(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0873
(43) 공개일자 2024년09월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/42 (2017.01) *C12M 1/32* (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01) *C12N 5/09* (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12M 35/02 (2013.01)
C12M 23/12 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-0037334
(22) 출원일자 2024년03월18일
심사청구일자 2024년03월18일
(30) 우선권주장
1020230035416 2023년03월17일 대한민국(KR)

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김준곤
서울특별시 서초구 서운로 104, 204동 1802호
진경석
경기도 부천시 심곡로67번길 74 5동 405호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
정은열, 김태훈

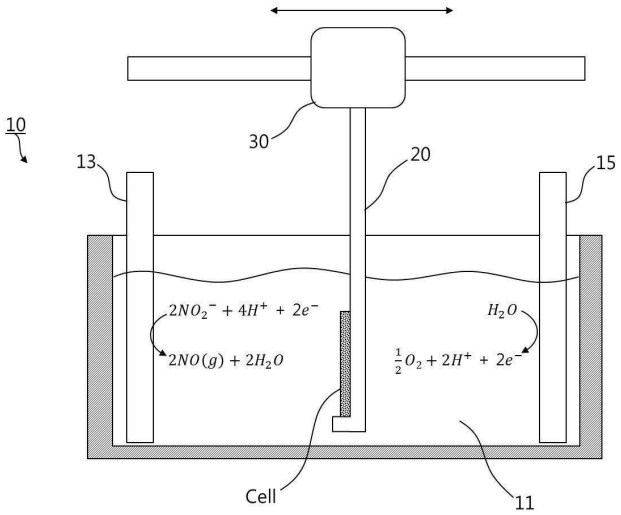
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **세포에 대한 시공간적 기체노출 제어 전기화학 플랫폼**

(57) 요 약

본 발명은 세포에 대한 시공간적 기체노출 제어 전기화학 플랫폼에 관한 것으로, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼은 이온을 함유하는 수용액(11), 이온의 환원반응을 통해 반응 기체를 발생시키는 캐소드(13), 및 캐소드(13)와 이격되어 마주보고 산화반응이 일어나는 애도느(15)를 포함하는 전기화학 셀(10), 수용액(11)에 침지되는 하부가 캐소드(13)와 애도느(15) 사이에 배치되며, 캐소드(13)를 향하는 하부의 일면에 대상 세포가 부착되는 커버슬립(20), 및 캐소드(13)와 커버슬립(20) 사이의 거리가 조정되도록, 캐소드(13)와 애도느(15)가 마주보는 좌우 방향으로 커버슬립(20)을 이동시키는 거리 조정부(30)를 포함한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12M 35/08 (2013.01)
C12M 41/34 (2013.01)
C12N 5/0693 (2013.01)
(72) 발명자
곽동빈
서울특별시 성북구 안암로 145 아산이학관 246호
원찬주
서울특별시 성북구 안암로 145 아산이학관 246호
김소진
서울특별시 성북구 안암로 145 아산이학관 246호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711165219
과제번호 2021R1A4A1032114
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 집단연구지원
연구과제명 단일세포 분석화학
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345358412
과제번호 2020R1A6C103A027
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국기초과학지원연구원
연구사업명 이공학학술연구기반구축
연구과제명 공동연구활성화지원과제(3차원 신경모세포종 고형암 모델에서의 질량 분석법 기반 면역치료 저항 및 약물 민감성 분석법 개발)
과제수행기관명 고려대학교 산학협력단
연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711162132
과제번호 2021R1C1C1004264
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)
연구과제명 전기화학적 방법을 통한 탄소-수소 결합 제어 및 선택적 기능화 연구
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

이온을 함유하는 수용액, 상기 이온의 환원반응을 통해 반응 기체를 발생시키는 캐소드, 및 상기 캐소드와 이격되어 마주보고 산화반응이 일어나는 애노드를 포함하는 전기화학 셀;

상기 수용액에 침지되는 하부가 상기 캐소드와 상기 애노드 사이에 배치되며, 상기 캐소드를 향하는 상기 하부의 일면에 대상 세포가 부착되는 커버슬립; 및

상기 캐소드와 상기 커버슬립 사이의 거리가 조정되도록, 상기 캐소드와 상기 애노드가 마주보는 좌우 방향으로 상기 커버슬립을 이동시키는 거리 조정부;를 포함하는 전기화학 플랫폼.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 이온은 아질산 이온(NO_2^-)이고,

상기 반응 기체는 일산화질소(NO) 기체이며,

상기 대상 세포는 암세포인 전기화학 플랫폼.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 캐소드와 연결되는 제1 전도성 부재;

상기 애노드와 연결되는 제2 전도성 부재; 및

상기 제1 전도성 부재 및 상기 제2 전도성 부재가 각각 삽입 관통되는 전도성 부재 관통홀을 구비하고, 상기 제1 전도성 부재 및 상기 제2 전도성 부재가 상기 전도성 부재 관통공에 삽입 고정되는 전극 고정부;를 더 포함하는 전기화학 플랫폼.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 거리 조정부는,

상기 커버슬립의 상부를 고정하는 고정부재; 및

상기 커버슬립이 이동되도록, 상기 고정부재를 이동시키는 엑추에이터;를 포함하는 전기화학 플랫폼.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 커버슬립은,

상기 캐소드와 마주보며 상기 대상 세포가 부착되도록 상기 하부에 구비된 세포 안착부; 및

상기 세포 안착부의 말단으로부터 상기 캐소드를 향해 돌출되어, 상기 대상 세포를 지지하는 세포 지지부;을 포함하는 전기화학 플랫폼.

청구항 6

청구항 5에 있어서,

상기 커버슬립은,

상기 고정부재에 걸리도록, 상기 상부에 형성된 걸림턱;을 더 포함하는 전기화학 플랫폼.

청구항 7

청구항 6에 있어서,

상기 고정부재는,

상면에서부터 하면을 통해 상기 커버슬립의 상기 하부가 관통하도록 형성된 커버슬립 관통홀을 구비하는 전기화학 플랫폼.

청구항 8

청구항 1에 있어서,

상기 캐소드에 도입되는 금속 산화물 촉매;를 더 포함하는 전기화학 플랫폼.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 금속 산화물 촉매는,

철 산화물(Fe_2O_3)인 전기화학 플랫폼.

청구항 10

청구항 1에 있어서,

상기 수용액을 수용하는 웰 플레이트(well plate);를 더 포함하는 전기화학 플랫폼.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 세포에 대한 시공간적 기체노출 제어 전기화학 플랫폼에 관한 것으로, 보다 상세하게는 전기화학 셀에서 기체를 발생시키고 세포에 대해 그 기체와의 노출을 시공간적으로 제어하는 전기화학 플랫폼에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 일산화질소는 체내에서 세포-세포 사이의 신호전달을 매개하는 물질로서 다양한 생물학적 기작을 통해 생명현상

에 관여한다. 특히 암 질환와 관련하여 그 농도에 따라 미치는 영향이 다르다고 알려져 있으며 농도에 따라 저농도의 일산화질소는 종양세포 유래 신생혈관의 확장을 통하여 종양 부근의 혈관의 정상화를 유도하며 암세포의 증식을 촉진하는 반면, 고농도 조건에서는 암세포의 사멸을 유도한다. 또한, 이미 체내에 존재하고 있는 물질로서 암 질환 치료에 적용할 때 추가적인 부작용 없이 암세포만을 선택적으로 사멸할 수 있는 잠재력을 가지고 있는 것으로 인식되어, 하기 선행기술문헌의 특허문헌에 개시된 바와 같이 항암 치료에 일산화질소를 이용하는 기술이 개발되고 있다.

