



- (51) 국제특허분류:
C12M 1/10 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01)
C12N 5/0775 (2010.01) C12Q 1/24 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2015/006544
- (22) 국제출원일: 2015 년 6 월 26 일 (26.06.2015)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2014-0085482 2014 년 7 월 8 일 (08.07.2014) KR
10-2014-0085483 2014 년 7 월 8 일 (08.07.2014) KR
- (71) 출원인: 주식회사 시지바이오 (CG BIO CO., LTD.)
[KR/KR]; 13211 경기도 성남시 중원구 갈마치로 244,
Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 유현승 (RYU, Hyun Seung); 446-727 경기도
용인시 기흥구 구성로 411, 807 동 1302 호, Gyeong-
gi-do (KR). 최원익 (CHOI, Weon Ik); 463-915 경기도
성남시 분당구 백현로 234, 305 동 1202 호, Gyeong-
gi-do (KR). 박희준 (PARK, Hee Jun); 135-867 서울시
강남구 봉은사로 57 길 33, 301 호, Seoul (KR). 홍순기
(HONG, Soon Gee); 560-840 전라북도 전주시 완산구
평화 7 길 40, 101 동 1405 호, Jeollabuk-do (KR). 전강진
(JEON, Kang Jin); 462-800 경기도 성남시 중원구 금

상로 95, 403 호, Gyeonggi-do (KR). 김용수 (KIM, Young Su); 431-843 경기도 안양시 동안구 매곡로 27
번길 24-10, Gyeonggi-do (KR). 김인호 (KIM, In Ho);
451-832 경기도 평택시 청북면 안청로 1 길 12, 103 동
1402 호, Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 최규팔 (CHOI, Kyu Pal); 135-934 서울시 강남
구 강남대로 84 길 23, 4 층, Seoul (KR).

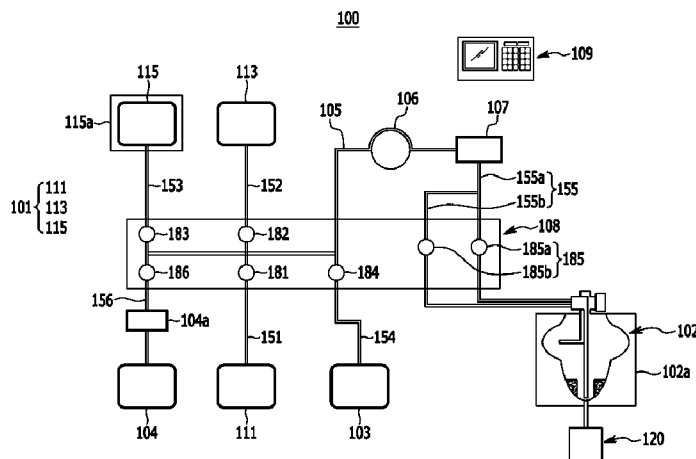
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA,
LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN,
MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE,
PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,

[다음 쪽 계속]

(54) Title: CELL SEPARATION CONTAINER, CELL SEPARATION SYSTEM AND CELL SEPARATION METHOD

(54) 발명의 명칭 : 세포분리 용기, 세포분리 시스템 및 세포분리 방법



(57) Abstract: Disclosed are a system and a method for separating cells, the system comprising a storage part for storing fat tissue, a wash and an enzyme in a separate state; a cell separation container for receiving, from the storage part, and stirring the fat tissue, the wash and the enzyme and then centrifuging a stem cell; a rotating part for rotating the cell separation container; a waste storage part for receiving and storing waste generated from the cell separation container; a cell collection part for receiving, from the cell separation container, and collecting the stem cell which has been separated from the fat tissue; a connection part for connecting the cell separation container to the storage part, the waste storage part and the cell collection part; and an induction part for, along the connection part, inducing the fat tissue, the wash and the enzyme from the storage part into the cell separation container, inducing the waste from the cell separation container into the waste storage part, and inducing the stem cell into the cell collection part.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]





MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, **공개:**
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, — 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

본 발명은 지방조직, 세척액 및 효소를 분리된 상태로 저장하는 저장부; 저장부로부터 지방조직, 세척액 및 효소를 공급받아 교반하여 줄기세포를 원심분리하는 세포분리 용기; 세포분리 용기를 회전시키는 회전부; 세포분리 용기에서 생성된 폐기물을 공급받아 저장하는 폐기물 저장부; 세포분리 용기에서 지방조직으로부터 분리된 줄기세포를 공급받아 수집하는 세포 수집부; 저장부, 폐기물 저장부 및 세포 수집부에 세포분리 용기를 연결하는 연결부; 및 연결부를 따라 지방조직, 세척액 및 효소를 저장부로부터 세포분리 용기로 유도하고 폐기물을 세포분리 용기로부터 폐기물 저장부로 유도하며 줄기세포를 세포 수집부로 유도하는 유도부를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템 및 방법을 개시한다.

명세서

발명의 명칭: 세포분리 용기, 세포분리 시스템 및 세포분리 방법 기술분야

- [1] 본 발명은 세포분리 용기, 세포분리 시스템 및 이를 이용한 세포분리 방법에 관한 것으로서, 특히 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하여 배양 가능하도록 하는 세포분리 용기, 세포분리 시스템 및 세포분리 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 줄기세포는 자기 복제 능력을 가지면서 둘 이상의 세포들로 분화되는 능력을 갖는 세포이다. 최근에는 골수 외에 지방조직에서도 줄기세포를 획득할 수 있는 연구가 진행되고 있다. 지방조직에서 분리한 지방유래줄기세포는 지방세포, 근육 세포, 연골 세포, 뼈 세포 등 다양한 종류의 세포로 분화할 수 있는 능력을 갖는 다분화능줄기세포(pluripotent stem cell)이다.
- [3] 지방줄기세포는 골수 기원의 간엽줄기세포와 비교하여 자가 재생능력이 우수하고 체외 배양이 용이하며, 지방줄기세포를 분리할 수 있는 지방조직은 풍부하고 채취방법이 간단하며 안전하다. 또한 지방줄기세포는 분화능력, 세포학적 특성, 면역학적 특성, 조직재생능력 등 거의 모든 특성이 골수 기원의 간엽줄기세포와 동일한 것으로 알려졌다. 즉, 지방줄기세포는 골수 기원의 간엽줄기세포를 대체할 수 있는 높은 가능성을 가진 줄기세포로서 의학적 유용성이 아주 큰 것으로 나타났다.
- [4] 또한, 지방줄기세포는 간엽줄기세포에 비해서 조직 취득과정이 용이하고 안전하여, 조직수급의 제한이 없는 장점을 갖고 체외 배양이 용이하여 조직 접근성, 안전성, 유효성 및 경제적 측면에서 우위에 있다고 할 수 있다.
- [5] 일반적으로 사용되는 지방줄기세포의 분리 및 배양법은 흡입되거나 절제된 지방을 다시 잘게 부수어 콜라게나제(collagenase)로 조직을 분해한 후에, 원심분리를 통해 침전되어 분리되는 기질혈관획분(stromal vascular fraction; SVF)에서 세포를 배양하는 방법이 실시되고 있다.
- [6] 한편, 많은 장치가 지방조직으로부터 줄기세포를 수집하기 위해 개발되어 왔지만, 일반적으로 1개의 분리 용기에서 지방조직으로부터 지방줄기세포가 분리되는 과정이 이루어진다. 이때, 생성되는 생성물 중 폐기물의 배출 및 폐기 등으로 인해 공정이 복잡해진다. 이를 해소하기 위하여, 2개의 분리 용기를 이용하여 지방조직으로부터 지방줄기세포가 분리되는 과정이 이루어지기도 한다. 이때, 1개의 분리 용기에서는 지방조직을 처리하는 과정이 이루어지고, 나머지 1개의 분리 용기에서는 분리된 줄기세포를 처리하는 과정이 이루어진다. 이때, 사용되어야 할 소모품인 분리 용기의 개수가 증가하고 분리 용기를 회전시키는 데에 이용되는 구성요소도 증가하게 되어, 분리 시간 및 분리를 위한 장치에 따른 비용이 증가하고 있는 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [7] 본 발명은 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 효율을 향상시킬 수 있는 세포분리 용기, 세포분리 시스템 및 세포분리 방법을 제공하고자 한다.
- [8] 본 발명은 간단한 구성으로 용이하게 지방조직으로부터 줄기세포를 분리할 수 있는 세포분리 용기, 세포분리 시스템 및 세포분리 방법을 제공하고자 한다.
- [9] 본 발명은 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 데에 따른 시간과 비용을 절감할 수 있는 세포분리 용기, 세포분리 시스템 및 세포분리 방법을 제공하고자 한다.

