

랩온어칩에서의 생물분리기술

¹장 우 진 · ^{1,2*} 구 윤 모

¹인하대학교 생물공학과, ²인하대학교 초정밀생물분리기술연구센터

(접수 : 2005. 6. 17., 게재승인 : 2005. 6. 24.)

Bioseparations in Lab-On-A-Chip

Woo-Jin Chang² and Yoon-Mo Koo^{1,2*}

¹Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

²Center for Advanced Bioseparation Technology, Inha University, Incheon 402-751, Korea

(Received : 2005. 6. 17., Accepted : 2005. 6. 24.)

Lab-on-a-chip is a miniaturized analytical device in which all of the procedures for the analysis of molecules are carried out, such as pretreatment, reaction, separation, detection, etc. Lab-on-a-chip has increasing concern as a device not only for rapid detection of molecules but also for high throughput screening and point of care, because conventional laborious and time consuming analytical procedures can be substituted. Thus, a lot of microfabrication and analytical techniques for lab-on-a-chip have been developed with microstructures smaller than a few hundreds of micrometers. Separation of the molecules is one of the most important components of lab-on-a-chip, because effective separation method can simplify the design and can provide better sensitivity. The electrokinetic separation based on capillary electrophoresis is most widely employed technique in lab-on-a-chip for the control of fluids and the separation of molecules. In this article, bioseparation techniques and its applications realized in lab-on-a-chip are reviewed.

Key Words : Lab-on-a-chip, bioseparation, electrokinetic separation

서 론

1990년대 초 Manz, Harrison, Ramsey 등이 화학 분석 시스템을 소형화한 microchip을 처음 제시한 이래(1, 2) 랩온어칩 (lab-on-a-chip)에 대한 관심이 급증하였다. Micro-total analysis system (μ -TAS) 또는 microfluidic device로도 명명되는 랩온어칩은 시료의 전처리, 반응, 분리, 분석, 결과분석 등 특정 물질의 분석에 필요한 일련의 모든 과정을 하나의 기판 위에 소형화시킴으로써, 필요한 장소에서 필요한 시기에 대상 물질의 분석을 즉각적으로 수행할 수 있도록 하는 것이 목적이다. 이를 위하여 실리콘이나 폴리머 재질의 기판 위에 수백 micrometer 이하의 미세 채널을 제작하고 이용함으로써 기존의 분석방법에 비하여 다양한 장점을 가진다. 이들 장점으로는 적은양의 시료와 시약 사용 및 짧은 분석 시간 등으로 인한 분석 비용 절감, 높은 정

밀도 및 정확도 확보, 전 과정의 자동화로 비전문가도 사용이 용이, 휴대가 간편하므로 현장에서의 분석이 가능하다는 점 등이 있다. 따라서 향후 micro-array 기반의 바이오칩과 연결되어 분석 장치로서 바이오칩 분야를 주도할 기술로 주목받고 있다(3).

미세채널 내에서 시료와 용액을 이송하면서 물질분석에 필요한 모든 과정을 수행하는 랩온어칩 기술에서는 용액의 흐름을 제어하기 위한 pump 및 valve, laminar flow의 형성으로 인한 용액간의 혼합 저해를 극복하기 위한 mixer, 극미량으로 존재하는 물질을 검출하기 위한 검출방법 등 적절한 구성 요소들의 개발과 이용이 매우 중요하며, 이에 대한 다양한 연구가 진행되어왔다. 특히 생물시료의 경우 분석대상 물질이 유사한 특성을 갖는 수많은 물질들과 섞여있는 경우가 많아, 대상 물질을 분리하기 위한 기술은 랩온어칩의 구조를 단순화시키고 기능을 향상시키며, 분석 오류를 최소화할 수 있는 핵심 기술이다. 따라서 적절한 분리기술의 보유 여부는 랩온어칩의 성패를 가름하는 주요 요소 중 하나이다.

일반적인 hydrodynamic flow를 랩온어칩의 미세채널 내에 적용하는 경우 주입되는 시료와 용액의 정밀한 제어가 어렵다. 또한 극미량의 시료를 사용할 때 hydrodynamic

* Corresponding Author : ERC for advanced Bioseparation Technology, Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

Tel : +82-32-860-7513, Fax : +82-32-875-0827

E-mail : ymkoo@inha.ac.kr

flow에서 관 내부의 벽면과 중앙에서의 유속이 다르기 때문에 형성되는 parabolic velocity profile 등이 용액 제어의 정밀도와 정확도를 떨어뜨리는 큰 단점이 있다(4, 5). 따라서 고전압의 제어를 통하여 용매의 이송과 함께 물질분리를 수행할 수 있는 방법인 모세관 전기영동 기법들이 랩온어칩의 개념이 제시된 초기부터 적용되어 가장 폭넓게 사용되고 있다(6, 7). 이러한 기법들은 원리 및 특성이 자세히 규명되어 있고, 모세관과 유사한 크기의 유로를 갖는 랩온어칩에 적용하기에 용이한 장점이 있다. 이외에도 chromatography, 추출, filtration 등 물질의 분리에 필요한 다양한 기법들이 이미 랩온어칩 상에서 구현되었다. 본 고에서는 랩온어칩에 적용된 다양한 분리기술들 중 가장 많이 사용된 고전압을 이용한 분리 기법들의 간단한 원리와 랩온어칩에 적용한 예, 그리고 이외 랩온어칩에서 구현된 분리기법들을 정리하였다.

기술의 현황

Electrokinetic flow와 랩온어칩

소형화된 total analysis system으로서의 랩온어칩 개념이 제시된 이래 capillary electrophoresis (CE)에 사용된 기술들은 랩온어칩 내에서 전기적 방법에 의하여 시료 및 용매의 흐름을 조절하고, 물질을 분리하기 위한 기법으로 가장 많이 적용되어 왔다. 특히 electroosmotic flow (EOF)에 의한 용액의 이송은 back pressure, 제어의 난해성, 부가적인 장치의 필요성과 parabolic velocity profile 등 일반적인 펌프 사용시 형성되는 hydrodynamic flow에서의 문제점을 극복할 수 있는 장점이 있다. 따라서 전압의 조절에 의하여 유속과 흐름의 방향을 용이하게 제어할 수 있으므로 극소량의 용액을 주입하고 제어해야하는 랩온어칩 상에서 기계적인 밸브와 펌프의 제거가 가능하다(8). 또한 용매의 이송과 동시에 고전압이 부가된 상태에서 전기영동에 의한 물질 분리가 일어날 수 있고 물질의 확산을 감소시키는 효과가 있어 미량의 시료로부터 물질을 분석하는 랩온어칩에서 폭넓게 사용되고 있다(9).

