

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014년 7월 3일 (03.07.2014)



(10) 국제공개번호
WO 2014/104761 A1

- (51) 국제특허분류:
G01N 35/08 (2006.01) G01N 27/30 (2006.01)
G01N 33/49 (2006.01) G01N 21/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/012223
- (22) 국제출원일: 2013년 12월 26일 (26.12.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2012-0154057 2012년 12월 27일 (27.12.2012) KR
- (71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 136-713 서울시 성북구 안암로 145, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 신세현 (SHIN, Se Hyun); 137-060 서울시 서초구 방배동 신삼호아파트 바동 406 호, Seoul (KR). 임채승 (LIM, Chae Seung); 431-070 경기도 안양시 동안구 평촌동 399-6 건영 3 단지 302-804, Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 특허법인 다나 (DANA PATENT LAW FIRM); 135-936 서울시 강남구 역삼로 3길 11 광성빌딩 신관 5층, Seoul (KR).

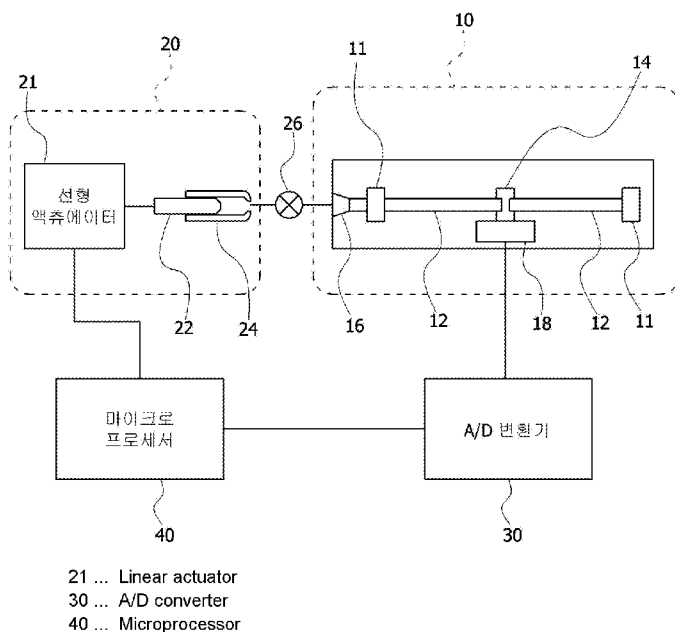
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) Title: APPARATUS AND METHOD FOR PLATELET FUNCTION AND DRUG RESPONSE TESTING BASED ON MICROFLUIDIC CHIP

(54) 발명의 명칭 : 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법



21 ... Linear actuator
30 ... A/D converter
40 ... Microprocessor

(57) Abstract: The present invention relates to an apparatus and method for platelet function and drug response testing based on a microfluidic chip. The testing apparatus according to the present invention may include: a measuring device in which a blood sample is accommodated such that the adhesion and cohesion of platelets generated by the flow of the blood sample are measured; and a fluid driving device connected to the measuring device so as to generate a reciprocating shear flow in the blood sample. According to the present invention, a uniform and complete activation of the platelets and a von Willebrand factor (vWF) can be ensured, and the reproducibility of platelet cohesion can be improved.

(57) 요약서: 본 발명은 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 검사 장치는 혈액 샘플이 수용되고, 혈액 샘플의 유동에 의해 발생한 혈소판의 부착과 응집을 측정하기 위한 측정 장치; 및 측정 장치에 연결되어 혈액 샘플에 양쪽 전단유동을 발생시키는 유체 구동 장치를 포함할 수 있다. 이와 같은 본 발명에 의하면, 혈소판과 폰 빌레브란트 인자(vWF)의 균일하고 완전한 활성화를 확보할 수 있으며,

혈소판 응집 현상의 반복 재현성을 향상시킬 수 있는 효과가 있다.

명세서

발명의 명칭: 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 혈전성 허혈 및 출혈증에 대한 조기 진단과 예후와 관련하여 간단한 일회용 마이크로칩 내부의 유동을 통해 소량의 혈액으로 대량의 검체를 자동으로 검사할 수 있는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 상처를 입은 혈관의 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.
- [6] 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 기능 이상에 의한 출혈성 질환을 감별하는 데 중요한 검사이다. 또한, 이러한 혈소판 기능 검사는 심혈관 질환의 치료 및 예방에 사용되는 항혈소판 약제로 인하여 출혈성 경향의 증가나 약제의 내성에 대한 검사를 위해서도 많이 이용되고 있는 실정이다.
- [7] 혈관 내피세포에 상처가 발생하였을 경우, 혈관 내피세포 내부 물질을 구성하는 콜라젠과 같은 물질이 혈액 유동에 노출되고, 혈소판은 이러한 물질에 부착되면서 활성화된다. 혈소판의 부착 기전은 혈액유동의 환경에 따라 다른 특성을 띠게 된다.

- [8] 이를 상세하게 설명하면, 동맥과 같이 혈류속도가 빠르고 혈관벽에 작용하는 전단력이 높은 경우 혈소판이 혈관 내막에 부착되기 어렵지만, 이러한 조건에서 활성화되어 혈관벽에 쉽게 부착하는 폰 빌레브란트 인자(vWF: von Willebrand factor)에 의하여 혈소판이 혈관벽에 부착된다. 물론 혈소판 세포막에 존재하는 당단백질 수용체(glycoproteic receptor) 복합체인 GPIb-IX-V 등이 폰 빌레브란트 인자(vWF)와 상호작용을 유발하여 부착되는 것으로 알려져 있다.
- [9] 이와 같이 부착된 혈소판은 동류의 혈소판을 끌어들여 응집(aggregation)을 유발시켜 지혈을 하게 되며, 이후 다시 피브린에 의하여 지혈작용을 강화시킨다.
- [10] 그러나, 이와 같이 혈소판의 기능이 항상 좋은 쪽으로만 작용하는 것이 아니라, 특성의 유동 조건이나 상황에서는 역기능으로 작용할 수 있다. 예를 들면, 동맥경화로 인하여 혈관벽이 국부적으로 협착되었을 경우, 혈소판이 이러한 부분을 통과하면서 높은 전단률에 노출되어 활성화됨으로써, 협착부 후방부에 부착-응집이 발생하여 혈관이 막히는 혈전증을 유발하기도 한다.
- [11] 앞서 기술한 바와 같이 혈류 유동의 크기에 따라, 즉 유동에 의한 전단력(shear stress)에 의하여 혈소판 및 폰 빌레브란트 인자(vWF)는 활성화되며, 부착성이 크게 증가되어 지혈 기전을 갖게 된다. 이와 같이 혈소판이나 폰 빌레브란트 인자(vWF)의 활성화에 필요한 전단력은 8 Pa 이상이며, 전단률(shear rate)로는 5,000 1/s 이상인 것으로 알려져 있다.
- [12] 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 등으로 구분할 수 있다.
- [13] 출혈시간(Bleeding time, BT) 검사법은 약 100년 전에 개발된 출혈시간 측정검사로서, 현재까지도 혈소판 기능 선별검사로 간혹 사용되고 있다. 그러나, 현재 사용되고 있는 혈소판 기능 검사의 경우 표준화가 어렵고 임상적 유용성이 적으며 침습적 방법을 사용해야 하는 문제가 있고, 이에 따라 혈소판 기능을 측정할 수 있는 객관화된 측정법이 요구되어 왔다.
- [14] 이상의 문제점을 해결하기 위해 고안되어 혈소판의 기능을 측정하는 기술로 사용되고 있는 혈소판 기능 분석기(Platelet Function Analyzer)(예: PFA-100)의 경우에는, 고전단률에서 활성화된 폰 빌레브란트 인자(vWF)에 의하여 혈소판이 응집되는 특성을 이용한 것으로, 이러한 특성을 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.
- [15] 이러한 혈소판 기능 검사를 위해서는, 폰 빌레브란트 인자(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 위해 두 단계에 걸쳐 검사가 필요하여 검사

비용이 높아지는 단점을 가지고 있다.

