(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0067748
(43) 공개일자 2025년05월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2023.01) *C12M 3/06* (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/502776 (2013.01)
C12M 23/16 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0157056
(22) 출원일자 2024년11월07일
심사청구일자 2024년11월07일
(30) 우선권주장
1020230153564 2023년11월08일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
정아람
서울특별시 용산구 이촌로 260, 1동 502호
이민정
경기도 의왕시 까치골길 7 까치아파트 615호
(74) 대리인
최훈식

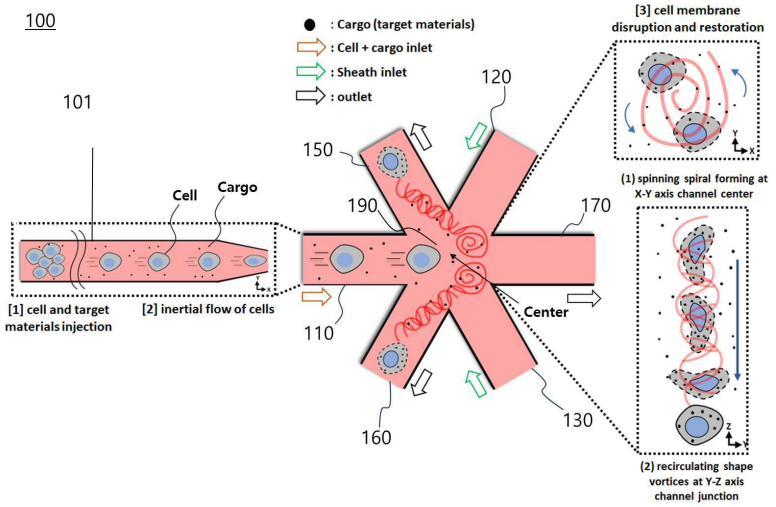
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **와류를 이용한 세포내 물질전달 플랫폼 및 이를 이용한 물질전달 방법**

(57) 요 약

본 발명은 세포의 내부로 전달물질을 전달하는 세포내 물질전달 플랫폼으로, 서로 다른 방향의 흐름을 갖는 유체를 포함하고, 일정 각도를 가지고 형성된 복수개의 채널; 및 상기 복수개의 채널과 연결되어 상기 복수개의 채널에 흐르는 유체의 흐름이 합쳐지고, 와류가 형성되는 정션부;를 포함하고, 상기 정션부에서 발생하는 상기 유체의 와류(vortex)에 의하여 상기 세포 내로 상기 전달물질이 전달되는 세포내 물질전달 플랫폼에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
B01L 2200/0647 (2013.01)
B01L 2300/0867 (2013.01)
B01L 2300/0877 (2013.01)
B01L 2400/0463 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711195920
과제번호 00242443
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 STEAM연구
연구과제명 고효능 저비용 면역치료제 대량 생산을 위한 차세대 미세유체 플랫폼 개발
과제수행기관명 고려대학교산학협력단
연구기간 2023.04.01 ~ 2023.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711186458
과제번호 2021R1A2C2006224
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)
연구과제명 미세액적 기반 차세대 세포 유전자 편집 플랫폼 개발과 암면역치료로의 응용
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2710001783
과제번호 RS-2023-00218543
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공분야기초연구사업 / 선도연구지원센터사업
연구과제명 항암 면역세포 디스커버리 플랫폼 기술개발 연구센터
과제수행기관명 서울대학교산학협력단
연구기간 2023.06.01 ~ 2027.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

세포의 내부로 전달물질을 전달하는 세포내 물질전달 플랫폼으로,

서로 다른 방향의 흐름을 갖는 유체를 포함하고, 일정 각도를 가지고 형성된 복수개의 채널; 및

상기 복수개의 채널과 연결되어 상기 복수개의 채널에 흐르는 유체의 흐름이 합쳐지고, 와류가 형성되는 정션부;를 포함하고,

상기 정션부에서 발생하는 상기 유체의 와류(vortex)에 의하여 상기 세포 내로 상기 전달물질이 전달되는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 정션부는 다각형의 형태로 구비되고,

상기 복수개의 채널은 상기 정션부의 중심을 수평하게 통과하는 수평축을 기준으로 대칭이 되는 형태로 구비되는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 복수개의 채널은,

상기 유체, 세포 및 전달물질이 흐르는 채널과,

상기 유체만 흐르는 채널을 포함하는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 복수개의 채널은,

상기 정션부로 상기 유체가 유입되는 두개 이상의 인렛채널; 및

상기 정션부에서 상기 유체가 배출되는 두개 이상의 아웃렛채널;을 포함하는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 정션부의 중심을 수평하게 통과하는 수평축과, 상기 정션부의 중심을 통과하되 상기 수평축에 대해서 직각으로 구비되는 수직축을 포함하고,

상기 인렛채널은 상기 유체, 세포 및 전달물질이 흐르는 하나 이상의 메인 인렛채널을 포함하고,

상기 아웃렛채널은 상기 유체, 세포 및 전달물질이 흐르는 하나 이상의 메인 아웃렛채널을 포함하고,

상기 메인 인렛채널 및 상기 메인 아웃렛채널은 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 인렛채널은,

상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 인렛채널과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 인렛채널을 포함하고,

상기 아웃렛채널은,

상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널과, 상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 서브 아웃렛채널을 포함하는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 메인 인렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부로 유입되고, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부로 유입되고,

상기 메인 인렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 750㎕/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 750㎕/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 750㎕/min이고,

상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부에서 배출되고, 상기 서브 아웃렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부에서 배출되고,

상기 제1 메인 아웃렛채널의 유속은 200㎕/min 내지 600㎕/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널의 유속은 200㎕/min 내지 600㎕/min이고, 상기 서브 아웃렛채널의 유속은 200㎕/min 내지 600㎕/min인 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 8

제4항에 있어서,

상기 인렛채널은,

상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 인렛채널과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 인렛채널 및 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되되 상기 수평축에 나란하게 구비되는 제3 서브 인렛채널을 포함하고,

상기 아웃렛채널은,

상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 아웃렛채널을 포함하는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 메인 인렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부로 유입되고, 상기 제1 내지 제3 서브 인렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부로 유입되고,

상기 메인 인렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제3 서브 인렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고,

상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부에서 배출되고, 상기 제1 및 제2 서브 아웃렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부에서 배출되고,

상기 제1 메인 아웃렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제1 서브 아웃렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제2 서브 아웃렛채널의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min인 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 10

제4항에 있어서,

상기 인렛채널은,

상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 인렛채널과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 인렛채널을 포함하고,

상기 아웃렛채널은,

상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 포함하는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 메인 인렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부로 유입되고, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부로 유입되고,

상기 메인 인렛채널의 유속은 450㎕/min 내지 600㎕/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널의 유속은 450㎕/min 내지 600㎕/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널의 유속은 450㎕/min 내지 600㎕/min이고,

상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부에서 배출되고,

상기 제1 메인 아웃렛채널의 유속은 675㎕/min 내지 900㎕/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널의 유속은 675㎕/min 내지 900㎕/min인 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 복수개의 채널은,

상기 정션부로 상기 유체가 유입되는 두개 이상의 인렛채널; 및

상기 정션부에서 상기 유체가 배출되는 두개 이상의 아웃렛채널;을 포함하고,

상기 인렛채널은 상기 유체, 세포 및 전달물질을 상기 정션부로 유입시키는 메인 인렛채널과, 상기 유체를 상기 정션부로 유입시키는 제1 및 제2 서브 인렛채널을 포함하고,

상기 메인 인렛채널의 레이놀즈 수는 120 내지 300로 구비되는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 유체는 상기 인렛채널에서 층류흐름으로 상기 정션부로 유입되고,

상기 정션부에서 발생하는 와류에 의하여 상기 세포가 변형(deformation)되어 상기 전달물질이 상기 세포의 내부로 전달되며,

상기 세포는 상기 정션부에서 상기 아웃렛채널로 배출되는 과정에서 원래의 형태로 회복되는 것인 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 14

제1항에 있어서,

상기 복수개의 채널은 상기 세포 및 상기 전달물질보다 큰 내경을 갖도록 구비되고,

상기 정션부는 다각형의 형태로 구비되되 상기 정션부의 횡단면의 면적은 45㎛ 내지 80㎛인 것인 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 15

제1항에 있어서,

상기 전달물질은 핵산, 단백질, 전사인자, 벡터, 플라스미드, 유전자 가위 물질 및 나노입자 중 어느 하나 이상을 포함하는 세포내 물질전달 플랫폼.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 세포의 내부로 전달물질을 전달하는 세포내 물질전달 방법.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 세포는 와류에 의하여 세포의 변형이 발생하고,

상기 세포의 변형에 의하여 세포막에 일시적으로 나노포어가 형성되어 상기 전달물질이 상기 세포의 내부로 전달되고, 상기 세포의 변형은 복귀(restoration)되는 세포내 물질전달 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 와류를 이용한 세포내 전달 플랫폼 및 이를 이용한 물질전달 방법에 관한 것으로, 미세유체 채널이 형성된 플랫폼 내에서 발생하는 와류를 이용하여 세포막을 일시적으로 변형하고 회복하는 과정을 유도할 수 있다.

배 경 기 술

[0002] 차세대 세포 내 물질전달 기술 분야에서는 다양한 종류와 기능을 가진 물질들을 세포 내로 전달하여 세포 고유의 기능을 변경하는데 주목하고 있다. 이러한 기술은 특히 유전서열의 변형 또는 제어를 통한 세포 기반의 치료제를 만드는 곳에 활용될 수 있다. 기존에는 캐리어(viral vector, 지질 나노입자 등) 기반, 또는 세포막 변형(electroporation, microinjection 등)을 통해 세포 내 물질을 전달하였으나, 이는 세포독성 또는 세포사멸을 유발하며, 세포 변형으로 인한 세포 소기관 상실 또는 세포 기능 발현 저하의 문제가 있으며, 전달 물질 종류의 범위 및 고사용량 등의 다양한 문제가 존재할 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 본 발명의 목적은 미세 유체 채널 속에서 발생하는 다수의 와류(vortex)를 이용하여 순간적인 세포 형태의 변형(deformation)-회복(restoration)을 일으켜 외부 물질을 세포 내로 높은 효율로 균일하게 전달하고, 채널막힘(channel clogging)을 해결할 수 있는 세포내 물질전달 플랫폼을 제공하기 위함이다.

[0004] 본 발명의 또 다른 목적은 와류가 발생하는 영역 내로 유입되는 유체의 흐름 또는 배출되는 유체의 흐름을 다양한 방향으로 구비시킴으로써, 세포의 변형 정도를 제어하여 세포내 물질전다 효율을 향상시킬 수 있는 세포내 물질전달 플랫폼을 제공하기 위함이다.

과제의 해결 수단

[0005] 본 발명의 일측면에 따르면, 본 발명의 실시예들은 세포내 물질전달 플랫폼 및 이를 이용한 세포내 물질전달 방법을 포함한다.

[0006] 일 실시예에 있어서, 본 발명은 세포의 내부로 전달물질을 전달하는 세포내 물질전달 플랫폼으로, 서로 다른 방향의 흐름을 갖는 유체를 포함하고, 일정 각도를 가지고 형성된 복수개의 채널; 및 상기 복수개의 채널과 연결되어 상기 복수개의 채널에 흐르는 유체의 흐름이 합쳐지고, 와류가 형성되는 정션부;를 포함하고, 상기 정션부에서 발생하는 상기 유체의 와류(vortex)에 의하여 상기 세포 내로 상기 전달물질이 전달될 수 있다.

[0007] 일 실시예에 있어서, 상기 정션부는 다각형의 형태로 구비되고, 상기 복수개의 채널은 상기 정션부의 중심을 수평하게 통과하는 수평축(x축)을 기준으로 대칭이 되는 형태로 구비될 수 있다.

[0008] 일 실시예에 있어서, 상기 복수개의 채널은, 상기 유체, 세포 및 전달물질이 흐르는 채널과, 상기 유체만 흐르는 채널을 포함할 수 있다.

[0009] 일 실시예에 있어서, 상기 복수개의 채널은, 상기 정션부로 상기 유체가 유입되는 두개 이상의 인렛채널; 및 상기 정션부에서 상기 유체가 배출되는 두개 이상의 아웃렛채널;을 포함할 수 있다.

[0010] 일 실시예에 있어서, 상기 정션부의 중심을 수평하게 통과하는 수평축 (x축)과, 상기 정션부의 중심을 통과하되 상기 수평축에 대해서 직각으로 구비되는 수직축(y축)을 포함하고, 상기 인렛채널은 상기 유체, 세포 및 전달물질이 흐르는 하나 이상의 메인 인렛채널을 포함하고, 상기 아웃렛채널은 상기 유체, 세포 및 전달물질이 흐르는 하나 이상의 메인 아웃렛채널을 포함하고, 상기 메인 인렛채널 및 상기 메인 아웃렛채널은 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비될 수 있다.

[0011] 일 실시예에 있어서, 상기 인렛채널은, 상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 인렛채널과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 인렛채널을 포함하고, 상기 아웃렛채널은, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널과, 상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 서브 아웃렛채널을 포함할 수 있다.

[0012] 일 실시예에 있어서, 상기 메인 인렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부로 유입되고, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부로 유입되고, 상기 메인 인렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 750 μL/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 750 μL/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 750 μL/min이고, 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부에서 배출되고, 상기 서브 아웃렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부에서 배출되고, 상기 제1 메인 아웃렛채널의 유속은 200 μL/min 내지 600 μL/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널의 유속은 200 μL/min 내지 600 μL/min이고, 상기 서브 아웃렛채널의 유속은 200 μL/min 내지 600 μL/min일 수 있다.

