



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0100149
(43) 공개일자 2013년09월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C40B 50/06 (2006.01) C40B 60/12 (2006.01)
C12Q 1/02 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7008868
(22) 출원일자(국제) 2011년09월09일
심사청구일자 2013년04월05일
(85) 번역문제출일자 2013년04월05일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/051004
(87) 국제공개번호 WO 2012/034022
국제공개일자 2012년03월15일
(30) 우선권주장
61/381,812 2010년09월10일 미국(US)

(71) 출원인
솔리더스 바이오사이언스, 인코포레이티드
미국 캘리포니아 샌프란시스코 일리노이스 스트리
스 409 슈트 2073 (우: 94158)
삼성전기주식회사
경기도 수원시 영통구 매영로 150 (매탄동)
(72) 발명자
이, 무열
미국 94010 캘리포니아 벨링게임 리넷테 애비뉴
1120
이, 동우
경기도 수원시 장안구 율전동 주공 그린빌 아파트
105-602
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 남앤드남

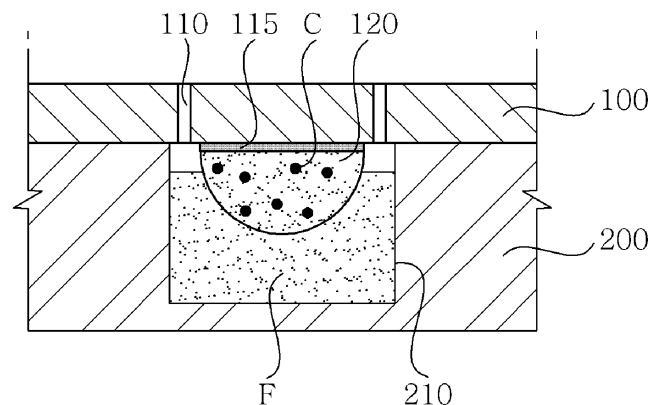
전체 청구항 수 : 총 34 항

(54) 발명의 명칭 마이크로어레이 세포 칩

(57) 요약

본원에는 마이크로어레이 세포 칩이 개시된다. 마이크로어레이 세포 칩은 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스 및 상부 기관의 한 표면으로부터 다른 표면까지 관통하는 쓰루 홀을 갖는 상부 기관, 및 상부 기관과 커플링되고, 바이오매트릭스에 공급되는 시약을 저장하는 웰이 제공되는 하부 기관을 포함한다. 본 발명에 따른 마이크로어레이 세포 칩은 확산을 통해 바이오매트릭스 내에 임베드된 생체재료로 배양 배지 및 시약을 순조롭게 전달할 수 있고, 하부 기관으로부터 상부 기관을 간단히 분리시킴으로써 세척의 용이성을 개선시킬 수 있다. 따라서, 본 발명은 생체환경과 유사한 환경을 제공함으로써 실험의 정확도를 증가시킬 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

정, 세훈

경기도 성남 분당구 정자동 한솔마을 주공 6단지
아파트 605-1701

양, 전성

용인구 파인힐 제일 양지 처인 180-2

구, 보성

경기도 수원시 영통구 매탄동 위'브 하늘채 아파트
116-2205

특허청구의 범위

청구항 1

상부 기관을 포함하는 마이크로어레이 세포 칩으로서, 상기 상부 기관이 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 생체 재료를 캡슐화(encapsulation)시키는 바이오매트릭스(biomatrix), 및 상부 기관의 한 표면으로부터 다른 표면까지 관통하는 하나 이상의 쓰루-홀(through-hole)을 갖는, 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 2

제 1항에 있어서, 일부 또는 전부의 쓰루-홀이, 하부 기관의 상응하는 웰 내에 바이오매트릭스 부피의 적어도 일부가 존재하도록 상부 기관과 맞물리게 되는 경우에, 하부 기관의 상응하는 웰과 외부 공기 사이에 유체 소통을 제공하도록 위치되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 쓰루-홀이 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스의 적어도 하나의 스폿(spot)에 근접하여 위치되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 4

제 3항에 있어서, 상기 스폿 및 상기 쓰루-홀이 상응하는 하부 기관으로부터의 하나의 마이크로웰과 맞물리게 되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 5

제 2항에 있어서, 상기 쓰루-홀이 주위 환경과 하부 기관으로부터의 상응하는 웰 사이의 가스 및/또는 공기의 유체 교환을 가능케 하도록 위치되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 6

상부 기관과 하부 기관을 포함하는 마이크로어레이 세포 칩으로서, 상기 상부 기관은 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스, 및 상부 기관의 한 표면으로부터 다른 표면까지 관통하는 적어도 하나의 쓰루-홀을 갖고 있으며;

상기 하부 기관은 생체재료를 캡슐화시키는 복수의 바이오매트릭스 및 적어도 하나의 쓰루-홀과 맞도록 크기 조절된 복수의 웰을 함유하며, 상부 기관과 맞물리도록 형성되는, 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 7

제 6항에 있어서, 바이오매트릭스가, 바람직하게는, 콜라겐 및 알기네이트로부터 선택되는 하이드로겔 또는 세포의 물질로 형성되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 8

제 6항에 있어서, 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면 사이에 접착층을 추가로 포함하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 9

제 6항에 있어서, 쓰루-홀의 단면 형태가 다각형인 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 10

제 6항에 있어서, 쓰루-홀이 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면의 바깥쪽에 인접하여 형성되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 11

제 6항에 있어서, 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구 면적이 상부 기관의 다른 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구 면적보다 큰 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 12

제 6항에 있어서, 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구가 웰의 수직 표면 상에 위치되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 13

제 6항에 있어서, 바이오매트릭스가 웰에 삽입되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 14

제 6항에 있어서, 상부 기관 및 하부 기관에 기관들을 서로 맞물리게 하고/하거나 커플링시키는 돌출 부분(protruding portion) 및 맞물림 부분(engaging portion)이 제공되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 15

제 6항에 있어서, 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면 상에 형성된 스페이서(spacer)를 추가로 포함하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 16

제 15항에 있어서, 스페이서의 상부 표면에 바이오매트릭스를 캡슐화시키는 접착층이 추가로 제공되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 17

제 15항에 있어서, 바이오매트릭스가 아민기를 포함하고, 스페이서가 폴리(스티렌-코-말레산 무수물)(PSMA)로 형성되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 18

제 15항에 있어서, 쓰루 홀이 스페이서의 바깥쪽에 인접하여 형성되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 19

제 15항에 있어서, 바이오매트릭스 및 스페이서가 웰에 삽입되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 20

제 15항에 있어서, 스페이서의 상부 표면이 바깥쪽 부분으로부터 중심 부분까지 요면(concave) 형성되고, 생체재료가 중심 부분에 모여지는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 21

제 15항에 있어서, 스페이서의 상부 표면에 복수의 요면 부분이 형성되고, 생체재료가 요면 부분에 모여지는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 22

제 15항에 있어서, 상부 기관 및 하부 기관에 기관들을 서로 커플링시키고/시키거나 맞물리게 하는 돌출 부분 및 커플링 부분이 제공되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 23

제 15항에 있어서, 어레이 형태를 갖는 복수의 바이오매트릭스가 형성되고, 웰이 바이오매트릭스와 동일한 어레이 형태를 갖는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 24

제 1항 내지 제 23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 상부 기판이 필라 어레이(pillar array)를 함유하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 25

제 24항에 있어서, 상기 필라 어레이가 컬럼의 상부에 원위 상부 표면과 함께 속이 빈 공동을 갖는 복수의 컬럼을 함유하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 26

제 25항에 있어서, 상기 속이 빈 공동이 섬유 광학 이미징 구성요소를 수용할 수 있도록 크기 조절되는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 27

제 1항 내지 제 26항 중 어느 한 항에 있어서, 바이오매트릭스가 생물학적 재료인 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 28

제 27항에 있어서, 생물학적 재료가 타입 I 콜라겐을 포함하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 29

제 27항에 있어서, 생물학적 재료가 알기네이트를 포함하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 30

제 27항에 있어서, 적어도 1000개, 적어도 3000개 또는 적어도 5000개의 독립된 스폿을 포함하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 31

제 27항에 있어서, 적어도 1080개의 독립적 스폿을 포함하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 32

제 27항에 있어서, 적어도 560개의 독립적 스폿을 포함하는 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 33

제 27항에 있어서, 독립적 스폿 각각이 약 1.2 mm의 중심간 거리와 함께 약 0.6 mm의 크기인 마이크로어레이 세포 칩.

청구항 34

제 32항에 있어서, 560개의 독립적 스폿이 규칙적으로 이격되어 있는 마이크로어레이 세포 칩.

명세서

기술 분야

[0001] 관련 출원(들)

[0002] 본 출원은 2010년 9월 10일에 출원된 미국 가출원 번호 61/381,812호를 우선권으로 주장한다. 상기 출원의 전체 교시는 참조로서 본원에 포함된다.