- [16] 특히, 폰 빌레브란트 인자(vWF)를 활성화하기 위하여 혈액 샘플이 높은 전단력으로 일정 시간 이상에 노출되어야 하는데, 이를 위해 PFA-100에서는 상당히 긴 모세관에 빠른 속도로 혈액을 유동시키는 방법을 채택하였다. 그러나, 이러한 방법은 다량의 혈액이 요구될 뿐 아니라, 전단력이 최대가 되는 모세관 벽 근처의 폰 빌레브란트 인자(vWF)는 쉽게 활성화될 수 있지만 전단력이 최소가 되는 관 중심부에 위치한 폰 빌레브란트 인자(vWF)는 활성화되지 못하는 문제점을 갖고 있으며, 이로 인해 검사결과의 반복성에 문제를 초래할 수 있는 단점을 지니고 있다.
- [17] Diamed사의 IMPACT는 Cone-Plate 방식의 회전형 쿼트 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 빌레브란트 인자(vWF) 및 피브리노겐(Fibrinogen)의 농도 및 기능에 매우 의존적인 단점을 갖고 있다.
- [18] Verify-NOW(Accumetrics)는 혈소판 응집 정도를 광학 센서를 이용하여 탁도로 측정하는 원리를 채택하였는데, 이는 혈액에 아고니스트(agonist)를 혼합하고 콜라겐이 표면에 코팅된 마이크로 비드와 작용시켜 혈액 내부에 혈소판이 응집되도록 한 후 이를 시간에 따라 탁도로 측정하는 방식이어서, 기존의 여러 가지 탁도 측정 방식의 기술적 단점을 그대로 보유하고 있음에도 불구하고 최근 사용 빈도가 늘어나고 있는 상황이다.

[19]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [20] 따라서, 본 발명의 목적은 상기한 바와 같은 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 한 번의 검사로 출혈성 및 혈전성 병증에 대한 복합적인 다중 조기 진단 및 예후 검사가 가능하도록 하여 검사 비용을 절감하고 검사 반복성과 정밀도를 향상시킬 수 있는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법을 제공하는 것이다.
- [21] 본 발명의 다른 목적은 자동으로 혈액 유동의 막힘 시간(Closure time)을 측정할 수 있는 구조를 가진 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법을 제공하는 것이다.
- [22] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제들은 이상에서 언급한 기술적 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

[23]

과제 해결 수단

- [24] 본 발명은 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위해, 혈액 샘플이 수용되고, 상기 혈액 샘플의 유동에 의해 발생한 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 계측 장치; 및 상기 계측 장치에 연결되어 상기 혈액 샘플에 왕복 전단유동을 발생시키는 유체 구동 장치를 포함하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치를 제공한다.
- [25] 상기 계측 장치는, 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실; 상기 샘플 저장실에 연결되고, 상기 혈액 샘플의 전단 유동을 안내하는 마이크로 채널; 상기 마이크로 채널과 연결되고, 상기 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 계측 챔버; 및 상기 계측 챔버에서 발생하는 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 센서부를 포함할 수 있다.
- [26] 상기 유체 구동 장치는, 선형 액츄에이터; 상기 선형 액츄에이터의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤; 및 상기 피스톤의 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더를 포함할 수 있다.
- [27] 상기 계측 장치와 유체 구동 장치의 사이에는 구동 압력의 전달 및 차단을 제어하는 밸브가 설치될 수 있다.
- [28] 상기 밸브는 주기적인 개폐를 통해 맥동(Pulsatile) 유동을 만들 수 있다.
- [29] 상기 마이크로 채널은 다수 개가 병렬로 배치될 수 있다.
- [30] 상기 병렬로 배치된 마이크로 채널에 연결된 계측 챔버에는 서로 다른 약물이 제공될 수 있다.
- [31] 상기 센서부는 전기 임피던스를 측정하는 전극 센서, 탁도를 측정하는 광센서, 요동 압력을 측정하는 압력 센서, 상기 혈액 샘플의 왕복 이동거리를 측정하는 영상센서 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.
- [32] 상기 전극 센서는 상기 계측 챔버 내부의 양단에 두 개의 전극으로 구성되어 상기 계측 챔버 사이의 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 전기적 임피던스의 변화를 측정할 수 있다.
- [33] 상기 광센서는 상기 계측 챔버의 외부에 광원과 대향되게 구성되어 상기 계측 챔버 사이의 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 광학적 탁도의 변화를 측정할 수 있다.
- [34] 상기 압력 센서는 상기 계측 장치와 유체 구동장치를 연결하는 밸브, 또는 상기 샘플 저장실에 구비되어 상기 계측 챔버에서 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 요동압력 변화를 측정할 수 있다.
- [35] 상기 영상센서는, 상기 마이크로 채널로 광을 조사하는 광원; 및 상기 마이크로 채널 내의 혈액을 투과한 광을 수신하여 전기적 신호로 바꾸어 혈액 유동의 진행거리를 측정하는 광계측 센서를 포함할 수 있다.
- [36] 상기 광원은 LED(Light Emitting Diode)이고, 상기 광계측 센서는 CCD(Charge Coupled Device) 센서 어레이일 수 있다.
- [37] 상기 계측 챔버는 상기 마이크로 채널의 중앙부에 위치하고, 상기 계측 챔버에는 상기 혈액 샘플의 유동속도를 저감시키기 위한 유로의 급확장부가

형성될 수 있다.

[38] 상기 계측 챔버에는 혈소판의 부착과 응집을 촉진하고 이로 인한 유동의 감소를 유도하기 위한 다수개의 마이크로 필터가 설치될 수 있다.

[39] 상기 계측 챔버의 내부에는 다수 개의 구슬이 구비될 수 있다.

[40] 상기 계측 챔버에는 피브리노젠, 아라키돈산(Arachidonic acid), 콜라젠, 에피네프린, 아데노신2인산(ADP), PGE1(Prostaglandin E1), TRAP(Thrombin Receptor Activating Peptide), P2Y1 리셉터 안타고니스트(antagonist), P2Y12 리셉터 안타고니스트 중에서 선택되는 1종 이상의 약물이 제공될 수 있다.

[41] 상기 P2Y1 리셉터 안타고니스트는 MRS 2179, MRS 2279, MRS 2500, A2P5P, A3P5P, A3P5PS 중에서 선택되는 1종 이상일 수 있다.

[42] 상기 P2Y12 리셉터 안타고니스트는 클로피도그렐(clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine), 프라수그렐(prasugrel), AR-C67085MX, 칸그렐로르(cangrelor), C1330-7, MRS 2395, 2-methylthioadenosine-5'-monophosphate 중에서 선택되는 1종 이상일 수 있다.

[43] 상기 약물은 표면 코팅 및 액체 주입 중 적어도 하나의 형태로 공급될 수 있다.

[44] 상기 유체 구동 장치에 의해 발생하는 전단유동에서 최소 전단율이 5,000 (s⁻¹) 이상이거나, 최소 전단력이 8 Pa 이상일 수 있다.

