



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년01월03일
(11) 등록번호 10-1935167
(24) 등록일자 2018년12월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 3/06 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01)
C12N 5/073 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12M 23/16 (2013.01)
C12M 23/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0118318
(22) 출원일자 2017년09월15일
심사청구일자 2017년09월15일
(56) 선행기술조사문헌
JP2008271964 A*
KR1020170011031 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
허윤석
대구광역시 달서구 달구벌대로199길 53-8, 303호
(호산동)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 4 항

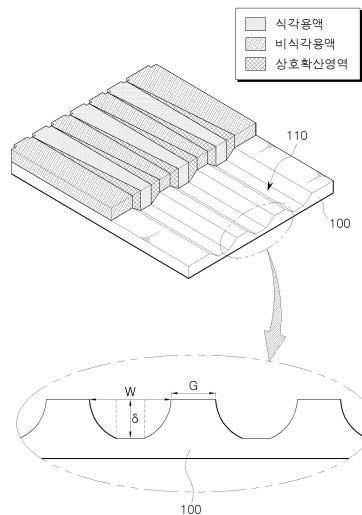
심사관 : 조상진

(54) 발명의 명칭 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 수정란이 배양되는 배양공간에 난관의 점막주름을 모사한 주름모사면을 형성하면서 배양공간의 형상을 내강으로 구현으로, 생체의 난관과 가까운 환경으로 모사하여, 기존 윤리적 문제를 수반하던 동물실험 및 임상실험을 일정부분 대체할 수 있고, 시각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 시각 작용을 이용하여 시각 용액과 비시각 용액의 상호확산영역(interdiffusion region)의 제어로, 난관을 모사하므로, 종래보다 저렴하고 고품질의 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12N 5/0604 (2013.01)

C12N 2535/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711048483
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 집단연구지원
연구과제명 비만 매개 질환 연구센터
기 여 율 1/2
주관기관 계명대학교
연구기간 2017.03.01 ~ 2018.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711049400
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(미래부)
연구과제명 초기 배아 생성 모델 연구를 위한 난관 모사 미세유체시스템
기 여 율 1/2
주관기관 계명대학교
연구기간 2017.03.01 ~ 2018.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

a)수정란 배양장치 몸체의 식각 용액이 주입되는 제1채널 및 비식각 용액이 주입되는 제2채널, 상기 제1채널 및 제2채널과 일측이 연통하는 배양공간, 상기 배양공간과 타측이 연통하는 배출채널의 형상과 대응하는 형상을 양 각으로 형성한 마스터 몰드를 성형틀에 수용하여 준비하는 단계;

b)상기 마스터 몰드가 준비된 성형틀에 액상의 폴리디메틸실록산(PDMS, Polydimethylsiloxane)을 인입하는 단계;

c)폴리디메틸실록산(PDMS)이 인입된 성형틀을 진공챔버에 수용한 후, 진공을 이용하여 폴리디메틸실록산(PDMS)에서 기포를 제거하는 단계;

d)상기 폴리디메틸실록산(PDMS) 기포가 제거되면, 성형틀을 오븐에 수용한 후, 열로 상기 폴리디메틸실록산(PDMS)을 경화시켜 몸체를 형성하는 단계;

e)상기 폴리디메틸실록산(PDMS)의 경화가 완료되어 몸체가 형성되면, 상기 마스터 몰드에서 몸체를 분리하는 단계;

f)상기 마스터 몰드와 접하던 몸체의 개방면에 폴리카보네이트 재질로 된 상판을 접합하는 단계;

g)상기 몸체의 배양공간에 식각 용액 및 비식각 용액을 주입하여 배양공간에 주름모사면을 형성하는 단계;를 포함하는 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법.

청구항 10

청구항 9에 있어서,

상기 마스터 몰드는

a-1)실리콘웨이퍼로 된 기관의 상면에 몰드베이스층을 형성하는 단계와;

a-2)상기 기관상에 형성된 몰드베이스층의 상면에 포토레지스트층을 형성하는 단계와;

a-3)상기 포토레지스트층 상면에 배양장치 몸체의 이미지 형상과 반대되는 이미지로 타공된 포토마스크를 위치 한 후 빛으로 노광하는 단계와;

a-4)상기 포토마스크 제거 후, 상기 포토레지스트층 중 노광되지 않은 부분을 제외한 노광된 부분의 포토레지스트층이 제거되도록 현상하는 단계와;

a-5)상기 현상으로 노광된 부분의 포토레지스트층이 제거됨에 따라 노출된 상기 몰드베이스층을 에칭액으로 에칭하는 단계와;

a-6)상기 에칭이 완료되면 상기 포토레지스트층을 제거한 후, 기관에서 마스터 몰드를 이형하여 마스터 몰드를 완성하는 단계;를 포함하는 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법.

청구항 11

삭제

청구항 12

청구항 9항에 있어서,

상기 마스터 몰드는

상기 배양공간으로 연통하는 제1채널 및 제2채널은 서로 교번으로 배치되어 배양공간과 연통하는 것을 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법.

청구항 13

청구항 9에 있어서,

상기 g)단계에서 상기 몸체의 배양공간에 주름모사면을 형성하는 단계에서,

상기 주름모사면은

상기 몸체를 식각하는 식각 용액을 배양공간 전, 후 길이방향으로 흘려, 식각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 식각 작용으로 식각되어 형성하는 난관 모사 수정란 배양장치의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 수정란을 배양하는 배양장치의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 식각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 식각 작용을 이용하여 식각 용액과 비식각 용액의 상호확산영역(interdiffusion region)의 제어를 통해 난관의 점막주름을 모사한 주름모사면을 수정란이 배양되는 배양공간에 형성하면서, 배양공간을 내강과 같은 형태로 구현하여, 실제 난관과 유사한 형태의 난관모델을 제공하여 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0003]

동물 체세포의 체외배양법은 이미 수십 년 전부터 여러 종류의 배양액이 개발되어 체외에서도 증식을 양호하게

시킬 수 있게 되었으나, 생식세포인 난자의 연구 역사는 비교적 짧은 편이다.

