

미세 유체장치 내에서 Poly(Ethylene Glycol)과 Dextran 용액의 상 형성 특성 연구

최주형¹, 장우진², 이상우³

¹인하대학교 생물공학과

²인하대학교 초정밀생물분리기술연구센터

³연세대학교 의공학부

(Received January 17, 2007. Accepted March 2, 2007)

Phase-Separation Properties of Poly(Ethylene Glycol) And Dextran Solutions In Microfluidic Device

Joo-Hyung Choi¹, Woo-Jin Chang², Sang-Woo Lee³

¹Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon, Korea

²ERC for Advanced Bioseparation Technology, Inha University, Incheon, Korea

³Department of Biomedical Engineering, Wonju, Korea

Abstract

Fluidic conditions for the separation of phases were surveyed in a microfluidic aqueous two-phase extraction system. The infusion ratio between polyethylene glycol (PEG) and dextran solution defines the concentrations of each polymer in micro-channel, which determine the phase-separation. The appropriate ratio between PEG (M.W. 8000, 10%, w/v) and dextran T500 (M.W. 500000, 5%, w/v) in order to perform the separation of phases of both polymers was observed as changing the mixed ratio of both polymers. Based on the fluidic conditions, stable two-phase solutions were obtained within 4% to 8% and 3% to 1% of PEG and dextran, respectively. In addition, the characteristics of the two-phase were discussed. The separation technique studied in the paper can be applied for the implementation of a lab-on-a chip which can detect various biological entities such cells, bacterium, and virus in an integrated manner using built in a biosensor inside the chip.

Key words : microfluidic device, phase-separation, aqueous two-phase, extraction

1. 서 론

1990년대 초 Manz, Harrison, Ramsey 등이 분석 시스템을 소형화한 마이크로칩을 처음 제시한 이래[1,2] 랩온어칩 (lab-on-a-chip)에 대한 관심이 급증하였다. Micro-total analysis system(μ -TAS) 또는 microfluidic device로도 불리는 랩온어칩은 시료의 전처리, 반응, 분리, 분석, 결과분석 등 특정 물질의 분석

에 필요한 일련의 모든 과정을 하나의 소형 기관 위에 집적함으로써, 특정 물질의 대량생산에 사용될 뿐만 아니라 필요한 장소에서 필요한 시기에 관심 물질의 분석을 즉시 수행하는 것을 목적으로 한다. 랩온어칩은 실리콘이나 폴리머 재질의 기관 위에 용액이 이송될 수 있는 수백 마이크로미터 이하의 미세 채널을 제작하고, 소형화된 펌프 및 밸브 등의 장치를 이용할 뿐만 아니라 분석에 필요한 일련의 과정들을 수행함으로써 기존의 분석장치에 비하여 다양한 장점을 가진다.

랩온어칩의 장점으로는 적은 양의 시료 및 시약 사용, 짧은 분석 시간 등으로 인한 분석 비용 절감, 높은 정밀도 및 정확도 확보, 전 과정의 자동화로 비전문가도 사용이 용이, 휴대가 간편하므로 현장에서의 분석이 가능하다는 점 등이 있다. 따라서 micro-array 기반의 바이오칩과 연결되거나 독립적인 분석 장치로서 바이오칩 분야를 주도할 기술로 주목받고 있다[3, 4].

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구 개발사업(R01-2005-000-10927-0)의 지원으로 진행되었으며, 이에 감사드립니다.

Corresponding Author : 이상우

강원도 원주시 흥업면 매지리 234 연세대학교 의공학부

Tel : +82-33-760-2791 / Fax : +82-33- 560-2197

E-mail : yusuklee@yonsei.ac.kr

Corresponding Author : 장우진

인천시 남구 용연동 253 인하대학교 초정밀생물분리기술연구센터

Tel : +82-32-860-8735 / Fax : +82-32-873-2773

E-mail : wjchang@inha.ac.kr

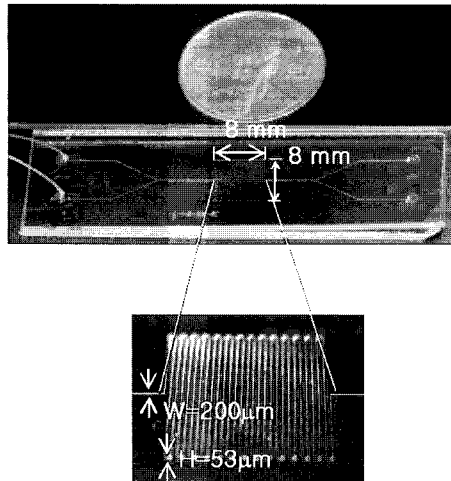


그림 1. 실험에 사용된 PDMS 기반의 랩온어칩 사진 및 규격
 Fig. 1. Optical micrograph of the microfluidic device used in this experiments