[45] 또한, 본 발명은 상술한 검사 장치를 이용하고, 혈액 샘플을 양측에 배치한 샘플 저장실에 주입하는 단계; 상기 샘플 저장실을 연결하는 마이크로 채널을 통해 상기 혈액 샘플이 왕복 전단유동을 하도록 하는 단계; 상기 마이크로 채널의 중앙부에 위치한 계측 챔버에 약물을 제공하여 혈소판과 반응하도록 하는 단계; 및 상기 계측 챔버 내부에서 혈소판의 부착과 응집으로 인해 발생하는 변화를 계측하는 단계를 포함하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 방법을 제공한다.

[46]

발명의 효과

[47] 본 발명에 의하면, 혈액 샘플이 병렬 채널을 통해 각각의 채널에서 서로 다른 약물에 의해 검사될 수 있고, 한 번의 검사로 복합적인 혈소판 기능에 대한 다중 검사가 가능하고 검사 시간이 감소하며 검사 비용도 절감되는 효과가 있다.

[48] 또한, 왕복 유동 메커니즘에 의해 혈액 샘플이 병렬 채널을 통해 각각의 채널에서 임계 전단력 이상의 전단 왕복유동에 충분한 시간동안 노출될 수 있도록 구성되어, 한번 지나가고 다시 돌아오지 못하는 유동(Once-through flow)에 비하여 혈소판과 폰 빌레브란트 인자(vWF) 등의 인자의 균일하고 완전한 활성화를 확보할 수 있으며, 혈소판 응집 현상의 반복 재현성을 향상시킬 수 있는 효과가 있다.

[49] 또한, 계측 챔버 내부에 혈소판이 부착 및 응집되는 현상을 실시간으로 현미경을 통해 관찰 할 수 있어 약물별 정성적인 분석이 가능한 효과가 있다.

- [50] 또한, 혈액에 접촉하는 부분이 모두 일회용으로 제작되어 사용 후 폐기할 수 있어 사용자의 편리성과 혈액 감염 등의 위험에서 벗어나는 효과를 얻을 수 있다.
- [51] 또한, 계측 시간의 짧음과 여러 개의 샘플이 동시에 측정될 수 있는 시스템의 구현이 가능하여 대량 검사를 수행하기에 적합한 효과가 있다.
- [52] 또한, 다양한 아고니스트 및 안타고니스트의 약제를 액상으로 직접 투입하거나 유로의 특정 면에 코팅하여 다양한 약리학적 검사를 수행할 수 있는 효과가 있다.

[53]

도면의 간단한 설명

- [54] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법의 구성도이다.
- [55] 도 2a 및 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 계측 장치의 구성도이다.
- [56] 도 3은 계측 챔버 내에 마이크로 필터가 구비된 것을 보인 구성도이다.
- [57] 도 4는 계측 챔버 내에 구슬이 구비된 것을 보인 구성도이다.
- [58] 도 5a는 전기적 임피던스를 기반으로 측정하는 센서부의 구성도이다.
- [59] 도 5b는 도 5a의 센서부에 따라 측정된 그래프이다.
- [60] 도 6a는 광센서를 통해 탁도를 기반으로 측정하는 센서부의 구성도이다.
- [61] 도 6b는 도 6a의 센서부에 따라 측정된 그래프이다.
- [62] 도 7a는 영상 센서를 통해 마이크로 채널의 혈액 샘플의 이동도를 측정하는 센서부의 구성도이다.
- [63] 도 7b는 도 7a의 센서부에 따라 측정된 그래프이다.
- [64] 도 8a는 요동 압력을 측정하기 위한 센서부의 구성도이다.
- [65] 도 8b 및 8c는 도 8a의 센서부에 따라 측정된 그래프이다.
- [66]

발명의 실시를 위한 형태

- [67] 이하에서는 본 발명에 의한 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법의 일 실시예를 첨부된 도면을 참고하여 상세하게 설명한다.
- [68] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치의 구성도이고, 도 2a 및 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 계측 장치의 구성도이다.
- [69] 이에 도시된 바에 따르면, 본 발명에 의한 마이크로칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치는 혈액 샘플이 수용되고, 상기 혈액 샘플의 유동에 의해 발생한 혈소판의 부착과 응집을 측정하기 위한 계측 장치(10); 및 상기 계측 장치(10)에 연결되어 상기 혈액 샘플에 왕복 전단유동을 발생시키는 유체 구동 장치(20)를 포함한다.
- [70] 먼저, 계측 장치(10)에 대해 살펴보면, 계측 장치(10)는 혈액 샘플이 내부에

수용되는 샘플 저장실(11)을 포함한다. 그리고, 샘플 저장실(11)의 일측에는 마이크로 채널(12)이 연결된다. 마이크로 채널(12)은 혈액 샘플의 전단 유동을 안내하기 위해 연결되는 부분으로서, 샘플 저장실(11)의 사이에 연결되어 있다.

[71] 마이크로 채널(12)은 그 단면 형상이 사각형 등의 다각형, 원형 또는 타원형일 수 있다. 예를 들어, 단면 형상이 정사각형인 채널의 경우 한 모서리의 길이는 1 내지 1,000 μm , 바람직하게는 10 내지 200 μm , 더욱 바람직하게는 20 내지 50 μm 일 수 있다. 단면 형상이 원형인 경우에도 상기 범위의 직경을 가질 수 있다.

[72] 마이크로 채널(12)은 도 2a에 도시된 바와 같이 하나로 구성될 수도 있고, 도 2b에 도시된 바와 같이 다수 개로 병렬로 배치되어 구성될 수도 있다. 마이크로 채널(12)이 병렬로 배치될 경우, 각각의 계측 챔버(14)에는 서로 다른 약물이 공급될 수 있다.

[73] 그리고, 마이크로 채널(12)의 일측에는 혈소판의 부착 및 응집을 계측하기 위한 계측 챔버(14)가 연결된다. 계측 챔버(14)는 마이크로 채널(12)의 중앙부에 설치되는 것이 바람직하고, 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 부분이다. 참고로, 마이크로 채널(12)의 단부에는 밀봉을 위한 마감부(16)가 구비될 수 있다.

[74] 도 3 및 도 4를 참조하면, 계측 챔버(14)에는 혈소판의 부착과 응집을 촉진하고 이로 인한 유동의 감소를 유도하기 위한 마이크로 필러(17)가 구비될 수 있다. 마이크로 필러(17)는 궁극적으로 혈액 왕복 유동의 유로가 쉽게 폐쇄되도록 한다. 또한, 계측 챔버(14)에는 다수 개의 구슬(19)이 구비될 수도 있다.

[75] 또한, 계측 챔버(14)에는 혈액의 유동속도가 저감되도록 유로 급확장부(미도시)가 형성될 수 있다.

[76] 계측 챔버(14)에는 약물이 제공될 수 있는데, 약물은 피브리노젠, 아라키돈산, 콜라젠, 에피네프린, ADP, PGE1, TRAP, P2Y1 리셉터 안타고니스트, P2Y12 리셉터 안타고니스트 중에서 선택되는 단독 또는 2종 이상의 조합일 수 있다.

[77] 약물 조합은 예를 들어, 피브리노젠과 아라키돈산, 콜라젠과 에피네프린, 콜라젠과 ADP, 콜라젠과 아라키돈산, 콜라젠과 ADP 및 PGE1(P2Y12 assay), 콜라젠과 MRS 2179, 콜라젠과 MRS 2395, 콜라젠과 TRAP, 콜라젠과 P2Y1 안타고니스트, 콜라젠과 P2Y12 안타고니스트의 조합이 가능하다.

