



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0043962
(43) 공개일자 2021년04월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/12 (2006.01) C12M 3/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12M 25/01 (2013.01)
C12M 21/08 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0126950
(22) 출원일자 2019년10월14일
심사청구일자 2019년10월14일

(71) 출원인
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
(72) 발명자
김백길
서울특별시 용산구 효창원로104나길 16
조남훈
서울특별시 강남구 언주로130길 30, 103-301(논현동, 동양파라곤)
(74) 대리인
파도특허법인(유한), 이재영

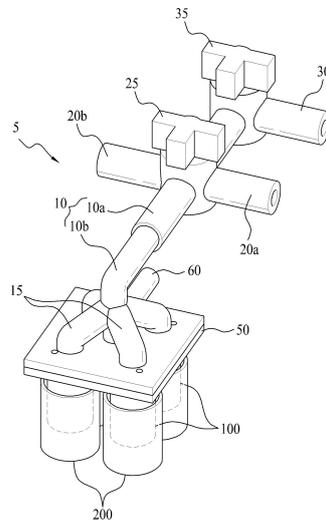
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 멀티 레이어 스페로이드 배양장치

(57) 요약

본 발명에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치는, 내부에 공급유로가 형성된 메인공급부와, 상기 공급유로에 세포를 주입하는 세포주입부와, 상기 공급유로에 상기 세포의 배양을 위한 배지를 주입하는 배지주입부를 포함하는 공급관 어셈블리 및 상기 메인유로와 연통되도록 상하 방향으로 형성된 낙하유로와, 상기 낙하유로의 하부에 구비되어 상기 낙하유로를 통해 중력 방향으로 유동된 세포 및 배지가 표면장력에 의해 물방울 형태의 행잉드롭을 형성하도록 하는 드롭형성부를 포함하는 행잉드롭 배양유닛을 포함한다.

대표도 - 도1



- (52) CPC특허분류
C12M 29/00 (2013.01)
C12M 29/24 (2013.01)

장숙희
 경기도 파주시 쇄재로 30(금촌동)

- (72) 발명자
장연수
 서울특별시 용산구 효창원로104나길 16

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2019R1A2B5B01069934
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견후속연구
연구과제명	통합형 경화성 중앙미세환경 제어기술을 이용한 압진행 억제
기여율	1/3
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2019.06.01 ~ 2022.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2019R1I1A1A01060549
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	학문균형발전지원사업
연구과제명	고형암 진행 상의 CEACAM 과발현 활성화 섬유아세포의 역할 규명
기여율	1/3
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2019.06.01 ~ 2022.05.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2018R1C1B6003964
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	신진연구
연구과제명	유도만능줄기세포 유래 혈관내피세포를 이용한 대퇴골두 무혈성 괴사질환의 발병기
전 규명	
기여율	1/3
과제수행기관명	연세대학교 산학협력단
연구기간	2018.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

내부에 공급유로가 형성된 메인공급부와, 상기 공급유로에 세포를 주입하는 세포주입부와, 상기 공급유로에 상기 세포의 배양을 위한 배지를 주입하는 배지주입부를 포함하는 공급관 어셈블리; 및

상기 메인유로와 연통되도록 상하 방향으로 형성된 낙하유로와, 상기 낙하유로의 하부에 구비되어 상기 낙하유로를 통해 중력 방향으로 유동된 세포 및 배지가 표면장력에 의해 물방울 형태의 행잉드롭을 형성하도록 하는 드롭형성부를 포함하는 행잉드롭 배양유닛;을 포함하는,

멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 행잉드롭 배양유닛은,

상기 낙하유로와 외부를 서로 연통시키도록 연장되어 공기의 유동경로를 형성하는 공기순환유로를 더 포함하는,

멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 공기순환유로는,

상기 낙하유로와 나란히 형성되고, 외부와 연통되는 외부연통부;

상기 외부연통부의 하단과 상기 낙하유로를 서로 연결하는 제1연결순환부; 및

상기 제1연결순환부보다 높은 위치에서 상기 외부연통부의 소정 지점과 상기 낙하유로를 서로 연결하는 제2연결순환부;를 포함하는,

멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 행잉드롭 배양유닛은,

상기 낙하유로와 외부를 서로 연통시키도록 연장되어 상기 낙하유로에 수용된 배지의 배출경로를 형성하는 배지배출유로를 더 포함하는,

멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 배지배출유로는,

상기 드롭형성부의 상단에 인접하여 상기 낙하유로에 연결되는,
멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 6

제1항에 있어서,
상기 행잉드롭 배양유닛은,
상기 낙하유로 내에 구비되어, 상기 낙하유로를 통해 유동되는 세포 및 배지가 상기 낙하유로의 내벽 측으로 이동하여 흘러내리도록 유도하는 완충부재를 더 포함하는,
멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 7

제6항에 있어서,
상기 완충부재는,
상기 낙하유로의 횡단면 중심부에 구비되는 완충부; 및
상기 완충부의 둘레로부터 상기 낙하유로의 내벽 측으로 연장되어 상기 완충부를 고정시키는 고정부;를 포함하는,
멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 8

제7항에 있어서,
상기 완충부는,
상부에서 하부로 갈수록 단면적이 점차 증가하는 형태로 형성되는,
멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 9

제1항에 있어서,
상기 공급관 어셈블리는,
상기 공급유로에 공기를 주입하는 공기주입부를 더 포함하는,
멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 10

제1항에 있어서,
상기 세포주입부 및 상기 배지주입부는,
상기 메인공급부의 동일 지점에 연결되는

멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 공급관 어셈블리는,

상기 메인공급부와 상기 행잉드롭 배양유닛을 서로 연결하도록 구비되어, 상기 메인공급부를 통해 유동되는 세포 및 배지를 상기 낙하유로 측으로 낙하시키는 분배부를 더 포함하는,

멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 행잉드롭 배양유닛은 복수 개가 구비되며,

상기 분배부는 상기 행잉드롭 배양유닛 각각에 대응되도록 복수 개가 구비되어, 상기 메인공급부를 통해 유동되는 세포 및 배지를 상기 행잉드롭 배양유닛 각각에 분배하도록 형성되는,

멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

청구항 13

제1항에 있어서,

상기 행잉드롭 배양유닛의 하부에 구비되어, 상기 드롭형성부로부터 낙하하는 행잉드롭을 받는 웰 플레이트유닛을 더 포함하는,

멀티 레이어 스페로이드 배양장치.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 스페로이드 배양장치에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 다양한 층으로 구성된 스페로이드를 배양할 수 있도록 하는 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 세포 배양이란 개체로부터 분리된 세포를 개체 밖에서 배양시키는 기술로서, 이와 같은 세포 배양은 개체의 체내와 유사하게 조성된 배양 환경을 일관되게 유지하는 것이 핵심적인 사항이다.

[0004] 이러한 핵심적인 사항에 대하여, 오늘날 기술이 발전함에 따라 다양한 세포 배양 방식들이 제시되고 있다.

[0005] 이 중 전통적으로 사용되는 세포 배양 방식의 경우, 2차원 방향으로 얇게 퍼진 단층세포를 배양하는 방식을 가지고 있으나, 이는 세포가 본래 체내에서 갖는 특이적인 기능을 장시간 유지할 수 없게 되는 문제가 있다.

[0006] 따라서 최근에는 생체 내와 동등한 기능을 갖는 3차원 조직인 스페로이드의 배양이 주목을 받고 있으며, 현재 다양한 3차원 스페로이드 배양 기술이 개발되고 있다.

[0007] 한편, 피부 혹은 고형암 등의 생체조직은 명확히 구분되는 다양한 세포층으로 이루어진 구조이므로, 이들을 대상으로 하는 약물(예컨대, 피부의 경우 화장품)의 효과는 타겟 세포층에 도달하기 전, 조우하는 다양한 세포층의 구조적 특징이 반영된 모델에서 판정되어야 한다.

- [0008] 즉 멀티 레이어 스페로이드 배양물의 주된 사용목적이 약물 효과 관정이라는 측면에서, 다양한 조건을 동시에 수용할 수 있도록 하는 대량화 및 자동화 시스템의 개발이 요구되는 상황이다.
- [0009] 다만 현재까지는 스페로이드 배양물이 단일 세포 혹은 여러 세포가 혼합된 형태로 사용되고 있으며, 세포 간 층이 명확하게 분리된 구조는 보고된 바가 없다.
- [0010] 이에, 전술한 바와 같은 문제를 해결하고, 개발이 요구되는 상황에 맞는 기술을 본 발명을 통해 제시하고자 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명은 상술한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위하여 안출된 발명으로서, 다양한 층으로 구성된 멀티 레이어 스페로이드를 구성할 수 있도록 함에 따라 인체 조직과 유사한 스페로이드를 배양할 수 있도록 하기 위한 목적을 가진다.
- [0013] 또한 이와 같은 멀티 레이어 스페로이드의 배양시스템을 구축하여, 대량화 및 자동화가 가능하도록 하기 위한 목적을 가진다.
- [0014] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0016] 상기한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 멀티 레이어 스페로이드 배양장치는, 내부에 공급유로가 형성된 메인공급부와, 상기 공급유로에 세포를 주입하는 세포주입부와, 상기 공급유로에 상기 세포의 배양을 위한 배지를 주입하는 배지주입부를 포함하는 공급관 어셈블리 및 상기 메인유로와 연통되도록 상하 방향으로 형성된 낙하유로와, 상기 낙하유로의 하부에 구비되어 상기 낙하유로를 통해 중력 방향으로 유동된 세포 및 배지가 표면장력에 의해 물방울 형태의 행잉드롭을 형성하도록 하는 드롭형성부를 포함하는 행잉드롭 배양유닛을 포함한다.
- [0017] 여기서 상기 행잉드롭 배양유닛은, 상기 낙하유로와 외부를 서로 연통시키도록 연장되어 공기의 유동경로를 형성하는 공기순환유로를 더 포함할 수 있다.
- [0018] 또한 상기 공기순환유로는, 상기 낙하유로와 나란히 형성되고, 외부와 연통되는 외부연통부, 상기 외부연통부의 하단과 상기 낙하유로를 서로 연결하는 제1연결순환부 및 상기 제1연결순환부보다 높은 위치에서 상기 외부연통부의 소정 지점과 상기 낙하유로를 서로 연결하는 제2연결순환부를 포함할 수 있다.
- [0019] 한편 상기 행잉드롭 배양유닛은, 상기 낙하유로와 외부를 서로 연통시키도록 연장되어 상기 낙하유로에 수용된 배지의 배출경로를 형성하는 배지배출유로를 더 포함할 수 있다.
- [0020] 또한 상기 배지배출유로는 상기 드롭형성부의 상단에 인접하여 상기 낙하유로에 연결될 수 있다.
- [0021] 그리고 상기 행잉드롭 배양유닛은, 상기 낙하유로 내에 구비되어, 상기 낙하유로를 통해 유동되는 세포 및 배지가 상기 낙하유로의 내벽 측으로 이동하여 흘러내리도록 유도하는 완충부재를 더 포함할 수 있다.
- [0022] 또한 상기 완충부재는 상기 낙하유로의 횡단면 중심부에 구비되는 완충부 및 상기 완충부의 둘레로부터 상기 낙하유로의 내벽 측으로 연장되어 상기 완충부를 고정시키는 고정부를 포함할 수 있다.
- [0023] 이때 상기 완충부는 상부에서 하부로 갈수록 단면적이 점차 증가하는 형태로 형성될 수 있다.
- [0024] 한편 상기 공급관 어셈블리는, 상기 공급유로에 공기를 주입하는 공기주입부를 더 포함할 수 있다.
- [0025] 그리고 상기 세포주입부 및 상기 배지주입부는 상기 메인공급부의 동일 지점에 연결될 수 있다.
- [0026] 또한 상기 공급관 어셈블리는, 상기 메인공급부와 상기 행잉드롭 배양유닛을 서로 연결하도록 구비되어, 상기 메인공급부를 통해 유동되는 세포 및 배지를 상기 낙하유로 측으로 낙하시키는 분배부를 더 포함할 수 있다.

