(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0093594
(43) 공개일자 2024년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 3/06 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)
C12M 1/12 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12M 23/16 (2013.01)
C12M 25/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7016093(분할)
(22) 출원일자(국제) 2009년07월16일
심사청구일자 2024년05월14일
(62) 원출원 특허 10-2022-7043513
원출원일자(국제) 2009년07월16일
심사청구일자 2022년12월12일
(85) 번역문제출일자 2024년05월14일
(86) 국제출원번호 PCT/US2009/050830
(87) 국제공개번호 WO 2010/009307
국제공개일자 2010년01월21일
(30) 우선권주장
61/081,080 2008년07월16일 미국(US)

(71) 출원인
칠드런'즈 메디컬 센터 코포레이션
미국 매사추세츠 보스턴 새턱 스트리트 55 (우편번호:02115)
(72) 발명자
잉베르, 도날드 이.
미국 02116 메사추세츠주 보스톤 몽고메리 스트리트 71
허동은
미국 02215 매사추세츠주 보스톤 피터버러 스트리트 115 #44
(74) 대리인
문두현

전체 청구항 수 : 총 9 항

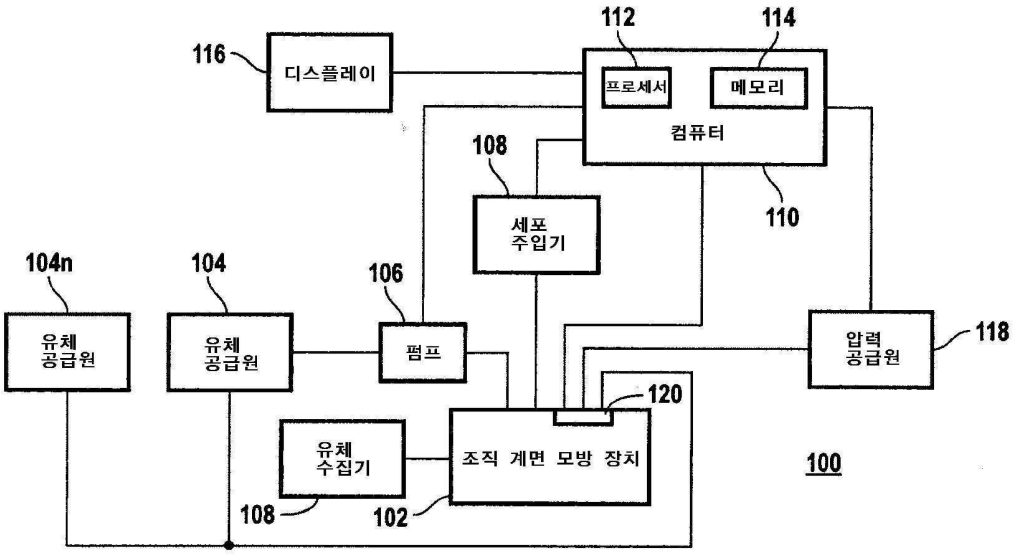
(54) 발명의 명칭 **마이크로유체 장치 내에서 역학적 운동을 일으키는 방법 및 마이크로유체 장치**

(57) 요 약

하기를 제공한다.

마이크로유체 장치 내에서 역학적 운동을 일으키는 방법으로서, a) 하나 이상의 다공성 연성(flexible) 막에 의해 분리된 중심 마이크로채널을 갖는 본체; 및 b) 상기 하나 이상의 다공성 연성 막을 팽창 및/또는 수축하여 상기 장치 내에서 역학적 운동을 일으키는 단계를 포함하는 방법

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12M 29/00 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

마이크로유체 장치 내에서 역학적 운동을 일으키는 방법으로서,

a) 하나 이상의 다공성 연성(flexible) 막에 의해 분리된 중심 마이크로채널을 갖는 본체를 포함하는 장치를 제공하는 단계; 및

b) 상기 하나 이상의 다공성 연성 막을 팽창 및/또는 수축하여 상기 장치 내에서 역학적 운동을 일으키는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 하나 이상의 다공성 연성 막은 세포 접착성 분자로 코팅되어 있고, 상기 마이크로유체 장치는 상기 하나 이상의 다공성 연성 막 상의 상기 접착성 분자에 부착된 세포를 더 포함하는, 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 팽창 및/또는 수축은 마이크로모터 또는 액추에이터에 의해 수행되는, 방법.

청구항 4

마이크로유체 장치로서,

하나 이상의 다공성 연성(flexible) 막에 의해 분리된 중심 마이크로채널을 갖는 본체를 포함하고, 상기 막은 팽창 및/또는 수축하도록 구성된 장치.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 막은 가해진 압력차에 응하여 팽창 및/또는 수축하는, 장치.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 하나 이상의 다공성 연성 막은 세포 접착성 분자로 코팅되어, 상기 접착성 분자에 대한 세포의 부착을 지지하도록 구성된, 장치.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 마이크로유체 장치는, 상기 장치를 하나 이상의 외부 유체 공급원과 연통하게 배치하도록 구성된, 둘 이상의 포트를 더 포함하는, 장치.

청구항 8

제4항에 있어서, 상기 마이크로유체 장치는 생체적합성 또는 생분해성 재료를 더 포함하는, 장치.

청구항 9

제4항에 있어서, 상기 하나 이상의 다공성 연성 막의 두께는 70nm 내지 50㎛인, 장치.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원과의 상호 참조

[0002] 본 출원은 35 U. S. C. 119조(e) 하에서, 2008년 7월 16일자로 출원된 미국 가출원 제61/081,080호의 이득을 주장하며, 이 출원의 내용은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0003] 정부 지원

[0004] 본 발명은 미국국립보건원(National Institutes of Health)이 인정한 승인 번호: NIH ROl ES016665-01A1 하에서 정부 지원으로 이루어졌다. 정부는 본 발명에 대해 일정한 권리를 갖는다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 발명은 일반적으로 마이크로채널을 갖는 기관 모방 장치 및 그 사용 및 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 배경기술

[0008] 역학적 힘 - 밀기, 당기기, 인장, 압축 - 은 세포 발생 및 거동의 중요한 조절인자이다. 텐세그리티(tensegrity)는 이들 물리적 힘이 세포 또는 조직 내부에서 어떻게 분포되는지, 그리고 이들 물리적 힘이 그들의 영향을 어떻게 그리고 어디에 주는지를 결정하는 구조를 제공한다.

[0009] 인체에서, 대부분의 세포는 끊임없이 인장 또는 압축과 같은 역학적 힘을 받는다. 배양액 내의 세포에의 역학적 변형(mechanical strain)의 인가는 생체내(in vivo) 환경을 시뮬레이션하여, 세포 내에서 극적인 형태학적 변화 및 생체역학적 반응을 일으킨다. 세포가 배양액 내에 역학적으로 로딩될 때 일어나는 장기간 변화 및 단기간 변화 둘 모두가 있으며, 예를 들어 DNA 또는 RNA 합성 또는 분해, 단백질 발현 및 분비의 속도 및 양에 있어서의 변경, 세포 분열 및 정렬의 속도에 있어서의 변경, 에너지 대사에 있어서의 변화, 거대분자 합성 또는 분해의 속도에 있어서의 변화, 및 생화학 및 생체에너지학에 있어서의 다른 변화이다.

[0010] 모든 세포는 분자 "스트러트 및 와이어"로부터 형성되는 격자인, 내부 뼈대(internal scaffolding), 또는 세포골격을 갖는다. "와이어"는 미세섬유(microfilament)로 알려진 미세한 케이블들의 교차 네트워크(crisscrossing network)로, 이는 세포막으로부터 핵으로 신장하여 내향 당김(inward pull)을 나타낸다. 이러한 당김에 대항하는 것이 미세소관, 즉 세포골격의 보다 두꺼운 압축-견딤(compression-bearing) "스트러트", 및 세포를 세포들의 그룹을 함께 유지하는 섬유질 물질인 세포외 기질에 고정시키는, 세포의 외부 막 상의 특수화된 수용체 분자이다. 이러한 힘의 균형이 텐세그리티의 특징이다.

[0011] 조직은 "달걀 상자(egg carton)"에 놓여 있는 달걀들처럼, 세포외 기질의 세포들의 그룹으로부터 구성된다. 세포들을 기질에 고정시키는 수용체 분자 - 인테그린으로 알려짐 - 는 세포들을 더 넓은 세계에 연결시킨다. 조직에 대한 역학적 힘은 먼저 이들 고정점에서 인테그린에 의해 느껴지고, 이어서 세포골격에 의해 각각의 세포 내부의 심부로 운반되는데, 이 힘은 단백질 분자의 형상을 진동 또는 변화시켜 생화학적 반응을 유발시키거나, 또는 핵 내의 염색체를 잡아당겨 유전자를 활성화시킬 수 있을 것이다.

[0012] 세포는 또한 근육처럼 "톤(tone)"을 갖는다고 할 수 있는데, 이는 세포골격 섬유의 일정한 당김 때문이다. 늘어난 바이올린 현이, 그 길이를 따라 상이한 지점에서 힘이 인가될 때, 상이한 소리를 만들어내는 것과 흡사하게, 세포는 그것이 얼마나 많이 변형되는지에 따라 상이하게 화학 신호를 처리한다.

[0013] 성장 인자는 세포가 얼마나 많이 신장되는지에 따라 상이한 효과를 가질 것이다. 상처 표면에서의 것들과 같이 신장되고 편평해진 세포는 성장하고 증가하려는 경향이 있는 반면, 과도하게 밀집된 상태에 의해 위축된, 둥글게 된 세포는 "자살(suicide)" 프로그램을 스위치 온하고 죽는다. 대조적으로, 신장되지도 수축되지도 않은 세포는 그의 의도된 기능을 계속한다.

[0014] 세포 텐세그리티의 또 다른 원칙(tenet)은 물리적 위치가 중요하다는 것이다. 조절 분자들이 세포 내부에서 마음대로 떠돌아다닐 때, 이들 분자의 활성은 전체로서 세포에 작용하는 역학적 힘에 거의 영향을 받지 않는다. 그러나, 그들이 세포골격에 부착될 때, 그들은 그 보다 큰 네트워크의 일부가 되며, 세포 의사 결정(cellular decision-making)에 영향을 주는 위치에 있게 된다. 많은 조절 및 신호전달 분자는 인테그린이 모이는 접착 부위로 알려진 지점(spot) 내의 세포의 표면 막에서 세포골격 상에 고정된다. 이들 최고의 장소는 컴퓨터 네트워크 상의 노드와 같은 핵심 신호-처리 센터이며, 여기서 이웃 분자들이 외부 세계로부터의 역학적 정보를 받아들이고 신호를 교환할 수 있다.

[0015] 따라서, 생리학적인 환경에서 약물, 약물 전달 비히클, 나노진단제 또는 치료제 또는 환경적 스트레스 인자, 예

를 들어 입자, 기체, 및 독소의 최대 효과를 평가하는 것은 세포-세포 상호작용 및 세포-화학물질 상호작용에 관한 연구뿐만 아니라, 이들 상호작용이 건강한 조직 및 질환에 이환된 조직 둘 모두에서 생리학적인 역학적 힘에 의해 어떻게 영향을 받는지에 대한 연구도 필요로 한다.

[0016] 배양액 내에서 세포의 역학적 환경 또는 반응을 변경시키는 방법들은 단층(monolayer)을 긁어내거나, 자계 또는 전계를 인가하거나, 또는 스크류 장치, 수압, 또는 추를 사용하여 배양 세포에 직접 정적 또는 주기적 인장 또는 압축을 인가함으로써 세포를 손상시키는 것을 포함해 왔다. 세포를 유체 유동에 놓이게 함으로써 전단 응력이 또한 유도되어 왔다. 그러나, 이들 수법의 거의 대부분은 생리학적으로 관련된 조직-조직 상호작용을 유지하는 배양 미세환경 내에서 폭넓은 재현가능한 범위의 주기적 변형을 달성하도록 조절을 제공하지 않았거나 인가된 변형의 정량을 가능하게 하지 않았다.

[0017] 생체 기관(living organ)은 근접하여 나란히 놓여진 2개 이상의 조직으로 구성된 3차원 혈관화된 구조물로, 이는 집합적으로 기능하고 유체 전단 및 역학적 변형과 같은 동적 역학적 힘의 존재 하에서 조직-조직 계면을 가로질러 물질, 세포 및 정보를 수송한다. 생리학적 조직-조직 계면을 재현하고 유체 유동 및 동적 역학적 변형을 가능하게 하는, 살아있는 세포를 함유하는 마이크로장치의 창조는 복잡한 기관 기능, 예를 들어 면역 세포 수송(trafficking), 영양소 흡수, 감염, 산소 및 이산화탄소 교환 등의 연구에 있어서, 그리고 약물 스크리닝, 독물학, 진단학 및 치료학에 있어서 큰 가치를 가질 것이다.

[0018] 폐포-모세혈관 단위는 폐의 정상적인 생리학적 기능의 유지에 있어서뿐만 아니라 다양한 폐질환의 병인 및 진행에 있어서 중요한 역할을 한다. 폐의 복잡한 구조, 작은 크기의 폐포들 및 그들을 둘러싸는 미세혈관, 및 이 기관의 동적 역학적 운동으로 인해, 마이크로스케일로 이 구조를 연구하기란 어렵다.

[0019] 폐는 기체 교환이 일어나는 현미경적 폐포 구획으로 및 이로부터 대류 기체 수송을 가능하게 하는 전도관(conducting tube)의 계층적 분지 네트워크를 갖는 해부학적으로 독특한 구조를 갖는다. 폐포는 정상적인 호흡을 위한 폐의 가장 중요한 기능적 단위이며, 그것은 혈액-기체 장벽 또는 계면일 뿐만 아니라, 계면활성제가 공기 유입을 가능하게 하도록 작용하고, 급성 호흡 곤란 증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS) 환자 또는 감염, 예를 들어 폐렴 환자에서 면역 세포, 병원체 및 유체가 축적되는 부위라는 점에서 가장 임상적으로 적절하다.

[0020] 폐 모세혈관과 폐포 내강 사이의 혈액-기체 장벽 또는 조직-조직 계면은 배아에서 세포 및 분자의 자기-집합(self-assembly)을 통하여 형성되는 얇은 세포외 기질(extracellular matrix, ECM)에 의해 분리된 모세혈관 내피의 단일층에 근접하여 나란히 놓여진 폐포 상피의 단일층으로 구성된다. 사실상, 폐포-모세혈관 단위의 기능에 관한 모든 분석은 동물 전체(whole animal) 연구에서 수행되어 왔는데, 이는 그것이 시험관내에서(in vitro) 이 기관-수준 구조물을 재생하는 데 가능하지 않았기 때문이다.

[0021] 폐포-모세혈관 단위의 핵심 구조 조직화, 생리학적 기능, 및 생리학적 또는 병리학적 역학적 활성을 나타내는 다세포 및 다조직 기관-유사 구조물의 집합을 촉진시킬 수 있는 실험 도구의 결여에 큰 난제가 놓여 있는데, 이러한 실험 도구는 보통 각 호흡 주기 동안 반복된 팽창 및 수축을 받는다. 이러한 제한은 그것이 시험관내에서 이 기관-수준 구조물을 재생할 수 있고 그의 생리학적인 역학적 미세환경을 재현(recapitulate)할 수 있다면 극복할 수 있을 것이다. 그러나, 이것은 충분히 달성되어 있지 않다.

[0022] 필요한 것은 조직-조직 관련 기능을 수행하고, 또한 화학적 힘뿐만 아니라 역학적 힘에도 응하여 세포를 장치내에 자연적으로 조직화할 수 있게 하고, 조직-조직 생리를 모방하는 막을 통한 세포 거동에 관한 연구를 가능하게 하는, 시험관내 또는 생체내에서 사용될 수 있는 기관 모방 장치이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0023] 시스템 및 방법은 하나 이상의 다공성 막에 의해 분리된 중심 마이크로채널을 갖는 본체(body)를 포함한다. 이들 막은 중심 마이크로채널을 근접하여 나란히 배치된 2개 이상의 평행한 중심 마이크로채널로 분할하도록 구성되며, 여기서 하나 이상의 제1 유체가 제1 중심 마이크로채널을 통해 적용되고, 하나 이상의 제2 유체가 제2 또는 그 이상의 중심 마이크로채널을 통해 적용된다. 각각의 다공성 막의 표면은 세포 접착성 분자로 코팅되어 세포의 부착을 지지하고 각각의 막의 상면 및 하면 상의 조직 내로의 세포의 조직화를 촉진시킬 수 있으며, 그럼으로써 인접한 평행한 유체 채널들 사이의 다공성 막에 의해 분리된 하나 이상의 조직-조직 계면을 생성할 수 있다. 막은 다공성이거나, 연성이거나, 탄성이거나, 또는 이들의 조합일 수 있으며, 이때 기공은 단지 기체 및

작은 화학물질의 교환을 허용하기만 하기에 충분히 크거나, 또는 큰 단백질 및 살아있는 세포 전체(whole living cell)의 이동 및 채널횡단 통과(transchannel passage)를 허용하기에 충분히 크다. 원하는 유체 전단 응력을 하나 또는 둘 모두의 조직층에 가하기 위하여 유체 압력, 유동 특성 및 채널 기하형상이 또한 변화될 수 있다.

과제의 해결 수단

[0024] 일 실시 형태에서, 중심 채널에 인접한 작동 채널들에는 양압 또는 음압이 인가되고, 이 양압 또는 음압은 압력차를 생성하고, 이 압력차는 압력에 응하여 막을 선택적으로 팽창 또는 수축시키고, 그럼으로써 추가로 살아있는 조직-조직 계면의 역학적 힘을 생리학적으로 시뮬레이션한다.

발명의 효과

[0025] 다른 실시 형태에서, 3개 이상의 평행한 마이크로채널이 복수의 평행한 다공성 막에 의해 분리되는데, 이들 막은 중심 채널 내에서는 공통된 조직 유형에 의해, 그리고 2개의 외부 채널 내에서는 이들 막의 반대면 상에 2개의 상이한 조직 유형에 의해 라이닝(lining)된다. 일례가 암 모방 장치가 될 것이며, 여기서는 암 세포가 중심 마이크로채널 내 및 다공성 막 둘 모두의 내부 표면 상에서 성장하며, 한편 모세혈관 내피가 한 다공성 막의 반대 표면 상에서 성장하고, 림프관 내피가 제2 다공성 막의 반대 표면 상에서 성장한다. 이는 종양 마이크로구조를 재현하고, 혈관 도관을 통한 산소, 영양소, 약물 및 면역 세포의 전달뿐만 아니라 림프관 마이크로채널을 통한 종양 세포 방출 및 전이에 관한 연구를 가능하게 한다.

도면의 간단한 설명

[0026] 본 명세서 내로 포함되고 이의 일부를 구성하는 첨부된 도면은 실시 형태들의 하나 이상의 예를 도시하며, 예시적인 실시 형태들에 관한 설명과 함께, 이들 실시 형태의 원리 및 구현을 설명하는 역할을 한다. 이들 도면에서:

도 1은 일 실시 형태에 따라 예시적인 기관 모방 장치를 사용하는 시스템의 블록도를 도시한다.

도 2a는 일 실시 형태에 따라 기관 모방 장치의 사시도를 도시한다.

도 2b는 일 실시 형태에 따라 기관 모방 장치의 분해도를 도시한다.

도 2c 내지 도 2d는 일 실시 형태에 따라 장치의 조직-조직 계면 영역의 사시도를 도시한다.

도 2e 내지 도2g는 하나 이상의 일시 형태에 따라 장치의 조직-조직 계면 영역의 탑다운형 단면도를 도시한다.

도 3a 내지 도 3b는 일 실시 형태에 따라 장치의 조직-조직 계면 영역의 사시도를 도시한다.

도 3c 내지 도 3e는 하나 이상의 실시 형태에 따라 막의 사시도를 도시한다.

도 4a 내지 도 4c는 일 실시 형태에 따라 2채널 장치의 막의 형성에 관한 사시도를 도시한다.

도 4d는 일 실시 형태에 따라 조직-조직 계면 장치의 막의 측면도를 도시한다.

도 5a 내지 도 5e는 일 실시 형태에 따라 기관 모방 장치의 형성에 관한 사시도를 도시한다.

도 6은 일 실시 형태에 따라 다수의 채널을 갖는 기관 모방 장치를 사용하는 계통도를 도시한다.

도 7a 내지 도 7b는 일 실시 형태에 따라 기관 모방 장치의 사시도 도시한다.

도 7c는 일 실시 형태에 따라 기관 모방 장치의 막의 측면도를 도시한다.

도 8 및 도 9는 본 발명의 장치를 사용하여 수행한 실험에 따라 시간 경과에 따른 ROS 생성을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 예시적인 실시 형태가 기관 시뮬레이션 장치 및 그 사용 및 제조 방법과 관련하여 본 명세서에 기재되어 있다. 당업자는 하기의 설명이 단지 예시적이며 어떠한 방식으로든 제한되는 것으로 의도되지 않음을 인식할 것이다. 다른 실시 형태는 본 발명의 이득을 갖는 그러한 숙련된 자에게 그 자체를 용이하게 제시할 것이다. 이제, 첨부된 도면에 도시된 예시적인 실시 형태의 구현에 대하여 상세하게 참조할 것이다. 동일한 도면 부호가 동일하거나 유사한 항목을 언급하기 위하여 도면 및 하기의 설명에 걸쳐 사용될 것이다. 어구 "일 일시 형태"는 하나

초과의 실시 형태를 포함하고, 따라서 간략함을 위한 단지 하나의 실시 형태로 제한되지 않음이 이해된다.

[0028] 본 발명에 따르면, 기관 모방 장치("본 발명의 장치"로도 지칭됨)는 바람직하게는 센서, 컴퓨터, 디스플레이 및 소프트웨어, 데이터 구성요소, 프로세스 단계 및/또는 데이터 구조를 이용하는 다른 전산 장비를 포함하는 전체적인 시스템에 사용된다. 기관 모방 장치와 함께 사용되는 컴퓨터 시스템에 관하여 본 명세서에 기재된 구성요소, 프로세스 단계, 및/또는 데이터 구조는 다양한 유형의 작동 시스템, 컴퓨팅 플랫폼, 컴퓨터 프로그램, 및/또는 범용 기계를 사용하여 구현될 수 있다. 추가적으로, 당업자는 범용성이 보다 적은 장치, 예를 들어 하드와이어드(hardwired) 장치, 현장 프로그램 가능한 게이트 어레이(field programmable gate array, FPGA), 주문형 집적 회로(application specific integrated circuit, ASIC) 등이 또한 본 명세서에 개시된 발명 개념의 범주 및 사상으로부터 벗어남 없이 사용될 수 있음을 인식할 것이다.

[0029] 일련의 프로세스 단계를 포함하는 방법이, 컴퓨터 또는 기계를 하기에 기재되는 기관 모방 장치와 함께 사용함으로써 구현되고 이들 프로세스 단계가 기계에 의해 판독가능한 일련의 명령들로서 저장될 수 있는 경우, 그들은 유형 매체(tangible medium), 예를 들어 컴퓨터 메모리 장치(예: ROM(읽기 전용 메모리), PROM(프로그램 가능한 읽기 전용 메모리), EEPROM(전기적으로 소거가능한 프로그램 가능한 읽기 전용 메모리), 플래시 메모리, 점프 드라이브 등), 자기 저장 매체(예: 테이프, 자기 디스크 드라이브 등), 광학 저장 매체(예: CD-ROM, DVD-ROM, 페이퍼 카드, 페이퍼 테이프 등) 및 다른 유형의 프로그램 메모리에 저장될 수 있다.

[0030] 본 발명의 장치의 실시 형태는 기초생물과학, 생명과학 연구, 약물 발견 및 개발, 약물 안전성 시험, 화학적 및 생물학적 검정뿐만 아니라 조직 및 기관 공학을 비롯한 다수의 분야에 적용될 수 있다. 일 실시 형태에서, 기관 모방 장치는 심혈관 질환, 암 질환, 및 기관-특이적 질환 생태의 기초 연구를 위한 미세혈관 네트워크 구조물로서 사용될 수 있다. 더욱이, 장치의 하나 이상의 실시 형태는 간, 신장, 폐, 장, 골수, 및 다른 기관 및 조직을 위한 기관 보조 장치에서뿐만 아니라 기관 대체 구조물에서 응용을 찾는다.

[0031] 다양한 환경적 신호에 대한 세포 반응이 본 발명의 장치와 조합될 수 있는 다양한 시스템을 사용하여 모니터링될 수 있다. 잘 알려진 센서를 사용하여 pH의 변화를 모니터링할 수 있다. 또한, 유전자 전사의 변화 또는 세포 생화학 또는 구조 조직화의 변화를 측정하기 위하여 연속적으로 또는 주기적으로 세포를 샘플링할 수 있다. 예를 들어, 또한 다공성 막 상에 성장된 "조직"에 현미경적 분석, 면역조직학적 분석, 동일계내 하이브리드화 분석, 또는 헤마톡실린 및 에로신 염색과 같은 염색을 이용한 통상적인 병리학적 분석을 행할 수 있다. 이들 분석을 위한 샘플은 실시간으로 수행되거나, 실험 후에 채취되거나 또는 연구 또는 실험 동안 상이한 스테이지에서 소량의 생검체(biopsy)를 채취함으로써 수행될 수 있다.

