



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호

10-2011-0087394

(43) 공개일자

2011년08월03일

(51) Int. Cl.

C12M 1/38

(2006.01)

C12Q 1/24

(2006.01)

(21) 출원번호

10-2010-0006788

(22) 출원일자

2010년01월26일

심사청구일자

2010년01월26일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천 남구 용현동 253 인하대학교

(72) 발명자

신화성

인천광역시 남구 학익동 동아풍림아파트 108-103

민슬기

인천광역시 계양구 용종동 213-2번지 11/1 초정마을 쌍용아파트 308-2002

(74) 대리인

김원식

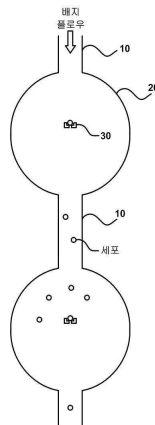
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 단일 세포의 어레이 디바이스 및 방법

(57) 요약

본 발명은, 온도에 따라 세포의 흡착 여부를 제어할 수 있는 온도 제어 흡착층을 세포 배양을 위한 챔버의 표면에 미리 코팅하여, 세포를 함유한 배지 플로우가 챔버에 주입되는 중에는 온도를 낮춰서 세포들이 무작위로 챔버 표면에 부착되지 않게 하고, 하나의 세포가 수득된 이후에는 챔버의 온도를 높여서 수득된 단일 세포를 챔버 표면에 부착시키도록 구성되는 단일 세포의 어레이 디바이스 및 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

세포를 함유한 배지 플로우(media flow)가 주입되는 채널;

상기 배지 플로우가 통과될 수 있도록 채널에 연통되고, 세포의 어레이(array) 및 배양을 위한 다수의 챔버;

온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 PIPAAm 폴리머에 세포를 흡착하는 RGDS 펩티드가 결합되어 구성되고, 상기 배지 플로우가 주입되기 전에 각 챔버의 표면에 코팅되며, 일정 온도 이상에서만 세포를 흡착하도록 구성되는 온도 제어 흡착층;

각 챔버의 중심부에 고정 설치되고, 배지 플로우에 대항하는 전방에 단일 세포가 안착될 수 있는 셀 안착부가 오목하게 형성되는 셀 트랩;

을 포함하는 것을 특징으로 하는 단일 세포의 어레이 디바이스.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 PIPAAm 폴리머는, 온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 IPAAm과, RGDS 펩티드가 결합되는 CIPAAm을 포함하여 구성되는 것을 특징으로 하는 단일 세포의 어레이 디바이스.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 셀 안착부의 중심부에는 배지 플로우의 유속을 증가시키기 위한 플로우 홀이 세포는 통과할 수 없고 배지만 통과할 수 있을 정도의 크기로 관통 형성되는 것을 특징으로 하는 단일 세포의 어레이 디바이스.

청구항 4

온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 PIPAAm 폴리머에 세포를 흡착하는 RGDS 펩티드가 결합되어 일정 온도 이상에서만 세포를 흡착하도록 구성되는 온도 제어 흡착층을 세포 부착용 플레이트의 표면에 코팅하는 제1단계;

세포를 함유한 배지 플로우가 주입되는 채널과, 상기 배지 플로우가 통과될 수 있도록 채널에 연통되고 세포의 어레이 및 배양을 위한 다수의 챔버, 그리고 각 챔버의 중심부에 고정 설치되어 단일 세포가 안착되는 셀 트랩을 포함하여 구성되는 단일 세포 어레이 디바이스를 준비하고, 챔버의 하단부를 상기 세포 부착용 플레이트의 표면에 고정 결합시키는 제2단계;

세포가 챔버 표면의 온도 제어 흡착층에 흡착되지 않도록 각 챔버를 PIPAAm 폴리머가 이완 작용을 하는 온도로 유지하면서, 세포를 함유한 배지 플로우를 채널에 주입하는 제3단계;

상기 배지 플로우가 채널을 통해 순차적으로 각 챔버로 이동하면서, 셀 트랩에 하나의 세포가 안착되는 제4단계;

각 챔버의 셀 트랩에 하나의 세포가 안착되면 배지 플로우 주입을 중지하고, 각 챔버를 PIPAAm 폴리머가 수축 작용을 하는 온도로 상승시켜서, 셀 트랩에 안착된 단일 세포를 챔버 표면의 온도 제어 흡착층에 부착시키는 제5단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 단일 세포의 어레이 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 제1단계는,

