

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2013-0011101 (43) 공개일자 2013년01월30일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12M 3/02 (2006.01) C12M 1/18 (2006.01) C12N 5/079 (2010.01) (21) 출원번호 10-2011-0071996 (22) 출원일자 2011년07월20일 심사청구일자 2012년04월10일		(71) 출원인 울산대학교 산학협력단 울산 남구 무거2동 산29 (72) 발명자 윤승용 서울특별시 서초구 명달로9길 61-13, 유림빌라 201호 (방배동) 주세경 서울특별시 송파구 백제고분로39길 26-9, 302호 (석촌동) (뒷면에 계속) (74) 대리인 특허법인태백

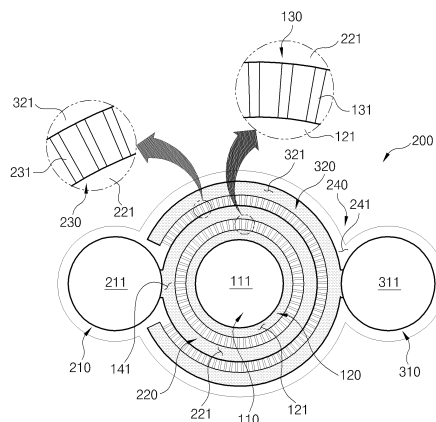
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼 및 이를 이용한 세포 배양방법

(57) 요약

본 발명에 의하면, 배양될 제1세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구된 환상의 빈 공간인 제1공급부가 형성된 제1리저버; 제1공급부와 연통하도록 제1공급부의 적어도 일부를 둘러싸는 환상의 빈 공간인 제1배양부가 형성되어 제1공급부로부터 공급된 제1세포가 배양액 속에서 배양되는 제1컴파트먼트; 제1리저버의 일 측에 배치되어 배양될 제2세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구된 환상의 빈 공간인 제2공급부가 형성된 하나 이상의 제2리저버; 제2공급부와 연통하고 제1컴파트먼트의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제2배양부가 형성되어 제2공급부로부터 공급된 제2세포가 배양액 속에서 배양되는 제2컴파트먼트; 제1컴파트먼트와 제2컴파트먼트를 연통하는 복수 개의 제1마이크로채널이 환상으로 배열된 제1채널부; 및 제2리저버와 제2컴파트먼트를 연통하는 제1연통로가 형성된 제1연통부를 구비하는 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼 및 이를 이용한 세포 배양방법이 제공된다. 본 발명에 의하면, 환상의 리저버를 적어도 일부 둘러싸는 컴파트먼트의 구조를 적용하고, 회전에 의해 배양될 세포들이 마이크로채널에 인접하도록 이동시킴으로써, 배양 후 성장된 세포의 관찰 확률을 높일 수 있으며, 특히 신경세포(Neurons)의 경우 신호 전달방향에 부합하도록 세포를 성장시킬 확률이 높아진다는 장점을 갖는다.

대표도 - 도3a



(72) 발명자

송하림

서울특별시 성북구 안암로9가길 14, 302호 (안암동4가)

김동호

서울특별시 서초구 양재동 우성아파트 112-101호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2010-0002859

부처명 교육과학기술부

연구사업명 신진연구자지원사업

연구과제명 알츠하이머 치매의 신경 회로학적 발병기전 연구를 통한 조기진단 마커 및 치료물질 개발

주관기관 울산대학교 산학협력단

연구기간 2010.05.01 ~ 2013.04.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2010-0029490

부처명 교육과학기술부

연구사업명 선도연구센터(ACE)육성사업 기초의약학분야(MRC)

연구과제명 인슐린 저항성 신경퇴행성질환의 세포기능장애 기전연구

주관기관 울산대학교 산학협력단

연구기간 2010.09.01 ~ 2013.08.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 A100047 (원내번호: 2010-9035)

부처명 보건복지부

연구사업명 보건의료연구개발사업 중개연구자 양성/신경계통의 질환

연구과제명 당뇨병이 알츠하이머 치매에 미치는 영향에 대한 기전 연구와 당뇨 약제 기반의 치매 치료

제 개발

주관기관 서울아산병원

연구기간 2010.07.01 ~ 2011.06.30

특허청구의 범위

청구항 1

배양될 제1세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구(開口)된 환상(Circular shape)의 빈 공간인 제1공급부가 형성된 제1리저버;

상기 제1공급부와 연통하도록 상기 제1공급부의 적어도 일부를 둘러싸는 환상의 빈 공간인 제1배양부가 형성되어 상기 제1공급부로부터 공급된 제1세포가 배양액 속에서 배양되는 제1컴파트먼트;

상기 제1리저버의 일 측에 배치되어 배양될 제2세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구(開口)된 환상의 빈 공간인 제2공급부가 형성된 하나 이상의 제2리저버;

상기 제2공급부와 연통하고 상기 제1컴파트먼트의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제2배양부가 형성되어 상기 제2공급부로부터 공급된 제2세포가 배양액 속에서 배양되는 제2컴파트먼트;

상기 제1컴파트먼트와 제2컴파트먼트를 연통하는 복수 개의 제1마이크로채널이 환상으로 배열된 제1채널부; 및

상기 제2리저버와 제2컴파트먼트를 연통하는 제1연통로가 형성된 제1연통부를 구비하는 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 제1리저버의 타 측에 배치되어 배양될 제3세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구된 환상의 빈 공간인 제3공급부가 형성된 하나 이상의 제3리저버;

상기 제3공급부와 연통하고 상기 제2컴파트먼트의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제3배양부가 형성되어 상기 제3공급부로부터 공급된 제3세포가 배양액 속에서 배양되는 제3컴파트먼트;

상기 제2컴파트먼트와 제3컴파트먼트를 연통하는 복수 개의 제2마이크로채널이 환상으로 배열된 제2채널부; 및

상기 제3리저버와 제3컴파트먼트를 연통하는 제2연통로가 형성된 제2연통부를 더 구비하는 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 3

청구항 2에 있어서,

상기 제2리저버와 제3리저버는 상기 제1리저버를 중심으로 서로 대향하여 배치된 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 4

청구항 3에 있어서,

상기 제2공급부 및 제1연통로와 각각 연통하도록 상기 제2공급부의 일부를 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제4배양부가 형성되어 상기 제2공급부로부터 공급된 제2세포가 배양액 속에서 배양되는 제4컴파트먼트;

상기 제3컴파트먼트와 연통하고 상기 제4컴파트먼트의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제5배양부가 형성되어 상기 제4컴파트먼트를 통해 공급된 제3세포가 배양액 속에서 배양되는 제5컴파트먼트;

상기 제4컴파트먼트와 제5컴파트먼트를 연통하는 복수 개의 제3마이크로채널이 환상으로 배열된 제3채널부; 및

상기 제3컴파트먼트와 제5컴파트먼트를 연통하는 제3연통로가 형성된 제3연통부를 더 구비하는 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 5

청구항 4에 있어서,

상기 제1연통로와 제3연통로는 서로 나란하게 이격 배치되고,

상기 제1연통로와 제3연통로를 연통하는 복수 개의 제4마이크로채널이 환상으로 배열된 제4채널부를 더 구비하는 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 6

청구항 2에 있어서,

상기 제2리저버는 상기 제1리저버를 중심으로 서로 대칭되도록 배치된 한 쌍을 구비하는 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 7

청구항 6에 있어서,

상기 제3리저버는 상기 제1리저버를 중심으로 서로 대칭되도록 배치된 한 쌍을 구비하는 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 8

청구항 7에 있어서,

상기 제3리저버는 상기 제1리저버를 중심으로 상기 제2리저버의 외측에 배치된 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 9

청구항 2에 있어서,

상기 제1리저버와 제3리저버는 상기 제2리저버를 중심으로 서로 대향하여 배치된 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 10

청구항 2에 있어서,

상기 제1, 제2 및 제3세포는 신경세포(Neurons)인 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼.

청구항 11

청구항 1의 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 준비하는 단계;

상기 제1리저버에 제1세포 및 배양액을 공급하는 단계;

상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제1리저버에 공급된 제1세포가 상기 제1컴파트먼트에서 상기 제1채널부의 제1마이크로채널에 인접하도록 이동시키는 단계;

상기 제1세포를 상기 제1컴파트먼트에서 배양시키는 단계;

상기 제2리저버에 제2세포 및 배양액을 공급하는 단계;

상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제2리저버에 공급된 제2세포가 상기 제2컴파트먼트에서 상기 제1채널부의 제1마이크로채널로부터 이격되도록 이동시키는 단계; 및

상기 제2세포를 상기 제2컴파트먼트에서 배양시키는 단계를 포함하는 세포 배양방법.

청구항 12

청구항 11에 있어서,

상기 제1리저버에 공급되는 배양액의 양은 상기 제2리저버에 공급되는 배양액의 양보다 많도록 하여 상기 제1컴파트먼트로부터 상기 제2컴파트먼트로 배양액의 흐름이 유지될 수 있는 세포 배양방법.

청구항 13

청구항 11 또는 청구항 12에 있어서,

상기 제1 및 제2세포는 신경세포(Neurons)이고,

상기 제1컴파트먼트에서 배양된 신경세포의 액손(Axon)은 상기 제1채널부의 제1마이크로채널을 통해 상기 제2컴파트먼트로 성장하는 세포 배양방법.

