



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0088606
(43) 공개일자 2017년08월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/543 (2006.01) B01L 3/00 (2006.01)
G01G 3/16 (2006.01) G01N 21/552 (2014.01)
G01N 27/04 (2006.01) G01N 35/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/54306 (2013.01)
B01L 3/50273 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0008691
(22) 출원일자 2016년01월25일
심사청구일자 2016년01월25일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
신세현
서울시 서초구 방배로 270, 바동406호 (방배동, 신삼호아파트)
장대호
경기도 안산시 단원구 광덕동로 26, 101동606호 (고잔동, 고잔1차푸르지오아파트)
이호윤
경기도 파주시 조리읍 능안로 37, 110동1302호 (한라비발디아파트)
(74) 대리인
특허법인남춘

전체 청구항 수 : 총 9 항

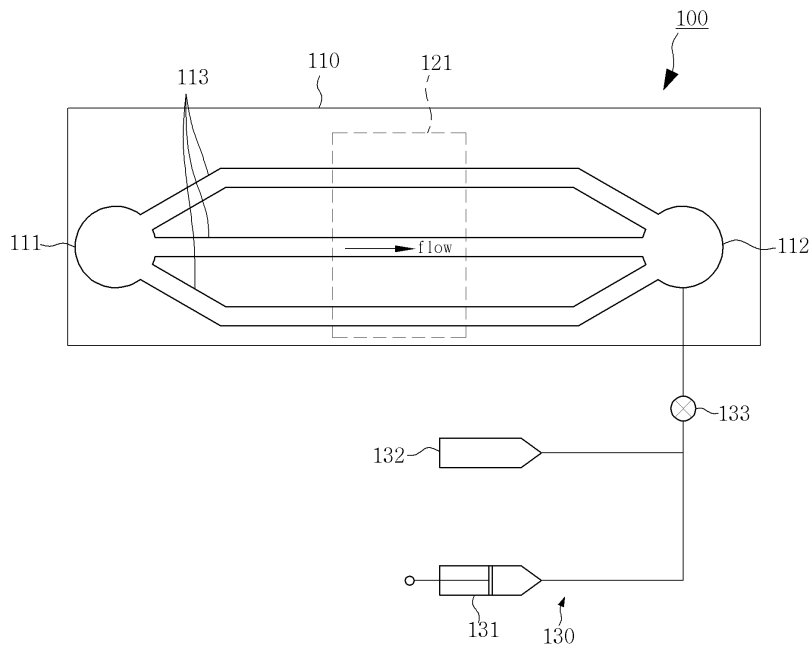
(54) 발명의 명칭 혈소판 분석 장치

(57) 요약

본 발명은 혈소판 분석 장치에 관한 것으로, 혈액 샘플이 수용되는 샘플 챔버와, 상기 샘플 챔버와 이격된 음압 유입 챔버와, 상기 샘플 챔버와 상기 음압 유입 챔버를 연결하는 복수의 미세 채널을 갖는 혈소판 검사 칩과, 상기 샘플 챔버 내부의 상기 혈액 샘플이 각각의 상기 미세 채널을 통해 상기 음압 유입 챔버로 유동하도록 상기

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



음압 유입 챔버를 통해 음압을 제공하는 음압 제공부와, 각각의 상기 미세 채널 내부의 일 영역에서 상기 혈액 샘플에 포함된 표지 물질을 검출하는 측정부를 포함하며; 상기 측정부는 각각의 상기 미세 채널 내부에 배치되고, 표면에 상기 표지 물질과 결합하는 표지 수용체가 도포된 면역 반응부와, 상기 면역 반응부의 상기 표지 수용체에 상기 표지 물질의 결합을 검출하는 반응 검출부를 포함하는 것을 특징으로 한다. 이에 따라, 본 발명에 따르면, 임상 현장에서 혈액 검사를 통해 혈소판의 활성화 정도를 간편하고 정확하게 정량적으로 검사할 수 있고, 다수의 혈소판 기능에 대한 검사가 가능하여 검사 시간을 줄이고, 검사 비용을 절감할 수 있다.

(52) CPC특허분류

B01L 3/502761 (2013.01)

G01G 3/16 (2013.01)

G01N 21/553 (2013.01)

G01N 27/043 (2013.01)

G01N 35/08 (2013.01)

B01L 2400/0487 (2013.01)

G01N 2035/00158 (2013.01)

G01N 2800/222 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI14C0670

부처명 융합기술지원팀

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 미래융합의료기기개발

연구과제명 글로벌 경쟁형 혈소판 검사 신의료기술 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2015.05.01 ~ 2016.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

혈소판 분석 장치에 있어서,

혈액 샘플이 수용되는 샘플 챔버와, 상기 샘플 챔버와 이격된 음압 유입 챔버와, 상기 샘플 챔버와 상기 음압 유입 챔버를 연결하는 복수의 미세 채널을 갖는 혈소판 검사 칩과,

상기 샘플 챔버 내부의 상기 혈액 샘플이 각각의 상기 미세 채널을 통해 상기 음압 유입 챔버로 유동하도록 상기 음압 유입 챔버를 통해 음압을 제공하는 음압 제공부와,

각각의 상기 미세 채널 내부의 일 영역에서 상기 혈액 샘플에 포함된 표지 물질을 검출하는 측정부를 포함하며;

상기 측정부는

각각의 상기 미세 채널 내부에 배치되고, 표면에 상기 표지 물질과 결합하는 표지 수용체가 도포된 면역 반응부와,

상기 면역 반응부의 상기 표지 수용체에 상기 표지 물질의 결합을 검출하는 반응 검출부를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

혈소판 풍부 혈장 내의 혈소판을 활성화시키고, 활성화된 혈소판과 결합하는 제1 표지 물질과, 활성화되지 않은 혈소판과 결합하는 제2 표지 물질을 투입하고, 원심 분리를 통해 상 분리하여 얻어진 상층액이 상기 혈액 샘플로 상기 샘플 챔버로 투입되고,

활성화된 혈소판 및 활성화되지 않은 혈소판과 결합하고 남은 상기 제1 표지 물질 및 상기 제2 표지 물질이 상기 상층액에 잔존하여 상기 혈액 샘플의 표지 물질이 되며;

복수의 상기 미세 채널 중 어느 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 상기 제1 표지 물질이 결합하는 제1 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되고, 복수의 상기 미세 채널 중 다른 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 상기 제2 표지 물질이 결합하는 제2 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 샘플 챔버에 투입되는 상기 혈액 샘플은 혈소판 풍부 혈장 내의 혈소판이 활성화된 상태로 투입되고;

상기 샘플 챔버 내부에는 활성화된 혈소판과 결합하는 제1 표지 물질과, 활성화되지 않은 혈소판과 결합하는 제2 표지 물질이 투입되어 상기 혈액 샘플 내의 활성화된 혈소판과 활성화되지 않은 혈소판과 각각 결합하고;

