(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0085710
(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 10-2016-0005177
(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**

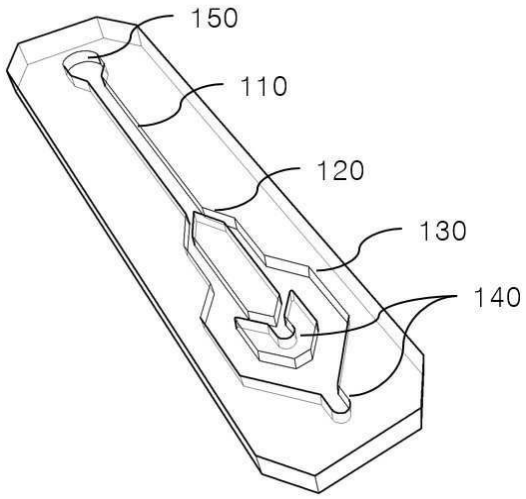
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **비뉴턴성 유체 기반 고수율, 고효율 미세입자 분리 소자**

## (57) 요 약

본 발명은 미세입자 분리 소자에 관한 것으로서 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱하는 포커싱 채널, 상기 포커싱된 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동하도록 하는 제 1 분기부, 및 상기 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 제 2 분기부를 포함하며, 편의성 및 성능효율의 확장을 위하여 하나의 입구를 가지며, 추가적인 도움유체를 사용할 필요없이 비튜턴성유체의 특성만을 이용하므로써 고수율, 고효율 미세입자, 혈액 및 질환세포를 크기별로 분리가 가능하다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
*B01L 2300/0861* (2013.01)
*G01N 2035/00158* (2013.01)

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱하는 포커싱 채널;

상기 포커싱된 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동하도록 하는 제 1 분기부; 및

상기 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 제 2 분기부를 포함하는 미세입자 분리 소자.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 포커싱 채널은,

임계치 이상의 종횡비를 갖는 단면으로 형성되는 채널인 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

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

### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 제 1 분기부는,

상기 입자들이 포커싱되어 이동하게 되는 경로가 상기 제 1 분기부의 분기점과 일치하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자.

### 청구항 5

제 1 항에 있어서,

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

### 청구항 6

제 1 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 1 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 1 항에 있어서,

상기 제 2 분기부를 통해 분리되는 입자들이 유출되는 각각의 유출부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 미세입

자 분리 소자.

**청구항 9**

제 1 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.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

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

### *배 경 기 술*

[0002] 최근 미세유동역학 기술의 발전에 따라 미세유체소자 내에서의 미세입자 또는 생체 세포의 분리하는 기술은 생화학 분석연구, 임상 진단 등의 분야에서 크게 주목을 받고 있다. 최근 개발되는 미세유동 기반 미세입자 분리 소자는 크게 능동형, 수동형 기술로 둘로 나눌 수 있다. 능동형 기술은 외부에서 광학, 전기, 자기, 압력, 음향파 등을 기반으로 한 힘을 가하여 입자를 분리하는 방식이며, 한편 수동형 기술은 유체역학적인 특성과 채널의 구조에 의해서만 입자를 제어한다. 능동형 기술을 이용하면 미세유동채널 내에서 입자 유동을 제어하기 상대적으로 편리하지만 외부에서 힘을 가해주기 위한 별도의 장치가 필요하며 그로 인하여 다른 소자 플랫폼과 통합하기 어렵다는 단점이 있다. 반면 수동형 기술은 별도의 외부장치가 필요없기 때문에 시스템이 간편해 질 수 있다. 그러나 입자의 다이나믹한 제어를 위해서 정밀하고 복잡한 채널 구조 설계가 요구된다. 이러한 점 외에도 최근 개발되는 능동형/수동형 기술에는 실제 현장에 실용화되고 상품화되기까지 여전히 한계점이 존재한다. 첫째로, 최근 개발되는 기술의 대부분은 입자 분리 이전의 상태를 초기화하여 분리효율을 높이기 위하여 추가적인 도움유체, 즉 쉬스 유동(sheath flow)을 사용한다. 그러나 쉬스 유동의 사용하는 방식은 수력학적인 집중과정에서 샘플유체의 유동률을 불가피하게 감소시켜야 하기 때문에 실제 샘플시료에 대한 분리수율을 감소시키고 추가 유체사용을 위한 추가적인 별도의 장치 및 제어가 요구되기 때문에 소자 디자인을 복잡하게 만드는 단점이 있다. 둘째로, 최근 개발되는 미세입자 분리기술은 대부분 입자의 크기 차이를 기반으로 하고 있다. 그러나 특정 샘플의 경우, 타겟 입자가 그 외의 다른 입자와 거의 유사한 크기를 갖는 경우도 있다. 그러므로 새롭게 개발될 기술은 미세한 크기차이를 정밀하기 분리할 수 있도록 설계되어져야 한다.

### *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 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 포커싱 채널; 상기 포커

싱된 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동하도록 하는 제 1 분기부; 및 상기 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 제 2 분기부를 포함하는 미세입자 분리 소자를 제공한다.

[0006] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 포커싱 채널은, 임계치 이상의 종횡비를 갖는 단면으로 형성되는 채널인 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.

[0007] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 포커싱된 입자들이 상기 제 1 분기부를 지나면서 위치들이 초기화되는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.

[0008] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 제 1 분기부는, 상기 입자들이 포커싱되어 이동하게 되는 경로가 상기 제 1 분기부의 분기점과 일치하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.

[0009] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 입자들이 분리될 수 있도록 상기 비뉴탄성 유체의 농도를 조절하는 것을 특징으로 하는 미세입자 분리 소자일 수 있다.

[0010] 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.

[0011] 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.

[0012] 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.