청구항 14

청구항 2의 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 준비하는 단계;

상기 제1리저버에 제1세포 및 배양액을 공급하는 단계;

상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제1리저버에 공급된 제1세포가 상기 제1컴파트먼트에서 상기 제1채널부의 제1마이크로채널에 인접하도록 이동시키는 단계;

상기 제1세포를 상기 제1컴파트먼트에서 배양시키는 단계;

상기 제2리저버에 제2세포 및 배양액을 공급하는 단계;

상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제2리저버에 공급된 제2세포가 상기 제2컴파트먼트에서 상기 제2채널부의 제2마이크로채널에 인접하도록 이동시키는 단계;

상기 제2세포를 상기 제2컴파트먼트에서 배양시키는 단계;

상기 제3리저버에 제3세포 및 배양액을 공급하는 단계;

상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제3리저버에 공급된 제3세포가 상기 제2컴파트먼트에서 상기 제2채널부의 제2마이크로채널로부터 이격되도록 이동시키는 단계; 및

상기 제3세포를 상기 제3컴파트먼트에서 배양시키는 단계를 포함하는 세포 배양방법.

청구항 15

청구항 14에 있어서,

상기 제1리저버에 공급되는 배양액의 양은 상기 제2리저버에 공급되는 배양액의 양보다 많고, 상기 제2리저버에 공급되는 배양액의 양은 상기 제3리저버에 공급되는 배양액의 양보다 많도록 하여 상기 제1컴파트먼트, 제2컴파트먼트 및 제3컴파트먼트로 순차적으로 배양액의 흐름이 유지될 수 있는 세포 배양방법.

청구항 16

청구항 14 또는 청구항 15에 있어서,

상기 제1, 제2 및 제3세포는 신경세포(Neurons)이고,

상기 제1컴파트먼트에서 배양된 신경세포의 액손(Axon)은 상기 제1채널부의 제1마이크로채널을 통해 상기 제2컴파트먼트로 성장하여 상기 제2컴파트먼트에서 배양된 신경세포의 덴드라이트(Dendrites)와 시냅스(Synapse)를 형성하며,

상기 제2컴파트먼트에서 배양된 신경세포의 액손(Axon)은 상기 제2채널부의 제2마이크로채널을 통해 상기 제3컴파트먼트로 성장하는 세포 배양방법.

명세서

기술분야

본 발명은 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼(Microfluidic platform)에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 신경세포(Neurons)와 같은 세포들을 배양하여 세포의 성장을 관찰할 수 있을 뿐만 아니라, 신호 전달을 위해 구성되는 세포 간의 상호작용을 관찰하고 실험할 수 있는 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼 및 이를 이용한 세포 배양방법에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 일반적으로 신경생물학(Neurobiology) 분야에서는, 신경세포의 성장과 세포간의 상호작용 등을 관찰하고 실험하기 위하여 마이크로 유동성 플랫폼을 사용하고 있다.
- [0003] 도 1a에는 일반적인 신경세포의 구조를 나타낸 도면이 도시되어 있다. 도면을 참조하면, 신경세포는, 핵(1a)을 포함하는 세포몸체(Cell body;1)와, 이러한 세포몸체(1)에서 성장하고 인접하는 신경세포에서 신호를 전달받는 복수의 덴드라이트(Dendrites;2)와, 상기 세포몸체(1)에서 성장하여 인접하는 신경세포에 신호를 전달하는 액손(Axon;3)으로 구성된다.
- [0004] 도 1b 및 도 1c에는 도 1a에 나타난 신경세포의 실험을 위하여 적용되는 종래 마이크로 유동성 플랫폼의 일례(Park J, Koito H, Li J, Han Microfluidic compartmentalized co-culture platform for CNS axon myelination research, Biomed Microdevices. 2009 Dec;11(6):1145-53에서 개시됨)가 도시되어 있다.
- [0005] 도시된 바와 같이, 종래 마이크로 유동성 플랫폼(10)은, 그 일 측에 서로 이격되게 배치된 한 쌍의 제1리저버(1st Reservoir;11)와, 이러한 한 쌍의 제1리저버(11) 사이를 연통하는 소마 컴파트먼트(Soma Compartment;12)가 구비된다. 또한 상기 마이크로 유동성 플랫폼의 타 측에는 상기 한 쌍의 제1리저버(11)에 대향하는 한 쌍의 제2리저버(2nd Reservoir;21)와, 이러한 한 쌍의 제2리저버(21) 사이를 연통하는 액손 컴파트먼트(Axon Compartment; 22)가 배치된다. 그리고 상기 소마 컴파트먼트(12)와 액손 컴파트먼트(22)는 복수 개의 마이크로 채널(Micro Channel;30)에 의해 서로 연통되어 있다.
- [0006] 상기한 바와 같은 종래 마이크로 유동성 플랫폼(10)은, 상기 제1 및 제2리저버(11)(21), 소마 및 액손 컴파트먼트(12)(22) 및 복수 개의 마이크로채널(30)에 각각 대응하는 수형(Male shape)의 마스터 몰드(Master Mold;미도시)를 완성한 후, 이러한 마스터 몰드 위에 촉매제와 잘 섞은 PDMS(Polydimethyldioxane)를 붓고, 대략 75℃에서 굳힘으로써 만들어진다. 여기서 상기 한 쌍의 제1리저버(11)와 한 쌍의 제2리저버(21)는 펀치(Punch)로 뚫어준 후, 마이크로 유동성 플랫폼에 커버 글라스(Cover glass)를 붙인 다음, 코팅하여 신경세포가 배양되기 위한 조건을 구비한다. 그리고 이후의 배양 과정에서는 내부가 마르지 않도록 습윤 상태가 유지되도록 한다.
- [0007] 상기 제1 및 제2리저버(11)(21)는 배양을 위한 신경세포를 넣어주는 곳으로서, 배양액의 공급 및 교체에 실질적으로 이용되는 부분이다. 상기 소마 컴파트먼트(12)와 액손 컴파트먼트(22)는 높이가 대략 100 μ m 정도로서, 신경세포가 안정적으로 배양되는 공간이 된다. 상기 마이크로채널(30)로는 신경세포의 배양에 의해 성장된 액손(3)이 통과한다. 여기서 배양 초기의 신경세포는 둥글둥글한 좁쌀 형태로서 너비와 높이가 크게 되면 반대편의 액손 컴파트먼트(22)로 이동할 수 있기 때문에, 대략 높이는 2.5 ~ 3 μ m, 채널 당 너비는 10 μ m 정도로 하여 신경세포가 반대편 컴파트먼트로 이동하는 것을 방지한다. 결론적으로, 상기 소마 컴파트먼트(12)에서는 처음 신경세포가 배양되고, 핵(1a)을 포함하는 세포몸체(1)가 위치된다. 그리고 상기 액손 컴파트먼트(22)는 마이크로채널(30)을 통과한 액손(3)이 위치하게 된다.
- [0008] 그런데 위와 같은 종래 마이크로 유동성 플랫폼(10)에서는, 상기 제1리저버(11)에 넣어준 초기 신경세포들이 배양액과 함께 소마 컴파트먼트(12)로 이동하여 무작위로(Randomly) 분포하게 된다. 여기서 상기 마이크로채널(30)에 인접한 초기 신경세포의 액손(3)은 마이크로채널(30)을 통과하여 반대편에 위치한 액손 컴파트먼트(22)로 성장할 수 있으나, 상기 마이크로채널(30)에 인접하지 못한 초기 신경세포의 액손(3)은 마이크로채널(30)을 통과하지 못하고 소마 컴파트먼트(12) 내에서만 성장을 할 가능성이 높게 된다. 즉, 소마 컴파트먼트(12) 내에서 초기 신경세포가 무작위로 분포함에 따라 상기 제1리저버(11)에 넣어준 초기 신경세포 중에서 마이크로채널(30)을 통과하는 액손(3)의 비율이 떨어지게 되며, 이 때문에 실험을 위하여 관찰이 필요한 액손(3)의 관찰 확률도 낮아지게 된다.
- [0009] 한편 신경세포의 신호 전달방향에 부합하는 실험을 하기 위해서는, 상기 소마 컴파트먼트(12)에서 마이크로채널(30)을 통과한 액손(3)이, 상기 액손 컴파트먼트(22)에서 배양된 신경세포의 덴드라이트(2)와 시냅스(Synapse)를 형성하는 것이 바람직하다.
- [0010] 그러나 종래 마이크로 유동성 플랫폼(10)에서는, 상기 제2리저버(21)에 공급되어 액손 컴파트먼트(22)에서 배양되는 신경세포 중에서 상기 마이크로채널(30)에 인접하는 신경세포의 액손(2)이 상기 마이크로채널(30)을 통과하여, 역으로 소마 컴파트먼트(12)에서 배양 중인 신경세포의 덴드라이트(2)와 시냅스를 형성하는 경우가 빈번하다. 이 때문에 신호 전달방향에 부합하도록 세포를 성장시킬 확률이 떨어지며, 필요로 하는 실험대상을 확보하기 어렵다는 문제점이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명은 위와 같은 문제점을 해결하기 위하여 창출된 것으로서, 배양 후 성장된 세포의 관찰 확률을 높일 수 있고, 세포의 신호 전달방향에 부합하도록 세포를 성장시킬 수 있도록 개선된 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼 및 이를 이용한 세포 배양방법을 제공하는데 목적이 있다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명의 일 측면에 의한 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼은, 배양될 제1세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구(開口)된 환상(Circular shape)의 빈 공간인 제1공급부가 형성된 제1리저버; 상기 제1공급부와 연통하도록 상기 제1공급부의 적어도 일부를 둘러싸는 환상의 빈 공간인 제1배양부가 형성되어 상기 제1공급부로부터 공급된 제1세포가 배양액 속에서 배양되는 제1컴파트먼트; 상기 제1리저버의 일 측에 배치되어 배양될 제2세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구(開口)된 환상의 빈 공간인 제2공급부가 형성된 하나 이상의 제2리저버; 상기 제2공급부와 연통하고 상기 제1컴파트먼트의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제2배양부가 형성되어 상기 제2공급부로부터 공급된 제2세포가 배양액 속에서 배양되는 제2컴파트먼트; 상기 제1컴파트먼트와 제2컴파트먼트를 연통하는 복수 개의 제1마이크로채널이 환상으로 배열된 제1채널부; 및 상기 제2리저버와 제2컴파트먼트를 연통하는 제1연통로가 형성된 제1연통부를 구비한다.

