



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0090578
(43) 공개일자 2020년07월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/42 (2017.01) C12M 1/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12M 35/04 (2013.01)
C12M 29/18 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0007777
(22) 출원일자 2019년01월21일
심사청구일자 2019년01월21일

(71) 출원인
연세대학교 원주산학협력단
강원도 원주시 흥업면 연세대길 1
(72) 발명자
김지현
강원도 원주시 단관공원길 111, 112동 103호(단구동, 중앙하이츠아파트)
이정근
강원도 원주시 흥업면 연세대길 1 연세대학교 청연학사 1717호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김보민

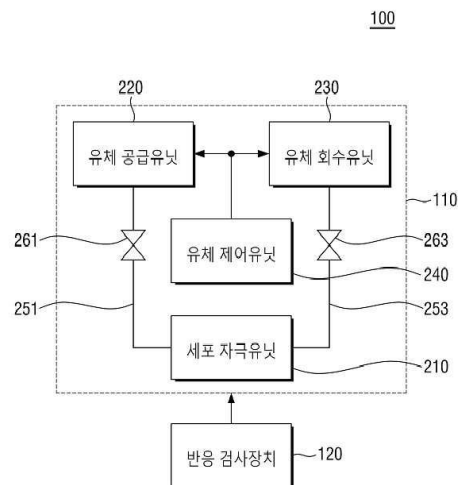
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 세포 자극 시스템 및 이를 이용한 세포 자극 방법

(57) 요약

유체의 유동에 따른 전단응력을 세포에 자극으로 가할 수 있는 세포 자극 시스템이 제공된다. 세포 자극 시스템은, 일반적으로 세포가 배양되는 배양접시에 결합되어 배양접시에 배양중인 세포에 유체의 유동에 따른 일방향 및 타방향의 전단응력을 자극으로 가함으로써, 종래의 슬라이드에 비해 상대적으로 넓은 면적에서 다수의 세포에 전단응력을 가할 수 있어 이에 따른 세포의 반응에 대한 분석 정확도 및 신뢰도를 높일 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12M 29/26 (2013.01)

C12M 41/46 (2013.01)

(72) 발명자

김주안

서울특별시 광진구 광나루로12길 19, 214호(
화양동)

이영훈

경기도 시흥시 월곶중앙로 90, 108동 2001호(월곶
동풍림1차아파트)

명세서

청구범위

청구항 1

유체에 의한 전단응력을 세포에 자극으로 가하는 자극장치와 자극에 의한 상기 세포의 반응을 검사하는 반응검
사장치를 포함하는 세포 자극 시스템에 있어서,

상기 자극장치는,

유체 공급유닛; 및

상기 세포가 배양 중인 배양접시와 결합되고, 상기 유체 공급유닛에서 공급되는 상기 유체를 일방향 및 타방향
중 적어도 하나의 방향으로 유동시켜 상기 세포에 전단응력을 가하는 세포 자극유닛을 포함하는 것을 특징으로
하는 세포 자극 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 세포 자극유닛은,

공급배관을 통해 상기 유체 공급유닛에 연결되며, 내부에 상기 유체가 흐르는 하나 이상의 유동공간이 형성된
본체; 및

상기 본체의 일면으로부터 돌출 형성되어 상기 배양접시와 결합되고, 상면에 상기 배양접시의 내면에 접촉되는
세포자극부가 구성된 결합부를 포함하고,

상기 유체는 상기 공급배관으로부터 상기 본체의 유동공간을 통해 상기 세포자극부에 공급되어 일방향 및 타방
향으로 유동되는 것을 특징으로 하는 세포 자극 시스템.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 세포자극부는 사각형 형태로 구성되고,

상기 세포자극부의 내측에 상기 세포자극부의 모서리를 따라 배치된 패킹부; 및

상기 패킹부의 내측으로 상기 세포자극부의 서로 대향되는 적어도 한 쌍의 변을 따라 배치되도록 형성되어 상기
유체를 상기 세포자극부에 공급 및 회수하는 제1수로 및 제2수를 더 포함하고,

상기 제1수로 및 제2수로 각각은 상기 세포자극부로부터 상기 결합부의 하부까지 개구되어 상기 본체의 유동공
간과 연결되는 것을 특징으로 하는 세포 자극 시스템.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 패킹부의 내측으로 형성되어 상기 제1수로 및 제2수로 중 하나의 수로로부터 공급된 상기 유체가 다른 하
나의 수로 방향으로 유동되는 유동면을 더 포함하고,

상기 유동면은 상기 결합부의 상면보다 낮은 높이로 형성되는 것을 특징으로 하는 세포 자극 시스템.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 패킹부에 대응되도록 상기 세포자극부의 모서리를 따라 형성된 요철부를 더 포함하고,

상기 패킹부는 상기 요철부의 요부에 삽입되어 결합되는 것을 특징으로 하는 세포 자극 시스템.

청구항 6

제2항에 있어서,

상기 배양접시의 상면과 상기 본체의 배면에 각각 접촉되도록 구성되어 상기 결합부의 상면에 상기 배양접시가 밀착되어 고정되도록 하는 하나 이상의 결합부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 자극 시스템.

청구항 7

제1항에 있어서,

회수배관을 통해 상기 세포 자극유닛에 연결되어 상기 세포 자극유닛에서 유동된 상기 유체를 회수하는 유체 회수유닛; 및

상기 유체 공급유닛 및 상기 유체 회수유닛의 동작을 제어하여 상기 세포 자극유닛에서 상기 유체가 일방향 및 타방향 중 하나의 방향으로 유동되도록 하는 유체 제어유닛을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 자극 시스템.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 유체는 0.5~1.5Hz의 진동수 및 0.5~1.5Pa의 압력으로 상기 세포 자극유닛에서 유동되는 것을 특징으로 하는 세포 자극 시스템.

