



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. G01N 33/487 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2007년05월30일 10-0723425 2007년05월23일
--	-------------------------------------	--

(21) 출원번호 (22) 출원일자 심사청구일자	10-2006-0033581 2006년04월13일 2006년04월13일	(65) 공개번호 (43) 공개일자
----------------------------------	---	------------------------

(73) 특허권자 삼성전자주식회사
 경기도 수원시 영통구 매탄동 416

(72) 발명자 김귀현
 대전 동구 용전동 176-15 101호

 김병철
 경기 화성시 태안읍 병점리 우남퍼스트빌 102-1202

 김수현
 서울 서초구 반포본동 반포주공아파트 22-509

(74) 대리인 리엔목특허법인

(56) 선행기술조사문헌 EP1157737 A2 KR100624467 B1 KR1020050072540 A	JP20010074745 A KR100668343 B1
--	-----------------------------------

심사관 : 조명선

전체 청구항 수 : 총 22 항

(54) 기관상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치 및 방법

(57) 요약

본 발명은

도전성 소재로 이루어지며, 상하방향으로 길게 배치되어 있으며, 마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적이 수용되는 수용부와, 상기 수용부와 연결되며 상기 생체분자 액적이 그 수용부의 외부로 토출되도록 그 수용부의 하단부에 형성된 토출구를 가지는 바늘 형상의 전계형성전극;

상기 전계형성전극의 하방에 배치되어 있으며, 상기 전계형성전극의 토출구로부터 토출되는 생체분자 액적이 떨어져 부착되는 표적부를 가지며, 접지되어 있는 기관;

상기 마이크로 자기 비드를 자기력에 의해 상기 기관 방향으로 유도할 수 있도록 상기 기관의 하방에 배치되어 있는 자석; 및

상기 전계형성전극에 전하가 충전되도록 그 전계형성전극과 전기적으로 연결되어 있으며, 상기 전계형성전극에 충전된 전하와 그 전하에 의해 상기 기관에 유도된 전하 사이에 발생된 힘에 의해 상기 생체분자 액적이 상기 기관의 표적부로 떨어지도록 하는 개방형 전압인가장치를 포함하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 제공한다.

대표도

도 8

특허청구의 범위

청구항 1.

도전성 소재로 이루어지며, 상하방향으로 길게 배치되어 있으며, 마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적이 수용되는 수용부와, 상기 수용부와 연결되며 상기 생체분자 액적이 그 수용부의 외부로 토출되도록 그 수용부의 하단부에 형성된 토출구를 가지는 바늘 형상의 전계형성전극;

상기 전계형성전극의 하방에 배치되어 있으며, 상기 전계형성전극의 토출구로부터 토출되는 생체분자 액적이 떨어져 부착되는 표적부를 가지며, 접지되어 있는 기관;

상기 마이크로 자기 비드를 자기력에 의해 상기 기관 방향으로 유도할 수 있도록 상기 기관의 하방에 배치되어 있는 자석; 및

상기 전계형성전극에 전하가 충전되도록 그 전계형성전극과 전기적으로 연결되어 있으며, 상기 전계형성전극에 충전된 전하와 그 전하에 의해 상기 기관에 유도된 전하 사이에 발생된 힘에 의해 상기 생체분자 액적이 상기 기관의 표적부로 떨어지도록 하는 개방형 전압인가장치를 포함하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 상기 자석은 상기 기관의 하부 표면에 인접하여 존재하는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 3.

제 1항에 있어서, 상기 마이크로 자기 비드의 직경은 100 nm 내지 15 μm인 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 4.

제 1항에 있어서, 상기 마이크로 자기 비드는 상기 생체분자 액적에서 10⁴ 내지 10¹² 개/mL 범위의 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 5.

제 1항에 있어서, 상기 생체분자는 핵산, 단백질, 올리고펩티드, 당류, 진핵세포, 줄기세포, 바이러스 및 박테리아로 구성된 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 6.

제 1항에 있어서, 생체분자의 액적이 기관 상에 직경 60 μm 이하의 크기로 프린팅되는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 7.

제 1 항에 있어서, 상기 전계형성전극의 토출구의 상방에 배치되어 있으며, 상기 전계형성전극을 지지하는 프린터 몸체를 더 구비하는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 8.

제 1항에 있어서, 상기 전계형성전극과 개방형 전압인가장치는, 상기 전계형성전극의 상단부에 접속되어 있는 전극리드선에 의해 전기적으로 연결되어 있는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 9.

제 1항에 있어서, 상기 개방형 전압인가장치는 상기 토출구에 매달려 있는 상기 생체분자 액적의 하방으로 전기장이 형성되도록 교류전압 및 직류전압을 동시에 인가하는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 10.

제 9항에 있어서, 상기 전계형성전극에는 5V 내지 100,000V의 상기 직류전압 및 5V 내지 100,000V의 상기 교류전압이 동시에 인가되는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 11.

제 10항에 있어서, 상기 전계형성전극에는 500V 내지 10,000V의 상기 직류전압 및 500V 내지 10,000V의 상기 교류전압이 동시에 인가되는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 12.

제 10항에 있어서, 상기 전계형성전극에는 10Hz 내지 1,000Hz의 상기 교류전압이 인가되는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 13.

제 12항에 있어서, 상기 전계형성전극에는 2000V의 상기 직류전압 및 500V 및 130Hz의 상기 교류전압이 동시에 인가되는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 14.

제 1항에 있어서, 상기 기관은 실리콘, 유리, 및 폴리머로 구성된 그룹으로부터 선택되는 1종 이상으로 이루어지는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 15.

제 14항에 있어서, 상기 기관의 표면은 상기 생체분자액적이 잘 부착될 수 있도록 아민기, 카르복실기, 바이오틴, 스트렙타비딘(streptavidine), 폴리엘라이신(poly-L-lysine) 및 티올(thiol)로 구성된 그룹으로부터 선택되는 1종 이상이 코팅되어 있는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 16.

제 1항에 있어서, 상기 기관은 평판 형상의 평판부와, 상기 평판부로부터 상방으로 돌출된 다수의 돌출부를 가지며, 상기 각 돌출부가 상기 기관의 표적부인 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 17.

제 1항에 있어서, 상기 기관은 상기 전계형성전극과 직교하도록 배치되어 있는 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 18.

제 1항에 있어서, 상기 전계형성전극은 도전성 금속, 도전성 폴리머 및 ITO GLASS로 구성된 그룹으로부터 선택되는 1종 이상으로 이루어진 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 19.

제 1항에 있어서, 상기 전계형성전극의 토출구 부근은 소수성(hydrophobic) 처리된 것을 특징으로 하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치.

청구항 20.

제 1항에 있어서, 상기 전계형성전극은 동일 피치로 복수 마련되어 있으며,

상기 기관에는 복수의 표적부가 마련되어 있으며, 그 표적부들은 상기 전계형성전극들과 각각 대응되도록 그 전계형성전극들과 동일 피치로 배치되어 있는 것을 특징으로 하는 장치.

청구항 21.

도전성 소재로 이루어지며, 마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적이 수용되는 수용부와, 상기 수용부와 연결되며 상기 생체분자 액적이 그 수용부의 외부로 토출되도록 그 수용부의 하단부에 형성된 토출구를 가지는 바늘 형상의 전계형성전극을 상하방향으로 길게 배치하는 전계형성전극 배치단계;

상기 전계형성전극의 토출구로부터 토출되는 생체분자 액적이 떨어져 부착되는 표적부를 가지며, 접지되어 있는 기관을 상기 전계형성전극의 하방에 배치하는 기관 배치단계;

상기 마이크로 자기 비드를 자기력에 의해 상기 기관 방향으로 유도할 수 있도록 상기 기관의 하방에 자석을 배치하는 자석 배치단계;

상기 전계형성전극과 전기적으로 연결된 개방형 전압인가장치를 배치하는 개방형 전압인가장치 배치단계;

마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적을 상기 전계형성전극의 수용부에 공급하는 생체분자 액적 공급단계; 및

상기 개방형 전압인가장치로부터 상기 전계형성전극에 전압을 인가하여 상기 생체분자 액적을 상기 기관의 표적부로 떨어뜨리는 생체분자 액적 분리단계를 포함하는 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 방법.

청구항 22.

제 21 항에 있어서, 상기 생체분자가 세포일 경우

생체분자 액적 분리단계 후 기관상에서 세포를 부착배양하는 단계;

기관 하부 표면에 인접해 있는 자석을 제거하는 단계;

상기 부착배양된 세포를 세척하여 마이크로 자기 비드를 제거하는 단계; 및

상기 부착배양된 세포 상에 신선한 배지를 추가하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

명세서**발명의 상세한 설명****발명의 목적****발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술**

본 발명은 기관상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치 및 기관상에 생체분자 액적을 프린팅하는 방법에 관한 것으로서, 구체적으로는 전기전하집중(Electric charge concentration) 현상을 이용하여 기관 상의 원하는 위치에 작은 부피 및 직경을 갖는 생체분자 액적을 프린팅하는 장치 및 기관 상의 원하는 위치에 작은 부피 및 직경을 갖는 생체분자 액적을 프린팅하는 방법에 관한 것이다.

인간 지놈 프로젝트의 경이적인 진행과 함께, 유전병의 진단, 치료 및 예방에 있어서 막대한 양의 유전자 정보를 신속히 제공할 수 있는 방법에 대한 요구가 크게 증가하였다. 그때까지 염기서열 분석법으로 사용되어 온 생거(Sanger)의 방법은 DNA를 복제하는 중합효소연쇄반응(PCR; polymerase chain reaction)법의 개발 및 이의 자동화 등에 의해 꾸준히 발전하였음에도 불구하고, 과정이 번거롭고 많은 시간과 노력, 비용 및 고도의 숙련도를 필요로 하기 때문에, 방대한 양의 유전자를 분석할 수 없어, 새로운 염기서열 분석 시스템이 끊임없이 모색되었다. 이러한 시대적 필요에 의해 지난 수년간 바이오칩(Biochip)의 제작 및 이용기술과 관련된 많은 부분에서 진보가 있었다.

바이오칩이란 실리콘, 표면개질유리, 폴리프로필렌, 활성화 폴리아크릴아미드와 같은 고체 기판 표면에 핵산, 단백질, 세포 등의 생체분자들을 결합시켜 유전자 발현 양상, 유전자 결합, 단백질 본포, 각종 반응 양상 등을 분석해낼 수 있는 생물학적 마이크로칩(Biological Microchip)을 말한다.

이러한 바이오칩에 분석하고자 하는 표적 물질을 반응시키면, 바이오칩에 부착되어 있는 프로브들과 표적 물질과 결합 상태를 이루게 되는데, 이를 광학적인 방법 또는 방사능 화학적 방법 등을 통해 관찰 해석함으로써 표적 물질을 분석할 수 있다. 예를 들면, 프로브 DNA가 부착된 DNA칩(DNA 마이크로어레이)에 분석하고자 하는 표적 DNA(target DNA) 단편을 결합시키면, 프로브들과 표적 DNA 단편상의 염기서열의 상보적인 정도에 따라 각기 다른 혼성화 결합(hybridization) 상태를 이루게 되는데, 이를 여러 가지 검출방법을 통해 관찰 해석함으로써 표적 DNA의 염기서열을 분석할 수 있다 (sequencing by hybridization; SBH).

