



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0101491  
(43) 공개일자 2022년07월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12M 1/00 (2006.01) C12M 1/12 (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01) C12M 3/06 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12M 47/02 (2013.01)

C12M 23/16 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0003571

(22) 출원일자 2021년01월11일

심사청구일자 2021년01월11일

(71) 출원인

울산과학기술원

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

(72) 발명자

주진명

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

김수현

울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50

(74) 대리인

리엔목특허법인

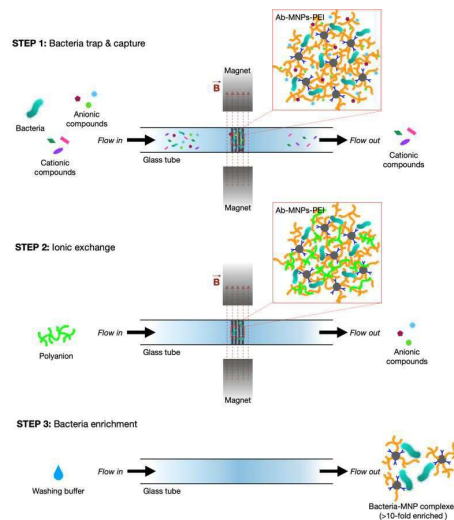
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 박테리아를 분리하기 위한 분리 시스템 및 이를 이용한 분리 방법

(57) 요약

박테리아를 분리하기 위한 분리 시스템 및 이를 이용한 분리 방법에 관한 것이다. 일 양상에 따른 방법은 폴리에틸렌이민을 접합한 자성 나노 입자(magnetic nanoparticles)를 사용함으로써 부유 자성 멤브레인을 유체 채널 내에 형성 함으로써 시료 내 존재하는 병원성 박테리아만을 특이적으로 분리 및 농축할 수 있다. 또한 일 양상의 박테리아 분리 방법을 이용하면 하루 이상으로 오래 걸리고 비용이 많이 소요되며 그 과정이 복잡한 문제를 가지는 종래의 미생물 분리 및 검출 방법 대비 신속하고 간편하게 시료 내 병원성 박테리아가 적은 경우에도 효과적으로 분리 및 검출이 가능하다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**C12M 25/02** (2013.01)

**C12M 25/16** (2013.01)

**C12M 41/44** (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711115134

과제번호 2020R1C1C1006081

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)

연구과제명 면역 미세환경 모니터링 및 급성 이식 거부 반응 조기 진단을 위한 생체 삽입형 마

이크로 바이오칩 개발

기 여 율 7/10

과제수행기관명 울산과학기술원

연구기간 2020.03.01 ~ 2021.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711119911

과제번호 2020R1A4A3078645

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 집단연구지원(R&D)

연구과제명 생분해성 포토닉 소재 기반 조직 재생 제어 및 모니터링 연구실

기 여 율 3/10

과제수행기관명 한양대학교

연구기간 2020.07.01 ~ 2021.05.31

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

유체가 흐를 수 있는 채널;

1 이상의 주입구;

1 이상의 유출구;

상기 유체 내 포함된 박테리아를 포집하기 위한 자성 나노 입자(magnetic nanoparticles);

상기 채널에 자기장을 형성하기 위한 2개 이상의 자석을 포함하고,

유체를 채널을 통해 상기 자기장이 형성된 구역에 흐르게 하여, 상기 자성 나노 입자가 채널 내 자기장에 의해 정렬하여 자성 나노 입자 멤브레인을 형성하는, 박테리아 분리 시스템.

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, 2개 이상의 자석은 5mm 내지 100mm의 간격으로 이격되어 설치되는 것인 박테리아 분리 시스템.

#### 청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 채널의 내부 직경은 0.1 mm 내지 20mm인 것인 박테리아 분리 시스템.

#### 청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 자성 나노 입자는 폴리디알릴디메틸암모늄 클로라이드(polydiallyldimethylammonium chloride), 폴리아크릴산 나트륨염(Polyacrylic Acid Partial Sodium Salt) 및 폴리아크릴산 암모늄염(polyacrylic acid ammonium salt), 및 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine :PEI)으로 이루어진 고분자 전해질로부터 선택된 1종 이상 선택된 1종 이상을 접합시킨 것인 박테리아 분리 시스템.

#### 청구항 5

청구항 4에 있어서, 상기 자성 나노 입자는 박테리아에 특이적으로 결합하는 항체를 더 부착된 것인 박테리아 분리 시스템.

#### 청구항 6

청구항 4에 있어서, 상기 폴리에틸렌이민은 분자량이 500 내지 300k인 것인 박테리아 분리 시스템.

#### 청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 자성 나노 입자는 병원성 박테리아인 것인 박테리아 분리 시스템.

## 청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 나노 입자 멤브레인은 기공 크기가  $0.1\mu\text{m}$  내지  $2.0\mu\text{m}$ 인 것인 박테리아 분리 시스템.

## 청구항 9

유체가 흐를 수 있는 채널의 외부에 자기장을 인가하여 채널의 내부에 자성 나노 입자로 이루어진 부유 자성 나노 입자 멤브레인을 형성하는 단계;

상기 채널을 통해 박테리아를 포함하는 시료를 이동시켜 시료에 포함된 박테리아를 자성 나노입자에 결합시켜 포집하는 단계;

음전해질 고분자(Polyanion: PAA) 를 주입하여 이온 교환 과정(ionic exchange)을 수행하는 단계; 및

채널에서 박테리아가 포집된 자성 나노입자를 배출하는 단계를 포함하는 박테리아의 분리 및 검출하는 방법.

## 청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 음전해질 고분자(Polyanion: PAA) 는 폴리(소듐 스티렌 설포네이트)(PSS)인 것인 방법.

## 청구항 11

청구항 9에 있어서, 시료를  $0.1\text{ml}/\text{min}$  내지  $10.0\text{ml}/\text{min}$ 의 유속으로 투입하는 것인 방법.

## 청구항 12

청구항 9에 있어서, 상기 박테리아는 크기가  $1.0\mu\text{m}$  내지  $2.0\mu\text{m}$ 인 것인 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 박테리아를 분리하기 위한 분리 시스템 및 이를 이용한 분리 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 1940년대부터 비병원성 대장균과 혈청형이 다른 병원성 대장균이 밝혀지기 시작했는데 지금까지 그 병원 인자와 발병 기작에 따라 장출혈성 대장균 (enterohemorrhagic E. coli, EHEC), 장관병원성 대장균 (enteropathogenic E. coli, EPEC), 장관독소원성 대장균 (enterotoxigenic E. coli, ETEC), 장관부착성대장균 (enteroaggregative E. coli, EAEC), 장관조직침입성 대장균 (enteroinvasive E. coli, EIEC) 등 5 종류로 분류된다. 그 중에서도 장관출혈성대장균 감염증은 주로 미국과 일본을 비롯한 선진국에서 발생하는 식품매개성 질환으로서 합병증인 용혈성 요독 증후군을 일으켜 심한 경우 사망에 이르는 질환이다.

[0003] 병원성 대장균은 환자의 검체에서 동정하고 분리할 때 비병원성 대장균과 구분이 어려워서 고전적인 생화학적인 방법으로는 힘든 면이 있다. 따라서 독소유전자를 검출하는 PCR 방법이나 항원-항체반응을 이용한 면역학적인 방법이 주로 사용되고 있다. 하지만 면역학적인 방법은 비용이 많이 든다는 단점이 있어서 주로 PCR 방법을 많이 사용하고 있다.

[0004] 한편, 종래 감염성 질환을 진단하기 위해서는 감염의 원인인 미생물 및 박테리아를 검출하기 위해 세포배양법 또는 유전자 검출법을 사용하였다. 그러나, 이들 방법은 시간이 하루 이상으로 오래 걸리고 비용이 많이 소요되며 그 과정이 복잡한 문제가 있다.

[0005] 따라서, 빠른 시간 내에 저비용으로 간편하게 병원성 대장균을 시료로부터 분리하여, 다양한 병원성 및 감염성 질환을 진단 및 검출하는 방법을 연구할 필요성이 있다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0006] 일 양상은 박테리아를 포집하기 위한 박테리아 분리 시스템을 제공한다.

[0007] 다른 양상은 상기 시스템을 이용하여 박테리아를 분리 및 검출하는 방법을 제공한다.

### 과제의 해결 수단

[0008] 일 양상은 유체가 흐를 수 있는 채널; 1 이상의 주입구; 1 이상의 유출구; 상기 유체 내 포함된 박테리아를 포집하기 위한 자성 나노 입자(magnetic nanoparticles); 상기 채널에 자기장을 형성하기 위한 2개 이상의 자석을 포함하고, 유체를 채널을 통해 상기 자기장이 형성된 구역에 흐르게 하여, 상기 자성 나노 입자가 채널 내 자기장에 의해 정렬하여 자성 나노 입자 멤브레인을 형성하는, 박테리아를 포집하기 위한 박테리아 분리 시스템을 제공한다.