[0004] 이러한 잠재력을 인정받아 일산화질소를 이용하여 암 질환과 관련된 현상들을 규명하고자 다양한 연구들이 진행되고 있다. 초기 연구들은 일산화질소를 방출하는 특성을 가진 NONOate와 같은 화합물을 이용하여 진행되었다. 그러나 해당 화합물의 경우 특정 반감기를 가지고 일산화질소를 방출하여 해당 화학종만의 양을 의도대로 조절하기 어려우며 용액 내에서 무작위로 생성되기 때문에 공간적인 조절에도 제약이 존재한다. 최근 보고되는 많은 연구에서는 이러한 문제를 해결하고자 NORMs(Nitric Oxide Releasing Materials)를 화학적으로 합성하였으며 초음파와 빛 등의 자극-반응 메커니즘을 통해 특정 시간에 표적 위치에 일산화질소를 생성하여 상기 한계점을 보완할 수 있는 방법을 제시하였다. 그러나 해당 연구에서 발생하는 현상에 대한 추적은 가능했으나 실시간으로 기체의 생성을 미세하게 조절할 수는 없었으며 이는 여전히 특정 자극에 대한 반응으로 일산화질소가 발생하므로 생성된 기체분자의 물리화학적 특성을 고려한 정밀제어가 제한됨에 기인한다. 일산화질소는 라디칼 화학종으로 수용액 상에서 산소와 반응하여 빠르게 소멸하는 특성이 존재하기 때문에 일정 수준의 양을 유지하기 어렵다는 문제점이 존재한다. 나아가 암세포가 일산화질소에 노출되었을 때 특정 농도에 대한 분자 수준에서의 기초적 연구 배경이 부족한 상황이다. 따라서 일산화질소 기체의 거동에 대한 충분한 이해를 바탕으로 기체를 효율적으로 생산하고 이에 대한 암세포의 반응성 및 분자 수준에서의 체계적인 분석을 가능하게 하는 방법을 구축하는 것이 중요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) KR 10-2019-0011615 A

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상술한 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 일 측면은 전기화학적 방법으로 일산화질소를 생성하고 대상 세포로의 일산화질소 질소 노출을 시공간적으로 미세하게 제어할 수 있는 세포에 대한 시공간적 기체노출 제어 전기화학 플랫폼을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼은 이온을 함유하는 수용액, 상기 이온의 환원반응을 통해 반응 기체를 발생시키는 캐소드, 및 상기 캐소드와 이격되어 마주보고 산화반응이 일어나는 애노드를 포함하는 전기화학셀; 상기 수용액에 침지되는 하부가 상기 캐소드와 상기 애노드 사이에 배치되며, 상기 캐소드를 향하는 상기 하부의 일면에 대상 세포가 부착되는 커버슬립; 및 상기 캐소드와 상기 커버슬립 사이의 거리가 조정되도록, 상기 캐소드와 상기 애노드가 마주보는 좌우 방향으로 상기 커버슬립을 이동시키는 거리 조정부;를 포함한다.

[0010] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 이온은 아질산 이온(NO_2^-)이고, 상기 반응 기체는 일산화질소(NO) 기체이며, 상기 대상 세포는 암세포일 수 있다.

[0011] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 캐소드와 연결되는 제1 전도성 부재; 상기 애노드와 연결되는 제2 전도성 부재; 및 상기 제1 전도성 부재 및 상기 제2 전도성 부재가 각각 삽입 관통되는 전도성 부재 관통홀을 구비하고, 상기 제1 전도성 부재 및 상기 제2 전도성 부재가 상기 전도성 부재 관통공에 삽

입 고정되는 전극 고정부;를 더 포함할 수 있다.

[0012] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 거리 조정부는, 상기 커버슬립의 상부를 고정하는 고정부재; 및 상기 커버슬립이 이동되도록, 상기 고정부재를 이동시키는 엑추에이터;를 포함할 수 있다.

[0013] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 커버슬립은, 상기 캐소드와 마주보며 상기 대상 세포가 부착되도록 상기 하부에 구비된 세포 안착부; 및 상기 세포 안착부의 말단으로부터 상기 캐소드를 향해 돌출되어, 상기 대상 세포를 지지하는 세포 지지부;을 포함할 수 있다.

[0014] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 커버슬립은, 상기 고정부재에 걸리도록, 상기 상부에 형성된 걸림턱;을 더 포함할 수 있다.

[0015] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 고정부재는, 상면에서부터 하면을 통해 상기 커버슬립의 상기 하부가 관통하도록 형성된 커버슬립 관통홀을 구비할 수 있다.

[0016] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 캐소드에 도입되는 금속 산화물 촉매;를 더 포함할 수 있다.

[0017] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 금속 산화물 촉매는, 철 산화물(Fe_2O_3)일 수 있다.

[0018] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼에 있어서, 상기 수용액을 수용하는 웰 플레이트(well plate);를 더 포함할 수 있다.

[0020] 본 발명의 특징 및 이점들은 첨부도면에 의거한 다음의 상세한 설명으로 더욱 명백해질 것이다.

[0021] 이에 앞서 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이고 사전적인 의미로 해석되어서는 아니되며, 발명자가 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.

발명의 효과

[0023] 본 발명에 따르면, 전기화학적 방법을 적용함으로써 일산화질소의 발생과 양을 조절하고, 수용액 상에서 확산하며 빠르게 소멸하는 특성을 최소화하며, 암세포에 균일/효과적으로 기체를 노출시킬 수 있다.

[0024] 또한, 단순히 기체의 농도를 미세하게 조절하는 것을 넘어서, 종래기술의 문제점이었던 기체의 균일한 전달을 가능하게 함으로써, 암세포에 기체가 미치는 영향을 명확하게 확인할 수 있다.

[0025] 또한, 본 발명을 통해, 암 세포주에 고농도의 일산화질소를 지속적으로 노출하였을 때 세포 생존율이 감소하는 것을 확인하였는바, 이러한 접근법은 암 치료법을 개발하는 분야에서 기체를 이용한 치료법 및 의료기기를 개발하는데 이바지할 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼의 단면도이다.

도 2는 본 발명의 다른 실시예에 따른 전기화학 플랫폼의 사진이다.

도 3은 도 2에 도시된 전극 고정부를 도시한 사시도이다.

도 4는 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼의 커버슬립의 일례를 도시한 도면으로서, (a)는 평면도, (b)는 측면도, (c)는 정면도이다.

도 5는 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼의 고정부재의 일례를 도시한 도면으로서, (a)는 사시도, (b)는 아래에서 비스듬하게 바라본 저면도, (c)는 측면도이다.

도 6은 실험예에 따라 제작된 전기화학 플랫폼의 사진, 전극 고정부 및 커버슬립의 설계도이다.

도 7은 반응속도론 기반 컴퓨터 시뮬레이션을 통한 전기화학적으로 생성된 일산화질소의 거동양식 예측 방식을 개략적으로 나타낸 도면이다.

도 8은 1주기 전이 금속 산화물 촉매 기반 아질산염의 환원을 통한 일산화질소의 생성과 전기화학적 활성 평가 결과이다.

도 9는 도 6에 따른 전기화학 플랫폼을 활용한 세포 독성 측정 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 본 발명의 목적, 특정한 장점들 및 신규한 특징들은 첨부된 도면들과 연관되어지는 이하의 상세한 설명과 바람직한 실시예들로부터 더욱 명백해질 것이다. 본 명세서에서 각 도면의 구성요소들에 참조번호를 부가함에 있어서, 동일한 구성 요소들에 한해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 번호를 가지도록 하고 있음에 유의하여야 한다. 또한, "제1", "제2" 등의 용어는 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하기 위해 사용되는 것으로, 구성요소가 상기 용어들에 의해 제한되는 것은 아니다. 이하, 본 발명을 설명함에 있어서, 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있는 관련된 공지 기술에 대한 상세한 설명은 생략한다.

[0029] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시형태를 상세히 설명하기로 한다.

[0031] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼의 단면도이다.

[0032] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼은 이온을 함유하는 수용액(11), 이온의 환원반응을 통해 반응 기체를 발생시키는 캐소드(13), 및 캐소드(13)와 이격되어 마주보고 산화반응이 일어나는 애도느(15)를 포함하는 전기화학 셀(10), 수용액(11)에 침지되는 하부가 캐소드(13)와 애도느(15) 사이에 배치되며, 캐소드(13)를 향하는 하부의 일면에 대상 세포가 부착되는 커버슬립(20), 및 캐소드(13)와 커버슬립(20) 사이의 거리가 조정되도록, 캐소드(13)와 애도느(15)가 마주보는 좌우 방향으로 커버슬립(20)을 이동시키는 거리 조정부(30)를 포함한다.

[0034] 본 발명은 생체 내 신경전달 물질인 일산화질소 기체의 발생과 양을 시공간적으로 미세하게 제어하여 시험관 내 실험에서 기체분자를 대상 세포에 효과적으로 노출할 수 있는 전기화학 플랫폼에 관한 것이다.

[0035] 구체적으로, 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼은 전기화학 셀(10), 커버슬립(20), 및 거리 조정부(30)를 포함한다.

