

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2023년 3월 9일 (09.03.2023)



(10) 국제공개번호
WO 2023/033337 A1

- (51) 국제특허분류:
C12M 3/00 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01)
C12M 3/06 (2006.01) C12N 5/071 (2010.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2022/009812
- (22) 국제출원일: 2022년 7월 7일 (07.07.2022)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2021-0118327 2021년 9월 6일 (06.09.2021) KR
- (71) 출원인: 서울대학교산학협력단 (SEOUL NATIONAL UNIVERSITY R&DB FOUNDATION) [KR/KR]; 08826 서울특별시 관악구 관악로 1(신림동), Seoul (KR).
- (72) 발명자: 전누리 (JEON, Noo Li); 05698 서울특별시 송파구 송파대로 345, 303동 1901호(가락동, 헬리오시티), Seoul (KR). 김영택 (KIM, Young Taek); 08826 서울특별시 관악구 관악로 1, 관악학생생활관 904동 510호(신림동), Seoul (KR). 이승렬 (LEE, Seung Ryeol); 16491 경기도 수원시 팔달구 효원로292번길 50, 1514호(인계동), Gyeonggi-do (KR). 김수룡 (KIM, Su Ryong); 35244 대전광역시 서구 둔산북로 215, 6동 1402호(둔산동, 가람아파트), Daejeon (KR).
- (74) 대리인: 특허법인엠에이피에스 (MAPS INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM); 06239 서울특별시 강남구 테헤란로8길 37, 8층(역삼동, 한동빌딩), Seoul (KR).

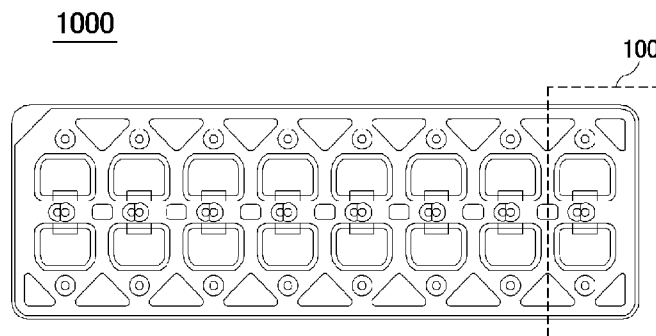
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

(54) Title: SPHEROID OR ORGANOID MICROFLUIDIC CHIP AND METHOD FOR FORMING SPHEROID OR ORGANOID IN VITRO MODEL BY USING SAME

(54) 발명의 명칭: 스페로이드 또는 오가노이드 미세 유체 칩 및 이를 이용한 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델 형성 방법



(57) Abstract: In order to achieve one purpose of the present invention, a microfluidic chip for three-dimensionally simulating a spheroid or organoid in vitro model according to the present invention may comprise: a supply unit; a forming unit formed under the supply unit; and a culture unit which is formed under the forming unit and receives cells for culturing or materials for forming blood vessels, supplied from the supply unit, wherein the fluid supplied through the supply unit may be condensed to be gathered inside the forming unit so as to be maintained in a state spaced apart from the lower portion of the culture unit.

(57) 요약서: 본원 발명의 일 목적을 달성하기 위하여 본원 발명에 따른 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 3차원으로 모사하기 위한 미세 유체 칩은, 공급부, 상기 공급부의 하부에 형성되는 형성부, 상기 형성부의 하부에 형성되며, 상기 공급부로부터 배양용 세포 또는 혈관 조성용 물질을 공급받는 배양부를 포함할 수 있으며, 상기 공급부를 통해 공급된 유체가 상기 형성부 내부에 응축되어 맺혀 상기 배양부의 하부로부터 이격된 상태로 유지될 수 있다.



WO 2023/033337 A1

명세서

발명의 명칭: 스페로이드 또는 오가노이드 미세 유체 칩 및 이를 이용한 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델 형성 방법

기술분야

- [1] 본 발명은 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 3차원으로 모사하기 위한 미세 유체 칩에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 인간의 질병 치료를 위해 수많은 약물이 개발되고 평가되고 있으며, 약물 개발을 위한 체외 인간 조직 및 장기 모사 모델 연구가 진행되고 있다. 모델 중 세포들을 모아서 3차원으로 형성하는 스페로이드(Spheroid) 및 오가노이드(Organoid)가 있는데, 이는 2차원으로 배양된 세포보다 복잡하고 다채로운 미세환경을 제공할 수 있다는 장점이 있다. 하지만 일반적인 스페로이드 및 오가노이드는 관류 가능한 3차원 혈관이 부재하여 산소 및 영양분 공급이 원활하게 되지 않고, 모델 내 체내 환경을 조성하기 어렵다는 문제점을 지니고 있다.
- [3] 이러한 한계점을 극복하고자 미세 유체 칩 내에서 스페로이드 및 오가노이드와 혈관 네트워크를 공배양한 모델들이 개발되었다. 그러나 선행 공배양 모델들의 경우 공통적으로 칩 내 스페로이드 및 오가노이드를 주입하는 과정이 상당히 복잡하고 어렵다는 단점이 존재한다.
- [4] 구체적으로, 선행 공배양 모델들은 먼저 다른 플랫폼(U-shaped 96 well plate)에서 스페로이드 및 오가노이드를 미리 형성하여야 하며, 형성된 스페로이드 및 오가노이드를 웰 플레이트(well plate) 내에서 파이펫을 사용하여 추출한 후 칩 내에 주입하는 과정에서 상당한 숙련도를 필요로 한다. 또 실험자의 개별 능력에 따라 실험 결과에 차이가 생길 수 있어 재현성이 확보되지 않으며 편리성과 효율성이 낮은 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [5] 본원 발명의 일 목적은 하나의 칩에서 3차원 혈관화된 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 제작할 수 있는 미세 유체 칩을 제공하기 위한 것이다.
- [6] 본원 발명의 다른 일 목적은 행잉드랍(Hanging drop) 및 3D 바이오프린팅이 적용 가능한 미세 유체 칩을 제공하기 위한 것이다.
- [7] 본원의 기술적 과제는 이에 제한되지 않으며 통상의 기술자가 이해할 수 있는 범위의 모든 과제를 포함하는 것으로 해석되어야 할 것이다.

과제 해결 수단

- [8] 본원 발명의 일 목적을 달성하기 위하여 본원 발명에 따른 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 3차원으로 모사하기 위한 미세 유체 칩은, 공급부, 상기

공급부의 하부에 형성되는 형성부, 상기 형성부의 하부에 형성되며, 상기 공급부로부터 배양용 세포 또는 혈관 조성용 물질을 공급받는 배양부를 포함할 수 있으며, 상기 공급부를 통해 공급된 유체가 상기 형성부 내부에 응축되어 맺혀 상기 배양부의 하부로부터 이격된 상태로 유지될 수 있다.

- [9] 일 실시예에서, 공급부는 하부를 향할수록 좁아지는 테이퍼링 형상으로 형성될 수 있다.
- [10] 일 실시예에서, 공급부는 상기 배양용 세포를 공급하기 위한 제1공급부와 상기 혈관 조성용 물질을 공급하기 위한 제2공급부를 포함할 수 있다.
- [11] 일 실시예에서, 제1공급부는 상기 제2공급부의 상부에 형성되어 상기 배양용 세포가 공급부의 측면을 따라 공급되게 할 수 있으며, 상기 제2공급부는 상기 형성부 상부에 형성되어 상기 혈관 조성용 물질이 상기 형성부에 직접 공급되게 할 수 있다.
- [12] 일 실시예에서, 제1공급부에는 단차가 형성될 수 있다.
- [13] 일 실시예에서, 형성부는 상부를 향할수록 좁아지는 테이퍼링 형상을 포함할 수 있다.
- [14] 일 실시예에서, 배양부는 내부에 3차원 혈관화된 스페로이드 및 오가노이드 중 하나 이상이 형성될 수 있다.
- [15] 일 실시예에서, 미세 유체 칩은 상기 배양부의 상부에 접하고 상기 공급부 및 상기 형성부와 구획되어 형성되며 상기 배양부에 배양액 또는 실험 물질을 공급할 수 있는 리저버를 추가로 포함할 수 있다.
- [16] 일 실시예에서, 미세 유체 칩은 상기 배양부의 가장자리에 혈관 내피세포를 공급할 수 있는 주입부 및 상기 주입부와 상기 배양부를 연결하는 채널을 추가로 포함할 수 있다.
- [17] 일 실시예에서, 미세 유체 칩은 상기 배양부의 하부에 형성된 베이스부를 추가로 포함할 수 있다.
- [18] 본원 발명에 따른 미세 유체 칩을 이용하여 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 형성하는 방법은, 상기 미세 유체 칩의 공급부에 배양용 세포를 공급하는 단계, 상기 공급된 배양용 세포가 상기 공급부와 형성부 사이에 응축되어 맺혀 스페로이드 또는 오가노이드를 형성하는 단계, 상기 공급부에 혈관 조성용 물질을 공급하는 단계 및 배양부에 3차원 혈관화된 스페로이드 또는 오가노이드를 형성하는 단계를 포함할 수 있다.
- [19] 일 실시예에서, 상기 배양부에 배양액, 실험 물질, 또는 혈관 내피 세포를 공급하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [20] 상술한 과제 해결 수단은 단지 예시적인 것으로서, 본 발명을 제한하려는 의도로 해석되지 않아야 한다. 상술한 예시적인 실시예 외에도, 도면 및 발명의 상세한 설명에 기재된 추가적인 실시예가 존재할 수 있다.

