



- (73) 특허권자
연세대학교 산학협력단
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)
- (72) 발명자
김백길
서울특별시 용산구 효창원로104나길 16
- 조남훈**
서울특별시 강남구 언주로130길 30, 103-301(논현동, 동양파라곤)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
이재영

심사관 : 조상진

(54) 발명의 명칭 세포 배양용 어셈블리

대표도



(52) CPC특허분류

C12M 23/42 (2013.01)
C12M 35/04 (2013.01)
C12M 41/46 (2013.01)
C12N 5/0656 (2013.01)
C12N 5/0693 (2013.01)
C12N 2503/02 (2013.01)
C12N 2513/00 (2013.01)
C12N 2527/00 (2013.01)
C12N 2533/74 (2013.01)

강숙희

경기도 과주시 쇠재로 30(금촌동)

(72) 발명자

장연수

서울특별시 용산구 효창원로104나길 16

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2016RID1A1B03932310
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	이공학개인지초연구지원사업
연구과제명	압축력 유도 암진행 표현형 억제를 통한 난치암 치료
기 여 율	1/2
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2018.09.01 ~ 2019.06.30

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2016R1A2B4011115
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	중견연구자지원사업
연구과제명	경화성 세포외기질 완화 치료
기 여 율	1/2
과제수행기관명	연세대학교
연구기간	2018.04.01 ~ 2019.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

제1세포를 목적하는 수평 압력하에서 배양하는 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부;
제2세포를 목적하는 수평 압력하에서 배양하는 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제2트레이부;
상기 제1세포의 수평 면적에 대응되는 일 면으로 목적하는 수직 압력으로 가압하는 제1가압부; 및
상기 제1세포 및 제2세포의 수평 면적 또는 상기 제2세포의 수평 면적에 대응되는 일 면으로 목적하는 수직 압력으로 가압하는 제2가압부를 포함하고,
상기 제2트레이부는 상기 제1트레이부의 외측 둘레에 위치되고,
상기 제1가압부는 상기 제1트레이부의 내측 중공과 대응되는 면적으로 형성된 가압유닛을 포함하고,
상기 제2가압부는 상기 제2트레이부의 내측 중공과 대응되는 면적 또는 상기 제2트레이부와 상기 제1트레이부 사이의 내측 중공과 대응되는 면적으로 형성된 가압유닛을 포함하는 세포 배양용 어셈블리.

청구항 2

제 1항에 있어서,
상기 제1트레이부에 위치한 분할피스는 내부 중공인 원반상의 제1트레이부로 합형되도록 반원단면상으로 형성되는, 세포 배양용 어셈블리.

청구항 3

제 1항에 있어서,
상기 세포 배양용 어셈블리는 제 2 트레이부의 외측 둘레에 위치되어 제2세포와는 상이한 종류의 세포를 배양할 수 있는 하나 이상의 트레이부를 추가로 포함하는, 세포 배양용 어셈블리.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1항에 있어서,
상기 세포 배양용 어셈블리는 일측과 타측이 개방된 관 형상으로 내측면과 연결되어 형성된 유입관을 추가로 포함하는, 세포 배양용 어셈블리.

청구항 6

제 1항에 있어서,
상기 제1세포는 종양, 고형암세포, 전이성 암세포, 암 줄기세포, 성체줄기세포, 배아줄기세포, 유도만능줄기세포, 면역세포, 간 조직, 심장 조직, 연골 조직, 골 조직, 지방 조직, 근육 조직, 피부 조직, 점막 상피 조직, 양막 조직, 각막 조직, 또는 체세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것인, 세포 배양용 어셈블리.

청구항 7

제 1항에 있어서,
상기 제2세포는 섬유아세포, 면역세포, 내피세포, 조골세포, 근아세포, 건세포, 신경아세포, 신경교아세포, 배세포, 간세포, 신장세포, 지대세포(Sertoli cell), 연골세포, 상피세포, 심혈관세포, 각질세포, 평활근세포, 심장근세포, 신경교세포, 호르몬 분비세포, 궤장섬세포, 또는 신경세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상

인 것인, 세포 배양용 어셈블리.

청구항 8

제 1항에 있어서,

상기 제1세포 및 제2세포는 서로 다른 종류의 세포인, 세포 배양용 어셈블리.

청구항 9

삭제

청구항 10

제 1항 내지 제 3항 및 제 5항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 따른 세포 배양용 어셈블리 내 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부에 제1세포를 목적하는 수평 압력하에서 배양하는 단계; 및

하나 이상의 분할피스를 포함하고 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부를 둘러싸는 제2트레이부에 제2세포를 배양하는 단계;를 포함하는, 세포 배양 방법.

청구항 11

제 1항 내지 제 3항 및 제 5항 내지 제 8항 중 어느 한 항에 따른 세포 배양용 어셈블리에서 제1세포 및 제 2세포 배양 중에 제1가압부 또는 제2가압부로 각각 수직 방향 가압하여 배양하는 단계를 포함하는, 생체 유사 조직 배양 방법.

청구항 12

제 11항에 있어서,

상기 세포 배양용 어셈블리는 유입관을 통해 배양액을 공급하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 배양액은 항생제, 항진균제, 성장인자, 및 분화인자로 이루어진 군으로부터 하나 이상을 선택하는, 방법

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 세포 배양용 어셈블리에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 생체 내에서 세포는 서로 결합하여 조직을 이루고 있으며 복잡한 구조의 생활성적 지지체인 세포외기질(extracellular matrix, ECM)에 둘러싸여 있다. 세포들은 결합된 조직 안에서 생리활성물질(physiological active substance)을 주고받으며 서로에게 영향을 주며 다양한 물질로 구성되어 있는 세포의 기질은 세포에 생화학적 신호를 전달하거나 세포를 구조적으로 지지하고 세포의 항상성을 유지하는 역할을 한다. 이러한 세포-세포 또는 세포-세포외기질의 상호작용은 세포의 분화 또는 특성을 결정하는 매우 복잡한 요소들로 구성되어 있기 때문에 실험실 상에서 이들을 이해하기 위해서는 생체와 유사한 미세 환경을 구축할 필요성이 있다. 이러한 필요에 따라, 인 비트로(in vitro) 상에서 생체와 유사한 미세 환경을 구축하기 위한 새로운 소재와 방법이 지속적으로 개발되고 있으며 이를 이용한 분석용 칩(assay chip)의 개발이 이루어지고 있다(한국특허 출원번호 제 10-2016-0041011호).

[0003] 하지만, 민감한 실험 환경 상 오염되기가 쉽사이라 분석결과에 악영향을 미칠 수 있으며, 생체내에서의 다른 장기 또는 기관, 세포에 의한 압력 또는 세포신호전달, 호르몬 등과 같은 상호작용에 의해 분석용 칩 상에서의 분석으로는 신뢰도가 높은 결과를 얻을 수 없다는 한계를 갖고 있다. 따라서, 상기 문제점을 근본적으로 개선한 신규한 장치에 대한 필요성이 존재한다.

(특허문헌 1) JP6606680 B2

(특허문헌 2) JP2772656 B2

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명의 목적은 3D로 제작된 유사 조직에 약물 또는 배양물 등을 제어하여 공급하고 3D 유사 조직에서 특정 세포 군집을 개별적으로 또는 조합으로 가압함으로써 효과적인 약물 개발 또는 유사 조직 제작에 용이하고, 3D 유사 조직에서의 신호 전달, 유전적 변화 또는 약물 반응을 용이하게 연구할 수 있으며, 오염없이 쉽게 조립 및 분해 가능한 어셈블리를 제공하는 것이다.

[0005] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 이하, 본원에 기재된 다양한 구현예가 도면을 참조로 기재된다. 하기 설명에서, 본 발명의 완전한 이해를 위해서, 다양한 특이적 상세사항, 예컨대, 특이적 형태, 조성물 및 공정 등이 기재되어 있다. 그러나, 특정의 구현예는 이들 특이적 상세 사항 중 하나 이상 없이, 또는 다른 공지된 방법 및 형태와 함께 실행될 수 있다. 다른 예에서, 공지된 공정 및 제조 기술은 본 발명을 불필요하게 모호하게 하지 않게 하기 위해서, 특정의 상세사항으로 기재되지 않는다. "한 가지 구현예" 또는 "구현예"에 대한 본 명세서 전체를 통한 참조는 구현예와 결부되어 기재된 특별한 특징, 형태, 조성 또는 특성이 본 발명의 하나 이상의 구현예에 포함됨을 의미한다. 따라서, 본 명세서 전체에 걸친 다양한 위치에서 표현된 "한 가지 구현예에서" 또는 "구현예"의 상황은 반드시 본 발명의 동일한 구현예를 나타내지는 않는다. 추가로, 특별한 특징, 형태, 조성, 또는 특성은 하나 이상의 구현예에서 어떠한 적합한 방법으로 조합될 수 있다.

[0007] 본 발명 내 특별한 정의가 없으면 본 명세서에 사용된 모든 과학적 및 기술적인 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 당 업자에 의하여 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.

[0008] 본 발명에 따른 어셈블리는 세포를 성형하여 배양함으로써 생체 유사 조직을 생체 유사 압력 하에서 형성하는 세포 배양용 어셈블리 및 이로부터 형성된 유사 조직 배양물에 생체 유사 압력 하에서 약물을 투여하여 스크리닝할 수 있는 유효성 결정용 어셈블리를 포함하도록 형성된다.

[0009] 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리의 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부를 분리한 후 생긴 공간에 배양되는 세포는 종양, 고형암세포, 전이성 암세포, 암 줄기세포, 성체줄기세포, 배아줄기세포, 유도만능줄기세포, 면역세포, 간 조직, 심장 조직, 연골 조직, 골 조직, 지방 조직, 근육 조직, 피부 조직, 점막 상피 조직, 양막 조직, 각막 조직, 또는 체세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부에 배양되는 세포는 종양, 고형암세포, 전이성 암세포, 또는 암 줄기세포를 포함하는 암 영역(cancer zone)인 것이 바람직하다.

