	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0085692 (43) 공개일자 2012년08월01일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12M 1/42 (2006.01) C12M 3/00 (2006.01)		(71) 출원인 연세대학교 산학협력단
(21) 출원번호	10-2012-0064893(분할)	서울특별시 서대문구 연세로 50, 연세대학교 (신촌동)
(22) 출원일자	2012년06월18일	
심사청구일자	없음	(72) 발명자
(62) 원출원	특허 10-2009-0079574	정효일
원출원일자	2009년08월27일	서울특별시 서초구 잠원동 잠원한신아파트 7동 206호
심사청구일자	2009년08월27일	최아미
		서울특별시 성북구 보문동6가 191-1 동우연립 가동 104호
		(74) 대리인 민혜정

전체 청구항 수 : 총 29 항

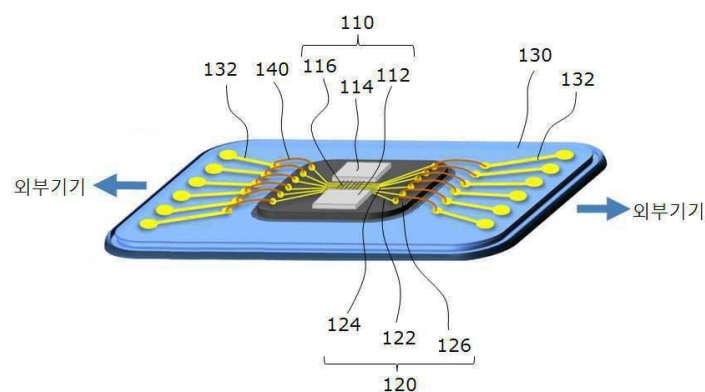
(54) 발명의 명칭 **바이오 장치, 그의 제조방법 및 이를 이용한 신경세포 성장 및 감지방법**

(57) 요약

본 발명은 서로 다른 높이를 갖는 미소챔버와 미소채널을 이용하여 신경세포의 축삭돌기를 분리 배양시키고, 분리 배양된 축삭돌기를 복수 개의 미소전극을 이용하여 미세하게 자극하여 성장시키는 동시에 성장된 축삭돌기를 감지할 수 있는 바이오 장치, 그의 제조방법 및 이를 이용한 신경세포 성장 및 감지방법에 관한 것이다.

신경세포 성장 및 감지를 위한 바이오 장치로서, 세포체가 배양되는 제1 챔버와, 상기 제1 챔버와 이격되어 배치된 제2 챔버와, 상기 제1 및 제2 챔버를 연결하도록 상기 제1 및 제2 챔버 사이에 배치되고 축삭돌기가 성장되는 복수 개의 미소채널을 포함하는 PDMS(Polydimethylsiloxane) 칩과, 상기 제1 챔버의 하부에 배치되고 상기 세포체에 전기자극을 가하는 제1 미소전극과, 상기 제1 미소전극과 나란한 방향으로 배치되고 상기 축삭돌기에 전기자극을 가하여 상기 축삭돌기의 성장을 유도하는 동시에 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 복수 개의 제2 미소전극이 상기 미소채널과 직교하도록 배치된 미소전극 쌍 어레이 플랫폼을 포함하는 바이오 장치를 제공한다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	10030554-2008-02
부처명	산업 자원부
연구사업명	시스템집적반도체 기반기술개발사업
연구과제명	CMOS 기반 DNA/뉴런 바이오 센서 칩 개발
주관기관	한국 과학 기술원
연구기간	2007.09.01 ~ 2011.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

세포체가 배양되는 제1 챔버; 상기 제1 챔버와 이격되어 배치된 제2 챔버;

상기 제1 및 제2 챔버를 연결하도록 상기 제1 및 제2 챔버 사이에 배치되고 축삭돌기가 성장되는 복수 개의 미소채널;을 포함하는 바이오 장치에 있어서,

상기 제1 챔버의 하부에 배치되고 상기 세포체에 전기자극을 가하는 제1 미소전극;

상기 제1 미소전극과 나란한 방향으로 배치되고 상기 축삭돌기에 전기자극을 가하여 상기 축삭돌기의 성장을 유도하는 동시에 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 복수 개의 제2 미소전극;

을 더 포함하며,

상기 제1 미소전극은 상기 제2 미소전극보다 큰 선폭으로 형성되며,

상기 제2 미소전극은 상기 제1 미소전극과 상기 제2 챔버 사이에 배치된 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 2

세포체가 배양되는 제1 챔버와, 상기 제1 챔버와 이격되어 배치된 제2 챔버와, 상기 제1 및 제2 챔버를 연결하도록 상기 제1 및 제2 챔버 사이에 배치되고 축삭돌기가 성장되는 복수 개의 미소채널을 포함하는 PDMS(Polydimethylsiloxane) 칩; 및

상기 제1 챔버의 하부에 배치되고 상기 세포체에 전기자극을 가하는 제1 미소전극과, 상기 제1 미소전극과 나란한 방향으로 배치되고 상기 축삭돌기에 전기자극을 가하여 상기 축삭돌기의 성장을 유도하는 동시에 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 복수 개의 제2 미소전극이 상기 미소채널과 직교하도록 배치된 미소전극 쌍 어레이 플랫폼;

을 포함하는 바이오 장치에 있어서,

상기 제1 미소전극은 상기 제2 미소전극보다 큰 선폭으로 형성되며,

상기 제2 미소전극은 상기 제1 미소전극과 상기 제2 챔버 사이에 배치된 것을 특징으로 하는 바이오 장치

청구항 3

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제1 및 제2 챔버는 각각 상기 미소채널보다 큰 높이로 형성된 바이오 장치.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 미소채널은 상기 제1 및 제2 미소전극 상에 집적된 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 5

제3항에 있어서,

상기 제2 미소전극은,

상기 축삭돌기에 전기자극을 가하는 자극전극; 및

상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 감지전극

을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 자극전극과 상기 감지전극은 서로 이웃하게 배치되어 전극 쌍을 구성하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 7

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제2 미소전극 각각은 동일한 선폭으로 형성된 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 8

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제1 미소전극은 28~32 μm 의 선폭으로 형성된 바이오 장치.

청구항 9

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제2 미소전극 각각은 8~12 μm 의 선폭으로 형성된 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 10

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제1 및 제2 챔버는 각각 55~65 μm 의 높이로 형성된 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 11

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 미소채널 각각은 8~12 μm 의 선폭, 2.8~3.2 μm 의 높이, 850~950 μm 의 길이로 형성된 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 12

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 미소전극 쌍 플랫폼은 상기 제1 및 제2 미소전극이 형성된 지지기판을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 지지기판은 반도체 기판, 유리기판 또는 플라스틱 기판 중 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 14

제12항에 있어서,

상부 중앙에 상기 지지기판이 집적되고 상기 지지기판을 경계로 상부 양측에 복수 개의 동판이 형성된 PCB(Printed Circuit Board) 기판을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 동판과 상기 제1 및 제2 미소전극의 종단을 각각 연결하는 와이어를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 16

제14항에 있어서,

상기 동판은 각각 외부기기와 연결된 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 17

제1항 또는 제2항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 제1 미소전극은 1개, 상기 제2 미소전극은 5개의 전극 쌍으로 이루어진 것을 특징으로 하는 바이오 장치.

청구항 18

지지기판 상에 형성되어 세포체에 전기자극을 가하는 제1 미소전극과, 상기 지지기판 상에 상기 제1 미소전극과 나란한 방향으로 형성되고 축삭돌기에 전기자극을 가하여 상기 축삭돌기의 성장을 유도하는 동시에 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 복수 개의 제2 미소전극을 포함하는 미소전극 쌍 어레이 플랫폼을 형성하는 단계;

상기 세포체가 배양되는 제1 챔버와, 상기 제1 챔버와 이격되어 배치된 제2 챔버와, 상기 제1 및 제2 챔버를 연결하도록 상기 제1 및 제2 챔버 사이에 배치되고 상기 제2 미소전극을 통해 가해지는 전기자극에 의해 상기 축삭돌기가 성장되는 복수 개의 미소채널을 포함하는 PDMS(Polydimethylsiloxane) 칩을 형성하는 단계;

상기 제1 챔버는 상기 제1 미소전극과 중첩되고, 상기 제1 및 제2 미소전극은 각각 상기 미소채널과 직교하도록 상기 PDMS 칩을 상기 미소전극 쌍 어레이 플랫폼의 상부면에 집적시키는 단계;

를 포함하되,

상기 제1 미소전극은 상기 제2 미소전극보다 큰 선폭으로 형성하며,

상기 제2 미소전극은 상기 제1 미소전극과 상기 제2 챔버 사이에 배치하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 19

제18항에 있어서,

상기 PDMS 칩을 형성하는 단계는,

실리콘 웨이퍼 상에 음성 감광 수지막을 도포하는 단계;