발명의 효과

- [21] 본원 발명에 따른 미세 유체 칩은 파이펫 팁 규격에 맞는 주입구를 구비하여 다양한 3D 바이오프린팅 및 행잉드랍의 방법으로 스페로이드 또는 오가노이드 형성을 가능하게 한다. 이를 통해 기존에 외부에서 스페로이드 또는 오가노이드를 형성하고 혈관과의 공배양을 통해 미세 유체 칩으로 옮기는 과정이 통합되어 하나의 칩에서 간편하고 신속하게 수행될 수 있다.
- [22] 형성된 스페로이드 또는 오가노이드와 함께 혈관 조성용 물질이 공배양되어 혈관화된 스페로이드 또는 오가노이드 모델을 확보할 수 있다. 이는 기존 모델에 비해 높은 체내 유사성을 확보한 체외 모델로서, 약물 개발을 위한 모델로 활용 가능하다.
- [23] 또한 3D프린터 및 사출 성형을 통해 본 발명의 미세 유체 칩을 제작할 수 있어 높은 효율성을 확보할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [24] 도 1a는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 평면도를 나타낸 도면이다.
- [25] 도 1b는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 사시도를 나타낸 도면이다.
- [26] 도 2a는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 배양 단위인 웰을 나타낸 도면이다.
- [27] 도 2b는 도 2a의 A-A'에 따른 단면도를 나타낸 도면이다.
- [28] 도 3a는 도 2a의 A-A'에 따른 단면도를 나타낸 도면이다.
- [29] 도 3b는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 공급부와 형성부 사이 계면을 나타낸 도면이다.
- [30] 도 3c는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 형성부와 배양부가 접하는 면을 나타낸 도면이다.
- [31] 도 4a는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 평면도를 나타낸 도면이다.
- [32] 도 4b는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 저면도를 나타낸 도면이다.
- [33] 도 4c는 도 2a의 A-A'에 따른 단면도를 나타낸 도면이다.
- [34] 도 5는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예로서 3차원 혈관화된 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 형성하는 과정을 나타낸 도면이다.
- [35] 도 6a는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예에 의한 행잉드랍 및 3D 바이오프린팅이 이루어지기 위한 최적 조건을 설명하기 위한 도면이다.
- [36] 도 6b는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예에 의한 행잉드랍 및 3D 바이오프린팅이 이루어지기 위한 최적 조건을 설명하기 위한 도면이다.
- [37] 도 6c는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예에 의한 행잉드랍 및 3D 바이오프린팅이 이루어지기 위한 최적 조건을 설명하기 위한 도면이다.
- [38] 도 7a는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예에 의한 행잉드랍 및 3D 바이오프린팅이 성공(pinning) 또는 실패(bulging)했을 때의 3차원 모델링을 나타낸 도면이다.
- [39] 도 7b는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예에 의한 행잉드랍

및 3D 바이오프린팅이 성공했을 때의 모습을 형광현미경으로 촬영한 사진을 나타낸 도면이다.

[40] 도 8은 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예에 의한 스페로이드 지름과 세포수의 상관관계를 나타낸 도면이다.

[41] 도 9는 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예에 의한 스페로이드 또는 오가노이드의 세포수 또는 시간에 따른 변화를 나타낸 도면이다.

[42] 도 10은 일반 세포주(HCT116, U87MG, HEPG2, SW620)와 암환자 세포(환자#1, 환자#2)를 이용하여 스페로이드 또는 오가노이드를 패터닝한 사진을 나타낸 도면이다.

[43] 도 11은 본 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩의 일 실시예에 따라 제작한, 3차원 혈관화된 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델의 형광 현미경 사진을 나타낸 도면이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[44] 아래에서는 첨부한 도면을 참조하여 본원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본원을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[45] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부제가 다른 부제 "상에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부제가 다른 부제에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부제 사이에 또 다른 부제가 존재하는 경우도 포함한다.

[46] 본원 명세서 전체에서, 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 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[47] 본원 명세서 전체에서 사용하는 정도의 용어 "약", "실질적으로" 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다. 본원 명세서 전체에서 사용하는 정도의 용어 "~(하는) 단계" 또는 "~의 단계"는 "~를 위한 단계"를 의미하지 않는다.

[48] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 "이들의 조합(들)"의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.

[49] 본원 명세서 전체에서, "A 및/또는 B"의 기재는 "A 또는 B, 또는 A 및 B"를

의미한다.

- [50] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 '스페로이드(spheroid)'는 자연적인 자가 조립이나 스캐폴드의 존재 없이 외부 힘에 의한 세포 간 접합으로 형성된 세포 덩어리를 말한다. 일반적으로 스페로이드는 외부에서 ECM(세포외기질, extracellular matrix)의 역할을 하는 물질을 따로 넣어줄 필요 없이 스스로 ECM을 분비하여 자연적인 ECM의 조성을 유지한다.
- [51] 스페로이드는 뇌 조직의 세포 구성의 다양성, 전기 생리학적 특성, ECM 분비 및 물성과 같은 기초적인 특성을 재현하기 위해 이용되어왔다. Dingle은 신생 랫트의 대뇌 피질 세포를 네 개의 다른 밀도(1K, 2K, 4K, 8K cells/spheroid)로 스페로이드를 만들었다. 14 일 후에 안정한 크기에 도달하여 생체 밀도와 유사하게 조립되었다($2 \sim 4 \times 10^5$ cells/mm³). 면역 조직 화학 분석 결과 뉴런뿐만 아니라 성상 세포, 희소 돌기 아교 세포 및 심지어 소교세포까지 포함하는 여러 개의 신경교세포가 그 안에 존재함이 확인되었다. 패치 클램프 실험으로 스페로이드 내의 뉴런이 전기적으로 활성을 드러내고, 연접후(postsynaptic) 전류(PSCs)의 발생을 검출해 시냅스 네트워크가 형성되었음을 보여주었다. 또한, 라미닌을 분비하고 신생 쥐 피질과 유사한 탄성 계수를 나타내었다 (Pei et al., 2017).
- [52] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 '오가노이드(organoid)'는 실제 장기의 세포 구성, 구조 및 기능을 닮은 큰 세포 집합체이다. PSCs와 성체줄기세포(ASCs)를 이용하여 오가노이드는 인간 조직의 기초적인 기능 중 일부를 나타낼 수 있다. 여러 가지 면에서 유기체는 진보된 스페로이드라고 할 수 있다. 왜냐하면 오가노이드에서 줄기 세포는 공간적으로 구분된 분화와 세포 정렬을 스스로 구성함에 반해 스페로이드 모델에서는 줄기세포 또는 선구 세포(progenitor cell)가 부족하여 자가 재생 및 분화가 미진하게 일어나기 때문이다. 결과적으로 오가노이드는 스페로이드보다 더 오랜 기간 동안 유지될 수 있는 보다 안정한 3D 세포 구조체를 만들어낸다.
- [53] 일반적으로 오가노이드는 다양한 종류의 세포들의 내재적인 능력을 보존하고 발달과정에서의 세부적인 부분들을 재현하는 데에 다른 방법들보다 더 적합하다. 특히 실제 조직의 기본적인 구조와 생리학적 특징을 발견하는데 많은 성과가 있었다. 그럼에도 불구하고 이러한 자체 조립을 통해 만들어지는 모델에는 몇 가지 한계가 있다. 첫째, 크기와 모양이 매우 다양하다. 또한, PSCs가 감지되어 자라는 니치(niche, 미세주변환경)의 역할을 매트릭셀(Matrigel)이 할 수 있다는 것이 밝혀지면서 신경 오가노이드를 형성할 때는 대부분 매트릭셀이 이용되는데, 매트릭셀의 조성이 완전히 분석되지 않았기 때문에, 매트릭셀의 사용을 포함하는 많은 오가노이드들은 배치-투-배치 불일치(batch to batch inconsistency), 즉 생산된 매트릭셀 조성의 불균질로 인한 문제를 피할 수 없으며, 이 때문에 오가노이드를 고효율 스크리닝(high throughput screening)에 이용하기 힘들다. 또한 일반적으로 오가노이드 모델은 스페로이드 모델보다 사이즈가

크다. 이 때문에 중심부에서 양분과 산소의 결핍으로 인한 세포의 괴사는 불가피하다. 따라서 기체 및 영양소 교환을 촉진하기 위해서는 모세 혈관 네트워크를 오가노이드 구조 안에 형성해야 할 필요가 있다 (Pei et al., 2017).

[54] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 '행잉드롭(hanging drop)'은, 예를들어 10~50ul의 배양액을 배양 용기의 뚜껑에 배양 용기의 뚜껑에 매달아 고정하고, 중력으로 인해 물방울의 아래 부분에 모인 세포를 하나의 덩어리 형태(스페로이드)로 3차원 세포배양하는 모델을 의미한다.

