(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2011년12월26일
(11) 등록번호 10-1099290
(24) 등록일자 2011년12월20일

(51) Int. Cl.
G01N 35/00 (2006.01) *G01N 35/10* (2006.01)
G01N 33/48 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-7006088
(22) 출원일자(국제출원일자) 2005년08월22일
심사청구일자 2008년09월04일
(85) 번역문제출일자 2007년03월16일
(65) 공개번호 10-2007-0050483
(43) 공개일자 2007년05월15일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2005/009065
(87) 국제공개번호 WO 2006/021410
국제공개일자 2006년03월02일
(30) 우선권주장
10 2004 040 785.1 2004년08월23일 독일(DE)
(56) 선행기술조사문헌
WO0200124850 A1
US20030044832 A1
전체 청구항 수 : 총 36 항

(73) 특허권자
키스트-유로페 포르슝스게젤샤프트 엠비에치
독일 66123 사아르부르켄 스툴사천하우스웨그 97
(72) 발명자
김정태
독일 66125 더드바일러 리챠드-바그너- 슈트라쎄 91 지아이. 01
스타인펠트, 우테
독일 66386 세인트 잉그버트, 로메르-슈트라쎄 29
슈마허, 요르그
독일 66386 세인트 잉그버트, 프리드호프슈트라쎄 16아
(74) 대리인
박종만

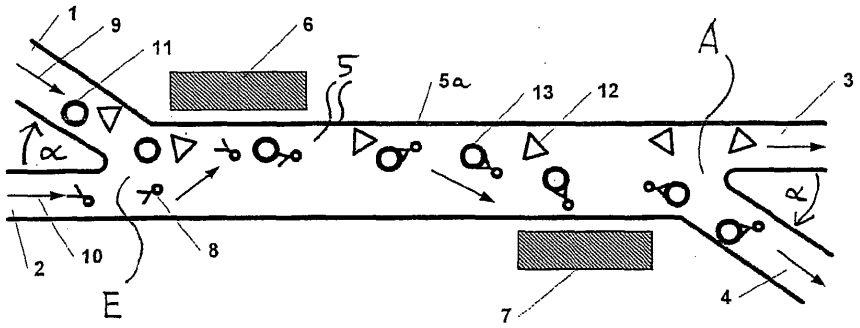
심사관 : 유창용

(54) 면역자기 분리법을 이용하여 생물학적 입자를 분리하는미세유체 시스템

(57) 요 약

본 발명은 생물학적 입자를 분리하는 장치 및 방법에 관한 것이다. 상기 장치는 관통 채널(5), 제1 및 제2 자기장, 2개의 입구 채널(1, 2) 및 2개의 출구 채널(3, 4)을 포함한다. 제1 자기장은 관통채널(5)의 가로로 입구 채널의 유입부의 하류에 배치되고, 제2 자기장(7)은 제1 자기장(6)의 하류에 관통 채널(5)의 반대쪽에 배치된다. 2개의 자기장은 적당한 배열을 통하여 단일 자석에 의하여 생성될 수도 있다.

대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

벽체(5a), 유입부(E) 및 유입부의 하류에 배치되는 배출부(A)를 갖는 관통 채널(5),

상기 관통 채널(5)의 단면의 적어도 일부를 가로지르는 자기장을 생성하는 적어도 하나의 자석(6, 7),

상기 유입부(E)에 관통 채널(5)을 향한 유체 공급을 위한 2개의 입구 채널(1, 2) 및 유체를 배출부(A) 바깥으로 이송하기 위한 2개의 출구 채널(3, 4)을 포함하고,

제1 자석(6)이 상기 유입부(E)의 하류에서 제1 자기장을 생산하고,

제1 자석(6) 및 제2 자석(7) 중 하나가 제1 자기장의 하류이자 배출부(A)의 상류에서 제2 자기장을 생성하고, 제1 및 제2 자기장은 흐름의 방향 또는 그 극성에 대하여 반대 방향으로 위치하고,

상기 제1 자석(6) 및 제2 자석(7)은 관통 채널(5)의 단면의 적어도 일부를 가로지르는 자기장을 생성하고,

상기 2개의 입구 채널(1, 2)은 유입부(E)에 관통 채널(5)을 향한 유체를 공급하고, 2개의 출구 채널(3, 4)은 유체를 배출부(A) 바깥으로 수송하고,

상기 제1 자석(6)은 관통 채널(5)의 유입부(E)의 하류에 외부에 가로로 또는 적어도 부분적으로 관통 채널(5)의 벽체(5a)에 통합 또는 관통 채널의 벽체(5a) 내부에 배치되고,

상기 제2 자석(7)은 제1 자석(6)의 하류 및 관통 채널(5)의 외부에 가로로 배출부(A)의 상류에 또는 적어도 부분적으로 관통 채널(5)의 벽체(5a)에 통합 또는 관통 채널의 벽체(5a) 내부에 배치되고,

상기 제1 및 제2 자석은 관통 채널의 외부 또는 내부에 또는 벽체(5a)에 통합되어 관통 채널(5)의 서로 대향하는 측면에 위치하는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 2개의 입구 채널(1, 2) 및 2개의 배출 채널(3, 4)은 관통 채널(5)의 흐름 방향으로 하나의 평면에 배열되는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 4

제1항에 있어서, 적어도 하나의 입구 채널(1, 2)과 적어도 하나의 출구 채널(3, 4)은 관통 채널(5)의 흐름 방향으로 또는 $0<\alpha<180^\circ$ 의 경사각(α)으로 향하거나 이어지는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 5

제1항에 있어서, 각각 하나의 입구 채널 및 하나의 출구 채널이, 관통 채널의 흐름 방향에 수직으로 볼 때, 관통 채널의 같은 측에 배치되는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 제1 및 제2 자석(6, 7)의 적어도 하나는 영구 자석 또는 전자석인 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 전자석의 장세기 및 장기울기의 적어도 하나는 일시적으로 또는 국부적으로 변화하거나 또는 지속적으로 유지될 수 있는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 관통 채널 및 입구 채널 및 출구 채널의 적어도 하나는, 관통 방향에 수직한 단면에 대하