[0003] 기술 분야

[0004] 본 발명은 마이크로어레이 세포 칩에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 관련 분야의 설명

- [0006] 새로운 약물을 개발하는 과정은 복잡하다. 또한, 새로운 약물 후보의 효능 및 독성을 시험하기 위해 세포 배양이 수행되어야 한다. 일반적으로, 세포 배양 방법은 세포를 2D 표면에 부착시킴으로써 세포를 배양하는 2D 세포 단층 배양, 및 3D 바이오매트릭스(biomatrix)로 세포를 캡슐화(encapsulation)시킴으로써 세포를 배양하는 3D 세포 배양으로 크게 분류될 수 있다. 3D 세포 배양은 일반적으로 2D 세포 배양의 환경보다 적합한 바이오매트릭스 환경을 갖는 것으로 공지되어 있다.
- [0007] 2D 배양은 일반적으로 복수의 웰이 플라스틱 플레이트에 배열되는 미세액가 플레이트(예를 들어, 6-웰, 12-웰, 24-웰, 96-웰, 384-웰, 1536-웰 미세액가 플레이트 등)를 이용한다. 시험관내 미세액가 플레이트 방법은, 특히, 동물 연구 및 궁극적으로는 인간 임상 시험과 비교하는 경우 저비용으로 여러 다수의 병행 실험을 신속히 수행하기 위해 이용될 수 있다. 그러나, 세포가 웰에 고정되기 때문에, 스크리닝되는 화합물, 예를 들어, 약물 또는 약물 후보와 접촉시킨 후에 웰을 세척하는 것이 어렵다. 특히, 상기 문제는 384-웰 또는 1536-웰 미세액가 플레이트와 같이 하나의 플레이트를 이용하여 1회 이상의 실험을 수행하기 위해 웰의 크기가 감소되고 웰의 수가 증가되는 경우에 더욱 심각하다.
- [0008] 보다 작은 부피로 실험을 수행하고, 상기 문제를 극복하기 위해, 세포가 표면 처리된 유리 기관 상에서 캡슐화되는 어레이 기반 칩이 이용될 수 있다. 캡슐화된 세포는 3D 환경으로 존재한다. 이러한 방법은 솔리더스 바이오사이언스, 인코퍼레이티드(Solidus Biosciences, Inc.)사에 의해 개발되었다. 참조로서 본원에 포함되는 USSN 12/091,990호를 참조하라. 실험은 특정 웰의 존재 없이 어레이 형식으로 유기 기관 상에 세포를 캡슐화시키는 콜라겐 또는 알기네이트 미세액적(microdroplet)을 형성시킴으로써 수행되었다. 바람직한 칩은 편평한 기관 상에 자체 내에 세포를 갖는 바이오매트릭스를 배치시킴으로써, 기존의 미세액가 플레이트에 비해 보다 용이하게 세척을 수행하고 부피를 감소시키면서 약물의 독성 시험을 신속히 수행하는 것을 가능케 한다. 그러나, 어레이 기반 세포 칩은 플레이트 상에서 작동되므로, 공기에 노출됨으로써 첨가된 매우 적은 양의 액체(시험 화합물을 함유함)가 증발됨으로 인해 실험 오차가 발생할 가능성이 있다. 그 결과로서, 높은 습도가 유지되는 경우에도 장기간(예를 들어, 하루 초과) 동안 세포를 관찰하는 것이 적합하지가 않다.

발명의 내용

[0009] 발명의 개요

- [0010] 본 발명은 세포에 공급되는 배양 배지 또는 시약(약물 및 약물 후보 및 다른 시험 화합물 뿐만 아니라 효소, DNA, RNA, 항체, 바이러스 등을 추가로 포함함)이 저장되는 웰로 형성된 하부 기관, 및 세포를 캡슐화시키고 배양시키며, 상부 기관과 하부 기관을 결합시킴으로써 세포에 하부 기관의 웰 내의 배양 배지 또는 시약을 직접 전달하는 바이오매트릭스로 형성된 상부 기관을 포함하는 마이크로어레이 세포 칩을 제공하려는 노력에서 만들어졌다.
- [0011] 추가로, 본 발명은 기본적으로 배양 배지 또는 시약이 하부 기관의 웰 내에 포함되므로 배양 배지 또는 시약의 혼합으로 인한 교차 오염을 방지하려는 노력에서 만들어졌으며, 세포를 세척하는 것이 필요한 경우 상부 기관만이 분리되므로 세포의 세척을 용이하게 수행할 수 있다. 추가로, 본 발명은 하부 기관의 웰 내에 포함되는 배양 배지의 충분한 양으로 인해 증발의 영향이 최소화되므로 장기간 동안 세포를 배양하면서 시약의 영향을 시험하려는 노력에서 비롯되었다.
- [0012] 또한, 본 발명은 상부 기관과 하부 기관을 결합시킴으로써 세포가 장기간 동안 배양되는 경우 하부 기관의 웰에서 야기될 수 있는 기포 문제를 해소하기 위해 상부 기관 상에 쓰루 홀(through hole)을 형성시키려는 노력에서 만들어졌다.
- [0013] 또한, 본 발명은 약물의 효능 및 독성 메커니즘을 신속히 시험하고, 여러 시약을 적절히 변형(예를 들어, 유전자 트랜스팩션 또는 RNA 인터페이스(RNA interface)를 통해 특정 목적을 충족시키기 위해 세포를 변형시킴으로써 실험을 수행함)시키기 위해 미세 부피를 갖는 세포를 캡슐화시켜서 인간 또는 동물과 유사한 환경을 제공함으로써, 예측가능한 독성 데이터를 정확하게 확보하고, 복잡하고 고비용인 인간/동물 임상 시험을 대체하는 것을 가능케 하고자 하는 노력에서 비롯되었다.
- [0014] 일 구체예에서, 마이크로어레이 세포 칩은 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스, 및 상부 기관의 한 표면으로부터 다른 표면까지 관통하는 하나 이상의 쓰루-홀을 갖는 상부 기관을 포함한다. 상부 기관 마이크로어레이에서, 일부 또는 전부의 쓰루-홀은 하부 기관의 상응하는 웰과 맞물리도록 위치된다. 쓰루-홀의 일부 또는 전부는 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스의 적어도 하나의 부착부에 근

접하여 존재한다. 부착부 및 쓰루-홀은 상응하는 하부 기관으로부터의 하나의 마이크로웰과 맞물릴 수 있다.

[0015] 본 발명의 바람직한 구체예에 따른 마이크로어레이 세포 칩은 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스, 및 상부 기관의 한 표면으로부터 다른 표면을 관통하는 쓰루-홀을 갖는 상부 기관을 포함한다. 상부 기관은 바이오매트릭스와 접촉될 수 있는 유체를 보유할 수 있는 웰을 갖는 하부 기관과 맞물릴 수 있다.

[0016] 바이오매트릭스는 생체중합체, 세포와 물질 또는 하이드로겔로부터 제조될 수 있다. 바람직하게는, 바이오매트릭스는 미세규모로 성장한 세포를 지지하는 하이드로겔 매트릭스, 예를 들어, 콜라겐 또는 알기네이트일 수 있다.

[0017] 마이크로어레이 세포 칩은 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면 사이에 접착층을 추가로 포함한다. 일 구체예에서, 접착 물질은 기관 표면에 바이오매트릭스 물질을 공유적으로 부착시킨다.

[0018] 쓰루-홀의 단면 표면은 다각형, 원형 또는 기타 형태일 수 있다.

[0019] 쓰루-홀은 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면의 바깥쪽에 인접하여 형성된다.

[0020] 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구 면적은 임의로 상부 기관의 다른 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구 면적보다 크다.

[0021] 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구는 웰의 수직 표면에 위치된다.

[0022] 바람직한 구체예에서, 상부 기관은 바이오매트릭스가 하부 기관 내의 상응하는 웰에 삽입되도록 하부 기관과 커플링(coupling)된다.

[0023] 상부 기관 및 하부 기관에는 하나 이상의 가장자리를 따라 돌출 부분(protruding portion) 또는 립(lip) 및 상부 기관 및 하부 기관이 서로 커플링되거나 맞물리도록 하는 커플링 부분이 제공된다.

[0024] 마이크로어레이 세포 칩은 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면 상에 형성되는 스페이서(spacer)(또는 필라(pillar) 또는 미세컬럼)를 추가로 포함한다.

[0025] 스페이서의 상부 표면은 바람직하게는 바이오매트릭스를 캡슐화시키는 접착층을 제공한다.

[0026] 바이오매트릭스는 바람직하게는 아민기를 포함한다.

[0027] 스페이서는 바람직하게는 PSMA로 형성된다.

[0028] 쓰루-홀은 바람직하게는 스페이서의 바깥쪽에 인접하여 형성되거나 위치된다.

[0029] 바이오매트릭스 및 스페이서는 바람직하게는 하부 및 상부 기관을 맞물리게 한 때에 웰로 삽입되도록 형성된다.

[0030] 스페이서의 상부 표면은 바깥쪽 부분으로부터 중심 부분까지 요면(concave) 형성될 수 있고, 생체재료는 중심 부분에 모여질 수 있다.

[0031] 스페이서의 상부 표면은 복수의 요면 부분과 함께 형성될 수 있고, 생체재료는 요면 부분에 모여질 수 있다.

[0032] 대안적으로, 스페이서 표면은 평면일 수 있다.

[0033] 상부 기관 및 하부 기관에는 상부 기관 및 하부 기관을 서로 커플링시키고 캡슐화시키는 돌출 부분 및 커플링 부분이 제공될 수 있다.

[0034] 어레이 형태를 갖는 복수의 바이오매트릭스가 형성될 수 있고, 웰은 바이오매트릭스와 동일한 어레이 형태를 갖는다.

[0035] 도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 본 발명의 바람직한 구체예에 따른 세포 칩을 개략적으로 나타내는 횡단면도이다;

[0037] 도 2 내지 5는 도 1에 도시된 세포 칩의 변형된 예를 나타내는 횡단면도이다;

[0038] 도 6은 바이오매트릭스 및 웰이 어레이 형태로 배열되는 세포 칩의 사시도이다;

[0039] 도 7A 및 7B는 본 발명에 따른 마이크로어레이 세포 칩의 일부를 나타내는 상부 이미지 및 측면 이미지이다;

[0040] 도 8A 및 8B는 본 발명에 따른 마이크로어레이 세포 칩을 이용하여 시약의 독성 시험에 적용됨으로써 발생하는

이미지이다;

[0041] 도 9는 본 발명에 따른 마이크로어레이 세포 칩을 이용하여 시약의 독성 시험에 적용됨으로써 발생하는 스캔 이미지이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0042] 바람직한 구체예의 설명

[0043] 본 발명의 다양한 특징 및 장점은 하기 수반되는 도면을 참조로 하여 하기 설명으로부터 더욱 명백해질 것이다.

