

혈액분석기용 유체소자의 설계기술 개발

김재윤* · 김덕종* · 허필우* · 박상진* · 윤의수*

Micro Fluidic Component for a Blood Analysis System

Jae Yun Kim*, Duckjong Kim*, Pil Woo Heo*, Sang-Jin Park*, Eui Soo Yoon*

Key Words : Blood Analysis System(혈액분석기), Micro Fluidic Component(미세유체소자), Micro Blood Separator(미세혈액분리기), Hemoglobin(헤모글로빈)

ABSTRACT

The miniaturization and integration are trend of modern blood analyses. Micro-Bio-Fluidics plays an important role in a micro blood analysis system. In this paper, analysis and design technology for blood analysis system is presented. Numerical simulations of a blood flow in micro separator and reservoir are conducted. As a result, we suggest on-chip micro separator, which performed plasma separation from whole blood in micro channels.

1. 서론

21세기 들어 인간의 풍요로운 생활과 생명연장의 꿈을 실현하기 위해 생명공학의 중요성이 날이 부각되고 있다. 많은 전문가들이 질병의 예방, 진단 및 신약 개발 산업은 앞으로 중요한 산업분야가 될 것으로 예상하고 있으며 NT, BT, IT 등의 융합기술 개발이 세계적인 화두로 떠오르고 있다. 현재까지 이러한 융합기술은 주로 DNA chip, 단백질 chip 등으로 구현되어 유전자 분석 및 조작 기술을 통한 신약개발 등으로 응용되고 있다.⁽¹⁾

이 분야는 미국, 유럽, 일본 등의 선진국이 세계시장을 독점하고 있고, 생명공학 분야의 대부분의 특허를 보유하고 있어, 상대적으로 후발국인 우리나라의 경우 기술 종속화가 크게 우려되고 있는 현실이다. 그러나, 융합기술의 중요한 툴(tool)은 극미세 구조체 형성기술로서, 반도체 공정 기술력을 보유한 우리나라가 상대

적으로 유리한 상황이며, 이러한 경쟁력을 살려서 효과적이고 지속적인 연구개발을 수행한다면 향후 선진국과 나란히 경쟁할 수 있는 가능성은 충분하다.

그럼에도 불구하고 이렇게 개발되는 기술들이 이미 선진국이 선점한 BT기술에만 적용될 경우 경쟁력이 약화될 우려가 있으므로, 기존의 분야(DNA chip, 단백질 chip 등) 이외의 다양한 응용분야 개발이 매우 중요하다.

의료진단을 위한 혈액분석기 분야는 유전자 조작, 신약 개발 장비 등의 분야보다 경쟁이 덜 한편이고, NT/BT를 이용한 소형화, 현장진단화(POC) 구현은 기존의 제품 및 기술 등을 매우 손쉽게 대체 할 수 있어서, 우리나라가 도전할 만한 좋은 응용분야가 될 것으로 예상된다.

이러한, 극소형 혈액분석기를 구현하기 위해서는 극미세 혈액을 다루는 기술과 필요한 신호들을 검출하여 혈액의 상태를 측정하는 기술이 필요하다. 극미세 혈액처리기술에는 미세 생체 유동기술을 기반으로 하는 용혈, 혼합, 분리, 이송 등의 기술이 포함된다.⁽²⁾

* 한국기계연구원

E-mail : kimjy@kimm.re.kr

현재 상용화되어 있는 혈액분석기들은 필요한 혈액량도 많고 분석시간이 오래 걸려서, 조작중에 시료의 오염 확률이 높고 사용자들이 위험에 노출되기 쉬운 단점을 지니고 있다.⁽³⁾

따라서 많은 연구자들이 혈액분석기를 소형화하고 하나의 칩으로 집적화할 수 있는 기술을 개발하고 있다. 특히 분석의 정밀도를 향상시키기 위해서 혈액내의 혈구와 혈장성분을 효과적으로 분리할 수 있는 다양한 형태의 미세구조물에 관한 연구도 매우 활발히 진행되고 있다.⁽⁴⁻⁶⁾

본 연구에서는 혈액분석기에 응용할 수 있는 미세유체소자들에 대한 해석을 수행하였으며, 이를 통하여 미세 펌프, 미세 혈액분리기 등의 설계자료를 도출하였다.

