



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0080671
(43) 공개일자 2018년07월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/68 (2006.01) B01L 3/00 (2006.01)
C12M 3/06 (2006.01) G01N 27/414 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
G01N 33/6893 (2013.01)
B01L 3/5027 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-0029950
(22) 출원일자 2017년03월09일
심사청구일자 2017년03월09일
- (30) 우선권주장
1020170001209 2017년01월04일 대한민국(KR)

- (71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
- (72) 발명자
최혁
서울특별시 강남구 삼성로111길 8, 206동1401호 (삼성동, 삼성현대힐스테이트2차아파트)
- 남효근
서울특별시 구로구 구로동로25길 25-22 (구로동) 3층
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인남춘

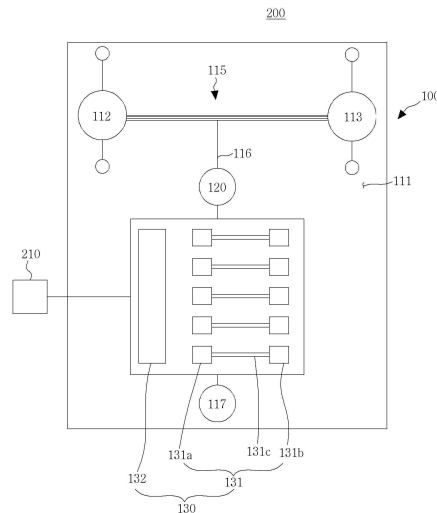
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩 및 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치**

(57) 요약

본 발명의 일 실시예에 따른 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩은, 염증처리된 추간판세포가 배양된 추간판챔버; 신경세포가 배양되는 신경챔버; 추간판세포와 신경세포 간의 세포이동이 차단가능하게 추간판챔버와 신경챔버에 연결되어, 염증처리된 추간판세포에서 분비된 분비단백질이 유동되는 신경챔버연결채널; 신경챔버연결채널에서 분기되어, 분비단백질이 유동되는 제 1 이동채널; 및 제 1 이동채널에 연결되고, 분비단백질 중에 추간판의 통증을 유발하는 표적단백질과 항원항체결합되는 반응체가 처리되어, 항원항체결합시의 전기신호변화에 의해 표적단백질을 센싱하는 FET기반 센서부를 포함하고, 분비단백질은 신경챔버연결채널을 통해 신경챔버로 제공되어 신경세포를 자극하고, 제 1 이동채널을 통해 FET 기반 센서부로 제공되고, 신경세포는 분비단백질에 의한 자극시, 수상돌기가 신경챔버연결채널로 내성장되는 것이 바람직하다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

C12M 23/16 (2013.01)

G01N 27/4145 (2013.01)

B01L 2200/10 (2013.01)

B01L 2300/0636 (2013.01)

B01L 2300/0819 (2013.01)

(72) 발명자

손형국

서울특별시 구로구 구로동로 157 - 6 (구로동) 201호

정진수

서울특별시 금천구 독산로20길 19, 101호 (시흥동, 송림빌라)

황민호

서울특별시 구로구 가마산로27길 11-7, 1202호 (구로동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016025333

부처명 교육부, 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 일반연구자지원사업

연구과제명 추간관 질환에서의 요통 발생기전 연구 및 세포 분자적/동역학적 분석 기반의 micro current-mechanotransduction 연구

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2014.11.01 ~ 2017.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

염증처리된 추간판세포가 배양된 추간판챔버;

신경세포가 배양되는 신경챔버;

상기 추간판세포와 상기 신경세포 간의 이동이 차단 가능하게 상기 추간판챔버와 상기 신경챔버에 연결되어, 상기 염증처리된 추간판세포에서 분비된 분비단백질이 유동되는 신경챔버연결채널;

상기 신경챔버연결채널에서 분기되어, 상기 분비단백질이 유동되는 제 1 이동채널; 및

상기 제 1 이동채널에 연결되고, 상기 분비단백질 중에 추간판의 통증을 유발하는 표적단백질과 항원항체결합되는 반응체가 처리되어, 상기 항원항체결합시의 전기신호변화에 의해 상기 표적단백질을 센싱하는 FET기반 센서부를 포함하고,

상기 분비단백질은 상기 신경챔버연결채널을 통해 상기 신경챔버로 제공되어 상기 신경세포를 자극하고, 상기 제 1 이동채널을 통해 상기 FET 기반 센서부로 제공되고,

상기 신경세포는 상기 분비단백질에 의한 자극시, 수상돌기가 상기 신경챔버연결채널로 내성장되는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 FET기반 센서부는,

드레인전극과 소스전극에 연결되어, 상기 반응체가 표면기능화처리된 센싱채널이 마련된 복수의 센싱부재; 및

전계효과 트랜지스터(field effect transistor) 기반으로, 상기 표적단백질이 상기 반응체와의 특이적 결합시 상기 센싱채널을 흐르는 채널전류량의 변화를 감지하여 상기 표적단백질을 검출하고,

상기 센싱채널은, APTES-GA 링커, APTMS-GA 링커, APTED-GA 링커, BPEI-GA 링커, GOPS-BPEI-GA 링커 또는 LPEI-GA 링커 중 어느하나가 표면에 처리되고, 상기 반응체가 상기 APTES-GA 링커, 상기 APTMS-GA 링커, 상기 APTED-GA 링커, 상기 BPEI-GA 링커, 상기 GOPS-BPEI-GA 링커 또는 상기 LPEI-GA 링커 중 어느하나에 아미노결합되면서 표면기능화처리된 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 3

제 2 항에 있어서,

상기 APTES-GA 링커는, 3-아미노프로필트리에톡시실란(3-aminopropyltriethoxysilane, APTES)에 의해 상기 센싱채널의 표면이 아미노산 활성화처리된 후, 글루타르알데히드(glutaraldehyde, GA)에 의해 카르복실화되어 형성된 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 반응체는 anti-MMP(Matrix metalloproteinase), anti-TIMP(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases), anti-IL(interleukin), 또는 anti-ASICs(Acid sensing ion channels), anti-TRPV(transient receptor potential vanilloid) 중 어느 하나이고,

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 표적단백질은 MMP-1(Matrix metalloproteinase-1), MMP-3(Matrix metalloproteinase-3), TIMP-1(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1), TIMP-2(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2), ASICs(Acid sensing ion channels), TRPV(transient receptor potential vanilloid), IL-6(interleukin-6) 또는 IL-8(interleukin-8) 중 적어도 하나인 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 추간판세포는 수핵세포, 섬유륜세포 또는 혈관생성세포이고,

상기 수핵세포, 상기 섬유륜세포 또는 상기 혈관생성세포 중 어느 하나는 염증처리된 상태로 상기 추간판챔버에 배양되는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 추간판챔버는,

수핵세포가 배양되는 제 1 추간판챔버;

섬유륜세포가 배양되는 제 2 추간판챔버; 또는

혈관생성세포가 배양되는 제 3 추간판챔버 중 적어도 하나이고,

상기 제 1 추간판챔버 내지 상기 제 3 추간판챔버 중 적어도 하나는 상기 신경챔버연결채널에 의해 상기 신경챔버에 개별적으로 연결되어, 상기 추간판의 구조가 모사되는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 제 1 이동채널에 설치되어, 상기 분비단백질의 상기 FET기반 센서부로의 이동을 허용 또는 차단하는 마이크로밸브를 더 포함하고,

상기 마이크로밸브는 개폐 제어에 의해 상기 FET기반 센서부로 제공되는 상기 분비단백질의 유동량을 조절하는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 9

제 7 항에 있어서,

상기 제 1 추간판챔버 내지 상기 제 3 추간판챔버 중 두 개의 추간판챔버를 연결하는 추간판챔버연결채널; 및

상기 추간판연결채널에서 분기된 제 2 이동채널을 더 포함하고,

상기 FET 기반 센서부는 상기 제 1 이동채널과 상기 제 2 이동채널에 각각 연결되어, 상기 제 1 이동채널과 상기 제 2 이동채널을 유동하는 분비단백질을 개별적으로 센싱하는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 추간판의 손상은 상기 제 1 추간판챔버에 염증처리되지 않은 상기 수핵세포가 배양되고, 상기 제 2 추간판 챔버에 염증처리된 상기 섬유륜세포가 배양되어 모사되는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 11

제 9 항에 있어서,

상기 추간판의 퇴행은, 상기 제 1 추간판챔버에 염증처리된 상기 수핵세포가 배양되고, 상기 제 2 추간판챔버에 염증처리되지 않은 상기 섬유륜세포가 배양되어 모사되는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩.

청구항 12

제 1 항의 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩; 및

상기 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩의 FET기반 센서부에 연결되어, 상기 FET기반 센서부에서 센싱된 전압-전류신호를 분석하여, 분비단백질 중 서로 다른 종류의 반응체와 항원항체반응하는 표적단백질의 종류 및 개수를 판별하고, 상기 표적단백질의 시간에 따른 함량변화를 측정하는 검출부를 포함하는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 상기 FET기반 센서부는,

드레인전극과 소스전극에 연결되어, 상기 반응체가 표면기능화처리된 센싱채널이 마련된 복수의 센싱부재; 및

상기 복수의 센싱부재에 연결된 게이트전극을 포함하여,

전계효과 트랜지스터(field effect transistor) 기반으로, 상기 표적단백질이 상기 반응체와의 특이적 결합시 상기 센싱채널을 흐르는 채널전류량의 변화를 감지하여 상기 표적단백질을 검출하고,

상기 센싱채널은, APTES-GA 링커, APTMS-GA 링커, APTED-GA 링커, BPEI-GA 링커, GOPS-BPEI-GA 링커 또는 LPEI-GA 링커 중 어느하나가 표면에 처리되고, 상기 반응체가 상기 APTES-GA 링커, 상기 APTMS-GA 링커, 상기 APTED-GA 링커, 상기 BPEI-GA 링커, 상기 GOPS-BPEI-GA 링커 또는 상기 LPEI-GA 링커 중 어느하나에 아미노결합되면서 표면기능화처리된 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치.

청구항 14

제 13 항에 있어서,

상기 드레인전극과 상기 소스전극을 흐르는 채널전류량은 상기 게이트전극에 인가된 게이트전압에 의해 가변되고,

상기 검출부는 상기 게이트전압에 대한 상기 채널전류량 변화를 분석하여, 상기 반응체와 항원항체반응하는 상기 표적단백질의 종류 및 개수를 판별하는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치.

청구항 15

제 14 항에 있어서, 상기 검출부는,

상기 게이트전압에 대한 상기 채널전류량의 그래프의 기울기가 선형인 선형구간을 상기 표적단백질마다 산출하고,

상기 선형구간의 상기 게이트전압에 대한 상기 채널전류량의 그래프를, 상기 선형구간 내의 특정 게이트전압에서 상기 표적단백질의 함량 대비 상기 채널전류량의 그래프로 변환하여, 상기 채널전류량에 따른 상기 표적단백질의 함량을 산출하는 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치.

청구항 16

제 12 항에 있어서,

상기 반응체는 anti-MMP(Matrix metalloproteinase), anti-TIMP(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases), anti-IL(interleukin), 또는 anti-ASICs(Acid sensing ion channels), anti-TRPV(transient receptor potential vanilloid) 중 어느 하나이고,

상기 표적단백질은 MMP-1(Matrix metalloproteinase-1), MMP-3(Matrix metalloproteinase-3), TIMP-1(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1), TIMP-2(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2), ASICs(Acid sensing ion channels), TRPV(transient receptor potential vanilloid), IL-6(interleukin-6) 또는 IL-8(interleukin-8) 중 적어도 하나인 것을 특징으로 하는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩 및 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치에 관한 것이며, 상세하게는 추간판세포와 신경세포를 공동배양하여 추간판세포에서 분비된 분비단백질이 신경세포에 미치는 영향을 관찰하고, 추간판세포에서 분비된 분비단백질 중 추간판의 통증을 유발하는 표적단백질을 센싱할 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩과, 표적단백질의 함량을 실시간으로 측정할 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.

배경 기술

[0002] 추간판은 인체에 가해지는 다양한 부하(biomechanical loading)를 흡수하고 완충하는 작용을 하는 구조물이다. 추간판 조직은 해부학적으로 다양한 세포의 구역으로 나누어져 있다.

[0003] 추간판 조직 내의 세포와 세포 간의 상호작용은 추간판 조직을 비롯하여 주변부에 존재하는 혈관 및 신경세포에 다양한 분비 단백질을 전달하여 세포 신호 전달 과정을 나타나게 한다. 이러한 조직들은 추간판을 화학적으로 유지하는데 매우 중요한 역할을 한다.

[0004] 도 1에 도시된 바와 같이, 정상 추간판(Intervertebral Disc; IVD)은 디스크 안쪽에 존재하는 수핵(Nucleus pulposus; NP)과, 수핵 바깥쪽으로 존재하는 섬유륜(Annulus fibrosus; AF)으로 나누어진다. 그리고, 유리 신경 말단(free nerve ending)은 섬유륜의 바깥쪽 3분의 1지점에 위치된다. 유리 신경 말단(free nerve ending)은 영양분을 공급받을 수 있는 혈관세포와 척추에 위치하는 신경다발(dorsal root ganglion)로부터 유래한다.

