

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2022-0137352
(43) 공개일자 2022년10월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12M 1/42 (2017.01) C12M 1/12 (2006.01)

C12M 3/00 (2006.01) C12M 3/06 (2006.01)

C12N 13/00 (2017.01)

(52) CPC특허분류

C12M 35/02 (2013.01)

C12M 21/08 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0043308

(22) 출원일자 2021년04월02일

심사청구일자 2021년04월02일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

최혁

서울특별시 강남구 삼성로111길 8, 206동 1401호 (삼성동, 삼성동힐스테이트2단지아파트)

황민호

서울특별시 구로구 가마산로20다길 22-1, 402호 (구로동)

김안기

서울특별시 강서구 월정로28가길 19-24, 3층 (화곡동)

(74) 대리인

특허법인 무한

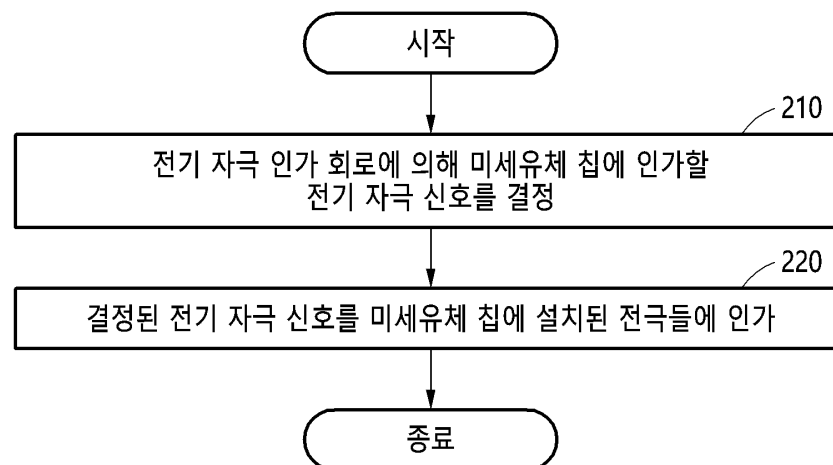
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 미세유체 세포에 대한 전기 자극 인가 방법 및 장치

(57) 요약

미세유체 세포에 대한 전기 자극 인가 장치 및 방법이 개시된다. 전기 자극 인가 장치는 미세유체 칩을 포함하는 미세유체 플레이트 및 미세유체 칩 중 적어도 하나에 전기 자극을 가하는 전기 자극 인가 회로를 포함하고, 미세유체 플레이트는, 미세유체 칩이 배치되는 제1 레이어, 미세유체 칩의 각 채널에 전기 자극을 가하기 위한 전극들이 배치되는 제2 레이어 및 제2 레이어에 배치된 전극들 중 적어도 하나에 전기 자극 인가 회로로부터 전달되는 전기 신호를 전달하는 제3 레이어를 포함할 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

C12M 23/16 (2013.01)

C12M 25/14 (2013.01)

C12N 13/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

미세유체 세포에 대한 전기 자극 인가 장치에 있어서,
 미세유체 칩(microfluidic chips)을 포함하는 미세유체 플레이트; 및
 상기 미세유체 칩 중 적어도 하나에 전기 자극을 가하는 전기 자극 인가 회로를 포함하고,
 상기 미세유체 플레이트는,
 상기 미세유체 칩이 배치되는 제1 레이어;
 상기 미세유체 칩의 각 채널에 전기 자극을 가하기 위한 전극들이 배치되는 제2 레이어; 및
 상기 제2 레이어에 배치된 상기 전극들 중 적어도 하나에 상기 전기 자극 인가 회로로부터 전달되는 전기 신호를 전달하는 제3 레이어를 포함하는,
 전기 자극 인가 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,
 상기 제3 레이어는,
 상기 전기 자극 인가 회로로부터 전달받은 전기 신호를 포고 핀을 통해 상기 제2 레이어에 장착된 전극들에 전달하는 전기 자극 인가 장치.

청구항 3

제1항에 있어서,
 상기 제2 레이어는,
 탈착형의 교체가 가능한 금 전극들이 배치되고,
 상기 금 전극들을 이용하여 미세유체 칩에 전기 신호를 인가하는 전기 자극 인가 장치.

청구항 4

제1항에 있어서,
 상기 전기 자극 인가 회로는,
 채널 별로 각 채널에 대응하는 미세유체 칩에 전기 신호를 제공하는 것을 제어하는 스위치를 포함하는 전기 자극 인가 장치.

청구항 5

제4항에 있어서,
 상기 스위치는,
 상기 스위치에 대응하는 채널에 대응하는 열에 포함된 미리 정해진 수의 미세유체 칩에 대해 전기 신호를 제공하 것을 제어하는 전기 자극 인가 장치.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 미세유체 칩은,

하이드로젤을 주입하는 비계 채널(scaffold channel)이 각 채널의 사이에 배치되는 전기 자극 인가 장치.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 전기 자극 인가 회로는,

마이크로 컨트롤러 유닛(Micro Control Unit; MCU)가 장착된 복수의 메인 보드들을 포함하는 전기 자극 인가 장치.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 미세유체 칩은,

각 채널의 양 극단에 전극들이 배치되고, 각 전극들의 극성에 기초하여 전류의 방향이 결정되는 전기 자극 인가 장치.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 미세유체 칩은,

제1 채널의 양 극단에 제1 전극 및 제3 전극이 배치되고, 제2 채널의 양 극단에 제2 전극 및 제4 전극이 배치되는 전기 자극 인가 장치.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 미세유체 칩은,

상기 제1 전극의 극성이 제1 극성이고, 상기 제2 전극, 상기 제3 전극 및 상기 제4 전극의 극성이 제2 극성인 경우, 전류가 상기 제1 전극에서부터 상기 제3 전극으로 흐르고, 상기 제1 전극에서 비계 채널을 통과하여 상기 제2 전극 및 제4 전극으로 흐르는 전기 자극 인가 장치.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 미세유체 칩은,

상기 제1 전극 및 상기 제4 전극의 극성이 제1 극성이고, 상기 제2 전극 및 상기 제3 전극의 극성이 제2 극성인 경우, 전류가 상기 제1 전극에서 비계 채널을 통과하지 않고 상기 제3 전극으로 흐르고, 상기 제4 전극에서 상기 제2 전극으로 흐르는 전기 자극 인가 장치.

청구항 12

제19항에 있어서,

상기 미세유체 칩은,

상기 제1 전극 및 상기 제3 전극의 극성이 제1 극성이고, 상기 제2 전극 및 상기 제4 전극의 극성이 제2 극성인 경우, 전류가 상기 제1 극성에서 비계 채널을 통과하여 상기 제2 전극으로 흐르고, 상기 제3 전극에서 상계 비계 채널을 통과하여 상기 제4 극성으로 흐르는 전기 자극 인가 장치.

청구항 13

미세유체 세포에 대한 전기 자극 인가 장치를 통해 전기 자극을 인가하는 방법에 있어서,

전기 자극 인가 회로에 의해, 미세유체 플레이트에 포함된 미세유체 칩(microfluidic chips)에 인가할 전기 자극 신호를 결정하는 단계; 및

상기 결정된 전기 자극 신호를 상기 미세유체 칩에 설치된 전극들에 인가하는 단계를 포함하고,

상기 미세유체 플레이트는,

상기 미세유체 칩이 배치되는 제1 레이어;

상기 미세유체 칩의 각 채널에 전기 자극을 가하기 위한 전극들이 배치되는 제2 레이어; 및

상기 제2 레이어에 배치된 상기 전극들 중 적어도 하나에 상기 전기 자극 인가 회로로부터 전달되는 전기 신호를 전달하는 제3 레이어를 포함하는,

방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 제3 레이어는,

상기 전기 자극 인가 회로로부터 전달받은 전기 신호를 포고 핀을 통해 상기 제2 레이어에 장착된 전극들에 전달하는 방법.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 제2 레이어는,

탈착형의 교체가 가능한 금 전극들이 배치되고,

상기 금 전극들을 이용하여 미세유체 칩에 전기 신호를 인가하는 방법.