2. 혈액분석기 (Blood Analysis System)

2.1. 개발현황 및 전망

현재 혈액 검사 방식은 대부분이 정맥에서 대량의 혈액을 채혈하여 자동화 된 커다란 분석 장비에서 처리하는 방식으로 혈액 채혈에서 결과 도출까지 장시간이 소요되며, 당뇨측정기 등 일부 품목만이 휴대용으로 사용되고 있다.

그러나 건강한 삶에 대한 인류의 욕구가 높아짐에 따라 휴대폰처럼 개인들이 자신의 건강을 수시로 점검하고 병원과의 네트워크를 통해 진단과 치료를 수행할 수 있는 현장진단기기(Point-Of-Care Testing, POCT)에 대한 연구가 활발히 진행중이다. 이를 가능하게 하기 위해서는 장치의 극소화 기술이 필요하기 때문에 칩 형태의 진단기기가 주목받고 있다. 이러한 혈액분석기기의 개발 현황 및 전망을 Fig. 1로 정리하였으며, 이를 보다 알기 쉽게 Fig. 2에 제품의 크기변화를 나타내었다.

POCT를 위해서는 정맥혈이 아닌 모세혈 사용이 필수적이며, 그 부피는 현재 micro-liter급 이다. 최근 10년간의 혈액사용량의 경향으로 볼 때, 향후 5년 이내에는 10 nano-liter급, 10년 이내에는 수 nano-liter급 혈액만으로 측정이 가능한 시스템이 구현되어야 할 것으로 보인다. 특히, 다종의 생체인식물질을 검출하는 시스템의 경우, 단일 생체인식물질에 필요한 혈액의 부피는 나노, 피코 볼륨이며, 혈액 속의 고형 성분(적혈구, 백혈구, 등)을 제외한 유체의 부피는 더 작다.

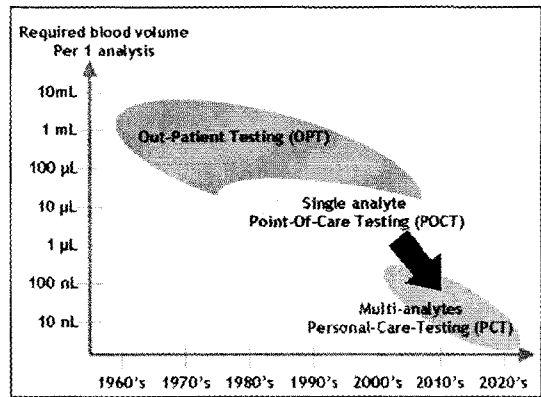


Fig. 1 Trend of Blood Analysis system



Fig. 2 Tendency of Blood Analysis system size

Table 1 Trend of Blood Analysis system spec.

	현재	5년 이내	10년 이내
채혈되는 혈액부피	1 ~ 10 uL	100 nL 전후	100 nL 이하
분석 대상 물질 수	1	4개 이상	10개 전후
분석 물질 당 소요 혈액부피	1 uL 이상	30 nL 이하	10 nL 이하
유동장 채널의 구조적 크기	100 um 급	10 um 이하	수 um
시스템의 유동장 선포	100 um 급	100nm 이하	10 nm 전후
검출되는 신호 크기 (uA)	uA	pA	fA

Table 1에 나타내었듯이 혈액 부피가 nano-liter 이하로 축소될 경우, 분석하는 시스템의 구조적 단위 (structural dimension)은 micro/nano-meter 스케일이 되어야 하며, 이 경우, 검출 신호의 크기가 pico ampere 이하가 된다. 따라서 검출신호의 증폭을 위한 nano 구조체 형성 및 nano/pico-liter 유체의 조절 및 해석기술이 절실하다.

극미세 혈액분석의 경우, 상대적으로 체내에 적은

양으로 존재하는 생체분자를 분석하기 위해서는 원하는 생체성분만을 혈액 시료로부터 선택적으로 구별해서 고감도로 검출할 수 있는 센서기술과 측정에 방해요인이 되는 간섭물질을 제거해 주기 위한 전처리 과정 등이 매우 중요하다. 또한 액체시료를 수 nanoliter/second의 속도로서 이동시킬 수 있는 유체조작기술과 채널 내부의 소수성(hydrophobicity) 조절 기술 등이 중요하다.