[0005] 추간판은 지속적인 부하 또는 역치를 넘어서는 일정 수준 이상의 충격이 가해지면 추간판 조직에 손상이 나타난다. 즉, 추간판은 연령이 증가함에 따라 탄력성을 잃고 섬유륜이 균열을 일으키는 등의 퇴행성 변화에 외력이 가해지면 추간판 섬유륜의 약해진 부분이나 찢어진 부분으로 수핵이 후방으로 밀려나오면서 증상을 일으키게 된다.

[0006] 밀려나오는 형태에 따라 섬유륜이 골고루 팽윤된 추간판 팽윤(bulging), 국소적으로 돌출된 추간판 탈출(protrusion), 섬유륜이 파열되어 경막의 공간으로 수핵이 밀려나왔으나 내부와 연결된 형태인 추간판 추출(extrusion), 파열되어 수핵편이 경막의 공간으로 이동하여 내부와 연결이 끊어진 추간판 수핵 부골화(sequestration) 등으로 구분할 수 있다.

- [0008] 추간관 조직의 손상시, 인체는 이러한 조직을 회복하는 기전으로 다양한 물질들을 서로 분비하고 손상된 조직을 제거하고 다시 수선하는 일련의 과정을 거친다. 추간관의 퇴행이 진행되면, 추간관 조직을 이루는 수핵세포 및 섬유륜세포는 면역세포에 의해 염증반응이 발생된다. 추간관 구조물의 손상 또는 퇴행에 의한 염증 반응시, 추간관 구조물은 정상상태와 비교하여 발현된 다양한 분비단백질(염증매개인자, 혈관생성인자, 신경자극인자, 성장인자 등)이 추간관세포로부터 분비된다.
- [0009] 예를 들어, 섬유륜 조직에 손상이 일어나면, 해당 손상 부위를 회복하는 과정에서 염증이 생기면서 발생하게 된다. 이러한 염증 반응에 관여하는 대식세포는 섬유륜 세포와의 상호작용을 통해 다양한 염증전 매개인자(pro-inflammatory mediator)를 발현하게 되고, 이를 통해 섬유륜 세포 역시 다양한 분비단백질이 분비된다.
- [0010] 염증 반응시, 분비단백질들은 추간관 주변부에 존재하는 혈관 및 신경세포를 자극하게 된다. MMP(Matrix Metalloproteinase)를 인식하면 혈관성장인자를 분비한다. MMP는 추간관조직을 이루는 콜라겐을 붕괴하는 역할을 한다.
- [0011] VEGF(Vascular Endothelial Growth Factor)와 같은 혈관성장인자에 의해, 디스크 조직 내부로 혈관성장(vascularization)이 발생된다. 이러한 과정에서 추간관 베타-신경성장인자(beta-nerve growth factor, beta-NGF) 및 뇌신경성장인자(brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 다양한 신경 자극 인자(neurogenic factor)를 분비한다.
- [0012] 염증과정에서 나타나는 분비단백질에 의해 섬유륜 바깥쪽에 존재하는 유리 신경말단이 자극을 받게 되면, 신경세포가 섬유륜과 수핵의 안쪽으로 내성장(ingrowth)되면서, CNS(central nerve system)를 통한 통증이 발생한다. 그러나, 이러한 요통의 발병기전은 정확히 밝혀져 있지 않다.
- [0013] 또한, 현재 요통 발병기전 연구의 경우, 해당 염증 매개물 등의 분자적 발현정도의 측정과 같은 마이크로 플레이트 리더(micro plate reader)등의 실험에 의존적이며, 실시간으로 세포들의 상호작용과 움직임을 정확히 관찰하기 어렵다.
- [0014] 또한, 해당 실험들이 개별적으로 이루어지면서 각 세포를 동시에 배양해야 하는 복잡성으로 인한 다양한 조건(예를 들어, 미세환경의 조성, 각 세포간의 동시 배양 및 실험분석)의 실험이 어려운 단점이 있다.
- [0015] 아울러, 실험실 환경에서 세포-세포간의 공동 배양을 통한 영향을 보기 위해서는 인서트웰(insert well) 또는 트랜스웰(trans well)과 같은 공동 배양 장치를 사용해야 하는데, 해당 장치들은 구조적 특성으로 인해 세포의 실시간적 형태 변화를 확인하기에 어려움이 있다. 기존의 세포 공동배양장치는 추가적인 구성품들을 필요로 한다.
- [0016] 또한, 상술한 일련의 분자생물학적 단계에서 표적단백질의 분비는 시간의 변화에 따라 발현 정도가 확연히 변화하는 경우 존재하며, 해당 단백질의 검출에는 시간종속(time-dependent)에 대한 단백질 변화를 조건으로 하여 일련의 실험을 추가적으로 수행해야 한다. 아울러, 기존의 항원항체 분석기반 기술들은 단백질의 유무 및 정량을 판별하여 생체외(In vitro)에서 실시간으로 분석할 수 없었다.
- [0017] 면역형광염색법(ex. ELISA, Western blotting 등)을 이용하여 단백질을 검출하는 경우, 흡광도를 측정할 수 있는 외부 장치(spectrophotometer 등)가 추가로 필요하다. 면역형광염색법(ELISA, WB, etc) 방법은 숙련도가 필요하여 많은 시간과 비용이 소모되는 문제점이 있었다. 아울러, 다종의 단백질의 검출시, 사용자에 따라 단백질 검출량이 다르게 검출되는 등, 사용자에 따른 검출오류가 발생할 확률이 높아, 단백질 상호 작용 연구시 진척도가 낮게 나타날 수 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0019] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1631940호에는 이중 세포의 시료감응성 동시 측정을 위한 미세유체칩이 개시되어 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0020] 본 발명은 추간판세포와 신경세포를 공동배양하여 추간판세포에서 분비된 분비단백질이 신경세포에 미치는 영향을 관찰할 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0021] 본 발명은 서서히 진행되는 추간판의 퇴행을 모사하고, 추간판의 퇴행시 분비된 분비단백질이 추간판의 통증을 미치는 영향을 관찰할 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0022] 본 발명은 추간판의 퇴행과정에서 분비된 분비단백질 중에 추간판의 통증에 영향을 주는 표적단백질의 종류가 무엇인지, 시간의 변화에 따라 통증에 영향을 주는 표적단백질 간의 상관관계는 어떻게 되는지, 표적단백질이 신경세포에 어떠한 영향을 미치는지 등을 동시에 관찰하여, 추간판의 통증 기전을 연구하는데 적용될 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩 및 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0023] 본 발명은 이중 세포간의 분비단백질에 의해 매개되는 상호작용에서 표적단백질의 발현을 항원-항체 반응을 이용하여 전기 신호로 변환하여 그 양을 실시간으로 정량할 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0024] 본 발명은 추간판세포와 신경세포를 공동배양하여 추간판세포에서 분비된 분비단백질이 신경세포에 미치는 영향을 관찰하는 동시에, FET기반의 센서부를 이용하여 추간판세포에서 분비된 분비단백질 중 추간판의 통증을 유발하는 표적단백질을 센싱하고, 검출부를 통해 센싱된 표적단백질의 함량을 실시간으로 측정할 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0025] 본 발명은 인체의 추간판 조직에서 나타나는 다양한 종류의 세포를 공동 배양하여 이들 간의 상호작용이 추간판 성 요통에서 어떠한 영향을 미치는지 확인할 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0026] 본 발명은 세포가 발현하는 다종의 분비단백질 상호작용을 실시간으로 측정할 수 있는 추간판 질환연구용 분비단백질 검출장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0027] 본 발명의 일 실시예에 따른 추간판 질환연구용 분비단백질 검출칩은, 염증처리된 추간판세포가 배양된 추간판 챔버; 신경세포가 배양되는 신경챔버; 추간판세포와 신경세포 간의 세포이동이 차단가능하게 추간판챔버와 신경챔버에 연결되어, 염증처리된 추간판세포에서 분비된 분비단백질이 유동되는 신경챔버연결채널; 신경챔버연결채널에서 분기되어, 분비단백질이 유동되는 제 1 이동채널; 및 제 1 이동채널에 연결되고, 분비단백질 중에 추간판의 통증을 유발하는 표적단백질과 항원항체결합되는 반응체가 처리되어, 항원항체결합시의 전기신호변화에 의해 표적단백질을 센싱하는 FET기반 센서부를 포함하고, 분비단백질은 신경챔버연결채널을 통해 신경챔버로 제공되어 신경세포를 자극하고, 제 1 이동채널을 통해 FET 기반 센서부로 제공되고, 신경세포는 분비단백질에 의한 자극시, 수상돌기가 신경챔버연결채널로 내성장되는 것이 바람직하다.
- [0028] 본 발명의 일 실시예에 있어서, FET기반 센서부는, 드레인전극과 소스전극에 연결되어, 반응체가 표면기능화처리된 센싱채널이 마련된 복수의 센싱부재; 및 전계효과 트랜지스터(field effect transistor) 기반으로, 표적단백질이 반응체와의 특이적 결합시 센싱채널을 흐르는 채널전류량의 변화를 감지하여 표적단백질을 검출하고, 센싱채널은, APTES-GA 링커, APTMS-GA 링커, APTED-GA 링커, BPEI-GA 링커, GOPS-BPEI-GA 링커 또는 LPEI-GA 링커 중 어느하나가 표면에 처리되고, 반응체가 APTES-GA 링커, APTMS-GA 링커, APTED-GA 링커, BPEI-GA 링커, GOPS-BPEI-GA 링커 또는 LPEI-GA 링커 중 어느하나에 아미노결합되면서 표면기능화처리된 것이 바람직하다.
- [0029] 본 발명의 일 실시예에 있어서, APTES-GA 링커는, 3-아미노프로필트리에톡시실란(3-aminopropyltriethoxysilane, APTES)에 의해 센싱채널의 표면이 아미노산 활성화처리된 후, 글루타르알데히드(glutaraldehyde, GA)에 의해 카르복실화되어 형성된 것이 바람직하다.
- [0030] 반응체는 anti-MMP(Matrix metalloproteinase), anti-TIMP(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases), anti-IL(interleukin), 또는 anti-ASICs(Acid sensing ion channels), anti-TRPV(transient receptor potential vanilloid) 중 어느 하나인 것이 바람직하다.

- [0031] 그리고, 표적단백질은 MMP-1(Matrix metalloproteinase-1), MMP-3(Matrix metalloproteinase-3), TIMP-1(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1), TIMP-2(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2), ASICs(Acid sensing ion channels), TRPV(transient receptor potential vanilloid), IL-6(interleukin-6) 또는 IL-8(interleukin-8) 중 적어도 하나인 것이 바람직하다.
- [0032] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 중간판세포는 수핵세포, 섬유류세포 또는 혈관생성세포이고, 수핵세포, 섬유류세포 또는 혈관생성세포 중 어느 하나는 염증처리된 상태로 중간판챔버에 배양되는 것이 바람직하다.
- [0033] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 중간판챔버는, 수핵세포가 배양되는 제 1 중간판챔버; 섬유류세포가 배양되는 제 2 중간판챔버; 또는 혈관생성세포가 배양되는 제 3 중간판챔버 중 적어도 하나이고, 제 1 중간판챔버 내지 제 3 중간판챔버 중 적어도 하나는 신경챔버연결채널에 의해 신경챔버에 개별적으로 연결되어, 중간판의 구조가 모사되는 것이 바람직하다.
- [0034] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 제 1 이동채널에 설치되어, 분비단백질의 FET기반 센서부로의 이동을 허용 또는 차단하는 마이크로밸브를 더 포함하고, 마이크로밸브는 개폐 제어에 의해 FET기반 센서부로 제공되는 분비단백질의 유동량을 조절하는 것이 바람직하다.
- [0035] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 제 1 중간판챔버 내지 제 3 중간판챔버 중 두 개의 중간판챔버를 연결하는 중간판챔버연결채널; 및 중간판연결채널에서 분기된 제 2 이동채널을 더 포함하고, FET 기반 센서부는 제 1 이동채널과 제 2 이동채널에 각각 연결되어, 제 1 이동채널과 제 2 이동채널을 유동하는 분비단백질을 개별적으로 센싱하는 것이 바람직하다.
- [0036] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 중간판의 손상은 제 1 중간판챔버에 염증처리되지 않은 수핵세포가 배양되고, 제 2 중간판챔버에 염증처리된 섬유류세포가 배양되어 모사되는 것이 바람직하다.
- [0037] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 중간판의 퇴행은, 제 1 중간판챔버에 염증처리된 수핵세포가 배양되고, 제 2 중간판챔버에 염증처리되지 않은 섬유류세포가 배양되어 모사되는 것이 바람직하다.
- [0039] 한편, 중간판 질환연구용 분비단백질 검출장치는 중간판 질환연구용 분비단백질 검출칩; 및 중간판 질환연구용 분비단백질 검출칩의 FET기반 센서부에 연결되어, FET기반 센서부에서 센싱된 전압-전류신호를 분석하여, 분비단백질 중 서로 다른 종류의 반응체와 항원항체반응하는 표적단백질의 종류 및 개수를 판별하고, 표적단백질의 시간에 따른 함량변화를 측정하는 검출부를 포함하는 것이 바람직하다.
- [0040] 본 발명의 일 실시예에 있어서, FET기반 센서부는, 드레인전극과 소스전극에 연결되어, 반응체가 표면기능화처리된 센싱채널이 마련된 복수의 센싱부재; 및 복수의 센싱부재에 연결된 게이트전극을 포함하여, 전계효과 트랜지스터(field effect transistor) 기반으로, 표적단백질이 반응체와의 특이적 결합시 센싱채널을 흐르는 채널전류량의 변화를 감지하여 표적단백질을 검출하고, 센싱채널은, APTES-GA 링커, APTMS-GA 링커, APTED-GA 링커, BPEI-GA 링커, GOPS-BPEI-GA 링커 또는 LPEI-GA 링커 중 어느하나가 표면에 처리되고, 반응체가 APTES-GA 링커, APTMS-GA 링커, APTED-GA 링커, BPEI-GA 링커, GOPS-BPEI-GA 링커 또는 LPEI-GA 링커 중 어느하나에 아미노결합되면서 표면기능화처리된 것이 바람직하다.
- [0041] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 드레인전극과 소스전극을 흐르는 채널전류량은 게이트전극에 인가된 게이트전압에 의해 가변되고, 검출부는 게이트전압에 대한 채널전류량 변화를 분석하여, 반응체와 항원항체반응하는 표적단백질의 종류 및 개수를 판별하는 것이 바람직하다.
- [0042] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 검출부는, 게이트전압에 대한 채널전류량의 그래프의 기울기가 선형인 선형구간을 표적단백질마다 산출하고, 선형구간의 게이트전압에 대한 채널전류량의 그래프를, 선형구간 내의 특정 게이트전압에서 표적단백질의 함량 대비 채널전류량의 그래프로 변환하여, 채널전류량에 따른 표적단백질의 함량을 산출하는 것이 바람직하다.
- [0043] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 반응체는 anti-MMP((Matrix metalloproteinase), anti-TIMP((Tissue Inhibitor of Metalloproteinases), anti-IL(interleukin), 또는 anti-ASICs(Acid sensing ion channels), anti-TRPV(transient receptor potential vanilloid) 중 어느 하나이고, 표적단백질은 MMP-1(Matrix metalloproteinase-1), MMP-3(Matrix metalloproteinase-3), TIMP-1(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1), TIMP-2(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2), ASICs(Acid sensing ion channels), TRPV(transient receptor potential vanilloid), IL-6(interleukin-6) 또는 IL-8(interleukin-8)

