(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0056134
(43) 공개일자 2025년04월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C12N 5/0793* (2010.01) *C12M 1/32* (2006.01)
*G01N 33/50* (2017.01)
(52) CPC특허분류
*C12N 5/0619* (2013.01)
*C12M 23/12* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0143121
(22) 출원일자 2024년10월18일
심사청구일자 2024년10월18일
(30) 우선권주장
1020230139845 2023년10월18일 대한민국(KR)

(71) 출원인
**고려대학교 산학협력단**
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
**아주대학교산학협력단**
경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동)
(72) 발명자
**선웅**
서울특별시 노원구 덕릉로73길 28, 205동 1501호 (중계동, 양지대림2차아파트)
**신애리**
경기도 부천시 석천로78번길 51, 3층 (중동)
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**특허법인 무한**

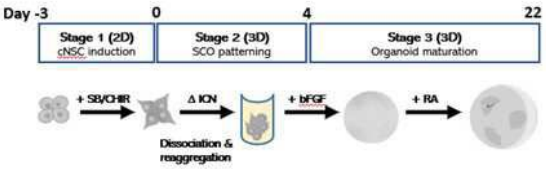
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **3차원 신경 세포집합체의 제조방법 및 이에 의해 제조된 세포집합체**

## (57) 요 약

본 발명은 줄기세포를 신경상피세포로 분화시키고, 이를 개별세포로 분리한 이후 특정 세포수로 초기세포수를 제한하여 3차원 재응집 배양하는 것을 특징으로 하는 3차원 신경 세포집합체의 제조방법 및 이에 의해 제조된 3차원 신경 세포집합체 등에 관한 것이다. 본 발명의 제조방법에 따르면 배양시에도 중심부괴사가 억제되고 신경세포 특징을 발현하여 임상과 연구 등 다방면에서 유용하게 활용될 수 있으며, 이식에 적합하고 주사가능한 마이크로 크기의 신경세포집합체를 얻을 수 있다.

*대 표 도* - 도1



(52) CPC특허분류
***G01N 33/5058*** (2013.01)
*C12N 2501/727* (2013.01)
*C12N 2506/45* (2013.01)
*C12N 2513/00* (2013.01)
(72) 발명자
**김병곤**
경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동, 아주대학교)
**박희환**
경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동, 아주대학교)
**서효경**
경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동, 아주대학교)
**제니스칸 시마이**
경기도 수원시 영통구 월드컵로 206 (원천동, 아주대학교)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

| | |
|---|---|
| 과제고유번호 | 1711199145 |
| 과제번호 | 2021M3E5D9021368 |
| 부처명 | 과학기술정보통신부 |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국연구재단 |
| 연구사업명 | 뇌질환극복연구사업 |
| 연구과제명 | 오가노이드 기술을 이용한 중추신경 손상모델링 및 치료후보 발굴기술 개발 |
| 과제수행기관명 | 고려대학교 산학협력단 |
| 연구기간 | 2023.01.01 ~ 2023.12.31 |

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

1) 줄기세포에 신경분화 촉진 약물을 처리하여 신경상피세포로 분화시키는 단계;

2) 분화된 신경상피세포를 6 내지 75개의 단위로 마이크로 웰 플레이트상에 배치하는 단계; 및

3) 신경상피세포를 3차원으로 재응집 배양하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는, 3차원 신경 세포집합체의 제조방법.

### 청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 줄기세포는 인간 배아 줄기 세포(human embryonic stem cell; hESC), 유도 만능 줄기 세포(induced pluripotent stem cell), 및 성체 줄기 세포 중 어느 하나인 것인, 3차원 신경 세포집합체의 제조방법.

### 청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 1) 단계의 신경분화 촉진 약물은 SB431542, CHIR99021, Dorsomorphin, A-83-01, RepSox, BIO (6-bromoindirubin-3'-oxime) 및 LiCl (Lithium Chloride)로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상인, 3차원 신경 세포집합체의 제조방법.

### 청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 마이크로 웰 플레이트는 오목부를 갖는 멀티 웰 플레이트인 것인, 3차원 신경 세포집합체의 제조방법.

### 청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 제조방법은 2) 단계 이후 동일한 마이크로 웰 플레이트에서 장기간 연속적으로 배양이 가능한, 3차원 신경 세포집합체의 제조방법.

### 청구항 6

제 1항 내지 제 5항의 제조방법에 의해 제조된, 3차원 신경 세포집합체.

