(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년05월10일
(11) 등록번호 10-1619167
(24) 등록일자 2016년05월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/50 (2006.01) *B01L 3/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/5008 (2013.01)
B01L 3/5027 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0098152
(22) 출원일자 2015년07월10일
심사청구일자 2015년07월10일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020110018798 A
KR1020120050253 A
KR1020110064549 A

(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
이창수
대전광역시 서구 둔산로 223, 6동 601호(둔산동, 청솔아파트)
정성근
충청남도 서산시 명륜1로 8 삼익참드림아파트 704호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김원준

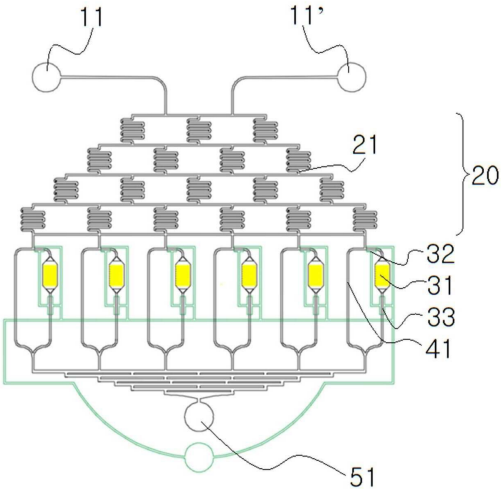
전체 청구항 수 : 총 8 항 심사관 : 기광용

(54) 발명의 명칭 **세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩**

(57) 요 약

본 발명은 세포의 시료감응성을 측정 시 오차를 최소화하여 정확한 측정이 가능한 미세유체칩과 상기 미세유체칩을 이용한 세포의 시료감응성 측정방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 두 개 이상의 유체 주입구; 상기 주입구로 주입된 각 유체를 서로 다른 농도구배를 갖는 복수개의 미세채널로 분리하는 구배형성영역; 상기 미세채널에 각각 연결되고 세포배양이 이루어지는 세포배양챔버; 및 상기 세포배양챔버에 연결되는 배출구;를 포함하는 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩에 있어서, 상기 미세채널과 세포배양챔버 간의 유로가 분지되어 형성된 바이패스용 유로를 추가로 포함하며, 상기 세포배양챔버의 상단에 세포배양챔버 상단 밸브가 설치되어 있어 세포배양챔버로의 유체의 유입을 개폐제어할 수 있는 것을 특징으로 하는 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩과 상기 미세유체칩을 이용한 세포의 시료감응성 측정방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
B01L 3/502738 (2013.01)
B01L 2200/0647 (2013.01)
(72) 발명자
진시형
세종특별자치시 달빛1로 158, 708-304
마티아스 피터
스위스 취리히 오토-스턴-웨그 3 8093 HPM G 8 생물학과
이성식
충남 태안군 원북면 나루터길 319-51

명 세 서

청구범위

청구항 1

두 개 이상의 유체 주입구; 상기 주입구로 주입된 각 유체를 서로 다른 농도구배를 갖는 복수개의 미세채널로 분리하는 구배형성영역; 상기 미세채널에 각각 연결되고 세포배양이 이루어지는 세포배양챔버; 및 상기 세포배양챔버에 연결되는 배출구;를 포함하는 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩에 있어서,

상기 미세채널과 세포배양챔버 간의 유로가 분지되어 형성된 바이패스용 유로를 추가로 포함하며,

상기 세포배양챔버의 상단에 세포배양챔버 상단 밸브가 설치되어 있어 세포배양챔버로의 유체의 유입을 개폐할 수 있는 것을 특징으로 하는 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 세포배양챔버 하단에 세포배양챔버 하단 밸브가 추가로 설치되어 있는 것을 특징으로 하는 이종세포의 시료감응성 동시 측정을 위한 미세유체칩.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

바이패스용 유로로의 유체의 유입을 제어할 수 있는 바이패스용 유로 밸브가 추가로 설치된 것을 특징으로 하는 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 밸브들은 공기압에 의해 개폐가 조절되는 막밸브인 것을 특징으로 하는 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 세포배양챔버는 단일세포층이 부착될 수 있도록 시료감응성을 측정하고자 하는 세포의 크기에 따라 트래퍼(trapper)의 높이가 결정되는 것을 특징으로 하는 이종세포의 시료감응성 동시 측정을 위한 미세유체칩.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 의한 미세유체칩을 이용한 세포의 시료감응성 측정방법에 관한 것으로서,

(A) 세포배양챔버 상단 밸브를 열고 유체 주입구 중 하나에 세포액을 주입하여 세포배양챔버에 세포를 부착시키는 단계;

(B) 세포배양챔버 상단 밸브를 잠그는 것에 의해 바이패스용 유로로 유로를 변경하는 단계;

(C) 상기 두 개 이상의 유체 주입구에 서로 농도가 다른 시료를 주입하여 구배형성영역을 통과시켜 시료의 농도 구배를 형성하는 단계;

(D) 미세채널에 시료의 농도구배가 안정적으로 형성되면, 세포배양챔버 상단 밸브를 열어 농도구배가 형성된 시료를 세포배양챔버에 주입하는 단계;

(E) 상기 세포배양챔버에 농도구배가 형성된 시료가 주입되면, 세포배양챔버 상단 밸브를 잠그고 세포를 배양하는 단계; 및

(F) 상기 세포배양챔버를 관측하여 시료감응성을 측정하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포의 시료감응성 측정 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 (D)단계의 세포배양영역의 관측은 실시간으로 이루어지는 것을 특징으로 하는 세포의 시료감응성 측정 방법.