[78] 또한, 계측 챔버(14)에는 혈소판의 응집 억제약물로 아스피린, P2Y12 리셉터 안타고니스트 클로피도그렐, 티클로피딘으로 구성된 시약 중 어느 하나가 공급될 수 있다.

[79] 한편, 상술한 계측 챔버(14)에 제공되는 약물의 공급 방법으로는, 계측 챔버(14)의 표면에 약물을 코팅하는 방법, 약물이 코팅된 마이크로 필러(17) 및/또는 구슬(19)을 계측 챔버(14)에 첨가하는 방법, 약물을 액체 형태로 계측 챔버(14)에 주입하는 방법 중에서 적어도 하나의 방법을 사용하거나, 2종 이상의 방법을 조합할 수 있다.

[80] 다음으로, 계측 챔버(14)에 다양한 센서로 혈소판의 부착과 응집을 계측하는 센서부(18)가 구비된다. 센서부(18)로는 전기 임피던스를 측정하는 전극 센서,

- 탁도를 측정하는 광센서, 요동 압력을 측정하는 압력 센서, 상기 혈액 샘플의 왕복 이동거리를 측정하는 영상센서 중 적어도 하나가 사용될 수 있다. 그리고, 센서부(18)는 A/D 변환기(30)와 연결되어 있어 계측된 신호는 변환될 수 있다.
- [81] 센서부(18)의 구체적인 실시예를 설명하기 전에 도 1을 참조하여 유체 구동 장치(20)에 대해 이하에서 설명한다.
- [82] 유체 구동 장치(20)는 마이크로 채널(12)로 유입되는 혈액 샘플에 직선 왕복운동을 발생시키기 위한 장치로서, 선형 액추에이터(21)와, 선형 액추에이터(21)의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤(22)과, 피스톤(22)의 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더(24)를 포함한다.
- [83] 그리고, 계측 장치(10)와 유체 구동 장치(20)의 사이에는 밸브(26)가 연결된다. 밸브(26)는 실질적으로 마이크로 채널(12)에 연결되어 구동 압력의 전달 및 차단을 제어하는 역할을 한다. 또한, 밸브(26)는 효과적으로 구동 압력을 전달하기 위해 주기적인 개폐를 통해 맥동(Pulsatile) 유동을 만들 수 있다.
- [84] 마이크로 채널(12)에 발생하는 유동은 혈액 샘플 내부에 존재하는 혈소판과 폰 빌레브란트 인자(vWF) 등의 요소들을 역학적으로 자극하여 활성화하기에 충분한 임계 전단력 및/또는 임계 전단률 이상을 제공하도록 설계할 수 있다. 이때 최소 전단력은 8 Pa이고, 최소 전단률은 5,000 (s⁻¹)인 것이 바람직하다.
- [85] 이러한 임계 전단 유동을 제공하기 위해 유체의 속도와 마이크로 채널을 정밀하게 설계 및 제어할 필요가 있다. 또한, 상기 전단 유동을 통해 혈소판과 폰 빌레브란트 인자(vWF)에 충분한 활성화 시간이 제공되도록 왕복유동의 인가 시간을 정밀하게 제어할 수 있다.
- [86] 한편, 선형 액추에이터(21)는 마이크로 프로세서(40)와 연결되어 있어 구동이 제어될 수 있다.
- [87]
- [88] 이하에서는 상술한 센서부(18)의 다양한 실시예에 대하여 도 5 내지 8을 참조하여 상세하게 설명한다.
- [89] 먼저, 전기적 계측 방법은 도 5a에 도시된 바와 같이 계측 챔버(14)의 내부 양단에 두 개의 전극(14a, 14b)을 구비하여 전극(14a, 14b) 사이의 전기적 임피던스를 측정한다. 물론, 계측 챔버(14) 표면에는 여러 아고니스트 후보물질 중에 적어도 어느 하나가 코팅될 수 있다.
- [90] 계측 챔버(14)에 혈액 샘플이 빠른 속도로 왕복 유동하면서 혈액 내부에 고전단력과 고전단률이 가해지면, 이에 노출된 혈소판과 폰 빌레브란트 인자(vWF)는 활성화되고 부착성이 증가하여 챔버 내부의 표면에 부착되고 점차 응집이 일어나게 된다.
- [91] 대부분의 혈구들은 전기적 비전도체인 반면에, 혈장은 전해질로 구성된 액체로서 우수한 전도체이기 때문에, 혈소판이 전극(14a, 14b) 표면에 부착되면 임피던스가 크게 증가하지만, 계측 챔버(14)의 표면에 부착되면 전기적 임피던스는 오히려 감소할 수 있다.

- [92] 따라서, 계측 챔버(14)의 내부 구조 설계와 코팅면의 구성에 따라 전기적 임피던스 값이 증가하거나 감소하도록 설계할 수 있다. 도 5b에 도시된 것은 전극(14a, 14b) 사이의 전기적 저항이 증가하는 것을 개략적으로 그린 그림이다.
- [93] 도 5b를 참고하면, 시간이 지남에 따라 전기적 임피던스가 점진적으로 최대값에 접근하게 되는데, 이때 변화폭의 95%에 도달하는 시간을 막힘 시간(closure time)으로 정의할 수 있다.
- [94] 또 다른 계측 방법으로 도 6a를 참조하면, 계측 챔버(14)를 투명한 재질로 구성하고, 계측 챔버(14)의 외부 상하면에 각각 광원(15a)과 광센서(15b)를 대향되게 구성하여 계측 챔버(14) 내부의 탁도 변화를 측정할 수 있다.
- [95] 아고니스트의 코팅 면이 광원(15a)과 광센서(15b) 사이에 구조적으로 구성되는 방법에 따라 혈소판의 부착 및 응집에 의해 계측되는 광 시그널은 시간에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.
- [96] 광원(15a)과 광센서(15b)가 장착된 면의 계측 챔버(14) 내부 표면에 아고니스트가 코팅된 경우, 도 6b에 도시된 바와 같이 광세기에는 시간에 따라 감소하게 된다. 그러나, 광 통로에 크게 영향을 주지 않는 다른 부분에 설치된 표면이나 마이크로 필터(17) 부분에서 혈소판의 부착과 응집이 발생하면 광세기는 시간에 따라 증가하게 된다. 또한, 막힘 시간은 임피던스의 경우와 마찬가지로 변화폭의 95%에 해당하는 시점으로 결정할 수 있다.
- [97] 또 다른 계측 방법으로 도 7a를 참조하면, 계측 챔버(14)를 중앙으로 하여 양쪽에 연결된 마이크로 채널(12)의 상하부에 CCD 센서 어레이 등의 광계측 센서(13b) 및 LED 등의 광원(13a)이 각각 구비될 수 있다.
- [98] 불투명한 혈액 샘플이 왕복운동을 할 때 광계측 센서(13b)로 계측되는 계측 길이는 길고 일정하지만, 점차 혈소판이 계측 챔버(14)에 부착되고 응집됨에 따라 혈액 샘플이 계측되는 거리는 감소하게 되며, 계측 챔버(14)가 완전히 막히면서 혈액 샘플의 계측거리는 혈액 부피가 채워진 마이크로 채널(12)의 길이와 동일하고 일정한 크기를 지니게 된다(도 7b 참조). 또한, 막힘 시간은 임피던스의 경우와 마찬가지로 변화폭의 95%에 해당하는 시점으로 결정할 수 있다.
- [99] 또 다른 계측 방법으로 도 8a를 참조하면, 실린더(24)와 연결된 밸브(26)의 다른 한 쪽에 연결된 도관에 압력 센서(28)가 구비될 수 있다.
- [100] 압력 센서(28)는 피스톤(22)에 의해 왕복운동이 가해질 때 요동 압력을 계측하는 수단으로서, 초기에는 피스톤(22)의 왕복운동에 의해 발생한 요동 압력은 혈액 샘플의 왕복운동 운동에 의하여 다소 감소된 폭으로 요동하지만, 계측 챔버(14)에 혈소판이 부착되고 응집되어 결국에는 유로가 막혔을 경우에는 폐쇄된 채널에 요동 압력이 완충되지 않아 원래의 요동 압력이 기록되게 된다.
- [101] 이러한 실시예에 의해 시간에 따라 기록된 요동압력의 그래프가 도 8b에 도시되어 있다.
- [102] 그러나, 압력 센서(28)와 연결된 도관이 혈액 샘플이 주입되는 샘플 저장실(11)

쪽의 상부에 연결되고 주입구가 혈액 주입 후 밀봉될 경우, 계측되는 요동 압력의 그래프는 도 8c에 도시된 바와 같이 시간이 지남에 따라 점차 감소하게 될 것이다.

