



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년03월02일

(11) 등록번호 10-1598847

(24) 등록일자 2016년02월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C12M 1/42* (2006.01) *C12N 15/89* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2014-0008404  
 (22) 출원일자 2014년01월23일  
 심사청구일자 2014년01월23일  
 (65) 공개번호 10-2015-0088052  
 (43) 공개일자 2015년07월31일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 JP2008504124 A\*  
 Tuhin Subhra Santra and Fang Gang Tseng,  
 Micromachines 2013, 4(3), pp333-356\*  
 WO2012009320 A2  
 KR101336555 B1  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
**부경대학교 산학협력단**  
 부산광역시 남구 신선로 365 (용당동,  
 부경대학교)  
 (72) 발명자  
**임도진**  
 경북 포항시 남구 청암로 77, 화학공학과 (효자동, 포항공과대학교)  
**유병선**  
 충북 청주시 흥덕구 가경로 188, 204동 806호 (가경동, 형석2차아파트)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**이성수**

전체 청구항 수 : 총 19 항

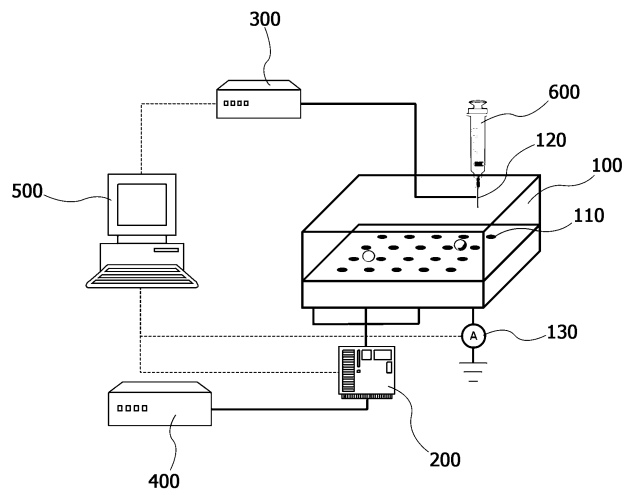
심사관 : 이재영

(54) 발명의 명칭 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 기기, 장치 및 방법

(57) 요약

본 발명의 제 1실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 기기는 세포를 포함하는 제 1액적 및 유전물질을 포함하는 제 2액적과 접촉 충전하여 상기 제 1액적 및 상기 제 2액적을 병합시켜 혼합 액적을 생성하는 복수개의 액적구동용 전극; 및 상기 혼합 액적에 전압을 인가하여 상기 혼합 액적 내부에서 전기 천공이 이루어지도록 하는 전기천공용 전극;을 포함한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

**정수남**

경상남도 남해군 이동면 삼이로 573번안길 22-8

**김동표**

경북 포항시 남구 지곡로 155, 4동 903호 (지곡동, 교수아파트)

**강인석**

경북 포항시 남구 연일읍 유강길9번길 37-11, 402동 1002호 (강변유강코아루4단지노블)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 40009847

부처명 교육부

연구관리전문기관 재단법인한국연구재단

연구사업명 일반연구자지원사업

연구과제명 암치료 및 줄기세포 연구를 위한 디지털 전기천공 시스템 개발

기 여 율 1/1

주관기관 부경대학교 산학협력단

연구기간 2013.06.01 ~ 2014.05.31

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

2개 이상의 액적 구동용 전극 및 1개 이상의 전기 천공용 전극을 포함하고, 내부에 절연성의 소수성 오일로 충전되어 있는 전기천공 기기로서,

상기 액적 구동용 전극은 각각 독립적으로 극성 제어 및 전압 인가가 가능하며 전기천공 기기의 바닥면과 수직하게 위쪽 방향으로 서로 평행하게 바닥면 상에 배열되어 있고, 기기 내에 도입되는 세포를 포함하는 1개 이상의 제1 액적과 유전 물질을 포함하는 1개 이상의 제2 액적에 대해 개별적으로 전압을 인가하여 직접 접촉 충전시키고 극성을 제어함으로써, 충전 및 극성이 제어된 제1 액적과 제2 액적이 각각 전기영동 현상에 의한 이동으로 서로 병합 및 혼합되어 혼합 액적이 생성되도록 하는 것이고,

상기 전기 천공용 전극은 상기 혼합 액적에 전압을 인가하여 혼합 액적 내부에서 전기천공이 이루어지도록 하는 것인

전기천공 기기.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

상기 전기천공에 의해 제2 액적에 포함되어 있던 유전 물질이 제1 액적에 포함되어 있던 세포 내에 전달되는 것인 전기천공 기기.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

상기 액적 구동용 전극과 상기 전기 천공용 전극 간의 간격은 조절이 가능한 것인 전기천공 기기.

#### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 액적 구동용 전극 중 적어도 하나는 고전압 인가가 가능하여 이 액적 구동용 전극에 의해 전기 천공이 이루어질 수 있는 것인 전기천공 기기.

#### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 전기 천공용 전극은 전기천공 기기의 바닥면에 상기 바닥면과 수직하게 위쪽 방향으로 액적 구동용 전극과 평행하게 배치되어 있는 것인 전기천공 기기.

#### 청구항 6

제1항에 있어서,

상기 전기 천공용 전극은 전기천공 기기의 내부에 액적 구동용 전극이 배열된 바닥면과 대향되는 면에 수직으로 액적 구동용 전극과 이격되어 마주보도록 배치되어 있는 것인 전기천공 기기.

#### 청구항 7

제1항에 있어서,

상기 액적 구동용 전극과 연결된 전류계를 더 포함하는 것인 전기천공 기기.