청구항 8

제 6 항에 있어서,

상기 세포는 세균으로,

상기 (A)단계에서 세포배양챔버에 세균을 부착시킨 후,

(a) 부착되지 않은 세균을 세척하는 단계;

(b) 부착된 세균을 배양하여 생물막을 형성하는 단계;

를 추가로 포함하여,

생물막에 대한 시료감응성을 측정하는 것을 특징으로 하는 세포의 시료감응성 측정 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 세포의 시료감응성을 측정 시 오차를 최소화하여 정확한 측정이 가능한 미세유체칩과 상기 미세유체칩을 이용한 세포의 시료감응성 측정방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 여러 가지 환경 위해 물질이나, 신약, 천연물이 함유하는 유효물질이 세포에 미치는 영향을 파악하기 위해서는 다양한 농도에서 해당 물질로 세포를 자극하고, 자극에 의한 세포의 반응을 측정하게 된다. 이와 같은 세포의 시료감응성 측정을 위해서 종래 기술에서는 세포를 포함하는 배지가 포함된 웰-플레이트에 시료를 농도별로 가하여 세포의 반응을 측정하였다(도 4). 이러한 웰-플레이트를 이용한 방법에서는, 세포를 포함하는 배지 위에 시료를 가하면 배지의 상층부에서 하층부 바닥에 존재하는 세포까지 확산되어 도달하는 데 소정 시간이 소요된다. 따라서 실제로 연구자가 원하는 특정 농도에 해당하는 자극을 세포에 주는 시간과 주입 시간이 차이가 나므로 정확한 자극 시간을 알 수 없다. 또한 확산에 의해 세포는 저농도부터 서서히 자극을 받게 되므로 엄밀한 의미에서는 특정 농도에서의 자극에 대한 세포 반응을 보기 어렵다.

[0003] 최근에는 농도구배가 형성되는 미세유체칩을 사용하여 세포의 시료감응성을 측정하는 장치가 활발히 연구되고 있다. 미세유체칩은 제약, 생물공학, 의학 등의 분야에서 시간을 크게 절감시킬 수 있어 효율적이며, 실험에 요구되는 시료의 양이 매우 적어 경제적이고, 결과에 있어서도 정확도와 신뢰성을 높일 수 있다.

[0004] 미세유체칩의 미세유로는 낮은 레이놀즈 수(Reynolds number)를 갖기 때문에 유로 내에서 층류(laminar flow)를 형성하므로, 이를 이용하여 농도구배를 형성시킬 수 있다(도 5). 이를 이용하여, 세포가 위치한 배양구간 내에 농도구배가 형성된 상태로 시료를 주입하고 세포에 미치는 영향을 측정하는 것에 의해 세포의 시료감응성을 효율적으로 측정할 수 있다. 본 발명자들은 이러한 원리를 이용하여 먼저 미세유로에 세균의 생물막을 형성하고, 생물막이 형성된 미세유로에 농도구배가 형성된 시료를 주입하며 생물막을 배양한 후, 생물막을 관측하는 것에 의해 생물막의 시료감응성을 측정하는 생물막의 시료 감응성 측정 방법 및 장치에 대하여 등록특허 제1210590호로 등록받은 바 있다.

[0005] 그러나 미세유체칩 역시 웰-플레이트에 비해 상대적인 시간은 짧지만 미세유로에 안정적인 농도구배가 이루어지기까지는 시간이 소요된다. 즉, 시료감응성 관찰을 위한 세포배양영역에 세포를 주입하면 세포배양영역 뿐 아니라 농도구배영역에도 세포용액이 충진된 상태로 남아있게 되며, 세포를 세포배양영역에 부착한 후 배양액으로 세척을 하는 경우에는 세포용액은 아니지만 배양액이 충진된 상태로 존재한다. 여기에 복수개의 시료 주입구를 통해 서로 다른 농도의 시료를 주입하면 농도구배가 형성된 시료가 세포에 노출되기 전에 미세유로에 잔류하던 세포용액 또는 배양액이 먼저 세포에 노출된다. 또한 복수개의 시료 주입구에 시료를 동시에 주입한다고 하더라도 작동시간의 오차가 있을 수도 있고 안정적인 시료의 주입이 이루어지는 데 시간이 필요하기도 하므로 안정적인 농도구배가 형성되는데에는 일정 시간이 필요하다. 따라서 종래기술에 의한 미세유체칩에서는 웰-플레이트 방법에 비해 그 영향이 적기는 하지만 여전히 특정 농도에서의 자극에 대한 세포 반응을 정확히 측정할 수 없다.