미세채널 내에서 시료와 용액을 이송하면서 물질분석에 필요한 모든 과정을 수행하는 랩온어칩 기술에서는 펌프 및 밸브[5], mixer[6] 등 용액의 제어를 위한 기술뿐 아니라 극미량으로 존재하는 물질을 검출하기 위한 광학적, 전기적 검출방법 등 [7] 적절한 구성 요소들의 개발과 이용이 매우 중요하므로 이에 대한 다양한 연구가 활발히 진행되어왔다. 특히 혈액, 체액과 같은 생물시료의 경우 분석 대상 물질과 유사한 특성을 갖는 수많은 물질들이 섞여 있으므로 목적 물질을 효율적으로 분리하기 위한 기술의 보유 여부는 랩온어칩의 구조를 단순화시키고 기능을 향상시키며, 분석 오류를 최소화할 수 있는 핵심 기술이다. 현재까지 랩온어칩 내에서 용액의 흐름을 제어함과 동시에 물질분리를 수행할 수 있는 고전압을 이용한 모세관 전기영동 기법이 널리 사용되고 있다 [8, 9]. 이외에도 chromatography[10], 추출[11], filtration[12] 등 물질의 분리에 필요한 다양한 기법들이 랩온어칩 상에서 구현된 바 있다.

수성이상계 추출법은 수용액 내에 서로 다른 두 개 이상의 고분자물질들 또는 고분자물질과 염, 올리고당, 계면활성제 등을 동시에 용해[13, 14]시키는 경우 특정 농도 이상에서 서로 섞이지 않는 두 개의 상이 형성되는 것을 이용한 분리기법이다[15]. 수성이상계 내에 첨가된 물질들은 조성되는 계의 특성에 따라 두 상 중 선호하는 한쪽 상에 더 높은 농도로 존재하게 되는데, 적절한 조건에서 다수의 물질들이 서로 다른 상을 선호하도록 수성이상계를 구성할 수 있다. 이 때 분리하고자 하는 물질이 높은 농도로 존재하는 상만을 회수함으로써 물질 분리를 수행하는 수성이상계에서의 물질 분리법은 일반적으로 유기용매를 이용하는 추출법과 동일하다. 그러나 일반적인 유기용매를 이용하는 추출과 달리 수성이상계에서 각 상은 60-90% 정도의 수용액을 포함[16] 하므로 생물물질의 안정성 유지에 유리하며, 상 형성 물질의 종류 및 농도에 따라 다양한 상의 형성이 가능한 장점이 있다[17]. 이러한 수성이상계 기술을 랩온어칩에 적용하는 경우 섞이지 않는 두 용액 사이에서 특정 물

질이 분배되는 차이를 이용하는 추출 기법을 마이크로 채널 내에서 활용하여 물질 분리를 용이하게 수행할 수 있다. 특히 연속 흐름을 유지하면서 생물물질의 분리를 수행할 수 있어 밸브와 같이 추가적인 장치를 제거할 수 있는 장점이 있다. 현재까지 랩온어칩 상에서 식물세포[18]와 동물세포[19]의 분리를 수행한 결과가 보고된 바 있으며, 본 기술은 랩온어칩에 대한 적용이 간단하고 생물물질의 안정성 확보에 유리하므로 향후 그 활용도가 증가할 것으로 예상된다.

본 연구에서는 랩온어칩 상에서 세포 또는 항체와 같은 생물물질을 효과적으로 분리함과 동시에 안정성을 확보할 수 있는 microfluidic aqueous two-phase extraction system (MATPES)에 있어 상 분리 특성을 연구하였다. 특히 용액의 연속 흐름을 유지하면서 미세채널 내에서 상 분리가 안정적으로 일어날 수 있는 고분자용액의 주입속도 및 비율을 결정하고, 이 때 형성되는 상의 부피비를 측정하여 고분자물질의 농도와 각 상의 부피의 상관관계를 고찰하였다.