[0037] 전기화학 셀(10)은 전기 에너지를 이용하여 화학 반응을 일으키는 장치로서, 수용액(11), 캐소드(13), 및 애도느(15)를 포함한다. 캐소드(13)는 환원반응이 일어나는 전극이고, 애도느(15)는 산화반응이 일어나는 전극으로서, 각각의 하부는 수용액(11)에 침지된 상태로, 서로 마주보도록 배치된다. 여기서, 수용액(11)은 이온을 함유하는데, 캐소드(13)와 애도느(15)에 전압이 인가되면, 캐소드(13)에서 수용액(11) 내 이온이 환원반응을 통해 반응 기체를 발생시킨다. 일례로, 수용액(11)에 아질산염이 첨가된 경우, 그 수용액(11)에 아질산 이온(NO_2^-)이 존재하게 되고, 캐소드(13)에서의 환원반응에 의해 반응 기체로서 일산화질소(NO) 기체가 생성된다. 이때, 애도느(15)에는 산화반응이 일어나면서 수분해가 일어나 산소와 수소 이온이 생성된다. 이렇게 생성된 반응 기체는 확산에 의해 수용액(11) 상에서 이동하게 된다. 확산되는 일산화질소는 용존산소와 반응하여 빠르게 사라지는데, 이는 반응속도론을 기반으로 예측이 가능하다. 본 발명은 전기화학적인 방법을 도입하여 반응 기체를 생성하므로, 일정 시간 동안 특정 수준의 반응 기체의 발생을 유지할 수 있으며, 캐소드(13)와 애도느(15) 사이에 인가되는 전압을 조정하여 반응 기체의 발생량을 조절할 수 있다.

[0038] 본 발명은 기체분자를 대상 세포에 노출시킴으로써, 기체분자에 대한 대상 세포의 반응성을 연구하는 기기로 사용될 수 있다. 대표적으로, 일산화질소를 이용한 암 질환 관련 현상 규명에 이용될 수 있다. 따라서, 전술한 바와 같이, 전기화학 셀(10)을 통해 일산화질소 기체를 생성하고, 암세포를 대상 세포로서 일산화질소 기체에 노출시키는 데 사용할 수 있다. 다만, 전기화학 셀(10)이 반드시 일산화질소 기체에 한정되는 것은 아니므로, 이온의 종류를 달리하여 다른 기체를 생성할 수도 있다. 즉, 일산화질소 이외의 다른 기체 신경전달 물질의 생성에 적용이 가능하다. 또한, 대상 세포도 반드시 암세포에 한정되는 것은 아니기 때문에, 생성 기체를 대상 세포

에 노출시켜 대상 세포의 그 생성 기체에 대한 반응성을 연구하는 분야에 본 발명이 널리 활용될 수 있다.

[0039] 한편, 캐소드(13)에는 금속 산화물 촉매가 도입될 수 있다. 금속 산화물 촉매는 대상 기체의 효과적 생성에 기여한다. 이러한 금속 산화물 촉매는 1주기 전이 금속 산화물 촉매일 수 있고, 그 예로 망간 산화물(Mn_3O_4), 철 산화물(Fe_2O_3), 코발트 산화물(Co_3O_4), 니켈 산화물(NiO), 및 구리 산화물(CuO)로 구성된 군으로부터 선택된 어느 하나 이상을 사용할 수 있고, 일산화질소 기체 생성에 있어서는 철 산화물(Fe_2O_3)이 적합하다. 다만, 금속 산화물 촉매가 반드시 이에 한정되는 것은 아니고, 환원반응의 대상이 되는 이온을 갖는 염의 활성부위를 고려하여 적합한 촉매를 선택할 수도 있다.

[0041] 커버슬립(20)은 대상 세포가 부착되는 부재이다. 이러한 커버슬립(20)은 소정의 길이를 가지고, 그 하부의 일면에 대상 세포가 부착된다. 대상 세포가 부착된 커버슬립(20)의 하부는 수용액(11)에 침치되어 캐소드(13)와 애도느(15) 사이에 배치된다. 이때, 대상 세포가 부착된 커버슬립(20)의 하부의 일면은 캐소드(13)를 향한다. 따라서, 캐소드(13)에서 이온의 환원반응을 통해 생성된 반응 기체가 대상 세포로 노출되어, 대상 세포가 그 반응 기체와 반응하게 된다.

[0043] 거리 조정부(30)는 커버슬립(20)을 이동시키는 기기이다. 거리 조정부(30)는 캐소드(13)와 애너드가 마주보는 좌우 방향을 따라 커버슬립(20)의 하부를 이동시킬 수 있다. 이에 따라, 캐소드(13)와 커버슬립(20) 사이의 거리가 조정된다. 캐소드(13)와 커버슬립(20) 사이의 거리가 멀어지면, 대상 세포에 도달하는 일산화질소의 양이 적어지고, 반대로 캐소드(13)와 커버슬립(20) 사이의 거리가 가까워지면, 대상 세포에 도달하는 일산화질소의 양이 많아진다. 즉, 캐소드(13)와 커버슬립(20) 사이의 거리가 조정됨에 따라, 대상 세포로 노출되는 일산화질소의 양이 조절된다.

[0045] 결국, 본 발명은 대상 기체의 화학적 성질을 고려하여 시공간적으로 대상 기체의 생성을 조절하여 기체를 효율적으로 대상 세포에 노출시킬 수 있다. 또한, 대상 기체의 전달뿐만이 아니라 전기화학적 생성물인 대상 기체를 균일하게 시공간적 조절을 통하여 원하는 농도로 대상 세포에 노출시킬 수 있다. 따라서, 본 발명은 대상 기체와 대상 세포간의 상호작용 분석에 있어 중요한 기술로 활용될 수 있다.

[0047] 도 2는 본 발명의 다른 실시예에 따른 전기화학 플랫폼의 사진이고, 도 3은 도 2에 도시된 전극 고정부(60)를 도시한 사시도이다.

[0048] 도 2 내지 도 3을 참고로, 본 발명의 다른 실시예에 따른 전기화학 플랫폼은 제1 전도성 부재(40), 제2 전도성 부재(50), 및 전극 고정부(60)를 더 포함할 수 있다.

[0049] 제1 전도성 부재(40)는 전기가 통하는 부재로서, 캐소드(13)와 전기적으로 연결된다. 제2 전도성 부재(50)도 전기가 통하는 부재이고, 애도느(15)와 전기적으로 연결된다. 따라서, 제1 전도성 부재(40), 및 제2 전도성 부재(50)를 통해 캐소드(13)와 애도느(15) 사이에 전압이 인가되어 대상 기체의 생성을 가능하게 한다.

[0050] 전극 고정부(60)는 제1 전도성 부재(40)와 제2 전도성 부재(50)를 고정한다. 전극 고정부(60)는 제1 전도성 부재(40)와 제2 전도성 부재(50)가 각각 삽입 관통되도록 형성된 전도성 부재 관통홀(61)을 구비한다. 따라서, 전도성 부재 관통홀(61)에 제1 전도성 부재(40)와 제2 전도성 부재(50)가 삽입되어 고정될 수 있다. 이때, 전도성 부재 관통홀(61)에 제1 전도성 부재(40)와 제2 전도성 부재(50)가 끼임 고정될 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니므로, 전도성 부재 관통홀(61)의 내면과 제1 전도성 부재(40)와 제2 전도성 부재(50)의 외면 사이에 여유 공간이 형성되어도 무방하다.

[0052] 한편, 본 발명은 웰 플레이트(well plate, 70)를 더 포함할 수 있다. 웰 플레이트(70)는 상면에 다수의 웰(well)을 구비하는 배양 용기로서, 전기화학 셀(10)의 수용액(11)이 그 웰에 수용될 수 있다.

[0054] 또한, 거리 조정부(30)는 고정부재(31), 및 엑추에이터(33)를 포함할 수 있다. 고정부재(31)는 커버슬립(20)의 상부를 고정한다. 엑추에이터(33)는 고정부재(31)와 체결되어, 고정부재(31)를 이동시킨다. 이렇게 고정부재(31)가 이동함에 따라, 고정부재(31)에 연결된 커버슬립(20)이 캐소드(13)와 애도느(15)가 마주보는 좌우 방향을 따라 이동하게 된다.

[0055] 엑추에이터(33)는 고정부재(31)를 이동시킬 수 있는 기기이기만 하면 특별한 제한이 없다. 캐소드(13)와 커버슬립(20) 사이의 거리를 미세하게 조정하기 위해서, 엑추에이터(33)는 컴퓨터 수치 제어(Computer Numerical Control, CNC)에 의해 제어될 수 있다.

[0057] 이하에서는 커버슬립(20) 및 고정부재(31)의 일례를 설명한다.

