



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0041807
(43) 공개일자 2022년04월01일

- | | |
|---|------------------------|
| (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
<i>B01L 3/00</i> (2006.01) | (71) 출원인
울산과학기술원 |
| (52) CPC특허분류
<i>B01L 3/50273</i> (2013.01)
<i>B01L 3/502761</i> (2013.01) | (72) 발명자
강주현 |
| (21) 출원번호 10-2022-0035533(분할) | 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 |
| (22) 출원일자 2022년03월22일
심사청구일자 2022년03월22일 | (72) 발명자
권세용 |
| (62) 원출원 특허 10-2021-0008296 | 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 |
| 원출원일자 2021년01월20일 | 오지웅 |
| 심사청구일자 2021년01월20일 | 울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 |
| (30) 우선권주장
1020170099610 2017년08월07일 대한민국(KR) | (74) 대리인
리엔목특허법인 |

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 자성 입자를 이용한 유체 분리 시스템 및 방법

(57) 요약

일 양상은 유체의 자화율을 변화시켜 유체를 자화율의 차이에 따라 유체를 분리하는 시스템 및 방법에 관한 것으로, 일 양상에 따른 유체 분리 시스템 및 방법에 의하면, 유체 내 포함된 물질들을 용혈 현상 등의 손상 없이 또는 혈장 내 마커 단백질의 종류나 농도에 변화 없이 자화율에 따라 효율적으로 분리할 수 있다.

대표도 - 도4



(52) CPC특허분류

B01L 2200/0652 (2013.01)

B01L 2200/0668 (2013.01)

B01L 2400/043 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

유체가 흐를 수 있는 채널;

주입구;

유출구;

상기 유체 내 포함된 제1 물질에 상자성을 부여하고, 유체 내의 포함된 제2 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 검출 물질이 부착된 자성 나노 입자; 및

상기 채널에 자기장을 형성하기 위한 자석을 포함하고,

유체를 채널을 통해 상기 자기장이 형성된 구역에 흐르게 하여, 상기 제1 물질을 자화율의 변화에 따른 차이에 따라 반자성 또는 약한 상자성인 물질을 밀어내서 유출구로 분리하여 유출시키는 것인, 유체 분리 시스템.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 자성 나노 입자는 자성 금속 및 자성 금속산화물로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상으로 이루어진, 유체 분리 시스템.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 제1 물질은 상기 자성 나노 입자와의 결합을 형성하지 않은 채 유출구로 분리되는 것인, 유체 분리 시스템.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 제2 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 검출 물질은 항체, 항체의 단편, 앵타머, 핵산, 펩티드, 단백질 또는 임의의 화합물인 것인, 유체 분리 시스템.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 유출구는 상기 자성 나노 입자를 분리하기 위한 자성 구조체를 더 포함하는 것인, 유체 분리 시스템.

청구항 6

유체와 유체 내 포함된 제1 물질을 분리하기 위한 자성 나노 입자를 혼합하여 유체의 자화율을 변화시키는 단계;

상기 유체를 주입구와 유출구를 갖는 채널에 주입하는 단계;

상기 유체를 자기장이 형성된 영역에 통과시키는 단계; 및

상기 유체를 자화율의 차이에 따라 반자성 또는 약한 상자성인 물질을 밀어내어 유출구로 유체 내 포함된 제1 물질을 분리하는 단계를 포함하며,

상기 자성 나노 입자는 유체 내의 포함된 제2 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 검출 물질이 부착되어 있는 것인, 유체 분리 방법.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 자성 나노 입자는 자성 금속 및 자성 금속산화물로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상으로 이루어진, 유체 분리 방법.

청구항 8

청구항 6에 있어서, 상기 제1 물질은 상기 자성 나노 입자와의 결합을 형성하지 않은 채 유출구로 분리되는 것인, 유체 분리 방법.

청구항 9

청구항 6에 있어서, 상기 제2 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 검출 물질은 항체, 항체의 단편, 앵타머, 핵산, 펩티드, 단백질 또는 임의의 화합물인 것인, 유체 분리 방법.