온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 IPAAm과, RGDS 펩티드가 결합되는 CIPAAm을 혼합하고 2-프로판올(propanol)에 녹여서 세포 부착용 플레이트의 표면에 주입하는 제1-1단계;

세포 부착용 플레이트의 표면에 전자빔을 방사하여 폴리머 단위체(monomer)를 형성하는 제1-2단계;
RGDS 펩티드를 PIPAAm 폴리머에 결합시켜서 온도 제어 흡착층을 형성하는 제1-3단계;
를 포함하는 것을 특징으로 하는 단일 세포의 어레이 방법.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 단일 세포의 어레이 디바이스 및 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 온도에 따라 세포의 흡착 여부를 제어할 수 있는 온도 제어 흡착층을 세포 배양을 위한 챔버의 표면에 미리 코팅하여, 세포를 함유한 배지 플로우가 챔버에 주입되는 중에는 온도를 낮춰서 세포들이 무작위로 챔버 표면에 부착되지 않게 하고, 하나의 세포가 수득된 이후에는 챔버의 온도를 높여서 수득된 단일 세포를 챔버 표면에 부착시키도록 구성되는 단일 세포의 어레이 디바이스 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 통상적으로 줄기 세포(stem cell)나 암 세포(cancer cell) 등을 단일 세포(single cell)로 배양기의 표면에 부착하여 배양하는 경우, 이를 위해 배양기의 표면에는 세포가 부착될 수 있도록 collagen, fibronectine 등과 같은 물질로 코팅이 되어야 한다.

[0003] 그런데 유체역학적 힘(hydrodynamic force)을 이용한 단일 세포 어레이(single cell array)의 경우, 세포들이 원하는 위치에 부착하기도 하지만, 무작위적으로 코팅물질 표면에 부착되어 단일 세포 어레이(single cell array) 공정을 어렵게 한다. 즉, 다수의 세포들이 무작위적으로 코팅된 표면에 부착되기 때문에, 단일 세포만을 독립적으로 부착하여 배양하기 어렵게 된다.

[0004] 여기서, 단일 세포 어레이(single cell array)는 하나의 세포만을 수득하여 배양 디쉬의 표면에 부착시켜서 배양시키는 과정을 나타낸다.

[0005] 또한 동물 세포는 다양한 부착 물질을 사용하여 표면에 부착시킨 후 배양을 하게 된다. 하지만 이 부착된 세포를 떼어내기 위해서는 트립신(Trypsine) 처리를 하게 되는데, 이러한 트립신 처리가 세포에는 부적절한 영향을 미치게 된다.

[0006] 따라서 세포의 연구를 위해 단일 세포를 용이하게 어레이할 수 있으면서, 이러한 어레이 과정에서 세포에 부적절한 영향을 미치지 않는 단일 세포의 어레이 장치 개발이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상기와 같은 종래의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 세포의 연구를 위해 단일 세포를 용이하게 어레이 할 수 있으면서, 이러한 어레이 과정에서 세포에 부적절한 영향을 미치지 않는 단일 세포의 어레이 디바이스 및 방법을 제공하는 것을 본 발명의 주요한 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 상기와 같은 목적을 해결하기 위한 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 디바이스는, 세포를 함유한 배지 플로우(media flow)가 주입되는 채널; 상기 배지 플로우가 통과될 수 있도록 채널에 연통되고, 세포의 어레이(array) 및 배양을 위한 다수의 챔버; 온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 PIPAAm 폴리머에 세포를 흡착하는 RGDS 펩티드가 결합되어 구성되고, 상기 배지 플로우가 주입되기 전에 각 챔버의 표면에 코팅되며, 일정 온도 이상에서만 세포를 흡착하도록 구성되는 온도 제어 흡착층; 각 챔버의 중심부에 고정 설치되고, 배지 플로우에 대항하는 전방에 단일 세포가 안착될 수 있는 셀 안착부가 오목하게 형성되는 셀 트랩;을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0009] 또한 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 디바이스에서, 상기 PIPAAm 폴리머는 온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 IPAAm과, RGDS 펩티드가 결합되는 CIPAAm을 포함하여 구성되는 것을 특징으로 한다.

