



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년08월13일
(11) 등록번호 10-1887633
(24) 등록일자 2018년08월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01L 3/00 (2006.01) C12M 3/06 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01L 3/5027 (2013.01)
C12M 23/16 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0029967
(22) 출원일자 2017년03월09일
심사청구일자 2017년03월09일
(56) 선행기술조사문헌
Integr. Biol., (2014), 6, pp 1132-1140.*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
허윤석
대구광역시 달서구 달구벌대로199길 53-8, 303호
(호산동)
김민영
경상남도 창원시 의창구 봉곡로97번길 87-1, 피닉스
스포레아파트 304동 101호(봉림동)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 양경식

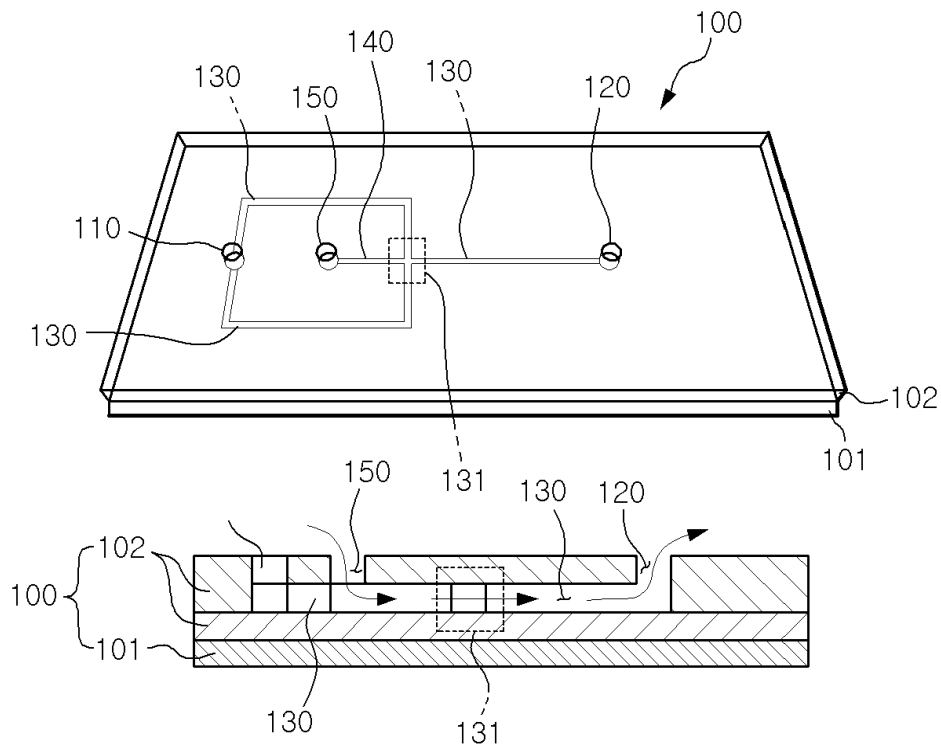
(54) 발명의 명칭 상처를 모사하는 유체 칩

(57) 요약

본 발명은 유리판 상에 PDMS구조체를 형성한 칩과, 상기 PDMS구조체 일측에서 상부로 개구된 홀로 형성되는 제1주입구와, 상기 PDMS구조체 타측에는 상기 제1유입구와 대향지고, 상부로 개구된 홀로 형성되는 제1배출구와, 상기 PDMS구조체의 제1주입구 주변에 형성되고, 상부로 개구된 홀로 형성되는 제2주입구와, 상기 PDMS구조체 내부

