(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0092496
(43) 공개일자 2014년07월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/49 (2006.01) *G01N 35/08* (2006.01)
G01N 33/15 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0158117
(22) 출원일자 2012년12월31일
심사청구일자 2013년08월27일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
신세현
서울 서초구 방배로 270, 바동 406호 (방배동, 방배삼호아파트)
임채승
경기도 안양시 동안구 평촌동 399-6 건영3단지 302-804
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인다나

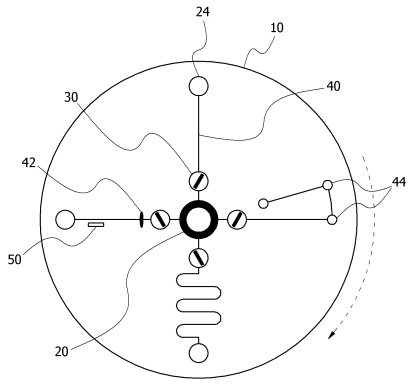
전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 **원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법**

(57) 요 약

본 발명은 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치에관한 것이다. 본 발명은 회전 가능한 디스크; 디스크의 중앙에 배치되고, 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 챔버; 샘플 챔버와 다수의 반경방향으로 각각 연결되어 혈액 샘플 내에 전단유동을 유도하는 교반 챔버; 교반 챔버에 연결되어 혈액 샘플이 이동되면서 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 미세 채널; 및 미세 채널을 통과한 혈액 샘플이 수용되는 폐샘플 챔버를 포함한다. 이와 같은 본 발명에 의하면, 하나의 혈액 샘플에 대한 다수의 약물 검사를 다수의 채널에서 한번의 검사로 복합적인 혈소판 기능에 대한 다중검사가 가능하고 검사 시간이 감소하며 검사 비용도 절감되는 효과가 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

남정훈

서울 동대문구 약령시로 25, 103동 1104호 (제기동, 벽산아파트)

임현정

서울 성북구 종암로23길 35, 212동 703호 (종암동, 래미안세레니티)

특허청구의 범위

청구항 1

회전 가능한 디스크;

상기 디스크의 중앙에 배치되고, 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 챔버;

상기 샘플 챔버와 다수의 반경방향으로 각각 연결되어 상기 혈액 샘플 내에 전단유동을 유도하는 교반 챔버;

상기 교반 챔버에 연결되어 상기 혈액 샘플이 이동되면서 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 미세 채널; 및

상기 미세 채널을 통과한 혈액 샘플이 수용되는 폐샘플 챔버를 포함하는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 디스크에 설치되어 상기 혈액 샘플의 이동거리를 측정하기 위한 측정부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 교반 챔버에는 교반기가 회전 가능하게 설치되는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 교반기는 일자 원형봉, 십자 원형봉 또는 원형판 형상 중 어느 하나의 형상을 가지는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 5

제 3 항에 있어서,

상기 교반기의 내부에는 혈소판 응집을 활성화시키거나 비활성화시키기 위한 약물이 액체 또는 고체의 상태로 저장되는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 약물은 콜라젠, 아데노신2인산(ADP) 또는 에피네프린(Epinephrine)와 같은 아고니스트(agonist)인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 7

제 5 항에 있어서,

상기 약물은 아스피린, P2Y1 리셉터 안타고니스트 또는 P2Y12 리셉터 안타고니스트와 같은 안타고니스트(antagonists)인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 P2Y1의 안타고니스트(antagoniosts)로는 MRS 2179, MRS 2279, MRS 2500, A2P5P, A3P5P, 및 A3P5PS의 후보

물질 중 적어도 어느 하나인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 9

제 7 항에 있어서,

상기 P2Y12의 안타고니스트(antagoniosts)로는 클로피도그렐(clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine), 프라수그렐(prasugrel), AR-C67085MX, 칸그렐러(cangrelor), C1330-7, MRS 2395, 및 2-methylthioadenosine-5'-monophosphate 의 후보 물질 중 적어도 어느 하나인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 10

제 3 항에 있어서,

상기 교반기에 의해 발생하는 전단유동에서 최소 전단율은 5000(s^{-1}) 이상이거나 최소 전단력이 8Pa 이상인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 11

제 3 항에 있어서,

상기 교반기의 중앙과 양측은 개방되며, 상기 개방된 부분에는 밀봉재가 구비되는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 밀봉재는 상변화물질 또는 수용성 맴브레인인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

상기 상변화물질은 파라핀 왁스이고, 상기 수용성 맴브레인은 녹말인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 14

제 1 항에 있어서,

상기 미세 채널의 전단에는 상기 혈액 샘플의 유동을 제어하기 위한 미세유동 밸브가 설치되는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 15

제 1 항에 있어서,

상기 미세 채널의 형상은 직선형, 곡선형, 지그재그형 중 어느 하나 또는 이들의 조합으로 이루어지는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 16

제 1 항에 있어서,

상기 미세 채널에는 중간의 다수 지점에 중간 챔버가 형성되는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 17

제 1 항에 있어서,

상기 미세 채널에는 중간에 상대적으로 폭이 큰 다수의 확대부가 구비되는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 18

회전 가능한 디스크;

상기 디스크의 중앙부에 다수가 원주 방향을 따라 배치되고, 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 챔버;

상기 샘플 챔버와 다수의 반경방향으로 각각 연결되어 상기 혈액 샘플 내에 전단유동을 유도하는 교반 챔버;

상기 교반 챔버에 연결되어 상기 혈액 샘플이 이동되면서 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 미세 채널; 및

상기 미세 채널을 통과한 혈액 샘플이 수용되는 폐샘플 챔버를 포함하는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 19

제 18 항에 있어서,

상기 교반 챔버에는 교반기가 회전 가능하게 설치되는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 20

제 19 항에 있어서,

상기 교반기의 중앙과 양측은 개방되며, 상기 개방된 부분에는 밀봉재가 구비되는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 21

제 20 항에 있어서,

상기 밀봉재는 상변화물질 또는 수용성 맴브레인인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 22

제 21 항에 있어서,

상기 상변화물질은 파라핀 왁스이고, 상기 수용성 맴브레인은 녹말인 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치.

