

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.	(45) 공고일자	2006년06월30일
<i>C12M 1/42</i> (2006.01)	(11) 등록번호	10-0594408
<i>C12N 13/00</i> (2006.01)	(24) 등록일자	2006년06월21일

(21) 출원번호	10-2004-0107948	(65) 공개번호	10-2006-0068979
(22) 출원일자	2004년12월17일	(43) 공개일자	2006년06월21일

(73) 특허권자 한국과학기술연구원
 서울 성북구 하월곡2동 39-1

(72) 발명자 주병권
 서울 성북구 성북2동 227-5번지 신원그린빌라 201호

 김덕호
 서울 성북구 상월곡동 동아에코빌 아파트 115동 603호

 박정렬
 서울 성동구 응봉동 대림 아파트 11동 1502호

 김병규
 서울 성북구 하월곡동 39-1 KIST APT A-203

 선 유
 캐나다 엠5에스 3지8 토론토 킹스 칼리지 로드 5 토론토유니버시티 미
 케니컬 앤 인터스트리얼 엔지니어링디파트먼트

(74) 대리인 김영철
 김 순 영

(56) 선행기술조사문헌	
KR100512518 B1	US20050214736 A1
US5993631 A	US6881314 B1
WO2004101731 A1	
* 심사관에 의하여 인용된 문헌	

심사관 : 정재철

(54) 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치

요약

본 발명은 세포를 손상 없이 효율적으로 분리할 수 있는 세포 분리 장치에 관한 것으로, 특히, 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용하여 세포의 선별 및 분리를 수행하는 초미세 세포 분리 장치에 관한 것이다.

본 발명에 의한 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치에 의하면, 별도의 채널을 이용하지 않고 평면상에서 세포를 이송하므로, 채널로 인한 초음파장의 형성의 방해를 없앨 수 있으며, 세포에 대한 손상이 전혀 발생하지 않는다.

또한, 유체의 이동 없이 세포만 이동시키므로, 세포 이송 및 분리의 효율이 높다. 또한, 세포 분리 과정을 CCD 카메라 등을 통해 관찰하면서, PID 제어를 수행함으로써 보다 효과적으로 세포 분리를 할 수 있다.

또한, 본 발명에 의해 세포를 오염 물질 등으로부터 효과적으로 분리하거나 새로운 랩 온 칩(Lab On a Chip) 시스템을 생성할 수 있다.

대표도

도 3

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명에 이용된 진행파 유전영동의 원리를 나타낸 것이다.

도 2a는 본 발명의 일 실시예에 의한 세포 분리 장치의 세포 분리 유닛을 개념적으로 나타낸 것이고, 도 2b는 상기 해당 세포 분리 유닛의 측면도이며, 도 2c는 본 발명의 일 실시예에 의한 세포 분리 장치의 세포 분리 유닛에서의 초음파장을 이용한 세포 배열을 설명하기 위해 유체 내의 힘 벡터 분포를 나타낸 것이다.

도 3은 세포 등의 입자의 이동을 보다 상세하게 나타내기 위해 본 발명의 일 실시예인 세포 분리 장치의 세포 분리 유닛을 평면도로 나타낸 것이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 분리 장치를 나타낸 것이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 세포를 손상 없이 효율적으로 분리할 수 있는 세포 분리 장치에 관한 것으로, 특히, 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용하여 세포의 선별 및 분리를 수행하는 초미세 세포 분리 장치에 관한 것이다.

유전영동을 이용한 세포분리는 음/양 유전영동 또는 진행파(traveling wave) 유전영동만을 단독으로 사용하거나 유전영동과 미소유체를 결합한 유전영동 마이그레이션(migration) 또는 유전영동 리텐션(retention)을 이용하는 방법들이 있다. 상기 유전영동 마이그레이션 또는 유전영동 리텐션은 세포간의 유전특성의 차이가 어느 정도 크게 나야만 하는 단점이 있다.

또, 다른 세포분리 방법으로 장-흐름 분획이 있는데, 이는 콜로이드, 입자형 물질, 고분자들의 분리 및 크기 분포를 측정할 수 있는 방법으로서, 고분자 및 미세한 콜로이드입자의 분리를 위한 빠르고 선택적인 분리방법의 필요성과 액체 크로마토그래피의 경우 고정상에서 유발되는 시료물질들의 흡착 또는 전단변형(shear degradation)을 최소화하기 위해 개발되었다. 상기 장-흐름 분획은 외부장 또는 추진력의 형태에 따라서 여러 가지로 나뉠 수 있는데, 원심력을 이용한 침강장(sedimentation)-흐름 분획, 2차적인 유체흐름을 이용한 흐름장(flow)-흐름 분획, 온도차이를 주어 열확산을 이용한 열장(thermal)-흐름 분획 및 전기장을 이용한 전기장-흐름 분획등이 있으며, 시료물질의 물리적 특성, 즉 분자량, 밀도, 전기적 성질, 열확산 계수, 스톡스(Stokes) 반경 등이 선택적으로 이용된다. 현재까지는 침강장-흐름 분획이 가장 민감하게 세포를 분리하는 기술이며, 상기 침강장-흐름 분획을 사용하여 신경줄기세포분리에 성공한 사례가 있으나 주로 미세 시스템 보다는 매크로 시스템에 보다 적합하다.

