(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년09월26일
(11) 등록번호 10-1782263
(24) 등록일자 2017년09월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 3/06 (2006.01) *B01L 3/00* (2006.01)
C12M 1/02 (2006.01) *C12M 1/34* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12M 23/16 (2013.01)
B01L 3/5027 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0055159
(22) 출원일자 2016년05월04일
심사청구일자 2016년05월04일
(56) 선행기술조사문헌
JP2008514901 A*
JP4535832 B2
KR1020130120032 A
KR1020030090636 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
최혁
서울특별시 강남구 삼성로111길 8, 206동1401호 (삼성동, 삼성현대힐스테이트2차아파트)
정진수
서울특별시 금천구 독산로20길 19, 101호 (시흥동, 송림빌라)
황민호
서울특별시 구로구 가마산로27길 11-7, 1202호 (구로동)
(74) 대리인
특허법인남촌

전체 청구항 수 : 총 13 항 심사관 : 조상진

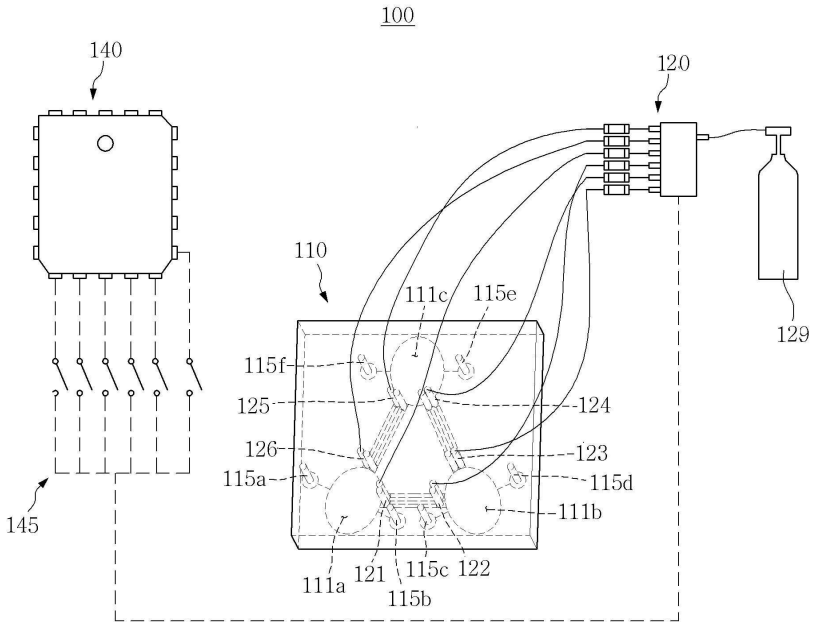
(54) 발명의 명칭 **세포배양 미세유체칩 및 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치**

(57) 요 약

본 발명의 일 실시예에 따른 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치는, 서로 다른 종류의 세포가 독립배양되는 복수의 챔버와, 복수의 격벽에 의해 통로간격이 구획되고 복수의 챔버를 폐순환구조로 연결하는 복수의 채널을 포함하고, 복수의 채널의 양단에는 복수의 격벽의 종단과 챔버 사이에 출입구가 마련된 세포배양 미세유체칩; 및

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도2



세포배양 미세유체칩의 출입구에 각각 설치되어, 복수의 채널을 선택적으로 개폐하는 채널개폐부를 포함하고, 세포배양 미세유체칩에서, 채널개폐부의 선택적 개폐동작에 의해, 복수의 챔버 중 적어도 두 개의 챔버가 개방된 채널에 의해 연결되면, 개방된 채널을 통해 적어도 두 개의 챔버 내의 세포에서 분비된 물질 간의 이동이 허용되어, 세포와 세포에서 분비된 물질 간의 상호작용이 관찰되고, 세포배양 미세유체칩은, 서로 다른 종류의 세포가 독립배양되는 복수의 챔버; 및 복수의 격벽에 의해 통로간격이 구획되어 마이크로채널구조를 가지고, 복수의 챔버를 폐순환구조로 연결하는 복수의 채널을 포함하고, 복수의 채널의 양단에는 복수의 격벽의 종단과 챔버 사이에 채널개폐부가 설치되는 출입구가 마련되고, 복수의 채널 중 출입구가 개방된 채널은, 복수의 챔버 중 적어도 두 개의 챔버를 연결하고, 마이크로채널구조에 의해 서로 다른 챔버 내의 세포 간의 이동을 차단하고, 세포에서 분비된 물질 간의 이동을 허용하는 것이 바람직하다.

(52) CPC특허분류
C12M 27/00 (2013.01)
C12M 41/46 (2013.01)
B01L 2200/027 (2013.01)
B01L 2200/0647 (2013.01)
B01L 2300/0861 (2013.01)
B01L 2300/14 (2013.01)
B01L 2400/0487 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

서로 다른 종류의 세포가 독립배양되는 복수의 챔버;

복수의 격벽에 의해 통로간격이 구획되어 마이크로채널구조를 가지고, 상기 복수의 챔버를 폐순환구조로 연결하는 복수의 채널;

상기 복수의 챔버와 상기 복수의 채널이 마련된 배양플레이트;

상기 배양플레이트로의 적층시 출입구를 덮도록, 상기 복수의 챔버에 대응되는 복수의 챔버개구와 상기 복수의 채널에 대응된 복수의 채널개구가 마련된 제 1 레이어;

상기 제 1 레이어에 적층되어, 상기 복수의 챔버개구와 상기 복수의 채널개구를 덮는 제 2 레이어; 및

상기 제 1 레이어와 상기 제 2 레이어 사이에 적층되는 멤브레인막을 포함하고,

상기 복수의 채널의 양단에는 상기 복수의 격벽의 종단과 상기 챔버 사이에 채널개폐부가 설치되는 상기 출입구가 마련되고,

상기 복수의 채널 중 상기 출입구가 개방된 채널은, 상기 복수의 챔버 중 적어도 두 개의 챔버를 연결하고, 상기 마이크로채널구조에 의해 서로 다른 챔버 내의 세포 간의 이동을 차단하고, 상기 세포에서 분비된 물질 간의 이동을 허용하는 것을 특징으로 하는 세포배양 미세유체칩.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 배양플레이트, 상기 제 1 레이어, 상기 멤브레인막 및 상기 제 2 레이어는 순차적으로 적층된 다층구조로 마련되고,

상기 채널개구는 상기 챔버개구에 대해 상기 출입구의 간격만큼 이격된 것을 특징으로 하는 세포배양 미세유체칩.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 멤브레인막은 상기 복수의 챔버개구와 상기 복수의 채널개구를 덮어, 상기 챔버에 배양된 세포의 이동을 차단하는 것을 특징으로 하는 것을 특징으로 하는 세포배양 미세유체칩.

청구항 4

서로 다른 종류의 세포가 독립배양되는 복수의 챔버와, 복수의 격벽에 의해 통로간격이 구획되고 상기 복수의 챔버를 폐순환구조로 연결하는 복수의 채널을 포함하고, 상기 복수의 채널의 양단에는 상기 복수의 격벽의 종단과 상기 챔버 사이에 출입구가 마련된 세포배양 미세유체칩; 및

상기 세포배양 미세유체칩의 상기 출입구에 각각 설치되어, 상기 복수의 채널을 선택적으로 개폐하는 채널개폐부를 포함하고,

상기 세포배양 미세유체칩에서, 상기 채널개폐부의 선택적 개폐동작에 의해, 상기 복수의 챔버 중 적어도 두 개의 챔버가 개방된 채널에 의해 연결되면, 상기 개방된 채널을 통해 상기 적어도 두 개의 챔버 내의 세포에서 분비된 물질 간의 이동이 허용되어, 상기 세포와 상기 세포에서 분비된 물질 간의 상호작용이 관찰되는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 상기 세포배양 미세유체칩은,

상기 복수의 챔버와 상기 복수의 채널이 마련된 배양플레이트;

상기 배양플레이트로의 적층시 상기 출입구를 덮도록, 상기 복수의 챔버에 대응되는 복수의 챔버개구와 상기 복수의 채널에 대응된 복수의 채널개구가 마련된 제 1 레이어; 및

상기 제 1 레이어에 적층되어, 상기 복수의 챔버개구와 상기 복수의 채널개구를 덮는 제 2 레이어가 다층구조로 마련되고,

상기 채널개구는 상기 챔버개구에 대해 상기 출입구의 간격만큼 이격된 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

상기 채널개폐부는, 상기 복수의 채널의 양단에 마련된 상기 출입구에 각각 설치된 복수의 개폐부재를 포함하고,

상기 복수의 개폐부재는 상기 채널의 바닥면과 상기 제 2 레이어 사이에 생긴 공간을 누르도록 상기 제 2 레이어의 상부에 설치되어,

온(on)상태에서 상기 제 2 레이어가 상기 채널의 바닥면에 맞닿도록 상기 공간을 눌러 상기 출입구를 폐쇄하고, 오프(off) 상태에서 상기 공간을 개방하는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 복수의 개폐부재는 제어부의 선택적 개폐제어에 의해,

상기 출입구로 양압을 제공하여 상기 출입구를 폐쇄하고,

상기 출입구로의 공압 미제공시 상기 출입구를 개방하고,

상기 출입구로 음압을 제공하여, 상기 음압이 걸리는 상기 출입구로 상기 채널을 유동하는 상기 세포에서 분비된 물질이 유입되도록 작동되는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 8

제 6 항에 있어서,

상기 세포배양 미세유체칩은 상기 제 1 레이어와 상기 제 2 레이어 사이에 적층되는 멤브레인막을 더 포함하고,

상기 멤브레인막은 상기 개폐부재의 공압제공시,

상기 공압에 의한 압력차이에 의해 상기 공압이 직접적으로 제공된 부분이 상기 제 1 레이어와 맞닿아 눌러지고,

상기 제 1 레이어의 상기 복수의 챔버개구와 상기 복수의 채널개구와 맞닿는 부분이 상기 공압으로 제공된 가스에 의해 들어 올려져 상기 제 2 레이어와 맞닿아, 상기 공압에 의해 차단되지 않은 적어도 두 개의 챔버 내의 상기 세포에서 분비된 물질의 이동을 제한하지 않도록 하는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 9