청구항 23

혈액 샘플을 주입하는 단계;

상기 혈액 샘플이 교반 챔버로 유입되고, 상기 교반 챔버 내의 교반기가 회전하면서 약물이 상기 교반 챔버로 방출되는 단계;

상기 샘플 챔버가 설치된 디스크가 회전되는 단계;

상기 혈액 샘플이 미세 채널을 통해 이동되다가 혈소판의 응집에 의해 정지되는 단계; 및

상기 디스크가 정지되고, 상기 혈액 샘플의 이동도를 측정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 방법.

청구항 24

혈액 샘플을 주입하는 단계;

상기 샘플 챔버가 설치된 디스크가 회전되는 단계;

상기 혈액 샘플이 미세 채널을 통해 방출되어 이동되다가 혈소판의 응집에 의해 정지되는 단계; 및

상기 디스크가 정지되고, 상기 혈액 샘플의 이동도를 측정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 혈소판 약물반응 검사 장치 및 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 혈전성 허혈 및 출혈증에 대한 조기 진단과 예후를 간단한 일회용 회전형 디스크 위에서 마이크로 유동을 이용하여 소량의 혈액으로 다수의 검사를 자동으로 검사할 수 있는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 혈전증(Thrombosis)은 혈관 내에서 지혈 또는 혈전 등이 생성되는 것인데, 이러한 증상이 심장의 관상동맥이나 뇌혈관에서 발생하면 심장마비 또는 뇌경색을 유발하며 침묵의 살인자라는 별명을 지닌 혈전증은 현대인의 주요 사망원인으로 대두되고 있다. 문제는 이러한 혈전증 또는 출혈성 병증이 유전적 결함만으로 진단되지 않으며 아직도 명확하게 밝혀지지 않은 상태이다.

[0003] 더욱이, 이러한 혈전증 유병률이 유전 및 후천적 발생 요인 등에 의하여 매우 빠르게 증가하고 있다는 점이 더욱 심각한 문제이다. 따라서, 혈전증이나 출혈성 병증을 정량적으로 검사하고 이를 통해 조기 진단 및 예후를 판단할 수 있는 장치와 방법이 오래 전부터 요구되어 왔다.

[0004] 상처를 입은 혈관에 지혈 기전에 관여하는 여러 가지 인자들이 존재하는데, 각 요소들의 생화학적 및 생물리학 기전이 모두 중요하게 작용하고 있으며 그 중에서도 혈소판의 지혈 기전은 결정적인 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다. 혈소판은 상처가 없는 혈관벽에서는 부착되지 않지만, 상처가 발생한 혈관벽에는 생화학적 및 생물리학적인 기전이 동시에 작용하여 어떠한 유동조건이든지 상관없이 지혈이 이루어질 수 있도록 작용한다.

[0005] 이러한 혈소판의 기능(function)을 세분화하여 검사하려는 다양한 방법과 장치들이 병행하여 개발되어 왔다. 혈소판 기능 검사는 주로 혈소판의 수적 이상이 없는 출혈성 질환에서 선천성 혹은 후천성 혈소판 기능이상에 의한 출혈성 질환을 감별하는 데 중요한 검사이다. 또한, 이러한 혈소판 기능 검사가 심혈관 질환의 치료 및 예방에 사용되는 항혈소판 약제로 인하여 출혈성 경향의 증가나 약제의 내성에 대한 검사를 위해서도 많이 이용되고 있는 실정이다.

[0006] 혈관 내피세포에 상처가 발생하였을 경우, 혈관 내피세포 내부 물질을 구성하는 콜라젠과 같은 물질이 혈액 유동에 노출되고 혈소판은 이러한 물질에 부착되면서 활성화 된다. 혈소판의 부착 기전은 혈액유동의 환경에 따라 다른 특성을 띠게 된다.

[0007] 이를 상세하게 설명하면, 동맥과 같이 혈류속도가 빠르고 혈관벽에 작용하는 전단력이 높은 경우 혈소판이 혈관 내막에 부착되기 어렵지만 이러한 조건에서 활성화되어 혈관벽에 쉽게 부착하는 폰 윌브란트 팩터(vWF) 에 의하여 혈소판이 혈관벽에 부착된다. 물론 혈소판 세포막에 존재하는 글리코프로테익 리셉터(glycoproteic receptor) 복합체인 GPIb-IX-V 등이 폰 윌브란트 팩터(vWF)와 상호작용을 유발하여 부착되는 것으로 알려져 있다.

[0008] 이와 같이 부착된 혈소판은 동류의 혈소판을 끌어들여 응집(aggregation)을 유발시켜 지혈을 하게 되며, 이를 다시 피브린에 의하여 지혈작용을 강화시킨다.

[0009] 그러나, 이와 같이 혈소판의 기능이 항상 좋은 쪽으로만 작용하는 것이 아니라 특정의 유동 조건이나 상황에서는 역기능으로 작용할 수 있다. 예를 들면, 동맥경화로 인하여 혈관벽이 국부적으로 협착되었을 경우, 혈소판이 이러한 부분을 통과하면서 높은 전단률에 노출되어 활성화가 되어 협착부 후방부에 부착-응집이 발생하여 혈관이 막히는 혈전증을 유발하기도 한다.

