

출원번호통지서

출원일자 2017.11.16
 특기사항 심사청구(무) 공개신청(무)
 출원번호 10-2017-0152711 (접수번호 1-1-2017-1137607-96)
 출원인명칭 서울대학교산학협력단(1-2007-050924-2)
 대리인성명 윤의섭(9-1998-000376-8)
 발명자성명 정호섭 김기성 곽문규 강봉수 김성우 이성호
 발명의명칭 미세유체 칩의 이중 액적 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허로(patent.go.kr) 접속 > 민원서식다운로드 > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원은 명세서 또는 도면의 보정이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허·실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 제도 안내 : <http://www.kipo.go.kr-특허마당-PCT/마드리드>
 ※ 우선권 인정기간 : 특허·실용신안은 12개월, 상표·디자인은 6개월 이내
 ※ 미국특허상표청의 선출원을 기초로 우리나라에 우선권주장출원 시, 선출원이 미공개상태이면, 우선일로부터 16개월 이내에 미국특허상표청에 [전자적교환허가서(PTO/SB/39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 증명서류를 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 종업원이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용자(기업)가 명확하게 승계하지 않은 경우, 특허법 제62조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동봉된 안내서를 참조하시기 바랍니다.



특허출원서

【출원구분】 특허출원

【출원인】

【명칭】 서울대학교산학협력단

【특허고객번호】 1-2007-050924-2

【대리인】

【성명】 윤의섭

【대리인번호】 9-1998-000376-8

【대리인】

【성명】 김수진

【대리인번호】 9-1998-000089-0

【발명의 국문명칭】 미세유체 칩의 이중 액적 제조방법

【발명의 영문명칭】 Method for preparing double emulsion droplet of microfluidic chip

【발명자】

【성명의 국문표기】 정호섭

【성명의 영문표기】 Jung Ho Sup

【주민등록번호】 691007-1*****

【우편번호】 22001

【주소】 인천광역시 연수구 컨벤시아대로42번길 95, 1001동
1502호(송도동, 더샵 익스포)

【발명자】

【성명의 국문표기】 김기성

【성명의 영문표기】 Kim Kee Sung

【주민등록번호】 680801-1*****



【우편번호】 08735

【주소】 서울시 관악구 행운10길 21, 101동 2005호(봉천동,
관악파크푸르지오아파트)

【발명자】

【성명의 국문표기】 곽문규

【성명의 영문표기】 Kwak moon kyu

【주민등록번호】 801129-1*****

【우편번호】 42839

【주소】 대구광역시 달서구 상화로58길 86, 103동 1003호
롯데캐슬레이크

【발명자】

【성명의 국문표기】 강봉수

【성명의 영문표기】 Bong Su Kang

【주민등록번호】 890519-1*****

【우편번호】 41536

【주소】 대구광역시 북구 대학로13길 55 클래식빌 102호

【발명자】

【성명의 국문표기】 김성우

【성명의 영문표기】 Sung Woo Kim

【주민등록번호】 910728-1*****

【우편번호】 41564

【주소】 대구광역시 북구 경진로 69-3 바우하우스 403호

【발명자】

【성명의 국문표기】 이성호

【성명의 영문표기】 Sung Ho Lee

【주민등록번호】 890802-1*****

【우편번호】 44722

【주소】 울산광역시 남구 신정로33번길 36, 현대아파트906(달동,

현대아파트)

【출원언어】 국어

위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 윤의섭 (서명 또는 인)

대리인 김수진 (서명 또는 인)

【수수료】

【기본출원료】 0 면 46,000 원

【가산출원료】 15 면 0 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 0 항 0 원

【합계】 46,000 원

【감면사유】 전담조직(50%감면)[1]

【감면후 수수료】 23,000 원

【첨부서류】 1.기타첨부서류[위임장]_1통

【발명의 설명】

【발명의 명칭】

미세유체 칩의 이중 액적 제조방법{Method for preparing double emulsion droplet of microfluidic chip}

【기술분야】

<0001> 본 발명은 미세유체 칩의 이중 액적 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 미세유체 칩을 이용한 리포솜 제조에서 별도의 공정 없이 자연스럽게 용제를 분리하기 위하여 이중 액적을 제조하는 방법에 관한 것이다.