다르게는, 원심력을 이용한 미소유체 시스템이 있는데, 콤팩트 디스크와 같은 형태를 가지며, 주로 진단을 위한 미소유체의 수송 및 혼합에 사용되고 있으며, 회전체에서 발생하는 코리올리힘을 이용하여 흐름 스위치(flow switch)로 응용하는 방법도 있다.

상기와 같은 많은 세포 분리 방법 및 시스템들이 있으나, 상기 종래의 방법 및 시스템만을 사용하는 경우에는, 많은 비용이 들거나 세포에 손상을 주거나 또는 미세 시스템에 적합하지 않은 단점이 있었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

따라서, 세포에 손상을 주지 않으면서도 정교하고 효율적으로 세포 이동 및 분리를 수행할 수 있는 세포 분리 장치의 개발이 필요하다.

발명의 구성 및 작용

상기와 같은 과제를 해결하기 위한 본 발명은, 상부 유리 기관의 양끝에 연결되어 있으며, 외부로부터의 전기적 입력을 기계적 진동으로 변환하여 상기 상부 유리 기관에 가하는 압전(piezoelectric) 트랜스듀서(transducer); 및 상기 상부 유리 기관과 평행한 하부 기관 상에 배열된 둘 이상의 전극을 포함하되, 상기 상부 유리 기관과 하부 기관의 사이는 세포가 혼합된 유체로 채워지며, 상기 각 전극은 상기 압전 트랜스듀서의 길이 방향과 수직인 방향으로 놓여져 있으며, 상기 둘 이상의 전극들은 상기 압전 트랜스듀서의 길이 방향을 따라 일정 간격으로 배열되어 있는 세포 분리 유닛을 포함하는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치이다.

바람직하게는, 상기 압전 트랜스듀서에 의해 상기 상부 유리 기관에 가해진 진동은 상기 상부 유리 기관을 진행하는 표면파를 발생시키고, 상기 표면파의 진행방향과 반대방향으로 진행하는 다른 표면파와 충돌하여, 유체 내의 세포 등의 입자들 상기 압전 트랜스듀서의 길이 방향과 수직이면서, 상기 상부 유리 기관에 수직인 방향으로 움직이는 정재파(standing wave)를 발생시킨다.

바람직하게는, 상기 표면파에 의해 상기 유체 내에는 상기 상부 유리 기관에서 하부 기관으로 진행하는 어쿠스틱파를 발생시키고, 상기 어쿠스틱 파는 하부 기관에서 반사되어 상부 유리 기관으로 반사되면서 상기 유체 내에 초음파장을 생성시킨다.

바람직하게는, 상기 둘 이상의 전극들은 순차적으로 일정 시간 간격을 두고 차례대로 전기장을 발생시킨다. 예를 들어 4개의 전극이 있다고 가정할 때, 제1 전극이 가장 좌측에 배치된 전극이라면, 제2 전극은 상기 제1 전극의 우측에 배치된 전극이며, 제3 전극은 상기 제2 전극의 우측에 배치된 전극이고, 제4 전극은 가장 우측에 배치된 전극이 될 것이다. 물론, 이와 반대로, 제1 전극이 가장 우측에 배치된 전극인 경우, 제4 전극은 가장 좌측에 배치된 전극일 것이다.

또한, 바람직하게는, 상기 유체 내의 세포는 상기 정재파에 의한 어쿠스틱(acoustic) 힘에 의해 상기 압전 트랜스듀서와 평행한 하나 이상의 열로 배열된다. 즉, 상기 배열은 상기 압전 트랜스듀서가 배치된 길이 방향과 평행하게 배열된다.

또한, 상기 하나 이상의 열로 배열된 세포는 상기 전극들에 순차적으로 일정 시간 간격을 두고 발생하는 전기장에 의해 이동한다. 즉, 상기 세포는 상기 둘 이상의 전극들에 순차적으로 발생하는 전기장에 의해 토크가 발생하여 이동하게 된다.

또한, 바람직하게는, 상기 어쿠스틱 힘은 세포의 부피, 밀도 및 세포가 혼합되어 있는 유체의 특성(property) 중 적어도 하나의 영향을 받아 값이 변할 수 있다.

또한, 바람직하게는, 상기 어쿠스틱 힘은 압전 트랜스듀서에 인가되는 전압의 크기에 따라 조절될 수 있다.

또한, 바람직하게는, 본 발명에 의한 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치는, 상기 세포 분리 유닛 내의 세포 분리 과정을 관찰하고, 원하는 세포가 완전히 분리되지 않은 경우에 상기 세포 분리 유닛의 위치를 이동시킴으로써, 상기 세포 분리 과정을 PID 제어하는 세포 분리 제어부를 더 포함한다.

바람직하게는, 상기 세포 분리 제어부는 상기 세포 분리 유닛에 공급되는 주파수를 변경할 수 있다.

