



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0048188
(43) 공개일자 2017년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2006.01) B04B 5/00 (2006.01)
G01N 1/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/50 (2013.01)
B01L 3/502 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0137581
(22) 출원일자 2016년10월21일
심사청구일자 2016년10월21일
(30) 우선권주장
1020150147883 2015년10월23일 대한민국(KR)

(71) 출원인
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
조윤경
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
우현경
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이명진

전체 청구항 수 : 총 29 항

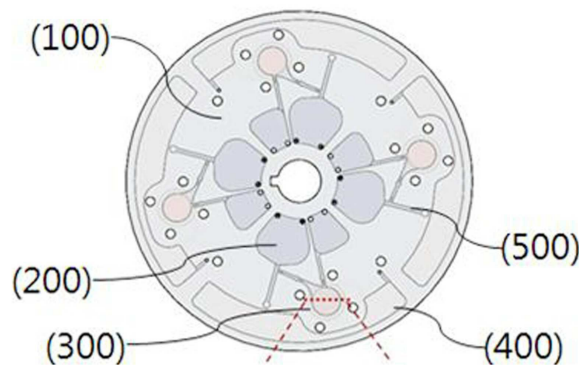
(54) 발명의 명칭 원심력 기반 나노 입자 분리장치 및 이를 이용한 나노 입자 분리방법

(57) 요약

본 발명은 원심력 기반 나노 입자 분리장치 및 방법 관한 것이다. 구체적으로, 낮은 원심력과 크기를 기반으로 하기 때문에 항체 특이성과 무관한 나노 소포를 단시간 안에 초원심분리기 없이 분리할 수 있으며, 시료 주입후 전과정을 일체화 및 자동화시킴으로써, 추가적인 전문 인력이 필요하지 않고 유체의 정확한 계량이 가능하기 때문에 나노 소포의 손실을 줄일 수 있다.

대표도 - 도1a

10



(52) CPC특허분류

B04B 5/00 (2013.01)

G01N 1/28 (2013.01)

B01L 2300/0681 (2013.01)

G01N 2001/2846 (2013.01)

(72) 발명자

한자형

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

김태형

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

김윤근

경기도 남양주시 호평로 93, 1707동 805호 (호평동, 동원로얄듀크아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI12C1845

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 질환극복기술개발

연구과제명 암조기 진단을 위한 혈액순환종양세포 기반 분자진단 칩개발

기 여 율 1/1

주관기관 울산과학기술대학교 산학협력단

연구기간 2012.12.01 ~ 2018.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

나노 입자 분리장치에 있어서,

회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);

나노 입자가 포함된 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);

상기 유체 샘플로부터 나노 입자를 여과할 수 있는 1 nm 내지 1 μ m의 기공을 갖는 여과막을 포함하는 여과챔버부(300);

여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400); 및

상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500)를 포함하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 유체 샘플은, 각종 나노 입자가 분산된 수용액 및 세포체, 희귀 생체 입자 등을 포함하는 소변, 혈액, 타액 및 객담 등으로 이루어진 군으로부터 선택되는 생체 시료인 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 나노 입자 분리장치는, 세척용액이 담지되는 공간을 제공하는 세척챔버부(600)를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 여과막은, 폴리카보네이트, 폴리스타이렌, 폴리메틸메타크릴레이트, 사이클릭 올레핀 코폴리머, 양극산화알루미늄, 니켈 및 실리콘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 소재로 구성되는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 나노 입자 분리장치는, 상기 여과챔버부(300)의 탈부착을 위한 하나 이상의 체결부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 체결부는, 폴리디메틸실록산 (polydimethylsiloxane), 실리콘, 라텍스 및 고무 등으로 이루어진 군에서 선택되는 탄성 물질인 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 미세유로부(500)는, 장치를 관통하는 유로와 연결되어 유체 샘플의 유로 변경이 가능한

것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 8

나노 입자 분리장치에 있어서,

회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);

유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);

시료를 여과할 수 있는 두 개 이상의 여과막을 포함하는 여과챔버부(300);

여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400); 및

상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500)를 포함하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 여과막은, 폴리카보네이트, 폴리스타이렌, 폴리메틸메타크릴레이트, 사이클릭 올레핀 코폴리머, 양극산화알루미늄, 니켈 및 실리콘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 소재로 구성되는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 10

제8항에 있어서, 상기 여과막은, 물리적인 힘으로 상기 하우징부(100)로부터 선택적으로 탈부착되는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 11

제8항에 있어서, 상기 여과막은, 상기 여과챔버부(300)는, 동일 챔버 내에서 두 개 이상 적층되어 단일 챔버에서 유체 이송 시 두 개 이상의 크기를 가지는 여과막을 통하여 나노 입자를 포집하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 12

제8항에 있어서, 상기 여과막은 단일 챔버에 하나의 여과막을 포함하며, 복수의 챔버가 서로 다른 방사상의 좌표에 배치되어 상기 유체 샘플이 복수의 여과막을 통과하여 복수의 입자 여과를 수행하여 특정 크기 범위의 나노 입자를 포집하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 13

제8항에 있어서, 상기 여과막은,

100 nm 내지 1 μ m 직경의 적어도 하나 이상의 기공을 갖는 제1 여과막; 및

1 nm 내지 100 nm 직경의 적어도 하나 이상의 기공을 갖는 제2 여과막을 포함하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 14

제8항에 있어서, 상기 미세유로부(500)는, 상기 여과챔버부(300) 상부 또는 하부에 배치되며, 상기 챔버들은 장

치 중심부에서 일정 거리 떨어진 곳에 배치되어 용액의 손실을 최소화하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리 장치.

청구항 15

나노 입자 분리장치에 있어서,

회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);

유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);

시료를 여과할 수 있는 하나 이상의 여과막을 수용하는 여과챔버부(300);

여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400);

상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500); 및

미세 유로 내에서 선택적으로 유체의 흐름을 조절할 수 있는 밸브(700)를 포함하여 시료로부터 나노입자를 여과하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리 장치.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 샘플수용부(200)는, 시료의 불순물을 정제 할 수 있는 샘플 정제를 수행 할 수 있는 것을 특징으로 하는 나노 입자 분리 장치.

청구항 17

제15항에 있어서, 상기 샘플수용부(200)는, 하부가 방사 방향보다 틀어진 각도로 형성된 공간을 포함하여 불순물 분리를 수행하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 18

제15항에 있어서, 상기 샘플수용부(200)는, 분리된 불순물 역류를 방지하기 위한 홈을 포함하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 19

제15항에 있어서, 상기 샘플수용부(200)는, 경사면과 곡선으로 이루어져 샘플 이송시 상기 샘플의 손실 및 손상을 최소화하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 20

제15항에 있어서, 상기 밸브(700)는, 외부 신호에 따라 개폐가 가능한 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 21

제15항에 있어서, 상기 밸브(700)는, 전과정 자동화를 위하여 회전 가능한 장치 외부에 존재하며, 밸브의 개폐 및 몸체의 회전 속도와 방향을 제어할 수 있는 시스템을 포함하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 22

제15항에 있어서, 상기 폐액수용부(400)는, 별도의 불순물 처리 없이 고순도의 나노 입자 분리가 가능한 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 23

제15항에 있어서, 상기 여과챔버부(300)는, 하나 이상의 상기 폐액수용부(400)와 연결되어 정제 후 불순물 확산이 방지되는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 24

제15항에 있어서, 상기 나노 입자 분리장치는, 상기 여과챔버부(300)의 탈부착을 위한 하나 이상의 체결부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 25

제15항에 있어서, 상기 나노 입자 분리장치는, BSA (bovine serum albumin) 단백질 또는 Pluronic (PEO-PPO-PEO) 고분자 물질을 주입하여 표면에 비특이적 결합을 최소화하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 26

제1항에 있어서, 상기 여과챔버부(300) 및 폐액수용부(400)는, 원활한 여과를 수행하기 위한 통풍구(vent)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치.

청구항 27

나노 입자 분리장치에 있어서,

회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);

유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);

시료를 여과할 수 있는 하나 이상의 여과막을 수용하는 여과챔버부(300);

여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400);

상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500);

미세 유로 내에서 선택적으로 유체의 흐름을 조절할 수 있는 밸브(700); 및

여과된 특정 크기 범위의 나노입자를 회수할 수 있는 입자포집부(800)를 포함하여 시료로부터 특정 크기 범위의 나노입자를 여과 및 회수할 수 있는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리 장치.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 나노입자 회수는, 여과막의 상면에는 나노입자를 포함하는 회수하고자 하는 용액 및 하면은 폐액에 인접해 있을 때, 상기 여과막에 존재하는 기공 내부의 모세관압력 보다 작은 최대 3000 rpm 이하의 회전속도를 사용하여 상기 하면에 인접한 폐액을 상기 폐액수용부(400)로 버린 후, 여과막의 상면에 위치한 나노입자를 포함하는 용액을 선택적으로 회수하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리 장치.

청구항 29

제27항에 있어서, 상기 입자포집부(800)는, 상기 여과챔버부(300)의 상면과 미세유로로 연결되고, 여과챔버부(300)의 하면은 폐액수용부(400)와 연결되는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리 장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 원심력 기반 나노 입자 분리장치 및 이를 이용한 나노 입자 분리방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 나노 소포체는 세포 활동에서 발생하는 40-120 nm 사이즈의 작은 소포체로, 발생지와 크기로 다른 소포체들과 구분된다. 발견 당시에는 세포 부산물로 여겨졌으나, 종양의 진행 및 전이, 세포 신호 전달 등의 세포 활동에 기여하는 것으로 그 중요성이 밝혀졌다. 나노 소포체는 신체의 거의 모든 체액에 존재하며, 유래된 세포의 유전 정보를 포함하기 때문에 암을 포함한 각종 질병의 새로운 마커 뿐만 아니라 새로운 약물전달 시스템으로 주목 받고 있다.

[0003] 최근, 나노 소포체를 분리하는 연구가 지속적으로 늘어나고 있으며, 그 방법들은 밀도, 크기, affinity를 이용한 것으로 크게 분류 된다. 밀도를 이용한 분리 방법은 가장 일반적으로 이용되는 방법으로 항체의 유무에 무관하게 농축된 나노 소포체를 얻을 수 있다. 하지만 이 방법은 초원심분리기를 통한 많은 시간과 샘플 처리를 위한 여러 과정들을 필요로 한다. Affinity를 이용한 방법은 고순도의 나노 소포체를 단시간 안에 분리할 수 있지만, 값이 비싸며 소량의 나노 소포체만을 분리할 수 있고 특정 항체를 포함하지 않는 나노 소포체는 분리하기 어렵다. 따라서 단시간 내에 항체 특이성과 무관한 나노 소포체를 분리하는 시스템이 필요한 실정이다.

[0004] 기존의 필터를 이용한 나노 소포체 분리 방법은 초원심 분리 이전에 불순물들을 거르는 용도로 사용되었다. 일정 범위 내의 나노 소포체를 거르기 위해서는 지름이 작은 기공과 비교적 지름이 큰 기공을 포함하는 두 종류의 여과막이 필요하다. 하지만 기존의 기술로 만들어진 폴리카보네이트 재질의 여과막은 지름이 작은 기공 (1 nm ~ 100 nm)의 경우 기공의 크기가 균일하지 않으며 기공도가 낮아 분리에 적합하지 않다. 양극산화알루미늄 재질의 여과막은 비교적 크기가 균일하며 높은 기공도를 가졌지만 내구성이 약해서 잘 파괴되기 때문에 적용이 어려웠다. 하지만 여과막을 사용하는 방법 이외의 크기를 기반으로 하는 다른 방법들은 샘플 전 처리 과정을 필요로 하기 때문에 복잡한 과정이 요구 되고 전문 인력을 필요로 한다는 문제점을 지닌다.

[0005] 따라서, 원심력을 기반으로 하는 디스크 모양의 칩을 활용하여 소변 처리 및 나노 소포 추출 전과정이 일체화 되어 있는 장치 및 방법의 개발이 주요한 과제의 대상이 되고 있고, 이에 대한 연구가 이루어지고 있으나 (한국 공개특허 10-2016-0017374), 아직은 미비한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 본 발명자들은 크기가 다른 복수개의 필터를 이용하고, 원심력을 이용하여 샘플로부터 복수의 입자 여과를 수행함으로써, 종래의 소포체 분리 방법보다 낮은 원심력에서 단순한 방법으로 소포체 분리 효과를 확인하였고, 이에 기초하여 본 발명을 완성하게 되었다.

