



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0094036  
(43) 공개일자 2014년07월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 35/08 (2006.01) G01N 33/49 (2006.01)

G01N 27/30 (2006.01) G01N 21/00 (2014.01)

(21) 출원번호 10-2012-0154057

(22) 출원일자 2012년12월27일

심사청구일자 2012년12월27일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

신세현

서울 서초구 방배로 270, 바동 406호 (방배동, 방배삼호아파트)

임채승

경기도 안양시 동안구 평촌동 399-6 건영3단지 302-804

(74) 대리인

특허법인다나

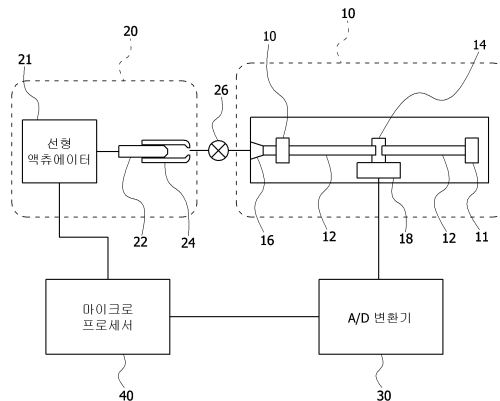
전체 청구항 수 : 총 22 항

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

### (57) 요약

본 발명은 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법에 관한 것이다. 본 발명은 혈액 샘플이 수용되고, 혈액 샘플의 유동에 의해 발생한 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 계측 장치; 및 계측 장치에 연결되어 혈액 샘플에 왕복 전단유동을 발생시키는 유체 구동 장치를 포함할 수 있다. 이와 같은 본 발명에 의하면, 혈소판과 폰 윌브란트 팩터(vWF) 등의 인자의 균일하며 완전한 활성화를 확보하며 혈소판 응집 현상의 반복 재현성을 향상시킬 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도1



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

혈액 샘플이 수용되고, 상기 혈액 샘플의 유동에 의해 발생한 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 계측 장치; 및

상기 계측 장치에 연결되어 상기 혈액 샘플에 왕복 전단유동을 발생시키는 유체 구동 장치를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 계측 장치는,

혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실;

상기 샘플 저장실에 연결되고, 상기 혈액 샘플의 전단 유동을 안내하는 마이크로 채널;

상기 마이크로 채널과 연결되고, 상기 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 계측 챔버; 및

상기 계측 챔버에서 발생하는 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 센서부를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 유체 구동 장치는,

선형 액츄에이터;

상기 선형 액츄에이터의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤; 및

상기 피스톤이 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 계측 장치와 유체 구동 장치의 사이에는 구동 압력의 전달 및 차단을 제어하는 밸브가 설치되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

### 청구항 5

제 4 항에 있어서,

상기 밸브는 주기적인 개폐를 통해 맥동(Pulsatile) 유동을 만드는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

### 청구항 6

제 2 항에 있어서,

상기 마이크로 채널은 다수개가 병렬로 배치되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

### 청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 병렬로 배치된 마이크로 채널에 연결된 계측 챔버에는 서로 다른 약물이 제공되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

## 청구항 8

제 1 항에 있어서,

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

## 청구항 9

제 8 항에 있어서,

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

## 청구항 10

제 8 항에 있어서,

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

## 청구항 11

제 8 항에 있어서,

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

## 청구항 12

제 8 항에 있어서, 상기 영상센서는,

상기 마이크로 채널로 광을 조사하는 광원; 및

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

## 청구항 13

제 12 항에 있어서,

상기 광원은 LED 이고, 상기 광계측 센서는 CCD 센서 어레이인 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

## 청구항 14

제 2 항에 있어서,

상기 계측 챔버는 상기 마이크로 채널의 중앙부에 위치하고, 상기 혈액 샘플의 유동속도를 저감시키기 위한 유로의 급확장부가 형성되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

## 청구항 15

제 2 항에 있어서,

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

#### 청구항 16

제 2 항에 있어서,

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

#### 청구항 17

제 15 항 또는 제 16 항에 있어서,

상기 마이크로 필터 또는 구슬을 포함한 계측 챔버에는 피브리노젠과 아라키돈산(Arachidonic acid), 콜라젠과 에피네프린, 콜라젠과 아데노신2인산(ADP), 콜라젠과 아라키돈산(Arachidonic acid), 콜라젠과 ADP 및 PGE1 (Prostaglandin E1), TRAP(Thrombin Receptor Activating Peptide), 콜라젠과 P2Y1 안타고니스트(antagonists), 콜라젠과 P2Y12 안타고니스트(antagonist) 로 구성된 약물 중 적어도 어느 하나 또는 이들의 조합이 제공되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

#### 청구항 18

제 17 항에 있어서,

상기 P2Y1의 안타고니스트(antagonists)로는 MRS 2179, MRS 2279, MRS 2500, A2P5P, A3P5P, 및 A3P5PS 등의 후보 물질 중 적어도 하나 이상인 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

#### 청구항 19

제 17 항에 있어서,

상기 P2Y1의 안타고니스트(antagonists)로는 클로피도그렐(clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine), 프라스구렐(prasugrel), AR-C67085MX, 칸그렐라(cangrelor), C1330-7, MRS 2395, 및 2-methylthioadenosine-5'-monophosphate 등의 후보 물질 중 적어도 하나 이상인 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

#### 청구항 20

제 15 항 또는 제 16 항에 있어서,

상기 마이크로 필터 또는 구슬을 포함한 계측 챔버에 제공되는 약물의 공급방법으로는, 표면에 코팅 또는 액체 주입 중 적어도 어느 하나가 사용되는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

#### 청구항 21

제 1 항에 있어서,

상기 유체 구동 장치에 의해 발생하는 전단유동에서 최소 전단율은  $5000(s^{-1})$  이상, 최소 전단력은 8Pa 이상인 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치.

#### 청구항 22

혈액 샘플을 양측에 배치한 샘플 저장실에 주입하는 단계;

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

상기 마이크로 채널의 중앙부에 위치한 계측 챔버에 약물을 제공하여 혈소판과 반응하도록 하는 단계; 및

상기 계측 챔버 내부에서 혈소판의 부착과 응집으로 인해 발생하는 변화를 계측하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 방법.

## 명세서

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 혈전성 허혈 및 출혈증에 대한 조기 진단과 예후를 간단한 일회용 마이크로칩 내부의 유동을 통해 소량의 혈액으로 대량의 검체를 자동으로 검사할 수 있는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 혈전증(Thrombosis)은 혈관 내에서 지혈 또는 혈전 등이 생성되는 것인데, 이러한 증상이 심장의 관상동맥이나 뇌혈관에서 발생하면 심장마비 또는 뇌경색을 유발하며 침묵의 살인자라는 별명을 지닌 혈전증은 현대인의 주요 사망원인으로 대두되고 있다. 문제는 이러한 혈전증 또는 출혈성 병증이 유전적 결함만으로 진단되지 않으며 아직도 명확하게 밝혀지지 않은 상태이다.