[0010] 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리의 제2트레이부를 분리한 후 생긴 공간에 안착된 세포는 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부에 배양되는 세포와 다른 종류인 것이 바람직하다. 제2트레이부를 분리한 후 생긴 공간에 안착된 세포는 섬유아세포, 면역세포, 내피세포, 조골세포, 근아세포, 건세포, 신경아세포, 신경교아세포, 배세포, 간세포, 신장세포, 지대세포(Sertoli cell), 연골세포, 상피세포, 심혈관세포, 각질세포, 평활근세포, 심장근세포, 신경교세포, 호르몬 분비세포, 체장섬세포, 또는 신경세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 제2트레이부를 분리한 후 생긴 공간에 안착된 세포는 생체내에서의 암 조직과 유사한 환경을 조성하기 위해 섬유아세포를 포함하는 스트로마 영역(stromal zone)인 것이 바람직하다.

[0011] 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리의 트레이부는 천연 폴리이소프렌, 합성 폴리이소프렌, 폴리부타디엔, 클로로프렌 고무, 부틸고무, 스티렌-부타디엔 고무, 니트릴 고무, 에틸렌 프로필렌 고무, 에틸렌 프로필렌 다이엔 고무, 에피클로로하이드린 고무, 폴리아크릴 고무, 실리콘 고무, 플루오로실리콘 고무, 플루오로 탄성중합체, 폴리에테르 블록 아미드, 클로로술폰화 폴리에틸렌, 에틸렌-비닐 아세테이트 및 폴리디메틸실록산으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상이거나; 나일론, 폴리아크릴산, 폴리카보네이트, 폴리우레탄, 폴리(에틸렌 비닐 아세테이트), 폴리스티렌, 폴리비닐알코올, 셀룰로오스 아세테이트, 폴리에틸렌글리콜(PEG), 폴리에틸렌

옥사이드, 폴리카프로락톤(PCL), 폴리락트산(PLA), 폴리글리콜산(PGA), 폴리[(락틱-co-(글리콜산))(PLGA), 폴리[(3-하이드록시부티레이트)-co-(3-하이드록시발러레이트)(PHBV), 폴리다이옥산온(PDO), 폴리[(L-락타이드)-co-(카프로락톤)], 폴리(에스테르우레탄)(PEUU), 폴리[(L-락타이드)-co-(D-락타이드)], 폴리[에틸렌-co-(비닐알코올)](PVOH), 폴리아크릴산(PAA), 폴리비닐알코올(PVA), 폴리비닐피롤리돈(PVP), 폴리스티렌(PS) 및 폴리아닐린(PAN)으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상인 합성 고분자 섬유이거나; 엘라스틴, 젤라틴, 한천, 아가로스, 피브리노젠, 피브린, 히알루론산, 알지네이트, 셀룰로오스, 실크 피브로인, 키토산, 라미닌, 액틴 및 콜라겐으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상으로 형성될 수 있으나, 살아있는 세포 또는 세포 간 신호 전달에 영향을 주는 것이 아닌 한, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 하이드로겔에서 종양 및 간질 세포의 공동 배양할 수도 있다. 바람직하게는, 쉽게 하이드로겔 형태로 만들거나, 다시 용액으로 되돌릴 수 있어 알지네이트인 것이 바람직하다. 또한, 세포의 종류나 기관의 특성을 반영하기 위해, 콜라겐(collagen), 피브린(fibrin), 피브리노젠(fibrinogen), 셀룰로스(cellulose), 라미닌(laminin) 등일 수도 있다.

[0012] 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리는 다수의 트레이부를 추가로 설치할 수 있으며, 그에 따라 연구용도 및 생체내 환경에 맞도록 세포의 종류를 결정할 수 있으며, 트레이부의 개수 및 세포 종류를 한정하는 것은 아니다.

[0013] 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리는 상기한 바와 같이, 다중 영역의 세포를 공동 배양함으로써 형광분석, 이미지 촬영, 및 유세포 분석을 추가로 실시할 수 있다.

[0014] 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리의 가압부는 제1트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집(도 9 및 10 참고, 제1가압부), 제2트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집(도 11 및 12 참고, 제2가압부), 제3트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집, 각각을 단일 가압하거나, 제1트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제2트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집, 제2트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제3트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집, 또는 제1트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제2트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제3트레이부의 내측 중공에서 배양된 세포 군집 모두를 동시에 다중 가압함으로써, 세포에 압축 스트레스를 가하게 된다. 압축 스트레스는 다양한 생리학적 및 병리학적 과정에 관여하는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 고형 종양에서 종양의 무한 증식은 조직의 제한된 공간에서 압축 응력을 증가시킨다. 또한, 압축 스트레스는 기계적 자극을 화학적 활성으로 전환시키는 신호 전달을 유발하여 종양의 진행에 기여한다. 예를 들어, 압축 스트레스에 의해 촉진된 인자(paracrine factor), 내분비 인자(endocrine factor), 및 결합분비 인자(juxtacrine factor)를 분비하여 다른 세포 군집에 영향을 준다. 또한, 예를 들어 종양 진행에 있어서, 종양 세포는 촉진인자, 내분비 인자, 결합분비 인자, 및 엑소솜 분비와 같은 다양한 방법으로 종양 미세환경을 확립한다. 따라서, 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리는 종양 또는 간질 세포에서의 압박 유도된 신호전달 체계(mechanotransduction)를 연구하는데 유용할 수 있다.

[0015] 또한, 본 발명에 따른 어셈블리는 종양과 같은 질환을 가진 세포만을 가압하여 주변 세포의 영향을 관찰할 수 있으며(도 9 참고), 질환에 대한 예후 마커 및 치료 표적 발굴에도 유용하게 이용될 수 있다.

[0016] 또한, 본 발명에 따른 어셈블리는 결합조직형성 (desmoplasia) 부위만을 선택적으로 가압할 수 있다(도 11 참고). 통상적으로, 종양 성장은 고형 종양에서 결합조직형성 (desmoplasia) 부위를 압박하게 된다. 따라서 종양을 둘러싸고 있는 간질 세포는 압축 유도된 기계적 변환을 겪는다. 간질 세포의 압축 유도된 신호전달 체계(mechanotransduction)는 혈관 신생과 같은 종양 진행과 관련된 몇 가지 생물학적 과정에 기여한다.

[0017] 또한, 본 발명에 따른 어셈블리는 제1챔버 및 제2챔버를 포함함으로써, 생체내 유사 조각 조직에 약물 또는 배양물을 공급할 수 있다. 통상적으로, 고형 종양에서는 일반적으로 종양 덩어리 주위에 고밀도 섬유화의 결합조직이 형성된다. 종양 주위의 결합조직형성 (desmoplasia)은 종양 덩어리로 항암제의 침투를 물리적으로 차단하는 것으로 생각되며, 이는 암 치료에 있어 가장 큰 장애물 중 하나이다. 본 발명에 따른 어셈블리의 제1챔버의 상부 및 하부 공간, 및 제2챔버는 결합조직형성 (desmoplasia) 조직 유사 구조물에 약물 스크리닝을 가능하게 하여, 효과적인 항종양 약물 (또는 치료법)을 개발하는 데 유용하다(실시예 2 및 2-1 참고).

[0018] 또한, 본 발명에 따른 유효성 결정용 어셈블리는 상기한 제2챔버에 유입관 및 유출관을 포함함으로써, 제1챔버의 내부에 안착된 생체내 유사 조각 조직에 약물 또는 배양물을 순환시킬 수 있다. 예를 들어, 암 치료제를 암 환자의 체내에 투여하는 경우에, 암 치료제의 효능을 평가하기 위해, 혈액 순환을 하는 생체 내에서와 동일한 환경 조건을 제공하기 위해서는 유동적으로 약물을 순환시켜야 한다. 또한, 본 발명자들은 정확한 항암제 스크리닝 모델을 구축하기 위해 적어도 혈액 순환과 결합조직형성 모두를 포함시켜 본 발명의 어셈블리를 고안하였

다(실시예 2-1 참고).