[0007] 이에, 본 발명의 목적은

[0008] 나노 입자 분리장치에 있어서,

[0009] 회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);

[0010] 나노 입자가 포함된 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);

[0011] 상기 유체 샘플로부터 나노 입자를 여과할 수 있는 1 nm 내지 1 μ m의 기공을 갖는 여과막을 포함하는 여과챔버부(300);

- [0012] 여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400); 및
- [0013] 상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500)를 포함하는, 나노 입자 분리장치를 제공하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 다른 목적은
- [0015] 나노 입자 분리장치에 있어서,
- [0016] 회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);
- [0017] 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);
- [0018] 시료를 여과할 수 있는 두 개 이상의 여과막을 포함하는 여과챔버부(300);
- [0019] 여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400); 및
- [0020] 상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500)를 포함하는, 나노 입자 분리장치를 제공하는 것이다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 목적은
- [0022] 나노 입자 분리장치에 있어서,
- [0023] 회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);
- [0024] 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);
- [0025] 시료를 여과할 수 있는 하나 이상의 여과막을 수용하는 여과챔버부(300);
- [0026] 여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400);
- [0027] 상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500); 및
- [0028] 미세 유로 내에서 선택적으로 유체의 흐름을 조절할 수 있는 밸브(700)를 포함하여 시료로부터 나노입자를 여과하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리 장치를 제공하는 것이다.
- [0029] 본 발명의 또 다른 목적은
- [0030] 나노 입자 분리장치에 있어서,
- [0031] 회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);
- [0032] 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);
- [0033] 시료를 여과할 수 있는 하나 이상의 여과막을 수용하는 여과챔버부(300);
- [0034] 여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400);
- [0035] 상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500);
- [0036] 미세 유로 내에서 선택적으로 유체의 흐름을 조절할 수 있는 밸브(700); 및
- [0037] 여과된 특정 크기 범위의 나노입자를 회수할 수 있는 입자포집부(800)를 포함하여 시료로부터 특정 크기 범위의 나노입자를 여과 및 회수할 수 있는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리 장치를 제공하는 것이다.
- [0039] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0040] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- [0041] 나노 입자 분리장치에 있어서,
- [0042] 회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);

- [0043] 나노 입자가 포함된 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);
- [0044] 상기 유체 샘플로부터 나노 입자를 여과할 수 있는 1 nm 내지 1 μ m의 기공을 갖는 여과막을 포함하는 여과챔버부(300);
- [0045] 여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400); 및
- [0046] 상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500)를 포함하는, 나노 입자 분리장치를 제공한다.
- [0047] 바람직하게는, 상기 유체 샘플은, 각종 나노 입자가 분산된 수용액 및 세포체, 희귀 생체 입자 등을 포함하는 소변, 혈액, 타액 및 객담 등으로 이루어진 군으로부터 선택되는 생체 시료일 수 있다.
- [0048] 바람직하게는, 세척용액이 담지되는 공간을 제공하는 세척챔버부(600)를 더 포함할 수 있다.
- [0049] 바람직하게는, 상기 여과막은, 폴리카보네이트, 폴리스타이렌, 폴리메틸메타크릴레이트, 사이클릭 올레핀 코폴리머, 양극산화알루미늄, 니켈 및 실리콘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 소재로 구성될 수 있다.
- [0050] 바람직하게는, 상기 나노 입자 분리장치는, 상기 여과챔버부(300)의 탈부착을 위한 하나 이상의 체결부를 더 포함할 수 있다.
- [0051] 보다 바람직하게는, 상기 체결부는, 폴리디메틸실록산 (polydimethylsiloxane), 실리콘, 라텍스 및 고무 등으로 이루어진 군에서 선택되는 탄성 물질일 수 있다.
- [0052] 바람직하게는, 상기 미세유로부(500)는, 장치를 관통하는 유로와 연결되어 유체 샘플의 유로 변경이 가능할 수 있다.
- [0053] 본 발명은
- [0054] 나노 입자 분리장치에 있어서,
- [0055] 회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);
- [0056] 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);
- [0057] 시료를 여과할 수 있는 두 개 이상의 여과막을 포함하는 여과챔버부(300);
- [0058] 여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400); 및
- [0059] 상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500)를 포함하는, 나노 입자 분리장치를 제공한다.
- [0060] 바람직하게는, 상기 여과막은, 폴리카보네이트, 폴리스타이렌, 폴리메틸메타크릴레이트, 사이클릭 올레핀 코폴리머, 양극산화알루미늄, 니켈 및 실리콘으로 이루어진 군으로부터 선택되는 소재로 구성될 수 있다.
- [0061] 바람직하게는, 상기 여과막은, 물리적인 힘으로 상기 하우징부(100)로부터 선택적으로 탈부착될 수 있다.
- [0062] 바람직하게는, 상기 여과막은, 상기 여과챔버부(300)는, 동일 챔버 내에서 두 개 이상 적층되어 단일 챔버에서 유체 이송 시 두 개 이상의 크기를 가지는 여과막을 통하여 나노 입자를 포집할 수 있다.
- [0063] 바람직하게는, 상기 여과막은, 단일 챔버에 하나의 여과막을 포함하며, 복수의 챔버가 서로 다른 방사상의 좌표에 배치되어 상기 유체 샘플이 복수의 여과막을 통과하여 복수의 입자 여과를 수행하여 특정 크기 범위의 나노 입자를 포집할 수 있다.
- [0064] 바람직하게는, 상기 여과막은,
- [0065] 100 nm 내지 1 μ m 직경의 적어도 하나 이상의 기공을 갖는 제1 여과막; 및
- [0066] 1 nm 내지 100 nm 직경의 적어도 하나 이상의 기공을 갖는 제2 여과막을 포함할 수 있다.
- [0067] 바람직하게는, 상기 미세유로부(500)는, 상기 여과챔버부(300) 상부 또는 하부에 배치되며, 상기 챔버들은 장치 중심부에서 일정 거리 떨어진 곳에 배치되어 용액의 손실을 최소화할 수 있다.
- [0068] 본 발명은
- [0069] 나노 입자 분리장치에 있어서,
- [0070] 회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);

- [0071] 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);
- [0072] 시료를 여과할 수 있는 하나 이상의 여과막을 수용하는 여과챔버부(300);
- [0073] 여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400);
- [0074] 상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500); 및
- [0075] 미세 유로 내에서 선택적으로 유체의 흐름을 조절할 수 있는 밸브(700)를 포함하여 시료로부터 나노입자를 여과하는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리 장치를 제공한다.
- [0076] 바람직하게는, 상기 샘플수용부(200)는, 시료의 불순물을 정제할 수 있는 샘플 정제를 수행할 수 있다.
- [0077] 바람직하게는, 상기 샘플수용부(200)는, 하부가 방사 방향보다 틀어진 각도로 형성된 공간을 포함하여 불순물 분리를 수행할 수 있다.
- [0078] 바람직하게는, 상기 샘플수용부(200)는, 분리된 불순물 역류를 방지하기 위한 홈을 포함할 수 있다.
- [0079] 바람직하게는, 상기 샘플수용부(200)는, 경사면과 곡선으로 이루어져 샘플 이송시 상기 샘플의 손실 및 손상을 최소화할 수 있다.
- [0080] 바람직하게는, 상기 밸브(700)는, 외부 신호에 따라 개폐가 가능할 수 있다.
- [0081] 바람직하게는, 상기 밸브(700)는, 전과정 자동화를 위하여 회전 가능한 장치 외부에 존재하며, 밸브의 개폐 및 몸체의 회전 속도와 방향을 제어할 수 있는 시스템을 포함할 수 있다.
- [0082] 바람직하게는, 상기 폐액수용부(400)는, 별도의 불순물 처리 없이 고순도의 나노 입자 분리가 가능할 수 있다.
- [0083] 바람직하게는, 상기 여과챔버부(300)는, 하나 이상의 상기 폐액수용부(400)와 연결되어 정제 후 불순물 확산이 방지될 수 있다.
- [0084] 바람직하게는, 상기 나노 입자 분리장치는, 상기 여과챔버부(300)의 탈부착을 위한 하나 이상의 체결부를 더 포함할 수 있다.
- [0085] 바람직하게는, 상기 나노 입자 분리장치는, BSA (bovine serum albumin) 단백질 또는 Pluronic (PEO-PPO-PEO) 고분자 물질을 주입하여 표면에 비특이적 결합을 최소화할 수 있다.
- [0086] 보다 바람직하게는, 상기 여과챔버부(300) 및 폐액수용부(400)는, 원활한 여과를 수행하기 위한 통풍구(vent)를 포함할 수 있다.
- [0087] 본 발명은
- [0088] 나노 입자 분리장치에 있어서,
- [0089] 회전 가능한 디스크 형상의 하우징부(100);
- [0090] 유체 샘플을 주입하여 담지되는 공간을 제공하는 샘플수용부(200);
- [0091] 시료를 여과할 수 있는 하나 이상의 여과막을 수용하는 여과챔버부(300);
- [0092] 여과된 샘플 용액을 보관하기 위한 폐액수용부(400);
- [0093] 상기 유체 샘플의 유동을 위한 통로를 제공하는 미세유로부(500);
- [0094] 미세 유로 내에서 선택적으로 유체의 흐름을 조절할 수 있는 밸브(700); 및
- [0095] 여과된 특정 크기 범위의 나노입자를 회수할 수 있는 입자포집부(800)를 포함하여 시료로부터 특정 크기 범위의 나노입자를 여과 및 회수할 수 있는 것을 특징으로 하는, 나노 입자 분리장치를 제공한다.
- [0096] 바람직하게는, 상기 나노입자 회수는, 여과막의 상면에는 나노입자를 포함하는 회수하고자 하는 용액 및 하면은 폐액에 인접해 있을 때, 상기 여과막에 존재하는 기공 내부의 모세관압력 보다 작은 최대 3000 rpm 이하의 회전 속도를 사용하여 상기 하면에 인접한 폐액을 상기 폐액수용부(400)로 버린 후, 여과막의 상면에 위치한 나노입자를 포함하는 용액을 선택적으로 회수할 수 있다.
- [0097] 바람직하게는, 상기 입자포집부(800)는, 상기 여과챔버부(300)의 상면과 미세유로로 연결되고, 여과챔버부(300)

0)의 하면은 폐액수용부(400)와 연결될 수 있다.

발명의 효과

[0098]

본 발명은 나노 입자 분리장치 및 방법 관한 것이다. 구체적으로, 낮은 원심력과 크기를 기반으로 하기 때문에 항체 특이성과 무관한 나노 소포를 단시간 안에 종래의 초원심분리기 없이 분리할 수 있으며, 시료 주입후 전과정을 일체화 및 자동화시킴으로써, 추가적인 전문 인력이 필요하지 않고 유체의 정확한 계량이 가능하기 때문에 나노 소포의 손실을 줄일 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0099]

도 1은 나노 소포 분리 과정이 일체화되어 있는 나노 입자 분리장치의 사시도이다.

도 2는 본 발명의 나노 입자 분리장치를 이용한 나노 입자 분리 과정을 시간의 흐름에 따라 관찰한 결과이다.

도 3은 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치의 전면도를 나타낸 것이며, (a) 미세유동장치의 사시도, (b) 미세유동장치 구성, (c) 필터에 따른 입자 분리 과정 및 (d) 필터 I 및 II의 SEM 이미지를 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치를 이용하여 나노 소포를 분리하는 과정으로서, (a) 불순물 침전, (b) 나노 소포 농축, (c) 세척, (d) 필터 II에서의 남은 용액 제거 및 (e) 나노 소포 수집 과정을 나타낸 것이다.

도 5는 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치의 실제 구조를 나타낸 것으로서, (a) 나노 입자 분리장치의 분리도, (b) 나노 입자 분리장치의 필터 구조 및 (c) 나노 입자 분리장치의 측면도 및 필터 표면을 SEM 이미지로 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치를 플루로닉(pluronic) 용액으로 코팅하여 소포의 회수 정도를 측정한 결과를 나타낸 것이다

도 7은 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치의 필터의 수행 능력을 확인한 결과를 나타낸 것으로서, (a) AAO 필터 200 nm 및 100 nm 조합에서의 100 nm 입자 필터 능력, (b) TEPC 필터 600 nm 및 AAO 필터 20 nm 조합에서의 100 nm 입자 필터 능력 및 (c) TEPC 필터 600 nm 및 AAO 필터 20 nm 필터에서의 800 nm 및 100 nm 입자 혼합액에서의 필터 능력을 확인한 것이다.

도 8은 100 nm와 800 nm의 나노 beads를 혼합한 용액에서, NTA (nanoparticle tracking analysis)를 이용하여 나노 입자의 크기와 농도를 분석한 결과이다.

도 9는 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치를 이용해서 NTA를 통한 디스크 수행 전/후 나노 소포 농도를 분석한 결과로서, (a) LNCaP 세포가 배양된 상층액으로부터 분리된 나노 소포 농도 결과, (c) 방광암 환자의 소변으로부터 분체 농도 결과, (b) 방광암 환자의 소변으로부터 분리된 소포가 필터 II에 걸러지는지를 확인한 SEM 이미지 및 (d)/(e) 필터 II로부터 회수한 소포의 TEM 이미지를 나타낸 것이다.

도 10은 1 mL의 소변에서, NTA (nanoparticle tracking analysis)를 이용하여 30 nm와 600 nm 사이의 나노 소포의 크기와 농도를 분석한 결과이다.

도 11은 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치와 종래의 초원심분리(UC) 및 침전시약을 활용한 상용화 키트(Exospin) 세가지 방법에 따른 나노 소포 획득 효율을 비교한 결과로서, NTA 분석 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0100]

이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 본 발명을 용이하게 실시할 수 있도록 바람직한 실시예를 상세히 설명한다. 본 발명의 실시예를 설명하기 위한 도면에 개시된 형상, 크기, 비율, 각도, 개수 등은 예시적인 것이므로 본 발명이 도시된 사항에 한정되는 것은 아니다. 다만, 본 발명의 바람직한 실시예를 상세하게 설명함에 있어, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략한다. 또한, 유사한 기능 및 작용을 하는 부분에 대해서는 도면 전체에 걸쳐 동일한 부호를 사용한다.

