(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0139932
(43) 공개일자 2014년12월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/02 (2006.01) *G01N 35/08* (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0060661
(22) 출원일자 2013년05월28일
심사청구일자 2014년05월23일

(71) 출원인
이화여자대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)
(72) 발명자
박성수
서울 영등포구 여의동로3길 10, 401동 304호 (여의도동, 여의도자이)
대니 반 노르트
서울 서대문구 이화여대길 52, 종합과학관 D동 208호 (대현동, 이화여자대학교)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인엠에이피에스

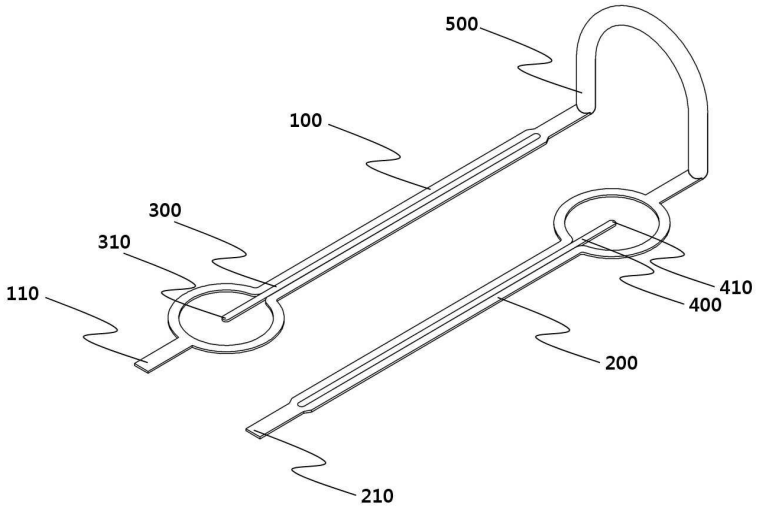
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **내분비 인자 스크리닝 장치, 및 이를 이용한 내분비 인자 스크리닝 방법**

(57) 요 약

본원은, 내분비 인자 스크리닝 장치, 및 이를 이용한 내분비 인자 스크리닝 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

오승한

경기 광명시 새터로 82-1, 나동 306호 (광명동, 현대연립)

정인경

서울 강남구 도곡로78길 22, 104동 706호 (대치동, 삼성1차아파트)

다오 티 투이 응웬

서울 서대문구 이화여대길 52, 종합과학관 D동 208호 (대현동, 이화여자대학교)

김소현

경기 파주시 한울로 101, 411동 903호 (동패동, 한울마을4단지휴먼시아아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345188558
부처명 교육과학기술부
연구관리전문기관 (재)한국연구재단
연구사업명 기초연구사업(학술진흥)-중견연구자지원사업-핵심연구(개인)
연구과제명 종양 진화 온어칩
기 여 율 1/4
주관기관 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2012.05.01 ~ 2015.04.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ009419042013
부처명 농림수산식품부
연구관리전문기관 농촌진흥청
연구사업명 공동연구사업-농업현장실용화기술개발사업(2단계)
연구과제명 식물복합항체 기반 암 진단키트 개발
기 여 율 1/4
주관기관 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2013.02.01 ~ 2014.12.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345190501
부처명 교육과학기술부
연구관리전문기관 (재)한국연구재단
연구사업명 원천기술개발사업(학술진흥)-공공복지안전기술개발사업
연구과제명 식중독균 다중검출 센서 집적화 미세유체칩 개발
기 여 율 1/4
주관기관 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2012.10.01 ~ 2017.07.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2010-0020775
부처명 교육과학기술부
연구관리전문기관 (재)한국연구재단
연구사업명 원천기술개발사업-공공복지안전연구사업
연구과제명 채취 혈액의 무동력 이송을 위한 마이크로플루이딕 시스템 (μFS)
기 여 율 1/4
주관기관 이화여자대학교 산학협력단
연구기간 2010.08.16 ~ 2015.07.31

특허청구의 범위

청구항 1

제 1 채널;

상기 제 1 채널에 직렬 연결된 제 2 채널;

상기 제 1 채널과 연결되며 제 1 세포 주입구를 포함하는 제 1 격실; 및,

상기 제 2 채널과 연결되며 제 2 세포 주입구를 포함하는 제 2 격실

을 포함하고,

상기 제 1 채널과 상기 제 1 격실 사이 및 상기 제 2 채널과 상기 제 2 격실 사이에는 각각 미세 채널이 형성되어 있으며,

상기 제 1 격실 내에 장 세포를 포함하고, 상기 제 2 격실 내에 이자 세포를 포함하는 것인,

내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실 각각은 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널 각각의 적어도 일부와 인접하도록 배치되며, 상기 인접한 면에 상기 미세 채널이 형성된 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 제 1 채널에 세포 배양 배지가 유입되면, 상기 세포 배양 배지는 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널을 차례로 통과하여 유출되며, 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널 각각에 유입된 상기 세포 배양 배지는 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실 내로 각각 침투되는 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 미세 채널의 크기는 상기 장 세포 및 상기 이자 세포 각각의 직경보다 작은 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 미세 채널의 크기는 0.1 ㎛ 내지 50 ㎛인 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 세포 배양 배지는 내분비 인자 후보 물질을 포함하는 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 제 1 채널 및 제 2 채널은 고분자 또는 유리를 각각 포함하는 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 장 세포 및 상기 이자 세포는 각각 포유류의 장 세포 및 이자 세포를 포함하는 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 장 세포 및 상기 이자 세포는 동일한 세포 배양 배지에 노출되는 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실 각각은 가스 공급 장치에 추가적으로 연결되어 있는 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치.

청구항 11

제 1 항에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치를 이용한 내분비 인자 스크리닝 방법에 있어서,

제 1 채널에 내분비 인자 후보 물질을 포함하는 세포 배양 배지를 유입시킨 후, 제 2 채널로부터 유출되는 상기 세포 배양 배지에 포함된 내분비 물질을 분석하는 것을 포함하는 것인,

내분비 인자 스크리닝 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 장 세포 및 상기 이자 세포는 동일한 세포 배양 배지에 노출되는 것인, 내분비 인자 스크리닝 방법.

청구항 13

제 11 항에 있어서,

상기 세포 배양 배지에 포함되는 상기 내분비 인자 후보 물질의 양 또는 종류, 또는 양 및 종류를 시간에 따라 조절하고, 상기 세포 배양 배지에 포함된 내분비 물질의 시간에 따른 변화가 측정되는 것인, 내분비 인자 스크리닝 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본원은, 내분비 인자 스크리닝 장치, 및 이를 이용한 내분비 인자 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 미세 유체 공학을 이용하여 제조하는 미세 유체 소자는 미세 채널 (마이크로 채널 또는 나노 채널)을 포함하고 있는 칩이다. 상기 미세 유체 소자는 미세 채널을 통해 소량의 유체가 흘러가도록 하여 각종 반응과 작용이 일어나도록 함으로서 기존의 실험실에서 여러 복잡한 공정을 거쳐야 했던 작업들이 칩 상에서 이루어지도록 재현할 수 있으므로, 상기 미세 유체 소자를 랩온어칩(lab-on-achip)이라고 칭하기도 한다. 상기 미세 유체 소자는 생분자 물질의 분석 및 분류, 또는 단분자 레벨의 연구 등 나노 바이오 기술의 다양한 응용 분야에 적용될 수 있다. 예를 들어, 대한민국 공개특허 제2009-0047968호는 바이오 랩온어칩, 및 그 제조 및 작동 방법에 대하여 개시하고 있다.

[0003] 최근 인스턴트식품의 증가와 고칼로리 식품의 과다 섭취 등에 의해 비만에 의한 당뇨, 및 호르몬 이상 등의 질병이 청소년 시기에서부터 나타남에 따라 비만치료 또는 비만 억제제에 대한 국민적 관심과 연구가 증가하고 있다. 이자에서 생합성 되는 인슐린은 비만과 밀접한 관계를 가지며, 장 세포에서 영양분 흡수 시 혈관으로 분비되는 내분비 인자에 의해 인슐린의 분비가 유도된다.

[0004] 이와 관련하여, 최근 유체 소자를 이용하여 생체를 모사하는 세포 배양법이 기존의 세포 배양 방법에 비해 생체와 유사한 결과를 도출한다고 보고된 바 있으나, 아직 이자 세포와 장 세포를 유체 소자에 적용함으로써 이들 세포의 내분비 메커니즘 연구에 사용하는 것에 대해서는 아직 알려진 바 없는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본원은, 직렬 연결된 제 1 채널 및 제 2 채널, 및 각각의 채널에 연결되며 장 세포 및 이자 세포를 각각 함유하는 제 1 격실 및 제 2 격실을 포함하는 내분비 인자 스크리닝 장치, 및 상기 내분비 인자 스크리닝 장치를 이용한 내분비 인자 스크리닝 방법을 제공하고자 한다.

[0006] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본원의 제 1 측면은, 제 1 채널; 상기 제 1 채널에 직렬 연결된 제 2 채널; 상기 제 1 채널과 연결되며 제 1 세포 주입구를 포함하는 제 1 격실; 및, 상기 제 2 채널과 연결되며 제 2 세포 주입구를 포함하는 제 2 격실을 포함하고, 상기 제 1 채널과 상기 제 1 격실 사이 및 상기 제 2 채널과 상기 제 2 격실 사이에는 각각 미세 채널이 형성되어 있으며, 상기 제 1 격실 내에 장 세포를 포함하고, 상기 제 2 격실 내에 이자 세포를 포함하는 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치를 제공할 수 있다.

[0008] 본원의 제 2 측면은, 본원의 제 1 측면에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치를 이용한 내분비 인자 스크리닝 방법에 있어서, 제 1 채널에 내분비 인자 후보 물질을 포함하는 세포 배양 배지를 유입시킨 후, 제 2 채널로부터 유출되는 상기 세포 배양 배지에 포함된 내분비 물질을 분석하는 것을 포함하는 것인, 내분비 인자 스크리닝 방법을 제공할 수 있다.

발명의 효과

[0009] 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치에 의하면, 미세 채널에 의하여 세포 배양 배지가 흐르는 채널과 구분되는 격실 내에 세포가 배양되므로, 배양되는 세포가 세포 배양 배지의 유속에 직접적으로 노출되지 않은 채로 세포 고유의 특성과 특징이 발현되도록 할 수 있으므로, 생체와 유사한 환경에서 특정 물질이 세포에 대하여 미치는 영향, 및 상기 영향에 대한 세포의 반응 등을 정확하게 분석하는 것이 가능하다.

[0010] 따라서, 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치 및 스크리닝 방법을 이용하면, 외부 환경에 대한 반응으로 세포가 분비하는 내분비 물질을 분석할 수 있고, 따라서 세포가 특정 내분비 물질을 분비하도록 하는 외부 물질을 스크리닝 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 본원의 일 구현예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 사시도이다.

도 2a 및 도 2b는 본원의 일 구현예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 평면도이다.