중 적어도 하나인 것이 바람직하다.

발명의 효과

- [0044] 본 발명은 추간관세포와 신경세포를 공동배양하여 추간관세포에서 분비된 분비단백질이 신경세포에 미치는 영향을 관찰할 수 있고, FET기반의 센서부를 이용하여 추간관세포에서 분비된 분비단백질 중 추간관의 통증을 유발하는 표적단백질을 검출하고, 표적단백질의 함량을 실시간으로 측정할 수 있다.
- [0045] 본 발명은 본 발명은 서서히 진행되는 추간관의 퇴행을 모사하고, 추간관의 퇴행시 분비된 분비단백질이 추간관의 통증에 미치는 영향을 관찰할 수 있다.
- [0046] 본 발명은 인체의 추간관 조직에서 나타나는 다양한 종류의 세포를 공동 배양하여 이들 간의 상호작용이 추간관성 요통에서 어떠한 영향을 미치는지 확인할 수 있다.
- [0047] 본 발명은, 기존의 ELISA 또는 웨스턴블로트법(western blotting)이 필요로 하는 분광광도계(spectrophotometer)와 같은 외부 장치의 제약 없이도, FET 기술이 적용된 센서부를 이용하여, 세포가 발현하는 분비단백질 중 반응체와 반응하는 표적단백질을 실시간으로 측정할 수 있는 동시에 측정결과의 정확도를 향상시킬 수 있다.
- [0048] 본 발명은 복수의 센싱채널에 표면기능화처리된 반응체의 종류를 다양화시켜, 분비단백질 중 표적단백질의 시간에 따른 변화를 측정할 수 있고, 이를 통해, 다종의 표적단백질 간의 상호작용을 실시간으로 측정할 수 있다.
- [0049] 즉, 본 발명은 추간관의 퇴행과정에서 분비된 분비단백질 중에 추간관의 통증에 영향을 주는 표적단백질의 종류가 무엇인지, 시간의 변화에 따라 통증에 영향을 주는 표적단백질 간의 상관관계는 어떻게 되는지, 표적단백질이 신경세포에 어떠한 영향을 미치는지 등을 동시에 관찰하여, 추간관의 통증 기전을 연구하는데 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0051] 도 1은 정상추간관의 해부학적 개략도이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출장치의 구성도를 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 3은 본 발명의 제 2 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩의 구성도를 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 4는 본 발명의 제 3 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩의 구성도를 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 5는 본 발명의 제 4 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩의 구성도를 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 6은 본 발명의 제 5 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩의 구성도를 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 7은 본 발명의 FET 기반 센서부의 사시도를 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 8은 본 발명의 일 실시예에서, FET 기반 센서부에서의 표적단백질을 검출하는 모식도를 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 9는 FET 기반 센서부의 센싱채널에 표면기능화처리된 APTES-GA 링크 제작방법을 도시한 것이다.
- 도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출장치에서, FET 기반 센서부와 검출부 간의 회로블럭 다이어그램을 개략적으로 도시한 것이다.
- 도 11은 표적단백질의 농도변화에 따른 게이트전압-채널전류량 그래프이다.
- 도 12는 게이트전압의 기준전위에서, 표적단백질의 함량-채널전류량 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0052] 이하에서는 첨부도면을 참조하여, 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩 및 추간관 질환연구용 분비단백질 검출장치에 대해 설명하기로 한다.
- [0054] 본 발명은 추간관의 손상 또는 추간관의 퇴행을 모사하여, 추간관세포의 분비단백질 중에 추간관의 통증에 영향을 주는 표적단백질의 종류가 무엇인지, 시간의 변화에 따라 통증에 영향을 주는 표적단백질 간의 상관관계는 어떻게 되는지, 또는, 표적단백질이 신경세포에 어떠한 영향을 미치는지 등을 동시에 관찰하여, 추간관의 통증 기전을 연구하는데 사용된다.
- [0056] ● 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩
- [0057] 제 1 실시예
- [0058] 도 2에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100)은, 배양플레이트(111), 추간관챔버(112), 신경챔버(113), 마이크로밸브(120) 및 FET 기반 센서부(130)를 포함한다.
- [0059] 본 발명은 복수의 추간관챔버와 신경챔버에 추간관을 이루는 이중 세포를 독립배양하여 추간관 구조를 모사함으로써, 긴 시간 동안 이루어지는 디스크 퇴행 과정을 모방할 수 있다.
- [0060] 배양플레이트(111)는 신체조직인 추간관이 모사되는 부재이다. 배양플레이트(111)에는 추간관챔버(112)와 신경챔버(113), 신경챔버연결채널(115), 제 1 이동채널(116) 및 저장챔버(117)가 마련된다.
- [0061] 배양플레이트(111)는 PDMS(polydimethylsiloxane stamp) 재질로 이루어진 것이 바람직하다. 추간관챔버와 신경챔버는 세포가 배양되는 공간이고, 저장챔버는 FET 기반 센서부(130)를 통과한 분비단백질이 수용되는 공간이다.
- [0062] 추간관챔버(112)와 신경챔버(113)에는 추간관을 이루는 서로 다른 세포가 독립적으로 공동 배양되는 공간이다. 추간관세포로는 수핵세포, 섬유륜세포 또는 혈관생성세포가 해당된다.
- [0063] 추간관챔버(112)에는 섬유륜세포, 수핵세포 또는 혈관생성세포 중 적어도 하나가 배양될 수 있다. 본 발명은 추간관의 퇴화과정 또는 추간관의 손상을 모사하기 위해, 추간관챔버(112)에는 염증처리된다.
- [0064] 염증처리물질로는 인터류킨-1베타(Interleukin-1beta, IL-1b) 또는 종양괴사인자- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)와 같은 사이토카인(cytokine)이 사용될 수 있다. 다만, 이는 예시적인 물질이며, 당업자의 입장에서 자명한 범위 내에서 다양한 염증처리물질이 사용될 수 있음은 물론이다.
- [0065] 신경챔버(113)에는 신경세포가 배양된다. 신경챔버(113)는 신경챔버연결채널(115)에 의해 추간관챔버(112)에 연결된다.
- [0066] 신경챔버연결채널(115)은 복수의 격벽에 의해 통로간격이 구획된 마이크로 채널 구조를 가진다. 신경챔버연결채널(115)의 통로간격은 신경세포의 수상돌기가 이동가능한 크기를 가진 것이 바람직하다.
- [0067] 신경챔버연결채널(115)은 세포간의 이동은 차단하고 세포에서 분비된 분비단백질 간의 이동만 허용한다. 신경챔버연결채널(115)은 서로 다른 세포간의 직접적인 접촉없이, 이중 세포의 분비단백질이 상호 간에 미치는 영향을 확인하기 위한 것이다.
- [0068] 제 1 이동채널(116)은 신경챔버연결채널(115)에서 분기된다. 제 1 이동채널(116)은 신경챔버연결채널(115)과 FET 기반 센서부(130)를 연결한다. 제 1 이동채널(116)은 신경챔버연결채널(115)에서 유입된 분비단백질이 FET 기반 센서부(130)로 유동되는 통로이다.
- [0069] 제 1 이동채널(116)에는 마이크로밸브(120)가 설치된다. 마이크로밸브(120)는 제 1 이동채널(116)을 개폐하여, 분비단백질의 FET 기반 센서부(130)로의 유동을 조정한다. 마이크로밸브(120)는 제 1 이동채널(116)을 유동하는 분비단백질의 유동량을 정밀하게 조절할 수 있다.
- [0070] 본 발명은 마이크로밸브(120)를 통해 실시간 관측 또는 원하는 시간 동안, 분비단백질의 FET 기반 센서부(130)로의 유동을 제어할 수 있다. 이로 인해, 본 발명은 면역형광염색법과 비교하여, 다종의 표적단백질을 검출하는

경우에 실험자의 실험스킬이 능숙하지 않더라도, 보다 정확하게 단백질을 검출할 수 있다.

- [0071] 도 2에 도시된 바와 같이, FET 기반 센서부(130)는 배양플레이트(111)에 마련된다. FET 기반 센서부(130)는 제 1 이동채널(116)에 의해 신경챔버연결채널(115)에 연결된다. 마이크로밸브(120)의 개방시, FET 기반 센서부(130)는 제 1 이동채널(116)을 통해 유입된 분비단백질 중 반응체와 항원항체반응하는 표적단백질을 센싱한다.
- [0072] 도 2 및 도 7에 도시된 바와 같이, FET 기반 센서부(130)는 복수의 센싱부재(131) 및 게이트전극(132)을 구비한다. FET 기반 센서부(130)는 전계효과 트랜지스터(field effect transistor) 기반으로 센싱채널(131c)을 통과하는 표적단백질의 반응체와의 항원항체반응시, 센싱채널(131c)을 흐르는 채널전류량의 변화를 센싱하여, 게이트전압-채널전류량 신호를 검출부(210)로 제공한다.
- [0073] 도 8에 도시된 바와 같이, 센싱부재(131)는 드레인전극(131a), 소스전극(131b)과 센싱채널(131c)을 구비한다. 센싱채널(131c)은 드레인전극(131a)과 소스전극(131b)을 연결한다.
- [0074] 센싱채널(131c)에는 반응체(antibody)가 표면기능화처리된다. 반응체는 특정항원(antigen)과 항원항체 반응하는 특이적 항체이다. 표적단백질은 반응체와 특이적 결합되는 항원이다.
- [0075] 본 발명은 센싱하고자 하는 표적단백질의 종류에 따라, 표적단백질과 항원항체반응하는 반응체가 센싱채널(131c)에 표면기능화처리된다. 본 발명은 FET 기반 센서부(130)에 복수의 센싱채널(131c)을 구비한다. 본 발명은 복수의 센싱채널(131c)에 다종의 반응체를 표면기능화처리하여, 다종의 표적단백질을 센싱할 수 있다.
- [0076] 도 8에 도시된 바와 같이, 하나의 센싱채널(131c)에는 하나의 반응체가 처리된다. 예시적으로, 도 7에 도시된 바와 같이, 서로 다른 4개의 반응체가 복수의 센싱채널(131c)에 독립적으로 처리되면, 본 발명은 최대 4개의 표적단백질이 센싱될 수 있다.
- [0077] 반응체의 표면기능화처리는 다음과 같이 진행된다.
- [0078] 우선, 도 9(a)에 도시된 바와 같이, 센싱채널(131c)의 표면에 3-아미노프로필트리에톡시실란(3-aminopropyltriethoxysilane, APTES)에 의해 아미노산 활성화처리된다. 본 실시예는 이하에서 APTES-GA 링커로 표면기능화 처리된 예를 설명하고 있으나, 반드시 이에 한정되지 않는다. 예를 들어, 표면기능화 처리는 APTES-GA 링커, APTMS-GA 링커, APTED-GA 링커, BPEI-GA 링커, GOPS-BPEI-GA 링커 및 LPEI-GA 링커 등이 적용될 수 있다.
- [0079] 도 9(b)에 도시된 바와 같이, APTES 처리된 센싱채널(131c)의 표면에 글루타르알데히드(glutaraldehyde, GA)가 처리된다. 센싱채널(131c)의 표면은 글루타르알데히드(glutaraldehyde, GA)에 의해 카르복실화되면서 APTES-GA 링커가 형성된다.
- [0080] 이후, 도 9(c)에 도시된 바와 같이, 반응체가 센싱채널(131c)에 처리되면, 반응체가 APTES-GA 링커에 아미노결합된다. 반응체는 분비단백질 중 표적단백질을 검출하기 위한 항체이다. 반응체는 anti-MMP, anti-TIMP, anti-IL, 또는 anti-ASICs, anti-TRPV 중 어느 하나가 사용될 수 있다.
- [0081] 표적단백질은 추간판의 통증을 유발하는 단백질이다. 표적단백질로는 MMP-1(Matrix metalloproteinase-1), MMP-3(Matrix metalloproteinase-3), TIMP-1(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1), TIMP-2(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2), ASICs, TRPV(transient receptor potential vanilloid), IL-6(interleukin-6) 또는 IL-8(interleukin-8) 등이 해당될 수 있다.
- [0082] 본 발명은 디스크 퇴행에 있어서 조직의 붕괴(MMP), 혈관 성장(VEGF), 통증 발현(TRVP-1)과 같은 주요한 단백질을 실시간 비교함으로써 예방과 치료모형을 정립 가능하다. 추간판 조직의 붕괴에 관련된 단백질로는 MMP-1(Matrix metalloproteinase-1) 또는 MMP-3(Matrix metalloproteinase-3)이 해당된다. 추간판의 통증발현에 관련된 단백질로는 TRVP-1 또는 ASICs가 해당된다. 추간판의 염증매개물질로는 IL-6(interleukin-6), IL-8(interleukin-8), VEGF(Vascular Endothelial Growth Factor) 등이 해당된다.
- [0083] 예를 들어, FET 기반 센서부(130)로 유입된 분비단백질 중에 MMP-1(Matrix metalloproteinase-1) 또는 MMP-3(Matrix metalloproteinase-3)을 검출하고자 하는 경우에, 센싱채널(131c)에는 anti-MMP가 표면기능화처리된다.
- [0084] 분비단백질 중에 TIMP-1(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1) 또는 TIMP-2(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2)을 검출하고자 하는 경우에, 센싱채널(131c)에는 anti-TIMP가 표면기능화처리된다.