<0002>

【발명의 배경이 되는 기술】

<0003> 바이오센서 제작 기술은 정확한 진단, 고감도, 검출을 목표로 고가의 검사장비에 적합한 바이오 센서들 위주로 개발되고 있다.

<0004> 이러한 바이오 센서로 사용되는 미세유체 칩을 이용한 리포솜 제조에 있어서 가장 큰 약점이 되는 것은 잔존하는 용제(solvent)를 완벽하게 제거하기가 매우 힘들며, 여러 가지 공정이 필요하기 때문에 약물전달체와 같은 엄격한 품질을 요구하는 곳에 사용이 어렵다는 것이다.

<0005> 따라서, 미세유체 칩을 이용한 리포솜 제조에서 별도의 공정 없이 자연스럽게 용제를 분리하기 위해서는 새롭게 이중 액적법을 이용하여 용매를 완충 용액으로 녹여내는 방법이 있다. 이를 통해 최종 산물에서 리포솜과 용제를 자연스럽게 분리함으로써 용제를 재활용 가능하며, 제조된 리포솜만 가지고 약물전달체, 식품



산업등에 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

<0006> 여기서, 특히 효율적으로 용제를 분리하기 위해서는 최종 채집되는 미세유체 칩 채널의 크기와 채널 내부의 표면 특성이 매우 중요하다.

<0007> **【발명의 내용】**

【해결하고자 하는 과제】

<0008> 따라서, 본 발명은 미세유체 칩을 이용한 리포솜 제조에서 별도의 공정 없이 자연스럽게 용제를 분리하기 위하여 이중 액적을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

【과제의 해결 수단】

<0009> (1) 채널 내부 표면을 균일하게 친수성 처리하는 방법 (2) 특정 부분만 친수성 처리하는 방법 등을 이용하면, 이중 액적이 생성되면서 최종적으로는 용매가 리포솜으로부터 자연스럽게 분리될 수 있다.

【발명의 효과】

<0010> 본 발명의 이중 액적 제조방법에 의하면, 미세유체 칩을 이용한 리포솜 제조에서 별도의 공정 없이 자연스럽게 용제를 분리할 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

<0011> 도 1은 본 발명의 친수성 코팅 방법을 개략적으로 나타낸 도면

도 2는 본 발명의 친수성 코팅 범위를 나타낸 도면

도 3은 유속 조절에 따른 액적 생성을 나타내는 도면



도 4은 비교 예 1 내지 3의 액적 형성 사진을 나타낸 것(Scale bar : 50 μ m)으로 (a)는 비교 예1, (b)는 비교 예 2, (c)는 비교 예 3.

도 5는 본 발명의 실시 예의 액적 형성을 나타낸 사진(Scale bar : 50 μ m)

도 6은 액적 생성의 안정화 과정을 나타낸 것으로(a)는 초기 불안정한 상태에서 다양한 크기의 W/O 액적의 캡슐화, (b)는 안정된 상태에서 일정한 크기의 W/O 단일액적의 캡슐화, (c)는 안정한 제조를 나타낸다.

도 7은 수집된 을 관찰한 것으로, (a)는 배율 : X 10. (b)는 배율: X 20. (c)는 배율 : X 40 (Scale bar : 50 μ m)이다.

【발명을 실시하기 위한 구체적인 내용】

<0012> 친수성 코팅을 하는 방법은 도 1에 개략적으로 게시하였다.

<0013> (1) 폴리비닐알코올(PVA), 글리세롤, 폴리에틸렌글리콜 등의 친수 처리제를 생성 채널에 주입하고, (2) 실온에서 경화시킨다. 실온 경화는 예를 들어 24~26℃에서 5~10분간 행해진다. (3) 공기를 주입하여 친수 처리제를 방출시키고, (4) 핫 플레이트를 사용하여 가열경화시킨다. 가열 경화는 예를 들어 150℃ 내외의 핫 플레이트를 사용하여 15분 정도 행한다.