이러한 바이오칩 또는 DNA 마이크로어레이를 제작하는데 사용되는 프린팅 장치의 일례는 대한민국 특허출원 제2005-40162호에 개시되어 있다. 도 1에 도시되어 있는 바와 같이 상기 프린팅 장치(1)는, 도전성 소재로 이루어지며 상하방향으로 길게 배치되어 있으며 프로브(Probe) DNA, RNA, PNA(Peptide nucleic acid), LNA 등의 핵산(nucleic acid)류, 항원, 항체 등의 단백질(Protein)류, 올리고펩티드류, 인간세포, 동물세포, 식물세포 등의 세포류, 바이러스, 박테리아 등과 같은 생체분자 액적(10)이 수용되는 수용부(2)와, 상기 수용부(2)와 연결되며 상기 생체분자 액적이 그 수용부(2)의 외부로 토출되도록 그 수용부(2)의 하단부에 형성된 토출구(3)를 가지는 바늘 형상의 전계형성 제1전극(4)과, 상기 전계형성 제1전극(4)의 하방에 배치되어 있으며, 상기 전계형성 제1전극(4)의 토출구(3)로부터 토출되는 생체분자 액적이 떨어져 부착되는 표적부(5)를 가지는 기판(6)과, 상기 전계형성 제1전극(4)의 하방에 배치되어 있으며, 도전성 소재로 이루어지며, 상기 기판(6)에 부착되는 전계형성 제2전극(7)을 구비한다. 또한, 상기 전계형성 제1전극(4)과 상기 전계형성 제2전극(7)은 전극리드선(8)들에 의해 전압인가장치(9)에 연결되어 있어서, 그 전계형성 제1전극(4)과 전계형성 제2전극(7)으로 전압을 인가할 수 있도록 되어 있다.

상술한 바와 같이 구성된 프린팅 장치(1)에 있어서, 전압인가장치(9)를 구동하여 전계형성 제1전극(4) 및 전계형성 제2전극(7)에 직류전압 및 교류전압을 동시에 인가하면, 도 2에 도시된 바와 같이 그 전계형성 제1전극(4)과 전계형성 제2전극(7) 사이에 전기장이 발생되게 된다. 이와 같이 발생된 전기장 분포와, 자유계면을 갖는 상기 생체분자 액적(10) 및 대기의 전기 유전을 구배의 상호 작용으로 인하여 상기 생체분자 액적(10) 주위로부터 상기 생체분자 액적(10)쪽으로는 전기력이 발생하게 되며, 이에 따라 토출구(3)에 매달려 있던 생체분자 액적(10)이 기판(6)의 표적부(5)로 떨어지게 된다.

그런데, 상술한 바와 같은 프린팅 장치(1)에 있어서, 기판이 도전성 소재로 이루어지거나 기판에 도전성 소재로 이루어진 전계형성 제2전극이 부착되어야만, 전계형성 제1전극과 기판 사이에 전기장을 형성시킬 수 있고 이에 따라 전기수력학적 현상을 발생시켜 생체분자 액적을 프린트할 수 있게 된다. 따라서, 기판의 재질 및 표면이 도전성을 가지도록 구성해야 한다는 불편함이 있다.

또한, 도 2에 도시된 바와 같이 전계형성 제1전극과 전계형성 제2전극 사이의 전기장은 비균일하게 발생하게 되며, 이에 따라 생체분자 액적을 원하는 위치의 표적부에 떨어뜨리지 못하는 경우가 자주 발생하게 된다.

한편, 전계형성 제1전극과 전계형성 제2전극 사이의 간격이 일정 수준보다 가깝게 되면, 전기 방전(electric discharge)이 발생하게 되는데, 이러한 전기 방전은 표적부에 떨어지는 생체분자 액적의 생화학적 성질의 변형이나 액적의 크기 및 부피를 비균일하게 만들뿐만 아니라, 기판의 표면구조나 성질을 변화시킬 수 있게 되므로, 전기 방전이 발생하지 않도록 전계형성 제1전극과 전계형성 제2전극 간의 간격이 조절되어야만 한다. 실제로, 기판이 PMMA로 코팅된 경우(코팅 두께 5 μ m)에 있어서, 전계형성 제1전극과 전계형성 제2전극 사이의 간격이 750 μ m 이상이 되어야만 전기 방전이 발생하지 않게 된다. 따라서, 상기 전기 방전이 방지되는 프린팅 장치를 구성함에 있어서는, 그 전계형성 제1전극과 전계형성 제2전극 간의 간격을 일정 수준 이상으로 조절해야 한다는 측면에서 설계상의 제약이 뒤따르게 된다. 또한, 이와 같이 전계형성 제1전극과 전계형성 제2전극 간의 간격이 너무 멀게 하면 생체분자 액적을 원하는 위치의 표적부에 떨어뜨리기 어려운 문제가 발생한다.

상기 생체분자 액적을 프린팅하는 장치가 생체분자 액적을 원하는 위치의 표적부에 떨어뜨리기 어려운 문제를 해결하기 위하여, 제 2 전극으로서 고리 모양의 전극을 도입하여 고리 내에서만 전기장이 형성되도록 하는 도 3과 같은 장치가 개발되었다(Electric field driven jetting: an emerging approach for processing living cells, *Biotechnol. J.* 2006, 1, 86-94; Electric field driven jetting: Electrohydrodynamic Jet Processing: An Advanced Electric-Field-Driven Jetting Phenomenon for Processing Living Cells Small. 2006, 2, No. 2, 216-219; Electrohydrodynamic jetting of mouse neuronal cells, *Biochemical journal*, 2006 Jan 4). 이러한 장치는 1 전극에 해당하는 전기 스프레이 바늘로부터 제 2 전

극인 고리 전극 내에만 생성된 전기장에 의해 제 1 전극에 해당하는 전기스프레이 바늘로부터 생체분자 액적이 분무되어 나오면 고리 전극 내부로만 분무된 생체분자가 떨어져 표적부에 도달하게 된다. 그러나, 이러한 장치는 비록 고리 전극 내부로만 생체분자 액적이 떨어진다고 하더라도 전기 방전의 발생을 막기 위해 전기 스프레이 바늘로부터 고리 전극 간의 거리가 일정 수준이상 떨어져야 하기 때문에, 기관 상의 원하는 위치의 표적부에 생체분자 액적을 프린팅할 수 없는 문제가 있다.

상기한 바와 같은 전기 수력학적 현상을 이용한 생체분자를 프린팅하는 장치의 문제점의 해소하기 위해 대한민국 특허출원 2005-74496에서는 도 4에 나타난 바와 같은 전기전하집중 현상을 이용하여 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 개발하였다. 이러한 장치는 우선 생체분자 액적(10a)을 공급한 후에, 개방형 전압인가장치(60a)로 전계형성전극(20a)에 직류 전압과 교류전압을 동시에 인가하게 되면, 토출구(23a)에 매달려 있는 생체분자 액적(10)에는 양전하가 충전되게 되고, 이에 따라 접지되어 있는 기관(30a)에는 음전하가 유도되게 된다. 그리고, 상기 양전하와 음전하 사이에는 도 5에 도시된 바와 같이 전기장이 형성되게 된다. 이와 같이, 생체분자 액적(10a)에 양전하가 충전되고 이에 따라 그 생체분자 액적이 마주하고 있는 기관(30a)의 부분에 음전하가 유도되게 되면, 상기 양전하와 음전하 사이에 힘이 발생하게 된다. 여기서 음전하가 생체분자 액적의 하방에 유도되게 되므로, 상기 힘은 생체분자 액적의 하방으로 집중적으로 작용하게 된다. 그리고, 상기 힘에 의해 토출구(23a)에 매달려 있던 생체분자 액적은 도 6의 가운데 사진, 즉 도 7에 도시된 바와 같이 기관(30a)으로 흘러 내려 대략적으로 항아리형으로 변형되게 되고, 그 항아리형으로 변형된 생체분자 액적에는 목 형상(Neck Shape)이 형성되게 된다. 이와 같이 토출구에 매달려 있던 생체분자 액적이 기관(30a)으로 흘러 내려 도 7에 도시된 바와 같이 형성되게 되면, 그 생체분자 액적에 충전되어 있던 양전하가 기관의 음전하와 함께 소멸되게 되며, 이에 따라 힘이 줄어들게 된다. 즉, 토출구(23a)에 매달려 있던 생체분자 액적을 하방으로 끌어당기던 힘이 줄어들게 된다. 그리고, 상기 목 형상을 이루는 생체분자 액적과 기관(30a) 사이의 표면장력(A)와, 상기 목 형상을 이루는 생체분자 액적과 전계형성전극(20a) 사이에 형성된 표면장력(B)은 도 7에 도시된 바와 같이 서로 반대방향으로 작용하게 된다. 이와 같이, 생체분자 액적에 충전되었던 전하가 소멸되게 되어 힘이 줄어들게 될 뿐만 아니라 생체분자 액적의 표면장력들(A,B)이 서로 반대방향으로 작용하게 되므로, 생체분자 액적은 그 목 형상 부분에서 분리되어 두 개의 생체분자 액적으로 분리되게 된다. 따라서, 기관(30a)에는 도 6의 마지막 사진에 도시된 바와 같이 생체분자 액적이 떨어져 부착되게 된다. 이러한 장치에서는 기관이 접지되도록 구성되어 있으므로, 그 기관을 구성함에 있어서 기관의 재질에 제한을 받지 않아도 된다. 또한, 생체분자 액적에 충전된 양전하에 의해 그 생체분자 액적과 마주하는 기관의 부분에 음전하가 유도되게 될 뿐만 아니라 전기수력학적 현상을 이용하는 경우에 비해 생체분자 액적에 더 많은 양전하가 충전되게 되므로, 생체분자 액적을 원하는 위치의 표적부에 떨어뜨려 부착할 수 있다. 또한, 힘이 매우 크게 작용하기 때문에 생체분자 액적을 종래에 비해 더 작은 크기 및 부피로 프린팅할 수 있었다. 또한, 기관이 접지되도록 구성되어 있으므로, 종래에 전기수력학적 현상을 이용하는 경우와는 달리 전기 방전(electric discharge)이 발생하지 않게 되며, 이에 따라 전계형성전극과 기관 간의 간격을 자유롭게 조절할 수 있게 되었다. 즉, 대한민국 특허출원 2005-74496에 기재된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치에서는 전기전하집중 현상을 이용하여 생체분자 액적을 원하는 위치에 작은 크기 및 부피로 프린팅하는 것이 가능해졌다.

그러나, 고밀도의 바이오칩을 제조하기 위해서는 보다 작은 부피로 생체분자액적을 프린팅하는 방법이 필요하다. 특히 줄기세포를 포함한 세포의 상호작용을 연구하기 위해서 프린팅되는 액적당 6 개 이하의 세포를 포함할 정도로 작은 부피의 생체분자 액적을 프린팅할 수 있어야 한다. 세포의 농도에 따라 다르겠지만, 예를 들어 3×10^6 세포/mL 농도의 3% 글리세롤 배지 용액을 프린팅할 경우 60 μm 이하의 직경 크기를 갖는 액적을 프린팅하여야 한다.

따라서, 본 발명자들은 상기 대한민국 특허출원 2005-74496에 기재된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 이용하여 보다 작은 부피 및 직경을 갖는 생체분자 액적을 프린팅하는 방법을 연구한 결과 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

따라서, 본 발명의 목적은 기관 상의 원하는 위치에 작은 부피 및 직경의 생체분자 액적을 프린팅할 수 있는 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 기관 상의 원하는 위치에 작은 크기 및 부피의 생체분자 액적을 프린팅하는 방법을 제공하는 것이다.