- [0010] 또한 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 디바이스에서, 상기 셀 안착부의 중심부에는 배지 플로우의 유속을 증가시키기 위한 플로우 홀이 세포는 통과할 수 없고 배지만 통과할 수 있을 정도의 크기로 관통 형성되는 것이 바람직하다.
- [0011] 그리고 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 방법은, 온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 PIPAAm 폴리머에 세포를 흡착하는 RGDS 펩티드가 결합되어 일정 온도 이상에서만 세포를 흡착하도록 구성되는 온도 제어 흡착층을 세포 부착용 플레이트의 표면에 코팅하는 제1단계; 세포를 함유한 배지 플로우가 주입되는 채널과, 상기 배지 플로우가 통과될 수 있도록 채널에 연통되고 세포의 어레이 및 배양을 위한 다수의 챔버, 그리고 각 챔버의 중심부에 고정 설치되어 단일 세포가 안착되는 셀 트랩을 포함하여 구성되는 단일 세포 어레이 디바이스를 준비하고, 챔버의 하단부를 상기 세포 부착용 플레이트의 표면에 고정 결합시키는 제2단계; 세포가 챔버 표면의 온도 제어 흡착층에 흡착되지 않도록 각 챔버를 PIPAAm 폴리머가 이완 작용을 하는 온도로 유지하면서, 세포를 함유한 배지 플로우를 채널에 주입하는 제3단계; 상기 배지 플로우가 채널을 통해 순차적으로 각 챔버로 이동하면서, 셀 트랩에 하나의 세포가 안착되는 제4단계; 각 챔버의 셀 트랩에 하나의 세포가 안착되면 배지 플로우 주입을 중지하고, 각 챔버를 PIPAAm 폴리머가 수축 작용을 하는 온도로 상승시켜서, 셀 트랩에 안착된 단일 세포를 챔버 표면의 온도 제어 흡착층에 부착시키는 제5단계;를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0012] 또한 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 방법에서 상기 제1단계는, 온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 IPAAm과, RGDS 펩티드가 결합되는 CIPAAm을 혼합하고 2-프로판올(propanol)에 녹여서 세포 부착용 플레이트의 표면에 주입하는 제1-1단계; 세포 부착용 플레이트의 표면에 전자빔을 방사하여 폴리머 단위체(monomer)를 형성하는 제1-2단계; RGDS 펩티드를 PIPAAm 폴리머에 결합시켜서 온도 제어 흡착층을 형성하는 제1-3단계;를 포함하여 구성되는 것이 바람직하다.

발명의 효과

- [0013] 상기와 같은 구성을 가지는 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 디바이스 및 방법에 의하면, 세포의 연구를 위해 단일 세포를 용이하게 어레이 할 수 있고, 이러한 어레이 과정에서 세포에 부적절한 영향을 미치지 않게 된다.
- [0014] 또한 본 발명에 의하면, 세포들이 원치 않는 위치에 무작위적으로 부착되는 현상을 방지할 수 있는 효과가 있다.
- [0015] 또한 본 발명에 의하면, 효소, 항체, 백신 등과 같이 단일 세포를 이용한 연구 분야에 큰 도움이 될 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0016] 도 1 및 도 2는 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 디바이스 구조를 개략적으로 나타내는 단면도 및 사시도.
 도 3은 본 발명에 따른 어레이 디바이스의 셀 트랩 구조를 나타내는 사시도.
 도 4는 본 발명에 따른 RGDS 펩티드의 구조를 나타내는 화학식.
 도 5 및 도 6은 온도 변화에 따른 온도 제어 흡착층의 작용을 나타내는 개략도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0017] 이하에서는 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 디바이스 및 방법에 대한 바람직한 실시예를 상세하게 설명한다.
- [0018] 도 1 및 도 2에는 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 디바이스 구조가 도시되어 있고, 도 3에는 본 발명에 따른 어레이 디바이스의 셀 트랩 구조가 도시되어 있다. 그리고 도 4에는 본 발명에 따른 RGDS 펩티드의 구조가 도시되어 있고, 도 5 및 도 6에는 본 발명에 따른 온도 제어 흡착층의 구조가 도시되어 있다.
- [0019] 도 1 및 도 2를 참조하면, 본 발명에 따른 단일 세포의 어레이 디바이스는, 세포의 어레이(array) 및 배양을 위한 다수의 챔버(20)와, 각 챔버(20)를 순차적으로 연결하는 채널(10), 각 챔버(20)에 고정 설치되어 단일 세포가 안착되는 셀 트랩(30)을 포함하는 구조로 이루어진다.
- [0020] 여기서, 상기 챔버(20)는 포토리소그래피(photolithography)를 통해 SU-8 포토레지스트(photoresist)를 이용하여 실리콘 웨이퍼에 마이크로 패턴을 만들고, PDMS를 표면에 캐스팅한 후 경화시키고, 마이크로 채널을 포함한 PDMS 챔버를 유리나 플라스틱 표면에 부착함으로써 완성할 수 있다.