[0044] 본 명세서 및 청구항에서 사용되는 용어 및 단어는 통상적인 의미 또는 사전적 정의로 한정되는 것으로 해석되지 않아야 하며, 이는 본 발명을 수행하기 위해 당업자가 알고 있는 최적의 방법을 가장 적절하게 설명하는 용어의 개념을 본 발명의 발명자가 적절히 정의할 수 있다는 것을 규정으로 하여 본 발명의 기술 범위와 관련된 의미 및 개념을 갖는 것으로 해석되어야 한다.

[0045] 본 발명의 상기 및 기타 목적, 특징 및 장점은 하기 수반되는 도면과 함께 취해지는 하기 상세한 설명으로부터 더욱 명백히 이해될 것이다. 명세서에서, 도면 전체에 걸쳐 구성요소에 참조 번호를 부가하는데 있어서, 구성요소가 상이한 도면에 제시되어 있을지라도 유사한 참조 번호가 유사한 구성요소를 지정하고 있음이 인지되어야 한다. 추가로, 본 발명과 관련된 공지된 당 분야의 상세한 설명이 본 발명의 요점을 불명료하게 할 수 있는 것으로 결정되는 경우, 상기 상세한 설명은 생략될 것이다.

[0046] 일 구체예에서, 마이크로어레이 세포 칩은 상부 기관의 한 표면 상에 형성되는 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스, 및 상부 기관의 한 표면으로부터 다른 표면까지 관통하는 하나 이상의 쓰루-홀을 갖는 상부 기관을 포함한다. 상부 기관 마이크로어레이에서, 일부 또는 전부의 쓰루-홀은 하부 기관의 상응하는 웰과 맞물리도록 위치된다. 쓰루-홀의 일부 또는 전부는 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스의 적어도 하나의 부착부에 근접하여 존재한다. 부착부 및 쓰루-홀은 상응하는 하부 기관으로부터의 하나의 마이크로웰과 맞물릴 수 있다. 일 구체예에서, 기관은 유리이다. 유리 기관은 3-(아미노프로필)트리메톡시실란(APTMS)을 이용한 처리 후, 폴리(스티렌-코-말레산 무수물)(PSMA)을 이용한 처리에 의해 추가로 기능화될 수 있다. 기능화는 기관 표면 상의 개별적 스폿(spot) 상에서 이루어질 수 있거나, 기관의 전체/부분적 표면 상에서 이루어질 수 있다. 일 구체예에서, 상부 기관은 필라 어레이(pillar array)이다. 필라 어레이는 지지 구조로부터 떨어져 돌출되는 복수의 마이크로컬럼으로 제조될 수 있다. 마이크로컬럼 또는 필라는 스페이서일 수 있다. 마이크로컬럼은 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스를 스폿화시키는데 사용될 수 있는 원위 말단 표면을 가질 수 있다. 마이크로컬럼의 원위 표면은 APTMS 및 PSMA를 이용한 처리에 의해 기능화될 수 있다. 추가 구체예에서, 유리 슬라이드는 메틸트리메톡시실란(MTMS)을 이용하여 기능화될 수 있다. 추가 구체예에서, APTES(아미노프로필트리에톡시실란)가 APTMS 대신 사용될 수 있다. 추가 구체예에서, PTMOS(프로필트리에톡시실란) 및 OTMOS(옥틸트리에톡시실란)가 MTMS 대신 사용될 수 있다.

[0047] 참조로서 본원에 포함되는 USSN 12/091,990호에 기재된 칩을 제조하기 위해 USSN 12/091,990호에서 사용되는 재료 및 방법(비제한적으로, 바이오매트릭스, 생체재료, 지지체, 기능화 등을 포함함)이 본 발명의 칩을 생성시키는데 사용될 수 있다.

[0048] 본 발명의 바람직한 구체예에 따른 마이크로어레이 세포 칩은 상부 기관의 한 표면 상에 형성되는 생체재료를 캡슐화시키는 바이오매트릭스, 및 상부 기관의 한 표면으로부터 다른 표면까지 관통하는 쓰루-홀을 갖는 상부 기관을 포함한다. 상부 기관은 바이오매트릭스와 접촉될 수 있는 유체를 보유할 수 있는 웰을 갖는 하부 기관과 맞물릴 수 있다. 일 구체예에서, 쓰루-홀은 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면의 바깥쪽에 인접하여 형성된다.

[0049] 하부 기관은 상부 기관 상에 형성되는 생체재료를 캡슐화시키는 적어도 하나의 바이오매트릭스, 및 적어도 하나 이상의 쓰루-홀을 근접하여 맞도록 크기조절될 수 있다. 하부 기관의 웰은 임의로 사이토크롬 P450(Cytochrome P450)(개별적 아이소형(isoform) 또는 아이소형의 혼합물) 또는 이의 소분자 약물, 생체중합체 또는 조합물을 함유하는 바이오매트릭스를 함유할 수 있다. 일 구체예에서, 사이토크롬 P450을 함유하는 바이오매트릭스는 하부 기관의 웰 표면 내에 부착된다. 적용될 수 있는 통상적인 P450 아이소형은 1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6, 2E1, 2J2, 3A4, 3A5, 3A7, 4B1, 4F8, 4F12, 7B1, 26B1, 27A1, 및 39A1이다. P450에 더하여, 플라빈 모노옥시게나제, 모노아민 산화효소, 다양한 에스테르분해효소, 키논 환원효소, 과산화효소, 및 알콜 탈수소효소를 포함하는 다른 I 단계 대사-기반 효소가 사용될 수 있다. I 단계 효소에 더하여, 유리디닐

글루쿠로노실 전이효소(특히, 아이소형 1A1, 1A3, 1A4, 1A5, 1A6, 1A7, 1A8, 1A9, 1A10, 2B4, 2B7, 2B10, 2B11, 2B15, 및 2B17), 에폭사이드 가수분해효소, N-아세틸 전이효소, 글루타티온 S-전이효소, 황전이효소(특히, 아이소형 1A1, 2B1a, 2B1b, 및 1E1), 및 카테콜 O-메틸전이효소를 포함하는 II 단계 대사-기반 효소가 사용될 수 있다. 상기 언급된 효소 및 이의 아이소형에 더하여, 효소 분과위원회(EC) 클래스 1-6, 예를 들어, 클래스 1(산화환원효소), 클래스 2(전이효소), 클래스 3(가수분해효소), 클래스 4(분해효소), 클래스 5(이성화효소), 및 클래스 6(연결효소)에 포함되는 효소를 포함하는, 인간 및 비-인간 소스로부터의 광범위한 합성적으로 관련된 효소가 사용될 수 있다.

[0050] 또 다른 구체예에서, 바이오매트릭스 내에 캡슐화된 시험 화합물은 하부 기관의 웰 표면 내에 부착될 수 있다.

[0051] 바이오매트릭스는 생체중합체, 세포외 물질 또는 하이드로겔로부터 제조될 수 있다. 바람직하게는, 바이오매트릭스는 미세규모로 성장한 세포를 지지하는 하이드로겔 매트릭스, 예를 들어, 콜라겐 또는 알기네이트일 수 있다.

[0052] 마이크로어레이 세포 칩은 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면 사이에 접촉층을 추가로 포함한다. 일 구체예에서, 접촉 물질은 기관 표면에 바이오매트릭스 물질을 공유적으로 부착시킨다.

[0053] 쓰루-홀의 단면 표면은 다각형, 원형 또는 기타 형태일 수 있다. 쓰루-홀은 가스가 배출되도록 하는 임의의 형태 또는 크기일 수 있다. 일 구체예에서, 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구 면적은 상부 기관의 다른 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구 면적보다 크다.

[0054] 일 구체예에서, 상부 기관의 한 표면 상에 형성된 쓰루-홀의 입구는 웰의 수직 표면에 위치된다.

[0055] 일 구체예에서, 상부 기관은 돌출 부분을 포함하며, 하부 기관은 상부 기관 상의 돌출부에 인접한 적어도 하나의 쓰루-홀과 함께 돌출 부분에 맞도록 크기 조절된 웰을 포함한다. 상부 기관의 돌출부는 필라 어레이의 일부일 수 있고, 여기서 필라 표면의 일부 또는 전부는 필라 표면 상에 부착된 생체재료를 캡슐화하는 바이오매트릭스를 갖는다.

[0056] 일 구체예에서, 마이크로어레이 세포 칩은 바이오매트릭스와 상부 기관의 접촉 표면 상에 형성된 스페이서를 추가로 포함한다.

[0057] 일 구체예에서, 스페이서의 상부 표면에는 바이오매트릭스를 캡슐화시키는 접촉층이 추가로 제공된다. 바람직한 스페이서는 PSMA이다.

[0058] 일 구체예에서, 바이오매트릭스 및 스페이서는 웰에 삽입된다.

[0059] 일 구체예에서, 스페이서의 상부 표면은 바깥쪽 부분으로부터 중심 부분까지 요면 형성되고, 생체재료는 중심 부분에 모여진다. 일 구체예에서, 스페이서의 상부 표면은 복수의 요면 부분과 함께 형성되고, 생체재료는 요면 부분에 모여진다.

[0060] 일 구체예에서, 상부 기관 및 하부 기관에는 상부 기관 및 하부 기관을 서로 커플링시키고 캡슐화시키는 돌출 부분 및 커플링 부분이 제공된다.

[0061] 어레이 형태를 갖는 복수의 바이오매트릭스가 형성되고, 웰은 바이오매트릭스와 동일한 어레이 형태를 갖는다.

