 있는 반응탱크; (C) 상기 반응탱크의 저면, 상면 또는 측면에 반응탱크와 공간적으로 분리 설치되어 있는 가압밸브; (D) 상기 반응탱크 내부의 반응액을 가압하여 상기 배출구로 배출되도록 하는, 차단밸브를 매개로 상기 반응탱크의 일측에 연결되어 있는 이송유체탱크; 및 (E) 상기 각 차단밸브 및 가압밸브의 온-오프를 제어하는 제어부;를 포함하는 미세유체장치인 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0014] 이상과 같이 본 발명에 의한 의 미세유체장치에 의하면, 종래의 미세유체장치와는 달리 혼합된 반응액이 반응탱크 내에서 고르게 혼합되면서 소정 시간동안 체류(반응)하다가 일시에 배출할 수 있게 된다. 이에 따라 체류시간(반응시간)을 조절하는 방식으로 하나의 미세유체장치로부터 다양한 반응시간의 시료를 일시에 용이하게 획득할 수 있게 된다.

[0015] 또한 본 발명에 의하면, 종래 다루기 어려운 반응액 주입속도 제어를 통한 특정 반응시간 경과 시료를 연속적으로 획득하는 것에 비해, 반응시간 제어가 용이하고 시료를 일시에 획득할 수 있기 때문에, 예를 들면 단백질-기질 반응과 같이 반응과정에서의 경시적 구조변화에 대한 연구분석의 효율과 편의성을 대폭 증대시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0016] 도 1은 종래기술에 의한 미세유체장치의 개념도.

도 2는 본 발명에 의한 예시적 미세유체장치의 개념적 평면도 및 단면도.

도 3은 본 발명에 의한 미세유체장치의 반응탱크에서 반응액의 혼합과정을 보여주는 개념적 부분 단면도.

도 4는 본 발명에 의한 미세유체장치에서 반응탱크의 내부에 형성될 수 있는 미세기둥 구조물의 예시적 사시도.

도 5는 본 발명에 의한 미세유체장치의 미세유로-차단밸브-반응탱크 연결부분에서 차단밸브의 작동상태를 보여주는 개념적 부분 단면도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 그러나 첨부된 도면은 본 발명의 기술적 사상의 내용과 범위를 쉽게 설명하기 위한 예시일 뿐, 이에 의해 본 발명의 기술적 범위가 한정되거나 변경되는 것은 아니다. 이러한 예시에 기초하여 본 발명의 기술적 사상의 범위 안에서 다양한 변형과 변경이 가능함은 당업자에게는 당연할 것이다. 또한 청구범위의 구성요소에 도면부호가 병기되어 있는 경우, 이는 설명 위한 예시적인 것일 뿐 도면부호로 구성요소를 한정하려는 의도는 아니다.

[0018] 이하에서는 혼동을 방지하기 위하여 반응원료가 되는 물질을 '반응물', 반응물 용액을 '반응액', 반응이 진행되

어 관찰의 대상이 되는 용액을 '시료' 또는 '시료액'이라 칭하기로 한다.

[0019] 또한 '차단밸브를 매개로 연결된(또는 설치된) A와 B'라 함은 "A와 B가 공간적으로 연결되어 있으며, A와 B의 경계면에 유체 흐름을 온-오프하는 차단밸브가 설치"되어 있다는 의미이다.

[0020] 미세밸브 온(=작동)은 미세밸브가 설치된 유로를 차단하여 유체의 흐름을 차단하는 것이고, 미세밸브 오프(=해제)는 유로를 열어주어 유체가 흘러가도록 하는 것을 의미한다.