[0009] 본 명세서에서, 용어 "자성 나노 입자(magnetic nanoparticles)"는 자력에 반응하는 자성을 띤 미세입자를 의미하나, 자성을 가지고 있으며, 세포에 독성을 주지 않고 세포에 의하여 용이하게 흡수될 수 있는 입자이면 어느 것이나 포함할 수 있다. 구체적으로, 상기 자성 나노 입자는 철(Fe), 니켈(Ni), 코발트(Co), 망간(Mn), 비스무스(Bi), 아연(Zn), 스트론튬(Sr), 란타넘(La), 세륨(Ce), 프라세오디뮴(Pr), 네오디뮴(Nd), 프로메튬(Pm), 사마륨(Sm), 유로퓸(Eu), 가돌리늄(Gd), 테르븀(Tb), 디스프로슘(Dy), 홀름(Ho), 에르븀(Er), 툴륨(Tm), 이테르븀(Yb), 루테튬(Lu), 구리(Cu), 은(Ag), 금(Au), 카드뮴(Cd), 수은(Hg), 알루미늄(Al), 갈륨(Ga), 인듐(In), 탈륨(Tl), 칼슘(Ca), 바륨(Ba), 라듐(Ra), 백금(Pt), 및 납(Pd)으로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상의 자성 원소를 포함할 수 있다.

[0010] 상기 자성 나노입자는 산화되거나 표면 개질된 것일 수 있다. 구체적으로, 철은 산화되어 산화철 형태일 수 있다. 상기 표면 개질은 고분자전해질(polyelectrolyte)을 결합 또는 접목(graft)시킨 표면 개질, 금속에 의한 표면 개질, 카르복시기나 아민기와 같은 작용기에 의한 표면 개질, 스트렙타비딘, 아비딘, 면역글로불린류, C 반응성 단백질(C-reactive protein: CRP)과 만노오스 결합 렉틴(mannose binding lectin)을 포함하는 옉소닌(opsonin), 보체 단백질과 같은 단백질에 의한 표면 개질, 탄수화물에 의한 표면 개질, 폴리머에 의한 표면 개질, 지질에 의한 표면 개질일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 개질에 의해 자성 입자가 안정화될 수 있으며, 부유 자성 멤브레인을 잘 형성할 수 있으며, 음전하를 띠는 병원성 박테리아를 잘 포집할 수 있고 항체를 잘 결합할 수 있다.

[0011] 상기 자성 나노입자는 병원성 물질, 일 예로 박테리아, 더욱 구체적으로는 병원성 박테리아가 결합가능한 자성 나노입자일 수 있고, 이의 표면 또는 내부에 세균과 결합할 수 있는 기능이 형성되어 상기 박테리아에 결합될 수 있다. 일 양상에 있어서, 상기 박테리아에 결합될 수 있는 기능기는 박테리아에 특이적으로 결합가능한 항체 들일 수 있다. 상기 병원성 박테리아, 구체적으로 대장균에 결합할 수 있는 다양한 항체들은 공지의 항체를 사용할 수 있다. 상기 나노 입자의 표면에 세균이 결합 가능한 항체를 형성하는 방법은, 본 발명에서 전체로 참고 문헌으로 도입되는 Jun ha 등은 Biomaterials32 (2011) 1177~1184의 "A multicomponent recognition and separation system established via fluorescent, magnetic, dualencoded multifunctional bioprobes" 논문에 기재되어 있다. 박테리아와 자성 나노입자의 결합은 항원-항체 결합으로 이루어질 수 있으며, 하나의 박테리아가 다수의 자성입자들에 결합될 수 있다.

[0012] 상기 자성 나노 입자는 병원성 물질이 하나 이상의 나노 입자들에 부착될 수 있도록 병원성 박테리아 보다 작은 미세 입자들이 사용될 수 있다. 본 발명의 실시예에 있어서, 예를 들면, 1~10000 나노미터, 50~1000 나노미터, 또는 하나의 병원성 물질이 여러 개의 입자들에 결합될 수 있도록 100~500 나노미터 크기를 가지는 것이 바람직하다.

[0013] 상기 자성 나노 입자는 공지된 방법을 통해 제조해서 사용할 수 있고, 상업적으로 구입해서 사용할 수도 있다.

[0014] 상기 자성 나노 입자는 그대로 사용되거나 적절한 용매 (예컨대, 버퍼 (PBS, saline, Tris-buffered saline 등) 등)에 분산 또는 현탁된 상태로 사용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [0015] 상기 자성 나노 입자는 작은 입자 크기를 가짐으로써 개별 입자가 단일자기구역을 갖게 되고, 이로 인해 외부 자기장이 존재 시에만 자성의 특성을 갖는 초상자성(superparamagnetism)을 나타낸다. 초상자성을 나타내는 자성 나노 입자는 외부 자기장 인가에 의해 간단하고 빠르게 분리될 수 있다. 자기장 인가에 의한 자성 입자의 분리는 pH, 온도, 이온 등과 같은 주변 환경에 영향을 받지 않으므로 안정성 및 민감성이 우수하다.
- [0016] 상기 자성 나노 입자는 박테리아와 상호작용, 예컨대 포획, 부착, 유입, 함입, 또는 봉입될 수 있는 입자 크기를 갖고 자성을 띠는 모든 입자들 중에서 선택될 수 있다.
- [0017] 상기 채널의 너비와 높이는 유체의 종류 및 분리 목적 등에 따라 통상의 기술자가 적절히 조절할 수 있다. 예를 들어 채널의 너비는 0.1 mm 내지 20 mm, 채널의 높이는 1  $\mu$ m 내지 100 mm일 수 있다. 상기 채널에 흐르는 유체의 유속 또한 유체의 종류 및 분리 목적 등에 따라 통상의 기술자가 적절히 조절할 수 있다. 예를 들어 유속은 0.5  $\mu$ L/min 내지 10 mL/min일 수 있다.
- [0018] 상기 분리 시스템에는 부유 자성 나노 입자 멤브레인을 형성하기 위하여 자기장을 유로의 외부에 위치하는 2개 이상의 자석에 의해서 인가될 수 있으며, 구체적으로 자기장은 별도의 외부 전원 없이 지속적으로 자기장을 인가할 수 있도록 영구 자석을 사용할 수 있다.
- [0019] 아울러, 상기 2개 이상의 자석은 자기장이 상쇄되는 것을 방지할 수 있도록, 소정 간격인 임계 거리로 이격하여 설치할 수 있으며, 일정 간격으로 이격되어 설치될 수 있으나, 예를 들면 5mm 내지 100mm, 10mm 내지 80mm, 15mm 내지 50mm, 20mm 내지 40mm, 22mm 내지 36mm일 수 있다.
- [0020] 상기 채널은 시료에 포함된 병원성 물질과 자성에 의해서 유로내부에 부유 자성 나노 입자 멤브레인이 효율적으로 생성될 수 있는 직경을 가질 수 있다. 상기 폭은 관형 유로의 경우 내부 직경, 평판형 유로의 경우 평판 사이의 최단 거리를 의미할 수 있다. 일 양상에 있어서, 상기 채널의 직경은 예를 들면 0.1 mm 내지 20mm, 0.5mm 내지 10mm, 1mm 내지 5mm일 수 있다. 상기 채널의 직경이 0.1mm보다 좁을 경우 시료의 통과시간이 오래 걸려 신속한 분리가 어려울 수 있고, 20mm 보다 넓은 경우 시료의 흐름이 빨라져 병원성 박테리아만의 특이적인 포획이 어려울 수 있다.
- [0021] 상기 고분자 전해질은 고체 고분자 전해질(solid polymer electrolytes) 또는 겔형 고분자 전해질(gel polymer electrolytes)일 수 있으나, 예를 들면 폴리디알릴디메틸암모늄 클로라이드(polydiallyldimethylammonium chloride), 폴리아크릴산 나트륨염(Polyacrylic Acid Partial Sodium Salt) 및 폴리아크릴산 암모늄염(polyacrylic acid ammonium salt), 및 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine :PEI)으로 이루어진 고분자 전해질로부터 선택된 1종 이상일 수 있다. 구체적인 일 양상에 있어서, 폴리에틸렌이민을 사용하였으며, 상기 폴리에틸렌이민은 분자량이 예를 들면 500 내지 300k, 800 내지 280k, 10k 내지 270k, 15k 내지 260k, 15k 내지 250k, 20k 내지 200k, 20k 내지 150k, 25k 내지 100k, 20k 내지 80k, 20k 내지 50k, 20k 내지 30k, 또는 25k일 수 있다. 상기 폴리에틸렌이민의 분자량이 300k보다 커지는 경우 생성되는 자성 나노 입자 멤브레인의 기공의 크기가 너무 작아져 원하는 타겟 박테리아가 막의 기공을 통과하지 못해 시료로부터 분리할 수 없으며, 분자량이 500보다 작아지는 경우 자성 나노 입자 멤브레인의 기공의 크기가 너무 커져 원하는 타겟 박테리아만의 특이적인 포집이 어려울 수 있다.
- [0022] 상기 박테리아는 병원성 박테리아 또는 병원성 단백질 등을 지칭할 수 있으며, 예를 들면 음전하를 띠는 병원성 박테리아일 수 있다. 일 양상에 있어서, 병원성 박테리아는 예를 들면, 대장균, 살모넬라균, 황색포도상구균, 장염비브리오, 리스테리아균, 병원대장균, 장관출혈성 대장균 O157, 캄필로박터균, 바실러스세레우스균, 웰슈균, 보툴루리스균로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0023] 일 양상에 있어서, 상기 병원성 단백질은 인체에서 질병을 유발하거나 질병으로 인해 발생할 수 있는 단백질들일 수 있으며, 일 예로 alpha-fetoprotein(AFP), prostate-specific antigen (PSA), Interleukin-5, Interleukin-6, carcinoembryonic antigen (CEA)일 수 있다.
- [0024] 상기 시스템에 형성되는 자성 나노 입자 멤브레인은 기공의 크기가 예를 들면 0.1 $\mu$ m 내지 2.0 $\mu$ m, 0.3 $\mu$ m 내지 2.0  $\mu$ m, 또는 0.5 $\mu$ m 내지 2.0 $\mu$ m, 0.5 $\mu$ m 내지 1.5 $\mu$ m 일 수 있다.
- [0025] 다른 양상은 유체가 흐를 수 있는 채널의 외부에 자기장을 인가하여 채널의 내부에 자성 나노 입자로 이루어진 부유 자성 나노 입자 멤브레인을 형성하는 단계; 상기 채널을 통해 박테리아를 포함하는 시료를 이동시켜 시료에 포함된 박테리아를 자성 나노입자에 결합시켜 포집하는 단계; 음전해질 고분자(Polyanion: PAA)를 주입하여 이온 교환 과정(ionic exchange)을 수행하는 단계; 및 채널에서 박테리아가 포집된 자성 나노입자를 배출하는

