(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0062791
(43) 공개일자 2025년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01D 65/02 (2006.01) *B01D 61/00* (2006.01)
B01D 63/00 (2006.01) *B01D 65/08* (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01D 65/02 (2022.08)
B01D 61/00 (2022.08)
(21) 출원번호 10-2023-0148123
(22) 출원일자 2023년10월31일
심사청구일자 2023년10월31일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
천홍구
서울특별시 송파구 올림픽로 435, 206동 2101호 (신천동, 파크리오)
(74) 대리인
위병갑

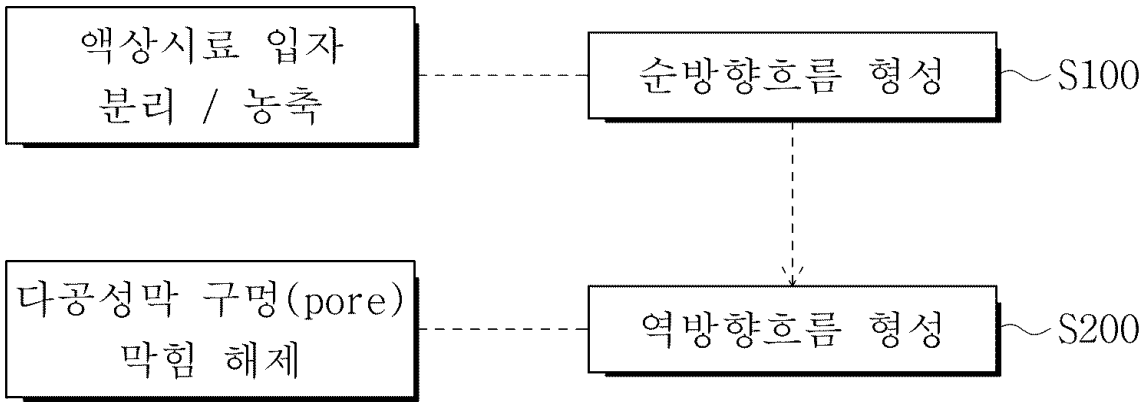
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치**

(57) 요 약

본 발명은 크기 선택적 생체분자, 입자, 또는 세포의 분리 및 농축에 이용되는 다공성막을 양방향 막투과 이동, 특히 역방향 막투과 이동과 공기방울을 이용한 다공성막의 구멍 막힘을 방지하여 다공성막의 소실이나 변형을 방지하고, 시료를 고효율로 분산시킬 수 있는, 양방향 막투과 이동제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치에 관한 것이다. 본 발명에 따르면, 액상 시료의 흐름을 상부 공간부에서 하부 공간부로 유동되도록 하는 순방향흐름을 형성하기 위한 제1 힘을 인가하는 순방향흐름 형성 단계; 및 상기 순방향흐름 형성 단계 이후, 다공성막의 구멍(pore) 막힘을 해제하기 위한 구멍막힘 해제수단이 상기 하부 공간부에서 상부 공간부로 유동되도록 하는 역방향흐름을 형성하기 위한 제2 힘을 인가하는 역방향흐름 형성 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법이 제공된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
B01D 63/00 (2022.08)
B01D 65/08 (2022.08)
B01D 2321/02 (2013.01)
B01D 2321/04 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711185399
과제번호 2020R1A2C3010322
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)
연구과제명 세포외소포체 (extracellular vesicle, EV) 극저손상 고효율 분리기술 연구
기 여 율 90/100
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345370620
과제번호 LINC3.0-2023-1
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 산학협력고도화지원
연구과제명 3단계 산학연협력 선도대학 육성사업(LINC3.0)
기 여 율 10/100
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

내부가 다공성막에 의해 상부 공간부와 하부 공간부로 구획되게 구성되는 분리 농축 챔버를 이용하여 분리 농축 챔버에 투입된 액상 시료에 포함되는 소정 사이즈의 제1 입자와, 상기 제1 입자의 사이즈보다 작은 소정 사이즈의 제2 입자를 분리 농축하기 위한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법으로서,

액상 시료의 흐름을 상부 공간부에서 하부 공간부로 유동되도록 하는 순방향흐름을 형성하기 위한 제1 힘을 인가하는 순방향흐름 형성 단계; 및

상기 순방향흐름 형성 단계 이후, 다공성막의 구멍(pore) 막힘을 해제하기 위한 구멍막힘 해제수단이 상기 하부 공간부에서 상부 공간부로 유동되도록 하는 역방향흐름을 형성하기 위한 제2 힘을 인가하는 역방향흐름 형성 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 역방향흐름 형성 단계에서 이용되는 상기 구멍막힘 해제수단은 공기 또는 에어버블인 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 역방향흐름 형성 단계는

상기 다공성막의 하부 측으로부터 공기 또는 에어버블이 역방향으로 주입되도록 하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 순방향흐름 형성 단계는 상기 상부 공간부에 액상 시료가 충전되어 있는 상태 또는 상부 측에 공간이 형성된 상태에서 상측으로부터 공압을 인가하는 것으로 이루어지며,

상기 역방향흐름 형성 단계는 상기 다공성막의 하부에 공간이 있는 상태에서 그 공간 측으로 공기 또는 에어버블을 인가하는 것으로 이루어지는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 상부 공간부를 갖는 챔버 및 상기 하부 공간부를 갖는 챔버 중 하나는 작용력 인가부가 구비되고, 다른 하

나는 배기구멍을 갖거나 플렉시블하게 형성되고,

상기 순방향흐름 형성 단계와 상기 역방향흐름 형성 단계는, 각 챔버의 상부 공간부에 액상 시료가 충전되어 있는 상태 또는 상부 측에 공간이 형성된 상태에서 상기 작용력 인가부에 양압 또는 음압을 인가하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법은,

상기 액상 시료의 제1 입자가 상부 공간부에서 하부 공간부로 유입되는 것을 방지하고, 상기 액상 시료의 제2 입자가 상부 공간부에서 하부 공간부로 유입되는 것을 허용하는 구멍(pore)을 갖고 형성되는 다공성막을 이용하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법.

청구항 7

다공성막을 이용하여 액상 시료에 포함된 둘 이상의 다른 사이즈의 입자를 분리 농축하기 위한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치로서,

다공성막을 통해 액상 시료의 다른 사이즈의 입자를 분리 농축하도록 구성되는 입자 분리-농축 장치부;

상기 입자 분리-농축 장치부에서 상기 다공성막을 기준으로 상측에서 하측으로의 순방향흐름과 하측에서 상측으로의 역방향흐름을 위한 작용력을 인가하되, 역방향흐름 작용력 인가 시 구멍막힘 해제수단을 통해 다공성막의 구멍 막힘을 해제하도록 구성되는 흐름작용력 인가 장치부; 및

상기 흐름작용력 인가 장치부를 제어하도록 구성되는 제어 장치부;를 포함하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 입자 분리-농축 장치부는

액상 시료가 투입되고, 상기 흐름작용력 인가 장치부의 제1 작용력이 인가되는 작용력 인가부가 형성되는 상부 챔버;

상기 다공성막을 통해 분리된 액상 시료의 분리 입자를 수용하며, 상기 흐름작용력 인가 장치부의 제2 작용력이 인가되는 작용력 인가부를 구비하는 하부 챔버; 및

상기 상부 챔버와 하부 챔버 간을 연통되게 연결하며, 연통로에 다공성막을 구비하는 커넥팅 유닛;을 포함하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 상부 챔버 및 하부 챔버는 일측 개방된 통 형상의 바디부, 및 상기 바디부의 개방단에 형성되는 연결부를 포함하고,

상기 상부 챔버의 작용력 인가부는 상기 바디부의 바닥부에 형성되는 돌출 연결구로 이루어지며,

상기 하부 챔버의 작용력 인가부는 상기 연결부의 일측에 형성되는 돌출 연결구로 이루어지는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 커넥팅 유닛은

상기 연결부 간에 결합되는 커넥팅 브라켓 모듈; 및

상기 커넥팅 브라켓 모듈 내에 장착 구비되는 다공성막을 포함하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 커넥팅 브라켓 모듈은 상기 연결부가 삽입 결합되는 통형상부와, 상기 통형상부의 일단에서 외측으로 연장되는 결합 플랜지부, 및 상기 상부 챔버 측의 상기 결합 플랜지부와 상기 하부 챔버 측의 결합 플랜지부 간을 결합 고정시키는 고정 피스를 포함하며,

상기 다공성막은 상기 커넥팅 브라켓 모듈의 내측에 착탈가능하게 구비되는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 12

제8항 또는 제9항에 있어서,

상기 흐름작용력 인가 장치부는

상기 구멍막힘 해제수단으로서 공압을 인가하는 공압 발생 장치로 구성되는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 13

제8항 또는 제9항에 있어서,

상기 흐름작용력 인가 장치부는

공기를 인가하도록 구성되는 공기 공급 장치;

상기 공기 공급 장치에서 발생되는 공기를 상기 상부 챔버와 하부 챔버 각각의 작용력 인가부에 공급하도록 연결되는 공기 공급 라인; 및

상기 상부 챔버 측에 연결되는 공기 공급 라인과 상기 하부 챔버 측에 연결되는 공기 공급 라인 각각에 구비되며, 상기 제어 장치부에 의해 개폐가 제어되는 체크 밸브;를 포함하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 제어 장치부는

상기 상부 챔버에 액상 시료가 충전되어 있는 상태 또는 상기 상부 챔버의 상부 측에 공간이 형성된 상태에서 상기 순방향흐름을 형성하고, 상기 하부 챔버의 상부 측에 공간이 있는 상태에서 역방향흐름을 형성하게 상기 체크 밸브를 제어하도록 구성되는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 15

제7항에 있어서,

상기 입자 분리-농축 장치부는 액상 시료가 투입되는 상부 챔버와, 다공성막을 통해 분리된 액상 시료의 분리 입자를 수용하는 하부 챔버, 및 상기 상부 챔버와 하부 챔버 간을 연통되게 연결하며, 연통로에 다공성막을 구비하는 커넥팅 유닛을 포함하고,

상기 상부 챔버 및 하부 챔버 중 하나는 작용력 인가부가 구비되고, 다른 하나는 배기구멍을 갖거나 플렉시블하게 형성되도록 이루어지고,

상기 흐름작용력 인가 장치부는 상기 작용력 인가부에 양압 및 음압을 인가하도록 구성되는 양압-음압 인가 장치부로 구성되는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

청구항 16

제15항에 있어서,

상기 배기구멍에 공기를 주입하도록 구성되는 공기 주입 장치를 더 포함하는 것을 특징으로 하는

다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 크기 선택적 생체분자, 입자, 또는 세포의 분리 및 농축에 이용되는 다공성막을 양방향 막투과 이동, 특히 역방향 막투과 이동과 공기방울을 이용한 다공성막의 구멍 막힘을 방지하여 다공성막의 소실이나 변형을 방지하고, 시료를 고효율로 분산시킬 수 있는, 양방향 막투과 이동제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 생체 내 미세소포체(마이크로베지클)는 여러 종류의 세포들에 존재하거나 세포로부터 분비되는 막 구조의 작은 소포이다.

[0004] 세포 외로 분비되는 마이크로 베지클은 (ⅰ)엑소좀: 식균 기원의 직경 30 내지 100㎚의 막성소포, (ii)엑조좀(쉐딩 마이크로베지클(shedding microvesicles, SMVs)이라고도 함): 원형질막으로부터 직접 흘려지고 직경 50 내지 1000㎚의 큰 막성 소포, (iii)세포사멸성 수포(apoptotic blebs): 죽어가는 세포에 의해 유출된 직경 50 내지 5000 ㎚의 소포를 포함한다.

[0005] 상기 생체 내 미세소포체(마이크로베지클), 예를 들어 엑소좀은 세포에서 분비되는 수십 나노미터 크기의 소포

로서, 지질 이중층(lipid bilayer) 또는 지질 단층(lipid monolayer) 내부에 세포질 또는 세포에서 생성되는 단백질과 RNA가 포함되어 있는 구조이다. 엑소좀은 단백질 및 RNA의 교환을 통한 세포 간 의사소통의 수단이며, 세포 내 불필요한 물질의 배출기능도 담당하고 있으며, 마이크로 RNA(microRNA, miRNA)를 포함하고 있어 암 등의 질병 조기진단과 같은 분자진단에 있어서 유용한 마커로 활용 가능하다. 상기와 같이 생체 내 미세소포체들의 중요성 및 가치가 밝혀지고 있지만, 상기 미세소포체들을 수득하는 데는 어려움이 따른다.

