



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0149117
(43) 공개일자 2024년10월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12M 1/34 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01)
C12M 1/42 (2017.01) C12M 3/06 (2006.01)
C12N 5/074 (2010.01)

(52) CPC특허분류

C12M 41/46 (2013.01)
C12M 23/16 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0044654

(22) 출원일자 2023년04월05일
심사청구일자 2023년04월05일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

김동휘

서울특별시 성북구

이건희

서울특별시 성북구 안암로 145, R&D센터 417호

한성범

서울특별시 성북구 안암로 145, R&D센터 417호

(74) 대리인

정은열, 김태훈

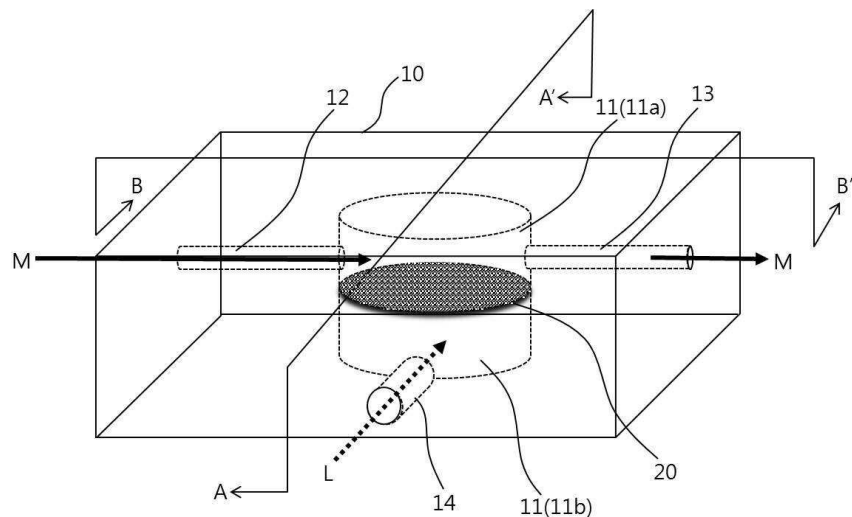
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 줄기세포 분화 제어 장치 및 그 제조방법

(57) 요약

본 발명은 줄기세포 분화 제어 장치 및 그 제조방법에 관한 것으로, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치는 내부에 형성된 챔버(11), 챔버(11)의 내상부(11a)로 배양액(M)을 공급하는 공급채널(12), 챔버(11)의 내상부(11a)에 수용된 배양액(M)을 배출하는 배출채널(13), 및 챔버(11)의 내하부(11b)로 팽창유체(L)를 공급하는 유체수송채널(14)을 포함하는 미세유체장치(10), 및 챔버(11)를 가로질러 챔버(11)의 내상부(11a)와 내하부(11b)를 구획하고, 상면에 줄기세포(S)가 배치되며, 팽창유체(L)가 챔버(11)의 내하부(11b)로 유입될 때에 상방으로 볼록하게 만곡되도록 탄성을 가지는 박막(20)을 포함하고, 박막(20)이 상방으로 볼록하게 만곡될 때에 줄기세포(S)에 인장력이 인가되어 줄기세포(S)의 분화를 제어한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12M 29/26 (2013.01)

C12M 35/02 (2013.01)

C12M 41/44 (2013.01)

C12N 5/0607 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711090821
과제번호	2019R1A2C2004437
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	면역세포의 물리적 환경 감지 및 기계적 신호 전달에 의한 면역 반응 조절 기전 규

명

기 여 율	9/10
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2019.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711120246
과제번호	2020-0-01819-001
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	정보통신기획평가원
연구사업명	정보통신방송혁신인재양성(R&D)
연구과제명	ICT명품인재양성(고려대학교)
기 여 율	1/10
과제수행기관명	고려대학교 산학협력단
연구기간	2020.01.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

내부에 형성된 챔버, 상기 챔버의 내상부로 배양액을 공급하는 공급채널, 상기 챔버의 내상부에 수용된 상기 배양액을 배출하는 배출채널, 및 상기 챔버의 내하부로 팽창유체를 공급하는 유체수송채널을 포함하는 미세유체장치; 및

상기 챔버를 가로질러 상기 챔버의 내상부와 내하부를 구획하고, 상면에 줄기세포가 배치되며, 상기 팽창유체가 상기 챔버의 내하부로 유입될 때에 상방으로 블록하게 만족되도록 탄성을 가지는 박막;을 포함하고,

상기 박막이 상방으로 블록하게 만족될 때에 상기 줄기세포에 인장력이 인가되어 상기 줄기세포의 분화를 제어하는 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 배양액이 상기 공급채널, 상기 챔버의 내상부, 및 상기 배출채널을 따라 순차적으로 유동할 때에, 상기 줄기세포에 전단력이 인가되는 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 박막의 표면에 다수의 세공이 형성된 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 박막은, Poly(l-lactide-co-ε-caprolactone)(PLCL) 고분자 박막인 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 박막의 상면에 코팅되어, 상기 줄기세포를 부착하는 세포부착층;을 더 포함하는 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 배양액을 상기 공급채널에 주입하는 배양액 주입펌프;를 더 포함하는 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 7

청구항 1에 있어서,

상기 팽창유체를 상기 유체수송채널에 주입하는 팽창유체 주입펌프:를 더 포함하는 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 8

청구항 1에 있어서,

상기 팽창유체의 주입을 제어하여 상기 줄기세포에 인가되는 상기 인장력을 조절하는 제어부:를 더 포함하는 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 제어부는,

상기 팽창유체의 주입량, 주입속도, 및 주입주기 중 적어도 1개 이상을 제어하는 줄기세포 분화 제어 장치.

청구항 10

(a) Poly(l-lactide-co- ϵ -caprolactone)(PLCL) 고분자를 유기용매에 용해하여 PLCL 고분자 용액을 제조하는 단계;

(b) 상기 PLCL 고분자 용액과 서로 다른 극성을 갖는 용액 내에, 상기 PLCL 고분자 용액을 주입하여 PLCL 박막을 제조하는 단계; 및

(c) 내부에 형성된 챔버, 상기 챔버의 내상부로 배양액을 공급하는 공급채널, 상기 챔버의 내상부에 수용된 상기 배양액을 배출하는 배출채널, 및 상기 챔버의 내하부로 팽창유체를 공급하는 유체수송채널을 포함하는 미세 유체장치의 상기 챔버의 내상부와 내하부가 구획되도록, 상기 챔버를 가로질러 상기 PLCL 박막을 배치하는 단계:를 포함하는 줄기세포 분화 제어 장치의 제조방법.

청구항 11

청구항 10에 있어서,

상기 유기용매는,

클로로포름(chloroform), 디클로로메탄(dichloromethane), 사염화탄소(carbon tetrachloride), 톨루엔(toluene), 시클로헥사논(cyclohexanone), 사이클로헥사논(Cyclohexanone), 디클로로벤젠(Dichlorobenzene) 및 2-니트로프로판(2-nitropropane)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개 이상을 포함하는 줄기세포 분화 제어 장치의 제조방법.

청구항 12

청구항 10에 있어서,

상기 (b) 단계에서 상기 용액은,

물(water), 메탄올(methanol), 아이소프로필 알코올(isopropyl alcohol), 글리세롤(glycerol), 에탄디올(ethanediol), 시클로헥산올(cyclohexanol), 아세토나이트릴(acetonitrile), 니트로메탄(nitromethane), 디메틸 설펍사이드(dimethyl sulfoxide) 및 시클로헥세인(cyclohexane)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개 이상을 포함하는 줄기세포 분화 제어 장치의 제조방법.

청구항 13

청구항 10에 있어서,

상기 (c) 단계는,

일면에 상기 챔버의 내상부가 음각 형태로 형성되고, 내부에 상기 공급채널, 및 상기 배출채널을 구비한 상부층과, 일면에 상기 챔버의 내하부가 음각 형태로 형성되고, 유체수송채널을 구비한 하부층 사이에, 상기 PLCL 박막을 배치하고, 상기 상부층의 일면과 상기 하부층의 일면을 접합하는 줄기세포 분화 제어 장치의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 줄기세포 분화 제어 장치 및 그 제조방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 다공성 고분자 박막의 인장을 활용하여 줄기세포 분화를 제어하는 장치 및 그 장치의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 인체 내 장기 및 조직들은 세포와 더불어 세포외기질(extracellular matrix)과 함께 구성되어 있다. 최근 세포를 배양하기 위한 배양 플랫폼의 물리적인 특성 및 자극에 따라 세포가 이를 인지(mechanosensing)하고 그에 따라 세포의 기능이 결정(mechanoregulation)된다는 연구 결과들이 발표됨에 따라 세포의 기능을 결정할 수 있는 배양 기술에 관련 중요성이 대두되고 있다.

