



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0085709
(43) 공개일자 2017년07월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 35/08 (2006.01) B01L 3/00 (2006.01)
G01N 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 35/08 (2013.01)
B01L 3/502761 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0005176
(22) 출원일자 2016년01월15일
심사청구일자 2016년01월15일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
임채승
경기도 안양시 동안구 귀인로 294, 302동 804호 (평촌동, 건영아파트)
남정훈
서울특별시 성북구 화랑로15길 4, 101동 1102호 (상월곡동, 우남아파트)
(74) 대리인
특허법인충현

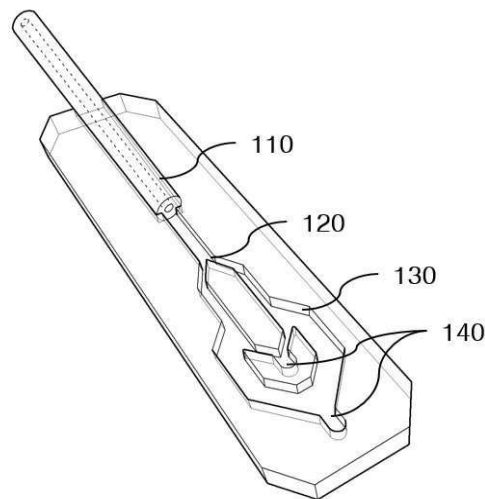
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 비뉴턴성 유체를 이용한 미세입자 포커싱 및 분리를 위한 하이브리드 캐필러리 삽입형 미세유체소자

(57) 요약

본 발명은 미세입자 분리 소자에 관한 것으로서 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱하는 캐필러리 튜브, 및 포커싱된 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 분기부를 포함하고, 캐필러리 튜브는 분리하고자 하는 입자의 크기에 따라 선택되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자 하며, 비뉴턴성 유체의 점탄성적 특성을 극대화 할 수 있는, 미세입자의 크기에 상응하는 비율을 가진 적절한 내경의 상용화된 캐필러리 튜브를 선택하여, 이를 미세유체소자에 연결함으로써 다양한 크기분포를 갖는 미세입자, 혈액 및 질환세포들을 고수율, 고효율로 분리할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

B01L 2300/0838 (2013.01)

B01L 2300/0861 (2013.01)

G01N 2035/00158 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱하는 캐필러리 튜브; 및
상기 포커싱된 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 분기부를 포함하고,
상기 캐필러리 튜브는 분리하고자 하는 입자의 크기에 따라 선택되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
상기 캐필러리 튜브는,
입자들을 튜브의 중앙으로 3차원 포커싱하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
상기 캐필러리 튜브의 내경, 외경, 및 길이는 분리하고자 하는 입자들 중 가장 작은 입자의 크기에 따라 결정되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 4

제 1 항에 있어서,
상기 분기부는,
상기 포커싱된 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동하도록 하는 제 1 분기부; 및
상기 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 제 2 분기부를 포함하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 5

제 4 항에 있어서,
상기 포커싱된 입자들이 상기 제 1 분기부를 지나면서 위치들이 초기화되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 6

제 4 항에 있어서,
상기 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 분기 채널은 입자들의 이동량 차이를 증가시키는 급확장부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 7

제 4 항에 있어서,
상기 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 거리는,
상기 입자들의 이동량 차이에 따라 설정되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 8

제 4 항에 있어서,

상기 제 2 분기부를 통해 분리되는 입자들이 유출되는 각각의 유출부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 9

제 4 항에 있어서,

상기 제 2 분기부는,

상기 제 1 분기부의 제 1 분기 채널과 제 2 분기 채널 각각에 연결되는 제 3 분기부 및 제 4 분기부로 형성되며,

상기 제 3 분기부 및 제 4 분기부의 분기 채널 중 소자 내측으로 분기되는 분기 채널끼리 서로 연결되고 소자 외측으로 분기되는 분기 채널끼리 서로 연결되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 입자들이 분리될 수 있도록 상기 비뉴턴성 유체의 농도를 조절하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미세입자 분리 소자에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 비뉴턴성 유체를 기반으로 입자들을 캐필러리 튜브를 이용하여 포커싱하고 위치를 초기화시킨 후, 이동량의 차이를 이용하여 미세입자를 분리하는 미세입자 분리 소자에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 마이크로 크기의 미세입자와 생물학적 입자(세포)의 분리는 생화학적 분석, 질병 진단 및 치료 등의 목적을 위한 전처리 과정으로서 필수적인 과정이다. 외부에서 가해주는 힘 없이 채널의 형상과 유동 특성에만 의존하여 입자의 거동을 제어하는 이너셜 미세유동학(Inertial microfluidics)은 별도의 외부장치를 필요로 하지는 않지만, 효율적으로 입자들을 집중시키거나 분리하기 위하여 미세유동채널을 정교하게 설계해야 하고 특정한 고속의 유동조건에서만 사용해야 한다는 단점을 가지고 있다. 최근 점탄성을 갖는 비뉴턴성 유체의 사용이 크게 주목을 받고 있으며, 이는 유체 내부의 비선형적인 탄성력을 활용할 수 있기 때문이다. 불균일하게 분포하는 일차수직 응력차 (First normal stress difference, N1)은 유체 내에 부유하고 있는 입자로 하여금 유동 중에 유동과 수직방향인 측면으로 이동하게 하며, 이를 다양한 입자 제어 기술에 활용할 수 있게 한다. 점탄성 유체 내를 유동하는 입자의 측면이동량은 입자의 크기나 형상등의 물리적인 특성 차이의 영향을 받으며 이는 입자 제어를 필요로 하는 다양한 분야에 활용될 수 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0003] (특허문헌 0001) 한국공개특허 "타겟 포획 방법과 타겟 포획을 위한 미세 유체 채널시스템 및 타겟 분석 방법 (10-2009-0006607)"

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 비뉴턴성 유체를 기반으로 입자들을 캐필러리 튜브를 이용하여 포커싱하고

위치를 초기화시킨 후, 이동량의 차이를 이용하여 미세입자를 분리하는 미세입자 분리 소자를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0005] 본 발명은 상기 과제를 달성하기 위하여, 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱하는 캐필러리 튜브; 및 상기 포커싱된 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 분기부를 포함하고, 상기 캐필러리 튜브는 분리하고자 하는 입자의 크기에 따라 선택되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자를 제공한다.
- [0006] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 캐필러리 튜브는, 입자들을 튜브의 중앙으로 3차원 포커싱하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.
- [0007] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 캐필러리 튜브의 내경, 외경, 및 길이는 분리하고자 하는 입자들 중 가장 작은 입자의 크기에 따라 결정되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.
- [0008] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 분기부는, 상기 포커싱된 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동하도록 하는 제 1 분기부; 및 상기 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 제 2 분기부를 포함하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.
- [0009] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 포커싱된 입자들이 상기 제 1 분기부를 지나면서 위치들이 초기화되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.
- [0010] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 입자들이 분리될 수 있도록 상기 비뉴턴성 유체의 농도를 조절하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.
- [0011] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 분기 채널은 입자들의 이동량 차이를 증가시키는 급확장부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.
- [0012] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 거리는, 상기 입자들의 이동량 차이에 따라 설정되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.
- [0013] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 제 2 분기부를 통해 분리되는 입자들이 유출되는 각각의 유출부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.
- [0014] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 제 2 분기부는, 상기 제 1 분기부의 제 1 분기 채널과 제 2 분기 채널 각각에 연결되는 제 3 분기부 및 제 4 분기부로 형성되며, 상기 제 3 분기부 및 제 4 분기부의 분기 채널 중 소자 내측으로 분기되는 분기 채널끼리 서로 연결되고 소자 외측으로 분기되는 분기 채널끼리 서로 연결되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.