과제 해결 수단

- [10] 본 발명에 따른 세포분리 용기의 실시예는 회전축을 중심으로 회전가능하며, 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출되어 내부에 수집공간부를 형성하는 하우징부; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하는 제 1 출입관; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하며, 내부의 종단이 수집공간부 내에 위치되도록 구부러진 제 2 출입관; 및 상기 하우징부의 내면으로부터 돌출된 복수 개의 교반 날개부들을 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [11] 상기 교반 날개부들은 상기 하우징부의 하부에서 상기 제 1 출입관을 중심으로 배열되는 것이 바람직하다.
- [12] 상기 교반 날개부에는 복수 개의 관통홀들이 형성되는 것이 바람직하다.
- [13] 상기 세포분리 용기는, 상기 하우징부의 상면에 설치되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하여, 상기 하우징부의 내부 압력을 조절하고 여과기능을 갖는 공기 배출부를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- [14] 상기 하우징부가 상기 회전축을 중심으로 회전할 때, 상기 제 1 출입관 및 상기 제 2 출입관은 고정되는 것이 바람직하다.
- [15] 상기 제 1 출입관은 상기 하우징부의 바닥면에 근접하도록 연장되는 것이 바람직하다.
- [16] 상기 하우징부는 상기 하우징부의 하부에 연결된 모터에 의해 회전되는 것이 바람직하다.
- [17] 본 발명에 따른, 상기의 세포분리 용기를 이용하는 세포분리 방법의 실시예는, (a) 상기 하우징부가 지방조직을 상기 제 1 출입관을 통해 공급받는 단계; (b) 상기 하우징부가 세척액을 상기 제 1 출입관을 통해 공급받고, 회전되어 상기 지방조직 및 상기 세척액을 교반하며, 회전이 정지된 후에 세척된 지방조직과 혈액오염물이 각각 상부층과 하부층으로 분리되는 단계; (c) 상기 혈액오염물이 상기 제 1 출입관을 통해 상기 하우징부로부터 제거되는 단계; (d) 상기 하우징부가 효소를 상기 제 1 출입관을 통해 공급받고 회전되어 상기 세척된

지방조직과 상기 효소를 교반하며, 회전이 정지된 후에 소화된 지방조직과 1차 수용액이 각각 상부층과 하부층으로 분리되는 단계; (e) 상기 하우징부가 회전되어 상기 소화된 지방조직과 상기 1차 수용액이 상기 수집공간부 내에서 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 동안, 상기 소화된 지방조직이 상기 제 2 출입관을 통해 상기 하우징부로부터 제거되는 단계; (f) 상기 하우징부가 정지되고, 상기 세척액을 상기 제 1 출입관을 통해 공급받아 상기 1차 수용액과 혼합시켜 2차 수용액을 생성하는 단계; (g) 상기 하우징부가 회전되어 줄기세포가 분리된 2차 수용액 및 상기 줄기세포가 상기 수집공간부 내에서 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 동안, 상기 줄기세포가 분리된 2차 수용액이 상기 제 2 출입관을 통해 상기 하우징부로부터 제거되는 단계; 및 (h) 상기 하우징부가 정지되고, 상기 세척액을 상기 제 2 출입관을 통해 공급받아 상기 줄기세포와 혼합시켜 수집 수용액을 생성하고, 상기 수집 수용액이 상기 제 1 출입관을 통해 상기 하우징부로부터 배출되는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[18] 본 발명에 따른 세포분리 시스템의 실시예는 지방조직, 세척액 및 효소를 분리된 상태로 저장하는 저장부; 상기 저장부에 연결되어 상기 저장부로부터 지방조직, 세척액 및 효소를 공급받고, 상기 공급된 지방조직, 세척액 및 효소를 교반하고 줄기세포를 원심분리하는 세포분리 용기; 상기 세포분리 용기에 결합되어, 상기 세포분리 용기를 회전시키는 회전부; 상기 세포분리 용기에 연결되고 상기 세포분리 용기에서 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리에 의해 생성된 폐기물을 공급받아 저장하는 폐기물 저장부; 상기 세포분리 용기에 연결되고, 상기 세포분리 용기에서 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리에 의해 상기 지방조직으로부터 분리된 줄기세포를 공급받아 수집하는 세포 수집부; 상기 저장부, 상기 폐기물 저장부 및 상기 세포 수집부에 상기 세포분리 용기를 연결하는 연결부; 및 상기 연결부 상에 설치되고, 상기 연결부를 따라 지방조직, 세척액 및 효소를 상기 저장부로부터 상기 세포분리 용기로 유도하고 상기 폐기물을 상기 세포분리 용기로부터 상기 폐기물 저장부로 유도하며 상기 줄기세포를 상기 세포 수집부로 유도하는 유도부를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[19] 상기 세포분리 시스템은, 상기 세포분리 용기와 상기 유도부 사이의 상기 연결부 상에 설치되어, 상기 유도부에 의해 상기 세포분리 용기로부터 배출되는 폐기물의 농도를 감지하는 감지부를 더 포함하는 것이 바람직하다.

[20] 상기 세포분리 용기는, 상기 회전부가 하부에 결합되고 상기 회전부에 의해 회전축을 중심으로 회전가능하며, 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출되어 내부에 수집공간부를 형성하는 하우징부; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하는 제 1 출입관; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하며, 내부 중단이 수집공간부 내에 위치되도록

구부러진 제 2 출입관; 및 상기 하우정부의 내면으로부터 돌출된 복수 개의 교반 날개부들을 포함하는 것이 바람직하다.

- [21] 상기 교반 날개부들은 상기 하우정부의 하부에서 상기 제 1 출입관을 중심으로 배열되는 것이 바람직하다.
- [22] 상기 교반 날개부에는 복수 개의 관통홀들이 형성되는 것이 바람직하다.
- [23] 상기 세포분리 용기는, 상기 하우정부의 상면에 설치되어 상기 하우정부의 내부와 외부를 연결하여, 상기 하우정부의 내부 압력을 조절하고 여과기능을 갖는 공기 배출부를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- [24] 상기 하우정부가 상기 회전축을 중심으로 회전할 때, 상기 제 1 출입관 및 상기 제 2 출입관은 고정되는 것이 바람직하다.
- [25] 상기 제 1 출입관은 상기 하우정부의 바닥면에 근접하도록 연장되는 것이 바람직하다.
- [26] 상기 저장부는, 지방조직을 저장하고 상기 연결부를 통해 상기 세포분리 용기에 연결되는 지방조직 저장부; 세척액을 저장하고 상기 연결부를 통해 상기 세포분리 용기에 연결되는 세척액 저장부; 및 효소를 저장하고 상기 연결부를 통해 상기 세포분리 용기에 연결되는 효소 저장부를 포함하는 것이 바람직하다.
- [27] 상기 연결부는, 상기 유도부에 연결되는 공유 연결관; 상기 저장 저장부와 상기 공유 연결관을 연결하는 지방조직 연결관; 상기 세척액 저장부와 상기 공유 연결관을 연결하는 세척액 연결관; 상기 효소 저장부와 상기 공유 연결관을 연결하는 효소 연결관; 상기 폐기물 저장부와 상기 공유 연결관을 연결하는 폐기물 연결관; 상기 세포분리 용기와 상기 유도부를 연결하는 분리 연결관; 및 상기 세포 수집부와 상기 공유 연결관을 연결하는 수집 연결관을 포함하는 것이 바람직하다.
- [28] 상기 세포분리 시스템은, 상기 연결부 상에 설치되어, 상기 연결부를 개폐시키는 조절부를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- [29] 상기 조절부는, 상기 지방조직 연결관 상에 설치되어 상기 지방조직 연결관을 개폐시키는 지방조직 조절부; 상기 세척액 연결관 상에 설치되어 상기 세척액 연결관을 개폐시키는 세척액 조절부; 상기 효소 연결관 상에서 설치되어 상기 효소 연결관을 개폐시키는 효소 조절부; 상기 폐기물 연결관 상에 설치되어 상기 폐기물 연결관을 개폐시키는 폐기물 조절부; 상기 분리 연결관 상에 설치되어 상기 분리 연결관을 개폐시키는 분리 조절부; 및 상기 수집 연결관 상에 설치되어 상기 수집 연결관을 개폐시키는 수집 조절부를 포함하는 것이 바람직하다.
- [30] 상기 세포분리 시스템은, 상기 회전부, 상기 유도부 및 상기 조절부에 연결되어, 상기 유도부 및 상기 조절부가 작동하여 상기 지방조직, 상기 세척액, 상기 효소, 상기 폐기물 및 상기 줄기세포를 상기 연결부를 따라 유도하기 위하여 조작되고, 상기 회전부가 작동하여 상기 세포분리 용기를 회전시키기 위하여 조작되는 제어부를 더 포함하는 것이 바람직하다.