[0006] 이에 더하여 상기와 같은 유체흐름을 기반으로 한 미세유체칩은 지속적인 유체의 흐름을 유지하여야만 농도 구배를 유지할 수 있기 때문에, 다음과 같은 문제가 내재되어 있다. 첫째, 배양구간 내의 세포는 시료의 흐름에 지속적으로 노출되기 때문에 시료가 축적되어 실제 농도보다 국부적으로 높은 농도 환경에 처하게 된다. 따라서 원하는 농도에서의 시료감응성을 정확하게 측정하기 어렵다. 둘째, 지속적인 유체의 흐름에 의해 세포는 항력(drag force)을 받게되며, 또한 유로의 가장자리에는 전단응력(shear stress)이 유로의 중앙에 비해 크게 작용하기 때문에 세포의 반응이 특정 시료농도에 의한 반응인지 항력 또는 전단응력에 대한 반응인지 구별하기 어렵다. 셋째, 배양구간에서의 시료의 농도구배는 세포가 포함되어 있는 경우와 포함되어 있지 않은 경우가 서로 상이하며, 배양구간의 초입과 말미에서의 농도구배가 상이할 수 있으므로 세포에 자극이 가해지는 정확한 농도를 알기 어렵다.

[0007] 등록특허 제1068672호에서는 세포가 포획되는 챔버부를 복수개로 설치한 미세유체칩이 개시되어 있다. 상기 미세유체칩에 의하면 전술한 문제점 중 세 번째의 배양구건에서의 농도구배의 불균형이나 세포의 유무에 따른 농도구배의 차이에 따른 문제점은 해소될 수 있으나, 나머지 문제점들은 여전히 해소되지 않고 그대로 존재한다.

[0008]

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 등록특허 제1210590호

(특허문헌 0002) 등록특허 제1068672호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 종래기술에 의한 문제를 해소하기 위하여 정확한 구배농도에서 지연없이 세포를 자극하여 시료감응성을 측정할 수 있는 미세유체칩을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0011] 또한 본 발명은 종래기술에 의한 유체흐름을 기반으로 한 미세유체칩의 문제점을 해소하여 항력과 전단응력의

영향을 받지 않으며, 정확한 시료 농도에 대한 세포의 시료감응성을 측정할 수 있는 미세유체칩을 제공하는 것을 또 다른 목적으로 한다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 미세유체칩을 이용한 세포의 시료감응성 측정 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 전술한 목적을 달성하기 위한 본 발명은 두 개 이상의 유체 주입구; 상기 주입구로 주입된 각 유체를 서로 다른 농도구배를 갖는 복수개의 미세채널로 분리하는 구배형성영역; 상기 미세채널에 각각 연결되고 세포배양이 이루어지는 세포배양챔버; 및 상기 세포배양챔버에 연결되는 배출구;를 포함하는 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩에 있어서, 상기 미세채널과 세포배양챔버 간의 유로가 분지되어 형성된 바이패스용 유로를 추가로 포함하며, 상기 세포배양챔버의 상단에 세포배양챔버 상단 밸브가 설치되어 있어 세포배양챔버로의 유체의 유입을 개폐할 수 있는 것을 특징으로 하는 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩에 관한 것이다.

[0014] 또한 본 발명은 전술한 미세유체칩을 이용한 세포의 시료감응성 측정 방법에 관한 것으로서, (A) 세포배양챔버의 상단 밸브를 열고 유체 주입구 중 하나에 세포액 주입하여 세포배양챔버에 세포를 부착시키는 단계; (B) 세포배양챔버 상단 밸브를 잠그는 것에 의해 바이패스용 유로로 유로를 변경하는 단계; (C) 상기 두 개 이상의 유체 주입구에 서로 농도가 다른 시료를 주입하여 구배형성영역을 통과시켜 시료의 농도구배를 형성하는 단계; (D) 미세채널에 시료의 농도구배가 안정적으로 형성되면, 세포배양챔버 상단 밸브를 열어 농도구배가 형성된 시료를 세포배양챔버에 주입하는 단계; (E) 상기 세포배양챔버에 농도구배가 형성된 시료가 주입되면, 세포배양챔버 상단 밸브를 잠그고 세포를 배양하는 단계; 및 (F) 상기 세포배양챔버를 관측하여 시료감응성을 측정하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0015] 이상과 같이 본 발명에 의하면 정확한 구배농도에서 지연없이 세포를 자극하여 시료감응성을 측정할 수 있으므로 세포의 시료감응성을 보다 정확하게 측정할 수 있다.

[0016] 또한 본 발명의 미세유체칩은 농도구배를 유지하기 위하여 유체흐름을 유지할 필요가 없으므로 세포가 항력과 전단응력의 영향을 받지 않아, 정확한 시료 농도에 대한 세포의 시료감응성을 측정할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 일실시예에 의한 미세유체칩의 설계도.

도 2는 바이패스용 유로 밸브가 추가된 본 발명의 일실시예에 의한 미세유체칩의 설계도.

도 3은 세포배양챔버의 확대도 및, 세포배양챔버에 설치된 트래퍼의 평면도 및 단면도.

도 4는 종래기술에 의한 웰-플레이트 방법에 의한 세포의 시료감응성 측정방법을 보여주는 모식도.