청구항 10

청구항 6에 있어서, 상기 유체는 혈액인 것인, 유체 분리 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 자성 입자를 이용하여 유체를 분리하는 시스템 및 이를 이용한 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 전혈에서 혈장을 분리하기 위한 기술로는 원심분리, 필터분리 또는 미세 유체 칩 등을 이용한 기술 등이 있다. 그러나, 이러한 분리 기술들을 혈장 분리에 적용할 경우, 분리해 낸 혈장의 순도가 좋지 않고, 혈액 세포에 무리한 물리적 자극을 가하여, 혈액 세포의 용혈(hemolysis)이 일어나는 경우가 많았다. 혈액 세포의 용혈이 발생하면, 세포에 포함되어 있던 헤모글로빈, 칼륨 이온, 단백질, 핵산 등이 혈장 내에 퍼지게 되며, 이로 인해 혈액 내 성분 분석 등에 영향을 미쳐 잘못된 결과를 야기하게 된다.

[0003] 최근 개발되고 있는 미세 유체 제어 기술의 경우, 관성과 혈구 세포들의 미세 구조물과의 상호작용에 의해 혈장을 분리하기 때문에 용혈 현상이 원심 분리 또는 필터 분리보다 적게 일어나는 편이다. 그러나 분리한 혈장의 순도와 수율이 좋지 않고, 분리속도가 매우 느리다는 단점을 가지고 있다. 또한 전혈을 그대로 사용하기 어려워 혈액을 버퍼에 희석해서 사용해야 한다는 단점 또한 존재한다.

[0004] 따라서, 혈액 세포의 용혈을 일으키지 않으면서 신속하고 높은 순도로 혈장을 분리해 낼 수 있는 유체 분리 기술을 개발할 필요성이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 일 양상은 유체와 자성 입자를 혼합하여 유체의 자화율을 변화시키는 단계; 상기 유체를 주입구와 유출구를 갖는 채널에 주입하는 단계; 상기 유체를 자기장이 형성된 영역에 통과시키는 단계; 및 상기 유체를 자화율의 차이에 따라 분리하는 단계를 포함하는 유체를 분리하는 방법을 제공한다.