특히 의료용 혈액분석시스템을 개발하기 위해서는 반응 및 세척 등 일련의 분석과정이 칩 상에서 일어날 수 있도록 시료 전처리 과정 등이 자동화되고 간편화되어야 하며 효율적인 검출원리에 의한 센서 감도의 증진, 무통증의 혈액 채취방법의 제공, 소량의 유체를 다루기 위한 미세 혈액 유동 해석기술 등이 매우 중요하다.⁽⁷⁾

미래형 혈액분석기를 개발하기 위한 요소기술들을 좀 더 자세히 기술하면, 우선 혈액량 감소를 위해서 유효 혈액 성분을 추출할 수 있는 분리, 정제기술이 요구된다. 또한 장치 크기를 최소화하기 위하여 극미세 구조체 제작 및 미세 혈액 유동 제어기술이 필요하며 이를 위해서는 미세 펌프, 믹서, 채널 등의 해석, 설계, 제작기술이 요구된다. 장비의 정밀도 및 신뢰성을 향상시키기 위해서 생체내의 특정 인자들을 고정화 혹은 제거하는 기술 및 미세 신호를 증폭하고 감지하는 기술 등이 필요하다.

이렇듯 혈액분석기라는 바이오 장비를 개발하기 위해서는 기계, 전자, 생물, 화학 등의 다양한 전문기술이 종합적으로 집약되어야 하며, 이를 위해서 본 연구는 바이오 벤처를 중심으로 연구소 및 대학들이 유기적으로 결합되어 다학제적으로 진행되고 있다.

2.2. 개발중인 혈액분석기의 개요

본 연구의 최종 목표는 혈액내의 다양한 중요 성분들을 측정할 수 있는 미세 칩을 개발하는데 있다. 간단하게 개요를 설명하면, Fig. 3에 나타냈듯이 다양한 채널구조와 미세 펌프, 분리기, 혼합기들을 이용하여 미세 혈액을 원하는데로 이송, 처리하고 전기화학 및 광학 등의 방법으로 혈액내의 여러물질들을 동시에 검출하게 된다.

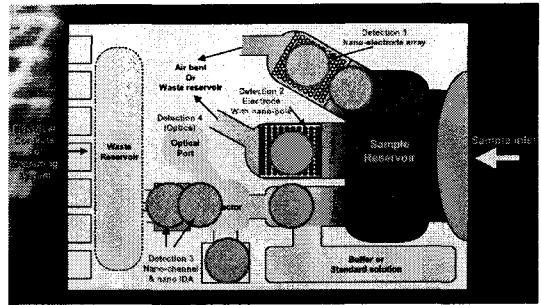


Fig. 3 Concept of BAS for multi analytes

이러한 최종목표 하에서 현재 수행하고 있는 부분은 요즘을 계속 증가하고 있는 당뇨병의 지표 중의 하나인 헤모글로빈 검출에 사용할 혈액분석기 개발이다.

이 장비의 주요 구성요소로는 미세 혈액을 구동할 마이크로 펌프, 적혈구등을 깨뜨릴 용혈기, 다양한 마이크로 채널, 신호를 검출할 전극 등이 있으며 Fig. 4에 개념도를 Fig. 5에 구성도를 나타내었다.



Fig. 4 Concept of BAS for single analyte (Hb)

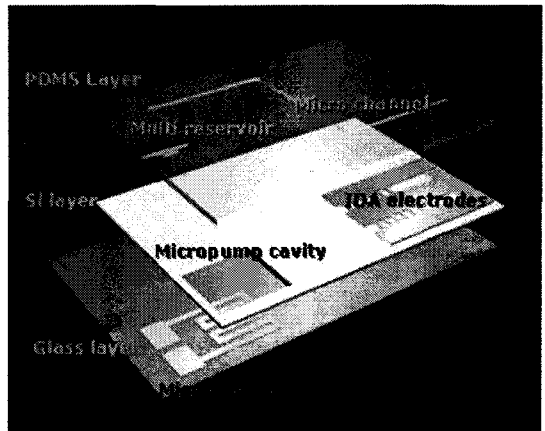


Fig. 5 Diagram of BAS for single analyte (Hb)

이와 같은 구성 요소들을 실제로 구현하고, 이를 하나의 칩상에 집적화하는 것이 현재 진행중인 연구의 주요 내용이다. 또한 의료용 혈액분석시스템을 개발하기 위해 선행되어야 할 공정 요소 기술들을 개발하고, 이를 기반으로 혈액 중에 존재하는 임상학적 중요 인자를 종합적이고 총체적으로 분석할 수 있는 의료용 나노 스케일 혈액분석 시스템(Nano-scale Blood Analysis System)에 응용할 계획이다.