[0013] 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*

[0014] 본 발명에 따르면, 편의성 및 성능효율의 확장을 위하여 하나의 입구를 가지며, 추가적인 도움유체를 사용할 필요없이 비튜턴성유체의 특성만을 이용하므로써 고수율, 고효율 미세입자, 혈액 및 질환세포를 크기별로 분리가 가능하다. 비뉴턴성 유체를 이용하는 경우, 점탄성적인 특성을 조절하기 위하여 제조시 혼합되는 고분자물질의 농도 및 작동중의 유동속도제어만으로 소자의 성능이 유동적으로 조절될 수 있기 때문에, 이러한 인자들에 대한 최적화와 함께 모든 유속조건에서 크기가 다른 미세입자들이 분리가 가능하다. 고분자물질의 농도를 조절하면 분리를 위한 작동조건(유속조건)이 효율에 미치는 영향이 제거되기 때문에 기존의 동종분야에서 사용되어 온 유사기술들과 달리 별도의 펌프장치가 불필요하고 따라서 소자를 직접적으로 일회용 주사기에 연결하여 전문적인 훈련을 받지 않아도 손으로 간편하게 작동이 가능할 수 있다는 장점이 있다.

## *도면의 간단한 설명*

[0015] 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 미세유체소자의 비탄성 유체의 농도별 입자의 측면이동량을 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자에 따라 적혈구로부터 백혈구를 분리한 결과를 나타낸 것이고, 도 5는 분리된 백혈구의 세포 생존도를 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자에 따라 인공입자를 분리한 결과를 나타낸 것이다.

도 7은 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자에 따라 백혈구로부터 말라리아 기생충을 분리한 결과이고, 도 7은 그 결과에 따른 분리 성능 평가를 나타낸 것이다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0016] 본 발명에 관한 구체적인 내용의 설명에 앞서 이해의 편의를 위해 본 발명이 해결하고자 하는 과제의 해결 방안의 개요 혹은 기술적 사상의 핵심을 우선 제시한다.

[0017] 본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자는 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱하는 포커싱 채널, 상기 포커싱된 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동하도록 하는 제 1 분기부, 및 상기 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리하는 제 2 분기부를 포함한다.

[0018] 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.

[0019] 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 실시 예에 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.

[0020] 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.

[0021] 설계된 채널구조를 유동하면서 발생하는 유체역학적인 특성만을 활용하는 뉴턴성 유체기반의 입자제어기술에 비하여 비뉴턴성 유체를 작동유체로 사용하는 경우, 그 작동유체에 대한 고분자물질의 농도에 따라 점탄성적인 특성조절이 가능하고, 뉴턴성 유체기반의 기술에서는 이용할 수 없는 유체의 탄성력을 활용할 수 있고, 이를 이용함으로써 추가적인 소자설계 및 제작공정이 없이도 이미 제작된 소자에 대한 성능을 조절할 수 있다. 비뉴턴성 유체 내에 부유된 미세입자는 유동 중의 일차수직응력차 (N1)의 불균일한 분포에 의해 유동방향과 수직하게 측면으로 이동하게 된다. 이러한 원리를 기반으로 비뉴턴성 유체 내에서의 미세입자의 포커싱, 정렬, 분리기 가능하다. 비뉴턴성 유체 내에서 관성과 탄성력의 영향을 동시에 받아 측면 거동하는 입자는 크기, 변형능 등의 입자의 물리적 특성에 따라 그 이동량이 달라진다. 미세입자에 가해지는 점탄성력은 입자의 크기에 비례하기 때문에 서로 다른 크기의 입자들이 동일한 구간을 유동하면서 상대적으로 크기가 큰 입자가 크기가 작은 입자보다 더 큰 측면이동량을 보이게 된다. 또한 크기뿐만 아니라 입자의 변형능 차이에 따라서도 다른 이동경향성을 갖는다. 변형능이 높은 입자는 비뉴턴성 유체의 탄성과 wall lift force의 영향으로 미세유동채널의 가운데에 포커싱되지만, 변형능이 낮은 입자는 채널의 벽과 코너 쪽으로 이동하게 된다. 이를 기반으로 비뉴턴성 유체를 이용하여 변형능 차이에 따라 미세입자를 분리할 수 있으나 효율이 낮다. 왜냐하면, 분리가 진행되는 과정에서 초기상태의 모든 입자의 위치가 불규칙적으로 분포하기 때문이다.

[0022] 비뉴턴성 유체의 특성에 대해 구체적으로 알아보면 아래와 같다.

[0023] 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 특정하는 무차원수이다. 이 두 가지 무차원수는 아래와 같이 나타낼 수 있으며, 본 식에서 $\rho$는 유체의 밀도, V 는 평균 속도, $D_h$ 는 채널의 수력학적 지름, $\mu$는 유체의 점도, $\lambda$ 는 완화시간, $\dot{\gamma}_c$ 는 특성 전단율을 의미한다.

*수학식 1*

[0024] $$Re = \frac{\rho V D_h}{\mu}$$

[0025] $$Wi = \lambda \dot{\gamma}_c$$

[0026] 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*

[0027] $$El = \frac{Wi}{Re}$$

[0028] 탄성력($F_E$)은 일차수직응력차($N_1$)에 비례하고, 이 탄성력으로 인하여 비뉴턴성유체에 부유한 미세입자는 측면방향으로 이동하게 된다.

*수학식 3*

[0029] $$F_E \propto d^3 \frac{\partial N_1}{\partial x}$$

[0030] 또한 이러한 측면이동의 속도(VE)는 아래와 같다.

*수학식 4*

[0031] $$V_E \propto d^2 Wi \frac{\partial \dot{\gamma}}{\partial x}$$

[0032] 이 때, d는 미세입자의 직경을 나타내며, 이와 같이 탄성력과 이에 의한 입자의 측면이동속도는 입자 크기의 영향을 받는다.

[0033] 본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자는 상기와 같은 비탄성 유체를 기반으로 입자들을 포커싱하고 위치를 초기화시킨 후, 이동량의 차이를 이용하여 미세입자를 분리한다.

[0034] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자를 나타낸 것이다.

[0035] 본 발명의 일 실시예에 따른 미세입자 분리 소자는 포커싱 채널(110), 제 1 분기부(120), 및 제 2 분기부(130)로 구성된다. 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 채널에 급확장부 또는 유출부(140)를 더 포함할 수 있다.

[0036] 포커싱 채널(110)은 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 포커싱하는 채널이다.