**청구항 8**

제1항에 있어서,

상기 전기 천공용 전극은 내부에 증공이 있는 바늘 형상으로 되어 기기의 외부에 있는 주사기와 연결 가능한 구조를 갖는 것인 전기천공 기기.

**청구항 9**

제5항 또는 제6항에 있어서,

상기 혼합 액적의 일단과 타단이 상기 액적 구동용 전극과 전기 천공용 전극에 각각 연결되고, 액적 구동용 전극과 전기 천공용 전극을 통해 혼합 액적을 관통하는 전류에 의해 전압이 인가되어 혼합 액적 내의 세포에 전기 천공이 이루어지는 것인 전기천공 기기.

**청구항 10**

제4항에 있어서,

상기 혼합 액적이 고전압 인가가 가능한 액적 구동용 전극으로부터 혼합 액적을 관통하는 전류에 의해 전압이 인가되어 혼합 액적 내의 세포에 전기 천공이 이루어지는 것인 전기천공 기기.

**청구항 11**

제1항에 따른 전기천공 기기;

상기 액적 구동용 전극에 전압을 인가하는 제1 전원부; 및

상기 전기 천공용 전극에 전압을 인가하는 제2 전원부;

를 포함하는 전기천공 장치.

**청구항 12**

제11항에 있어서,

액적 구동용 전극의 극성 및 인가 전압을 조절하기 위하여 상기 제1 전원부의 전원을 제어하는 제어부를 더 포함하는 것인 전기천공 장치.

**청구항 13**

세포를 포함하는 제1 액적과 유전 물질을 포함하는 제2 액적을 전기천공 기기 내부로 공급하는 액적 공급 단계; 상기 제1 액적 및 제2 액적을 병합시켜 혼합 액적을 생성시키는 혼합 액적 생성 단계; 및 상기 혼합 액적 내의 세포를 전기 천공하는 전기 천공 단계를 포함하는 전기 천공 방법으로서,

상기 혼합 액적 생성 단계는 제1 액적과 제2 액적이 각각 독립적인 극성 제어 및 전압 인가가 가능한 서로 다른 액적 구동용 전극에 접촉하여 충전되고, 충전된 제1 액적과 제2 액적이 전기영동 현상에 의한 이동으로 서로 병합 및 혼합되어 혼합 액적이 생성되는 것인 전기 천공 방법.

**청구항 14**

제13항에 있어서,

상기 전기 천공 단계는 혼합 액적의 일단 및 타단이 전기천공 기기 내에서 액적 구동용 전극과 전기 천공용 전극에 각각 연결되고, 상기 액적 구동용 전극과 전기 천공용 전극을 통해 혼합 액적을 관통하는 전류에 의해 전압이 인가되어 혼합 액적 내의 세포에 전기 천공이 이루어지는 것인 전기 천공 방법.

**청구항 15**

제13항에 있어서,

상기 전기 천공 단계는 혼합 액적이 고전압 인가가 가능한 액적 구동용 전극으로부터 혼합 액적을 관통하는 전류에 의해 전압이 인가되어 혼합 액적 내의 세포에 전기 천공이 이루어지는 것인 전기 천공 방법.

**청구항 16**

제13항 내지 제15항 중 어느 하나의 항에 있어서,

상기 전기 천공 단계 완료 후에, 내부에 증공이 있는 바늘 형상을 갖는 전기 천공 전극의 증공을 통해 외부에서 도입된 주사기를 이용하여, 전기 천공이 이루어진 혼합 액적을 수거하는 액적 수거 단계를 더 포함하는 것인 전기 천공 방법.

**청구항 17**

세포를 포함하는 제1 액적과 유전 물질을 포함하는 제2 액적을 전기천공 기기 내부로 공급하는 액적 공급 단계; 상기 제1 액적 및 제2 액적을 병합시켜 혼합 액적을 생성시키는 혼합 액적 생성 단계; 및 상기 혼합 액적 내의 세포를 전기 천공하는 전기 천공 단계를 포함하고,

상기 혼합 액적 생성 단계는 제1 액적과 제2 액적이 각각 독립적인 극성 제어 및 전압 인가가 가능한 서로 다른 액적 구동용 전극에 접촉하여 충전되고, 충전된 제1 액적과 제2 액적이 전기영동 현상에 의한 이동으로 서로 병합 및 혼합되어 혼합 액적이 생성되는 것인

생체의 외부에서 세포 내에 유전 물질을 전달하는 방법.

**청구항 18**

제17항에 있어서,

상기 전기 천공 단계는 혼합 액적의 일단 및 타단이 전기천공 기기 내에서 액적 구동용 전극과 전기 천공용 전극에 각각 연결되고, 상기 액적 구동용 전극과 전기 천공용 전극을 통해 혼합 액적을 관통하는 전류에 의해 전압이 인가되어 혼합 액적 내의 세포에 전기 천공이 이루어지는 것인, 생체의 외부에서 세포 내에 유전 물질을 전달하는 방법.

**청구항 19**

제17항에 있어서,

상기 전기 천공 단계는 혼합 액적이 고전압 인가가 가능한 액적 구동용 전극으로부터 혼합 액적을 관통하는 전류에 의해 전압이 인가되어 혼합 액적 내의 세포에 전기 천공이 이루어지는 것인, 생체의 외부에서 세포 내에 유전 물질을 전달하는 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001]

본 발명은 세포에 유전물질을 전달하는 전기천공 기기, 장치 및 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 전기를 이용하여 세포와 유전물질이 포함된 미세 액적을 직접 충전시키고 충전된 액적을 전기영동 현상을 이용해 병합, 제어한 후 전기천공 과정을 수행하는 기기, 장치 및 방법에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002]