[0004] 줄기세포의 분화과정에서 줄기세포가 외부에서의 물리적인 환경 및 자극에 따라 세포 골격을 재구성해 세포의 형태 및 세포소기관의 역학적 상태를 변화시켜 줄기세포의 분화에 직접적인 영향을 끼친다. 이런 과정을 통해 중간엽 줄기세포는 근육, 신경, 골세포로 분화가 결정된다는 사실이 알려져 있다. 일례로, 하기 선행기술문헌의 특허문헌에는 전기자극을 이용하여 중간엽 줄기세포를 연골세포로 분화시키는 방법이 개시되어 있다.

[0005] 한편, 혈관 지지는 세포와 조직의 생존과 기능 유지에 있어 중요한 역할을 하고, 조직 손상으로부터 회복하기 위해서 혈관 내 중간엽 줄기세포는 평활근 세포로 분화하는 것으로 알려졌다. 혈관 지지에 활용되는 고분자 소재는 혈관의 수축과 팽창을 지지하기 위해서 우수한 탄성 및 생체적합성을 가져야 하며, 또한 세포의 분화를 잘 유도할 수 있어야 한다.

[0006] 그러나 현재는 생체적합성이 우수하고 강한 물성을 가진 고분자 박막을 제조하고, 그 고분자 박막을 이용하여 중간엽 줄기세포를 평활근 세포로 분화하는 장치가 개발되지 않아 혈관 내 중간엽 줄기세포를 평활근 세포로 분화하는데 어려움이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) KR 10-1603474 B1

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 상술한 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 일 측면은 줄기세포가 배양되는 박막에 인장력을 인가하여 줄기세포의 분화를 제어하는 줄기세포 분화 제어 장치를 제공하는 데 있다.

[0010] 또한, 본 발명의 다른 측면은 극성이 다른 용액 내 PLCL 박막의 결정화를 통해 구조적, 물리적으로 우수한 특성을 가지는 PLCL 박막을 제조하여 이를 줄기세포 분화 제어 장치에 적용하는 줄기세포 분화 제어 장치 제조방법

을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치는 내부에 형성된 챔버, 상기 챔버의 내상부로 배양액을 공급하는 공급채널, 상기 챔버의 내상부에 수용된 상기 배양액을 배출하는 배출채널, 및 상기 챔버의 내하부로 팽창유체를 공급하는 유체수송채널을 포함하는 미세유체장치; 및 상기 챔버를 가로질러 상기 챔버의 내상부와 내하부를 구획하고, 상면에 줄기세포가 배치되며, 상기 팽창유체가 상기 챔버의 내하부로 유입될 때에 상방으로 볼록하게 만곡되도록 탄성을 가지는 박막;을 포함하고, 상기 박막이 상방으로 볼록하게 만곡될 때에 상기 줄기세포에 인장력이 인가되어 상기 줄기세포의 분화를 제어한다.
- [0013] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치에 있어서, 상기 배양액이 상기 공급채널, 상기 챔버의 내상부, 및 상기 배출채널을 따라 순차적으로 유동할 때에, 상기 줄기세포에 전단력이 인가될 수 있다.
- [0014] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치에 있어서, 상기 박막의 표면에 다수의 세공이 형성될 수 있다.
- [0015] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치에 있어서, 상기 박막은, Poly(l-lactide-co-ε-caprolactone)(PLCL) 고분자 박막일 수 있다.
- [0016] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치에 있어서, 상기 박막의 상면에 코팅되어, 상기 줄기세포를 부착하는 세포부착층;을 더 포함할 수 있다.
- [0017] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치에 있어서, 상기 배양액을 상기 공급채널에 주입하는 배양액 주입펌프;를 더 포함할 수 있다.
- [0018] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치에 있어서, 상기 팽창유체를 상기 유체수송채널에 주입하는 팽창유체 주입펌프;를 더 포함할 수 있다.
- [0019] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치에 있어서, 상기 팽창유체의 주입을 제어하여 상기 줄기세포에 인가되는 상기 인장력을 조절할 수 있다.
- [0020] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치에 있어서, 상기 제어부는, 상기 팽창유체의 주입량, 주입속도, 및 주입주기 중 적어도 1개 이상을 제어할 수 있다.
- [0021] 한편, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 제조방법은, (a) Poly(l-lactide-co-ε-caprolactone)(PLCL) 고분자를 유기용매에 용해하여 PLCL 고분자 용액을 제조하는 단계; (b) 상기 PLCL 고분자 용액과 서로 다른 극성을 갖는 용액 내에, 상기 PLCL 고분자 용액을 주입하여 PLCL 박막을 제조하는 단계; 및 (c) 내부에 형성된 챔버, 상기 챔버의 내상부로 배양액을 공급하는 공급채널, 상기 챔버의 내상부에 수용된 상기 배양액을 배출하는 배출채널, 및 상기 챔버의 내하부로 팽창유체를 공급하는 유체수송채널을 포함하는 미세유체장치의 상기 챔버의 내상부와 내하부가 구획되도록, 상기 챔버를 가로질러 상기 PLCL 박막을 배치하는 단계;를 포함할 수 있다..
- [0022] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 제어방법에 있어서, 상기 유기용매는, 클로로포름(chloroform), 디클로로메탄(dichloromethane), 사염화탄소(carbon tetrachloride), 톨루엔(toluene), 시클로헥사논(cyclohexanone), 사이클로헥사논 (Cyclohexanone), 디클로로벤젠 (Dichlorobenzene) 및 2-니트로프로판(2-nitropropane)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개 이상을 포함할 수 있다.
- [0023] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 제어방법에 있어서, 상기 (b) 단계에서 상기 용액은, 물(water), 메탄올(methanol), 아이소프로필 알코올(isopropyl alcohol), 글리세롤(glycerol), 에탄디올(ethanediol), 시클로헥산올(cyclohexane), 아세토나이트릴(acetonitrile), 니트로메탄(nitromethane), 디메틸 설펍사이드(dimethyl sulfoxide) 및 시클로헥세인(cyclohexane)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개 이상을 포함할 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 제어방법에 있어서, 상기 (c) 단계는, 일면에 상기 챔버의 내상부가 음각 형태로 형성되고, 내부에 상기 공급채널, 및 상기 배출채널을 구비한 상부층과, 일면에 상기 챔버의 내하부가 음각 형태로 형성되고, 유체수송채널을 구비한 하부층 사이에, 상기 PLCL 박막을 배치하

고, 상기 상부층의 일면과 상기 하부층의 일면을 접합할 수 있다.

[0026] 본 발명의 특징 및 이점들은 첨부도면에 의거한 다음의 상세한 설명으로 더욱 명백해질 것이다.

[0027] 이에 앞서 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이고 사전적인 의미로 해석되어서는 아니되며, 발명자가 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

발명의 효과

[0029] 본 발명에 따르면, 생체적합성이 우수하고 강한 물성을 가진 고분자 PLCL 박막 구조체에 균일한 세기 및 주기로 인장력을 인가하여 줄기세포를 배양함으로써 줄기세포를 분화시키고, 그 분화 속도를 제어할 수 있다.

[0030] 특히, 중간엽 줄기세포의 평활근 세포 (Smooth muscle cell, SMC)로의 분화를 제어할 수 있다.

[0031] 또한, 극성이 다른 용액 내 PLCL 박막의 결정화를 통해 구조적, 물리적으로 다른 특성을 가지는 고분자 박막을 제조함으로써 줄기세포를 분화하는 마이크로 플랫폼 개발에 기여할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 사시도이다.

도 2는 도 1의 A-A' 라인에 따른 단면도이다.

도 3은 도 1의 B-B' 라인에 따른 단면도이다.

도 4는 본 발명의 다른 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 단면도이다.

도 5는 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 구성도이다.

도 6은 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치 제조방법을 나타내는 도면이다.

도 7의 (A)는 혈관 수축 및 혈관 확장 동안 인장 중인 중간엽 줄기세포의 개략도, (B)는 PLCL 박막 구조체에서 중간엽 줄기세포의 정적 배양 개략도, (C)는 PLCL 박막 구조체에서 중간엽 줄기세포의 동적 배양 개략도이다.

