



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0094317

(43) 공개일자 2015년08월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12M 1/42 (2006.01) **G01N 1/44** (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0015450

(22) 출원일자 2014년02월11일

심사청구일자 2014년02월11일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

천홍구

서울특별시 송파구 올림픽로 435 (신천동, 파크리오아파트 214-502)

(74) 대리인

특허법인남춘

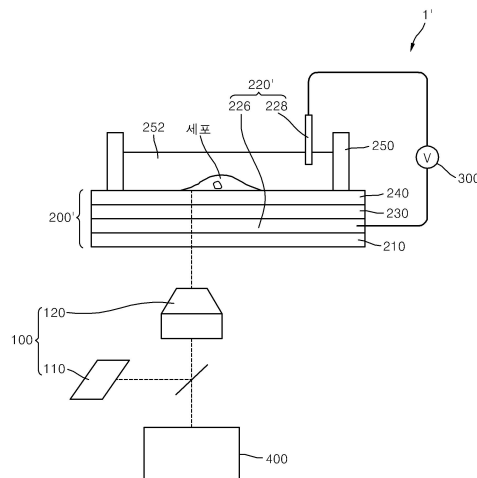
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 **광전자 세포 자극기**

(57) 요약

해상도가 높고 세포에 인위적인 조작을 가하지 않으면서 각 신경세포를 축색돌기 수준으로 독립적으로 자극시킬 수 있는 세포 자극기를 제공한다. 본 발명에 따른 세포 자극기는 전원에 연결된 전극; 상기 전극과 전기적으로 접촉하는 광도전층(photoconductive layer); 및 상기 전극에 가해진 전압이 상기 광도전층을 통하여 상기 광도전층 상에 놓이는 세포에 전기 자극으로서 가해지도록 상기 광도전층의 전기적 도통 부분을 선택적으로 형성하기 위한 빛을 발생시키는 광원부를 포함한다.

대표도 - 도3



명세서

청구범위

청구항 1

전원에 연결된 전극;

상기 전극과 전기적으로 접촉하는 광도전층(photoconductive layer); 및

상기 전극에 가해진 전압이 상기 광도전층을 통하여 상기 광도전층 상에 놓이는 세포에 전기 자극으로서 가해지도록 상기 광도전층의 전기적 도통 부분을 선택적으로 형성하기 위한 빛을 발생시키는 광원부를 포함하는 세포 자극기.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 전극은 단일 기관 상에 서로 이격되어 위치하는 깎지 낀 형태(interdigitate)의 전극인 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 전극은 층 형태의 평판형 전극과 외부 전극으로 이루어진 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 광원부는 DMD를 포함하는 광원; 및

상기 광원의 빛의 크기를 줄일 수 있는 집광렌즈를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

청구항 5

제2항 또는 제3항에 있어서, 상기 광원부로부터 발생된 빛은 상기 전극을 통하여 입사하고 상기 전극은 투명전극인 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 세포의 형광 또는 발광 신호를 얻어 들이기 위한 카메라부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 세포에 형광 신호를 자극시키기 위한 여기광원 및 상기 여기광원과 광원부의 빛이 중복되지 않도록 시분할하는 장치를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 광도전층 상에 유전층을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 유전층 상에 상기 세포를 포함하는 배양액이 담기도록 하는 세포설치부가 더 형성되어 있는 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 광도전층 상에 광학필터층을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 자극기.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 세포 자극기에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 광학 패턴을 이용한 전기 자극 방식의 세포 자극기에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 세포, 특히 신경세포는 전기 자극에 반응하며 전기 신호 출력을 낸다. 신경세포의 활동 패턴을 분석하는 것은 뇌를 이해하기 위한 기초 단계이며, 약물의 효능을 검사하는 방법이기도 하다.

[0003] 신경세포의 활동 패턴을 분석하기 위해 MEA(multi microelectrode array)가 이용되고 있다. 이것은 반도체 공정 기술을 이용해 유리 또는 실리콘 기판에 수 ~ 수십 μm 크기의 전극을 형성하고, 그 위에 신경세포를 배양하면서 전기 자극을 가하고 그 전기 신호를 읽어 들이는 기술이다. 이 기술은 64, 256, 그리고 많게는 4000 채널까지의 제품으로 상용화되어 있다.