[0013] 일 실시예에 있어서, 상기 인렛채널은, 상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 인렛채널과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 인렛채널 및 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되되 상기 수평축에 나란하게 구비되는 제3 서브 인렛채널을 포함하고, 상기 아웃렛채널은, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 아웃렛채널을 포함할 수 있다.

[0014] 일 실시예에 있어서, 상기 메인 인렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부로 유입되고, 상기 제1 내지 제3 서브 인렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부로 유입되고, 상기 메인 인렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 450 μL/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 450 μL/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 450 μL/min이고, 상기 제3 서브 인렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 450 μL/min이고, 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부에서 배출되고, 상기 제1 및 제2 서브 아웃렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부에서 배출되고, 상기 제1 메인 아웃렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 450 μL/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 450 μL/min이고, 상기 제1 서브 아웃렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 450 μL/min이고, 상기 제2 서브 아웃렛채널의 유속은 300 μL/min 내지 450 μL/min일 수 있다.

[0015] 일 실시예에 있어서, 상기 인렛채널은, 상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 인렛채널과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 인렛채널을 포함하고, 상기 아웃렛채널은, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 포함할 수 있다.

[0016] 일 실시예에 있어서, 상기 메인 인렛채널을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부로 유입되고, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통하여 상기 유체가 상기 정션부로 유입되고, 상기 메인 인렛채널의 유속은 450 μL/min 내지 600 μL/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널의 유속은 450 μL/min 내지 600 μL/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널의 유속은 450 μL/min 내지 600 μL/min이고, 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 통하여 상기 유

체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부에서 배출되고, 상기 제1 메인 아웃렛채널의 유속은 675㎕/min 내지 900㎕/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널의 유속은 675㎕/min 내지 900㎕/min 일 수 있다.

[0017] 일 실시예에 있어서, 상기 복수개의 채널은, 상기 정션부로 상기 유체가 유입되는 두개 이상의 인렛채널; 및 상기 정션부에서 상기 유체가 배출되는 두개 이상의 아웃렛채널;을 포함하고, 상기 인렛채널은 상기 유체, 세포 및 전달물질을 상기 정션부로 유입시키는 메인 인렛채널과, 상기 유체를 상기 정션부로 유입시키는 제1 및 제2 서브 인렛채널을 포함하고, 상기 메인 인렛채널의 레이놀즈 수는 120 내지 300로 구비될 수 있다.

[0018] 일 실시예에 있어서, 상기 유체는 상기 인렛채널에서 층류흐름으로 상기 정션부로 유입되고, 상기 정션부에서 발생하는 와류에 의하여 상기 세포가 변형(deformation)되어 상기 전달물질이 상기 세포의 내부로 전달되며, 상기 세포는 상기 정션부에서 상기 아웃렛채널로 배출되는 과정에서 원래의 형태로 회복될 수 있다.

[0019] 일 실시예에 있어서, 상기 복수개의 채널은 상기 세포 및 상기 전달물질보다 큰 내경을 갖도록 구비되고, 상기 정션부는 다각형의 형태로 구비되되 상기 정션부의 횡단면의 면적은 45㎛ 내지 80㎛일 수 있다.

[0020] 일 실시예에 있어서, 상기 전달물질은 핵산, 단백질, 전사인자, 벡터, 플라스미드, 유전자 가위 물질 및 나노입자 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0021] 일 실시예에 있어서, 전술한 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 세포의 내부로 전달물질을 전달하는 세포내 물질전달 방법을 포함한다.

[0022] 일 실시예에 있어서, 상기 세포는 와류에 의하여 세포의 변형이 발생하고, 상기 세포의 변형에 의하여 세포막에 일시적으로 나노포어가 형성되어 상기 전달물질이 상기 세포의 내부로 전달되고, 상기 세포의 변형은 복귀(restoration)될 수 있다.

발명의 효과

[0023] 이상 살펴본 바와 같은 본 발명에 따르면, 신규한 구조로 이루어진 세포내 전달 플랫폼을 이용하여 세포 내로 전달물질을 효과적으로 전달할 수 있다.

[0024] 또한, 본 발명에 따르면 다양한 종류의 세포에 대해서 다양한 전달물질을 전달할 수 있고, 세포내 물질전달의 대량화가 용이하다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 나타낸 도면이다.

도 2는 도 1을 개략적으로 도시한 도면이다.

도 3 및 도 4는 도 1의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 유체 흐름 시뮬레이션을 분석한 결과이다.

도 5는 본 발명의 다른 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 나타낸 도면이다.

도 6 및 도 7은 도 5의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 유체 흐름 시뮬레이션을 분석한 결과이다.

도 8은 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 나타낸 도면이다.

도 9 및 도 10은 도 8의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 유체 흐름 시뮬레이션과 세포 구동을 분석한 결과이다.

도 11는 본 발명의 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 세포내 물질전달 장치를 나타낸 도면이다.

도 12은 육각형 정션부를 갖는 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 레이놀즈 수에 따른 세포내 물질전달 효율을 확인한 결과이다.

도 13는 도 12의 각 레이놀즈 수에서 세포의 거동을 나타낸 도면이다.

도 14는 육각형 정션부를 갖는 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 레이놀즈 수에 따른 세포의 생존률을 확인한 결과이다.

도 15은 육각형 정션부를 갖는 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 전달물질의 크기 및 농도에 따른 세포내 물질전달 효율을 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 기타 실시예들의 구체적인 사항들은 상세한 설명 및 도면들에 포함되어 있다.

[0027] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 이하의 설명에서 달리 명시되지 않는 한, 본 발명에 성분, 반응 조건, 성분의 함량을 표현하는 모든 숫자, 값 및/또는 표현은, 이러한 숫자들이 본질적으로 다른 것들 중에서 이러한 값을 얻는 데 발생하는 측정의 다양한 불확실성이 반영된 근사치들이므로, 모든 경우 "약"이라는 용어에 의해 수식되는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본 기재에서 수치범위가 개시되는 경우, 이러한 범위는 연속적이며, 달리 지적되지 않는 한 이러한 범위의 최소값으로부터 최대값이 포함된 상기 최대값까지의 모든 값을 포함한다. 더 나아가, 이러한 범위가 정수를 지칭하는 경우, 달리 지적되지 않는 한 최소값으로부터 최대값이 포함된 상기 최대값까지를 포함하는 모든 정수가 포함된다

[0028] 또한, 본 발명에서 범위가 변수에 대해 기재되는 경우, 상기 변수는 상기 범위의 기재된 종료점들을 포함하는 기재된 범위 내의 모든 값들을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 예를 들면, "5 내지 10"의 범위는 5, 6, 7, 8, 9, 및 10의 값들뿐만 아니라 6 내지 10, 7 내지 10, 6 내지 9, 7 내지 9 등의 임의의 하위 범위를 포함하고, 5.5, 6.5, 7.5, 5.5 내지 8.5 및 6.5 내지 9 등과 같은 기재된 범위의 범주에 타당한 정수들 사이의 임의의 값도 포함하는 것으로 이해될 것이다. 예를 들면, "10% 내지 30%"의 범위는 10%, 11%, 12%, 13% 등의 값들과 30%까지를 포함하는 모든 정수들 뿐만 아니라 10% 내지 15%, 12% 내지 18%, 20% 내지 30% 등의 임의의 하위 범위를 포함하고, 10.5%, 15.5%, 25.5% 등과 같이 기재된 범위의 범주 내의 타당한 정수들 사이의 임의의 값도 포함하는 것으로 이해될 것이다.

[0030] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 나타낸 도면이다. 도 2는 도 1을 개략적으로 도시한 도면이다.

[0031] 도 1 및 도 2를 참조하면, 본 발명의 실시예는 세포의 내부로 전달물질을 전달하는 세포내 물질전달 플랫폼(100)에 대한 것으로, 서로 다른 방향의 흐름을 갖는 유체를 포함하고, 일정 각도를 가지고 형성된 복수개의 채널(110, 120, 130, 150, 160, 170); 및 상기 복수개의 채널(110, 120, 130, 150, 160, 170)과 연결되어 상기 복수개의 채널(110, 120, 130, 150, 160, 170)에 흐르는 유체의 흐름이 합쳐지고, 와류가 형성되는 정션부(junction portion, 190);을 포함하고, 상기 정션부 (190)에서 발생하는 상기 유체의 와류(vortex)에 의하여 상기 세포 내로 상기 전달물질이 전달될 수 있다.

[0032] 종래에는, 세포의 내부로 물질을 전달할 때 전기천공법(electroporation) 또는 미세주입법(microinjection) 등과 같은 방법을 이용하였고, 이러한 방법을 이용하는 경우 세포독성이나 세포사멸을 유발한다는 문제가 있었다. 이들 종래 방법에 의한 세포내 물질전달을 이용하는 경우, 세포의 영구적인 변형이 발생하였고, 이에 의하여 세포의 소기관 상실, 기능 발현 저하 등과 같은 문제가 발생하였다. 또한, 가능한 전달물질의 종류 및 함량이 제한적이고, 높은 효율로 세포의 내부로 전달물질을 전달하기 어렵다는 문제가 있었다.

[0033] 반면, 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼은 세포의 영구적인 변형이 발생하지 않아 세포의 손상이 없으며, 전달물질의 종류 또는 양의 제한이 없이 세포의 내부로 효율적으로 전달할 수 있다. 또한, 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼은 세포내 물질전달이 완료된 배치(batch)에 따른 차이 없이 세포의 내부로 전달하고자 하는 전달물질의 양을 효과적으로 제어할 수 있다.

[0034] 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼(100)에서, 상기 정션부(190)는 대략 다각형의 형태로 구비되어 상기 정션부(190)의 모서리를 중심으로 복수개의 채널(110, 120, 130, 150, 160, 170)이 연결되고, 상기 복수개의 채널(110, 120, 130, 150, 160, 170)을 통하여 유체, 세포, 및 전달물질 중 적어도 하나 이상이 흐를 수 있다. 상기 복수개의 채널(110, 120, 130, 150, 160, 170)은 상기 정션부(190)의 중심(center)을 수평하게 통과하는 수평축 (x축)을 기준으로 대칭이 되는 형태로 구비될 수 있다.

[0035] 상기 복수개의 채널(110, 120, 130, 150, 160, 170)은, 상기 유체, 세포 및 전달물질이 흐르는 채널과, 상기 유체만 흐르는 채널을 포함할 수 있다. 또한, 상기 복수개의 채널(110, 120, 130, 150, 160, 170)은, 상기 정션부(190)로 상기 유체가 유입되는 두개 이상의 인렛채널(110, 120, 130); 및 상기 정션부(190)에서 상기 유체가 배출되는 두개 이상의 아웃렛채널(150, 160, 170);을 포함할 수 있다. 구체적으로, 본 실시예에서 상기 정션부

(190)는 횡단면이 육각형으로 구비될 수 있으며, 상기 인렛채널(110, 120, 130) 및 아웃렛채널(150, 160, 170)는 6개로 상기 정션부(190)의 각 모서리에 연결될 수 있다.

[0036] 상기 유체는 상기 인렛채널(110, 120, 130)에서 층류흐름으로 상기 정션부(190)로 유입되고, 상기 정션부(190)에서 발생하는 와류에 의하여 상기 세포가 변형(deformation)되어 상기 전달물질이 상기 세포의 내부로 전달될 수 있다. 상기 세포는 상기 정션부(190)에서 상기 아웃렛채널(150, 160, 170)로 배출되는 과정에서 원래의 형태로 회복될 수 있다.

[0037] 하기에서는, 상기 세포내 물질전달 플랫폼(100)에 대해서 상기 정션부(190)의 중심을 수평하게 통과하는 수평축(x축)과, 상기 정션부(190)의 중심을 통과하되 상기 수평축에 대해서 직각으로 구비되는 수직축(y축)을 기준으로 설명한다.

[0038] 상기 인렛채널(110, 120, 130)은, 상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측(도 1 및 도 2의 좌측)에 구비되는 메인 인렛채널(110)과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 서브 인렛채널(120, 130)을 포함할 수 있다. 상기 메인 인렛채널(110)를 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부(190)로 전달되고, 상기 서브 인렛채널(120, 130)를 통하여 상기 유체만이 상기 정션부(190)로 전달될 수 있다. 상기 서브 인렛채널(120, 130)은 제1 서브 인렛채널(120) 및 제2 서브 인렛채널(130)을 포함하고, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)은 서로 각도를 갖도록 상기 정션부(190)에 연결될 수 있다.

[0039] 상기 아웃렛채널(150, 160, 170)은, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 아웃렛채널(150, 160)과, 상기 수평축에 나란하게 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 서브 아웃렛채널(170)을 포함할 수 있다. 상기 인렛채널(110, 120, 130)를 통하여 유입된 유체, 세포 및 전달물질은 상기 정션부(190)에서 모였다가 상기 아웃렛채널(150, 160, 170)을 통하여 배출될 수 있다.

[0040] 상기 아웃렛채널(150, 160, 170)은 세포가 주로 배출되는 메인 아웃렛채널(150, 160)과 세포의 일부가 배출되는 서브 아웃렛채널(170)을 포함할 수 있다. 상기 메인 아웃렛채널(150, 160)은 제1 메인 아웃렛채널(150) 및 제2 메인 아웃렛채널(160)을 포함하고, 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)은 서로 각도를 갖도록 상기 정션부(190)에 연결될 수 있다.