도 8의 (A)는 전단 응력 및 인장력을 생성하기 위해 생물 반응기에 연결된 미세유체장치의 개략도, (B)는 미세유체장치의 인장 및 측정 압력을 제어하는 장치의 회로도, (C)는 서로 다른 주입량의 인장 하에서 미세유체장치의 하부층의 압력 변화, (D)는 서로 다른 주입주기의 인장 하에서 미세유체 장치의 하부층의 압력 변화, (E)는 주입된 배양액 부피에 따른 PLCL 박막 구조체의 변형을 변화를 각각 나타내는 도면이다.

도 9는 메탄올 내에서 결정화된 PLCL 박막 표면의 전자 현미경 이미지로서, (A)는 메탄올, (B)는 메탄올:클로로포름(3:1), (C)는 메탄올:증류수(3:1) 용액에서 각각 결정화된 PLCL 박막 표면의 전자 현미경 이미지이다.

도 10은 아이소프로판올 내에서 결정화된 PLCL 박막 표면의 전자 현미경 이미지로서, (A)는 아이소프로판올, (B)는 아이소프로판올:클로로포름(3:1), (C)는 아이소프로판올 :증류수(3:1) 용액에서 각각 결정화된 PLCL 박막 표면의 전자 현미경 이미지이다.

도 11은 메탄올, 아이소프로판올 용액 내에서 결정화된 PLCL 박막 표면의 기공 크기를 나타내는 그래프로서, (A)는 메탄올, (B)는 메탄올:클로로포름(3:1), (C)는 메탄올:증류수(3:1), (D)는 아이소프로판올, (E)는 아이소프로판올:클로로포름(3:1), (F)는 아이소프로판올 :증류수(3:1) 용액에서 각각 결정화된 PLCL 박막 표면의 기공 크기이다.

도 12는 메탄올, 아이소프로판올 용액 내에서 결정화된 PLCL 박막 구조체의 물리적 성질로서, (A)는 인장 변형률, (B)는 인장 강도를 각각 나타낸다.

도 13은 물리적 자극의 종류와 유무에 따른 중간엽 줄기세포의 정렬도 평가 결과로서, (A)는 외력이 없는 상태에서의 세포 정렬 변화, (B)는 전단 응력이 인가된 경우에서 세포 정렬 변화, (C)는 인장력이 인가된 경우에서

세포 정렬 변화, (D)는 물리적 세기 유무와 종류에 따른 세포의 정렬 분포 변화를 각각 나타낸다.

도 14는 물리적 자극의 종류와 유무에 따른 중간엽 줄기세포의 평활근 세포(SMC)로의 분화를 나타내는 것으로서, (A)는 α SMA 발현 정도, (B)는 분화한 SMC 세포의 수 변화를 각각 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0034] 본 발명의 목적, 특정한 장점들 및 신규한 특징들은 첨부된 도면들과 연관되어지는 이하의 상세한 설명과 바람직한 실시예들로부터 더욱 명백해질 것이다. 본 명세서에서 각 도면의 구성요소들에 참조번호를 부가함에 있어서, 동일한 구성 요소들에 한해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 번호를 가지도록 하고 있음에 유의하여야 한다. 또한, "제1", "제2" 등의 용어는 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하기 위해 사용되는 것으로, 구성요소가 상기 용어들에 의해 제한되는 것은 아니다. 이하, 본 발명을 설명함에 있어서, 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 관련된 공지 기술에 대한 상세한 설명은 생략한다.
- [0035] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시형태를 상세히 설명하기로 한다.
- [0037] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 사시도, 도 2는 도 1의 A-A' 라인에 따른 단면도, 및 도 3은 도 1의 B-B' 라인에 따른 단면도이다.
- [0038] 도 1 내지 도 3에 도시된 바와 같이, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치는 내부에 형성된 챔버(11), 챔버(11)의 내상부(11a)로 배양액(M)을 공급하는 공급채널(12), 챔버(11)의 내상부(11a)에 수용된 배양액(M)을 배출하는 배출채널(13), 및 챔버(11)의 내하부(11b)로 팽창유체(L)를 공급하는 유체수송채널(14)을 포함하는 미세유체장치(10), 및 챔버(11)를 가로질러 챔버(11)의 내상부(11a)와 내하부(11b)를 구획하고, 상면에 줄기세포(S)가 배치되며, 팽창유체(L)가 챔버(11)의 내하부(11b)로 유입될 때에 상방으로 볼록하게 만곡되도록 탄성을 가지는 박막(20)을 포함하고, 박막(20)이 상방으로 볼록하게 만곡될 때에 줄기세포(S)에 인장력이 인가되어 줄기세포(S)의 분화를 제어한다.
- [0040] 줄기세포는 미분화 상태의 세포로 자가복제능력을 가지며, 다양한 조직세포로 분화할 수 있다. 줄기세포의 분화는 외부의 물리적인 환경 및 자극에 따라 유도될 수 있고, 이런 과정을 통해 중간엽 줄기세포는 근육, 신경, 골 세포로 분화가 결정된다. 본 발명은 이러한 줄기세포를 배양하면서 분화를 유도 및 제어하는 줄기세포 분화 조절 플랫폼 기술에 관한 것이다. 혈관 지지는 세포와 조직의 생존과 기능 유지에 있어 중요한 역할을 하고, 조직 손상으로부터 회복하기 위해서 혈관 내 중간엽 줄기세포는 평활근 세포로 분화하는 것으로 알려져 있는데, 본 발명에 따른 줄기세포 분화 제어 장치를 통해 중간엽 줄기세포의 평활근 세포로의 분화를 유도 및 제어할 수 있다. 다만, 본 발명이 반드시 혈관 내 중간엽 줄기세포를 대상으로, 평활근 세포로의 분화를 유도 및 제어하는데 사용되어야 하는 것은 아니다.
- [0041] 구체적으로, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치는 미세유체장치(10), 및 박막(20)을 포함한다.
- [0043] 미세유체장치(10)는 본체의 내부에 챔버(11), 공급채널(12), 배출채널(13), 및 유체수송채널(14)을 구비한다.
- [0044] 챔버(11)는 본체의 내부에 마련된 공간으로서, 내상부(11a)와 내하부(11b)로 구획된다. 공급채널(12)은 챔버(11)의 내상부(11a)와 본체의 외측을 연통시키는 제1 통로로서, 그 제1 통로를 통해 배양액(M)이 주입될 수 있다. 따라서, 공급채널(12)을 통해 주입된 배양액(M)은 챔버(11)의 내상부(11a)로 공급된다. 배출채널(13)은 챔버(11)의 내상부(11a)와 본체의 외측을 연통시키는 제2 통로로서, 그 제2 통로를 통해 챔버(11)의 내상부(11a)에 수용된 배양액(M)이 본체의 외측으로 배출될 수 있다. 여기서, 공급채널(12)과 배출채널(13)은 동축 상에 배치될 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니므로, 챔버(11)를 중심으로 소정의 각도를 이루며 연장되거나, 서로 나란하게 배치될 수도 있다. 유체수송채널(14)은 챔버(11)의 내하부(11b)와 본체의 외측을 연통시키는 제3 통로이다. 이러한 유체수송채널(14)을 통해 본체의 외측으로부터 팽창유체(L)가 주입되어 챔버(11)의 내하부(11b)로 공급될 수 있다. 챔버(11)의 내하부(11b)에 수용된 팽창유체(L)는 유체수송채널(14)을 통해 배출되거나, 또는 챔버(11)의 내하부(11b)와 본체의 외측을 연통시키는 별도의 제4 통로(도시되지 않음)를 통해 외부로 배출될 수 있다.