II. 방법론

A. 랩온어칩의 제작

Poly(dimethyl siloxane)(PDMS) 기반의 랩온어칩 제작을 위하여 soft lithography법을 이용하였다. Soft lithography 법은 널리 알려져 있으므로[20, 21] 간단히 설명하면, 우선 AutoCad를 이용하여 디자인된 도면을 film mask로 제작(Nanosys Co., Korea)하였다. 본 실험을 위하여 제작된 디자인은 각각 2개의 inlet과 outlet을 가지며, 마이크로 채널의 크기는 폭 200 μm, 높이 53 μm, 길이 176 mm이고, 상 분리가 일어나는 내부 부피는 2.0 μl로 계산되었다. 칩의 중간에는 serpentine 모양의 마이크로 채널을 제작하여 전체 길이를 증가시켰다. 이후 mask aligner(MA3,

(A)	(B)	(C)
PEG 0.35	PEG 0.40	PEG 0.50
Dextran 0.65	Dextran 0.60	Dextran 0.50
(D)	(E)	(F)
PEG 0.60	PEG 0.65	PEG 0.80
Dextran 0.40	Dextran 0.35	Dextran 0.20
(G)		
PEG 0.90		
Dextran 0.10		

그림 2. PEG (M.W. 8000, 10%, w/v)와 dextran (M.W. 500000, 5%, w/v) 용액의 주입속도에 따른 마이크로 채널 내에서의 상 형성 특성.

Fig. 2. Phase-separation properties in micro-channel with varying infusion rate of PEG (M.W. 8000, 10%, w/v) and dextran (M.W. 500000, 5%, w/v) solutions.

Karl Suss Co., USA)와 negative photoresist인 SU-8(Micro Chem Co., USA)을 이용하여 미세채널을 위한 패턴이 양각으로 된 마스터를 제작하였다. PDMS molding에는 PDMS(Sylgard 184, Dow Corning Co., USA) prepolymer와 curing agent를 10:1의 비율로 혼합한 용액을 petri-dish 내에 고정된 마스터 위에 부은 후 45°C에서 12시간 동안 보존하여 가교결합 반응이 완결되도록 하였다. PDMS molding 이전에 제작된 마스터를 trichloro (3,3,3-trifluoropropyl) silane(Aldrich Chemical Co, USA)로 증착 처리함으로써 molding 중 PDMS가 마스터에 결합되는 것을 방지하였다. 이후 scalpel을 이용하여 필요한 부분만을 잘라내고 마스터로부터 떼어내어 용액의 주입을 위한 port를 hole-puncher 로 제작하였다. 패턴이 포함되지 않은 PDMS plate를 soft lithography를 제외한 동일한 방법으로 제작하고, 패턴을 포함한 PDMS와 플라즈마 처리(Testlar coil, Fisher Scientific Co.)에 의하여 결합시켰다. 이후 Teflon tubing(06417-72, Cole-Parmer Instrument Co., USA)을 제작된 port에 삽입한 후 PDMS로 접착시켜 외부로의 연결이 가능하게 하였다. 완성된 랩온어칩의 사진을 그림 1에 도시하였다.

B. 실험 및 분석

마이크로 채널 내에서 두 고분자 용액 사이의 상 형성 특성을 관찰하기 위하여 polyethylene glycol(PEG, M.W. 8000, 10%, w/v, Sigma-Aldrich Co., USA)와 dextran T500(M.W. 500000, 5%, w/v, GE Healthcare Co., USA)을 선정하였다. 이 두 고분자물질은 앞선 CHO-K1 세포의 분획[19]과 효소 분리[22] 실험에서 선정된 것으로 타 동물세포의 분리에도 유리할 것으로 판단하였다. 고분자 물질들은 pH 6.6으로 적정된 PBS(phosphate buffered saline) 용액에 용해시켜 사용하였다. 용액의 주입은 micro-syringe (50µl, ILS Co., Germany)와 두 대의syringe pump(250I, World Precision Instrument, Inc., USA)를 이용하였다.

마이크로 채널 내에서의 상 형성 여부와 계면의 위치는 형광 현미경(BX51, Olympus Co., Japan)과 CCD camera (KP-D20BU, Hitachi Co., Japan)를 이용하여 칩의 outlet 부분을 촬영한 후 image 분석을 통하여 결정하였다. 현미경 상의 확대 배율은 20으로 하고 DIC 모드를 이용하여 계면의 음영이 강조되도록 하였다. 상 형성 여부는 마이크로 채널 내에서 각 용액의 주입 후 약175 mm 지점에서 용액의 흐름 방향과 수평으로 형성되는 계면의 형성 여부를 기준으로 판정하였다. 마이크로 채널 내에서의 계면의 위치는ImageJ (NIH, USA) 프로그램을 이용하여 마이크로 채널과 수직 방향으로 profile을 스캔한 결과를 기준으로 결정하였다. 이것을기준으로 마이크로 채널 내에서 계면의 위치를 수치화한 후 고분자 농도에 따른 계면의 위치를 계산하였다.