Electrokinetic flow는 EOF에 의하여 용액의 흐름을 조절함으로써 시료의 주입시 높은 정밀성과 재현성을 확보(10)할 수 있으며, single-T 또는 double-T(11), cross-T(12), pinched(13), gated flow(14), hydrostatic pressure와의 연계(15) 등 다양하게 변형된 형태의 주입(16)이 가능하므로 분석 대상 물질과 시료의 특성 등에 따라 적절한 주입법의 선택이 가능한 장점이 있다. 또한 시료의 주입 및 물질분리 이외에도 마이크로 채널 내에서 EOF에 의하여 시료를 혼합하는 방법(17)과 유기용매를 이용하여 EOF를 형성하는 방법(18) 등 다양한 활용법이 제시된 바 있다.

초기의 랩온어칩은 glass 또는 silicon으로 제작된 경우가 많았다(19). Glass의 경우 표면 특성에 대한 연구가 많이 되어있고, 안정된 EOF를 이용할 수 있는 등의 장점이 있으나, etching이나 laser를 이용하여 미세 채널을 제작해야 하므로 제작 시간이 길고 접합시 고온, 고압 조건이 필요하다는 점 등 제작이 어려운 것이 단점으로 작용하고 있다(20). 이를 극복하기 위하여 glass 또는 silicon과 polymer

를 동시에 사용(21, 22)하거나 poly(ethylene) (PET), poly(methylmethacrylate)(PMMA), cyclic olefin copolymer (COC), poly(dimethylsiloxane) (PDMS) 등 다양한 종류의 플라스틱을 이용하여 랩온어칩을 제작(23)하기 위한 연구가 진행되었다. 상기 고분자 물질들은 glass나 silicon과 비교하여 빠르고 간단하게 랩온어칩을 제작할 수 있으며, 각각 다양한 고유의 특성을 활용할 수 있을 뿐만 아니라 변형 방법이 다수 개발됨으로써 랩온어칩 연구의 확대에 크게 기여하였다. 특히 PDMS는 soft lithography 방법에 의하여 제작된 mold로부터 casting에 의하여 동일한 랩온어칩의 빠른 제작이 용이하며, plasma 처리에 의하여 항구적인 bonding이 가능하고, 투명도가 높다는 점 등 다양한 장점이 있어, 랩온어칩의 제작에 널리 사용되고 있다(24-27). PDMS를 랩온어칩에 적용하기 위한 가장 큰 단점 중 하나였던 표면 전하 부족으로 인한 EOF의 불안정성(28) 역시 물리, 화학적 표면 처리 방법이 개발되면서 개선되었다(29, 30).

Electrophoresis와 capillary electrophoresis

전기장 내에서 전하를 띤 입자는 자신과 반대의 전하를 갖는 전극 방향으로 이동하게 되는데, electrophoresis는 용액 내에 존재하는 다른 종류의 물질들이 서로 다른 양의 전하를 갖게 되므로 결과적으로 전기장 내에서 서로 다른 속도로 이동하여 분리되는 특성을 이용한 방법이다. 일반적으로 electrophoresis는 용액의 흐름에 물리적, 기계적 안정성을 제공하는 지지체 내에서 수행되며, 지지체로는 semisolid slab, 또는 paper나 cellulose acetate 등이 사용되고 있다. Capillary electrophoresis (CE)는 electrophoresis의 변형된 분리기법으로, electrophoresis와 달리 내부가 비어있는 모세관의 벽면이 지지체의 역할을 수행하는 것이 특징이다(31). CE는 electrophoresis에 비하여 분석 속도가 빠르고, 자동화가 쉬우며 정량분석이 가능한 장점이 있어 활용 범위가 더욱 확대되고 있으며, 특히 수백 마이크로미터 이내의 미세채널을 이용하는 랩온어칩에 대한 적용이 용이하여 초기부터 많은 연구가 수행되었다(32).

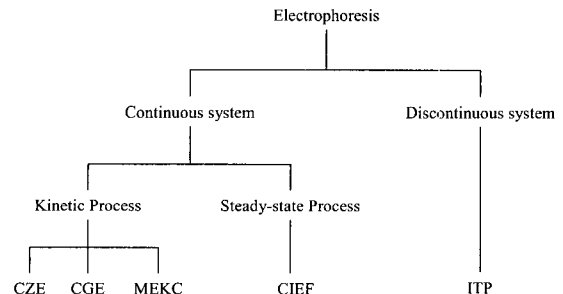


Figure 1. Classification of electrophoretic modes according to the nature of the electrolyte system. CZE, Capillary zone electrophoresis; CGE, Capillary gel electrophoresis; MEKC, Micellar electrokinetic capillary chromatography; CEC, Capillary electrochromatography; CIEF, Capillary isoelectric focusing; ITP, Capillary isotachopheresis

CE의 사용 방법을 electrolyte system에 따라 분류하면 Fig. 1과 같다. 하나의 electrolyte를 이용하는 continuous system은 background electrolyte의 조성이 일정한 것과 모세

관의 길이에 따라 변하는 것에 의하여 각각 kinetic process 와 steady-state process로 분류된다. 또한 시료가 두 개의 서로 다른 electrolyte 사이에서 이동하는 경우 discontinuous system으로 분류된다. 이하 각 방법에 대한 간단한 원리와 랩온어칩에 활용된 사례를 소개하였다.

Capillary zone electrophoresis

Capillary zone electrophoresis (CZE)는 가장 간단하고 기본적인 CE의 사용 방법이다. CZE에서 시료 내에 존재하는 여러 종류의 물질들은 같은 물질들끼리 모여 서로 다른 zone을 형성하고, 각 zone들은 서로 다른 속도로 이동하므로 이러한 이동도의 차이에 의하여 분리된다. 이 때 analyte의 이동속도는 용액의 pH, 점도, 농도, 전압 등에 영향 받는다.

CE에서 시료내에 존재하는 물질들은 EOF와 electrophoretic mobility에 의하여 모세관 내부에서 전극 사이를 이동하며, 총 이동도는 이들의 합이므로

$$\mu_{tot} = \mu_{ep} + \mu_{eo}$$

로 나타낸다. 이 때 electrophoretic mobility (μ_{ep})와 EOF (μ_{eo})에 의한 이동도는 다시 아래와 같이 나타낼 수 있다.

$$\mu_{ep} = \frac{q}{6} \pi r \eta \gamma, \mu_{eo} = \frac{\epsilon \zeta}{4 \pi \eta}$$

여기서 q 와 r 은 각각 analyte의 charge와 hydrated radius, η 는 용액의 점도, ϵ 는 용액의 dielectric constant, ζ 는 channel 벽면의 전하에서 기인하는 potential이다. CE는 EOF와 electrophoretic mobility에 의한 이동 방향에 따라 같은 방향인 경우 coelectroosmotic CE, 반대 방향인 경우 counterelectroosmotic CE의 두 가지로 분류한다(33). 또한 부가되는 전압에 의한 유체의 속도는 전체 이동도 (μ_{tot})와 전기장 (E , E =전압/전기장의 길이)을 이용하여

$$V_{tot} = \mu_{tot} E = (\mu_{ep} + \mu_{eo}) E$$

로 나타낼 수 있다.

