

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2014-0132581 (43) 공개일자 2014년11월18일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) D01D 5/253 (2006.01) A61L 27/50 (2006.01) D01D 13/00 (2006.01)	(71) 출원인 고려대학교 산학협력단 서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)	
(21) 출원번호 10-2013-0051969	(72) 발명자 이상훈 경기 안산시 단원구 광덕서로 19, 136동 102호 (고잔동, 호수공원대림아파트)	
(22) 출원일자 2013년05월08일 심사청구일자 2013년05월08일	강 에드워드 경기 용인시 수지구 죽전로 121, 101동 1303호 (죽전동, 꽃메마을아이파크2차)	
	(74) 대리인 특허법인충현	

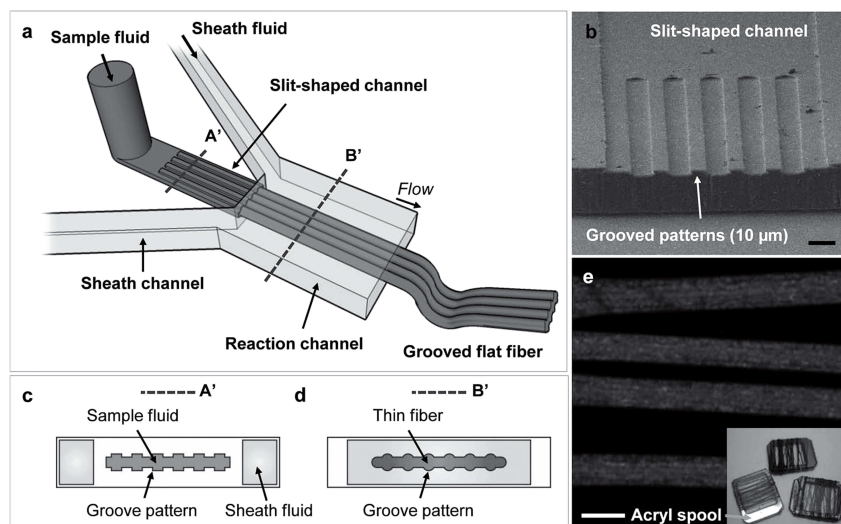
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **납작한 형태의 마이크로 섬유를 포함하는 세포 배양용 지지체**

(57) 요약

본 발명은 납작한 형태의 마이크로 섬유를 포함하는 세포 배양용 지지체 및 이의 제조방법에 관한 것이다. 본 발명의 여러 구현예에 따르면, 본 발명의 납작한 마이크로 섬유는 섬유의 면이 납작하고, 균일하여 종래의 둥근 형태의 마이크로 섬유 표면에 세포가 고정될 확률이 낮고, 섬유 표면의 곡률반경이 존재하여 기존의 세포의 2D 환경에서의 연구를 적용하기 어려운 문제점을 해결하였으며, 세포의 성장 및 관찰이 용이하고, 패턴과 섬유의 종횡비(가로세로비, aspect ratio)를 제어할 수 있어, 재건하고자 하는 조직의 종류에 따라 섬유 모양이 변형이 용이할 뿐만 아니라, 다발로 이루어진 신경조직과 균일하게 배열된 근육조직을 모사할 수 있어 생체조직 공학용 스캐폴드로 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2012026340

부처명 한국연구재단

연구관리전문기관 보건과학대학학사지원부

연구사업명 (이공)중견연구자지원_도약연구

연구과제명 마이크로 칩을 이용한 자연 모사 생산 연구

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2012.07.01 ~ 2013.06.30

특허청구의 범위

청구항 1

마이크로 섬유로서;

상기 마이크로 섬유의 종횡비는 2-100이고, 상기 종횡비는 상기 마이크로 섬유의 폭/높이의 비율을 의미하며;

상기 마이크로 섬유의 상부 표면 및 하부 표면 중 하나 이상의 표면에 길이 방향의 홈이 1개 이상 형성되어 있는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 길이 방향의 홈은 2개 이상이고,

상기 2개 이상의 길이 방향 홈은 폭 방향으로 규칙적으로 배열되어 형성되어 있으며,

상기 홈의 산과 골 사이의 깊이는 상기 마이크로 섬유 높이의 1/10-1/2이고,

상기 산과 상기 골은 상기 홈의 가장 높은 곳과 가장 낮은 곳을 의미하는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 홈은 상기 마이크로 섬유의 상부 표면 및 하부 표면 모두에 각각 2개 이상씩 형성되어 있고,

상기 마이크로 섬유의 상부 표면에 위치한 홈과 상기 마이크로 섬유의 하부 표면에 위치한 홈은 폭 방향으로 규칙적인 간격으로 배열되어 형성되어 있으며,

상기 상부 표면의 홈과 상기 하부 표면의 홈은 산과 골 사이의 깊이, 개수, 사이 간격 중에서 선택된 1개 이상의 구조 파라미터가 서로 다른 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유.

청구항 4

마이크로 섬유를 포함하는 세포 배양 재생기로서;

상기 마이크로 섬유의 종횡비는 2-100이고, 상기 종횡비는 상기 마이크로 섬유의 폭/높이의 비율을 의미하며;

상기 마이크로 섬유의 상부 표면 및 하부 표면 중 하나 이상의 표면에 길이 방향의 홈이 1개 이상 형성되어 있고;

상기 세포 배양 재생기는 상기 세포의 배양 또는 재생을 수행하는 것을 특징으로 하는 세포 배양 재생기.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 길이 방향의 홈은 2개 이상이고,

상기 2개 이상의 길이 방향 홈은 폭 방향으로 규칙적으로 배열되어 형성되어 있으며,

상기 홈의 산과 골 사이의 깊이는 상기 마이크로 섬유 높이의 1/10-1/2이고,

상기 산과 상기 골은 상기 홈의 가장 높은 곳과 가장 낮은 곳을 의미하는 것을 특징으로 하는 세포 배양 재생기.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 홈은 상기 마이크로 섬유유 의 상부 표면 및 하부 표면 모두에 각각 2개 이상씩 형성되어 있고,

상기 마이크로 섬유유 의 상부 표면에 위치한 홈과 상기 마이크로 섬유유 의 하부 표면에 위치한 홈은 폭 방향으로 규칙적인 간격으로 배열되어 형성되어 있으며,

상기 상부 표면의 홈과 상기 하부 표면의 홈은 산과 골 사이의 깊이, 개수, 사이 간격 중에서 선택된 1개 이상의 구조 파라미터가 서로 다른 것을 특징으로 하는 세포 배양 재생기.