청구항 16

제13항에 있어서,

상기 전기 자극 인가 회로는,

채널 별로 각 채널에 대응하는 미세유체 칩에 전기 신호를 제공하는 것을 제어하는 스위치를 포함하는 방법.

청구항 17

제16항에 있어서,

상기 스위치는,

상기 스위치에 대응하는 채널에 대응하는 열에 포함된 미리 정해진 수의 미세유체 칩에 대해 전기 신호를 제공하는 것을 제어하는 방법.

청구항 18

제13항에 있어서,

상기 미세유체 칩은,

하이드로겔을 주입하는 비계 채널(scaffold channel)이 각 채널의 사이에 배치되는 방법.

청구항 19

제13항에 있어서,

상기 전기 자극 인가 회로는,

마이크로 컨트롤러 유닛(Micro Control Unit; MCU)가 장착된 복수의 메인 보드들을 포함하는 방법.

청구항 20

제13항에 있어서,

상기 미세유체 칩은,

각 채널의 양 극단에 전극들이 배치되고, 각 전극들의 극성에 기초하여 전류의 방향이 결정되는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 아래 실시예들은 미세유체 세포에 대한 전기 자극 인가 기술에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인체 내 다양한 세포나 조직에 대한 전기적 자극은 세포 및 조직 내 유전자 발현(gene expression), 세포 부착(cell adhesion), 이동(migration) 및 사멸(apoptosis, necrosis) 등을 포함하는 다양한 분자생물학적 과정을 조절하여 조직의 항상성(homeostasis)을 유지하는 데 중요한 역할을 한다. 일부 연구에서 자극을 포함하는 신호를 이용하여, 세포 내 여러 단백질 및 효소들의 활성을 유도함으로써 세포의 기능을 민감하게 조절하고 유지할 수 있다. 실제 암이 발달하는 과정과 전이되는 과정이 전기적 자극에 의해 조절된다는 연구 결과가 있다. 이러한 연구 결과와 더불어 줄기세포의 분화 현상 및 자극에 의한 세포 내 분자생물학적 신호 전달 현상이 다양한 질병에 밀접한 관련을 나타낼 수 있다는 연구 결과도 있다. 인체 내 조직은 세포외기질을 포함하는 다양한 구성 성분을 포함하는 3차원 형태를 이루고 있으며, 상기 기술한 질병 내 다양한 분자생물학적 기전 및 치료적 접근은 3차원 형태에서 수행되는 것이 바람직하다.

[0003] 또한, 전기 자극(electrical stimulation) 같은 기계·공학적 에너지를 통해 조직 및 신경을 자극하여 대사기능을 조절함으로써 신체의 항상성을 회복시키는 ‘전자약(electroceuticals)’에 대한 관심이 전 세계적으로 증가하고 있는 추세이다. 전자약 기술로 인한 인체의 신호 전달 체계 및 생리 활성의 조절은 세포 분화, 면역반응 조절, 혈관형성 및 신경 재생 효과 등을 유발시키므로 전자약 기술이 다양한 질병 치료에 적용될 수 있을 것으로 전망된다. 전자약에 대한 기초적인 접근 방식으로서, 세포를 대상으로 인가한 ‘전기 자극(electrical stimulation)’이 특정 질병과 관련된 여러 인자(factor)를 긍정적인(positive) 방향으로 활성화시킨다는 다수의 선행 연구가 발표되었다.

[0004] 그러나, 종래의 세포 내 전기적 자극에 의한 생리활성 조절에 관한 기술들은 일반적인 배양 플레이트 내에서 2차원의 환경에서 이루어진 경우가 대부분이며, 공동 배양의 환경에서 전기적 인가에 대한 효과를 확인한 연구는 아직 부재한다. 또한 단일 세포에 대한 전기적 자극의 효과가 상호작용하는 이종의 세포에 어떠한 영향을 미칠 수 있는지에 대한 연속적인 기전을 관찰하기에 어려움이 있다. 따라서 이러한 종래 기술의 한계들을 보완하기 위한 연구가 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0005] 일 실시예에 따른 미세유체 세포에 대한 전기 자극 인가 장치는 미세유체 칩(microfluidic chips)을 포함하는 미세유체 플레이트; 및 상기 미세유체 칩 중 적어도 하나에 전기 자극을 가하는 전기 자극 인가 회로를 포함하고, 상기 미세유체 플레이트는, 상기 미세유체 칩이 배치되는 제1 레이어; 상기 미세유체 칩의 각 채널에 전기 자극을 가하기 위한 전극들이 배치되는 제2 레이어; 및 상기 제2 레이어에 배치된 상기 전극들 중 적어도 하나에 상기 전기 자극 인가 회로로부터 전달되는 전기 신호를 전달하는 제3 레이어를 포함할 수 있다.

[0006] 상기 제3 레이어는, 상기 전기 자극 인가 회로로부터 전달받은 전기 신호를 포고 핀을 통해 상기 제2 레이어에 장착된 전극들에 전달할 수 있다.

[0007] 상기 제2 레이어는, 탈착형의 교체가 가능한 금 전극들이 배치되고, 상기 금 전극들을 이용하여 미세유체 칩에

전기 신호를 인가할 수 있다.

- [0008] 상기 전기 자극 인가 회로는, 채널 별로 각 채널에 대응하는 미세유체 칩에 전기 신호를 제공하는 것을 제어하는 스위치를 포함할 수 있다.
- [0009] 상기 스위치는, 상기 스위치에 대응하는 채널에 대응하는 열에 포함된 미리 정해진 수의 미세유체 칩에 대해 전기 신호를 제공하 것을 제어할 수 있다.
- [0010] 상기 미세유체 칩은, 하이드로젤을 주입하는 비계 채널(scaffold channel)이 각 채널의 사이에 배치될 수 있다.
- [0011] 상기 전기 자극 인가 회로는, 마이크로 컨트롤러 유닛(Micro Control Unit; MCU)가 장착된 복수의 메인 보드들을 포함할 수 있다.
- [0012] 상기 미세유체 칩은, 각 채널의 양 극단에 전극들이 배치되고, 각 전극들의 극성에 기초하여 전류의 방향이 결정될 수 있다.
- [0013] 상기 미세유체 칩은, 제1 채널의 양 극단에 제1 전극 및 제3 전극이 배치되고, 제2 채널의 양 극단에 제2 전극 및 제4 전극이 배치될 수 있다.
- [0014] 상기 미세유체 칩은, 상기 제1 전극의 극성이 제1 극성이고, 상기 제2 전극, 상기 제3 전극 및 상기 제4 전극의 극성이 제2 극성인 경우, 전류가 상기 제1 전극에서부터 상기 제3 전극으로 흐르고, 상기 제1 전극에서 비계 채널을 통과하여 상기 제2 전극 및 제4 전극으로 흐를 수 있다.
- [0015] 상기 미세유체 칩은, 상기 제1 전극 및 상기 제4 전극의 극성이 제1 극성이고, 상기 제2 전극 및 상기 제3 전극의 극성이 제2 극성인 경우, 전류가 상기 제1 전극에서 비계 채널을 통과하지 않고 상기 제3 전극으로 흐르고, 상기 제4 전극에서 상기 제2 전극으로 흐를 수 있다.
- [0016] 상기 미세유체 칩은, 상기 제1 전극 및 상기 제3 전극의 극성이 제1 극성이고, 상기 제2 전극 및 상기 제4 전극의 극성이 제2 극성인 경우, 전류가 상기 제1 극성에서 비계 채널을 통과하여 상기 제2 전극으로 흐르고, 상기 제3 전극에서 상계 비계 채널을 통과하여 상기 제4 극성으로 흐를 수 있다.
- [0017] 일 실시예에 따른 미세유체 세포에 대한 전기 자극 인가 장치를 통해 전기 자극을 인가하는 방법은 전기 자극 인가 회로에 의해, 미세유체 플레이트에 포함된 미세유체 칩(microfluidic chips)에 인가할 전기 자극 신호를 결정하는 단계; 및 상기 결정된 전기 자극 신호를 상기 미세유체 칩에 설치된 전극들에 인가하는 단계를 포함하고, 상기 미세유체 플레이트는, 상기 미세유체 칩이 배치되는 제1 레이어; 상기 미세유체 칩의 각 채널에 전기 자극을 가하기 위한 전극들이 배치되는 제2 레이어; 및 상기 제2 레이어에 배치된 상기 전극들 중 적어도 하나에 상기 전기 자극 인가 회로로부터 전달되는 전기 신호를 전달하는 제3 레이어를 포함할 수 있다.
- [0018] 상기 제3 레이어는, 상기 전기 자극 인가 회로로부터 전달받은 전기 신호를 포고 핀을 통해 상기 제2 레이어에 장착된 전극들에 전달할 수 있다.
- [0019] 상기 제2 레이어는, 탈착형의 교체가 가능한 금 전극들이 배치되고, 상기 금 전극들을 이용하여 미세유체 칩에 전기 신호를 인가할 수 있다.
- [0020] 상기 전기 자극 인가 회로는, 채널 별로 각 채널에 대응하는 미세유체 칩에 전기 신호를 제공하는 것을 제어하는 스위치를 포함할 수 있다.
- [0021] 상기 스위치는, 상기 스위치에 대응하는 채널에 대응하는 열에 포함된 미리 정해진 수의 미세유체 칩에 대해 전기 신호를 제공하는 것을 제어할 수 있다.
- [0022] 상기 미세유체 칩은, 하이드로젤을 주입하는 비계 채널(scaffold channel)이 각 채널의 사이에 배치될 수 있다.
- [0023] 상기 전기 자극 인가 회로는, 마이크로 컨트롤러 유닛(Micro Control Unit; MCU)가 장착된 복수의 메인 보드들을 포함할 수 있다.
- [0024] 상기 미세유체 칩은, 각 채널의 양 극단에 전극들이 배치되고, 각 전극들의 극성에 기초하여 전류의 방향이 결정될 수 있다.

