

44)은 절연 물질(46)로 적어도 부분적으로 채워지는 적어도 하나의 틈새(47)에 의해 서로 분리되며, 내부 공간(40) 내의 서로 마주보는 전극들(43, 44)의 에지들(48, 49)이 둥글게 형성되는 세포의 현탁액에 전기장을 인가하기 위한 장치에 관한 것이다. 이웃하는 전극을 향하는 전극들의 에지들을 둥글게 형성하는 것은 장 구배의 상당한 감소를 가져오며 따라서 아크 발생의 위험의 상당한 감소를 가져온다. 본 발명은 또한 전압이 적어도 하나의 활성 전극(43, 44)에 인가되며 반면에 활성 전극(43, 44) 다음 및/또는 맞은편 전극들(43, 44, 45) 또는 전극 세그먼트들은 접지 전위로 설정되는, 방법에 관한 것이다. 활성 전극을 둘러싸는 이웃하는 전극들을 접지 전위로 설정하는 것은 내부 공간 내의 전기장의 감소된 산란을 야기하여 전기 활성 영역이 국부적으로 제한되며 전기력선들이 활성 전극 가까이 집중되며 따라서 프로세스의 제어가 향상된다.

(52) CPC특허분류

C12N 15/87 (2013.01)

(72) 발명자

하인체, 안드레아스

독일, 50739 쾰른, 카이저스베르테르 슈트라쎬 3

헤름스마이어, 스펜

독일, 53121 본, 칼-유스티-슈트라쎬 23

명세서

청구범위

청구항 1

세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 세포의 현탁액에 전기장을 인가하기 위한 장치로서, 상기 장치는 현탁액을 유지하기 위한 적어도 하나의 내부 공간(40)을 포함하는 적어도 하나의 챔버(6)를 포함하며, 상기 내부 공간(40)은 적어도 2개의 세그먼트들(41, 42)을 포함하며, 각 세그먼트(41, 42)는 적어도 하나의 전극(43, 44, 45)을 포함하며 이웃하는 전극들(43, 44)은 절연 물질(46)로 적어도 부분적으로 채워지는 적어도 하나의 틈새(47)에 의해 서로 분리되는, 장치에 있어서,

내부 공간(40) 내의 서로 마주보는 전극들(43, 44)의 에지들(48, 49)이 둥글게 형성되는 것을 특징으로 하는 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 세포의 현탁액에 전기장을 인가하기 위한 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

전극들(43, 44)의 둥글게 형성된 에지들(48, 49)의 필렛 반경은 최대화되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

틈새(47)의 폭 및/또는 이웃하는 전극들(43, 44) 사이의 거리는 최소화되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서,

전극들(43, 44) 중 적어도 하나의 둥글게 형성된 에지들(48, 49)의 필렛 반경은 약 0.3 - 2.0 mm의 범위인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 5

제2항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

틈새(47)의 폭 및/또는 이웃하는 전극들(43, 44) 사이의 거리는 약 0.5 - 2.0 mm의 범위인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

내부 공간(40)을 향하는 절연 물질(46)의 표면(50)은 적어도 하나의 전극(43, 44)의 표면(51, 52)에 직각으로 연귀 결합되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

전극들 중 적어도 하나는 다른 것(들)보다 더 큰 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

적어도 하나의 전극(43, 44)은 5 - 20 mm 범위의 폭을 가지며 적어도 하나의 전극(45)은 20 - 80 mm 범위의 폭을 갖는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

틈새(47)가, 적어도 하나의 전극(45)의 부분이 상기 틈새(47) 맞은편에 배치되도록, 배열되는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

각 세그먼트(41, 42)에는 적어도 하나의 제1 전극(43, 44) 및 적어도 하나의 제2 전극(45)이 제공되며, 제2 전극(45)은 적어도 2개의 세그먼트들(41, 42)의 공통 전극인 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

챔버(6)의 내부 공간(40)의 루멘은 적어도 500 μl 의 용적을 갖는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 12

세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 세포의 현탁액에 전기장을 인가하기 위한 방법으로서, 전압이 현탁액을 유지하기 위한 적어도 하나의 내부 공간(40)을 포함하는 챔버(6)의 전극들(43, 44)에 인가되며, 상기 내부 공간(40)은 적어도 2개의 세그먼트들(41, 42)을 포함하며, 각 세그먼트(41, 42)는 적어도 하나의 전극(43, 44, 45)을 포함하는, 방법에 있어서,

전압이 적어도 하나의 활성 전극(43, 44)에 인가되며 반면에 활성 전극(43, 44) 다음 및/또는 맞은편 전극들(43, 44, 45) 또는 전극 세그먼트들은 접지 전위로 설정되는 것을 특징으로 하는 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 세포의 현탁액에 전기장을 인가하기 위한 방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

전압이 단지 하나의 활성 전극(43, 44)에 인가되며 반면에 내부 공간(40) 내의 모든 다른 전극들(43, 44, 45) 또는 전극 세그먼트들은 접지 전위로 설정되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서,

전압이 내부 공간의 적어도 2개의 전극들(43, 44) 또는 전극 세그먼트들에 순차적으로 인가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 15

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

챔버의 출구 포트에 가장 가까운 세그먼트는 제1 세그먼트로서 처리되며 이웃하는 세그먼트가 이어지며 이 순서에서 출구 포트에서 가장 먼 마지막 세그먼트가 처리될 때까지 처리되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 16

제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

각 세그먼트(41, 42)에는 적어도 하나의 제1 전극(43, 44) 및 적어도 하나의 제2 전극(45)이 제공되며, 전압이 제1 전극(43, 44)에 인가되며 제2 전극(45)은 적어도 2개의 세그먼트들(41, 42)의 공통 전극인 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 세포(cells), 세포유도체(cell derivatives), 세포소기관(organelles), 세포이하입자(sub-cellular particles) 및/또는 소포(vesicles)의 현탁액(suspension)에 전기장을 인가하기 위한 장치에 관한 것으로, 상기 장치는 현탁액을 유지하기 위한 적어도 하나의 내부 공간을 포함하는 적어도 하나의 챔버(chamber)를 포함하며, 상기 내부 공간은 적어도 2개의 세그먼트(부분)들(segments)을 포함하며, 각 세그먼트는 적어도 하나의 전극을 포함하며 이웃하는 전극들은 절연 물질로 적어도 부분적으로 채워지는 적어도 하나의 틈새(간극)(gap)에 의해서로 분리된다. 본 발명은 또한 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포의 현탁액에 전기장을 인가하기 위한 방법에 관한 것으로, 전압이 현탁액을 유지하기 위한 적어도 하나의 내부 공간을 포함하는 챔버의 전극들에 인가되며, 상기 내부 공간은 적어도 2개의 세그먼트들을 포함하며, 각 세그먼트는 적어도 하나의 전극을 포함한다.

배경기술

[0002] 생물학적 활성 분자들, 예를 들면 DNA, RNA 또는 단백질을 살아 있는 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포 내로의 도입은 예를 들면 이들 분자들의 생물학적 기능을 검사하는데 도움을 주며, 또한 예를 들면 유전자 치료에서 이들 분자들의 치료 용도의 성공을 위한 필수적인 전제 조건이다. 외부 분자들을 세포 내로 도입하기 위한 바람직한 방법은 전기천공법(electroporation)이라 불리우며, 이것은 화학적 방법들과는 달리 표적 세포의 구조와 기능에 있어서 바람직하지 않은 변화를 제한한다. 전기천공법에서 외부 분자들은 세포막을 외부 분자들에 대해 일시적으로 투과 가능하게 하는 짧은 전류 흐름, 즉, 예를 들면, 방전 커패시터의 펄스를 통해 수용액, 바람직하게는 세포에 특별히 맞춰진 완충용액 또는 세포배양배지로부터 세포 내로 도입된다. 세포막에 형성된 일시적인 "기공"은 생물학적 활성 분자들이 먼저 그들의 기능을 수행할 수 있거나 또는 검사될 어떤 치료 작용을 발휘할 수 있는 세포질에 도달하는 것을 가능하게 하며, 그 다음, 어떤 조건들 하에서는, 필요한 경우, 예를 들면, 유전자 치료 적용들에서 세포핵에 또한 도달하는 것을 가능하게 한다.

[0003] 강한 전기장의 짧은 인가, 즉 높은 전류 밀도를 갖는 짧은 펄스로 인해, 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포가 또한 융합될 수 있다. 이러한 소위 전기(세포)융합(electrofusion)에서, 세포들은, 예를 들면, 처음에는 불균일한 교류 전기장에 의해 밀접한 (세포)막(membrane) 접촉 상태로 가져오게 된다. 후속하는 전기장 펄스의 인가는 막 부분들 사이의 상호 작용으로 이어지며, 궁극적으로 융합을 가져온다. 전기천공법(electroporation)을 위해 사용되는 장치들과 비슷한 장치들이 전기융합법에서도 또한 사용될 수 있다.

[0004] 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포의 현탁액의 더 작은 용량이 일반적으로 상대적으로 단순한 용기 내에서 배치법(batch process)으로 처리된다. 용액 또는 세포 현탁액은, 각각, 흔히 큐벳, 즉 맨 위가 개방된 좁은 용기에 위치하며, 큐벳은 맨 아래 부분 근처에서 2개의 대향하는, 평행한 전극들을 측벽들에 가지며 이것은 전압을 인가하는데 도움을 준다. 그러나, 이러한 용기들은 대용량을 처리를 위해서는 바람직하지 않는데 왜냐하면 전기적 처리를 위해 사용 가능한 반응 공간은 전극들 사이의 제한된 최대 거리에 의해 제한되기 때문이다. 따라서, 세포 또는 소포 현탁액이 전극들 사이의 반응 공간을 통해 연속적으로 또는 불연속적으로 이송되는 관류 공정(flow-through process)은 흔히 대용량의 전기천공법 또는 전기세포융합을 위해 사용된다.

[0005] WO 2011/161092 A1은 용기의 바닥에서 성장하는 부착 세포들에 전기장을 인가하기 위한 전극 어셈블리를 개시한다. 전극 어셈블리는 용기 내로 삽입되도록 설계되며 복수의 전극들을 포함하며, 각각은 다음 전극의 대응 표면 맞은편에 배치되는 표면을 갖는다. 이들 표면들 사이의 틈새는 전기 절연 물질로 완전히 채워져서 전압 펄스, 또는 이에 의해 발생된 전류가 세포들을 통해 흐르도록 전기장은 처리될 세포들의 영역에 집중된다.

[0006] US 2007/0128708 A1은 분할된 챔버의 생물 세포 또는 소포를 운반하는 비교적 대용량의 유체 매체를 전기천공하기 위한 스케일러블 장치(scalable device)를 개시하며, 각 부분(segment)은 2개의 전극들을 포함한다. 챔버의 유효용량은 챔버의 종축을 따라 플런저를 이동시킴에 의해 변할 수 있다. 따라서, 선택된 용량은 전기천공될 샘플의 용량에 직접 관련된다. 샘플은 챔버의 단부벽에 배치된 포트를 통해 챔버 내로 흡인되고 챔버로부터 제거된다. 챔버 내 샘플은 챔버의 개별 부분들의 전극 쌍들에 전압 펄스를 순차적으로 인가함에 의해 처리된다.

[0007] 그러나, 특히 고전압이 분할된 전극들에 인가되는 경우, 아크 발생의 위험이 증가되며, 전기력선들이 활성 전극 세그먼트(들) 외의 영역으로 확산될 수 있다는 것은 종래기술 장치 및 방법의 또 다른 단점이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 따라서 본 발명의 목적은 전류를 낮게 유지하기 위해 분할된 전극들을 가지며, 아크 발생의 위험이 감소되며 전기장이 활성 전극 세그먼트(들) 인접 영역으로 국한되는, 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포를 처리하기 위한 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적은 내부 공간 내의 서로 마주보는 전극들의 에지들이 등글게 형성되는, 서두에 명시한 바와 같은 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포의 현탁액에 전기장을 인가하는 장치에 의해 달성된다. 전압이 전극들에 인가되는 경우, 급격한 컨투어 변화의 영역(에지들)에서 또는 전기장의 불균등성 (inhomogeneity)이 활성 세그먼트의 전극 표면에 매우 가까이 발생하는 경우 아크 발생의 위험이 크게 증가된다. 놀랍게도, 이웃하는 전극을 향하는 전극들의 에지들이 등글게 형성하는 것은 이러한 전기장 구배(변화율)의 상당한 감소를 가져오며 따라서 아크 발생의 상당한 감소를 가져온다. 본 발명에 따르면, 챔버의 내부 공간 내의 특히 전극 세그먼트들 사이의 틈새들의 영역의 전극 표면 근처의 전기장의 균질화는 내부 공간의 루멘(lumen)(내강)을 향하는 제1 전극 표면으로부터 제1 전극 표면에 수직한 제2 전극 표면으로의 스무스한 형상 전이(smooth shape transition)를 제공하여 이에 의해 제2 전극 표면이 전극 틈새를 향하는 것에 의해 달성된다. 특히 스무스한 형상 전이는 곡선(만곡된) 전극 표면, 즉 더 큰 필렛(fillet) 반경으로부터 더 작은 필렛 반경으로의 곡선 전극 표면에 의해 제공된다(예를 들면 수개의 접선으로 연결된 원 세그먼트들 또는 스플라인).