- [0013] 본 발명의 다른 측면에 의하면, 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 준비하는 단계; 상기 제1리저버에 제1세포 및 배양액을 공급하는 단계; 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제1리저버에 공급된 제1세포가 상기 제1컴파트먼트에서 상기 제1채널부의 제1마이크로채널에 인접하도록 이동시키는 단계; 상기 제1세포를 상기 제1컴파트먼트에서 배양시키는 단계; 상기 제2리저버에 제2세포 및 배양액을 공급하는 단계; 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제2리저버에 공급된 제2세포가 상기 제2컴파트먼트에서 상기 제1채널부의 제1마이크로채널로부터 이격되도록 이동시키는 단계; 및 상기 제2세포를 상기 제2컴파트먼트에서 배양시키는 단계를 포함하는 세포 배양방법이 제공된다.

- [0014] 한편, 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼은, 상기 제1리저버의 타 측에 배치되어 배양될 제3세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구(開口)된 환상의 빈 공간인 제3공급부가 형성된 하나 이상의 제3리저버; 상기 제3공급부와 연통하고 상기 제2컴파트먼트의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제3배양부가 형성되어 상기 제3공급부로부터 공급된 제3세포가 배양액 속에서 배양되는 제3컴파트먼트; 상기 제2컴파트먼트와 제3컴파트먼트를 연통하는 복수 개의 제2마이크로채널이 환상으로 배열된 제2채널부; 및 상기 제3리저버와 제3컴파트먼트를 연통하는 제2연통로가 형성된 제2연통부를 더 구비할 수 있다.

- [0015] 여기서 본 발명의 또 다른 측면에 의하면, 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 준비하는 단계; 상기 제1리저버에 제1세포 및 배양액을 공급하는 단계; 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제1리저버에 공급된 제1세포가 상기 제1컴파트먼트에서 상기 제1채널부의 제1마이크로채널에 인접하도록 이동시키는 단계; 상기 제1세포를 상기 제1컴파트먼트에서 배양시키는 단계; 상기 제2리저버에 제2세포 및 배양액을 공급하는 단계; 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제2리저버에 공급된 제2세포가 상기 제2컴파트먼트에서 상기 제2채널부의 제2마이크로채널에 인접하도록 이동시키는 단계; 상기 제2세포를 상기 제2컴파트먼트에서 배양시키는 단계; 상기 제3리저버에 제3세포 및 배양액을 공급하는 단계; 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제3리저버에 공급된 제3세포가 상기 제2컴파트먼트에서 상기 제2채널부의 제2마이크로채널로부터 이격되도록 이동시키는 단계; 및 상기 제3세포를 상기 제3컴파트먼트에서 배양시키는 단계를 포함하는 세포 배양방법이 제공된다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명에 따른 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼 및 이를 이용한 세포 배양방법에 의하면, 환상의 리저버를 적어도 일부 둘러싸는 컴파트먼트의 구조를 적용하고, 회전에 의해 배양될 세포들이 마이크로채널에 인접하도록 이동시킴으로써 배양 후 성장된 세포, 예를 들면 신경세포의 액손이 관찰될 수 있는 확률을 높일 수 있다.

- [0017] 또한 세포의 신호 전달방향에 부합하도록 세포를 성장시킬 확률이 높아짐에 따라 실험에 필요한 실험대상을 확

보하기 용이하다는 장점을 갖는다. 즉 신경세포의 경우, 신호의 전달방향에 부합하여 순차적으로 액손과 테드라이트 사이에 시냅스를 형성하는 실험 관찰 대상을 용이하게 확보할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018]

도 1a는 일반적인 신경세포의 구조를 나타낸 도면,
 도 1b는 도 1a에 나타낸 신경세포의 실험을 위한 종래 마이크로 유동성 플랫폼의 일례를 나타낸 평면도,
 도 1c는 도 1b의 I-I 선에 따른 단면도,
 도 2a 및 도 2b는 본 발명의 제1실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼을 나타낸 평면도
 도 2b는 도 2a의 II-II 선에 따른 단면도,
 도 3a는 본 발명의 제2실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼을 나타낸 평면도,
 도 3b는 도 3a의 III-III 선에 따른 단면도,
 도 4 내지 도 7은 도 3a 및 도 3b에 나타낸 마이크로 유동성 플랫폼에서 각 리저버의 배치관계를 변형한 제3, 제4, 제5 및 제6실시예들을 각각 나타낸 평면도,
 도 8은 도 2a 및 도 2b에 나타낸 마이크로 유동성 플랫폼을 이용하여 세포를 배양하는 방법을 도시한 흐름도,
 도 9는 도 3a 내지 도 7에 나타낸 마이크로 유동성 플랫폼을 이용하여 세포를 배양하는 방법을 도시한 흐름도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019]

이하 첨부된 도면을 참조하면서 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다.

[0020]

도 2a 및 도 2b는 본 발명의 제1실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼을 나타낸 평면도이고, 도 2b는 도 2a의 II-II 선에 따른 단면도이다.

[0021]

도 1 a, 도 2a 및 도 2b를 참조하면, 본 발명의 제1실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(100;이하"마이크로 유동성 플랫폼"이라 함)은, 제1리저버(1st Reservoir;110)와, 제1컴파트먼트(1st Compartment;120)와, 하나 이상의 제2리저버(2nd Reservoir;210)와, 제2컴파트먼트(2nd Compartment;220)와, 제1채널부(130)와, 제1연통부(140)를 구비한다. 여기서 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)은 상기 제1 및 제2리저버(110)(210), 제1 및 제2 컴파트먼트(120)(220), 제1채널부(130) 및 제1연통부(140)에 각각 대응하는 수형(Male shape)의 마스터 몰드(Master Mold;미도시)를 완성한 후, 이러한 마스터 몰드 위에 촉매제와 잘 섞은 PDMS(Polydimethyldioxane)를 붓고, 대략 75℃에서 굳힘으로써 만들어진다.

[0022]

상기 제1리저버(110)는 배양될 제1세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구(開口)된 환상(Circular shape)의 빈 공간인 제1공급부(111)가 형성되어 있다. 여기서 상기 제1리저버(110)는 배양을 위한 제1세포를 넣어주는 곳으로서, 배양액의 공급 및 교체가 실질적으로 이루어진다.

[0023]

상기 제1컴파트먼트(120)에는 상기 제1공급부(111)와 연통하도록 제1공급부(111)의 적어도 일부를 둘러싸는 환상의 빈 공간인 제1배양부(121)가 형성되어 있다. 이러한 제1배양부(121)에서는 상기 제1공급부(111)로부터 공급된 제1세포가 배양액 속에서 배양된다. 그리고 상기 제1컴파트먼트(120)는 높이가 대략 100 μ m 정도로서, 제1세포가 안정적으로 배양되는 공간이 된다.

[0024]

상기 제2리저버(210)는 상기 제1리저버(110)의 일 측에 배치된다. 이러한 제2리저버(210)에는 배양될 제2세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구된 환상의 빈 공간인 제2공급부(211)가 형성되어 있다. 도 2a 및 도 2b에는 상기 제2리저버(210)가 하나 마련된 것으로 도시하였으나, 이는 예시적인 것으로서, 도 5 및 도 6과 같이 복수 개가 구비될 수 있으며, 이에 대해서는 후술하도록 한다. 여기서도 상기 제2리저버(210)는 배양을 위한 제2세포를 넣어주는 곳으로서, 배양액의 공급 및 교체가 실질적으로 이루어진다.

[0025]

상기 제2컴파트먼트(220)에는 상기 제2공급부(211)와 연통하고 상기 제1컴파트먼트(120)의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제2배양부(221)가 형성되어 있다. 그리고 이러한 제2배양부(221)에서는 상기 제2공급부(211)로부터 공급된 제2세포가 배양액 속에서 배양된다. 그리고 상기 제2컴파트먼트(220)도 높이가

대략 100 μ m 정도로서, 제2세포가 안정적으로 배양되는 공간이 된다.