CZE는 모세관의 내부가 비어있는 상태로 물질의 분리를 수행하므로, 모세관 내부에 다른 물질을 충전하는 등의 제작과정이 불필요하여, 랩온어칩에서도 초기부터 가장 기본적인 분리 방법으로 적용되었다. 대표적인 분리/분석 예로 CZE와 mass spectrometry의 결합에 의한 단백질 분리(34), PDMS 랩온어칩에서 electrochemiluminescence 검출법을 이용한 proline 분석(35), carbon nanotube로 처리된 electrochemical detector를 이용한 phenol과 아미노산 분석(36), amperometric 검출법을 이용한 탄수화물 분석(37), UV 검출기와 연결하여 antimicrobial metabolite의 빠른 측정(38), hormone 또는 drug과의 affinity binding을 이용한 특성 분석(39), chiral 물질의 분리(40) 등이 있다.

Micellar electrokinetic chromatography

CZE에서 중성을 띠는 물질들은 전기장 내에서 electrophoretic mobility가 없으므로 모두 EOF와 같은 속도로 이동하고, 따라서 서로 분리되지 않는 문제가 있다. 이를 극복하고 중성을 띠는 물질들을 분리하기 위하여 micellar electrokinetic chromatography (MEKC)가 제시되었다(41). MEKC는 CZE와 동일한 장치를 이용하나 용액 내에 critical micelle concentration (CMC) 이상 첨가된 계면활성제 등에 의하여 형성되는 micelle이 중성 물질의 분리에 작용하는 점에서 차이가 있다. MEKC에서는 micelle이 자체의 극성 때문에 EOF와 electrophoretic mobility 모두의 영향을 받아 이동함과 동시에, micelle 주변의 중성물질이 micelle과 용매 사이에서 분배되는 특성을 이용한다. 중성 물질의 이동도는 micelle의 electrophoretic mobility에 영향을 받아

$$\mu_{ep} = \left(\frac{k'}{k'+1} \right) \mu_{mc}$$

로 나타낼 수 있으며, 이 때 k' 은 capacity factor, $k'/(k'+1)$ 은 micelle과 연관된 analyte의 fraction이다. MEKC에서 분리 기작은 중성물질이 micelle과 용매 사이에서 분배되는 특성이므로 크로마토그래피법의 일종으로 간주되며, 이 때 micelle은 고정상과 같이 동작하므로 pseudostationary phase라 한다.

MEKC는 CE에 의하여 중성물질을 분리하기 위한 방법으로 제시되었으나, chiral 물질과 같이 전하를 띠면서도 electrophoretic mobility가 유사하여 분리가 잘 되지 않는 물질의 분리에도 활용되고 있다(42, 43). 이외에도 랩온어칩 상에서 phospholipid(44), metal ion(45)의 분리에 적용된 바 있다.

Capillary gel electrophoresis

단백질이나 핵산과 같은 macromolecule의 경우 크기의 변화에 따른 무게와 전하간의 비율 변화가 크지 않으므로, 물질의 크기 차이를 활용함으로써 분리 성능을 향상시키기 위하여 capillary gel electrophoresis (CGE)가 개발되었다. CGE에서는 모세관 내에 gel 또는 점도가 높은 고분자물질을 채움으로써 sieve의 역할을 하도록 한다. Sieve의 형성을 위하여 polyacrylamide, methylcellulose, dextran, polyethylene glycol 등 다양한 물질들이 적용된 바 있다. 단 CGE에서는 EOF의 형성에 의하여 충전된 gel이 유실될 가능성이 있으므로 EOF의 형성을 방지할 수 있도록 표면 처리된 모세관을 사용하며, 모세관 내부에 채운 gel의 저항 때문에 시료의 hydrostatic injection은 불가능하므로 전기적 방법에 의한 시료의 주입이 필수적이다(46).

이를 위하여 agarose gel을 이용한 CGE의 다양한 적용 예(47) 뿐만 아니라, poly (dimethylacrylamide) sieve를 활용한 랩온어칩에서의 DNA sequencing(48), CGE를 이용한 DNA의 분석(49) 및 base stacking(50) 방법, acrylic 마이크로 채널을 이용한 단백질 분리(51) 등의 연구가 수행되었다.

Capillary electrochromatography

Capillary electrochromatography (CEC)는 liquid chromatography (LC)와 CE의 접목에 의한 것으로, 모세관 내에서 유체의 흐름을 전기적으로 제어하여 stationary phase가 제작된 chromatography column을 통과시키면서 물질 분리를 수행하는 기법이다(52). CEC는 전기적 방법으로 주입되는 용매와 시료가 plug 형태를 유지함과 동시에 bead 또는 폴리머로 구성되는 stationary phase의 특성에 따라 normal phase, reverse phase, ion exchange, hydrophobic interaction, size exclusion 등 LC의 다양성을 활용할 수 있는 장점이 있다(53). 일반적으로 CEC column은 CE와 달리 bead를 충전하여야 하므로 packed, open-tubular, 그리고 continuous-bed 또는 monolithic column의 세 가지로 분류되며, 이들 중 packed column이 가장 많이 사용되고 있다(54).

랩온어칩의 경우 내부에 수백 마이크로미터 이내의 복잡한 미세 채널을 갖도록 설계되므로 필요한 부분만을 선택적으로 packing할 수 있는 기술이 매우 중요하다. 따라서 미세채널 내부에 bead를 고정시킬 수 있는 frit의 제작을 위하여 고분자물질을 이용(55)하거나 랩온어칩 제작시 미세한 구조물을 채널 내부에 설치하는 방법(56) 등이 다양하게 제시되었다(57). 그러나 frit을 이용하는 경우 충전된 bead의 움직임을 방지하기 위한 packed column의 앞, 뒤에 모두 frit을 제작하는 데 어려움이 있어, 랩온어칩 제작시 구조물을 설치함으로써 frit 없이도 bead를 고립시켜 충전하는 방법(58)과 bead 대신 고분자 재질의 monolith를 미세 채널 내에 직접 제작(59)하거나 bead와 함께 제작(60)하는 방법 등이 다양하게 제시되었다. 이 때 다공성 monolith는 미세채널 내에서 제작이 용이하도록 주로 온도 변화 또는 빛의 조사에 의하여 경화되는 고분자물질을 주로 사용한다(61).

랩온어칩에서 CEC는 중성물질 뿐만 아니라 chiral 물질(62), peptide(63), gradient elution에 의한 aromatic compound의 분리(64) 등 다양한 물질의 분리에 적용되었으며, NMR(65) 또는 mass spectrometry(66)와 직접 연결하여 활용되기도 하였다.

