



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0017519
(43) 공개일자 2019년02월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/00 (2006.01) C12M 1/12 (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01) C12N 5/071 (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12M 23/02 (2013.01)
C12M 25/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-0102481
(22) 출원일자 2017년08월11일
심사청구일자 2018년08월08일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대 학교)
(72) 발명자
이우기
경기도 군포시 산본로432번길 25, 1222동 1302호 (산본동, 한양목련아파트)
최정석
서울특별시 마포구 백범로25길 63, 104동 404호 (염리동, 염리삼성래미안)
권현도
경상북도 안동시 강남1길 98-23, 305동 506호 (정하동, 현진에버빌3차)
(74) 대리인
네이트특허법인

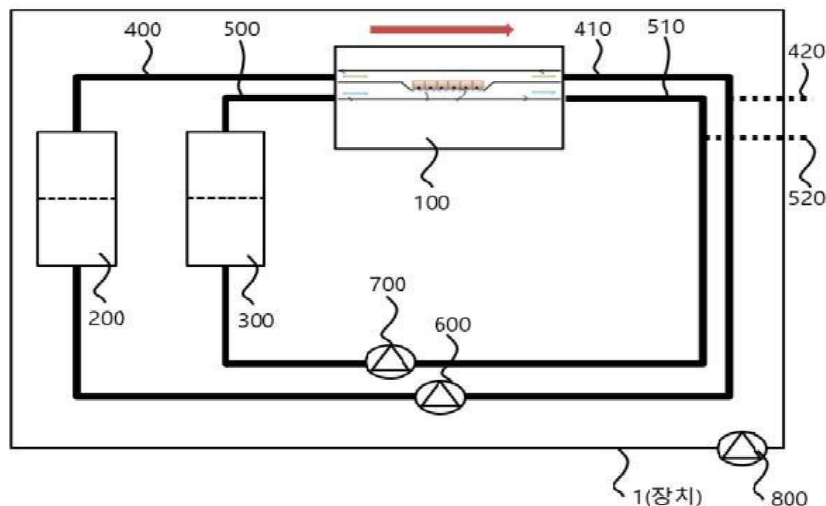
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

(57) 요약

본 발명은 목표하는 세포를 배양하기 위해 복수의 매질을 구비하여 상기 매질을 관류하도록 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템에 있어서, 하나이상의 표목 세포를 배양하는 세포 배양부(100)와; 상기 세포 배양부의 표목 세포를 통류하는 내측 매질을 가지는 내관부(200)와; 상기 세포 배양부의 표목 세포를 인접하여 흐르는 외측 매질을 가지는 외관부(300)를 포함한다. 본 발명에 의하면, 도관세포와 선세포를 배양함으로써 타액선의 중요한 세포 대부분인 타액을 생성하는 선세포, 타액을 이동하는 도관세포 모두를 모사할 수 있게 된다. 이에 따라 상기 세포가 필요한 환자 및 실험체에게 실제의 타액선과 유사한 구조를 지닌 생체 적합적 환경에서 배양된 세포를 제공함으로써, 치료상, 연구상으로 유의한 효과를 기대할 수 있게 된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12M 41/00 (2013.01)

C12M 41/30 (2013.01)

C12N 5/0633 (2013.01)

C12N 5/069 (2013.01)

C12N 2502/098 (2013.01)

C12N 2502/28 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016R1D1A1A02937416

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 기본연구지원사업(SGER)

연구과제명 관류 배양 시스템을 이용한 타액선 도관세포의 손상 기전규명 및 핵심 치료 타깃분자 발굴

기 여 율 1/1

주관기관 인하대학교 산학협력단

연구기간 2016.11.01 ~ 2017.10.31

명세서

청구범위

청구항 1

목표하는 세포를 배양하기 위해 복수의 매질을 구비하여 상기 매질을 관류하도록 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템에 있어서,

하나이상의 **표목 세포**를 배양하는 **세포 배양부(100)**와;

상기 세포 배양부의 표목 세포를 통류하는 **내측 매질**을 가지는 **내관부(200)**와;