도 5는 종래기술에 의한 미세유체칩에서의 농도구배를 보여주는 모식도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0018] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 그러나 이러한 도면은 본 발명의 기술적 사상의 내용과 범위를 쉽게 설명하기 위한 예시일 뿐, 이에 의해 본 발명의 기술적 범위가 한정되거나 변경되는 것은 아니다. 이러한 예시에 기초하여 본 발명의 기술적 사상의 범위 안에서 다양한 변형과 변경이 가능함은 당업자에게는 당연할 것이다.

[0019] 본 발명에 의한 세포의 시료감응성 측정을 위한 미세유체칩은 두 개 이상의 유체 주입구(11, 11'); 상기 주입구로 주입된 각 유체를 서로 다른 농도구배를 갖는 복수개의 미세채널(21)로 분리하는 구배형성영역(20); 상기 미세채널에 각각 연결되고 세포배양이 이루어지는 세포배양챔버(31); 및 상기 세포배양챔버에 연결되는 배출구

(51);로 이루어진 미세유체칩에 있어서, 상기 미세채널과 세포배양챔버 간의 유로가 분지되어 형성된 바이패스용 유로(41)를 추가로 포함하며, 상기 세포배양챔버의 상단에 세포배양챔버 상단 밸브(32)가 설치되어 있어 세포배양챔버로의 유체의 유입을 제어할 수 있는 것을 특징으로 한다.

[0020] 본 발명에서 "세포"라 함은 박테리아나 세균 같은 단세포 생물 그 자체는 물론, 다세포 생물의 조직 세포를 포함한다.

[0021] 세포배양챔버 상단 밸브(32)는 세포배양챔버(31)에 대하여 유체의 유입을 허용하거나 차단하는 밸브이다. 세포배양챔버 상단 밸브(32)를 닫는 것에 의해 세포배양챔버(31)로의 유체의 유입이 차단됨과 동시에 세포배양챔버(31)에서 배출구(51)로의 유체의 흐름 또한 멈추게 된다. 보다 확실히 세포배양챔버(31)로부터의 유체의 유출을 제어하기 위하여 본 발명의 미세유체칩은 세포배양챔버(31)의 하단에 세포배양챔버 하단 밸브(33)를 추가로 포함할 수도 있다.

[0022] 또한 본 발명에서 "상단"과 "하단"이라 함은 유체의 흐름을 기준으로 한 것으로, 유체가 흘러들어오는 방향을 "상단", 유체가 흘러나가는 방향을 "하단"이라 한다. 상기 밸브들은 각 세포배양챔버에 대해서만 독립적으로 작용할 수 있도록 설치되어야 함은 당연하다. 즉, 세포배양챔버 상단 밸브(32)는 미세채널(21)이 바이패스용 유로와 분지된 이후에 설치되어야 다른 유로로의 유체의 흐름을 방지하지 않고 세포배양챔버로의 흐름만을 제어할 수 있다. 또한 세포배양챔버의 하단에 유로의 합류지점이 있다면, 세포배양챔버 하단 밸브는 상기 합류지점 이후에 설치되어야 다른 유로로의 유체의 흐름을 방지하지 않고 세포배양챔버로의 흐름만을 제어할 수 있음은 당연하다.

[0023] 본 발명의 미세유체칩은 바이패스용 유로에 유체의 유입을 허용하거나 차단하는 바이패스용 유로 밸브(42)가 추가로 설치되어 있을 수 있다(도 2). 바이패스용 유로 밸브(42) 역시 세포배양챔버 상단 밸브(32)나 세포배양챔버 하단 밸브(33)와 마찬가지로 바이패스용 유로에의 흐름에 대해서만 독립적으로 작용하도록 설치되어야 한다. 도 2에서는 바이패스용 유로 밸브를 하나의 유로 당 쌍으로 설치하였으나, 이는 편의에 의한 것일 뿐 하나의 유로 당 하나의 밸브만 설치하여도 무방하다.

[0024]

[0025] 상기 밸브들은 공기압에 의해 개폐가 조절되는 막밸브를 사용할 수 있다. 막밸브는 유체채널의 위 또는 아래에 구동채널이 있는 이중칩의 형태로, 구동채널과 유체채널의 경계를 형성하는 부분을 유연성있는 재질 또는 용매에 팽윤(swelling)이 용이한 재질로 형성한 것이다. 구동채널에 가스를 주입하여 압력을 가하거나 팽윤에 효율적인 용매를 흘려주어 유체채널의 미세유로를 막아 밸브가 잠기는 효과를 나타내며, 구동채널에 압력이나 용매를 제거하여 밸브를 열어줄 수 있다. 미세유체칩에서의 막밸브의 구조나 형성방법은 종래기술에 의해 잘 알려져 있으므로 상세한 설명은 생략한다.

