



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년05월15일
(11) 등록번호 10-1979145
(24) 등록일자 2019년05월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 3/06 (2006.01) B01L 3/00 (2006.01)
C12N 5/0797 (2010.01) G01N 33/50 (2017.01)
(52) CPC특허분류
C12M 23/16 (2013.01)
B01L 3/502761 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0011581
(22) 출원일자 2018년01월30일
심사청구일자 2018년01월30일
(56) 선행기술조사문헌
JP2015515263 A*
KR1020150056551 A*
JP2013507922 A
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
정봉근
경기도 과천시 관문로 143 (중앙동, 래미안 에코팰리스아파트) 1110동 1004호
김다은
서울특별시 마포구 대흥로 131, 401호
이종민
서울특별시 은평구 갈현로9길 16 (역촌동)
(74) 대리인
윤대웅, 공병욱

전체 청구항 수 : 총 7 항

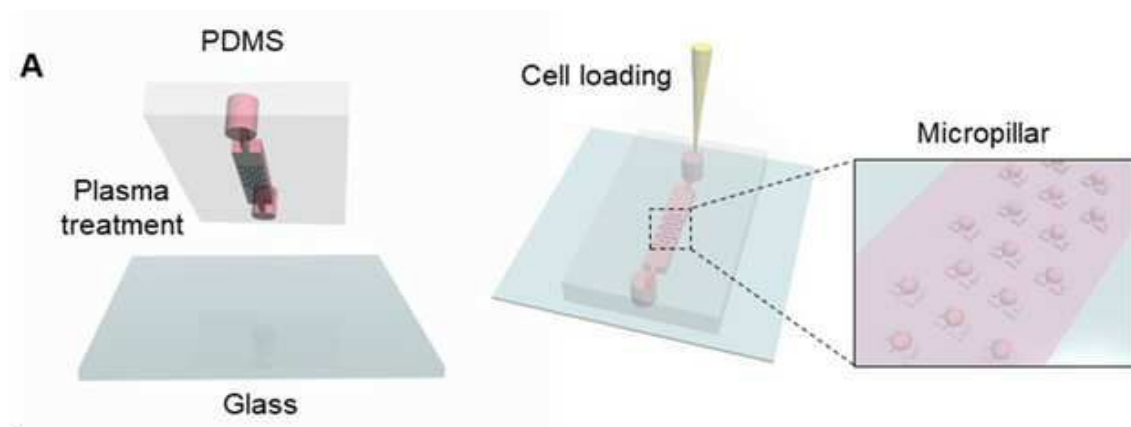
심사관 : 조상진

(54) 발명의 명칭 신경줄기세포 배양용 미세유체칩 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신경줄기세포 배양용 미세유체칩 및 상기 미세유체칩의 용도에 관한 것으로, 본 발명에 따른 미세유체칩에서는 균일한 크기로 신경구 형성이 가능하고, 신경세포로의 분화 및 신경망 형성이 가능하다. 본 발명의 미세유체칩은 신경줄기세포, 신경세포, 신경망 형성과 관련된 다양한 신경계 질환 연구에 사용될 수 있으며 신경계 질환과 관련된 약물 스크리닝 분야에서 매우 유용한 도구로 사용될 수 있다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

C12N 5/0623 (2013.01)

G01N 33/5058 (2013.01)

B01L 2200/0647 (2013.01)

B01L 2300/0848 (2013.01)

B01L 2300/088 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 HI14C3347

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 한국보건산업진흥원

연구사업명 상용화 공통기반기술개발사업

연구과제명 기능성 마이크로기술을 이용한 세포의 균질화 및 약물 스크리닝 시스템 개발

기 여 율 40/100

주관기관 서강대학교

연구기간 2017.12.01 ~ 2018.11.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017M3A7B4039937

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 나노소재원천기술개발

연구과제명 미세패터닝 기반 모듈칩 원터치 본딩 기술 개발

기 여 율 30/100

주관기관 서강대학교

연구기간 2017.07.01 ~ 2018.03.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015R1A2A1A15054236

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 중견도약 성과확산사업

연구과제명 기능성 나노재료와 Organ-on-a-Chip 기술을 이용한 뇌종양 진단 및 치료기술 개발

기 여 율 30/100

주관기관 서강대학교

연구기간 2016.11.01 ~ 2017.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

미세챔버를 포함하는 미세유체칩으로서,

상기 미세챔버는 신경줄기세포가 고정되는 마이크로 필라를 포함하며, 상기 마이크로 필라는 U자 형태로 배열된 제1유닛, 제2유닛, 제3유닛 및 제4유닛을 포함하고, 상기 제1유닛 및 제2유닛; 제2유닛 및 제3유닛; 및 제3유닛 및 제4유닛은 25 μm 내지 35 μm 간격으로 배열되며, 상기 제1유닛 및 제4유닛은 130 μm 내지 170 μm 간격으로 배열되어 상기 마이크로 필라의 폭을 형성하는 것인,

신경줄기세포 배양용 미세유체칩.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1 항에 있어서, 상기 미세챔버는 주입구(inlet) 및 배출구(outlet)를 포함하는 것인, 신경줄기세포 배양용 미세유체칩.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 미세챔버의 높이는 100 μm 내지 250 μm 인 것인, 신경줄기세포 배양용 미세유체칩.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 상기 미세챔버는 폴리디메틸실록산(poly(dimethylsiloxane), PDMS), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리아크릴레이트(polyacrylates), 폴리카보네이트(polycarbonates) 및 폴리사이클릭올레핀(polycyclic olefins)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상으로 이루어진 것인, 신경줄기세포 배양용 미세유체칩.

청구항 8

제 1 항 및 제 5 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 신경줄기세포 배양용 미세유체칩을 이용한 신경줄기세포 배양 방법.

청구항 9

제 1 항 및 제 5 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 신경줄기세포 배양용 미세유체칩에 신경줄기세포를 배양하여

신경망(neurite network)을 형성시키는 방법.

청구항 10

제 1 항 및 제 5 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 신경줄기세포 배양용 미세유체칩을 이용하여 신경계질환 치료제 약물 후보를 스크리닝 하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신경줄기세포 배양용 미세유체칩 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 신경줄기세포(Neural stem cells, NSCs)는 분화되지 않은 상태로 계속 증식하는 자가 증식(Self-renewal)이 가능한 세포이며, 신경세포(Neuron), 성상교세포(Astrocyte), 희소돌기 아교세포(Oligodendrocyte) 등으로 분화된다. 신경계는 인간의 생명 유지 활동에 필요한 대부분의 능력을 제어하는데 필수적이기 때문에, 신경계에 대한 메커니즘을 조사하는 연구가 많이 필요하다.

[0004] 일반적으로 말초신경계를 구성하는 신경세포의 신경돌기(Axon)가 물리적인 손상을 입었을 때, 일정 시간 후에 재생되어 기능을 회복한다고 알려져 있다. 하지만 정상 상태로 회복하기 위하여 오랜 시간이 걸릴 뿐 아니라, 중추신경계의 경우 신경세포가 손상을 입었을 때 대부분 회복하지 못하고 영구적으로 기능 상실 상태로 간다고 알려져 있다.

[0005] 실제 임상의학에서 신경계 질환을 근본적으로 치료하는 특별한 치료 방법이 없으며, 현재는 병에 의한 증상 호전적인 치료를 위한 치료법이 대부분이다. 많은 신경세포 연구가 지속되었지만 뇌는 일반적인 장기보다 복잡한 구조를 가지고 있어서, 2차원 환경에서 배양한 세포들과 실제 뇌의 구조와는 확연한 차이를 가진다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 마이크로 시스템을 이용하여 뇌의 구조나 기능을 조금 더 정밀하게 재현하고, 중추 신경계를 모사할 수 있는 신경계통의 세포를 이용하여 다양한 조건에서 배양하는 연구가 활발히 진행 중에 있다.

[0006] 마이크로 시스템은 소량의 유체로 손쉽게 다양한 실험을 진행할 수 있고, 실험에 드는 비용을 감소할 수 있으며, 더욱 정확하고 민감한 데이터를 얻을 수 있는 장점이 있다. 이에, 마이크로 시스템을 사용하여 세포의 미세 환경을 모사하거나, 약물 스크리닝을 하는 등의 연구가 다양하게 진행되고 있다. 마이크로 시스템을 이용한 동물세포 배양 방법이 다수 연구되고 있지만, 이러한 방법들은 중력에 의존하여 세포를 트랩하는 원리를 이용하기 때문에 세포가 웰에서 안정적으로 트랩되지 않고, 화학적인 약물이나 배양액 교체 시에 세포가 쉽게 손실된다는 단점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 종래 미세유체칩의 기술적인 단점들을 극복하고자 연구 노력하였고, 그 결과, 신경구 크기의 조절이 가능하고, 신경세포 분화 및 신경망 형성이 가능하며 신경망에 대한 약물의 영향을 분석할 수 있는 신경줄기세포 배양용 미세유체칩을 개발하였다.