[0006] 종래 일 예로, 원심 분리기는 생물분리 공정에 이용된다. 원심분리기는 고체와 고체를 둘러싼 액체 간의 밀도차를 이용한다. 그러나 원심 분리기를 사용한 경우, 서로 유사한 밀도를 가진 입자들은 동시에 침전되어 서로 분리하기 어렵다. 유사한 밀도를 가지나 서로 다른 크기를 가진 입자들은 서로 공간적으로 분리하는 기술이 요구된다.

[0007] 종래 다른 예로, 마이크로베지클을 분리하는 방법은 마이크로베지클과 항체를 결합시켜 마이크로베지클을 면역-캡쳐하여 분리하는 방법이다. 이러한 방법은 단백질 구조 변화 등에 의한 항체 인식 부위의 마스킹(masking), 마이크로베지클 이질성(heterogeneity), 단백질 상호 작용 등에 의해 분리 또는 검출 타겟에 따라 편향(bias)이 발생할 수 있다. 분리 또는 검출을 위해 복잡한 프로세스나 고가의 장비가 필요할 수 있고, 시료의 소모량이 높을 수 있다.

[0008] 또한, 엑소좀과 같은 생체 내 미세소포체들에 있어서 소용량의 분리는 미세유체칩으로도 가능하나, 상기 미세유체칩은 대용량의 분리가 어려우며 압력 등으로 인하여 분리막이 훼손될 수 있어 엑소좀을 분리하기에는 부적합한 단점을 갖는다.

[0009] 이를 해결하기 위한 일환으로, 다공성막을 이용한 분리 방법이 제안되어 있으나, 종래 다공성막 분리 방법은 한 방향으로만 압력이나 외부 힘이 가해지는 형태의 방법이다.

[0010] 이러한 다공성막을 이용하는 시스템 대부분은 분리 및 농축하고자 하는 원 시료의 형태가 각각 다양한 크기와 농도로 혼재한다. 특히 생체 시료인 경우, 분리하고자 하는 시료 이외에도 이와 밀도나 질량이 유사한 미세 단백질 분자, 세포 파편 등 불순물들이 많이 포함된다. 이러한 불순물들을 고농도로 포함하는 원 시료는 다공성막을 이용한 여과 공정에서 다공성막의 각 기공을 막는다. 따라서, 기공의 크기보다 작은 크기의 시료들이 상기 다공성막을 통과하지 못한다. 이에 따라, 단위 기공(pore)당 처리 효율이 크게 저하되고, 비효율적인 분리 및 농축이 수행된다.

[0011] 또한, 기공(pore)에 걸려 통과하지 못한 고농도의 불순물들이 쌓여 꽉 막힌 기공들은 압력을 증가시키다. 이에 따라, 압력 증가는 다공성막의 소실이나 변형을 초래한다.

[0012] 따라서 종래 단방향으로의 다공성막 기반 분리 및 농축 방법에서 발생하는 기공 막힘 및 체증 현상을 해소하고, 고효율적으로 분리 및 농축할 수 있는 방법과 장치에 대한 연구와 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0014] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 10-1892214(2018.08.27. 공고)

(특허문헌 0002) 대한민국 등록특허공보 10-2081509(2020.02.25. 공고)

(특허문헌 0003) 대한민국 등록특허공보 10-2101086(2020.04.14. 공고)

(특허문헌 0004) 대한민국 등록특허공보 10-2156512(2020.09.15. 공고)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 따라서, 상기한 종래의 문제점을 해결하기 위한 본 발명은, 크기 선택적 생체분자, 입자, 또는 세포의 분리 및 농축에 이용되는 다공성막을 양방향 막투과 이동, 특히 역방향 막투과 이동과 공기방울을 이용한 다공성막의 구멍 막힘을 방지하여 다공성막의 소실이나 변형을 방지하고, 시료를 고효율로 분산시킬 수 있는 양방향 막투과

유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치를 제공하는데 그 목적이 있다.

[0016] 본 발명의 해결과제는 이상에서 언급한 것들에 한정되지 않으며, 언급되지 아니한 다른 해결과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0018] 상기 본 발명의 목적들 및 다른 특징들을 달성하기 위한 본 발명의 일 관점에 따르면, 내부가 다공성막에 의해 상부 공간부와 하부 공간부로 구획되게 구성되는 분리 농축 챔버를 이용하여 분리 농축 챔버에 투입된 액상 시료에 포함되는 소정 사이즈의 제1 입자와, 상기 제1 입자의 사이즈보다 작은 소정 사이즈의 제2 입자를 분리 농축하기 위한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법으로서, 액상 시료의 흐름을 상부 공간부에서 하부 공간부로 유동되도록 하는 순방향흐름을 형성하기 위한 제1 힘을 인가하는 순방향흐름 형성 단계; 및 상기 순방향흐름 형성 단계 이후, 다공성막의 구멍(pore) 막힘을 해제하기 위한 구멍막힘 해제수단이 상기 하부 공간부에서 상부 공간부로 유동되도록 하는 역방향흐름을 형성하기 위한 제2 힘을 인가하는 역방향흐름 형성 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법이 제공된다.

[0019] 본 발명의 일 관점에 있어서, 상기 역방향흐름 형성 단계에서 이용되는 상기 구멍막힘 해제수단은 공기 또는 에어버블인 것이 바람직하다.

[0020] 본 발명의 일 관점에 있어서, 상기 역방향흐름 형성 단계는 상기 다공성막의 하부 측으로부터 공기 또는 에어버블이 역방향으로 주입되도록 할 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 관점에 있어서, 상기 상부 공간부를 갖는 챔버 및 상기 하부 공간부를 갖는 챔버 중 하나는 작용력 인가부가 구비되고, 다른 하나는 배기구멍을 갖거나 플렉시블하게 형성되며, 상기 순방향흐름 형성 단계와 상기 역방향흐름 형성 단계는, 각 챔버의 상부 공간부에 액상 시료가 충전되어 있는 상태 또는 상부 측에 공간이 형성된 상태에서 상기 작용력 인가부에 양압 또는 음압을 인가하는 것으로 이루어질 수 있다.

[0022] 본 발명의 일 관점에 있어서, 상기 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법은 상기 액상 시료의 제1 입자가 상부 공간부에서 하부 공간부로 유입되는 것을 방지하고, 상기 액상 시료의 제2 입자가 상부 공간부에서 하부 공간부로 유입되는 것을 허용하는 구멍(pore)을 갖고 형성되는 다공성막을 이용할 수 있다.

[0023] 본 발명의 다른 관점에 따르면, 다공성막을 이용하여 액상 시료에 포함된 둘 이상의 다른 사이즈의 입자를 분리 농축하기 위한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치로서, 다공성막을 통해 액상 시료의 다른 사이즈의 입자를 분리 농축하도록 구성되는 입자 분리-농축 장치부; 상기 입자 분리-농축 장치부에서 상기 다공성막을 기준으로 상측에서 하측으로의 순방향흐름과 하측에서 상측으로의 역방향흐름을 위한 작용력을 인가하되, 역방향흐름 작용력 인가 시 구멍막힘 해제수단을 통해 다공성막의 구멍 막힘을 해제하도록 구성되는 흐름작용력 인가 장치부; 및 상기 흐름작용력 인가 장치부를 제어하도록 구성되는 제어 장치부;를 포함하는 것을 특징으로 하는 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치가 제공된다.

[0024] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 입자 분리-농축 장치부는 액상 시료가 투입되고, 상기 흐름작용력 인가 장치부의 제1 작용력이 인가되는 작용력 인가부가 형성되는 상부 챔버; 상기 다공성막을 통해 분리된 액상 시료의 분리 입자를 수용하며, 상기 흐름작용력 인가 장치부의 제2 작용력이 인가되는 작용력 인가부를 구비하는 하부 챔버; 및 상기 상부 챔버와 하부 챔버 간을 연통되게 연결하며, 연통로에 다공성막을 구비하는 커넥팅 유닛;을 포함할 수 있다.

[0025] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 상부 챔버 및 하부 챔버는 일측 개방된 통 형상의 바디부, 및 상기 바디부의 개방단에 일체로 형성되는 연결부를 포함하고, 상기 상부 챔버의 작용력 인가부는 상기 바디부의 바닥부에 형성되는 돌출 연결구로 이루어지며, 상기 하부 챔버의 작용력 인가부는 상기 연결부의 일측에 형성되는 돌출 연결구로 이루어질 수 있다.

[0026] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 커넥팅 유닛은 상기 연결부 간에 결합되는 커넥팅 브라켓 모듈; 및 상기 커넥팅 브라켓 모듈 내에 장착 구비되는 다공성막을 포함할 수 있다.

[0027] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 커넥팅 브라켓 모듈은 상기 연결부가 삽입 결합되는 통형상부와, 상기 통형상부의 일단에서 외측으로 연장되는 결합 플랜지부, 및 상기 상부 챔버 측의 상기 결합 플랜지부와 상기 하부

챔버 측의 결합 플랜지부 간을 결합 고정시키는 고정 피스를 포함하며, 상기 다공성막은 상기 커넥팅 브라켓 모듈의 내측에 착탈가능하게 구비될 수 있다.

[0028] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 흐름작용력 인가 장치부는 상기 구멍막힘 해제수단으로서 공압을 인가하는 공압 발생 장치로 구성될 수 있다.

[0029] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 흐름작용력 인가 장치부는 공기를 인가하도록 구성되는 공기 공급 장치; 상기 공기 공급 장치에서 발생되는 공기를 상기 상부 챔버와 하부 챔버 각각의 작용력 인가부에 공급하도록 연결되는 공기 공급 라인; 및 상기 상부 챔버 측에 연결되는 공기 공급 라인과 상기 하부 챔버 측에 연결되는 공기 공급 라인 각각에 구비되며, 상기 제어 장치부에 의해 개폐가 제어되는 체크 밸브;를 포함할 수 있다.

[0030] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 제어 장치부는 상기 상부 챔버에 액상 시료가 충전되어 있는 상태 또는 상기 상부 챔버의 상부 측에 공간이 형성된 상태에서 상기 순방향흐름을 형성하고, 상기 하부 챔버의 상부 측에 공간이 있는 상태에서 역방향흐름을 형성하도록 상기 체크 밸브를 제어할 수 있다.

[0031] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 입자 분리-농축 장치부는 액상 시료가 투입되는 상부 챔버와, 다공성막을 통해 분리된 액상 시료의 분리 입자를 수용하는 하부 챔버, 및 상기 상부 챔버와 하부 챔버 간을 연통되게 연결하며, 연통로에 다공성막을 구비하는 커넥팅 유닛을 포함하고, 상기 상부 챔버 및 하부 챔버 중 하나는 작용력 인가부가 구비되고, 다른 하나는 배기구멍을 갖거나 플렉시블하게 형성되도록 이루어지고, 상기 흐름작용력 인가 장치부는 상기 작용력 인가부에 양압 및 음압을 인가하도록 구성되는 양압-음압 인가 장치부로 구성될 수 있다.

[0032] 본 발명의 다른 관점에 있어서, 상기 배기구멍에 공기를 주입하도록 구성되는 공기 주입 장치를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

[0034] 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치에 의하면 다음과 같은 효과를 제공한다.

[0035] 첫째, 본 발명은 기존의 일방적인 순방향으로의 다공성 분리 방법과 달리 막 투과 유량 제어를 통해 순방향과 역방향의 반복적인 양방향 흐름을 통해 큰 입자들이나 불순물로 인해 막힌 다공성막의 체증을 지속적으로 해소할 수 있어 단위 포어(pore)당 처리 효율을 크게 증가시킬 수 있는 효과가 있다.

[0036] 둘째, 본 발명은 양방향 흐름 제어에 있어 역방향 이동에서 공기방울을 주입함으로써 포어 입구에 쌓인 큰 입자를 떨어뜨리고, 공기방울이 일측 공간부(다공성막 상류측 공간부)를 통해 올라감으로써 시료를 믹싱(mixing)할 수 있어 분리 및 농축 효율을 더욱 증대시킬 수 있는 효과가 있다.