[0004] 그런데, 신경세포를 배양하여 신경망을 이루게 하면 신경세포와 축색돌기(axon)의 연결 조합 수가 크게 늘어나 수십 ~ 수백 채널의 MEA를 이용해서는 신경망의 신호 전달 과정을 충분한 해상도로 분석할 수 없다. 이와 같이 MEA는 신경과학(neuroscience)의 기본 연구 도구로서 널리 활용되어 왔으나 각 신경세포의 활동도, 축색돌기, 시냅스(synapse), 수상돌기(dendrite)의 신경 전달을 모두 파악할 수 없고 배양되는 세포의 극히 일부만 검사할 수 있기 때문에 언더샘플링(under sampling)의 한계를 가지고 있다. 뿐만 아니라, MEA는 세포의 높이에 따른 신호를 구분해내지 못해 세포 배양을 기판 상에서 2차원으로 하여야 하는데, 2차원으로 배양된 신경망은 생체내(in-vivo) 뇌의 원래 구조와 다르기 때문에 2차원 시스템에서 얻어진 지식을 그대로 적용하는 데에는 무리가 있다.

[0005] 특정 신경세포를 자극하기 위한 방법으로는 광유전자학(optogenetics)이 있다. 이것은 시신경이 빛에 반응하는 것을 응용한 것으로, 빛 자극을 전기 신호로 바꾸는 시신경 리셉터를 바이러스를 통해 일반 신경세포에 발현시켜, 그 신경세포에 빛을 비추으로써 자극하는 기술이다. 이는 생체내 상태에서의 실험도 가능하고, MEA보다 좀 더 정교한 방법으로 높은 시공간적 해상도를 가지고 신경세포들을 조절할 수 있으며, 특정 신경세포만 선택적으로 관찰할 수 있는 장점이 있다. 그러나, 인위적인 조작을 가해 신경세포 자체를 변경시켜야 하므로 인체에 적용하는 것은 거의 불가능하고, 바이러스에 감염된 세포의 반응이 원래의 세포와 동일하다는 보장이 없다는 단점을 가진다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 해상도가 높고 세포에 인위적인 조작을 가하지 않으면서 각 신경세포를 축색돌기 수준으로 독립적으로 자극시킬 수 있는 세포 자극기를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 과제를 해결하기 위한 본 발명에 따른 세포 자극기는 전원에 연결된 전극; 상기 전극과 전기적으로 접촉하는 광도전층(photoconductive layer); 및 상기 전극에 가해진 전압이 상기 광도전층을 통하여 상기 광도전층 상에 놓이는 세포에 전기 자극으로서 가해지도록 상기 광도전층의 전기적 도통 부분을 선택적으로 형성하기 위한 빛을 발생시키는 광원부를 포함한다.

[0008] 본 발명에 따른 세포 자극기에 있어서, 상기 전극은 단일 기판 상에 서로 이격되어 위치하는 깎지 낀 형태(interdigitate)의 전극 혹은, 평판형 전극과 외부 전극으로 이루어질 수 있다.

[0009] 상기 광원부는 DMD(Digital Micromirror Device)를 포함하는 광원; 및 상기 광원의 회절한계(diffraction-limit)까지 빛의 크기를 줄일 수 있는 집광렌즈를 포함하는 것이 바람직하다.

[0010] 상기 광원부로부터 발생된 빛은 상기 전극을 통하여 입사하고 상기 전극은 투명전극일 수 있다.

[0011] 본 발명에 따른 세포 자극기는 상기 세포의 형광 또는 발광 신호를 얻어 들이기 위한 카메라부를 더 포함할 수 있다. 이 때, 상기 세포에 형광 신호를 자극시키기 위한 여기광원 및 상기 여기광원과 광원부의 빛이 중복되지 않도록 시분할하는 장치를 더 포함하도록 한다.

[0012] 본 발명에 따른 세포 자극기는 상기 광도전층 상에 유전층을 더 포함할 수 있고, 상기 광도전층은 비정질 실리콘일 수 있다. 상기 유전층 상에 상기 세포를 포함하는 배양액과 같은 배지가 담기도록 하는 세포설치부가 더 형성되어 있을 수 있다.

[0013] 본 발명에 따른 세포 자극기는 상기 광도전층 상에 광학필터층을 더 포함할 수도 있다.

발명의 효과

[0014] 본 발명에 따르면, 전극을 통해 전압이 인가된 상태에서 광원부에 의한 영상 패턴을 광도전층에 조사함으로써 광도전층의 특정 영역만을 도통시켜 용량성 커플링(capacitive coupling)에 의해 광도전층 위에 있는 세포에 대한 전기 자극이 가해지도록 한다. 이에 따라, 빛 자극 패턴의 크기만큼 세포 자극기의 해상도를 높일 수 있다. 즉, 빛의 회절한계 수준으로 세포 자극을 고해상도로 시행할 수 있다.

[0015] 본 발명에 따르면, 빛 자극을 풀 에이치디(Full HD) DMD를 이용해서 할 경우 이론적으로 200만 스폿(spot)을 독립적으로 자극할 수 있다. 따라서, 기존의 수십 ~ 수백 채널에 그쳤던 MEA의 해상도를 백만 채널 이상으로 높이는 효과가 발생한다. 이를 통해 분석하고자 하는 신경망의 각 세포 뿐 아니라 축색돌기 수준으로도 고해상도 자극이 가능하다. 따라서, 신경망의 전체 연결고리의 정확한 신호 분석이 가능해지며, 신경세포의 기억, 연산에 관한 연구에 이용될 수 있다.