[0003] 더욱이, 이러한 혈전증 유병률이 유전 및 후천적 발생 요인 등에 의하여 매우 빠르게 증가하고 있다는 점이 더욱 심각한 문제이다. 따라서, 혈전증이나 출혈성 병증을 정량적으로 검사하고 이를 통해 조기 진단 및 예후를 판단할 수 있는 장치와 방법이 오래 전부터 요구되어 왔다.

[0004] 상처를 입은 혈관에 지혈 기전에 관여하는 여러 가지 인자들이 존재하는데, 각 요소들의 생화학적 및 생물리학적 기전이 모두 중요하게 작용하고 있으며 그 중에서도 혈소판의 지혈 기전은 결정적인 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다. 혈소판은 상처가 없는 혈관벽에서는 부착되지 않지만, 상처가 발생한 혈관벽에는 생화학적 및 생물리화학적 기전이 동시에 작용하여 어떠한 유동조건이든지 상관없이 지혈이 이루어질 수 있도록 작용한다.

[0005] 이러한 혈소판의 기능(function)을 세분화하여 검사하려는 다양한 방법과 장치들이 병행하여 개발되어 왔다. 혈소판 기능 검사는 주로 혈소판의 수적 이상이 없는 출혈성 질환에서 선천성 혹은 후천성 혈소판 기능이상에 의한 출혈성 질환을 감별하는 데 중요한 검사이다. 또한, 이러한 혈소판 기능 검사가 심혈관 질환의 치료 및 예방에 사용되는 항혈소판 약제로 인하여 출혈성 경향의 증가나 약제의 내성에 대한 검사를 위해서도 많이 이용되고 있는 실정이다.

[0006] 혈관 내피세포에 상처가 발생하였을 경우, 혈관 내피세포 내부 물질을 구성하는 콜라겐과 같은 물질이 혈액 유동에 노출되고 혈소판은 이러한 물질에 부착되면서 활성화 된다. 혈소판의 부착 기전은 혈액유동의 환경에 따라 다른 특성을 띠게 된다.

[0007] 이를 상세하게 설명하면, 동맥과 같이 혈류속도가 빠르고 혈관벽에 작용하는 전단력이 높은 경우 혈소판이 혈관 내막에 부착되기 어렵지만 이러한 조건에서 활성화되어 혈관벽에 쉽게 부착하는 폰 윌브란트 팩터(vWF)에 의하여 혈소판이 혈관벽에 부착된다. 물론 혈소판 세포막에 존재하는 글리코프로테인 리셉터(glycoprotein receptor) 복합체인 GPIb-IX-V 등이 폰 윌브란트 팩터(vWF)와 상호작용을 유발하여 부착되는 것으로 알려져 있다.

[0008] 이와 같이 부착된 혈소판은 동류의 혈소판을 끌어들이어 응집(aggregation)을 유발시켜 지혈을 하게 되며, 이를 다시 피브린에 의하여 지혈작용을 강화시킨다.

[0009] 그러나, 이와 같이 혈소판의 기능이 항상 좋은 쪽으로만 작용하는 것이 아니라 특정의 유동 조건이나 상황에서는 역기능으로 작용할 수 있다. 예를 들면, 동맥경화로 인하여 혈관벽이 국부적으로 협착되었을 경우, 혈소판이 이러한 부분을 통과하면서 높은 전단력에 노출되어 활성화가 되어 협착부 후방부에 부착-응집이 발생하여 혈관이 막히는 혈전증을 유발하기도 한다.

[0010] 앞서 기술한 바와 같이 혈류 유동의 크기에 따라, 즉 유동에 의한 전단력(shear stress)에 의하여 혈소판 및 폰 윌브란트 팩터(vWF)는 활성화가 되며 부착성이 크게 증가되어 지혈 기전을 갖게 된다. 이와 같이 혈소판이나 폰 윌브란트 팩터(vWF)의 활성화에 필요한 전단력은 8 Pa 이상이며, 전단률(shear rate)로는 5000 1/s 이상인 것으로 알려져 있다.

[0011] 이와 같이 지혈 또는 혈전 병증의 조기 진단 및 예후 검사를 위하여 다양한 장치들이 제안되고 개발되었지만 이를 계측 센서를 기준으로 구분하면 전기적, 광학적, 그리고 출혈정지 시간을 측정하는 방식 등이다.

[0012] 출혈시간(Bleeding time, BT) 검사법은 약 100년 전에 개발된 출혈시간 측정검사로써 현재까지도 혈소판 기능 선별검사로 간혹 사용되고 있다. 그러나, 현재 사용되고 있는 혈소판 기능 검사는 표준화가 어렵고 임상적 유용

성이 적으며 침습적 방법을 사용해야 하는 문제가 있고, 이에 따라 혈소판 기능을 측정할 수 있는 객관화된 측정법이 요구되어 왔다.

- [0013] 이상의 문제점을 해결하기 위해 고안되어 혈소판의 기능을 측정하는 기술로 사용되고 있는 Platelet Function Analyzer(예: PFA-100)의 경우에는, 고전단물에서 활성화된 폰 윌브란트 팩터(vWF)에 의하여 혈소판이 응집되는 특성이 있는데, 이를 측정하기 위하여 긴 모세관에 고전단물로 전혈을 유동시킨 후 콜라겐(Collagen)과 함께 ADP 혹은 에피네프린(Epinephrine)이 코팅된 오리피스(orifice)에 혈소판이 응집되어 오리피스 구멍이 막히는 막힘시간을 압력 또는 유량 등으로 측정하는 방법이 시행되고 있다.
- [0014] 이러한 혈소판 기능 검사를 위해서는 폰 윌브란트 팩터(vWF)의 기능에 절대적으로 의존하여야 하고 헤마토크릿(Hct)에 의존적인 검사가 이루어지며 항아스피린(Aspirin) 또는 항클로피도그렐(Clopidogrel) 검사가 불가한 단점이 있다. 또한, 혈소판의 기능 검사를 위하여 두 단계에 걸쳐 검사가 필요하여 검사 비용이 높아지는 단점을 가지고 있다.
- [0015] 특히, 폰 윌브란트 팩터(vWF)를 활성화하기 위하여 혈액 샘플이 높은 전단물로 일정시간 이상에 노출되어야 하는데, 이를 위해 PFA-100에서는 상당히 긴 모세관을 빠른 속도로 혈액을 유동시키는 방법을 채택하였다. 그러나, 이러한 방법은 다량의 혈액이 요구될 뿐 아니라, 전단물이 최대가 되는 모세관 벽 근처의 폰 윌브란트 팩터(vWF)는 쉽게 활성화될 수 있지만 전단물이 최소가 되는 관 중심부에 위치한 폰 윌브란트 팩터(vWF)는 활성화되지 못하는 문제점을 갖고 있으며 이로 인해 검사결과의 반복성에 문제를 초래할 수 있는 단점을 지니고 있다.
- [0016] Diamed사의 IMPACT는 Cone-Plate 방식의 회전형 쿼트 유동방식을 채택하여 그 안에 채워진 혈액에 균일한 전단력을 가하는 방식으로 구성되어 높은 전단력을 가하였을 경우 혈소판의 부착 정도를 측정하는 방식이다. 이는 PFA-100과 마찬가지로 폰 윌브란트 팩터(vWF) 및 피브리노겐(Fibrinogen)의 농도 및 기능에 매우 의존적인 단점을 갖고 있다.
- [0017] Verify-NOW (Accumetrics)는 혈소판 응집정도를 광학 센서를 이용하여 탁도를 측정하는 원리를 채택하였는데, 이는 혈액에 아고니스트(agonist)를 혼합하고 콜라겐이 표면에 코팅된 마이크로 비드와 작용시켜 혈액내부에 혈소판이 응집되도록한 후 이를 시간에 따라 탁도로 측정하는 방식이어서, 기존의 여러 가지 탁도 측정 방식의 기술적 단점을 그대로 보유하였음에도 불구하고 최근 사용 빈도가 늘어나고 있는 상황이다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0018] 따라서, 본 발명의 목적은 상기한 바와 같은 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 한번의 검사로 출혈성 및 혈전성 병증에 대한 복합적인 다중 조기 진단 및 예후 검사가 가능하도록 하여 검사 비용을 절감하고 검사 반복성과 정밀도를 향상시킬 수 있는 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법을 제공하는 것이다.
- [0019] 본 발명의 다른 목적은 자동으로 혈액유동의 막힘 시간(Closure time)을 측정할 수 있는 구조를 가진 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법을 제공하는 것이다.
- [0020] 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

