



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0071781
(43) 공개일자 2012년07월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/49 (2006.01) G01N 21/25 (2006.01)

G01N 33/86 (2006.01) G01N 1/38 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-0133462

(22) 출원일자 2010년12월23일

심사청구일자 2010년12월23일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가 1

(72) 발명자

신세현

서울특별시 서초구 방배로 270, 신삼호아파트
112-1404 바동 (방배동)

남정훈

서울특별시 동대문구 약령사로 25, 벽산아파트
103동 1104호 (제기동)

임현정

경기도 수원시 장안구 하플로30번길 22, 104동
1505호 (천천동, 신안한일)

(74) 대리인

특허법인다나

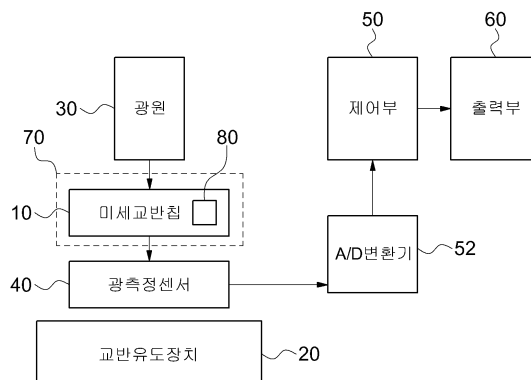
전체 청구항 수 : 총 21 항

(54) 발명의 명칭 광투과량을 이용한 혈액 응고 측정 장치 및 방법, 이에 구비되는 미세교반칩

(57) 요약

본 발명은 광투과량을 이용한 혈액 응고 측정 장치 및 방법, 이에 구비되는 미세교반칩에 관한 것이다. 본 발명은 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실이 형성되고, 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 트롬보플라스틴(thromboplastin) 시약 중 적어도 어느 하나가 내부에 투입되는 미세교반칩을 포함한다. 미세교반칩의 내부에 설치되어 상기 혈액 내의 적혈구를 분산시키고 샘플을 교반시키는 교반장치 및 교반장치의 교반을 유도하는 교반유도장치를 더 포함한다. 이와 같은 본 발명에 의하면, 비교적 짧은 시간 내에 미소량의 혈액을 이용하여 혈액 응고 측정이 가능하며, 미세교반기를 이용하여 분산시켰던 적혈구 응집의 영향을 고려한 혈액 응고 측정이 가능하며, 항응고제가 들어있는 진공관을 통해 정맥 채혈한 혈액을 이용하여 측정이 가능한 효과가 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

혈액샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실이 형성되고, 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 시약 중 적어도 어느 하나가 내부에 투입되는 미세교반칩과;

상기 미세교반칩의 내부에 설치되어 상기 혈액 샘플 내의 적혈구를 분산시키고 샘플을 교반시키는 교반장치와;

상기 교반장치의 교반을 유도하는 교반유도장치와;

상기 미세교반칩의 혈액 샘플에 광을 조사하는 광원과;

상기 광원에서 조사된 광의 투과량을 통해, 응집되는 혈구의 응집 정도와 응고기전으로 인해 생성되는 혈액응고 과정을 측정하는 광측정 센서와;

상기 교반유도장치의 작동을 제어하고, 상기 광측정 센서로부터 발생한 신호를 처리하는 제어부를 포함하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 칼슘 이온은 염화칼슘 용액의 형태로 상기 미세교반칩의 내부에 투입됨을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 시약 중 적어도 어느 하나는 상기 샘플 저장실의 내벽에 코팅됨을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 시약은 트롬보플라스틴(Thromboplastine) 시약임을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 교반유도장치는,

동력을 제공하는 구동원과;

상기 구동원으로부터 동력을 전달받아 구동되는 구동부와;

상기 구동부의 상면에 구비되어, 자력을 통해 상부에 위치한 교반기를 함께 구동시키는 자성체를 포함함을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 교반기는 상기 교반유도장치의 급정지에 의해 급정지되도록 구동되고, 상기 교반유도장치의 급정지 시에 상기 구동부의 일측에 걸어지는 스톱퍼가 구비됨을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 미세교반칩은 일회용으로 사용이 가능함을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 미세교반칩은 레이저 가공이 가능한 폴리머, 사출성형 폴리머, 세라믹 중 적어도 어느 하나의 재질로 제작됨을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 미세교반칩은 투명한 재질로 제작됨을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 광측정 센서는 CCD센서 또는 포토 다이오드 센서로 구성됨을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 11

제 1 항에 있어서,

상기 제어부는 상기 혈액샘플을 통과한 광의 세기를 상기 광측정 센서를 통해 받아 시간에 따른 광의 세기를 저장함을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 12

제 1 항에 있어서,

상기 제어부에서 측정된 혈전의 형성 정도 및 측정 결과를 출력하는 출력부를 더 포함하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 13

제 1 항에 있어서,

상기 미세교반칩을 내부에 수용하여, 열적 평형 유지가 가능하도록 하는 챔버를 더 포함하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 14

제 1 항에 있어서,

상기 혈액샘플의 온도를 일정하게 유지할 수 있도록 온도를 조절하는 온도조절기를 더 포함하는 혈액 응고 측정 장치.

청구항 15

칼슘 용액 및 칼슘을 포함한 시약 중 적어도 어느 하나가 투입된 혈액샘플을 미세교반칩에 주입하여 교반시키는 단계와;

상기 혈액샘플을 교반시키는 교반장치를 급정지시키는 단계와;

광측정 센서를 이용하여 상기 혈액샘플을 통과한 광의 세기를 측정하는 단계와;

상기 측정된 광의 세기를 이용하여 적혈구의 응집 정도와 그 영향을 고려한 혈액 응고시간을 측정하는 단계를 포함하는 혈액 응고 측정 방법.