[0010] 앞서 기술한 바와 같이 혈류 유동의 크기에 따라, 즉 유동에 의한 전단력(shear stress)에 의하여 혈소판 및 폰 윌브란트 팩터 (vWF)는 활성화가 되며 부착성이 크게 증가되어 지혈 기전을 갖게 된다. 이와 같이 혈소판이나

폰 윌브란트 팩터 (vWF)의 활성화에 필요한 전단력은 8 Pa 이상이며, 전단률(shear rate)로는 5000 1/s 이상인 것으로 알려져 있다.

[0011] 이와 같이 지혈 또는 혈전 병증의 조기 진단 및 예후 검사를 위하여 다양한 장치들이 제안되고 개발되었지만 이를 계측 센서를 기준으로 구분하면 전기적, 광학적, 그리고 출혈정지 시간을 측정하는 방식 등이다.

[0012] 출혈시간(Bleeding time, BT) 검사법은 약 100년 전에 개발된 출혈시간 측정검사로서 현재까지로 혈소판 기능 선별검사로 간혹 사용되고 있다. 그러나, 현재 사용되고 있는 혈소판 기능 검사는 표준화가 어렵고 임상적 유용성이 적으며 침습적 방법을 사용해야 하는 문제가 있고, 이에 따라 혈소판 기능을 측정할 수 있는 객관화된 측정법이 요구되어 왔다.

[0013] 이상의 문제점을 해결하기 위해 고안되어 혈소판의 기능을 측정하는 기술로 사용되고 있는 Platelet Function Analyzer(예: PFA-100)의 경우에는, 고전단률에서 활성화된 폰 윌브란트 팩터 (vWF)에 의하여 혈소판이 응집되는 특성이 있는데, 이를 측정하기 위하여 긴 모세관에 고전단률로 전혈을 유동시킨 후 콜라젠(Collagen)과 함께 ADP 혹은 에피네프린(Epinephrine)이 코팅된 오리피스(orifice)에 혈소판이 응집되어 오리피스 구멍이 막히는 막힘시간을 압력 또는 유량 등으로 측정하는 방법이 시행되고 있다.

[0014] 이러한 혈소판 기능 검사를 위해서는 폰 윌브란트 팩터 (vWF)의 기능에 절대적으로 의존하여야 하고 헤마토크릿(Hct)에 의존적인 검사가 이루어지며 항아스피린(Aspirin) 또는 항클로피도그렐(Clopidogrel) 검사가 불가한 단점이 있다. 또한, 혈소판의 기능 검사를 위하여 두 단계에 걸쳐 검사가 필요하여 검사 비용이 높아지는 단점을 가지고 있다.

[0015] 특히, 폰 윌브란트 팩터 (vWF)를 활성화하기 위하여 혈액 샘플이 높은 전단률로 일정시간 이상에 노출되어야 하는데, 이를 위해 PFA-100에서는 상당히 긴 모세관을 빠른 속도로 혈액을 유동시키는 방법을 채택하였다. 그러나, 이러한 방법은 다량의 혈액이 요구될 뿐 아니라, 전단률이 최대가 되는 모세관 벽 근처의 폰 윌브란트 팩터 (vWF)는 쉽게 활성화될 수 있지만 전단률이 최소가 되는 관 중심부에 위치한 폰 윌브란트 팩터(vWF)는 활성화되지 못하는 문제점을 갖고 있으며 이로 인해 검사결과의 반복성에 문제를 초래할 수 있는 단점을 지니고 있다.

[0016] Diamed사의 IMPACT는 Cone-Plate 방식의 회전형 쿠엣 유동방식을 채택하여 그 안에 채워진 혈액에 균일한 전단력을 가하는 방식으로 구성되어 높은 전단력을 가하였을 경우 혈소판의 부착 정도를 측정하는 방식이다. 이는 PFA-100과 마찬가지로 폰 윌브란트 팩터(vWF) 및 피브리노겐(Fibrinogen)의 농도 및 기능에 매우 의존적인 단점을 갖고 있다.

[0017] Verify-NOW (Accumetrics)는 혈소판 응집정도를 광학 센서를 이용하여 탁도를 측정하는 원리를 채택하였는데, 이는 혈액에 아고니스트(agonist)를 혼합하고 콜라젠이 표면에 코팅된 마이크로 비드와 작용시켜 혈액내부에 혈소판이 응집되도록한 후 이를 시간에 따라 탁도로 측정하는 방식이어서, 기존의 여러 가지 탁도 측정 방식의 기술적 단점을 그대로 보유하였음에도 불구하고 최근 사용 빈도가 늘어나고 있는 상황이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 따라서, 본 발명의 목적은 상기한 바와 같은 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 한번의 검사로 출혈성 및 혈전성 병증에 대한 복합적인 다중 조기 진단 및 예후 검사가 가능하도록 하여 검사 비용을 절감하고 검사 반복성과 정밀도를 향상시킬 수 있는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

[0019] 본 발명의 다른 목적은 자동으로 혈액유동의 막힘 시간(Closure time)을 측정할 수 있는 구조를 가진 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0020] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명은 회전 가능한 디스크; 상기 디스크의 중앙에 배치되고, 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 챔버; 상기 샘플 챔버와 다수의 반경방향으로 각각 연결되어 상기 혈액 샘플 내에 전단유동을 유도하는 교반 챔버; 상기 교반 챔버에 연결되어 상기 혈액 샘플이 이동되면서 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 미세 채널; 및 상기 미세 채널을 통과한 혈액 샘플이 수용되는

폐샘플 챔버를 포함할 수 있다.

[0021] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 본 발명은 회전 가능한 디스크; 상기 디스크의 중앙부에 다수가 원주 방향을 따라 배치되고, 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 챔버; 상기 샘플 챔버와 다수의 반경방향으로 각각 연결되어 상기 혈액 샘플 내에 전단유동을 유도하는 교반 챔버; 상기 교반 챔버에 연결되어 상기 혈액 샘플이 이동되면서 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 미세 채널; 및 상기 미세 채널을 통과한 혈액 샘플이 수용되는 폐샘플 챔버를 포함할 수 있다.