노광 및 현상공정을 실시하여 상기 제1 및 제2 챔버 제조용 제1 주형을 형성하는 단계;

상기 제1 주형을 포함하는 상기 실리콘 웨이퍼 상에 음성 감광 수지막을 도포하는 단계;

노광 및 현상공정을 실시하여 상기 제1 주형 사이에 상기 미소채널 제조용 제2 주형을 형성하는 단계;

상기 제1 및 제2 주형을 경화시켜 Su-8 몰드를 형성하는 단계;

상기 Su-8 몰드 내에 PDMS와 경화제가 일정 비율로 혼합된 혼합액을 도포하는 단계;

상기 PDMS를 경화시키는 단계;

경화된 PDMS를 상기 Su-8 몰드로부터 분리시켜 상기 PDMS 칩을 완성시키는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 Su-8 몰드 내에 PDMS와 경화제가 일정 비율로 혼합된 혼합액을 도포하는 단계는,

상기 PDMS와 경화제를 10:1의 비율로 혼합시킨 혼합액을 상기 Su-8 몰드 내에 얇게 도포하며,

98℃에서 20분간 경화시킨 후 제 1챔버 및 제 2 챔버 크기와 0.5cm 이상의 높이를 갖는 아크릴 블록을 챔버 위에 위치시킨 후 PDMS와 경화제를 10:1의 비율로 혼합시킨 혼합액을 상기 Su-8 몰드 내에 붓고, 98℃에서 20분간

경화시키며,

경화된 PDMS 층의 챔버 구조에 해당되는 부위에 펀치로 구멍을 내어 세포를 넣어주는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 21

제18항에 있어서,

상기 제1 및 제2 챔버는 각각 상기 미소채널보다 큰 높이로 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 22

제18항에 있어서,

상기 제1 미소전극은 28~32 μm 의 선폭으로 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 23

제18항에 있어서,

상기 제2 미소전극 각각은 8~12 μm 의 선폭으로 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 24

제18항에 있어서,

상기 제1 및 제2 챔버는 각각 55~65 μm 의 높이로 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 25

제18항에 있어서,

상기 미소채널은 각각 8~12 μm 의 선폭, 2.8~3.2 μm 의 높이, 850~950 μm 의 길이로 형성하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 26

제18항에 있어서,

상기 PDMS 칩을 상기 미소전극 쌍 어레이 플랫폼의 상부면에 집적시키는 단계 후,

상기 PDMS 칩이 집적된 상기 지지기판을 상부 양측에 복수 개의 동판이 형성된 PCB(Printed Circuit Board) 기판 상에 집적시키는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 27

제26항에 있어서,

상기 동판과 상기 제1 및 제2 미소전극의 종단을 각각 와이어 본딩하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 28

제18항에 있어서,

상기 제1 미소전극은 1개, 상기 제2 미소전극은 5개의 전극 쌍으로 이루어진 것을 특징으로 하는 바이오 장치의 제조방법.

청구항 29

제 1 항 또는 제 2 항 중 어느 한 항의 바이오 장치를 이용한 신경세포 성장 및 감지방법에 있어서,

세포체를 상기 제1 챔버 내에 주입시키는 단계;

상기 제1 미소전극을 이용하여 상기 세포체에 전기자극을 가하는 단계;

상기 제2 미소전극을 이용하여 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 단계;

상기 제2 미소전극을 이용하여 상기 축삭돌기의 말단에 전기자극을 가하는 단계;

상기 제2 미소전극의 전기자극을 통해 성장된 상기 축삭돌기에 면역 염색법을 이용하여 상기 제2 미소전극으로부터 상기 축삭돌기의 생물학적 반응을 감지하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 신경세포 성장 및 감지방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 바이오 장치, 그의 제조방법 및 이를 이용한 신경세포 성장 및 감지방법에 관한 것으로서, 서로 다른 높이를 갖는 미소챔버와 미소채널을 이용하여 신경세포의 축삭돌기를 분리 배양시키고, 분리 배양된 축삭돌기를 복수 개의 미소전극을 이용하여 미세하게 자극하여 성장시키는 동시에 성장된 축삭돌기를 감지할 수 있는 바이오 장치, 그의 제조방법 및 이를 이용한 신경세포 성장 및 감지방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 뉴우런은 신경세포체(cell body)와 그곳에서 나오는 돌기로 구성되는 형태적 단위인 동시에 물리적, 화학적 자극에 반응하는 흥분성과 이를 다른 조직에 전달하는 전도성을 지닌 구조적, 기능적 단위이다. 가장 전형적인 뉴우런은 세포체, 가지돌기, 축삭돌기로 구성된다.

[0003] 세포체(cell body, soma)는 핵을 포함하는 세포의 중심을 일컫는 말로, 미토콘드리아, 리보솜 등 대부분의 세포 소기관을 갖고 있으며 이것에서는 에너지 생산과 효소와 같은 여러 유기분자의 합성이 일어나는 곳이다.

[0004] 가지돌기(dendrite)는 나무가지와 같은 형상을 띠고 있는 돌기를 말하며, 수상돌기라고도 한다. 세포체에서 시작되는 가지돌기의 직경은 굵지만 끝으로 갈수록 가늘어지며, 뉴런이 다른 곳에서 신호를 받아들이는 세포의 표면적을 넓혀주는 효과가 있다.

[0005] 축삭돌기(axon)는 가지돌기에 비해서 길며 전체적으로 직경이 비교적 일정한 편이다. 축삭돌기는 신경충격, 즉 활동전위를 세포체로부터 원심적으로 전달하는 기능을 맡고 있으며, 축삭돌기이라는 용어도 사용하기도 한다.

[0006] 축삭돌기의 끝은 다시 여러 갈래로 나누어지면 축삭말단(axon terminal), 즉 시냅스말단(synaptic terminal)을 이루어 다른 뉴런이나 효과기(근육, 분비조직 등)에 신경충격을 전달하는 역할을 한다.

[0007] 뉴런은, 기능에 따라, 즉, 자극 전달 방향에 따라 다음 세가지로 분류된다.

[0008] 운동뉴런(motor neuron)은 뇌나 척수에서 시작된 신호를 말초부, 즉 근육세포, 분비샘 등과 같은 효과기에 전달해주는 신경세포이다.

[0009] 감각뉴런(sensory neuron)은 몸의 말초부의 위치한 감각기관으로부터 자극을 받아 뇌나 척수로 전달해주는 신경세포이다.

[0010] 연합뉴런(interneuron)은 주로 중추신경계 내에서 여러 신경세포를 연결하는 신경세포로서 복합적인 회로를 만든다. 우리 인간의 몸에 있는 전체 뉴런 중에서 약 90%의 뉴런이 연합뉴런이다.

[0011] 뉴런은 구조적인 특징에 따라, 즉 돌기수에 따라 분류하면, 단극뉴런(unipolar neuron), 이극뉴런(bipolar neuron), 다극뉴런(multipolar neuron) 등이 있다.

[0012] 단극뉴런은 세포체에서 단지 하나의 축삭이 뻗어 있는 세포로서, 신체의 감각뉴런 대부분이 단극뉴런이다.

[0013] 이극뉴런은 세포체의 한쪽에 하나의 축삭돌기를 가지며 다른 한쪽에 가지돌기를 가진다.

[0014] 다극뉴런은 두 개 이상의 가지돌기와 하나의 축삭돌기를 가지고 있는 세포로서, 운동뉴론과 연합뉴런에서 발견된다.

[0015] 신경세포를 전기적으로 자극하여 축삭돌기(axon)를 성장시키는 기술은 현재까지 조직에서 패치 클램프(patch-

clamp) 형태의 전극을 이용하여 주로 이루어져 왔다. 이러한 신경세포 성장기술은 1997년 전도물질 상에서 신경세포를 배양하여 전기자극에 의한 신경돌기(neurite) 성장을 관찰한 것이 유일한 것으로 보고되고 있다.

[0016] 그러나, 지금까지 알려진 신경세포 성장기술에 대한 연구들은 전극을 이용하여 전기자극이 신경세포를 통해 어떻게 전달(즉, 속도, 방향 등)되는지에 대한 기술, 약물 처리에 따른 신경세포의 반응을 검침하는 기술에 관한 것으로, 전기자극에 의해 신경세포가 받는 영향을 정량적, 정성적으로 분석하는데 어려움이 있는 것으로 알려져 있다.

[0017] 최근들어, 미소전극 어레이(MicroElectrode Array, MEA)를 이용한 신경세포 성장기술에 대해 연구되고 있다.

[0018] 그러나, 상기 MEA를 이용한 기존의 신경세포 성장기술은 전극의 너비가 넓고 단 3개의 미소전극이 비교적 넓은 간격으로 배치되어 있기 때문에 신경세포의 자극전달을 미세하게 제어하는데 한계가 있어 신경세포의 성장을 감지하는데 많은 어려움이 있다.