청구항 16

제 15 항에 있어서,

상기 광측정 센서를 이용하여 광의 세기를 측정하는 단계에서,

초기에는 증가하던 광투과량이 혈장에 용해된 피브리노젠이 피브린으로 석출되면서 최대점을 보이고 감소하기 시작하는데, 이때를 혈액 응고 특성 시간으로 정의함을 특징으로 하는 혈액 응고 측정 방법.

청구항 17

제 15 항 또는 제 16 항에 있어서,

상기 혈액샘플이 샘플 저장실에서 교반되는 단계에서,

혈구를 분산시켜 혈액샘플의 초기상태를 일정하게 만들어 주어 혈구의 응집 정도를 항상 일정하게 초기화함을 특징으로 하는 혈액의 응고 측정 방법.

청구항 18

혈액샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실이 형성되고, 상기 샘플 저장실에는 혈액샘플의 교반을 위한 교반장치가 구비되며, 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 시약 중 적어도 어느 하나가 내부에 투입됨을 특징으로 하는 미세교반칩.

청구항 19

제 18 항에 있어서,

상기 칼슘 이온은 염화칼슘 용액의 형태로 상기 미세교반칩의 내부에 투입됨을 특징으로 하는 미세교반칩.

청구항 20

제 18 항에 있어서,

상기 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 시약 중 적어도 어느 하나는 상기 샘플 저장실의 내벽에 코팅됨을 특징으로 하는 미세교반칩.

청구항 21

제 18 항 내지 제 20 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 시약은 트롬보플라스틴(Thromboplastin) 시약임을 특징으로 하는 미세교반칩.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 혈액 응고 측정 장치와 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 극소량의 혈액 샘플로 짧은 시간 내에 혈구의 응집을 고려하여 혈액의 응고를 측정할 수 있는 광투과량 기반의 혈액 응고 측정 장치 및 방법, 이에 구비되는 미세교반칩에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 들어 와파린(Wafarin)등의 경구 항응고제의 처방이 증가하면서 프로트롬빈 시간(Prothrombin time) 등 혈액응고(Blood coagulation)의 주기적인 모니터링이 중요해지고 있다. 이는 혈액응고가 과다한 출혈, 혈전색전증 등과 직접적으로 관련이 있기 때문에 그 위험을 최소화하기 위함이다.

[0003] 그 중에서도 특히 Anesthesia & Analgesia 저널 (Vol. 90, 90, 1086-1088, 2000)에 공시된 TEG(Thrombelastograph Coagulation Analyzer 3000)는, 장비의 샘플 컵에 혈액샘플을 넣고 4도의 각도로 앞뒤로 진동을 주는데, 혈액 응고 기전이 진행되면서 컵의 가운데에 위치한 핀에 피브린이 얹히게 되고, 이에 따라 핀이 컵과 함께 움직이게 되어 혈액의 응고 시간, 강도 등을 측정하는 장치이다. 이 장치를 이용하여 측정된 트롬보엘라스토포그래피(Thromboelastography)를 분석하면 피브린이 최초로 형성되는 시간과 혈전이 형성되는 동안의 강도 변화 등을 측정할 수 있다.

[0004] 이때, 트롬보엘라스토포그래피(Thromboelastography) 방식의 측정에는 360ul 정도의 상대적으로 많은 양의 혈액 샘플이 필요하다는 단점이 있으며 전체 측정시간이 30분 정도로 길다는 단점을 갖고 있다. 또한 상기와 같은

장치는 실험측정을 위한 전문 훈련을 요구하며, 작동과 분석을 위하여 전문적 지식을 필요로 하고 있어 진료 현장에서는 사용하기 곤란하다는 문제점이 있다.

[0005] 또한, Journal of Thrombosis and Thrombolysis 저널 (Vol. 18(2), 103-107, 2004)에 공시된 INRatio-monitoring-system 혈액응고측정기는, 15ul의 혈액샘플을 테스트 스트립의 모세관을 이용, 혈액응고 기전 중의 혈액의 임피던스 변화를 측정하는 장치이다.

[0006] 이때, 구연산나트륨(Sodium citrate)이 항응고제로 들어있는 진공관(Vacutainer)에 채혈을 한 샘플로 측정을 할 경우 정상적인 범위 내의 값을 얻기 어렵다는 단점이 있다.

[0007] 또한, 인체 내의 적혈구의 응집과 혈액 응고는 혈관 질환에 동시에 영향을 미치며, 적혈구 응집과 혈액 응고 기전 사이에도 상호작용을 하며 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 하지만 위에서 설명한 두 가지의 혈액 응고 측정 방식은 적혈구의 응집에 따른 영향을 고려하지 않고 혈액 응고를 측정하는 단점이 있다. 즉, 혈액에 따라 적혈구가 응집(aggregation)되는 속도와 강도가 다른데, 이는 혈액응고 시간을 결정짓는 주요 변수로 작용하기 때문에, 이를 표준화 또는 초기화하지 않고 측정하면 혈구의 응집된 정도에 따라 측정값이 일정하지 않을 수 있는 단점을 갖고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 따라서, 본 발명의 목적은 상기한 바와 같은 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 혈액 응고를 측정함에 있어 작동과 분석을 위해 전문적인 지식을 필요로 하지 않는 쉽고 간단한 마이크로 칩으로 구성되어 있으며, 미세교반칩 내부에는 교반장치가 포함되어 있어 혈액 샘플 내의 적혈구를 모두 분산시켜 초기화한 후, 적혈구 응집의 영향을 고려한 혈액 응고의 정도를 측정할 수 있으며, 이를 이용해 정맥 또는 손끝에서 채혈한 적은 양의 혈액샘플로, 광투과량을 이용한 혈액 응고 측정 장치 및 방법을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

[0009] 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.