도 3은 본원의 일 실시예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 이미지이다.

도 4는 본원의 일 구현예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 개략도이다.

도 5a 내지 도 5c는 본원의 일 실시예에 따라 배양된 세포의 공초점 현미경 이미지이다.

도 6a 및 도 6b는 본원의 일 실시예에 따라 배양된 세포를 F-actin 염색하여 나타낸 공초점 현미경 이미지이다.

도 7a 및 도 7b는 본원의 일 실시예에 따라 배양된 세포의 주사전자현미경(SEM) 이미지이다.

도 8은 본원의 일 실시예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치를 이용한 내분비 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 9는 본원의 일 실시예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치를 이용한 내분비 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

도 10은 본원의 일 실시예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치를 이용한 내분비 분석 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 아래에서는 첨부한 도면을 참조하여 본원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본원을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[0013] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0014] 본원 명세서에서 사용되는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로서 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다. 또한, 본원 명세서 전체에서, "~하는 단계" 또는 "~의 단계"는 "~를 위한 단계"를 의미하지 않는다.

[0015] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 “상에” 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.

[0016] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 “이들의 조합”의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어지는 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.

[0017] 본원 명세서 전체에서, "A 및/또는 B"의 기재는, "A 또는 B, 또는 A 및 B"를 의미한다.

[0018] 본원 명세서 전체에서, "내분비 인자"란 세포의 내분비에 영향을 미칠 수 있는 물질을 의미하여, 비제한적인 예로서, 세포의 내분비에 영향을 미칠 수 있는 화합물, 생분자 물질, 및/또는 원소를 의미한다.

[0019] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명하나, 본원이 이에 제한되는 것은

아니다.

[0020] 본원의 제 1 측면은, 제 1 채널; 상기 제 1 채널에 직렬 연결된 제 2 채널; 상기 제 1 채널과 연결되며 제 1 세포 주입구를 포함하는 제 1 격실; 및 상기 제 2 채널과 연결되며 제 2 세포 주입구를 포함하는 제 2 격실을 포함하고, 상기 제 1 채널과 상기 제 1 격실 사이 및 상기 제 2 채널과 상기 제 2 격실 사이에는 각각 미세 채널이 형성되어 있으며, 상기 제 1 격실 내에 장 세포를 포함하고, 상기 제 2 격실 내에 이자 세포를 포함하는 것인, 내분비 인자 스크리닝 장치를 제공할 수 있다.

[0021] 도 1은 본원의 일 구현예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 사시도이다. 도 2a 및 도 2b는 본원의 일 구현예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 평면도이고, 도 3은 본원의 일 실시예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 이미지이며, 도 4는 본원의 일 구현예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 개략도이다.

[0022] 도 1을 참조하여 설명하면, 본원의 일 구현예에 따르면 내분비 인자 스크리닝 장치는 제 1 채널(100), 상기 제 1 채널에 직렬 연결된 제 2 채널(200), 상기 제 1 채널과 연결되며 제 1 세포 주입구(310)를 포함하는 제 1 격실(300), 및 상기 제 2 채널과 연결되며 제 2 세포 주입구(410)를 포함하는 제 2 격실(400)을 포함한다. 상기 제 1 채널과 상기 제 2 채널은 연결 채널(500)에 의하여 직렬 연결될 수 있으며, 상기 제 1 채널의 일 말단은 유입구(110)를, 상기 제 2 채널의 일 말단은 유출구(210)를 포함할 수 있다. 상기 제 1 채널과 상기 제 1 격실 사이 및 상기 제 2 채널과 상기 제 2 격실 사이에는 각각 미세 채널이 형성되어 있다.

[0023] 예를 들어, 상기 미세 채널은 복수의 미세 채널을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0024] 장 세포는 상기 제 1 세포 주입구(310)를 통하여 상기 제 1 격실(300)에 주입될 수 있으며, 이자 세포는 상기 제 2 세포 주입구(410)를 통하여 상기 제 2 격실(400)에 주입될 수 있다. 예를 들어, 상기 장 세포는 소장 세포 및/또는 대장 세포를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 이자 세포는 β-세포를 포함하는 것일 수 있으며, 상기 장 세포는 장내분비세포(enteroendocrine cell)을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0025] 상기 유입구(110)를 통하여 세포 배양 배지가 상기 제 1 채널(100)에 유입되면, 상기 세포 배양 배지는 상기 연결 채널(500)을 통하여 상기 제 2 채널(200)로 이동하고, 이어서 상기 유출구(210)를 통하여 유출될 수 있다. 그 과정에서, 상기 제 1 채널을 통과하는 상기 세포 배양 배지는 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 1 격실로 이동할 수 있기 때문에, 상기 제 1 격실 내의 상기 장 세포가 정상적으로 배양될 수 있으며, 상기 장 세포는 제 1 채널에 흐르는 상기 세포 배양 배지의 유속에 직접적으로 영향을 받지 않을 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 마찬가지로, 상기 제 2 채널을 통과하는 상기 세포 배양 배지는 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 2 격실로 이동할 수 있기 때문에, 상기 제 2 격실 내의 상기 이자 세포가 정상적으로 배양될 수 있으며, 상기 이자 세포는 상기 제 2 채널에 흐르는 상기 세포 배양 배지의 유속에 직접적으로 영향을 받지 않을 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0026] 도 2a는 본원의 일 구현예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 제 1 채널 및 제 1 격실 부분을 확대하여 나타낸 평면도이며, 도 2b는 상기 도 2a의 평면도의 일부분을 확대하여 나타낸 것이다. 도 2b를 참조하면, 제 1 채널(100)과 제 1 격실(300) 사이에 미세 채널이 형성되어 있어 세포 배양 배지가 통과할 수 있으며, 상기 제 1 격실 내의 세포가 상기 제 1 채널 내로 유출되는 것을 방지할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0027] 도 3은 본원의 일 실시예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 이미지이다.

[0028] 도 4는 본원의 일 구현예에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치의 개략도이다. 도 4를 참조하면, 가스 공급 장치(600)가 제 1 격실 및 제 2 격실과 연결되어 있어, 상기 제 1 격실 및/또는 상기 제 2 격실 내부의 세포 배양 배지의 가스 농도를 조절하여 세포 배양 환경을 조절할 수 있다. 예를 들어, 상기 가스는 산소, 질소, 및/또는 이산화탄소를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 아울러, 상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실 각각이 한 개 이상의 구분된 공간을 포함하여, 더욱 많은 세포의 배양이 가능하다. 또한, 상기 가스 공급 장치, 상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실, 및 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널 각각에는 밸브가 연결되어 있어(미도시), 각각의 파트에 주입되는 가스, 세포 배양 배지, 및 세포 각각의 양이 조절될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0029] 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치는 3 차원 상에서 장 유래 세포 유체 소자와 이자 유래 세포 유체 소자를 연결하여 생체와 유사한 소화기관-내분비기관계를 인 비트로(in vitro) 상에서 모사한 것이며, 구체적으로, 소화

와 흡수의 기능을 수행하는 장 세포와 고농도의 당이 존재하는 환경에서 인슐린을 분비하는 이자의 β-세포를 각각 유체 소자에서 3 차원 상에서 배양하고 상기 유체 소자의 미세 채널을 서로 연결하여 생체 내 소화기계, 내분비계, 혈관계를 장과 이자의 관점에서 모사하는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0030] 평면상에서 단일 세포를 배양하는 기존의 연구방식은 3 차원인 생체 내에서 나타나는 현상과 큰 차이를 보이기 때문에, 그 결과의 신뢰성은 높지 않았다. 이에, 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치는 3 차원 상의 유체 소자를 이용하여 생체를 모사한 것으로서, 기존의 세포 배양 방법에 비해 생체와 더욱 유사한 결과를 도출할 수 있다.

[0031] 특히, 이자에서 분비되는 인슐린은 대표적 성인병인 당뇨와 비만에 밀접한 관계를 가진다고 알려져 있으며, 장 조직은 이자의 인슐린 분비를 유도하는 물질, 예를 들어, GLP-1을 합성하여 분비한다. 기존의 2 차원 상의 세포 배양법은 이자 세포와 장 세포를 분리된 형태로 각각 배양하여 특정 조건에 따른 세포의 변화를 측정할 수는 있으나, 이러한 인공적 조건은 생체 내에서 일어나는 현상과 다르게 부자연스러운 세포반응이 유도될 수 있다는 단점이 있다. 반면, 본원의 3 차원 내분비 미세유체 소자인 내분비 인자 스크리닝 장치는 기존의 배양 방식과 같이 분리 배양하는 형태는 유지하면서 서로 다른 세포가 배양액을 공유할 수 있으므로, 장 세포가 이자 세포에 미치는 영향을 다양한 조건에서 테스트할 수 있으며, 실시간으로 세포 분비물에 대한 시료 확보가 가능하여 시간에 따른 세포의 변화를 용이하게 분석할 수 있다.

[0032] 따라서, 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치를 이용하면 특정 화합물 또는 원소가 장 세포에 영향을 미침으로 인하여 장 세포가 이자 세포에 미치는 영향을 실시간으로 용이하게 분석하는 것이 가능하므로, 장 세포 및/또는 이자 세포의 내분비를 조절하는 인자를 스크리닝할 수 있다. 즉, 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치는 소화관과 장 세포-이자 세포의 혈관계를 모사하여 소화 흡수와 내분비 작용 간의 관계를 증명할 수 있으며, 영양물질, 기능 물질, 또는 약제 등에 따른 영향에 대해 장 세포와 이자 세포의 분자적/생리적 변화를 실시간으로 측정할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0033] 예를 들어, 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치는 또한 세포가 분비하는 다양한 생분자 물질의 분석 및 분류, 또는 단분자 레벨의 연구 등 나노 바이오 기술의 다양한 응용 분야에 적용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0034] 예를 들어, 장 세포는 포도당과 같은 혈액 내 물질의 농도에 따라 GLP-1(glucagon like protein-1)과 같은 물질을 분비하고, 상기 GLP-1과 같은 물질은 이자의 β-세포의 인슐린 분비를 촉진할 수 있다. 상기 GLP-1과 같은 물질은 생체의 노화와 같은 생체의 변화에 따라 그 분비량이 점차 변화되고, 이에 따라 인슐린의 분비량 역시 변화되는 경향이 있다. 특히, GLP-1의 경우 생체의 노화에 따라 그 분비가 감소되며, 이에 따라 인슐린의 분비 역시 감소되는 경향을 보인다.

[0035] 특히, 2 형 당뇨병과 같은 질병은 이자 세포의 인슐린 분비가 저하되어 발생하는 질병으로서, 이의 치료법 중 하나로는 GLP-1을 분해하는 DDP-4(dipeptidyl peptidase-4)의 저해제(inhibitor)를 체내에 주입하여 GLP-1의 효과를 증대시킴으로써 인슐린 분비를 촉진하는 방법 등이 있다.

