(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0074503
(43) 공개일자 2017년06월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/50 (2017.01) *C12M 3/06* (2006.01)
C12N 5/09 (2010.01) *C12Q 1/68* (2006.01)
G01N 1/30 (2006.01) *G01N 33/532* (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/5011 (2013.01)
C12M 23/16 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0183854
(22) 출원일자 2015년12월22일
심사청구일자 2015년12월22일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
정석
서울특별시 성북구 솔샘로 120, 123동 704호(정릉동, 정릉풍림아이원아파트)
김현호
경기도 용인시 처인구 금학로 91, 101동 504호(삼가동, 금령마을우남퍼스트빌아파트)
신유진
서울특별시 은평구 은평터널로 65, 104동 607호(수색동, 대림한숲타운아파트)
(74) 대리인
송인호, 윤형근, 최영중, 최관락

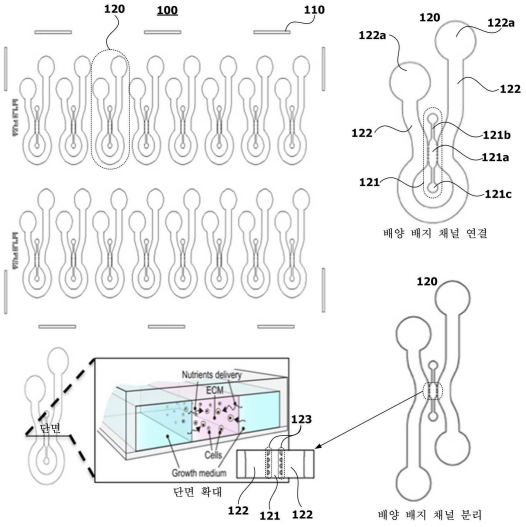
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법**

(57) 요 약

세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법이 제공된다. 본 발명의 일 실시예에 따른 복수의 유닛을 포함하는 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법은 (a) 상기 각 유닛 별로, 환자의 조직에서 분리된 세포와 서로 다른 세포외기질 겔을 혼합시킨 솔루션(solution) 및 서로 다른 배양 배지를 주입하는 단계, (b) 상기 각 유닛 별로, 상기 배양 배지가 상기 세포외기질 겔과 혼합된 세포로 공급됨에 따른 상기 세포의 생존률을 평가하는 단계 및 (c) 상기 세포의 생존률이 가장 높은 유닛에 주입된 세포외기질 겔과 배양 배지의 정보를 포함하는 세포 배양 조건을 결정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C12N 5/0693 (2013.01)
C12Q 1/6886 (2013.01)
G01N 1/30 (2013.01)
G01N 33/532 (2013.01)
G01N 33/6863 (2013.01)
C12N 2533/50 (2013.01)
C12N 2533/54 (2013.01)
C12N 2533/80 (2013.01)
C12Q 2600/106 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2013R1A2A2A03016122
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 중견연구자지원사업
연구과제명 뇌질환 모사를 위한 3차원 신경 조직의 구성
기 여 율 50/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2015.06.01 ~ 2016.05.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 NRF-2015M3C1A3002152
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 미래융합 융합기술 파이오니어사업
연구과제명 초고속 단분자 검지능 능동형 트랜스듀서 기술개발
기 여 율 50/100
주관기관 성균관대학교 산학협력단
연구기간 2015.03.01 ~ 2016.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

복수의 유닛을 포함하는 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법에 있어서,

(a) 상기 각 유닛 별로, 환자의 조직에서 분리된 세포와 서로 다른 세포외기질 겔을 혼합시킨 솔루션(solution) 및 서로 다른 배양 배지를 주입하는 단계;

(b) 상기 각 유닛 별로, 상기 배양 배지가 상기 세포외기질 겔과 혼합된 세포로 공급됨에 따른 상기 세포의 생존률을 평가하는 단계; 및

(c) 상기 세포의 생존률이 가장 높은 유닛에 주입된 세포외기질 겔과 배양 배지의 정보를 포함하는 세포 배양 조건을 결정하는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

(d) 상기 결정된 세포 배양 조건의 세포외기질 겔과 배양 배지를 새로운 복수의 유닛 각각에 주입하는 단계

를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 각 유닛은,

상기 세포외기질 겔과 세포를 혼합시킨 상기 솔루션이 주입되어 수용되는 세포외기질 채널; 및

상기 세포외기질 채널의 양 측 또는 어느 하나의 측에 위치하여 상기 배양 배지가 주입되어 수용되는 배양 배지 채널

을 포함하되,

상기 세포외기질 채널과 배양 배지 채널은

상기 배양 배지가 상기 세포외기질 채널로 공급되도록 하는 복수의 배양 배지 공급 통로로 연결되는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 (b) 단계는,

특정 배양 기간 동안, 전체 세포 중 살아있는 세포와 죽은 세포의 비율(live/dead assy)에 기반하여 상기 세포의 생존률을 평가하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 세포외기질 겔은 콜라젠(collagen), 매트리젤(matrigel), 피브린(fibrin), 히알루론산(hyaluron acid), 엘라스틴(elastin), 파이브로넥틴(fibronectin) 및 펩타이드(peptide) 중 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 환자의 조직에서 분리된 세포는 단일 세포(single cell) 형태 또는 복수로 결합된 구 형태(cancer sphere)로 상기 서로 다른 세포외기질 겔과 혼합되는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 7

복수의 유닛 - 세포외기질 채널과 배양 배지 채널을 포함함 - 을 포함하는 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법에 있어서,

(a) 환자의 조직에서 분리된 세포와 미리 정해진 세포외기질 겔을 혼합시켜 상기 각 유닛의 세포외기질 채널에 주입하는 단계;

(b) 상기 각 유닛 별로 서로 다른 후보 약물과 미리 정해진 배양 배지를 혼합시켜 상기 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입하는 단계;

(c) 상기 각 유닛에서 상기 배양 배지와 혼합된 후보 약물이 상기 세포외기질 겔과 혼합된 세포로 공급됨에 따른 상기 세포의 상태 변화 정보를 획득하는 단계; 및

(d) 상기 각 유닛에서의 상기 세포의 상태 변화 정보에 근거하여 상기 환자에 대한 상기 각 후보 약물의 적합성을 평가하는 단계

를 포함하되,

상기 미리 정해진 배양 배지 및 세포외기질 겔은 서로 다른 배양 배지 및 세포외기질 겔을 이용하여 미리 정해진 세포 배양 기간 동안 상기 세포를 배양한 결과, 상기 세포의 생존률이 최대가 되는 배양 조건에 포함되는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 각 유닛은,

상기 세포와 세포외기질 겔을 혼합시킨 솔루션(solution)이 주입되어 수용되는 상기 세포외기질 채널; 및

상기 세포외기질 채널의 양 측 혹은 어느 하나의 측에 위치하여 상기 배양 배지가 주입되어 수용되는 상기 배양 배지 채널을 포함하되,

상기 세포외기질 채널과 배양 배지 채널은

상기 배양 배지가 상기 세포외기질 채널로 공급되도록 하는 복수의 배양 배지 공급 통로로 연결되는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 9