- [0027] 더불어 상기 행잉드롭 배양유닛은 복수 개가 구비되며, 상기 분배부는 상기 행잉드롭 배양유닛 각각에 대응되도록 복수 개가 구비되어, 상기 메인공급부를 통해 유동되는 세포 및 배지를 상기 행잉드롭 배양유닛 각각에 분배하도록 형성될 수 있다.
- [0028] 그리고 본 발명은 상기 행잉드롭 배양유닛의 하부에 구비되어, 상기 드롭형성부로부터 낙하하는 행잉드롭을 받는 웰 플레이트유닛을 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0030] 상기한 과제를 해결하기 위한 본 발명의 멀티 레이어 스페로이드 배양장치는, 인체조직과 유사한 멀티 레이어 스페로이드를 구성 가능하다는 장점을 가진다.
- [0031] 또한 본 발명은 멀티 레이어의 스페로이드를 한 단위의 유닛 상에서 구성할 수 있다는 장점이 있다.
- [0032] 더불어 본 발명은 배양장치를 시스템화하는 것이 가능하여, 대량생산 및 배양 자동화를 가능하도록 하는 장점이 있다.
- [0033] 본 발명의 효과들은 이상에서 언급한 효과들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 청구범위의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0035] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치의 모습을 나타낸 도면;
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 있어서, 행잉드롭 배양유닛 및 웰 플레이트유닛의 모습을 나타낸 도면;
- 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 있어서, 시린지(Syringe)를 통해 세포 및 배지를 주입하는 모습을 나타낸 도면;
- 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 있어서, 행잉드롭 배양유닛에 행잉드롭이 형성된 모습을 나타낸 도면;
- 도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 있어서, 행잉드롭 배양유닛의 공기순환 유로를 통해 공기를 배출시키는 모습을 나타낸 도면;
- 도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 있어서, 행잉드롭 배양유닛의 공기순환 유로 및 배지배출유로를 통해 낙하유로에 수용된 배지를 배출시키는 모습을 나타낸 도면; 및
- 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 있어서, 행잉드롭 배양유닛을 통해 멀티 레이어 스페로이드를 형성하는 과정을 나타낸 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0036] 이하 본 발명의 목적이 구체적으로 실현될 수 있는 본 발명의 바람직한 실시예를 첨부된 도면을 참조하여 설명한다. 본 실시예를 설명함에 있어서, 동일 구성에 대해서는 동일 명칭 및 동일 부호가 사용되며 이에 따른 부가적인 설명은 생략하기로 한다.
- [0037] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치의 모습을 나타낸 도면이며, 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 있어서, 행잉드롭 배양유닛(100) 및 웰 플레이트유닛(200)의 모습을 나타낸 도면이다.
- [0038] 도 1 및 도 2에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치는 공급관 어셈블리(5)와, 행잉드롭 배양유닛(100)과, 웰 플레이트유닛(200)을 포함한다.
- [0039] 상기 공급관 어셈블리(5)는 세포 및 배지를 상기 행잉드롭 배양유닛(100)에 공급하기 위한 구성요소이다.
- [0040] 본 실시예에서 상기 공급관 어셈블리(5)는 내부에 공급유로가 형성된 메인공급부(10)와, 상기 공급유로에 세포

를 주입하는 세포주입부(20a)와, 상기 공급유로에 상기 세포의 배양을 위한 배지를 주입하는 배지주입부(20b)와, 상기 공급유로에 공기를 주입하는 공기주입부(30)를 포함하는 형태를 가진다.