[0036] 이와 관련하여, 인슐린 분비를 촉진하기 위한 목적으로, 상기 GLP-1 또는 GLP-1 저해제(또는 GLP-1 분해 물질)와 같은 물질의 분비를 조절(촉진 또는 억제)하는 화합물 또는 생분자 물질 등의 탐색에 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치가 사용될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0037] 예를 들어, 일정한 포도당 농도를 가지는 세포 배양 배지를 상기 내분비 인자 스크리닝 장치에 통과시켜 주면, 상기 포도당에 의해 장 세포에서 GLP-1이 분비되고 이에 따라 이자 세포의 인슐린의 분비가 촉진되게 되는데, 이때 추가적으로 시간에 따라 특정 화합물, 생분자 물질, 및/또는 원소 등을 상기 세포 배양 배지에 포함시켜 주었을 때 이자 세포로부터 분비되는 인슐린의 양을 시간에 따라 분석함으로써, 상기 특정 화합물, 생분자 물질, 및/또는 원소가 장 세포 및 이자 세포의 내분비에 어떠한 영향을 미치는지 분석하는 것이 가능하나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0038] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실 각각은 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널 각각의 적어도 일부와 인접하도록 배치되며, 상기 인접한 면에 상기 미세 채널이 형성된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0039] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 제 1 채널에 세포 배양 배지가 유입되면, 상기 세포 배양 배지는 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널을 차례로 통과하여 유출되며, 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널 각각에 유입된 상기

세포 배양 배지는 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실 내로 각각 침투되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0040] 예를 들어, 유입구를 통하여 상기 제 1 채널에 유입된 세포 배양 배지는 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 1 격실 내로 침투될 수 있으므로, 상기 세포 배양 배지에 내분비 인자, 예를 들어, 세포의 내분비에 영향을 미치는 생분자 물질, 화합물, 및/또는 원소가 포함되어 있는 경우, 상기 제 1 격실 내에 포함된 장 세포에 영향을 미칠 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 장 세포가 상기 내분비 인자에 의하여 영향을 받아 제 1 내분비 물질을 분비하게 되면, 상기 제 1 내분비 물질은 상기 세포 배양 배지와 함께 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 1 채널 내로 나와 상기 세포 배양 배지의 흐름에 따라 상기 제 2 채널로 이동할 수 있다. 상기 제 2 채널로 이동한 상기 제 1 내분비 물질은 유출되어 분석될 수도 있고, 및/또는 상기 제 2 채널에서 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 2 격실로 이동하여 상기 이자 세포에 영향을 미칠 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 이자 세포가 상기 제 1 내분비 물질에 의하여 영향을 받아 제 2 내분비 물질을 분비하게 되면, 상기 제 2 내분비 물질은 상기 제 2 격실로부터 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 2 채널로 이동하고, 이어서 유출구를 통하여 외부로 유출되어 분석될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 분석은 상기 제 1 내분비 물질 및/또는 상기 제 2 내분비 물질이 정성 및/또는 정량 분석되는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0041] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 미세 채널의 크기는 상기 장 세포 및 상기 이자 세포 각각의 직경보다 작은 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 장 세포 및/또는 상기 이자 세포의 직경은 약 3 ㎛ 내지 약 50 ㎛인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 장 세포 및/또는 상기 이자 세포의 직경은 약 3 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 5 ㎛ 내지 약 50 ㎛,약 10 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 15 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 20 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 30 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 5 ㎛ 내지 약 40 ㎛, 약 5 ㎛ 내지 약 30 ㎛, 약 5 ㎛ 내지 약 15 ㎛, 또는 약 5 ㎛ 내지 약 10 ㎛인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0042] 상기 미세 채널의 크기가 상기 장 세포 및 상기 이자 세포 각각의 직경 보다 작은 경우, 상기 장 세포 및 상기 이자 세포가 상기 미세 채널을 통하여 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널로 빠져나올 수 없고 상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실 각각의 내부에 유지되므로, 유출된 세포 배양 배지의 분석이 용이하고, 또한 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치를 장기간 유지하고 이용할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0043] 예를 들어, 상기 제 1 채널 및/또는 상기 제 2 채널의 내경은 약 10 ㎛ 내지 약 50 mm인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 제 1 채널 및/또는 상기 제 2 채널의 내경은 약 10 ㎛ 내지 약 50 mm, 약 50 ㎛ 내지 약 50 mm, 약 100 ㎛ 내지 약 50 mm, 약 300 ㎛ 내지 약 50 mm, 약 500 ㎛ 내지 약 50 mm, 약 1 mm 내지 약 50 mm, 약 10 mm 내지 약 50 mm, 약 10 ㎛ 내지 약 10 mm, 약 10 ㎛ 내지 약 500 ㎛, 약 10 ㎛ 내지 약 300 ㎛, 약 10 ㎛ 내지 약 100 ㎛, 또는 약 10 ㎛ 내지 약 50 ㎛인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0044] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 미세 채널의 크기는 약 0.1 ㎛ 내지 약 50 ㎛인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 미세 채널의 크기는 약 0.1 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 0.5 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 1 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 5 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 10 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 30 ㎛ 내지 약 50 ㎛, 약 0.1 ㎛ 내지 약 40 ㎛, 약 0.1 ㎛ 내지 약 30 ㎛, 약 0.1 ㎛ 내지 약 20 ㎛, 약 0.1 ㎛ 내지 약 15 ㎛, 약 0.1 ㎛ 내지 약 10 ㎛, 약 0.1 ㎛ 내지 약 5 ㎛, 약 0.1 ㎛ 내지 약 1 ㎛, 또는 약 0.1 ㎛ 내지 약 0.5 ㎛인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0045] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 세포 배양 배지는 내분비 인자 후보 물질을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 내분비 인자 후보 물질은 화합물 라이브러리로부터 선택되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 내분비 인자 후보 물질은 DPP-4 저해제 라이브러리(Selleckchem)에 포함된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 내분비 인자 후보 물질은 Sitagliptin phosphate monohydrate, Glimepiride, Saxagliptin (BMS-477118,Onglyza), Linagliptin (BI-1356), Vildagliptin (LAF-237), 또는 Alogliptin (SYR-322)를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0046] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 제 1 채널 및 제 2 채널은 고분자 또는 유리를 각각 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 고분자는 실리콘(Si)을 함유하는 무기물을 포함하는 것일 수 있으며, 또는 PDMS(polydimethylsiloxane), 폴리스티렌(polystylene), 폴리에틸렌(polyethylene), 폴리프로필렌(polypropylene), 폴리염화비닐(polyvinyl chloride, PVC), 폴리테트라플루오로에틸렌

(polytetrafluoroethylene, PTFE), 및 이들의 조합들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0047] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 장 세포 및 상기 이자 세포는 각각 포유류의 장 세포 및 이자 세포를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 포유류는 랫(rat), 마우스(mouse), 소, 돼지, 염소, 햄스터, 토끼, 또는 인간을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0048] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 장 세포 및 상기 이자 세포는 동일한 세포 배양 배지에 노출되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 장 세포 및 상기 이자 세포는 각각 별도로 조성된 배지 내에서 유지될 필요 없이, 동일한 세포 배양 배지에 노출된 상태로 장기간 정상적으로 유지될 수 있으므로, 동일한 세포 배양 배지가 상기 장 세포 및 상기 이자 세포를 통과하며 생체와 유사한 조건을 제공할 수 있다. 또한, 동일한 세포 배양 배지가 상기 장 세포 및 상기 이자 세포를 차례로 통과하며, 상기 장 세포로부터 분비된 내분비 물질이 손실되지 않고 상기 이자 세포에 영향을 미칠 수 있다.

[0049] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 제 1 격실 및 상기 제 2 격실 각각은 가스 공급 장치에 추가적으로 연결되어 있는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 가스 공급 장치는 생체와 유사한 환경을 세포에 공급하기 위하여 세포 배양 배지의 가스 농도를 조절하기 위한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0050] 본원의 제 2 측면은, 본원의 제 1 측면에 따른 내분비 인자 스크리닝 장치를 이용한 내분비 인자 스크리닝 방법에 있어서, 제 1 채널에 내분비 인자 후보 물질을 포함하는 세포 배양 배지를 유입시킨 후, 제 2 채널로부터 유출되는 상기 세포 배양 배지에 포함된 내분비 물질을 분석하는 것을 포함하는 것인, 내분비 인자 스크리닝 방법을 제공할 수 있다.

[0051] 본원의 내분비 인자 스크리닝 방법에 따르면, 상기 제 1 채널의 유입구를 통하여 유입된 동일한 세포 배양 배지가 장 세포 및 이자 세포를 차례로 지나 상기 제 2 채널의 유출구를 통하여 유출되게 되므로, 상기 유출된 세포 배양 배지를 분석함으로써 상기 장 세포로부터 분비된 내분비 물질이 상기 이자 세포에 어떠한 영향을 미치고, 이에 따라 상기 이자 세포가 어떠한 내분비 물질을 얼마나 분비하는지 여부를 분석할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0052] 예를 들어, 상기 유출된 세포 배양 배지는 ELISA, 질량분석법(mass spectrometry), 면역 검정(immunoassay), SDS-PAGE, 면역침전법(immune precipitation), 크로마토그래피, 또는 웨스턴 블롯에 의하여 분석될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0053] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 장 세포 및 상기 이자 세포는 동일한 세포 배양 배지에 노출되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0054] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 세포 배양 배지에 포함되는 상기 내분비 인자 후보 물질의 양 또는 종류, 또는 양 및 종류를 시간에 따라 조절하고, 상기 세포 배양 배지에 포함된 내분비 물질의 시간에 따른 변화가 측정되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0055] 이하, 본원에 대하여 실시예를 이용하여 보다 더 구체적으로 설명하지만, 본원이 이에 제한되는 것은 아니다.

[0056] **[실시예]**

[0057] **1. 세포 배양**

[0058] 본 실시예에서는, 장 세포로서 마우스(mouse) 유래의 장내분비세포(enteroendocrine cell)인, L-세포인 GLUTag 세포(성균관대학교에서 분양)를 사용하였고, 이자 세포로서 랫(rat) 유래의 β-세포인 INS-1 세포(경희대에서 분양)를 사용하였다. 세포 배양 배지는 저포도당(low glucose) DMEM에 약 10% (v/v)의 우태아혈청 (FBS) 및 약 1%의 페니실린/스트렙토마이신(penicillin/streptomycin)을 첨가한 것을 사용하였다. 구체적으로, 약 100 μg/mL의 스트렙토마이신 및 약 100 유닛/mL의 페니실린을 사용하였다. 또한, 60 mM의 헤페스(HEPES)를 선택적으로 사용하였다.

[0059] 세포의 배양을 위하여, HEPES가 포함된 배지를 사용한 경우 공기 상태에서, HEPES가 포함되지 않은 배지를 사용한 경우 5 % CO_2 인큐베이터 상에서 배양하였다.