- [103] 이상에서 살펴본 구성에서 혈액에 접촉하는 부분은 모두 플라스틱이나 유리 등으로 매우 저렴한 비용으로 제작될 수 있어서 이를 일회용으로 제작할 수 있다. 본 발명의 일 실시예로, 상기의 마이크로 채널(12)은 헤마토크릿을 측정하는 모세관으로 대체될 수 있다. 이와 같이 일회용으로 제작된 시험 키트는 사용 후 폐기할 수 있어 사용자의 편리성과 혈액 감염 등의 위험에서 벗어나는 효과를 얻을 수 있다.
- [104] 또한, 일회용 키트는 투명한 재질로 구성될 수 있다. 이를 통해 혈액의 이동도를 광계측 센서(13b)로 측정할 수 있게 될 뿐 아니라, 계측 챔버(14) 내부에 혈소판이 부착과 응집되는 현상을 실시간으로 현미경을 통해 관찰할 수 있다.
- [105] 이러한 현미경 관찰은 계측 챔버(14)에 코팅되거나 주입된 다양한 약물에 대한 약리 동력학적 반응 검사를 정성적으로 관찰하고 검사할 수 있는 연구 도구로서도 사용할 수 있다.
- [106] 상기 약물로는, 혈소판이 부착하는 것에 도움이 되는 아고니스트, 즉 콜라젠, 아데노신2인산(ADP), 에피네프린 등이 있으며, 반대로 혈소판의 응집을 방해하거나 억제하는 안타고니스트로는 아스피린, P2Y1 리셉터 안타고니스트, P2Y12 리셉터 안타고니스트 등이 포함된다.
- [107] P2Y1 리셉터 안타고니스트는 MRS 2179, MRS 2279, MRS 2500, A2P5P, A3P5P, A3P5PS 등의 후보 물질 중 적어도 하나일 수 있다. P2Y12 리셉터 안타고니스트는 클로피도그렐, 티클로피딘, 프라수그렐, AR-C67085MX, 칸그렐로르, C1330-7, MRS 2395, 2-methylthioadenosine-5'-monophosphate 등의 후보 물질 중 적어도 하나일 수 있다.
- [108] 특히, 상기 관련 약물 복용자에서의 혈소판 응집기능과 약물들에 대한 저항성 측정이 본 발명에 의한 검사 장치에 의하여 실시될 수 있다.
- [109] 혈소판의 기능 측정을 위해, 정상인 혹은 아스피린 및 클로피도그렐 복용자의 혈액을 citrated 튜브에 채취한 뒤, 약 50 내지 100 microliter의 전혈액을 취하여 각기 아데노신2인산(ADP), 프로스타글란딘 E(Prostaglandin E), 피브리노겐, 아라키돈산의 최적 농도에서 37°C의 온도로 10 내지 30분간 반응시킬 수 있다. 반응 후 혈액을 마이크로 채널(12)을 가진 마이크로칩에서 압력을 가하여 이동시키게 되는데, 대상자의 혈소판의 기능이 정상이라면 짧은 시간 내에 계측 챔버(14)의 유로가 막혀 유동이 정지하게 되고, 반대로 혈소판의 기능에 이상이 있는 경우 정상에 비해 막힘 시간이 늘어나게 된다.
- [110] 약물 내성을 검사하는 경우, 즉 아스피린, 클로피도그렐, 티클로피딘 등을 복용한 경우 혈소판의 응집기능이 저하되므로, 계측 챔버(14) 내부의 유로가 쉽게 막히지 않아 막힘 시간이 증가하게 된다. 정상인의 경우 약물에 잘 반응하여 이 막힘 시간이 짧게 나타나는데, 이러한 막힘 시간의 비율이

정상인보다 현저히 줄어들게 되면 아스피린과 클로피도그렐의 약물 내성으로 판단하게 된다. 판단 기준으로는, Verify NOW의 경우 아스피린은 일정 cutoff OD값(550 ARU-aspirin reaction unit)을 정하여 그 이하는 내성, 그 이상은 정상 약물반응으로 판단한다. 또한, 클로피도그렐의 경우 정상 대비 40 내지 60%는 억제 약물 내성, 20% 이하는 억제로 판단한다.

- [111] 상기 약물의 투입 방법은 계측 챔버(14)의 표면에 코팅하는 방법이 대표적이지만, 계측 챔버(14) 내부에 구성된 마이크로 필터(17)의 표면 코팅을 이종의 약제로 공급할 수 있고, 또한 액상의 약제가 챔버 내부에 직접 투입될 수도 하다. 또한, 이종의 약제가 마이크로 채널(12)의 표면에 코팅되어 공급될 수도 하다.
- [112] 상기에 제공된 약제는 본 발명에서 제공한 왕복유동 메커니즘과 계측 챔버(14)의 구성을 통하여 혈액 샘플과 쉽게 혼합할 수 있는 특징을 갖고 있다. 따라서, 액상 및 고상의 다양한 아고니스트 및 안타고니스트의 약제를 혈액과 혼합하고 반응을 연구하는 도구로서도 사용될 수 있다.
- [113] 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.

[114]

[115] [부호의 설명]

[116] 10: 계측 장치

[117] 11: 샘플 저장실

[118] 12: 마이크로 채널

[119] 13a: 광원

[120] 13b: 광계측 센서

[121] 14: 계측 챔버

[122] 15a: 광원

[123] 15b: 광센서

[124] 16: 마개부

[125] 18: 센서부

[126] 20: 유체 구동 장치

[127] 21: 선형 액츄에이터

[128] 22: 피스톤

[129] 24: 실린더

[130] 30: A/D 변환기

[131] 40: 마이크로 프로세서

청구범위

- [청구항 1] 혈액 샘플이 수용되고, 상기 혈액 샘플의 유동에 의해 발생한 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 계측 장치; 및
상기 계측 장치에 연결되어 상기 혈액 샘플에 왕복 전단유동을 발생시키는 유체 구동 장치를 포함하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 계측 장치는,
혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실;
상기 샘플 저장실에 연결되고, 상기 혈액 샘플의 전단 유동을 안내하는 마이크로 채널;
상기 마이크로 채널과 연결되고, 상기 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 계측 챔버; 및
상기 계측 챔버에서 발생하는 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 센서부를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 유체 구동 장치는,
선형 액추에이터;
상기 선형 액추에이터의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤; 및
상기 피스톤의 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 계측 장치와 유체 구동 장치의 사이에는 구동 압력의 전달 및 차단을 제어하는 밸브가 설치되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
상기 밸브는 주기적인 개폐를 통해 맥동(Pulsatile) 유동을 만드는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.
- [청구항 6] 제2항에 있어서,
상기 마이크로 채널은 다수 개가 병렬로 배치되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.
- [청구항 7] 제6항에 있어서,
상기 병렬로 배치된 마이크로 채널에 연결된 계측 챔버에는 서로

