

<학술논문>

DOI <http://dx.doi.org/10.3795/KSME-A.2016.40.6.581>

ISSN 1226-4873(Print)
2288-5226(Online)

세포 기반 고집적 스크리닝 시스템용 비접촉식 고정밀 마이크로 디스펜서 제작

조성진^{*†} · 김인태^{**} · 임근배^{***}

* 충남대학교 기계공학부 ** 삼성전기 GTC, *** 포항공과대학교 기계공학과

Development of a Non-contact Liquid Dispenser for High Contents Screening System

Seong J. Cho^{*†}, Intae Kim^{**} and Geunbae Lim^{***}

* School of Mechanical Engineering, Chungnam Nat'l Univ.,

** Samsung Electro-Mechanics,

*** Dept. of Mechanical Engineering, POSTECH

(Received January 26, 2016 ; Received March 7, 2016 ; Accepted April 5, 2016)

Key Words: Dispenser(디스펜서), Micro-droplet(마이크로 액적), Air-gun(에어건)

초록: 최근 고령화 사회에 진입과 소득수준이 향상됨에 따라 의료 수요가 빠르게 증가되고 있다. 이중 신약 개발은 의료분야의 핵심 분야 중 하나로 전 세계적으로 많은 투자가 연구가 이루어지고 있다. 신약 개발의 중요한 과제 중 하나는 다양한 후보를 빠르고 정확하게 발굴하는 자동화 시스템을 개발하는 것이다. 고속으로 후보물질을 발굴하는 기술 중 대표적 기술이 세포 기반 고집적 스크리닝 시스템(High Contents Screening, 이하 HCS) 기술이다. 이 HCS 시스템에서 다양한 물질을 한꺼번에 스크리닝하기 위해서는 다기능 고정밀 디스펜서 제작이 필수적이다. 본 연구에서는 기존의 HCS 디스펜서 시스템이 가지고 있는 단점을 보완하기 위해 에어건과 압력 구동식 펌프를 이용한 새로운 컨셉의 비접촉식 디스펜서를 개발하고 그 가능성을 확인한다.

Abstract: Nowadays medical treatment service increase due to ageing population and improving the quality of life. Accordingly it is predicted that drug discovery market will expansion continuously. Therefore it is necessary that profit creation by drug discovery on the global market is important. HCS(High Contents Screening) has been emerging as a potential method to solve problems of the present drug discovery. This research is about liquid dispenser for HCS. The purpose of this research is to manufacture high performance liquid dispenser for HCS. The dispenser is designed to control 5 liquids separately. The liquid contact parts are designed disposably, biocompatibly and chemically inertly. Air curtain is equipped at the side of tip to dispense very small liquid volume and to prevent hanging drop on tip. Valving is performed by just controlling the pressure of the pressure driven pump without valve.

- 기호설명 -

ρ : 액체 밀도
 V : 액체 부피
 σ : 표면 장력
 v : 분주 속도
 d_o : 팁 외경
 d_t : 팁 내경

A : 팁 단면적
 r : 액적의 반지름

1. 서론

현재 사회는 고령화 및 삶의 질 향상으로 의료 수요가 빠르게 증가하고 있고 이에 따라 신약개발 시장이 급속히 확대되고 있다. 신약개발 과정은 크게 도입기(Discovery), 발전기(Development), 상용화(Commercialization)의 3단계로 나눌 수 있다. 도