[0037] 보다 구체적으로, 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 분리하는 효율성을 높이기 위해서 입자들을 하나의 위치로 포커싱하기 위하여, 포커싱 채널을 이용한다. 비뉴턴성 유체에 포함된 입자들을 채널 내에서 입자의 부피에 비례하는 탄성력의 영향을 받아 채널 가운데로 포커싱된다.

[0038] 포커싱 채널(110)은 임계치 이상의 종횡비를 갖는 단면으로 형성될 수 있다.입자들을 포커싱하기 위해서 채널은 아래의 폐색률(blockage ratio)를 만족하여야 한다.

*수학식 5*

[0039] $$\beta \geq 0.1 \left(\beta = \frac{d}{W}\right)$$

[0040] 여기서, d는 미세입자의 직경, W는 채널의 너비이다. 포커싱 채널(110)의 길이는 모든 입자들이 포커싱되기 위한 충분한 길이를 가져야하며, 포커싱 채널의 길이는 미세입자들의 특성에 따라 산출되어 결정되거나, 실험을 통해 도출되는 길이일 수 있다.

[0041] 제 1 분기부(120)는 상기 포커싱된 입자들이 분기의 벽면을 따라 이동시킨다.

[0042] 보다 구체적으로, 상기 포커싱된 입자들이 상기 제 1 분기부를 지나면서 위치들이 초기화된다. 즉, 제 1 분기부(120)는 포커싱 채널의 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.

[0043] 제 2 분기부(130)는 상기 입자들의 이동량 차이를 이용하여 입자들을 분리한다.

[0044] 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.

[0045] 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 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 입자들은 소자의 외측 분기로 분리되고 이동량이 작은 입자들은 소자의 내측 분기로 분리될 수 있다.

[0046] 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.

[0047] 상기 입자들이 분리될 수 있도록 상기 비뉴탄성 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 인자들에 대한 최적화와 함께 모든 유속조건에서 크기가 다

른 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.

[0048] 상기 제 1 분기부와 제 2 분기부 사이의 거리는 상기 입자들의 이동량 차이에 따라 설정될 수 있다. 포커싱 채널은 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 분기분에서 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.

[0049] 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.

[0050] 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.

[0051] 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자의 입자를 분리하는 과정을 나타낸 것으로, 비뉴턴성 유체의 점탄성적 특성을 이용하여 연속유동조건에서 미세입자의 위치를 초기화하고 크기별 분리가 가능한 미세유동소자를 나타낸다. 이 소자는 추가의 도움유체 없이 모든 입자들을 집중시킬 수 있는 1단계와 입자의 분리를 위한 2단계로 크게 두 단계로 나눌 수 있다. 이종의 입자가 섞여있는 초기 샘플은 샘플 주입구를 통해 랜덤하게 미세유동채널로 들어가게 된다. 1단계에서 비뉴턴성 유체 내에 부유한 입자들은 유체의 탄성력에 의하여 입자의 물리적 특성에 관계없이 모두 채널의 가운데에 포커싱된다. 기존 대부분의 입자분리 연구에서는 입자의 포커싱을 위하여 쉬스 유동을 이용한 수력학적 포커싱 방법을 사용한다. 하지만 수력학적 포커싱을 위해서는 추가적인 유체 주입을 위한 별도의 채널 설계가 필요하다. 본 특허에서는 비뉴턴성 유체의 점탄성에 의한 입자의 측면이동을 통해 모든 입자를 채널 가운데에 포커싱하기 위해 높은 종횡비의 단면형상을 갖는 채널로 설계하였고, 입자들은 1단계 채널 내에서 입자의 부피에 비례하는 탄성력의 영향을 받아 채널 가운데에 포커싱된다. 1단계 채널에서 포커싱된 모든 입자는 이후 연결되는 채널의 분지벽면으로 접근하여 양방향으로 나뉘어지는 채널의 내벽을 따라 그 위치가 초기화된 상태로 2단계의 분리구간으로 도입된다. 이러한 포커싱을 통해 분리 이전 단계에 모든 입자의 위치를 초기화함으로서 이후 단계에서의 분리 해상도와 효율을 높일 수 있다. 2단계로 도입된 모든 입자들은 추가적으로 점탄성력에 의한 영향을 받고, 그것은 크기에 따라 영향정도를 달리한다. 도 2 내에 표현된 이론식에 따라 입자의 크기가 클수록 횡방향으로의 이동속도는 상대적으로 크기가 작은 입자보다 빠르며, 따라서 1단계에서보다 짧은 길이로 설계된 구간을 지나면서 횡방향 이동량은 크기에 따라 달라지게 된다. 최종적으로 2단계의 구간을 지나 미세유동채널 내의 층류 유동 특성에 의해 각기 다른 측면이동거리를 갖는 입자들이 채널의 후류 영역에서 각각 다른 출구로 분리될 수 있다.

[0052] 이하, 본 발명의 실시예에 따른 미세입자 분리 소자가 적용되는 구체적인 예들을 살펴보도록 한다.

[0053] 먼저, 크기 기반의 인공입자를 분리할 수 있다. 이를 확인하기 위하여 서로 다른 크기를 갖는 인공입자를 분리하는 실험을 진행하였다. 이를 위한 비뉴턴성 유체로서 PVP (Polyvinylpyrrolidone) 용액이 사용되었으며, 6과 15 ㎛ 크기의 미세입자의 분리를 위하여 비뉴턴성 유체의 탄성력 차이의 영향을 확인하기 위하여 다양한 농도(0.1, 0.5, 1, 3 wt%)의 용액에 대하여 입자의 거동을 확인하였다. 6과 15 ㎛ 크기의 인공입자는 실험 전 0.1 (v/v)% 농도로 비뉴턴성 유체에 부유되어 사용되었다. 해당 입자를 크기별로 분리하기 위한 미세유체소자는 각 단계별로 1단계 너비는 25 ㎛, 길이는 3 ㎝, 2단계 너비는 50 ㎛로 설계되었으며, 전체 높이는 125 ㎛로 사용되었다. 2단계에서 분리과정을 마친 입자들에 대해서 측면 이동량을 극대화시켜 후류의 출구로 분리하기 위해