[0032] 막 상에 성장된 세포에 다른 세포, 예를 들어 면역계 세포 또는 세균성 세포를, 항체 또는 항체 매개성 세포를, 예를 들어 표적 특이적 세포 수용체를 가할 수 있다. 이들 세포를 바이러스 또는 다른 입자에 노출시킬 있다. 외부적으로 공급되는 물질, 예를 들어 세포, 바이러스, 입자 또는 단백질의 운동의 검출을 보조하기 위하여, 방사성 표지 또는 형광 표지와 같은 통상적인 수단을 사용하여 그들을 자연스럽게 표지화할 수 있다.

[0033] 세포는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7일, 적어도 1 내지 2주 사이, 그리고 심지어 2주 넘게 본 발명의 장치를 사용하여 성장되고, 배양되고 분석될 수 있다. 예를 들어, 하기에 논의되는 바와 같이, 개시된 장치의 일 실시 형태에서 얇은 다공성 막 상에 폐포 상피 세포와 폐 미세혈관 내피 세포의 공배양(co-culture)이 세포의 생존력의 손실 없이 2주 넘게 성장될 수 있음이 밝혀졌다.

[0034] 본 명세서에 개시된 기관 모방 장치는 많은 상이한 응용을 갖는데, 이러한 응용에는 제한 없이, 질환의 마커의 확인; 항암 치료제의 효능 평가; 유전자 치료 벡터의 시험; 약물 개발; 스크리닝; 세포, 특히 줄기 세포 및 골수 세포의 연구; 생체내 변환, 흡수, 청소, 대사, 및 생체 이물(xenobiotics)의 활성에 대한 연구; 상피층 또는 내피층을 가로질러 행해지는 화학적 또는 생물학적 에이전트의 수송 및 생체이용률에 대한 연구; 혈액-뇌 장벽을 가로질러 행해지는 생물학적 또는 화학적 에이전트의 수송에 대한 연구; 장 상피 장벽을 가로질러 행해지는 생물학적 또는 화학적 에이전트의 수송에 대한 연구; 화학적 에이전트의 급성 기초 독성에 대한 연구; 화학적 에이전트의 급성 국소 또는 급성 기관-특이적 독성에 대한 연구; 화학적 에이전트의 만성 기초 독성에 대한 연구; 화학적 에이전트의 만성 국소 또는 만성 기관-특이적 독성에 대한 연구; 화학적 에이전트의 최기형성에 대한 연구; 화학적 에이전트의 유전독성, 발암성, 및 변이원성에 대한 연구; 감염성 생물학적 에이전트 및 생물학적 무기의 검출; 유해한 화학적 에이전트 및 화학적 무기의 검출; 감염성 질환에 대한 연구; 질환을 치료하는 데 화학적 또는 생물학적 에이전트의 효능에 대한 연구; 질환을 치료하는 데 에이전트의 최적의 용량 범위에 대한 연구; 생물학적 에이전트에 대한 생체내에서의 기관의 반응의 예측; 화학적 또는 생물학적 에이전트의 약동학의 예측; 화학적 또는 생물학적 에이전트의 약동학의 예측; 에이전트에 대한 반응에 미치는 유전적 내용의 영

향에 관한 연구; 화학적 또는 생물학적 에이전트에 응한 유전자 전사에 대한 연구; 화학적 또는 생물학적 에이전트에 응한 단백질 발현에 대한 연구; 화학적 또는 생물학적 에이전트에 응한 대사 변화에 대한 연구가 포함된다. 기관 모방 장치는 또한 (예를 들어, 약물의 조직 대사와 등가의 방법으로) 재료에 미치는 세포의 효과를 위하여, 세포에 대하여 스크리닝하는 데 사용될 수 있다.

[0035] 본 발명의 장치는 역학적으로 활성인 조직, 예를 들어 심장, 폐, 골격근, 뼈, 인대, 힘줄, 연골, 평활근 세포, 장, 신장, 내피 세포 및 다른 조직으로부터의 세포로부터 배양된 세포에 대하여, 걷기, 달리기, 숨쉬기, 연동, 유체 또는 소변의 유동, 또는 심장 박동의 역학적 하중 환경을 시뮬레이션하는 데 사용될 수 있다. 정적 환경에서의 세포의 생물학적 또는 생화학적 반응을 시험하기보다는, 연구자는 인장, 압축 및 전단을 비롯한 역학적 응력의 일정 범위의 빈도, 진폭 및 지속시간을 배양된 세포에 가할 수 있다.

[0036] 숙련된 기술자는 막의 표면 상에 다양한 유형의 세포를 이식할 수 있다. 세포는 선충류, 아메바류, 포유류(예를 들어, 사람)를 비롯한 다세포 구조물로부터의 임의의 세포 유형을 포함한다. 장치 상에 이식되는 세포 유형은 모방하기를 원하는 기관 또는 기관 기능의 유형, 및 그러한 기관을 포함하는 조직에 좌우된다. 본 발명의 장치의 막 상에 이식가능한 세포의 다양한 유형에 대한 보다 상세한 내용이 하기에 논의되어 있다.

[0037] 또한, 다양한 줄기 세포, 예를 들어 골수 세포, 유도된 성체 골수 세포, 배아 줄기 세포 또는 성체 조직으로부터 분리된 줄기 세포를 다공성 막의 어느 한면 또는 양면 상에 공배양할 수 있다. 각각의 세포층을 공급하는 챔버 내에서 상이한 배양 배지를 사용하여, 상이한 분화 신호(differentiation cue)가 줄기 세포층에 도달되게 하고, 그럼으로써 세포들을 상이한 세포 유형으로 분화시킬 수 있다. 또한, 막의 동일한 면 상에서 세포 유형을 혼합하여 막분리 없이 상이한 세포들의 공배양액을 생성할 수 있다.

[0038] 본 명세서에 개시된 기관 모방 장치를 사용하여, 생체내 변환, 흡수, 청소, 대사, 및 생체 이물의 활성화뿐만 아니라 약물 전달도 연구할 수 있다. 장에서와 같이 상피층, 혈관에서와 같은 내피층을 가로질러, 그리고 혈액-뇌 장벽을 가로질러 행해지는 화학적 및 생물학적 에이전트의 수송 및 생체이용률이 또한 연구될 수 있다. 화학적 에이전트의 급성 기초 독성, 급성 국소 독성 또는 급성 기관-특이적 독성, 최기형성, 유전독성, 발암성, 및 변이원성이 또한 연구될 수 있다. 감염성 생물학적 에이전트, 생물학적 무기, 유해한 화학적 에이전트 및 화학적 무기의 효과가 또한 검출되고 연구될 수 있다. 감염성 질환 및 이들 질환을 치료하는 데 화학적 및 생물학적 에이전트의 효능뿐만 아니라 이들 에이전트에 대한 최적 용량 범위가 연구될 수 있다. 화학적 및 생물학적 에이전트에 대한 생체내에서의 기관의 반응, 및 이들 에이전트의 약동학 및 약역학이 본 발명의 장치를 사용하여 검출되고 연구될 수 있다. 이들 에이전트에 대한 반응에 미치는 유전 내용물의 영향이 연구될 수 있다. 화학적 또는 생물학적 에이전트에 응한 단백질 및 유전 발현의 양이 측정될 수 있다. 화학적 또는 생물학적 에이전트에 응한 대사의 변화가 본 발명의 장치를 사용하여 역시 연구될 수 있다.

[0039] 종래의 세포 배양 또는 조직 배양과 반대되는 것으로서 기관 모방 장치의 이점은 무수하다. 예를 들어, 세포가 기관 모방 장치 내에 놓여질 때, 생체내 상황에 가까운 확정된 3차원 구조 조직-조직 관계를 재확립하는 섬유모세포, SMC(평활근 세포) 및 EC(내피 세포) 분화가 일어날 수 있으며, 약리학적 에이전트 또는 활성 물질 또는 생성물에 대한 세포 기능 및 반응이 조직 및 기관 수준에서 조사될 수 있다.

[0040] 추가적으로, 많은 세포 또는 조직 활성이 기관 모방 장치 내에서 검출하기에 적합하며, 이에는 제한 없이, 수송된 유동 채널 내에서 층상 조직 내로의 그리고 이를 통한 약물의 확산 속도; 상이한 층에서의 세포 형태학, 분화 및 분비 변화; 세포 이동, 성장, 아폽토시스 등이 포함된다. 또한, 시스템의 상이한 층에 위치된 상이한 유형의 세포들에 미치는 다양한 약물의 효과가 용이하게 평가될 수 있다.

[0041] 예를 들어, 약물 발견의 경우, 본 명세서에 개시된 기관 모방 장치를 사용함에 있어서 2가지 이점이 있을 수 있다: (1) 기관 모방 장치는 조직의 생체내 층상 구조물을 보다 우수하게 모방할 수 있으며, 따라서 세포 수준 및 조직 수준에 더하여 기관 수준에서 약물 효과를 연구할 수 있게 하고, (2) 기관 모방 장치는 약물 선택 및 독물학 연구를 위한 생체내 조직 모델의 사용 및 동물의 사용을 줄여준다.

[0042] 약물 발견 및 개발에 더하여, 본 명세서에 개시된 기관 모방 장치는 또한 기초 및 임상 연구에 유용할 수 있다. 예를 들어, 기관 모방 장치는 종양발생(tumorigenesis)의 메커니즘을 연구하는 데 사용될 수 있다. 생체내 암의 진행이 간질 세포 및 세포외 기질(ECM)을 비롯한 숙주 및 종양 미세환경에 의해 조절됨이 잘 확립되어 있다. 예를 들어, 간질 세포가 종양 형성에 영향을 주는 것으로 확인되었다. 확정된 구조로 성장하는 세포가 단층 내의 세포보다 세포독성 에이전트에 대하여 더 많은 내성을 나타낸다는 증거가 증가되고 있다. 따라서, 기관 모방 장치는 암 세포의 원래의 성장 특성을 시뮬레이션하기 위한 보다 우수한 수단이며, 그럼으로써 생체내 종양

의 실제의 약물의 감수성을 보다 우수하게 반영한다.

[0043] 기관 모방 장치는 다양한 조직을 가공(engineer)하는 데 사용될 수 있으며, 이러한 조직에는 제한 없이, 심혈관계, 폐, 장, 신장, 뇌, 골수, 골, 치아, 및 피부가 포함된다. 장치가 적합한 생체적합성 및/또는 생분해성 재료, 예를 들어 폴리-락티드-코-글리콜리드산(PLGA)으로 가공될 경우, 당해 기관 모방 장치가 생체내 이식(transplantation 또는 implantation)을 위하여 사용될 수 있다. 더욱이, 여러 세포 유형의 상호작용을 공간적으로 국재화하고 제어하는 능력은 계층적으로 가공하고, 보다 생리학적으로 올바른 조직 및 기관 유사체를 생성할 기회를 제공한다. 확정된 배열의 다수의 세포 유형의 배열은 세포 분화, 유지, 및 기능적 수명에 대하여 유익한 효과를 갖는다.

[0044] 기관 모방 장치는 또한 상이한 성장 인자, 화학물질, 기체 및 영양소가 세포 및 생체내 그 존재의 필요성에 따라 상이한 세포 유형에 첨가되게 할 수 있다. 그러한 인자들 및 단백질의 위치의 제어는 특이적 세포 리모델링 및 기능화의 과정을 안내할 수 있으며, 또한 전체 시스템에 대하여 분자 신호를 제공할 수 있으며, 그 결과 신생조직(neotissue), 세포 리모델링, 향상된 분비 등과 같은 유익한 발전을 가져온다.

[0045] 또 다른 태양에서, 기관 모방 장치는 다세포 유형의 세포 미세배열, 예를 들어 마이크로유체 장치로서 이용될 수 있다. 기관 모방 장치를 사용하여, 세포 배열의 패턴 완전성(pattern integrity)이 유지될 수 있다. 이들 세포 미세배열은 미래의 "랩온어칩(lab-on-a-chip)"을 구성할 수 있는데, 이는 특히 다중화되고 자동화될 때이다. 이들 소형화된 다세포 유형 배양은 보다 신속하고 소음은 보다 적은 검정으로 세포 동력학의 관찰을 용이하게 할 것이며, 세포가 배열에 대하여 생체내-유사 반응을 나타낼 수 있게 할 빌트-인 복잡성을 갖는다.

[0046] 또 다른 태양에서, 기관 모방 장치는 생물학적 센서로서 이용될 수 있다. 세포-기재 바이오센서는 다른 바이오센서보다 많은 정보를 제공할 수 있는데, 그 이유는 세포는 흔히 자극에 대한 다면화된 생리학적 반응뿐만 아니라 이들 반응을 증폭시키는 신규한 메커니즘을 갖기 때문이다. 기관 모방 장치 내의 모든 세포 유형은 분석물의 상이한 측면을 동시에 모니터링하는 데 사용될 수 있거나; 기관 모방 장치 내의 상이한 세포 유형은 상이한 분석물을 모니터링하는 데 사용될 수 있거나; 모니터링의 두 가지 유형의 혼합이 사용될 수 있다. 환경 모니터링, 독소 검출, 및 생리학적 모니터링에 있어서의 응용을 위한 센서로서 E. 콜라이로부터 포유류의 세포주까지의 세포가 사용되었다.

[0047] 또 다른 태양에서, 기관 모방 장치는 세포 생리학 및 세포-ECM 상호작용의 기본 과정을 이해하는 데 사용될 수 있다. 생체내 리모델링 과정은 세포와 ECM 사이의 복잡하고 동적이며 상호적인 과정이다. 기관 모방 장치는 이들 생물계의 복잡성을 포착하여 이들 계가 조사 및 유익한 조작에 적합하게 되게 할 수 있을 것이다. 더욱이, 이미징 도구, 예를 들어 형광 현미경법, 마이크로형광법, 미세형광법 또는 광 간섭 단층촬영법(optical coherence tomography, OCT), 다층상 조직 내에서의 세포 거동의 실시간 분석과 결합되어 장치를 사용하는 것이 예상된다. 실시간 분석에 적합한 세포 및 조직 연구의 예에는 세포 분비 및 신호전달, 세포-세포 상호작용, 조직-조직 상호작용, 동적 가공 조직 작제(dynamic engineered tissue construction) 및 모니터링, 조직 공학에서 구조물-기능 조사, 및 시험관내에서 세포 리모델링 기질의 과정이 포함된다.

[0048] 이 장치의 용도의 다른 예는 조직-조직 계면을 유도하고 기관 구조물을 복잡화하여 장치 내에 형성하는 것인데, 이는 장치를 살아있는 동물의 체내에 생체내 이식하고, 세포 및 조직이 장치에 스며들고 정상 조직-조직 계면을 확립될 수 있게 함에 의해서이다. 이어서, 세포 생존에 필요한 매체 및 기체를 갖는 유체 채널들 중 하나 이상을 통하여 세포 및 조직이 함유된 전체 장치를 관류하면서, 세포 및 조직이 함유된 전체 장치가 외과적으로 제거된다. 이어서, 이 복잡한 기관 모방 장치는 연속 관류를 통하여 시험관내에서 생존 상태로 유지되고, 임의의 기존의 시험관내 모델 시스템을 사용해서는 불가능한 일정 수준의 복잡성으로 보통 3D 컨텍스트에서 매우 복잡한 세포 및 조직 기능을 연구하는 데 사용될 수 있다.

[0049] 특히, 마이크로채널 장치는 동물에 생체내에서 피하내 이식될 수 있는데, 여기서 장치는 주위 조직 공간에 개방된 하나 이상의 대응하는 포트를 갖는 채널 내에 골-유도성 재료, 예를 들어 탈염된 골 분말 또는 골 형태형성 단백질(bone morphogenic protein, BMP)을 함유한다. 제2 채널은 그의 말단 포트를 폐쇄하거나 그것을 제거가능한 고체 재료, 예를 들어 고체봉으로 채움으로써 이식 동안 제2 채널은 닫힐 것이다. 상처 치유의 결과로서, 중간엽 줄기 세포 및 미소미세혈관을 함유하는 결합 조직이 장치의 개방된 채널 내로 성장할 것이며, 골-유도성 재료의 존재로 인해, 순환하는 조혈 전구 세포를 동원하는 공간을 갖는 뼈를 형성하여, 과거 연구에서 밝혀진 바와 같이 완전히 기능적인 골수를 형성할 것이다.

[0050] 일단 이 과정이 완료되면, 수술 부위가 재개봉될 것이며, 막대 또는 플러그를 제거함으로써 제2 채널이 재개봉

될 것이며, 이어서 유체 저장소에 결합된 카테터와 연결되어 세포 생존에 필요한 영양소 및 기체를 함유하는 배양 배지가 제2 채널을 통하여 펌핑되고, 막의 기공을 통하여 형성된 골수를 함유하는 제2 채널 내로 통과할 수 있을 것이다. 이어서, 전체 마이크로채널 장치가 절단되어 주위 조직으로부터 자유로와질 수 있게 되고, 장치 내로 연속적으로 유동하는 매체와 함께 동물로부터 제거되고 조직 배양 인큐베이터로 이동되고 제2 채널을 통한 연속된 유체 유동을 갖는 배양액 내에 유지되고, 필요하다면 유입 포트 및 유출 포트에 연결함으로써, 추가적인 유동이 제1 채널에 역시 가해질 수 있다. 이어서, 마이크로채널 장치가 제어된 환경에서와 같이 시험관내에서 온전한 골수 기능을 연구하는 데 사용될 것이다.

[0051] 본 발명의 장치의 생체내 이식을 용이하게 하기 위하여 생체적합성 재료 및 생분해성 재료 둘 모두가 본 발명의 장치에 사용될 수 있다. 또한, 생체적합성 코팅 및 생분해성 코팅을 사용할 수 있다. 예를 들어, 금속 기재(metallic substrate) 상에의 세라믹 코팅을 사용할 수 있다. 그러나, 임의의 유형의 코팅 재료 및 그 코팅이 상이한 유형의 재료, 즉 금속, 세라믹, 중합체, 하이드로겔 또는 임의의 이들 재료의 조합으로 만들어질 수 있다.

[0052] 생체적합성 재료에는 제한 없이, 산화물, 인산염, 탄산염, 질화물 또는 탄질화물이 포함된다. 산화물 중에서는 하기의 것들이 바람직하다: 산화탄탈, 산화알루미늄, 산화이리듐, 산화지르코늄 또는 산화티타늄. 일부 경우에, 코팅은 또한 시간이 지남에 따라 분해될 것이며 살아있는 조직에 의해 대체될 수 있는 생분해성 재료로 만들어질 수 있다. 기재는 금속, 세라믹, 중합체 또는 임의의 이들의 조합으로 만들어질 수 있다. 스테인리스 강, 니티놀(Nitinol), 티타늄, 티타늄 합금, 또는 알루미늄과 같은 금속 및 세라믹, 예를 들어 지르코니아, 알루미나, 또는 인산칼슘이 특히 관심 대상이다.

[0053] 생체적합성 재료는 또한 그것이 시간에 걸쳐 분해될 것이며 살아있는 조직에 의해 대체될 수 있다는 점에서 생분해성일 수 있다. 그러한 생분해성 재료에는 제한 없이, 폴리(락트산-코-글리콜산), 폴리락트산, 폴리글리콜산(PGA), 콜라겐 또는 다른 ECM 분자, 다른 결합 조직 단백질, 마그네슘 합금, 폴리카프로락톤, 히알루산, 접착 단백질, 생분해성 중합체, 합성, 생체적합성 및 생분해성 재료, 예를 들어 생체고분자, 생체유리, 생체세라믹, 황산칼슘, 인산칼슘, 예를 들어 인산일칼슘 1수화물, 인산일칼슘 무수물, 인산이칼슘 2무수물, 인산이칼슘 무수물, 인산삼칼슘, 오르토인산칼슘, 파이로인산칼슘, 알파-삼칼슘 인산염, 베타-삼칼슘 인산염, 아파타이트, 예를 들어 하이드록시아파타이트, 또는 중합체, 예를 들어 폴리(알파-하이드록시에스테르), 폴리(오르토 에스테르), 폴리(에테르 에스테르), 폴리안하이드라이드, 폴리(포스파젠), 폴리(프로필렌 푸마레이트), 폴리(에스테르 아미드), 폴리(에틸렌 푸마레이트), 폴리(아미노산), 다당류, 폴리펩티드, 폴리(하이드록시 부티레이트), 폴리(하이드록시 발레레이트), 폴리우레탄, 폴리(말산), 폴리락티드, 폴리글리콜리드, 폴리카프로락톤, 폴리(글리콜리드-코-트리메틸렌 카르보네이트), 폴리디옥사논, 또는 이들의 공중합체, 삼원중합체 또는 그러한 중합체들의 블렌드, 또는 생체적합성 재료와 생분해성 재료의 조합이 포함된다. 또한, 폴리글리콜리드, 폴리락티드 및/또는 글리콜리드/락티드 공중합체와 같은 부분적으로 결정질인 생체흡수성 중합체로부터 집합된, 생분해성 유리 및 생체활성 유리 자기-강화된(self-reinforced) 초고강도 생체흡수성인 복합재를 사용할 수 있다.

[0054] 이들 재료는 바람직하게는 이식 기하형상에 따라, 생체내에서 4주부터 최대 1년까지 높은 초기 강도, 적절한 탄성률 및 강도 보유 시간을 갖는다. 보강 요소, 예를 들어 결정질 중합체의 섬유, 중합체 수지 중 탄소의 섬유, 및 미립자 충전제, 예를 들어 하이드록시아파타이트가 또한 생분해성 장치의 치수 안정성 및 기계적 특성을 제공하는 데 사용될 수 있다. 생분해성 재료 구성에 있어서의 상호침투 네트워크(interpenetrating network, IPN)의 사용은 기계적 강도를 개선하는 수단으로서 입증되었다. IPN-보강된 생분해성 재료의 기계적 특성을 추가로 개선하기 위하여, 본 발명의 장치는 상이한 가교결합제를 사용하여 폴리(락티드-코-글리콜리드) 85:15(PLGA) 또는 폴리(l-락티드-코-d,l-락티드) 70:30(PLA)의 호스트 매트릭스 내에서 가교결합된 폴리프로필렌 푸마레이트의 반상호침투 네트워크(semi-interpenetrating network, SIPN)로서 제조될 수 있다. 또한, 문헌[Charles-Hilaire Rivard et al. (Journal of Applied Biomaterials, Volume 6 Issue 1, Pages 65 - 68, 1 Sep 2004)]에 기재된 천연 폴리(하이드록시부티레이트-코-9% 하이드록시발레레이트) 코폴리에스테르 막을 사용할 수 있다. 숙련된 기술자는 또한 장치가 사용되는 응용에 따라 임의의 특정 목적 및 세포 및 조직 유형에 적합한 다른 생분해성 재료를 선택할 수 있을 것이다.

[0055] 개시된 장치는 또한 생체내에 위치될 때, 치료학적 장치로서 사용될 수 있다. 장치를, 예를 들어 동물 모델 내에 위치시켜 당해 장치가 살아있는 세포 및 조직에 의해 거주될 수 있게 하고, 이어서 매체를 갖는 혈관 채널을 관류하면서, 살아있는 세포와 함께 전체 장치를 제거함으로써 기관 모방체, 예를 들면 골수 또는 림프절을 재현할 수 있다. 이어서, 장치가 제거되고, 시험관내 또는 생체외 연구를 위하여 생체외에서(ex vivo) 살아있는 상태로 유지될 수 있다. 특히, 막은 시험관내에서 막의 적어도 한면 상에 하나 이상의 세포층으로 코팅될 수 있

다. 이 실시 형태에서, 세포는 유기체 외부에서 플레이팅된다. 일 실시 형태에서, 막은 생체내에서 막의 적어도 한면 상에 하나 이상의 세포층으로 코팅된다. 시험관내에서 막의 한면을 처리하고 생체내에서 나머지 다른 한막을 처리할 수 있다. 또한, 시험관내에서 한 세포 유형으로 초기에 코팅된 한면 또는 양면을 가질 수 있으며, 이어서 장치를 이식하여 생체내에서 추가적인 세포층을 끌어당길 수 있다.

[0056] 일반적으로, 본 발명은 장치 및 사용 방법에 관한 것이며, 여기서 장치는 하나 이상의 다공성 막에 의해 분리된 중심 마이크로채널을 갖는 본체를 포함한다. 이들 막(들)은 중심 마이크로채널을 근접하여 나란히 배치된 2개 이상의 평행한 중심 마이크로채널로 분할하도록 구성되며, 여기서 하나 이상의 제1 유체가 제1 중심 마이크로채널을 통해 적용되고, 하나 이상의 제2 유체가 제2 또는 그 이상의 중심 마이크로채널을 통해 적용된다. 각각의 다공성 막의 표면은 세포 접착성 분자로 코팅되어 세포의 부착을 지지하고 막의 상면 및 하면 상의 조직 내로의 세포의 조직화를 촉진시킬 수 있으며, 그럼으로써 인접한 평행한 유체 채널들 사이의 다공성 막에 의해 분리된 하나 이상의 조직-조직 계면을 생성할 수 있다. 막은 다공성이거나, 연성이거나, 탄성이거나, 또는 이들의 조합일 수 있으며, 이때 기공은 단지 기체 및 작은 화학물질의 교환을 허용하기만 하기에 충분히 크거나, 또는 큰 단백질 및 전 살아있는 세포의 이동 및 채널횡단 통과를 허용하기에 충분히 크다. 원하는 유체 전단 응력을 하나 또는 둘 모두의 조직층에 가하기 위하여 유체 압력, 유동 및 채널 기하형상이 또한 변화될 수 있다.