[0016] 또한, 세포의 활동도를 빛 신호로 읽을 경우, 사용되는 카메라의 해상도만큼의 픽셀(pixel)들을 동시에 분석 가능하다. 또한, 사용되는 카메라의 프레임 속도(frame rate)만큼 고속의 분석이 가능하다. 뿐만 아니라, 공초점 현미경(confocal microscope)을 이용한다면, 세포 배양을 2차원이 아니라 3차원으로 해도 정확한 분석이 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 자극기의 사시도이다.

도 2는 도 1의 II-II' 단면도이다.

도 3은 본 발명의 다른 실시예에 따른 세포 자극기의 단면도이다.

도 4는 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 세포 자극기의 단면도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하, 첨부 도면들을 참조하면서 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나 본 발명의 실시예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 실시예로 한정되는 것으로 해석되어져서는 안 된다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위하여 제공되는 것이다. 따라서, 도면에서의 요소의 형상 등은 보다 명확한 설명을 강조하기 위해서 과장되어진 것이다. 이하의 설명에서 어떤 요소가 다른 요소의 "위"나 "상"에 존재한다고 기술될 때, 이는 다른 요소의 바로 위에 존재할 수도 있고, 그 사이에 제3의 요소가 개재될 수도 있다. 또한 도면에서 각 요소의 두께나 크기는 설명의 편의 및 명확성을 위하여 과장되었다. 도면상에서 동일 부호는 동일한 요소를 지칭한다.

[0019] 본 발명은 특히 신경세포와 같은 흥분성 세포에 고해상도 전기 자극을 가하기 위한 광전자(optoelectric) 기술이다. 빛 자극 패턴의 크기만큼 세포 자극기의 해상도를 높일 수 있다. 즉, 빛의 회절한계 수준으로 세포 자극을 고해상도로 시행할 수 있다.

[0020] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 자극기의 사시도이고, 도 2는 도 1의 II-II' 단면도이다.

[0021] 도 1 및 도 2를 참조하면, 세포 자극기(1)는 광원부(100), 플레이트부(200), 전원(300) 및 카메라부(400)를 포함한다. 플레이트부(200)는 기판(210), 전극(220), 광도전층(photoconductive layer)(230) 및 유전층(240)을 포함하여 이루어진다. 자극 대상 세포는 플레이트부(200) 위에 배양되는 것일 수도 있고 조직 또는 생체내일 수도 있다. 뇌 절편(brain slice)을 이용한 실험에서는 플레이트부(200) 위에 뇌 절편을 얹어 놓고 실험할 수 있고, 생체내에 실험하는 경우에는 플레이트부(200)를 뇌에 접촉시켜 실험할 수 있다. 본 발명에 따르면 세포를 바이러스 감염시킬 필요가 없으므로 이와 같은 생체내 실험도 가능해진다. 광원부(100), 전원(300) 및 카메라부(400)는 지속적인 사용이 가능하고, 플레이트부(200)는 소모품으로서 교체될 수 있다.

[0022] 광원부(100)는 빛을 조사하는 광원(light source)으로서 DMD(110) 및 집광렌즈(120)를 포함할 수 있다.