청구항 9

유체에 의한 전단응력을 세포에 자극으로 가하는 자극장치와 자극에 의한 상기 세포의 반응을 검사하는 반응검사장치를 포함하는 세포 자극 시스템을 이용한 세포 자극 방법에 있어서,

상기 자극장치의 세포 자극유닛에 상기 세포가 배양 중인 배양접시를 결합하는 단계;

외부에서 공급되는 상기 유체가 상기 세포 자극유닛에서 일 방향으로 유동되도록 하여 상기 세포에 일 방향의 전단응력을 자극으로 가하는 단계;

외부에서 공급되는 상기 유체가 상기 세포 자극유닛에서 타 방향으로 유동되도록 하여 상기 세포에 타 방향의 전단응력을 자극으로 가하는 단계; 및

상기 일 방향의 전단응력 및 상기 타 방향의 전단응력 각각에 의한 상기 세포의 반응을 검사하여 분석하는 단계를 포함하는 세포 자극 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 유체는 0.5~1.5Hz의 진동수 및 0.5~1.5Pa의 압력으로 상기 세포 자극유닛에서 일 방향 및 타 방향으로 각각 유동되는 것을 특징으로 하는 세포 자극 방법.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 유체는 75~165분 동안 상기 세포 자극유닛에 공급되어 일 방향 및 타 방향으로 각각 유동되는 것을 특징으로 하는 세포 자극 방법.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 세포의 반응을 검사하여 분석한 후에, 상기 세포 자극유닛 내의 상기 유체를 회수배관을 통해 회수하는 것을 특징으로 하는 세포 자극 방법.

청구항 13

제9항에 있어서,

상기 일 방향과 상기 타 방향은 서로 대향되는 방향인 것을 특징으로 하는 세포 자극 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 세포 자극 시스템에 관한 것으로, 특히 세포가 배양되는 배양접시에 결합되어 세포에 유체에 의한 전단응력(Fluid shear stress)의 자극을 가하여 세포의 반응을 분석할 수 있는 세포 자극 시스템 및 이를 이용한 세포 자극 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 비만은 과도한 에너지 섭취로 인한 지방 조직의 비정상적인 발달을 특징으로 하는 대사 질환이다. 비만으로 인한 대사 불균형의 직접적인 원인으로는 지방세포의 과잉 증식 및 성장을 꼽을 수 있는데, 특히 지방세포의 직경이 커질 경우 인슐린 민감도가 저하되어 혈당 조절에 문제가 생겨 항상성 유지에 있어 지방의 역할을 잃어버리게 된다. 따라서 비만을 치료하고 증상을 완화하기 위해 과도한 지방생성(adipogenesis)을 억제하고 지방세포의 세포자살(apoptosis)을 유발할 수 있는 방법을 찾기 위한 연구가 이루어지고 있다.

[0003] 지방생성은 지방세포로 분화하기 전 단계인 지방전구세포(pre-adipocyte)가 성숙한 지방세포(adipocyte)로 분화하는 일련의 과정으로, 세포 내 다양한 성장 인자들과 사이토카인(cytokine), 호르몬의 영향을 받는다. 지방 조직의 과도한 증식을 억제하기 위한 연구는 크게 화학 물질이나 호르몬을 활용한 분자생물학적 접근과 지방세포에 다양한 물리적 자극을 직접적으로 가하는 기계생물학(mechanobiology)적 접근으로 나눌 수 있다.

[0004] 분자생물학적 접근에는 송과선(pineal gland)에서 분비되어 생물의 일주기를 조절하는 멜라토닌(melatonin)과 지방세포와의 연관성에 대한 연구가 있다. 기계생물학적 접근에는 세포에 동적인 물리적 자극을 가하는 방법이 있는데, 예컨대 배양된 세포 상에서 유체를 흐르게 하여 전단응력을 발생시키는 유체전단응력에 대한 연구가 있다. 이러한 유체전단응력은 간엽줄기세포가 뼈 세포로 분화하도록 유도하는 한편 조골세포의 뼈 생성을 유도하는 것으로 알려져 있으나, 지금까지 지방세포와 유체전단응력 간의 상관관계에 대한 연구는 활발히 이루어지지 않고 있는 실정이다.

[0005] 한편, 기존에는 세포와 유체전단응력 간의 상관 관계에 대하여 슬라이드에 배양되고 있는 세포에 대해 그 상부에서 유체를 유동시킴으로써, 세포의 유체에 의한 전단응력에 따른 반응을 검사하여 분석하였다.

[0006] 그러나, 기존의 세포 전단응력 검사에서는 슬라이드에 별도로 세포를 배양해야 하는 번거로움이 있고, 또한 슬라이드의 크기가 크지 않아 전단응력이 가해지는 세포의 수가 적어 반응검사의 정확도 및 신뢰성이 저하되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 세포가 배양되는 배양접시 자체에 결합되어 유체의 유동에 따른 전단응력을 세포에 자극으로 가할 수 있는 세포 자극 시스템 및 이를 이용한 세포 자극 방법을 제공하고자 하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 실시예에 따른 세포 자극 시스템은, 유체에 의한 전단응력을 세포에 자극으로 가하는 자극장치와 자극에 의한 상기 세포의 반응을 검사하는 반응검사장치를 포함한다.

[0009] 여기서, 자극장치는, 유체 공급유닛 및 상기 세포가 배양 중인 배양접시와 결합되고, 상기 유체 공급유닛에서 공급되는 상기 유체를 일방향 및 타방향 중 적어도 하나의 방향으로 유동시켜 상기 세포에 전단응력을 가하는 세포 자극유닛을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0010] 본 발명의 실시예에 따른 세포 자극 방법은, 상기 자극장치의 세포 자극유닛에 상기 세포가 배양 중인 배양접시를 결합하는 단계; 외부에서 공급되는 상기 유체가 상기 세포 자극유닛에서 일 방향으로 유동되도록 하여 상기 세포에 일 방향의 전단응력을 자극으로 가하는 단계; 외부에서 공급되는 상기 유체가 상기 세포 자극유닛에서

타 방향으로 유동되도록 하여 상기 세포에 타 방향의 전단응력을 자극으로 가하는 단계; 및 상기 일 방향의 전단응력 및 상기 타 방향의 전단응력 각각에 의한 상기 세포의 반응을 검사하여 분석하는 단계를 포함한다.