† Corresponding Author, scho@cnu.ac.kr

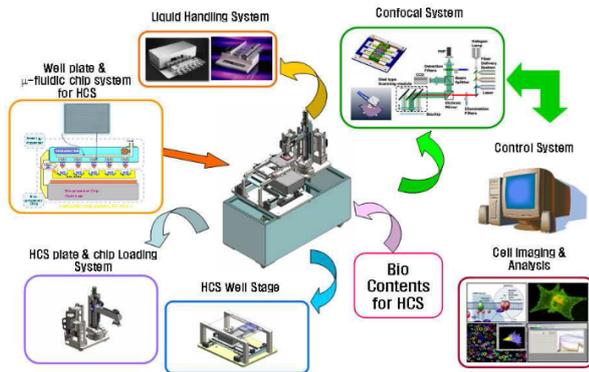


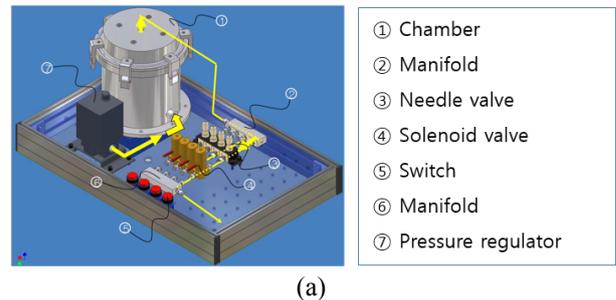
Fig. 1 HCS(High Contents Screening) system

입기 단계는 기초 단계와 발굴 단계로 구성되어 있는데, 발굴단계에서 선도 물질을 발굴하는 과정에서 HTS(High-Throughput Screening, 이하 HTS)가 널리 이용 되었다. 단시간에 다양한 선도물질을 발굴하기 위해 HTS연구에 막대한 투자가 이루어 졌으나 HTS의 선도 물질 발굴기간이 길어 전체 신약 개발에 병목현상을 야기시켰다. 이러한 기존 HTS의 한계로 인해 개선된 HTS인 HCS(High Contents Screening)가 개발되었다. HCS란 살아있는 세포 내의 다양한 표적을 시간적, 공간적으로 분해능이 높은 고감도 형광 이미지를 기반으로 해서 복잡적이고 기능적으로 스크리닝하는 기술이다.⁽¹⁾ HTS를 HCS로 대체하게 되면 불필요한 선도물질 수를 줄여 줄 수 있기 때문에 발굴된 선도물질에서 후보물질을 도출하는데 발생했던 병목현상을 줄일 수 있다. Fig. 1에서 보는 것과 같이 HCS 시스템은 크게 약물과 세포를 흡판(well plate)에 로딩(loading)하는 디스펜서 부분과 로딩된 세포와 약물을 배양하는 배양기, 그리고 Cell imaging & Analysis 시스템으로 구성되어 있다.⁽²⁾ 기존의 HCS 시스템은 점축식 디스펜서 방식으로 1회 분주 시마다 세척이 필요하다. 이를 해결 하기 위한 방안 중 하나인 비접촉식 디스펜서가 주목 받고 있으나 표면장력 때문에 분주 가능한 시료의 양이 많고 분주 방향이 일정치 않아 HCS용으로 활용하기 부적합한 한계점을 갖고 있었다. 따라서 기존의 비접촉식 디스펜서의 단점 보완하기 위하여 압력 구동식 펌프(Pressure driven pump)와 에어건(Air gun)을 이용한 새로운 비접촉식 디스펜서를 개발하였다.

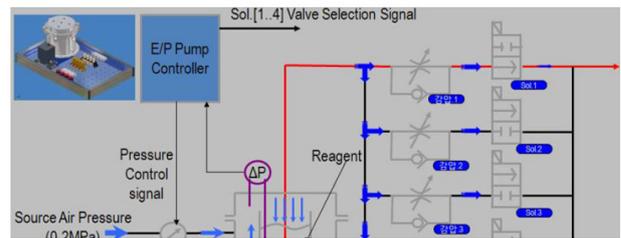
2. 제작 방법

2.1 압력 구동식 펌프 개발

실린지 펌프는 액체가 펌프를 통과하지 않기 때



(a)



(b)

Fig. 2 (a) CAD image of a pressure driven pump (b) Mechanism of a pressure driven pump