[0019] 따라서, 신경세포의 자극전달을 미세하게 제어하여 신경세포의 성장을 정량적, 정성적으로 분석가능하도록 제공할 수 있는 신경세포 성장기술에 대한 개발이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0020] 본 발명은 상술한 문제를 해결하기 위해 안출된 것으로, 서로 다른 높이를 갖는 미소챔버와 미소채널을 이용하여 신경세포의 축삭돌기를 분리 배양시키고, 분리 배양된 축삭돌기를 미소전극을 이용하여 미세하게 자극하여 성장시키는 동시에 성장된 축삭돌기를 감지할 수 있는 바이오 장치 및 그의 제조방법을 제공하는데 그 목적이 있다.

[0021] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기한 바이오 장치를 이용하여 동시에 신경세포를 안정적으로 성장 및 감지할 수 있는 신경세포 성장 및 감지방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0022] 상술한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시형태에 따르면, 세포체가 배양되는 제1 챔버와, 상기 제1 챔버와 이격되어 배치된 제2 챔버와, 상기 제1 및 제2 챔버를 연결하도록 상기 제1 및 제2 챔버 사이에 배치되고 축삭돌기가 성장되는 복수 개의 미소채널을 포함하는 것을 특징으로 하는 바이오 장치를 제공할 수 있다.

[0023] 상기 바이오 장치는 상기 제1 챔버의 하부에 배치되고 상기 세포체에 전기자극을 가하는 제1 미소전극과, 상기 제1 미소전극과 나란한 방향으로 배치되고 상기 축삭돌기에 전기자극을 가하여 상기 축삭돌기의 성장을 유도하는 동시에 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 복수 개의 제2 미소전극을 더 포함할 수 있다.

[0024] 상술한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 다른 실시형태에 따르면, 세포체가 배양되는 제1 챔버와, 상기 제1 챔버와 이격되어 배치된 제2 챔버와, 상기 제1 및 제2 챔버를 연결하도록 상기 제1 및 제2 챔버 사이에 배치되고 축삭돌기가 성장되는 복수 개의 미소채널을 포함하는 PDMS(Polydimethylsiloxane) 칩과, 상기 제1 챔버의 하부에 배치되고 상기 세포체에 전기자극을 가하는 제1 미소전극과, 상기 제1 미소전극과 나란한 방향으로 배치되고 상기 축삭돌기에 전기자극을 가하여 상기 축삭돌기의 성장을 유도하는 동시에 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 복수 개의 제2 미소전극이 상기 미소채널과 직교하도록 배치된 미소전극 쌍 어레이 플랫폼을 포함하는 바이오 장치를 제공할 수 있다.

[0025] 상기 제1 및 제2 챔버는 각각 상기 미소채널보다 큰 높이로 형성될 수 있다.

[0026] 상기 제1 미소전극은 상기 제2 미소전극보다 큰 선폭으로 형성될 수 있다.

[0027] 상기 제2 미소전극은 상기 제1 미소전극과 상기 제2 챔버 사이에 배치될 수 있다.

[0028] 상기 미소채널은 상기 제1 및 제2 미소전극 상에 집적될 수 있다.

[0029] 상기 제2 미소전극은 상기 축삭돌기에 전기자극을 가하는 자극전극과, 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 감지전극을 포함할 수 있다.

[0030] 상기 자극전극과 상기 감지전극은 서로 이웃하게 배치되어 전극 쌍을 구성할 수 있다.

- [0031] 상기 제2 미소전극 각각은 동일한 선폭으로 형성될 수 있다.
- [0032] 상기 제1 미소전극은 28~32 μm 의 선폭으로 형성될 수 있다. 바람직하게는 30 μm 의 선폭으로 형성될 수 있다.
- [0033] 상기 제2 미소전극은 각각 8~12 μm 의 선폭으로 형성될 수 있다. 바람직하게는 10 μm 으로 형성될 수 있다.
- [0034] 상기 제1 및 제2 챔버는 각각 55~65 μm 의 높이로 형성될 수 있다. 바람직하게는 60 μm 으로 형성될 수 있다.
- [0035] 상기 미소채널 각각은 8~12 μm 의 선폭, 2.8~3.2 μm 의 높이, 850~950 μm 의 길이로 형성될 수 있다. 바람직하게는 10 μm 선폭, 3 μm 의 높이, 900 μm 의 길이로 형성될 수 있다.
- [0036] 상기 미소전극 쌍 플랫폼은 상기 제1 및 제2 미소전극이 형성된 지지기판을 포함할 수 있다.
- [0037] 상기 지지기판은 반도체 기판, 유리기판 또는 플라스틱 기판 중 선택된 어느 하나일 수 있다. 바람직하게는 반도체 기판, 더욱 바람직하게는 실리콘 기판일 수 있다.
- [0038] 상기 바이오 장치는 상부 중앙에 상기 지지기판이 집적되고 상기 지지기판을 경계로 상부 양측에 복수 개의 동판이 형성된 PCB(Printed Circuit Board) 기판을 더 포함할 수 있다.
- [0039] 상기 바이오 장치는 상기 동판과 상기 제1 및 제2 미소전극의 종단을 각각 연결하는 와이어를 더 포함할 수 있다.
- [0040] 상기 동판은 각각 외부기기와 연결될 수 있다.
- [0041] 상기 제1 미소전극은 1개, 상기 제2 미소전극은 5개의 전극 쌍으로 이루어질 수 있다.
- [0042] 또한, 상술한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 실시형태에 따르면, 지지기판 상에 형성되어 세포체에 전기자극을 가하는 제1 미소전극과, 상기 지지기판 상에 상기 제1 미소전극과 나란한 방향으로 형성되고 축삭돌기에 전기자극을 가하여 상기 축삭돌기의 성장을 유도하는 동시에 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 복수 개의 제2 미소전극을 포함하는 미소전극 쌍 어레이 플랫폼을 형성하는 단계와, 상기 세포체가 배양되는 제1 챔버와, 상기 제1 챔버와 이격되어 배치된 제2 챔버와, 상기 제1 및 제2 챔버를 연결하도록 상기 제1 및 제2 챔버 사이에 배치되고 상기 제2 미소전극을 통해 가해지는 전기자극에 의해 상기 축삭돌기가 성장되는 복수 개의 미소채널을 포함하는 PDMS(Polydimethylsiloxane) 칩을 형성하는 단계와, 상기 제1 챔버는 상기 제1 미소전극과 중첩되고, 상기 제1 및 제2 미소전극은 각각 상기 미소채널과 직교하도록 상기 PDMS 칩을 상기 미소전극 쌍 어레이 플랫폼의 상부면에 집적시키는 단계를 포함하는 바이오 장치의 제조방법을 제공할 수 있다.
- [0043] 상기 PDMS 칩을 형성하는 단계는 실리콘 웨이퍼 상에 음성 감광 수지막을 도포하는 단계와, 노광 및 현상공정을 실시하여 상기 제1 및 제2 챔버 제조용 제1 주형을 형성하는 단계와, 상기 제1 주형을 포함하는 상기 실리콘 웨이퍼 상에 음성 감광 수지막을 도포하는 단계와, 노광 및 현상공정을 실시하여 상기 제1 주형 사이에 상기 미소채널 제조용 제2 주형을 형성하는 단계와, 상기 제1 및 제2 주형을 경화시켜 Su-8 몰드를 형성하는 단계와, 상기 Su-8 몰드 내에 PDMS와 경화제가 일정 비율로 혼합된 혼합액을 도포하는 단계와, 상기 PDMS를 경화시키는 단계와, 경화된 PDMS를 상기 Su-8 몰드로부터 분리시켜 상기 PDMS 칩을 완성시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0044] 상기 Su-8 몰드 내에 PDMS와 경화제가 일정 비율로 혼합된 혼합액을 도포하는 단계는 상기 PDMS와 경화제를 10:1의 비율로 혼합시킨 혼합액을 상기 Su-8 몰드 내에 얇게 도포할 수 있다. 98℃에서 20분간 경화시킨 후 제1 챔버 및 제2 챔버 크기와 0.5cm 이상의 높이를 갖는 아크릴 블락을 챔버 위에 위치시킨 후 PDMS와 경화제를 10:1의 비율로 혼합시킨 혼합액을 상기 Su-8 몰드 내에 붓고 98℃에서 20분간 경화시킨다. 경화된 PDMS 층의 챔버 구조에 해당되는 부위에 펀치로 구멍을 내어 세포를 넣어줄 수 있다. 아크릴 블락을 이용해 만든 공간은 배지를 충분히 넣을 수 있어 배양 시간 동안 배지의 건조를 막을 수 있다.
- [0045] 상기 제1 및 제2 챔버는 각각 상기 미소채널보다 큰 높이로 형성할 수 있다.
- [0046] 상기 제1 미소전극은 상기 제2 미소전극보다 큰 선폭으로 형성할 수 있다.
- [0047] 상기 제2 미소전극은 상기 제1 미소전극과 상기 제2 챔버 사이에 배치할 수 있다.
- [0048] 상기 제1 미소전극은 28~32 μm 의 선폭으로 형성할 수 있다. 바람직하게는, 제1 30 μm 의 선폭으로 형성할 수 있다.
- [0049] 상기 제2 미소전극은 각각 8~12 μm 의 선폭으로 형성할 수 있다. 바람직하게는, 10 μm 의 선폭으로 형성할 수 있다.