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



에 홈으로 형성되어, 상기 제1주입구와 대향진 제1배출구를 서로 연통되게 하는 제1채널, 및 상기 제2주입구와 연결되어 상기 PDMS구조체 내부에 홈으로 형성되고, 상기 제1채널의 어느 한 지점에 좌, 우 양측에서 서로 연결되는 제2채널을 포함하고, 상기 제2주입구를 통해 세포 배양액을 주입하여 상기 배양액을 제2채널을 통해 제1채널의 배출구로 유동시키면서 제1채널을 따라 세포가 배양되도록 하고, 상기 제1주입구를 통해 단백질분해효소액을 상기 제1채널의 배출구로 유동시켜, 상기 제1채널에서 배양된 세포 중 채널의 중심에 위치하는 세포들이 상기 제1채널의 길이방향을 따라 분해되어 형성되는 상처모델을 포함하여, 체내에 가까운 환경을 구현하면서, 피부 및 혈관에 발생하는 상처를 모사하고, 기존 윤리적 문제를 수반하던 동물실험을 일정부분 대체할 수 있고, 정교한 미세구배를 형성할 수 있으며, 극미량의 시약을 사용하는 미세유체칩의 장점으로 인해 보다 저렴하고 정확한 실험을 가능한 인체의 상처 모사 칩을 제공한다.

(52) CPC특허분류

B01L 2200/0647 (2013.01)

B01L 2300/0819 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

PLoS ONE, (2011), Vol. 6, Issue 9, e24283, pp 1-14.

AJP-Heart Circ Physiol., (2010), Vol. 298, pp H719-H725.

J. Chromatogr Sep Tech. (2017.01.), 8:1. pp 1-4.

Scientific Reports, (2015), 5, Article number : 14049, pp 1-10.

KR1020070122415 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711035048

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 집단연구지원

연구과제명 비만 매개 질환 연구센터

기 여 율 1/2

주관기관 계명대학교

연구기간 2016.03.01 ~ 2017.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345247213

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 이공학개인지초연구지원

연구과제명 수정란의 동결 보존, 생체 모사 배양 및 진단 시스템 개발을 통한 보조 생식술 분야의 기술적 향상

기 여 율 1/2

주관기관 계명대학교

연구기간 2016.05.01 ~ 2017.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

유리판 상에 PDMS구조체와, 상기 PDMS구조체 내부에 홈으로 형성되고, 일측에서 타측으로 세포배양액을 유동시켜 내부에 세포조직을 형성하는 제1채널, 및 상기 PDMS구조체 내부에 홈으로 상기 제1채널과 연통하게 형성되고, 상기 제1채널로 세포조직을 분해하는 세포 단백질분해효소를 공급하는 제2채널이 포함되는 상처를 모사하는 유체 칩에 있어서,

상기 제1채널은 일측에 형성된 제1주입구를 기준으로 좌, 우 방향 두 갈래로 분할되면서 타측방향으로 절곡형성되어, 상기 제1주입구에서 좌,우로 분할된 제1채널이 서로 어느 한 지점에서 만나 합류되고, 합류된 지점에서 제1배출구와 연통하게 연장형성되어, '┐'형태의 교차지점을 형성하고,

상기 제2채널의 일측인 제2주입구에서 연장된 타측은 '┐'형태의 교차지점과 연결되어, 상기 제1채널과 제2채널은 서로 '+'형태의 연통하게 형성하며,

상기 제1채널의 하부에는 다공성 멤브레인을 격벽으로 하여 혈관을 모사하는 제3채널을 형성하는 상처를 모사하는 유체 칩.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 제1채널 내부에 형성된 세포조직에 상기 제2채널을 통해 단백질분해효소를 공급하여, 상기 제1채널에서 배양된 세포조직 중 일부가 단백질분해효소에 의해 분해되어, 상기 제1채널의 길이방향을 따라 상처모형을 형성하는 상처를 모사하는 유체 칩.

청구항 3

청구항 2에 있어서,

상기 단백질분해효소의 유동량으로 상처모형의 크기를 제어하는 상처를 모사하는 유체 칩.

청구항 4

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인체의 상처를 모사하는 유체 칩에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 미세 유체 칩의 채널을 따라 세포를 배양하여, 상기 채널에 세포조직을 형성하고, 상기 세포조직이 형성된 채널에 단백질분해효소를 유동시켜, 상기 단백질분해효소의 세포 분해작용에 따른 화학적 식각을 통해 실제 상처와 유사한 해당 깊이와 너비의 상처를 모사하는 유체 칩에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 일반적으로 실험실에서 다양한 실험도구를 사용하여 상당한 양의 시료용액과 반응용액을 사용하여 수행하던 여러 가지 종류의 실험을 슬라이드 글라스 크기보다 더 작은 칩 내부에 마이크로미터 단위 크기의 다양한 구조물을 집적하여 수행하는 개념에서 출발한 랩온어칩(lab-on-a-chip)이 활발히 개발되고 있다.