발명의 효과

- [0025] 일 실시예에 따르면, 기존 연구의 제한적인 방법을 해결하고, 미세유체 장치 내에서 세포외기질과 세포를 3차원

으로 배양하고 세포 간의 상호작용이 가능한 플랫폼을 구성할 수 있다.

- [0026] 일 실시예에 따르면 3차원적인 미세유체적 환경에서 세포에 전기 자극을 인가하며, 그에 따라 발생하는 세포의 형질학적 구조 변화의 양상을 관찰할 수 있다.
- [0027] 일 실시예에 따르면, 재사용이 가능한 미세유체 장치를 제공할 수 있다.
- [0028] 일 실시예에 따르면, 다양한 질환에서 서로 다른 세포에 의한 상호작용의 결과로 나타나는 병리학적 특성을 전기 자극을 통해 조절할 수 있는 기초 연구를 위한 플랫폼을 제공할 수 있다.
- [0029] 일 실시예에 따르면, 인체와 유사한 환경 내에서 기계 생물학의 치료적 효과를 연구할 수 있다.
- [0030] 일 실시예에 따르면, 전기적인 신호 요소(전압/전류, 주파수, 시간)를 유동적으로 변화할 수 있도록 제작되어, 동시배양 구조를 구현한 미세유체 칩의 서로 다른 배양 채널 두 쌍에 각기 다른 전기 신호를 인가하고, 각각의 세포 특성에 적합한 전기적 프로토콜 기준을 적용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 시스템의 개요를 도시하는 도면이다.
- 도 2는 일 실시예에 따른 전기 자극을 인가하는 방법을 설명하기 위한 흐름도이다.
- 도 3은 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 장치의 일례를 도시하는 도면이다.
- 도 4는 일 실시예에 따른 미세유체 플레이트의 구성을 도시하는 도면이다.
- 도 5는 일 실시예에 따른 전극과 포고 핀의 일례를 도시하는 도면이다.
- 도 6은 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 장치의 구조를 도시하는 도면이다.
- 도 7a 내지 도 7c는 일 실시예에 따른 미세유체 칩을 도시하는 도면들이다.
- 도 8은 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 장치의 회로를 도시하는 도면이다.
- 도 9는 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 장치의 구성을 도시하는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 실시예들에 대한 특정한 구조적 또는 기능적 설명들은 단지 예시를 위한 목적으로 개시된 것으로서, 다양한 형태로 변경되어 구현될 수 있다. 따라서, 실제 구현되는 형태는 개시된 특정 실시예로만 한정되는 것이 아니며, 본 명세서의 범위는 실시예들로 설명한 기술적 사상에 포함되는 변경, 균등물, 또는 대체물을 포함한다.
- [0033] 제1 또는 제2 등의 용어를 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 이런 용어들은 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 해석되어야 한다. 예를 들어, 제1 구성요소는 제2 구성요소로 명명될 수 있고, 유사하게 제2 구성요소는 제1 구성요소로도 명명될 수 있다.
- [0034] 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 "연결되어" 있다고 언급된 때에는, 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되어 있거나 또는 접속되어 있을 수도 있지만, 중간에 다른 구성요소가 존재할 수도 있다고 이해되어야 할 것이다.
- [0035] 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 설명된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부분품 또는 이들을 조합한 것이 존재함으로써 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부분품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.
- [0036] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 해당 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥상 가지는 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하며, 본 명세서에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0037] 이하, 실시예들을 첨부된 도면들을 참조하여 상세하게 설명한다. 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조 부호를 부여하고, 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다.