- [31] 상기 효소 저장부 및 상기 세포분리 용기는 각각 온도 조절부에 결합되고, 상기 온도 조절부에 의해 35°C 내지 40°C로 유지되는 것이 바람직하다.
- [32] 상기 지방조직 저장부, 상기 효소 저장부 및 상기 세포 수집부는 주사기 형태로 이루어진 것이 바람직하다.
- [33] 상기 연결부는, 상기 유도부를 상기 세포분리 용기의 제 1 출입관에 연결시키고, 제 1 분리 조절부에 의해 개폐되는 제 1 분리 연결관; 및 상기 유도부를 상기 세포분리 용기의 제 2 출입관에 연결시키고, 제 2 분리 조절부에 의해 개폐되는 제 2 분리 연결관을 포함하는 것이 바람직하다.
- [34] 상기 세포 수집부는, 상기 세포 수집부와 상기 유도부 사이의 상기 연결부 상에 설치되고, 상기 연결부를 따라 상기 세포 수집부로 유도되는 상기 줄기세포를 여과시키는 세포 여과부를 포함하는 것이 바람직하다.
- [35] 본 발명에 따른 세포분리 방법의 실시예는, (a) 상기 유도부가 지방조직 저장부로부터 세포분리 용기로 지방조직을 유도하는 단계; (b) 상기 유도부가 세척액 저장부로부터 상기 세포분리 용기로 세척액을 유도하고 상기 세포분리 용기는 회전부에 의해 회전되어 상기 지방조직과 상기 세척액을 교반하며, 회전이 정지된 후에 세척된 지방조직과 혈액오염물이 각각 상부층과 하부층으로 분리되는 단계; (c) 상기 유도부가 상기 혈액오염물을 상기 세포분리 용기로부터 폐기물 저장부로 유도하는 단계; (d) 상기 유도부가 효소 저장부로부터 상기 세포분리 용기로 효소를 유도하고 상기 세포분리 용기는 상기 회전부에 의해 회전되어 상기 효소와 상기 세척된 지방조직을 교반하며, 회전이 정지된 후에 소화된 지방조직과 1차 수용액이 각각 상부층과 하부층으로 분리되는 단계; (e) 상기 세포분리 용기가 상기 회전부에 의해 회전되어 상기 소화된 지방조직과 상기 1차 수용액이 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 동안에, 상기 유도부가 상기 소화된 지방조직을 상기 세포분리 용기로부터 상기 폐기물 저장부로 유도하는 단계; (f) 상기 세포분리 용기가 정지되고, 상기 유도부는 상기 세척액을 상기 세포분리 용기로 유도하며, 상기 세포분리 용기는 상기 1차 수용액과 상기 세척액을 교반하여 2차 수용액을 생성하는 단계; (g) 상기 세포분리 용기가 상기 회전부에 의해 회전되어 줄기세포가 분리된 2차 수용액 및 상기 줄기세포가 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 동안, 상기 유도부가 상기 줄기세포가 원심분리된 2차 수용액을 상기 세포분리 용기로부터 상기 폐기물 저장부로 유도하는 단계; (h) 상기 세포분리 용기가 정지되고, 상기 유도부는 상기 세척액을 상기 세포분리 용기로 유도하여 상기 원심분리된 줄기세포를 상기 세척액으로 낙하시켜 수집 수용액을 생성하는 단계; 및 (i) 상기 유도부가 상기 수집 수용액을 상기 세포분리 용기로부터 세포 수집부로 유도하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [36] 상기 (c) 단계는 감지부가 상기 세척된 지방조직을 감지할 때까지 이루어지는 것이 바람직하다.
- [37] 상기 (c) 단계에서 감지부가 소정 수준 아래의 농도를 갖는 상기 혈액오염물을

감지할 때까지 상기 (b) 단계 및 상기 (c) 단계가 반복적으로 이루어지는 것이 바람직하다.

- [38] 상기 세포분리 용기는, 회전부에 의해 회전축을 중심으로 회전가능하며, 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출되어 내부에 수집공간부를 형성하는 하우징부; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하는 제 1 출입관; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하며, 내부 종단이 수집공간부 내에 위치되도록 구부러진 제 2 출입관; 및 상기 하우징부의 내면으로부터 돌출된 복수 개의 교반 날개부들을 포함하는 것이 바람직하다.
- [39] 상기 제 1 출입관은 상기 (a) 단계, 상기 (b) 단계, 상기 (c) 단계, 상기 (d) 단계, 상기 (f) 단계 및 상기 (i) 단계에서 이용되고, 상기 제 2 출입관은 상기 (e) 단계, 상기 (g) 단계 및 상기 (h) 단계에서 이용하는 것이 바람직하다.
- [40] 상기 (e) 단계에서, 상기 소화된 지방조직과 상기 1차 수용액은 상기 수집공간부 내에서 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되고, 상기 (g) 단계에서, 상기 줄기세포가 분리된 2차 수용액 및 상기 줄기세포는 상기 수집공간부 내에서 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 것이 바람직하다.

발명의 효과

- [41] 본 발명에 따른 세포분리 용기는 수집공간부를 갖는 1개의 하우징부만으로도 2개의 하우징부와 같은 효과를 구현하므로, 지방조직으로부터 줄기세포의 분리, 분리된 줄기세포의 세척 및 추출을 효율적으로 구현하고, 장치에 따른 비용을 절감하는 효과를 갖는다.
- [42] 본 발명에 따른 세포분리 시스템 및 세포분리 방법은, 소모품인 세포분리 용기의 사용을 감소시키면서, 간단한 구성으로 줄기세포를 추출하는 효과와, 제어부의 조작만으로 지방조직으로부터 줄기세포를 추출함으로써, 줄기세포 분리 시간 및 비용을 절감하는 효과를 갖는다.

도면의 간단한 설명

- [43] 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 시스템을 도시하는 도면이다.
- [44] 도 2는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 용기를 도시하는 단면도이다.
- [45] 도 3은 도 2에 도시된 세포분리 용기를 선 B-B'을 따라 취하여 도시하는 단면도이다.
- [46] 도 4는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 방법을 도시하는 흐름도이다.
- [47] 도 5 내지 도 13은 도 4에 도시된 세포분리 방법에 대응하는 세포분리 시스템의 상태를 도시하는 도면들이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [48] 이하 본 발명의 바람직한 실시예를 첨부된 도면을 참조하여 상세히 설명하면 다음과 같다. 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지기능 혹은 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [49] 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 시스템(100)을 도시하는 도면이고, 도 2는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 용기(102)를 도시하는 단면도이고, 도 3은 도 2에 도시된 세포분리 용기(102)를 선 B-B'을 따라 취하여 도시하는 단면도이다.
- [50] 도 1 내지 도 3에 도시된 바와 같이, 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 시스템(100)은 저장부(101), 세포분리 용기(102), 회전부(120), 폐기물 저장부(103), 세포 수집부(104), 연결부, 및 유도부(106)를 포함하고, 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하여 추출하는 데에 이용된다. 여기서, 지방조직은 지방흡입술을 이용하여 추출한 지방조직을 의미하고, 세척액은 생리식염수, 인산완충식염수, 하트만 용액 등을 의미하며, 효소는 콜라게나제, 트립신 등을 의미하고 세척액에 용해된 상태로 이용된다. 또한, 세포분리 시스템(100)은 전체적으로 밀폐된 상태로 유지되고, 무균상태이다. 이로 인해, 지방조직으로부터의 줄기세포 분리 및 추출이 안정적으로 이루어질 수 있다.
- [51] 저장부(101)는 줄기세포를 추출하는 데에 이용되는 지방조직, 세척액 및 효소를 저장한다. 여기서, 저장부(101)는 지방조직을 저장하는 지방조직 저장부(111), 세척액을 저장하는 세척액 저장부(113), 및 효소를 저장하는 효소 저장부(115)를 포함한다. 또한, 지방조직 저장부(111) 및 효소 저장부(115)는 주사기 형태로 이루어질 수 있다. 이로 인해, 지방조직과 효소는 지방조직 저장부(111) 및 효소 저장부(115)에 의해 공급량이 조절될 수 있다.
- [52] 또한, 효소 저장부(115)는 별도의 온도 조절부(115a)에 결합되어, 온도 조절부(115a)에 의해 일정한 온도, 예를 들어 35°C 내지 40°C로 유지된다. 이로 인해, 효소도 일정한 온도로 유지될 수 있다. 상기의 온도범위에서 효소는 원활하게 반응할 수 있다.
- [53] 세포분리 용기(102)는 저장부(101)에 연결된다. 즉, 지방조직 저장부(111), 세척액 저장부(113) 및 효소 저장부(115)는 세포분리 용기(102)에 연결된다. 또한, 세포분리 용기(102)는 저장부(101)로부터 지방조직, 세척액 및 효소를 공급받는다. 이때, 세포분리 용기(102)는 회전축(A)을 중심으로 회전가능하고, 세포분리 용기(102)가 회전함에 따라 세포분리 용기(102)의 내부에서는 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리가 이루어진다.
- [54] 세포분리 용기(102)는, 하우징부(121), 제 1 출입관(122), 제 2 출입관(123), 교반 날개부(124)들 및 공기 배출부(125)를 포함하고, 지방조직, 세척액 및 효소 등을 공급받아 교반 및 원심분리를 통해, 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는

데에 이용된다. 세포분리 용기(102)는 외부의 장치와 연결되는 부분을 제외하고는 폐쇄된 상태로 유지되고, 무균상태를 유지한다. 또한, 최종적으로 분리된 줄기세포는 배양되어 필요에 따라 이용될 수 있다.

[55] 하우정부(121)는 하부에 위치한 회전부(120)에 결합되어 회전부(120)에 의해 회전축(A)을 중심으로 회전가능하다. 지방조직, 세척액 및 효소 등이 하우정부(121)의 내부에 공급된다. 한편, 하우정부(121)의 하부는 곡면으로 이루어진다. 이때, 하우정부(121)의 하부는 하측으로 갈수록 점점 작아지는 횡단면을 갖는다. 이로 인해, 하우정부(121)의 내부에 공급된 지방조직, 세척액 및 효소 등이 하우정부(101)의 하부에서 안정적으로 수집될 수 있다.

[56] 또한, 하우정부(121)의 내부에는 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출된 수집공간부(121a)가 형성된다.

[57] 제 1 출입관(122)은 관 형태로 이루어지고, 회전축(A) 방향을 따라 하우정부(121)의 내부에 삽입되며, 하우정부(121)의 바닥면에 근접하도록 삽입되는 것이 바람직하다. 이때, 하우정부(121)의 내부와 외부는 제 1 출입관(122)을 통해 연결된다. 지방조직, 세척액 및 효소 등은 제 1 출입관(122)을 통해 하우정부(121)의 내부에 공급된다. 또한, 하우정부(121)가 회전축(A)을 중심으로 회전하는 경우에, 제 1 출입관(122)은 회전하지 않으며, 하우정부(121)의 내부에서 지방조직, 세척액 및 효소 등의 교반이 이루어지고, 생성된 생성물은 필요에 따라 제 1 출입관(122)을 통해 하우정부(121)의 내부로부터 배출될 수 있다. 또한, 제 1 출입관(122)은 연결부의 제 1 분리 연결부(155a)에 연결된다.