[0026] 도 1에서는 유체 주입구가 2개인 미세유체칩을 도시하였으나, 유체 주입구가 하나인 경우에는 농도구배 형성이 불가능하므로 본 발명의 목적을 달성하기 위하여 유체 주입구는 2개 이상이면 족하며, 그 상한을 설정하는 것은 의미가 없다. 유체 주입구 수가 증가할수록 유체의 농도구배를 복잡하게 실현할 수 있다. 예를 들어 유체 주입구가 좌측, 중앙, 우측에 각각 설치되어 있고 세 개의 주입구로 주입된 유체가 구배형성영역에 의해 농도구배가 형성되는 미세유체칩을 사용하면, 좌측에는 시료 A를 중앙에는 용매를 우측에는 시료 B를 동시에 주입하는 것에 의해 시료 A와 B에 대한 이종세포의 시료감응성을 동시에 측정할 수 있다. 또는 동일 시료를 주입한다고 하더라도 주입구별로 시료의 농도를 다르게 하는 것에 의해 보다 복잡한 농도구배를 실현할 수 있다. 그러나 유체 주입구 수가 증가함에 따라 미세유체칩의 구조 역시 복잡해지므로, 이론적으로는 수의 상한이 무의미하다 하더라도 실질적으로는 유체 주입구의 수는 2~4개인 것이 바람직하다.

[0027] 상기배양챔버는 통상의 유로와 동일하게 이루어져 있을 수도 있으나, 세포액의 주입에 의해 단일세포층이 부착될 수 있도록 트래퍼(trapper)가 형성되어 있을 수 있다. 세포의 형태와 크기는 생물의 종류에 따라, 또한 같은 생물이라도 조직이나 기관의 종류에 따라 다양하므로 본 발명의 미세유체칩을 사용하여 시료감응성을 측정하고자 하는 세포의 크기에 따라 단일세포층을 부착시킬 수 있도록 상기 트래퍼의 높이를 결정하는 것이 바람직하다. 즉 트래퍼의 높이를 시료감응성을 측정하고자 하는 세포의 크기보다 크고 세포 크기의 2배보다 작게 설정하는 것에 의해 단일세포층을 형성시킬 수 있다. 도 3에는 약 3㎛ 정도의 높이를 갖는 트래퍼의 확대도를 도시

하였다.

[0028] 도 1을 참조하여 본 발명의 미세유체칩을 이용한 세포의 시료감응성 측정방법을 설명한다. 도 1에는 세포배양챔버 하단 밸브(33)가 포함된 미세유체칩을 도시하였다.

[0029] 먼저, (A) 세포배양챔버 상단 밸브(32)를 열고 유체 주입구 중 하나에 세포액을 주입하여 세포배양챔버에 세포를 부착시킨다. 이때, 세포배양챔버 하단 밸브(33)가 존재한다면, 세포배양챔버 하단 밸브(33) 역시 열어주어야 세포의 주입이 가능함은 당연하다. 세포가 부착되면 필요에 따라 부착되지 않은 세포를 세척하여 제거할 수 있다. 또는 세포가 생물막을 형성할 수 있는 세균인 경우에는, 부착된 세균을 배양하여 생물막을 형성시킨 후 이후 단계를 진행할 수도 있다. 만일 미세유체칩에 바이패스용 유로 밸브(42)가 형성되어 있다면, 최소한의 시료를 사용하기 위하여 바이패스용 유로 밸브(42)는 닫은 채 세포액을 주입할 수 있다.

[0030] 세포배양챔버(31)에 세포를 부착시켜 시료감응성을 측정할 준비가 완료되면, (B) 세포배양챔버 상단 밸브(32)(와 세포배양챔버 하단 밸브(33))는 잠가준다. 이와 같은 유로의 변경에 의해 이후 단계에서의 유체는 세포배양챔버(31)로 유입되지 않고 바이패스용 유로(41)로만 통과되도록 된다. 미세유체칩에 바이패스용 유로 밸브(42)가 형성되어 있다면, 본 단계에서는 바이패스용 유로 밸브(42)는 열어주어야 함은 당연하다.

[0031] 이후, (C) 상기 두 개 이상의 유체 주입구(11, 11')에 서로 농도가 다른 시료를 주입하여 구배형성영역을 통과시켜 시료의 농도구배를 형성한다. 본 단계의 초반에는 유체 주입구(11, 11')로부터 구배형성영역(20)의 유로에 잔류하던 유체가 먼저 배출구를 통하여 배출된다. 즉, 만일 세포액이 유로에 잔류하였다면 세포액이, 세포액을 배양액으로 세척하는 단계가 있었다면 배양액이 제거된다. 이후 유체 주입구를 통해 주입된 시료들이 농도구배가 형성되게 되어 배출구로 배출되게 된다.

[0032] (D) 구배형성영역(20)의 미세채널(21)에 시료의 농도구배가 안정적으로 형성되면, 세포배양챔버 상단 밸브(32)(와 세포배양챔버 하단 밸브(33))를 열어 농도구배가 형성된 시료를 세포배양챔버에 주입하여 시료에 세포를 노출시킨다. 따라서 본 발명의 미세유체칩을 사용하면, 농도구배가 형성된 시료로 지연 자극에 따른 문제없이 보다 정밀하게 시료감응성을 측정할 수 있다.