[0006] 다른 양상은 유체가 흐를 수 있는 채널, 주입구, 유출구, 상기 유체 내 포함된 물질에 상자성을 부여하기 위한

자성 입자, 상기 채널에 자기장을 형성하기 위한 자석(또는 전자석)을 포함하고, 유체를 상기 자기장이 형성된 구역에 흐르게 하고, 상기 유체 내 포함된 물질을 상자성 또는 자화율의 차이에 따라 유출구로 분리하여 유출시키기 위한 유체 분리 시스템을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0007] 이하, 도면들 참조하면서 유체 분리 장치, 및 이를 이용한 유체 분리 방법의 실시예들에 관하여 설명한다. 도면에서 동일한 참조부호는 동일한 구성요소를 지칭하며, 각 구성요소의 크기나 두께는 설명의 명료성을 위하여 과장되어 있을 수 있다.
- [0008] 일 양상은 유체와 자성 입자를 혼합하여 유체의 자화율을 변화시키는 단계; 상기 유체를 주입구와 유출구를 갖는 채널에 주입하는 단계; 상기 유체를 자기장이 형성된 영역에 통과시키는 단계; 및 상기 유체를 자화율의 차이에 따라 분리하는 단계를 포함하는 유체를 분리하는 방법을 제공한다.
- [0009] 또한, 다른 양상은, 유체가 흐를 수 있는 채널, 주입구, 유출구, 상기 유체 내 포함된 물질에 상자성을 부여하기 위한 자성 입자, 상기 채널에 자기장을 형성하기 위한 자석을 포함하고, 유체를 상기 자기장이 형성된 구역에 흐르게 하고, 상기 유체 내 포함된 물질을 상자성 또는 자화율의 차이에 따라 유출구로 분리하여 유출시키기 위한 유체 분리 장치 또는 시스템을 제공한다.
- [0010] 도 1은 일 양상에 따른 유체를 분리하는 방법을 나타낸다. 도 1을 참조하면, 채널(100) 일측에 위치한 제1주입구(110a)에 유체(1)와 자성 입자(2)의 혼합물을 주입할 수 있다. 주입된 유체(1)는 채널을 따라 제1자석(200a) 위에 형성된 자기장 영역을 통과하게 되며, 이때 유체는 자화율에 따라 분리되어 상대적으로 강한 상자성, 또는 강자성인 부분은 자석과 더 가까이 위치한 제1유출구(120a)를 통해 흐르게 되고, 상대적으로 약한 상자성인 부분 또는 반자성인 부분은 자석과 멀리 위치한 제2유출구(120b)를 통해 흐르게 된다. 이에 따라 유체(1)에 포함되어 있던 분리물(5)을 자화율에 따라 분리할 수 있다.
- [0011] 상기 채널의 너비와 높이는 유체의 종류 및 분리 목적 등에 따라 통상의 기술자가 적절히 조절할 수 있다. 예를 들어 혈액(또는 전혈)에서 혈장을 분리하기 위한 경우, 채널의 너비는 0.001 mm 내지 10 mm, 채널의 높이는 1 μ 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 전혈에서 혈장을 분리하기 위한 경우, 유속은 0.1 μ L/min 내지 10 mL/min일 수 있다.
- [0012] 상기 자성 입자(2)는 상자성을 띠는 입자를 포함한다. 상자성이란 자기장이 존재할 때만 자기장의 방향으로 약하게 자화되는 성질을 의미한다. 상기 자성 입자들은 공지된 방법을 통해서 제조한 것이거나, 또는 상업적으로 판매되는 것일 수 있다. 상기 자성 입자의 직경은 특별히 제한되지 않으나, 직경이 작은 자성 나노 입자일 수 있고, 1 nm 내지 200 nm 일 수 있으며, 상기 자성 입자의 자성물질은 자성금속 또는 자성금속 산화물(예를 들면, 산화철 등의 산화금속)인 것을 특징으로 한다. 상기 자성 금속은 철족금속 원소(Fe, Ni, Co), 희토류 원소(La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu), 화폐금속 원소(Cu, Ag, Au), 아연족 원소(Zn, Cd, Hg), 알루미늄족원소(Al, Ga, In, Tl), 알칼리토금속 원소(Ca, Sr, Ba, Ra) 및 백금족 원소(Pt, Pd 등)에서 하나 이상 선택된 금속 또는 이들의 합금으로 이루어지는 것일 수 있다. 일 구체예의 상기 자성 입자로의 종류는 예를 들면, Co, Mn, Fe, Ni, Gd, Mo, MM'204 및 MpOq로 이루어진 그룹 중에서 선택된 하나 이상을 포함할 수 있다. 여기서, 상기 M 및 M'는 각각 Co, Fe, Ni, Mn, Zn, Gd 또는 Cr을 나타내고, $0 < p \leq 3$ 이며, $0 < q \leq 5$ 일 수 있다.
- [0013] 상기 자성 입자(2)에는 유체 내에 포함된 표적 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 검출 물질이 부착되어 있을 수 있다. 상기 표적 물질은 임의의 화합물, 또는 핵산, 단백질, 또는 펩티드일 수 있으며, 상기 검출 물질은 상기 표적 물질에 특이적으로 결합할 수 있는 항체, 항체의 단편, 앵타머, 핵산, 펩티드, 단백질 또는 임의의 화합물일 수 있다. 예를 들어, 상기 표적 물질이 특정 질병의 바이오마커인 경우, 통상의 기술자는 상기 바이오마커와 결합할 수 있는 항체 등을 제조하거나, 상기 바이오마커와 결합한다고 이미 알려진 물질을 상업적으로 구매하여 상기 자성 입자에 부착시킬 수 있다.
- [0014] 용어 "바이오마커"는 정상적인 생물학적 과정, 질병 진행 상황, 그리고 치료방법에 대한 약물의 반응성을 객관적으로 측정하고 평가할 수 있는 모든 생물학적 지표를 의미할 수 있다. 상기 바이오마커에는 유전자, 유전자 변이의 존재, 핵산, 단백질, 펩티드, 세균, 바이러스, 세포, 또는 엑소솜(Exosome), 또는 사이토카인 등을 포함하는 세포 유래 물질의 수준 등이 포함될 수 있다.