제 4 항에 있어서,

상기 복수의 챔버는, 제 1 세포가 배양되는 제 1 챔버, 제 2 세포가 배양되는 제 2 챔버, 및 제 3 세포가 배양되는 제 3 챔버이고,

상기 복수의 채널은, 상기 제 1 챔버와 상기 제 2 챔버를 연결하는 제 1 채널, 상기 제 2 챔버와 상기 제 3 챔버를 연결하는 제 2 채널과, 상기 제 3 챔버와 상기 제 1 챔버를 연결하는 제 3 채널이고,

상기 채널개폐부의 선택적 개폐에 의해, 상기 세포배양 미세유체칩에서는,

상기 제 1 채널이 개방되고 상기 제 2 채널 및 상기 제 3 채널이 폐쇄되고, 상기 제 1 챔버와 상기 제 2 챔버에서 상기 제 1 세포와 상기 제 2 세포가 독립배양되면, 상기 제 1 세포에서 분비된 물질과 상기 제 2 세포에서 분비된 물질이 상기 제 1 채널을 통해 유동하면서 상기 제 1 세포와 상기 제 2 세포의 상호작용에 의해 상기 제 1 세포의 변화를 관찰할 수 있고,

상기 제 3 채널이 개방되고 상기 제 1 채널 및 상기 제 2 채널이 폐쇄되고, 상기 제 1 챔버와 상기 제 3 챔버에서 상기 제 1 세포와 상기 제 3 세포가 독립배양되면, 상기 제 1 세포에서 분비된 물질이 상기 제 3 채널을 통해 상기 제 3 챔버로 이동하면서 상기 제 3 세포에 영향을 미쳐, 상기 제 3 세포가 상기 제 3 채널을 통해 내성장되는 상기 제 3 세포의 변화를 관찰할 수 있고,

상기 제 2 채널이 개방되고 상기 제 1 채널 및 상기 제 3 채널이 폐쇄되고, 상기 제 2 챔버와 상기 제 3 챔버에서 상기 제 2 세포와 상기 제 3 세포가 독립배양되면, 상기 제 3 세포에서 분비된 물질이 상기 제 2 채널을 통해 상기 제 2 챔버로 이동하면서 상기 제 2 세포에 영향을 미쳐, 상기 제 2 세포가 상기 제 2 채널을 통해 내성장되는 상기 제 2 세포의 변화를 관찰할 수 있는 구조를 가지는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

상기 제 1 챔버에 상기 제 1 세포로서 추간판세포가 배양되고, 상기 제 2 챔버에 상기 제 2 세포로서 대식세포가 독립배양되면,

상기 세포배양 미세유체칩에서는,상기 대식세포에서 분비된 염증전구물질이 상기 제 1 채널을 통해 상기 제 1 챔버로 이동되어, 상기 추간판세포와 염증반응을 일으키는 상기 추간판세포의 염증반응의 기전이 관찰되는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 11

제 9 항에 있어서,

상기 제 1 챔버에 상기 제 1 세포로서 염증이 생긴 추간판세포가 배양되고, 상기 제 3 챔버에 상기 제 3 세포로서 혈관생성세포가 독립배양되면,

상기 세포배양 미세유체칩에서는, 상기 제 1 챔버, 상기 제 3 채널과 상기 제 3 챔버에는, 상기 염증이 생긴 추간판세포에서 분비된 염증매개물이 상기 제 3 채널을 통해 상기 제 3 챔버로 이동되어 상기 혈관생성세포를 자극하고, 상기 염증매개물에 의해 자극된 혈관생성세포가 상기 제 3 채널을 통해 상기 제 1 챔버로 내성장되는 신생혈관형성(Angiogenesis)이 관찰되는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 12

제 9 항에 있어서,

상기 제 2 챔버에 상기 제 2 세포로서 신경세포가 배양되고, 상기 제 3 챔버에 상기 제 3 세포로서 자극된 혈관생성세포가 독립배양되면,

상기 세포배양 미세유체칩에서는, 상기 제 2 챔버, 상기 제 2 채널과 상기 제 3 챔버에는, 상기 자극된 혈관생성세포에서 분비된 물질이 상기 제 2 채널을 통해 상기 제 2 챔버로 이동되어 상기 신경세포를 자극하고, 자극된 신경세포가 상기 제 2 채널을 통해 상기 제 3 챔버로 내성장되는 신경분포(nerve innervation)가 관찰되는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

청구항 13

제 9 항에 있어서, 상기 세포배양 미세유체칩에서는,

상기 복수의 채널이 모두 개방되고, 상기 복수의 챔버에 염증이 생긴 추간판세포, 신경세포와 혈관생성세포가 독립배양되면,

상기 염증이 생긴 추간판세포에서 분비된 물질이 상기 혈관생성세포에 미치는 자극에 의한 상기 혈관생성세포의

변화, 자극된 혈관생성세포에서 분비된 물질에 의한 상기 신경세포의 변화, 상기 염증이 생긴 추간판세포에서 분비된 물질에 의한 상기 신경세포의 변화가 동시에 관찰되는 것을 특징으로 하는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 세포배양 미세유체칩 및 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치에 관한 것으로서, 상세하게는 추간판세포의 수핵세포가 외부로 노출된 경우와 수핵세포가 외부로 노출되지 않은 경우 등 추간판퇴행에서 동시적으로 나타나는 다양한 조절 반응을 동시에 또는 선택적으로 관찰하여 추간판퇴행과정에서 발생되는 통증기전을 연구하는데 사용되는 세포배양 미세유체칩 및 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 일반적으로 요통은 전체 인구의 대략 80%에서 한번은 겪게 되는 흔한 질환이다. 요통의 원인은 나이에 따라 조금씩 다르게 나타난다. 예를 들어, 20대 내지 30대의 요통 원인은 허리 근육의 이상으로 인한 요추 염좌나 디스크 질환이 나타나고, 60대 이후에는 골다공증과 관절염이 오면서 디스크 질환 등으로 나타난다. 여기서, 디스크는 추간판이라고도 한다. 추간판은 등골뼈 사이에서 충격을 흡수하는 탄력적인 구조를 가진다.

[0004] 도 1에는 정상추간판의 해부학적 개략도가 개시되어 있다.

[0005] 도 1에 도시된 바와 같이, 정상 추간판(Intervertebral disc ; IVD)은 디스크 안쪽에 존재하는 수핵(Nucleus pulposus ; NP)과, 수핵 바깥쪽으로 존재하는 섬유륜(Annulus fibrosus ; AF)으로 나누어진다. 그리고, 섬유륜 조직 바깥쪽 3분의 1지점까지 유리 신경 말단(free nerve ending)이 존재한다.

[0007] 추간판은 연령이 증가함에 따라 탄력성을 잃고 섬유륜이 균열을 일으키는 등의 퇴행성 변화에 외력이 가해지면 추간판 섬유륜의 약해진 부분이나 찢어진 부분으로 수핵이 후방으로 밀려 나오면서 증상을 일으키게 된다.

[0008] 밀려나오는 형태에 따라 섬유륜이 골고루 팽윤된 추간판 팽윤(bulging), 국소적으로 돌출된 추간판 탈출(protrusion), 섬유륜이 파열되어 경막외 공간으로 수핵이 밀려나왔으나 내부와 연결된 형태인 추간판 추출(extrusion), 파열되어 수핵편이 경막외 공간으로 이동하여 내부와 연결이 끊어진 추간판 수핵 부골화(sequestration) 등으로 구분할 수 있다.

[0010] 상기에 예시된 바와 같이, 섬유륜 조직에 손상이 일어나면, 해당 손상 부위를 회복하는 과정에서 염증이 생기면서 발생하게 된다. 이러한 염증 반응에 관여하는 대식세포는 섬유륜 세포와의 상호작용을 통해 다양한 염증전매개인자(pro-inflammatory mediator)를 발현하게 되고, 이를 통해 섬유륜 세포 역시 다양한 염증 매개물이 분비된다.

[0011] 염증과정에서 나타나는 염증매개물에 의해 섬유륜 바깥쪽에 존재하는 유리 신경말단이 자극을 받게 되면, 신경세포가 섬유륜과 수핵의 안쪽으로 내성장(ingrowth)되면서 통증이 발생되는데 일반적인 통증기전이다.

[0012] 즉, 섬유륜의 손상에 의해 수핵에 자극이 가해지면 수핵자체에서 염증에 관여하는 세포들을 불러들이는 많은 화학인자들을 많이 뿜어내게 되고, 염증세포들이 염증이 생긴 조직부위로 혈관을 통해 들어오게 되고, 이를 치유하는 과정에서 신경세포를 자극하는 물질들이 발현되어, 이러한 자극물질들이 신경세포를 자극하여 통증을 유발한다.

[0013] 이러한 신경 및 신생혈관의 내성장과 통증간의 분자생물학적 병리학적 기전은 다양한 염증 매개물(inflaatory cytokine) 및 신경생장인자(neurotrophic growth factor)에 의해 나타날 것으로 여겨지고 있는데, 현재 요통 발병기전 연구의 경우 해당 염증 매개물 등의 분자적 발현 정도의 측정과 같은 마이크로 플레이트 리더(micro plate reader)등의 실험에 의존적이다.

[0014] 그리고, 상술한 일반적인 추간판의 통증기전과 달리, 수핵이 외부로 노출되지 않은 경우에도, 즉, 수핵이 신경조직을 압박하지 않은 상태에서도 통증이 유발되는 경우가 생기는데, 이러한 통증의 발병기전은 정확히 밝혀져 있지 않다.

[0015] 해당 실험들이 개별적으로 이루어지면서 각 세포를 동시에 배양해야 하는 복잡성으로 인한 다양한 조건(예를 들어, 미세환경의 조성, 각 세포간의 동시 배양 및 실험분석)의 실험이 어렵고, 퇴행의 정도(degenerative grad

e)에 따라 통증의 유무 및 빈도가 다르게 나타난다. 추간판퇴행에서 동시적으로 나타나는 다양한 조절 반응의 실시간 관찰과 복수의 이종 세포 간의 동시배양 및 선택적 반응에 대한 변화를 관찰하기 어렵다.