발명의 효과

- [0015] 본 발명에 따르면, 비뉴턴성 유체의 점탄성적 특성을 극대화 할 수 있는, 미세입자의 크기에 상응하는 비율을 가진 적절한 내경의 상용화된 캐필러리 튜브를 선택하여, 이를 미세유체소자에 연결함으로써 다양한 크기분포를 갖는 미세입자, 혈액 및 질환세포들을 고수율, 고효율로 분리할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0016] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자를 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자의 입자를 분리하는 과정을 나타낸 것이다.
- 도 3은 채널 형상에 따른 비뉴턴성 유체의 입자 패턴을 나타낸 것이다.
- 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자에 캐필러리 튜브를 제작하는 과정을 나타낸 것이다.
- 도 5 내지 6은 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자에 따라 크기기반 인공입자를 분리한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 7 내지 9는 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자에 따라 혈중순환종양을 분리한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0017] 본 발명에 관한 구체적인 내용의 설명에 앞서 이해의 편의를 위해 본 발명이 해결하고자 하는 과제의 해결 방안의 개요 혹은 기술적 사상의 핵심을 우선 제시한다.
- [0018] 본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자는 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱하는 캐필러리 튜브, 및 상기 포커싱된 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 분기부를 포함하고, 상기 캐필러리 튜브는 분리하고자 하는 입자의 크기에 따라 선택되는 것을 특징으로 한다.
- [0019] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 본 발명을 용이하게 실시할 수 있는 실시 예를 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이에 의하여 제한되지 않는다는 것은 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.
- [0020] 본 발명이 해결하고자 하는 과제의 해결 방안을 명확하게 하기 위한 발명의 구성을 본 발명의 바람직한 실시예에 근거하여 첨부 도면을 참조하여 상세히 설명하되, 도면의 구성요소들에 참조번호를 부여함에 있어서 동일 구성요소에 대해서는 비록 다른 도면상에 있더라도 동일 참조번호를 부여하였으며 당해 도면에 대한 설명시 필요한 경우 다른 도면의 구성요소를 인용할 수 있음을 미리 밝혀둔다. 아울러 본 발명의 바람직한 실시예에 대한 동작 원리를 상세하게 설명함에 있어 본 발명과 관련된 공지 기능 혹은 구성에 대한 구체적인 설명 그리고 그 이외의 제반 사항이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우, 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0022] 본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자는 동일 혹은 유사분야에서 분리효율을 높이기 위하여 분리과정 이전 단계에서 모든 입자들의 위치를 초기화하기 요구되는 추가 유체, 즉 쉬스 유동(sheath flow)의 도움없이 크기가 다른 혼합물에 대하여 모든 입자들의 위치를 동일하게 집중시키고, 이후 그 그들의 크기에 따라 비뉴턴성 유체의 점탄성적 특성에 영향을 받아 동일한 구간을 유동하는 과정에서 다른 횡방향 이동량의 차이를 이용하여 고효율 및 고수율로 입자들을 분리할 수 있도록 구성된다. 이를 위해 기존의 뉴턴성 유체대신에 비뉴턴성 유체를 활용한다.
- [0023] 비뉴턴성 유체의 특성에 대해 구체적으로 알아보면 아래와 같다.
- [0024] 비뉴턴성 유체의 유동 중에 발생하는 입자의 측면 이동은 유동 특성의 영향을 받기 때문에 그 영향을 평가하기 위하여 무차원수를 사용할 수 있다. 레이놀즈 수 (Reynolds number, Re)는 유동 중의 관성력과 점성력의 비를 나타내는 무차원수이며, 와이젠버그 수 (Weissenberg number, Wi)는 비뉴턴성 유체의 탄성력을 특징하는 무차원수이다. 이 두 가지 무차원수는 아래와 같이 나타낼 수 있으며, 본 식에서 ρ 는 유체의 밀도, V 는 평균 속도, D_h 는 채널의 수력학적 지름, μ 는 유체의 점도, λ 는 완화시간, $\dot{\gamma}_c$ 는 특성 전단율을 의미한다.

수학식 1

$$Re = \frac{\rho V D_h}{\mu}$$

$$Wi = \lambda \dot{\gamma}_c$$

- [0027] 이러한 두 개의 무차원수를 이용하여 탄성과 관성의 상대적인 영향 관계를 나타낼 수 있다. 탄성 무차원수 (Elasticity number, El)는 탄성과 관성의 영향 정도를 나타낼 수 있는 무차원 수로서 아래와 같이 구할 수 있다.

수학식 2

$$E = \frac{W}{Re}$$

탄성력(F_E)은 일차수직응력차(N_1)에 비례하고, 이 탄성력으로 인하여 비뉴턴성유체에 부유한 미세입자는 측면방향으로 이동하게 된다.

수학식 3

$$F_E \propto d^3 \frac{\partial N_1}{\partial x}$$

또한 이러한 측면이동의 속도(V_E)는 아래와 같다.

수학식 4

$$V_E \propto d^2 W \frac{\partial \gamma}{\partial x}$$

이 때, d 는 미세입자의 직경을 나타내며, 이와 같이 탄성력과 이에 의한 입자의 측면이동속도는 입자 크기의 영향을 받는다.

본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자는 상기 비뉴턴성 유체를 기반으로 입자들을 캐필러리 튜브를 이용하여 포커싱하고 위치를 초기화시킨 후, 이동량의 차이를 이용하여 미세입자를 분리한다.

본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자는 캐필러리 튜브(110), 분기부로 구성된다. 분기부는 제 1 분기부(120), 및 제 2 분기부(130)로 구성되며, 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 채널에 급확장부 또는 유출부(140)를 더 포함할 수 있다.

캐필러리 튜브(110)는 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱한다.

보다 구체적으로, 미세입자를 효율적으로 분리하기 위해선 먼저 입자들의 포커싱이 중요하다. 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들은 채널의 형태에 따라 포커싱되는 형태가 달라지는데 이는 도 3과 같다. 정사각채널 내를 흐르는 비뉴턴성 유체에 부유된 미세입자는 채널의 가운데와 4지점의 코너에 포커싱되기 때문에 입자 위치 초기화에 방해물로 작용한다. 이를 해결하기 위하여, 원형 채널을 형성하는 캐필러리 튜브를 이용하여 채널의 중앙에 입자들을 포커싱할 수 있다. 캐필러리 튜브를 이용함으로써 입자들을 튜브의 중앙으로 3차원 포커싱할 수 있다. 캐필러리 튜브의 주입구에서는 입자가 랜덤하게 분포하지만 캐필러리 내부를 유동하는 중 비뉴턴성 유체의 특성으로 인하여 탄성력을 받게 되고 이로 인하여 채널의 가운데로 포커싱된다.