### 청구항 7

제 6항에 있어서, 상기 3차원 신경 세포집합체의 개별 신경세포의 직경은 150 내지 300 um인, 세포집합체.

### 청구항 8

제 6항에 있어서, 상기 3차원 신경 세포집합체는 중심부 괴사(necrotic core)가 억제되는 것인, 세포집합체.

**청구항 9**

제 6항에 있어서, 상기 3차원 신경 세포집합체는 c-Casp3를 발현하지 않는 것인, 세포집합체.

**청구항 10**

1) 줄기세포에 신경분화 촉진 약물을 처리하여 신경상피세포로 분화시키는 단계;

2) 분화된 신경상피세포를 6 내지 75개의 단위로 마이크로 웰 플레이트상에 배치하는 단계; 및

3) 신경상피세포를 3차원으로 재응집 배양하는 단계;

를 포함하는 제조방법에 의해 제조된 세포집합체를 준비하고,

상기 세포집합체에 후보물질을 접촉시키는 단계;를 더 포함하는, 신경질환 약물의 스크리닝 방법.

**청구항 11**

제 10항에 있어서, 상기 신경질환은 파킨슨병, 알츠하이머, 뇌졸중, 중풍, 헌팅턴병, 피크병, 크로이츠펠트-야콥병, 자폐증 및 뇌 발달장애 증후군 중 어느 하나 이상인, 스크리닝 방법.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 중심부 괴사가 억제되고, 주사가능한 마이크로 크기로 제조된 3차원 신경 세포집합체의 제조방법 및 이에 의해 제조된 세포집합체 등에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0003] 오가노이드란 줄기 세포의 분화능 (differentiation), 자기 재생능 (self-renewal), 자가 조직화능 (self-organization)을 활용하여 3차원 배양을 통해 체내 장기와 유사한 세포조성 및 구조를 재현해 내는 새로운 줄기세포 분화기법으로, 체내 장기와 유사한 환경을 모사함으로써 다양한 질환의 질환 모사 연구 및 치료 약물 스크리닝 연구에 활용 가능한 기술이다. 나아가 환자 맞춤형 오가노이드 생산을 통해, 다양한 질환에 대한 환자 맞춤형 치료제를 저비용, 단기간에 생산할 수 있는 미래 기술로 평가받고 있다.

[0004] 그러나, 3차원으로 배양된 신경세포 오가노이드에서는 중심부 괴사(core necrosis)가 자주 발생하는 문제가 보고되고 있다. 이는 주로 오가노이드의 크기가 커짐에 따라 산소, 영양소, 성장인자 등의 공급이 원활하지 않기 때문이다. 오가노이드 중심부는 이러한 필수적인 요소들의 결핍으로 인해 세포 괴사가 유발되며, 이는 실험 결과의 신뢰성을 저해하고, 오가노이드가 정상적인 생리적 환경을 모사하지 못하게 만든다.

[0005] 따라서, 오가노이드 연구에서 중심부 괴사를 억제하거나 예방하는 기술 개발은 매우 중요한 과제이다. 이를 위해 다양한 시도가 이루어지고 있는데, 오가노이드 크기를 제한하여 괴사를 방지하거나, 마이크로플루이딕스(microfluidics) 기술을 사용하여 산소와 영양소를 효과적으로 공급하는 방법이 연구되고 있다. 또한, 기질 지지체(scaffold) 또는 하이드로젤(hydrogel)을 이용한 세포 배양 기술이 발전하면서, 세포 간 상호작용을 유지하면서도 물리적 환경을 개선하여 괴사를 최소화하는 방안도 제시되고 있다.

## *발명의 내용*

## 해결하려는 과제

[0007] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 줄기세포를 신경상피세포로 분화시키고, 이를 개별세포로 분리한 이후 특정 세포수로 초기세포수를 제한하여 3차원 재응집 배양하는 것을 특징으로 하는 3차원 신경 세포집합체의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0008] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

## 과제의 해결 수단

[0010] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명자들은 1) 줄기세포에 신경분화 촉진 약물을 처리하여 신경상피세포로 분화시키는 단계;

[0011] 2) 분화된 신경상피세포를 6 내지 75개의 단위로 마이크로 웰 플레이트상에 배치하는 단계; 및

[0012] 3) 신경상피세포를 3차원으로 재응집 배양하는 단계;

[0013] 를 포함하는 것을 특징으로 하는, 3차원 신경 세포집합체의 제조방법을 제공한다.