[0060] 상기 두 세포는 내분비 인자 스크리닝 장치의 제 1 격실 및 제 2 격실에 각각 주입되어 배양되었고, 상기 세포들은 응집체(aggregate)를 형성하고 3 차원의 세포 형태(3D cell morphology)를 나타내며 약 3 일간의 배양 후에도 우수한 세포 생존률 (95% 이상)을 나타내었다. 배지의 관류 속도는 약 0.5 ㎕/min 이었으며, 실린지 펌프(harvard apparatus)를 이용하여 배지를 관류시켰다.

[0061] 도 5a 내지 도 5c은 격실 내에서 배양된 세포들을 Calcein AM 및 에티듐 호모다이머-1(Ethidium homodimer-1)을 이용하여 염색한 후 공초점 현미경(Confocal laser scanning microscopy, LSM510, Carl Zeiss, Jena, Germany) 이미지를 수득하여 세포 생존률을 가시화하여 나타낸 것이다. 구체적으로, 도 5a는 INS-1이 배양되는 격실과 연결되지 않은 격실 내에서 배양된 GLUTag 세포를, 도 5b은 GLUTag가 배양되는 격실과 연결되지 않은 격실 내에서 배양된 INS-1 세포를, 및 도 5c은 상기 GLUTag 세포가 배양되는 격실과 상기 INS-1 세포가 배양되는 격실을 채널을 통하여 연결하여 내분비 인자 스크리닝 장치를 완성한 후의 INS-1 세포를 염색한 것이다. 상기 도 5a 내지 5c을 참조하면, 모든 경우 세포들의 생존률이 매우 우수한 것을 확인할 수 있다.

[0062] 도 6a 및 도 6b는 약 72 시간 동안 배양된 INS-1 세포 및 GLUTag 세포의 F-actin을 형광 염색하여 나타낸 공초점 현미경 이미지이다. 도 6a 및 도 6b에 의하여, F-actin 구조를 포함하는 3 차원 세포 골격이 확인되었다.

[0063] 도 7a 및 도 7b는 약 72 시간 동안 관류배양(perfusion culture)된 INS-1 세포 및 GLUTag 세포의 주사전자현미경(Scanning electron microscope, JSM-6700F, JEOL, Munich, Germany) 이미지이다. 도 7a 및 도 7b에 의하여, 세포가 배양 중에 스스로 분비한 세포 외 기질(ECM)에 의하여 3 차원 형태 및 구조를 형성한 것이 확인되었다.

[0064] **2. 포도당 농도에 대한 INS-1 세포의 반응 분석**

[0065] 본 실시예에서는, 배지 내의 포도당 농도가 순차적으로 증가할 경우의 INS-1 세포의 인슐린 분비 반응을 관찰하기 위하여, GLUTag 세포가 배양되는 격실과 연결하지 않은 채로 INS-1 세포를 배양하고, 상기 INS-1 세포에 유입되는 배지에 함유된 포도당 농도를 시간에 따라 조절하고, 이후 유출되는 배지 내의 인슐린 농도를 시간에 따라 측정함으로써 상기 INS-1 세포가 분비하는 인슐린의 양을 분석하였다. 구체적으로, INS-1 세포를 먼저 포도당을 포함하지 않은 배지 내에서 약 1 시간 동안 적응시킨 후, 저농도 (약 2 mM)에서 약 30 분 동안, 및 고농도(약 20 mM)에서 약 25 분 동안 유지되었고, 이후 다시 저농도를 유지하여다. 유출되는 배지 내의 인슐린 농도는 sELISA(sandwich enzyme-linked immunosorbent assay)를 이용하여 측정되었으며, 그 결과는 도 8의 그래프에 나타내었다.

[0066] 본 실험에 의하여 INS-1 세포의 포도당 유입농도에 따른 인슐린 생산량이 실시간으로 파악되었다. 도 8에 따르면, 저농도 포도당 환경에서는 인슐린 분비가 거의 일어나지 않지만 고농도 포도당이 존재하는 환경으로 전환시 인슐린 분비가 증가되며, 한번 인슐린의 분비가 시작된 췌장 세포는 저농도 포도당 환경으로 전환되어도 일정 시간 동안 인슐린의 생산 및 분비가 유지되는 것으로 나타났다.

[0067] 이러한 분비 패턴은 생체 내에서의 이자 세포의 인슐린 분비 패턴과 매우 흡사한 것으로서, 본원의 내분비 인자 스크리닝 장치가 인체 내의 환경을 매우 유사하게 모사하고 있음이 확인되었다.

[0068] **3. 포도당 농도에 대한 GLUTag 세포의 반응 분석**

[0069] 본 실시예에서는, 배지 내에 포함된 포도당의 농도에 따른 GLUTag 세포의 GLP-1 생산 정도를 실시간으로 분석하였다. INS-1 세포가 배양되는 격실과 연결되지 않은 채로 GLUTag 세포를 배양하고, 상기 GLUTag 세포에 유입되는 배지에 함유된 포도당 농도를 시간에 따라 조절하고, 이후 유출되는 배지 내의 GLP-1 농도를 시간에 따라 측정함으로써 상기 GLUTag 세포가 분비하는 GLP-1의 양을 분석하였다. 포도당 농도는 저농도 (약 2 mM)에서 약 15 분 동안, 고농도(약 20 mM)에서 약 45 분 동안 유지되었으며, 이후 다시 저농도를 유지하였다. 유출되는 배지 내의 GLP-1 농도는 sELISA(sandwich enzyme-linked immunosorbent assay)를 이용하여 측정되었으며, 그 결과는 도 9의 그래프에 나타내었다.

[0070] 도 9에 나타난 바에 따르면, GLP-1의 분비는 시간에 따라 점차 증가하여, 두 번째 저농도 포도당 처리 후 약 30

분경에 가장 높은 분비량을 나타내었고, 이후 점차적으로 감소되었다. 즉, GLUTag 세포의 경우 배지 내 포도당 농도의 증가에 따라 GLP-1의 분비가 증가되나, 해당 환경에 노출된 후 약 1 시간 후에 반응이 나타나는 것이 확인되었다.

[0071] **4. 포도당 농도에 대한 GLUTag 세포 및 INS-1세포의 반응 분석**

[0072] 본 실시예에서는, 생체 내에 포도당이 유입되는 경우 일차적으로 흡수되는 기관인 장에서 장 세포가 포도당의 유입에 대응하여 생산하는 GLP-1이 이자 세포의 인슐린 생산에 기여하는 효과를 확인하였다. GLUTag 세포가 배양되는 격실(제 1 격실)에 연결된 채널(제 1 채널)과 INS-1 세포가 배양되는 격실(제 2 격실)에 연결된 채널(제 2 채널)을 연결하고, 제 1 채널의 유입구에 세포 배양 배지를 유입시켜 상기 세포 배양 배지가 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널을 차례로 통과하여 상기 제 2 채널의 유출구를 통하여 유출되도록 하였다. 이 때, 상기 제 1 채널과 상기 제 1 격실 사이, 및 상기 제 2 채널과 상기 제 2 격실 사이의 미세 채널을 통하여 상기 세포 배양 배지가 상기 GLUTag 세포 및 INS-1 세포와 접촉할 수 있었다.

[0073] 상기 제 1 채널의 유입구에 유입되는 상기 세포 배양 배지에 함유되는 포도당 농도를 조절하면서, 상기 제 2 채널의 유출구로 유출되는 세포 배양 배지에 포함되는 인슐린 농도를 분석하였다. 구체적으로, 포도당을 포함하지 않은 배지에서 포도당 농도는 저농도 (약 2 mM)에서 약 15 분 동안, 고농도(약 20 mM)에서 약 45 분 동안 유지되었으며, 이후 다시 저농도를 유지하였다. 유출되는 배지 내의 인슐린 농도는 sELISA(sandwich enzyme-linked immunosorbent assay)를 이용하여 측정되었으며, 그 결과는 도 10의 그래프에 나타내었다.

[0074] 도 10에 나타난 바에 따르면, 포도당의 유입에 따라 인슐린의 분비가 증가함을 확인할 수 있었다. 다만, 인슐린 분비의 최고점은 저농도의 포도당을 적용한 경우에 관찰되었는데, 이는 상기 실시예에서 포도당 유입에 따른 GLP-1 분비 피크가 나타나는 반응 시간에 약 1 시간 정도의 지연이 나타나기 때문에, 상기 GLP-1 피크에 대응한 인슐린 분비의 피크 역시 약 1 시간 정도의 지연이 나타나는 것으로 분석된다.

[0075] 전술한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수도 있다.