발명의 구성

상기 목적을 달성하기 위해, 본 발명에 따른 전기전하집중(Electric charge concentration) 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치는,

도전성 소재로 이루어지며, 상하방향으로 길게 배치되어 있으며, 마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적이 수용되는 수용부와, 상기 수용부와 연결되며 상기 생체분자 액적이 그 수용부의 외부로 토출되도록 그 수용부의 하단부에 형성된 토출구를 가지는 바늘 형상의 전계형성전극;

상기 전계형성전극의 하방에 배치되어 있으며, 상기 전계형성전극의 토출구로부터 토출되는 생체분자 액적이 떨어져 부착되는 표적부를 가지며, 접지되어 있는 기관;

상기 마이크로 자기 비드를 자기력에 의해 상기 기관 방향으로 유도할 수 있도록 상기 기관의 하방에 배치되어 있는 자석; 및

상기 전계형성전극에 전하가 충전되도록 그 전계형성전극과 전기적으로 연결되어 있으며, 상기 전계형성전극에 충전된 전하와 그 전하에 의해 상기 기관에 유도된 전하 사이에 발생된 힘에 의해 상기 생체분자 액적이 상기 기관의 표적부로 떨어지도록 하는 개방형 전압인가장치를 포함한다.

상기 기관의 하방에 배치되어 있는 자석은 생체분자 액적이 수용되는 수용부에 존재하는 상기 마이크로 자기 비드를 자기력에 의해 상기 기관 방향으로 유도할 수 있도록 상기 기관의 하방에 배치될 수 있으며, 바람직하게는 기관의 하부 표면에 인접하여 배치될 수 있다.

상기 마이크로 자기 비드는 100 nm 내지 15 μm 의 직경을 갖는 것이 바람직하며, 상기 수용부에 수용되는 생체분자 액적에서 10^4 내지 10^{12} 개/mL 범위의 농도로 존재하는 것이 바람직하다.

상기 생체분자는 핵산, 단백질, 올리고핵티드, 당류, 진핵세포, 줄기세포, 바이러스 및 박테리아로 구성된 그룹으로부터 선택될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

상기 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 이용하면 생체 분자의 액적이 기관 상에 60 μm 이하의 크기로 프린팅될 수 있다

또한, 상기 생체분자 액적을 프린팅하는 장치는 전계형성전극의 토출구의 상방에 배치되어 있으며, 상기 전계형성전극을 지지하는 프린터몸체를 더 구비하는 것이 바람직하다.

또한, 상기 전계형성전극과 개방형 전압인가장치는, 상기 전계형성전극의 상단부에 접속되어 있는 전극리드선에 의해 전기적으로 연결되어 있는 것이 바람직하다.

상기 개방형 전압인가장치는 상기 토출구에 매달려 있는 상기 생체분자 액적의 하방으로 전기장이 형성되도록 교류전압 또는 직류전압을 가할 수 있으나, 교류전압 또는 직류전압을 동시에 인가하는 것이 바람직하다. 상기 전계형성전극에는 5V 내지 100,000V의 상기 직류전압 및 5V 내지 100,000V의 상기 교류전압이 동시에 인가되는 것이 바람직하다. 더욱 바람직하게는, 상기 전계형성전극에는 500V 내지 10,000V의 상기 직류전압 및 500V 내지 10,000V의 상기 교류전압이 동시에 인가될 수 있다.

또한, 상기 전계형성전극에는 10Hz 내지 1,000Hz의 상기 교류전압이 인가되는 것이 바람직하다. 더욱 바람직하게는 전계형성전극에는 2000V의 상기 직류전압 및 500V 및 130Hz의 상기 교류전압이 동시에 인가될 수 있다.

상기 기관은 실리콘, 유리 및 폴리머로 구성된 그룹으로부터 선택되는 1종 이상으로 이루어지는 것이 바람직하다. 또한, 상기 기관의 표면은 상기 생체분자액적이 잘 부착될 수 있도록 아민기, 카르복실기, 바이오틴, 스트렙타이비딘(streptavidine), 폴리엘라이신(poly-L-lysine)비오틴, 티올(thiol)로 구성된 그룹으로부터 선택되는 1종 이상이 코팅되어 있는 것이 바람직하다.

또한, 상기 기관은 평판 형상의 평판부와, 상기 평판부로부터 상방으로 돌출된 다수의 돌출부를 가지며, 상기 각 돌출부가 상기 기관의 표적부를 형성할 수 있다.

또한, 상기 기관은 상기 전계형성전극과 대략 직교하도록 배치되어 있는 것이 바람직하다.

또한, 상기 전계형성전극은 도전성 금속과, 도전성 폴리머 및 ITO GLASS로 구성된 그룹으로부터 선택되는 1종 이상으로 이루어질 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 전계형성전극의 토출구 부근은 소수성(hydrophobic) 처리된 것이 바람직하다.

또한, 본 발명에 따르면, 상기 전계형성전극은 동일 피치로 복수 마련되어 있으며, 상기 기관에는 복수의 표적부가 마련되어 있으며, 그 표적부들은 상기 전계형성전극들과 각각 대응되도록 그 전계형성전극들과 동일 피치로 배치될 수 있다.

또한, 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위해 본 발명은,

도전성 소재로 이루어지며, 마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적이 수용되는 수용부와, 상기 수용부와 연결되며 상기 생체분자 액적이 그 수용부의 외부로 토출되도록 그 수용부의 하단부에 형성된 토출구를 가지는 바늘 형상의 전계형성전극을 상하방향으로 길게 배치하는 전계형성전극 배치단계;

상기 전계형성전극의 토출구로부터 토출되는 생체분자 액적이 떨어져 부착되는 표적부를 가지며, 접지되어 있는 기관을 상기 전계형성전극의 하방에 배치하는 기관 배치단계;

상기 마이크로 자기 비드를 자기력에 의해 상기 기관 방향으로 유도할 수 있도록 상기 기관의 하방에 자석을 배치하는 자석 배치단계;

상기 전계형성전극과 전기적으로 연결된 개방형 전압인가장치를 배치하는 개방형 전압인가장치 배치단계;

마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적을 상기 전계형성전극의 수용부에 공급하는 생체분자 액적 공급단계; 및

상기 개방형 전압인가장치로부터 상기 전계형성전극에 전압을 인가하여 상기 생체분자 액적을 상기 기관의 표적부로 떨어뜨리는 생체분자 액적 분리단계를 포함한다.

상기 생체분자가 세포일 경우 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 방법은

생체분자 액적 분리단계 후 기관상에서 세포를 부착배양하는 단계;

기관 하부 표면에 인접해 있는 자석을 제거하는 단계;

상기 부착배양된 세포를 세척하여 마이크로 자기 비드를 제거하는 단계; 및

상기 부착배양된 세포 상에 신선한 배지를 추가하는 단계를 더 포함할 수 있다.

이하, 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 첨부된 도면들을 참조하여 상세히 설명한다.

도 8은 본 발명에 일 실시예에 따른 생체분자 액적 또는 잉크를 프린팅하는 장치를 개략적으로 나타낸 단면도이고, 도 9는 도 8에 도시된 기관의 평면도이며, 도 10a는 도 8에 도시된 프린팅 장치에 전압이 인가된 경우에 전계형성전극에 충전되는 양전하 및 그 양전하에 의해 기관에 유도되는 음전하의 분포와, 토출구에 매달린 생체분자 액적에 작용하는 힘의 관계를 개략적으로 나타낸 도면이며, 도 10b는 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치의 전계형성전극의 토출구 부분에서의 생체분자 액적이, 자석에 의한 자기력에 의해 마이크로 자기 비드가 기관 방향으로의 유도되는 것으로 인해 생체분자 액적이 액적의 말단으로 집중되는 현상을 개략적으로 나타낸 도면이다. 도 11은 도 8에 도시된 프린팅 장치를 사용하여 생체분자 액적을 프린팅하는 과정을 설명하기 위한 도면이다. 도 12는 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 사용하여 생체분자 액적을 기관 상에 떨어뜨리는 과정에서, 목 형상(Neck Shape)의 생체분자 액적에 작용하는 표면장력들의 관계를 설명하기 위한 도면이다.

도 8 내지 도 12를 참조하면, 본 실시예의 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적(10)을 프린팅하는 장치(100)는 전계형성전극(20), 기관(30), 자석(40), 프린터몸체(50), 및 개방형 전압인가장치(60)를 구비한다.

상기 전계형성전극(20)은 금, 백금, 구리 등과 같은 도전성 금속과, 전도성 폴리머와, ITO(Indium-Tin Oxide) GLASS, 카본나노튜브(carbon nano tube) 중 어느 하나로 이루어져 있거나, 상기 도전성 금속과, 전도성 폴리머와, ITO(Indium-Tin

Oxide) GLASS, 카본나노튜브 중 적어도 두 가지로 이루어져 있는데, 본 실시예에 있어서는 금으로 이루어져 있다. 상기 전계형성전극(20)은 일방향으로 길게 형성되어 있어 전체적으로 바늘 형상으로 되어 있으며, 상하방향으로 길게 배치되어 있다. 상기 전계형성전극(20)의 상단부에는 전극리드선(21)이 접속되어 있으며, 이 전극리드선(21)에 의해 상기 전계형성전극(20)과 후술하는 개방형 전압인가장치(50)는 서로 전기적으로 연결되어 있다.

상기 전계형성전극(20)은 수용부(22)와 토출구(23)를 구비한다.

상기 수용부(22)는 프로브(Probe) DNA, RNA, PNA(Peptide nucleic acid), LNA 등의 핵산(nucleic acid)류, 항원, 항체 등의 단백질(Protein)류, 올리고핵티드류, 당류, 인간세포, 동물세포, 식물세포, 줄기세포 등의 세포류, 바이러스, 박테리아 등과 같은 생체분자(biomolecule) 및 마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적(10)이 수용되는 부분이다. 상기 마이크로 자기 비드는 이용되는 생체분자의 프린팅을 원활하게 하기 위해 생체분자의 크기보다 작은 것이 바람직하고, 예를 들어 직경 100 nm 내지 15 μm 범위가 바람직하며, 더욱 바람직하게는 직경 1 내지 3 μm 의 마이크로 자기 비드가 사용될 수 있다. 생체분자 액적 중에 함유되는 마이크로 자기 비드의 농도는 바람직하게는 1×10^4 내지 1×10^{12} 개/mL의 범위일 수 있으며, 더욱 바람직하게는 10^8 내지 10^9 개/mL이다. 이러한 마이크로 자기 비드는 기관(30)의 하방에 배치된 자석에 의해 기관 방향으로 자기력에 의해 유도될 수 있는 마이크로 자기 비드이기만 하면 임의의 마이크로 자기 비드가 이용될 수 있으며, 예를 들어 현재 시판되고 있는 Dynabeads(Dynal) 등이 이용될 수 있다.

상기 토출구(23)는 상기 수용부(22)의 하단부에 형성되어 있으며 그 수용부(22)와 연결되어 있다. 상기 토출구(23)의 내경은 매우 작게 형성되어 있으므로, 외부에서 힘이 가해지지 않으면 생체분자 액적(10)이 표면장력에 의해 중력을 이기고 그 토출구(23)에 매달려 있게 된다. 상기 토출구(23)를 통해 상기 수용부(22)에 수용되어 있는 생체분자 및 마이크로 자기 비드를 포함하는 생체분자 액적(10)은 후술하는 전기전하집중 현상에 의해 그 수용부(22)의 외부로 토출 가능하다. 상기 토출구(23) 부근은 소수성(hydrophobic) 처리되어 있으므로, 상기 생체분자 액적(10)의 접촉각이 높아져 그 생체분자 액적(10)은 토출구(23) 옆으로 흐르지 않게 된다.