발명의 효과

- [0011] 본 발명의 세포 자극 시스템은, 세포가 배양되는 배양접시가 자극장치에 직접 결합되어 자극장치에서 소정 방향으로 유동되는 유체에 의한 전단응력이 배양접시에서 배양되고 있는 세포에 자극으로 가해질 수 있다.
- [0012] 이에, 종래의 슬라이드에 세포를 배양시켜 전단응력을 가하는 장치에 비해 상대적으로 넓은 면적에서 다수의 세포에 대하여 유체에 의한 전단응력을 가할 수 있어 전단응력에 따른 세포의 반응을 분석하는 데 있어 그 정확도 및 신뢰도를 높일 수 있다.
- [0013] 또한, 본 발명의 세포 자극 시스템에서는, 종래와 대비하여 슬라이드에 별도로 세포를 배양하지 않아도 되어, 전단응력에 따른 세포의 반응을 분석하기 위한 준비과정의 번거로움이 없고, 빠른 시간에 다수의 세포에 대한 반응 분석을 수행할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0014] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 자극 시스템의 구성을 나타내는 도면이다.
- 도 2는 도 1의 세포 자극유닛을 나타내는 도면이다.
- 도 3은 도 2의 세포 자극유닛을 상부에서 바라본 형태를 나타내는 도면이다.
- 도 4는 도 3을 IV~IV'의 선으로 절단한 단면도이다.
- 도 5는 도 3을 V~V'의 선으로 절단한 단면도이다.
- 도 6은 본 발명의 세포 자극 시스템을 이용한 세포 자극방법을 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 이하 본 발명의 실시예에 대하여 첨부된 도면을 참고로 그 구성 및 작용을 설명하기로 한다.
- [0016] 도면들 중 동일한 구성요소들에 대해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 참조번호 및 부호들로 나타내고 있음에 유의해야 한다. 하기에서 본 발명을 설명함에 있어, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 것이다. 또한, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0017] 또한 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이고 사전적인 의미로 해석되어서는 아니 되며, 발명자들은 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합하는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다. 따라서 본 명세서에 기재된 실시예와 도면에 도시된 구성은 본 발명의 바람직한 실시예에 불과할 뿐이고, 본 발명의 기술적 사상을 모두 대변하는 것은 아니므로, 본 출원시점에 있어서 이들을 대체할 수 있는 다양한 균등물과 변형예들이 있을 수 있으며 본 발명의 범위가 다음에 기술하는 실시예에 한정되는 것은 아니다.
- [0019] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 세포 자극 시스템의 구성을 나타내는 도면이다.
- [0020] 도 1을 참조하면, 본 실시예의 세포 자극 시스템(100)은 유체의 유동에 따른 전단응력을 세포에 자극으로 가할 수 있는 자극장치(110) 및 상기 자극장치(110)에 의해 가해진 자극에 따른 세포의 반응을 검사 및 분석할 수 있는 반응검사장치(120)를 포함할 수 있다.
- [0021] 자극장치(110)는 유체 공급유닛(220), 유체 회수유닛(230), 유체 제어유닛(240) 및 세포 자극유닛(210)을 포함할 수 있다.
- [0022] 유체 공급유닛(220)은 세포 자극유닛(210)과 공급배관(251)을 통해 연결될 수 있다. 유체 공급유닛(220)은 유체 제어유닛(240)의 제어에 따라 유체, 예컨대 배양액을 일정한 진동수 및 압력으로 세포 자극유닛(210)에 공급할 수 있다.