- [0019] 또한, 본 발명에 따른 유효성 검증용어셈블리는 압축된 상태에서 약물 스크리닝이 가능하도록 형성된다. 생체 내에서는 고형 종양에서의 종양 세포가 압축 응력에 노출되고, 압축 스트레스는 고형암 환자의 약물 내성과 관련이 있다. 따라서, 본 발명자들은 고형 종양에 대한 이상적인 약물 스크리닝 모델을 구축하기 위해, 종양 세포에 대한 압축 응력뿐만 아니라 결합조직형성 부위의 장벽 및 전신 순환을 구현하여 본 발명의 유효성 결정용 어셈블리를 고안하였다(실시예 4 참고).
- [0020] 본 발명에서 막(214)은 세포막이나 세포소기관을 구성하는 막뿐만 아니라 PC(polycarbonate) 또는 PET(polyester)과 같은 재질을 포함한다. 또한, 본 발명에서의 막(214)은 상기 막으로 분리된 제1챔버의 상부 및 하부(제2챔버의 내부 공간과 공유되는 공간) 각각에 안치된 세포들의 섞임을 방지하지만, 크기가 작은 세포 분비물의 활발한 이동이 가능한 형태라면, 한정되지 않는다. 예를 들어, 상기 막은 암 조직의 구조를 유지하고, 세포간 또는 세포와 환경간 물질교환을 가능하게 한다. 즉, 외부와의 경계로서 핵산, 단백질, 기타의 생체물질이 외부로 흩어지는 것을 방지하고 독립된 환경을 형성하여 생명활동을 영위하도록 한다. 또한, 세포를 둘러싸서 외부환경으로부터 세포를 보호하며, 세포질과 외부환경 사이의 물질수송의 통로 역할도 한다.
- [0021] 본 발명에서 용어 "스트로마"란, 조직(tissue) 내에서 구조 혹은 결합적 역할을 하는 부분으로, 본 발명에서는 암세포를 제외한 암조직을 구성하는 세포 및 세포외기질 등을 포함하는 병리학적 환경을 전반적으로 의미한다. 일반적으로, (고형암) 암환자의 환부는 암조직과 이를 둘러싸는 스트로마로 구성된다. 암환자 스트로마의 특징은 강한 섬유화(fibrosis) 및 경질화(stiffness)로, 이는 CAF(암관련 섬유아세포)의 세포외기질 리모델링이 주된 원인으로 알려져 있다. 스트로마의 경질화는 암세포의 증식과 더불어 암조직 내의 압축력 증가의 원인이 된다. 본 발명에서 용어 "스트로마 영역"은 상기한 스트로마가 안착되는 영역을 지칭한다.
- [0022] 본 발명에서 암 또는 종양은 암이 줄기세포성 암, 전이성 암, 고형 종양, 혈액암, 백혈병, 림프종, 골육종, 횡문근육종, 신경모세포종, 신장암, 백혈병, 신장 이행 세포암, 방광암, 윌름스 암, 난소암, 췌장암, 유방암, 전립선암, 골암, 폐암, 비-소세포 폐암, 위암, 결장직장암, 자궁경부암, 활막 육종, 두경부암, 편평 세포 암종, 다발성 골수종, 신장 세포암, 망막모세포종, 간모세포종, 간세포 암종, 흑색종, 신장의 횡문근양 종양, 유방 육종, 연골육종, 뇌암, 교모세포종, 수막종, 뇌하수체 선종, 전정 신경초종, 원시 신경외배엽 종양, 수모세포종, 성상세포종, 악성 성상세포종, 희돌기교종, 뇌실막세포종, 맥락막종 유두종, 진성 적혈구증가증, 혈소판증가증, 특발성 골수섬유증, 연질 조직 육종, 갑상선암, 자궁내막암, 카르시노이드 암 또는 간암, 유방암 및 위암으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명에 따른 어셈블리는 모든 종류의 암 또는 세포를 사용할 수 있다.
- [0023] 본 발명에서 용어 "CAF(cancer-associated fibroblast; 암 관련 섬유아세포)-알지네이트 디스크"에 관하여, 여기서 알지네이트는 세포의 3차원 배양에 널리 사용되고 있는 바이오물질 (biocompatible material)로, 구조적으로 조직을 구성하고 있는 세포외기질과 매우 유사하고, 쉽게 하이드로젤 형태로 만들어질 수 있지만, 그 종류가 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명에서, 암조직을 둘러싸고 있는 스트로마를 재현하기 위해, CAF가 포함된 알지네이트를 디스크 형태로 제작하였다. 이러한 CAF-알지네이트 디스크는 본 발명의 세포 배양용 어셈블리에서 CAF의 수 또는 배양시간에 따라, 다양한 암조직의 세포외기질 축적 정도를 반영하는데 일조할 수 있다.
- [0024] 본 발명에서 용어 "종양 알지네이트 디스크"는 상기한 바와 같이, 종양조직을 구성하기 위해, 암 세포가 포함된 알지네이트를 디스크 형태로 제작한 것이다. 본 발명에서 제1챔버의 종양-알지네이트 디스크는 압력을 가할 수 있어, 종양증식이 유도하는 가압환경에서의 신호전달까지 포함시킬 수 있다. 약물효율 테스트 후, 디스크의 디폴리머화(Depolymerization)에 의한 세포회수 및 유전체 분석이 가능하게 한다.
- [0025] 실제 생체내의 암조직 상에서, 항암약물은 혈관으로부터 암조직까지 도착하기 위해, 스트로마를 통과해야 한다. 암 스트로마는 높은 섬유화 및 경화로 인해, 항암약물의 통과를 방해한다. 일반적인 항암약물 스크리닝 방식은 이러한 스트로마의 부재로 인해, 정확한 항암약물의 효과판정이 어렵다.
- [0026] 본 발명은 이러한 환경을 가장 유사하게 구현한 모델로, 제1챔버의 막(membrane, 214)을 기준으로, 제1챔버의 상부에 종양-알지네이트 디스크, 하부에 CAF-알지네이트 디스크를 제작하여 안착한다. 제2챔버에 항암약제가 포함된 배지를 가한 후, (일정 반응시간 후) 제1챔버의 암세포의 생존율을 평가한다. 제2챔버를 통해 항암약물을 주입한 경우에 CAF-알지네이트 디스크가 제1챔버 내에 안착된 암세포로 도달하는 데 방해물이 된다. 이는 생체 내에서의 스트로마의 물리 및 생물학적 방해를 구현한 것이다. 본 발명의 유효성 결정용 어셈블리는 CAF-알지네이트 디스크를 설치함으로써 생체 유사하게 구현한 것이며, 항암약물이 이러한 장벽을 이겨내고 제1챔버 내에

안착된 암세포의 사멸을 유도할 수 있도록 제작한 것이다.

[0027] 본 발명은 제1세포를 목적하는 수평 압력하에서 배양하는 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부; 제2세포를 목적하는 수평 압력하에서 배양하는 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제2트레이부; 상기 제1세포의 수평 면적에 대응되는 일 면으로 목적하는 수직 압력으로 가압하는 제1가압부; 및 제1세포 및 제2세포의 수평 면적 또는 제 2세포의 수평 면적에 대응되는 일 면으로 목적하는 수직 압력으로 가압하는 제2가압부를 포함하고, 제2트레이부는 제 1트레이부의 외측 둘레에 위치되는 세포 배양용 어셈블리를 제공한다.

[0028] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 분할피스는 내부 중공인 원반상의 제1트레이부로 합형되도록 반원단면상으로 형성된다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 세포 배양용 어셈블리는 제 2 트레이부의 외측 둘레에 위치되어 제2세포와는 상이한 종류의 세포를 배양할 수 있는 하나 이상의 트레이부를 추가로 포함한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 세포 배양용 어셈블리는 제2트레이부를 가압하는 제3가압부를 추가로 포함한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 세포 배양용 어셈블리는 일측과 타측이 개방된 관 형상으로 내측면과 연결되어 형성된 유입관을 추가로 포함한다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 제1세포는 종양, 고형암세포, 전이성 암세포, 암 줄기세포, 성체줄기세포, 배아줄기세포, 유도만능줄기세포, 면역세포, 간 조직, 심장 조직, 연골 조직, 골 조직, 지방 조직, 근육 조직, 피부 조직, 점막 상피 조직, 양막 조직, 각막 조직, 또는 체세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 제2세포는 섬유아세포, 면역세포, 내피세포, 조골세포, 근아세포, 건세포, 신경아세포, 신경교아세포, 배세포, 간세포, 신장세포, 지대세포(Sertoli cell), 연골세포, 상피세포, 심혈관세포, 각질세포, 평활근세포, 심장근세포, 신경교세포, 호르몬 분비세포, 췌장섬세포, 또는 신경세포로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것이다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 제1세포 및 제2세포는 서로 다른 종류의 세포이다.

[0029] 본 발명은 상기한 바에 따른 세포 배양용 어셈블리에 의해 형성된 제1세포 및 제 2세포를 포함하고, 제1세포는 하나 이상의 분할피스에 의해 가압력을 받고 제2세포는 분할피스를 이탈시켜 가압력을 받는, 세포 배양물을 제공한다.

[0030] 본 발명은 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부에 제1세포를 목적하는 수평 압력하에서 배양하는 단계; 및 하나 이상의 분할피스를 포함하고 하나 이상의 분할피스로 분리가능한 제1트레이부를 둘러싸는 제2트레이부에 제2세포를 배양하는 단계;를 포함하는, 세포 배양 방법을 제공한다.

[0031] 본 발명은 상기한 바에 따른 세포 배양용 어셈블리에서 제1세포 및 제 2세포 배양 중에 제1가압부 또는 제2가압부로 각각 수직 방향 가압하여 배양하는 단계를 포함하는, 생체 유사 조직 배양 방법을 제공한다.

[0032] 본 발명의 일 구체예에서, 상기 세포 배양용 어셈블리는 유입관을 통해 배양액을 공급하는 단계를 추가로 포함한다. 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 배양액은 항생제, 항진균제, 성장인자, 및 분화인자로 이루어진 군으로부터 하나 이상을 선택한다.

발명의 효과

[0033] 본 발명에 따른 어셈블리는 생체 유사 가압 환경 하에서 3D로 제작된 유사 조직에 약물 또는 배양물 등을 제어하여 공급함으로써 효과적인 약물 개발 또는 유사 조직 제작에 용이하며, 3D 유사 조직에서 특정 세포 군집을 개별적으로 또는 조합으로 가압하고 약물 또는 배양물 등을 지속적으로 공급함으로써 3D 유사 조직에서의 신호 전달, 유전적 변화 또는 약물 반응을 용이하게 연구할 수 있으며, 오염없이 쉽게 조립 및 분해 가능하다는 이점이 있다.

[0034] 다만, 본 발명의 효과는 상기에서 언급한 효과로 제한되지 아니하며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 하기의 기재로부터 당업자에게 명확히 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0035] 도 1은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 성형부(100)의 평면도이다.

도 2는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 성형부(100)의 정면도 및 수직 단면도이다.

도 3은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 외부본체(200)의 사시도이다.

도 4는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 외부본체(200)의 정면도 및 수직 단면도이다.

도 5는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 외부본체(200a)의 사시도이다.

도 6은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 외부본체(200a)의 정면도 및 수직 단면도이다.

도 7은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 가압부(300)의 사시도이다.

도 8은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 가압부(300)의 정면도 및 수직 단면도이다.

도 9는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 가압부(300)의 사시도이다.

도 10은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 가압부(300)의 정면도 및 수직 단면도이다.

도 11은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 가압부(300)의 사시도이다.

도 12는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 가압부(300)의 정면도 및 수직 단면도이다.

도 13은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 유효성 결정용 어셈블리(400)의 사시도이다.

도 14는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 유효성 결정용 어셈블리(400)의 정면도 및 수직 단면도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0036] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당 업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0038] **실시예 : 세포 배양용 어셈블리**

[0040] **실시예 1. 수평 다중 디스크를 포함하는 성형부**

[0041] 도 1 내지 2는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 성형부(100)로서, 일종의 성형 챔버의 구조도이다.