[0022] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명은 혈액 샘플을 주입하는 단계; 상기 혈액 샘플이 교반 챔버로 유입되고, 상기 교반 챔버 내의 교반기가 회전하면서 약물이 상기 교반 챔버로 방출되는 단계; 상기 샘플 챔버가 설치된 디스크가 회전되는 단계; 상기 혈액 샘플이 미세 채널을 통해 이동되다가 혈소판의 응집에 의해 정지되는 단계; 및 상기 디스크가 정지되고, 상기 혈액 샘플의 이동도를 측정하는 단계를 포함할 수 있다.

[0023] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 본 발명은 혈액 샘플을 주입하는 단계; 상기 샘플 챔버가 설치된 디스크가 회전되는 단계; 상기 혈액 샘플이 미세 채널을 통해 방출되어 이동되다가 혈소판의 응집에 의해 정지되는 단계; 및 상기 디스크가 정지되고, 상기 혈액 샘플의 이동도를 측정하는 단계를 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0024] 본 발명에 의하면, 혈액 샘플이 다수의 채널을 통해 대량의 혈액 샘플을 한번에 빠른 시간에 검사할 수 있는 효과가 있다.

[0025] 또한, 하나의 혈액 샘플에 대한 다수의 약물 검사를 다수의 채널에서 한번의 검사로 복합적인 혈소판 기능에 대한 다중검사가 가능하고 검사 시간이 감소하며 검사 비용도 절감되는 효과가 있다.

[0026] 또한, 혈액을 이동시키기 위하여 진공 펌프 등과 같은 유체구동장치 없이 원심력으로 이를 대체하는 효과를 얻을 수 있다.

[0027] 또한, 혈액에 접촉하는 부분이 모두 일회용으로 제작되어 사용 후 폐기할 수 있어 사용자의 편리성과 혈액 감염 등의 위험에서 벗어나는 효과를 얻을 수 있다.

[0028] 또한, 계측 시간의 짧음과 여러 개의 샘플이 동시에 측정될 수 있는 시스템의 구현이 가능하여 대량 검사를 수행하기에 적합한 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치의 구성도.

도 2은 본 발명의 일 실시예에 따른 혈액 샘플의 진행 과정을 보인 구성도

도 3는 본 발명의 일 실시예에 따른 교반기 내부를 보인 구성도.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세 채널의 다른 예와 유동 압력 분포를 보인 도면.

도 5는 본 발명의 다른 실시예에 따른 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치의 구성도.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 방법의 순서도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 이하에서는 본 발명에 의한 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치의 일 실시예를 첨부된 도면을 참고하여 상세하게 설명한다.

[0031] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치의 구성도이고, 도 2은 본 발명의 일 실시예에 따른 혈액 샘플의 진행 과정을 보인 구성도이며, 도 3는 본 발명의 일 실시예에 따른 교반기 내부를 보인 구성도이다.

[0032] 이에 도시된 바에 따르면, 본 발명에 의한 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치는 회전 가능한 디스크(10); 상기 디스크(10)의 중앙에 배치되고, 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 챔버(20); 상기 샘플 챔버(20)와 다수의 반경방향으로 각각 연결되어 상기 혈액 샘플 내에 전단유동을 유도하는 교반 챔버(30); 상기 교반 챔버(30)에 연결되어 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 미세 채널(40); 및 상기 미세 채널(40)을 통

과한 혈액 샘플이 수용되는 폐샘플 챔버(24)를 포함한다.

[0033] 본 발명에서는 일회용의 디스크(10)가 회전하게 되면 원심력에 의하여 혈액 샘플이 반경 방향으로 이동하게 된다. 이때, 혈소판의 응집성 또는 부착 정도에 따라서 샘플 이동거리가 차이가 나게 되고 이때 이동거리의 차를 이용하여 상대적 혈소판의 응집성 및 부착성을 측정하게 된다.

[0034] 도 1은 본 발명의 일 실시예로서, 하나의 혈액 샘플 챔버(10)로부터 다수의교반 챔버(30)가 반경방향으로 각각 나누어지며, 각각의 교반 챔버(30)에서는 검사 목적의 특수한 약물이 포함되어 있어 한번의 검사로 다양한 약물 반응 검사를 수행할 수 있다. 여기에서, 혈액 샘플의 이동 거리 측정은 디스크(10)에 설치된 측정부(50)를 통하여 얻어질 수 있다. 측정부(50)는 소형 카메라 등의 장치로 구성되어 영상을 획득하여 분석할 수도 있고, 특정 위치에 LED 및 포토다이오드 센서 등의 센서조합을 통해 혈액 샘플의 이동거리를 측정할 수도 있다.

[0035] 도 2를 참조하면, 먼저 샘플 챔버(20)에 혈액 샘플이 공급되면 연결 채널(22)을 통해 교반 챔버(30)로 혈액 샘플이 유입된다. 이때, 혈액 샘플이 더 이상 하류로 흘러가지 못하도록 제어하기 위한 미세 채널(40)의 전단에는 미세유동 밸브(42)가 설치될 수 있다. 그리고, 혈액 샘플은 미세 채널(40)을 통해 폐샘플 챔버(24)로 유입된다.

[0036] 도 3을 참조하면, 교반 챔버(30)의 내부에는 혈액 샘플의 교반을 위한 교반기(32)가 회전가능하게 설치된다. 교반기(32)는 자력과 같은 비접촉 방식에 의해 회전될 수 있으며, 회전수를 제어함으로써 교반 및 전단 유동을 효과적으로 생성할 수 있다.