[0009] 이에, 본 발명의 목적은 신경줄기세포 배양용 미세유체칩을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 신경줄기세포 배양용 미세유체칩을 이용한 신경줄기세포 배양 방법을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 다른 목적은 신경줄기세포 배양용 미세유체칩에 신경줄기세포를 배양하여 신경망(neurite network)을 형성시키는 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 신경줄기세포 배양용 미세유체칩을 이용하여 신경계 질환 치료제 약물 후보를 스크리닝 하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0014] 본 발명은 신경줄기세포 배양용 미세유체칩 및 상기 미세유체칩의 용도에 관한 것이다.
- [0015] 이하 본 발명을 더욱 자세히 설명하고자 한다.
- [0016] 기존의 미세유체칩은 신경구를 균일한 크기로 배양하는데 어려움이 있었고 미세유체칩 내에서 신경구를 신경세포로 분화시키고 신경망 형성을 유도하는데 적합하지 않다는 단점이 있었다. 또한, 기존의 미세유체칩에서는 약물을 통하여 신경망을 조절하는 것이 어려우며 실험 방법도 복잡했다.
- [0017] 이에, 본 발명자들은 균일한 크기로 신경구를 배양할 수 있으며, 신경세포로의 분화 및 신경망 형성을 조절할 수 있는 미세유체칩을 개발하였다.
- [0018] 본 발명의 일 양태는 신경줄기세포 배양용 미세유체칩에 관한 것이다.
- [0019] 본 발명의 미세유체칩은 미세챔버를 포함하는 미세유체칩으로서, 상기 미세챔버는 신경세포가 트랩되는 마이크로 필라를 포함하는 것일 수 있다.
- [0020] 상기 미세챔버는 신경줄기세포가 배양되는 챔버로서, 신경줄기세포 배양을 통해 신경돌기가 형성되는 공간을 의미한다.
- [0021] 배양 중인 신경줄기세포의 가장 큰 특징은 세포가 자유롭게 떠다니는 세포 덩어리 형태의 신경구를 만들면서 증식한다는 것으로, 상기 미세챔버에서 배양되는 신경줄기세포는 신경구(neurosphere) 형태로 주입되는 것일 수 있다.
- [0022] 상기 미세챔버는 세포 시료 및 배양액을 공급할 수 있는 주입구(inlet) 및 배양액이 배출될 수 있는 배출구(outlet)를 포함할 수 있다.
- [0023] 상기 미세챔버는 100 μm 내지 250 μm , 100 μm 내지 240 μm , 100 μm 내지 230 μm , 100 μm 내지 220 μm , 100 μm 내지 210 μm , 100 μm 내지 200 μm , 100 μm 내지 190 μm , 100 μm 내지 180 μm , 100 μm 내지 170 μm , 100 μm 내지 160 μm , 100 μm 내지 150 μm , 110 μm 내지 250 μm , 110 μm 내지 240 μm , 110 μm 내지 230 μm , 110 μm 내지 220 μm , 110 μm 내지 210 μm , 110 μm 내지 200 μm , 110 μm 내지 190 μm , 110 μm 내지 180 μm , 110 μm 내지 170 μm , 110 μm 내지 160 μm , 110 μm 내지 150 μm , 120 μm 내지 250 μm , 120 μm 내지 240 μm , 120 μm 내지 230 μm , 120 μm 내지 220 μm , 120 μm 내지 210 μm , 120 μm 내지 200 μm , 120 μm 내지 190 μm , 120 μm 내지 180 μm , 120 μm 내지 170 μm , 120 μm 내지 160 μm , 120 μm 내지 150 μm , 130 μm 내지 250 μm , 130 μm 내지 240 μm , 130 μm 내지 230 μm , 130 μm 내지 220 μm , 130 μm 내지 210 μm , 130 μm 내지 200 μm , 130 μm 내지 190 μm , 130 μm 내지 180 μm , 130 μm 내지 170 μm , 130 μm 내지 160 μm , 130 μm 내지 150 μm , 140 μm 내지 250 μm , 140 μm 내지 240 μm , 140 μm 내지 230 μm , 140 μm 내지 220 μm , 140 μm 내지 210 μm , 140 μm 내지 200 μm , 140 μm 내지 190 μm , 140 μm 내지 180 μm , 140 μm 내지 170 μm , 140 μm 내지 160 μm , 140 μm 내지 150 μm , 150 μm 내지 250 μm , 150 μm 내지 240 μm , 150 μm 내지 230 μm , 150 μm 내지 220 μm , 150 μm 내지 210 μm , 150 μm 내지 200 μm , 150 μm 내지 190 μm , 150 μm 내지 180 μm , 150 μm 내지 170 μm 또는 150 μm 내지 160 μm 의 높이로 제조될 수 있고, 예를 들어, 150 μm 의 높이로 제조될 수 있다.
- [0024] 상기 미세챔버는 다각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 다각형은 삼각형, 사각형 또는 육각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 예를 들어, 정삼각형, 이등변삼각형, 직각삼각형, 정사각형, 직사각형, 사다리꼴, 마름모, 또는 정육각형인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0025] 상기 미세챔버의 크기는 1.0 mm x 20.0 mm, 1.0 mm x 19.0 mm, 1.0 mm x 18.0 mm, 1.0 mm x 17.0 mm, 1.0 mm x 16.0 mm, 1.0 mm x 15.0 mm, 1.0 mm x 14.0 mm, 1.0 mm x 13.0 mm, 1.0 mm x 12.0 mm, 1.0 mm x 11.0 mm, 1.0 mm x 10.0 mm, 1.0 mm x 9.0 mm, 1.0 mm x 8.5 mm, 1.1 mm x 20.0 mm, 1.1 mm x 19.0 mm, 1.1 mm x 18.0 mm, 1.1 mm x 17.0 mm, 1.1 mm x 16.0 mm, 1.1 mm x 15.0 mm, 1.1 mm x 14.0 mm, 1.1 mm x 13.0 mm, 1.1 mm x 12.0 mm, 1.1 mm x 11.0 mm, 1.1 mm x 10.0 mm, 1.1 mm x 9.0 mm, 1.1 mm x 8.5 mm, 1.2 mm x 20.0 mm, 1.2 mm x 19.0 mm, 1.2 mm x 18.0 mm, 1.2 mm x 17.0 mm, 1.2 mm x 16.0 mm, 1.2 mm x 15.0 mm, 1.2 mm x 14.0 mm, 1.2 mm x 13.0 mm, 1.2 mm x 12.0 mm, 1.2 mm x 11.0 mm, 1.2 mm x 10.0 mm, 1.2 mm x 9.0 mm, 1.2 mm x 8.5 mm, 1.3 mm x 20.0 mm, 1.3 mm x 19.0 mm, 1.3 mm x 18.0 mm, 1.3 mm x 17.0 mm, 1.3 mm x 16.0 mm, 1.3 mm x 15.0 mm, 1.3 mm x 14.0 mm, 1.3 mm x 13.0 mm, 1.3 mm x 12.0 mm, 1.3 mm x 11.0 mm, 1.3 mm x 10.0 mm, 1.3 mm x 9.0 mm, 1.3 mm x 8.5 mm, 1.4 mm x 20.0 mm, 1.4 mm x 19.0 mm, 1.4 mm x 18.0 mm, 1.4 mm x 17.0 mm, 1.4 mm x 16.0 mm, 1.4 mm x 15.0 mm, 1.4

mm x 14.0 mm, 1.4 mm x 13.0 mm, 1.4 mm x 12.0 mm, 1.4 mm x 11.0 mm, 1.4 mm x 10.0 mm, 1.4 mm x 9.0 mm, 1.4 mm x 8.5 mm, 1.5 mm x 20.0 mm, 1.5 mm x 19.0 mm, 1.5 mm x 18.0 mm, 1.5 mm x 17.0 mm, 1.5 mm x 16.0 mm, 1.5 mm x 15.0 mm, 1.5 mm x 14.0 mm, 1.5 mm x 13.0 mm, 1.5 mm x 12.0 mm, 1.5 mm x 11.0 mm, 1.5 mm x 10.0 mm 또는 1.5 mm x 9.0 mm 일 수 있고, 예를 들어, 1.5 mm x 8.5 mm 일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0026] 상기 미세챔버는 폴리디메틸실록산(poly(dimethylsiloxane), PDMS), 폴리메틸메타크릴레이트(polymethylmethacrylate, PMMA), 폴리아크릴레이트(polyacrylates), 폴리카보네이트(polycarbonates) 및 폴리카이클올레핀(polycyclic olefins)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1 종 이상으로 이루어진 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 상기 미세챔버는 폴리디메틸실록산(poly(dimethylsiloxane), PDMS)로 이루어진 것일 수 있다.