[0021] 전술하였듯이 본 발명은 소정 반응시간의 균일한 시료를 일시에 획득하기 위한 미세유체장치로서,

[0022] (A) 차단밸브를 매개로 하기 반응탱크에 연결되어 있는, 최소한 둘 이상의 반응물 주입유로; (B) 상기 주입유로와 연결되어 있고, 일측이 하기 이송유체탱크와 연결되고, 타측에 차단밸브를 매개로 배출구가 설치되어 있는 반응탱크; (C) 상기 반응탱크의 저면, 상면 또는 측면에 반응탱크와 공간적으로 분리 설치되어 있는 가압밸브; (D) 상기 반응탱크 내부의 반응액을 가압하여 상기 배출구로 배출되도록 하는, 차단밸브를 매개로 상기 반응탱크의 일측에 연결되어 있는 이송유체탱크; 및 (E) 상기 각 차단밸브 및 가압밸브의 온-오프를 제어하는 제어부;를 포함하는 미세유체장치에 관한 것이다. 도 2에 본 발명에 의한 예시적인 미세유체장치의 개념적 평면도 및 단면도를 도시하였다. 도면에서는 주입유로가 둘이고, 가압밸브가 셋이며, 차단밸브와 가압밸브가 장치의 아래층에 위치한 장치를 예시하였다. 필요나 상황에 따라 주입유로, 차단밸브, 가압밸브의 수와 설치위치 등을 조절할 수 있음은 당연하다.

[0023] 본 발명에서 상기 주입유로는 반응액이 주입되어 상기 반응탱크로 이송되는 통로가 되는 부분이다. 주입유로는, 개방형 입구의 형상으로 미세유체칩 분야에서 통상적이듯이 실린지와 같은 기구를 연결하여 반응액을 주입할 수 있다. 상기 주입유로가 반드시 외부와 연통되는 개방형 입구일 필요는 없다. 예를 들면 본 발명에 의한 미세유체장치의 상류에 또 다른 미세유체칩이 있는 경우 상류 미세유체칩에서 반응이 완료된 반응액이 배출되는 미세유로가 본 발명의 미세유체장치의 주입유로가 될 수도 있다.

[0024] 상기 주입유로는 당연히 최소한 반응액 종류수 만큼 형성된다. 예시된 도 2에서는 주입유로가 반응탱크의 한쪽 측면에 연결되어 있는데, 반대 측면에 연결되는 것도 가능함은 물론이다.

[0025] 본 발명에서 상기 반응탱크는, 상기 주입유로로 유입된 반응액이 체류하면서 혼합되고 반응하는 공간이다. 반응탱크에는 상기 주입유로와 연결되어 있고, 일측이 이송유체탱크와 연결되어 있으며, 이송유체탱크의 반대쪽 타측에 차단밸브를 매개로 배출구가 설치되어 있다.

[0026] 본 발명에서 상기 배출구는, 반응탱크에서 소정시간 반응한 시료액이 배출되는 영역이다. 이때 cryo-EM 관찰을 위한 경우에는 상기 배출구가 냉각된 cryo-grid로 시료를 분사하기 위한 소정의 노즐이거나 노즐에 연결될 수 있다(도시 생략). 경우에 따라서는 상기 배출구는 반응액의 반응을 중지시키는 조건이 구비된 저장부(도시 생략)와 연결될 수 있다.

[0027] 상기 가압밸브는, 반응탱크의 저면, 상면 또는 측면에 형성되는데, 소정의 탄성막에 의해 반응탱크와 공간적으로 분리된다. 가압밸브는 반응탱크로 유입된 반응액을 혼합하는 역할을 하는데, 도 2에 예시된, 가압밸브가 3개 설치된 미세반응장치의 반응탱크에서 반응액이 혼합되는 과정을 도 3에 개념적으로 도시하였다. 반응탱크에 반응액이 유입되면, 예를 들면 양 측면의 가압밸브로 소정의 가감압수단(도시 생략)에 의해 가압유체(예를 들면 고압공기)가 가해지면 가압밸브가 팽창되었다가 이어서 양 측면의 가압밸브에서 가압유체가 회수되고 가운데 가압밸브로 가압유체가 가해지는 방식으로 (상태A)와 (상태B)가 반복되면서 반응액을 교란/혼합시키는 것이다. 반응액의 혼합은 반응시간 동안 계속 이루어지는 것이 바람직하다.

[0028] 이러한 가압밸브는 최소한 상기 반응탱크의 이송유체탱크 측과 배출구 측 인근에 하나씩 설치되는 것도 좋다. 이 경우 가압밸브는 교호적으로 작동된다.