[0058] 도 4는 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼의 커버슬립의 일례를 도시한 도면으로서, (a)는 평면도, (b)는 측면도, (c)는 정면도이다. 도 5는 본 발명의 실시예에 따른 전기화학 플랫폼의 고정부재의 일례를 도시한 도면으로서, (a)는 사시도, (b)는 아래에서 비스듬하게 바라본 저면도, (c)는 측면도이다.

[0059] 도 4는 도 1에 도시된 커버슬립(20)의 상부와 하부를 반전시켜 도시한 것으로, 이를 참고로, 커버슬립(20)은 세포 안착부(21), 및 세포 지지부(23)를 포함할 수 있다. 세포 안착부(21)는 커버슬립(20)의 하부에 마련된 영역으로서, 대상 세포가 캐소드(13)와 마주보며 부착되는 일면의 영역이다. 세포 지지부(23)는 세포 안착부(21)의 말단으로부터 캐소드(13)를 향해 돌출된 부위이다. 세포 안착부(21)는 수용액(11)의 수면에 대해 거의 수직으로 배치되므로, 세포 안착부(21)에 부착된 대상 세포가 중력에 의해 미끄러지면서 세포 안착부(21)로부터 이탈될 수 있으나, 이러한 세포 지지부(23)가 아래에서 대상 세포를 지지하여 안정적으로 대상 세포의 부착을 유지시킬 수 있다.

[0060] 커버슬립(20)의 상부에는 걸림턱(25)이 형성될 수 있다. 걸림턱(25)은 고정부재(31)에 걸리는 영역으로, 걸림턱(25)에 의해 커버슬립(20)이 고정부재(31)에 고정되어 연결될 수 있다.

[0062] 도 5를 참고로, 고정부재(31)는 커버슬립 관통홀(31a)을 구비할 수 있다. 커버슬립 관통홀(31a)은 고정부재(31)의 상면에서부터 하면을 관통하는 구멍으로, 커버슬립(20)의 하부가 그 커버슬립 관통홀(31a)을 통과하여 수용액(11)에 침지된다. 여기서, 전술한 커버슬립(20)의 걸림턱(25)이 고정부재(31)의 상면에 걸리면서, 커버슬립(20)이 고정부재(31)에 고정될 수 있다.

[0064] 이하에서는 실험예를 통해 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다.

[0066] 1. 재료

[0067] manganese(III) acetate dihydrate (97%, Sigma Aldrich), 1-octadecene (90%, Alfa Aesar), iron(II) acetate (>90.0%, TCI), myristic acid (>99.0%, TCI), 1-decanol (98%, TCI), nickel(II) acetate tetrahydrate (98+%, Alfa Aesar), cobalt(II) perchlorate hexahydrate (ACS, Alfa Aesar), 1-octanol (>99.0%, TCI), Oleylamine (70%, Sigma Aldrich), Polyethylene Glycol 600 (PEG 600, TCI), copper(II) sulfate pentahydrate (Alfa Aesar), L-ascorbic acid (>99.0%, TCI), sodium hydroxide (98.0%, TCI), sodium hypochlorite (11-15%, Alfa Aesar), sodium nitroprusside dihydrate (>99%, Sigma Aldrich), Sodium salicylate (meets USP testing specifications, Sigma Aldrich), ammonium chloride (99.5% min, Alfa Aesar), acetone (99.5%, Daejung), toluene (99.5%, Duksan), n-hexane (95.0%, Duksan), ethanol (95.0%, SAMCHUN), Carbon paper (AV-carb MGL 190) was cut to make a 1*4 electrode. Platinum foil (0.02 mm thick, 99.95 %, Nilaco), Tyrode solution: 125 mM sodium chloride (NaCl, ≥ 99.5 % Samchun), 2 mM potassium chloride (KCl, ≥ 99.98 %, Sigma Aldrich), 2 mM magnesium chloride anhydrous ($MgCl_2$, Sigma Aldrich), 2 mM calcium chloride anhydrous ($CaCl_2$, ≥ 93%, Sigma Aldrich), 25 mM 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES, biosesang), 51 mM D-glucose (≥ 99.5%, Sigma Aldrich). pH = 7.4. 100mL flask reflux condenser, 3-neck flask (100mL), Schlenk line, temperature controller, Glass syringe with metal luer-lock 10mL, needle 16G * 5'', 16G * 1 1/2'', Muffle Furnace (digital muffle

furnace FX-14, Daihan scientific), 100 mL flask reflux condenser, 100 mL three-neck flask, Schlenk line (4-position manifold, Booil Science), temperature controller (TC200P-K, Booil Science), 10 mL glass syringe with metal luer lock, 16G X 5" and 16G X 1 1/2"needles,muffle furnace (digital muffle furnace FX-14, Daihan Scientific), balloon (Daihan Scientific), 1.7mL Maxi clear micro tube (Axygen), sleeve-type stopper (o.d.20 X i.d. 13, Daihan Scientific), magnetic stirrer (MS-12D Mini digital magnetic stirrer, Daihan Scientific), magnetic spinbar (oval, SciLab), general centrifuge (MaXpin C-12mt, Daihan Scientific).

[0069] 2. 기체분자 확산 및 소멸을 고려한 전극-세포 거리 조절 시스템 제작 및 반응속도론 기반 컴퓨터 시뮬레이션을 통한 전기화학적으로 생성된 일산화질소의 거동양식 예측

[0070] 도 6은 실험예에 따라 제작된 전기화학 플랫폼의 사진, 전극 고정부 및 커버슬립의 설계도로서, 도 2, 도 4 내지 도 6을 참고로, 전극과 세포 사이의 거리를 적절히 조절할 수 있는 시스템을 구축하였다. 거리 조절 측면에서 미세한 조절과 각 실험 간 재현성을 구현하는 방법으로서 연구자의 감과 손으로 조작하는 것이 아닌 시중에 판매되는 CNC engraving machine을 사용하였다. 해당 장비를 이용하면 약 0.01mm의 해상도의 기계적인 거리 조절이 가능하다. 또한, 일반적인 방법으로는 세포를 바닥과 직교하게 배양할 수 없으므로 별도의 세포 배양이 가능한 커버슬립을 이용하였으며 전기화학 셀과 세포 배양 커버슬립, CNC machine을 결합할 수 있도록 고정부재와 전극 고정부를 3D 프린터를 이용하여 제작하였다. 그 부품들은 3차원 디자인 소프트웨어인 Rhino ceros 6으로 디자인되었다. CNC machine의 경우 레이저 모듈을 분리/결합할 수 있는 부분이 있으며, 연구를 위해 레이저 모듈은 분리하고 해당 부분에 커버슬립을 배치할 수 있도록 고정부재를 제작하였다. 전극 고정부는 세포가 배양된 커버슬립을 전극과 나란하게 배치할 수 있도록 제작되었다.

[0071] 전기화학 셀, 커버슬립, 고정부재, 및 전극 고정부에 대해서는 전술하였는바, 자세한 설명은 생략한다.

[0073] 수용액 상에서 용존산소와 반응하여 소멸하는 반응속도론적 해석을 기반으로 전기화학적 셀에서 생성된 일산화질소가 전해질 상에서 어떻게 확산하는지 COMSOL Multiphysics 소프트웨어를 이용하여 시각화하여, 도 7에 나타냈다. 도 7은 반응속도론 기반 컴퓨터 시뮬레이션을 통한 전기화학적으로 생성된 일산화질소의 거동양식 예측 방식을 개략적으로 나타낸 도면이다.

[0074] 수용액 상에서 생성된 일산화질소는 아래 [반응식 1]을 거쳐 빠른 속도로 소멸한다.

[0075] [반응식 1]

[0076] $$4NO_{(aq)} + O_{2(g)} + 2H_2O \leftrightarrow 4H^{+}_{(aq)} + 4NO^{-}_{2(aq)}$$

[0077] 해당 반응의 속도론은 이미 여러 연구들을 통해 보고된 바 있으며 그 식은 아래와 같이 적절한 시뮬레이션을 위해 일산화질소의 확산 속도가 매우 빠르며, 따라서 용액 내 균일하게 존재한다 라는 가정을 통해 아래의 [수학식 1]을 통해 계산을 진행하였다.

[0078] [수학식 1]

[0079] $$\frac{\partial C_{NO}(t)}{\partial t} = k_2 - 4k_1 C_{O_2} \cdot C_{NO}(t)^2$$

[0080] 시뮬레이션을 통해 공간에 따른 일산화질소의 양을 시각화하였으며 상기 반응을 통해 확산하는 정도가 제한되는 것을 확인하였다.