- [0023] 유체 공급유닛(220)과 세포 자극유닛(210)을 연결하는 공급배관(251)에는 제1밸브(261)가 결합될 수 있고, 유체 제어유닛(240)에 의해 제1밸브(261)의 개폐가 제어될 수 있다.
- [0024] 유체 회수유닛(230)은 세포 자극유닛(210)과 회수배관(253)을 통해 연결될 수 있다. 유체 회수유닛(230)은 유체 제어유닛(240)의 제어에 따라 세포 자극유닛(210)으로부터 유체를 회수할 수 있다.
- [0025] 유체 회수유닛(230)과 세포 자극유닛(210)을 연결하는 회수배관(253)에는 제2밸브(263)가 결합될 수 있고, 유체 제어유닛(240)에 의해 제2밸브(263)의 개폐가 제어될 수 있다.
- [0026] 한편, 본 실시예의 유체 공급유닛(220)과 유체 회수유닛(230)은 유체 제어유닛(240)에 의해 그 역할이 반전될 수 있다. 다시 말해, 유체 회수유닛(230)이 회수배관(253)을 통해 유체를 일정한 진동수 및 압력으로 세포 자극유닛(210)에 공급하고, 유체 공급유닛(220)이 세포 자극유닛(210)으로부터 공급배관(251)을 통해 유체를 회수할 수도 있다.
- [0027] 세포 자극유닛(210)은 세포가 배양 중인 배양접시(도 2의 130)와 직접 결합될 수 있다. 세포 자극유닛(210)은 유체 공급유닛(220)에서 공급된 유체를 배양접시의 내측, 즉 배양접시(130)에 배양중인 세포의 상부에서 소정 방향으로 유동되도록 하여 세포에 유체의 유동에 따른 전단응력을 자극으로 가할 수 있다.
- [0028] 세포 자극유닛(210)은 유체 제어유닛(240)의 유체 공급유닛(220) 및 유체 회수유닛(230)의 동작 제어에 따라 일 방향 및 타 방향 중 적어도 하나의 방향으로 유체를 유동시켜 세포에 전단응력을 가할 수 있다. 이때, 세포에 일정한 전단응력이 가해지도록 하기 위하여 세포 자극유닛(210) 내에서 유동되는 유체는 일정한 진동수 및 압력을 가지도록 제어될 수 있다. 예컨대, 유체는 0.5~1.5Hz의 진동수와 0.5~1.5Pa의 압력으로 제어되어 세포 자극유닛(210) 내에서 유동될 수 있다. 여기서, 세포 자극유닛(210)에서 유체가 유동되는 방향, 즉 일 방향과 타 방향은 서로 대향되는 방향일 수 있다.
- [0029] 도 2는 도 1의 세포 자극유닛을 나타내는 도면이다.
- [0030] 도 2를 참조하면, 본 실시예의 세포 자극유닛(210)은 본체(211) 및 결합부(213)로 구성될 수 있다. 세포 자극유닛(210)의 본체(211) 및 결합부(213)는 일체형으로 형성될 수 있다.
- [0031] 본체(211)는 공급배관(251)을 통해 유체 공급유닛(220)과 연결되고, 회수배관(253)을 통해 유체 회수유닛(230)과 연결될 수 있다. 이를 위하여, 본체(211)의 일측에는 공급배관(251)에 연결되는 입력단부(212a)와 회수배관에 연결되는 출력단부(212b)가 각각 구성될 수 있다.
- [0032] 입력단부(212a)의 일측은 공급배관(251)에 연결되고, 타측은 본체(211) 내부에 형성된 공간, 예컨대 제1유동공간(미도시)을 통해 결합부(213)의 하부 일측에 연결될 수 있다. 출력단부(212b)의 일측은 회수배관(253)에 연결되고, 타측은 본체(211) 내부에 형성된 공간, 예컨대 제2유동공간(미도시)을 통해 결합부(213)의 하부 타측에 연결될 수 있다.
- [0033] 즉, 본 실시예의 세포 자극유닛(210)의 본체(211)는 유체 공급유닛(220)으로부터 공급배관(251) 및 입력단부(212a)를 통해 유체를 공급받고, 이를 제1유동공간을 통해 결합부(213)의 일측에 공급할 수 있다. 또한, 본체(211)는 결합부(213)의 타측으로부터 제2유동공간 및 출력단부(212b)를 통해 유체를 회수하고, 이를 회수배관(253)을 통해 유체 회수유닛(230)에 공급할 수 있다. 따라서, 결합부(213)의 일면, 예컨대 결합부(213)의 상면에서는 일 방향, 즉 일측에서 타측으로 유체가 유동될 수 있다. 이때, 유체는 유체 제어유닛(240)의 제어에 따라 일정한 진동수와 압력으로 유동될 수 있다.
- [0034] 한편, 유체 제어유닛(240)의 제어에 따라 결합부(213)의 상면에서는 타방향, 즉 타측에서 일측으로 유체가 유동될 수 있다. 이때, 본체(211)는 회수배관(253) 및 출력단부(212b)를 통해 유체를 공급받고, 이를 제2유동공간을 통해 결합부(213)의 타측에 공급할 수 있다. 그리고, 결합부(213)의 일측에서 제1유동공간 및 입력단부(212a)를 통해 유체를 회수하여 공급배관(251)에 공급할 수 있다. 물론, 이때에도 유체는 일정한 진동수와 압력으로 결합부(213)의 상면에서 타 방향으로 유동될 수 있다.
- [0035] 결합부(213)는 본체(211)의 일면에 위치할 수 있다. 결합부(213)는 세포가 배양 중인 배양접시(130)와 결합되는 부분으로 배양접시(130)와 동일한 형태로 본체(211)의 일면으로부터 돌출되도록 형성될 수 있다.
- [0036] 결합부(213)의 일면, 즉 상면에는 본체(211)로부터 배면을 통해 공급되는 유체가 일방향 또는 타방향으로 유동하면서 세포에 전단응력을 가하는 세포자극부(215)가 구성될 수 있다. 세포자극부(215)는 유체에 의한 일정한 전단응력이 세포에 가해질 수 있도록 사각형의 형태로 구성될 수 있다. 이에, 결합부(213)에 결합되는 배양접시

(130)는 세포자극부(215)에 대응되는 영역 내에 위치하는 세포에 대하여 유체에 의한 전단응력이 가해질 수 있다.