- [0004] 랩온어칩을 구현하여 실제로 고속 질병진단이나 고효율 바이오 분석 등에 활용하기 위해서는 바이오 센서가 장착된 칩 또는 바이오 센서 그 자체를 하나의 기관에 집적하기 위한 미세유체칩 가공 기술이 필요하다.
- [0005] 일반적으로 미세 유체 칩을 제조하기 위한 방법으로는 실리콘 웨이퍼나 유리판 등과 같은 단단한 세라믹 소재 기관에 식각공정 등을 통하여 미세 미터 크기의 구조물을 형성시키고 평면 기관을 덮어서 접착시키는 과정에 의해서 제조하는 방법, 또는 유연한 소재인 폴리디메틸실록세인(polydimethylsiloxane, PDMS) 등과 같은 고분자 소재를 사용하여 소프트리소그라피(soft-lithography) 공정 등에 의해서 제조하는 방법 등을 사용한다.
- [0006] 이중 유리판을 사용하여 박막 칩 레플리카나 미세 유체 칩을 제조하는 방법에 관해서는 대한민국 등록특허 제 10-0965632호(2010.06.15)등에서 제시하고 있다.
- [0007] 한편, 오늘날에는 상기한 유체 칩에 세포조직을 배양시켜 생체의 일부를 모사할 수 있는데, 이때 종래의 유체 칩은 상처의 면적 및 깊이 등에 대해 세밀한 모사가 어렵고, 상처 부위가 재생되는 과정을 세심하게 관찰하는 것이 불편하다는 문제가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명은 체내에 가까운 환경을 구현하면서, 피부 및 혈관에 발생하는 상처를 모사하고, 기존 윤리적 문제를 수반하던 동물실험을 일정부분 대체할 수 있고, 정교한 미세구배의 형성으로 단백질분해효소의 유동량을 조절할 수 있어 상처(상처모델)의 크기를 제어해 맞춤형 상처모델을 제시할 수 있으며, 극미량의 시약을 사용하는 미세 유체칩의 장점으로 인해 보다 저렴하고 정확한 실험을 가능한 상처를 모사하는 유체 칩을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0011] 본 발명에 따른 상처를 모사하는 유체 칩은 유리판 상에 PDMS구조체와, 상기 PDMS구조체 내부에 홈으로 형성되고, 일측에서 타측으로 세포배양액을 유동시켜 내부에 세포조직을 형성하는 제1채널, 및 상기 PDMS구조체 내부에 홈으로 상기 제1채널과 연통하게 형성되고, 상기 제1채널로 세포조직을 분해하는 세포 단백질분해효소를 공급하는 제2채널이 포함되는데, 상기 제1채널은 일측에 형성된 제1주입구를 기준으로 좌, 우 방향 두 갈래로 분할되면서 타측방향으로 절곡형성되어, 상기 제1주입구에서 좌,우로 분할된 제1채널이 서로 어느 한 지점에서 만나 합류되고, 합류된 지점에서 제1배출구와 연통하게 연장형성되어, '┐'형태의 교차지점을 형성하고, 상기 제2채널의 일측인 제2주입구에서 연장된 타측은 '┐'형태의 교차지점과 연결되어, 상기 제1채널과 제2채널은 서로 '+'형태의 연통하게 형성하며, 상기 제1채널의 하부에는 다공성 멤브레인을 격벽으로 하여 혈관을 모사하는 제3채널을 형성한다.
- [0012] 그리고 본 발명에 따른 상처를 모사하는 유체 칩은 상기 제1채널 내부에 형성된 세포조직에 상기 제2채널을 통해 단백질분해효소를 공급하여, 상기 제1채널에서 배양된 세포조직 중 일부가 단백질분해효소에 의해 분해되어, 상기 제1채널의 길이방향을 따라 상처모델이 형성되는 것이 바람직하다.
- [0013] 또한, 본 발명에 따른 상처를 모사하는 유체 칩은 상기 단백질분해효소의 유동량으로 상처모델의 크기를 제어하는 것이 바람직하다.
- [0014] 삭제