- [0004] 아직 이런 짧은 연구로 인하여 난자의 대사생리가 아직 명확히 구명되지 않은 상태이고, 최근에는 포유동물의 생체 외(in vitro) 배양 시스템은 계속하여 개발되어 오고 있는데, 구체적으로 많은 배양조건의 변화를 피하고자 하였으며, 예를 들면 난관의 상피세포로 수정란(embryos)을 배양하거나, 또는 공동-배양(co-culture) 시스템 및 연속하여 paired media를 사용하거나 연속 배지를 사용하는 등의 시도가 있었다.
- [0005] 지금까지, 착상 전 수정란 배양의 최적화는 영양 요소, 즉 화학적으로 확정된 배지 내 성분에 대하여 초점이 맞춰져 왔다(Summers M.C. et al., 2003). 화학적으로 확정된 배지의 경우, 원하는 경우 다시 만들 수 있으며 효소와 성장인자와 같은 알려지지 않은 생물학적 활성이 없는 점의 이점을 가지고 있지만, 여전히 생체 내 시스템과는 거리가 있으며 수정란 발달에 최적의 조건으로는 적합하지는 않다.
- [0006] 생체 외 배양 조건 중 물리적인 환경 (또는 인자)에 대한 관심이 증대되고 있다. 물리적인 인자 중에서 수정란의 밀도가 수정란 발달을 결정할 수 있는 중요한 인자로 여겨지고 있다.
- [0007] 이전의 연구들(Wiley et al., 1986; Paria and Dey, 1990; Lane and Gardner, 1992)들은 생체 외에서의 수정란의 발달은 수정란과 배양배지와와의 부피 비율이 증가할수록 증가됨을 보고하고 있다.
- [0008] 수정란의 밀도를 증가시킴으로써 성장인자들이 수정란 주위에 축적될 수 있어 배양 배지에 성장인자를 추가하는 것과 유사한 효과가 얻어질 수 있다는 것이다.
- [0009] 생체 조건 즉, 자연임신이 이루어지는 체내 환경 조건과 체외수정과 배양의 체외 환경 조건(복강 내의 압력 또는 미지 인자)은 반드시 일치하지 않을 수도 있다는 점에 착안하여 포배단계의 수정란을 기초실험모델로 하여 배양액의 삼투압을 체액보다 낮게 조절하여 사람을 포함한 포유동물의 높은 임신율을 유지하고자 하였다.
- [0010] 한국공개특허공보 제10-2004-60348호는, 체세포 복제 수정란의 체외배양시 배양액에 항산화제 및 산화질소 제거자를 함유시킴으로써 체세포 복제 수정란의 배발달 단계에서 배아 할구의 아포토시스 발생을 효과적으로 저하시켜 배반포 발달율을 효과적으로 향상시키는 효과를 나타냄을 개시하고 있다.
- [0011] 한국공개특허공보 제2005-81524호는 양수세포를 인간배아 줄기세포 배양을 위한 영양세포층으로 이용하는 방법과, 양수세포를 배양한 후 수거한 배양액을 인간배아 줄기세포의 배양액으로 이용하는 방법을 개시하고 있다. 이러한 방법으로 배양된 인간배아줄기세포는 미분화 세포의 세포학적, 면역학적, 유전학적 특징을 유지하고, 분화 조건에서 배아체를 잘 형성하여, 다양한 조직으로 분화되는 능력을 지니는 것으로 기재되어 있다.
- [0012] 통상적으로 수정란 및 난자는 플라스틱 재질의 용기 또는 유리 접시(dish) 및 플라스크(flask)등으로 된 인큐베이터(incubator) 내에서 배양된다. 이와 같은 인큐베이터의 내부는 수정란 및 난자의 배양에 적당한 환경으로 유지된다. 또한, 인큐베이터 내부에는 수정란 및 난자에 양분을 주는 것과 동시에 배양에 적당한 산도(pH)를 지키기 위하여 매일 혹은 수일에 한번씩 배양액의 교환이 이루어진다.
- [0013] 한편, 배란 후 수정된 배아가 자궁에 착상하기 전까지 대부분의 시간을 난관에서 보내는데, 난관의 내부는 복잡한 굴곡진 형상으로 형성된 점막주름 및 내강 등을 포함하나, 수정란이 배양되는 종래의 유체 침은 그 배양공간이 평탄한 면으로 이루어져 생체와 같은 환경을 제공하지 못하는 문제점이 있었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0015] 본 발명은 수정란이 배양되는 배양공간에 난관의 점막주름을 모사한 주름모사면을 형성하면서 배양공간의 형상을 내강으로 구현으로, 생체의 난관과 가까운 환경으로 모사하여, 기존 윤리적 문제를 수반하던 동물실험 및 임상실험을 일정부분 대체할 수 있고, 시각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 시각 작용을 이용하여 시각 용액과 비시각 용액의 상호확산영역(interdiffusion region)의 제어로, 난관을 모사하므로, 종래보다 저렴하고 고품질의 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0017] 삭제

[0018] 삭제

[0019] 삭제

[0020] 삭제

[0021] 삭제

[0022] 삭제

[0023] 삭제

[0024] 삭제

[0025] 본 발명에 따른 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법은 a)수정란 배양장치 몸체의 식각 용액이 주입되는 제1채널 및 비식각 용액이 주입되는 제2채널, 상기 제1채널 및 제2채널과 일측이 연통하는 배양공간, 상기 배양공간과 타측이 연통하는 배출채널의 형상과 대응하는 형상을 양각으로 형성한 마스터 몰드를 성형틀에 수용하여 준비하는 단계와, b)상기 마스터 몰드가 준비된 성형틀에 액상의 폴리디메틸실록산(PDMS, Polydimethylsiloxane)을 인입하는 단계와, c)폴리디메틸실록산(PDMS)이 인입된 성형틀을 진공챔버에 수용한 후, 진공을 이용하여 폴리디메틸실록산(PDMS)에서 기포를 제거하는 단계와, d)상기 폴리디메틸실록산(PDMS) 기포가 제거되면, 성형틀을 오븐에 수용한 후, 열로 상기 폴리디메틸실록산(PDMS)을 경화시켜 몸체를 형성하는 단계와, e)상기 폴리디메틸실록산(PDMS)의 경화가 완료되어 몸체가 형성되면, 상기 마스터 몰드에서 몸체를 분리하는 단계와, f)상기 마스터 몰드와 접하던 몸체의 개방면에 폴리카보네이트 재질로 된 상판을 접합하는 단계와, g)상기 몸체의 배양공간에 식각 용액 및 비식각 용액을 주입하여 배양공간에 주름모사면을 형성하는 단계를 포함한다.