- [0021] 이러한 챔버(20)는 세포가 부착되어 확산(proliferation) 될 수 있는 공간이므로, 단일 세포를 오랜 기간 동안 자가 증식 가능하게 하여 더 많은 양의 단일 클론 세포(monoclonal cell)들을 배양할 수 있도록 비교적 크게 형성되는 것이 바람직하다.
- [0022] 상기 채널(10)은 세포를 함유한 배지 플로우(media flow)가 각 챔버(20)를 지나갈 수 있도록 챔버(20)들 사이를 연통시키는 역할을 수행한다. 따라서 세포를 함유한 배지 플로우가 채널(10)을 통해 이동하면서 각 챔버(20)를 순차적으로 지나가게 된다.
- [0023] 그리고 도 3을 참조하면, 각 챔버(20)의 중심부에 고정 부착되는 셀 트랩(30)은, 배지 플로우에 대항하는 전방에 단일 세포가 안착될 수 있는 셀 안착부(32)가 오목하게 형성된다. 이때, 상기 셀 안착부(32)의 크기는 안착되는 세포의 크기를 고려하여 하나의 세포가 들어갈 수 있도록 $20\mu\text{m} \sim 50\mu\text{m}$ 크기로 형성된다.
- [0024] 또한 셀 안착부(32)의 중심부에는 배지 플로우의 유속을 증가시키기 위한 플로우 홀(34)이 좁게 관통 형성되고, 이러한 플로우 홀(34)은 세포는 통과할 수 없고 배지만 통과할 수 있을 정도의 크기, 예를 들어 $5\mu\text{m} \sim 10\mu\text{m}$ 의 크기로 형성되는 것이 바람직하다.
- [0025] 따라서 이러한 좁은 플로우 홀(34)로 인해 챔버(20)를 지나가는 배지 플로우의 유속이 셀 트랩(30) 중심부에서 가장 빠르게 되어, 결국 세포를 함유하는 배지 플로우가 우선적으로 셀 트랩(30)을 지나가게 되면서, 가장 먼저 셀 트랩(30)의 셀 안착부(32)에 단일 세포가 채워지게 된다.
- [0026] 그리고 셀 안착부(32)에 단일 세포가 안착되면 그 단일 세포로 인해 플로우 홀(34)이 막히게 되고, 이후부터 배지 플로우는 셀 트랩(30)의 양 옆의 빈 공간으로 흘러서 다음 챔버(20)로 이동하게 된다.
- [0027] 따라서 세포를 함유하는 배지 플로우가 채널(10)을 통해 차례로 각 챔버(20)를 지나가면서, 단일 세포가 각 챔버(20)별로 구비된 셀 트랩(30)에 안착되는데, 이때 셀 트랩(30) 이외의 챔버(20) 공간상에 무작위적으로 세포들이 표면에 부착될 염려가 있다.
- [0028] 즉, 세포를 어레이 하여 배양하기 위해서는 세포를 챔버(20)의 표면에 부착시켜야 하는데, 이를 위해 세포를 부착시키기 위한 코팅층을 챔버(20)의 표면에 미리 형성시키는 경우, 셀 트랩(30) 이외의 챔버(20) 공간상에 무작위적으로 세포들이 표면에 부착될 염려가 있고, 반대로 챔버(20)의 표면에 미리 코팅층을 형성시키지 않게 되면 단일 세포를 어레이 할 수 없어서 이후 배양 과정을 진행할 수 없는 문제가 생긴다.
- [0029] 이러한 문제점을 해소하기 위해, 본 발명에서는 세포가 함유된 배지 플로우를 주입하기 전에 챔버(20)의 표면에 선택적으로 세포를 부착시킬 수 있는 온도 제어 흡착층(40)을 형성하는데, 상기 온도 제어 흡착층(40)은 온도에 따라 부착력이 활성 또는 비활성으로 조절될 수 있는 물질로 이루어진다.
- [0030] 도 4 내지 도 6을 참조하면, 이러한 온도 제어 흡착층(40)은 PIPAAm 폴리머(42)와 RGDS 펩티드(44)의 결합 구조로 이루어지고, 세포를 함유한 배지 플로우가 주입되기 전에 미리 챔버(20)의 표면에 코팅됨으로써 형성된다.
- [0031] 여기서, 상기 RGDS 펩티드(44)는 도 4에 도시된 바와 같은 화학식 구조로 이루어지고, 접촉하고 있는 세포를 흡착하는 성질을 가진다.
- [0032] 그리고 상기 PIPAAm 폴리머(42)는, 온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 IPAAm(N-Isopropylacrylamide)과, RGDS 펩티드가 결합되는 CIPAAm(2-Carboxyisopropylacrylamide)을 포함하여 구성된다.
- [0033] 이러한 PIPAAm 폴리머(42)는 온도 반응성 고분자로서 일정 온도를 기준으로 하한 임계 용액 온도(lower critical solution temperature: LCST)의 거동을 보인다. 즉, 상기 PIPAAm 폴리머(42)는 약 32°C 이상의 온도에서는 수축 작용을 하고, 약 32°C 이하의 온도에서는 이완 작용을 하게 된다.
- [0034] 따라서 도 5에 도시된 바와 같이, 대략 32°C 이상의 온도에서는 PIPAAm 폴리머(42)가 수축되고, 이때 RGDS 펩티드(44)가 PIPAAm 폴리머(42)의 표면에 드러나면서 세포에 접촉하게 된다. 이처럼 PIPAAm 폴리머(42)의 표면에 위치하는 RGDS 펩티드(44)는 접촉하고 있는 세포를 흡착하게 되고, 결국 세포가 챔버(20)의 표면에 부착될 수 있게 된다.
- [0035] 반면 도 6에 도시된 바와 같이, 대략 32°C 이하의 온도에서는 PIPAAm 폴리머(42)가 이완되면서, RGDS 펩티드(44)가 PIPAAm 폴리머(42)의 내부로 감춰지게 되어 더 이상 세포에 접촉할 수 없는 상태가 된다. 이처럼 PIPAAm 폴리머(42)의 내부에 위치하는 RGDS 펩티드(44)는 세포를 흡착할 수 없게 되므로, 결국 세포가 챔버(20)의 표면에 부착되지 않는 상태가 된다.