[58] 제 2 출입관(123)은 제 1 출입관(122)과 마찬가지로 관 형태로 이루어지고, 회전축(A) 방향을 따라 하우정부(121)의 내부에 삽입된다. 이때, 하우정부(121)의 내부와 외부는 제 2 출입관(123)을 통해 연결된다. 특히, 제 2 출입관(123)은 내부종단(123a)이 수집공간부(121a) 내에 위치되도록 구부러진다. 이로 인해, 하우정부(121)의 회전시 원심력에 의해 수집공간부(121a)에 유입되어 수용되는 생성물은 제 2 출입관(123)을 통해 하우정부(121)의 외부로 배출될 수 있다. 또한, 제 2 출입관(123)도 연결부의 제 1 분리 연결관(155b)에 연결된다.

[59] 특히, 하우정부(121)가 회전하더라도, 제 2 출입관(123)은 제 1 출입관(122)과 함께 고정된 상태로 유지된다. 이로 인해, 제 1 출입관(122)과 제 2 출입관(123)에 연결된 호스는 하우정부(121)의 회전에 영향을 받지 않고 제 1 출입관(122)과 제 2 출입관(123)에 연결된 상태로 유지되고, 제 1 출입관(122)과 제 2 출입관(123)을 통한 지방조직, 세척액, 효소, 폐기물 및 줄기세포 등의 공급 및 배출이 안정적으로 이루어질 수 있다.

[60] 교반 날개부(124)들은 복수 개로 이루어지고, 하우정부(121)의 내면으로부터 돌출된다. 하우정부(121)가 회전할 때, 교반 날개부(124)들도 회전축(A) 주위를 회전한다. 이로 인해, 지방조직, 세척액 및 효소 등은 하우정부(121)의 내부에서 실질적으로 효율적으로 교반이 이루어져 상호 간에 반응하게 된다.

- [61] 한편, 교반 날개부(124)들은 도 3에 도시된 바와 같이 하우징부(121)의 하부에서 제 1 출입관(122)을 중심으로 배열될 수 있다. 이로 인해, 지방조직, 세척액 및 효소 등이 적은 양으로 하우징부(121)에 공급되더라도, 교반 날개부(124)들에 의해 안정적으로 교반될 수 있다.
- [62] 또한, 교반 날개부(124)에는 복수 개의 관통홀(124a)들이 형성된다. 이로 인해, 교반 날개부(124)의 회전에 따른 저항이 감소되고, 관통홀(124a)을 통한 지방조직, 세척액 또는 효소의 유동이 이루어져 교반효율이 향상된다.
- [63] 공기 배출부(125)는 하우징부(121)의 상면에 설치되어 하우징부(121)의 내부와 외부를 연결한다. 이로 인해, 하우징부(121)의 내부 압력은 공기 배출부(125)를 통해 조절되어 일정하게 유지된다. 또한, 공기 배출부(125)는 여과기능을 갖는다. 이로 인해, 공기 배출부(125)에 의해 이물질이 하우징부(121)의 내부로 유입되지 않아, 하우징부(121)의 내부는 공기 배출부(125)에 의해 무균상태로 유지될 수 있다.
- [64] 상기와 같은 세포분리 용기(102)는 획득하고자 하는 줄기세포의 양에 상응하는 크기를 가질 수 있다. 이로 인해, 획득하고자 하는 줄기세포에 상응하는 양의 지방조직이 세포분리 용기(102)에 공급되고, 세포분리 용기(102)는 지방조직에 상응하는 양의 세척액 및 효소 등을 공급하여 지방조직으로부터 줄기세포를 분리할 수 있다. 따라서, 본 실시예에 따른 세포분리 용기(102)는 필요한 양, 획득하고자 하는 양만큼의 줄기세포를 한꺼번에 획득할 수 있다.
- [65] 또한, 세포분리 용기(102) 특히 하우징부(121)는 별도의 온도 조절부(102a)에 결합되어, 온도 조절부(102a)에 의해 일정한 온도, 예를 들어 35°C 내지 40°C로 유지된다. 이로 인해, 저장부(101)로부터 공급된 지방조직, 세척액 및 효소도 세포분리 용기(102)에서 일정한 온도로 유지될 수 있다. 상기의 온도 범위에서 지방조직, 세척액 및 효소는 안정적으로 반응할 수 있다.
- [66] 회전부(120)는 세포분리 용기(102)의 하부에 결합되어, 세포분리 용기(102)를 회전축(A)을 중심으로 회전시킨다. 회전부(120)는 모터의 형태로 이루어지고, 세포분리 용기(102)의 회전 속도를 조절하여 세포분리 용기(102)의 내부에서 교반 및 원심분리를 제공한다.
- [67] 폐기물 저장부(103)는 세포분리 용기(102)에 연결된다. 세포분리 용기(102)의 내부에서 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리가 이루어질 때, 생성물이 생성된다. 한편, 본 실시예는 생성물 중에서 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 과정에서 이용되지 않는 성분을 폐기물이라고 한다. 폐기물 저장부(103)는 세포분리 용기(102)로부터 제거된 폐기물을 저장한다.
- [68] 세포 수집부(104)는 세포분리 용기(102)에 연결된다. 세포분리 용기(102)의 내부에서 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리가 이루어질 때, 최종적으로는 세포분리 용기(102)의 내부에서는 지방조직으로부터 분리된 줄기세포가 획득된다. 줄기세포는 세포 수집부(104)에 수집되고, 세포 수집부(104)에서 배양된다. 여기서, 세포 수집부(104)는 주사기 형태로 이루어질

수 있다.

- [69] 또한, 세포 여과부(104a)가 세포 수집부(104)에 인접하게 설치된다. 줄기세포는 세포 여과부(104a)를 통과한 후에 세포 수집부(104)에 수집된다. 이로 인해, 정제되어 순도 높은 줄기세포가 세포 수집부(104)에 저장되어 배양될 수 있다.
- [70] 연결부는 호스 형태로 이루어질 수 있고, 세포분리 용기(102)가 연결부에 의해 저장부(101), 폐기물 저장부(103), 및 세포 수집부(104)에 연결된다. 즉, 연결부는 세포분리 용기(102)와 저장부(101) 사이, 세포분리 용기(102)와 폐기물 저장부(103) 사이, 및 세포분리 용기(102)와 세포 수집부(104) 사이의 연결 통로로서 기능을 한다. 이로 인해, 지방조직, 세척액 및 효소는 저장부(101)로부터 연결부를 따라 세포분리 용기(102)로 공급될 수 있고, 세포분리 용기(102)의 내부의 폐기물은 세포분리 용기(102)로부터 연결부를 따라 폐기물 저장부(103)로 공급될 수 있으며, 세포분리 용기(102)의 내부에서 분리된 줄기세포는 세포분리 용기(102)로부터 연결부를 따라 세포 수집부(104)로 수집될 수 있다.
- [71] 유도부(106)는 펌프 형태로 이루어질 수 있으며, 연결부와 연결된다. 유도부(106)는 지방조직, 세척액 및 효소를 각각 연결부를 따라 저장부(101), 즉 지방조직 저장부(111), 세척액 저장부(113) 및 효소 저장부(115)로부터 세포분리 용기(102)로 유도하고, 폐기물을 연결부를 따라 세포분리 용기(102)로부터 폐기물 저장부(103)로 유도하며, 줄기세포를 연결부를 따라 세포분리 용기(102)로부터 세포 수집부(104)로 유도한다.
- [72] 상기와 같이 유도부(106)는 지방조직, 세척액, 효소, 폐기물 및 줄기세포의 유도 방향을 조절하기 위하여 구동되고, 지방조직, 세척액, 효소, 폐기물 및 줄기세포의 흡입을 구현한다.
- [73] 연결부는 공유 연결관(105), 지방조직 연결관(151), 세척액 연결관(152), 효소 연결관(153), 폐기물 연결관(154), 분리 연결관(155) 및 수집 연결관(156)을 포함한다. 공유 연결관(105)은 항상 개방된 상태로 유지되면서 지방조직 저장부(111)가 유도부(106)와 연결되도록 지방조직 연결관(151)과 연결되고, 세척액 저장부(113)가 유도부(106)와 연결되도록 세척액 연결관(152)과 연결되며, 효소 저장부(115)가 유도부(106)와 연결되도록 효소 연결관(153)과 연결되고, 폐기물 저장부(103)가 유도부(106)와 연결되도록 폐기물 연결관(154)와 연결되며, 세포 수집부(104)가 유도부(106)와 연결되도록 수집 연결관(156)과 연결된다. 분리 연결관(155)은 세포분리 용기(102)와 유도부(106)를 연결시킨다. 분리 연결관(155)은 세포분리 용기(102)의 제 1 출입관(122)과 유도부(106)를 연결하는 제 1 분리 연결관(155a), 및 세포분리 용기(102)의 제 2 출입관(123)과 유도부(106)를 연결하는 제 2 분리 연결관(155b)으로 이루어진다.
- [74] 상기와 같은 연결부의 구성으로 인해, 지방조직은 지방조직 저장부(111)에 저장되었다가 지방조직 연결관(151), 공유 연결관(105), 유도부(106) 및 분리

연결관(155)을 통과하여 세포분리 용기(102)에 공급되고, 세척액은 세척액 저장부(113)에 저장되었다가 지방조직 연결관(152), 공유 연결관(105), 유도부(106) 및 분리 연결관(155)을 통과하여 세포분리 용기(102)에 공급되며, 효소는 효소 저장부(115)에 저장되었다가 효소 연결관(153), 공유 연결관(105), 유도부(106) 및 분리 연결관(155)을 통과하여 세포분리 용기(102)에 공급된다. 한편, 폐기물은 세포분리 용기(102)의 내부에서 생성된 후에 분리 연결관(155), 유도부(106), 공유 연결관(105) 및 폐기물 연결관(154)을 통과하여 폐기물 저장부(103)에 공급되어 저장되고, 줄기세포는 세포분리 용기(102)의 내부에서 지방조직으로부터 분리된 후에 분리 연결관(155), 유도부(106), 공유 연결관(105) 및 수집 연결관(156)을 통과하여 세포 수집부(104)에 수집되어 배양될 수 있다.