[0026] 이때 본 발명에 따른 상기 마스터 몰드는 a-1)실리콘웨이퍼로 된 기관의 상면에 몰드베이스층을 형성하는 단계와, a-2)상기 기관상에 형성된 몰드베이스층의 상면에 포토레지스트층을 형성하는 단계와, a-3)상기 포토레지스트층 상면에 배양장치 몸체의 이미지 형상과 반대되는 이미지로 타공된 포토마스크를 위치한 후 빛으로 노광하는 단계와, a-4)상기 포토마스크 제거 후, 상기 포토레지스트층 중 노광되지 않은 부분을 제외한 노광된 부분의 포토레지스트층이 제거되도록 현상하는 단계와, a-5)상기 현상으로 노광된 부분의 포토레지스트층이 제거됨에 따라 노출된 상기 몰드베이스층을 에칭액으로 에칭하는 단계와, a-6)상기 에칭이 완료되면 상기 포토레지스트층을 제거한 후, 기관에서 마스터 몰드를 이형하여 마스터 몰드를 완성하는 단계를 포함한다.

[0027] 삭제

[0028] 그리고 본 발명에 따른 상기 마스터 몰드는 상기 배양공간으로 연통하는 제1채널 및 제2채널은 서로 교번으로 배치되어 배양공간과 연통하는 것이 바람직하다.

[0029] 더불어 본 발명에 따른 상기 g)단계에서 상기 몸체의 배양공간에 주름모사면을 형성하는 단계에서, 상기 주름모사면은 상기 몸체를 식각하는 식각 용액을 배양공간 전, 후 길이방향으로 흘려, 식각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 식각 작용으로 식각되어 형성하는 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0031] 본 발명의 일 실시예에 따른 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법은 다음과 같은 효과를 가진다.

[0032] 첫째, 수정란이 배양되는 배양공간에 난관의 점막주름을 모사한 주름모사면을 형성하면서 배양공간의 형상을 내강으로 구현으로, 생체의 난관과 가까운 환경으로 모사하여, 기존 윤리적 문제를 수반하던 동물실험 및 임상실험을 일정부분 대체할 수 있는 효과를 가진다.

[0033] 둘째, 식각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 식각 작용을 이용하여 식각 용액과 비식각 용액의 상호확산영역(interdiffusion region)의 제어로 난관을 모사하므로, 종래보다 저렴하면서 고품질의 수정란 배양장치를 제공할 수 있는 효과를 가진다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따라 식각 용액과 비식각 용액을 이용하여 주름모사면을 형성하는 상태를 보인 예시도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따라 주름모사면이 형성된 수정란 배양장치를 보인 예시도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 난관을 모사한 수정란 배양장치에 수정란을 배양하는 상태를 보인 예시도이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 수정란 배양장치의 주름모사면에 세포막을 형성한 상태를 보인 예시도이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 수정란 배양장치 제조 시, 방사상으로 식각하여 내강을 모사한 상태를 보인 예시도이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 수정란 배양장치를 관체로 형성하여 내강을 모사한 상태를 보인 예시도이다.

도 7는 본 발명의 일 실시예에 따라 수정란 배양장치가 제조되는 과정을 보인 예시도이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따라 마스터몰드가 제조되는 과정을 보인 예시도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 바람직한 실시 예를 상세히 설명하기로 한다. 이에 앞서, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니 되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여, 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

[0037] 따라서 본 명세서에 기재된 실시예와 도면에 도시된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 실시 예에 불과할 뿐이고, 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원시점에 있어서 이들은 대체할 수 있는 균등한 변형 예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.

[0038] 본 발명은 수정란을 배양하는 배양장치를 구성하는데, 식각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 식각 작용을 이용하여 식각 용액과 비식각 용액의 상호확산영역(interdiffusion region)의 제어를 통해 난관의 점막주름을 모사한 주름모사면을 수정란이 배양되는 배양공간에 형성하면서, 배양공간을 내강과 같은 형태로 구현하여, 실제 난관과 유사한 형태의 난관모델을 제공하여 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조방법에 관한 것으로, 도면을 참조하여 더욱 상세하게 살펴보면 다음과 같다.

[0039] 도 1 내지 도 3을 참조한 본 발명의 일 실시예에 따른 난관을 모사한 수정란 배양장치는 내부에 형성된 배양공간(101)에 수정란이 배양되는 몸체(100)가 구비되는데, 상기 몸체(100)는 폴리디메틸실록산(PDMS, Polydimethylsiloxane) 재질로 이루어진 고품질의 PDMS구조체로, 통상의 기술과 같이 리소그래피 방식으로 제조되고, PDMS구조체 그 내부에는 수정란이 수용되어 배양되는 배양공간(101)이 형성된다.

[0040] 이때 본 발명의 일 실시예에 따른 상기 몸체(100)의 배양공간(101)에는 난관의 점막주름을 모사한 주름모사면(110)이 형성되는데, 상기 주름모사면(110)은 복수 개의 홈들이 집합되어 난관의 점막주름을 모사한다.