다른 약물이 제공되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 8]

제2항에 있어서,

상기 센서부는 전기 임피던스를 측정하는 전극 센서, 탁도를 측정하는 광센서, 요동 압력을 측정하는 압력 센서, 상기 혈액 샘플의 왕복 이동거리를 측정하는 영상센서 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 9]

제8항에 있어서,

상기 전극 센서는 상기 계측 챔버 내부의 양단에 두 개의 전극으로 구성되어 상기 계측 챔버 사이의 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 전기적 임피던스의 변화를 측정하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 10]

제8항에 있어서,

상기 광센서는 상기 계측 챔버의 외부에 광원과 대향되게 구성되어 상기 계측 챔버 사이의 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 광학적 탁도의 변화를 측정하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 11]

제8항에 있어서,

상기 압력 센서는 상기 계측 장치와 유체 구동장치를 연결하는 밸브, 또는 상기 샘플 저장실에 구비되어 상기 계측 챔버에서 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 요동압력 변화를 측정하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 12]

제8항에 있어서,

상기 영상센서는,

상기 마이크로 채널로 광을 조사하는 광원; 및

상기 마이크로 채널 내의 혈액을 투과한 광을 수신하여 전기적 신호로 바꾸어 혈액유동의 진행거리를 측정하는 광계측 센서를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 13]

제12항에 있어서,

상기 광원은 LED(Light Emitting Diode)이고, 상기 광계측 센서는 CCD(Charge Coupled Device) 센서 어레이인 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 14]

제2항에 있어서,

상기 계측 챔버는 상기 마이크로 채널의 중앙부에 위치하고, 상기 계측 챔버에는 상기 혈액 샘플의 유동속도를 저감시키기 위한

유로의 급확장부가 형성되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 15]

제2항에 있어서,

상기 계측 챔버에는 혈소판의 부착과 응집을 촉진하고 이로 인한 유동의 감소를 유도하기 위한 다수 개의 마이크로 필러가 설치되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 16]

제2항에 있어서,

상기 계측 챔버의 내부에는 다수 개의 구슬이 구비되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 17]

제2항에 있어서,

상기 계측 챔버에는 피브리노젠, 아라키돈산(Arachidonic acid), 콜라젠, 에피네프린, 아데노신2인산(ADP), PGE1(Prostaglandin E1), TRAP(Thrombin Receptor Activating Peptide), P2Y1 리셉터 안타고니스트(antagonist), P2Y12 리셉터 안타고니스트 중에서 선택되는 1종 이상의 약물이 제공되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 18]

제17항에 있어서,

상기 P2Y1 리셉터 안타고니스트는 MRS 2179, MRS 2279, MRS 2500, A2P5P, A3P5P, A3P5PS 중에서 선택되는 1종 이상이고, 상기 P2Y12 리셉터 안타고니스트는 클로피도그렐(clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine), 프라수그렐(prasugrel), AR-C67085MX, 칸그렐로르(cangrelor), C1330-7, MRS 2395, 2-methylthioadenosine-5'-monophosphate 중에서 선택되는 1종 이상이며,

상기 약물은 표면 코팅 및 액체 주입 중 적어도 하나의 형태로 공급되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 19]

제1항에 있어서,

상기 유체 구동 장치에 의해 발생하는 전단유동에서 최소 전단율이 $5,000 \text{ (s}^{-1}\text{)}$ 이상이거나, 최소 전단력이 8 Pa 이상인 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

[청구항 20]

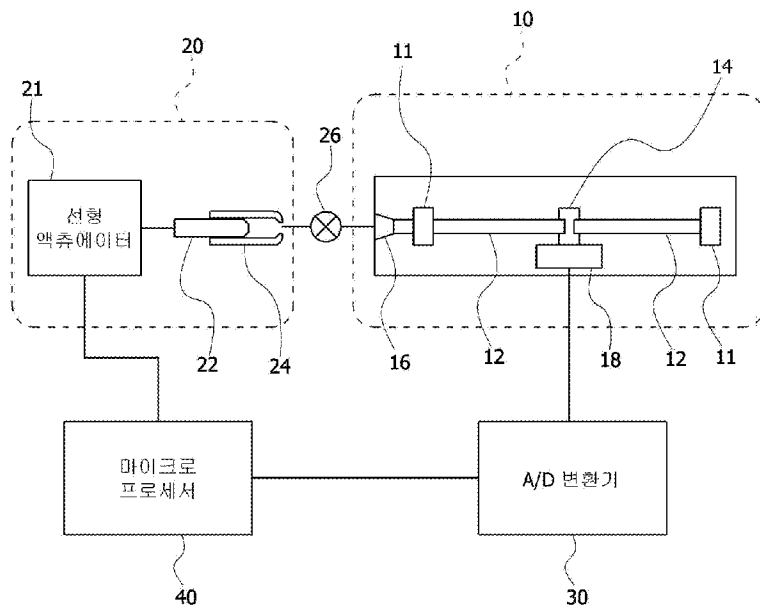
혈액 샘플을 양측에 배치한 샘플 저장실에 주입하는 단계;

상기 샘플 저장실을 연결하는 마이크로 채널을 통해 상기 혈액 샘플이 왕복 전단유동을 하도록 하는 단계;

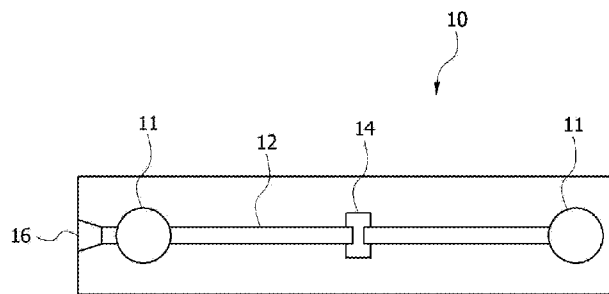
상기 마이크로 채널의 중앙부에 위치한 계측 챔버에 약물을

제공하여 혈소판과 반응하도록 하는 단계; 및
상기 계측 챔버 내부에서 혈소판의 부착과 응집으로 인해
발생하는 변화를 계측하는 단계를 포함하는 마이크로 유동칩 기반
혈소판 기능 및 약물반응 검사 방법.

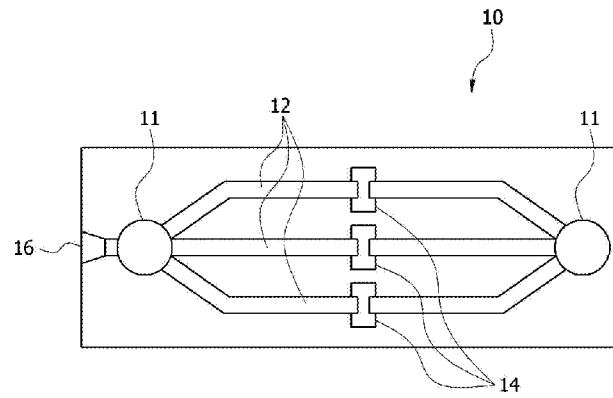
[Fig. 1]