- [0026] 상기 제1채널부(130)에는 상기 제1킴파트먼트(120)와 제2킴파트먼트(220)를 연통하는 복수 개의 제1마이크로채널(131)이 환상으로 배열되어 있다. 여기서 상기 제1 및 제2세포가 각각 신경세포(Neurons)라면, 상기 제1마이크로채널(131)로는 신경세포의 배양에 의해 성장된 액손(3;도 1a 참조)이 통과한다. 여기서 배양 초기의 신경세포는 동글동글한 좁쌀 형태로서 상기 제1마이크로채널(131)의 너비와 높이가 크게 되면 반대편에 위치한 제2킴파트먼트(220)로 이동할 수 있기 때문에, 대략 높이는 2.5 ~ 3 μ m, 채널 당 너비는 10 μ m, 길이는 500~600 μ m 정도로 하여 신경세포가 반대편의 제2킴파트먼트(220)로 이동하는 것을 방지한다. 결론적으로, 상기 제1킴파트먼트(120)에서는 처음 신경세포가 배양되고, 핵(1a)을 포함하는 세포몸체(1)가 위치된다. 그리고 상기 제2킴파트먼트(220)에는 상기 제1채널부(130)의 제1마이크로채널(131)을 통과한 액손(3)이 위치하게 된다.
- [0027] 상기 제1연통부(140)에는 상기 제2리저버(210)와 제2킴파트먼트(220)를 연통하는 제1연통로(141)가 형성되어 있다. 따라서 상기 제2리저버(210)에 공급된 제2세포는 배양액과 함께 상기 제1연통부(140)의 제1연통로(141)를 통해 제2킴파트먼트(220)로 이동하여 배양된다.
- [0028] 이하에서는 상기한 바와 같은 본 발명의 제1실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 이용하여 세포를 배양하는 방법을 첨부도면을 참조하여 설명하도록 한다. 여기서 도 8은 도 2a 및 도 2b에 나타난 마이크로 유동성 플랫폼을 이용하여 세포를 배양하는 방법을 도시한 흐름도이다.
- [0029] 먼저, 도 1a, 도 2a, 도 2b 및 도 8을 참조하면 본 발명의 제1실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 준비한다(S110). 여기서 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)의 제1리저버(110)는 펀치(Punch)로 뚫어준 후, 커버글라스(Cover glass)를 붙인 다음, 코팅하여 세포가 배양되기 위한 조건을 구비한다.
- [0030] 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)이 준비되면, 상기 제1리저버(110)에 제1세포 및 배양액을 공급한다(S120). 여기서 상기 제1세포는 동글동글한 좁쌀 형태의 초기 신경세포일 수 있으며, 이 경우 상기 제1세포는 핵(1a)을 포함하는 세포몸체(1)일 수 있다. 그리고 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)의 내부는 이후 배양 과정에서는 내부가 마르지 않도록 습윤 상태가 유지되도록 한다.
- [0031] 다음으로 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 회전시킴으로써 원심력을 발생시킨다. 이에 따라 상기 제1리저버(110)에 공급된 제1세포는 상기 제1킴파트먼트(120)에서 상기 제1채널부(130)의 제1마이크로채널(131)에 인접하도록 이동된다(S130). 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)의 회전은 턴테이블(Turn table)이 구비된 것으로서, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 이용하여 균일한 속도로 회전시킬 수 있는 장치라면 충분하며, 그 장치의 구성이 특별하게 한정되는 것은 아니다.
- [0032] 그 다음으로 상기 제1세포를 상기 제1킴파트먼트(120)에서 배양시킨다(S140). 상기 제1세포가 신경세포라면, 상기 제1킴파트먼트(120)에서 배양되는 신경세포는 액손(3)이 성장하여 상기 제1채널부(130)의 제1마이크로채널(131)을 통과한다. 이렇게 제1마이크로채널(131)을 통과한 액손(3)은 제2킴파트먼트(220)에 위치하게 된다.
- [0033] 상기한 바와 같이 제1리저버(110)에 제1세포를 공급하여 상기 제1킴파트먼트(120)에서 배양을 시작한 후, 대략 일주일 정도의 기간이 지나면, 상기 제2리저버(210)에 제2세포 및 배양액을 공급한다(S150). 여기서도 상기 제2세포는 동글동글한 좁쌀 형태의 초기 신경세포일 수 있으며, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)의 내부는 이후 배양 과정에서는 내부가 마르지 않도록 습윤 상태가 유지되도록 한다.
- [0034] 그 다음으로 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제2리저버(210)에 공급된 제2세포가 상기 제2킴파트먼트(220)에서 상기 제1채널부(130)의 제1마이크로채널(131)로부터 이격되도록 이동시킨다(S160). 여기서도 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)의 회전은 턴테이블이 구비된 것으로서, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 이용하여 균일한 속도로 회전시킬 수 있는 장치라면 충분하며, 그 장치의 구성이 특별하게 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 끝으로 상기 제2세포를 상기 제2킴파트먼트(220)에서 배양시킨다(S170). 여기서도 상기 제2세포가 신경세포라면, 상기 제2킴파트먼트(220)에서는 세포몸체(1)에서 성장한 데드라이트(2)가 상기 제1킴파트먼트(120)에서 성장하여 상기 제1마이크로채널(131)을 통과한 액손(3)과 시냅스를 형성하게 된다.
- [0036] 이상에서 살펴본 바와 같이 본 발명의 제1실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 이용하여 세포를 배양하는 방법에 의하면, 제1 및 제2킴파트먼트(120)(220)가 제1리저버(110)의 적어도 일부를 둘러싸도록 하고, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 회전시켜 원심력에 의해 제1세포는 제1마이크로채널(131)에 인접되도록 하고

제2세포는 제1마이크로채널(131)로부터 이격되도록 이동시킴으로써 제1컴파트먼트(120)에서 성장한 세포, 예를 들면 신경세포의 액손(3)이 관찰될 수 있는 확률이 높아진다. 더욱이 세포의 신호 전달방향에 부합하도록 세포를 성장시킬 확률이 높아짐에 따라 실험에 필요한 실험대상을 확보하기 용이하다는 장점을 갖는다. 즉 신경세포의 경우, 신호의 전달방향에 부합하여 순차적으로 액손(3)과 데드라이트(2) 사이에 시냅스를 형성하는 실험 관찰 대상을 상기 제2컴파트먼트(220)에서 용이하게 확보할 수 있게 된다.

[0037] 한편, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)의 내부는 배양 과정에서는 내부가 마르지 않도록 습윤 상태가 유지하여야 한다. 이를 위해 상기 제1리저버(110)에 공급되는 배양액의 양은 상기 제2리저버(210)에 공급되는 배양액의 양보다 많도록 하여 상기 제1컴파트먼트(120)로부터 상기 제2컴파트먼트(220)로 배양액의 흐름이 유지될 수 있도록 하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 상기 제2리저버(210)에 공급되는 배양액의 양은 상기 제1리저버(110)에 공급되는 배양액의 양보다 10% 정도 적은 양을 공급할 수 있다.

[0038] 이하에서는 본 발명에 제2실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼을 첨부도면을 참조하여 설명하기로 한다.

[0039] 도 3a는 본 발명의 제2실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼을 나타낸 평면도이고, 도 3b는 도 3a의 III-III 선에 따른 단면도이다. 여기서 도 2a 및 도 2b에 나타낸 참조번호와 동일한 참조번호는 동일성을 갖는 구성으로서, 동일한 작용 및 효과를 가지므로 반복적인 설명은 생략한다.

[0040] 도 1 a, 도 3a 및 도 3b를 참조하면, 본 발명의 제2실시예에 따른 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼(200; 이하 "마이크로 유동성 플랫폼"이라 함)은, 전술한 본 발명의 제1실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(100)에 추가하여, 하나 이상의 제3리저버(3rd Reservoir; 310)와, 제3컴파트먼트(320)와, 제2채널부(230)와, 제2연통부(240)를 더 구비한다.

[0041] 상기 제3리저버(310)에는 배양될 제3세포 및 배양액이 공급될 수 있도록 상면이 개구된 환상의 빈 공간인 제3공급부(311)가 형성되어 있다. 여기서도 상기 제3리저버(310)는 배양을 위한 제3세포를 넣어주는 곳으로서, 배양액의 공급 및 교체가 실질적으로 이루어진다. 한편 상기 제3리저버(310)는 상기 제1리저버(110)를 중심으로 상기 제2리저버(210)와 서로 대향하여 배치될 수 있다.

[0042] 상기 제3컴파트먼트(320)에는 상기 제3공급부(311)와 연통하고 상기 제2컴파트먼트(220)의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제3배양부(321)가 형성되어 있다. 이러한 제3배양부(321)에서는 상기 제3공급부(311)로부터 공급된 제3세포가 배양액 속에서 배양된다. 그리고 상기 제3컴파트먼트(320)도 높이가 대략 100 μ m 정도로서, 제3세포가 안정적으로 배양되는 공간이 된다.

[0043] 상기 제2채널부(230)에는 상기 제2컴파트먼트(220)와 제3컴파트먼트(320)를 연통하는 복수 개의 제2마이크로채널(231)이 환상으로 배열되어 있다. 여기서 상기 제2 및 제3세포가 신경세포라면, 상기 제2마이크로채널(231)로는 신경세포의 배양에 의해 성장된 액손(3)이 통과한다. 여기서 배양 초기의 신경세포는, 상기 제2마이크로채널(231)의 너비와 높이가 크게 되면 반대편에 위치한 제3컴파트먼트(320)로 이동할 수 있기 때문에, 대략 높이는 2.5 ~ 3 μ m, 채널 당 너비는 10 μ m, 길이는 500~600 μ m 정도로 하여 신경세포가 반대편의 제3컴파트먼트(320)로 이동하는 것을 방지한다. 따라서 상기 제3컴파트먼트(320)에는 상기 제2채널부(230)의 제2마이크로채널(231)을 통과한 액손(3)이 위치하게 된다.