상기 기관(30)은 세포배양용 기관이거나, 바이오칩 또는 DNA마이크로어레이를 구성하는 것으로서, 실리콘, 유리, 폴리머 중 어느 하나로 이루어지거나 실리콘, 유리, 폴리머 중 적어도 두 가지로 이루어질 수 있는데, 본 실시예에 있어서는 유리로 이루어져 있다. 상기 기관(30)은 상기 전계형성전극(20)의 하방에 배치되어 있으며, 특히 상기 전계형성전극(20)과 대략 직교하도록 배치되어 있다. 상기 기관(30)에는 표적부(31)가 형성되어 있다. 상기 표적부(31)에는 생체분자가 기관에 잘 부착되도록 하기 위해 상기 전계형성전극(20)의 토출구(23)로부터 토출되는 생체분자 액적(10)이 떨어져 부착된다. 상기 기관(30)은 접지되어 있다. 그리고, 상기 기관(30)의 표면, 특히 상기 기관의 표적부(31)는 아민기, 카르복실기, 스트렙타비딘(streptavidine), 비오틴(biotin), 티올(thiol), 폴리엘라이신(Poly-L-Lysine) 중 어느 하나로 코팅되어 있거나, 아민기, 카르복실기, 스트렙타비딘(streptavidine), 비오틴(biotin), 티올(thiol), 폴리엘라이신(Poly-L-Lysine) 중 적어도 두 가지로 코팅될 수 있다.

자석(40)은 상기 생체분자 액적에 함유되어 있는 마이크로 자기 비드를 자기력에 의해 상기 기관 방향으로 유도할 수 있도록 상기 기관(30)의 하방에 위치할 수 있으나, 바람직하게는 도 8에 나타난 바와 같이 기관(30)의 하부 표면에 인접하여 위치한다. 자석(40)은 전계형성전극(20)의 수용부(22)에 수용된 생체분자 액적에 함유되어 있는 마이크로 자기 비드에 자기력을 발휘하여 마이크로 자기 비드가 기관의 상부 표면방향으로 자기력에 의해 유도되어 토출구(23)에 매달려 있는 생체분자 액적이 최저점으로 집중되는 것을 가능하게 한다. 이러한 생체분자 액적이 집중되는 현상으로 인해 본 발명의 생체분자 액적을 프린팅하는 장치가 생체분자 액적을 보다 작은 크기 및 부피로 프린팅할 수 있게 되는 것이다. 상기 자석은 전계형성전극(20)의 수용부(22)에 수용된 생체분자 액적에 함유되어 있는 마이크로 자기 비드에 자기력을 발휘하여 마이크로 자기 비드를 기관의 상부 표면방향으로 자기력에 의해 유도할 수 있기만 하면 임의의 자석이 이용될 수 있으며, 예를 들어 웨로스 마그네트사가 생산하는 자석을 구입하여 사용할 수 있다.

상기 프린터몸체(50)는 상기 전계형성전극(20)의 토출구(23)의 상방에 배치되어 있다. 상기 프린터몸체(50)는 상기 전계형성전극(20)을 지지하며, PMMA(polymethylmethacrylate)으로 이루어져 있다. 상기 프린터몸체(50)는 별도의 구동장치(미도시)에 의해 x, y 및 z축으로 3차원 이동이 가능하다. 따라서, 상기 별도의 구동장치를 구동시켜 상기 프린터몸체(50)에 지지되어 있는 상기 전계형성전극(20)을 상기 표적부(31) 상방으로 이동시켜 그 표적부(31)와 일정 거리로 이격되도록 배치시킬 수 있게 된다.

상기 개방형 전압인가장치(60)(open circuit)는 상기 전계형성전극(20)과 전기적으로 연결되어 있다. 상기 개방형 전압인가장치(50)는 상기 전극리드선(21)을 통해서 상기 전계형성전극(20)에 직류전압과 교류전압을 동시에 인가할 수 있다.

이러한 직류전압 및 교류전압의 인가에 의해서 상기 토출구(23)에 매달려 있는 상기 생체분자 액적(10)에 양전하가 충전되게 되며, 그 충전된 양전하에 의해 상기 기관(30)에는 음전하가 유도되게 된다. 따라서, 상기 양전하와 음전하 사이에는 도 10a에 도시된 바와 같은 전기장이 형성되게 된다. 그리고, 상기 전계형성전극(20)에 충전된 양전하와, 그 양전하에 의해 상기 기관(30)에 유도된 음전하 사이에 발생된 힘에 의해 상기 생체분자 액적(10)이 상기 기관(30)의 표적부(31)로 떨어지게 된다. 또한, 이러한 힘 이외에 기관(30)의 하부 표면에 인접한 자석(40)에 의해 생체분자 액적(10)에 함유된 마이크로 자기 비드가 기관 방향으로 자기력을 받아 전계형성전극(20)의 토출구에 매달려 있는 생체분자 액적(10)이 그 액적의 말단으로 집중되어 액적의 말단으로 갈수록 더욱 좁아지게 되어 액적을 더욱 작은 크기 및 부피로 프린팅 할 수 있다. 이에 대해서는 이하에서 상세하게 설명하도록 한다.

설명의 편의를 위해, 생체분자 액적(10)에 함유된 마이크로 자기 비드와 기관(30)의 하방에 위치하는 자석(40) 간의 자기력을 배제하고, 전계형성전극의 토출구(23)에 존재하는 생체분자 액적(10)에 존재하는 힘의 관계를 도 10a에 나타내었다. 도 10a를 참조하면, 전계형성전극(20)에 전압이 인가되는 경우에, 상기 토출구(31)에 매달려 있는 생체분자 액적(10)에는 그 생체분자 액적(10)에 작용하는 중력(F_g)과, 생체분자 액적(10)의 표면에 작용하는 표면장력(F_c)과, 생체분자 액적(10)에 충전된 양전하와 그 양전하에 의해 기관(30)에 충전된 음전하 간의 힘(F_e)이 작용하게 됨을 알 수 있다. 그리고, 상기 중력(F_g)과, 표면장력(F_c)과, 힘(F_e)은 도 10a에 도시된 것과 같은 방향으로 작용하기 때문에, 상기 생체분자 액적이 하방으로 떨어지기 직전에 있어서 상기 중력(F_g)과, 표면장력(F_c)과, 힘(F_e)은 다음의 식(1)과 같은 힘의 평형 관계를 유지하게 된다.

$$\text{중력}(F_g) + \text{힘}(F_e) = \text{표면장력}(F_c) \dots \text{식(1)}$$

여기서, 중력(F_g) = $\rho g \Delta V^{\text{drop}}$ (단, ρ 는 생체분자 액적의 밀도이고, g 는 중력가속도이며, ΔV^{drop} 는 토출구에 매달려 있는 생체분자 액적의 부피임)이고,

표면장력(F_c) = $2\pi R\gamma$ (단, R 은 토출구의 반경이고, γ 은 단위길이당 표면장력임)이며,

힘(F_e) = $\rho_f E - E^2 \nabla \epsilon / 2$ (단, ρ_f 는 생체분자 액적의 자유전하(free charge)이고, E 는 전기장의 세기이며, $\nabla \epsilon$ 은 유전율임)이다. 여기서, 전기력은 전기영동력($\rho_f E$)과 유전영동력($-E^2 \nabla \epsilon / 2$)의 합으로 나타내진다.

상기 식(1)에서 중력(F_g)은 토출구에 매달려 있는 생체분자 액적의 부피에 비례하며, 그 생체분자 액적의 부피는 매우 작으므로, 결국 식(1)에서 중력(F_g)은 무시할 수 있게 된다.

따라서, 토출구(23)에 매달려 있는 생체분자 액적(10)의 표면장력(F_c) 보다 큰 힘(F_e)을 발생시키게 되면, 그 힘에 의해 상기 식(1)의 평형관계가 깨지게 되며, 이에 따라 상기 생체분자 액적(10)을 상기 기관의 표적부(31)로 떨어뜨릴 수 있게 된다. 그리고, 토출구에 매달려 있는 생체분자 액적 표면 하단부에 집중된 전하(charge)에 의해서 상기 기관에는 상대전하(counter-charge)가 유도되게 되며, 그 유도된 상대전하는 주로 그 생체분자 액적 표면 하단부와 마주하는 부분에 유도되게 된다. 따라서, 생체분자 액적의 전하와 기관의 상대전하 사이에 힘이 발생하게 된다.

상기한 바와 같이 전기전하집중 현상에 의한 힘의 발생으로 인해 생체분자 액적이 기관상의 표면에 떨어지게 되며, 상기 힘 이외에 도 10b에 나타낸 바와 같이 상기 토출구에 매달려 있는 생체분자 액적(10)은 마이크로 자기 비드가 기관 하부 표면에 인접해 있는 자석(40)에 의해 기관(30) 방향으로 자기력을 받게 된다. 이러한 기관 방향으로의 자기력에 의해 마이크로 자기 비드는 생체분자와 함께 토출구에 매달려 있는 액적의 최저점(12)로 집중하게 된다. 그리하여 토출구에 매달려 있는 액적의 하부는 마이크로 자기 비드가 존재하지 않는 경우에 비해 더욱 좁아지게 된다. 액적의 하부가 좁아지게 되면 기관(30)의 표적부(31)에 프린팅되는 액적의 부피를 더욱 작게 할 수 있으며, 그로 인해 기관(30)에 더욱 높은 밀도로 생체분자 액적을 프린팅할 수 있게 된다.

한편, 상기 개방형 전압인가장치(60)에 의해서 5V 내지 100,000V의 직류전압과, 5V 내지 100,000V와 10Hz 내지 1,000Hz의 교류전압이 동시에 인가되는 것이 바람직하며, 특히 500V 내지 10,000V의 직류전압과, 500V 내지 10,000V와 10Hz 내지 1,000Hz의 교류전압이 동시에 인가되는 것이 더욱 바람직하다. 상기와 같은 전압범위 및 주파수 범위를 벗

어난 직류전압 및 교류전압을 인가하게 되면, 상기 생체분자 액적(10)에 적절한 크기의 힘을 작용시켜 그 생체분자 액적(10)을 상기 기관(30)에 효율적으로 떨어뜨릴 수 없게 되므로 바람직하지 않다. 그리고, 2000V의 상기 직류전압 및 500V 및 130Hz의 상기 교류전압이 인가되는 것이 가장 바람직하다.

이하, 본 구현예의 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치(100)를 사용하여 생체분자 액적(10)을 프린팅하는 과정의 일례를 도 11을 참조하면서 상세히 설명하기로 한다.

먼저, 구동장치를 구동하여 전계형성전극(20)이 지지되어 있는 프린터몸체(50)를 기관(30)의 표적부(31) 상방으로 이동시킨다. 그 후에, 프로브(Probe) DNA, RNA, PNA(Peptide nucleic acid), LNA 등의 핵산(nucleic acid)류: 항원, 항체 등의 단백질(Protein)류: 올리고펩티드류: 당류: 인간세포, 줄기세포, 동물세포, 식물세포 등의 진핵세포류; 바이러스; 박테리아 등과 같은 생체분자 액적(10)을 전계형성전극(20)의 수용부(22)에 공급한다. 이 때 전계형성전극(20)은 그 하단부에 토출구(23)가 형성되어 있지만, 그 토출구(23)의 내경은 매우 작게 형성되어 있으므로, 외부에서 힘이 가해지지 않으면 생체분자 액적(10)이 표면장력에 의해 중력을 이기고 토출구(23)에 매달려 있게 된다.

이와 같이 생체분자 액적(10)을 공급한 후에, 개방형 전압인가장치(60)로 전계형성전극(20)에 5V 내지 100,000V의 직류전압과, 5V 내지 100,000V와 10Hz 내지 1,000Hz의 교류전압을 동시에 인가하게 되면, 토출구(23)에 매달려 있는 생체분자 액적(10)에는 양전하가 충전되게 되고, 이에 따라 집지되어 있는 기관(30)에는 음전하가 유도되게 된다. 그리고, 상기 양전하와 음전하 사이에는 도 10a에 도시된 바와 같이 전기장이 형성되게 된다.