단계를 포함하는 박테리아의 분리 및 검출하는 방법을 제공한다.

- [0026] 본 명세서에서, 상기 "시료(sample)"는 생체 시료 또는 음식 시료일 수 있다. 상기 생체 시료는 사람을 포함하는 포유동물로부터 분리된 체액 (예를 들어, 혈액, 혈장, 혈청, 타액, 객담 또는 소변), 기관, 조직, 분획, 및 세포일 수 있으나 이에 제한되지는 않는다. 또한, 생체 시료로부터의 추출물, 예를 들어, 생물학적 유체 (예를 들어, 혈액 또는 소변)으로부터의 항체, 단백질 등을 포함할 수 있다. 상기 시료는 면역세포를 포함하는 것이 라면 이에 제한되는 것은 아니나, 예를 들어 혈액, 소변, 대변, 타액, 림프액, 뇌척수액, 활액, 낭종액(cystic fluid), 복수, 간질액, 또는 안구액(ocular fluid)을 포함할 수 있다.
- [0027] 상기 방법은 음전해질 고분자(Polyanion)(PAA) 을 첨가하는 이온 교환 반응을 통하여 자성 나노 입자에 포집된 음전하를 띠는 물질과 교환시킬 수 있다. 상기 방법에 있어서 음전해질 고분자(Polyanion)(PAA)는 음전하를 강 하게 띠는 고분자면 제한되지 않으나, 예를 들면 폴리아크릴 산(polyacrylic acid) 또는 폴리메타크릴산 (poly(methacrylic acid)(PMA), 및 폴리(소듐 스티렌 설프네이트)(poly(sodium styrene sulfonate: PSS) 로 이 루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0028] 상기 방법은 시료로부터 분리된 박테리아를 추가적으로 검출하는 단계를 더 포함할 수 있다. 상기 검출하는 단 계는 표적 물질인 병원성 박테리아를 검출하기 위한 검출 물질을 통하여, 시료로부터 분리된 자성 나노 입자로 부터 상기 표적 물질인 병원성 박테리아의 검출을 수행할 수 있다. 상기 표적 물질의 검출은 당해 기술분야에 통상의 지식을 가진 자가 공지된 기술을 이용하여 실시할 수 있다. 예를 들어, 표적 물질이 핵산인 경우, RT-PCR, RNase 보호 분석법(RNase protection assay: RPA), 노던 블롯팅(Northern blotting), 또는 DNA 칩 등을 이용하여 검출할 수 있고, 표적 물질이 단백질인 경우, 웨스턴블롯팅, ELISA(enzyme linked immunosorbent assay), 방사선 면역분석(Radioimmunoassay: RIA), 방사 면역 확산법(radioimmunodiffusion), 오우크테로니 (Ouchterlony) 면역 확산법, 로켓(rocket) 면역전기영동, 조직면역 염색, 면역침전 분석법 (Immunoprecipitation Assay), 보체 고정 분석법(Complement Fixation Assay), FACS, 및 단백질 칩(protein chip) 등을 수행할 수 있다.
- [0029] 상기 방법을 통하여 분리 또는 검출할 수 있는 박테리아는 크기가 예를 들면 1.0  $\mu\text{m}$  내지 2.0  $\mu\text{m}$ 일 수 있다.
- [0030] 상기 방법에 있어서, 채널을 통해 박테리아를 포함하는 시료를 이동시키는 경우, 상기 시료는 예를 들면, 0.1ml/min 내지 10.0ml/min, 0.5ml/min 내지 9.0ml/min, 또는 0.8ml/min 내지 8.0ml/min 의 유속으로 투입되는 것일 수 있다.
- [0031] 또한 상기 방법을 활용하여 생물학적 시료로부터 병원성 박테리아를 검출하여 개체가 병원성 박테리아에 감염되 었는지를 진단하기 위한 정보제공 방법에서 활용할 수 있다.

### 발명의 효과

- [0032] 일 양상에 따른 방법은 폴리에틸렌이민을 접합한 자성 나노 입자(magnetic nanoparticles)를 사용함으로써 부유 자성 멤브레인을 유체 채널 내에 형성함으로써 시료 내 존재하는 병원성 박테리아만을 특이적으로 분리 및 농축 할 수 있다. 또한 일 양상의 박테리아 분리 방법을 이용하면 하루 이상으로 오래 걸리고 비용이 많이 소요되며 그 과정이 복잡한 문제를 가지는 종래의 미생물 분리 및 검출 방법 대비 신속하고 간편하게 시료 내 병원성 박 테리아가 적은 경우에도 효과적으로 분리 및 검출이 가능하다.

### 도면의 간단한 설명

- [0033] 도 1은 일 양상의 박테리아 포획 및 농축방법을 단계별로 도식화하여 나타낸 도이다.
- 도 2는 박테리아 분리 시스템 내 위치하는 2개의 자석 간 임계 거리를 확인하기 위한 실험으로 채널의 내부 직 경을 1mm(도 2A) 및 5mm(도 2B)로 달리한 경우에 확인한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3은 병원성 박테리아를 포획하기 위한 부유 자성막의 형성을 위한 자성 나노 입자의 특성 확인한 결과를 나 타낸 것으로, 도 3a 및 3b는 자성 나노 입자를 주사전사현미경(Scanning electron microscopy)을 이용하여 확 인한 것이다. 스케일 바는 도 3a에서는 500nm, 도 3b는 200nm를 나타낸다.
- 도 3c는 MNP 및 PEI-접합된 MNP(MNP-PEI)의 유체역학적 입자의 직경 및 다분산 지수(polydispersity index :PDI)를 측정한 결과를 나타낸 도이다.
- 도 3d는 MNP 및 PEI-접합된 MNP(MNP-PEI)의 제타 포텐셜을 확인한 결과를 나타낸 도이다.

도 3e는 PEI-결합된 MNP의 구조를 나타낸 도이다.

도 4는 800, 25k 및 270k의 PEI를 접합한 MNPs-PEI 멤브레인의 카보실레이트-변형된 PS 비드 및 아민-변형된 PS 비드의 크기에 따른 누적 여과액을 측정된 결과를 나타낸 도이다.