- [0037] 결합부(213)와 배양접시(130) 간의 안정적인 결합을 위하여 세포 자극유닛(210)은 하나 이상의 고정부(270)를 더 포함할 수 있다. 고정부(270)는 'ㄷ'자 형태의 클램프로 구성될 수 있고, 결합부(213)에 배양접시(130)가 결합된 후 서로 대칭되는 적어도 2방향, 바람직하게는 4방향에서 세포 자극유닛(210)에 체결되어 배양접시(130)와 결합부(213) 간의 안정적인 결합이 이루어지도록 할 수 있다.
- [0038] 예컨대, 세포 자극유닛(210)의 결합부(213)에 배양접시(130)가 결합된 후, 결합부(213)의 서로 대칭되는 4개의 방향으로 고정부(270)가 체결될 수 있다. 고정부(270)의 내측 상면은 결합부(213)에 결합된 배양접시(130)의 일면에 접촉되어 지지되고, 고정부(270)의 내측 하면은 본체(211)의 배면에 접촉되어 지지될 수 있다. 따라서, 배양접시(130)는 고정부(270)에 의해 결합부(213)에 안정적으로 결합되어 결합부(213)의 상면, 즉 세포자극부(215)에 밀착되어 고정될 수 있다.
- [0039] 한편, 배양접시(130)에는 세포가 배양되고 있으므로, 배양접시(130)가 세포 자극유닛(210)의 결합부(213)에 결합될 때, 배양접시(130)로부터 세포가 이탈되는 문제가 발생할 수 있다. 이에, 도 2에 도시된 세포 자극유닛(210)은 상/하가 반전된 상태, 즉 결합부(213)가 하부에 위치한 상태에서 세포 자극유닛(210)의 하부로부터 배양접시(130)가 결합될 수 있다.
- [0040] 도 3은 도 2의 세포 자극유닛을 상부에서 바라본 형태를 나타내는 도면이고, 도 4는 도 3을 IV~IV'의 선으로 절단한 단면도이고, 도 5는 도 3을 V~V'의 선으로 절단한 단면도이다.
- [0041] 도 2 및 도 3을 참조하면, 결합부(213)의 세포자극부(215)는 사각형의 형태로 구성될 수 있다. 세포자극부(215)의 내측에는 주변, 즉 결합부(213)의 상면보다 낮은 높이를 갖는 유동면(215a)이 형성될 수 있다. 유동면(215a)은 후술될 제1수로(217) 및 제2수로(218)를 통해 외부로부터 공급 또는 회수되는 유체가 일방향 또는 타방향으로 유동되는 공간일 수 있다.
- [0042] 세포자극부(215)의 내측에는 세포자극부(215)의 모서리를 따라 패킹부(216)가 배치될 수 있다. 패킹부(216)는 세포자극부(215)의 유동면(215a)에서 일방향 또는 타방향으로 흐르는 유체가 세포자극부(215) 외부로 누수되지 않도록 할 수 있다. 이러한 패킹부(216)는 탄성이 있는 고무 재질로 형성될 수 있다. 패킹부(216)에 의해 배양접시(130)가 결합부(213)의 상면, 즉 세포자극부(215)에 밀착되어 결합 및 고정될 수 있다.
- [0043] 패킹부(216)의 내측에는 제1수로(217)와 제2수로(218)가 각각 배치될 수 있다. 제1수로(217)와 제2수로(218) 각각은 직선 형태로 패킹부(216)의 서로 대향되는 한 쌍의 변을 따라 배치될 수 있다. 제1수로(217)와 제2수로(218)는 일단에서 타단, 즉 세포자극부(215)의 유동면(215a)에서 결합부(213)의 배면까지 개구된 형태를 가질 수 있다.
- [0044] 제1수로(217)의 타단은 본체(211)의 제1유동공간을 통해 입력단부(212a)에 연결될 수 있다. 제1수로(217)는 유체 공급유닛(220)에서 입력단부(212a)를 통해 공급되는 유체를 유동면(215a)을 통해 제2수로(218) 방향으로 유동되도록 하거나 또는 제2수로(218)로부터 유동면(215a)을 통해 유동되는 유체를 제1유동공간을 통해 입력단부(212a)로 공급할 수 있다.
- [0045] 제2수로(218)의 타단은 본체(211)의 제2유동공간을 통해 출력단부(212b)에 연결될 수 있다. 제2수로(218)는 제1수로(217)로부터 유동면(215a)을 통해 유동되는 유체를 제2유동공간을 통해 출력단부(212b)에 공급하거나 또는 유체 회수유닛(230)에서 출력단부(212b)를 통해 공급되는 유체를 유동면(215a)을 통해 제1수로(217) 방향으로 유동되도록 할 수 있다.
- [0046] 도 4 및 도 5를 참조하면, 앞서 설명된 패킹부(216)와 함께 세포자극부(215)의 유동면(215a) 외측으로 요철(凹凸)부(215b)가 형성되어 유동면(215a)에 흐르는 유체가 외부로 누수되지 않도록 할 수 있다. 요철부(215b)는 세포자극부(215)의 모서리를 따라 패킹부(216)에 대응되도록 형성될 수 있다.
- [0047] 도 4에 도시된 바와 같이, 요철부(215b)는 제1수로(217) 및 제2수로(218) 각각의 외측에 형성될 수 있다. 요철부(215b)는 하나의 요부와 상기 하나의 요부 양측으로 형성된 한 쌍의 철부를 포함할 수 있다. 요철부(215b)의 요부에는 패킹부(216)가 삽입되어 위치될 수 있다.
- [0048] 이때, 요철부(215b)의 요부 깊이는 패킹부(216)의 단면 높이보다 상대적으로 작도록 형성될 수 있다. 이에, 패킹부(216)는 상면이 요부로부터 소정 돌출될 수 있다. 이는, 배양접시(130)가 결합부(213)에 결합될 때 그 내면이 패킹부(216)의 상면에 접촉되도록 하여 배양접시(130)의 파손을 방지하고, 세포의 최소한의 손실이 발생되도

록 하기 위함이다.