캐필러리 튜브는 분리하고자 하는 입자의 크기에 따라 선택된다. 분리하고자 하는 입자의 크기가 다른바, 이를 다양한 내경, 외경, 및 길이를 가진 캐필러리 튜브 중 분리하고자 하는 입자의 크기에 따라 캐필러리를 선택한다. 캐필러리 튜브의 내경, 외경, 및 길이는 분리하고자 하는 입자들 중 가장 작은 입자의 크기에 따라 결정될 수 있다. 입자의 크기가 클수록 이동량이 크고, 채널의 가운데로 포커싱이 잘되고, 입자의 크기가 작을 수록 포커싱이 늦어지는바, 가장 작은 입자의 크기에 따라 캐필러리 튜브를 결정한다. 포커싱을 위한 길이는 아래와 같은 관계를 갖는다.

수학식 5

$$L_A \propto \frac{R^4}{\beta^2}$$

[0040]

[0041]

여기서, $\beta = a/D$ 로서 폐색률(blockage ratio)를 나타낸다(a 는 미세입자의 직경, D 은 원형채널의 직경). 이에 따르면 미세입자의 크기가 작을수록 입자가 채널의 가운데로 포커싱되기 위해 필요한 채널의 길이가 긴 것을 알 수 있다. 또한, 탄성력의 영향에 의해 미세입자가 채널의 가운데로 포커싱되기 위해서는 blockage ratio가 0.1보다는 커야한다는 조건을 만족해야 한다. 캐필러리 튜브(110)의 길이는 모든 입자들이 포커싱되기 위한 충분한 길이를 가져야하며, 캐필러리의 길이는 미세입자들의 특성에 따라 산출되어 결정되거나, 실험을 통해 도출되는 길이일 수 있다.

[0042]

분기부는 포커싱된 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리한다. 분기부는 일 실시예로써 도 1과 같이 제 1 분기부(120) 및 제 2 분기부(130)로 구성될 수 있으며, 이하, 제 1 분기부(120) 및 제 2 분기부(130)를 이용하여 설명하도록 한다.

[0043]

제 1 분기부(120)는 상기 포커싱된 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동시킨다.

[0044]

보다 구체적으로, 상기 포커싱된 입자들이 상기 제 1 분기부를 지나면서 위치들이 초기화된다. 즉, 제 1 분기부(120)는 캐필러리 튜브의 가운데로 포커싱된 입자들의 위치를 분기의 벽면으로 초기화시킨다. 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동시키기 위하여 두 갈래로 분기되는 분기부를 이용한다. 상기 입자들이 포커싱되어 이동하게 되는 경로가 상기 제 1 분기부의 분기점과 일치하도록 하여, 모든 입자들을 분기점에 도달하고, 분기의 벽면을 따라 이동함으로써 위치가 초기화된다. 입자들은 유체의 중앙에 포커싱되어 유체를 따라 이동한다. 유체의 중앙이 분기의 분기점과 일치하게 되면, 유체의 중앙에 위치한 입자들이 분기점과 만나게 되고, 이를 통해 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동할 수 있도록 할 수 있다. 제 1 분기부의 두 갈래 분기는 미리 설정된 각도를 이루도록 형성된다.

[0045]

또는 상기 입자들이 포커싱되어 이동하게 되는 경로가 상기 제 1 분기부의 분기점과 불일치하도록 제 1 분기부를 비대칭으로 형성하여, 모든 입자들을 한쪽 분기의 벽면을 따라 이동함으로써 위치를 초기화할 수 있다.

[0046]

제 2 분기부(130)는 상기 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리한다.

[0047]

보다 구체적으로, 제 1 분기부(120)의 분기의 벽면을 따라 이동하는 입자들은 제 1 분기부(120)의 분기를 통해 위치가 초기화된 이후, 제 1 분기부(120)에서 제 2 분기부(130)로 이동하는 채널을 지나면서, 입자들의 탄성력에 의해 채널의 중앙으로 다시 포커싱되는 현상에 따라 횡방향성을 가지게 되는데, 입자들의 크기에 따라 그 크기가 클수록 횡방향 이동속도가 더 빠르기 때문에 주어진 유동길이 내에서 크기가 다른 입자들간에 이동량의 차이가 발생하게 된다. 제 2 분기부(130)는 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리한다. 입자들의 이동량의 차이는 입자들의 특성에 따라 달라질 수 있다. 입자의 크기, 형상, 밀도, 변형능에 따라 달라질 수 있으며, 입자의 크기가 클수록 이동량은 커진다.

[0048]

제 1 분기부와 제 2 분기부는 제 1 분기부로부터 갈라지는 두 개의 채널로 연결된다. 제 1 분기부와 제 2 분기부를 연결하는 두 채널은 소정의 길이만큼 각도를 이루다가 이후 평행하도록 형성되는 과정을 거치면서, 입자들이 이 횡방향성의 이동량을 가지고 이채널의 벽면에서 이격되어 이동되도록 한다. 입자들은 제 1 분기부의 분기 벽면으로 위치가 초기화 된 이후 상기 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 급확장부가 시작되기 이전까지, 채널의 중앙을 향한 방향성을 가지고 유동방향과 수직한 방향으로 이동하게 된다. 입자들이 벽면으로부터 이격되어 이동할 때 입자들에 따라 이동량이 달라진다. 입자들의 이동량에 따라 입자들 사이가 이격되고, 이격된 입자들이 서로 분리될 수 있도록 제 2 분기부를 형성한다. 제 2 분기부는 서로 다른 입자들이 분리될 수 있는 위치에 분기점이 위치하도록 형성되며, 이동량이 큰 입자들은 소자의 외측으로 이동하고, 이동량이 작은 입자들은 소자의 내측으로 이동한다. 제 1 분기부와 제 2 분기부를 연결하는 두 채널 내에서 벽면으로 그 위치들이 초기화된 입자들은 다시 채널의 중앙으로 이동하려고 할 수 있고, 입자들의 이동량의 차이에 따라 먼저 채널의 중앙으로 이동하는 입자가 생기게 되며, 이동량이 큰 입자가 채널의 중앙에 위치하는 곳에 제 2 분기부를 형성하여, 입자들을 분리할 수 있다. 제 2 분기부의 분기점은 채널의 중앙보다 소자의 내측으로 형성함으로써 이동량이 큰 입자

들은 소자의 외측 분기로 분리되고 이동량이 작은 입자들은 소자의 내측 분기로 분리될 수 있다.