- [0038] 도 1은 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 시스템의 개요를 도시하는 도면이다.
- [0039] 본 명세서에서 설명하는 전기 자극 인가 시스템은 복수의 레이어로 구성된 미세유체 플레이트에 미세유체 칩을 배치하고 전기 자극을 인가하여 복수의 세포 간의 상호 작용을 관찰하기 위한 동시 배양 구조 환경을 제공할 수 있다. 전기 자극 인가 시스템은 인체 내 다양한 질환에서 신생혈관의 성장(angiogenesis), 신경 구조체의 형성(nerve growth) 등을 포함하는 3차원 세포 간 상호작용에 따른 활성 인자의 형질 변화를 관찰할 수 있는 미세유체 칩 구조를 포함할 수 있다. 전기 자극 인가 시스템은 미세유체 칩 구조 내에 신호적 요소를 고려한 전기 자극을 인가함으로써 세포 내 기계 생물학(mechanobiology)적인 영향을 관찰할 수 있는 플랫폼을 제공할 수 있다. 전기 자극 인가 시스템은 미세유체 칩 내에서 세포외기질과 더불어 세포를 3차원으로 배양하고 세포 간 상호 작용을 도모하기 위한 플랫폼을 포함할 수 있다.
- [0040] 전기 자극 인가 시스템은 전기적 자극에 대한 세포 내 효과를 확인할 수 있는 인가 장치를 미세유체의 투입구 부분에 배치하여, 배양액을 통해 전류 및 전기 자극을 가할 수 있다. 도선은 각 상호작용하는 세포 채널 양쪽으로 배치되어, 선택적으로 전기적 자극을 인가할 수 있다. 또한, 도선이 캡 형태로 구성되어 있기 때문에, 미세유체 플레이트는 멸균 후 재사용될 수 있다.
- [0041] 전기 자극 인가 시스템은 도선을 채널의 주입구 부분에 배치시키고, 전기 자극을 인가하여, 중앙의 상호작용 채널 및 각 세포의 배양 채널이 세포에 자극을 가하는 과정과, 자극을 인가받은 세포의 모습을 사용자가 현미경 상으로 관찰할 수 있는 구성을 제공할 수 있다. 전기 자극 인가 시스템은 전기 자극 인가 회로에 마이크로 컨트롤 유닛을 연결시켜 사용자 또는 연구가 즉각적으로 세포에 인가되는 전기적 특성을 변화시킬 수 있도록 할 수 있다. 생물학적 재연성 및 반복성의 측면에서 PDMS(polydimethylsiloxane) 기반의 미세유체 플레이트(또는 미세유체 장치)와 전기 자극 인가 회로(또는 전기적 인가 장치)의 결합은, 사용자가 원하는 다수의 배양 칩을 구성하는 데에 있어서도 효율적일 수 있다. 전기 자극 인가 시스템은 연구 목적에 따라 전기적인 신호 요소(전압(전류), 주파수, 시간)를 유동적으로 변화할 수 있도록 제작될 수 있다. 전기 자극 인가 시스템은 동시배양 구조를 구현한 미세유체 칩의 서로 다른 배양 채널 두 쌍에 각기 다른 전기 신호를 인가할 수 있도록 하여, 각각의 세포 특성에 적합한 전기적 프로토콜(Protocol) 기준을 적용할 수 있다.
- [0042] 도 1을 참조하면, 전기 자극 인가 회로(120)는 컴퓨팅 장치로부터 전원을 제공받아 미세유체 플레이트(110)에 전기 신호를 전달할 수 있다. 전기 신호는 미세유체 플레이트(110)에 배치된 포고 핀 및 전극들을 통해 미세유체 칩들 각각에 배치된 채널들에 전달될 수 있다. 일 미세유체 칩에 배치된 채널들의 양 극단에는 전극이 배치될 수 있고, 채널들은 전극을 통해 전달받은 전기 신호 또는 전기 자극을 세포에 인가할 수 있다.
- [0043] 도 2는 일 실시예에 따른 전기 자극을 인가하는 방법을 설명하기 위한 흐름도이다.
- [0044] 도 2를 참조하면 단계(210)에서 전기 자극 인가 장치는 전기 자극 인가 회로에 의해, 미세유체 플레이트에 포함된 미세유체 칩(microfluidic chips)에 인가할 전기 자극 신호를 결정할 수 있다. 전기 자극 인가 장치는 전기 자극 인가 회로를 이용하여 전압, 전류, 주파수 및 시간을 포함하는 전기적인 요소를 연구 목적에 기초하여 유동적으로 변화시킬 수 있다.
- [0045] 단계(220)에서 전기 자극 인가 장치는 결정된 전기 자극 신호를 미세유체 칩에 설치된 전극들에 인가하는 단계를 포함하고, 전기 자극 인가 회로는 다양한 전기 자극 신호를 결정하여 인가하고, 미세유체가 전기 자극을 인가받았을 때의 변화를 관찰하고 세포 특성과 연구 목적에 적합한 전기적 프로토콜의 기준을 정립하고 적용할 수 있다.
- [0046] 여기서, 미세유체 플레이트는 제1 레이어, 제2 레이어 및 제3 레이어를 포함할 수 있다. 제1 레이어에는 미세유체 칩이 배치될 수 있고, 제1 레이어는 미세유체 칩을 고정하기 위한 클램프(clamp)를 포함할 수 있다.
- [0047] 제2 레이어에는 미세유체 칩의 각 채널에 전기 자극을 가하기 위한 전극들이 배치될 수 있다. 전극들은 탈착이 가능한 형태로 구성되어 있어, 교체가 용이할 수 있다. 제3 레이어는 제2 레이어에 배치된 전극들 중 적어도 하나에 전기 자극 인가 회로로부터 전달되는 전기 신호를 전달할 수 있다. 제3 레이어는 전기 자극 인가 회로로부터 전달받은 전기 신호를 포고 핀을 통해 제2 레이어에 장착된 전극들에 전달할 수 있다.
- [0048] 전기 자극 인가 회로는, 마이크로 컨트롤러 유닛(Micro Control Unit; MCU)가 장착된 복수의 메인 보드들을 포함할 수 있고, 채널 별로 각 채널에 대응하는 미세유체 칩에 전기 신호를 제공하는 것을 제어하는 스위치를 포함할 수 있다. 스위치는 스위치에 대응하는 채널에 대응하는 열에 포함된 미리 정해진 수의 미세유체 칩에 대해 전기 신호를 제공할 수 있다.

- [0049] 미세유체 칩은 예를 들어, 두 개의 채널을 포함하고, 두 개의 채널 사이에는 하이드로젤을 주입하는 비계 채널(scaffold channel)이 배치될 수 있다. 여기서 두 개의 채널은 배양 채널일 수 있다. 각 채널의 양 극단에 전극들이 배치되고, 각 전극들의 극성에 기초하여 전류의 방향이 결정될 수 있다. 전극들의 극성에 기초하여 전류의 방향이 결정되는 실시예는 도 7a 내지 도 7c에서 자세히 설명될 수 있다.
- [0050] 도 3은 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 장치의 일례를 도시하는 도면이다.
- [0051] 도 3을 참조하면 전기 자극 인가 장치는 미세유체 플레이트(310) 및 전기 자극 인가 회로(320)를 포함할 수 있다. 일 실시예에서 전기 자극 인가 장치는 마이크로 채널의 구조를 가지고 있는 미세유체 칩에 다양한 프로토클을 적용한 전기적인 자극들을 인가하여 치료 효과를 유도할 수 있도록 도 3과 같이 설계될 수 있다. 참조 번호(330)에 미세유체 칩이 배치되고, 전기 자극 인가 회로(320)로부터 제공된 전기 자극이 미세유체 플레이트(310)에 배치된 포고 핀 및 전극을 통해 미세유체 칩에 전달될 수 있다.
- [0052] 도 4는 일 실시예에 따른 미세유체 플레이트의 구성을 도시하는 도면이다.
- [0053] 도 4를 참조하면 미세유체 플레이트는 제1 레이어(430), 제2 레이어(420) 및 제3 레이어(410)을 포함할 수 있다. 제1 레이어(430)에는 미세유체 칩(450)이 배치될 수 있다.
- [0054] 미세유체 플레이트는 세포가 배양된 미세유체 칩(450)의 챔버에 전기 자극 인가 회로로부터의 전극을 투입해 다양한 전기적 특성의 자극을 인가하기 위하여, 도 4와 같이 제1 레이어(430), 제2 레이어(420) 및 제(410)이 순차적으로 쌓인 형태를 가질 수 있다. 미세유체 플레이트는 세포로부터 분비된 활성인자의 상호작용에 따라 신경돌기 생성 및 혈관 확장 등과 같은 형질학적 특성 변화가 관찰되는 구조를 가질 수 있다.
- [0055] 제1 레이어(430)는 제2 레이어(420) 및 제3 레이어(410)가 제1 레이어(430) 상에 쌓일 때 움직이지 않도록 고정시키는 기능을 수행할 수 있다. 또한, 제1 레이어(430)는 제1 레이어(430)와 제2 레이어(420)의 사이에 배치되는 미세유체 칩(450)이 움직이지 않도록 고정할 수도 있다.
- [0056] 제2 레이어(420)는 챔버의 배지 속으로 들어갈 전극들(442)이 장착되어 있는 층일 수 있다. 미세유체 칩이 배치되는 공간에 전극들(442)이 배치되어 있을 수 있다. 각각의 전극들(442)은 홈(구멍)(444)을 통해 고정될 수 있다. 따라서 전극들(442)의 교체가 간단하므로 전극이 단선되는 경우, 사용자는 효율적으로 전극을 교체할 수 있다.
- [0057] 제3 레이어(410)는 각 전극들(442)에 전기 신호를 인가하기 위한 분배적 회로가 설계되어 있는 레이어 또는 층일 수 있다. 제3 레이어(410)는 제2 레이어(420)의 전극들(442)과 맞닿는 부위를 포고 핀(Pogo pin)으로 설계하여 전극들(442)의 높이 차이로 인한 신호 공급이 중단되는 상황을 방지할 수 있다.
- [0058] 미세유체 칩(450)은 인체를 구성하는 다양한 세포들의 동시 배양을 위해 이중적인 챔버 구조로 되어 있으며, 주입구 챔버와 배출구 챔버 사이에 연결되어 있는 채널(452 및 454)을 통해 세포가 배양될 수 있다. 미세유체 칩(450)의 채널들(452, 454 및 456)은 삼중 구조로 배치되어 있으며 미세유체 칩(450)은 두 개의 배양 채널(452 및 454)을 포함할 수 있고, 두 개의 배양 채널(452 및 454) 사이에는 하나의 비계 채널(456)이 배치될 수 있다. 배양 채널(452 및 454)는 본 명세서에서 설명하는 비계 채널을 제외한 채널에 대응할 수 있다. 배양 채널(452 및 454)은 세포에 전기 자극을 인가할 수 있다. 비계 채널(456)은 두 개의 배양 채널(452 및 454) 사이에 3차원적인(비계성) 구조를 형성하기 위하여 콜라겐 젤 및 다양한 세포외기질의 구성성분을 포함하는 하이드로젤을 미세유체 또는 미세유체 칩에 주입할 수 있다.
- [0059] 제1 레이어(430) 및 제2 레이어(420) 사이에 9개의 미세유체 칩이 배치되는 공간 중 세로를 기준으로 한 열(Column)에 배치된 3개의 미세유체 칩에 동일한 전기 자극이 인가될 수 있다. 제3 레이어(410)에 흐르는 전기 신호는 포고 핀 헤더에 연결되어 있는 전기 자극 인가 회로의 12개 전선을 통해 공급될 수 있다. 여기서 전기 자극 인가 회로는 제어 보드(Control board)라고도 지칭될 수 있다.
- [0060] 도 5는 일 실시예에 따른 전극과 포고 핀의 일례를 도시하는 도면이다.
- [0061] 제3 레이어는 각 전극들(530)에 전기 신호를 인가하기 위한 분배적 회로가 설계되어 있는 레이어 또는 층일 수 있다. 제3 레이어에서 제2 레이어의 전극들(530)과 맞닿는 부위에 포고 핀(510) 전극들(530)이 배치될 수 있다. 포고 핀(510)은 전극들(530) 각각의 높이 차이로 인해 신호 공급에 문제가 발생하는 것을 방지할 수 있다. 제3 레이어와 제2 레이어는 참조 번호(520)의 방향으로 서로 장착될 수 있다.
- [0062] 도 6은 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 장치의 구조를 도시하는 도면이다.