문에 멸균과 세척 문제가 구조적인 이유로 없으며, 스텝 모터와 내경이 일정한 실린지를 사용하기 때문에 큰 유량에서 분주되는 유량이 정확한 편이다. 하지만 적은 유량을 분주하거나 액체가 담긴 수조와 디스펜서 팁이 플렉서블 튜브로 연결되게 되면 유속 응답성이 낮다. 또한 스텝모터의 비연속적인 구동방식 때문에 튜브가 순간적으로 미세하게 변형되어 미세유량을 분주할 때 정밀도가 떨어진다. 따라서 수 마이크로 리터 미만을 정밀하게 분주하는 HCS용 정밀 디스펜서에서는 사용이 어려운 단점을 갖는다. 이를 해결하기 위해 압력 구동식 펌프를 개발하였다. 펌프는 Fig. 2(a)와 같이 크게 압력 챔버(알루미늄 가공), 핀치 밸브(Pinch valve, HSE), 솔레노이드 밸브(SMC, USA), 레귤레이터(Model ITV000, SMC, USA), 매니폴드(Manifold, SMC, USA) 등으로 구성되어 있다. 압력 구동식 펌프의 경우 압력 레귤레이터에 의해 유량이 제어되므로 정밀하게 제어 가능하다.

작동 방식은 다음과 같다.(Fig. 2(b) 참고) 압력 펌프는 압축공기를 동력원으로 사용한다. 압축공기가 압력 레귤레이터를 통과하면서 압력 레귤레이터에서 설정한 압력으로 변환되고 챔버를 압력 레귤레이터에 직결시켜 챔버 안의 압력을 설정된 압력으로 유지시켜 준다. 이렇게 일정하게 압력이 유지된 챔버 내부에 액체가 들어있는 용기를 넣고 튜브를 연결하여 액체를 밖으로 내보낸다. 이렇게 나온 액체는 매니폴드를 통해 4개의 노즐로 나누어지고 4개의 각각의 노즐은 핀치 밸브와 솔레노

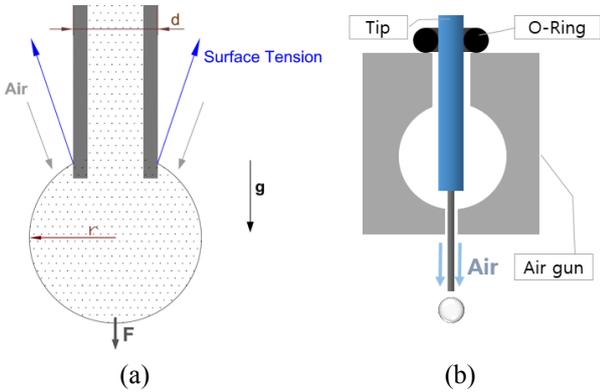


Fig. 3 (a) Schematic of an air-gun (b) Free body diagram of an air-gun

이드 밸브를 하나씩 가지고 있다. 유량조절은 압력 레귤레이터의 압력과 핀치 밸브의 조절로 이루어지고, 솔레노이드 밸브가 노즐의 개폐를 결정하여 최종 분주한다.

2.2 미세 유량 토출을 위한 에어건 개발

일반적인 미세 액적 분주시스템은 중력에 의해 팁 끝에 맺힌 액적을 토출시킨다. 미세한 액적을 분주하기 위해서는 액적 최대크기를 최대한 작게 할 필요성이 있다. 이때 팁 끝에 맺힌 액적의 최대 크기는 Fig. 3(a)와 같이 액적과 팁 사이의 표면장력의 크기와 액적의 중력, 관성력에 의해 결정된다.