[55] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 '3D 바이오프린팅(3D bio printing)'은 3D 프린팅 기술과 생명공학이 융합된 개념을 의미한다. 이를 이용하여 살아있는 세포를 원하는 형상으로 쌓아 올려 조직, 장기를 제작할 수 있다. 기본적인 출력 방식은 일반 3D 프린팅과 동일하나, 3D 바이오프린팅은 살아있는 세포를 출력하기 위해 생체적합성을 갖는 고분자, 생체 재료 등을 기본 소재로 사용한다는 차이점이 있다. 3D 바이오프린팅 기법으로는 작은 크기의 방울로 재료를 분사하여 출력하는 잉크젯(Inkjet) 방식, 일정 점도 이상의 재료를 공압이나 피스톤으로 밀어내는 미세 압출(Micro-extrusion) 방식, 그리고 광 경화성 수지 표면에 광원을 조사하는 광 조형 방식이 있다. 잉크젯 방식은 출력 속도가 빠르고, 적은 비용이 장점이 될 수 있겠지만, 열응력에 의한 세포가 손상될 위험이 있다. 미세 압출 방식은 세포를 고밀도로 적층할 수 있어 다양한 형상 제작이 가능하다는 장점이 있어 가장 널리 사용되고 있지만, 프린팅 정밀도와 속도를 보다 향상시키는 것이 필요하다. 광 조형 방식은 노즐에서의 세포 막힘 현상이 없을 뿐만 아니라 정교한 프린팅이 가능하다는 장점을 가지고 있지만, 느린 출력 속도를 개선하고, 광 조형을 위한 소재와 세포간의 적합성을 향상시키는 것이 필요하다(김동립, 전예일. 2018).

[56] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 '배양용 세포'는 본원 발명에 따른 미세 유체 칩을 이용하여 3D혈관화된 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 만들고자 하는 세포로, 그 종류는 혈관내피세포, 섬유아세포 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[57] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 '혈관 조성용 물질'은 형성부에서 행잉드롭 또는 3D 바이오프린팅 등의 방법으로 스페로이드 또는 오가노이드를 형성한 후 이를 3차원 혈관화하기 위해 주입하는 물질로, 그 종류는 세포외기질, 섬유아세포, 혈관세포, 배양액 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[58] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 '일정 유체'는 배양용 세포 또는 혈관 조성용 물질을 이동시키기 위한 물질로, 일반적으로 사용되는 모든 종류의 세포 배양액을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[59] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다. 그러나, 본원이 이러한 구현예 및 실시예와 도면에 제한되지 않을 수 있다.

[60] 구현예. 본원 발명에 따른 미세 유체 칩(1000) 예시

[61] 도 1a 내지 도 3c를 참조하면, 본원 발명에 따른 스페로이드 또는 오가노이드

체외 모델을 3차원으로 모사하기 위한 미세 유체 칩(1000)은, 공급부(200), 상기 공급부(200)의 하부에 형성되는 형성부(320), 상기 형성부(320)의 하부에 형성되며, 상기 공급부(200)로부터 배양용 세포 또는 혈관 조성용 물질을 공급받는 배양부(340)를 포함할 수 있다. 이하, 각 도면을 참조하여 본원 발명의 일 구현예에 따른 미세 유체 칩(1000)의 구조를 설명한다.

[62] 도 1a의 평면도를 참조하면 본원 발명에 따른 미세 유체 칩(1000)은 하나 이상의 배양단위인 웰(100)을 복수 개 포함할 수 있다.

[63] 도 2a를 참조하면, 웰(100)은 파이펫, 주사기 등의 공급부재(이하, 공급부재)가 삽입될 수 있는 공급부(200)를 포함할 수 있다. 도 2b를 참조하면 공급부(200)는 하부를 향할수록 좁아지는 테이퍼링 형상으로 형성될 수 있다. 또한 공급부(200)는 배양용 세포 및 일정 유체(이하, 배양용 세포)를 공급하기 위한 제1공급부(210)와 혈관 조성용 물질 및 일정 유체(이하, 혈관 조성용 물질)를 공급하기 위한 제2공급부(220)를 포함할 수 있으며, 제1공급부(210)에는 단차(230)가 형성될 수 있다.

[64] 공급부(200)는 하부를 향할수록 좁아지는 테이퍼링 형상으로 형성되어 공급부재를 통해 제1공급부(210)로 공급된 배양용 세포가 공급부(200)의 측면을 따라 흐르도록 할 수 있다. 구체적으로, 공급부재의 팁을 제1공급부(210)의 측면에 접하여 배양용 세포를 공급할 경우, 배양용 세포 내 공기의 유입을 최소화하는 효과를 얻을 수 있다.

[65] 또한 제1공급부(210)에 대한 공급의 편의를 위해 제1공급부(210)에 단차(230)가 형성될 수 있다. 단차(230)는 평탄한 면으로 형성될 수 있으며, 더 구체적으로 공급부재의 외경 길이와 동일 또는 유사한 길이로 형성될 수 있다. 이를 통해 공급부재의 팁을 단차(230)에 거치할 수 있어 공급이 편리해지며, 단차(230)의 길이가 공급부재의 외경 길이와 대응되므로 공급부재와 제1공급부(210) 사이 빈틈이 적어져 공기 유입을 줄이는 효과를 얻을 수 있다.

[66] 도 2b와 도 3a를 참조하면 제2공급부(220)는 제1공급부(210)의 하부, 형성부(320)의 상부에 형성되어 혈관 조성용 물질이 형성부(320)에 직접 공급되게 할 수 있으며 이는 형성부(320)와 함께 설명하도록 한다.

[67] 도 3a 내지 도 3c를 참조하면 공급부(200)의 하부에 형성부(320)가 형성될 수 있으며, 형성부(320)는 공급부(200)와 접하는 계면(322)을 포함할 수 있다. 형성부(320)의 하부는 배양부(340)와 접하는 면으로부터 일정 높이까지 원통 형상, 그 이후로 상부를 향할수록 좁아지는 테이퍼링 형상으로 형성될 수 있다. 계면(322) 및 형성부와 배양부가 접하는 면은 원형으로 형성될 수 있다.

[68] 형성부(320)가 상술한 형상을 취함에 따라, 제1공급부(210)에 공급되어 공급부(200)의 측면을 따라 형성부(320)로 흘러 들어온 배양용 세포는 형성부의 상부와 하부에 걸쳐 맺힐 수 있게 된다. 더욱 구체적으로, 제1공급부(210) 및 형성부(320)는 계면(322)을 기준으로 모래시계 모양으로 형성될 수 있으며, 이러한 모양을 통해 배양용 세포는 표면장력에 의해 형성부의 상부와 하부에

응축되어 뿔쳐 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나 이상이 형성될 수 있게 된다. 상기 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나 이상의 형성과정은 행잉드랍 또는 3D 바이오프린팅 방법을 통해 진행될 수 있으나, 상기 방법에 한정되는 것은 아니다.

- [69] 계면(322)에는 제2공급부(220)에 삽입된 공급부재의 팁이 맞닿을 수 있다. 더욱 바람직하게, 계면(322)의 모양 및 크기는 공급부재의 팁의 모양 및 크기와 대응되도록 형성되어 공급부재가 계면(322)에 맞닿았을 때 틈이 생기지 않을 수 있다. 배양용 세포를 공급부(200)의 측면에 공급하는 것과는 달리, 제2공급부(220)에서 혈관 조성용 세포는 공급부재의 팁을 계면(322)과 맞닿도록 위치시킨 후 공급될 수 있다. 이를 통해 혈관 조성용 세포는 표면장력의 영향 없이 곧바로 형성부(320)를 지나 형성부(320) 하부의 배양부(340)로 이동할 수 있다. 이 과정에서 형성부(320)에서 형성된 스페로이드 또는 오가노이드는 공급된 혈관 조성용 세포와 함께 배양부(340)로 이동할 수 있다.
- [70] 도 3a를 참조하면 형성부(320)의 하부에 배양부(340)가 형성될 수 있다. 배양부(340)에는 상기한 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나 이상과 공급된 혈관 조성용 세포가 위치하여 3차원 혈관화된 스페로이드 및 오가노이드 중 하나 이상이 형성될 수 있다. 또한 배양부(340)에는 3차원 혈관화된 스페로이드 및 오가노이드 중 하나 이상이 형성되고, 그 이후의 실험을 위하여 형성부(320)보다 크게 형성될 수 있다.
- [71] 도 4a를 참조하면 웰(100)은 공급부(200) 외에도 배양부(340)의 상부에 접하고 공급부(200) 및 형성부(320)와 구획되어 형성되며 배양부(340)에 배양액 또는 실험 물질을 공급할 수 있는 리저버(420)를 포함할 수 있다. 구체적으로 리저버(420)와 형성부(320) 및 공급부(200) 사이에는 격벽이 존재하며, 리저버(420)의 하부 일부는 배양부(340)의 상부 일부와 이어지도록 형성될 수 있다. 리저버(420)에는 3차원 혈관화된 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나 이상이 형성된 미세 유체 칩(1000)을 이용하여 실험을 진행할 때 배양액 또는 실험 물질이 공급될 수 있다.
- [72] 도 4a 및 4b를 참조하면 웰(100)은 주입부(440) 및 주입부(440)-배양부(340)를 연결하는 채널(460)을 포함할 수 있다. 주입부(440)는 배양부(340)의 가장자리에 위치할 혈관 내피세포를 공급할 수 있다. 공급된 혈관 내피세포는 채널(460)을 따라 배양부(340)로 이동할 수 있다. 구체적으로, 주입부(440)는 공급부(200), 형성부(320), 또는 리저버(420)와 연결되지 않으며, 오직 채널(460)을 통해 배양부(340)와 연결된다. 이에 따라 채널(460)은 미세 유체 칩 내부에서 'L' 모양으로 형성될 수 있다.
- [73] 주입부(440)에 공급된 혈관 내피 세포는 채널(460)을 통해 배양부(340)로 이동하여 배양부(340)에 형성된 3차원 혈관화된 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나 이상의 가장자리에 위치할 수 있다. 이후 혈관 내피 세포는 혈관 내피 조직을 형성하며 3차원 혈관화된 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나

이상의 내외로 물질 교환이 원활하게 이루어지도록 하거나, 배양부(340) 내에서 세포가 이동할 수 있는 통로 역할을 수행할 수 있다.