- [0085] 센싱채널(131c)에 표면기능화처리된 반응체는 센싱채널(131c)을 통과하는 분비단백질 중 표적단백질과 항원항체 반응한다. 항원항체반응이 일어나지 않은 채널전류량과 비교하여, 항원항체반응이 일어나는 센싱채널(131c)의 채널전류량은 저감된다. 이는, 항원항체반응에 따른 반응체와 표적단백질 간의 특이적 결합이, 드레인전극(131a)과 소스전극(131b)을 흐르는 채널전류의 흐름에 영향을 미치기 때문이다.
- [0086] 한편, 상기와 같은 구조를 가진 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100)을 통해, 실험자는 염증처리된 추간관세포 및 신경세포가 독립적으로 공동배양되면, 염증처리된 추간관세포에서 분비된 분비단백질이 신경세포에 미치는 영향을 관찰할 수 있다.
- [0087] 추간관챔버(112)에서, 염증처리된 추간관세포에서 분비된 분비단백질은 신경챔버연결채널(115)을 통해 신경챔버(113)로 유동된다. 이때, 추간관세포는 신경챔버연결채널(115)에 의해 이동이 차단되고, 분비단백질만 신경챔버(113)로 유동된다. 신경챔버(113) 내의 신경세포는 신경챔버연결채널(115)을 통해 유입된 추간관세포의 분비단백질에 의해 자극되면, 신경세포의 수상돌기가 신경챔버연결채널(115)로 내성장된다.
- [0088] 신경세포의 내성장은 라이브셀 현미경 장치(미도시)로 관찰가능하다. 신경세포의 경우 신경세포체에 비해 신경세포체에서 뻗어나온 수상돌기의 폭이 상대적으로 매우 작다. 이에, 신경세포의 내성장시, 신경세포체에서 뻗어나온 수상돌기가 신경챔버연결채널(115)로 내성장되는 것이 관찰될 수 있다.
- [0090] 제 2 실시예
- [0091] 도 3에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제 2 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100a)은, 배양플레이트(111a), 추간관챔버(112a, 114a)와 신경챔버(113a), 마이크로밸브(120a) 및 FET 기반 센서부(130a)를 포함한다.
- [0092] 도 3에 도시된 바와 같이, 본 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100a)은 추간관챔버와 신경챔버가 3개 마련된 구조를 가진다. 본 실시예에서는 설명의 편의를 위해, 3개의 추간관챔버와 신경챔버에 대해 제 1 추간관챔버(112a), 신경챔버(113a) 및 제 2 추간관챔버(114a)로 지칭한다.
- [0093] 제 1 추간관챔버(112a)에는 추간관세포 중 수핵세포가 염증처리된 상태로 배양될 수 있다. 그리고, 신경챔버(113a)에는 신경세포가 배양될 수 있다. 제 2 추간관챔버(114a)에는 추간관세포 중 섬유륜세포가 염증처리된 상태로 배양될 수 있다.
- [0094] 제 1 추간관챔버(112a), 신경챔버(113a)와 제 2 추간관챔버(114a)는 신경챔버연결채널(115a1, 115a2)에 의해 연결된다. 본 실시예에서는 설명의 편의를 위해, 신경챔버연결채널(115a1, 115a2)를 제 1 신경챔버연결채널(115a1)과 제 2 신경챔버연결채널(115a2)로 구분지어 지칭하기로 한다.
- [0095] 본 실시예에 따른 제 1 신경챔버연결채널(115a1)과 제 2 신경챔버연결채널(115a2)은 상술한 제 1 실시예에 따른 신경챔버연결채널(115)과 그 구조 및 기능이 실질적으로 동일한 바, 이하에서는 이에 대한 설명을 생략하기로 한다.
- [0096] 제 1 신경챔버연결채널(115a1)은 제 1 추간관챔버(112a)와 신경챔버(113a)를 연결하는 마이크로채널이다. 제 2 신경챔버연결채널(115a2)은 신경챔버(113a)와 제 2 추간관챔버(114a)를 연결하는 마이크로채널이다.
- [0097] 분비단백질은 염증처리된 추간관세포에서 분비된 단백질이다. 추간관세포로는 수핵세포, 섬유륜세포 또는 혈관생성세포 중 적어도 하나가 해당된다.
- [0098] 수핵세포에서 분비된 분비단백질은 제 1 신경챔버연결채널(115a1)을 통해 제 1 추간관챔버(112a)에서 신경챔버(113a)로 제공되어, 신경세포를 자극할 수 있다. 수핵세포에서 분비된 분비단백질에 의한 자극시, 신경세포의 수상돌기는 신경챔버(113a)에서 제 1 신경챔버연결채널(115a1)로 내성장된다.
- [0099] 염증처리된 섬유륜세포에서 분비된 분비단백질은 제 2 신경챔버연결채널(115a2)을 통해 제 2 추간관챔버(114a)에서 신경챔버(113a)로 제공된다. 섬유륜세포의 분비단백질은 신경챔버(113a)의 신경세포를 자극한다. 섬유륜세포에서 분비된 분비단백질에 의한 자극시, 신경세포의 수상돌기는 제 2 추간관챔버(114a)에서 제 2 신경챔버연결채널(115a2)로 내성장된다.
- [0100] 실험자는, 신경세포의 내성장정도를 통해, 신경세포를 더 강하게 자극하는 물질이 수핵세포에서 분비된 분비단백질인지 또는 섬유륜세포에서 분비된 분비단백질인지 여부를 동시에 관찰할 수 있다.

- [0101] 한편, 본 실시예에서, 제 1 신경챔버연결채널(115a1)과 제 2 신경챔버연결채널(115a2)에는 이동채널이 각각 연결된다. 본 실시예에서는 설명의 편의를 위해, 제 1 신경챔버연결채널(115a1)에 연결된 이동채널에 대해 '제 1a 이동채널(116a1)'이라 지칭한다. 제 1a 이동채널(116a1)에는 제 1 마이크로밸브(120a1)가 연결된다.
- [0102] 그리고, 제 2 신경챔버연결채널(115a2)에 연결된 이동채널에 대해 '제 1b 이동채널(116a2)'이라 지칭한다. 제 1a 이동채널(116a1)에는 수핵세포의 분비단백질이 유동된다. 제 1b 이동채널(116a2)에는 섬유륜세포의 분비단백질이 유동된다. 제 1b 이동채널(116a2)에는 제 2 마이크로밸브(120a2)가 연결된다.
- [0103] 본 실시예에서, 제 1a 이동채널(116a1)과 제 1b 이동채널(116a2)은 제 1c 이동채널(116a3)을 통해 FET 기반 센서부(130a)에 연결된다. 제 1c 이동채널(116a3)에는 수핵세포의 분비단백질과 섬유륜세포의 분비단백질이 혼합된 상태로 유동된다.
- [0104] 제 1 마이크로밸브(120a1) 및 제 2 마이크로밸브(120a2)는 상술한 제 1 실시예의 마이크로밸브(120)와 동일한 기능을 가지는 바, 이하에서는 설명을 생략하기로 한다.
- [0105] 제 1 마이크로밸브(120a1)의 개방 및 제 2 마이크로밸브(120a2)의 폐쇄시, 제 1a 이동채널(116a1)을 경유하여 제 1c 이동채널(116a3)로 유입된 분비단백질이 FET 기반 센서부(130a)로 유입된다.
- [0106] 제 1 마이크로밸브(120a1)의 폐쇄 및 제 2 마이크로밸브(120a2)의 개방시, 제 1b 이동채널(116a2)을 경유하여 제 1c 이동채널(116a3)로 유입된 분비단백질이 FET 기반 센서부(130a)로 유입된다.
- [0107] FET 기반 센서부(130a)는 제 1a 이동채널을 분비단백질과, 1b 이동채널을 유동하는 분비단백질을 개별적으로 센싱할 수 있다. 분비단백질은 FET 기반 센서부(130a)에서 센싱된 후, 저장챔버(117a)로 수용된다. FET 기반 센서부(130a)의 기능은 상술한 제 1 실시예의 FET 기반 센서부와 동일하다.
- [0109] 제 3 실시예
- [0110] 도 4에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제 3 실시예에 따른 중간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100b)은, 배양 플레이트(111b), 중간관챔버(112b, 114b)와 신경챔버(113b), 마이크로밸브(120b1, 120b2) 및 FET 기반 센서부(130b1, 130b2)를 포함한다.
- [0111] 도 4에 도시된 바와 같이, 본 실시예에 따른 중간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100b)은 중간관챔버와 신경챔버가 3개 마련된 구조를 가진다. 본 실시예에서는 설명의 편의를 위해, 3개의 중간관챔버와 신경챔버에 대해 제 1 중간관챔버(112b), 신경챔버(113b) 및 제 2 중간관챔버(114b)로 지칭한다.
- [0112] 제 1 중간관챔버(112b)는 수핵세포가 배양되는 공간이다. 제 2 중간관챔버(114b)는 섬유륜세포가 배양되는 공간이다. 그리고, 신경챔버(113b)는 신경세포가 배양되는 공간이다.
- [0113] 제 1 중간관챔버(112b)와 제 2 중간관챔버(114b)에는 염증처리된 수핵세포와 섬유륜세포가 공동배양되어, 중간관의 손상을 모사할 수 있다.
- [0114] 제 1 신경챔버연결채널(115b1)은 제 1 중간관챔버(112b)와 신경챔버(113b)를 연결한다. 제 2 신경챔버연결채널(115b2)은 신경챔버(113b)와 제 2 중간관챔버(114b)를 제 2 신경챔버연결채널(115b2)을 연결한다. 제 1 신경챔버연결채널(115b1) 및 제 2 신경챔버연결채널(115b2)은 상술한 제 1 실시예의 신경챔버연결채널과 동일한 바, 이하에서는 이에 대한 설명을 생략하기로 한다.
- [0115] 염증처리된 수핵세포에서 분비된 분비단백질은 제 1 신경챔버연결채널(115b1)을 통해 신경챔버(113b)로 제공되어, 신경세포를 자극할 수 있다. 수핵세포에서 분비된 분비단백질에 의한 자극시, 신경세포의 수상돌기는 제 1 신경챔버연결채널(115b1)로 내성장된다.
- [0116] 염증처리된 섬유륜세포에서 분비된 분비단백질은 제 2 신경챔버연결채널(115b2)을 통해 신경챔버(113b)로 제공되어, 신경세포를 자극할 수 있다. 섬유륜세포에서 분비된 분비단백질에 의한 자극시, 신경세포의 수상돌기는 제 2 신경챔버연결채널(115b2)로 내성장된다.
- [0117] 실험자는, 신경세포의 내성장정도를 통해, 신경세포를 자극하는 것이 수핵세포에서 분비된 분비단백질인지 섬유륜세포에서 분비된 분비단백질인지 여부를 관찰할 수 있다.