상기 세포 배양부의 표목 세포를 인접하여 흐르는 **외측 매질**을 가지는 **외관부(300)**를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 **세포 배양부의 표목 세포(110)**는 선세포, 도관세포, 줄기세포 중 하나이상의 세포로 구성되는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 표목 세포의 줄기 세포는 도관 줄기 세포, 인공 다능성 줄기 세포, 간엽계 줄기 세포, 조혈 줄기 세포, 상기 세포들로 분화 유도된 세포 중 하나이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 **세포 배양부(100)**는 그 일면에 상기 표목 세포가 상기 외측 매질과 상호작용할 수 있는 **투과성 구조물(120)**을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 **투과성 구조물(120)**은 상기 표목 세포가 상기 외측 매질과 상호작용함에 있어서, 선택적 투과성을 가지는 매쉬, 멤브레인 중 하나이상의 구조 형태를 가지는 것을 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 **내관부**는 상기 세포 배양부의 표목 세포를 통류하도록 투입하는 **내측 입로(400)** 과 상기 표목 세포를 통류

한 내측 매질을 내보내는 **내측 출로(410)**를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 7

제 1항 내지 6항에 있어서,

상기 **내관부**는 상기 내측 입로(400), 내측 출로(410) 중 하나이상의 회로의 일면에 내측 매질을 분석하기 위한 **내측 분석 출구(420)**를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 **외관부**는 상기 외측 매질이 상기 세포 배양부의 표목 세포를 인접하여 흐르도록 투입하는 **외측 입로(500)**와 상기 표목 세포를 인접하여 흐르는 외측 매질을 내보내는 **외측 출로(510)**으로 구성되는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 9

제 1항 내지 8항에 있어서,

상기 외관부는 상기 외측 입로(500), 외측 출로(510) 중 하나이상의 회로의 일면에 외측 매질을 분석하기 위한 **외측 분석 출구(520)**를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 10

제 1항 내지 6 에 있어서,

상기 내관부의 내측 매질의 속도, 투입량, 성분 중 하나이상을 조절하는 것을 특징으로 하는 **내관 제어부(600)**를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 11

제 9항에 있어서,

상기 내관 제어부에서 조절되는 **내측 매질의 성분**은 전해질 농도, 수소이온 농도, 성장인자, 하나이상의 생체활성인자, 약물 중 하나이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 12

제 1항 내지 6항에 있어서,

상기 외관부의 외측 매질의 속도, 투입량, 성분 중 하나이상을 조절하는 것을 특징으로 하는 **외관 제어부(700)**를 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 외관 제어부에서 조절되는 **외측 매질의 성분**은 전해질 농도, 수소이온 농도, 성장인자, 하나이상의 생체활성인자, 약물 중 하나이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 14

제 1항에 있어서,

상기 세포 배양부, 상기 내관부, 상기 외관부 중 하나이상의 배양 환경을 변화시키는 **환경 통제부(800)**를 더욱 포함하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 15

제 14항에 있어서,

상기 **환경 통제부(800)**는 상기 배양 환경을 변화시킴에 있어서, 상기 각 배양 환경의 온도, 조도, 광도, 기율기, 회전도, 저고도, 직경, 면적 중 하나이상의 요소를 통제하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 16

제 1항에 있어서,

본 장치는 전체 내지 그 일부분이 인체 내지 실험체의 신체에 이식될 수 있는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

청구항 17

제 1항 내지 15항에 있어서,

상기 내관부, 상기 외관부 중 하나이상은 그 직경 내지 면적이 변화함으로서, 상기 매질이 흐르도록 하는 것을 특징으로 하는 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 타액선 도관 세포 배양을 위한 시스템에 관한 것으로서, 3차원적 세포 배양이 가능하도록 유체 시스템을 이용한 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치 및 시스템에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 기존의 세포배양실험은 일반적인 배양용기에서 주기적으로 배양액을 갈아주면서 세포를 성장시키고 관찰하는 생체 내와는 엄연히 다른 환경의 실험이라고 할 수 있다. 이러한 2차원 세포배양기술은 생체를 모사하거나 동등한 3차원 조직학적 특성을 구축할 수 없고, 세포가 체내에서 갖고 있는 특성을 유지할 수 없다. 한편 관류배양은 배양액의 흐름을 통해 세포에 영양을 공급하고 생체 내와 유사한 자극을 지속적으로 주게 된다. 관류배양은 배양액과 다양한 scaffold 및 반투과성 메쉬(mesh)를 이용하여 생체와 비슷한 물리적 환경을 제공하여 세포성장 및 이후의 실험에 있어 일반적인 세포배양 보다 생체에 적합한 환경을 제공함으로써 정확한 실험 결과를 얻을 수 있다는 장점이 있다. 세포는 주위 환경의 변화에도 민감하게 반응하기 때문에 3D 환경에서의 세포배양 연구가 중요한 이슈가 된다. 따라서, 3차원 세포배양기술에 관류배양기술을 통한 타액선 도관 세포에 다양한 자극