활성화된 혈소판 및 활성화되지 않은 혈소판과 결합하고 남은 상기 제1 표지 물질 및 상기 제2 표지 물질이 상기 혈액 샘플과 함께 상기 미세 채널로 유동하며;

복수의 상기 미세 채널 중 어느 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 상기 제1 표지 물질이 결합하는 제1 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되고, 복수의 상기 미세 채널 중 다른 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 상기 제2 표지 물질이 결합하는 제2 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서,

상기 제1 표지 물질은 CD62P 항체와 CD63 항체 중 어느 하나를 포함하고,

상기 제2 표지 물질은 CD41 항체를 포함하고,

상기 제1 표지 수용체는 CD62P 항원, CD63 항원, 상기 CD62P 항체 또는 상기 CD63 항체와 결합 가능한 압타머(Aptamer), 상기 CD62P 항체 또는 상기 CD63 항체와 결합 가능한 펩타이드(Peptide) 중 어느 하나를 포함하며;

상기 제2 표지 수용체는 CD41 항원, 상기 CD41 항체와 결합 가능한 압타머(Aptamer), 상기 CD41 항체와 결합 가능한 펩타이드(Peptide) 중 어느 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 혈액 샘플 내의 혈소판은 상기 샘플 챔버 내부에 투입된 후 활성화되고;

상기 샘플 챔버 내부에서의 활성화를 통해 활성화된 혈소판과 활성화되지 않은 혈소판이 상기 표지 물질로 작용하고;

복수의 상기 미세 채널 중 어느 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 활성화된 혈소판과 결합하는 제1 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되고, 복수의 상기 미세 채널 중 다른 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 활성화되지 않은 혈소판과 결합하는 제2 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 제1 표지 수용체는 CD62P 항체와 CD63 항체 중 어느 하나를 포함하고,

상기 제2 표지 수용체는 CD41 항체를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 샘플 챔버 내부에 수용되어 상기 혈액 샘플 내의 혈소판의 활성화를 위한 전단력이 인가되도록 회전하는 교반기를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 샘플 챔버 내부에는 상기 혈액 샘플 내의 혈소판을 활성화시키기 위한 혈소판 활성화 시약이 코팅되는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 측정부는 표면 플라즈몬 공명 현상을 이용한 SPR 센서와, 수정 진동자 저울 방식의 QCM 센서 중 어느 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 혈소판 분석 장치에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 임상 현장에서 혈액 검사를 통해 혈소판의 활성화 정도를 간편하고 정확하게 정량적으로 검사할 수 있는 혈소판 분석 장치에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 혈소판 기능 검사는 주로 선천성 혈소판 기능 이상이나 수술 전 선별검사로 많이 사용되고 특히, 혈소판의 수적

이상이 없는 출혈성 질환에서 선천성 혹은 후천성 혈소판 기능 이상에 의한 출혈성 질환을 감별하는 데 중요한 검사이다.

- [0003] 최근에는 이러한 혈소판 기능 검사가 심혈관 질환의 치료 및 예방에 사용되는 항혈소판 약제로 인한 출혈성 경향의 증가나 약제의 내성에 대한 검사를 위해서도 많이 이용되고 있다.
- [0004] 출혈시간(Bleeding time, BT) 검사는 약 100년 전에 개발된 출혈시간 측정검사로써 현재까지도 혈소판 기능 선별검사로 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 요구되고 있다.
- [0005] 위와 같은 문제점을 해결하기 위해 고안되어 혈소판의 기능을 측정하는 기술로 사용되고 있는 Platelet Function Analyzer(예: PFA-100)의 경우에는, 고전단율에서 활성화된 von Willebrand Factor (vWF, 폰 윌브란트 팩터)에 의하여 혈소판이 응집되는 특성이 있는데, 이를 측정하기 위하여 긴 모세관에 고전단율로 전혈을 유동시킨 후 콜라겐(Collagen)과 함께 아데노신2인산(ADP) 혹은 에피네프린(Epinephrine)이 코팅된 오리피스(Orifice)에 혈소판이 응집되어 오리피스 구멍이 막히는 막힘 시간을 압력 또는 유량 등으로 측정하는 방법이 시행되고 있다.
- [0006] 이와 같은 혈소판 기능 검사를 위해서는 vWF의 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.
- [0007] 특히, vWF를 활성화하기 위하여 혈액 샘플이 높은 전단율로 일정시간 이상에 노출되어야 하는데, 이를 위해 PFA-100에서는 상당히 긴 모세관에 빠른 속도로 혈액을 유동시키는 방법을 채택하였다. 그러나, 이러한 방법은 다량의 혈액이 요구될 뿐 아니라, 전단율이 최대가 되는 모세관 벽 근처의 vWF는 쉽게 활성화될 수 있지만 전단율이 최소가 되는 관 중심부에 위치한 vWF는 활성화되지 못하는 문제점을 갖고 있으며 이로 인해 검사결과의 반복성에 문제를 초래할 수 있는 단점을 지니고 있다.
- [0008] 현재까지의 혈소판의 기능검사 중 가장 정확한 기술로 여겨지는 유세포 분석기를 이용한 혈소판 활성화 검사는 혈소판 작용물질인 ADP, 에피네프린, 콜라겐 등에 의해 활성화된 혈소판 중 응집이 되지 않은 개개의 혈소판에 제한되어 적용 가능한 특징이 있다.
- [0009] 유세포 분석기를 통하여 혈액 샘플 내에 분산되어 흐르는 세포가 검출영역을 지날 때, 광원으로부터 조사된 광이 세포 표면에서 전방 산란 (Forward scattering) 또는 측방 산란 (Side scattering)되는 정도를 전기적 신호로 인식함으로써 세포의 크기 및 과립도를 측정할 수 있다.
- [0010] 이를 활용하여 다종의 세포 중 정상 혈소판을 선택적으로 분별할 수 있지만, 혈소판이 활발히 활성화되어 무작위의 크기로 응집된 덩어리를 형성할 경우, 혹은 혈소판의 형태학적 변화가 극심할 경우 유세포 분석기를 통해 이를 혈소판으로 인식하지 못하는 한계를 갖는다.
- [0011] 특히, 높은 전단 응력에 노출되어 활성화된 혈소판은 작용물질에 의해 활성화된 혈소판에 비해 더 높은 응집성을 가지며 이에 따라 더 큰 혈소판 덩어리를 만드는 경향이 있기 때문에 유세포 분석기로 정확한 측정이 불가하다.
- [0012] 또한 유세포 분석기는 항원-항체반응을 이용하여 정확하게 혈소판의 활성화 정도를 검사할 수 있지만, 형광물질을 붙인 단일 클론항체(monoclonal antibody)를 사용해야만 하는 제한점 때문에 검사 장비 및 검사 시약의 비용이 고가이며, 숙련된 검사자에 의해서만 측정이 가능한 한계를 갖는다. 또한 항아스피린(Aspirin) 또는 항클로피도그렐(Clopidogrel) 검사가 불가한 단점이 있다.
- [0013] 상기와 같은 문제점을 해소하기 위해, 한국등록특허 제10-1193566호에서는 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실, 샘플 저장실의 내부에 설치되어 혈액 샘플 내에 전단유동을 유발시키는 교반기, 교반기에 의해 교반된 혈액을 다수개의 경로로 분리시켜 유동시키는 병렬채널, 병렬채널의 단부에 각각 연결되어 일정한 압력을 유지하며 교반된 혈액을 병렬채널을 따라 유동시키는 진공장치, 및 병렬채널의 후단 측에 설치되어 병렬채널로 광을 조사하는 광원, 병렬채널 내의 혈액을 투과한 광을 수신하여 전기적 신호로 바꾸어 혈액 유량을 측정하는 이미지 센서를 포함하는 마이크로칩 기반 혈소판 복합기능 검사 장치를 제안하고 있다. 이를 통해, 한 번의 검사로 다수의 혈소판 기능에 대한 검사가 가능하고, 검사 시간이 감소하며 검사 비용도 절감되는 효과를 제공하고 있다.