- [0119] 제 1a 이동채널(116b1)은 제 1 신경챔버연결채널(115b1)에서 분기되어, 수핵세포의 분비단백질이 유동된다. 제 1a 이동채널(116b1)에는 제 1 FET 기반 센서부(130b1)가 연결된다. 제 1 FET 기반 센서부(130b1)는 상술한 제 1 실시예에 따른 FET 기반 센서부와 동일한 기능을 수행한다.
- [0120] 제 1a 이동채널(116b1)에는 제 1 마이크로밸브(120b1)가 설치된다. 제 1 마이크로밸브(120b1)는 제 1a 이동채널(116b1)을 유동하는 분비단백질의 유동을 허용 또는 차단한다. 본 실시예의 제 1 마이크로밸브(120b1)는 상술한 제 1 실시예의 마이크로밸브와 동일한 기능을 수행한다. 제 1 마이크로밸브(120b1)의 개방시, 제 1a 이동채널(116b1)의 분비단백질은 제 1 FET 기반 센서부(130b1)로 유입된다.
- [0121] 제 1b 이동채널(116b2)은 제 2 신경챔버연결채널(115b2)에서 분기된다. 제 1b 이동채널(116b2)에는 섬유류세포의 분비단백질이 유동된다.
- [0122] 제 1b 이동채널(116b2)은 제 2 FET 기반 센서부(130b2)에 연결된다. 제 2 FET 기반 센서부(130b2)는 상술한 제 1 실시예의 FET 기반 센서부와 동일한 기능을 수행한다.
- [0123] 제 1b 이동채널(116b2)에는 제 2 마이크로밸브(120b2)가 설치된다. 제 2 마이크로밸브(120b2)는 제 1b 이동채널(116b2)을 유동하는 분비단백질의 유동을 허용 또는 차단한다.
- [0124] 본 실시예의 제 2 마이크로밸브(120b2)는 상술한 제 1 실시예의 마이크로밸브(120)와 동일한 기능을 수행한다. 제 2 마이크로밸브(120b2)의 개방시, 제 1b 이동채널(116b2)의 분비단백질은 제 2 FET 기반 센서부(130b2)로 유입된다. 분비단백질은 제 1 FET 기반 센서부(130b1) 및 제 2 FET 기반 센서부(130b2)에서 센싱된 후, 저장챔버(117b1, 117b2)에 각각 수용된다.
- [0125] 제 1 FET 기반 센서부(130b1) 및 제 2 FET 기반 센서부(130b2)의 기능은 상술한 제 1 실시예와 동일한 바, 이하에서는 이에 대한 설명을 생략하기로 한다.
- [0126] 본 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100b)은 하나의 배양플레이트(111b)에서 공동배양된 추간관세포의 분비단백질을 복수의 FET 기반 센서부(130b1, 130b2)를 이용하여 센싱할 수 있다.
- [0127] 이에 따라, 본 발명은 수핵세포의 분비단백질에 존재하는 다종의 표적단백질과, 섬유류세포의 분비단백질에 존재하는 다종의 표적단백질을 동시에 검출할 수 있고, 이를 통해 다종의 표적단백질간의 상호작용 연구에 도움을 줄 수 있다.
- [0129] 제 4 실시예
- [0130] 도 5에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제 4 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100c)은, 배양플레이트(111c), 추간관챔버(112c, 114c)와 신경챔버(113c), 마이크로밸브(120c1, 120c2, 120c3) 및 FET 기반 센서부(130c1, 130c2, 130c3)를 포함한다.
- [0131] 본 실시예에 따른 마이크로밸브(120c1, 120c2, 120c3)는 상술한 제 1 실시예의 마이크로밸브(120)와 동일한 기능을 수행한다. 본 실시예에 따른 FET 기반 센서부(130c1, 130c2, 130c3)는 상술한 제 2 실시예에 따른 FET 기반 센서부(130)와 동일한 기능을 수행한다.
- [0132] 본 발명은 추간관챔버와 신경챔버에 배양되는 추간관세포의 염증처리를 통해 섬유류세포의 손상, 또는 추간관의 퇴행에 의한 수핵세포의 손상을 모사할 수 있다.
- [0133] 본 실시예에 따른 추간관챔버(112a, 114a)와 신경챔버(113a)는 3개로 구성된다. 본 실시예에서는 설명의 편의를 위해, 추간관챔버(112a, 114a)에 대해 제 1 추간관챔버(112c)와 제 2 추간관챔버(114c)로 구분하여 지칭하기로 한다.
- [0134] 제 1 추간관챔버(112c), 신경챔버(113c)와 제 2 추간관챔버(114c)는 제 1 신경챔버연결채널(115c1), 제 2 신경챔버연결채널(115c2) 및 추간관챔버연결채널(115c3)에 의해 상호 간에 연결되어, 추간관 구조가 모사된다.
- [0135] 제 1 신경챔버연결채널(115c1), 제 2 신경챔버연결채널(115c2) 및 추간관챔버연결채널(115c3)의 구조는 마이크로채널 구조를 가진다.
- [0136] 제 1 신경챔버연결채널(115c1)은 제 1 추간관챔버(112c)와 신경챔버(113c)에 연결된다. 제 2 신경챔버연결채널(115c2)은 신경챔버(113c)와 제 2 추간관챔버(114c)에 연결된다. 추간관챔버연결채널(115c3)은 제 1 추간관챔버

(112c)와 제 2 추간관챔버(114c)에 연결된다.

- [0137] 본 실시예에서, 제 1a 이동채널(116c1)은 제 1 신경챔버연결채널(115c1)에 연결된다. 제 1a 이동채널(116c1)에는 수핵세포의 분비단백질이 유동된다. 제 1a 이동채널(116c1)은 제 1 FET 기반 센서부(130c1)에 연결된다. 제 1 FET 기반 센서부(130c1)는 상술한 FET 기반 센서부와 동일한 기능을 수행한다.
- [0138] 제 1a 이동채널(116c1)에는 제 1 마이크로밸브(120c1)가 설치된다. 제 1 마이크로밸브(120c1)는 제 1a 이동채널(116c1)을 유동하는 분비단백질의 유동을 허용 또는 차단한다.
- [0139] 본 실시예의 제 1 마이크로밸브(120c1)는 상술한 마이크로밸브와 동일한 기능을 수행한다. 제 1 마이크로밸브(120c1)의 개방시, 제 1a 이동채널(116c1)의 분비단백질은 제 1 FET 기반 센서부(130c1)로 유입된다.
- [0140] 제 1b 이동채널(116c2)은 제 2 신경챔버연결채널(115c2)에 연결된다. 제 1b 이동채널(116c2)에는 섬유류세포의 분비단백질이 유동된다. 제 1b 이동채널(116c2)은 제 2 FET 기반 센서부(130c2)에 연결된다.
- [0141] 제 1b 이동채널(116c2)에는 제 2 마이크로밸브(120c2)가 설치된다. 제 2 마이크로밸브(120c2)는 제 1b 이동채널(116c2)을 유동하는 분비단백질의 유동을 허용 또는 차단한다. 제 2 마이크로밸브(120c2)의 개방시, 제 1b 이동채널(116c2)의 분비단백질은 제 2 FET 기반 센서부(130c2)로 유입된다.
- [0142] 제 2 이동채널(116c3)은 추간관챔버연결채널(115c3)에서 분기된다. 제 2 이동채널(116c3)에는 수핵세포의 분비단백질과 섬유류세포의 분비단백질이 혼합된 상태로 유동된다. 제 2 이동채널(116c3)에는 제 3 FET 기반 센서부(130c3)가 연결된다.
- [0143] 제 2 이동채널(116c3)에는 제 3 마이크로밸브(120c3)가 설치된다. 제 3 마이크로밸브(120c3)는 제 2 이동채널(116c3)을 유동하는 분비단백질의 유동을 허용 또는 차단한다. 본 실시예의 제 3 마이크로밸브(120c3)는 상술한 제 1 실시예의 마이크로밸브(120)와 동일한 기능을 수행한다. 제 3 마이크로밸브(120c3)의 개방시, 제 2 이동채널(116c3)의 분비단백질은 제 3 FET 기반 센서부(130c3)로 유입된다.
- [0144] 분비단백질은 제 1 FET 기반 센서부(130c1) 내지 제 3 FET 기반 센서부(130c3)에서 개별적으로 센싱된 후 각각의 저장챔버(117c1, 117c2, 117c3)로 수용된다.
- [0145] 본 실시예에서, 제 1 마이크로밸브(120c1) 내지 제 3 마이크로밸브(120c3)은 상술한 제 1 실시예의 마이크로밸브(120)와 동일한 기능을 수행한다. 그리고, 제 1 FET 기반 센서부(130c1) 내지 제 3 FET 기반 센서부(130c3)는 상술한 제 1 실시예의 FET 기반 센서부(130)와 동일한 기능을 수행한다.
- [0146] 제 1 FET 기반 센서부(130c1) 내지 제 3 FET 기반 센서부(130c3)에는 검출부(미도시)가 연결되어, 제 1 FET 기반 센서부(130c1) 내지 제 3 FET 기반 센서부(130c3)마다 표적단백질의 종류 및/또는 함량을 산출할 수 있다.
- [0148] 실험자는 한개의 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100c)에서, 추간관을 이루는 세 개의 세포를 동시에 공동배양할 수 있다. 제 1 추간관챔버(112c) 및 제 2 추간관챔버(114c)에는 염증처리된 섬유류세포, 염증처리되지 않은 섬유류세포, 염증처리된 수핵세포, 염증처리되지 않은 수핵세포 등, 실험의 목적에 따라 추간관세포를 배양함으로써, 추간관세포와 신경세포 간의 상호작용을 관찰할 수 있다.
- [0149] 일례로, 본 발명은 제 1 추간관챔버(112c)에 수핵세포가 배양되고, 제 2 추간관챔버(114c)에 염증처리된 섬유류세포가 배양되고, 신경챔버(113c)에 신경세포가 공동배양되면, 섬유류세포의 염증반응에 의한 추간관의 손상을 모사할 수 있다.
- [0150] 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100c)에서 추간관의 손상이 모사되면, 염증처리된 섬유류세포의 분비단백질은 제 2 신경챔버연결채널(115c2)을 통해 제 2 추간관챔버(114c)에서 신경챔버(113c)로 유동되어 신경세포를 자극하고, 섬유류세포의 분비단백질에 의한 자극에 의해 신경세포의 수상돌기는 제 2 신경챔버연결채널(115c2)로 내성장되는 기전이 관찰될 수 있다.
- [0151] 본 발명은 제 1a 이동채널(116c1), 제 1b 이동채널(116c2)과 제 2 이동채널(116c3)에 각각 연결된 FET 기반 센서부(130c1, 130c2, 130c3)에서 다종의 표적단백질이 센싱되어, 추간관의 손상시, 염증처리된 섬유류세포와 수핵세포의 상호 작용, 염증처리된 섬유류세포와 신경세포의 상호 작용, 또는 수핵세포와 신경세포의 상호작용에 의한 추간관의 통증을 연구에 적용될 수 있다.