을 주어 인체 내에서 나타나는 다양한 현상에 빗대어 세포를 관찰하고 분석할 수 있으며, 특정한 요소, 환경, 약물 및 치료 등에 대한 다양한 연구를 생체를 모사하여 체계적으로 연구를 할 수 있는 장점이 있다. 타액선 조직은 타액을 생성하는 선포 (acinar unit)와 생성된 타액이 배출되는 도관 (ductal compartment)으로 구성되어 있다. 도관 세포는 끊임없이 타액을 만들며 타액의 흐름에 자극을 받기 때문에 관류 시스템을 이용한 배양이 타액선 도관의 환경을 잘 반영할 수 있어 연구에 매우 가치 있는 정보를 제공할 것으로 생각된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명은 인체 내 조직의 타액선 도관조직을 채취하여 관류 배양을 통해 생체 내 모사가 가능한 배양시스템의 제공을 목적으로 한다. 본 발명의 다른 목적 및 차이점은 후술하는 발명의 상세한 설명 및 첨부하는 도면을 통해서 더욱 분명해질 것이다.

과제의 해결 수단

- [0007] 타액선 도관 세포 채취 후 이를 생체 내 조건과 유사한 관류 배양시스템을 제공하는 것이 본 발명의 목적이다. 이를 위하여 본 발명은 이중 관류배양 시스템을 제공한다. 본 발명은 이러한 이중 관류배양 시스템을 통해 정확한 영양분을 세포 배양 시스템에 제공하여 관류 세포 배양 시스템의 제어 및 평가를 가능하게 한다. 본 발명의 관류 세포 배양 시스템은, 이중 배양액 주입채널과 출구채널이 있으며 이 채널들을 통해 세포 배양에 필요한 영양분 및/또는 산소가 공급되고 상기 배양용기에서 세포가 배양된다. 본 발명의 관류 세포 배양 시스템은, 정확한 영양 성분 및 도관세포를 자극인자 및 치료인자의 제공에 관한 제어 가능하고 이를 비교 관찰할 수 있도록 구성되어 도관세포의 반응을 관찰하고 평가하는데 유의하다.

발명의 효과

- [0009] 본 발명에 의하면, 타액선 도관 세포의 3차원 이중 관류 배양을 통해 생체 내 조건과 유사한 환경을 구현하여 타액선 도관 연구의 가치를 증대함에 있다.
- [0010] 본 발명에 의하면, 도관세포와 선세포를 배양함으로써 타액선의 중요한 세포 대부분인 타액을 생성하는 선세포, 타액을 이동하는 도관세포 모두를 모사할 수 있게 된다. 이에 따라 상기 세포가 필요한 환자 및 실험체에게 실제의 타액선과 유사한 구조를 지닌 생체 적합적 환경에서 배양된 세포를 제공함으로써, 치료상, 연구상으로 유의한 효과를 기대할 수 있게 된다.
- [0011] 더불어, 종래의 경우, 도관세포만을 국한하여 살펴봄으로서, 도관을 지나면서 만들어진 타액의 일부 전해질 및 성분의 변화만을 볼 수 있는 한계가 있었다. 하지만, 본 발명에 의하여 도관세포와 선세포 내지 줄기 세포를 배양하면 타액이 만들어지고 변화하는 전과정을 볼 수 있게 됨으로서, 배양에 관한 연구 및 치료의 가능성을 넓힐 수 있게 된다.
- [0012] 더불어, 본 발명에 따르면, 도관세포와 줄기세포를 함께 배양하면 줄기세포의 일부가 도관세포로 분화를 할 수도 있고, 도관세포가 줄기세포 성장인자의 도움을 받아 기능적으로 더 강해질 수 있는 의학적, 연구적 효과를 기대할 수 있게 된다.
- [0013] 더불어, 본 발명에 따르면, 선세포와 줄기세포를 함께 배양하는 것 역시 줄기세포가 선세포로 분화할 수 있고, 선세포의 기능이 줄기세포 성장인자의 도움을 받아 기능적으로 더 강해질 수 있는 의학적, 연구적 효과를 기대할 수 있게 된다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 본 발명에 따른 전체 장치 및 시스템에 대한 대표도이다.