III. 결과 및 토론

A. 고분자용액의 주입속도 및 비율에 따른 상 분리 특성

두 고분자용액의 유속을 더한 총 유속을 1µl/min으로 유지하면서 주입되는 각 고분자용액의 유속 비율에 변화를 주어 상 형성 특성을 확인하였다. 그림 2에 각 고분자용액의 비율에 따른 사진을 나타내었다. 모든 그림에서 PEG 용액은 위쪽, dextran 용액은 아래쪽으로 주입하였다. PEG와dextran의 비율 4 (4%, w/v) : 6 (3%, w/v)에서 8 (8%, w/v) : 2 (1%, w/v) 사이에서 상 형성이 안정적으로 이루어지고 있다. 또한 PEG가 전체 용액 중 35% 미만 또는 90% 이상인 경우 상이 형성되지 않거나, droplet 내지는 plug 형태를 갖는 것으로 나타났다. 특히 PEG 용액을 90%로 주입한 경우(그림 2 (G)) 35%로 주입한 결과와 달리 plug 형태가 형성되는 것을 볼 때 이러한 극단적인 조건 하에서도 상의 형성이 가능하다는 것을 유추할 수 있다. 이러한 특성은 대용량에서도 관찰된 바 있으며, 아래에 좀 더 자세히 설명하였다. 본 연구에서 사용한 칩에서 두 용액의 주입구는 60o의 각도로 만나게 되는데, 각 용

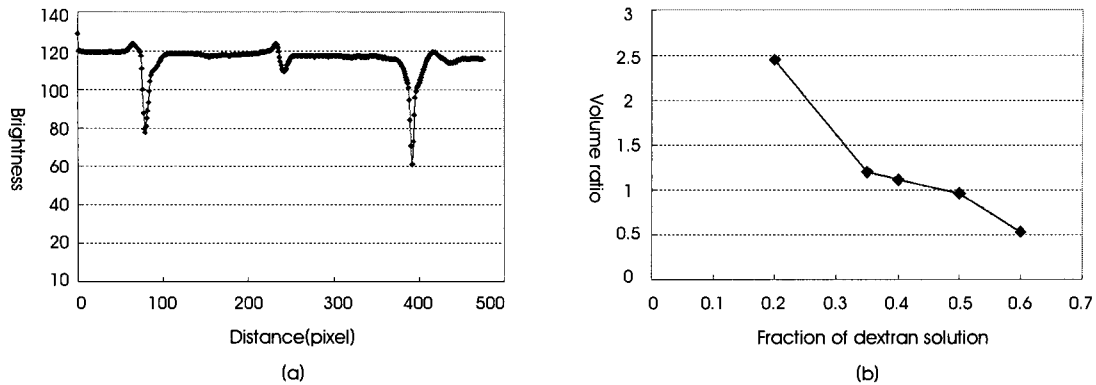


그림 3. 마이크로 채널 내에서 각 고분자 용액의 부피비를 측정 결과: (a) 두 고분자물질 사이의 계면 위치를 측정하기 위한 profile scan 결과 (b) 주입되는 용액 중 dextran 용액의 비율에 따른 PEG와 dextran 상 사이의 부피비 측정 결과

Fig. 3. Volume ratio of each polymer solution within micro-channel: (a) scanned profile across the micro-channel to measure the position of the interface between two polymer solutions (b) volume ratio between PEG phase and dextran phase along with the flow rate of dextran solution

액의 유속과 주입구의 각도에 따라 plug 형태를 갖게 된 것으로 판단된다. 따라서 칩의 구조 및 유속의 변경에 따라 plug 형태가 아닌 이상계 형태의 주입도 가능할 것으로 예상되며, 이러한 특성에 대한 추가 연구가 필요하다.