- [0023] DMD(110)는 아주 작은 모양의 거울을 반도체 위에 넣은 반사식 표시기이다. 약 200만 개의 미소 거울은 대각선 방향을 축으로 $\pm 10^\circ$ 기울기로 조절할 수 있고, 입사광의 반사 방향을 변화시켜 각 픽셀을 점멸, 제어하게 되는데 원리적으로는 2차 표시기이지만 점멸 시간율을 변화시켜 256계조 표시를 실현할 수 있다. 제조 회사마다 약간의 차이는 있으나 대체로 광의 이용 효율은 65%, 콘트라스트는 110:1, 거울의 응답 속도는 $20 \mu\text{sec}$, 거울의 크기는 $17 \times 17 \mu\text{m}^2$ 이고 픽셀 수는 768×576 이다. 이와 같은 DMD(110)는 사용자가 원하는 영역 및 형상으로 명암을 형성시킬 수 있으며, 상기 플레이트부(200)의 광도전층(230)의 원하는 영역으로 상기 DMD(110)가 비추는 영상 패턴, 즉 빛 자극 패턴이 입사되도록 구비된다.
- [0024] 집광렌즈(120)를 사용하면 빛 자극 패턴의 크기를 광원의 파장에 따라 회절한계까지로 줄일 수 있기 때문에 최고 해상도는 $1 \mu\text{m}$ 미만까지 가능하며, 각 신경세포의 세포체(cell body)는 물론이고, 미세한 축색돌기, 수상돌기와 시냅스까지 선택적으로 자극이 가능하다.
- [0025] 기관(210)은 유리와 같은 투명 재질의 기관일 수 있다. 투명 재질의 기관을 사용하면 세포의 광학적 관찰이 용이해진다. 따라서, 전극(220) 등도 실질적으로 투명 또는 반투명인 것이 바람직하다.
- [0026] 상기 전극(220)은 전기가 도통하도록 전도성 물질로 이루어지고 전원(300)에 연결되며, 기관(210) 상에 서로 이격되어 위치한다. 본 실시예에서 전극(220)은 각지 긴 형태(interdigitate)의 한 쌍의 투명전극(222, 224)이다. 각지 긴 형태의 전극(222, 224)은 두 개의 전극(222, 224)이 가능한 모든 구동면적에 대하여 존재할 수 있도록 서로 교차하는 형식의 손가락(finger) 모양으로 패턴되는 것이다. 투명전극으로는 ITO(Indium Tin Oxide) 또는 IZO(Indium Zinc Oxide) 등이 이용될 수 있다. ITO보다 IZO가 스퍼터(sputter)로 성막시 온도가 더 낮아 다양한 기관에 적용이 가능하다. 전극(220) 패턴닝은 일반적인 반도체 공정 기술에 의할 수 있다.
- [0027] 광도전층(230)은 전극(220)에 전기적으로 접촉하며, 빛의 조사여부에 따라 부분적으로 도통되는 물질로서, 어두운 상태에서는 부도체이나 빛이 비추어지면 도체이다. 잘 알려진 바와 같이 광도전층(230) 재료는 비정질 실리콘 또는 황화 카드뮴(CdS)일 수 있다. 그리고, 광도전층(230) 위에는 SiO_2 또는 Si_3N_4 등이 유전층(240)으로 형성될 수 있다. 광도전층(230)과 유전층(240)은 전극(220)의 모양처럼 패턴닝되어 있을 수도 있고, 도시한 바와 같이 기관(210)을 덮는 평판으로 형성되어 있을 수도 있다.
- [0028] 전원(300)은 상기 전극(220)에 직류(DC) 또는 교류(AC) 전압이 인가되도록 구비되어 사용자가 원하는 전위를 형성하도록 이루어지는데, AC 전압이 인가될 경우, 상기 전원(300)의 주파수는 세포의 크기 및 종류에 따라 조절 가능하다. 그리고, AC 전압이 인가될 경우, 상기 전극(222, 224) 중 최소한 하나의 전극이 접지(GND)의 역할을 수행하도록 변경될 수 있다. 직류(DC) 전압이 인가될 경우 빛 자극을 빠르게 온/오프(on/off)함으로써 용량성 커패시터를 통해 유전층(240) 위에 위치하는 세포에 전압 전달이 가능하다. 세포 자극을 위해 교류를 가해주는 것이 작동에 수월하기는 하나 광도전층(230) 및 유전층(240)을 통하여 용량성 커패시터에 의한 누설전류가 미세하게 흐를 수 있다. 그러나 직류를 가하고 빛을 점멸하면 다른 부분은 누설전류가 발생하지 않고 빛을 받은 부분만 전압이 전달되므로 누설전류없이 효과적으로 빛 자극을 가할 수 있다.
- [0029] 이와 같이, 본 발명의 광원부(100)는 전극(220)에 가해진 전압이 상기 광도전층(230)을 통하여 상기 광도전층(230) 상에 놓이는 세포에 전기 자극으로서 가해지도록 상기 광도전층(230)의 전기적 도통 부분을 선택적으로 형성하기 위한 빛을 발생시킨다. 전원(300)에 의해 전극(220)에 전압이 인가되는 상태에서 빛이 비추어지지 않으면 광도전층(230)이 부도체이기 때문에 그 위로 전압이 전달되지 않고 따라서, 세포에 자극이 가해지지 않는다. 그러나 특정 빛 패턴을 DMD(110)를 통해 투사(projection)하면 광도전층(230)에 빛이 조사된 영역에만 전기가 도통하게 되어 전극(220)에 걸린 전압이 광도전층(230) 및 유전층(240)을 통하여 세포에 전기 자극으로 가해지게 된다. 즉, 빛에 의해 세포에 전기 자극을 가할 수 있다는 것인데, 광원부(100)로부터 조사된 빛이 기관(210) 및 전극(220)을 통하여 광도전층(230)으로 입사된 영역에만 전극(220)에 걸린 전기 전압이 전달되고 이것은 세포에 전기 자극으로 가해지는 원리이다.
- [0030] 전극(220)은 위의 예시와 같이 각지 긴 형태로 할 수도 있고, 더 간단히는 도 3에서의 전극(220')과 같이 구성할 수 있다. 각지 긴 형태의 전극인 경우 배지[고체, 반고체 혹은 액체 배지(배양액)]에 별도의 전극을 위치시킬 필요가 없어 세팅이 간단한 장점이 있으나, 전극 공정의 수율을 고려할 때 비용이 증가할 수도 있으므로 것으로 판단된다.
- [0031] 도 3은 본 발명의 다른 실시예에 따른 세포 자극기의 단면도이다. 도 3을 참조하면, 세포 자극기(1')는 도 1의 세포 자극기(1)와 대비해 플레이트부(200') 구성만 다르다. 전극(220')은 전기가 도통하도록 전도성 물질로 이루어져 전원(300)과 연결된 평판형 전극(226)과 외부 전극(228)으로 구성되어 있다. 평판형 전극(226)은 광도전