- [0063] 도 6을 참조하면 전기 자극 인가 회로와 미세유체 플레이트는 커넥터로 연결되어 있을 수 있다. 전기 자극 인가 회로는, 채널 별로 각 채널에 대응하는 미세유체 칩에 전기 신호를 제공하는 것을 제어하는 스위치(610 및 620)를 포함할 수 있다.
- [0064] 예를 들어, 채널(630) 및 채널(640)이 동일한 미세유체 칩들의 열에 배치될 수 있고, 이 경우, 스위치(610 및 620)은 하나의 열에 포함된 세 개의 미세유체 칩에 전기 신호를 제공하는 것을 제어할 수 있다. 스위치(610)은 채널(630)에 전기 신호를 제공하는 것을 제어할 수 있다. 또한, 스위치(620)은 채널(640)에 전기 신호를 제공하는 것을 제어할 수 있다.
- [0065] 전기 자극 인가 회로에 포함된 모든 스위치들 각각은 사용자 제어에 기초하여 미세유체 칩의 각각의 채널들에 전기 신호를 제공하는 것을 제어할 수 있다. 예를 들어 스위치들은 회전형일 수 있고 이 경우, 사용자는 GPIO(general-purpose input/output)의 출력 핀과 병렬로 연결된 회전 스위치들(가변 저항) 각각을 직접 돌리면서 최소 0V부터 최대 약 1V까지의 인가 전압을 설정할 수 있다. 전기 자극 인가 회로는 사용자가 설정한 스위치들 각각의 회전 정도에 기초하여 전기 신호의 전압을 설정할 수 있다.
- [0066] 일 실시예에서 전기 자극 인가 회로는 커넥터를 통해 컴퓨팅 장치와 연결될 수 있다.
- [0067] 도 7a 내지 도 7c는 일 실시예에 따른 미세유체 칩을 도시하는 도면들이다.
- [0068] 미세유체 칩은 미세유체 채널에 배치된 두 채널 각각의 양 극단에 전극들이 하나씩 배치되고, 각 전극들의 극성에 기초하여 미세유체 칩 내에서 흐르는 전류의 방향이 결정될 수 있다.
- [0069] 도 7a를 참조하면, 제1 채널의 양 극단에 제1 전극(710) 및 제3 전극(714)이 배치되고, 제2 채널의 양 극단에 제2 전극(712) 및 제4 전극(716)이 배치될 수 있다. 제1 전극(710) 내지 제4 전극(716)은 제1 극성 및 제2 극성 중 적어도 하나의 극성을 가질 수 있다. 예를 들어, 제1 극성은 양극(plus)일 수 있고, 제2 극성은 음극(minus)일 수 있다.
- [0070] 제1 전극(710)의 극성이 양극이고, 제2 전극(712), 제3 전극(714) 및 제4 전극(716)의 극성이 음극인 경우, 전류는 제1 전극(710)에서 제3 전극(714)으로 흐르거나, 제1 전극(710)에서 비계 채널을 통과하여 제2 채널(712) 및 제4 채널(716)로 흐를 수 있다.
- [0071] 도 7b를 참조하면 제1 채널의 양 극단에 제1 전극(720) 및 제3 전극(724)이 배치되고, 제2 채널의 양 극단에 제2 전극(722) 및 제4 전극(726)이 배치될 수 있다. 제1 전극(720) 및 제4 전극(726)의 극성이 양극이고, 제2 전극(722) 및 제3 전극(724)의 극성이 음극인 경우, 전류는 비계 채널을 통과하지 않고, 제1 전극(720)에서 제3 전극(724)으로 흐르거나, 제4 전극(726)에서 제2 전극(722)으로 흐를 수 있다.
- [0072] 도 7c를 참조하면, 제1 채널의 양 극단에 제1 전극(730) 및 제3 전극(734)이 배치되고, 제2 채널의 양 극단에 제2 전극(732) 및 제4 전극(736)이 배치될 수 있다. 제1 전극(730) 및 제3 전극(734)의 극성이 양극이고, 제2 전극(732) 및 제4 전극(736)의 극성이 음극인 경우, 전류는 비계 채널을 통과하여 제1 전극(730)에서 제2 전극(735)으로 흐르거나, 제3 전극(734)에서 제4 전극(736)으로 흐를 수 있다.
- [0073] 도 8은 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 장치의 회로를 도시하는 도면이다.
- [0074] 도 8을 참조하면, 전기 자극 인가 회로는 장치는 미세유체 플레이트(810)에 공급될 전기적 신호의 특성(전압(전류), 주파수, 시간)을 연구자가 희망하는 목적에 따라 유동적으로 변경하기 위하여 마이크로 컨트롤 유닛이 각각 하나씩 장착된 2개의 메인 보드(830 및 840)을 포함할 수 있다. 메인 보드(830 및 840)는 예를 들어, STM32F103C8T6일 수 있다.
- [0075] 미세유체 플레이트(810)에서 하나의 열에 위치한 3개의 채널을 하나의 묶음이라고 하였을 때, 하나의 메인 보드는 3쌍의 묶음(총 12개 채널)에 대해 전기 신호를 공급할 수 있다. 도 8은 전체 플랫폼의 회로 설계도로서 동작 과정에 대한 것을 나타낼 수 있다.
- [0076] 미세유체 칩의 한 채널에 인가되는 전기 신호는 두 메인 보드(830 및 840) 각각에 포함된 두 GPIO 출력 핀이 하이(high)(3.3V)와 로우(low)(0V)를 반복하며 교류 신호(alternating current; AC 또는 Biphasic)를 생성하고, 반복 속도를 변경하여 주파수를 설정할 수 있다. GPIO 출력 핀과 병렬로 연결된 회전 스위치(가변 저항)를 사용자가 직접 돌리면서 최소 0V부터 최대 약 1V까지의 인가 전압을 설정할 수 있다. 하나의 메인 보드는 6개의 ADC(analog-digital converter) 핀을 사용하여 각 채널에 인가된 전압을 시스템적으로 계산하고 측정할 수 있다. 두 메인 보드(830 및 840) 각각은 UART(Universal asynchronous receiver/transmitter) 통신을 통해 서