- [0050] 상기 제1 및 제2 챔버는 각각 55~65 μ m의 높이로 형성할 수 있다. 바람직하게는 60 μ m의 높이로 형성할 수 있다.
- [0051] 상기 미소채널은 각각 8~12 μ m의 선폭, 2.8~3.2 μ m의 높이, 850~950 μ m의 길이로 형성할 수 있다. 바람직하게는, 10 μ m의 선폭, 3 μ m의 높이, 900 μ m의 길이로 형성할 수 있다.
- [0052] 상기 PDMS 칩을 상기 미소전극 쌍 어레이 플랫폼의 상부면에 집적시키는 단계 후, 상기 PDMS 칩이 집적된 상기 지지기판을 상부 양측에 복수 개의 동판이 형성된 PCB(Printed Circuit Board) 기판 상에 집적시키는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0053] 상기 동판과 상기 제1 및 제2 미소전극의 종단을 각각 와이어 본딩하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0054] 상기 제1 미소전극은 1개, 상기 제2 미소전극은 5개의 전극 쌍으로 이루어질 수 있다.
- [0055] 또한, 상술한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 또 다른 실시형태에 따르면, 상기 바이오 장치를 이용한 신경세포 성장 및 감지방법에 있어서, 세포체를 상기 제1 챔버 내에 주입시키는 단계와, 상기 제1 미소전극을 이용하여 상기 세포체에 전기자극을 가하는 단계와, 상기 제2 미소전극을 이용하여 상기 축삭돌기의 성장을 감지하는 단계와, 상기 제2 미소전극을 이용하여 상기 축삭돌기의 말단에 전기자극을 가하는 단계와, 상기 제2 미소전극의 전기자극을 통해 성장된 상기 축삭돌기에 면역 염색법을 이용하여 상기 제2 미소전극으로부터 상기 축삭돌기의 생물학적 반응을 감지하는 단계를 포함하는 신경세포 성장 및 감지방법을 제공할 수 있다.

발명의 효과

- [0056] 본 발명에 따르면, 서로 다른 높이를 갖는 미소챔버와 미소채널을 이용하여 신경세포의 축삭돌기를 분리 배양시키고, 분리 배양된 축삭돌기를 미소전극을 이용하여 미세하게 자극하여 성장시키는 동시에 성장된 축삭돌기를 감지하고, 이를 통해 전기자극이 인가된 세포체 혹은 축삭돌기, 전기자극에 의해 성장된 축삭돌기에서 어떤 mRNA 혹은 단백질이 발현되는지를 관찰할 수 있도록 제공할 수 있으며, 더 나아가서 본 발명에 따른 바이오 장치는 분자 생물학적 연구에 널리 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0057] 도 1은 본 발명의 일 실시형태에 따른 바이오 장치를 도시한 사시도이다.
- 도 2는 바이오 장치를 위에서 바라본 평면도이다.
- 도 3은 도 2에 도시된 'A' 부위를 확대하여 도시한 확대도이다.
- 도 4는 도 2에 도시된 바이오 장치를 도시한 실제 사진이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시형태에 따른 바이오 장치를 도시한 실제 사진이다.
- 도 6은 도 5에 도시된 'A' 부위를 확대하여 도시한 실제 사진이다.
- 도 7a 내지 도 7e는 본 발명에 따른 미소전극의 제조방법을 도시한 공정 단면도이다.
- 도 8a 내지 도 8f는 본 발명에 따른 PDMS 칩의 제1 및 제2 챔버(112, 114)와 미소채널(116)을 제조하기 위해 사용되는 Su-8 몰드 제조방법을 도시한 공정 단면도이다.
- 도 9는 본 발명을 통해 제조된 제1 및 제2 챔버(112, 114)의 높이를 측정한 그래프이다.
- 도 10은 본 발명을 통해 제조된 미소채널(116)의 높이를 측정한 그래프이다.
- 도 11 및 도 12는 미소전극 쌍 어레이 플랫폼(110)의 신뢰성 검증을 위해 신경세포 배양 전 여러 가지 조건에서 미소전극의 전류-전압 곡선(I-V curve)을 측정한 그래프이다.
- 도 13은 본 발명에 따른 바이오 장치를 이용한 신경세포의 축삭돌기의 성장 및 감지 방법을 설명하기 위하여 도시한 개념도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0058] 이하, 첨부되는 도면을 참조하여 본 발명의 다양한 실시형태를 상세히 설명한다.
- [0059] 도 1은 본 발명의 일 실시형태에 따른 바이오 장치를 도시한 사시도이고, 도 2는 바이오 장치를 위에서 바라본

평면도이고, 도 3은 도 2에 도시된 'A' 부위를 확대하여 도시한 확대도이다. 또한, 도 4는 도 2에 도시된 바이오 장치를 도시한 실제 사진이고, 도 5는 도 1에 대응되는 본 발명의 일 실시형태에 따른 바이오 장치를 도시한 실제 사진이고, 도 6은 도 5에 도시된 'A' 부위를 확대하여 도시한 실제 사진이다.

- [0060] 도 1 내지 도 6을 참조하면, 본 발명의 일 실시형태에 따른 바이오 장치는 PDMS(Polydimethylsiloxane) 칩(110)과 미소전극 쌍 어레이 플랫폼(120)을 포함한다.
- [0061] PDMS 칩(110)은 세포체가 배양되는 제1 챔버(112)와, 제1 챔버(112)와 이격되어 배치된 제2 챔버(114)와, 제1 및 제2 챔버(112, 114)를 연결하도록 제1 및 제2 챔버(112, 114) 사이에 배치되고 축삭돌기가 성장되는 복수 개의 미소채널(116)을 포함한다.
- [0062] 미소전극 쌍 어레이 플랫폼(120)은 제1 챔버(112)의 하부에 배치되고 세포체에 전기자극을 가하는 제1 미소전극(122)과, 제1 미소전극(122)과 나란한 방향으로 배치되고 축삭돌기에 전기자극을 가하여 축삭돌기의 성장을 유도하는 동시에 축삭돌기의 성장을 감지하는 복수 개의 제2 미소전극(124)을 포함한다. 또한, 미소전극 쌍 플랫폼(120)은 제1 및 제2 미소전극(122, 124)이 형성된 지지기관(126)을 더 포함할 수 있다.
- [0063] 제1 및 제2 챔버(112, 114)는 세포체와 축삭돌기의 분리 배양을 위해 각각 미소채널(116)보다 큰 높이로 형성된다. 바람직하게, 제1 및 제2 챔버(112, 114)는 각각 55~65 μ m의 높이로 형성된다. 더욱 바람직하게는 60 μ m의 높이로 형성된다. 이에 반해, 미소채널(116)은 각각 8~12 μ m의 선폭, 2.8~3.2 μ m의 높이, 850~950 μ m의 길이로 형성된다. 더욱 바람직하게는 10 μ m의 선폭, 30 μ m의 높이, 900 μ m의 길이로 형성된다.
- [0064] 제1 미소전극(122)은 제1 챔버(112)와 중첩되도록 제1 챔버(112)의 하부에 배치되어 제1 챔버(112) 내부의 미소채널(116) 상에 주입된 세포체에 전기자극을 가한다. 제1 미소전극(122)은 도 3에 도시된 바와 같이 제2 미소전극(124)보다 큰 선폭으로 형성된다.
- [0065] 제2 미소전극(124)은 복수 개의 전극 쌍으로 이루어지며 제1 미소전극(122)과 제2 챔버(114) 사이에 배치된다. 제2 미소전극(124)은 축삭돌기에 전기자극을 가하는 자극전극(124a)과, 축삭돌기의 성장을 감지하는 감지전극(124b)을 포함한다. 자극전극(124a)과 감지전극(124b)은 각각 인접하게 배치되어 1개의 전극 쌍을 구성하며, 이를 통해 축삭돌기의 성장을 위한 전기자극과 감지를 동시에 구현할 수 있다.
- [0066] 일례로, 미소전극 쌍 어레이 플랫폼은 1개의 제1 미소전극(122)과, 5개의 전극 쌍으로 이루어진 제2 미소전극(124)을 포함한다. 즉, 총 11개의 미소전극을 포함한다.
- [0067] 제1 미소전극(122)은 세포체 크기를 고려하여 28~32 μ m의 선폭으로 형성된다. 바람직하게는 30 μ m의 선폭으로 형성된다. 제2 미소전극(124)은 각각 8~12 μ m의 선폭으로 형성된다. 바람직하게는 10 μ m의 선폭으로 형성된다. 또한, 미소전극들은 각각 10 μ m으로 이격시켜 배치한다. 따라서, 미소전극 쌍 어레이 플랫폼 내에 미소전극의 총 피치(pitch)는 125 μ m이 된다.
- [0068] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명의 일 실시형태에 따른 바이오 장치는 PCB(Printed Circuit Board) 기관(130)을 더 포함한다. PCB 기관(130)은 미소전극들과 외부기기, 즉, 미소전극들로부터 감지된 전류를 통해 축삭돌기의 성장을 감지하는 측정기기(예컨대, 멀티미터)와 연결을 위하여 설치된다. PCB 기관(130) 상부 양측에는 복수 개의 동판(132)이 형성되어 있으며, 이때 동판(132)의 개수는 미소전극들의 개수와 대응된다.
- [0069] 지지기관(126)은 PCB 기관(130)의 중앙부에 집적된다. 이에 따라, 지지기관(126) 상에 형성된 미소전극들은 PCB 기관(130)의 양측부에 형성된 동판(132)과 대응되도록 배치된다. 동판(132)은 각각 와이어(140)를 통해 미소전극들과 전기적으로 접속된다. 이때, 와이어(140)로는 전도성이 높은 물질은 어떤 것을 사용하도 무방하다. 예컨대, 본 발명의 일 실시형태에서는 와이어(140)로 인듐(indium)을 사용한다.
- [0070] 이하, 본 발명의 일 실시형태에 따른 바이오 장치의 제조방법에 대해 설명하기로 한다.
- [0071] 도 7a 내지 도 7e는 본 발명에 따른 미소전극의 제조방법을 도시한 공정 단면도이다. 여기서는 일례로 제2 미소전극(124) 중 이웃하는 3개의 미소전극 제조방법에 대해 설명하기로 한다. 물론, 상기 공정을 통해 제1 미소전극(122) 또한 형성된다.
- [0072] 도 7a에 도시된 바와 같이, 지지기관(126)을 준비한다. 이때, 지지기관(126)으로는 반도체 기관, 유리기관 또는 플라스틱 기관 중 선택된 어느 하나를 사용할 수 있다. 바람직하게는 반도체 기관을 사용하며, 더욱 바람직하게는 실리콘 기관을 사용한다. 또는, 실리콘 기관 상에 실리콘 산화층(SiO₂)이 형성된 기관을 사용할 수 있다.