급확장부를 설계하였고, 너비는 500 μm이다. 비뉴턴성 유체의 농도와 유동조건에 따른 입자의 거동을 확인하기 위하여 실린지 펌프 (KDS210, KD Scientific, Holliston, MA)를 통해 유체를 주입하였으며 도립 현미경 (IX-71, Olympus)과 고속카메라(FASTCAM-1024PCI, Photron, USA), 형광 카메라(pco edge mono, PCO AG, Germany)를 통해 관찰하였다. 0.1 wt% PVP 용액 내에 부유된 미세입자(6 μm)는 유동율 조건에 관계없이 미세유체소자의 1단계 채널을 흐르면서 포커싱이 되지 않았다. 이는 유체의 탄성력에 의해 발생하는 미세입자의 측면이동량이 채널의 가운데에 포커싱되기에 충분하지 않기 때문이다. 그보다 높은 농도(0.1, 0.5, 1, 3 wt%)의 용액 내에서는 1 μl/min 이상의 유동율 조건에서 모두 포커싱됨을 확인하였다.

[0054] 도 4는 각기 다른 농도(0.5, 1, 3 wt%)의 PVP 용액 내에 부유된 6과 15 μm 크기의 입자의 유동율 조건별 측면이동량을 비교한 것이다. 분리를 위한 최적의 조건을 찾기 위하여 5~100 μl/min 사이의 유동율 조건을 이용하여 확인하였으며 각 경우의 입자의 측면이동량은 채널의 전체너비와의 비율로 일반화되었다. 0.5 wt% 농도의 PVP 용액의 경우, 6과 15 μm 입자의 측면이동량 사이에 큰 차이를 보이지 않았다. 낮은 유동율 조건에서는 6 μm 크기 입자가 상대적으로 넓게 분포하였으며 두 가지 크기의 입자의 분포가 겹치는 구간도 존재하였다. 유동율이 높아질수록 ($Q \geq 50\mu l/\min$) 두 입자의 분리가 명확해짐을 확인할 수 있었다. 1 wt% PVP 용액의 경우, 유동율이 10 μl/min 이상일 때의 조건에서 모두 분리가 되며 유동율이 높아질수록 6과 15 μm 입자의 측면이동량 차이가 커짐을 확인하였다. 그러나 0.5와 1 wt% PVP 용액을 이용하였을 때에는 크기가 큰 15 μm 입자도 채널의 가운데까지 이동하지는 못하였다. 한편 3 wt% PVP 용액의 경우, 유동율이 10 μl/min 이상일 때의 모든 조건에서 6과 15 μm 입자가 안정적으로 분리됨을 알 수 있었다. 기존의 용액 (0.5, 1 wt% PVP 용액)에 비하여 느린 유동율 조건에서도 상대적으로 큰 측면이동량을 가졌다. 15 μm 입자의 경우 30 μl/min 이상 조건에서 모든 입자가 채널의 가운데까지 이동하였다. 6과 15 μm 입자의 측면이동량 차이는 유동율이 커질수록 작아졌으나 50 μl/min 이상 조건에서는 거의 변화가 없었다. 이를 통해 이론식에서 나타낸 바와 같이 비뉴턴성 유체의 농도(점탄성), 유동율 조건을 조절함에 따라 입자의 포커싱 및 2단계 채널에서의 측면이동량, 소자의 입자분리 성능을 조절할 수 있음을 확인하였다.

[0055] 다음으로, 혈액 샘플로부터 백혈구 분리할 수 있다. 이를 확인하기 위하여 희석된 혈액 샘플로부터 백혈구를 분리하는 연구를 수행하였다. 항응고제 EDTA 처리된 혈액 샘플은 1 wt% PVP 용액에 0.01% 헤마토크릿을 갖도록 희석하였다. 백혈구는 세포 내의 DNA를 염색할 수 있는 아크리딘 오렌지 (Acridine Orange, AO, Life Technologies, USA)를 이용하여 형광 염색하였다. 염색 프로토콜은 형광염색 시료의 제조사의 프로토콜을 따랐다. 적혈구는 형광 염색 키트 (PKH26, Sigma-Aldrich, USA)를 이용하여 적혈구의 세포막을 염색하였고, 염색 방법은 제조사의 프로토콜을 따랐다. 생물학적 입자를 이용한 본 실험 이전에 예비실험으로서 혈액 샘플 내에 존재하는 적혈구와 백혈구의 크기와 유사한 6과 15 μm 크기의 인공입자를 이용하여 PVP 용액의 농도와 유동율 조건을 확립하였다.

[0056] 도 3은 유동율 100 μl/min 조건에서 미세유체소자의 2단계 채널의 후류에 위치한 500 μm 너비의 확장관에서의 적혈구와 백혈구의 측면이동량과 출구에서의 분리 효율을 나타내고 있다. 상대적으로 크기가 큰 백혈구의 경우, 확장관에서 더 큰 측면이동량을 갖게 됨을 보였다. 이러한 차이를 통해 ~98 %의 적혈구는 출구 A를 통해 제거되었으며 백혈구는 출구 B에서 회수율 ~90 %, 순도 ~94.4 %를 가지며 분리되었다.

[0057] 본 미세유체소자를 통과하는 과정에서 세포에 미치는 영향을 확인하기 위하여 분리된 후 출구 B로 회수되는 백혈구의 생존도(viability)를 평가하였다. 세포 생존도 확인을 위하여 트리판 블루 (Trypan Blue, Invitrogen, USA) 시약을 사용하였다. 출구 B로 회수되는 샘플에 포함된 적혈구를 제거하기 위하여 적혈구 용혈제를 처리하였으며, 0.4 % 트리판 블루 용액을 샘플과 1:1로 섞어 3분간 인큐베이션한 후 헤모사이토미터(Hemocytometer)를 통해 평가하였다. 트리판 블루 염색을 통해 푸른색으로 염색이 된 세포가 생존도가 떨어지는 것으로 평가하는 방식이다. 도 5는 본 분리소자에 주입되기 이전의 초기 샘플과 출구 B로 회수되는 샘플의 생존도를 평가한 것이며 그 두 값에 거의 차이가 없는 것을 보였다. 이를 통해 생물학적 입자의 분리를 위해 본 미세유체소자를 통과하는 것이 세포의 생존도에 영향을 주지 않음을 확인할 수 있었다.