[0041] 구체적으로, 상기 제1 서브 인렛채널(120)은 상기 메인 인렛채널(110)에 대해서 시계방향으로 대략 120° 의 각도로 구비되고, 상기 제2 서브 인렛채널(130)은 상기 메인 인렛채널(120)에 대해서 반시계방향으로 대략 120° 의 각도로 구비될 수 있다. 또한, 상기 제1 메인 아웃렛채널(150)은 상기 서브 아웃렛채널(170)에 대해서 반시계방향으로 대략 120° 의 각도로 구비되고, 상기 제2 메인 아웃렛채널(160)은 상기 서브 아웃렛채널(170)에 대해서 시계방향으로 대략 120° 의 각도로 구비될 수 있다.

[0042] 예컨대, 본 실시예에 따라 상기 정션부(190)가 단면이 육각형의 형태로 구비되는 경우, 상기 메인 인렛채널(110), 제1 메인 아웃렛채널(150), 제1 서브 인렛채널(120), 서브 아웃렛채널(170), 제2 서브 인렛채널(130) 및 제2 메인 아웃렛채널(160)이 시계방향으로 순차적으로 구비될 수 있다.

[0043] 상기 메인 인렛채널(110)에는 상기 유체, 세포 및 전달물질을 전달하는 하나 이상의 제1 공급부(미도시)가 연결되어 상기 메인 인렛채널(110)로 상기 유체, 세포 및 전달물질을 공급하고, 상기 메인 인렛채널(110)을 통하여 유체, 세포 및 전달물질은 상기 정션부(190)로 유입될 수 있다.

[0044] 상기 메인 인렛채널(110)에는 가속수단(101)이 구비될 수 있다. 상기 제1 공급부를 통하여 상기 세포가 불규칙적으로 전달되는 경우, 상기 가속수단(101)에 의하여 상기 메인 인렛채널(110)의 유체가 가속될 수 있다. 상기 유체와 함께 이동하는 세포는 상기 메인 인렛채널(110)의 내부에서 발생하는 관성력에 의하여 상기 메인 인렛채널(110)의 내부에서 상기 수평축에 나란하도록 각각의 세포가 일방향으로 줄지어진 형태로 정렬된 형태로 상기 정션부(190)로 유입될 수 있다.

[0045] 별법으로, 상기 메인 인렛채널(110)에서 상기 가속수단(101)이 연결되는 부분을 기준으로 상기 메인 인렛채널(110)의 직경이 서로 다르게 구비될 수 있다. 예컨대, 상기 가속수단(101)이 연결되는 부분의 전단부(예컨대, 상기 제1 공급부에 인접한 부분)의 직경에 비하여, 상기 가속수단(101)이 연결되는 부분의 후단부(예컨대, 상기 정션부에 인접한 부분)의 직경이 더 작게 구비될 수 있다.

[0046] 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)에는 상기 유체를 공급하는 하나 이상의 제2 공급부(미도서)가 연결될

수 있다. 상기 제2 공급부에서 공급되는 유체는 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)을 통하여 상기 정션부(190)로 전달될 수 있다.

[0047] 상기 정션부(190)에는 상기 메인 인렛채널(110)과 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)을 통하여 유입되는 유체에 의하여 와류(vortex)가 발생할 수 있다. 상기 와류에 의하여 상기 세포가 변형되어 세포막에 나노크기의 포어가 형성되고, 상기 나노크기의 포어를 통하여 상기 전달물질이 상기 세포의 내부로 전달될 수 있다. 상기 세포는 일정시간 이후 원래상태로 회복되어 형성된 포어가 폐쇄될 수 있다.

[0048] 상기 정션부(190)에서 상기 세포내의 전달물질의 전달은 다음과 같은 방법에 의하여 수행될 수 있다. 상기 메인 인렛채널(110)를 통하여 유입된 상기 세포는 상기 정션부(190)에서 x축-y축 방향으로 나선형으로 회전할 수 있다. 이어서, 상기 세포는 y축-z축 방향으로 회전하면서 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)로 배출될 수 있다. 이때, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)에서 유입되는 유체에 의하여 상기 세포 및 전달물질은 상기 유체와 함께 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160) 및 상기 서브 아웃렛채널(170)로 전달될 수 있다.

[0049] 구체적으로, 상기 세포는 주로 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)로 배출되고, 상기 세포의 일부만이 상기 서브 아웃렛채널(170)로 배출될 수 있다. 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)로 배출되는 세포는 세포의 내부로 물질전달이 발생한 세포를 포함하고, 상기 서브 아웃렛채널(170)로 배출되는 세포는 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)로 배출되는 세포보다 적은 수로 상기 와류에 휩싸이지 못한 경우 상기 유체와 함께 배출될 수 있다.

[0050] 본 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼(100)은 상기 인렛채널 및 아웃렛채널이 각각 복수개로 구비되되, 상기 인렛채널 및 아웃렛채널 각각으로 유입 또는 유출되는 유량을 개별적으로 제어하여 상기 정션부(190)에서 상기 유체 내에 순간적으로 강한 와류를 형성할 수 있다. 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼은 상기 세포로 인위적인 힘을 인가하지 않고, 상기 와류에 의하여 상기 세포를 변형시킬 수 있다. 상기 세포의 변형은 가역적인 나노크기의 포어의 개폐를 포함하고, 상기 포어의 개폐에 의하여 상기 전달물질을 상기 세포내로 효과적으로 전달할 수 있다. 구체적으로, 상기 와류는 상기 세포를 순간적으로 압축하여 상기 세포의 변형을 유도하고, 상기 포어를 통하여 상기 세포의 내부와 외부의 유체가 맞교환되어 상기 전달물질이 상기 세포내로 전달될 수 있다.

[0051] 상기 와류는 상기 정션부(190)에서 상기 메인 인렛채널(110)를 통하여 주입된 유체, 세포, 전달물질과, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)을 통하여 주입된 유체가 서로 만나는 부분인 주입유체의 접촉계면에서 시작할 수 있다. 상기 주입유체의 접촉계면에서 시작된 와류는 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)로 연장될 수 있다. 상기 정션부(190)에서 상기 주입유체의 접촉계면의 위치는 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)을 통하여 유입되는 유체의 속도에 의하여 제어될 수 있다.

[0052] 상기 메인 인렛채널(110)과, 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)을 통하여 유입되는 유체의 일부는 상기 서브 아웃렛채널(170)을 통하여 배출될 수 있다. 상기 서브 아웃렛채널(170)은 상기 메인 인렛채널(110)에서 유입되는 유체의 적어도 일부가 일방향으로 연속적으로 이동하도록 상기 유체의 흐름을 유지시킬 수 있다.

[0053] 본 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼(100)은 세포와 인렛채널 또는 아웃렛채널 사이의 직접적인 충돌을 방지하여 세포의 생존률을 높게 유지할 수 있다. 또한, 상기 세포내 물질전달 플랫폼(100)은 복수개의 인렛채널과 아웃렛채널의 배치형태와 내경, 및 유량 등을 제어함으로써, 채널 내에서 막힘현상 등이 발생하는 것을 방지하여 세포내 물질전달 효율을 크게 향상시킬 수 있다. 상기

[0054] 상기 메인 인렛채널(110)의 유속은 300㎕/min 내지 750㎕/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널(120)의 유속은 300㎕/min 내지 750㎕/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널(130)의 유속은 300㎕/min 내지 750㎕/min일 수 있다. 하기에서 메인 인렛채널(110)의 유속 및 레이놀즈 수는 상기 정션부(190)로 유입되는 유체에 대한 값이다.

[0055] 상기 메인 인렛채널(110)의 유속이 300㎕/min 미만이면 상기 정션부(190)로 유입되는 세포가 일방향으로 정렬된 상태로 전달되지 않아 세포내 물질전달 효율이 저하되고, 750㎕/min 초과이면 상기 정션부(190)로 유입된 세포 중 적어도 일부는 상기 와류의 영향력이 미치지 않는 영역으로 전달될 수 있다.

[0056] 상기 제1 서브 인렛채널(120)의 유속이 300㎕/min 미만이면 상기 주입유체의 접촉계면이 상기 서브 아웃렛채널(170)에 인접하게 구비되어 상기 세포의 일부가 상기 서브 아웃렛채널(170)로 배출될 수 있다. 상기 제1 서브 인렛채널(120)의 유속이 750㎕/min 초과이면 상대적으로 부피가 작고 가벼운 전달물질을 이탈시켜 상기 전달물질이 상기 세포와 인접하지 못하고 이격되어 구비시킬 수 있다. 또한, 상기 제2 서브 인렛채널(130)이 유속도

상기 제1 서브 인렛채널(120)의 유속과 유사하게 전술한 범위 내로 구비되는 것이 바람직하다. 보다 바람직하게는, 상기 제1 서브 인렛채널(120)과 상기 제2 서브 인렛채널(130)의 유속은 동일하게 구비될 수 있다.

[0057] 구체적으로, 상기 메인 인렛채널(110)의 유속은 전술한 범위로 구비됨으로써 상기 세포와 전달물질이 혼합되어 관성정렬되어 다각형 구조의 정션부(190)에 안정적으로 도달할 수 있다. 또한, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)의 유속은 상기 메인 인렛채널(110)의 유속과 만나 다각형 구조의 정션부(190) 내에서 특정 정체점(stagnation points)을 형성할 수 있다. 상기 정체점에서는 종래와는 다른 유형의 와류유동이 형성될 수 있고, 세포는 상기 와류유동에 휩싸이면서 소정의 시간 동안 머무를 수 있다. 상기 메인 인렛채널(110) 및 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)의 유속을 전술한 범위 내로 유지함으로써 상기 세포가 상기 와류유동에 의하여 머무는 과정에서 세포막의 변형이 형성될 수 있으며, 상기 세포내로 물질이 효과적으로 전달될 수 있다. 상기 종래와는 다른 유형의 와류유동은 x-y 축에서 코일형태의 회전형 유동을 만들어내며, y-z 축에서는 x-y축에서 형성된 유동에서 연결된 와류를 형성하여 3차원 구조로 형성될 수 있다.

[0058] 상기 제1 메인 아웃렛채널(150)의 유속은 200㎕/min 내지 600㎕/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널(160)의 유속은 200㎕/min 내지 600㎕/min이고, 상기 서브 아웃렛채널(170)의 유속은 200㎕/min 내지 600㎕/min일 수 있다. 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)과 상기 서브 아웃렛채널(170)의 유속은 상기 메인 인렛채널(110) 및 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)과의 관계에서 상기 정션부(190) 내에서 상기 유체가 소정의 범위의 레이놀즈 수를 갖도록 적절하게 제어될 수 있다.

[0059] 상기 메인 인렛채널(110)의 레이놀즈 수는 120 내지 300이고, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)의 레이놀즈 수는 상기 메인 인렛체널(110)의 레이놀즈 수에 대해서 0.71배로 구비될 수 있다.

[0060] 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼(100)에서, 상기 메인 인렛채널(110), 상기 정션부(190) 및 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)의 레이놀즈 수는 전술한 범위 내로 구비됨으로써, 상기 정션부(190)에서 와류를 발생시키되 세포가 손상되지 않으면서 높은 효율로 세포의 내부로 전달물질을 전달할 수 있다. 구체적으로, 상기 메인 인렛채널(110)의 레이놀즈 수는 120 내지 250, 또는 130 내지 250, 또는 150 내지 250, 또는 170 내지 250, 또는 200 내지 250일 수 있다.

[0061] 상기 메인 인렛채널(110)의 가로폭(width)은 40㎛ 내지 80㎛이고, 높이(height)는 10㎛ 내지 50㎛일 수 있다. 상기 메인 인렛채널(110)의 가로폭 및 높이를 전술한 범위로 유지함으로써, 상기 메인 인렛채널(110)을 흐르는 유체가 층류흐름(laminar flow)으로 유동하며, 유체 내의 세포의 관성정렬이 효과적으로 수행될 수 있다. 구체적으로, 상기 메인 인렛채널(110)의 가로폭은 60㎛이고, 높이는 30㎛일 수 있으며, aspect ratio(AR, 채널비율)는 0.5일 수 있다.

[0062] 상기 복수개의 채널에서, 상기 유체가 유입되는 메인 인렛채널(110) 및 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)은 세포 및 전달물질보다 대략 4배 내지 6배 정도의 더 큰 내경을 갖도록 구비될 수 있다.

[0063] 상기 메인 인렛채널(110) 및 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)은 전술한 범위 내로 상기 세포 및 전달물질에 대한 내경을 제어함으로써, 유체의 가속화를 통해 세포 및 유체의 속도를 증가시켜 상기 정션부(190)에서의 와류 등과 같은 유동을 효과적으로 발생시킬 수 있다.

[0064] 별법으로 상기 메인 인렛채널(110) 및 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)에서 세포가 가속화되는 경우, 상기 세포가 가속화되는 구간에서의 상기 메인 인렛채널(110) 및 제1 및 제2 서브 인렛채널(120, 130)의 내경은 상기 세포 및 상기 전달물질보다 대략 1.5배 내지 2배 정도의 더 큰 내경을 갖도록 구비될 수 있다.

[0065] 또한, 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)과 상기 서브 아웃렛채널(170)의 내경은 상기 세포 및 전달물질보다 대략 1.5배 내지 2배 정도의 더 큰 내경을 갖도록 구비될 수 있다. 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(150, 160)과 상기 서브 아웃렛채널(170)은 유체, 세포, 및 전달물질 등이 유출되는 부분으로 상기 정션부(190)의 채널폭(width)에 대응하도록 전술한 범위 내로 구비됨으로써, 장치의 구조적인 안정성을 향상시킬 수 있다.