- [0153] 다른 예로, 본 발명은 제 1 추간관챔버(112c)에 염증처리된 수핵세포가 배양되고, 제 2 추간관챔버(114c)에 섬유륜세포가 배양되고, 신경챔버(113c)에 신경세포가 공동배양되면, 수핵세포의 염증반응에 의한 추간관의 퇴행을 모사할 수 있다.
- [0154] 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100c)에서 추간관의 퇴행이 모사되면, 염증처리된 수핵세포의 분비단백질은 제 1 신경챔버연결채널(115c1)을 통해 제 1 추간관챔버(112c)에서 신경챔버(113c)로 유동되어 신경세포를 자극하고, 섬유륜세포의 분비단백질에 의한 자극에 의해 신경세포의 수상돌기는 제 1 신경챔버연결채널(115c1)로 내성장되는 기전이 관찰된다.
- [0155] 본 발명은 제 1a 이동채널(116c1), 제 1b 이동채널(116c2)과 제 2 이동채널(116c3)에 각각 연결된 FET 기반 센서부(130c1, 130c2, 130c3)에서 다종의 표적단백질이 센싱되어, 추간관의 퇴행시, 염증처리된 수핵세포와 섬유륜세포의 상호 작용, 염증처리된 수핵세포와 신경세포의 상호 작용, 또는 섬유륜세포와 신경세포의 상호작용에 의한 추간관의 통증을 연구에 적용될 수 있다.
- [0157] 제 5 실시예
- [0158] 도 6에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제 5 실시예에 따른 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100d)은, 배양 플레이트(111d), 추간관챔버(112d, 114d1, 114d2), 신경챔버(113d), 마이크로밸브(120d1, 120d2, 120d3, 120d4) 및 FET 기반 센서부(130d1, 130d2, 130d3, 130d4)를 포함한다.
- [0159] 본 실시예에서, 추간관챔버(112d, 114d1, 114d2)는 3개로 구성된다. 본 실시예에서는 설명의 편의를 위해, 추간관챔버(112d, 114d1, 114d2)에 대해 제 1 추간관챔버(112d), 제 2 추간관챔버(114d1) 및 제 3 추간관챔버(114d2)로 구분하여 지칭한다. 제 1 추간관챔버(112d) 내지 제 3 추간관챔버(114d2)에는 서로 다른 추간관세포가 독립적으로 공동배양될 수 있다.
- [0160] 제 1 추간관챔버(112d)에는 수핵세포가 배양된다. 제 2 추간관챔버(114d1)에는 섬유륜세포가 배양된다. 제 3 추간관챔버(114d2)에는 혈관생성세포가 배양된다.
- [0161] 제 1 추간관챔버(112d)와 신경챔버(113d)는 제 1 신경챔버연결채널(115d1)에 의해 연결된다. 제 1 신경챔버연결채널(115d1)에는 제 1a 이동채널(116d1)이 분기된다.
- [0162] 제 2 추간관챔버(114d1)와 신경챔버(113d)는 제 2 신경챔버연결채널(115d2)에 의해 연결된다. 제 2 신경챔버연결채널(115d2)에는 제 1b 이동채널(116d2)이 분기된다.
- [0163] 제 1 추간관챔버(112d)와 제 3 추간관챔버(114d2)는 추간관챔버연결채널(115d3)에 의해 연결된다. 추간관챔버연결채널(115d3)에는 제 2a 이동채널(116d3)이 분기된다.
- [0164] 제 3 추간관챔버(114d2)와 제 2 추간관챔버(114d1)은 제 2 추간관챔버연결채널(115d4)에 연결된다. 제 2 추간관챔버연결채널(115d4)에는 제 2b 이동채널(116d4)이 분기된다. 제 2a 이동채널(116d3) 및 제 2b 이동채널(116d4)은 두 개의 추간관챔버를 연결하는 제 2 이동채널을 구분하여 지칭한 것이다.
- [0165] 제 1a 이동채널(116d1), 제 1b 이동채널(116d2), 제 2a 이동채널(116d3) 및 제 2b 이동채널(116d4)에는 마이크로밸브(120d1, 120d2, 120d3, 120d4) 및 FET 기반 센서부(130d1, 130d2, 130d3, 130d4)가 각각 연결된다.
- [0166] 각각의 FET 기반 센서부(130d1, 130d2, 130d3, 130d4)는 표면기능화처리된 반응체의 종류를 가변시켜, 다양한 종류의 표적단백질을 센싱할 수 있다. 분비단백질은 각각의 FET 기반 센서부(130d1, 130d2, 130d3, 130d4)에서 개별적으로 센싱된 후 각각의 저장챔버(117d1, 117d2, 117d3, 117d4)로 수용된다.
- [0167] 본 발명은 추간관챔버(112d, 114d1, 114d2)와 신경챔버(113d) 간의 상술한 연결구조 이외에, 실험자의 실험목적에 따라 다양하게 가변될 수 있음은 물론이다.
- [0168] 제 1 추간관챔버(112d) 내지 제 3 추간관챔버(114d2)에는 염증처리된 섬유륜세포, 염증처리되지 않은 섬유륜세포, 염증처리된 수핵세포, 염증처리되지 않은 수핵세포, 혈관생성세포 등, 실험의 목적에 따라 추간관세포를 각각 독립적으로 공동배양함으로써, 추간관세포와 신경세포간의 상호작용이 관찰될 수 있다.
- [0170] 일예로, 본 발명은 제 1 추간관챔버(112d)에 수핵세포가 배양되고, 제 2 추간관챔버(114d1)에 염증처리된 섬유

륜세포가 배양되고, 제 3 추간관챔버(114d2)에 혈관생성세포가 배양되고, 신경챔버(113d)에 신경세포가 공동배양되면, 섬유륜세포의 염증반응에 의한 추간관의 손상을 모사할 수 있다.

[0171] 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100d)에서 추간관의 손상이 모사되면, 염증처리된 섬유륜세포의 분비단백질은 제 2 신경챔버연결채널(115d2)을 통해 제 2 추간관챔버(114d1)에서 신경챔버(113d)로 유동되어 신경세포를 자극하고, 섬유륜세포의 분비단백질에 의한 자극에 의해 신경세포의 수상돌기는 제 2 신경챔버연결채널(115d2)로 내성장되는 기전이 관찰된다.

[0172] 본 발명은 제 1a 이동채널(116d1), 제 1b 이동채널(116d2), 제 2a 이동채널(116d3)과 제 2b 이동채널(116d4)에 각각 연결된 FET 기반 센서부(130d1, 130d2, 130d3, 130d4)에서 다종의 표적단백질이 센싱되어, 추간관의 손상 시, 염증처리된 섬유륜세포와 수핵세포의 상호 작용, 염증처리된 섬유륜세포와 신경세포의 상호 작용, 수핵세포와 신경세포의 상호작용, 혈관생성세포와 수핵세포 간의 상호작용, 신경세포와 혈관생성세포 간의 상호작용, 또는 염증처리된 섬유륜세포와 혈관생성세포 간의 상호작용에 의한 추간관의 통증을 연구에 적용될 수 있다.

[0174] 다른 예로, 본 발명은 제 1 추간관챔버(112d)에 염증처리된 수핵세포가 배양되고, 제 2 추간관챔버(114d1)에 섬유륜세포가 배양되고, 제 3 추간관챔버(114d2)에 혈관생성세포가 배양되고, 신경챔버(113d)에 신경세포가 공동배양되면, 수핵세포의 염증반응에 의한 추간관의 퇴행을 모사할 수 있다.

[0175] 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100d)에서 추간관의 퇴행이 모사되면, 염증처리된 수핵세포의 분비단백질은 제 1 신경챔버연결채널을 통해 제 1 추간관챔버에서 신경챔버로 유동되어 신경세포를 자극하고, 섬유륜세포의 분비단백질에 의한 자극에 의해 신경세포의 수상돌기는 제 1 신경챔버연결채널로 내성장되는 기전이 관찰될 수 있다.

[0176] 본 발명은 제 1a 이동채널(116d1), 제 1b 이동채널(116d2), 제 2a 이동채널(116d3)과 제 2b 이동채널(116d4)에 각각 연결된 FET 기반 센서부(130d1, 130d2, 130d3, 130d4)에서 다종의 표적단백질이 센싱되어, 추간관의 퇴행 시, 염증처리된 수핵세포와 섬유륜세포의 상호 작용, 염증처리된 수핵세포와 신경세포의 상호 작용, 섬유륜세포와 신경세포의 상호작용, 혈관생성세포와 염증처리된 수핵세포 간의 상호작용, 신경세포와 혈관생성세포 간의 상호작용, 또는 섬유륜세포와 혈관생성세포 간의 상호작용에 의한 추간관의 통증을 연구에 적용될 수 있다.

[0178] 실험자는 실험목적에 따라 제 1 추간관챔버(112d) 내지 제 3 추간관챔버(114d2)에 이종세포를 독립배양함으로써, 염증처리된 섬유륜세포와 신경세포의 상호 작용, 염증처리된 수핵세포와 신경세포간의 상호 작용, 염증처리된 섬유륜세포와 염증처리된 수핵세포 간의 상호작용, 염증처리된 섬유륜세포가 염증처리되지 않은 수핵세포 간의 상호 작용, 염증처리된 섬유륜세포와 혈관세포 간의 상호작용, 염증처리된 수핵세포와 혈관세포 간의 상호작용 등등, 다양한 병리학적 기전을 관찰할 수 있다.

[0180] ● 추간관 질환연구용 분비단백질 검출장치

[0181] 이하에서는, 추간관 질환연구용 분비단백질 검출장치(200)에 대해 설명하기로 한다.

[0182] 도 2에 도시된 바와 같이, 추간관 질환연구용 분비단백질 검출장치(200)는 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100) 및 검출부(210)를 포함한다.

[0183] 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100)은 상술한 제 1 실시예 내지 제 5 실시예에서 예시적으로 설명된 구조가 선택적으로 사용될 수 있다. 다만, 본 명세서에서는 설명의 편의를 위해, 제 1 실시예의 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100)에 검출부(210)가 연결된 구조에 대해 설명하기로 한다.

[0184] 도 2에 도시된 바와 같이, 검출부(210)는 추간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100)의 FET 기반 센서부(130)에 전기적으로 연결된다. 검출부(210)는 FET 기반 센서부(130)에서 센싱된 전압-전류신호를 분석하여, FET 기반 센서부(130)의 반응체에 결합되는 표적단백질의 종류 및 개수를 판별하고, 표적단백질의 함량을 측정한다.

[0185] 본 실시예에서, 검출부(210)는 FET 기반 센서부(130)가 복수 개로 구비된 경우에, 각각의 FET 기반 센서부(130)에서 센싱된 표적단백질의 종류, 개수, 함량을 검출할 수 있다.

[0186] 도 10에 도시된 바와 같이, 검출부(210)는 FET 기반 센서부(130)로부터 전압-전류신호를 전송받는다. 이때, 전

압신호는 게이트전압(V_g)값이고, 전류신호는 센싱채널을 흐르는 채널전류값(I_{ds})이다.

- [0187] 검출부(210)는 전압-전류신호로부터 복수의 센싱채널 중 어느 센싱채널에 항원항체반응이 일어나는지를 검출한다. 항원항체반응이 일어나면, 반응체의 종류에 따라 표적단백질의 종류가 판별된다.
- [0188] 표적단백질의 종류가 판별되면, 표적단백질의 종류 별로, 표적단백질의 함량이 측정될 수 있다. 검출부(210)는 게이트전압(V_g)에 따른 채널전류량(I_{ds}) 변화 그래프를 표적단백질 함량에 따른 채널전류량(I_{ds})변화 그래프로 변환하여, 표적단백질의 함량을 검출할 수 있다.
- [0189] 도 11 및 도 12를 예로 들어 설명하면 다음과 같다. 도 11은 표적단백질의 농도변화에 따른 게이트전압(V_g)-채널전류량(I_{ds}) 그래프이다. 도 12는 0.5V의 게이트전압(V_g)에서, 표적단백질 함량-채널전류 그래프이다. 도 11 및 도 12의 표적단백질은 IL-6(interleukin-6)이다. IL-6(interleukin-6)은 통증 전달과 관련된 단백질이다.
- [0190] 본 발명은 설명의 편의를 위하여, 게이트전압(V_g)의 변화에 따라 채널전류량(I_{ds})이 선형으로 가변되는 특정구간에 대해 "선형구간"이라 지칭한다. 도 11에 도시된 바와 같이, 표적단백질이 IL-6(interleukin-6)일 때, 선형구간은 -0.5V 내지 0.5V 구간임을 알 수 있다. 다만, 선형구간은 표적단백질의 종류에 따라 게이트전압(V_g)범위가 가변된다. 이는, 표적단백질과 반응체 간의 항원항체반응에 따라 전류민감도가 가변되기 때문이다.
- [0191] FET 기반센서부에서 0ng/ml의 농도의 표적단백질이 센싱되면, 도 11에 도시된 바와 같이, 선형구간 내의 -0.5V 내지 0.5V의 게이트전압(V_g)범위 에서 2.5mA 내지 3mA 범위 내의 채널전류량(I_{ds})이 센싱된다.
- [0192] FET 기반센서부에서 10ng/ml의 농도의 표적단백질이 센싱되면, 도 11에 도시된 바와 같이, 선형구간 내의 -0.5V 내지 0.5V의 게이트전압(V_g)범위 에서 1mA 내지 1.5mA 범위 내의 채널전류량(I_{ds})이 센싱된다.
- [0193] 도 11에 도시된 바와 같이, 채널전류량(I_{ds})은 선형구간에서 게이트전압(V_g)이 증가함에 따라 선형으로 증가함을 알 수 있다. 그리고, 채널전류량(I_{ds})은 선형구간에서, 표적단백질의 농도가 높아짐에 따라 저감됨을 알 수 있다.
- [0194] 도 11에 도시된 바와 같이, 0.5V의 게이트전압(V_g)에서, 0ng/ml의 농도의 표적단백질이 센싱되면 3mA의 채널전류량(I_{ds})이 측정된다. 0.5V의 게이트전압(V_g)에서, 1ng/ml의 농도의 표적단백질이 센싱되면 2.5mA이상의 채널전류량(I_{ds})이 측정된다. 0.5V의 게이트전압(V_g)에서, 5ng/ml의 농도의 표적단백질이 센싱되면 2mA이상의 채널전류량(I_{ds})이 측정된다. 0.5V의 게이트전압(V_g)에서, 10ng/ml의 농도의 표적단백질이 센싱되면 1.5mA의 채널전류량(I_{ds})이 측정된다.
- [0195] 도 11의 그래프를 통해, 동일한 게이트전압(V_g)에서 표적단백질이 센싱될 때, 표적단백질의 농도가 높을수록 채널전류량(I_{ds})이 저감됨을 알 수 있다. 이는, 표적단백질의 농도가 높을수록 반응체와 결합되는 표적단백질의 함량이 많아, 센싱채널을 흐르는 채널전류의 흐름이 원활하지 않기 때문이다.
- [0196] 도 12에는 0.5V의 게이트전압(V_g)에서, IL-6의 함량에 따른 채널전류량(I_{ds}) 변화가 도시되어 있다. 도 12에 도시된 그래프는 도 11의 게이트전압(V_g)-채널전류량(I_{ds}) 변화그래프에서, 기준전위의 게이트전압(V_g)에서 표적단백질의 함량변화에 따른 채널전류량의 변화로 역산한 그래프이다. 도 12에 도시된 게이트전압(V_g)의 기준전위는 0.5V이다.
- [0197] 도 12의 그래프에서, 기준전위의 게이트전압(V_g)에서 표적단백질의 함량변화에 따른 채널전류량의 변화는 카이스퀘어분포(chi-square distribution)의 검증시 R의 제곱값과 거의 동일함을 알 수 있다. 도 12의 그래프에서, R의 제곱은 카이스퀘어분포(chi-square distribution)에 의한 신뢰도이다. 도 12에서, R의 제곱값에 대한 기울기는 실선으로 표시되며, 표적단백질의 함량 기울기는 점선으로 표시된다. 카이스퀘어분포(chi-square distribution)에 따른 검증시, R의 제곱이 1에 가까울수록 기준값과 일치도가 높은 것을 나타낸다.
- [0198] 표적단백질 함량- 채널전류량 그래프에서 R의 제곱은 0.9909로서 거의 1에 근접한 바, 게이트전압(V_g)-채널전류량(I_{ds}) 그래프를 표준단백질 함량-채널전류량(I_{ds}) 그래프로 변환한 것의 신뢰도가 매우 높음을 알 수 있다.
- [0199] R의 제곱값이 거의 1에 근접한 것은, 도 11의 게이트전압(V_g)-채널전류량(I_{ds}) 변화그래프가, 기준전위의 게이트전압(V_g)에서 표적단백질의 함량변화에 따른 채널전류량의 변화 그래프로 변환하여, 표적단백질의 함량을 산출할 때, 표적단백질의 함량이 거의 정확하게 산출되는 것을 의미한다.
- [0200] 도 12에 도시된 바와 같이, 0.5V의 게이트전압(V_g)에서 동일한 표적단백질이 센싱될 때, 채널전류량(I_{ds})의 변화에 따라 표적단백질의 함량은 가변됨을 알 수 있다. 채널전류량(I_{ds})이 선형으로 저감되면, 표적단백질의 함량이 증가함을 알 수 있다. 채널전류량(I_{ds})이 3mA일 때, 표적단백질은 0ng 측정된다. 채널전류량(I_{ds})이 2.5mA