청구항 7

(a) 샘플 유체 투입구, (b) 샘플 유체 채널, (c) 외피 유체 채널, (d) 혼합 유체 반응 채널, (e) 반응 유체 배출구를 포함하는 마이크로 섬유 제조장치로서;

상기 샘플 유체 투입구의 상부 말단을 통해서 상기 샘플 유체가 투입되고, 상기 샘플 유체 투입구의 하부 말단은 상기 샘플 유체 채널의 상부 말단과 연결되어 있으며; 상기 샘플 유체 채널의 하부 말단은 상기 혼합 유체 반응 채널의 상부 말단과 연결되어 있고; 상기 외피 유체 채널의 상부 말단을 통해서 상기 외피 유체가 투입되고, 상기 외피 유체 채널의 하부 말단은 상기 혼합 유체 반응 채널의 ① 상부 말단 또는 ② 상부 말단과 하부 말단 사이에 위치한 제1 지점과 연결되어 있으며;

상기 샘플 유체 채널은 상부 표면 및 하부 표면 중 하나 이상의 표면에 길이 방향의 홈이 1개 이상 형성되어 있고, 상기 홈은 상기 샘플 유체 채널의 ① 상부 말단부터 하부 말단까지 또는 ② 상부 말단과 하부 말단 사이에 위치한 제2 지점부터 하부 말단까지 형성되어 있으며; 상기 샘플 유체 채널의 종횡비는 2-100이고, 상기 종횡비는 상기 샘플 유체 채널의 폭/높이의 비율을 의미하며;

상기 외피 유체 채널을 통해 투입된 외피 유체는 상기 샘플 유체 채널을 통해 투입된 샘플 유체를 둘러싸고, 상기 혼합 유체 반응 채널 내에서 상기 샘플 유체를 고형화된 반응 유체 또는 겔 상태로 반고형화된 반응 유체로 형성시키며, 상기 고형화 또는 반고형화된 반응 유체는 상기 반응 유체 배출구를 통해 배출되고;

상기 반응 유체가 상기 혼합 유체 반응 채널 내에서 고형화된 경우에는 상기 반응 유체는 마이크로 섬유유로 형성된 상태로 상기 반응 유체 배출구를 통해 배출되고; 상기 반응 유체가 상기 혼합 유체 반응 채널 내에서 반고형화된 경우에는 상기 반응 유체는 상기 반응 유체 배출구를 통해 배출되고 나서 고형화된 마이크로 섬유유로 형성되는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유 제조장치.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 길이 방향의 홈은 2개 이상이고,

상기 2개 이상의 길이 방향 홈은 폭 방향으로 규칙적으로 배열되어 형성되어 있으며,

상기 홈의 산과 골 사이의 깊이는 상기 샘플 유체 채널 높이의 1/10-1/2이고,

상기 산과 상기 골은 상기 홈의 가장 높은 곳과 가장 낮은 곳을 의미하는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유 제조장치.

청구항 9

제7항에 있어서, 상기 홈은 상기 샘플 유체 채널의 상부 표면 및 하부 표면 모두에 각각 2개 이상씩 형성되어 있고,

상기 샘플 유체 채널의 상부 표면에 위치한 홈과 상기 샘플 유체 채널의 하부 표면에 위치한 홈은 폭 방향으로 규칙적인 간격으로 배열되어 형성되어 있으며,

상기 상부 표면의 홈과 상기 하부 표면의 홈은 산과 골 사이의 깊이, 개수, 사이 간격 중에서 선택된 1개 이상

의 구조 파라미터가 서로 다른 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유 제조장치.

청구항 10

납작한 마이크로 섬유상에,

홈이 파져있는 패턴이 형성되어 있는 마이크로 구조물을 포함하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유의 제조방법으로서, (a) 샘플 유체 투입구, (b) 샘플 유체 채널, (c) 외피 유체 채널, (d) 혼합 유체 반응 채널, (e) 반응 유체 배출구를 포함하는 마이크로 섬유 제조장치를 사용하여,

(A) 상기 장치의 샘플 채널을 통해 샘플 유체를 주입하고, 외피 채널을 통해 외피 유체를 주입한 후, 경화시켜 섬유를 얻는 단계; 및

(B) 상기 단계 (A)의 경화된 섬유는 사출구를 통해 사출시키는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유의 제조방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 외피 유체 및 샘플 유체의 유량은 각각 15-25 ml/h 와 10-30 ml/min인 것을 특징으로 하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유의 제조방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 샘플 유체는 1-10 w/v%의 알지네이트인 것을 특징으로 하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유의 제조방법.

청구항 13

제10항에 있어서, 상기 외피 유체는 (i) 칼슘 클로라이드, 소듐 클로라이드 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 제 1 외피 물질을 (ii) 물, 세포 배양액, PBS, 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 제 2 외피 물질에 용해시킨 용액인 것을 특징으로 하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유의 제조방법.

청구항 14

(a) 샘플 유체 투입구, (b) 샘플 유체 채널, (c) 외피 유체 채널, (d) 혼합 유체 반응 채널, (e) 반응 유체 배출구를 포함하는 상기 마이크로 섬유 제조장치의 제조방법으로서;

(1) Si-웨이퍼 상에 감광제로 SU-8를 스핀 코팅한 후, 패턴을 위한 포토-마스크를 이용하여 SU-8 주형을 제조하는 단계;

(2) 상기 단계 (1)에서 얻은 SU-8 주형을 이용하고, PDMS(polydimethylsiloxane) 베이스와 경화제를 5-15 : 1의 중량비로 혼합한 혼합물을 사용하여 동일한 모양의 주물을 두 개 제조한 후, 상기 주물에 산소 플라즈마를 증착하는 단계;

(3) 상기 단계 (2)에서 얻은 SU-8 주물의 샘플 채널 및 외피 채널의 입구 부분에 1-2 mm 크기로 구멍을 뚫어 유체를 흘릴 수 있도록 입구를 제조한 후 본딩하여, 동축형 홈이 있는 마이크로 섬유 제조장치를 얻는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유 제조장치의 제조방법.

청구항 15

납작한 마이크로 섬유상에, 홈이 파져있는 패턴이 형성되어 있는 마이크로 구조물을 포함하는 세포 배양용 납작

한 마이크로 섬유를 포함하는 혈관 재생용 키트.

청구항 16

납작한 마이크로 섬유상에, 홈이 파져있는 패턴이 형성되어 있는 마이크로 구조물을 포함하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유를 포함하는 근육 재생용 키트.

청구항 17

납작한 마이크로 섬유상에, 홈이 파져있는 패턴이 형성되어 있는 마이크로 구조물을 포함하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유를 포함하여 세포를 성장시키는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 납작한 형태의 마이크로 섬유, 이를 포함하는 세포 배양용 지지체, 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 생체조직 재생은 질병과 사고의 증가와 함께 고령화 시대에 삶의 질의 향상을 위해 병들거나 훼손된 장기를 복원하려 하는 재생의학의 중요성 및 필요성과 함께 미래 산업으로서의 시장성과 경제성은 전 세계적으로 부각되고 있다. 특히, 생체조직 재생과 관련된 세포치료제의 경우, 세포를 단순히 생체 내에 투여하는 것만으로는 생체조직과 장기의 재생 유도를 실현할 수 없는 경우가 대부분이며 최근 세포의 증식, 분화에 세포와 그 주변 환경과의 상호작용이 중요하다는 것이 알려져 있다.

[0003] 그러나, 세포 투여만으로는 원하는 곳에서 세포의 증식과 분화 효율성이 낮아 조직재생의 실현성이 희박하다. 이에, 많은 연구자들에 의해서 세포와 이식, 재료, 약물이 방출, 성형 등의 재생 의학 분야와 관련된 연구가 추진되고 있으며, 특히, 생체조직 재생 촉진용 스캐폴드와 관련된 원천 바이오 의료융합 기술을 발굴하고, 생체조직 재생의학 산업 원천기술 확보하는 것이 요구되고 있다.

[0004] 일반적으로 조직공학용 세포재생 지지체(scaffold)로서, 마이크로섬유를 2차원 평면 또는 3차원 원통형의 지지체에 감아 세포적합성 환경 조성을 통한 조직배양을 유도하여 사용하고 있으며, 이러한 스캐폴드의 기능은 다공성 구조 내에 분주된 세포의 성장을 돕고, 주변 조직으로부터 세포를 이동하게 하는 중요한 역할을 하고, 대부분의 포유동물들의 세포들은 표면 부착에 의존하여 성장하게 되며 만약 부착 가능한 물질이 제공되지 않을 경우에는 사멸하게 되므로, 조직재생 및 치료 부분에 있어서 스캐폴드의 역할은 매우 중요하다.