- [0073] 이어서, 지지기판(126) 상의 전면에 양성 감광 수지막(141)을 도포한다.
- [0074] 도 7b에 도시된 바와 같이, 양성 감광 수지막(141) 상에 포토 마스크(142)를 위치시킨다.
- [0075] 그런 다음, 자외선을 이용한 노광공정(143)을 실시하여 포토 마스크(142)에 의해 덮혀지지 않고 노출되는 양성 감광 수지막(141)의 형질(character)을 변형시킨다. 이러한 노광공정을 통해 양성 감광 수지막(141)의 레진 결합을 형성하게 된다.
- [0076] 도 7c에 도시된 바와 같이, 현상액을 이용한 현상공정을 실시하여 양성 감광 수지막 패턴(141a)을 형성한다. 이때, 양성 감광 수지막에서 없어지는 패턴(141a)은 도 7b에서 포토 마스크(142)에 의해 덮혀지지 않은 양성 감광 수지막(141)의 일부분으로서, 노광공정(143)을 통한 레진 결합에 의해 노출되는 부분이 현상액에 식각되어 없어지게 된다. 이 상태에서 금속층(크롬/금)을 적층한 후 아세톤에 의해 남아있는 양성 감광 수지막(141)을 제거하면 마스크에 덮혀지지 않은 패턴대로 전극 공정이 가능하다.
- [0077] 도 7d에 도시된 바와 같이, 양성 감광 수지막 패턴(141a)을 포함하는 지지기판(141) 상에 미소전극용 금속막(144)을 형성한다. 이때, 금속막(144)은 전도성을 갖는 금속물질은 모두 사용할 수 있다. 예를 들어, 금속막(144)은 전이금속으로 형성할 수 있다. 바람직하게는 알루미늄(Al), 구리(Cu), 금(Au), 백금(Pt), 크롬(Cr), 텅스텐(W), 티타늄(Ti), 탄탈륨(Ta) 또는 이들이 혼합된 혼합막, 또는 이들이 적층된 적층막으로 형성할 수 있다. 더욱 바람직하게는 크롬과 금의 적층막으로 형성한다. 상기 적층막은 CVD(Chemical Vapor Deposition) 공정을 이용하여 형성하며, 크롬은 500Å의 두께로 증착하고, 금은 3000Å의 두께로 증착한다. 이와 같이 크롬과 금의 적층막으로 형성하는 이유는 크롬을 접착층으로 사용하기 위함이다.
- [0078] 만약, 금(또는, 백금)만을 사용하는 경우, 지지기판(126) 상에 용이하게 증착되지 않아 공정 과정에서 지지기판(126)으로부터 금이 떨어져 나가는 문제가 생길 수가 있는데, 이러한 문제점을 해결하기 위하여 접착력이 우수한 크롬을 사용한다.
- [0079] 도 7e에 도시된 바와 같이, 금속막(144) 하부에 형성된 양성 감광 수지막 패턴(141a)을 제거한다. 양성 감광 수지막 패턴(141a)이 제거되는 과정에서 양성 감광 수지막 패턴(141a) 상에 형성된 금속막(144) 또한 함께 제거되는데, 이러한 공정을 리프트-오프 공정(lift-off process)이라 한다. 이러한 리프트-오프 공정을 통해 지지기판(126) 상에는 일정한 선폭을 갖고 배치된 제2 미소전극(124)이 형성된다.
- [0080] 상기 공정에서, 포토 마스크(142)의 패턴을 제어하여 제1 미소전극(122)은 28~32 μm 의 선폭으로 형성한다. 바람직하게는 30 μm 의 선폭으로 형성한다. 제2 미소전극(124)은 각각 8~12 μm 의 선폭으로 형성한다. 바람직하게는 10 μm 의 선폭으로 형성한다.
- [0081] 도 8a 내지 도 8f는 본 발명에 따른 PDMS 칩의 제1 및 제2 챔버(112, 114)와 미소채널(116)을 제조하기 위해 사용되는 Su-8 몰드 제조방법을 도시한 공정 단면도이다.
- [0082] 도 8a에 도시된 바와 같이, 반도체 기판(151) 상에 음성 감광 수지막(152)을 도포한다. 이때, 반도체 기판(151)으로는 실리콘(Si), 게르마늄(Ge)과 같은 단원소 반도체 또는 갈륨비소(GaAs), 인듐인(InP), 인듐안티몬(InSb) 등과 같이 이원소 이상이 혼합된 화합물 반도체를 사용할 수 있다. 예컨대, 본 발명의 일 실시형태에서는 실리콘 기판을 사용한다. 한편, 반도체 기판(151) 상에는 매립 산화층으로 실리콘 산화층(SiO₂)이 형성될 수 있으며, 그 상부에 음성 감광 수지막(152)이 형성될 수도 있다.
- [0083] 한편, 도 8a에서, PDMS 칩을 제조하기 위한 반도체 기판(151)은 예컨대 4인치 실리콘 웨이퍼로서 piranha(SPM) (황산과 과산화수소 혼합용액)에 담귀 이물질들을 제거한 후에 스핀 코터를 이용하여 일정한 두께로 음성 감광 수지막(152)을 도포할 수도 있다.
- [0084] 도 8a에서 음성 감광 수지막(152)의 두께, 즉 높이는 제1 및 제2 챔버(112, 114)의 두께, 즉 높이를 고려하여 각각 55~65 μm 의 높이로 형성한다. 바람직하게는 60 μm 의 높이로 형성한다.
- [0085] 도 8b에 도시된 바와 같이, 음성 감광 수지막(152) 상에 제1 및 제2 챔버(112, 114)를 제조하기 위한 주형과 대응되는 투과패턴을 갖는 포토 마스크(153)를 위치시킨다.
- [0086] 그런 다음, 예컨대 자외선을 이용한 노광공정(154)을 실시하여 포토 마스크(153)에 의해 덮혀지지 않고 노출되는 음성 감광 수지막(152)의 형질(character)을 변형시킨다. 이러한 노광공정을 통해 음성 감광 수지막(152)의 레진 결합을 형성하게 된다.