- [0021] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명은 혈액 샘플이 수용되고, 상기 혈액 샘플의 유동에 의해 발생한 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 계측 장치; 및 상기 계측 장치에 연결되어 상기 혈액 샘플에 왕복 전단유동을 발생시키는 유체 구동 장치를 포함할 수 있다.
- [0022] 상기 계측 장치는, 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실; 상기 샘플 저장실에 연결되고, 상기 혈액 샘플의 전단 유동을 안내하는 마이크로 채널; 상기 마이크로 채널과 연결되고, 상기 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 계측 챔버; 및 상기 계측 챔버에서 발생하는 혈소판의 부착과 응집을 계측하기 위한 센서부를 포함할 수 있다.
- [0023] 상기 유체 구동 장치는, 선형 액츄에이터; 상기 선형 액츄에이터의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤;

및 상기 피스톤이 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더를 포함할 수 있다.

- [0024] 상기 계측 장치와 유체 구동 장치의 사이에는 구동 압력의 전달 및 차단을 제어하는 밸브가 설치될 수 있다.
- [0025] 상기 밸브는 주기적인 개폐를 통해 맥동(Pulsatile) 유동을 만들 수 있다.
- [0026] 상기 마이크로 채널은 다수개가 병렬로 배치될 수 있다.
- [0027] 상기 병렬로 배치된 마이크로 채널에 연결된 계측 챔버에는 서로 다른 약물이 제공될 수 있다.
- [0028] 상기 센서부는 전기 임피던스를 측정하는 전극 센서, 탁도를 측정하는 광센서, 요동 압력을 측정하는 압력 센서, 또는 상기 혈액 샘플의 왕복 이동거리를 측정하는 영상센서 중 적어도 어느 하나가 사용될 수 있다.
- [0029] 상기 전극 센서는 상기 계측 챔버 내부의 양단에 두 개의 전극으로 구성되어 상기 계측 챔버 사이의 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 전기적 임피던스의 변화를 측정할 수 있다.
- [0030] 상기 광센서는 상기 계측 챔버의 외부의 양단에 광원과 대향되게 구성되어 상기 계측 챔버 사이의 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 광학적 탁도의 변화를 측정할 수 있다.
- [0031] 상기 압력 센서는 상기 계측 장치와 유체 구동장치를 연결하는 밸브, 또는 상기 샘플 저장실에 구비되어 상기 계측 챔버에서 혈소판의 부착과 응집에 따라 변화되는 요동압력 변화를 측정할 수 있다.
- [0032] 상기 영상센서는, 상기 마이크로 채널로 광을 조사하는 광원; 및 상기 마이크로 채널 내의 혈액을 투과한 광을 수신하여 전기적 신호로 바꾸어 혈액유동의 진행거리를 측정하는 광계측 센서를 포함할 수 있다.
- [0033] 상기 광원은 LED 이고, 상기 광계측 센서는 CCD 센서 어레이일 수 있다.
- [0034] 상기 계측 챔버는 상기 마이크로 채널의 중앙부에 위치하고, 상기 혈액 샘플의 유동속도를 저감시키기 위한 유로의 급확장부가 형성될 수 있다.
- [0035] 상기 계측 챔버에는 혈소판의 부착과 응집을 촉진하고 이로 인한 유동의 감소를 유도하기 위한 다수개의 마이크로 필터가 설치될 수 있다.
- [0036] 상기 계측 챔버의 내부에는 다수개의 구슬이 구비될 수 있다.
- [0037] 상기 마이크로 필터 또는 구슬을 포함한 계측 챔버에는 피브리노젠과 아라키돈산(Arachidonic acid), 콜라젠과 에피네프린, 콜라젠과 아데노신2인산(ADP), 콜라젠과 아라키돈산(Arachidonic acid), 콜라젠과 ADP 및 PGE1 (Prostaglandin E1), TRAP(Thrombin Receptor Activating Peptide), 콜라젠과 P2Y1 안타고니스트(antagonists), 콜라젠과 P2Y12 안타고니스트(antagonist) 로 구성된 약물 중 적어도 어느 하나 또는 이들의 조합이 제공될 수 있다.
- [0038] 상기 P2Y1의 안타고니스트(antagonists)로는 MRS 2179, MRS 2279, MRS 2500, A2P5P, A3P5P, 및 A3P5PS 등의 후보 물질 중 적어도 하나 이상일 수 있다.
- [0039] 상기 P2Y1의 안타고니스트(antagonists)로는 클로피도그렐(clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine), 프라스구렐(prasugrel), AR-C67085MX, 칸그렐러(cangrelor), C1330-7, MRS 2395, 및 2-methylthioadenosine-5'-monophosphate 등의 후보 물질 중 적어도 하나 이상일 수 있다.
- [0040] 상기 마이크로 필터 또는 구슬을 포함한 계측 챔버에 제공되는 약물의 공급방법으로는, 표면에 코팅 또는 액체 주입 중 적어도 어느 하나가 사용될 수 있다.
- [0041] 상기 유체 구동 장치에 의해 발생하는 전단유동에서 최소 전단율은  $5000(s^{-1})$  이상, 최소 전단력은 8Pa 이상일 수 있다.