[0057] 비제한적인 예시적인 실시 형태에서, 장치는 폐의 작동을 모방하도록 구성되며, 이렇게 함으로써 폐 상피 세포가 ECM 막의 한면 상에 자기 집합되고, 폐 모세혈관 내피 세포가 동일한 다공성 막의 반대면 상에 자기 집합된다. 그럼으로써, 장치는 생리학적인 역학적 변형에 노출될 수 있는 기능적인 폐포-모세혈관 단위의 구조 및 기능의 시뮬레이션하여 호흡을 시뮬레이션하거나 또는 공기계(air-borne) 및 혈액계(blood-borne) 둘 모두의 화학물질, 분자, 미립자 및 세포 자극에 대하여, 막의 기공을 통하여 조직-조직 계면을 가로질러 행해지는 화학물질, 분자, 및 세포의 교환을 조사할 수 있다. 장치는 생리학적 및 병리학적 조건 하에서 분석될 수 있는 기관-수준 반응을 모방하는 시험관내 폐 모델의 개발에 영향을 준다. 이 시스템은 여러 응용에 사용될 수 있으며, 이러한 응용에는 제한 없이, 약물 스크리닝, 약물 전달, 백신 전달, 생물검출, 독물학, 생리학 및 기관/조직 공학 응용이 포함된다.

[0058] 도 1은 일 실시 형태에 따라 본 발명의 장치를 사용하는 전체적인 시스템의 블록도를 도시한다. 도 1에 도시된 바와 같이, 시스템(100)은 기관 모방 장치(102), 장치(102)에 결합된 하나 이상의 유체 공급원(104, 104_N), 유체 공급원(104) 및 장치(102)에 결합된 하나 이상의 선택적 펌프(106)를 포함한다. 하나 이상의 CPU(110)는 펌프(106)에 결합되며, 이는 바람직하게는 장치(102)의 내외에서 유체의 유동을 제어한다. CPU는 바람직하게는 하나 이상의 프로세서(112) 및 하나 이상의 로컬/리모트 저장 메모리(114)를 포함한다. 디스플레이(116)는 CPU(110)에 결합되고, 하나 이상의 압력 공급원(118)은 CPU(110) 및 장치(102)에 결합된다. CPU(110)는 바람직하게는 장치에 대한 가압 유체(pressurized fluid)의 유동 및 속도를 제어한다. 여기서는 하나의 계면 장치(102)가 도시되고 설명되어 있지만, 하기에 논의되는 바와 같이 복수의 계면 장치(102)가 시스템(100) 내에서 시험되고 분석될 수 있음이 고려된다는 것을 알아야 한다.

[0059] 보다 상세히 논의하겠지만, 기관 모방 장치(102)는 바람직하게는 시스템의 외부 구성요소, 예를 들어 유체 공급원 및 압력 공급원과 연통(communication)하고 있는 장치(102)의 마이크로채널들을 위치시키는 2개 이상의 포트를 포함한다. 특히, 장치(102)는 하나 이상의 유체 공급원(104_N)에 결합되는데, 여기서 유체 공급원은 공기, 혈액, 물, 세포, 화합물, 미립자, 및/또는 장치(102)에 전달될 임의의 다른 매체를 함유할 수 있다. 일 실시 형태에서, 유체 공급원(104)은 유체를 장치(102)의 하나 이상의 마이크로채널에 제공하며, 또한 바람직하게는 장치(102)를 빠져나가는 유체를 받아들인다. 장치(102)를 빠져나가는 유체는 추가적으로 또는 대안적으로 유체 공급원(104)과는 별개의 유체 수집기 또는 저장소(108) 내에 수집될 수 있음이 고려된다. 따라서, 별개의 유체 공급원(104, 104_N)은 개별적으로 장치(102)로 유체를 제공하고 장치(102)로부터 유체를 제거하는 것이 가능하다.

[0060] 일 실시 형태에서, 장치(102)를 빠져나간 유체는 재사용되어, 이 유체가 이전에 그를 통해 들어간 동일하거나 상이한 유입 포트 내로 재도입될 수 있다. 예를 들어, 장치(102)는 특정 중심 마이크로채널을 통과한 유체가 장치로 되돌아와서 재순환되고 동일한 중심 마이크로채널을 통해 다시 흐르도록 설정될 수 있다. 이는, 예를 들어, 유체가 장치로 재순환됨에 따라 유체에서의 분석물의 농도를 증가시키는 데 사용될 수 있을 것이다. 다른 예에서, 장치(102)는 장치를 통과한 유체가 장치 내로 되돌아와서 재순환되고, 이어서 계속하여 다른 중심 마이크로채널을 통해 흐르도록 설정될 수 있다. 이는 유체가 다른 마이크로채널을 통하여 순환됨에 따라 유체의 농도 또는 조성(makeup)을 변화시키는 데 사용될 수 있을 것이다.

[0061] 하나 이상의 펌프(106)는 바람직하게는 유체를 장치(102) 내로 펌핑하는 데 이용되지만, 펌프는 일반적으로 시스템에 대하여 선택사양이다. 유체 펌프는 당업계에 잘 알려져 있으며, 본 명세서에서는 상세하게 논의되지 않는다. 하기에 보다 상세히 논의되겠지만, 각각의 마이크로채널 부분은 바람직하게는 그 개별의 유입 포트 및/또는 유출 포트와 연통하고 있으며, 이렇게 함으로써 각각의 마이크로채널 부분은 그를 통하여 유체가 유동될 수 있게 한다.

[0062] 장치 내의 각각의 마이크로채널은 바람직하게는 개별의 전용 유체 공급원 및/또는 유체 수집기에 연결된 전용 유입 포트 및 유출 포트를 가져서 매체의 유량, 유동 내용물, 압력, 온도 및 다른 특성이 각각의 중심 마이크로채널을 통하여 독립적으로 제어될 수 있게 한다. 따라서 또한, 원하는 세포 마커에 대하여 별개의 유체 채널들을 샘플링함으로써 세포층 또는 조직층 각각에 대한 다양한 자극의 효과, 예를 들어 RNA 또는 단백질 수준에서의 유전자 발현의 변화를 따로따로 모니터링할 수 있다.

[0063] 세포 주입기/제거기(108) 구성요소가 장치(102)와 연통된 상태로 도시되어 있는데, 이렇게 함으로써 주입기/제거기(108)는 유입 포트(들)(210, 218)를 통하여 장치 내로 도입된 세포와는 관계없이 장치(102) 내의 계면 막의 하나 이상의 표면 상에 세포 - 예를 들어 제한 없이, 상피 세포 및 내피 세포 - 를 주입, 제거 및/또는 조작하도록 구성된다. 예를 들어, 병원성 세포를 끌어당기는 혈액 함유 자성(magnetic) 입자가 별개의 장치 내에서 배양될 수 있으며, 이렇게 함으로써 이 혼합물이 나중에, 이 혼합물을 유체 공급원(104)을 통해 흐르게 하지 않고서도 원하는 시간에 주입기를 통하여 시스템 내로 도입될 수 있다. 일 실시 형태에서, 세포 주입기/제거기(108)는 독립적으로 제어되지만, 주입기/제거기(108)는 도 1에 도시된 바와 같이 CPU(110)에 의해 제어될 수도 있다. 세포 주입기/제거기(108)는 선택적 구성요소이며 반드시 필요한 것은 아니다.

[0064] 필수요건은 아니지만, 압력차를 생성하여 장치(102) 내에서 역학적 운동을 일으키기 위하여 하나 이상의 압력 공급원(118)으로부터 압력이 인가될 수 있다. 장치와 함께 압력이 사용되는 실시 형태에서, 압력 공급원(118)은 CPU(110)에 의해 제어되어 장치 내에서 압력차를 인가하여, 인가된 압력차에 응하여 장치 내의 하나 이상의 막(도 3a 내지 도 3b)을 효과적으로 팽창 및/또는 수축시킨다. 일 실시 형태에서, 압력 공급원(118)에 의해 장치(100)에 인가된 압력은 장치의 구성 또는 응용에 따라 양압이다. 추가적으로 또는 대안적으로, 압력 공급원(118)에 의해 인가된 압력은 장치의 구성 또는 응용에 따라 음압, 예를 들어 진공 또는 흡인(suction)이다. 압력 공급원(118)은 바람직하게는 CPU(110)에 의해 제어되어 설정된 시간 간격 또는 빈도로 장치(102)에 압력을 인가하며, 이렇게 함으로써 시간 간격이 균일 또는 불균일하도록 설정될 수 있다. 압력 공급원(118)은 시간 간격으로 균일한 압력을 인가하도록 제어될 수도 있거나, 상이한 간격으로 상이한 압력을 인가할 수도 있다. 예를 들어, 압력 공급원(118)에 의해 인가되는 압력은 사람이 달리거나 경험하는 운동을 모방하기 위하여 큰 크기를 가질 수 있고/있거나 원하는 빈도로 설정될 수 있다. 압력 공급원(118)은 또한 사람의 수면을 시뮬레이션하는 것과 같은 느린 불규칙한 패턴을 인가할 수 있다. 일 실시 형태에서, CPU(110)는 압력 공급원(118)이 인가하는 압력의 간격을 랜덤하게 변화시켜 주기적 신장 패턴(cyclic stretching pattern)이 자연적인 호흡 동안 호흡률 및 1회 호흡량(tidal volume)의 불규칙성을 시뮬레이션하도록 작동한다.

[0065] 하나 이상의 센서(120)가 장치(102)에 결합되어 장치(102) 내의 하나 이상의 영역을 모니터링할 수 있으며, 이렇게 함으로써 센서(120)는 모니터링 데이터를 CPU(110)에 제공한다. 센서(120)의 한 유형은 바람직하게는 장치(102)의 하나 이상의 작동 마이크로채널 또는 중심 마이크로채널에 있어서의 압력의 양에 관한 데이터를 제공하는 압력 센서이다. 마이크로채널 벽들의 반대면으로부터의 압력 데이터는 작동 마이크로채널과 중심 마이크로채널 사이의 실시간 압력차 정보를 계산하는 데 사용될 수 있다. 모니터링 데이터는 CPU(110)에 의해 사용되어 장치의 선택적 조건에 관한 정보뿐만 아니라 세포가 실시간으로 특정 환경에서의 장치(102) 내에서 어떻게 거동하는지에 관한 정보도 제공할 것이다. 센서(120)는 전극일 수 있거나, 적외선 성능, 광학 성능(예를 들어, 카메라, LED), 또는 자기 성능을 가질 수 있거나, 또는 모니터링 데이터를 제공하기 위한 임의의 다른 적절한 기술 유형을 이용할 수 있다. 예를 들어, 센서는 하나 이상의 마이크로전극일 수 있는데, 이는 막을 가로질러 전기 특성(예를 들어, 전위차, 저항, 및 단락 회로 전류)을 분석하여 조직화된 장벽의 형성을 확인시켜 줄 뿐만 아니라, 막을 가로질러 조직화된 장벽의 유체/이온 수송 기능을 분석한다. 센서(120)는 장치(102)의 외부에 있을 수도 있거나 장치(102) 내에 일체화될 수 있음을 알아야 한다. CPU(110)가 센서(120)의 작동을 제어함이 고려되지만, 이는 반드시 필요한 것은 아니다. 데이터는 바람직하게는 디스플레이(116)에 보여진다.

[0066] 도 2a는 일 실시 형태에 따라 조직 계면 장치의 사시도를 도시한다. 특히, 도 2a에 도시된 바와 같이, 장치(200)(도면 부호 102로도 지칭됨)는 바람직하게는 일 실시 형태에 따라 분지형 마이크로채널 디자인(203)을 갖는 본체(200)를 포함한다. 본체(202)는 연성 재료로 만들어질 수 있지만, 본체는 대안적으로 비연성 재료로 만들어짐이 고려된다. 마이크로채널 디자인(203)은 단지 예시적이며 도 2a에 도시된 구성으로 한정되지 않음을

알아야 한다. 본체(202)는 바람직하게는 연성 생체적합성 중합체로 만들어지며, 이러한 중합체에는 제한 없이, 폴리디메틸 실록산(PDMS) 또는 폴리이미드가 포함된다. 또한, 본체(202)는 유리, 규소, 경질 플라스틱 등과 같은 비연성 재료로 만들어질 수 있음이 고려된다. 계면 막은 본체(202)와 동일한 재료로 만들어지는 것이 바람직하지만, 계면 막은 장치의 본체와 상이한 재료로 만들어지는 것이 고려된다.

[0067] 도 2a의 장치는 복수의 포트(205)를 포함하는데, 이에 대해서는 하기에 보다 상세히 설명될 것이다. 추가적으로, 분지형 구성(203)은 조직-조직 계면 시뮬레이션 영역(도2b에서 막(208))을 포함하는데, 여기서 세포 거동 및/또는 기체, 화학물질, 분자, 미립자 및 세포의 통과가 모니터링된다. 도 2b는 일 실시 형태에 따라 기관 모방 장치의 분해도를 도시한다. 특히, 장치(200)의 외부 본체(202)는 바람직하게는 제1 외부 본체 부분(204), 제2 외부 본체 부분(206) 및 제1 외부 본체 부분(204) 및 제2 외부 본체 부분(206)이 전체적인 본체를 형성하도록 서로 장착될 때, 제1 외부 본체 부분(204)과 제2 외부 본체 부분(206) 사이에 장착되도록 구성된 중간 다공성 막(208)으로 구성된다.

[0068] 도 2b는 일 실시 형태에 따라 장치의 분해도를 도시한다. 도 2b에 도시된 바와 같이, 제1 외부 본체 부분(204)은, 바람직하게는 본체(202)의 외부 표면 상에 위치된 하나 이상의 대응하는 유입 개구부(211)와 연통하고 있는 하나 이상의 유입 유체 포트(210)를 포함한다. 장치(100)는 바람직하게는 유입 개구부(211)를 통하여 유체 공급원(104)에 연결되는데, 여기서 유체가 유체 공급원(104)으로부터 유입 유체 포트(210)를 통하여 장치(100) 내로 이동한다.

[0069] 추가적으로, 제1 외부 본체 부분(204)은, 바람직하게는 본체(202)의 외부 표면 상에 있는 하나 이상의 대응하는 유출 개구부(215)와 연통하고 있는 하나 이상의 유출 유체 포트(212)를 포함한다. 특히, 장치(100)를 통과하는 유체는 대응하는 유출 개구부(215)를 통하여 장치(100)를 빠져나가 유체 수집기(108) 또는 다른 적절한 구성요소로 간다. 장치(200)는 유체 포트(210)가 유출구이고 유체 포트(212)가 유입구가 되도록 설정될 수 있음을 알아야 한다. 유입 개구부(211) 및 유출 개구부(215)가 본체(202)의 상면 상에 도시되어 있지만, 이들 개구부의 하나 이상은 바다의 하나 이상의 측면 상에 위치될 수도 있다.

[0070] 일 실시 형태에서, 유입 유체 포트(210) 및 유출 유체 포트(212)는 유체가 제2 중심 마이크로채널(250B)(도 3a 참조)와는 관계없이 유입 유체 포트(210)로부터 제1 중심 마이크로채널(250A)을 통하여 유출 유체 포트(212)로 동적으로 이동할 수 있도록 제1 중심 마이크로채널(250A)(도 3a 참조)과 연통하고 있다.

[0071] 또한, 유입 유체 포트와 유출 유체 포트 사이를 통과하는 유체가 중심 섹션(250A 및 250B)에서 공유될 수 있음이 고려된다. 어느 실시 형태이든, 중심 마이크로채널(250A)을 통과하는 유체 유동의 특성, 예를 들어 유량 등은 중심 마이크로채널(250B)을 통한 유체 유동 특성과 독립적으로 제어가능하며, 반대도 마찬가지이다.

[0072] 추가적으로, 제1 부분(204)은 하나 이상의 압력 유입 포트(214) 및 하나 이상의 압력 유출 포트(216)를 포함하며, 여기서 유입 포트(214)는 장치(100)의 외부 표면 상에 위치된 대응하는 개구부(217)와 연통하고 있다. 유입 개구부 및 유출 개구부가 본체(202)의 상면 상에 도시되어 있지만, 이들 개구부 중 하나 이상은 대안적으로 본체의 하나 이상의 측면 상에 위치될 수도 있다.

[0073] 작동에 있어서, 압력 공급원(118)(도 1)에 연결된 하나 이상의 압력관(도시되지 않음)은 개구부(217)를 통하여 장치에 양압 또는 음압을 제공한다. 추가적으로, 압력관(도시되지 않음)은 장치(100)에 연결되어 유출 포트(216)로부터 개구부(223)를 통하여 가압 유체를 제거한다. 장치(200)는 압력 포트(214)가 유출구이고 압력 포트(216)가 유입구가 되도록 설정될 수 있음을 알아야 한다. 압력 개구부(217, 223)는 본체(202)의 상면 상에 도시되어 있지만, 압력 개구부(217, 223) 중 하나 이상은 본체(202)의 하나 이상의 측면 상에 위치될 수도 있음이 고려됨을 알아야 한다.

[0074] 도 2b를 참고하면, 제2 외부 본체 부분(206)은 바람직하게는 하나 이상의 유입 유체 포트(218) 및 하나 이상의 유출 유체 포트(220)를 포함한다. 유입 유체 포트(218)는 개구부(219)와 연통하고 있고 유출 유체 포트(220)는 개구부(221)와 연통하고 있는 것이 바람직하며, 이렇게 함으로써 개구부(219 및 221)는 바람직하게는 제2 외부 본체 부분(206)의 외부 표면 상에 위치된다. 유입 개구부 및 유출 개구부가 본체(202)의 표면 상에 도시되어 있지만, 이들 개구부 중 하나 이상은 대안적으로 본체의 하나 이상의 측면 상에 위치될 수도 있다.

[0075] 상기에 기재된 제1 외부 본체 부분(204)과 마찬가지로, 유체 공급원(104)(도 1)에 연결된 하나 이상의 유체관이 바람직하게는 개구부(219)와 결합되어 포트(218)를 통하여 유체를 장치(100)에 제공한다. 추가적으로, 유체는 유출 포트(220) 및 유출 개구부(221)를 통하여 장치(100)를 빠져나가 유체 저장소/수집기(108) 또는 다른 구성요소로 간다. 장치(200)는 유체 포트(218)가 유출구이고 유체 포트(220)가 유입구가 되도록 설정될 수 있음을

알아야 한다.

[0076] 추가적으로, 제2 외부 본체 부분(206)은 하나 이상의 압력 유입 포트(222) 및 하나 이상의 압력 유출 포트(224)를 포함하는 것이 바람직하다. 특히, 압력 유입 포트(222)는 개구부(227)와 연통하고 있고 압력 유출 포트(224)는 개구부(229)와 연통하고 있는 것이 바람직하며, 이렇게 함으로써 개구부(227 및 229)는 바람직하게는 제2 부분(206)의 외부 표면 상에 위치된다. 유입 개구부 및 유출 개구부가 본체(202)의 저면 상에 도시되어 있지만, 이들 개구부 중 하나 이상은 대안적으로 본체의 하나 이상의 측면 상에 위치될 수도 있다. 압력 공급원(118)(도 1)에 연결된 압력관은 바람직하게는 대응하는 개구부(227 및 229)를 통하여 포트(222 및 224)와 맞물리게 된다. 장치(200)는 압력 포트(22)가 유출구가 되고 유체 포트(224)가 유입구가 되도록 설정될 수 있음을 알아야 한다.

[0077] 일 실시 형태에서, 막(208)은 제1 부분(204)과 제2 부분(206) 사이에 장착되며, 이렇게 함으로써 막(208)은 장치(200)의 본체(202) 내에 위치된다(도 5e 참조). 일 실시 형태에서, 막(208)은 그를 통과하는 복수의 기공 또는 개구를 갖는 재료로 만들어지며, 이렇게 함으로써 분자, 세포, 유체 또는 임의의 매체가 막(208) 내의 하나 이상의 기공을 통하여 막(208)을 통과할 수 있다. 하기에 보다 상세히 논의되는 바와 같이, 일 실시 형태에서 다공성 막(208)은 막(208)이 중심 마이크로채널(250A, 250B)과 작동 마이크로채널 사이에 존재하는 압력차에 응하여 응력 및/또는 변형을 일으킬 수 있게 하는 재료로 만들어질 수 있음이 고려된다. 대안적으로, 다공성 막(208)은 상대적으로 비탄성이며, 여기서 막(208)은 최소한으로 운동하거나 전혀 운동하지 않으며, 이 동안에 매체가 중심 마이크로채널(250A, 250B) 중 하나 이상을 통과하고 세포가 다공성 막을 통하여 중심 마이크로채널(250A, 250B) 사이에 조직화되고 이동한다.

[0078] 도 2c를 참고하면, 이는 (도 2b로부터의) C-C 선에서 취해진 본체의 제1 외부 부분(204)의 조직-조직 계면 영역의 사시도를 도시한다. 도 2c에 도시된 바와 같이, 조직-조직 계면 영역(207A)의 상부는 제1 부분(204)의 본체 내에 있으며, 이는 중심 마이크로채널(230)의 상부 및 중심 마이크로채널(230)에 인접하여 위치된 측면 작동 마이크로채널(232)의 하나 이상의 상부를 포함한다. 마이크로채널 벽(234)은 바람직하게는 중심 마이크로채널(230)을 통한 유체 이동이 작동 마이크로채널(232) 내로 통과하지 않도록 중심 마이크로채널(230)을 작동 마이크로채널(232)과 분리시킨다. 마찬가지로, 채널 벽(234)은 작동 마이크로채널(232)을 따라 통과하는 가압 유체가 중심 마이크로채널(230)로 들어가는 것을 방지한다. 도 2c 및 도 3a에서 중심 마이크로채널(230)의 반대면들 상에 한 쌍의 작동 마이크로채널(232)이 도시되어 있지만, 장치는 2개 초과의 작동 마이크로채널(232)을 포함할 수 있음이 고려됨을 알아야 한다. 또한, 장치(200)는 중심 마이크로채널(230)에 인접한 단지 1개의 작동 마이크로채널(232)을 포함할 수 있음이 고려된다.

[0079] 도 2d는 본체의 제2 외부 부분(206)의 D-D 선에서 취해진 조직 계면 영역의 사시도를 도시한다. 도 2d에 도시된 바와 같이, 조직 계면 영역은 중심 마이크로채널(240)의 저부 및 중심 마이크로채널(240) 부분에 인접하여 위치된 한 작동 마이크로채널(242)의 적어도 2개의 저부를 포함한다. 한 쌍의 채널 벽(234)은 바람직하게는 중심 마이크로채널(230)을 통하여 이동하는 유체가 작동 마이크로채널(232) 내로 통과하지 않도록 중심 마이크로채널(240)을 작동 마이크로채널(232)과 분리시킨다. 마찬가지로, 채널 벽(234)은 작동 마이크로채널(232)를 따라 통과하는 가압 유체가 중심 마이크로채널(230)로 들어가는 것을 방지한다.

[0080] 도 2c 및 도 2d에 도시된 바와 같이, 중심 마이크로채널의 상부(230) 및 저부(240)는 각각 폭 치수(B로 나타냄)의 범위가 50 내지 1000미크론, 그리고 바람직하게는 약 400미크론이다. 장치에서 모방되고 있는 생리학적 시스템의 유형에 따라 다른 폭 치수가 고려됨을 알아야 한다. 추가적으로, 작동 마이크로채널(232 및 242)의 상부 및 하부는 각각 폭 치수(A로 나타냄)가 25 내지 800미크론, 그리고 바람직하게는 약 200미크론이지만, 다른 폭 치수가 고려된다. 중심 마이크로채널 및/또는 작동 마이크로채널의 높이 치수는 50미크론 내지 수 센티미터, 그리고 바람직하게는 약 200미크론의 범위이다. 마이크로채널 벽(234, 244)은 바람직하게는 두께 범위가 5미크론 내지 50미크론이지만, 벽에 사용되는 재료, 장치가 사용되는 용도 등에 따라 다른 폭 치수가 고려된다.

[0081] 도 3a는 일 실시 형태에 따라 본체 내의 조직 계면 영역의 사시도를 도시한다. 특히, 도 3a는 서로 짝지어진 제1 부분(207A) 및 제2 부분(207B)을 도시하며, 이렇게 함으로써 측벽(228 및 238)뿐만 아니라 채널 벽(234, 244)도 전체적인 중심 마이크로채널(250) 및 작동 마이크로채널(252)을 형성한다. 상기에 기재된 바와 같이, 중심 마이크로채널(250)과 작동 마이크로채널(252)은 유체가 이들 채널(250, 252) 사이를 통과할 수 없도록 벽(234, 244)에 의해 분리되는 것이 바람직하다.

[0082] 막(208)은 바람직하게는 중심 마이크로채널(250)의 중심에 위치되고, 도 3a에 도시된 x-y 평면에 평행한 평면을 따라 배향된다. 하나의 막(208)이 중심 마이크로채널(250)에 도시되어 있지만, 하기에 보다 상세히 논의되는

바와 같이, 하나 초과의 막(208)이 중심 마이크로채널(250) 내에 구성될 수 있음을 알아야 한다. 중심 마이크로채널(250) 내에 위치되는 것에 더하여, 막(208)은 장치의 형성 동안 채널 벽(234, 244) 사이의 소정의 위치에 끼워진다.

[0083] 막(208)은 바람직하게는 전체적인 중심 마이크로채널(250)을 2개 이상의 구별되는 중심 마이크로채널(250A 및 250B)로 분리시킨다. 막(208)이 중심 마이크로채널(250)의 중간을 통과하여 도시되어 있지만, 막(208)은 대안적으로 중심 마이크로채널(250) 내에 중심을 벗어나 수직으로 위치되고, 이에 따라 중심 마이크로채널 섹션(250A, 250B) 중 하나를 부피 또는 단면적에 있어서 나머지 다른 한 마이크로채널 섹션보다 더 크게 만들 수 있음을 알아야 한다.