- [74] 도 4c를 참조하면 배양부(340)의 하부에 베이스부(480)를 추가로 구비할 수 있다. 본원 발명의 미세 유체 칩(1000)은 베이스부(480)가 없는 상태로 제작 또는 판매될 수 있으나, 사용 시에는 베이스부(480)를 추가로 구비함이 바람직하다. 베이스부(480)로 사용할 수 있는 재료는 폴리카보네이트 필름(Polycarbonate film; PC film) 또는 유리(Glass)가 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[75] **실시예 1. 3차원 혈관화 된 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델 형성**

- [76] 도 5를 참조하여 실시예 1에 따른 체외 모델 형성과정을 설명한다.

- [77] 아래는 체외 모델을 형성하는 하나의 과정에 불과하며, 본 발명의 이해를 돕기 위해 제시했을 뿐 본 발명이 아래 실시예로 제한되어 해석된다는 것을 의미하지는 않는다.

[78] **Step 1. 행잉드랍 및 3D 바이오프린팅(Day 0)**

- [79] 파이펫을 제1공급부(210)에 삽입해 배양용 세포를 제1공급부(210)의 측면에 공급한다. 제1공급부(210)에 형성된 단차(230)를 이용하면 더 편리하다. 공급된 배양용 세포는 공급부(200)의 측면을 따라 흘러 형성부(320) 내부에 응축되어 맺힌다. 맺힌 세포는 행잉드랍 및 3D 바이오프린팅을 활용하여 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나 이상을 형성하도록 한다.

[80] **Step 2. 혈관 패터닝(Day 1)**

- [81] 파이펫을 제2공급부(220)에 삽입해 혈관 조성용 물질을 제2공급부(220)에 공급한다. 이때 파이펫의 팁을 형성부(320)의 계면(322)에 빈틈없이 맞닿게 한다. 이에 따라 혈관 조성용 물질은 형성부 내부에 맺히지 않으며, 형성부(320)을 지나 배양부(340)의 바닥면으로 이동하게 된다. 이와 동시에 이미 형성부(320)에 형성된 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나 이상은 공급된 혈관 조성용 물질과 함께 배양부(340)로 이동한다.

[82] **Step 3. 3차원 혈관화(Day 7~)**

- [83] 배양부(340)에 3차원 혈관화 된 스페로이드 및 오가노이드 중 어느 하나 이상의 체외 모델이 형성된다. 추가적으로, 주입부(440) 및 채널(460)을 통해 모델 가장자리에 혈관 내피 세포를 공급하여 배양액과 모델 간의 물질 교환이 원활히 이루어질수록 있도록 할 수 있다. 모델이 완성된 후에는 리저버(420)를 통해 배양액과 실험 물질을 공급할 수 있다.

[84] **실시예 2. 행잉드랍 및 3D 바이오프린팅 최적조건**

- [85] 본 발명의 일 실시예로서 행잉드랍의 최적조건을 설명한다.

- [86] 도 6a를 참조하면, 공급부(200) 및 형성부(320)에 수용된 유체 물질의 체적을 $V(\mu\text{l})$, 형성부(320) 하부의 경계면의 지름을 $D(\text{mm})$, 경계면으로부터 배양부(340) 바닥면 사이의 거리를 $H(\text{mm})$, 형성부(320) 상부의 경계면과 테이퍼링 형상 사이의 각도를 α 라고 한다.

- [87] 이때, 세포가 형성부(320)의 계면(322)에 효과적으로 맺히기 위한 체적과

경계면 지름간의 조건은 도 6b와 같다. (아래에서부터 $\alpha = 30^\circ, 45^\circ, 60^\circ, 64^\circ, 75^\circ, 90^\circ$)

- [88] 도 6b를 참조하면, 각 α 값에 대해 직선으로 표현된 일차 함수 이하의 영역에서 하기의 수학적 조건을 만족할 때 안정적으로 배양용 세포의 행잉드랍 및 3D 바이오프린팅이 가능한 것을 확인할 수 있었으며(pinning; 도 7a 및 7b 참조), 그 외의 경우 배양용 세포 방울이 터지는 현상(bulging; 도 7a 참조)이 일어날 수 있다.
- [89] 또한, 상기한 구현예에 대해, 형성부(320) 하부의 높이(H)와 형성부의 상부와 하부의 경계면 지름간의 조건은 다음과 같다. (도 6c 참조).
- [90] [수학적식] $H \geq 0.35D$ (α 값과 무관함)
- [91] 별개로, D가 1mm 미만일 때 스페로이드 또는 오가노이드가 제대로 형성되지 않음을 확인한 바, D는 최소 1mm이상인 것이 바람직하다.
- [92] 또한, 도 8은 스페로이드의 지름(μm)과 세포 수 간의 상관관계를 나타낸 도면이다.
- [93] 실시예 3. 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델 제작
- [94] 본원 발명의 미세 유체 칩(1000)의 일 구현예를 사용하여 일반 세포주 또는 암환자 세포의 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 제작하였다.
- [95] 도 9는 체외 모델을 제작하는 과정을 나타낸 도면으로, 이를 참조하면 (1) 모델 내부에 세포 수가 많을수록(위), (2) 배양이 진행될수록(아래) 세포간의 응집이 잘 이루어진다는 것을 알 수 있다.
- [96] 도 10은 일반 세포주(HCT116, U87MG, HEPG2, SW620)와 암환자 세포(환자#1, 환자#2)를 이용하여 스페로이드 또는 오가노이드를 패터닝한 사진이다. 구체적으로 암세포와 섬유아세포를 각각 10,000개씩 총합 20,000개의 세포를 12 μl 의 배양액에 희석한 후 미세 유체 칩(1000)에 주입하여 패터닝을 진행하였다.
- [97] 특정 시간이 지나게 되면 특정한 지름을 가진 스페로이드 또는 오가노이드가 형성되는데, 실험 개시로부터 24시간 이후 200 μm 에서 300 μm 사이의 지름을 가진 스페로이드 또는 오가노이드가 형성된 것을 확인할 수 있었다.
- [98] 또한 도 11은 본원 발명에 따른 미세 유체 칩(1000)을 활용하여 제작한, 3차원화 혈관화된 스페로이드 또는 오가노이드의 형광 현미경 사진을 나타낸다.

청구범위

- [청구항 1] 미세 유체 칩에 있어서,
공급부;
상기 공급부의 하부에 형성되는 형성부; 및
상기 형성부의 하부에 형성되며, 상기 공급부로부터 배양용 세포 또는
혈관 조성용 물질을 공급받는 배양부를 포함하고,
상기 공급부를 통해 공급된 유체가 상기 형성부 내부에 응축되어 맺혀
상기 배양부의 하부로부터 이격된 상태로 유지되는 것인, 미세 유체 칩.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 공급부는
하부를 향할수록 좁아지는 테이퍼링 형상으로 형성된 것인,
미세 유체 칩.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 공급부는 상기 배양용 세포를 공급하기 위한 제1공급부; 및
상기 혈관 조성용 물질을 공급하기 위한 제2공급부
를 포함하는, 미세 유체 칩.
- [청구항 4] 제3항에 있어서,
상기 제1공급부는 상기 제2공급부의 상부에 형성되어 상기 배양용
세포가 공급부의 측면을 따라 공급되게 하고,
상기 제2공급부는 상기 형성부 상부에 형성되어 상기 혈관 조성용 물질이
상기 형성부에 직접 공급되게 하는,
미세 유체 칩.
- [청구항 5] 제3항에 있어서,
상기 제1공급부에는 단차가 형성되는 것인,
미세 유체 칩.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
상기 형성부는 상부를 향할수록 좁아지는 테이퍼링 형상을 포함하는
것인,
미세 유체 칩.
- [청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 배양부는
내부에 3차원 혈관화된 스펀지 및 오가노이드 중 하나 이상이 형성
가능하도록 구성된 것인,
미세 유체 칩.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
상기 배양부의 상부에 접하고,
상기 공급부 및 상기 형성부와 구획되어 형성되며,

상기 배양부에 배양액 또는 실험 물질을 공급할 수 있는 리저버를 추가로 포함하는,

미세 유체 칩.

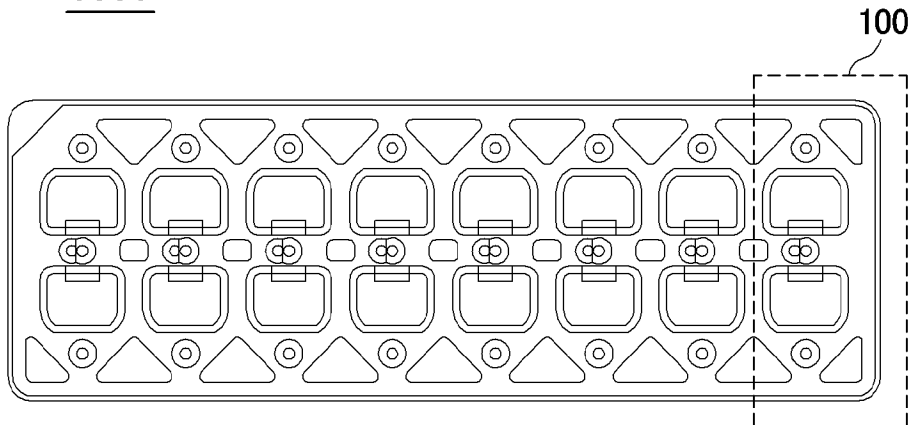
[청구항 9] 제1항에 있어서,
상기 배양부의 가장자리에 혈관 내피세포를 공급할 수 있는 주입부; 및
상기 주입부와 상기 배양부를 연결하는 채널을 추가로 포함하는,
미세 유체 칩.