[0037] 셋째, 본 발명은 다양한 생체분자를 포함하는 생물학적 시료로부터 특정 생체분자를 분리함에 있어 기존의 방법과 달리 원 시료의 농도의 의존하지 않고 고농도의 시료도 희석 없이 연속적인 분리 또는 농축을 수행 할 수 있으며, 상대적으로 단시간 내에 원하는 크기의 생체분자만을 선택적이고, 고효율로 분리할 수 있는 효과가 있다.

[0038] 넷째, 본 발명은 연속적인 막 투과 유량 제어를 통한 생체분자 분리 및 농축 장치를 이용함으로써 훈련된 실험자가 아니더라도 전 자동화로 고효율 분리 농축을 구현될 수 있는 효과가 있다.

[0039] 다섯째, 본 발명은 매크로 및 마이크로 수준의 입자 및 시료뿐만 아니라 복잡한 생체 시료 내 나노(nm) 스케일의 입자나 생체분자를 분리 및 농축할 수 있는 다공성막 기반 기술 향상에 기여할 수 있는 효과가 있다.

[0040] 본 발명의 효과는 이상에서 언급된 것들에 한정되지 않으며, 언급되지 아니한 다른 해결과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해되어 질 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법의 처리 과정을 나타내는 플로차트이다.

도 2는 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법을 도식화하여 나타내는 개요 도면이다.

도 3은 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법에서 공기방울(에어버블)의 역주입을 통한 농축 과정을 도식화하여 나타내는 개요 도면이다.

도 4는 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 구성을 개략적으로 나타내는 도면이다.

도 5는 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치에 포함되는 입자 분리-농축 장치부의 구성을 나타내는 도면이다.

도 6은 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치에 포함되는 다공성막 모듈을 나타내는 도면이다.

도 7은 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 동작을 설명하기 위한 개략적인 설명도이다.

도 8은 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 구성을 개략적으로 나타내는 도면이다.

도 9는 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 일 실시 형태의 동작을 설명하기 위하여 개략적으로 나타내는 설명도이다.

도 10은 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 다른 실시 형태의 동작을 설명하기 위하여 개략적으로 나타내는 설명도이다.

도 11은 200nm 다공성막(porous membrane)을 통해 140, 400nm 비드(bead)를 분리한 결과로서 NTA(Nano particle Tracking Analysis)로 분석한 입자 크기 분포도를 나타내는 그래프이다.

도 12는 분리 실험 후 200nm 다공성막의 주사전자현미경(SEM) 사진(A), 및 200nm 다공성막으로 분리한 시료를 50nm 다공성막으로 농축한 뒤의 주사전자현미경(SEM) 사진이다.

도 13은 생체 시료로부터 엑소좀을 분리한 결과를 나타내는 그래프(들)이다.

도 14는 본 발명 및 종래의 분리 방법을 이용한 엑소좀 분리 이후 웨스턴 블롯(western blot)으로 확인한 결과를 나타내는 도면이다.

도 15는 본 발명 및 종래의 분리 방법을 이용해 분리한 엑소좀을 촬영한 투과전자현미경(TEM) 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 본 발명의 추가적인 목적들, 특징들 및 장점들은 다음의 상세한 설명 및 첨부도면으로부터 보다 명료하게 이해될 수 있다.

[0044] 본 발명의 상세한 설명에 앞서, 본 발명은 다양한 변경을 도모할 수 있고, 여러 가지 실시 예를 가질 수 있는바, 아래에서 설명되고 도면에 도시된 예시들은 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0045] 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 "연결되어" 있다거나 "접속되어" 있다고 언급된 때에는, 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되어 있거나 또는 접속되어 있을 수도 있지만, 중간에 다른 구성요소가 존재할 수도 있다고 이해되어야 할 것이다. 반면에, 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 "직접 연결되어" 있다거나 "직접 접속되어" 있다고 언급된 때에는, 중간에 다른 구성요소가 존재하지 않는 것으로 이해되어야 할 것이다.

[0046] 본 명세서에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시 예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도는 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0047] 또한, 명세서에 기재된 "...부", "...유닛", "...모듈" 등의 용어는 적어도 하나의 기능이나 동작을 처리하는 단위를 의미하며, 이는 하드웨어나 소프트웨어 또는 하드웨어 및 소프트웨어의 결합으로 구현될 수 있다.

[0048] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0049] 이하, 본 발명의 바람직한 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치에 대하여 첨부 도면을 참조하여 상세히 설명한다.

[0050] 먼저, 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법에 대하여 도 1 내지 도 3을 참조하여 상세히 설명한다.

[0051] 도 1은 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법의 처리 과정을 나타내는 플로차트이고, 도 2는 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법을 도식화하여 나타내는 개요 도면이며, 도 3은 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법에서 공기방울(에어버블)의 역 주입을 통한 농축 과정을 도식화하여 나타내는 개요 도면이다.

[0052] 아래 본 발명의 설명 및 특허청구범위에서 상부 공간부(또는 제1 공간부)는 다공성막을 기준으로 하여 상류측의 공간부인 다공성막 상류측 공간부을 의미하고, 하부 공간부(또는 제2 공간부)는 다공성막을 기준으로 하여 하류측의 공간부인 다공성막 하류측 공간부를 의미하는 것으로 정의한다. 또한, 순방향(또는 제1 방향)은 다공성막을 기준으로 상부 공간부에서 하부 공간부로 진행하는 방향을 의미하고, 역방향(또는 제2 방향)은 제1 방향과 반대 방향으로, 다공성막을 기준으로 하부 공간부에서 상부 공간부로 진행하는 방향을 의미하는 것으로 정의한다.

[0053] 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법은, 내부가 다공성막에 의해 상부 공간부와 하부 공간부로 구획되게 구성되는 분리 농축 챔버를 이용하여 분리 농축 챔버에 투입된 액상 시료를 분리 농축하기 위한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법으로서, 도 1 내지 도 3에 나타낸 바와 같이, 크게 입자의 분리를 위한 순방향흐름 형성 단계(S100), 및 포어막힘 해제를 역방향흐름 형성 단계(S200)를 포함한다.

[0054] 구체적으로, 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법은, 내부가 다공성막에 의해 상부 공간부와 하부 공간부로 구획되게 구성되는 분리 농축 챔버를 이용하여 분리 농축 챔버에 투입된 액상 시료에 포함되는 소정 사이즈의 제1 입자와, 상기 제1 입자의 사이즈보다 작은 소정 사이즈의 제2 입자를 분리 농축하기 위한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법으로서, 도 1 내지 도 3에 나타낸 바와 같이, 상기 분리 농축 챔버의 상부 공간부에 제1 힘을 인가하여 상부 공간부에서 하부 공간부로 순방향 흐름이 형성되도록 하는 순방향흐름 형성 단계(S100); 및 상기 분리 농축 챔버의 하부 공간부에 제2 힘을 인가하여 하부 공간부에서 상부 공간부로 역방향 흐름이 형성되도록 하되, 역방향 흐름 시 구멍막힘 해제수단을 통해 다공성막의 구멍(pore) 막힘을 해제하도록 하는 역방향흐름 형성 단계(S200);를 포함한다.

[0055] 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법에서, 상기 다공성막은 액상 시료의 제1 입자가 상부 공간부에서 하부 공간부로 유입되는 것을 방지하고, 액상 시료의 제2 입자가 상부 공간부에서 하부 공간부로 유입되는 것을 허용하는 구멍(포어(pore))을 갖고 형성된다.

[0056] 상기 순방향흐름 형성 단계(S100)는 상기 분리 농축 챔버의 상부 공간부에 액상 시료가 충전된 상태(가득 찬 상태)에서 공압 또는 피스톤과 같은 물리적 장치에 의해 인가되는 제1 힘에 의해 이루어질 수 있다. 물론, 상기 순방향흐름 형성 단계(S100)에서 상부 공간부에는 액상 시료가 가득차 있을 필요는 없다.

[0057] 그리고 상기 순방향흐름 형성 단계(S100)에서 제1 입자에 의해 다공성막의 막힌 구멍(포어)을 해제하기 위한 역방향흐름 형성 단계(S200)는, 구멍막힘 해제수단으로서 기체, 구체적으로 공기 또는 공기방울(에어버블)이 역방향으로 주입되도록 하는 것으로 이루어질 수 있다.

[0058] 다시 말해서, 상기 역방향흐름 형성 단계(S200)는 상기 순방향흐름 형성 단계(S100) 이후, 상기 하부 공간부에 상부측(또는 다공성막의 하부 측)에 소정 크기의 공간이 형성된 상태에서 상기 다공성막의 하부 측에서 구멍막힘 해제수단인 공기방울을 역방향으로 공급하는 것으로 이루어질 수 있다.

[0059] 한편, 상기한 일 실시 예에 따른 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법의 설명에서 액상 시료의 분리 및/또는

농축을 위한 순방향 흐름을 형성하기 위하여 제1 힘을 분리 농축 챔버의 상부 공간부에서 인가하고, 다공성막의 구멍막힘 해제를 위한 역방향 흐름을 형성하기 위하여 제2 힘을 분리 농축 챔버의 하부 공간부에 인가하는 것으로 설명하고 있는데, 다른 실시 예의 흐름형성용 힘의 인가 방법으로서, 분리 농축 챔버의 상부 공간부에 양압(+ 압력) 및 음압(- 압력)을 인가하여 순방향흐름과 역방향흐름이 발생하도록 이루어질 수 있다.

[0060] 이때, 분리 농축 챔버의 하부 공간부의 용기(또는 하부 챔버)는 플렉시블(flexible)한 재질로 이루어지고, 다공성막의 하부(즉, 하부 공간부의 상부 측)에 소정 공간이 확보된 상태(즉, 공기가 소정 부피 차 있는 상태)가 되도록 이루어진다. 그리고 상부 공간부의 상부 측은 소정 공간이 형성되거나 액상 시료가 가득차 있는 상태로 될 수 있다.

[0061] 여기에서, 상기 음압 형성 시(즉, 역방향흐름 생성 시), 하부 공간부의 상측 공간부에는 공기 주입 장치를 통해 공기를 주입할 수도 있다.

[0062] 이러한 다른 실시 예의 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법은 분리 농축 챔버의 상부 공간부 측으로 +압력을 인가하여(가압) 순방향흐름이 형성되도록 함으로써 다공성막을 통해 액상 시료의 분리 및/또는 농축이 행해지도록 하고, 분리 농축 챔버의 상부 공간부에 -압력을 인가하여(흡입압 또는 진공압) 역방향흐름이 형성되도록 함으로써 다공성막의 구멍막힘을 해제하게 된다.

[0063] 상기와 같은 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법의 작용 효과를 도 2 및 도 3을 참고하여 설명한다.

[0064] 일 예로, 엑소좀은 100nm 수준의 입자로서, 혈액, 소변, 세포배양액, 타액, 모유 등에 수용성 단백질(soluble protein)(~10nm), 세포((>1μm), 세포사멸체(apoptotic body) (>200nm) 등과 섞여 있다.

[0065] 도 2에 나타낸 바와 같이, 200nm 크기 구멍(pore)의 다공성막(porous membrane)으로 200nm보다 큰 입자를 걸러내면, 엑소좀과 수용성 단백질이 포함된 시료를 얻을 수 있고, 이를 다시 50nm 크기 구멍의 다공성막으로 걸러내면 수용성 단백질을 제거한 엑소좀 시료를 얻을 수 있다. 이 과정에 다공성막을 통해 순방향으로 시료를 밀면 구멍이 금방 막히므로 주기적으로 이를 뚫어주기 위해 역방향흐름을 만들어줄 필요가 있다.

[0066] 이에 본 발명에서는 상부 공간부와 하부 공간부에 공기가 있는 상태에서(수직으로 배치되어 있을 경우), 제1 힘(P1)을 통해 순방향 흐름을, 제2 힘(P2)을 통해 역방향 흐름을 만들 수 있고, 이때 제2 힘(P2)에 의한 흐름인 공기방울 주입은 공기방울이 역방향으로 올라가면서 막힌 구멍을 뚫게 되며, 이와 더불어 상부 공간부 측의 액상 시료를 골고루 섞어주게 되어 분리 및 농축 효율을 증대시킬 수 있다.