### 발명의 효과

- [0042] 본 발명에 의하면, 혈액 샘플이 병렬채널을 통해 각각의 채널에서 서로 다른 약물에 의해 검사가 이루어질 수 있게 되고, 한 번의 검사로 복합적인 혈소판 기능에 대한 다중검사가 가능하고 검사 시간이 감소하며 검사 비용도 절감되는 효과가 있다.
- [0043] 또한, 왕복 유동 메커니즘을 통해 혈액 샘플이 병렬채널을 통해 각각의 채널에서 임계 전단력 이상의 전단 왕복 유동에 충분한 시간동안 노출시킬 수 있도록 구성되어, 한번 지나가고 다시 돌아오지 못하는 유동(Once-through

flow)에 비하여 혈소판과 폰 윌브란트 팩터(vWF) 등의 인자의 균일하며 완전한 활성화를 확보하며 혈소판 응집 현상의 반복 재현성을 향상시킬 수 있는 효과가 있다.

[0044] 또한, 계측 챔버 내부에 혈소판이 부착, 응집 되는 현상을 실시간으로 현미경을 통해 관찰 할 수 있어 약물별 정성적인 분석이 가능한 효과가 있다.

[0045] 또한, 혈액에 접촉하는 부분이 모두 일회용으로 제작되어 사용후 폐기할 수 있어 사용자의 편리성과 혈액 감염 등의 위험에서 벗어나는 효과를 얻을 수 있다.

[0046] 또한, 계측 시간의 짧음과 여러 개의 샘플이 동시에 측정될 수 있는 시스템의 구현이 가능하여 대량 검사를 수행하기에 적합한 효과가 있다.

[0047] 또한, 왕복유동 메커니즘은 다양한 아고니스트(agonist) 및 안타고니스트(antagonist)의 약제를 액상으로 직접 투입하거나 유로의 특정면에 코팅하여 다양한 약리학적 검사를 수행할 수 있는 효과가 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0048] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법의 구성도.

도 2a 및 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 계측 장치의 구성도.

도 3은 계측 챔버 내에 마이크로 필러가 구비된 것을 보인 구성도.

도 4는 계측 챔버 내에 구슬이 구비된 것을 보인 구성도.

도 5a는 전기적 임피던스를 기반으로 측정하는 센서부의 구성도.

도 5b는 도 5a의 센서부에 따라 계측된 그래프.

도 6a는 광센서를 통해 탁도를 기반으로 측정하는 센서부의 구성도.

도 6b는 도 6a의 센서부에 따라 계측된 그래프.

도 7a는 영상 센서를 통해 마이크로 채널의 혈액 샘플의 이동도를 측정하는 센서부의 구성도.

도 7b는 도 7a의 센서부에 따라 계측된 그래프.

도 8a는 요동 압력을 측정하기 위한 센서부의 구성도.

도 8b 및 8c는 도 8a의 센서부에 따라 계측된 그래프.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049] 이하에서는 본 발명에 의한 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치 및 방법의 일 실시예를 첨부된 도면을 참고하여 상세하게 설명한다.

[0050] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 유동칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치의 구성도이고, 도 2a 및 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 계측 장치의 구성도이다.

[0051] 이에 도시된 바에 따르면, 본 발명에 의한 마이크로칩 기반 혈소판 기능 및 약물반응 검사 장치는 혈액 샘플이 수용되고, 상기 혈액 샘플의 유동에 의해 발생한 혈소판의 부착과 응집을 측정하기 위한 계측 장치(10); 및 상기 계측 장치(10)에 연결되어 상기 혈액 샘플에 왕복 전단유동을 발생시키는 유체 구동 장치(20)를 포함한다.

[0052] 먼저, 계측 장치(10)에 대해 살펴보면, 계측 장치(10)는 혈액 샘플이 내부에 수용되는 샘플 저장실(11)을 포함한다. 그리고, 샘플 저장실(11)의 일측에는 마이크로 채널(12)이 연결된다. 마이크로 채널(12)은 혈액 샘플의 전단 유동을 안내하기 위해 연결되는 부분으로서, 샘플 저장실(11)의 사이에 연결되어 있다.

[0053] 마이크로 채널(12)은 도 2a에 도시된 바와 같이 하나로 구성될 수도 있고, 도 2b에 도시된 바와 같이 다수개로 병렬로 배치되어 구성될 수도 있다. 마이크로 채널(12)이 병렬로 배치될 경우, 각각의 계측 챔버(14)에는 서로 다른 약물이 공급될 수 있다.

[0054] 그리고, 마이크로 채널(12)의 일측에는 혈소판의 부착 및 응집을 측정하기 위한 계측 챔버(14)가 연결된다. 계측 챔버(14)는 마이크로 채널(12)의 중앙부에 설치되는 것이 바람직하고, 혈소판의 부착과 응집이 발생하는 부

본이다. 참고로, 마이크로 채널(12)의 단부에는 밀봉을 위한 마감부(16)가 구비될 수 있다.