과제의 해결 수단

[0010] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 특징에 따르면, 본 발명은 혈액샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실이 형성되고, 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 시약 중 적어도 어느 하나가 내부에 투입되는 미세교반칩과; 상기 미세교반칩의 내부에 설치되어 상기 혈액 샘플 내의 적혈구를 분산시키고 샘플을 교반시키는 교반장치와; 상기 교반장치의 교반을 유도하는 교반유도장치와; 상기 미세교반칩의 혈액 샘플에 광을 조사하는 광원과; 상기 광원에서 조사된 광의 투과량을 통해, 응집되는 혈구의 응집 정도와 응고기전으로 인해 생성되는 혈액응고 과정을 측정하는 광측정 센서와; 상기 교반유도장치의 작동을 제어하고, 상기 광측정 센서로부터 발생한 신호를 처리하는 제어부를 포함한다.

[0011] 상기 칼슘 이온은 염화칼슘 용액의 형태로 상기 미세교반칩의 내부에 투입됨을 특징으로 한다.

[0012] 상기 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 시약 중 적어도 어느 하나는 상기 샘플 저장실의 내벽에 코팅됨을 특징으로 한다.

[0013] 상기 시약은 트롬보플라스틴(Thromboplastine) 시약임을 특징으로 한다.

[0014] 상기 교반유도장치는, 동력을 제공하는 구동원과; 상기 구동원으로부터 동력을 전달받아 구동되는 구동부와; 상기 구동부의 상면에 구비되어, 자력을 통해 상부에 위치한 교반기를 함께 구동시키는 자성체를 포함함을 특징으로 한다.

[0015] 상기 교반기는 상기 교반유도장치의 급정지에 의해 급정지되도록 구동되고, 상기 교반유도장치의 급정지 시에 상기 구동부의 일측에 걸어지는 스톱퍼가 구비됨을 특징으로 한다.

[0016] 상기 미세교반칩은 일회용으로 사용이 가능함을 특징으로 한다.

[0017] 상기 미세교반칩은 레이저 가공이 가능한 폴리머, 사출성형 폴리머, 세라믹 중 적어도 어느 하나의 재질로 제작됨을 특징으로 한다.

- [0018] 상기 미세교반칩은 투명한 재질로 제작됨을 특징으로 한다.
- [0019] 상기 광측정 센서는 CCD센서 또는 포토 다이오드 센서로 구성됨을 특징으로 한다.
- [0020] 상기 제어부는 상기 혈액샘플을 통과한 광의 세기를 상기 광측정 센서를 통해 받아 시간에 따른 광의 세기를 저장함을 특징으로 한다.
- [0021] 상기 제어부에서 측정된 혈전의 형성 정도 및 측정 결과를 출력하는 출력부를 더 포함한다.
- [0022] 상기 미세교반칩을 내부에 수용하여, 열적 평형 유지가 가능하도록 하는 챔버를 더 포함한다.
- [0023] 상기 혈액샘플의 온도를 일정하게 유지할 수 있도록 온도를 조절하는 온도조절기를 더 포함한다.
- [0024] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 본 발명은 칼슘 용액 및 칼슘을 포함한 시약 중 적어도 어느 하나가 투입된 혈액샘플을 미세교반칩에 주입하여 교반시키는 단계와; 상기 혈액샘플을 교반시키는 교반장치를 급정지시키는 단계와; 광측정 센서를 이용하여 상기 혈액샘플을 통과한 광의 세기를 측정하는 단계와; 상기 측정된 광의 세기를 이용하여 적혈구의 응집 정도와 그 영향을 고려한 혈액 응고시간을 측정하는 단계를 포함한다.
- [0025] 상기 광측정 센서를 이용하여 광의 세기를 측정하는 단계에서, 초기에는 증가하던 광투과량이 혈장에 용해된 피브리노젠이 피브린으로 석출되면서 최대점을 보이고 감소하기 시작하는데, 이때를 혈액 응고 특성 시간으로 정의함을 특징으로 한다.
- [0026] 상기 혈액샘플이 샘플 저장실에서 교반되는 단계에서, 혈구를 분산시켜 혈액샘플의 초기상태를 일정하게 만들어 주어 혈구의 응집 정도를 항상 일정하게 초기화함을 특징으로 한다.