세포에 유전물질을 전달하여 원하는 형질을 나타내게 하는 기술은 유전공학 기술의 핵심 기술이다. 세포에 유전물질을 전달하는 방식은 크게 바이러스를 사용하는 방법과 바이러스를 사용하지 않는 방법으로 구분된다. 바이러스를 사용하는 경우, 유전물질을 효과적으로 전달할 수 있다는 장점이 있지만 바이러스가 가질 수 있는 위험성과 부작용이 있으며 개개의 세포 종류에 따라 적합한 바이러스를 디자인해야 하는 어려움이 있다. 바이러스를 사용하지 않는 방법 중 고 전압의 전기 펄스를 순간적으로 인가하여 세포막의 투과성을 일시적으로 높임으로써 유전물질을 전달하는 전기천공 방법이 있다. 전기천공 방법은 세포의 종류에 상관없이 적용이 가능하다는 장점과 비교적 높은 전달 효율 등 바이러스를 사용하지 않고 유전물질을 전달하는 방법 중 화학적 방법과 함께 가장 널리 사용되는 방법 중 하나로 사용되고 있다. 하지만, 현재 상용화되어 사용 중인 전기천공 장치는 높은 전압을 사용하기 때문에 세포의 생존률이 매우 낮은 단점을 가지고 있다.

- [0003] 또한, 상용화된 전기천공 장치는 전기천공 과정 중 세포의 오염 문제가 발생할 수 있으며 높은 전압에서 수 암페어에 이르는 많은 전류 흐름을 유지할 수 있는 고가의 전원 공급 기기를 필요로 하고 관련된 소모품 역시 비싸다는 단점이 있다. 또한, 전기천공 장치의 크기가 비교적 크기 때문에 실험 결과의 편차가 상대적으로 큰 단점이 존재한다.
- [0004] 이러한 상용화 된 전기천공 장치의 단점을 극복하기 위해 미세유체 기술을 이용한 전기천공 장치가 개발되고 있다. 미세유체 전기천공 장치는 장치의 크기가 작기 때문에 낮은 전압에서 동일한 전기천공 효과를 나타내면서도 세포의 생존률이 높은 장점이 있으며 이 밖에 적은 시료의 요구 등 미세유체 장치의 장점들을 살릴 수 있는 장점이 있다. 하지만, 현재의 미세유체 전기천공 장치는 충분한 양의 세포를 확보하는 것이 어렵고 사용자 편의성이 많이 떨어지는 단점이 존재한다.
- [0005] 이에, 본 발명에서는 기존 상용화 전기천공 장치와 미세유체 전기천공 장치의 단점을 최소화하면서도 두 방법의 장점을 최대화할 수 있는 새로운 전기천공 기기 및 장치를 제안하고자 한다.
- [0006] 하기 문헌은 미세소자를 이용한 세포의 전기천공효과 분석장치 및 이를 이용한 세포의 전기천공효과 분석방법에 관한 문헌으로써, 본 발명의 요지를 포함하고 있지 않다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

- [0007] (특허문헌 0001) 한국공개특허공보 제2009-0018469호

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0008] 본 발명의 제 1실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 기기, 제 2실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 장치 및 제 3실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 방법은 전술한 문제점을 해결하기 위하여 다음과 같은 해결과제를 목적으로 한다.
- [0009] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여 제안된 것으로, 본 발명의 목적은 세포와 유전물질을 미세 액적 내에 포함시켜 액적의 직접 충전 및 전기영동 현상으로 병합, 제어하여 전기천공 과정을 액적 내에서 수행 가능하게 함으로써 낮은 전압으로 전기천공을 이루어 세포의 생존률을 높이면서도 높은 유전물질 전달 효율을 달성할 수 있는 기기를 제공하는 것이다.
- [0010] 본 발명의 해결과제는 이상에서 언급된 것들에 한정되지 않으며, 언급되지 아니한 다른 해결과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야에 있어서의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해되어 질 수 있을 것이다.

**과제의 해결 수단**

- [0011] 본 발명의 제 1실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 기기는 세포를 포함하는 제 1액적 및 유전물질을 포함하는 제 2액적과 접촉 충전하여 상기 제 1액적 및 상기 제 2액적을 병합시켜 혼합 액적을 생성하는 복수개의 액적구동용 전극; 및 상기 혼합 액적에 전압을 인가하여 상기 혼합 액적 내부에서 전기 천공이 이루어지도록 하는 전기천공용 전극;을 포함한다.
- [0012] 상기 액적구동용 전극은 전기천공 기기의 바닥면 상에 상기 바닥면과 수직하게 배열되는 것이 바람직하다.
- [0013] 상기 액적구동용 전극과 상기 전기천공용 전극 간의 간격은 조절이 가능하도록 형성되는 것이 바람직하다