[0014] 그런데, 마이크로 칩 기반 혈소판 복합기능 검사 장치는 활성화된 혈소판에 의해 미세 채널이 막히는 현상을 이용하는 것으로 혈액 샘플의 이동 거리나 이동 속도를 측정하여 혈소판의 활성화 정도를 상대적으로 측정하고 있어, 실제 혈액 샘플 내의 혈소판 중 활성화된 혈소판의 양을 정량적으로 확인하지 못해 정확한 혈소판의 활성화 정도를 반영하지 못하는 단점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 이에, 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해소하기 위해 안출된 것으로서, 임상 현장에서 혈액 검사를 통해 혈소판의 활성화 정도를 간편하고 정확하게 정량적으로 검사할 수 있는 혈소판 분석 장치를 제공하는데 그 목적이 있다.

[0016] 또한, 다수의 혈소판 기능에 대한 검사가 가능하여 검사 시간을 줄이고, 검사 비용을 절감할 수 있는 혈소판 분석 장치를 제공하는데 또 다른 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0017] 상기 목적은 본 발명에 따라, 혈소판 분석 장치에 있어서, 혈액 샘플이 수용되는 샘플 챔버와, 상기 샘플 챔버와 이격된 음압 유입 챔버와, 상기 샘플 챔버와 상기 음압 유입 챔버를 연결하는 복수의 미세 채널을 갖는 혈소판 검사 칩과, 상기 샘플 챔버 내부의 상기 혈액 샘플이 각각의 상기 미세 채널을 통해 상기 음압 유입 챔버로 유동하도록 상기 음압 유입 챔버를 통해 음압을 제공하는 음압 제공부와, 각각의 상기 미세 채널 내부의 일 영역에서 상기 혈액 샘플에 포함된 표지 물질을 검출하는 측정부를 포함하며; 상기 측정부는 각각의 상기 미세 채널 내부에 배치되고, 표면에 상기 표지 물질과 결합하는 표지 수용체가 도포된 면역 반응부와, 상기 면역 반응부의 상기 표지 수용체에 상기 표지 물질의 결합을 검출하는 반응 검출부를 포함하는 것을 특징으로 하는 혈소판 분석 장치에 의해서 달성된다.

[0018] 여기서, 혈소판 풍부 혈장 내의 혈소판을 활성화시키고, 활성화된 혈소판과 결합하는 제1 표지 물질과, 활성화되지 않은 혈소판과 결합하는 제2 표지 물질을 투입하고, 원심 분리를 통해 상 분리하여 얻어진 상층액이 상기 혈액 샘플로 상기 샘플 챔버로 투입되고, 활성화된 혈소판 및 활성화되지 않은 혈소판과 결합하고 남은 상기 제1 표지 물질 및 상기 제2 표지 물질이 상기 상층액에 잔존하여 상기 혈액 샘플의 표지 물질이 되며; 복수의 상기 미세 채널 중 어느 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 상기 제1 표지 물질이 결합하는 제1 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되고, 복수의 상기 미세 채널 중 다른 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 상기 제2 표지 물질이 결합하는 제2 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포될 수 있다.

[0019] 그리고, 상기 샘플 챔버에 투입되는 상기 혈액 샘플은 혈소판 풍부 혈장 내의 혈소판이 활성화된 상태로 투입되고; 상기 샘플 챔버 내부에는 활성화된 혈소판과 결합하는 제1 표지 물질과, 활성화되지 않은 혈소판과 결합하는 제2 표지 물질이 투입되어 상기 혈액 샘플 내의 활성화된 혈소판과 활성화되지 않은 혈소판과 각각 결합하고; 활성화된 혈소판 및 활성화되지 않은 혈소판과 결합하고 남은 상기 제1 표지 물질 및 상기 제2 표지 물질이 상기 혈액 샘플과 함께 상기 미세 채널로 유동하며; 복수의 상기 미세 채널 중 어느 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 상기 제1 표지 물질이 결합하는 제1 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되고, 복수의 상기 미세 채널 중 다른 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 상기 제2 표지 물질이 결합하는 제2 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포될 수 있다.

[0020] 또한, 상기 제1 표지 물질은 CD62P 항체와 CD63 항체 중 어느 하나를 포함하고, 상기 제2 표지 물질은 CD41 항체를 포함하고, 상기 제1 표지 수용체는 CD62P 항원, CD63 항원, 상기 CD62P 항체 또는 상기 CD63 항체와 결합 가능한 aptamer(아프타머), 상기 CD62P 항체 또는 상기 CD63 항체와 결합 가능한 펩타이드(peptide) 중 어느 하나를 포함하며; 상기 제2 표지 수용체는 CD41 항원, 상기 CD41 항체와 결합 가능한 aptamer(아프타머), 상기 CD41 항체와 결합 가능한 펩타이드(peptide) 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

[0021] 그리고, 상기 혈액 샘플 내의 혈소판은 상기 샘플 챔버 내부에 투입된 후 활성화되고; 상기 샘플 챔버 내부에서의 활성화를 통해 활성화된 혈소판과 활성화되지 않은 혈소판이 상기 표지 물질로 작용하고; 복수의 상기 미세 채널 중 어느 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 활성화된 혈소판과 결합하는 제1 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포되고, 복수의 상기 미세 채널 중 다른 하나에 배치되는 상기 면역 반응부에는 활성화되지 않은 혈소판과 결합하는 제2 표지 수용체가 상기 표지 수용체로 도포될 수 있다.