[0067] 이러한 과정을 반복하게 되면, 도 3에 나타낸 바와 같이, 상부 공간부의 액상 시료 양은 줄어들기 때문에 다공성막의 구멍 직경보다 큰 입자(particle) A는 상부 공간부 측에 농축된다.

[0068] 이와 같이 본 발명은 역방향 흐름에 있어 액체 대신 공기를 주입함으로써 빠르게 막힌 구멍을 뚫고, 공기방울이 상부 공간부 측으로 올라가면서 상부 공간부 내의 액상 시료를 일정하게 분산시키고, 이는 보다 효율적인 분리와 농축을 연속적으로 할 수 있도록 한다.

[0069] 다음으로, 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치에 대하여 도 4 내지 도 7을 참고하여 상세히 설명한다.

[0070] 도 4는 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 구성을 개략적으로 나타내는 도면이고, 도 5는 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치에 포함되는 입자 분리-농축 장치부의 구성을 나타내는 도면이고, 도 6은 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치에 포함되는 다공성막 모듈을 나타내는 도면이며, 도 7은 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 동작을 설명하기 위한 개략적인 설명도이다.

[0071] 본 발명의 일 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치는, 다공성막을 이용하여 액상 시료에 포함된 둘 이상의 다른 사이즈의 입자를 분리 농축하기 위한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치로서, 도 4 내지 도 7에 나타낸 바와 같이, 크게 입자 분리-농축 장치부(100)와, 흐름작용력 인가 장치부(200), 및 제어 장치부(300)를 포함한다.

[0072] 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치는, 다공성

막(132)을 이용하여 액상 시료에 포함된 둘 이상의 다른 사이즈의 입자를 분리 농축하기 위한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치로서, 도 4 내지 도 7에 나타낸 바와 같이, 다공성막(132)을 통해 액상 시료를 분리 농축하도록 구성되는 입자 분리-농축 장치부(100); 상기 입자 분리-농축 장치부(100)에 투입된 액상 시료에 포함된 다른 사이즈의 입자를 분리하기 위하여 순방향 흐름과 역방향 흐름을 생성하기 위한 작용력을 제공하고, 역방향 흐름 시 구멍막힘 해제수단을 통해 다공성막(132)의 구멍(pore) 막힘을 해제하도록 구성되는 흐름작용력 인가 장치부(200); 및 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)를 제어하도록 구성되는 제어 장치부(300);를 포함한다.

[0073] 상기 입자 분리-농축 장치부(100)는 다공성막(132)을 이용하고 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)에 의해 작용되는 작용력으로 액상 시료가 일측으로부터 타측으로 유동하면서 그 액상 시료에 포함된 입자를 분리하고 농축할 수 있게 구성되는 장치부이다.

[0074] 일 실시 형태로, 상기 입자 분리-농축 장치부(100)는 분리 전 액상 시료가 투입되어 저장되고, 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)의 작용력이 인가되는 작용력 인가부(제1 작용력 인가부)(111)가 형성되는 상부 챔버(110)와, 하기 다공성막을 통해 분리된 액상 시료의 분리 입자가 수용되며, 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)의 작용력이 인가되는 작용력 인가부(제2 작용력 인가부)(121)를 구비하는 하부 챔버(120), 및 상기 상부 챔버(110)와 하부 챔버(120) 간을 연통되게 연결하며, 액상 시료의 입자를 분리하기 위한 다공성막을 구비하는 커넥팅 유닛(130)을 포함한다.

[0075] 상기 상부 챔버(110) 및 하부 챔버(120)는 일측 개방되고 타측이 폐쇄된 원통 형상의 바디부(112, 122), 및 상기 바디부(112, 122)의 개방 단에 일체로 형성되는 혼(horn) 형상 또는 원뿔대 형상의 연결부(113, 123)로 이루어질 수 있다.

[0076] 상기 상부 챔버(110)와 하부 챔버(120)는 연결부(113, 123)가 서로 마주한 상태에서 상기 커넥팅 유닛(130)에 의해 결합되어 일체화 된다.

[0077] 상기 상부 챔버(110)에 형성되는 작용력 인가부(제1 작용력 인가부)(111)는 바닥부, 즉 바디부(112)의 바닥 중앙부에 일체로 형성되어 흐름작용력 인가 장치부(200)로부터의 작용력이 인가되게 연결되는 돌출 연결구로 이루어질 수 있다.

[0078] 그리고 상기 하부 챔버(120)에 형성되는 작용력 인가부(제2 작용력 인가부)(121)는 상부 측부, 즉 연결부(123)의 일측에 일체로 형성되어 흐름작용력 인가 장치부(200)로부터의 작용력이 인가되게 연결되는 돌출 연결구로 이루어질 수 있다.

[0079] 상기 상부 챔버(110)와 하부 챔버(120)는 페트(PET)와 같은 합성수지재로 형성될 수 있으며, 이에 한정되지 않고 금속 재질 등 다양한 재질로 형성될 수 있다.

[0080] 계속해서, 상기 커넥팅 유닛(130)은 상기 상부 챔버(110)와 하부 챔버(120) 간을 연통되게 연결하며, 액상 시료의 입자를 분리하기 위한 소정 포어(pore)를 갖는 다공성막(132)을 구비하는 구성부이다.

[0081] 구체적으로, 상기 커넥팅 유닛(130)은 상기 상부 챔버(110)의 연결부(113)와 하부 챔버(120)의 연결부(123) 간을 연통시키면서 기밀하게 결합시키도록 구성되는 커넥팅 브라켓 모듈(131), 및 상기 커넥팅 브라켓 모듈(131) 내에 장착 구비되는 다공성막(132)을 포함한다.

[0082] 상기 커넥팅 브라켓 모듈(131)은 각 챔버(110, 120)의 연결부(113, 123)가 삽입 구비되는 통형상부(131a)와, 상기 통형상부(131a)의 일단에서 외측으로 연장되는 결합 플랜지부(131b), 및 상기 결합 플랜지부(131b) 간을 결합 고정시키는 고정 피스(볼트/너트)(131c)를 포함하여 구성될 수 있다.

[0083] 이러한 커넥팅 브라켓 모듈(131)은 그 내측에 구비되는 다공성막(132)을 교체 장착할 수 있게 각 챔버(110, 120)에 탈착 가능하게 결합된다.

[0084] 또한, 상기 커넥팅 유닛(130)은 다공성막(132)의 상하측에 구비되는 드레인 디스크(drain disc)(133)를 더 포함할 수 있다. 도면부호 134는 상기 커넥팅 브라켓 모듈(131)의 플랜지부(131b)에 구비되어 플랜지부(131b) 간의 기밀성을 확보하도록 구비되는 오링(O-ring)이다.

[0085] 그리고 상기 다공성막(132)은 액상 시료의 제1 입자가 상부 챔버(110)에서 하부 챔버(120)로 유입되는 것을 방지하고, 액상 시료의 제2 입자가 상부 챔부(110)에서 하부 챔버(120)로 유입되는 것을 허용하는 구멍(포어(pore))을 갖고 형성되며, 이러한 다공성막(132)은 분리할 액상 시료의 입자에 따라 교체 가능하게 구비된다. 물론, 분리할 액상 시료의 입자에 따라 다른 구멍 사이즈를 갖는 다공성막(132)이 구비된 상기 커넥팅 유닛

(130) 자체가 각 챔버(110, 120)에서 분리 장착될 수도 있다.

[0086] 한편, 상기 다공성막(132)은 단일 다공성막 대신에 다공성막이 복수 구비되어 병렬처리할 수 있도록 다공성막 모듈로 구성될 수 있다.

[0087] 구체적으로, 상기 다공성막 모듈은 도 6에 나타낸 바와 같이, 상측 중앙에 유입구(411)가 형성되고, 하측 중앙에 배출구(미도시)가 형성되는 모듈 케이스(410)와, 상기 모듈 케이스(410) 내에 구획되게 배치되어 구비되는 복수의 다공성막(132)과, 상기 모듈 케이스(410)의 상측 내면에 형성되되 상기 유입구(411)로부터 유입되는 유체가 상기 다공성막(132) 각각으로 유동하도록 형성되는 상측 유로(420), 및 상기 모듈 케이스(410)의 바닥면에 형성되되 상기 다공성막(132) 각각을 통과하는 유체가 상기 배출구(미도시)를 통해 배출되게 가이드하는 하측 유로(미도시)를 포함한다.

[0088] 상기 모듈 케이스(410)는 대향하는 면에 각각 유로(상측 유로, 하측 유로)가 형성되는 한 쌍의 케이스가 고정피스(412)를 통해 결합되어, 다공성막(132) 각각이 구비되는 측은 격리되어 유로에 의해서만 연통되게 구성된다.

[0089] 여기에서, 상기 다공성막(132)이 구비되는 측에는 다공성막(132)이 구비될 수 있는 수용부가 형성되며, 그 수용부의 가장자리는 오링이 구비되어 기밀성을 갖도록 한다.

[0090] 상기 다공성막은 중심을 동심원으로 하여 그 주변으로 복수 구비되는 그룹이 유입구(411)를 중심으로 하여 그 주변으로 복수 구비될 수 있다.

[0091] 그리고 유입구(411)와 배출구와 연결되는 유로는 각각의 그룹의 중심으로 연장되게 분지되고, 그 연장단에서 각 다공성막(132)의 중심에 위치되도록 분지되어 형성될 수 있다.

[0092] 이러한 다공성 모듈은 복수의 다공성막(132)을 통해 병렬 처리되어 처리속도를 현저히 증대시킬 있다.

[0093] 상기 다공성 모듈에 대하여 도 6에서는 오각형의 실시 형태를 나타내고 있지만, 사각형을 포함한 다각형 또는 원형 등으로 형성될 수 있으며, 상기 커넥팅 유닛(130)의 커넥팅 브라켓 모듈(131)의 형상에 고려한 형태로 형성될 수 있다.

[0094] 다음으로, 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)는 상기 입자 분리-농축 장치부(100)에 투입된 액상 시료에 포함된 다른 사이즈의 입자를 분리하기 위하여 순방향 흐름과 역방향 흐름을 생성하기 위한 작용력을 제공하고, 역방향 흐름 시 구멍막힘 해제수단을 통해 다공성막(132)의 구멍(pore) 막힘을 해제하도록 구성되는 장치부이다.

[0095] 일 실시 예로, 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)는 상기 구멍막힘 해제수단으로서 공압, 즉 공기 또는 공기방울이 공급되도록 구성되는 장치로 구성될 수 있다.

[0096] 구체적으로, 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)는 압축 공기를 생성하는 공기 공급 장치(210)와, 상기 공기 공급 장치(210)에서 발생되는 공기(압축 공기)를 상기 상부 챔버(110)의 작용력 인가부(111)와 하부 챔버(120)의 작용력 인가부(121)에 공급하도록 연결되는 공기 공급 라인(공기 공급 관로)(220)과, 상기 공기 공급 라인(220) 상에 구비되어 공기의 압력(공기압)을 설정 및 조절하는 레귤레이터(230), 및 상기 레귤레이터(230)의 하류 측의 공기 공급 라인(220) 상에 구비되는 체크 밸브(솔레노이드밸브)(240)를 포함한다. 도면부호 250은 압력 게이지이다.

[0097] 상기 공기 공급 장치(210)는 에어 실린더 또는 콤프레셔로 구성될 수 있으며, 버블 발생기로 구성될 수 있다.

[0098] 상기 공기 공급 라인(220)은 공기 공급 장치(210)에 연결되는 메인 라인(221)에서 분지되어 각각 상부 챔버(110)의 작용력 인가부(111)에 연결되는 제1 분지 라인(222)과 하부 챔버(120)의 작용력 인가부(121)에 연결되는 제2 분지 라인(223)으로 구성될 수 있다.

[0099] 상기 체크 밸브(240)는 상기 제1 분지 라인(222)에 구비되는 제1 솔레노이드밸브(241)와, 제2 분지 라인(223)에 구비되는 제2 솔레노이드밸브(242)를 포함한다.

[0100] 계속해서, 상기 제어 장치부(300)는 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)를 제어, 구체적으로 제1 및 제2 솔레노이드밸브(241, 242)의 개폐를 제어하도록 구성되는 장치부이다.