- [0102] 덧붙여, 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 '연결' 되어 있다고 할 때, 이는 '직접적으로 연결' 되어 있는 경우뿐만 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 '간접적으로 연결' 되어 있는 경우도 포함한다. 또한, 어떤 구성요소를 '포함' 한다는 것은, 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0104] 도 1a 및 도 3a는 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)의 사시도이며, 도 1b 및 도 3b는 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)의 확대도이다. 도 1a 및 도 3a에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)는 하우징부(100), 샘플수용부(200), 여과챔버부(300), 폐액수용부(400) 및 미세유로부(500)으로 구성될 수 있으며, 도 1b 및/또는 도 3b에 도시된 바와 같이, 세척챔버부(600), 밸브(700) 및/또는 입자포집부(800)를 더 포함하여 구성될 수 있다.
- [0106] 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)는, 유체 샘플을 투입하고, 장치의 회전에 의한 원심력을 통해서, 상기 유체 샘플로부터 원하는 범위의 나노 소포의 분리가 가능할 수 있다. 또한, 여러 가지 유체 샘플을 동시에 분리가 가능할 수도 있다. 이와 같은 구성을 채택함으로써, 낮은 원심력에서도 항체 특이성과 무관하게 나노 소포만을 분리가 가능한바, 전과정을 일체화 및 자동화된 나노 소포의 회수율이 높은 장치로 사용 가능할 수 있을 것으로 기대된다.
- [0108] 이하에서는, 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)를 구성하는 각각의 구성요소에 대하여 상세히 설명하기로 한다.
- [0110] 하우징부(100)는, 후술할 구성들이 내설되는 공간을 제공하면서, 유체 샘플로부터 나노 소포 분리를 위한 원심력을 제공하기 위해서, 자체 회전이 가능한 구성으로서, 이 때, 상기 하우징부(100)는, 폴리카보네이트(Polycarbonate; PC) 소재로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0112] 샘플수용부(200)는, 분리하고자하는 유체 샘플이 담지되는 공간을 제공하는 구성으로서, 상기 하우징부(100)에 내설되어 샘플이 투입되면서 동시에 원심력을 가할 때, 불순물의 빠른 분리를 위해서, 하단부가 방사 방향보다 틀어진 각도로 기울어진 경사면을 가지고, 또한, 분리된 상기 불순물의 역류를 막기 위해서, 홈 (미도시)을 포함하고, 상기 샘플수용부(200)는, 경사면과 곡선으로 이루어져 샘플 이송시 상기 샘플의 손실 및 손상을 최소화할 수 있다. 이 때, 상기 유체 샘플은 나노 입자가 분산된 수용액, 세포체 및 회귀 생체 입자를 포함하는 소변, 혈액, 태액, 객담 등의 생체 시료일 수 있으며, 바람직하게는 소변일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0114] 여과챔버부(300)는, 하나 이상의 여과막을 포함하여 원하는 나노 입자를 포집하기 위한 구성으로서, 상기 여과챔버부(300)는 필요에 따라 물리적인 힘을 가하여 상기 하우징부(100)로부터 탈부착이 가능할 수 있으며, 이 때, 원활한 탈부착을 위해서, 체결부(미도시)를 더 포함할 수 있다. 한편, 도 1b 및 도 3b에 도시된 바와 같이, 상기 여과챔버부(300)는, 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)으로 구성될 수 있다.
- [0116] 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치(10)는, 기공 크기가 서로 다른 복수 개의 여과막을 이용함으로써, 상기 샘플로부터 원하는 범위의 나노 소포를 획득할 수 있는 원리이며, 예컨대, 입자 크기가 큰 불순물을 걸러내는 필터와 원하는 입자의 크기보다 작은 입자의 불순물을 통과할 수 있는 크기의 여과막을 조합함으로써, 여과막과 여과막 사이에서 포집된 원하는 입자 크기 나노 입자를 걸러낼 수 있다.
- [0117] 따라서, 전술한 바와 같이, 본 발명에서는 서로 다른 복수 개의 기공 크기를 갖는 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)를 포함할 수 있으나, 필요로 하는 나노입자 크기에 따라서, 여과시키거나 포집하기 위한 여과부를 추가하여 이용할 수 있다.

- [0118] 이 때, 상기 여과막은 사용자의 실시예에 따라서, 적층 또는 분리된 구조로 이루어질 수 있으며, 이러한 적층 또는 분리된 구조는 자동화 과정 중에서 분리된 나노 소포를 수집하는데 영향을 미칠 수 있다. 예컨대, 나노 소포를 수집하기까지 적층 구조는 필터를 물리적으로 분리 및 용리함으로써, 나노 소포를 수집할 수 있으며, 반면에, 분리된 구조는 필터의 분리 과정이 필요 없이 전과정이 일체화되어 보다 편리한 소포의 수집이 가능할 수 있다.
- [0120] 보다 구체적으로, 제1 여과부(310)는, 상기 유체 샘플 내 1차 불순물을 걸러내기 위한 구성으로서, 도 1b 및 도 3b에 도시된 바와 같이, 상기 샘플수용부(200)와 연결될 수 있다. 이 때, 상기 제1 여과부(310)는 입자가 큰 불순물을 걸러내기 위해서, 바람직하게는, 100 nm 내지 1 μ m 직경의 복수 개의 기공을 가질 수 있으며, 보다 바람직하게는, 600 nm 직경을 가질 수 있다.
- [0122] 제2 여과부(320)는, 2차 불순물을 제거함과 동시에 목적하는 나노 입자만을 포집하기 위한 구성으로서, 예컨대, 상기 제2 여과부(320)는 원하는 범위보다 작은 크기의 입자는 통과시키고, 원하는 범위의 나노 소포만을 포집할 수 있다.
- [0124] 한편, 상기 제2 여과부(320)는, 도 1b 및 도 3b에 도시된 바와 같이, 상기 제1 여과부(310) 및 후술할 세척챔버부(600)와 연결될 수 있으나, 전술한 바와 같이, 여과막의 조합 위치에 따라 여과막간의 적층 구조로 형성될 경우에는 (도 1b 참조), 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)가 같은 챔버내에서 필터링이 진행된다. 반면, 여과막간 구조가 서로 분리된 구조로 형성될 경우에는 (도 3b 참조), 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)가 각각 다른 방사상의 좌표에 독립된 챔버로 형성되어 상기 유체 샘플이 복수의 여과막을 통과하여 복수의 입자 여과를 수행 가능할 수 있다. 또한, 상기 여과챔버부(300)는 필요에 따라서, 하나 이상의 세척챔버부(600)와 연결될 수 있다.
- [0126] 이 때, 원하는 범위의 나노 소포를 제외한 입자 크기가 작은 불순물을 걸러내기 위해서, 상기 제2 여과부(320)는 바람직하게는 1 nm 내지 100 nm 직경의 복수개의 기공을 가질 수 있으며, 보다 바람직하게는, 20 nm 직경을 가질 수 있다. 이 때, 상기 입자 크기가 작은 불순물인 2차 불순물은 비혈관 단백질일 수 있다.
- [0128] 또한, 본 발명에 따른 여과막을 이용한 나노 소포 분리 방법은 일정 범위 내의 나노 소포를 거르기 위해서 전술한 바와 같이, 지름이 작은 기공 및 큰 기공을 포함하는 두 종류 이상의 여과막을 필요로 하나, 종래에는 폴리카보네이트를 소재로하여 여과막을 제조하였으며, 상기 폴리카보네이트 소재를 이용하여 지름이 작은 기공 (1 nm ~ 100 nm)의 여과막을 제작할 경우, 기공의 크기가 균일하지 않고, 기공도가 낮아 균일한 소포의 분리에는 적합하지 않았다. 이와 더불어 양극산화 알루미늄을 이용하여 여과막을 제작할 경우에는, 비교적 크기가 균일하면서 높은 기공도를 가질 수 있으나, 내구도가 약해서 잘 파괴되는 문제점이 있었다. 이에, 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)는 낮은 원심력을 이용함으로써, 나노 소포를 분리하는바, 상기 양극산화 알루미늄의 사용으로 인한, 내구성 저하를 막을 수 있다. 이로 인해, 기공의 크기가 균일하면서 높은 기공도를 갖는 소재의 여과막의 사용이 가능할 수 있다.
- [0130] 따라서, 상기 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)를 이루는 여과막의 바람직한 소재는 폴리카보네이트, 폴리스타이렌, 폴리메틸메타크릴레이트, 사이클릭 오레핀 코폴리머, 양극산화 알루미늄, 니켈, 실리콘 등일 수 있으나, 가장 바람직하게는, 양극산화 알루미늄일 수 있다.
- [0132] 폐액수용부(400)는, 상기 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)로부터 여과된 샘플 용액을 수용하는 공간을 제공하는 구성으로서, 도 1b 및 도 3b에 도시된 바와 같이, 여과된 샘플을 수용하기 위해서, 상기 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)와 연결될 수 있다. 이 때, 폐액수용부(400)는, 상기 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)간의 위치 형성에 따라 단일 또는 복수 개로 구성될 수 있다. 예컨대, 상기 여과챔버부(300)간의 위치 구조가 적

층형일 경우에는 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)가 한 챔버 내에서 직접적으로 연결되어 단일의 폐액수용부(400) 만으로도 여과된 샘플의 수용이 가능할 수 있고, 상기 여과챔버부(300)가 독립된 챔버로서의 구조로 형성될 경우에는 원심력으로 인해서, 앞서 분리된 여과액의 역류로 인한 정제 후 불순물의 확산을 막고, 유체의 정확한 계량을 위해서, 폐액수용부(400)는 하나 이상으로 형성되는 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0134] 미세유로부(500)는, 상술한 각 구성간의 샘플의 유동을 위한 공간을 제공하는 구성으로서, 도 1b 및 도 3b에 도시된 바와 같이, 각각 챔버들 사이에 배치되고, 상기 여과챔버부(300) 상부 또는 하부에 배치되며, 상기 챔버들은 장치 중심부에서 일정 거리 떨어진 곳에 배치되어 용액의 손실의 최소화가 가능할 수 있다. 또한, 상기 미세유로부(500)는, 장치를 관통하는 유로와 연결되어 유체 샘플의 유로 변경이 가능할 수 있다. 한편, 상기 미세유로부(500)는, 제1 내지 제3 및/또는 제7 미세유로부(500)로 이루어질 수 있고, 상기 미세유로부(500)는, 전술한 바와 같이, 사용자의 실시예에 따른 필터간 배치에 따라서, 상기 미세유로부(500)의 배치가 달라질 수 있다.

[0136] 예컨대, 상기 여과챔버부(300)간의 위치 구조가 적층형일 경우에는 제1 미세유로부(510)는 샘플수용부(200) 및 폐액수용부(400)를 연결하며, 제2 미세유로부(520)는, 후술할 세척챔버부(600) 및 제1 여과부(310) - 제2 여과부(320)를 연결하고, 제3 미세유로부(530)는, 상기 제1 미세유로부(510) 및 제1 여과부(310) - 제2 여과부(320)를 연결한다.

[0138] 반면에, 상기 여과챔버부(300)간의 위치 구조가 독립된 챔버로 형성될 경우에는 제1 미세유로부(510)는 샘플수용부(200) 및 폐액수용부(400-1)를 연결하며, 제2 미세유로부(520)는, 샘플수용부(200) 및 제1 여과부(310)를 연결하고, 제3 미세유로부(530)는, 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)를 연결하고, 제4 미세유로부(540)는, 세척챔버부(600) 및 제2 여과부(320)를 연결하고, 제5 미세유로부(550)는, 상기 제3 미세유로부(530) 및 폐액수용부(400-1)를 연결하고, 제6 미세유로부(560)는, 제2 여과부(320) 및 폐액수용부(400-2)를 연결하고, 제7 미세유로부(570)는, 제2 여과부(320) 및 후술할 입자포집부(800)와 연결된다.

[0140] 세척챔버부(600)는, 상기 여과챔버부(300)의 여과막을 세척하기 위한 세척용액이 담지되는 공간을 제공하는 구성으로서, 도 1b 및 3b에 도시된 바와 같이, 상기 여과챔버부(300)와 연결될 수 있다. 이 때, 바람직한 세척용액으로는 인산 완충 식염수 (Phosphate buffer saline; PBS)일 수 있다.

[0142] 밸브(700)는, 상술한 각 구성간의 샘플의 흐름에 있어서, 원심력으로 인한 원하지 않는 방향으로 흐름을 막기 위해서 각 구성간의 유로를 개폐하는 구성으로서, 각 구성과 연결된 상기 미세유로부(500)상에 배치될 수 있다. 이 때, 상기 밸브(700)는, 외부의 신호를 통해서, 자동으로 개폐될 수 있다. 한편, 전술한 바와 같이, 사용자의 실시예에 따른 여과막간의 배치에 따라서 상기 밸브(700)의 배치가 달라질 수 있다.

[0144] 예컨대, 상기 여과막간의 위치 구조가 적층형일 경우에는 제1 밸브(710)는, 상기 제1 미세유로부(510)상에 배치되고, 제2 밸브(720)는, 제2 미세유로부(520) 상에 배치되며, 제3 밸브(730)는, 상기 제3 미세유로부(530)상에 배치된다.

[0146] 반면에, 상기 여과막간 위치 구조가 독립된 챔버로 형성될 경우에는 제1 밸브(710)는, 제1 미세유로부(510)상에 배치되고, 제2 밸브(720)는, 제2 미세유로부(520)상에 배치되고, 제3 밸브(730)는, 제3 미세유로부(530)상에 배치되고, 제4 밸브(740)는, 제4 미세유로부(540)상에 배치되고, 제5 밸브(750)는, 제6 미세유로부(560) 상에 배치되고, 제6 밸브(760)는, 제7 미세유로부(570)상에 배치된다.