- [0087] 도 8c에 도시된 바와 같이, 현상액을 이용한 현상공정을 실시하여 음성 감광 수지막 패턴, 즉 제1 및 제2 챔버(112, 114)를 제조하기 위한 주형(152a)을 형성한다.
- [0088] 도 8d에서 양성 감광 수지막(155)의 두께는 미소채널(116)의 두께, 즉 높이를 고려하여 각각 2.8~3.2 μ m의 높이로 형성한다. 바람직하게는 3 μ m의 높이로 형성한다.
- [0089] 도 8e에 도시된 바와 같이, 양성 감광 수지막(155) 상에 미소채널(116)을 제조하기 위한 주형과 대응되는 차단 패턴을 갖는 포토 마스크(156)를 위치시킨 후, 도 8b에서와 같이, 다시 한번 자외선을 이용한 노광공정(157)을 실시하여 포토 마스크(156)에 의해 덮혀지지 않고 노출되는 양성 감광 수지막(155)의 형질을 변형시킨다.
- [0090] 도 8f에 도시된 바와 같이, 도 8e의 공정이 완료된 후 반도체 기판(151)에 대해 현상액을 이용한 현상공정을 실시하여 미소채널(116)을 제조하기 위한 주형(155a)을 형성한다.
- [0091] 상기에서, 도 8a 내지 도 8f를 통해 주형(152a, 155a)을 포함하는 Su-8 몰드가 완성되면, 기포를 제거하기 위해 진공오븐에 일정시간 동안 방치시킨 다음, PDMS와 경화제를 10:1의 비율로 혼합시킨 혼합액을 상기 Su-8 몰드 내에 얇게 도포할 수 있다. 98℃에서 20분간 경화시킨 후 제1 챔버 및 제2 챔버의 크기와 0.5cm 이상의 높이를 갖는 아크릴 블록을 챔버 위에 위치시킨 후 PDMS와 경화제를 10:1의 비율로 혼합시킨 혼합액을 상기 Su-8 몰드 내에 붓고 98℃에서 20분간 경화시킨다. 경화된 PDMS 층의 챔버 구조에 해당되는 부위에 펀치로 구멍을 내어 세포를 넣어줄 수 있다. 아크릴 블록을 이용해 만든 공간은 배지를 충분히 넣을 수 있어 배양 시간 동안 배지의 건조를 막을 수 있다. 상기 경화제로는 톨루엔(toluene)을 사용할 수 있다.
- [0092] 그런 다음, 상기와 같은 과정을 완료한 Su-8 몰드에서 PDMS를 분리한다. 이때, 분리된 PDMS를 펀치와 같은 도구를 이용하여 불필요한 부위를 다듬어 제거할 수도 있다.
- [0093] 그런 다음, Su-8 몰드에서 분리된 PDMS 칩(110)은 미소전극 쌍 어레이 플랫폼(120)의 상부면에 접합시켜 일체화시킨다. 이로써, PDMS 칩(110)은 미소전극 쌍 어레이 플랫폼(120)의 상부면에 집적된다. 예컨대, PDMS 칩(110)과 플랫폼(120)의 접합은 산소 플라즈마로 일정한 전력에서 일정한 시간동안 처리하여 이루어지게 되는데, 이때, 상기의 접합공정은 적절한 파워를 이용하여 일정 시간 동안 처리한 후 수행된다.
- [0094] 도 9는 상기한 방법으로 제조된 제1 및 제2 챔버(112, 114)의 높이를 측정한 그래프이고, 도 10은 상기한 방법으로 제조된 미소채널(116)의 높이를 측정한 그래프이다.
- [0095] 도 9 및 도 10을 참조하면, 도 8a 내지 도 8f와 같이 본 발명의 일 실시형태에 따른 PDMS 칩의 제조방법을 통해 제조된 제1 및 제2 챔버(112, 114)와 미소채널(116)의 높이를 알파 스텝(α -step)으로 측정한 결과, 제1 및 제2 챔버(112, 114)는 60 μ m의 높이로 형성되고, 미소채널(116)은 3 μ m의 높이로 형성된 것을 확인할 수 있었다.
- [0096] 도 11 및 도 12는 미소전극 쌍 어레이 플랫폼(110)의 신뢰성 검증을 위해 신경세포 배양 전 여러 가지 조건에서 미소전극의 전류-전압 곡선(I-V curve)을 측정한 그래프이다. 도 11은 미소전극의 선포이 30 μ m, 도 12는 10 μ m인 경우의 특성 그래프이다.

표 1

미소전극의 선포	Air(Ω)	DW(Ω)	PBS(Ω)	Medium (RPMI 1640)(Ω)
30 μ m	19.3	18.3	18.4	19.2
10 μ m	47.2	48	48.8	50

- [0098] 상기 표 1과, 도 11 및 도 12에 도시된 바와 같이, 본 발명의 제조방법을 통해 제조된 미소전극의 전류-전압 곡선은 각각의 조건에서 크게 다르지 않음을 알 수 있다. 이는 본 발명을 통해 제작된 바이오 장치가 외부의 조건에 따라 자극 인가 및 신호 감지 조건이 크게 달라지지 않고 균일하게 자극 인가 및 신호 감지를 할 수 있음을 의미한다. 이는 바이오 장치의 신뢰성을 검증하기에 충분한 결과로 판단된다.
- [0099] 도 13은 본 발명에 따른 바이오 장치를 이용한 신경세포의 축삭돌기의 성장 및 감지 방법을 설명하기 위하여 도시한 개념도로서, (a)는 제1미소전극에서 전기자극이 인가되는 경우, (b)는 제1미소전극에서 전기자극이 인가되어 성장된 축삭 돌기를 제2 미소전극 중 첫 번째 미소전극을 통해 감지하고 두 번째 미소 전극을 통해 성장된 축삭 돌기 말단에 전기자극이 인가되는 경우, (c)는 미소 전극 어레이를 통해 축삭 돌기 성장을 감지 및 전기 자극 인가가 반복되는 경우 도시한 개념도이다.

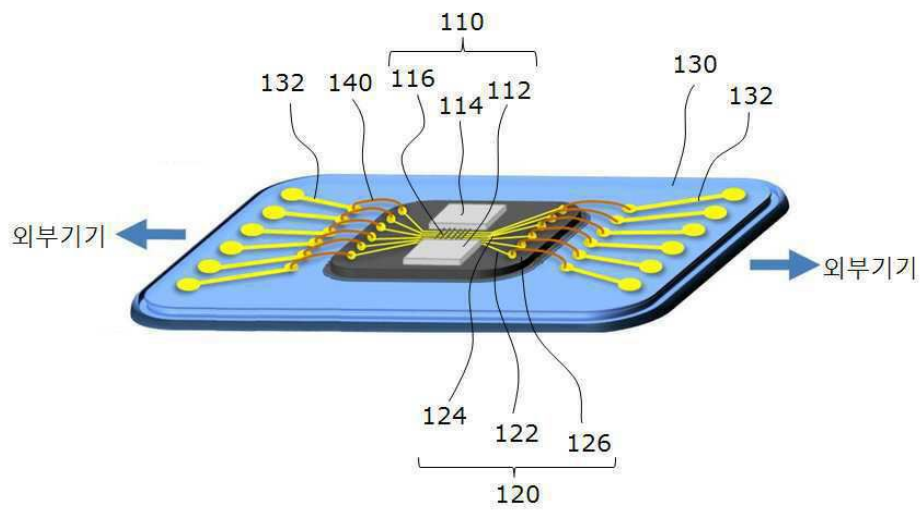
- [0100] 도 13을 참조하면, 먼저 (a)와 같이 제1 챔버(112) 내에 위치한 제1 미소전극(122) 상에 세포체를 주입한다. 그런 다음, 제1 미소전극(122)을 통해 세포체에 전기자극을 인가한다. 그 후, 축삭돌기의 성장이 시작되면, (b)와 같이 제2 미소전극(124) 중 제1 미소전극(122)에 가장 근접하게 배치된 첫 번째 자극전극(124a)을 이용하여 축삭돌기의 성장을 감지하고 전극쌍의 두 번째에 위치하는 전극을 통해 축삭돌기의 말단에 전기자극을 인가한다. 그런 다음, (c)와 같이 다음 번째 축삭돌기 성장 감지 및 자극전극(124a)을 통해 순차적으로 축삭돌기의 말단에 전기자극을 인가한다. 이때, 축삭돌기의 위치마다 감지전극(124b)을 이용하여 축삭돌기의 성장을 관찰한다.
- [0101] 상기에서, 예컨대, 제2 미소전극(124)을 통한 전기자극은 0.1V, 0.5V, 1V, 3V, 5V로 하여 1~2 시간 동안 진행할 수 있다. 제1 챔버(112) 내에서 세포체 배양시간은 셀에 따라 다르겠지만, 'PC-12/E18 rat nerve'인 경우 $1\sim6\times 10^4/\text{cm}^2$ 에서 신경성장인자(nerve growth factor, NGF)는 25ng, 50ng, 100ng로 48에서 72시간 동안 진행할 수 있다.
- [0102] 이와 같이, 본 발명의 일 실시형태에 따른 바이오 장치는 미세채널을 이용하여 축삭돌기와 세포체를 분리 배양할 수 있다. 분리 배양된 축삭돌기는 후에 면역 염색법을 통해 전기자극이 인가된 세포체 혹은 축삭돌기, 전기자극에 의해 성장된 축삭돌기에서 어떤 mRNA 혹은 단백질이 발현되는지 분자 생물학적 연구에 이용될 수 있다.
- [0103] 이상에서와 같이 본 발명의 구체적 실시형태와 관련하여 본 발명을 설명하였으나, 이는 예시에 불과하며 본 발명은 이에 제한되지 않는다. 당업자는 본 발명의 범위를 벗어나지 않고 설명된 실시형태를 변경 또는 변형할 수 있으며, 이러한 변경 또는 변형도 본 발명의 범위에 속한다. 또한, 본 명세서에서 설명한 각 구성요소는 당업자가 공지된 다양한 구성요소들로부터 용이하게 선택하여 대체할 수 있다. 또한, 당업자는 본 명세서에서 설명된 구성요소 중 일부를 성능의 열화 없이 생략하거나 성능을 개선하기 위해 구성요소를 추가할 수 있다. 따라서, 본 발명의 범위는 설명된 실시형태가 아니라 특허청구범위 및 그 균등물에 의해 결정되어야 한다.