여, 면역자기 분리에 이용될 수 있는 유체의 관통 동안에 관통 채널에서, 임계 레이놀드수(R_{crit})보다 작은 레이놀드수(R)를 갖는 층류 또는 유체 흐름이 생성되도록 배치 또는 공간적으로 형성되는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 관통 채널 및 입구 채널 및 출구 채널의 적어도 하나는, 제1 유체 흐름이 제1 자석(6) 측의 관통 채널에 형성되고, 분산 과정과는 별개로 상기 제1 유체 흐름으로부터 분리되는 제2 유체 흐름이 제2 자석(7) 측의 관통 채널에 형성되도록 배치 또는 형성되는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 관통 채널은 미세유체 채널인 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 관통 채널은 단면이 원형, 타원형, 장방형 또는 정방형인 관인 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 제1 자석의 뒤에 그리고 제2 자석의 앞에 흐름 방향으로 배치되고 유체 경로를 연장하는 반응 장치(14, 15)를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 유체 경로를 연장하는 반응 장치는 반응 챔버(14)를 갖는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 14

제8항에 있어서, 상기 제1 유체 흐름은 흐름 차단부(15)를 갖는 반응 챔버(14)로 유도될 수 있는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 관통 채널의 흐름 방향에 평행인 평면상에 배치된 반응 챔버(14)는 Ω-형상, 반원 또는 사다리꼴의 단면이고, 상기 평면상의 흐름 차단부(15)는 삼각형 또는 T-형 단면을 갖는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 16

제13항에 있어서, 상기 반응 챔버(14)는 관통 채널(5)의 벽체(5a)에 볼록부로서 또는 관통 채널과 일체로 형성되거나, 또는 상기 반응 챔버(14)는 관통 채널(5)의 벽체(5a)의 개구부에 배치되는 별도의 구성요소로서 형성되는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 관통 채널(5) 및 입구 채널(1, 2) 및 배출 채널(3, 4)의 적어도 하나에서 제어 장치 및 관통 유속을 조절하는 조절 장치의 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 분리 장치는 인간 또는 동물의 체내에 이식할 수 있거나, 또는 인간 또는 동물의 체외에서 이용될 수 있는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 유체의 흐름 방향으로 관통 채널(5)에서, 분리벽이 적어도 입구 채널(1, 2) 영역 및 배출 채널(3, 4) 영역 사이에 배치되고, 상기 분리벽은 서로 분리되어 유입되는 인접 유체 흐름과의 혼합을 방지하는

것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 20

면역자기 분리 장치 및

복수의 면역자기성, 항체-결합 입자 또는 항원 특이 테트라머에 결합된 입자를 갖는 액체 또는 유체를 포함하고,

상기 면역자기 분리 장치는 제1항, 제3항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따라서 형성되고,

상기 분리 장치의 관통 채널(5) 및 입구 채널(1, 2) 및 출구 채널(3, 4)의 적어도 하나는, 관통 채널에서 임계 레이놀드수(R_{crit})보다 작은 레이놀드수를 갖는 층류 또는 흐름이 존재하도록, 유체 또는 액체가 관통 채널(5)에서 점성, 밀도, 온도 및 평균 유속을 갖도록 구성되는 것을 특징으로 하는 분리 배열 장치.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 입자(8)는 강자성 및 초상자성 특성 중의 적어도 하나의 특성 및 구형의 형상을 갖는 것을 특징으로 하는 분리 배열 장치.

청구항 22

삭제

청구항 23

제20항에 있어서, 상기 입자(8)을 포함하는 유체 또는 관통 채널을 통과하는 입자를 포함하는 액체의 관통률은 0.1 ㎕/분 이상 2000 ㎕/분 미만인 것을 특징으로 하는 분리 배열 장치.

청구항 24

제20항에 있어서, 상기 입자(8)을 포함하는 유체 또는 관통 채널에서 입자를 포함하는 액체의 평균 관통률은 0.03 ㎜/s 이상 3000 ㎜/s 미만인 것을 특징으로 하는 분리 배열 장치.

청구항 25

생물학적 물질(11)에 더하여 다른 물질(12)을 더 포함하는 제1 유체(9)로부터, 생물학적 물질에 특이적인 항체, 테트라머 또는 스트렙타머와 결합된 복수의 면역자기 입자(8)를 포함하는 제2 유체(10)의 도움을 받아, 생물학적 물질(11)을 분리하는 면역자기 분리 방법에 있어서,

상기 제1 유체(9)와 동시에 제2 유체(10)는 관통 채널(5)로 유입되어, 관통 채널(5)에서, 층류 조건이 상기 2개의 유입된 유체 흐름 사이에서 형성되고, 제1 유체(9)는 관통 채널을 통과하는 제1 유체 흐름에서 그리고 제2 유체(10)는 인접 제2 유체 흐름에서 흐르는 단계 ;

상기 면역자기 입자(8)는 제1 자기장의 도움을 받아 제2 유체 흐름으로부터 제1 유체 흐름 속으로 적어도 부분적으로 이끌리고, 이어서 생물학적 물질에 적어도 부분적으로 결합된 면역자기 입자(8 및 13)가 제2 자기장의 도움으로 제1 유체 흐름으로부터 제2 유체 흐름 속으로 적어도 부분적으로 이끌려 오기 전에, 관통 채널의 관통에 필요한 주기 시간의 일부에 해당하는 결합 주기 시간 동안 생물학적 물질(11)에 결합하기 위하여 제1 유체 흐름에 남아 있는 단계; 및

상기 2개의 유체 흐름은 관통 채널(5)로부터 분리되어 배출되는 단계를 포함하고,

상기 제1 및 제2 자기장의 적어도 하나는 맥동(pulse) 방식으로 생산되거나 사인파형으로 변조되는 것을 특징으로 하는 것을 특징으로 하는 면역자기 분리 방법.

청구항 26

제25항에 있어서, 제1항, 제3항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 분리 장치를 이용하는 것을 특징으로 하는 면역자기 분리 방법.

청구항 27

제25항에 있어서, 상기 제1 및 제2 자기장의 적어도 하나의 장세기 및 장기울기 중의 적어도 하나는, 면역자기 입자(8)를 제2 유체 흐름으로부터 제1 유체 흐름 속으로 운반하거나, 또는 생물학적 물질에 적어도 부분적으로 결합된 면역자기 입자(13)를 제1 유체 흐름으로부터 제2 유체 흐름 속으로 운반하도록 선택되는 것을 특징으로 하는 면역자기 분리 방법.

청구항 28

삭제

청구항 29

제25항에 있어서, 상기 관통 채널을 통과하는 제1 유체 흐름의 유체 경로가 연장되어, 결합 시간 주기가 증가하는 것을 특징으로 하는 면역자기 분리 방법.