[0066] 상기 정션부(190)는 다각형의 형태로 구비되되 상기 정션부의 횡단면의 면적은 45㎛ 내지 80㎛일 수 있다. 상기 정션부의 횡단면의 면적이 45㎛ 미만이면 세포의 머무름 시간이 감소되어 세포내 물질전달 효율이 감소되고, 80㎛ 초과이면 세포 또는 전달물질이 와류에 탑승하는 데 장시간 소요되어 문제될 수 있다. 구체적으로, 상기 정션부(190)는 45㎛ 내지 70㎛, 또는 45㎛ 내지 65㎛, 또는 50㎛ 내지 80㎛, 또는 50㎛ 내지 70㎛, 또는 50㎛ 내지 65㎛일 수 있다.

[0067] 상기 복수개의 채널인 상기 인렛채널(110, 120, 130) 및 상기 아웃렛채널(150, 160, 170)은 모두 상기 세포 및 상기 전달물질보다 큰 내경을 갖도록 구비됨으로써 상기 채널에 의하여 상기 세포가 손상되는 것을 방지할 수 있다. 또한, 상기 세포 및 전달물질에 의하여 채널이 막히는 것을 방지할 수 있어, 세포내 물질전달을 효과적으로 향상시킬 수 있다.

[0068] 상기 유체는 상기 세포 및 전달물질에 영향을 미치지 않으면서 상기 세포 및 전달물질을 효과적으로 유동시키는 수단으로 다양한 물질을 이용할 수 있다. 예컨대, 상기 유체는 물, 혈액, 수액 등을 포함할 수 있다. 또한, 상기 전달물질은 핵산, 단백질, 전사인자, 벡터, 플라스미드, 유전자 가위 물질 및 나노입자 중 어느 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0069] 도 3 및 도 4는 도 1의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 유체 흐름 시뮬레이션을 분석한 결과이다. 표 1은 도 3 및 도 4의 메인 인렛채널, 제1 및 제2 서브 인렛채널, 정션부에서의 레이놀즈 수이다. 도 3(제1 테스트) 및 도 4(제2 테스트)에서는 유체의 레이놀즈 수를 다르게 하여 유체의 흐름을 시뮬레이션하고, 상기 시뮬레이션을 통해 관찰되는 유체의 흐름 또는 유동변화의 결과를 확인하였다. 세포의 이동은 상기 유체의 흐름 또는 유동변화와 함께 대응할 것이다. 도 3 및 도 4의 복수개의 인렛채널 및 아웃렛채널의 표시는 도 1 및 도 2에 대응한다.

[0070] 여기에서 세포 및 유체는 mL 당 200만 개의 K562 세포를 이용하였다. 세포 준비 후 배양배지(Corning, RPMI)로 세포 현탁액을 제조하여 세포와 유체를 준비하고 도 1의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 시뮬레이션을 수행하였다. 시뮬레이션은 COMSOL multi physics CFD module ver 6.1의 프로그램을 이용하였다. Navier-Stokes equation 기반으로 한 Poiseuille flow의 조건에서 stationary condition으로 메인 인렛채널로 주입되어 흐르는 유체가 정션부에 도달하여 제1 및 제2 서브 인렛채널로 주입되는 유체와 만나 와류흐름을 형성하기 전까지 시간에 따른 유체의 유동 변화가 없다는 전제 하에, incompressible flow의 유체가 unidirectional flow로 흐르면서 steady-state에 도달하였을 때 No-slip condition을 적용하고, 레이놀즈 수를 기반으로 한 유체의 속도 및 density, dynamic viscosity 등의 유체의 물성을 적용하여 유동을 확인하였다.

표 1

[0071]

	메인 인렛채널(Re)	제1 서브 인렛채널(Re)	제2 서브 인렛채널(Re)	정션부(Re)	정션부 내 세포 머무름 시간(㎲)
제1 테스트	240	172	172	584	22.4
제2 테스트	240	240	240	720	8.4

[0072] 도 3 및 표 1을 참조하면, 단면이 육각형인 정션부로 메인 인렛채널(cell inlet)을 통하여 레이놀즈 수가 240인 세포 및 유체를 주입시켰고, 제1 및 제2 서브 인렛채널(sheath inlet)로는 동일한 유속으로 레이놀즈 수가 172인 유체를 주입시켰다. 메인 인렛채널과 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통하여 유입된 유체는 정션부에서 레이놀즈 수가 584로, 상기 메인 인렛채널, 제1 및 제2 서브 인렛채널의 레이놀즈 수의 전체 합으로 나타났다.

[0073] 높은 유속은 메인 인렛채널과 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널에 연결된 채널에서의 레이놀즈 수가 100 내지 800임을 의미하며, 레이놀즈 수의 계산은 메인 인렛채널과 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널의 각각에 연결된 채널의 특성길이(Characteristic length)와 해당 채널로 유입되는 유체의 총 유량을 기준으로 한다.

[0074] 상기 메인 인렛채널 및 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통해 유입된 유체는 x-y 축에서의 회전형 흐름을 만들며 세포를 와류 내에 유입시켰고, 세포가 포함된 흐름은 y-z축에서의 나선형 흐름으로 연결되어 세포 및 유체를 배출시켰다. 즉, 메인 인렛채널, 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통하여 유입된 유체는 층류흐름을 나타내었으나, 정션부에서는 와류(vortex)가 발생하였고, 상기 와류에 의하여 형성된 나선형 흐름을 통하여 세포가 유입되어 이동하였다. 상기 나선형 흐름은 상기 정션부와 연결되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널로 연결되어 상기 유체와 세포가 배출되었다.

[0075] 상기 정션부에서 세포의 머무름 시간은 22.4㎲로 나타났으며, 세포가 상기 와류에 의하여 이동하는 과정에서 변형이 발생되었으며, 이 후 회복됨을 확인할 수 있었다.

[0076] 도 4 및 표 1을 참조하면, 제1 테스트보다 높은 유속을 갖는 제1 및 제2 서브 인렛채널에서도 층류흐름이 유지되었다. 제2 테스트에서 정션부의 레이놀즈 수는 제1 테스트보다 높게 나타났으며, 높은 레이놀즈 수에서도 와류가 형성되어 세포의 변형을 유도하였다.

[0077] 도 4에서, 메인 인렛채널 및 두 개의 제1 및 제2 서브 인렛채널에서 유체가 동일하게 높은 레이놀즈 수를 갖도록 제어한 경우, 메인 인렛채널과 제1 및 제2 서브 인렉채널의 각각에서 나온 유체는 정션부에서 세방향의 유체가 만나서 하나의 특징적인 와류유동을 형성하는 것이 아닌(도 3에서는 세방향의 유체가 만나서 하나의 특징적인 와류유동을 형성함), 메인 인렛채널, 제1 및 제2 서브 인렛채널의 각각에서 약한 와류유동을 형성하되 머무름 지점(stagnation point)를 형성하지 않고, 와류를 통해 각각 인렛채널과 가까운 아웃렛채널을 통해 유체와 세포가 배출되었다. 즉, 정션부 내에서 세포의 머무름 시간이 증가할수록 상기 머무름 시간과 관련하여 형성된 와류는 세포을 보다 효과적으로 변형시킴을 확인할 수 있었다.

[0078] 도 4에서도 도 3과 유사하게 유체의 층류흐름(laminar flow)이 유지되었으나, 상대적으로 정션부에서의 높은 레이놀즈 수에 의하여 정션부에서 발생된 와류는 도 3과는 다른 양상으로 나타났다.

[0079] 즉, 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼에서는 높은 유속을 이용함에도 각 유체가 흐르는 채널 내에서는 층류흐름을 유지하였고, 정션부에서만 와류가 발생하였다. 발생된 와류는 세포의 변형을 유도하였고, 변형된 세포는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 통하여 배출되면서 회복하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 상기 정션부로 유입되는 유체의 레이놀즈 수를 다르게 함으로써 상기 세포가 상기 정션부에 머무름 시간을 다르게 제어할 수 있음을 확인하였다.

[0081] 이하에서, 도 5 내지 도 15을 참조하여, 본 발명의 다른 실시예에 대하여 설명한다. 후술할 내용을 제외하고는, 도 1 내지 도 4에서 설명한 실시예에 기재된 내용과 유사하므로 이에 대한 자세한 내용은 생략한다.

[0083] 도 5는 본 발명의 다른 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 나타낸 도면이다.

[0084] 도 5를 참조하면, 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼(200)은 복수개의 채널(210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280)과, 이들 복수개의 채널(210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280)의 일단을 서로 연결하는 정션부(290)를 포함할 수 있다. 상기 복수개의 채널(210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280)은 유체가 상기 정션부(290)로 유입되거나 또는 배출될 수 있다. 상기 정션부(290)는 단면이 팔각형의 형태로 구비될 수 있으며, 상기 복수개의 채널(210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280)은 상기 정션부(290)의 각 모서리에 연결될 수 있다.

[0085] 상기 복수개의 채널(210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280)은 유체가 상기 정션부(290)로 유입되는 인렛채널(210, 220, 230, 240)과 상기 정션부(290)에서 유체가 배출되는 아웃렛채널(250, 260, 270, 280)을 포함할 수 있다.

[0086] 상기 인렛채널(210, 220, 230, 240)은, 상기 수평축(x)에 나란하게 구비되되 상기 수직축(y)에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 인렛채널(210)과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 인렛채널(220, 230) 및 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되되 상기 수평축에 나란하게 구비되는 제3 서브 인렛채널(240)을 포함할 수 있다. 상기 메인 인렛채널(210)과 상기 제3 서브 인렛채널(240)은 서로 대향하는 방향으로 상기 정션부(290)로 유체를 유입시키고, 상기 제1 서브 인렛채널(220)과 상기 제2 서브 인렛채널(230)은 서로 대향하는 방향으로 상기 정션부(290)로 유체를 유입시키되, 상기 메인 인렛채널(210)의 유체에 대해서 대략 수직한 방향으로 구비될 수 있다. 상기 메인 인렛채널(210), 제1 및 제2 서브 인렛채널(220, 230) 및 제3 서브 인렛채널(240)은 상기 정션부(290)의 중심을 기준으로 90° 의 각도로 구비될 수 있다.

[0087] 상기 아웃렛채널(250, 260, 270, 280)은, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(250, 260)과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 아웃렛채널(270, 280)을 포함할 수 있다.

[0088] 상기 제1 메인 아웃렛채널(250)은 상기 메인 인렛채널(210)과 제1 서브 인렛채널(220) 사이에 구비되고, 상기 제2 메인 아웃렛채널(260)은 상기 메인 인렛채널(210)과 상기 제2 서브 인렛채널(230) 사이에 구비될 수 있다. 상기 제1 및 제2 서브 아웃렛채널(270, 280)은 상기 인렛채널(210, 220, 230, 240)과 중첩되지 않도록 상기 정션부(290)의 중심을 기준으로 90° 의 각도로 구비될 수 있다.

[0089] 상기 메인 인렛채널(210)을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부(290)로 유입되고, 상기 제1 내지 제3 서브 인렛채널(220, 230, 240)을 통하여 상기 유체가 상기 정션부(290)로 유입될 수 있다. 상기 메인 인

렛채널(210)을 통하여 유체와 함께 유입되는 세포는 상기 메인 인렛채널(210)과 상기 제1 내지 제3 서브 인렛채널(220, 230, 240)을 통하여 유입되는 유체에서 발생한 와류에 의하여 세포의 변형이 발생할 수 있다. 상기 세포의 변형은 상기 정션부(290) 내에서 발생하며, 상기 메인 인렛채널(210)과 상기 제1 내지 제3 서브 인렛채널(220, 230, 240) 각각의 유체의 유속에 의하여 제어될 수 있다. 상기 세포의 변형은 가역적으로 발생하여 세포는 회복되며, 상기 세포의 변형이 발생되는 과정에서 상기 전달물질은 상기 세포 내로 전달될 수 있다.

[0090] 상기 메인 인렛채널(210)의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널(220)의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널(230)의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제3 서브 인렛채널(240)의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min일 수 있다. 상기 메인 인렛채널(210)의 유속과, 상기 제1 내지 제3 서브 인렛채널(220, 230, 240)의 유속은 서로 같거나 다를 수 있으며, 상기 메인 인렛채널(210)과 제1 내지 제3 서브 인렛채널(220, 230, 240)의 유속을 제어하여, 상기 정션부(290)에서 발생하는 와류의 속도, 크기, 방향을 제어할 수 있다.

[0091] 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(250, 260)을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부(290)에서 배출되고, 상기 제1 및 제2 서브 아웃렛채널(270, 280)을 통하여 상기 유체가 상기 정션부(290)에서 배출될 수 있다.

[0092] 상기 정션부(290)는 중심부를 기준으로 대칭형태인 단면이 팔각형으로 구비될 수 있다. 상기 메인 인렛채널(210)과 제1 내지 제3 서브 인렛채널(220, 230, 240)를 통하여 동일한 레이놀즈 수를 갖는 유체를 주입하는 경우, 팔각형의 정션부(290)에서는 머무름 지점(stagnation point) 및 머무름 시간(stagnation time)이 전술한 오각형의 정션부(190, 도 1 및 도 2 참조)에 비하여 상대적으로 짧게 나타날 수 있다. 또한, 상기 메인 인렛채널(210)과 제1 내지 제3 서브 인렛채널(220, 230, 240)을 통하여 유입된 세포 및 전달물질은 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(250, 260) 및 상기 제1 및 제2 서브 아웃렛채널(270, 280)르 통하여 배출될 수 있다.

[0093] 상기 제1 메인 아웃렛채널(250)의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널(260)의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제1 서브 아웃렛채널(270)의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min이고, 상기 제2 서브 아웃렛채널(280)의 유속은 300㎕/min 내지 450㎕/min일 수 있다.