[0014] 상기 2) 단계에서 분화된 신경상피세포는 accutase를 처리하여 단일세포로 분리한 뒤 6 내지 75개의 단위로 배치되는 것일 수 있다.

[0015] 일 측에 따르면, 상기 줄기세포는 인간 배아 줄기 세포(human embryonic stem cell; hESC), 유도 만능 줄기 세포(induced pluripotent stem cell), 및 성체 줄기 세포 중 어느 하나일 수 있다.

[0016] 일 측에 따르면, 상기 1) 단계의 신경분화 촉진 약물은 SB431542, CHIR99021, Dorsomorphin, A-83-01, RepSox, BIO (6-bromoindirubin-3'-oxime) 및 LiCl (Lithium Chloride)로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0017] 일 측에 따르면, 상기 마이크로 웰 플레이트는 오목부를 갖는 멀티 웰 플레이트일 수 있다.

[0018] 일 측에 따르면, 상기 제조방법은 2) 단계 이후 동일한 마이크로 웰 플레이트에서 장기간 연속적으로 배양이 가능한 것일 수 있다.

[0019] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 제조방법에 의해 제조된, 3차원 신경 세포집합체가 제공된다.

[0020] 일 측에 따르면, 상기 3차원 신경 세포집합체의 개별 신경세포의 직경은 150 내지 300 um일 수 있고, 이는 주사로 투여 또는 이식에 적합한 크기에 해당한다.

[0021] 일 측에 따르면, 상기 3차원 신경 세포집합체는 중심부 괴사(necrotic core)가 억제되는 것일 수 있다.

[0022] 일 측에 따르면, 상기 3차원 신경 세포집합체는 c-Casp3를 발현하지 않는 것일 수 있다.

[0023] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,

[0024] 1) 줄기세포에 신경분화 촉진 약물을 처리하여 신경상피세포로 분화시키는 단계;

[0025] 2) 분화된 신경상피세포를 6 내지 75개의 단위로 마이크로 웰 플레이트상에 배치하는 단계; 및

[0026] 3) 신경상피세포를 3차원으로 재응집 배양하는 단계;

[0027] 를 포함하는 제조방법에 의해 제조된 세포집합체를 준비하고,

[0028] 상기 세포집합체에 후보물질을 접촉시키는 단계;를 더 포함하는, 신경질환 약물의 스크리닝 방법이 제공된다.

[0029] 일 측에 따르면, 상기 신경질환은 파킨슨병, 알츠하이머, 뇌졸중, 중풍, 헌팅턴병, 피크병, 크로이츠펠트-야콥병, 자폐증 및 뇌 발달장애 증후군 중 어느 하나 이상일 수 있다.

## 발명의 효과

[0031] 본 발명의 제조방법에 따르면, 줄기세포를 신경상피세포로 분화시킨 이후 이를 개별세포로 분리하여 특정 범위의 초기세포수로 배양하여 3차원 세포집합체를 형성하는 경우, 장기간 배양시에도 중심부괴사가 억제되고 신경세포 특징을 발현할 수 있다. 또한 위와 같이 제조함으로써 주사가능하고 이식에 적합한 마이크로 크기의 신경세포집합체를 얻을 수 있다.

[0032] 본 발명의 효과는 이상에서 언급된 것들에 한정되지 않으며, 언급되지 아니한 다른 효과들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

## 도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 마이크로 오가노이드 제작 방법을 나타낸다.

도 2는 신경 오가노이드의 크기를 측정한 것이다.

도 3은 본원발명의 초기세포수 75개의 오가노이드와 초기세포수 5000개의 오가노이드의 분화마커를 비교한 것이다.

도 4의 A는 누드랫 척수에 이식한 오가노이드를, B는 이식된 오가노이드가 성숙 신경세포로 분화하는 것을 나타낸다.

도 5는 마이크로 오가노이드 이식 후 호스트 혈관의 연결성을 확인한 것이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 본 발명자들은 줄기세포로부터 유도된 신경상피 세포를 단일세포로 분리한 이후 마이크로 웰 플레이트 상에서 특정한 초기 세포수 범위를 제한하여 3차원 재응집 배양하는 경우 장기간 배양시에도 중심부괴사가 억제되고 신경세포 특징을 발현하는 것을 확인하였으며, 주사가능하며 이식에 적합한 비교적 작은 크기의 신경세포집합체가 형성됨을 확인하여 본 제조방법 발명을 완성하였다.