- [0036] 따라서 본 발명에서는 챔버(20)의 표면에 미리 PIPAAm 폴리머(42)와 RGDS 펩티드(44)로 이루어지는 온도 제어 흡착층(40)을 코팅 형성한 후, 챔버(20)를 RGDS 펩티드(44)가 PIPAAm 폴리머(42)의 표면에 드러나지 않는 온도, 즉 PIPAAm 폴리머(42)를 이완시킬 수 있는 온도(대략 32℃ 이하의 온도)로 유지시키면서 세포를 함유한 배지 플로우를 채널(10)을 통해 각 챔버(20)에 주입하면, 세포들은 각 챔버(20)를 지나가면서 셀 트랩(30)에 안착된 하나의 세포를 제외하고는 챔버(20)의 표면에 부착되지 않고 그대로 통과하게 된다.
- [0037] 그리고 각 챔버(20)별로 셀 트랩(30)에 하나의 세포만 안착된 후, 챔버(20)를 RGDS 펩티드(44)가 PIPAAm 폴리머(42)의 표면에 드러나는 온도, 즉 PIPAAm 폴리머(42)를 수축시킬 수 있는 온도(대략 32℃ 이상의 온도)로 유지시키면, RGDS 펩티드(44)가 PIPAAm 폴리머(42)의 표면에 드러나게 되어 셀 트랩(30)에 안착된 세포를 흡착하게 된다. 이때, 각 챔버(20)의 온도를 세포 배양에 적절한 온도인 37℃로 유지하면 세포 부착 및 배양을 성공적으로 수행할 수 있게 된다.
- [0038] 이하에서는 상기와 같이 구성되는 단일 세포의 어레이 디바이스를 이용한 단일 세포의 어레이 방법에 대해 살펴본다.
- [0039] 우선, 온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하는 PIPAAm 폴리머(42)에 세포를 흡착하는 RGDS 펩티드(44)가 결합되어 일정 온도 이상에서만 세포를 흡착하도록 구성되는 온도 제어 흡착층(40)을 다음의 과정을 통해 세포 부착용 플레이트의 표면에 코팅한다.
- [0040] IPAAm(N-Isopropylacrylamide)과 CIPAAm(2-Carboxyisopropylacrylamide)을 혼합하고 2-프로판올(propanol)에 녹여서 세포 부착용 플레이트의 표면에 주입한다. 예를 들어, IPAAm과 CIPAAm을 99 : 1의 비율로 혼합하여 55% 농도의 2-프로판올(propanol)에 녹여서 세포 부착용 플레이트의 표면에 주입할 수 있다. 여기서, 상기 IPAAm은 온도에 따라 수축 또는 이완 작용을 하고, CIPAAm은 RGDS 펩티드(44)가 결합되는 작용을 하는 것으로써, 2 성분 모두 PIPAAm 폴리머(42)의 필수 구성요소이다.
- [0041] 이처럼 IPAAm과 CIPAAm이 주입된 세포 부착용 플레이트의 표면에 전자빔을 방사하면 폴리머 단위체(monomer)가 형성되어 세포 부착용 플레이트의 표면에 부착된다.