Capillary isoelectric focusing

단백질과 peptide 등 zwitterion성 물질의 등전점을 이용하여 모세관 내에서 분리하기 위한 기술로 capillary isoelectric focusing (CIEF)이 있으며, 모세관 내에 pH의 기울기를 만들어 사용한다. 모세관 내부는 시료의 등전점을 포함하여 넓은 범위의 등전점을 갖는 ampholyte들을 carrier ampholyte와 시료의 혼합물로 충전한다. 단 EOF가 너무 빠를 경우 pH 기울기를 만들기 위하여 주입된 물질이 손실되는 것을 방지하는 것이 필요하므로 모세관의 내벽은 EOF를 최소화하고 물질의 흡착을 막기 위한 표면 처리가 필요하다. ampholyte와 분석 대상물질들은 모세관 내에서 전기장에 의하여 자신들의 등전점에 해당하는 위치로 이동하여 분리된다. 이후 서로 다른 등전점에 모인 시료들을 검출기를 통과시키면서 이송하여 각 물질의 농도를 측정하게 된다. 이 때 hydrodynamic 또는 electrophoretic 방법에 의한 이송을 이용할 수 있다. 운전 초기에는 물질들이 등

전점 방향으로 빠르게 이동하므로 높은 이동성과 전류를 나타내며, 등전점에 가까워질수록 전류가 낮게 측정된다. 따라서 전류를 측정함으로써 분리과정이 완결된 것을 검출할 수 있다(67). 또한 CIEF 중 EOF를 충분히 낮게 유지하는 경우 물질분리 이후에 검출을 위하여 물질들을 이송시키는 과정을 생략하고 분리와 동시에 검출하는 것이 가능하다.

CIEF에서 UV 흡광을 이용한 imaging 법을 통하여 myoglobin의 분리에 적용(68)하거나 랩온어칩 CIEF에 적절한 형광 검출기를 제작하고 peptide 분리를 수행(69)하는 등 적절한 검출방법에 대한 연구가 진행된 바 있다. 또한, electrospray ionization (ESI) mass spectrometry와 연결하여 myoglobin, carbonic anhydrase, hemoglobin 등 다양한 단백질의 분리(70), CE와 연결하여 green fluorescence protein의 분리와 농축을 수행(71), multidimensional 단백질 분리를 위한 CGE와의 연계(72), glass chip 상에서의 peptide 분석을 위한 적용(73) 등에 사용되었다.

Isotachopheresis

Isotachopheresis (ITP)에서는 이동성이 다른 두 개의 용액 사이에 analyte를 포함하는 시료의 plug을 주입하며, 이 때 시료 앞에서 검출기 방향으로 이동하는 용액 (leading electrolyte)은 모든 분석 대상 물질보다 높은 이동성을, 시료 뒤 injector 방향의 용액 (trailing electrolyte)은 낮은 이동성을 갖도록 함으로써 두 용액들 사이에서 물질분리가 일어나도록 하는 방법이다(74). ITP에서는 양전하와 음전하를 갖는 물질을 동시에 분석하는 것은 불가능하며, 물질 분리는 일반적으로 전류를 고정시켜 수행된다. 또한 서로 다른 물질들은 시료의 plug 내에서 분리된 구역을 형성하는 것이 특징이다. Leading electrolyte와 trailing electrolyte를 포함하여 각 구역은 이동성이 빠른 순서대로 검출되며 따라서 시간에 따라 step 형태로 conductivity가 감소하는 형태의 isotachopherogram을 얻을 수 있다. Isotachopherogram에서 analyte zone의 길이는 농도, 높이는 analyte의 이동성과 비례하여 나타난다.

ITP에서는 분리된 각 물질로 구성되는 구역의 구분이 명확하며, 평형 상태에서 leading electrolyte의 농도에 따라 시료내 이온의 농도가 결정되는 특성이 있다. 즉 leading electrolyte의 농도가 시료 구역의 농도와 차이가 큰 경우, 시료 용액은 leading electrolyte의 농도에 근접하기 위하여 구역 내에서 농축되므로 구역의 길이가 짧아지며, 반대로 leading electrolyte의 농도와 시료의 농도 차이가 크지 않은 경우 시료 구역의 길이가 길어져 희석되는 효과가 발생한다.

ITP는 다양한 leading electrolyte와 trailing electrolyte의 조건을 부여할 수 있어 불순물에 의한 간섭을 감소시킬 수 있으며, 낮은 농도로 존재하는 분석 대상 물질의 농축이 가능하다는 점 등 CZE와 비교할 때 다양한 장점이 있으나 사용 조건의 선정이 어려워 실제 적용에는 제약을 받고 있다(75). 그러나 CZE와 연계하는 경우 시료의 농축(76)이 가능하고, 분석 가능한 시료의 양을 증가시키는 등의 효과가 있어 이와 관련된 연구가 진행되고 있다(77).

현재까지 랩온어칩과 ITP를 활용하여 시료 주입량을 제어하는 기술(78)이 개발된 바 있으며, ITP를 위한 PMMA 재질의 랩온어칩(79)과 conductivity 측정을 위한 폴리머 전극의 제작 및 succinate, acetate, benzoate의 분석 기술(80)이 개발되었다. 이외에도 ITP를 이용하여 고농도의 saline sample(81), sulfite(82), 아미노산(83), DNA 단편(84), 금속(85), inorganic arsenic speciation(86), wine 내의 organic acids와 inorganic anions(87) 등을 분석하기 위한 랩온어칩과 기술이 제안되었다.

Dielectrophoresis

전하를 띠지 않거나 중성인 입자들은 전기장 내에서 입자 내부의 전하가 분극화되므로 입자 주위의 매질과 중성 입자 사이에 쌍극자 모멘트가 유도되며, 이렇게 분극화된 입자가 불균일한 전기장 내에서 전기장이 크거나 작은 방향으로 이동하는 것을 dielectrophoresis라 한다. 입자는 같은 양의 양전하와 음전하를 가지므로, 전하를 띠는 물질이 반대 전하를 갖는 전극 방향으로 이동하는 electrophoresis와는 달리 전극의 극성과 무관하게 DEP 힘이 작용하는 방향으로만 움직이며, 따라서 전극의 방향이 바뀌어도 이동 방향이 변하지 않는다. 즉 DEP에서는 입자의 유전율, 기하학적인 구조, 전도율 및 전기장의 주파수 변화 등에 의하여 전기장의 세기가 큰 방향이나 작은 방향 중 한쪽으로 이동하며, 큰 방향으로 이동할 때 positive, 작은 방향으로 이동할 때 negative DEP라 한다. 일반적으로 일정 주파수의 전기장 내에서 중성입자가 주위 매질보다 분극효과, 유전율, 전도율 등이 크면 중성입자와 주위 매질 사이의 유도쌍극자 모멘트 효과가 커져 전기장 내의 세기가 큰 방향으로 이동(positive DEP) 한다(88).