수성이상계에서 상의 형성은 각 상을 구성하는 고분자물질들 또는 고분자물질과 염 사이의 분자적 반발력에 기인한다. PEG와 dextran을 예로 들면, PEG 또는 dextran이 주변의 물분자를 경쟁적으로 포집하면서 두 개의 상으로 나뉘어 각 상에서 상대적으로 높은 농도로 존재하게 되는 것으로 알려져 있다. 따라서 이러한 상 분리 과정 중 각 상을 주로 구성하는 물질 이외의 다른 상을 주로 구성하는 물질(즉, PEG 상을 기준으로 할 때 dextran 분자)도 동시에 존재하게 된다. 예를 들어 PEG 상 내에는 PEG가 과량 존재하나, 동시에 소량의 dextran도 존재하는 것이다. 이러한 특성은 생물물질의 분리를 위한 공정의 측면에서 목적물질의 회수 이후 고분자물질들 또는 염을 제거하기 위한 추가 공정이 필요한 단점의 원인이 되기도 하며, 그 정도는 상 평형도로 나타낼 수 있다. 기존의 상 평형도 측정 연구결과에서 분자량 10,000 이하인 저분자량의 PEG와 dextran T500과 같이 고분자량의 dextran을 사용하는 경우 PEG 상 내의 dextran의 농도는 5% 미만으로 상당히 낮은 반면, dextran 상에 존재하는 PEG의 양은 10% 이상으로 높게 측정되었다. 이러한 현상을 상 형성의 관점에서 본다면, 이상계의 형성을 위해 상대적으로 낮은 농도의 dextran과 높은 농도의 PEG가 필요함을 알 수 있다.

마이크로 채널 내에서의 수성이상계 구성에서도 마찬가지로 PEG와 dextran의 구성비가 8:2인 그림 2의 (F)에서는 상이 형성되는 반면 PEG가 주입되는 부피의 35%를 차지하는 (A)에서는 상을 형성하지 않는 것으로 나타나고 있다. 이렇게 macro-와 micro-scale에서 상 형성과 관련된 특성이 유사하게 나타나므로, 랩온어칩에서의 수성이상계 구성에서도 일반적인 대규모 공정과 유사할 것을 예상할 수 있다. 랩온어칩이 아닌 일반적인 규모의 수

성이상계에서 상 형성 특성을 측정하기 위해서는 다양한 농도로 구성되는 다수의 시스템을 구성하는 것이 필수적이다. 그러나 랩온어칩을 활용함으로써 소량의 시료를 이용하여, 빠른 시간 내에 다양한 농도비에 따른 상 형성 측정이 가능하므로, 랩온어칩 내에서의 활용뿐만 아니라, 대용량 운전을 위한 조건을 선정하는 데에도 적용이 가능할 것이다.

B. 고분자용액의 주입속도 및 비율에 따른 이상계의 부피비 변화

마이크로 채널 내에서 상 형성 이후 계면의 위치를 측정하고, 고분자 농도와의 상관관계를 분석하였다. 온도, pH, 이온세기 등과 같은 일반적인 요소들 이외에 수성이상계를 구성하는 물질을 기준으로 볼 때 물질의 분배에 영향을 주는 가장 큰 요인은 이상계를 구성하는 고분자물질 또는 염의 종류, 분자량, 농도이다. 특히 동일한 분자량을 갖는 고분자 물질들이 사용된 경우에도 각각의 농도에 따른 영향이 상당히 크다. 수성이상계의 흥미로운 특성들 중 하나는 전체 용액 내에 첨가하는 고분자 물질들의 농도에 변화를 주더라도, 상 분리 이후 각 상의 부피는 변하지만 상 내부에 존재하는 고분자 물질들 각각의 농도가 같은 경우가 존재한다는 것이다. 이러한 특성은 상 평형도 내에서 binodal curve와 tie line, 그리고 고분자 물질의 농도로 표시한다[23]. 이에 대하여 간단히 설명하면, 동일한 tie line 상에 존재하는 두 가지 농도조성을 선택할 때 각각을 조성하는 PEG와 dextran의 농도는 다르나 동일한 tie line 상에 존재하는 조성을 선정할 수 있다. 이렇게 선정된 조건으로 이상계를 구성하면, 결과적으로 형성된 두 상들 중 PEG로 구성되는 상들과 dextran으로 구성되는 상들의 고분자 물질 농도가 동일하게 된다. 이 때 최초에 첨가한 고분자 물질들의 농도가 다르면서도 각 상에서의 농도는 같을 수 있는 이유는 최종적으로 형성되는 이상계의 부피비가 다르기 때문이다. 예를 들어 수성이상계 형성을 위한 특정 고분자 물질의 농도조건과 동일한 tie line 상에 존재하면서