- [0014] 복수개의 상기 액적구동용 전극은 복수개가 구비되고, 복수개의 상기 액적구동용 전극 중 적어도 하나는 고전압 인가가 가능하도록 형성되는 것이 바람직하다.
- [0015] 상기 전기천공용 전극은 상기 전기천공 기기의 바닥면 상에 배치되는 것이 가능하다.
- [0016] 전기천공 기기는 내부가 절연 및 소수성 오일로 충전되는 것이 바람직하다.
- [0017] 상기 액적구동용 전극과 연결된 전류계를 더 포함하는 것이 가능하다.
- [0018] 상기 전기천공용 전극은 주사기와 연결 가능하고 내부는 중공이 형성된 바늘 형상으로 형성되는 것이 바람직하다.
- [0019] 본 발명의 제 2실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 장치는 세포를 포함하는 제 1액적 및 유전물질을 포함하는 제 2액적과 접촉 충전하여 상기 제 1액적 및 상기 제 2액적을 병합시켜 혼합 액적을 생성하는 액적구동용 전극; 및 상기 혼합 액적에 전압을 인가하여 상기 혼합 액적 내부에서 전기 천공이 이루어지도록 하는 전기천공용 전극;을 포함하는 전기천공 기기, 상기 액적구동용 전극에 전압을 인가하는 제 1전원부 및 상기 전기천공용 전극에 전압을 인가하는 제 2전원부를 포함한다.
- [0020] 또한 상기 액적구동용 전극의 극성 및 인가 전압을 조절하기 위하여 상기 제 1전원부의 전원을 제어하는 제어부를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- [0021] 또한 액적구동용 전극은 복수개가 구비되며, 각각 독립적인 전압의 인가가 가능하도록 구성되는 것이 바람직하다.
- [0022] 본 발명의 제 3실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기 천공 방법은 세포를 포함하는 제 1액적 및 유전물질을 포함하는 제 2액적이 전기천공 기기 내로 공급되는 제 1단계, 상기 제 1액적 및 상기 제 2액적이 상기 전기천공 기기에 포함된 액적구동용 전극에 직접 접촉 충전되어 혼합 액적을 생성하는 제 2단계 및 상기 혼합 액적에 전기천공이 이루어지는 제 3단계를 포함한다.
- [0023] 상기 전기천공 기기는 전기천공용 전극을 더 포함하고, 상기 혼합 액적의 일단 및 타단이 상기 액적구동용 전극과 상기 전기천공용 전극에 각각 연결되어 상기 혼합 액적을 관통한 전류에 의해 전압이 인가되어 상기 혼합 액적의 전기천공이 이루어지는 것이 가능하다.
- [0024] 상기 전기천공용 전극은 주사기와 연결 가능하고 내부는 중공이 형성된 바늘 형상으로 형성되고, 전기 천공이 이루어진 상기 혼합 액적이 상기 중공을 통하여 상기 주사기 내부로 유입되어 수거되는 제 4단계를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- [0025] 상기 액적구동용 전극은 복수 개로 이루어지고, 복수 개의 상기 액적구동용 전극 중 적어도 하나는 고전압 인가가 가능하도록 형성되고, 상기 제 3단계는, 고전압이 인가된 액적구동용 전극에 의해 액적의 직접 충전 및 전기영동에 의해서 상기 혼합 액적의 전기천공이 이루어지는 것이 가능하다.

**발명의 효과**

- [0026] 본 발명의 제 1실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 기기, 제 2실시예에 따른 전기천공 장치 및 제 3실시예에 따른 전기천공 방법은 아래와 같은 효과를 도출해 낼 수 있다.
- [0027] 1. 유전물질 전달 효율 및 세포 생존률이 높다는 이점이 있다.
- [0028] 2. 전기천공에 필요한 전압 및 전류가 대폭 감소하여 기기의 제작비용이 획기적으로 감소할 수 있는 장점이 있다.
- [0029] 3. 기존 미세유체 전기천공 장치와 달리 상용화된 전기천공 장치에서 다루어지는 수백 만개 이상의 세포를 한번에 다룰 수 있어 소형화에 따른 수율 감소가 거의 없다는 이점이 있다.

- [0030] 4. 세포가 직접 기기 표면에 닿지 않고 모든 과정에서 오일을 통한 간접적인 처리 과정을 거치기 때문에 세포의 오염이 최소화되는 장점이 있다.
- [0031] 5. 기기의 구성 및 작동 원리가 단순하여 향후 집적화를 통한 자동화가 용이하며 이를 통해 전기천공 실험 결과의 일관성이 높아질 수 있는 장점이 있다.
- [0032] 6. 기기의 구성이 단순하여 장치에 익숙하지 않은 사람도 손쉽게 실험을 진행 할 수 있는 편의성이 높은 장점이 있다.

[0033] 본 발명의 효과는 이상에서 언급된 것들에 한정되지 않으며, 언급되지 아니한 다른 효과들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야에 있어서의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해되어질 수 있을 것이다.

**도면의 간단한 설명**

- [0034] 도 1은 본 발명에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 장치의 주요 구성부를 보여주는 도면이다.
- 도 2는 본 발명에 따른 전기천공 기기의 측면면으로 액적의 구동을 위한 전극과 전기천공을 위한 전극 그리고 세포와 유전물질을 포함한 액적을 보여주는 도면이다.
- 도 3은 본 발명에 따른 전기천공 기기의 구성 요소들을 집적화시키고 자동화 시킨 구성예를 도시한 도면이다.
- 도 4는 본 발명에 따른 미세 액적 구동, 병합 및 전기천공 과정을 직접 시연한 실시예를 보여주는 도면이다.
- 도 5는 본 발명에 따른 전기천공 결과로 세포 내에 생성된 발광 단백질의 존재를 보여주어 정성적으로 본 발명에 의한 유전물질 전달이 성공적으로 이루어짐을 보여주는 도면이다.
- 도 6은 본 발명에 따른 전기천공으로 이룬 유전물질 전달 효율과 세포 생존율을 기존 상용화 기기와 비교 분석하여 정량적으로 본 발명에 의한 유전물질 전달 효율 및 세포 생존율이 기존 대비 우수하다는 것을 나타내는 실시예를 보여주는 도면이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0035] **1. 서**
- [0036] 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 상세히 설명하되, 도면 부호에 관계없이 동일하거나 유사한 구성 요소는 동일한 참조 번호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다.
- [0037] 또한, 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다. 또한, 첨부된 도면은 본 발명의 사상을 쉽게 이해할 수 있도록 하기 위한 것일 뿐, 첨부된 도면에 의해 본 발명의 사상이 제한되는 것으로 해석되어서는 아니 됨을 유의해야 한다.
- [0038] 액적의 직접 충전 현상은 전극에 전도성 액적이 접촉할 때 도체 표면으로부터 전하를 전달받아 전극과 같은 극성으로 액적이 충전되는 현상이다. 이때 충전된 액적은 전극으로부터 전기적 반발력에 의한 전기영동 힘을 받아 반대편 전극으로 이동하게 된다. 이러한 액적의 직접 충전 및 전기영동 현상은 전기를 이용해 개별적인 액적을 구동시킬 수 있기 때문에 세포와 유전물질을 포함한 액적 들을 제어하고 전기천공 과정을 수행하는 데 활용될 수 있다.
- [0039] 이하, 도 1을 참조하여 본 발명에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 장치의 전반적인 구성에 대해서 살펴보도록 하겠다.
- [0040] 본 발명에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 장치는 도 1에 도시된 바와 같이 크게 전기천공 기기(100), 제 1전원부(200), 제 2전원부(300), 제어부(400), 제어용 컴퓨터(500) 및 주사기(600)를 포함할 수 있다.