로 측정된 전압에 대한 정보를 교환할 수 있다. UART 통신 모듈(820)을 통해 전기 자극 인가 회로와 컴퓨팅 장치가 연결되어 전원을 공급받을 수 있다. 여기서 UART 통신 모듈(820)은 예를 들어 PL2303HXA일 수 있다. 사용자는 컴퓨팅 장치의 모니터에 보이는 터미널 창을 통해 주파수와 시간을 설정하기 때문에, 각 채널에 인가되고 있는 신호 정보(전압, 주파수, 시간)를 실시간으로 확인할 수 있다.

[0077] 도 9는 일 실시예에 따른 전기 자극 인가 장치의 구성을 도시하는 도면이다.

[0078] 도 9를 참조하면 전기 자극 인가 장치(900)는 미세유체 플레이트(910) 및 전기 자극 인가 회로(950)를 포함할 수 있다. 여기서 미세유체 플레이트(910)는 본 명세서에서 설명된 미세유체 플레이트에 대응할 수 있고, 전기 자극 인가 회로(950)는 본 명세서에서 설명하는 전기 자극 인가 회로 및 제어 보드에 대응할 수 있다.

[0079] 미세유체 플레이트(910)는 미세유체 칩을 포함할 수 있다. 또한, 전기 자극 인가 회로(950)는 미세유체 칩 중 적어도 하나에 전기 자극을 가할 수 있다.

[0080] 전기 자극 인가 회로(950)는 마이크로 컨트롤러 유닛이 장착된 복수의 메인 보드들을 포함할 수 있다. 또한, 전기 자극 인가 회로(950)는 채널 별로 각 채널에 대응하는 미세유체 칩에 전기 신호를 제공하는 것을 제어하는 스위치를 포함할 수도 있다. 스위치는 스위치에 대응하는 채널에 대응하는 열에 포함된 미리 정해진 수의 미세유체 칩에 대해 전기 신호를 제공하 것을 제어할 수 있다.

[0081] 미세유체 칩에, 예를 들어 세 개의 채널이 배치될 수 있다. 두 채널은 세포를 배양하기 위한 채널일 수 있고, 두 개의 각 채널 사이에 배치된 비계 채널은 세포에 하이드로젤을 주입할 수 있다. 세포는 미세유체 칩 내에서 세 개의 채널이 배치된 가운데에 배치될 수 있다.

[0082] 미세유체 플레이트(910)는 제1 레이어(940), 제2 레이어(930) 및 제3 레이어(920)를 포함할 수 있다. 제1 레이어(940)에는 미세유체 칩이 배치될 수 있다. 제2 레이어(930)에는 미세유체 칩의 각 채널에 전기 자극을 가하기 위한 전극들이 배치될 수 있다. 제2 레이어(930)는 탈착형의 교체가 가능한 금 전극들이 배치되고, 금 전극들을 이용하여 미세유체 칩에 전기 신호를 인가할 수 있다. 제3 레이어(920)는 제2 레이어(930)에 배치된 전극들 중 적어도 하나에 전기 자극 인가 회로(950)로부터 전달되는 전기 신호를 전달할 수 있다.

[0083] 미세유체 칩은 각 채널의 양 극단에 전극들이 배치되고, 각 전극들의 극성에 기초하여 전류의 방향이 결정될 수 있다. 미세유체 칩은 예를 들어, 제1 채널의 양 극단에 제1 전극 및 제3 전극이 배치되고, 제2 채널의 양 극단에 제2 전극 및 제4 전극이 배치될 수 있다.

[0084] 실시예에 따른 방법은 다양한 컴퓨터 수단을 통하여 수행될 수 있는 프로그램 명령 형태로 구현되어 컴퓨터 판독 가능 매체에 기록될 수 있다. 컴퓨터 판독 가능 매체는 프로그램 명령, 데이터 파일, 데이터 구조 등을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있으며 매체에 기록되는 프로그램 명령은 실시예를 위하여 특별히 설계되고 구성된 것들이거나 컴퓨터 소프트웨어 당업자에게 공지되어 사용 가능한 것일 수도 있다. 컴퓨터 판독 가능 기록 매체의 예에는 하드 디스크, 플로피 디스크 및 자기 테이프와 같은 자기 매체(magnetic media), CD-ROM, DVD와 같은 광기록 매체(optical media), 플롭티컬 디스크(floptical disk)와 같은 자기-광 매체(magneto-optical media), 및 롬(ROM), 램(RAM), 플래시 메모리 등과 같은 프로그램 명령을 저장하고 수행하도록 특별히 구성된 하드웨어 장치가 포함된다. 프로그램 명령의 예에는 컴파일러에 의해 만들어지는 것과 같은 기계어 코드뿐만 아니라 인터프리터 등을 사용해서 컴퓨터에 의해서 실행될 수 있는 고급 언어 코드를 포함한다.

[0085] 위에서 설명한 하드웨어 장치는 실시예의 동작을 수행하기 위해 하나 또는 복수의 소프트웨어 모듈로서 작동하도록 구성될 수 있으며, 그 역도 마찬가지이다.

[0086] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 시스템, 구조, 장치, 회로 등의 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

[0087] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 특허청구범위의 범위에 속한다.