일 때, 1ng의 표적단백질이 측정된다. 채널전류량(I_{ds})이 2mA일 때, 5ng의 표적단백질이 측정된다. 채널전류량(I_{ds})이 1mA일 때 10ng의 표적단백질이 측정된다. 이는, 도 11의 0.5V의 게이트전압(V_g)에서 표적단백질의 농도 변화에 따른 채널전류량(I_{ds})의 변화를 역산한 값이다.

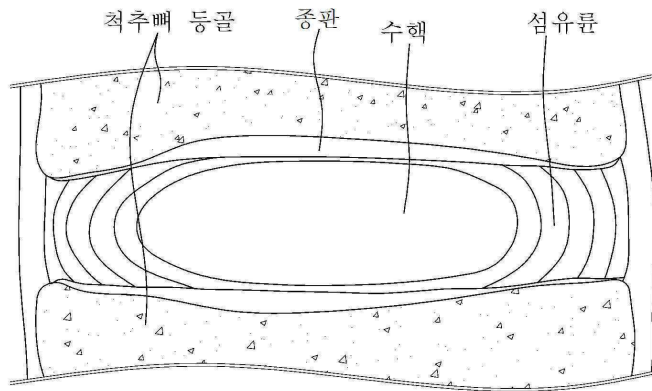
- [0202] 본 발명은 검출부(210)에서, 선형구간에서의 게이트전압(V_g)-채널전류 그래프에서 선형구간이 획득되면, 선형구간에서의 게이트전압(V_g)-채널전류 변화가 표적단백질 함량에 따른 채널전류변화로 변환된다. 본 발명은 검출부(210)를 통해, FET 기반 센서부(130)에서 센싱된 전압-전류신호(V_g - I_{ds})로부터 표적단백질의 함량을 실시간으로 검출할 수 있다.
- [0203] 본 발명은 제 1 배양세포에서 배양하는 중간관세포의 종류를 달리하여, 염증처리된 섬유분세포-신경세포, 또는 염증처리된 수핵세포-신경세포에서 동일한 표적단백질이 검출되는 경우, 표적단백질의 함량을 비교하여, 통증을 유발하는 표적단백질이 어떤 중간관세포로부터 기원하는지도 판단될 수 있다.
- [0204] 본 발명은 중간관 질환연구용 분비단백질 검출칩(100)의 표면에 반응체가 부착할 수 있도록 표면처리를 하여 결합시켰으며, 표적단백질-반응체 간의 결합력에 의해 변화에 따른 전류값의 선형성을 검토하여 표적단백질의 양을 정량하는 검출부(210)를 제공한다.
- [0205] 본 발명은 마이크로밸브(120)의 개폐 제어를 통해, 표적단백질을 실시간 관측할 수 있고, 또는, 관측 시간을 조정하여 표적단백질을 관찰할 수 있다. 본 발명은 FET 기반 센서부(130)의 전기 신호 전달(V_g - I_{ds})을 통해 실시간으로 단백질의 정량분석할 수 있다.
- [0206] 본 발명은 시간의 변화에 따라 표적단백질의 함량이 변화하는 경우에, 시간의 변화에 따른 다종의 표적단백질간의 상호작용을 실시간으로 관찰할 수 있다. 즉, 본 발명은 기존의 항원항체 분석기술과 달리, 생체외(in vitro)에서 표적단백질의 유무 및 함량을 실시간으로 검출할 수 있다. 이는, 다종의 세포가 발현하는 단백질과의 상관관계를 분석하는데 적용된다. 본 발명은 생체외 세포학(In vitro cell biology)에서 다양한 발현 단백질 상관관계를 실시간으로 비교하는 것에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0207] 아울러, 본 발명은 중간관세포 이외에 이중세포를 공동배양하여 이중세포에서 분비된 다양한 표적단백질의 변화량을 실시간으로 검출하여, 퇴행성 디스크 연구뿐만 아니라 다양한 조직에 적용 가능하다. 단백질 발현량의 변화는 조직간의 상호 작용에 있어, 매우 중요한 기능을 한다.
- [0208] 한편, 검출부(210)는 전압-전류신호가 검출되지 않으면, 전압-전류신호의 잡음신호를 분석하여, FET 기반 센서부(130)의 기준전위를 재설정한다. 잡음신호분석은 게이트전압의 변화량의 선형성 검토에 의한다.
- [0209] 비록 본 발명의 몇몇 실시예들이 도시되고 설명되었지만, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 당업자라면 본 발명의 원칙이나 정신에서 벗어나지 않으면서 본 실시예를 변형할 수 있음을 알 수 있을 것이다. 발명의 범위는 첨부된 청구항과 그 균등물에 의해 정해질 것이다.

부호의 설명

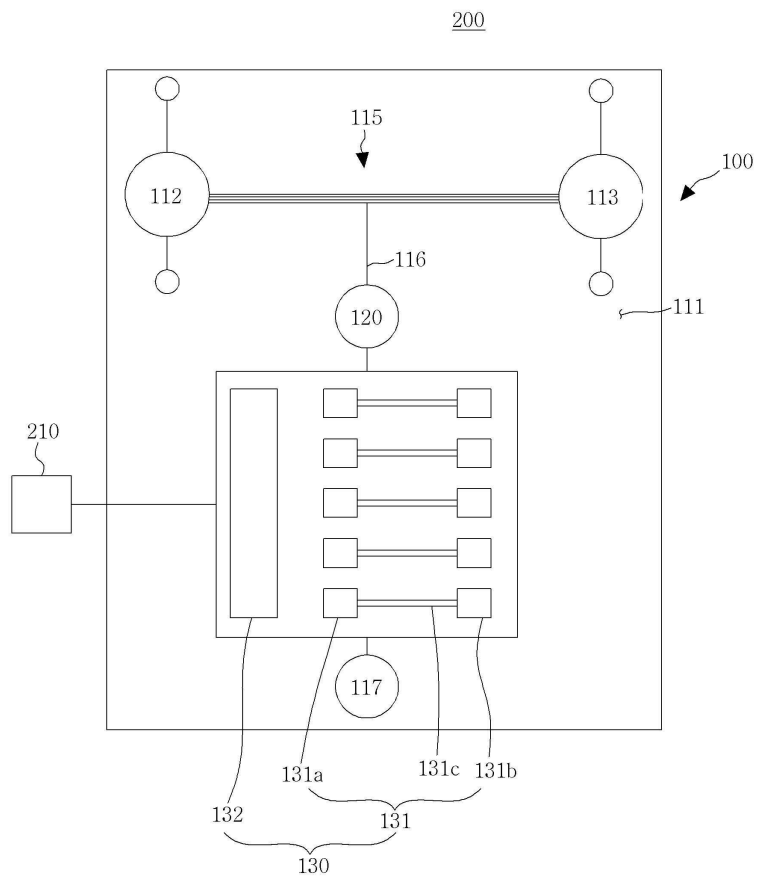
- [0211] 100, 100a, 100b, 100c, 100d : 중간관 질환연구용 분비단백질 검출칩
- 120: 마이크로밸브
- 130: FET 기반 센서부
- 200: 중간관 질환연구용 분비단백질 검출장치
- 210: 검출부