층(230) 밑바닥에 아무런 패턴 없이 넓게 깔고, 나머지 반대편 외부 전극(228)은 Pt 또는 Ag/AgCl 전극 등을 이용해, 세포설치부(250) 안에 담긴 배양액(252)에 담그거나 혹은 생체내 조직에 연결하는 것도 가능하다.

[0032] 이와 같이 구성하면 전극(220') 패턴닝 공정 등이 필요 없어지므로 공정 비용을 줄일 수 있다. 세포 자극기(1')의 세포 자극의 원리는 도 1을 참조하여 설명한 세포 자극기(1)와 동일하다.

[0033] 한편, 위 실시예들에서는 상기 광원부(100)가 상기 기관(210) 아래에서 상기 전극(220)을 통하여 빛을 투과시키는 예를 들어 설명하였으나, 상기 광원부(100)가 상기 기관(210) 위에서 상기 광도전층(230)을 통하여 빛을 투과시키도록 위치시킬 수도 있다. 상기 광원부(100)가 상기 광도전층(230)을 통하여 빛을 투과시키는 경우에는, 상기 전극(220)은 투명한 전도성 물질인 ITO 뿐 아니라, 불투명한 전도성 물질인 금, 알루미늄, 구리 등 전류가 흐를 수 있는 물질로 대체가능하다.

[0034] 이와 같이 본 발명은 빛으로 세포를 전기자극할 수 있고, 특히 빛의 패턴으로 신경망의 특정 부위를 전기 자극할 수 있다는 데에 큰 특징이 있다. 본 발명에 따르면, 빛 자극 패턴의 크기만큼 해상도를 높일 수 있다. 즉, 회절한계 수준으로 세포 자극을 고해상도로 시행할 수 있다. 빛 자극을 풀 에이지디 DMD를 이용해서 할 경우 이론적으로 200만 스폿을 독립적으로 자극할 수 있다. 따라서, 기존의 수십 ~ 수백 채널에 그쳤던 MEA의 해상도를 백만 채널 이상으로 높이는 효과가 발생한다. 이를 통해 분석하고자 하는 신경망의 각 세포 뿐 아니라 축색돌기 수준으로도 고해상도 자극이 가능하다. 따라서, 신경망의 전체 연결고리의 정확한 신호 분석이 가능해지며, 신경세포의 기억, 연산에 관한 연구에 이용될 수 있다.

[0035] 이와 같은 전기광학적 세포 자극기(1, 1')에서 신경세포의 흥분과 관련된 신호는 세포에 전압 민감성 염료(voltage sensitive dye) 또는 이온 민감성 염료를 염색하여 카메라부(400)를 이용한 이미지 촬영을 통해 실시간으로 분석할 수 있다. 카메라부(400)는 현미경과 광학필터와 CCD 카메라 등을 포함하여 구성할 수 있다.

[0036] 전압 민감성 염료는 분자량이 약 500Da, 길이가 20Å 이하인 유기 분자로서 세포막에 결합하여 막 전위의 변화에 의해 발생하는 신호를 검출하기 위해 사용하는 염료이다. 이온 민감성 염료는 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 등의 이온을 추적할 수 있는 염료이며 특히 Ca^{2+} 민감성 염료를 많이 사용한다. 염료 분자는 세포막의 외벽에 붙어 일종의 변환기로 작용하여 막 전위의 변화를 광신호로 변환시킨다. 이것은 아주 빠른 시간 상수를 가진 막 전위를 잘 반영하며 신호의 크기는 막 전위 변화의 크기와 직접적인 관계가 있다. 전압 민감성 염료(merocyanine계, hemicyanine계)의 대표적인 예는 Di-4-ANEPPS(JPW-211)이며 이것은 체외(in vitro)용으로 빠르게 세포 내에 염색이 되며, 전기장에 대한 민감도가 100mV당 10% 정도이다.