도 5는 25k의 분자량의 PEI(도 5A) 및 270k 분자량(도 5B)의 PEI를 포함한 MNPs-PEI 멤브레인에서 이온 교환 과정을 통한 누적 여과액을 측정된 결과를 나타낸 도이다.

도 6은 Ab-MNPs-PEI (25k) 멤브레인을 활용하여 박테리아-특이적 포획을 확인한 결과를 나타낸 도(도 6A) 및 세균 포획 효율에 대한 유속의 영향을 추가로 확인하기 위하여 유리관의 내부 직경을 각각 1mm(도 6B) 및 5mm(도 6C)에서 확인한 결과를 나타낸 도이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 본 발명의 여러 실험에 및 실시예들의 각각 특징들이 부분적으로 또는 전체적으로 서로 결합 또는 조합 가능하며, 당업자가 충분히 이해할 수 있듯이 기술적으로 다양한 연동 및 구동이 가능하며, 각 실험에 및 실시예들이 서로에 대하여 독립적으로 실시 가능할 수도 있고 연관 관계로 함께 실시 가능할 수도 있다.

[0035] 구성요소를 해석함에 있어서, 별도의 명시적 기재가 없더라도 오차 범위를 포함하는 것으로 해석한다.

[0036] 본 발명의 실험에 및 실시예를 설명하기 위한 도면에 개시된 형상, 크기, 비율, 각도, 개수 등은 예시적인 것이므로 본 발명이 도시된 사항에 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명은 생략한다. 본 명세서 상에서 언급된 '포함한다', '갖는다', '이루어진다' 등이 사용되는 경우 '~만'이 사용되지 않는 이상 다른 부분이 추가될 수 있다. 구성요소를 단수로 표현한 경우에 특별히 명시적인 기재 사항이 없는 한 복수를 포함하는 경우를 포함한다.

[0037] 이하 실험에 및 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실험에 및 실시예는 하나 이상의 구체예를 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실험에 및 실시예에 한정되는 것은 아니다.

### [0038] 실험예 1. PEI를 도입한 자성 나노 입자 (magnetic nanoparticles : MNP)의 제조

[0039] 자성 나노 입자 (MNP)를 원 포트 수열 반응(one-pot hydrothermal reaction)에 의해 합성하였다. 간단히, 4mmol의 FeCl<sub>3</sub>, 12mmol의 요소 및 8mmol의 소듐 시트레이트를 80ml 탈 이온수에 용해시켰다. 이후 7.5 g/L의 폴리아크릴아미드를 격렬하게 교반하면서 첨가시켰다. 생성된 용액을 테플론 라이닝된(Teflon-lined) 오토 클레이브로 옮기고, 200 °C에서 12 시간 동안 가열하였다. 상온으로 자연 냉각시킨 후 자성 나노 입자를 NdFeB 자석으로 자기 분리하여 수집하고 물과 에탄올로 여러 번 세척하였다. 합성된 MNP는 표면에 시트레이트 리간드를 가지고 있으므로, 결합한 외부 자기장에 의해 형성된 부유 막을 생성하기 위하여 폴리에틸렌이민(polyethyleneimine : PEI)과 추가로 결합시켰다. 800, 25k 및 270k으로 이루어진 다양한 분자량의 PEI를 적용하여 박테리아 여과를 위해 원하는 기공 크기의 가능한 멤브레인 구조를 형성하였다. 대장균 특이적인 포획을 위한 항 대장균 항체로 MNP를 기능화하기 위하여, 10mg의 MNP를 먼저 1-에틸-3-(3-(디메틸 아미노)프로필)카르보디이미드(EDC) 및 N-하이드록시숙신이미드(NHS)로 제조업체의 프로토콜에 따라 수성 매체에서 2 시간 동안 처리하였다. 탈 이온수로 세척한 후 50 µg의 항 E.coli 항체를 공유 결합(Ab-MNPs)을 위하여 MNP 용액에 첨가하였다. 원치 않는 종의 비특이적 결합을 방지하기 위하여 0.2 mg/ml의 TWEEN-20을 Ab-MNP에 처리하였다.

### [0040] 실험예 2. 유리관 내부에서의 MNPs-PEI 멤브레인의 제조

[0041] 각각 내경이 1mm 및 5mm인 두 종류의 유리관을 먼저 탈 이온수로 세척하고, 0.5mg/ml의 TWEEN-20으로 전처리하여 내벽에 대한 비특이적 결합으로 인한 한계를 극복하였다. 유리관을 두 개의 NdFeB 자석 사이에 단단히 위치시켰고 MNPs-PEI (또는 Ab-MNPs-PEI) 용액으로 채웠다. 이후, MNP를 자기장을 따라 정렬되어 유리관 내부에 떠다니는 MNPs-PEI 멤브레인으로 제조하였다. 정렬된 구조를 위한 적절한 자기장 강도를 유지하기 위하여 자석과 유리관 사이의 특정 거리가 필요한 것을 확인하였다.

### [0042] 실험예 3. MNPs-PEI 멤브레인 특징 확인

[0043] 폴리스티렌(PS) 비드를 Sigma-Aldrich에서 구입하고, 막 공극 크기 추정을 위한 표준 모델로 사용하였다. 10 µg/ml의 PS 비드 용액을 유리관에 도입하고 누적 여과액을 PS 비드의 형광 또는 흡광도를 측정하여 결정하였다.

[0044] 크기와 표면 전하에 따라, PS 비드를 단계 1에서 다른 정도의 여과를 보여주므로, 분자량이 다른 다양한 PEI로

생성된 부유 멤브레인의 다공성 구조와 유연성을 추정할 수 있었다. 또한 단계 2로 PS 비드 포획 MNPs-PEI 멤브레인에 150  $\mu\text{g/ml}$ 의 폴리(소듐 스티렌 설포네이트)를 첨가하여 이온 교환을 유도하였다.

[0045] **실험예 4. Ab-MNPs-PEI를 사용한 박테리아의 포획 및 농축**

[0046] 대장균 (E.coli)를 37  $^{\circ}\text{C}$ 의 LB 브로스에서 배양하고 이의 농도를 UV/vis 분광 광도계 (NanoDrop 2000, ThermoFisher Scientific)를 사용하여 세포 수 및 해당하는 광학 밀도 (OD) 측정에 의해 결정하였다. 대장균을 확인하고 OD 측정에 해당하는 박테리아 농도를 정량화하기 위해 박테리아를 용해하여 Ab-MNPs-PEI에서 게놈 DNA를 추출하였다. QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen)를 제조업체의 프로토콜에 따라 사용하였고, 추출된 DNA의 농도 또한 UV / vis 분광 광도계, 겔 전기 영동 및 실시간 RT-qPCR을 사용하여 측정하였다. 대장균 5  $\mu\text{L}$ 의 게놈 DNA를 2x 브릴리언트 SYBR 녹색 qPCR 마스터 믹스, 각 프라이머 25  $\mu\text{mol}$  및 DNA 템플릿 5  $\mu\text{L}$ 를 포함하여 총 부피 20  $\mu\text{L}$ 로 증폭하였다. SYBR Green 신호가 있는 증폭된 결과물을 AriaMx Real-Time PCR System (Agilent)을 사용하여 수득하였다.

[0047] **실시예 1. 연속 유체 시스템에서 병원성 박테리아를 포획하기 위한 부유 자성막의 형성과 이를 통한 병원성 박테리아의 포획방법의 확인**

[0048] 부유 자성 막을 형성하고 유체 채널에서 병원성 박테리아를 포획하기 위하여, 유리관의 반대쪽에 두 개의 NdFeB 자석을 배치한 경우, 그 사이에 선형 자기장이 생성되는 것을 확인하고, 이를 이용한 박테리아 포획 및 농축방법을 도 1에 도식화하였다.

[0049] 구체적인 방법은 다음과 같다. 단계 1에서, 박테리아가 포함된 생물학적 복합 매체를 자성 멤브레인으로 만든 유리관에 도입하였다. 박테리아를 포함한 음전하를 띠는 중은 PEI의 반발력과 물의 항력으로 인해 양이온 화합물이 멤브레인을 통해 여과되는 동안 멤브레인에 남는다. 항체에 특이적으로 결합된 박테리아 이외 음전하를 띠는 중을 제거하기 위해 폴리(소듐 스티렌 설포네이트) (PSS)와 같은 강한 폴리 음이온을 유리관에 주입하여 정전기적으로 결합된 음이온 화합물을 단계 2에서 방출시킨다. 마지막으로, 자석을 제거하고 박테리아-MNP 복합체를 막을 통과한 원래 샘플의 부피에 비해  $\sim 1/10$  내지  $1/100$  부피의 수용액을 첨가하여 더 높은 배수의 순서로 농축시켰다(단계 3). 표적 박테리아의 식별 및 정량화는 OD 측정, 겔 전기 영동 및 중합 효소 연쇄 반응 (PCR)을 포함한 기존 다운 스트림 분석에서 수행하였다.