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

제1항에 있어서, 상기 2개의 입구 채널(1, 2) 및 2개의 배출 채널(3, 4), 그리고 제1 및 제2 자석은 관통 채널(5)의 흐름 방향으로 하나의 평면에 배열되는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 33

제1항에 있어서, 적어도 하나의 입구 채널(1, 2)과 적어도 하나의 출구 채널(3, 4)은 관통 채널(5)의 흐름 방향으로 또는 $0<\alpha<90°$ 의 경사각(α)으로 향하거나 이어지는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 34

제1항에 있어서, 적어도 하나의 입구 채널(1, 2)과 적어도 하나의 출구 채널(3, 4)은 관통 채널(5)의 흐름 방향으로 또는 $0<\alpha<45°$ 의 경사각(α)으로 향하거나 이어지는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 35

제1항에 있어서, 상기 관통 채널은 0.002 ㎟ 이상 1㎟ 이하의 관통 방향에 수직인 단면적을 갖는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 36

제1항에 있어서, 상기 관통 채널은 0.01 ㎟ 이상 0.06 ㎟ 이하의 관통 방향에 수직인 단면적을 갖는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 37

제13항에 있어서, 상기 반응 챔버(14)는 제1 자석(6)의 측면과 관통 채널(5)의 내부에 배치되는 흐름 차단부(15)에 배치되는 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 38

제17항에 있어서, 상기 제어 장치는 제1 및 제2 자석(6, 7)의 적어도 하나를 제어하는 전자 제어부인 것을 특징으로 하는 분리 장치.

청구항 39

제20항에 있어서, 상기 입자(8)을 포함하는 유체 또는 관통 채널을 통과하는 입자를 포함하는 액체의 관통률은 1 ㎕/분 이상 200 ㎕/분 미만인 것을 특징으로 하는 분리 배열 장치.

청구항 40

제20항에 있어서, 상기 입자(8)을 포함하는 유체 또는 관통 채널에서 입자를 포함하는 액체의 평균 관통률은 0.3 mm/s 이상 300 mm/s 미만인 것을 특징으로 하는 분리 배열 장치.

청구항 41

제25항에 있어서, 분리되는 물질이 항원이고, 제1 및 제2 유체는 액체인 것을 특징으로 하는 면역자기 분리 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 생물학적 입자를 분리하는 장치 및 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 본 발명에서 생물학적 입자(이하 생물학적 물질로도 언급됨)라 함은 미립자 (particulate) 또는 분자 기초의 입자 또는 물질을 말한다. 여기에는 예를 들어 바이러스 또는 박테리아와 같은 세포, 특히 예를 들어 백혈구 또는 종양세포와 같은 분리된 인간 및 동물 세포, 예를 들어 단백질 및 분자와 같은 저분자 및 고분자 화합물 및 특히 예를 들어 항원, 항체 및 핵산, 또는 MHC 테트라머(tetramer) 또는 스트렙타머(streptamer)와 같은 항원 특이 테트라머와 같은 면역학적 활성 화합물을 포함한다.

[0003] 본 발명은 특히 인간 또는 동물 세포에 대한 면역자기 분리 기술(IMS), 자동 샘플 조제 기술 및 (전자)자기 또는 자기 분리 기술(EMS) 및 미세유체 기술에 관한 것이다. 상기 면역자기 분리 기술은 면역자기 입자를 이용하여 수행된다. 면역자기 입자라 함은, 자화가능하거나 자성의 강자성 또는 초상자성(superparamagnetic) 입자, 또는 예를 들어 항체 또는 항원-특이 테트라머와 결합함으로써 특정 생물학적 물질 또는 입자에 특이 결합을 할 수 있도록 특징 지워진 페라이트와 같은 연질 자성 물질을 말한다.

[0004] 바람직하게는, 결합할 수 있는 면역자기 입자는 본질적으로 구형 형태를 갖고, 바람직하게는 100 ㎛ 이하의 입자크기를 갖는다(따라서, 이하 면역자기구(immunomagnetic ball) 또는 항체결합 자기구(magnetic ball)로 사용됨).

[0005] 생물학적 입자의 서로 다른 면역학적 특징으로 인하여, 특이 입자(예를 들어, 항원 또는 항원 특이 테트라머 또는 스트렙타머)는 특이 항체에 의하여 특징 지워지거나 또는 특이 항체에 결합된다(면역 작용 또는 항원-항체 작용).

[0006] 4개의 MHC 분자 및 항원을 포함하는 구조를 면역학에서 테트라머로 정의한다. T세포는 개별 복합체보다 이들 구조에 1천배 이상 더 잘 결합한다. 이와 같이, 테트라머는 대응 T세포의 수용체에 결합한다. 이는 MHC 복합체에 의하여 항원발현세포(antigen presenting cell)에 결합하는 펩티드 형태의 세포결합 항원의 인식에 의한 T세포 매개성 2차 면역반응에 해당한다.

[0007] 한편, 재조합형, 가용성 MHC 분자가 생산될 수 있고 알려진 항원에 결합될 수 있고, 스트렙타비딘에 의하여 테트라머화 될 수 있다. 생산된 펩티드-특이 테트라머 MHC 분자는 형광 착색제로 표시될 수 있고 흘림 세포계산기(flow cytometer)에서 측정용으로 사용될 수 있다. 테트라머 기술에 의하여, 질병의 증상과 관련된 항원에 관한 증거를 얻을 수 있도록 항원 특이 T세포의 빈도수가 결정될 수 있다.

[0008] MHC 분자에 의하여 예를 들어, 종양 항원을 인식하는 T세포를 정렬하고 분석할 수 있다. 따라서, 펩티드-MHC 테트라머는 예를 들어 관절염과 같은 인간의 자가면역 질병에서 항원 특이 T세포를 추적하는데 있어, 큰 치료학상 잠재력을 갖는다.

[0009] 테트라머의 입자와의 결합은 항원 특이 T세포가 입자에 더 잘 결합하도록 하고, 상기 입자로 인하여 이후 잔여 비결합 세포로부터 분리될 수 있다.

[0010] 가역성 MHC 펩티드 멀티머, 소위 스트렙타머는 세포독성 T-임파구의 조제 및 분리를 위한 새로운 기술이다. 현재 이용되는 테트라머와 비교하여 상기 스트렙타머는 T세포로부터 재분리될 수 있고, 세포의 기능에는 영향을 미치지 않는다.

