

며, 상기 마이크로 채널을 따라 이동하는 시료에 의한 음이온 이동의 간섭에 의해 임피던스의 변화가 발생하며, 상기 임피던스의 변화는 상기 제1 레저버에 수용된 전극과 제2 레저버에 수용된 전극 사이에 연결된 임피던스 분석기에 의해 검출된다.

대표도

도 3

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명에 따른 마이크로칩의 바람직한 구현예를 보여주는 분해 사시도이다.

도 2는 도 1에 도시된 마이크로칩의 결합 사시도이다.

도 3은 본 발명에 따른 마이크로칩의 작동 원리를 설명하는 도면이다.

도 4는 본 발명에 따른 마이크로칩의 다른 바람직한 구현예를 보여주는 평면도이다.

도 5는 본 발명에 따른 마이크로칩의 또 다른 바람직한 구현예를 보여주는 평면도이다.

도 6은 마이크로 채널을 통해 이동하는 형광성 마이크로비드에 의해 발생하는 임피던스 변화를 보여주는 그래프이다.

도 7은 9.95 μm 와 5.70 μm 의 크기를 갖는 두종류의 형광성 마이크로비드를 사용하여 얻어진 임피던스 변화의 피크 진폭의 히스토그램이다. 두 그룹은 명백하게 구분된다. 이것은 피크 진폭 단독으로 두개의 마이크로비드를 명확히 구별할 수 있음을 말해준다.

도 8은 9.95 μm 와 5.70 μm 의 크기를 갖는 두종류의 형광성 마이크로비드를 사용하여 얻어진 속도 및 피크 진폭의 분산 플롯이다. 두 그룹은 명백하게 분리된다. 각 그룹의 임피던스 피크의 진폭은 유동 속도에 무관하다. 따라서, 두개의 서로 다른 크기를 갖는 마이크로비드는 피크 진폭만으로 분류될 수 있다.

도 9는 마이크로 채널을 통해 이동하는 적혈구와 백혈구의 속도와 피크 진폭의 분산 플롯이다.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 사이토메트리, 빌로시메트리 및 세포 분류에 사용하기 위한 폴리전해질 염다리를 사용하는 마이크로칩에 관한 것이다.

마이크로전체분석시스템(micro total analysis system, 이하 " μ -TAS")의 현대적 개념은, 만쯔 등¹에 의해 모세관 전기영동이 글라스 칩상에 개발된 1990년 초반으로 거슬러 올라간다. 이미 잘 알려진 바와 같이, 마이크로칩 상에서의 화학적, 생물학적 공정은 매크로 스케일의 공정 환경에서 얻을 수 없는 유용한 이점을 제공하는데, 이에에는 작은 샘플 분석부피, 저비용, 쉬운 자동화 및 병렬적 처리에 의한 높은 처리량² 등을 들 수 있다. 이러한 이점으로 인해, μ -TAS는 많은 다양한 영역으로 응용범위를 확대하고 있는데, 그 예로 임상적 진단^{3, 4}, 단위칩 종합효소 연쇄반응^{5, 6}, DNA 분리^{7, 8}, DNA 서열화^{9, 10}, 생물학적 및 화학적 분석¹¹⁻¹³, 세포 분석¹⁴⁻¹⁶ 및 유동 사이토메트리¹⁶⁻²⁷ 등을 들 수 있다.

유동 사이토메트리는, 액체 분산액 내에서 세포들이 이동하거나 유동할 때, 세포의 몇몇 성질을 측정하는 기술이다. 현장에서의 즉시적 테스트(point-of care test, 이하 "POCT")를 위한 유동 사이토메트리 시스템의 소형화는, 세포 생물학적 연

구 뿐만 아니라, 말초혈액으로부터의 줄기세포 분리, 백혈병 소아환자의 백혈구(white blood cell, 이하 "WBC") 농도의 제어를 포함한 임상적 사용을 위해서도 매우 중요하다. 대부분의 유동 사이토메트리에서, 측정 영역을 통과하는 세포는 광학적 또는 전기적 방법에 의해 검출된다. 형광 활성화 세포 분류(fluorescent activated cell sorting, 이하 "FACS")는 전자의 방법을 채용하며, 쿨터 계수기(Coulter counter)는 후자의 방법에 근거한다²⁸. 상기 두가지 검출방법을 채용하는, 마이크로칩에 근거한 유동 사이토메터에 대한 많은 보고들이 있어왔다. 예를 들면, 울프 등은 높은 처리속도를 갖는 FACS를 위한 고집적칩을 개발하였다²¹. 아일라이프 등은 마이크로채널 임피던스 스펙트로스코피에 의해 작동하는 칩에 근거한 전기적 분석 방법을 보고하였다¹⁷. 마이크로칩 상에서의 FACS^{16, 22-26}와 전기적 계수기¹⁸⁻²⁰에 대한 대하여 보고된 상당한 진보에도 불구하고, 마이크로칩 상에서의 유동 사이토메터는 현재까지 실제 적용하는데 부분적인 성공만을 거두고 있다.

전통적 FACS 개념과 미세유동 칩의 결합은, 현재의 상용 대형 시스템이 하는 것과 유사한 작업을 수행하는 장치의 소형화와 단순화를 목적으로 한다. 그러나, 이러한 아이디어는 몇가지 심각한 문제점을 갖는다. 첫 번째로, 상기 방법은 마커 또는 항체에 의한 세포 표면의 변형을 요구하며, 이것은 현재 연구중인 세포에 대한 변형을 야기할 수 있다. 두 번째로, 광학적 부품들은 마이크로칩 만큼 작은 크기로 감소시키는 것이 거의 불가능하다. 미세유동 기술을 도입함으로써 유동 부분은 현저히 작아질 수 있지만, 검출 유닛과 같은 다른 부분을 포함한 전체 시스템은 상업적 POTC용 장치로 사용하기에는 지나치게 크다. 세 번째로, 검출장비가 상당히 비싸고 작동시키는데 복잡하다. 광학적 장비는 전기적 장비에 비해 상당히 비싸고 정밀한 정렬을 필수적으로 요구한다.

이러한 관점에서 전기적 검출 방법은 광학적 기법에 대한 대안으로 고려되어왔다. 광학적 설비 만큼 제대로 작동한다는 가정 하에, 전기적 장치는 소형화, 단순화 및 비용효율 등의 면에서 가장 적합한 선택이다. 그러나, FACS가 제공하는 광학적 검출 만큼 좋은 사이토메트리 기능을 성취하는 전기적 방법에 대한 근본적 문제점이 있다. 이론적 계산에 따르면, 임피던스 반응의 가장 좋은 민감도와 정확성을 얻기 위해서는, 두개의 전극이 채널 벽을 사이에 두고 서로 대향하여야 한다¹⁸. 이를 구현하기 위해, 평면 금속 밴드 전극을 갖는 두개의 글라스를 서로 대면하도록 겹치거나, 전도성 금속을 두개의 평면 전극(두 평면전극 사이에 마이크로채널이 존재함)에 전기도금하려는 시도가 있어왔다¹⁷. 불행히도, 이들 시도들은 다음과 같은 이유로 인해 단지 제한된 성공만을 거두었다. 무엇보다도, 상기 전극을 제조하는 것이 곤란하였다. 나아가, 상기 구조의 전극이 제조되었다하더라도, 전극으로서의 형태와 특성에 대한 재현성을 보장하기 곤란하다. 다른 문제점은 전극물질과 인가 주파수와 관련되어 있다. 세포막의 전기적 성질은 캐패시터의 그것과 유사하기 때문에, 임피던스 신호는 인가 주파수에 반비례 한다. 이것은 낮은 주파수에서 높은 임피던스 변화신호를 얻을 수 있음을 말한다. 가장 바람직한 주파수는 영, 즉 직류(direct current, 이하 "DC") 신호이다. 그러나, 금속전극은 DC 또는 저주파수 전위에 적합하지 않다. 금속 전극 표면에서의 전기이중층 또는 파라데이 반응이 회로를 방해하기 때문에, 세포에 따른 임피던스 변화 신호를 얻을 수 없게 된다. 전통적 금속 전극이 사용되는 한, 고주파수의 교류(alternative current, 이하 "AC") 입력을 선택하여야 하나, 이것은 세포 검출에 대한 민감도를 저하시킨다. 더 나아가, 상기 방식에 따른 세포 크기에 대한 데이터는 속도와 관련되어 있는 것으로 보고된다. 이러한 이유로, 세포크기의 추정을 위한 속도와 관련된 보정법이 제시되었다^{18, 22}. 세포 분류(cell sorting)의 면에서, 해결되어야 하는 하나 이상의 문제점이 있다. FACS에서, 이동중인 세포는 유체역학적으로 2-D 포커싱되고, 따라서 한계오류 내에서 속도는 균일하다. 이것은 FACS에서 효율적 세포분류를 가능케한다. 그러나, 미세유동칩에서의 1-D(수평) 포커싱은 전통적 FACS시스템만큼 좋은 유동을 야기시킬 수 없다. 따라서, 미세유동 칩 상에서 세포의 균일한 속도를 얻는 것은 어렵다. 마이크로 칩에서 세포 분류를 할 때, 분류하고자 하는 세포의 속도 편차 때문에 잘못된 타이밍에 밀고 당길 수 있다. 마이크로칩 상에서 세포의 빠른 빌로시메트리는 미세유동 칩에서의 자동 세포분류에 대한 가장 중요한 현안 중 하나라는 사실을 고려할 때, 이동중인 세포의 빠르고 정확한 속도측정은 유동 사이토메트리에서 세포분류에 커다란 도움이 된다.