[0041] 여기서, 도 1 내지 도 2에 도시한 바와 같이 상기 복수 개의 홈들은 PDMS로 이루어진 몸체(100)가 식각 용액에 의해 식각되어 형성되는 것으로, 상기 몸체(100)를 전, 후 길이방향으로 식각 용액을 흘려, 식각 용액의 흐름에 의해 홈이 형성된다.

[0042] 이때, 도 1에 도시한 바와 같이 상기 식각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 식각 작용에 의해, 상기 복수 개의

홈들이 몸체(100)의 전, 후방을 따라 길이를 갖고, 홈의 단면이 반원 형태를 이룬다.

- [0043] 상기 몸체(100)를 식각하는 식각 용액인 TBAF(Tetrabutylammonium fluoride)는 낮은 레이놀즈 수(Reynolds Number)로 인하여 층류로 유동하는데, 상기 층류 유동 특성을 이용하여 식각 용액과 비식각 용액(NMP(1-Methyl-2-pyrrolidinone))을 상기 몸체(100)에 함께 흘려주면 분자 확산에 의해 상호확산영역(Interdiffusion region)이 형성된다.
- [0044] 상기한 상호확산영역은 그 폭(너비)이 유체의 평균 속도에 반비례하고 확산계수에 비례되며, 상기 식각 용액의 흐름 길이가 길어짐에 따라 식각 용액과 비식각 용액이 섞이는 상호확산영역이 증가하게 되어, 식각에 의해 형성되는 홈의 단면 종횡비(aspect Ratio)가 증가한다.
- [0045] 따라서 상기 식각 용액의 농도 구배에 따른 식각 구배 형성을 통해 PDMS구조체에서 다양한 너비(w)와 깊이(δ), 비식각영역(G)의 변수를 제어하여 일정한 형태 또는 다양한 형태의 홈을 구현할 수 있다.
- [0046] 그리고 상기 주름모사면(110)의 주름은 상기한 식각 공정에 의해 형성된 홈의 집합으로 형성되는데, 이때 상기 홈을 상기 몸체(100)의 좌측, 우측방향을 따라 연속반복으로 형성하여, 상기 주름모사면(110)은 파형(波形)의 패턴으로 주름을 형성되는 것이 바람직하다.
- [0047] 따라서 본 발명의 일 실시예에 따른 배양장치는 그 배양공간(101)에는 복수 개의 홈이 연속반복형성되어 파형(波形)의 패턴으로 주름을 형성한 주름모사면(110)이 구비되어, 수정란이 난관의 점막주름을 따라 유동하면서 배양되는 배양환경을 모사할 수 있다.
- [0048] 또한, 도 4에 도시한 바와 같이 상기 주름모사면(110)의 그 표면에는 세포를 배양시켜 세포막(111)을 형성하여 더욱 생체 난관에 가까운 환경을 제공할 수 있다.
- [0049] 그리고 도 5에 도시한 바와 같이 상기 몸체(100)의 중심을 축으로 식각 용액을 방사상으로 흘려, 내주면이 주름진 중공상의 배양공간(101)을 형성하여, 난관의 내강(lumen)을 모사할 수 있는데, 이때 중심을 축으로 중공상의 배양공간(101) 내측면을 따라 홈들이 형성됨에 따라 주름모사면(110)이 형성되어, 실제 난관과 흡사한 배양 환경을 제공할 수 있다.
- [0050] 또한, 도 6에 도시한 바와 같이 일측에 주름모사면(110)이 형성된 상기 몸체(100)를 주름모사면(110)이 내측면을 이루도록 관상으로 말아 중공상의 배양공간(101)을 이루어, 난관의 내강(lumen)을 모사하고, 내측면을 이루는 주름모사면(110)은 난관의 점막주름을 모사하게 할 수도 있다.
- [0052] 더불어 도 7 및 도 8을 참조하여 본 발명의 일 실시예에 따른 난관을 모사한 수정란 배양장치의 제조 과정을 살펴보면 다음과 같다.
- [0053] 먼저, a)단계로 성형틀(11)에 마스터 몰드(10)를 수용하여 준비한다.
- [0054] 이때 상기 마스터 몰드(10)는 그 일측면에 수정란 배양장치 몸체(100)의 식각 용액이 주입되는 제1채널(102) 및 비식각 용액이 주입되는 제2채널(103), 상기 제1채널(102) 및 제2채널(103)과 일측이 연통하는 배양공간(101), 상기 배양공간(101)과 타측이 연통하는 배출채널(104)의 형상과 대응하는 형상을 양각으로 형성한 것으로, 본 발명의 일 실시예에 따른 마스터 몰드(10)는 포토리소그래피 기술을 이용하여 제조되는데, 그 과정을 단계별로 살펴보면 다음과 같다.
- [0055] 도 8을 참조한 a-1)단계는 실리콘웨이퍼로 된 기관(1)의 상면에 몰드베이스층(2)을 형성한다.
- [0056] 이때 상기 몰드베이스층(2)은 에칭이 가능한 수지재질로 이루어지는 것이 바람직하고, 실리콘웨이퍼로 된 상기 기관(1) 상에 고른 두께를 갖도록 스핀 코팅방식으로 형성된다.
- [0057] 그리고 다음 단계로 a-2)단계는 상기 기관(1) 상에 형성된 상기 몰드베이스층(2)의 상면에 포토레지스트층(3)을 형성한다.
- [0058] 이때 상기 몰드베이스층(2)의 상면에 형성되는 포토레지스트층(3)은 상기 몰드베이스층(2)의 상면에 포토레지스트층(3)이 고른 두께를 갖도록 하기 위해 포토레지스트를 스핀 코팅방식으로 도포하여 상기 포토레지스트층(3)을 형성할 수 있다.
- [0059] 여기서 본 발명의 일 실시예에 따른 포토레지스트는 노광된 부분이 현상에 의해 제거되는 포지티브형의 포토레지스트로 설명하나, 이에 한정하지 않고 노광된 부분이 경화되는 네가티브형의 포토레지스트로 사용할 수도 있다.
- [0060] 그리고 다음 단계로 a-3)단계는 상기 포토레지스트층(3) 상면에 배양장치 몸체(100)의 이미지 형상과 반대되는

이미지 형상으로 타공된 포토마스크(4)를 위치한 후 빛으로 노광한다.