[0094] 도 6 및 도 7은 도 5의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 유체 흐름 시뮬레이션을 분석한 결과이다. 도 6에서는 메인 인렛채널(cell inlet), 제1 내지 제3 서브 인렛채널(sheath inlet)의 유속을 4.1m/s로 모두 동일하게 하였고, 도 7에서는 메인 인렛채널, 제1 내지 제3 서브 인렛채널의 유속을 2.73m/s로 모두 동일하게 하였다. 또한, 도 6 및 도 7에서, 각각의 채널들의 사이즈는 모두 동일하게 하였다.

[0095] 여기에서 세포 및 유체는 mL 당 200만 개의 K562 세포를 이용하였다. 세포 준비 후 배양배지 (Corning, RPMI)로 세포 현탁액을 제조하여 세포와 유체를 준비하고 도 5의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 시뮬레이션을 수행하였다.

[0096] 시뮬레이션 프로그램으로는 COMSOL multi physics CFD module ver 6.1를 이용하였다. 시뮬레이션은 Navier-Stokes equation기반으로 한 Poiseuille flow의 조건에서 stationary condition으로 메인 인렛채널로 주입되어 흐르는 유체가 정션부에 도달하여 제1 내지 제3 서브 인렛채널로 주입되는 유체와 만나 와류흐름을 형성하기 전까지 시간에 따른 유체의 유동 변화가 없는 전제 하에, incompressible flow의 유체가 unidirectional flow로 흐르면서 steady-state에 도달하였을 때 No-slip condition을 적용하고, 레이놀즈 수를 기반으로 한 유체의 속도 및 density, dynamic viscosity와 같은 유체의 물성을 적용하여 유동을 확인하였다.

[0097] 도 6에서 세포를 포함하는 메인 인렛채널에서의 레이놀즈 수는 180(450㎕/min)이고, 제1 내지 제3 서브 인렛채널에서의 레이놀즈 수는 각각 180(450㎕/min)이다. 또한, 전체 유체 흐름 속도는 1800㎕/min이고, 속도 범위(velocity range)는 4.1m/s으로 각 채널에서 모두 동일하게 제어하였다.

[0098] 도 6을 참조하면, 메인 인렛채널과, 제1 내지 제3 서브 인렛채널에서 유입되는 유체의 속도는 모두 동일하게 하였으며, 모두 층류흐름으로 정션부로 유입되었다. 또한, 상기 메인 인렛채널과 제1 내지 제3 서브 인렛채널을 통하여 유입된 유체는 동일한 레이놀즈 수로 유입되어 상기 정션부에서 와류를 형성하였다.

[0099] 도 7에서, 메인 인렛채널(cell inlet)과, 제1 내지 제3 서브 인렛채널(sheath inlet)에서 레이놀즈 수는 각각 120(300㎕/min)이다. 도 8에서의 전체 유체 흐름 속도는 1200㎕/min이고, 속도 범위(velocity range)는 속도 범위(velocity range)는 2.73m/s으로 각 채널에서 모두 동일하게 제어하였다.

[0100] 도 7은 도 6과 구조는 같으나 유속을 낮추어 시뮬레이션을 돌린 결과이다.

[0101] 도 6의 시뮬레이션 결과에서 오른쪽에 표시된 속도장을 참조하면, 매우 높은 레이놀즈 수와 유속으로 인하여 유동 분석에 한계가 있었고, 속도장으로 표현된 streamline을 통하여 세포가 정션부 내에서의 머무름 지점이 협소하고 머무름 시간이 적을 것으로 예측되었다. 즉, 세포에 따라서는 일부 스트레스를 줄 수 있을 것으로 판단되어, 유속을 낮추어 시뮬레이션을 수행하였다.

[0102] 도 7을 참조하면, 제1 내지 제3 서브 인렛채널의 유속만을 다르게 하고 도 6과 동일하게 하여 유체의 흐름에 대해서 시뮬레이션을 수행하였다. 상기 제1 내지 제3 서브 인렛채널의 유속을 증가시킨 경우에도, 층류흐름이 유지되었으며 상기 정션부에서 와류가 형성되었다. 또한, 상기 정션부에서 형성된 와류는 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널 및 제1 및 제2 서브 아웃렛채널과 연결되어 상기 정션부에서 배출되는 것을 확인하였다.

[0103] 반면, 도 7 시뮬레이션 결과를 통한 속도장으로 비교해보면 도 6에 비해 정션부에서 속도장이 비교적으로 매우 낮은 streamline으로 표현되었고 이에 따라 세포 머무름 시간이나 유동을 타고 아웃렛채널로 나가는 세포들이 스트레스가 크게 감소할 것을 예측할 수 있었다. 이는 상대적으로 약한 와류유동(streamline)은 세포막 변형-회복 과정이 활발하지 않고, 그 결과 세포 내 물질전달 효율이 상대적으로 낮음을 예측할 수 있다. 따라서, 세포와 전달물질의 종류에 따라 대응하여 높은 효율로 물질전달을 수행하면서 세포의 손상이 없는 특정 와류형성을 위해 적용할 수 있는 레이놀즈 수에 대한 가이드라인을 제시할 수 있다. 또한, 상기 정션부의 형태에 따라 정션부로 유입되는 유체의 속도를 제어함으로써, 상기 정션부 내에서의 유체의 머무름 지점 및 머무름 시간을 제어할 수 있음을 확인하였다.

[0104] 도 8은 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 나타낸 도면이다.

[0105] 도 8을 참조하면, 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼(300)은 정션부(390)의 단면이 오각형으로 형성되고, 3개의 인렛채널(310, 320, 330) 및 2개의 아웃렛채널(350, 360)을 포함할 수 있다.

[0106] 상기 인렛채널(310, 320, 330)은, 상기 수평축(x)에 나란하게 구비되되 상기 수직축(y)에 대해서 어느 일측에 구비되는 메인 인렛채널(310)과, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 타측에 구비되는 제1 및 제2 서브 인렛채널(320, 330)을 포함할 수 있다.

[0107] 상기 아웃렛채널(350, 360)은, 상기 수평축에 대해서 각도를 갖도록 구비되되 상기 수직축에 대해서 어느 일측에 구비되는 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(350, 360)을 포함할 수 있다. 상기 메인 인렛채널(310)과 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(320, 330)를 통하여 유입된 유체는 상기 정션부(390)에서 와류를 형성하고, 상기 와류는 나선형 흐름으로 연결되어 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(350, 360)을 통하여 상기 정션부(390)에서 배출될 수 있다.

[0108] 상기 메인 인렛채널(310)을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부(390)로 유입되고, 상기 제1 및 제2 서브 인렛채널(320, 330)을 통하여 상기 유체가 상기 정션부(390)로 유입될 수 있다. 상기 메인 인렛채널의 유속은 450㎕/min 내지 600㎕/min이고, 상기 제1 서브 인렛채널의 유속은 450㎕/min 내지 600㎕/min이고, 상기 제2 서브 인렛채널의 유속은 450㎕/min 내지 600㎕/min일 수 있다.

[0109] 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널(350, 360)을 통하여 상기 유체, 세포 및 전달물질이 상기 정션부(390)에서 배출될 수 있다. 상기 제1 메인 아웃렛채널(350)의 유속은 675㎕/min 내지 900㎕/min이고, 상기 제2 메인 아웃렛채널(360)의 유속은 675㎕/min 내지 900㎕/min일 수 있다.

[0110] 도 9 및 도 10은 도 8의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 유체 흐름 시뮬레이션과 세포 구동을 분석한 결과이다. 도 9 및 도 10의 복수개의 인렛채널 및 아웃렛채널의 위치는 도 8에 대응한다.

[0111] 도 9에서는 메인 인렛채널, 제1 및 제2 서브 인렛채널의 유속을 5.46m/s로 모두 동일하게 하였고, 도 10에서는 메인 인렛채널, 제1 및 제2 서브 인렛채널의 유속을 4.1m/s로 모두 동일하게 하였다. 또한, 도 9 및 도 10에서, 각각의 채널들의 사이즈는 모두 동일하게 하였다. 도 9에서는 각각의 인렛채널에서의 레이놀즈 수는 240로 동일하게 하였고, 도 10에서는 각각의 인렛채널에서의 레이놀즈 수는 180으로 동일하게 하였다.

[0112] 여기에서 세포 및 유체는 mL 당 200만 개의 K562 세포를 이용하였다. 세포 준비 후 배양배지 (Corning, RPMI)로 세포 현탁액을 제조하여 세포와 유체를 준비하고 도 9의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 시뮬레이션을 수행하였다.

[0113] 시뮬레이션 프로그램으로는 COMSOL multi physics CFD module ver 6.1을 이용하였다. 시뮬레이션 방법으로는 Navier-Stokes equation기반으로 한 Poiseuille flow의 조건에서 stationary condition으로 메인 인렛채널로 주입되어 흐르는 유체가 정션부에 도달하여 제1 및 제2 서브 인렛채널로 주입되는 유체와 만나 와류흐름을 형성

하기 전까지 시간에 따른 유체의 유동 변화가 없다는 전제 하에, incompressible flow의 유체가 unidirectional flow로 흐르면서 steady-state에 도달하였을 때 No-slip condition을 적용하고, 레이놀즈 수를 기반으로 한 유체의 속도 및 density, dynamic viscosity와 같은 유체의 물성을 적용하여 유동을 확인하였다.

[0114] 또한, 도 9 및 도 10에서는, 정션부의 단면의 형태를 오각형으로 형성하여, 앞서 검토한 육각형의 정션부와 비교하고자, 3개의 인렛채널에서 동일한 레이놀즈 수를 적용하여 정션부에서의 세포 모양 변화, 세포의 머무름 시간을 비교하였다. 구체적으로, 육각형의 정션부와 와류유동을 비교하고, 세포 내 물질전달 효율을 검토하였다.

[0115] 도 9에서, 메인 인렛채널(cell inlet)에서의 레이놀즈 수는 240(600㎕/min)이고, 제1 및 제2 서브 인렛채널(sheath inlet)에서의 레이놀즈 수는 각각 240(600㎕/min)이다. 또한, 전체 유체 흐름 속도는 1800㎕/min이고, 각 인렛채널에서는 속도 범위(velocity range)는 5.46m/s로 동일하게 하였다. 도 9의 하단에는 유체의 흐름에 따라 세포가 이동하는 것을 시간대별로 촬영한 것이다.

[0116] 도 9를 참조하면, 메인 인렛채널을 통하여 5.46m/s의 속도로 유입된 유체는 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통하여 5.46m/s의 속도로 각각 유입된 유체와 정션부에서 만나고, 와류를 형성하였다. 상기 메인 인렛채널, 제1 및 제2 서브 인렛채널로 유입되는 유체는 층류흐름을 나타냈다. 또한, 세포는 상기 정션부에서 대략 41㎲ 동안 유지된 후, 상기 제1 및 제2 메인 아웃렛채널을 통하여 배출되었다.

[0117] 도 10을 참조하면, 메인 인렛채널(cell inlet)에서의 레이놀즈 수는 180(450㎕/min)이고, 제1 및 제2 서브 인렛채널(sheath inlet)에서의 레이놀즈 수는 각각 180(450㎕/min)이다. 전체 유체 흐름 속도는 1350㎕/min이고, 각 인렛채널에서는 속도 범위(velocity range)는 4.1m/s로 동일하게 하였다. 도 10은 도 9와 구조는 같으나 유속을 낮추어 시뮬레이션을 돌린 결과이다.

[0118] 도 10에서도 도 9과 유사하게 메인 인렛채널, 제1 및 제2 서브 인렛채널을 통하여 4.1m/s의 동일한 속도로 층류흐름으로 유입된 유체는 상기 정션부에서 와류를 형성함을 확인할 수 있었다.

[0120] 도 11 및 도 12는 본 발명의 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 세포내 물질전달 장치를 나타낸 도면이다.

[0121] 도 11 및 도 12에서는 각각 중심부가 육각형인 도 1에 따른 세포내 물질전달 플랫폼과 중심부가 오각형인 도 9에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 세포내 물질전달 장치에 대한 것으로, 각각에는 유체, 세포, 전달물질 등을 전달하는 공급부와, 상기 세포내 물질전달 플랫폼에서 배출되는 유체, 세포, 전달물질 등을 받는 수납부가 연결될 수 있다. 도 11 및 도 12에 도시된 바와 같이, 세포내 물질전달 장치에서는 하나 이상의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 연결할 수 있으며, 이들일 이용하여 세포의 내부로 효율적으로 전달물질을 전달할 수 있다.

[0123] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 본 발명은 전술한 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 세포의 내부로 전달물질을 전달하는 세포내 물질전달 방법을 포함한다. 상기 세포내 물질전달 방법에서, 상기 세포는 와류에 의하여 세포의 변형이 발생하고, 상기 세포의 변형에 의하여 세포막에 일시적으로 나노포어가 형성되어 상기 전달물질이 상기 세포의 내부로 전달되고, 상기 세포의 변형은 복귀(restoration)될 수 있다. 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 방법에서는 세포의 물리적인 변형 또는 비가역적인 변형을 이용하지 않고, 세포의 손상없이 세포 내로 물질전달을 효율적으로 수행할 수 있다.

[0124] 본 발명의 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼은 미세 유체관 내에서 발생되는 유체의 특이적 유동을 이용하여 세포의 형태를 변형함으로써 세포 내로 다양한 외부 물질을 전달할 수 있다. 즉 본 발명에서는 다각형 구조의 정션부를 이용하고, 상기 정션부를 향하여 여러 방향에서 흘러오는 유체는 정체 구역인 상기 정션부에서 와류를 형성할 수 있다. 와류 형성을 기반으로 한 유체의 유동은 세포의 변형(deformation)을 유도하여 세포막(cell membrane)을 일시적으로 개방한다. 이 후 세포 형태가 다시 원형으로 복귀(restoration)될 때 변형된 세포막을 사이에 두고 세포 안팎의 유체 맞교환(liquid exchange)이 이루어지고, 용액에 혼합 되어있는 다양한 외부 물질(예: DNA, mRNA, CRISPR-RNP)이 세포 내로 효과적으로 유입될 수 있다.