랩온어칩 내에서 DEP를 이용하여 세포를 비롯한 다양한 생물물질의 분리 연구가 수행되어 왔으며, DEP를 위한 전극의 제작 및 배열(89) 뿐만 아니라 입자와 세포의 sorting(90), micro-, nanoparticle의 제어와 농축을 위한 적용(91), live와 열처리된 listeria 세포의 분리(92) 등이 수행되었다.

기타 생물분리 기법 및 활용

상기 전기적인 특성을 이용한 분리기법 외에도 다양한 방법들이 랩온어칩 상에서 구현되었다. 전기장 이외에 자력을 이용한 생물분리도 많은 성과가 있는 분리기법 중의 하나이다. 전기적인 유도에 의하여 형성되는 자력을 이용하여 물리적인 필터 없이 세포(93) 또는 bead(94)를 분리하는 연구가 진행되었다. 또한 미세채널 내에서 자력장을 제어하여 용액을 이송하는 magnetohydrodynamic flow 방법(95)과 DNA의 분리를 위한 자성 bead의 자가 조립 matrix 제작 방법(96) 등이 제시된 바 있다.

수백 마이크로미터 이내의 미세채널 안에서는 물과 같은 유체도 점도가 높은 것과 같이 동작하므로 주입되는 용액이 laminar flow를 형성 (Reynolds number 낮음) 하므로 이를 물질분리에 적용하는 연구도 진행되었다. Laminar flow를 형성하는 경우 미세채널 내부에서 물질의 이동에 영향을 주는 요인은 확산(diffusion) 뿐이다. Oakey 등은

이러한 특징을 이용하여 랩온어칩 내에서 *E. coli* 세포를 분리(97)하였으며, 비대칭적인 laminar flow를 이용하여 입자를 분리하기 위한 기술(98)도 발표된 바 있다. 또한 랩온어칩 내에서 여러 개의 laminar stream을 이용한 세포의 선택적 처리(99), laminar flow diffusion을 이용한 시료의 전처리(100) 방법의 개발 등에 활용되었다.

이외에도 랩온어칩 내부에 물리적인 막을 설치(101)하거나, 유기용매 또는 수성이상계(102, 103) 등 추출 기법을 물질 분리에 적용한 연구, 세균의 주화성을 이용한 분리(104) 기법도 발표된 바 있다.

요 약

이상 랩온어칩에서 사용된 생물분리 방법과 그 예를 소개하였다. 랩온어칩에서는 수백 마이크로미터 이하의 미세채널을 사용하므로 유사한 크기의 채널을 사용하는 capillary electrophoresis에서 사용되었던 기법들이 가장 많이 활용되어왔으며, 랩온어칩 내에서 물질분리를 위한 기본 방법으로 적용되어왔다. 현재까지 CE에 사용되었던 기법들은 모두 랩온어칩 상에 구현된 바 있으며, 이러한 기술들은 랩온어칩의 활용 가능성 및 활용 분야 증대에 크게 기여하였다. 이외에도, laminar flow의 특성을 이용하거나, 막을 제작하거나, 추출 기법을 활용하는 등의 다양한 시도가 있었다. 그러나, high-throughput, 이동형 장비를 지향하는 랩온어칩에서 고전압을 사용하는 경우 활용에 제약이 가해질 수 있어, 용도에 맞는 적절한 분리기술의 개발 및 선택이 랩온어칩의 활용 가능성을 결정짓는 중요한 요인이 될 것으로 판단된다.

감 사

본고는 한국 과학재단 지원 인하대학교 초정밀 생물분리기술 연구센터의 지원을 받아 작성되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Manz, A., J. Harrison, E. M. J. Verpoorte, J. C. Fetting, A. Paulus, H. Lüdi and H. M. Widmer (1992), Planar chips technology for miniaturization and integration of separation techniques into monitoring systems : Capillary electrophoresis on a chip, *J. of Chrom. A* **593**, 243-252.
2. Harrison, D. J., A. Manz, Z. Fan, H. Luedi and H. M. Widmer (1992), Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip, *Anal. Chem.* **64**, 1920-1925.
3. Hadd, A. G., D. E. Raymond, J. W. Halliwell, S. C. Jacobson and J. M. Ramsey (1997), Microchip device for performing enzyme assays, *Anal. Chem.* **69**, 3407-3412.
4. Rodriguez, I., Y. Zhang, H. K. Lee and S. F. Y. Li (1997), 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. of Chrom. A* **781**, 287-293.
5. Zholkovskij, E. K. and J. H. Masliyah (2004), Hydrodynamic