[청구항 10] 제1항에 있어서,
상기 배양부의 하부에 형성된 베이스부를 추가로 포함하는,
미세 유체 칩.

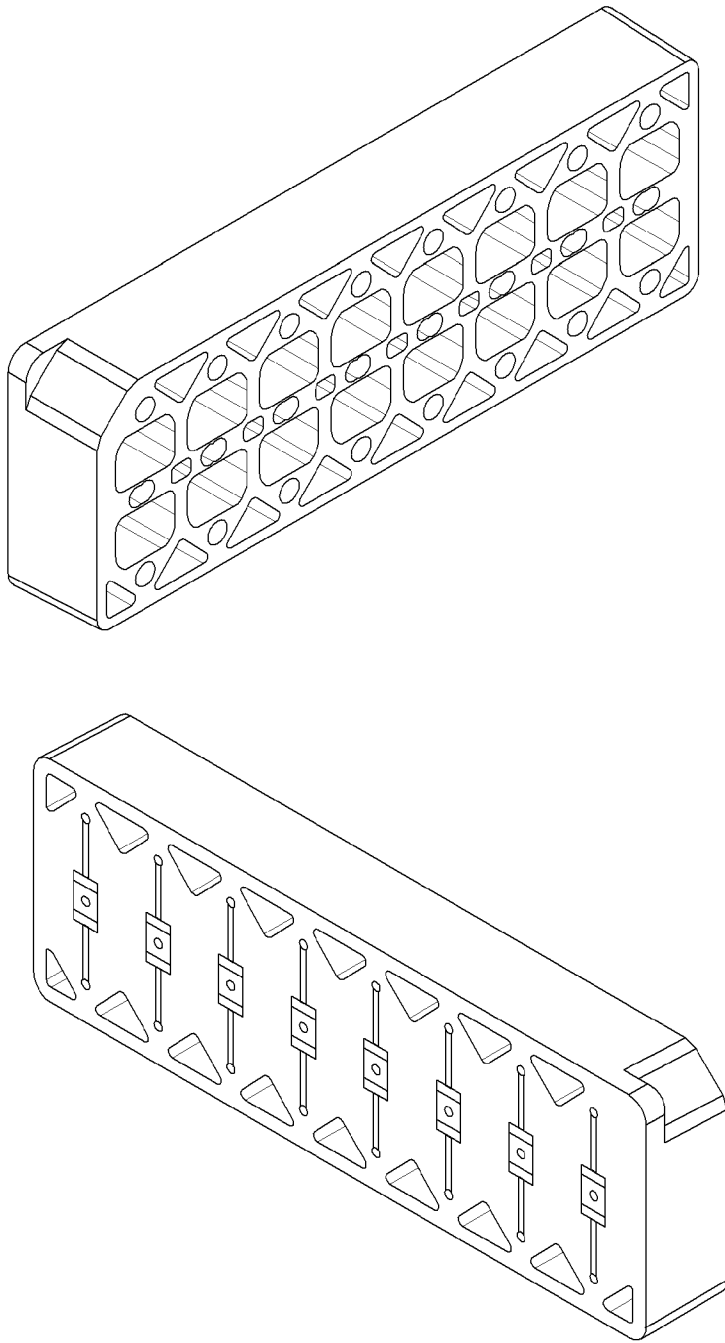
[청구항 11] 미세 유체 칩을 이용하여 스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델을 형성하는 방법에 있어서,
상기 미세 유체 칩의 공급부에 배양용 세포를 공급하는 단계;
상기 공급된 배양용 세포가 상기 공급부와 형성부 사이에 응축되어 뿔혀 스페로이드 또는 오가노이드를 형성하는 단계;
상기 공급부에 혈관 조성용 물질을 공급하는 단계; 및
배양부에 3차원 혈관화된 스페로이드 또는 오가노이드를 형성하는 단계를 포함하는,
스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델 형성 방법.

[청구항 12] 제11항에 있어서,
상기 배양부에 배양액, 실험 물질, 또는 혈관 내피 세포를 공급하는 단계를 더 포함하는,
스페로이드 또는 오가노이드 체외 모델 형성 방법.

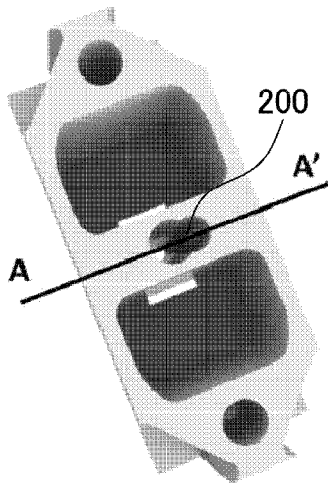
[도 1a]

1000

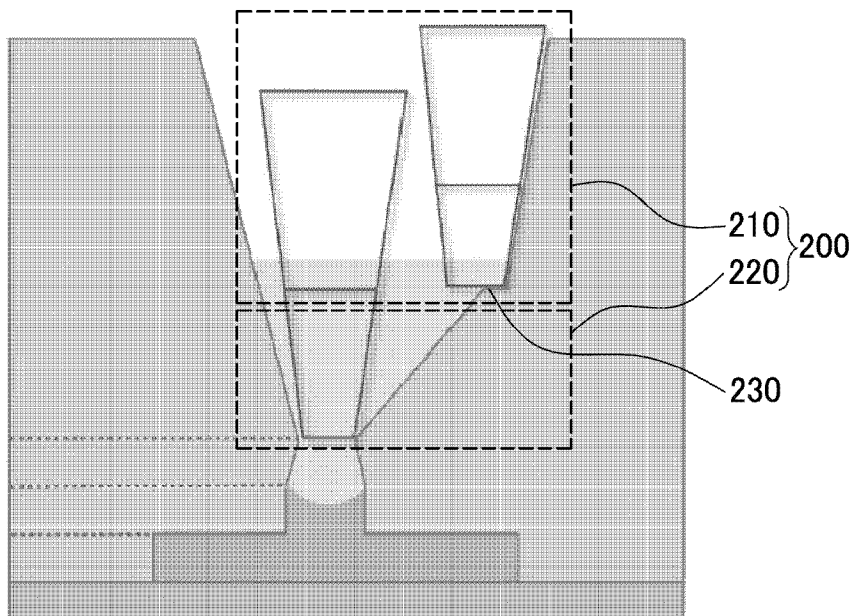
[도 1b]



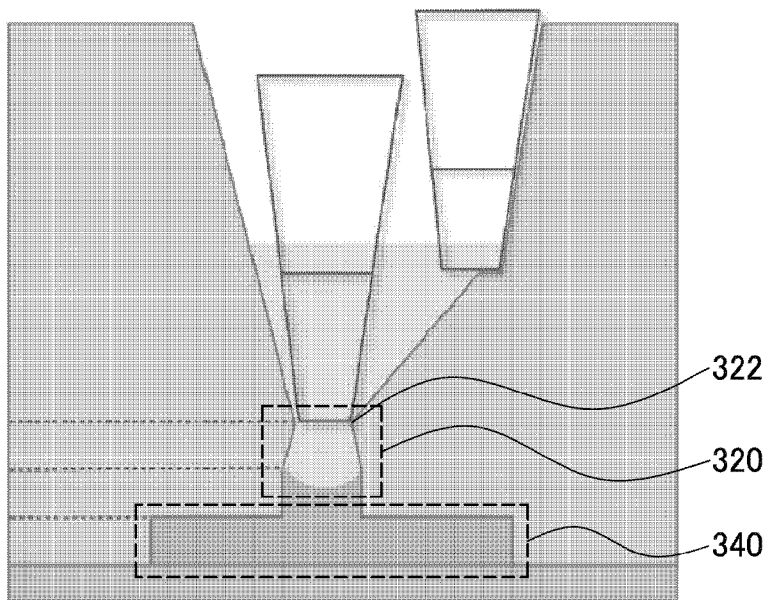
[도2a]

100

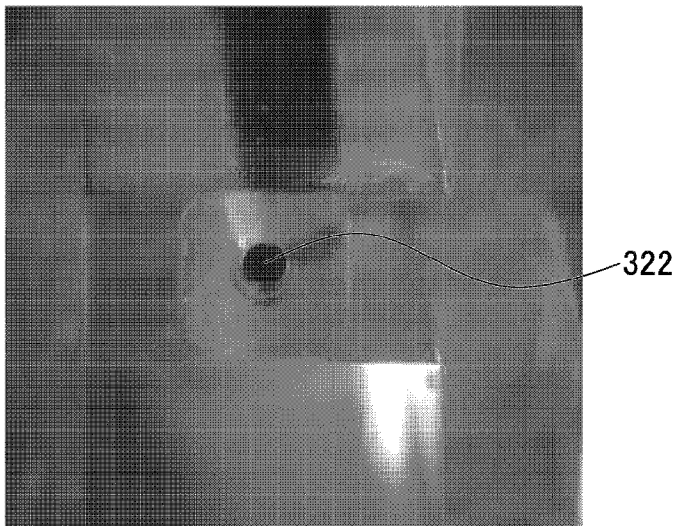
[도2b]