바람직하게는, 상기 세포 분리 제어부는 상기 세포 분리 유닛의 내부를 관찰할 수 있도록 상기 세포 분리 유닛의 상부에 위치한 일루미네이터(illuminator), 상기 세포 분리 유닛의 하부에 위치한 마이크로 스코프, 상기 마이크로 스코프에 연결되어 있는 CCD 카메라, 상기 CCD 카메라와 연결되어 있으며, 상기 카메라로부터 얻은 상기 세포 분리 유닛 내의 영상을 기록하는 비디오 레코더 및 상기 비디오 레코더에 연결되어 있으면서, 해당 기록된 영상으로부터 세포 분리 유닛 내의 세포 분리 조작에 중요한 임계 파라미터를 분석하는 분석기 등을 포함하여 구성될 수 있다.

이하, 첨부된 도면을 참고로 하여 본 발명의 구체적 실시예에 대해 설명하기로 한다.

도 1은 본 발명에 이용된 진행파 유전영동의 원리를 나타낸 것이다.

유전영동은 양극이나 음극으로 대전된 물질에만 작용하는 전기영동(electrophoresis)과는 달리, 중성이나 분극화될 수 있는 모든 물질에 대해 작용한다. 또한, 전극의 설계, 배치 및 인가전압의 파형에 따라 세포를 이송, 분리, 고정 및 회전시킬 수 있으며, 비교적 간단하고 값싼 공정으로 세포를 조작할 수 있다. 또한, 세포 대상에 대한 유연성, 제어성 및 자동화 용이성을 가지며, 특정세포를 분리하기 위한 항원-항체 반응에 의한 특정면역인자가 불필요한 장점을 갖는다. 도 1에서와 같이, 불균일한 전기장이 있고, 해당 전기장 내에 분극화된 입자들이 있는 경우, 불균일한 전기장에서 유도된 쌍극자는 입자에 힘을 발생시키게 된다. 상기 입자에 발생된 힘에 의해 상기 입자는 전기장 내에서 이동할 수 있게 되는데, 상기 입자(예를 들어, 세포)가 주위의 매질(예를 들어, 배양액)보다 더 분극화하는 경우, 상기 입자의 쌍극자가 전기장의 밀도가 높은 지역으로 배열하게 되어 해당 입자도 전기장의 밀도가 높은 지역으로 힘을 받아 이동하게 된다. 이 현상을 양(positive) 유전영동이라고 하며, 도 1의 좌측의 입자가 상기 양 유전영동에 의해 전기장의 밀도가 높은 쪽으로 이동하고 있음을 알 수 있다.

반면에, 상기 입자가 주위의 매질보다 덜 분극화된 경우, 쌍극자가 전기장의 밀도가 낮은 지역으로 배열하게 되어 해당 입자도 전기장의 밀도가 낮은 지역으로 힘을 받아 이동하게 되는데, 이 현상을 음(negative) 유전영동이라고 하며, 도 1의 우측의 입자가 상기 음 유전영동에 의해 전기장의 밀도가 낮은 쪽으로 이동하고 있음을 나타내고 있다.

상기 입자가 전기장의 밀도에 따라 이동하는 것은 유전영동에서의 힘이 유도된 쌍극자에 의존하며, 그 방향이 전기장의 영향을 받지 않고 전기장의 그라디언트(field gradient)에만 의존하기 때문이다.

상기 입자가 균질한 구의 형태를 갖는다고 할 때, 해당 입자에 작용하는 유전영동 힘은 다음과 같이 결정된다.

수학식 1

$$F_{DEP} = 2\pi r^3 \epsilon_m \text{Re}[K(\omega)] \nabla E^2$$

상기 식 1에서, r은 입자의 반지름, ϵ_m 은 주위 매질의 유전율, ∇ 은 델 벡터 연산자, E는 전기장의 크기, $\text{Re}[K(\omega)]$ 는 클라우지우스-모소티(Clausius-Mossotti) 인자(factor)의 실수부를 뜻하며, 상기 클라우지우스-모소티 인자는 다음과 같이 정의된다.

수학식 2

$$K(\omega) = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*}$$

여기서, ϵ_m^* 은 매질의 복소 유전율을, ϵ_p^* 은 입자의 복소 유전율을 뜻하며, 복소 유전율은 다음과 같이 정의된다.

수학식 3

$$\epsilon^* = \epsilon - j \frac{\sigma}{\omega}$$

이 때, σ 는 전도율, ϵ 은 유전율 및 ω 는 입력 전기장의 주파수이다.

상기 식 1로부터, $\text{Re}[K(\omega)]$ 가 입력 전기장의 주파수 ω 에 따라 변화하므로, 유전영동 힘의 세기 또한 주파수에 따라 변함을 알 수 있다. 또한, $\text{Re}[K(\omega)]$ 의 크기는 입자가 주위 배양액보다 더 분극화가 잘 되는가에 따라서도 변하게 된다. 따라서, 입자가 주위 매질에 비해 분극화가 잘 되는 경우에는, $\text{Re}[K(\omega)]$ 가 양의 값을 갖는데, 이 경우에 상기 입자는 전기장의 밀도가 높은 곳으로 이동하게 된다. 반대로, 입자가 주위 매질에 비해 분극화가 잘 안 되는 경우, 즉, $\text{Re}[K(\omega)]$ 가 음의 값을 갖는 경우에는, 전기장의 밀도가 낮은 곳으로 상기 입자가 이동하게 된다.