[0101] 상기 제어 장치부(300)는 상기 흐름작용력 인가 장치부(220)에서 공급되는 작용력이 각각 상기 상부 챔버(110)와 하부 챔버(120)에 인가되도록 상기 솔레노이드밸브(240)의 개폐를 제어하도록 구성된다.

[0102] 상기 제어 장치부(300)는 에어 실린더(210)의 온/오프 및 구동 동작을 제어하는 제어 장치와 일체로 구성될 수

있다.

[0103] 본 발명에서 상기 제어 장치부(300)의 제어에 의하여 상기 흐름작용력 인가 장치부(200)의 작용력이 인가될 때, 하부 챔버(120)의 상측부, 즉 다공성막(132)의 하부 측에 소정 크기의 공간이 확보된 상태에서 인가되도록 하는 것이 바람직하며, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0104] 상기한 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치는, 제어 장치부(300)의 제어에 의해 제1 솔레노이드밸브(241)를 개방시키고, 제2 솔레노이드밸브(242)를 폐쇄하게 되면, 압축 공기는 제1 솔레노이드밸브(241)를 통해 상부 챔버(110)로 공급되어 순방향 흐름(또는 제1 작용력(P1))을 작용시켜서 다공성막을 통해 액상 시료의 분리 및/또는 농축을 행하고, 제1 솔레노이드밸브(242)를 폐쇄시키고, 제2 솔레노이드밸브(242)를 개방하게 되면, 공기 또는 공기 방울에 의한 역방향 흐름(또는 제2 작용력(P2))을 만들어 역방향으로 올라가면서 다공성막(132)의 막힌 구멍을 뚫게 되며, 이와 더불어 상부 공간부 측의 액상 시료를 골고루 섞어주게 되어 분리 및 농축 효율을 증대시킬 수 있다.

[0105] 그리고 이러한 과정을 반복하게 되면, 상부 챔버(110)의 액상 시료 양은 줄어들기 때문에 다공성막(132)의 구멍 직경보다 큰 입자(particle)는 상부 챔버(110) 측에 농축된다.

[0106] 한편, 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치에 대하여 도 8 내지도 10을 참고하여 설명한다. 아래 다른 실시 예에 대한 설명에서 상기한 일 실시 예와 동일한 구성요소에 대해서는 동일 부호를 부여하고 그에 대한 상세한 설명은 간략히 하거나 생략한다.

[0107] 도 8은 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 구성을 개략적으로 나타내는 도면이고, 도 9는 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 일 실시 형태의 동작을 설명하기 위하여 개략적으로 나타내는 설명도이며, 도 10은 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치의 다른 실시 형태의 동작을 설명하기 위하여 개략적으로 나타내는 설명도이다.

[0108] 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치는, 도 8 내지 도 10에 나타낸 바와 같이, 상부 챔버(110)와 하부 챔버(120) 중 어느 하나에만 양압(+ 압력) 또는 음압(- 압력)의 작용력(P1, P2)을 인가하여 순방향 흐름과 역방향 흐름이 발생하도록 이루어질 수 있다.

[0109] 구체적으로, 본 발명의 다른 실시 예에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블(공기)을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치는, 다공성막(132)을 통해 액상 시료를 분리 농축하도록 구성되는 입자 분리-농축 장치부(100); 상기 입자 분리-농축 장치부(100)에 투입된 액상 시료에 포함된 다른 사이즈의 입자를 분리하기 위하여 순방향 흐름과 역방향 흐름을 생성하기 위한 작용력(P1, P2)을 제공하고, 역방향 흐름 시 구멍막힘 해제수단을 통해 다공성막(132)의 구멍(pore) 막힘을 해제하도록 구성되는 흐름작용력 인가 장치부; 및 상기 흐름작용력 인가 장치부를 제어하도록 구성되는 제어 장치부(300);를 포함하며, 상기 흐름작용력 인가 장치부는 상기 상부 챔버(110)의 작용력 인가부(111) 또는 하부 챔버(120)의 작용력 인가부(121)에 양압(+ 압력) 및 음압(- 압력 또는 진공압)의 작용력(P1, P2)을 인가할 수 양압-음압 인가 장치부(510)로 구성된다.

[0110] 상기 양압-음압 인가 장치부(510)는 +압력으로 공기의 주입이 가능하고, 또한 상부 챔버(110) 또는 하부 챔버(120) 내의 공기를 흡입하는 등을 통해 -압력 또는 진공압을 인가시킬 수 있는 공지의 장치로 구성된다.

[0111] 여기에서, 작용력(P1, P2)이 인가되지 않은 챔버에는 배기구멍(511)이 형성되거나, 그 바디부가 플렉시블한 재질로 이루어져 구성될 수 있다.

[0112] 도 9의 (A)에서는 작용력(P1, P2)이 인가되는 작용력 인가부가 상부 챔버(110)에 형성되고, 하부 챔버(120)에는 배기구멍(511)이 형성되는 경우를 나타내고, 도 9의 (B)에서는 작용력(P1, P2)이 인가되는 작용력 인가부가 하부 챔버(120)에 형성되고, 상부 챔버(110)에는 배기구멍(511)이 형성되는 경우를 나타내고 있다.

[0113] 또한, 도 10의 (A)에서는 작용력(P1, P2)이 인가되는 작용력 인가부가 상부 챔버(110)에 형성되고, 하부 챔버(120)의 바디부(122)는 플렉시블하게 형성되는 경우를 나타내고, 도 10의 (B)에서는 작용력(P1, P2)이 인가되는 작용력 인가부가 하부 챔버(120)에 형성되고, 상부 챔버(110)의 바디부(112)는 플렉시블하게 형성되는 경우를 나타내고 있다.

[0114] 상기 배기구멍(511)이 챔버에 형성됨에 있어서, 그 내부에 수용되는 시료(용액)이 배기구멍(511)을 통해 흘러나가지 않는 위치, 예를 들면 개구방향이 상방을 향하면서도 챔버의 상부 측에 위치되도록 구비된다.

[0115] 이러한 다른 실시 예의 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치는, 작용력 인가부가 구비되는 챔버(110 또는 120)) 측으로 +압력(P1)을 인가하여(가압) 순방향흐름이 형성되도록 함으로써 다공성막(132)을 통해 액상 시료의 분리 및/또는 농축이 행해지도록 하고, 또한 작용력 인가부가 구비되는 챔버(110 또는 120)에 -압력(P2)을 인가하여 역방향흐름이 형성되도록 함으로써 다공성막(132)의 구멍막힘을 해제하게 된다.

[0116] 이때, 상기 작용력 인가부가 구비되는 챔버에 +압력(P1) 또는 -압력(P2)이 인가될 시, 작용력 인가부가 구비되지 않는 챔버는 배기구멍(511)을 통해 외부와 연통되거나, 플렉시블한 바디부가 팽창 또는 수축됨으로써 작용력 인가에 따른 원활한 순방향 흐름과 역방향 흐름을 형성하게 된다.

[0117] 한편, 다른 실시 예의 다공성막 기반의 입자 분리-농축 장치에서, 작용력 인가부가 구비되지 않은 챔버에는, 그 챔버의 공간부(상측 공간부)로 공기를 주입하기 위한 공기 주입 장치(520)를 더 포함할 수 있다. 즉, 상기 배기구멍(511)에 공기를 주입하기 위한 공기 주입 장치(520)가 연결되어 구성될 수 있다.

[0118] 여기에서, 상기 다공성막(132)의 하부, 즉 하부 챔버(120)의 상부 측에는 소정 공간이 확보된 상태(즉, 공기가 소정 부피 차 있는 상태)가 되도록 이루어진다. 그리고 상부 챔버(110)의 상부 측은 소정 공간이 형성되거나 액상 시료가 가득차 있는 상태로 될 수 있다.

[0119] 한편, 본 발명의 발명자는 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법을 이용한 액상 시료의 분리 농축 결과를 확인하기 위한 실험을 행하였으며, 이에 대하여 설명한다.

[0120] 도 11은 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법을 이용하여 200nm 다공성막(porous membrane)을 통해 140, 400nm 비드(bead)를 분리한 결과로서 NTA(Nano particle Tracking Analysis)로 분석한 입자 크기 분포도를 나타내는 그래프로서, 분리된 후의 결과(붉은색)는 작은 크기의 입자만 존재함을 확인하였다.

[0121] 도 12의 (A)는 분리 실험 후 200nm 다공성막의 주사전자현미경(SEM) 사진으로, 140, 400nm 비드가 함께 존재하고, 도 12의 (B)는 200nm 다공성막으로 분리한 시료를 50nm 다공성막으로 농축한 뒤의 주사전자현미경(SEM) 사진으로, 140nm 비드(bead)만 발견되었다.

[0122] 도 13은 생체 시료로부터 엑소좀을 분리한 결과를 나타내는 그래프(들)로서, 기존의 엑소좀 분리기술인 UC(ultra centrifuge), DFF(direct flow filtration)과 비교한 결과, 본 발명의 분리 방법인 BFF(bidirectional flow filtration)가 UC, DFF에 비하여 수득된 엑소좀의 농도도 높으며(도 13의 (A)), 용액 중 수용성단백질(soluble protein)의 양은 적어(도 13의 (C)), 그 결과 엑소좀의 순도(purity ratio)가 월등히 높음을 확인하였다(도 13의 (D)). 도 13의 (B)는 평균 사이즈를 나타내는 그래프이다.

[0123] 특히 농축 과정을 한번 수행하지 않고 50nm 다공성막을 통해 엑소좀을 농축한 뒤, 버퍼(buffer) 용액을 채우고 농축하는 것을 반복한 BFF+wash의 경우, 순도(purity ratio)가 기존의 gold standard 방법인 UC보다 수십 배 이상 높아 본 발명의 분리 기술의 효용성을 확인할 수 있었다.

[0124] 도 14는 본 발명 및 종래의 분리 방법을 이용한 엑소좀 분리 이후 웨스턴 블롯(western blot)으로 확인한 결과를 나타내는 도면으로, 엑소좀 마커(CD9, TSG101, CD81)와 세포사멸체(apoptotic body) 마커(calreticulin) 마커로, 엑소좀 마커는 많이 나오고, 세포사멸체(apoptotic body) 마커는 없어야 오염 없이 순수한(pure) 엑소좀 샘플인 것을 뜻하는데, 도 14의 결과와 같이 본 발명에 의한 분리가 순수한 엑소좀을 대량 얻을 수 있음을 확인하였다.

[0125] 도 15는 본 발명 및 종래의 분리 방법을 이용해 분리한 엑소좀을 촬영한 투과전자현미경(TEM) 사진으로서, UC, DFF는 큰 압력에 의하여 손상된 엑소좀이 발견되나 BFF는 낮은 압력으로 시행하였기 때문에 엑소좀 고유의 모습을 잘 유지하고 있음을 확인하였다. 즉, 본 발명의 분리 농축 방법을 이용하면 망가지지 않은 엑소좀을 대량으로, 높은 순도(purity ratio)로 얻을 수 있음을 확인하였다.

[0126] 이상에서 설명한 바와 같은 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치에 의하면, 기존의 일방적인 순방향으로의 다공성 분리 방법과 달리 막 투과 유량 제어를 통해 순방향과 역방향의 반복적인 양방향 흐름을 통해 큰 입자들이나 불순물로 인해 막힌 다공성막의 체증을 지속적으로 해소할 수 있어 단위 포어(pore)당 처리 효율을 크게 증가시킬 수 있는 이점이

있다.

[0127] 또한, 본 발명은 양방향 흐름 제어에 있어 역방향 이동에서 공기방울을 주입함으로써 포어 입구에 쌓인 큰 입자를 떨어뜨리고, 공기방울이 일측 공간부(막투과 상류측 공간부)를 통해 올라감으로써 시료를 믹싱(mixing)할 수 있어 분리 및 농축 효율을 더욱 증대시킬 수 있으며, 연속적인 막 투과 유량 제어를 통한 생체분자 분리 및 농축 장치를 이용함으로써 훈련된 실험자가 아니더라도 전 자동화로 고효율 분리 농축을 구현될 수 있는 이점이 있다.