- [0046] 박막(20)은 탄성을 가지는 멤브레인 부재로서, 챔버(11)를 가로질러 배치된다. 따라서, 박막(20)에 의해 챔버(11)의 내상부(11a)와 내하부(11b)가 구획된다. 박막(20)의 표면 중 챔버(11)의 내상부(11a)와 접하는 일면에는 줄기세포(S)가 배치될 수 있다. 여기서, 줄기세포(S)는 배양액(M)과 함께 공급채널(12)을 통해 챔버(11)의 내상부(11a)로 공급되어, 박막(20)의 일면에 부착될 수 있다. 이렇게 박막(20)의 일면에 배치된 줄기세포(S)는 챔버(11)의 내상부(11a)에 수용된 배양액(M) 내에서 배양된다. 이때, 챔버(11)의 내상부(11a)에 수용된 배양액(M)이 배출채널(13)을 통해 배출되고, 새로운 배양액(M)이 공급채널(12)을 통해 공급됨으로써, 배양액(M)이 교체될 수 있다. 챔버(11)의 내상부(11a)에 배양액(M)을 채우기 위해서는, 배양액(M) 공급 후 폐쇄부재(예를 들면, 마개 등)를 통해 공급채널(12) 및/또는 배출채널(13)을 폐쇄하거나, 또는 박막(20)보다 소정의 높이에 공급채널(12)의 배출구 및/또는 배출채널(13)의 유입구를 배치하여 그 높이차에 해당하는 공간영역에 배양액(M)을 채울 수도 있다.
- [0047] 한편, 도 2와 같이, 박막(20)은 탄성을 가지므로, 유체수송채널(14)을 통해 팽창유체(L)가 챔버(11)의 내하부(11b)로 공급되면, 팽창유체(L)가 박막(20)의 타면에 외력을 가하게 되고, 이로 인해 박막(20)이 스트레칭(stretching)되면서 상방으로 볼록하게 만곡될 수 있다. 이때, 줄기세포(S)에 인장력이 인가된다. 이렇게 인가되는 인장력은 줄기세포(S)에 대한 물리적 자극으로 제공하므로, 줄기세포(S)의 분화가 유도된다. 따라서, 팽창유체(L)의 주입량, 주입속도, 및 주입주기 중 어느 하나 이상의 주입조건을 제어함으로써, 줄기세포(S)의 분화가 제어될 수 있다. 한편, 챔버(11)의 내하부(11b)에서 팽창유체(L)가 빠져나가면 박막(20)은 원래 형태로 복원될 수 있다.
- [0048] 팽창유체(L)는 배양액(M)을 사용할 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 박막(20) 상의 줄기세포(S)의 배양 및 분화에 영향을 미치지 않고, 박막(20)에 외력을 가해 박막(20)의 형태 변화를 유도할 수 있기만 하면 특별한 제한은 없다.
- [0050] 한편, 도 3을 참고로, 본 발명의 실시예에 다른 줄기세포 분화 제어 장치는 전술한 인장력뿐만 아니라, 줄기세포(S)에 전단력을 인가할 수도 있다.
- [0051] 박막(20)의 일면에 줄기세포(S)가 배치된 상태에서, 공급채널(12)을 통해 배양액(M)을 주입하는 경우, 배양액(M)이 공급채널(12), 챔버(11)의 내상부(11a), 및 배출채널(13)을 따라 순차적으로 유동하게 되고, 이때 발생하는 배양액(M)의 유동에 의해 줄기세포(S)에 전단력이 인가된다. 이러한 전단력도 줄기세포(S)의 분화 유도 및 제어 자극으로 사용될 수 있다.
- [0053] 박막(20)은 그 표면, 즉 일면 및 타면 중 적어도 어느 한 면에 다수의 세공이 형성될 수 있다. 이러한 세공은 줄기세포(S)의 부착 내지 팽창유체(L)에 의한 박막(20)의 형태 변화를 용이하게 할 수 있다. 또한, 박막(20)은, Poly(l-lactide-co-ε-caprolactone)(PLCL) 고분자 박막(20)일 수 있다. PLCL 박막(20)은 생체적합성이 우수하고 강한 물성을 가지므로, 균일한 세기 및 주기로 인장력을 인가할 수 있다.
- [0055] 도 4는 본 발명의 다른 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 단면도이다. 도 4를 참고로, 본 발명의 다른 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치는 전술한 미세유체장치(10) 및 박막(20) 이외에, 세포부착층(30)을 더 포함할 수 있다.
- [0056] 세포부착층(30)은 박막(20)의 상면에 코팅되어, 줄기세포(S)가 이에 부착된다. 예를 들어, 피브로넥틴(fibronectin)이 박막(20)의 상면에 코팅됨으로써, 세포부착층(30)을 형성할 수 있다. 다만, 세포부착층(30)이 반드시 피브로넥틴 층(layer)에 한정되는 것은 아니고, 줄기세포(S)의 부착이 가능한 소재로 형성되지만 하면 특별한 제한은 없다.
- [0058] 도 5는 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 구성도이다. 도 5에 도시된 바와 같이, 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치는 전술한 미세유체장치(10) 및 박막(20)을 포함하고, 세포부착층(30)을 더 포함할 수 있으며, 나아가 배양액 주입펌프(40)를 더 포함할 수 있다.

- [0059] 배양액 주입펌프(40)는 배양액(M)을 공급채널(12)에 주입하는 펌프이다. 일례로, 배양액 주입펌프(40)는 시린지 펌프일 수 있으나, 배양액(M)을 공급채널(12)에 주입할 수 있는 펌프이기만 하면 어떠한 펌프를 사용해도 무방하다.
- [0061] 또한, 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치는 팽창유체(L)를 유체수송채널(14)에 주입하는 팽창유체 주입펌프(50)를 더 포함할 수 있다. 일례로, 팽창유체 주입펌프(50)는 시린지 펌프일 수 있으나, 팽창유체(L)를 유체수송채널(14)에 주입할 수 있는 펌프이기만 하면 특별한 제한은 없다.
- [0063] 나아가 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치는 제어부(60)를 더 포함할 수 있다.
- [0064] 제어부(60)는 팽창유체(L)의 유체수송채널(14)로의 주입을 제어한다. 제어부(60)는 전자전기 소자, 회로 등으로 구성될 수 있고, 일례로 전술한 팽창유체 주입펌프(50)의 작동을 제어할 수 있다. 이러한 제어부(60)가 팽창유체(L)의 주입을 제어함으로써, 줄기세포(S)에 인가되는 인장력을 조절할 수 있다. 즉, 제어부(60)에 의해 인장력의 크기, 인장력이 인가되는 주기 등이 제어된다. 여기서, 제어부(60)에 의해 제어되는 제어요소는 팽창유체(L)의 주입량, 주입속도, 및 주입주기 중 적어도 어느 하나 이상을 포함할 수 있다. 일례로, 제어부(60)에 의해 팽창유체(L)의 주입속도가 0.5 ~ 2.6 $\mu\text{l}/\text{min}$ 로 제어될 수 있고, 이때 PLCL 박막(20)에 3 ~ 15%의 변형률(strain)로 인장될 수 있다.
- [0066] 종합적으로, 본 발명에 따르면, 생체적합성이 우수하고 강한 물성을 가진 고분자 PLCL 박막(20) 구조체에 균일한 세기 및 주기로 인장력을 인가하여 줄기세포(S)를 배양함으로써 줄기세포(S)를 분화시키고, 그 분화 속도를 제어할 수 있다. 특히, 중간엽 줄기세포(S)의 평활근 세포(Smooth muscle cell, SMC)로의 분화를 제어할 수 있다.
- [0068] 이하에서는 본 발명에 따른 줄기세포 분화 제어 장치의 제조방법에 대해 설명한다. 줄기세포 분화 제어 장치에 대해서는 전술하였는바, 이에 대한 자세한 설명은 생략하거나 간단하게만 기술한다.
- [0070] 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치 제조방법을 나타내는 도면이다.
- [0071] 도 6에 도시된 바와 같이, 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치 제조방법은 Poly(l-lactide-co- ϵ -caprolactone)(PLCL) 고분자를 유기용매에 용해하여 PLCL 고분자 용액을 제조하는 단계, 및 PLCL 고분자 용액을 서로 다른 극성을 갖는 용액 내에서 결정화하여 PLCL 박막을 제조하는 단계, 및 내부에 형성된 챔버, 챔버의 내상부로 배양액을 공급하는 공급채널, 챔버의 내상부에 수용된 배양액을 배출하는 배출채널, 및 챔버의 내하부로 팽창유체를 공급하는 유체수송채널을 포함하는 미세유체장치의 챔버의 내상부와 내하부가 구획되도록, 챔버를 가로질러 PLCL 박막을 배치하는 단계를 포함한다.
- [0073] 구체적으로, 본 발명의 본 발명의 실시예에 따른 줄기세포 분화 제어 장치 제조방법은 PLCL 고분자 용액 제조단계, PLCL 박막 제조단계, 및 PLCL 박막 배치단계를 포함한다.
- [0074] PLCL 고분자 용액 제조단계에서는 Poly(l-lactide-co- ϵ -caprolactone)(PLCL) 고분자를 유기용매에 용해시켜 PLCL 고분자 용액을 제조한다. PLCL은 우수한 탄성 및 생체적합성을 가진 생분해성 고분자로, L-락타이드(L-Lactide)와 ϵ -카프로락톤(ϵ -Caprolactone)의 합성을 통해 제조될 수 있다. PLCL 고분자를 용해시키는 유기용매는 클로로포름(chloroform), 디클로로메탄(dichloromethane), 사염화탄소(carbon tetrachloride), 톨루엔(toluene), 시클로헥사논(cyclohexanone), 사이클로헥사논(Cyclohexanone), 디클로로벤젠(Dichlorobenzene) 및 2-니트로프로판(2-nitropropane)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개 이상을 포함할 수 있다.