[0029] 한편, 반응탱크에서의 반응액 혼합을 더욱 완전하게 하기 위하여 상기 가압밸브 사이에 미세기둥과 같은 구조물을 하나 이상 형성할 수 있다. 예를 들면 도 2의 미세유체장치에서 반응탱크의 가압밸브 사이에 도 4에 도시된 바와 같은 미세기둥을 설치할 수 있다. 본 발명에서 상기 미세반응기의 내부에 형성된 구조물은 일반적인 미세유로 내에서 구현할 수 없는 난류를 형성함에 따라 반응액을 효율적으로 혼합시키므로 농도, 온도 및 압력구배를 보다 일정하게 할 수 있으며 따라서 보다 균일한 반응을 유도하고, 반응성을 증가시킬 수 있다. 상기 미세기둥의 높이는 미세유로의 깊이와 동일하거나 미세유로의 깊이보다 낮게 형성할 수 있다. 미세기둥의 높이가 미세유로의 깊이보다 낮은 경우에는 미세기둥에 의해 유로가 변경되며 반응액의 상면으로 흐르게 되어 난류가 형성된다. 상기 미세기둥의 폭은 미세유로의 폭과 동일하거나, 미세유로의 폭보다 좁은 복수의 미세기둥이 미세유로

의 폭방향 및/또는 길이방향으로 배열되어 있을 수 있다. 미세기둥의 폭이 미세유로의 폭보다 좁은 경우에는 기둥의 왼쪽 및/또는 오른쪽에 형성된 유로로 난류가 형성되며 반응액이 흐르게 된다. 미세기둥의 폭과 미세유로의 폭이 동일한 경우에는 미세기둥의 높이가 미세유로의 깊이보다 낮아야 함은 당연하다.

[0030] 본 발명에서 상기 이송유체탱크는, 차단밸브를 매개로 상기 반응탱크의 배출구의 반대쪽 일측에 연결되어 있으며, 고압의 이송유체를 이용하여 반응탱크 내부의 반응액을 배출구로 배출되도록 밀어내는 역할을 한다. 상기 이송유체탱크로 소정의 이송유체를 공급하는 수단(도시 생략)이 있음은 물론이다.

[0031] 본 발명에서 상기 이송유체는 반응액을 밀어내는 고압공기이거나, 반응액을 밀어내면서 반응공간내 반응액의 반응을 중지시키는 소정의 용액일 수 있다.

[0032] 본 발명에 의한 미세유체장치는 상기 차단밸브나 가압밸브의 온-오프를 제어하는 제어부를 포함한다. 본 발명이 속하는 기술분야에서 차단밸브나 가압밸브로 활용될 수 있는 미세유체장치용 미세밸브 및 그의 제어부는 널리 알려져 있으므로 본 발명에 의한 미세유체장치에서는 종래 알려진 또한 장차 개발될 미세밸브 및 그 제어부 중 적절한 것을 채택하여 적용할 수 있을 것이다.

[0033] 도 5는 PDMS 재질로 제작될 수 있는 본 발명에 의한 미세유체장치에서 미세유로-차단밸브-반응탱크의 부분적 개념도로서, 차단밸브에 의해 미세유로가 열린 상태 및 차단밸브에 압력이 가해져서 미세유로가 닫힌 상태의 개념도를 도시하였다.

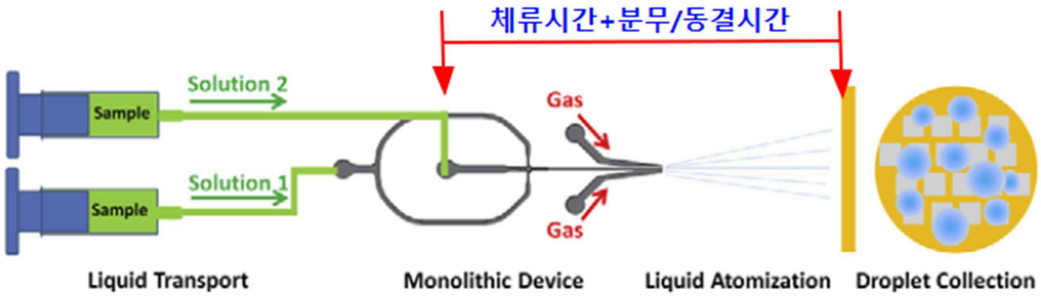
[0034] 도 2를 참조하여 본 발명에 의한 미세유체장치를 이용한 특정 반응시간의 시료를 일시에 획득하는 방법을 설명한다.