- [0041] 이때 본 실시예의 경우, 상기 공기주입부(30)는 상기 메인공급부(10)의 일단부에 연결된 형태를 가지며, 상기 세포주입부(20a) 및 상기 배지주입부(20b)는 상기 메인공급부(10)의 중간부 동일 지점에 서로 반대 방향으로 연결된 형태를 가진다.
- [0042] 그리고 상기 세포주입부(20a), 상기 배지주입부(20b)와 상기 메인공급부(10)의 연결 지점에는 제1밸브(25)가 구비되며, 상기 공기주입부(30)와 상기 메인공급부(10)와의 연결 지점에는 제2밸브(35)가 구비되어, 각각의 물질에 대한 주입 경로의 개폐 여부, 개도량 등을 조절하도록 할 수 있다.
- [0043] 따라서 세포 및 배지를 상기 메인공급부(10)에 주입할 경우에는, 도 3에 도시된 바와 같이 세포가 수용된 세포용 시린지(5a)와, 배지가 수용된 배지용 시린지(5b)를 각각 상기 세포주입부(20a) 및 상기 배지주입부(20b)에 연결시키고, 상기 제1밸브(25)를 원하는 개도량으로 조절한 뒤 상기 세포용 시린지(5a) 및 상기 배지용 시린지(5b)의 피스톤을 천천히 이동시켜 세포 및 배지를 주입할 수 있다.
- [0044] 그리고 이와 함께 제2밸브(25)의 개도량을 조절하고, 상기 공기주입부(30)로부터 공기를 주입함에 따라, 상기 메인공급부(10)의 메인유로에 주입된 세포 및 배지를 공기의 압력에 의해 타단부 측으로 유동시킬 수 있다.
- [0045] 더불어 본 실시예의 경우 상기 메인공급부(10)는 상기 세포주입부(20a), 상기 배지주입부(20b) 및 상기 공기주입부(30)가 연결되는 제1공급관(10a)과, 상기 제1공급관(10a)의 타단부에 결합되는 제2공급관(10b)을 포함할 수 있다. 상기 제2공급관(10b)은 타단에서 중력 방향으로 하향되는 형태로 형성된 형태를 가진다.
- [0046] 또한 상기 공급관 어셈블리(5)는, 상기 메인공급부(10)와 상기 행잉드롭 배양유닛(100)을 서로 연결하도록 구비되는 분배부(15)를 더 포함할 수 있다. 본 실시예에서 상기 분배부(15)는 상기 메인공급부(10)를 통해 유동되는 세포 및 배지를 상기 행잉드롭 배양유닛(100)의 후술할 낙하유로(120) 측으로 낙하시키기 위한 구성요소로서, 상기 메인공급부(10)의 제2공급관(10b)의 타단으로부터 분지되는 형태를 가진다.
- [0047] 특히 본 실시예의 경우 상기 행잉드롭 배양유닛(100)은 복수 개가 커버플레이트(50)에 장착된 상태로 구비되며, 상기 분배부(15)는 상기 행잉드롭 배양유닛(100) 각각에 대응되도록 복수 개가 구비되어, 상기 메인공급부(10)를 통해 유동되는 세포 및 배지를 상기 행잉드롭 배양유닛(100) 각각에 분배하도록 형성된다.
- [0048] 다만, 본 실시예와 달리 상기 행잉드롭 배양유닛(100) 및 상기 분배부(15)는 하나만이 구비될 수도 있음은 물론이다.
- [0049] 상기 행잉드롭 배양유닛(100)은 상기 분배부(15)의 하부에 구비되어 세포 및 배지를 전달받아 3차원 배양이 이루어지도록 하는 구성요소이다.
- [0050] 도 2 및 도 4에 도시된 바와 같이, 본 실시예에서 상기 행잉드롭 배양유닛(100)은 상기 메인공급부(10)의 메인유로와 연통되도록 상하 방향으로 형성된 낙하유로(120)와, 상기 낙하유로(120)의 하부에 구비되어 상기 낙하유로(120)를 통해 중력 방향으로 유동된 세포 및 배지가 표면장력에 의해 물방울 형태의 행잉드롭(B)을 형성하도록 하는 드롭형성부(130)를 포함한다.
- [0051] 특히 상기 낙하유로(120)는 전체적으로 동일한 직경을 가지도록 형성되며, 상기 드롭형성부(130)는 상부에서 하부로 갈수록 그 직경이 점차 증가하여 구체의 일부 형상에 대응되는 형태를 가지도록 형성된다. 이에 따라 상기 낙하유로(120)를 통해 상기 드롭형성부(130) 측으로 유동된 세포-배지 혼합액은, 상기 드롭형성부(130)에서 표면장력에 의해 물방울 형태의 행잉드롭(B)을 형성하게 된다.
- [0052] 즉 상기 행잉드롭(B)은 세포-배지 혼합액이 상기 드롭형성부(130)에 지속적으로 유입됨에 따라 물방울 형태로 맺힌 상태로 점차 성장하게 되며, 행잉드롭(B) 내부에는 혼합액에 포함된 세포에 의해 스페로이드(S)가 형성된다.
- [0053] 이와 같은 행잉드롭(B)은 성장하여 일정 무게 이상이 되었을 경우 또는 전술한 공기주입부(30)를 통해 공기를 특정 압력 이상으로 주입한 경우 등과 같은 상황에서 상기 드롭형성부(130)로부터 이탈되어 후술할 웰 플레이트 유닛(200)에 낙하하게 된다.
- [0054] 그리고 본 실시예에서 상기 행잉드롭 배양유닛(100)은, 공기순환유로(140) 및 배지배출유로(160)를 더 포함할 수 있다.