[0005] 그러나, 여전히 종래 스캐폴드는 두꺼운 조직의 혈관형성은 풀리지 않는 문제로 남아있으며, 삼차원 구조 스캐폴드의 원하는 부위에 특정 세포를 이식하는 것 역시 도전 과제로 남아있고, 기관에 특이적인 세포의 밀도를 조절하는 것이 어려우며, 기질의 강도가 줄기세포의 분화에 영향을 미친다고 현재 많이 연구되어 지고 있는바, 기존의 고체 재료를 사용할 경우 이러한 문제를 해결할 수 없을 뿐만 아니라, 기존의 스캐폴드 제조 방법으로는 세포의 성장과 스캐폴드의 분해성을 최적화하기가 어려운 단점이 있다.

[0006] 이에, 상기 문제점을 해결하고자 많은 연구자들이 다양한 연구를 통해 스캐폴드를 제조하였으나, 생체조직공학용 스캐폴드(세포배양 지지체)를 제작함에 있어 적절한 강도와 생분해성 및 무독성 등을 갖는 지지체 제작 방식은 여러 가지가 있으나 아직 정형화, 표준화된 방식이 없는 문제점이 있으며, 특히, 종래에 사용되던 스캐폴드 제작 방식에는 염침출법, 염발포법, 상분리법 등이 있으나, 공극이 균일하지 못하고, 공극간의 연결성도 좋지 못해, 세포의 증식 및 분화를 위한 적절한 환경을 제공하는데 여러 가지 어려움을 가지고 있어, 조직 재생에 한계를 드러냈다.

[0007] 종래 대한민국 등록특허 제10-1138370호에서는 마이크로 섬유의 제조방법을 개시한바 있고, 대한민국 공개특허 제2012-0072653호에서는 등근 섬유의 표면에 마이크로 패턴링을 제작하는 기술을 개시한 바 있다. 앞서 언급한

종래 기술에서는 마이크로 섬유를 제조하기 위해 화학적 반응(alginate 혹은 PLGA) 을 통해 둥근 채널의 관을 이용하였다. 이러한 방법은 둥근 형태의 마이크로 섬유를 제작하기에 적합한 장점이 있으나, 둥근 마이크로 섬유를 제작하여 지지체로서 사용할 경우, 중력에 의하여 세포가 지지체에 고정될 확률이 낮고 또한 관찰하기 어렵다는 단점이 있다. 또한 섬유 표면의 곡률반경이 존재하여 기존의 세포의 2D 환경에서의 연구를 적용하기 어려운 단점이 있다.

[0008] 앞서 언급한 바와 같이, 스캐폴드 제작 기술은 현재 국내외에서 다양한 연구들이 활발히 진행되고 있으나 기술적 완성도는 높지 않고 표준화된 기술이 미비할 뿐만 아니라 기술 성숙도 측면에서 도입기 단계로 추정되고, 앞으로 생체조직 재생용 스캐폴드 시장이 커짐에 따라 수조 이상의 시장을 형성할 것으로 예상된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 세포 배양에 적합한 2D 환경을 3D 구조의 스캐폴드에 적용하기 위한 납작한 마이크로 섬유를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 대표적인 일 측면에 따르면, 마이크로 섬유로서;

[0011] 상기 마이크로 섬유의 종횡비는 2-100이고, 상기 종횡비는 상기 마이크로 섬유의 폭/높이의 비율을 의미하며;

[0012] 상기 마이크로 섬유의 상부 표면 및 하부 표면 중 하나 이상의 표면에 길이 방향의 홈이 1개 이상 형성되어 있는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유에 관한 것이다.

[0013] 본 발명의 다른 대표적인 일 측면에 따르면, 상기 마이크로 섬유의 제조장치에 관한 것이다.

[0014] 본 발명의 또 다른 대표적인 일 측면에 따르면, 상기 마이크로 섬유의 제조방법에 관한 것이다.

[0015] 본 발명의 다른 대표적인 일 측면에 따르면, 상기 마이크로 섬유 제조장치의 제조방법에 관한 것이다.

발명의 효과

[0016] 본 발명의 여러 구현예에 따르면, 본 발명의 납작한 마이크로 섬유는 섬유의 면이 납작하고, 균일하여 종래의 둥근 형태의 마이크로 섬유 표면에 세포가 고정될 확률이 낮고, 섬유 표면의 곡률반경이 존재하여 기존의 세포의 2D 환경에서의 연구를 적용하기 어려운 문제점을 해결하였으며, 세포의 성장 및 관찰이 용이하고, 패턴과 섬유의 종횡비(가로세로비, aspect ratio)를 제어할 수 있어, 재건하고자 하는 조직의 종류에 따라 섬유 모양이 변형이 용이할 뿐만 아니라, 방향성이 있으며 다발로 이루어진 신경조직과 촘촘하고 균일하게 배열된 근육조직을 모사할 수 있어 생체조직 공학용 스캐폴드로 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0017] 도 1은 본 발명의 일 구현예에 따른 마이크로 홈이 있는 납작한 섬유의 제조방법을 나타내는 도면이다.

도 2는 본 발명의 일 구현예에 따른 납작한 섬유의 크기 및 기계적 특성을 나타내는 도면이다.

도 3은 본 발명의 일 구현예에 따른 양쪽에 서로 다른 마이크로 홈 패턴을 가지는 납작한 섬유를 나타내는 도면이다.