[0049] 상기 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 분기 채널은 입자들의 이동량 차이를 증가시키는 급확장부를 더 포함할 수 있다. 급확장부는 채널의 너비를 넓혀 입자들의 이동량 차이를 증가시킨다. 이동량의 차이에 따라 입자들이 이격되는데, 이격된 거리차를 증가시키기 위하여, 채널의 너비가 넓어지는 급확장부를 형성할 수 있다. 급확장부에서 채널의 너비가 넓어지는바, 입자들 사이의 이격되는 거리차가 증가하므로, 입자들을 분리하는 효율성이 높아진다.

[0050] 상기 입자들이 분리될 수 있도록 상기 비뉴턴성 유체의 농도를 조절할 수 있다. 비뉴턴성 유체를 이용하는 경우, 점탄성적인 특성을 조절하기 위하여 제조시 혼합되는 고분자물질의 농도 및 작동중의 유동속도제어만으로 소자의 성능을 유동적으로 조절할 수 있고, 이러한 입자들에 대한 최적화와 함께 모든 유속조건에서 크기가 다른 미세입자들이 분리가 가능하다. 고분자물질의 농도를 조절하면 분리를 위한 작동조건(유속조건)이 효율에 미치는 영향이 제거할 수 있는바 별도의 펌프장치가 불필요하고 따라서 소자를 직접적으로 일회용 주사기에 연결하여 전문적인 훈련을 받지 않아도 손으로 간편하게 작동이 가능할 수 있다.

[0051] 상기 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 거리는 상기 입자들의 이동량 차이에 따라 설정될 수 있다. 캐필러리 튜브는 포커싱을 위하여 충분한 길이로 형성되어야 하는 반면, 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 거리는 입자들의 이동량 차이에 따라 길이가 형성되어야 한다. 너무 짧으면 입자들이 이격되는 거리가 짧아지게 되어 분리가 힘들고, 너무 길면 입자들이 중앙으로 모이게 되어 역시 입자들 사이의 거리가 짧아지게 되어 분리가 힘들 수 있다. 또한, 너무 길면 입자들의 이동이 커져 소자의 크기가 너무 커지거나 제 2 분기부의 위치를 많이 조정해야되는 문제가 있는바, 입자들의 이동량 차이에 따라 제 2 분기부에서 분리가 분리될 수 있는 소정의 거리로 제 1 분기부와 제 2 분기부의 거리가 형성되어야 한다. 제 1 분기부와 제 2 분기부의 거리는 입자들 사이의 거리가 최대가 되도록 설정될 수 있다. 제 1 분기부와 제 2 분기부의 거리는 입자들의 이동량 차이, 소자의 크기에 따라 산출되어 형성될 수 있다.

[0052] 상기 제 2 분기부는 상기 제 1 분기부의 제 1 분기 채널과 제 2 분기 채널 각각에 연결되는 제 3 분기부 및 제 4 분기부로 형성되며, 상기 제 3 분기부 및 제 4 분기부의 분기 채널 중 소자 내측으로 분기되는 분기 채널끼리 서로 연결되고 소자 외측으로 분기되는 분기 채널끼리 서로 연결될 수 있다. 제 1 분기부에서 각 분기 채널로 이동하는 입자들 중 동일한 입자들끼리 집중시켜 모으기 위하여, 제 2 분기부는 상기 제 1 분기부의 제 1 분기 채널과 제 2 분기 채널 각각에 연결되는 제 3 분기부 및 제 4 분기부, 즉 두 개의 분기부로 형성되며, 상기 제 3 분기부 및 제 4 분기부의 분기 채널 중 소자 내측으로 분기되는 분기 채널끼리 서로 연결되고 소자 외측으로 분기되는 분기 채널끼리 서로 연결된다.

[0053] 상기 제 2 분기부를 통해 분리되는 입자들이 유출되는 각각의 유출부를 더 포함할 수 있다. 제 2 분기부를 통해 입자들이 분리되면, 각 입자들이 유출되는 각각의 유출부를 더 포함하여 분리된 입자들을 외부로 배출할 수 있다.

[0055] 도 2는 캐필러리 튜브를 PDMS 미세입자 분리 소자에 결합하여 사용하는 하이브리드 소자의 개략도를 나타낸다. 미세입자 분리 소자는 총 두 단계의 기능들로 나뉘어져 있다. 첫 번째 단계는 미세입자의 삼차원 포커싱을 위한 단계로서 내경 50 μm , 외경 360 μm , 길이 5 cm인 상용화된 캐필러리 튜브를 이용한다. 캐필러리 튜브의 내경 및 외경, 그리고 길이는 분리하고자 하는 혼합물의 크기 중 가장 작은 것을 기준으로 결정되어질 수 있다. 두 번째 단계는 크기별 미세입자의 분리를 위한 구간으로서 너비 70 μm , 높이 200 μm , 길이 1 cm의 채널로 이루어져 있다. 이후 입자간의 측면 이동량의 차이를 극대화하여 각기 다른 출구로 분리하기 위해 급확장관을 두었으며, 해당 구간의 너비는 500 μm 이다. 각 구간의 길이는 기존 정립된 실험식을 통한 설계 규칙을 통해 각 미세입자의 포커싱과 분리에 충분하도록 설계된다.

[0056] (A)와 같이 캐필러리 튜브의 주입구에서는 모든 입자가 랜덤하게 분포하지만 캐필러리 내부를 유동하는 중 비뉴턴성 유체의 특성으로 인하여 탄성력을 받게 되고 이로 인하여 채널의 가운데로 포커싱된다. 이 때 작용하는 탄

성력 ($F_E \sim a^3 \partial N_1 / \partial r$, a 는 미세입자의 직경, r 은 반경방향 거리)은 미세입자의 부피에 비례하여, 큰 입자가 작은 입자에 비해 빠르게 가운데 방향으로 이동한다. 이렇게 포커싱된 입자들은 그 상태로 PDMS 미세유동채널로 들어가게 되며 (B)와 같이 첫번째 분지점을 만나게 된다. 모든 입자의 위치는 초기화되어 분지 이후의 안쪽 벽을 따라 흐른다. 이후 2단계 채널(C)에서 입자는 크기에 따라 다른 측면이동량을 보이는데, 이는 측면이동

속도가 입자 크기의 영향을 받기 때문이다 ($V/U \sim \sqrt{\alpha/h} \sqrt{\gamma}$, V 는 측면이동속도, U 는 평균유속, h 는 채널의 높이, γ 는 무차원화된 전단율). 따라서 크기가 큰 입자가 측면 이동속도가 빠르기 때문에 동일한 구간의 2단계 채널 내에서 먼저 채널의 가운데 방향으로 이동하여 작은 입자와 비교했을 때 더 큰 측면 이동량을 가지게 된다. 이러한 측면이동량의 차이를 기반으로 미세입자는 크기에 따라 분리될 수 있다.