유동 세포의 속도 측정을 위한 종래의 방법은, 주어진 시간 동안 세포의 이동 변위를 측정함으로써 속도를 측정하는, 비디오 이미지 빌로시메트리²⁹이다. 그러나, 상기한 방법은, 상기 비디오 프레임 간격이 해상도를 조절하기 때문에, 정확도와 비용면에서 한계를 갖는다. 스하 회절 푸리에 변환(Shah convolution Fourier transform)은 미세유동칩 상에서 속도정보를 추출하는 또 다른 방법이다³⁰. 이 방법에서, 마스크 아래에 놓인 마이크로 칩의 채널에 지나가는 세포는 주기적으로 배열된 슬릿에 의해 공간적으로 변조된 형광 활성화 빔을 받아 시간적으로 변조된 형광 신호를 생성한다. 시간적으로 변조된 형광 신호의 푸리에 변환에 의해 속도 정보를 얻을 수 있다. 주기적으로 배열된 슬릿을 갖는 상기 마스크를 마이크로칩 상에 통합하기 위하여 도파 빔 분배기(waveguide beam splitter)를 사용한 예도 있다³¹. 속도 측정을 위한 또 다른 방법은 음파-광 변조기(Acousto-optic modulator, 이하 "AOM")에 의해 활성화된 두 영역으로부터 얻어진 형광 피크의 시간 간격을 이용하는 것이다²². 스하 회절 푸리에 변환과 AOM 방법은 둘 다, 광학 시스템에 측정하고자 하는 기기와 계산의 복잡도를 증가시키고, 소형화에 한계를 갖는다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

상기한 문제점을 해결하기 위해, 폴리 전해질 염다리에 근거한 전극(polyelectrolytic salt bridge-based electrode, 이하 "PSBE")을 갖는 유동 싸이트메트리 칩 및 빌로시메트리 칩의 제작과 그 성능이 제공된다. 염다리의 개념은 마이크로유동 칩 연구분야에서 거의 알려져 있지 아니하다. 칸두리나 및 그의 동료들은 다공성 실리케이트 필름을 전기영동을 위한 염다리로 사용한 바 있다³². 와이. 다까무라 등³³과 에이. 브라스크 등³⁴은 염다리에 기초한 저전압 직렬 전기삼투 펌프를 개발하였다. 그러나, 이동중인 세포를 검출하기 위한 전극의 용도로 폴리머 염다리를 사용한 적은 없다. 상기 PSBE는 마이크로채널 벽에 쉽게 제작될 수 있고, 또한 DC 임피던스 분석을 수행하게 하게 한다. 더 나아가 정해진 거리를 두고 형성된 두 쌍의 PSBE는 속도 측정을 위한 정보를 제공한다. 크고 복잡한 주변장치의 설치 없이도, 상기 PSBE는 크기 선택적 검출과 마이크로채널을 따라 유동하는 세포의 빌로시메트리를 동시에 성취할 수 있는 기회를 제공한다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, a) 시료 용액을 도입하는 입구, b) 상기 입구로부터 도입된 시료 용액의 이동통로를 제공하는 마이크로 채널, c) 상기 마이크로 채널을 통과한 시료의 적어도 하나 이상의 출구, d) 상기 마이크로 채널에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리와, 상기 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리에 각각 연결된, 전극과 표준 전해 용액을 수용하는 제1 및 제2 레저버를 포함하는 적어도 하나의 전극 시스템을 포함하는 마이크로칩이 제공된다. 상기 마이크로칩에서, 상기 제1 레저버에 수용된 전극과 상기 제2 레저버에 수용된 전극은 임피던스 분석기(impedance analyser)에 각각 연결된다. 이 때, 상기 제1 레저버에 수용된 표준 전해 용액에 존재하는 음이온이, 상기 마이크로채널을 가로질러 제1 폴리 전해질 염다리로 부터 제2 폴리 전해질 염다리로 이동하며, 마이크로 채널을 따라 이동하는 시료는 상기 음이온의 이동을 간섭하며, 상기 간섭에 의해 임피던스의 변화가 발생하며, 이러한 임피던스의 변화는 상기 임피던스 분석기에 의해 검출된다. 상기 임피던스의 변화는 이동중인 시료의 크기에 의존한다. 즉, 이동중인 시료의 크기가 증가함에 따라 임피던스의 변화량은 증가한다. 또한, 상기 마이크로칩은 상기 전극시스템을 일정한 간격을 두고 2개 포함할 수 있으며, 이 때, 첫 번째 전극시스템과 두 번째 전극시스템 사이의 이격거리와, 첫 번째 전극시스템에서의 임피던스 변화와 두 번째 전극 시스템에서 발생한 임피던스의 변화의 시간차에 의해 시료의 이동 속도가 측정된다.

본 발명의 다른 바람직한 구현예에 따르면, a) 2개 이상의 세포를 함유하는 시료 용액을 도입하는 입구, b) 상기 입구로부터 도입된 시료 용액의 이동통로를 제공하는 마이크로 채널, c) 상기 마이크로 채널을 통과한 시료의 두개의 출구, 여기서 제1 출구는 상기 마이크로채널의 일직선상에 존재하며, 제2 출구는 마이크로채널의 일직선상으로부터 이탈된 곳에 위치함, d) 상기 마이크로 채널에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리와, 상기 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리에 각각 연결된, 전극과 표준 전해 용액을 수용하는 제1 및 제2 레저버를 포함하는 첫 번째 전극 시스템, e) 상기 마이크로 채널에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제3 및 제4 폴리 전해질 염다리와, 상기 제3 및 제4 폴리 전해질 염다리에 각각 연결된, 전극과 표준 전해 용액을 수용하는 제3 및 제4 레저버를 포함하는 두 번째 전극 시스템, f) 시료 용액의 이동방향을 전환시키는 펌프를 구비하며, 세포들 중에서 관심있는 세포의 경우, 상기 펌프에 의해 시료 용액의 이동방향이 변경되어 상기 세포가 제2 출구로 수집되고, 관심없는 세포의 경우 펌프가 미작동되어 상기 세포가 제1 출구로 이동하는 마이크로칩이 제공된다. 이러한 마이크로칩은 세포 분류(cell-sorting)의 용도로 이용된다.

발명의 구성 및 작용

이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명을 보다 상세히 기술한다.

도 1은 본 발명에 따른 마이크로칩의 바람직한 구현예를 보여주는 분해 사시도이고, 도 2는 도 1에 도시된 마이크로칩의 결합 사시도이다.

도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 마이크로칩(1)은 제1 기관(100a)과 제2 기관(100b)을 포함한다. 제1 기관(100a) 상에는 시료 용액을 도입하는 입구(301), 상기 입구(301)로부터 도입된 시료 용액의 이동통로를 제공하는 마이크로 채널(302), c) 상기 마이크로 채널을 통과한 시료의 출구(303), d) 상기 마이크로 채널(302)에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리(304a, 304b)와, 상기 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리(304a, 304b)에 각각 연결된, 전극(306a, 306b)과 표준 전해 용액(307a, 307b)을 수용하는 제1 및 제2 레저버(305a, 305b)를 포함하는 적어도 하나의 전극 시스템(300)을 포함한다. 상기 마이크로칩(1)에서, 상기 제1 레저버(305a)에 수용된 전극(306a)과 상기 제2 레저버(305b)에 수용된 전극(306b)은 임피던스 분석기(impedance analyser)(400)에 연결된다. 소정 부위에 다수의 홀(500)이 형성된 제2 기관(100b)을 제1 기관(100a)에 결합시킴으로써 마이크로칩(1)이 완성된다.

도 3은 본 발명에 따른 마이크로칩의 작동 원리를 설명하는 도면이다. 상기 임피던스 분석기(400)에 의해, 두 전극(306a, 306b)에 바이어스 전압이 인가되면, 표준 전해 용액(307b)에 존재하는 음이온(308)은 제2 폴리 전해질 염다리(304b)로부터, 상기 마이크로 채널(302)을 가로질러, 제1 폴리 전해질 염다리(304a)로 이동한다. 그 후, 상기 음이온(308)은, 상기 제1 레저버(305a)에서, 전극(306a)과의 접촉에 의해 산화반응을 경험한다. 상기 제2 레저버(305b)에서, 표준 전해 용액(307b)에 잔존하는 양이온(미도시)은 전극(306b)을 통해 전달되는 전자(e⁻)에 의해 환원된다. 이 때, 일정한 바이어스 전압을 인가하게 되면, 음이온(308)은 일정한 속도로 상기 마이크로 채널(302)을 가로질러 제2 폴리 전해질 염다리(304b)로부터 제1 폴리 전해질 염다리(304a)로 이동한다. 한편, 입구(301)를 통해 도입되는 시료(예를 들면, 세포)(200)는 마이크로 채널(302)을 통해 이동한다. 폴리 전해질 염다리(304a, 304b)와 마이크로 채널(302)의 교차점(P)에서 상기 시료(200)는 음이온(308)의 이동을 방해한다. 즉, 음이온(308)의 이동은 상기 시료(200)에 의해 간섭을 받게 되며, 이것은 임피던스의 변화를 야기한다. 두 전극(306a, 306b) 사이에 위치한 임피던스 분석기(400)는 이러한 임피던스 변화를 검출한다. 본 발명의 구체적 실시예에 따르면, 임피던스의 변화량은 속도에 영향을 받지 않고 세포의 크기에 의존함을 확인하였다. 다시 말해, 임피던스의 변화량은 세포 크기에 선택적으로 반응하였다. 더 나아가, 세포 크기가 증가함에 따라 임피던스 변화량은 증가하였다. 이러한 변화는 세포 크기의 증가에 따른 간섭의 증가에 기인한 것으로 믿어진다. 임피던스 분석기(400)의 바람직한 예로는 직류 또는 저주파의 것이 사용될 수 있다.