<0014> 친수 코팅을 행하는 범위는 도 2에 보다 상세하게 도시하였다.

<0015>

<0016> 이하 본 발명을 실시 예를 통해 상세하게 설명한다.

<0017>

<0018> 제조 예 1 미세 유체 칩 제작



<0019>

포토리소그래피(Photolithography) 공정을 이용하여 50 μm 높이의 양각 채널 몰드를 제작하였다. 제작된 몰드에 PDMS(Polydimethylsiloxane, Sylgard184, Dow corning, mixed with a 10:1 ratio of curing agent)를 도포하여 70 $^{\circ}\text{C}$ 오븐에 1시간 동안 경화를 실시하였다. PDMS 채널 경화 후 채널을 몰드와 분리하고 제작된 PDMS 바닥판과 플라즈마 장치를 이용하여 본딩하였다. 플라즈마 처리 후, PDMS 채널과 바닥판을 접합하고, 90 $^{\circ}\text{C}$ 오븐에 8시간가량 열처리하여 미세유체 칩 제작을 마무리하였다. 제작된 채널은 높이 50 μm , 채널폭은 W/O 단일액적 생성 채널 30 μm , W/O/W 이중 액적 생성 채널 50 μm , 이중 액적 이동채널 2000 μm 로 설계 하였다.

<0020>

<0021>

제조 예 2

<0022>

원활한 W/O/W 이중 액적 생성을 위하여 W/O 단일 액적이 Oil phase와 W2 phase에 의하여 이중 액적으로 형성되는 채널구간에 친수 표면처리를 실시하였다. 친수 표면처리 효율을 높이기 위하여, 일반적으로 사용하는 10-50 mg/ml 보다 증가된 농도인 100 mg/ml PVA(Polyvinylalchol, 87-90% hydrolyzed, average mol wt 30,000-70,000, Sigma Aldrich) 수용액을 사용하였다. 우선 10 ml 주사기를 이용하여 주입구(Inlet)로 PVA를 주입하였다. 이때, 주입한 PVA의 수두가 도 2에 표시한 점선의 범위(-)를 벗어나지 않도록 하는 것이 중요하다. PVA 주입 후, 주입된 PVA가 PDMS 표면에 충분히 젖어들어 갈 수 있도록 실험실 온도(Room temperature, 24-26 $^{\circ}\text{C}$)에 5분간 경화(Curing)를 실시하였다. 경화 후, 10ml 주사기를 이용하여 공기



를 주입해 채널 내의 PVA를 채널 밖으로 배출하였다. PVA 배출 후, 미세유체 칩을 150°C 핫 플레이트(Hot plate)에 15분간 가열하였다. 15분 후, 용매인 DI water는 증발하고, PVA 입자들이 PDMS 채널 표면에 균일하게 도포되어 채널 표면이 친수특성을 띠게 된다.

<0023>

<0024> 재료

<0025> W1 phase

<0026> W1 phases는 탈 이온수를 기본 용매로, 글리세롤(Glycerol) 15 v%, F-68 계면활성제(Poloxamer 188, Sigma Aldrich) 50mg/ml, W1 phase의 시각적 구분을 위하여 용해 시 녹색계열의 색표지가 가능한 칼세인(Calcein, Tokyo Chemical Industry co.) 0.1 M 을 첨가 하였다.

<0027> Oil phase

<0028> Oil phase는 옥탄올(1-Octanol, Sigma Aldrich)을 사용하였고, W/O 단일 액적과 W/O/W 이중 액적에 인지질막(Lipid layer) 형성을 위하여 PCDA 인지질(10,12-Pentacosadiynoic acid, Sigma Aldrich) 0.1 M을 첨가하였다. 그리고 Oil phase 의 시각적 구분을 위하여 용해 시 붉은 계열의 색 표지가 가능한 로다민(Rhodamine, Sigma Aldrich)을 첨가하였다.