본 논문에서는 혈액분석기의 주요 유체소자 중에서 마이크로 레저버와 혈액분리기에 관한 연구내용을 중심으로 그동안의 결과를 기술하고자 한다.

3. 연구 내용

3.1. Blood reservoir 해석 및 설계

본 연구에서는 혈액의 구동을 위해서 미세 산소펌프를 사용한다. 따라서 Fig. 6과 같은 산소펌프가 구동력으로 작동하고 있는 Blood reservoir 내의 혈액 유동을 상용 해석 프로그램인 CoventorWare로 해석함으로써 유로의 형상 및 표면 상태가 혈액 유동에 미치는 영향을 조사하였다.⁽⁸⁾ 혈액은 용해된 상태이기 때문에 Newtonian fluid로 취급하였으며, 입·출구의 폭은 각각 800 μm, 200 μm이며 유로의 형상은 $\theta = 18.4^\circ, 70.6^\circ$ 의 두 가지 경우에 대해서, 표면 상태는 접촉각이 0° (친수성), 120° (소수성)의 경우에 대해서 해석을 수행하였다.

Fig. 7은 산소가 유입된 지 0.001초가 경과되었을 때의 혈액 위치를 보여주고 있다. 계산 결과에서 볼 수 있는 것처럼 유로의 폭이 얼마나 급격히 줄어드느냐(θ)는 혈액 유동에 미치는 영향이 미미하였으며 표면 상태에 따라 혈액이 밀려가는 양상이 달라짐을 확인할 수 있었다.

입구면에 주어지는 압력이 1kPa인 경우 혈액 평균 유속은 친수성 표면의 경우 56.9 mm/s, 소수성 표면의 경우 60.2 mm/s로 나타나 요구되는 유속이 보다 크면 입구면에 보다 큰 압력이 주어지도록, 그 반대의 경우 압력을 줄이는 방향으로 산소 펌프의 용량을 결정하여야 함을 알 수 있었다.

이러한 해석들을 통하여 원하는 혈액속도 및 유량을 만족하기 위한 reservoir의 형상 및 산소 펌프의 용량에 관한 설계 자료를 도출할 수 있었다.

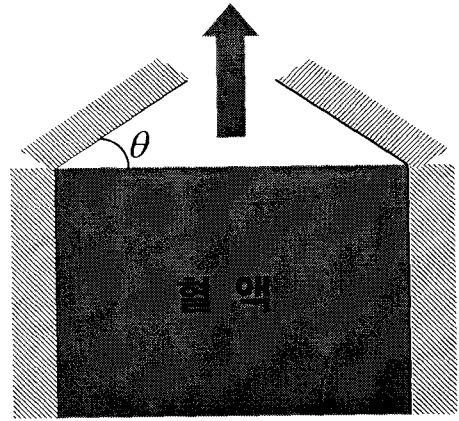


Fig. 6 Schematic of reservoir with O₂ pump

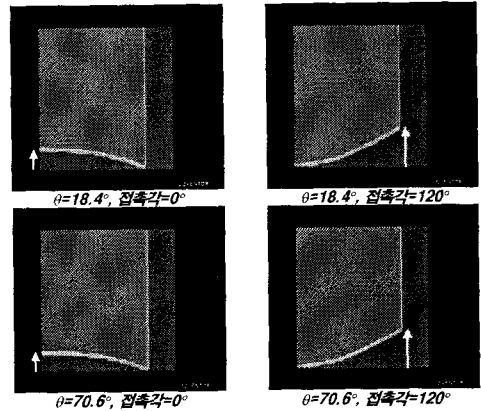


Fig. 7 Blood flow in reservoir

3.2. Micro blood separator 해석 및 실험

피는 혈구와 혈장 성분으로 구성되는데 각 성분마다 서로 다른 검사에 사용되기 때문에 정확한 혈액 검사를 위해서는 혈구와 혈장을 분리하는 것이 중요하다. 전통적으로 혈구와 혈장의 분리에는 원심분리가 사용되어 왔지만 소형화에 한계가 있어 Chip 형태로 집적 가능한 새로운 Micro blood Separator의 개발이 필요한 실정이다.