[0017] 한국공개특허 제10-2013-0105179호에는 직선형 농도구배 미세유체칩을 이용한 폐상피세포의 배양방법이 개시되어 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0019] 본 발명은 추간판세포의 수핵세포가 외부로 노출된 경우와 수핵세포가 외부로 노출되지 않은 경우 등 추간판퇴행에서 동시적으로 나타나는 다양한 조절 반응을 동시에 또는 선택적으로 관찰하여 추간판퇴행과정에서 발생되는 통증기전을 연구하는데 사용되는 세포배양 미세유체칩 및 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0020] 본 발명은 추간판세포, 혈관생성세포와 신경세포를 복수의 챔버에 독립적으로 배양하고, 복수의 챔버 간의 연결을 복수의 개폐부재를 통해 제어함으로써 복수의 이종 세포 간의 동시배양을 통해, 추간판 세포와 대식세포의 상호 작용, 염증이 생긴 추간판세포와 혈관생성세포 간의 상호작용, 활성화된 혈관생성세포와 신경세포 간의 상호작용, 또는 추간판세포-혈관생성세포-신경세포 간의 상호 작용을 개별적으로 또는 동시에 관찰할 수 있는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0021] 즉, 본 발명은 추간판 세포와 대식세포의 상호 작용, 염증이 생긴 추간판세포와 혈관생성세포 간의 상호작용, 활성화된 혈관생성세포와 신경세포 간의 상호작용, 또는 추간판세포-혈관생성세포-신경세포 간의 상호 작용에 따라 복수의 챔버에 독립적으로 배양된 세포에서 분비하는 다양한 단백물질을 독립적으로 처리하여, 선택적으로 세포간의 상호작용을 관찰할 수 있는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0022] 본 발명은 추간판세포로부터 분비되는 화학주성물질을 통해 추간판퇴행과정에서 요통과 관련한 신경 및 혈관관련세포의 내성장과 신생혈관형성 등의 변화 양상을 관찰할 수 있는 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0024] 본 발명의 일 실시예에 따른 세포배양 미세유체칩은, 서로 다른 종류의 세포가 독립배양되는 복수의 챔버; 복수의 격벽에 의해 통로간격이 구획되어 마이크로채널구조를 가지고, 복수의 챔버를 폐순환구조로 연결하는 복수의 채널; 복수의 챔버와 복수의 채널이 마련된 배양플레이트; 배양플레이트로의 적층시 출입구를 덮도록, 복수의 챔버에 대응되는 복수의 챔버개구와 복수의 채널에 대응된 복수의 채널개구가 마련된 제 1 레이어; 제 1 레이어에 적층되어, 복수의 챔버개구와 복수의 채널개구를 덮는 제 2 레이어; 및 제 1 레이어와 제 2 레이어 사이에 적층되는 멤브레인막을 포함하고, 복수의 채널의 양단에는 복수의 격벽의 종단과 챔버 사이에 채널개폐부가 설치되는 출입구가 마련되고, 복수의 채널 중 출입구가 개방된 채널은, 복수의 챔버 중 적어도 두 개의 챔버를 연결하고, 마이크로채널구조에 의해 서로 다른 챔버 내의 세포 간의 이동을 차단하고, 세포에서 분비된 물질 간의 이동을 허용하는 것이 바람직하다.

[0026] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 배양플레이트, 제 1 레이어, 멤브레인막 및 제 2 레이어는 순차적으로 적층된 다층구조로 마련되고, 채널개구는 챔버개구에 대해 출입구의 간격만큼 이격된 것이 바람직하다.

[0028] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 멤브레인막은 복수의 챔버개구와 복수의 채널개구를 덮어, 챔버에 배양된 세포의 이동을 차단하는 것을 특징으로 하는 것이 바람직하다.

[0030] 한편, 본 발명의 일 실시예에 따른 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치는, 서로 다른 종류의 세포가 독립배양되는 복수의 챔버와, 복수의 격벽에 의해 통로간격이 구획되고 복수의 챔버를 폐순환구조로 연결하는 복수의 채널을 포함하고, 복수의 채널의 양단에는 복수의 격벽의 종단과 챔버 사이에 출입구가 마련된 세포배양 미세유체칩; 및 세포배양 미세유체칩의 출입구에 각각 설치되어, 복수의 채널을 선택적으로 개폐하는 채널개폐부를 포함하고, 세포배양 미세유체칩에서, 채널개폐부의 선택적 개폐동작에 의해, 복수의 챔버 중 적어도 두 개의 챔버가 개방된 채널에 의해 연결되면, 개방된 채널을 통해 적어도 두 개의 챔버 내의 세포에서 분비된 물질 간의 이동이 허용되어, 세포와 세포에서 분비된 물질 간의 상호작용이 관찰되는 것이 바람직하다.

[0032] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 세포배양 미세유체칩은, 복수의 챔버와 복수의 채널이 마련된 배양플레이트; 배

양플레이트로의 적층시 출입구를 덮도록, 복수의 챔버에 대응되는 복수의 챔버개구와 복수의 채널에 대응된 복수의 채널개구가 마련된 제 1 레이어; 및 제 1 레이어에 적층되어, 복수의 챔버개구와 복수의 채널개구를 덮는 제 2 레이어가 다층구조로 마련되고, 채널개구는 챔버개구에 대해 출입구의 간격만큼 이격된 것이 바람직하다.

[0034] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 채널개폐부는, 복수의 채널의 양단에 마련된 출입구에 각각 설치된 복수의 개폐부재를 포함하고, 복수의 개폐부재는 채널의 바닥면과 제 2 레이어 사이에 생긴 공간을 누르도록 제 2 레이어의 상부에 설치되어, 온(on)상태에서 제 2 레이어가 채널의 바닥면에 맞닿도록 공간을 눌러 출입구를 폐쇄하고, 오프(off) 상태에서 공간을 개방하는 것이 바람직하다.

[0036] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 복수의 개폐부재는 제어부의 선택적 개폐제어에 의해, 출입구로 양압을 제공하여 출입구를 폐쇄하고, 출입구로의 공압 미제공시 출입구를 개방하고, 출입구로 음압을 제공하여, 음압이 걸리는 출입구로 채널을 유동하는 세포에서 분비된 물질이 유입되도록 작동되는 것이 바람직하다.

[0038] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 세포배양 미세유체칩은 제 1 레이어와 제 2 레이어 사이에 적층되는 멤브레인막을 더 포함하고, 멤브레인막은 개폐부재의 공압제공시, 공압에 의한 압력차이에 의해 공압이 직접적으로 제공된 부분이 제 1 레이어와 맞닿아 눌러지고, 제 1 레이어의 복수의 챔버개구와 복수의 채널개구와 맞닿는 부분이 공압으로 제공된 가스에 의해 들어 올려져 제 2 레이어와 맞닿아, 공압에 의해 차단되지 않은 적어도 두 개의 챔버 내의 세포에서 분비된 물질의 이동을 제한하지 않도록 하는 것이 바람직하다.

[0040] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 복수의 챔버는, 제 1 세포가 배양되는 제 1 챔버, 제 2 세포가 배양되는 제 2 챔버, 및 제 3 세포가 배양되는 제 3 챔버이고, 복수의 채널은, 제 1 챔버와 제 2 챔버를 연결하는 제 1 채널, 제 2 챔버와 제 3 챔버를 연결하는 제 2 채널과, 제 3 챔버와 제 1 챔버를 연결하는 제 3 채널이고, 채널개폐부의 선택적 개폐에 의해, 세포배양 미세유체칩에서는, 제 1 채널이 개방되고 제 2 채널 및 제 3 채널이 폐쇄되고, 제 1 챔버와 제 2 챔버에서 제 1 세포와 제 2 세포가 독립배양되면, 제 1 세포에서 분비된 물질과 제 2 세포에서 분비된 물질이 제 1 채널을 통해 유동하면서 제 1 세포와 제 2 세포의 상호작용에 의해 제 1 세포의 변화를 관찰할 수 있고, 제 3 채널이 개방되고 제 1 채널 및 제 2 채널이 폐쇄되고, 제 1 챔버와 제 3 챔버에서 제 1 세포와 제 3 세포가 독립배양되면, 제 1 세포에서 분비된 물질이 제 3 채널을 통해 제 3 챔버로 이동하면서 제 3 세포에 영향을 미쳐, 제 3 세포가 제 3 채널을 통해 내성장되는 제 3 세포의 변화를 관찰할 수 있고, 제 2 채널이 개방되고 제 1 채널 및 제 3 채널이 폐쇄되고, 제 2 챔버와 제 3 챔버에서 제 2 세포와 제 3 세포가 독립배양되면, 제 3 세포에서 분비된 물질이 제 2 채널을 통해 제 2 챔버로 이동하면서 제 2 세포에 영향을 미쳐, 제 2 세포가 제 2 채널을 통해 내성장되는 제 2 세포의 변화를 관찰할 수 있는 구조를 가지는 것이 바람직하다.

[0042] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 제 1 챔버에 제 1 세포로서 추간판세포가 배양되고, 제 2 챔버에 제 2 세포로서 대식세포가 독립배양되면, 세포배양 미세유체칩에서는, 대식세포에서 분비된 염증전구물질이 제 1 채널을 통해 제 1 챔버로 이동되어, 추간판세포와 염증반응을 일으키는 추간판세포의 염증반응의 기전이 관찰되는 것이 바람직하다.

[0044] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 제 1 챔버에 제 1 세포로서 염증이 생긴 추간판세포가 배양되고, 제 3 챔버에 제 3 세포로서 혈관생성세포가 독립배양되면, 세포배양 미세유체칩에서는, 제 1 챔버, 제 3 채널과 제 3 챔버에는, 염증이 생긴 추간판세포에서 분비된 염증매개물이 제 3 채널을 통해 제 3 챔버로 이동되어 혈관생성세포를 자극하고, 염증매개물에 의해 자극된 혈관생성세포가 제 3 채널을 통해 제 1 챔버로 내성장되는 신생혈관형성(Angiogenesis)이 관찰되는 것이 바람직하다.

[0046] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 제 2 챔버에 제 2 세포로서 신경세포가 배양되고, 제 3 챔버에 제 3 세포로서 자극된 혈관생성세포가 독립배양되면, 세포배양 미세유체칩에서는, 제 2 챔버, 제 2 채널과 제 3 챔버에는, 자극된 혈관생성세포에서 분비된 물질이 제 2 채널을 통해 제 2 챔버로 이동되어 신경세포를 자극하고, 자극된 신경세포가 제 2 채널을 통해 제 3 챔버로 내성장되는 신경분포(nerve innervation)가 관찰되는 것이 바람직하다.