[0076] 본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

부호의 설명

[0077] 100 : 제 1 채널

110 : 유입구

200 : 제 2 채널

210 : 유출구

300 : 제 1 격실

310 : 제 1 세포 주입구

400 : 제 2 격실

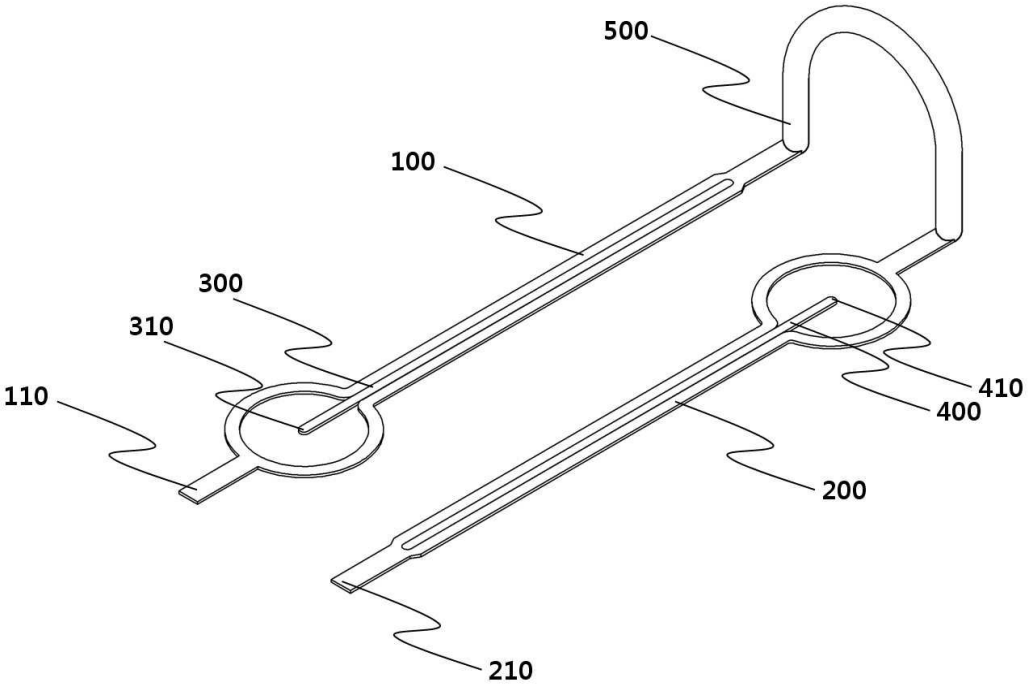
410 : 제 2 세포 주입구

500 : 연결 채널

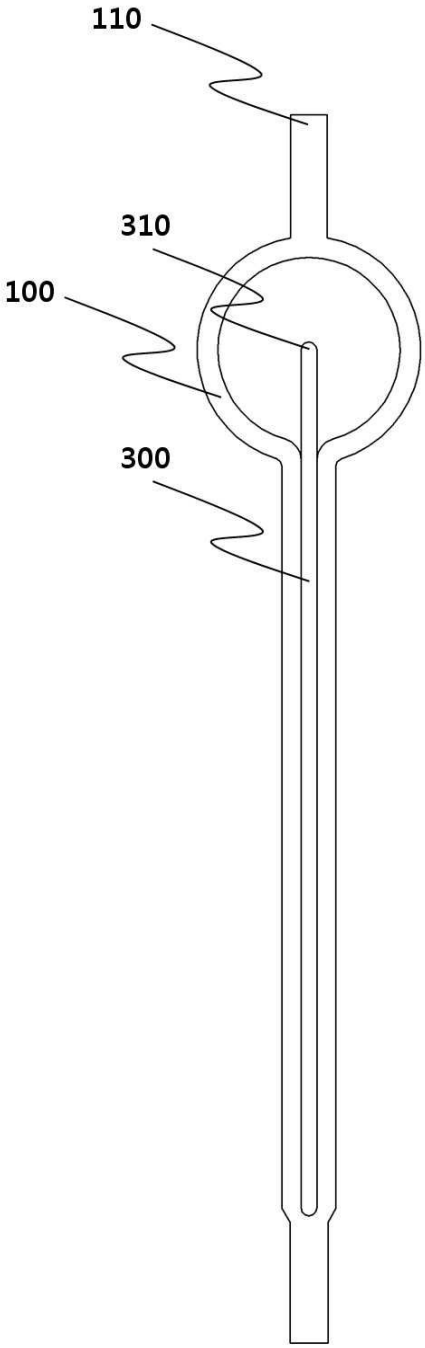
600 : 가스 공급 장치

도면

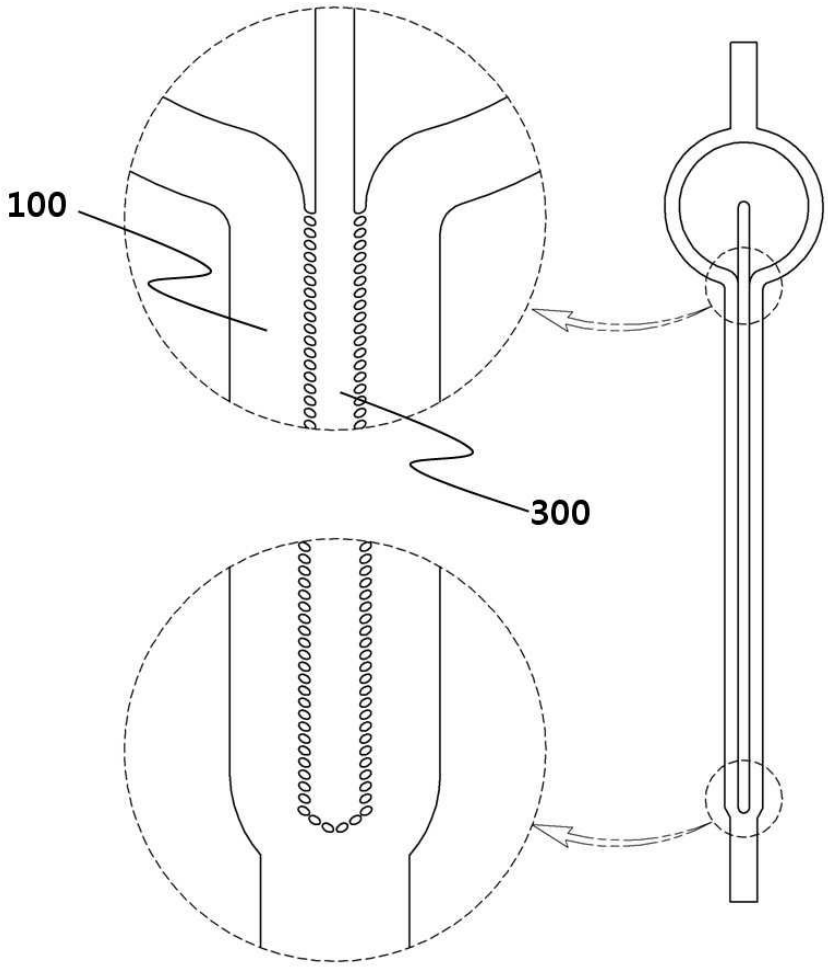
도면1



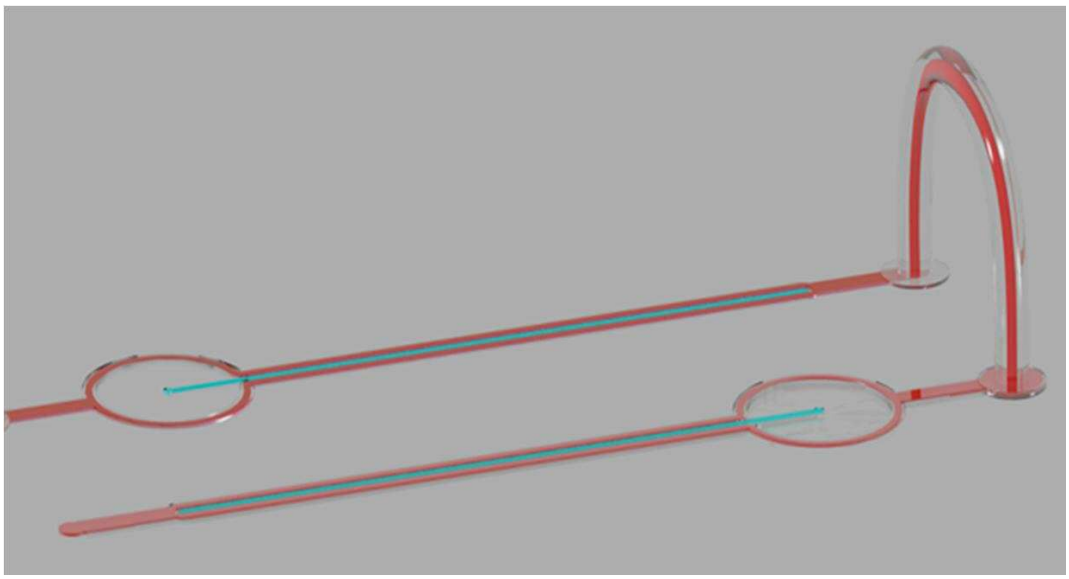
도면2a