- [0042] 그리고 이러한 폴리머 단위체를 PBS로 행궤내고 말린후, RGDS 펩티드(44)를 세포 부착용 플레이트의 표면에 투입하여 온도 제어 흡착층(40)을 형성한다. 이때, RGDS 펩티드(44)를 PIPAAm 폴리머(42)에 결합시키기 위한 반응 요소도 세포 부착용 플레이트의 표면에 함께 넣고 혼합하는 것이 바람직하다. 여기서, 상기 RGDS 펩티드(44)를 PIPAAm 폴리머(42)에 결합시키기 위한 반응 요소로 WSC[1-Ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)-carbodiimide hydrochloride]를 이용할 수 있고, 이러한 WSC와 RGDS 펩티드(44)는 동일한 양으로 주입되는 것이 바람직하다.
- [0043] 또한 전술한 바와 같이, 세포를 함유한 배지 플로우가 주입되는 채널(10)과, 상기 배지 플로우가 통과될 수 있도록 채널(10)에 연통되고 세포의 어레이 및 배양을 위한 다수의 챔버(20), 그리고 각 챔버(20)의 중심부에 고정 설치되어 단일 세포가 안착되는 셀 트랩(30)을 포함하여 구성되는 단일 세포 어레이 디바이스를 준비한다.
- [0044] 그리고 상기 단일 세포 어레이 디바이스에서 챔버의 하단부를 상기 온도 제어 흡착층이 코팅된 세포 부착용 플레이트의 표면에 고정 결합시킨다. 예를 들어, 챔버의 하단부에 PDMS와 silicone elastomer curing agent (SYLGARD 184)의 혼합액을 도포한 후 세포부착용 표면에 부착하여, 60℃ 오븐(OVEN)에서 3 ~ 5시간 놓아두면 상호 고정 부착된 상태가 된다.
- [0045] 그리고 상기와 같이 온도에 따라 선택적으로 세포를 부착시킬 수 있는 온도 제어 흡착층(40)을 각 챔버(20)의 표면에 코팅이 완료한 후, 세포를 함유한 배지 플로우를 채널(10)을 통해 각 챔버(20)에 주입한다.
- [0046] 이때, 챔버(20)를 지나가는 세포들이 챔버(20) 표면의 온도 제어 흡착층(40)에 흡착되지 않도록, 각 챔버(20)의 온도를 PIPAAm 폴리머(42)가 이완 작용을 하는 온도로 유지한다. 예를 들어, PIPAAm 폴리머(42)가 이완 작용을 하도록 각 챔버(20)의 온도를 20℃ 정도로 유지하면, RGDS 펩티드(44)가 PIPAAm 폴리머(42)의 표면으로 이동하지 않게 되어 세포에 접촉할 수 없게 된다.
- [0047] 그리고 상기 세포를 함유한 배지 플로우는 채널(10)을 통해 순차적으로 각 챔버(20)로 이동하게 되는데, 플로우홀(34)로 인해 셀 트랩(30)의 중심부를 가장 먼저 지나면서 우선적으로 셀 트랩(30)에 하나의 세포가 안착된다.
- [0048] 이처럼 하나의 세포가 셀 트랩(30)에 안착되면, 다른 세포들은 셀 트랩(30) 주위의 빈 공간을 통해 다른 챔버(20)로 이동하게 된다. 이때, 챔버(20)의 온도가 32℃ 이하로 유지되고 있기 때문에, 세포를 흡착할 수 있는 RGDS 펩티드(44)가 PIPAAm 폴리머(42)의 표면으로 이동하지 않게 되고, 따라서 세포들이 챔버(20)의 표면에 무