제 7 항에 있어서,

상기 (b) 단계는,

상기 각 유닛 별로 상기 후보 약물의 종류 및 농도 중 하나 이상을 다르게 하여 상기 배양 배지와 혼합시키는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 10

제 7 항에 있어서,

상기 (a) 단계는,

상기 세포와 세포외기질 겔을 혼합시키되,

상기 세포는

단일 세포(single cell) 형태, 복수로 결합된 구(cancer sphere) 형태 또는 상기 세포외기질 채널의 벽에 붙어 있는 형태인 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 11

제 10 항에 있어서,

상기 (c) 단계는,

상기 세포의 형태에 따라서 상기 세포의 생존률, 모양 변화, 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도, 타겟 유전자, 타겟 단백질, 타겟 신호의 발현 정도 중 하나 이상을 포함하는 상기 세포의 상태 변화 정보를 획득하는 단계

를 포함하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 세포의 상태 변화 정보는 현미경 이미지 - 항체 염색(antibody staining)의 현미경 이미지를 포함함 - 를 이용하여 획득하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 13

제 11 항에 있어서,

상기 세포의 생존률, 모양 변화 및 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도는 광학적 분석을 이용하여 획득하고,

상기 타겟 유전자, 타겟 단백질 및 타겟 신호의 발현 정도는 면역형광염색(immunofluorescence staining), live/dead staining, PCR(Polymerase Chain Reaction), 채널 내 배양액을 이용한 사이토카인(cytokine) 분석 또는 ELISA 분석을 이용하여 획득하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 14

제 11 항에 있어서,

상기 (d) 단계는,

상기 세포의 상태 변화 정보에 근거한 CV값과 상기 세포의 생존률에 기반하여 상기 후보 약물이 상기 환자에게 적합한지 여부를 판단하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 15

복수의 유닛 - 세포외기질 채널과 배양 배지 채널을 포함함 - 을 포함하는 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법에 있어서,

(a) 미리 정해진 세포외기질 겔을 상기 각 유닛의 세포외기질 채널에 주입하는 단계;

(b) 환자의 조직에서 분리된 세포를 상기 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입하되, 상기 세포외기질 채널의 벽에 부착되도록 주입하는 단계;

(c) 상기 각 유닛 별로 서로 다른 후보 약물과 미리 정해진 배양 배지를 혼합시켜 상기 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입하는 단계;

(d) 상기 각 유닛에서 상기 배양 배지와 혼합된 후보 약물이 상기 배양 배지 채널에 주입된 세포에 작용함에 따른 상기 세포의 상태 변화 정보를 획득하는 단계; 및

(e) 상기 각 유닛에서의 상기 세포의 상태 변화 정보에 근거하여 상기 환자에 대한 상기 각 후보 약물의 적합성을 평가하는 단계

를 포함하되,

상기 미리 정해진 배양 배지 및 세포외기질 겔은 서로 다른 배양 배지 및 세포외기질 겔을 이용하여 미리 정해진 세포 배양 기간 동안 상기 세포를 배양한 결과, 상기 세포의 생존률이 최대가 되는 배양 조건에 포함되는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 16

제 15 항에 있어서,

상기 각 유닛은,

상기 세포와 세포외기질 겔을 혼합시킨 솔루션(solution)이 주입되어 수용되는 상기 세포외기질 채널; 및

상기 세포외기질 채널의 양 측 혹은 어느 하나의 측에 위치하여 상기 배양 배지가 주입되어 수용되는 상기 배양 배지 채널을 포함하되,

상기 세포외기질 채널과 배양 배지 채널은

상기 배양 배지가 상기 세포외기질 채널로 공급되도록 하는 복수의 배양 배지 공급 통로로 연결되는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 17

제 15 항에 있어서,

상기 (c) 단계는,

상기 각 유닛 별로 상기 후보 약물의 종류 및 농도 중 하나 이상을 다르게 하여 상기 배양 배지와 혼합시키는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

청구항 18

제 15 항에 있어서,

상기 (d) 단계는,

상기 세포의 모양 변화 및 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도 중 하나 이상에 기반하여, 타겟 유전자, 타겟 단백질 및 타겟 신호의 발현 정도 중 하나 이상을 포함하는 상기 세포의 상태 변화 정보를 획득하되,

상기 세포의 모양 변화 및 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도는 현미경 이미지 - 항체 염색(antibody staining)의 현미경 이미지를 포함함 - 를 이용하여 획득하는 것을 특징으로 하는 약물 평가 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 3차원 세포 배양 어세이를 이용하여 환자 맞춤형 약물을 평가하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 사람마다 생김새와 특성이 다른 것처럼 환자마다 암세포의 특성 및 약물에 대한 반응은 각기 다르다.

[0003] 이러한 특성 때문에 표준적인 약물 치료법만으로는 병을 정복하기 쉽지 않으며, 이를 극복하고자 요즘 적극 시도되고 있는 것이 환자 맞춤형 항암 치료이다.

[0004] 환자 맞춤형 항암 치료란 환자 개개인에게 암의 특성을 파악하고 가장 적절한 약물 치료를 시도하는 것이다.

[0005] 환자 맞춤형 항암 치료를 위하여 많은 방법들이 개발되고 있다.

[0006] 그 방법으로는 환자 암 조직을 떼어 유전자 분석을 통해 적절한 약물을 골라낼 수 있는 '분자 진단법'과 실험쥐를 이용하는 '이종 이식 모델', 그리고 생체 외(in vitro)에서 약물을 평가하는 방법이 대표적이다.

[0007] 여기서 유전자 분석을 통한 '분자 진단법'은 암세포의 유전자만을 분석할 수 있어 실제 세포의 생존력이나 침투 정도를 평가 할 수 없다는 단점을 가지고 있으며, '이종 이식 모델'은 실험용 쥐를 사용한다는 윤리적인 문제와 약물 평가 결과를 얻는데 시간 이 매우 오래 걸리기 때문에 약물 치료가 급하게 필요한 환자들에게는 오랜 시간을 기다려야 한다는 단점이 있다.

[0008] 또한, 생체 외(in vitro)에서 약물을 평가하는 방법은 기존의 시험관내(in vitro) 실험 기술로 실제 암세포의 약물에 대한 임상 반응을 예측하기에는 많은 어려움이 있다.

[0009] 암세포들은 대부분 3차원적으로 세포외기질(ExtraCellular Matrix;ECM)과 주변 세포들과 함께 상호 작용을 하며 생존을 하지만, 기존의 시험관 내 실험 기술들은 2차원적 구조를 지니고 있어, 체내의 암 세포의 생리학적 환경과는 많은 차이가 발생하는 문제가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 전술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 환자에 대한 다양한 후보 약물들의 적합성 평가를 진행하기 위하여, 환자의 조직에서 분리된 세포의 생존률을 최대로 하는 최적의 배양 조건을 신속하게 찾을 수 있는 방안을 제공하고자 한다.