- [0061] 이때 상기 포토마스크(4)의 타공은 수정란 배양장치 몸체(100)의 식각 용액이 주입되는 제1채널(102) 및 비식각 용액이 주입되는 제2채널(103), 상기 제1채널(102) 및 제2채널(103)과 일측이 연통하는 배양공간(101), 상기 배양공간(101)과 타측이 연통하는 배출채널(104)의 이미지 형상과 반대되는 이미지 형상으로 형성되는 것이 바람직하고, 노광에 사용되는 빛으로는 자외선을 이용하는 것이 바람직하다.
- [0062] 그리고 상기 포토마스크(4)를 통해 노광이 실시될 시, 상기 포토레지스트층(3)의 최상부부터 몰드베이스층(2) 바로 위까지 노광이 될 수 있도록 충분한 광에너지로 상기 포토레지스트층(3)을 조사하는 것이 바람직하다.
- [0063] 또한, 다음 단계로 a-4)단계는 상기 포토레지스트층(3)의 노광이 완료되면, 상기 포토마스크(4) 제거한 후, 상기 포토레지스트층(3)을 현상한다.
- [0064] 이때 상기 포토레지스트층(3)의 현상은 상기 포토레지스트층(3) 중 노광되지 않은 부분은 경화가 이루어지고, 노광된 부분의 포토레지스트층(3)은 현상에 의해 제거된다.
- [0065] 만일, 네가티브형의 포토레지스트를 이용할 시에는 포토마스크의 타공을 통해 노광된 포토레지스트는 경화가 이루어지고, 현상에 의해 노광되지 않은 포토레지스트가 제거된다.
- [0066] 상기 현상에 의해 상기 포토레지스트층(3) 일부가 제거됨으로써 형성된 공간을 통해 상기 포토레지스트층(3)의 하부에 위치하는 몰드베이스층(2) 일부가 외부로 노출된다.
- [0067] 그리고 다음 단계로 a-5)단계는 상기 포토레지스트층(3)의 현상으로 노광된 부분의 포토레지스트층(3)이 제거됨에 따라 노출된 상기 몰드베이스층(2)을 에칭액으로 에칭한다.
- [0068] 이때 에칭에 의해 상기 몰드베이스층(2)의 표면이 수정란 배양장치 몸체(100)의 식각 용액이 주입되는 제1채널(102) 및 비식각 용액이 주입되는 제2채널(103), 상기 제1채널(102) 및 제2채널(103)과 일측이 연통하는 배양공간(101), 상기 배양공간(101)과 타측이 연통하는 배출채널(104)의 형상과 반대되는 형상으로 형성된다.
- [0069] 따라서 상기한 과정에 의해 식각 용액이 주입되는 제1채널(102) 및 비식각 용액이 주입되는 제2채널(103), 상기 제1채널(102) 및 제2채널(103)과 일측이 연통하는 배양공간(101), 상기 배양공간(101)과 타측이 연통하는 배출채널(104)의 형상 이미지와 반대되는 형상을 양각으로 형성한 마스터 몰드(10)가 형성된다.
- [0070] 이때 상기 마스터 몰드(10)는 상기 배양공간(101)으로 연통하는 제1채널(102) 및 제2채널(103)은 서로 교번으로 배치되어 배양공간(101)과 연통하는 것이 바람직하다.
- [0071] 그리고 다음 단계로 a-6)단계는 상기 에칭이 완료되면 상기 포토레지스트층(3)을 제거한 후, 상기 기관(1)에서 마스터 몰드(10)를 이형하여, 마스터 몰드(10)를 완성한다.
- [0072] 이때 상기 포토레지스트층(3)은 현상액을 이용하여 제거하는 것이 바람직하고, 상기 기관(1)에서 이형된 마스터 몰드(10)는 성형틀(11)에 수용시켜 a)단계인 성형틀(11)에 마스터 몰드(10)를 준비하는 단계를 실시한다.
- [0073] 다시 도 7을 참조하여 성형틀(11)에 마스터 몰드(10)가 준비되면, b)단계로 상기 마스터 몰드(10)가 준비된 성형틀(11)에 폴리디메틸실록산(PDMS, Polydimethylsiloxane)을 인입한다.
- [0074] 이때 상기 성형틀(11)에 인입되는 폴리디메틸실록산(PDMS)은 액상으로 주입되는 것이 바람직하고, 상기 성형틀(11) 내주면에 주입되는 폴리디메틸실록산(PDMS)의 높이를 알 수 있는 표시를 형성하여, 추후 완성되는 몸체(100)의 두께를 제어할 수 있다.
- [0075] 그리고 성형틀(11)에 폴리디메틸실록산(PDMS, Polydimethylsiloxane)을 인입되면, c)단계로 폴리디메틸실록산(PDMS)이 인입된 성형틀(11)을 진공챔버에 수용한 후, 진공을 이용하여 폴리디메틸실록산(PDMS)에서 기포를 제거한다.
- [0076] 이때 진공압이 제공되는 진공챔버 내에 성형틀(11)을 20~30분 정도 수용시켜, 상기 성형틀(11)에 주입된 액상의 폴리디메틸실록산(PDMS) 속에 포함된 기포가 외부로 배출되도록 한다.
- [0077] 그리고 폴리디메틸실록산(PDMS)에서 기포가 제거되면, d)단계로 상기 폴리디메틸실록산(PDMS) 기포가 제거되면, 성형틀(11)을 오픈에 수용한 후, 열로 상기 폴리디메틸실록산(PDMS)을 경화시켜 수정란 배양장치의 몸체(100)를 형성한다.
- [0078] 그리고 폴리디메틸실록산(PDMS) 경화로 몸체(100)가 형성되면, e)단계로 상기 폴리디메틸실록산(PDMS)의 경화가

완료되어 몸체(100)가 형성되면, 상기 마스터 몰드(10)에서 몸체(100)를 분리한다.