만약, 분극화된 입자가 회전하는 전기장내에 있다면, 유도된 쌍극자는 회전하는 전기장과 동시에 같이 회전하게 되고, 쌍극자의 형성시간이 다소 소요됨을 고려할 때, 전기장의 회전 속도를 충분히 빠르게 한다면, 쌍극자의 회전이 전기장의 변화에 비해 지연되면서 상기 입자에 토크가 발생한다. 이 때, 상기 입자의 회전 방향은 전기장의 회전 방향 또는 그 반대 방향이 되는데, 이는 전기장과 쌍극자 간의 지연이 180도를 넘느냐 안 넘느냐에 달려있다.

상기와 같은 현상을 평면상에 선형으로 배치한 전극과 입자에 적용하는 경우에는 상기 입자를 이동시킬 수도 있는데, 전극을 기차의 트랙처럼 일정 간격을 두고 평행하게 배치한 다음, 전극이 배열된 순서대로 상기 전극에 전기장을 발생시키는 경우에 있어서, 상기 전기장을 발생시키는 전기장의 파동이 충분히 빠르다면, 상기 입자에서의 쌍극자의 형성에 시간이 소요되므로, 상기 입자에 토크가 발생하여 입자가 상기 전극을 따라 이동할 수 있게 된다.

상기와 같이 평면으로 배열된 전극을 따라 입자가 진행하도록 하는 것을 진행과 유전영동이라고 하는데, 본 발명에 의한 세포 분리 장치는 상기와 같은 진행과 유전영동을 이용한다.

이하, 본 발명의 일 실시예에 의한 세포 분리 장치의 세포 분리 유닛을 나타낸 도 2a 및 2b를 참고로 하여 보다 구체적으로 살펴보기로 한다.

도 2a는 본 발명의 일 실시예에 의한 세포 분리 장치의 세포 분리 유닛을 개념적으로 나타낸 것이고, 도 2b는 상기 해당 세포 분리 유닛의 측면도이다.

본 발명의 세포 분리 유닛은 도 2b에 도시되고 있는 바와 같이, 상부 유리 기관(23)의 양단에 압전 트랜스듀서(21)가 연결되어 있으며, 상기 압전 트랜스듀서(21)는 클램퍼(22)에 고정되어 있는 구조를 하고 있으며, 상기 상부 유리 기관(23)과 함께 하부 기관(24)이 챔버를 구성하여, 분리하고자 하는 세포 등의 입자가 혼합된 유체(fluid)를 담고 있다. 상기 하부 기관(24)은 반드시 유리 기관일 필요는 없으며, 실리콘 등의 소재로 구성되는 것도 가능하다. 다만, 도 2b에 도시된 바와 같이, 유체를 관찰하기 위한 마이크로 스코프를 하부 기관(24)의 아래에 설치하는 경우에는, 하부 기관(24)이 유리로 구성되는 것이 바람직할 것이다.

한편, 본 발명에 따른 세포 분리 장치의 세포 분리 유닛은, 예를 들어, 상기 상부 유리 기관(23)의 크기는 20 밀리미터(mm) * 20 밀리미터(mm) * 1 밀리미터(mm), 상기 상부 유리 기관(23)과 하부 기관(24)의 간격은 200 마이크로 미터(μm)가 되도록 구성될 수 있으며, 상기 압전 트랜스듀서에 인가되는 전기적 입력의 주파수가 1.2 메가 헤르쯔(MHz)일 때, 해당 파장의 길이는 1.7 밀리미터가 되도록 구성될 수 있다. 이 경우, 해당 유체의 체적은 20 밀리미터(mm) * 20 밀리미터(mm) * 200 마이크로미터(μm)가 될 것이다.

상기 압전 트랜스듀서(21)는 입력되는 전기적 입력을 기계적 출력, 즉, 진동으로 변환하여 상기 연결된 상부 유리 기관(23)에 전달하게 되는데, 상기 상부 유리 기관(23)이 유동적인 소재가 아닌 일반적인 유리 기관임에도 불구하고 충분한 크기의 주파수 (예를 들어, 100헤르쯔 내지 20메가 헤르쯔)로 진동시키는 경우에는, 도 2a에 도시되고 있는 바와 같이, 마치 상기 상부 유리 기관(23)이 유동적인 소재로 구성되어 있는 것과 같은 효과를 갖는다.

보다 상세하게는, 정현파(sinusoidal wave)를 공급하는 함수 발생기(function generator)에 연결되어 있는 각 압전 트랜스듀서(21)에 RF 전압을 인가함으로써, 충분한 크기의 주파수를 갖는 진동이 상기 상부 유리 기관(23)에 가해지며, 이로 인해 상기 상부 유리 기관 표면을 x축 방향으로 진행하는 표면파(surface wave)가 발생한다. 상기 표면파는 근방의 유체 내에 음파를 발생시키게 되는데, 상기 음파는 유체파(fluid wave)이다. 상기 표면파는 상기 표면파의 진행방향과 반대방향으로 진행하는 다른 표면파와 소정의 조건을 만족시키면서 충돌하여 더 이상 진행하지 않는 정재파로 변하게 된다. 이 때, 상기 표면파의 진행방향과 반대방향으로 진행하는 상기 다른 표면파는 상기 표면파를 발생시킨 압전 트랜스듀서의 반대편에 위치한 압전 트랜스듀서로부터 발생된 것이다. 상기한 바와 같이, 상기 표면파가 정재파로 변함으로써 유체 내의 세포 등의 입자는 x축 방향으로로는 이동할 수 없게 된다.