[0011] 또한, 환자에 대한 다양한 후보 약물들의 적합성 평가를 동시에 진행함으로써, 환자에게 최적화된 약물을 신속하게 선택할 수 있는 방안을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명의 일 실시예에 따른 복수의 유닛을 포함하는 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법은 (a) 상기 각 유닛 별로, 환자의 조직에서 분리된 세포와 서로 다른 세포외기질 겔을 혼합시킨 솔루션(solution) 및 서로 다른 배양 배지를 주입하는 단계, (b) 상기 각 유닛 별로, 상기 배양 배지가 상기 세포외기질 겔과 혼합된 세포로 공급됨에 따른 상기 세포의 생존률을 평가하는 단계 및 (c) 상기 세포의 생존률이 가장 높은 유닛에 주입된 세포외기질 겔과 배양 배지의 정보를 포함하는 세포 배양 조건을 결정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0013] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명의 다른 실시예에 따른 복수의 유닛 - 세포외기질 채널과 배양 배지 채널을 포함함 - 을 포함하는 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법은 (a) 환자의 조직에서 분리된 세포와 미리 정해진 세포외기질 겔을 혼합시켜 상기 각 유닛의 세포외기질 채널에 주입하는 단계, (b) 상기 각 유닛 별로 서로 다른 후보 약물과 미리 정해진 배양 배지를 혼합시켜 상기 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입하는 단계, (c) 상기 각 유닛에서 상기 배양 배지와 혼합된 후보 약물이 상기 세포외기질 겔과 혼합된 세포로 공급됨에 따른 상기 세포의 상태 변화 정보를 획득하는 단계 및 (d) 상기 각 유닛에서의 상기 세포의 상태 변화 정보에 근거하여 상기 환자에 대한 상기 각 후보 약물의 적합성을 평가하는 단계를 포함하되, 상기 미리 정해진 동일한 배양 배지 및 세포외기질 겔은 서로 다른 배양 배지 및 세포외기질 겔을 이용하여 미리 정해진 세포 배양 기간 동안 상기 세포를 배양한 결과, 상기 세포의 생존률이 최대가 되는 배양 조건에 포함되는 것을 특징으로 한다.

[0014] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 복수의 유닛 - 세포외기질 채널과 배양 배지 채널을 포함함 - 을 포함하는 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 방법은 (a) 미리 정해진 세포외기질 겔을 상기 각 유닛의 세포외기질 채널에 주입하는 단계, (b) 환자의 조직에서 분리된 세포를 상기 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입하되, 상기 세포외기질 채널의 벽에 부착되도록 주입하는 단계, (c) 상기 각 유닛 별로 서로 다른 후보 약물과 미리 정해진 배양 배지를 혼합시켜 상기 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입하는 단계, (d) 상기 각 유닛에서 상기 배양 배지와 혼합된 후보 약물이 상기 배양 배지 채널에 주입된 세포에 작용함에 따른 상기 세포의 상태 변화 정보를 획득하는 단계 및 (e) 상기 각 유닛에서의 상기 세포의 상태 변화 정보에 근거하여 상기 환자에 대한 상기 각 후보 약물의 적합성을 평가하는 단계를 포함하되, 상기 미리 정해진 배양 배지 및 세포외기질 겔은 서로 다른 배양 배지 및 세포외기질 겔을 이용하여 미리 정해진 세포 배양 기간 동안 상기 세포를 배양한 결과, 상기 세포의 생존률이 최대가 되는 배양 조건에 포함되는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0015] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 환자의 조직에서 분리된 암 세포의 생존률을 최대로 하는 최적의 배양 조건을 신속하게 찾을 수 있다.

[0016] 또한, 생존률이 높은 암 세포를 이용하여 환자에 대한 다양한 후보 약물들의 적합성을 평가할 수 있으므로, 평가 결과의 신뢰성을 높일 수 있다.

[0017] 또한, 환자에 대한 다양한 후보 약물들의 적합성 평가를 동시에 진행할 수 있으므로, 적합성 평가에 소요되는 시간과 노력을 절약하여 약물 치료가 시급한 환자들에게 최적의 약물을 신속히 제공할 수 있다.

[0018] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 특허청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 3차원 세포 배양 어세이를 도시한 도면이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 과정을 도시한 흐름도이다.

도 3은 본 발명의 다른 실시예에 따른 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 과정을 도시한 흐름도이다.

도 4 내지 6은 본 발명의 실시예에 따른 환자의 암 세포의 약물 평가 방법을 도시한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 이하에서는 첨부한 도면을 참조하여 본 발명을 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며, 따라서 여기에서 설명하는 실시예로 한정되는 것은 아니다.

[0021] 그리고 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[0022] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐

아니라, 그 중간에 다른 부재를 사이에 두고 "간접적으로 연결"되어 있는 경우도 포함한다.

[0023] 또한 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 구비할 수 있다는 것을 의미한다.

[0024] 이하 첨부된 도면을 참고하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명하기로 한다.

[0025] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 3차원 세포 배양 어세이를 도시한 도면이다.

[0026] 본 발명의 일 실시예에 따른 3차원 세포 배양 어세이(100)는 세포 배양판(110) 및 세포 배양판(110) 상에 배열된 복수의 유닛(120)을 포함할 수 있으며, 각 유닛(120)은 세포외기질 채널(121)과 배양 배지(media) 채널(122)을 포함할 수 있다.

[0027] 각 구성 요소를 설명하면, 세포 배양판(110)은 소정 물질의 미소 유량을 수송할 수 있는 미세 유체 구조가 구현 가능한 소재로 제조될 수 있으며, 세포 배양판(110)에는 복수의 유닛이 배열될 수 있다.

[0028] 본 발명의 일 실시예에서는, 도 1에 도시된 바와 같이, 세포 배양판(110)에 복수의 유닛(120)을 배열하였다.

[0029] 참고로, 환자의 조직으로부터 분리된 암 세포는 신체가 아닌 다른 환경에 노출되면 그 생존률이 현저하게 감소되며, 생존률이 낮은 암 세포를 이용하여 환자에 대한 약물의 적합성을 평가하는 경우, 적합성 평가의 신뢰도는 매우 낮을 수 밖에 없다.

[0030] 이에, 본 발명의 실시예에서는, 환자의 조직으로부터 분리된 암 세포의 생존률이 최대가 되게 하는 최적의 배양 조건 - 세포외기질 겔과 배양 배지 - 을 먼저 찾고, 최적의 배양 조건을 적용한 테스트 환경에서 환자의 암 세포에 대한 약물의 적합성을 신속하게 평가할 수 있는 방안을 제안하고자 한다.

[0031] 본 발명의 일 실시예에서 세포 배양판(110)에 배열되는 유닛(120)의 수는 16개로 설정하였으나 유닛(120)의 개수가 본 발명의 실시예로 한정되는 것은 아니며, 실시예에 따라서 얼마든지 다른 개수의 유닛(120)이 세포 배양판(110)에 배열될 수 있다.