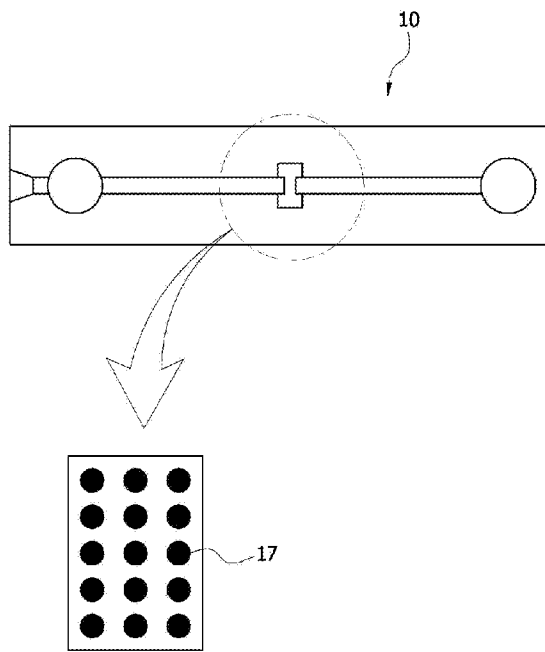
[Fig. 2a]



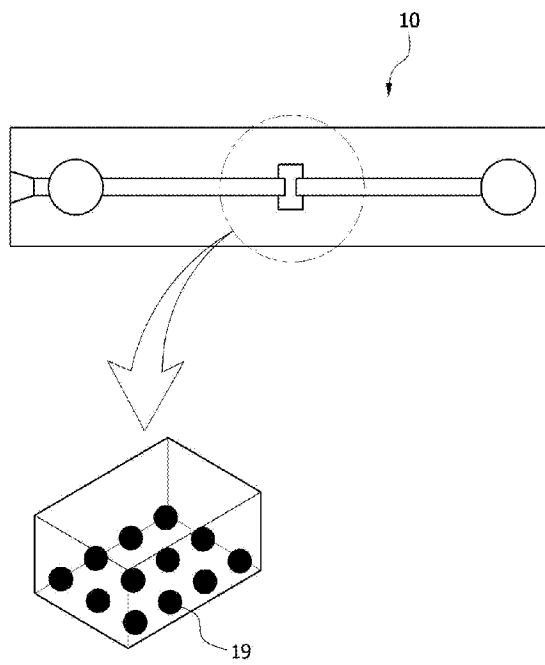
[Fig. 2b]



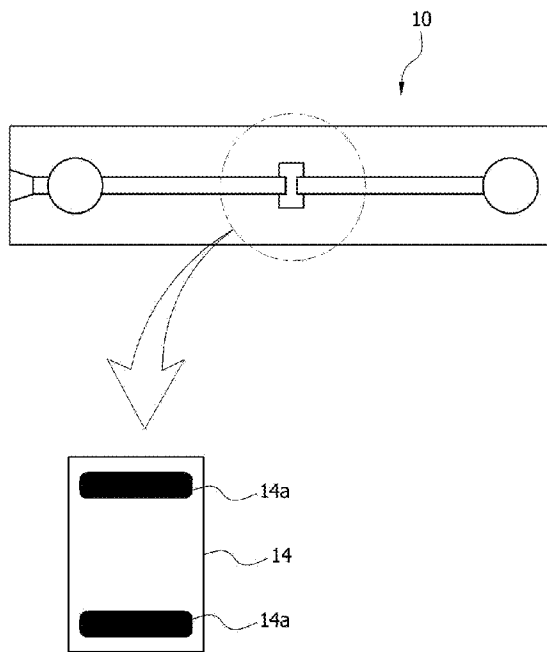
[Fig. 3]



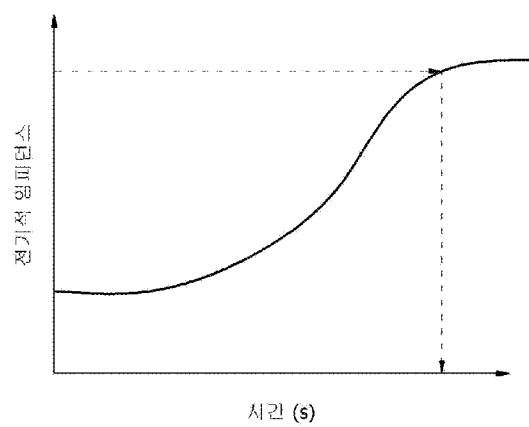
[Fig. 4]



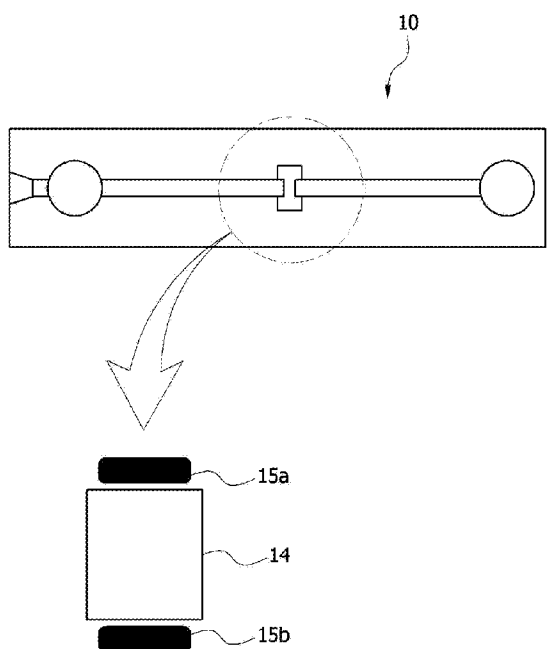
[Fig. 5a]



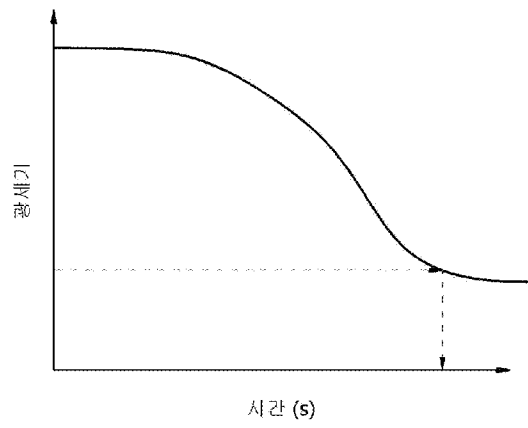
[Fig. 5b]



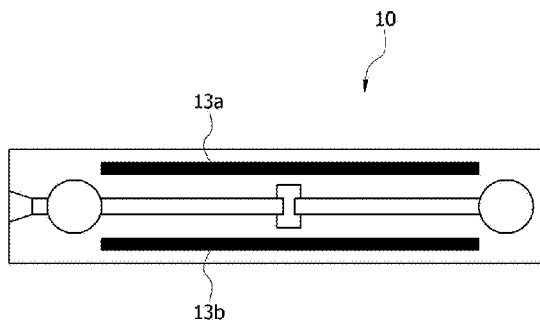
[Fig. 6a]



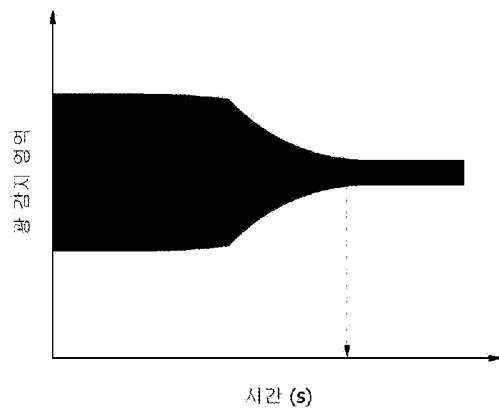
[Fig. 6b]