- [0076] PLCL 박막 제조단계에서는 PLCL 고분자와 서로 다른 극성을 갖는 용액 내에서 결정화하여 PLCL 박막을 제조한다. PLCL 고분자는 용액 내 결정화 방식을 통해 고분자 박막으로 응고된다. 여기서, PLCL 고분자 용액과 서로 다른 극성을 갖는 용액 내에, PLCL 고분자 용액이 주입되어 결정화됨으로써 PLCL 고분자 박막으로 생성되는데, 그 용액은 물(water), 메탄올(methanol), 아이소프로필 알코올(isopropyl alcohol), 글리세롤(glycerol), 에탄디올(ethanediol), 시클로헥산올(cyclohexanol), 아세토나이트릴(acetonitrile), 니트로메탄(nitromethane), 디메틸 설펍사이드(dimethyl sulfoxide) 및 시클로헥세인(cyclohexane)으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 1개 이상을 포함할 수 있다. 용액이 가지는 서로 다른 극성을 이용하여 PLCL 박막의 결정화를 유도하는 경우에, 구조적, 물리적으로 다른 특성을 가지는 고분자 박막을 제조할 수 있다.
- [0078] PLCL 박막 배치단계에서는 전술한 미세유체장치에 PLCL 박막을 적용한다. 여기서, PLCL 박막은 미세유체장치의 챔버를 가로질러 배치된다. 따라서, 미세유체장치의 챔버는 PLCL 박막에 의해 내상부와 내하부로 구획된다.
- [0079] 일례로, 미세유체장치의 상부층과 하부층을 제작하고, 그 상부층과 하부층 사이에 PLCL 박막을 배치한 다음에, 상부층과 하부층을 결합할 수 있다. 여기서, 미세유체장치의 상부층의 일면에 챔버의 내상부가 음각 형태로 형성되고, 미세유체장치의 하부층의 일면에 챔버의 내하부가 음각 형태로 형성되며, 그 상부층의 일면과 그 하부층의 일면 사이에 PLCL 박막을 배치하고, 그 일면끼리 접합할 수 있다. 한편, 미세유체장치의 상부층에는 그 내부에 공급채널, 및 배출채널이 형성되고, 미세유체장치의 하부층에는 그 내부에 유체수송채널이 형성될 수 있다. 여기서, 공급채널, 배출채널, 유체수송채널은 각각 그 상부층과 하부층의 일면에 음각 형태로 형성되어 그 일면쪽에 개구부를 가지다가, 상부층과 하부층의 일면끼리 결합함에 따라 그 개구부가 폐쇄되어 통로 형태의 공급채널, 배출채널, 유체수송채널이 마련될 수 있다.
- [0081] 이하에서는 실험예를 통해 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0083] 실험예 1: PLCL 박막 구조체 제작
- [0084] L-락타이드와 ϵ -카프로락톤의 중합시켜 제작한 PLCL 고분자 용액을 극성이 다른 용액 내에서 응고시켜 PLCL 박막을 제작하였다. 먼저 각각 100 nmol의 L-락타이드와 ϵ -카프로락톤을 1,6-hexanediol(0.5 mmol)과 stannous octoate(1 mmol)와 함께 150℃에서 24시간 동안 중합시키고 이를 90℃에서 3차례 질소로 3번 퍼징한 다음 진공 포장 후 오일 내에서 170℃로, 24시간 동안 교반시킨다. 이렇게 얻어진 고분자를 클로로포름에 용해시킨 후 4.5 mm 사이즈의 필터를 통과시키고 과량의 메탄올에 침전시킨 후, 여과하고, 진공 하에서 건조시켜 PLCL 고분자를 제작하였다. PLCL 고분자를 클로로포름에 다시 용해하였으며, 이를 메탄올, 메탄올:클로로포름(3:1), 메탄올:증류수(3:1), 아이소프로필과놀, 아이소프로필과놀:클로로포름(3:1), 아이소프로필과놀:증류수(3:1) 각각의 극성이 다른 용매 내에 1ml 주입 후 결정화하여 PLCL 박막 구조체를 제작하였다.
- [0086] 실험예 2: 박막 스트레칭 시스템 제작
- [0087] 도 7의 (A)는 혈관 수축 및 혈관 확장 동안 인장 중인 중간엽 줄기세포의 개략도, (B)는 PLCL 박막 구조체에서 중간엽 줄기세포의 정적 배양 개략도, (C)는 PLCL 박막 구조체에서 중간엽 줄기세포의 동적 배양 개략도이다.
- [0088] 도 7에 도시된 바와 같이, 혈관의 수축·확산 과정에서 중간엽 줄기세포의 형태학적 변화를 모사하고 이를 관측하기 위해 실험예 1에서 제작한 PLCL 박막 구조체를 폴리디메틸실록세인(poly-dimethylsiloxane, PDMS)를 이용하여 세포 배양액을 주입할 수 있는 두 개의 미세유체 구조의 칩 사이에 부착시켜, PLCL 박막에 주기적으로 인장력을 인가할 수 있는 미세 유체 시스템을 제조하였다. 여기서, 1개의 미세유체 PDMS 칩은 그 일면에 챔버의 내상부가 음각 형태로 형성되고, 공급채널, 및 배출채널을 구비한다. 다른 1개의 미세유체 PDMS 칩은 그 일면에 챔버의 내하부가 음각 형태로 형성되고, 유체수송채널을 구비한다. 이러한 2개의 미세유체 칩 각각의 일면 사이에, 챔버의 내상부와 내하부가 폐쇄되도록 PLCL 박막 구조체를 배치한 다음에, 미세유체 칩을 결합하였다(도 6 참조).
- [0089] 중간엽 줄기세포는 PLCL 박막 구조체 위에 배양하였으며, 아래 PDMS 칩 내부를 통한 세포 배양액 주입량 변화를 통해 중간엽 줄기세포가 배양된 표면을 인장하였다.