도 4는 본 발명의 일 구현예에 따른 마이크로 홈이 있는 납작한 섬유 상에의 세포 지지를 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 이하에서, 본 발명의 여러 측면 및 다양한 구현예에 대해 더욱 구체적으로 살펴보도록 한다.
- [0019] 본 발명의 일측면에 따르면, 마이크로 섬유로서;
- [0020] 상기 마이크로 섬유의 종횡비는 2-100이고, 상기 종횡비는 상기 마이크로 섬유의 폭/높이의 비율을 의미하며;
- [0021] 상기 마이크로 섬유의 상부 표면 및 하부 표면 중 하나 이상의 표면에 길이 방향의 홈이 1개 이상 형성되어 있는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유가 개시된다.
- [0022] 본 발명의 일 구현예에 따른 납작한 마이크로 섬유는 섬유면이 평편하여 세포의 성장 및 관찰이 매우 용이하고, 길이 방향의 홈이 형성되어 마이크로 구조물을 이루므로 세포의 배열을 일정한 방향으로 조절할 수 있는 장점이 있다.
- [0023] 본 발명에 따른 납작한 마이크로 섬유의 종횡비를 조절함에 따라, 재건하고자 하는 조직의 종류에 따라 섬유 모양의 변형이 용이하다. 그러나, 특히 종횡비가 2-100 범위에 있어야 세포의 안정적인 성장이 가능하다는 점을 확인하였다.
- [0024] 특히, 종횡비가 4-50인 것이 바람직하며, 4 미만인 경우에는 섬유의 두께가 두꺼워짐에 따라 세포에 고정되기 쉽지 않을 수 있고 2차원(2D) 환경에서 연구를 적용하기 어려운 문제점이 있을 수 있으며, 반면 50을 초과하는 경우에는 섬유의 두께가 매우 얇아 섬유가 끊어질 수 있는 문제점이 있다.
- [0025] 구체적인 일 구현예에 따르면, 상기 마이크로 섬유의 폭은 10-300 μm , 바람직하게는 50-200 μm 이고, 상기 마이크로 섬유의 높이는 1-10 μm 이고, 바람직하게는 2-8 μm 이다.
- [0026] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 길이 방향의 홈은 2개 이상이고,
- [0027] 상기 2개 이상의 길이 방향 홈은 폭 방향으로 규칙적으로 배열되어 형성되어 있으며,
- [0028] 상기 홈의 산과 골 사이의 깊이는 상기 마이크로 섬유 높이의 1/10-1/2이고,
- [0029] 상기 산과 상기 골은 상기 홈의 가장 높은 곳과 가장 낮은 곳을 의미하는 것을 특징으로 한다.
- [0030] 길이 방향의 홈이 2개 이상 존재하고, 이러한 2개 이상의 길이 방향 홈이 폭 방향에서 보았을 때 규칙적인 간격으로 위치하며, 또한 마이크로 섬유의 전체 높이를 기준으로 상기 홈들의 산과 골 사이의 깊이가 상기 범위에 있는 조건을 동시에 만족할 때 세포가 상기 마이크로 섬유의 표면을 벗어나지 않고 조절 가능한 범위 내에서 성장할 수 있음을 확인하였다.
- [0031] 본 발명의 다른 구현예에 있어서, 상기 홈은 상기 마이크로 섬유의 상부 표면 및 하부 표면 모두에 각각 2개 이상씩 형성되어 있고,
- [0032] 상기 마이크로 섬유의 상부 표면에 위치한 홈과 상기 마이크로 섬유의 하부 표면에 위치한 홈은 폭 방향으로 규칙적인 간격으로 배열되어 형성되어 있으며,
- [0033] 상기 상부 표면의 홈과 상기 하부 표면의 홈은 산과 골 사이의 깊이, 개수, 사이 간격 중에서 선택된 1개 이상의 구조 파라미터가 서로 다른 것을 특징으로 한다.
- [0034] 배양 또는 재생의 대상이 되는 세포는 세포마다 성장을 위해 선호하는 홈의 깊이, 개수, 사이 간격 등이 서로 다를 수 있으며, 본 발명의 일 구현예에 따라 상기 상부 표면의 홈과 상기 하부 표면의 홈은 산과 골 사이의 깊이, 개수, 사이 간격 중에서 선택된 구조 파라미터(dimension parameter)를 서로 다르게 형성시킴으로써, 상부 표면과 하부 표면에 서로 다른 종류의 세포를 동시에 배양할 수 있도록 구성할 수 있다.
- [0035] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 마이크로 섬유를 포함하는 세포 배양 재생기로서;
- [0036] 상기 마이크로 섬유의 종횡비는 2-100이고, 상기 종횡비는 상기 마이크로 섬유의 폭/높이의 비율을 의미하며;
- [0037] 상기 마이크로 섬유의 상부 표면 및 하부 표면 중 하나 이상의 표면에 길이 방향의 홈이 1개 이상 형성되어 있고;
- [0038] 상기 세포 배양 재생기는 상기 세포의 배양 또는 재생을 수행하는 것을 특징으로 하는 세포 배양 재생기가 개시된다.
- [0039] 본 발명의 여러 구현예에 따른 세포 배양 재생기로 배양 또는 재생이 가능한 상기 세포의 예에는 힘줄 세포, 인대 세포, 근육 세포, 혈관 세포, 신경세포 중에서 선택된 1종 이상이 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 또한,

상기 근육의 예에는 평활근, 골격근, 심장근과 중에서 선택된 1종 이상이 포함되나, 이에 한정되지 않는다.

- [0040] 또한, 본 발명의 여러 구현예에 따른 세포 배양 재생기를 이용하여 다발로 이루어진 신경조직이나 균일하게 배열되어 있는 근육조직을 모사할 수 있으므로, 조직공학이나 생체조직 재생용 지지체로도 유용하게 이용될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 길이 방향의 홈은 2개 이상이고,
- [0042] 상기 2개 이상의 길이 방향 홈은 폭 방향으로 규칙적으로 배열되어 형성되어 있으며,
- [0043] 상기 홈의 산과 골 사이의 깊이는 상기 마이크로 섬유 높이의 1/10-1/2이고,
- [0044] 상기 산과 상기 골은 상기 홈의 가장 높은 곳과 가장 낮은 곳을 의미하는 것을 특징으로 한다.
- [0045] 본 발명의 다른 구현예에 있어서, 상기 홈은 상기 마이크로 섬유의 상부 표면 및 하부 표면 모두에 각각 2개 이상씩 형성되어 있고,
- [0046] 상기 마이크로 섬유의 상부 표면에 위치한 홈과 상기 마이크로 섬유의 하부 표면에 위치한 홈은 폭 방향으로 규칙적인 간격으로 배열되어 형성되어 있으며,
- [0047] 상기 상부 표면의 홈과 상기 하부 표면의 홈은 산과 골 사이의 깊이, 개수, 사이 간격 중에서 선택된 1개 이상의 구조 파라미터가 서로 다른 것을 특징으로 한다.
- [0048] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, (a) 샘플 유체 투입구, (b) 샘플 유체 채널, (c) 외피 유체 채널, (d) 혼합 유체 반응 채널, (e) 반응 유체 배출구를 포함하는 마이크로 섬유 제조장치로서;
- [0049] 상기 샘플 유체 투입구의 상부 말단을 통해서 상기 샘플 유체가 투입되고, 상기 샘플 유체 투입구의 하부 말단은 상기 샘플 유체 채널의 상부 말단과 연결되어 있으며; 상기 샘플 유체 채널의 하부 말단은 상기 혼합 유체 반응 채널의 상부 말단과 연결되어 있고; 상기 외피 유체 채널의 상부 말단을 통해서 상기 외피 유체가 투입되고, 상기 외피 유체 채널의 하부 말단은 상기 혼합 유체 반응 채널의 ① 상부 말단 또는 ② 상부 말단과 하부 말단 사이에 위치한 제1 지점과 연결되어 있으며;
- [0050] 상기 샘플 유체 채널은 상부 표면 및 하부 표면 중 하나 이상의 표면에 길이 방향의 홈이 1개 이상 형성되어 있고, 상기 홈은 상기 샘플 유체 채널의 ① 상부 말단부터 하부 말단까지 또는 ② 상부 말단과 하부 말단 사이에 위치한 제2 지점부터 하부 말단까지 형성되어 있으며; 상기 샘플 유체 채널의 종횡비는 2-100이고, 상기 종횡비는 상기 샘플 유체 채널의 폭/높이의 비율을 의미하며;
- [0051] 상기 외피 유체 채널을 통해 투입된 외피 유체는 상기 샘플 유체 채널을 통해 투입된 샘플 유체를 둘러싸고, 상기 혼합 유체 반응 채널 내에서 상기 샘플 유체를 고형화된 반응 유체 또는 겔 상태로 반고형화된 반응 유체로 형성시키며, 상기 고형화 또는 반고형화된 반응 유체는 상기 반응 유체 배출구를 통해 배출되고;
- [0052] 상기 반응 유체가 상기 혼합 유체 반응 채널 내에서 고형화된 경우에는 상기 반응 유체는 마이크로 섬유로 형성된 상태로 상기 반응 유체 배출구를 통해 배출되고; 상기 반응 유체가 상기 혼합 유체 반응 채널 내에서 반고형화된 경우에는 상기 반응 유체는 상기 반응 유체 배출구를 통해 배출되고 나서 고형화된 마이크로 섬유로 형성되는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유 제조장치가 개시된다.
- [0053] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 길이 방향의 홈은 2개 이상이고,
- [0054] 상기 2개 이상의 길이 방향 홈은 폭 방향으로 규칙적으로 배열되어 형성되어 있으며,
- [0055] 상기 홈의 산과 골 사이의 깊이는 상기 샘플 유체 채널 높이의 1/100-1/5이고,
- [0056] 상기 산과 상기 골은 상기 홈의 가장 높은 곳과 가장 낮은 곳을 의미하는 것을 특징으로 한다.
- [0057] 본 발명의 다른 구현예에 있어서, 상기 홈은 상기 샘플 유체 채널의 상부 표면 및 하부 표면 모두에 각각 2개 이상씩 형성되어 있고,
- [0058] 상기 샘플 유체 채널의 상부 표면에 위치한 홈과 상기 샘플 유체 채널의 하부 표면에 위치한 홈은 폭 방향으로 규칙적인 간격으로 배열되어 형성되어 있으며,
- [0059] 상기 상부 표면의 홈과 상기 하부 표면의 홈은 산과 골 사이의 깊이, 개수, 사이 간격 중에서 선택된 1개 이상의 구조 파라미터가 서로 다른 것을 특징으로 한다.