[0011] 만약 이들 입자가 자기구(magnetic ball)에 결합되면, 면역 특이 작용으로 인하여, 이들 입자에 결합된 생물학적 입자는, 결합된 생물학적 입자로서, 마찬가지로 자성, 바람직하게는 초상자성 또는 강자성을 갖게 된다. 따라서, 자석 예를 들어 전자석 또는 영구자석을 이용함으로써, 자기 입자와 결합된 항체에 결합되는 생물학적 입자가 분리될 수 있다.

발명의 상세한 설명

[0012] 본 발명의 목적은 관통(throughflow) 방법 또는 이에 상응하는 분리 방법에서 작용하는 분리 장치를 이용가능하게 하는 것으로서, 상기 분리 장치를 이용하여 생물학적 입자의 자동 및 지속적 분리가 간단한 방식으로 이루어진다.

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에 따른 장치는, 2개의 입구 또는 입구 채널 및 2개의 출구 또는 2개의 출구 채널을 포함하는 간단한 미세유체 채널 및 하나 이상의 자석, 예를 들어 전자석 또는 영구자석을 사용한다. 이하에서, 채널(관통 채널 및 관통 채널을 향한 입구 채널 및 관통 채널로부터 멀어지도록 유도되는 배출 채널에 적용)은 유체의 흐름에 의하여 정해지는 용적을 둘러싸는 벽체를 포함하는 체적으로서 이해된다.

[0014] 서로 다른 생물학 및/또는 비생물학적 물질(특이 면역 반응을 통하여 결정되는 생물학적 입자를 포함)을 포함하는 액체는 제1 입구 채널을 통하여 미세유체 관통 채널로 유입된다. 결정될 생물학적 물질에 특이 결합하도록 설정된 면역자기 입자를 포함하는 액체는 다른 입구 채널을 통하여 유입된다. 상기 특이 결합은, 면역 반응에 의하여 분리될 생물학적 물질이 항원이고, 면역자기 입자는 대응 항체 또는 항원-특이 테트라머 또는 스트렙타머에 결합되는 강자성 또는 초상자성 구(ball)라는 점에서 이루어질 수 있다(항원-항체/테트라머/스트렙타머 반응).

[0015] 2 액체의 유동학적(rheological) 특성 및 공비(geometric ratios)(특히, 2개의 입구 채널의 단면적 및 관통 채널의 단면적)는 2개의 입구 채널을 통하여 공급된 유체 흐름(liquid flow)이 관통 채널에서 혼합되지 않도록 설정된다(확산과정은 제외). 또한, 이는 각각 공급 또는 배출된 유체 흐름이 단지 입구 채널 영역 및 출구 채널 영역에서만 접촉하도록, 분리벽이 관통 채널에서 입구 채널 영역과 출구 채널 영역 사이에 제공됨으로써 달성될 수도 있다. 결과적으로, 유체 간의 원치않는 확산 효과는 최소화되고, 분리되어야 할 생물학적 입자의 더욱 순수한 분리가 가능하게 된다.

[0016] 제1 자석(또는 자석의 자기장 또는 장기울기(field gradient))의 도움으로, 면역자기 입자는 이들의 강자성 또는 초상자성 특성으로 인하여, 입구 채널 영역에서 유체 방향에 수직인 속도 성분을 얻는다. 따라서, 면역자기 입자는 양 층류(laminar flow)의 경계를 넘어서거나 하나의 유체 흐름에서 다른 유체 흐름 속으로 끌어 당겨진다. 다른 유체 흐름에 분리될 특정 생물학적 입자가 존재하고, 이들에 면역자기 입자가 결합된다. 적당하게 배열된 제1 자석 또는 하류에 배치된 제2 자석에 의하여, 출구 채널 영역에서, 분리될 생물학적 입자에 적어도 부분적으로 결합되는 면역자기 입자는, 반대 방향의 자기장 또는 장기울기가 적용됨으로써 본래의 유체 흐름으로 다시 끌어 당겨진다. 이후, 분리될 생물학적 물질에 결합된 면역자기 입자를 포함하는 유체 흐름은 출구 채널의 하나를 통하여 배출되고, 다른 유체 흐름(잔여 생물학적 및/또는 비생물학적 물질과 분리될 생물학적 물질의 비결합 입자를 포함)은 다른 출구 채널을 통하여 배출된다.

[0017] 층류 조건은 미세유체 관통 채널에서 우세한 조건의 결과로서, 미세유체 관통 채널에서 나타난다는 점이 중요하다(유체의 유동학적 특성 및 특히 채널의 단면적). 이러한 이유로, 두 유체 흐름은 혼합되지 않거나 혹은 미량에 그칠 것이다. 따라서, 오직 면역자기 입자만이 제1 자기장의 도움으로 두 액체 흐름의 경계를 실질적으로 넘어설 수 있고, 결합 및 비결합 잔여 면역자기 입자는 제2 전자석의 자기장의 도움으로, 반대 방향으로 두 유체 흐름의 경계를 다시 넘어선다. 면역자기 입자는 분리될 생물학적 입자를 포함하는 유체로 개별적으로 유입되고, 이후 특정 시간 동안 그 유체 흐름으로부터 생물학적 물질의 인접한 유체 흐름으로 변화하고, 거기에서 분리될 생물학적 입자에 결합되고, 그 다음 제2 자기장의 도움으로, 면역자기 입자에 결합된 생물학적 입자와 함께 다시 본래의 흐름으로 돌아온다. 비결합 생물학적 입자 및 다른 생물학적 물질을 포함하는 유체는 하나의 출구 또는 배출 채널을 통하여 배출되는 반면, 결합하여 분리된 생물학적 입자는 다른 출구로부터 배출될 수 있다.

[0018] 유리한 실시예에서, 본 발명에 따른 장치는 반응 챔버가 구비된다. 상기 반응 챔버는 생물학적 물질을 포함하는 유체 또는 제1 자석 측의 관통채널 상에 배치되어, 유체가 관통 채널을 통과하는데 필요한 시간을 연장시키는 역할을 한다. 상기 반응 챔버는 2개의 자석 사이에서 흐름 방향으로 배치되어, 흐름 속으로 유입된 면역자기 입자의 체제 길이를 증가하는 결과를 가져오고, 그리하여 특이 생물학적 물질에 면역자기 입자가 결합할 가능성을 높여준다.

[0019] 상기 면역자기 분리 장치는 몇 가지 이점을 갖는다.