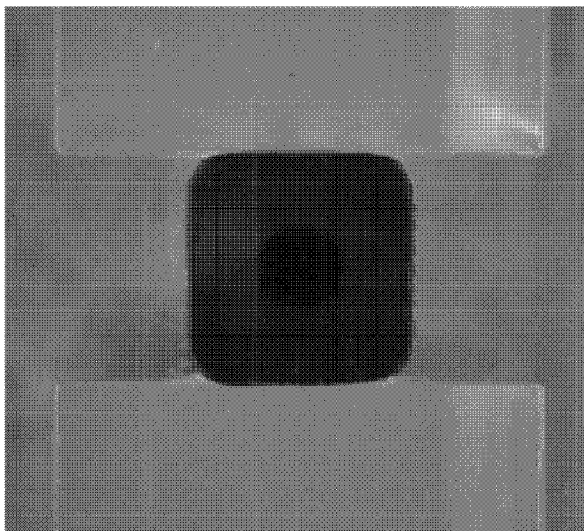
[도3a]



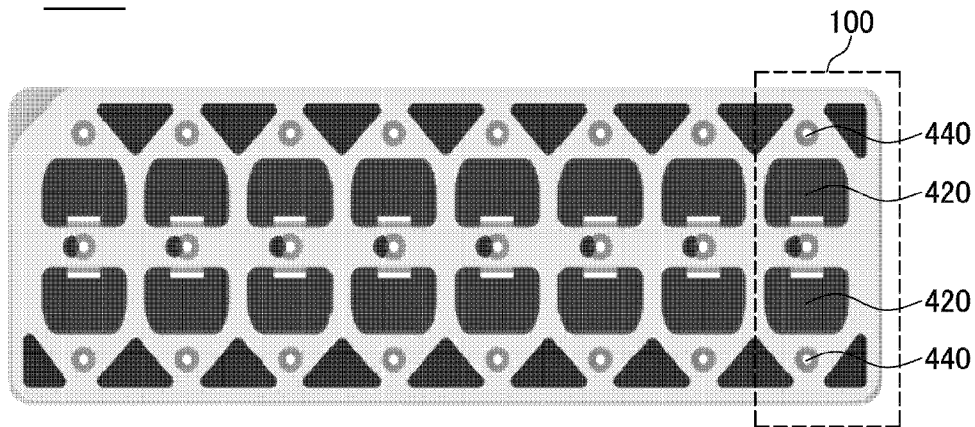
[도3b]



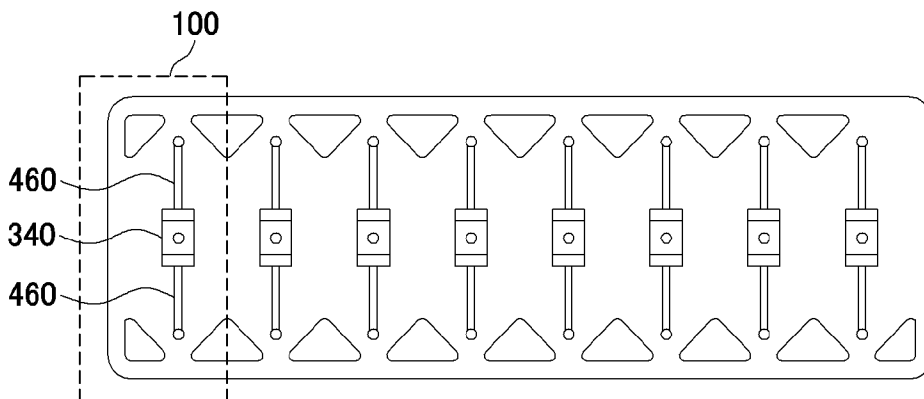
[도3c]



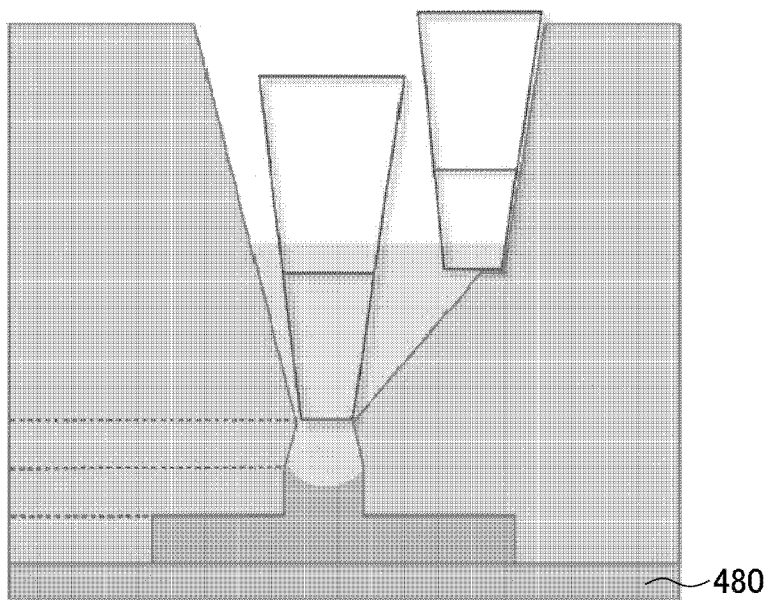
[도4a]

1000

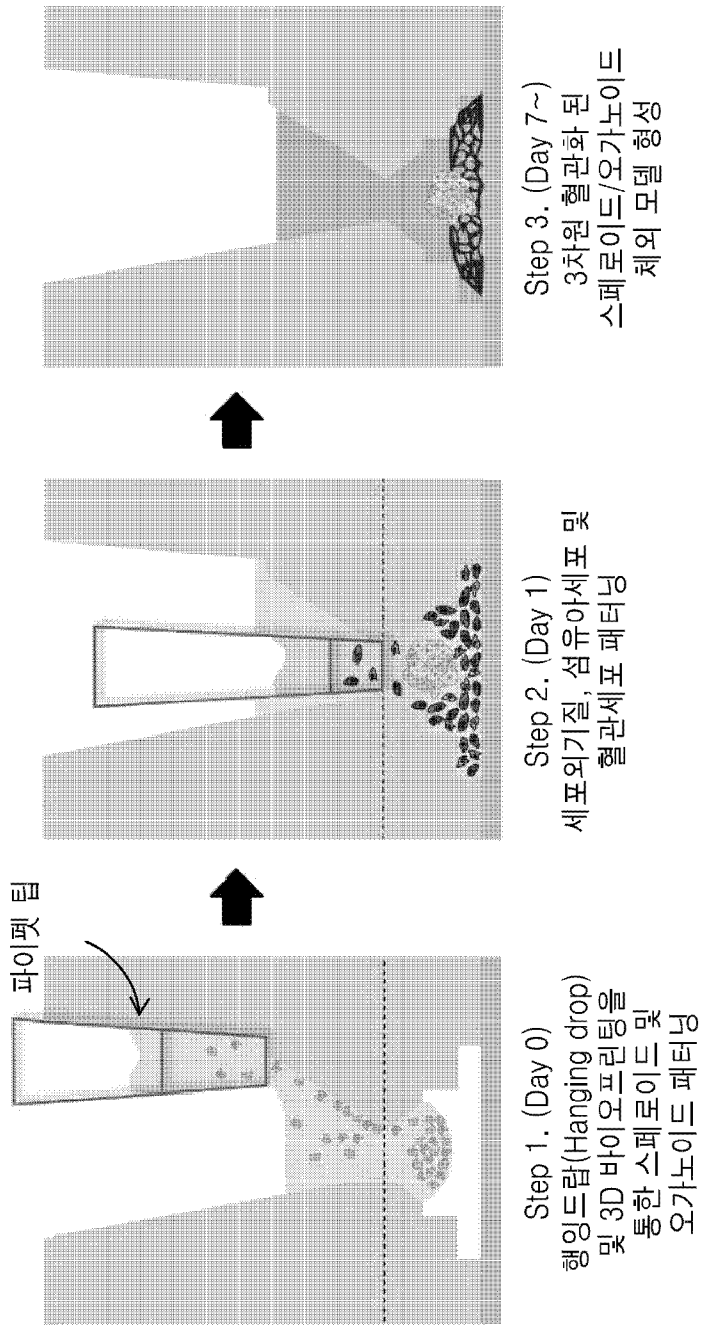
[도4b]

1000

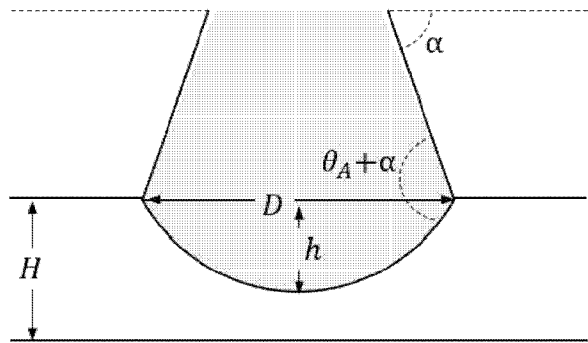
[도4c]