[0084] 하기에 보다 상세히 논의될 바와 같이, 막(208)은 적어도 일부가 다공성일 수 있어서 세포 또는 분자가 그것을 통과할 수 있게 할 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 막(208)의 적어도 일부는 탄성 또는 연성 특성을 가질 수 있는데, 이들 특성은 막(208)이 하나 이상의 평면축을 따라 팽창/수축되도록 조작될 수 있게 한다. 따라서, 막(208)의 한 부분 이상이 다공성이고 탄성이거나, 또는 다공성이지만 비탄성일 수 있음이 고려된다.

[0085] 다공성이고 탄성인 막에 관해서는, 장치 내에서 압력차가 인가되어 x-y 평면을 따라 막(208)의 상대적인 연속적 팽창 및 수축을 일으킬 수 있다. 특히, 상기에 기재된 바와 같이, 하나 이상의 압력 공급원은 바람직하게는 하나 이상의 작동 마이크로채널(252)을 따라 가압 유체(예를 들어, 공기)를 적용하고, 이렇게 함으로써 마이크로채널(252) 내의 가압 유체는 마이크로채널 벽(234, 244) 상에 압력차를 생성한다. 막(208)은 그것을 만드는 재료의 유형에 따라서는 탄성을 가질 수 있다. 막(208)이 하나 초과의 재료로 만들어진다면, 막을 형성하는 개별적인 재료들의 중량비는 탄성을 결정하는 데 있어서 인자가 된다. 예를 들어, 막(208)이 PDMS로 만들어진 실시 형태에서, 영률 값은 12kPa 내지 20MPa의 범위이지만, 다른 탄성 값이 고려된다.

[0086] 도 3a 및 도 3b에 도시된 실시 형태에서, 가압 유체는 진공력 또는 흡인력이며, 이들 힘은 단지 작동 마이크로채널(252)을 통해서만 인가된다. 마이크로채널 벽(234, 244)에 대한 흡인력에 의해 야기된 압력차는 벽(234, 244)을 장치의 측부(228, 238)를 향해 외측으로 굽혀지거나 불룩해지게 한다(도 3b 참조). 막(208)이 벽(234, 244)에 장착되고 이들 사이에 끼워지는 것을 고려하면, 그럼으로써 벽(234, 244)의 상대적인 운동은 막의 반대 단들을 벽과 함께 이동시켜 막의 평면을 따라 신장시킨다(도 3b의 208'로서 나타냄). 이 신장은, 예를 들어 호흡 동안 폐포에서 조직-조직 계면이 경험하는 역학적 힘을 모방하며, 따라서 조직 구조물 내로의 세포 자기 집합 및 세포 거동에 대한 중요한 조절을 제공한다.

[0087] 음압이 더 이상 인가되지 않을 때 (및/또는 양압이 작동 채널에 인가될 때), 작동 채널(252)과 중심 채널(250) 사이의 압력차는 감소하며, 채널 벽(234, 244)이 그들의 중립적 위치를 향해 탄성적으로 수축한다(도 3a에서와 같이). 작동 동안, 음압이 정해진 시간 간격으로 장치(200)에 교대로 인가되어 막의 평면을 따라 막(208)의 연속 팽창 및 수축을 일으키고, 그럼으로써 제어된 시험관내 환경 내에서의 생체 기관의 조직-조직 계면의 작동을 모방한다. 논의될 바와 같이, 제어된 환경 내에서의 이 모방된 기관 작동은 조직 내에서의 세포 거동뿐만 아니라, 막 및 관련된 제1 마이크로채널(250A) 및 제2 마이크로채널(250B)에 대하여 분자, 화학물질, 미립자 및 세포의 통과에 대한 모니터링을 가능하게 한다.

[0088] 본 명세서에서 용어 압력차는 중심 마이크로채널과 외부 작동 채널 사이의 특정 벽의 반대면들 상에서의 압력의 차에 관한 것임을 알아야 한다. 압력차는 막(208)의 팽창 및/또는 수축이라는 목적을 달성하기 위하여 다수의 방법으로 생성될 수 있음이 고려된다. 상기에 기재된 바와 같이, 음압(즉, 흡인 또는 진공)이 작동 채널(252) 중 하나 이상에 인가될 수 있다. 대안적으로, 도 3b에 도시된 바와 같이 벽(234, 244)이 이미 굽혀진 구성에 있도록, 막(208)이 디폴트로(by default) 팽창된 상태에 있게 사전-로딩되거나 사전-스트레싱됨이 고려된다. 이 실시 형태에서, 작동 채널(252)에 인가된 양압은 압력차를 생성할 것이며, 이 압력차는 벽(234, 244)을 중심 마이크로채널을 향해 내측으로 이동시켜(도 3a 참조) 막(208)을 수축시킬 것이다.

[0089] 또한, 다른 실시 형태에서, 양압 및 음압의 조합이 하나 이상의 작동 마이크로채널(252)에 인가되어 중심 마이크로채널 내에서 막의 평면을 따라 막(208)의 운동을 일으키는 것이 고려된다. 상기의 임의의 실시 형태에서, 하나 이상의 작동 채널(252) 내의 유체의 압력은, 압력차가 사실상 중심 마이크로채널(들)(250A, 250B) 중 하나 이상의 채널 내의 유체(들)의 압력에 대하여 생성되어 막(208)의 상대적인 팽창/수축을 일으키게 하는 것이 바람직하다. 예를 들어, 소정의 압력을 가질 수 있는 유체가 상부 중심 마이크로채널(250A) 내에서 적용될 수 있으며, 이렇게 함으로써, 저부 중심 마이크로채널(250B) 내의 유체는 상이한 압력을 가질 수 있다. 이 예에서, 하나 이상의 작동 채널(252)에 인가되는 압력은 중심 마이크로채널(250A, 250B) 어느 하나 또는 둘 모두의 채널 내의 유체의 압력을 고려하여 막(208)의 원하는 팽창/수축을 확보해야 한다.

[0090] 일 실시 형태에서, 상부 마이크로채널(250A)과 하부 마이크로채널(250B) 사이에 존재하는 압력차에 의하여, 막(208)의 적어도 일부를 x-y 평면을 따른 팽창/수축에 더하여 z-방향으로 수직하게 팽창 및/또는 수축시키는 것이 가능하다.

[0091] 일 실시 형태에서, 막(208)의 팽창 및 수축은 바람직하게는 역학적 힘을 접착 세포 및 ECM에 인가하는데, 이는 조직-조직 계면을 가로질러 행해지는 화학물질, 분자 미립자, 및/또는 유체 또는 기체의 수송에 영향을 주고, 세포 생리를 변경시킬 수 있는 생리학적인 역학적 신호(cue)를 모방한다. 장치 내에서 생성된 압력차가 막의 팽창/수축을 일으키기는 하지만, 마이크로모터 또는 액추에이터와 같은 기계적 수단이 압력차를 보조하거나 대체하여 막 상에서의 세포의 팽창/수축을 일으켜 세포 생리를 조절하는 데 사용될 수 있음이 고려됨을 알아야 한다.

[0092] 도 3e 및 도 4c는 일 실시 형태에 따라 막을 통하여 연장되는 복수의 개구(302)를 포함하는 막(208)의 사시도를 도시한다. 특히, 도 3e 및 도 4c에 도시된 막은 막(208)의 상면(304)과 저면(306) 사이에서 연장되는 일체화된 기공 또는 개구(302) 중 하나 이상을 포함한다.

[0093] 막은 세포, 미립자, 화학물질 및/또는 매체가 막(208)을 통하여 중심 마이크로채널의 한 섹션으로부터 나머지 다른 한 섹션으로 또는 그 반대로 중심 마이크로채널 부분(250A, 250B) 사이를 이동할 수 있도록 구성된다. 기공 개구는 도 4a 내지 도 4에서 오각형 단면 형상을 갖는 것으로 도시되어 있지만, 임의의 다른 단면 형상이 고려되며, 이에는 제한 없이, 환형(302), 육각형(308), 사각형, 타원형(310) 등이 포함된다. 기공(302, 308, 310)(일반적으로 도면 부호 302로 지칭됨)은 바람직하게는 상면(304)과 하면(306) 사이에서 수직으로 연장되지만, 기공(312)과 마찬가지로 그들이 상면과 하면 사이에서 횡방향으로 역시 연장될 수 있음이 고려된다. 또한, 다공성 막은 추가적으로/대안적으로 막(208)의 적어도 일부를 따라 슬릿 또는 다른 형상화된 개구를 포함할 수 있음을 알아야 하는데, 이는 세포, 미립자, 화학물질 및/또는 유체가 막(208)을 통하여 중심 마이크로채널의 한 섹션으로부터 나머지 다른 한 섹션으로 통과할 수 있게 한다.

[0094] 기공의 폭 치수는 바람직하게는 0.5미크론 내지 20미크론의 범위이지만, 폭 치수는 약 10미크론인 것이 바람직하다. 그러나, 폭 치수가 상기에 제공된 범위 밖에 있는 것도 고려된다. 일부 실시 형태에서, 막(208)은 전통적인 분자/화학 여과 장치보다 더 큰 기공 또는 개구를 갖는데, 이는 막(208)을 가로질러 한 마이크로채널 섹션(예를 들어, 250A)으로부터 나머지 다른 한 마이크로채널 섹션(예를 들어, 250B)로 또는 그 반대로 세포뿐만 아니라 분자도 이동될 수 있게 한다. 이는 장치에 의해 제공되는 마이크로채널 환경 내에 있는 것에 응하여 상부 중심 채널 및 저부 중심 채널 내에서 극성화되는 세포를 배양할 때 유용할 수 있는데, 이렇게 함으로써 유체(들) 및 세포가 이들 마이크로채널(250A, 250B)을 연결하는 기공을 동적으로 통과한다.

[0095] 도 4b에 도시된 바와 같이, 막(208)의 두께는 70나노미터 내지 50미크론일 수 있지만, 두께의 바람직한 범위는 5 내지 15미크론일 것이다. 또한, 막(208)이 막(208) 내의 다른 영역들보다 더 작거나 더 큰 두께를 갖는 영역을 포함하도록 디자인되는 것이 고려된다. 도 3c에 도시된 바와 같이, 막(208)은 막(208)의 다른 영역들에 비하여 하나 이상의 감소된 두께 영역(209)을 갖는 것으로 나타나 있다. 감소된 두께 영역(들)(209)은 막(208)은 전체 길이 또는 폭을 따라 이어질 수도 있거나, 또는 대안적으로 단지 막(208)의 소정의 장소에만 위치될 수도 있다. 감소된 두께 영역(209)이 막(208)의 저면(즉, 마이크로채널(250B)을 대면함)을 따라 나타나 있지만, 감소된 두께 영역(들)(209)이 추가적으로/대안적으로 막(208)의 반대면(즉, 마이크로채널(250A)을 대면함) 상에 있을 수 있음이 고려됨을 알아야 한다. 또한, 도 3d에 도시된 바와 같이, 막(208)의 적어도 일부가 막의 나머지 부분에 비하여 하나 이상의 더 큰 두께 영역(209')을 가질 수 있으며, 상기에 기재된 감소된 두께 영역과 동일한 대안을 가질 수 있음을 알아야 한다.

[0096] 일 실시 형태에서, 다공성 막(208)은 마이크로크기 및/또는 나노크기의 패턴, 예를 들어 홈(groove) 및 릿지(ridge)을 그 안에 포함하도록 디자인되거나 표면 패턴화될 수 있으며, 이렇게 함으로써 이들 패턴의 임의의 파라미터 또는 특성이 원하는 크기, 형상, 두께, 충전 재료 등으로 디자인될 수 있다.

[0097] 일 실시 형태에서, 막(208)은 폴리디메틸실록산(PDMS) 또는 임의의 다른 중합체 화합물 또는 재료로 만들어지지만, 이는 반드시 필요한 것은 아니다. 예를 들어, 막(208)은 폴리이미드, 폴리에스테르, 폴리카르보네이트, 사이클로올레핀 공중합체, 폴리메틸메타크릴레이트, 나일론, 폴리이소프렌, 폴리부타디엔, 폴리클로로펜, 폴리이소부틸렌, 폴리(스티렌-부타디엔-스티렌), 니트릴, 폴리우레탄 및 폴리실리콘으로 만들어질 수 있다. GE RTV 615, 비닐-실란 가교결합(형) 실리콘 탄성중합체(패밀리)가 사용될 수 있다. 폴리디메틸실록산(PDMS) 막은 비스코 실리콘즈(Bisco Silicons)(엘크 그로브, 111.)로부터 HT-6135 및 HT-6240 막으로 입수가능하며, 이 막은 선택된 응용에서 유용하다. 재료의 선택은 통상적으로 수행되는 응용에 필요한 특정 재료 특성(예를 드어, 내

용매성, 강성, 기체 투과성, 및/또는 온도 안정성)에 좌우된다. 마이크로유체 장치의 구성요소의 제조시에 사용될 수 있는 추가적인 탄성 재료가 Unger et al.(문헌[2000 Science 288:113-116])에 기재되어 있다. 본 발명의 장치의 일부 탄성중합체는 다이어프램으로서 사용되며, 그들의 신장 및 완화 특성에 더하여, 또한 그들의 다공성, 불투과성, 내화학성, 및 그들의 습윤 및 부동태화 특성에 의하여 선택된다. 다른 탄성중합체가 그들의 열 전도성에 의하여 선택된다. 마이크로닉스 파커 코머릭스 터마갭(Micronics Parker Chomerics Thermagap) 재료 61-02-0404-F574(0.020" 두께)는 1.6 WVm-°F의 열 전도성을 제공하는 데 단지 5 내지 10psi의 압력만을 필요로 하는 연질 탄성중합체(쇼어 A가 5 미만임)이다. 탄성이 결여된 변형가능한 필름(deformable film)이 또한 마이크로유체 장치에 사용될 수 있다. 또한, 기재된 것과 같은 장치 및 막을 제조하는 데 적합한 다른 재료로서 가교결합을 갖거나 갖지 않는, 실크, ECM 겔을 사용할 수도 있다.

[0098] 중심 마이크로 채널(250) 및 작동 마이크로채널(252)이 사실상 사각형 또는 직사각형 단면을 갖는 것으로 나타나 있지만, 환형, 계란형, 육각형 등과 같은 다른 단면 형상이 고려됨을 알아야 한다. 또한, 장치(200)는 일 실시 형태에 따라 2개보다 많거나 적은 작동 채널(252) 및 2개보다 많거나 적은 중심 마이크로채널(250A, 250B)을 가질 수 있음이 고려된다.

[0099] 일 실시 형태에서, 중심 마이크로채널은 장치 내에서 그의 길이의 적어도 일부를 따라 불균일한 폭 치수 B를 가짐이 고려된다. 도 2e는 일 실시 형태에 따라 조직 계면 영역(400)의 탑다운형 단면도를 도시한다. 도 2e에 도시된 바와 같이, 계면(400)은 마이크로채널 벽(404)에 의해 분리된 인접한 작동 채널(406)과 함께 중심 마이크로채널(402)을 포함한다. 도 2e의 실시 형태에서, 중심 마이크로채널(402)은 폭 치수 C(단부(408)에서)로부터 폭 치수 D(단부(410)에서)로 점차로 증가하는 폭을 갖는 것으로 나타나 있다. 도 2e의 실시 형태에서, 작동 채널(406)은 각각 이에 대응하여 (단부(408)에서의 폭 치수 E로부터 단부(410)에서의 폭 치수 F로) 감소하는 폭 치수를 갖는다. 다른 실시 형태에서, 도 2f에 도시된 바와 같이, 작동 채널(406')은 단부(408 및 410)에서 사실상 균일한 폭 치수 F를 갖는다. 막(도시되지 않음)은 중심 마이크로채널(402) 위에 배치되고 벽(404)의 상면에 장착됨이 고려되는데, 이렇게 함으로써 막은 중심 마이크로채널(402)과 유사한 테이퍼링된 형상을 갖는다. 그럼으로써 테이퍼링된 막은 작동 마이크로채널(406)과 중심 마이크로채널(402) 사이에 압력차가 인가될 때, 화살표 방향으로 불균일한 신장을 겪게 될 것이다.

[0100] 다른 실시 형태에서, 도 2g에 도시된 바와 같이, 중심 마이크로채널은 부분적으로 환형인 단면 형상을 갖는 부분을 가질 수 있다. 특히, 도 2g의 실시 형태에 대하여, 중심 마이크로채널(502)과 인접한 작동 마이크로채널(504) 사이에 생성된 압력차는 마이크로채널 벽(506)을 화살표로 나타낸 방향으로 이동시킬 것이다. 중심 마이크로채널(502)의 환형 부분(508)의 에 관해서는, 중심 부분(508)에서 (화살표로 나타낸 바와 같이) 벽의 등축 외향 운동(equiaxial outward movement)이 벽(506)의 상부에 장착된 막의 등축 신장(도시되지 않음)을 생성한다.

[0101] 본 명세서에서 개시된 장치(200)는 여러 응용에 대한 잠재성을 갖는다. 예를 들어, 일 응용에서, 막(208)은 막(208)의 주기적 신장에 의해 생성되는 생리학적인 역학적 변형 및/또는 생물학적 유체(예를 들어, 공기, 점액, 혈액)의 유동을 받아서 폐포 및 그 아래에 놓여 있는 폐 모세혈관의 본래의 미세환경을 반복할 수 있다. 일 실시 형태에서, 막(208) 상에의 세포의 배양 조건은 세포외 기질(ECM) 코팅, 배지 관류, 또는 주기적인 역학적 변형 하에서 최적화되어 공배양된 세포들의 형태학적 및 기능적 특성을 유지하고 막(208)을 가로질러 행해지는 그들의 직접적인 세포 상호작용을 가능하게 할 수 있다. 따라서, 장치(200)는 동시에 막 상에 성장된 폐 상피 또는 내피 세포의 인접한 단층들의 동적인 역학적 신장 및 장기간 세포 배양을 가능하게 할 것이다.

[0102] 폐에서의 폐포 상피와 폐 내피 사이의 조직-조직 계면을 시뮬레이션하는 데 있어서 막(208)을 이용함에 있어서, 한 가지 방법은 상피층을 모방하기 위하여 제I형 폐포 상피 세포를 제1 섹션(250A)에 대면하는 막(208)의 면(이하, 막의 상측면)에 적용하는 것일 수 있다. 그러나, 제I형-유사 및 제II형-유사 폐포 상피 세포를 약 7:13의 비로 혼합하여 폐포 상피의 생체내 세포 조성을 재구성하는 것이 가능할 수 있다. 이 예시적인 방법에서는, 폐 미세혈관 내피 세포가 제2 섹션(250B)과 대면하는, 막(208)의 반대면(이하, 막의 하측면) 상에 배양된다. 이 예시적인 방법에서는, 음압이 장치(200)에 주기적으로 인가되어 막(208)을 그의 평면을 따라 연속해서 팽창 및 수축시킨다.

[0103] 그러한 조작 동안, 생리학적 폐포-모세혈관 단위가 막(208) 상에 형성될 수 있는데, 이는 통상적인 결합 구조(junctional structure)가 막(207) 상에 형성되고 유체뿐만 아니라 이온이 막(208)을 가로질러 제1 섹션(250A)과 제2 섹션(250B) 사이로 수송될 수 있기 때문이다. 막(208) 상에의 밀착 결합(tight junction)의 형성은 ZO-I 및 오클루딘(occludin)과 같은 밀착 결합 단백질의 온-칩 면역조직화학 검출(on-chip

immunohistochemical detection)을 사용하여 평가될 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 배양 조건을 변화시킴으로써 상피 막 장벽 형성을 최적화하고 막의 투과성을 측정하기 위하여 형광 표지된 큰 분자(예를 들어, 상이한 중량의 덱스트린)의 배제가 정량화될 수 있다. 추가적으로, 막(208) 상에 기능적 폐포-모세혈관 단위의 생체내 상대물(counterpart)의 핵심 구조 조직화를 재현하는 기능적 폐포-모세혈관 단위의 형성을 입증하기 위하여 조직학적, 생화학적, 및 마이크로형광측정 기법이 사용될 수 있다.

[0104] 일례에서, 각각 그들 자신의 산소 분압 및 혈압을 갖는 상이한 유체들을 개별의 제1 섹션(250A) 및 제2 섹션(250B) 내로 주입함으로써 막(208) 상에 자기 집합된 조직-조직 계면의 기체 교환 기능이 측정될 수 있는데, 이렇게 함으로써 제1 섹션(250A)은 폐포 구획으로서 작용하고, 제2 섹션(250B)은 미세혈관 구획으로서 작용한다. 장치로 혈액을 통과시키기 전과 후에 개별의 섹션(250A, 250B)에서 혈액 내의 산소 수준을 측정하기 위하여 혈액-기체 측정 장치가 바람직하게는 장치(200) 내에서 사용된다. 예를 들어, 공기가 상부 채널(250A) 내로 주입되고 있는 동안에, 혈액이 채널(250B)을 통하여 유동할 수 있는데, 이렇게 함으로써 빠져나가는 공기가 수집되고 측정되어 산소농도계를 사용하여 산소 수준을 측정한다. 산소농도계는 기존의 시스템과 일체화되거나, 또는 하나 이상의 중심 마이크로채널의 유출 포트에 연결된 별개의 유닛으로서 존재할 수 있다. 일 실시 형태에서, 약물 또는 미립자를 함유하는 에어로졸을 갖는 공기 또는 다른 매체가 장치를 통하여 유동될 수 있으며, 이렇게 함으로써 이어서 막을 통하여 혈액으로의 이들 약물 또는 미립자의 수송이 측정된다. 또한, 병원체 또는 사이토카인이 공기 또는 기상 매체 측에 첨가되고, 이어서 인근의 모세혈관 내피에의 면역 세포의 부착 및 부종액(edema fluid)과 함께 혈액 측으로부터 기도 측으로의 그들의 통과뿐만 아니라, 혈액 내로의 병원체 유입도 측정됨이 고려된다.

[0105] 상피의 기능성은 구성 세포의 극성화를 필요로 하므로, 투과 전자 현미경법, 면역조직세포화학, 공초점 현미경법, 또는 다른 적절한 수단을 사용하여 막의 구조를 가시화하여 막(208)의 폐포 상피 세포 측의 극성화를 모니터링할 수 있다. 폐 모방 실시 형태에서는, 막(208)에서 기도 상피에 의한 폐 계면활성제 생성을 측정하기 위하여 제1 마이크로채널(250A) 및/또는 제2 마이크로채널(250B)에 형광 염료가 적용될 수 있다. 특히, 막(208) 상의 폐 상피 세포는 폐 계면활성제의 세포내 저장을 특이적으로 표지하는 형광 염료(예를 들어, 퀴나크린)의 세포 흡수로부터 생성되는 형광을 측정함으로써 또는 특이 항체를 사용함으로써 모니터링될 수 있다.

[0106] 조직 계면 장치(200)의 독특한 능력 중 하나는 기관 수준에서 폐의 염증 반응을 시뮬레이션하는 시험관내 모델의 개발을 가능하게 하여 면역 세포가 혈액으로부터 내피 세포를 통하여 그리고 폐포 구획 내로 어떻게 이동하는지에 대한 연구를 가능하게 한다. 이를 달성하는 한 가지 방법은 제1 섹션(250A)으로뿐만 아니라, 제2 섹션(250B) 내의 순환 면역 세포를 함유하는 사람 전혈(whole human blood) 유동 또는 매체로의 염증촉진 인자(예를 들어, IL-1β, TNF-α, IL-8, 실리카 마이크로입자 및 나노입자, 병원체)의 제어되고 프로그램 가능한 마이크로유체 전달에 의한다. 염증 반응 동안 폐포 공간 내로의 세포 통과 및 유체의 혈관 투과성, 유출(extravasation)에 있어서의 변화를 연구하기 위하여 막을 가로지르는 전기 저항 및 단락 회로 전류가 모니터링될 수 있다. 유출 반응 동안 동적 세포 운동성 거동을 가시화하기 위하여 형광 현미경법이 사용될 수 있다.

[0108] 조직 계면 장치(200)는 또한 나노재료가 폐 조직-조직 계면에 대하여 어떻게 거동하는지를 조사하는 데 사용될 수 있다. 특히, 나노재료(예를 들어, 실리카 나노입자, 초상자성 나노입자, 금 나노입자, 단일벽 탄소 나노튜브)를 막(208)의 기도 표면에 적용하여 막(208) 상에서 성장되는 기도 또는 내피 세포뿐만 아니라 기도 채널로부터 혈액 채널 내로의 그들의 통과에 미치는 나노재료의 잠재적인 독성 효과를 조사할 수 있다. 예를 들어, 막(208) 상에 형성된 조직 장벽을 통한 나노재료의 이행 및 기체 교환 및 유체/이온 수송과 같은 장벽 기능에 있어서의 나노재료-유도된 변화를 모니터링하기 위하여 센서(120)가 사용될 수 있다.