[0062] 마이크로어레이를 제작하는 방법이 또한 기재되며, 여기서 포유동물 세포를 함유하는 콜라겐(또는 다른 바이오매트릭스) 용액이 바닥 콜라겐 섬(island) 위에 부착된 히알루로난 층을 임의로 갖는 바닥 콜라겐의 섬 위에 프린트된다.

[0063] 생체재료 스폿을 함유하는 바이오매트릭스의 부피는 약 10-100 nL, 약 20-80 nL 또는 약 30-60 nL의 범위일 수 있다. 이러한 샘플은 기관의 크기에 따라 어레이될 수 있고, 규칙적 또는 소정의 패턴으로 존재할 수 있다. 선택되는 패턴은 규칙적 패턴이거나 균일하게 어레이될 필요는 없다. 규칙적 어레이는 14 x 40, 20 x 54, 또는 보다 크게 어레이되는 패턴을 포함할 수 있다.

[0064] 예를 들어, 20 x 54 패턴의 경우, 각각 4x6 어레이를 갖는 45개의 영역(5 x 9)이 생성된다. 보다 많은 수의 스폿은 보다 큰 어레이를 필요로 할 것이며, 이러한 보다 큰 어레이를 생성시키는 것이 본 발명에서 고려된다.

[0065] 일 구체예에서, 세포 함유 샘플은 $25 \times 75 \text{ mm}^2$ 유리 슬라이드 상에 부착된 14 x 40 스폿 어레이 상에서 각각 30 nL의 부피를 가지며, 스폿 직경은 약 0.6 mm(반구 스폿에 대한 예상 크기에 가까움)이고, 약 50 μm 의 두께, 및

약 1.2 mm의 중심간 거리가 개시된다.

[0066] 사용될 수 있는 세포, 또는 그러한 세포가 유래될 수 있는 조직/기관은 골수, 피부, 연골, 힘줄, 뼈, 근육(심근을 포함함), 혈관, 각막, 신경, 뇌, 위장, 신장, 간, 췌장(섬세포를 포함함), 폐, 뇌하수체, 갑상선, 부신, 림프, 타액, 난소, 고환, 자궁경부, 방광, 자궁내막, 전립선, 외음부, 식도 등을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0067] 면역계의 다양한 세포, 예를 들어, T 림프구, B 림프구, 다형핵 백혈구, 대식세포, 및 수지상 세포가 또한 포함된다.

[0068] 인간 세포 또는 다른 포유동물 세포에 더하여, 다른 유기체가 이용될 수 있다. 예를 들어, 산업 화학의 환경적 영향에 대한 시험에서, 화학 제품에 노출될 수 있는 수생 미생물이 이용될 수 있다. 또 다른 예에서, 특정 특성을 갖거나 특정 특성이 결핍되도록 유전적으로 조작되는 유기체, 예를 들어, 박테리아가 이용될 수 있다. 예를 들어, 항생제 내성 유기체에 대항하기 위한 항균 선도 화합물의 최적화에서, 세포 검정은 항균제 내성을 위한 하나 이상의 유전자를 발현하도록 조작된 세포를 포함할 수 있다.

[0069] 이하, 본 발명의 바람직한 구체예는 하기 수반되는 도면을 참조로 하여 상세하게 기재될 것이다.

[0070] 도 1 내지 6은 본 발명의 바람직한 구체예에 따른 마이크로어레이 세포 칩을 개략적으로 나타내는 횡단면도 및 사시도이다. 본 발명에 따른 마이크로어레이 세포 칩은 도면을 참조로 하여 기재될 것이다.

[0071] 도 1에 도시된 바와 같이, 마이크로어레이 세포 칩(이하, 세포 칩으로 언급됨)은 생체재료 C를 캡슐화시키는 바이오매트릭스(120)와 함께 형성된 상부 기관(100), 및 바이오매트릭스에 배양 배지 또는 시약을 공급(유체 F로 언급되는 배양 배지 또는 시약이 동시에 공급될 수 있음)하는 하부 기관(200)을 포함한다.

[0072] 이러한 형태에서, 하부 기관(200)의 웰(210)에 공급되는 시약은 생체재료(C) 및 염색된 재료(예를 들어, 형광 재료 및 발광 재료), 단백질, 플라스미드, DNA, 간접 RNA, 항원/항체, 바이러스 등에 대한 생체환경과 더욱 유사한 환경을 제공하기 위해 특정 실험에 필요한 약물을 포함할 수 있다.

[0073] 바이오매트릭스(120)에는 생체재료 C가 엠베드(embed)된다. 용어 "생체재료"는 다양한 유형의 생체분자 또는 생체재료로 언급된다. 생체분자의 예는 핵산 배열(예를 들어, DNA, RNA, 올리고뉴클레오타이드, cDNA, 핵외 플라스미드 등), 펩티드, 단백질, 지방, 단백질 또는 지질 막, 유기 또는 무기 화학 분자(예를 들어, 약학 또는 또 다른 분야의 화합물), 바이러스 입자 또는 진핵생물 세포, 원핵생물 세포, 모세포 성분 또는 소기관 등을 포함할 수 있다.

[0074] 바이오매트릭스(120)는 생체재료, 무기 재료, 유기 중합체, 또는 유기-무기 착물 재료를 캡슐화시킬 수 있는 졸-겔을 포함하도록 형성될 수 있다. 특히, 바이오매트릭스(120)는 다공성 구조를 갖고 유체의 확산을 통해 이동하는 콜라겐과 같은 세포외 매트릭스, 또는 알기네이트와 같은 생체재료에서 독성이 없는 하이드로겔을 사용할 수 있는 것이 바람직하다.

[0075] 바이오매트릭스(120)는 생체재료 C에 대한 생체환경과 유사한 환경을 제공하거나, 확산을 통해 생체재료 C에 유체를 공급함으로써 특정 실험에 적합한 환경을 제공한다.

[0076] 자체 내에 생체재료 C를 갖는 바이오매트릭스(120)는 생체재료 C 및 바이오매트릭스(120)가 혼합된 상태에서 상부 기관(100)에 스폿화됨으로써 형성되거나, 바이오매트릭스(120)를 먼저 스폿화시킨 후, 이 위에 생체재료 C를 스폿화시킴으로써 형성될 수 있다. 특히, 생체재료 C 및 바이오매트릭스(120)가 이들이 혼합된 상태에서 상부 기관(100)에 스폿화됨으로써 형성되는 경우, 생체재료 C는 바이오매트릭스(120)에 캡슐화되면서 바이오매트릭스(120) 내에 엠베드된다.

[0077] 상부 기관(100) 및 하부 기관(200)은 유리 기관, 플라스틱 기관, 세라믹 기관 등으로 형성된다. 상부 기관(100) 및 하부 기관(200)의 형태는 제한되지 않고, 이들의 두께는 임의로 조절될 수 있다.

[0078] 또한, 상부 기관(100)과 바이오매트릭스(120) 사이의 접촉을 증가시키기 위해 접촉 표면 사이에 접촉층(115)이 추가로 형성될 수 있다. 알기네이트가 바이오매트릭스(120)에 적용되는 경우, 접촉층(115)은 폴리-L-리신(PLL)-염화바륨의 혼합물로 구성되는 것이 바람직하다. 추가로, 상부 기관(100)에 콜라겐으로 제조된 바이오매트릭스(120)를 결합시키기 위해 우수한 친화성을 갖는 콜라겐을 사용하는 것이 바람직하다.

[0079] 쓰루 홀(110)은 상부 기관(100) 상에 형성된다. 쓰루 홀(110)은 생체재료 C를 배양하고, 시약을 접촉시키고 반응시킴으로써 생성되는 기포 및 외부 공기에 대한 이동 통로로 작용한다. 또한, 과도한 유체 F가 하부 기관

(200) 상에 형성된 웰(210)에 공급되는 상태에서 상부 기관(100)과 하부 기관(200)을 결합시키는 경우, 쓰루 홀(110)은 여분의 유체 F를 세포 칩의 외부로 스फ트화시킬 수 있는 통로로 작용한다. 쓰루 홀(110)은 상부 기관(100)의 휨(warping)을 감소시키는 작용을 한다. 특히, 큰-면적의 상부 기관(100)이 사용되는 경우, 상부 기관(100)은 한 면으로부터 다른 면으로 연속적으로 휘어진다. 이러한 경우, 쓰루 홀(110)은 연속적인 휨을 중지시켜, 상부 기관(100)의 휨을 감소시킨다.

[0080] 쓰루 홀(110)은 바이오매트릭스(120)와 상부 기관(100) 사이의 접촉 표면의 바깥쪽에 인접하여 형성되는 것이 바람직하다. 생체재료 C와 유체 F 사이의 접촉 및 반응시에 생성된 기포는 바이오매트릭스(120) 주위에 생성된다. 이러한 구조가 기포를 신속히 제거하는 것이 바람직하다.

[0081] 동일 이유로, 입구가 바이오매트릭스와 함께 형성되는 쓰루 홀(110)이 하부 기관(200) 상에 형성된 웰(210)의 수직 표면 상에 배치되는 것이 바람직하다.

[0082] 추가로, 쓰루 홀(110')은 도 2에 도시된 바와 같이 상부 기관(100)의 다른 표면 상에 형성된 입구 면적보다 큰 상부 기관(100)의 한 표면 상에 형성된 입구 면적을 갖는 것이 바람직하다. 이로 인해, 쓰루 홀(110)은 트렁케이션(truncation)된 형태를 갖도록 형성될 수 있다. 바이오매트릭스(120)와 함께 형성된 한 표면의 입구가 큰 경우, 기포 및 여분의 유체를 스फ트화시키는 것이 용이하고, 다른 표면의 입구가 작은 경우, 외래 물질이 외부로부터 이입되는 것을 방지할 수 있다.