[0032] 한편, 유닛(120)은 세포 배양판(110)에 배열될 수 있으며, 환자의 조직으로부터 분리된 암 세포의 배양과 후보 약물에 반응하는 환자의 암 세포를 실시간 관찰할 수 있는 구조를 가질 수 있다.

[0033] 이를 위해 유닛(120)은 세포외기질 채널(121)과 배양 배지 채널(122)을 포함할 수 있다.

[0034] 구체적으로, 세포외기질 채널(121)은 세포외기질 겔(ExtraCellular Matrix gel)과 환자의 암 세포를 혼합시킨 솔루션(solution)이 주입되어 수용될 수 있다.

[0035] 여기서, 세포외기질 겔은 콜라젠(collagen), 매트리젤(matrigel), 피브린(fibrin), 히알루론산(hyaluron acid), 엘라스틴(elastin), 파이브로넥틴(fibronectin), 펩타이드(peptide) 등이 사용될 수 있다.

[0036] 세포외기질 채널(121)에 주입된 환자의 암 세포들은 세포외기질 겔과 혼합되어 세포외기질 채널(121) 내에서 배양될 수 있다.

[0037] 이때, 세포의 농도는 0.1million cells/ml ~ 10 million cells/ml 등의 범위 내에서 다양하게 조절될 수 있다.

[0038] 또한, 세포외기질 채널(121)은 양 측면에 형성된 복수의 영양분 공급 통로(123)를 통해 후술하는 배양 배지 채널(122)과 연결됨으로써 배양 배지 채널(122)에 수용된 배양 배지가 세포외기질 채널(121) 내로 유입될 수 있다.

[0039] 또한, 세포외기질 채널(121)의 양 단은 유입구 역할을 하는 저장소(reservoir)(121c)와 각각 연결될 수 있다.

[0040] 여기서, 세포외기질 채널(121)은 중앙에 위치하는 메인 공간(121a) 및 메인 공간(121a)의 상·하 방향에 각각 연결되고, 메인 공간(121a)보다 작은 단면적을 가지는 서브 공간(121b)을 포함할 수 있으며, 저장소(121c)는 서브 공간(121b)에 각각 연결될 수 있다.

[0041] 세포외기질 채널(121)로 세포외기질 겔 또는 환자의 암세포를 주입 시 상기 저장소(121c)에 일정 량을 주입하면, 저장소(121c)가 유입구 역할을 하여, 주입된 세포외기질 겔 또는 환자의 암세포가 서브 공간(121b)을 거쳐 메인 공간(121a)으로 유입될 수 있다.

[0042] 한편, 배양 배지 채널(122)은 세포외기질 채널(121)의 양 측면에 각각 위치할 수 있으며, 복수의 영양분 공급 통로(123)를 통해 세포외기질 채널(121)과 연결될 수 있다.

[0043] 또한, 배양 배지 채널(122)은 세포외기질 채널(121)에 수용된 암 세포들에게 영양분을 공급하는 배양 배지를 수용할 수 있으며, 배양 배지 채널(122)에 수용된 배양 배지는 암 세포의 생존률이 최대가 되는 최적의 배양 조건을 찾기 위한 테스트에서 영양분 공급 통로(123)를 통해 세포외기질 채널(121)로 공급되거나, 환자의 암 세포에 대한 약물의 적합성 평가 시 배양 배지 채널(122)에 주입되는 후보 약물과 혼합되어 영양분 공급 통로(123)를 통해 세포외기질 채널(121)로 공급될 수 있다.

[0044] 참고로, 배양 배지 채널(122)에 주입되는 후보 약물은 유닛(120)별로 다를 수 있으며, 동일한 후보 약물 중에서도 서로 다른 농도를 가질 수 있다.

[0045] 또한, 배양 배지 채널(122)은 도 1에 도시된 바와 같이 두 개의 배양 배지 채널(122)이 서로 연결되거나 분리될 수 있다.

[0046] 후술하겠지만, 배양 배지 채널(122)이 서로 연결된 경우와 분리된 경우는 후보 약물 평가 시 암 세포의 형태에 따라서 선택적으로 사용될 수 있다.

[0047] 또한, 배양 배지 채널(122)의 양 단에 유입구 역할을 하는 저장소(reservoir)(122a)가 연결될 수 있으며, 저장소(122a)의 역할은 전술한 세포외기질 채널(121)의 저장소(121c)와 동일하다.

[0048] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 과정을 도시한 흐름도이다.

[0049] 참고로, 도 2는 환자의 조직으로부터 분리된 암 세포의 생존률이 최대가 되게 하는 최적의 배양 조건을 찾는 과정이다.

[0050] 먼저, 환자의 조직에서 분리된 암 세포와 서로 다른 복수의 세포외기질 겔을 각각 혼합하여 복수의 솔루션(solution)을 만든다(S201).

[0051] 여기서, 서로 다른 복수의 세포외기질 겔은 서로 다른 종류의 세포외기질 겔일 수 있다. 즉, 솔루션은 세포외기질 겔의 종류별로 생성될 수 있다.

[0052] S201 후, 각 솔루션을 각 유닛의 세포외기질 채널(121)에 주입하고, 서로 다른 배양 배지를 각 유닛의 배양 배지 채널(122)에 주입한다(S202).

[0053] 여기서 서로 다른 배양 배지는 종류와 성분이 다른 배양 배지일 수 있다.

[0054] S202 후, 각 유닛(120)에서는 배양 배지가 영양분 공급 통로(123)를 통해 세포외기질 겔과 혼합된 암 세포로 공급되며, 이에 따른 암 세포의 배양 상태를 미리 정해진 배양 기간 동안 관찰하여 암 세포의 생존률을 획득한다(S203).

[0055] 참고로, 복수의 모든 유닛(120)에서 암 세포의 생존률이 미리 정해진 기준 이하인 경우 배양에 실패한 것으로 판단할 수 있다.

[0056] S203 후, 생존률이 가장 높은 유닛(120)에 주입된 세포외기질 겔과 배양 배지(정보)를 최적의 세포 배양 조건으로 결정한다(S204).

[0057] S204 후, 결정된 세포 배양 조건의 세포외기질 겔과 배양 배지를 새로운 복수의 유닛(120)에 각각 주입하여 암 세포에 대한 후보 약물의 적합성 평가 환경을 셋팅한다(S205).

[0058] 도 3은 본 발명의 다른 실시예에 따른 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 과정을 도시한 흐름도이다.

[0059] 참고로, 도 3은 도 2에서 결정된 최적의 암 세포 배양 조건을 이용하여 환자에 대한 후보 약물의 적합성을 평가하는 과정이다.

[0060] 먼저, 환자의 조직에서 분리된 암 세포와 미리 정해진 세포외기질 겔을 혼합시킨 제 1 솔루션을 복수 개 만들고, 각 솔루션을 각 유닛의 세포외기질 채널(121)에 주입한다(S301).

[0061] 이때, 세포외기질 겔과 혼합되는 암 세포의 형태는 단일 세포(single cell) 형태, 복수로 결합된 구(cancer sphere) 형태 또는 세포외기질 채널의 벽에 붙어 있는 형태(cancer invasion)일 수 있다.