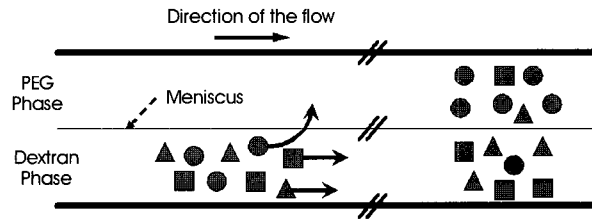


그림 4. 목적물질 분리 및 회수를 위한 MATPES 이용의 모식도. 화살표: 각 물질의 이동 방향, ● : 분리 목적 물질, ■ : 불순물 1, ▲ : 불순물 2
 Fig. 4. Schematic drawing of the separation and recovery of target molecule from the mixture. Solid arrow: direction of the movement of molecules, ● : target molecule to be separated, ■ : impurity 1, ▲ : impurity 2

PEG는 과량, dextran은 소량 첨가할 수 있으며, 이 때 과량의 PEG와 미량의 dextran으로 구성되는 수성이상계에서 PEG 상의 부피는 증가하면서 동시에 dextran 상의 부피는 감소하여 실제 각 상에서의 PEG와 dextran 농도는 기준 수성이상계와 비교할 때 같은 농도가 되는 것이다.

랩온어칩 상에서 수성이상계 기법을 적용하기 위해서는 대상 물질과 불순물 사이에 높은 선택성을 갖는 조건을 선정하는 것이 중요하다, 물질의 분석에 필요한 여러 과정을 하나의 칩 상에 집적하여 분리 및 분석 효율을 높이고자 하는 랩온어칩의 목표를 생각할 때 타 단계와의 연계성을 고려해야 한다. 이를 위해서는 마이크로 채널 내부에서 형성되는 두 상의 부피비를 고려해야 한다. 즉 높은 선택성을 유지하면서도 적절한 수준 이상의 부피를 확보하여 목적 물질의 분리 이후 반응, 검출 등에 유리하도록 하는 것이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 상 형성 여부와 함께 두 개의 상이 형성되었을 때 각 상의 부피비와 주입된 고분자 물질의 농도 사이의 관계를 측정하였다.

우선 상이 형성된 조건의 사진을 현미경 상에서 저장한 후 ImageJ 프로그램을 이용하여 채널 폭에 따른 밝기 profile을 측정하였다. 다양한 조건 중 PEG와 dextran 용액의 유속이 모두 0.5 $\mu\text{l}/\text{min}$ 일 때의 profile을 그림 3(A)에 도시하였다. 약 80과 390 pixel 지점에서의 급격한 감소는 마이크로 채널 벽면을 나타내고 있다. 약 240 pixel 주변에서 증가 후 감소하는 형태의 밝기는 계면의 위치를 나타낸다. 현미경의 DIC mode를 활용하는 경우 편광을 이용하여 3차원적인 위치에 있는 구조물을 강조하여 나타내게 되며, 계면 주변에 밝은 구간이 존재하게 된다. 본 실험에서는 계면 주위에서 밝은 부분과 어두운 부분의 평균값을 측정하여 계면의 위치로 결정하였다. 이렇게 측정된 계면의 위치를 기준으로 PEG와 dextran 용액이 차지하는 부피를 비율로 계산하였다(그림 3(B)). 상이 형성되는 범위 내에서 dextran 용액의 분율을 증가시키면 따라 dextran 상의 부피는 증가하는 반면 PEG 상의 부피는 감소하므로, 부피비가 선형으로 감소하고 있다. 또한 dextran의 분율이 50% 정도일 때 PEG와 dextran 상의 부피비는 1:1에 가깝게 나타났다. 이것으로 PEG 용액의 농도가 10%로 dextran 용액 농도의 2배이고 사용된 PEG의 분자량이 dextran의 1/6 이하로 작은 것을 감안할 때, PEG 상의 부피가 상당히 크게 형성되고 있는 것

을 알 수 있다. 이러한 특성은 앞에서 논의한 바와 같이 저분자량 PEG와 고분자량 dextran을 사용할 때 PEG가 상 형성에 주는 영향이 상대적으로 큰 것과 연결지을 수 있다.

또한 PEG와 dextran 용액의 주입비를 1:1로 유지하면서 총 유속을 2 $\mu\text{l}/\text{min}$ 까지 증가시켰을 때 마이크로 채널 내에서 계면의 위치가 변하지 않는 것으로 나타나, 계면의 위치는 주입되는 각 용액의 유속에 영향을 받지 않는 것으로 판단하였다.