- [0022] 여기서, 상기 제1 표지 수용체는 CD62P 항체와 CD63 항체 중 어느 하나를 포함하고, 상기 제2 표지 수용체는 CD41 항체를 포함할 수 있다.
- [0023] 그리고, 상기 샘플 챔버 내부에 수용되어 상기 혈액 샘플 내의 혈소판의 활성화를 위한 전단력이 인가되도록 회전하는 교반기를 더 포함할 수 있다.
- [0024] 그리고, 상기 샘플 챔버 내부에는 상기 혈액 샘플 내의 혈소판을 활성화시키기 위한 혈소판 활성화 시약이 코팅될 수 있다.
- [0025] 그리고, 상기 측정부는 표면 플라즈몬 공명 현상을 이용한 SPR 센서와, 수정 진동자 저울 방식의 QCM 센서 중 어느 하나를 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0026] 상기와 같은 구성에 따라, 본 발명에 따르면, 임상 현장에서 혈액 검사를 통해 혈소판의 활성화 정도를 간편하고 정확하게 정량적으로 검사할 수 있는 혈소판 분석 장치가 제공된다.
- [0027] 또한, 다수의 혈소판 기능에 대한 검사가 가능하여 검사 시간을 줄이고, 검사 비용을 절감할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1은 본 발명에 따른 혈소판 분석 장치의 구성을 나타낸 도면이고,
- 도 2는 본 발명에 따른 혈소판 분석 장치의 측정부의 예를 나타낸 도면이고,
- 도 3 및 도 4는 본 발명에 따른 혈소판 분석 장치의 제1 표지 물질과 제2 표지 물질이 포함된 혈액 샘플을 준비하는 과정을 설명하기 위한 도면이고,
- 도 5는 본 발명에 따른 혈소판 분석 장치에서 제1 표지 물질과 제2 표지 물질이 제1 표지 수용체 및 제2 표지 수용체에 결합되는 과정을 도식적으로 나타낸 도면이고,
- 도 6은 본 발명의 다른 실시예에 따른 혈소판 분석 장치의 구성을 나타낸 도면이고,
- 도 7은 본 발명의 다른 실시예에 따른 혈소판 분석 장치에서 제1 표지 물질과 제2 표지 물질이 제1 표지 수용체 및 제2 표지 수용체에 결합되는 과정을 도식적으로 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 이하에서는 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 실시예들을 상세히 설명한다.
- [0030] 도 1은 본 발명에 따른 혈소판 분석 장치(100)의 구성을 나타낸 도면이고, 도 2는 본 발명에 따른 혈소판 분석 장치(100)의 측정부(120)의 예를 나타낸 도면이다.
- [0031] 도 1 및 도 2를 참조하여 설명하면, 본 발명에 따른 혈소판 분석 장치(100)는 혈소판 검사 칩(110), 음압 제공부(130) 및 측정부(120)를 포함한다.
- [0032] 혈소판 검사 칩(110)은, 도 1에 도시된 바와 같이, 샘플 챔버(111), 복수의 미세 채널(113) 및 음압 유입 챔버(112)를 포함한다. 샘플 챔버(111)에는 혈액 샘플이 수용된다. 복수의 미세 채널(113)은 샘플 챔버(111)와 음압 유입 챔버(112) 간을 각각 독립적으로 연결한다.
- [0033] 음압 유입 챔버(112)는 샘플 챔버(111)와 이격된 상태에서 미세 채널(113)에 의해 연결된다. 여기서, 음압 유입 챔버(112)는 음압 제공부(130)와 연결되어 음압 제공부(130)로부터의 진공 압력이 인가되어 샘플 챔버(111) 내부의 혈액 샘플이 미세 채널(113)로 유동 가능하게 된다. 여기서, 혈소판 검사 칩(110)은 외부에서 쉽게 내부를 관찰할 수 있도록 광학적으로 투명한 재질로 제작될 수 있다.
- [0034] 음압 제공부(130)는 샘플 챔버(111) 내부의 혈액 샘플이 미세 채널(113)을 통해 유동하도록 음압 유입 챔버(112)에 진공 압력을 제공한다. 본 발명에 따른 음압 제공부(130)가, 도 1에 도시된 바와 같이, 진공펌프, 데드볼륨 챔버(132) 및 밸브(133)를 포함하는 것을 예로 한다.
- [0035] 진공 펌프(131)는 음압 유입 챔버(112)와 연결되어 진공 압력을 생성한다. 여기서, 음압 유입 챔버(112)가 고무 마개(미도시)로 폐쇄 상태를 유지하는 경우, 진공 펌프(131) 측의 말단, 즉 음압 유입 챔버(112)와 연결되는 부분은 주사기 바늘 형태로 마련되어 고무 마개에 삽입되어 음압 유입 챔버(112) 내부와 연결될 수 있다. 본

발명에서는 진공 펌프(131)가 시린지 펌프 형태로 마련되는 것을 예로 한다.