도 4는 본 발명에 따른 마이크로칩의 다른 바람직한 구현예를 보여주는 분해 사시도이다. 도 4에 도시된 바와 같이, 상기 마이크로칩(1)은 소정의 간격을 두고 배열된 두 개의 전극 시스템(300a, 300b)을 포함한다. 구체적으로, 본 발명에 따른 마이크로칩(1)은 기관(100)의 내부에, 시료 용액을 도입하는 입구(301), 상기 입구(301)로부터 도입된 시료 용액의 이동 통로를 제공하는 마이크로 채널(302), 상기 마이크로 채널(302)을 통과한 시료의 출구(303), 상기 마이크로 채널(302)에서 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리(304a, 304b)와, 상기 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리(304a, 304b)에 각각 연결된, 전극(306a, 306b)과 표준 전해 용액(307a, 307b)을 수용하는 제1 및 제2 레저버(305a, 305b)를 포함하는 제1 전극 시스템(300a) 상기 마이크로 채널(302)에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제3 및 제4 폴리 전해질 염다리(304c, 304d)와, 상기 제3 및 제4 폴리 전해질 염다리(304c, 304d)에 각각 연결된, 전극(306c, 306d)과 표준 전해 용액(307c, 307d)을 수용하는 제3 및 제4 레저버(305c, 305d)를 포함하는 제2 전극 시스템(300b)을 구비한다.

제1 전극 시스템(300a)과 제2 전극 시스템(300b) 각각에서, 음이온 이동과 시료에 의한 간섭에 의한 임피던스 변화는 도 3에서 기술한 바와 같다. 이 때, 상기 제1 전극 시스템(300a)과 제2 시스템(300b)은 서로 독립적인 임피던스 분석기(도 5의 400a, 400b)에 의해 연결되는데, 이것은 누설 전류(leakage current)에 의해 임피던스 변화가 방해를 받을 수 있기 때문이다. 도 4에 도시된 두 개의 전극 시스템(300a, 300b)을 포함하는 마이크로칩(1)은 시료(예를 들면, 세포)의 이동속도를 측정할 수 있다. 즉, 제1 전극 시스템(300a)과 시료의 상호작용에 의해 발생된 임피던스 변화와, 정해진 간격을 두고 배열된 제2 전극 시스템(300b)과 상기 시료의 상호작용에 의해 발생된 임피던스 변화의 시간차를 측정함으로써 세포의 이동속도를 감지할 수 있다. 구체적으로 세포의 이동속도(v)는 다음의 수학적 식 1에 의해 쉽게 산출된다.

수학적 식 1

$$v = d/\Delta T = d/(T_2 - T_1)$$

상기 수학적 식 1에서, v는 시료의 이동속도이며, d는 제1 전극 시스템(300a)과 제2 전극 시스템(300b) 사이의 거리이며, ΔT는 제2 임피던스 분석기에 의해 검출된 임피던스 변화의 감지 시간(T₂)과 제1 임피던스 분석기에 의해 검출된 임피던스 변화의 감지 시간(T₁)의 시간차이다.

도 5는 본 발명에 따른 마이크로칩의 또 다른 바람직한 구현예를 보여주는 분해 사시도이다. 도 5에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 마이크로칩(1)은 기관(100a, 100b) 사이에, 시료 용액을 도입하는 입구(301), 상기 입구(301)로부터 도입된 시료 용액의 이동 통로를 제공하는 마이크로 채널(302), 상기 마이크로 채널(302)을 통과한 시료의 두 개의 출구(303a, 303b), 상기 마이크로 채널(302)에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리(304a, 304b)와, 상기 제1 및 제2 폴리 전해질 염다리(304a, 304b)에 각각 연결된, 전극(306a, 306b)과 표준 전해 용액(307a, 307b)을 수용하는 제1 및 제2 레저버(305a, 305b)를 포함하는 제1 전극 시스템(300a)과, 상기 마이크로 채널(302)에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제3 및 제4 폴리 전해질 염다리(304c, 304d)와, 상기 제3 및 제4 폴리 전해질 염다리(304c, 304d)에 각각 연결된, 전극(306c, 306d)과 표준 전해 용액(307c, 307d)을 수용하는 제3 및 제4 레저버(305c, 305d)를 포함하는 제2 전극 시스템(300b), 및 시료 용액의 이동 방향을 전환시키는 펌프의 연결구(310)를 구비한다. 상기 제1 전극 시스템(300a)과 제2 시스템(300b)에는, 서로 독립적인 임피던스 분석기(400a, 400b)가 각각 연결된다. 도 5의 시스템은 세포 분류에 이용될 수 있다. 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 제1 임피던스 분석기(400a) 및/또는 제2 임피던스 분석기(400b)에 의해 검출된

임피던스 변화량에 의해 세포의 종류가 결정된다. 예를 들면, 상기 시료 용액에 서로 다른 크기를 갖는 2개의 세포가 함유되어 있다고 가정하자. 이 때, 하나의 세포에 의해 측정된 임피던스 변화량과 다른 하나의 세포에 의해 측정된 임피던스 변화량은 서로 차이를 나타낸다. 따라서, 임피던스 변화량에 의해 세포의 종류가 식별된다. 더 나아가, 제1 전극 시스템(300a)과 제2 전극 시스템(300b)의 이격 거리와, 제1 임피던스 분석기(400a)와 제2 임피던스 분석기(400b)에 의한 임피던스 측정의 시간차는 세포의 이동 속도를 제공한다. 계산된 세포의 이동 속도로부터, 상기 세포가 제2 전극시스템(300b)으로부터 펌프의 연결부위까지 도달하는데 소요되는 시간이 산출된다. 이것은, 펌프(미도시)의 작동에 의해 시료 용액속에 포함된 2개의 세포를 분리할 수 있게 한다. 구체적으로, 임피던스 변화량에 의해 결정된 세포 종류와 이동속도로부터, 제1 세포가 펌프의 연결부위가 위치한 곳에 도달하는 것으로 판명된 경우, 제어 시스템(미도시)은 펌프를 작동시키고, 펌프의 작동에 의해 세포의 이동방향이 제2 출구(303b)로 변경된다. 따라서, 제1 세포는 제2 출구(303b)로 수집된다. 유사한 방식으로, 펌프의 연결부위가 위치한 곳에 제2 세포의 도달이 확인된 경우, 펌프는 미작동한다. 이동 방향이 변경되지 아니한 제2 세포는 제1 출구(303a)로 수집된다. 결과적으로, 제1 세포와 제2 세포가 선택적으로 분류된다.

바람직하게는, 제1 출구(303a)는 상기 마이크로채널(302)의 연장선상에 존재하며, 제2 출구(303b)는 마이크로채널의 연장선으로부터 이탈된 곳에 위치하는 것이다. 시료 용액에 포함된 세포들 중에서 관심있는 세포의 경우, 상기 연결구(310)를 통한 펌프의 압력에 의해 시료 용액의 이동방향이 변경되어 상기 세포가 제2 출구(303b)로 수집되고, 관심없는 세포의 경우 펌프가 미작동되어 상기 세포가 제1 출구(303a)로 이동하게 된다. 결과적으로, 시료 용액에 포함된 2 이상의 세포들 중에서, 관심있는 세포가 선택적으로 분류된다. 필요할 경우, 출구는 세포의 개수만큼 설치할 수 있다. 또한, 펌프 뿐만 아니라, 시료 용액의 이동방향을 전환시키는 다양한 수단(예를 들면, 밸브)이 채용될 수 있다.

본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 전극으로서, 금속/금속염 전극이 바람직하였다. 금속/금속염 전극이라 함은, 금속 코어의 표면에 금속염이 코팅된 전극을 말한다. 또한 음이온으로서 염화이온(Cl^-)이 바람직한 결과를 제공하였다. pH에 의존하지 않고, 음이온의 이동을 제한하지 아니하는 다양한 폴리 전해질이 염다리로서 사용될 수 있다. 바람직하게는, 상기 폴리 전해질 염다리가 증가된 음이온의 보유량을 갖는 것이다. 본 발명의 구체예에 따르면, 폴리 전해질 염다리로서, 폴리디알릴디메틸암모늄염화물(poly-diallyldimethylammonium chloride)를 사용하였다. 본 발명의 구체예에 따르면, 상기 폴리 전해질 염다리는 모래시계(calabash) 형태의 구조를 갖고, 모래시계의 좁은 면이 마이크로채널과 접촉하도록 하였다. 이것은 임피던스 변화의 민감도를 증가시키기 위한 것이다. 접촉면적은 시료 용액에 함유된 세포의 크기, 음이온의 종류, 임피던스 변화량 등을 고려하여 적절히 선택할 수 있다. 더 나아가, 폴리 전해질 염다리와 레저버 사이에 완충공간(도 1의 311a, 311b)을 둘 수 있는데, 이것은 광고분자화(photopolymerization)에 형성되는 폴리 전해질 염다리(304a, 304b)가 레저버(305a, 305b) 영역을 침범하지 아니하도록 하기 위함이다. 또한 제1 기관(100a)과 제2 기관(100b)의 조합에 의해 마이크로칩이 형성되었으나, 이것은 예시적인 것이다. 하나의 기관 내에 상기 마이크로네트웍을 구축할 수 있으며, 3개 또는 그 이상의 기관의 조합에 의해 상기 마이크로네트웍을 구축할 수도 있다. 또한 기관은 글라스 기관 또는 고분자 기관 등에 의해 형성될 수 있으며, 시료의 도입 및 방출의 용이성을 위해, 시료의 입구 및 출구에 튜브가 부착될 수 있다.