본 연구에서는 Fig. 8과 같이 기계적인 방식으로 혈구와 혈장을 분리해 내는 새로운 Micro blood

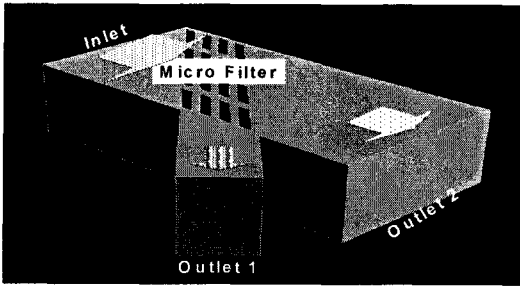


Fig. 8 Mechanical micro blood separator

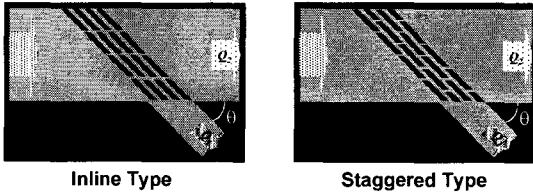


Fig. 9 Two types of micro blood separator

separator에 대한 연구를 수행하였다. 작동 방식을 살펴보면 전혈이 유입되어 Pin Fin 형상의 Micro Filter를 통과하면서 혈구 성분들은 주로 Outlet 1으로 유도되고 혈장 성분들은 주로 Outlet 2로 전달되어 두 성분을 분리하게 된다.

이러한 개념의 혈액분리기를 해석하기 위해서 Fig. 9와 같이 두 가지 형태의 혈액분리기에 대해 θ 의 변화가 혈장 유동에 미치는 영향을 살펴보았다. 또한 해석 결과를 검증하기 위해서 직접 혈액분리기를 설계하여 제작하여 성능실험을 수행하였다.

Micro blood separator는 미세 유로가 새겨진 Silicon 판과 그 위를 덮는 PDMS 판으로 이루어져 있으며 제작 공정은 Fig. 10과 같이 매우 간단하여 표준 반도체 공정에 해당하는 Thermal Oxidation, PR Spin Coating, Photo Lithography, Deep RIE, PDMS Bonding의 5단계를 거치면 Micro blood separator가 완성된다. Fig. 11은 실제 제작된 Micro blood separator의 사진으로 Inline 형태, Staggered 형태 각각을 3가지씩 제작하였다.⁽⁹⁾

제작된 Micro blood separator의 성능 시험을 위한 장치를 구성하였다. Syringe pump를 이용하여 혈액을 Micro blood separator 내에 주입한 후 현미경을 이용하여 혈구의 움직임을 관찰하였으며 Outlet 1, Outlet 2 각각으로 배출되는 혈액의 양을 측정하고 혈구 성분의 비율을 Hematocrit 시험으로 측정하였다.

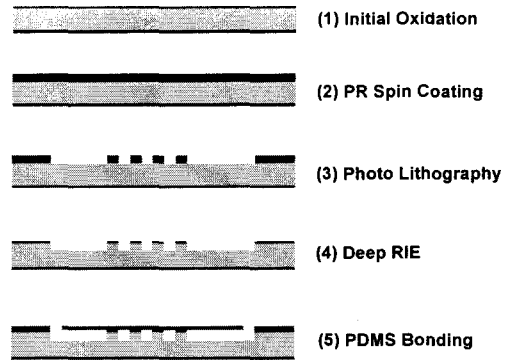


Fig. 10 Proces for micro blood separator fabrication

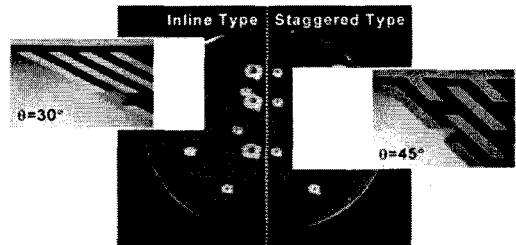


Fig. 11 Photography of micro blood separator

혈구에 의한 막힘 정도를 알아보기 위해 혈구 성분을 배제한 수치 계산 결과와 실험 결과를 비교하여 보았다. 수치 계산에는 Finite Volume Method가 사용되었으며 식 (1)과 같이 정의되는, 각 출구로 배출되는 유량간 비, I_{ps} 계산값을 실험 결과와 비교하였다.