[0050] **실시예 2. 병원성 박테리아를 포획하기 위한 부유 자성막의 형성을 위한 자석 간 임계 거리의 확인**

[0051] MNP의 부유 막 구조를 효율적으로 형성하기 위하여, 자석을 유리관에서 일정 거리를 유지시켰다. 자석이 유리관에 닿았을 때 유리관의 내부 표면 근처에서 MNP를 당기는 강한 자기장으로 인해 MNP가 유리 벽에 달라붙는 것을 확인하였다. 이에 MNP가 낚시 그물처럼 유리관의 내부 공간 전체에 잘 정렬된 선형 자기장을 생성하기 위한 두 자석 사이의 임계 거리가 있음을 확인하는 실험을 수행하였고, 내부 직경을 각각 1mm 및 5mm로 한 임계 거리 확인 실험을 각각 도 2A 및 2B에 나타내었다.

[0052] 도 2A 및 2B에서 확인한 바와 같이, 유리관에서 균일한 부유 멤브레인 구조 형성을 위한 두 자석 사이의 최적 거리는 각각 내부 직경이 1mm 및 5mm 인 유리관에서 각각 22mm 및 36mm임을 확인하였다.

[0053] **실시예 3. 병원성 박테리아를 포획하기 위한 부유 자성막의 형성을 위한 자성 나노 입자의 특성 확인**

[0054] 자성 나노 입자를 테프론 라이닝 오토 클레이브에서 열수 반응에 의해 합성시켰다. 초 상자성 (superparamagnetic) 특성을 나타내는 각각의 MNP를 주사전사현미경(Scanning electron microscopy)을 이용하여 확인하고 이를 도 3a 및 3b에 확인하였다. 도 3a 및 3b에서 확인한 바와 같이, 각각의 MNP는 평균 직경이 17nm이고, 수백개의 산화철 나노 입자로 이루어진 것을 확인하였다. 상기 MNP의 클러스터된 구조는 개별 작은 나노 입자보다 액체의 흐름에서 더 강한 자기 반응을 효과적으로 유지하므로 안정적인 플로팅 멤브레인을 형성하는데 유용함을 확인하였다.

[0055] 각각 MNP 및 PEI-접합된 MNP(MNP-PEI)의 유체역학적 입자의 직경 및 다분산 지수(polydispersity index :PDI)를 측정하고, 이를 도 3c에 나타내었다. 도 3c에서 확인한 바와 같이, 평균 크기는 좁은 크기 분포(narrow size distribution)에 따라 210nm 임을 확인하였고, PDI <0.1임을 확인하였다. 합성된 MNP는 표면의 시트레이트 리간드로 인해 음전하를 띠고 폴리에틸렌민 (PEI)으로 기능화되어 외부 자기장 하에서 다공성 멤브레인 구조를 위한 양이온성-폴리머-결합된 MNP를 생성하는 것을 확인하였다. PEI-결합된 MNP (MNPs-PEI)의 유체역학적 입자의 직경과 PDI는 단쇄 PEI (분자량  $\sim 800$ )보다 더 높은 분자량 (25k 및 270k)의 PEI에서 크게 증가하는 것을 확인하였다. MNP 및 PEI-접합된 MNP(MNP-PEI)의 제타 포텐셜을 확인하였고, 이를 도 3d에 나타내었다. 도 3d에서 확인

한 바와 같이, 단쇄 PEI (분자량 ~800)보다 더 높은 분자량 (25k 및 270k)의 PEI에서 비슷한 제타 포텐셜이 나타나는 것을 확인하였다. 이는 이웃 MNP를 상호 연결하는 장쇄의 분지 PEI에 의해 유도된 잠재적 응집체 형성에 의하여 나타나는 것이다. 종합적으로, MNP의 구조적 네트워킹은 외부 자기장을 적용하여 안정적인 웹 모양의 멤브레인을 형성하는 데 유용하나, 다만 자기력의 강도가 높은 유속에서 멤브레인을 유지하기에 충분히 강하지 않기 때문에, PEI 결합한 기반의 MNP 구조적 네트워킹은 기계적 견고성뿐만 아니라 유동 항력에 대한 박테리아와 같은 표적을 포착하는 유연성도 제공하게 되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, PEI 결합된 MNP를 부유성 자성 멤브레인으로 이후 실시예에서 활용하였다. 아울러, PEI-결합된 MNP의 구조를 도 3e에 나타내었다.

**[0056] 실시예 4. PEI-접합된 MNP(MNP-PEI)에 있어서 최적 부유 자성 멤브레인 선정을 위한 PEI 분자량의 확인**

**[0057]** 다음으로, 폴리스티렌 (PS) 비드를 모델 입자로 사용하는 부유 자기 멤브레인의 포획 및 여과 능력을 확인하는 실험을 수행하였다. PEI의 분자량은 MNPs-PEI 막의 구조적 기능에 영향을 미치기 때문에 유동 물질을 포획하거나 여과할 수 있는지 여부에 관계없이 막 특성을 특성화하는 것이 매우 중요하다. 이에 따라, 최적 부유 자성 멤브레인을 제조하기 위한 PEI의 분자량을 800, 25k, 및 270k로 달리하고, 여과하는 폴리스티렌 비드의 크기를 각각 달리하여, 음이온성 입자의 대표로서 카복실레이트-변형된 PS 비드와 양이온성 입자의 대표로서 아민-변형된 PS 비드를 활용하고, 이의 누적 여과액을 확인하여 이를 확인한 결과를 도 4에 나타내었다.

**[0058]** 도 4에서 확인한 바와 같이, 분자량이 800인 MNPs-PEI를 통과하는 카복실레이트 변형 PS 비드 (PS-COOH)의 누적 여과액은 증가하는 비드 크기에 따라 약간 감소하지만 유의한 정도는 아닌 것으로 확인하였다. 이러한 결과는 800의 분자량을 가지는 MNPs-PEI의 겉보기 기공 크기가 2  $\mu\text{m}$ 보다 충분히 크다는 것을 나타내는 것임을 확인하였습니다. 이는 800의 분자량을 가지는 PEI의 단쇄 길이로 인해 발생하는 MNP의 막형성 네트워킹수준이 낮은 것을 의미한다. 그러나 25k의 MNPs-PEI와 270k의 MNPs-PEI에서 비드 크기가 0.5  $\mu\text{m}$ 를 초과한 경우, PS-COOH의 누적 여과액이 현저하게 감소하는 것을 확인하여, 이를 통한 분자량이 25k 및 270k인 경우, 멤브레인의 기공 크기가 당연히 2  $\mu\text{m}$  미만임을 확인할 수 있었다. 특히 270k의 MNPs-PEI 대부분의 멤브레인 기공 크기는 0.5  $\mu\text{m}$  미만임을 확인하였다.

**[0059]** 이를 검증하기 위해 MNPs-PEI 막에 아민 변형 PS 비드 (PS-NH<sub>2</sub>)를 첨가하였으며, 95 % 이상의 1.0 및 2.0  $\mu\text{m}$  크기인 PS-NH<sub>2</sub>가 25k의 크기로 된 MNPs-PEI를 통하여 여과되었다. 이와 같은 결과를 통하여 25k의 MNPs-PEI로 이루어진 멤브레인의 겉보기 기공 크기는 2.0  $\mu\text{m}$ 보다 크다는 것임을 확인하였다.

**[0060]** 따라서 0.5, 1.0 및 2.0  $\mu\text{m}$  크기의 PS-COOH 포획량은 PEI와의 정전기적 상호 작용으로 인한 것이지 멤브레인 기공의 크기에 의한 물리적 포획 때문이 아니라는 점을 확인할 수 있었다. 이에, 25k의 분자량을 가진 MNPs-PEI가 양이온성 화합물 (예 : PS-NH<sub>2</sub>)을 쉽게 여과하면서 여러 박테리아의 크기와 유사한 1.0 - 2.0  $\mu\text{m}$  크기의 음이온 종을 효율적으로 포획하기 때문에 박테리아를 효과적으로 포획하고 농축할 수 있음을 확인하였다. 이와 달리, 2.0  $\mu\text{m}$  크기의 PS-NH<sub>2</sub>에서는 약 40 %만이 270k의 MNPs-PEI를 통과할 수 있음을 확인하였다. 이를 통하여, PS-NH<sub>2</sub>와 270k의 MNPs-PEI 사이에 반발력이 가해질 수 있으므로 막 기공 크기가 충분히 크면 PS-NH<sub>2</sub>는 쉽게 여과되는 것임을 확인하였다.