실시에

마이크로칩 제조

미리 세정된 코닝 2947 슬라이드 글라스 2개(75 mm × 25 mm, 두께: 1 mm)을 기관으로서 사용하였다. 하나의 글라스를 피란하 용액($H_2SO_4:H_2O_2 = 3:1$)에서 세정한 후, 탈이온수(NANOpure Diamond, Barnstead, USA)로 세척하고, 아세톤(CMOS grade, J.T. Baker, USA) 및 메탄올(CMOS grade, J.T. Baker, USA) 및 탈이온수로서 2회 순차 세척하였다. 세척된 슬라이드 글라스를 150°C의 핫플레이트 상에 10분 동안 놓아두어 탈수한 후 상온으로 냉각시켰다. 글라스 표면을 개질하기 위해, 소수성을 갖는 헥사메틸 디실라잔(Hexamethyl disilazane, 이하 "HMDS")(Clariant, Switzerland)를 상기 슬라이드 글라스 상에 4000 rpm의 속도로 30초 동안 스핀코팅시켰다. 그 후, 상기 스핀 코팅층 상에, 포토레지스트(AZ5241-E, Clariant, Switzerland)를 4000 rpm의 속도로 30초 동안 스핀코팅시켰다. 100°C의 핫플레이트 상에서 1분 동안의 소프트 베이킹을 수행한 후, 상기 슬라이드 글라스를 상온으로 냉각시키고 패턴화된 마스크 상에 정렬시켜 노광한다. 그 뒤 슬라이드 글라스의 상기 패턴된 면의 반대 면을 에칭 용액으로부터 보호하기 위해 HMDS 및 PR 층을 같은 방법으로 입힌다. 상기 슬라이드 글라스를 6:1 버퍼 옥사이드 에칭 용액(J. T. Baker)을 이용하여 25°C에서 40분 동안 에칭하였다. 세척 단계는 다음과 같다: 탈이온수 및 아세톤을 이용하여 씻어내고, 초음파 세정기(3510E-DTH, Branson, USA)를 사용하여 5분동안 아세톤에서 초음파처리하고, 메탄올 및 탈이온수에서 세척한다. 상기 에칭된 글라스를 덮기 위해, 다른 평판 슬라이드 글라스의 소정의 부위를 다이아몬드 드릴을 이용하여 2 mm의 직경으로 홀을 형성하였다. 그리고 나서, 상기 홀이 형성된 평판 슬라이드 글라스를 피란하 용액에서 1 시간 동안 세정하였다. 에칭된 슬라이드 글라스와 홀

이 형성된 평판 슬라이드 글라스를 열접합(thermal bonding)으로 접착시켰다. 두개의 슬라이드 글라스를 서로 접착시키는 동안, 탈이온수를 충전시켰는데, 이것은 공기 버블이 생성되는 것을 방지한다. 상기 글라스들을 로내에서 600°C까지 가열하고, 상기 온도를 600°C에서 6시간 동안 유지시킨 후 상기 로의 온도를 10시간에 걸쳐 상온으로 천천히 냉각시켰다.

PSBE 제작

염다리 물질로서 디알릴디메틸암모늄 클로라이드(DADMAC)를 선택하였다. 2 중량% 광개시제와 2중량% 가교제의 존재 하에, 65% DADMAC 용액에 UV 광을 조사하여 고분자화하여 폴리-DADMAC(이하 "PDADMAC")를 생성하였다. 고전하 밀도는 PDADMAC가 고분자 구조 내에 많은 음이온을 보유하도록 하고, 유동성 음이온의 전달을 쉽게하고 폴리머 플러그의 저항을 감소시킨다. 더 나아가, PDADMAC의 정전하는 매질 내의 pH에 독립적이다. 따라서, PDADMAC는 염다리로서 좋은 성질을 갖는다. DADMAC, 광개시제(2-히드록시-4'-(2-하이드록시에톡시)-2-메틸프로피오펜) 및 가교제(N,N'-메틸렌바이사크릴아미드)는 시크마알드리치(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다.

폴리 전해질 염다리 제조는 광중합 기술에 의해 수행되었다. 상기 미세유동성 글라스칩의 마이크로채널 네트워크를 상기한 조성을 갖는 DADMAC 용액으로 채웠다. 칩 상에 마스크를 정렬시킨 다음, UV 광(365 nm)를 16 mW cm⁻²의 강도로 5초 동안 조사하였다. DADMAC 단분자들은 중합되어 도 1에 도시된 모래시계 형태의 3차원 PDADMAC를 형성하였다. 광중합을 수행한 후, 잔존하는 DADMAC 단분자를 제거하기 위해, 마이크로채널을 1M KCl 용액을 사용하여 세척하였다. 마이크로채널의 치수는 넓이 50 μm, 깊이 22 μm이었다.

PSBE의 전기적 성질

상기 미세유동성 글라스 칩을 표준 전해용액으로서 등장성 0.92% NaCl 용액으로 충전하였다. 전극으로서 두개의 Ag/AgCl 와이어를, 도 1에 도시된 바와 같이, 레이저에 배치하고 이들을 LCR 미터(Precision Component Analyzer 6440A, Wayne Kerr, USA)에 연결하였다. 두 레이저 사이의 임피던스를 DC - 3.0MHz의 주파수 범위에서 연속적으로 측정하였다. 테스트 결과는 전체 주파수 영역에 걸쳐 30 kΩ의 평평한 임피던스 성질을 보여주었다.

샘플 제조

상기 PSBE를 갖는 싸이토메트리 마이크로칩의 성능은 9.95 μm의 직경을 갖는 형광성 마이크로비드(P(S/V-COOH), (480, 520), Bangs Laboratory, USA) 및 5.70 μm의 직경을 갖는 형광성 마이크로비드(P(S/5.5% Divinylbenzene/5% MAA), (480, 520), Bangs Laboratory, USA)를 사용하여 검증하였다. 등장성 NaCl 용액을 사용하여 9.95 μm 및 5.70 μm의 형광성 마이크로비드를 각각 0.025 중량% 및 0.005 중량%로 희석하였다.

적혈구(red blood cell, 이하 "RBC") 및 백혈구(white blood cell, 이하 "WBC")를 정상인으로부터 채취한 후, 원심분리에 의해 분리하였다. RPMI 1640 매질 (1X, Jeil biotechservices, Korea)을 이용하여, RBC 및 WBC를 0.0025 세포/pL⁻¹로 희석시킨 후, 실험에 적용하였다.

신호검출 및 데이터 확보

상기 희석된 형광성 마이크로비드 용액을 주사기 펌프(KDS100, KD Scientific, USA)를 사용하여 마이크로채널 내부로 주입하였다. 도 3은 DC 임피던스 분석이 가능한 미세유동성 글라스칩의 전체 환경을 보여준다. 마이크로채널을 사이에 두고 서로 대향하게 배치된 폴리 전해질 염다리들은 Ag/AgCl 전극과 등장성 염다리를 통해 외부의 DC 임피던스 분석기에 연결되었다. 0.4 V DC 바이어스가 약 13 μA의 DC 전류를 생성하였으며, 이것은 극성의 변경없이 적어도 1시간 동안 일정하게 유지되었다. 단지 바이어스 극성을 스위칭함으로써, 실험이 1시간 이상 수행될 수 있다. 세포 또는 마이크로비드가 마이크로채널을 통해 폴리 전해질 염다리 사이를 통과할 때 발생하는 임피던스 변화 신호는 2,000배로 증폭하였다.

이동 중인 세포의 속도 측정을 위해, 도 4에 도시된 바와 같이, 두쌍의 PSBE를 1 mm 간격을 두고 배치하였다. 두개의 서로 독립적 전력공급은 각각의 PSBE들의 위한 임피던스 분석 회로를 제공하며, 이것은 두쌍의 PSBE 사이의 누화(crosstalk)를 방지한다. 두개의 임피던스 분석 회로로부터의 두개의 신호 출력은 30 kHz의 샘플링 주파수에서 랩 컴퓨터 1200 (National Instruments, Austine, Texas, USA)(미도시)을 사용하여 디지털화하였다.