[0020] 상기 장치는 수작업에 의하여 수행될 필요가 있어 시간 소모적이고 추가적인 유체를 필요로 하는 추가 혼합, 배양 및 세척 단계 없이 간단한 분리를 가능하게 한다. 상기 장치에 의하여 자동화된 연속적인 입자 단리 또는 분리가 가능하고, 단지 적은 양의 완충액, 수송 및/또는 희석액이 요구되거나 전혀 필요하지 않게 된다. 따라서, 본 장치에서는 샘플 희석액 및 추가 완충액이 불필요하다.

[0021] 상기 결합된 생물학적 입자는 다양한 생물학적 물질을 포함하는 본래의 혼합액으로부터 추가 세척과정이 없이도 단리 및 분리될 수 있다. 분리된 생물학적 입자는 분리 배출 채널을 통하여 얻어진다.

[0022] 항체-결합 자기 입자 또는 면역자기 입자는 추가적인 예비 혼합 단계 또는 배양단계의 필요없이 관련된 입구 채널에 직접 공급될 수 있다.

[0023] 상기 장치는 자기장의 세기 또는 자기장의 기울기를 제어하는 자동화된 제어 장치가 구비될 수 있다. 또한, 상기 장치는 관통 채널내의 관통률(throughflow rate) 및 단위시간당 흐르는 유체량의 제어를 조절하는 조절 장치가 구비될 수 있다. 상기 관통률 또는 단위시간당 흐르는 유체량의 조절은 입구 채널 및/또는 출구 채널 영역에서의 적당한 조절 장치에 의하여 효과를 나타낸다. 따라서, 생물학적 입자의 표지(marking) 또는 결합 및 그들의 분리는 간단하면서도 제어된 방식에 의하여 수행될 수 있다.

[0024] 본 발명에 따른 장치는 인간 또는 동물의 신체 내부 또는 외부에서 의학적 진단 시스템으로서 이용될 수 있다. 이와 유사하게 간단한 방식으로, 본 발명에 따른 장치는 예를 들어, 특정 형태의 세포를 환자 등의 혈액 또는 조직으로부터 분리하는 치료 목적으로서도 이용될 수 있다. 따라서, 상기 장치는 특히 이식이 가능하고(implantable), 연속적인 분리 또는 측정 과정을 가능하게 한다. 특히, 이식가능한 장치에 있어서, 장치와 그 전자 제어 유니트는 함께 집적 방식으로 제조될 수 있고, 이식에 적당한 치수를 갖고, 이에 따라 경제적인 방식으로 제조될 수 있다. 만약 본 발명에 따른 장치가 인간 또는 동물 신체의 외부에서 사용되는 경우, 상기 장치는 실험기구로서 사용되도록 구성될 수 있다. 상기 실험기구는 예를 들어 혈액 샘플, 혼합 세포집단(예를 들어, 환자의 조직으로부터 얻은 것) 또는 특정한 특징(예를 들어, 특정 표면 표시자 또는 생리학적 상태)을 갖는 세포의 세포 분리를 위하여 사용될 수 있다.

실 시 예

[0030] 실시예에 대응하는 후술될 도면에서 식별 참조번호는 장치의 유사 또는 동일한 구성요소를 지칭하는 것으로 사용된다.

[0031] 도 1은 본 발명에 따른 제1 면역자기 분리 장치를 보여준다. 도 1은 본 발명에 따른 면역자기 분리 장치를 장치의 무게중심을 통하여 연장되는 중심면으로 자른 단면을 도시한다. 상기 장치는 유입부(E) 및 장치의 하류에 놓인 배출부(A)를 갖는 미세유체 관통 채널(5)을 갖는다. 상기 유입부(E)에서, 제1 입구 채널(1) 및 제2 입구 채널(2)은 관통 채널(5)을 향하여 개방되어 있다. 상기 제2 입구 채널은 관통 채널(5)을 향하여 유체의 흐름 방향으로 통한다. 상기 제1 입구 채널은 관통류 방향과 $\alpha=30^\circ$ 각을 유지하며 관통 채널(5)로 통한다. 배출부(A)에서, 2개의 배출 채널(3, 4)이 관통 채널(5)의 밖으로 이어져 있다. 상기 배출 채널(3)은 관통 채널(5)을 통한 유체의 흐름 방향으로부터 멀어지는 쪽으로 이어지고, 상기 배출 채널(4)는 상기 흐름 방향과 $\alpha=30^\circ$ 각을 이루며 이어진다. 각각의 관통류 방향에 수직인 입구 채널(1, 2) 및 배출 채널(3, 4)의 직경은 관통류 방향에 수직인 관통 채널(5)의 직경의 대략 절반에 해당한다.

[0032] 유입부(E)의 하류에는 관통 채널(5)의 외부 옆에 가로로 제1 전자석(6)이 배열된다. 상기 제1 전자석(6)의 하류이자 배출부(A)의 상류에는, 제2 전자석(7)이 역시 관통 채널(5)의 외부 옆에 가로로 배열된다. 상기 2개의 전자석(6, 7)은 서로 다른 측면에 배열되고, 본 경우에는 관통 채널(5)의 대향한 측면에 위치한다.

[0033] 대안적으로, 상기 2개의 전자석(6, 7)은 적어도 부분적으로 관통 채널(5)의 벽체(5a)에 통합될 수 있다. 이 경우, 상기 2개의 전자석(6, 7)은 본질적으로 관통 채널(5)의 벽체(5a)에서 대향하는 측면에 통합된다. 그러나, 상기 2개의 전자석(6 , 7)은 완전히 관통 채널(5)의 내부 또는 관통 채널(5)의 벽체(5a)의 내부에 벽체(5a)에

의하여 둘러싸인 관통 채널(5)의 용적 내에 배열될 수 있다. 이때 마찬가지로, 상기 2개의 전자석(6, 7)은 본질적으로 관통 채널(5) 내에 관통 채널의 대향하는 측면에 배치된다(이는 바람직하게는 관통 채널의 벽체부 또는 전자석(6, 7)이 채널의 내벽에 위치하거나 장착되도록 한다). 그러나, 상기 전자석(6, 7)에 대하여 상기 기술된 사항과 각기 다른 변형예를 이용하는 것도 가능하다: 즉, 상기 전자석(6)이 완전히 채널의 벽(5a)의 외부에 배열되고, 반면 전자석(7)은 관통 채널의 반대쪽 벽체 내에 통합되거나, 벽체(5a)의 내부 표면에 대향하는 측면의 채널 내부에 위치한다.

[0034] 상기 입구 채널(1, 2), 배출채널(3, 4), 관통 채널(5) 및 2개의 전자석(6, 7)(또는 해당 중심축 또는 무게중심)은 본 경우에 하나의 평면에 배열된다.