부호의 설명

[0088] 100, 310, 810, 910: 미세유체 플레이트

120, 320, 950: 전기 자극 인가 회로

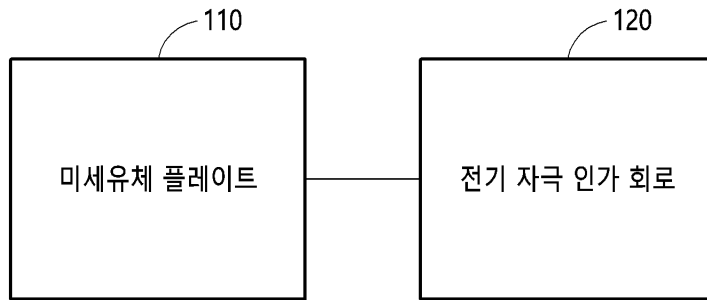
410, 940: 제3 레이어 420, 930: 제2 레이어

430, 940: 제1 레이어 450: 미세유체 칩

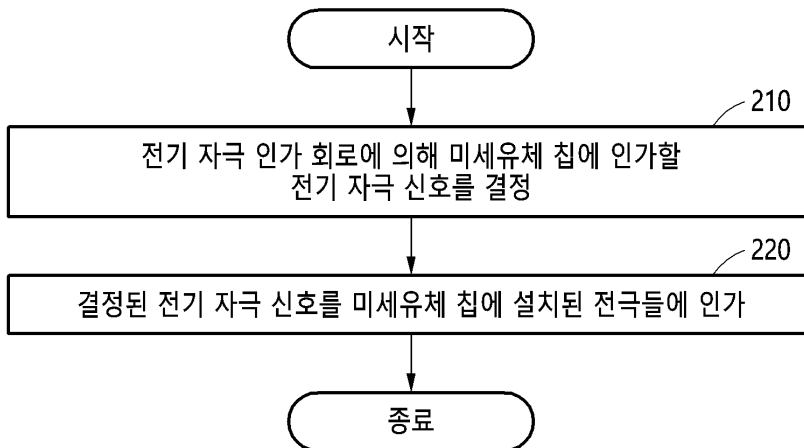
830, 840: 메인 보드 900: 전기 자극 인가 장치

도면

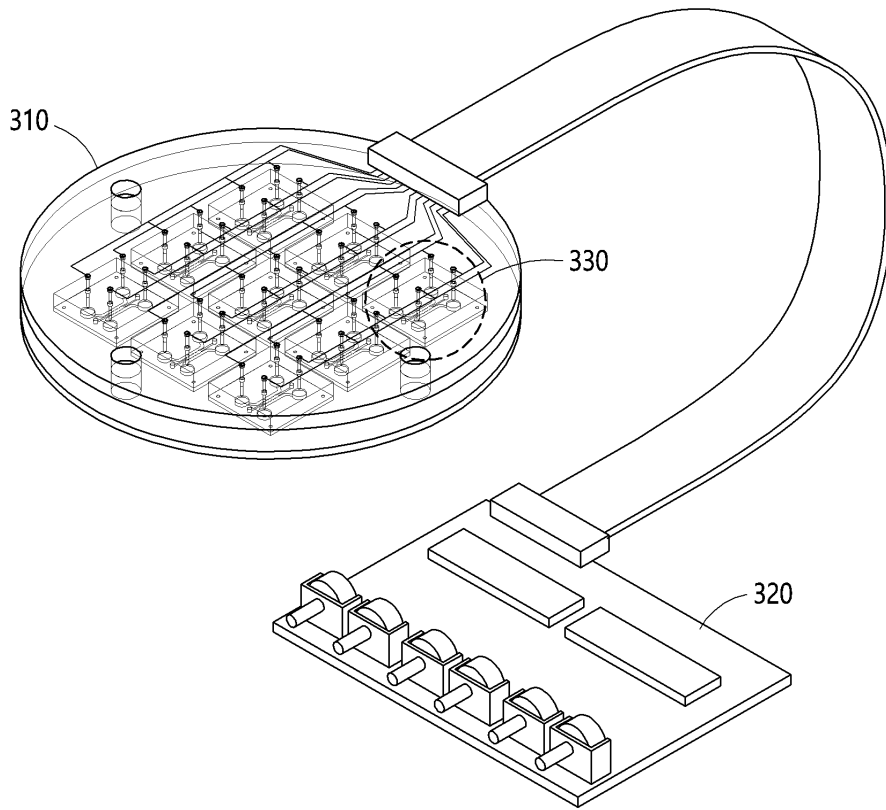
도면1



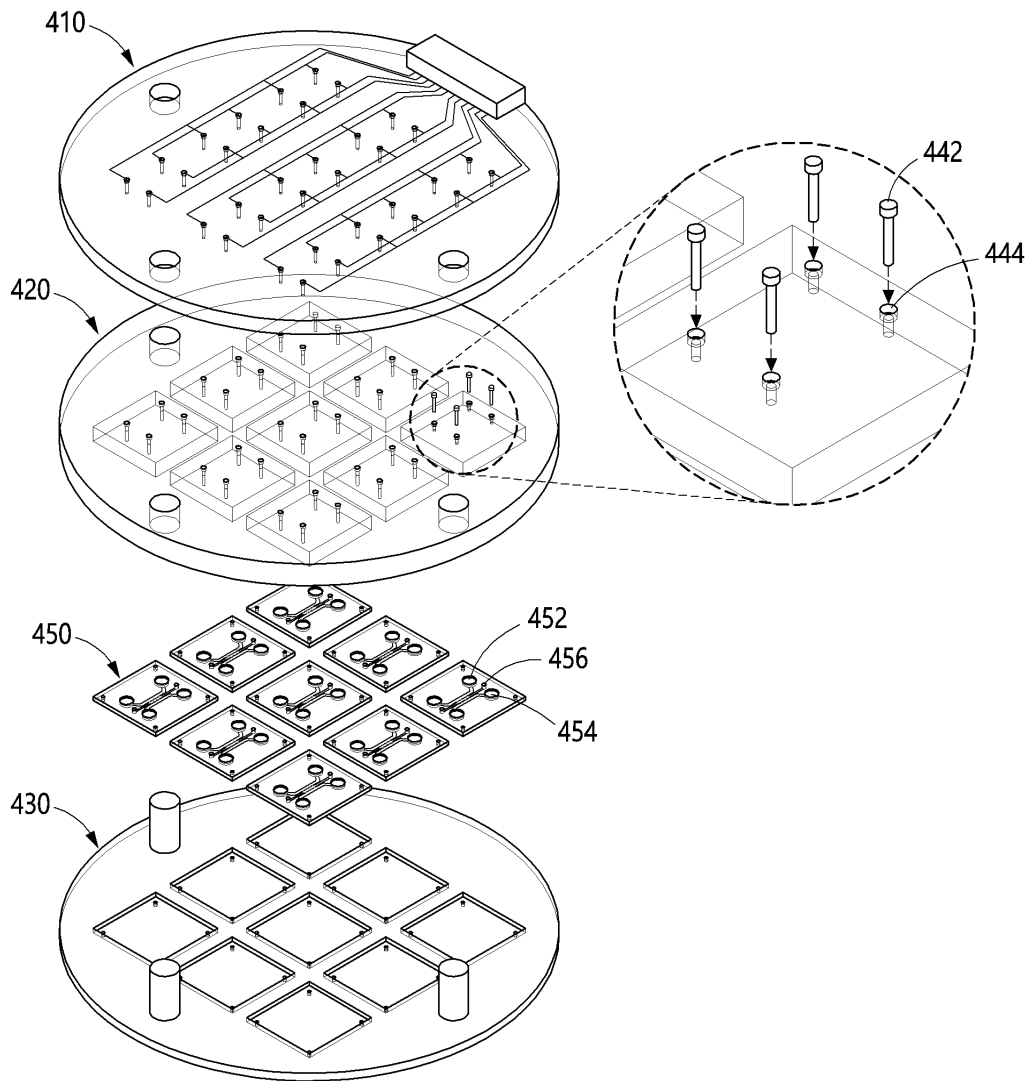