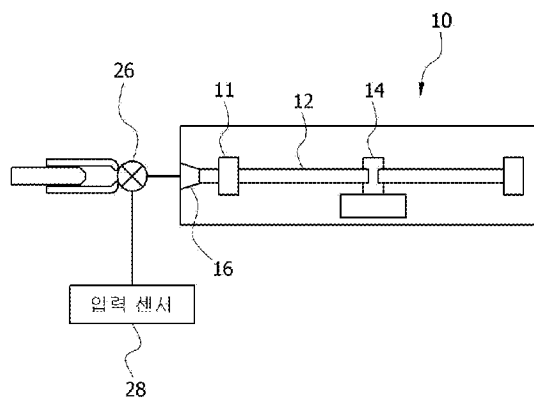
[Fig. 7a]



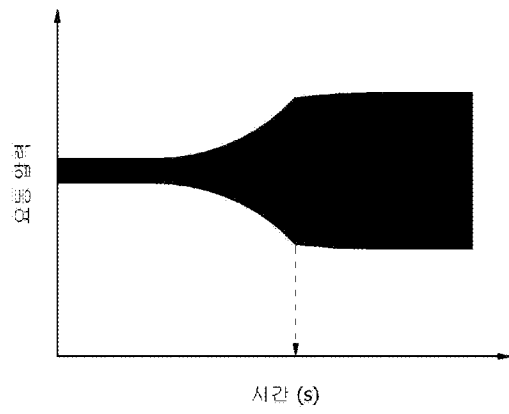
[Fig. 7b]



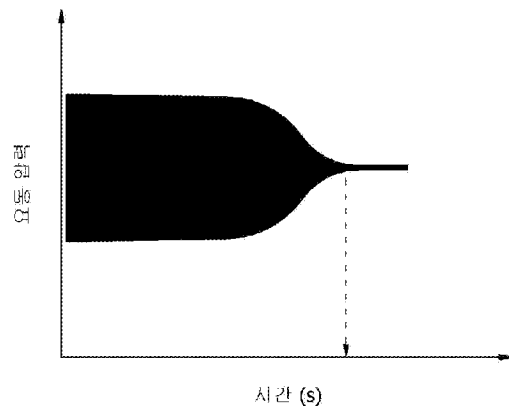
[Fig. 8a]



[Fig. 8b]



[Fig. 8c]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/012223**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****G01N 35/08(2006.01)i, G01N 33/49(2006.01)i, G01N 27/30(2006.01)i, G01N 21/00(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N 35/08; G01N 33/52; G01N 33/49; G01N 33/86; G01N 21/47; G01N 15/00; G01N 33/53; G01N 27/30; G01N 21/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: , ,

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2007-521478 A (SECURITY WON MEDITECH INC.) 02 August 2007 See abstract; paragraphs [0007]-[0014], [0066]-[0071]; claims 9, 10; and figures 2-4.	1-5,8,10-14,19-20
Y		6
A		7,9,15-18
Y	JP 7021493 B2 (BAXTER DIAGNOSTICS INC.) 08 March 1995 See abstract; and figure 4.	6
A		1-5,7-20
A	KR 10-1193566 B1 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) 22 October 2012 See abstract; and claim 1.	1-20
A	KR 10-2011-0088746 A (SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.) 04 August 2011 See abstract; and claim 1.	1-20



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 MARCH 2014 (28.03.2014)

Date of mailing of the international search report

31 MARCH 2014 (31.03.2014)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/012223

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2007-521478 A	02/08/2007	CN1806171 A	19/07/2006
		CN1806171 B	29/09/2010
		CN1806171 C0	19/07/2006
		EP 1687626 A1	09/08/2006
		EP 1687626 A4	25/11/2009
		JP 04-385049B2	16/12/2009
		JP 2007-521478 T	02/08/2007
		KR 10-0599856 B1	14/07/2006
		KR 10-2003-0061746 A	22/07/2003
		KR 20-0346651 Y1	03/04/2004
		KR 20-0362754 Y1	30/09/2004
		US 2006-0119836 A1	08/06/2006
		US 7542131 B2	02/06/2009
		WO 2004-113908 A1	29/12/2004
JP 7021493 B2	08/03/1995	EP 0223244 A1	27/05/1987
		EP 0223244 B1	27/10/1993
		JP 1999651 C	08/12/1995
		JP 62-162965A	18/07/1987
		JP 7021493 B	08/03/1995
		US 04780418 A	25/10/1988
KR 10-1193566 B1	22/10/2012	WO 2013-022284 A2	14/02/2013
		WO 2013-022284 A3	14/02/2013
KR 10-2011-0088746 A	04/08/2011	CN102472739 A	23/05/2012
		EP 2529220 A2	05/12/2012
		EP 2610618 A1	03/07/2013
		JP 2013-518276A	20/05/2013
		US 2011-0189701 A1	04/08/2011
		US 2011-0263030 A1	27/10/2011
		WO 2011-093602 A2	04/08/2011
		WO 2011-093602 A3	01/12/2011

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) G01N 35/08(2006.01)i, G01N 33/49(2006.01)i, G01N 27/30(2006.01)i, G01N 21/00(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) G01N 35/08; G01N 33/52; G01N 33/49; G01N 33/86; G01N 21/47; G01N 15/00; G01N 33/53; G01N 27/30; G01N 21/00 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: , ,		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JP 2007-521478 A ((주)세원메디텍) 2007.08.02 요약; 명세서 식별기호[0007]~[0014], [0066]~[0071]; 청구항 제9항, 제10항; 및 도면 2~4 참조.	1-5, 8, 10-14, 19-20
Y		6
A		7, 9, 15-18
Y	JP 7021493 B2 (BAXTER DIAGNOSTICS INC.) 1995.03.08 요약; 및 도면 4 참조.	6
A		1-5, 7-20
A	KR 10-1193566 B1 (고려대학교 산학협력단) 2012.10.22 요약; 및 청구항 1 참조	1-20
A	KR 10-2011-0088746 A (삼성전자주식회사) 2011.08.04 요약; 및 청구항 1 참조	1-20
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2014년 03월 28일 (28.03.2014)		국제조사보고서 발송일 2014년 03월 31일 (31.03.2014)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140		심사관 김성길 전화번호 +82-42-481-5472 

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2007-521478 A	2007/08/02	CN1806171 A CN1806171 B CN1806171 C0 EP 1687626 A1 EP 1687626 A4 JP 04-385049B2 JP 2007-521478 T KR 10-0599856 B1 KR 10-2003-0061746 A KR 20-0346651 Y1 KR 20-0362754 Y1 US 2006-0119836 A1 US 7542131 B2 WO 2004-113908 A1	2006/07/19 2010/09/29 2006/07/19 2006/08/09 2009/11/25 2009/12/16 2007/08/02 2006/07/14 2003/07/22 2004/04/03 2004/09/30 2006/06/08 2009/06/02 2004/12/29
JP 7021493 B2	1995/03/08	EP 0223244 A1 EP 0223244 B1 JP 1999651 C JP 62-162965A JP 7021493 B US 04780418 A	1987/05/27 1993/10/27 1995/12/08 1987/07/18 1995/03/08 1988/10/25
KR 10-1193566 B1	2012/10/22	WO 2013-022284 A2 WO 2013-022284 A3	2013/02/14 2013/02/14
KR 10-2011-0088746 A	2011/08/04	CN102472739 A EP 2529220 A2 EP 2610618 A1 JP 2013-518276A US 2011-0189701 A1 US 2011-0263030 A1 WO 2011-093602 A2 WO 2011-093602 A3	2012/05/23 2012/12/05 2013/07/03 2013/05/20 2011/08/04 2011/10/27 2011/08/04 2011/12/01