[0010] 또한 장 구배들의 감소와 전기장의 균질화는 또한 내부 공간 내의 전기장의 감소된 산란(decreased scattering)을 가져온다. 따라서, 챔버의 내부 공간 내의 서로 마주보는 전극들의 등글게 형성되는 에지들은 높은 전계 강도가 방지되는 놀라운 효과를 갖는다.

[0011] 본 발명의 예시적인 실시형태에 따르면, 전극들의 등글게 형성된 에지들의 필렛 반경은 최대화된다. 놀랍게도, 등글게 형성된 에지들의 필렛 반경을 최대화함에 의해 전기장의 불균질성의 감소는 아크 발생의 가능성의 상당한 감소를 가져온다는 사실이 발견되었다. 즉, 등글게 형성된 에지들의 반경이 더 클수록, 아크 발생의 위험이 더 낮아진다.

[0012] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 틈새의 폭 및/또는 2개의 이웃하는 전극들 사이의 거리는 최소화된다. 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포가 틈새 주위의 내부 공간에서 충분히 처리되지 않기 때문에, 틈새(즉, 2개의 이웃하는 전극들 사이의 거리)는 가능한 작아야 한다. 따라서, 틈새의 폭이 작을수록, 처리의 효율은 더 높아진다.

[0013] 예를 들면, 본 발명에 따르는 장치의 설계는 필렛 반경 및 틈새 폭의 최적의 비율을 결정함에 의해 최적화될 수 있다. 즉, 전극들의 등글게 형성된 에지들의 필렛 반경은 최대화되어야 하며, 반면에 틈새의 폭은 최소화되어야 한다. 이상적인 설계는 매우 낮은 아크 발생 위험 및 매우 높은 처리 효율을 보장한다.

[0014] 많은 적용들에 적합한 예시적인 실시형태에서, 전극들 중 적어도 하나의 등글게 형성된 에지들의 필렛 반경은 약 0.3 - 2.0 mm 범위에 있다. 예를 들면, 상기 반경은 약 0.3 - 1.8, 0.3 - 1.6, 0.3 - 1.4, 0.3 - 1.2, 0.3 - 1.0, 0.5 - 2.0, 0.7 - 2.0, 0.9 - 2.0, 1.0 - 2.0, 0.4 - 1.9, 0.5 - 1.8, 0.6 - 1.7, 0.7 - 1.6, 0.8 - 1.5, 0.9 - 1.4, 또는 1.0 - 1.2 범위에 있을 수 있다.

[0015] 많은 적용들에 또한 적합한 동일 또는 다른 예시적인 실시형태에서, 틈새의 폭 및/또는 2개의 이웃하는 전극들 사이의 거리는 약 0.5 - 2.0 mm 범위에 있다. 예를 들면, 폭은 약 0.5 - 1.8, 0.5 - 1.6, 0.5 - 1.4, 0.5 - 1.2, 0.5 - 1.0, 0.6 - 2.0, 0.7 - 2.0, 0.9 - 2.0, 1.0 - 2.0, 0.6 - 1.9, 0.7 - 1.8, 0.8 - 1.7, 0.9 - 1.6, 1.0 - 1.5, 1.1 - 1.4, 또는 1.1 - 1.3 범위에 있을 수 있다.

[0016] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 내부 공간을 향하는 절연 물질의 표면은 적어도 하나의 전극의 표면에 직각으로 연귀 결합(miter)된다. 전극의 표면에 수직으로 배치되도록 절연 물질의 표면을 설계함에 의해, 전기장의 등전위선들은 전극의 표면과 직각으로 만나며 편향되지 않는다. 결과적으로, 챔버 내에서 전기장의 불균질성이 유지되는 것을 막을 수 있거나 또는 적어도 절연 물질 내의 영역으로 이동될 수 있거나 또는 활성 세그먼트의 전극 표면으로부터 떨어질 수 있게 되어 아크 발생의 가능성이 더욱 감소된다. 또한, 활성 전극 부근 최대 전계 강도가 감소된다.

- [0017] 동일 또는 다른 예시적인 실시형태에서, 본 발명에 따르는 장치의 설계는, 챔버의 내부 공간의 루멘을 향하는 전극 표면의 반경을 최대화하고 동시에 틸새 폭을 최소화하기 위하여, 전극들의 곡률에 대한 반경들을 변화시킴에 의해 최적화될 수 있다. 즉, 예시적인 실시형태에서, 내부 공간의 루멘을 향하는 전극 표면의 반경은 틸새의 절연 물질을 향하는 전극 표면의 반경보다 더 클 수 있다.
- [0018] 특히, 예시적인 실시형태에서, 내부 공간의 루멘을 향하는 전극 표면의 반경은 약 1.0 - 2.0 mm 범위이며, 틸새의 절연 물질을 향하는 전극 표면의 반경은 0.3 - 2.0 mm 범위이다. 이 실시형태의 또 다른 태양으로서, 내부 공간을 향하는 절연 물질의 표면이 정확히 전극 표면 곡률의 반경 변화의 위치에서 또는 그 근처에서 적어도 하나의 전극의 표면에 직각으로 연귀 결합된다.
- [0019] 2개의 이웃하는 전극들 사이의 틸새 내의 절연 물질은 예를 들면 폴리카보네이트를 포함하거나 또는 폴리카보네이트로 이루어질 수 있다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 전극들 중 적어도 하나는 다른 것(들)보다 더 크다. 예를 들면, 더 큰 전극이 더 작은 전극들 맞은편에 배치되는 상대 전극(counter electrode) 또는 접지 전극(ground electrode)일 수 있다. 이 실시형태에서, 더 작은 전극들은 고전압으로 설정되는 활성 전극들이거나 접지 전위로 설정되는 전극들일 수 있다.
- [0021] 많은 적용들에 적합한 예시적인 실시형태에서, 적어도 하나의 전극은 5 - 20 mm 범위의 폭을 가지며 적어도 하나의 전극은 20 - 80 mm 범위의 폭을 갖는다.
- [0022] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 틸새가, 적어도 하나의 전극의 부분이 상기 틸새 맞은편에 배치되도록, 배열된다. 이러한 유리한 배치에서 각 틸새는 다른 틸새 맞은편에 배치되지 않고 대신에 전극 맞은편에 배치되기 때문에, 효율적인 처리를 위해 충분한 전기장에 노출되지 않는 챔버의 내부 공간 내의 영역들은 최소화되거나 심지어 제거된다. 결과적으로, 전체 처리 효율이 이러한 수단에 의해 효과적으로 증가된다.
- [0023] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 각 세그먼트에는 적어도 하나의 제1 전극 및 적어도 하나의 제2 전극이 제공되며, 제2 전극은 적어도 2개의 세그먼트들의 공통 전극이다. 이러한 배치 형태는 본 발명에 따르는 장치의 구성 및 조립을 용이하게 하며 또한 복잡한 배선을 방지한다.
- [0024] 예를 들면, 본 발명에 따르는 장치의 챔버는 서로 부착될 수 있는 대응 부품들을 포함할 수 있다. 즉, 본 발명에 따르는 장치는, 예를 들면 2개의 부품들을 서로 부착함에 의해 조립될 수 있으며, 각 부품은 다른 부품의 리세스에 대응하는 리세스를 포함한다. 이들 2개의 부품들이 서로 부착되는 경우, 그들의 정렬된 리세스들은 챔버의 내부 공간을 형성한다. 내부 공간 내에 전기장을 형성할 수 있기 위하여, 각 리세스에는 적어도 하나의 전극이 제공될 수 있다. 전극들의 적어도 일부는 분할될 수 있다. 예를 들면, (대칭축의 일측에 있는) 전극들의 일 반부(half)는 분할될 수 있으며 반면에 (대칭축의 다른측에 있는) 전극들의 다른 반부는 단일의, 분할되지 않는 전극일 수 있으며 이것은 카운터 전극으로서 사용될 수 있다. 유리한 실시형태에서, 2개의 부품들은 비용 효율적인 제조가 보장되도록 동일하다. 동일한 부품들이 회전 대칭적이기 때문에, 부품들을 서로 부착시킴에 의한 용이한 조립이 보장된다.
- [0025] 본 발명의 예시적인 실시형태에서, 적어도 하나의 세그먼트는 약 10 μl 내지 500 μl 또는 20 μl 내지 400 μl 또는 30 μl 내지 300 μl 또는 50 μl 내지 200 μl 범위의 용량을 갖는다.
- [0026] 동일 또는 다른 예시적인 실시형태에서, 챔버의 내부 공간의 루멘은 적어도 500 μl 또는 적어도 800 μl 또는 적어도 1 ml의 용적을 갖는다.
- [0027] 본 발명은 또한 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 세포의 현탁액에 전기장을 인가하기 위한 장치, 예를 들면, 위에 기재된 바와 같은 본 발명에 따르는 장치를 제조하기 위한 방법에 관한 것으로, 적어도 하나의 챔버가 제공되며, 상기 챔버는 현탁액을 유지하기 위한 적어도 하나의 내부 공간을 포함하며, 내부 공간은 적어도 2개의 세그먼트들을 포함하며, 각 세그먼트는 적어도 하나의 전극을 포함하며, 이웃하는 전극들을 서로 분리시키는 적어도 하나의 틸새(간극) 내로 절연 물질이 적어도 부분적으로 채워지며, 내부 공간 내의 서로 마주보는 전극들의 에지들이 둥글게 형성되도록 기계 가공된다. 이러한 유리한 설계로 인해, 전압이 전극에 인가되는 경우 아크 발생의 위험이 크게 감소된다.
- [0028] 이러한 방법의 예시적인 실시형태에 따르면, 전극들의 둥글게 형성된 에지들의 필렛 반경은 최대화된다. 본 방법의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 틸새의 폭 및/또는 2개의 이웃하는 전극들 사이의 거리는 최소화된다. 예를 들면, 본 발명에 따르는 장치의 설계는 필렛 반경 및 틸새 폭의 최적의 비율을 결정함에 의해 최적화될 수

있다. 즉, 전극들의 둥글게 형성된 예지들의 필렛 반경은 최대화되어야 하며, 반면에 틈새의 폭은 최소화되어야 한다. 이상적인 설계는 매우 낮은 아크 발생 위험 및 매우 높은 처리 효율을 보장한다.