부호의 설명

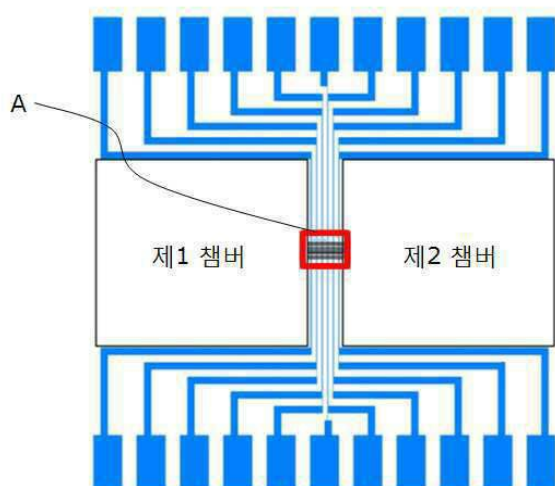
- [0104]
- | | |
|------------------------|----------------------|
| 110 : PDMS 칩 | 120 : 미소전극 쌍 어레이 플랫폼 |
| 112 : 제1 챔버 | 114 : 제2 챔버 |
| 116 : 미소채널 | 122 : 제1 미소전극 |
| 124 : 제2 미소전극 | 126 : 지지기판 |
| 124a : 자극전극 | 124b : 감지전극 |
| 130 : PCB 기판 | 132 : 동판 |
| 140 : 와이어 | 152 : 음성 감광 수지막 |
| 142, 153, 156 : 포토 마스크 | 143, 154, 157 : 노광공정 |
| 141a : 양성 감광 수지막 패턴 | 144 : 금속막 |
| 152a : 주형(제1 및 제2 챔버용) | 141, 155 : 양성 감광 수지막 |
| 155a : 주형(미소채널용) | |