- [0015] 도 2는 다른 양상에 따른 유체를 분리하는 방법을 나타낸다. 도 2를 참조하면, 2 이상의 주입구와 3 이상의 유출구를 갖는 채널을 이용하여 유체를 분리할 수 있다. 2 이상의 주입구에 서로 다른 물질을 주입하면서 별도의 혼합 단계를 생략할 수 있다. 채널의 하단에는 서로 다른 자성을 갖는 2 이상의 자석을 배치하여 채널의 구역에 따라 자기장의 세기를 다르게 할 수 있다. 이러한 방식으로, 채널의 구역마다 자기장의 세기를 다르게 하면 여러 개의 유출구를 이용하여 좀 더 세밀하게 자화율에 따라 유체에 포함된 물질을 분리할 수 있다.
- [0016] 유출구에는 자성 구조체(150)가 위치할 수 있다. 자성 구조체에는 주변보다 더 강한 자기장이 형성되므로, 자성 입자(2)를 자기장에 의해 분리할 수 있다. 따라서, 필요에 따라 분리된 유체에 포함된 자성 입자(2)를 제거할 수 있다. 상기 자성 구조체는 니켈, 철, 페라이트(ferrite), 희토류 금속 또는 그것의 합금 또는 통상적으로 자성이 부여될 수 있는 금속 구조체를 포함할 수 있다. 또는 전자기유도에 의해 자기력이 발생하는 전자석 구조체를 포함할 수 있다.
- [0017] 상기 자성 입자(2)에 표적 물질을 검출하기 위한 검출 물질이 부착되어 있는 경우, 상기 자성 구조체로 분리된 자성 입자로부터 상기 표적 물질의 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.
- [0018] 도 3은 다른 양상에 따른 전혈을 분리하는 방법을 나타낸다. 도 3을 참조하면, 채널에 투입된 전혈을 자기장이 형성된 구역에 흐르게 둘 수 있다. 이때 혈장은 상대적으로 강한 상자성(paramagnetic)을 갖고, 백혈구는 반자성(diamagnetic), 적혈구는 약한 상자성을 갖는다. 따라서, 그 차이로 인해 혈액 세포가 모두 자기장이 약한 쪽으로 밀려나서 혈장과 분리된다. 상기 분리된 혈액은 여러 개의 유출구로 유출되므로, 유출구의 위치, 자기장의 세기 또는 유출 시간 등에 따라 연속적으로 혈장 분리가 가능하다.
- [0019] 또한, 상기 자성 입자에는 혈액 내 포함되어 있는 표적 물질과 특이적으로 결합할 수 있는 검출 물질이 부착되어 있을 수 있다. 도 3을 참조하면, 자성 입자에 혈액 내 바이오마커와 결합하는 항체가 부착되어 있다. 전혈로부터 혈장을 분리하고, 이후 니켈 구조체를 이용하여 혈장으로부터 자성 입자를 분리한다. 이후 형광 물질로 표지된 2차 항체를 이용하여 혈장 내 바이오마커를 검출한다. 이러한 방식으로 혈장의 분리 및 바이오마커의 검출을 동시에 수행할 수 있다.

발명의 효과

- [0020] 일 양상에 따른 유체 분리 시스템 및 방법에 의하면, 유체 내 포함된 물질들을 용혈 현상 등의 손상 없이 또는 혈장 내 마커 단백질의 종류나 농도에 변화 없이 자화율에 따라 효율적으로 분리할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0021] 도 1은 자화율에 따라 유체를 분리하는 방법을 나타낸다.
- 도 2는 2 이상의 주입구 및 3 이상의 유출구를 갖는 채널을 이용하여 자화율에 따라 유체를 분리하는 방법을 나타낸다.
- 도 3은 자화율에 따라 혈액을 분리하고, 자성 입자에 항체를 부착하여 혈액 내 포함된 바이오마커를 검출하는 방법을 나타낸다.
- 도 4는 일 구체예에 따라 자화율을 이용하여 분리한 혈액을 나타내는 사진이다.
- 도 5는 혈액을 1:200 비율로 희석한 것과(좌측), 일 구체예에 따라 분리된 혈장을 나타낸다(우측).
- 도 7은 일 구체예에 따라 분리된 혈장의 용혈 현상을 관찰하기 위해 다양한 파장대에서 측정한 흡광도(A)이고, 540 nm에서의 흡광도를 나타낸 그래프(B)이다.
- 도 8은 일 구체예에 따라 분리된 혈장의 단백질의 종류를 확인하기 위해 SDS-PAGE를 수행한 결과를 나타낸 도면이다.

