(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0109228
(43) 공개일자 2020년09월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/5027 (2013.01)
B01L 2200/0647 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0134094
(22) 출원일자 2019년10월25일
심사청구일자 2019년10월25일
(30) 우선권주장
1020190028069 2019년03월12일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
정아람
서울특별시 용산구 이촌로88길 15 4-105
강금영
경상남도 진주시 신평공원길25번길 4-5(평거동)
허정수
서울특별시 강남구 선릉로 120, 5동 1005호(대치동, 개포1차 우성아파트)
(74) 대리인
특허법인 다해

전체 청구항 수 : 총 9 항

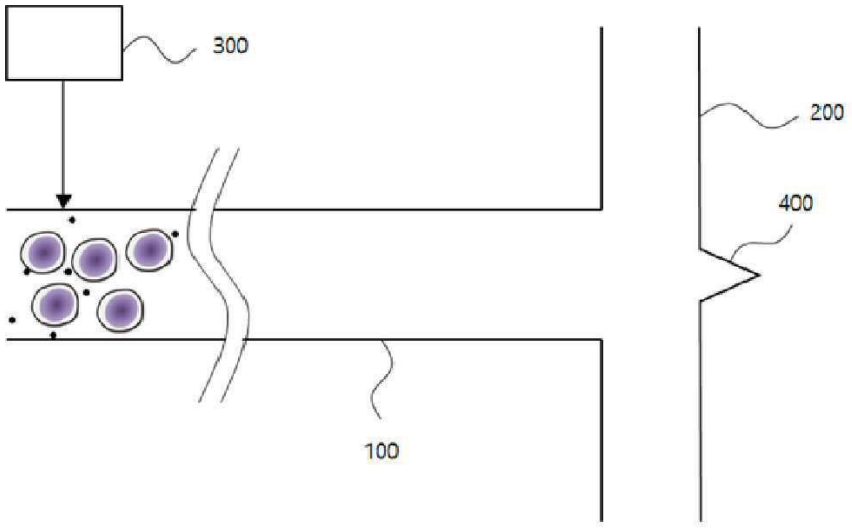
(54) 발명의 명칭 **관성을 기반으로 한 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼**

(57) 요 약

본 발명은 관성을 기반으로 한 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼에 관한 것으로, 구체적으로는 미세유체관 내에서 발생된 관성력과 관성 유동 현상을 이용하여 세포에 물리적인 변형 가해 세포막에 나노 구멍을 만들어 다양한 세포 내로 다양한 물질을 균일, 고효율로 전달할 수 있는 관성을 기반으로 한 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼에 관한 것이다.

본 발명은 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼으로서, T-자 형태, 십자 형태 또는 그 변형 형태의 미세유체 구조들을 이용하여 10 내지 1000의 유속(Re)에서 일어나는 세포와 벽의 충돌 및 세포와 관성 유동 현상과의 간섭 현상을 통해 세포를 변형시켜 세포 속으로 다양한 물질을 전달하는 것을 특징으로 하는 관성을 기반으로 한 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼을 제공한다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
B01L 2300/08 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

세포 내 물질 전달 플랫폼으로,

세포 및 전달물질을 포함하는 유체가 이동하는 경로를 형성하는 제 1 채널;

상기 제 1 채널의 단부에 상기 제 1 채널의 양 측면으로 수직 연장된 제 2 채널; 및

상기 제 1 채널에 구비되어 상기 제 1 채널에서의 유체 속도를 제어하는 세포가속수단을 포함하며,

상기 세포가속수단에 의하여 가속된 제 1 채널의 세포는 상기 제 1 채널의 단부에 연결된 제 2 채널의 격벽과 충돌하며, 상기 세포가속수단은 상기 충돌 이후 상기 세포에 나노구멍이 형성되는 수준의 세포막 변형을 가하는 운동에너지를 상기 제 1 채널 상의 세포에 인가하며,

상기 세포 변형시 상기 전달물질이 상기 세포 내로 전달되는 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 플랫폼.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 세포가속수단은 상기 제 1 채널을 지나 제 2 채널을 지나는 유체에 와류를 발생시키는 수준의 운동 에너지를 상기 제 1 채널의 유체에 인가하며,

상기 제 2 채널의 격벽과 충돌한 세포는 상기 제 2 채널에 형성된 와류를 통과한 후 와류 붕괴(vortex breakdown)에 따라 또 다른 세포 변형이 일어나며,

상기 또 다른 세포 변형에 따라 상기 세포막에 형성된 나노구멍을 통하여 상기 전달물질이 세포 내로 또 다시 전달되는 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 플랫폼.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 제 2 채널에는 상기 제 1 채널에서의 유체 흐름 방향과 동일 방향으로 돌출형성되는 돌출홈이 형성되는 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 플랫폼.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 세포 및 전달물질은 액적 형태로 상기 제 1 채널을 흐르는 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 플랫폼.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 액적은 상기 전달물질 내에 상기 세포가 포함된 형태인 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 플랫폼.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 제 1 채널 내의 유체는 레이놀즈 계수 10~1000인 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 플랫폼.

청구항 7

제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 따른 세포 내 물질 전달 플랫폼을 이용한 세포 내 물질 전달 방법으로,

상기 세포가속수단을 이용하여 세포 및 전달물질을 제 1 채널에서 유동시키는 단계;

상기 유동된 세포 및 전달물질을 상기 제 2 채널 내에서의 격벽에 충돌시키는 단계; 및

상기 출돌 이후 발생하는 세포 변형에 따라 세포막에 형성된 나노구멍을 통하여 상기 전달물질이 전달되는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 방법.