도면

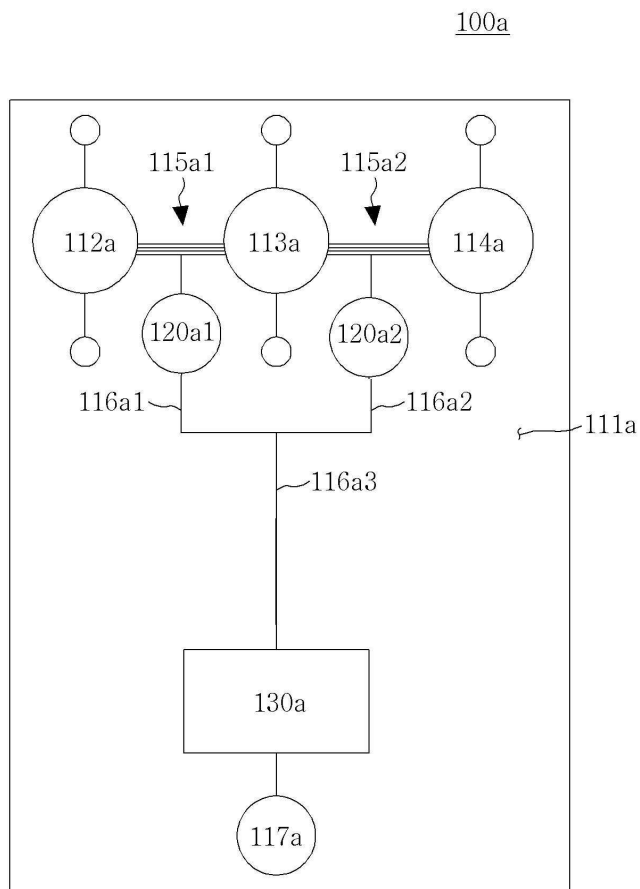
도면1



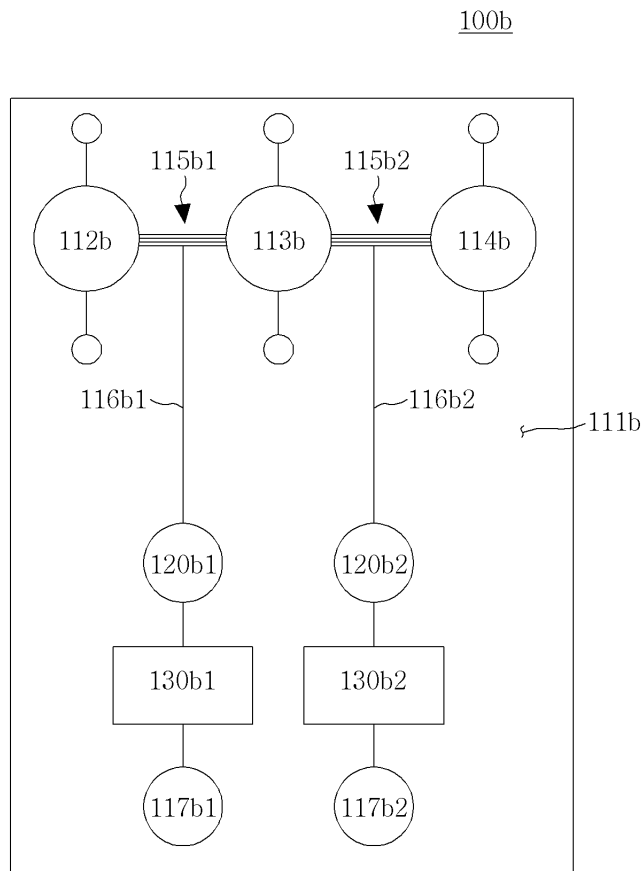
도면2



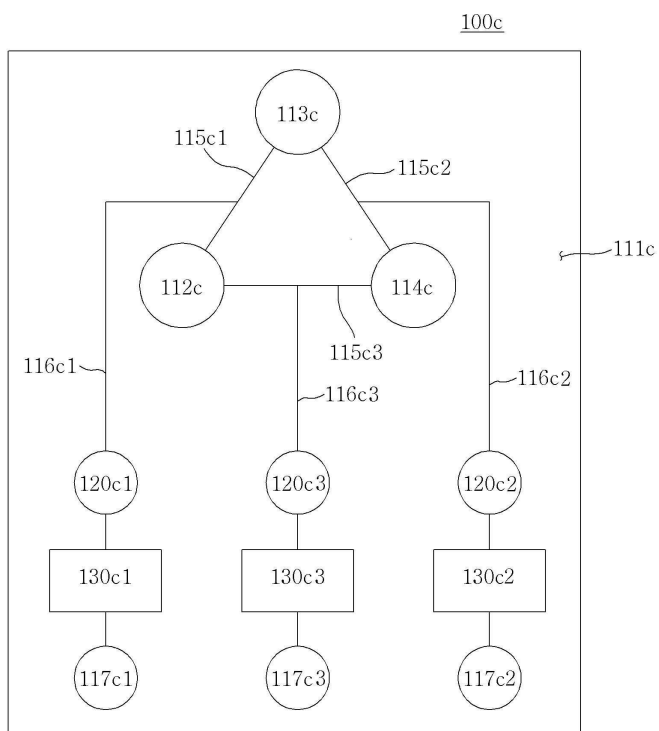
도면3



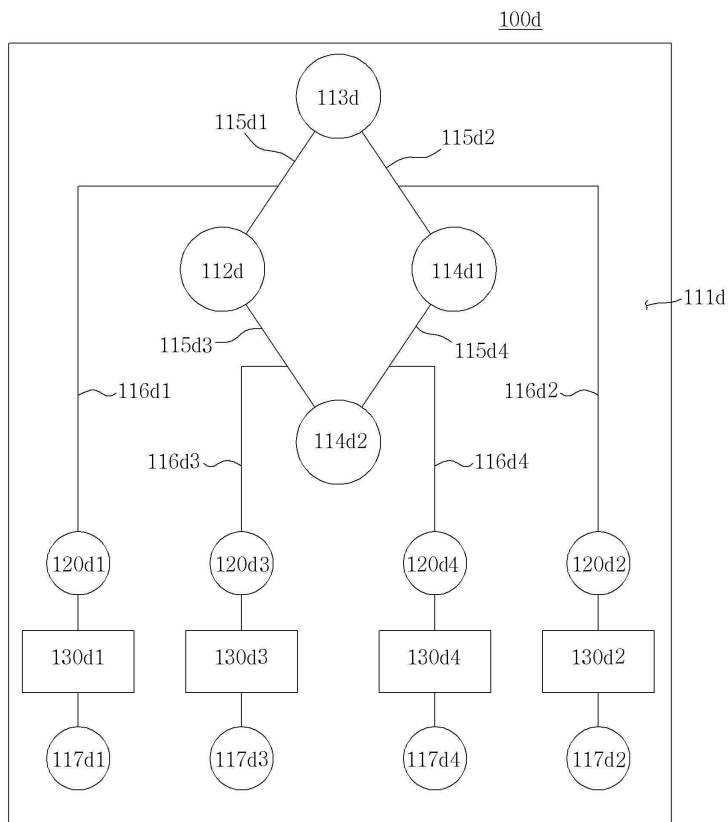
도면4



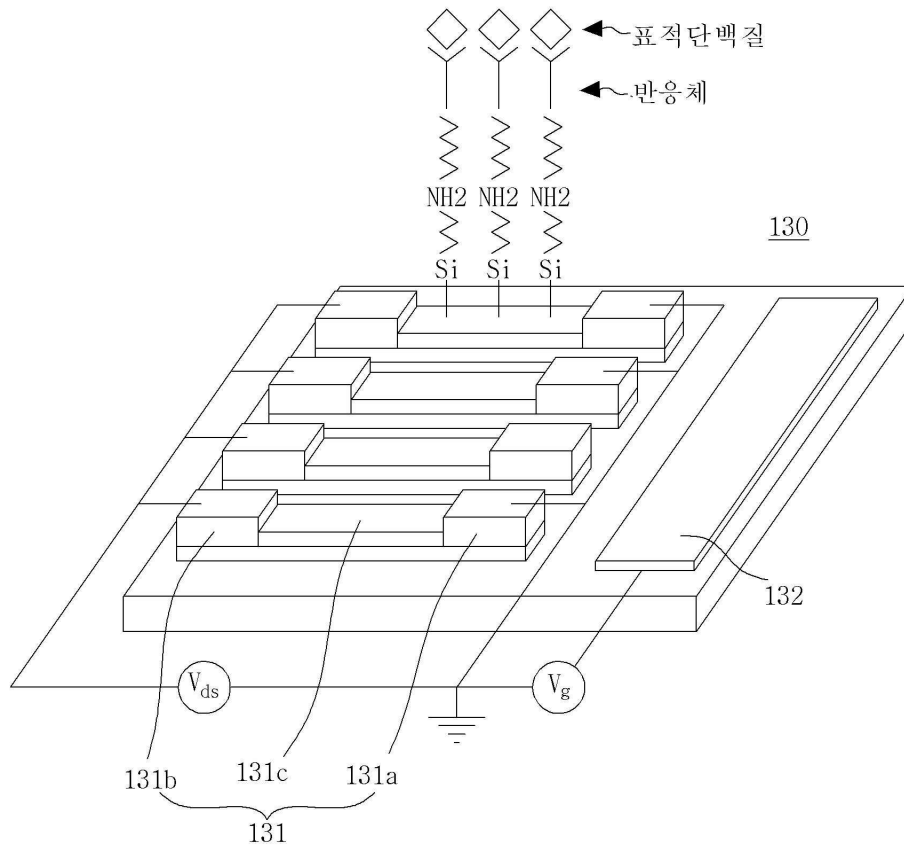
도면5



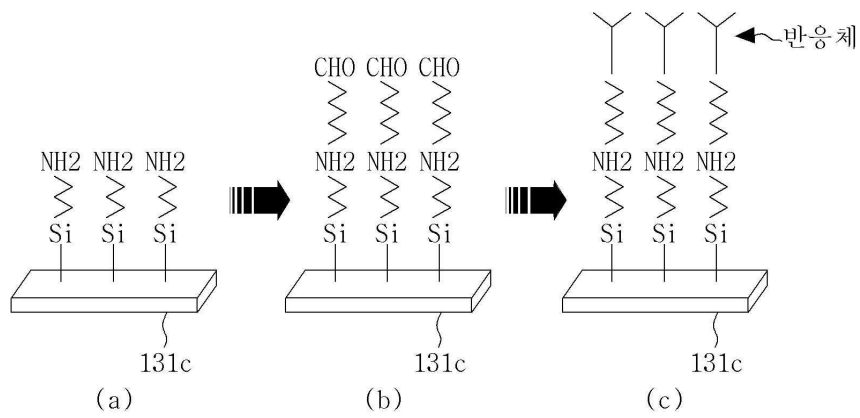
도면6



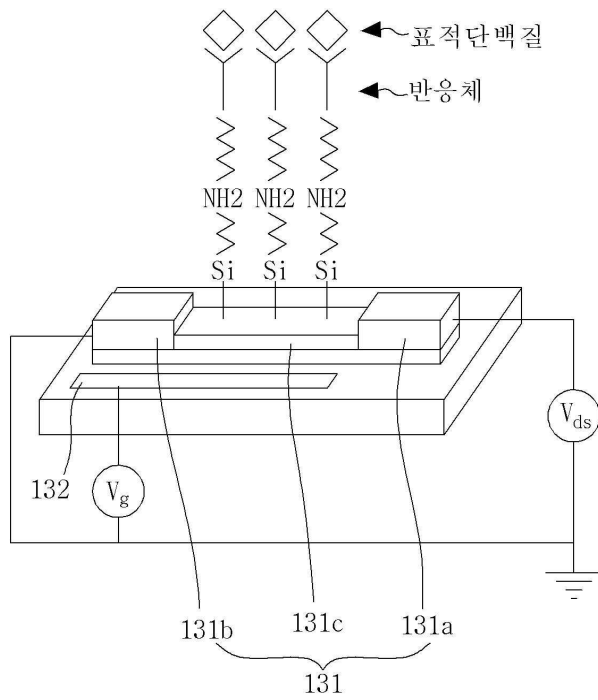
도면7



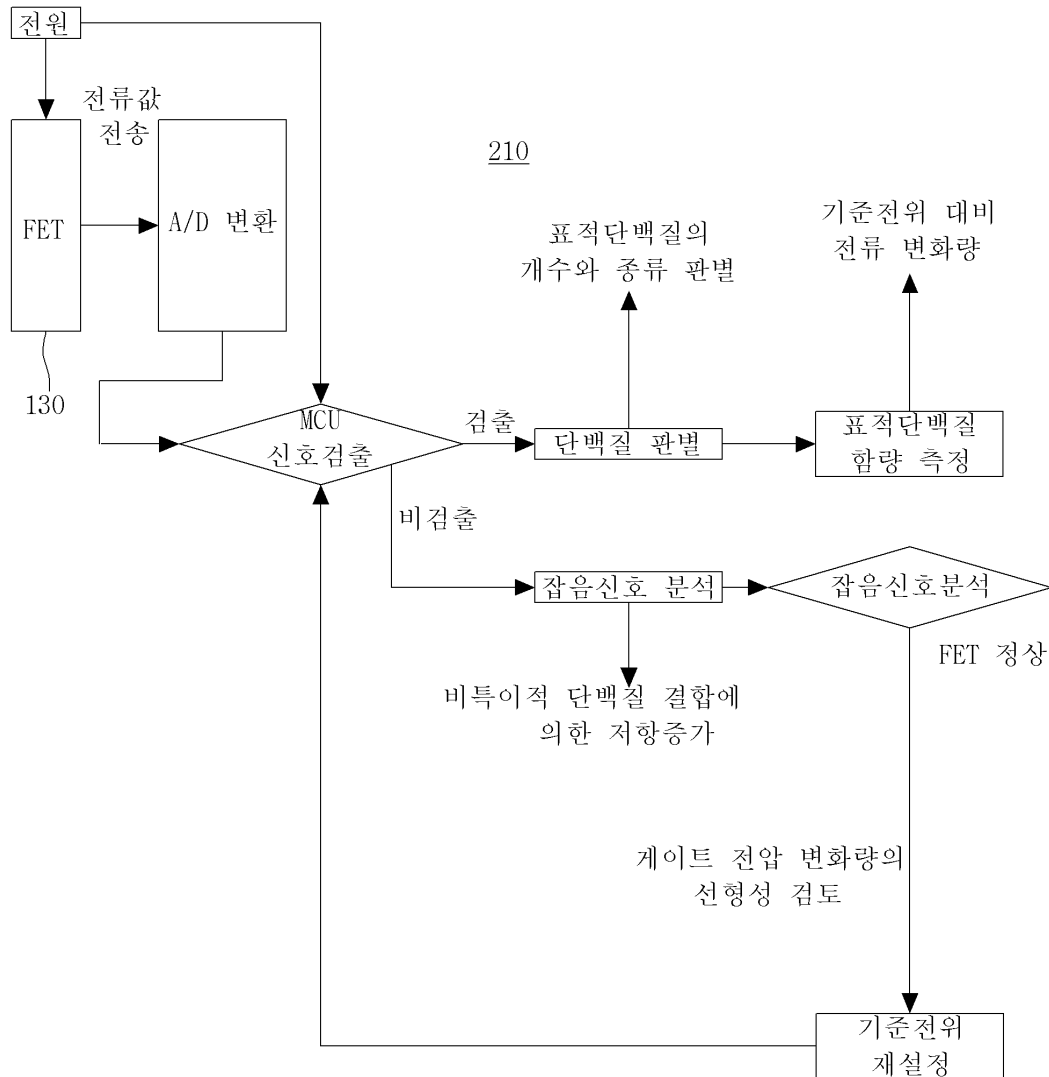
도면8



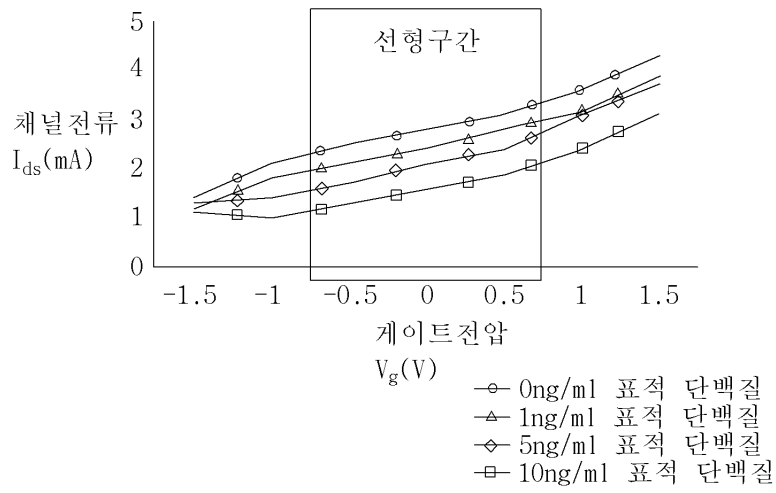
도면9



도면10



도면11



도면12