[0042] 도 1에 도시된 바와 같이, 상기 성형부(100)는 성형용기(110) 및 성형용기(110) 내에 위치하는 트레이부 장치를 포함하여 형성된다.

[0043] 상기 성형부(100)는 성형용기(110)의 내부에 제1트레이부(120), 제2트레이부(130), 및 제3트레이부(140)가 수용되고, 성형용기(110)의 내측면에 바로 제3트레이부(140)가 안착되도록 형성된다. 또한, 제2트레이부(130)는 제3트레이부(140)의 내측면에 안착되도록 형성되며, 제1트레이부(120)는 제2트레이부(130)의 내측면에 안착되도록 형성된다. 상기 성형부(100)는 다양한 종류의 세포를 각각의 트레이부에 집중시켜 배양할 수 있다. 예를 들어, 먼저 제1트레이부(120)의 내측면에 배양을 시작하고 그 후에 제1트레이부(120)를 제거하여 또 다른 세포를 집중하여 배양함으로써, 트레이부 별로 다양한 세포층을 형성하여 배양할 수 있도록 형성된다. 제1트레이부(120)의 내측면에서 세포를 배양하는 경우, 세포는 제1트레이부(120)를 주형으로 하여 형상을 형성할 수 있으며, 세포 성장시 세포 군집이 제1트레이부(120)에 의해 미세한 가압력을 받을 수도 있다.

[0044] 이하의 구성요소들을 설명하는 데 있어서, 상기 성형부(100), 상기 성형용기(110), 상기 제1트레이부(120), 상기 제2트레이부(130), 및 상기 제3트레이부(140)의 내측면은 각각의 내부 공간을 향하는 내부 면을 의미하며, 외측면은 내측면의 반대면을 의미한다. 또한, 상기 성형부(100), 상기 성형용기(110), 상기 제1트레이부(120), 상기 제2트레이부(130), 및 상기 제3트레이부(140)의 상면은 상부 개구의 상측 단부에서 내측면과 외측면 사이에 형성되는 면을 의미하며, 하면은 하부 개구의 하측 단부에 내측면과 외측면 사이에 형성되는 면을 의미한다.

[0045] 여기서, 상기 성형용기(110)는 내부가 중공이며, 상부가 개방된 원통형으로 형성된다. 즉, 상기 성형용기(110)는 상부에 상부 개구(111)가 형성된다. 또한, 상기 성형용기(110)는 삼각 통 형상, 사각 통 형상, 또는 육각 통 형상과 같은 다각형 형상으로 형성될 수도 있다. 또한, 상기 성형용기(110)의 하부는 개방되어 하부 개구(도시하지 않음)가 형성되거나, 막힌 상태로 형성될 수 있다. 상기 성형용기(110)는 바람직하게는 하부가 개방되어 하부 개구(도시하지 않음)가 형성되며, 하부뚜껑(도시하지 않음)에 의하여 밀폐될 수도 있다. 따라서, 상기 성형용기(110)는 하부뚜껑이 분리되므로 내부의 세척이 용이하게 되고, 내부에서 형성된 조직 조각을 용이하게 분리할 수 있다.

- [0046] 상기 성형용기(110)는 유동관(도시하지 않음), 또는 유동관 마개(도시하지 않음)를 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 상기 유동관은 일측과 타측이 개방된 관 형상이며, 성형용기(110)의 상단에서 하부 방향으로 이격된 위치에서 상기 성형용기(110)의 내측면과 연결되어 형성된다. 상기 유동관은 성형용기(110)와 일체로 형성될 수 있다. 상기 유동관은 상기 성형용기(110)의 내부에 배양된 조직 조각에 측부 방향으로 약물 또는 배양액을 추가로 공급하는 것이 용이하도록 한다. 상기 유동관 마개는 전체적으로 판상으로 형성되며, 하면에 유동관 내경 크기에 대응되는 크기의 유동관 돌기가 형성될 수 있다. 상기 유동관 돌기는 유동관의 상부 내측에 삽입되어 결합되며 유동관 단부를 기밀하게 밀폐한다. 상기 유동관 마개는 배양 중에 배양물이 성형용기(110)의 외부로 흘러나오는 것을 방지하게 한다. 상기 유동관 마개의 재질은 고무, 실리콘, 합성수지와 같은 재질로 형성될 수 있다.
- [0047] 상기 제1트레이부(120)는 제1분할피스(121) 및 제2분할피스(122)를 포함하여 형성될 수 있다. 또한, 상기 제1트레이부(120)는 다수의 분할피스를 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 상기 제1트레이부(120)는 내부가 중공(하나 이상의 분할피스로 분리가 가능한 제1트레이부(120a))인 판상으로 소정 높이를 갖도록 형성되며, 상면에 리프트 손잡이(121a, 122a)가 결합되어 있다. 또한, 상기 제1트레이부(120)는 상기 성형용기(110)의 내부 형상에 대응되는 형상으로 형성될 수 있어, 이에 따라 삼각 통 형상, 사각 통 형상, 또는 육각 통 형상과 같은 다각형 형상으로 형성될 수도 있다. 상기 제1분할피스(121) 및 제2분할피스(122)는 내부 중공인 원반상의 제1트레이부(120)로 합형되도록 반원단면상으로 형성될 수 있다. 상기 제1분할피스(121)는 제2분할피스(122)과 맞닿아 결합하는 수직 일측면 상에 오목부를 추가로 포함하고, 수직 타측면 상에 볼록부를 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 제2분할피스(122)도 마찬가지로 제1분할피스(121)과 맞닿아 결합하는 수직 일측면 상에 볼록부를 추가로 포함하여 제1분할피스(121)의 수직 일측면의 오목부와 서로 체결되어 결합되도록 형성될 수 있고, 또한 제1분할피스(121)과 맞닿아 결합하는 수직 타측면 상에 오목부를 추가로 포함하여 제1분할피스(121)의 수직 일측면의 볼록부와 서로 체결되어 결합되도록 형성될 수 있다. 상기 제1분할피스(121) 및 제2분할피스(122)에서 각각의 오목부 및 볼록부는 제1분할피스(121) 또는 제2분할피스(122)를 수직으로 들어올릴 경우에 개별적으로 들어올려져 분리될 수 있도록 형성된다. 리프트 손잡이(121a, 122a)는 타측이 호 형상 또는 고리 형상으로 절곡되어 손가락으로 잡기 용이하게 형성될 수 있다. 또한, 리프트 손잡이(121a, 122a)는 제1트레이부(120)의 내측 중공에서 세포를 배양시킨 후에 성형용기(110)로부터 제1분할피스(121) 및 제2분할피스(122)를 각각 용이하게 들어올리도록 한다.
- [0048] 상기 제2트레이부(130)는 제3분할피스(131) 및 제4분할피스(132)를 포함하여 형성될 수 있다. 또한, 상기 제2트레이부(130)는 다수의 분할피스를 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 상기 제2트레이부(130)는 내부가 중공인 판상으로 소정 높이를 갖도록 형성되며, 상면에 리프트 손잡이(131a, 132a)가 결합되어 있다. 상기 제2트레이부(130)는 중공 내측면에 제1트레이부(120)를 안착할 수 있는 크기로 형성된다. 상기 제2트레이부(130)는 제1트레이부(120)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집의 외측 둘레, 즉 제1트레이부(120)가 안착된 영역에 다른 종류의 세포가 성장할 수 있도록 형성된다. 상기 제3분할피스(131) 및 제4분할피스(132)는 내부 중공인 원반상의 제2트레이부(130)로 합형되도록 반원단면상으로 형성될 수 있다. 상기 제3분할피스(131)는 제4분할피스(132)과 맞닿아 결합하는 수직 일측면 상에 오목부를 추가로 포함하고, 수직 타측면 상에 볼록부를 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 제4분할피스(132)도 마찬가지로 제3분할피스(131)과 맞닿아 결합하는 수직 일측면 상에 볼록부를 추가로 포함하여 제3분할피스(131)의 수직 일측면의 오목부와 서로 체결되어 결합되도록 형성될 수 있고, 또한 제3분할피스(131)과 맞닿아 결합하는 수직 타측면 상에 오목부를 추가로 포함하여 제3분할피스(131)의 수직 일측면의 볼록부와 서로 체결되어 결합되도록 형성될 수 있다. 상기 제3분할피스(131) 및 제4분할피스(132)에서 각각의 오목부 및 볼록부는 제3분할피스(131) 또는 제4분할피스(132)를 수직으로 들어올릴 경우에 개별적으로 들어올려져 분리될 수 있도록 형성된다. 리프트 손잡이(131a, 132a)는 타측이 호 형상 또는 고리 형상으로 절곡되어 손가락으로 잡기 용이하게 형성될 수 있다. 또한, 리프트 손잡이(131a, 132a)는 제2트레이부(130)의 내측 중공에서 세포를 배양시킨 후에 성형용기(110)로부터 제3분할피스(131) 및 제4분할피스(132)를 각각 용이하게 들어올리도록 한다.
- [0049] 상기 제3트레이부(140)는 제5분할피스(141) 및 제6분할피스(142)를 포함하여 형성될 수 있다. 또한, 상기 제3트레이부(140)는 다수의 분할피스를 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 상기 제3트레이부(140)는 내부가 중공인 판상으로 소정 높이를 갖도록 형성되거나, 하면이 판상으로 성형용기(110)의 수평단면에 대응되는 형상으로 형성되고 외측단 둘레로부터 상부로 일정 높이로 연장된 플레이트 형상으로 형성될 수 있다. 상기 제5분할피스(141) 및 제6분할피스(142)는 원반상 또는 플레이트상의 제3트레이부(140)로 합형되도록 반원단면상 또는 반원플레이트상으로 형성될 수 있다. 상기 제5분할피스(141) 및 제6분할피스(142)는 수직 측면에 트렌치 형상의 단차부를 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 상기 제5분할피스(141)는 제6분할피스(142)과 맞닿아 결합하는 수직 측면에

각각 대응되는 위치에 단차부를 포함하고, 이 단차부는 제6분할피스(142)의 단차부에 밀폐 결합하도록 형성된다. 상기 제5분할피스(141) 및 제6분할피스(142)의 각각의 단차부는 제5분할피스(141) 또는 제6분할피스(142)를 수직으로 들어올릴 경우에 개별적으로 들어올려져 분리될 수 있도록 형성된다. 또한, 상면에 리프트 손잡이(도시하지 않음)가 결합되어 있을 수 있다. 상기 제3트레이부(140)는 중공 내측면에 제2트레이부(130)를 안착할 수 있는 크기로 형성된다. 상기 제3트레이부(140)는 제2트레이부(130)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집의 외측 둘레, 즉 제2트레이부(130)가 안착된 영역에 다른 종류의 세포가 성장할 수 있도록 형성된다. 상기 제3트레이부(140)는 다양한 세포층을 형성하여 배양된 조각 조직이 안착된 상태에서 성형용기(110)로부터 들어올려 분리한 후, 제5분할피스(141) 및 제6분할피스(142)를 나누어 분리함으로써 조각 조직을 성형부(100)로부터 분리시킬 수 있도록 형성된다.