[0062] S301 후, 서로 다른 후보 약물과 미리 정해진 배양 배지를 혼합시킨 제 2 솔루션을 복수 개 만들고, 각 솔루션을 각 유닛의 배양 배지 채널(122)에 주입한다(S302).

[0063] 여기서, 서로 다른 후보 약물은 약물의 종류가 다른 것은 물론, 동일한 종류의 약물이더라도 농도가 다른 경우

도 포함할 수 있다.

[0064] 참고로, S301과 S302의 미리 정해진 배양 배지 및 세포외기질 겔은 서로 다른 배양 배지 및 세포외기질 겔을 이용하여 미리 정해진 배양 기간 동안 암 세포를 배양한 결과, 암 세포의 생존률이 최대가 되는 배양 조건이다.

[0065] 또한, S301과 S302에서 제 1 솔루션을 먼저 생성하여 각 유닛에 주입한 후 제 2 솔루션을 생성하여 각 유닛에 주입하는 것으로 설명하였지만, 실시예에 따라서 제 2 솔루션을 먼저 생성하고 각 유닛에 주입한 후, 제 1 솔루션을 생성하고 각 유닛에 주입할 수도 있으며, 실시예에 따라서 제 1 솔루션과 제 2 솔루션을 먼저 생성한 후 각 유닛에 주입할 수도 있다.

[0066] S302 후, 각 유닛(120)에서는 배양 배지와 혼합된 후보 약물이 영양분 공급 통로(123)를 통해 세포외기질 겔과 혼합된 암 세포로 공급되며, 이에 따른 암 세포의 상태 변화를 관찰하여 암 세포의 상태 변화 정보를 획득한다(S303).

[0067] 여기서, 상기 암 세포의 상태 변화 정보는 S302에서 주입된 암 세포의 형태에 따른 암 세포의 생존률, 모양 변화, 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도, 타겟 유전자, 타겟 단백질 및 타겟 신호의 발현 정도 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0068] 그리고, 암 세포의 생존률, 모양 변화, 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도는 현미경 이미지 - 항체 염색(antibody staining)의 현미경 이미지를 포함함 - 를 이용하여 획득될 수 있으며, 암 세포의 타겟 유전자, 타겟 단백질 및 타겟 신호의 발현 정도는 면역형광염색(immunofluorescence staining), live/dead staining, PCR(Polymerase Chain Reaction), 채널 내 배양액을 이용한 사이토카인(cytokine) 분석 또는 ELISA 분석을 이용하여 획득될 수 있다.

[0069] 참고로, 암 세포의 모양 변화는 암 세포가 더 이상 암 세포로서 기능을 하지 못하는 모양으로 변하는지 여부를 포함할 수 있으며, 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도는 주변 조직으로의 침투 정도가 약화되는지 여부를 포함할 수 있다.

[0070] S303 후, 각 유닛(120)에서의 암 세포의 상태 변화 정보에 근거하여 환자에 대한 각 후보 약물의 적합성을 평가한다(S304).

[0071] 이때, CV값과 암 세포의 생존률에 기반하여 후보 약물이 환자에게 적합한지 여부를 판단할 수 있다.

[0072] 도 4는 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 3차원 세포 배양 어세이를 이용한 약물 평가 과정을 도시한 흐름도이다.

[0073] 참고로, 도 4는 도 2에서 결정된 최적의 암 세포 배양 조건을 이용하여 환자에 대한 후보 약물의 적합성을 평가하는 과정으로서, 세포외기질 채널의 벽에 붙어 있는 공격(cancer invasion) 형태의 암 세포를 평가(암 세포의 침투 정도 평가)하기 위한 과정이다.

[0074] 먼저, 미리 정해진 세포외기질 겔을 각 유닛의 세포외기질 채널(121)에 주입한다(S401).

[0075] S401 후, 환자의 조직에서 분리된 암 세포를 각 유닛의 배양 배지 채널(122)에 주입하되, 세포외기질 채널(121)의 벽에 부착되도록 주입한다(S402).

[0076] S402 후, 각 유닛 별로 서로 다른 후보 약물과 미리 정해진 배양 배지를 혼합시켜 배양 배지 채널(122)에 주입한다(S403).

[0077] 이때, 각 유닛 별로 후보 약물의 종류 및 농도 중 하나 이상을 다르게 하여 배양 배지와 혼합시킬 수 있다.

[0078] 참고로, S401과 S403의 미리 정해진 세포외기질 겔 및 배양 배지는 도 2에서 결정된 최적의 암 세포 배양 조건에 포함될 수 있다.

[0079] S403 후, 각 유닛에서 배양 배지와 혼합된 후보 약물이 배양 배지 채널에 주입된, 더 정확히는 세포외기질 채널(121)의 벽에 부착된 암 세포에 작용함에 따른 암 세포의 상태 변화 정보를 획득한다(S404).

[0080] S404 후, 각 유닛의 암 세포의 상태 변화 정보에 근거하여 환자에 대한 후보 약물의 적합성을 평가한다(S405).

[0081] 도 5 내지 7은 본 발명의 실시예에 따른 환자의 암 세포의 약물 평가 방법을 도시한 도면이다.

[0082] 도 5는 특정 배양 기간 동안 배양 배지의 종류 별로(media1, 2, 3 및 4) 환자의 암 세포가 배양된 결과로서, 세포외기질 채널(121)의 메인 공간(121a)을 확대한 것이다.

[0083] 도 5에 도시된 바와 같이, 각 배양 배지의 조건마다 암 세포의 생존률이 다른 것을 확인할 수 있으며, 이 중 환자에게 적합한 최적의 배양 배지를 선택할 수 있다.

[0084] 도 6은 특정 배양 기간 동안 세포외기질 겔의 종류 별로(ECM 1, 2, 3 및 4) 환자의 암 세포가 배양된 결과로서, 세포외기질 채널(121)의 메인 공간(121a)을 확대한 것이다.

[0085] 도 6에 도시된 바와 같이, 각 세포외기질 겔의 종류에 따라서 암 세포의 생존률이 다른 것을 확인할 수 있으며, 이 중 환자에게 적합한 최적의 세포외기질 겔을 선택할 수 있다.

[0086] 도 7은 암 세포의 형태에 따른 약물 평가 방법을 도시한 도면이다.

[0087] 본 발명의 실시예에 따른 암 세포의 약물 평가는 암 세포의 형태에 따라서 3가지로 진행될 수 있으며, 여러 약물 후보군과 각 약물의 농도별 테스트를 통해서 암 세포의 생존률, 모양 변화, 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도, 타겟 유전자, 타겟 단백질 및 타겟 신호의 발현 정도 등을 평가하고, 그 결과를 종합하여 환자에게 적합한 최적의 후보 약물은 선택할 수 있다.

[0088] 일 실시예로서, 암 세포가 단일 세포 형태인 경우 후보 약물에 대한 단일 세포의 상태 변화 정보를 획득하는 방법이다.