도 2는 본 발명에 따른 세포 배양부의 단면도이다.

도 3은 본 발명에 따른 세포 배양부의 사시도이다.

도 4는 본 발명에 따른 세포 배양부의 내외관부의 연계를 보여주는 사시도이다.

도 5는 본 발명에 따른 내외관부의 면적, 직경의 확장을 보여주는 단면도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용을 첨부된 도 1 부터 도 5까지 참조로 하여 상세하게 설명한다.

[0017] 도1에 의한 본 발명에 따르면, 하나이상의 **표목 세포(110)**를 배양하고자 구비된 **세포 배양부(100)**가 존재한다. 이상적으로는 상기 세포 배양부에 배양되는 세포는 선세포, 도관세포, 줄기세포 중 하나이상으로 하며, 주로 도관세포를 배양하는 기능을 한다. 이때, **세포 배양부(100)**에는 상기 선세포, 도관세포, 줄기세포 중 하나 이상이 섞여서 배양될 수 있다.

[0018] 더불어, 본 발명에 따르면, 타액, 타액 성분 모사액, 혈액, 혈액 성분 모사액, 배양 자극 약물 중 하나 이상의 매질이 **내관부(200)** 내지 **외관부(300)**을 따라 흐르는 것을 기본 구조로 한다. 이상적으로는 상기 **내관부(200)**의 **내측 매질(210, 220)**로서 타액 내지 타액 성분 모사액이 **내측 입로(400)**으로 투입되어 상기 **표목 세포(110)**를 순환하여 상기 **내측 출로(410)**로 흘러나감으로서 통류한다. 또한 상기 **외관부(300)**의 **외측 매질(310, 320)**로서는 혈액 내지 혈액 성분 모사액이 상기 **외측 입로(500)**으로 투입되어 상기 **표목 세포(100)**와 인접한 상태에서 순환하며 상기 **외측 출로(510)**로 흘러나가게 된다.

[0019] 이때, 상기 **세포 배양부(100)**에 배양된 하나이상의 **표목 세포(110)**는 상기 내관부의 내측 매질의 물리적, 화학적, 생물학적 작용에 의해 보다 생체 모방적인 배양 환경에서 배양 될 수 있게 된다. 더불어, 상기 **세포 배양부(100)**의 일면에는 **투과성 구조물(120)**이 존재한다. 이에 상기 배양된 **표목 세포(110)**는 상기 **투과성 구조물(120)**을 통해 상기 **외관부(300)**에서 흐르는 **외측 매질(310, 320)**과 지속적으로 상호 작용한다. 이때, 상기 배양된 **표목 세포(110)**는 **외측 매질(310, 320)**로부터 그 성분을 가져오거나, 자신의 성분을 **외측 매질(310, 320)**로 내보냄으로서 상호작용하게 된다. 이에 따라, 상기 **표목 세포(110)**는 보다 생체에 적합한 형태로 배양될 수 있다.

[0020] 더불어, 본 발명에 따르면, 상기 내관부(200)는 그 회로의 일면에 **내측 분석 출구(420)**을 포함한다. 이를 통해, 상기 내관부(200)는 상기 표목 세포(110)를 통류한 내측 매질(210, 220)의 상태 및 성분을 분석하기 위해, 본 발명에 따른 장치의 외부의 분석기로 상기 내측 매질(210, 220)을 흘려 내보낸다.