[0126] 이하 본 발명의 실시예 및 비교예를 기재한다. 그러나, 하기 실시예들은 본 발명의 바람직한 일 실시예일뿐 본 발명의 권리 범위가 하기 실시예들에 의하여 제한되는 것은 아니다.

[0128] 하기 도 12 내지 도 15에서는 육각형의 정션부를 갖는 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 레이놀즈 수, 전달물질의 크기 및 농도 등을 변화시켜, 세포내 물질전달 효율을 확인한 실험이다. 하기 실험에서, 세포내 물질전달 플랫폼은 전술한 도 1을 동일하게 이용하였다.

[0129] 세포내 물질전달 플랫폼은 PDMS(Polydimethylsiloxane) (Dow, Sylgard 184)와 슬라이드 글라스(Marienfeld Superior, HSU-1000412)로 제조하였다. 실리콘 웨이퍼의 포토리소그래피(photolithography) 공정을 이용해 미세유체 패턴 (인렛채널, 아웃렛채널 및 육각형의 정션부)이 새겨진 마스터 몰드(Master mold)를 제작하였다. 이어서, PDMS의 소프트 리소그래피(Soft lithography) 공정을 통해 미세유체 패턴을 PDMS 표면에 복제하였다. 플라즈마 클리너(Femto science, CUTE)를 이용하여 미세유체 패턴이 새겨진 PDMS와 슬라이드 글라스를 산소 플라즈마 본딩하여 세포내 물질전달 플랫폼을 제조하였다.

[0130] 전술한 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 세포 내 물질전달 실험의 재료로 세포 현탁액 (ATCC, CCL-243)을 사용하였다. 본 실험에 사용된 세포 현탁액은 mL 당 1,500만 개의 K562 세포를 포함한다. 세포 준비 후 배양배지(Corning, RPMI)로 세포 현탁액을 제조하였다. 세포 현탁액 내에 전달물질인 2,000kDa FITC-conjugated dextran(Sigma Aldrich, FD2000S)을 첨가하여, 세포, 전달물질 및 유체가 포함된 샘플을 준비하였다. 메인 인렛채널에 주입하는 유체는, 세포 현탁액에 사용된 용매와 동일한 물질을 이용하였다. 서브 인렛채널에 주입되는 유체는, 세포 워싱으로 사용되며 pH를 유지시켜주는 DPBS(Dulbecco's Phosphate Buffered Saline)을 사용하였다.

[0131] 준비된 샘플을 일회용 주사기(BD, Luer-lock Tip Syringe)에 주입하고 주사기와 세포내 물질전달 플랫폼을 Capillary tubing(IDEX, 1/32" OD PEEK Tubing)으로 연결하였다. 주사기 펌프(Harvard Apparatus, 11 Elite Microfluidic Syringe Pump)를 사용하여 세포 현탁액을 세포내 물질전달 플랫폼의 메인 인렛채널의 입구를 통하여 일정 유속으로 주입하였다.

[0133] 도 12은 육각형 정션부를 갖는 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 레이놀즈 수에 따른 세포내 물질전달 효율을 확인한 결과이다. 도 13는 도 12의 각 레이놀즈 수에서 세포의 거동을 나타낸 도면이다. 도 14는 육각형 정션부를 갖는 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 레이놀즈 수에 따른 세포의 생존률을 확인한 결과이다.

[0134] 표 2는 도 12 내지 도 14에 따른 정션부의 레이놀즈 수에 따른 세포 머무름 시간, 세포내 물질전달 효율을 나타냈다.

표 2

[0135]

레이놀즈 수	FITC-dextran 크기(kDa)	FITC-dextran 농도(mg/ml)	정션부 내 세포 머무름 시간(㎲)	세포내 물질전달 효율(%)	세포 생존률(%)
Re=300	2000	0.1	8.33 ㎲	32.73%	98.13%
Re=432	2000	0.1	13.33㎲	81.1%	89.1%
Re=584	2000	0.1	22.44㎲	93.47%	75%
Re=720	2000	0.1	16.67㎲	93.55%	62%

[0136] 도 12 및 도 13를 참조하면, 단면이 육각형인 정션부를 갖는 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 동일한 크기 및 농도의 전달물질과, 세포 현탁액을 이용하되 정션부에서의 레이놀즈 수만 다르게 하여 정션부 내 와류유동에 따른 세포 머무름 시간 및 세포 변형을 확인하였고, 이에 따른 물질전달 효율을 확인하였다. 세포내 물질전달 효율 및 세포 생존률은 주입되는 유체 중 포함된 전달물질인 FITC-dextran의 농도와 세포의 수 각각에 대해서 주입과 배출을 비교하여 확인하였다.

[0137] 정션부에서의 레이놀즈 수가 300에서 584까지 증가하는 동안 세포 머무름 시간이 증가하였으나, 레이놀즈 수가 720인 경우는 감소함을 확인할 수 있었다. 레이놀즈 수가 증가할수록 정션부에서의 와류유동의 힘이 강해지므로 세포 머무름 시간 및 정션부에서 세포가 변형되는 시간이 증가한다. 반면, 레이놀즈 수가 너무 커지는 경우, 매우 빠른 유속으로 인해 메인 인렛채널 및 서브 인렛채널을 통해 주입되는 유체가 특정 모양의 와류를 제대로 형성하지 못하였고, 정션부에서 형성되는 와류의 나선형 흐름으로 유입된 세포가 메인 아웃렛에 빠르게 연결되어 세포의 정션부 내의 머무름 시간도 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 대부분의 세포가 유체 자체의 힘에

의해 정션부에 도달하였을 때, 찢어지거나 늘어나있음을 확인할 수 있었다.

[0138] 도 13와 같이, 정션부의 레이놀즈 수가 300, 432, 584, 720 정션부의 레이놀즈 수를 다르게 하여도 유입되는 유체는 모두 층류흐름을 나타내었고, 정션부에서는 와류가 발생되었다. 상기 정션부에서 발생한 와류는 세포를 모두 변형시켰고, 메인 아웃렛채널을 통하여 세포를 배출하였다. 상기 정션부에서 발생한 세포의 변형 정도는 정션부 내의 레이놀즈 수에 따라 다르게 나타났으며, 레이놀즈 수가 클수록 세포의 변형정도가 더 크게 나타남을 확인할 수 있었다.

[0139] 도 12의 우측 도면을 참조하면, 레이놀즈 수가 증가할수록 정션부에서의 세포내 물질전달 효율을 증가하나, 대략 레이놀즈 수가 584 이후부터는 유사하게 높은 물질전달 효율을 유지하였다. 즉, 세포내 물질전달 플랫폼 내의 유속이 증가하여도 세포에 의한 채널막힘 현상들은 발생하지 않고, 정션부에서 세포의 내부로 전달물질이 효과적으로 유입되는 것을 확인할 수 있었다.

[0140] 도 14에서, 각각 다른 레이놀즈 수에서 세포내 물질전달 이후 생존률(viability)을 측정하였다. 여기서 생존률은 세포 처리 이후 전체 세포 중 일부 수집한 세포 중에서 trypan blue 염색법을 이용하여 살아있는 세포와 죽은 세포를 구분하였다.

[0141] 도 14를 참조하면, 해당 플랫폼을 통해 세포 내 물질전달을 진행한 후, 실험 직후의 세포의 상대생존률(relative viability(%), sample viability/control viability x 100)를 각각 다른 레이놀즈 수에 따라 비교하였으며, 세포막 회복 및 주기를 고려하여 18시간 뒤의 상대생존률(relative viability(%))를 확인하였을 때, 레이놀즈 수 584 이후부터는 세포의 상대생존률이 비교적 낮아짐을 확인할 수 있었다.

[0142] 도 15은 육각형 정션부를 갖는 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하여 전달물질의 크기 및 농도에 따른 세포내 물질전달 효율을 확인한 결과이다. 표 3 및 표 4는 전달물질의 크기 및 농도에 따른 세포내 물질전달 효율을 나타내었다. 도 15 및 표 3, 4에서는 정션부의 레이놀즈 수는 Re=584로 동일하게 하였다.

표 3

[0143]

	FITC-dextran 크기(kDa)		
	70	150	2000
세포내 물질전달 효율(%)	86.98%	87.53%	95.31%

표 4

[0144]

	FITC-dextran 농도(mg/ml)	
	0.1	0.3
세포내 물질전달 효율(%)	94.48%	94.93%

[0145] 도 15 및 표 3을 참조하면, 다양한 크기의 FITC-Dextran 물질에 대해서도 K562 세포주에 높은 효율로 전달되는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 본 발명의 세포내 물질전달 플랫폼을 이용한 경우, 전달물질의 크기에 크게 영향을 미치지 않고 높은 물질전달 효율을 나타냈다.

[0146] 도 17 및 표 4를 참조하면, 전달물질의 농도가 낮은 경우와 농도가 높은 경우를 비교하였을 때, 두 조건 모두 오차가 거의 나지 않는 높은 전달효율을 나타냈다. 이는 세포와 혼합되어 있는 전달물질이 해당 플랫폼을 이용하여 세포 내로 전달될 때, 적은 양의 물질을 사용하여도 우수한 세포 내 물질전달 효율을 나타냄을 확인할 수 있었다. 따라서, 해당 육각형 정션부를 가지는 플랫폼은 세포 내 물질전달시 형성되는 특정와류에 의하여 세포의 세포막 변형에 효과적으로 작용하고, 세포막이 변형된 후 회복력 또한 우수하게 나타냈다. 즉, 본 발명에 실시예에 따른 세포내 물질전달 플랫폼을 이용하는 경우, 전달물질의 농도를 낮출 수 있어 공정효율을 향상시키고, 또한 세포의 영구적인 변형 또는 손상이 발생하지 않음을 확인할 수 있었다.

[0148] 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구의 범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구의 범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등