[0109] 조직 계면 장치(200)는 폐 생물학 및 생리학의 다양한 중요한 영역의 직접 분석을 가능하게 하는데, 이러한 영역에는 제한 없이, 기체 교환, 유체/이온 수송, 감염, 염증, 부종/호흡 곤란 증후군, 암 및 전이 발생, 진균 감염, 약물 전달과 약물 스크리닝, 생물학적 검출, 및 폐 역학적 전이(pulmonary mechanotransduction)가 포함된다. 추가적으로, 장치(200)는 혈액-뇌 장벽, 장, 골수, 사구체, 및 암성 종양 미세환경과 같은 다른 생리학적 시스템 내에서 발견되는 생물학적 조직-조직 계면을 정확하게 모델링할 수 있게 한다. 상기에 기재된 바와 같이, 약물, 화학물질, 미립자, 독소, 병원체 및 약물, 독소 및 백신 스크리닝을 위한 다른 환경적 자극에 대한 세포 및 조직 반응의 고속대량 분석뿐만 아니라 독물학 및 생물학적 검출 응용을 제공하기 위하여 하나 초과의 조직 계면 장치(200)가 복합되고 자동화될 수 있다. 장치는 시험관내에서 복합 조직 및 기관 생리를 연구하기 위해서뿐만 아니라, 생체적합성 또는 생분해성 장치를 사용하여 생체내에서 조직 및 기관 공학을 연구하기 위하

여 사용될 수 있다.

[0110] 일 실시 형태에서, 조직 계면 장치(200)는 인공 조직층들을 그 안에 생성하는 데 사용될 수 있다. 이 실시 형태에서는, 2개 이상의 상이한 세포 유형이 막의 반대 표면들 상에 적용되고, 적절한 생리학적 환경을 모방하는 조건 하에서 성장된다. 추가적으로 또는 대안적으로, 중심 마이크채널과 작동 마이크로채널들 중 적어도 하나 사이에 압력차가 인가될 수 있으며, 이 압력차는 마이크로채널 벽을 이동시키고, 그에 따라 막(208)이 그의 평면을 따라 팽창/수축을 일으키게 된다.

[0111] 다른 예에서, 장치(200)는 다공성 막(208)을 이용하며, 이렇게 함으로써 폐 세포가 막(208)의 한면 상에서 성장되고, 내피 세포가 막(208)의 나머지 다른 한면 상에 유지된다. 장치(200)의 작동 동안, 이들 2개의 세포층은 막(208) 상의 기공을 통한 화학적 및 분자적 신호의 통과를 통하여 서로 연통한다. 이 연통은 이들 세포가 생리학적인 역학적 시뮬레이션을 갖거나 갖지 않고서, 조직-조직 계면으로서 어떻게 상이하게 기능하는지를 이해하기 위하여 모니터링되고 분석될 수 있으며, 표준 조직 배양 시스템 내에서와 같이 격리되어 단일 조직 유형으로서 성장될 때와 비교될 수 있다. 세포 및 조직 생리에 있어서의 변화뿐만 아니라, 이 조직-조직 계면을 가로질러 행해지는 화학물질, 분자, 미립자 및 세포의 통과를 모니터링함으로써, 보다 효과적인 약물 또는 치료제를 생성하는 데 사용될 수 있는 정보가 얻어져 이전에 알려지지 않은 독성을 확인하게 되고, 이들 개발 공정의 기간을 상당히 단축시키게 된다. 특히, 그러한 제어된 환경에서의 세포의 거동은 연구자들이 종래의 시험관내 배양 기법을 사용해서는 재현될 수 없는, 상기에 언급된 시스템 내에서 일어나는 다양한 생리학적 현상을 연구할 수 있게 한다. 다시 말해서, 장치(200)는 환자의 신체 외부에서 그리고 제어가능한 환경 내에서 여전히 폐의 핵심 생리학적 기능 및 구조가 유지되는 모니터링가능한 인공 혈액-공기 장벽을 생성하도록 기능한다. 상기의 장치가 폐 기능의 모방의 관점에서 기재되어 있지만, 이 장치는 다른 생리학적 시스템, 예를 들어 살아있는 미생물 개체군을 함유하는 위장관 내에서의 연동 및 흡수, 신장 내에서의 관류 및 소변 생성, 혈액-뇌 장벽의 기능, 피부 노화에 미치는 역학적 변형의 효과, 조혈 줄기 세포 니치(niche)를 갖는 세포 골수-미세혈관 계면 등을 모방하도록 용이하게 구성될 수 있음을 알아야 한다.

[0112] 막 표면 처리 및 장치의 작동시에 막에 및/또는 중심 마이크로채널(250A, 250B)을 통하여 적용될 수 있는 배지의 유형에 대한 상세한 내용이 이제 논의될 것이다. 도 4d에 도시된 바와 같이, 다공성 막을 비롯한 막은 다양한 세포 접착 촉진 물질과 같은 물질 또는 피브로넥틴, 라미닌 또는 다양한 콜라겐 유형과 같은 ECM 단백질 또는 이들의 조합으로 코팅될 수 있다. 일반적으로, 도 4d에 도시된 바와 같이, 하나 이상의 물질(608)이 막(604)의 한 표면 상에 나타나는 한편, 또 하나의 다른 물질(610)이 막(604)의 반대 표면에 적용되거나, 또는 양쪽 표면이 동일한 물질로 코팅될 수 있다. 일부 실시 형태에서, ECM - 이는 1차 세포 또는 배아 줄기 세포와 같은 세포에 의해 생성된 ECM일 수 있음 -, 및 물질의 다른 조성물이 무혈청 환경 내에서 생성된다.

[0113] 일 실시 형태에서, 세포 접착 인자 및 양으로 하전된 분자의 조합으로 막을 코팅하는데, 세포 접착 인자 및 양으로 하전된 분자는 막에 결합되어 세포 부착을 개선하고 세포 성장을 안정화한다. 양으로 하전된 분자는 폴리리신, 키토산, 폴리(에틸렌이민) 또는 아크릴아미드 또는 메타크릴아미드로부터 중합된 아크릴 및 1차, 2차 또는 3차 아민, 또는 4차 염의 형태의 양으로 하전된 기를 포함하는 것으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 세포 접착 인자는 막에 가해질 수 있으며, 이는 바람직하게는 피브로넥틴, 라미닌, 콜라겐, 비트로넥틴 또는 테나신, 또는 그의 세포 결합 도메인을 갖는 단편 또는 유사체이다. 양으로 하전된 분자와 세포 접착 인자는 막에 공유 결합될 수 있다. 다른 실시 형태에서, 양으로 하전된 분자와 세포 부착 인자는 서로 공유 결합되고, 양으로 하전된 분자 또는 세포 부착 인자 중 어느 하나가 막에 공유 결합된다. 또한, 양으로 하전된 분자 또는 세포 부착 인자 또는 이들 둘 모두는 막에 비공유 결합된 안정한 코팅의 형태로 제공될 수 있다.

[0114] 일 실시 형태에서, 세포 부착-촉진 물질, 기질-형성 제형, 및 물질의 다른 조성물은 원하지 않는 오염을 방지하기 위하여 멸균된다. 멸균은, 예를 들어 자외선, 여과, 또는 가열에 의해 완수될 수 있다. 항생제가 또한, 특히 인큐베이션 동안 첨가되어 세균, 진균 및 다른 원하지 않는 미생물의 성장을 방지할 수 있다. 그러한 항생제에는, 비제한적인 예로서, 젠타미신, 스트렙토마이신, 페니실린, 암포테리신 및 시프로플록사신이 포함된다.

[0115] 다른 실시 형태에서, 막은 세포 배양액으로 코팅되며, 이러한 세포 배양액은 제한 없이, 1차 세포 배양액, 수립 세포주, 또는 줄기 세포 배양액, 예를 들어 ESC를 포함하며, 피브로넥틴 또는 콜라겐을 포함하거나 이로 본질적으로 이루어진 ECM 물질에 부착된다.

[0116] 일 실시 형태에서, 막에 부착된 1차 세포 또는 세포주는 폐포 세포, 내피 세포, 장세포, 각질 세포 - 이에는 제한 없이, 사람 진피 각질 세포가 포함됨 -, 또는 본 명세서의 어딘가 다른 곳에서 열거되거나 당업자에게 잘 알려진 임의의 다른 유형의 세포일 수 있다. 다른 실시 형태에서, 1차 세포는 섬유모세포일 수 있으며, 이에는

제한 없이, 사람 태아 섬유모세포가 포함된다. 일부 실시 형태에서, 줄기 세포 배양액의 줄기 세포는 배아 줄기 세포이다. 배아 줄기 세포의 공급원에는 제한 없이, 포유류 - 비사람 영장류 및 사람을 포함함 - 가 포함될 수 있다. 사람 배아 줄기 세포의 비제한적인 예에는 주(line) BGO1, BGO2, BGO3, BGOIv, CHA-hES-1, CHA-hES-2, FCNCBS1, FCNCBS2, FCNCBS3, H1, H7, H9, H13, H14, HSF-I, H9.1, H9.2, HES-I, HES-2, HES-3, HES-4, HES-5, HES-6, hES-1-2, hES-3-0, hES-4-0, hES-5-1, hES-8-1, hES-8-2, hES-9-1, hES-9-2, hES-101, MCM8, MCM9, MCM40, MCM41, MCM42, MCM43, HSF-6, HUES-I, HUES-2, HUES-3, HUES-4 HUES-5, HUES-6, HUES-7 HUES-8, HUES-9, HUES-10, HUES-I1, HUES-12, HUES-13, HUES-14, HUESS-15, HUES-16, HUES-17, 13, 14, 16, 13.2, 13.3, 16.2, J3, J3.2, MBO1, MBO2, MBO3, Miz-hES1, RCM-I, RLS ES 05, RLS ES 07, RLS ES 10, RLS ES 13, RLS ES 15, RLS ES 20, RLS ES 21, SAO1, SA02, 및 SA03이 포함된다. 일 실시 형태에서, 줄기 세포 배양액의 줄기 세포는 유도된 다능성 줄기 세포이다.

[0117] 일 실시 형태에서, 세포 배양액은 무혈청인 1차 세포 배양액 또는 줄기 세포 배양액과 같은 세포 배양액일 수 있다. 일부 이들 실시 형태에서는, 무혈청 1차 세포 ECM이 1차 세포 무혈청 배지(serum-free medium, SFM)와 함께 사용된다. 적합한 SFM에는 제한 없이, (a) 에피라이프® 확정 성장 보충제(EPILIFE® Defined Growth Supplement)로 보충된 에피라이프(EPILIFE)® 무혈청 배양 배지 및 (b) 확정 각질 세포-SFM 성장 보충제로 보충된 확정 각질 세포-SFM이 포함되며, 이들 모두는 기브코/인비트로겐(Gibco/Invitrogen)(미국 캘리포니아주 칼스배드 소재)으로부터 구매가능하다. 이들 실시 형태 중 일부에서는, 무혈청 줄기 세포 ECM이 줄기 세포 SFM과 함께 사용된다. 적합한 SFM에는 제한 없이, 염기성 섬유모세포 성장 인자 및 .베타.-메르캅토에탄올로 보충된 스템프로(STEMPRO)® hESC 무혈청 배지(SFM), 녹아웃(KNOCKOUT)™. 혈청 대체물(SR)로 보충된 녹아웃(KNOCKOUT)™. D-MEM, 스템프로®. MSC SFM 및 스템프로®. NSC SFM이 포함되며, 이들 모두는 기브코/인비트로겐(미국 캘리포니아주 칼스배드 소재)으로부터 구매가능하다.

[0118] 일 실시 형태에서, 이들 조성물은 또한 제노-프리(xeno-free)일 수 있다. 물질의 조성물이 세포가 유래되는 동물의 종 이외의 임의의 동물로부터의 물질이 전혀 없을 때, 이를 "제노-프리"라고 한다. 일 실시 형태에서, 1차 세포 배양액 또는 줄기 세포 배양액과 같은 세포 배양액일 수 있는 세포 배양액은 제노-프리이다. 이들 실시 형태에서, 제노-프리 ECM은 1차 세포 ECM 또는 줄기 세포 성장 또는 분화를 지지하도록 특수 설계된 ECM과 같은 ECM일 수 있다. 이들 기질은 제노-프리가 되도록 특수 설계될 수 있다.

[0119] 일 실시 형태에서, 세포 배양액은 컨디셔닝된 배양 배지 내에서 배양된 1차 세포 또는 줄기 세포이다. 다른 실시 형태에서, 배양 배지는 비컨디셔닝된 배양 배지이다.

[0120] 일 실시 형태에서, 세포 배양 조건은 완전히 규정된다. 이들 실시 형태에서는, 유체 챔버 내에서 완전히 규정된 세포 배양 배지를 사용한다. 적합한 배지에는 제한 없이, 1차 세포에 대해서는, 에피라이프® 확정 성장 보충제로 보충된 에피라이프®. 무혈청 배양 배지, 그리고, 줄기 세포에 대해서는, 스펨프로®. hESC SFM이 포함되며, 이들 모두는 미국 캘리포니아주 칼스배드 소재의 기브코/인비트로겐으로부터 구매가능하다.

[0121] 약제, 환경적 스트레스 인자, 병원체, 독소 등의 효과를 연구하기 위하여, 채널 내의 다공성 막에 부착된 세포를 성장시키는 데 적합한 원하는 세포 배양 배지 내로 이들을 첨가할 수 있다. 그에 따라, 병원체, 예를 들어 세균, 바이러스, 에어로졸, 다양한 유형의 나노입자, 독소, 기상 물질 등을, 챔버 내에서 유동하는 배양 배지 내로 도입하여 세포에 공급할 수 있다.

[0122] 숙련된 기술자는 또한 세포의 대사 활성에 따라 배지의 pH 균형을 제어하여 대상이 되는 임의의 세포 또는 조직 유형에 적합한 수준으로 pH를 유지할 수 있을 것이다. pH를 모니터링하고 조정하기 위한 모니터 및 조정 시스템이 장치 내로 삽입될 수 있다.

[0123] 막은 바람직하게는 세포, 분자 또는 다른 물질로 한면 또는 양면 상에 코팅되며, 이렇게 함으로써 장치는 막을 통하여 마이크로채널들 사이에서 및/또는 이들 마이크로채널을 따라 세포 거동을 모니터링하도록 제어된 환경을 제공한다. 장치 내에는 다세포 유기체로부터의 임의의 세포를 사용할 수 있다. 예를 들어, 인체는 적어도 210개의 알려진 세포 유형을 포함한다. 숙련된 기술자는 장치 내에서 세포의 유용한 조합을 용이하게 작제할 수 있다. 장치에 사용될 수 있는 세포 유형(예를 들어, 사람)에는 제한 없이, 외피계(integumentary system)의 세포[이에는 제한 없이, 각화 상피 세포, 표피 각질 세포(분화 표피 세포), 표피 기저 세포(줄기 세포), 손톱 및 발톱의 각질 세포, 손발톱바닥 기저 세포(줄기 세포), 수질 모간 세포, 수질 모간 세포, 피질 모간 세포, 표피 모간 세포, 표피 모근 초세포, 헉슬리층의 모근 초세포, 헨레층의 모근 초세포, 외부 모근 초세포, 모기질 세포(줄기 세포)가 포함됨]; 습윤 중층 장벽 상피 세포, 예를 들어 각막, 혀, 구강, 식도, 항문관, 원위 요도 및 질의 중층 편평 상피의 표면 상피 세포, 각막, 혀, 구강, 식도, 항문관, 원위 요도 및 질의 상피의 기저 세포(줄

기 세포), 요로 상피 세포(방광 및 요관의 내막을 형성함); 외분비 상피 세포, 예를 들어 타액선 점액 세포(다당류-풍부 분비), 타액선 장액 세포(당단백질 효소-풍부 분비), 혀의 본 에브너(Von Ebner) 선 세포(미뢰를 세척함), 유선 세포(젖 분비), 누선 세포(눈물 분비), 귀의 이도선 세포(왁스 분비), 에크린 한선 어두운 세포(당단백질 분비), 에크린 한선 투명 세포(소분자 분비), 아포크린 한선 세포(냄새 분비, 성호르몬 감수성), 안검의 몰(Moll) 선 세포(특수화된 한선), 피지선 세포(지질-풍부 피지 분비), 코의 바우만 선 세포(후각 상피를 세척함), 십이지장의 브루너 선 세포(효소 및 알칼리성 점액), 정낭 세포(수영하는 정자를 위한 프룩토오스를 비롯한 정액 성분을 분비함), 전립선 세포(정액 성분을 분비함), 구요도선 세포(점액 분비), 바톨린 선 세포(질액 분비), 리트레 선 세포(점액 분비), 자궁 내막 세포(탄수화물 분비), 기도 및 소화관의 분리된 배상 세포(점액 분비), 위 내막 점액 세포(점액 분비), 위선 효소원세포(펩시노겐 분비), 위선 산 분비 세포(염산 분비), 췌장 선방 세포(중탄산염 및 소화 효소 분비), 췌장 내분피 세포, 소장의 파네트 세포(리소짐 분비), 장 상피 세포, 폐의 I형 및 II형 폐포 세포(계면활성제 분비), 및/또는 클라라 세포가 포함된다.

[0124] 또한, 막을 호르몬 분비 세포, 예를 들어 췌장의 랑게르한스섬의 내분비 세포, 뇌하수체 전엽 세포, 성장자극 세포, 프로락틴 분비세포, 갑상선 자극세포, 성선자극세포, 부신피질 자극세포, 뇌하수체 중엽 세포, 멜라닌세포 분비-자극 호르몬; 및 옥시토신 또는 바소프레신을 분비하는 대세포성 신경분비 세포; 세로토닌, 엔도르핀, 소마토스타틴, 가스트린, 세크레틴, 콜레시스토키닌, 인슐린, 글루카곤, 봄베신을 분비하는 장관 및 기도 세포; 티로이드 선 세포, 예를 들어 티로이드 상피 세포, 소포방 세포, 파라티로이드 선 세포, 파라티로이드 주세포, 호산성 세포, 부신 세포, 스테로이드 호르몬(미네랄 코르티코이드 및 글루코 코르티코이드)을 분비하는 크롬 친화성 세포, 테스토스테론을 분비하는 고환의 라이디히 세포, 에스트로겐을 분비하는 난포의 속난포막 세포, 프로게스테론을 분비하는 파열된 난포의 황체 세포, 과립층 황체 세포, 난포막 황체 세포, 방사구체 세포(레닌 분비), 신장의 밀집 반세포, 신장의 극 주위 세포, 및/또는 신장의 혈관간 세포로 코팅할 수 있다.

[0125] 추가적으로 또는 대안적으로, 대사 및 저장 세포, 예를 들어 간세포, 백색 지방 세포, 갈색 지방 세포, 간 지방세포로 막의 적어도 한면을 처리할 수 있다. 또한, 장벽 기능 세포(폐, 장, 외분비선 및 비뇨생식기관) 또는 신장 세포, 예를 들어 신장 사구체 벽세포, 신장 사구체 족세포, 신장 근위 세관 솔 가장자리막, 헬레 루프 얇은 세그먼트 세포, 신장 원위 세관 세포, 및/또는 신장 집합관 세포를 사용할 수 있다.

[0126] 장치에 사용될 수 있는 다른 세포에는 I형 폐포 세포(폐의 공기 공간 내막을 형성함), 췌장관 세포(선방중심 세포), (한선, 타액선, 유선 등의) 민무늬 관 세포, 주세포, 개재 세포, (정낭, 전립선 등의) 관 세포, (미세융모를 갖는) 장 솔 가장자리 세포, 외분비선 횡문 관 세포, 담낭 상피 세포, 수출 소관 무섬포 세포, 부고환 주세포, 및/또는 부고환 기저 세포가 포함된다.

[0127] 또한, 폐쇄 내부 체강의 내막을 형성하는 상피 세포, 예를 들어 혈관 및 림프관 내피 유창 세포, 혈관 및 림프관 내피 연속 세포, 혈관 및 림프관 내피 비장 세포, 활막 세포(관절강의 내막을 형성함, 히알루론산 분비), 장막 세포(복막강, 흉막강, 및 심막강의 내막을 형성함), 편평 세포(귀의 외림프 공간의 내막을 형성함), 편평 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 미세융모를 갖는 내림프낭의 원주 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 미세융모를 갖지 않는 내림프낭의 원주 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 어두운 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 전정막 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 혈관조 기저 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 혈관조 연변 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 클라우디우스의 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 보에처의 세포(귀의 내림프 공간의 내막을 형성함), 맥락막총 세포(뇌척수액 분비), 연막거리막 편평 세포, 눈의 색소 섬모 상피 세포, 눈의 비색소 섬모 상피 세포, 및/또는 각막 내피 세포를 사용할 수 있다.

[0128] 하기의 세포들을 배양 배지 내의 막의 표면에 가함으로써 이들이 장치에 사용될 수 있다. 이들 세포에는 추진 기능을 갖는 섬모 세포, 예를 들어 기도 섬모 세포, (여성의) 난관 섬모 세포, (여성의) 자궁 내막 섬모 세포, (남성의) 고환망 섬모 세포, (남성의) 수출 소관 섬모 세포, 및/또는 중추 신경계의 섬모 뇌실막 세포(뇌강의 내막을 형성함)와 같은 세포가 포함된다.

[0129] 또한, 특수화된 ECM을 분비하는 세포를 플레이팅할 수 있으며, 예를 들어 사기질 상피 세포(치아 에나멜 분비), 귀의 전정 기관의 반월 평면 상피 세포(프로테오글리칸 분비), 코르티 기관 치간 상피 세포(유모세포를 덮는 피개막을 분비함), 성긴 결합 조직 섬유모세포, 각막 섬유모세포(각막 각질 세포), 힘줄 섬유모세포, 골수 망상 조직 섬유모세포, 다른 비상피 섬유모세포, 외막 세포, 추간판의 수질핵 세포, 시멘트질 모세포/시멘트질 세포(치근 골유사 시멘트질 분비), 상아질 모세포/상아질 세포(치아 상아질 분비), 유리연골 연골세포, 섬유연골 연골세포, 탄력연골 연골세포, 골모세포/골세포, 골조상 세포(골모세포의 줄기 세포), 눈의 유리체의 유리체

세포, 귀의 외림프 공간의 성상 세포, 간 성상 세포(이토 세포), 및/또는 췌장 성상 세포이다.

[0130] 추가적으로 또는 대안적으로, 수축 세포, 예를 들어 골격근 세포, 적색 골격근 세포(느림), 백색 골격근 세포(빠름), 중간 골격근 세포, 근방추의 핵낭 세포, 근방추의 핵사슬 세포, 위성 세포(줄기 세포), 정상 심장근 세포, 결절 심장근 세포, 푸르키네에 섬유 세포, 평활근 세포(다양한 종류), 홍채의 근상피 세포, 외분비선의 근상피 세포가 본 발명의 장치에 사용될 수 있다.

[0131] 하기의 세포들이 또한 본 장치에 사용될 수 있다: 혈액 및 면역계 세포, 예를 들어 적혈구, 거핵구(혈소판 전구체), 단핵구, 결합 조직 대식세포(다양한 유형), 표피 랑게르한스 세포, (뼈의) 파골세포, (림프양 조직의) 수지상 세포, (중추 신경계의) 미세아교 세포, 호중성 과립구, 호산성 과립구, 호염기성 과립구, 비만 세포, 보조 T 세포, 억제 T 세포, 세포독성 T 세포, 자연 살해 T 세포, B 세포, 자연 살해 세포, 망상적혈구, 혈액 및 면역계를 위한 줄기 세포 및 수임 전구세포(다양한 유형). 조직 배양 시스템 내의 면역 세포의 효과를 측정하기 위하여 이들 세포를 단일 세포 유형으로서 또는 혼합물로 사용할 수 있다.

[0132] 또한, 하나 이상의 신경계 세포, 감각 변환기 세포, 예를 들어 코르티 기관의 청각 내유모세포, 후각 상피의 기저 세포(후각 신경을 위한 줄기 세포), 냉-감수성 1차 감각 신경, 열-감수성 1차 감각 뉴런, 상피의 머켈 세포(촉각 센서), 후각 수용체 신경, 통증-감수성 1차 감각 뉴런(다양한 유형); 광수용체 간상 세포, 눈의 광수용체 청색-감수성 원추 세포, 눈의 광수용체 녹색-감수성 원추 세포, 눈의 광수용체 적색-감수성 원추 세포를 비롯한 눈의 망막의 광수용체 세포, 고유감각 1차 감각 뉴런(다양한 유형); 촉각-감수성 1차 감각 뉴런(다양한 유형); I형 경동맥 소체 세포(혈액 pH 센서); II형 경동맥 소체 세포(혈액 pH 센서); 귀의 전정 기관의 I형 유모세포(가속 및 중력); 귀의 전정 기관의 II형 유모세포(가속 및 중력); 및/또는 I형 미뢰 세포로 막을 처리할 수 있다.

[0133] 본 발명의 장치에 콜린성 신경 세포(다양한 유형), 아드레날린성 신경 세포(다양한 유형), 펩티드성 신경 세포(다양한 유형)와 같은 자율 신경 세포를 추가로 사용할 수 있다. 또한, 감각 기관 및 말초 신경 지지 세포가 또한 사용될 수 있다. 이들에는, 예를 들어, 코르티 기관의 내주 세포, 코르티 기관의 외주 세포, 코르티 기관의 내지상 세포, 코르티 기관의 외지상 세포, 코르티 기관의 경계 세포, 코르티 기관의 한센 세포, 전정 기관 지지 세포, I형 미뢰 지지 세포, 후각 상피 지지 세포, 슈반 세포, 위성 세포(말초 신경 세포체를 피막화함) 및 장 아교세포가 포함된다. 일부 실시 형태에서, 또한 중추 신경계 신경 및 아교세포, 예를 들어 별아교세포(다양한 유형), 신경 세포(매우 다양한 유형, 여전히 불충분하게 분류됨), 희소돌기아교세포, 및 방추 뉴런을 사용할 수 있다.