[0128] 또한, 본 발명은 다양한 생체분자를 포함하는 생물학적 시료로부터 특정 생체분자를 분리함에 있어 기존의 방법과 달리 원시료의 농도의 의존하지 않고 고농도의 시료도 희석 없이 연속적인 분리 또는 농축을 수행할 수 있고, 상대적으로 단시간 내에 원하는 크기의 생체분자만을 선택적이고 고효율로 분리할 수 있으며, 매크로 및 마이크로 수준의 입자 및 시료뿐만 아니라 복잡한 생체 시료 내 나노(nm) 스케일의 입자나 생체분자를 분리 및 농축할 수 있는 다공성막 기반 기술 향상에 기여할 수 있는 이점이 있다.

[0129] 상기한 본 발명에 따른 양방향 막투과 유량제어와 에어 버블을 이용한 다공성막 기반의 입자 분리-농축 방법 및 입자 분리-농축 장치는 엑소좀의 체외 진단 · 치료 시장 및 줄기세포 치료 시장에 적용될 수 있다.

[0130] 본 명세서에서 설명되는 실시 예와 첨부된 도면은 본 발명에 포함되는 기술적 사상의 일부를 예시적으로 설명하는 것에 불과하다. 따라서, 본 명세서에 개시된 실시 예는 본 발명의 기술적 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이므로, 이러한 실시 예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가 한정되는 것은 아님은 자명하다. 본 발명의 명세서 및 도면에 포함된 기술적 사상의 범위 내에서 당업자가 용이하게 유추할 수 있는 변형 예와 구체적인 실시 예는 모두 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

부호의 설명

[0132] S100: 순방향흐름 형성 단계

S200: 역방향흐름 형성 단계

100: 입자 분리-농축 장치부

110: 상부 챔버

111, 121: 작용력 인가부

112, 122: 바디부

113, 123: 연결부

120: 하부 챔버

130: 커넥팅 유닛

131: 커넥팅 브라켓 모듈

131a: 통형상부

131b: 플랜지부

131c: 고정 피스

132: 다공성막

133: 드레인 디스크

134: 오링

200: 흐름작용력 인가 장치부

210: 공기 공급 장치

220: 공기 공급 라인(공기 공급 관로)