[0035] 먼저, 이송유체탱크의 차단밸브를 잠그고 각 주입유로 및 배출구의 차단밸브를 연 상태에서 주입유로로 반응액을 주입한다. 반응탱크에 반응액이 차면 각 주입유로 및 배출구의 차단밸브를 잠근다. 이어서 소정의 방법으로 가압밸브를 반복적으로 작동시켜 반응탱크 내의 반응물이 고르게 혼합되면서 반응되도록 한다. 정해진 반응시간이 종료되면 이송유체탱크 및 배출구의 차단밸브를 열어서 반응탱크 내의 시료액이 배출구를 통해 배출되도록 한다.

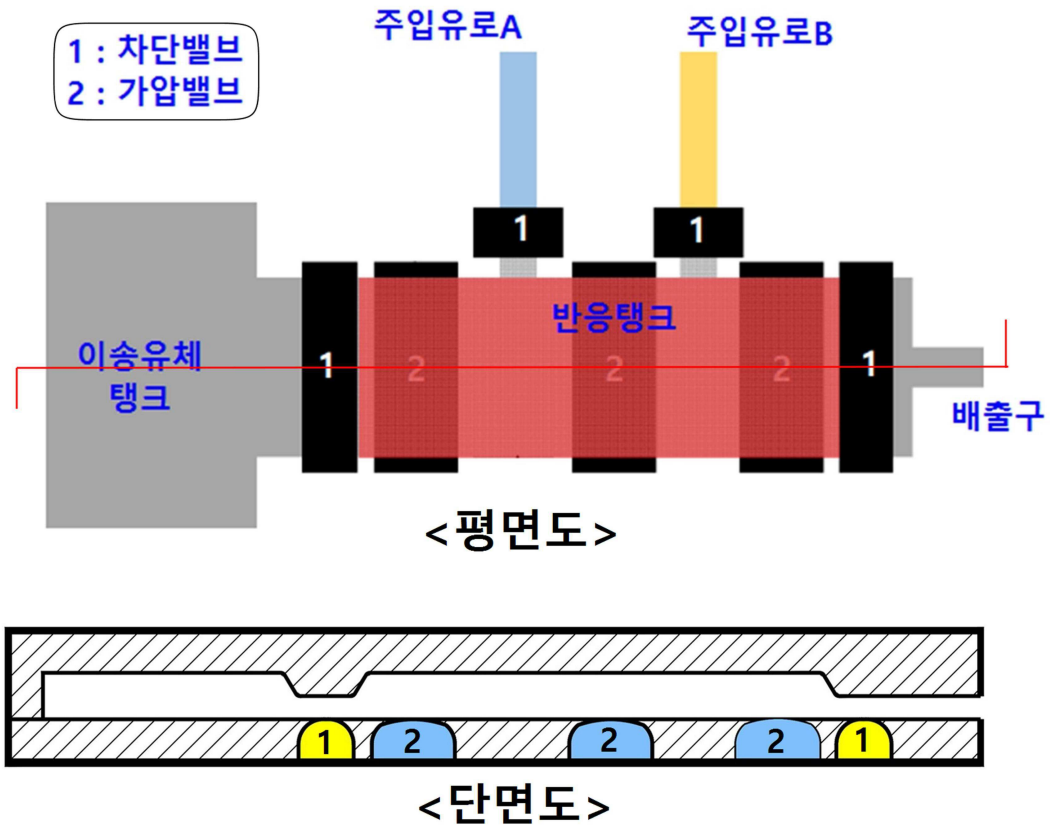
[0036] 이에 의해 특정 반응시간이 경과된 시료를 일시에 획득할 수 있게 된다.