발명의 효과

- [0016] 본 발명의 일 실시 예에 따른 상처를 모사하는 유체 칩은 다음과 같은 효과를 가진다.
- [0017] 첫째, 체내에 가까운 환경을 구현하면서, 피부 및 혈관에 발생하는 상처를 모사하고, 기존 윤리적 문제를 수반하던 동물실험을 일정부분 대체할 수 있는 효과를 가진다.
- [0018] 둘째, 정교한 미세구배의 형성으로 단백질분해효소의 유동량을 조절할 수 있어 상처(상처모델)의 크기를 제어해 맞춤형 상처모델을 제시할 수 있으며, 극미량의 시약을 사용하는 미세유체칩의 장점으로 인해 보다 저렴하고 정확한 실험을 가능한 효과를 가진다.

도면의 간단한 설명

- [0020] 도 1은 본 발명의 일 실시 예에 따른 상처를 모사하는 유체 칩을 보인 예시도 이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시 예에 따른 유체 칩에 상처를 형성하는 과정을 보인 예시도이다.
- 도 3은 본 발명의 일 실시 예에 따라 단백질을 분해효소의 유동속도에 따른 상처모델 너비를 보인 예시도이다.
- 도 4는 본 발명의 다른 실시 예에 따른 상처를 모사하는 유체 칩을 보인 예시도 이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0021] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 바람직한 실시 예를 상세히 설명하기로 한다. 이에 앞서, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이거나 사전적인 의미로 한정해서 해석되어서는 아니 되며, 발명자는 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여, 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.
- [0022] 따라서, 본 명세서에 기재된 실시 예와 도면에 도시된 구성은 본 발명의 가장 바람직한 실시 예에 불과할 뿐이고, 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원시점에 있어서 이들은 대체할 수 있는 균등한 변형 예들이 있을 수 있음을 이해하여야 한다.
- [0023] 본 발명은 미세 유체 칩의 채널을 따라 세포를 배양하여, 상기 채널에 세포조직을 형성하고, 상기 세포조직이 형성된 채널에 단백질을 분해효소를 유동시켜, 상기 단백질 분해효소의 세포 분해작용에 따른 화학적 식각을 통해 실제 상처와 유사한 형태의 상처모델을 제공하여 상처를 모사하는 유체 칩에 관한 것으로, 도면을 참조하여 살펴보면 다음과 같다.
- [0024] 도 1을 참조한 본 발명의 일 실시 예에 따른 상처를 모사하는 유체 칩은 칩(100)과, 제1채널(130) 및 제2채널(140)을 포함하는데, 먼저 상기 칩(100)은 판 상으로 지정 크기의 유리판(101) 상면에 PDMS구조체(102)를 형성한다.
- [0025] 이때 상기 PDMS구조체(102)는 폴리디메틸실록산(PDMS, Polydimethylsiloxane) 재질을 갖는 고형의 구조체로 통상의 기술과 같이 리소그래피 방식으로 제조되어, 상기 유리판(101)이 접합 구성되는 것이 바람직하다.
- [0026] 이러한 상기 PDMS구조체(102)는 제1주입구(110)와, 제1배출구(120)와, 제1채널(130) 및 제2채널(140) 등을 포함하고, 상기 유리판(101) 상면에서 하나의 층을 이룬다.
- [0027] 그리고 상기 PDMS구조체(102)의 일측에는 제1주입구(110)를 형성하는데, 상기 제1주입구(110)는 상부로 개구된 홀로 형성하여, 외부에서 상기 제1주입구(110)를 통해 상기 PDMS구조체(102) 내부로 유체를 주입할 수 있도록 한다.
- [0028] 또한, 상기 PDMS구조체(102)의 타측에는 제1배출구(120)를 형성하는데, 상기 제1배출구(120)는 상기 제1주입구(110)와 서로 대향지고, 상기 제1배출구(120) 역시, 상부로 개구된 홀로 형성하여 상기 PDMS구조체(102)의 내부에서 유동하는 유체가 외부로 배출될 수 있도록 한다.
- [0029] 이때 상기 PDMS구조체(102) 내부에는 제1채널(130)을 형성하는데, 상기 제1채널(130)은 PDMS구조체(102)의 내부에서 홈으로 형성되어, 상기 제1주입구(110)와 대향진 제1배출구(120)를 서로 연통시켜 상기 제1주입구(110)에서 제1배출구(120)로 유체가 유동할 수 있는 통로를 제공한다.
- [0030] 따라서 상기한 구성에 의해 상기 제1주입구(110)를 통해 주입된 유체는 상기 제1채널(130)을 따라 상기 PDMS구조체(102)의 일측에서 타측으로 유동하면서 제1배출구(120)를 통해 외부로 배출된다.
- [0031] 그리고 본 발명의 일 실시 예에 따른 상기 제1채널(130)은 상기 제1주입구(110)에서 시작되는 제1채널(130)의 일측은 유체가 좌 방향과 우 방향으로 분할 유동하도록, 상기 제1주입구(110)를 기준으로 상기 제1채널(130)을 좌, 우 방향 두 갈래로 형성하고, 좌, 우 방향으로 각각 형성된 제1채널(130)들의 타측은 다시 서로 만나 합류하여 '┐' 형태의 교차지점(131)을 형성한다.
- [0032] 이때 '┐' 형태의 교차지점(131)을 형성하기 위해 좌, 우 방향으로 각각 형성된 제1채널(130)들의 타측은 각각 '┐'와, '┌' 형태로 절곡 형성하면서 대칭을 이루어, '┐'와, '┌' 형태로 절곡 형성된 제1채널(130)들의 타측이 어느 한 지점에서 만나 합류되고, 합류된 지점에서 다시 제1배출구(120)와 연통하게 연장형성되어,