[0021] 더불어, 본 발명에 따르면, 상기 외관부(300) 역시도 그 회로의 일면에 **외측 분석 출구(520)**을 포함한다. 이를 통해, 상기 외관부(300)는 상기 표목 세포(110)에 인접하여 흐르는 상기 외측 매질(310, 320)의 상태 및 성분을 분석하기 위해, 본 발명에 따른 장치의 외부의 분석기로 상기 외측 매질(310, 320)을 흘려 내보낸다.

[0022] 더불어, 본 발명에 따르면, 상기 표목 세포(110)을 배양함에 있어서 더욱 생체 모사적인 환경을 조성하기 위하여, 상기 내관부(200)의 내측 매질(210, 220)의 속도, 투입량, 성분 중 하나이상을 **내관 제어부(600)**를 통해 조절한다. 이때, 이상적으로 상기 내측 매질(210, 220)이 타액 내지 타액 성분 모사액일 경우에, 조절되는 내측 매질(210, 220)의 조절되는 성분은 전해질 농도, 수소이온 농도, 성장인자, 생체활성인자 중 하나이상을 포함한다. 이를 통해, 실제 피배양 대상 내지 생명체의 타액 조성 환경을 모사함으로써, 표목 세포(110)가 내측 매질(210, 220)의 물리적, 화학적, 생물학적 작용에 자연스레 노출됨으로서 타액선을 위한 도관세포를 보다 생체 적합하게 배양할 수 있게 된다.

[0023] 더불어, 본 발명에 따르면, 상기 표목 세포(110)을 배양함에 있어서 더욱 생체 모사적인 환경을 조성하기 위하여 상기 외관부(300)의 외측 매질(310, 320)의 속도, 투입량, 성분 중 하나이상을 **외관 제어부(700)**를 통해 조절한다. 이때, 이상적으로 상기 외측 매질(310, 320)이 혈액 내지 혈액 성분 모사액일 경우에, 조절되는 외측 매질(310, 320)의 조절되는 성분은 전해질 농도, 수소이온 농도, 성장인자, 생체활성인자 중 하나이상을 포함한다. 이를 통해, 실제 피배양 대상 내지 생명체의 타액 조성 환경을 모사함으로써, 표목 세포(110)가 외측 매질(310, 320)인 혈액 내지 혈액 모사액과 유기적으로 상호 작용할 수 있도록 하여 타액을 위한 도관세포를 보다 생체 적합하게 배양할 수 있게 된다.

[0024] 더불어, 본 발명에 따르면, 표목 세포의 원활한 배양과 배양 응용 연구를 위하여, **환경 통제부(800)**는 상기 세포 배양부(100), 상기 내관부(200), 상기 외관부(300) 중 하나이상의 배양 환경을 변화시킬 수 있다. 이때 상

기 환경 통제부(800)는 상기 세포 배양부(100), 상기 내관부(200), 상기 외관부(300) 중 하나이상의 배양 환경에 있어서, 각 각의 온도를 조절함으로써 실제 피배양 대상 내지 생명체가 운동, 질환, 자연 발열에 따른 체온 변화와 그에 따른 실제 타액 세포와 타액선 및 혈관의 변화를 반영하여 표목 세포의 배양을 실시하도록 한다.