[0048] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 세포배양 미세유체칩에서는, 복수의 채널이 모두 개방되고, 복수의 챔버에 염증이 생긴 추간판세포, 신경세포와 혈관생성세포가 독립배양되면, 염증이 생긴 추간판세포에서 분비된 물질이 혈관생성세포에 미치는 자극에 의한 혈관생성세포의 변화, 자극된 혈관생성세포에서 분비된 물질에 의한 신경세포의 변화, 염증이 생긴 추간판세포에서 분비된 물질에 의한 신경세포의 변화가 동시에 관찰되는 것이 바람직하다.

발명의 효과

[0049] 본 발명인 세포배양 미세유체칩은 세포가 배양되는 배양플레이트에 제 1 레이어, 멤브레인막과 제 2 레이어가 순차적으로 적층되어, 후술할 개폐부재의 공압제공시 공압이 직접적으로 제공된 부분이 제 1 레이어와 멤브레인막이 복수의 채널의 양단 중 선택된 부분을 눌러 인접하게 위치된 챔버 간의 물질의 이동을 차단하고, 공압이 직접적으로 제공된 부분과 그 이외의 부분의 압력차이, 그리고, 복수의 챔버개구와 복수의 채널개구를 통한 질소가스의 흐름을 이용하여, 멤브레인막과 제 1 레이어로 공압이 제공되는 경우에도 공압이 직접적으로 제공되는 부분을 제외한 나머지 부분에서 멤브레인막이 복수의 챔버와 복수의 채널을 가압하지 않아, 제어부에서 선택된 개폐부재가 위치된 채널만 차단되고, 선택되지 않은 개폐부재가 위치된 채널에서는 물질 간의 이동이 차단되지 않도록 하여, 챔버에서 수용된 물질의 채널을 통한 이동 또는 이동차단을 안정적으로 수행할 수 있다.

[0050] 본 발명은 복수의 개폐부재의 선택적 개폐를 통해 복수의 챔버 간의 연결을 제어함으로써, 하나의 세포배양 미세유체칩에 추간판세포, 혈관생성세포와 신경세포 등 복수의 이종 세포를 복수의 챔버에 독립적으로 동시에 배양할 수 있다.

[0051] 이로 인해, 본 발명은 추간판 세포와 대식세포의 상호 작용, 염증이 생긴 추간판세포와 혈관생성세포 간의 상호작용, 활성화된 혈관생성세포와 신경세포 간의 상호작용, 또는 추간판세포-혈관생성세포-신경세포 간의 상호 작용에 따라 복수의 챔버에 독립적으로 배양된 세포에서 분비하는 다양한 단백물질을 독립적으로 처리하여, 선택된 세포간의 상호작용을 동시에 실시간으로 관찰할 수 있다.

[0052] 또한, 본 발명은 추간판세포로부터 분비되는 화학주성물질을 통해 추간판퇴행과정에서 요통과 관련한 신경 및 혈관관련세포의 내성장과 신생혈관형성 등의 변화 양상을 관찰할 수 있어, 요통의 발병기전 연구의 효율성을 증대시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0054] 도 1은 정상추간판의 해부학적 개략도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치의 구성도를 개략적으로 도시한 것이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포배양 미세유체칩의 분해사시도를 개략적으로 도시한 것이다.

도 4는 도 3의 평면도를 개략적으로 도시한 것이다.

도 5 내지 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 각각의 챔버에 서로 다른 세포가 배양되고, 배양된 세포에서 발생된 물질간의 이동경로를 개략적으로 도시한 것이다.

도 8에는 도 7에서 배양된 신경세포의 시간경과에 따른 동역학적 변화에 대한 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0055] 이하에서는 첨부도면을 참조하여, 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포배양 미세유체칩 및 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치에 대해 설명하기로 한다.

[0057] 도 2에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치(100)는 세포배양 미세유체칩(110), 채널개폐부(120)와 제어부(140)를 포함한다.

[0058] 본 발명은 추간판세포, 혈관생성세포와 신경세포를 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)에 독립적으로 배양하고, 복수의 챔버(111a, 111b, 111c) 간의 연결을 복수의 밸브를 통해 제어함으로써 복수의 이종 세포 간의 동시배양을 통해, 추간판 세포와 대식세포의 상호 작용, 염증이 생긴 추간판세포와 혈관생성세포 간의 상호작용, 활성화된 혈관생성세포와 신경세포 간의 상호작용, 또는 추간판세포-혈관생성세포-신경세포 간의 상호 작용을 개별적으로 또는 동시에 관찰하기 위한 것이다.

[0060] 우선, 도 3 및 도 4를 참조하여, 세포배양 미세유체칩(110)의 구조 및 형상에 대해 설명하면 다음과 같다.

[0061] 도 3에 도시된 바와 같이, 세포배양 미세유체칩(110)은 배양플레이트(111), 제 1 레이어(112), 멤브레인막(113), 제 2 레이어(114)로 이루어진 다층구조를 가진다.

[0062] 본 발명의 일 실시예에 따른 세포배양 미세유체칩(110)은 세포가 배양되는 배양플레이트(111)에 제 1 레이어

(112), 멤브레인막(113)과 제 2 레이어(114)가 순차적으로 적층되어, 후술할 채널개폐부에 의해 제 1 레이어(112)와 멤브레인막(113)이 복수의 채널(111d, 111e, 111f)의 양단 중 선택된 부분을 눌러 인접하게 위치된 챔버 간의 물질의 이동을 차단한다.

[0063] 세포배양 미세유체칩(110)은 서로 다른 종류의 세포를 독립배양하기 위한 것이다. 이를 위해, 배양플레이트(111)에는 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)와, 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)를 개별적으로 연결하기 위한 복수의 채널(111d, 111e, 111f)이 마련된다. 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)에 배양되는 서로 다른 종류의 세포는, 수핵과 섬유륜으로 이루어진 추간판세포, 대식세포, 신경세포 또는 혈관생성세포 중 각각 어느 하나가 해당될 수 있다.

[0064] 배양플레이트(111)는 서로 다른 종류의 세포를 배양하기 위한 것으로서, 인체조직을 모사하기 위해 콜라겐 및 PDL 등과 같은 세포외기질 성분이 혼합된 하이드로겔이 코팅처리된다. 또는, 이와 세포외기질과 유사한 환경을 마련하기 위해, 세포배양시 콜라겐 및 PDL 등과 같은 세포외기질 성분이 혼합된 하이드로겔을 혼합되어 사용될 수 있음은 물론이다.

[0065] 배양플레이트(111)는 PDMS(polydimethylsiloxane stamp) 재질인 것이 바람직하다. 이는, 후술할 채널개폐부(120)의 온(on) 상태에서 오프(off) 상태로 전환될 때, 개폐부재에서 제공된 공압의 제거시, 채널의 바닥면에 맞닿아 있던 제 1 레이어(112)가 배양플레이트(111)의 탄성에 의해 채널의 바닥면에서 용이하게 떨어뜨리기 위함이다.

[0066] 배양플레이트(111)의 구조에 대해 설명하면 다음과 같다. 배양플레이트(111)에는 복수의 챔버(111a, 111b, 111c), 복수의 투입구(111a1, 111b1, 111c1), 복수의 배출구(111a2, 111b2, 111c2)와 복수의 채널(111d, 111e, 111f)이 마련된다.

[0067] 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)는 세포가 배양되는 공간이다. 복수의 채널(111d, 111e, 111f)은 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)를 개별적으로 연결하는 통로이다. 복수의 투입구(111a1, 111b1, 111c1)와 복수의 배출구(111a2, 111b2, 111c2)는 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)에 각각 연결된다.

[0068] 투입구는 챔버로 실험시 요구되는 물질이 투입되는 공간이다. 복수의 투입구(111a1, 111b1, 111c1)에는 복수의 투입부(115a, 115c, 115e)가 각각 연결된다. 실험시 요구되는 물질은 투입부(115a, 115c, 115e)를 통해 각각의 챔버로 투입될 수 있다.

[0069] 여기서, 실험시 요구되는 물질로는 후술할 실험 단계에서 염증매개물 등에 대한 억제제(inhibitor)처리시 사용되는 물질이 해당될 수 있다. 염증매개물에 대한 억제제는 챔버에서 세포가 배양된 후 각각의 단계에서 부합되는 것이 선택적으로 처리된다.

[0071] 배출구는 챔버에서 배양된 물질이 수용되는 공간이다. 그리고, 복수의 배출구(111a2, 111b2, 111c2)에는 복수의 배출부(115b, 115d, 115f)가 각각 연결된다. 배출구에 수용된 물질을 배출부를 통해 외부로 배출될 수 있다.

[0073] 본 실시예에서는 설명의 편의를 위하여, 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)에 대해 '제 1 챔버(111a), 제 2 챔버(111b)와 제 3 챔버(111c)'로 구분하여 지칭하기로 한다. 그리고, 복수의 채널(111d, 111e, 111f)에 대해 '제 1 채널(111d), 제 2 채널(111e)과 제 3 채널(111f)'로 구분지어 설명하기로 한다. 다만, 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)와 복수의 채널(111d, 111e, 111f)의 개수는 본 명세서에 개시된 것에 한정되지 않으며, 당업자의 입장에서 자명한 범위 내에서 다양하게 가변가능하다.

[0074] 도 4에 도시된 바와 같이, 제 1 챔버(111a) 내지 제 3 챔버(111c)는 제 1 채널(111d) 내지 제 3 채널(111f)에 의해 개별적으로 연결되어 폐순환구조를 이룬다. 다만, 이러한 제 1 챔버(111a) 내지 제 3 챔버(111c)의 폐순환구조는 후술할 채널개폐부(120)에서 제공된 공압에 의해 연결이 차단될 수 있고, 이때, 3개의 챔버 중 선택된 두 개의 챔버끼리만 연결된다.

[0075] 제 1 챔버(111a)는 제 1 세포가 배양되는 공간이다. 제 1 챔버(111a)에는 제 1 투입구(111a1)와 제 1 배출구(111a2)가 연결된다. 그리고, 제 1 챔버(111a)는 복수의 채널(111d, 111e, 111f) 중 제 1 채널(111d)에 의해 제 2 챔버(111b)에 연결되고, 제 3 채널(111f)에 의해 제 3 챔버(111c)에 연결된다.