[0083] 쓰루 홀(100 및 100')의 단면은 다각형 형태로 변형될 수 있다.

[0084] 바이오매트릭스(120)가 형성되는 상부 기관(100)과 결합되는 하부 기관(200)에는 유체 F를 저장하는 웰(210)이 제공된다. 웰(210)의 형태는 제한되지 않지만, 웰(210)의 면적이 바이오매트릭스(120)보다 커서, 바이오매트릭스(120)가 웰에 삽입될 수 있고, 웰의 깊이가 또한 바이오매트릭스(120)의 높이보다 큰 것이 바람직하다.

[0085] 웰(210)에 저장된 유체 F는 웰(210)에 삽입된 바이오매트릭스(120)에 공급되고, 확산에 의해 생체재료 C로 이동한다.

[0086] 종래기술에 따른 미세역가 플레이트가 갖는 세척 문제는 상부 기관(100) 및 하부 기관(200)의 기능을 분리시킴으로써 해소될 수 있고, 기존의 플레이트 상에 형성된 어레이 기반 세포 칩에 수반되는 교차 오염 또는 건조의 문제가 또한 해소될 수 있다. 즉, 본 발명에 따른 세포 칩은 상부 기관(100)을 분리시킴에 의해 상부 기관(100)과 또 다른 하부 기관(200)을 결합시키는 간단한 방식으로 세척을 수행할 수 있는데, 이는 생체재료 C가 유체를 저장하는 웰(210)에 직접 배치되지 않아, 잔여 재료가 웰(210) 내에 남아 있지 않고, 하부 기관(200)이 기존의 미세역가 플레이트와는 달리 세척 후에 재사용될 수 있기 때문이다.

[0087] 본 발명의 또 다른 구체예에 따른 세포 칩은 도 3에 도시된 바와 같이 바이오매트릭스(120)와 상부 기관(100) 사이의 접촉 표면 상에 형성된 스페이서(130)를 추가로 포함한다. 스페이서(130)는, 상부 기관(100)이 하부 기관(200)과 결합되는 경우에 바이오매트릭스(120)가 유체 F에 완전히 침지되는 것을 가능케 하기 위해 상부 기관(100)의 표면으로부터 바이오매트릭스(120)를 분리시킨다. 따라서, 동일 조건하에서 바이오매트릭스(120)에 엠베드된 생체재료 C에 유체 F가 공급된다.

[0088] 도 1 및 2를 참조로 하여 기재된 바람직한 구체예에 따른 세포 칩의 형태가 적용될 수 있으며, 이는 부분적으로 변형될 수 있다.

[0089] 예를 들어, 상부 기관(100) 상에 형성되고, 세포 칩의 외부로 여분의 유체 F를 스फ트화시키기 위해 외부 공기로의 기포의 이동 통로로 작용하는 쓰루 홀(100)은 스페이서(130)의 바깥쪽에 인접하여 형성되는 것이 바람직하다. 쓰루 홀(110)의 입구가 웰(210)의 수직 표면 상에 배치되고, 쓰루 홀(110)의 형태가 도 2에 도시된 바와 같이 변형될 수 있는 것이 바람직하다.

[0090] 또한, 바이오매트릭스(120)를 캡슐화시키기 위한 접착층이 스페이서(130)의 상부 표면에 추가로 제공될 수 있다. 알기네이트가 바이오매트릭스(120)에 적용되는 경우, 접착층(115)이 폴리-L-리신(PLL)-염화바륨의 혼합물로 제조되는 것이 바람직하다.

[0091] 이러한 경우, 스페이서가 폴리스티렌-코-말레산 무수물(PSMA)로 제조되고, 아민기를 갖는 바이오매트릭스(120)가 사용되는 경우, 스페이서(130)와 바이오매트릭스(120) 사이의 접착은 별개의 접착층이 스페이서(130)의 상부 표면 상에 형성되지 않더라도 개선될 수 있다.

[0092] 또한, 본 발명의 또 다른 제조된 구체예에 따른 세포 칩에서, 스페이서(130)의 상부 표면(132)은 도 4에 도시된

바와 같이 바깥쪽 부분으로부터 중심 부분까지 요면 형성되고, 생체재료 C는 중심 부분에 모여진다.

[0093] 생체재료 C는 바이오매트릭스(120) 내에 분산되지 않고, 중심 부분에 모여지므로, 세포 칩은 생체재료와 유체의 접촉 및 반응(예를 들어, 세포-세포 상호작용) 시의 인접 생체재료의 영향을 측정할 수 있다. 반응 조건을 제 공함으로써 다양한 생체환경이 세포 칩에 반영될 수 있다.

[0094] 도 4에 도시된 세포 칩은 먼저 상부 기관(100)에 생체재료 C를 스폿화시킨 후, 그 위에 바이오매트릭스(120)를 스폿화시킴으로써 형성될 수 있거나, 생체재료 C를 포함하는 바이오매트릭스(120)를 스폿화시킨 후, 생체재료 C 를 원심분리 분리기를 이용하여 스페이서(130)의 상부 표면(132)의 중심 부분으로 모으고, 상부 기관(100)과 하 부 기관(200)을 결합시킴으로써 완성될 수 있다.

[0095] 또한, 도 5에 도시된 바와 같이, 세포 칩은 복수의 요면 부분(134)이 스페이서(130)의 상부 표면(132) 상에 형 성되고, 생체재료 C가 요면 부분(134)에 모여지도록 변형될 수 있다.

[0096] 요면 부분(134)에서 생체재료 C를 모으고, 요면 부분(134)에 모여진 생체재료 C와 다른 생체재료 C 사이의 반응 성을 비교함으로써 도 5에 도시된 세포 칩이 도 4에 도시된 세포 칩과 동일 효과를 갖는 것이 바람직하다.

[0097] 도 6에 도시된 바와 같이, 본 발명의 또 다른 바람직한 구체예에 따른 세포 칩에서, 바이오매트릭스(120)는 어 레이 형태로 배열되고, 복수로 형성되며, 웰(210)은 바이오매트릭스(120)와 동일 배열을 가져, 웰(210)에 바이 오매트릭스(120)가 삽입될 수 있다.

[0098] 동일한 생체재료 C가 엠베드되는 복수의 바이오매트릭스(120)가 상부 기관(100) 상에 형성되더라도 유체 F에서 의 변화(특히, 시약 변경)로 인한 다양한 환경에 따른 생체재료 C에서의 변화가 관찰될 수 있으며, 다양한 생체 재료 C가 엠베드되는 바이오매트릭스(120)가 상부 기관(100) 상에 형성되더라도 동일 유체 F의 공급으로 인한 동일 환경에 따른 생체재료 C에서의 변화가 관찰될 수 있다.

[0099] 세포 칩이 상부 기관(100)과 하부 기관(200)을 서로 결합시키고 캡슐화시키는 돌출 부분(140) 및 결합 부분 (220)을 포함하는 것이 바람직하다.

[0100] 도 6은 돌출 부분(140)의 쌍이 상부 기관(100) 상에 형성되고, 결합 부분(220)의 쌍이 하부 기관(200) 상에 형 성되는 경우를 도시한다. 상부 기관(100)이 하부 기관(200)과 결합되는 경우, 바이오매트릭스(120) 및 웰(21 0)이 어레이 형태로 정렬되면서 돌출 부분(140)과 결합 부분(220)을 결합시킴으로써 상부 기관(100)이 하부 기 관(200)으로 완전히 캡슐화된다.

[0101] 돌출 부분(140) 및 결합 부분(220)은 상부 기관(100) 및 하부 기관(200)을 캡슐화시키는 형태를 갖지만, 이는 도 6에 도시된 것과 반대 형태(즉, 돌출 부분이 하부 기관 상에 형성되고, 결합 부분이 상부 기관 상에 형성 됨)로 형성될 수 있다. 따라서, 돌출 부분(140) 및 결합 부분(220)의 형태가 변형될 수 있다. 그러나, 상부 기관 및 하부 기관이 상부 기관 및 하부 기관 상에 형성된 바이오매트릭스 및 웰의 정렬을 방해하지 않도록 가 장자리 영역에 형성되는 것이 바람직하다.

[0102] 도 6은 도 1에 도시된 세포 칩을 기반으로 한 세포 칩을 도시하나, 도 2 내지 5에 도시된 변형된 형태가 적용될 수 있음이 당업자에게 명백하다.

[0103] 도 7 내지 9는 본 발명에 따른 마이크로어레이 세포 칩을 이용한 실험 예를 도시한다.

[0104] 도 7A 및 7B는 청색 시약이 본 발명에 따른 하부 기관(200)의 웰(210)에 놓이고, 상부 기관(100)과 결합되는 경 우의 상부 이미지 및 측면 이미지이다. 도 8A 및 8B는 폴리-L-리신(PLL)-염화바륨의 혼합물인 접착층(115)을 상부 기관(100)에 스폿화시킨 후, 여기에 바이오매트릭스(120)의 일종인 알기네이트와 간암의 일종인 Hep3B 세 포주의 혼합물을 스폿화시키고, 이들을 상부 기관(100)에 결합시킴으로써 수득되는 결과를 도시한다. 도 8B로 부터, Hep3B 세포주가 3D 구조를 형성하면서 배양되는 것이 인지될 수 있다.

[0105] 도 9는 본 발명에 따른 세포 칩을 이용하여 약물의 독성 시험을 수행함으로써 수득되는 결과를 나타내는 스캔 이미지이다.