'┐' 형태의 교차지점(131)을 형성하게 된다.

- [0033] 상기한 구조의 제1채널(130)에는 세포배양액을 유동시켜 세포조직이 형성되도록 하는데, 이때 세포배양액은 상기 제1주입구(110)를 통해 주입되고, 상기 제1주입구(110)를 통해 주입된 세포배양액은 좌, 우 두 갈래로 분할된 제1채널(130)들을 따라 유동하면서 '┐' 형태의 교차지점(131)에서 합류된 후, 제1배출구(120) 측으로 유동하고, 여기서 세포배양액에 의해 상기 제1채널(130)의 내부에는 세포가 배양되어 세포조직을 형성한다.
- [0034] 더불어 상기 PDMS구조체(102)의 제1주입구(110) 주변에는 제2주입구(150)를 형성하는데, 상기 제2주입구(150) 역시, 상부로 개구된 홀로 형성하는 것이 바람직하고, 상기 제2주입구(150)는 제2채널(140)과 연결된다.
- [0035] 이때 상기 제2채널(140) 역시, 상기 PDMS구조체(102) 내부에서 홈으로 형성되는데, 상기 제2채널(140)의 일측은 상기 제2주입구(150)와 연결하고, 상기 제2채널(140)의 타측은 상기 제1채널(130)의 교차지점(131)으로 연결되어, 상기 제1채널(130)과 제2채널(140)은 서로 '+' 형태를 이룬다.
- [0036] 상기한 구조의 상기 제2주입구(150)에 단백질을 분해효소를 주입하면 단백질 분해효소는 제2채널(140)을 따라 상기 제1채널(130)의 교차지점(131)을 통해 제1배출구(120)로 배출되도록 한다.
- [0037] 이때 상기 단백질 분해효소는 트립신(trypsin)인 것이 바람직하다.
- [0038] 도 2 및 도 3을 참조하여 본 발명의 일 실시 예에 따른 유체 칩에 상처를 형성하는 과정을 살펴보면 다음과 같다.
- [0039] 먼저, 본 발명의 일 실시 예에 따른 유체 칩 내부에 상처를 모사하기 위해 상기 제1채널(130)에는 생체조직과 같은 세포조직을 형성하는데, 상기 세포조직을 형성하기 위해 상기 제1주입구(110)를 통해 세포배양액을 제1채널(130)로 주입하면, 상기 세포배양액은 좌, 우 두 갈래로 분할된 제1채널(130)들을 따라 일측에서 타측으로 각각 유동하고, 교차지점(131)에서 합류한 후 제1배출구(120) 측으로 유동한다.
- [0040] 이때 상기 제1채널(130) 내부에는 세포가 배양되어 세포조직이 형성되며, 상기 제2주입구(150)를 통해 단백질 분해효소를 주입하면 상기 단백질 분해효소가 상기 제2채널(140)을 따라 상기 제1채널(130)로 유동하면서 상기 제1채널(130) 내부에 형성된 세포조직을 화학적 식각으로 분해하여 해당 크기의 상처(상처모델)를 형성한다.
- [0041] 여기서 상처(상처모델)의 크기는 상처의 너비 또는 폭을 말하는데, 도 3에 도시한 바와 같이 단백질 분해효소의 유동량에 따른 상처의 크기가 다르게 형성되는 것을 알 수 있다.
- [0042] 아래의 [표 1]은 단백질 분해효소의 유동량에 따른 상처의 크기를 나타낸 것이다.