작위적으로 부착될 염려가 없다.

[0049] 이러한 과정을 통해 모든 챔버(20)에 하나의 세포만이 셀 트랩(30)에 안착되면 더 이상 배지 플로우 주입을 중지하고, 각 챔버(20)를 PIPAAm 폴리머(42)가 수축 작용을 하는 온도로 상승시켜서, 셀 트랩(30)에 안착된 단일 세포를 챔버(20) 표면의 온도 제어 흡착층(40)에 부착시키게 된다. 예를 들어, 챔버(20)의 온도를 PIPAAm 폴리머(42)가 수축 작용을 하는 37℃ 정도로 올리면, RGDS 펩티드(44)가 PIPAAm 폴리머(42)의 표면으로 이동하여 셀 트랩(30)에 안착된 세포를 흡착하게 한다.

[0050] 이후, 각 챔버(20)를 세포 배양에 적절한 온도인 37℃로 유지함으로써 세포 부착 및 배양을 성공적으로 수행할 수 있게 된다.

[0051] 이상의 설명에서 본 발명은 특정의 실시 예와 관련하여 도시 및 설명하였지만, 특허청구범위에 의해 나타난 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 한도 내에서 다양한 개조 및 변화가 가능하다는 것을 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자라면 누구나 쉽게 알 수 있을 것이다.

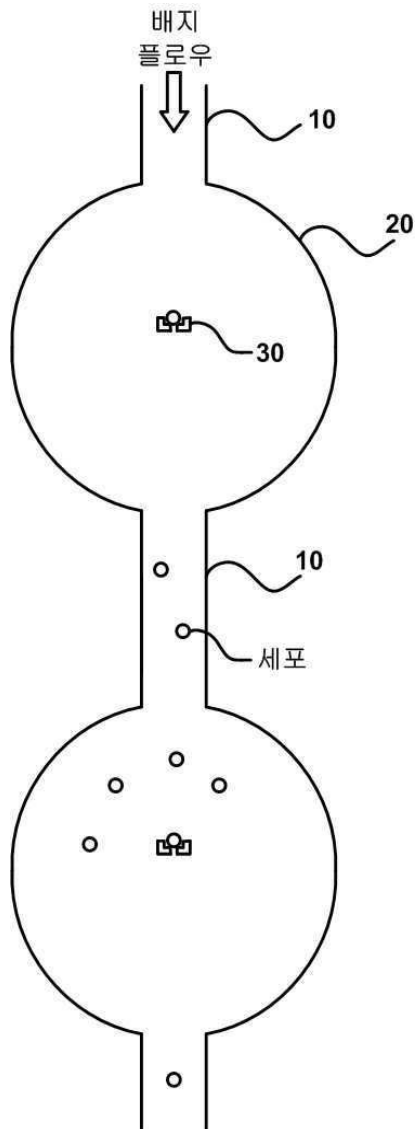
부호의 설명

[0052]

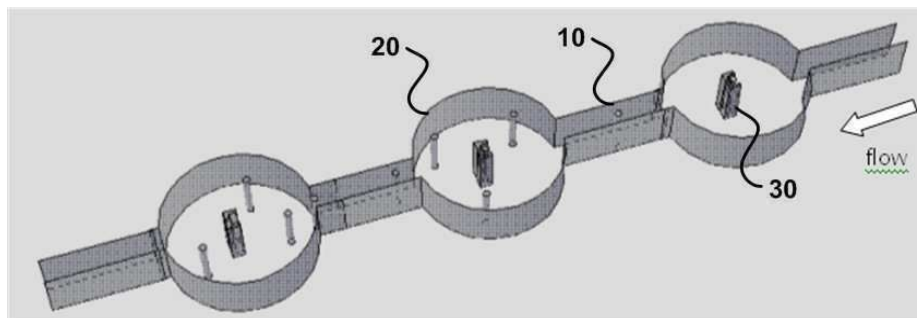
10; 채널	20; 챔버
30; 셀 트랩	32; 셀 안착부
34; 플로우 홀	40; 온도 제어 흡착층
42; PIPAAm 폴리머	44; RGDS 펩티드