- [0055] 도 3 및 도 4를 참조하면, 계측 챔버(14)에는 혈소판의 부착과 응집을 촉진하고 이로 인한 유동의 감소를 유도하기 위한 마이크로 필터(17)가 구비될 수 있다. 마이크로 필터(17)는 궁극적으로 혈액 왕복 유동의 유로가 쉽게 폐쇄되도록 한다. 또한, 계측 챔버(14)에는 다수개의 구슬(19)이 구비될 수도 있다.
- [0056] 또한, 계측 챔버(14)에는 혈액의 유동속도가 저감되도록 유로 급확장부(미도시)가 형성될 수 있다.
- [0057] 계측 챔버(14)에는 피브리노젠과 아라키돈산(Arachidonic acid), 콜라젠과 에피네프린, 콜라젠과 아데노신2인산(ADP), 콜라젠과 아라키돈산(Arachidonic acid), 콜라젠과 ADP-PGE1 (P2Y12 assay), 콜라젠과 MRS2179, 콜라젠과 MRS2395 로 구성된 약물 중 적어도 어느 하나 또는 이들의 조합이 제공될 수 있다.
- [0058] 또한, 계측 챔버(14)에는 혈소판의 응집 억제약물로 아스피린, P2Y12 리셉터 안타고니스트 클로피도그렐(P2Y12 receptor antagonist clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine) 으로 구성된 시약 중 어느 하나가 공급될 수 있다.
- [0059] 한편, 상술한 계측 챔버(14)에 제공되는 약물의 공급 방법으로는, 표면에 코팅 또는 액체 주입 중 적어도 어느 하나가 사용될 수 있다.
- [0060] 다음으로, 계측 챔버(14)에 다양한 센서로 혈소판의 부착과 응집을 계측하는 센서부(18)가 구비된다. 센서부(18)는 전기 임피던스를 측정하는 전극 센서, 탁도를 측정하는 광센서, 요동 압력을 측정하는 압력 센서, 또는 상기 혈액 샘플의 왕복 이동거리를 측정하는 영상센서 중 적어도 어느 하나가 사용될 수 있다. 그리고, 센서부(18)는 A/D 변환기(30)와 연결되어 있어 계측된 신호는 변환될 수 있다.
- [0061] 센서부(18)의 구체적인 실시예를 설명하기 전에 도 1을 참조하여 유체 구동 장치(20)에 대해 이하에서 설명한다.
- [0062] 유체 구동 장치(20)는 마이크로 채널(12)로 유입되는 혈액 샘플에 직선 왕복운동을 발생시키기 위한 장치로서, 선형 액추에이터(21)와, 선형 액추에이터(21)의 구동에 의해 직선 왕복운동을 하는 피스톤(22)과, 피스톤(22)이 직선 왕복운동이 가능하도록 설치되는 실린더(24)를 포함한다.
- [0063] 그리고, 계측 장치(10)와 유체 구동 장치(20)의 사이에는 밸브(26)가 연결된다. 밸브(26)는 실질적으로 마이크로 채널(12)에 연결되어 구동 압력의 전달 및 차단을 제어하는 역할을 한다. 또한, 밸브(26)는 효과적으로 구동 압력을 전달하기 위해 주기적인 개폐를 통해 맥동(Pulsatile) 유동을 만들 수 있다.
- [0064] 마이크로 채널(12)에 발생하는 유동은 혈액 샘플 내부에 존재하는 혈소판과 폰 윌브란트 팩터(vWF) 등의 요소들을 역학적으로 자극하여 활성화하기에 충분한 임계 전단력과 임계 전단률 이상을 제공하도록 설계할 수 있다. 이때 최소 전단력은 8 Pa이고, 최소 전단률은  $5000(s^{-1})$  인 것이 바람직하다.
- [0065] 이러한 임계 전단 유동을 제공하기 위해 유체의 속도와 마이크로 채널을 정밀하게 설계 및 제어할 필요가 있다. 또한, 상기 전단 유동을 통해 혈소판과 폰 윌브란트 팩터(vWF)에 충분한 활성화 시간이 제공되도록 왕복유동의 인가 시간을 정밀하게 제어할 수 있다.
- [0066] 한편, 선형 액추에이터(21)는 마이크로 프로세서(40)와 연결되어 있어 구동이 제어될 수 있다.
- [0067] 이하에서는 상술한 센서부(18)의 다양한 실시예에 대하여 도 5 내지 8을 참조하여 상세하게 설명한다.
- [0068] 먼저, 전기적 계측 방법은 도 5a에 도시된 바와 같이 계측 챔버(14)의 양단에 두 개의 전극을 구비하여 전극 사이의 전기적 임피던스를 측정한다. 물론, 계측 챔버(14) 표면에는 여러 아고니스트(agonist) 후보물질 중에 적어도 어느 하나가 코팅될 수 있다.
- [0069] 계측 챔버(14)에 혈액 샘플이 빠른 속도로 왕복유동이 발생하면서 혈액 내부에 고전단력과 고전단률이 가해지면, 이에 노출된 혈소판과 폰 윌브란트 팩터(vWF)는 활성화되고 부착성이 증가하여 챔버 내부의 표면에 부착되고 점차 응집이 일어나게 된다.
- [0070] 대부분의 혈구들은 전기적 비전도체인 반면, 혈장은 전해질로 구성된 액체이어서 우수한 전도체이어서, 혈소판이 전극 표면에 부착이 발생하면 임피던스가 크게 증가하지만, 계측 챔버(14)의 표면에 부착되면 전기적 임피던스는 오히려 감소할 수 있다.

- [0071] 따라서, 계측 챔버(14)의 내부 구조 설계와 코팅면의 구성에 따라 전기적 임피던스 값이 증가하거나 감소하도록 설계할 수 있다. 도 5b에 도시된 것은 전극 사이의 전기적 저항이 증가하는 것을 개략적으로 그린 그림이다.
- [0072] 도 5b에서, 시간이 지남에 따라 전기적 임피던스가 점진적으로 최대값에 접근하게 되는데, 이 때 변화폭의 95%에 도달하는 시간을 막힘 시간(closure time)으로 정의할 수 있다.
- [0073] 또 다른 계측 방법으로 도 6a를 참조하며, 계측 챔버(14)가 투명한 재질로 구성하고, 계측 챔버(14)의 상하면에 각각 광원(15a)과 광센서(15b)를 대향되게 구성하여 계측 챔버(14) 내부의 탁도 변화를 측정할 수 있다.
- [0074] 아고니스트(Agonist)의 코팅 면이 광원(15a)과 광센서(15b) 사이에 구조적으로 구성되는 방법에 따라 혈소판이 부착되고 응집됨에 따라 이에 계측되는 광시그널은 시간에 따라 증가하거나 감소할 수 있다.
- [0075] 광원(15a)과 광센서(15b)가 장착된 면의 계측 챔버(14) 내부 표면에 아고니스트(agonist)가 코팅된 경우, 도 6b에 도시된 바와 같이 광세기는 시간에 따라 감소하게 된다. 그러나, 광통로에 크게 영향을 주지 않는 다른 부분에 설치된 표면이나 마이크로 필터(17) 부분에서 혈소판의 부착과 응집이 발생하면 광세기는 시간에 따라 증가하게 된다. 또한, 막힘 시간은 임피던스의 경우와 마찬가지로 변화폭의 95%에 해당하는 시점으로 결정할 수 있다.
- [0076] 또 다른 계측 방법으로는, 계측 챔버(14)를 중앙으로 하여 양쪽에 연결된 마이크로 채널(12)에 CCD 센서 어레이와 같은 광계측 센서(13b)와 LED 같은 광원(13a)이 상하에 각각 구비될 수 있다.
- [0077] 광계측 센서(13b)는 불투명한 혈액 샘플이 왕복운동을 할 때 계측되는 계측 길이가 길고 일정하지만, 점차 혈소판이 계측 챔버(14)에 부착되고 응집됨에 따라 혈액 샘플이 계측되는 거리가 감소하게 되면 계측 챔버(14)가 완전히 막히면서 혈액 샘플의 계측거리는 혈액부피가 채워진 마이크로 채널(12)의 길이와 동일하며 일정한 크기를 지니게 된다(도 7b 참조). 또한, 막힘 시간은 임피던스의 경우와 마찬가지로 변화폭의 95%에 해당하는 시점으로 결정할 수 있다.
- [0078] 또 다른 계측 방법으로는, 피스톤(22)과 연결된 밸브(26)의 다른 한 쪽에 연결된 도관에 압력 센서(28)가 구비될 수 있다.
- [0079] 압력 센서(28)는 피스톤(22)에 의해 왕복운동이 가해질 때 요동 압력을 계측하는 수단으로서, 초기에는 피스톤(22)의 왕복운동에 의해 발생한 요동 압력은 혈액 샘플의 왕복운동 운동에 의하여 다소 감소된 폭으로 요동하지만, 계측 챔버(14)에 혈소판이 부착되고 응집되어 결국에는 유로가 막혔을 경우에는 폐쇄된 채널에 요동 압력이 완충되지 않아 원래의 요동 압력이 기록되게 된다.
- [0080] 이러한 실시예에 따라 시간에 따라 기록된 요동압력의 그래프가 도8b에 도시되어 있다.
- [0081] 그러나, 압력 센서(28)와 연결된 도관이 혈액 샘플이 주입되는 샘플 저장실(11) 쪽의 상부에 연결되고 주입구가 혈액 주입 후 밀봉될 경우, 계측되는 요동 압력의 그래프는 도 8c에 도시된 바와 같이 시간이 지남에 따라 점차 감소하게 될 것이다.
- [0082] 이상에서 살펴본 구성에서 혈액에 접촉하는 부분은 모두 플라스틱이나 유리 등으로 매우 저렴한 비용으로 제작될 수 있어서 이를 일회용으로 제작할 수 있다. 본 발명의 일 실시예로, 상기의 마이크로 채널(12)은 헤마토크릿을 측정하는 모세관으로 대체될 수 있다. 이와 같이 일회용으로 제작된 시험 키트는 사용 후 폐기할 수 있어 사용자의 편리성과 혈액 감염 등의 위험에서 벗어나는 효과를 얻을 수 있다.
- [0083] 또한, 일회용 키트는 투명한 재질로 구성될 수 있다. 이를 통해 혈액의 이동도를 광계측 센서(13b)로 측정할 수 있게 될 뿐 아니라, 계측 챔버(14) 내부에 혈소판이 부착과 응집되는 현상을 실시간으로 현미경을 통해 관찰할 수 있다.
- [0084] 이러한 현미경 관찰은 계측 챔버(14)에 코팅되거나 주입된 다양한 약물에 대한 약리 동력학적 반응 검사를 정성적으로 관찰하고 검사할 수 있는 연구 도구로서도 사용할 수 있다.
- [0085] 상기 약물로는, 혈소판이 부착하는 것에 도움이 되는 아고니스트(agonist), 즉 콜라젠, 또한, 아데노신2인산(ADP), 에피네프린(Epinephrine) 등이 있으며, 반대로 혈소판의 응집을 방해하거나 억제하는 안타고니스트(antagonists)로는 아스피린, P2Y1 리셉터 안타고니스트, P2Y12 리셉터 안타고니스트 등이 포함된다.
- [0086] P2Y1의 안타고니스트(antagonists)로는 MRS 2179, MRS 2279, MRS 2500, A2P5P, A3P5P, 및 A3P5PS 등의 후보 물질 중 적어도 어느 하나일 수 있다. P2Y12의 안타고니스트(antagonists)로는 클로피도그렐(clopidogrel), 티