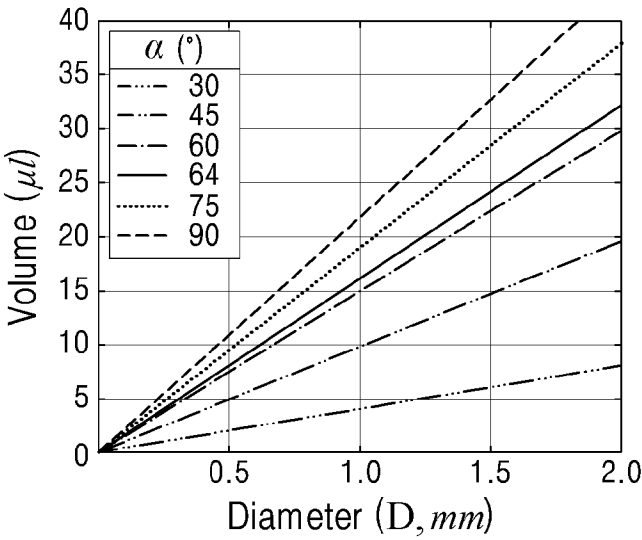
[도5]



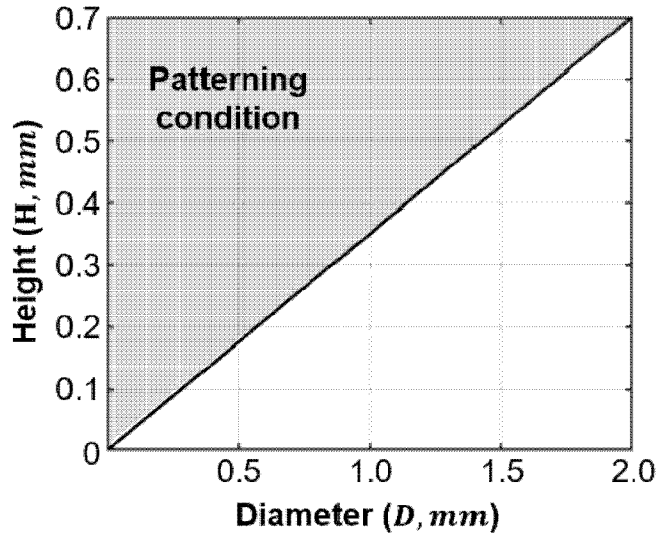
[도6a]



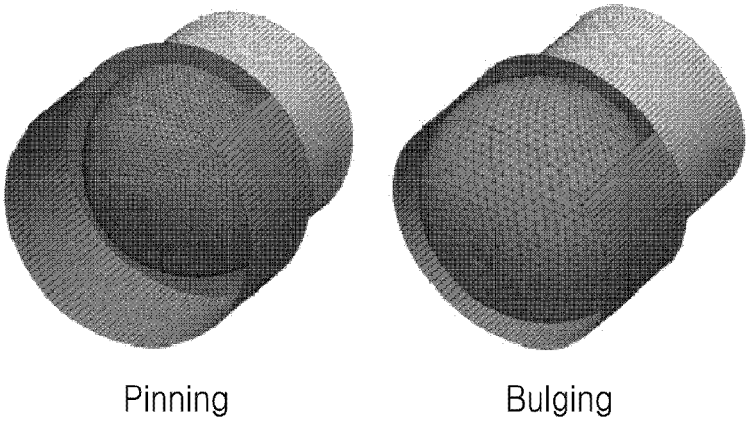
[도6b]



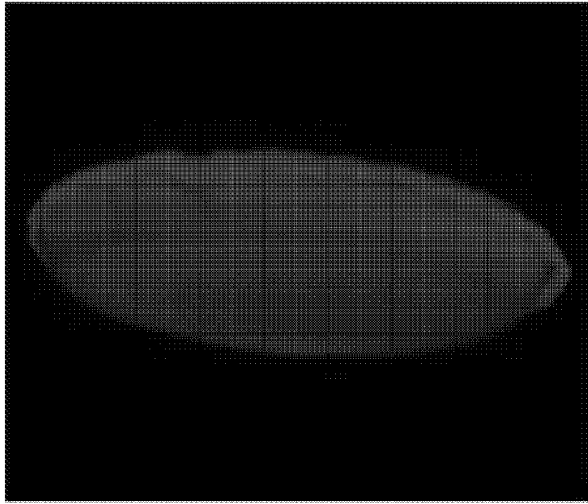
[도6c]



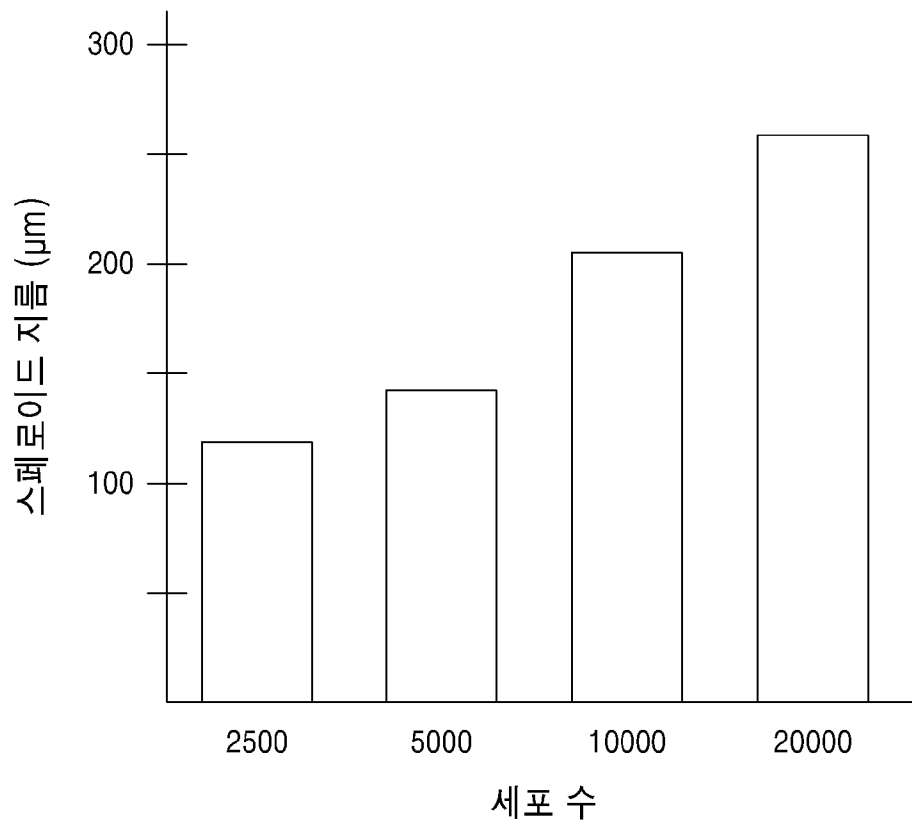
[도7a]



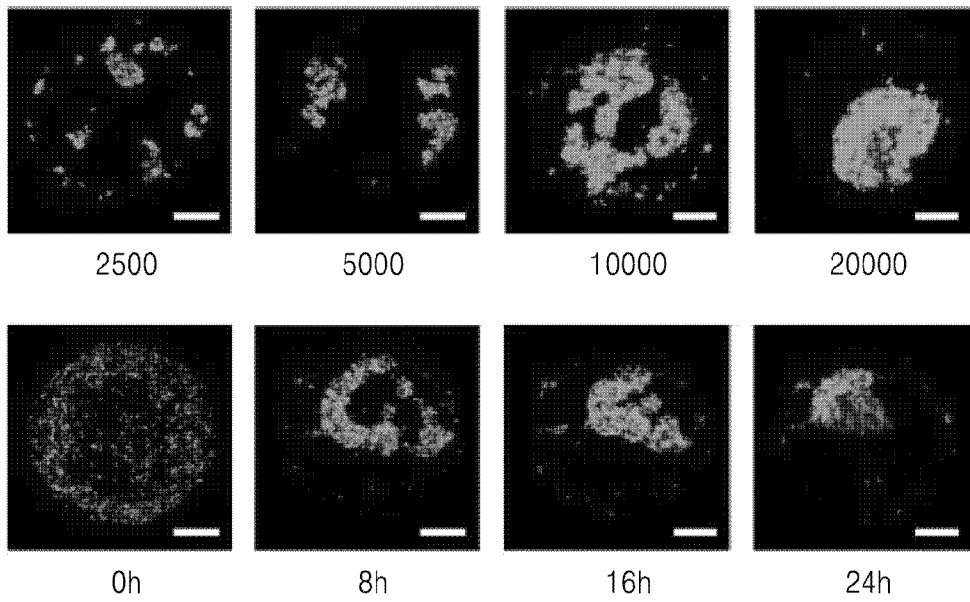
[도7b]



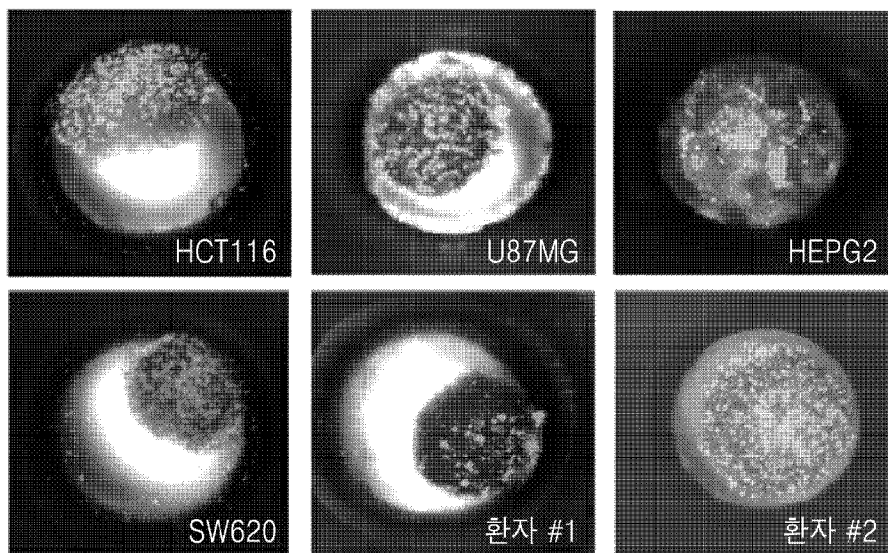
[도8]