- [0029] 본 방법의 또 다른 예시적인 실시형태에 따르면, 내부 공간을 향하는 절연 물질의 표면은 적어도 하나의 전극의 표면에 직각으로 연귀 결합(miter)되도록 형성된다. 전극의 표면에 수직으로 배치되도록 절연 물질의 표면을 설계함에 의해, 전기장의 등전위선들은 전극의 표면과 직각으로 만나며 편향되지 않는다. 결과적으로, 챔버 내에서 전기장의 불균질성이 유지되는 것을 막을 수 있거나 또는 적어도 절연 물질 내의 영역으로 이동될 수 있거나 및/또는 활성 전극 표면으로부터 떨어질 수 있게 되어 아크 발생의 가능성이 더욱 감소된다. 또한, 활성 전극 부근 최대 전계 강도가 감소된다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 상기 장치에 통합되는 전극들 중 적어도 하나는 다른 것(들)보다 더 크다. 예를 들면, 더 큰 전극이 더 작은 전극들 맞은편에 배치되는 상대 전극(counter electrode) 또는 접지 전극(ground electrode)일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 더 작은 전극들은 고전압으로 설정되는 활성 전극들이거나 접지 전위로 설정되는 전극들일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 각 세그먼트에는 적어도 하나의 제1 전극 및 적어도 하나의 제2 전극이 제공될 수 있으며, 제2 전극은 적어도 2개의 세그먼트들의 공통 전극이다. 이러한 배치 형태는 본 발명에 따르는 장치의 구성 및 조립을 용이하게 하며 또한 장치의 제조 동안 복잡한 배선을 방지한다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 틈새가, 적어도 하나의 전극의 부분이 상기 틈새 맞은편에 배치되도록, 배열된다. 이러한 유리한 배치에서 각 틈새는 다른 틈새 맞은편에 배치되지 않고 대신에 전극 맞은편에 배치되기 때문에, 효율적인 처리를 위해 충분한 전기장에 노출되지 않는 챔버의 내부 공간 내의 영역들은 최소화되거나 심지어 제거된다. 결과적으로, 전체 처리 효율이 이러한 수단에 의해 효과적으로 증가된다.
- [0032] 상기 목적은 또한 전압이 적어도 하나의 활성 전극에 인가되며 반면에 활성 전극 다음 및/또는 맞은편 전극들 또는 전극 세그먼트들은 접지 전위로 설정되는, 서두에 명시한 바와 같은 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포 이하입자 및/또는 소포의 현탁액에 전기장을 인가하기 위한 방법에 의해 달성된다. 활성 전극을 둘러싸는 이웃하는 전극들을 접지 전위로 설정하는 것은 내부 공간 내의 전기장의 감소된 산란을 야기하여 전기 활성 영역이 국부적으로 제한되며 전기력선들이 활성 전극 가까이 집중되며 따라서 특히 분할된 챔버에서 대용량이 처리되는 경우, 프로세스의 제어가 향상된다.
- [0033] 본 발명의 예시적인 그리고 유리한 실시형태에서, 전압이 단지 하나의 활성 전극에 인가되며 반면에 내부 공간 내의 모든 다른 전극들 또는 전극 세그먼트들은 접지 전위로 설정된다. 활성 전극을 제외하고 챔버의 내부 공간 내의 모든 전극들을 접지 전위로 설정하는 것은 전기력선들이 활성 전극 부근의 내부 공간 내에 집중되며 따라서 단지 챔버의 활성 세그먼트 내에 집중되며 그리고 국부적으로 이웃하는 전극들을 향해 점점 감소한다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 전압이 내부 공간의 적어도 2개의 전극들 또는 전극 세그먼트들에 순차적으로 인가된다. 챔버의 내부 공간의 각 세그먼트가 전기적으로 개별적으로 주소가 표시될 수 있어 챔버 내 전기장의 제어된 형성이 정확하게 달성될 수 있다는 것은 본 발명의 유리한 점이다. 예를 들면, 현탁액의 원하지 않는 가열 및/또는 아크 발생을 피하기 위하여, 전압 펄스가 상이한 세그먼트들에 순차적으로 인가될 수 있다. 이를 위해, 각 세그먼트에는 개별적으로 주소가 표시될 수 있는 적어도 하나의 전극이 제공되어 전압 펄스들이 챔버의 세그먼트들에 순차적으로 인가될 수 있다.
- [0035] 예를 들면, 챔버의 출구 포트에 가장 가까운 세그먼트는 제1 세그먼트로서 처리되며 이웃하는 세그먼트가 이어지며 이 순서에서 출구 포트에서 가장 먼 마지막 세그먼트가 처리될 때까지 처리된다. 즉, 전압이 우선 챔버의 출구 포트에 가장 가까운 세그먼트에 인가되며, 이웃하는 세그먼트가 이어지며 이 순서에서 출구 포트에서 가장 먼 마지막 세그먼트에 전압이 인가될 때까지 인가된다. 본 발명의 이러한 예시적인 실시형태에서, 출구 포트에 가장 가까운 세그먼트는 제1 세그먼트로서 처리되며 이웃하는 세그먼트가 이어지며 이 순서에서 출구에서 가장 먼 마지막 세그먼트가 처리될 때까지 처리된다. 이 처리 순서는 세포 현탁액에 고전압의 인가 동안 발생하는 가스 버블들이 미처리 샘플들을 출구를 향해 및/또는 출구 밖으로 밀지 않고 처리된 샘플만 미는 것을 확실하게 한다.
- [0036] 본 발명의 또 다른 예시적인 실시형태에서, 각 세그먼트에는 적어도 하나의 제1 전극 및 적어도 하나의 제2 전극이 제공되며, 전압이 제1 전극에 인가되며 제2 전극은 적어도 2개의 세그먼트들의 공통 전극이다. 따라서, 장치의 내부 공간의 전극들의 수는 크게 감소되어 프로세스의 제어가 용이해진다.
- [0037] 본 명세서에서 사용된 용어 "둥글게 형성된(rounded)"은 굴곡 및 평평한 표면으로 평평한 영역에서 다른 평평한

영역으로의 형상 전이가 접선인 것을 언급한다.

[0038] 본 명세서에서 사용된 용어 "활성 전극(active electrode)"은 전압이 인가되지만 접지 전위로 설정되지 않는 전극을 언급한다. 예를 들면, "활성 전극"은 고전압 전위로 설정되는 전극일 수 있다.

[0039] 본 명세서에서 사용된 용어 "전극 세그먼트(electrode segment)"는 분할된 전극의 분리된 부분, 즉 상이한 부분들로 나누어진 전극으로, 분할된 전극의 분리된 부분들은 전기적으로 서로 연결되지 않는다.

[0040] 본 명세서에서 사용된 용어 "세그먼트(segment)"는 적어도 하나의 전극 또는 전극 세그먼트를 포함하는 챔버의 내부 공간의 영역을 언급한다.

[0041] 본 명세서에서 사용된 용어 "활성 세그먼트(active segment)"는 적어도 하나의 활성 전극을 포함하는 챔버의 세그먼트를 언급한다.

발명의 효과

[0042] 본 발명은 전류를 낮게 유지하기 위해 분할된 전극들을 가지며, 아크 발생의 위험이 감소되며 전기장이 활성 전극 세그먼트(들) 인접 영역으로 국한되는, 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포를 처리하기 위한 장치 및 방법을 제공하는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0043] 본 발명은 이하에서 도면을 참조로 상세히 예시적으로 설명된다.

도 1은 회전 가능한 조정 수단 및 곡선 챔버 설계를 포함하는 본 발명에 따르는 장치의 개별 부품의 예시적인 실시형태를 도시한다.

- a) 하부 종단점에 있는 위치에서의 분리 요소
- b) 중간 위치에서의 분리 요소

도 2는 도 1에 따르는 장치의 분리 요소의 상이한 위치들의 개략도를 도시한다.

- a) 하부 종단점 위치
- b) 상부 종단점 위치
- c) 중간 위치
- d) 파킹(고정) 위치

도 3은 도 1에 따르는 장치의 외측의 사시도를 도시한다.

도 4는 도 3에 따르는 베이스 부재의 상이한 도면들을 도시한다.

- a) 전극들을 구비한 베이스 부재의 내측;
- b) 전도성 영역들을 구비한 베이스 부재의 외측.

도 5는 본 발명에 따르는 장치의 예시적인 실시형태의 개략적인 횡단면도를 도시한다.

- a) 8개의 세그먼트들을 포함하는 내부 공간;
- b) 2개의 세그먼트들을 포함하는 a)에 따르는 내부 공간의 부분

도 6은 도 5에 따르는 장치의 실시형태에 고전압이 인가되는 경우의 전기장의 시뮬레이션을 도시한다.

도 7은 2개의 이웃하는 전극들 또는 전극 세그먼트들 사이에 큰 틈새 및/또는 거리를 갖는 장치에 고전압이 인가되는 경우 전기장의 시뮬레이션을 도시한다.

도 8은 종래의 전극 설계를 갖는 장치에 고전압이 인가되는 경우 전기장의 시뮬레이션을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 도 1a 및 도 1b는 본 발명에 따르는 장치(1)의 개별 부품의 예시적인 실시형태를 도시한다. 장치(1)는 4개의 전극들(4, 5)이 제공되는 곡선 리세스(recess)(3)를 갖는 베이스 부재(base member)(2)를 포함한다. 이들 전극들

중 3개는 세그먼트(segment) 전극들(4)이며, 반면에 하나의 전극은 카운터 전극(counter electrode)(5)이다. 베이스 부재(2)는 서로 부착되는 2개의 부품들로 조립되는 장치(1)의 하나의 부품에 해당하며, 이들 부품들의 적어도 내측은 동일하다. 즉, 동일한 내측을 갖는 베이스 부재(2) 및 제2 베이스 부재(도 3에 도시된 베이스 부재(30))는 서로 부착되며 따라서 리세스(3)와 제2 베이스 부재의 대응 리세스는 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포의 현탁액을 유지하기 위한 챔버(6)를 형성한다. 이 챔버(6)에서, 예를 들면, 핵산 또는 단백질과 같은 생물학적 활성 분자들을 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포로 도입하기 위해, 전기장이 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포에 인가될 수 있다. 이를 위해, 베이스 부재(2)의 전극들(4, 5) 및 제2 베이스 부재의 대응 전극들이 전극 쌍을 이루며, 베이스 부재(2)의 세그먼트 전극들(4) 및 맞은편에 배치된 제2 베이스 부재의 카운터 전극은 3개의 전극 쌍들을 이루며, 베이스 부재(2)의 카운터 전극(5) 및 제2 베이스 부재의 3개의 맞은편에 배치된 세그먼트 전극들은 또한 3개의 전극 쌍들을 이룬다. 이 구성에서 베이스 부재(2)의 카운터 전극(5)과 제2 베이스 부재의 카운터 전극은 3개의 세그먼트들의 각 공통 전극들이며 따라서 챔버(6)는 6개의 세그먼트들을 포함하며, 각 세그먼트에는 하나의 세그먼트 전극 및 하나의 공통 카운터 전극의 영역이 제공된다.

[0045] 2개의 부품들(7, 8)이 챔버(6)의 일 단부(9)에 배치되며 2개의 포트들(10, 11)이 챔버(6)의 반대편 단부(12)에 배치된다. 상부 포트들(7, 8) 중 하나의 포트는 챔버(6)를 충전하기 위한 입구 포트로서 사용될 수 있으며, 포트들(7, 8) 중 다른 하나의 포트는 챔버(6)의 배출을 위한 출구 포트로서 사용될 수 있다. 유사하게, 하부 포트들(10, 11) 중 하나의 포트는 챔버(6)를 충전하기 위한 입구 포트로서 사용될 수 있으며, 포트들(10, 11) 중 다른 하나의 포트는 챔버(6)를 배출하기 위한 출구 포트로서 사용될 수 있다. 따라서, 각 단부(9, 12)에는 2개의 포트들(7, 8, 10, 11)이 제공되며 이를 통해 챔버(6)의 각 구획은 현탁액으로 충전될 수 있으며 및/또는 이를 통해 현탁액이 이 구획에서 제거될 수 있다. 이러한 구성은 챔버(6)의 동시 충전 및 배출을 가능하게 하며 따라서 현탁액의 교체에 소요되는 시간 및 따라서 2개의 후속하는 현탁액의 전기적 처리들 사이의 시간 지연이 최소화된다. 챔버(6)의 반대편 단부들(9, 12)에 포트들(7, 8, 10, 11)을 제공하는 것은 현탁액이 챔버(6)의 2개의 단부들(9, 12) 사이에서 이동될 수 있는 푸시 풀 기구(push-pull mechanism)를 용이하게 설정하는 것을 가능하게 하여, 챔버(6)의 하나의 단부(9)에서 하나의 구획을 충전하고 동시에 챔버(6)의 반대편 단부(12)에서 다른 구획을 배출시킨다. 따라서, 장치(1)는 관류 장치가 아니라 푸시 풀 기구에 의해 챔버(6)의 충전 및 배출을 동시에 가능하게 하는 장치이며, 액체는 항상 그것이 챔버로 들어오는 것과 동일한 측에서 챔버를 떠난다.