[0035] 충분히 작은 입구 채널, 출구 채널 및 관통 채널의 직경 그리고 충분히 작은 유량(flow rate)으로 인하여, 상하로 별개로 지나가는 2개의 유체 흐름 또는 유체 층이 교란됨이 없이 형성될 수 있도록(층류) 흐름 채널(flow channel)의 상태가 형성되는 것이 중요하다. 만약 다양한 생물학적 입자(11, 12)를 포함하는 혼합 유체(9)가 제1 입구 채널(1)을 통하여 유입되고, 면역자기 입자(8)를 포함하는 유체(10)가 제2 입구 채널(2)을 통하여 유입되면, 2개의 유입된 유체는 서로 혼합되지 않고 흐르고(확산과정은 제외), 서로 평행한 분리된 유체층으로서 배출부(A)의 방향으로 유동한다. 혼합 유체(9)의 제1 유체 흐름은 면역자기 입자(8)의 제2 유체 흐름(10)과 혼합되지 않으면서 제1 배출 채널(3)을 통하여 배출되고, 상기 제2 유체 흐름(10)은 이에 상응하여 제2 배출 채널(4)을 통하여 배출된다.

[0036] 그러므로, 미세유체 관통 채널(5)에서, 관통 유체는 작은 레이놀드수(Reynolds' number)를 갖고 있어 관통 채널(5)에서의 흐름 조건은 층류로서 간주될 수 있는 것이 중요하다. 따라서, 교란 및 2차 흐름 또는 와류를 일으키는 관성의 효과는 무시할 정도이고, 상호 혼합은 확산 과정의 결과로서만 가능하다. 이를 확실히 하기 위하여, 도시된 경우에서 미세관통 채널(4)은 0.1 내지 0.3 ㎜의 너비 및 0.1 내지 0.2 ㎜의 높이를 가진다(직사각형 관통 채널, 길이 방향 또는 관통류 방향에 수직인 너비 및 높이). 관통 채널(5)의 전체 관통 유량(도시되지 않은 조절 장치를 통하여 조절됨)은 1 내지 200 ㎕/분이다. 미세유체 흐름 특성은 미세관통 채널(5)에서 층류 조건을 위한 필요조건을 충족한다. 이런 이유로, 제1 입구 채널(1)을 통하여 유입된 혼합 유체(9) 및 제2 입구 채널(2)을 통하여 유입되고 면역자기 입자(8)를 함유한 유체(10)는 관통 채널(5)에서 서로 혼합되지 않고, 2개의 분리된 유체층을 형성한다. 따라서, 각 유체 흐름의 서로 다른 입자(생물학적 입자(11, 12) 및 면역자기 입자(8))는, 전자석(6, 7)이 스위치 오프인 상태에서 서로 혼합되지 않고, 각각의 유체 흐름을 통하여 연속적으로 흘러서 각각의 배출 채널(3, 4)에 이르게 된다.

[0037] 분리될 생물학적 입자(11)에 더하여, 본 발명에서 상기 혼합 유체(9)는 생물학적(또는 다른) 입자(12)를 더 포함하고, 상기 분리될 입자(11)는 이들 입자(12)로부터 분리될 것이다. 그러나, 상기 다른 입자(12)가 더 포함될 필요는 없고, 본 발명은 또한 상기 유체(9)의 흐름에서 분리될 입자(11)의 농도를 변경하는데 이용될 수 있다. 만약 제1 전자석(6)이 활성화되면, 면역자기 입자(8)는 관통 채널(5)의 관통류 방향에 수직이며 제1 전자석(6) 방향으로 힘을 발휘하는 전자석의 자기장 또는 장기울기의 영향 아래 놓이게 된다. 결과적으로, 상기 면역자기 입자(8)는 제2 유체 흐름(10)으로부터 유체 흐름의 경계를 넘어서 혼합 유체의 제1 유체 흐름(9)으로 끌리게 된다. 따라서, 상기 면역자기 입자(8)는 혼합 유체 흐름(9) 내에 위치한 입자(11, 12)와 서로 섞이게 되고, 특이 항원-항체 반응에 의하여 분리될 입자(11)에 결합될 수 있다(이에 따라 결합 또는 결속된 입자(13)가 생산되고, 이은 각각 적어도 하나의 면역자기 입자(8) 및 하나의 생물학적 입자(11)를 포함한다).

[0038] 상기 전자석(6)의 자기장의 세기 또는 기울기의 세기는 생성된 힘이 면역자기 입자(8)를 제2 유체 흐름(10)으로부터 제1 유체 흐름(9)으로 끌어들이기에 충분한 정도로 제어 또는 조절될 수 있다. 이에 의하여, 상기 전자석(6)의 자기장은 맥동(pulsate) 또는 사인파(sinusoidal) 형태로 조절될 수 있다. 이때, 상기 면역자기 입자는 관통류 방향의 유속과 그에 수직인 자기장에 의하여 유도된 속도 간의 평형 상태로 자유롭게 흐르게 된다.

[0039] 상기 면역자기 입자(8)가 혼합 유체(9)의 제1 유체 흐름 내로 끌린 후에, 이미 기술한 바와 같이 면역 특이 반응에 의하여, 이들은 분리될 생물학적 입자(11)와 결합하여 결합 입자(13)를 형성한다. 미세관통 채널(5)의 협소 또는 적은 단면적 그리고 관통 채널(5)의 충분히 느린 유속은, 각각의 면역자기 입자(8)가 연관된 생물학적 입자(11)에 결합할 가능성을 증가시킨다(상기 면역 반응에 필요한 시간도 증가함).

[0040] 제1 전자석(6)에 대하여 하류쪽으로는, 제2 전자석(7)이 이 자석에 대향하여 위치한 관통 채널(5)의 측면으로 배출부(A)의 바로 앞에 배열된다. 상기 제2 전자석(7)의 도움으로, 결합 입자(13) 및 제1 전자석(6)과 제2 전자석(7) 사이의 흐름 경로 상의 생물학적 입자(11)와 결합하지 않은 면역자기 입자(8)는 유체 흐름 경계를 넘어서 다시 제2 유체 흐름(10)으로 끌린다. 이는 제1 자석(6)의 자기장 또는 기울기에 반대 방향인 전자석(7)의 자기

장 또는 장기울기를 통하여 발생한다. 면역자기적으로 결합 또는 특징된 생물학적 입자(13) 및 비결합 면역자기 입자(8) 또는 제2 유체 흐름(10)은 제2 배출 채널(4)을 통하여 배출된다. 제1 유체 흐름(9) 또는 잔여 비결합 생물학적 입자(11) 및 그 밖의 생물학적 물질(12)은 제1 배출 채널(3)을 통하여 배출된다. 따라서, (결합) 생물학적 입자(11 또는 13)은 그 밖의 생물학적 물질(12)로부터 분리된다.