도 9는 일 구체예에 따라 분리된 혈장의 단백질의 농도를 확인하기 위해 BCA 단백질 어세이를 수행한 결과를 나타낸 도면이다(Centrifugation: 음성대조군; Device: 일 구체예에 따른 상자성 입자를 사용한 혈장 분리).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0024] 실시예 1. 상자성 입자를 이용한 혈장 분리

[0025] 8주령 Wistar 래트에서 채취한 전혈에 자성 나노입자(Carboxylated iron oxide, 10 nm, Ocean NanoTech, US, 상자성 나노입자)(1 mg/mL)를 혼합하여 너비 1 mm, 높이 100 μ m의 채널에 주입하였다. 이후 채널의 아래쪽에 영구자석을 500 μ m 떨어트려 위치시켜 자기장을 형성하였다. 채널의 유출구 부분에 마이크로 펌프로 음압을 가하여 전혈이 흐르게 하였다 (2 μ L/min).

[0026] 그 결과 도 4와 같이 전혈로부터 혈장이 분리되는 것이 육안상으로도 확연히 관찰되었다. 검붉은 부분이 적혈구, 및 백혈구 등 혈액 세포가 응집되어진 부분이며 나머지 투명한 부분은 혈장이다.

[0027] 아울러, 5 mm 너비, 700 μ m 높이의 채널에서 자기장 형성위치를 달리하여 실험한 결과, 5 μ L/min 으로 혈장을 획득할 수 있음을 확인하였으며, 채널의 폭을 넓히면 혈장분리속도를 증가시킬 수 있는 것 또한 확인하였다.

[0029] 실시예 2. 상자성 입자를 이용하여 분리한 혈장의 순도 측정

[0030] 실시예 1에서 분리한 혈장의 순도를 측정하였다. 현미경으로 1:200 비율로 희석된 혈액과 실시예 1에서 분리된 혈장을 비교 관찰하였다(Olympus CKX53, 20X 대물렌즈). 도 5에서와 같이, 희석된 혈액에서는 관찰되는 상당수의 혈액 세포가 실시예 1에서 분리된 혈장에서는 관찰되지 않았다.

[0032] 실시예 3. 상자성 입자를 이용하여 분리한 혈장의 용혈 현상 관찰

[0033] 용혈 반응(hemolysis)은 적혈구가 파괴되어 적혈구의 내용물이 혈장에 용해되는 것을 말하며, 혈장을 이용한 질병의 진단 시 부정확한 검사 결과의 원인이 된다. 이에, 상기 실시예 1에서 분리되는 과정 중 생길 수 있는 혈액세포의 용혈현상을 관찰하였다.

[0034] 구체적으로, 상자성 입자를 이용하여 수득한 혈장의 용혈률을 확인하기 위해 양성대조군, 음성대조군, 상자성 입자를 이용하여 얻은 혈장의 흡광도를 Nanodrop (ThermoFisher Scientific, USA)을 이용하여 측정하였다. 양성대조군을 얻기 위해 8주령 위스타 래트에서 채취한 혈액에 Triton X-100 (Sigma Aldrich) 1%를 혼합한 후 36 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켜 적혈구를 용혈시켰다. 이후에, 상기 혈액을 원심분리기에서 4 $^{\circ}$ C에서 500 $\times$ g 로 13분간 분리하여 상층액을 양성대조군 샘플로 사용하였다. 음성대조군은 래트 혈액을 원심분리기에서 4 $^{\circ}$ C에서 500 $\times$ g 로 13분간 분리하여 상층액을 음성대조군으로 사용하였다. 이후에, 상기 양성대조군, 음성대조군, 및 상자성 입자를 이용하여 수득한 혈장에 대해 흡광도를 Nanodrop (ThermoFisher Scientific, USA)을 이용하여 측정하였고, 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0035] 도 7에 나타난 바와 같이, 상자성 입자를 이용하여 얻은 혈장의 경우, 음성대조군과 차이가 없는 것을 알 수 있었다. 이는 일 구체예에 따른 상자성 입자를 이용하여 혈장을 분리하는 경우, 용혈현상이 일어나지 않음을 의미한다.