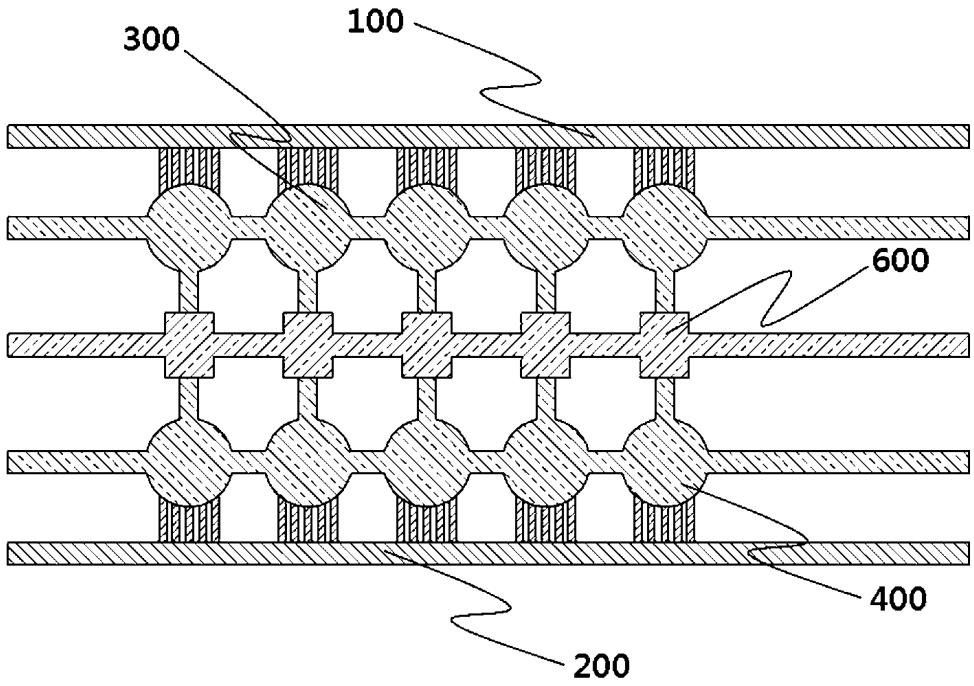
도면2b



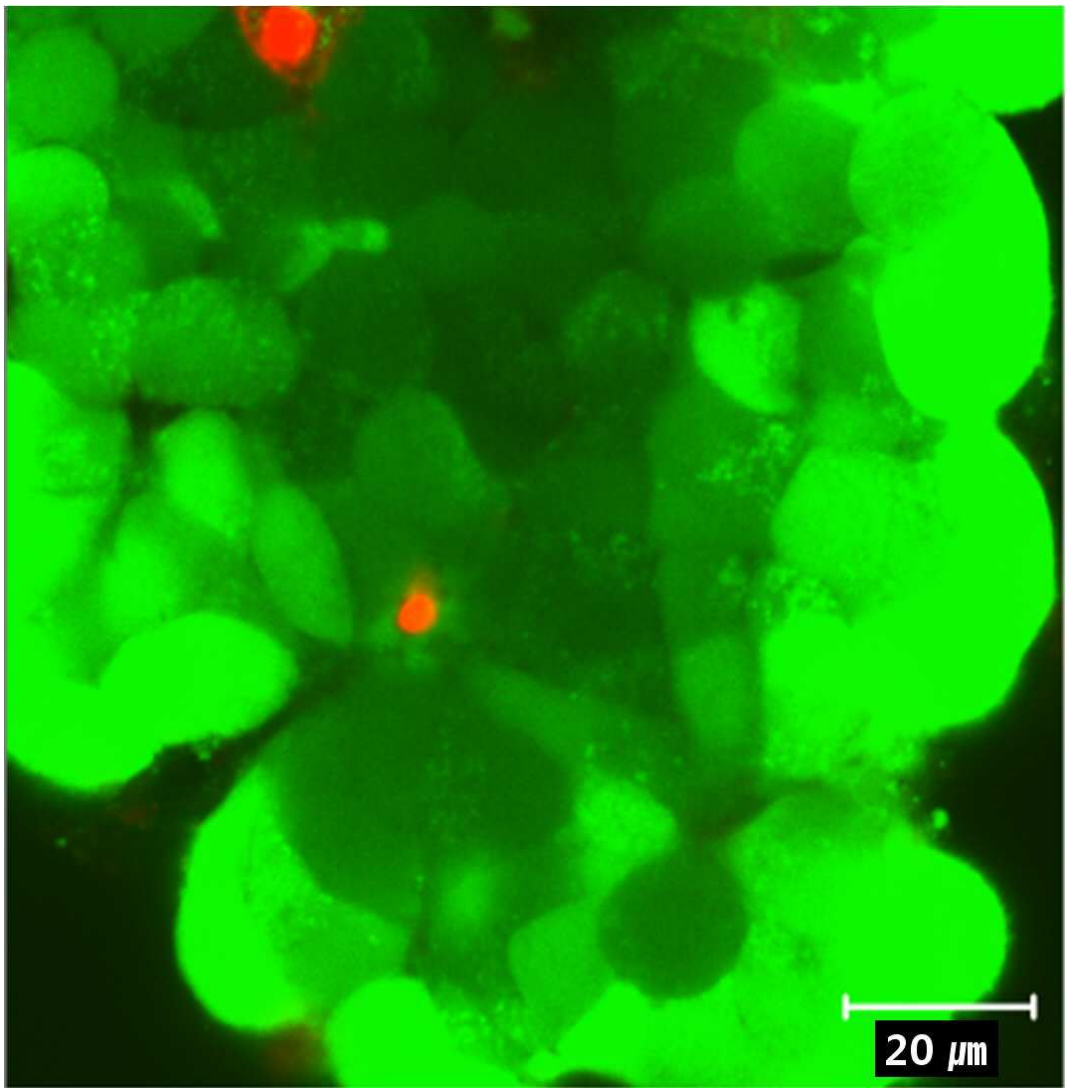
도면3



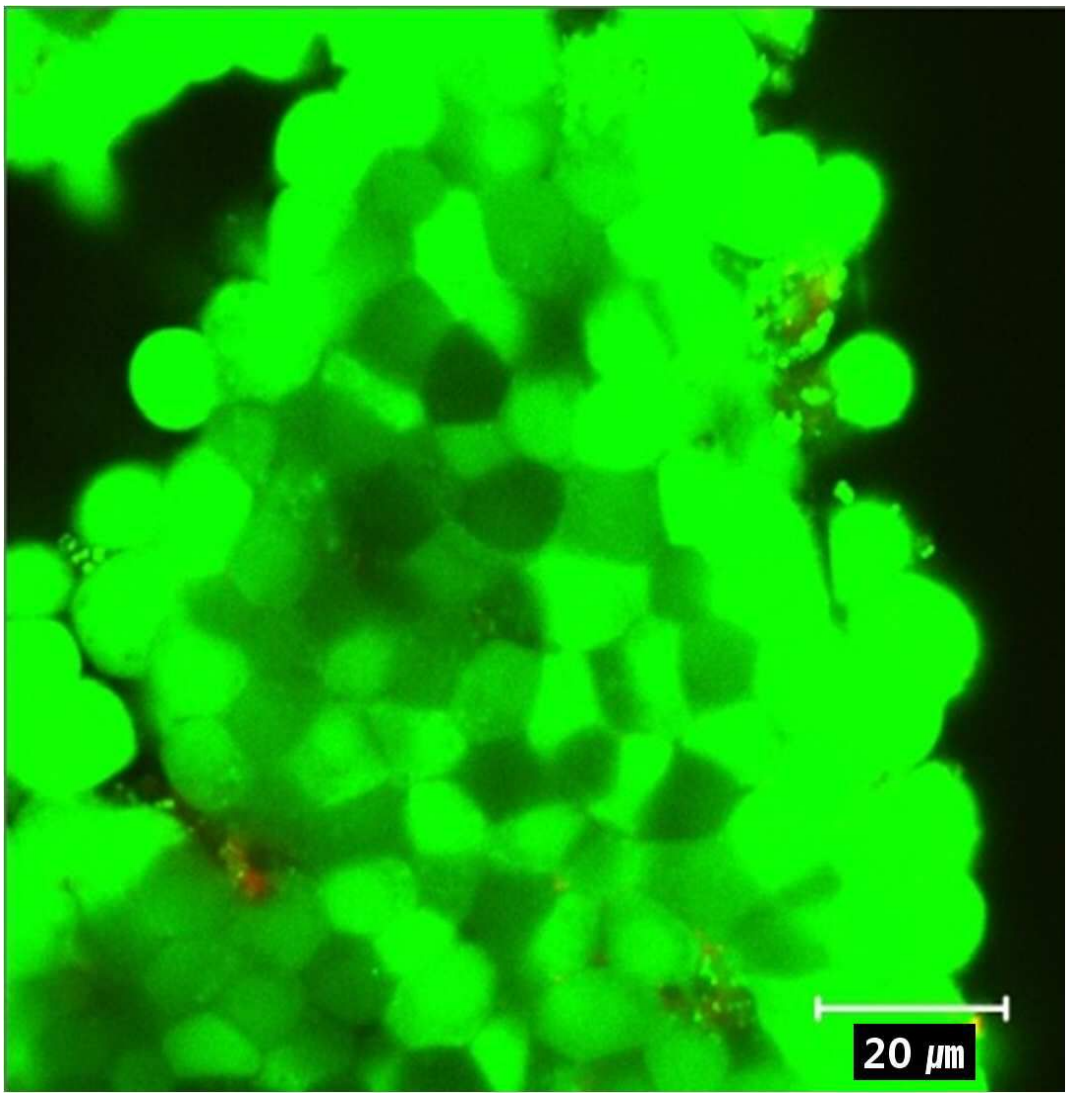
도면4



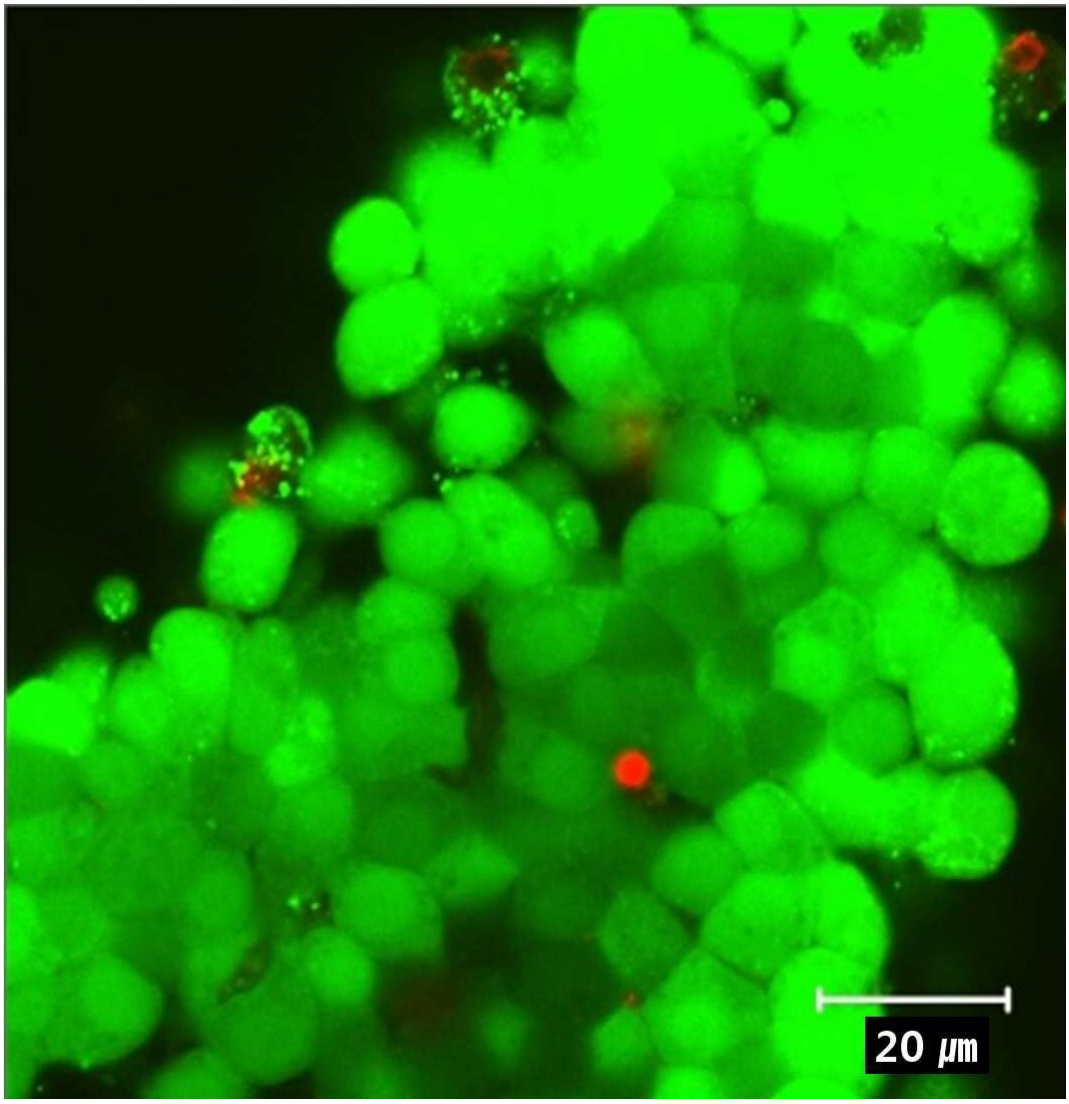
도면5a



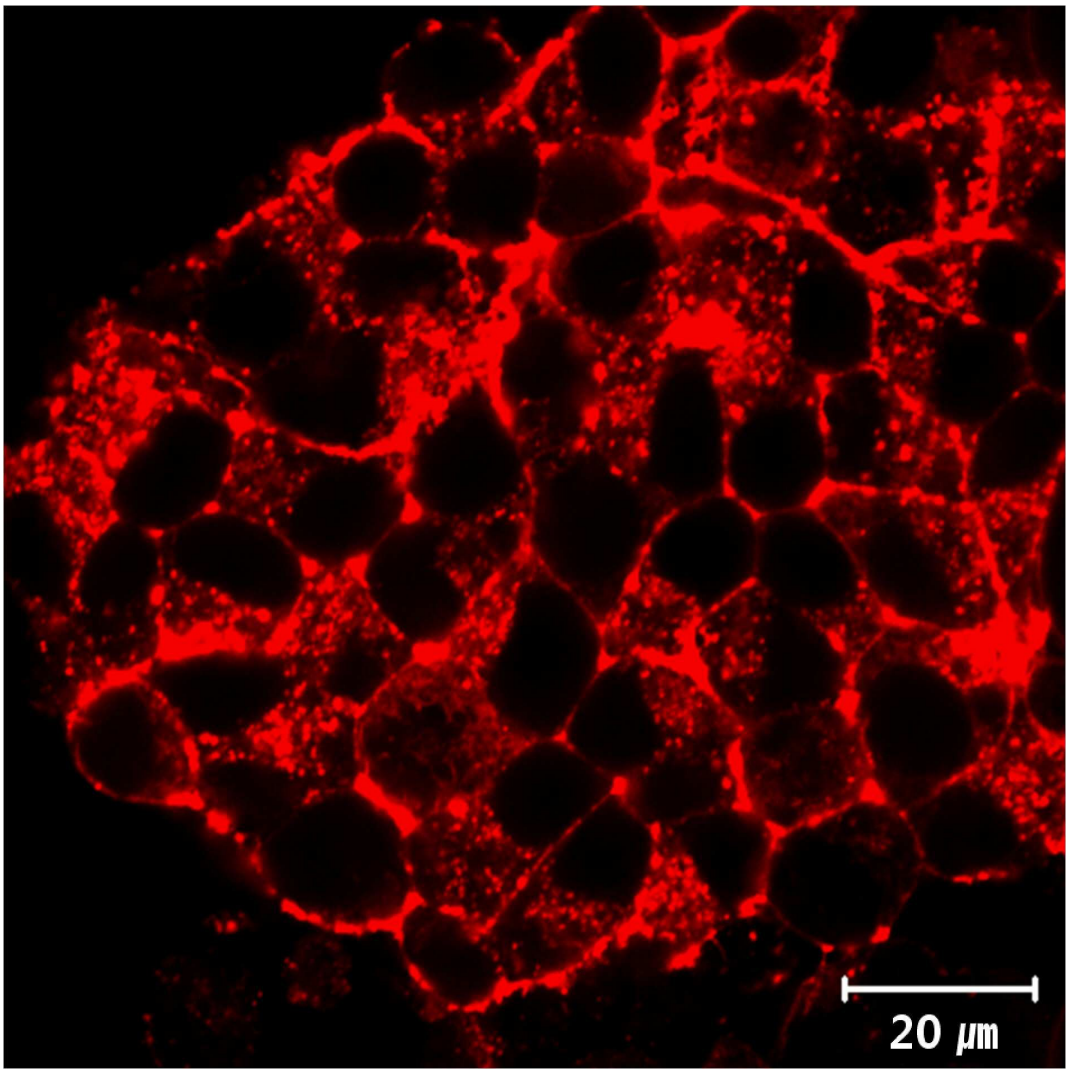
도면5b



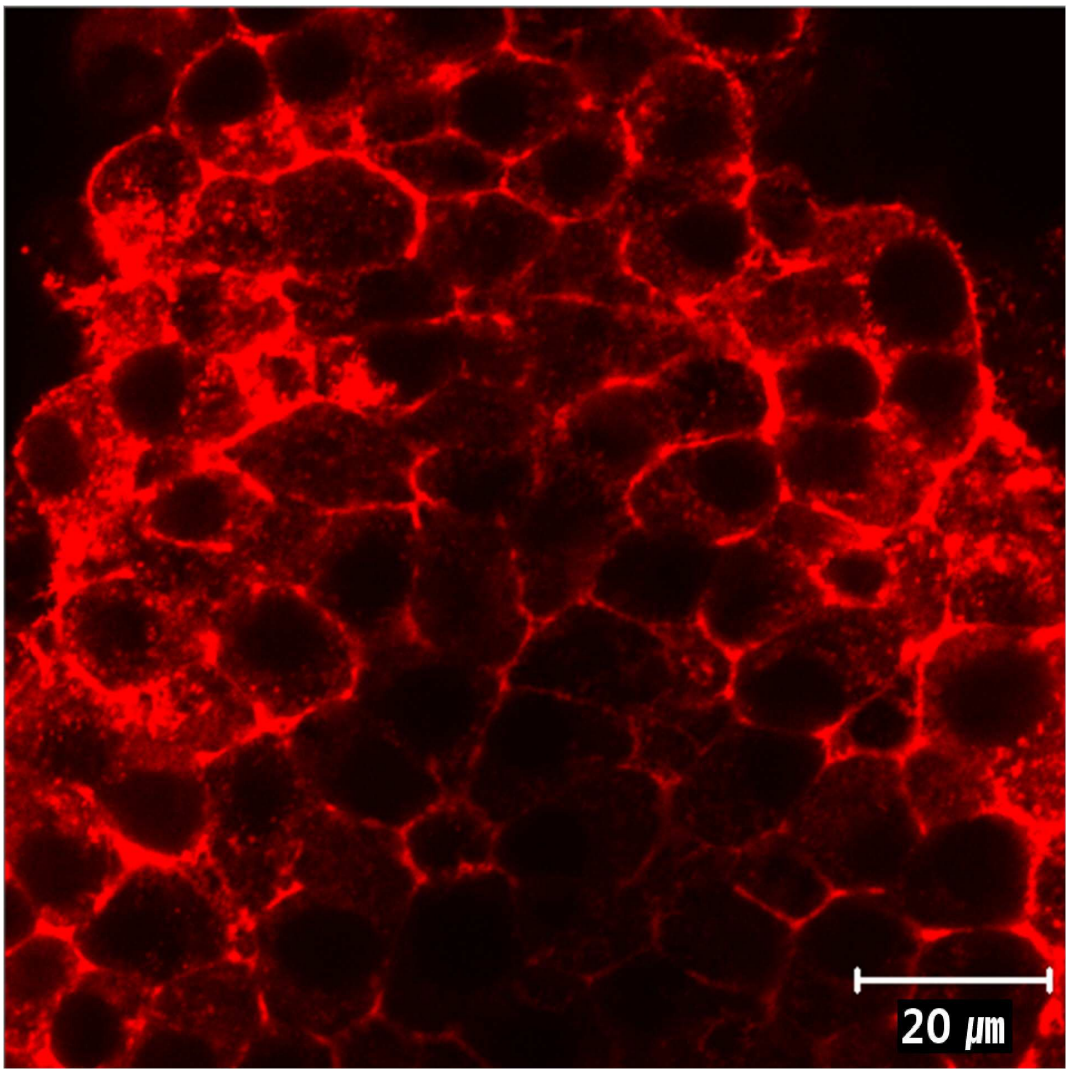
도면5c



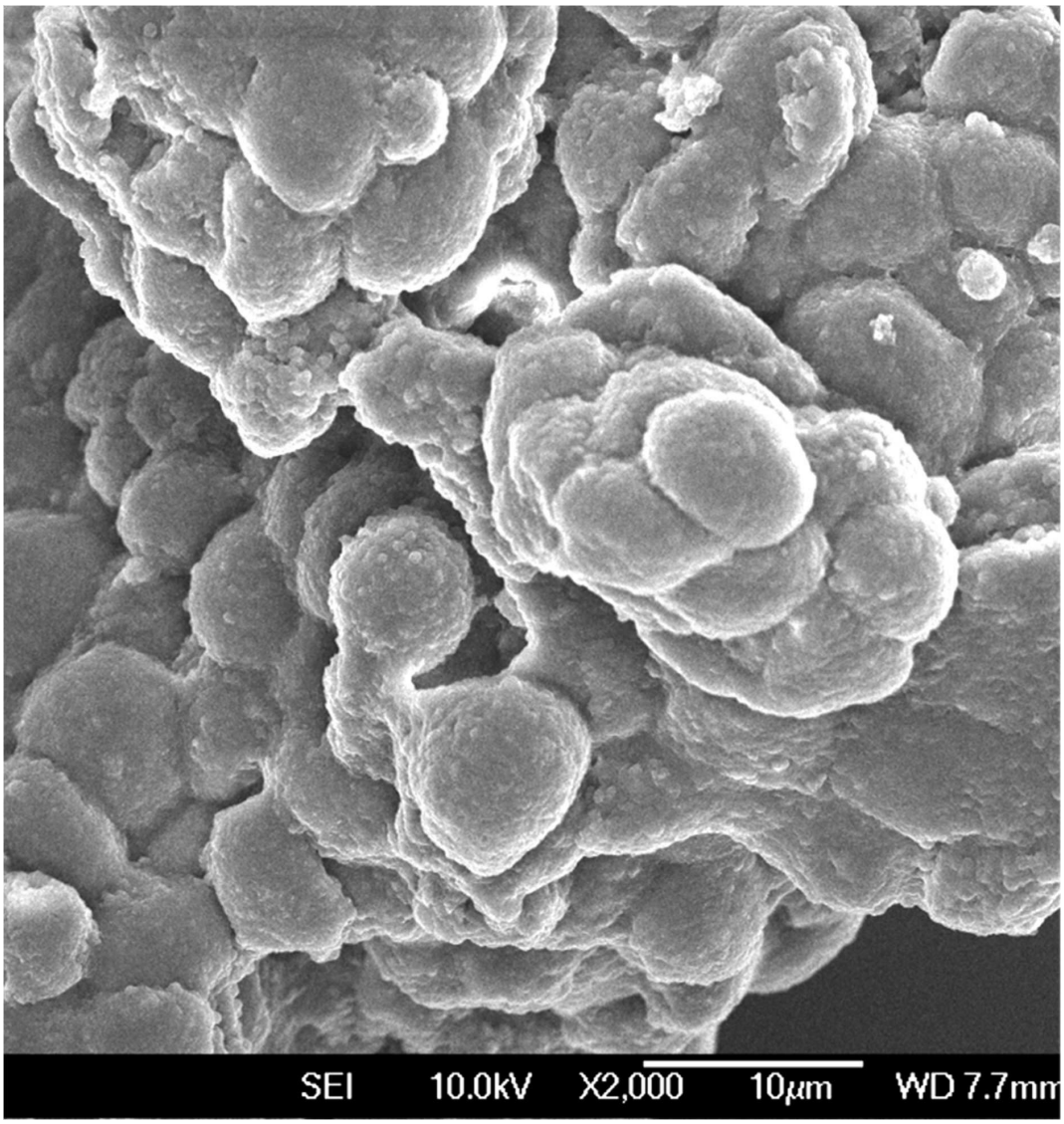
도면6a



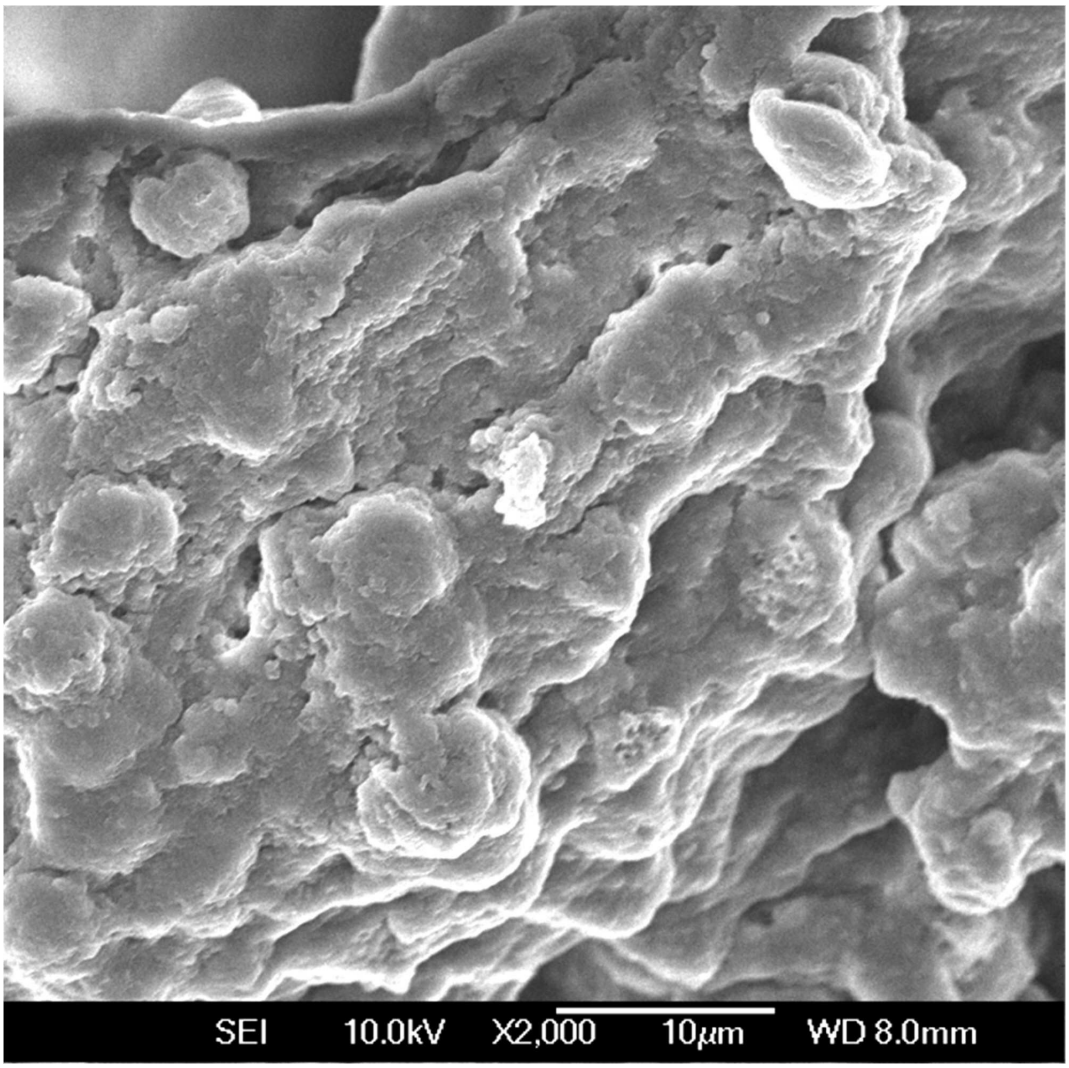
도면6b