발명의 효과

- [0027] 본 발명에 의하면, 동일한 혈액이라 할지라도 혈구의 응집된 정도에 따라 혈액응고 시간이 크게 좌우되는 것을 방지하고 표준화된 초기조건, 즉 혈액응고 측정 전에 혈구를 분산시켜 놓는 초기화 과정을 통해 일정한 초기조건으로부터 혈액응고를 측정할 수 있는 효과를 거두게 된다.
- [0028] 또한, 항응고제가 처리된 혈액에 응고가 다시 일어나도록 주입하는 칼슘 용액 및 칼슘을 포함한 트롬보플라스틴 시약이 혈액 샘플과 균질하게 혼합되어야 하는데, 이러한 혼합과정이 혈구를 분산시키는 초기화 교반과정과 함께 이루어지는 효과가 있다. 즉, 별도의 혼합기 또는 혼합과정 없이 혈구를 분산화시키는 교반장치 및 분산과정으로 이를 대체하는 효과가 있다.
- [0029] 또한, 샘플 저장실의 내벽에 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 트롬보플라스틴 시약을 코팅 처리함에 따라 별도의 시약을 투입하는 과정을 생략할 수 있으며, 코팅된 시약이 혈액샘플에 균질하고 신속하게 용해되도록 돕는 별도의 교반과정 없이 앞서 언급된 혈구분산의 교반과정과 함께 처리되는 효과를 거둘 수 있다.
- [0030] 또한, 혈액 샘플이 접촉하는 부분은 모두 일회용 미세교반칩으로 제작이 가능하기 때문에 진료현장에서의 실시간 임상 적용에 매우 유리한 효과가 있다.
- [0031] 더욱이, 유격되어 위치한 자성구동 메커니즘을 이용, 샘플 저장실 내부에 있는 교반장치를 회전시켜 응집된 적혈구를 분산시키고 혈액샘플을 교반시킬 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0032] 도 1은 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치를 도시한 블록도.
- 도 2는 본 발명에 따른 혈액 응고측정 장치의 일회용 미세교반칩을 도시한 평면도.
- 도 3은 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치의 일회용 미세교반칩과 광측정센서 및 교반유도장치를 도시한 측면도.
- 도 4는 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치의 측정 방법을 도시한 순서도.
- 도 5는 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치를 통해 혈액 샘플을 통과한 레이저의 세기를 시간에 따라 측정하여 도시하여 응고 시간의 정의를 나타내주는 그래프.
- 도 6은 항응고제(Sodium citrate)가 들어있는 진공관(Vacutainer)을 이용하여 정맥 채혈한 혈액에 추가한 칼슘 이온의 농도에 따른 응고 시간을 도시한 그래프.

도 7은 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치에서 측정된 헤마토크릿(Hematocrit)에 따른 응고 시간을 도시한 그래프.

도 8은 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치에서 측정된 피브리노젠(fibrinogen)의 농도에 따른 응고 시간을 도시한 그래프.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0033] 이하에서는 본 발명에 의한 혈액 응고 측정 장치 및 방법의 일 실시예를 첨부된 도면을 참고하여 상세하게 설명한다.
- [0034] 도 1은 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치를 도시한 블록도이다.
- [0035] 이에 도시된 바에 따르면, 본 발명에 의한 혈액 응고 측정 장치는 크게 미세교반칩(10), 교반유도장치(20), 광원(30), 광측정 센서(40) 및 제어부(50)를 포함하여 구성된다.
- [0036] 먼저, 미세교반칩(10)의 구성에 대해서는 도 2 및 도 3을 참조하여 설명한다. 도 2는 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치의 일회용 미세교반칩을 도시한 평면도이고, 도 3은 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치의 일회용 미세교반칩과 광측정센서를 도시한 측단면도이다.
- [0037] 이를 참조하면, 상기 미세교반칩(10)은 내부에 혈액샘플(B)이 수용되는 혈액 응고 측정을 위한 소형 키트로써, 일회용으로 사용이 가능하도록 제작됨이 바람직하다. 이와 같이 미세교반칩(20)이 일회용으로 제작됨으로써 소형화된 기구를 이용하여 혈액 응고를 쉽게 측정할 수 있고 미소량의 혈액 응고 측정도 가능하다. 상기 미세교반칩(10)은 레이저 가공이 가능한 폴리머, 사출성형 폴리머, 세라믹 중 어느 하나의 재질로 제작될 수 있다. 물론, 상기 미세교반칩(10)의 재질은 상기한 소재에 한정되는 것은 아니다.
- [0038] 상기 미세교반칩(10)의 내부에는 혈액샘플(B)을 투입하는 입구(18)와, 혈액이 직접적으로 수용되는 샘플 저장실(12) 및 공기가 배출되는 구멍(19)으로 형성된다. 상기 샘플 저장실(12)은 혈액샘플(B)이 직접 주입되는 부분으로서, 대략 원형의 챔버 형태로 제작된다. 샘플 저장실(12)의 크기는 사용 목적에 따라 다양한 크기로 제작될 수 있지만 일반적으로 1 내지 10 mm 의 직경과, 0.1 내지 4 mm 의 깊이를 가진다. 상기 샘플 저장실(12)을 비롯한 일회용 미세교반칩(10)은 광학적으로 투명하도록 제작됨이 바람직하다.
- [0039] 다음으로, 상기 미세교반칩(10)의 내부에는 교반기(15)가 설치된다. 상기 교반기(15)의 직경은 샘플저장실(12) 깊이의 절반 크기의 직경을 갖으며, 교반기(15)의 길이는 미세교반칩(10)의 샘플저장실(12) 직경의 80 내지 90% 수준의 크기를 갖는다. 상기 교반기(15)는 샘플 저장실(12)에 주입된 혈액샘플(B) 내부에 있는 적혈구를 모두 분산시켜 다양한 샘플의 초기 조건을 동일하게 만드는 역할과 샘플과 시약을 효과적으로 혼합, 교반하는 역할을 한다. 상기 교반장치(15)는 이하에서 설명할 교반유도장치(20)의 자력에 의해 영향을 받을 수 있도록 얇은 금속재로 제작될 수 있다. 또한, 도 2에서와 같이 막대 또는 봉 형상을 가질 수도 있지만, 구슬 형상으로 제작될 수도 있다. 이러한 교반기(15)는 미세교반칩(10)에 포함되어 미세교반칩(10)과 함께 사용후 폐기되는 일회용이다.
- [0040] 상기 교반유도장치(20)는 미세교반칩(10)의 교반기(15)를 작동시키는 역할을 하는 장치이다. 상기 교반유도장치(20)는 교반기(15)를 작동시킬 수 있는 구성이라면 다양한 것들이 채용될 수 있다. 예를 들어, 상기 교반유도장치(20)는 구동원(모터), 구동부(원판), 자성체(영구자석) 등으로 구성되고, 원판의 상면에 영구자석이 부착된 상태로 모터의 구동에 의하여 원판이 회전됨으로써 일정한 간격을 두고 있는 교반기(15)의 회전을 유도하게 된다. 이러한 교반유도장치(20)는 전자석을 이용하여 모터와 같은 별도의 구동원 없이 구성되도록 구현할 수도 있다. 이와 같이 교반유도장치(20)는 자성구동 메커니즘에 의하여 교반기(15)를 작동시켜 간단하게 혈액샘플(B)내의 적혈구를 분산시킬 뿐 아니라 투입되거나 코팅된 시약과 혈액샘플(B)의 효과적인 혼합을 촉진하는 교반을 동시에 할 수 있는 장점이 있다.
- [0041] 상기 교반유도장치(20)는 상기 구동부(원판)의 구동을 급정지시키도록 제어되어야 한다. 이와 같이 급정지된 구동부의 일측이 걸어지기 위한 스톱퍼(도시되지 않음)가 구비되어 구동부가 정확한 위치에 정지될 수 있도록 한다. 교반유도장치(20)의 구동을 급정지시켜 교반기(15)의 회전 또한 급정지하도록 하는 이유는 교반기(15)의 급정지 이후 적혈구가 응집되기 시작하는 특성이 처음 10초 동안이 매우 중요하게 작용하기 때문이며 이러한 표준화된 초기화 조건을 통해서 혈구의 응집이 혈액응고에 영향을 끼치는 것을 포함하여 혈액 응고 시간을 정확하게 측정하기 위한 것이다.
- [0042] 한편, 상기 광원(30)으로는 레이저, 레이저 다이오드, LED 등이 사용될 수 있고, 광측정 센서(40)로는 CCD