[0106] 스페이서(130) 상에 40 nℓ의 폴리-L-리신(PLL)-염화바륨의 접착층을 형성시키고, 접착층 상에 40 nℓ의 알기네 이트-Hep3B 세포주의 혼합물을 스폿화시킴으로써 제조된 상부 기관(100) 및 웰(210)을 갖는 하부 기관(200)을 이용하여 약물의 독성을 시험하였다. 알기네이트-Hep3B 세포주의 혼합물은 스페이서 상에 형성된 상부 기관 (100)을 웰(210) 내에 800 nℓ의 배양 배지를 갖는 하부 기관(200)과 주로 결합시켜 알기네이트를 겔화시킴으로 써 여분의 염화바륨이 제거된다. 여분의 염화바륨이 제거된 후에 상부 기관(100)이 분리되고, 웰(210) 내에

800 nℓ의 새로운 배양 배지를 갖는 하부 기관(200)과 다시 결합됨으로써 Hep3B 세포가 배양된다. 충분한 배양이 완료된 경우, 상부 기관(100)이 분리되고, 웰(210) 내에 800 nℓ의 약물을 갖는 하부 기관(200)과 결합되고, 다시 배양되어, 약물의 독성이 시험된다.

[0107] 배양 종료 후, 상부 기관(100) 상에 존재하는 Hep3B 세포가 형광 물질(칼세인 AM 및 에티디움 동종이합체-1)로 염색되었다. 도 9에 도시된 바와 같이, 살아 있는 Hep3B 세포가 칼세인 AM을 이용하여 녹색으로 염색되었고, 약물에 의해 사멸된 세포가 에티디움 동종이합체-1을 이용하여 적색으로 염색되었다.

[0108] 5개의 상이한 농도를 갖는 5개의 약물 클로로퀸(Chloroquine), 디클로페낙(Diclofenac), 엔타카폰(Entacapone), 미토마이신 C(Mitomycin C), 톨카폰(Tolcapone)에 대한 독성 시험을 수행하였고, Hep3B 세포가 종래에 따른 미세역가 플레이트에서 배양된 경우 및 Hep3B 세포가 본 발명에 따른 세포 칩에서 배양된 경우 각각에서 수득된 약물의 IC50 값(세포의 50%가 성장 억제제를 나타내는 약물의 농도)이 하기 표에 제시되었다.

약물 (화합물)	미세역가 플레이트 (96-웰 중 2D Hep3B 세포 단층)	본 발명에 따른 세포 칩 (칩 상에서의 3D Hep3B 세포 배양)
클로로퀸	50 uM	10 uM
디클로페낙	230 uM	375 uM
엔타카폰	850 uM	381 uM
미토마이신 C	40 uM	124 uM
톨카폰	50 uM	171 uM

[0109]

[0110] 상기 표에 제시된 값은 약물을 하루 동안 배양하고, 배양 직후에 염색시키고, 이를 스캐닝한 결과를 기초로 하여 수득되었다.

[0111] 약물에 대한 IC50이 미세역가 플레이트와 매우 유사한 값을 갖는 것으로 제시되는 것이 인지될 수 있다.

[0112] 본 발명에 따른 세포 칩은 바이오매트릭스에 임베드된 생체재료로의 확산에 의해 배양 배지 및 시약을 공급함으로써 바이오매트릭스 환경과 유사한 환경을 제공할 수 있다.

[0113] 추가로, 본 발명은 배양 배지 또는 시약을 공급하는 하부 기관 및 생체재료가 임베드되는 바이오매트릭스와 함께 형성된 상부 기관을 기능적으로 분리시킴으로써 복잡한 어레이 형태의 세포들의 세척 및 제조를 용이하게 수행할 수 있다.

[0114] 추가로, 본 발명은 기포 및 공기의 이동 경로를 제공하기 위해 상부 기관 상에 쓰루 홀을 형성하며, 이는 어레이 형태를 갖는 경우 인접한 바이오매트릭스 상에 과도하게 공급되는 배양 배지 및 시약에 영향을 미치지 않게 하기 위한 출구로 작용함으로써 상부 기관의 힘을 감소시킨다.

[0115] 본 발명의 세포 칩은 데이터를 분석하기 위한 장치와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 세포 칩 스캐너는 복수의 세포 칩을 스캔하고, 복수의 이미지 파일을 발생시킨다. 세포 칩 각각은 복수의 블록(block)을 포함할 수 있다. 블록 각각은 상이한 농도를 갖는 동일 종류의 화합물과 동일 종류의 효소를 혼합함으로써 형성된 복수의 스폿을 가질 수 있다. 형광-강도 측정 모듈은 세포 칩 스캐너에 의해 발생하는 이미지 파일 내의 스폿의 형광 강도를 측정한다. 분석기는 형광-강도 측정 모듈에 의해 측정되는 블록의 스폿의 형광 강도와 관련하여 곡선-맞춤화(curve-fitting)를 개별적으로 수행하는 방식으로 그래프를 발생시킨다. 분석기는 동일 시험 조건하에서 수득된 블록의 데이터 단편을 통합시킨 후, 통합된 데이터에 대한 곡선-맞춤화를 수행하는 방식으로 통합된 그래프를 발생시킨다. 장치는 시험 조건을 저장하는 저장 모듈을 추가로 포함할 수 있다. 디스플레이 모듈은 시험자에게 시험 조건 입력 윈도우를 제공할 수 있다. 제어 모듈은 디스플레이 모듈을 이용하여 시험자에게 시험 조건 입력 윈도우를 제공할 수 있다. 제어 모듈은 저장 모듈 내에 입력 시험 조건을 저장시킬 수 있다. 입력 모듈은 시험자에 의한 시험 조건 입력을 수신할 수 있고, 제어 모듈에 입력 시험 조건을 제공할 수 있다. 분석기는 저장 모듈에 저장된 시험 조건을 참조하면서 블록과 관련하여 곡선-맞춤화를 개별적으로 수행하는 방식으로 그래프를 발생시킬 수 있다. 분석기는 개별적 곡선-맞춤화 및 그래프-발생 모듈 및 통합된 곡선-맞춤화 및 그래프-발생 모듈을 포함할 수 있다. 개별적 곡선-맞춤화 및 그래프-발생 모듈은 형광-강도 측정 모듈에 의해 측정되는 블록의 스폿의 형광 강도와 관련하여 곡선-맞춤화를 개별적으로 수행하는 방식으로 그래프를 발생시킬

수 있다. 통합된 곡선-맞춤화 및 그래프-발생 모듈은 동일 시험 조건하에서 형광-강도 측정 모듈에 의해 측정되는 블록의 스폿의 형광 강도의 데이터 단편을 통합시킨 후, 통합된 데이터에 대해 곡선-맞춤화를 수행하는 방식으로 통합된 그래프를 발생시킬 수 있다. 개별적 곡선-맞춤화 및 그래프-발생 모듈은 블록 각각의 화합물의 농도에 대한 반복 시험을 수행함으로써 수득된 복수의 형광 강도를 선택하는 데이터 선택 유닛을 포함할 수 있다. 상수 결정 유닛은 데이터 선택 유닛에 의해 선택된 복수의 형광 강도의 시험 결과를 이용하여 곡선 식의 상수를 결정할 수 있다. 그래프 생성 유닛은 상수 결정 유닛에 의해 결정된 상수를 이용하여 그래프를 발생시킬 수 있다. 통합된 곡선-맞춤화 및 그래프-발생 모듈은 동일 시험 조건 하에서 수득된 복수의 세포 칩의 데이터 단편을 통합시키는 데이터 통합 유닛을 포함할 수 있다. 상수 결정 유닛은 데이터 통합 유닛에 의해 통합된 세포 칩의 데이터를 이용하여 곡선 식의 상수를 결정할 수 있다. 그래프 생성 유닛은 상수 결정 유닛에 의해 결정된 상수를 이용하여 통합된 그래프를 발생시킬 수 있다. 분석기는 오차 데이터 제어 모듈 및 레포트 생성 모듈을 포함할 수 있다. 오차 데이터 제어 모듈은 데이터를 분류하고, 시험자가 오차 데이터를 삭제하는 것을 가능케 하기 위해 시험자에 의해 확인되는 것이 요구되는 항목을 구별할 수 있다. 레포트 생성 모듈은 통합된 데이터 및 스캐닝 이미지와 관련하여 곡선-맞춤화 결과를 분류할 수 있고, 결과 레포트를 발생시킬 수 있고, 이후에 결과 레포트를 출력할 수 있다. 형광-강도 측정 모듈은 세포 칩 스캐너를 이용하여 세포 칩을 스캐닝함으로써 생성된 이미지 파일로부터 Y-축 형광-강도의 평균 및 X-축 형광-강도의 평균을 계산하는 방식으로 스폿의 위치를 검출하는 스폿 위치 검출 유닛을 포함할 수 있다. 스폿 경계 결정 유닛은 스폿 위치 검출 유닛에 의해 검출된 스폿의 경계를 결정할 수 있다. 스폿 형광-강도 계산 유닛은 스폿의 경계가 스폿 경계 결정 유닛에 의해 결정된 후에 스폿 각각의 형광-강도를 계산할 수 있다.

[0116] 이미지 파일은 세포 칩 스캐너를 이용하여 복수의 세포 칩을 스캐닝함으로써 발생될 수 있다. 스폿의 형광 강도는 세포 칩 스캐너에 의해 발생된 이미지 파일에서 형광-강도 측정 모듈에 의해 측정된다. 그래프는 형광-강도 측정 모듈에 의해 측정되는 블록의 스폿의 형광 강도와 관련하여 곡선-맞춤화를 개별적으로 수행하는 방식으로 발생된다. 통합된 그래프는 동일 시험 조건하에서 형광-강도 측정 모듈에 의해 측정되는 스폿의 형광 강도와 관련된 데이터 단편을 통합시킨 후, 통합된 데이터와 관련하여 곡선-맞춤화를 수행하는 방식으로 발생된다.