[0050] 본 발명에 따른 실시예에 따른 성형부(100)는 수평으로 다층의 트레이부를 형성함으로써 다중층의 세포층을 형성하도록 배양할 수 있으며, 오염 없이 용이하게 조립하고 분해할 수 있다는 장점이 있다.

[0052] 실시예 2. 배양 또는 약물 스크리닝을 위한 외부본체

[0053] 도 3 내지 4는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 외부본체(200)로서, 내부에 성형부(100)로부터 얻어진 조각 조직을 안착시켜 외부본체(200)의 내부에 약물 또는 배양물 등을 공급하는 장치를 도시하는 도면이다.

[0054] 도 3에 도시된 바와 같이, 상기 외부본체(200)는 제1챔버(210), 제2챔버(220), 및 뚜껑부재(230)를 포함하여 형성된다.

[0055] 상기 외부본체(200)는 성형부(100)로부터 수득된 조각 조직을 제1챔버(210)의 내부에 수용되도록 형성되고, 제2챔버(220)의 내측면에 제1챔버(210)가 안착되도록 형성되며, 제2챔버(220)의 상부에 뚜껑부재(230)가 결합되도록 형성된다.

[0056] 이하의 구성요소들을 설명하는 데 있어서, 상기 외부본체(200), 제1챔버(210), 및 제2챔버(220)의 내측면은 각각의 내부 공간을 향하는 내부 면을 의미하며, 외측면은 내측면의 반대면을 의미한다. 또한, 상기 외부본체(200), 제1챔버(210), 및 제2챔버(220)의 상면은 상부 개구의 상측 단부에서 내측면과 외측면 사이에 형성되는 면을 의미하며, 하면은 하부 개구의 하측 단부에 내측면과 외측면 사이에 형성되는 면을 의미한다.

[0057] 상기 제1챔버(210)는 내부가 중공이며, 상부 및 하부가 개방된 원통형으로 형성된다. 즉, 상기 제1챔버(210)는 상부에 제1개구(211)가 형성되고, 하부에 제2개구(212)가 형성된다. 또한, 상기 제1챔버(210)는 제1챔버상판(213)을 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 상기 제1챔버상판(213)은 제1개구(211)의 외측단 둘레로부터 측부로 일정 길이로 연장되어 형성된다. 상기 제1챔버상판(213)은 또 다른 제1챔버의 개구의 외측단 둘레와 이어져 형성될 수 있다. 또한, 상기 제1챔버(210)의 하부는 개방되어 제2개구(212)가 형성되어 있으며, 제1챔버(210)의 하부 단부로부터 상부 방향으로 소정 높이로 이격되어 막(214)을 포함하여 형성될 수 있다(도 4 참고). 상기 제1챔버(210)는 제1개구(211) 내로 조각 조직을 넣어 안착하고, 제2개구(212) 내로 CAF(암 관련 섬유아세포)-알지네이트 디스크를 넣어 안착하도록 형성된다. 상기 막(214)의 상면에는 조각 조직이 안착되고, 하면에는 CAF(암 관련 섬유아세포)-알지네이트 디스크가 안착되게 된다. 그 다음, 상기 제1챔버(210)는 중앙 알지네이트 디스크를 상기 조각 조직의 상면에 안착시키도록 형성된다. 상기 제1챔버(210)는 외부본체(200)의 내부에 약물 또는 배양물이 CAF(암 관련 섬유아세포)-알지네이트 디스크 및 중앙 알지네이트 디스크를 거쳐 조각 조직에 침투하도록 형성된다.

[0058] 상기 제2챔버(220)는 내부가 중공이며, 상부 및 하부가 개방된 원통형으로 형성된다. 즉, 상기 제2챔버(220)는 상부에 제3개구(221)가 형성되고, 하부에 막힌 상태로 형성될 수 있다. 상기 제2챔버(220)는 내측면에 제1챔버(210)를 안착할 수 있는 크기로 형성된다. 또한, 상기 제2챔버(220)는 제2챔버상판(223)을 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 상기 제2챔버상판(223)은 제3개구(221)의 외측단 둘레로부터 측부로 일정 길이로 연장되어 형성된다. 상기 제2챔버상판(223)은 또 다른 제2챔버의 개구의 외측단 둘레와 이어져 형성될 수 있다. 상기 제2챔버(220)는 제1챔버(210)의 내부에 약물 또는 배양물이 CAF(암 관련 섬유아세포)-알지네이트 디스크 및 중앙 알지네이트 디스크를 거쳐 조각 조직에 침투할 수 있도록 약물 또는 배양물을 일정 시간 동안 담아 보관하도록 형성된다.

[0059] 상기 뚜껑부재(230)는 전체적으로 판상으로 형성되며, 제2챔버(220)의 수평 단면 형상에 대응되는 형상으로 형성된다. 상기 뚜껑부재(230)는 일반적인 용기에 사용되는 뚜껑 형상으로 형성될 수 있다. 상기 뚜껑부재(230)는 제2챔버(220)의 상부에 결합되어 제2챔버(220)의 제3개구(221)를 일시적으로 밀폐하게 된다.

- [0061] **실시예 2-1. 배양 또는 약물 스크리닝을 위한 외부본체**
- [0062] 도 5 내지 6은 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 외부본체(200a)로서, 내부에 성형부(100)로부터 얻어진 조각 조직을 안착시켜 외부본체(200a)의 내부에 약물 또는 배양물 등을 공급하는 장치를 도시하는 도면이다.
- [0063] 도 5에 도시된 바와 같이, 실시예 2에서와 마찬가지로 상기 외부본체(200a)는 제1챔버(210), 및 뚜껑부재(230)를 포함하여 형성된다. 실시예 2와는 상이하게, 상기 외부본체(200a)는 제2챔버(240)를 포함하여 형성된다. 제1챔버(210) 및 뚜껑부재(230)는 실시예 2에서 기재한 바와 동일하게 형성된다. 따라서, 동일한 구성에 대한 도시 및 중복된 설명은 생략하기로 하며, 제2챔버(240)에 대하여 중점적으로 설명하기로 한다.
- [0064] 상기 제2챔버(240)는 내부가 중공이며, 상부 및 하부가 개방된 원통형으로 형성된다. 즉, 상기 제2챔버(240)는 상부에 제3개구(241)가 형성되고, 하부에 막힌 상태로 형성될 수 있다. 상기 제2챔버(240)는 유입관(244) 및 유출관(245)을 포함하여 형성될 수 있다. 상기 제2챔버(240)는 내측면에 제1챔버(210)를 안착할 수 있는 크기로 형성된다. 또한, 상기 제2챔버(240)는 제2챔버상판(243)을 추가로 포함하여 형성될 수 있다. 상기 제2챔버상판(243)은 제3개구(241)의 외측단 둘레로부터 측부로 일정 길이로 연장되어 형성된다. 상기 제2챔버상판(243)은 또 다른 제2챔버의 개구의 외측단 둘레와 이어져 형성될 수 있다. 상기 제2챔버(240)는 제1챔버(210)의 내부에 약물 또는 배양물이 CAF(암 관련 섬유아세포)-알지네이트 디스크 및 종양 알지네이트 디스크를 거쳐 조각 조직에 침투할 수 있도록 약물 또는 배양물을 일정 시간 동안 담아 보관하도록 형성된다.
- [0065] 상기 유입관(244)은 일측과 타측이 개방된 관 형상이며, 제2챔버(240)의 상단에서 하부 방향으로 이격된 위치에서 상기 제2챔버(240)의 내측면과 연결되어 형성된다. 상기 유입관(244)은 제2챔버(240)와 일체로 형성될 수 있다. 상기 유입관(244)은 일측과 타측이 서로 다른 제2챔버의 유출관과 일체로 연결되어 서로 다른 제2챔버의 내측면과 연결되도록 형성될 수 있거나, 순환시킬 약물 또는 배양물을 직접적으로 공급받는 유입관으로서의 역할을 하도록 형성될 수 있다. 상기 유입관(244)은 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리에 담긴 약물 또는 배양물을 지속적으로 이동시켜 제1챔버(210) 내에 공급하도록 한다.
- [0066] 상기 유출관(245)은 일측과 타측이 개방된 관 형상이며, 제2챔버(240)의 상단에서 하부 방향으로 이격된 위치에서 상기 제2챔버(240)의 내측면과 연결되어 형성된다. 상기 유출관(245)은 제2챔버(240)와 일체로 형성될 수 있다. 상기 유출관(245)은 유입관(244)과 수평 면적에 대하여 좌우측 일직선 상으로 형성되거나, 유입관(244)과 수평 면적에 대하여 수직선 상으로 형성될 수 있다. 상기 유출관(245)은 일측과 타측이 서로 다른 제2챔버의 유입관과 일체로 연결되어 서로 다른 제2챔버의 내측면과 연결되도록 형성될 수 있거나, 순환한 약물 또는 배양물을 직접적으로 배출하는 유출관으로서의 역할을 하도록 형성될 수 있다. 상기 유출관(245)은 본 발명에 따른 세포 배양용 어셈블리에 담긴 약물 또는 배양물을 지속적으로 이동시켜 제1챔버(210) 내에 공급하도록 한다.
- [0068] **실시예 3. 가압부**
- [0069] 도 7 내지 12는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 세포 배양용 어셈블리의 가압부(300)로서, 제1챔버(210)에 가압력을 가하는 장치를 도시하는 도면이다.
- [0070] 도 7에 도시된 바와 같이, 상기 가압부(300)는 가압유닛(310), 가이드로드(320), 및 고정유닛(330)을 포함하여 형성된다.
- [0071] 상기 가압부(300)는 제1챔버(210)의 상면에 대응되어 맞닿는 하면을 갖는 가압유닛(310), 가압유닛(310)의 상면과 연결되어 원통형을 갖는 가이드로드(320), 및 가이드로드(320)가 수직 방향으로 상하 구동이 가능하도록 하는 고정유닛(330)을 포함하여 형성된다.
- [0072] 상기 가압유닛(310)은 원판 형상으로 형성되어, 하면이 제1챔버(210)의 상부에 대응되는 폭을 갖도록 형성된다. 상기 가압유닛(310)은 실시예 1에서 기재한 바와 같이, 제1트레이부(120)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집(도 9 및 10 참고, 제1가압부), 제2트레이부(130)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집(도 11 및 12 참고, 제2가압부), 제3트레이부(140)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집, 각각을 또는 제1트레이부(120)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제2트레이부(130)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집, 제2트레이부(130)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제3트레이부(140)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집, 제1트레이부(120)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제3트레이부(140)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집, 또는 제1트레이부(120)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제2트레이부(130)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집과 제3트레이부(140)의 내측 중공에서 배양된 세포 군집 모두를 동시에(도 7 및 8 참고) 가압하도록 하면의 다면이 상이하게 형성될 수 있다. 상기