[75] 상기와 같은 구성을 이용하여, 지방조직은 세척액에 의해 세척되고, 효소에 의해 소화된다. 이로 인해, 줄기세포만이 분리되고 추출되어, 세포 수집부(104)에 수집되어 배양된다.

[76] 한편, 상기와 같은 세포분리 시스템(100)은 감지부(107), 조절부(108) 및 제어부(109)를 더 포함한다.

[77] 감지부(107)는 세포분리 용기(102)와 유도부(106) 사이의 분리 연결관(155) 상에 설치되어, 분리 연결관(155)의 내부를 감지한다. 이때, 감지부(107)는 센서, 특히 광센서의 형태로 이루어지고, 유도부(106)에 의해 유도되는 지방조직, 세척액, 효소, 폐기물, 및 줄기세포가 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하여 추출하는 과정에서 적절하게 유도되는지 확인하는 데에 이용된다. 특히, 감지부(107)는 유도부(106)에 의해 세포분리 용기(102)로부터 유도되는 폐기물을 감지하여, 지방조직의 세척 상태를 확인하거나 폐기물의 유도 정도를 확인한다. 예를 들어, 감지부(107)는 폐기물인, 혈액오염물의 색상 변화를 감지함으로써, 혈액오염물의 농도가 소정 수준 아래인지를 감지한다. 혈액오염물은 지방조직이 세척액에 의해 세척될 때 생성되는 폐기물이다. 이러한 혈액오염물의 농도가 소정 수준 아래일 때, 지방조직이 세척액에 충분히 세척되어 이후의 단계에 이용될 수 있다.

[78] 조절부(108)는 연결부 상에 설치되어 연결부의 각 연결부를 개폐시킨다. 유도부(106)에 의해 연결부를 따라 지방조직, 세척액, 효소, 폐기물, 및 줄기세포가 유도되는 과정에서, 지방조직, 세척액, 효소, 폐기물, 및 줄기세포가 유도되지 않는 연결부는 조절부(108)에 의해 폐쇄된다. 즉, 조절부(108)는 지방조직, 세척액, 효소, 생성물 및 줄기세포의 유도 과정에서 지방조직, 세척액, 효소, 폐기물, 및 줄기세포가 유도부(106)에 의해 불필요하게 유도되는 것을 방지한다.

[79] 한편, 조절부(108)는 지방조직 연결관(151) 상에 설치되는 지방조직 조절부(181), 세척액 연결관(152) 상에 설치되는 세척액 조절부(182), 효소 연결관(153) 상에 설치되는 효소 조절부(183), 폐기물 연결관(154) 상에 설치되는 폐기물 조절부(184), 분리 연결관(155) 상에 설치되는 분리 조절부(185), 및 수집

연결관(156) 상에 설치되는 수집 조절부(186)로 이루어진다. 특히, 분리 조절부(185)는 제 1 분리 연결관(155a) 상에 설치되는 제 1 분리 조절부(185a) 및 제 2 분리 연결관(155b) 상에 설치되는 제 2 분리 조절부(185b)로 이루어진다. 일반적으로 제 1 분리 조절부(185a)와 제 2 분리 조절부(185b)는 상반되게 작동된다.

[80] 또한, 수집 연결관(156) 상에서 수집 조절부(186)와 세포 수집부(104) 사이에는 세포 여과부(104a)가 설치된다.

[81] 상기에 나열된 조절부들(181 내지 186)은 카세트타입(cassette type)으로 제작될 수 있다. 이때, 조절부들(181 내지 186)은 정해진 위치에 배치되어 있다. 카세트타입으로 이루어진 조절부들(181 내지 186)이 세포분리 시스템(100)에 배치되고, 연결부가 조절부들(181 내지 186)에 대응하도록 결합된다. 이로 인해, 연결부는 엉키지 않는 상태로 손쉽게 저장부(101), 세포분리 용기(102), 폐기물 저장부(103) 및 세포 수집부(104)에 연결될 수 있다. 또한, 조절부들(181 내지 186)은 벨브 또는 캠 방식으로 이루어진다.

[82] 예를 들어, 지방조직 조절부(181)는 지방조직 연결관(151)을 개방시키고 용기 조절부(185)는 분리 연결관(155)을 개방시키는(예를 들어, 제 1 분리 조절부(185a)는 제 1 분리 연결관(155a)을 개방시키고 제 2 분리 조절부(185b)는 제 2 분리 연결관(155b)을 폐쇄시킨다) 반면에, 세척액 조절부(182)는 세척액 연결관(152)을 폐쇄시키고 효소 조절부(183)는 효소 연결관(153)을 폐쇄시키며 폐기물 조절부(184)는 폐기물 연결관(154)을 폐쇄시키고 수집 조절부(186)는 수집 연결관(156)을 폐쇄시킨다. 이때, 유도부(106)가 작동하면, 지방조직 저장부(111)에 저장된 지방조직이 세포분리 용기(102)에 공급된다. 즉, 지방조직 저장부(111)는 개방된 지방조직 연결관(151), 공유 연결관(105) 및 분리 연결관(155)(예를 들어, 제 1 분리 연결관(155a))을 통해 세포분리 용기(102)에 연결되고, 지방조직은 유도부(106)에 의해 개방된 지방조직 연결관(151), 공유 연결관(105) 및 분리 연결관(155)을 따라 유도될 수 있다.

[83] 또한, 세척액 조절부(182)는 세척액 연결관(152)을 개방시키고 용기 조절부(185)는 분리 연결관(155)을 개방시키는(예를 들어, 제 1 분리 조절부(185a)는 제 1 분리 연결관(155a)을 개방시키고 제 2 분리 조절부(185b)는 제 2 분리 연결관(155b)을 폐쇄시킨다) 반면에, 지방조직 조절부(181)는 지방조직 연결관(151)을 폐쇄시키고 효소 조절부(183)는 효소 연결관(153)을 폐쇄시키며 폐기물 조절부(184)는 폐기물 연결관(154)을 폐쇄시키고 수집 조절부(186)는 수집 연결관(156)을 폐쇄시킨다. 이때, 유도부(106)가 작동하면, 세척액 저장부(113)에 저장된 세척액이 세포분리 용기(102)에 공급된다. 즉, 세척액 저장부(113)는 개방된 세척액 연결관(152), 공유 연결관(105) 및 분리 연결관(155)(예를 들어, 제 1 분리 연결관(155a))을 통해 세포분리 용기(102)에 연결되고, 세척액은 유도부(106)에 의해 개방된 세척액 연결관(152), 공유 연결관(105) 및 분리 연결관(155)을 따라 유도될 수 있다.

- [84] 또한, 효소 조절부(183)는 효소 연결관(153)을 개방시키고 용기 조절부(185)는 분리 연결관(155)을 개방시키는(예를 들어, 제 1 분리 조절부(185a)는 제 1 분리 연결관(155a)을 개방시키고 제 2 분리 조절부(185b)는 제 2 분리 연결관(155b)을 폐쇄시킨다) 반면에, 지방조직 조절부(181)는 지방조직 연결관(151)을 폐쇄시키고 세척액 조절부(182)는 세척액 연결관(152)을 폐쇄시키며 폐기물 조절부(184)는 폐기물 연결관(154)을 폐쇄시키고 수집 조절부(186)는 수집 연결관(156)을 폐쇄시킨다. 이때, 유도부(106)가 작동하면, 효소 저장부(115)에 저장된 효소가 세포분리 용기(102)에 공급된다. 즉, 효소 저장부(115)는 개방된 효소 연결관(153), 공유 연결관(105) 및 분리 연결관(155)(예를 들어, 제 1 분리 연결관(155a))을 통해 세포분리 용기(102)에 연결되고, 효소는 유도부(106)에 의해 개방된 효소 연결관(153), 공유 연결관(105) 및 분리 연결관(155)을 따라 유도될 수 있다.
- [85] 또한, 폐기물 조절부(184)는 폐기물 연결관(154)을 개방시키고 용기 조절부(185)는 분리 연결관(155)을 개방시키는(예를 들어, 제 1 분리 조절부(185a) 및 제 2 분리 조절부(185b) 중 어느 하나가 대응되는 제 1 분리 연결관(155a) 및 제 2 분리 연결관(155b) 중 하나를 개방시키고 제 1 분리 조절부(185a) 및 제 2 분리 조절부(185b) 중 나머지 하나가 대응되는 제 1 분리 연결관(155a) 및 제 2 분리 연결관(155b) 중 나머지 하나를 폐쇄시킨다) 반면에, 지방조직 조절부(181)는 지방조직 연결관(151)을 폐쇄시키고 세척액 조절부(182)는 세척액 연결관(152)을 폐쇄시키며 효소 조절부(183)는 효소 연결관(153)을 폐쇄시키고 수집 조절부(186)는 수집 연결관(156)을 폐쇄시킨다. 이때, 유도부(106)가 작동하면, 세포분리 용기(102)에서 생성된 폐기물이 폐기물 저장부(103)에 공급된다. 즉, 세포분리 용기(102)는 개방된 분리 연결관(155), 공유 연결관(105) 및 폐기물 연결관(154)을 통해 폐기물 저장부(103)에 연결되고, 폐기물은 유도부(106)에 의해 개방된 분리 연결관(155), 공유 연결관(105) 및 폐기물 연결관(154)을 따라 유도될 수 있다.
- [86] 또한, 수집 조절부(186)는 수집 연결관(154)을 개방시키고 용기 조절부(185)는 분리 연결관(155)을 개방시키는 반면에, 지방조직 조절부(181)는 지방조직 연결관(151)을 폐쇄시키고 세척액 조절부(182)는 세척액 연결관(152)을 폐쇄시키며 효소 조절부(183)는 효소 연결관(153)을 폐쇄시키고 폐기물 조절부(184)는 폐기물 연결관(154)을 폐쇄시킨다. 이때, 유도부(106)가 작동하면, 세포분리 용기(102)에서 지방조직으로부터 분리된 줄기세포가 세포 수집부(104)에 수집된다. 즉, 세포분리 용기(102)는 개방된 분리 연결관(155), 공유 연결관(105) 및 수집 연결관(156)을 통해 세포 수집부(104)에 연결되고, 줄기세포는 유도부(106)에 의해 개방된 분리 연결관(155), 공유 연결관(105) 및 수집 연결관(156)을 따라 유도될 수 있다.
- [87] 한편, 상기의 분리 연결관(155)은 용기 조절부(185)에 의해 항상 개방된 상태로 유지된다. 즉, 제 1 분리 연결관(155a) 및 제 2 분리 연결관(155b) 중 적어도