[0089] 단일 세포의 상태 변화 정보를 통해서 해당 암 세포의 생존률을 평가할 수 있으며, 이를 위해 도 7의 (a)에 도시된 바와 같이 유닛(120)의 배양 배지 채널(122)이 서로 연결된 구조를 사용할 수 있다.

[0090] 다른 실시예로서, 암 세포가 복수로 구성된 구 형태(cancer sphere)인 경우 후보 약물에 대한 해당 세포들의 상태 변화 정보를 획득하는 방법이다.

[0091] 구 형태를 이루는 암 세포들의 상태 변화 정보를 통해서 해당 암 세포의 생존률과 침투 정도를 평가할 수 있으며, 이를 위해 도 7의 (b)에 도시된 바와 같이 유닛(120)의 배양 배지 채널(122)이 서로 연결된 구조를 사용할 수 있다.

[0092] 또 다른 실시예로서, 암 세포가 복수로 구성되어 세포외기질 채널(121)의 벽에 부착되는 공격(cancer invasion) 형태인 경우 후보 약물에 대한 해당 세포들의 상태 변화 정보를 획득하는 방법이다.

[0093] 세포외기질 채널(121)의 벽에 붙어 있는 공격 형태를 이루는 암 세포들의 상태 변화 정보를 통해서 해당 암 세포의 생존률과 침투 정도을 평가할 수 있으며, 이를 위해 도 7의 (c)에 도시된 바와 같이 유닛(120)의 배양 배지 채널(122)이 서로 분리된 구조를 사용할 수 있다.

[0094] 참고로, 도 7의 (c)에 도시된 평가 방법은 도 4에 도시된 과정을 통해서 수행될 수 있다.

[0095] 도 7에 도시된 실시예를 통해 암 세포의 생존률, 모양 변화, 주변 세포외기질 겔로의 침투 정도, 타겟 유전자, 타겟 단백질 및 타겟 신호의 발현 정도 중 하나 이상을 포함하는 암 세포의 상태 변화 정보를 획득하여 분석할 수 있으며 이를 통해 환자에게 적합한 최적의 후보 약물을 선택할 수 있다.

[0096] 참고로, 암 세포의 모양 변화와 생존률의 분석은 현미경 이미지 - 항체 염색(antibody staining)의 현미경 이미지를 포함함 - 를 이용할 수 있다.

[0097] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다.

[0098] 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다.