[0044] 상기 제2연통부(240)에는 상기 제3리저버(310)와 제3컴파트먼트(320)를 연통하는 제2연통로(241)가 형성되어 있다. 따라서 상기 제3리저버(310)에 공급된 제3세포는 배양액과 함께 상기 제2연통부(240)의 제2연통로(241)를 통해 제3컴파트먼트(320)로 이동하여 배양된다.

[0045] 한편, 도 4 내지 도 7에는 도 3a 및 도 3b에 나타낸 마이크로 유동성 플랫폼에서 각 리저버의 배치관계를 변형한 제3, 제4, 제5 및 제6실시예들을 각각 나타낸 평면도가 도시되어 있다. 여기서도 도 2a 내지 도 3b에 나타낸 참조번호와 동일한 참조번호는 동일성을 갖는 구성으로서, 동일한 작용 및 효과를 가지므로 반복적인 설명은 생략한다.

[0046] 먼저 도 1a 및 도 4를 참조하면, 본 발명의 제3실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(300)에서는, 상기 제2실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(200)과 유사하게, 상기 제2리저버(210)와 제3리저버(310)가 상기 제1리저버(110)를 중심으로 서로 대향하여 배치되어 있다.

- [0047] 또한 상기 마이크로 유동성 플랫폼(300)은, 제4컴파트먼트(420)와, 제5컴파트먼트(520)와, 제3채널부(330)와, 제3연통부(340)를 더 구비한다.
- [0048] 상기 제4컴파트먼트(420)에는 상기 제2공급부(211) 및 제1연통로(141)와 각각 연통하도록 상기 제2공급부(211)의 일부를 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제4배양부(421)가 형성되어 있다. 여기서 상기 제4배양부(421)에서는 상기 제2공급부(211)로부터 공급된 제2세포가 배양액 속에서 배양된다. 그리고 상기 제4컴파트먼트(420)는 높이가 대략 100 μ m 정도로서, 제2세포가 안정적으로 배양되는 공간이 된다.
- [0049] 상기 제5컴파트먼트(520)에는 상기 제3컴파트먼트(320)와 연통하고 상기 제4컴파트먼트(420)의 일부를 이격되게 둘러싸서 부분적으로 환상인 빈 공간의 제5배양부(521)가 형성되어 있다. 이러한 제5배양부(521)에서는 상기 제4컴파트먼트(420)를 통해 공급된 제3세포가 배양액 속에서 배양된다.
- [0050] 상기 제3채널부(330)에는 상기 제4컴파트먼트(420)와 제5컴파트먼트(520)를 연통하는 복수 개의 제3마이크로채널(331)이 환상으로 배열되어 있다. 여기서 상기 제2세포가 신경세포라면, 상기 제3마이크로채널(331)로는 신경세포의 배양에 의해 성장된 액손(3)이 통과한다. 여기서 배양 초기의 신경세포는, 상기 제3마이크로채널(331)의 너비와 높이가 크게 되면 반대편에 위치한 제5컴파트먼트(520)로 이동할 수 있기 때문에, 대략 높이는 2.5 ~ 3 μ m, 채널 당 너비는 10 μ m, 길이는 500~600 μ m 정도로 하여 신경세포가 반대편의 제5컴파트먼트(520)로 이동하는 것을 방지한다. 따라서 상기 제5컴파트먼트(520)에는 상기 제3채널부(330)의 제3마이크로채널(331)을 통과한 액손(3)이 위치하게 된다.
- [0051] 상기 제3연통부(340)에는 상기 제3컴파트먼트(320)와 제5컴파트먼트(520)를 연통하는 제3연통로(341)가 형성되어 있다.
- [0052] 여기에서 상기 제1연통로(141)와 제3연통로(341)는 서로 나란하게 이격 배치되고, 상기 제1연통로(141)와 제3연통로(341)를 연통하는 복수 개의 제4마이크로채널(431)이 환상으로 배열된 제4채널부(430)를 더 구비될 수 있다.
- [0053] 상기한 바와 같은 본 발명의 제3실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(300)에서는, 상기 제1, 제2 및 제3세포가 신경세포인 경우 상기 제1, 제2 및 제3컴파트먼트(120)(220)(320)에서 순차 배양된 3차 신경세포뿐만 아니라, 상기 제4 및 제5컴파트먼트(420)(520)에서 배양된 2차 신경세포도 함께 볼 수 있다. 따라서 동일한 조건 하에서 약물처리에 따른 신경세포의 변화 등을 용이하게 확인할 수 있다는 장점을 갖는다.
- [0054] 다음으로, 도 5에는 본 발명의 제4실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(400)이 도시되어 있다.
- [0055] 도시된 바와 같이, 본 발명의 제4실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(400)에서는, 상기 제2리저버(210)가 상기 제1리저버(110)를 중심으로 서로 대칭되도록 배치된 한 쌍이 구비되어 있다. 또한 상기 제3리저버(310)가 상기 제1리저버(110)를 중심으로 서로 대칭되도록 배치된 한 쌍이 구비되어 있다. 더욱이 상기 제3리저버(310)는 상기 제1리저버(110)를 중심으로 상기 제2리저버(210)의 외측에 배치된다.
- [0056] 상기한 바와 같은 본 발명의 제4실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(400)에서는, 상기 제1, 제2 및 제3세포가 신경세포인 경우를 예로 들면, 맨 안쪽에 위치한 제1리저버(110)에 신경세포를 공급하여 제1컴파트먼트(120)에서 배양을 시작한 후, 대략 일주일 후면 제1마이크로채널(131)을 통과한 액손(3)을 확인할 수 있다. 이와 같이 액손(3)을 확인한 다음에, 상기 제2리저버(210)에 다시 신경세포를 공급해주면, 처음 신경세포를 제1리저버(110)에 공급했을 때와 같이 대략 일주일 후, 제3리저버(310)와 연결된 제3컴파트먼트(320)에서 액손(3)을 확인할 수 있다. 그런 다음 또 다시 제3리저버(310)에 신경세포를 공급해줌으로써, 최대 3번을 통해 대략 3주에 걸쳐 신경세포를 공급하고 배양할 수 있다.
- [0057] 위와 같이 신경세포를 공급할 수 있는 제2리저버(210) 및 제3리저버(310)를 한 쌍으로 배치한 이유는, 전술한 바와 같이 커버 글라스를 붙이고 코팅한 다음, 신경세포와 배양액을 공급하기 위해서 상기 마이크로 유동성 플랫폼(400)의 내부공간(컴파트먼트 및 마이크로채널 등)에 존재하는 공기를 빼내고, 이들 공간에 배양액을 채워 주어야 하는데, 배양액의 공급 공간을 2개로 마련하여 공기가 좀 더 용이하게 배출될 수 있도록 하기 위함이다.
- [0058] 그 다음으로 도 6에는 본 발명의 제5실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(500)이 도시되어 있다.
- [0059] 도시된 바와 같이, 본 발명의 제5실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(500)에서는, 상기 제1리저버(110)와 제3리저버(310)가 상기 제2리저버(210)를 중심으로 서로 대향하여 배치되어 있다.