- dispersion due to combined pressure-driven and electroosmotic flow through microchannels with a thin double layer, *Anal. Chem.* **76**, 2708-2718.
6. Bruin, G. J. M. (2000), Recent developments in electrokinetically driven analysis on microfabricated devices, *Electrophoresis* **21**, 3931-3951.
 7. Guijt, R. M., E. Baltussen, G. van der Steen, H. Frank, H. Billiet, T. Schalkhammer, F. Laugere, M. Vellekoop, A. Berthold, L. Sarro and G. W. K. van Dedem (2001), Capillary electrophoresis with on-chip four-electrode capacitively coupled conductivity detection for application in bioanalysis, *Electrophoresis* **22**, 2537-2541.
 8. Guenat, O. T., D. Ghiglione, W. E. Morf and N. F. de Rooij (2001), Partial electroosmotic pumping in complex capillary systems Part 2: Fabrication and application of a micro total analysis system (μ -TAS) suited for continuous volumetric nanotitrations, *Sens. & Actuators B* **72**, 273-282.
 9. Liu, Y., R. S. Foote, C. T. Culbertson, S. C. Jacobson, R. S. Ramsey and J. M. Ramsey (2000), Electrophoretic separation of proteins on microchips, *J. Microcolumn Separations* **12**, 407-411.
 10. Shultz-Lockyear, L. L., C. L. Colyer, Z. H. Fan, K. I. Roy and D. J. Harrison (1999), Effects of injector geometry and sample matrix on injection and sample loading in integrated capillary electrophoresis devices, *Electrophoresis* **20**, 529-538.
 11. Effenhauser, C. S., A. Manz and H. M. Widmer (1993), Glass chips for high-speed capillary electrophoresis separations with submicrometer plate heights, *Anal. Chem.* **65**, 2637-2642.
 12. Harrison, D. J., K. Fluri, K. Seiler, Z. Fan, C. S. Effenhauser and A. Manz (1993), Micromachining a miniaturized capillary electrophoresis-based chemical analysis system on a chip, *Science* **261**, 895-897.
 13. Jacobson, S. C., R. Hergenröder, L. B. Koutny, R. J. Warmack and J. M. Ramsey (1994), Effects of injection schemes and column geometry on the performance of microchip electrophoresis devices, *Anal. Chem.* **66**, 1107-1113.
 14. Jacobson, L. B. Koutny, S. C., R. Hergenröder, A. W. Moore, Jr., and J. M. Ramsey (1994), Microchip capillary electrophoresis with an integrated postcolumn reactor, *Anal. Chem.* **66**, 3472-3476.
 15. Gai, H., L. Yu, Z. Dai, Y. Ma and B. Lin (2004), Injection by hydrostatic pressure in conjunction with electrokinetic force on a microfluidic chip, *Electrophoresis* **25**, 1888-1894.
 16. Roddy, E. S., H. Xu and A. G. Ewing (2004), Sample introduction techniques for microfabricated separation devices, *Electrophoresis* **25**, 229-242.
 17. Qian, S and H. H. Bau (2002), A chaotic electroosmotic stirrer, *Anal. Chem.* **74**, 3616-3625.
 18. Salimi-Moosavi, H., T. Tang and D. J. Harrison (1997), Electroosmotic pumping of organic solvents and reagents in microfabricated reactor chips, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 8716-8717.
 19. Seiler, K., D. J. Harrison and A. Manz (1993), Planar glass chips for capillary electrophoresis: Repetitive sample injection, quantitation, and separation efficiency, *Anal. Chem.* **65**, 1481-1488.
 20. McDonald, J. C., D. C. Duffy, J. R. Anderson, D. T. Chiu, H. Wu, O. J. A. Schueller and G. M. Whitesides (2000), Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane), *Electrophoresis* **21**, 27-40.
 21. Hong, J. W., T. Fujii, M. Seki, T. Yamamoto and I. Endo (2001), Integration of gene amplification and capillary gel electrophoresis on a polydimethylsiloxane-glass hybrid microchip, *Electrophoresis* **22**, 328-333.
 22. Chang, W.-J., D. Akin, M. Sedlak, M. R. Ladisch and R. Bashir (2003), Poly(dimethylsiloxane)(PDMS) and silicon hybrid biochip for bacterial culture, *Biomed. Microdev.* **5**, 281-290.
 23. Unger, M. A., H.-P. Chou, T. Thorsen, A. Scherer and S. R. Quake (2000), Monolithic microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography, *Science* **288**, 113-116.
 24. Whitesides, G. M., E. Ostuni, S. Takayama, X. Jiang and D. E. Ingber (2001), Soft lithography in biology and biochemistry, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **3**, 335-373.
 25. Yamaguchi, A., P. Jin, H. Tsuchiyama, T. Masuda, K. Sun, S. Matsuo and H. Misawa (2002), Rapid fabrication of electrochemical enzyme sensor chip using polydimethylsiloxane microfluidic channel, *Anal. Chim. Acta* **468**, 143-152.
 26. Schmid, H. and B. Michel (2000), Siloxane polymers for high-resolution, high-accuracy soft lithography, *Macromolecules* **33**, 3042-3049.
 27. Park, N. and J. H. Hahn (2003), PDMS lab-on-a-chip, *Chem. World* **43**, 37-41.
 28. Ren, X., M. Bachman, C. Sims, G.P. Li and N. Allbritton (2001), Electroosmotic properties of microfluidic channels composed of poly(dimethylsiloxane), *J. Chrom. B* **762**, 117-125.
 29. Badal, M. Y., M. Wong, N. Chiem, H. Salimi-Moosave and D. J. Harrison (2002), Protein separation and surfactant control of electroosmotic flow in poly(dimethylsiloxane)-coated capillaries and microchips, *J. Chrom. A* **947**, 277-286.
 30. Sui, Z. and J. B. Schlenoff (2003), Controlling electroosmotic flow in microchannels with pH-responsive polyelectrolyte multilayers, *Langmuir* **19**, 7829-7831.
 31. Weston, A. and P. R. Brown (1997), HPLC and CE, p134, Academic Press, San Diego.
 32. Li, S. F. Y. (1992), Capillary electrophoresis, p1, Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
 33. Jandik, P. and G. Bonn (1993), Capillary electrophoresis of small molecules and ions, p37, VCH Publishers, Inc., New York.
 34. Zhang, B., F. Foret and B. L. Karger (2000), A microdevice with integrated liquid junction for facile peptide and protein analysis by capillary electrophoresis/electrospray mass spectrometry, *Anal. Chem.* **72**, 1015-1022.
 35. Qiu, H., J. Yan, X. Sun, J. Liu, W. Cao, X. Yang and E. Wang (2003), Microchip capillary electrophoresis with and integrated indium tin oxide electrode-based electrochemiluminescence detector, *Anal. Chem.* **75**, 5435-5440.
 36. Wang, J., G. Chen, M. P. Chatrathi and M. Musameh (2004), Capillary electrophoresis microchip with a carbon nanotube-modified electrochemical detector, *Anal. Chem.* **76**, 298-302.
 37. Lee, H. -L and S. -C. Chen (2004), Microchip capillary electrophoresis with amperometric detection for several carbohydrates, *Talanta* **64**, 210-216.
 38. Guihen, E. and J. D. Glennon (2005), Rapid separation of antimicrobial metabolites by microchip electrophoresis with UV linear imaging detection, *J. Chrom. A* **1071**, 223-228.
 39. Stettler, A. R. and M. A. Schwarz (2005), Affinity capillary electrophoresis on microchips, *J. Chrom. A* **1063**, 217-225.
 40. Cho, S. I., J. Shim, M.-S. Kim, Y.-K. Kim and D. S. Chung (2004), On-line sample cleanup and chiral separation of gemifloxacin in a urinary solution using chiral crown ether as a chiral selector in microchip electrophoresis, *J. Chrom. A* **1055**, 241-245.
 41. Terabe, S., K. Otsuka and T. Ando (1985), Electrokinetic chromatography with micellar solution and open-tubular capillary, *Anal. Chem.* **57**, 834-841.
 42. Mwonela, S. M., A. Numan, N. L. Gill, R. A. Agbaria and I. M. Warner (2003), Separation of achiral and chiral analytes using polymeric surfactants with ionic liquids as modifiers in micellar electrokinetic chromatography, *Anal. Chem.* **75**, 6089-6096.
 43. Kim, J.-B. and S. Terabe (2003), On-line sample preconcentration techniques in micellar electrokinetic chromatography, *J. Pharm. & Biomed. Anal.* **30**, 1625-1643.
 44. Lin, S., A. S. Fischl, X. Bi and W. Parce (2003), Separation of phospholipids in microfluidic chip device: Application to high-throughput screening assays for lipid-modifying enzymes, *Anal.*