[0058] 다음으로, 크기 기반의 고수율, 고효율 인공입자 분리가 가능하다. 이를 위한 비뉴턴성 유체로서 0.1(w/v)% HA sodium salt (357 kDa, Lifecore Biomedical) 용액이 사용되었다. 해당 용액의 점도와 회복시간은 각각 0.0009 Pa-s, 0.00026 초였다. 2와 10 μm 크기의 인공입자는 실험 전 0.1 (v/v)% 농도로 비뉴턴성 유체에 부유되어 사용되며 이는 각각 ~ $1.2\times10^{8}$particles/ml, ~$9.5\times10^{5}$particles/ml의 농도로 사용되었다. 해당 입자를 크기별로 분리하기 위하여 미세유체소자의 1단계는 너비 25 μm, 길이 4 cm로 설계되었으며, 소자의 2단계는 너비 70 μm, 길이 1.5 cm로 설계되었고 후류의 급확장부의 너비는 500 μm로 설계되었다. 후류의 3분지의 출구는 채널의

너비비를 3 : 1 : 3으로 설계하여 분리효율을 높이고자 하였다. 유동조건에 따른 입자 분리 여부를 확인하기 위하여 유체의 주입은 실린지 펌프 (KDS210, KD Scientific, Holliston, MA)를 통해 이루어졌으며, 유동 중의 입자 거동은 도립 현미경 (IX-71, Olympus)과 고속카메라(FASTCAM-1024PCI, Photron, USA), 형광 카메라(pco edge mono, PCO AG, Germany)를 통해 이루어졌다. 자동화된 입자의 계수 및 분리 성능 평가를 위하여 이미지 처리 소프트웨어 (MATLAB, Mathworks, Natick, MA)를 사용하였다.

[0059] 도 6의 (a)는 제안하는 미세유체소자의 1단계 채널에서 2와 10 μm 크기의 입자의 포커싱을 보이고 있다. 10 μm 입자의 경우 blockage ratio가 β = 0.4로 계산되며, 유동율 1 μl/min 이상의 조건에서 채널의 가운데로 포커싱됨을 확인하엿다. 반면 2 μm 입자의 경우 β = 0.08 로서 0.1보다 작은 값을 갖는다. 따라서 2 μm 입자는 채널 가운데로 타이트하게 포커싱될 수는 없으나 채널 가운데로부터 2.5 μm 너비 이내에 모두 위치하게 되는 조건을 포커싱된 것으로 간주한다. 이는 유동율 4 μl/min 이상의 조건에서 가능하다. 이를 통해 1단계 채널에 이어지는 분지점에서 2와 10 μm 크기의 인공입자 모두 채널의 안쪽 벽을 따라 흐름으로서 그 위치가 초기화되었다.

[0060] 도 6의 (b)는 소자의 2단계 채널 이후 후류에 연결되는 확장부에서의 유동율별 각 입자의 측면이동량 분포를 나타낸다. 분석을 위하여 500 μm 너비의 확장부 채널을 25 μm 너비의 구간으로 나누었으며 각 구간으로 흘러 들어오는 입자의 수를 세어 전체 구간으로 들어오는 입자의 수로 나누어서 노말라이즈하였다. 출구 설계를 위하여 분리 경계선을 너비 y = 175 μm 지점에 두었다. 소자의 분리 성능을 평가하기 위해 회수율은 모든 출구로 들어오는 타겟입자의 수 대한 특정 출구로 나오는 타겟입자의 비율을 의미하며, 순도는 타겟 출구로 흘러 나오는 모든 입자의 수에 대비하여 타겟입자의 비율을 의미한다. 유동율 1 μl/min 조건에서 2 μm 크기의 인공입자는 1단계 채널 내에서 포커싱되지 않기 때문에 2단계 채널에서도 랜덤하게 분포하게 된다. 한편 10 μm 인공입자는 채널 벽으로부터 가운데 쪽으로 약간 이동한 것을 알 수 있다. 유동율이 증가함에 따라 두 입자는 채널의 가운데 방향으로 이동함을 보였다. 유동율 10 μl/min일 때, 2 μm 크기의 입자는 타이트하게 포커싱된 10 μm 입자보다 더 넓게 분포하였다. 이 유동조건에서 10 μm 입자는 분리 경계선을 넘어서게 되어 각각의 입자를 서로 다른 출구로 분리할 수 있다. 그러나 이때 출구 A에서 얻어지는 2 μm 입자는 분리경계선을 넘지 못한 일부 10 μm 입자로 인하여 그 순도는 ~70% 정도로 상대적으로 낮다. 50 μl/min일 경우, 10 μm 입자가 큰 측면이동량을 가지면서 분리경계선을 모두 넘어 2와 10 μm 크기의 입자는 성공적으로 분리되었다. 고수율 분리의 가능성을 평가하기 위해 유동율은 400 μl/min까지 높여 분리효율을 확인하였고, 50 ≤ Q ≤ 400 μl/min 구간 내에서 측면이동량의 큰 변화없이 고수율, 고효율을 가지며 성공적으로 분리할 수 있었다.