[0037] 카메라부(400)는 도 1 내지 도 3에서와 같이 광원부(100) 아래쪽에 놓일 수도 있지만, 플레이트부(200) 위에 놓일 수도 있다. 또한, 전압 민감성 염료 또는 이온 민감성 염료의 형광 여기(excitation)를 위한 추가의 여기광원(미도시)이 필요할 수도 있다. 염료가 발광(photoluminescence) 형태인 경우에는 여기광원(excitation light source) 없이 촬영이 가능하나, 염료가 형광(fluorescence) 형태인 경우는 여기광원이 필요하기 때문이다. 여기광원으로 빛을 비추고 반사된 빛은 밴드패스 필터 등의 광학필터를 사용하여 노이즈를 제거한 다음 현미경에 부착된 CCD 카메라로 영상을 얻을 수 있다.

[0038] 이 때, 여기광원의 빛이 세포에 의도하지 않은 전기 자극으로 가해지지 않도록 해야 한다. 광도전층(230)이 반응하는 흡수 스펙트럼을 참고하여 광원부(100)의 파장은 가장 흡수율이 높은 쪽을 택하고 여기광원의 파장은 흡수율이 미미한 곳을 택할 수 있으면, 여기광원의 빛과 광원부(100) 및 전원(300)을 이용한 빛 전기 자극(광전자 자극)이 동시에 적용되어도 무방하다.

[0039] 그렇지 않고 여기광원의 빛에 의해 전기 자극이 커질 우려가 있다면 여기광원 조사와 빛 전기 자극 사이에 시차를 두는 것이 바람직하다. 여기광원 조사가 되는 동안은 광원부(100)의 빛을 끄거나 전원(300)을 끄는 것으로 이러한 시차를 구현할 수 있으며, 전원(300)을 끄는 것이 조절이 더 쉽기 때문에 예컨대 스위치와 같은 시분할 장치가 유용할 수 있다. 따라서, 여기광원에서 발생된 형광 여기를 위한 빛에 의하여 광도전층(230)이 턴-온(turn-on)되어 전원(300)의 V 자극이 가해지는 것을 방지하기 위하여, 여기광원을 비추고 촬영을 할 때에는 V의 전압 자극기 전원(300)을 꺼주는 방식으로 시차를 둘 수 있다.

[0040] 이러한 시차 대신에 여기광원 조사와 빛 전기 자극이 중첩되지 않도록 격리시키는 것도 가능하다. 이것을 도 4를 참조하여 설명하는데, 도 4는 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 세포 자극기의 단면도이다.

[0041] 도 4에 도시한 세포 자극기(1")는 플레이트부(200") 구성시, 광도전층(230)과 유전층(240) 사이에 광학필터층(주로 notch filter)(235)을 더 포함시킨다. 그리고, 광원부(100)는 광도전층(230)의 아래에서, 여기광원(50

0)은 광도전층(230)의 위에서 비추게 하면, 광학필터층(235)이 여기광원(500)을 차단하여 광도전층(230)이 턴-온되는 것을 방지할 수 있다. 여기서 카메라부(400)는 플레이트부(200) 위에 놓일 수 있다.

[0042] 본 발명에 따르면 세포의 활동도를 빛 신호로 읽으므로, 카메라부(400)에 포함되는 카메라의 해상도만큼의 픽셀(pixel)들을 동시에 분석 가능하다. 또한, 사용되는 카메라의 프레임 속도(frame rate)만큼 고속의 분석이 가능하다. 따라서, 매우 높은 시간적 해상도를 가지고 신경세포의 빠른 전기적 활동을 영상화할 수 있다.

[0043] 본 발명에 따라 세포의 활동도를 빛 신호로 읽으면서, 공초점 현미경(confocal microscope)을 이용한다면, 세포 배양을 2차원이 아니라 3차원으로 해도 정확한 분석이 가능하다. 일반 광학 현미경으로 세포를 관찰하게 되면 세포핵의 영상이 이를 둘러싸고 있는 물질들의 영상과 중첩되어 마치 짙은 안개를 통해 사물을 바라보는 것과 같이 흐릿하게 관측할 수밖에 없다. 하지만 공초점 현미경은 공간상의 한 평면에서의 영상만을 볼 수 있으므로, 초점면의 위치를 세포핵의 위치에 맞추면 세포핵을 둘러싸고 있는 물질들에 의한 영상신호가 차단되어 오직 세포핵의 영상만을 얻을 수 있어 선명도가 높은 영상을 얻게 된다. 이와 같은 원리로, 세포 배양을 3차원으로 하고 세포의 활동도를 빛 신호로 얻는 것에 공초점 현미경을 사용하면 각 층에 있는 세포의 활동도를 독립적으로 구분해낼 수 있다. 이는 전극을 통해 전기신호를 얻어들이는 MEA가 신호 근원지의 높이를 구분해낼 수 없어 세포 배양을 2차원으로만 하는 것과 대조적이다.