- [0060] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 납작한 마이크로 섬유 상에,
- [0061] 홈이 파져있는 패턴이 형성되어 있는 마이크로 구조물을 포함하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유의 제조방법으로서, 도 1a에 나타낸 바와 같이, (a) 샘플 유체 투입구, (b) 샘플 유체 채널, (c) 외피 유체 채널, (d) 혼합 유체 반응 채널, (e) 반응 유체 배출구로 구성되는 단면이 사각형이고 홈이 있는 마이크로 섬유 제조장치를 사용하여,
- [0062] (A) 상기 장치의 샘플 채널을 통해 샘플 유체를 주입하고, 외피 채널을 통해 외피 유체를 주입한 후, 경화시켜 섬유를 얻는 단계; 및
- [0063] (B) 상기 단계 (A)의 경화된 섬유는 사출구를 통해 사출시키는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유의 제조방법이 개시된다.
- [0064] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 제조방법은 매우 간단하고, 종래 정형화 표준화된 방식이 없는 문제점을 해결할 수 있고, 특히 샘플 채널에서 주입되는 샘플 유체는 외피 채널을 통해 주입되는 외피 유체에 의해 섬유가 납작해짐과 동시에 중합되는 효과가 있으므로, 섬유의 제조시간이 절약되는 장점이 있다.
- [0065] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 외피 유체 및 샘플 유체의 유량(flow rate)은 각각 15-25 ml/h 및 10-30 ml/min 인 것을 특징으로 한다.
- [0066] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 제조방법에서 외피 유체 및 샘플 유체의 유량은 납작한 섬유 및 홈이 있는 패턴의 모양 및 크기를 결정하는 중요한 요소이다. 상기 범위를 벗어나는 경우, 특히 외피 유체 유량이 15 ml/h 미만의 속도로 사출되는 경우에는 섬유의 두께가 두꺼워져 중합비가 커짐에 따라 세포가 지지체에 고정되기 어렵고, 세포 배양 시, 세포들의 네트워크가 형성되지 못하는 문제점이 있으며, 2차원(2D) 환경에서 연구를 적용하기 어려운 문제점이 있다. 또한 25 ml/h 초과하는 속도로 사출되는 경우에는 섬유의 두께가 얇아져 섬유의 중합비가 작아 섬유가 끊어질 수 있는 문제점이 있으며, 패턴이 없는 섬유와 유사한 형태로서 세포들이 랜덤으로 배양될 수 있는 문제점이 있다.
- [0067] 본 발명의 다른 구현예에 있어서, 상기 샘플 유체는 1-10 w/v%의 알지네이트인 것을 특징으로 한다.
- [0068] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 샘플 유체 즉, 알지네이트의 농도를 조절함에 따라 섬유의 생분해성을 제어할 수 있으므로 생체 내 삽입 시 지지체의 분해시간을 제어할 수 있다. 그러나, 상기 알지네이트가 1 w/v% 미만의 농도로 첨가되는 경우에는 섬유의 두께가 얇아져 장시간 동안 패턴을 유지하기가 어렵고 생분해성 시간이 짧으므로 세포 분화시간이 충분하지 않은 문제점이 있고, 10 w/v% 초과 농도로 첨가되는 경우에는 생분해성 시간이 오래 걸리는 문제점이 있다.
- [0069] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어서, 상기 외피 유체는 (i) 칼슘 클로라이드, 소듐 클로라이드 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 제1 외피 물질을 (ii) 물, 세포 배양액, PBS, 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 제2 외피 물질에 용해시킨 용액인 것을 특징으로 한다.
- [0070] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, (a) 샘플 유체 투입구, (b) 샘플 유체 채널, (c) 외피 유체 채널, (d) 혼합 유체 반응 채널, (e) 반응 유체 배출구를 포함하는 마이크로 섬유 제조장치의 제조방법으로서;
- [0071] (1) Si-웨이퍼 상에 감광제로 SU-8를 스핀 코팅한 후, 패턴을 위한 포토-마스크를 이용하여 SU-8 주형을 제조하는 단계;
- [0072] (2) 상기 단계 (1)에서 얻은 SU-8 주형을 이용하고, PDMS(polydimethylsiloxane) 베이스와 경화제를 5-15 : 1의 중량비로 혼합한 혼합물을 사용하여 동일한 모양의 주물을 두 개 제조한 후, 상기 주물에 산소 플라즈마를 증착하는 단계; 및
- [0073] (3) 상기 단계 (2)에서 얻은 SU-8 주물의 샘플 채널 및 외피 채널의 입구 부분에 1-2 mm 크기로 구멍을 뚫어 유체를 흘릴 수 있도록 입구를 제조한 후 본딩하여, 동축형 홈이 있는 마이크로 섬유 제조장치를 얻는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 마이크로 섬유 제조장치의 제조방법이 개시된다.
- [0074] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 마이크로 섬유 제조장치는 종래의 포토-리소그래피(photo-lithography) 방법 또는 소프트-리소그래피(soft-lithography) 방법을 이용하여 PDMS(polydimethylsiloxane) 기반의 마이크로 유체 칩을 제조할 수 있다.
- [0075] 또한, 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 마이크로 섬유 제조장치는 제조방법 및 조립방법이 매우 간단하여

종래 공극이 균일하지 못하고, 공극간의 연결성도 좋지 못해 세포의 증식 및 분화를 위한 적절한 환경을 제공하지 못하는 문제점을 해결할 수 있고, 뿐만 아니라 채널의 마이크로 미터 규모의 홈의 크기 및 홈의 개수를 조절하는 등의 패턴을 조절할 수 있으므로 세포의 종류 및 성질에 따라 변경이 가능한 장점이 있다.

[0076] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 납작한 마이크로 섬유 상에, 홈이 파져있는 패턴이 형성되어 있는 마이크로 구조물을 포함하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유를 포함하는 혈관 재생용 키트, 근육 재생용 키트 등이 개시된다.

[0077] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 납작한 마이크로 섬유 상에, 홈이 파져있는 패턴이 형성되어 있는 마이크로 구조물을 포함하는 세포 배양용 납작한 마이크로 섬유를 포함하여 세포를 성장시키는 방법이 개시된다.