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 세포가속수단은 상기 제 2 채널에서 와류(vortex)를 형성시키는 수준의 운동에너지를 상기 세포에 인가하며,

상기 제 2 채널에 형성된 와류를 통과한 세포는 와류 붕괴(vortex breakdown)에 따라 또 다른 세포 변형이 일어나며, 상기 또 다른 세포 변형에 따라 형성된 세포막의 나노구멍을 통하여 상기 전달물질이 상기 세포 내로 전달되는 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 방법.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 세포 및 전달물질은 액적 형태인 것을 특징으로 하는 세포 내 물질 전달 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 관성을 기반으로 한 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼에 관한 것으로, 구체적으로는 미세유체관 내에서 발생된 관성력과 관성 유동 현상을 이용하여 세포에 물리적인 변형 가해 세포막에 나노 구멍을 만들어 다양한 세포 내로 다양한 물질을 균일, 고효율로 전달할 수 있는 관성을 기반으로 한 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 세포 내 물질 전달은 세포공학의 가장 기본이 되는 실험 중 하나로 보통 캐리어를 이용하거나 세포막/핵막에 나노구멍(nanopore)을 만들어 물질을 전달한다.

[0004] 바이러스 또는 Lipofectamine 중심의 캐리어 기법들은 최적화 시 고효율 물질 전달이 가능하나 안전성, 느린 전달 속도, 노동/비용 집약적인 캐리어 준비 과정, 낮은 재현성 등의 문제점들이 존재한다.

[0005] 이에 반하여 세포막에 에너지를 가하여 나노구멍을 만드는 방법들(예: Electroporation 또는 microneedle)은 상대적으로 여러 물질을 다양한 세포주로 전달이 가능한 장점이 있다.

[0006] 그러나 방법의 침습성으로 인한 낮은 세포 생존율, 전달 물질의 변성 그리고 낮은 처리량은 큰 한계로 지적되고 있다.(도 1 참고)

[0007] 이러한 문제점들을 해결하고자 대량의 세포처리가 가능한 미세유체기기들의 사용이 두드러진다. 대표적으로 미세관에 병목 구간을 만들고 세포들이 병목 구간을 지날 때 세포의 물리적 변형을 통해 세포막에 나노구멍을 만드는 플랫폼이 존재한다.

[0008] 그러나, 이 접근법은 실험 진행 시 병목 구간 자체가 막히고, 일정하지 못한 물질 전달 효율 등의 큰 단점들을 가진다.

[0009] 따라서 상기 미체유체 기기의 높은 처리 기능을 살리면서 주요 세포 내에 다양한 물질을 균일하게 고효율로 전달할 수 있는 혁신적인 “차세대 세포 내 물질 전달 플랫폼” 개발이 시급하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0011] (특허문헌 0001) 미국 공개번호 제2014-0287509호 (2014.09.25.)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명은 전술한 바와 같은 종래의 여러 문제점들을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 어떠한 세포주에도 어떠한 물질을 균일하게 고효율로 전달할 수 있는 혁신적인 관성을 기반으로 한 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼을 제공하는데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명은 세포 내 물질 전달 플랫폼으로, 세포 및 전달물질을 포함하는 유체가 이동하는 경로를 형성하는 제 1 채널; 상기 제 1 채널의 단부에 상기 제 1 채널의 양 측면으로 수직 연장된 제 2 채널; 및 상기 제 1 채널에 구비되어 상기 제 1 채널에서의 유체 속도를 제어하는 세포가속수단을 포함하며, 상기 세포가속수단에 의하여 가속된 제 1 채널의 세포는 상기 제 1 채널의 단부에 연결된 제 2 채널의 격벽과 충돌하며, 상기 세포가속수단은 상기 충돌 이후 상기 세포에 나노구멍이 형성되는 수준의 세포막 변형을 가하는 운동에너지를 상기 제 1 채널 상의 세포에 인가하며, 상기 세포 변형시 상기 전달물질이 상기 세포 내로 전달되는 것을 특징으로 한다.

[0015] 상기 세포가속수단은 상기 제 1 채널을 지나 제 2 채널을 지나는 유체에 와류를 발생시키는 수준의 운동 에너지를 상기 제 1 채널의 유체에 인가하며, 상기 제 2 채널의 격벽과 충돌한 세포는 상기 제 2 채널에 형성된 와류를 통과한 후 와류 붕괴(vortex breakdown)에 따라 또 다른 세포 변형이 일어나며, 상기 또 다른 세포 변형에 따라 상기 세포막에 형성된 나노구멍을 통하여 상기 전달물질이 세포 내로 또 다시 전달될 수 있다.

[0016] 아울러, 상기 제 2 채널에는 상기 제 1 채널에서의 유체 흐름 방향과 동일 방향으로 돌출형성되는 돌출홈이 형성될 수 있다.

[0017] 나아가, 상기 세포 및 전달물질은 액적 형태로 상기 제 1 채널을 흐르는 것을 특징으로 하며, 상기 액적은 상기 전달물질 내에 상기 세포가 포함된 형태일 수 있다.

[0018] 한편, 상기 제 1 채널 내의 유체는 레이놀즈 계수 10~1000일 수 있다.