221: 메인 라인

222: 제1 분지 라인

223: 제2 분지 라인

230: 레귤레이터

240, 241, 242: 솔레노이드밸브

250: 압력 게이지

300: 제어 장치부

410: 모듈 케이스

411: 유입구

412: 고정피스

420: 상측 유로

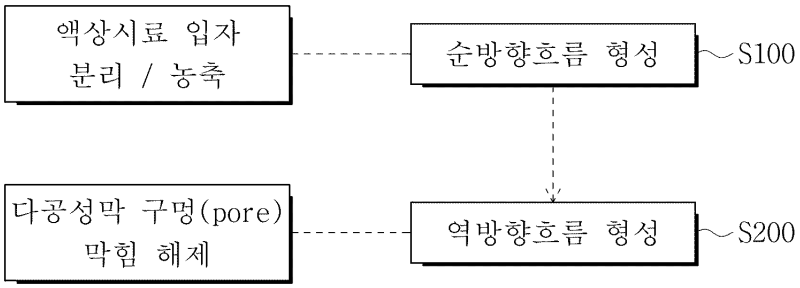
510: 양압-음압 인가 장치부

511: 배기구멍

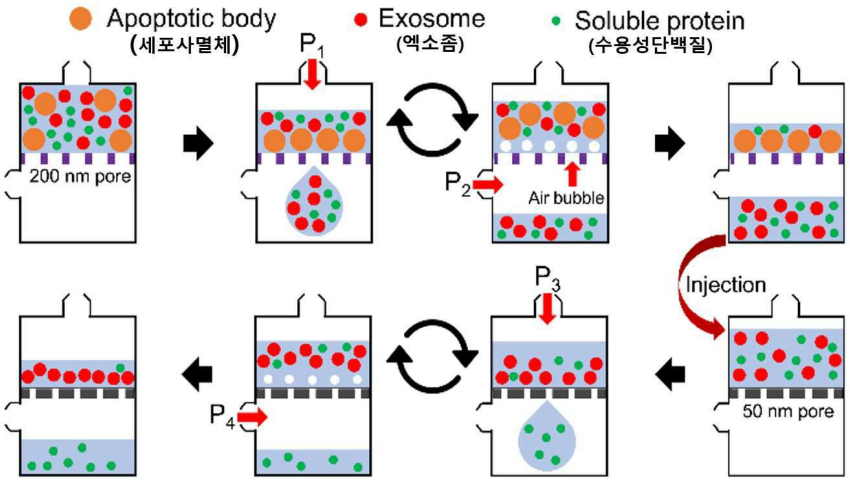
520: 공기 주입 장치

도면

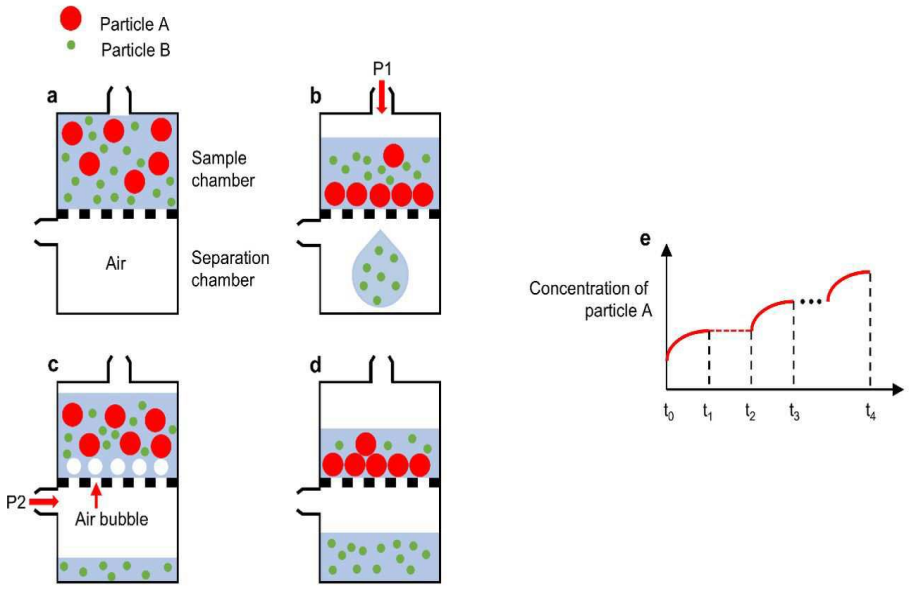
도면1



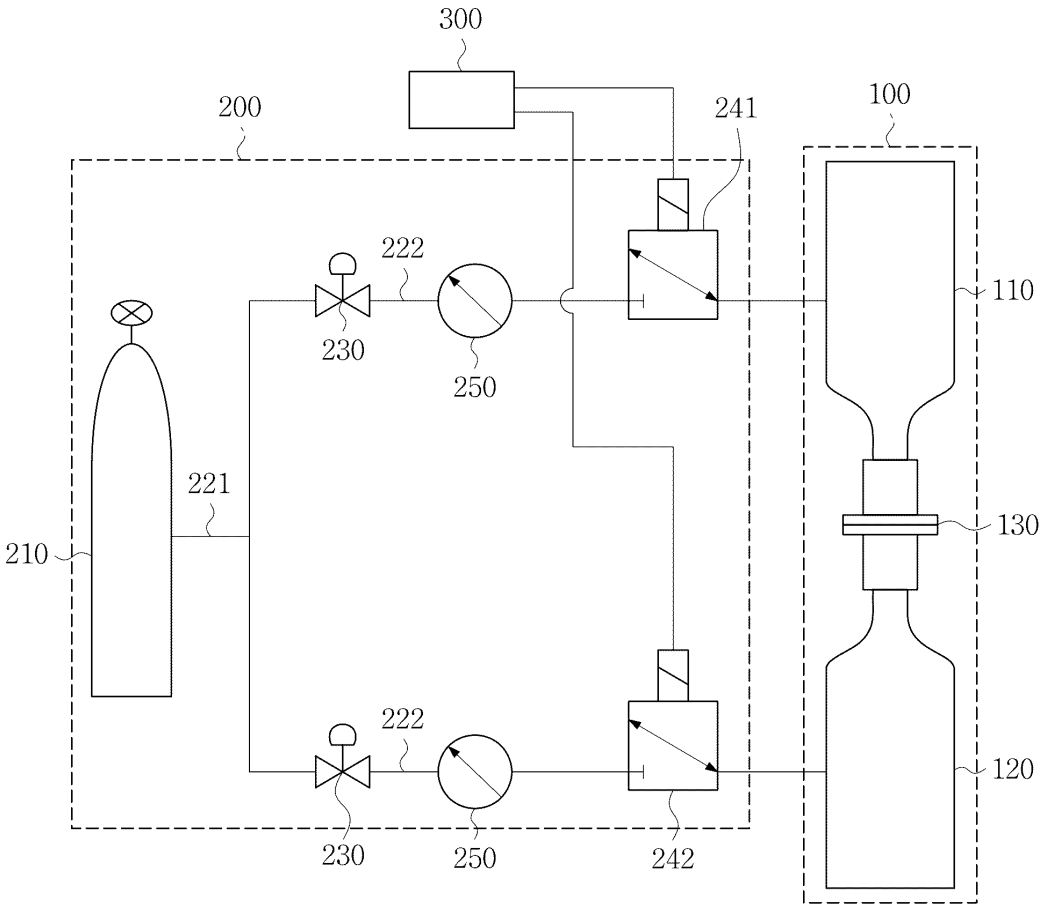
도면2



도면3

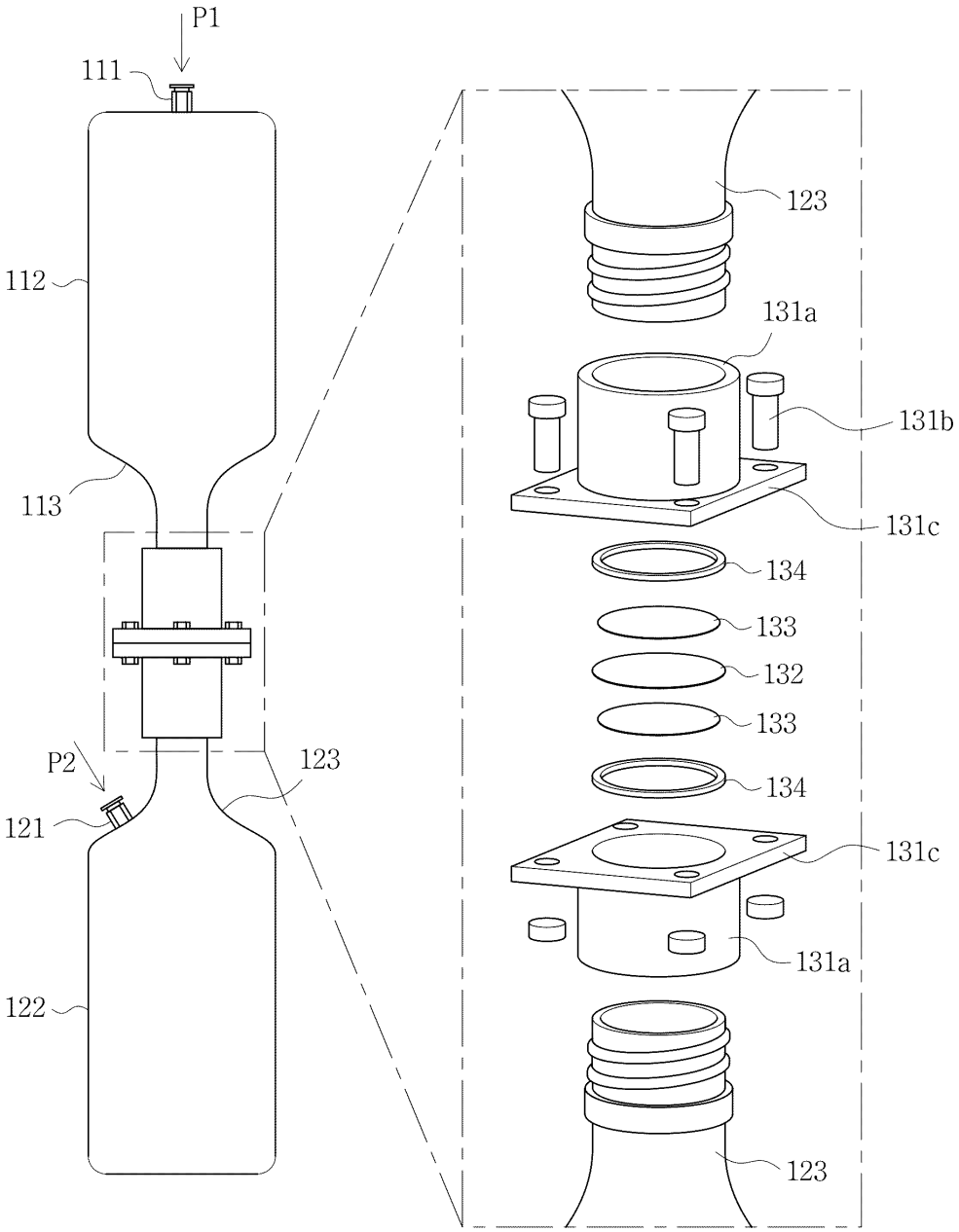


도면4



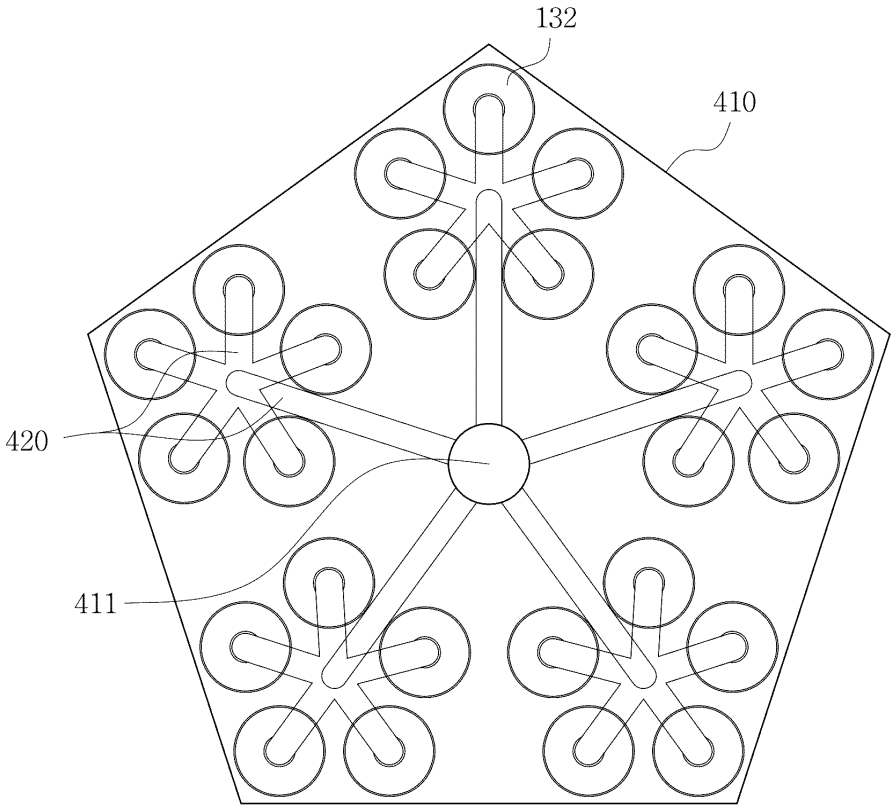
220: 221, 222, 223
240: 241, 242

도면5

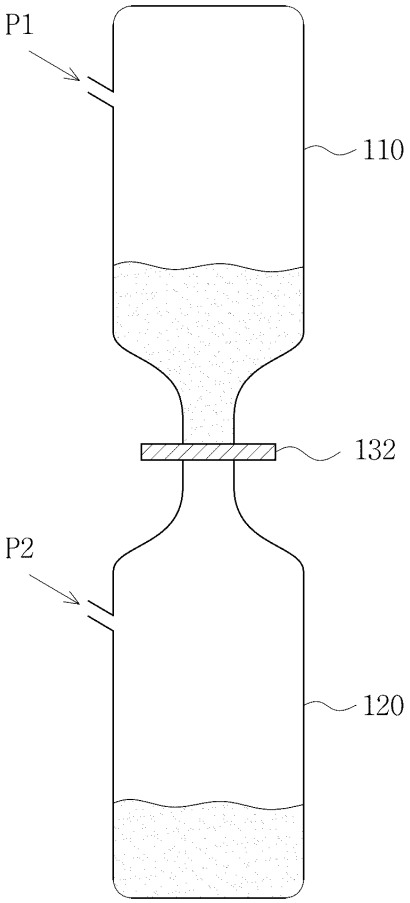


131: 131a, 131b, 131c

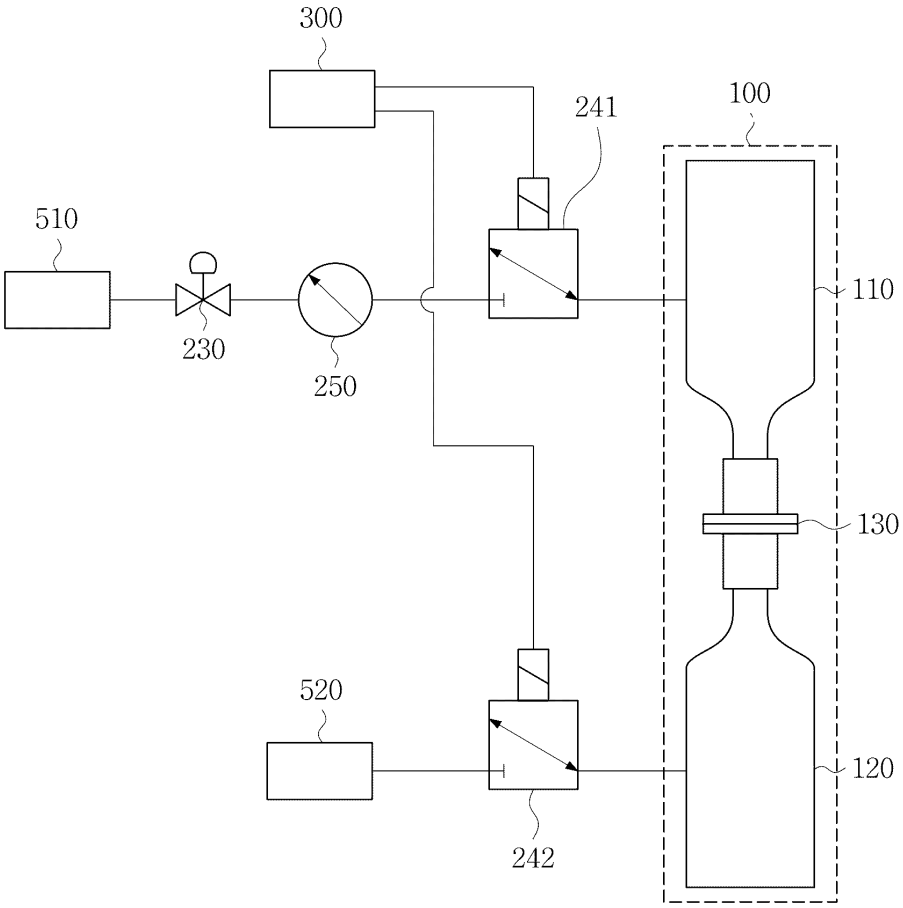
도면6



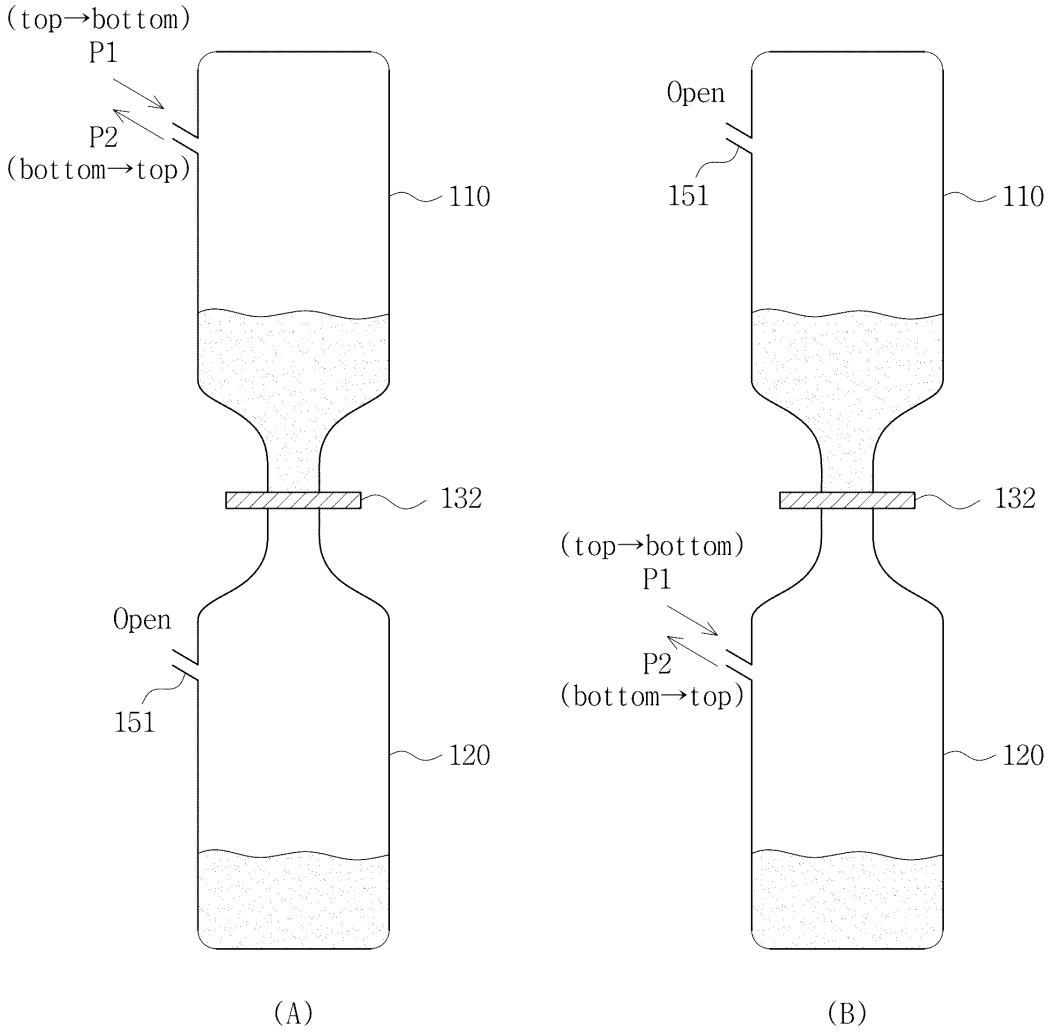
도면7



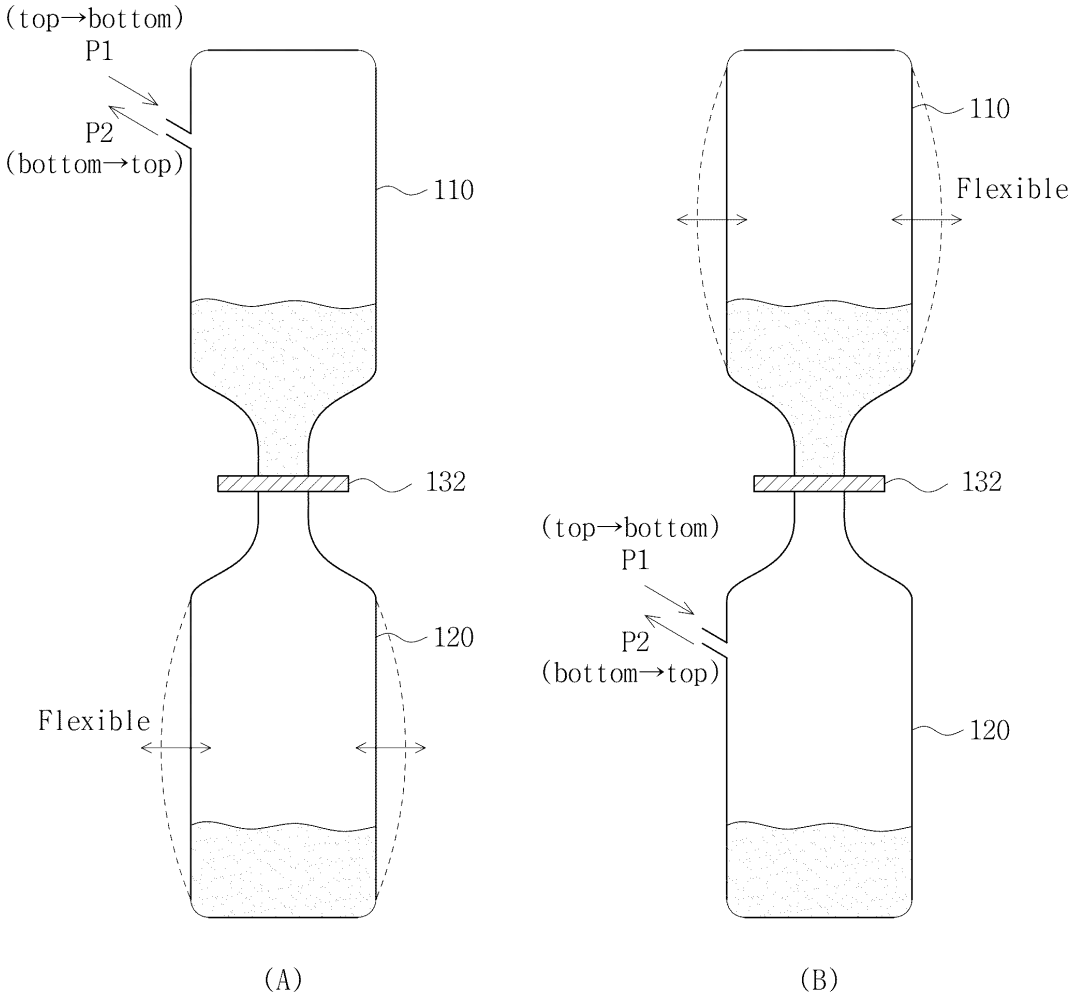
도면8



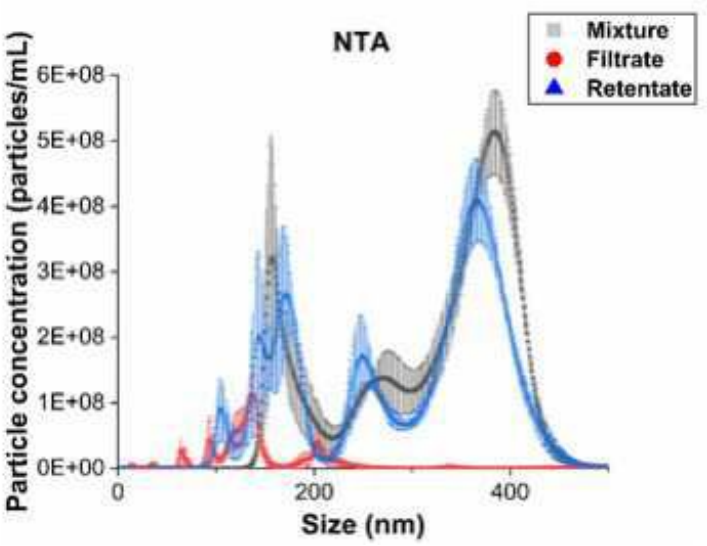
도면9


(top→bottom)
P1
P2
(bottom→top)
110
132
Open
151
120
(A)
Open
151
110
132
(top→bottom)
P1
P2
(bottom→top)
120
(B)

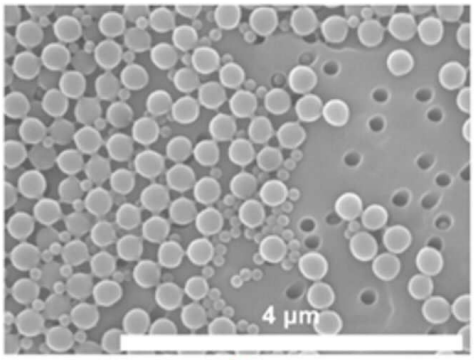
도면10


(top→bottom)
P1
P2
(bottom→top)
110
132
120
Flexible
(A)
110
Flexible
132
(top→bottom)
P1
P2
(bottom→top)
120
(B)

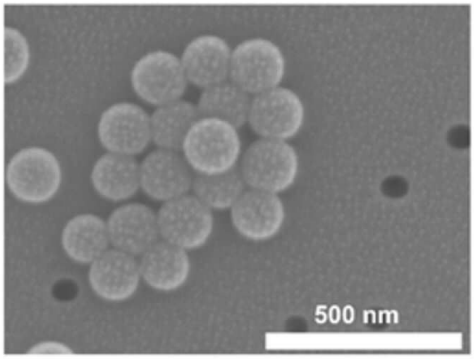