[0099] 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

[0100] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

부호의 설명

[0101] 100 : 3차원 세포 배양 어세이

110 : 배양판

120 : 유닛

121 : 세포외기질 채널

121a : 메인 공간

121b : 서브 공간

121c : 저장소

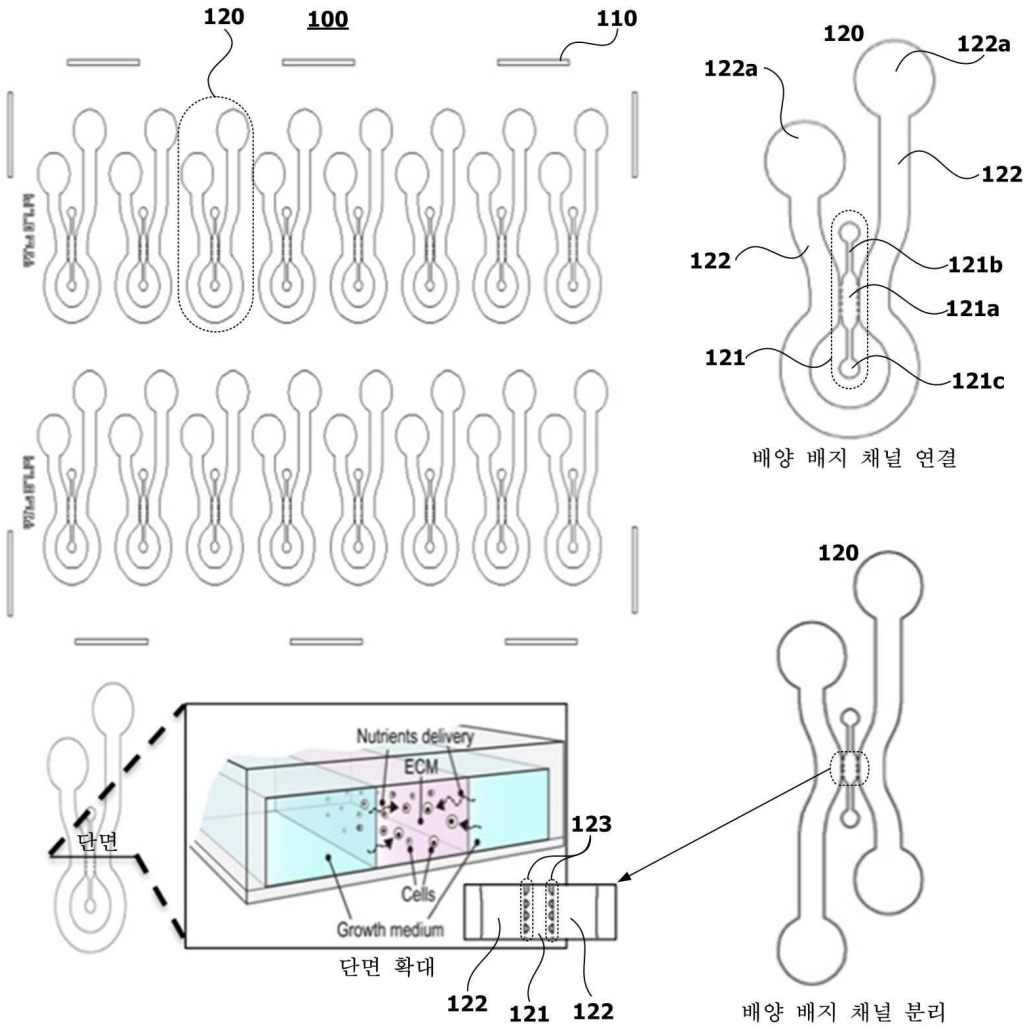
122 : 배양 배지 채널

122a : 저장소

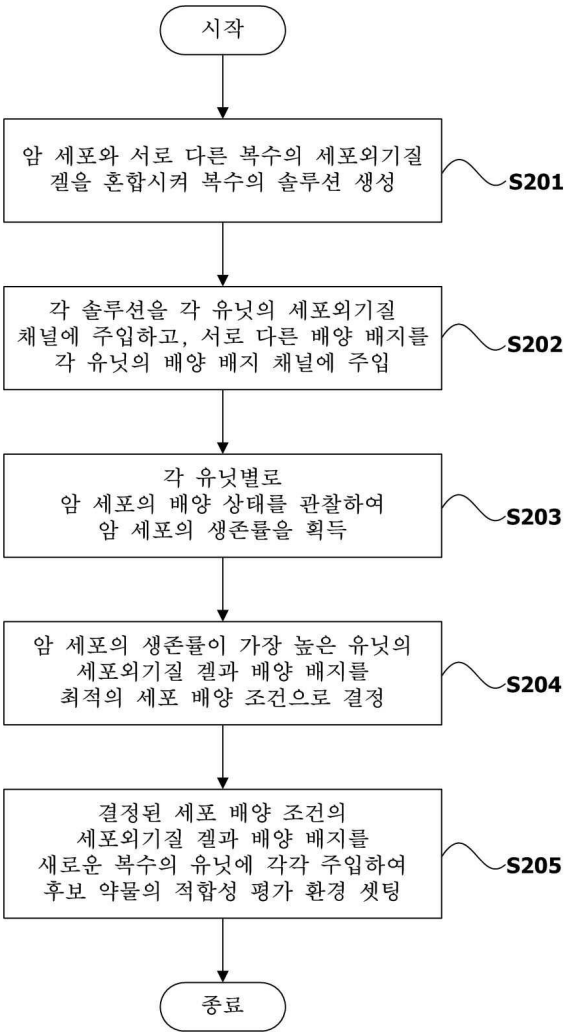
123 : 영양분 공급 통로

도면

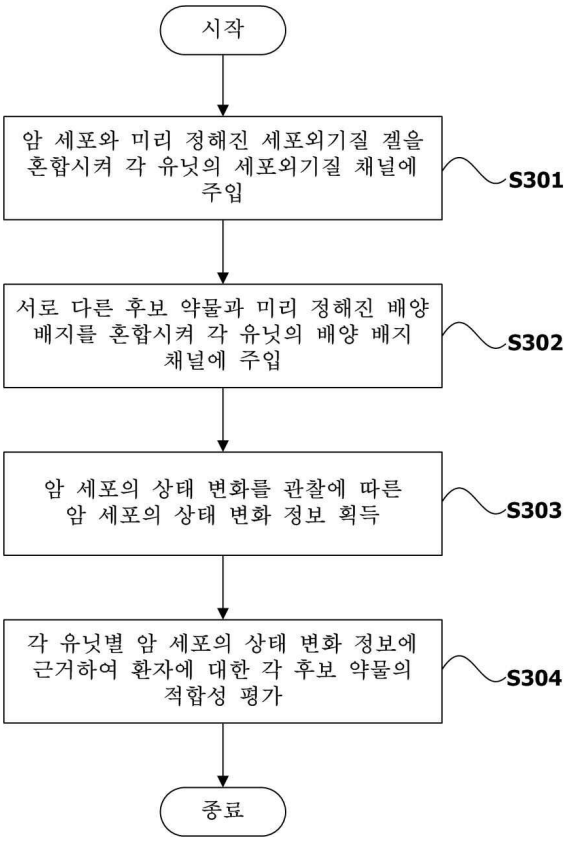
도면1



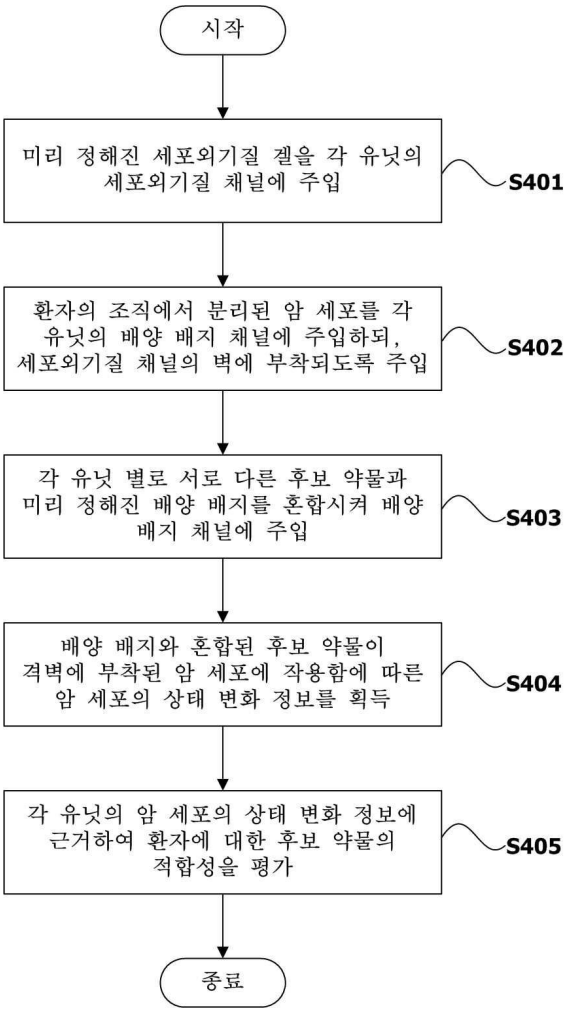
도면2


시작
암 세포와 서로 다른 복수의 세포외기질 겔을 혼합시켜 복수의 솔루션 생성
S201
각 솔루션을 각 유닛의 세포외기질 채널에 주입하고, 서로 다른 배양 배지를 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입
S202
각 유닛별로 암 세포의 배양 상태를 관찰하여 암 세포의 생존률을 획득
S203
암 세포의 생존률이 가장 높은 유닛의 세포외기질 겔과 배양 배지를 최적의 세포 배양 조건으로 결정
S204
결정된 세포 배양 조건의 세포외기질 겔과 배양 배지를 새로운 복수의 유닛에 각각 주입하여 후보 약물의 적합성 평가 환경 셋팅
S205
종료

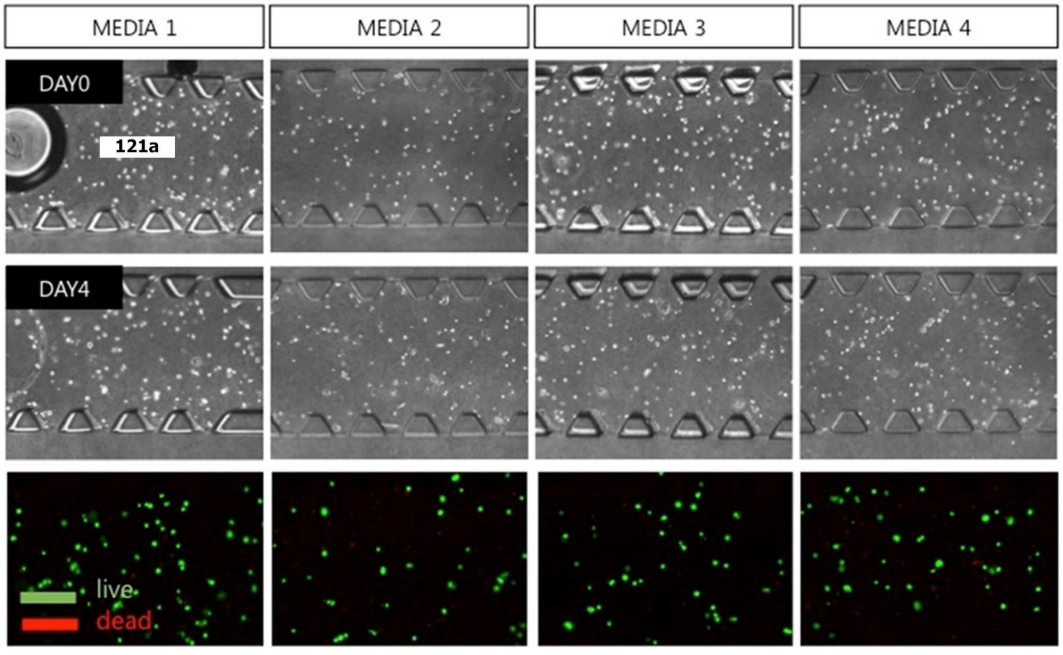
도면3


시작
암 세포와 미리 정해진 세포외기질 겔을 혼합시켜 각 유닛의 세포외기질 채널에 주입
S301
서로 다른 후보 약물과 미리 정해진 배양 배지를 혼합시켜 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입
S302
암 세포의 상태 변화를 관찰에 따른 암 세포의 상태 변화 정보 획득
S303
각 유닛별 암 세포의 상태 변화 정보에 근거하여 환자에 대한 각 후보 약물의 적합성 평가
S304
종료