<0029> W2 phase

<0030> 탈 이온수를 용매로 사용한 수상(Water phase)과 비교하였을 때, Oil phase 의 용매인 옥탄올(1-Octanol) 은 상대적으로 점성이 높으며 PDMS 채널 표면으로의



젖음성이 좋다. 액적 생성구간에서 Oil phase의 흐름을 제어하고, 원활한 이중 액적 생성을 위하여 W2 phase 에 글리세롤(Glycerol) 30 v%, 에탄올(Ethanol, Ethyl alcohol anhydrous, 99.9%, Daejung Chemical Co.) 20v%, F-68 계면활성제(Poloxamer 188) 150 mg/ml를 첨가하였다.

<0031>

<0032>

실험 예 1 이중 액적 생성을 위한 미세유체 칩 실험 환경 조성

<0033>

미세유체 칩

<0034>

미세유체 칩을 이용한 이중 액적 생성실험을 위하여 각각의 phase를 10ml 쪼기에 주입하였다. 각 Phase 가 담긴 주사기를 3대의 주사기 펌프(Syringe pump, Fusion 100, Chemyx industry)에 나누어 장착하였다. 각 주사기에 3대를 타이콘 튜브(Tygon tubing, id 0.51 mm/od 1.52mm, BCI co.)를 이용하여 미세유체 칩과 연결하였다.

<0035>

유속조절

<0036>

미세유체 칩에 주사기 펌프를 연결한 후, 이중 액적 생성을 위해서는 각 phase 의 유속 조절이 중요하다. 먼저, Oil phase 와 W2 phase를 주입한다. 이 때, W2 phase의 유속을 Oil phase의 유속보다 높게 설정하여 O/W 단일 액적(O/W oil droplet)이 형성되도록 한다(도 3의 (a)). O/W 단일 액적의 안정적인 형성을 확인 후, Oil phase보다 낮은 유속으로 W1 phase를 주입한다. 이때, 안정적인 Oil-W2 phase의 액적생성 조건이 W1 phase의 투입으로 불안정해지고, 생성되는 오일 액적의 크기도 변화한다. 각 phase 흐름의 안정을 찾고 이중 액적을 생성하기 위하여,



W1 phase 의 낮은 유속은 고정 상수로 설정하고, Oil phase 와 W2 phase의 유속을 미세하게 조절하면, 모든 phase 들의 흐름이 안정화되고, 이중 액적 생성이 가능해진다(도 3의 (b), (c)).

<0037>

<0038> 실시 예 1 및 비교 예 1-3

<0039> 표면 코팅 상태에 따른 이중 액적 생성 비교

<0040> Oil phase 에 사용되는 옥탄올(1-Octanol)은 W1, W2 water phase 와 비교하였을 때 점성이 상대적으로 높고, 소수성인 PDMS 표면으로 젖음성이 좋기 때문에 액적 생성구간의 친수 표면처리는 이중 액적 생성에 주요한 요소로서 작용한다. 친수 표면처리 상태를 점검하기 위하여, W1 phase 주입 없이 W2 phase 와 Oil phase 를 주입하여 O/W 단일 액적 (O/W single emulsion droplet)형성이 이루어지는지 확인하였다. 친수 표면처리 상태가 양호하지 않을 경우 O/W 단일 액적 형성이 이루어지지 않고, W2-Oil의 층류(Laminar flow)가 형성된다(비교 예 1-도 4의 (a)). 불안정하게나마 O/W 단일액적 형성이 이루어지더라도, W1 phase를 주입할 경우 Oil phase 와 W1 phase가 PDMS 채널 표면에 젖어 들어가는 현상이 발생 하거나(비교예 2-도 4의 (b)), 이중 액적이 생성되더라도 매우 불안정한 양상을 보인다(비교 예 3-도 4의 (c), (d)).