- [0060] 또한 상기 마이크로 유동성 플랫폼(500)에서는 상기 제1리저버(110)와 제2리저버(210) 사이 및 상기 제2리저버(210)와 제3리저버(310) 사이에 각각 추가적인 마이크로채널을 형성하여, 성장 시기가 서로 다른 다양한 신경세포에 대한 실험 및 관찰이 가능하다는 장점을 갖는다.
- [0061] 마지막으로 도 7에는 본 발명의 제6실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(600)이 도시되어 있다.
- [0062] 도시된 바와 같이, 본 발명의 제6실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(600)에서는, 상기 제2리저버(210)와 제3리저버(310)가 각각 한 쌍으로 구비되어 있을 뿐만 아니라, 한 쌍의 제2리저버(210) 및 제3리저버(310)가 서로 대각선 방향에 대칭되도록 배치되어 있다.
- [0063] 여기서도 상기 제2리저버(210)와 제3리저버(310) 사이에는 각각 마이크로채널을 형성하여, 성장 시기가 서로 다른 다양한 신경세포에 대한 실험 및 관찰이 가능하다는 장점을 갖는다.
- [0064] 이하에서는 상기한 바와 같은 본 발명의 제2실시예 내지 제6실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(200, 300, 400, 500, 600)을 이용하여 세포를 배양하는 방법을 첨부도면을 참조하여 설명하도록 한다. 여기서 도 9는 도 3a 내지 도 7에 나타난 마이크로 유동성 플랫폼을 이용하여 세포를 배양하는 방법을 도시한 흐름도이다.
- [0065] 도 1a, 도 3a 내지 도 7 및 도 9를 참조하면, 먼저 본 발명의 제2실시예 내지 제6실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(200, 300, 400, 500, 600)중 선택된 하나를 준비한다(S210). 다만 여기서는 설명의 편의를 위해 도 3a 및 도 3b에 나타난 마이크로 유동성 플랫폼(200)을 선택한 경우를 예시하여 설명하도록 한다.
- [0066] 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200)이 준비되면, 상기 제1리저버(110)에 제1세포 및 배양액을 공급한다(S220). 여기서 상기 제1세포는 동글동글한 좁쌀 형태의 초기 신경세포일 수 있으며, 이 경우 상기 제1세포는 핵(1a)을 포함하는 세포몸체(1)일 수 있다. 그리고 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200)의 내부는 이후 배양 과정에서는 내부가 마르지 않도록 습윤 상태가 유지되도록 한다.
- [0067] 다음으로 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼(200)을 회전시킴으로써 원심력을 발생시킨다. 이에 따라 상기 제1리저버(110)에 공급된 제1세포는 상기 제1컴파트먼트(120)에서 상기 제1채널부(130)의 제1마이크로채널(131)에 인접하도록 이동된다(S230). 상기 마이크로 유동성 플랫폼(100)의 회전은 턴테이블이 구비된 것으로서, 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼(100)을 이용하여 균일한 속도로 회전시킬 수 있는 장치라면 충분하다.
- [0068] 그 다음으로 상기 제1세포를 상기 제1컴파트먼트(120)에서 배양시킨다(S240). 상기 제1세포가 신경세포라면, 상기 제1컴파트먼트(120)에서 배양되는 신경세포는 액손(3)이 성장하여 상기 제1채널부(130)의 제1마이크로채널(131)을 통과한다. 이렇게 제1마이크로채널(131)을 통과한 액손(3)은 제2컴파트먼트(220)에 위치하게 된다.
- [0069] 상기 제1리저버(110)에 제1세포를 공급하여 상기 제1컴파트먼트(120)에서 배양을 시작한 후, 대략 일주일 정도의 기간이 지나면, 상기 제2리저버(210)에 제2세포 및 배양액을 공급한다(S250). 여기서도 상기 제1세포는 동글동글한 좁쌀 형태의 초기 신경세포일 수 있으며, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200)의 내부는 이후 배양 과정에서는 내부가 마르지 않도록 습윤 상태가 유지되도록 한다.
- [0070] 그 다음으로 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200)을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제2리저버(210)에 공급된 제2세포가 상기 제2컴파트먼트(220)에서 상기 제2채널부(230)의 제2마이크로채널(231)에 인접하도록 이동시킨다(S260). 여기서도 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200)의 회전은 턴테이블이 구비된 것으로서, 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼(200)을 이용하여 균일한 속도로 회전시킬 수 있는 장치라면 충분하다.
- [0071] 그런 다음, 상기 제2세포를 상기 제2컴파트먼트(220)에서 배양시킨다(S270). 여기서도 상기 제2세포가 신경세포라면, 상기 제2컴파트먼트(220)에서 배양되는 신경세포는 액손(3)이 성장하여 상기 제2채널부(230)의 제2마이크로채널(231)을 통과한다. 그리고 상기 제2컴파트먼트(220)에서는 세포몸체(1)에서 성장한 데드라이트(2)가 상기 제1컴파트먼트(120)에서 제1마이크로채널(131)을 통과한 액손(3)과 시냅스를 형성하게 된다.
- [0072] 상기 제2리저버(210)에 제2세포를 공급하여 상기 제2컴파트먼트(220)에서 배양을 시작한 후, 대략 일주일 정도의 기간이 지나면, 상기 제3리저버(310)에 제3세포 및 배양액을 공급한다(S280). 여기서도 상기 제3세포는 동글동글한 좁쌀 형태의 초기 신경세포일 수 있으며, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200)의 내부는 이후 배양 과정에서는 내부가 마르지 않도록 습윤 상태가 유지되도록 한다.
- [0073] 그 다음으로 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200)을 회전시킴으로써 원심력을 발생시켜, 상기 제3리저버(310)에

공급된 제3세포가 상기 제3컴파트먼트(320)에서 상기 제2채널부(230)의 제2마이크로채널(231)로부터 이격되도록 이동시킨다(S290). 여기서도 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼(200)의 회전은 턴테이블이 구비된 것으로서, 상기 세포 배양용 마이크로 유동성 플랫폼(200)을 이용하여 균일한 속도로 회전시킬 수 있는 장치라면 충분하다.

[0074] 끝으로, 상기 제3세포를 상기 제3컴파트먼트(320)에서 배양시킨다(S300). 여기서도 상기 제3세포가 신경세포라면, 상기 제3컴파트먼트(320)에서는 세포몸체(1)에서 성장한 데드라이트(2)가 상기 제2컴파트먼트(220)에서 제2 마이크로채널(231)을 통과한 액손(3)과 시냅스를 형성하게 된다.

[0075] 이상에서 살펴본 바와 같이 본 발명의 제2 내지 제6실시예에 따른 마이크로 유동성 플랫폼(200,300,400,500,600)을 이용하여 세포를 배양하는 방법에 의하면, 제1, 제2, 및 제3컴파트먼트(120)(220)(320)가 제1리저버(110)의 적어도 일부를 둘러싸도록 하고, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200,300,400,500,600)을 회전시켜 원심력에 의해 제1세포는 제1마이크로채널(131)에 인접하고, 제2세포는 제1마이크로채널(131)로부터는 이격되고 제2마이크로채널(231)에는 인접하며, 제3세포는 제2마이크로채널(231)로부터 이격되도록 순차 이동시킴으로써, 배양 후 성장된 세포, 예를 들면 신경세포의 액손(3)이 관찰될 수 있는 확률을 높여줄 수 있다. 또한 세포의 신호 전달방향에 부합하도록 세포를 성장시킬 확률이 높아짐에 따라 실험에 필요한 실험대상을 확보하기 용이하다는 장점을 갖는다. 즉 신경세포의 경우, 신호의 전달방향에 부합하여 순차적으로 액손(3)과 테드라이트(2) 사이에 시냅스를 형성하는 실험 관찰 대상을 용이하게 확보할 수 있게 된다. 더욱이 제2리저버(210)와 제3리저버(310) 사이에도 다양한 형태의 마이크로채널을 형성하여, 성장 시기가 서로 다른 다양한 신경세포에 대한 실험 및 관찰이 가능할 뿐만 아니라, 동일한 조건 하에서 약물처리에 따른 신경세포의 변화 등을 용이하게 확인할 수 있다는 장점을 갖는다.

[0076] 한편, 상기 마이크로 유동성 플랫폼(200,300,400,500,600)의 내부는 배양 과정에서는 내부가 마르지 않도록 습윤 상태가 유지되어야 한다. 이를 위해 상기 제1리저버(110)에 공급되는 배양액의 양은 상기 제2리저버(210)에 공급되는 배양액의 양보다 많고, 상기 제2리저버(210)에 공급되는 배양액의 양은 상기 제3리저버(310)에 공급되는 배양액의 양보다 많도록 하여 상기 제1컴파트먼트(120), 제2컴파트먼트(220) 및 제3컴파트먼트(320)로 순차적으로 배양액의 흐름이 유지될 수 있도록 하는 것이 바람직하다. 예를 들면, 상기 제2리저버(210)에 공급되는 배양액의 양은 상기 제1리저버(110)에 공급되는 배양액의 양보다 10% 정도 적은 양을 공급하고, 상기 제3리저버(310)에 공급되는 배양액의 양은 상기 제2리저버(210)에 공급되는 배양액의 양보다 10% 정도 적은 양을 공급할 수 있다.

[0077] 본 발명은 도면에 도시된 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 본 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서, 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

부호의 설명

[0078] 2 : 덴드라이트(Dendrites) 3 : 액손(Axon)