센서, 포토 다이오드 등의 센서 등이 사용될 수 있다.

- [0043] 여기에서, 상기 광측정 센서(40)는 교반장치(20)의 교반이 끝난 후에 다시 응집되는 혈구의 응집 정도와 응고 기전으로 인해 혈장내에 존재하는 피브리노젠이 피브린으로 형성되는 혈액응고 과정을 측정하는 역할을 한다. 즉, 상기 광원(30)에서 조사된 광은 혈액샘플(B)로 조사되고, 혈액샘플(B)을 통과한 광은 광측정 센서(40)에서 감지되어 혈구의 응집 정도와 혈정 등을 측정하는 것이다. 물론, 상기 광원에서 조사된 광이 혈액샘플에 의해 역산란되어 돌아오는 광을 광측정 센서로 수집할 수 도 있다.
- [0044] 한편, 제어부(50)는 광측정 센서(40)에서 발생한 신호를 처리하는 역할을 한다. 그리고, 상기 제어부(50)는 혈액샘플(B)을 통과한 광의 세기를 광측정 센서(40)를 통해 받아 시간에 따른 광의 세기를 저장하게 된다. 상기 제어부(50)는 A/D변환기(52)를 통해 광측정 센서(40)로부터 발생한 신호를 디지털 신호로 변환하여 처리하게 된다. 또한, 상기 제어부(50)는 교반유도장치(20)의 구동을 제어하는 기능도 수행하게 된다.
- [0045] 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치는 상기 제어부(50)에서 측정된 혈전의 형성 정도 및 측정 결과를 출력하는 출력부(60)를 더 포함한다. 상기 출력부(60)는 광측정 센서(40)에서 측정된 적혈구 응집 정도와 혈액 응고의 정도 결과를 출력하는 화면출력기 또는 인쇄출력기와, 상기 제어부(50)로 전송되거나 제어부(50)에서 전송되는 데이터를 저장하는 저장기를 포함할 수 있다.
- [0046] 더욱이, 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치는 상기 미세교반칩(10)을 내부에 수용하여 열적 평형 유지가 가능하도록 하는 챔버(70)와, 상기 혈액샘플(B)의 온도를 일정하게 유지할 수 있도록 하며, 측정 희망 온도로 조절하며 이를 유지할 수 있는 온도조절기(80)를 더 포함할 수 있다.
- [0047] 한편, 본 실시예에서 측정에 사용되는 혈액샘플(B)은 구연산나트륨(Sodium citrate)이 항응고제로 하여 채혈된 용액을 이용할 수 있다. 이와 같이 항응고제가 처리된 혈액은 혈장내에 존재하는 칼슘 성분을 흡착하여 제거하였기 때문에 응고가 발생하지 않는데, 응고 시간을 측정하기 위해서는 항응고제가 포함된 혈액 샘플에 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 트롬보플라스틴(thromboplastin) 시약을 추가하여 인위적으로 응고를 일으키도록 한다. 추가된 칼슘 용액의 칼슘 이온은 응고를 발생시키고 트롬보플라스틴 시약을 이용하면 프로트롬빈 시간(Prothrombin time)을 측정할 수 있다.
- [0048] 그리고, 본 실시예에서는 이와 같은 항응고제가 처리된 혈액샘플(B)의 응고를 손쉽게 처리하기 위해 샘플 저장실(12)의 내벽에 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 트롬보플라스틴 시약 중 적어도 어느 하나를 코팅하는 것이 바람직하다. 예를 들어, 샘플 저장실(12)의 내벽에 칼슘 이온을 포함한 트롬보플라스틴 시약이 코팅되어 있는 경우에는 항응고제가 처리된 혈액샘플(B)를 투입하여 측정을 하게 된다. 다음으로, 샘플 저장실(12)의 내벽에 트롬보플라스틴 시약만 코팅된 경우에는 손가락에서 직접 채혈한 전혈을 주입하여 측정을 하게 된다. 이때에는 트롬보플라스틴 시약을 통해 프로트롬빈 시간을 측정할 수 있다. 또 다른 예를 들면, 샘플 저장실(12)의 내벽에 칼슘 이온을 포함한 시약이 코팅되어 있는 경우에는, 항응고제가 처리된 혈액샘플을 투입하여 응고시간을 측정할 수 있다.
- [0049] 이와 같이 본 실시예에서는 항응고제의 처리 유무에 관계없이 샘플 저장실(12)의 내벽에 코팅된 물질에 따라 혈액 응고를 쉽게 측정할 수 있는 장점이 있다.
- [0050] 이하에서는 상기한 바와 같은 구성을 가지는 본 발명에 의한 혈액 응고 측정방법을 상세하게 설명한다.
- [0051] 도 4는 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치의 측정 방법을 도시한 순서도이다. 이를 참조하면, 먼저 항응고제가 들어 있는 진공관(Vacutainer)을 이용하여 정맥 채혈한 후, 염화칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 트롬보플라스틴 시약을 특정 농도로 주입한다(S10).
- [0052] 다음으로, 혈액샘플(B)을 미세교반칩(10)의 샘플 저장실(12)에 주입한다. 물론, 샘플 저장실(12)의 내벽에 칼슘 용액 및 칼슘 이온을 포함한 트롬보플라스틴 시약이 코팅되어 있는 경우에는 이 과정을 생략할 수도 있다.
- [0053] 그리고, 교반유동장치(20)의 자성구동 매커니즘을 이용하여 일회용 미세교반칩(10)에 위치한 교반장치(15)를 구동시킨다(S20). 상기 교반유동장치(20)는 모터의 구동에 의하여 구동부가 회전되고, 구동부에 구비된 자성체에 의하여 교반장치(15)를 함께 회전시킨다. 여기에서 혈액샘플(B)의 교반은 미리 설정된 속도 및 시간 동안 회전될 수 있다.