[0033] (E) 세포배양챔버(31)로 농도구배가 형성된 시료가 주입되면, 세포배양챔버 상단 밸브(32)(와 세포배양챔버 하단 밸브(33))를 닫고 세포를 배양한다. 시료감응성 측정에서 오차를 최소화하기 위해서는 세포배양챔버(31)에 시료가 충진되면 유체 흐름의 영향을 받지 않도록 바로 세포배양챔버 상단 밸브(32)(와 세포배양챔버 하단 밸브(33))를 닫는 것이 바람직하다. 세포배양챔버(31)는 그 부피가 매우 작기 때문에 세포가 시료의 흐름에 영향을 받는 시간은 1~2초 정도로 매우 짧아, 실질적으로 유체의 영향을 거의 받고 세포의 시료감응성을 측정할 수 있어 더욱 정밀한 측정이 가능하다.

[0034] (F) 이후, 세포배양챔버를 관측하면 시료감응성을 측정할 수 있다.

[0035] 본 발명의 방법에 있어서, 세포배양챔버들을 실시간으로 관측하는 것에 의해 이루어질 수 있다. 실시간 관측은 가장 단순하게는 광학현미경을 사용한 측정으로 이루어질 수 있으며, 세포가 표지되어 있는 경우에는 표지 방법에 따라 선택된 검출방법에 의해 이루어질 수도 있다. 세포의 표지는 형광염료, 자기입자, 방사선 동위원소 또는 양자점과 같이 통상의 바이오 분야에서 사용하는 표지물질을 사용할 수 있으며, 이는 당업자라면 사용하는 세포의 종류와 적절한 검출 방법에 의해 적절히 선택할 수 있을 것이다. 실시간 관측에 의하면, 시료의 자극 시점부터 배양 시간에 따른 세포의 영향을 시간에 따라 동시에 관측할 수 있다.

[0036] 필요에 따라서는, 세포배양챔버 내의 세포를 미세유체칩의 밖으로 배출시킨 후 배출된 시료를 분석할 수도 있다. 도 1에서는 배출구가 하나인 미세유체칩을 도시하였으나, 시료를 배출시킨 후 분석하기 위해서는 세포배양챔버 당 별개의 배출구를 갖도록 미세유체칩을 디자인하여 사용할 수 있다.

[0037] 본 발명의 미세유체칩은 실리콘, 유리, 금속, 세라믹 및 고분자와 같은 여러 종류의 재질을 사용하여 습식식각, 건식식각, 리소그래피(lithography), 몰딩, 밀링, 터닝, 드릴링, 펀칭, 레이저미세가공과 같은 미세가공기술을 사용하여 제작할 수 있다. 미세가공기술은 널리 알려진 방법으로 본 명세서에서는 상세한 설명은 생략한다.

[0038] 본 발명의 미세유체칩은 특히 세포에 농도구배가 형성된 시료를 처리하기 전 또는 처리한 후 세포에 추가적인 자극을 주어야 하는 경우 더욱 유용하게 사용될 수 있다. 예를 들면, 항염증제로서의 효능을 검정하기 위해서

는 통상 세포를 LPS(Lipopolysaccharide)로 자극한 후 배양하여 염증반응을 유발하고 이후 농도구배가 형성된 항염증제 후보물질로 처리하여 그 효과를 관측하거나, 먼저 항염증제 후보물질을 농도구배를 형성시켜 세포에 처리한 후 LPS로 자극하여 염증 예방 효과를 관측한다. 미세유체칩에 의하면 소량의 시료만으로도 간단하고 빠르게 그 효능은 물론 유효농도를 측정할 수 있으나, 종래 기술에 의한 미세유체칩은 유로 내에 남아있는 유체의 영향을 피할 수 없다. 반면 본 발명에 의하면, 유로에 남아있는 유체의 종류가 어떤 것이든 바이패스용 유로를 활용하여 유로에 잔류하는 유체를 모두 제거한 후 미세채널로 새로 주입되는 유체의 안정적인 흐름이 유지된 후 세포배양챔버에 공급할 수 있어 보다 정확한 측정이 가능하다.

[0039] 또한 본 발명의 미세유체칩은 동일한 시료라 하더라도 농도 구배의 기울기나 방향의 변화와 같은 농도 구배를 변경시키며 시료감응성을 측정할 때, 변경 전 구배 농도에서 변경 후 구배 농도로 점진적으로 변화하는 것이 아니라 즉시 변경이 가능하여 시료 농도 변화에 따른 감응성을 더욱 정확하게 측정하는 것이 가능하다.