- [0091] 도 8의 (A)는 전단 응력 및 인장력을 생성하기 위해 생물 반응기에 연결된 미세유체장치의 개략도, (B)는 미세유체장치의 인장 및 측정 압력을 제어하는 장치의 회로도, (C)는 서로 다른 주입량의 인장 하에서 미세유체장치의 하부층의 압력 변화, (D)는 서로 다른 주입주기의 인장 하에서 미세유체 장치의 하부층의 압력 변화, (E)는 주입된 배양액 부피에 따른 PLCL 박막 구조체의 변형률 변화를 각각 나타내는 도면이다.
- [0092] 도 8을 참고로, PLCL 박막을 늘리기 위해 세포 배양액을 포함하고 있는 1ml 주사기를 박막 스트레칭 시스템 컨트롤 박스에 연결하였으며, 컨트롤 박스 내 신호에 따라 주사기는 일정한 양, 주기로 움직여 아래 PDMS 칩 내부에 주입되는 세포 배양액 양의 제어를 통해서 박막에 인장력을 인가하였다. 컨트롤 박스 내에는 제어 신호는 명령어를 실행하는 프로세서, 모터, 선형 액추에이터로 구성되어 있으며, 압력 센서를 통해서 박막에 주입되는 압력 변화를 실시간으로 확인할 수 있게 제작하였다.
- [0094] 실험예 3: PLCL 고분자 박막 표면의 물리적 성질 평가
- [0095] 성이 다른 용액 내에서 형성되는 PLCL 고분자 박막 표면의 형태학적, 물리적 특성을 보기 위해, 주사형 전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM)을 이용하여 여섯 가지의 용액 조건(메탄올, 메탄올:클로로포름(3:1), 메탄올:증류수(3:1), 아이소프로판올, 아이소프로판올:클로로포름(3:1), 아이소프로판올:증류수(3:1))에서 제작된 PLCL 박막의 표면을 확인하였다.
- [0096] 도 9는 메탄올 내에서 결정화된 PLCL 박막 표면의 전자 현미경 이미지로서, (A)는 메탄올, (B)는 메탄올:클로로포름(3:1), (C)는 메탄올:증류수(3:1) 용액에서 각각 결정화된 PLCL 박막 표면의 전자 현미경 이미지이고, 도 10은 아이소프로판올 내에서 결정화된 PLCL 박막 표면의 전자 현미경 이미지로서, (A)는 아이소프로판올, (B)는 아이소프로판올:클로로포름(3:1), (C)는 아이소프로판올 :증류수(3:1) 용액에서 각각 결정화된 PLCL 박막 표면의 전자 현미경 이미지이다. 도 11은 메탄올, 아이소프로판올 용액 내에서 결정화된 PLCL 박막 표면의 기공 크기를 나타내는 그래프로서, (A)는 메탄올, (B)는 메탄올:클로로포름(3:1), (C)는 메탄올:증류수(3:1), (D)는 아이소프로판올, (E)는 아이소프로판올:클로로포름(3:1), (F)는 아이소프로판올 :증류수(3:1) 용액에서 각각 결정화된 PLCL 박막 표면의 기공 크기이다.
- [0097] 도 9 내지 도 10을 참고로, PLCL 박막 표면의 형태는 용액의 증발 속도에 따라 결정되며, 증발 속도가 빠른 클로로포름에서는 많은 기공이 형성하고 용액의 증발 속도가 느린 증류수에서는 매끄러운 표면을 가지는 것을 확인하였다. 이는 PLCL 박막 표면 내 기공의 크기 측정을 통해서 정량화하였다(도 11 참조).
- [0099] 도 12는 메탄올, 아이소프로판올 용액 내에서 결정화된 PLCL 박막 구조체의 물리적 성질로서, (A)는 인장 변형률, (B)는 인장 강도를 각각 나타낸다. 만능 재료 시험기(Universal tensile testing machine, UTM)을 이용하여 PLCL 고분자 박막의 물성을 측정하였으며, 기공의 크기가 작고 매끈한 형태의 PLCL 박막 구조체가 가장 높은 탄성을 가짐을 확인하였다.
- [0101] 결국, 메탄올 및 증류수 혼합용액, 아이소프로판올 및 증류수 혼합용액을 이용해 PLCL 고분자를 결정화하는 경우에 우수한 탄성을 가지고 인장력을 인가할 때에 세포의 분화를 잘 유도할 수 있는 것으로 평가된다.
- [0103] 실험예 4: 중간엽 줄기세포 배양 및 물리적 자극에 따른 정렬도와 분화 정도
- [0104] PLCL 박막 구조체를 이용하여 줄기세포의 분화 변화를 관찰하기 위해서 골수 중간엽 줄기세포(Bone-marrow mesenchymal stem cells, BMSC)를 이용하였다. 극성이 다른 용액 내에서 제작된 각각의 PLCL 박막 구조체는 피브로넥틴(10 $\mu\text{g/ml}$)을 통해서 코팅한 후 2,500개의 BMSC를 주입 (seeding) 후 총 10일 동안 배양하였으며, 배양액은 매일 새로 교체하여 실험을 진행하였다.
- [0106] 외부의 물리적 자극의 변화에 따른 중간엽 줄기세포의 형태학적 변화를 확인하기 위해서, PLCL 박막 구조체에 외력을 가하지 않은 경우, 전단 응력(shear stress)을 인가한 경우, 인장력(strain stress)을 인가한 경우에서

총 10일간 세포를 배양한 후 세포의 모양을 통해서 세포의 정렬 변화를 확인하였다.

[0107] 도 13은 물리적 자극의 종류와 유무에 따른 중간엽 줄기세포의 정렬도 평가 결과로서, (A)는 외력이 없는 상태에서의 세포 정렬 변화, (B)는 전단 응력이 인가된 경우에서 세포 정렬 변화, (C)는 인장력이 인가된 경우에서 세포 정렬 변화, (D)는 물리적 세기 유무와 종류에 따른 세포의 정렬 분포 변화를 각각 나타낸다.

[0108] 도 13을 참고로, 외력이 있는 경우에서 세포가 더 높은 정렬도를 가지는 것을 확인하였으며, 인장력을 인가한 경우에서 세포가 가장 잘 정렬되어 있음을 확인하였다.

[0110] 중간엽 줄기세포의 분화 정도를 비교하기 위해서, BSMC의 SMC 분화과정에서 특이적으로 발현되는 단백질인 α -smooth muscle actin(α SMA) 단백질을 형광염색하고 단백질 발현 정도를 비교하였다.

[0111] 도 14는 물리적 자극의 종류와 유무에 따른 중간엽 줄기세포의 평활근 세포(SMC)로의 분화를 나타내는 것으로서, (A)는 α SMA 발현 정도, (B)는 분화한 SMC 세포의 수 변화를 각각 나타낸다.

[0112] 도 14를 참고로, 세포의 정렬이 가장 뚜렷하게 나타나는 인장력이 인가된 경우에서 α -SMA 단백질의 발현이 가장 높게 나타났다.

[0114] 이상 본 발명을 구체적인 실시예를 통하여 상세히 설명하였으나, 이는 본 발명을 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명은 이에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 그 변형이나 개량이 가능함이 명백하다.

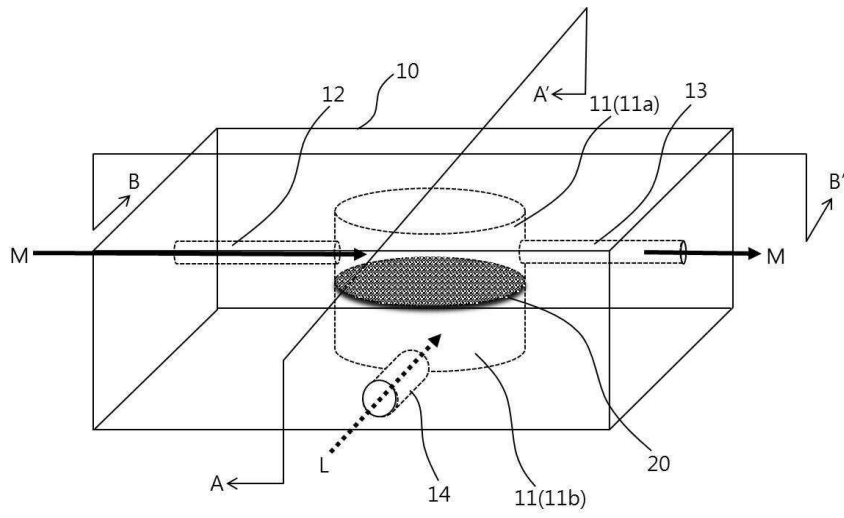
[0115] 본 발명의 단순한 변형 내지 변경은 모두 본 발명의 영역에 속한 것으로 본 발명의 구체적인 보호 범위는 첨부된 특허청구범위에 의하여 명확해질 것이다.

부호의 설명

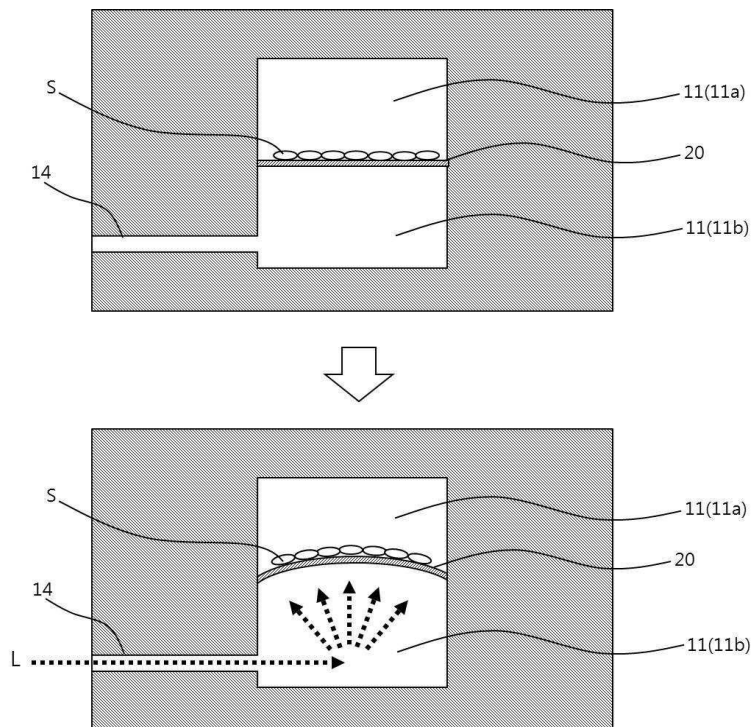
[0117] 10: 미세유체장치 11: 챔버
11a: 내상부 11b: 내하부
12: 공급채널 13: 배출채널
14: 유체수송채널 20: 박막
30: 세포부착층 40: 배양액 주입펌프
50: 팽창유체 주입펌프 60: 제어부
M: 배양액 L: 팽창유체
S: 줄기세포