표 1

단백질 분해효소의 유동량	상처의 크기(너비)
2.25ul/min	약 25um
5ul/min	약 50um
6.25ul/min	약 75um
10ul/min	약 100um
15ul/min	약 125um
47.5ul/min	약 150um

- [0044] 따라서, [표 1]에서 보는 바와 같이 단백질 분해효소의 유동량에 따라 세포조직의 식각 정도가 비례하므로, 상기 제1채널(130)로 유동하는 단백질 분해효소의 유동량을 조절하여 상처(상처모델)의 크기를 제어해 맞춤형 상처모델을 제시할 수 있고, 또한 상처의 깊이 역시 단백질 분해효소의 유동량으로 제어할 수 있다.
- [0045] 이렇게 형성된 상처(상처모델)에 약물을 유동시켜 상처 치유에 대한 약물 실험 및 상처 치유 전반에 관한 실험을 실시할 수 있다.
- [0046] 더불어 본 발명의 다른 실시 예에 따른 상처를 모사하는 유체 칩은 도 4에 도시한 바와 같이 상기 제1채널(130)의 하부에 연통하는 제3채널(170)을 더 형성할 수 있는데, 이때 상기 제3채널(170)은 상기 제1주입구(110)의 인접하여 형성된 제3주입구(171)와 상기 제1배출구(120)의 인접에 형성된 제2배출구(172)가 서로 연통하도록 연결하고, 상기 제1채널(130)과 연통하도록 상기 제1채널(130)과 제3채널(170) 사이 격벽(173)은 다공성 멤브레인으로 형성하는 것이 바람직하다.

[0047] 상기한 제3채널(170)은 혈관을 모사한 것으로, 상기 제3주입구(171) 및 제2배출구(172)를 통해 상기 제3채널(170)에 유체를 유동시키면, 인자들을 다공을 통해 제공하여 상기 제1채널(130)에서 혈류 유동성에 따른 상처 형태 및 세포 배양 제어는 물론, 상처 치유 전반에 관한 실험을 할 수 있다.

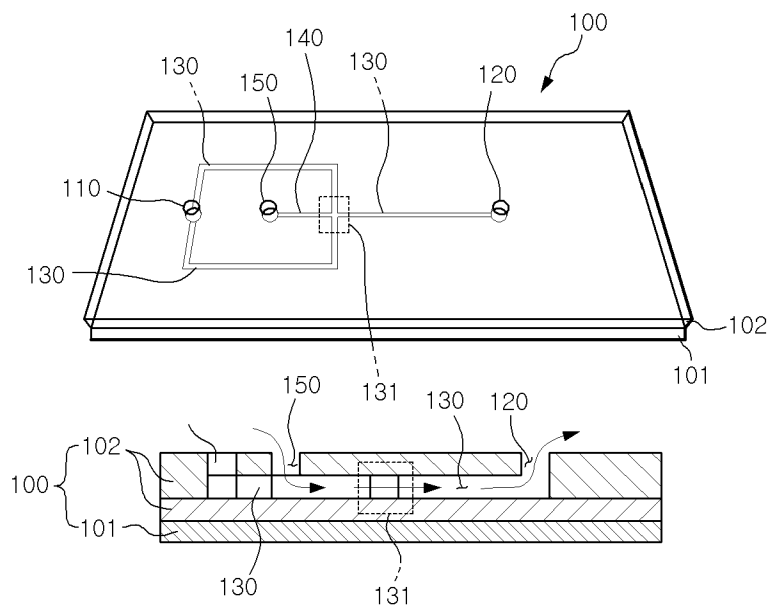
[0048] 본 발명은 도면에 도시된 실시 예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 본 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시 예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