[0046] 전기장에 의해 이미 처리된 현탁액을 처리될 현탁액으로부터 분리하기 위하여, 분리 요소(13)가 제공된다. 분리 요소(13)는 2개의 중단점들(14, 15) 사이의 챔버(6) 내에서 이동될 수 있으며 도 1b 및 도 2c에 도시된 바와 같이 분리 요소가 2개의 중단점들(14, 15) 사이의 위치에 있는 경우 분리 요소는 챔버(6)를 2개의 구획들로 나눈다. 도 1 및 도 2에 도시된 예시적인 실시형태에서 분리 요소(13)는 서로 이격되며 압축성 물질을 포함하는 내부 공간(18) 옆에 배치되는 2개의 부품들(16, 17)을 포함한다. 2개의 이격된 부품들(16, 17)은 와이퍼-형상 핑거(wiper-like finger)들이며 따라서 분리 요소(13)는 중단점들(14, 15) 사이의 위치에 있는 경우(도 1b 및 2c) 챔버(6)의 상이한 구획들 사이의 액체 배리어(barrier) 및/또는 가스 배리어 제공하는 밀봉 부재이다. 이를 위해, 분리 요소(13)는 가요성 및/또는 탄성 물질로 제조될 수 있으며 따라서 챔버(6) 내의 압력 피크를 또한 보상할 수 있다. 분리 요소(13)는 또한 챔버(6)의 최적의 클리어링(clearing)을 위해 밀봉 립(sealing lip)을 포함할 수 있다. 챔버(6) 내의 효과적인 압력 보상을 제공하기 위하여, 내부 공간(18)을 채우는 압축성 물질은 공기 또는 임의의 다른 가스, 또는 압축성 폼(foam) 또는 셀룰러 물질일 수 있다. 따라서, 분리 요소(13)는 또한 챔버(6) 내 압력 변화의 균형을 맞추는 일종의 쿠션으로서 기능한다.

[0047] 분리 요소(13)는 조정 요소(19)에 연결되며 조정 요소는 분리 요소(13)를 작동 및/또는 제어한다. 즉, 분리 요소(13)는 조정 요소(19)에 의해 챔버(6) 내에서 이동될 수 있다. 조정 요소(19)는 챔버(6) 외부에 배치되며 따라서 챔버(6)의 각 구획은 장치(1)의 기능에 영향을 미칠지도 모르는 어떤 간섭 요소도 전혀 없다. 조정 요소(19)는 분리 요소(13)의 이격된 부품들(16, 17)에 작동적으로 연결된 회전 가능한 바디(20)를 포함한다. 이 예시적인 실시형태에서, 회전 가능한 바디(20)는 이중 화살표(21)를 따라 회전 운동을 수행할 수 있도록 분리 요소(13)를 움직이는 로터형 요소이다. 이 실시형태는 곡선 챔버(6) 내에서 분리 요소(13)의 정확한 제어 및 일정한 운동을 보장한다. 회전 가능한 바디(20)는 챔버(6)에 대해 조정 요소(19)를 밀봉하는 개스킷(22)에 의해 둘러싸여 있고, 회전 가능한 바디(20)는 탄성 물질로 제조되는 스포크(spoke)(23)를 통해 개스킷(22)에 연결된다.

[0048] 장치(1)는 밀봉 인레이(sealing inlay)(24)를 또한 포함하며 밀봉 인레이는 상술한 개스킷(22) 맞은편 챔버(6)의 외측을 따라 연장하며 챔버(6)의 구획들(26 및 27)을 서로에 대해 밀봉한다. 밀봉 인레이(24)는 탄성 및 압축성 물질, 예를 들면, 실리콘 폼(foam) 또는 유사한 불활성 물질로 제조되며, 따라서 챔버 내 압력 보상을 가

능하게 한다.

- [0049] 유리하게는, 장치(1)는 챔버(6) 외부에 분리 요소(13)를 고정하기 위한 수단을 포함하며, 따라서 스케일러블(scalable) 챔버(6)는 도 2d에 도시된 바와 같은 고정 용량을 갖는 정적(static) 챔버(6)로 용이하게 변형될 수 있다. 이를 위해, 분리 요소(13)는 고정되는 파킹 위치(25)로 조정 요소(19)에 의해 이동되며, 따라서 현탁액을 배치법(batch process)으로 처리하기 위해 챔버(6)의 전체 용적을 제공한다.
- [0050] 도 2a 내지 도 2d는 도 1에 따르는 장치(1)의 분리 요소(13)의 상이한 위치들을 도시한다. 본 발명에 따르는 방법은 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포의 현탁액을 전기적으로 처리하기 위한 스케일러블 프로세스이다. 도 2a에서 분리 요소(13)는 하부 중단점(15)에 있는 위치에 놓인다. 분리 요소(13)가 상부 중단점(14)에 있는 위치로 회전되는 경우(도 2b), 현탁액의 제1 분액이 하부 포트들(10, 11) 중 하나에 주입되며 따라서 챔버(6) 내로 충전된다. 그 다음 제1 분액은 현탁 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포에 전기장을 인가함에 의해 챔버(6) 내에서 처리된다. 이어서, 처리된 제1 분액은 분리 요소(13)를 하부 중단점(15) 위치로 다시 회전시킴에 의해 하부 포트들(10, 11) 중 하나를 통해 배출되며, 동시에 현탁액의 제2 분액은 상부 포트들(7, 8) 중 하나에 제공되며, 따라서 챔버(6) 내로 충전된다. 그 다음 제2 분액은 현탁 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포에 전기장을 인가함에 의해 챔버(6) 내에서 처리된다. 이어서, 처리된 제2 분액은 분리 요소(13)를 상부 중단점(14) 위치로 다시 회전시킴에 의해 상부 포트들(7, 8) 중 하나를 통해 배출되며, 동시에 현탁액의 제3 분액은 하부 포트들(10, 11) 중 하나에 주입되며, 따라서 챔버(6) 내로 충전된다. 그 다음 제3 분액은 현탁 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 소포에 전기장을 인가함에 의해 챔버(6) 내에서 처리된다. 현탁액의 동시 충전 및 배출을 갖는 푸시 풀 메커니즘은 전체 현탁액이 처리될 때까지 반복될 수 있다.
- [0051] 분리 요소(13)가 중단점들(14, 15) 사이의 위치에 있는 경우(도 2c), 분리 요소(13)는 챔버(6)를 2개의 구획들(26, 27)로 분리하며, 챔버(6)의 각 구획(26, 27)은 현탁액을 유지하도록 설계되며 챔버(6)의 충전 또는 배출을 위해 2개의 포트들(7, 8 및 10, 11)을 포함한다. 각 구획(26, 27)은 포트들(7, 8 및 10, 11)을 통해 챔버(6) 내외로 이동 가능한 현탁액의 분액을 수용하고 유지할 수 있다. 구획들(26, 27) 각각은 또한 하나의 포트(7, 10)가 제공되며 이를 통해 각 구획(26, 27)은 현탁액으로 채워질 수 있으며, 그리고 하나의 포트(8, 11)가 제공되며 이를 통해 현탁액이 구획(26, 27)으로부터 제거될 수 있다. 분리 요소(13)가 회전할 때, 챔버(6)의 하나의 구획(26, 27)은 샘플의 분액으로 채워지며, 샘플의 다른 분액은 배출되며 다른 구획(26, 27)으로부터 밀려 나간다. 샘플의 유입을 위한 용기는 상부 및 하부 입구 포트(7, 10)에 연결될 수 있으며 상부 및 하부 출구 포트(8, 11)는 처리된 샘플을 위한 레저버(reservoir)에 연결될 수 있다. 도 2로부터 명백하게 되는 바와 같이, 장치(1)는 관류(flow-through) 방식으로 작동하지 않고 푸시 풀(push-pull) 방식으로 작동하며, 주입된 샘플은 충전되는 것과 동일측에서 처리 후 배출된다. 챔버(6)는 6개의 전극 세그먼트들을 가지며, 그 중 하나는 분리 부재(13)에 의해 항상 커버되며(덮이며) 따라서 사용할 수 없다. 예를 들면, 챔버(6)는 사이클 당 834 μl 를 담당할 수 있다. 따라서, 이 경우, 전체 사이클에서 1668 μl 이 처리될 수 있다.
- [0052] 본 발명의 유리한 실시형태에서, 분리 요소는 하나 또는 그 이상의 세그먼트 전극을 정확히 커버하여 동일한 전기 파라미터들이 각각의 다른 전극 세그먼트 내에서 설정될 수 있도록 조정된다.
- [0053] 장치(1)의 정적 변형에는 분리 요소(13)가 회전하는 것을 가능하게 하지 않는다. 대신에 분리 요소(13)는 파킹 위치(25)에서 챔버(6) 외부에 고정되며, 도 2d에 도시된 바와 같이 어떤 전극 세그먼트도 가리지(덮지) 않는다. 이 변형예의 경우, 모두 6개의 전극 세그먼트들이 사용될 수 있으며 따라서 1000 μl 샘플이 처리될 수 있다. 예를 들면, 샘플은 장치(1)의 하부 또는 상부 입구 포트(7, 10)에서 주입될 수 있으며 하부 출구 포트(11)에 모일 수 있다. 장치(1)의 이 상태에서는 반복적인 충전이 가능하지 않다.
- [0054] 도 3은 도 1에 따르는 장치(1)의 외측의 사시도를 도시한다. 장치(1)는 베이스 부재(30)를 포함하며, 그 내측(미도시)은 도 1에 따르는 베이스 부재(2)의 내측과 동일하다. 베이스 부재(30)는 서로 부착되는 2개의 부품들(베이스 부재들 2 및 30)로 조립되는 장치(1)의 또 다른 부품을 나타낸다. 그 외측부에서, 베이스 부재(30)에는 도 1 및 도 2에 따르는 챔버(6)의 포트들(7, 8, 10, 11)에 도관들을 연결하기 위한 커넥터들(31)이 제공된다. 처리될 현탁액을 위한 하나 또는 그 이상의 용기와 처리된 현탁액을 위한 하나 또는 그 이상의 레저버가 적절한 도관을 통해 커넥터(31)에 연결될 수 있다. 현탁액은 펌핑 요소, 예를 들면, 진공 펌프 또는 연동 펌프 등에 의해 챔버 내로 충전 및 챔버로부터 배출될 수 있으며, 펌핑 요소는 용기(들)/레저버(들) 및 커넥터(31) 사이의 현탁액 회로에 연결될 수 있다. 장치(1)를 통상의 도관 및 펌핑 시스템과 호환이 될 수 있게 하기 위하여, 커넥터(31)는 루어 슬립 커넥터(Luer slip connector) 또는 루어 락 커넥터(Luer lock connector)가 될 수 있다.