도면

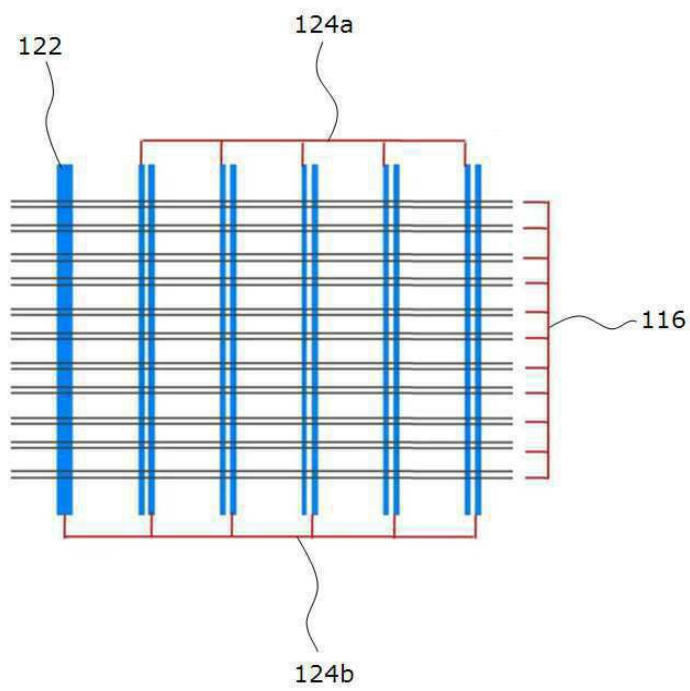
도면1



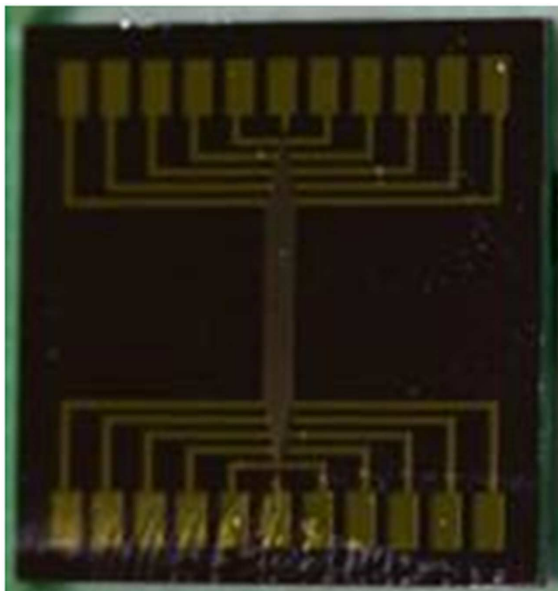
도면2



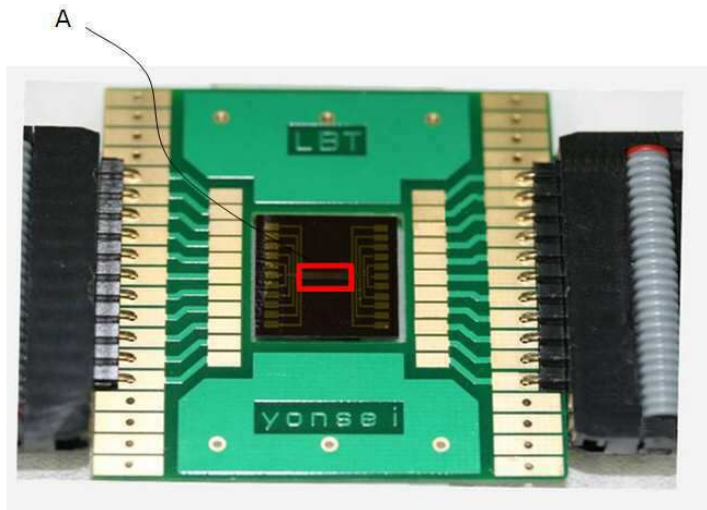
도면3



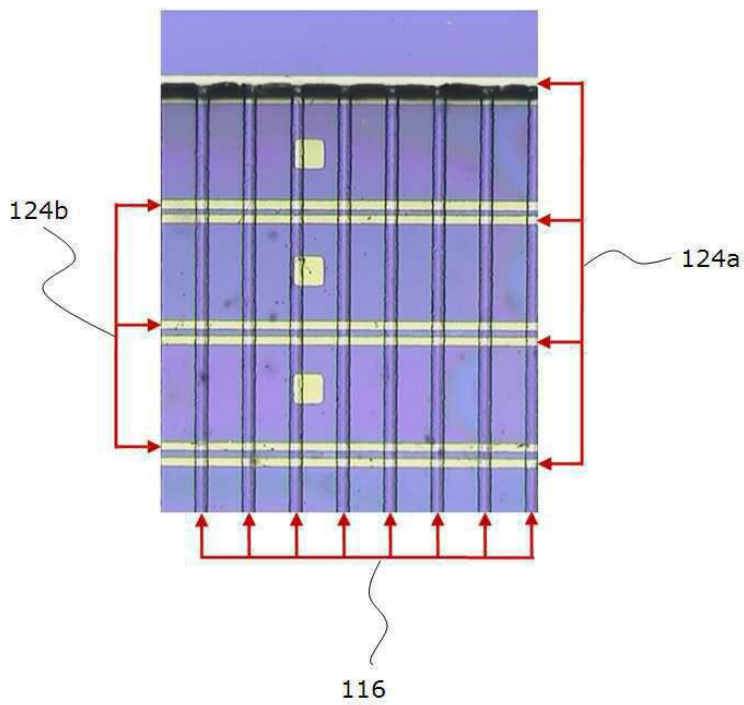
도면4



도면5



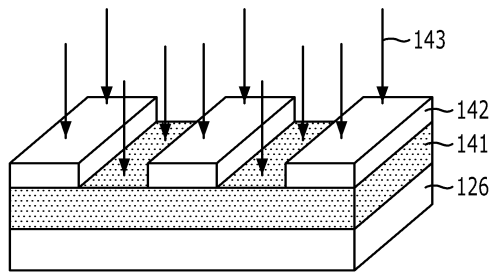
도면6



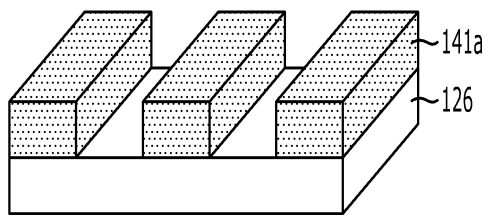
도면7a



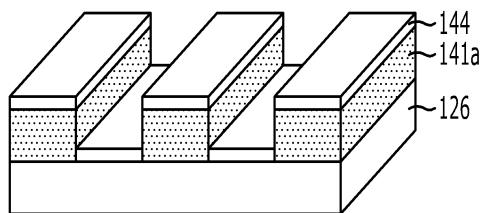
도면7b



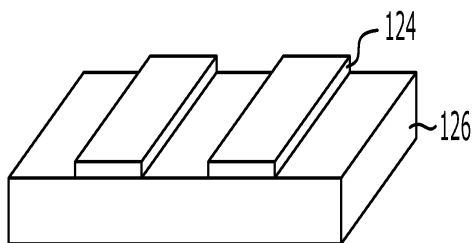
도면7c



도면7d



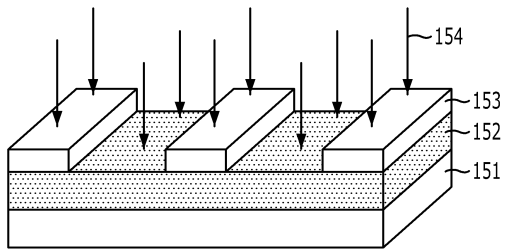
도면7e



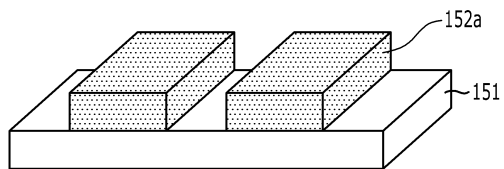
도면8a



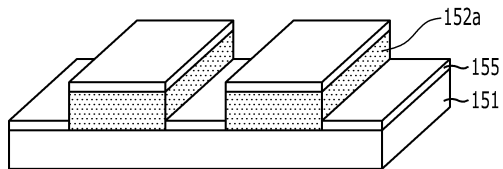
도면8b



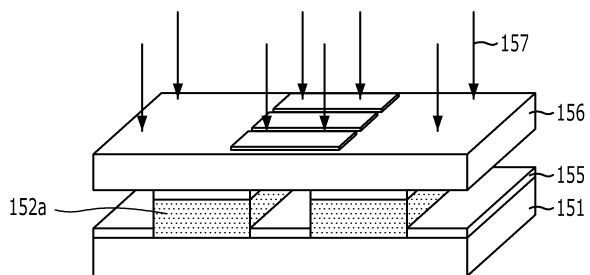
도면8c



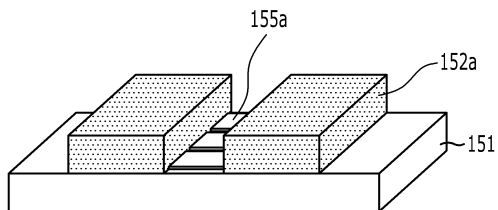
도면8d



도면8e



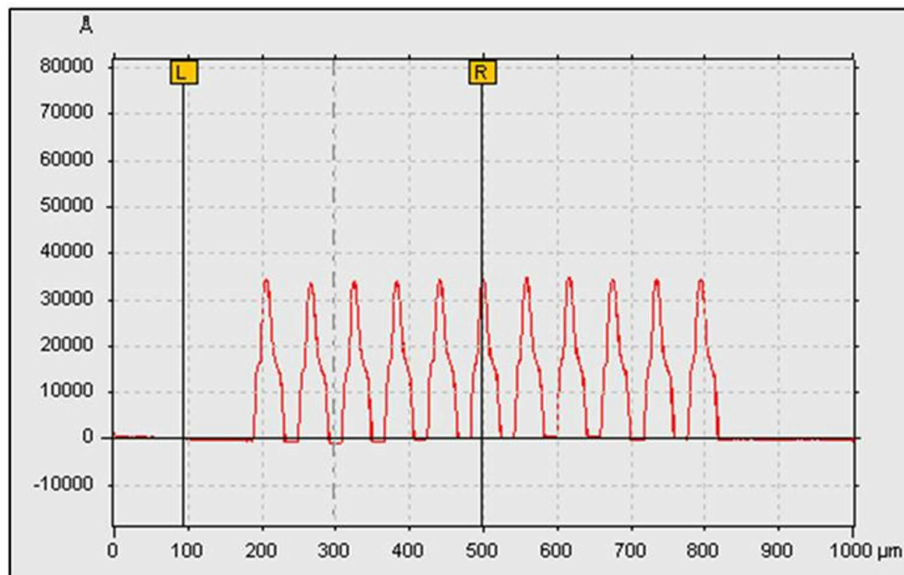
도면8f



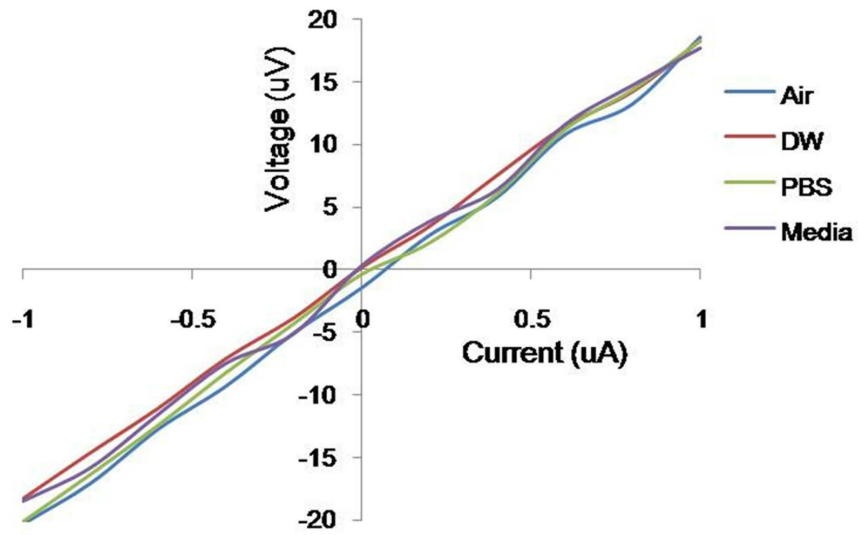
도면9



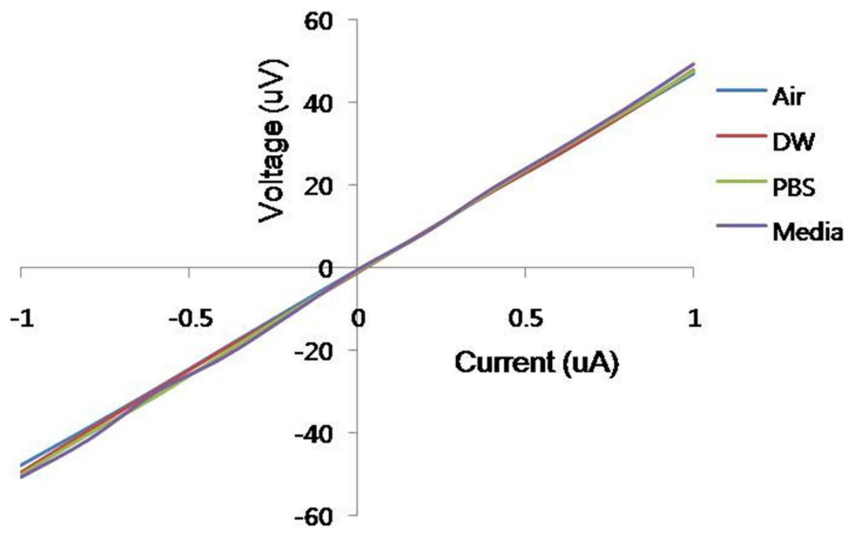
도면10



도면11



도면12



도면13