[0041] 상기 구성 중 전기천공 기기(100)에 대해서는 제 1실시예의 설명시 구체적으로 살펴보고, 나머지 구성들에 대해서는 제 2실시예의 설명시 살펴보도록 하겠다.

[0042] **2. 제 1실시예 - 전기천공 기기**

[0043] 이하에서는 도 2 내지 도 4를 참조하여 본 발명의 제 1실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공기기에 대해 살펴보도록 하겠다.

[0044] 도 2는 본 발명의 제 1실시예에 따른 전기천공 기기(100)의 측면면을 도시한 도면이고, 도 3은 전기천공 기기의 구성요소들을 집적화 및 자동화시킨 경우를 도시한 도면이고, 도 4는 전기천공 기기에서의 미세 액적 구동, 병합 및 전기천공 과정을 도시한 도면이다.

[0045] 도 2 내지 도 4에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제 1실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 기기는 액적구동용 전극(110) 및 전기천공용 전극(120)을 포함한다.

[0046] 액적구동용 전극(110)은 파이펫 등 외부에서 투입된 세포를 포함하는 제 1액적(10) 및 유전물질을 포함하는 제 2액적(20)과 직접 접촉되어, 제 1액적(10) 및 제 2액적(20)이 충전 후 전기영동으로 병합 및 혼합이 이루어져서 혼합 액적(30)을 생성시킨다.

[0047] 이때, 세포와 유전물질은 이미 혼합된 단일 액적 상태로 전기천공 기기에 투입되는 것도 가능하다.

[0048] 액적구동용 전극(110)은 복수개가 구비되고, 전기천공 기기(100)의 바닥면 상에 상기 바닥면과 수직하게 배열되는 것이 바람직하다.

[0049] 상기 액적구동용 전극(110)에 의해 생성된 혼합 액적(30)은 전기천공을 위해 전기천공 전극(120)으로 이송된다.

[0050] 이때 액적구동용 기기(100)의 내부는 액적에 가해지는 중력 및 액적구동용 기기의 바닥면과의 마찰력을 최소화하기 위해서 액적과 절연 및 소수성 오일로 충전되는 것이 바람직하며, 오일의 점도는 가능한 낮은 것으로 사용함으로써 액적의 이동 중에 발생하는 저항을 최소화시키는 것이 바람직하다.

[0051] 액적구동용 기기(100)의 내부에 오일을 충전시킴으로써 세포의 외부 고체면과의 접촉이 최소화되어 세포의 오염 문제를 방지할 수 있는 효과가 있다.

[0052] 전기천공 전극(120)은 도 2 및 도 4에 도시된 것과 같이 액적구동용 전극(110)이 배열된 전기천공 기기(100)의 바닥면과 대향되는 면에 위치하여 액적구동용 전극(110)과 이격되어 마주보도록 배치될 수 있다.

[0053] 이 경우, 혼합 액적(30)이 액적구동용 전극(110)과 전기천공용 전극(120) 사이에 연결되면 제 2전원(300)에서 전기천공에 필요한 전압을 전기천공용 전극(120)에 인가함으로써 혼합 액적(30) 내부에서 전기천공이 이루어지게 된다.

[0054] 특히 액적구동용 전극(110)과 전기천공용 전극(120) 간의 간격은 투입된 액적의 크기에 따라 조절이 가능하며, 전기영동 구동을 통해 두 전극 사이에 혼합 액적(30)이 연결될 수 있을 정도로 간격을 조절하는 것이 바람직하다.

[0055] 이때, 혼합 액적(30)의 전기천공 과정을 확인하기 위하여 액적구동용 전극(110)에 전류계(130)를 연결할 수 있으며, 연결된 전류계(130)를 통해 전기천공 과정 중 전류의 흐름 변화를 감지함으로써 전기천공 과정을 모니터링하는 것이 가능하다.

[0056] 한편, 혼합 액적(30)은 액적을 관통하는 전류 흐름을 통해 전기천공 과정을 거친 이후에 수거한 후 배양을 통해 추가적인 분석 등에 활용된다.

[0057] 이 때 전기천공용 전극(120)의 내부는 중공이 형성된 바늘 형상으로 형성시키고, 일단을 주사기(600)와 연결시킴으로써, 전기천공 과정이 완료된 혼합 액적을 주사기(600)를 이용하여 전극(120) 내부에 형성된 중공을 통해 오일과 함께 주사기(600) 내부로 빨아들여 수거하는 것이 가능하다.

[0058] 도 3은 본 발명의 제 1실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 기기의 각 구성요소들을

집적화시키고 자동화시킨 일 예를 도시한 도면이다.