- [0054] 그 다음에, 상기 교반유동장치(20)가 급정지됨으로써 교반장치(15)를 급정지시킨다(S30). 이는 교반의 급정지 이후, 적혈구가 응집되는 특성과 혈구 응집의 영향을 고려한 혈액 응고 시간을 정확하게 측정하기 위한 것이다.
- [0055] 이와 같이 교반이 끝난 후에 광측정 센서(40)를 이용하여 혈액샘플(B)을 통과한 광(레이저)의 세기를 측정한다(S40). 한편, 광측정 센서(40)가 광의 세기를 측정하는 단계에서 광을 차단하던 적혈구가 서로 뭉치는 적혈구 응집 현상으로 광투과량이 증가하는 양상을 갖는다. 그러나, 혈액 응고 이전에 의하여 혈장에 용해된 피브리노젠이 피브린으로 석출되면서 광투과를 방해하여 임의 시간에 광투과량이 감소하기 시작하는데, 이때를 혈액 응고 특성시간으로 정의한다. 이는 이하의 도 5에서 구체적으로 확인할 수 있다.
- [0056] 그리고, 측정된 광(레이저)의 세기 그래프를 이용하여 혈액 응고 시간을 측정한다(S50).
- [0057] 이하에서는 도 5 내지 도 8을 참조하여 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치의 응고 시간에 대해서 상세하게 설명한다.
- [0058] 먼저, 도 5는 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치를 통해 혈액 샘플을 통과한 레이저의 세기를 시간에 따라 측정하여 도시하여 응고 시간의 정의를 나타내주는 그래프이다.
- [0059] 이를 참조하면, 혈액은 교반이 끝난 시점에는 광투과량이 급격하게 증가하다가 일정 시간(약 170초)이 지난 시점부터는 레이저의 광투과량이 급격하게 줄어드는 것을 볼 수 있다. 따라서, 본 실시예에서는 광투과량이 증가하다가 최대치를 보이고 감소하기 시작하는 시간을 혈액응고 특성 시간으로 정의하였다. 즉, 광투과량이 감소한다는 것은 혈액의 응고 정도가 혈액응집에 의해 광투과량의 증가되는 상승세를 누르고 혈액응고로 인한 광투과량의 감소세가 더 우세해졌다는 것을 의미한다. 물론, 혈구 응집은 처음 10초 동안 매우 급격히 상승하지만 일반적으로 120초 동안 응집이 계속적으로 이루어지는 것으로 알려져 있다. 이러한 초기의 광투과량의 급상승 후 완만한 상승세를 혈액응고에 의해 더 이상의 상승이 멈춰지고 최대점을 찍은 후 급격히 감소하는 양상을 보인다.
- [0060] 또한, 항응고제 처리된 혈액의 경우는 응고가 발생하지 않기 때문에 일정 시간이 지난 시점부터는 광투과량이 일정하게 유지되는 것을 볼 수 있다.
- [0061] 도 6은 항응고제(Sodium citrate)가 들어있는 진공관(Vacutainer)을 이용하여 정맥 채혈한 혈액에 추가한 칼슘 이온의 농도에 따른 응고 시간을 도시한 그래프이다.
- [0062] 이를 참조하면, 칼슘 이온의 농도가 2mM 일때 응고 시간이 가장 늦은 것으로 나타나고 있고, 농도가 증가할수록 응고 시간이 짧아지다가 약 4mM 이상부터는 응고 시간이 일정해지는 것을 볼 수 있다. 따라서, 본 실시예에서는 칼슘 이온을 추가함에 있어 최적의 농도를 4mM 로 설정하고 투입하도록 하였다.
- [0063] 도 7은 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치에서 측정된 헤마토크릿(Hematocrit)에 따른 응고 시간을 도시한 그래프이다.
- [0064] 이를 참조하면, 헤마토크릿의 비율이 증가할수록 응고 시간이 감소하는 것을 볼 수 있다. 헤마토크릿은 적혈구 용적율을 나타낸 것으로서, 헤마토크릿이 높을수록 전체 혈액 중에 적혈구의 비율이 높아지는 것을 의미한다. 따라서, 응고 캐스케이드(Coagulation cascade)에 포함된 인자(Factor) IX가 더 활성화되어 응고를 촉진시키는 것으로 해석할 수 있다.
- [0065] 도 8은 본 발명에 따른 혈액 응고 측정 장치에서 측정된 피브리노젠의 농도에 따른 응고 시간을 도시한 그래프이다(*p<0.05; **p<0.01).
- [0066] 이를 참조하면, 피브리노젠의 농도가 높을수록 혈액응고시간은 감소함을 알 수 있으며 이러한 결과는 기존에 보고된 연구결과와도 일치한다.
- [0067] 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.