[0027] 상기 미세챔버는 마이크로 필라를 포함할 수 있다.

[0028] 상기 마이크로 필라는 미세챔버로 주입된 신경줄기세포가 트랩되어 배양되는 공간을 의미한다.

[0029] 상기 마이크로 필라에 의해 미세챔버를 통해 마이크로 필라 구조 내로 주입되는 세포 시료 및 배양액으로부터 세포가 트랩되어 유실되는 것을 방지할 수 있다. 세포 배양액 교체 또는 약물 처리를 위해 미세챔버 내로 배양액 또는 약물을 주입하는 경우, 압력과 유속에 의해 세포 유실 또는 손상이 발생할 수 있으나, 마이크로 필라에 의해 미세챔버 내에서 유체의 흐름이 차단되어 세포 유실을 방지하고, 높은 세포 생존율을 유지할 수 있도록 한다.

[0030] 상기 마이크로 필라는 각각 이격된 4개의 유닛으로 구성되며, 상기 4개 유닛은 U자 형태로 미세챔버 내에 배열될 수 있다.

[0031] 상기 4개 유닛은 제1유닛, 제2유닛, 제3유닛 및 제4유닛을 포함하고, 제1유닛부터 차례대로 U자 형태로 배열될 수 있다. 마이크로 필라의 폭은 제1유닛 및 제4유닛의 배열을 통해 결정될 수 있다.

[0032] 상기 제1유닛 및 제2유닛, 제2유닛 및 제3유닛, 그리고 제3유닛 및 제4유닛은 10 μ m 내지 50 μ m, 10 μ m 내지 45 μ m, 10 μ m 내지 40 μ m, 10 μ m 내지 35 μ m, 10 μ m 내지 30 μ m, 15 μ m 내지 50 μ m, 15 μ m 내지 45 μ m, 15 μ m 내지 40 μ m, 15 μ m 내지 35 μ m, 15 μ m 내지 30 μ m, 20 μ m 내지 50 μ m, 20 μ m 내지 45 μ m, 20 μ m 내지 40 μ m, 20 μ m 내지 35 μ m, 20 μ m 내지 30 μ m, 25 μ m 내지 50 μ m, 25 μ m 내지 45 μ m, 25 μ m 내지 40 μ m, 25 μ m 내지 35 μ m 또는 25 μ m 내지 30 μ m의 간격으로 배열될 수 있고, 예를 들어, 30 μ m의 간격으로 배열될 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0033] 상기 마이크로 필라의 폭은 50 μ m 내지 300 μ m, 50 μ m 내지 280 μ m, 50 μ m 내지 260 μ m, 50 μ m 내지 240 μ m, 50 μ m 내지 220 μ m, 50 μ m 내지 200 μ m, 50 μ m 내지 190 μ m, 50 μ m 내지 180 μ m, 50 μ m 내지 170 μ m, 50 μ m 내지 160 μ m, 50 μ m 내지 150 μ m, 75 μ m 내지 300 μ m, 75 μ m 내지 280 μ m, 75 μ m 내지 260 μ m, 75 μ m 내지 240 μ m, 75 μ m 내지 220 μ m, 75 μ m 내지 200 μ m, 75 μ m 내지 190 μ m, 75 μ m 내지 180 μ m, 75 μ m 내지 170 μ m, 75 μ m 내지 160 μ m, 75 μ m 내지 150 μ m, 100 μ m 내지 300 μ m, 100 μ m 내지 280 μ m, 100 μ m 내지 260 μ m, 100 μ m 내지 240 μ m, 100 μ m 내지 220 μ m, 100 μ m 내지 200 μ m, 100 μ m 내지 190 μ m, 100 μ m 내지 180 μ m, 100 μ m 내지 170 μ m, 100 μ m 내지 160 μ m, 100 μ m 내지 150 μ m, 110 μ m 내지 300 μ m, 110 μ m 내지 280 μ m, 110 μ m 내지 260 μ m, 110 μ m 내지 240 μ m, 110 μ m 내지 220 μ m, 110 μ m 내지 200 μ m, 110 μ m 내지 190 μ m, 110 μ m 내지 180 μ m, 110 μ m 내지 170 μ m, 110 μ m 내지 160 μ m, 110 μ m 내지 150 μ m, 120 μ m 내지 300 μ m, 120 μ m 내지 280 μ m, 120 μ m 내지 260 μ m, 120 μ m 내지 240 μ m, 120 μ m 내지 220 μ m, 120 μ m 내지 200 μ m, 120 μ m 내지 190 μ m, 120 μ m 내지 180 μ m, 120 μ m 내지 170 μ m, 120 μ m 내지 160 μ m, 120 μ m 내지 150 μ m, 130 μ m 내지 300 μ m, 130 μ m 내지 280 μ m, 130 μ m 내지 260 μ m, 130 μ m 내지 240 μ m, 130 μ m 내지 220 μ m, 130 μ m 내지 200 μ m, 130 μ m 내지 190 μ m, 130 μ m 내지 180 μ m, 130 μ m 내지 170 μ m, 130 μ m 내지 160 μ m, 130 μ m 내지 150 μ m, 140 μ m 내지 300 μ m, 140 μ m 내지 280 μ m, 140 μ m 내지 260 μ m, 140 μ m 내지 240 μ m, 140 μ m 내지 220 μ m, 140 μ m 내지 200 μ m, 140 μ m 내지 190 μ m, 140 μ m 내지 180 μ m, 140 μ m 내지 170 μ m, 140 μ m 내지 160 μ m, 140 μ m 내지 150 μ m, 150 μ m 내지 300 μ m, 150 μ m 내지 280 μ m, 150 μ m 내지 260 μ m, 150 μ m 내지 240 μ m, 150 μ m 내지 220 μ m, 150 μ m 내지 200 μ m, 150 μ m 내지 190 μ m, 150 μ m 내지 180 μ m, 150 μ m 내지 170 μ m 또는 150 μ m 내지 160 μ m로 제조될 수 있고, 예를 들어, 150 μ m로 제조될 수 있다.