[0020] 본 발명은 세포 내 물질 전달 플랫폼을 이용한 세포 내 물질 전달 방법으로, 상기 세포가속수단을 이용하여 세포 및 전달물질을 제 1 채널에서 유동시키는 단계; 상기 유동된 세포 및 전달물질을 상기 제 2 채널 내에서의 격벽에 충돌시키는 단계; 및 상기 출돌 이후 발생하는 세포 변형에 따라 세포막에 형성된 나노구멍을 통하여 상기 전달물질이 전달되는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0021] 상기 세포가속수단은 상기 제 2 채널에서 와류(vortex)를 형성시키는 수준의 운동에너지를 상기 세포에 인가하며, 상기 제 2 채널에 형성된 와류를 통과한 세포는 와류 붕괴(vortex breakdown)에 따라 또 다른 세포 변형이 일어나며, 상기 또 다른 세포 변형에 따라 형성된 세포막의 나노구멍을 통하여 상기 전달물질이 상기 세포 내로 전달되는 것을 특징으로 한다. 한편, 상기 세포 및 전달물질은 액적 형태일 수 있다.

발명의 효과

[0023] 본 발명에 따르면, T자형의 미세채널에서의 유체 거동에 따라 관성력만을 이용하여 세포들을 연속적으로 미세관벽과 충돌시킴으로 세포막/핵막에 균일한 나노 구멍(nanopore)들을 만들며, 이로써 나노 구멍들을 통해 다양한 물질(예:유전자 가위 물질, 플라스미드, 나노 입자 등)을 바이러스와 같은 벡터 또는 능동 세포 전달 수단(예를 들어 전기장 등)을 사용하지 않음에도 불구하고 대량으로(분당 수백만 개 이상) 세포 속으로 전달할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 최첨단 세포 내 전달 기술을 나열한 비교표이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 내 물질 전달 플랫폼을 설명하는 도면이다.

도 3 내지 5는 본 발명의 일 실시예에 따란 상기 세포 내 물질 전달 플랫폼을 이용한 세포 내 물질 전달 방법을 설명하는 도면이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 전달 플랫폼을 이용한 세포 전달 방법을 설명하는 도면이다.

도 7은 실제 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 T자형 세포 내 물질 전달 플랫폼의 사진이다.

도 8은 본 발명의 일 실시에에 따른 다양한 Dextran-FITC 크기의 전달 결과, 유속에 따른 전달율 비교, 생존율, 다양한 세포에 따른 전달율과 생존율 분석 결과이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 플랫폼에서의 EGFP-mRNA (996 nt) 와 plasmid DNA (7.8 kbp) 전달 결과 분석이고, 도 10은 Primary 세포의 전달 효율 비교이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세 액적을 이용한 세포내 물질 전달 방법을 설명하는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0026] 이하, 본 발명에 따른 관성을 기반으로 한 세포 내 전달 미세 유체 플랫폼의 바람직한 실시예를 첨부한 도면들에 의거하여 상세히 설명한다. 참고로, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어와 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석해야만 한다. 또한, 본 명세서에 기재된 실시예와 도면에 도시된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 일 실시예에 불과할 뿐이고, 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로 본 출원시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.

[0027] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 내 물질 전달 플랫폼을 설명하는 도면이다.

[0028] 본 발명에 따른 세포 내 물질 전달 플랫폼은, 세포 및 전달물질을 포함하는 유체가 이동하는 경로를 형성하는 제 1 채널(100); 상기 제 1 채널(100)의 단부에 상기 제 1 채널(100)의 양 측면으로 수직 연장된 제 2 채널(200); 및 상기 제 1 채널(100)에 구비되어 상기 제 1 채널(100)에서의 유체 속도를 제어하는 세포가속수단(300)을 포함한다.

[0029] 본 발명은 상기 세포가속수단(300)을 통하여 상기 제 1 채널(100)을 지나는 유체의 유속 및 관성을 제어하여 격벽 충돌 및 와류 형성을 유도하여 고효율의 세포 전달을 유도한다.

[0030] 본 발명에 따른 세포 내 물질 전달 플랫폼은 핵산, 단백질, 전사인자, 벡터, 프라스미드, 유전자 가위 물질, 나노입자 등을 전달할 수 있다. 다만, 이에 한정하는 것은 아니다.

[0031] 나아가, 상기 세포 내 물질 전달 플랫폼은 재생의학, 암면역치료, 유전자 편집이나 다른 분야로의 적용에 제한을 받지 않는다.

[0033] 도 3 내지 5는 본 발명의 일 실시예에 따란 상기 세포 내 물질 전달 플랫폼을 이용한 세포 내 물질 전달 방법을 설명하는 도면이다.

[0034] 도 3을 참조하면, 상기 제 1 채널(100)에 상기 세포 및 전달물질을 포함하는 유체가 세포가속수단(300)에 의하여 유동된다. 본 발명의 일 실시예에서 상기 전달물질은 세포 내로 전달될 수 있는 모든 물질을 포함하며, 유전자 가위 물질, 플라스미드, 핵산, 단백질, 나노입자 등이 모두 이에 해당된다.

[0035] 도 4를 참조하면, 상기 세포가속수단(300)에 의하여 가속된 제 1 채널(100)의 세포는 상기 제 1 채널(100)의 단부에 연결된 제 2 채널(200)의 격벽과 충돌하게 된다. 이때 상기 세포에는 나노구멍이 형성되는데. 이때 상기 나노구멍을 통하여 상기 전달물질이 상기 세포 내로 전달된다. 따라서, 세포가속수단(300)은 상기 제 1 채널(100)의 세포에 상기 제 2 채널(200)의 격벽과 충돌후 나노구멍이 형성될 수준의 운동에너지를 인가하는 것이 바람직하다.