부호의 설명

- [0068] 10 : 미세교반칩 12 : 샘플 저장실

15 : 교반장치

20 : 교반유도장치

30 : 광원

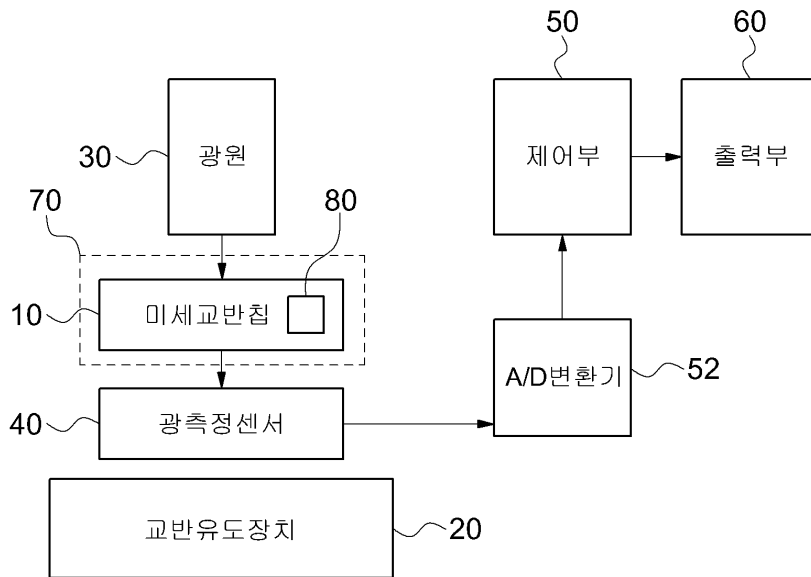
40 : 광측정 센서

50 : 제어부

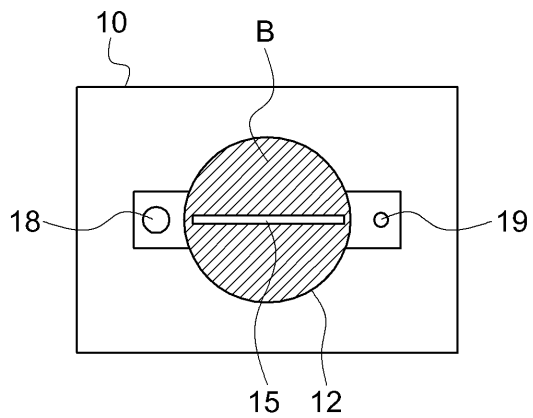
52 : A/D변환기

도면

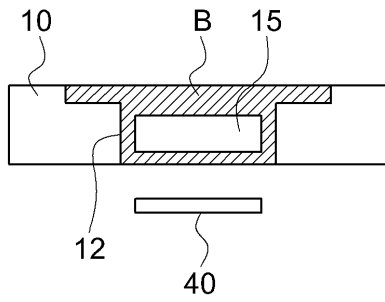