- [0059] 도 3에 도시된 바와 같이, 전기천공 기기(100)의 집적화에 유리하도록 전기천공용 전극(13)은 전기천공 기기(100)의 바닥면에 배치시킬 수 있고, 또한 세포 내 유전물질의 전달 상태를 관찰부(140)를 통해 확인한 후 추가적인 전기천공이 필요한 경우 반복적으로 전기천공을 수행할 수 있도록 하는 것이 바람직하다.
- [0060] 이때, 전기천공 기구는 전기천공 기기(100)의 바닥면에 위치한 집적화된 전기천공용 전극(120)과 액적구동용 전극(110)에 액적 양단이 전극에 직접 연결되어 액적을 관통한 전류 흐름을 통해 전압이 인가되는 방식의 전기천공뿐 아니라, 액적의 직접 충전 및 전기영동 현상만으로도 전기천공을 수행하는 것이 가능하다.
- [0061] 또한 별도의 전기천공용 전극(120)을 구비하지 않고, 전기천공 기기(100)의 바닥면의 액적구동용(110) 전극 중 적어도 하나는 고전압 인가가 가능하도록 형성함으로써 전기 영동 현상을 통하여 전기천공 기구를 수행하는 것도 가능하다.
- [0062] 이하 도 4를 참조하여 미세 액적의 구동, 병합 및 전기천공 과정에 대해서 정리하여 설명하도록 하겠다.
- [0063] 도 4의 (가) 및 (나)에 도시된 바와 같이, 세포가 포함된 제 1액적(10)과 유전물을 포함한 제 2액적(20)을 파이펫 등을 통해 전기천공 기기(100)에 공급한 후, 전기천공 기기(100)의 바닥면에 형성된 액적구동용 전극(110)의 전극 극성 제어를 통해 제 1액적(10)과 제 2액적(20)을 병합함으로써 혼합 액적(30)을 생성시킨다.
- [0064] 이후, 도 4의 (다)에 도시된 바와 같이, 혼합 액적(30)은 전기영동 현상을 이용하여 세포와 유전물질이 잘 혼합될 수 있도록 혼합한 후 전기천공용 전극(120)으로 이송된다.
- [0065] 이송된 액적은 도 4의 (라) 내지 (마)에 도시된 바와 같이, 혼합 액적(30)을 관통하는 전류 흐름을 통해 전기천공 과정을 거치고, 이 과정을 마친 액적은 바늘 형태의 전기천공용 전극(120) 끝에 주사기(600)를 연결하여 오일과 함께 액적을 주사기 내부로 빨아들여 수거되게 된다.
- [0066] 이때, 사용되는 액적의 크기를 수 마이크로 리터 이하로 하면서도 액적 내에 포함된 세포의 수를 수 십만에서 수백 만개로 하는 것이 가능하다.
- [0067] 액적의 크기가 작기 때문에 전기천공에 필요한 인가전압 및 전류의 크기를 수십 볼트 이하 및 수십 밀리암페어 이하로 적용하는 것이 가능하게 되므로 전기천공에 전원의 인가하는 전원 기구를 고전압 및 고전류를 지원하는 고가의 기구를 사용할 필요가 없어지므로 전기천공 기기 및 장치의 제작 단가를 줄일 수 있는 효과가 있다.
- [0068] 또한 액적의 크기가 작기 때문에 유전물질과 세포 배양액 등의 소모되는 물질의 양을 줄이면서도 고농도의 실험을 수행할 수 있으므로 높은 효율을 기대할 수 있다.
- [0069] 나아가, 수십 만에서 수백 만에 이르는 다량의 세포를 다룰 수 있게 됨으로써 기존 미세유체 전기천공 기구의 문제점인 상용화 기기 대비 낮은 수율 문제를 해결하는 것이 가능해진다.

[0070] **3. 제 2실시예 - 전기천공 장치**

- [0071] 상술한 바와 같이 본 발명의 제 2실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 장치는 도 1에 도시된 바와 같이 전기천공 기기(100), 제 1전원부(200), 제 2전원부(300), 제어부(400), 제어용 컴퓨터(500) 및 주사기(600)를 포함할 수 있다.
- [0072] 상기 구성들 중 제어용 컴퓨터(500)는 상술한 액적의 전기영동 및 전기천공 과정의 수행을 위한 알고리즘 및 방법이 저장되어 있으며, 이를 통해 전기천공 장치의 각 구성들을 제어하는 기능을 수행한다.
- [0073] 전기천공 기기(100)와 주사기(600)에 대해서는 앞에서 상세히 설명하였으므로, 이에 대한 자세한 설명은 생략하도록 하겠다.
- [0074] 제 1전원부(200)는 액적구동용 전극(110)에 전압을 인가하는 기능을 수행하고, 제 2전원부(300)는 전기천공용 전극(120)에 전압을 인가하는 기능을 수행한다.
- [0075] 제어부(400)는 전기영동 현상을 발생시키기 위해 액적구동용 전극(110)의 극성 및 인가 전압을 조절하기 위하여 제 1전원부(200)의 전원을 제어하는 기능을 수행한다.

[0076] 특히, 액적구동용 전극(110)은 복수개가 구비되고, 제어부(400) 및 제 1전원부(200)는 복수개의 액적구동용 전극(110) 각각 독립적인 전압의 인가가 가능할 수 있게 하도록 제어 기능을 수행하는 것이 바람직하다.

[0077] **4. 제 3실시예 - 전기천공 방법**

[0078] 본 발명의 제 3실시예에 따른 액적의 직접 충전 및 전기영동에 기반한 전기천공 방법은 세포를 포함하는 제 1액적(10) 및 유전물질을 포함하는 제 2액적(20)이 전기천공 기기(100) 내로 공급되는 제 1단계, 상기 제 1액적(10) 및 상기 제 2액적(20)이 상기 전기천공 기기(100)에 포함된 액적구동용 전극(110)에 직접 접촉 충전되어 혼합 액적(30)을 생성하는 제 2단계 및 상기 혼합 액적(30)에 전기천공이 이루어지는 제 3단계를 포함한다.