결과 및 토의

유동 마이크로비드의 검출

도 6은 9.95 μm 의 형광성 마이크로비드를 무작위로 상기 마이크로채널을 통해 한 쌍의 폴리 전해질 염다리 사이를 통과시켰을 때 얻어진 증폭된 임피던스 신호를 보여준다. 각각의 하향 피크는 하나의 마이크로비드에 대응된다. 개발된 싸이토메트리 마이크로칩의 선별 속도는 두개의 폴리 전해질 염다리 사이의 검출부피를 통과하는 세포의 피크 신호의 간격으로부터 추측할 수 있다. 신호의 반전력 넓이(half-power width of the signals)는 최대 선별 속도가 초당 3000 세포 이상임을 보여준다. 빠른 선별 속도는 빠른 DC 임피던스 분석에 일부 기인하며, 이것은 PBSE 에서만 가능한 것이다. 하나의 마이크로칩에서의 병렬적 처리는 선별 속도를 성공적으로 향상시킬 수 있을 것으로 예상된다.

도 7은 직경이 서로 다른 두 종류의 형광성 마이크로 비드에 대한 피크 진폭의 히스토그램이다. 피크 높이와 임피던스 사이의 상관관계는 9.95 μm 및 5.70 μm 의 두 종류의 마이크로비드를 사용하여 고찰하였다. 테스트 결과는, 9.95 μm 의 마이크로비드의 경우 피크 진폭 분포가 $(m, \sigma^2) = (1.0612, 0.1236^2)$ 이고, 5.70 μm 의 마이크로비드의 경우 $(m, \sigma^2) = (0.1635, 0.0263^2)$ 임을 보여준다. 평면 금속 전극사이의 고주파수 AC 임피던스 분석은, 마이크로채널에서의 유동을 유체역학적으로 포커싱하였을 때에도, 상기 진폭이 마이크로채널에서의 세포의 거동에 매우 의존하는 신호를 생성하였다. 그러나, PSBE를 사용한 DC 임피던스 분석은 관통 영역에서의 세포의 위치에 영향을 받지 않는 임피던스 신호를 제공하였다. 결과적으로, 전극으로부터의 상대적 위치에 대한 임피던스 신호의 의존성이 현저히 감소될 수 있고, 미세유동성 칩에 대한 유체역학적 포커싱으로부터 유발되는 문제점에 덜 민감하다.

도 4에 도시된, 일정한 간격을 둔 두 쌍의 서로 대향하는 염다리 전극은, 하나의 세포가 이들을 순차 통과할 때, 시간 간격을 갖는 임피던스 피크 신호를 제공한다. 유동 세포의 속도는 두쌍의 염다리 전극들 사이의 정해진 거리를 경과된 시간으로 나눔으로써 계산된다. 두쌍의 염다리 전극 사이의 거리를 1 mm로 설정하였으며, 그 결과를 도 8에 나타내었다. 도 8에서 보여진 바와 같이, 직경이 9.95 μm 및 5.70 μm 의 피크 진폭이 명백히 분리되어 있음을 알 수 있다. 그리고, 피크 진폭과 유동 속도의 상호관련성이 현저히 낮았다. 피어슨 상관 수치(Pearson's correlation value)는, 9.95 μm 의 마이크로비드의 경우 -0.244이었고, 5.70 μm 의 마이크로비드의 경우 -0.207이었다.

혈액에서의 세포 계수

개발된 싸이토메트리 마이크로칩의 성능을 인체 혈액 샘플로부터 얻어진 RBC 및 WBC를 사용하여 검증하였다. 혈액 세포의 크기는 RBC의 경우 6-9 μm 이었고, WBC의 경우 12-18 μm 이었다. 마이크로비드를 사용한 실험을 통한 결과에 따르면, RBC와 WBC가 그들의 크기 차이에 의해 분류될 수 있을 것이다. 도 9는 인간 혈액 세포로부터 얻어진 피크 진폭과 속도의 분산 플롯을 보여준다. 테스트 결과는 피크 진폭 분포가, RBC의 경우 피크 진폭 분포가 $(m, \sigma^2) = (0.3135, 0.0383^2)$ 이고, WBC의 경우 $(m, \sigma^2) = (0.8139, 0.1792^2)$ 임을 보여준다. 피크 진폭은 1 mm s^{-1} 내지 100 mm s^{-1} 의 범위를 갖는 속도와 거의 상관관계가 없다. 따라서, 피크 진폭 단독으로 RBC와 WBC를 신뢰성있게 서로 분류할 수 있다.

인간 혈액 세포를 사용한 상기 실험 결과는 완벽한 세포 혈액수 집계기 핸드헬드 장치를 사용하여 즉시적으로 가능함을 보여준다. 이것은 개발된 싸이토메트리 마이크로칩이 소아 백혈병자를 위한 WBC 수치 조절을 포함한 다양한 임상적 용도로 응용될 수 POCT 세포수 계산기에 적용될 수 있음을 의미한다.

발명의 효과

μ -TAS에서의 PSBE 제조 기술이 개발되었고, 유동 싸이토메트리 글라스 마이크로칩으로서의 효능이 검증되었다. 개발된 PSBE는 미세유동 글라스 칩에서 임피던스 분석을 위한 금속 전극을 대체할 수 있음이 증명되었다. 상기 PSBE는 싸이토메트리 및 빌로시메트리 마이크로칩에 내장되며, 형광성 마이크로비드 및 인간 혈액 세포를 사용하여 성능을 검증하였다. 테스트 결과는 초당 3000 세포 이상의 선별 속도와 속도에 무관한 입자 크기에 의한 분류가 가능함을 보여준다.

본 발명에 의한 PSBE는 다양하게 응용될 수 있다. 예를 들면, 마이크로칩에 일체화된 전기화학적 전지 또는 전기화학적 검출이 요구되는 칩에 기초한 전기영동에 사용되는 디커플러로서 상기 유닛이 사용될 수 있다. 세포 계수 및 빌로시메트리를 위한 상기 PSBE 칩은 소형화에 아주 적합하며, 소형화된 POTC 장치로서 응용가능하다. 본 기술은, 예를 들면, 소형화된 줄기 세포 채집기로서 임상적으로 사용될 수 있는 기회를 제공한다.

-- 인용문헌 목록--

- (1) Manz, A.; Graber, N.; Widmer, H. M. *Sensors and Actuators B-Chemical* **1990**, *1*, 244.
- (2) Erickson, D.; Li, D. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *507*, 11-26.
- (3) Tian, H. J.; Jaquins-Gerstl, A.; Munro, N.; Trucco, M.; Brody, L. C.; Landers, J. P. *Genomics* **2000**, *63*, 25-34.
- (4) Pasas, S. A.; Lacher, N. A.; Davies, M. I.; Lunte, S. M. *Electrophoresis* **2002**, *23*, 759-766.
- (5) Waters, L. C.; Jacobson, S. C.; Kroutchinina, N.; Khandurina, J.; Foote, R. S.; Ramsey, J. M. *Analytical Chemistry* **1998**, *70*, 5172-5176.
- (6) Woolley, A. T.; Hadley, D.; Landre, P.; deMello, A. J.; Mathies, R. A.; Northrup, M. A. *Analytical Chemistry* **1996**, *68*, 4081-4086.
- (7) Shi, Y. N.; Simpson, P. C.; Scherer, J. R.; Wexler, D.; Skibola, C.; Smith, M. T.; Mathies, R. A. *Analytical Chemistry* **1999**, *71*, 5354-5361.
- (8) Ueda, M.; Kiba, Y.; Abe, H.; Arai, A.; Nakanishi, H.; Baba, Y. *Electrophoresis* **2000**, *21*, 176-180.
- (9) Liu, S. R.; Shi, Y. N.; Ja, W. W.; Mathies, R. A. *Analytical Chemistry* **1999**, *71*, 566-573.
- (10) Paegel, B. M.; Emrich, C. A.; Weyemayer, G. J.; Scherer, J. R.; Mathies, R. A., USA 2002; 574-579.
- (11) Beebe, D. J.; Mensing, G. A.; Walker, G. M. *Annual Review of Biomedical Engineering* **2002**, *4*, 261-286.
- (12) Jakeway, S. C.; de Mello, A. J.; Russell, E. L. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **2000**, *366*, 525-539.
- (13) Chovan, T.; Guttman, A. *Trends in Biotechnology* **2002**, *20*, 116-122.
- (14) Stuart, J. N. Sweedler, J. V. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2003**, *375*, 28-29.
- (15) Lin, Y. C.; Jen, C. M.; Huang, M. Y.; Wu, C. Y.; Lin, X. Z. *Sensors and Actuators B-Chemical* **2001**, *79*, 137-143.
- (16) Fu, A. Y.; Spence, C.; Scherer, A.; Arnold, F. H.; Quake, S. R. *Nature Biotechnology* **1999**, *17*, 1109-1111.
- (17) Ayliffe, H. E.; Frazier, A. B.; Rabbitt, R. D. *Journal of Microelectromechanical Systems* **1999**, *8*, 50-57.
- (18) Gawad, S.; Schild, L.; Renaud, P. *Lab on a Chip* **2001**, *1*, 76-82.
- (19) Larsen, U. D.; Blankenstein, G., Chicago, IL, June 16-19 1997; IEEE; 1319-1322.
- (20) Gawad, S.; Batard, P.; Seger, U.; Metz, S.; Renaud, P. *Micro total analysis systems* **2002**, 649-651.
- (21) Wolff, A.; Perch-Nielsen, I. R.; Larsen, U. D.; Friis, P.; Goranovic, G.; Poulsen, C. R.; Kutter, J. P.; Telleman, P. *Lab on a Chip* **2003**, *3*, 22-27.
- (22) Eyal, S.; Quake, S. R. *Electrophoresis* **2002**, *23*, 2653-2657.
- (23) Sobek, D.; Young, A. M.; Gray, M. L.; Senturia, S. D., New York 1993; 219-224.
- (24) Schrum, D. P.; Culbertson, C. T.; Jacobson, S. C.; Ramsey, J. M. *Analytical Chemistry* **1999**, *71*, 4173-4177.