이를 간단히 역학적으로 모델링 하면 다음과 같다. 먼저 접촉각이 0인 친수성 팁의 경우 액적이 팁에서 상단 방향으로 받는 힘 (F_u)은

$$F_u = d_0 \pi \sigma \tag{1}$$

과 같이 나타낼 수 있다. 액적 아래 방향을 받는 힘(F_d)은 크게 중력(F_g)과 분주 속도에 따른 관성력(F_i)의 합으로 표현할 수 있고 다음과 같다.

$$F_g = \frac{4}{3} \rho g \pi r^3 \tag{2}$$

$$F_i = \frac{d(\rho V v)}{dt} = \frac{\rho v dV}{dt} = \rho A v^2 = \rho \frac{\pi d_I^2}{4} v^2 \tag{3}$$

$$F_d = \frac{4}{3} \rho g \pi r^3 + \rho \frac{\pi d_I^2}{4} v^2 \tag{4}$$

따라서 액적이 팁으로 분리되는 조건 $F_u = F_d$ 을 만족하는 경우이다. 일반적으로 액적의 크기는 표면 장력(σ), 분주 속도(v), 외경(d_0) 등에 영향을 받는다. 따라서 일반적으로 작은 액적을 분주하기

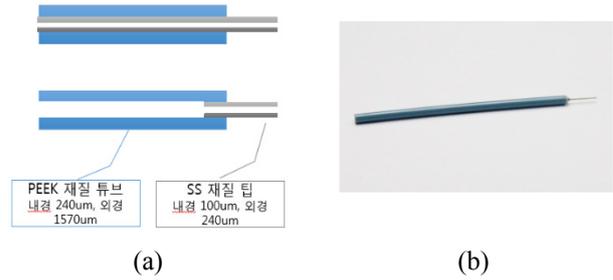


Fig. 4 (a) Schematic of a tip (b) optical image of a tip

위해서는 표면 처리를 통한 표면장력 변화, 유속 조절 등의 방법이 사용되었다.⁽³⁻⁵⁾ 하지만 표면처리 비용이나 규격화된 팁의 크기 등의 문제점 때문에 이를 해결하는데 어려움이 따랐다. 따라서 본 연구에서는 팁을 변화 시키지 않고 추가적인 외력을 이용한 방법으로 이를 해결하고자 한다. 이를 위해 제안하는 방법이 바로 에어건(air gun)방식이다. Fig. 3(b)와 같이 액적이 중력 외에 공기역학적 힘을 인가하여 표면 장력을 이겨내고 토출될 수 있도록 설계하는 것이다. 기본적인 에어건 기반 팁 구조는 Fig. 4와 같다. 사용된 팁은 일반 주사기 팁(내경 100 um, 외경 240 um)을 사용하였다. 실험에 사용한 액체는 정제수(Deionized water)를 사용하였다. 사용된 공기압은 레귤레이터를 통해 50~100 kPa을 유지하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 압력 구동식 펌프 평가

기존의 실린지 펌프를 대체하는 압력 구동식 펌프를 제작하고 이를 XY 매니퓰레이터(manipulator), 에어건과 결합하여 Fig. 5와 같이 시스템을 완성하였다. HCS의 경우 미세유량의 액적을 반복적으로 분주하고 적은 양의 약물변화가 세포에 치명적인 영향을 주기 때문에 정밀도(Precision)가 매우 중요하다. 따라서 이를 평가하기 위한 평가항목으로 유속의 표준편차 선정하여 분석하였다.

실험 조건은 다음과 같다. 대조군으로써 실린지 펌프(Harvard apparatus, Pico Plus Syringe Pump), 시린지는 1 ml를 이용하였다. 두 펌프 모두 펌프로부터 팁까지 플렉서블 튜브(1 m)로 연결하였다. 실험은 다양한 유속(5~40 μ l/min)으로 각각 1분간 분주하였으며 실험은 10회 반복 고성능 저울로 분주된 액체의 무게를 측정하였다. 그 결과 Fig. 6(a)에 볼 수 있듯이 모든 유속에서 기존의 실린지 펌프에 비해 압력 구동식 펌프가 낮은 표준편차를 보였다. 전체 분주량 대비 표준편차 비율로 따지면