[0041] 도 2는 면역자기 분리 장치를 도시하고 있고, 상기 장치의 기초구성은 도 1에 도시된 분리 장치와 일치한다. 그러나, 흐름 방향으로 제1 전자석(6)의 뒤에 그리고 제2 전자석(7)의 앞에, 관통채널(5)은 제1 전자석(6) 쪽에 배치된 볼록부(bulge)(반응 챔버)(14)를 포함한다. 본 예에서, 관통 채널(5)은 반응 챔버(14)와 일체로 형성된다. 그러나, 상기 반응 챔버(14)는 관통 채널(5)의 해당 개구부에서 별도의 구성요소로서 생산될 수도 있다. 도시된 단면(입구 채널(1, 2), 출구 채널(3, 4) 및 2개의 전자석(6, 7)의 배열 평면)에서, 반응 챔버(14)는 Ω형상의 단면을 갖는다. 반응 챔버(14)의 상단에서, T형 흐름 차단부(flow breaker)(15)가 도시된 단면도에서 배치된다. 상기 흐름 차단부(15)는 흐름 방향으로 상기 챔버(14)의 상단에 배열되어, 혼합 유체(9)의 제1 유체 흐름만을 끌어들이고 이 유체 흐름을 상기 반응 챔버(14)로 전환시키도록 한다. 상기 흐름 차단부(15) 및 반응 챔버(14)를 포함하는 반응 장치에 의하여, 관통 채널(5)을 통과하는 제1 유체 흐름(9)의 경로가 연장된다. 상기 반응 장치에 의하여, 관통 채널(5)에서의 제1 유체 흐름(9)의 체류시간은 반응 챔버(14)의 용적에 비례하여 증가한다. 결과적으로, 면역자기 입자(8)가 특정 생물학적 입자(11)에 결합하기에 필요한 시간 또는 접촉 효율(contact efficiency)이 증가하게 된다. 따라서, 면역 반응이 일어나거나 면역자기 입자(8)가 결합할 가능성이 증가한다. 따라서, 상기 장치의 증가된 면역 반응 효율에 의하여 분리 효율(separation efficiency)이 증가한다. 상기와 같이 구비된 반응 챔버(14)는 유속 기울기를 증가시키고 제1 유체 흐름(9)의 미세 혼합을 양호하게 한다. 결과적으로, 상기 면역자기 입자(8)의 결합 가능성이 증가한다. 이에 의하여, 제1 유체 흐름이, 만약 상기 유체 흐름이 이미 유입된 면역자기 입자(8)를 포함하고 있으면, 결합 주기 시간(binding time period)을 연장하는 반응 챔버(14)로 유입되도록, 상기 반응 장치(14, 15)가 2개의 전자석(6, 7) 사이에 흐름 방향으로 이용할 수 있도록 배치되는 것이 중요하다.

[0042] 도 3은 도 1의 장치와 똑같이 형성된 본 발명에 따른 또 다른 분리 장치를 도시한다. 그러나, 도 1과 비교하여 유입부(E)와 그 하류에 배열된 배출부(A) 사이에, 입구 채널(1) 또는 입구 채널(2)을 통하여 분리 장치에 공급되는 2개의 유체 흐름을 분리하는 분리벽(17)이 위치한다. 이와 같이, 2개의 입구(1, 2)의 영역(E)에서 자석(6)에 의하여 발휘된 자력에 의하여 자성 입자는 단지 하나의 유체 흐름으로부터 다른 유체 흐름으로 바뀌고, 동일한 교환이 역방향으로 영역(A)에서 이루어질 수 있다. 이들 2개의 영역(E 및 A) 사이에는 더 이상의 유체 흐름의 혼합이 생기지 않고, 이들 영역에서는 단지 면역자기 입자와 항원-부착 입자 간의 응집만이 발생한다.

[0043] 도 4는 본 발명에 따른 또 다른 분리 장치를 도시한다. 여기에서는, 면역자기 입자(11)가 입구 채널(2)을 통하여 공급되고, 입구 채널(1)을 통하여서는 샘플이 공급되고, 입자는 E로 지정된 영역에서 서로 소통하고, 상기 면역자기 입자(11)는 자기장 Fmag의 적용에 의하여 샘플 속으로 넘어들어갈 수 있다. 상기 생성된 자기장 Fmag은 화살표로 표시된다. 이때, 면역자기 입자(11)를 가진 샘플은 길다란 경로를 따라 나선부(18)로 인도되어 면역자기 입자(11)는 그곳에서 항원(8)과 결합될 수 있다. 이후, 상기 나선부(18)는 반대방향으로 유도되고, 영역(A)에서, 그 사이 편향되고 본래 면역자기 입자(11)를 함유한 유체와 만난다. 상기 영역(A) 내에서, 면역입자(immunoparticles)(8)을 실은 면역자기 입자(11)가 자기장 Fmag에 의하여 본래의 유체 흐름으로 다시 들어가고, 이어서 출구(4)를 통하여 배출된다. 상기 면역자기 입자(11)가 전체적으로 해방된 샘플은 다시 나선부(18)을 둘러싼 큰 아치부(19)의 내부로 유도되고, 마지막으로 출구(3)를 통하여 배출된다. 이러한 배열은 자성 입자(11)와 항체(8) 사이의 혼합 영역이 매우 긴 경로를 가진다는 이점을 갖는다. 더욱이, 본 장치는 단지 하나의 자석만으로 영역(E) 및 영역(A)에서 자기장을 생산할 수 있고, 모든 혼합 및 분리 과정을 수행할 수 있는 이점을 갖는다.

도면의 간단한 설명

[0025] 본 발명에 따른 장치는 다음의 2개의 예들 중 어느 하나에서 도시된 바와 같이 구성되고 이용될 수 있다.

[0026] 도 1은 본 발명에 따른 제1 면역자기 분리 장치를 나타낸다.