[0037] 또한, 교반기(32)의 형상은 일반적으로 사용되는 일자 원형봉을 비롯하여, 십자 원형봉 또는 원형판 형상 등 다양한 형상을 가질 수 있다. 이러한 교반기(32)가 비접촉 방식의 힘을 받아 회전하게 되면, 교반 챔버(30) 내부에는 교반 뿐만 아니라 회전수에 따른 전단 유동이 발생한다. 이러한 전단 유동의 형태는 일자 원형봉일 경우 간헐적인 전단 유동이, 원형판일 경우 연속적인 전단 유동이 발생할 수 있다. 예를 들어, 교반기(32)는 별도로 설치된 교반유도장치(도시되지 않음)의 자력에 의해 자화되어 기계적인 연결없이 영향을 받을 수 있도록 얇은 금속재로 제작될 수 있다.

[0038] 교반기(32)의 직경 또는 두께는 교반 챔버(30) 깊이의 절반 크기 내외를 갖는 것이 바람직하며, 교반기(32)의 길이 또는 지름은 샘플 챔버(20) 직경의 80 내지 90% 수준의 크기를 갖는 것이 적절하다.

[0039] 한편, 교반기(32)의 내부에는 혈소판 응집을 활성화시키거나 비활성화시키기 위한 약물(34)이 액체 또는 고체의 상태로 저장될 수 있다. 즉, 교반기(32)의 내부는 속이 비어 있는 중공 형태이며, 교반기(32) 내부에 액체 또는 고체 미립 분말 형태의 약물을 저장할 수 있다.

[0040] 일 실시예로서, 일자 원형봉인 교반기(32)의 경우, 교반기(32)의 중앙과 양측 부분이 개방되며, 상기 개방된 부분에는 밀봉재(36)가 구비될 수 있다. 밀봉재(36)로는 파라핀 왁스와 같은 상변화물질이거나 녹말 등과 같은 수용성 멤브레인이 사용되는 것이 바람직하다. 파라핀 왁스는 일정 온도 이상에 노출되면 고체가 액체로 변화되면서 교반기(32)의 밀봉이 해제되며, 이때 교반기(32) 내부의 약물(34)은 원심력에 의하여 교반 챔버(30)의 내부로 방출된다. 또한, 녹말은 혈액에 노출되면 쉽게 녹아 밀봉이 해제되며, 약물(34)이 교반 챔버(30)의 내부로 방출된다.

[0041] 또한, 상변화물질의 밀봉재(36)가 사용된 경우, 레이저 또는 전자기파 등을 밀봉재(36)에 조사하여 상변화물질이 녹아 내리도록 가열하여 밀봉을 해제시킬 수 있다. 그리고, 수용성 멤브레인으로 밀봉재(36)가 사용된 경우, 혈액에 빨리 녹도록 교반기(32)를 회전시키면 밀봉이 해제되어 교반기(32) 내부의 약물(34)이 방출될 수 있다. 이와 같이, 약물(34)이 방출되는 원리는 교반기(32)의 회전에 따른 원심력이 주요 구동력이 된다.

[0042] 혈소판이 역학적 힘에 의하여 활성화되는 여부를 검사하고자 할 경우에는, 교반기(32)의 회전에 의한 최소 전단율은 5000(s^{-1}) 이상이 되거나 최소 전단력이 8Pa 이상인 것이 바람직하다. 또한, 상기 전단 유동장에 혈액 샘플이 노출되는 시간은 최소 30초 이상인 것이 바람직하다. 이는 상기 전단율을 이용하여 혈소판 및 폰 윌브란트 팩터(vWF)의 충분한 활성화를 이루기 위함이다.

[0043] 교반기(32)에 충진되는 약물(34)은, 혈소판 응집을 활성화시키는 아데노신2인산(ADP) 또는 에피네프린과 같은 아고니스트(agonists)이거나, 이와 반대로 혈소판의 응집이나 부착을 비활성화시키는 안타고니스트(antagonists) 등이 포함될 수 있다.

[0044] 또한, 약물(34)은 교반기(32)의 내부에 액상과 액상, 액상과 고상의 형태로 각각 충진될 수 있으며 서로 다른 공간에 분리되어 저장될 수도 있다. 더욱이, 약물(34)이 고상으로만 충진될 때에는 미세입자로 서로 혼합되어

저장될 수도 있다.

[0045] 이와 같이 약물(34)이 교반기(32)로부터 방출되어 혈액 샘플에 유입되면, 교반기(32)의 회전에 의해 균질하게 혼합되면서 약물(34)에 의한 혈소판 반응이 발생하게 된다. 특히, 아고니스트의 약물일 경우, 혈소판의 응집이 촉진되어 큰 덩어리의 응집체가 형성될 수 있다.

[0046] 약물(34)과 혈액 샘플이 교반기(32)에 의하여 혼합이 완료되면, 교반 챔버(30)와 미세 채널(40) 등을 포함한 디스크(10)에 연결된 회전장치(미도시)는 서서히 회전을 하게 되며 일정 속도의 회전수를 갖게 된다. 이때, 교반 챔버(30)에 저장되어 있는 혈액 샘플은 원심력에 의하여 반경방향으로 나가려 하지만, 상변화물질과 같은 밀봉재(36)로 막혀있어 유동이 발생하지 못한다. 그러나, 상변화물질 부위에 전자기파, 레이저 또는 기타 가열 수단에 의하여 열이 전달되면 채널 내 유로가 열리고 혈액 샘플이 반경방향으로 이동하게 된다.