[0061] 다음으로, 말라리아 기생충의 고수율, 고효율 분리가 가능하다. 임상적 활용성을 증명하기 위하여 혈액 내의 다른 혈구로부터 말라리아 기생충을 분리해내기 위한 연구를 진행하였다. 혈액은 항응고제(EDTA) 처리된 샘플을 이용하며, 혈액 샘플 내의 가장 많은 수로 존재하여 고효율 분리에 방해물로 작용할 수 있는 적혈구는 적혈구 용혈제(1xRBC lysis buffer, R7757, Sigma Aldrich)를 이용하여 제거하였다. 이후 400g에서 5분간의 원심분리를 통해 상층부를 제거하고 순수한 백혈구만을 얻어낼 수 있었다. 이러한 백혈구는 0.1 (w/v)% HA 용액에 ~ $7\times10^6$ WBCs/ml 농도로 부유되었고, 이는 희석하지 않은 혈액 내에 포함된 백혈구 농도와 유사한 농도이다. 말라리아 기생충 Plasmodium falciparum 3D7 strain 샘플의 준비는 전형적인 배양 프로토콜을 따라 이루어졌다. 말라리아 기생충과 백혈구는 세포의 개수를 세고 농도를 조절하기 위해 형광염색(Acridine Orange, Life Tehnologies)을 거쳤다. Acridine Orange의 염색을 통해 말라리아 기생충은 강한 형광을 띄며 다른 잔여물 등은 염색이 되지 않는다. 따라서 말라리아 기생충과 잔여물의 크기가 비슷하다고 하더라도 쉽게 구분이 가능하다. 형광 염색된 말라리아 감염 적혈구는 hemocytometer (C-chip, INCYTO, Korea)를 통해 그 개수가 조절하여 원하는 농도로 전혈에 부유되고, 그 후 적혈구 용혈을 통해 말라리아 기생충만을 뽑아 실험을 진행하였다. 분리 후에는 출구에서 모아지는 형광염색된 세포의 수를 세어 회수율을 평가하였다.

[0062] 인공입자를 통해 확인한 유동율 조건을 이용하여 말라리아 기생충 분리 실험을 수행하였다. 50 ≤ Q ≤ 400 μl/min 조건에서 백혈구와 말라리아 기생충은 안정적으로 분리됨을 확인하였다. 도 7의 (a)는 100 μl/min 조건일 때 미세유체소자의 2단계 채널 후류 분지에서 분리되는 말라리아 기생충과 백혈구의 적층한 이미지이다. 하얀색 삼각형으로 표시된 백혈구를 완벽하게 제거함으로서 출구 A를 통해 순수한 말라리아 기생충만을 회수하여 모을 수 있었다. 최적의 유동조건 400 μl/min에서 말라리아 기생충이 부유된 전체 6ml의 혈액 샘플이 ~15분 내에 처리가 가능하고 이때의 회수율의 도 7 (b)와 같이 평가되었다. 하단의 도은 각 출구로 나온 형광염색된 세포를 보여준다. 결과적으로 출구 A에서 말라리아 기생충의 회수율과 순도는 각각 ~94%와 ~99%였다. 이로써 본 특허에서 개발한 소자는 말라리아 기생충의 PCR 분석을 위한 시료의 전처리 기술로서 효과적으로 사용될 잠재력

을 가졌음을 확인할 수 있었다.

[0063] 더불어 분리 이전 초기 말라리아 기생충의 농도는 $5\times10^{2}$parasites/ml정도로 낮아 기본 PCR 분석으로는 거의 검출할 수 없었다. 분리 과정을 통해 백혈구는 출구 B로 제거되는데 이때 많은 양의 작동유체 버퍼도 함께 빠져나간다. 따라서 분리 후 출구 A에서 얻어지는 말라리아 기생충의 최종 농도는 ~ $3.2\times10^{3}$parasites/ml이며 이는 초기 농도에 비해 7배정도 농축된 값이다. 추후 분리 이후 후류에서 농축이 가능한 소자를 이용하여 추가적인 농축을 함으로서 극도로 희박하게 존재하고 있는 말라리아 기생충이 효과적으로 검출될 수 있도록 농축하는 연구가 후속 연구로서 수행되어야 할 것이다.

[0064] 본 특허에서 개발된 소자의 말라리아 조기진단에의 효용성을 평가하기 위해 분리 전후 샘플의 PCR 분석을 수행하였다. 도 8 (a)는 분리 전후 샘플의 PCR을 통한 임계 사이클 (threshold cycle, Ct) 값을 나타낸다. 세포를 포함하지 않은 0.1(w/v)%의 HA 용액의 음성 제어 샘플(negative control)의 경우, 임계 사이클은 39.4로서 폴리머 용액이 PCR 측정 결과에 아무런 영향을 주지 않음을 확인하였다. 반면 말라리아 기생충을 높은 농도 (~ $10^{7}$parasites/ml)로 부유한 양성 제어 샘플 (positive control)의 경우, 임계 사이클은 10.52로서 짧게 측정되었다. 소자를 거치기 전 분리 전 샘플의 경우, 용혈된 전혈에 부유한 낮은 농도의 말라리아 기생충 (~ $5\times10^{2}$parasites/ml)을 포함하고 있으며 이때는 PCR 분석을 통해 기생충이 검출되지 않으며 임계 사이클 값은 33.55 로 측정되었다. 이는 극도로 희박한 말라리아 기생충의 농도와 핵을 보유하고 있는 백혈구의 영향으로 분석된다. 반면 분리 후 출구 A에서 모아지는 샘플의 경우 순수한 말라리아 기생충만을 포함하고 있으며 이때의 임계 사이클 값은 28.08이며, 분리 후 출구 B로 얻어지는 샘플 (주로 백혈구)의 경우 36.57의 높은 임계 사이클 값을 갖는다. 또한 도 8의 (b)는 본 특허를 통해 개발된 소자에서의 분리를 통해 PCR 분석결과를 질적으로 향상시켰음을 보여주고 있다. 미리 정의된 길이의 DNA를 포함하고 있는 DNA ladder는 각 길이별로 PCR 결과로서의 밴드를 보여주기 위해 사용되었다. PCR 증폭 이후 DNA 밴드에 따르면 430 bp 크기의 특정밴드가 말라리아 기생충을 나타내는 것으로서 분리 전 샘플의 경우에는 나타나지 않다가 양성 제어 샘플과 출구 A에서 뽑아낸 샘플의 경우 선명한 밴드를 보여주었다. 이는 소자를 거치면서 PCR 분석 결과에 방해를 줄 수 있는 백혈구가 제거되었으며 출구 B를 통해 일정 비율의 버퍼 용액이 제거되면서 말라리아 기생충이 농축되는 효과를 가지기 때문이다. 소자의 사용이 편리하며 넓은 유동조건 범위 ($50 \leq Q \leq 400$ μl/min)에서 분리가 가능하다는 장점은 본 소자로 하여금 임상현장에서 사용될 수 있는 휴대용 통합진단소자로서 사용이 가능하도록 한다. 따라서 본 소자는 이후 말라리아 기생충뿐만 아니라 박테리아나 바이러스 등의 다른 희박한 질병관련세포를 분리하는 데에도 활용될 수 있을 것이다.