[0117] 세포 칩은 낮은 점도로부터 높은 점도의 광범위한 점도로 비교적 적은 양의 유체 및 비교적 많은 양의 유체를 선택적으로 방출할 수 있는 유체 방출 장치 및 방법과 함께 사용될 수 있다. 유체 방출 장치는 유체를 방출하기 위한 제 1 압력을 발생시키는 제 1 압력 발생 유닛; 유체를 방출하기 위한 제 2 압력을 발생시키고, 제 2 압력의 크기를 변경하도록 조절될 수 있는 제 2 압력 발생 유닛; 및 제 1 및 제 2 압력 발생 유닛에 의해 가압되는 유체를 방출시키는 노즐을 포함할 수 있다. 제 1 및 제 2 압력 발생 유닛은 노즐과 직렬로 연결될 수 있다. 제 1 및 제 2 압력 발생 유닛은 노즐과 병렬로 연결될 수 있다. 노즐은 이 안에 유체를 저장하는 저장 공간을 가질 수 있다. 제 1 압력 발생 유닛은 저장 공간에 설치될 수 있다. 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 다양한 크기를 갖는 압력을 발생시킴으로써 비교적 적은 양의 유체 및 비교적 많은 양의 유체를 방출시키는 것을 포함하는 유체 방출 방법이 제공된다. 비교적 적은 양의 유체 및 비교적 많은 양의 유체의 방출은 상이한 크기를 갖는 압력을 동시에 또는 선택적으로 발생시킴으로써 상이한 양의 유체를 방출시키는 것을 포함할 수 있다. 비교적 적은 양의 유체 및 비교적 많은 양의 유체의 방출은 상이한 크기를 갖는 압력을 더하거나 감함으로써 상이한 양의 유체를 방출시키는 것을 포함할 수 있다. 비교적 적은 양의 유체 및 비교적 많은 양의 유체의 방출은 상이한 크기를 갖는 압력을 동시에 또는 선택적으로 발생시킴으로써 상이한 점도를 갖는 유체를 정량적으로 방출시키는 것을 포함할 수 있다. 비교적 적은 양의 유체 및 비교적 많은 양의 유체의 방출은 상이한 크기를 갖는 압력을 더하거나 감함으로써 상이한 점도를 갖는 유체를 정량적으로 방출하는 것을 포함할 수 있다.

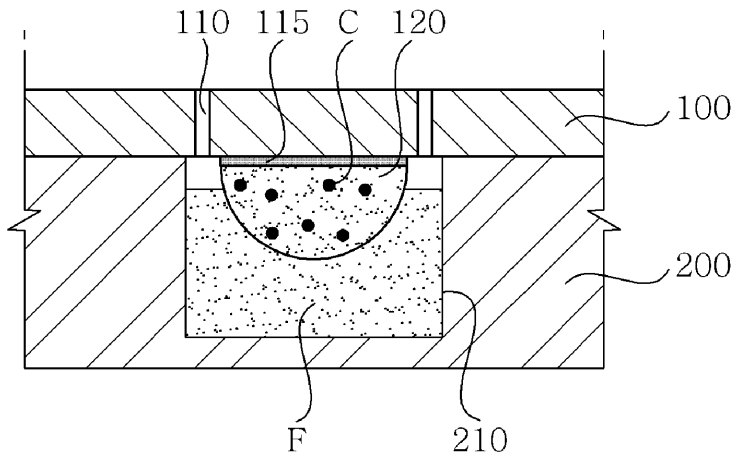
[0118] 세포 칩은 많은 양 또는 적은 양으로 단일 장치를 통해 방출되는 비말의 양을 조절할 수 있는 미세비말 방출 장치와 함께 사용될 수 있다. 미세비말 방출 장치는 압력 방출을 발생시키는 펌프 유닛; 제 1 연결 파이프를 통해 펌프 유닛에 연결되고, 많은 양의 비말의 방출을 제어하는 전자 밸브; 제 2 연결 파이프를 통해 전자 밸브에 연결되고, 소량의 비말의 방출을 제어하고, 원위 말단으로부터 방출되는 비말을 갖는 전자 피펫; 및 전자 피펫으로부터 방출되는 비말의 양을 제어하기 위해 펌프 유닛, 전자 밸브, 및 전자 피펫의 구동을 제어하는 제어기를 포함한다. 제어기가 펌프 유닛 및 전자 밸브를 구동시키는 경우, 펌프 유닛은 방출 압력을 발생시킬 수 있고, 전자 밸브는 펌프 유닛으로부터 공급된 액체가 밸브의 개폐를 통해 전자 피펫의 원위 말단으로부터 많은 양의 비말로서 방출되는 것을 가능케 할 수 있다. 제어기가 전자 피펫을 구동시키는 경우, 전자 피펫은 액체가 전자 피펫의 원위 말단으로부터 적은 양의 비말로서 방출되도록 하는 방출 압력을 발생시킬 수 있다. 펌프 유닛은 전자 피펫을 통해 액체를 흡인하는 흡인 압력을 발생시킬 수 있다. 많은 양의 비말이 외부로 방출되는 경우, 제어기는 펌프 유닛 및 전자 밸브를 구동시킬 수 있어, 펌프 유닛은 방출 압력을 발생시키고, 전자 밸브는 펌프 유닛으로부터 공급된 액체가 밸브의 개폐를 통해 전자 피펫의 원위 말단으로부터 많은 양의 비말로서 방출

되도록 하며, 방출 압력을 발생시키지 않도록 하기 위해 전자 피펫의 구동을 중지시킨다. 적은 양의 비말이 외부로 방출되는 경우, 제어기는 전자 피펫을 구동시킬 수 있어, 전자 피펫은 액체가 전자 피펫의 원위 말단으로부터 적은 양의 비말로 방출되는 것을 가능케 하는 방출 압력을 발생시키고, 방출 압력을 발생시키지 않도록 하기 위해 펌프 유닛의 구동, 및 개방 상태로 유지되도록 하기 위해 전자 밸브의 구동을 중지시킨다. 많은 양의 비말은 약 20 nL 또는 그 초과; 바람직하게는 약 20-10000 nL; 더욱 바람직하게는 약 25-1000 nL; 바람직하게는 약 30-500 nL일 수 있다. 적은 양의 비말은 약 5 nL 또는 그 미만; 바람직하게는 약 2 nL 또는 그 미만; 바람직하게는 약 1 nL 또는 그 미만; 바람직하게는 약 0.001-1 nL; 바람직하게는 약 0.1 내지 1 nL일 수 있다. 펌프 유닛은 주사기 펌프일 수 있다. 주사기 펌프는, 자체에 연결된 제 1 연결 파이프를 갖는 개폐 밸브; 개폐 밸브에 연결되고, 자체 내에 저장되는 액체를 갖는 주사기; 및 주사기의 외부로 액체를 방출시키기 위해 주사기의 내부에서 위쪽으로 이동함으로써 방출 압력을 발생시키고, 주사기의 내부로 액체를 도입시키기 위해 주사기의 내부에서 아래쪽으로 이동함으로써 흡인 압력을 발생시키는 플런저(plunger)를 포함할 수 있다. 미세비말 방출 장치는 공급 파이프를 통해 주사기 펌프에 연결된 세척 액체 저장 탱크를 추가로 포함할 수 있다. 전자 피펫은 압전 전자 피펫일 수 있다. 전자 밸브는 솔레노이드 밸브일 수 있다. 터치 패널에 관한 본 발명의 구체예가 예시 목적상 개시되어 있으나, 당업자는 하기 수반되는 청구항에 개시된 바와 같은 본 발명의 범위 및 사상을 벗어남이 없이 여러가지의 상이한 변형, 부가 및 치환이 가능함을 인지할 것이다.

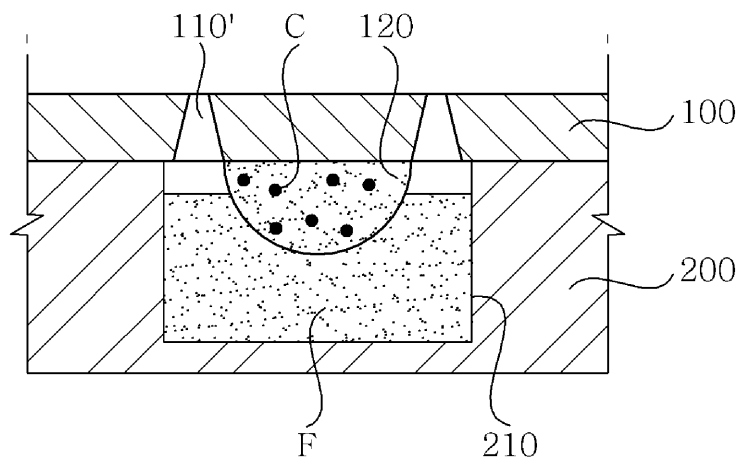
[0119] 본 발명은 특히 본 발명의 바람직한 구체예를 참조로 하여 제시되고 기재되었으나, 형태 및 세부사항의 다양한 변화가 하기 첨부되는 청구항에 의해 포함되는 본 발명의 범위로부터 벗어남이 없이 이루어질 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다.