- [0036] 데드볼륨 챔버(132)는 진공 펌프(131) 및 압력 유입 챔버에 대해 병렬로 연결되어 음압 유입 챔버(112)에 대해 기 설정된 진공 압력을 유지시킨다. 그리고, 밸브(133)는 진공 펌프(131)와 음압 유입 챔버(112) 사이에 설치되어 음압 유입 챔버(112)로 인가되는 진공 압력을 단속하게 된다. 본 발명에서는 밸브(133)로 솔레노이드 밸브가 적용되는 것을 예로 한다.
- [0037] 측정부(120)는 각각의 미세 채널(113) 내부의 일 영역에서 혈액 샘플에 포함된 표지 물질을 검출한다. 본 발명에 따른 측정부(120)는 표면 플라즈몬 공명 현상을 이용한 SPR 센서가 적용되는 것을 예로 한다.
- [0038] 도 2를 참조하여 설명하면, 측정부(120)는 면역 반응부(121)와 반응 검출부를 포함한다. 면역 반응부(121)는 각각의 미세 채널(113) 내부에 배치되고, 표면에 혈액 샘플 내에 포함된 표지 물질과 결합하는 표지 수용체가 도포된다. 여기서, 본 발명에 따른 측정부(120)로 SPR 센서가 적용되는 경우, 면역 반응부(121)는 금속 박막 칩으로 마련되고 그 표면에 표지 수용체가 도포된 형태를 갖게 된다.
- [0039] 여기서, 금속 박막 칩은 각각의 미세 채널(113) 내부에 개별적으로 설치될 수 있고, 도 1의 점선으로 표시된 바와 같이, 하나의 금속 박막 칩이 복수의 미세 채널(113)에 걸쳐 형성되어 각각의 미세 채널(113) 내부에 설치될 수 있다. 이 때, 혈소판 검사 칩(110)의 제작 과정에서 혈소판 검사 칩(110)의 바닥면에, 도 1에 도시된 바와 같이 금속 박막 칩을 부착한 후, 미세 채널(113)이 형성되도록 상부 케이스를 부착하는 방법으로 도 1에 도시된 바와 같이 복수의 미세 채널(113)에 걸쳐 배치되는 금속 박막 칩의 설치가 가능하게 된다.
- [0040] 반응 검출부는 면역 반응부(121)의 표지 수용체에 표지 물질이 결합되는 것을 감지한다. 본 발명에 따른 측정부(120)로 SPR 센서가 적용되는 경우, 측정부(120)는, 도 2에 도시된 바와 같이, 커플러(122), 광원부(123) 및 수광부(124)를 포함할 수 있다.
- [0041] 커플러(122)는 금속 박막 칩의 외측에 마련되는 것을 예로 한다. 도 2에 도시된 실시예에서는 커플러(122)가 미세 채널(113)을 형성하는 혈소판 검사 칩(110)의 바닥면을 사이에 두고 금속 박막 칩과 마주하는 것을 예로 하고 있으나, 커플러(122)와 금속 박막 칩이 직접 부착된 상태에서 바닥면의 일부를 형성하도록 마련될 수도 있다.
- [0042] 광원부(123)는 혈소판 검사 칩(110)의 외측에서 금속 박막 칩을 향해 측정광을 조사한다. 도 2에 도시된 광원부(123)는 채기광을 조사하는 각도 가변형 구조를 갖는 것을 예로 하고 있으나, 평행광의 조사를 통해 표면 플라즈몬 공명 이미징 방식이 적용될 수 있음은 물론이다.
- [0043] 수광부(124)는 금속 박막 칩에서 반사되는 반사광을 수광한다. 그리고, 수광부(124)에 의해 수광된 반사광을 분석하여 금속 박막 칩의 표지 수용체에 결합되는 표지 물질을 검출하여 혈소판의 활성화 정도를 검출하게 된다.
- [0044] 이하에서는 본 발명에 따른 혈소판 분석 장치(100)를 이용하여 혈소판의 활성화 정보를 분석하는 과정에 대해 설명한다.
- [0045] 본 발명의 일 실시예에서는 샘플 챔버(111)로 투입되는 혈액 샘플에 포함된 표지 물질이 제1 표지 물질과 제2 표지 물질을 포함하는 것을 예로 한다. 도 3 및 도 4를 참조하여 제1 표지 물질과 제2 표지 물질이 포함된 혈액 샘플을 준비하는 과정에 대해 설명한다.
- [0046] 먼저, 전혈을 원심 분리 등의 방법을 통해 혈소판이 포함된 혈소판 풍부 혈장과, 적혈구 및 백혈구를 분리하여, 도 3의 (a)에 도시된 바와 같이, 전혈로부터 혈소판 풍부 혈장을 분리한다(S40).
- [0047] 그런 다음, 혈소판 풍부 혈장에, 도 3의 (b)에 도시된 바와 같이, PBS 버퍼를 투입하여 재회석한 후(S41), 도 3의 (c)에 도시된 바와 같이, 혈소판 풍부 혈장 내의 혈소판을 활성화시킨다(S42). 여기서, 혈소판 풍부 혈장 내의 혈소판을 활성화시키는 방법으로는 물리적인 방법과 화학적인 방법이 적용될 수 있다.
- [0048] 도 3의 (c)에서는 모터 등의 구동력을 이용하여 혈소판 풍부 혈장에 전단력을 인가하여 혈소판을 활성화시키는 것을 예로 하고 있다. 여기서, 혈소판을 활성화시키기 위한 최소 전단율로 5000 s^{-1} 이상이나, 최소 전단력으로 8 Pa 이상으로 인가할 수 있다.
- [0049] 다른 예로, 화학적인 방법으로 혈소판 풍부 혈장에 혈소판을 활성화시킬 수 있는 혈소판 활성화 시약을 투입하여 혈소판을 활성화시킬 수 있다. 여기서, 혈소판 활성화 시약으로 콜라젠, 아데노신2인산(ADP), 에피네프린(Epinephrine), 아라키돈산(Arachidonic acid), 트롬복산 A₂, 트롬빈(thrombin), 이소-트롬빈 수용체 활성화

캡티드 (iso-TRAP)과 같은 아고니스트(Agonist) 중 어느 하나 또는 조합이 적용될 수 있다.