[0148] 한편, 상술한 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)는, 상기 여과챔버부(300)의 여과

막의 배치에 따라서, 나노 소포를 수집하는데 있어서 영향을 줄 수 있다. 예컨대, 여과막이 적층으로 쌓여 놓은 구조의 경우에는, 나노 소포의 분리 및 획득을 샘플 주입 후, 상기 나노 입자 분리장치(10)로부터 제2 여과부(320)를 분리하여 상기 필터상의 소포를 획득하는 과정을 거쳐야할 수 있다. 이에, 보다 효율적으로 소포 분리를 위해서, 여과챔버부(300)과 독립된 챔버로서의 구조로 형성될 경우, 독립된 챔버를 가진 제2 여과부(320)로부터 소포를 수집하는, 입자포집부(800)를 더 포함하여 구성될 수 있다.

[0150] 보다 구체적으로, 입자포집부(800)는, 획득한 나노 소포를 수집하기 위한 공간을 제공하는 구성으로서, 도 3b에 도시된 바와 같이, 상기 제2 필터부(320)와 연결될 수 있으며, 이로 인해, 상기 제2 필터부(320)에서 여과 후, 남은 나노 소포가 원심력으로 인해 상기 입자포집부(800)로 수용이 가능할 수 있다. 보다 구체적으로, 여과막에 존재하는 기공 내부의 모세관압력 보다 작은 최대 3000 rpm 이하의 회전속도를 사용하여 폐액은 상기 폐액수용부(400)로 버린 후, 상기 제2 필터부(320)의 여과막 상면에 위치한 나노 입자만을 선택적으로 회수할 수 있다.

[0152] 한편, 본 발명의 실시예에 다른 나노 입자 분리장치(10)는, 전술한 바와 같이, 사용자의 실시예에 따라 복수 개의 여과막간의 위치에 따라서, 구성이 달라질 수 있다. 상기와 같은 구성의 차이는 나노 소포의 분리 과정까지의 일체화에 있어서 차이를 가져올 수 있다.

[0154] 예컨대, 도 1b에 도시한 바와 같이, 상기 여과챔버부(300)의 여과막 위치 구조가 적층형일 경우, 각 구성은 하기와 같다.

- [0155] 1) 소변 샘플을 넣고, 불순물을 분리하는 샘플수용부(200)
- [0156] 2) 나노 소포의 순도를 높이기 위한 세척 용액을 넣는 세척챔버부(600)
- [0157] 3) 다른 소포들을 분리하기 위한 600 nm 제1 여과부(310)
- [0158] 4) 나노 소포를 분리하기 위한 30 nm 제2 여과부(320)
- [0159] 5) 나노 소포 이외의 작은 불순물들을 수용하기 위한 폐액수용부(400)
- [0160] 6) 상기 샘플의 유동을 하기 위해 각 구성간을 연결하는, 미세유로부(500)
- [0161] 7) 구성간의 선택적인 유체의 흐름을 조절하는 밸브(700)

[0163] 이와 같은 구성을 통해서, 도 1c에 도시한 바와 같이, 두 개의 서로 다른 크기의 여과막을 이용하여 샘플로부터 원하는 범위의 나노 입자를 걸러낼 수 있다.

[0164] 또한, 도 1a에 도시한 바와 같이, 나노 입자 분리장치(10)는 4개의 동일 유닛으로 이루어져 동시에 4 종류의 샘플 분리가 가능할 수 있으며, 접촉층 조립 이후에 30 nm의 제2 여과부(320)를 고정할 수 있으며 원활한 탈착이 가능하다. 이 때, 상기 여과부의 탈부착을 위해서, 탄성을 갖는 체결부로 고정될 수 있으며, 바람직한 개스킷 소재로는 폴리디메틸실록산 (polydimethylsiloxane), 실리콘, 라텍스 또는 고무 등일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0166] 다음으로 상기 여과챔버부(300)의 여과막 배치가 적층형일 경우에 소포 분리 과정은, 도 2에 도시한 바와 같이, 샘플 (붉은색 물)과 세척액 (노란색 물)을 주입한 후에는, 전과정이 자동화되어 진행되며 과정은 하기와 같다.

[0167] 1) 디스크는 3개의 밸브와 4개의 챔버 (샘플수용부(200), 여과챔버부(300), 폐액수용부(400) 및 세척챔버부(600))로 구성되어 있으며, 붉은 동그라미는 닫힌 밸브를 의미하고 파란 동그라미는 열린 밸브를 의미한다 (도 2a 참조).

[0168] 2) 붉은 화살표와 같이, 불순물 처리 챔버에서는 원심력을 이용하여 샘플에서 불순물을 추출하며, 푸른 화살표는 필터 세척하는 모습이다 (도 2b 참조).

[0169] 3) 다른 소포가 걸러진 후 열린 1번 밸브를 통해, 600 nm 필터를 포함하는 챔버로 이송되어 나노 소포를 거르고

다른 작은 불순물들은 버림 챔버로 원심력에 의해 이동된다. 이때, 밸브 2번을 막아 용액의 역류를 방지할 수 있다 (도 2c 참조)

[0170] 4) 모든 샘플 이송후, 나노 소포는 30 nm 필터 위에 걸러진다 (도 2d 참조)

[0171] 5) 세척 용액이 필터가 있는 챔버로 이송되어 나노 소포 외의 불순물들을 제거한다. 이때, 밸브 3번을 막아 용액의 역류를 방지할 수 있다 (도 2e 참조).

[0172] 6) 세척 후 불순물이 제거된 나노 소포는 30 nm 필터 위에 남아있게 되며, 이후, 필터를 분리 및 용리하여 나노 소포를 얻을 수 있다 (도 2f 참조).

[0174] 상술한 6)에 나타난 바와 같이, 상기 여과챔버부(300)의 여과막의 위치 구조가 적층형일 경우에는 여과막의 분리를 과정을 진행하여 나노 소포를 분리하게 된다.

[0176] 한편, 상기 여과챔버부(300)간의 독립된 챔버로서의 구조로 형성될 경우, 소포의 분리 전과정이 일체화 되어 각 구성은 도 3b에 도시된 바와 같이, 하기와 같다.

[0177] 1) 소변 샘플을 넣고, 불순물을 분리하는 샘플수용부(200)

[0178] 2) 나노 소포의 순도를 높이기 위한 세척 용액을 넣는 세척챔버부(600)

[0179] 3) 다른 소포들을 분리하기 위한 제1 여과부(310)

[0180] 4) 나노 소포를 분리하기 위한 제2 여과부(320)

[0181] 5) 나노 소포 이외의 작은 불순물들을 수용하기 위한 폐액수용부(400)

[0182] 6) 상기 샘플의 유동을 하기 위해 각 구성간을 연결하는, 미세유로부(500)

[0183] 7) 구성간의 선택적인 유체의 흐름을 조절하는 밸브(700)

[0184] 8) 나노 소포를 수집하는 입자포집부(800)

[0186] 이와 같은 구성을 통해서, 도 3c에 도시한 바와 같이, 상기 나노 입자 분리장치(10)는 나노 소포를 수집할 수 있는 입자포집부(800)를 더 포함하여 전술한 상기 여과챔버부(300)의 위치 구조가 적층형일 경우와는 다르게, 샘플 주입 후에 별도의 필터 꺼냄 없이 소포를 획득할 수 있는바, 나노 소포의 분리과정까지의 전과정이 일체화된 특징을 가지고 있다.

[0188] 상기 나노 입자 분리장치(10)의 여과막은 양극산화 알루미늄 재질의 여과막을 포함할 수 있으며, 양극산화 알루미늄 재질의 여과막은 도 3d에 나타난 바와 같이, 타재질에 비해 높은 기공도와 비교적 균일한 지름의 기공을 가지고 있다.

[0190] 한편, 나노 소포 분리를 위한 과정은 자동화되어 진행될 수 있다. 이 때, 상기 전과정 자동화를 위해서, 밸브(700)의 개폐, 하우징부(100)의 회전속도 및 방향을 제어하는 제어 시스템을 더 포함할 수 있다.

[0191] 보다 구체적으로, 도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)를 사용하는 상태를 도시한 것이다. 도 4에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치(10)를 사용하기 위해서는 먼저 샘플 (최대 1 ml) 및 완충액 (600 μ l)를 샘플수용부(200) 및 세척챔버부(600)에 로딩시킨다. 이 후, 3000 rpm의 회전속도로 하우징부(100)를 회전시키면 샘플의 불순물이 기울어진 챔버 내에서 침전되고(도 4a), 다음으로 제2 밸브(720)를 개방시켜 맑은 상층액은 제1 여과부(310) 및 제2 여과부(320)를 통해서 여과 되어 폐액수용부(400-1)로 이동하게 된다(도 4b). 이 후, 여과 과정 동안에 큰 입자는 600 nm 직경을 갖는 제1 여과부(310)에서 걸러지고, 비혈관 단백질은 20 nm 직경을 갖는 제2 여과부(320)로 통과되어 제거되면, 결국엔 제2 여과부(320) 상에는 나노 소포만이 농축되게 된다. 이 후, 제3 밸브(730)를 닫고, 제4 밸브(740)를 개방하여 세척챔버부(600)로부터 세척 완충액이 제2 여과부(320)로 흐르게 하여 세척을 진행한 뒤(도 4c), 제5 밸브(750)를 개방

시키고, 1500 rpm의 회전속도로 하우징부(100)를 회전시키면, 제2 여과부(320) 아래에 남아 있던 용액이 완전히 폐액수용부(400-2)로 이동하게 된다 (도 4d). 마지막으로, 제6 밸브(760)를 개방하고, 1500 rpm의 회전속도로 하우징부(100)를 회전시키면, 제2 여과부(320)에 걸려진 농축된 소포가 입자포집부(800)로 이동하게 된다 (도 4e). 이로 인해, 낮은 원심력을 이용하여 나노 소포가 단시간에 분리될 수 있다.

[0193] 하기 표 1에 나타난 바와 같이, 본 발명의 분리법과 종래의 초원심 분리법, 상용화키트를 비교한 결과, 종래의 방법은 초원심분리기 혹은 침전시약을 이용한 많은 시간과 샘플 처리를 위한 여러 과정들을 필요로 하는 반면, 분리된 필터부를 갖는 나노 입자 분리장치(10)의 경우, 전체 동작 시간은 30분 이내이며 G force 동작 범위도 초원심 분리 및 상용화키트에 비해 현저히 낮은 것을 확인할 수 있다.

표 1

A	B	C
초원심 분리 수행	상용화 키트 (Exospin)	디스크 수행
● 전체 동작 시간: ~6 시간 ● 최대 G force: 150,000 G 과정1. 원심 분리 (300 G, 10 분) 과정2. 초원심 분리 (20,000 G, 30 분, 4°C) 과정3. 초원심 분리 (50,000 G, 1 시간, 4°C) 과정4. 초원심 분리 (150,000 G, 2 시간, 4 °C) 과정 5. 세척 (150,000 G, 2 시간, 4 °C)	● 전체 동작 시간: ~4 시간 ● 최대 G force: 16,000 G 과정1. 원심 분리 (300 G, 10 분) 과정2. 원심 분리 (16,000 G, 30 분) 과정3. incubation (1 h, 4 °C) 과정4. 원심분리 (16,000 G, 1 시간, 4 °C) 과정4. 세척 (50 G, 10 분)	● 전체 동작 시간: ~30 분 ● 최대 G force: 500 G 과정1. 샘플 처리 (2 분) 과정2. 샘플 분리 (15 분) 과정3. 세척 (10 분)

[0194]

[0196] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0198] 실시예 1. 실험 준비

[0199] 1-1. 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치 제조

[0200] 본 발명에 따른 미세유동장치를 제조하기 위해서, 3D CAD 프로그램을 이용하여 상기 미세유동장치를 설계하고, 수치제어밀링 장치 (CNC milling machine)를 이용하여 제작하였다. 보다 구체적으로, 설계에 따라 폴리카보네이트 (Polycarbonate; PC, I-Components Co. Ltd, Korea)를 이용하여 Top, Body 및 Base 층 (layer)으로 나누어 나노 입자 분리장치를 가공하였다 (도 5 참조). 가공이 완료되면, 모든 층 (layer)을 두 개의 감압지 (pressure-sensitive), 양면 접착제 (DFM 200 clear 150 POLY H-9V-95, FLEXcon, USA) 및 커스터마이징된 압축 장치를 이용하여 라미네이트 하였다. 한편, 본 발명에 일실시예에 따른 밸브는 top 층에 배치시킬 수 있으며, 필요에 따라 외부 신호에 의해 자동적으로 개폐될 수 있다. 종래 알려진 멤브레인 필터가 융합된 lab-on-a-disc 를 제조하는 일반적인 절차에 따라 상기 각 층은 전술한 바와 같이, 컴퓨터 수치 제어에 따라 가공되고, 본 발명의 일실시예에 따른 여과챔버부의 반대쪽 면은 필터 I 및 필터 II로써 각각 track-etched PC 막 (SPI, 13mm, 기공 직경 0.6 μ m) 및 산화 알루미늄 양극막 (anodic aluminum oxide membrane; Whatman, 13mm, 0.02 μ m) 같은 상업적으로 이용할 수 있는 막의 삽입을 위해서 조각하였다.

[0201] 한편, 나노 소포의 비특이적 흡착 및 최대 수율을 얻기 위해서, 1% 플루로닉 (pluronic) 용액 (PEO-PPO-PEO block copolymer)으로 모든 챔버 및 채널을 코팅하였다(도 6 참조). 보다 구체적으로 1% 플루로닉 용액을 모든 챔버 및 채널에 각각 1시간 동안 반응시킨 뒤, 플루로닉 용액을 제거하고 PBS 완충액으로 세척하였다.