**[0061]** 결과적으로, 박테리아 포획 및 농축을 위하여 부유 멤브레인을 구성하기 위하여 25k의 MNPs-PEI를 포함하여 사용하였다.

**[0062] 실시예 5. 포획된 박테리아의 농축을 위한 이온 교환 과정의 효율성 확인**

**[0063]** 부유 25k 분자량의 MNPs-PEI 멤브레인이 정전기적 상호 작용과 멤브레인의 겉보기 기공 크기로 인해 크기가 1.0  $\mu\text{m}$  이상인 음이온 종을 효율적으로 포획할 수 있음을 확인했으므로 이후, 표적 박테리아 이외의 원인으로 인해 위양성을 제거하고 타겟 박테리아 농축을 위하여, 항체 기능화 된 MNP를 사용하여 표적 박테리아를 특이적으로 포획하고 단단히 포획할 수 있는 부유 MNPs-PEI 막 (Ab-MNPs-PEI)을 만들 수 있다.

**[0064]** 이외에도 MNPs-PEI 멤브레인의 표면 전하를 보상하기 위해 강력한 음이온인 폴리(소듐 스티렌 설포네이트) (PSS)를 추가로 주입하는 경우, 타겟 박테리아만을 수득하면서 원치 않는 종을 방출할 수 있는지 확인하기 위한 이온 교환 과정을 수행하고, 이를 각각 25k의 분자량의 PEI 및 270k 분자량의 PEI에서 수행한 결과를 도 5A 및 도 5B에 나타내었다.

**[0065]** 도 5A에서 확인한 바와 같이, PSS 용액에 유입된 후, 정전기적 결합에 의하여 25k의 분자량을 가진 멤브레인에 포획되어 있는 PS-COOH는 거의 완전히 방출되어 막을 통과한 것을 확인할 수 있었다. 또한 도 5B에서 확인한 바와 같이, 270k의 분자량을 가진 MNPs-PEI 멤브레인은 2.0  $\mu\text{m}$  미만의 작은 기공으로 인하여, 이온 교환 과정을 통하여도 PS-COOH는 제한된 양만 방출 및 여과될 수 있음을 확인할 수 있었다. 따라서, 1.0 - 2.0  $\mu\text{m}$  크기의 타

겟 박테리아만을 효과적으로 분리하면서 효과적으로 축적시키기 위하여 분자량이 25k인 PEI를 활용한 MNPs-PEI와 이온결합 과정을 거치는 단계를 포함해야하는 것을 확인할 수 있었다.

[0066] **실시예 6. 포획된 박테리아의 농축을 위한 항체-PEI-접합된 MNP(MNP-PEI)의 제조 및 이의 효율의 확인**

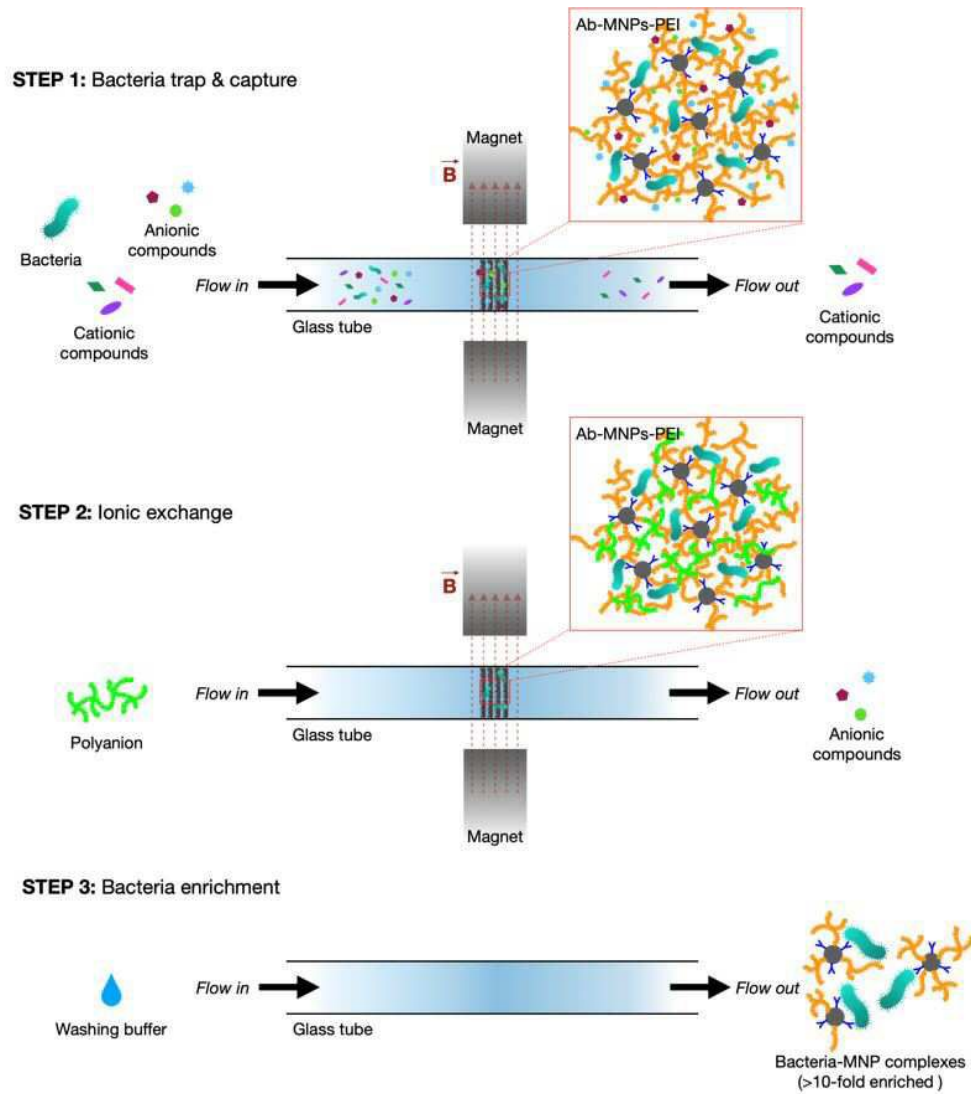
[0067] 대량의 생물학적 시료에서 박테리아를 신속하게 포획하고 농축하기 위한 연구를 수행하기 위해 항체를 결합한 MNP(Ab-MNPs-PEI)를 사용하여 부유 멤브레인을 제조하고, 이를 통한 효율적인 박테리아 포획 및 농축이 가능한 지 확인하는 실험을 수행하였다. MNP를 다클론성 항체인 (Ab-MNPs-PEI)와 결합시키고, Ab-MNPs-PEI (25k) 멤브레인을 사용하여 연속 수성 흐름을 통한 대장균 특이적인 포획에 활용하였다. 유리관에 외부 자기장 하에서 Ab-MNPs-PEI (25k) 멤브레인을 채운 후 1ml의 대장균 용액 ( $10^5$  CFU / ml)을 0.3ml/ml의 유속으로 유리관에 주입하고, 박테리아-특이적 포획을 확인하기 위한 실험을 수행하고, 이의 결과를 도 6A에 나타내었다.

[0068] 도 6A에서 확인한 바와 같이, 대장균 특이적인 포획 효율은 대장균을 포획하는 적절한 기공 크기와 대장균을 특이적으로 포획하는 항체 모두에 의한 결과 약 90 %로 측정되었다. E. coli의 항체에의한 특이적 포획을 확인하기 위해 PSS 용액을 Ab-MNPs-PEI (25k) 멤브레인에 도입하여 비특이적으로 결합된 음이온 종을 방출하는 이온 교환을 수행하였으며, 이를 통해 이온 교환 후 Ab-MNP-PEI (25k)가 유의하지 않은 정도의 여액이 통과하는 것을 확인하여, 최종적으로 대장균만이 특이적으로 포획되는 것을 확인할 수 있었다. 이와는 대조적으로, 정전기적 상호 작용만을 통해 MNP-PEI에 포획된 대부분의 대장균은 유출시 쉽게 방출되어 대부분이 유출되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 우리는 Ab-MNPs-PEI 멤브레인이 E. coli의 특정 포획 및 농축에 적합하다는 것을 확인하였다.