[0044] 전체 2차원적인 신경망의 활동도 분석이 아니라 한 세포의 활동전위만 분석하는 것이 목적인 경우, 해당 부위에 빛 자극을 주어 광도전층(230)을 턴-온시키고 밑의 전극(220)을 이용해 전압을 읽어들이 수 있다. 신경세포가 활동할 때에는 활동전위가 발생한다. 이 활동전위는, 신경세포의 이온투과성의 변화에 따라서 세포막내외의 이온농도가 변화하고, 이에 따라서 세포막전위가 변화함으로써 발생하는 것이다. 그러므로 전극(220)의 용량성 커패시터에 의해 신경세포의 활동전위를 검출할 수 있다. 이 경우, 전극(220)에 전원(300)과 신호 증폭기(미도시)를 배타적으로 연결해주는 장치(미도시)가 필요하다.

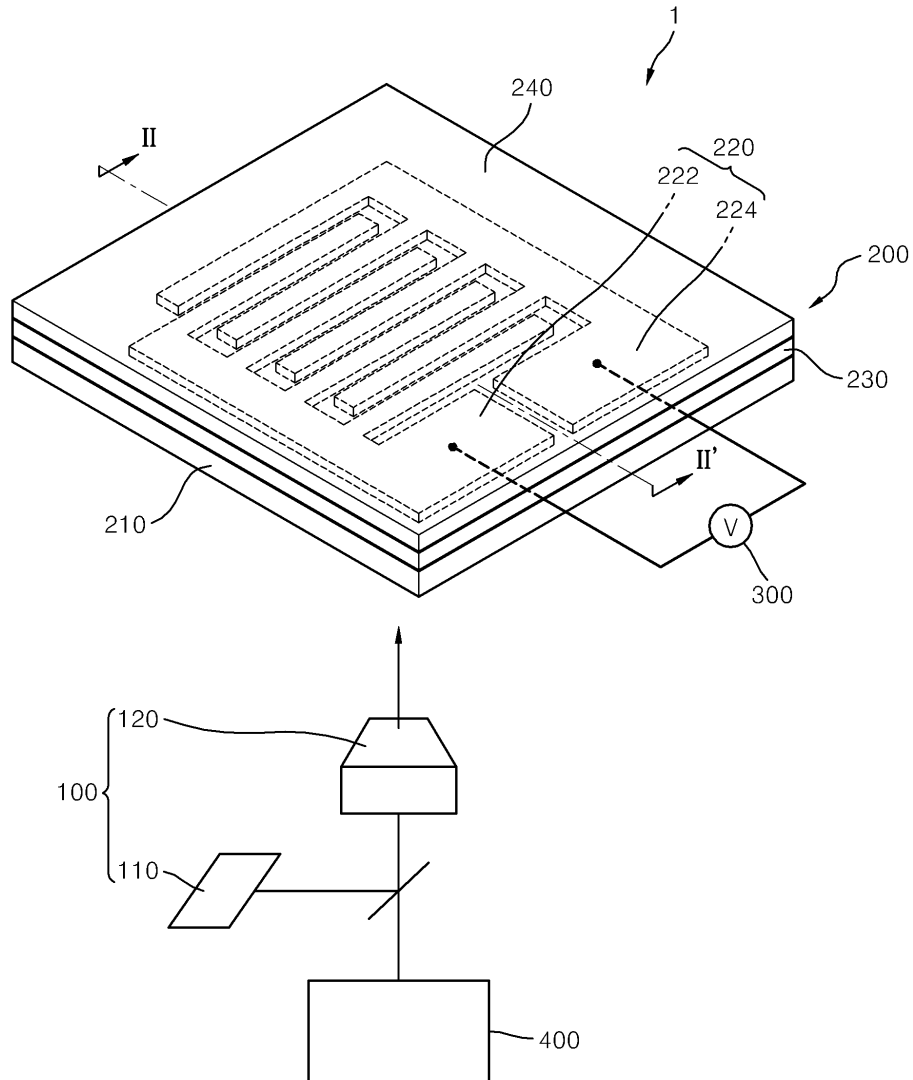
[0045] 한편, 상기와 같은 세포의 측정은, 세포가 살아있는 상태에서 행할 필요가 있으므로, 통상적으로, 배양세포가 사용되고, 세포설치부(250)는 유전층(240) 상에 설치되며 배지, 예컨대 배양액(252)을 구비할 수 있다. 세포설치부(250)는 플레이트부(200)에 대해 탈자재이며, 세포배양수단을 추가로 구비시켜 세포를 배양하면서 측정하는 경우에는 장시간에 걸친 측정도 가능하도록 구성할 수 있다. 이 세포배양수단은, 온도를 일정하게 유지하는 온도조절수단과, 배양액을 순환시키는 수단과, 공기와 이산화탄소의 혼합기체(예를 들면 CO₂ 5%)를 공급하는 수단으로 구성될 수 있다.