가압유닛(310)은 하면의 크기가 가압할 세포 군집이 형성된 트레이부의 크기와 대응되도록 형성된다.

[0073] 상기 가이드로드(320)는 원통 형상으로 형성된다. 상기 가이드로드(320)는 실린더 형상으로 형성될 수도 있어, 미세한 추를 이용하여 무게를 실을 수 있거나, 전자 계측기가 장착된 가압장치를 추가로 포함할 수 있다. 상기 가이드로드(320)는 외측면에 고정유닛(330)의 내측면 돌기와 대응되도록 오목부를 포함하여 형성된다. 이는 가이드로드(320)를 수직 방향으로 상하 구동하는 경우에 제1챔버(310)로부터 이탈되는 것을 방지할 수 있다.

[0074] 상기 고정유닛(330)은 전체적으로 링 형상으로 형성된다. 상기 고정유닛(330)은 제1챔버(210)의 제1개구(211)의 둘레보다 큰 크기로 형성되어, 제1챔버상판(213) 상에 설치된다. 상기 고정유닛(330)은 제1챔버(210)의 상면으로부터 가이드로드(320)를 수직 방향으로 상하 구동 시 가압유닛(310)의 하면이 제1챔버(210)의 상면과 대응되는 부위에서 가이드로드(320)의 이동을 단속함으로써 이탈되는 것을 방지할 수 있다.

[0075] 본 발명에 따른 상기 가압부(300)는 3D로 제작된 유사 조직에서 특정 세포 군집을 개별적으로 또는 조합으로 가압함으로써 3D 유사 조직에서의 신호 전달, 유전적 변화 또는 약물 반응을 용이하게 연구할 수 있다.

[0077] **실시예 4. 본 발명에 따른 유효성 결정용 어셈블리**

[0078] 도 13 내지 14는 본 발명의 실시예에 따라 제공되는 유효성 결정용 어셈블리(400)로서, 실질적으로 실시예 1 내지 실시예 3을 조합하여 형성한 장치를 도시하는 도면이다.

[0079] 도 13에 도시된 바와 같이, 상기 유효성 결정용 어셈블리(400)는 외부본체(200a) 및 가압부(300)를 포함하여 형성된다.

[0080] 상기 유효성 결정용 어셈블리(400)는 성형부(100)로부터 수득된 조각 조직을 외부본체(200 또는 200a)에 안착하여 가압부(300)로 압력을 가하여 신호 전달, 유전적 변화 또는 약물 반응을 관찰할 수 있도록 형성된다. 성형부(100)는 실시예 1에서 기재한 바와 동일하고, 외부본체(200 또는 200a)는 실시예 2 또는 실시예 2-1에서 기재한 바와 동일하며, 가압부(300)는 실시예 3에서 기재한 바와 동일하게 형성된다. 따라서, 동일한 구성에 대한 도시 및 중복된 설명은 생략하기로 한다.

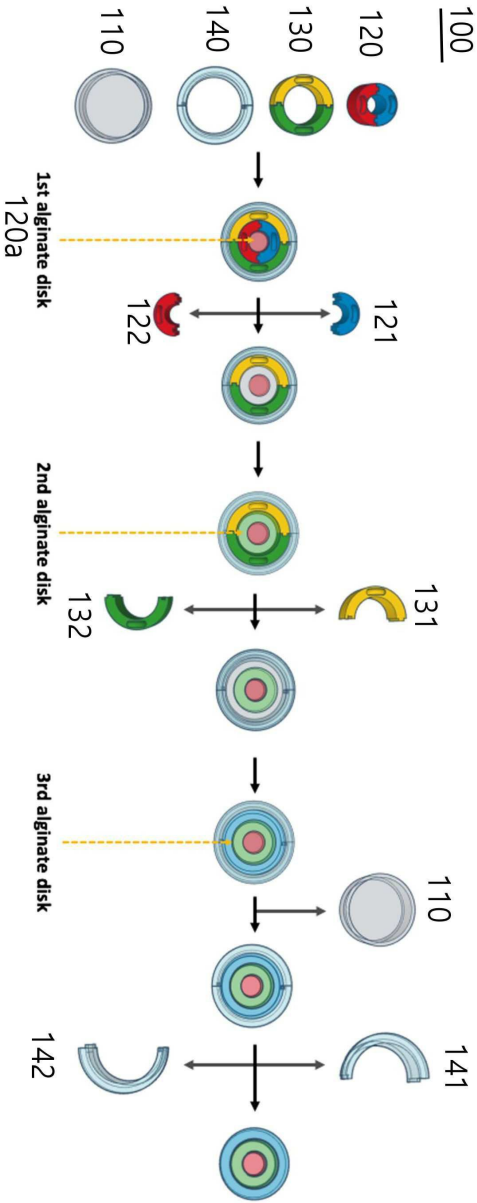
[0081] 본 발명에 따른 유효성 결정용 어셈블리(400)는 3D로 제작된 유사 조직에 약물 또는 배양물 등을 제어하여 공급함으로써 효과적인 약물 개발 또는 유사 조직 제작에 용이하며, 3D 유사 조직에서 특정 세포 군집을 개별적으로 또는 조합으로 가압하고 약물 또는 배양물 등을 지속적으로 공급함으로써 3D 유사 조직에서의 신호 전달, 유전적 변화 또는 약물 반응을 용이하게 연구할 수 있다.

부호의 설명

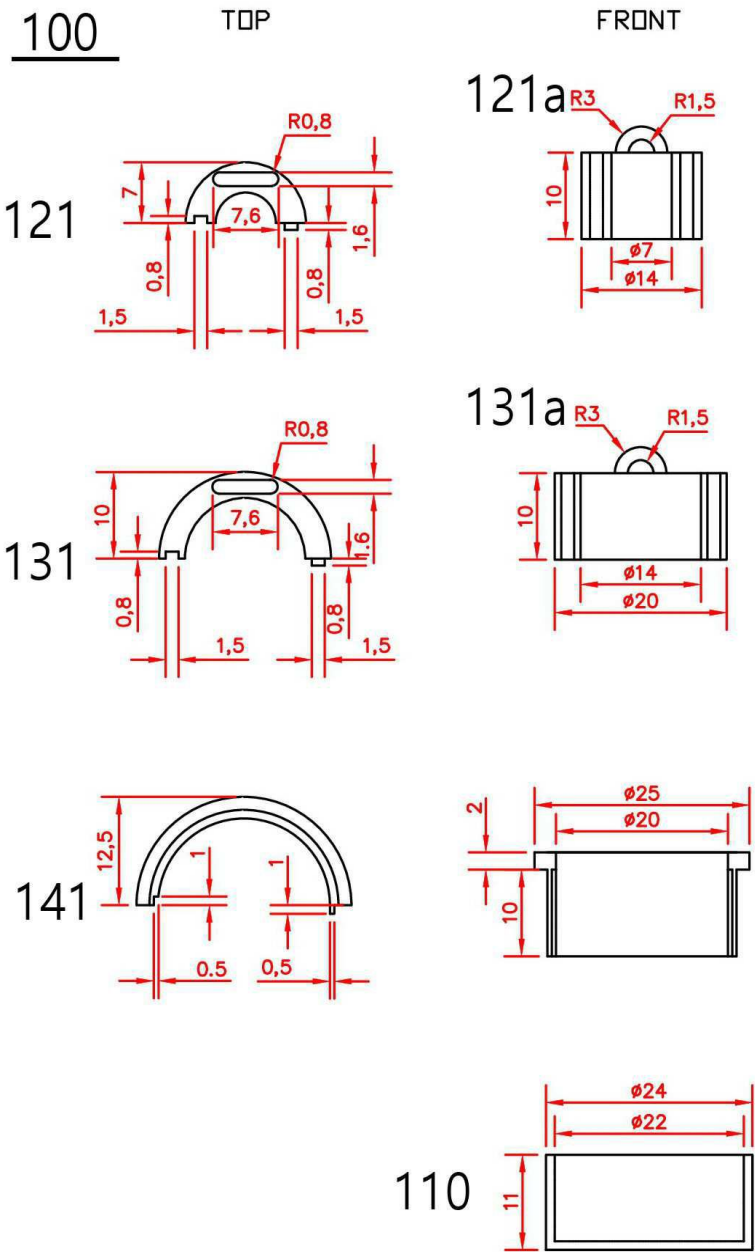
[0082]	100: 배양부	110: 배양용기
	120: 제1트레이	130: 제2트레이
	140: 제3트레이	200: 외부본체
	210: 제1챔버	220, 240: 제2챔버
	230: 뚜껑부재	300: 가압부
	310: 가압유닛	320: 가이드로드
	330: 고정유닛	400: 유효성 결정용 어셈블리