도면

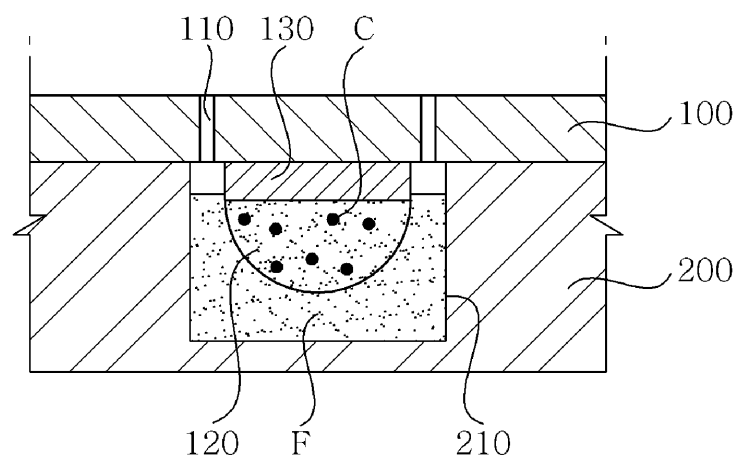
도면1



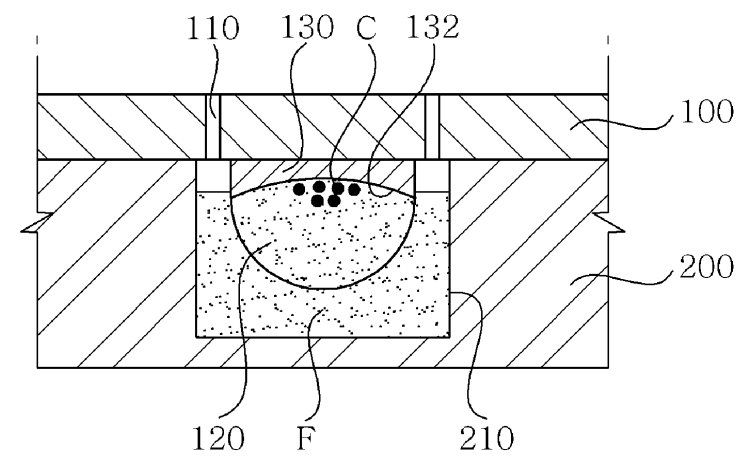
도면2



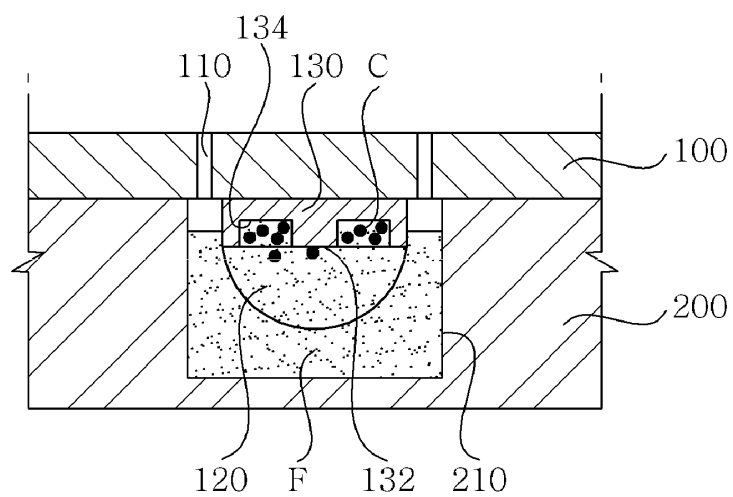
도면3



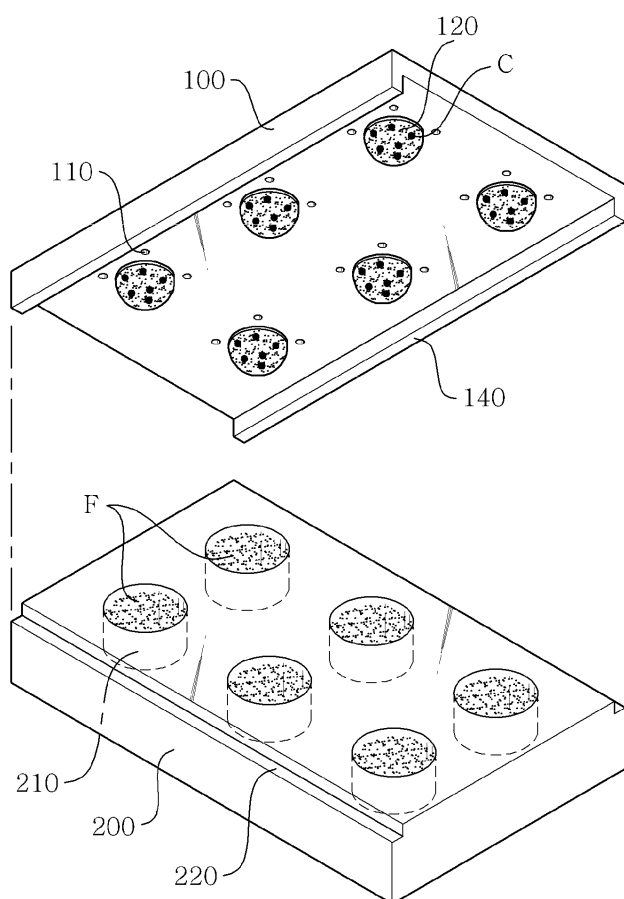
도면4



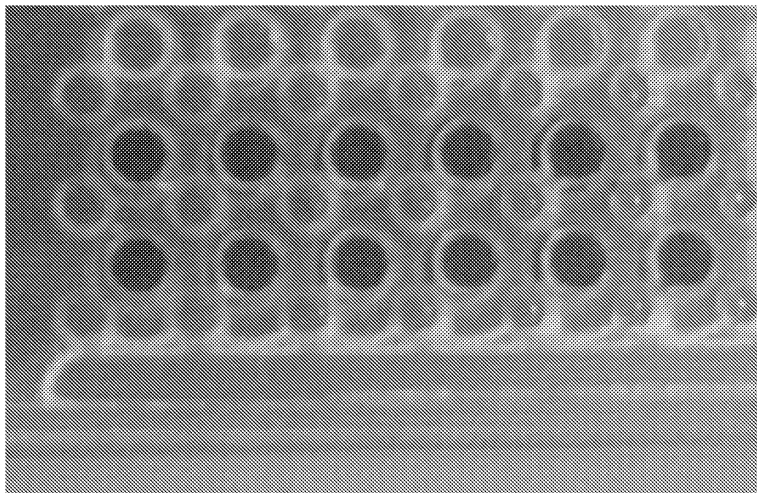
도면5



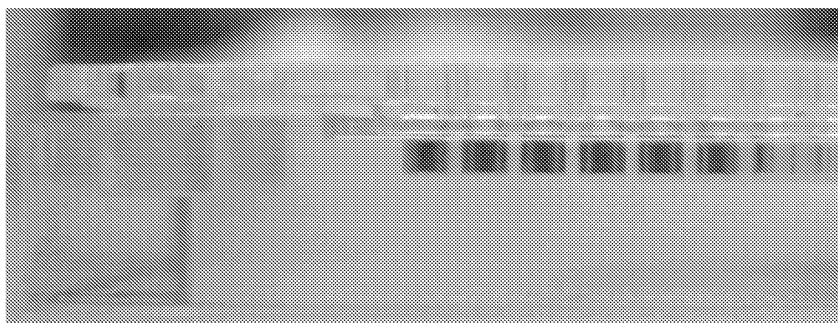
도면6



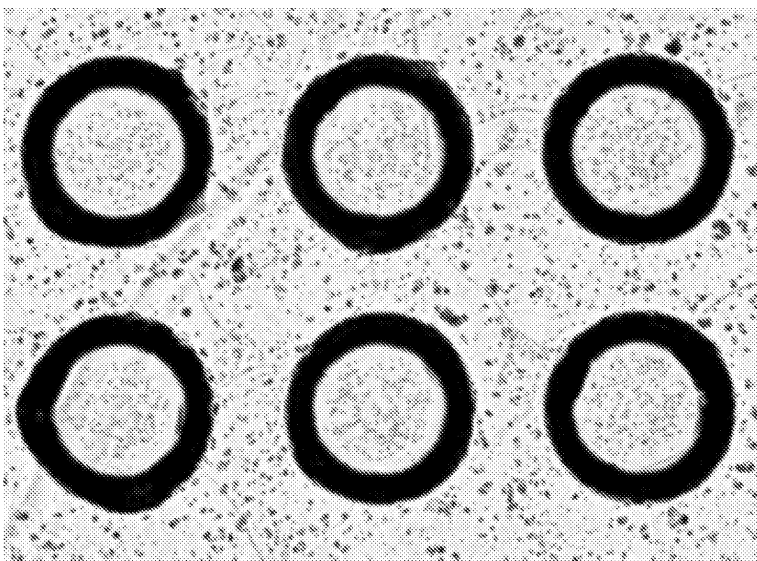
도면7a



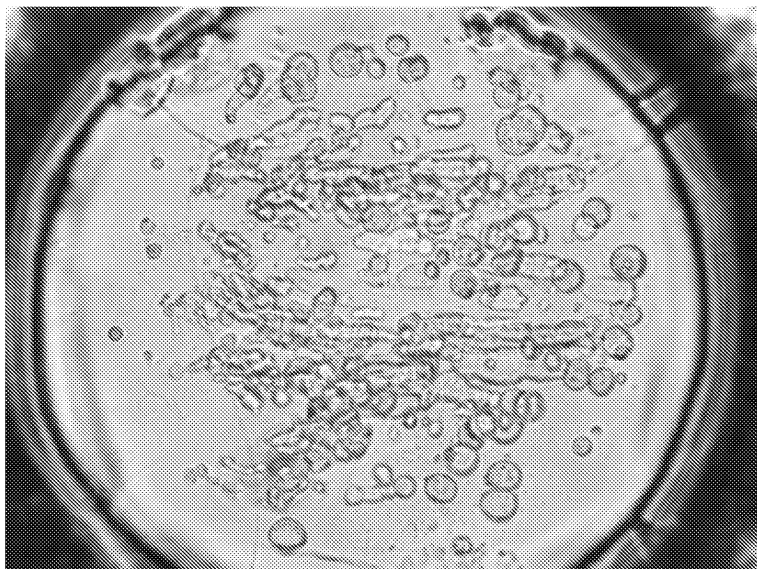
도면7b



도면8a



도면8b



도면9