하나는 개방된 상태이다. 하지만, 세포분리 용기(102)로부터 폐기물 저장부(103)로 유도될 필요가 없는 물질이 분리 연결관(155)으로 유도될 때, 분리 조절부(185)는 분리 연결관(155)을 폐쇄시켜, 세포분리 용기(102)로부터 폐기물 저장부(103)로 유도될 필요가 없는 성분이 세포분리 용기(102)로부터 배출되는 것을 방지할 수 있다.

- [88] 제어부(109)는 회전부(120), 유도부(106) 및 조절부(108)에 연결된다. 제어부(109)는 유도부(106)를 구동시키고, 조절부(108)에 의한 연결부의 개폐를 구현하도록 조작된다. 이로 인해, 지방조직, 세척액, 효소, 폐기물 및 줄기세포가 연결부를 따라 유도된다. 특히, 제어부(109)는 회전부(120)를 작동시켜 세포분리 용기(102)가 회전되어 세포분리 용기(102)의 내부에 공급된 지방조직, 세척액 및 효소 등이 교반 및 원심분리되도록 조작된다. 이로 인해, 제어부(109)에 의한 간단한 조작으로 인해, 줄기세포가 지방조직으로부터 분리될 수 있다.
- [89] 한편, 제어부(109)는 일반적으로 디스플레이 및 복수 개의 버튼들로 이루어진 상태로 조작된다. 사용자는 디스플레이를 통해 세포분리 시스템(100)의 상태를 확인하고 버튼들을 통해 세포분리 시스템(100)을 조작한다.
- [90] 도 4는 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 방법을 도시하는 흐름도이고, 도 5 내지 도 13은 도 4에 도시된 세포분리 방법에 대응하는 세포분리 시스템(100)의 상태를 도시하는 도면들이다.
- [91] 도 4 내지 도 13에 도시된 바와 같이, 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 방법은 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하여 추출하는 방법으로써, 상기에 서술된 세포분리 시스템(100)을 이용하기로 한다.
- [92] 우선, 세포분리 용기(102)가 지방조직 저장부(111)로부터 지방조직을 공급받는 단계(S101)가 이루어진다(도 5를 참조). S101 단계에서, 지방조직 연결관(151)은 지방조직 조절부(181)에 의해 개방되고 분리 연결관(155)은 분리 조절부(185)에 의해 개방되며, 세척액 연결관(152)은 세척액 조절부(182)에 의해 폐쇄되고 효소 연결관(153)은 효소 조절부(183)에 의해 폐쇄되며 폐기물 연결관(154)은 폐기물 조절부(184)에 의해 폐쇄되고 수집 연결관(156)은 수집 조절부(186)에 의해 폐쇄된다. 특히, 분리 조절부(185)에서는 제 1 분리 조절부(185a)만이 세포분리 용기(102)의 제 1 출입관(122)에 연결된 제 1 분리 연결관(155a)을 개방시키고, 제 2 분리 조절부(185b)는 세포분리 용기(102)의 제 2 출입관(123)에 연결된 제 2 분리 연결관(155a)을 개방시킨다.
- [93] 유도부(106)는 저장부(101)의 지방조직 저장부(111)에 저장된 지방조직을 지방조직 연결관(151), 공유 연결관(105) 및 제 1 분리 연결관(155a)을 따라 유도하여 세포분리 용기(102)에 공급한다. 이때, 지방조직은 세포분리 용기(102)의 제 1 출입관(122)을 통과하여 하우징부(121)에 위치된다.
- [94] 다음으로, 세포분리 용기(102)가 세척액 저장부(113)으로부터 세척액을 공급받고 회전부(120)에 의해 회전되어 세척액을 지방조직과 교반하는 단계(S102)가 이루어진다(도 6을 참조). S102 단계에서, 세척액 연결관(152)은

세척액 조절부(182)에 의해 개방되고 지방조직 연결관(151)은 지방조직 조절부(181)에 의해 폐쇄된다는 점을 제외하고는 S101 단계와 유사한 상태이다. 이때, 유도부(106)는 저장부(101)의 세척액 저장부(113)에 저장된 세척액을 세척액 연결관(152), 공유 연결관(105) 및 제 1 분리 연결관(155a)을 따라 유도하여 세포분리 용기(102)에 공급한다. 이때, 세척액은 세포분리 용기(102)의 제 1 출입관(123)을 통과하고, 지방조직의 양 이상으로 공급된다.

[95] 또한, 세포분리 용기(102)가 회전부(120)에 의해 회전하고 정지되는 것이 반복된다. 이때, 세척액과 지방조직은 세포분리 용기(102)의 내부에서 교반 날개부(124)들에 의해 교반되면서, 지방조직은 세척액에 의해 세척되고, 세포분리 용기(102)에서 세척된 지방조직과 생성물인 혈액오염물이 생성된다. 충분히 지방조직이 세척된 이후에, 세포분리 용기(102)의 회전이 회전부(120)에 의해 정지되면, 세척된 지방조직과 혈액오염물은 상이한 밀도를 갖기에 중력에 의해 분리된다. 이로 인해, 혈액오염물은 세포분리 용기(102)에 가라앉아 하부층을 형성하고, 세척된 지방조직은 혈액 오염물 상에 부유하여 상부층을 형성한다. 이때, 혈액오염물은 세척액에 혈액뿐만 아니라 체액도 포함한 상태이다.

[96] 다음으로, 유도부(106)가 폐기물인 혈액오염물을 세포분리 용기(102)로부터 폐기물 저장부(103)로 유도하는 단계(S103)가 이루어진다(도 7을 참조). 즉, S103 단계는 세척액 연결부(142)가 세척액 조절부(172)에 의해 폐쇄되고 폐기물 연결부(144)가 폐기물 조절부(174)에 의해 개방된다는 점을 제외하고는 S102 단계와 유사하다. 이때, 유도부(106)는 세포분리 용기(102)의 혈액오염물을 제 1 분리 연결관(155a), 공유 연결관(105) 및 폐기물 연결관(154)을 따라 유도하여 폐기물 저장부(103)에 공급한다. 이때, 혈액오염물은 세포분리 용기(102)의 제 1 출입관(122)을 통과한다. 즉, S103 단계는 단계 S102 단계에서 생성된 생성물 중 폐기물인 혈액오염물을 제거한다.

[97] S103 단계에서, 분리 연결관(155) 상에 설치된 감지부(107)가 유도부(106)에 의해 세포분리 용기(102)로부터 배출되어 제거되는 혈액오염물의 농도를 감지한다. 제거되는 혈액오염물은 일반적으로 체액 또는 혈액으로 인해 적색을 띠고, 세척된 지방조직은 황색을 띤다. 이로 인해, S103 단계에서 감지부(107)가 황색인 세척된 지방조직을 감지하면, 유도부(106)가 정지되면서 제 1 분리 조절부(185a)가 제 1 분리 연결관(155a)을 폐쇄시킨다. 즉, S103 단계는 감지부(107)가 황색을 띠는 지방조직을 감지할 때까지 이루어진다. 이로 인해, 세척된 지방조직이 세포분리 용기(102)로부터 배출되는 것이 방지될 수 있다.

[98] 또한, 혈액오염물이 유도부(106)에 의해 유도될 때, 감지부(107)가 폐기물인 혈액오염물의 농도를 감지한다. 이때, 감지부(107)가 혈액 오염물의 농도가 소정 수준 아래로 내려간 것으로 감지하면, 다음 단계가 이루어지지만, 그렇지 않으면, S103 단계가 완료된 이후에 S102 단계가 반복적으로 이루어진다. 상기와 같은 S102 단계와 S103 단계의 반복은 감지부(107)가 소정 수준 아래로 내려간

상태를 감지할 때까지 이루어진다. 이로 인해, 지방조직은 세척액에 의해 충분히 세척될 수 있다.