도면11


NTA
Mixture
Filtrate
Retentate
Particle concentration (particles/mL)
6E+08
5E+08
4E+08
3E+08
2E+08
1E+08
0E+00
0
200
400
Size (nm)

도면12

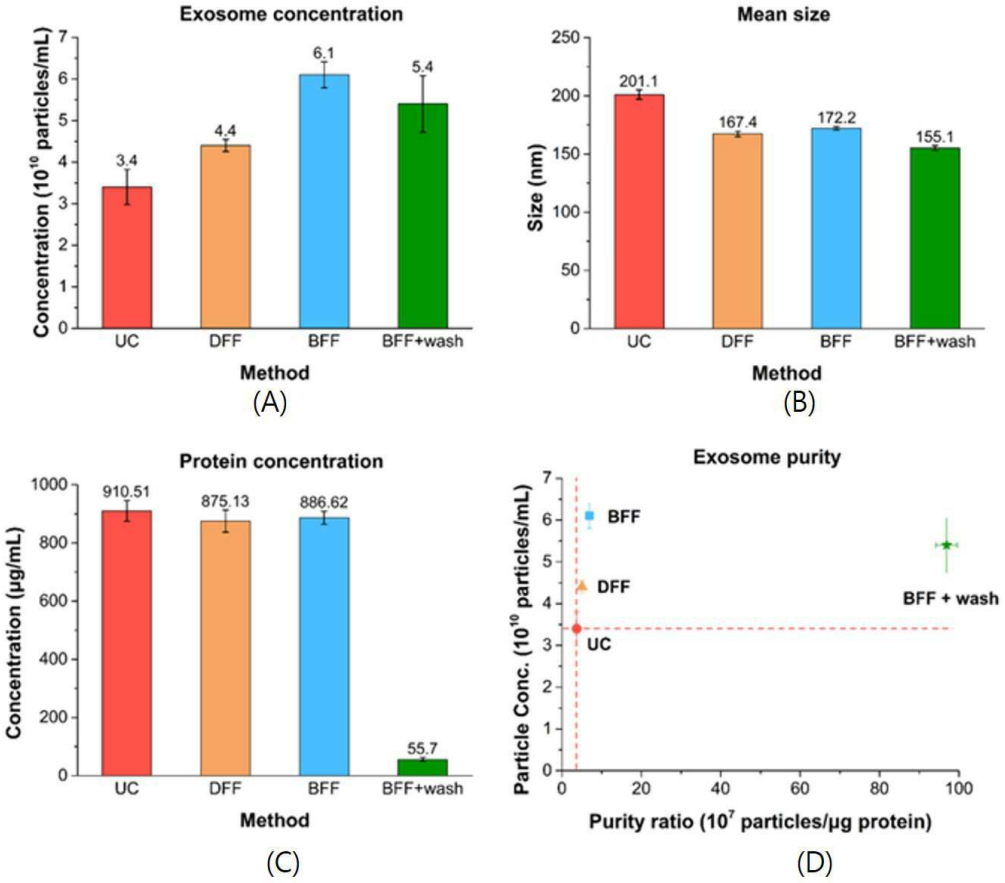


(A)

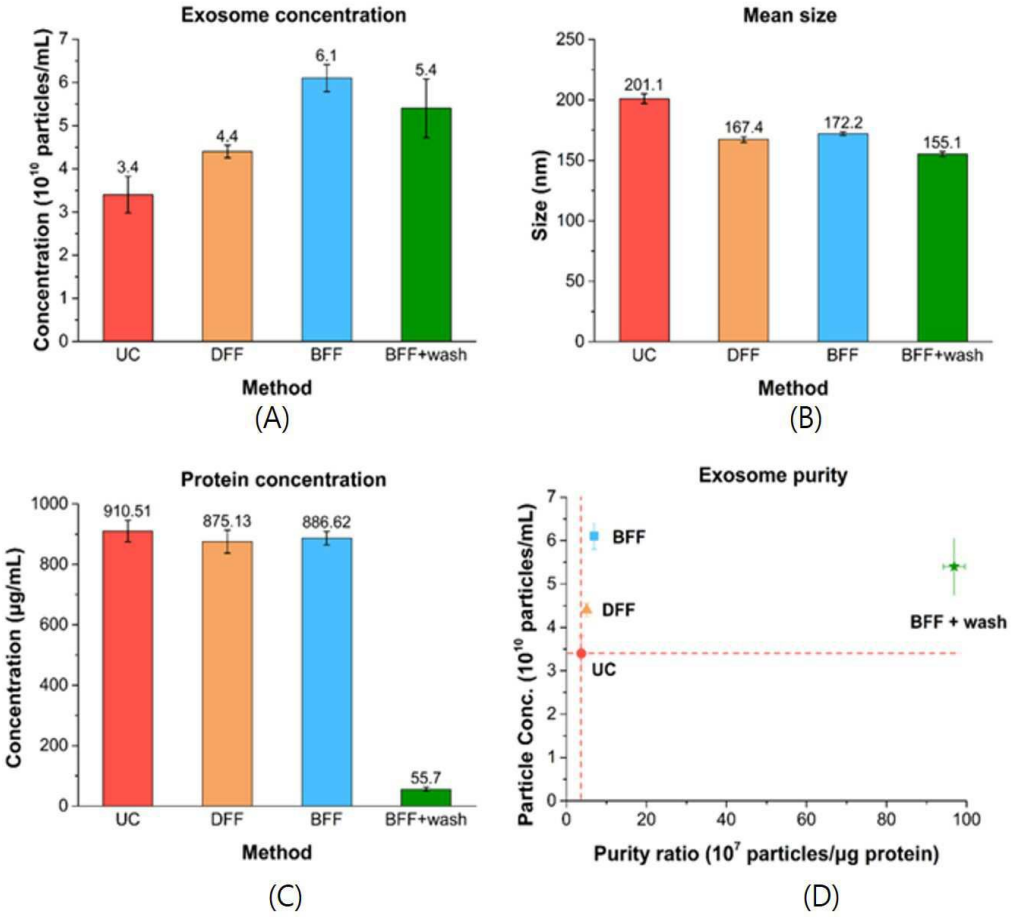


(B)

도면13


Exosome concentration
Concentration (10^10 particles/mL)
3.4
4.4
6.1
5.4
UC
DFF
BFF
BFF+wash
Method
(A)
Mean size
Size (nm)
201.1
167.4
172.2
155.1
UC
DFF
BFF
BFF+wash
Method
(B)
Protein concentration
Concentration (μg/mL)
910.51
875.13
886.62
55.7
UC
DFF
BFF
BFF+wash
Method
(C)
Exosome purity
Particle Conc. (10^10 particles/mL)
BFF
DFF
UC
BFF + wash
Purity ratio (10^7 particles/μg protein)
(D)

도면14


Exosome concentration
Concentration (10^10 particles/mL)
3.4
4.4
6.1
5.4
UC
DFF
BFF
BFF+wash
Method
(A)
Mean size
Size (nm)
201.1
167.4
172.2
155.1
UC
DFF
BFF
BFF+wash
Method
(B)
Protein concentration
Concentration (μg/mL)
910.51
875.13
886.62
55.7
UC
DFF
BFF
BFF+wash
Method
(C)
Exosome purity
Particle Conc. (10^10 particles/mL)
BFF
DFF
UC
BFF + wash
Purity ratio (10^7 particles/μg protein)
(D)

도면15