[0134] 렌즈 세포, 예를 들어 전방 렌즈 상피 세포 및 결정-함유 렌즈 섬유 세포가 또한 본 발명의 장치에 사용될 수 있다. 추가적으로, 색소 세포, 예를 들어 멜라닌 세포 및 망막 색소 상피 세포; 및 배아 세포, 예를 들어 난조 세포/난모 세포, 정자 세포, 정모 세포, 정조 세포(정모 세포를 위한 줄기 세포), 및 정자를 사용할 수 있다.

[0135] 일부 실시 형태에서, 막에 보모(nurse) 세포들인 난포 세포, (조직의) 세르톨리 세포, 흉선 상피 세포를 가할 수 있다. 또한, 간질 세포, 예를 들어 간질 신장 세포를 사용할 수 있다.

[0136] 일 실시 형태에서, 막의 적어도 한면을 상피 세포로 코팅할 수 있다. 상피는 신체 전체를 통하여 구조물의 강(cavity) 및 표면의 내막을 형성하는 세포로 구성된 조직이다. 많은 샘이 또한 상피 조직으로부터 형성된다. 그것은 결합 조직의 상부에 놓여지며, 기저막에 의해 2개의 층이 분리된다. 사람에서, 상피는 1차 체조직으로 분류되며, 나머지 다른 것들은 결합 조직, 근육 조직 및 신경 조직이다. 상피는 흔히 접착 분자 e-카드헤린(결합 조직의 신경 및 세포에 사용되는 n-카드헤린의 반대어로서)의 발현으로 정의된다.

[0137] 상피 세포의 기능에는 분비, 선택적 흡수, 보호, 세포횡단 수송 및 감각의 검지가 포함되며, 그들은 일반적으로 결과로서 광범위한 정단-기저외측 극성(예를 들어, 발현된 상이한 막 단백질) 및 특수화를 나타낸다. 상피 세포의 예에는 얇고 편평한 혈소판의 외관을 갖는 편평 세포가 포함된다. 그들은 조직 내에 함께 꼭 맞게 끼워져; 평활한 저마찰 표면을 제공하며, 이 위로 유체가 용이하게 이동할 수 있다. 핵의 형상은 통상 세포 형태에 대응하며, 상피 유형을 확인하는 데 도움이 된다. 편평 세포는 세포의 얇고 편평한 형태로 인해 수평으로 편평한 타원형 핵을 갖는 경향이 있다. 고전적으로, 편평 상피는 단순 수동 확산을 이용하여 표면의 내막을 형성함이 확인되는데, 예를 들어 폐의 폐포 상피이다. 특수화된 편평 상피는 또한 혈관(내피) 및 심장(중피)과 같은 강 및 체내에서 발견되는 주요 강의 내막을 형성한다.

[0138] 상피 세포의 다른 예는 입방 세포이다. 입방 세포는 대략 입방 형상이며, 단면이 사각형을 나타낸다. 각각의 세포는 중심에 구형 핵을 갖는다. 입방 상피는 일반적으로 분비 또는 흡수 조직, 예를 들어 (분비) 외분비선

및 췌장, 및 세뇨관의 (흡수) 내막에서뿐만 아니라, 이들 샘의 관에서도 발견된다. 그들은 또한 여성 난소 내에서 난세포, 그리고 남성 고환 내에서 정자 세포를 생성하는 배아 상피를 구성한다.

[0139] 상피 세포의 또 다른 유형은 세장형이고 기둥 형상인 원주 상피 세포이다. 그들의 핵은 세장형이고 통상 세포의 기저 가까이에 위치된다. 원주 상피는 위 및 장의 내막을 형성한다. 일부 원주 세포가 코, 귀 및 혀의 미뢰 등에서의 감각 수용을 위하여 특수화된다. 배상 세포(단세포선)가 십이지장의 원주 상피 세포들 사이에서 발견된다. 그들은 윤활제로서 작용하는 점액을 분비한다.

[0140] 상피 세포의 또 다른 예는 거짓중층 세포이다. 이것은 단순 원추 상피 세포로, 이의 핵이 상이한 높이에서 나타나서, 이 세포의 단면을 관찰할 때 상피가 중층이라는 오해를 초래하는(따라서 "거짓") 느낌을 제공한다. 거짓중층 상피는 또한 섬모라 불리는 그의 정단(관강)막의 미세한 모-유사 확장(hair-like extension)을 가질 수 있다. 이 경우에, 상피는 "섬모(ciliated)" 거짓중층 상피로 표현된다. 섬모는 세포골격 미세소관의 상호작용을 통하여 소정의 방향으로 에너지 의존성 박동을 할 수 있거나, 구조 단백질 및 효소를 결합시킬 수 있다. 생성되는 퍼짐 효과(wafting effect)는 (병원체 및 입자를 윤활시키고 포획하기 위하여) 배상 세포에 의해 국소적으로 분비되는 점액을 그 방향으로(통상적으로 체외로) 흐를 수 있게 한다. 섬모 상피는 기도(코, 기관지)에서 발견되지만, 여성의 자궁 및 난관에서도 발견되는데, 여기서 섬모는 난자를 자궁으로 밀어낸다.

[0141] 상피는 신체의 외부(피부) 및 내부 강과 루멘 둘 모두의 내막을 형성한다. 우리 피부의 최외층은 죽은 중층 편평 각질화 상피 세포로 구성된다.

[0142] 입, 식도 및 직장 일부의 내부의 내막을 형성하는 조직은 비각질화 중층 편평 상피로 구성된다. 체강을 외부 환경과 분리하는 다른 표면은 단순 편평 원주, 또는 거짓중층 상피 세포에 의해 내막이 형성된다. 다른 상피 세포는 폐, 위장관, 생식기관 및 요로 내부의 내막을 형성하며, 외분비선 및 내분비선을 구성한다. 각막의 외부 표면은 빠르게 성장하고 용이하게 재생되는 상피 세포로 덮여진다. 내피(혈관, 심장 및 림프관의 내막)는 외피의 특수화된 형태이다. 또 하나의 다른 유형인 중피는 심막강, 흉막강, 및 복막강의 벽을 형성한다.

[0143] 따라서, 다공성 막 상에 적용가능한 세포 유형을 플레이팅하고 적용가능한 진공을 인가하여 세포 상에 생리학적 또는 인공적인 역학적 힘을 제공하여 피부 상에의 인장 또는 폐 상에의 역학적 변형과 같은 생리학적 힘을 모방함으로써, 개시된 세포 배양 장치 내에서 이들 조직 중 임의의 것을 재현할 수 있다. 일 실시 형태에서, 막의 한면은 상피 세포로 코팅되고, 나머지 다른 한면은 내피 세포로 코팅된다.

[0144] 내피는 혈관의 내부 표면의 내막을 형성하는 세포들의 얇은 층으로, 루멘 내에서와 혈관벽의 나머지 부분 내에서 순환하는 혈액 사이의 계면을 형성한다. 내피 세포는 심장으로부터 가장 작은 모세혈관까지의 전체 순환계의 내막을 형성한다. 이들 세포는 혈액 유동의 와류를 감소시키며, 이는 혈액이 더 멀리 펌핑될 수 있게 한다. 내피 조직은 상피 조직의 특수화된 유형(동물의 생물학적 조직의 네 가지 유형 중 하나)이다. 보다 구체적으로, 그것은 단순 편평 상피이다.

[0145] 해부학의 기초 모델은 내포 세포와 외피 세포 사이를 그들이 생성되는 조직에 기초하여 구별하며, 케라틴 섬유라기보다는 비멘틴의 존재가 이들을 상피 세포와 분리함을 명시한다. 심실(heart chamber)의 내부 표면의 내피는 심내막이라 불린다. 혈액 모세혈관 및 림프 모세혈관 둘 모두는 단층이라 불리는 내피 세포의 단일층으로 구성된다. 내피 세포는 혈관 생물학의 많은 측면에 관여하며, 이러한 측면에는 혈관수축 및 혈관확장, 및 따라서 혈압의 제어; 혈액 응고(혈전 형성 및 피브린 용해); 죽상경화; 새로운 혈관의 형성(혈관 신생); 염증 및 장벽 기능 - 내피는 혈관 루멘과 주위 조직 사이의 선택적 장벽으로서 작용하여 혈류 내외로의 백혈구의 이행 및 물질의 통과를 제어함 - 이 포함된다. 만성 염증의 경우에서와 같이, 내피 단층의 투과성의 과도하거나 연장된 증가는 조직 부종/종창으로 이어질 수 있다. 일부 기관에서는, 특수화된 '여과' 기능을 수행하기 위한 매우 분화된 내피 세포가 있다. 그러한 독특한 내피 구조물의 예에는 신장 사구체 및 혈액-뇌 장벽이 포함된다.

[0146] 일 실시 형태에서, 조직 수준에서 면역계 세포의 기능에 미치는 시험 에이전트의 효과를 연구하기 위하여, 배양된 내피 세포를 함유하는 막의 면이 다양한 시험 물질 및 또한 백혈구 또는 특이적 면역계 세포에 노출될 수 있다.

[0147] 조직 계면 장치(200)가 어떻게 형성되는지에 대한 상세한 내용이 일 실시 형태에 따라 이제 논의될 것이다. PDMS 막의 제작은 바람직하게는 단계적으로 조립되는 다수의 부품을 병행 가공하는 것을 포함한다. 도 4a는 일 실시 형태에 따라 궁극적으로 다공성 막(208)을 생성하는 데 사용되는 마스터(600)의 사시도를 도시한다. 도 4a에 도시된 바와 같이, 마스터(600)는 바람직하게는 규소 기재 상에 원하는 형상 및 크기로 포토레지스트를 패턴화함으로써 형성된다.

[0148] 포스트(602)가 막(208)의 의도된 디자인에 따라 임의의 원하는 배열로 디자인될 수 있음을 알아야 한다. 예를 들어, 포스트(602)는 환형 패턴으로 배열되어, 이에 대응하여 막(208) 내에 기공의 환형 패턴화된 세트를 형성할 수 있다. 상기에 논의된 바와 같이 포스트(602)는 오각형 이외의 임의의 다른 단면 형상을 가져서, 막 내에 대응하는 기공을 만들 수 있음을 알아야 한다. 또한, 마스터(600)는 상이한 높이의 릿지를 함유하여 비평면 막을 생성할 수 있음을 알아야 한다.

[0149] 이후, 도 4b에 도시된 바와 같이, 마스터(600)는 바람직하게는 PDMS로 스핀-코팅되어 스핀-코팅된 층(604)을 형성한다. 이후, 스핀-코팅된 층(604)이 설정 시간 및 온도(예를 들어, 15분에 110℃) 동안 경화되고, 마스터(600)로부터 박리되어, 도 4c에 도시된 바와 같이 오각형 쓰루-홀(606)의 배열을 갖는 얇은 PDMS 막(604)을 생성한다. 도시된 예는 10㎛ 두께 PDMS 막의 제작을 나타내지만, 다른 두께 값이 고려된다.

[0150] 다른 재료가 사용될 수 있지만, PDMS는 비독성이고 300 nm까지 광학적으로 투명한, 적당하게 강성인 탄성중합체(1MPa)라는 점에서 생물학에서 유용한 특성을 갖는다. PDMS는 본질적으로 매우 소수성이지만, 플라즈마에 의한 처리에 의해 친수성 형태로 전환될 수 있다. 막(604)은 일부 상기에 논의된 다양한 목적을 위하여 가공될 수 있다. 예를 들어, 막(604) 상의 기공(606)이 당업자에게 알려진 ECM 분자 또는 겔, 예를 들어 마트리겔(MATRIGEL), 라미닌, 콜라겐, 피브로넥틴, 피브린, 엘라스틴 등으로 코팅되거나 충전될 수 있다. 도 4d에 도시된 바와 같이, 조직-조직 계면은 막(604)의 각각의 면 상에 상이한 유형의 세포들을 배양함으로써 코팅될 수 있다. 특히, 도 4d에 도시된 바와 같이, 한 유형의 세포(608)가 막(604)의 한면 상에 코팅되고, 한편 다른 유형의 세포(610)가 막(604)의 반대면 상에 코팅된다.

[0151] 도 5a 및 도5b는 제1 외부 본체 부분(202), 제2 외부 본체 부분(204)이 일 실시 형태에 따라 어떻게 형성되는지 그 공정을 도시한다. 제1 외부 본체 부분(202) 및 제2 외부 본체 부분(204)은 바람직하게는 소프트 리소그래피 기법을 사용하여 형성되지만, 당업계에 잘 알려진 다른 기법이 고려된다. 일 실시 형태에서, 포토레지스트(도시되지 않음)가 기재 상에 형성되며, 여기서 포토레지스트는 제1 외부 본체 부분에서의 원하는 분지형 구성을 미러링하는 양각 부조 특징형상(positive relief feature)을 갖는다. 유사하게, 제2 포토레지스트(도시되지 않음)가 다른 기재 상에 형성되며, 여기서 제2 포토레지스트는 제2 외부 본체 부분(204)에서의 분지형 구성을 미러링하는, 대응하는 양각 부조 특징형상을 갖는다. 바람직하게는, 연통 포트 및 포트 개구부와 함께 마이크로채널은 바람직하게는 PDMS 또는 다른 적절한 재료를 각각의 마스터 상에 캐스팅함으로써 생성된다. 일단 제1 외부 본체 부분(202) 및 제2 외부 본체 부분(204)이 형성되면, 포트 개구부로서의 역할을 하는 쓰루-홀이, 바람직하게는 개구 형성 기구 또는 스탬프를 사용하여 PDMS 슬래브를 통하여 만들어진다.

[0152] 도 5c에 도시된 바와 같이, 이어서 이미 형성된 PDMS 막(208)이 제1 외부 본체 부분(202)과 제2 외부 본체 부분(204) 사이에 끼워지며, 이렇게 함으로써 마이크로채널 벽(234, 244)뿐만 아니라 외부 벽(238, 248)도 적절한 제조 장비 및 기법을 사용하여 정렬된다. 이후, 바람직하게는, 마이크로채널 벽(234, 244) 및 외부 벽이 적절한 접착제 또는 에폭시를 사용하여 막(208)에 접합된다. 추가적으로, 이들 외부 본체 부분(202, 204)의 나머지 부분이 적절한 접착제 또는 에폭시를 사용하여 서로 영구적으로 접합되어 전체적인 장치를 형성한다.

[0153] 이어서, 도 5d에 도시된 바와 같이, PDMS 에칭 용액이 작동 채널 내로 도입되어 작동 채널 내의 PDMS 막 단편을 에칭하여 제거한다. 이는 막이 없는 2개의 측면 작동 채널(252)을 생성하게 되지만, 막은 도 5e에 도시된 바와 같이 중심 마이크로채널 내에 유지된다. 장치는 바람직하게는 소프트 리소그래피 기법을 사용하여 형성되며, 이에 대한 상세한 내용은 문헌["Soft Lithography in Biology and Biochemistry," by Whitesides, et al., published Annual Review, Biomed Engineering, 3.335-3.373 (2001)]뿐만 아니라 문헌["An Ultra-Thin PDMS Membrane As A Bio/Micro-Nano Interface: Fabrication And Characterization", by Thangawng et al., Biomed Microdevices, vol. 9, num. 4, 2007, p. 587-95]에도 기재되어 있으며, 이들 둘 모두는 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0154] 도 6은 일 실시 형태에 따라 다수의 조직 계면 장치들을 갖는 시스템의 개략도를 도시한다. 특히, 도 6에 도시된 바와 같이, 시스템(700)은 하나 이상의 유체 공급원(704) 및 압력 공급원(도시되지 않음)에 결합된 하나 이상의 CPU(702)를 포함하며, 이렇게 함으로써 상기 것들은 3개의 도시된 조직 계면 장치(706A, 706B, 및 706C)에 결합된다. 3개의 장치(706)가 이 실시 형태에서 나타나 있지만, 3개보다 더 적거나 더 많은 장치(706)가 고려됨을 알아야 한다. 시스템(700)에서, 3개의 장치 중 2개(즉, 706A 및 706B)는 유체 공급원(704)에 대하여 병렬로 연결되고, 장치(706A)와 장치(706C)는 유체 공급원(704)에 대하여 직렬식으로 연결된다. 제시된 구성이 단지 일례이며 그 응용에 따라 임의의 다른 유형의 연결 패턴이 이용될 수 있음을 알아야 한다.

[0155] 제시된 일례에서, 유체 공급원(704)으로부터의 유체는 장치(706A 및 706B)의 유체 유입구로 직접 제공된다. 유

체가 장치(706A)를 통과함에 따라, 그것은 장치(706B 및 706C)의 유체 유입 포트(fluid inlet port) 내로 직접 유출된다. 추가적으로, 장치(706B)로부터의 유체 유출은 장치(706A)로부터 장치(706C) 내로의 유출과 조합된다. 다수의 장치들이 작동하므로, 센서 데이터를 사용하여, 유체가 다른 제어된 환경을 통과한 후에, 유체 또는 막 내의 세포들이 어떻게 거동하는지를 모니터링하는 것이 가능하다. 따라서, 이 시스템은 다수의 독립적인 "스테이지"가 설정될 수 있게 하며, 여기서 각 단계에서의 세포 거동이 시뮬레이션된 생리학적 조건 하에서 모니터링되고 장치(706)를 사용하여 제어될 수 있다. 직렬로 연결된 하나 이상의 장치는 세포들 사이의 화학적 연통을 연구하는 데 제공할 수 있다. 예를 들어, 한 세포 유형은 특정 유체에의 노출에 응하여 단백질 A를 분비할 수 있으며, 이렇게 함으로써 분비된 단백질 A를 함유하는 유체가 한 장치를 빠져나오고, 이어서 다른 장치 내에서 구체적으로 패턴화된 다른 세포 유형에 노출되고, 이렇게 함으로써 단백질 A를 갖는 유체와 다른 장치 내의 다른 세포들의 상호작용이 모니터링될 수 있다(예를 들어, 주변분비(paracrine) 신호전달). 병렬 구성의 경우, 병렬로 연결된 하나 이상의 장치는 개개의 장치를 통하여 따로따로 세포 거동을 분석하는 대신에 한번에 다수의 장치들을 가로질러 세포 거동의 분석 효율을 증가시키는 데 유리할 수 있다.

[0156] 도 7a는 일 실시 형태에 따라 2개의 다공성 막에 의해 분리된 3개의 평행한 마이크로채널을 함유하는 기관 모방 장치의 사시도를 도시한다. 도 7a에 도시된 바와 같이, 기관 모방 장치(800)는 작동 마이크로채널(802) 및 작동 마이크로채널(802) 사이에 위치된 전체적인 중심 마이크로채널(804)을 포함한다. 전체적인 중심 마이크로채널(804)은 마이크로채널(804)을 3개의 구별되는 중심 마이크로채널(804A, 804B 및 804C)로 분리하는, 개별의 평행한 x-y 평면을 따라 위치된 다수의 막(806A, 806B)을 포함한다. 막(806 A 및 806B)은 다공성이거나, 탄성이거나, 또는 이들의 조합일 수 있다. 양 및/또는 음의 가압 매체가 작동 채널(802)을 통하여 적용되어 압력차를 생성하여 그럼으로써 막(806A, 806B)을 그들 개별의 평면을 따라 병행하여 팽창 및 수축시킬 수 있다.

[0157] 도 7b는 일 실시 형태에 따라 기관 모방 장치의 사시도를 도시한다. 도 7b에 도시된 바와 같이, 조직 계면 장치(900)는 작동 마이크로채널(902A, 902B) 및 이들 마이크로채널(902) 사이에 위치된 중심 마이크로채널(904)을 포함한다. 중심 마이크로채널(904)은 개별의 평행한 x-y 평면을 따라 위치된 다수의 막(906A, 906B)을 포함한다. 추가적으로, 벽(910)이 중심 마이크로채널을, 개별의 단면을 갖는 2개의 구별되는 중심 마이크로채널로 분리시키며, 이렇게 함으로써 막(904A 및 904B)과 함께 벽(910)이 마이크로채널(904A, 904B, 904C 및 904D)을 획정한다. 막(906A 및 906B)은 적어도 부분적으로 다공성이거나, 탄성이거나 또는 이들의 조합이다.

[0158] 도 7b의 장치는 작동 마이크로채널(902A 및 902B)이 벽(908)에 의해 분리된다는 점에서 도 7a와 상이한데, 이렇게 함으로써 마이크로채널(902A 및 902B)에 인가되는 별개의 압력이 그들의 개별의 막(904A 및 904B)을 팽창 또는 수축시킬 수 있다. 특히, 양압 및/또는 음압이 작동 마이크로채널(902A)을 통하여 인가되어 막(906A)을 그의 평면을 따라 팽창 및 수축시킬 수 있으며, 한편 상이한 양압 및/또는 음압이 작동 마이크로채널(902B)을 통하여 인가되어 막(906B)을 상이한 빈도 및/또는 크기로 그의 평면을 따라 팽창 및 수축시킬 수 있다. 물론, 작동 마이크로채널의 하나의 세트는 압력을 경험할 수 있으며, 한편 나머지 한 세트는 압력을 경험하지 않으며, 그럼으로써 단지 하나의 막만을 작동시킬 수 있다. 2개의 막이 장치(800 및 900) 내에 나타나 있지만, 2개 초과의 막이 고려되고 장치 내에 구성될 수 있음을 알아야 한다.

[0159] 도 7c에 도시된 일례에서, 도 7a에 도시된 3개의 채널을 함유하는 장치는 혈관화된 종양의 세포 거동을 측정하기 위하여 코팅된 2개의 막(806A 및 806B)을 갖는다. 특히, 막(806A)은 그의 상면(805A) 상에 림프관 내피가 코팅되고, 그의 하면 상에 간질 세포가 코팅되며, 간질 세포는 또한 제2 다공성 막(805B)의 상면 상에 코팅되고, 혈관 내피가 그의 저면(805C) 상에 코팅된다. 종양 세포는 단면(804B)의 상부 막 및 하부 막의 표면 상에 있는 간질 세포의 층들에 의해 상부 및 저부가 둘러싸인 중심 마이크로채널 내에 위치된다. 세포 배양 배지 또는 혈액과 같은 유체가 단면(804C)의 혈관 채널로 들어간다. 세포 배양 배지 또는 림프와 같은 유체는 단면(804A)의 림프관 채널로 들어간다. 장치(800)의 이 구성은 연구자가 암 전이 동안 종양 성장 및 혈관 및 림프관 내로의 침습을 모방하고 연구할 수 있게 한다. 이 예에서, 막(806A, 806B) 중 하나 이상은 작동 마이크로채널을 통한 압력에 응하여 팽창/수축시킬 수 있다. 추가적으로 또는 대안적으로, 막은 작동시킬 수 없고, 다공성이거나 홈을 가져서 세포가 막을 통과되게 할 수 있다.

[0160] 본 발명의 장치의 독특한 능력은 생리학적인 역학적 힘에 의해 유도된 가공 나노재료의 급성 독성 및 폐외 전위(extrapulmonary translocation)에 대처하는 실험에서 모니터링되었다. 장치는 폐 염증을 모델링하기 위하여 사용되었는데, 여기서 그것은 폐포-모세혈관 장벽을 가로질러 이행하는 혈액계 면역 세포 및 사이토카인과 폐 조직의 복잡한 상호작용을 정확하게 재현하고 직접 가시화할 수 있다. 이 모델의 사용으로, 장치는 나노재료에 대한 모방된 폐의 상당한 염증 반응을 밝힌다. 마지막으로, 장치는 세균에 의한 폐 감염 및 호중구 동원 및 포

식작용에 의한 그의 제거를 시뮬레이션하는 데 사용된다.

[0161] 장치는 생리학적인 역학적 힘이 폐에서 가공 나노재료의 독성을 유도하거나 악화시킬 수 있으며, 체순환 내로의 그들의 전위를 촉진시킬 수 있다는 발견으로 이어진 실험에 사용되었다. 더욱이, 폐 감염을 시뮬레이션하는 시험관내 모델이 개발되었는데, 이 모델은 염증을 일으킨 내피에의 순환하는 혈액계 면역 세포의 접착 및 폐포-모세혈관 장벽을 가로질러 행해지는 그들의 이행을 직접 관찰할 수 있게 한다. 이 모델에 기초하여, 가공 나노재료의 상당한 염증촉진 활성이 밝혀졌다. 이 증거에 기초하여, 폐 감염의 모델이 확립될 수 있으며, 폐포 내로의 호중구 침윤에 의해 매개된 세균에 대한 폐의 고유의 면역 반응 및 세균 포식작용의 재현이 행해질 수 있다.

[0162] 본 발명의 장치는 여러 실험에 이용되었으며, 이렇게 함으로써 장치는 살아있는 폐를 모방하는 데 사용되었다. 본 발명의 장치에 의한 관찰 및 발견이 이후에 기재된다. 실제의 폐의 정상 흡식 동안, 횡격막의 수축 및 흉곽의 팽창으로 인해 흉강이 확대되고, 그 결과, 폐포 외부의 흉막강 내압이 감소된다. 폐포 벽을 가로질러 증가된 압력차는 폐포를 팽창시키고, 공기를 폐 내로 강제로 유입시키고, 그 결과 주위 모세혈관 내의 폐포 상피 및 내피가 신장된다. 폐포 상피 세포는 얇은 다공성 막 상에서 폐 미세혈관 내피 세포와 공배양되어 폐포 상피와 폐 내피 사이의 계면을 모방하는 2개의 대향하는 조직층을 생성한다. 구획화된 마이크로채널 구성은 독립적으로 상피 및 내피의 유체 환경을 조작하고, 생리학적인 역학적 변형을 용이하게 인가할 수 있게 한다.