[0081] 여기서, 화학 반응(chem)(cd)와 희석된 종의 의 수송(tds)이라는 두 가지 물리적 현상이 사용되었다. Chem의 경우 위의 [반응식 1]을 고려하도록 반응항이 설정되었고 각 화학종의 전하값 및 농도값을 대입하였다.

[0082] 각 값들은 실험적으로 계측된 값이 입력되었으며, 이 일산화질소와 산소의 값만 지속적으로 변화하는 값으로 설정되었다. Tds는 전기장에서의 대류와 이동을 이용하여 확산계수($D = 2.21 \times 10^{(-5)} cm^2/s$)와 전하수($z_c = 0$)를 입력

하였다. 일산화질소의 초기 농도는 0으로 가정했다. 상기 양극은 농도함수($k_2 t$)를 유입으로 설정하였다. 이어서, 반응 항을 추가하여 붕괴를 고려하였다($-4k_1 C_{O2} \cdot C_{NO}(t)^2$).

[0084] 3. 1주기 전이 금속 산화물 촉매 기반 아질산염의 환원을 통한 일산화질소의 생성과 전기화학적 활성 평가

[0085] 일산화질소는 아질산염의 일전자 환원 반응을 통해 생성될 수 있으며 이는 전기화학 반응을 통해 쉽게 구현할 수 있다. 실제 생체 내에서도 해당 반응이 진행된다고 알려져 있으며 특히 이는 단백질 복합체에 존재하는 구리 및 철 등의 금속 부분에서 높은 효율로 선택적으로 발생한다고 알려져 있다. 본 연구에서는 이에 착안하여 비교적 쉽고 저렴하게 합성할 수 있는 몇 가지 1주기 전이 금속 산화물 촉매를 합성하였다. 1주기 전이 금속 산화물 촉매로 망간 산화물(Mn_3O_4), 철 산화물(Fe_2O_3), 코발트 산화물(Co_3O_4), 니켈 산화물(NiO), 및 구리 산화물(CuO)을 합성하였다.

[0086] 아질산염 환원반응에서는 암모니아, 히드라진, 디질로겐과 같은 다양한 부산물들을 발생될 수 있기 때문에 일산화질소를 선택적으로 생산해낼 수 있는 효과적인 촉매를 찾는 것이 중요하다. 고온주입법으로 합성한 금속 산화물 촉매들은 투과현미경을 통해 형상과 크기를 확인하였으며 정제과정을 거치고 카본페이퍼 전극에 도포하여 전기화학적 활성 평가를 진행하였다.

[0087] 각각의 금속 산화물 촉매는 기존문헌에 보고된 열분해 방법으로 합성되었다. 정제 공정 후, 각각의 나노입자를 헥산 또는 에탄올에 분산시켰다. 분산된 용액을 1*1차원의 카본페이퍼 위에 떨어뜨렸다. 드롭 캐스팅 공정은 오븐에서 4회 실시하였으며, 용액 15uL를 탄소지 양면에 2회 적하하고 각 단계에서 1분간 건조하였다. 전극은 알루미나 도가니에 넣고 400℃에서 전기로에서 어닐링하였다. 각 전극을 이용하여 순환 전압 측정(CV) 분석을 통해 아질산염이 환원되기 시작한 각 촉매의 산화환원 부분 및 활성도 차이를 확인했다. 산화환원 부분 및 활성도 차이를 고려하여 적합한 촉매를 결정한 다음-0.3 V부터 0.2 V 간격으로-1.3 V까지 각각 10분간 시간대 전류법을 측정하여 일산화질소 선택성 및 부분 전류값을 계산하였다. 발생된 일산화질소의 정량은 다음의 방식을 따른다. DEA NONOate를 사용하여 초기에 일산화질소의 정량화를 위해 외부 표준 곡선을 구성하였다. DEA NONOate의 반감기는 16분이며 시약의 1.5배의 일산화질소를 제공한다. 이에, Tyrode 용액 중 600 μM DAF-FM 50 μl와 농도가 0~200 μM인 DEA NONOate 용액 100 ul를 96-well plate로 조합하였다. 각 DEA NONOAte 및 DAF-FM 시약 혼합물의 형광 강도가 안정화가 될 때까지 모니터링되었다. 전기분해 직후 Tyrode 용액 내 DAF-FM을 전해액에 직접 투입하여 전기화학적으로 생성된 NO를 포집하였다.

[0088] 도 8은 1주기 전이 금속 산화물 촉매 기반 아질산염의 환원을 통한 일산화질소의 생성과 전기화학적 활성 평가 결과이다. 도 8과 같이, 각 촉매에 대해 순환 전압전류법을 진행하여 촉매들 간 활성도 차이를 확인하였으며 시간대전류법을 통해 각 촉매의 일산화질소 생성 효율을 확인하였으며 전기분해가 진행되는 동안 일정 전류가 유지됨을 확인하였다.

[0089] 일산화질소 탐지 물질인 DAF-FM (4-Amino-5-methylamino-2',7'-difluorescein)을 이용하여 실제로 일산화질소가 생성되는 양을 정량분석하였으며 각 촉매들의 부분전류값을 비교할 수 있었다. 위의 결과를 통해 산화철 촉매가 전기화학적 아질산염 환원반응에 적합한 촉매임을 확인하였으며 추가적인 실험을 통해 전기화학 특성 평가 및 이후 실험 조건을 결정하였다.

[0091] 4. 제작한 전기화학 플랫폼 기반의 시스템을 활용한 세포 독성 측정

[0092] 위에서 제작한 시스템을 이용하여 전기화학적으로 발생한 일산화질소에 대한 세포 독성을 측정하였다. 도 9는 도 6에 따른 전기화학 플랫폼을 활용한 세포 독성 측정 결과이다.

[0093] 먼저 기존의 진행되는 방식대로 세포를 바닥에 배양하여 전극과 세포가 수직으로 배치된 시스템에서의 실험을 진행하였다. 이후 새로 고안한 병렬 플랫폼을 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. 전극과 세포 사이의 거리를 1mm부터 1mm 단위로 4mm까지 조절하며 세포에 일산화질소를 노출하였다. 대조군으로는 생성된 일산화질소에 노출되지 않은 세포를 이용하였다. 전기분해 이후 luciferin cell viability assay를 통해 세포 생존율을 측정하였으며 전극과 세포가 나란하게 배치되어있으며 거리가 가까울 때 생성된 일산화질소에 의해 더 많은 세포사멸이 유도되는 것을 확인하였다(도 9 참조).

[0094] 여기서, 폐암 세포주인 A549를 이용하였으며 10,000개의 세포를 9mm의 커버슬립에 부착하여 24시간 동안 배양했

다. 제작한 부품에 세포가 부착된 커버슬립을 위치시키고 CNC machine 장치를 이용해 전극과 커버슬립 사이의 거리를 1~4mm 간격으로 조절하며 1시간 동안 전기분해를 진행하여 일산화질소에 노출하였다. 이후 세포 생존율은 luciferase assay를 통해 평가되었다. CellTiter Glo 2.0 시약을 배지에 첨가한 뒤 10분 동안 잘 섞어주고 이후 5분간 상온에 두어 ATP와 luciferin가 반응하도록 만들어주었다. 생성물은 발광을 나타내며 세기를 기반으로 정량분석하였다. 전체 실험은 재현성 확보를 위해 5회 반복되었다.

[0096] 5. 결과

[0097] 5-1. 촉매별 활성 평가 및 일산화질소의 거동 확인

[0098] 본 연구의 목표 전기화학 반응은 아질산염에서 일산화질소로 일전자 환원이다. 순환전압전류법을 통해 -0.6 V에서 환원 전류가 나타나고 있음과 각 촉매들 간의 활성도 차이를 확인할 수 있었으며 시간대 전류법에서 동일하게 확인하였다. 전기화학적으로 생성된 일산화질소를 정량화하기 위해 DETA NONOate와 DAF-FM을 이용하여 얻은 검정곡선과 비교하여 그 양을 확인하였다. 일산화질소 생성 정량 평가를 통해 코발트 산화물 촉매의 이용이 가장 높은 부분 전류 밀도를 갖는 것이 확인되었으며, 산화철이 뒤를 이었다. 선택성 측면에서는 산화철 촉매가 23%의 가장 높은 효율을 나타내는 것을 확인하였다. 위 실험결과를 토대로 산화철은 일산화질소에 대해 적절한 반응성과 높은 선택성을 나타내었으며 실제 생체 시스템 내 반응의 모사를 기반으로 할 수 있어 본 실험에 적용할 촉매로서 선택되었다. 이후 철 산화물 촉매의 전기화학특성을 알아보기 위해 전압별로 시간대 전류법을 실시하였으며 -0.7 V VS Pt에서 50% 정도의 가장 높은 선택성을 가지는 것을 확인하였다.