부호의 설명

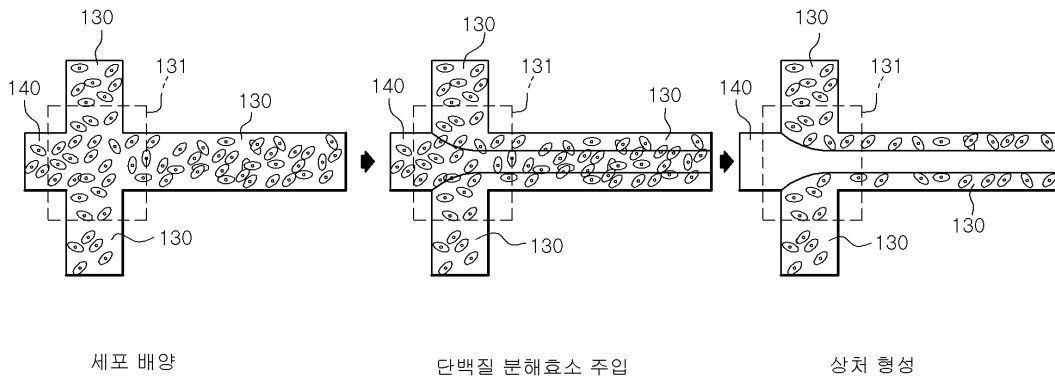
- [0050]
- 100: 칩
 - 101: 유리판
 - 102: PDMS구조체
 - 110: 제1주입구
 - 120: 제1배출구
 - 130: 제1채널
 - 140: 제2채널
 - 150: 제2주입구

도면

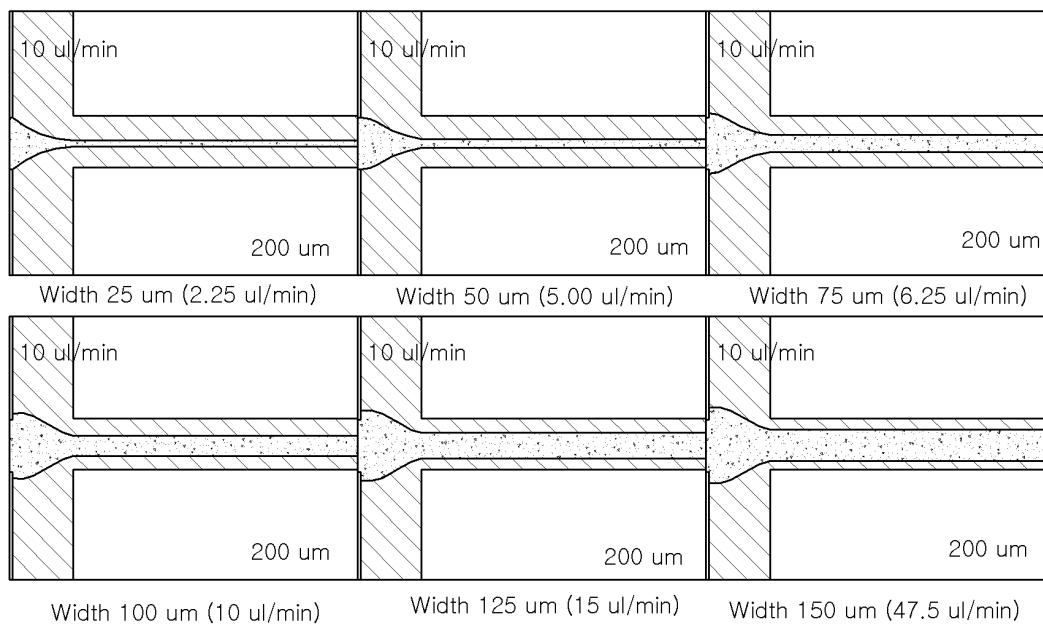
도면1



도면2



도면3



도면4