- (25) McClain, M. A.; Culbertson, C. T.; Jacobson, S. C.; Ramsey, J. M. *Analytical Chemistry* **2001**, *73*, 5334-5338.
- (26) Kruger, J.; Singh, K.; O'Neill, A.; Jackson, C.; Morrison, A.; O'Brien, P. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **2002**, *12*, 486-494.
- (27) Altendorf, E.; Zebert, D.; Holl, M.; Vannelli, A.; Wu, C. C.; Schulte, T., Dordrecht, The Netherlands 1998; Kluwer Academic Publishers; 73-76.
- (28) Durack, G.; Robinson, J. P. *Emerging tools for single-cell analysis*, 2000.
- (29) Barker, S. L. R.; Ross, D.; Tarlov, M. J.; Gaitan, M.; Locascio, L. E. *Analytical Chemistry* **2000**, *72*, 5925-5929.
- (30) Crabtree, H. J.; Kopp, M. U.; Manz, A. *Analytical Chemistry* **1999**, *71*, 2130-2138.
- (31) Mogensen, K. B.; Kwok, Y. C.; Eijkel, J. C. T.; Petersen, N. J.; Manz, A.; Kutter, J. P. *Analytical Chemistry* **2003**, *75*, 4931-4936.
- (32) Khandurina, J.; Jacobson, S. C.; Waters, L. C.; Foote, R. S.; Ramsey, J. M. *Analytical Chemistry* **1999**, *71*, 1815-1819.
- (33) Takamura, Y.; Onoda, H.; Inokuchi, H.; Adachi, S.; Oki, A.; Horiike, Y. *Kluwer Academic Publishers* **2001**, 230.
- (34) Brask, A.; Goranovic, G.; Bruus, H. *Sensors and Actuators B-Chemical* **2003**, *92*, 127-132.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

- a) 시료 용액을 도입하는 입구,
- b) 상기 입구로부터 도입된 시료 용액의 이동통로를 제공하는 마이크로 채널,
- c) 상기 마이크로 채널을 통과한 시료의 적어도 하나 이상의 출구,
- d) 상기 마이크로 채널에 서로 대향하게 연결된 한 쌍의 제1 및 제2 폴리 전해질 얇다리와, 상기 제1 및 제2 폴리 전해질 얇다리에 각각 연결된, 전극과 표준 전해 용액을 수용하는 제1 및 제2 레저버를 포함하는 적어도 하나의 전극 시스템을 포함하는 마이크로칩.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 제1 레저버와 수용된 전극과 상기 제2 레저버에 수용된 전극이 임피던스 분석기에 연결된 마이크로칩.

청구항 3.

제2항에 있어서, 상기 제1 레저버에 수용된 표준 전해 용액에 존재하는 음이온이, 상기 마이크로채널을 가로질러 제1 폴리 전해질 염다리로부터 제2 폴리전해질 염다리로 이동하며, 상기 음이온의 이동은 상기 마이크로 채널을 따라 유동하는 시료에 의해 간섭을 받고, 이것은 임피던스 변화를 야기하며, 상기 임피던스 분석기는 상기 임피던스의 변화를 검출하는 마이크로칩.

청구항 4.

제3항에 있어서, 상기 임피던스 변화의 피크 진폭이 마이크로채널을 통해 이동하는 시료의 종류에 의존하는 마이크로칩.

청구항 5.

제1항에 있어서, 마이크로칩 내에 상기 전극시스템이 일정한 거리를 두고 2개 존재하며, 두 전극 시스템 사이의 이격 거리와 첫 번째 전극시스템에서 발생한 임피던스의 변화와 두 번째 전극 시스템에서 발생한 임피던스의 변화의 시간차에 의해 시료의 이동 속도를 측정하는 마이크로칩.

청구항 6.

제1항에 있어서, 상기 전극이 금속/금속염 전극인 마이크로칩.

청구항 7.

제1항에 있어서, 상기 전극이 Ag/AgCl 전극인 마이크로칩.

청구항 8.

제1항에 있어서, 상기 폴리전해질 염다리가 광중합에 의해 형성된 마이크로칩.

청구항 9.

제1항에 있어서, 상기 폴리전해질 염다리가 폴리-디알릴디메틸 암모늄 클로라이드 염다리인 마이크로칩.

청구항 10.

제1항에 있어서,

- a) 2개 이상의 세포를 함유하는 시료 용액을 도입하는 입구,
- b) 상기 입구로부터 도입된 시료 용액의 이동통로를 제공하는 마이크로 채널,
- c) 상기 마이크로 채널을 통과한 시료의 두개 이상의 출구,
- d) 상기 마이크로 채널에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제1 및 제2 폴리전해질 염다리와, 상기 제1 및 제2 폴리전해질 염다리에 각각 연결된, 전극과 표준 전해 용액을 수용하는 제1 및 제2 레저버를 포함하는 첫 번째 전극 시스템,

e) 상기 마이크로 채널에 서로 대향하게 연결된 한쌍의 제3 및 제4 폴리 전해질 염다리와, 상기 제3 및 제4 폴리 전해질 염다리에 각각 연결된, 전극과 표준 전해 용액을 수용하는 제3 및 제4 레저버를 포함하는 두 번째 전극 시스템,

f) 시료 용액의 이동방향을 전환시키는 수단을 구비하는 마이크로칩.

청구항 11.

제10항에 있어서, 상기 출구가 2개 존재하며, 제1 출구는 상기 마이크로채널의 일직선상에 존재하며, 제2 출구는 마이크로채널의 일직선상으로부터 이탈된 곳에 위치하고, 시료 용액에 포함된 세포들 중에서 관심있는 세포의 경우, 상기 시료 용액의 이동방향을 전환시키는 수단에 의해 시료 용액의 이동방향이 변경되어 상기 세포가 제2 출구로 수집되고, 관심없는 세포의 경우 시료 용액의 이동방향을 전환시키는 수단이 미작동되어 상기 세포가 제1 출구로 이동하는 마이크로칩.

청구항 12.

마이크로칩을 사용하여 세포 계수를 수행하는 방법에 있어서, 상기 마이크로칩이 제1항에 따른 마이크로칩인 것을 특징으로 하는 세포 계수 방법.

청구항 13.

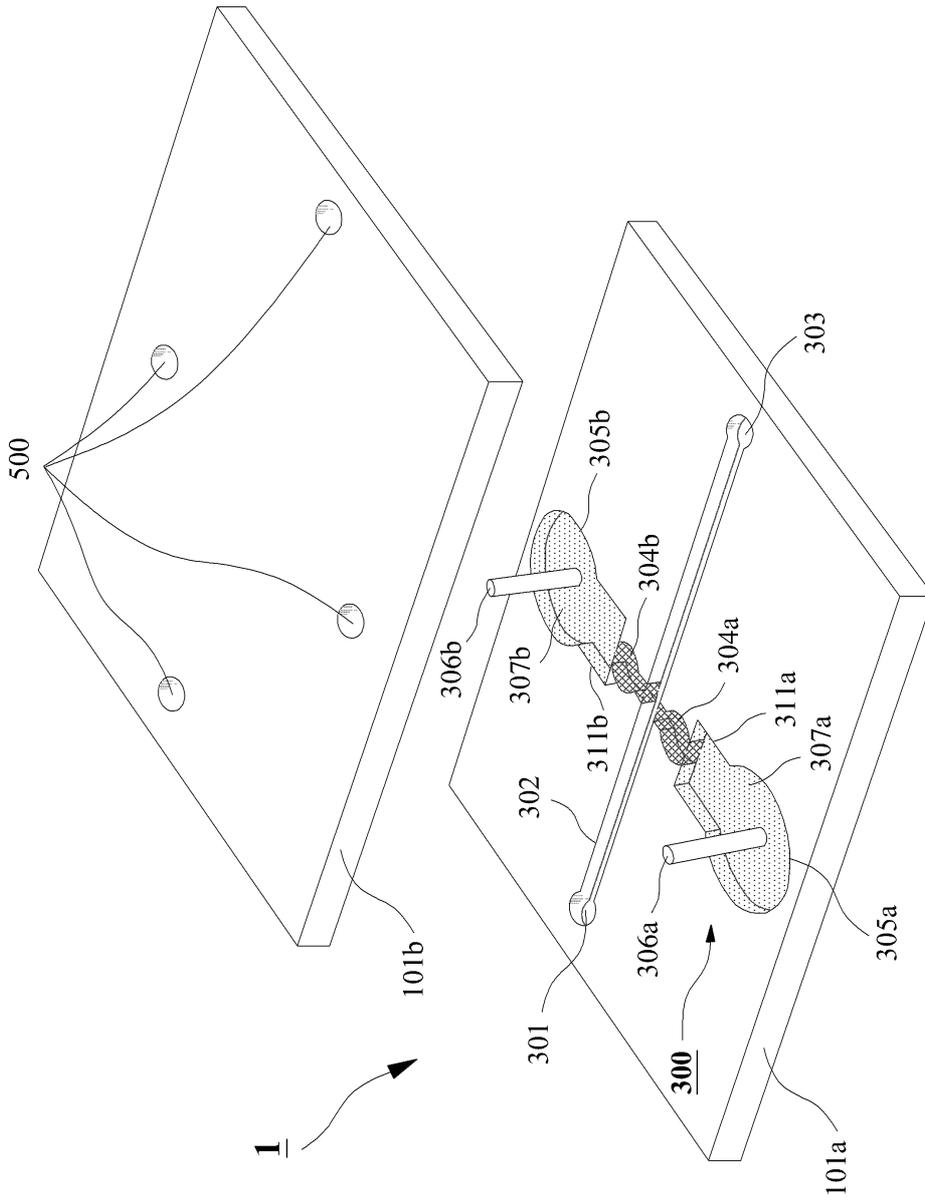
마이크로칩을 사용하여 세포의 빌로시메트리를 수행하는 방법에 있어서, 상기 마이크로칩이 제1항에 따른 마이크로칩인 것을 특징으로 하는 빌로시메트리 방법.