110,210,310 : 제1,제2 및 제3리저버

111,211,311 : 제1,제2 및 제3공급부

120,220,320,420,520 : 제1,제2,제3,제4 및 제5컴파트먼트

121, 221, 321, 421, 521 : 제1, 제2, 제3, 제4 및 제5배양부

130, 230, 330, 430 : 제1, 제2, 제3 및 제4채널부

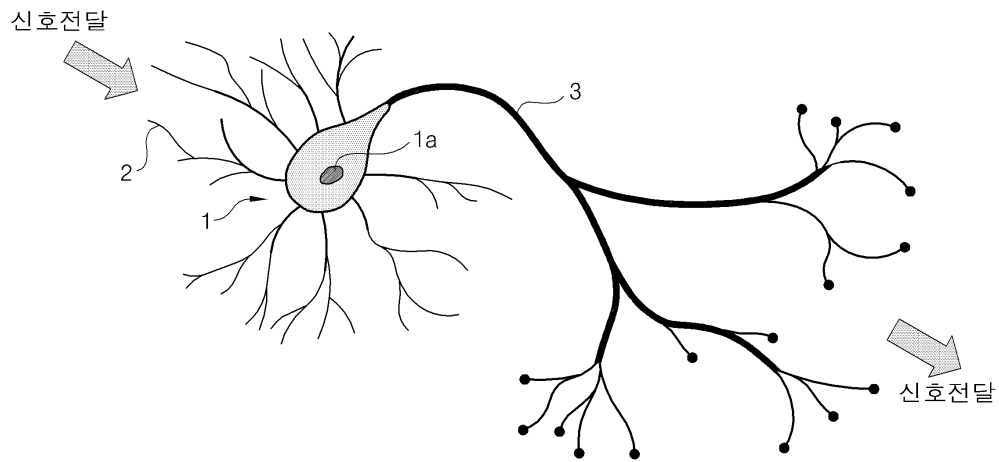
131,231,331,431 : 제1,제2,제3 및 제4마이크로채널

140,240,340 : 제1, 제2 및 제3연통부

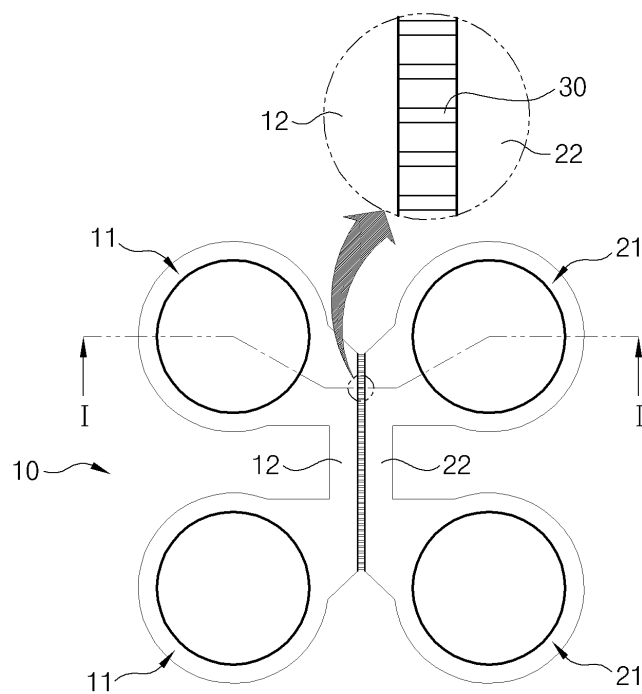
141,241,341 : 제1, 제2 및 제3연통로

도면

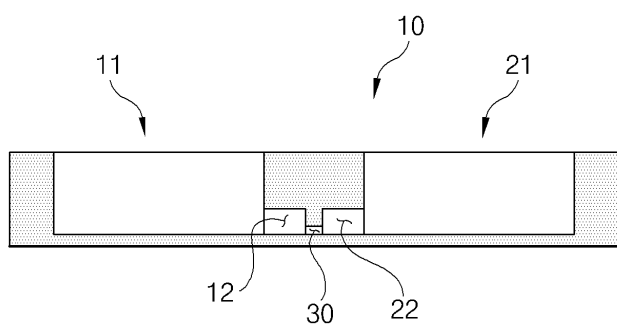