부호의 설명

[0040] 11, 11' 유체 주입구

20 구배형성영역

21 미세채널

31 세포배양챔버

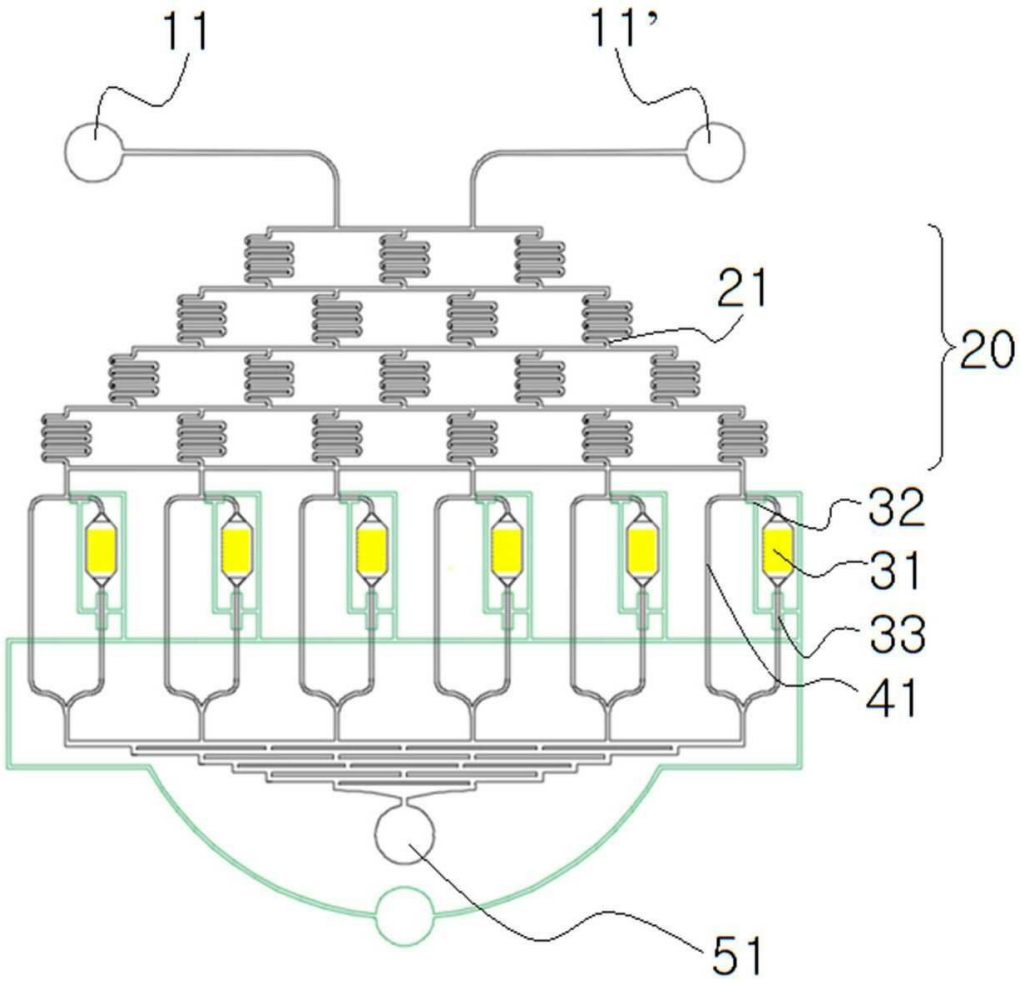
32 세포배양챔버 상단 밸브 33 세포배양챔버 하단 밸브

41 바이패스용 유로 42 바이패스용 유로 밸브

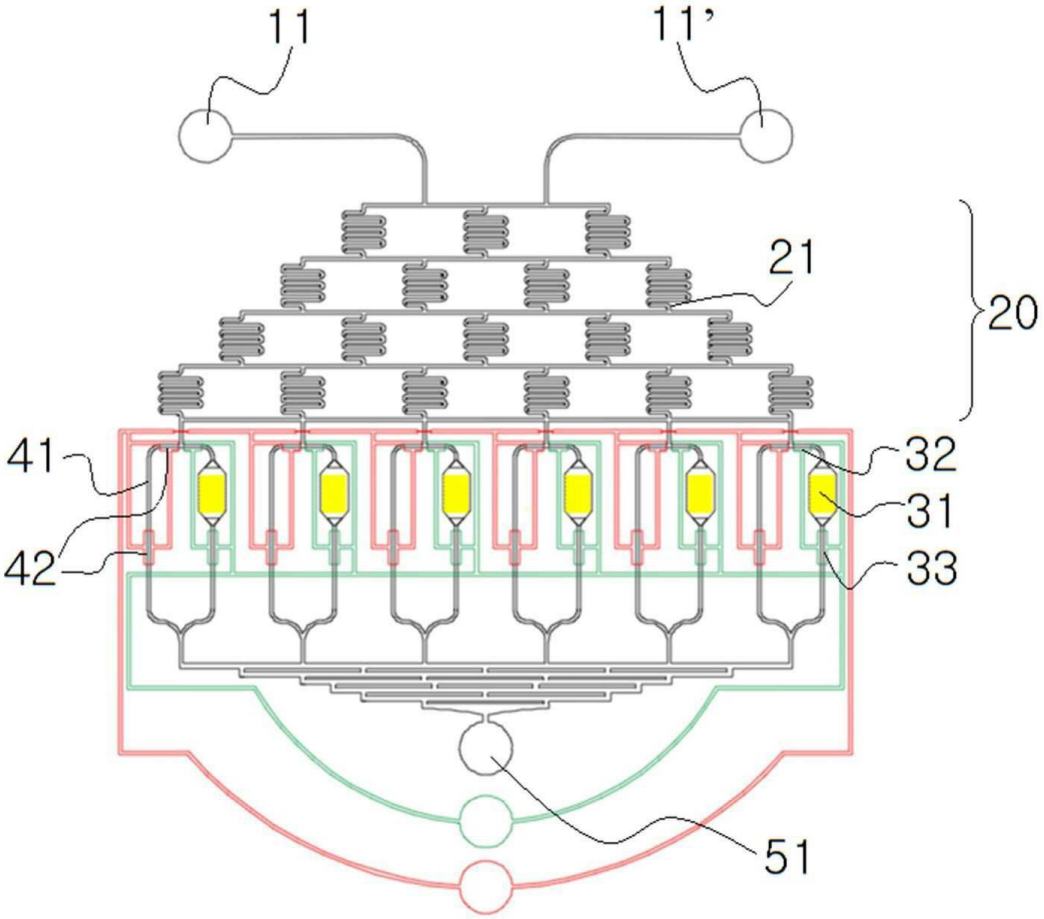
51 배출구