청구항 14.

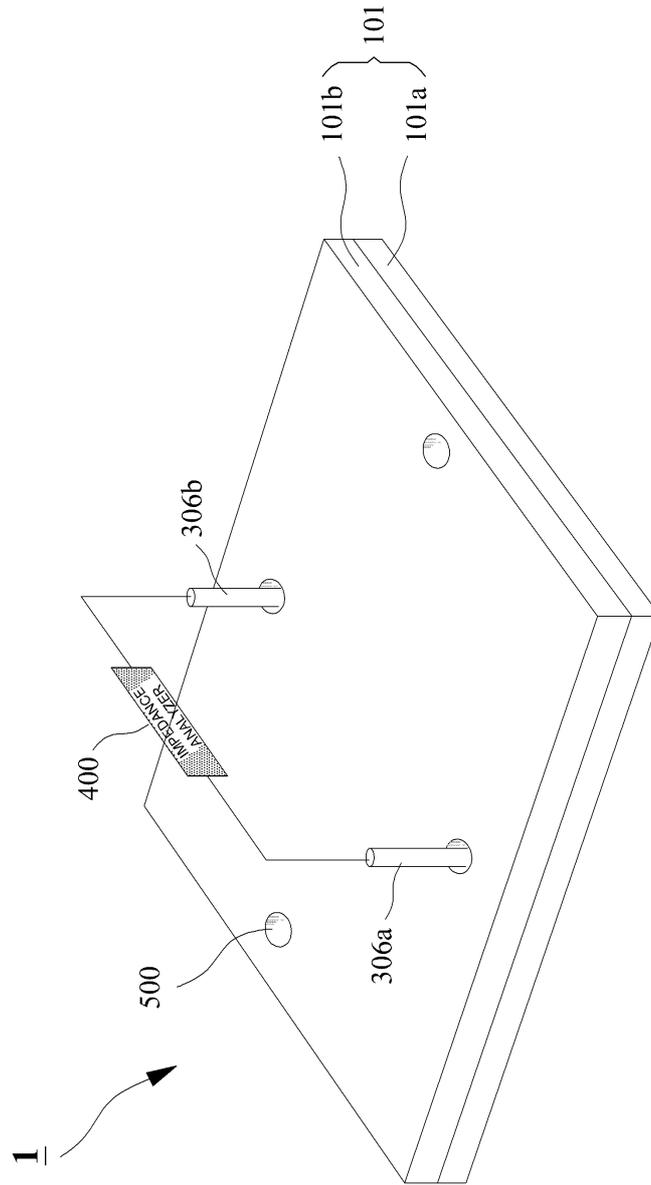
마이크로칩을 사용하여 세포의 분리 수집을 수행하는 방법에 있어서, 상기 마이크로칩이 제1항에 따른 마이크로칩인 것을 특징으로 하는 세포의 분리수집 방법.