도면1



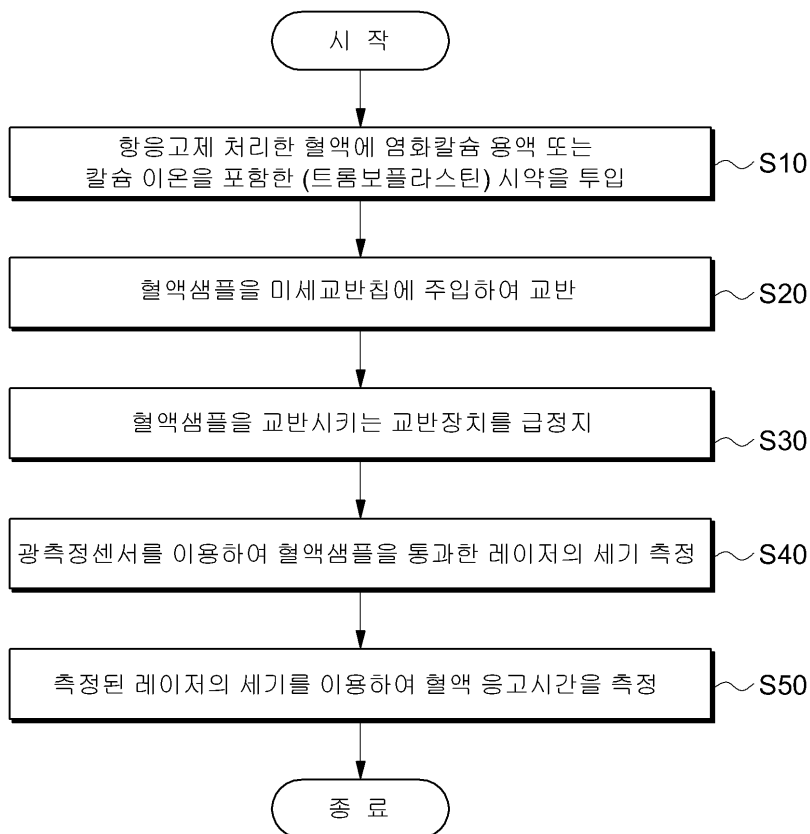
도면2



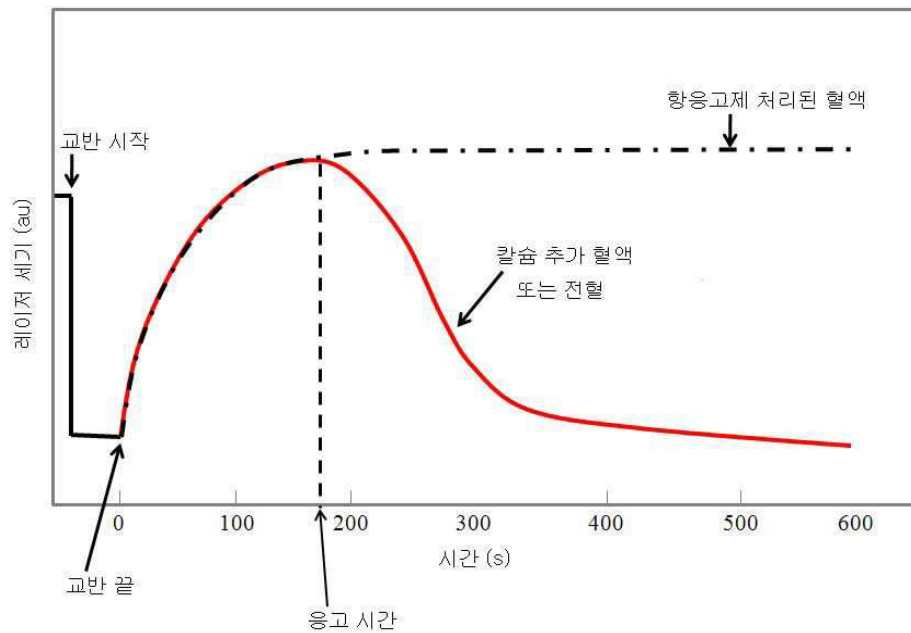
도면3



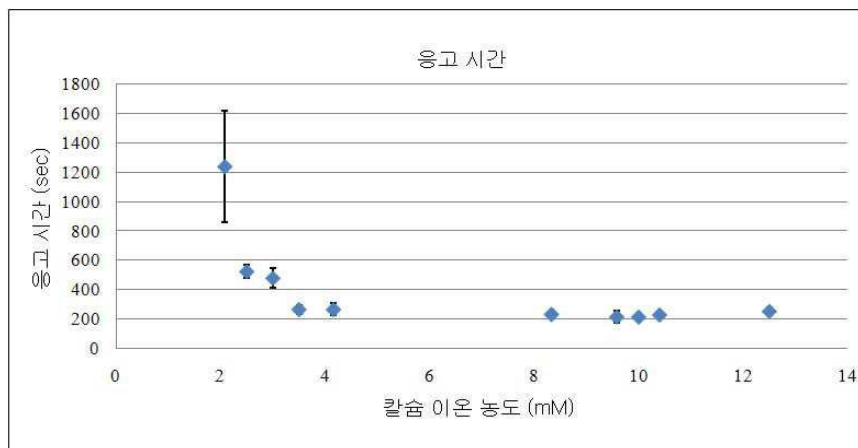
도면4



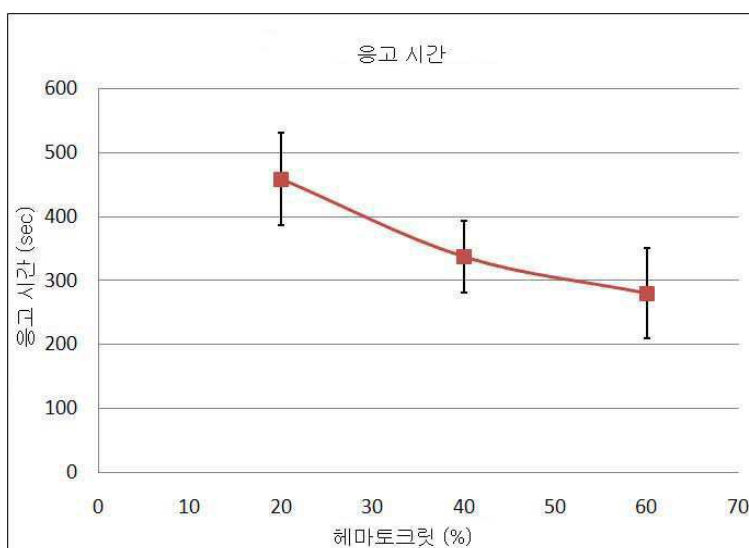
도면5



도면6



도면7



도면8