[0057] 도 4는 캐필러리 튜브와 PDMS 미세유동채널이 결합된 하이브리드 소자의 제작 과정을 나타낸 것이다. 내경 50 μm , 외경 360 μm , 길이 5 cm의 캐필러리 튜브 (TSP050375, Polymicro Technologies, Phoenix, AZ)는 PDMS 미세유동채널의 한 쪽 끝으로 주입된다. 다양한 내경을 갖는 상용화된 캐필러리를 사용하여 쉽게 바꿔서 사용할 수 있기 때문에 채널의 별도 설계 수정 및 재제작 없이 다양한 크기의 대상입자를 분리하는 데에 활용할 수 있다는 장점이 있다. 캐필러리 튜브 결합 후 광경화 물질인 NOA 61 (Norland Optics)를 튜브를 통해 주입하였다가 미세유동채널을 통해 공기로 밀어서 튜브와 미세유동채널의 연결부에 NOA 61이 코팅되어 부드러운 결합부를 만들 수 있도록 한다. UV빔을 통해 채널 내 주입된 NOA 61을 경화시켜 고정한다. 도 4의 (f, g)는 실제 제작된 하이브리드 소자를 보여주는 것으로서 각각 다른 내경(20과 50 μm)을 갖는 캐필러리를 바꿔서 사용하는 예를 보여준다. 제안하는 분리방식 및 소자를 활용하여 혈소판과 같은 약 2~3 μm 지름을 갖는 입자들을 더 큰 혈액세포들로부터 분리하고자 한다면 내경 20 μm 을 선택 및 삽입하여 분리연구에 활용할 수 있을 것이다.

[0059] 이하, 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자가 적용되는 구체적인 예들을 살펴보도록 한다.

[0060] 소자의 성능을 평가하기 위하여 5 wt% polyvinylpyrrolidone (PVP) 용액이 탄성력을 갖는 비뉴턴성 유체로서 사용되었다. 해당 용액의 유변학적 특성인 점도와 회복시간(relaxation time, λ)은 회전형 유변물성측정기 (AR2000-ex rheometer, TA Instrument, USA)로 측정되었으며, 각각 ~ 0.05 Pa-s, 0.0011초로 측정되었다. 유체의 주입은 해밀턴 실린지를 이용하여 실린지 펌프(KDS210, KD Scientific, Holliston, MA)로 이루어졌다. 미세유동채널 내의 입자의 거동은 도립현미경과 고속카메라(FASTCAM-1024PCI, Photron, USA), 형광카메라(pco edge mono, PCO AG, Germany)를 통해 촬영되었으며 촬영된 영상을 통해 미세입자의 수를 세어 소자의 성능을 평가하는 과정은 상용화된 소프트웨어 (MATLAB, Mathworks)를 통해 이루어졌다.

[0061] 우선 크기 기반 인공입자의 분리에 있어서, 5와 10 μm 형광 인공입자를 비뉴턴성 유체인 5 wt% PVP 용액에 부유하여 사용하였다. 5 μm 입자는 초록색을 띄는 입자로서 7.64×10^7 particles/ml 농도로 사용되었고, 10 μm 입자는 빨간색을 띄는 형광입자로서 9.55×10^6 particles/ml 농도로 부유되어 사용되었다. 각각의 입자는 캐필러리 튜브 내에서 blockage ratio 0.1과 0.2의 값을 가지며 유동 중에 가운데로 포커싱될 수 있는 조건을 만족하였다.

[0062] 도 5의 (a)는 5 μm 크기 입자의 캐필러리 튜브와 PDMS 채널의 연결접합부에서 유동유별 채널 너비방향의 분포를 나타내고 있다. 연결접합부의 너비는 110 μm 로서 입자의 분포를 확인하기 위하여 10 μm 간격의 총 11개 구간으로 나누어 해당 구간별로 지나가는 입자의 수를 평가하였다. 유동유 0.01 $\mu\text{l/min}$ 조건일 때, 10 μm 입자는 좌측 그림과 같이 모두 포커싱이 되었으나 5 μm 입자의 경우 포커싱되지 않고 여전히 랜덤하게 분포하고 있는 것을 알 수 있다. 이후 유동유가 증가됨에 따라 가운데로 포커싱되는 5 μm 입자의 비율이 점차 많아지기 시작하고 1 $\mu\text{l/min}$ 일 때 모든 5 μm 입자가 채널의 가운데에 삼차원으로 포커싱되었음을 확인할 수 있었다. 현재의 소자에 사용된 캐필러리 내에서는 5 μm 보다 작은 크기의 입자는 가운데로 완전히 한줄로 포커싱될 수 없을 것이고 ($\beta < 0.1$), 그 보다 작은 입자가 포커싱되기 위해서는 $\beta \geq 0.1$ 조건을 만족하도록 내경이 더 작은 캐필러리 튜브를 추가적인 설계 및 제작과정을 거치지 않고 사용중인 PDMS 채널에 간단하게 삽입하여 사용할 수 있다.

[0063] 삼차원 포커싱을 통해 위치가 초기화된 모든 입자는 2단계 채널을 흐르면서 입자의 크기에 따라 서로 다른 측면 이동량을 갖는다. 도 5의 (b)는 입자의 크기별, 유동유별 일반화된 입자의 측면이동량을 보여준다. 이는 채널의 안쪽 벽으로부터의 이동거리(y)를 급확장관의 채널 너비의 절반($Y = 250$ μm)으로 나누어 계산할 수 있다. 유동유 0.01 $\mu\text{l/min}$ 의 조건에서 5 μm 입자는 1단계 채널을 유동 중에 완전히 포커싱되지 않기 때문에 넓게 퍼져 큰 표준편차 값을 갖는 것을 알 수 있다. 그러나 10 μm 입자는 좁은 구간 (작은 표준편차) 내에 위치하며 측면 이동량의 값도 작은 입자에 비해 약간 크게 나타났다. 그러므로 이론식에서 확인한 바와 같이 동일한 유동유 조건에서 크기가 더 큰 입자가 작은 입자에 비해 벽으로부터의 측면 이동량이 더 크다는 것을 확인하였다. 유동유

이 증가할수록 5와 10 μm 크기의 입자 간의 측면 이동량 차이는 더 커졌으며, 10 $\mu\text{l/min}$ 조건에서 거의 일정해지는 경향을 보였다. 10 μm 입자는 거의 채널의 가운데 지점 ($y/Y=0.95$)까지 이동하였으며, 5 μm 입자는 중간 정도 지점 ($y/Y=0.62$)까지 이동하였다. 도 5 (b)의 우측 그림은 20 $\mu\text{l/min}$ 일 때 확장관에서의 5와 10 μm 입자의 위치를 보여준다. 이를 이용하여 크기가 다른 각 입자는 서로 다른 출구로 분리될 수 있었다.

[0064] 도 6의 (a)는 20 $\mu\text{l/min}$ 일 때 각 형광 입자가 포커싱되어 첫 번째 분지를 만나 그 위치가 초기화되는 것과 2단계와 확장관을 지나 두 번째 분지에서 각기 다른 출구로 분리되는 모습을 보여준다. 이러한 분리과정은 도 6의 (b)에 나타난 바와 같이 분리 효율로서 평가되었다. 분리효율 (η)은 두 개의 출구로 모아지는 전체 타겟 입자의 수에 대한 특정 출구로 빠져 나오는 타겟 입자의 수를 비율로 나타낸 것이다. 또한 순도는 특정 타겟 출구로 빠져 나오는 모든 입자의 수에 대한 타겟 입자의 수를 비율로 나타낸 것이다. 본 발명에서 개발된 소자를 통해 분리과정을 거친 후 각 출구로 모아지는 샘플은 flow cytometer (LSR Fortessa, BD)를 이용하여 평가되었다. 출구 A에서는 전체 중의 98.9 %의 5 μm 입자를 분리해낼 수 있었으며, 출구 B에서는 99.8%의 10 μm 입자를 분리할 수 있었다. 이에 대하여 각 입자는 모두 ~99 %의 순도를 가졌다.