도면

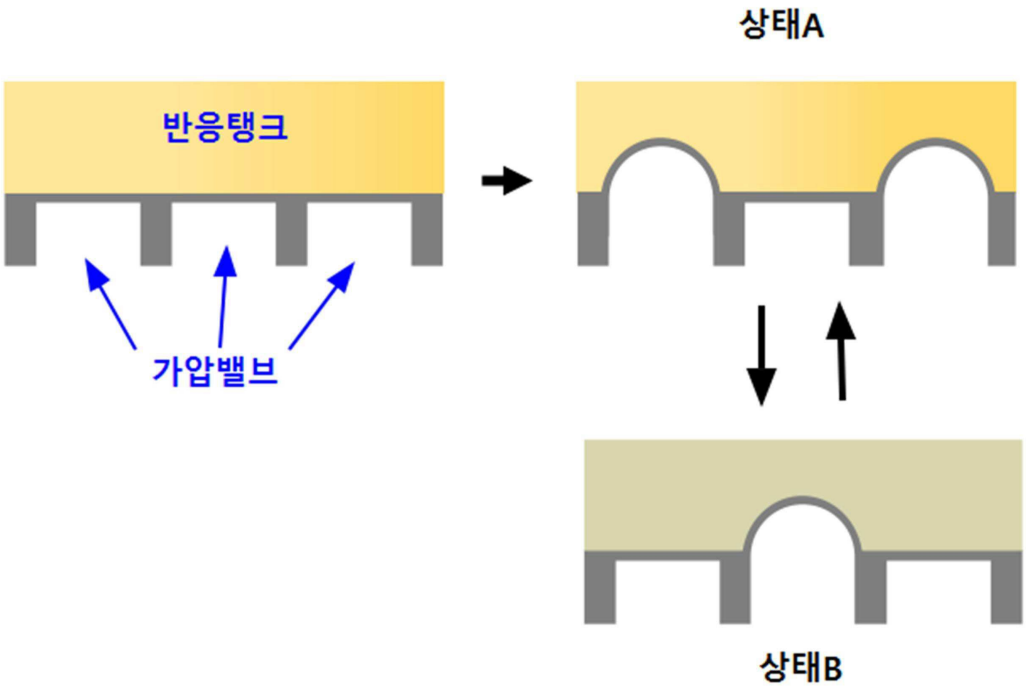
도면1



도면2


1 : 차단밸브
2 : 가압밸브
주입유로A
주입유로B
1
1
반응탱크
이송유체
탱크
1
2
2
2
1
배출구
<평면도>
1
2
2
2
1
<단면도>

도면3

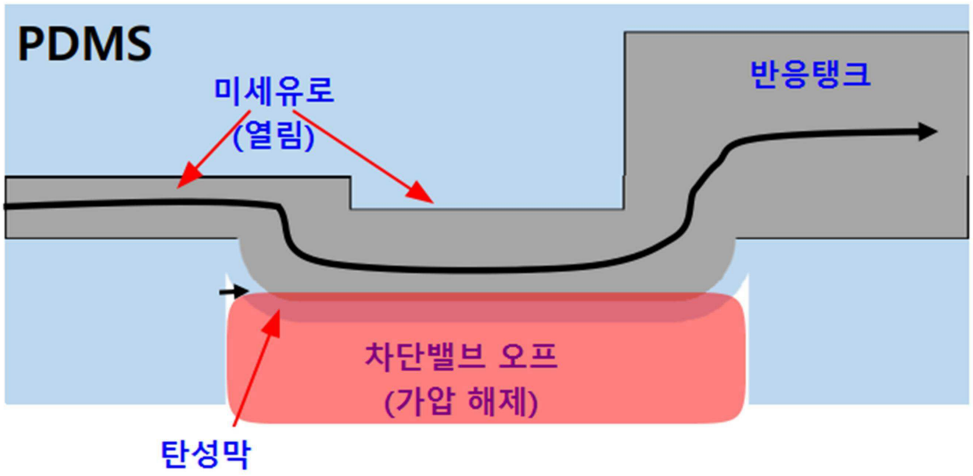

상태A
반응탱크
가압밸브
상태B

도면4



도면5

<열린 상태>



<닫힌 상태>