[99] 다음으로, 세포분리 용기(102)가 효소 저장부(115)로부터 효소를 공급받고 회전부(120)에 의해 회전되어 효소를 세척된 지방조직과 교반하는 단계(S104)가 이루어진다(도 8을 참조). S104 단계는 세척액 연결관(152)이 세척액 조절부(182)에 의해 폐쇄되고 효소 연결관(153)이 효소 조절부(183)에 의해 개방된다는 점을 제외하고는 S102 단계와 유사하다. 이때, 유도부(106)는 저장부(101)의 효소 저장부(115)에 저장된 효소를 효소 연결관(153), 공유 연결관(105) 및 제 1 분리 연결관(155a)을 따라 유도하여 세포분리 용기(102)에 공급한다. 이때, 효소는 세포분리 용기(102)의 제 1 출입관(123)을 통과하여, 세포분리 용기(102)의 하우징부(121)에 공급된다.

[100] 또한, 세포분리 용기(102)가 회전부(120)에 의해 회전하고 정지되는 것이 반복된다. 이때, 효소와 세척된 지방조직은 세포분리 용기(102)에서 교반 날개부(124)들에 의해 교반되면서, 지방조직은 효소에 의해 소화된다. 이로 인해, 하우징부(101)에서는 소화된 지방조직과 1차 수용액이 생성된다. 충분히 지방조직이 소화된 이후에, 세포분리 용기(102)가 회전부(120)에 정지되면, 소화된 지방조직과 1차 수용액은 상이한 밀도를 갖기에 중력에 의해 분리된다. 이로 인해, 세포분리 용기(102)에서 1차 수용액은 가라앉아 하부층을 형성하고, 소화된 지방조직은 1차 수용액 상에 부유하여 상부층을 형성한다. 이때, 1차 수용액은 줄기세포와 효소를 포함하고 있다.

[101] 다음으로, 세포분리 용기(102)가 회전부(102a)에 의해 회전되어, 소화된 지방조직과 1차 수용액을 원심분리하고, 유도부(106)가 소화된 지방조직을 세포분리 용기(102)로부터 폐기물 저장부(103)로 유도하는 단계(S105)가 이루어진다(도 9를 참조). S105 단계에서, 세포분리 용기(102)의 내부에서는 원심분리가 이루어진다. 이때, 소화된 지방조직과 1차 수용액은 회전부(102a)에 의한 원심력에 의해 하우징부(121)의 수집공간부(121a)로 유도된다. 이때, 소화된 지방조직과 1차 수용액은 상이한 밀도를 갖기에 원심력에 의해 분리된 상태로 유지된다. 이로 인해, 1차 수용액은 수집공간부(121a)의 내측면에 위치되어 외부층을 형성하고, 소화된 지방조직은 1차 수용액의 내측에 위치되어 내부층을 형성한다.

[102] 이때, 제 2 출입관(123)의 내부 종단(124a)은 소화된 지방조직에 접한 상태이기에, 소화된 지방조직은 제 2 출입관(123)을 통해 세포분리 용기(102)로부터 폐기물 저장부(104)로 유도가능한 상태이다. 이를 위하여, 효소 연결관(153)이 효소 조절부(183)에 의해 폐쇄되고 제 2 분리 연결관(155b)이 제 2 분리 조절부(185b)이 제 2 분리 조절부(185b)에 의해 개방되며 제 1 분리 연결관(155a)이 제 1 분리 조절부(185a)에 의해 폐쇄되며 폐기물 연결관(154)이 폐기물 조절부(184)에 의해 개방된다는 점을 제외하고는 S104 단계와 유사하다. 이때, 유도부(106)는 세포분리 용기(102)의 소화된 지방조직을 제 2 분리

연결관(155b), 공유 연결관(105) 및 폐기물 연결관(154)을 따라 유도하여 폐기물 저장부(103)에 공급한다. 이때, 소화된 지방조직은 세포분리 용기(102)의 제 2 출입관(123)을 통과하여 하우정부(121)로부터 배출된다.

[103] S105 단계에서, 분리 연결관(155) 상에 설치된 감지부(107)가 유도부(106)에 의해 세포분리 용기(102)로부터 배출되어 제거되는 소화된 지방조직을 감지한다. 제거되는 소화된 지방조직은 일반적으로 황색을 띤다. 이로 인해, S106 단계에서 감지부(107)가 황색인 세척된 지방조직을 감지하지 않으면, 유도부(106)가 정지되고 제 2 분리 연결관(155b)이 제 2 분리 조절부(185b)에 의해 폐쇄된다. 즉, S105 단계는 감지부(107)가 황색인 세척된 지방조직을 감지하면 완료된다.

[104] 다음으로, 세포분리 용기(102)가 세척액 저장부(113)로부터 세척액을 공급받아 회전부(120)에 의해 회전되어 세척액을 1차 수용액과 교반하는 단계(S106)가 이루어진다(도 10을 참조). S106 단계는 세척액 연결관(152)이 세척액 조절부(182)에 의해 개방되고 제 2 분리 연결관(155b)이 제 2 분리 조절부(185b)에 의해 폐쇄되며 제 1 분리 연결관(155a)이 제 1 분리 조절부(185a)에 의해 개방된다는 점을 제외하고는 S105 단계와 유사하다. 이때, 유도부(106)는 저장부(101)의 세척액 저장부(113)에 저장된 세척액을 인해 세척액 연결관(152), 공유 연결관(105) 및 용기 연결관(155), 특히 제 1 용기 연결관(155a)을 따라 유도하여 세포분리 용기(102)에 공급한다. 이때, 세척액은 세포분리 용기(102)의 제 1 출입관(122)을 통과하여 하우정부(121)에 공급된다.

[105] 또한, 세포분리 용기(102)가 회전부(120)에 의해 회전하고 정지되는 것이 반복된다. 이때, 1차 수용액에 포함된 줄기세포가 세척액에 의해 세척된다. 1차 수용액은 세척액과 혼합되어 2차 수용액으로 생성된다. 즉, 2차 수용액은 1차 수용액에 세척액이 혼합된 수용액이다.

[106] 다음으로, 세포분리 용기(102)가 회전부(120)에 의해 회전되어, 2차 수용액으로부터 줄기세포를 원심분리하고, 유도부(106)가 줄기세포가 분리된 2차 수용액을 세포분리 용기(102)로부터 폐기물 저장부(103)로 유도하는 단계(S107)가 이루어진다(도 11을 참조). S107 단계에서, 세포분리 용기(102)의 내부에서는 원심분리가 이루어진다. 이때, 줄기세포와 줄기세포가 분리된 2차 수용액(이하, 나머지 2차 수용액)은 회전부(120)에 의한 원심력에 의해 하우정부(121)의 수집공간부(121a)로 유도된다. 이때, 줄기세포와 나머지 2차 수용액은 상이한 밀도를 갖기에 원심력에 의해 분리된 상태로 유지된다. 이로 인해, 줄기세포는 수집공간부(121a)의 내측면에 위치되어 외부층을 형성하고, 나머지 2차 수용액은 줄기세포의 내측에 위치되어 내부층을 형성한다.

[107] 이때, 제 2 출입관(123)의 내부 중단(123a)은 나머지 2차 수용액에 접한 상태이기에, 줄기세포가 원심분리된 2차 수용액은 제 2 출입관(123)을 통해 세포분리 용기(102)로부터 폐기물 저장부(104)로 유도가능한 상태이다. S107 단계는 세척액 연결관(152)이 세척액 조절부(182)에 의해 폐쇄되고 제 1 분리

연결관(155a)이 제 1 분리 조절부(185a)에 의해 폐쇄되며 제 2 분리 연결관(155b)이 제 2 분리 조절부(185b)에 의해 개방되며 폐기물 연결관(154)이 폐기물 조절부(184)에 의해 개방된다는 점을 제외하고는 S106 단계와 유사하다. 이때, 유도부(106)는 세포분리 용기(102)의 2차 수용액을 제 2 분리 연결관(155b), 공유 연결관(105) 및 폐기물 연결관(154)을 따라 유도하여 폐기물 저장부(103)에 공급한다. 이때, 2차 수용액은 세포분리 용기(102)의 제 2 출입관(123)을 통과하여 배출된다.

[108] 다음으로, 세포분리 용기(102)가 세척액 저장부(113)로부터 세척액을 공급받아 원심분리된 줄기세포를 낙하시켜 수집 수용액을 생성하는 단계(S108)가 이루어진다(도 12를 참조). S108 단계는 세척액 연결관(152)이 세척액 조절부(182)에 의해 개방되고 폐기물 연결관(154)이 폐기물 조절부(184)에 의해 폐쇄된다는 점을 제외하고는 S107 단계와 유사하다. 이때, 유도부(106)는 저장부(101)의 세척액 저장부(113)에 저장된 세척액을 세척액 연결관(152), 공유 연결관(105) 및 제 2 분리 연결관(155b)을 따라 유도하여 세포분리 용기(102)의 내부에 공급한다. 이때, 세척액은 세포분리 용기(102)의 제 2 출입관(124)을 통과하여 세포분리 용기(102)의 하우징부(121)의 수집공간부(121a)에 분사된다. 이로 인해, 줄기세포는 세척액에 의해 낙하하여 세포분리 용기(102)의 하부에 위치하여 수집 수용액으로 생성된다. 이때, 수집 수용액은 줄기세포가 세척액 상에 부유한 상태이다.