[0036] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 따르면, 유체에 형성되는 와류를 지난 후 형성되는 와류붕괴(vortex breakdown)에 따른 와류붕괴에 따라 또 다른 세포 변형을 유도하게 된다.

[0037] 도 5를 참조하면, 상기 제 1 채널(100)을 지나 제 2 채널(200)을 지나는 유체에는 와류가 형성되며, 세포가 정체점을 떠나면서 발생하는 와류붕괴에 따라 다시 한번 세포 변형이 일어난다. 이때 발생하는 또 다른 세포 변형에 따라 상기 세포막에 형성된 나노구멍을 통하여 상기 전달물질이 세포 내로 또 다시 전달되며, 이에 따라 세포 내 물질 전달 효율이 크게 향상된다.

[0038] 본 발명의 일 실시예에서는 상기 제 2 채널(200)에는 상기 제 1 채널(100)에서의 유체 흐름 방향과 동일 방향으로 돌출형성되는 돌출홈(400)이 형성되는데, 상기 돌출홈으(400)은 고효율의 물질전달과 관막힘 현상을 피하기 위한 것이다. 즉, 상기 돌출홈(400)에 따라 이 경우 와류에 의한 정체점을 앞으로 이동시킴으로 더 강력한 와류를 형성하여. 세포가 정체점 근방에서 오래 머무는 (trapping) 효과를 유도할 수 있으며, 이후 제 2 채널(200)로 빠져 나감에 따라 와류 붕괴 현상을 통해 추가적으로 세포를 변형시켜 더 높은 효율을 갖게 된다.

[0039] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 전달 플랫폼을 이용한 세포 전달 방법을 설명하는 도면이다 .

[0040] 도 6을 참조하면, 세포 주입- 세포 정렬- 충돌- 세포 변형- 물질 전달을 관성과 관성 유동현상만을 이용하여 유도하며, 이로써 별도의 능동 세포 전달 수단을 사용하지 않고서도, 나노구멍들을 통해 다양한 물질(예:유전자 가위 물질, 플라스미드 등)을 바이러스와 같은 벡터의 사용하지 않음에도 불구하고 대량으로(분당 수백만 개 이상) 세포 속으로 전달한다.

[0041] 도 7은 실제 본 발명의 일 실시예에 따라 제조된 T자형 세포 내 물질 전달 플랫폼의 사진이다.

[0042] 본 발명의 일 실시예에서 상기 플랫폼 기기는 보통 포토리소그래피(photolithography) 공정을 통해서 SU-8 몰드 또는 실리콘 웨이퍼를 식각(etching)하여 본 발명에 따른 채널이 형성된 몰드를 먼저 만들었다. 이후 그리고 폴리디메틸실록산(PDMS)을 통해서 PDMS 기반 칩을 만들었으며, 이 때 만들어진 칩에 입구(inlet)와 출구(outlet)를 만들고, 일반 슬라이드 글래스와 플라즈마 처리를 이용하여(Cute, Femto Science, South Korea) 결합하여 플랫폼 기기를 제조하였다. 이후 만들어진 칩에 부유 상태의 세포들과 전달하고자 하는 물질을 혼합 후, 시린지 펌프를 사용하여 주입하게 된다. 이때 시린지 펌프의 유량 조절을 통해서 세포내 물질 전달을 컨트롤 할 수 있고, 전달 후, 원심분리기를 이용하여 세포만을 분리 후 다시 배양하거나 분석하거나 목적에 맞게 이용하게 하였다.

[0043] 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 다양한 Dextran-FITC 크기의 전달 결과, 유속에 따른 전달율 비교, 생존율, 다양한 세포에 따른 전달율과 생존율 분석 결과이다.

[0044] 도 8을 참조하면, 충돌-와류에 의한 정체-와류 통과에 따른 와류 붕과에 따라 세포 내로 물질이 효과적으로 전달되는 것을 알 수 있다.

[0045] 도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 플랫폼에서의 EGFP-mRNA (996 nt) 와 plasmid DNA (7.8 kbp) 전달 결과 분석이고 도 10은 Primary 세포의 전달 효율 비교이다.

[0046] 도 9 및 10을 참조하면, 본 발명에 따른 플랙폼을 이용하는 경우, 세포 내 물질 전달 효율아 매우 높은 것을 알 수 있다. (V-hydroporator)

[0047] 본 발명은 더 나아가, 액상과 유상을 이용한 미세액적을 통하여 세포 내로 물질을 전달하는 방법을 제공한다. 이 경우, 전달물질과 세포는 하나의 액적으로 포획되므로, 최소한의 양으로 효과적인 세포 내 물질 전달을 유도할 수 있다.

[0048] 본 발명의 일 실시예에서, 상기 액적은 유상과 액상의 비혼성(immiscible) 특성을 이용하며, 전달 물질과 세포를 액적 속에 포획한다(encapsulation). 이후 액적을 포함하는 유체를 채널에 유동시켜 세폰 변형 및 물질 전달을 상술한 방식으로 유도하는데, 이 경우, 매우 적은 액적 부피(~100 pL)로 인하여 극소량의 전달 물질을 이용하지만 세포를 고농도의 환경에 두어 높은 전달 효율을 기대할 수 있다. 즉 적정량의 유상 부피를 확보함으로 관성력의 이용을 가능케하면서 적은 양의 전달 물질 만을 사용하여 고효율 세포내 물질 전달을 가능하게 한다.