클로피딘(ticlopidine), 프라스그렐(prasugrel), AR-C67085MX, 칸그렐라(cangrelor), C1330-7, MRS 2395, 및 2-methylthioadenosine-5'-monophosphate 등의 후보 물질 중 적어도 어느 하나일 수 있다.

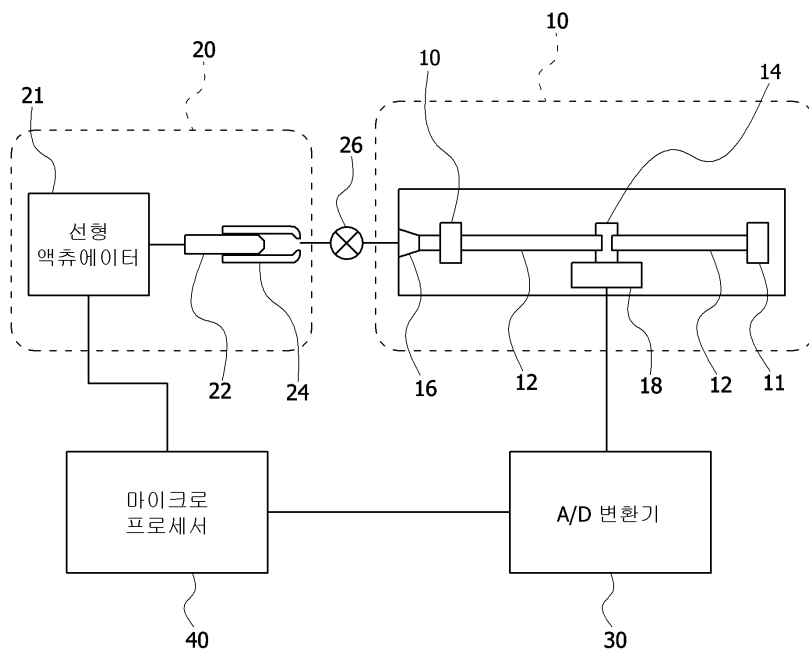
- [0087] 특히, 상기 관련 약물 복용자에서의 혈소판 응집기능과 약물들에 대한 저항성 측정이 본 발명에 의한 검사 장치에 의하여 실시될 수 있다.
- [0088] 혈소판의 기능은 정상인 혹은 아스피린 및 클로피도그렐(clopidogrel) 복용자의 혈액을 citrated 튜브에 채취한 뒤 약 50~100 microliter의 전혈액을 취하여 각기 안타고니스트 아데노신2인산(agonist ADP), 프로스타글랜딘 E(Prostaglandin E), 피브리노겐(Fibrinogen), 아라키도닉산(Arachidonic acid) 최적의 농도에서 37°C에서 10~30분간 반응시킨다. 반응 후 혈액을 마이크로 채널(12)을 가진 마이크로칩에서 압력을 가하여 이동시키게 되는데 대상자의 혈소판의 기능이 정상이라면 짧은 시간 내에 계측 챔버(14)의 유로가 막혀 유동이 정지하게 되고, 반대로 혈소판의 기능에 이상이 있는 경우 정상에 비해 막힘 시간이 늘어나게 된다.
- [0089] 약물내성을 검사하는 경우, 즉 아스피린, 클로피도그렐(clopidogrel), 티클로피딘(ticlopidine) 등을 복용한 경우 혈소판의 응집기능이 저하하므로 계측 챔버(14) 내부의 유로가 쉽게 막히지 않아 막힘 시간이 증가하게 된다. 정상인의 경우 약물에 잘 반응하여 이 막힘 시간이 짧게 나타나는데 이러한 막힘 시간의 비율이 정상인보다 현저히 줄어들게 되면 아스피린과 클로피도그렐(clopidogrel)의 약물내성으로 판단하게 된다. 판단 기준으로는, Verify NOW의 경우 아스피린은 일정 cutoff OD값(550 ARU-aspirin reaction unit)를 정하여 그 이하는 내성, 그 이상은 정상약물반응으로 판단한다. 또한, 클로피도그렐(clopidogrel)의 경우 정상대비 40~60%는 억제 약물내성, 20% 이하는 억제제로 판단한다.
- [0090] 상기 약물의 투입 방법은 계측 챔버(14)의 표면에 코팅하는 방법이 대표적이지만 계측 챔버(14) 내부에 구성된 마이크로 필터(17)의 표면 코팅을 이중의 약제를 공급할 수 있고, 또한 액상의 약제가 챔버 내부에 직접 투입될 수 있기도 하다. 또한, 이중의 약제가 마이크로 채널(12)의 표면에 코팅되어 공급될 수 있기도 하다.
- [0091] 상기에 제공된 약제는 본 발명에서 제공한 왕복유동 메커니즘과 계측 챔버(14)의 구성을 통하여 혈액 샘플과 쉽게 혼합할 수 있는 특징을 갖고 있다. 따라서, 액상 및 고상의 다양한 아고니스트(agonist) 및 안타고니스트(antagonist)의 약제를 혈액과 혼합하고 반응을 연구하는 도구로서도 사용될 수 있다.
- [0092] 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