- [0203] 1-2. 세포 배양
- [0204] 전립선암 세포주인 LNCaP 세포를 10 % exo-free FBS (System Biosciences Inc., CA), 및 1 % 항생제/항진균제를 보충한 RPMI 배지 (Gibco, UK) 성장시켰으며, 5% CO₂, 37 °C 조건의 인큐베이터에서 진행하였다. 세포 배양 상층액을 24시간 후에 수거하고, 세포 밖 소포는 각 프로토콜에 기재에 따라 수집하였다.
- [0206] 1-3. 임상 샘플 저장 및 처리
- [0207] Institutional review board의 가이드라인에 따라서 방광암 환자와 마찬가지로 건강한 공여자의 소변 샘플을 수집하였으며, 첫 번째 소변 (15 ml)은 방광암 환자로부터 수집하였다. 수집된 소변들은 -80 °C에서 사용될 때 까지 보관하였다.
- [0208] 나노 소포를 분리하기 위해서, 상기 샘플을 해동시켜 RT에서 사용하였으며, 각각 5 ml 소변은 초원심분리 (Ultracentrifugation; UC) 및 Exospin을 이용하여 세포 밖 소포를 분리하는데 사용하였고, 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치에서 나노 소포 분리를 위해서, 400 µl 소변을 사용하였다.
- [0210] **실시예 2. 나노 beads를 혼합 용액 및 소변을 이용한 분리 효과 확인**
- [0211] 2-1. 필터 조합에 따른 디스크 수행 효과 확인
- [0212] 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치의 필터 직경 조합에 따른 효과를 확인하기 위해서, 필터의 크기별 조합에 따른 실험을 진행하였다.
- [0213] 보다 구체적으로, 200 nm AAO 막의 필터 I 및 20 nm 막의 필터 II를 조합하였을 때, 도 7a에 도시된 바와 같이, 대부분의 100 nm의 PS 나노입자는 200 nm 직경 안에 끼어 20 nm 필터 상에서는 PS 나노입자를 발견하지 못하였다. 다음으로 600 및 100 nm로 필터를 조합하였을 경우, 나노입자는 600 nm 필터를 통과하였으나, 100 nm 필터 상에 많은 입자들이 존재하였으나, 상기 입자가 회복되지 않았다. 마지막으로, 600 및 20 nm로 필터를 조합하였을 때, PS 나노입자의 높은 회복을 확인할 수 있었다 (도 7b 참조).
- [0214] 다음으로, 800 nm 및 100 nm PS 나노입자 혼합한 용액을 이용해서, 상기 필터 크기에 따른 크기-선택성 분리 성능 실험을 진행하였다.
- [0215] 보다 구체적으로, 상기 600 및 20 nm로 필터를 조합하고 800 nm 및 100 nm PS 나노입자 혼합한 용액을 이용하여 디스크 수행 결과, 도 7c에 도시된 바와 같이, 800 nm의 나노입자는 필터 I에서 통과하지 않고 걸러졌으며, 오직 100 nm의 나노입자만이 필터 II에 위치하여 농축되는 것을 확인할 수 있었다.
- [0216] 본 실시예에서는, NTA (nanoparticle tracking analysis)를 통해 나노 입자를 트래킹하여 그 크기와 농도를 분석하였다.
- [0217] 도 8는 100 nm와 800 nm의 나노 beads를 혼합한 용액에서, 디스크 실험 수행 결과, 100 nm 입자가 걸러지는 것을 보여주는 실험 데이터로서, 혼합 용액에는 100 nm와 800 nm 입자를 모두 포함하며 낮은 농도 값을 보여준 반면 (도 8a 참조), 디스크 수행 결과, 필터에서는 100 nm의 beads만이 검출되었고 농축된 결과를 보여주었다(도 8b 및 c 참조).
- [0219] 2-2. 세포 밖 소포 농축 수행 능력 확인
- [0220] 상기 실시예 2-1에 따른 다른 크기의 PS 나노입자에 따른 디스크의 분리 효과를 확인한 후, 디스크의 CCS 및 소변 샘플로부터 세포 밖 소포 농축 수행 능력을 평가하였다.
- [0221] 보다 구체적으로, 1 ml의 CCS 또는 방광암 환자의 소변 샘플을 디스크 실험을 수행하여 NTA를 통해 농도를 분석한 결과, 도 9a 및 b에 도시된 바와 같이, 디스크 실험을 진행하기 전에 비해서 약 5배 가량 높은 농도를 보여주었다.
- [0222] 도 9c는 실제로 필터 I 상에 거대 불순물이 걸러지고, 방광암 환자의 소변의 세포 밖 소포가 필터 II에 걸러지

는 것을 확인한 결과이며, 도 9d 및 e는 나노 소포가 등근 형태로 회복된 것을 확인한 결과이다.

[0223] 도 10은 실제로 1 mL의 소변에서 디스크 실험 수행 결과 30 nm와 600 nm 사이의 나노 소포가 걸러지는 것을 보여주는 실험 데이터로서, 소변에는 다양한 크기의 입자들이 관찰되는 반면(도 10a 참조), 디스크 수행 결과, 필터에서는 30 nm와 600 nm 사이의 나노 소포가 검출되어, 범위 내의 나노 소포들이 농축된 결과를 보여주었으며, 총 분리 시간은 40분 이내였다 (도 10b 참조).

[0225] **실시예 3. 소포 분리 방법에 따른 소포 분리 및 정량 비교 분석**

[0226] 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치를 이용한 소포 분리 효과를 종래 소포 분리 방법과의 차이를 확인하기 위해서, 하기와 같이 초원심분리 (Ultracentrifugation), Exospin 및 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치를 이용한 방법으로 실험을 진행하였다.

[0228] 3-1. 초원심분리기 (Ultracentrifugation)에 따른 소포 분리

[0229] 초원심분리 (UC)는, 상기 실시예 1-3을 통해 획득한 샘플 시료의 세포 파편을 제거하기 위해서, $300 \times g$ 에서 10분간 원심분리를 진행한다. 이 후, 상층액을 $20,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리를 진행하여 생성된 결과 펠릿은 폐기하였다. 다음으로 상기 상층액을 80 mL 폴리프로필렌 초원심분리기 튜브로 이동시켜 Ti45 앵글로터 (Ti45 fixed angle rotor)에서 1시간 동안, $4^\circ C$ 및 $50,000 \times g$ 에서 원심분리를 진행하였다. 상기 원심분리 후 결과 펠릿은 폐기하고, 상층액은 새로운 초원심분리기 튜브로 이동시켜 Ti45 앵글로터 (Ti45 fixed angle rotor)에서 2시간 동안, $4^\circ C$ 및 $150,000 \times g$ 에서 원심분리를 진행하여 소포 펠릿을 수집하였다. 이 후, 상층액을 폐기하고, 펠릿은 10 nm 프리-필터링된 PBS 1 mL로 재현탁시키고, 1 mL 폴리카보네이트 초원심분리기 튜브로 이동시켜 MLA-130 앵글로터 (MLA-130 fixed angle rotor)에서 2시간 동안, $4^\circ C$ 및 $150,000 \times g$ 에서 원심분리를 진행하였다. 결과 펠릿은 10 nm 프리-필터링된 PBS 1 mL로 재현탁시키고, 즉시 사용할 경우에는 $4^\circ C$ 에서 보관하거나, 장기 보존시에는 $-80^\circ C$ 에서 보관하였다.

[0231] 3-2. Exospin exosome purification kit를 이용한 소포 분리

[0232] 상기 실시예 3-1에 기술한 바와 같이, 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치를 이용한 소포 분리의 효과를 종래 소포 분리 방법과의 차이를 확인하기 위해서, Exospin exosome purification kit를 이용하여 소포를 분리하는 실험을 진행하였다.

[0233] 보다 구체적으로, 상기 실시예 1-3을 통해서 획득한 샘플의 세포 파편을 제거하기 위해서, $300 \times g$ 에서 10분간 원심분리를 진행하여, 상층액은 $20,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리하고, 결과 펠릿은 폐기하였다. 다시 상층액은 완충액 A의 절반 용량과 혼합하여 부드럽게 섞고, 밤새 $4^\circ C$ 에서 배양한 혼합물을 $20,000 \times g$ 에서 1시간 동안 원심분리하여 생성된 펠릿은 kit에 함께 제공된 PBS 100 μL 로 재현탁시켰다. 소포 펠릿은 제조사설명서에 따라 제공된 스핀컬럼 (spin column)을 이용하여 정제하여 분리된 소포 200 μL 는 즉시 사용/단기 보존시에는 $4^\circ C$ 에서 보관하거나, 장기 보존시에는 $-80^\circ C$ 에서 보관하였다.

[0235] 3-3. 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치에 따른 소포 분리 및 정량

[0236] 본 발명의 일실시예에 따른 나노 입자 분리장치를 이용하여 소포를 분리하는 실험을 진행하였다. 보다 구체적으로, 표본 샘플 (소변 또는 복합 배지)에 큰 입자 또는 세포 파편은 $300 \times g$ 에서 2분간 침전시키고, 맑은 상층액은 여과챔버부로 이동하여 $500 \times g$ 에서 15분간 필터 I 및 II를 통해서 여과시킨다. 필터 II를 PBS 용액으로 $500 \times g$ 에서 10분간 세척을 진행한 후, 여과된 샘플 용액은 폐액수용부 2로 폐기된다. 이 때, 필터 II ($\sim 100 \mu L$)에서 여과된 소포는 입자포집부로 이동하고, 필터 II는 100 μL PBS로 세척시킨다. 상기 입자포집부로 이동한 소포가 함유된 용액은 추가 분석에 사용하였다.

[0238] **실시예 4. 효소면역분석 검사 (Enzyme linked immunosorbent assay; ELISA)**

[0239] 각 소포 분리 방법에 따른 분리 효과를 비교하기 위해서, 상기 실시예 3의 분리방법에 따른 소포 용액을 효소면

역분석 검사 (ELISA)를 이용하여 분석하였다.

[0240] 소포 용액은 상기 실시예 3의 세가지 분리 방법에 대해 입력 용량이 동일하게 유지하여 준비하고, 플레이트를 4 °C에서 밤새 항체 (항 CD9항체, MEM61, abcam, MA, US)로 코팅 한 후, 1시간 동안 37 °C에서 1% BSB-PBS 완충액으로 차단시켰다. 이 후, 0.1% BSA-PBS 완충액 (세척 완충액)으로 세척하여, 소포 용액과 함께 PBS 완충액 (100 μ l)에 1시간 동안 37 °C에서 배양시킨 뒤, 용액을 제거한 후, 플레이트를 세척 완충액으로 두 번 세척하였다. 이 때, 세척 완충액을 사용하여 세 번 씻어낸 다음 PBS 완충액 (100 μ l, 500 ng/ml)으로 희석한 바이오틴-컨쥬 게이트 검출 항체 용액 (항 CD81항체, 비오틴, LifeSpan Biosciences, INC, WA, US)을 추가하고, 1시간 동안 방에서 배양시킨다. 세척 완충액을 사용하여 세 번 씻어낸 다음 플레이트는 PBS 완충액 (100 μ l, 1 : 1000 in PBS)으로 희석한 HRP-컨쥬 게이트 스트렙타아비딘 용액과 함께 RT에서 30분간 배양시켰다. 그 다음, 100 μ l의 TMB 용액을 추가하여 방에서 15분간 배양하고, 마지막으로 50 μ l의 종결 용액을 각 웰에 추가하여 반응을 중단시킨 후, 용액의 흡광도는 450 nm에서 plate reader 분광광도계 (TECAN)을 이용하여 측정하였다.

[0242] 실시예 5. 소포체 분리 결과 확인

[0243] 상기 실시예를 통한 각 소포체 분리 방법에 따른 효율을 비교 분석하였다. 보다 구체적으로, 1 ml LNCaP CCS를 이용하여 상기 세가지 방법으로 나노 소포를 분리하였었다.

[0244] 그 결과, 도 11에 도시된 바와 같이, NTA 결과, 본 발명에 따른 나노 입자 분리장치로부터 분리된 나노 소포의 높은 농축 수율을 보여주고 있다.

[0245] 보다 구체적으로, 도 11에 도시된 바와 같이, 검색된 세포 밖 소포의 농도는 각각 1.33 ± 0.07 , 1.32 ± 0.06 및 $7.67 \pm 1.5 \times 10^9$ particles/ml로 본 발명에 따른 디스크 방법의 회복력이 종래의 UC 방법보다 5.8배 높은 것을 확인하였다.