[0076] 제 2 챔버(111b)는 제 2 세포가 배양되는 공간이다. 제 2 챔버(111b)에는 제 2 투입구(111b1)와 제 2 배출구(111b2)가 연결된다. 그리고, 제 2 챔버(111b)는 제 1 채널(111d)에 의해 제 1 챔버(111a)에 연결되고, 제 2 채널(111e)에 의해 제 3 챔버(111c)에 연결된다.

[0077] 제 3 챔버(111c)는 제 3 세포가 배양되는 공간이다. 제 3 챔버(111c)에는 제 3 투입구(111c1)와 제 3 배출구(111c2)가 연결된다. 그리고, 제 3 챔버(111c)는 복수의 채널(111d, 111e, 111f) 중 제 2 채널(111e)에 의해 제 2 챔버(111b)에 연결되고 제 3 채널(111f)에 의해 제 1 챔버(111a)에 연결된다.

[0079] 도 3에 도시된 바와 같이, 제 1 채널(111d) 내지 제 3 채널(111f)은 복수의 격벽(111e2)에 의해 구획된 마이크로채널구조를 가진다. 제 1 채널(111d) 내지 제 3 채널(111f)은 서로 동일한 구조를 가지는 바, 이하에서는 도 3의 확대도에서 도시된 제 2 채널(111e)에 대해 한정하여 설명하기로 한다.

[0080] 복수의 격벽(111e2)이 상호 간에 미세간격만큼 일렬로 이격되어 위치된다. 이때, 복수의 격벽(111e2)에 의해 구획된 채널의 통로간격은 마이크로미터(㎛)의 통로간격을 가진다. 이와 같은 채널 구조에 의해, 챔버에서 배양된 세포에서 분비된 물질만 통과되고 세포는 통과되지 못한다.

[0081] 그리고, 복수의 격벽(111e2)은 격벽의 일단이 채널의 일단과 이격되고, 격벽의 타단이 채널의 타단과 이격되어 위치된다. 이로 인해, 제 1 채널(111d) 내지 제 3 채널(111f)의 채널의 양단에는 출입구가 마련된다.

[0082] 제 2 채널(111e)을 예로 들어 설명하면, 제 2 채널(111e)의 양단에 마련된 출입구(111e1)란, '제 2 챔버(111b)와 복수의 격벽(111e2)의 일단 사이의 공간과, 제 3 챔버(111c)와 복수의 격벽(111e2)의 타단 사이의 공간'을 지칭으로서, 제 2 챔버(111b)에서 배양된 물질이 제 2 채널(111e)로 유입되거나 제 3 챔버(111c)에서 배양된 물질이 제 2 채널(111e)로 유입되는 부분이다.

[0083] 본 실시예에서, 챔버 간의 물질의 이동을 차단 또는 허용하기 위해, 출입구의 상부에는 개폐부재가 설치된다. 이에, 출입구의 면적은 개폐부재의 단면적보다 큰 것이 바람직하다. 본 예에서, 출입구의 면적은 채널의 폭(D1)× 제 2 챔버(111b)의 테두리와 복수의 격벽(111e2)의 일단 사이의 간격(D2)인데, 이는 개폐부재의 크기에 따라, 배양플레이트(111)의 크기에 따라 당업자의 입장에서 자명한 범위 내에서 다양하게 가변가능함은 물론이며, 본 명세서에서 특별히 한정하지 않기로 한다.

[0085] 배양플레이트(111)에는 적어도 하나의 레이어가 적층된다. 본 실시예에서는 설명의 편의를 위하여, 적어도 하나의 레이어에 대해, '제 1 레이어(112), 멤브레인막(113)과 제 2 레이어(114)'로 구분하여 지칭하기로 한다.

[0086] 도 3에 도시된 바와 같이, 제 1 레이어(112)는 배양플레이트(111)의 상부에 적층된다. 제 1 레이어(112)는 개폐부재의 공압제공시 용이하게 눌러지는 얇은 막구조를 가진다.

[0087] 제 1 레이어(112)는 배양플레이트(111)로의 적층시 복수의 채널(111d, 111e, 111f)의 양단에 각각 마련된 출입구를 덮도록, 복수의 챔버개구(112a, 112b, 112c)와 복수의 채널개구(112d, 112e, 112f)가 마련된다.

[0088] 복수의 챔버개구(112a, 112b, 112c)는 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)에 대응되는 형상 및 크기를 가진다. 복수의 채널개구(112d, 112e, 112f)는 복수의 채널(111d, 111e, 111f)의 양단에 마련된 출입구를 제외하고 복수의 격벽(111e2)이 위치된 채널의 중간부분만을 개방하는 구조를 가진다.

[0089] 배양플레이트(111)에 마련되어 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)에 연결된 복수의 채널(111d, 111e, 111f)과 달리, 제 1 레이어(112)에 마련된 복수의 채널개구(112d, 112e, 112f)는 복수의 챔버개구(112a, 112b, 112c)와 연결되지 않는 구조를 가진다. 이때, 챔버개구와 채널개구 사이의 간격은 인접한 챔버와 격벽사이의 간격(D1)이다.

[0090] 이와 같은 복수의 채널개구(112d, 112e, 112f)에 의해, 제 1 레이어(112)가 배양플레이트(111)에 적층될 때, 배양플레이트(111)에 마련된 복수의 채널(111d, 111e, 111f)의 양단인 출입구는 제 1 레이어(112)에 의해 커버되고, 복수의 격벽(111e2)이 마련된 부분의 복수의 채널(111d, 111e, 111f)과 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)는 개방된다. 이때, 배양플레이트(111)에서 제 1 레이어(112)에 의해 덮힌 부분은 채널바닥면과의 사이에 공간이 형성된다. 채널의 양단에서 제 1 레이어(112)에 덮힌 부분은 개폐부재에 의한 공압의 제공시 채널의 바닥면에 밀접하게 맞닿아, 어느 하나의 챔버에서 다른 챔버로의 물질의 이동을 차단한다.

[0092] 그리고, 제 1 레이어(112)에는 복수의 챔버개구(112a, 112b, 112c)와 복수의 채널(111d, 111e, 111f)에 의해 개방된 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)와 복수의 채널(111d, 111e, 111f)을 덮기 위해 멤브레인막(113)이 적층된다. 멤브레인막(113)은 제 1 레이어(112)와 제 2 레이어(114) 사이에 위치된다. 멤브레인막(113)은 공기가 통과될 수 있는 얇은 막이다.

[0093] 이에, 멤브레인막(113)은 개폐부재를 통해 공압이 제공되면, 공압에 의해 가압되는 부분은 제 1 레이어(112)를 채널의 바닥면으로 누른다. 이와 동시에, 공압에 의해 가압되는 부분을 제외한 멤브레인막(113)의 나머지 부분

은, 개폐부재의 제공된 질소가스에 의해 제 2 레이어(114)를 향해 들려 올려진다.

[0094] 이는, 개폐부재에서 제공된 질소가스가 제 1 레이어(112)의 복수의 채널개구(112d, 112e, 112f)와 복수의 챔버 개구(112a, 112b, 112c)를 통해 멤브레인막(113)을 제 2 레이어(114)를 향해 들어올린다.

[0095] 이로 인해, 세포배양 미세유체칩(110)은 개폐부재에 의해 공압이 멤브레인막(113)과 제 1 레이어(112)로 제공되는 경우에도, 멤브레인막(113)이 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)와 복수의 채널(111d, 111e, 111f)을 누르지 않는 구조를 가져, 챔버 내의 물질이 서로 섞이지 않도록 할 수 있다.

[0097] 제 2 레이어(114)는 멤브레인막(113)에 적층된다. 이로 인해, 세포배양 미세유체칩(110)은 배양플레이트(111), 제 1 레이어(112), 멤브레인막(113)과 제 2 레이어(114)가 순차적으로 적층된 구조를 가진다. 제 2 레이어(114)는 멤브레인막(113)의 전면적을 덮는 막구조를 가진다.

[0098] 제 2 레이어(114)에는 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126), 복수의 투입부(115a, 115c, 115e)와 복수의 배출부(115b, 115d, 115f)가 설치된다. 여기서, 복수의 투입부(115a, 115c, 115e)는 배양플레이트(111)에 마련된 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)에 각각 연결된 복수의 투입구(111a1, 111b1, 111c1)에 연결된다. 그리고, 복수의 배출부(115b, 115d, 115f)는 배양플레이트(111)에 마련된 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)에 각각 연결된 복수의 배출부(115b, 115d, 115f)에 연결된다.

[0100] 상술한 바와 같이, 세포배양 미세유체칩(110)은 세포가 배양되는 배양플레이트(111)에 제 1 레이어(112), 멤브레인막(113)과 제 2 레이어(114)가 순차적으로 적층되어, 후술할 개폐부재의 공압제공시 공압이 직접적으로 제공된 부분이 제 1 레이어(112)와 멤브레인막(113)이 복수의 채널(111d, 111e, 111f)의 양단 중 선택된 부분을 눌러 인접하게 위치된 챔버 간의 물질의 이동을 차단한다.

[0101] 그리고, 세포배양 미세유체칩(110)은 공압이 직접적으로 제공된 부분과 그 이외의 부분의 압력차이, 그리고, 복수의 챔버개구(112a, 112b, 112c)와 복수의 채널개구(112d, 112e, 112f)를 통한 질소가스의 흐름을 이용하여, 멤브레인막(113)과 제 1 레이어(112)로 공압이 제공되는 경우에도 공압이 직접적으로 제공되는 부분을 제외한 나머지 부분에서 멤브레인막(113)이 복수의 챔버(111a, 111b, 111c)와 복수의 채널(111d, 111e, 111f)을 가압하지 않는다.

[0102] 이로 인해, 세포배양 미세유체칩(110)은 제어부(140)에서 선택된 개폐부재가 위치된 채널만 차단되고, 선택되지 않은 개폐부재가 위치된 채널에서는 물질 간의 이동이 차단되지 않는 구조를 가져, 챔버에서 수용된 물질의 채널을 통한 이동 또는 이동차단을 안정적으로 수행할 수 있다.