도면1a



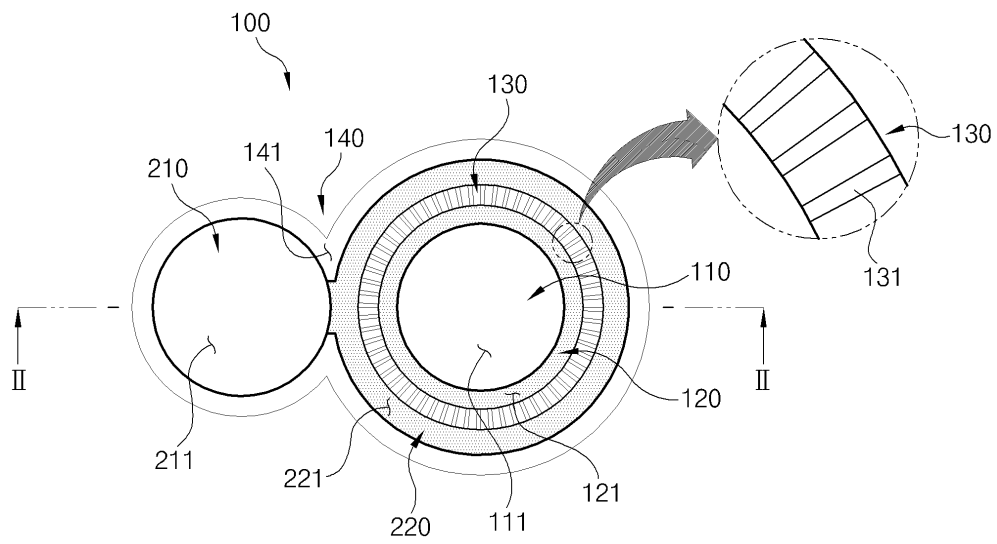
도면1b



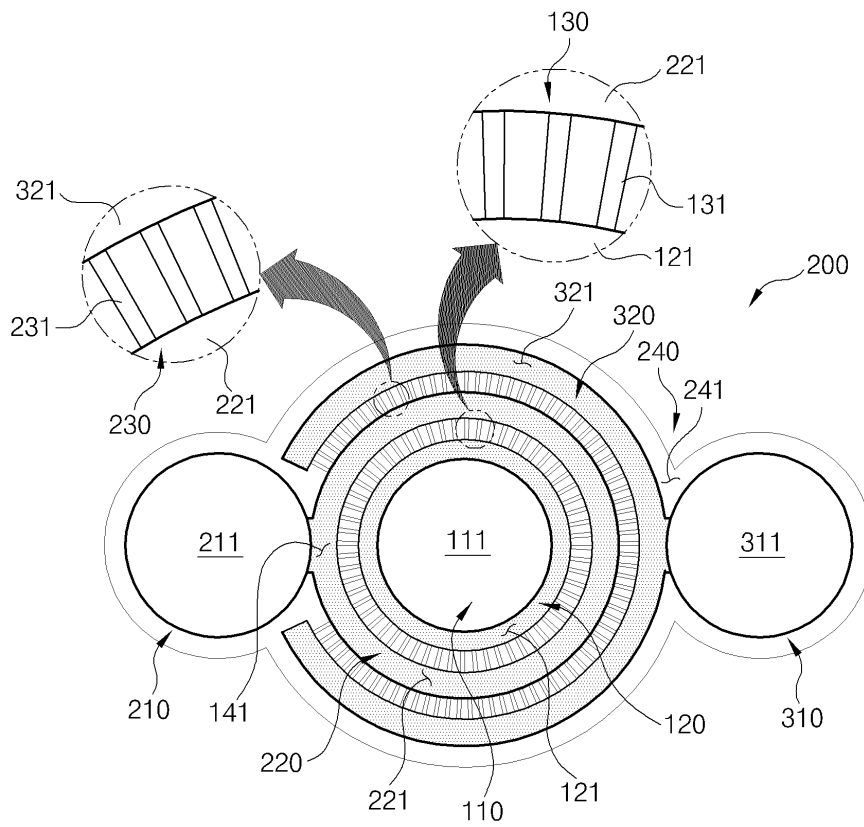
도면1c



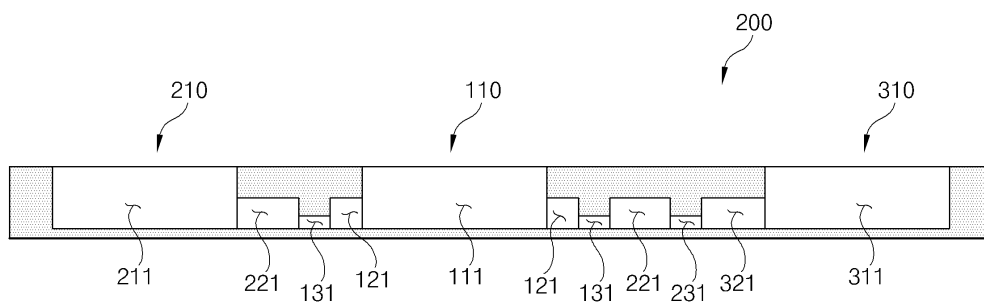
도면2a



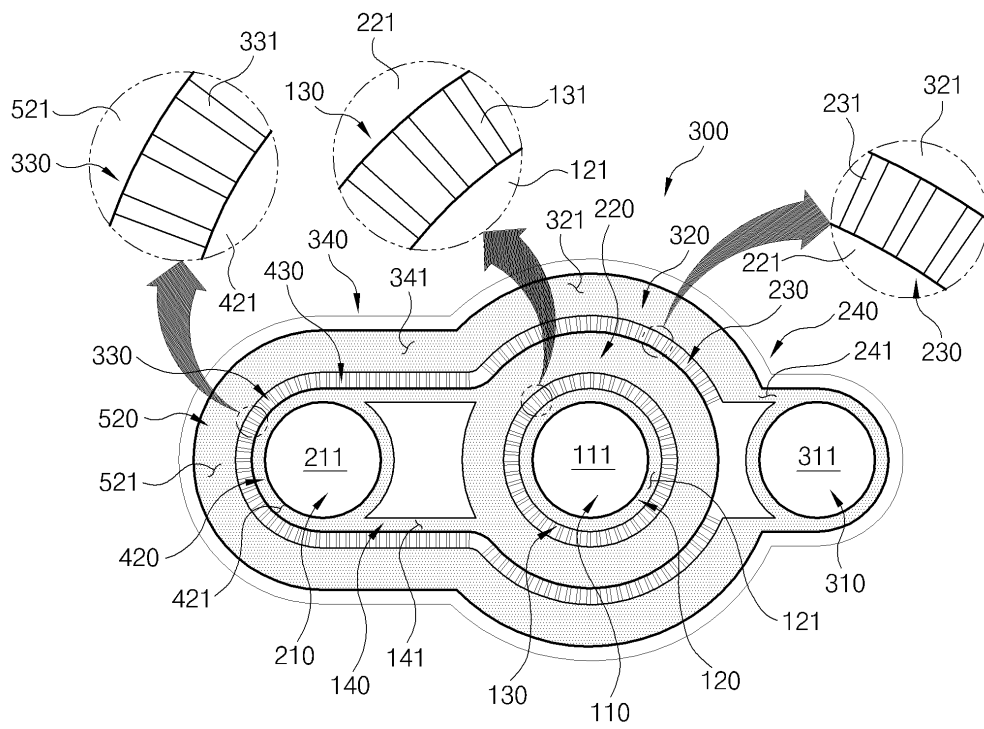
도면3a



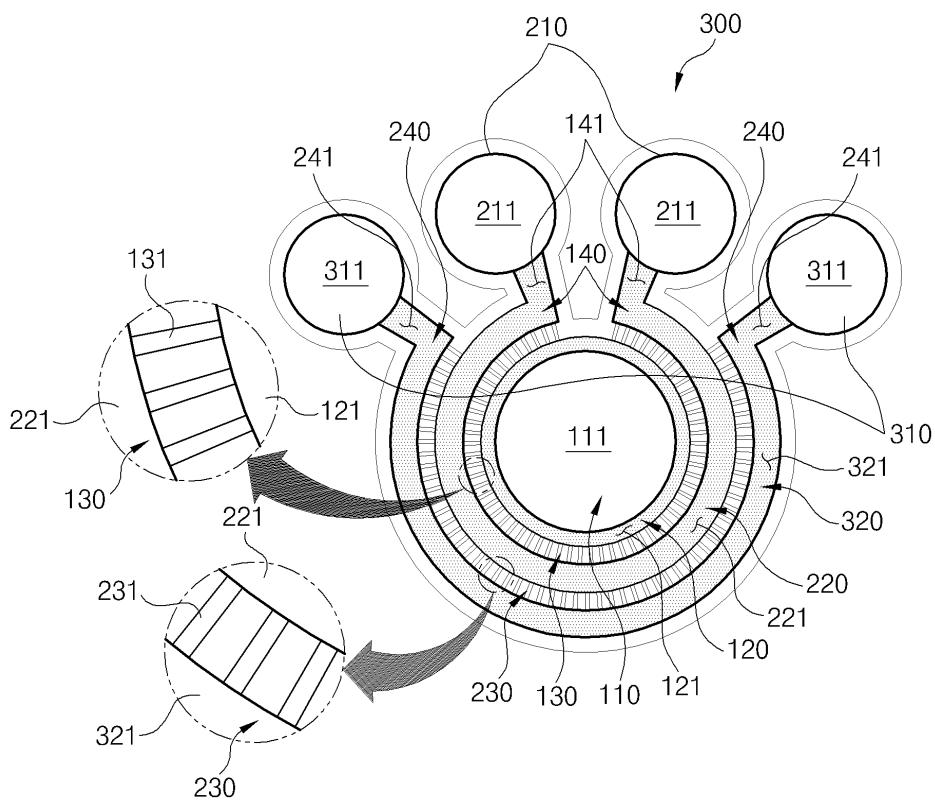
도면3b



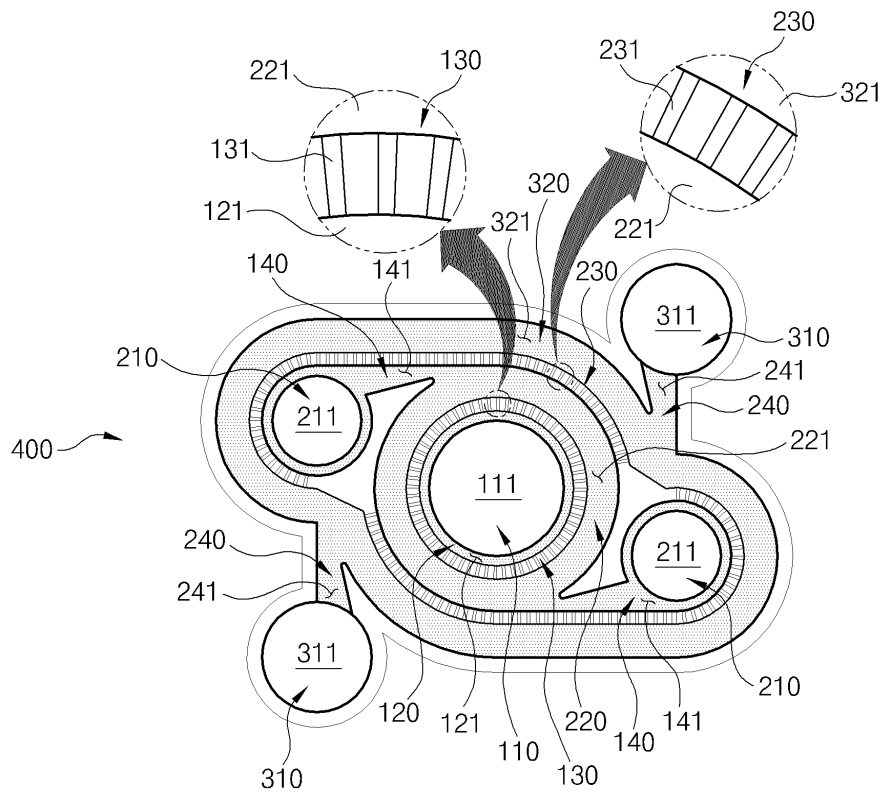
도면4



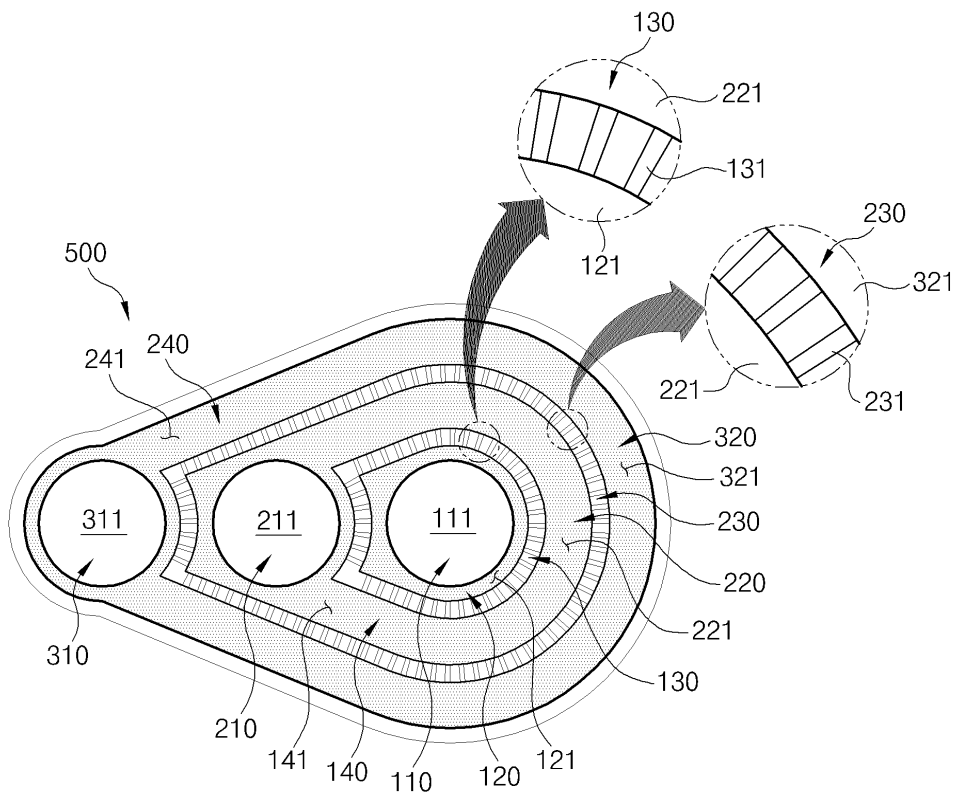
도면5



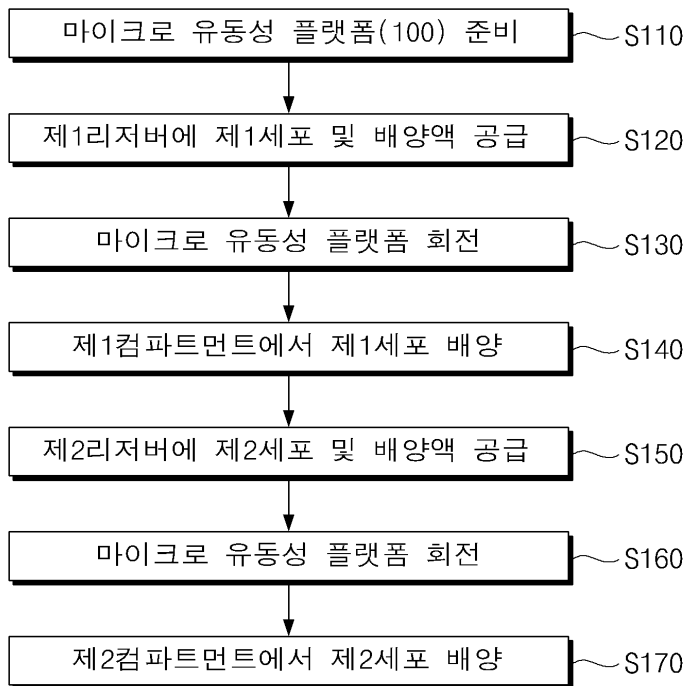
도면6



도면7



도면8



도면9