한편, 상기 표면파에 의해 유체 내에 발생한 유체파(fluid wave)는 상기 상부 유리 기관으로부터 하부 기관 방향, 즉 -y축 방향으로 진행하게 되고, 상기 하부 기관에 도달한 유체파, 즉 어쿠스틱(acoustic)파는 다시 반사되어 상부 유리 기관 방향으로 진행하면서 상기 유체 내에 초음파장(ultrasound field)이 생성된다. 상기 초음파장에 의한 세포 등의 입자의 배열은 도 2c와 함께 보다 상세하게 설명하기로 한다.

한편, 상기 정재파로부터 발생하여 상기 유체 내의 세포 등의 입자에 가해지는 힘(이하, '어쿠스틱 힘')은 다음과 같은 식으로 구할 수 있다.

수학식 4

$$F = \pi \rho_F \Phi^2 (K_F r_S)^3 F_Y \sin(2k_F x)$$

이때, k_F 는 상기 유체 내의 정재파의 파수(wave number), r_S 는 세포 등의 입자의 반지름, x 는 상기 정재파에 의한 입자의 변위, Φ 는 속도 포텐셜(velocity potential)의 크기를 의미한다.

상기 식 4에서, F_Y 는 밀도-압축성(compressibility) 요소로서, 다음과 같은 식으로 표현할 수 있다.

수학식 5

$$F_Y = \frac{1}{3} \left(1 - \frac{\rho_F c_F^2}{\rho_S c_S^2} \right) + \frac{\frac{\rho_S}{\rho_F} - 1}{2 \frac{\rho_S}{\rho_F} + 1}$$

ρ_F 는 상기 유체의 밀도, ρ_S 는 상기 세포 등의 입자의 밀도, c_F 는 유체 내 음속(speed of sound), c_S 는 세포 등의 입자 내의 음속을 의미한다.

상기 식 4에 의해 표현되는 상기 어쿠스틱 힘에 의해 세포 등의 입자들은 어쿠스틱 파장의 절반 크기에 의해 분리되는 최소의 어쿠스틱 위치 에너지를 갖는 위치에 가장 가까운 위치로 이동한다. 상기와 같은 원리로, 유체 내의 세포 등의 입자가 유체 내에 생성된 어쿠스틱 파의 파장에 따라 배열되는데, 상기 식 4로부터 알 수 있듯이, 상기 세포 등의 입자의 부피, 밀도, 유체의 특성(property) 등의 요소에 따라 어쿠스틱 힘의 크기가 달라지기 때문에 같은 종류의 세포 내지 입자들을 각각의 라인에 배열하는 것이 가능하게 된다.

이 때, 상기 세포들이 상기 어쿠스틱 파장의 절반 크기 이상의 거리만큼 이동될 필요가 있는 경우에는, 위상 변조 또는 상기 상부 유리 기관의 위치 제어를 통해 이동시킨다. 또한, 상기 세포를 정재파 내에서 더 이상 이동하지 않도록 유지하기 위해서는, 상기 어쿠스틱 에너지 밀도가 임계 에너지 밀도보다 더 커야만 한다.

한편, 상기 같은 종류의 세포 내지 입자들을 한 라인에 배열하는 것은 2차원 진동에 의한 것으로, 이를 위해 상기 상부 유리 기관에 연결되어 있는 두 개의 압전 트랜스듀서가 모두 동작한다. 다르게는, 1차원 진동을 원하는 경우, 한 개의 압전 트랜스듀서가 동작하게 되며, 3차원 진동에 의해서는 입자들이 라인이 아닌 지역에 모이도록 할 수 있다.

다시 정리해 보면, 상기 세포 등의 입자가 혼합된 유체를 담고 있는 챔버의 상부 유리 기관을 상기 상부 유리 기관에 연결되어 있는 두 개의 압전 트랜스듀서에 의해 적당한 주파수로 진동시킴으로써 발생한 유체 내의 초음파장(ultrasound field)으로 인해 상기 유체 내의 세포 등의 입자들이 도 2a에 도시된 바와 같이 일렬로 배열되게 된다.

이때, 상기 유체 내의 세포 등의 입자들이 초음파장에 의한 진동에 의해 일렬로 배열됨은 본 발명의 실시예에 따른 세포 분리 유틸을 평면도로 나타낸 상태에서의 일렬을 의미하며, 상기 유체를 입체적으로 관찰하는 경우 모든 세포 등의 입자들이

일렬로 배열되지는 않는다. 본 발명의 실시예에 따른 세포 분리 유닛의 유체를 측면에서 도시한 도 2c를 참고로 하여 아래에 설명하기로 한다. 다만, 상기 도 2c에 의해 설명될 초음파의 파장 및 입자들의 위치 등의 관계에 관한 구체적인 수식은 본 명세서에서는 생략하기로 한다.