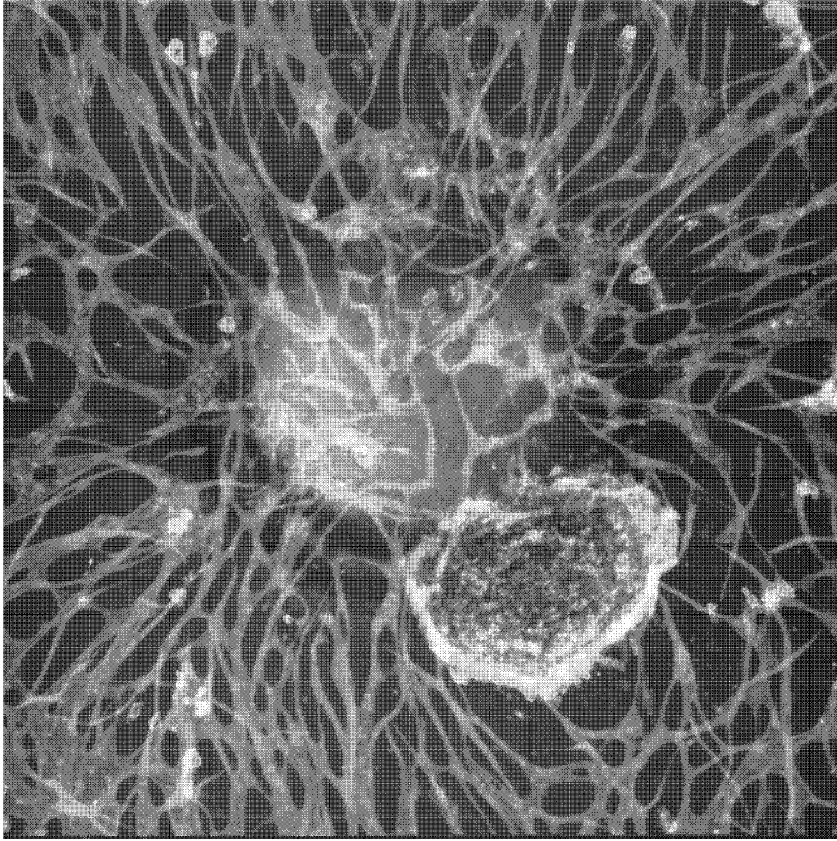
[도9]



[도10]



[도11]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/009812

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12M 3/00(2006.01)i; C12M 3/06(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i; C12N 5/071(2010.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12M 3/00(2006.01); C12M 1/00(2006.01); C12M 1/32(2006.01); C12N 5/00(2006.01); C12N 5/0793(2010.01); C12N 5/09(2010.01); G02B 21/34(2006.01) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models: IPC as above Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: 미세유체칩(microfluidic chip), 스페로이드(spheroid), 오가노이드(organoid), 테이퍼링(tapering), 행잉 드랍(hanging drop), 응축(condensation), 세포(cell), 배양(culture)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2017-0253844 A1 (CORNING INCORPORATED) 07 September 2017 (2017-09-07) See claims 14-15 and 19; paragraphs [0046] and [0050]-[0059]; and figures 4A-6A.	1-12
Y	KR 10-2007376 B1 (UNIVERSITY OF ULSAN FOUNDATION FOR INDUSTRY COOPERATION et al.) 05 August 2019 (2019-08-05) See claims 1 and 11; paragraphs [0021], [0036], [0038], [0096] and [0127]-[0131]; and figures 14a-d, 15 and 16a.	1-12
Y	REZAEI KOLAHCHI, A. et al. Microfluidic-based multi-organ platforms for drug discovery. Micromachines. 2016, vol. 7, thesis no. 162, pp. 1-33. See figure 2.	3-5
Y	JP 2019-000083 A (OLYMPUS CORPORATION) 10 January 2019 (2019-01-10) See claims 1-4; paragraphs [0059]-[0060]; and figures 2-8.	6
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 07 December 2022		Date of mailing of the international search report 07 December 2022
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208 Facsimile No. +82-42-481-8578		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2022/009812

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2020-0051482 A (DAEGU GYEONGBUK INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 13 May 2020 (2020-05-13) See entire document.	1-12
A	US 2013-0084634 A1 (HSU, C.-H. et al.) 04 April 2013 (2013-04-04) See entire document.	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2022/009812

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
US	2017-0253844	A1	07 September 2017	None			
KR	10-2007376	B1	05 August 2019	EP	3540042	A2	18 September 2019
				KR	10-2018-0052547	A	18 May 2018
				KR	10-2018-0052548	A	18 May 2018
				KR	10-2018-0052549	A	18 May 2018
				KR	10-2026313	B1	30 September 2019
				KR	10-2026326	B1	27 September 2019
				KR	10-2026329	B1	27 September 2019
				US	2019-0284517	A1	19 September 2019
				WO	2018-088856	A2	17 May 2018
				WO	2018-088856	A3	09 August 2018
JP	2019-000083	A	10 January 2019	JP	2021-106597	A	29 July 2021
				US	2018-0361377	A1	20 December 2018
KR	10-2020-0051482	A	13 May 2020	KR	10-2020-0051282	A	13 May 2020
				KR	10-2020-0051481	A	13 May 2020
				KR	10-2136246	B1	21 July 2020
				KR	10-2320725	B1	02 November 2021
				KR	10-2320730	B1	02 November 2021
				US	11273445	B2	15 March 2022
				US	2020-0139364	A1	07 May 2020
US	2013-0084634	A1	04 April 2013	TW	201329230	A	16 July 2013
				TW	I444473	B	11 July 2014
				US	9034636	B2	19 May 2015
				WO	2013-049165	A1	04 April 2013
				WO	2013-049165	A8	23 January 2014

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C12M 3/00(2006.01)i; C12M 3/06(2006.01)i; C12M 1/00(2006.01)i; C12N 5/071(2010.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C12M 3/00(2006.01); C12M 1/00(2006.01); C12M 1/32(2006.01); C12N 5/00(2006.01); C12N 5/0793(2010.01); C12N 5/09(2010.01); G02B 21/34(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 미세유체칩(microfluidic chip), 스페로이드(spheroid), 오가노이드(organoid), 테이퍼링(tapering), 행잉 드랍(hanging drop), 응축(condensation), 세포(cell), 배양(culture)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	US 2017-0253844 A1 (CORNING INCORPORATED) 2017.09.07 청구항 14-15, 19; 단락 [0046], [0050]-[0059]; 도면 4A-6A	1-12
Y	KR 10-2007376 B1 (울산대학교 산학협력단 등) 2019.08.05 청구항 1, 11; 단락 [0021], [0036], [0038], [0096], [0127]-[0131]; 도면 14a-d, 15, 16a	1-12
Y	REZAEI KOLAHCHI, A. 등, Microfluidic-based multi-organ platforms for drug discovery*, Micromachines, 2016, 7권, 논문번호 162, 1-33 페이지 도면 2	3-5
Y	JP 2019-000083 A (OLYMPUS CORPORATION) 2019.01.10 청구항 1-4; 단락 [0059]-[0060]; 도면 2-8	6
A	KR 10-2020-0051482 A (재단법인대구경북과학기술원) 2020.05.13 전체 문헌	1-12
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2022년12월07일(07.12.2022)		국제조사보고서 발송일 2022년12월07일(07.12.2022)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373

C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 2013-0084634 A1 (HSU, C.-H. 등) 2013.04.04 전체 문헌	1-12

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2017-0253844 A1	2017/09/07	없음	
KR 10-2007376 B1	2019/08/05	EP 3540042 A2	2019/09/18
		KR 10-2018-0052547 A	2018/05/18
		KR 10-2018-0052548 A	2018/05/18
		KR 10-2018-0052549 A	2018/05/18
		KR 10-2026313 B1	2019/09/30
		KR 10-2026326 B1	2019/09/27
		KR 10-2026329 B1	2019/09/27
		US 2019-0284517 A1	2019/09/19
		WO 2018-088856 A2	2018/05/17
		WO 2018-088856 A3	2018/08/09
JP 2019-000083 A	2019/01/10	JP 2021-106597 A	2021/07/29
		US 2018-0361377 A1	2018/12/20
KR 10-2020-0051482 A	2020/05/13	KR 10-2020-0051282 A	2020/05/13
		KR 10-2020-0051481 A	2020/05/13
		KR 10-2136246 B1	2020/07/21
		KR 10-2320725 B1	2021/11/02
		KR 10-2320730 B1	2021/11/02
		US 11273445 B2	2022/03/15
		US 2020-0139364 A1	2020/05/07
US 2013-0084634 A1	2013/04/04	TW 201329230 A	2013/07/16
		TW I444473 B	2014/07/11
		US 9034636 B2	2015/05/19
		WO 2013-049165 A1	2013/04/04
		WO 2013-049165 A8	2014/01/23