- [0055] 상기 공기순환유로(140)는 상기 낙하유로(120)와 외부를 서로 연통시키도록 연장되어 공기의 유동경로를 형성하는 구성요소로서, 상기 낙하유로(120)와 나란히 형성되고, 외부와 연통되는 외부연통부(142)와, 상기 외부연통부(142)의 하단과 상기 낙하유로(120)를 서로 연결하는 제1연결순환부(144)와, 상기 제1연결순환부(144)보다 높은 위치에서 상기 외부연통부(142)의 소정 지점과 상기 낙하유로(120)를 서로 연결하는 제2연결순환부(146)를 포함한다.
- [0056] 이와 같은 상기 공기순환유로(140)는 도 5에 도시된 바와 같이, 상기 낙하유로(120) - 제1연결순환부(144) - 외부연통부(142)로 이어지는 공기의 배출 경로를 형성하게 된다. 이에 따라 공기주입부(30)에 의해 주입된 공기는 세포 및 배지를 밀어 이동시킨 뒤 상기와 같은 공기의 배출 경로를 통해 외부로 배출될 수 있다.
- [0057] 이와 같이 상기 공기순환유로(140)를 통해 공기의 배출 경로를 형성하는 것은, 상기 낙하유로(120) 및 상기 드롭형성부(130)에 수용되어 있는 세포-배지 혼합액이 공기의 압력에 의해 목표 시점보다 빠르게 낙하하여 이탈되는 것을 방지하기 위한 것이다.
- [0058] 상기 배지배출유로(150)는 상기 낙하유로(120)와 외부를 서로 연통시키도록 연장되어 상기 낙하유로(120)에 수용된 배지의 배출경로를 형성하는 구성요소이다.
- [0059] 본 실시예에서 상기 배지배출유로(150)는 일측이 상기 드롭형성부(130)의 상단에 인접하여 상기 낙하유로(120)에 연결되며, 타측은 상기 행잉드롭 배양유닛(100)의 외측으로 돌출된 배출부(160)의 내측으로 연장된다. 이때 복수의 행잉드롭 배양유닛(100)에 형성된 각 배출부(160)는 별도의 흡입펌프와 연결되는 펌프연결부(60, 도 1)와 연결될 수 있다.
- [0060] 따라서 본 실시예의 경우 도 6에 도시된 바와 같이, 상기 공기순환유로(140)의 외부연통부(142) - 제2연결순환부(146) - 배지배출유로(150)로 이어지는 배지의 배출 경로를 형성하게 되며, 상기 흡입펌프의 흡입력을 통해 상기 낙하유로(120)에 수용된 배지를 외부로 배출시킬 수 있다.
- [0061] 이와 같이 하는 이유는, 낙하유로(120)에 수용된 배지를 외부로 배출시켜 세포-배지 혼합액이 상기 드롭형성부(130)에만 잔류하도록 하여 행잉드롭(B) 형태를 이루도록 하기 위한 것이다.
- [0062] 그리고 본 실시예에서 상기 행잉드롭 배양유닛(100)은, 상기 낙하유로(120) 내에 구비되어, 상기 낙하유로(120)를 통해 유동되는 세포-배지 혼합액이 상기 낙하유로(120)의 내벽 측으로 이동하여 흘러내리도록 유도하는 완충부재(170)를 더 포함한다.
- [0063] 즉 상기 완충부재(170)는 상기 낙하유로(120)를 통해 유동되는 세포-배지 혼합액이 이미 형성된 행잉드롭(B) 위로 직접적으로 떨어져 큰 낙하에너지를 가하는 것을 방지하기 위한 것으로서, 세포-배지 혼합액의 낙하 속도를 저감시키는 동시에 세포-배지 혼합액이 상기 낙하유로(120)의 내벽을 통해 흘러내리도록 함에 따라 낙하에너지를 최소화할 수 있도록 한다.
- [0064] 특히 본 실시예에서 상기 완충부재(170)는, 상기 낙하유로(120)의 횡단면 중심부에 구비되는 완충부(172)와, 상기 완충부(172)의 둘레로부터 상기 낙하유로(120)의 내벽 측으로 연장되어 상기 완충부(172)를 고정시키는 고정부(174)를 포함한다.
- [0065] 그리고 본 실시예의 경우 상기 고정부(174)는 총 4개가 구비되며, 상기 완충부(172)에 의해 상기 낙하유로(120)의 내벽 측으로 이동한 세포-배지 혼합액은 서로 인접한 고정부(174) 사이에 형성된 공간을 통해 하부로 이동하게 된다.
- [0066] 또한 상기 완충부(172)는, 상부에서 하부로 갈수록 단면적이 점차 증가하는 형태로 형성될 수 있다. 본 실시예에서 상기 완충부(172)는 원추형을 가지는 것으로 하였으며, 이와 같이 하는 이유는 상기 완충부(172)로 낙하한 세포-배지 혼합액이 방사형으로 고르게 분산되도록 하기 위한 것이다.
- [0067] 한편 본 발명은 상기 행잉드롭 배양유닛(100)의 하부에 구비되어, 상기 드롭형성부(130)로부터 낙하하는 행잉드롭(B)을 받는 웰 플레이트유닛(200)을 더 포함할 수 있다.
- [0068] 다시 도 2를 참조하면, 본 실시예에서 상기 웰 플레이트유닛(200)은 상기 행잉드롭(B)이 직접적으로 낙하하는 바닥을 형성하는 베이스부(210)와, 상기 베이스부(210)의 둘레로부터 상측으로 연장되어 상기 행잉드롭 배양유닛(100)의 측면 일부 둘레를 감싸는 측벽부(220)를 포함하는 형태를 가진다.
- [0069] 이때 상기 베이스부(210) 상에는, 내측에 포집공간을 형성하되, 제1방향이 개구되어 닫히지 않은 곡선 형태로 형성되는 제1스페로이드가드(230)와, 상기 제1 스페로이드가드(230)의 둘레 일부를 감싸는 형태로 형성되되, 상

기 제1방향과 반대 방향인 제2방향으로 개구되어 닫히지 않은 곡선 형태로 형성되는 제2스페로이드가드(240)가 구비될 수 있다.