C. MATPES의 활용

MATPES 기법은 유전자, 단백질, 세포 등의 생물물질 외에도 다양한 화합물의 효율적 분리에 적용이 용이하다. 이를 위해서는 본 연구에서 측정한 마이크로 채널 내에서 고분자용액의 주입 속도에 따른 각 상의 부피비를 변화에 대한 연구가 필요하다. 본 연구의 결과는 그림 4에서 예시된 모식도와 보드 물질분리 방법에 활용할 수 있다. 분리 대상 물질은 PEG 상을 선호하는 반면 불순물들은 dextran 상을 선호하는 MATPES 조건을 선정하는 경우, 불순물과 함께 주입된 분리의 대상 물질은 마이크로 채널을 따라 이동하면서 PEG 상으로 분배된다. 그러나 불순물들은 선호하는 상인 dextran 용액 내에 그대로 존재하므로 결과적으로 혼합물로부터 목적 물질을 선택적으로 분리 및 농축하는 것이 가능하다. 분리하고자 하는 목적 물질과 같은 상에 존재하는 미량의 불순물들은 추가적인 MATPES의 적용을 통하여 제거가 가능하므로 그 순도를 높일 수 있으며, 이러한 추가적인 과정 역시 동일한 칩 상에서 구현이 용이하므로 MATPES의 활용 분야를 높이는데 기여할 것으로 기대된다.

IV. 결론

랩온어칩 내에서 생물물질의 안정성을 확보함과 동시에 불순물을 효율적으로 제거하고, 분석 대상물질을 선택적으로 회수하기 위한 단순화된 방법으로 수성이상계 기법을 제안하였다. 수성이상계 기법을 이용하는 경우 높은 선택성을 확보하면서도 시료의 연속 흐름을 유지하면서 물질분리를 수행하는 것이 용이하므로 밸브 등 추가적인 장치를 제거하여 랩온어칩의 구조를 단순화할 수 있는 장점이 있다. 랩온어칩에 수성이상계 기술을 접목하기 위해서 상 분리 특성에 대한 연구가 필수적이며, 본 연구에서는 PEG와

dextran 두 고분자 용액의 주입비와 속도에 변화를 주면서 상 형성 여부와 마이크로 채널 내에서 차지하는 부피에 대한 영향을 확인하였다. PEG (M.W. 8000, 10%, w/v)과 dextran (M.W. 500000, 5%, w/v) 용액을 이용하였을 때 각각의 비율이 4:6에서 8:2 범위에서 안정된 상을 형성하였으며, 이 때 PEG와 dextran의 농도는 각각 4:3 (%)와 8:1 (%)였다. 따라서 이상계의 형성을 위해서는 상대적으로 높은 농도의 PEG를 필요로 하며, 이렇게 결정된 농도범위 내에서 다양한 생물물질의 분리 및 분석에 활용될 것이다.