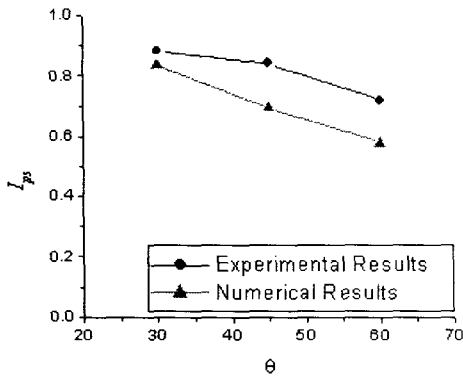
$$I_{ps} = \frac{Q_2}{Q_1 + Q_2} \quad (1)$$

여기서 Q_1 , Q_2 는 각각 Outlet 1, Outlet 2로 배출되는 혈장 유량을 나타낸다. Fig 12에서 볼 수 있는 것처럼 Inline 형태의 경우 실험 결과와 혈구에 의한 막힘 현상을 배제한 수치 계산 결과가 유사한 반면, Staggered 형태의 경우 차이가 뚜렷한 것으로 나타났으며 이는 Staggered 형태의 경우가 Inline 형태보다 혈구에 의한 막힘 현상이 보다 심각함을 보여준다.

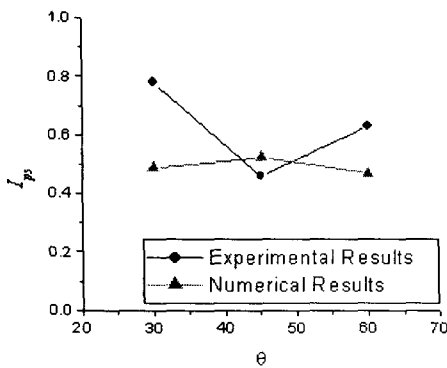
Fig 13은 Micro blood separator의 각 출구로 배출된 혈액의 혈구 비율 측정 결과를 보여 준다. Inline 형태의 경우 Outlet 1으로 배출되는 혈액의 혈구 비율을 종전의 51%에서 84%까지 높일 수 있었고 Outlet 2로 배출되는 혈액의 혈구 비율을 46%로 낮출 수 있었

다. 한편 Staggered 형태의 경우 Outlet 1으로 배출되는 혈액의 혈구 비율이 57%까지 올라갔고 Outlet 2에서의 혈구 비율은 49%까지 낮아지는 것으로 나타났다.

Micro blood separator 시제품 시험 결과를 바탕으로 보다 분리 성능을 높이고 혈구에 의한 막힘 현상을 방지하기 위한 구조적 개선 방안을 정리해 보았다. 첫째, 분리 성능을 높이기 위해서는 Outlet 2 방향으로의 최소 유로 폭이 통상적인 적혈구 지름 $8\mu\text{m}$ 보다는 작게 제작하여야 할 것이다.



(a) In-line Type

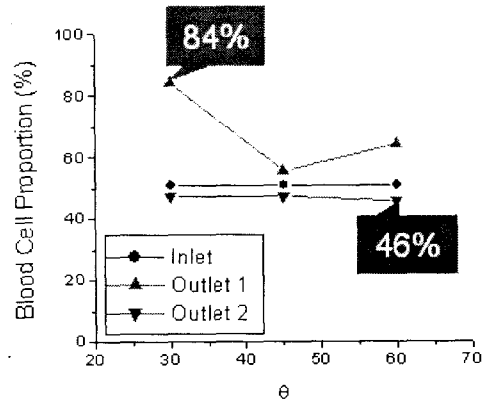


(b) Staggered Type

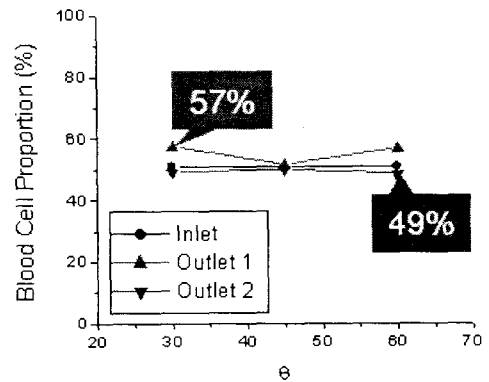
Fig. 12 Comparison Numerical Results with Experimental Results (whole blood, $100\mu\text{l}/\text{min}$)