도 2c에서 진동에 의한 어쿠스틱파의 발생방향, 즉 상부 유리 기판에 수직인 방향을 y축, 상기 유체 내의 입자 등이 이동할 방향을 x축이라고 하고, 지면에 수직인 방향을 z축으로 한다.

앞서 언급한 바와 같이, 충분한 크기의 주파수를 갖는 진동이 상부 유리 기판($y=0$)에 가해지면, 상기 상부 유리 기판에서 x축 방향으로 이동하는 표면파가 발생하면서, 상기 상부 유리 기판과 맞닿아 있는 상기 유체 내에 -y축 방향으로 이동하는 어쿠스틱 파가 발생하여 상기 유체 내에 초음파장(ultrasound field)이 생성된다. 상기 어쿠스틱 파는 상기 상부 유리 기판 쪽으로부터 하부 기판($y=-0.75$) 쪽 방향으로 상기 유체 내에서 진행하는데, 상기 하부 기판에서는 상기 어쿠스틱 파로 인한 반사파가 발생한다. 이 때, 상기 상부 유리 기판의 진동으로 인해 발생한 어쿠스틱 파와 상기 하부 기판으로부터 반사된 반사파가 상기 유체 내에서 겹치게 된다. 이 때, 상기 유체 내에는 유체 내의 세포 등의 입자를 이동시킬 수 있는 힘 벡터가 발생되고, 도 2c에서 도시하는 바와 같은 분포를 갖게 되어 상기 유체 내의 세포 등의 입자들은 상기 힘 벡터가 모이는 지점, 즉 힘 위치(force potential)가 낮은 곳(x로 표시된 지점)에 배열되게 된다. 상기 힘 벡터에 대한 고려 없이, $y>0$ 인 지점에서 상기 상부 유리 기판 및 하부 기판에 수직인 방향으로 바라보는 경우, 정재파에 의해 유체 내의 세포 등의 입자들이 일정 x값마다 z축에 평행한 배열을 이루게 된다. 이 때, 상기 z축에 평행하게 배열되는 세포 등의 입자의 배열은 일정 x값마다 하나의 배열만이 존재하는 것이 아니라, 실제적으로는 일정 x 값마다 각각 z축에 평행한 여러 배열을 갖게 되는데, 이는 앞서 언급한 상기 힘 벡터의 분포에 기인한 것이다.

참고로, 상기 도 2c에서 원형의 실선은 상기 힘 위치(force potential)가 같은 지점들을 연결한 선이다.

도 3은 세포 등의 입자의 이동을 보다 상세하게 나타내기 위해 본 발명의 일 실시예인 세포 분리 장치의 세포 분리 유닛을 평면도로 나타낸 것이다.

도 3은, 압전 트랜스듀서(31)가 상부 유리 기판(33)을 적당한 주파수로 진동시킴으로 인해 생성된 초음파장에 의해 세포 등이 이미 일렬로 배열되어 있는 상태에서, 진행파 유전영동에 의해 수집구(collection well)(37)로 이동하고 있음을 나타내고 있다.

상기 세포 분리 유닛의 하부 기판에는 7개의 전극(38)이 배열되어 있음을 볼 수 있으나, 본 발명에 따른 전극(38)의 수는 상기 도 3에 의해 제한되지 않는다. 또한, 상기 전극은, 예를 들어, 20 마이크로미터의 너비를 가지며, 300 옹스트롱(Å) 두께의 크롬(Cr)층 상에 2000 옹스트롱 두께의 금(Au)층이 적층된 형태로 구성될 수 있으며, 상기 크롬층은 상기 금층과 유리 기판 사이의 접착력을 강화하기 위해 사용될 수 있다.

상기 전극들 중 가장 우측의 전극을 제1 전극, 가장 좌측에 배열된 전극을 제7 전극이라고 할 때, 상기 세포 등의 입자는 화살표 방향을 따라 제1 전극 쪽에서 제7 전극 쪽으로 이동하는데, 상기 세포 등의 입자의 이동은 진행파 유전영동에 의해 이루어진다.

즉, 제1 전극부터 제7 전극까지 순차적으로 전기장을 발생시키면서, 전기장 발생의 속도를 충분히 빨리 하는 경우에는, 상기 세포 등의 입자에 토크가 발생하여, 제7 전극 쪽으로 입자들이 이동하게 되고, 이동된 입자들은 상기 수집구(collection well)(37)를 통해 분리된다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 분리 장치를 나타낸 것이다.

본 발명의 일 실시예에 따른 세포 분리 장치는 증폭기(41), sine파 발생기(42), 일루미네이터(illuminator)(43), 세포 분리 유닛(44), XYZ 구동 스테이지(45), 마이크로 스코프(46), CCD 카메라(47), 비디오 레코더(48) 및 분석기(analyzer)(49)로 구성된다.