[0037] 실시예 4. 상자성 입자를 이용하여 분리한 혈장 내 단백질 패턴확인

[0038] 혈장 내의 단백질은 질병의 진단 등에 바이오마커 등으로 이용될 수 있다. 이에, SDS-PAGE 를 실시하여 혈장 내 여러 종류의 단백질이 상자성 입자를 이용하여 혈장을 분리한 후에도 잘 유지되는지를 확인하였다. 상기 실시예 3의 음성대조군의 혈장을 사용하였고, 마커 단백질로는 알부민(65 kDa), α 1-글로불린(44 kDa), α 2-글로불린(85 kDa), 피브리노겐($\sim$ 340 kDa), 및 BIO-RAD(Precision Plus Protein Dual Color Standards)를 사용하였다. 구체적으로, SDS-PAGE를 수행하기 위하여 2X Laemmli Sample Buffer (BIO-RAD) 및 2-머캅토에탄올

(Mercaptoethanol) (BIO-RAD)를 9:1의 비율로 혼합한 후, 이를 상기 혈장과 1:1 비율로 혼합하였다. 이후에, 시료를 끓는 물에 3분간 담근 후, 샘플을 스핀 다운(spin down)하였고, 전기 영동 챔버(BIO-RAD)에 Mini-PROTEAN® TGX™ Precast Gel (BIO-RAD)을 결합시켜주었다. 다음으로, Tris/Glycine/SDS 버퍼 (BIO-RAD)를 전기 영동 챔버에 채워준 후, 시료와 Precision Plus Protein Dual Color Standards (BIO-RAD)를 넣어준 후, 전기영동기를 작동시켰다. 이후에, Coomassie brilliant blue R-250 염색 용액 (BIO-RAD)으로 2-3 시간 염색한 후, Coomassie Brilliant blue R-250 탈염색 용액 (BIO-RAD)으로 염색을 제거하였다. 상기의 SDS-PAGE의 결과는 도 8에 나타내었다.

[0039] 도 8에 나타난 바와 같이, 상자성 입자를 이용하여 얻은 혈장의 경우, 분리된 혈장 내 단백질의 종류가 원심분리를 통해 얻은 혈장(대조군) 내 단백질과 차이가 없는 것을 알 수 있었다. 이는 일 구체예에 따른 상자성 입자를 이용하여 혈장을 분리하는 경우, 혈장 내 여러 종류의 단백질이 분리 후에도 잘 유지된다는 것을 의미한다.

[0041] 실시예 5. 상자성 입자를 이용하여 분리한 혈장의 단백질 농도 확인

[0042] 상기 실시예 4에 이어서, 실시예 1에서 분리한 혈장 내 단백질의 정량적인 농도를 확인하기 위해, BCA 단백질 어세이를 실시하였다.

[0043] 구체적으로, 상기 실시예 4에서 사용한 대조군을 사용하였고, 피어스 BCA 단백질 어세이 키트(Pierce BCA Protein Assay Kit, ThermoFisher Scientific, USA)를 사용하여 제조사의 지시에 따라 상자성 입자를 이용한 분리한 혈장 및 음성 대조군의 혈장의 전체 단백질의 농도를 비교하였다. 상기 결과는 도 9에 나타내었다.

[0044] 도 9에 나타난 바와 같이, 상자성 입자를 이용하여 얻은 혈장의 경우, 분리된 혈장 내 전체 단백질의 농도가 원심분리를 통해 얻은 혈장(대조군) 내 전체 단백질의 농도와 차이가 없는 것을 알 수 있었다. 이는 일 구체예에 따른 상자성 입자를 이용하여 혈장을 분리하는 경우, 혈장 내 전체 단백질의 손실 없이 잘 분리되어 추후 혈장 내 단백질을 이용한 분석 등에 영향을 미치지 않을 것이라는 것을 알 수 있다.

[0045] 이상의 결과로 일 구체예에 따른 상자성 입자를 이용한 혈장 분리 방법은 혈장 단백질의 종류와 농도에 영향을 미치지 않고 혈장을 분리할 수 있음을 알 수 있었다.