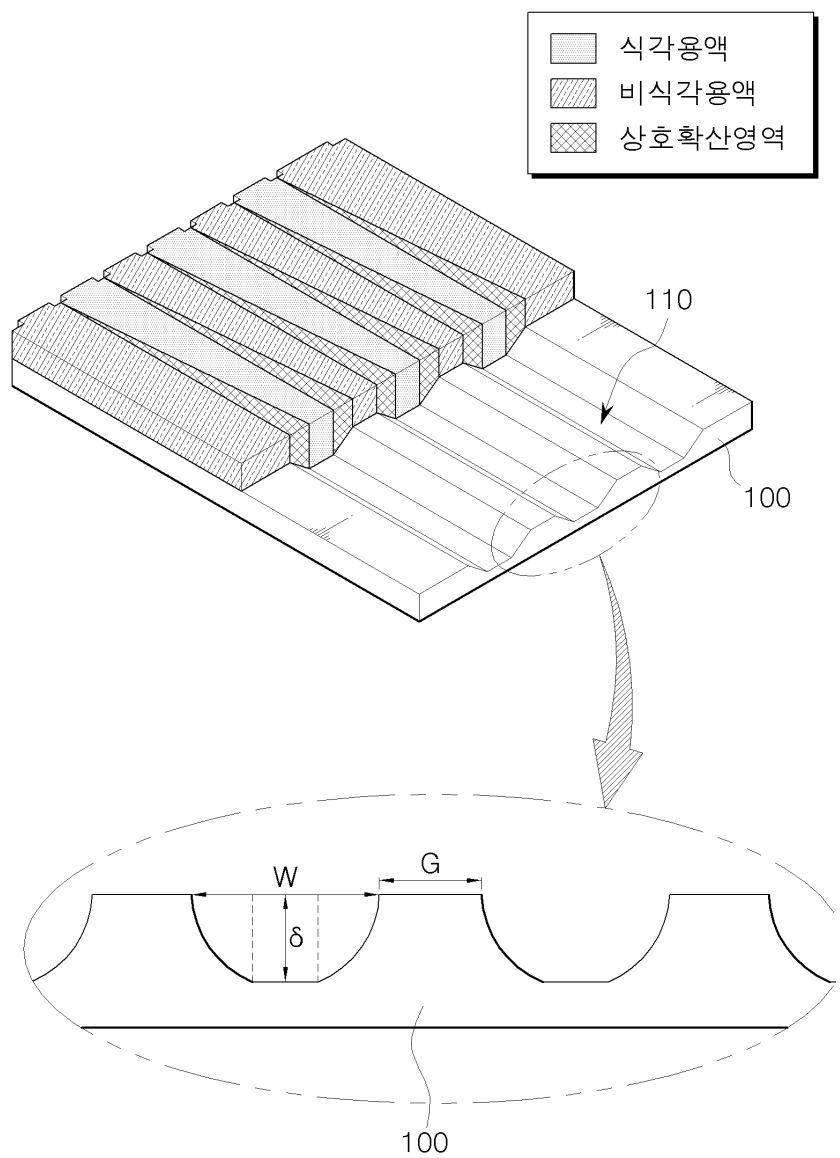
- [0079] 그리고 마스터 몰드(10)에서 몸체가 분리되면, f)단계로, 상기 마스터 몰드(10)와 접하던 몸체(100)의 개방면에 폴리카보네이트 재질로 된 상판을 접합하여, 제1채널(102), 제2채널(103), 배양공간(101) 및 배출채널(104)을 마감하여 수정란 배양장치를 이루도록 한다.
- [0080] 그리고 몸체(100)의 개방면에 상판이 접합되면, g)단계로, 상기 몸체(100)의 배양공간(101)에 식각 용액 및 비식각 용액을 주입하여 배양공간에 주름모사면(110)을 형성한다.
- [0081] 이때 상기 주름모사면(110)은 상기 몸체(100)를 전, 후 길이방향으로 식각 용액을 흘려, 식각 용액의 흐름에 의해 복수 개의 홈에 의해 형성되는 것으로, 상기 식각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 식각 작용에 의해, 상기 복수 개의 홈들이 몸체(100)의 전, 후방을 따라 길이를 갖고, 홈의 단면이 반원 형태를 이루는데, 상기 몸체(100)를 식각하는 식각 용액인 TBAF(Tetrabutylammonium fluoride)는 낮은 레이놀즈 수(Reynolds Number)로 인하여 층류로 유동하는데, 상기 층류 유동 특성을 이용하여 식각 용액과 비식각 용액(NMP(1-Methyl-2-pyrrolidinone))을 상기 몸체(100)에 함께 흘려주면 분자 확산에 의해 상호확산영역(Interdiffusion region)이 형성된다.
- [0082] 상기한 상호확산영역은 그 폭(너비)이 유체의 평균 속도에 반비례하고 확산계수에 비례되며, 상기 식각 용액의 흐름 길이가 길어짐에 따라 식각 용액과 비식각 용액이 섞이는 상호확산영역이 증가하게 되어, 식각에 의해 형성되는 홈의 단면 종횡비(aspect Ratio)가 증가한다.
- [0083] 그러므로 상기 식각 용액의 농도 구배에 따른 식각 구배 형성을 통해 PDMS구조체에서 다양한 너비(w)와 깊이(δ), 비식각영역(G)의 변수를 제어하여 일정한 형태 또는 다양한 형태의 홈을 구현할 수 있다.
- [0084] 따라서 교번으로 배치된 복수 개의 제1채널(102) 및 복수 개의 제2채널(103)을 통해 식각 용액 및 비식각 용액을 주입되면, 식각 용액 및 비식각 용액이 상기 몸체(100)의 배양공간(101) 길이방향을 따라 배출채널(104)을 통해 외부로 배출되는 흐름을 갖는데, 이때 식각 용액의 농도 구배 및 유속에 따른 식각 작용과, 비식각 용액과의 상호확산영역(Interdiffusion region)에 의한 식각 공정에 의해 홈의 집합으로 주름모사면(110)이 형성되고, 이때 홈들은 상기 몸체(100)의 좌측, 우측방향을 따라 연속반복으로 형성되어, 상기 주름모사면(110)은 파형(波形)의 패턴으로 주름이 형성된다.
- [0085] 본 발명은 도면에 도시된 실시 예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 본 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시 예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