이와 같이, 생체분자 액적(10)에 양전하가 충전되고 이에 따라 그 생체분자 액적이 마주하고 있는 기관(30)의 부분에 음전하가 유도되게 되면, 상기 양전하와 음전하 사이에 힘이 발생하게 된다. 여기서 음전하가 생체분자 액적의 하방에 유도되게 되므로, 상기 힘은 생체분자 액적의 하방으로 집중적으로 작용하게 된다. 또한, 생체분자 액적(10)에 함유되어 있는 마이크로 자기 비드(11)는 기관 하부 표면에 인접해있는 자석에 의해 자기력을 받아 생체분자의 액적과 함께 액적의 하방으로 집중하게 된다. 그리하여, 마이크로 자기 비드가 존재하지 않는 경우에 비해 액적의 하부가 좁아지게 된다.

이와 같이 하부가 액적의 하부가 좁아진 토출구(23)에 매달려 있던 생체분자 액적은 힘에 의해 도 11의 가운데 사진, 즉 도 12에 도시된 바와 같이 기관(30)으로 흘러 내려 대략적으로 항아리형으로 변형되게 되고, 그 항아리형으로 변형된 생체분자 액적에는 목 형상(Neck Shape)이 형성되게 된다. 이와 같이 토출구(23)에 매달려 있던 생체분자 액적이 기관(30)으로 흘러 내려 도 12에 도시된 바와 같이 형성되게 되면, 그 생체분자 액적에 충전되어 있던 양전하가 기관의 음전하와 함께 소멸되게 되며, 이에 따라 힘이 줄어들게 된다. 즉, 토출구(23)에 매달려 있던 생체분자 액적을 하방으로 끌어당기던 힘이 줄어들게 된다. 그리고, 상기 목 형상을 이루는 생체분자 액적과 기관(30) 사이의 표면장력(A)와, 상기 목 형상을 이루는 생체분자 액적과 전계형성전극(20) 사이에 형성된 표면장력(B)은 도 12에 도시된 바와 같이 서로 반대방향으로 작용하게 된다. 이와 같이, 생체분자 액적에 충전되었던 전하가 소멸되게 되어 힘이 줄어들게 될 뿐만 아니라 생체분자 액적의 표면장력들(A,B)이 서로 반대방향으로 작용하게 되므로, 생체분자 액적은 그 목 형상 부분에서 분리되어 두 개의 생체분자 액적으로 분리되게 된다. 따라서, 기관(30)에는 도 11의 마지막 사진에 도시된 바와 같이 생체분자 액적이 떨어져 부착되게 된다. 이러한 과정에서 마이크로 자기 비드의 존재로 인해 토출구(23)에 매달려 있던 액적의 하부가 좁아짐으로 인해, 상기 그 항아리형으로 변형된 생체분자 액적의 부피는 더 작아지게 되며 항아리형으로 변형된 생체분자 액적의 목은 더 좁아지게 된다. 그리하여 기관(30)에는 마이크로 자기 비드가 존재하지 않는 경우에 비해 더 작은 부피의 생체분자 액적이 프린팅 될 수 있는 것이다.

상기 방법에 의해 기관(30)의 상부 표면에 프린팅된 생체분자 액적에 포함되어 있는 마이크로 자기 비드는 이후에 임의의 가능한 방법에 의해 제거되거나 제거되지 않은 채 그대로 이용될 수 있다. 예를 들어, 생체분자로서 세포를 사용하여 생체분자 액적을 프린팅한 경우에는 생체분자 액적을 프린팅한 후 기관 상에서 세포를 부착배양한 다음, 기관 하부 표면에 인접해 있는 자석을 제거한 후 생체분자 액적에 함유되어 같이 기관상에 프린팅된 마이크로 자기 비드를 제거하기 위해 부착배양된 세포를 세척하고, 신선한 배지를 부가함으로써 자기 비드를 제거할 수 있다. 이러한 과정의 순서를 도 13에 간략하게 나타내었다.

상술한 바와 같은 본 실시예에 따른 생체분자 액적을 프린트하는 장치가 자석(40)과 마이크로 자기 비드가 존재하지 않는 경우에 비해 액적의 크기를 보다 작게 프린팅할 수 있다는 것을 입증하기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다.

전계형성 전극의 수용부(22)에 채우기 위한 생체분자 액적으로서 Dynabeads M-280 스트렙타비딘(2.8 μm) 6.7x10⁸ 개/mL을 포함하는 3% 글리세롤 수용액을 이용하였다. 대조군으로는 3% 글리세롤 수용액을 준비하였다. 그리고, 직경이 0.46mm인 전계형성전극(20)을 준비하였다. 그리고, 유리로 이루어진 기관(30)을 준비하고, 그 유리 기관(30)과 전계형성

전극(20) 사이의 거리가 250 μm 가 되도록 구성하였다. 이와 같이 준비된 상태에서, 전계형성전극(20)에 3kV, 4kHz, 26 게이지를 인가하여 기관에 떨어지는 생체분자 액적의 직경을 측정하였다. 그리고, 이러한 실험을 30회 반복하여 그 평균 및 변동계수(CV)를 계산하였다. 그 결과를 도 14에 나타내었다. 도 14에 나타난 바와 같이, 마이크로 자기 비드를 도입한 경우에는 프린팅된 액적의 평균 크기가 59.7 μm 이며 변동계수는 28.2인 것으로 나타났고, 대조군의 경우에는 112.2 μm 이며 변동계수는 23.8인 것으로 나타났다. 따라서, 마이크로 자기 비드 및 자석을 도입한 장치가 그렇지 않은 경우에 비해 액적을 더 작은 크기로 프린팅할 수 있는 것으로 밝혀졌다.

다음에는, 상술한 바와 같은 본 실시예에 따른 생체분자 액적을 프린트하는 장치가 생체분자로서 세포를 이용할 경우 세포를 6 개 이하의 적절한 수로 프린팅할 수 있는지를 입증하기 위해 상기 실험에 이용된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 이용하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

전계형성 전극의 수용부(22)에 채우기 위한 생체분자 액적으로서 HeLa 세포 (ATCC® Number: CCL-2) 3×10^6 세포/mL 및 Dynabeads M-280 스트렙타비딘(2.8 μm) 3.4×10^8 개/mL을 포함하는 3% 글리세롤 수용액을 이용하였다. 대조군으로는 상기 생체분자 액적에서 Dynabeads M-280 스트렙타비딘를 가지 않는 것을 제외하고는 동일하게 준비하였다. 그리고, 유리로 이루어진 기관(30)을 준비하고, 그 유리 기관(30)과 전계형성전극(20) 사이의 거리가 250 μm 가 되도록 구성하였다. 이와 같이 준비된 상태에서, 전계형성전극(20)에 3kV, 4 kHz, 260 게이지를 인가하여 기관에 생체분자 액적을 프린팅 하였다.

기관에 프린팅된 생체분자 액적을 현미경(Leica) 으로 관찰한 결과를 도 15에 나타내었다. 도 15에 나타난 바에 따르면, 자기 비드를 함유시키지 않은 대조군의 경우에는 프린팅된 HeLa 세포의 개수가 20 개를 초과하는 것으로 나타났으나, 마이크로 자기 비드를 도입한 경우에는 프린팅된 액적이 포함하는 세포의 개수는 4개 이하로 나타났다. 이러한 결과는 마이크로 자기 비드 및 자석을 도입한 본 발명의 생체분자 액적을 프린팅하는 장치는 6 개 이하의 세포를 함유하도록 액적을 프린팅하는 것을 가능하게 한다는 것을 알 수 있다.

다음으로, 본 발명에서의 마이크로 자기 비드 대신 자성을 띠지 않는 마이크로 비드를 이용할 경우와 본 발명과 같이 마이크로 자기 비드를 이용하는 경우의 차이를 비교하기 위해 상기 실험에 이용된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 이용하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

전계형성 전극의 수용부(22)에 채우기 위한 생체분자 액적으로서 Dynabeads M-280 스트렙타비딘(직경: 2.8 μm) 6.7×10^8 개/mL을 포함하는 3% 글리세롤 수용액, 3% 글리세롤 수용액, 실리콘 비드(직경 3.0 μm) 6.7×10^8 /mL을 포함하는 3% 글리세롤 수용액을 이용하였으며, 실리콘 비드를 포함하는 경우에는 자석(40)이 구비된 경우와 구비되지 않은 경우에 대해서 각각 시험하였다.

유리로 이루어진 기관(30)을 준비하고, 그 유리 기관(30)과 전계형성전극(20) 사이의 거리가 250 μm 가 되도록 구성하였다. 이와 같이 준비된 상태에서, 전계형성전극(20)에 3kV, 4kHz, 26 게이지를 인가하여 기관에 떨어지는 생체분자 액적의 직경을 측정하였다. 그리고, 이러한 실험을 40 회 반복하여 그 평균 및 변동계수를 계산하였다. 그 결과를 도 16에 나타내었다. 도 16에 나타난 바와 같이, 실리콘 비드의 경우 자석이 존재하는 경우 프린팅된 액적의 평균 크기가 141.5 μm 이며 변동계수는 38.4인 것으로 나타났고, 실리콘 비드의 경우 자석이 존재하지 않는 경우 프린팅된 액적의 평균 크기가 129.7 μm 이며 변동계수는 34.9인 것으로 나타났으며, 3% 글리세롤 수용액의 경우에는 액적의 평균 크기가 111.9 μm 이며 변동계수는 26.3으로 나타났고, Dynabeads M-280 스트렙타비딘(직경: 2.8 μm) 6.7×10^8 /mL을 포함하는 3% 글리세롤 수용액의 경우에는 액적의 평균 크기가 52.2 μm 이며 변동계수는 23.5인 것으로 나타났다. 이러한 결과는 자성을 띠지 않는 마이크로 비드의 경우는 본 발명과 같이 마이크로 자기 비드를 이용하는 경우와는 달리 작은 부피로 액적을 프린팅할 수 없다는 것을 알 수 있다.

한편, 상기 실시예에 있어서는 기관의 표면이 평평하게 형성되어 있으며 그 기관에는 하나의 표적부만이 형성되어 있으나, 기관(70)의 표면에 도 17에 도시된 바와 같이 다수의 돌출부(72)가 형성되도록 하고 그 돌출부(72)들이 표적부가 되도록 구성할 수 있다. 도 17에 도시된 바와 같이 상기 기관(70)은 평판 형상의 평판부(71)와, 상기 평판부(71)로부터 상방으로 돌출된 다수의 돌출부(72)를 가진다. 상기 돌출부(72)들은 동일 피치로 배열되어 있다. 상기 각 돌출부(72)는 상기 전계형성전극의 토출구(23)로부터 토출되는 생체분자 액적(10)이 떨어져 부착되는 표적부이다. 그리고, 상기 기관(70)은 도 19에 나타난 바와 같이 스테이지(stage)(90)에 설치되어 있으며, 이 스테이지는 컨베이어 등에 의해 이동될 수 있다.

이와 같이 구성된 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치(200)에 있어서는, 생체분자 액적(10)을 프린팅하고자 하는 돌출부(72)의 상방에 전계형성전극(20)이 위치하도록 별도의 구동장치를 구동시켜 프린터 몸체(40)를 이동시킨 후에, 전계형성전극(20)에 직류전압 및 교류전압을 인가하여 생체분자 액적(10)을 기관(70)의 돌출부(72)에 떨어뜨린다. 그리고, 다시 구동장치를 구동하여 프린터몸체(40)를 이동시켜 다른 돌출부(72)의 상방에 전계형성전극(20)이 위치하도록 하고, 다시 전계형성전극(20)에 직류전압 및 교류전압을 인가하여 생체분자 액적(10)을 프린팅하게 된다. 이와 같은 방식으로 프린터몸체(50)를 움직여서 돌출부(72)들 모두에 대해 생체분자 액적(10)을 떨어뜨려 고정시킬 수 있게 된다.