도면

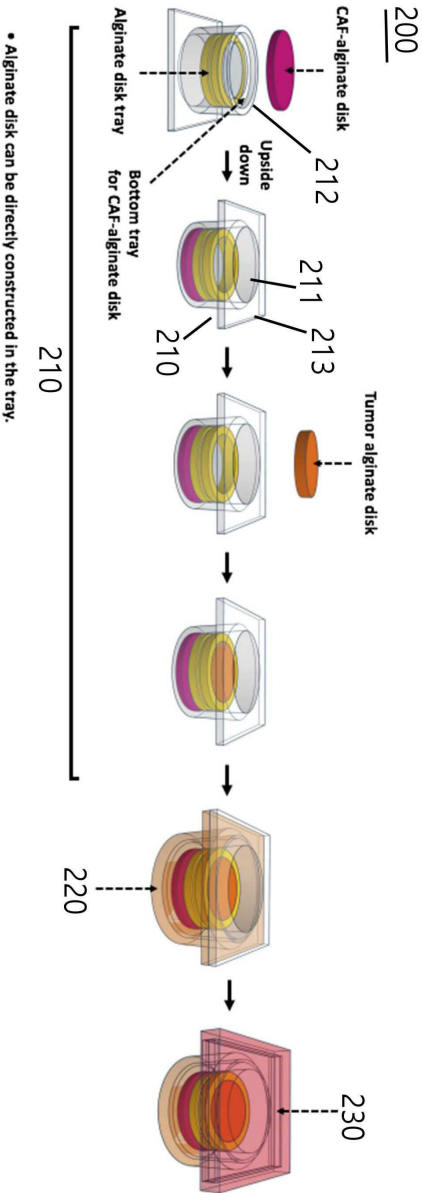
도면1



도면2



도면3

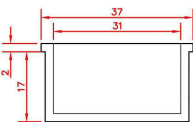
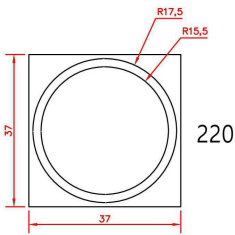
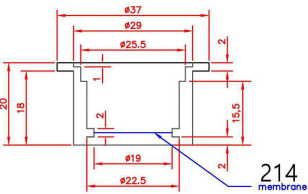
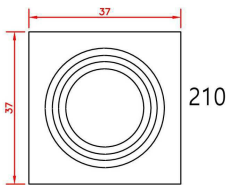
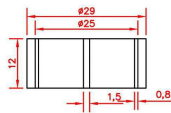
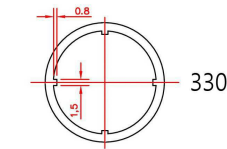
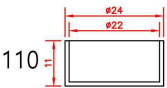
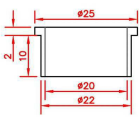
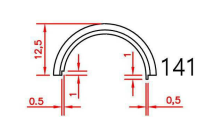