도면

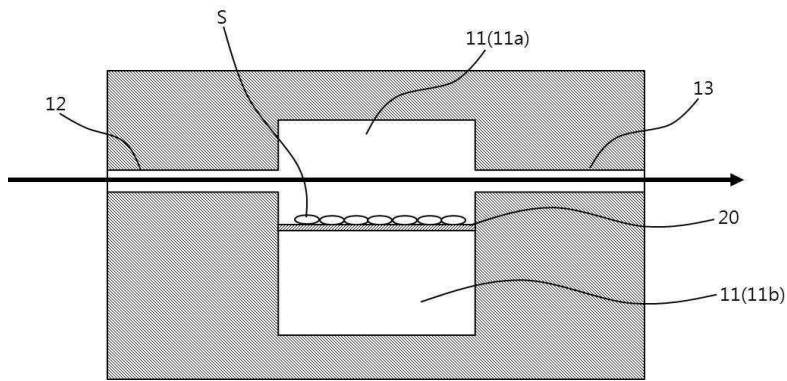
도면1



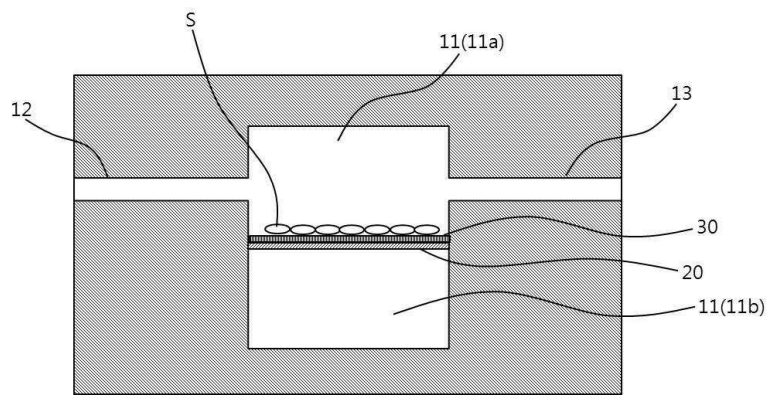
도면2



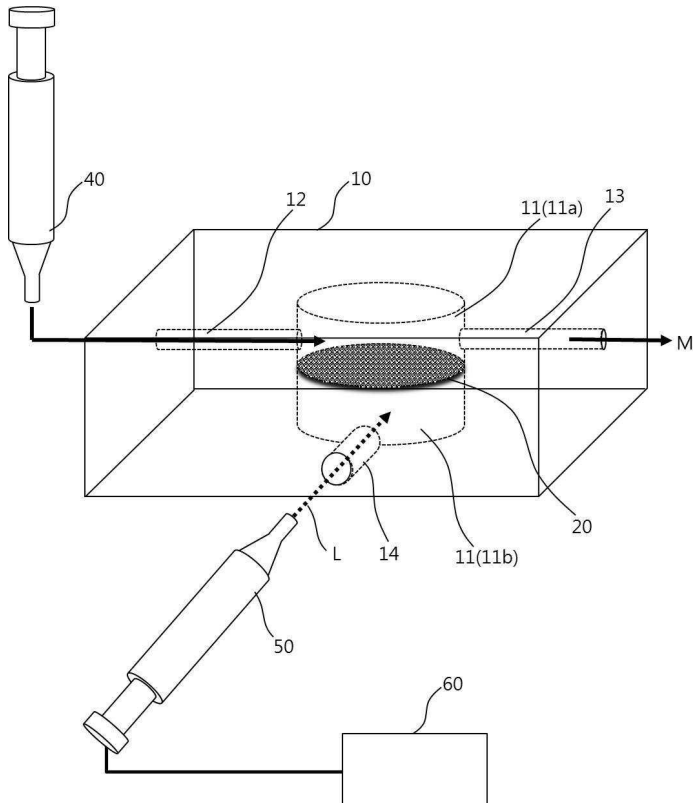
도면3



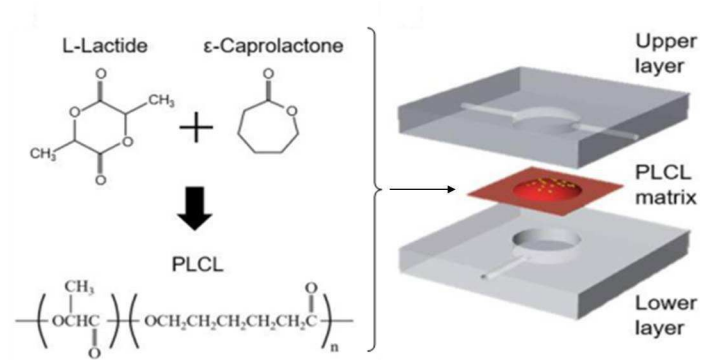
도면4



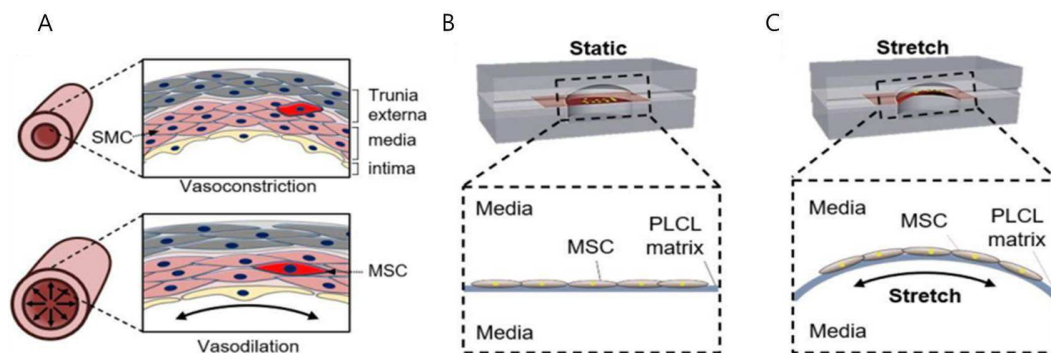
도면5



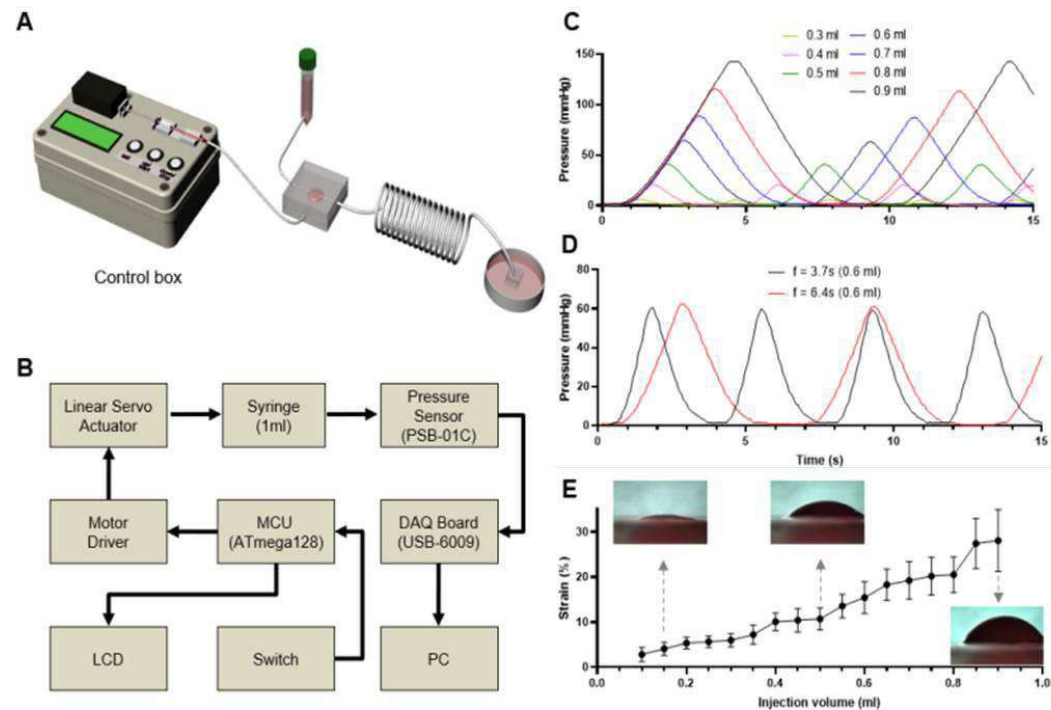