[0065] 다음으로, 용혈된 혈액샘플에서 백혈구로부터 MCF-7 종양세포의 분리의 경우, 캐필러리 삽입형 미세유체기반 분리소자의 임상적 활용가능성을 평가하기 위하여, 용혈된 혈액샘플 내의 백혈구로부터 종양세포를 분리하는 연구를 수행하였다. 혈중의 순환종양세포는 10개의 혈액 세포 중 1-100개 정도로 극히 희박한 농도로 존재한다. 따라서 순환종양세포는 고수율로 분리가 가능해야 한다. 본 실험에서는 종양세포의 고수율 분리를 위하여 0.1 (w/v)% hyaluronic acid (HA) sodium salt (357 kDa, Lifecore, Biomedical) 용액을 사용하였다. 본 용액은 점탄성유체의 한 종류로서 점도와 회복시간 (relaxation time)은 0.0009Pa-s, 0.00026초로 측정되었다. 백혈구를 얻기 위하여 항응고제(EDTA) 처리된 혈액으로부터 적혈구 용혈제(1xRBC lysis buffer, R7757, Sigma Aldrich)를 이용하여 적혈구를 제거하였다. 모아진 백혈구는 0.1 (w/v)% HA solution에 재부유되었다. 유방암 종양세포 (human breast adenocarcinoma, MCF-7)는 green fluorescent protein (GFP)으로 염색되었으며, 순환종양세포 (circulating tumor cell, CTC)를 모사하는 세포로서 사용되었다. MCF-7 세포는 10% fetal bovine serum(FBS, Invitrogen, USA)와 1 % penicillin/streptomycin (Invitrogen, USA)가 추가된 low-glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Invitrogen, USA)에서 배양되었다. 최종 준비된 샘플 용액은 형광염색된 MCF-7 세포와 염색되지 않은 백혈구가 0.1 (w/v)% HA 용액에 부유된 것을 사용하였으며, 최종 농도는 $\sim 2 \times 10^6$ MCF-7 cells/ml, $\sim 5 \times 10^5$ 백혈구/ml로 조절되었다. 미세유동소자의 성능을 쉽게 평가하기 위하여 MCF-7 세포의 농도는 실제 환자의 혈액샘플에 존재하는 순환종양세포의 농도보다 높게 조정되었다.

[0066] 도 7의 (a)는 분리 과정 이전의 세포 크기의 분포를 보여준다. 혈액 내의 적혈구를 용혈제를 이용해 제거한 이후 얻어지는 백혈구는 9-15 μm , MCF-7 세포는 14-27 μm 로, 50 μm 직경의 캐필러리 튜브 내에서 $\beta \geq 0.1$ 조건을 만족하며 모두 가운데로 포커싱될 수 있다. 사이즈 분포로부터 분리를 위한 입자크기 컷오프 기준값을 16 μm 로 잡을 수 있다. 이를 기반으로 MCF-7 세포와 백혈구의 분리성능의 최적화를 위하여 15 μm 크기 인공입자의 유동율별 측면 이동량을 확인하였다. 도 8에서는 15 μm 입자의 측면 이동량이 분리 경계(separation boundary)를 넘지 않고 출구 A로 빠져나오는 가장 빠른 유동율을 보여준다. 도 7의 (b)에서 보이는 바와 같이 300 $\mu\text{l/min}$ 의 유동율 조건일 때 15 μm 입자가 확장관의 벽으로부터 225 μm 거리에 위치한 분리경계를 넘어서는 것을 볼 수 있다. 따라서 16 μm 를 컷오프 기준값으로 하는 MCF-7 종양세포와 백혈구의 분리는 200 $\mu\text{l/min}$ 에서 수행하였다. 도 7의 (b, c)는 200 $\mu\text{l/min}$ 일 때 종양세포와 백혈구가 분리되어 각기 다른 출구 A와 B로 빠져나가는 것을 보여주며 이때의 분리효율을 평가한 결과이다. 출구 A를 통해 백혈구의 89 %를 분리, 제거할 수 있었으며 이에 따라 출구 B를 통해 94 %의 GFP 염색된 MCF-7 종양세포를 순도 ~97 %로 분리해낼 수 있었다. 또한 도 9는 분리 전후 세포의 생존도 변화를 평가한 것으로 트리판 블루 염색을 통해 세포의 생존도를 확인하였다. 도면에서 보이는 바와 같이 본 소자를 통과하는 세포는 그 생존도에 거의 영향을 받지 않으며 분리되었음을 알 수 있었다. 비뉴턴성유체의 특성을 이용하는 것은 고분자화합물의 농도조절을 통해 입자에 가해지는 유체역학적인 힘을 추가의 소자 설계 및 제작에 대한 요구를 최소화할 수 있다. 현재의 실시예에서 보여준 결과로부터 분리실험에 대한 추가연구를 진행함과 동시에 출구개수의 증가나 2단계의 채널구조 (너비나 길이) 등을 추가적으로 최적화하면 고수율 및 고효율이 분리가 가능하고, 넓은 범위의 작동조건(유동조건)에서도 분리가 이루어지기 때문에 별도의 펌프장치가 불필요하기 때문에 현장에서 전문가의 도움없이 바로 사용이 가능한 소자가 될 수 있다.

[0068] 이상과 같이 본 발명에서는 구체적인 구성 요소 등과 같은 특정 사항들과 한정된 실시예 및 도면에 의해 설명되

있으나 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상적인 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다.

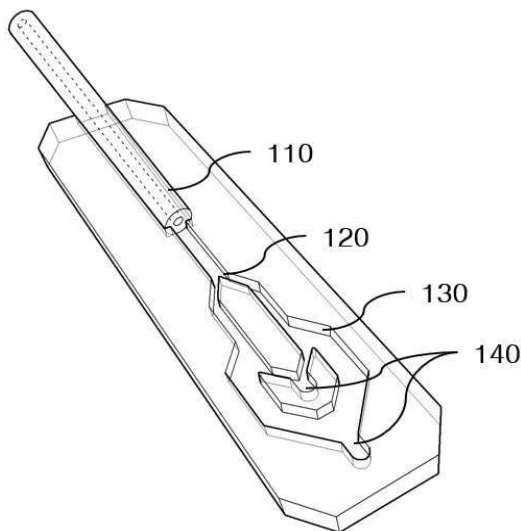
[0069] 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니되며, 후술하는 특허청구범위뿐 아니라 이 특허청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 것들은 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