- [0050] 상기와 같이 혈소판 풍부 혈장 내의 혈소판을 활성화시킨 후, 도 3의 (d)에 도시된 바와 같이, 혈소판 풍부 혈장에 제1 표지 물질과 제2 표지 물질을 투입하게 된다(S43). 여기서, 제1 표지 물질은 활성화된 혈소판과 결합되는 물질이고, 제2 표지 물질은 활성화되지 않은 혈소판과 결합되는 물질이다. 여기서, 제1 표지 물질은 CD62P 항체와 CD63 항체 중 어느 하나를 포함할 수 있고, 제2 표지 물질은 CD41 항체를 포함할 수 있다.
- [0051] 이와 같이, 혈소판 풍부 혈장에 제1 표지 물질과 제2 표지 물질을 투입하게 되면, 제1 표지 물질은 활성화된 혈소판과 결합하고, 제2 표지 물질은 활성화되지 않은 혈소판과 결합된다.
- [0052] 그런 다음, 혈소판 풍부 혈장을, 도 3의 (e)에 도시된 바와 같이, 원심 분리를 통해 상 분리한다(S44). 그리고, 원심 분리를 통해 상 분리된 상층액을 혈액 샘플로 추출하게 된다(S45).
- [0053] 여기서, 상층액에는 활성화된 혈소판과 결합하고 남은 제1 표지 물질과, 활성화되지 않은 혈소판과 결합하고 남은 제2 표지 물질이 포함된다. 보다 구체적으로 설명하면, 활성화된 혈소판 및 활성화되지 않은 혈소판과 결합한 제1 표지 물질과 제2 표지 물질은, 결합하지 않은 제1 표지 물질과 제2 표지 물질보다 상대적으로 무겁기 때문에 원심 분리에서의 상층액은 혈소판과 결합하지 않은 제1 표지 물질과 제2 표지 물질이 포함된다. 즉, 활성화된 혈소판 및 활성화되지 않은 혈소판과 결합하고 남은 제1 표지 물질 및 제2 표지 물질이 상층액에 잔존하여 혈액 샘플의 표지 물질이 된다.
- [0054] 한편, 면역 반응부(121)에 도포되는 표지 수용체는 제1 표지 물질과 결합하는 제1 표지 수용체와, 제2 표지 물질과 결합하는 제2 표지 수용체를 포함할 수 있다. 이 때, 복수의 미세 채널(113) 중 어느 하나에 배치되는 면역 반응부(121)에 제1 표지 물질과 결합하는 제1 표지 수용체를 도포하고, 복수의 미세 채널(113) 중 다른 하나에 배치되는 면역 반응부(121)에 제2 표지 물질과 결합하는 제2 표지 수용체를 도포하여, 제1 표지 물질과 제2 표지 물질을 개별적으로 검출하도록 마련될 수 있다.
- [0055] 도 5의 (a)는 금속 박막 칩에 제1 표지 물질과 결합되는 제1 표지 수용체가 도포된 상태에서 제1 표지 물질과 제1 표지 수용체가 결합되는 과정을 도식적으로 나타낸 도면이다. 그리고, 도 5의 (b)는 금속 박막 칩에 제2 표지 물질과 결합되는 제2 표지 수용체가 도포된 상태에서 제2 표지 물질과 제2 표지 수용체가 결합되는 과정을 도식적으로 나타낸 도면이다.
- [0056] 여기서, 제1 표지 수용체로는 CD62P 항원, CD63 항원, CD62P 항체 또는 CD63 항체와 결합 가능한 압타머(Aptamer), CD62P 항체 또는 CD63 항체와 결합 가능한 펩타이드(Peptide) 중 어느 하나가 적용될 수 있다. 그리고, 제2 표지 수용체로는 CD41 항원, CD41 항체와 결합 가능한 압타머(Aptamer), CD41 항체와 결합 가능한 펩타이드(Peptide) 중 어느 하나가 적용될 수 있다.
- [0057] 상기와 같은 구성을 통해, 도 3의 (d)에 도시된 과정에서 투입되는 제1 표지 물질과 제2 표지 물질의 양을 미리 결정하게 되면, 도 3의 (e) 과정에서 활성화된 혈소판 또는 활성화되지 않은 혈소판과 각각 결합하여 하부로 침강된 제1 표지 물질과 제2 표지 물질의 양이 각각 활성화된 혈소판과 활성화되지 않은 혈소판의 양이 되며, 이는 상층액에 잔존하는 제1 표지 물질과 제2 표지 물질의 양을 측정부(120)를 통해 측정함으로써, 정량적으로 측정 가능하게 된다.
- [0058] 한편, 본 발명의 다른 실시예에 따른 혈소판 분석 장치(100)에서는 샘플 챔버(111)에 투입되는 혈액 샘플이 혈소판 풍부 혈장 내의 혈소판이 활성화된 상태로 투입될 수 있다. 예를 들어, 도 3의 (c) 과정을 거친 혈소판 풍부 혈장이 혈액 샘플로 투입될 수 있다.
- [0059] 여기서, 샘플 챔버(111) 내부에는 활성화된 혈소판과 결합되는 제1 표지 물질과, 활성화되지 않은 혈소판과 결합되는 제2 표지 물질이 투입될 수 있다. 이에 따라, 샘플 챔버(111)로 투입되는 혈액 샘플 내부의 활성화된 혈소판은 제1 표지 물질과 결합되고, 활성화되지 않은 혈소판은 제2 표지 물질과 결합한다.
- [0060] 이와 같은 결합 과정이 지나고 나서, 샘플 챔버(111) 내부의 혈액 샘플을 미세 채널(113)로 유동시키게 되면, 활성화된 혈소판 및 활성화되지 않은 혈소판과 결합하고 남은 제1 표지 물질과 제2 표지 물질이 혈액 샘플과 함께 미세 채널(113)로 유동하게 된다.
- [0061] 그리고, 미세 채널(113) 내부의 면역 반응부(121)에 각각 도포된 제1 표지 수용체와 제2 표지 수용체에 미세 채널(113)을 따라 유동하는 제1 표지 물질과 제2 표지 물질이 제1 표지 수용체와 제2 표지 수용체에 각각 결합함으로써, 상술한 실시예에서와 같이 잔존하는 제1 표지 물질과 제2 표지 물질을 정량적으로 측정하여 혈소판의

활성화 정도를 분석 가능하게 된다.

- [0062] 한편, 본 발명의 또 다른 실시예에 에 따른 혈소판 분석 장치(100)에서는 혈액 샘플 내의 혈소판이 샘플 챔버(111) 내부에서 활성화되는 것을 예로 한다. 예컨대, 샘플 챔버(111)에 활성화시키기 전의 혈소판 풍부 혈장을 혈액 샘플로 주입할 수 있다. 그리고, 샘플 챔버(111) 내부에서 혈소판을 물리적인 방법 또는 화학적인 방법을 통해 활성화시킬 수 있다.
- [0063] 도 6에 도시된 실시예에서는 혈소판 분석 장치(100)의 샘플 챔버(111) 내부에 교반기(140)가 설치되는 것을 예로 한다. 그리고, 혈액 샘플의 유동 전에 교반기(140)의 회전에 의해 전단력을 인가하여 혈소판을 활성화시킬 수 있다. 여기서, 혈소판을 활성화시키기 위한 최소 전단율로 5000 s^{-1} 이상이나, 최소 전단력으로 8 Pa 이상으로 인가할 수 있도록 교반기(140)의 회전이 제어될 수 있다.
- [0064] 다른 방법으로, 샘플 챔버(111) 내부에 혈소판을 활성화시키기 위한 혈소판 활성화 시약이 투입되거나 내부에 코팅될 수 있다. 여기서, 혈소판 활성화 시약으로 콜라젠, 아데노신2인산(ADP), 에피네프린(Epinephrine), 아라키돈산(Arachidonic acid), 트롬복산 A2, 트롬빈(thrombin), 이소-트롬빈 수용체 활성화 펩티드 (iso-TRAP)과 같은 아고니스트(Agonist) 중 어느 하나 또는 조합이 적용될 수 있다.
- [0065] 상기와 같이 샘플 챔버(111) 내부에서 혈소판이 활성화된 후, 혈액 샘플을 미세 채널(113)로 유동시키게 되면, 활성화된 혈소판과 활성화되지 않은 혈소판이 혈액 샘플 내부에서 표지 물질로 작용하게 된다.
- [0066] 이 때, 면역 반응부(121)에 도포되는 제1 표지 수용체는 활성화된 혈소판과 결합하는 표지 물질이 사용되고, 면역 반응부(121)에 도포되는 제2 표지 수용체는 활성화되지 않은 혈소판과 결합되는 표지 물질이 사용된다. 여기서, 제1 표지 수용체로는 CD62P 항체와 CD63 항체 중 어느 하나가 적용될 수 있고, 제2 표지 수용체로는 CD41 항체가 적용될 수 있다.
- [0067] 도 7의 (a)는 면역 반응부(121)에 활성화된 혈소판과 반응하는 표지 물질이 도포되어 활성화된 혈소판이 결합되는 상태를 나타낸 것이고, 도 7의 (b)는 면역 반응부(121)에 활성화되지 않은 혈소판과 반응하는 표지 물질이 도포되어 활성화되지 않은 혈소판이 결합되는 상태를 나타낸 것이다.
- [0068] 상기와 같은 방법을 통해, 측정부(120)에서 직접 활성화된 혈소판과 활성화되지 않은 혈소판을 정량적으로 측정 가능하게 된다.
- [0069] 진술한 실시예에서는 측정부(120)가 표면 플라즈몬 공명 현상을 이용한 SPR 센서가 적용되는 것을 예로 하였다. 이외에도, 수동 진동 저울(Quartz crystal microbalance : QCM) 방식의 QCM 센서가 적용될 수 있다.
- [0070] QCM 센서의 경우, 수동 진동자 저울을 미세 채널(113)의 내부에 배치시키고, 수동 진동자 저울의 표면에 제1 표지 수용체 및 제2 표지 수용체를 도포하여 제1 표지 수용체 및 제2 표지 수용체에 결합되는 제1 표지 물질과 제2 표지 물질의 결합량을 측정하도록 마련될 수 있다. 여기서, 수동 진동자 저울이 측정부(120)의 면역 반응부(121)를 구성하게 되고, 수동 진동자 저울에 전원을 인가하고 그 변화를 측정하는 구성이 반응 검출부를 구성하게 된다.
- [0071] 비록 본 발명의 몇몇 실시예들이 도시되고 설명되었지만, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 당업자라면 본 발명의 원칙이나 정신에서 벗어나지 않으면서 본 실시예를 변형할 수 있음을 알 수 있을 것이다. 발명의 범위는 첨부된 청구항과 그 균등물에 의해 정해질 것이다.