도면2



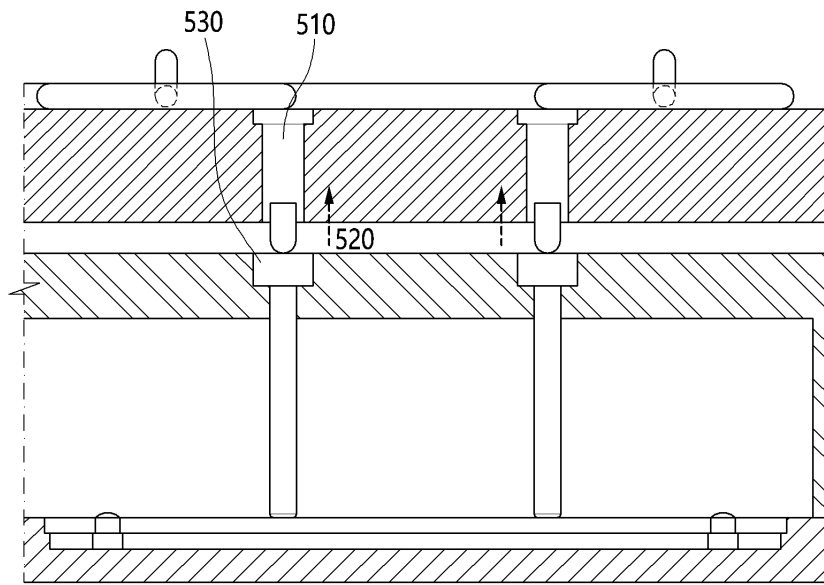
도면3



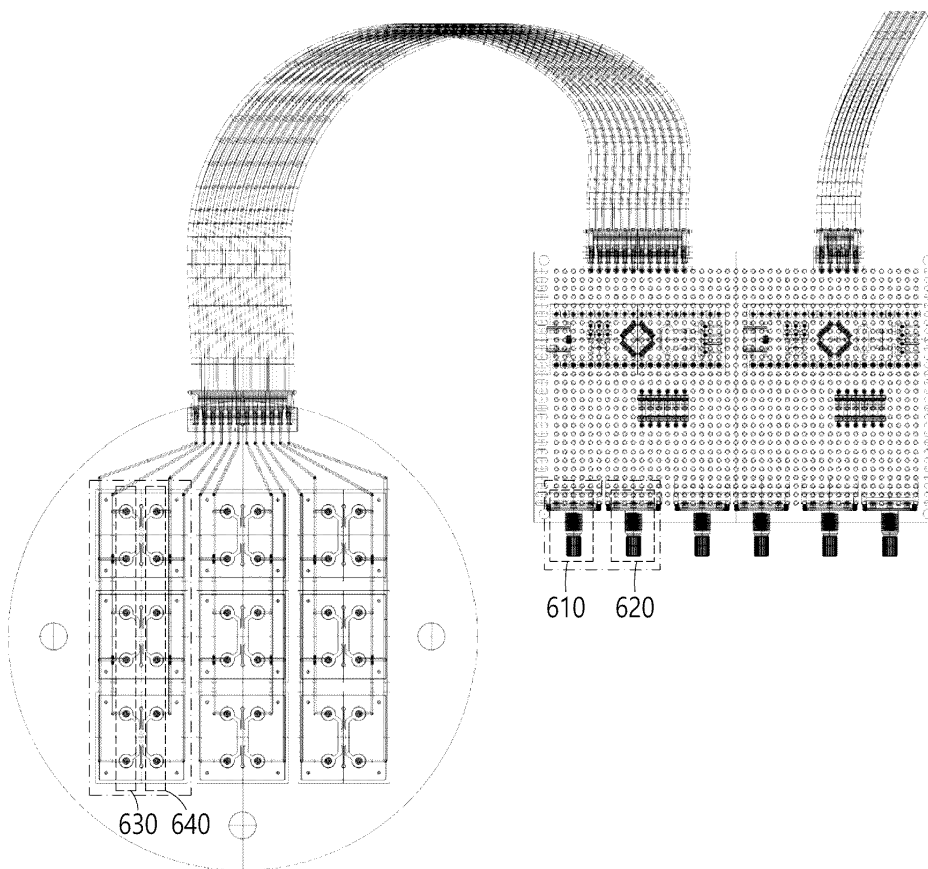
도면4



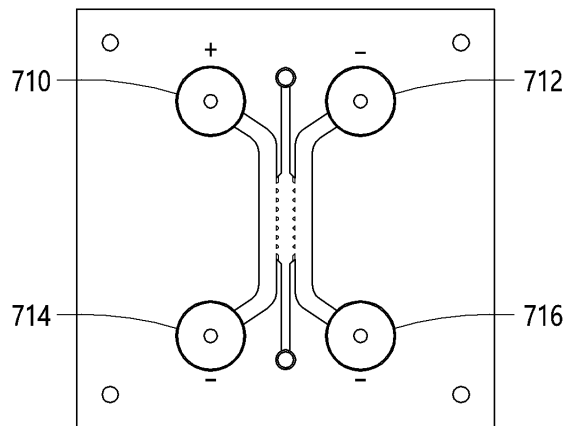
도면5



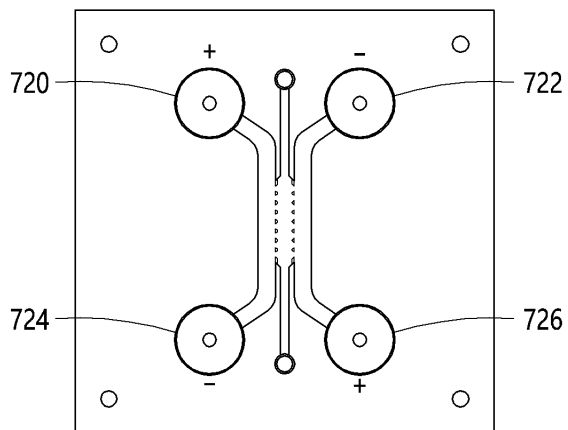
도면6



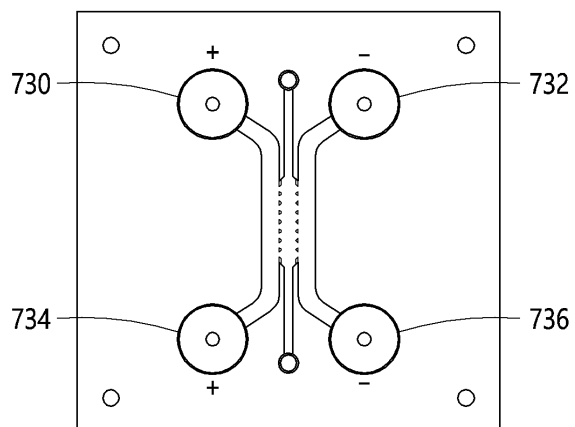
도면7a



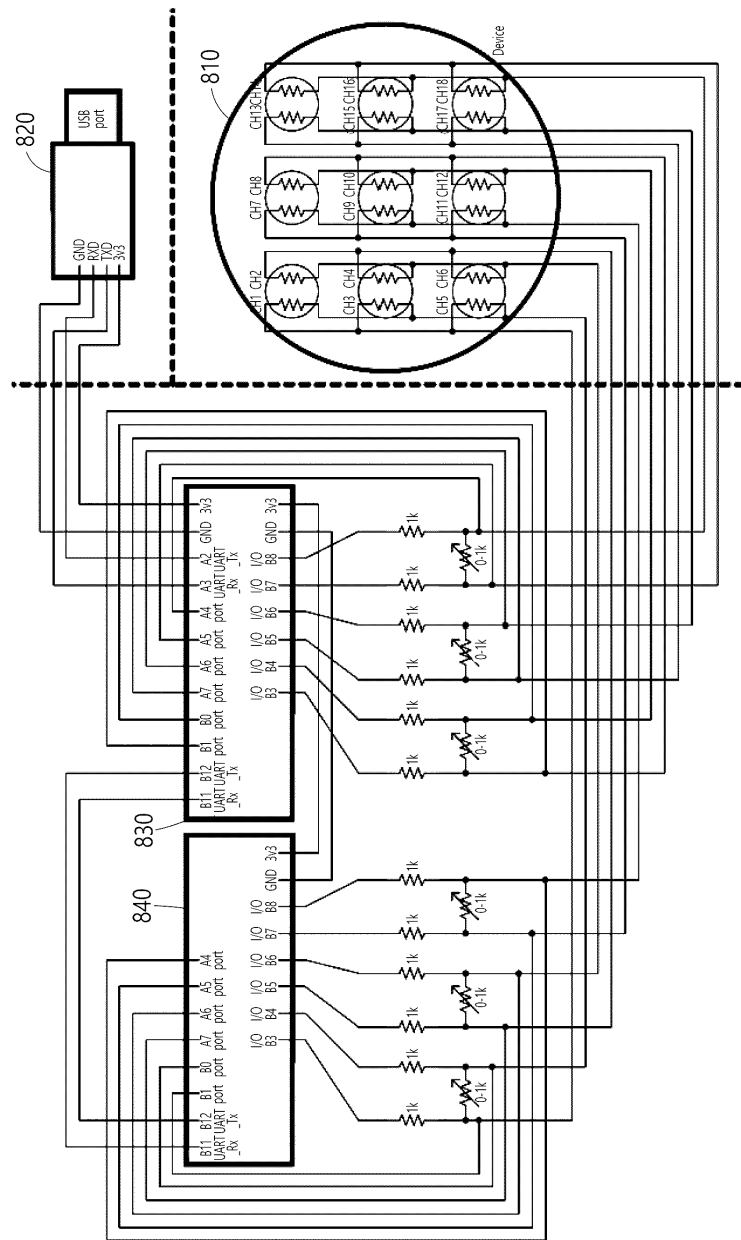
도면7b



도면7c



도면8



도면9