[0079] 특히, 전기천공 기기(100)에는 전기천공용 전극(120)을 더 구비하게 될 경우, 상기 혼합 액적(30)의 일단 및 타단이 상기 액적구동용 전극(110)과 상기 전기천공용 전극(120)에 각각 연결되어 상기 혼합 액적(30)을 관통한 전류에 의해 전압이 인가되어 상기 혼합 액적(30)에 전기천공이 이루어지도록 제 3단계를 진행할 수 있다.

[0080] 이때, 전기천공용 전극(120)은 주사기(600)와 연결 가능하고 내부는 중공이 형성된 바늘 형상으로 형성되고, 전기천공이 이루어진 상기 혼합 액적이 상기 중공을 통하여 상기 주사기(600) 내부로 유입되어 수거되는 제 4단계를 더 포함하는 것이 바람직하다.

[0081] 또한 상기 액적구동용 전극(110)은 복수 개로 이루어지고, 복수 개의 상기 액적구동용 전극(110) 중 적어도 하나는 고전압 인가가 가능하도록 형성되는 경우, 제 3단계는 고전압이 인가된 액적구동용 전극에 의해 액적의 직접 충전 및 전기영동에 의해서 상기 혼합 액적(30)의 전기천공이 이루어지도록 함으로써 전기천공 기기(100)의 집적화를 도모하는 것이 가능하다.

[0082] **5. 결**

[0083] 도 5는 도 4에서 시연된 결과로 세포에 노란색 형광 단백질질을 합성하는 유전자를 전기천공을 통해 유입하여 세포 내에 생성된 형광 단백질의 존재를 보여주어 정성적으로 본 발명에 의한 유전물질 전달이 성공적으로 이루어짐을 보여주는 도면이다.

[0084] 도 5에서 좌측 어두운 그림들은 암실 조건에서 형광 이미지를 나타내며 오른쪽 그림들은 동일한 위치에서 빛을 주어 세포의 윤곽을 나타내도록 한 이미지이다.

[0085] 도 6은 도 4에서 시연된 결과로 전기천공으로 이룬 유전물질 전달 효율과 세포 생존률을 기존 상용화 기기와 비교 분석하여 정량적으로 본 발명에 의한 유전물질 전달 효율 및 세포 생존률이 기존 대비 우수하다는 것을 나타내는 실시예를 보여주는 도면이다.

[0086] 기존 상용화 기기와 본 발명 모두 동일한 전기장 세기를 사용하였으나 기존 상용화 기기의 경우, 고전압, 고전류 상황으로 세포의 생존률이 매우 낮고 유전물질 전달 효율이 2.5%로 낮음을 확인할 수 있다.

[0087] 하지만 본 발명에 의한 전기천공은 장치의 크기가 작기 때문에 저전압, 저전류를 이용해도 동일한 전기장을 인가하는 것이 가능하기 때문에 높은 세포 생존률과 유전물질 전달 효율(12.9%)을 보임을 확인할 수 있다.

[0088] 상기 설명한 본 발명에 따른 전기천공 기기, 장치 및 방법은 소형 세포 배양기 및 세포 공학용 기기 등 미세유체역학을 이용한 다양한 화학, 생물학, 의학 분야에서의 새로운 기기를 제작하는데 활용이 가능하다.

[0089] 본 명세서에서 설명되는 실시예와 첨부된 도면은 본 발명에 포함되는 기술적 사상의 일부를 예시적으로 설명하는 것에 불과하다. 따라서 본 명세서에 개시된 실시예들은 본 발명의 기술적 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이므로, 이러한 실시예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가 한정되는 것이 아님은 자명하다. 본 발명의 명세서 및 도면에 포함된 기술적 사상의 범위 내에서 당해 기술분야에 있어서의 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 유추할 수 있는 변형 예와 구체적인 실시 예는 모두 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

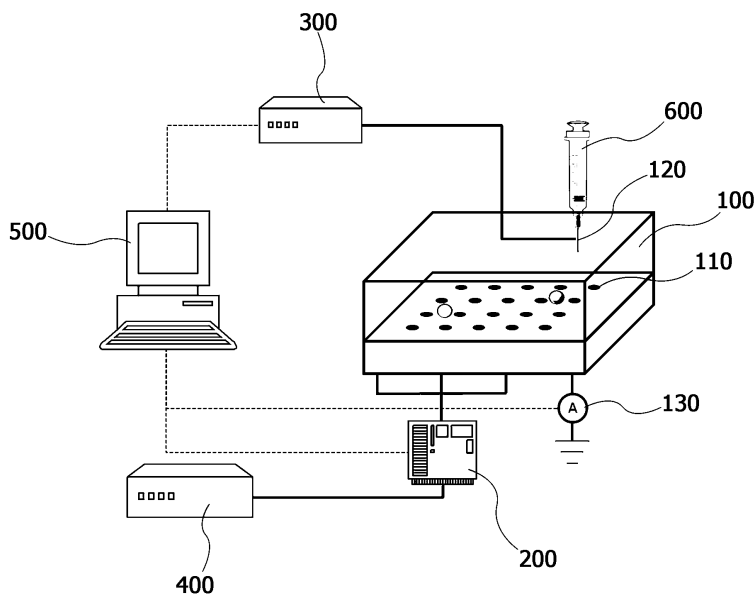
**부호의 설명**

[0090]