[0163] 이 실험에서는, 생존력의 손실 없이 2주 넘게 사람 유래의 폐포 상피 세포와 1차 폐 미세혈관 내피 세포의 공배양이 발현되었다. 마이크로유체 배양은 상피층 및 내피층 둘 모두에 존재하는 통상적인 연접 복합체(junctional complex)에 의해 입증된 구조 완전성(structural integrity)을 갖는 조밀한 폐포-모세혈관 장벽의 생성으로 이어졌다. 마이크로유체 장치는 컴퓨터-제어된 진공과 일체화되어, 프로그램 가능한 방법으로 변형의 다양한 빈도 및 수준에서 주기적 막/세포 신장을 가능하게 할 수 있다. 인가된 진공이 넓은 중심 마이크로채널을 가로질러 균일한 단방향 인장을 발생시켰음이 관찰되었다. 동시에, 이 인장이 접착 세포들에 의해 인지되고 그들을 신장시켜 그들의 돌출된 표면 영역을 증가시켰음이 발견되었다. 또한, 신장-유도된 정렬 및 내피 세포의 과도 칼슘 응답을 보여줌으로써 세포에 대한 역학적 변형의 효과적인 인가가 확인되었다.

[0164] 폐 조직의 온-칩 생성 및 그들의 본래의 미세환경의 신뢰성 있는 반복에 의해 제공되는 독특한 능력에 기초하여, 장치는 나노재료의 잠재적인 부작용을 평가하는 데 사용되었다. 가공 나노입자의 폭넓은 사용에도 불구하고, 건강 및 환경에 대한 그들의 위험에 대하여 알아야 할 것들이 많이 남아 있다. 기존의 독성학 방법은 지나치게 간소화된 시험관내 모델 또는 장시간의 고가의 동물 시험에 의존하는데, 이들은 흔히 세포 수준에서 기계론적인 연구에 대한 난제를 제기한다. 세포 배양 연구와 동물 모델 사이의 갭을 메우기 위하여, 장치가 엄격하게 제어된 생체모방 미세환경 내에서 나노재료 독성의 보다 현실적이고 정확한 평가를 가능하게 하는 데 사용되었다.

[0165] 이 실험에서는, 장치 내에 준비된 폐포 상피 조직이 다양한 나노재료에 노출되고, 마이크로형광법을 사용하여 반응성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 세포내 생성을 측정함으로써 산화적 스트레스가 조사되었다. 콜로이드성 실리카 나노입자 및 양자 도트의 시험을 통하여, 생리학적인 역학적 변형이 나노입자-생성된 산화적 스트레스를 극적으로 증가시키고, 조기에 폐 상피에서 독성 반응을 유도할 수 있음이 발견되었다. 예를 들어, 0.2Hz에서 10% 변형의 주기적 신장 - 이는 정상 호흡을 시뮬레이션함 - 과 조합하여 12nm 실리카 나노입자에 세포가 노출되었을 때, ROS 생성은 2시간 후에 5배를 초과하여 증가한 반면, 나노입자 또는 역학적 변형 단독은 실험의 지속시간에 걸쳐 측정가능한 반응을 일으키지 않았다(도 8 참조). 카르복실화 양자 도트로 처리된 세포의 반응은 유사한 경향을 보여주었다(도 9 참조). 도 9에 도시된 바와 같이, 실리카 나노입자 단독에 대하여 24시간의 오랜 노출 후에 유사한 수준의 ROS 증가가 달성됨을 알았다.

[0166] 또한, 주기적 변형 단독은 도 9에 도시된 바와 같이, 그의 지속시간에 관계없이 유의한 영향을 갖지 않는 것으로 밝혀졌다. 종합하면, 이들 관찰은 생리학적 힘이 나노입자와 함께 상승적으로 작용하여 폐에서 조기에 독성 효과를 나타내거나 나노입자 독성을 악화시킴을 제시한다. 나노재료에 대한 이 신장-유도된 ROS 반응은 변형의 수준 및 카스파아제 활성에 의해 검출된 상피 세포의 유도된 아폽토시스에 좌우되었다. 나노입자 노출 동안 임상적으로 사용되는 자유 라디칼 포착제, N-아세틸시스테인(NAC)으로 처리되었을 때, 증가된 세포내 글루타티온으로 이어지는 NAC의 항산화 활성으로 인해 세포는 아마도 산화적 스트레스로부터 완전히 구조되었을 것이다. 또한, 나노재료와 변형의 조합된 효과에 의해 생성된 산화적 스트레스가 나노재료의 유형에 따라 상당히 달랐음이 관찰되었다. 예를 들어, 동일한 조건 하에서의 50nm 초상자성 철 나노입자에의 노출은 산화적 스트레스에 있어서 일과성 증가를 가져왔을 뿐이다. 이 독특한 ROS 반응은 하기 표 1에 나타낸 바와 같이, 단일벽 탄소 나노튜브, 금 나노입자, 폴리스티렌 나노입자, 및 폴리에틸렌 글리콜로 코팅된 양자 도트를 비롯한 다른 나노재료

의 시험에서는 관찰되지 않았다.

표 1

[0167]

나노재료	표면 코팅	크기	ROS 반응 (0% 변형)	ROS 반응 (10% 변형)
폴리스티렌 나노입자	카르복실기	500nm	아니오	아니오
	카르복실기	200nm	아니오	아니오
	아민기	200nm	아니오	아니오
	카르복실기	100nm	아니오	아니오
	카르복실기	20nm	아니오	아니오
양자 도트 (Quantom dots)	카르복실기	16nm	아니오	예
	폴리에틸렌 글리콜	13nm	아니오	아니오
실리카 나노입자	N/A	12nm	아니오	예
자철 나노입자	카르복실기	50nm	아니오	예
금 나노입자	N/A	3nm	아니오	아니오

[0168] 조직-나노재료 계면에 미치는 생리학적 힘의 영향을 이해하기 위하여, 공초점 현미경법을 사용하여 노출 1시간 후에 상피 세포 내로의 100nm 형광 나노입자의 내재화(internalization)를 분석하였다. 그러나, 세포내 구획 내에서 검출된 입자 또는 그들의 응집체의 개수는 역학적 변형의 존재 하에서 훨씬 더 많았으며, 세포의 80% 초과가 나노입자를 흡수한 것으로 확인된 반면, 나노입자 흡수의 정도는 변형의 부재 하에서 상당히 더 작았다. 이들 결과는 생리학적인 역학적 힘이 나노재료의 세포 흡수를 촉진시킬 수 있어, 나노재료가 세포 성분(subcellular component)과 상호작용할 수 있게 하고, 그럼으로써 나노재료를 잠재적으로 더 유해하게 함을 나타낸다. 더욱이, 장치는 폐포 공간으로부터 미세혈관계로의 나노재료의 폐외 전위를 조사할 기회를 제공한다. 생체내 증거의 증가는 폐포 내의 나노재료가 폐포-모세혈관 장벽을 가로질러 폐순환으로 들어갈 능력을 가져서, 잠재적으로 다른 기관에 영향을 줌을 제시한다. 이 상황을 조사하기 위하여, 상피 면 상에 20nm 형광 나노입자가 도입되었으며, 연속 유체 유동에 의해 하부의 혈관 채널로부터 운반된 입자의 개수를 카운팅함으로써 나노입자 전위가 모니터링되었다. 이 모델은 이완된 정적 조직 장벽을 가로질러 행해지는 수송과 비교할 때, 10% 주기적 변형을 갖는 생리학적 조건 하에서 혈관 구획 내로의 나노입자 이동의 속도가 현저하게 증가됨을 밝혔다. 이들 발견은 살아있는 폐의 고유의 역학적 활성이 폐포 공간으로부터 혈류 내로 나노재료가 전위될 수 있게 할 수 있다는 시험관내 증거를 제공한다. 실험으로부터의 데이터는 또한 동물 연구에서 관찰된 흡입된 나노재료의 전신 분포 및 축적을 뒷받침하며, 이 과정의 메커니즘을 묘사하는 데뿐만 아니라 이 반응을 연구하기 위한 대용 모델 시스템을 제공하는 데 잠재적으로 기여할 수 있다. 폐에서의 통합된 기관-수준 반응을 재구성하는 장치의 능력을 추가로 입증하기 위하여, 순환하는 혈액계 면역 세포를 일체화시키고, 폐 감염의 핵심 단계를 재현한 보다 정교한 모델이 개발되었다. 일반적으로, 폐에서의 염증 반응은 상피 생성 및 조기 반응 사이토카인의 방출, 백혈구 접착 분자의 상향조절을 통한 혈관 내피의 활성화 및 이어지는 폐 미세순환으로부터 폐포 공간 내로의 백혈구 침윤이라는 매우 동조된 다단계 캐스케이드(coordinated multistep cascade)를 포함한다. 이 과정을 시뮬레이션하기 위하여, 폐포 상피의 정단 표면이 먼저 강력한 염증촉진 매개체인 종양 괴사 인자-α(TNF-α)로 자극되었으며, 세포내 접착 분자-1(ICAM-I)의 발현을 측정함으로써 내피 활성화가 조사되었다. 5시간 동안 폐포 조직의 TNF-α 자극에 대응하여, 막의 반대면 상의 내피 세포들은 ICAM-I의 표면 발현을 극적으로 증가시켰다. 더욱이, 활성화된 내피는 혈관 마이크로채널 내에서 유동하는 사람 호중구(이는 사이토카인 노출의 부재 하에서는 접착하지 않음)의 포획 및 단단한 부착을 지지하였다. 저용량의 TNF-α에 의한 상피 세포의 처리는 내피의 약한 활성화를 가져왔으며, 이는 저지됨 없이 포획된 호중구를 유동 방향으로 연속적으로 롤링시켰다. 직접적인 현미경적 시각화는 접착 호중구가 편평해지고 단단한 접착 부위로부터 멀리 떨어진 장소까지 크롤링하게 되었음을 밝혔는데, 이 멀리 떨어진 장소에서 접착 호중구는 내피를 통하여 유출되고, 수 분의 기간에 걸쳐 막 기공을 통하여 폐포-모세혈관 장벽을 가로질러 이행되었다. 이어서, 이행된 호중구는 우선적으로 세포주위 연접부를 통하여 폐포 상피의 정단 표면 상으로 이주하였으며, 유체 유동 및 주기적 신장에도 불구하고 상피층 상에 유지되었다. 이들 순차적 사건은 폐 염증의 특징인 미세혈관계로부터 폐포 구획으로의 호중구 동원의 전체 과정을 성공적으로 복제한다.장치를 사용하여, 폐에 미치는 콜로이드성 실리카 나노입자의 염증촉진 효과가 조사되었다. 폐포 상피 세포가 5시간 동안 12nm 실리카 나노입자에 노출될 때, 미세혈관 내피가 활성화되고 고수준의 ICAM-I 발현을 나타내었다. 나노입자와 함께 10% 주기적 변형의 인가가 상승적으로 ICAM-I의 내피 발현을 상향조절했음을 알았다. 혈관 채널 내에서 순환하는 사람 호중구는 염증을 일으킨 내피에 단단히 부착되고,

조직 장벽을 가로질러 이행하고, 상피 표면 상에 축적되는 것으로 관찰되었다. 이들 관찰은 이들 실리카 나노입자의 상당한 염증촉진 활성을 입증하며, 이는 폐에서의 급성 염증을 유발시키는 생리학적 힘으로 인해 더 명백해질 수 있다.

[0169] 실험에서, 본 발명의 장치는 세균 기원의 폐 감염에 대한 고유의 면역 반응을 모방하도록 구성되었다. 세균 감염으로 이환된 폐를 모방하기 위하여, 5시간 동안 녹색 형광 단백질(GFP)을 구성적으로 발현하는 에스케리키아 콜라이(Escherichia coli, E. coli)를 사용하여 폐포 상피 세포가 정단에서 자극되었다. 이어서 사람 호중구가 혈관 마이크로채널 내에서 유동될 수 있게 되었을 때, 사람 호중구는 내피 세포에 부착되고 조직층을 가로질러 혈구누출이 일어났으며, 이는 상피의 세균 자극이 내피 활성화를 일으킴을 나타낸다. 상피 표면에 도달했을 때, 호중구는 GFP-표지된 세균을 향한 방향성 운동을 보여주었으며, 형광 표지된 움직이는 호중구에 의해 포식된 세균의 검출에 의해 예증된 바와 같이 그들을 완전히 에워쌌다. 또한, 호중구가 단시간에 걸쳐 하나 초과의 세균을 삼킬 수 있으며, 관찰 영역으로부터 대부분의 세균이 제거될 때까지 그들의 식세포 활성이 계속됨이 관찰되었다. 이들 결과는 이 모델이 시험관내 3D 생리학적 기관 컨텍스트 내에서의 미생물 감염에 대한 통합된 면역 반응의 완전한 과정을 재현하는 능력을 명백히 입증한다.

[0170] 실시 형태 및 응용이 제시되고 기재되어 있지만, 본 명세서에 개시된 발명 개념으로부터 벗어남 없이 상기에 언급된 것보다 더욱 많은 변형이 가능함이 본 발명의 이득을 갖는 당업자에게 명백할 것이다. 따라서, 실시 형태(들)은 첨부된 특허 청구 범위의 사상을 제외하고는 제한되지 않아야 한다.

[0171] 본 발명의 요지는 하기의 알파벳순 단락 중 임의의 것에서 정의될 수 있다:

[0172] [A] 중심 마이크로채널을 그 안에 갖는 본체와;

[0173] 상기 중심 마이크로채널 내에 그리고 평면을 따라 위치된 적어도 부분적으로 다공성인 막을 포함하며, 상기 막은 상기 중심 마이크로채널을 분리하여 제1 중심 마이크로채널 및 제2 중심 마이크채널을 형성하도록 구성되며, 여기서 제1 유체가 상기 제1 중심 마이크로채널을 통해 적용되고, 제2 유체가 상기 제2 중심 마이크로채널을 통해 적용되며, 상기 막은 복수의 살아있는 세포의 접착을 지지하는 적어도 하나의 부착 분자(attachment molecule)로 코팅된, 기관 모방 장치(organomimetic device).

[0174] [B] 상기 다공성 막은 적어도 부분적으로 연성이며, 상기 장치는

[0175] 상기 제1 중심 마이크로채널 및 상기 제2 중심 마이크로채널에 인접하여 위치된, 상기 본체의 제1 챔버 벽으로서, 상기 막이 장착되는 제1 챔버 벽과;

[0176] 상기 제1 챔버 벽의 반대면 상에 있는, 상기 제1 중심 마이크로채널 및 상기 제2 중심 마이크로채널에 인접한 제1 작동 채널로서, 상기 제1 작동 채널과 상기 중심 마이크로채널 사이에 인가된 압력차가 상기 제1 챔버 벽을 원하는 제1 방향으로 굽혀 상기 제1 중심 마이크로채널 및 상기 제2 중심 마이크로채널 내의 평면을 따라 팽창 또는 수축시키는 제1 작동 채널을 추가로 포함하는, [A]의 장치.

[0177] [C] 상기 제1 중심 마이크로채널 및 상기 제2 중심 마이크로채널에 인접하여 위치된, 상기 본체의 제2 챔버 벽으로서, 상기 막의 반대단이 장착되는 제2 챔버 벽과;

[0178] 상기 제2 챔버 벽의 반대면 상에 있는, 상기 중심 마이크로채널에 인접하여 위치된 제2 작동 채널로서, 상기 제2 작동 채널과 상기 중심 마이크로채널 사이의 압력차가 상기 제2 챔버 벽을 원하는 제2 방향으로 굽혀 상기 제1 중심 마이크로채널 및 상기 제2 중심 마이크로채널 내의 상기 평면을 따라 팽창 또는 수축시키는 제2 작동 채널을 추가로 포함하는, [A] 또는 [B]의 장치.

[0179] [D] 상기 막 내의 적어도 하나의 기공 개구(pore aperture)는 폭 치수를 따라 0.5 내지 20미크론인, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0180] [E] 상기 막은 상기 중심 마이크로채널 내에 위치된 제1 막 및 제2 막을 추가로 포함하며, 여기서 상기 제2 막은 상기 제1 막과 평행하게 배향되어 그 사이에 제3 중심 마이크로채널을 형성하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0181] [F] 상기 막은 PDMS를 포함하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0182] [G] 상기 막은 하나 이상의 세포층으로 코팅되며, 여기서 상기 하나 이상의 세포층은 상기 막의 표면에 적용되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0183] [H] 상기 막의 한면 또는 양면이 하나 이상의 세포층으로 코팅되며, 여기서 상기 하나 이상의 세포층은 후생동물 세포, 포유류 세포, 및 사람 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 세포를 포함하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0184] [I] 상기 세포는 상피 세포, 내피 세포, 간엽 세포, 근육 세포, 면역 세포, 신경 세포, 및 조혈 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0185] [J] 상기 막의 한면은 상피 세포로 코팅되고, 상기 막의 나머지 다른 한면은 내피 세포로 코팅되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0186] [K] 상기 장치의 본체 및 상기 막은 생체적합성 또는 생분해성 재료로 만들어지는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0187] [L] 살아있는 유기체 내에 추가로 이식되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0188] [M] 상기 살아있는 유기체는 사람인, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0189] [N] 상기 막은 시험관내에서(in vitro) 상기 하나 이상의 세포층으로 코팅되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0190] [O] 상기 적어도 하나의 막은 생체내에서(in vivo) 상기 하나 이상의 세포층으로 코팅되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0191] [P] 상기 막은 상기 막 상에의 상기 적어도 하나의 세포층의 부착을 용이하게 하는 생체적합성 에이전트로 코팅되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0192] [Q] 상기 생체적합성 에이전트는 콜라겐, 피브로넥틴 및/또는 라미닌을 포함하는 세포외 기질인, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0193] [R] 상기 생체적합성 에이전트는 콜라겐, 라미닌, 프로테오글리칸, 비트로넥틴, 피브로넥틴, 폴리-D-리신 및 다당류로 이루어진 군으로부터 선택되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0194] [S] 상기 제1 유체는 백혈구를 포함하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 장치.

[0195] [T] 본체를 가지며, 상기 본체는 중심 마이크로채널 내에 평면을 따라 위치된 적어도 부분적으로 다공성인 막을 포함하여 상기 중심 마이크로채널을 제1 중심 마이크로채널 및 제2 중심 마이크로채널로 분할하며, 상기 막은 복수의 살아있는 세포의 접착을 지지하는 적어도 하나의 부착 분자로 코팅되는, 기관 모방 장치를 선택하는 단계;

[0196] 제1 유체를 상기 제1 중심 마이크로채널을 통해 적용하는 단계;

[0197] 제2 유체를 상기 제2 중심 마이크로채널을 통해 적용하는 단계; 및

[0198] 상기 제1 중심 마이크로채널과 상기 제2 중심 마이크로채널 사이의 상기 막에 대하여 세포의 거동을 모니터링하는 단계를 포함하는 방법.

[0199] [U] 상기 막은 적어도 부분적으로 탄성이고, 상기 본체는 상기 제1 중심 마이크로채널 및 상기 제2 중심 마이크로채널에 인접하여 위치된 적어도 하나의 작동 채널을 포함하며, 상기 방법은

[0200] 상기 중심 마이크로채널과 상기 적어도 하나의 작동 채널 사이의 압력차를 조정하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 상기 막은 상기 압력차에 응하여 상기 평면을 따라 신장되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0201] [V] 상기 압력차를 조정하는 단계는, 상기 막의 일측 또는 양측이 상기 평면을 따라 원하는 방향으로 이동되도록 상기 압력차를 증가시키는 단계; 및

[0202] 상기 막의 일측 또는 양측이 상기 평면을 따라 반대 방향으로 이동되도록 상기 압력차를 감소시키는 단계를 추가로 포함하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0203] [W] 상기 막 내의 적어도 하나의 기공 개구는 폭 치수를 따라 0.5 내지 20미크론인, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0204] [X] 상기 막을 하나 이상의 세포층으로 처리하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 상기 하나 이상의 세포층은 상기 막의 표면에 적용되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0205] [Y] 하나 이상의 세포층을 상기 막의 한면 또는 양면 상에 적용하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 상기 하나 이상의 세포층은 후생동물 세포, 포유류 세포, 및 사람 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는 세포를 포함하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0206] [Z] 상기 세포는 상피 세포, 내피 세포, 간엽 세포, 근육 세포, 면역 세포, 신경 세포, 및 조혈 세포로 이루어진 군으로부터 선택되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0207] [AA] 상기 막의 한면은 상피 세포로 코팅되고, 상기 막의 나머지 다른 한면은 내피 세포로 코팅되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0208] [BB] 상기 장치의 상기 본체 및 상기 막은 생체적합성 또는 생분해성 재료로 만들어지는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0209] [CC] 상기 장치는 살아있는 유기체 내에 추가로 이식되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0210] [DD] 상기 살아있는 유기체는 사람인, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0211] [EE] 상기 막은 시험관내에서 상기 하나 이상의 세포층으로 코팅되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0212] [FF] 상기 적어도 하나의 막은 생체내에서 상기 하나 이상의 세포층으로 코팅되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0213] [GG] 상기 막은 상기 막 상에의 적어도 하나의 세포층의 부착을 용이하게 하는 생체적합성 에이전트로 코팅되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0214] [HH] 상기 생체적합성 에이전트는 콜라겐, 피브로넥틴 및/또는 라미닌을 포함하는 세포외 기질인, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0215] [II] 상기 생체적합성 에이전트는 콜라겐, 라미닌, 프로테오글리칸, 비트로넥틴, 피브로넥틴, 폴리-D-리신 및 다당류로 이루어진 군으로부터 선택되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0216] [JJ] 상기 제1 유체는 백혈구를 포함하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0217] [KK] 생리학적 또는 병리학적인 역학적 힘을 사용하여 조직계 내에서의 적어도 하나의 에이전트의 효과를 판정하는 방법으로서,

[0218] 본체를 가지며, 상기 본체는 중심 마이크로채널 내에 평면을 따라 위치된 적어도 부분적으로 다공성인 막을 포함하여 상기 중심 마이크로채널을 제1 중심 마이크로채널 및 제2 중심 마이크로채널로 분할하는, 장치를 선택하는 단계;

[0219] 상기 막을 상기 막의 제1 면 상에서 적어도 하나의 세포층과, 그리고 상기 다공성 막의 제2 면 상에서 적어도 하나의 세포층과 접촉시키고, 그럼으로써 적어도 2개의 상이한 세포 유형을 포함하는 조직 구조물을 형성하는 단계;

[0220] 상기 적어도 2개의 상이한 세포 유형을 포함하는 조직 구조물을, 적용가능한 세포 배양 배지 내에서 적어도 하나의 에이전트와 접촉시키는 단계;

[0221] 일정 기간 동안 상기 세포에 균일 또는 불균일한 힘을 인가하는 단계; 및

[0222] 상기 적어도 2개의 상이한 세포 유형을 포함하는 조직 구조물 내의 상기 세포의 반응을 측정하여 상기 적어도 하나의 에이전트가 상기 세포에 미치는 효과를 판정하는 단계를 포함하는 방법.

[0223] [LL] 상기 적용가능한 세포 배양 배지는 백혈구로 보충되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0224] [MM] 상기 균일 또는 불균일한 힘은 진공을 사용하여 인가되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0225] [NN] 상기 적어도 2개의 상이한 세포 유형을 포함하는 조직 구조물은 상기 다공성 막의 상기 제1 면 상에 폐포 상피 세포를, 그리고 상기 다공성 막의 상기 제2 면 상에 폐 미세혈관 세포를 포함하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0226] [OO] 상기 에이전트는 나노입자, 환경 독소 또는 오염물, 담배 연기, 화장품에 사용되는 화학물질 또는 입자, 약물 또는 약물 후보, 에어로졸, 꽃가루를 비롯한 천연적으로 발생하는 입자, 화학 무기, 단본쇄 또는 이본쇄 핵산, 바이러스, 세균 및 단세포 유기체로 이루어진 군으로부터 선택되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0227] [PP] 상기 반응을 측정하는 단계는 반응성 산소종의 발현을 측정함으로써 수행되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0228] [QQ] 상기 반응을 측정하는 단계는 조직 염색을 사용하여 수행되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0229] [RR] 상기 에이전트의 효과를 측정하는 단계 전에, 적어도 2개의 상이한 세포 유형을 포함하는 조직 구조물을 포함하는 상기 막의 생검체(biopsy)를 채취하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 생검체는 염색되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0230] [SS] 상기 반응을 측정하는 단계는 적어도 2개의 상이한 세포 유형을 포함하는 막 형태 조직 구조물의 제1 면 또는 제2 면 또는 양면과 접촉된 상기 세포 배양 배지의 샘플로부터 수행되는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0231] [TT] 제2의 기관 모방 장치에서 상기 에이전트 대 다른 에이전트 또는 상기 에이전트가 없는 대조의 효과를 비교하는 단계를 추가로 포함하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

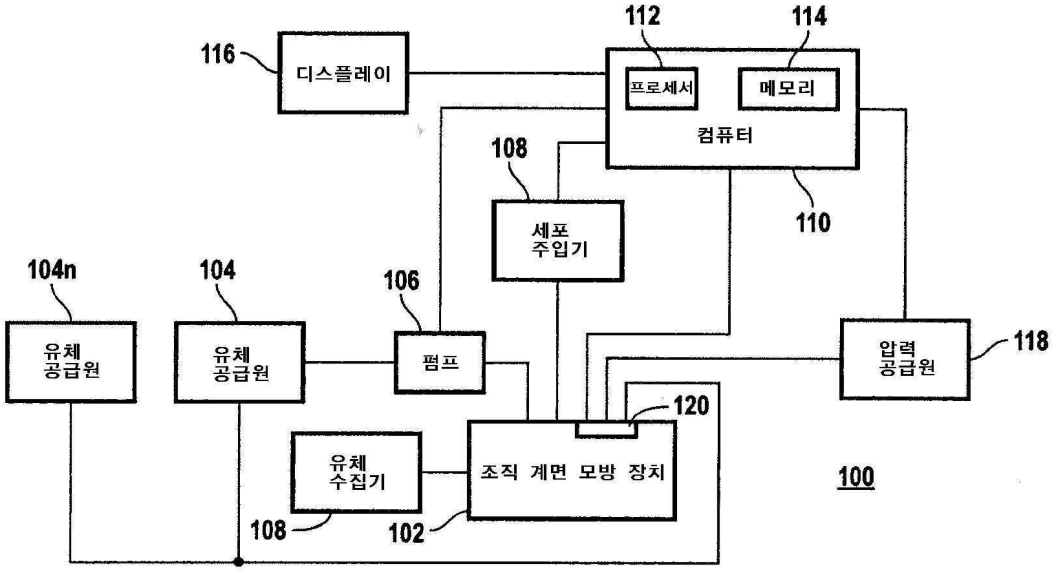
[0232] [UU] 상기 막을 적어도 2개의 에이전트와 접촉시키는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 상기 제1 에이전트가 상기 적어도 2개의 상이한 세포 유형을 포함하는 조직 구조물에 효과를 일으키도록 먼저 접촉되고, 적어도 상기 제2 에이전트가 일정 기간 후에 접촉되어 상기 제1 에이전트에 영향을 받은 상기 적어도 2개의 상이한 세포 유형을 포함하는 조직 구조물에 미치는 상기 제2 에이전트의 효과를 시험하는, 임의의 또는 모든 상기 단락의 방법.