[0247] 진술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

부호의 설명

[0248] 10 : 나노 입자 분리장치

100 : 하우징부 200 : 샘플수용부

300 : 여과챔버부 310 : 제1 여과부

320 : 제2 여과부 400 : 폐액수용부

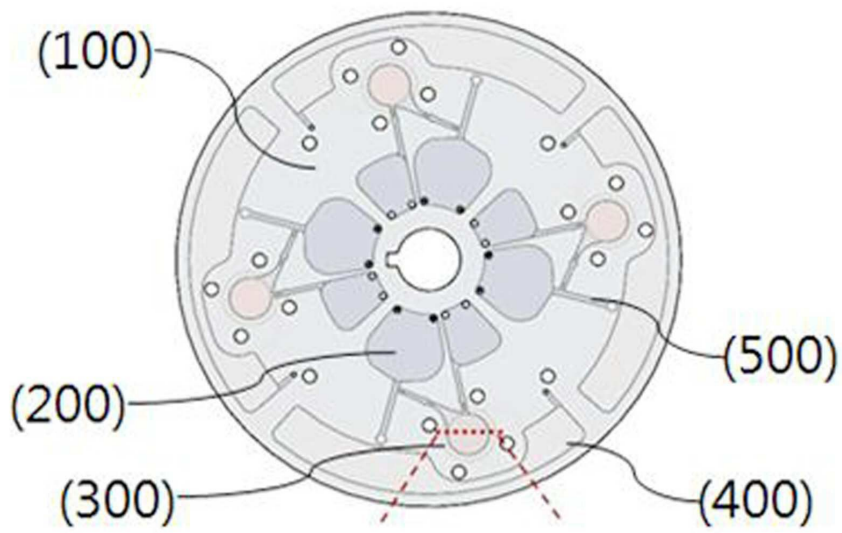
500 : 미세유로부 600 : 세척챔버부

700 : 밸브 800 : 입자포집부

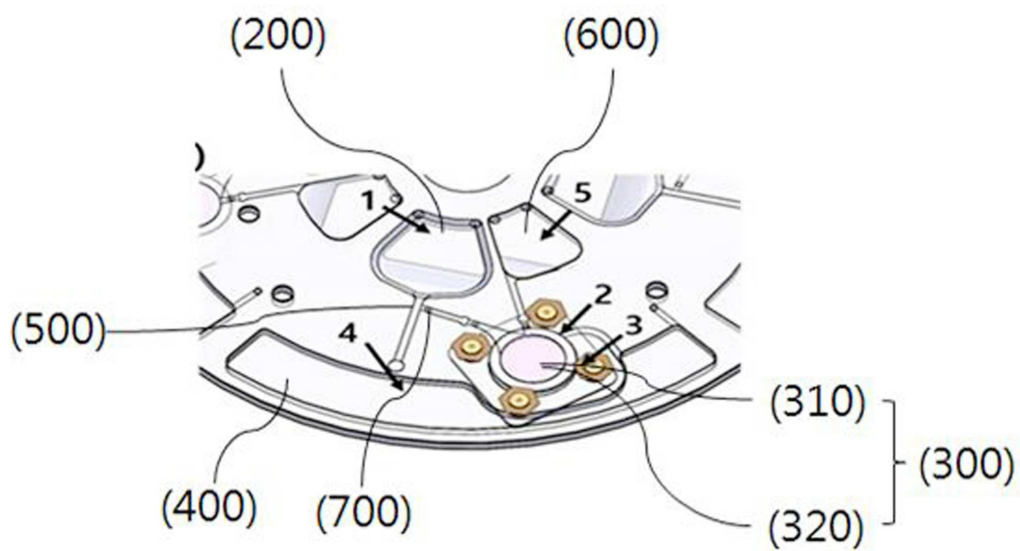
도면

도면1a

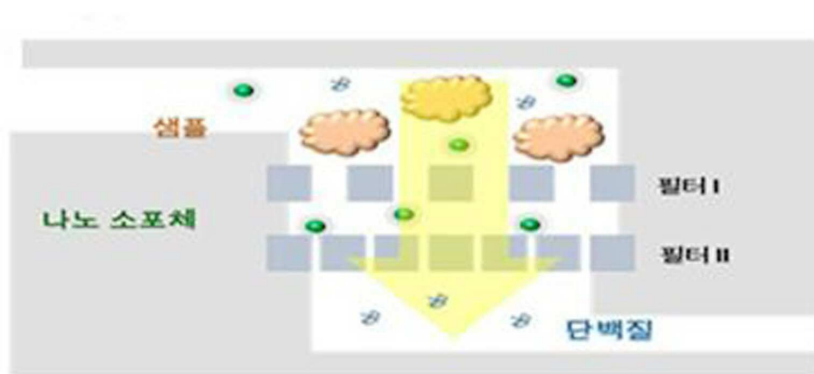
10



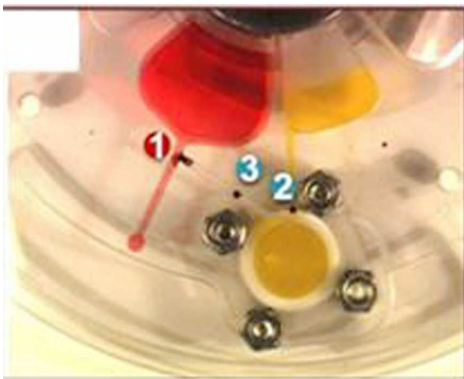
도면1b



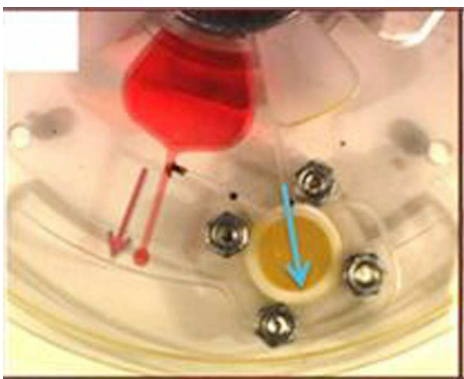
도면1c



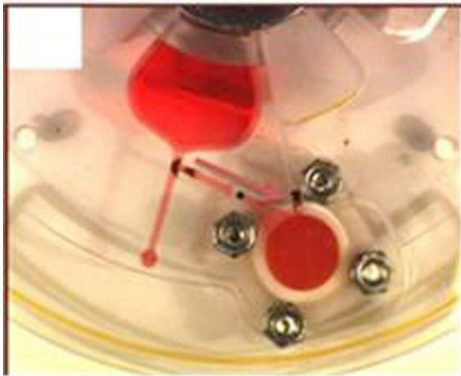
도면2a



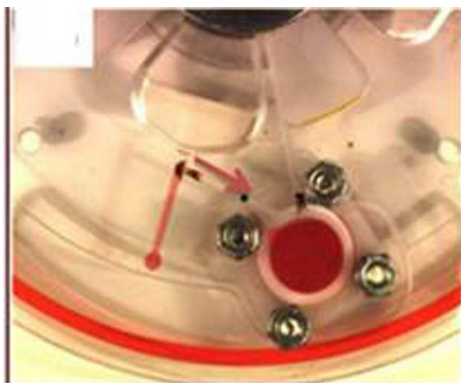
도면2b



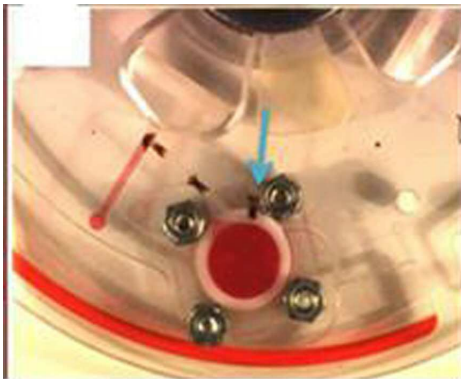
도면2c



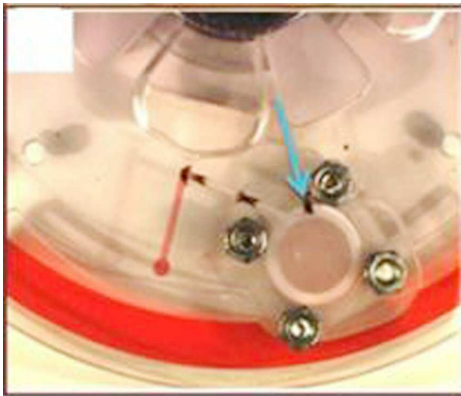