[0049] 도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 미세 액적을 이용한 세포내 물질 전달 방법을 설명하는 도면이다.

[0050] 도 11을 참조하면, 세포와 전달물질이 액적에 포획되어 채널을 유동하며, 상술한 방식과 동일하게 세포 변형이 일어나는 것을 알 수 있다 .

[0051] 이상에서 설명한 본 발명은 전술한 실시예 및 첨부된 도면들에 의해 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 여러 가지 치환, 변형, 및 변경이 가능함은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 명백할 것이다.

도면

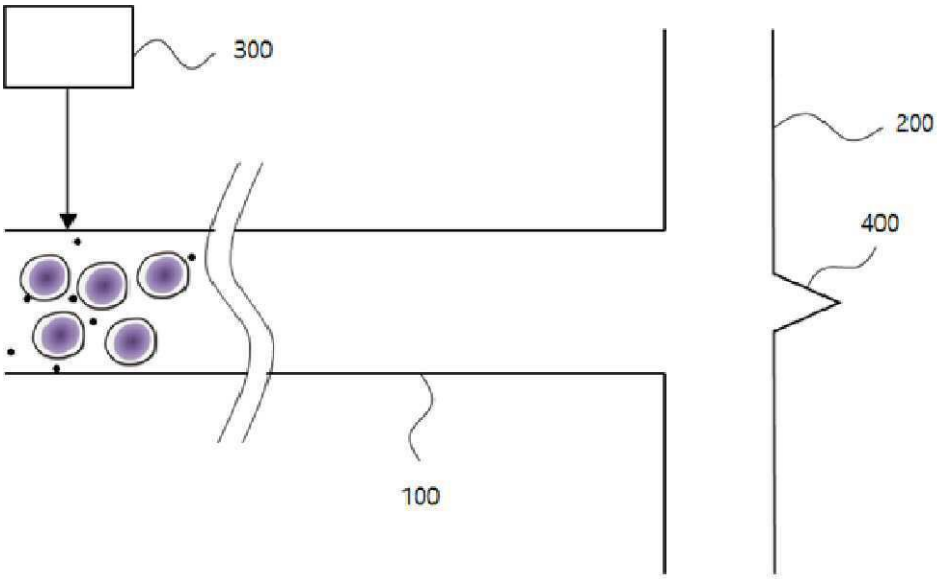
도면1

Table 1. Comparison of the state-of-the-art intracellular delivery technologies

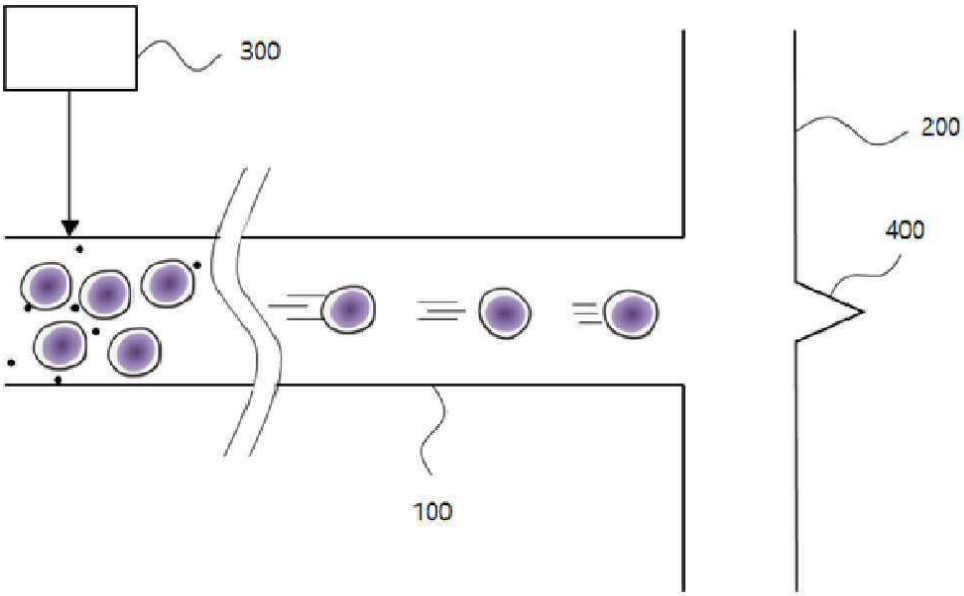
Technologies	Efficiency	Through-put	Invasiveness	Cargo property independency	Vector-less & multi-target single-step delivery	Cost
Electroporation	High to medium	Low	Invasive	Dependent	Yes	High (instrument)
Microinjection	High to medium	Low	Invasive	(partially) Dependent	Yes	High (instrument)
Viral vector	Medium (inconsistent)	Low	Non-invasive (Safety issue)	Dependent	No	High (preparation)
Lipid carrier (i.e. Lipofectamine)	Medium (inconsistent)	Low	Non-invasive	Dependent	No	High (reagents)
Nanoneedle	High	Low	Non-invasive	Independent	Yes	High (fabrication)
Cell squeezing	High (inconsistent)	High	Non-invasive	Independent	Yes	High (fabrication)
μ-HYDROPORATOR	**HIGH**	**HIGH**	**NON-INVASIVE**	**INDEPENDENT**	**YES**	**LOW**