[0036] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명자들은 1) 줄기세포에 신경분화 촉진 약물을 처리하여 신경상피세포로 분화시키는 단계;

[0037] 2) 분화된 신경상피세포를 6 내지 75개의 단위로 마이크로 웰 플레이트상에 배치하는 단계; 및

[0038] 3) 신경상피세포를 3차원으로 재응집 배양하는 단계;

[0039] 를 포함하는 것을 특징으로 하는, 3차원 신경 세포집합체의 제조방법을 제공한다.

[0040] 상기 2) 단계에서 분화된 신경상피세포는 accutase를 처리하여 단일세포로 분리한 뒤 6 내지 75개의 단위로 배치되는 것일 수 있다. 이와 같이 배양함으로써 오가노이드 배양의 초기 세포 수를 정확하게 제어할 수 있으며, 3차원으로 재응집 배양할 수 있다.

[0041] 본 명세서상의 용어 "줄기 세포"는 자기 복제 능력을 가지면서 두 개 이상의 세포로 분화하는 능력을 갖는 세포를 말하며, 만능 줄기 세포 (totipotent stem cell), 전분화능 줄기 세포 (pluripotent stem cell), 다분화능 줄기 세포 (multipotent stem cell) 및 역분화 줄기 세포로 분류할 수 있다. 바람직하게는, 유도만능줄기세포일 수 있다.

[0042] 본 발명에 있어서 3차원 세포집합체는 오가노이드인 것일 수 있고, 예를 들어 신경세포 오가노이드일 수 있다.

[0043] 본 명세서상의 용어 “오가노이드”는 줄기 세포나 장기 기원 세포로부터 분리한 세포를 3D 배양법으로 다시 응집 또는 재조합하여 만들어진 세포집합체를 의미하는 것으로, 서스펜션 세포 배양물로부터 형성된 오가노이드 또는 세포 클러스터를 포함할 수 있다. 상기 오가노이드는 소형 유사 장기, 장기 유사체, 유사 장기로도 명명될 수 있다. 상기 오가노이드는 구체적으로 기관 또는 조직을 구성하는 여러 종류의 세포들 중 하나 이상의 세포 종류를 포함하며, 조직 또는 기관의 구조와 기능을 재현할 수 있다.

[0044] 일 측에 따르면, 상기 1) 단계의 신경분화 촉진 약물은 SB431542, CHIR99021, Dorsomorphin, A-83-01, RepSox, BIO (6-bromoindirubin-3'-oxime) 및 LiCl (Lithium Chloride)로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0045] 일 측에 따르면, 상기 마이크로 웰 플레이트는 오목부를 갖는 멀티 웰 플레이트일 수 있다.

[0046] 일 측에 따르면, 상기 제조방법은 2) 단계 이후 동일한 마이크로 웰 플레이트에서 장기간 연속적으로 배양이 가능한 것일 수 있다.

[0047] 본 발명에 있어서 3차원 세포집합체 형성 후, 추가적으로 진탕배양 또는 비진탕배양을 수행하는 것일 수 있다. 상기 추가적인 배양을 통하여 장기간 배양이 가능해질 수 있다.

[0048] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면, 상기 제조방법에 의해 제조된, 3차원 신경 세포집합체가 제공된다.

[0049] 일 측에 따르면, 상기 3차원 신경 세포집합체의 개별 신경세포의 직경은 150 내지 300 um일 수 있다.

[0050] 일 측에 따르면, 상기 3차원 신경 세포집합체는 중심부 괴사(necrotic core)가 억제되는 것일 수 있다. 이는 하기 실시예에서 확인되듯이, 이와 관련된 마커인 c-Casp3를 발현하지 않는 것에서 확인될 수 있다.

[0051] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,

[0052] 1) 줄기세포에 신경분화 촉진 약물을 처리하여 신경상피세포로 분화시키는 단계;

[0053] 2) 분화된 신경상피세포를 6 내지 75개의 단위로 마이크로 웰 플레이트상에 배치하는 단계; 및

[0054] 3) 신경상피세포를 3차원으로 재응집 배양하는 단계;

[0055] 를 포함하는 제조방법에 의해 제조된 세포집합체를 준비하고,

[0056] 상기 세포집합체에 후보물질을 접촉시키는 단계;를 더 포함하는, 신경질환 약물의 스크리닝 방법이 제공된다.

[0057] 일 측에 따르면, 상기 신경질환은 파킨슨병, 알츠하이머, 뇌졸중, 중풍, 헌팅턴병, 피크병, 크로이츠펠트-야콥병, 자폐증 및 뇌 발달장애 증후군 중 어느 하나 이상일 수 있다.