도면

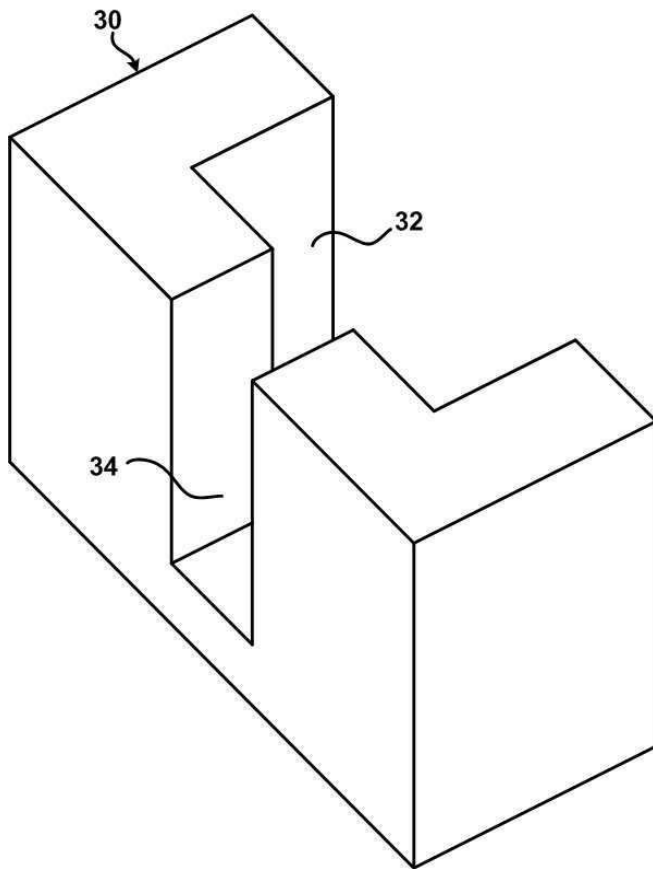
도면1



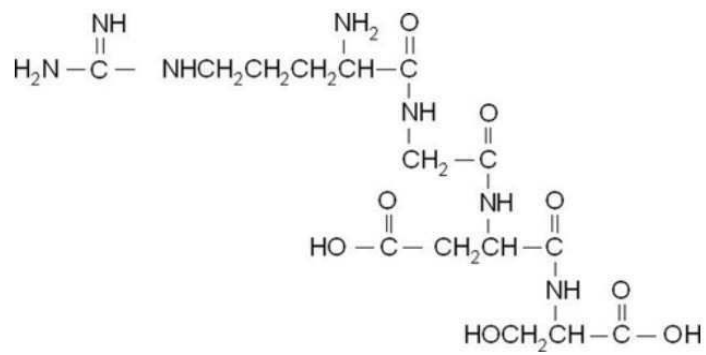
도면2



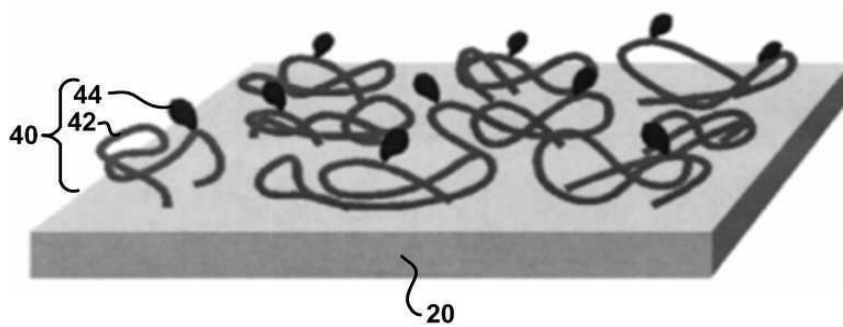
도면3



도면4



도면5



도면6