[0047] 다시 도 1 및 2를 참조하면, 약물(34)의 혼합 및 전단 교반과정이 끝나면, 미세유동 밸브(42)가 열리고 디스크(10)가 회전하게 되는데, 이때 혈액 샘플은 회전에 의한 원심력에 의하여 반경방향으로 힘을 받게 되어 미세 채널(40)을 따라 이동된다. 이때, 약물(34)과 반응한 혈액 샘플은 혈소판의 응집 정도에 따라 이동의 속도가 다르게 되며 이동 정도 또한 다르게 되는 특성을 이용하여 혈소판의 약물반응 검사를 수행하게 된다.

[0048] 혈소판 응집 등에 의하여 혈액 샘플이 미세 채널(40) 내에서 진행이 멈추게 되는데, 이때 혈액 샘플의 이동비(migration ratio)를 상대적으로 측정할 수 있다. 또한, 미세 채널(40)의 형상은 도 1에서와 같이 일자형 채널에 중간 챔버(44)가 중간의 다수 지점에 형성될 수 있다. 중간 챔버(44)는 혈액 샘플의 유속을 감소시켜 혈소판의 응집을 유발하며 응집된 혈소판 덩어리가 미세 채널(40)에 재진입할 때 막히는 것을 촉진하도록 하는 역할을 한다.

[0049] 교반 챔버(30)에 연결되어 다수의 중간 챔버(44)를 포함한 미세 채널(40)에서, 혈액의 약물 반응의 정도에 따른 혈액 이동도가 결정된다. 즉, 아고니스트에 잘 반응하는 혈액 샘플은 상대적으로 큰 혈소판 응집체가 다수 형성되며 이는 상기 미세 채널(40)의 큰 유동저항으로 작용하여 검체군 대비 혈액의 이동비(migration ratio)가 작아진다. 그러나, 아고니스트와 잘 반응하지 않는 혈액 샘플일 경우, 혈소판의 응집 정도가 낮으며 이로 인해 혈액의 이동거리는 매우 높아 하류까지 원심력에 의하여 진행된다. 이와 같이 약물(34)과 혼합된 혈액 샘플의 이동도를 검체군(Control)의 이동 거리와 비교하여 이동비(migration ratio)를 계산할 수 있다.

[0050] 또한, 교반 챔버(30)의 하류 방향으로 연결된 미세 채널(40)의 배열은 반경방향으로 도 1에서와 같이 직선형, 곡선형 또는 지그재그형으로 배치할 수도 있고, 이들의 다양한 조합으로 이루어질 수도 있다.

[0051] 한편, 도 4를 참조하면, 미세 채널(40)은 일자형 채널로 구성될 수도 있지만, 중간에 상대적으로 폭이 큰 확대부(46)를 구비하여 혈액 샘플의 유속을 감속시키며 혈소판의 응집과 부착을 증가시킬 수 있도록 구성할 수 있다. 이러한 확대부(46)를 중간에 적절히 배치하면 혈액 샘플은 마치 맥동형 압력이나 전단력을 경험하며 이동하는 특성을 갖게 되어 생체 내부의 유동을 모사할 수 있다. 확대부(46)에 연결된 미세 채널(40)은 마치 혈관 내부에 존재하는 협착부를 묘사할 수 있기도 하다.

[0052] 또한, 확대부(46) 표면에는 혈소판의 부착을 증가시킬 수 있는 아고니스트를 코팅하여 혈액의 이동도의 변별력을 향상시킬 수 있다. 이러한 미세 채널(40)을 모두 통과한 혈액 샘플은 폐샘플 챔버(24)로 수집된다.

[0053] 상기 약물로는, 혈소판이 부착하는 것에 도움이 되는 아고니스트(agonist), 즉 콜라젠, 또한, 아데노신2인산(ADP), 에피네프린(Epinephrine) 등이 있으며, 반대로 혈소판의 응집을 방해하거나 억제하는 안타고니스트(antagonoists)로는 아스피린, P2Y1 리셉터 안타고니스트, P2Y12 리셉터 안타고니스트 등이 포함된다.

[0054] P2Y1의 안타고니스트(antagoniosts)로는 MRS 2179, MRS 2279, MRS 2500, A2P5P, A3P5P, 및 A3P5PS 등의 후보 물질 중 적어도 어느 하나일 수 있다. P2Y12의 안타고니스트(antagoniosts)로는 클로피도그렐(clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine), 프라수그렐(prasugrel), AR-C67085MX, 칸그렐러(cangrelor), C1330-7, MRS 2395, 및 2-methylthioadenosine-5'-monophosphate 등의 후보 물질 중 적어도 어느 하나일 수 있다.

[0055] 특히, 상기 관련 약물 복용자에서의 혈소판 응집기능과 약물들에 대한 저항성 측정이 본 발명에 의한 검사 장치에 의하여 실시될 수 있다.

[0056] 혈소판의 기능은 정상인 혹은 아스피린 및 클로피도그렐(clopidogrel) 복용자의 혈액을 citrated 튜브에 채취한 뒤 약 50~100 microliter의 전혈액을 취하여 각기 안타고니스트 아데노신2인산(agonist ADP), 프로스라글랜딘 E(Prosraglandin E), 피브리노겐(Fibrinogen), 아라키도닉산(Arachidonic acid) 최적의 농도에서 37?에서 10~30분간 반응시킨다. 반응 후 혈액을 마이크로 채널을 가진 마이크로칩에서 원심력을 가하여 이동시키게 되는

데 대상자의 혈소판의 기능이 정상이라면 짧은 시간 내에 계측 챔버의 유로가 막혀 유동이 정지하게 되거나 이동거리가 짧게 된다. 반대로 혈소판의 기능에 이상이 있는 경우 정상에 비해 막힘 시간이 늘어나게 되거나 이동거리가 증가하게 된다.