REFERENCES

- [1] A. Manz, J. Harrison, E.M.J. Verpoorte, J.C. Fettinger, A. Paulus, H. Lüdi and H.M. Widmer, "Planar chips technology for miniaturization and integration of separation techniques into monitoring systems : Capillary electrophoresis on a chip," *J. Chrom. A*, vol. 593, pp. 243-252, 1992.
- [2] D.J. Harrison, A. Manz, Z. Fan, H. Luedi and H.M. Widmer, "Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip," *Anal. Chem.*, vol. 64, pp. 1920-1925, 1992.
- [3] A.G. Hadd, D.E. Raymond, J.W. Halliwell, S.C. Jacobson and J.M. Ramsey, "Microchip device for performing enzyme assays," *Anal. Chem.*, vol. 69, pp. 3407-3412, 1997.
- [4] G.M. Whitesides, "The origins and the future of microfluidics," *nature*, vol. 442, pp. 368-373, 2006.
- [5] J.C. Yoo, M.C. Moon, Y.J. Choi, C.J. Kang and Y.S. Kim, "A high performance microfluidic system integrated with the micropump and microvalve on the same substrate," *Microelec. Eng.*, vol. 83, pp. 1684-1687, 2006.
- [6] V. Hessel, H. Löwe and F. Schönfeld, "Micromixers a review on passive and active mixing principles," *Chem. Eng. Sci.*, vol. 60, pp. 2479-2501, 2005.
- [7] W.R. Vandaveer IV, S.A. Pasas, R.S. Martin and S.M. Lunte, "Recent developments in amperometric detection for microchip capillary electrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 23, pp. 3667-3677, 2002.
- [8] I. Rodriguez, Y. Zhang, H.K. Lee and S.F.Y. Li, "Conventional capillary electrophoresis in comparison with short-capillary capillary electrophoresis and microfabricated glass chip capillary electrophoresis for the analysis of fluorescein isothiocyanate anti-human immunoglobulin G," *J. Chrom. A*, vol. 781, pp. 287-293, 1997.
- [9] E.K. Zholkovskij and J.H. Masliyah, "Hydrodynamic dispersion due to combined pressure-driven and electroosmotic flow through microchannels with a thin double layer," *Anal. Chem.*, vol. 76, pp. 2708-2718, 2004.
- [10] F.E. Regnier, B. He, S. Lin and J. Busse, "Chromatography and electrophoresis on chips: critical elements of future integrated, microfluidic analytical systems for life science," *TIBTech*, vol. 17, pp. 101-106, 1999.
- [11] K. Choi, Y. Kim and D.S. Chung, "Liquid-Phase microextraction preconcentration electrophoresis," *Anal. Chem.*, vol. 76, pp. 855-858, 2004.
- [12] C. Malhaire, A. Didiergeorges, M. Bouchardy and D. Barbier, "Mechanical characterization and reliability study of bistable SiO₂/Si membranes for microfluidic applications," *Sens. Act. A*, vol. 99, pp. 216-219, 2002.
- [13] G.M. Zijlstra, C.D. De gooijer and J. Tramper, "Extractive bioconversions in aqueous two-phase systems," *Curr. Opinion in Biotech.*, vol. 9, pp. 171-176, 1998.
- [14] G. Johansson and F. Tjerneld, "Affinity Partitioning," *Highly Selective Separations in Biotechnology*, G. Street eds., Blackie Academic and Professional, Bishopbriggs, 1994.
- [15] P.Å. Albertsson and F. Tjerneld, "Phase Diagrams", *Methods in Enzymology, Aqueous Two-Phase Systems*, H. Walter and G. Johansson, eds, Academic Press, Inc., San Diego, 1994.
- [16] J.F. Hamel, J.B. Hunter and S.K. Sikdar, "Modeling and Applications of Downstream Processing : A survey of innovative strategies," *Downstream Processing and Bioseparation : Recovery and purification of biological products*, J.F.P. Hamel and J.B. Hunter, eds., ACS Symposium Series, Toronto, 1988.
- [17] H. Hustedt, K.H. Kroner and M.R. Kula, "Applications of Phase Partitioning in Biotechnology," *Partitioning in Aqueous Two-Phase Systems : Theory, methods, uses, and applications to biotechnology*, H. Walter, Brooks, D.E. and D. Fisher, eds., Academic Press Inc. Orlando, 1985.
- [18] M. Yamada, V. Kasim, J. Edahiro and M. Seki, "Continuous cell partitioning using an aqueous two-phase flowsystem in microfluidic devices," *Biotech. and Bioeng.*, vol. 87, pp. 489-494, 2004.
- [19] K.H. Nam, W.J. Chang, H. Hong, S.M. Lim, D.I. Kim and Y.M. Koo, "Continuous-flow fractionation of animal cells in microfluidic device using aqueous two-phase extraction," *Biomed. Microdev.*, vol. 7, no.3, pp. 189-195, 2005.
- [20] C.S. Effenhauser, G.J.M. Bruin, A. Paulus and M. Ehrat, "Integrated capillary electrophoresis on flexible silicone microdevices: analysis of DNA restriction fragments and detection of single DNA molecules on microchips," *Anal. Chem.*, vol. 69, pp. 3451-3457, 1997.
- [21] D.C. Duffy, J.C. McDonald, O.J.A. Schueller and G.M. Whitesides, "Rapid prototyping of microfluidic systems in poly (dimethylsiloxane)," *Anal. Chem.*, vol. 70, pp. 4974-4984, 1998.
- [22] Y. Shibusawa, T. Fujiwara, H. Shindo and Y. Ito, "Purification of alcohol dehydrogenase from bovine liver crude extract by dyeligand affinity counter-current chromatography," *J. Chrom. B*, vol. 799, pp. 239-244, 2004.
- [23] S. Ghosh, R. Vijayalakshmi, and T. Swaminathan, "Evaluation of an alternative source of dextran as a phase forming polymer for aqueous two-phase extractive system," *Biochem. Eng. J.*, vol. 21, pp. 241-252, 2004.