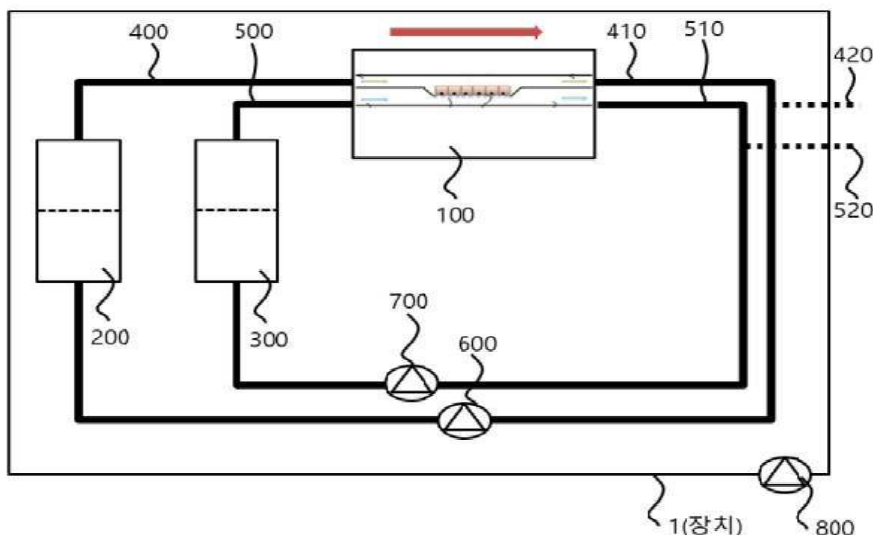
- [0026] 또한 상기 환경 통제부(800)는 각 각의 조도 및 광도를 조절함으로써, 실제 피배양 대상 내지 생명체가 쬔 자 연광, 인공광에 따른 실제 타액 세포와 타액선 및 혈관의 변화를 반영하여 표목 세포의 배양을 실시하도록 한다.
- [0027] 또한 상기 환경 통제부(800)는 각 각의 기울기, 회전도, 저고도를 조절함으로써, 실제 피배양 대상 내지 생명체의 동적 상태 및 정지 상태 그리고 중력 변화에 따른 실제 타액 세포와 타액선 및 혈관의 변화를 반영하여 표목 세포의 배양을 실시하도록 한다.
- [0028] 또한 상기 환경 통제부(800)는 각 각의 직경 면적을 조절함으로써, 실제 피배양 대상 내지 생명체가 동적 상태 및 정지 상태, 온도 변화, 중력 변화 등에 따른 실제 타액 세포와 타액선 및 혈관의 변화를 반영하여 표목 세포의 배양을 실시하도록 한다.
- [0029] 더불어, 본 발명에 따른 장치 및 시스템은 그 자체로 피배양 대상 내지 생명체에 직접 이식되어, 상기 피배양 대상 내지 생명체의 타액선 관련 문제를 직접적으로 해결하도록 한다.

부호의 설명

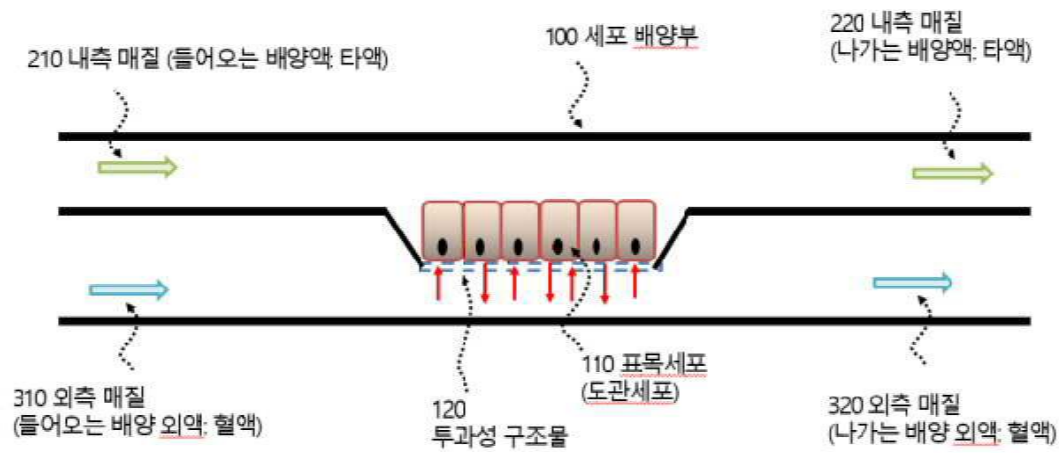
- [0031] 1: 이중 관류 기반의 생체모사형 단층 타액선 도관세포 배양 장치
- 100: 세포 배양부 110: 표목 세포 120:투과성 구조물
- 200: 내관부 210:내관부의 내측 매질(in flow) 220:내관부의 내측 매질(out flow)
- 300: 외관부 310:외관부의 외측 매질(in flow) 320:외관부의 외측 매질(out flow)
- 400: 내측 입로 410: 내측 출로 420: 내관 분석 출구
- 500: 외측 입로 510: 외측 출로 520: 외관 분석 출구
- 600: 내관 제어부 700: 외관 제어부
- 800: 환경 제어부