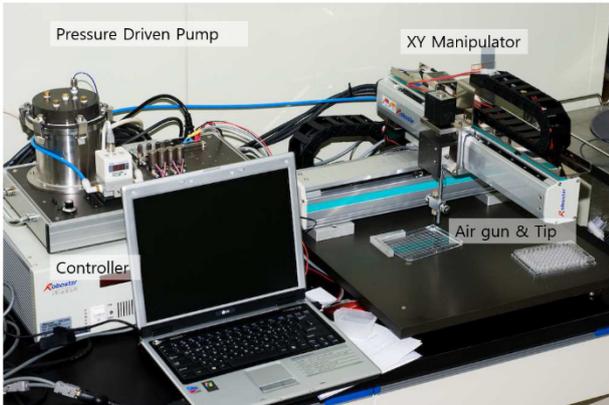


Fig. 5 Non-contact Liquid Dispenser for High Contents Screening which consists of pressure driven pump, manipulator and air-gun

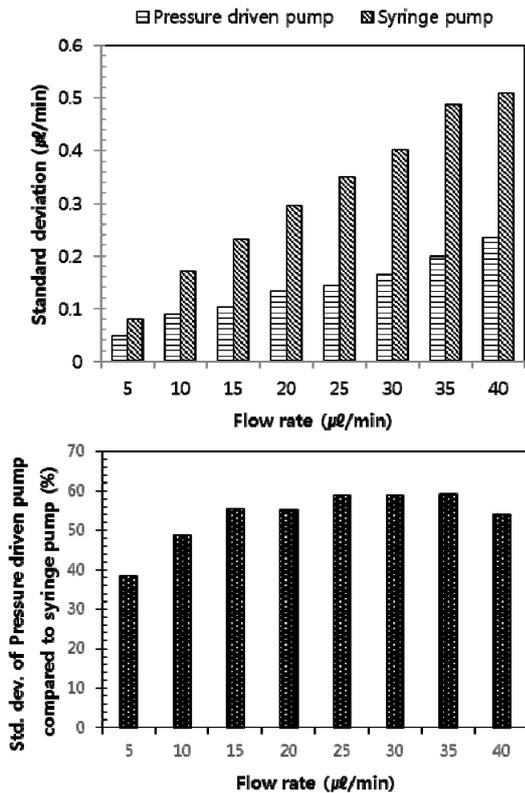


Fig. 6 Evaluation of pressure driven pump system comparing to syringe pump system

정밀도가 실린지 펌프가 약 1.5% 정도, 압력 구동식 펌프가 1% 미만을 보였다. 이는 실린지 펌프의 스펙(0.5%)보다 낮은 성능인데 길고 유연한 튜브를 이용한 점, 미세 유량을 순간적으로 분주한 점이 영향을 준 것으로 판단된다. 실험 결과에 따르면 유속이 빨라짐에 따라 표준 편차가 커지게 된다. 이는 유속이 커질 때 밸브 시스템 구동되는

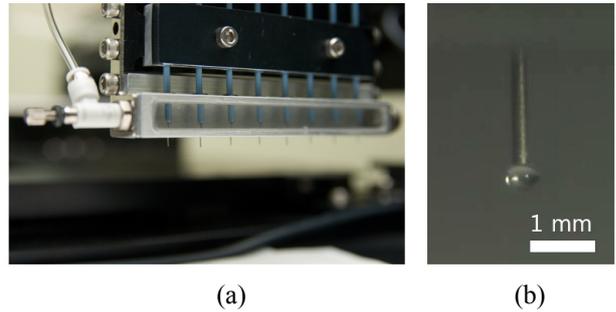


Fig. 7 (a) 8-nozzle air-gun (b) The air gun system successfully dispensed a 0.08-µl droplet

동안 흘러나간 유량이 커져 오차가 증가한 것으로 판단된다.

Fig. 6(b)는 실린지 펌프 대비 압력 구동식 펌프의 표준 편차 크기를 비율로 나타낸 것으로 모든 유속 대에서 약 40~60% 가량으로 낮은 표준 편차를 보임을 알 수 있다. 기존 실린지 펌프의 경우 1 µl 미만의 미세 액적은 플렉서블 튜브의 변형에 의해 분주되기 어려웠으나 압력 구동방식의 경우 분주 시간, 압력을 조절하여 매우 적은 액적(0.1 µl)도 분주 가능했다.