둘째, Outlet 2 방향으로의 최소 유로 폭을 줄여서 분리 성능을 높이는 대신 4열 구조보다는 1열 구조의 미세구조물을 사용하여 혈구에 의한 막힘 현상을 최소화

화하는 것이 바람직할 것이다. 셋째, Outlet 2로의 최소 유로 폭을 줄이게 되면 혈장 성분 역시 혈구와 함께 Outlet 1으로 우회할 수 있으므로 갈라지는 두 유로간 각도를 180° 가깝게 늘려 입구-Outlet 1 경로의 유동 저항을 상대적으로 증가시킴으로써 Outlet 2로 전달되는 혈장의 양을 늘려줘야 할 것이다.



(a) In-line Type



(b) Staggered Type

Fig. 13 Blood cell production (whole blood, $100\mu\text{l}/\text{min}$)

4. 결론

바이오 장비 시장은 그 성장 가능성이 높으며 관련 기술의 혁신이 지속적으로 이루어지고 있는 초기 성장 단계의 산업이다. 이에 따라 선진국을 중심으로 많은

기업들이 미래의 경제적 기회를 확보하려 치열한 경쟁을 펼치고 있다.

특히 혈액 진단 산업분야는 세계적으로 약 40억 달러 이상(2000년 추산)의 큰 시장규모를 형성하고 있다. 더군다나 의료용 N-BAS는 아직까지 크게 대두된 적이 없으며, DNA칩 등에 비해 상대적으로 경쟁이 덜 심하다. 따라서 후발 연구로서도 개발 성과에 따라 많은 지적 재산권 확보가 가능하며 고부가가치 전략품목의 새로운 상품시장의 창출 및 선점이 가능하다.

또한 예방의학의 발달과 삶의 질을 높히려는 욕구는 신속하고 정확한 진단 시스템에 대한 요구로 이어지고 있으며, 자가 진단 시스템에 대한 수요는 폭발적으로 증가하고 있다. 의료용 N-BAS 또한 이러한 사회적 수요에 대응하는 것이며, 소형화 및 집적화를 통해 편리성, 신속 정확, 저가의 장점을 극대화시킨다면 효과적이고 저렴한 질병 조기 진단 및 치료를 통하여 인간 수명을 연장할 수 있을 것이다.

본 연구에서는 이러한 추세에 맞추어, 차세대 혈액 분석기 개발에 있어서 중요한 기술인 미세 유체 소자들에 대한 해석 및 실험을 수행하였다.

그 결과 micro reservoir의 설계 자료들을 얻을 수 있었으며, 효과적인 micro blood separator에 대한 해석 및 특성실험 데이터를 습득할 수 있었다. 향후 이러한 결과들을 바탕으로 단일 칩으로 구성된 다기능 혈액분석기에 사용할 수 있는 다양한 유체 소자들을 개발할 계획이다.

후 기

본 연구는 나노메카트로닉스 기술개발사업의 지원에 의하여 수행되었음.

참고문헌

- (1) Jing Cheng, 2001, "Biochip Technology", hap, pp. 1-16
- (2) M. Elwenspok, T.S.J. Lammerink, 1994, "Towards integrated microliquid handling systems", J.Micromech. Microeng., pp. 227~245
- (3) Xiaohai Yang, 2004, "Interchannel microstructure for separation and analyses of plasma from whole blood", Micro TAS 2004, Kluwer Academic publishers, Vol.1, pp. 120-122
- (4) K. Lidia, H.Kawaura, Micro TAS 2002, Kluwer Academic publishers, Vol.1, pp. 627-629
- (5) B.He, L.Tan, F.Reginer, 1999, Anal. Chem., 71, pp. 1464-1468
- (6) K. Sato, M. Yamanka, M. Tokeshi, 2002, Micro TAS 2004, Kluwer Academic publishers, pp. 190-192
- (7) Elisabeth Verpoorte, 2002, "Microfluidic chips for clinical and forensic analysis", Electrophoresis, Vol. 23, pp. 677-712
- (8) Cavalcanti, S, 1993, "Influence of blood flow on the longitudinal impedance in arteries, Computational Biomedicine, pp. 125-132
- (9) S. Shoji, 1999, "Microfabrication technologies and micro flow devices chemical and bio-chemical micro flow systems, Conf. Microprocesses and Nanotechnology, pp. 72-73