- [0055] 장치(1)의 조정 요소(19)는 워 기어, 스피어 기어, 베벨 기어, 기어 로드, 벨트 구동장치, 및 각봉강(square-bar steel), 또는 유사한 기어 메커니즘 또는 동력 전달 요소(미도시)를 통해 동력 유닛(미도시), 예를 들면, 전기 모터에 연결될 수 있다.
- [0056] 베이스 부재(30)는 또한 챔버 내 전극에 전기 연결을 제공하기 위해 다수의 전도성 영역들(32)을 포함한다. 전도성 영역들(32)은 전기 전도성 폴리머, 특히 전기 전도성 물질로 도핑된 폴리머 또는 본질적으로 전도성인 폴리머를 포함할 수 있다. 전도성 영역들(32)은 전극들과 적어도 하나의 전기 접촉점(33) 사이에 전기적 연결부를 제공하도록 설계된다. 이 실시형태에서 전도성 영역들(32)은 베이스 부재(30) 내의 홀들이며 홀들은 전기 전도성 물질로 적어도 부분적으로 채워진다. 전도성 영역들(32)은 적어도 하나의 전도성 경로, 예를 들면, 베이스 부재의 층 상의 구리 트랙들(미도시)을 통해 적어도 하나의 전기 접촉점(33)과 전기적으로 연결된다. 전기 접촉점은 적어도 하나의 전기 접촉에 의해 접촉되어 전원에 직접 또는 간접적인 전기 연결을 제공할 수 있다.
- [0057] 도 4a 및 4b는 도 3에 따르는 베이스 부재(30)의 상이한 도면들을 도시한다. 베이스 부재(30)의 내부 표면(34)은 도 4a)에 도시된다. 전극들(4, 5)이 내부 표면(34)에 부착된다. 이들 전극들(4, 5) 중 3개는 세그먼트 전극들(4)이며 이들 전극들(4, 5) 중 하나는 보다 큰 카운터 전극(5)이다. 전극들(4, 5)은 베이스 부재(30)의 내부 표면(34)으로부터 외부 표면(35)으로 연장하는 전도성 영역들(32)에 부착되고 연결된다. 예를 들면, 전극들(4, 5) 및 전도성 영역(32) 내의 전기 전도성 물질은 동일한 물질, 예를 들면, 전기 전도성 폴리머, 특히 전기 전도성 물질로 도핑된 폴리머 또는 위에서 기재된 바와 같은 본질적으로 전도성인 폴리머로 제조된다. 도 5a)에 상세히 도시된 바와 같이 폴리머는 베이스 부재(30)의 내부 표면(34) 및 전도성 영역(32)에 걸쳐 형성될 수 있으며 전도성 영역(32)의 홀들을 통해 연장된다. 전도성 영역들(32)은 적어도 하나의 전도성 경로(미도시)를 통해 적어도 하나의 전기 접촉점(33)에 전기적으로 연결된다. 전기 접촉점(33)은 적어도 하나의 전기 접촉에 의해 접촉되어, 전원에 직접 또는 간접적인 전기 연결을 제공할 수 있다. 본 발명의 유리한 실시형태에서 베이스 부재(30)는 인쇄회로기판(PCB)이다.
- [0058] 도 5a는 본 발명에 따르는 예시적인 장치의 내부 공간(40)의 부분의 예시적인 실시형태를 도시한다. 예를 들면, 내부 공간(40)은 도 1 및 도 2에 따르는 장치(1)의 챔버(6)의 일부일 수 있다. 내부 공간(40)은 8개의 세그먼트들(41.1, 41.2, 41.3, 41.4, 42.1, 42.2, 42.3, 42.4)를 포함하며, 각각은 전극(43.1, 43.2, 43.3, 43.4, 44.1, 44.2, 44.3, 44.4)을 포함한다. 2개의 또 다른 전극들(45.1 및 45.2)이 전극들(43.1, 43.2, 43.3, 43.4 및 44.1, 44.2, 44.3, 44.4) 맞은편에 각각 배치된다. 이웃하는 전극들은 전극들(43.1, 43.2, 43.3, 43.4, 44.1, 44.2, 44.3, 44.4)을 둘러싸며 이웃하는 전극들 사이의 각 틈새(47.1 - 47.8)를 채우는 절연 물질(46)에 의해 서로 분리된다. 절연 물질(46)은 예를 들면 폴리카보네이트, FR4 보드 또는 다른 절연물질들로 구성되거나 또는 적어도 이를 포함할 수 있다. 전극들(43.2 및 43.3)의 에지들의 특성들 및 틈새(47.2)의 특성들이 또한 도 5b를 참조로 상세히 설명된다. 이하에서 기술되는 이들 특성들은 다른 전극들(43.1, 43.4, 44.1, 44.2, 44.3, 44.4) 및 틈새들(47.1, 47.3 - 47.8)에 또한 적용될 수 있다.
- [0059] 도 5b는 각각 전극(43.2, 43.3)을 포함하는 2개의 세그먼트들(41.2, 41.3)을 포함하는 도 5a에 따르는 내부 공간(40)의 부분을 도시한다. 또 다른 전극(45.1)이 전극들(43.2, 43.3) 맞은편에 배치된다. 이웃하는 전극들(43.2, 43.3)은 전극들(43.3, 43.3)을 둘러싸며 이웃하는 전극들(43.2, 43.3) 사이의 틈새(47.2)를 채우는 절연 물질(46)에 의해 서로 분리된다. 원하지 않는 아크 발생을 피하기 위하여, 내부 공간(40) 내의 서로 마주보는 전극들(43.2, 43.3)의 에지들(48, 49)은 둥글게 형성된다. 둥글게 형성된 에지들(48, 49)은 전기장의 교란 구배들의 상당한 감소를 보장한다. 전기장의 구배들은 불필요한 높은 국부 전계 강도를 형성하여 원하지 않는 아크 발생의 위험을 증가시킨다. 또한, 내부 공간(40) 내의 그리고 특히 전극들(43.2, 43.3)의 표면에 인접한 전기장의 균질화는 평평한 전극 표면으로부터 곡선 전극 표면으로, 즉 더 큰 필렛 반경으로부터 더 작은 필렛 반경으로의 스무스한 형상 전이(smooth shape transition)를 제공함에 의해 달성될 수 있다. 이러한 전극 설계는 또한 내부 공간(40) 내의 전기장의 감소된 산란(decreased scattering)을 가져오며, 따라서 전기력선들이 전극들(43.2, 43.3) 가까이 집중된다.
- [0060] 본 발명에 따르는 장치의 설계는 각각의 둥글게 형성된 에지(48, 49)의 반경과 틈새(47.2) 폭의 최적의 비율을 결정함에 의해 최적화될 수 있다. 이러한 최적화는 전극들(43.2, 43.3)의 둥글게 형성된 에지들(48, 49)의 필렛 반경을 최대화하고 동시에 틈새(47.2)의 폭은 가능한 작게 유지함에 의해 달성된다. 이상적인 설계는 매우 낮은 아크 발생 위험 및 매우 높은 처리 효율을 보장한다. 예를 들면, 전극들(43.2, 43.3) 중 적어도 하나의 둥글게 형성된 에지들(48, 49)의 필렛 반경은 약 0.3 - 2.0 mm의 범위일 수 있으며, 틈새(47.2)의 폭, 즉 이웃하는 전극들(43.2, 43.3) 사이의 거리는 약 0.5 - 2.0 mm의 범위일 수 있다.

- [0061] 내부 공간(40)을 향하는 절연 물질(46)의 표면(50)은 전극들(43.2, 43.3)의 각각의 표면에 직각으로 연귀 결합 되도록 형성되며 정렬될 수 있다. 결과적으로, 절연 물질(46)의 표면(50)은 전극들(43.2 및 43.3)의 표면에 각각 수직으로 배치된다. 이러한 유리한 설계로 인해, 내부 공간(40) 내의 전기장의 등전위선들은 전극들(43.2, 43.3)의 표면과 직각으로 만나며 따라서 편향되지 않는다. 따라서, 전기장의 잠재적인 불균질성을 막을 수 있거나 또는 적어도 절연 물질(46) 내의 영역으로 이동될 수 있으며 따라서 아크 발생의 가능성이 더욱 감소된다.
- [0062] 전극들(43.2, 43.3)을 향하는 전극(45.1)은 이웃하는 전극들(43.2, 43.3)보다 더 크며 틈새(47.2) 맞은편에 배치된다. 즉, 틈새(47.2) 맞은편에는 다른 틈새가 배치되지 않으며 따라서 틈새(47.2)에 가까운 영역은 효율적인 처리를 위해 충분한 전기장에 여전히 노출된다. 따라서 전체 처리 효율이 효과적으로 증가된다. 전극(45.1)은 양 세그먼트들(41.2, 41.3)의 전체 길이에 걸쳐 연장하며 따라서 양 세그먼트들(41.2, 41.3)의 공통 전극이다. 예를 들면, 더 큰 전극(45.1)이 상대 전극(counter electrode) 또는 접지 전극(ground electrode)일 수 있으며, 반면에 더 작은 전극들(43.2, 43.3)은 고전압으로 설정되는 활성 전극들이거나 접지 전위로 또한 설정되는 전극들일 수 있다. 전압은, 예를 들면, 전극(43.2)(활성 전극)에 인가될 수 있으며, 반면에 이웃하는 전극(43.3) 및 카운터 전극(45.1)은 접지 전위로 설정된다. 활성 전극(43.2)을 둘러싸는 전극들(43.3 및 45.1)을 접지 전위로 설정하는 것은 내부 공간(40) 내의 전기장의 감소된 산란을 야기하여 전기력선들이 활성 전극(43.2) 가까이 집중되며 따라서 특히 프로세스의 제어가 향상된다.
- [0063] 예를 들면, 전극들(43.2, 43.3) 중 적어도 하나는 5 - 20 mm의 범위의 폭을 가질 수 있으며, 반면에 더 큰 전극(45)은 20 - 80 mm의 범위의 폭을 가질 수 있다.
- [0064] 본 발명에 따르는 장치의 작동 동안, 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 세포의 현탁액이 내부 공간(40) 내에 전기장을 발생시킴에 의해 처리되는 경우, 현탁액과 접촉하는 이웃하는 전극들(43.2, 43.3)의 평평한(또는, 대안으로, 약간 만곡된 및/또는 볼록한) 표면들(51, 52)은 프로세스를 위한 주 활성 표면들이다. 평평한 표면들(51, 52)은 접지 전위로서 설정된 카운터 전극으로서 사용될 수 있는 더 큰 전극(45.1)과 반대된다. 예를 들면, 고전압이 전극(43.3)에 인가되며 이웃하는 전극(43.2)이 접지 전위로 설정되는 경우, 높은 전계 강도를 갖는 전기장이 평행한 전극 표면들 사이, 즉 전극(43.3)의 평평한 표면(52)과 전극(45.1)의 대향 배치된 평평한(또는, 대안으로, 약간 만곡된 및/또는 볼록한) 표면(53) 사이의 세그먼트(41.3)에 형성된다 (도 6). 본 발명에 따르는 장치의 유리한 설계로 인해, 이 영역에서의 등전위선들은 균질하게 분포되며 따라서 아크 발생의 위험이 매우 낮게 된다. 기본적으로, 다음의 원리가 유효하다: 등전위선들의 분포가 더 균질할수록, 아크 발생의 위험은 더 낮아진다. 따라서, 불균질성과 장 구배들은 전극(43.3)의 평평한 표면(52)으로부터 등글게 형성된 표면(49)으로의 전이 영역에서 방지되어야 한다. 이를 위해, 본 발명에 따르면 스무스하고 일정한 형상 전이가 제1, 더 큰 필렛 반경을 갖는 제1 라운딩과 제2, 더 작은 필렛 반경을 갖는 제2 라운딩을 제공함에 의해 보장된다. 전계 강도를 국부적으로 감소시키기 위해 제2 필렛 반경은 대향 전극(45.1)으로부터 떨어져 전극(43.3)의 표면을 이동시킨다. 상술한 바와 같은 전극(43.3)의 등글게 형성된 예지(49)와 절연 물질(46)의 표면(50)의 설계는 아크 발생의 위험의 상당한 감소를 가져온다. 또한, 전기장은 전극(43.3)의 평평한 표면(52)과 전극(45.1)의 대향 배치된 평평한 표면(53) 사이의 세그먼트(41.3)에 집중된다. 고전압이 전극(43.2)에 인가되며 전극(43.3)이 후속하는 전압 펄스 동안 접지 전위로 설정되는 경우 동일한 사항이 이웃하는 전극(43.3)에 적용된다.
- [0065] 도 6에서 명백한 바와 같이, 틈새(47.2)에 가까운 영역은 효율적인 처리를 위해 충분한 전기장에 계속 노출된다. 후속하는 전압 펄스가 전극(43.2)에 인가되는 경우 현탁액의 용량이 두 번 처리되기 때문에, 틈새(47.2)와 대향 전극(45.1) 사이의 영역 내의 중간 전계 강도가 요구된다. 따라서 틈새(47.2)의 폭, 즉 이웃하는 전극들(43.2, 43.3) 사이의 거리가 최적화된다.
- [0066] 틈새의 폭이 너무 큰 경우, 절연 틈새 영역의 가운데에 있는 세포, 세포유도체, 세포소기관, 세포이하입자 및/또는 세포는 최대 전계 강도의 반보다 더 작은 전계 강도에 노출된다 (예를 들면, 도 7에 도시된 전극들(55, 56) 사이의 틈새(54)). 따라서, 이 영역에서 두 번 처리된 물질은 이상적으로 처리되지 않는다.
- [0067] 본 발명에 따르는 장치의 이상적인 설계는 전극 표면/코너들로부터 떨어져 매우 높은 장 구배들을 갖는 가능한 "핫 스팟(hot spots)"을 이동시킨다. 종래 전극 및 틈새 설계의 경우(즉, 도 8에 도시된 바와 같은 직선형, 직사각형 전극들(57, 58)), 전극들에 인접한 높은 장 구배들은 낮은 아크 발생 한계값과 관련되며 따라서 훨씬 높은 아크 발생의 가능성과 관련된다.