도면2d



도면2e

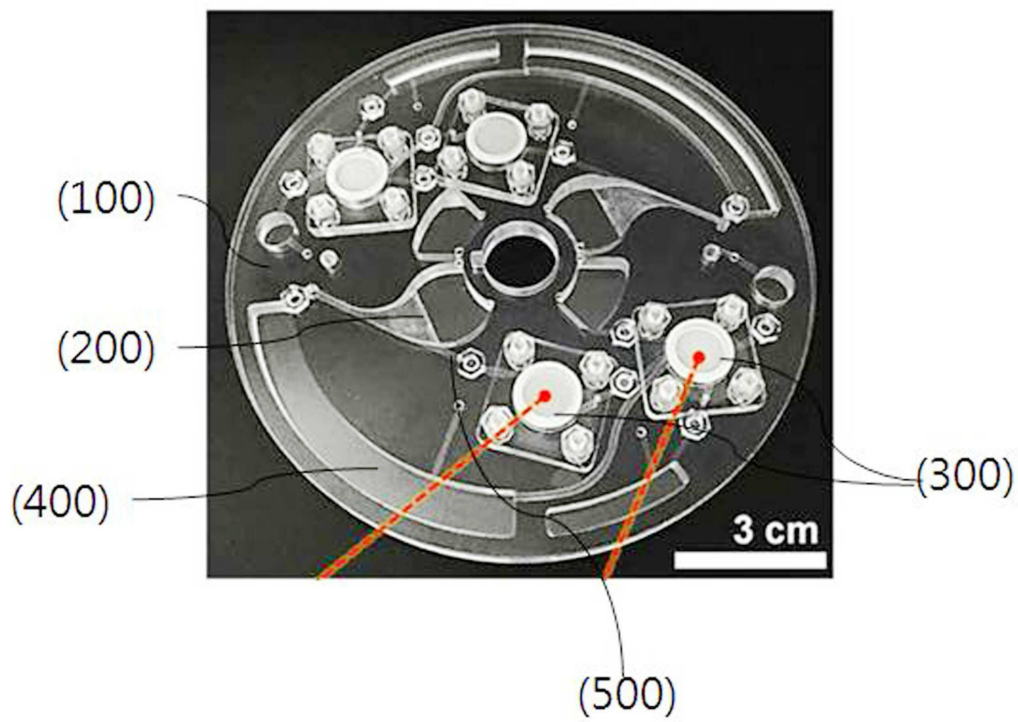


도면2f

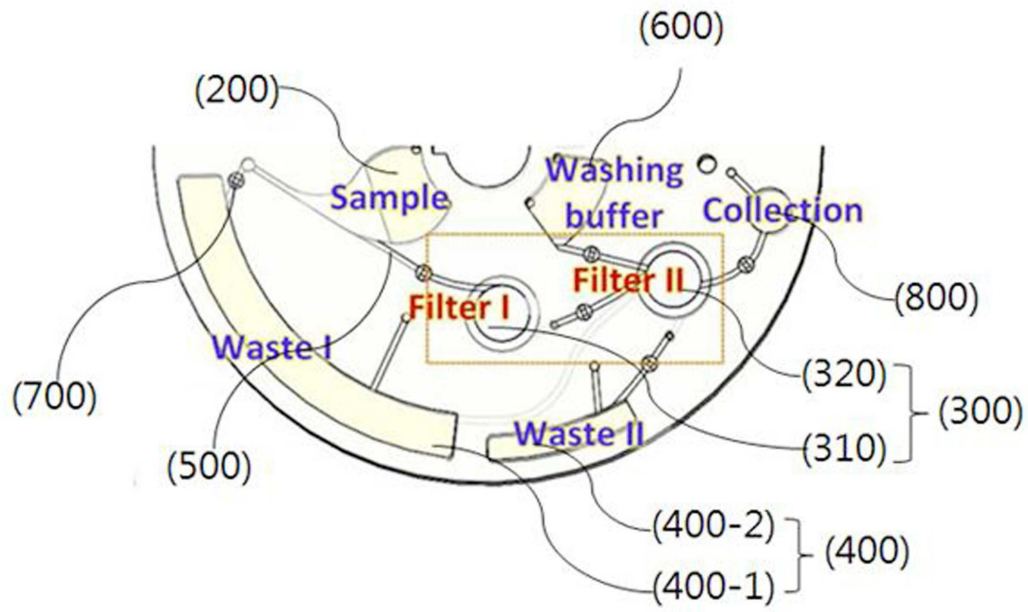


도면3a

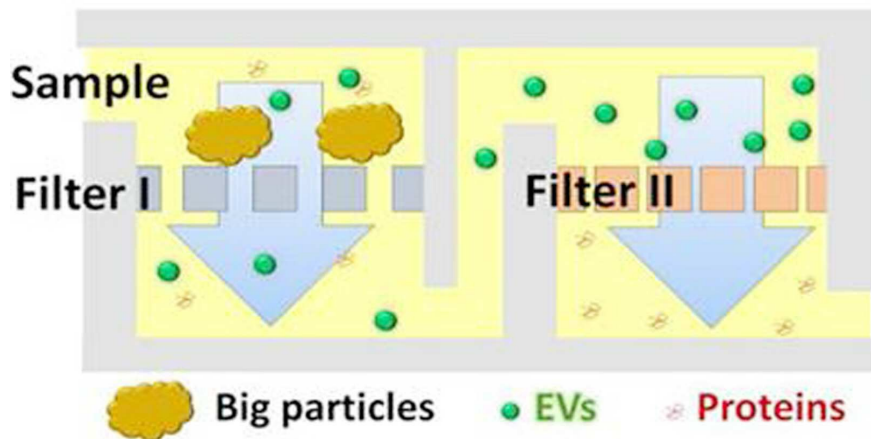
10



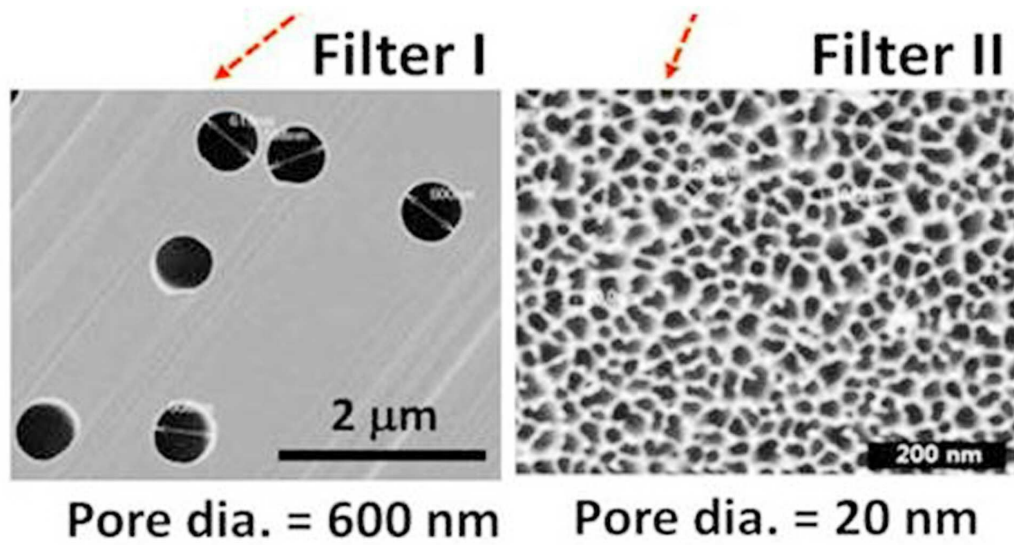
도면3b



도면3c



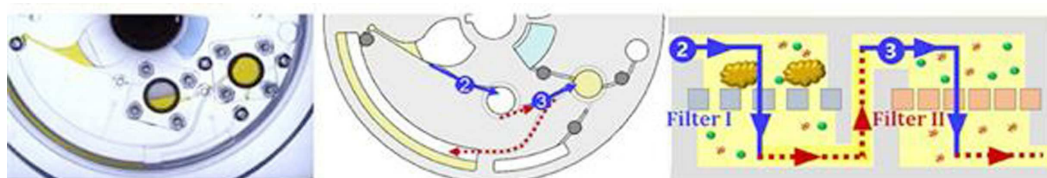
도면3d



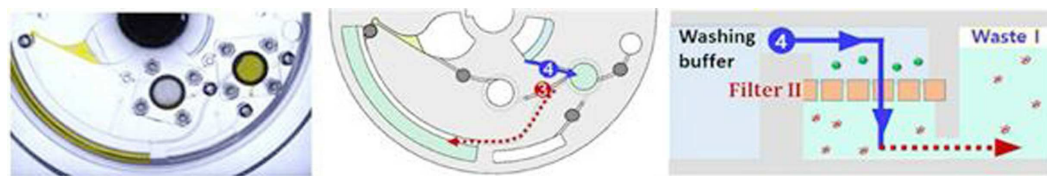
도면4a



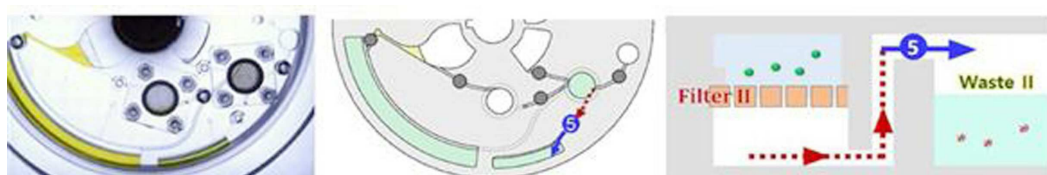
도면4b



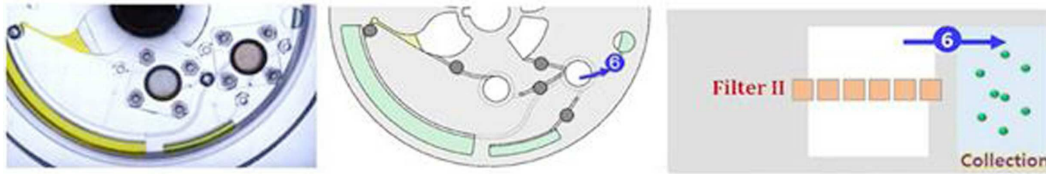
도면4c



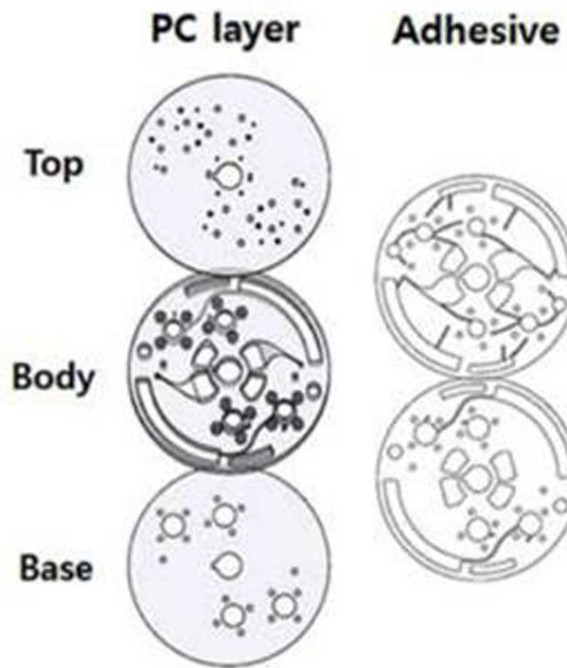
도면4d



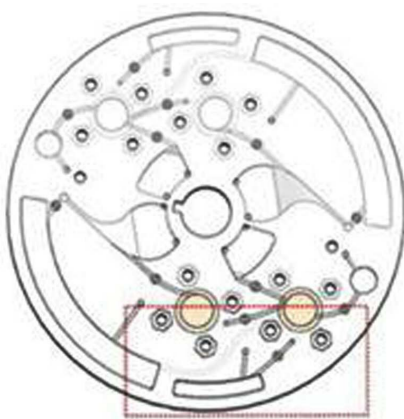
도면4e



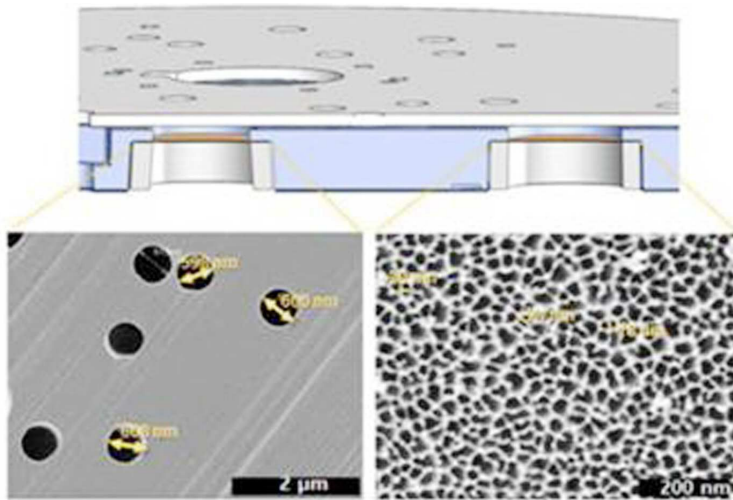
도면5a



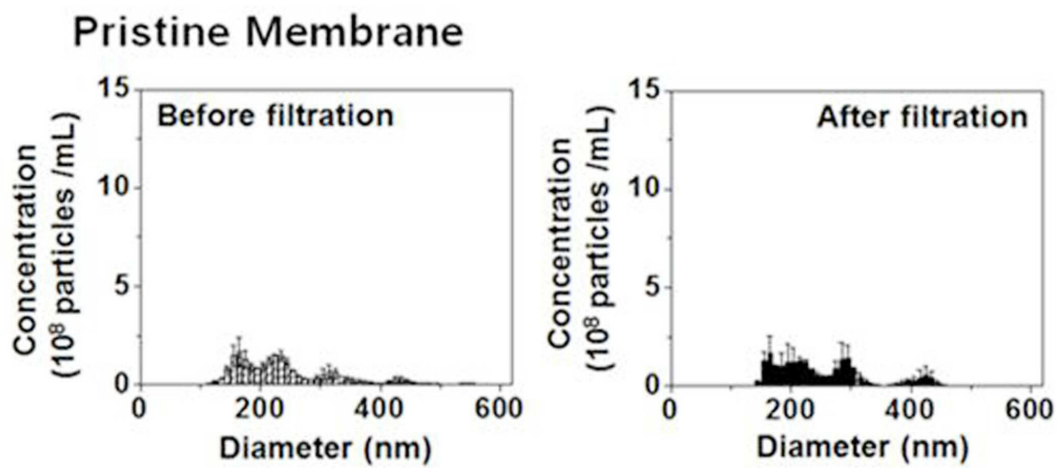
도면5b



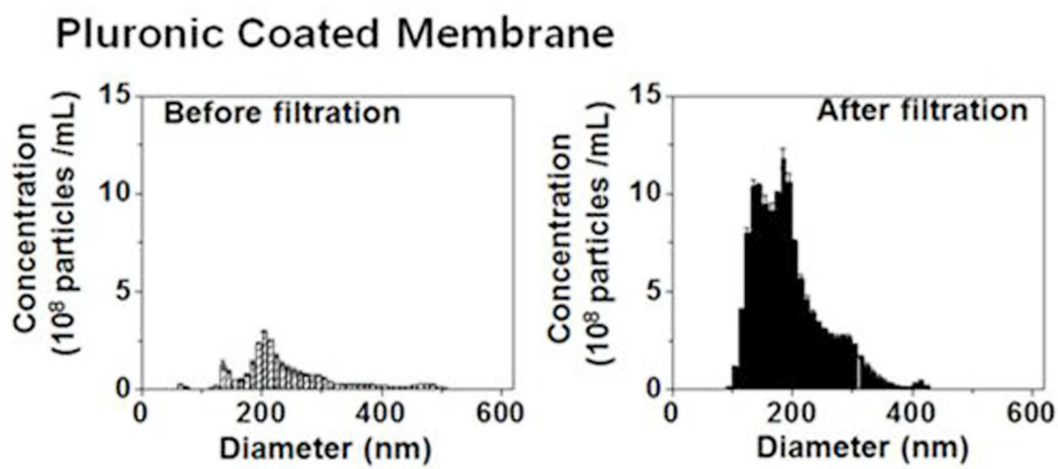