[0046] 뿐만 아니라, 세포 자극기(1, 1', 1'')를 통해 세포를 자극한 후 다른 랩 온 어 칩(lab on a chip) 구조의 분석 장치로 유동시켜 인라인(in line) 타입으로 세포 분석하기 위한 다른 장치와 구조물들이 세포 자극기(1, 1', 1'')에 더 연결이 되도록 집적화하여 다양한 목적 및 용도에 맞게 응용할 수도 있다.

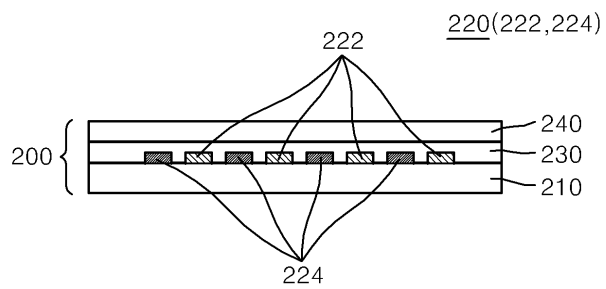
[0047] 이상, 본 발명을 바람직한 실시예를 들어 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 상기 실시예에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 많은 변형이 가능함은 명백하다. 본 발명의 실시예들은 예시적이고 비한정적으로 모든 관점에서 고려되었으며, 이는 그 안에 상세한 설명 보다는 첨부된 청구범위와, 그 청구범위의 균등 범위와 수단내의 모든 변형예에 의해 나타난 본 발명의 범주를 포함시키려는 것이다.

도면

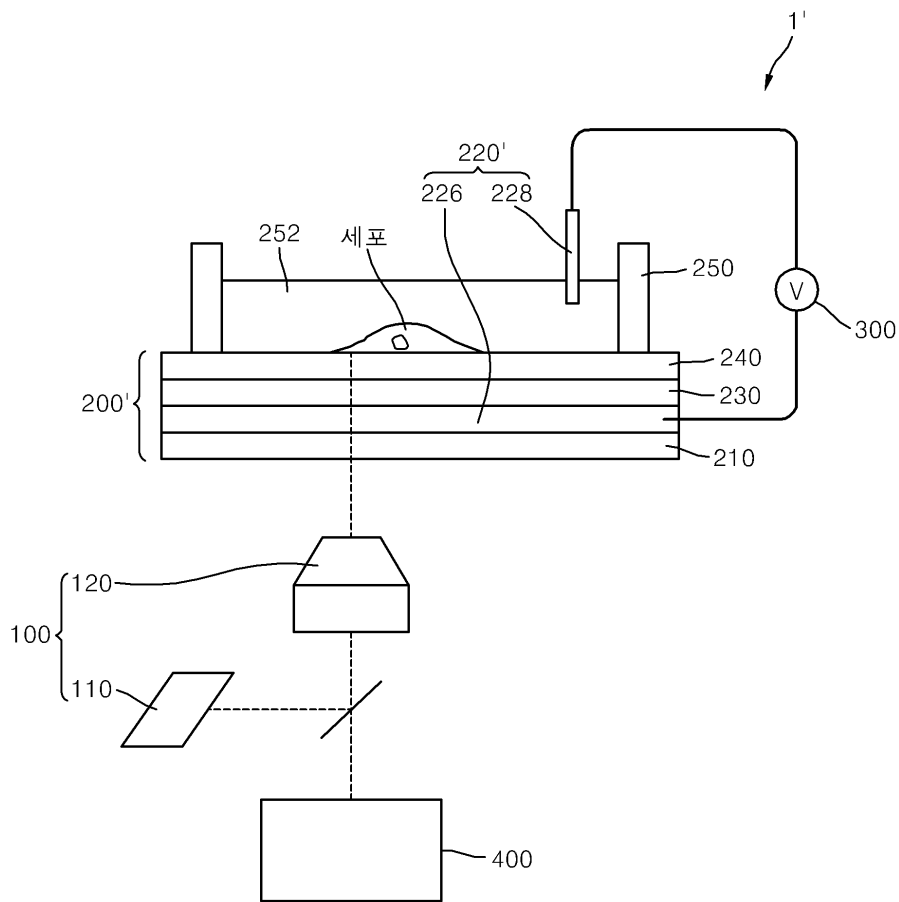
도면1



도면2



도면3



도면4