상기 세포 분리 유닛(44)은 도 2(a), 도 2(b) 및 도 3에서 이미 설명된 바 있는 세포 분리 유닛이며, 상기 증폭기(41) 및 sine파 발생기(42)로부터의 전기적 입력이 상기 세포 분리 유닛의 압전 트랜스듀서에 인가됨으로써, 상기 세포 분리 유닛 내의 초음파장에 의한 세포 등의 입자의 배열이 이루어진다.

본 발명에 의한 세포 분리 장치는 상기 일루미네이터(43), 마이크로 스코프(46), CCD 카메라(47), 비디오 레코더(48) 및 분석기(49)를 이용하여, 상기 세포 분리 유닛 내부를 관찰함으로써, 상기 세포 분리 과정이 원활하게 이루어지지 않는 경

우, 즉, 상기 세포 분리 유닛 내의 세포 분리가 완전하게 이루어지지 않는 경우에 분리하고자 하는 세포에 대한 분리효율을 높이는 피드백 방식을 이용하여 보다 완전하게 원하는 세포를 분리한다. 이 경우, 상기 세포 분리 유닛(44)의 하부 기판은 투명한 유리 기판인 것이 바람직하다.

또한, 상기 XYZ 구동 스테이지(45)가 상기 세포 분리 유닛, 보다 상세하게는, 상기 세포 분리 유닛의 하부 기판과 연결되어 있어서, 상기 세포 분리 유닛을 X축, Y축 및 Z축으로 이동할 수 있도록 한다. 한편, 상기 분석기(49)는 다른 세포들의 동작 속도와 같은 초음파장에서의 세포 조작에 필요한 임계 파라미터들을 상기 비디오 레코더에 기록된 이미지 데이터로부터 얻는 역할을 한다.

이상, 본 명세서에서 기재하고 있는 본 발명은 실시예에 불과한 것으로, 본 발명은 상기 기재에 의해 제한되지 않으며, 상기 실시예의 단순한 변경, 치환 및 변형 등은 본 발명의 권리범위를 벗어날 수 없음이 해당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.

발명의 효과

본 발명에 의한 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치에 의하면, 별도의 채널을 이용하지 않고 평면상에서 세포를 이송하므로, 채널로 인한 초음파장의 형성의 방해를 없앨 수 있으며, 세포에 대한 손상이 전혀 발생하지 않는다.

또한, 유체의 이동 없이 세포만 이동시키므로, 세포 이송 및 분리의 효율이 높다. 또한, 세포 분리 과정을 CCD 카메라 등을 통해 관찰하면서, PID 제어를 수행함으로써 보다 효과적으로 세포 분리를 할 수 있다.

또한, 본 발명에 의해 세포를 오염 물질 등으로부터 효과적으로 분리하거나 새로운 랩 온 칩(Lab On a Chip) 시스템을 생성할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

상부 유리 기판의 양끝에 연결되어 있으며, 외부로부터의 전기적 입력을 기계적 진동으로 변환하여 상기 상부 유리 기판에 가하는 압전(piezoelectric) 트랜스듀서(transducer); 및

상기 상부 유리 기판과 평행한 하부 기판 상에 배열된 둘 이상의 전극을 포함하되,

상기 상부 유리 기판과 하부 기판의 사이는 세포가 혼합된 유체로 채워지며, 상기 각 전극은 상기 압전 트랜스듀서의 길이 방향과 수직인 방향으로 놓여져 있으며, 상기 둘 이상의 전극들은 상기 압전 트랜스듀서의 길이 방향을 따라 일정 간격으로 배열되어 있는 세포 분리 유닛을 포함하는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

청구항 2.

제1 항에 있어서,

상기 압전 트랜스듀서에 의해 상기 상부 유리 기판에 가해진 진동은 상기 상부 유리 기판을 진행하는 표면파를 발생시키고, 상기 표면파의 진행방향과 반대방향으로 진행하는 다른 표면파와 충돌하여, 유체 내의 세포 등의 입자를 상기 압전 트랜스듀서의 길이 방향과 수직이면서, 상기 상부 유리 기판에 수직인 방향으로 움직이는 정재파(standing wave)를 발생시키는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

청구항 3.

제2 항에 있어서,

상기 표면파에 의해 상기 유체 내에는 상기 상부 유리 기관에서 하부 기관으로 진행되는 어쿠스틱파를 발생시키고, 상기 어쿠스틱 파는 하부 기관에서 반사되어 상부 유리 기관으로 반사되면서 상기 유체 내에 초음파장을 생성하는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

청구항 4.

제1 항에 있어서,

상기 둘 이상의 전극들은 순차적으로 일정 시간 간격을 두고 차례대로 전기장을 발생시키는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

청구항 5.

제3 항에 있어서,

상기 유체 내의 세포는 상기 정재파에 의한 어쿠스틱(acoustic) 힘에 의해 상기 압전 트랜스듀서와 평행한 하나 이상의 열로 배열되는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

청구항 6.

제5 항에 있어서,

상기 하나 이상의 열로 배열된 세포는 상기 전극들에 순차적으로 일정 시간 간격을 두고 발생하는 전기장에 의해 이동하는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

청구항 7.