- [0049] 요철부(215b)의 한 쌍의 철부는 유동면(215a)보다 높게 형성될 수 있다. 이에, 제1수로(217) 및 제2수로(218)를 통해 공급되는 유체가 유동면(215a)에서만 유동되도록 할 수 있다. 여기서, 유동면(215a)에서 유동되는 유체에 의한 전단응력이 배양접시(130) 내의 세포에 정확하게 가해질 수 있도록 요철부(215b)의 한 쌍의 철부의 상단과 유동면(215a) 간의 최적의 간격이 결정될 수 있다.
- [0050] 또한, 도 5에 도시된 바와 같이, 요철부(215b)는 유동면(215a)의 외측에 형성될 수 있다. 요철부(215b)의 요부에는 패킹부(216)의 상면이 노출되도록 삽입되어 배양접시(130)의 내면이 패킹부(216)의 상면에 접촉될 수 있다. 요철부(215b)의 철부는 요부 양측에 한 쌍으로 형성되고, 유동면(215a)보다 높게 형성될 수 있다.
- [0051] 상술한 바와 같이, 본 실시예의 세포 자극유닛(210)은 배양접시(130)와 결합되는 결합부(213)에 세포자극부(215)를 구성하고, 세포자극부(215) 내에 제1수로(217), 제2수로(218) 및 유동면(215a)을 구성할 수 있다. 이에, 제1수로(217) 또는 제2수로(218)를 통해 유동면(215a)에서 일방향 및 타방향으로 유체를 유동시켜 배양접시(130)에 배양 중인 세포에 일정한 전단응력을 가할 수 있다.
- [0052] 또한, 본 실시예의 세포 자극유닛(210)은 세포자극부(215)의 내측으로 패킹부(216) 및 하나 이상의 요철부(215b)를 배치함으로써, 세포자극부(215)의 유동면(215a)에서 유동되는 유체가 유동면(215a)의 외부로 누수되는 것을 방지하여 전단응력에 의한 세포의 반응 정확도를 높일 수 있다.
- [0053] 다시 도 1을 참조하면, 자극장치(110)의 유체 제어유닛(240)은 세포 자극유닛(210)에서 유동되는 유체의 방향 및 속도를 제어할 수 있다. 유체 제어유닛(240)은 유체 공급유닛(220), 유체 회수유닛(230), 제1밸브(261) 및 제2밸브(263)의 동작을 제어함으로써, 유체의 방향 및 속도를 제어할 수 있다.
- [0054] 예컨대, 유체 제어유닛(240)에 의해 제1밸브(261)가 개방되고, 유체 공급유닛(220)에서 공급배관(251)을 통해 일정한 진동수와 압력, 예컨대 0.5~1.5Hz의 진동수와 0.5~1.5Pa의 압력을 갖는 유체가 세포 자극유닛(210)으로 공급될 수 있다. 이에, 도 2 및 도 3을 참조하여 설명한 바와 같이, 세포 자극유닛(210)의 세포자극부(215)에서는 공급배관(251) 및 제1수로(217)를 통해 공급된 유체가 유동면(215a)을 따라 제1방향, 즉 제2수로(218) 방향으로 유동될 수 있다. 이에, 세포 자극유닛(210)에 결합된 배양접시(130)에 배양되고 있는 세포는 유체에 의해 제1방향으로 가해지는 전단응력에 따른 자극을 받을 수 있다.
- [0055] 또한, 유체 제어유닛(240)에 의해 제2밸브(263)가 개방된 상태에서, 유체 회수유닛(230)에서 회수배관(253)을 통해 일정한 진동수와 압력을 갖는 유체가 세포 자극유닛(210)에 공급될 수 있다. 이에, 세포 자극유닛(210)의 세포자극부(215)에서는 회수배관(253) 및 제2수로(218)를 통해 공급된 유체가 유동면(215a)을 따라 제2방향, 즉 제1수로(217) 방향으로 유동될 수 있다. 이에, 세포 자극유닛(210)에 결합된 배양접시(130)에 배양되고 있는 세포는 유체에 의해 제2방향으로 가해지는 전단응력에 따른 자극을 받을 수 있다.
- [0056] 이와 같이, 유체 제어유닛(240)은 유체 공급유닛(220), 유체 회수유닛(230), 제1밸브(261) 및 제2밸브(263)의 동작을 제어함으로써, 배양접시(130)가 결합되어 있는 세포 자극유닛(210)에 일정한 진동수와 압력을 갖는 유체가 제1방향 및 제2방향으로 유동되도록 하여, 배양접시(130)에 배양 중인 세포에 양방향으로 일정한 크기의 전단응력에 따른 자극을 가할 수 있다.
- [0057] 반응검사장치(120)는 배양접시(130)가 결합된 세포 자극유닛(210)에 인접되어 배치될 수 있다. 반응검사장치(120)는 세포 자극유닛(210)에 의해 전단응력이 가해진 배양접시(130) 내의 세포의 반응을 검사하여 분석할 수 있다.
- [0058] 도 6은 본 발명의 세포 자극 시스템을 이용한 세포 자극방법을 나타내는 도면이다.
- [0059] 이하에서는, 설명의 편의를 위하여 앞서 설명된 도 1 내지 도 5를 함께 참조하여 본 발명의 세포 자극 시스템(100)을 이용한 세포 자극 방법에 대해 상세하게 설명하기로 한다.
- [0060] 먼저, 세포가 배양되고 있는 배양접시(130)가 자극장치(110)에 결합될 수 있다(S10).
- [0061] 도 2에 도시된 바와 같이, 배양접시(130)는 자극장치(110)의 세포 자극유닛(210)에 결합될 수 있다. 이때, 배양접시(130) 내의 세포 이탈을 방지하기 위하여 세포 자극유닛(210)의 결합부(213)가 하부에 위치되도록 대칭 반전된 상태에서 배양접시(130)가 결합부(213)에 결합될 수 있다. 그리고, 배양접시(130)가 결합된 결합부(213)의 적어도 4개의 방향에서 외부로부터 고정부(270)가 체결되어 배양접시(130)가 결합부(213)에 밀착되도록 고정될 수 있다.