부호의 설명

[0046]

1...유체

2...자성 입자

5...분리물

100...채널

110a, 110b...제1, 제2주입구

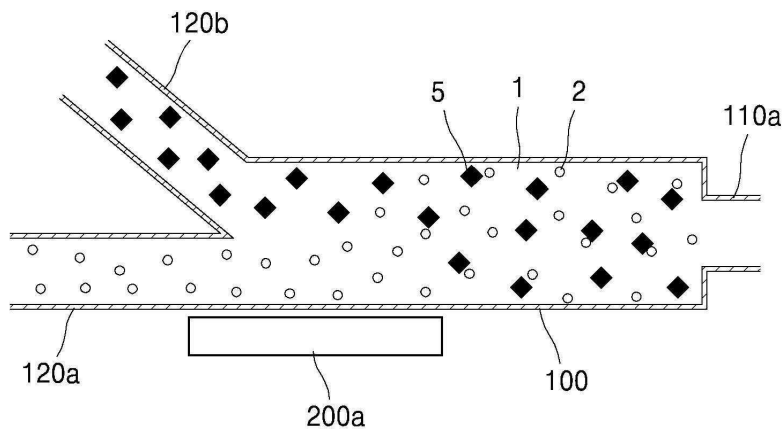
120a, 120b, 120c...제1, 제2, 제3배출구

150...자성 구조체

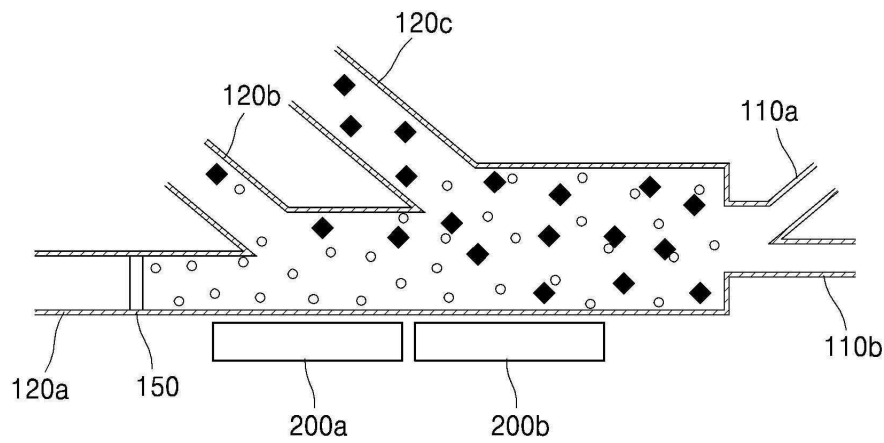
200a, 200b...제1자석, 제2자석

도면