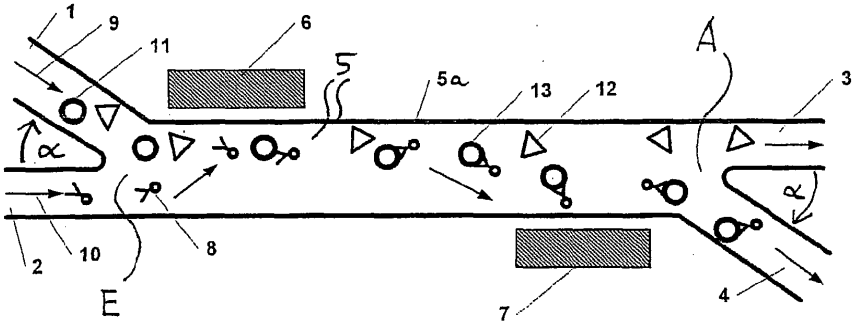
[0027] 도 2는 반응 챔버를 갖는 본 발명에 따른 제2 면역자기 분리 장치를 나타낸다.

[0028] 도 3은 본 발명에 따른 제3 면역자기 분리 장치를 나타낸다.

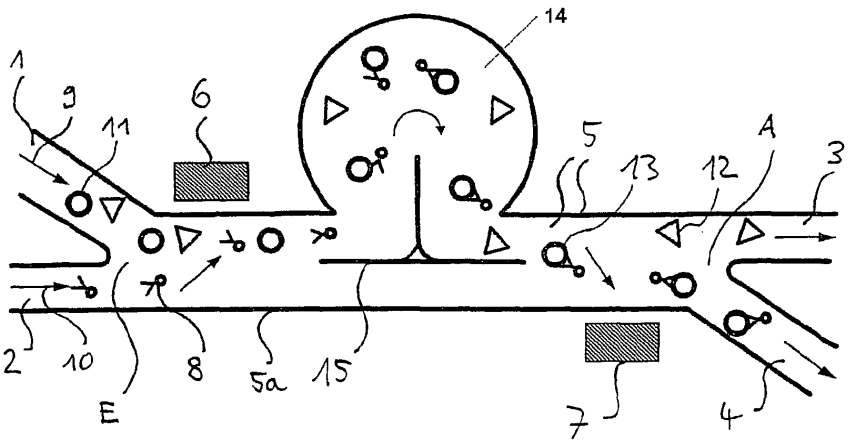
[0029] 도 4는 본 발명에 따른 제4 면역자기 분리 장치를 나타낸다.

도면

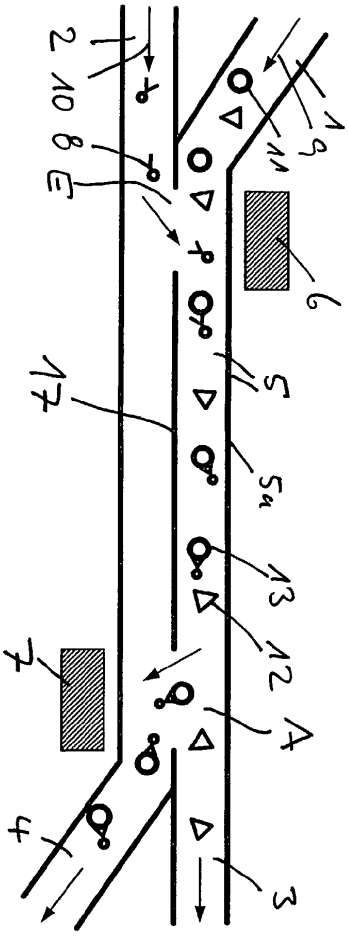
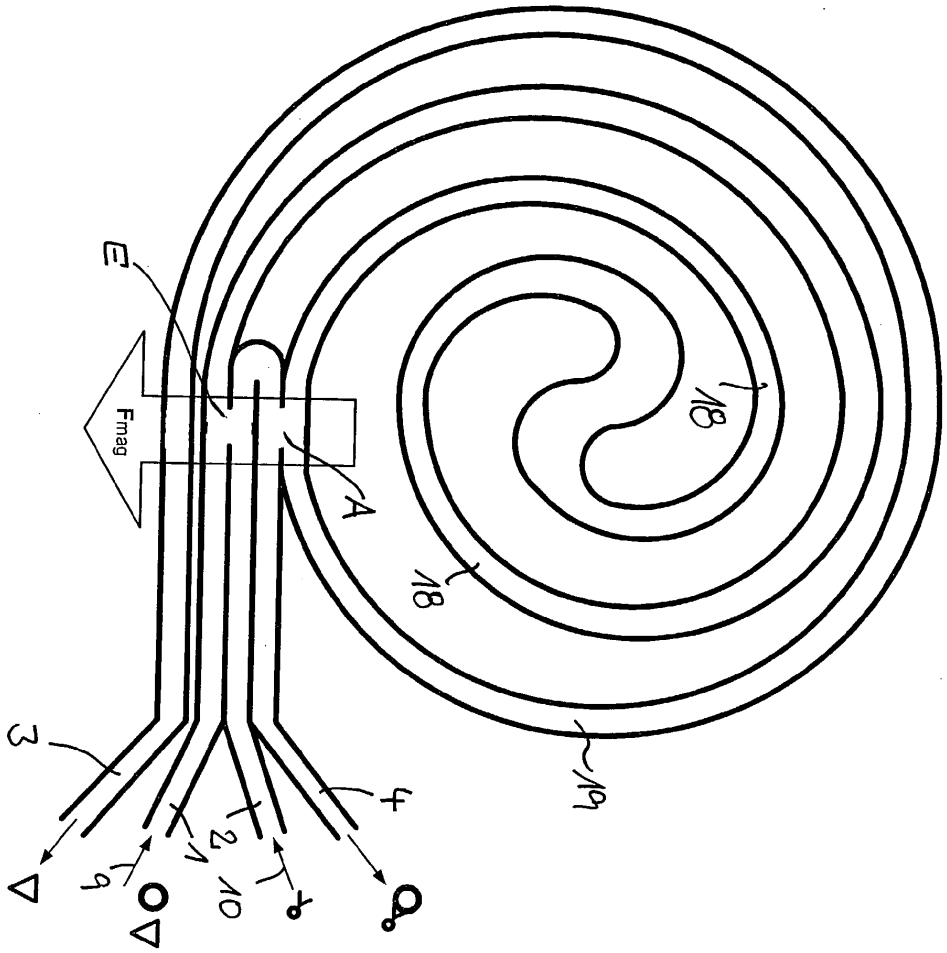
도면1



도면2



도면3



도면4