부호의 설명

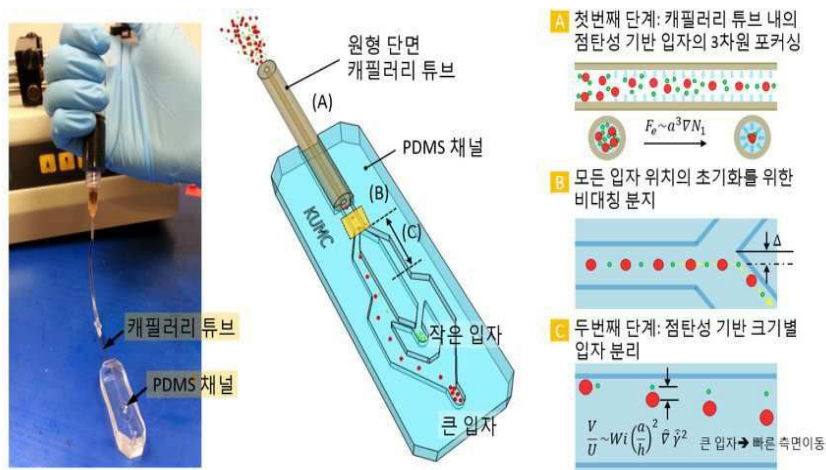
[0070] 110: 캐필러리 튜브
120: 제 1 분기부
130: 제 2 분기부
140: 유출부

도면

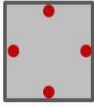
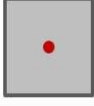
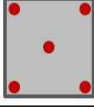
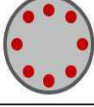
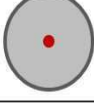
도면1



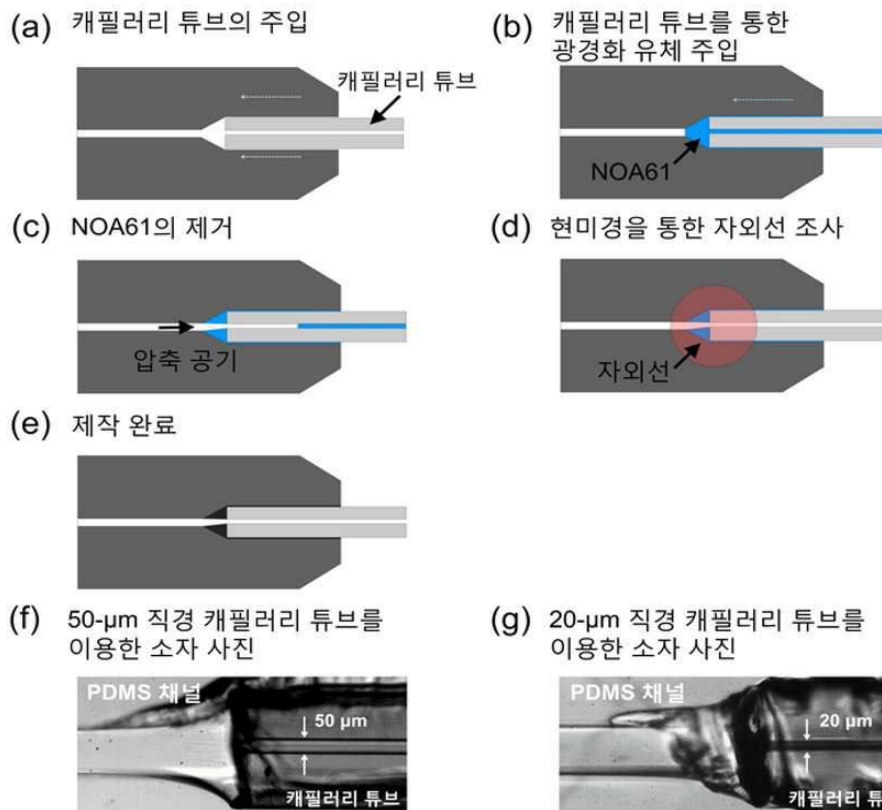
도면2



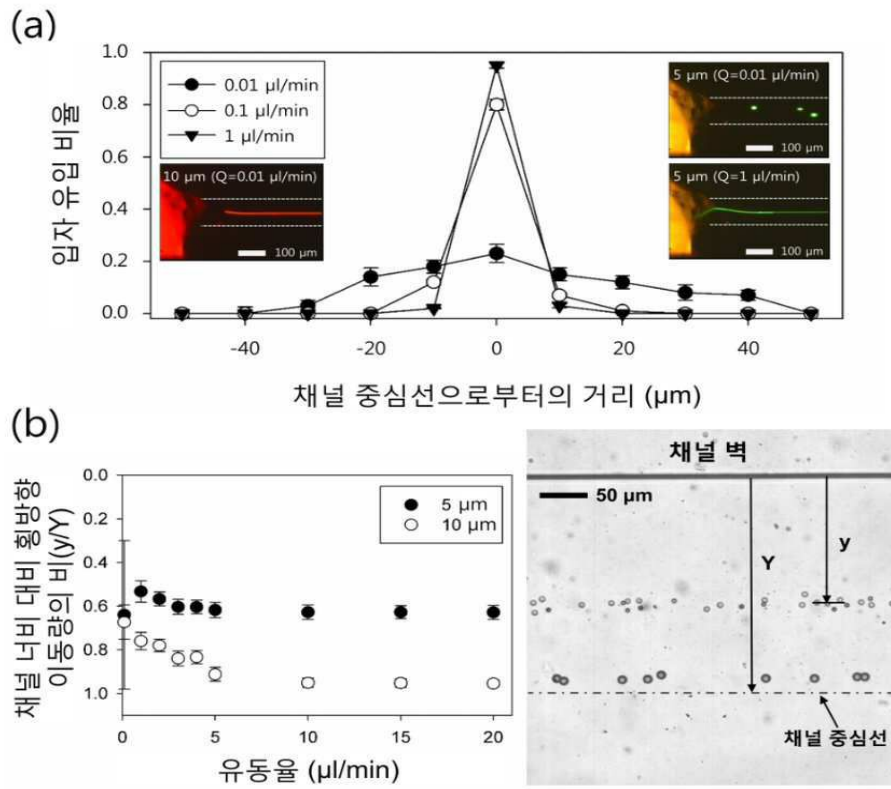
도면3

Square microchannel	Inertia-dominant ($El \ll 1$)	Particle focusing at the center of four faces of the channel		Di Carlo, Lab Chip, 2009
	Elasto-inertial ($El \sim 1$)	3D particle focusing		Kim et al. Lab Chip, 2011; Nam et al. Lab Chip, 2012; Lim et al. Nature Comm. 2013
	Elasticity-dominant ($El \gg 1$)	Particle focusing at the center and 4 corners		Kim et al. Lab Chip, 2012; Yang et al. Soft matter, 2012; Del Giudice et al. Lab Chip, 2013; Romeo et al. Lab Chip, 2013
Circular microchannel	Inertia-dominant ($El \ll 1$)	Particle focusing at Segre-Silberberg annulus between the center and the wall		Di Carlo, Lab Chip, 2009
	Elasto-inertial ($El \sim 1$)	3D particle focusing		Seo et al. RSC advances, 2014
	Elasticity-dominant ($El \gg 1$)	3D particle focusing		D'Avino et al. Lab Chip, 2012; Kang et al. Nature Comm. 2013; Cha et al. Rheol Acta, 2014; Seo et al. RSC advances, 2014