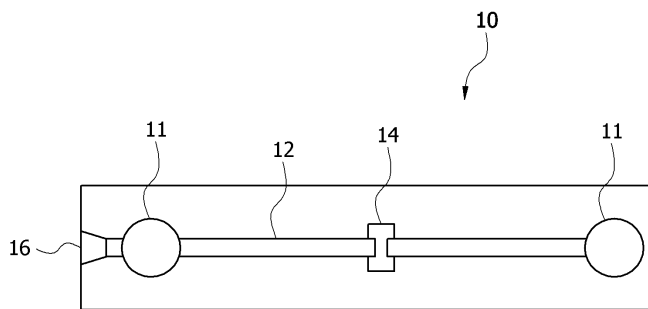
- [0093]
- |               |                |
|---------------|----------------|
| 10 : 계측 장치    | 11 : 샘플 저장실    |
| 12 : 마이크로 채널  | 13a : 광원       |
| 13b : 광계측 센서  | 14 : 계측 챔버     |
| 15a : 광원      | 15b : 광센서      |
| 16 : 마개부      | 18 : 센서부       |
| 20 : 유체 구동 장치 | 21 : 선형 액추에이터  |
| 22 : 피스톤      | 24 : 실린더       |
| 30 : A/D 변환기  | 40 : 마이크로 프로세서 |