도면

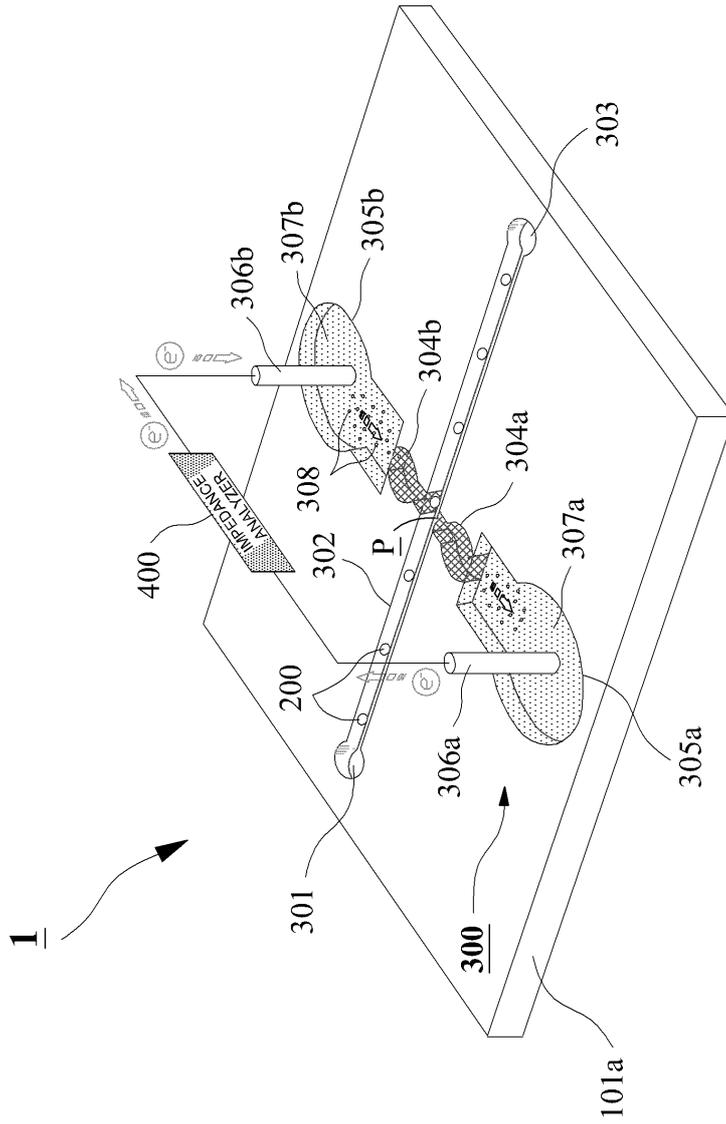
도면1



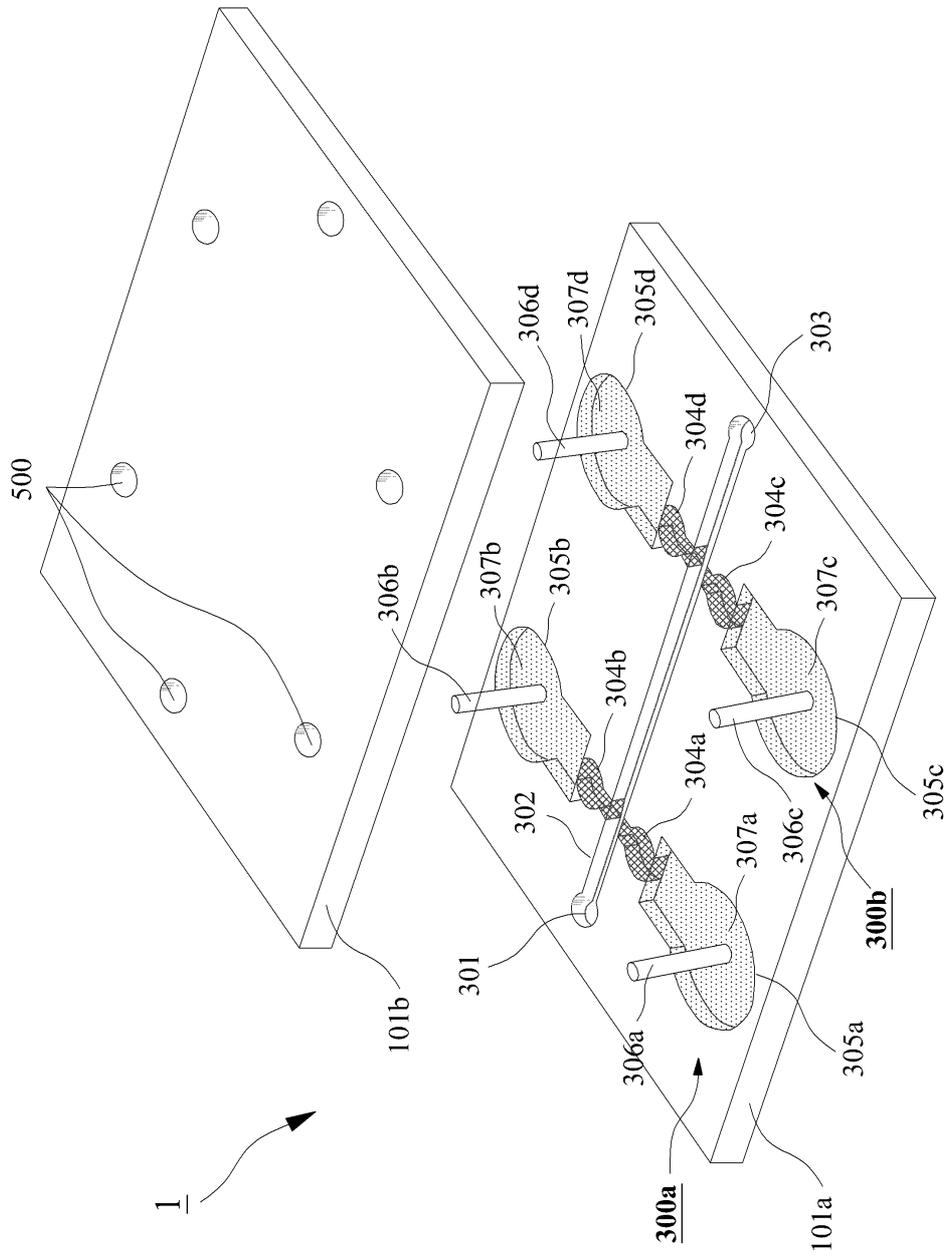
도면2



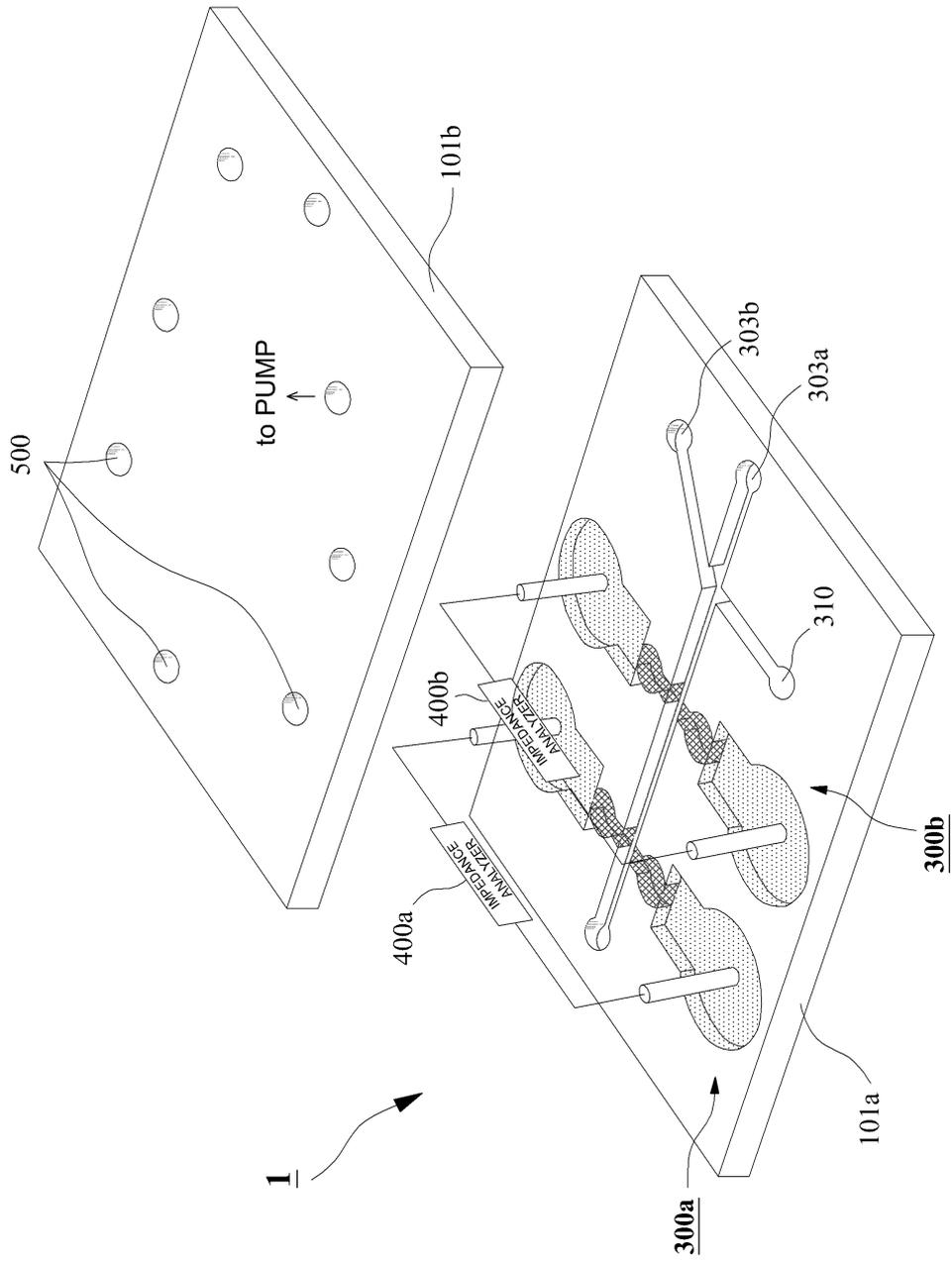
도면3



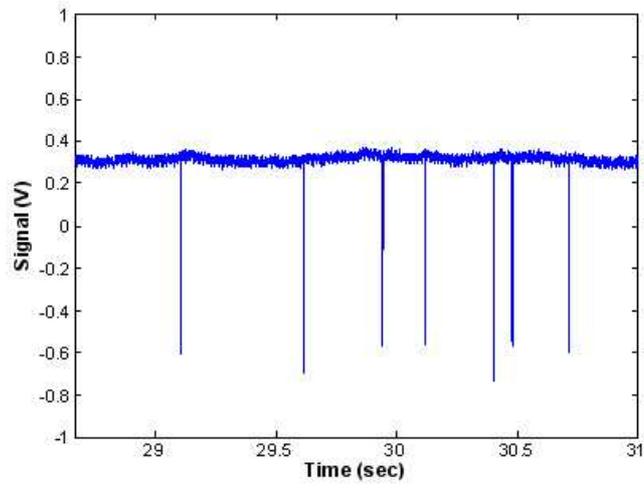
도면4



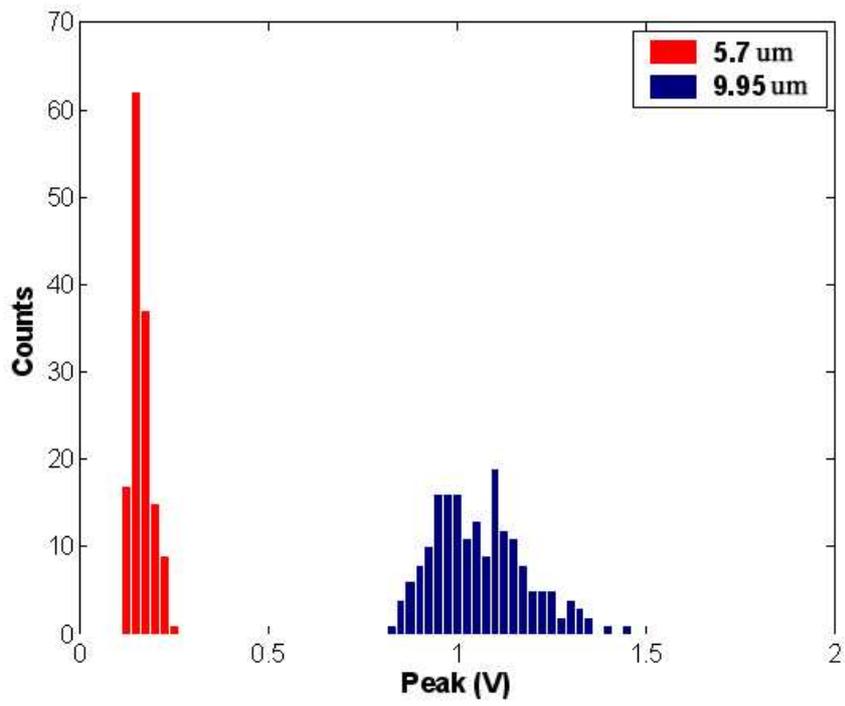
도면5



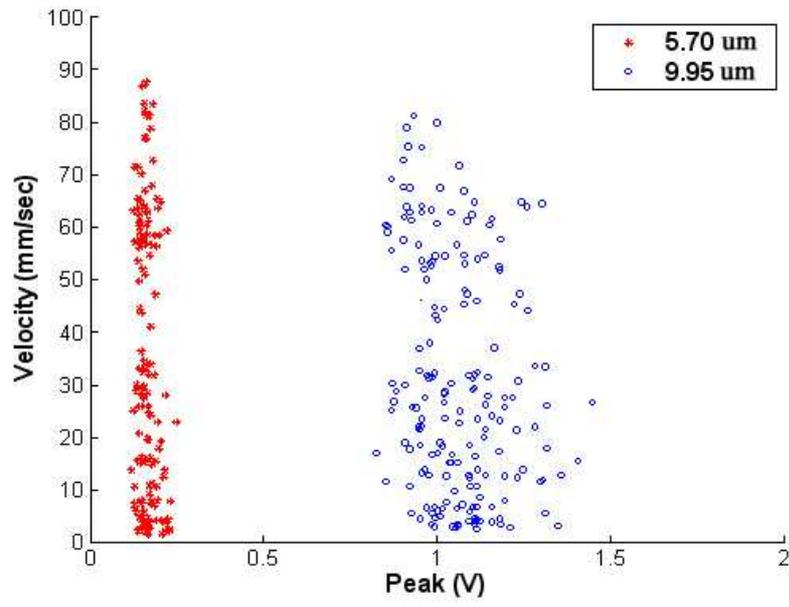
도면6



도면7



도면8



도면9