- [0070] 상기 제1스페로이드가드(230) 및 상기 제2스페로이드가드(240)는 이와 같이 서로 반대 방향의 개구를 형성함에 따라, 상기 베이스부(210)에 낙하한 행잉드롭(B)에 포함된 스페로이드가 외측으로 이탈되지 않도록 하는 동시에, 액체 형태인 배지는 외부로 용이하게 배출시킬 수 있도록 할 수 있다.
- [0071] 이상으로 본 발명의 일 실시예에 따른 티 레이어 스페로이드 배양장치의 각 구성요소에 대해 자세히 설명하였으며, 이하에서는 이를 통해 멀티 레이어 스페로이드를 형성하는 과정에 대해 설명하도록 한다.
- [0072] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 멀티 레이어 스페로이드 배양장치에 있어서, 행잉드롭 배양유닛(100)을 통해 멀티 레이어 스페로이드를 형성하는 과정을 나타낸 도면이다.
- [0073] 먼저, 전술한 세포주입부(20a) 및 배지주입부(20b)를 통해 1차 주입용 세포와 배지를 메인공급부(10)의 공급유로에 주입한 후, 공기주입부(30)를 통해 공기를 주입하여 1차 세포-배지 혼합액을 각 행잉드롭 배양유닛(100) 측으로 이동시킨다.
- [0074] 시간이 지남에 따라 도 7의 좌측에 도시된 바와 같이, 행잉드롭 배양유닛(100)의 드롭형성부(130)에 1차 행잉드롭(B₁)이 형성되며, 1차 행잉드롭(B₁)을 구성하는 1차 세포-배지 혼합액 외의 나머지 1차 세포-배지 혼합액은 낙하유로(120)에 수용된 상태를 가진다.
- [0075] 이후 도 6 부분에서 설명한 바와 같이, 흡입펌프를 구동시켜 외부연통부(142) - 제2연결순환부(146) - 배지배출유로(150)로 이어지는 배지의 배출 경로를 통해 상기 낙하유로(120)에 수용된 배지를 외부로 배출시킨다. 이에 따라 1차 세포-배지 혼합액은 상기 드롭형성부(130)에만 행잉드롭(B₁) 형태로 잔류하게 된다.
- [0076] 다음으로, 다시 세포주입부(20a) 및 배지주입부(20b)를 통해 2차 주입용 세포와 배지를 메인공급부(10)의 공급유로에 주입한 후, 공기주입부(30)를 통해 공기를 주입하여 2차 세포-배지 혼합액을 각 행잉드롭 배양유닛(100) 측으로 이동시킨다.
- [0077] 따라서 도 7의 중앙에 도시된 바와 같이, 행잉드롭 배양유닛(100)의 드롭형성부(130)에 형성된 1차 행잉드롭(B₁)의 상부로 2차 세포-배지 혼합액(B₂)이 모여 낙하유로(120)에 수용된 상태를 가지게 된다.
- [0078] 이후 시간이 지남에 따라, 도 7의 우측에 도시된 바와 같이 드롭형성부(130)에 형성된 1차 행잉드롭(B₁)은 상부의 2차 세포-배지 혼합액(B₂)과 혼합되어 점차 희석되며, 2차 세포-배지 혼합액(B₂)이 지속적으로 공급됨에 따라 최종적으로는 1차 행잉드롭(B₁)이 대부분 제거되어 2차 세포-배지 혼합액(B₂)에 의해 대체된다. 즉 이와 같은 상태에서는 드롭형성부(130)에 2차 행잉드롭(B₂)이 형성된 상태를 가진다.
- [0079] 그리고 위와 같은 과정을 복수 회 반복함에 따라, 멀티 레이어를 가지는 스페로이드를 구성할 수 있게 된다.
- [0080] 이상과 같이 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 살펴보았으며, 앞서 설명된 실시예 이외에도 본 발명이 그 취지나 범주에서 벗어남이 없이 다른 특정 형태로 구체화될 수 있다는 사실은 해당 기술에 통상의 지식을 가진 이들에게는 자명한 것이다. 그러므로, 상술된 실시예는 제한적인 것이 아니라 예시적인 것으로 여겨져야 하고, 이에 따라 본 발명은 상술한 설명에 한정되지 않고 첨부된 청구항의 범주 및 그 동등 범위 내에서 변경될 수도 있다.