[0078] 이하에서 실시예 등을 통해 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 하며, 다만 이하에 실시예 등에 의해 본 발명의 범위와 내용이 축소되거나 제한되어 해석될 수 없다. 또한, 이하의 실시예를 포함한 본 발명의 개시 내용에 기초한다면, 구체적으로 실험 결과가 제시되지 않은 본 발명을 통상의 기술자가 용이하게 실시할 수 있음은 명백하다.

[0079] 실시예 1: 홈이 있는 납작한 마이크로 섬유의 제조

[0080] 본 발명에 따른 마이크로 홈이 있는 납작한 채널을 제조하기 위해, 일반적인 소프트-리소그래피(soft-lithography) 법을 이용하여 PDMS(polydimethylsiloxane) 슬릿 채널을 제조하였다.

[0081] 동축형 홈이 있는 슬릿 채널은 산소 플라즈마 처리에 의해 두 개의 홈이 있는 PDMS 채널을 일직선으로 맞추고, 접합시켜 제조하였다. 상기 미세유체 채널은 도 1에 나타내었다. 샘플 유체(1-4 w/v% 알긴산 나트륨, 시그마, USA) 및 외피(sheath) 유체(10 mL의 증류수에 녹인 0.3 g 칼슘 염화물, 시그마) 두 용액을 입구에 주입하였다. 각 유체의 흐름 속도는 주사기 펌프를 사용하였고, 샘플 유량은 10-30 ml/min, 외피 유량은 15-25 ml/h로 제어하였다. 상기 홈이 있는 플랫폼 섬유는 변형 또는 단절되는 부분 없이, 반응 채널에 지속적으로 사출시키고, CaCl₂(Movie 2, Supporting Information) 을 포함하는 페트리 접시에 압출시켰다.

[0082] 사출된 섬유는 모터 외피를 조절할 수 있는 회전식 아크릴 패(acrylic spool; 가로 15-20 mm, 세로 2 mm) 을 이용하여 감았다. 마이크로모터(PGM30-2838E, motorbank, 한국)로 구성된 직류(DC)를 이용하였고, 효율적인 DC는 6-12 V의 범위이다. SEM 이미지는 50-100 % 에탄올 용액에서 섬유를 탈수시킨 후, 80 °C 오븐에서 밤새도록 건조시킨 후, 얻었다.

[0083] 비교예 1: 매끄럽고 납작한 마이크로 섬유의 제조

[0084] 상기 실시예 1에서 홈이 있는 슬릿 채널을 사용하여 홈이 있는 납작한 섬유를 얻는 대신 홈이 없는 슬릿 채널을 사용하여 매끄럽고 납작한 섬유를 제조하였다.

[0085] 도 1(c)에 나타난 바와 같이, 샘플 채널을 통해 소듐 알지네이트 용액이 사출되었고, 칼슘 클로라이드(CaCl₂) 용액은 두 개의 외피 채널을 통해 제공되었다. 샘플 채널을 통과하여 알지네이트 용액이 이동함에 따라, 상기 유체는 슬릿-형태의 채널의 표면에 새겨진 패턴에 의해 압축되고 변형 되었다(region A'). 또한, 도 1(d)에 나타난 바와 같이, 샘플 채널을 통과한 상기 변형된 유체의 압출은 샘플 유체가 외피 유체에 의해 샘플 유체를 집중적으로 가교되고, 상기 알지네이트 용액이 갑자기 가교될 때, 고분자 가교를 위해 칼슘 이온이 나트륨 이온과 교환하여 칼슘 알지네이트를 형성한다(region B'). 상기 알지네이트 샘플 유체의 좁은 폭 및 두께는 샘플스트림을 통해 칼슘 이온의 확산을 빠르게 촉진시키고, 빠른 가교를 가능하게 한다. 상기 고체화된 납작한 섬유는 외피 유체 내 윤활제로 작용하는 섬유로서, 상기 반응채널로부터 쉽게 압출된다.

[0086] 도 1e는 형광 비드로 염색된 홈이 있는 납작한 섬유와 아크릴 패 주위에 홈이 있는 납작한 섬유가 감겨있는 도면이 포함된 공초점 이미지를 나타내는 도면으로, 상기 섬유 및 홈에 새겨진 패턴의 폭은 흐름 집중 효과(flow focusing effect)에 의해 샘플 채널 폭의 약 1/3정도이고, 상기 흐름 집중 외피섬의 유리한 특징은 오직 마이크로메터-스케일 유체 효과를 이용하여 섬유 크기를 감소시킬 수 있다.

[0087] 도 2(a)는 사출구에서 배출되는 납작한 섬유를 측면에서 촬영한 사진이다. 사출된 납작한 섬유는 CaCl_2 가 담긴 페트리 디쉬에 축적되거나 아크릴 패에 감아 사용하였다. 도 2(b)는 경화 시키는 유체의 유량에 따른 납작한 섬유의 모양을 나타내는 도면으로, 유량이 올라갈수록 섬유의 두께는 매우 낮아지는 것이 확인되었다(left: 15 mL/h; middle: 20 mL/h; right: 25 mL/h). 도 2(c)는 샘플 유량과 경화시키는 유체(이하, 외피(sheath)라 한다.)의 유량에 따른 섬유의 가로세로비(Asspect ratio) 그래프이다. 도 2(d)는 역시 유량의 변화에 따라 사출 속도를 측정한 그래프이다. 도 2(e)는 6채널 샘플을 이용하여 평행하게 코딩된 섬유의 3차원 형광 현미경 사진이다. 샘플의 개수를 늘림으로써 여러 다른 물질로 구성된 납작한 섬유를 제작할 수 있다. 도 2(f)는 1 w/v%의 알지네이트 농도의 샘플을 이용하여 제작한 섬유의 전자현미경 사진이다. 도 2(g)는 이를 확대해 보면 표면이 일정한 방향으로 결이 나있음을 알 수 있다. 이와 같이 농도가 낮은 샘플을 이용하여 제작할 경우, 외피 유체에 의해 섬유에 결을 만들 수 있다. 도 2(h)는 4 w/v% 농도의 알지네이트를 이용해 제작한 섬유의 전자현미경 사진이다. 도 2(i)에서 보는 바와 같이, 표면이 매우 조밀한 하이드로겔 결집체로 이루어져 있음을 알 수 있다. 도 2(j)와 도 2(k)는 1, 2, 3 및 4 w/v%로 제작한 알지네이트 섬유를 시간 간격을 두고 촬영한 전자 현미경 사진으로, 농도가 높을수록 생분해성이 떨어지고 더 장시간 패턴을 유지하고 있음을 알 수 있다. 스케일바는 각각 도 2(b) : 500 μm , 도 2(e) : 50 μm , 도 2(g), 2(i), 2(j) : 200 μm , 도 2(k) : 20 μm 및 도 2(f), 2(h) : 100 μm 이다.

[0088] 도 3은 납작한 섬유 위에 마이크로 구조물에 관한 연구 결과를 보여준다. 도 3(a)는 마이크로 구조물을 포함하지 않게 제작한 납작한 섬유 도 3(b)는 마이크로 구조물을 포함한 납작한 섬유 도 3(c)는 다른 개수의 마이크로 구조물을 포함하는 납작한 섬유(5, 7개) 도 3(d)는 5개의 마이크로구조물을 포함하는 납작한 섬유 도 3(e)는 3(d)의 단면, 도 3(f)는 3(e)를 확대한 전자현미경 사진이다. 도 3(g)는 양면에 다른 개수의 마이크로 구조물을 포함하는 납작한 섬유(윗면 5개, 아랫면 7개) 섬유의 주성분은 물을 포함하는 하이드로겔이기 때문에 마르는 경우 수축되는 성질이 있다. 도 3(h)는 섬유가 수축됨에 따라 변화하는 마이크로 구조물의 크기를 측정한 그래프이다. 도 3(i)는 섬유를 이용하여 주물한 PDMS 패턴을 촬영한 전자현미경 사진이다. 그림의 스케일은 각각 도 3(a), 도 3(b) : 100 μm , 도 3(c), 도 3(i) : 20 μm , 도 3(d), 도 3(g) : 50 μm , 도 3(e) : 10 μm 및 도 3(f) : 3 μm 이다.