이와 같이 돌출부(72)들 모두에 생체분자 액적(10)을 프린팅하여 바이오칩 또는 DNA 마이크로어레이를 제작하여, 그 바이오칩 또는 DNA 마이크로어레이에 분석하고자 하는 표적 DNA(target DNA) 단편을 결합시키면, 돌출부(72)들은 오목한 부분에 의해 서로 격리되어 있으므로, 실험자는 각 돌출부(72)에 형성된 혼성화 결합만을 광학적인 방법 또는 방사능 화학적 방법 등을 통해 관찰할 수 있게 되어, 더 정확하게 표적 DNA의 염기서열을 분석할 수 있게 된다.

한편, 도 17에 도시된 본 발명의 다른 실시예에 있어서는 전계형성전극이 하나 마련되어 있으며 그 전계형성전극이 별도의 구동장치에 의해 3차원으로 움직여서 기관의 각 돌출부에 생체분자 액적을 프린트하도록 구성되어 있으나, 도 18에 도시되어 있는 바와 같이 전계형성전극(20)을 기관(70)의 각 돌출부(72)에 대응되도록 복수 마련하여 구성할 수도 있다. 이와 같이 구성된 상기 전계형성전극(20)들은 기관(70)의 돌출부(72)들과 동일한 피치로 배열되어 있으며, 이에 따라 각 돌출부(72)는 각 전계형성전극(20)과 대응되게 된다. 그리고, 상기 전계형성전극(20)들은 서로 전기적으로 절연되어 있다. 또한, 상기 각 전계형성전극(20)은 전극리드선(21)과 전기적으로 연결되어 있으며, 이 전극리드선(21)은 개방형 전압인가장치(60)와 전기적으로 연결되어 있다. 따라서, 개방형 전압인가장치(60)를 구동하게 되면, 전계형성전극(20)들 모두에 전압이 인가되게 된다.

이와 같이 구성된 전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치(300)에 있어서는, 다른 종류의 생체분자 액적을 동시에 프린팅하고자 할 때에 특히 유익하게 된다. 도 19는 도 17에 도시된 장치를 사용하여 기관(70)에 생체분자 액적을 프린팅하는 모습을 도시한 도면으로서, 전기전하집중 현상을 이용하여 여러 장의 실리콘 기관, 즉 바이오칩 또는 DNA 마이크로어레이를 제작하는 상태를 도시하고 있다. 도 19에 도시된 바와 같이 하나의 실리콘 기관(70)에 생체분자 프린팅이 끝나면, 자동으로 기관(70)을 지지하는 스테이지(90)가 이동하게 되며 이에 따라 다른 기관(70)에 연속적으로 생체분자 액적을 프린팅할 수 있게 된다.

이상, 본 발명을 바람직한 실시예를 들어 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 상기 실시예들에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 많은 변형이 가능함은 명백하다.

예컨대, 본 실시예에서는 프린터몸체가 구비되어 있으나, 프린터몸체가 구비되지 않을 수도 있다.

또한, 본 실시예에서는 전계형성전극에 교류전압과 직류전압이 동시에 인가되도록 구성되어 있으나, 교류전압만 인가되거나 직류전압만이 인가되도록 할 수도 있다.

또한, 본 실시예에서는 생체분자 액적에 양전하가 충전되고 기관에 음전하가 유도되도록 구성되어 있으나, 생체분자 액적에 음전하를 충전시키고 그 충전된 음전하에 의해 그 생체분자 액적과 마주하는 기관의 부분에 양전하가 유도되도록 구성할 수 있으며, 이와 같이 구성되어도 음전하와 양전하 사이에는 힘이 발생되게 되므로 이 힘에 의해 생체분자 액적을 기관으로 떨어뜨릴 수 있게 된다.

또한, 본 실시예에서는 기관이 평판부와 다수의 돌출부를 포함하도록 구성되어 있으나, 그 기관이 평판 형상의 평판부만을 가지도록 구성할 수도 있다.

또한, 본 실시예에서는 자석이 기관의 평판부와 동일한 크기를 갖는 것으로 되어 있으나, 자석은 전계형성전극의 수용부에 존재하는 생체분자 액적에 함유되어 있는 마이크로 자기 비드에 자기력을 부여하여 비드를 기관 방향으로 유도할 수만 있다면 임의의 형태를 가질 수 있다.

발명의 효과

상기한 구성의 본 발명에 따르면, 전기전하집중 현상에 의해 토출구에 매달려있는 액적에 힘이 작용할 뿐만 아니라, 마이크로 비드 및 자석의 존재에 의해 토출구에 매달려 있는 액적이 액적의 최저점으로 집중되어 하부가 좁아짐으로써, 생체분

자 액적을 종래에 비해 더 작은 부피 및 직경으로 상기 기관의 표적부에 떨어뜨릴 수 있어, 동일한 크기의 기관에 많은 생체분자 액적을 프린팅하는 것이 가능해지므로, 고밀도의 바이오칩을 제작하는 것도 용이해지는 장점이 있다. 뿐만 아니라, 본 발명에 따르면 프린팅되는 생체분자 액적당 6 개 이하의 세포를 포함하도록 할 수 있어 줄기 세포를 포함한 세포의 상호작용 연구에 특히 유용하다는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

도 1은 종래의 일례에 따른 전기수력학적 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 개략적으로 나타낸 단면도이다.

도 2는 도 1에 도시된 프린팅 장치에 전압이 인가된 경우에 생성되는 전기장 분포를 개략적으로 나타낸 도면이다.

도 3은 종래의 또 다른 일례에 따른 전기수력학적 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 개략적으로 나타낸 단면도이다.

도 4는 종래의 일례에 따른 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 개략적으로 나타낸 단면도이다.

도 5는 도 4에 도시된 프린팅 장치에 전압이 인가된 경우에 전계형성전극에 충전되는 양전하 및 그 양전하에 의해 기관에 유도되는 음전하의 분포와, 토출구에 매달린 생체분자 액적에 작용하는 힘의 관계를 개략적으로 나타낸 도면이다.

도 6은 도 4에 도시된 프린팅 장치를 사용하여 생체분자 액적을 프린팅하는 과정을 설명하기 위한 도면이다.

도 7은 도 4에 도시된 프린팅 장치를 사용하여 생체분자 액적을 기관 상에 떨어뜨리는 과정에서, 목 형상(Neck Shape)의 생체분자 액적에 작용하는 표면장력들의 관계를 설명하기 위한 도면이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 개략적으로 나타낸 도면이다.

도 9는 도 8에 도시된 기관의 평면도이다.

도 10a는 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치에 전압이 인가된 경우에 전계형성전극에 충전되는 양전하 및 그 양전하에 의해 기관에 유도되는 음전하의 분포와, 토출구에 매달린 생체분자 액적에 작용하는 힘의 관계를 개략적으로 나타낸 도면이다.

도 10b는 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치의 전계형성전극의 토출구 부분에서의 생체분자 액적이, 자석에 의한 자기력에 의해 마이크로 자기 비드가 기관 방향으로의 유도되는 것으로 인해 생체분자 액적이 액적의 말단으로 집중되는 현상을 개략적으로 나타낸 도면이다.

도 11은 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 사용하여 생체분자 액적을 프린팅하는 과정을 설명하기 위한 도면이다.

도 12는 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 사용하여 생체분자 액적을 기관 상에 떨어뜨리는 과정에서, 목 형상(Neck Shape)의 생체분자 액적에 작용하는 표면장력들의 관계를 설명하기 위한 도면이다.

도 13은 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 사용하여 세포 액적을 프린팅할 경우 기관 상에서 세포를 부착 배양한 다음 자기 비드를 제거하는 과정의 순서를 개략적으로 나타낸 도면이다.

도 14는 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 사용하여 마이크로 자기 비드가 존재하는 경우와 존재하지 않는 경우의 프린팅된 액적의 직경의 평균값을 나타낸 그래프이다.

도 15는 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 사용하여 마이크로 자기 비드가 존재하는 경우와 존재하지 않는 경우에 각각 기관에 프린팅된 세포 액적을 현미경(Leica)으로 관찰하여 촬영한 사진이다.

도 16은 도 8에 도시된 생체분자 액적을 프린팅하는 장치를 사용하여 실리콘 마이크로비드, 자기 비드, 대조군의 경우에 각각 기관에 프린팅된 액적의 직경의 평균값을 나타낸 그래프이다.

도 17은 본 발명의 다른 실시예에 따른 생체분자 액적 또는 잉크를 프린팅하는 장치를 개략적으로 나타낸 단면도이다.

도 18은 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 생체분자 액적 또는 잉크를 프린팅하는 장치를 개략적으로 나타낸 단면도이다.

도 19는 도 17에 도시된 장치를 사용하여 생체분자 액적 또는 잉크를 연속적으로 프린팅하는 것을 개략적으로 나타낸 도면이다.

<도면의 주요부분에 대한 부호의 설명>

10...생체분자 액적 20...전계형성전극

21...전극리드선 22...수용부

23...토출구 30,70...기관

31...표적부 40...자석

50...프린터몸체 60...개방형 전압인가장치

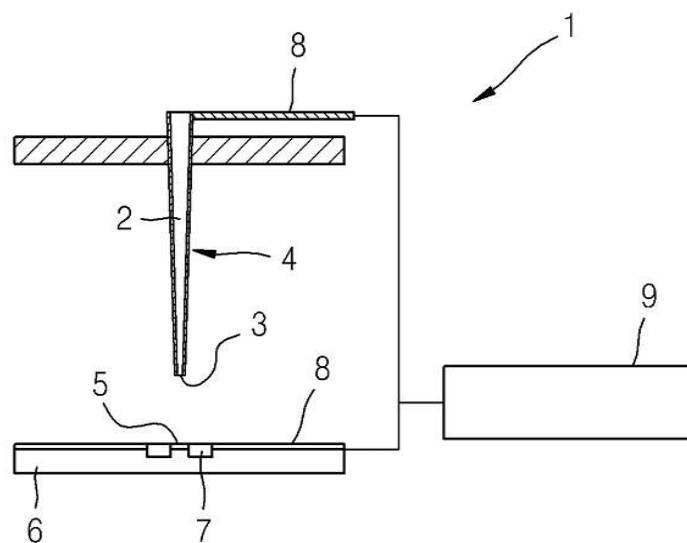
71...평판부 72...돌출부

90...스테이지

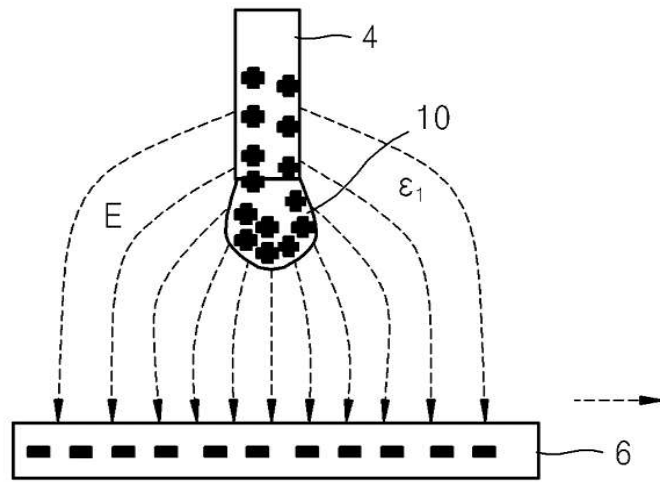
100,200,300...전기전하집중 현상을 이용하여 기관 상에 생체분자 액적을 프린팅하는 장치