도면

도면1a

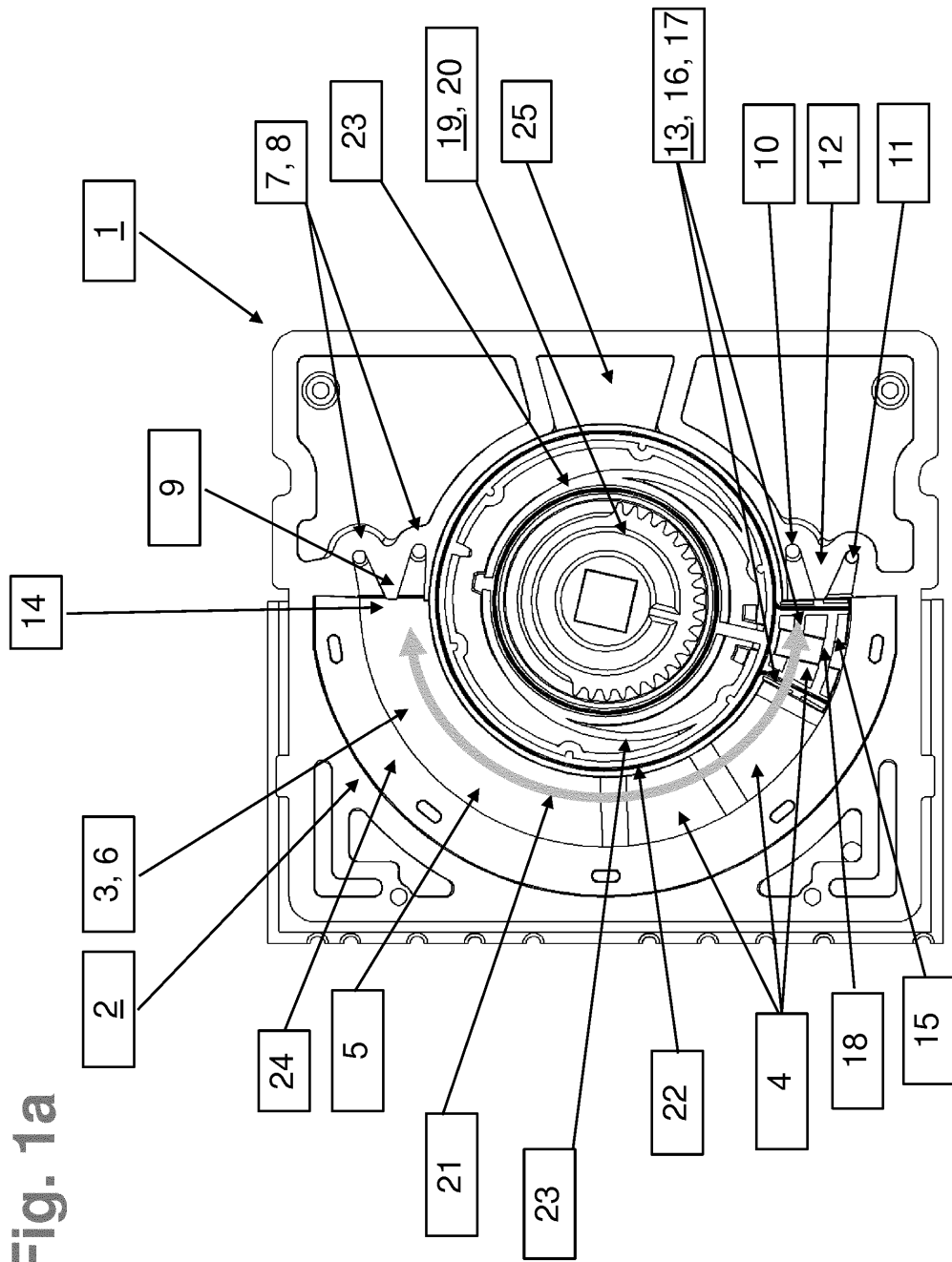


Fig. 1a

도면1b

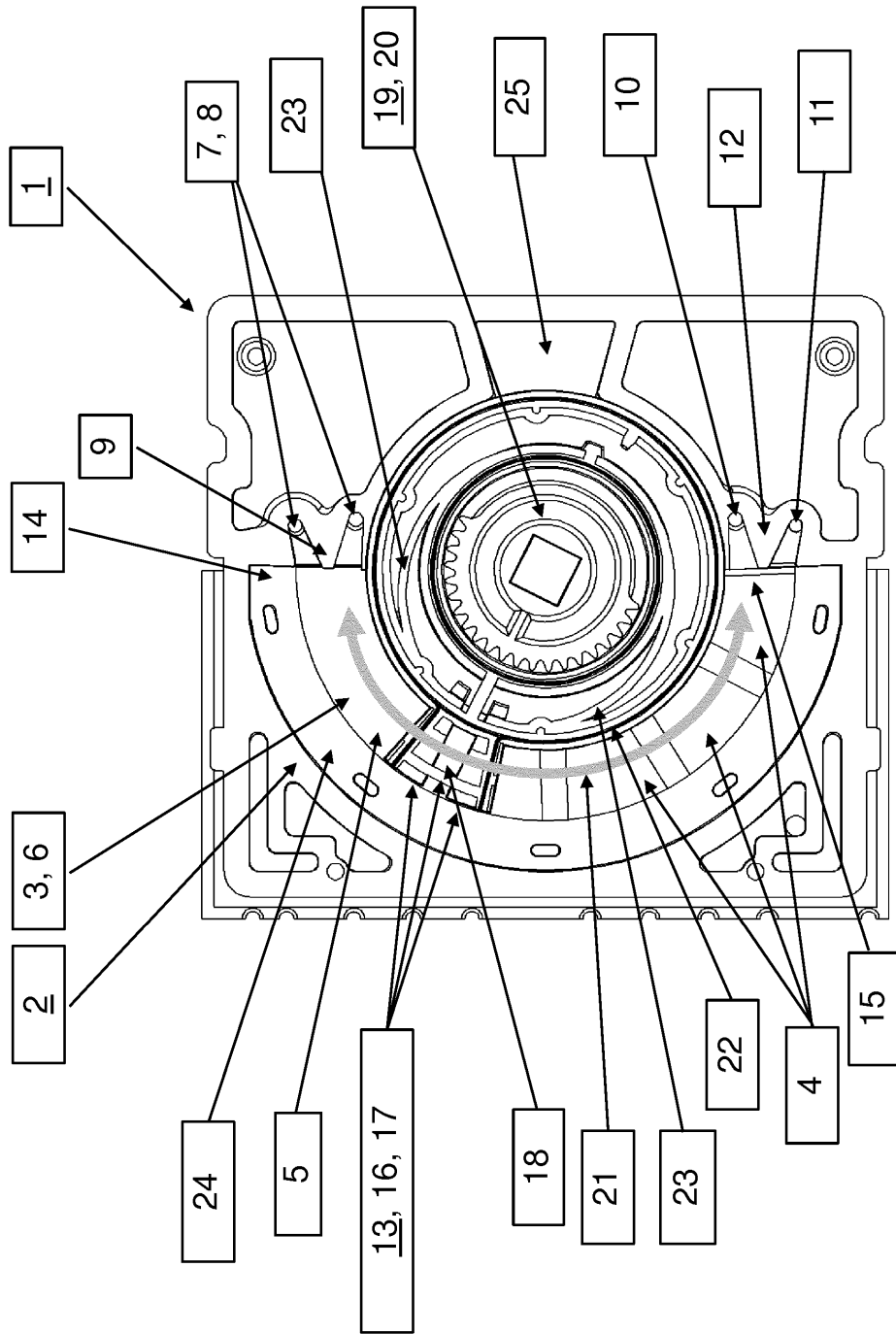


Fig. 1b

도면2a

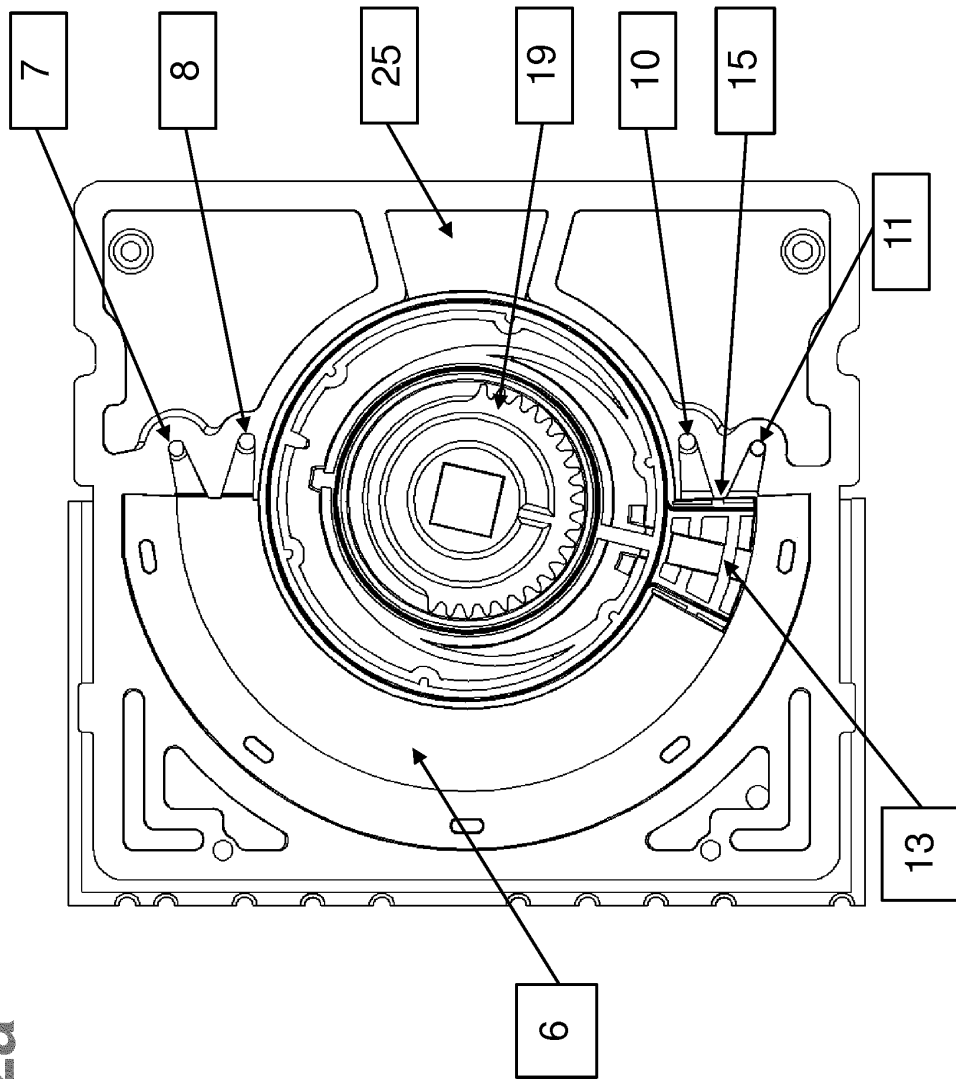


Fig. 2a

도면2b

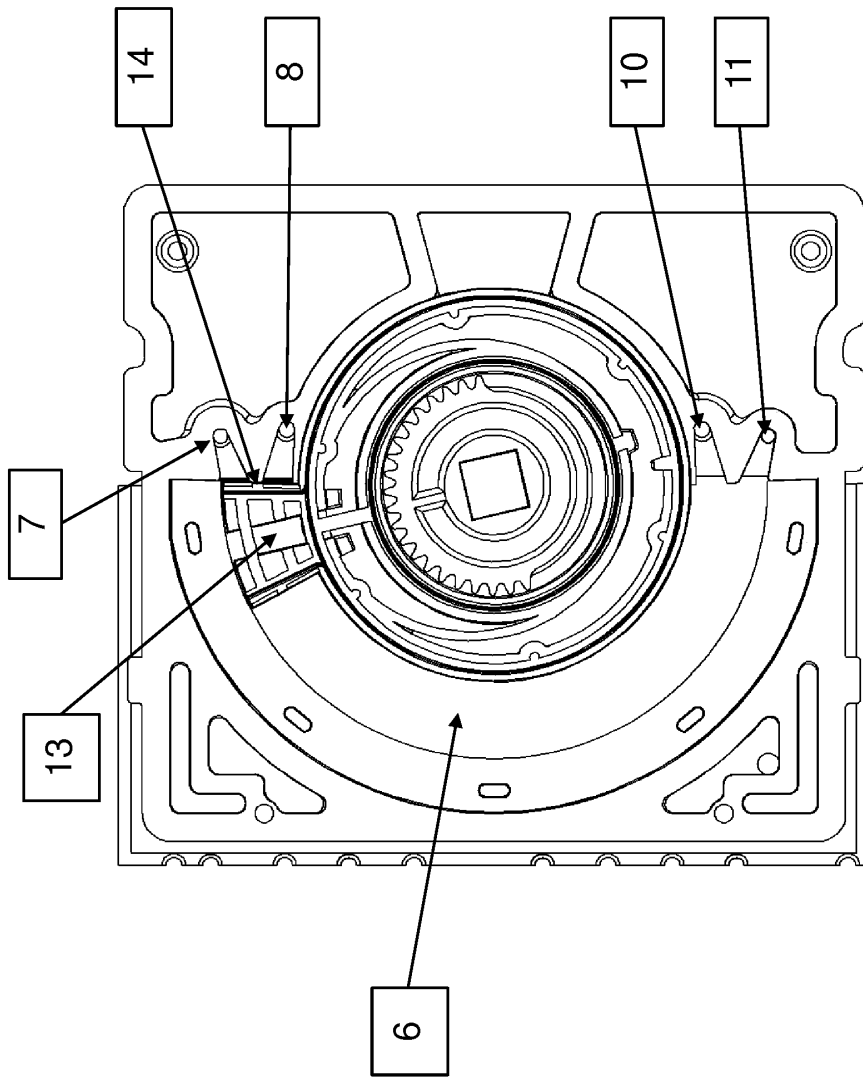