도면

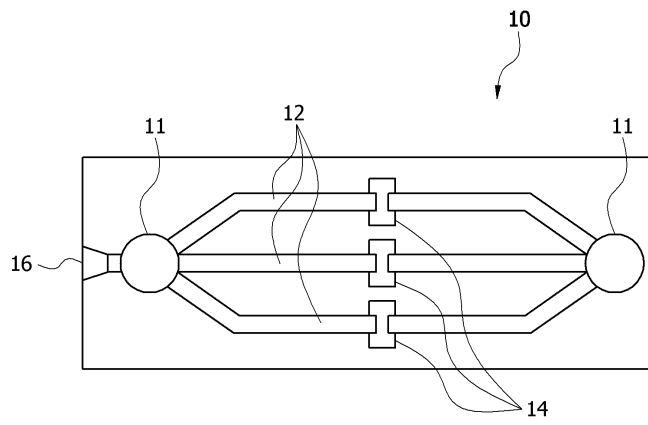
도면1



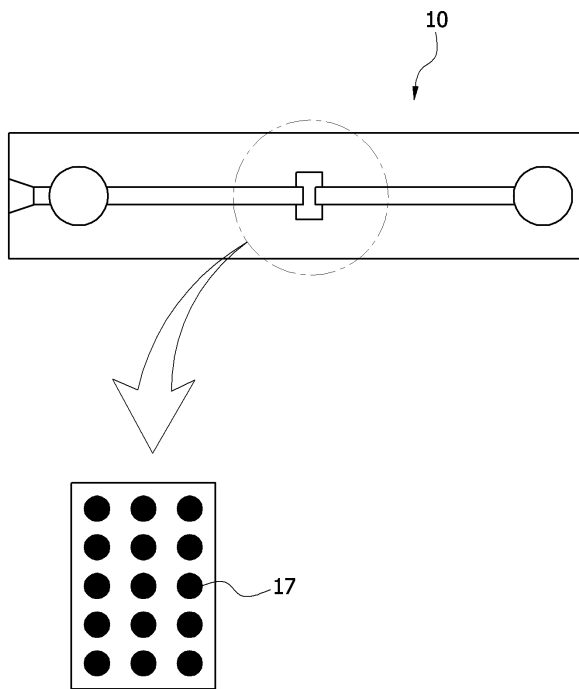
도면2a



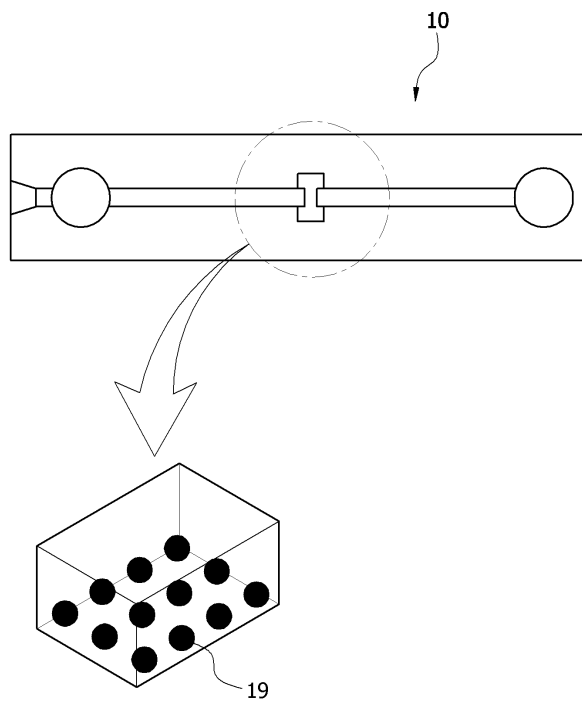
도면2b



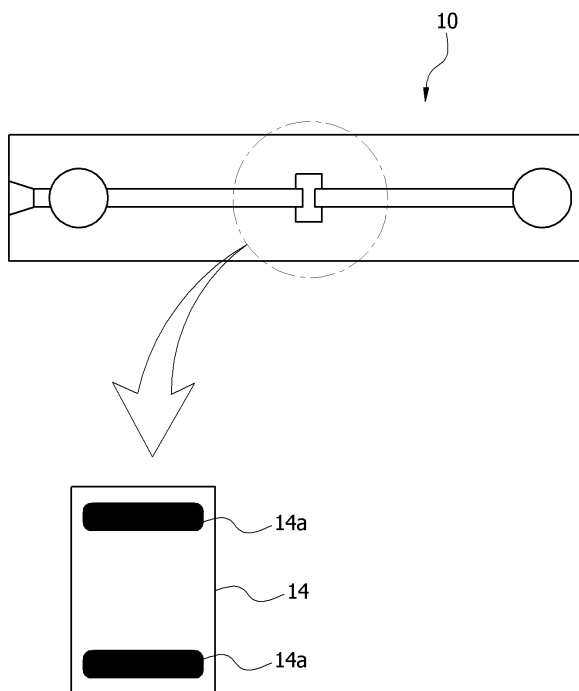
도면3



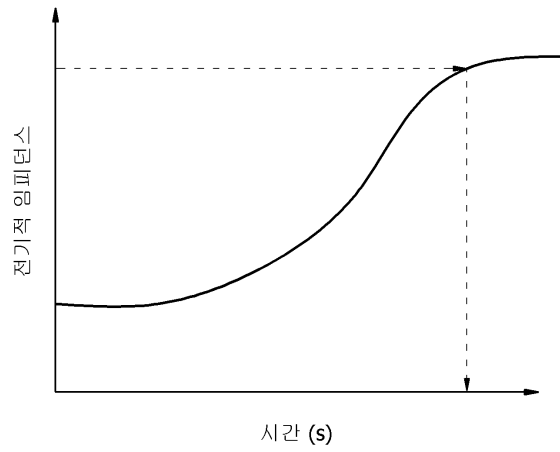
도면4



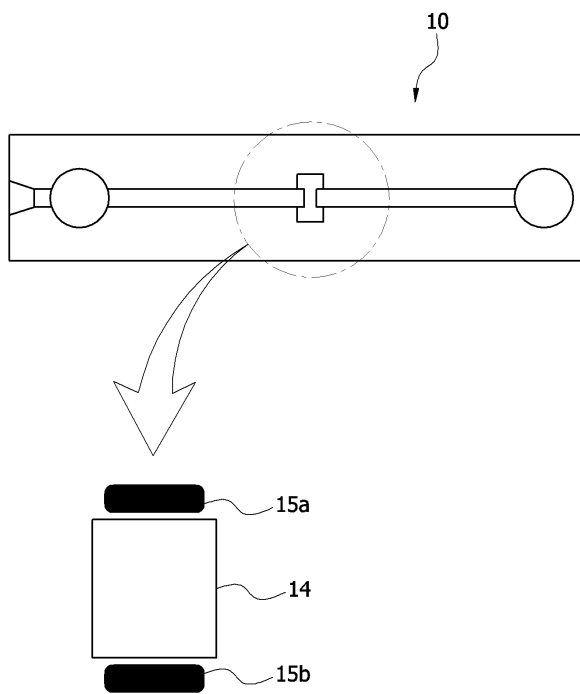
도면5a



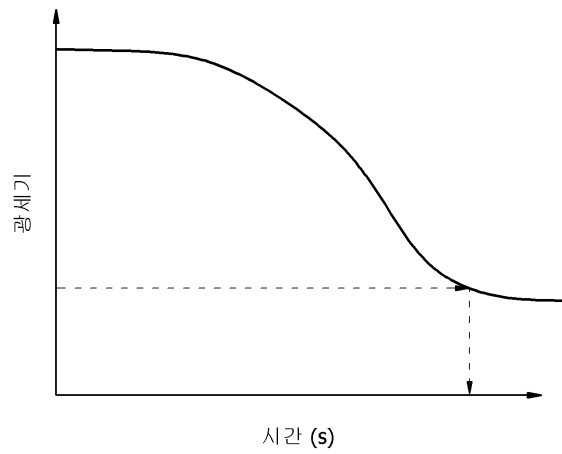
도면5b



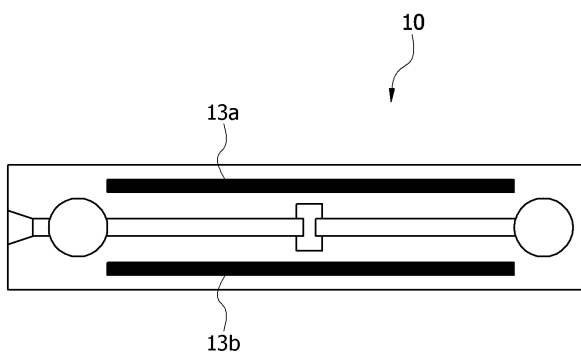
도면6a



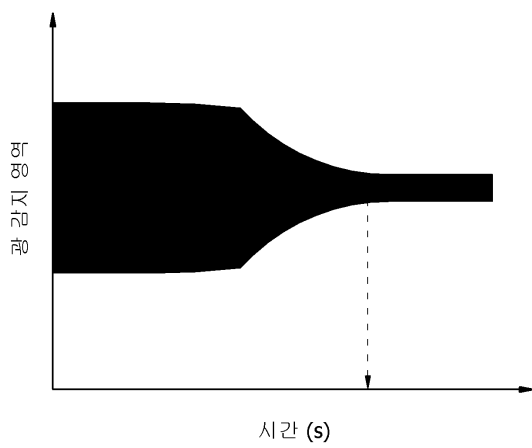
도면6b



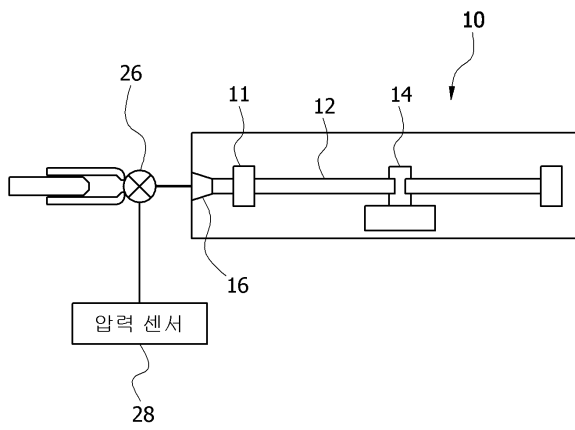
도면7a



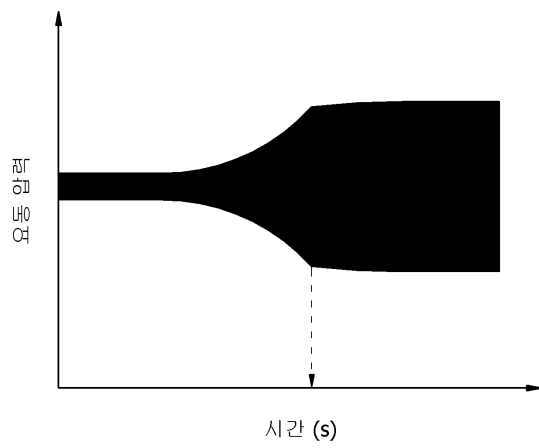
도면7b



도면8a



도면8b



도면8c