도면

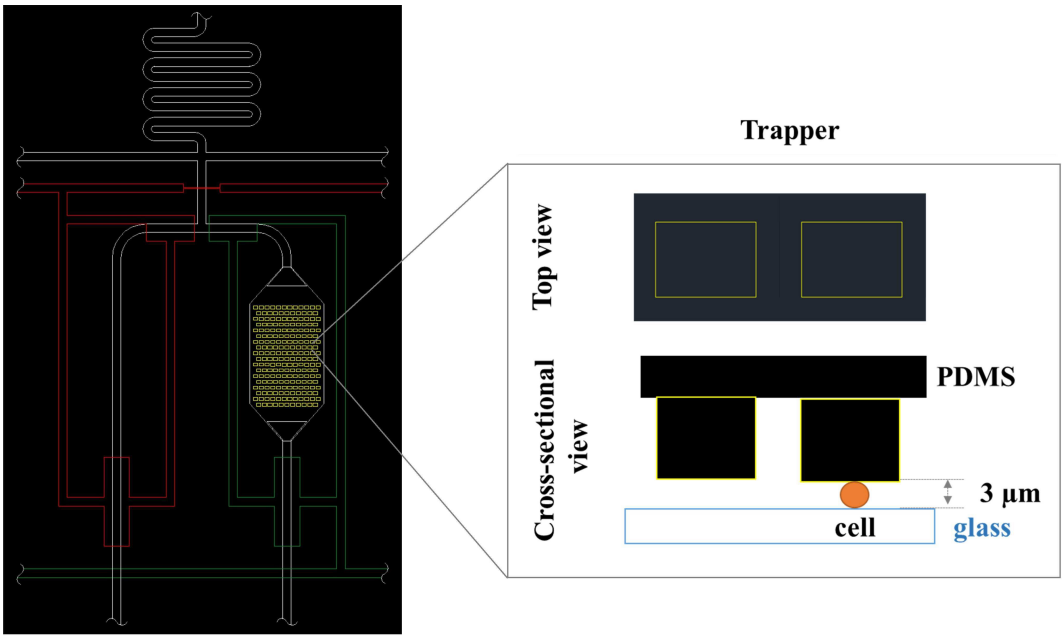
도면1



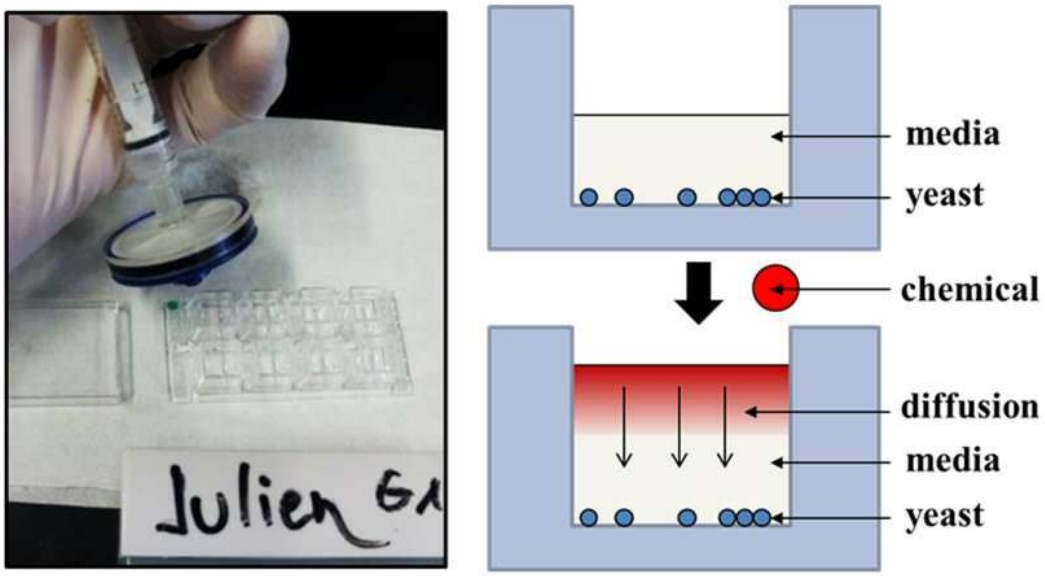
도면2


11
11'
21
20
41
42
32
31
33
51

도면3


Trapper
Top view
Cross-sectional view
PDMS
3 μm
cell
glass

도면4



도면5