[0089] 실험예 1: 뉴런의 분리

[0090] 본 발명에서 사용된 프로토콜은 고려 대학교(No. KUIACUC-20120216-2)의 동물실험 관련 위원회(IACUC)에 의해 승인되었다. 앞에서 설명한대로 쥐 배아의 대뇌 피질 신경 세포 배양을 준비 하였다. 간단하게, 쥐의 배아 대뇌 피질은 임신 16일차에서 얻었다. 피질은 미세가위(microscissors)를 사용하여 두 반구의 후두 피질에서 분리하였고, 절개 후, 세포는 3 ml의 HBSS(Hanks' balanced salt solution, 칼슘 및 마그네슘 비포함)의 TrypLE(trypsin replacement enzyme reagent)을 사용하여 기계적으로 해리시킨 후, HBSS(칼슘 및 마그네슘 포함)를 사용하여 두 번 세척하였다. 분리 후, 분산되지 않은 조직을 가라앉힌 후, 상층액은 70 μm 나일론 필터를 사용하여 여과하였다. 세포는 GIBCO-27 보충제가 첨가된 특이적 배양 배지(neurobasal medium), 200 mM L-글루타민, 및 10 ng/mL 신경 성장 인자(NGF)(모든 시약은 인비트로젠(Invitrogen)사, USA에서 구입하여 사용)로 배양하였다. 상기 세포 배양 배지는 2일에 한 번씩 교환하였다. 상기 세포는 부드럽고 흠이 있는 플랫 섬유 상에 파종하였다. 상기 세포는 부드럽고 흠이 있는 섬유에서 다르게 이동하였다. 세포는 5일 동안 배양하였고, 상기 세포 성장 및 배열은 공초점 현미경(confocal microscopy) 및 SEM을 이용하여 측정하였다.

[0091] 도 4(a)에 나타난 바와 같이, 신경세포는 2차원 배양에서 마이크로 혹은 나노 사이즈의 구조물을 잡고 성장하려는 성질을 갖는다. 이에, 일반적으로 마이크로 구조물이 없는 경우에는 납작한 섬유의 모서리 부분으로 많이 이동하고, 본 발명에 따른 흠이 있는 마이크로구조물을 포함한 경우에는 흠의 능선을 따라 구조물에서 성장하는 현상이 확인되었다. 상기 배양된 세포 형태는 신경세포 첫번째 항-NF 항체(신경미세섬유, 초록색) 및 디락테이트(DAPI, 파랑색)인 4,6-디아미디노-2-페닐인돌을 이용하여 면역염색법을 이용하여 측정한 결과, 도 4(b)에 나타난 바와 같이, 굴곡이 없는 섬유상(smooth fiber)에서 대부분의 신경세포는 섬유의 가장자리로 이동하여 섬유와 엉켜 응집되어 그물망을 형성하는 반면, 도 4(c)에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 마이크로 구조물을 포함하는 섬유 상의 신경세포는 섬유면에 고루 분포할 뿐 아니라 흠을 따라 축수를 뻗는 것으로 확인되었으며, 이에, 신경세포 클러스터를 제공하고, 신경돌기는 능선을 따라 네트워크를 형성하는 것으로 확인되었다. 또한, SEM 이미지를 분석한 결과, 도 4(d)에 나타난 바와 같이, 신경세포 클러스터는 능선에서 성장하고, 흠의 길이를

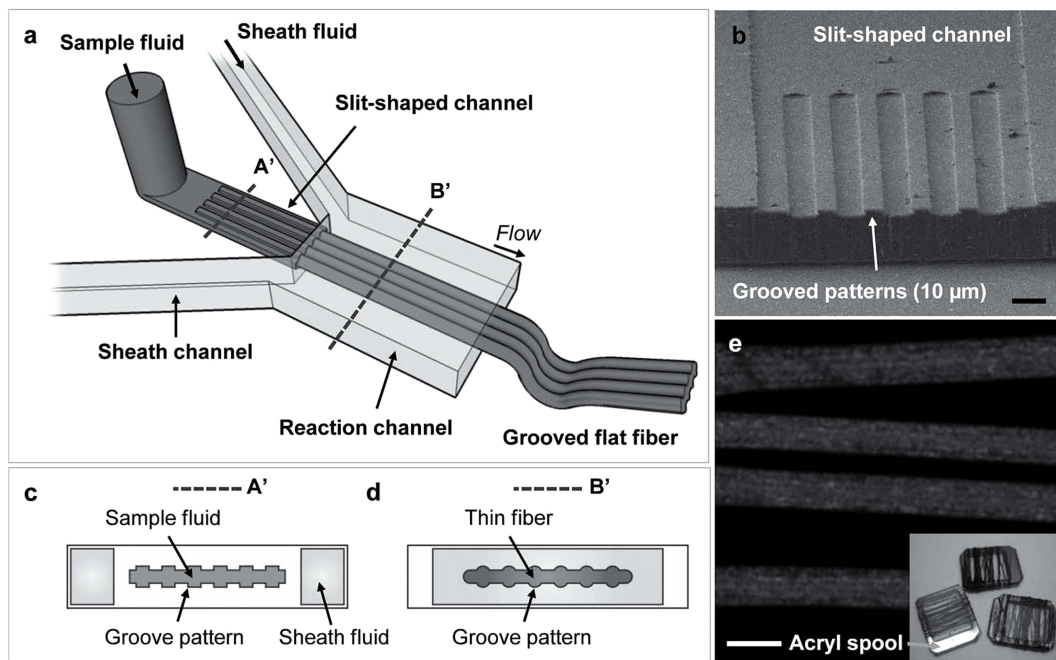
따라 신경돌기 다발과 연결되어 있는 것으로 확인된 반면, 도 4(e)에 나타난 바와 같이, 굴곡이 없는 납작한 섬유에서는 섬유 가장자리에 축적된 신경세포는 불규칙적으로 네트워크를 형성하는 것으로 확인되었다. 나아가, 도 4(f)에 나타난 바와 같이, 섬유의 길이 방향과 신경세포의 축수부분(neurite)의 각도를 측정한 결과, 도 4(g)에 나타난 그래프와 같이, 납작한 마이크로 섬유 상에서 배열되어 성장하는 것으로 확인되었다. 본 발명에 따른 홈이 있는 섬유의 정렬 각도는 0° 주위에 좁게 분포되어 있고, 대부분의 신경돌기는 섬유를 따라 좁게 정렬이 되는 것으로 확인되었다. 또한, 도 4(h) 및 도 4(i)는 근육 세포를 이용하여 실험한 결과로서, 섬유 상에 정렬된 신경돌기와 같이, 상기 근육세포 역시 본 발명에 따른 홈이 있는 납작한 섬유 상의 미세한 홈 방향으로 정렬된 반면, 부드러운 섬유 상에의 세포는 무작위로 정렬되는 것을 확인할 수 있다. 도 4(j)의 각도 측정 결과, 그래프를 보면 신경세포와 마찬가지로 납작한 마이크로 섬유 위에서 배열되어 뭉쳐 성장하는 것을 볼 수 있다. 모든 데이터의 스케일은 $50\ \mu\text{m}$ 이다.