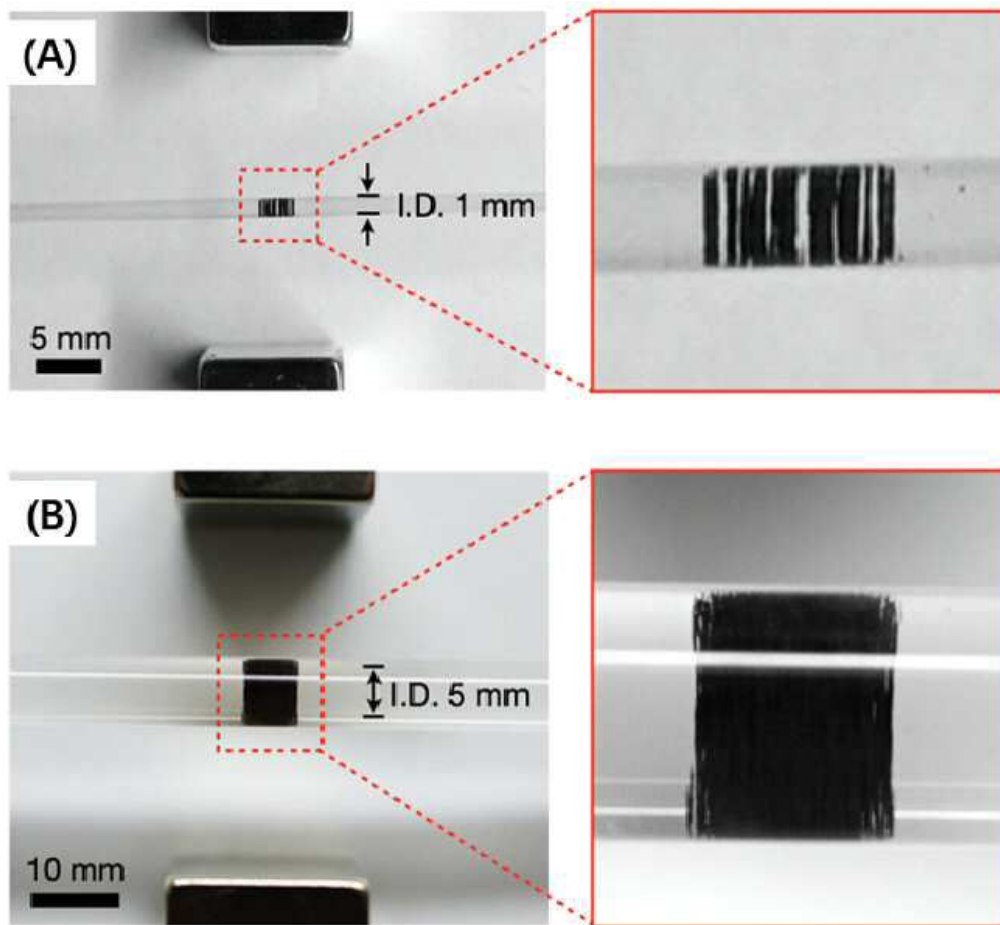
[0069] Ab-MNPs-PEI (25k) 멤브레인의 안정성과 잠재적인 확장성을 확인하기 위하여, 세균 포획 효율에 대한 유속의 영향을 추가로 확인하는 실험을 수행하고 유리관의 내부 직경을 각각 1mm 및 5mm인 경우를 도 6B 및 도 6C에 나타내었다. 도 6B 및 6C에서 확인한 바와 같이, 내부 직경이 1mm인 유리관에서 Ab-MNPs-PEI (25k) 멤브레인의 박테리아 포획 효율은 1.2ml /min의 유속에서 90 %이상으로 유지되었으며 2.0 ml / min 유속에서 80 %로 감소하였다. 이러한 감소는 MNP의 손실과 MNP와 박테리아 간의 접촉 시간 감소로 인한 것이다. 유리관 채널의 단면적은  $0.79\text{mm}^2$ 이므로 2.0ml / min의 체적 유량은 51mm/s의 선형 유량에 해당하며, 이는 미세 유체 시스템에서 매우 빠른 속도이다. 97 %의 박테리아 포획 효율은 더 큰 유리관 (내부 직경 5mm)을 4.8ml/min (7.2ml / min에서 92 % 이상)의 유속으로 달성할 수 있음을 확인하였다. 이를 통하여, Ab-MNPs-PEI (25k) 멤브레인을 통과하면 대량의 박테리아를 연속 흐름 시스템을 통하여 빠르게 포획하고 농축할 수 있음을 확인하였다. 또한 MNPs-PEI 멤브레인은 외부 자기장 변화를 통해 시공간적으로 제어 가능하므로 박테리아의 검출 및 진단 과정에서 손쉬운 전처리로 쉽게 채택할 수 있는 장점이 있다.