- [0034] 상기 미세챔버 내에 배열되는 마이크로 필라 간의 간격 비율은 0.1 내지 10:1, 0.1 내지 9:1, 0.1 내지 8:1, 0.1 내지 7:1, 0.1 내지 6:1, 0.1 내지 5:1, 0.1 내지 4:1, 0.1 내지 3:1, 0.1 내지 2:1, 0.1 내지 1:1, 0.5 내지 10:1, 0.5 내지 9:1, 0.5 내지 8:1, 0.5 내지 7:1, 0.5 내지 6:1, 0.5 내지 5:1, 0.5 내지 4:1, 0.5 내지 3:1, 0.5 내지 2:1, 0.5 내지 1:1, 1 내지 10:1, 1 내지 9:1, 1 내지 8:1, 1 내지 7:1, 1 내지 6:1, 1 내지 5:1, 1 내지 4:1, 1 내지 3:1 또는 1 내지 2:1인 것일 수 있고, 예를 들어, 1:1인 것일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0036] 본 발명의 다른 양태는 신경줄기세포 배양용 미세유체칩을 이용한 신경줄기세포 배양 방법에 관한 것이다.
- [0037] 상기 미세유체칩은 신경줄기세포 배양에 이용될 수 있다.
- [0038] 상기 미세유체칩을 이용한 신경줄기세포 배양 방법은 주입구를 통해 미세채널로 세포를 함유한 배양액을 주입하여 마이크로 필라에 세포를 트랩하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 미세유체칩은 특히 신경구 형태의 신경줄기세포의 배양에 적용될 수 있으며, 미세채널에 포함된 주입구 및 배출구를 통해 배양액의 변경을 통해 신경줄기세포의 분화를 유도할 수 있다.
- [0041] 본 발명의 다른 양태는 신경줄기세포 배양용 미세유체칩에 신경줄기세포를 배양하여 신경망(neurite network)을 형성시키는 방법에 관한 것이다.
- [0042] 상기 미세유체칩은 신경줄기세포 배양을 통해 신경망을 형성시키는데 이용될 수 있다.
- [0043] 상기 신경줄기세포 배양 방법으로 세포를 배양하여 신경줄기세포의 분화를 유도하는 경우, 신경세포로부터 신경돌기가 효과적으로 형성되며 그에 따라 이격되어 있는 마이크로 필라 사이에 신경망이 형성된다.
- [0045] 본 발명의 또 다른 양태는 신경줄기세포 배양용 미세유체칩을 이용하여 신경계질환 치료제 약물 후보를 스크리닝 하는 방법에 관한 것이다.
- [0046] 상기 미세유체칩은 신경줄기세포 배양을 통해 신경세포로의 분화를 유도할 수 있으며, 상기 신경세포에 신경계질환 치료제 약물 후보를 처리하여 약물에 따른 신경세포의 반응을 확인함으로써 약물의 효능을 평가할 수 있다.
- [0047] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 미세유체칩에 신경줄기세포를 배양하여 신경세포로의 분화를 유도한 다음, 신경세포를 사멸 또는 손상시키는 약물을 처리하고 신경계 질환 치료제 약물 후보를 처리한 후 약물 후보 처리에 따른 신경세포의 반응을 확인하여 상기 약물 후보가 신경세포의 사멸 또는 손상을 억제시키는 경우, 상기 약물 후보가 신경계 질환 치료제의 후보물질인 것으로 판단할 수 있다.
- [0048] 상기 신경계 질환은 신경 퇴행성 질환, 뇌경색, 뇌종양, 뇌염, 뇌외상, 편두통, 다발성경화증, 뇌변성질환, 허혈에 의한 질환 또는 뇌출혈에 의한 질환을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0049] 상기 신경 퇴행성 질환은 알츠하이머병, 헌팅톤 병, 파킨슨 병 또는 근위축성 측삭 경화증일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0051] 본 발명은 신경줄기세포 배양용 미세유체칩 및 상기 미세유체칩의 용도에 관한 것으로, 본 발명에 따른 미세유체칩에서는 균일한 크기로 신경구 형성이 가능하고, 신경세포로의 분화 및 신경망 형성이 가능하다. 본 발명의 미세유체칩은 신경줄기세포, 신경세포, 신경망 형성과 관련된 다양한 신경계 질환 연구에 사용될 수 있으며 신경계 질환과 관련된 약물 스크리닝 분야에서 매우 유용한 도구로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0053] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체칩의 모식도이다.
- 도 1b는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체칩에 대한 사진이다.
- 도 1c는 본 발명의 일 실시예에 따른 신경구를 잡는 바구니 모양의 마이크로 필라에 대한 형광사진이다.
- 도 1d는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체칩 내 미세채널에 대한 모식도이다.
- 도 1e는 본 발명의 일 실시예에 따른 미세유체칩 내 미세채널에 패터닝되는마이크로 필라에 대한 배치도이다.

도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따른 신경구 세포 주입 후 세포의 생존을 확인을 위한 세포 생존 분석 형광 사진이다.

도 2b는 본 발명의 일 실시예에 따른 마이크로 필라의 폭에 대한 사진이다.

도 2c는 본 발명의 일 실시예에 따른 75 μm 폭의 마이크로 필라에 배양한 세포 고정 사진이다.

도 2d는 본 발명의 일 실시예에 따른 150 μm 폭의 마이크로 필라에 배양한 세포 고정 사진이다.

도 2e는 본 발명의 일 실시예에 따른 300 μm 폭의 마이크로 필라에 배양한 세포 고정 사진이다.

도 2f는 본 발명의 일 실시예에 따라 미세유체칩에 세포 주입 1일 및 3일 후 세포 생존율을 분석한 그래프이다.

도 2g는 본 발명의 일 실시예에 따라 마이크로 필라의 폭 변화에 대한 신경구 세포의 크기를 분석한 그래프이다.

도 2h는 본 발명의 일 실시예에 따라 마이크로 필라의 폭 변화에 대한 신경구 세포의 종횡비를 분석한 그래프이다.

도 3a는 본 발명의 일 실시예에 따라 Glass 표면에서 배양한 신경줄기세포를 공초점현미경으로 촬영한 사진이다.

도 3b는 본 발명의 일 실시예에 따라 미세유체칩 표면에서 배양한 신경줄기세포를 공초점현미경으로 촬영한 사진(저배율)이다.

도 3c는 본 발명의 일 실시예에 따라 미세유체칩 표면에서 배양한 신경줄기세포를 공초점현미경으로 촬영한 사진(고배율)이다.

도 3d는 본 발명의 일 실시예에 따라 세포의 배양 표면 차이에 의한 신경돌기의 길이를 분석한 그래프이다.

도 3e는 본 발명의 일 실시예에 따라 세포의 배양 표면 차이에 의한 신경돌기의 개수를 분석한 그래프이다.

도 4a는 본 발명의 일 실시예에 따라 Glass 표면에서 배양한 신경세포를 공초점현미경으로 촬영한 사진이다.

도 4b는 본 발명의 일 실시예에 따라 Glass 표면에서 배양한 신경세포를 Thapsigargin 처리 후 공초점현미경으로 촬영한 사진이다.

도 4c는 본 발명의 일 실시예에 따라 미세유체칩 표면에서 배양한 신경세포를 Thapsigargin 처리 후 공초점현미경으로 촬영한 사진이다.

도 4d는 본 발명의 일 실시예에 따라 미세유체칩 표면에서 배양한 신경세포를 공초점현미경을 촬영한 사진(저배율)이다.

도 5a는 본 발명의 일 실시예에 따라 세포의 배양 표면 차이에 의한 신경돌기의 길이를 분석한 그래프이다.

도 5b는 본 발명의 일 실시예에 따라 세포의 배양 표면 차이에 의한 신경돌기의 개수를 분석한 그래프이다.

도 5c는 본 발명의 일 실시예에 따라 세포의 배양 표면 차이에 의한 신경세포의 Apoptosis의 비율을 분석한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0054] 이하, 본 발명을 하기의 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐이며, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의하여 한정되는 것은 아니다.

[0056] 실시예 1. 미세유체칩의 설계 및 제작

[0057] 신경줄기세포를 분화시켜 신경돌기로 네트워크를 형성하기 위한 미세유체칩을 개발하였다. 신경줄기세포의 성장과 분화를 유도하기 위한 미세유체칩의 챔버를 패터닝하기 위하여 반도체 제조공정인 포토리소그래피(Photolithography) 기술을 이용하였다. 150 μm 높이의 챔버를 만들기 위하여 AutoCAD(Autodesk)를 사용하여 신경구를 잡을 수 있는 마이크로 필라를 포함하는 포토 마스크를 만들고, Su-8 포토레지스트(Photoresist)가 도포된 4인치 실리콘 웨이퍼(Wanxiang Silicon Peak Electronics)를 스핀 코트하여(2,000 rpm, 60초) 65℃의 온도에서 20분 동안 프리 베이킹한 후 95℃의 온도에서 50분 동안 소프트 베이킹 하였다. 그렇게 처리된 실리콘 웨

이퍼의 포토레지스터는 UV 광선에 마스크필름을 통과하여 30초 동안 노출시켰다.

[0058] 자외선(UV) 노광 및 포스트 베이킹 단계 후에, SU-8 디벨로퍼(Microchem corp.)를 사용하여 현상되지 않은 포토레지스터를 제거하였다. 이러한 방법으로 패터닝된 실리콘 웨이퍼는 트라이메틸클로로실레인(Chlorotrimethylsilane, Sigma Aldrich)을 사용하여 전처리하였다. 그 후 실리콘 중합체와 경화제(Microchem Corp)의 혼합물(10:1 비율)을 사용하여 실리콘 웨이퍼 위에 부어 PDMS(Polydimethylsiloxane) 스탬프를 생성하였다. 마이크로 패터닝된 실리콘 웨이퍼 위의 PDMS 프리-폴리머 용액을 30분 동안 진공 챔버에 넣어 공기 방울을 제거한 후 80℃에서 2시간 동안 경화시켰다. 경화된 PDMS 스탬프는 실리콘 웨이퍼로부터 조심스럽게 떼어 실험을 진행하였다. 신경구를 배양할 수 있는 미세유체칩은 챔버를 포함하고 있는 PDMS와 2x2 cm의 유리(glass)에 산소 플라즈마(Femto Scientific) 결합을 사용하여 수직으로 결합되었다.