개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

부호의 설명

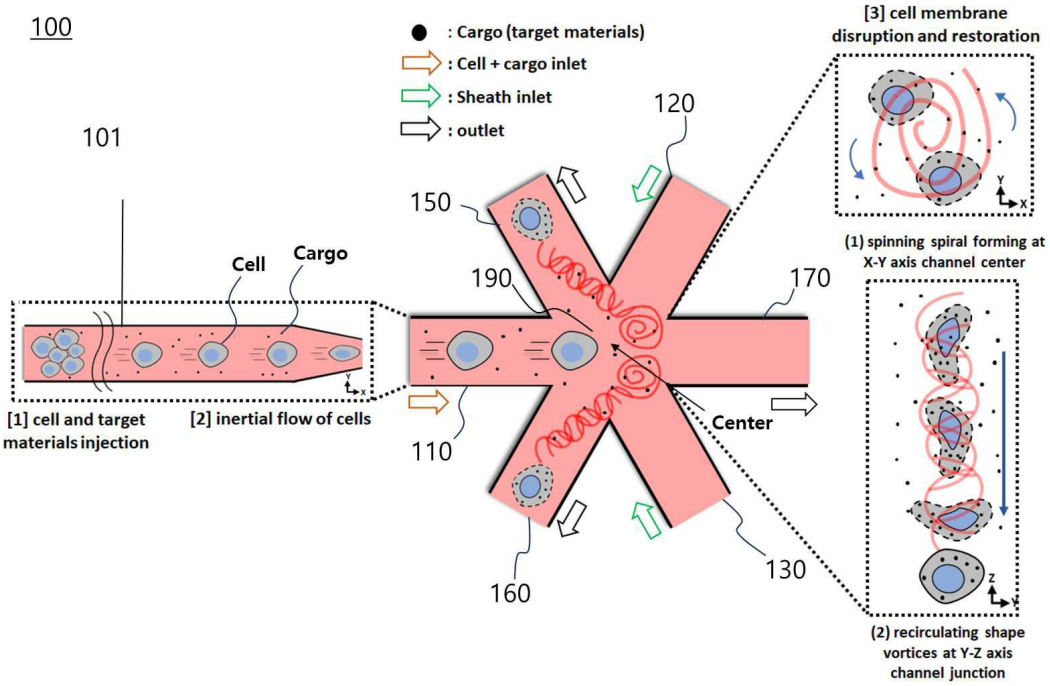
[0149] 100, 200, 300 : 세포내 물질전달 플랫폼

110, 210, 310 : 인렛채널

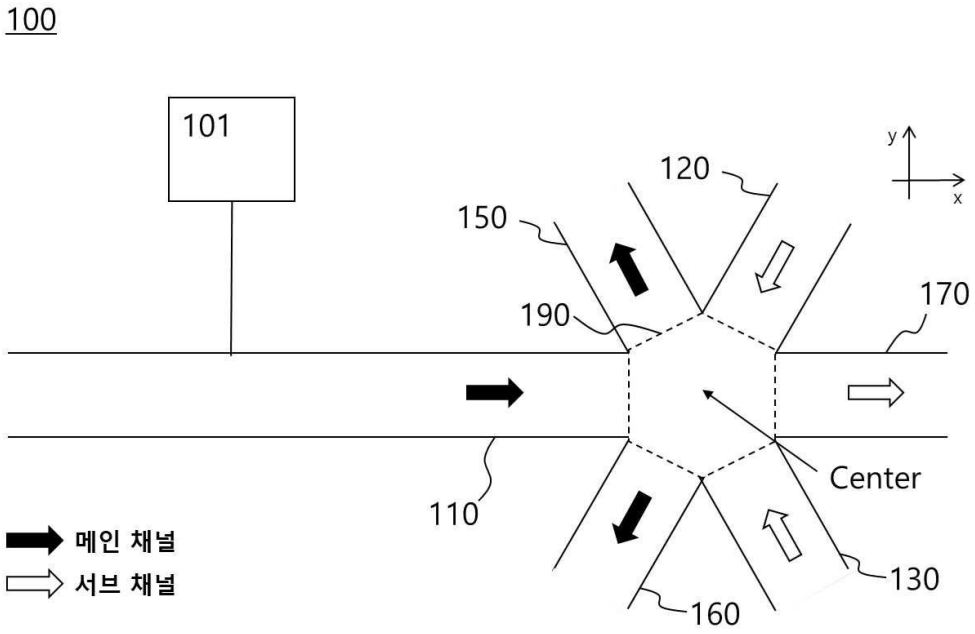
190, 290, 390 : 정션부

도면

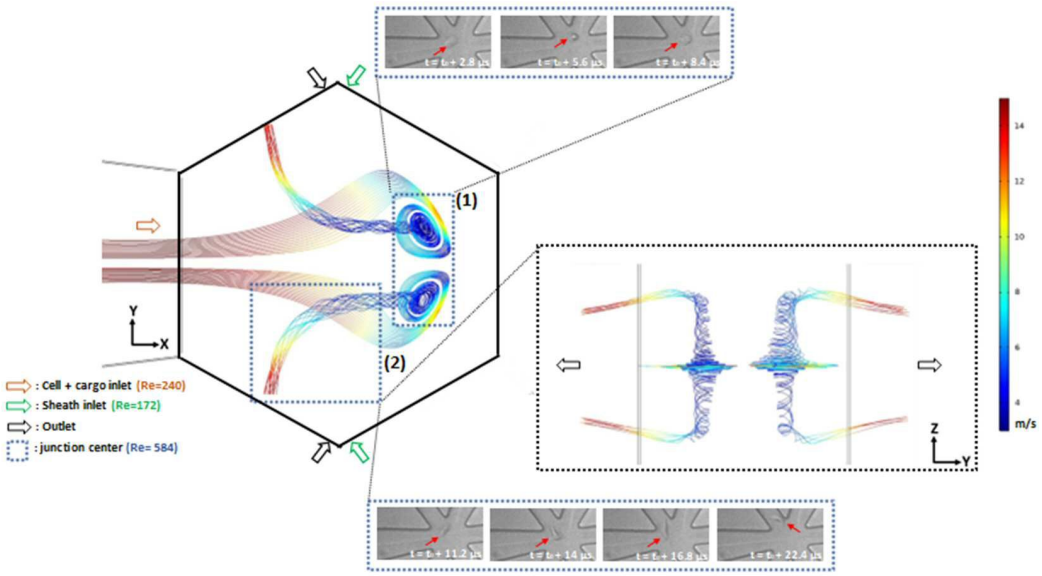
도면1



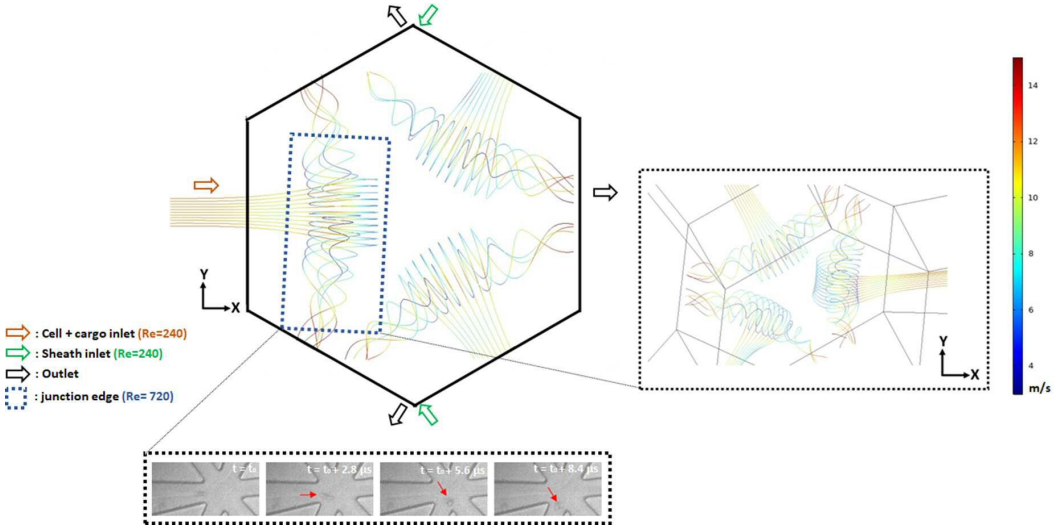
도면2


100
101
120
150
190
170
110
Center
130
160
y
x
메인 채널
서브 채널

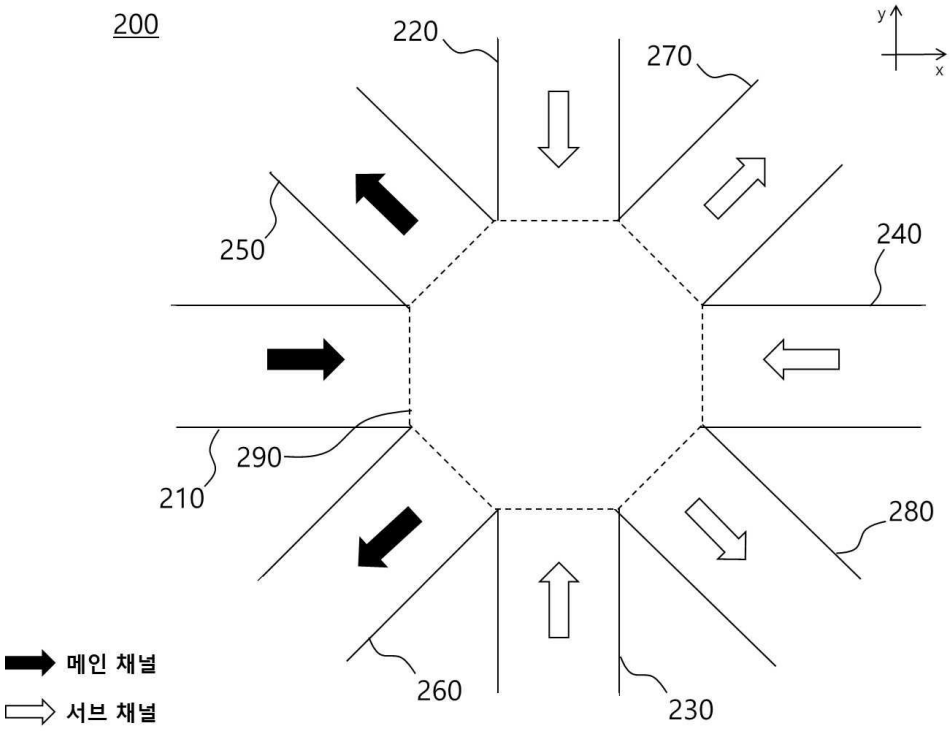
도면3


(1)
(2)
Y
X
Z
Y
: Cell + cargo inlet (Re=240)
: Sheath inlet (Re=172)
: Outlet
: junction center (Re= 584)
m/s

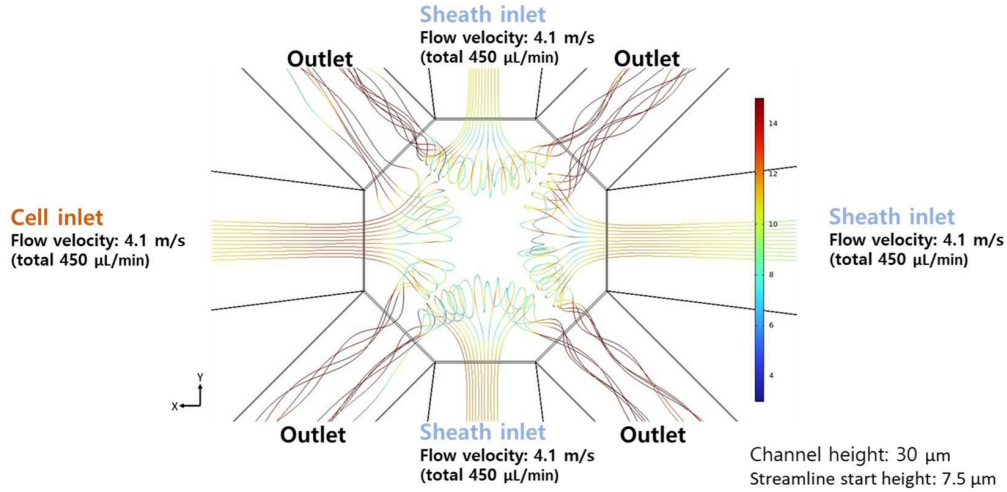
도면4


: Cell + cargo inlet (Re=240)
: Sheath inlet (Re=240)
: Outlet
: junction edge (Re= 720)
Y
X
14
12
10
8
6
4
m/s

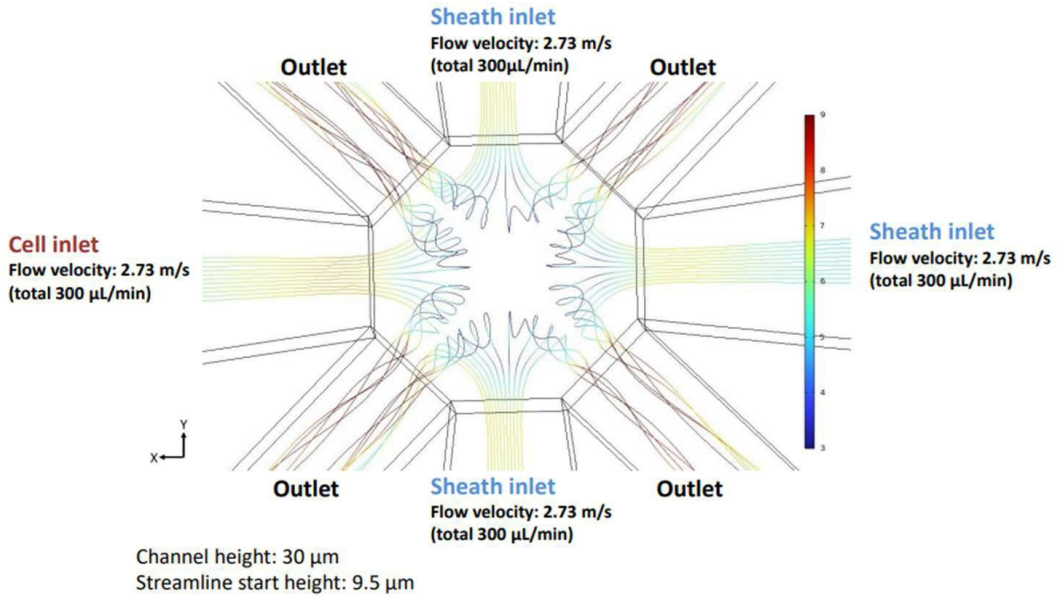
도면5


200
220
270
250
240
290
210
280
260
230
y
x
메인 채널
서브 채널

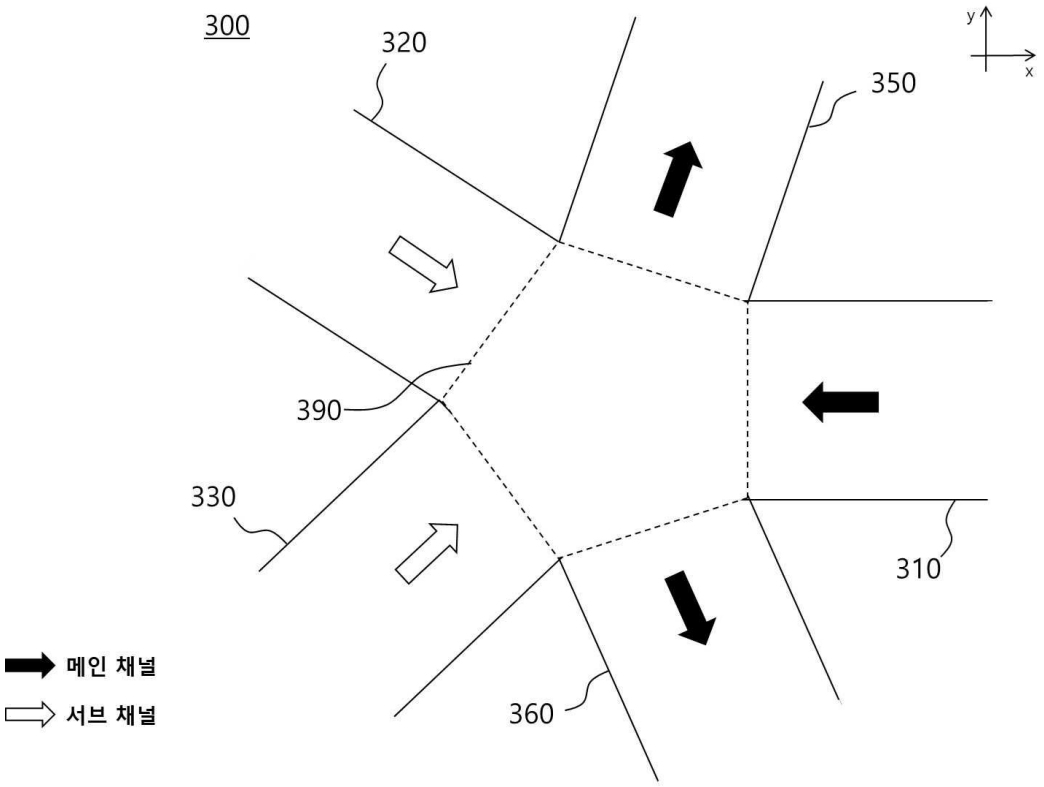
도면6


Sheath inlet
Flow velocity: 4.1 m/s
(total 450 μL/min)
Outlet
Outlet
Cell inlet
Flow velocity: 4.1 m/s
(total 450 μL/min)
Sheath inlet
Flow velocity: 4.1 m/s
(total 450 μL/min)
Outlet
Sheath inlet
Flow velocity: 4.1 m/s
(total 450 μL/min)
Outlet
Channel height: 30 μm
Streamline start height: 7.5 μm