- Biochem.* **314**, 97-107.
45. Collins, G. E. and Q. Lu (2001), Radionuclide and metal ion detection on a capillary electrophoresis microchip using LED absorbance detection, *Sens. & Act. B* **76**, 244-249.
 46. Schure, M. R., R. E. Murphy, W. L. Klotz and W. Lau (1998), High-performance capillary gel electrochromatography with replaceable media, *Anal. Chem.* **70**, 4985-4995.
 47. Petersen, J. R., A. O. Okorodudu, A. Mohammad and D. A. Payne (2003), Capillary electrophoresis and its application in the clinical laboratory, *Clinica Chimica Acta* **330**, 1-30.
 48. Zhu, L., W. J. Stryjewski and S. A. Soper (2004), Multiplexed fluorescence detection in microfabricated devices with both time-resolved and spectral-discrimination capabilities using near-infrared fluorescence, *Anal. Biochem.* **330**, 206-218.
 49. Ehrlich, D. J. and P. Matsudaira (1999), Microfluidic devices for DNA analysis, *Tr. Biotechnol.* **17**, 315-319.
 50. Kim, D.-K. and S. H. Kang (2005), On-channel base stacking in microchip capillary gel electrophoresis for high-sensitivity DNA fragment analysis, *J. Chrom. A* **1064**, 121-127.
 51. Mizukami, Y., D. Rajniak, A. Rajniak and M. Nishimura (2002), A novel microchip for capillary electrophoresis with acrylic microchannel fabricated on photosensor array, *Sens. & Act. B* **81**, 202-209.
 52. Bartle, K. D. and P. Myers (2001), Theory of capillary electrochromatography, *J. Chrom. A* **916**, 3-23.
 53. Colón, L. A., G. Burgos, T. D. Maloney, J. M. Cintrón and R. L. Rodriguez (2000), Recent progress in capillary electrochromatography, *Electrophoresis* **21**, 3965-3993.
 54. Vanhoenacker, G., T. V. den Bosch, G. Rozing and P. Sandra (2001), Recent applications of capillary electrochromatography, *Electrophoresis* **22**, 4064-4103.
 55. Zhang, X. and S. Huang (2001), Single step on-column frit making for capillary high-performance liquid chromatography using sol-gel technology, *J. Chrom. A* **910**, 13-18.
 56. Ro, K. W., W.-J. Chang, H. Kim, Y.-M. Koo and J. H. Hahn (2003), Capillary electrochromatography and preconcentration of neutral compounds on poly(dimethylsiloxane) microchips, *Electrophoresis* **24**, 3253-3259.
 57. Van den Bosch, S.E., S. Heemstra, J.C. Kraak and H. Poppe (1996), Experiences with packed capillary electrochromatography at ambient pressure, *J. Chrom. A* **755**, 165-177.
 58. Chirica, G. S. and V. T. Remcho (2000), A simple procedure for the preparation of fritless columns by entrapping conventional high performance liquid chromatography sorbents, *Electrophoresis* **21**, 3093-3101.
 59. Svec, F., E. C. Peters, D. Sýkora and J. M. J. Fréchet (2000), Design of the monolithic polymers used in capillary electrochromatography columns, *J. Chrom. A* **887**, 3-29.
 60. Dulay, M. T., R. P. Kulkarni and R. N. Zare (1998), Preparation and characterization of monolithic porous capillary columns loaded with chromatographic particles, *Anal. Chem.* **70**, 5103-5107.
 61. Fintschenko, Y., W.-Y. Choi, S. M. Ngola and T. J. Sheppard (2001), Chip electrochromatography of polycyclic aromatic hydrocarbons on an acrylate-based UV-initiated porous polymer monolith, *Fresenius J. Anal. Chem.* **371**, 174-181.
 62. Kawamura, K., K. Otsuka and S. Terabe (2001), Capillary electrochromatographic enantioseparations using a packed capillary with a 3 µm OD-type chiral packing, *J. Chrom. A* **924**, 251-257.
 63. Slentz, B. E., N. A. Penner and F. E. Regnier (2002), Capillary electrochromatography of peptides on microfabricated poly(dimethylsiloxane) chips modified by cerium(IV)-catalyzed polymerization, *J. Chrom. A* **948**, 225-233.
 64. Zhang, W., L. Zhang, G. Ping, Y. Zhang and A. Kettrup (2001), Migration of neutral solutes by double stepwise gradient elution in capillary electrochromatography, *J. Chrom. A* **922**, 277-282.
 65. Pusecker, K., J. Schewitz, P. Gfrörer, L.-H. Tseng, K. Albert and E. Bayer (1998), On-line coupling of capillary electrochromatography, capillary electrophoresis, and capillary HPLC with nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Anal. Chem.* **70**, 3280-3285.
 66. Ding, J. and P. Vouros (1997), Capillary electrochromatography and capillary electrochromatography-mass spectrometry for the analysis of DNA adduct mixtures, *Anal. Chem.* **69**, 379-384.
 67. Thormann, W., J. Caslavská, S. Molteni and J. Chmelik (1992), Capillary isoelectric focusing with electroosmotic zone displacement and on-column multichannel detection, *J. Chrom. A* **589**, 321-327.
 68. Mao, Q. and J. Pawliszyn (1999), Demonstration of isoelectric focusing on an etched quartz chip with UV absorption imaging detection, *Analyst* **124**, 637-641.
 69. Raisi, F., P. Belgrader, D. A. Borkholder, A. E. Herr, G. J. Kiritz, F. Pourhamadi, M. T. Tayler and M. A. Northrup (2001), Microchip isoelectric focusing using a miniature scanning detection system, *Electrophoresis* **22**, 2291-2295.
 70. Wen, J., Y. Lin, F. Xiang, D. W. Matson, H. R. Udseth and R. D. Smith (2000), Microfabricated isoelectric focusing device for direct electrospray ionization-mass spectrometry, *Electrophoresis* **21**, 191-197.
 71. Herr, A. E., J. I. Molho, K. A. Drouvalakis, J. C. Mikkelsen, P. J. Utz, J. G. Santiago and T. W. Kenny (2003), On-chip coupling of isoelectric focusing and free solution electrophoresis for multidimensional separations, *Anal. Chem.* **75**, 1180-1187.
 72. Li, Y., J. S. Buch, F. Rosenberger, D. L. DeVoe and C. S. Lee (2004), Integration of isoelectric focusing with parallel sodium dodecyl sulfate gel electrophoresis for multidimensional protein separations in a plastic microfluidic network, *Anal. Chem.* **76**, 742-748.
 73. Hofmann, O., D. Che, K. A. Cruickshank and U. R. Muller (1999), Adaptation of capillary isoelectric focusing to microchannels on a glass chip, *Anal. Chem.* **71**, 678-686.
 74. Grossman, P. D. and J. C. Colburn (1992), Capillary electrophoresis, p320, Academic Press Inc., California.
 75. Prest, J. E., S. J. Baldock, P. R. Fielden, N. J. Goddard and B. J. T. Brown (2003), Determination of inorganic selenium species by miniaturised isotachopheresis on a planar polymer chip, *Anal. Bioanal. Chem.* **376**, 78-84.
 76. Wainright, A., S. J. Williams, G. Ciambone, Q. Xue, J. Wei and D. Harris (2002), Sample pre-concentration by isotachopheresis in microfluidic devices, *J. Chrom. A* **979**, 69-80.
 77. Kvasnička, F., M. Jaroš and B. Gaš (2001), New configuration in capillary isotachopheresis-capillary zone electrophoresis coupling, *J. Chrom. A* **916**, 131-142.
 78. Baldock, S.J., P.R. Fielden, N.J. Goddard, H.R. Kretschmer, J.E. Prest and B.J. Treves Brown (2004), Novel variable volume injector for performing sample introduction in a miniaturised isotachopheresis device, *J. Chrom. A* **1042**, 188-188.
 79. Graß, B., A. Neyer, M. Jöhnck, D. Siepe, F. Eisenbeiß, G. Weber and R. Hergenröder (2001), A new PMMA-microchip device for isotachopheresis with integrated conductivity detector, *Sens. & Act. B* **72**, 249-258.
 80. Masár, M., M. Žúborová, J. Bielčíková, D. Kaniánský, M. Jöhnck and B. Stanislawski (2001), Conductivity detection and quantitation of isotachopheretic analytes on a planar chip with on-line coupled separation channels, *J. Chrom. A* **916**, 101-111.
 81. Jeong, Y., K. Choi, M. K. Kang, K. Chun and D. S. Chung (2005), Transient isotachopheresis of highly saline samples using a microchip, *Sens. & Act. B* **104**, 269-275.
 82. Masár, M., M. Danková, E. Ölvecká, A. Stachurová, D. Kaniánský and B. Stanislawski (2004), Determination of free sulfite in wine by zone electrophoresis with isotachopheresis sample pretreatment on a column-coupling chip, *J. Chrom. A* **1026**, 31-39.