[0059] 도 1a에서 확인할 수 있듯이, 신경줄기세포 분화와 신경돌기 네트워크 형성 조절을 위한 미세유체칩은 마이크로 채널로 구성되어 있다. 직선채널은 신경구가 배양되는 챔버이며 150 μm 폭의 신경구를 수월하게 고정하여 신경구를 배양하기 위하여 높이 150 μm 를 가지도록 설계되었다. 신경줄기세포와 배양액을 혼합하여 주입구를 통해 신경구를 주입하여 마이크로 필라에 균일하게 들어가도록 하였다.

[0060] 또한, 신경구가 균일하게 배열될 수 있도록 바구니 모양의 마이크로 필라(150 μm 폭)(PDMS)가 일정한 간격으로 패터닝 되어있다(도 1a). 이러한 마이크로 필라는 20개로 구성되어 관찰하고자 하는 적은 수의 신경구 숫자를 쉽게 제한할 수 있다.

[0061] 또한, 원하는 부분에 신경구를 위치시키는데 사용되었으며, 배양액의 교체나 면역염색 과정에서 유체의 흐름에 의해 떠내려가는 신경구의 유실을 막을 수 있도록 설계하였다. 하나의 선으로 연결되어 신경구를 담는 모양의 마이크로 필라가 아니라, 4개의 선으로 구성되어 유체가 선과 선 사이의 간격으로 빠져나가면서 난류의 생성을 억제할 수 있게 설계되었다(도 1c). 그로 인해, 마이크로 필라와 유체가 부딪치면서 생길 수 있는 난류로 신경구가 유체의 흐름에 의해 유실되지 않도록 설계하였다.

[0063] 실시예 2. 신경줄기세포 배양 및 분화

[0064] 2-1. 신경줄기세포 배양

[0065] 신경줄기세포를 얻기 위하여 E12 C57BL / 6 마우스(Daehan Biolink)의 대뇌 피질과 척수 조직을 절개하고 accutase(Innovation Cell Technology)와 함께 37℃에서 5분간 배양하였다. 대뇌 피질 세포를 초저부착 표면 세포 배양 플레이트에서 배양하고 N2, 2% B27 보충제 및 1% 페니실린 - 스트렙토 마이신을 함유하는 DMEM / F12 배지에서 염기성 섬유 아세포 성장 인자 및 표피 성장 인자가 섞인 배양액을 이용하여 3일 동안 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 신경구(neurosphere)로 유지시켰다.

[0066] 3일 동안 배양하였을 때 신경구의 크기는 약 100-150 μm 이며, 비접착세포 상태로 배양하여 자연스럽게 형성된 신경구를 마이크로 필라가 패터닝된 챔버에 주입하였다. 미세유체칩 상에 주입된 신경구는 매일 배양액을 교체하고 6일 동안 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하여 신경줄기세포의 분화를 확인하였다.

[0067] 신경줄기세포 분화 조절을 위한 기능성 미세유체칩에서의 신경구 생존율을 확인하기 위하여 미세유체칩에 신경구를 로딩한 후 1일과 3일차에 Live & Dead assay(Calcein AM, Ethidium homodimer-1, Invitrogen)를 사용하여 분석하였다. 신경구는 5 ml의 PBS에 calcein AM 2 μl 와 ethidium homodimer 10 μl 이 녹아 있는 용액을 200 μl 를 주입하여 40분간 37℃, 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. 공 초점 레이저 스캐닝 현미경(LSM 710, Carl Zeiss)을 사용하여 살아있는 세포와 죽은 세포의 형광 이미지를 관찰하고 촬영하였다.

[0069] 2-2. 신경줄기세포 생존율 확인

[0070] PDMS는 작은 구멍들을 통해 기체의 교환이 이루어진다고 알려져 있어 바이오칩에 많이 사용되는 물질이다. 하지만 PDMS의 표면처리나 PDMS의 두께 등 여러 조건에 따라 기체교환이 잘 이루어지지 않는 경우도 있다. 신경줄기세포가 미세유체칩에서 잘 자라는지 확인하기 위하여 생존율 확인 연구를 진행하였다.

[0071] 먼저 150 μm 폭 마이크로 필라가 패터닝된 미세유체칩에 신경줄기세포 유래 신경구를 주입하였다. 신경구가 일정하게 마이크로 필라에 고정된 것을 확인한 후, 24시간 마다 배양액을 교체하여 신경구가 분화할 수 있는 환경을 유지하였다.

[0072] 신경구를 미세유체칩에 주입 후 배양된 신경구의 생존율을 알아보기 위해 Live & Dead assay(calcein AM, ethidium homodimer-1)로 염색하여 1일차, 3일차의 신경구의 생존율을 확인한 결과, 도 2f 및 표 1에서 확인할

수 있듯이, 90% 이상의 세포가 대부분 생존한 것을 확인하였다. 이로 인하여 신경줄기세포 분화와 신경돌기 네트워크 형성 조절을 위한 기능성 미세유체칩이 신경줄기세포 분화를 위한 환경을 제공할 수 있다는 것을 확인하였다.

표 1

-	DAY 1	DAY 3
평균 생존율	96.2	93.0
표준편차	1.0	3.0

2-3. 마이크로 필라의 최적화

신경구를 고정하는 마이크로 필라의 폭을 최적화 하기 위하여 각각의 폭(75, 150, 300 μm)을 가지는 마이크로 필라에 신경구를 주입하여 신경구의 트랩을 확인하였다. 마이크로 필라의 폭에 따른 신경구의 폭과 종횡비의 정량화는 Image J 소프트웨어로 분석되었다.

도 2c에서 확인할 수 있듯이, 75 μm 폭의 마이크로 필라의 경우, 형성된 신경구에 비해 마이크로 필라가 너무 작아서 작은 크기의 일부 신경구만이 트랩되었으며, 대부분의 신경구가 제대로 트랩되지 않고 밖으로 빠져 나오는 것을 확인하였다. 또한, 도 2h에서 확인할 수 있듯이, 신경구의 종횡비를 관찰하였을 때, 75 μm 폭의 마이크로 필라의 경우, 세로로 긴 타원형을 유지하는 것을 확인하였다.

도 2e에서 확인할 수 있듯이, 300 μm 폭의 마이크로 필라의 경우, 신경구가 가득 차지 않았다. 평균적인 신경구의 크기가 300 μm 에 미치지 못하고 200 μm 의 크기를 가지는 것을 확인하였다. 또한, 도 2h에서 확인할 수 있듯이, 종횡비를 관찰하였을 때, 300 μm 폭의 마이크로 필라의 경우, 가로가 긴 타원형에 가깝게 신경구가 트랩된 것을 확인하였다.

그에 비해 150 μm 폭의 마이크로 필라의 경우, 도 2d에서 확인할 수 있듯이, 신경구의 폭이 평균적으로 150 μm 의 폭을 가진 것으로 확인하였다. 또한, 도 2h에서 확인할 수 있듯이, 신경구의 종횡비를 조사하였을 때, 150 μm 폭의 마이크로 필라의 경우, 원형에 가까운 형태를 띠고 있었다. 이러한 결과를 토대로 150 μm 의 마이크로 필라가 신경세포를 가장 균일한 크기로 조절할 수 있다는 것을 확인하였다.

실시예 3. 마이크로 필라 유무에 따른 세포 분화 비교

미세유체칩에 있어서 마이크로 필라 유무에 따른 세포 분화를 비교하기 위해 상기 실시예 1에서 제조한 본 발명의 미세유체칩과 마이크로 필라가 패터닝 되어 있지 않은 Glass 표면의 대조군에 신경구를 배양하였다.

도 3d 및 표 2에서 확인할 수 있듯이, Glass 표면의 대조군과 미세채널 및 마이크로 필라를 포함하는 본 발명의 미세유체칩에 각각 신경구를 6일 동안 배양하여 측정된 신경구의 신경돌기 길이는 각각 약 200 μm 및 약 170 μm 를 나타냈다.