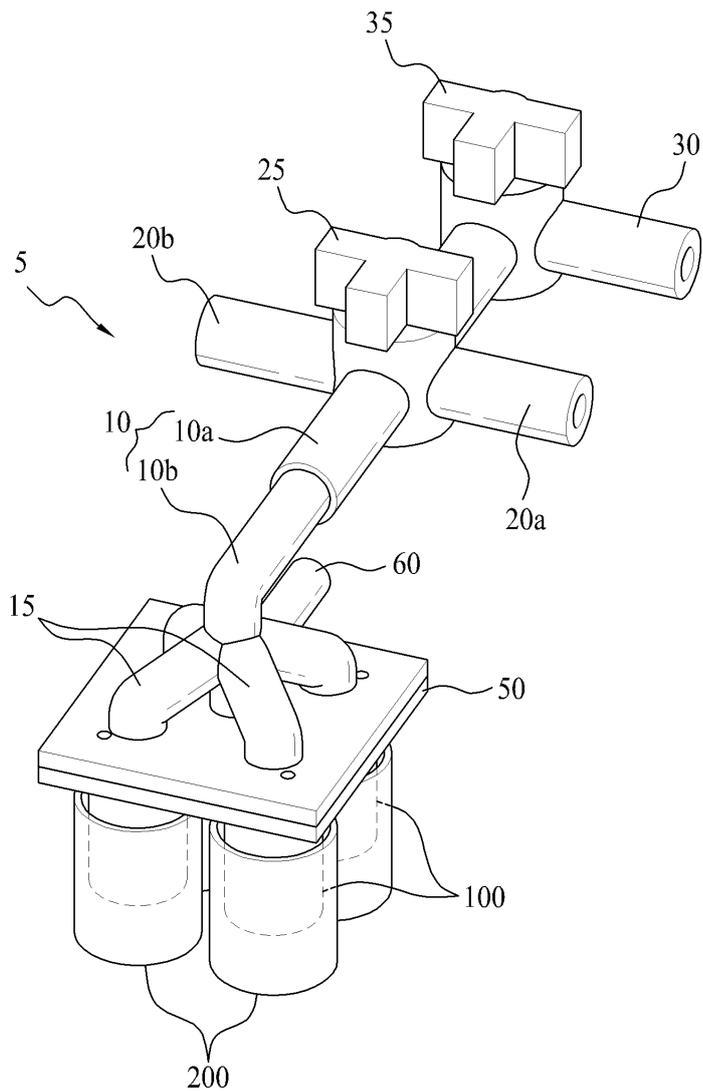
부호의 설명

- [0082] 5: 공급관 어셈블리
- 10: 메인공급부
- 15: 분배부
- 20a: 세포주입부
- 20b: 배지주입부
- 30: 공기주입부

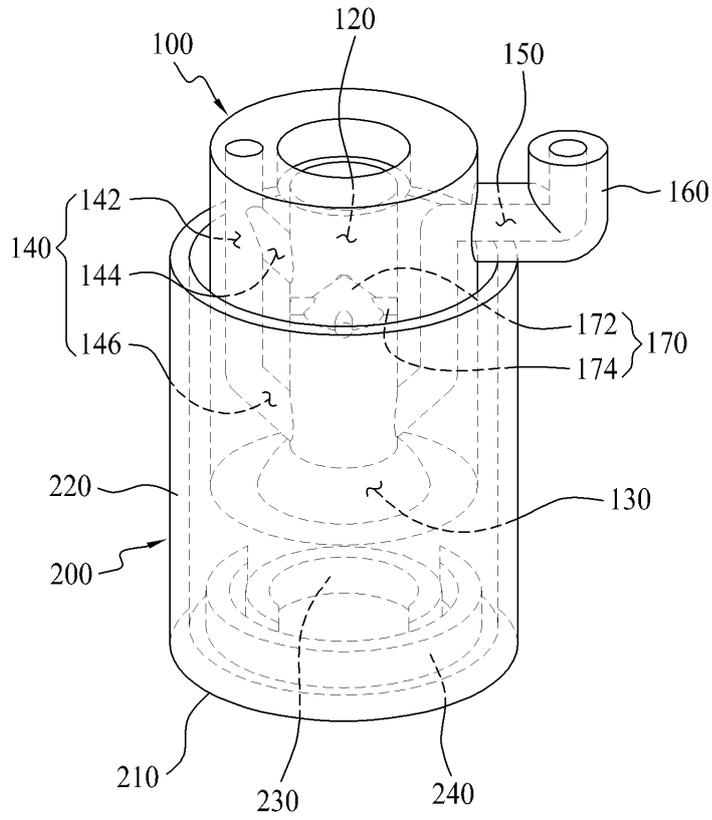
- 100: 행잉드롭 배양유닛
- 120: 낙하유로
- 130: 드롭형성부
- 140: 공기순환유로
- 150: 배지배출유로
- 170: 완충부재
- 200: 웰 플레이트유닛
- 210: 베이스부
- 220: 측벽부
- 230: 제1스페로이드가드
- 240: 제2스페로이드가드