83. Prest, J. E., S. J. Baldock, P. R. Fielden, N. J. Goddard and B. J. Treves Brown (2004), Analysis of amino acids by miniaturised isotachopheresis, *J. Chrom. A* **1051**, 221-226.
84. Xu, Z.Q., T. Hirokawa, T. Nishine and A. Arai (2003), High-sensitivity capillary gel electrophoretic analysis of DNA fragments on an electrophoresis microchip using electrokinetic injection with transient isotachopheretic preconcentration, *J. Chrom. A* **990**, 53-61.
85. Prest, J. E., S. J. Baldock, P. R. Fielden, N. J. Goddard, K. Kalimeri, B. J. Treves Brown and M. Zraggen (2004), Use of miniaturised isotachopheresis on a planar polymer chip to analyse transition metal ions in solutions from metal processing plants, *J. Chrom. A* **1047**, 289-298.
86. Prest J. E., S. J. Baldock, P. R. Fielden, N. J. Goddard and B. J. Treves Brown (2003), Miniaturised isotachopheretic analysis of inorganic arsenic speciation using a planar polymer chip with integrated conductivity detection, *J. Chrom. A* **990**, 325-334.
87. Masár, M., D. Kaniánsky, R. Bodor, M. Jöhnc and B. Stanislawski (2001), Determination of organic acids and inorganic anions in wine by isotachopheresis on a planar chip, *J. Chrom. A* **916**, 167-174.
88. Pethig, R. (1979), Dielectric and electronic properties of biological materials, p186, John Wiley & Sons, Surrey.
89. Cummings, E. B. and A. K. Singh (2003), Dielectrophoresis in microchips containing arrays of insulating posts: Theoretical and experimental results, *Anal. Chem.* **75**, 4724-4731.
90. Fiedler, S., S. G. Shirley, T. Schnelle and G. Fuhr (1998), Dielectrophoretic sorting of particles and cells in a microsystem, *Anal. Chem.* **70**, 1909-1915.
91. Dürr, M., J. Kentsch, T. Müller, T. Schnelle and M. Stelzle (2003), Microdevices for manipulation and accumulation of micro- and nanoparticles by dielectrophoresis, *Electrophoresis* **24**, 722-731.
92. Li, H. and R. Bashir (2002), Dielectrophoretic separation and manipulation of live and heat-treated cells of *Listeria* on microfabricated devices with interdigitated electrodes, *Sens. & Act. B* **86**, 215-221.
93. Choi, J.-W., C. H. Ahn, S. Bhansali and H. T. Henderson (2000), A new magnetic bead-based, filterless bio-separator with planar electromagnet surfaces for integrated bio-detection systems, *Sens. & Act. B* **68**, 34-39.
94. Choi, J.-W., T. M. Liakopoulos and C. H. Ahn (2001), An on-chip magnetic bead separator using spiral electromagnets with semi-encapsulated permalloy, *Biosens. & Bioelec.* **16**, 409-416.
95. Grand, K. M., J. W. Hemmert and H. S. White (2002), Magnetic field-controlled microfluidic transport, *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 462-467.
96. Minc, N., C. Futterer, K. D. Dorfman, A. Bancaud, C. Gosse, C. Goubault and J.-L. Viovy (2004), Quantitative microfluidic separation of DNA in self-assembled magnetic matrixes, *Anal. Chem.* **76**, 3770-3776.
97. Oakey, John, J. Allely and D. W. M. Marr (2002), Laminar-flow-based separations at the microscale, *Biotechnol. Prog.* **18**, 1439-1442.
98. Huang, L. R., E. C. Cox, R. H. Austin and J. C. Stum (2004), Continuous particle separation through deterministic lateral displacement, *Science* **304**, 987-990.
99. Takayama, S., E. Ostuni, P. LeDuc, K. Naruse, D. E. Ingber and G. M. Whitesides (2003), Selective chemical treatment of cellular microdomains using multiple laminar streams, *Chem. & Biol.* **10**, 123-130.
100. Jandik, P., B.H. Weigl, N. Kessler, J. Cheng, C.J. Morris, T. Schulte, and N. Avdalovic (2002), Initial study of using a laminar fluid diffusion interface for sample preparation in high-performance liquid chromatography, *J. Chrom. A* **954**, 33-40.
101. Lion, N., J. -O. Gellon, H. Jensen and H. H. Girault (2003), On-chip protein sample desalting and preparation for direct coupling with electrospray ionization mass spectrometry, *J. Chrom. A* **1003**, 11-19.
102. Yamada, M., V. Kasim, M. Nakashima, J. Edahiro and M. Seki (2004), Continuous cell partitioning using an aqueous two-phase flow system in microfluidic devices, *Biotechnol. & Bioeng.* **88**, 489-494.
103. Nam, K.-H., H. Hong, H.-M. Park, S. M. Lim, W.-J. Chang, D.-I. Kim and Y.-M. Koo (2005), Continuous flow fractionation of CHO-K1 cells in microfluidic device using aqueous two-phase extraction technique, In *Biochemical Engineering from Genomics to Human Well-Being*, M. B. Gu and J. Lee Eds.; Proc. Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2005, Jeju, pp253.
104. Park, S., P. M. Wolanin, E. A. Yuzbashyan, P. Silberzan, J. B. Stock, and R. H. Austin (2003), Motion to form a quorum, *Science* **301**, 188.