[0057] 약물내성을 검사하는 경우, 즉 아스피린, 클로피도그렐 (clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine) 등을 복용한 경우 혈소판의 응집기능이 저하하므로 미세채널 내부의 유로가 쉽게 막히지 않아 막힘 시간이 증가하고 이동거리가 증가하게 된다. 정상인의 경우 약물에 잘 반응하여 이 막힘 시간이 짧게 나타나는데 이러한 막힘 시간의 비율이 정상인보다 현저히 줄어들게 되면 아스피린과 클로피도그렐 (clopidogrel)의 약물내성으로 판단하게 된다.

[0058] 다음으로, 이하에서는 본 발명의 다른 실시예에 따른 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치에 대하여 설명한다.

[0059] 도 5는 본 발명의 다른 실시예에 따른 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 장치의 구성도이다.

[0060] 이에 도시된 바에 따르면, 본 실시예에서는 4개의 서로 다른 혈액 샘플이 하나의 디스크(10)에 주입되어 한번의 검사로 수행될 수 있는 장점을 지니고 있다. 물론, 다수의 혈액 샘플 검사가 가능하도록 다수의 샘플 챔버(30)와 이에 따른 미세 채널(40)이 구비된다. 여기에서, 샘플 챔버(30)는 디스크(10)의 중앙부에 다수개가 원주 방향을 따라 배치되고, 각각의 샘플 챔버(30)에 주입된 혈액 샘플은 각각 반경방향으로 이동될 수 있다.

[0061] 또한, 미세 채널(40)의 구성은 도 1에 도시된 바와 같이 직선형, 곡선형 또는 지그재그형 등 다양한 형상의 조합으로 구성될 수 있다.

[0062] 이하에서는 상기한 바와 같은 구성을 가지는 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 방법을 상세하게 설명한다.

[0063] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 원심력 미세유동 기반 혈소판 복합기능 및 약물반응 검사 방법의 순서도이다.

[0064] 이에 도시된 바에 따르면, 검사자는 정맥 채혈한 혈액 샘플을 샘플 챔버(20)에 주입한다(S10). 그리고, 샘플 챔버(20)에 연결된 연결 채널(22)을 통해 교반 챔버(30)로 유입되며, 교반 챔버(30) 내의 교반기(32)가 자력에 의하여 회전하게 되면서 교반기(32) 내부에 저장되어 있는 약물(34)이 방출되며 혈액 샘플과 혼합된다(S20).

[0065] 이때, 혈소판의 기계적 자극을 통한 활성화 시험의 경우에는 특정 회전수로 빠르게 회전시켜 혈소판 및 폰 윌브란트 팩터(vWF)를 활성화시킨다. 이러한 기계적 활성화 시험이 아닌 경우에는 약물과 혈액 샘플의 교반 목적으로 미리 설정된 속도 및 시간 동안 회전될 수 있다.

[0066] 다음으로, 샘플 챔버(20)가 설치된 디스크(10)가 회전하게 된다(S30). 그리고, 미세유동 밸브(42)가 열리면 혈액 샘플은 미세 채널(40)을 통해 하류로 이동되는데, 혈소판의 응집 정도 및 부착성에 따라 미세 채널(40)을 흘러나가는 속도와 이동거리가 달라지며 정지되거나 끝까지 이동된다(S40).

[0067] 그러면, 디스크(10)는 정지하게 되고, 샘플의 이동도가 영상장치 또는 광원 및 광감지 센서 등의 측정부(50)를 통해 측정된다(S50).

[0068] 상기 혈액 샘플에 전단력을 가하여 혈소판을 활성화하는 방법으로 교반기를 회전시켜 전단유동을 발생시키는 방법 이외에, 원심력에 의한 혈액의 고전단 유동을 통해 혈소판을 활성화 시킬 수 있다. 좀더 상세하게는, 혈액 샘플이 주입된 후 미세유동 밸브(42)가 폐쇄된 상태에서 일정 회전 속도까지 증가시킨 후 미세유동 밸브(42)가 열리게 되면 미세 채널(40)을 통해 높은 전단 유동이 발생하게 된다. 이를 통해 활성화된 혈소판이 미세 채널의 확대부(46) 또는 특정부위에 코팅된 아고니스트 등의 약물에 반응하여 부착 및 응집 등이 이루어져 유동의 진행 정도를 방해하게 된다. 이때, 샘플 유동의 이동비 또는 미세 채널(40) 끝에 도달하는 시간 등을 이용하여 약물반응 검사를 수행할 수 있다.

[0069] 본 발명의 권리범위는 위에서 설명된 실시예에 한정되지 않고 청구범위에 기재된 바에 의해 정의되며, 본 발명의 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 청구범위에 기재된 권리범위 내에서 다양한 변형과 개작을 할 수 있다는 것은 자명하다.