[0059] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안 된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0060] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.

[0061] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[0063] 실시예 1. 신경오가노이드의 제작

[0064] 신경오가노이드를 제작하기 위해서, 유도만능줄기세포(Human Pluripotent stem cells, hPSCs)에 10mM SB431542와 3mM CHIR99021 약물을 3일 동안 매일 처리하여 신경상피세포를 유도한다. 유도된 신경상피세포를 Accutase를 처리하여 단일세포로 떼어낸 뒤, 소량(8개~75개)의 신경상피세포를 성장인자가 배합된 배지가 담겨있는 96-well low attachment 배양접시에 투입하여 3차원으로 재응집 시켜 3차원 구조를 형성하였다.

[0065] 2D에서 SB/CHIR 약물을 3일동안 처리하여 신경상피세포를 유도한 뒤, 단일세포로 분리하여 소량의 신경상피세포를 3차원으로 재응집 시켜 배양하는 신경오가노이드 제작 프로토콜을 도 1에 나타내었다. 신경오가노이드의 크기를 측정하여 도 2에 나타내었으며, 5000개의 신경상피세포를 투입하여 만드는 일반적인 신경오가노이드는 13

일에 괴사가 일어나는 크기에 도달하으나, 75개의 신경상피세포가 투입되어 만들어진 마이크로 오가노이드는 한 달동안 배양해도 괴사가 생기지 않는 크기에 도달하지 않은 바, 마이크로 오가노이드는 괴사가 형성되지 않는 오가노이드로 배양할 수 있다.

[0067] 실시예 2. 마커 발현 확인

[0068] 마이크로 오가노이드를 한달동안 배양하여 기존의 오가노이드와 면역염색을 통해 비교하여 그 결과를 도 3에 나타내었다. 75개의 세포를 뿌려서 만든 오가노이드는 오가노이드 내부에 c-Casp3(세포자연사 마커)가 나타나지 않음을 통해 괴사(Necrotic core)는 형성되지 않았으며, SOX2(신경세포마커)와 NF-M(신경섬유마커)를 통해 크기가 큰 오가노이드와 마찬가지로 분화가 잘 되어져 있음을 확인하였다.

[0070] 실시예 3. 이식 실험

[0071] 면역기능이 억제된 누드 랫 (nude rat)의 정상 척수 및 손상을 받은 척수에 마이크로 오가노이드를 이식한 후 HuNu(인간 핵 마커)를 통해 오가노이드의 존재 여부를 확인하여 도 4의 A에 나타내었으며, 이 결과를 통해 오가노이드가 안정적으로 안착되었음을 확인할 수 있었고, SOX2(신경세포마커)의 발현을 통해 이식된 오가노이드가 신경줄기세포 단계에 일부 머물러 있음을 확인하였다.

[0072] 이식된 오가노이드 유래 신경줄기세포의 성숙 신경세포로의 분화를 확인하기 위하여 신경세포 표지자인 MAP-2 항체로 면역조직화학염색을 시행하여 이를 도 4의 B에 나타내었고, MAP-2 양성 오가노이드 세포를 확인할 수 있었다. 특히 손상된 척수에서 MAP-2 양성세포 비율이 증가함을 확인하여, 손상된 척수 내에서 오가노이드가 신경세포로 원활하게 분화될 수 있음을 확인하였다.

[0073] 이식된 마이크로 오가노이드가 성장 및 분화할 수 있기 위해서는 숙주와의 연결성이 매우 중요한데, 오가노이드 내부로 숙주의 혈관이 들어와 있는 것을 Reca1(혈관마커) 면역염색을 통해 확인해 이를 도 5에 나타내었다. 이는 오가노이드 내부까지 산소와 영양공급이 충분하게 이루어져 마이크로 오가노이드가 숙주 내에서 안정적으로 성장할 수 있음을 시사한다.

[0075] 실시예 4. 약물 스크리닝 실험

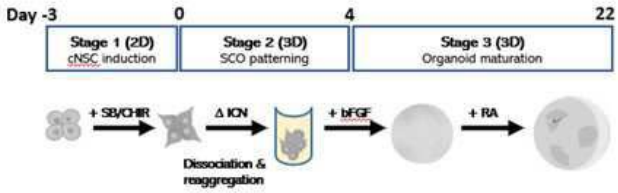
[0076] 마이크로 오가노이드를 이용하여 약물 스크리닝에 적용될 수 있는지 확인해 보기 위해 마이크로 오가노이드를 저산소 및 저혈당(HXHG)조건에 노출시킨 뒤, 총 4개의 약물을 이용하여 Propidium iodide/Acridine Orange 염색을 통해 스크리닝을 진행하여 그 결과를 도 6에 나타내었다. ISRIB와 Rapa (Rapamycin) 두 약물이 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 이를 통해 본원발명의 마이크로 오가노이드를 약물 스크리닝 시스템에도 활용할 수 있다는 것을 확인하였다.