[0099] 전기화학적으로 생성된 일산화질소의 역학을 확인하기 위해 시뮬레이션을 진행하였다. 일산화질소와 산소 간 일어나는 자동산화 반응을 고려하여 일산화탄소 생성되는 속도상수를 실험값을 기반으로 구하였으며 이후 계산을 통해 일산화질소의 수송 역학 및 농도분포를 추정할 수 있었다. 전극에 인가하는 전압별로 시뮬레이션을 진행한 결과 일산화질소의 생성량이 -0.9 V를 인가할 때 가장 많지만 산소가 표면 주변에서 거의 사라짐을 확인하였다. 반면 -0.7 V에서 자동 산화 반응 위치가 세포 위치와 가까운 위치에서 일어나는 것을 확인하였으며 -1.1 V와 -1.3 V에서는 일산화농도가 매우 최소로 나타나는 것을 확인하였다. 이를 통해 일산화질소가 생성되는 속도와 확산되는 거리가 중요함을 확인할 수 있었다. 즉, 설계된 플랫폼의 기능성 중요도가 높아짐을 시뮬레이션을 통해 검증할 수 있었다.

[0101] 5-2. 세포 반응성 연구를 위한 플랫폼 제작과 이를 통한 세포 생존율 측정

[0102] 앞에서 얻은 결과를 통해 일산화질소가 생성되는 속도, 확산되는 거리, 전기분해를 가하는 시간과 같은 중요한 매개변수를 밝히기 위해 정밀하게 제어할 수 있는 플랫폼을 고안하였다. 생성된 기체분자가 세포에 고르게 전달될 수 있도록 전극과 세포가 나란히 배치하였으며 일산화탄소가 확산되는 거리를 고려하여 전극과의 거리를 미세하게 조절할 수 있는 CNC engraving machine를 사용하여 병렬배치 플랫폼을 제작했다. 해당 장치와 전기화학 셀의 적절한 결합을 위하여 필요한 몇 가지 부품을 3D 프린터를 통해 출력하여 시스템을 완성하였다. 이를 통해 전극과 세포간 거리를 기계적으로 0.01 mm까지 미세한 조절의 반복이 가능함을 확인하였다.

[0103] 다음으로 병렬 플랫폼을 이용하여 전극과 세포의 거리 효과를 확인하였다. 상기 결과로부터 -0.7 V의 전압 인가를 적용하여 거리를 각각 4.0 mm, 3.0 mm, 2.0 mm, 1.0 mm로 조절하여 1시간 동안 전기분해를 진행하였으며, 세포 생존율 평가를 통해 범위가 전극으로부터 2mm 이내에서 세포에 영향을 줄 수 있는 유효 농도가 형성됨을 확인하였다. 그 이후의 거리에서는 전극과 세포 사이의 거리가 멀어질수록, 생성된 NO는 소멸되며 세포에 덜 영향을 미치는 유도되는 세포사멸이 감소한다. 거리 조절 데이터의 경우 최대 2mm까지 조절하면 32~43%까지 세포사멸에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이는 기존의 방법으로 바닥에 세포를 배양하여 실험을 진행하였을 때 세포사멸이 거의 발생하지 않은 점을 고려하면 병렬플랫폼을 이용할 때 더 정확한 실험을 진행할 수 있음을 시사한다.

[0104] 또한, 지속적인 일산화탄소 생성이 산화스트레스를 유발시켜 활성산소종 생성을 통해 세포 사멸을 일으킬 것이라는 가능성을 고려하여 전기분해 시간을 30분, 3시간, 5시간으로 조정하여 세포 생존력을 확인하였다. 그 결과 30분에서는 세포 사멸을 관찰할 수 없었지만 3시간과 5시간 결과에서 2mm 이내의 거리에서 68%와 57% 정도로 세포 사멸이 일어남을 관찰하였다. 이를 통하여 전기 분해를 가하는 시간이 길수록 세포에 더 많은 일산화탄소 노출을 유발하여 세포 생존율이 낮아진다는 결론을 얻을 수 있었다. 또한, A549의 경우 2mm 이내의 거리에서 30분

이상의 전기 분해 시간이 세포 생존을 결정하는 요소임을 제시한다.

[0106] 6. 결론

[0107] 본 발명을 통해 기존의 방법을 적용하기 어려웠던 시험관 내 세포에 대한 일산화질소의 반응성 연구를 진행할 때 효율적으로 이용할 수 있는 일산화질소 기체의 특성을 고려한 시스템을 구축하였다. 상술한 실험예를 통해 충분한 반응물이 존재할 때 전기화학의 적용이 의도한 시간 동안 일정한 일산화질소의 생성을 확인하였으며, 촉매의 종류와 전기분해 시간 등의 다양한 조건을 변화시켜 기체 생성물의 양을 조절할 수 있음을 확인하였다.

[0108] 고농도의 일산화질소 기체 조건에서 단순한 구조의 시스템(전극-세포 직교 배치 시스템)과 본 발명에서 제작한 시스템 사이의 결과 비교를 통해 NO가 일정하게 생성되는 속도와 유효 범위, 전기분해 시간 3가지 요소가 일산화질소에 의한 세포반응을 조절할 수 있음을 확인한 것이다.

[0110] 이상 본 발명을 구체적인 실시예를 통하여 상세히 설명하였으나, 이는 본 발명을 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명은 이에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의해 그 변형이나 개량이 가능함이 명백하다.

[0111] 본 발명의 단순한 변형 내지 변경은 모두 본 발명의 영역에 속한 것으로 본 발명의 구체적인 보호 범위는 첨부된 특허청구범위에 의하여 명확해질 것이다.