Table 1 is prepared based on the information Stewart *et al.* Nature 2016

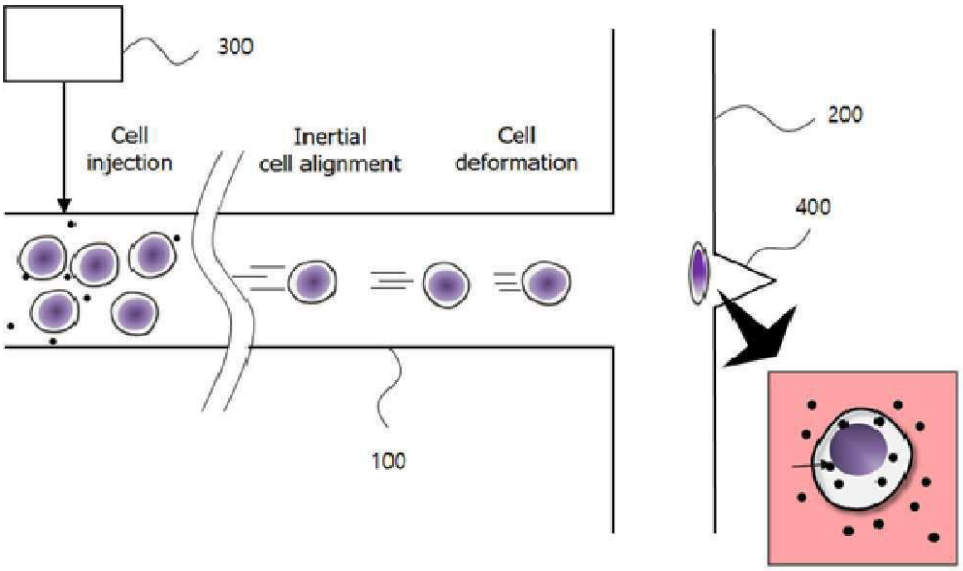
도면2



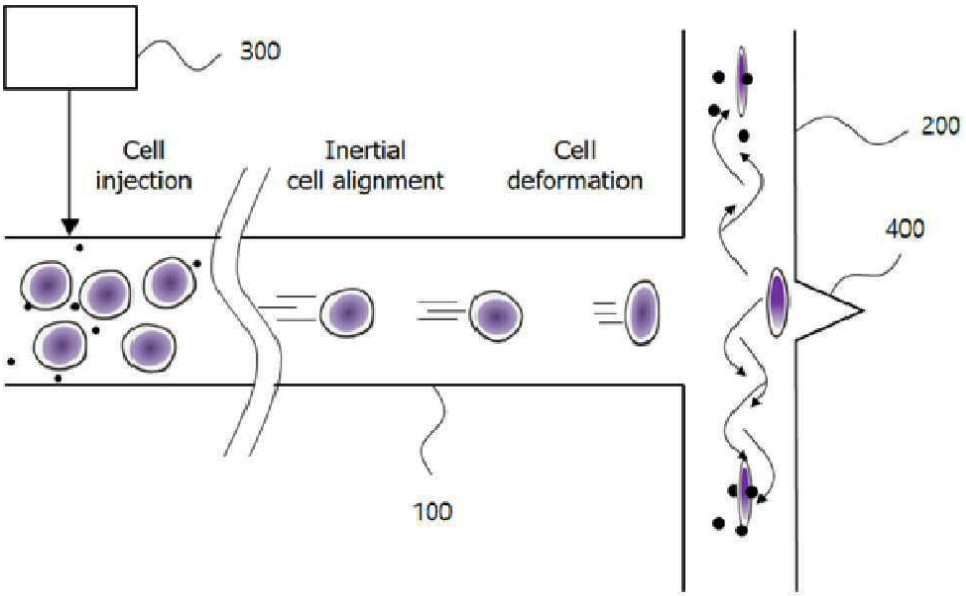
도면3


300
200
400
100

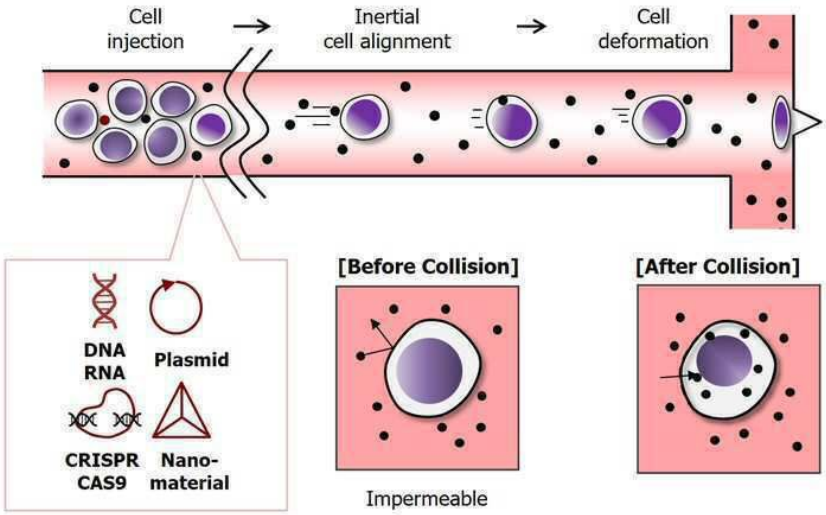
도면4


300
Cell injection
Inertial cell alignment
Cell deformation
200
400
100