도면4

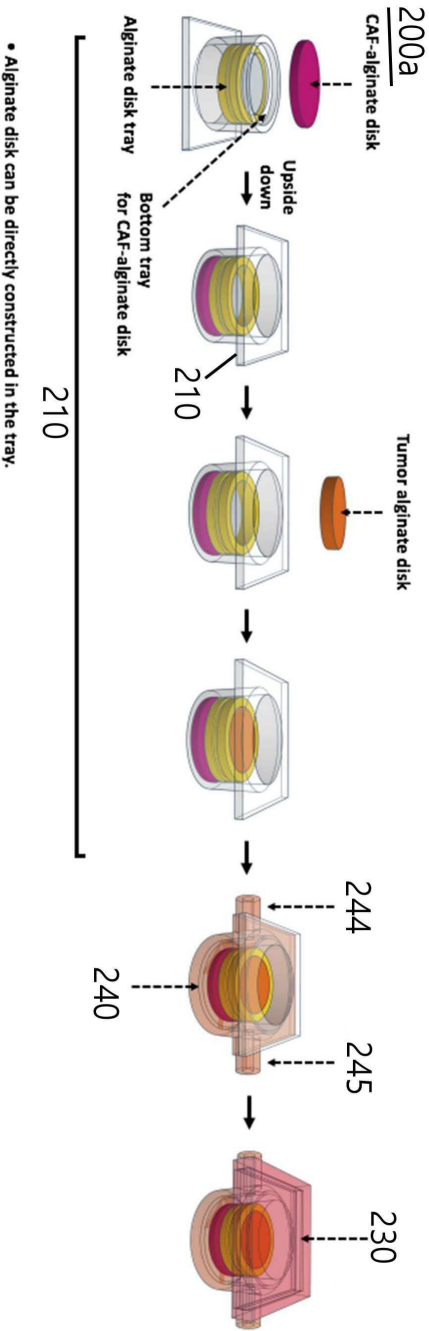
200

Top

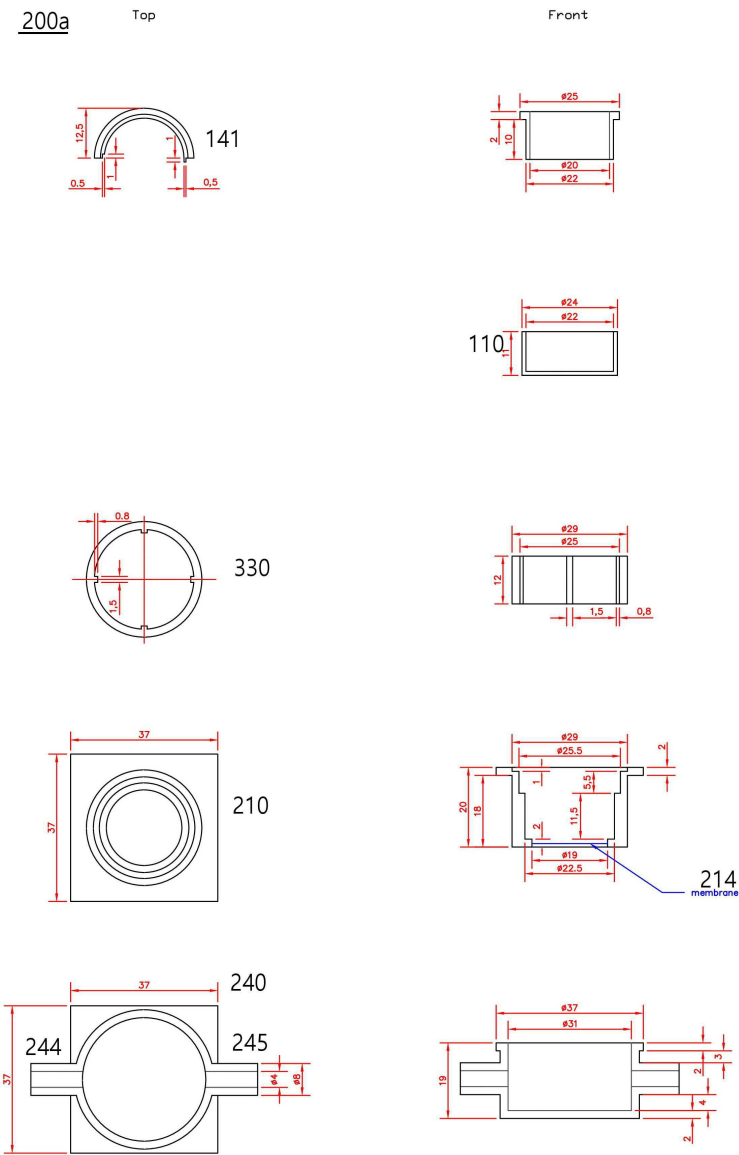
Front



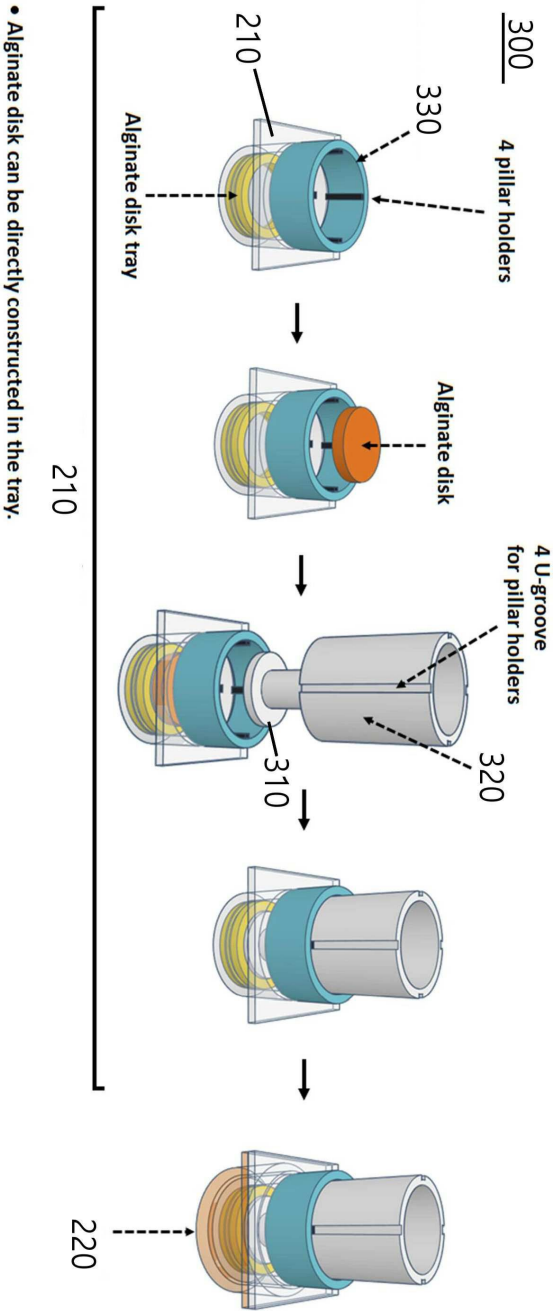
도면5



도면6



도면7

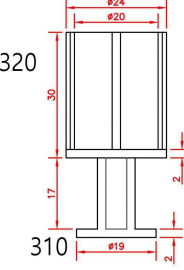
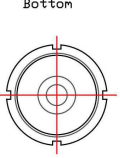
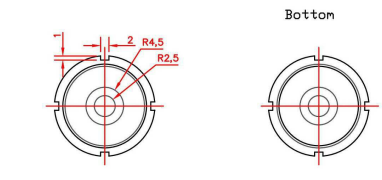
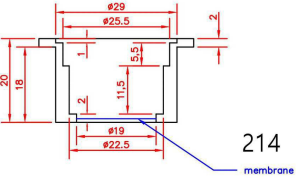
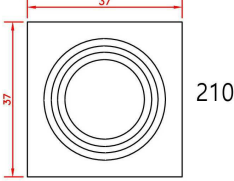
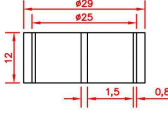
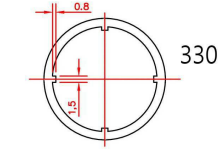
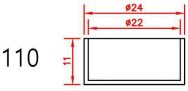
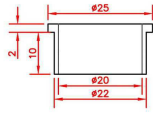
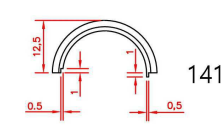


• Alginat disk can be directly constructed in the tray.

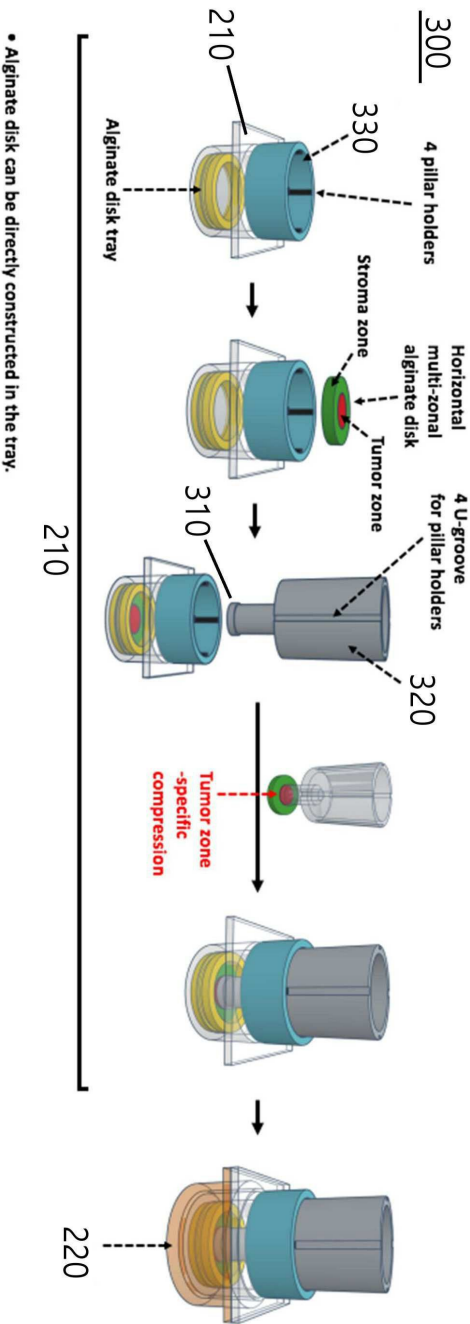
도면8

300 Top

Front



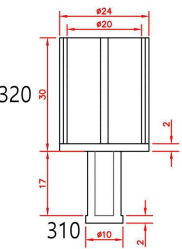
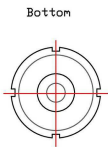
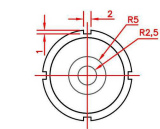
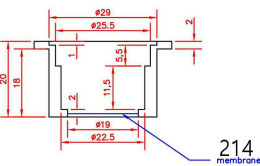
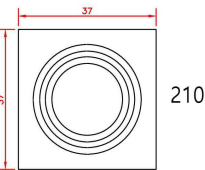
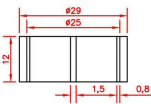
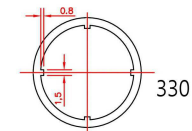
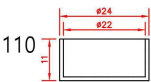
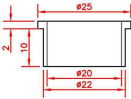
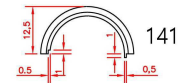
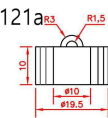
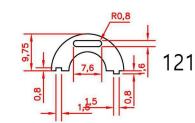
도면9



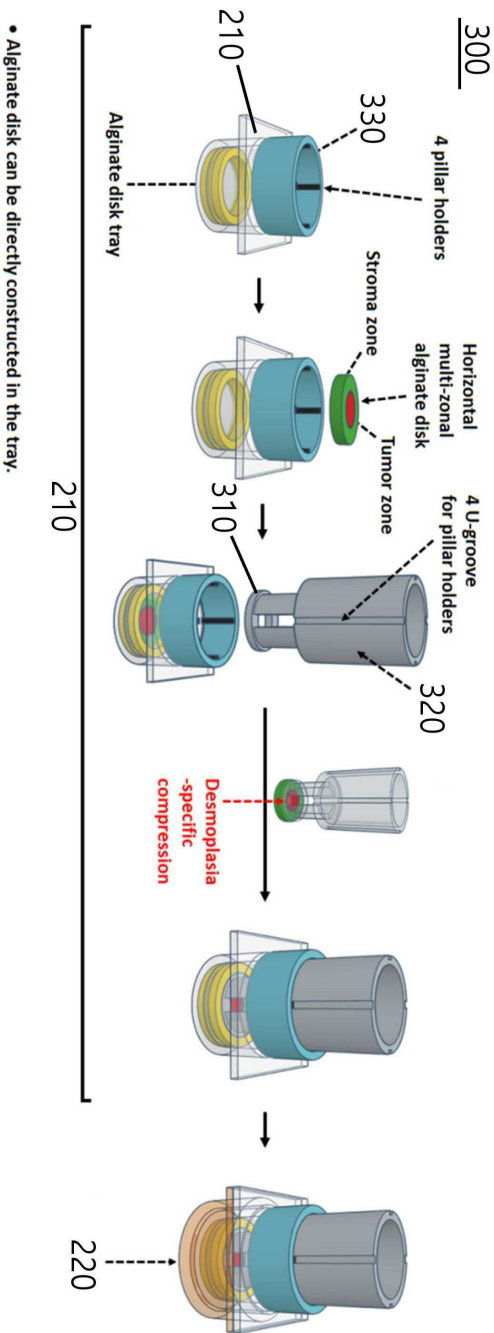
도면10

300 Top

Front



도면11

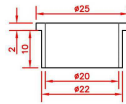
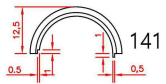
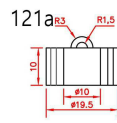
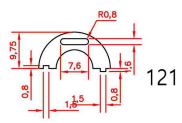


도면12

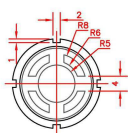
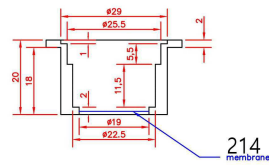
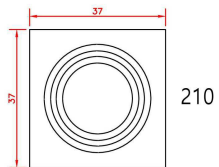
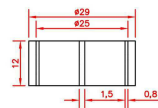
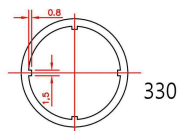
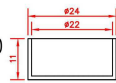
300

Top

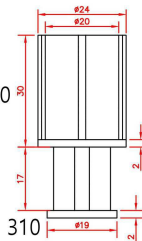
Front



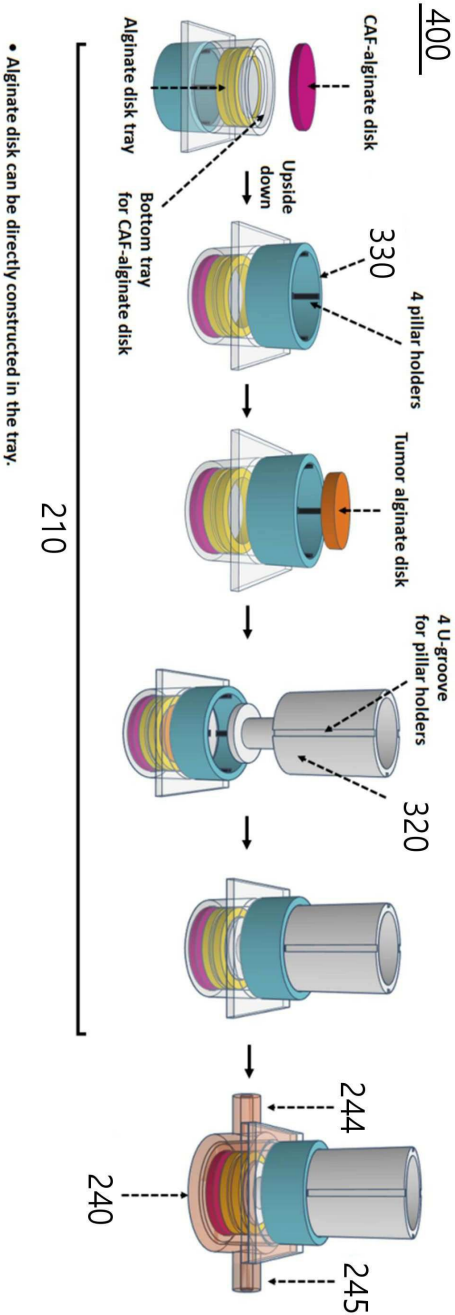
110



320



도면13



도면14