도면5c



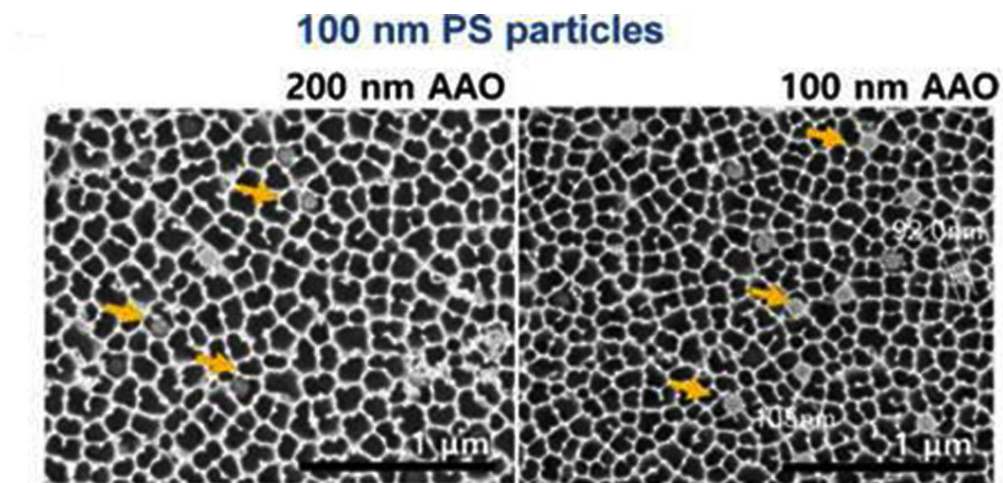
도면6a



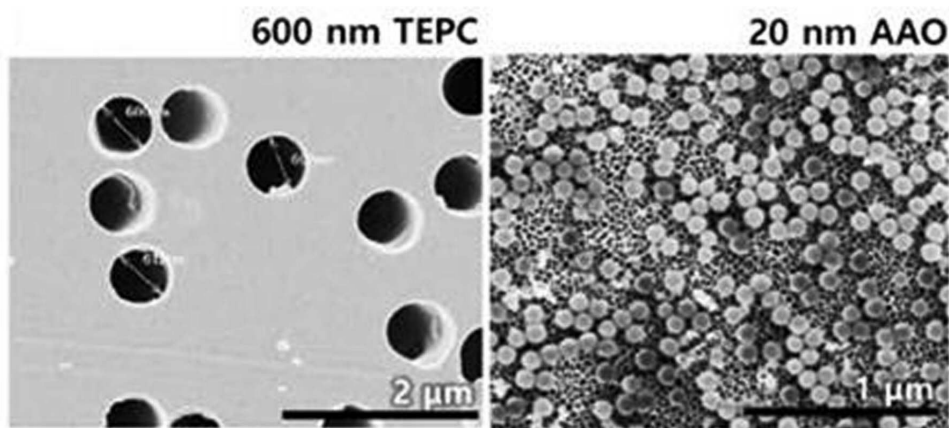
도면6b



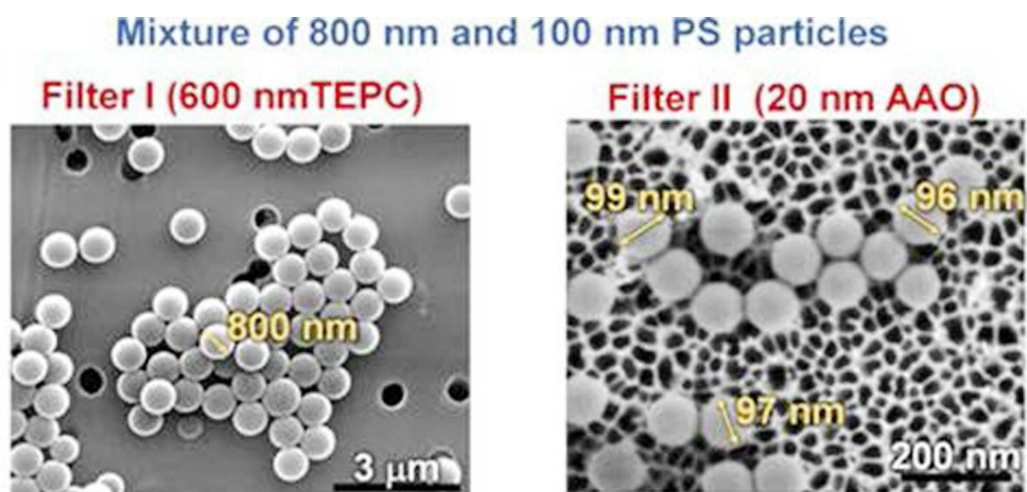
도면7a



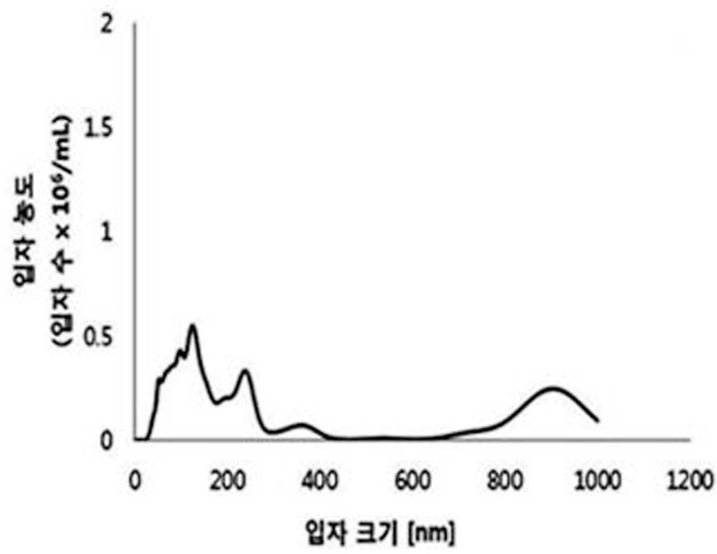
도면7b



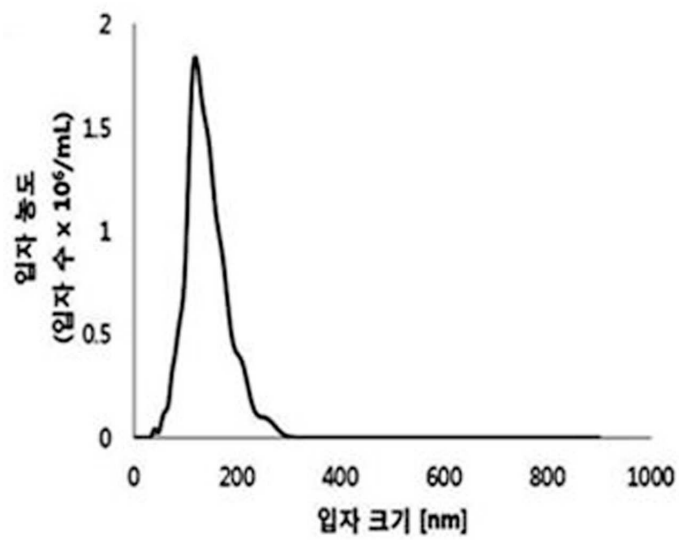
도면7c



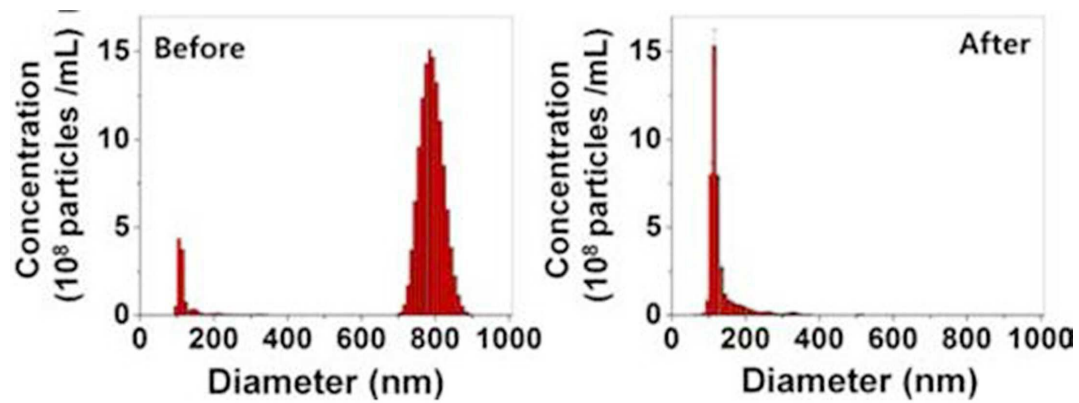
도면8a



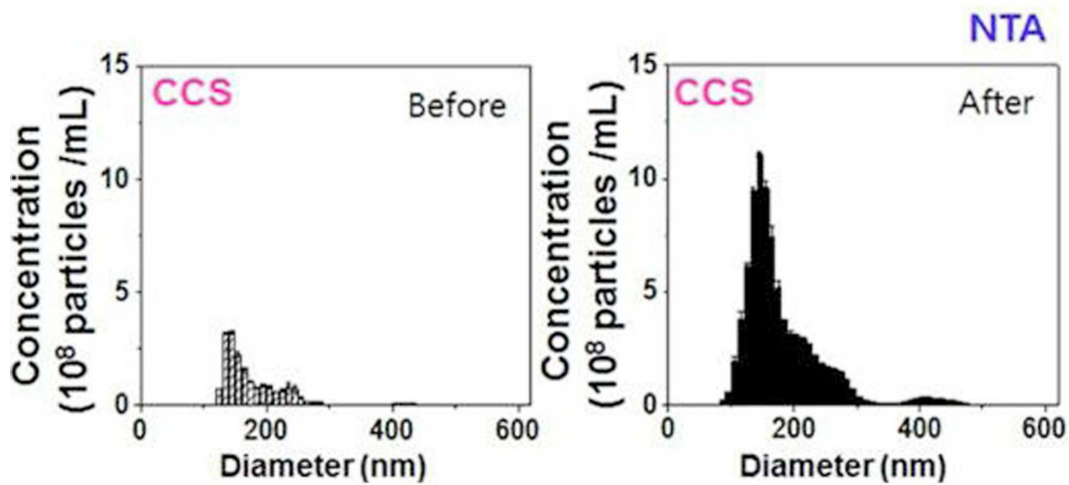
도면8b



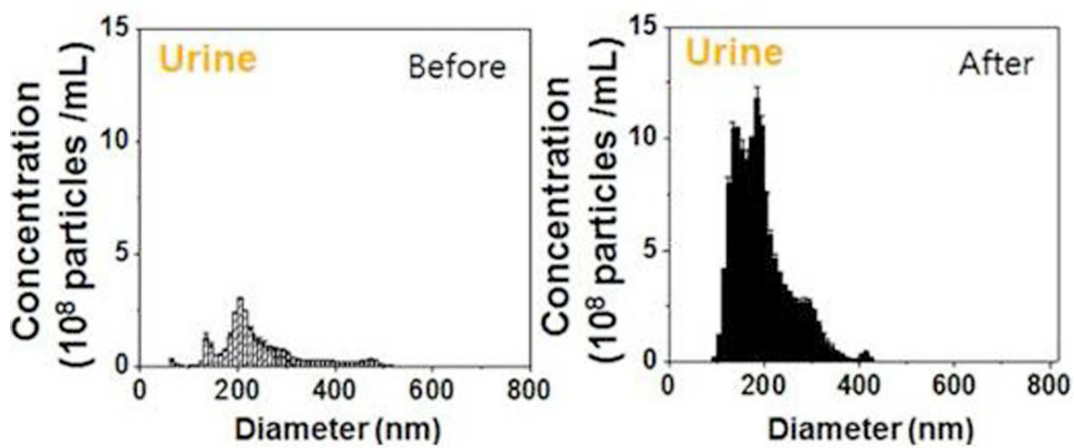
도면8c



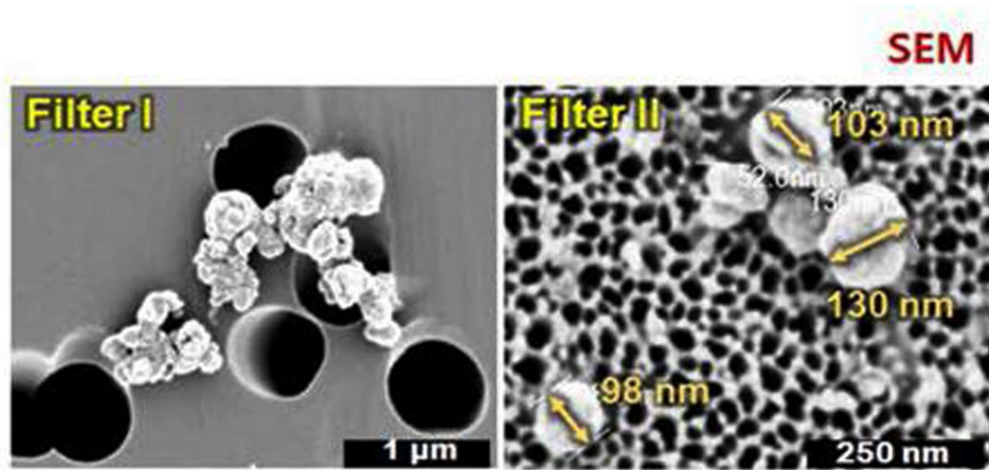
도면9a



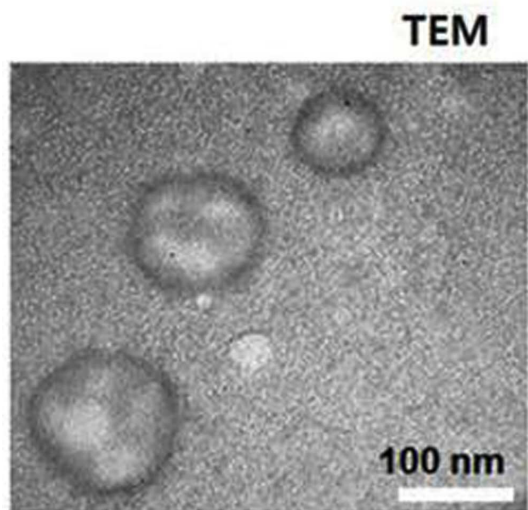
도면9b



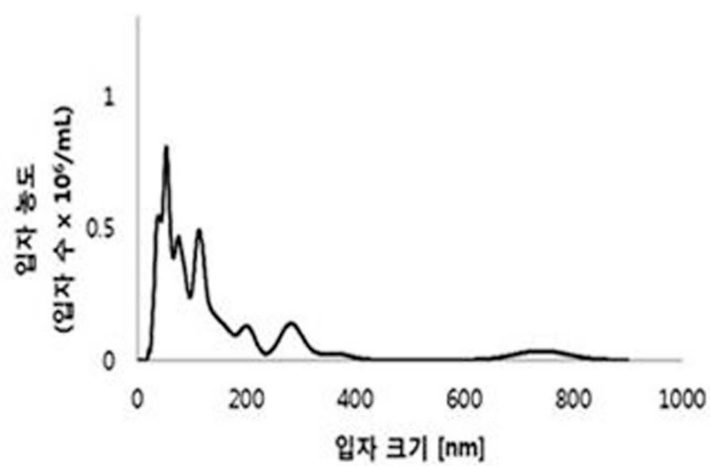
도면9c



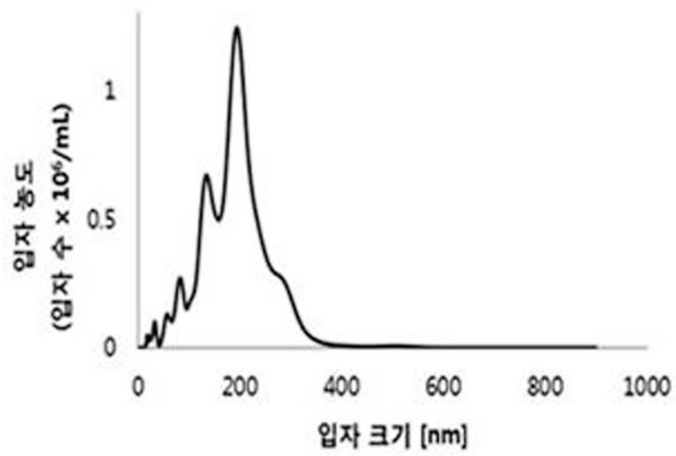
도면9d



도면10a



도면10b



도면11