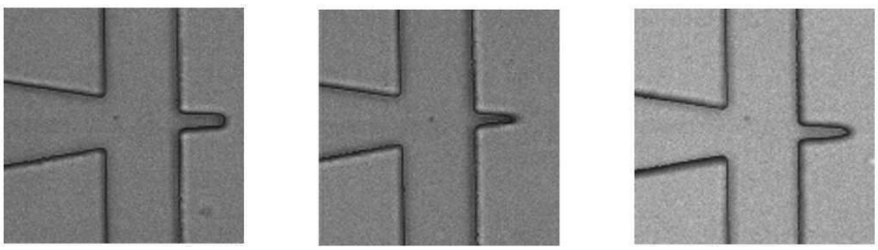
도면5


300
Cell injection
Inertial cell alignment
Cell deformation
200
400
100

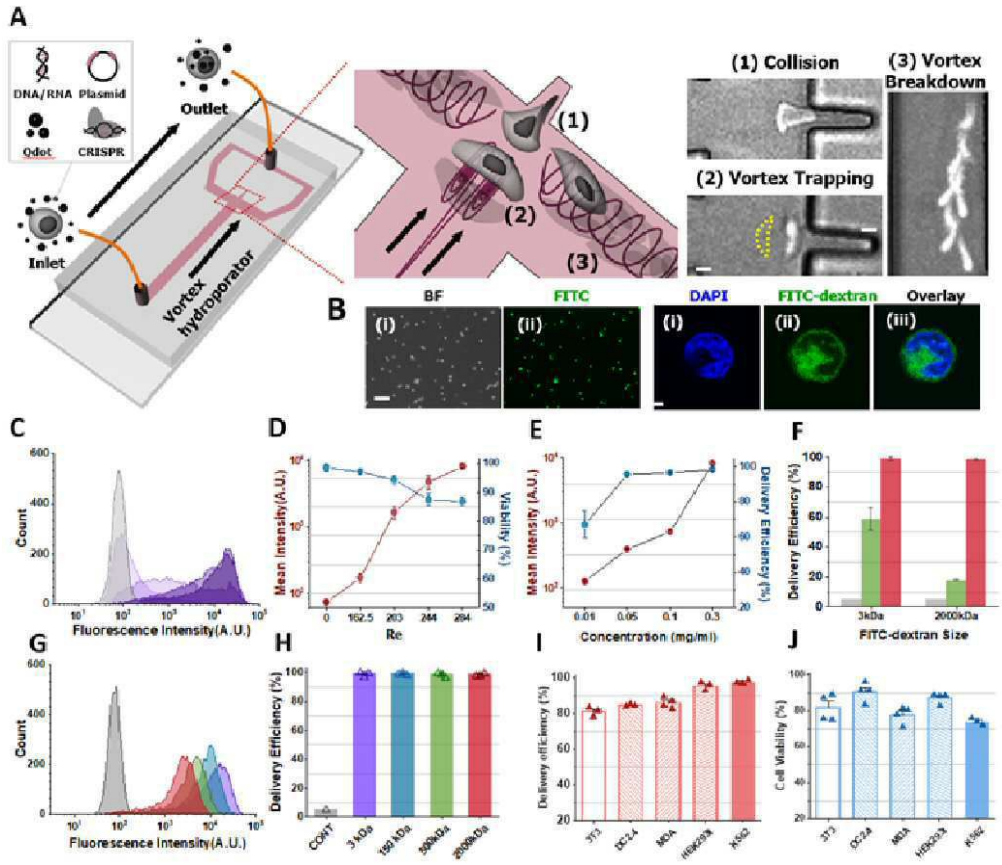
도면6


Cell injection
Inertial cell alignment
Cell deformation
DNA RNA
Plasmid
CRISPR CAS9
Nano-material
[Before Collision]
[After Collision]
Impermeable