<0041> 반대로, 친수 표면처리 상태가 양호한 경우, W1-Oil-W2 phase 각각의 유속(Flow rate) 제어를 통하여 안정적인 이중 액적 생성이 가능하다. 양호한 친수 표면처리 상태와 적절한 유속조건설정 하에 이중 액적 생성은 시간이 경과함에 따



라 다양한 생성 패턴을 순차적으로 거친 후 안정적인 상태로 진입하게 된다(실시예 1-도 5)

<0042> 이중 액적 생성이 안정화되면, 액적 생성구간의 액적 생성 양상역시 일정하게 변화한다. 초기 불안정한 상태에는 다양한 크기의 W/O 단일액적(W/O single emulsion droplet)이 다양한 크기 및 형태의 이중 액적 형성으로 이어지는 반면(도 6의 (a)), 안정된 상태에서는 일정한 크기의 W/O 단일 액적이 채널에 순차적으로 배열되고, 일정한 크기의 이중 액적으로 배출되는 양상으로 변화하게 된다(도 6의 (b), (c)). 안정적인 상태에 생성된 이중 액적을 채집하고 관찰한 결과, 불안정한 흐름에 의해 형성되는 Oil 파티클(Oil particles)이나 다중 액적(Multiple emulsion droplets)이 생성되지 않고 대부분 이중 액적의 형태로 배출됨을 확인할 수 있다 (도 7).

<0043>

<0044>



【청구범위】

【청구항 1】

미세유체 칩의 이중 액적을 제조하는 방법에 있어서, 미세 유체칩의 제작 후 표면에 친수 처리를 실시하는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 이중 액적 제조 방법.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 친수 표면 처리는 채널 내부 표면을 균일하게 처리하는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 이중 액적 제조방법.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 친수 표면 처리는 채널 내부 표면의 일부만 처리하는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 이중 액적 제조방법.

【청구항 4】

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 친수 표면처리는 폴리비닐 알코올, 글리세롤, 폴리에틸렌글리콜로 이루어진 그룹에서 선택되는 처리제로 행해지는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 이중 액적 제조방법.

【청구항 5】



제4항에 있어서, 상기 친수 표면처리는 폴리비닐알코올로 행해지는 것을 특징으로 하는 미세유체 칩의 이중 액적 제조방법.



【요약서】

【요약】

본 발명은 미세유체 칩을 이용한 리포솜 제조에서 별도의 공정 없이 자연스럽게 용제를 분리하기 위하여 이중 액적을 생성하는 방법을 제공하는 것으로, 미세유체 칩의 채널 내부 표면을 친수 처리하는 것을 특징으로 한다.