Fig. 2b

도면2c

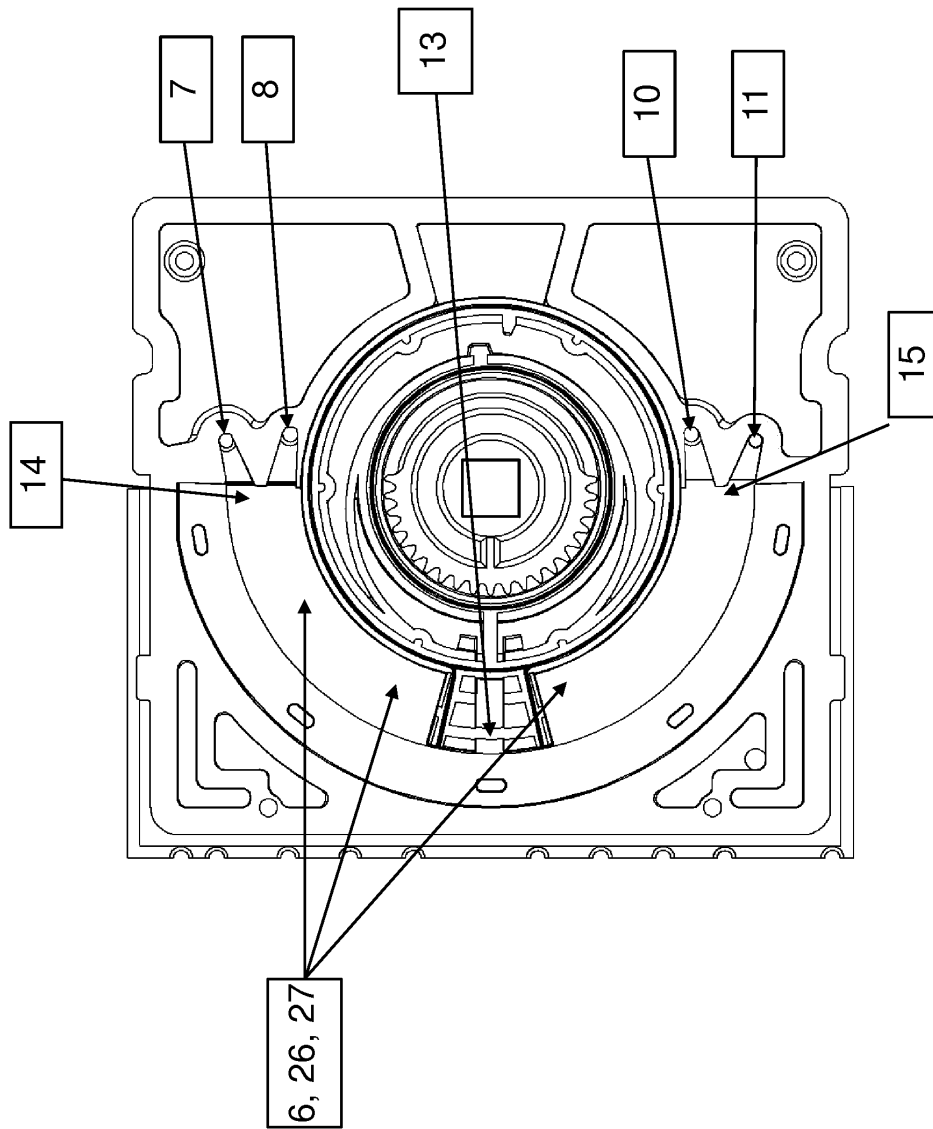


Fig. 2c

도면2d

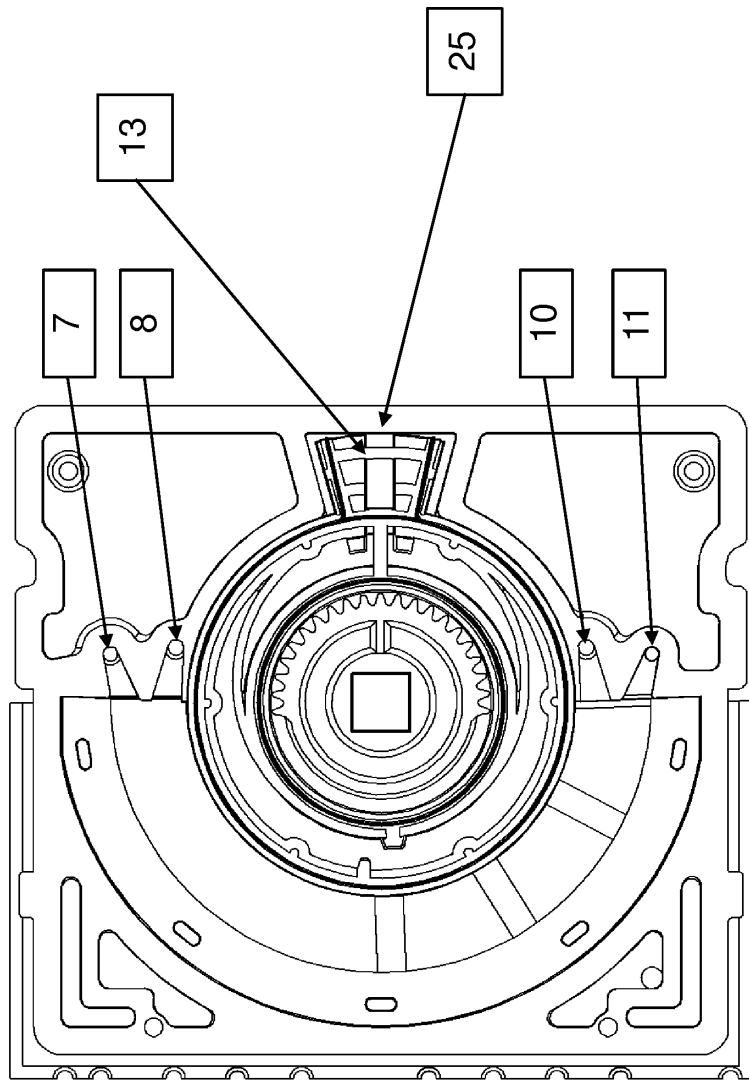


Fig. 2d

도면3

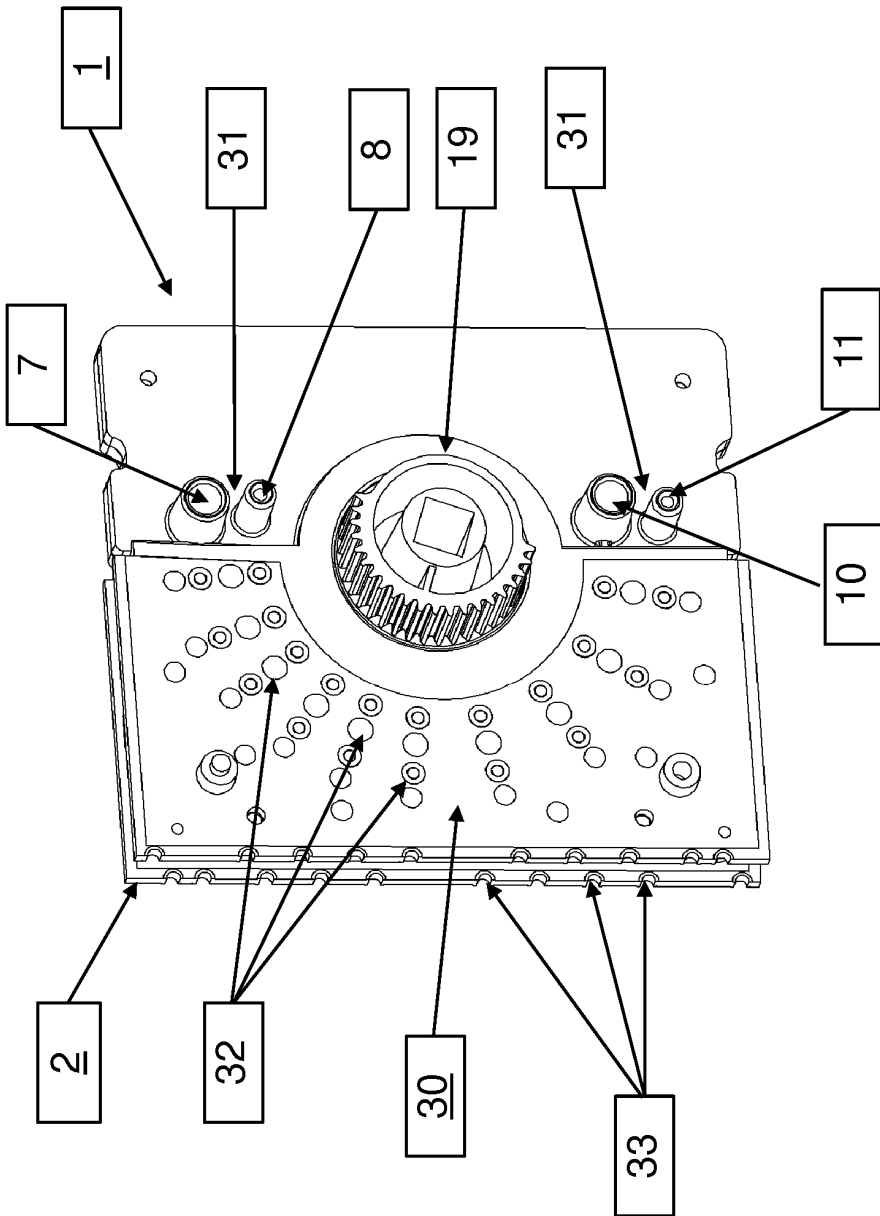


Fig. 3

도면4

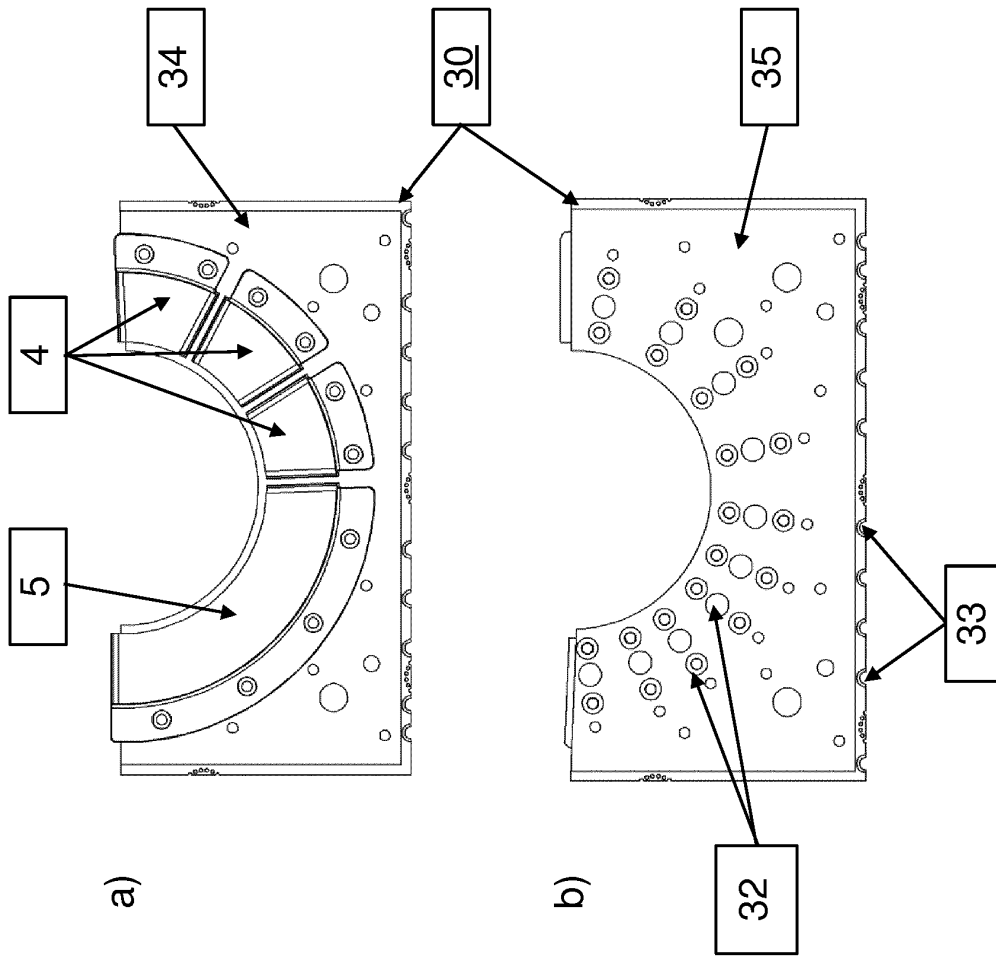