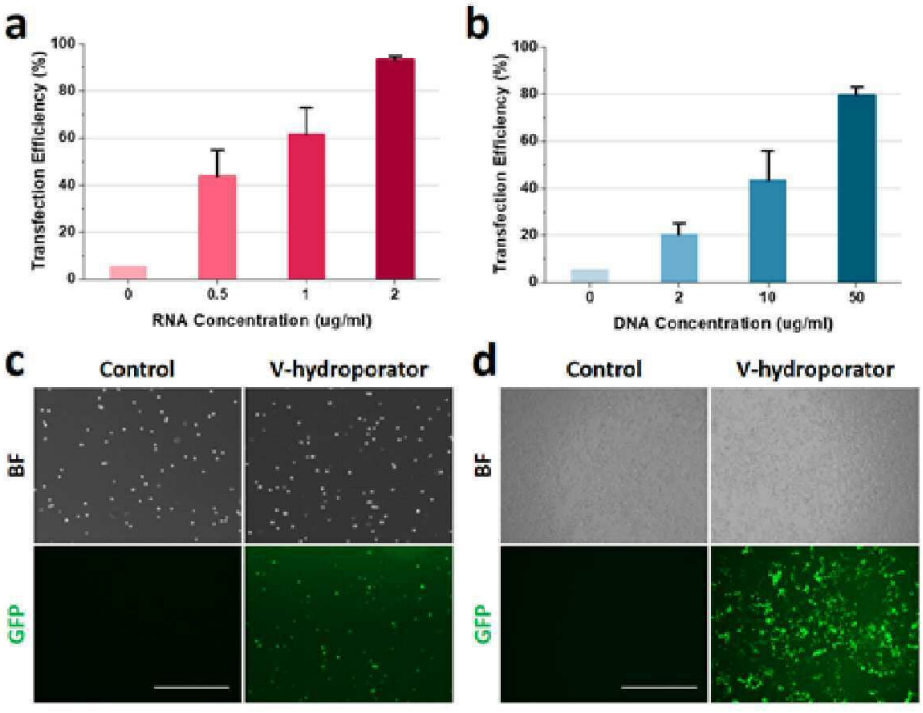
도면7



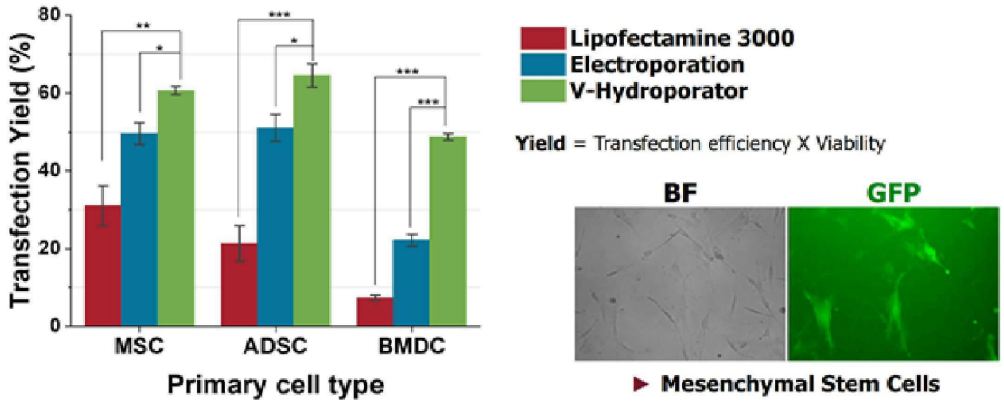
도면8


A
DNA/RNA
Plasmid
Qdot
CRISPR
Outlet
Inlet
Vortex hydroporator
(1)
(2)
(3)
(1) Collision
(2) Vortex Trapping
(3) Vortex Breakdown
B
BF
FITC
DAPI
FITC-dextran
Overlay
C
Count
Fluorescence Intensity(A.U.)
D
Mean Intensity(A.U.)
Viability (%)
Re
E
Mean Intensity (A.U.)
Delivery Efficiency (%)
Concentration (mg/ml)
F
Delivery Efficiency (%)
3kDa
2000kDa
FITC-dextran Size
G
Count
Fluorescence Intensity(A.U.)
H
Delivery Efficiency (%)
CONT
I
Delivery efficiency (%)
J
Cell Viability (%)

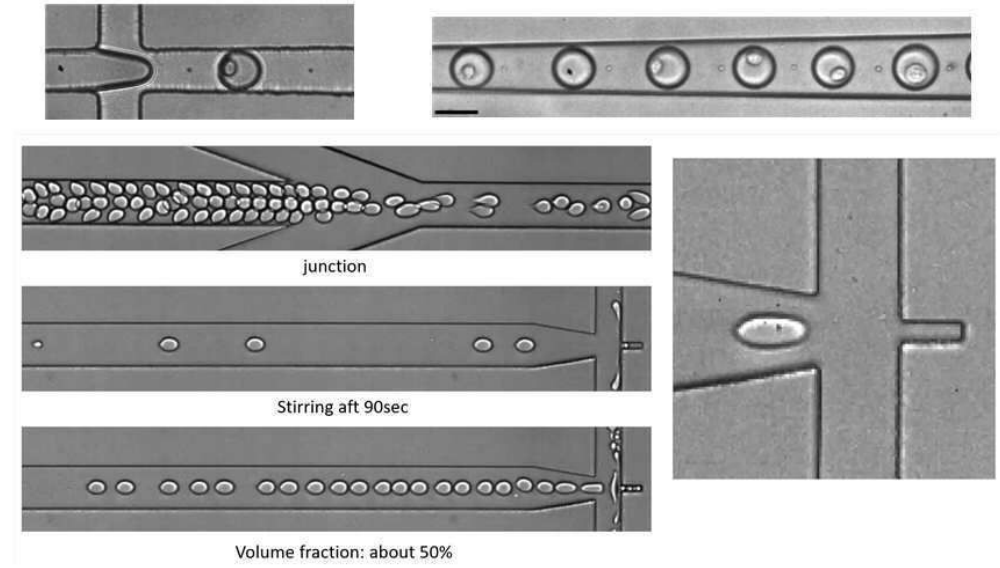
도면9


a
Transfection Efficiency (%)
RNA Concentration (ug/ml)
b
Transfection Efficiency (%)
DNA Concentration (ug/ml)
c
Control
V-hydroporator
BF
GFP
d
Control
V-hydroporator
BF
GFP

도면10


Transfection Yield (%)
80
60
40
20
0
MSC
ADSC
BMDC
Primary cell type
Lipofectamine 3000
Electroporation
V-Hydroporator
Yield = Transfection efficiency X Viability
BF
GFP
Mesenchymal Stem Cells

도면11


junction
Stirring aft 90sec
Volume fraction: about 50%