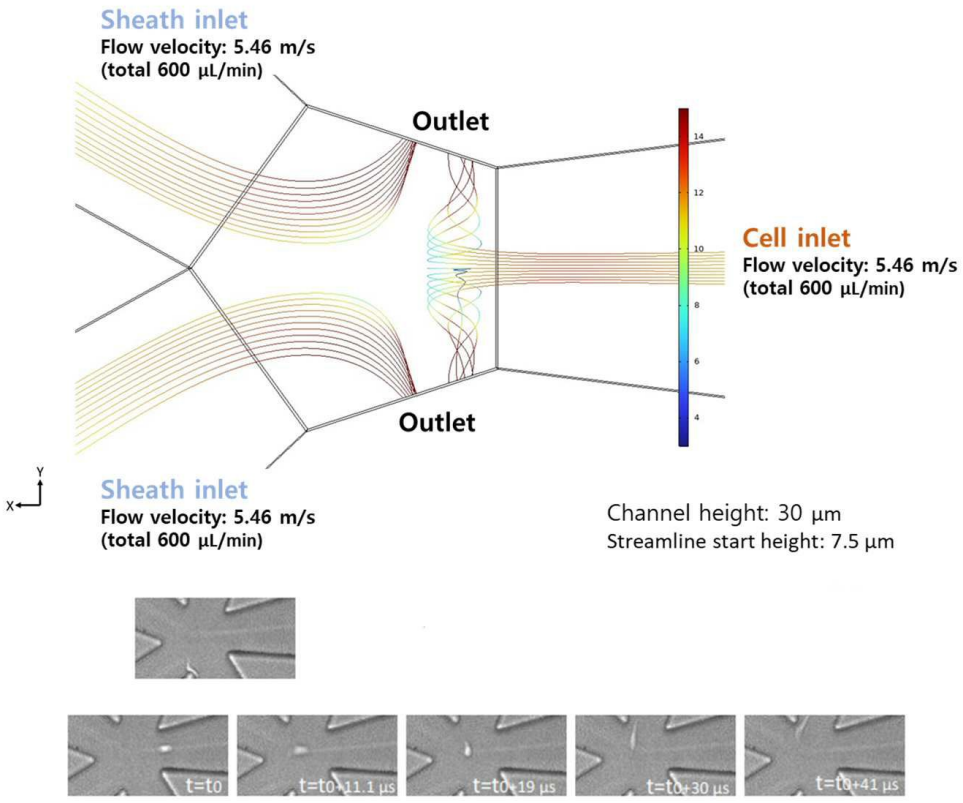
도면7


Sheath inlet
Flow velocity: 2.73 m/s
(total 300μL/min)
Outlet
Outlet
Cell inlet
Flow velocity: 2.73 m/s
(total 300 μL/min)
Sheath inlet
Flow velocity: 2.73 m/s
(total 300 μL/min)
Outlet
Sheath inlet
Flow velocity: 2.73 m/s
(total 300 μL/min)
Outlet
Channel height: 30 μm
Streamline start height: 9.5 μm

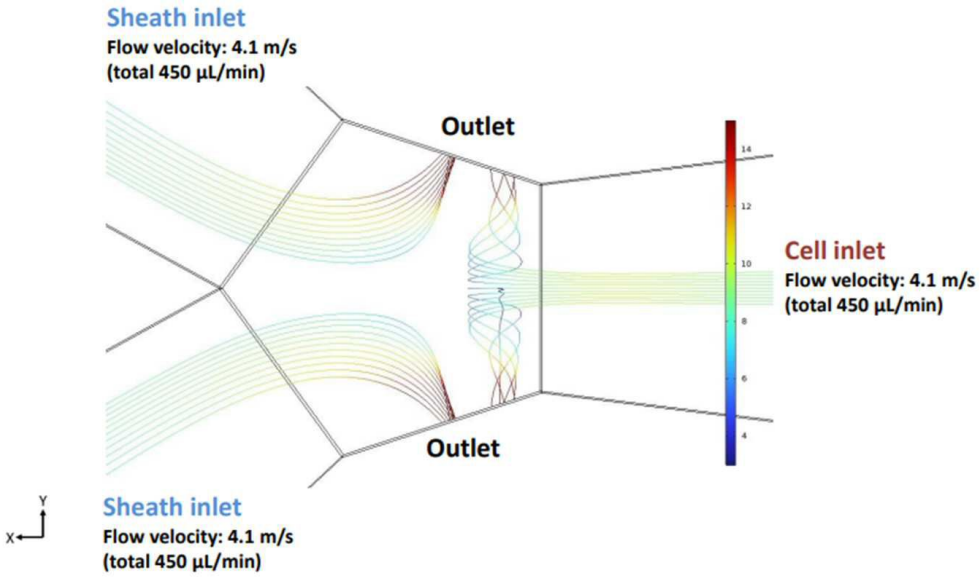
도면8


300
320
350
390
330
310
360
y
x
메인 채널
서브 채널

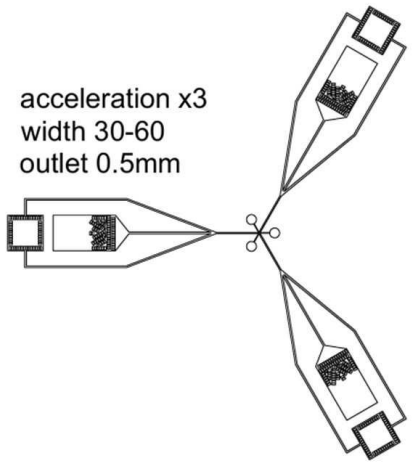
도면9


Sheath inlet
Flow velocity: 5.46 m/s
(total 600 µL/min)
Outlet
Cell inlet
Flow velocity: 5.46 m/s
(total 600 µL/min)
Outlet
Sheath inlet
Flow velocity: 5.46 m/s
(total 600 µL/min)
Channel height: 30 µm
Streamline start height: 7.5 µm
t=t0
t=t0+11.1 µs
t=t0+19 µs
t=t0+30 µs
t=t0+41 µs

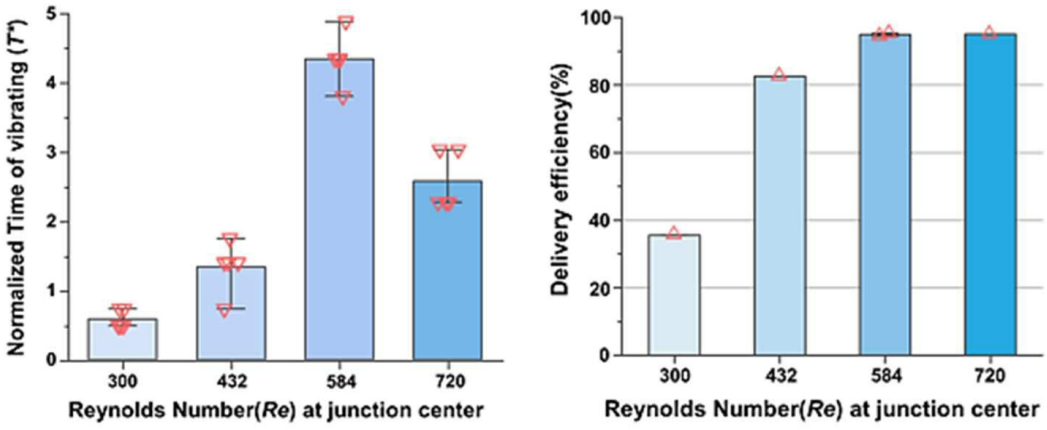
도면10



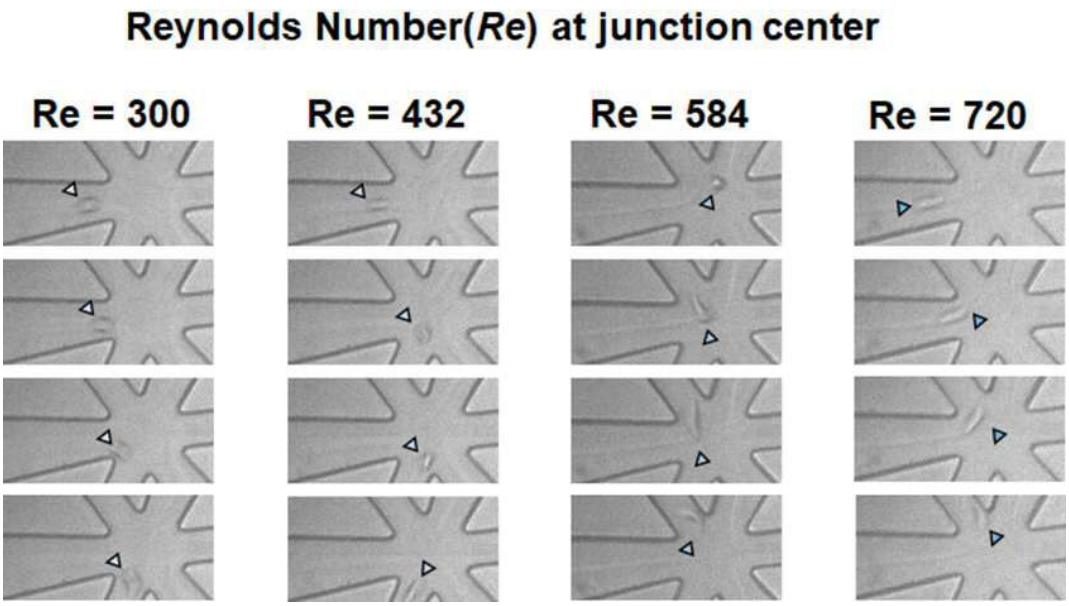
도면11



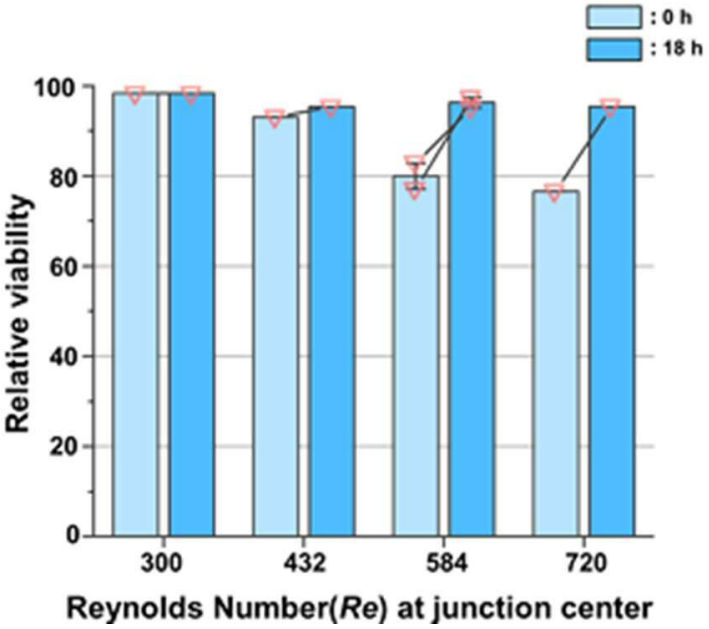
도면12



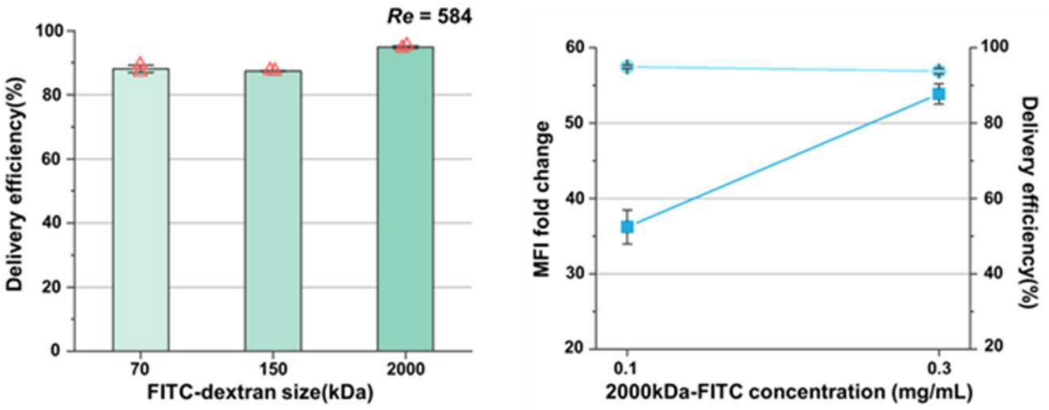
도면13


Reynolds Number(Re) at junction center
Re = 300
Re = 432
Re = 584
Re = 720

도면14


: 0 h
: 18 h
Relative viability
100
80
60
40
20
0
300
432
584
720
Reynolds Number(Re) at junction center

도면15


Re = 584
Delivery efficiency(%)
100
80
60
40
20
0
70
150
2000
FITC-dextran size(kDa)
MFI fold change
60
50
40
30
20
0.1
0.3
2000kDa-FITC concentration (mg/mL)
Delivery efficiency(%)
100
80
60
40
20