표 2

-	Glass	Device
길이(μm)	196	168.151
표준편차	25.1	23.49

도 3e 및 표 3에서 확인할 수 있듯이, Glass 표면의 대조군과 마이크로 채널 및 마이크로 필라를 포함하는 본 발명의 미세유체칩에서 배양한 신경구의 신경돌기 개수는 각각 약 56개 및 약 50개로 유사하게 나타났다.

표 3

-	Glass	Device
개수	56	50.33333
표준편차	4.35	7.23

Glass 표면의 대조군과 마이크로 채널 및 마이크로 필라를 포함하는 본 발명의 미세유체칩에서 배양한 신경구의 신경돌기 길이 및 개수는 유사하게 나타났고, 이를 통해 본 발명의 미세유체칩이 신경세포로 분화할 수 있는 환

경을 제공할 수 있다는 것을 확인하였다.

[0091] 실시예 4. 신경줄기세포의 분화 확인

[0092] 4-1. 면역염색

[0093] 신경줄기세포의 분화를 확인하기 위해 대뇌 피질에서 유도된 신경세포를 4% 파라 포르말데히드로 30분간 처리하여 세포를 고정하였다. 고정된 신경세포는 DPBS로 2번 세척과정을 거친 후 실온에서 DPBS 용액 1% triton X-100으로 20분간 처리하여 세포막의 단백질을 용해시켜 염색에 필요한 물질들이 잘 들어가도록 해준다. 또한, 신경구는 비 특이적인 단백질 결합을 줄이기 위해 실온에서 4시간 동안 DPBS용액 6% BSA(Sigma-Aldrich)로 차단되었다. 이어서 4℃에서 신경성세포를 특이적으로 결합하는 일차 항체인 Tuj1(Anti-neuronal class - Tubulin, Stem cell technology)과 칼슘이온의 영향으로 세포사멸의 경로로 가고 있는 세포에게 나오는 ATF3 인자와 특이적으로 결합하는 일차 항체인 Anti-ATF3(Activating Trans-Cription Factor 3)를 세포에 처리하였다. 이렇게 염색을 마친 신경세포는 DPBS로 2번 세척한 후, 4℃에서 4시간 동안 Alexa Flour 488 접합 2차 항체(Invitrogen)와 함께 배양하였다. 다시 DPBS로 2번 세척한 후, 세포 핵을 DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride, Invitrogen)로 염색하였다. 이렇게 면역염색과정을 거친 신경세포를 공 초점 레이저 주사 현미경(Carl Zeiss)을 이용하여 촬영하였다.

[0095] 4-2. 신경줄기세포 분화 확인

[0096] 신경독성약물은 신경조직에 독성을 유발하거나 중독성을 나타낼 수 있으며, 신경독소는 발달중인 신경 조직과 성숙한 신경 조직에서 기능적 악영향을 끼칠 수 있는 약물이다. 신경독성약물의 일반적인 예로는 납, 에탄올, 글루탐산염, 산화질소, 보톡스 등이 있다. 글루탐산의 과 농도를 유발하는 탐시가르긴(Thapsigargin)은 소포체의 작용을 멈춰, 세포를 사멸하는 연구에 자주 사용되는 신경독성물질이다.

[0097] 탐시가르긴은 thapsia garganica에서 추출되는 신경독성약물로서 포유류 세포에서 칼슘의 농도를 조절하여 종양 촉진제로 작용하는 연구에 자주 쓰이는 신경독성약물의 종류이다. 세포에 탐시가르긴을 처리하게 되면 세포 내에서 칼슘(Ca^{2+})이온 채널의 활성을 억제하게 되어 칼슘이 소포체 내로 유입되지 못하고 세포 내(Cytoplasm)에 남아있게 되어 세포 내의 칼슘 농도가 높게 유지 된다. 이러한 상태에서 칼슘의 농도가 부족해진 소포체에서 산화환원조절, 칼슘 조절, 단백질 과대 발현에 의해 단백질의 접힘이 느려지는 상태(Unfolded proteins)가 되는데, 이러한 상태를 소포체성 스트레스 반응(ER stress)이라고 부른다.

[0098] 탐시가르긴에 의해 유발된 소포체성 스트레스 반응 상태에서 ATF3 전사 인자가 증가하게 되고, 이러한 메커니즘이 계속될 경우 세포 사멸을 유도하게 된다. 특히 탐시가르긴은 ALS 환자 모델을 확립하는 연구에 자주 사용하는 약물이다. ALS 환자에서 세포 내 칼슘의 증가는 글루탐산 염에 의한 흥분 독성 때문이거나 미토콘드리아 기능 결핍 때문에 주로 발생된다.

[0099] 대조군의 신경구와 미세유체칩에서 배양된 신경구에 각각 4.5 μ M 탐시가르긴을 첨가한 배양액을 1시간 동안 처리한 후 각각의 신경돌기와 신경구를 면역염색하고 공 초점 현미경을 이용하여 관찰하였다. 그 후 공 초점 현미경으로 촬영한 사진을 Image J로 분석하여 그래프로 나타냈다.

[0100] 도 5a 및 표 4에서 확인할 수 있듯이, 탐시가르긴을 처리하지 않은 신경구에 비하여 탐시가르긴을 처리한 신경구의 길이가 평균적으로 약 200 μ m에서 약 150-170 μ m로 감소하였다.

표 4

-	Control	TG Control	TG Device
길이	204.1	144.4	169.8
표준편차	19.0	27.0	12.1

[0103] 도 5b 및 표 5에서 확인할 수 있듯이, 탐시가르긴을 처리하지 않은 신경구에 비하여 탐시가르긴을 처리한 신경구의 신경돌기 개수 또한 평균적으로 약 70개에서 50개 미만으로 줄어드는 경향을 관찰하였다.

표 5

-	Control	TG Control	TG Device
개수	67.6	47.6	35.3

표준편차	6.6	8.7	3.0
------	-----	-----	-----

[0106] 또한, 탐사가르킨에 의한 신경세포의 Apoptosis를 확인하기 위해 면역염색으로 Anti-ATF3를 이용하여 ATF3 전사 인자를 형광 염색 하였다. 이러한 과정을 거친 신경구를 공 초점 현미경으로 촬영한 사진을 분석하여 ATF3 전사 인자의 개수를 비교하였다.

[0107] 도 5c 및 표 6에서 확인할 수 있듯이, 대조군에 비해 약물 처리군에서 ATF3 positive 세포가 약 4%에서 약 15-16%로 4배 가까이 증가하여, 탐사가르킨을 처리한 신경구와 신경돌기가 세포 사멸된 것이 확인되었다.

표 6

[0108]

-	Control	TG Control	TG Device
평균	5.3	15.8	15.1
표준편차	2.2	2.6	1.6

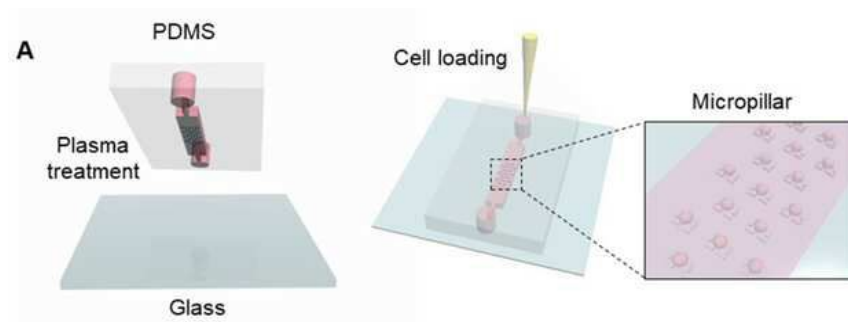
[0111] 상기 결과를 통해 마이크로 필라를 포함하는 본 발명의 미세유체칩에서 신경구의 위치 조절이 가능하고, 신경망을 형성한 신경구에 탐사가르킨을 처리하여 세포 사멸을 확인할 수 있다는 것을 규명하였다.

[0112] 본 발명의 미세유체칩 내에서 탐사가르킨을 처리한 신경구에서 약물에 의하여 신경돌기가 감소한 것을 확인하였고, 이는 본 발명의 미세유체칩 내에서 약물의 평가가 가능하다는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명의 미세유체칩은 근위축성 측삭 경화증(ALS), 파킨슨 병과 같은 뇌질환에 대한 약물 스크리닝 뿐만 아니라 다양한 질병 약물을 스크리닝 하는 분야에 응용될 수 있다.