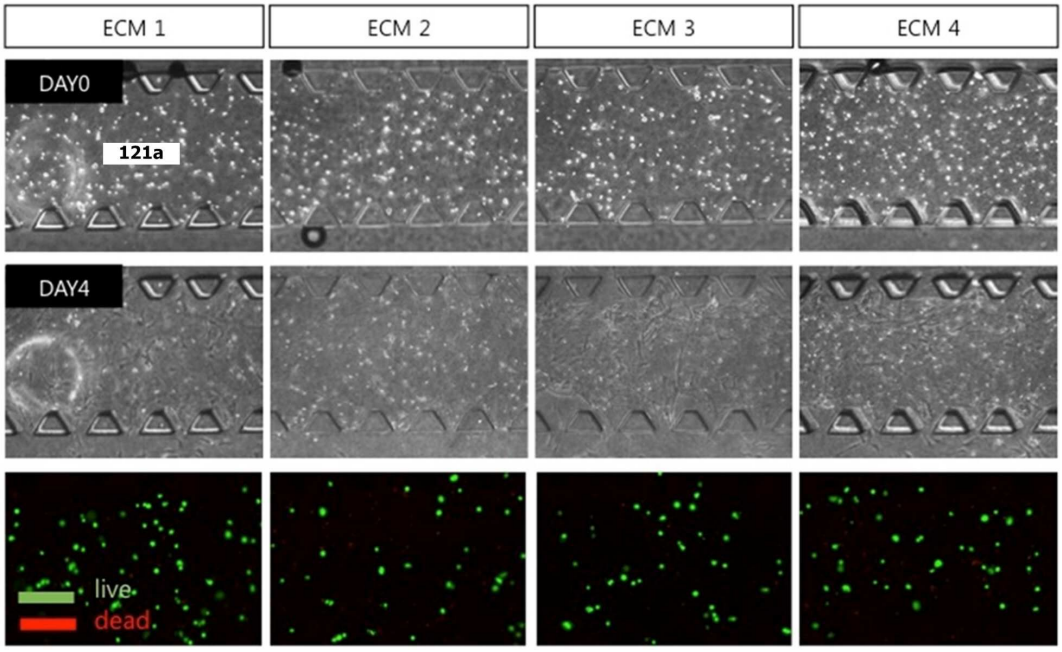
도면4


시작
미리 정해진 세포외기질 겔을 각 유닛의 세포외기질 채널에 주입
S401
환자의 조직에서 분리된 암 세포를 각 유닛의 배양 배지 채널에 주입하되, 세포외기질 채널의 벽에 부착되도록 주입
S402
각 유닛 별로 서로 다른 후보 약물과 미리 정해진 배양 배지를 혼합시켜 배양 배지 채널에 주입
S403
배양 배지와 혼합된 후보 약물이 격벽에 부착된 암 세포에 작용함에 따른 암 세포의 상태 변화 정보를 획득
S404
각 유닛의 암 세포의 상태 변화 정보에 근거하여 환자에 대한 후보 약물의 적합성을 평가
S405
종료

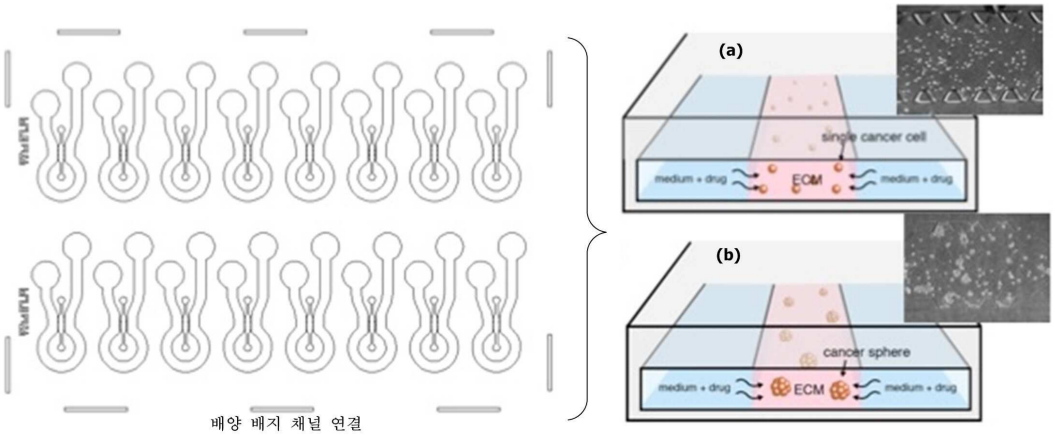
도면5


MEDIA 1
MEDIA 2
MEDIA 3
MEDIA 4
DAY0
121a
DAY4
live
dead

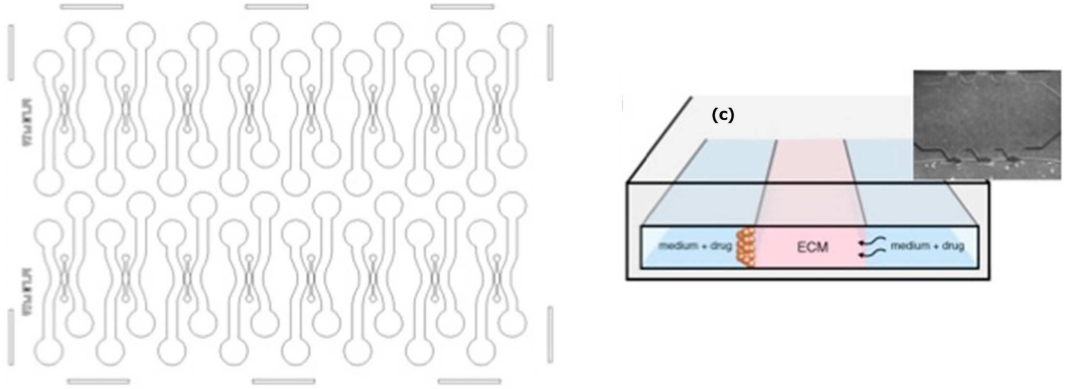
도면6



도면7



배양 배지 채널 연결



배양 배지 채널 분리