- [0062] 여기서, 배양접시(130)는 일반적으로 세포 배양에 널리 사용되는 90mm의 직경을 갖는 접시일 수 있으나, 본 발명은 이에 제한되지는 않는다.
- [0063] 이어, 유체 제어유닛(240)의 제어에 따라 세포 자극유닛(210)에 일 방향으로 유체가 공급되도록 하여 세포 자극유닛(210)에 결합된 배양접시(130)의 세포에 유체의 유동에 따른 전단응력을 자극으로 가할 수 있다(S20).
- [0064] 도 1 및 도 3에 도시된 바와 같이, 유체 제어유닛(240)에 의해 제1밸브(261)가 개방되고, 이어 유체 공급유닛(220)이 일정한 진동수와 압력으로 공급배관(251)을 통해 유체를 세포 자극유닛(210)에 공급할 수 있다.
- [0065] 유체 공급유닛(220)은 0.5~1.5Hz의 진동수와 0.5~1.5Pa의 압력으로 유체를 공급할 수 있으며, 바람직하게는 1Hz의 진동수와 1Pa의 압력으로 유체를 공급할 수 있다.
- [0066] 유체 공급유닛(220)에서 공급되는 유체는 공급배관(251) 및 개방된 제1밸브(261)를 통해 세포 자극유닛(210)의 본체(211)에 형성된 입력단부(212a)에 공급될 수 있다. 이어, 유체는 입력단부(212a) 및 본체(211) 내부의 제1유동공간을 통해 결합부(213)의 상면에 구성된 세포자극부(215) 내의 제1수로(217)로 공급될 수 있다. 그리고, 유체는 제1수로(217)로부터 세포자극부(215)의 유동면(215a)을 따라 제2수로(218)까지 제1방향으로 유동될 수 있다. 이로 인해, 결합부(213)에 결합된 배양접시(130)에서는 세포자극부(215) 영역에 대응되어 위치된 세포에 대해 유체의 제1방향의 유동에 따른 전단응력이 자극으로 가해질 수 있다. 유체 제어유닛(240)은 유체 공급유닛(220)의 동작 제어를 통해 75~165분 동안 일정한 진동수 및 압력으로 세포 자극유닛(210)에 유체가 공급되도록 할 수 있다.
- [0067] 그리고, 반응검사장치(120)는 세포 자극유닛(210)에 의해 제1방향으로 유체에 의한 전단응력이 가해진 배양접시(130) 내의 세포에 대해 그 반응을 검사하여 분석할 수 있다(S40).
- [0068] 한편, 세포 자극유닛(210)의 세포자극부(215)에서 제1방향으로 유동된 유체는 제2수로(218)를 통해 본체(211)의 출력단부(212b) 및 회수배관(253)으로 회수될 수 있다. 이때, 유체 제어유닛(240)은 제2밸브(263)를 개방하여 유체가 회수배관(253)을 통해 유체 회수유닛(230)에 회수되도록 할 수 있다.
- [0069] 다음으로, 유체 제어유닛(240)의 제어에 따라 세포 자극유닛(210)에 타 방향으로 유체가 공급되도록 하여 세포 자극유닛(210)에 결합된 배양접시(130)의 세포에 유체의 유동에 따른 전단응력을 자극으로 가할 수 있다(S30).
- [0070] 도 1 및 도 3에 도시된 바와 같이, 유체 제어유닛(240)에 의해 제2밸브(263)가 개방되고, 유체 회수유닛(230)이 일정한 진동수와 압력, 예컨대 0.5~1.5Hz의 진동수와 0.5~1.5Pa의 압력, 바람직하게는 1Hz의 진동수와 1Pa의 압력으로 회수배관(253)을 통해 유체를 세포 자극유닛(210)에 공급할 수 있다.
- [0071] 유체 회수유닛(230)에서 공급되는 유체는 회수배관(253) 및 개방된 제2밸브(263)를 통해 세포 자극유닛(210)의 본체(211)에 형성된 출력단부(212b)에 공급될 수 있다. 이어, 유체는 출력단부(212b) 및 본체(211) 내부의 제2유동공간을 통해 결합부(213)의 세포자극부(215) 내의 제2수로(218)로 공급될 수 있다. 유체는 제2수로(218)를 통해 세포자극부(215)의 유동면(215a)을 따라 제1수로(217)까지 제2방향으로 유동될 수 있다. 이로 인해, 결합부(213)에 결합된 배양접시(130)에서 세포자극부(215)에 대응되는 위치의 세포에는 유체의 제2방향 유동에 따른 전단응력이 자극으로 가해질 수 있다.
- [0072] 이때, 유체 제어유닛(240)은 유체 회수유닛(230)의 동작 제어를 통해 75~165분 동안 일정한 진동수 및 압력으로 세포 자극유닛(210)에 유체가 공급되도록 할 수 있다. 또한, 세포자극부(215)에서 제2방향으로 유동된 유체는 제1수로(217)를 통해 본체(211)의 입력단부(212a) 및 공급배관(251)으로 회수될 수 있다. 유체 제어유닛(240)은 제1밸브(261)를 개방하여 유체가 공급배관(251)을 통해 유체 공급유닛(220)으로 회수되도록 할 수 있다.
- [0073] 이어, 반응검사장치(120)는 세포 자극유닛(210)에 의해 제2방향으로 유체에 의한 전단응력이 가해진 배양접시(130) 내의 세포에 대해 그 반응을 검사하여 분석할 수 있다(S40).
- [0074] 반응검사장치(120)에 의한 세포의 전단응력 반응 검사 및 분석이 완료되면, 유체 제어유닛(240)은 제1밸브(261)를 폐쇄시키고, 제2밸브(263)를 개방시켜 회수배관(253)을 통해 세포 자극유닛(210) 내의 유체가 유체 회수유닛(230)에 회수되도록 할 수 있다.
- [0075] 한편, 본 발명의 다른 실시예에 따라, 유체 제어유닛(240)은 유체 공급유닛(220) 및 유체 회수유닛(230)을 함께 제어하여 세포 자극유닛(210) 내에서 유체가 양방향, 즉 제1방향 및 제2방향으로 번갈아 유동되도록 할 수 있다. 그리고, 반응검사장치(120)는 세포 자극유닛(210)에 의해 양방향으로 유체에 의한 전단응력이 가해진 배양접시(130) 내의 세포에 대하여 그 반응을 검사하여 분석할 수도 있다.

[0076] 좀 더 구체적으로, 유체 제어유닛(240)의 제어에 따라 유체 공급유닛(220)은 개방된 제1밸브(261) 및 공급배관(251)을 통해 유체를 본체(211)의 입력단부(212a)로 공급하고, 입력단부(212a)는 본체(211) 내부의 제1유동공간을 통해 제1수로(217)에 유체를 공급하여 세포자극부(215)에서 제1수로(217)에서 제2수로(218)의 방향, 즉 제1방향으로 유체가 유동될 수 있다. 이에, 배양접시(130) 내의 세포는 제1방향의 유체 유동에 따른 전단응력이 자극으로 가해질 수 있다. 이어, 제2수로(218)를 통해 회수배관(253)으로 회수된 유체는 유체 제어유닛(240)의 제어에 따라 다시 제2수로(218)로 공급되어 세포자극부(215)에서 제2수로(218)에서 제1수로(217)의 방향, 즉 제2방향으로 유동될 수 있다. 이에, 배양접시(130) 내의 세포는 제2방향의 유체 유동에 따른 전단응력이 자극으로 가해질 수 있다. 그리고, 반응검사장치(120)는 양방향으로 전단응력이 자극으로 가해진 배양접시(130)의 세포에 대하여 반응을 검사하여 분석할 수 있다.

[0077] 상술한 바와 같이, 본 실시예의 세포 자극 방법은, 일반적으로 세포가 배양되는 배양접시(130)가 자극장치(110)에 직접 결합되어 세포에 유체에 의한 전단응력이 자극으로 가해질 수 있다.