[0065] 이상과 같이 본 발명에서는 구체적인 구성 요소 등과 같은 특정 사항들과 한정된 실시예 및 도면에 의해 설명되었으나 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.

[0066] 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*

[0067] 110: 포커싱 채널

120: 제 1 분기부

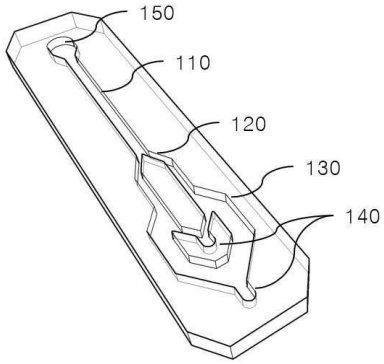
130: 제 2 분기부

140: 유출부

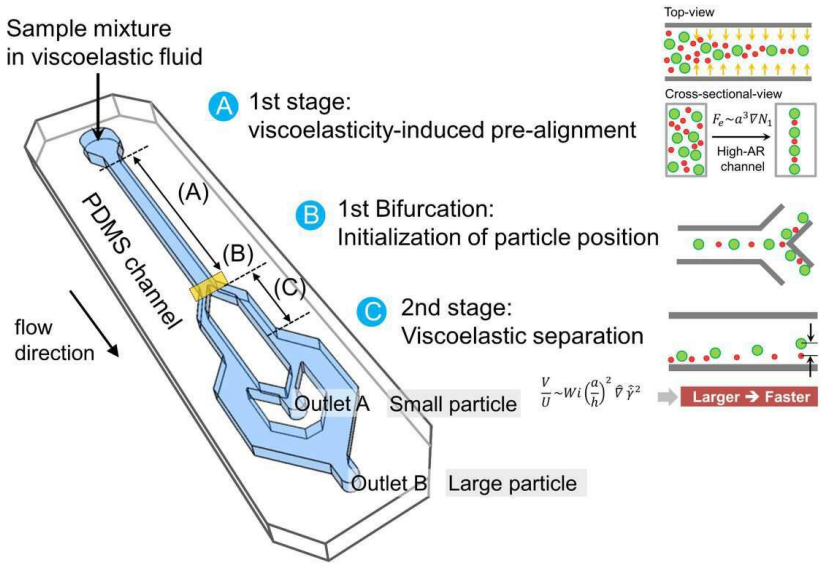
150: 유입구

## 도면

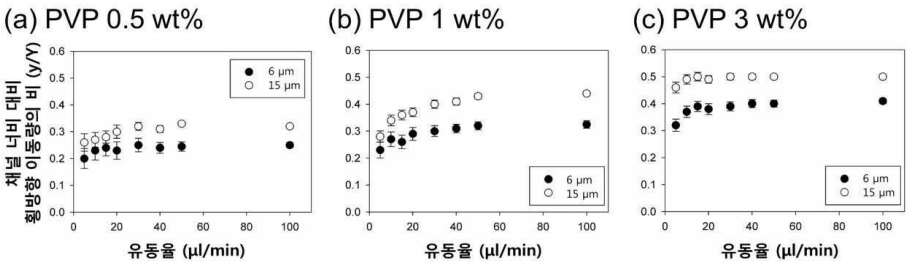
### 도면1



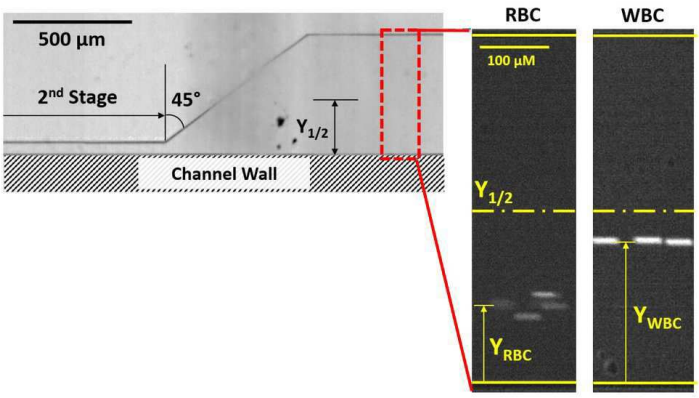

### 도면2



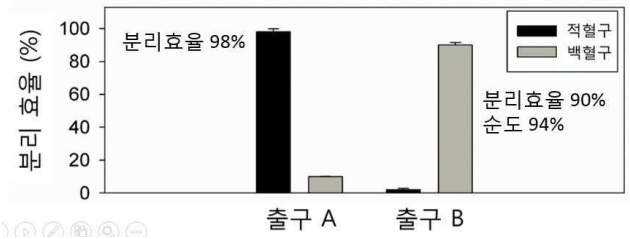

### 도면3



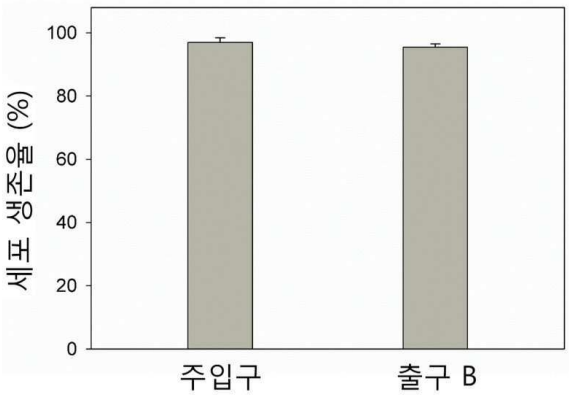
도면4a



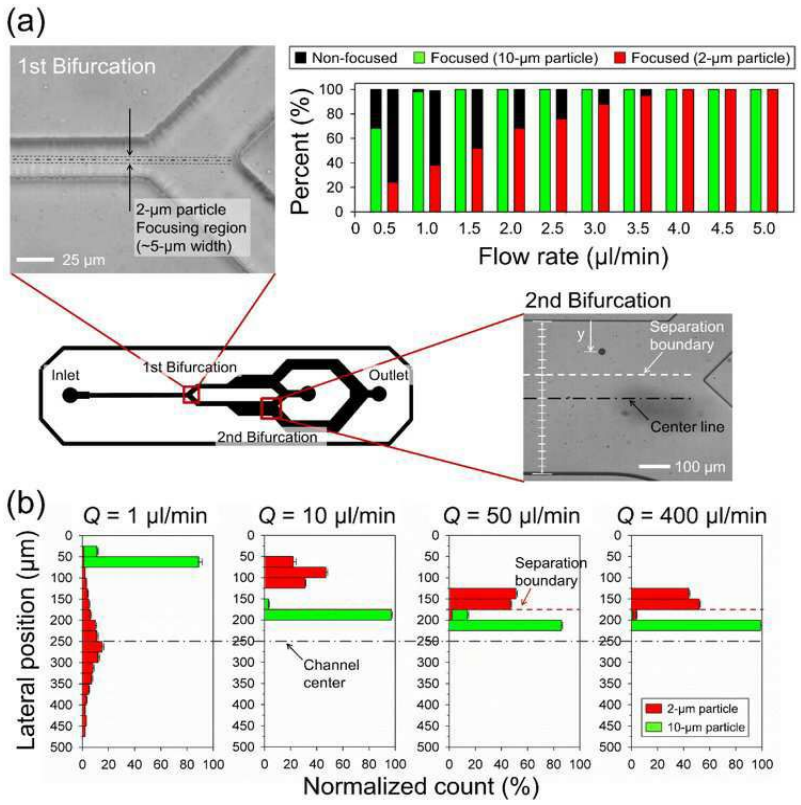

도면4b



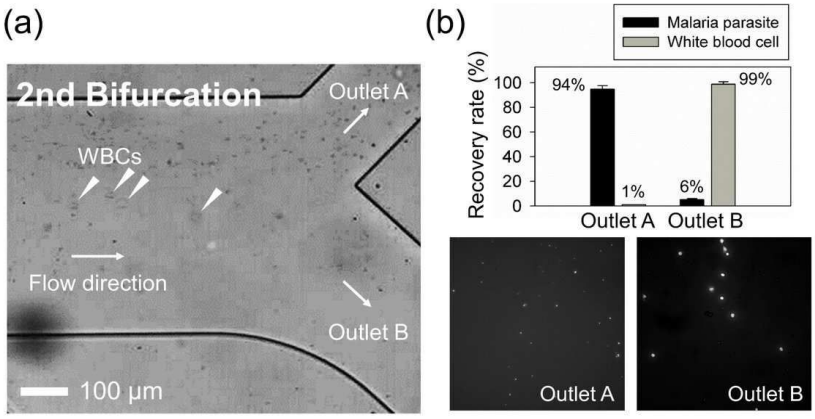

도면5



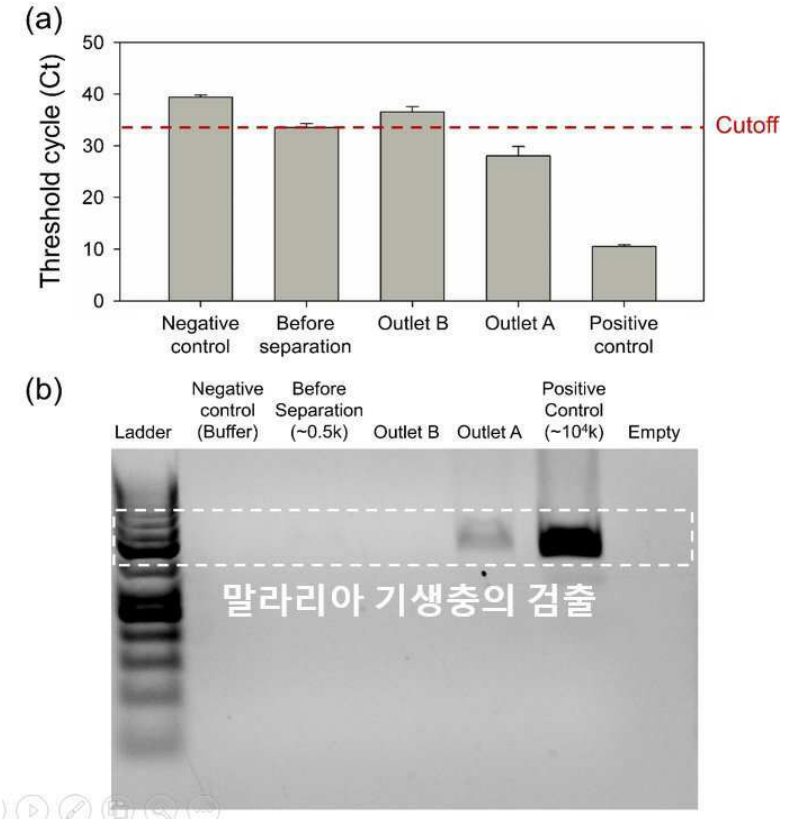
도면6


(a)
1st Bifurcation
2-μm particle
Focusing region
(~5-μm width)
25 μm
Non-focused
Focused (10-μm particle)
Focused (2-μm particle)
Percent (%)
Flow rate (μl/min)
2nd Bifurcation
Inlet
Outlet
Separation boundary
Center line
100 μm
(b)
Q = 1 μl/min
Q = 10 μl/min
Q = 50 μl/min
Q = 400 μl/min
Lateral position (μm)
Channel center
Separation boundary
2-μm particle
10-μm particle
Normalized count (%)

도면7


(a)
2nd Bifurcation
Outlet A
WBCs
Flow direction
Outlet B
100 μm
(b)
Malaria parasite
White blood cell
Recovery rate (%)
94%
1%
6%
99%
Outlet A
Outlet B
Outlet A
Outlet B

도면8


(a)
Threshold cycle (Ct)
50
40
30
20
10
0
Cutoff
Negative control
Before separation
Outlet B
Outlet A
Positive control
(b)
Ladder
Negative control (Buffer)
Before Separation (~0.5k)
Outlet B
Outlet A
Positive Control (~10⁴k)
Empty
말라리아 기생충의 검출