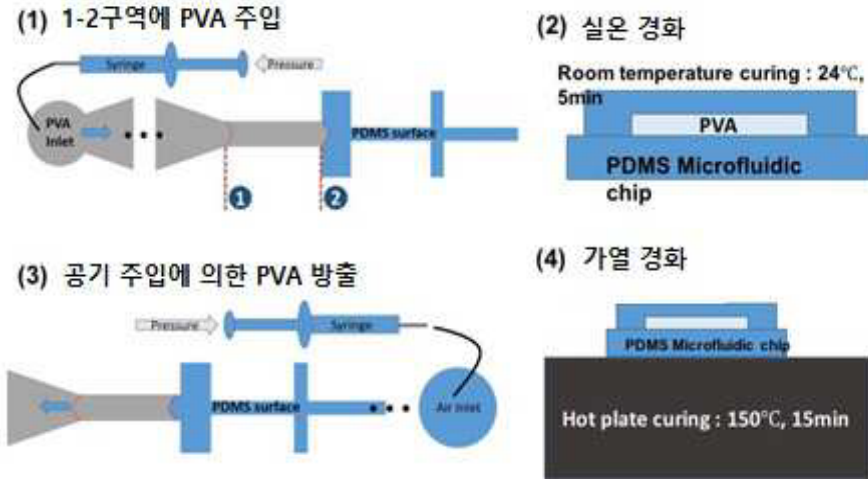
【대표도】

도 4

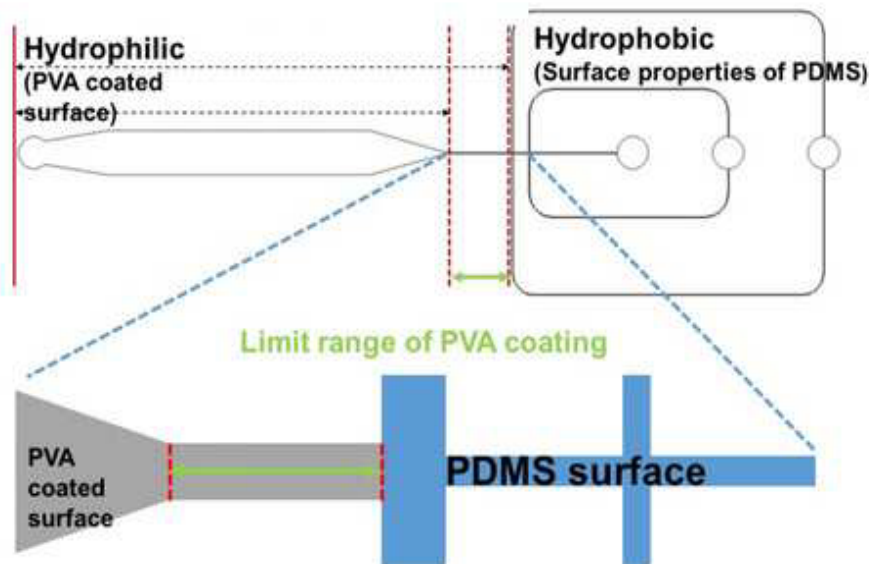


【도면】

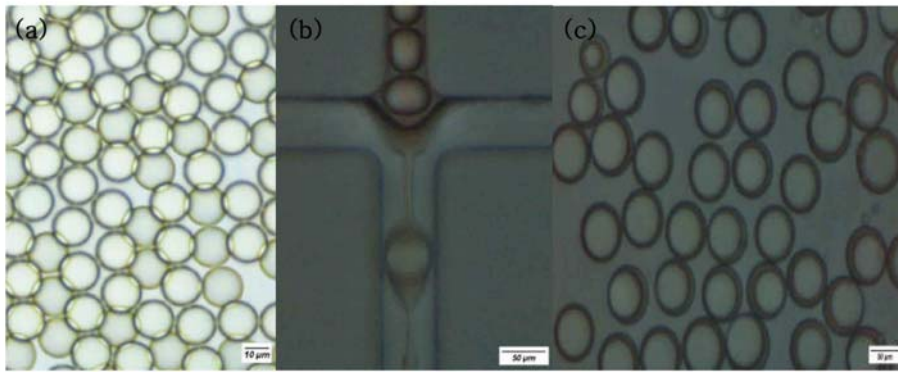
【도 1】



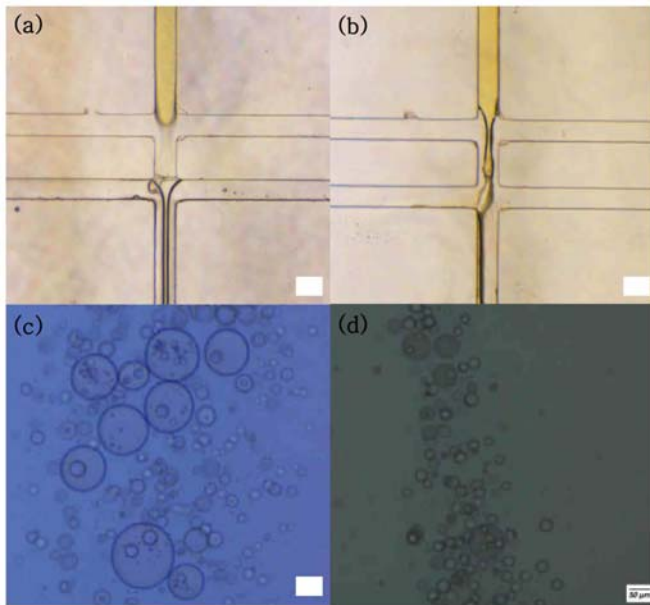
【도 2】