[0104] 이하에서는 복수의 채널(111d, 111e, 111f)을 선택적으로 개폐하는 채널개폐부(120)와 이를 제어하기 위한 제어부(140)에 대해 설명하기로 한다.

[0105] 채널개폐부(120)는 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)를 포함함한다. 여기서, 개폐부재로는 공압밸브가 사용될 수 있다.

[0106] 공압밸브가 개폐부재로서 사용되는 경우, 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)에는 질소탱크(129)에 연결되어, 질소탱크(129)로부터 공압을 제공받아 작동될 수 있다. 본 예에서는 질소가스로 공압을 제공하는 것은 챔버에 배양된 세포가 공압으로 제공된 가스에 의해 영향을 받지 않도록 하기 위함이다.

[0107] 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)는 제어부(140)에 의해 개별적으로 개폐동작이 제어된다. 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)에는 복수의 스위치(145)가 각각 연결된다. 복수의 스위치(145)의 개폐는 제어부(140)에 의해 행해진다. 스위치(145)의 닫힘 상태에서 개폐부재는 작동되고, 스위치(145)의 열림 상태에서 개폐부재는 작동되지 않는다.

[0108] 상술했듯이, 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)는 복수의 채널(111d, 111e, 111f)의 양단에 마련된 출입구의 상부에서, 제 2 레이어(114)에 설치된다. 이때, 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)는 제 2 레이어(114)의 상면에 대해 수직하게 설치된 것이 바람직한데, 이는, 개폐부재의 공압제공시, 멤브레인막(113)과 제 1 레이어(112)가 채널의 바닥면에 밀접하게 맞닿아, 선택된 채널의 출입구를 안정적으로 막기 위해서이다.

[0109] 즉, 개폐부재는 제어부(140)의 선택적 개폐제어에 의해, 온(ON) 상태에서 제 1 레이어(112)와 멤브레인막(113)으로 공압을 제공하여 채널의 바닥면과 제 1 레이어(112) 사이에 생긴 공간을 눌러 채널의 출입구를 폐쇄한다.

[0110] 그리고, 개폐부재의 온(on)상태에서 오프(off) 상태로의 전환시, 제 1 레이어(112)는 배양플레이트(111)의 탄성

에 의해 채널의 바닥면에서 분리된다. 아울러, 개폐부재의 오프(off) 상태 유지시, 출입구에서 채널의 바닥면과 제 1 레이어(112) 사이에 생긴 공간은 폐쇄되지 않아 채널에 연결된 두 개의 챔버간의 물질의 이동을 허용한다.

[0112] 본 실시예에서는 설명의 편의를 위하여, 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)에 대해 제 1 개폐부재(121), 제 2 개폐부재(122), 제 3 개폐부재(123), 제 4 개폐부재(124), 제 5 개폐부재(125)와 제 6 개폐부재(126)로 구분지어 설명하기로 한다.

[0113] 제 1 개폐부재(121) 내지 제 6 개폐부재(126)는 상호 간에 이격되어 제 2 레이어(114)의 상부에 설치된다. 구체적으로, 제 1 개폐부재(121)는 제 1 챔버(111a)와 연결되는 제 1 채널(111d)의 일단에 마련된 출입구의 상부에 위치된다. 제 2 개폐부재(122)는 제 2 챔버(111b)와 연결되는 제 1 채널(111d)의 타단에 마련된 출입구의 상부에 위치된다. 제 3 개폐부재(123)는 제 2 챔버(111b)와 연결되는 제 2 채널(111e)의 일단에 마련된 출입구의 상부에 위치된다.

[0114] 제 4 개폐부재(124)는 제 3 챔버(111c)와 연결되는 제 2 채널(111e)의 타단에 마련된 출입구의 상부에 위치된다. 제 5 개폐부재(125)는 제 3 챔버(111c)와 연결되는 제 3 채널(111f)의 일단에 마련된 출입구의 상부에 위치된다. 제 6 개폐부재(126)는 제 1 챔버(111a)와 연결되는 제 3 채널(111f)의 타단에 마련된 출입구의 상부에 위치된다.

[0115]

[0116] 한편, 제어부(140)는 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)에 연결되어, 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)의 개폐동작을 개별적으로 또는 모두 동시에 제어할 수 있다.

[0117] 즉, 제어부(140)는 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126) 중 선택된 개폐부재로 양압을 제공하여, 복수의 채널(111d, 111e, 111f) 중 선택된 개폐부재가 위치된 채널을 선택적으로 폐쇄할 수 있다.

[0118] 그리고, 제어부(140)는 선택된 개폐부재로 제공되는 압력의 세기를 제어할 수 있다. 즉, 제어부(140)는 챔버 간의 물질의 흐름을 제어하기 위해, 어느 하나의 채널의 일단에 연결된 개폐부재를 오프(off)시켜 어느 하나의 채널의 일단을 개방하고, 어느 하나의 채널의 타단에 연결된 개폐부재로 음압을 제공하여, 복수의 챔버(111a, 111b, 111c) 중 선택된 개폐부재가 위치된 챔버로 채널을 통해 다른 챔버에서 배양된 세포에서 분비된 물질이 유입되도록, 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)의 동작을 제어할 수 있다.

[0120] 이하에서는, 도 5 내지 도 7을 참조하여, 본 예에 따른 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치(100)가 추간판 퇴행 기전 연구에 사용되는 사용예에 대해 설명하기로 한다.

[0121] 우선, 도 5를 참조하여, 추간판세포의 염증반응을 관찰하기 위해, 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치(100)는 다음과 같이 동작된다.

[0122] 복수의 챔버(111a, 111b, 111c) 중 두 개의 챔버만을 사용하는 경우, 예를 들어, 제 1 챔버(111a)와 제 2 챔버(111b)에 세포를 배양하고, 제 3 챔버(111c)에는 세포를 배양하지 않은 경우에, 제어부(140)는 제 1 개폐부재(121)와 제 2 개폐부재(122)가 오프(OFF)되고, 제 3 개폐부재(123) 내지 제 6 개폐부재(126)가 온(ON) 되도록 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)를 선택적으로 개폐한다. 이로 인해, 제 1 채널(111d)은 개방되고 제 2 채널(111e) 및 제 3 채널(111f)은 폐쇄되어, 제 1 챔버(111a)와 제 2 챔버(111b)는 제 1 채널(111d)에 의해 연결되고, 제 1 챔버(111a)와 제 3 챔버(111c), 그리고 제 2 챔버(111b)와 제 3 챔버(111c)는 상호 간의 연결이 차단된다.

[0123] 이후, 제 1 챔버(111a)에 제 1 세포가 배양되고, 제 2 챔배에 제 2 세포가 동시에 독립배양된다. 본 예에서는 제 1 세포로 추간판세포가 사용된다. 여기서, 추간판세포는 수핵세포와 섬유륜세포를 지칭하는 것이다. 그리고, 제 2 세포로는 대식세포가 사용될 수 있는데, 이는 추간판세포에 염증을 유발하기 위함이다.

[0124] 대식세포는 제 2 챔버(111b)에서 배양되는 과정에서, 다양한 염증전구물질이 분비된다. 이러한 염증전구물질로는 인터류킨-1베타(Interleukin-1beta, IL-1β) 또는 종양괴사인자-α(Tumor necrosis factor-alpha, TNF-α), IL-6, IL-8 등의 단백물질이 해당된다.

[0125] 제 2 챔버(111b) 내의 염증전구물질은 제 1 채널(111d)을 통해 제 1 챔버(111a)로 이동되어 제 1 챔버(111a)에 배양된 추간판세포와 염증반응을 일으킨다. 이와 같은 염증반응에 의해, 제 1 챔버(111a) 내의 염증이 생긴 추간판세포에서 분비된 물질인 제 1 채널(111d)을 통해 제 2 챔버(111b)로 이동된다. 제 1 챔버(111a)에서 제 2

챔버(111b)로 유입된 염증이 생긴 추간판세포에서 분비된 물질은 대식세포를 자극하여, 대식세포로 하여금 더 많은 염증전구물질을 분비토록 할 수 있다.

[0126] 그리고, 본 염증반응에서, 실험자는 제 1 챔버(111a)와 제 2 챔버(111b)에서 발생한 염증매게물이 기전이 미치는 영향을 관찰하기 위해, 제 1 챔버(111a)에 연결된 제 1 투입구(111a1), 제 2 챔버(111b)에 연결된 투입구를 통해 염증매개물에 대한 억제제(inhibitor)가 선택적으로 약물처리될 수 있다.

[0127] 억제제는 염증매개물의 종류에 따라 다양하게 가변되는데, 예를 들어, 염증매개물 중 하나인 IL-1β의 억제제로는 IL-1Ra 또는 락토트랜스페린(Lactotransferrin)이 사용될 수 있고, 염증매개물 중 IL-6와 IL-8의 억제제로는 트립톨리드(Triptolide)가 사용될 수 있다.

[0129] 상기와 같은 과정에 의해, 염증이 생긴 추간판세포가 마련되면, 도 6을 참조하여, 염증이 생긴 추간판세포가 혈관생성세포에 미치는 영향을 관찰한다.

[0130] 제 1 챔버(111a)에 염증이 생긴 추간판세포를 재배양하고, 이와 동시에 제 3 챔버(111c)에 혈관생성세포를 배양하기 위해, 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치(100)는 다음과 같이 동작된다.

[0131] 새로운 세포배양 미세유체칩(110)에서, 제어부(140)는 제 5 개폐부재(125)와 제 6 개폐부재(126)가 오프(OFF)되고, 제 1 개폐부재(121) 내지 제 4 개폐부재(124)가 온(ON)되도록 복수의 개폐부재(121, 122, 123, 124, 125, 126)를 선택적으로 제어한다.

[0132] 이로 인해, 세포배양 미세유체칩(110)의 제 3 채널(111f)이 개방되고 제 1 채널(111d) 및 제 2 채널(111e)이 폐쇄된다. 제 1 챔버(111a)와 제 3 챔버(111c)는 제 3 채널(111f)에 의해 연결된다. 그리고, 제 1 챔버(111a)와 제 2 챔버(111b)는 제 1 채널(111d)에 의한 연결이 차단되고, 제 2 챔버(111b)와 제 3 챔버(111c)는 제 2 채널(111e)에 의한 연결이 차단된다.