3.2 에어건 기반 디스펜서

Fig. 7(a)와 같이 기존 디스펜서와 다르게 에어건을 이용해 외력을 인가한 에어건 디스펜서 시스템을 개발하였다. 제작된 에어건의 모습으로 8개의 팁을 부착한 구조로 설계하였다. 앞서 개발된 압력 구동식 펌프를 통해 유체를 정밀하게 팁 밖으로 분주하고 밸브를 이용해 분주된 양을 고정시킨다. 그 후 공기압 밸브를 구동시켜 순간적으로 맺힌 액적을 아래로 분주하는데 성공하였다. 공기 분사구의 중심과 팁의 중심이 일치되지 않으면 액적이 방향이 바뀔 수 있어 중심이 일치되도록 시스템을 구성하였다. 공기의 분사시간이 길어지면 바닥에 이미 떨어진 액적에 영향을 미치거나 Second drop이 생기는 등의 문제 점을 발생하여 분사시간은 0.5초 미만으로 설정하였다. 이렇게 최적화 한결과 Fig. 7(b)에서 볼 수 있듯이 최소 분주량 0.08 µl를 달성하였고 0.1 µl 이상을 안정적으로 분주하였다.

4. 결론

본 연구에서는 HCS에 사용될 수 있는 고정밀 비접촉식 디스펜서 시스템을 개발하였다. 분주 정밀도를 높이기 위하여 기존의 실린지 펌프를 대체

하는 압력 구동식 펌프를 개발하여 미세유량 제어의 불안정성을 해결하고 제어 응답성을 향상시켰다. 다만 이러한 압력 기반의 펌프시스템은 튜브의 마찰, 형상, 유체 등에 영향을 받을 수 있게 되므로 후속 연구에서는 이에 대한 연구를 수행하고자 한다. 압력 구동식 펌프와 더불어 토출되는 액적의 크기를 줄이고 신속하고 정확하게 분주될 수 있도록 에어건 시스템을 도입하였다. 그 결과 비접촉 방식으로 최소 분주 유량 $0.08 \mu\text{l}$ 을 만족시키는 고정밀 디스펜서 시스템을 완성하였다. 이러한 고정밀 디스펜서 시스템은 HCS 시스템의 성능을 향상시킬 수 있을 뿐만 아니라 다른 정밀 액체 분주 장비에도 활용될 수 있을 것이라 기대된다.

후 기

본 연구는 2015년 충남대학교 신입교원 정착연구과제 지원과 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No.2014R1A1A1002567)으로 수행되었음.

참고문헌 (References)

- (1) Sundberg, S., 2000, "High-throughput and Ultra-high-throughput Screening: Solution- and Cell-based Approaches," *Curr. Opin. Biotechnol.*, Vol. 11, No. 1, pp. 47~53.
- (2) Hertzberg, R. P. and Pope, A. J., 2000, "High-throughput Screening: New Technology for the 21st Century," *Curr. Opin. Chem. Biol.*, Vol. 4, No. 4, pp. 445~451.
- (3) Koimpsidis, L., Papanikolaou, M. and Stamatoudis, M., 2007, "Size Distribution of Drops Formed from Nozzles in Air at Velocities below Jetting," *Chem. Eng. Technol.*, Vol. 30, No. 9, pp. 1280~1283.
- (4) Lin, S. P. and Reitz, R. D., 1998, "Drop and Spray Formation from a Liquid Jet," *Annu. Rev. Fluid Mech.*, Vol. 30, No. 1, pp. 85~105.
- (5) Dong, Z., Ma, J. and Jiang, L., 2013, "Manipulating and Dispensing Micro/Nanoliter Droplets by Superhydrophobic Needle Nozzles," *ACS Nano*, Vol. 7, No. 11, pp. 10371~9.