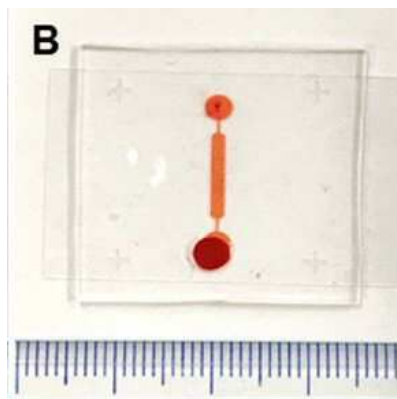
[0113] 또한, 본 발명의 미세유체칩은 줄기세포, 신경세포, 신경돌기 네트워크 형성과 관련된 다양한 뇌를 모사한 질병 연구에 사용될 수 있으며 화학공학, 생명공학 분야에서 매우 다양한 응용이 가능할 것으로 기대된다.

도면

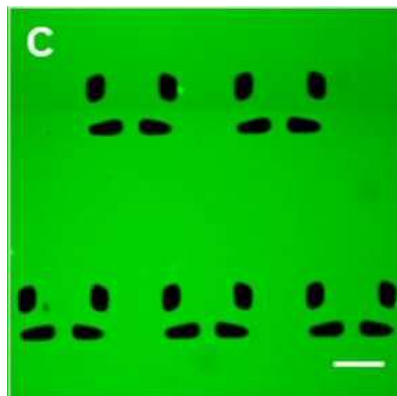
도면1a



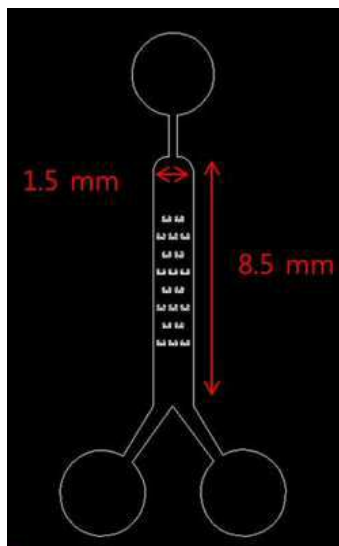
도면1b



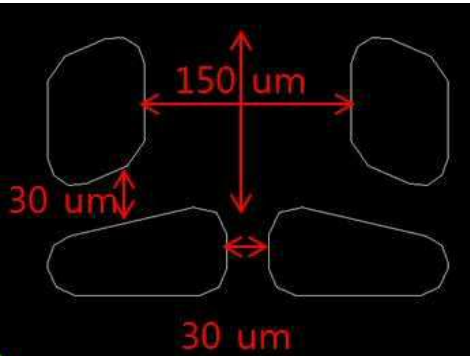
도면1c



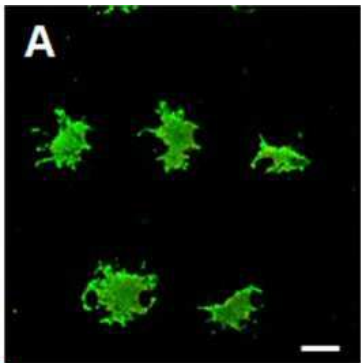
도면1d



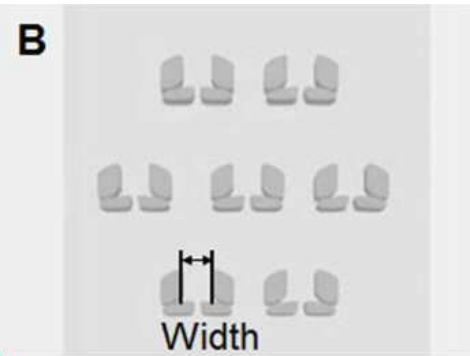
도면1e



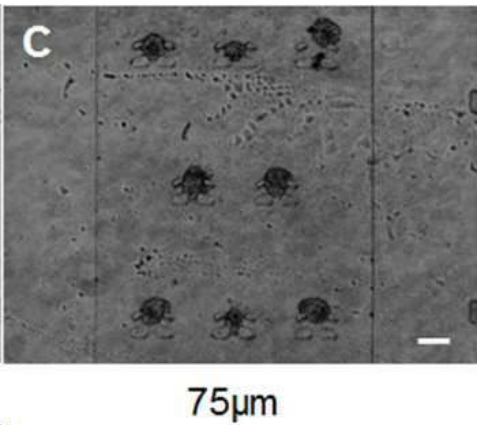
도면2a



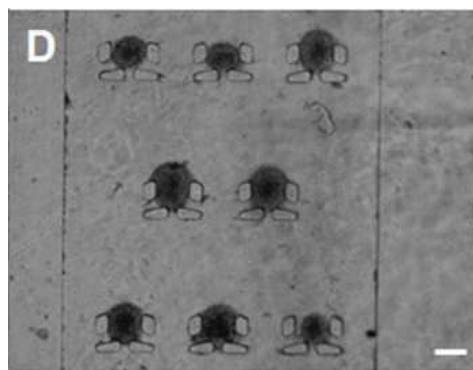
도면2b



도면2c

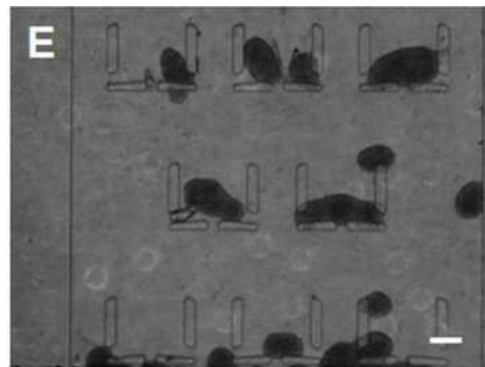


도면2d



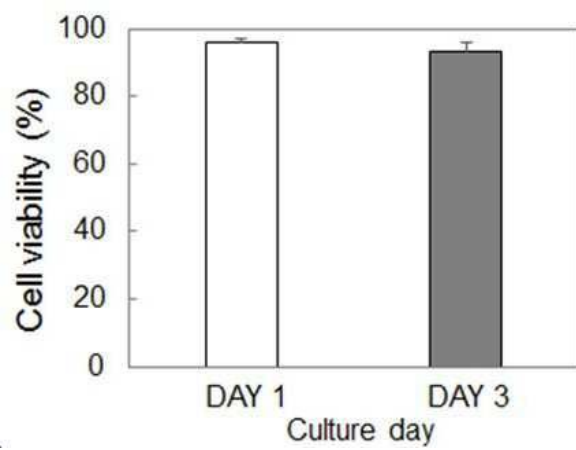
150 μ m

도면2e