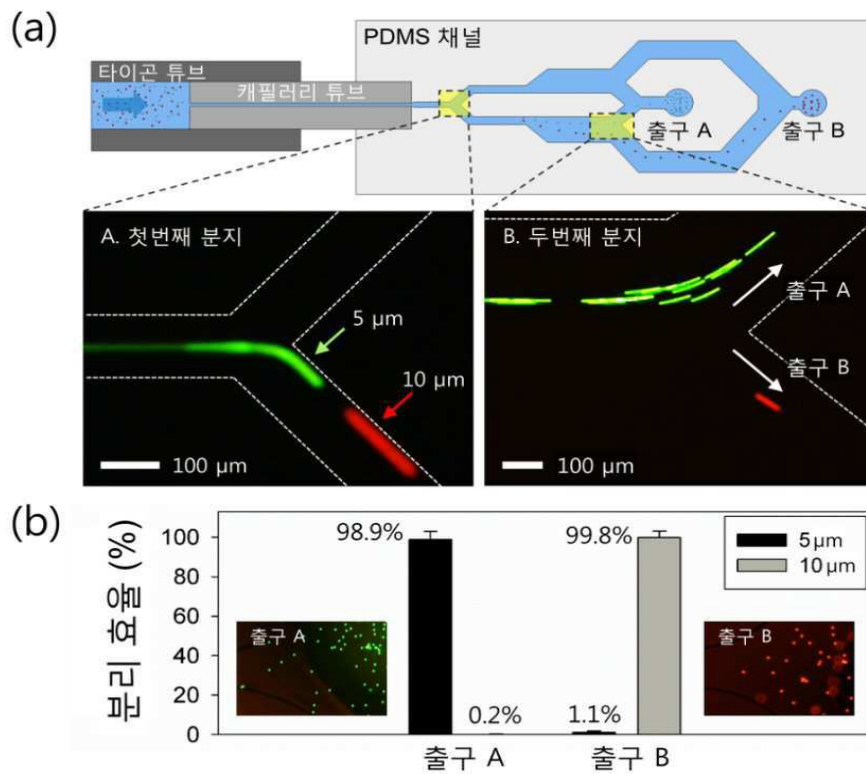
도면4



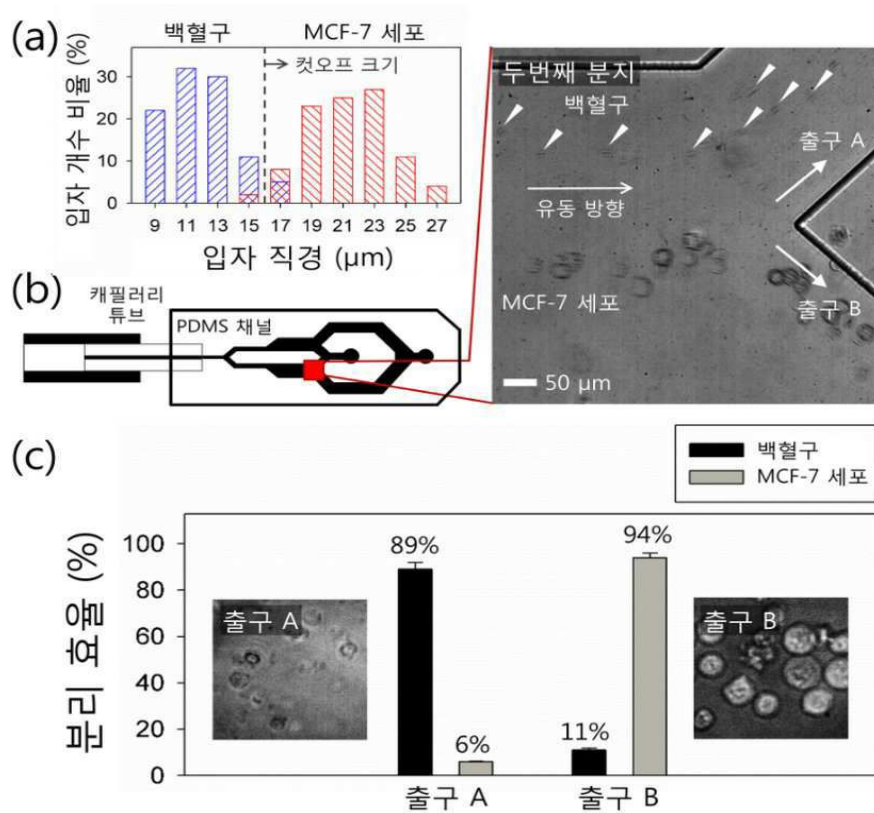
도면5



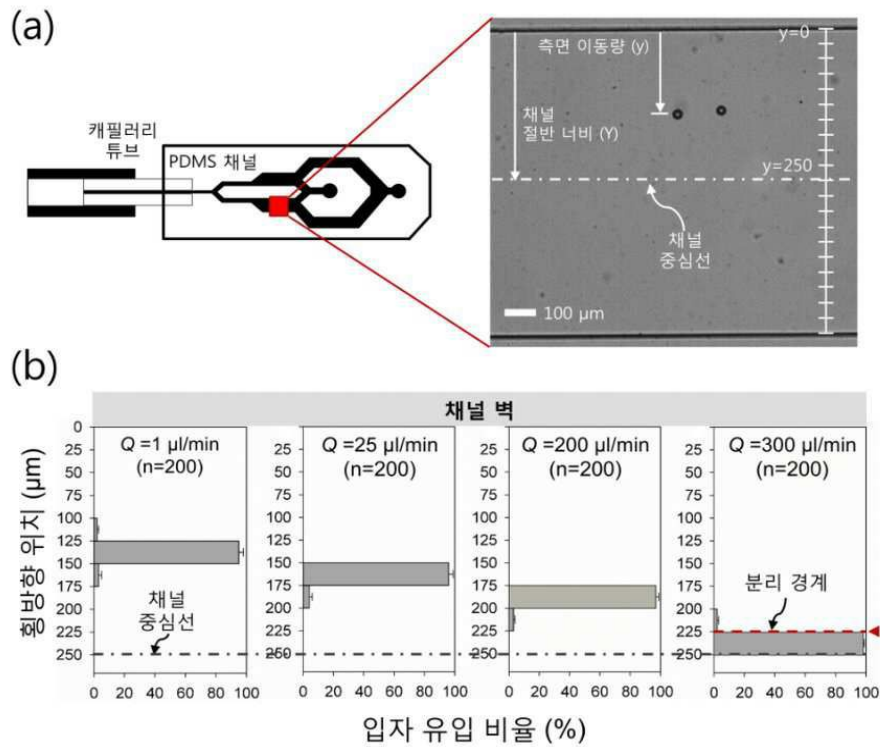
도면6



도면7



도면8



도면9