부호의 설명

[0113] 10: 전기화학 셀 11: 수용액

13: 캐소드 15: 애노드

20: 커버슬립 21: 세포 안착부

23: 세포 지지부 25: 걸림턱

30: 거리 조정부 31: 고정부재

31a: 커버슬립 관통홀 33: 엑추에이터

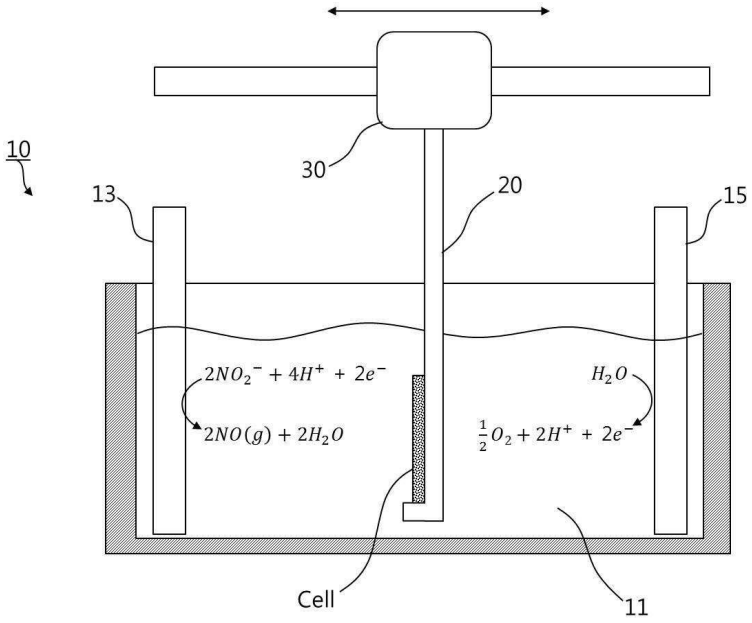
40: 제1 전도성 부재 50: 제2 전도성 부재

60: 전극 고정부 61: 전도성 부재 관통홀

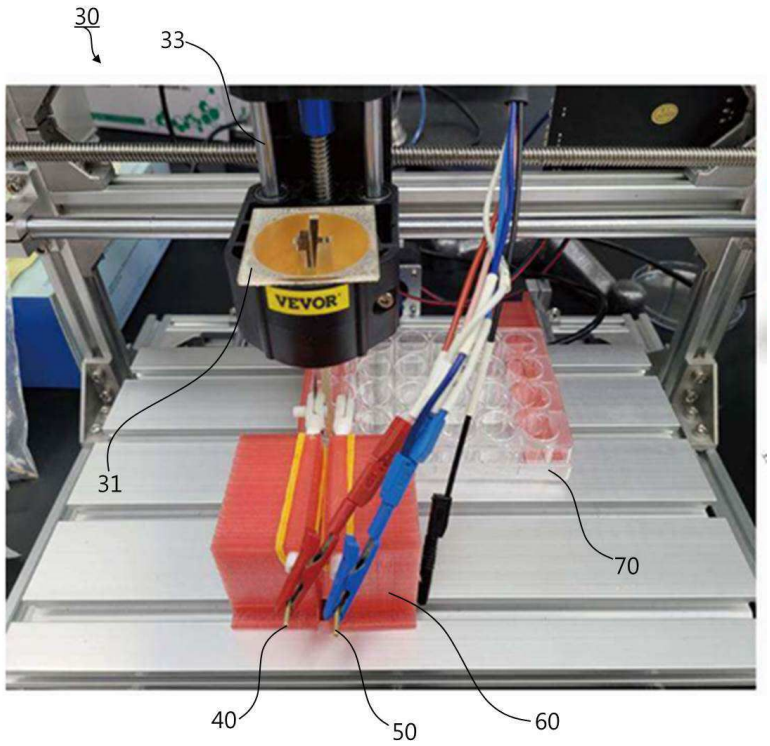
70: 웰 플레이트

도면

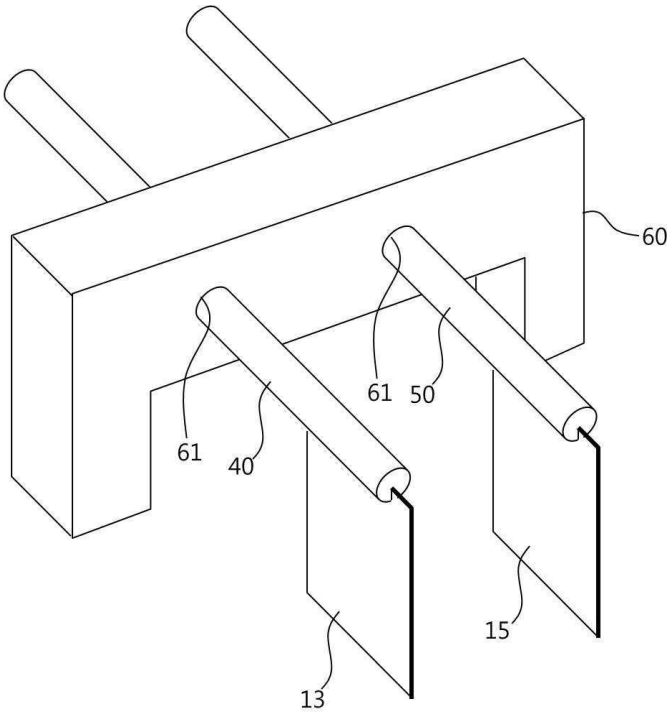
도면1


10
30
13
20
15
$2NO_2^- + 4H^+ + 2e^-$
$2NO(g) + 2H_2O$
H_2O
$\frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^-$
Cell
11