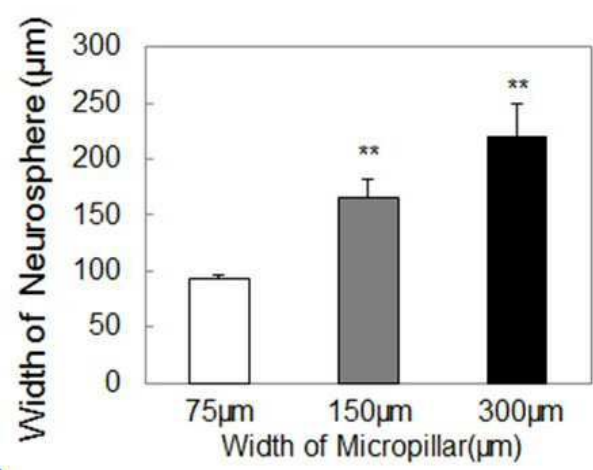


300 μ m

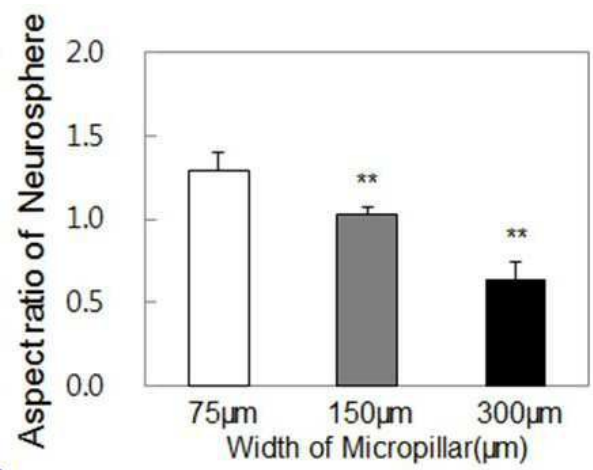
도면2f



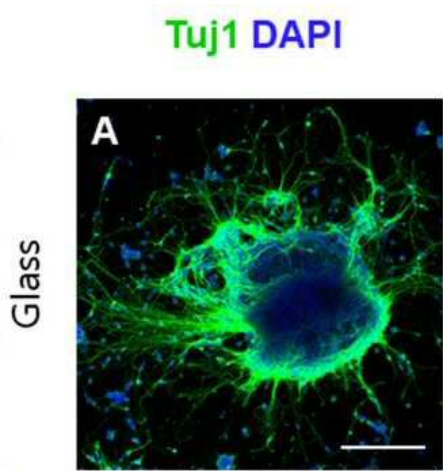
도면2g



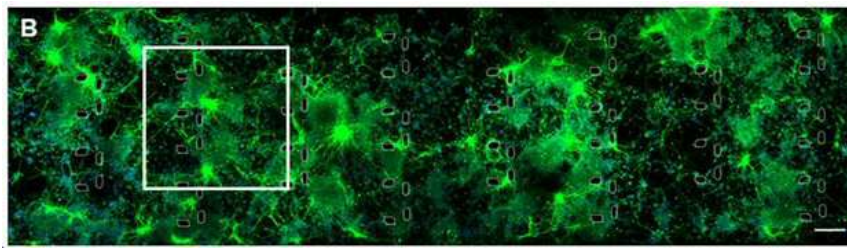
도면2h



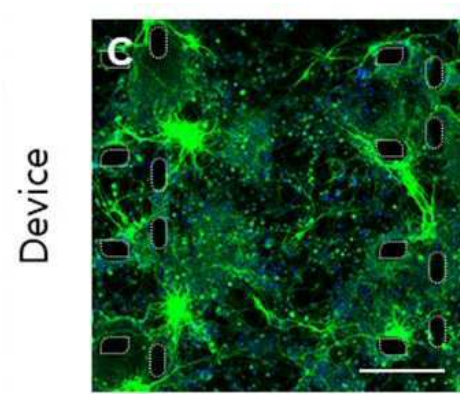
도면3a



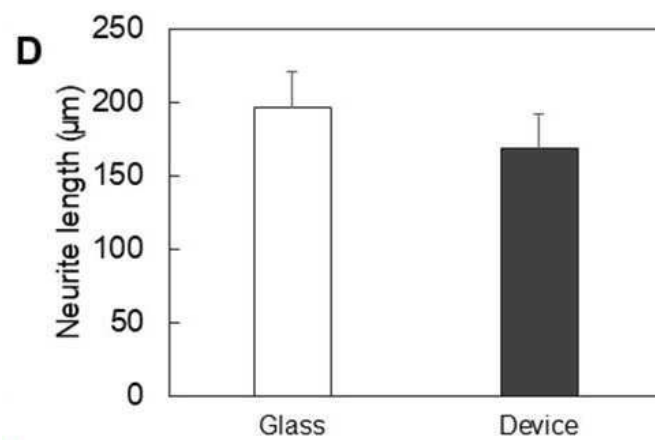
도면3b



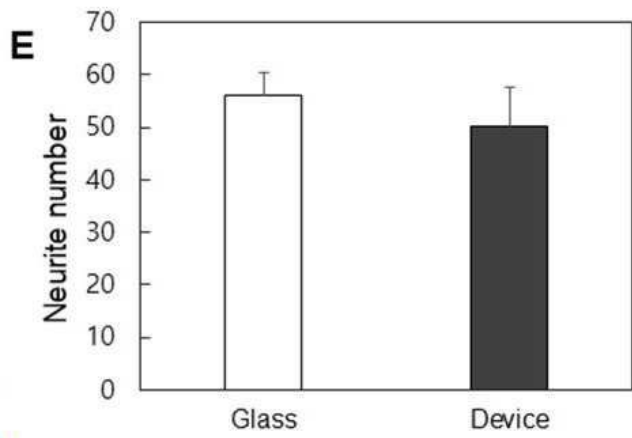
도면3c



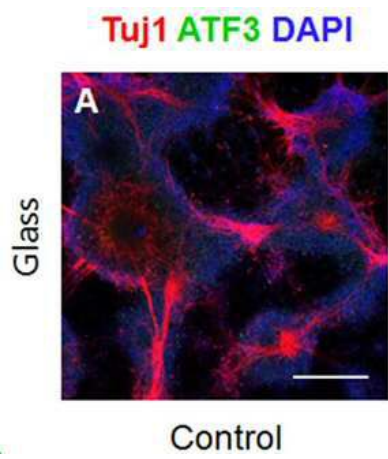
도면3d



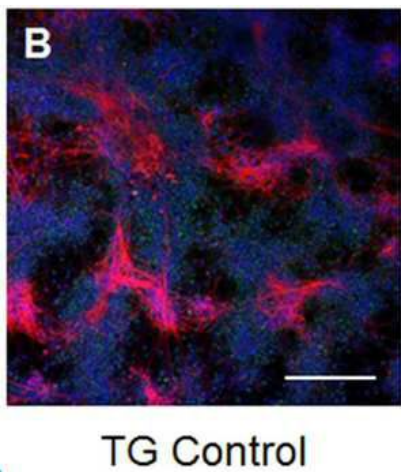
도면3e



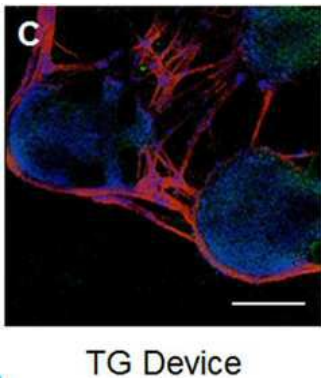
도면4a



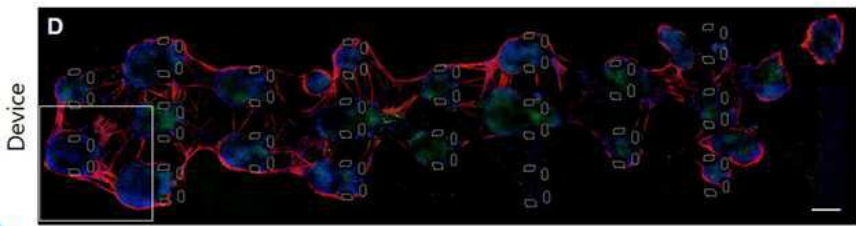
도면4b



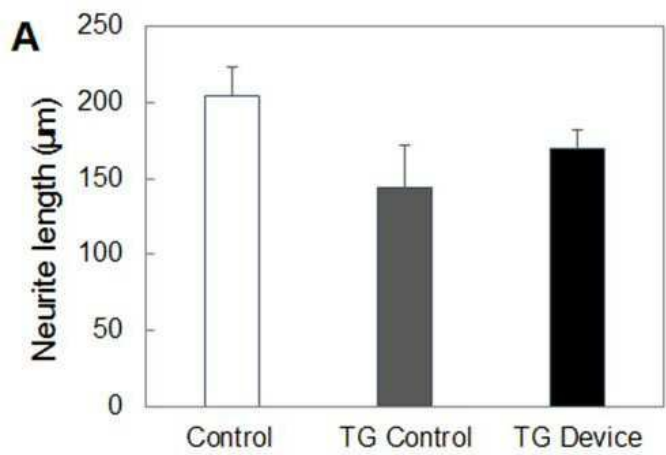
도면4c



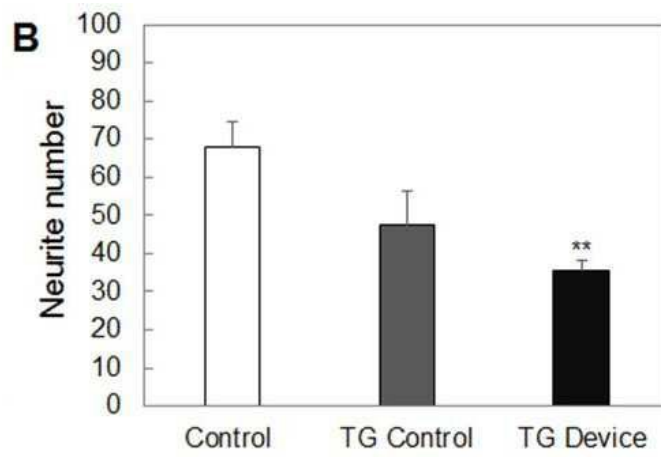
도면4d



도면5a



도면5b



도면5c