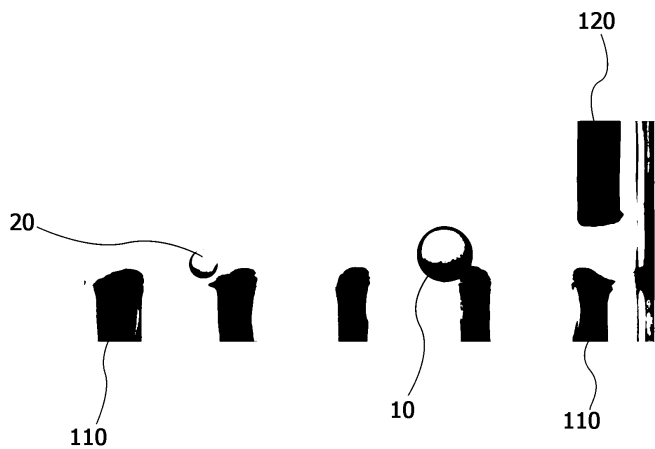
- 10: 제 1액적
- 20: 제 2액적
- 30: 혼합 액적
- 100: 전기천공 기기
- 110: 액적구동용 전극
- 120: 전기천공용 전극
- 130: 전류계
- 140: 관찰부
- 200: 제 1전원부
- 300: 제 2전원부
- 400: 제어부
- 500: 제어용 컴퓨터
- 600: 주사기

**도면**

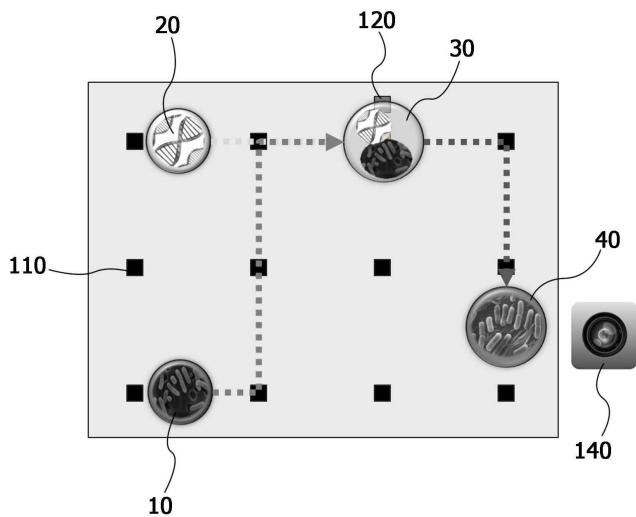
**도면1**



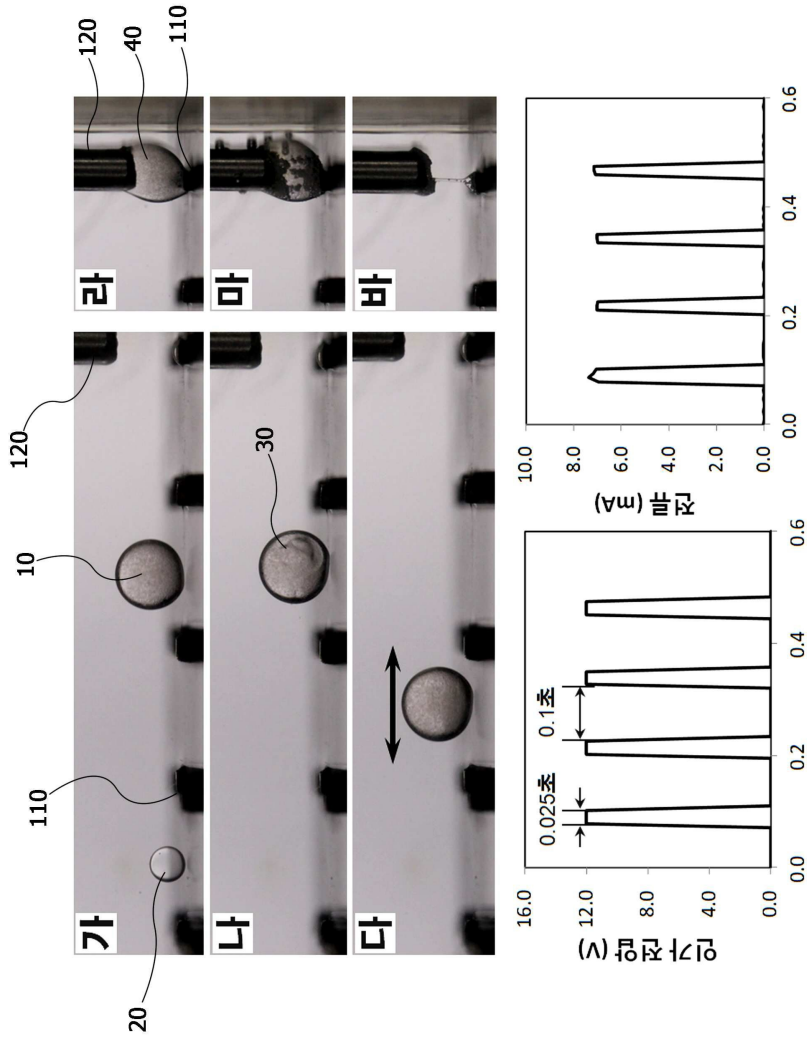
도면2



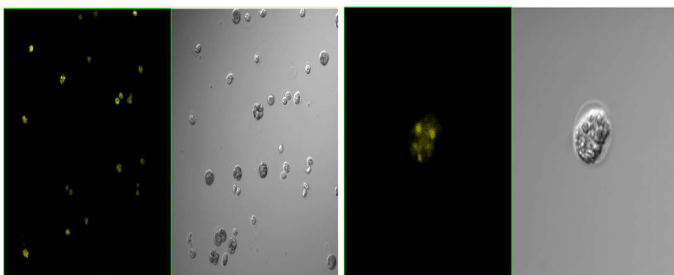
도면3



도면4



도면5



도면6