부호의 설명

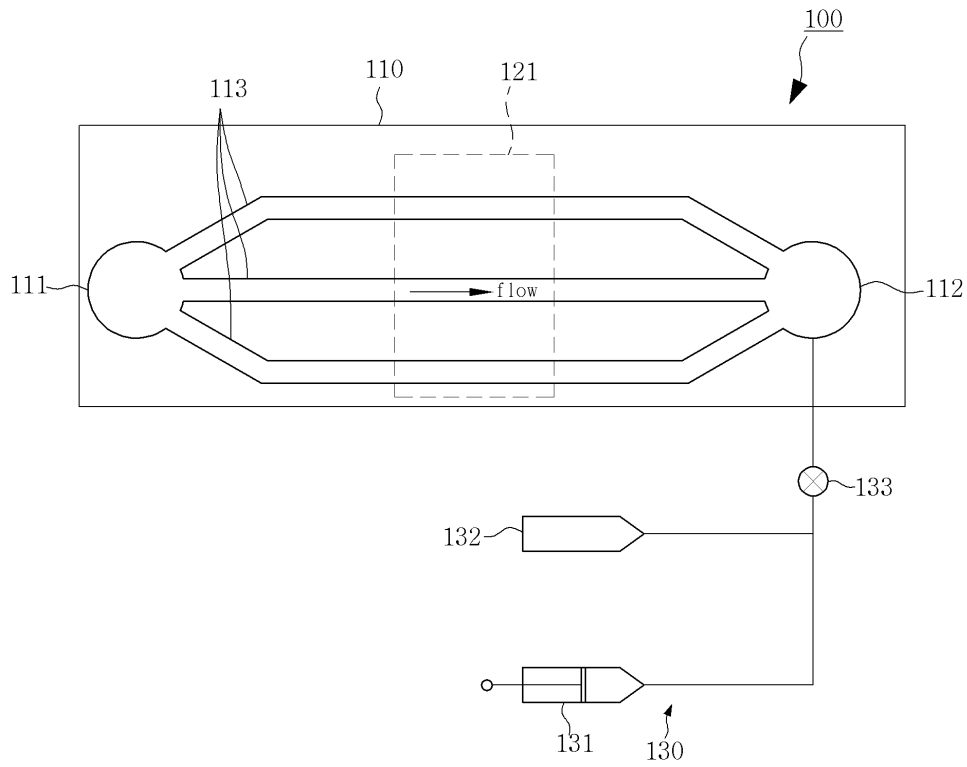
- [0072] 100, 100a : 혈소판 분석 장치
- | | |
|----------------|---------------|
| 110 : 혈소판 검사 칩 | 111 : 샘플 챔버 |
| 112 : 음압 유입 챔버 | 113 : 미세 채널 |
| 120 : 측정부 | 121 : 면역 반응부 |
| 122 : 커플러 | 123 : 광원부 |
| 124 : 수광부 | 130 : 음압 제공부 |
| 131 : 진공 펌프 | 132 : 데드볼륨 챔버 |