부호의 설명

[0070] 10 : 디스크 20 : 샘플 챔버

22 : 연결 채널 30 : 교반 챔버

32 : 교반기 34 : 약물

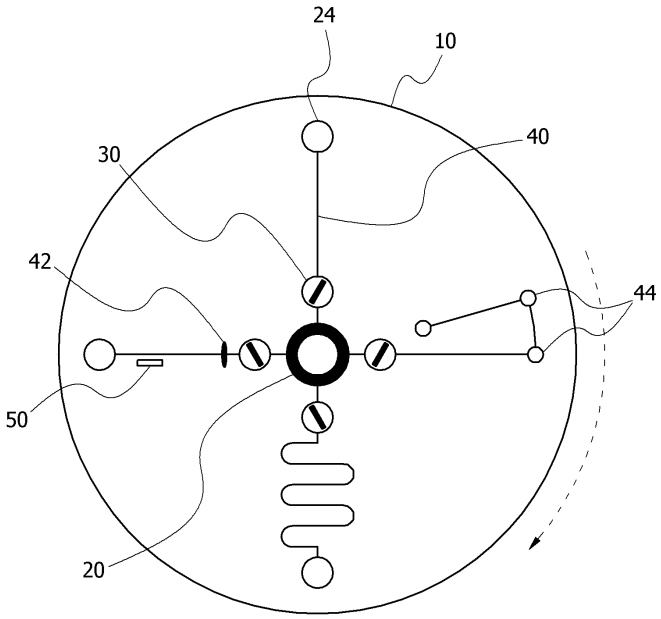
36 : 밀봉재 40 : 미세 채널

42 : 미세유동 밸브 44 : 중간 챔버

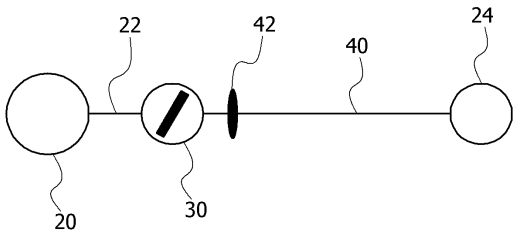
46 : 확장부 50 : 측정부

도면

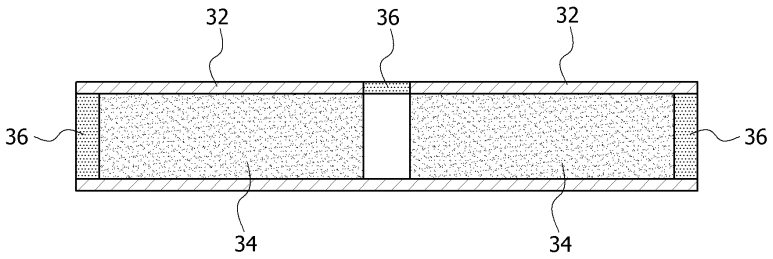
도면1



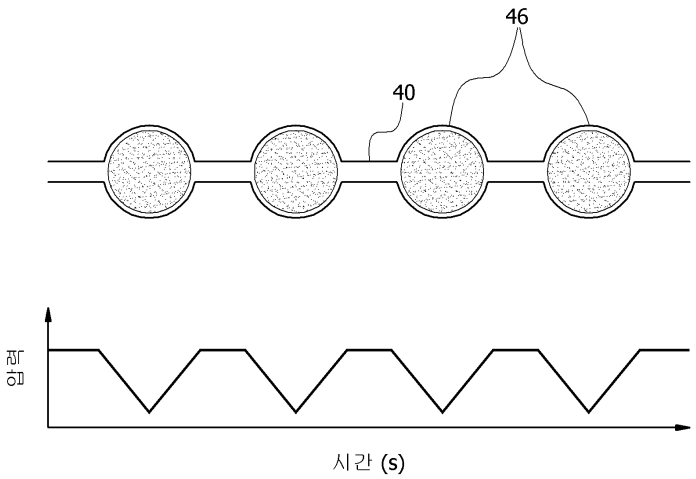
도면2



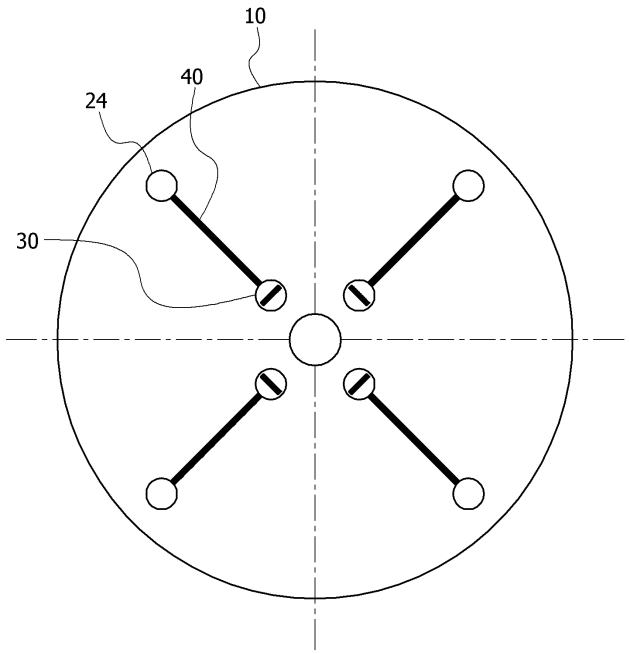
도면3



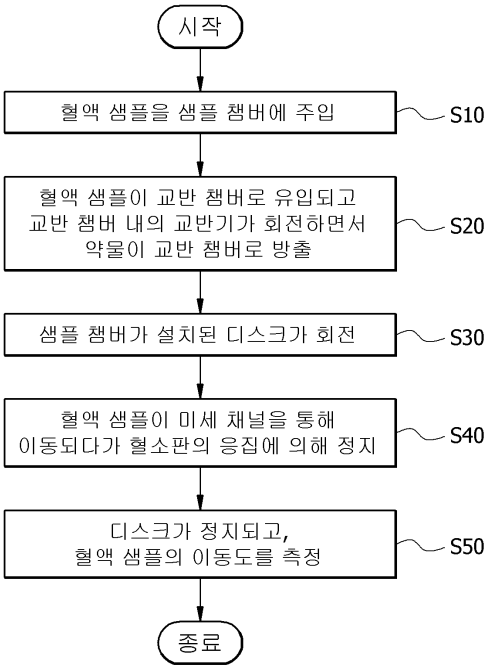
도면4



도면5



도면6


시작
혈액 샘플을 샘플 챔버에 주입
S10
혈액 샘플이 교반 챔버로 유입되고
교반 챔버 내의 교반기가 회전하면서
약물이 교반 챔버로 방출
S20
샘플 챔버가 설치된 디스크가 회전
S30
혈액 샘플이 미세 채널을 통해
이동되다가 혈소판의 응집에 의해 정지
S40
디스크가 정지되고,
혈액 샘플의 이동도를 측정
S50
종료