도면6



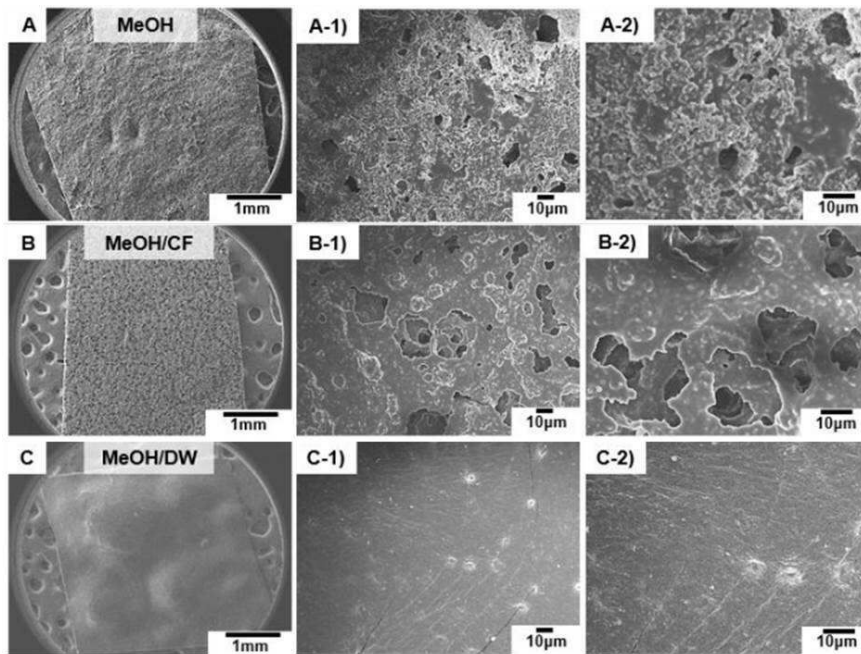
도면7



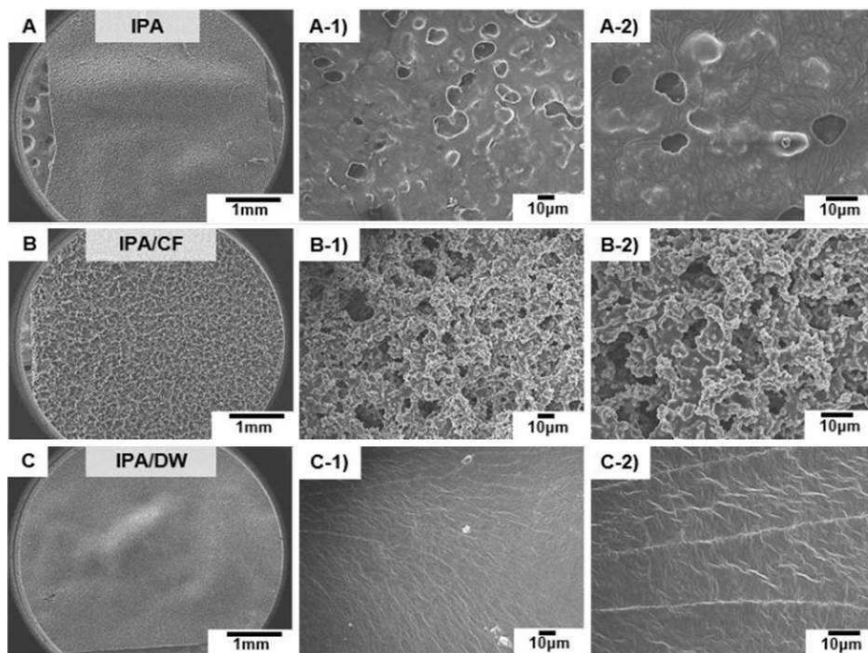
도면8



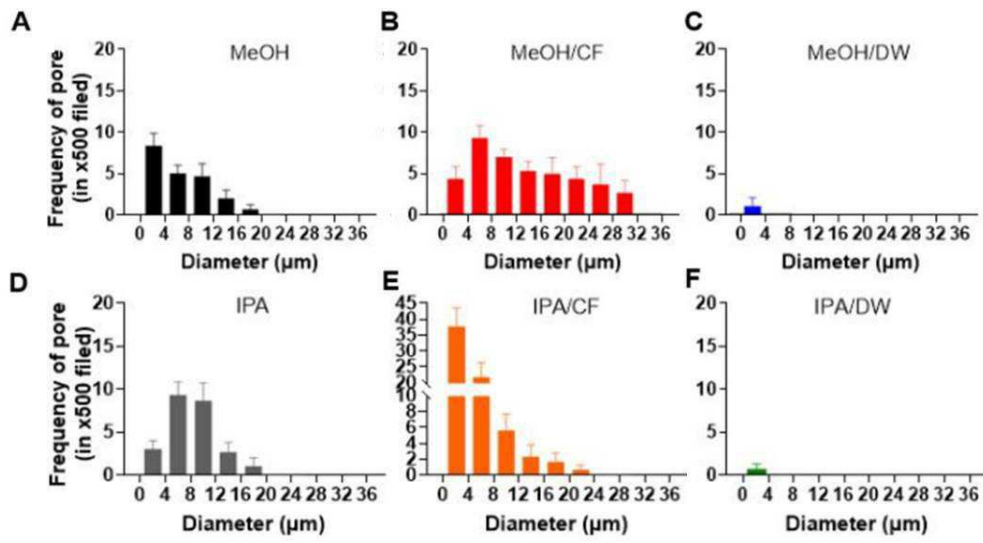
도면9



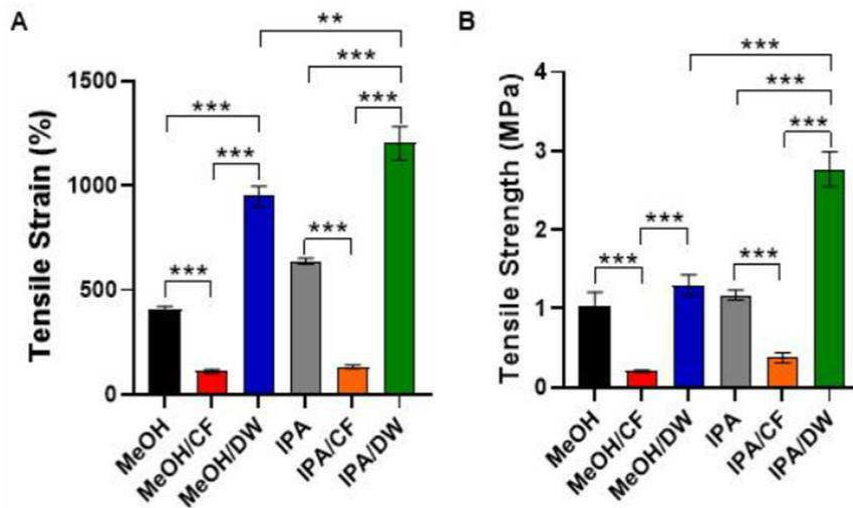
도면10



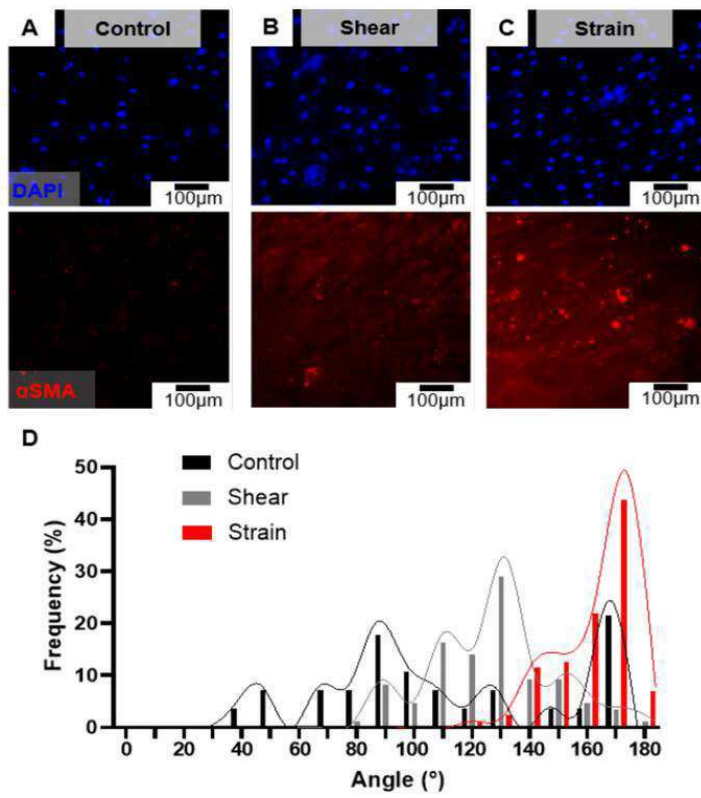
도면11



도면12



도면13



도면14