제5 항에 있어서,

상기 어쿠스틱 힘은 세포의 부피, 밀도 및 세포가 혼합되어 있는 유체의 특성(property)중 적어도 하나의 영향을 받아 값이 변하는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

청구항 8.

제5 항에 있어서,

상기 어쿠스틱 힘은 압전 트랜스듀서에 인가되는 전압의 크기에 따라 조절될 수 있는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

청구항 9.

제1 항 내지 제8 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 분리 유닛 내의 세포 분리 과정을 관찰하고, 원하는 세포가 완전히 분리되지 않은 경우에 상기 세포 분리 유닛의 위치를 이동시킴으로써, 상기 세포 분리 과정을 PID 제어하는 세포 분리 제어부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

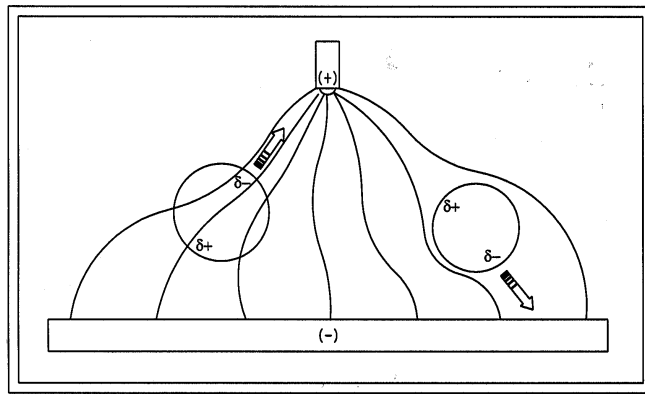
청구항 10.

제9 항에 있어서,

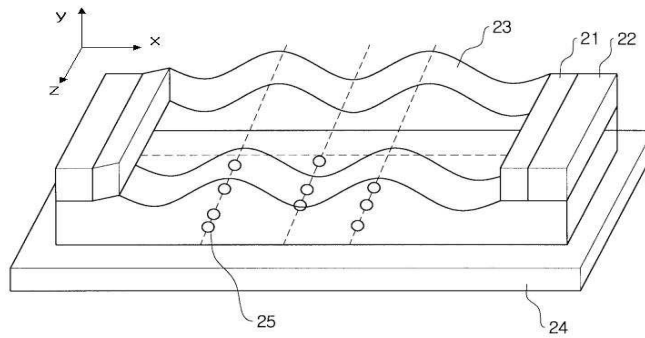
상기 세포 분리 제어부는 상기 세포 분리 유닛에 공급되는 전압의 주파수를 변경하여 상기 세포 분리 과정을 제어할 수 있는 것을 특징으로 하는 초음파장 및 진행파 유전영동을 이용한 세포 분리 장치.

도면

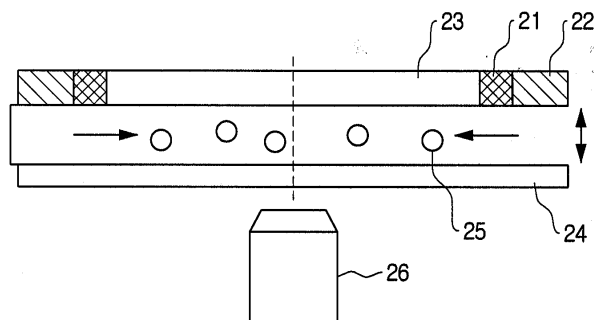
도면1



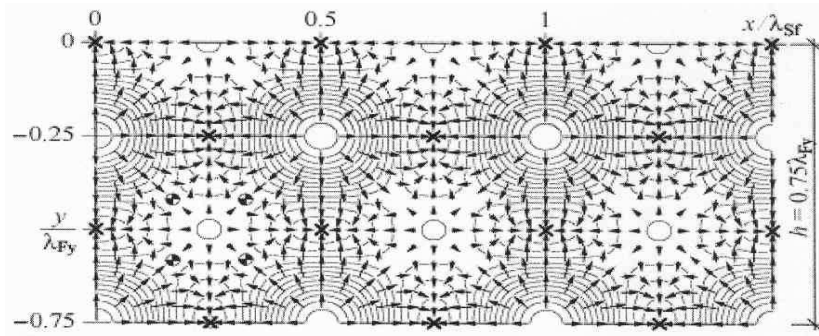
도면2a



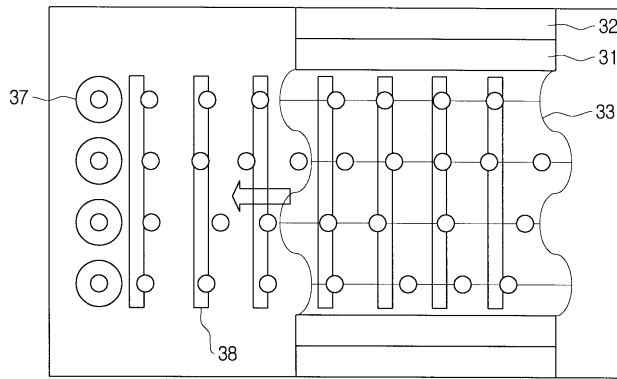
도면2b



도면2c



도면3



도면4