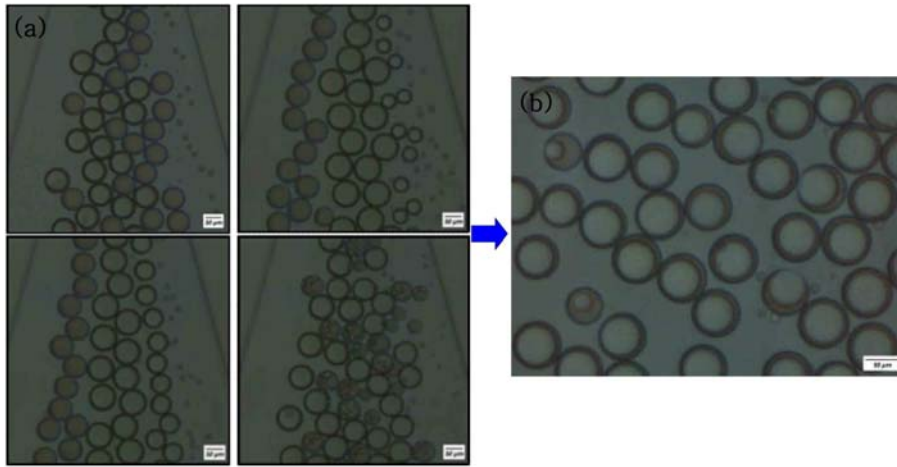
【도 3】



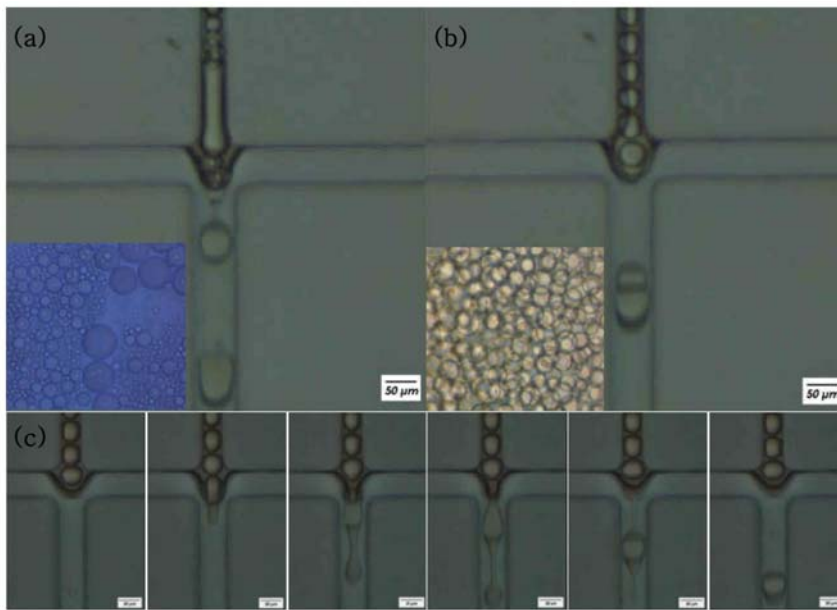
【도 4】



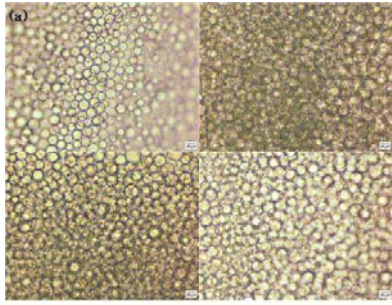
【도 5】



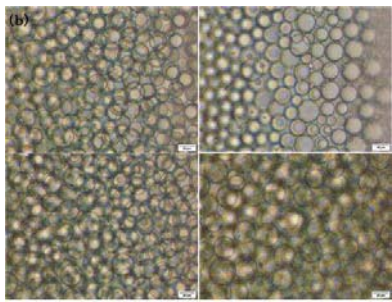
【도 6】



【도 7a】



【도 7b】



【도 7c】