도면

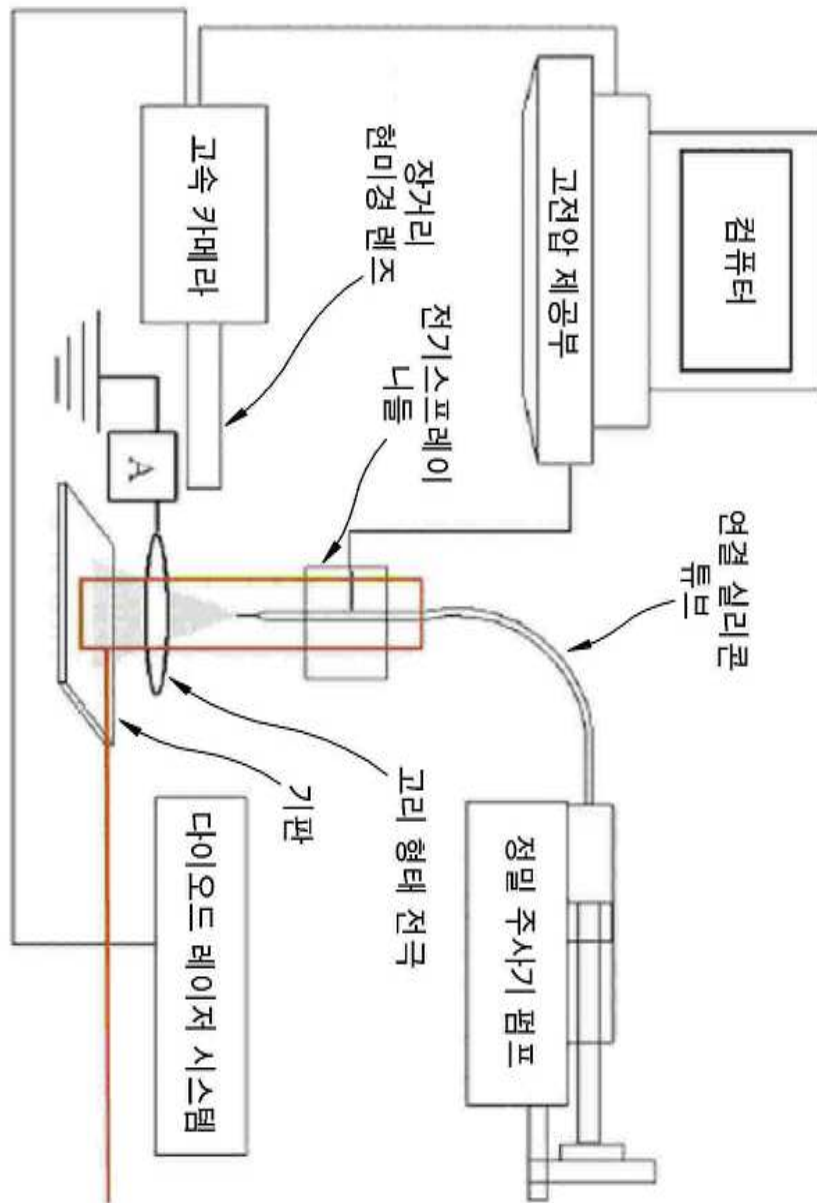
도면1



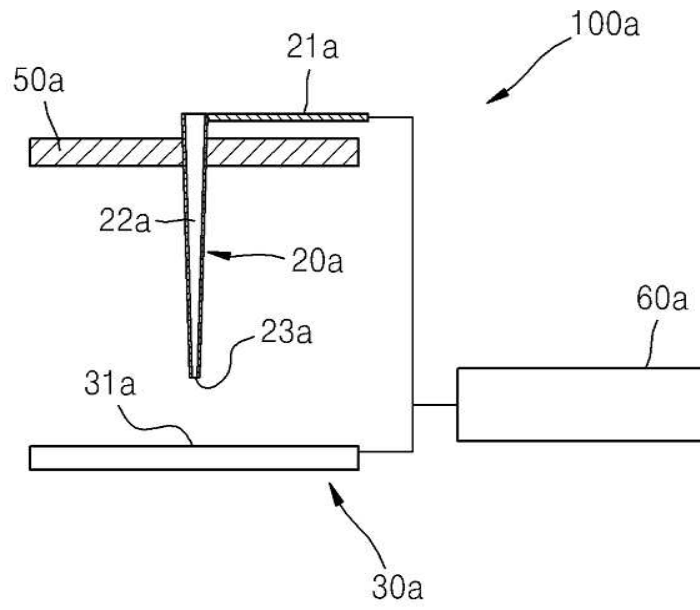
도면2



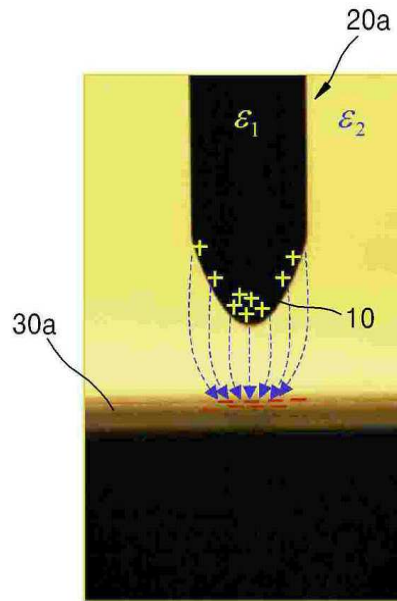
도면3



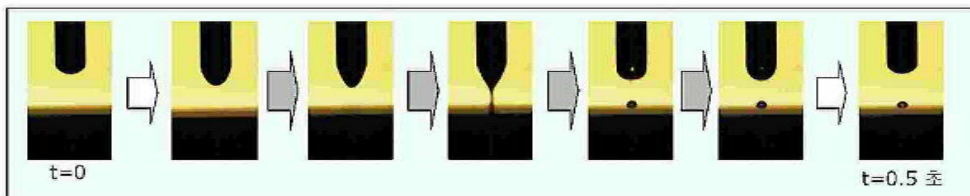
도면4



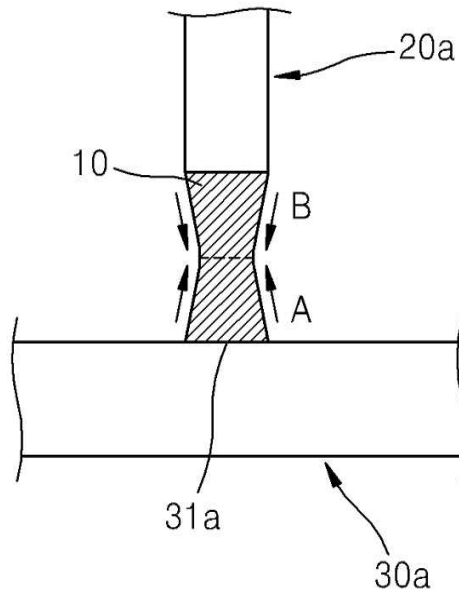
도면5



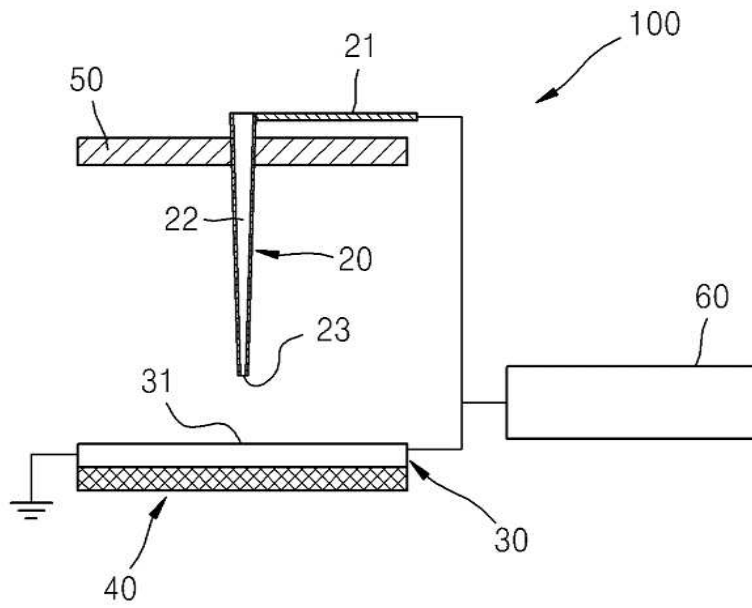
도면6



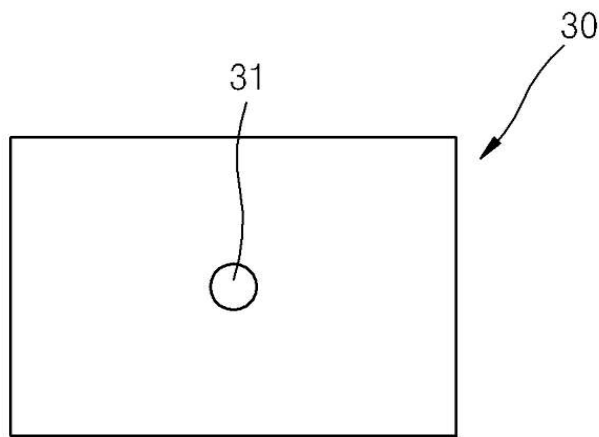
도면7



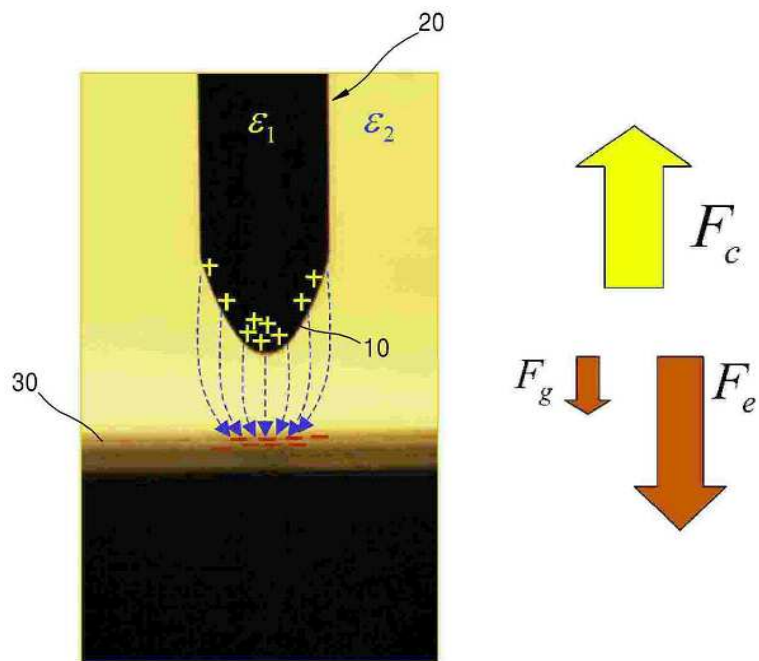
도면8



도면9