[0133] 제 1 챔버(111a)에 염증이 생긴 추간판세포가 재배양되고, 이와 동시에 제 3 챔버(111c)에 혈관생성세포가 배양된다.

[0134] 제 1 챔버(111a)에서 염증이 생긴 추간판세포가 재배양되는 과정에서, 염증이 생긴 추간판세포는 인터류킨8(IL-8) 또는 VEGF(Vascular Endothelial Growth Factor) 등의 염증매개물을 분비한다. 도 6에 도시된 바와 같이, 제 1 챔버(111a) 내의 염증매개물은 제 3 채널(111f)을 통해 제 3 챔버(111c)로 이동한다. 제 3 챔버(111c)로 유입된 염증매개물은 혈관생성세포를 자극하고. 염증매개물에 의해 자극된 혈관생성세포는 NGF, PDGF, BDNF등의 단백물질을 분비한다.

[0135] 이와 같은 과정에 의해, 세포배양 미세유체칩(110)의 제 3 채널(111f)에는, 염증매개물에 의해 자극된 혈관생성세포가 제 3 채널(111f)을 통해 제 1 챔버(111a)로 내성장되는 신생혈관형성(Angiogenesis)이 관찰된다. 즉, 제 1 챔버(111a), 제 3 채널(111f)과 제 3 챔버(111c)에는, 염증이 생긴 추간판세포와 혈관생성세포 간의 상호작용 시 각 세포가 분비하는 다양한 단백물질을 분석할 수 있고, 이러한 단백물질이 염증이 생긴 추간판세포와 혈관생성세포에 미치는 영향, 혈관행성세포의 동역학적 변화 등을 관찰할 수 있다.

[0137] 이후, 도 7을 참조하여, 자극된 혈관생성세포가 신경세포에 미치는 영향을 관찰한다.

[0138] 제 3 챔버(111c)에 자극된 혈관생성세포가 유지된 상태에서, 제 2 챔버(111b)에 SH-SY5Y 또는 F11 cell line등의 신경세포를 배양하기 위해, 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치(100)는 다음과 같이 동작된다.

[0139] 제어부(140)는 제 3 개폐부재(123)와 제 4 개폐부재(124)가 오프(OFF) 되고, 제 1 개폐부재(121), 제 2 개폐부재(122), 제 5 개폐부재(125)와 제 6 개폐부재(126)가 온(ON)되도록 제어한다.

[0140] 이로 인해, 세포배양 미세유체칩(110)의 제 2 채널(111e)이 개방되고 제 1 채널(111d) 및 제 3 채널(111f)이 폐쇄된다. 제 2 챔버(111b)와 제 3 챔버(111c)는 제 2 채널(111e)에 의해 연결된다. 그리고, 제 1 챔버(111a)와 제 2 챔버(111b)는 제 1 채널(111d)에 의한 연결이 차단되고, 제 1 챔버(111a)와 제 3 챔버(111c)는 제 3 채널(111f)에 의한 연결이 차단된다.

[0141] 이와 같은 복수의 챔버(111a, 111b, 111c) 간의 연결구조에 의해, 염증이 생긴 추간판세포가 자극된 혈관생성세포로 지속적으로 자극을 가하지 않고, 신경세포에 영향을 미치지 않는 상태에서, 자극된 혈관생성세포가 신경세포에 미치는 영향을 관찰할 수 있다.

[0143] 제 3 챔버(111c)의 자극된 혈관생성세포에서 분비된 NGF, PDGF, BDNF등의 단백물질은 제 2 채널(111e)을 통해

제 2 챔버(111b)로 이동되어, 제 2 챔버(111b)에 배양된 신경세포와 반응한다. 신경세포는 자극된 혈관생성세포에서 분비된 물질과의 반응시 세포막표면에 ASIC3, TrpV1 등이 발현된다.

[0144] 이에 따라, 즉, 제 2 챔버(111b), 제 2 채널(111e)과 제 3 챔버(111c)에는, 혈관생성세포에서 분비된 물질의 제 3 챔버(111c)에서 제 2 챔버(111b)로의 이동, 그리고, 자극된 신경세포가 제 2 채널(111e)을 통해 제 3 챔버(111c)로 내성장되는 신경분포(nerve innervation), 제 3 챔버(111c)로 내성장된 신경세포가 혈관생성세포에 미치는 영향, 이로 인한 혈관생성세포의 변화 등을 관찰할 수 있다. 도 8에는 2시간 단위로 세포배양 미세유체칩에서 관찰된 시간의 경과에 따른 신경세포의 동적 변화가 도시되어 있다.

[0146] 또한, 세포배양 미세유체칩(110)을 이용하여 염증이 생긴 추간판세포, 신경세포와 혈관생성세포가 상호 간에 미치는 영향을 관찰할 수 있다. 이때, 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치(100)는 상술한 과정을 통해 복수의 챔버(111a, 111b, 111c) 중 일부의 챔버 만을 순차적으로 개폐할 수 있고, 또는 염증이 생긴 추간판세포, 신경세포와 혈관생성세포를 동시에 배양한 후에 이들이 상호 간에 미치는 영향을 동시에 관찰할 수도 있다.

[0148] 이상에서 설명한 본 발명은 전술한 실시예 및 첨부된 도면에 의해 한정되는 것이 아니고, 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 여러 가지 치환, 변형 및 변경이 가능함은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명백할 것이다.