도면

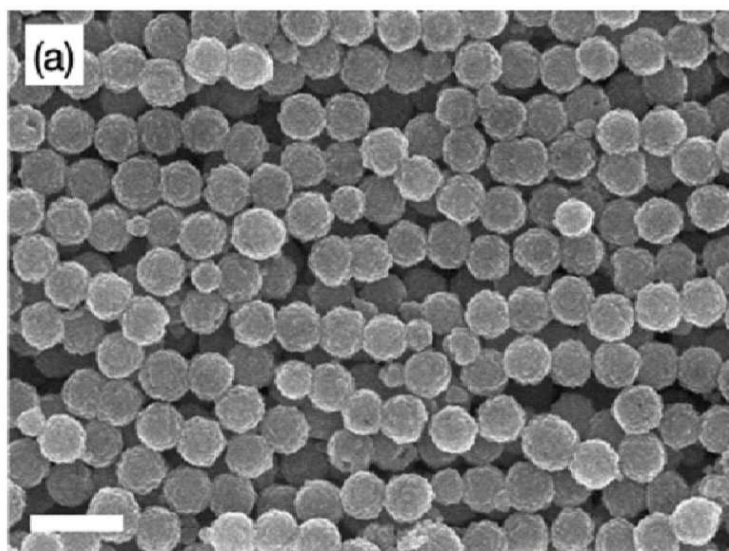
도면1



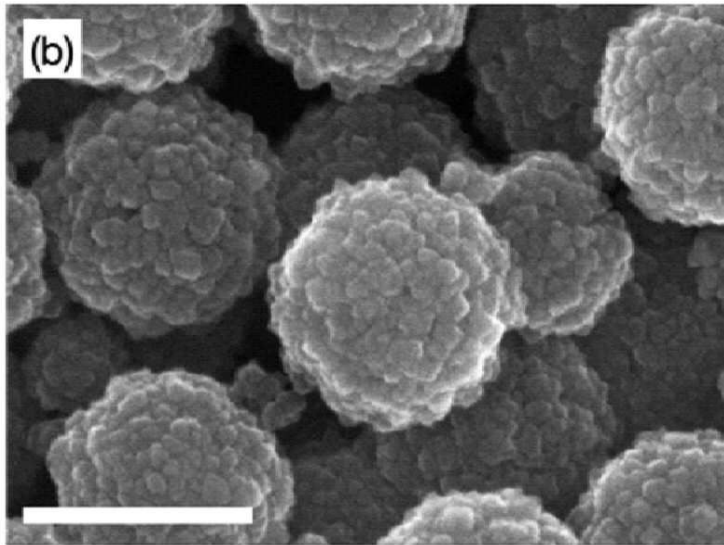
도면2



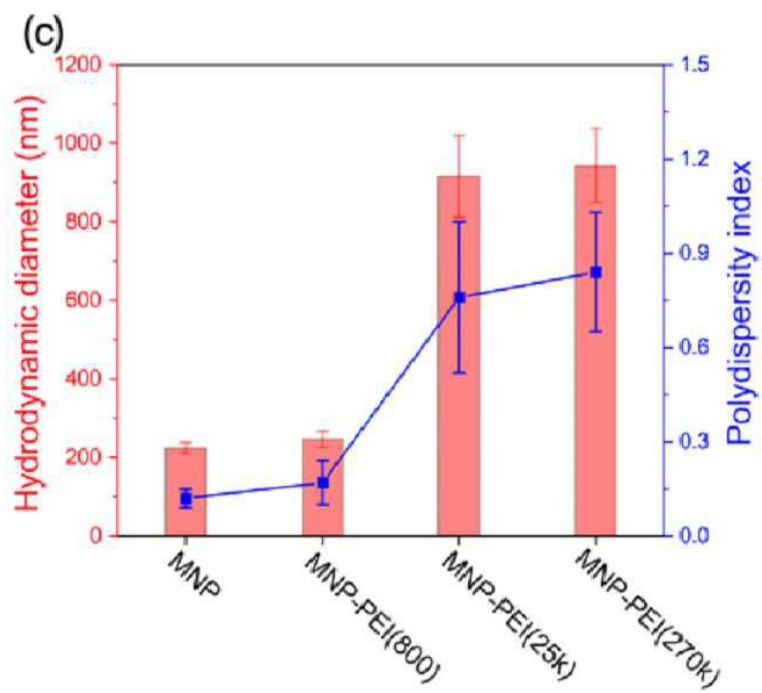
도면3a



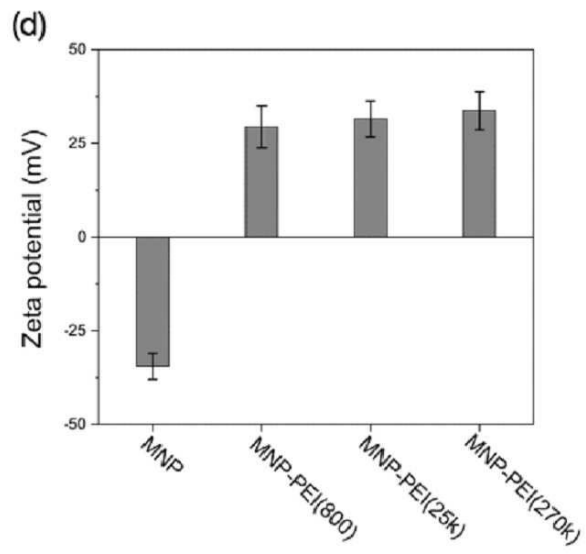
도면3b



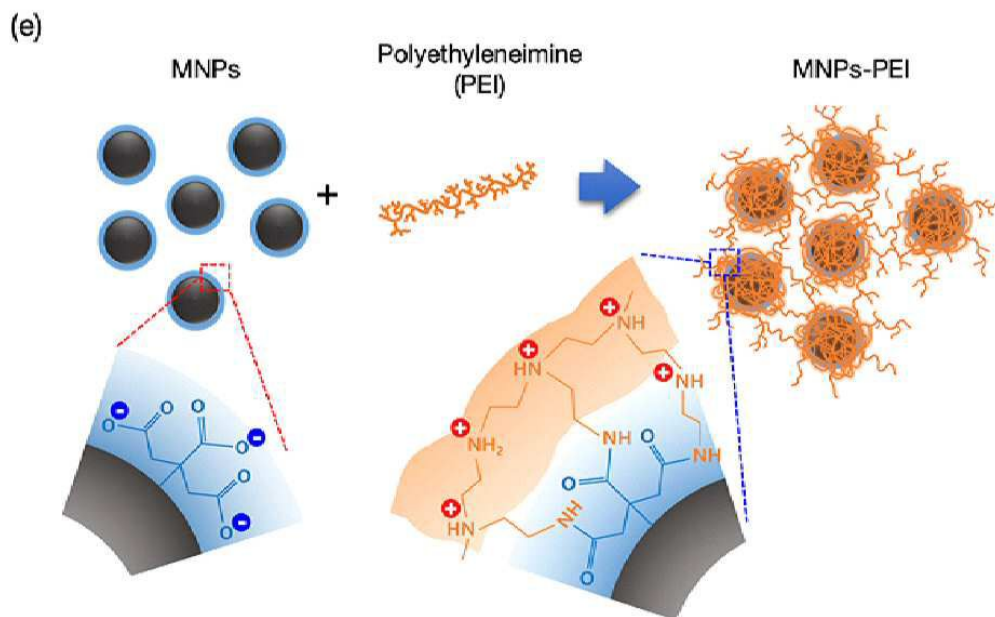
도면3c



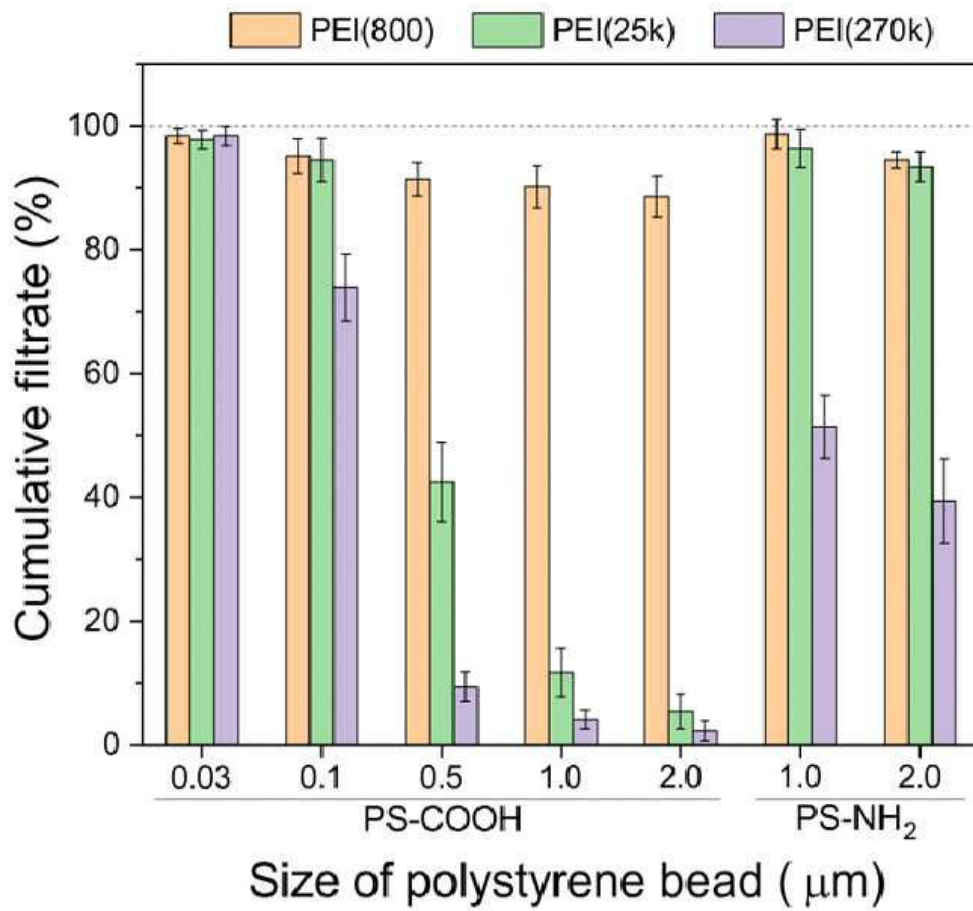
도면3d



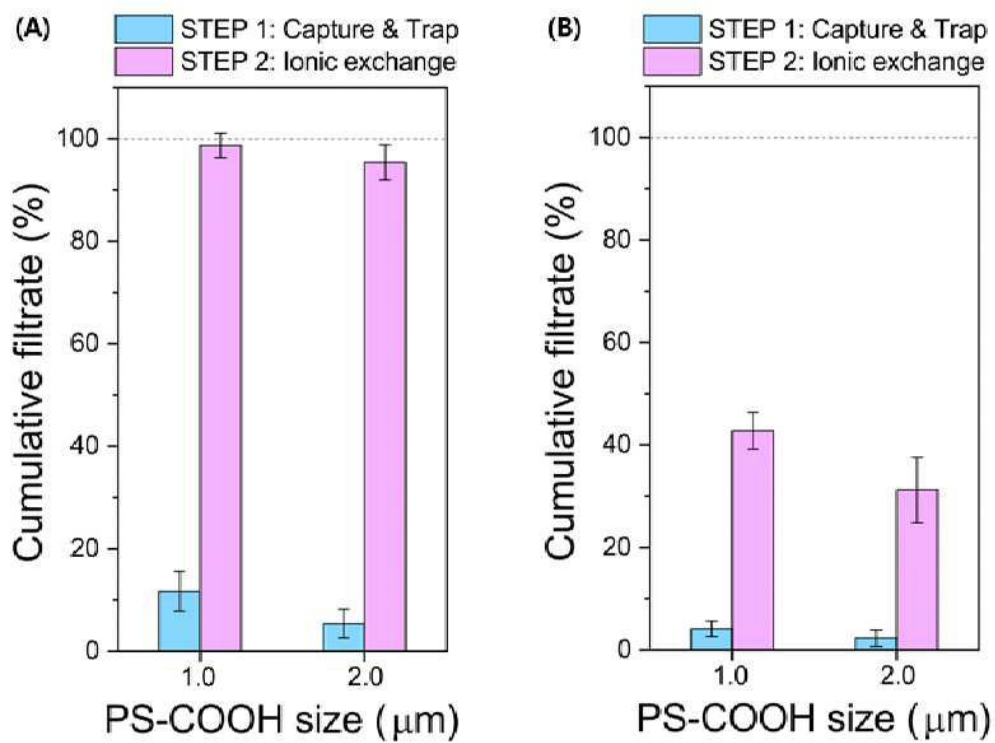
도면3e



도면4



도면5



도면6