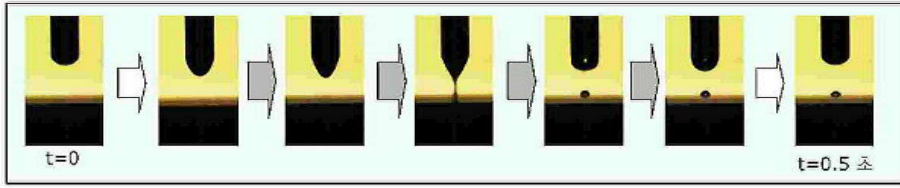
도면10a



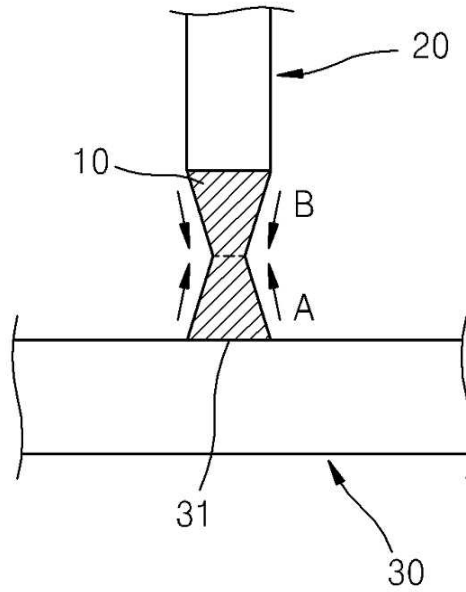
도면10b



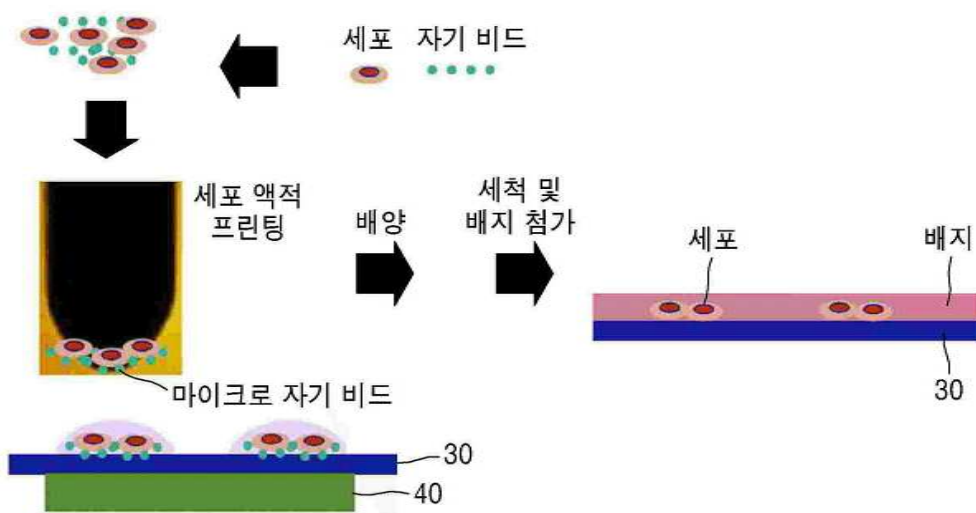
도면11



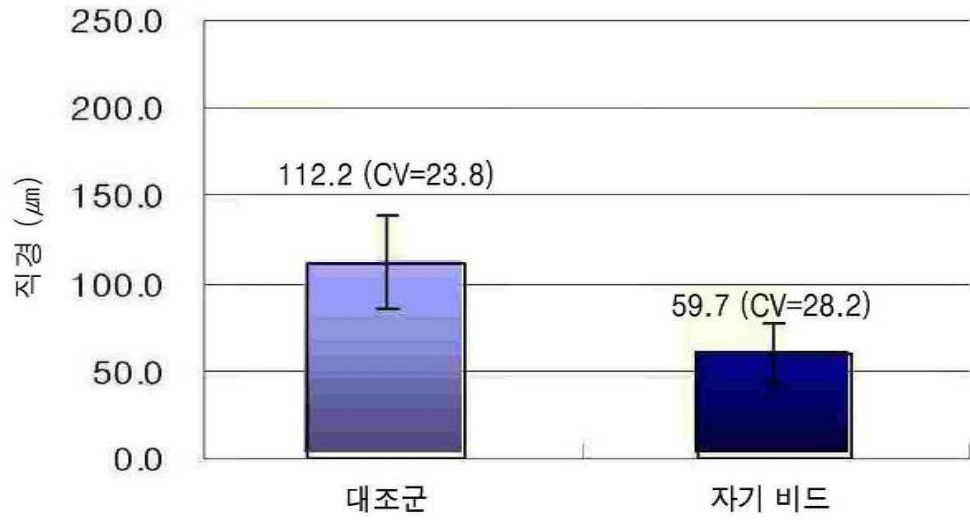
도면12



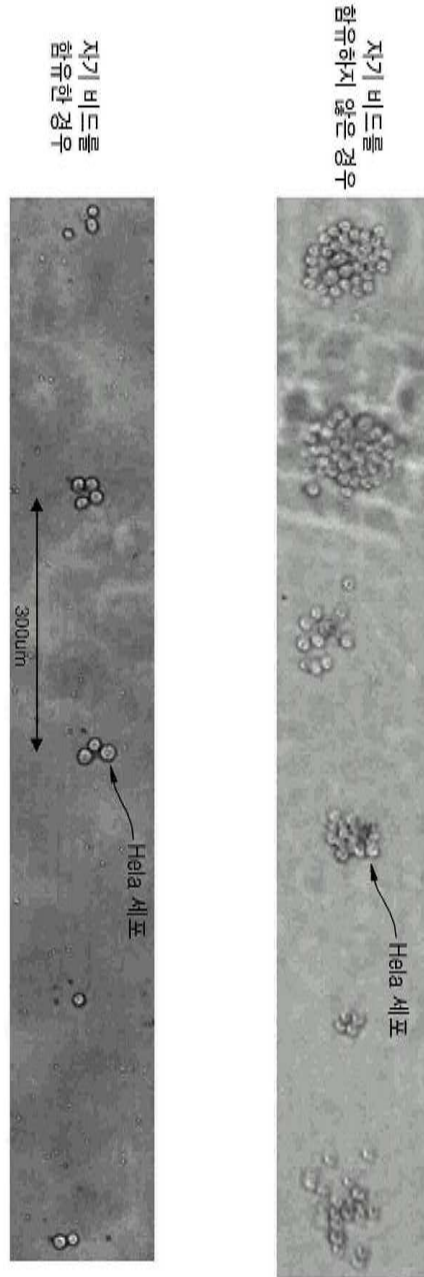
도면13



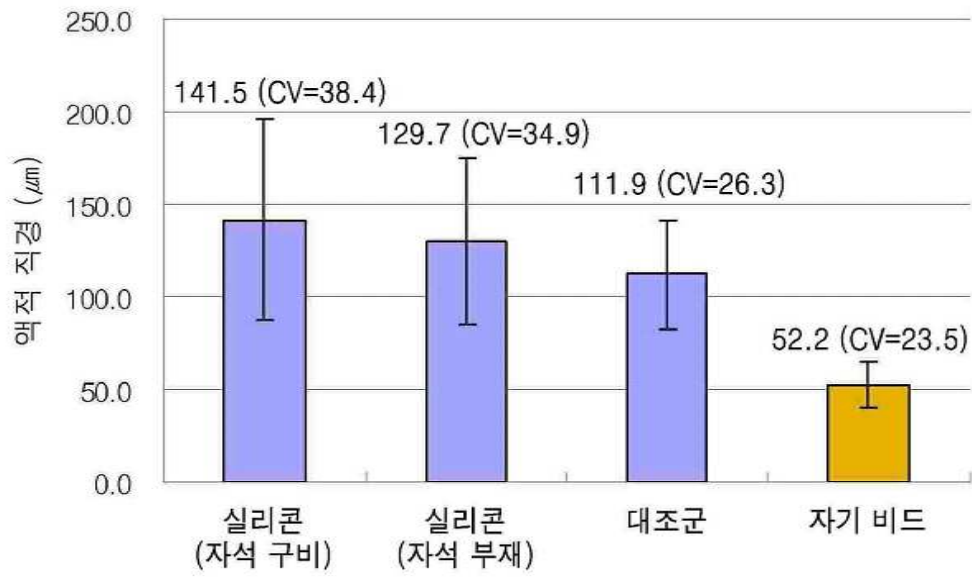
도면14



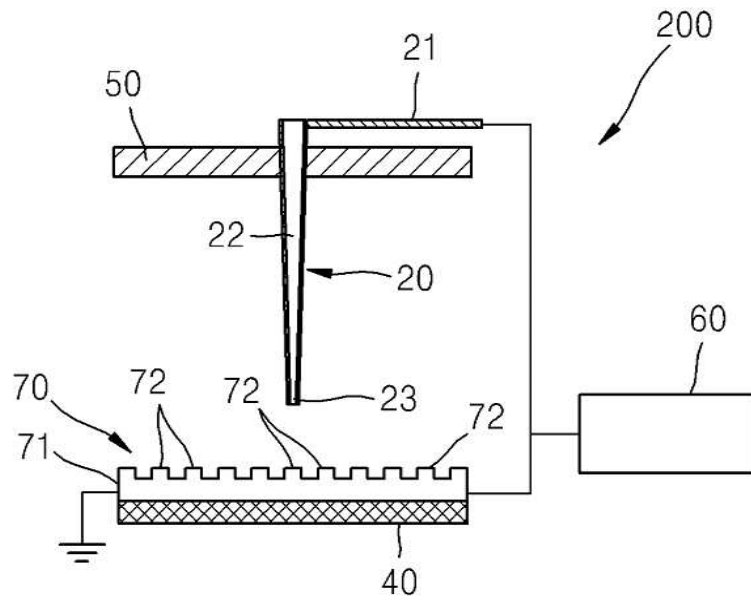
도면15



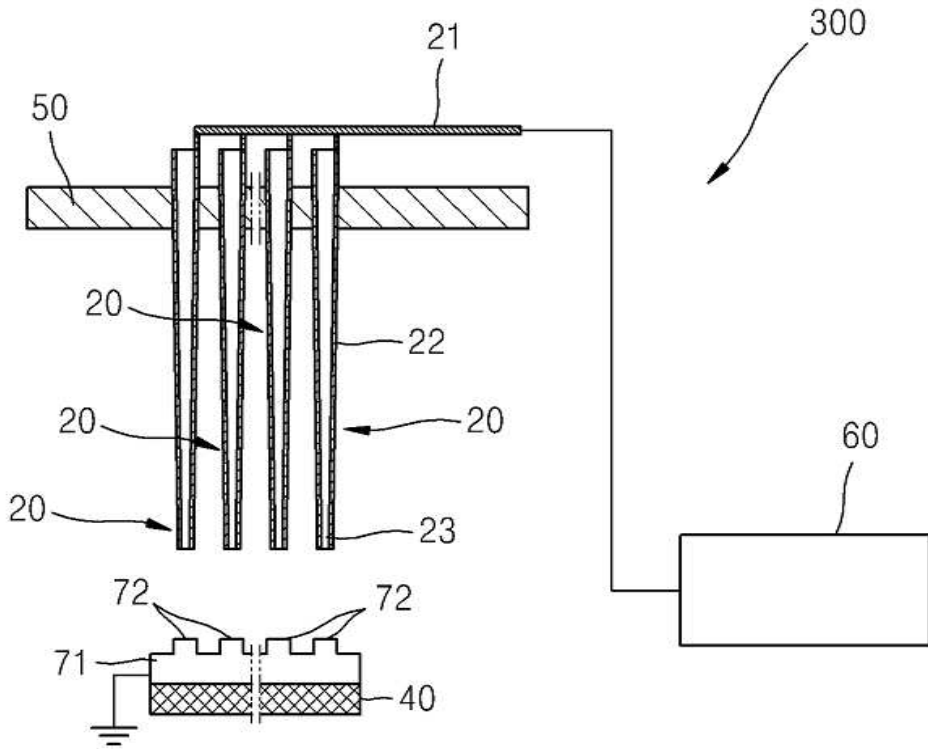
도면16



도면17



도면18



도면19