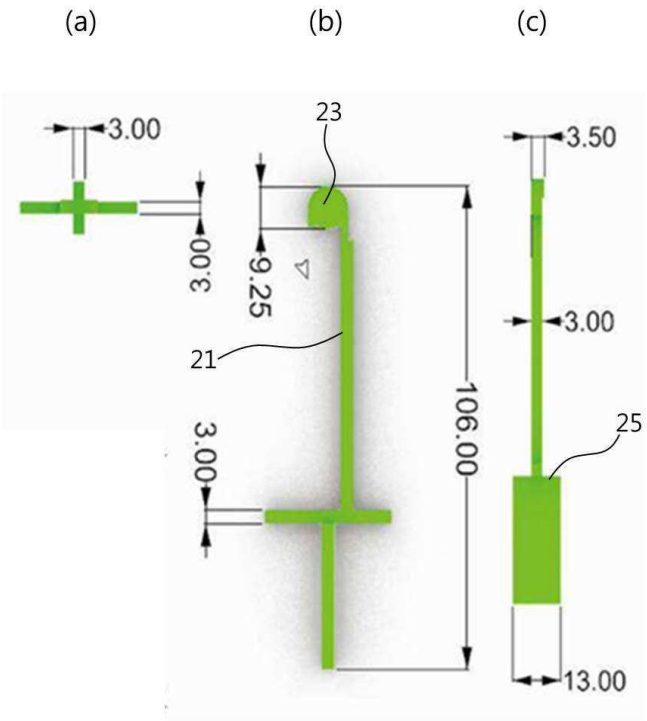
도면2


30
33
VEVOR
31
70
40
50
60

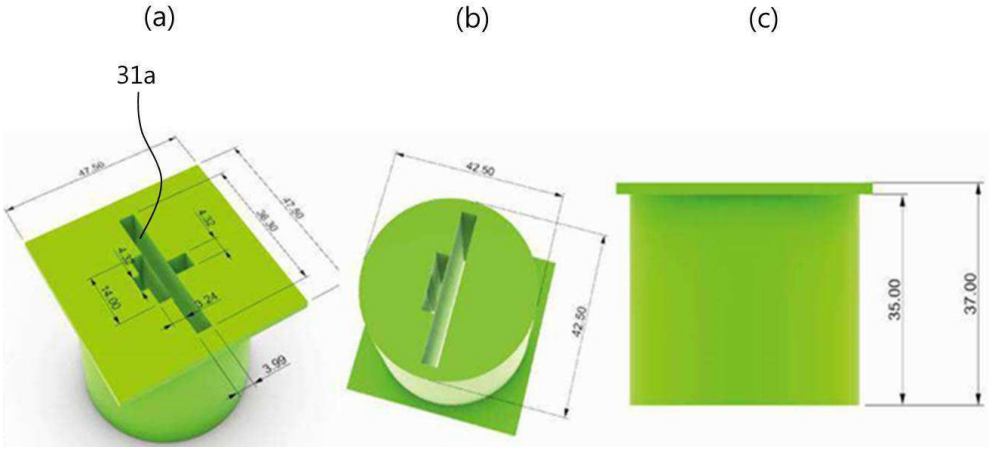
도면3


60
61
50
61
40
15
13

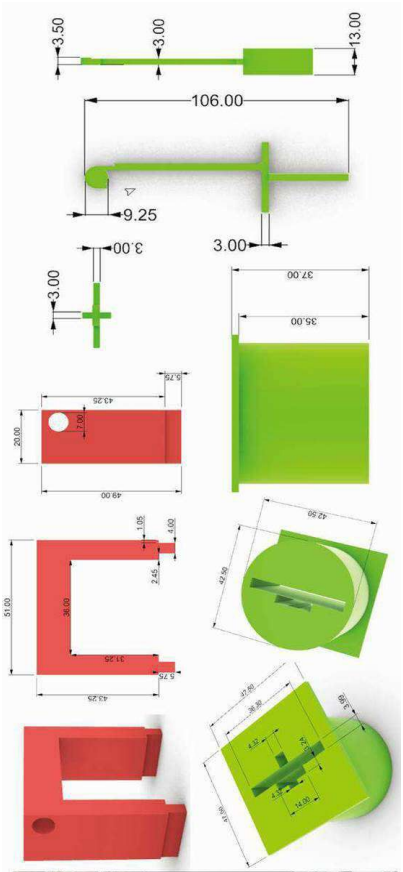
도면4

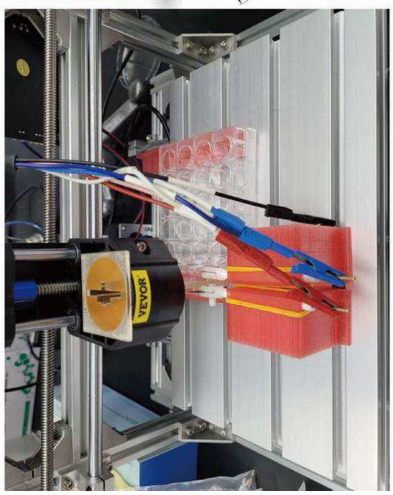

(a)
(b)
(c)
3.00
23
3.50
3.00
9.25
3.00
21
106.00
3.00
25
13.00

도면5

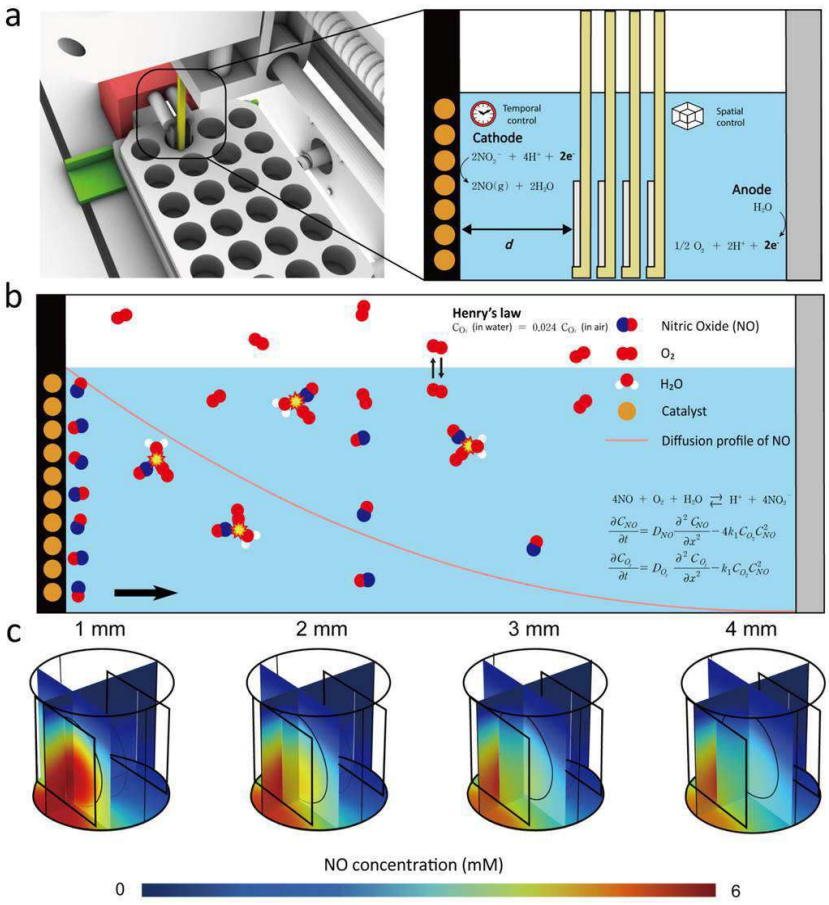


도면6

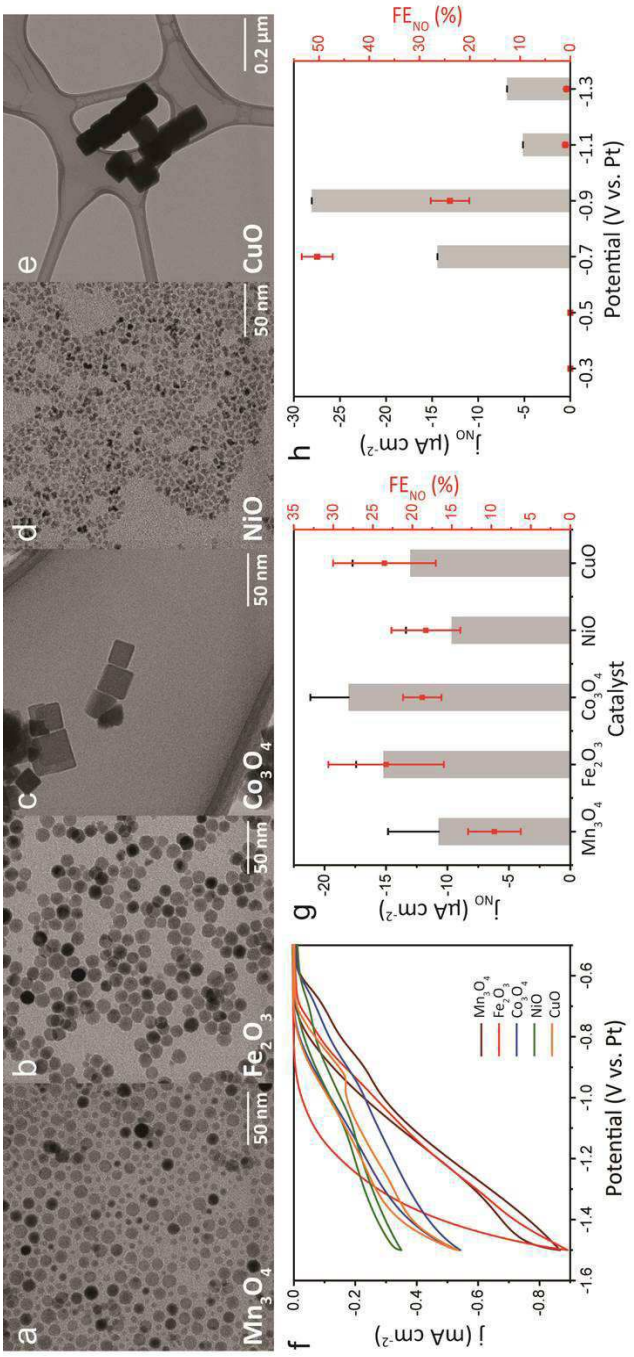

3.50
3.00
13.00
106.00
9.25
3.00
3.00
3.00
37.00
35.00
43.25
20.00
7.00
49.00
5.75
1.05
4.00
2.45
51.00
36.00
31.75
43.25
42.50
43.50
47.60
36.90
4.50
14.00
3.00
3.00
3.00


VEVOR

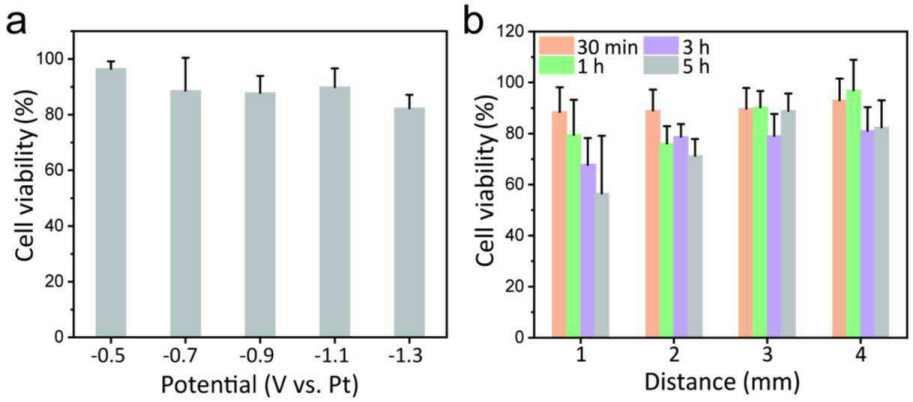
도면7


a
Temporal control
Cathode
$2NO_2^- + 4H^+ + 2e^-$
$2NO(g) + 2H_2O$
Spatial control
Anode
H_2O
$1/2\ O_2 + 2H^+ + 2e^-$
d
b
Henry's law
C_{O_2} (in water) = 0.024 C_{O_2} (in air)
Nitric Oxide (NO)
O_2
H_2O
Catalyst
Diffusion profile of NO
$4NO + O_2 + H_2O \rightleftarrows H^+ + 4NO_3^-$
$\frac{\partial C_{NO}}{\partial t} = D_{NO}\frac{\partial^2 C_{NO}}{\partial z^2} - 4k_1 C_{O_2} C_{NO}^2$
$\frac{\partial C_{O_2}}{\partial t} = D_{O_2}\frac{\partial^2 C_{O_2}}{\partial z^2} - k_1 C_{O_2} C_{NO}^2$
c
1 mm
2 mm
3 mm
4 mm
NO concentration (mM)
0
6

도면8


a
Mn3O4
b
50 nm
Fe2O3
c
50 nm
Co3O4
d
50 nm
NiO
e
0.2 μm
CuO
f
j (mA cm-2)
Potential (V vs. Pt)
Mn3O4
Fe2O3
Co3O4
NiO
CuO
g
jNO (μA cm-2)
FENO (%)
Catalyst
h
jNO (μA cm-2)
FENO (%)
Potential (V vs. Pt)

도면9


a
Cell viability (%)
100
80
60
40
20
0
-0.5
-0.7
-0.9
-1.1
-1.3
Potential (V vs. Pt)
b
30 min
1 h
3 h
5 h
Cell viability (%)
120
100
80
60
40
20
0
1
2
3
4
Distance (mm)