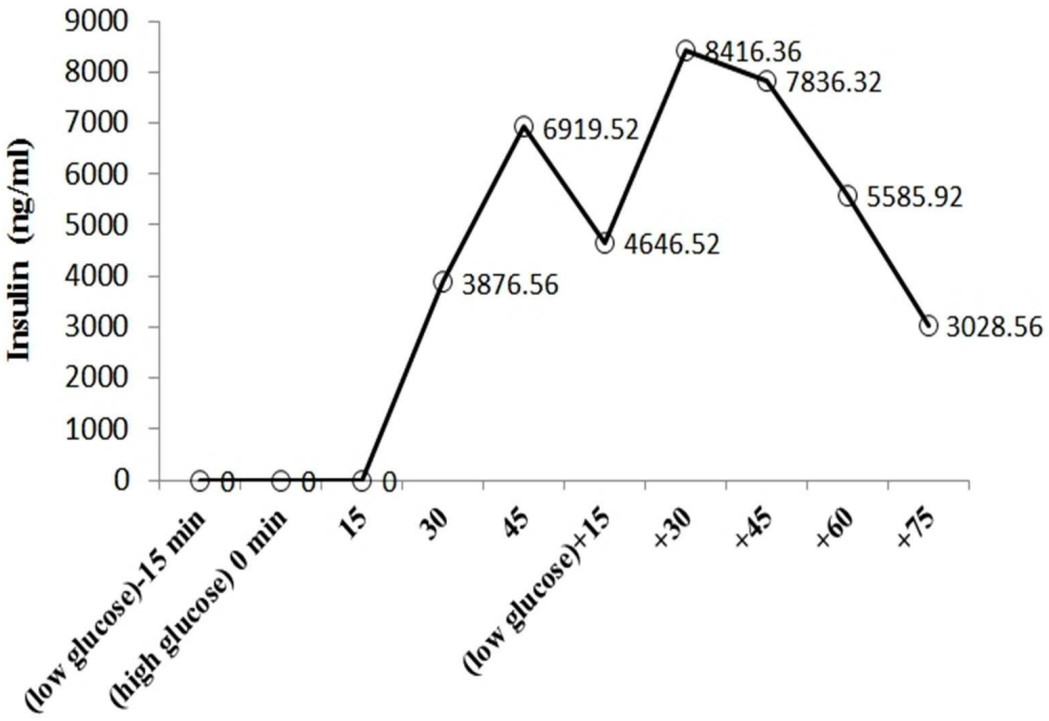
도면7a



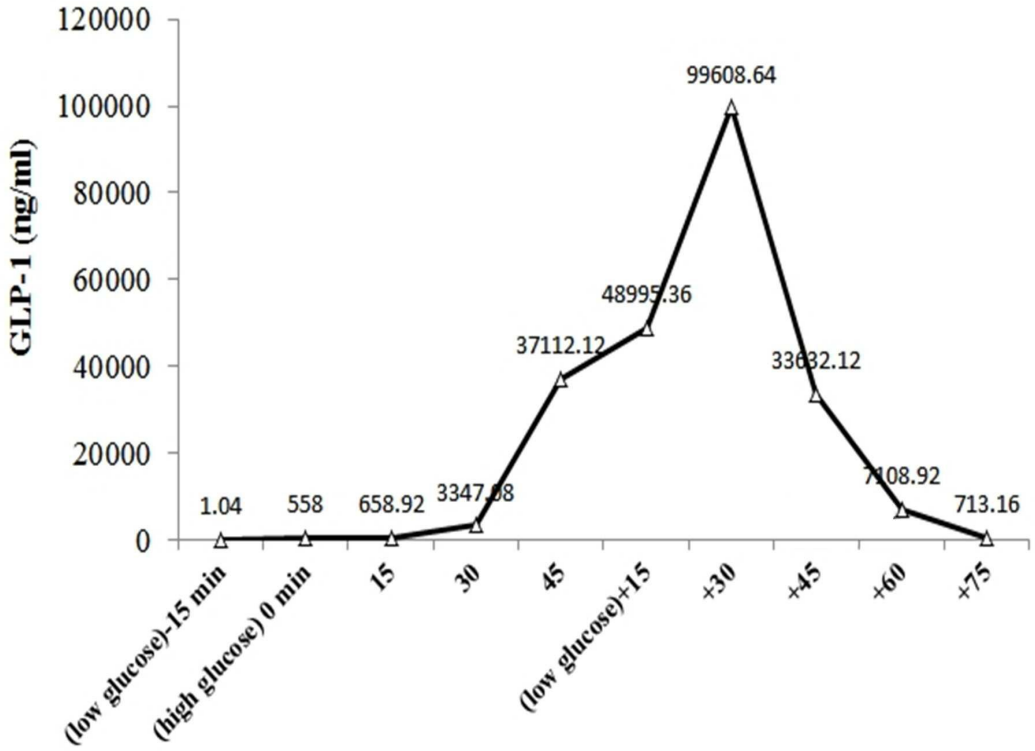
도면7b



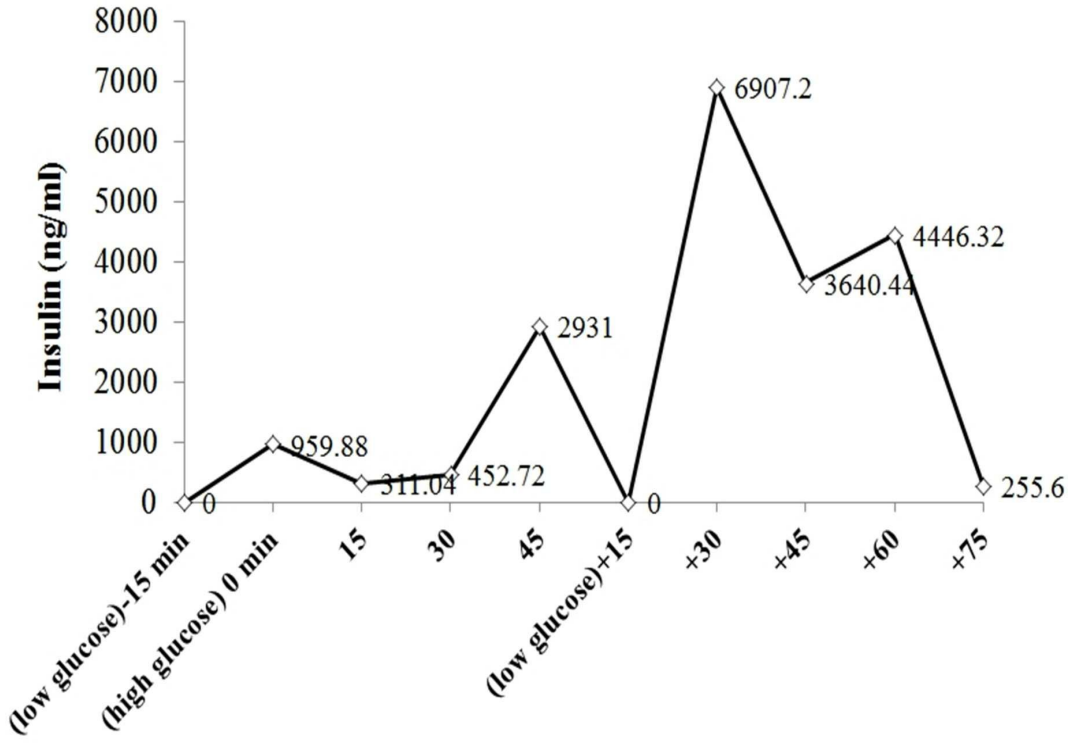
도면8


Insulin (ng/ml)
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
0
0
3876.56
6919.52
4646.52
8416.36
7836.32
5585.92
3028.56
(low glucose)-15 min
(high glucose) 0 min
15
30
45
(low glucose)+15
+30
+45
+60
+75

도면9


GLP-1 (ng/ml)
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
1.04
558
658.92
3347.08
37112.12
48995.36
99608.64
33632.12
7108.92
713.16
(low glucose)-15 min
(high glucose) 0 min
15
30
45
(low glucose)+15
+30
+45
+60
+75

도면10


Insulin (ng/ml)
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
959.88
311.04
452.72
2931
0
6907.2
3640.44
4446.32
255.6
(low glucose)-15 min
(high glucose) 0 min
15
30
45
(low glucose)+15
+30
+45
+60
+75