[0078] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 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.

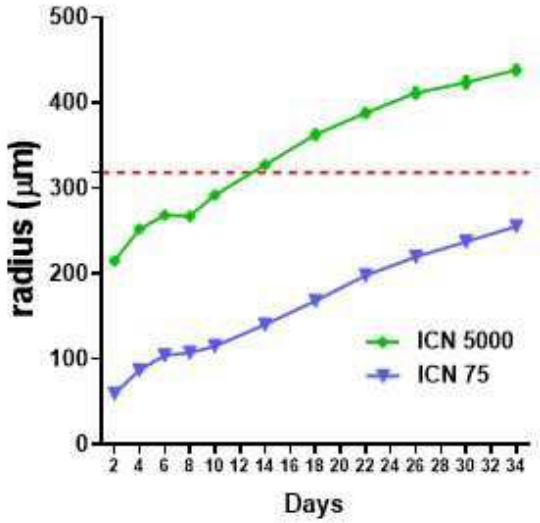
[0079] 그러므로, 다른 구현들, 다른 제조예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

## 도면

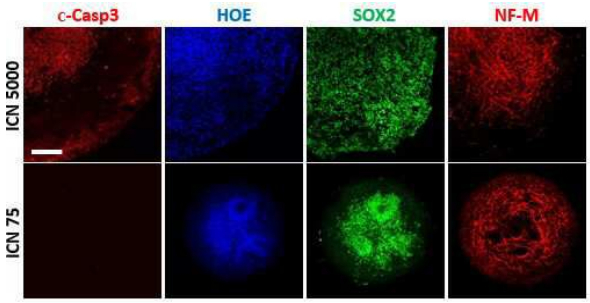
### 도면1



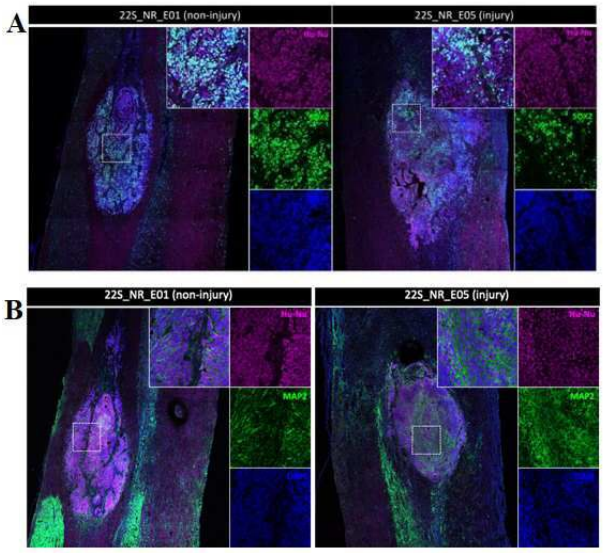

### 도면2



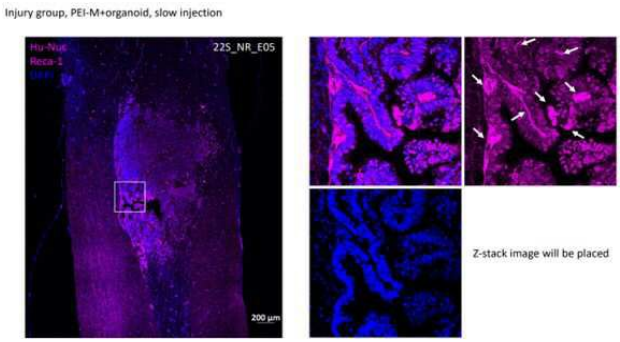

### 도면3



도면4


A
22S_NR_E01 (non-injury)
22S_NR_E05 (injury)
SOX2
B
22S_NR_E01 (non-injury)
22S_NR_E05 (injury)
MAP2

도면5


Injury group, PEI-M+organoid, slow injection
Hu-Nuc
Reca-1
22S_NR_E05
200 μm
Z-stack image will be placed