부호의 설명

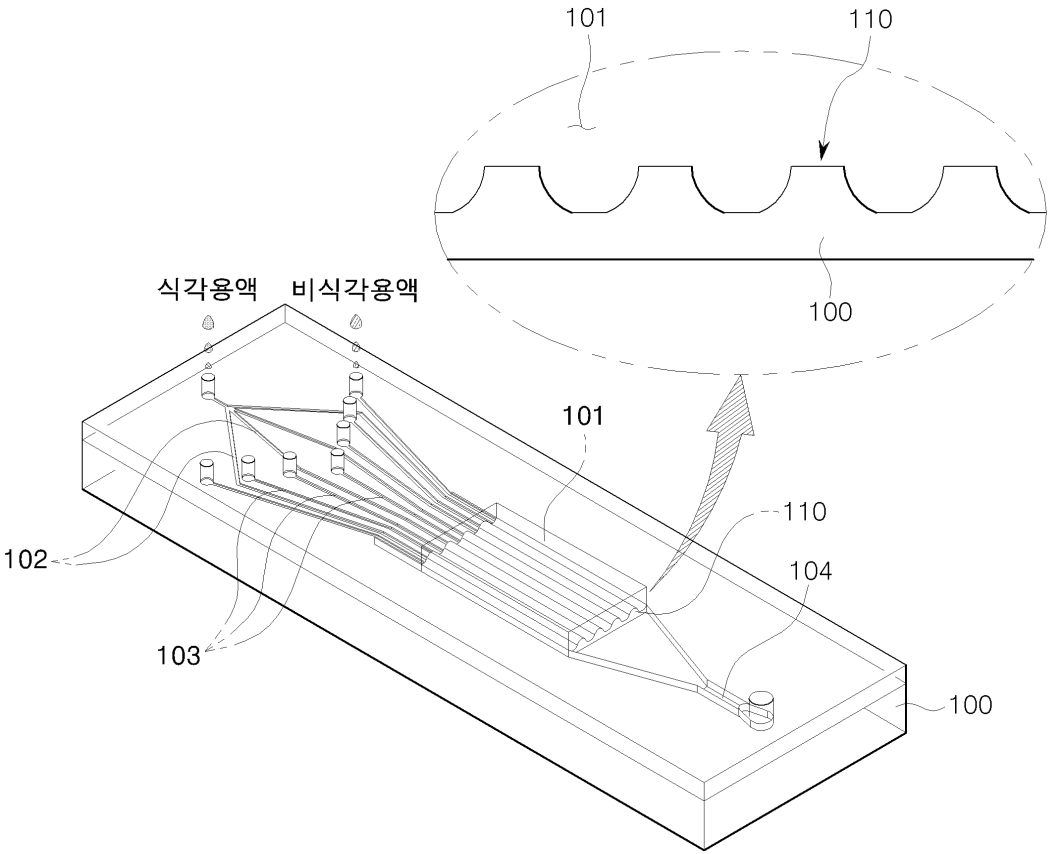
- [0087]
- 1: 기판
 - 2: 몰드베이스층
 - 3: 포토레지스트층
 - 4: 포토마스크
 - 10: 마스터 몰드
 - 11: 성형틀
 - 100: 몸체
 - 101: 배양공간
 - 102: 제1채널
 - 103: 제2채널
 - 104: 배출채널
 - 110: 주름모사면