[0233] [VV] 중심 마이크로채널을 갖는 본체와;

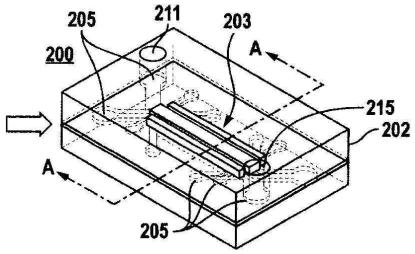
[0234] 상기 중심 마이크로채널 내에 평행한 평면들을 따라 위치된 복수의 막을 포함하며, 여기서 상기 복수의 막 중 적어도 하나는 적어도 부분적으로 다공성이고, 상기 복수의 막은 상기 중심 마이크로채널을 복수의 중심 마이크로채널로 분할하도록 구성되는, 장기 모방 장치.

도면

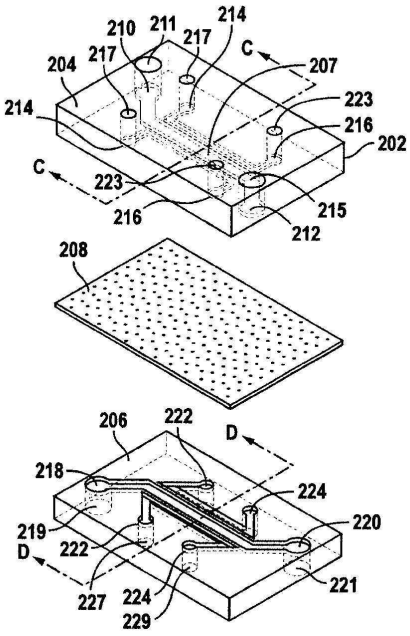
도면1



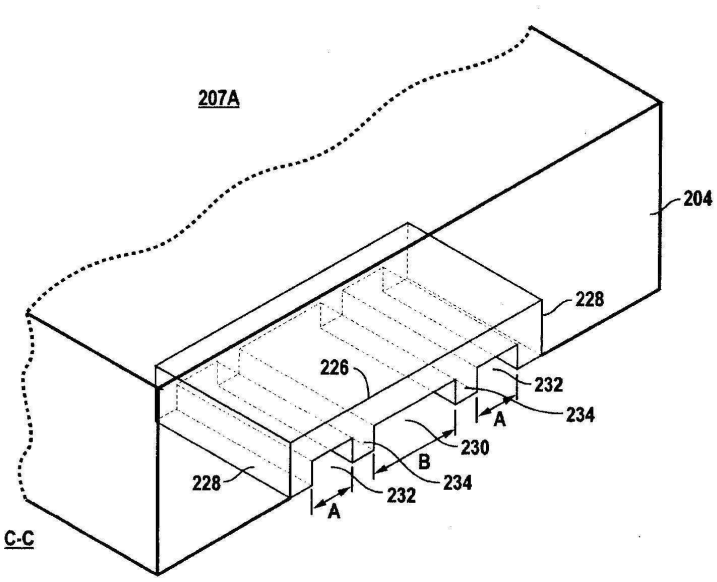
도면2a



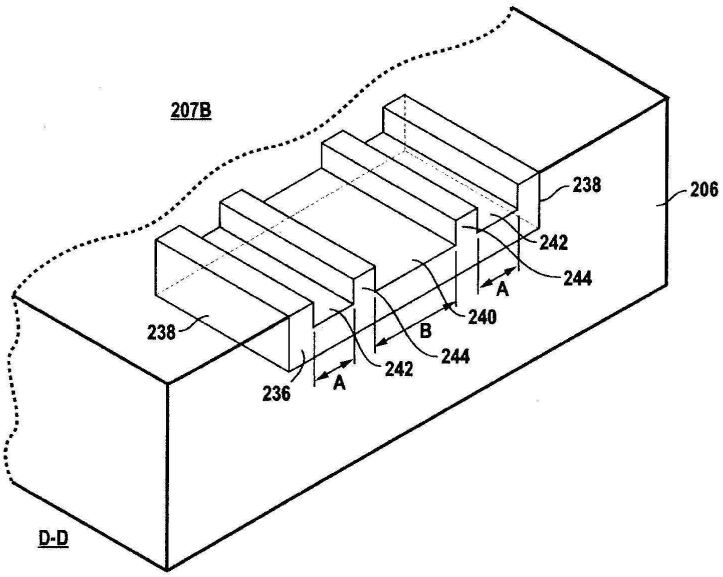
도면2b



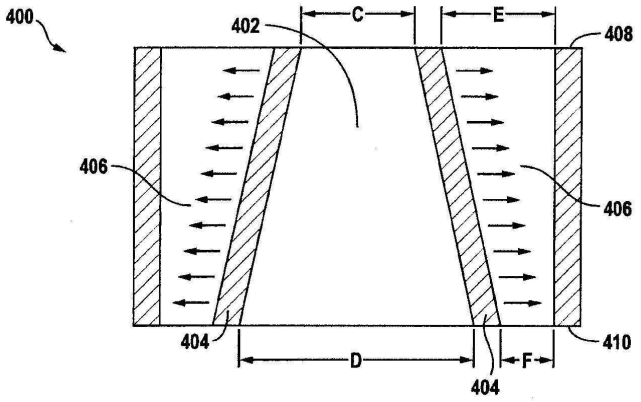
도면2c



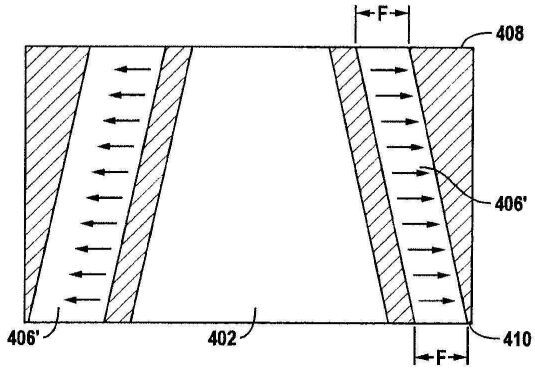
도면2d



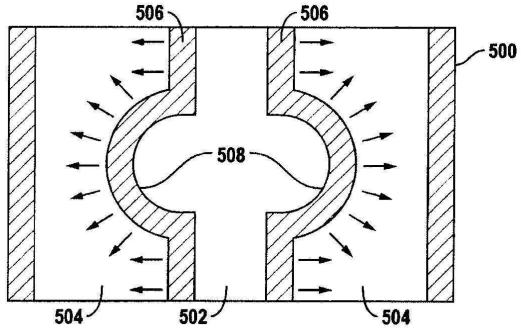
도면2e



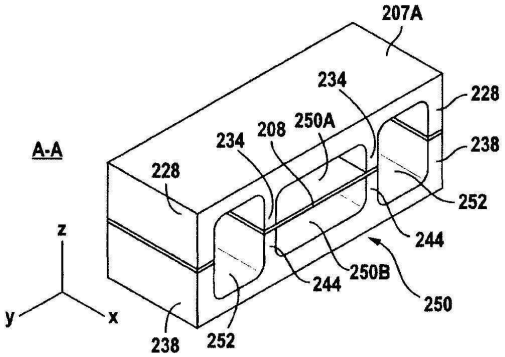
도면2f



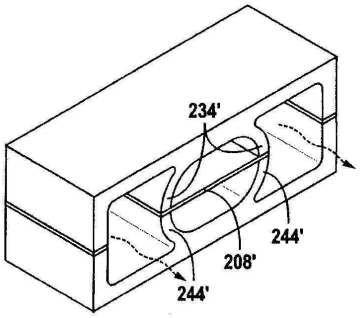
도면2g



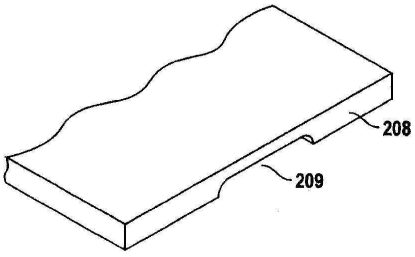
도면3a



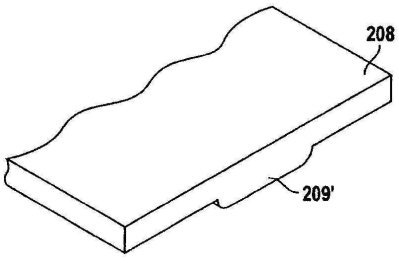
도면3b



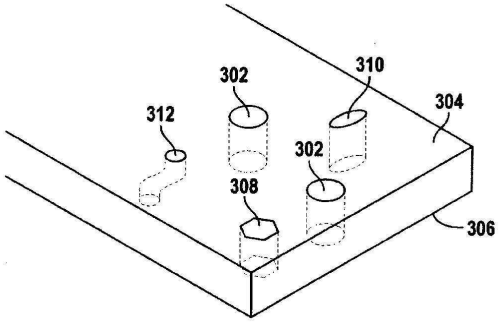
도면3c



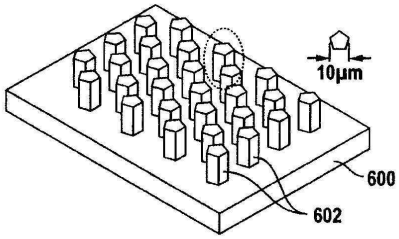
도면3d



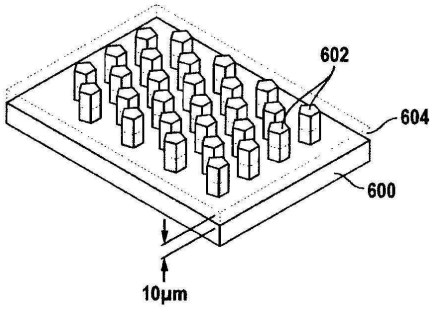
도면3e



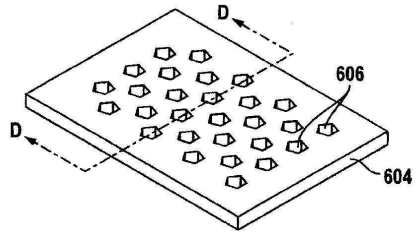
도면4a



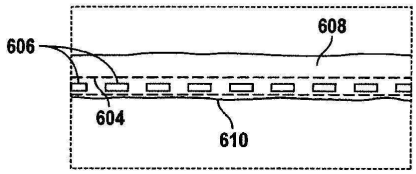
도면4b



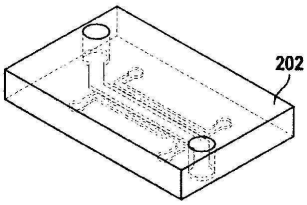
도면4c



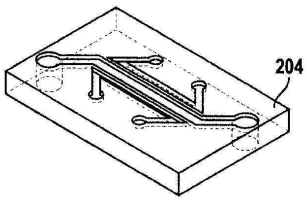
도면4d



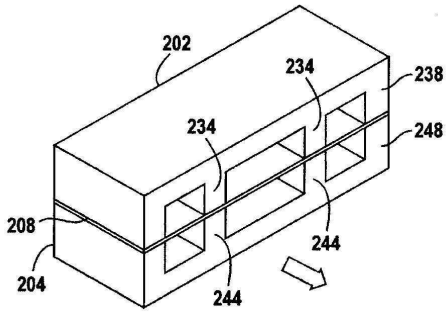
도면5a



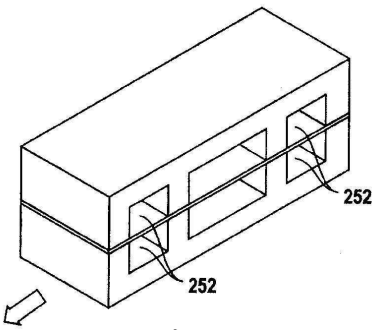
도면5b



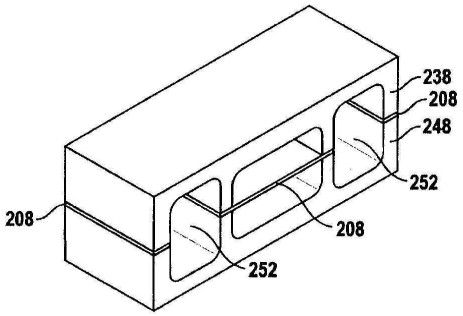
도면5c



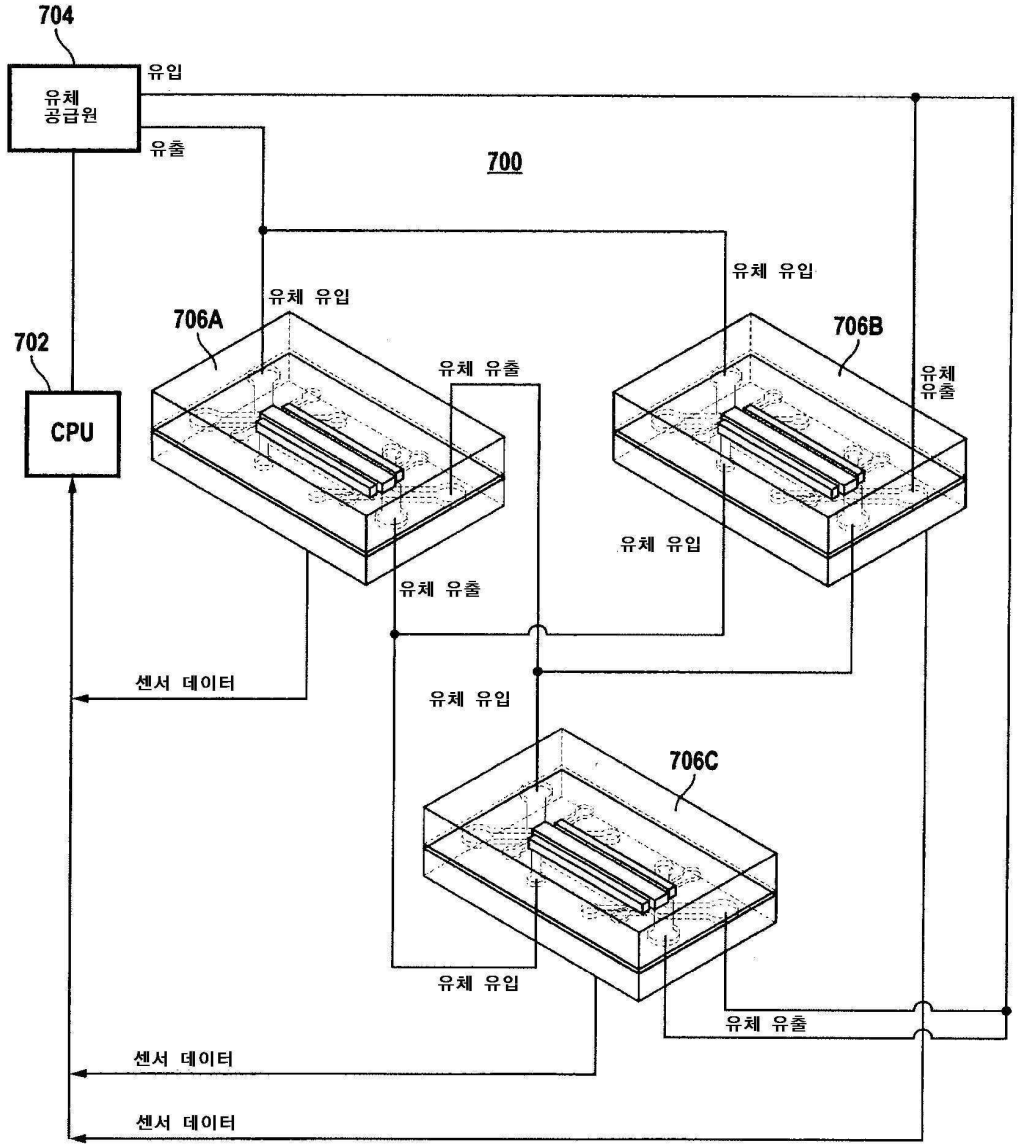
도면5d



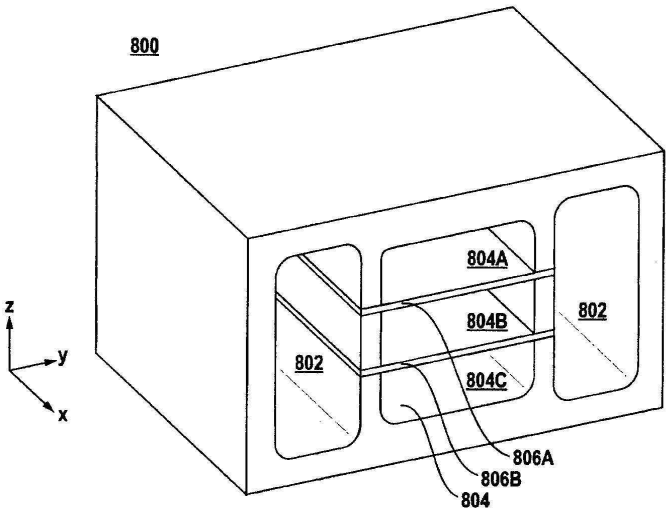
도면5e



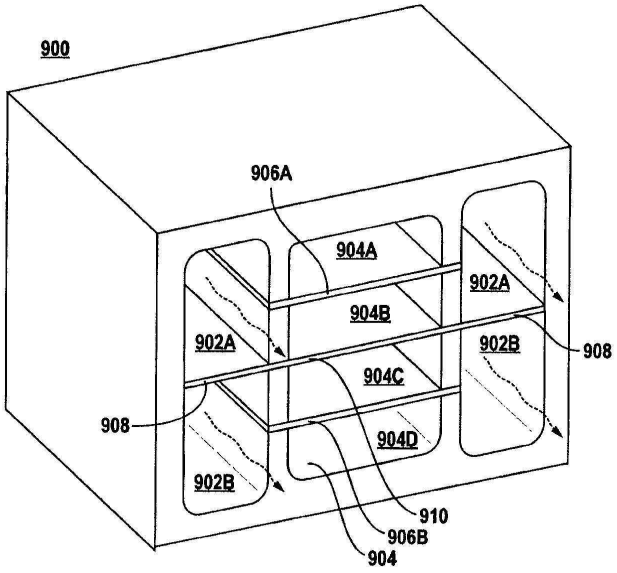
도면6


704
유체
공급원
유입
유출
700
702
CPU
706A
706B
706C
유체 유입
유체 유출
센서 데이터

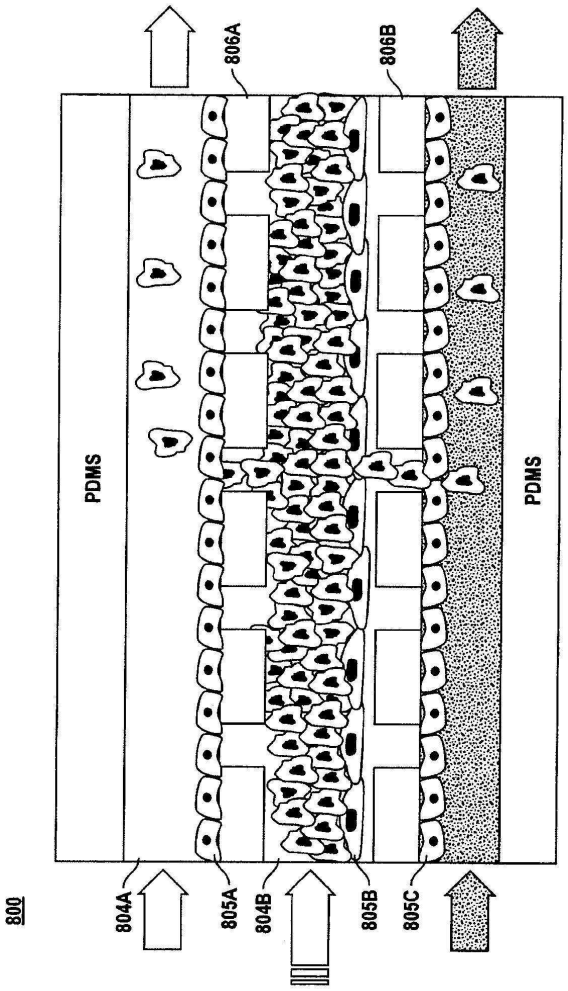
도면7a


800
804A
804B
804C
802
802
806A
806B
804
z
y
x

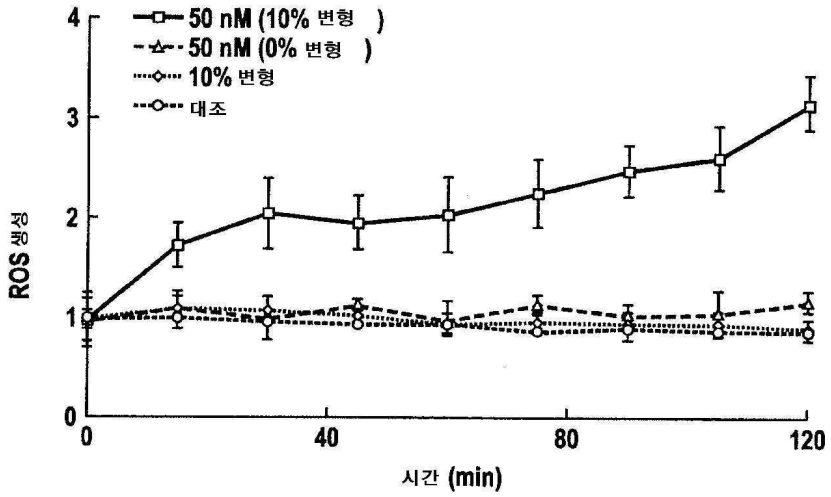
도면7b


900
906A
904A
902A
904B
902A
902B
908
904C
908
904D
902B
910
906B
904

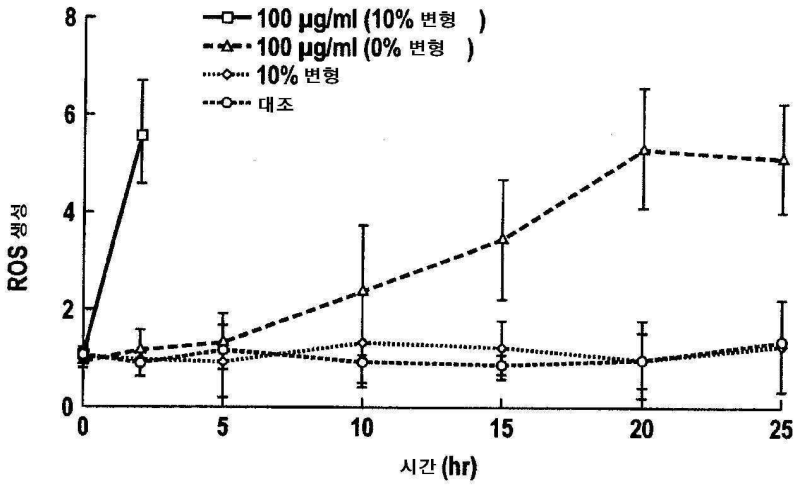
도면7c


806A
806B
PDMS
PDMS
800
804A
805A
804B
805B
805C

도면8


50 nM (10% 변형)
50 nM (0% 변형)
10% 변형
대조
ROS 생성
0
1
2
3
4
0
40
80
120
시간 (min)

도면9


100 μg/ml (10% 변형)
100 μg/ml (0% 변형)
10% 변형
대조
ROS 생성
0
2
4
6
8
0
5
10
15
20
25
시간 (hr)