도면

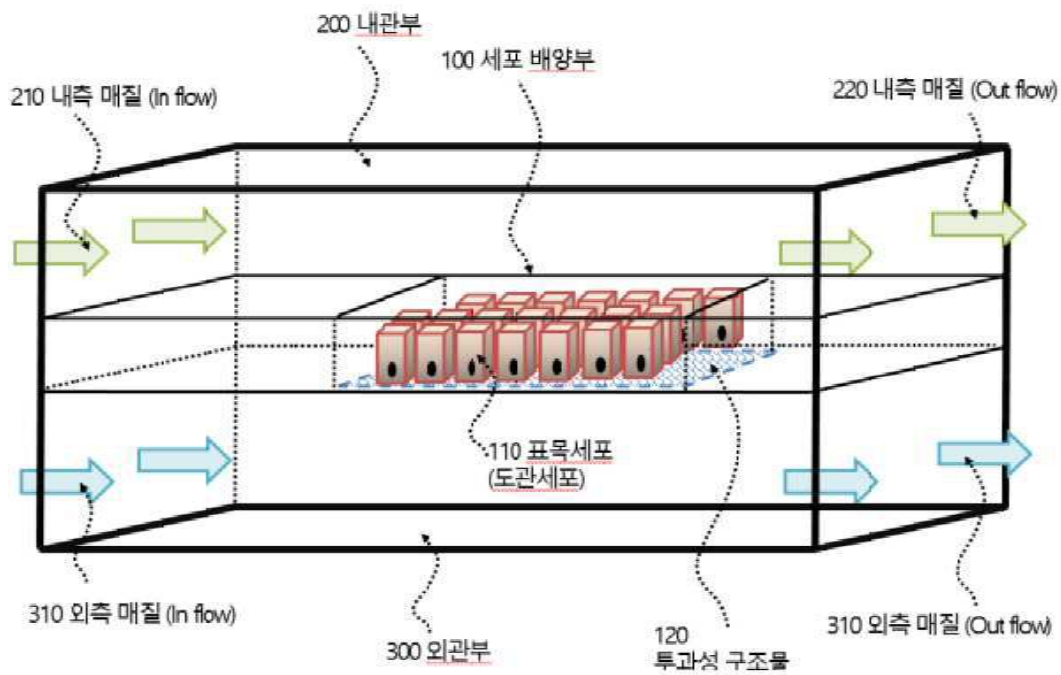
도면1



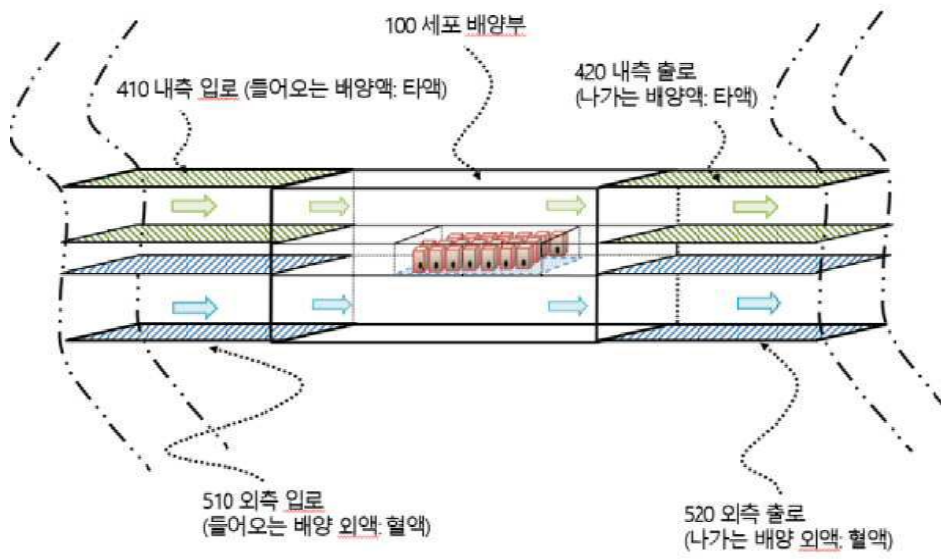
도면2



도면3



도면4



도면5