133 : 밸브

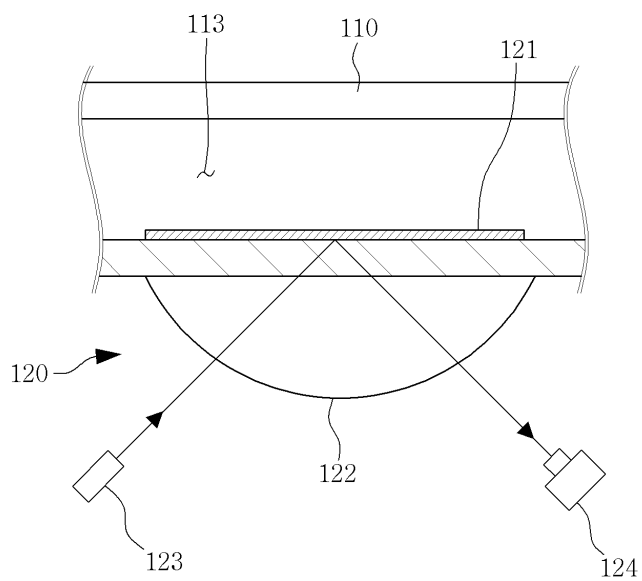
140 : 교반기

도면

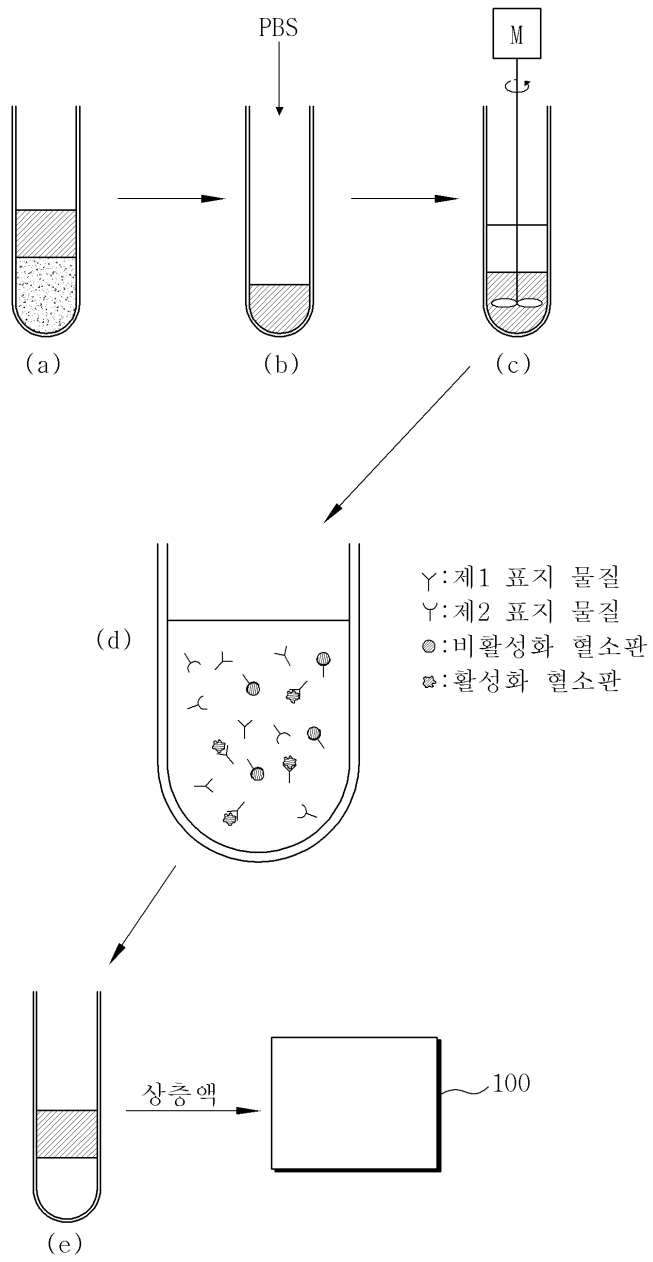
도면1



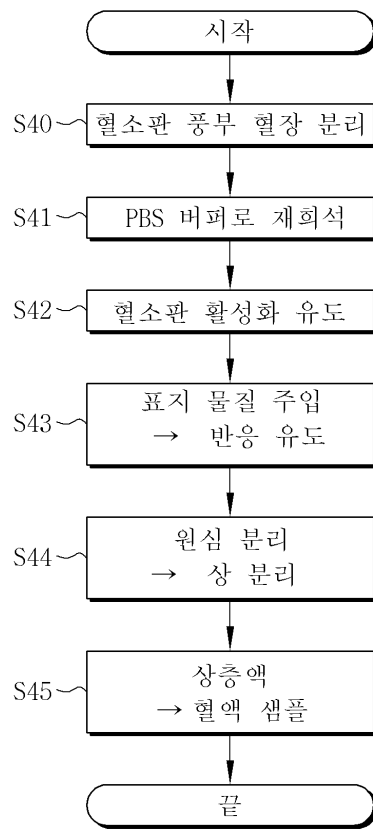
도면2



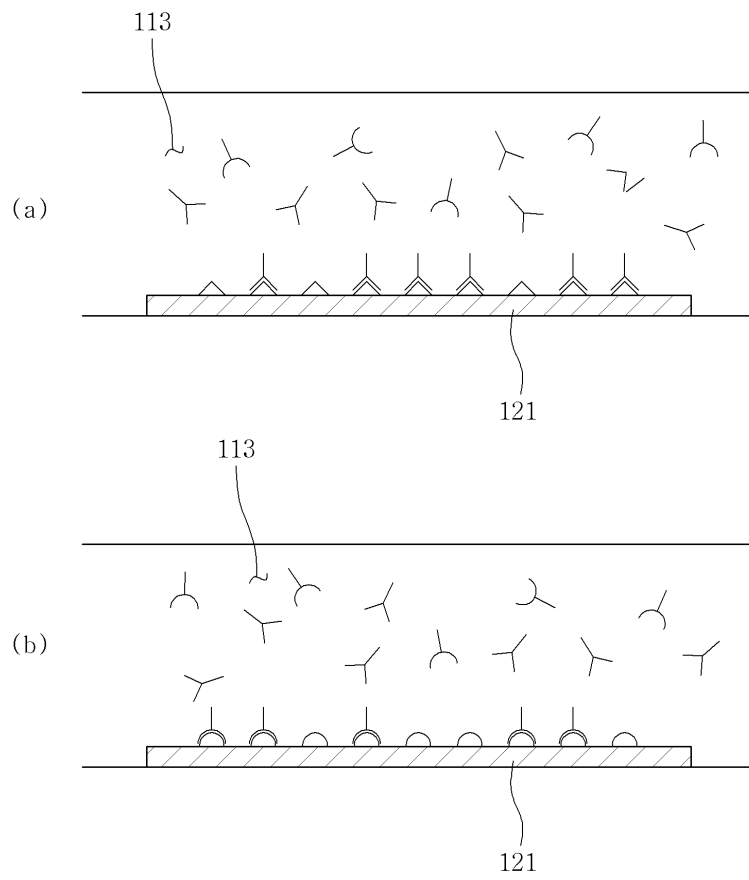
도면3



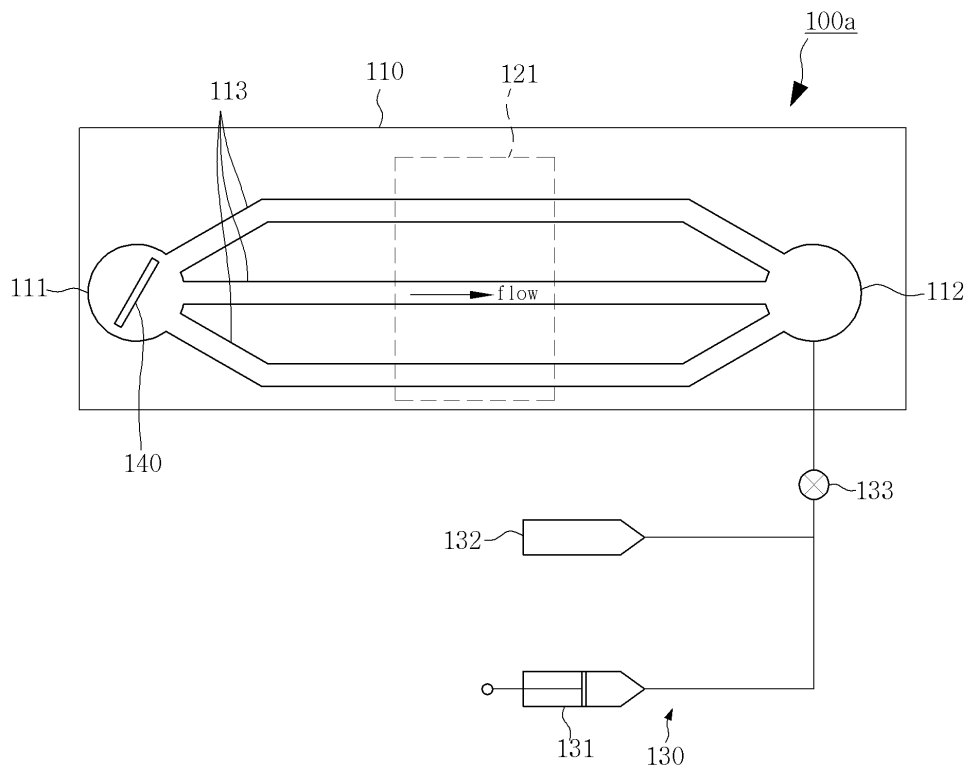
도면4



도면5



도면6



도면7