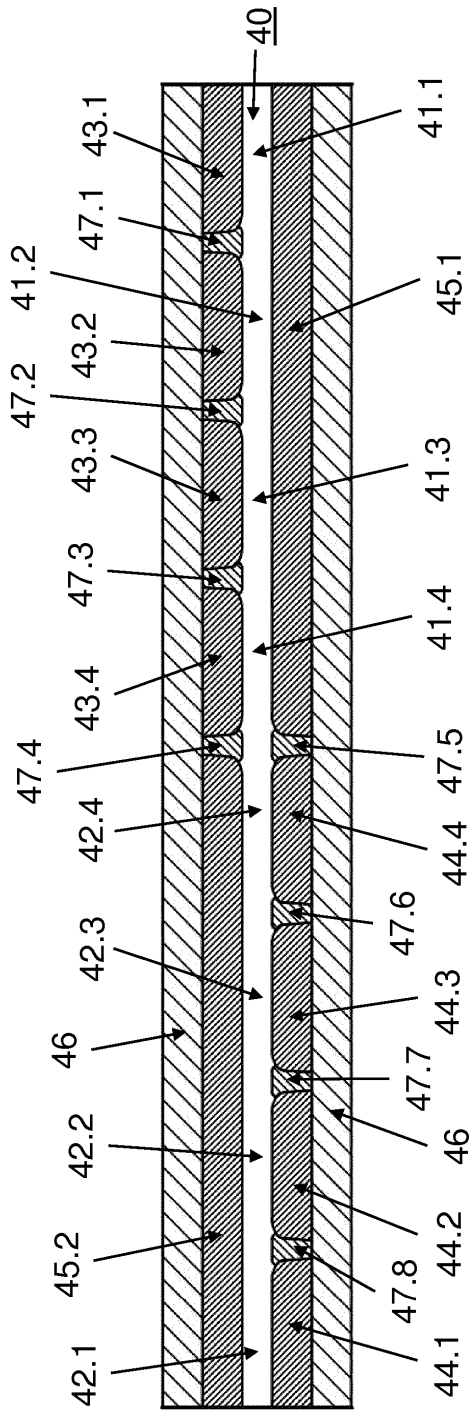


Fig. 4

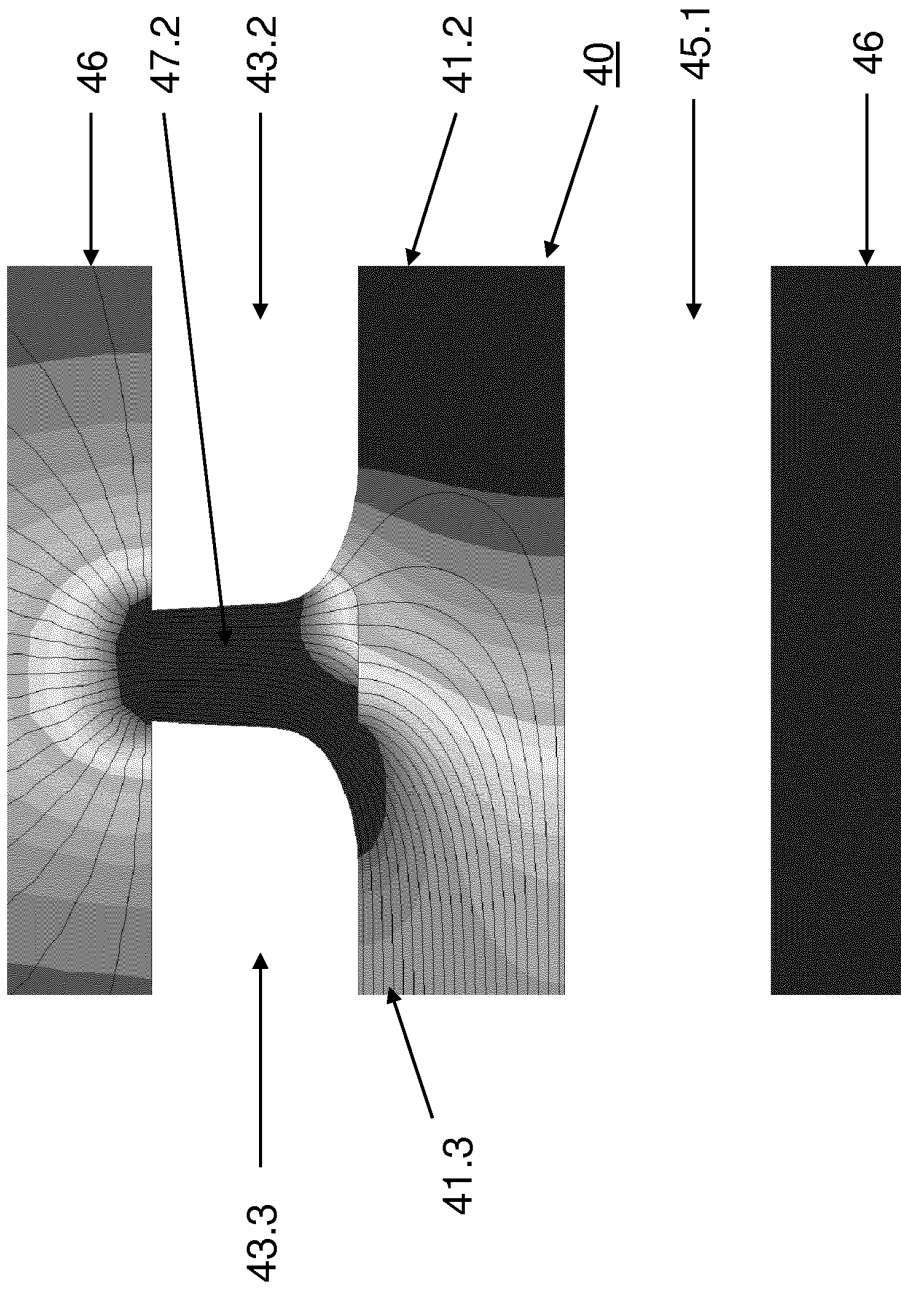
도면5a

Fig. 5a



도면6

Fig. 6



도면7

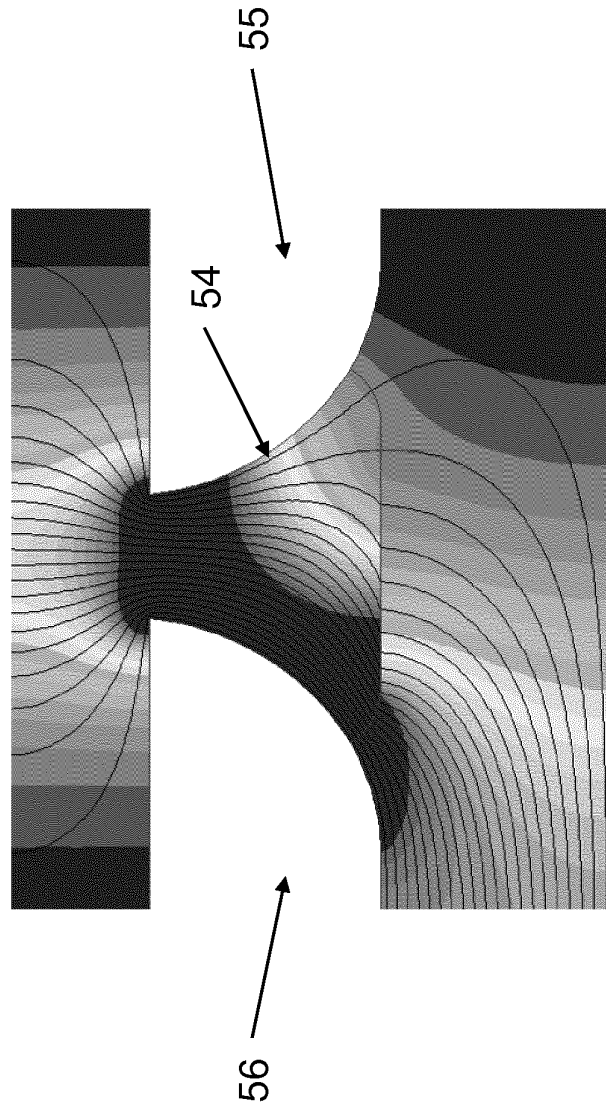


Fig. 7

도면8

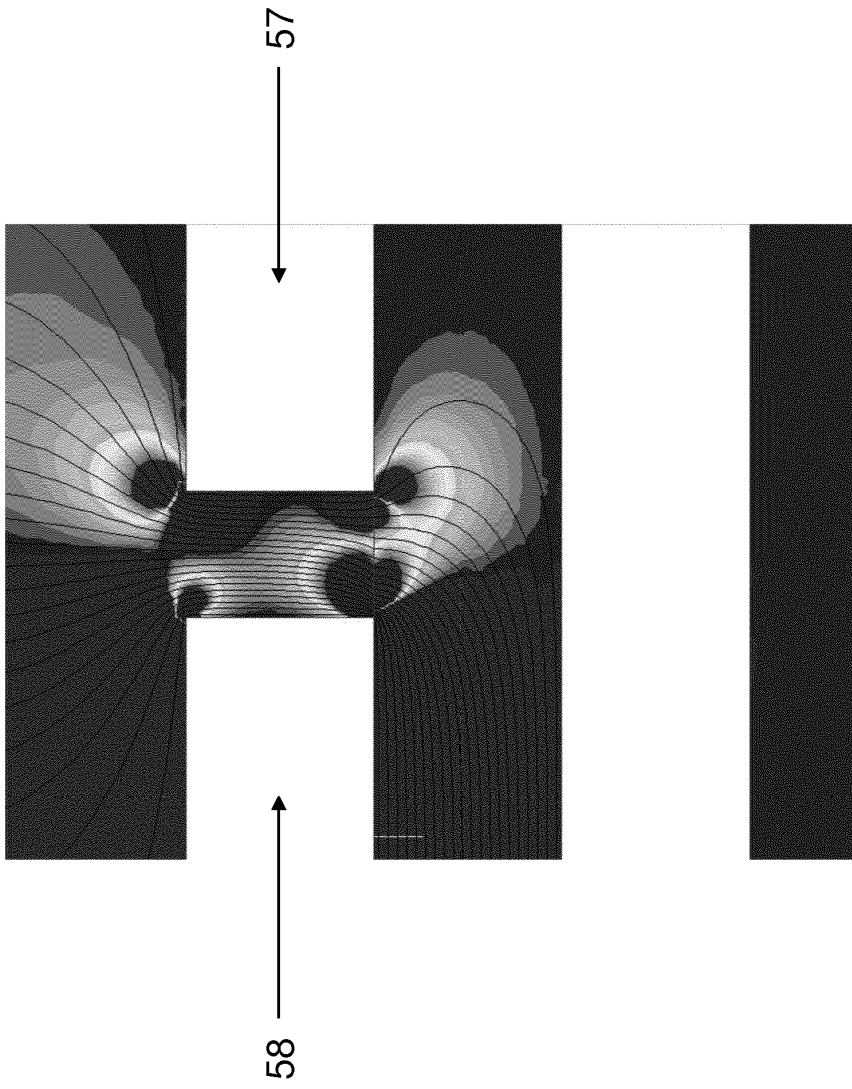


Fig. 8