도면

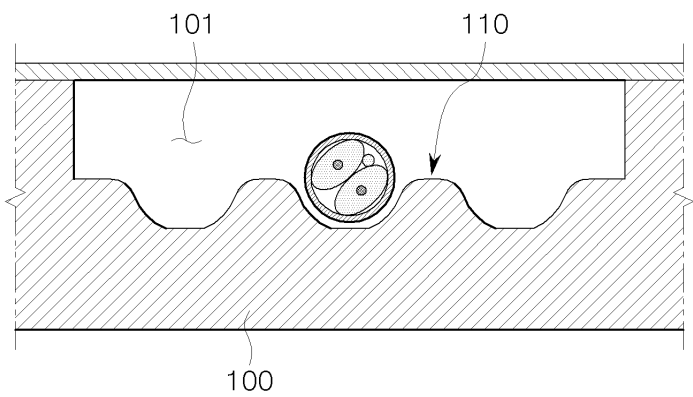
도면1



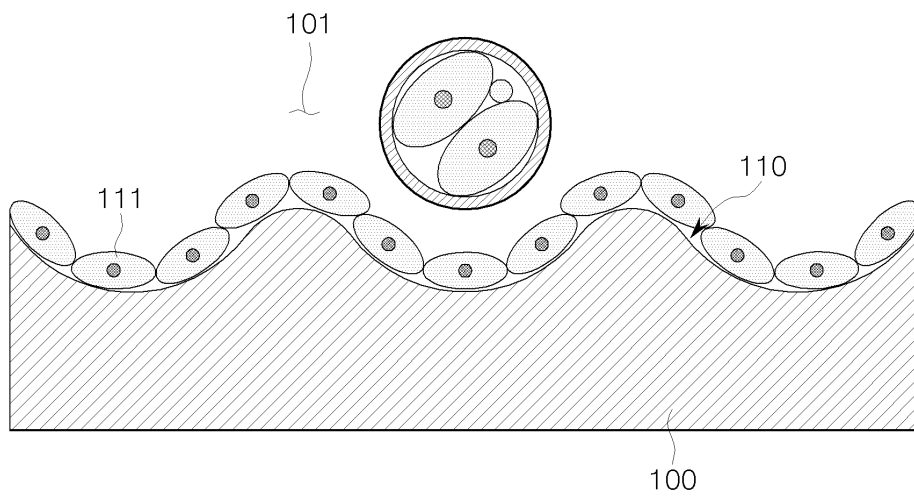
도면2



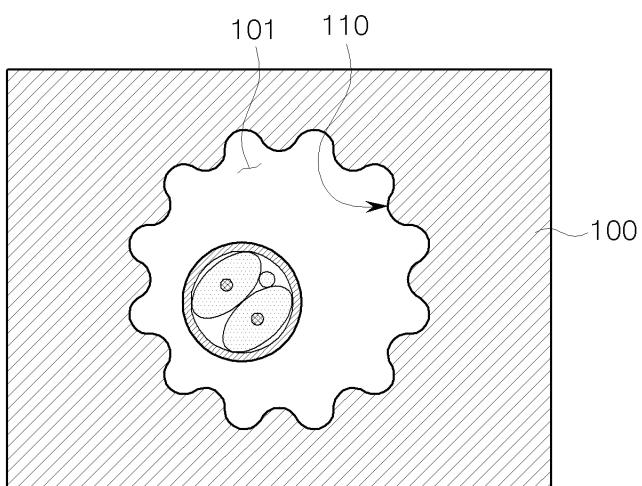
도면3



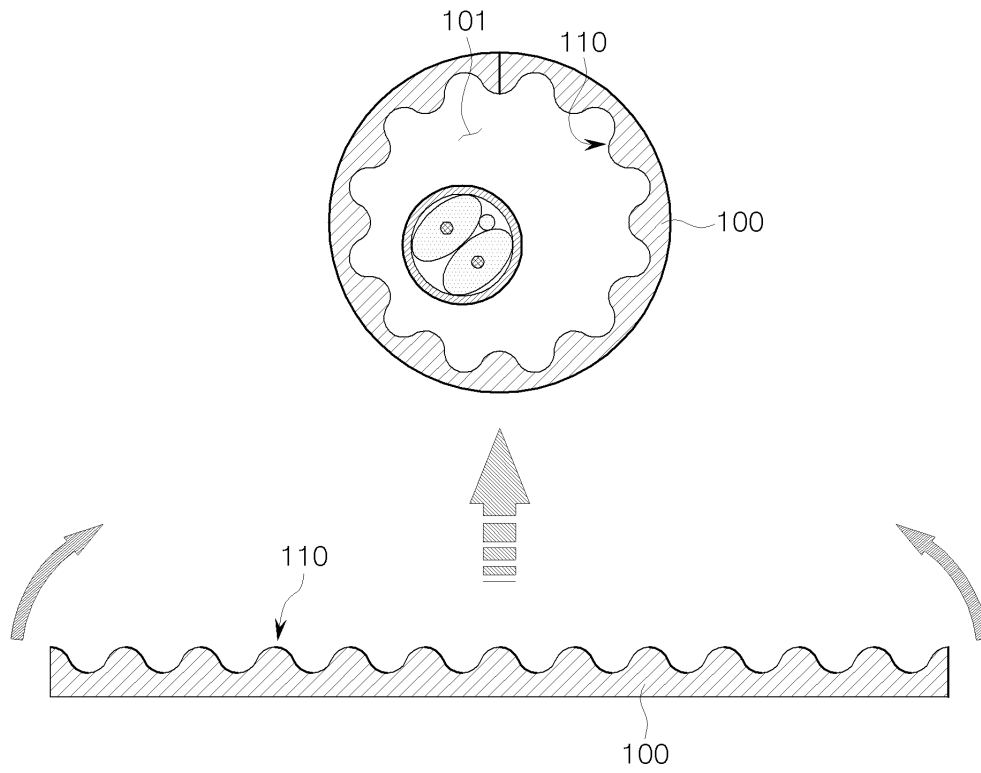
도면4



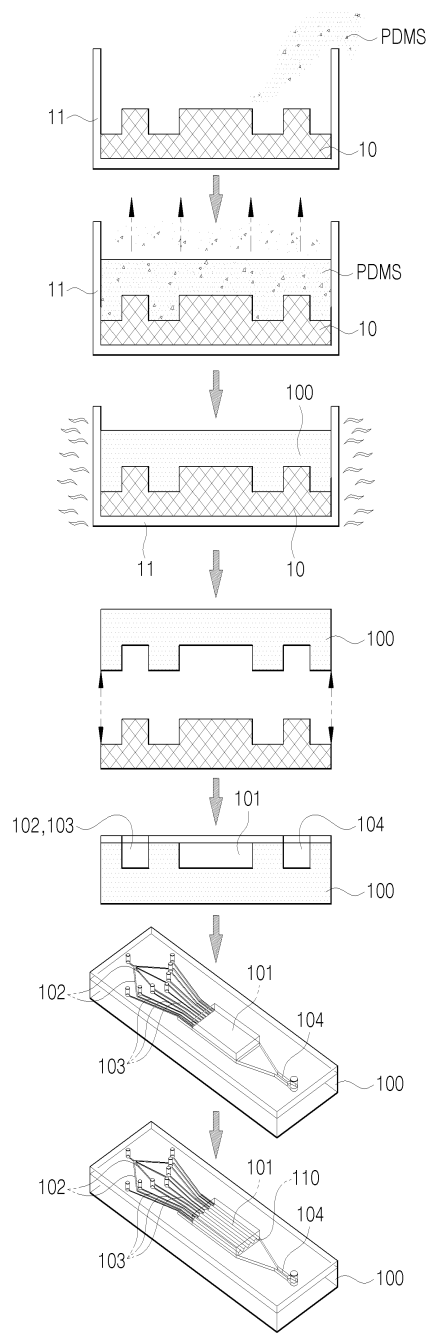
도면5



도면6



도면7



도면8