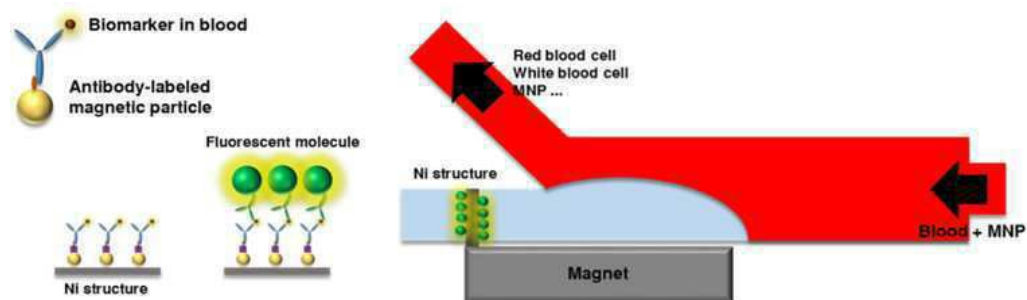
도면1



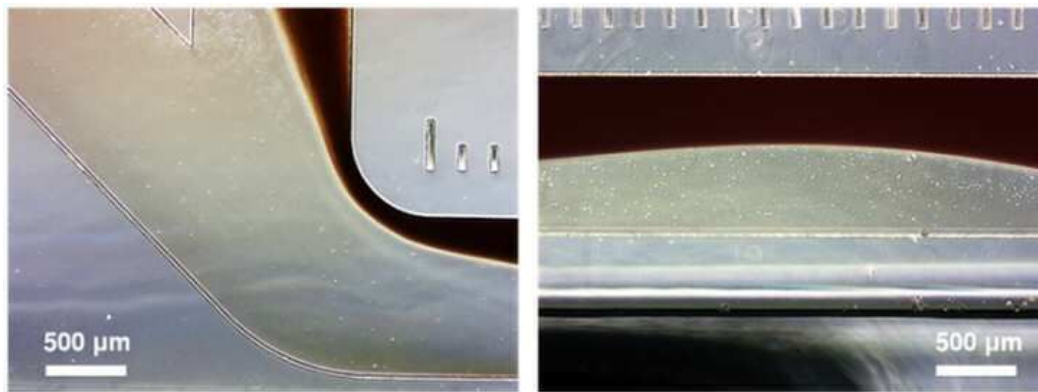
도면2



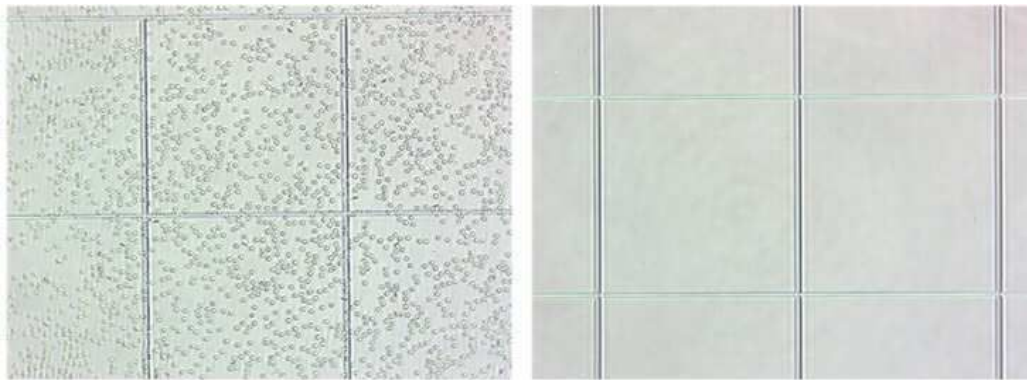
도면3



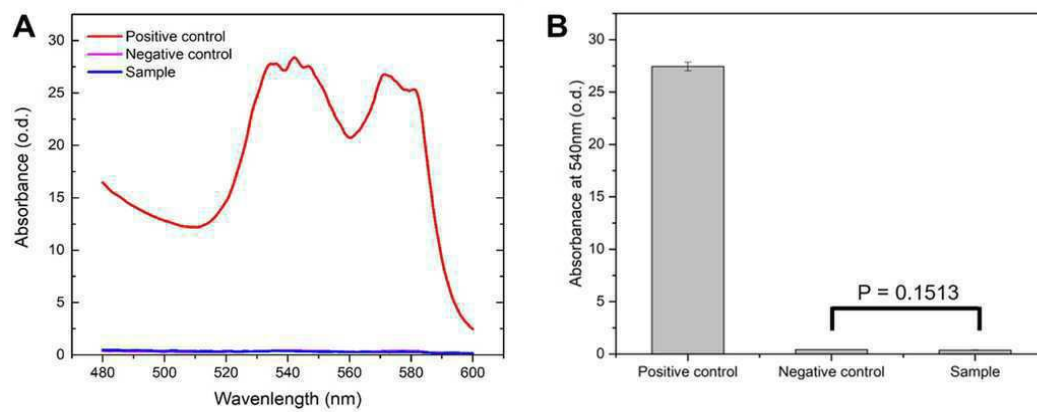
도면4



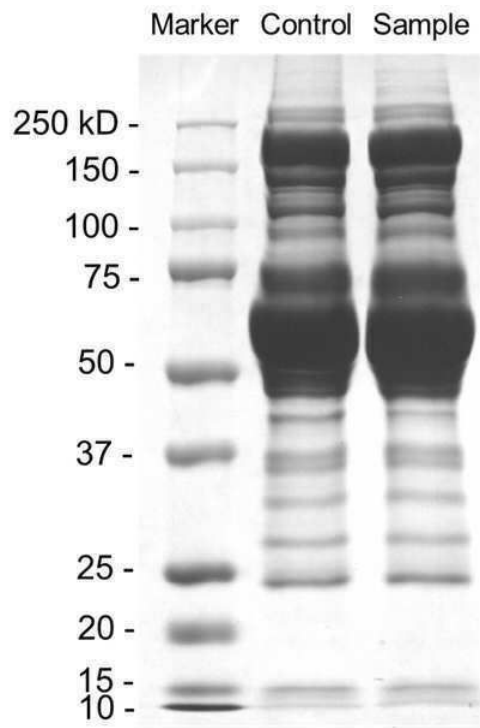
도면5



도면7



도면8



도면9