부호의 설명

[0150] 100: 병리학적 기전관찰용 미세유체칩장치

110: 세포배양 미세유체칩

111: 배양플레이트

111a: 제 1 챔버

111b: 제 2 챔버

111c: 제 3 챔버

111d: 제 1 채널

111e: 제 2 채널

111f: 제 3 채널

112: 제 1 레이어

113: 멤브레인막

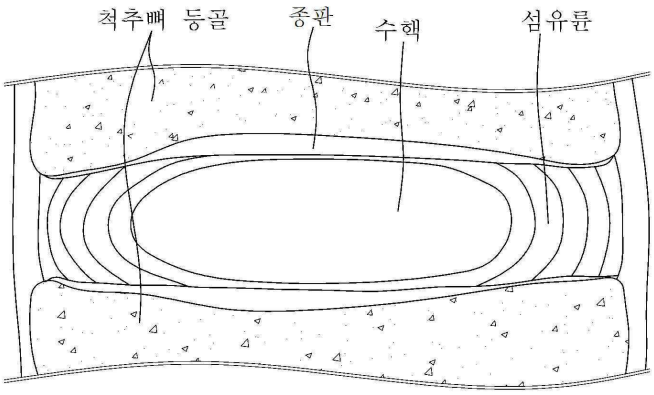
114: 제 2 레이어

120: 채널개폐부

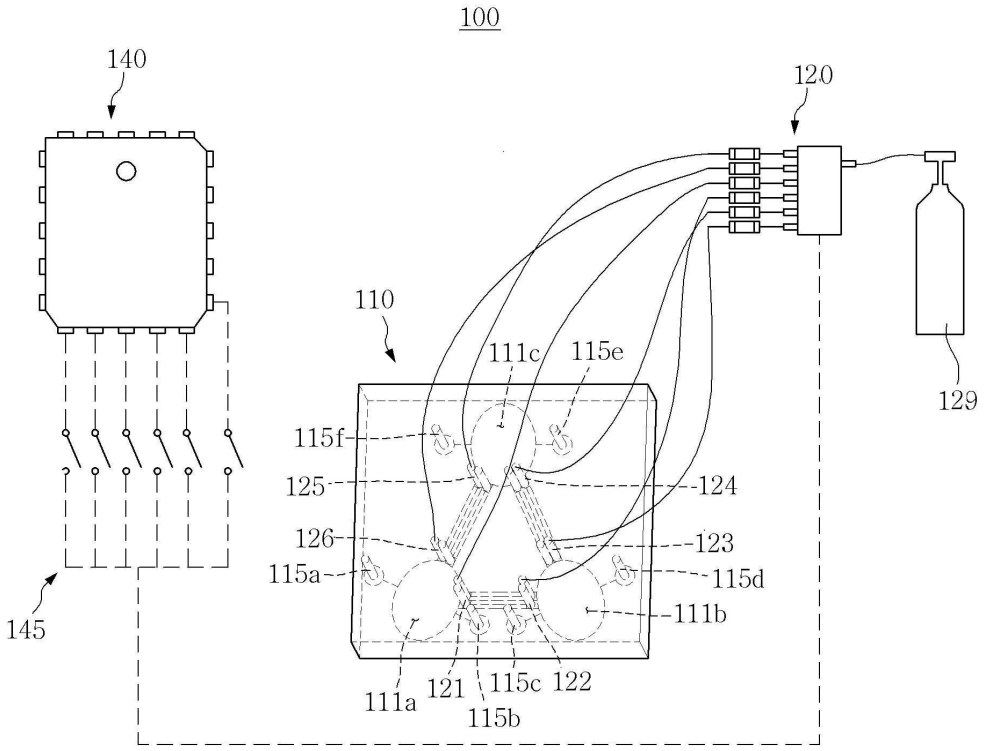
140: 제어부

도면

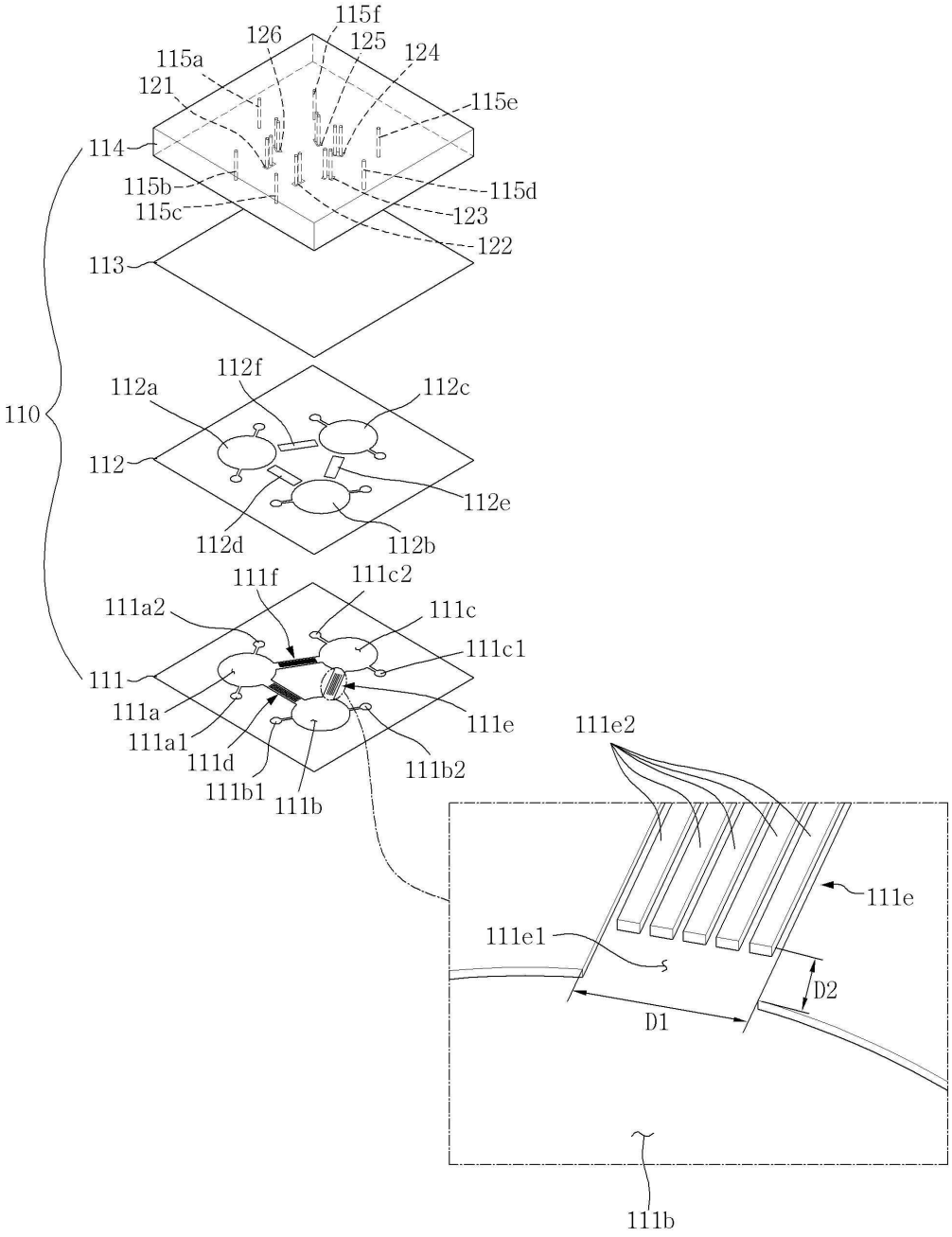
도면1



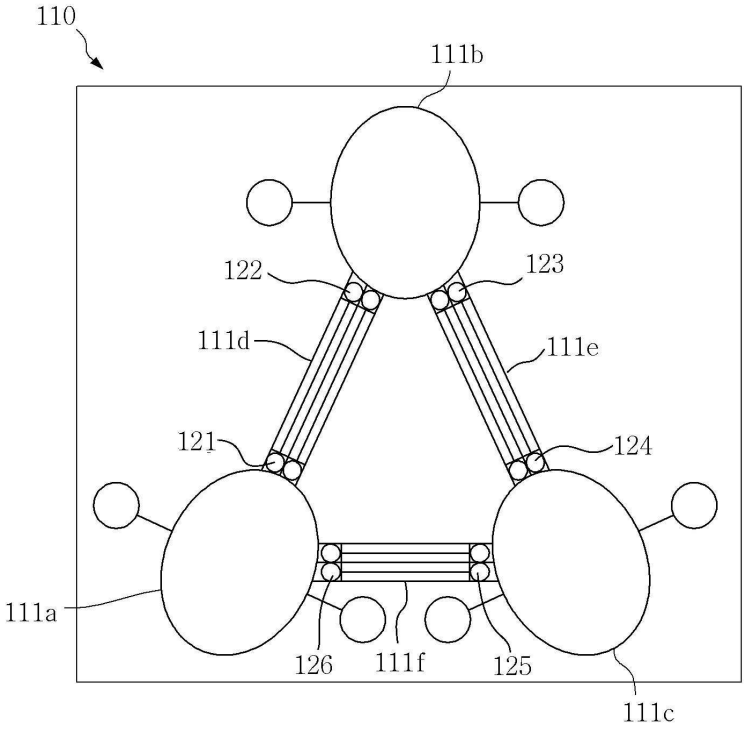
도면2


100
140
120
110
111c
115e
129
115f
125
124
126
123
115a
115d
111b
145
111a
121
115c
122
115b

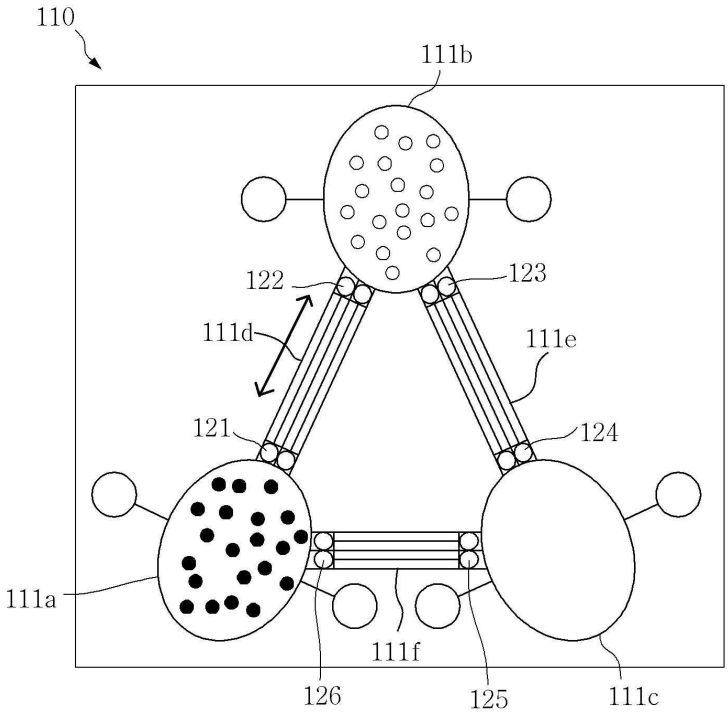
도면3


115f
126
125
124
115a
121
115e
114
115b
115d
115c
123
122
113
110
112f
112a
112c
112
112e
112d
112b
111f
111c2
111a2
111c
111c1
111
111a
111e
111a1
111d
111b2
111b1
111b
111e2
111e
111e1
D2
D1
111b

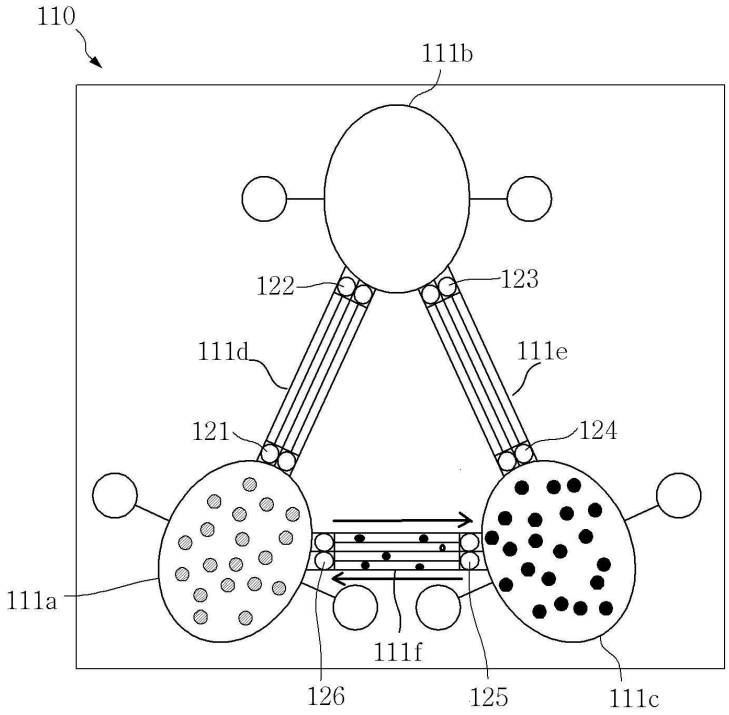
도면4


110
111b
122
123
111d
111e
121
124
111a
126
111f
125
111c

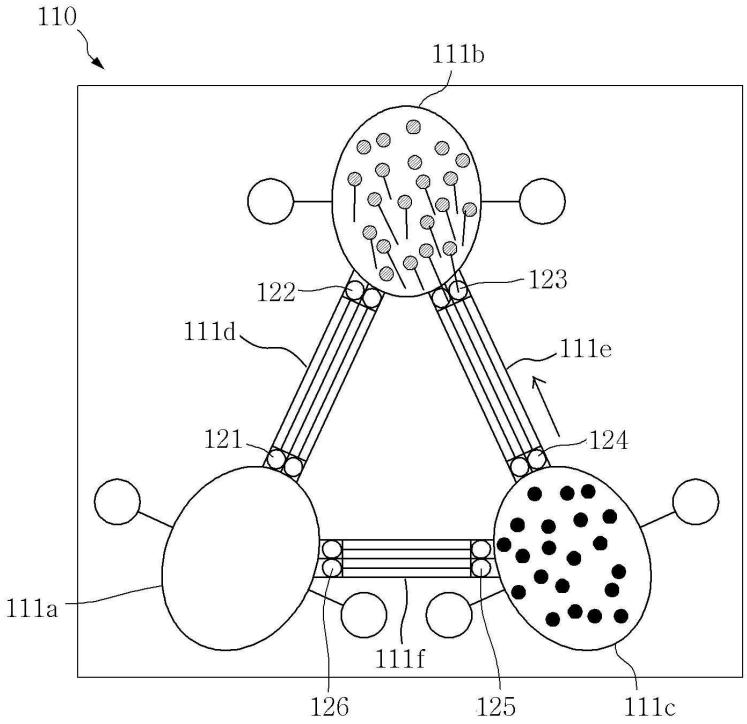
도면5


110
111b
122
123
111d
111e
121
124
111a
111f
126
125
111c

도면6


110
111b
122
123
111d
111e
121
124
111a
111f
126
125
111c

도면7


110
111b
122
123
111d
111e
121
124
111a
111f
126
125
111c

도면8