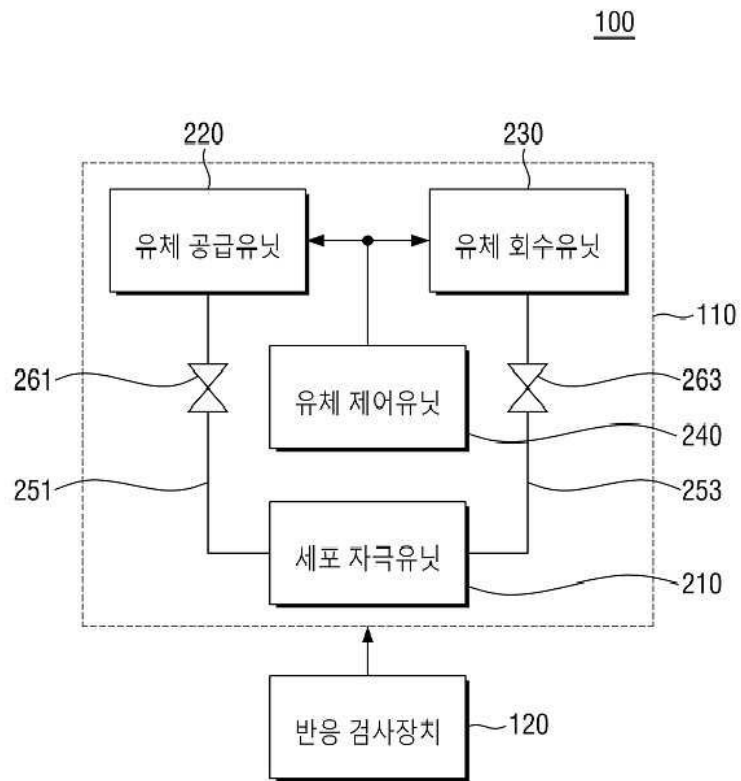
[0078] 따라서, 본 발명의 세포 자극 방법은, 종래의 슬라이드에 배양된 세포에 전단응력을 자극으로 가하는 방법에 비하여 상대적으로 넓은 면적에 다수의 세포에 대하여 전단응력을 가할 수 있어 전단응력에 따른 세포의 반응 분석의 정확도 및 신뢰도를 높일 수 있다. 또한, 본 발명의 세포 자극 방법은, 슬라이드에 별도로 세포를 배양하지 않아도 되므로, 전단응력에 따른 세포 반응 분석의 소요 시간을 현저하게 줄일 수 있다.

부호의 설명

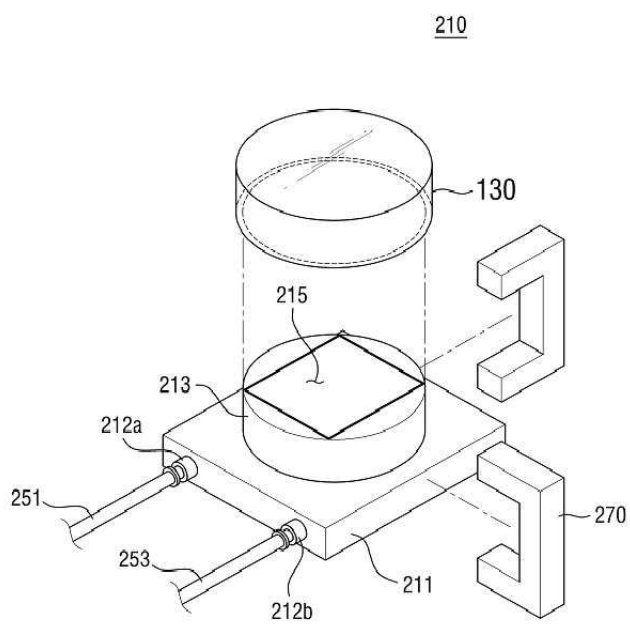
[0079] 100: 세포 자극 시스템 110: 자극장치
120: 반응검사장치 130: 배양접시
210: 세포 자극유닛 211: 본체
213: 결합부 215: 세포자극부
216: 패킹부 217: 제1수로
218: 제2수로 220: 유체 공급유닛
230: 유체 회수유닛 240: 유체 제어유닛
251: 공급배관 253: 회수배관
261: 제1밸브 263: 제2밸브
270: 고정부

도면

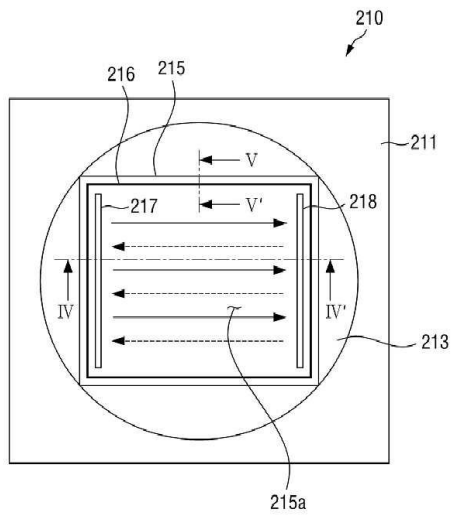
도면1



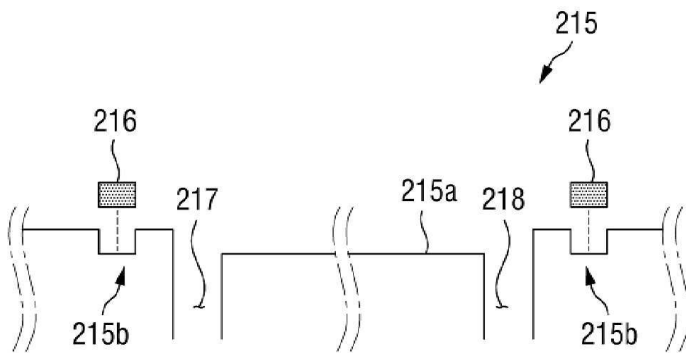
도면2



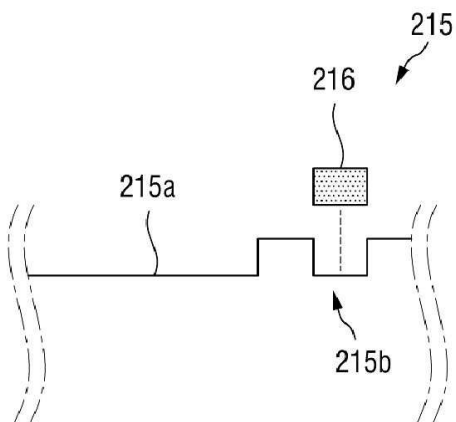
도면3



도면4



도면5



도면6