[0092]

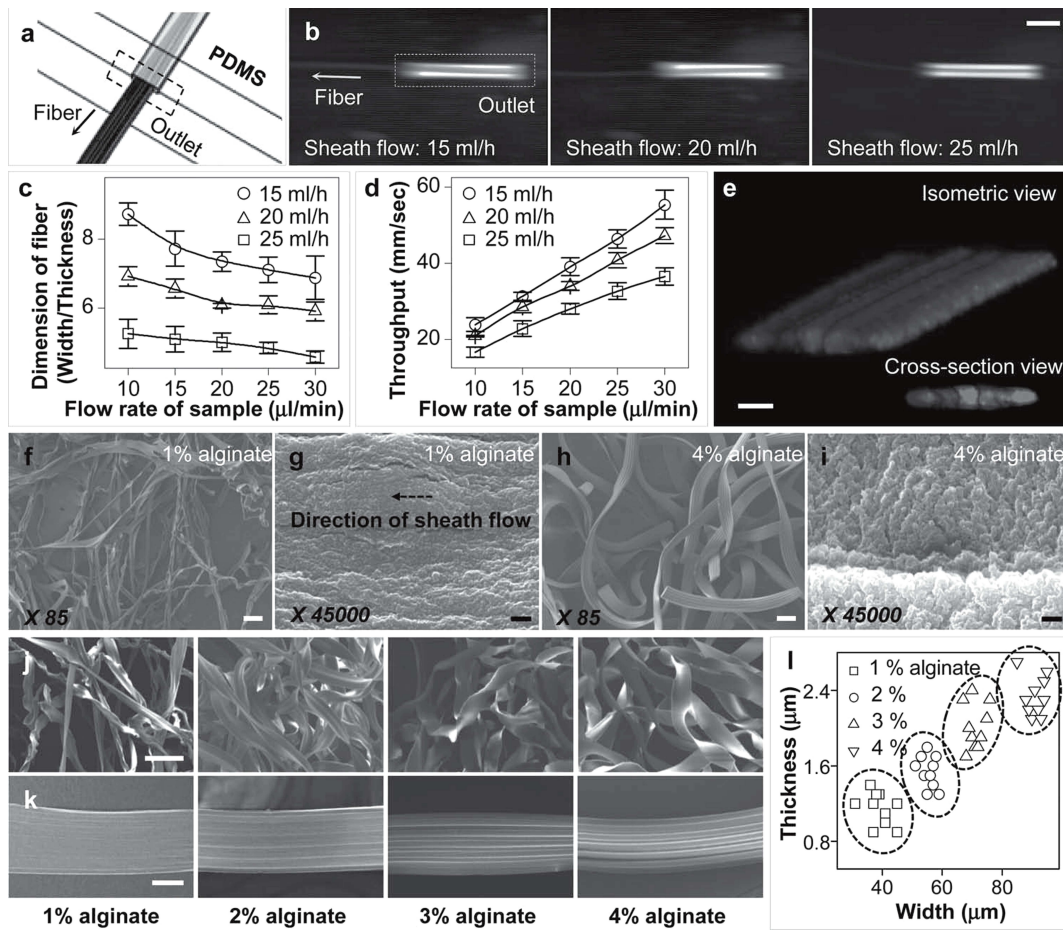
따라서, 본 발명에 미세한 홈이 있는 납작한 섬유는 세포가 매우 가지런해야 하는 재료, 예를 들어, 힘줄, 인대, 혈관의 재생이나 모사된 근육 기술(평활근, 골격근, 심장근) 과 같은 재생의학에 적용할 수 있고, 본 발명에서는 홈이 있는 슬릿 채널 장치(마이크로 섬유 제조장치)를 사용하여 간단한 스핀공법을 이용하는 홈이 파인 패턴이 있는 납작한 섬유의 제조방법 제공하였다. 상기 미세 홈이 있는 납작한 섬유는 세포의 다양한 유형의 형태를 유도할 수 있을 뿐만 아니라, SCI 또는 PNI에서 재생 또는 절단된 근육 조직을 다시 연결하기 위한 스캐폴드와 같은 조직 공학을 목적으로 하는 일직선으로 되어 있는 스캐폴드 구조의 세포의 표면 제어 통합하기 위한 세포 지지체로 사용될 수 있으며, 뿐만 아니라 본 발명에 따른 홈이 있는 슬릿 채널 장치를 이용하여 대량 생산이 가능하다.

도면

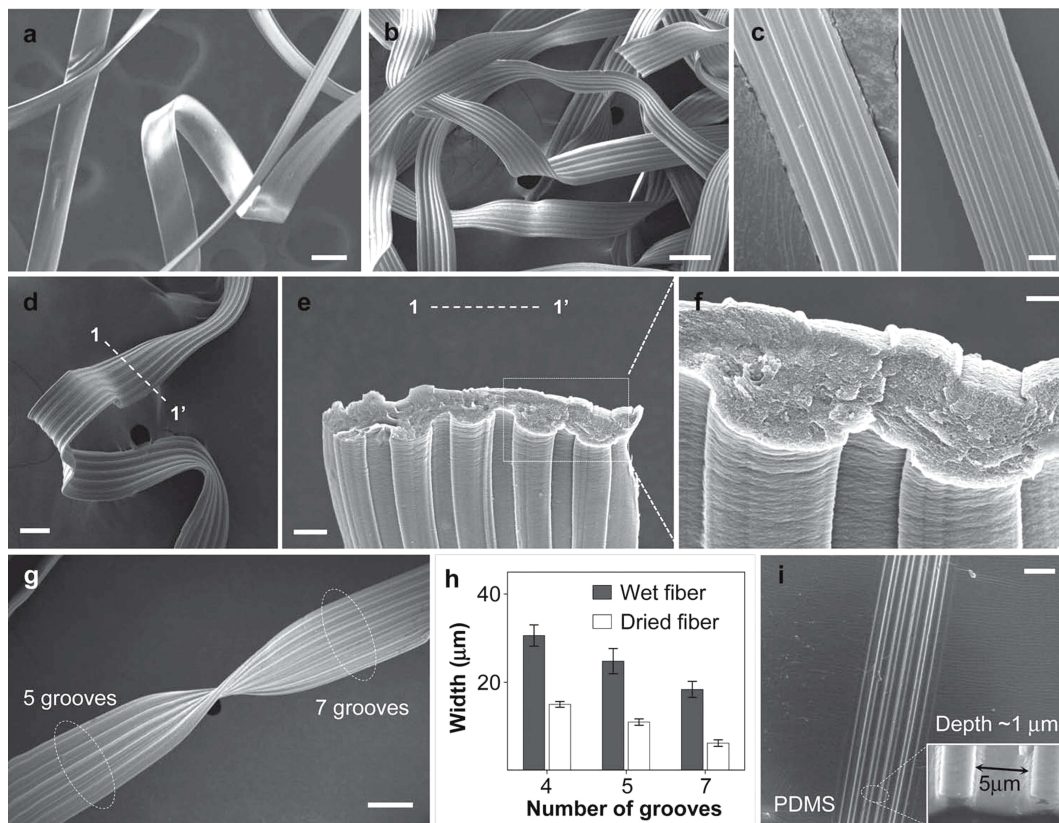
도면1



도면2



도면3



도면4