도면

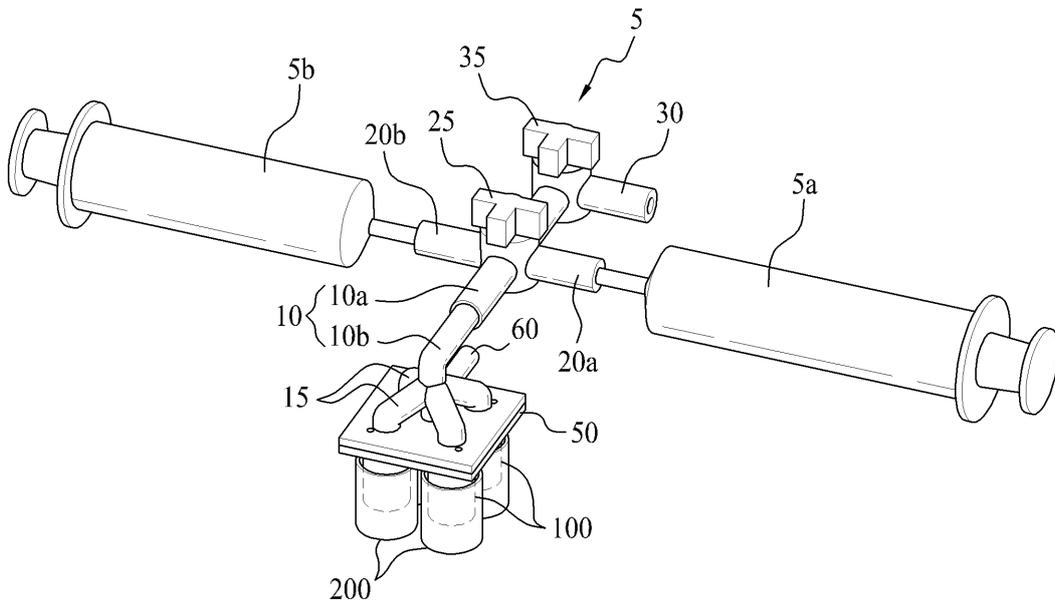
도면1



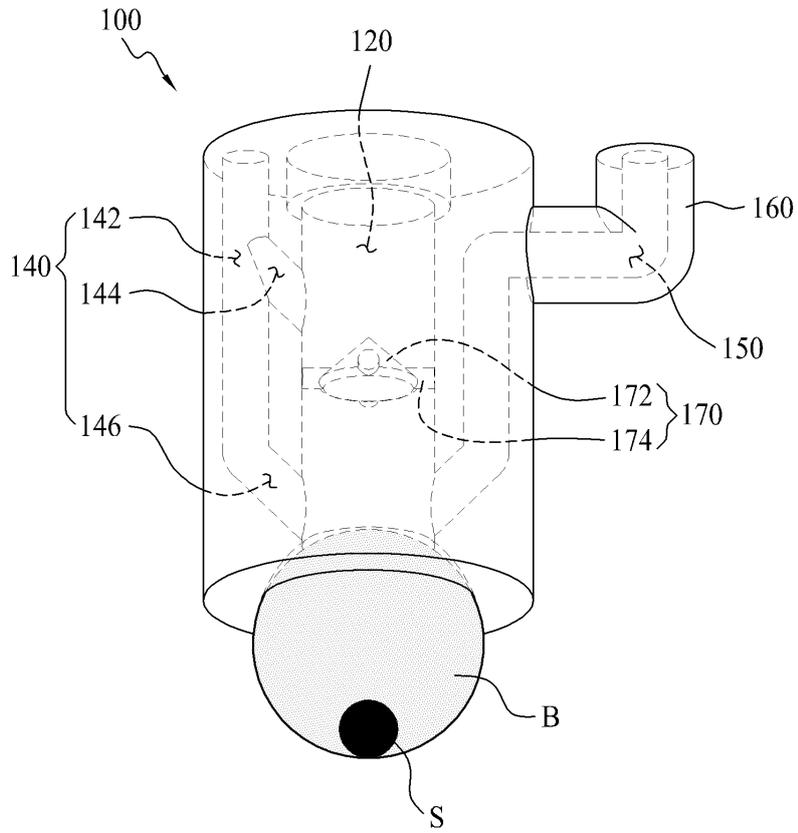
도면2



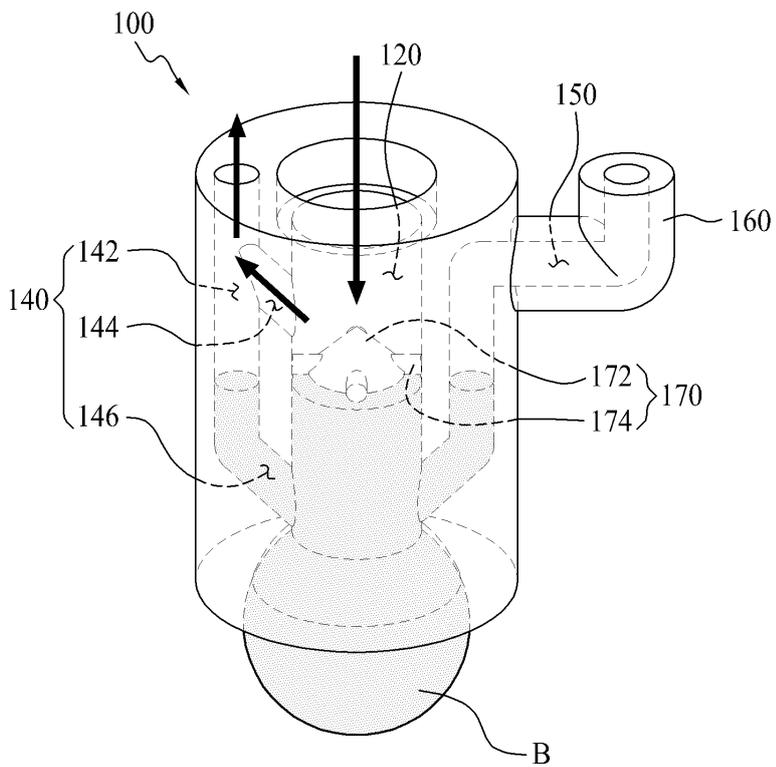
도면3



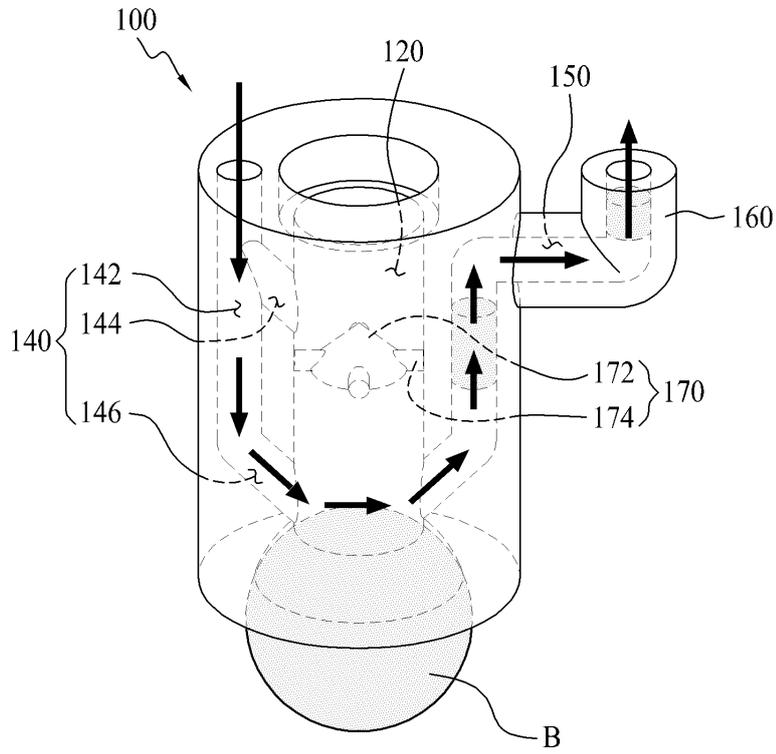
도면4



도면5



도면6



도면7