[109] 다음으로, 유도부(106)가 수집 수용액을 세포분리 용기(102)로부터 세포 수집부(104)로 유도하는 단계(S109)가 이루어진다(도 13을 참조). S109 단계에서, 제 1 분리 연결관(155a) 및 수집 연결관(156)만이 각각 제 1 분리 조절부(185a) 및 수집 조절부(186)에 의해 개방되고, 나머지 연결관들(151, 152, 153, 154)은 폐쇄된다. 이때, 유도부(106)가 작동하여, 세포분리 용기(102)의 내부에서 수집 수용액은 세포분리 용기(102)로부터 제 1 분리 연결관(155a), 공유 연결관(105) 및 수집 연결관(156)을 따라 세포 수집부(104)에 유도된다. 이때, 수집 수용액은 세포 여과부(104a)를 통과한 후 세포 수집부(104)에 유도된다. 이로 인해, 줄기세포는 정제된 상태로 세포 수집부(104)에 저장되어 배양될 수 있다.

[110] 상기와 같은 시스템 및 방법을 통해 하나의 세포분리 용기(102)에서 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하고, 이에 따른 폐기물을 배출시켜 제거하여, 순도 높은 줄기세포만이 추출된다. 특히, 간단하게 하나의 세포분리 용기(102)만이 이용되기에, 줄기세포의 분리 및 추출에 따른 시간과 비용을 절감할 수 있다.

[111] 이상, 구체적인 실시예에 관해서 설명하였으나, 본 발명의 범위에서 벗어나지 않는 한도 내에서 여러 가지 변형이 가능함은 당해 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명하다 할 것이다.

[112] [부호의 설명]

[113] 100: 세포분리 시스템

- [114] 101: 저장부
- [115] 111: 지방조직 저장부
- [116] 113: 세척액 저장부
- [117] 115: 효소 저장부
- [118] 115a: 온도 조절부
- [119] 102: 세포분리 용기
- [120] 102a: 온도 조절부
- [121] 121: 하우징부
- [122] 121a: 수집공간부
- [123] 122: 제 1 출입관
- [124] 123: 제 2 출입관
- [125] 123a: 내부의 중단
- [126] 124: 교반 날개부
- [127] 124a: 관통홀
- [128] 125: 공기 배출부
- [129] 120: 회전부
- [130] 103: 폐기물 저장부
- [131] 104: 세포 수집부
- [132] 104a: 세포 여과부
- [133] 105: 공유 연결관
- [134] 151: 지방조직 연결관
- [135] 152: 세척액 연결관
- [136] 153: 효소 연결관
- [137] 154: 폐기물 연결관
- [138] 155: 분리 연결관
- [139] 155a: 제 1 분리 연결관
- [140] 155b: 제 2 분리 연결관
- [141] 156: 수집 연결관
- [142] 106: 유도부
- [143] 107: 감지부
- [144] 108: 조절부
- [145] 181: 지방조직 조절부
- [146] 182: 세척액 조절부
- [147] 183: 효소 조절부
- [148] 184: 폐기물 조절부
- [149] 185: 분리 조절부
- [150] 185a: 제 1 분리 조절부
- [151] 185b: 제 2 분리 조절부

- [152] 186: 수집 조절부
- [153] 109: 제어부

청구범위

- [청구항 1] 회전축을 중심으로 회전가능하며, 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출되어 내부에 수집공간부를 형성하는 하우징부;
상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하는 제 1 출입관;
상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하며, 내부의 종단이 수집공간부 내에 위치되도록 구부러진 제 2 출입관; 및
상기 하우징부의 내면으로부터 돌출된 복수 개의 교반 날개부들을 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서,
상기 교반 날개부들은 상기 하우징부의 하부에서 상기 제 1 출입관을 중심으로 배열되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기.
- [청구항 3] 제 1 항에 있어서,
상기 교반 날개부에는 복수 개의 관통홀들이 형성되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기.
- [청구항 4] 제 1 항에 있어서, 상기 세포분리 용기는,
상기 하우징부의 상면에 설치되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하여, 상기 하우징부의 내부 압력을 조절하고 여과기능을 갖는 공기 배출부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기.
- [청구항 5] 제 1 항에 있어서,
상기 하우징부가 상기 회전축을 중심으로 회전할 때, 상기 제 1 출입관 및 상기 제 2 출입관은 고정되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기.
- [청구항 6] 제 1 항에 있어서,
상기 제 1 출입관은 상기 하우징부의 바닥면에 근접하도록 연장되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기.
- [청구항 7] 제 1 항에 있어서,
상기 하우징부는 상기 하우징부의 하부에 연결된 모터에 의해 회전되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기.
- [청구항 8] 제 1 항에 따른 세포분리 용기를 이용하는 세포분리 방법에 있어서,
(a) 상기 하우징부가 지방조직을 상기 제 1 출입관을 통해 공급받는 단계;
(b) 상기 하우징부가 세척액을 상기 제 1 출입관을 통해 공급받고, 회전되어 상기 지방조직 및 상기 세척액을 교반하며, 회전이 정지된 후에 세척된 지방조직과 혈액오염물이 각각 상부층과 하부층으로 분리되는 단계;
(c) 상기 혈액오염물이 상기 제 1 출입관을 통해 상기 하우징부로부터 제거되는 단계;

- (d) 상기 하우징부가 효소를 상기 1 출입관을 통해 공급받고 회전되어 상기 세척된 지방조직과 상기 효소를 교반하며, 회전이 정지된 후에 소화된 지방조직과 1차 수용액이 각각 상부층과 하부층으로 분리되는 단계;
- (e) 상기 하우징부가 회전되어 상기 소화된 지방조직과 상기 1차 수용액이 상기 수집공간부 내에서 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 동안, 상기 소화된 지방조직이 상기 제 2 출입관을 통해 상기 하우징부로부터 제거되는 단계;
- (f) 상기 하우징부가 정지되고, 상기 세척액을 상기 제 1 출입관을 통해 공급받아 상기 1차 수용액과 혼합시켜 2차 수용액을 생성하는 단계;
- (g) 상기 하우징부가 회전되어 줄기세포가 분리된 2차 수용액 및 상기 줄기세포가 상기 수집공간부 내에서 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 동안, 상기 줄기세포가 분리된 2차 수용액이 상기 제 2 출입관을 통해 상기 하우징부로부터 제거되는 단계; 및
- (h) 상기 하우징부가 정지되고, 상기 세척액을 상기 제 2 출입관을 통해 공급받아 상기 줄기세포와 혼합시켜 수집 수용액을 생성하고, 상기 수집 수용액이 상기 제 1 출입관을 통해 상기 하우징부로부터 배출되는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 방법.

[청구항 9]

지방조직, 세척액 및 효소를 분리된 상태로 저장하는 저장부;
 상기 저장부에 연결되어 상기 저장부로부터 지방조직, 세척액 및 효소를 공급받고, 상기 공급된 지방조직, 세척액 및 효소를 교반하고 줄기세포를 원심분리하는 세포분리 용기;
 상기 세포분리 용기에 결합되어, 상기 세포분리 용기를 회전시키는 회전부;
 상기 세포분리 용기에 연결되고 상기 세포분리 용기에서 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리에 의해 생성된 폐기물을 공급받아 저장하는 폐기물 저장부;
 상기 세포분리 용기에 연결되고, 상기 세포분리 용기에서 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리에 의해 상기 지방조직으로부터 분리된 줄기세포를 공급받아 수집하는 세포 수집부;
 상기 저장부, 상기 폐기물 저장부 및 상기 세포 수집부에 상기 세포분리 용기를 연결하는 연결부; 및
 상기 연결부 상에 설치되고, 상기 연결부를 따라 지방조직, 세척액 및 효소를 상기 저장부로부터 상기 세포분리 용기로 유도하고 상기 폐기물을 상기 세포분리 용기로부터 상기 폐기물 저장부로 유도하며 상기 줄기세포를 상기 세포 수집부로 유도하는 유도부를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.

[청구항 10]

제 9 항에 있어서, 상기 세포분리 시스템은,

상기 세포분리 용기와 상기 유도부 사이의 상기 연결부 상에 설치되어, 상기 유도부에 의해 상기 세포분리 용기로부터 배출되는 폐기물의 농도를 감지하는 감지부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.

- [청구항 11] 제 9 항에 있어서, 상기 세포분리 용기는, 상기 회전부가 하부에 결합되고 상기 회전부에 의해 회전축을 중심으로 회전가능하며, 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출되어 내부에 수집공간부를 형성하는 하우징부; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하는 제 1 출입관; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하며, 내부 종단이 수집공간부 내에 위치되도록 구부러진 제 2 출입관; 및 상기 하우징부의 내면으로부터 돌출된 복수 개의 교반 날개부들을 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 12] 제 11 항에 있어서, 상기 교반 날개부들은 상기 하우징부의 하부에서 상기 제 1 출입관을 중심으로 배열되는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 13] 제 11 항에 있어서, 상기 교반 날개부에는 복수 개의 관통홀들이 형성되는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 14] 제 11 항에 있어서, 상기 세포분리 용기는, 상기 하우징부의 상면에 설치되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하여, 상기 하우징부의 내부 압력을 조절하고 여과기능을 갖는 공기 배출부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 15] 제 11 항에 있어서, 상기 하우징부가 상기 회전축을 중심으로 회전할 때, 상기 제 1 출입관 및 상기 제 2 출입관은 고정되는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 16] 제 11 항에 있어서, 상기 제 1 출입관은 상기 하우징부의 바닥면에 근접하도록 연장되는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 17] 제 9 항에 있어서, 상기 저장부는, 지방조직을 저장하고 상기 연결부를 통해 상기 세포분리 용기에 연결되는 지방조직 저장부; 세척액을 저장하고 상기 연결부를 통해 상기 세포분리 용기에 연결되는 세척액 저장부; 및 효소를 저장하고 상기 연결부를 통해 상기 세포분리 용기에 연결되는 효소 저장부를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.

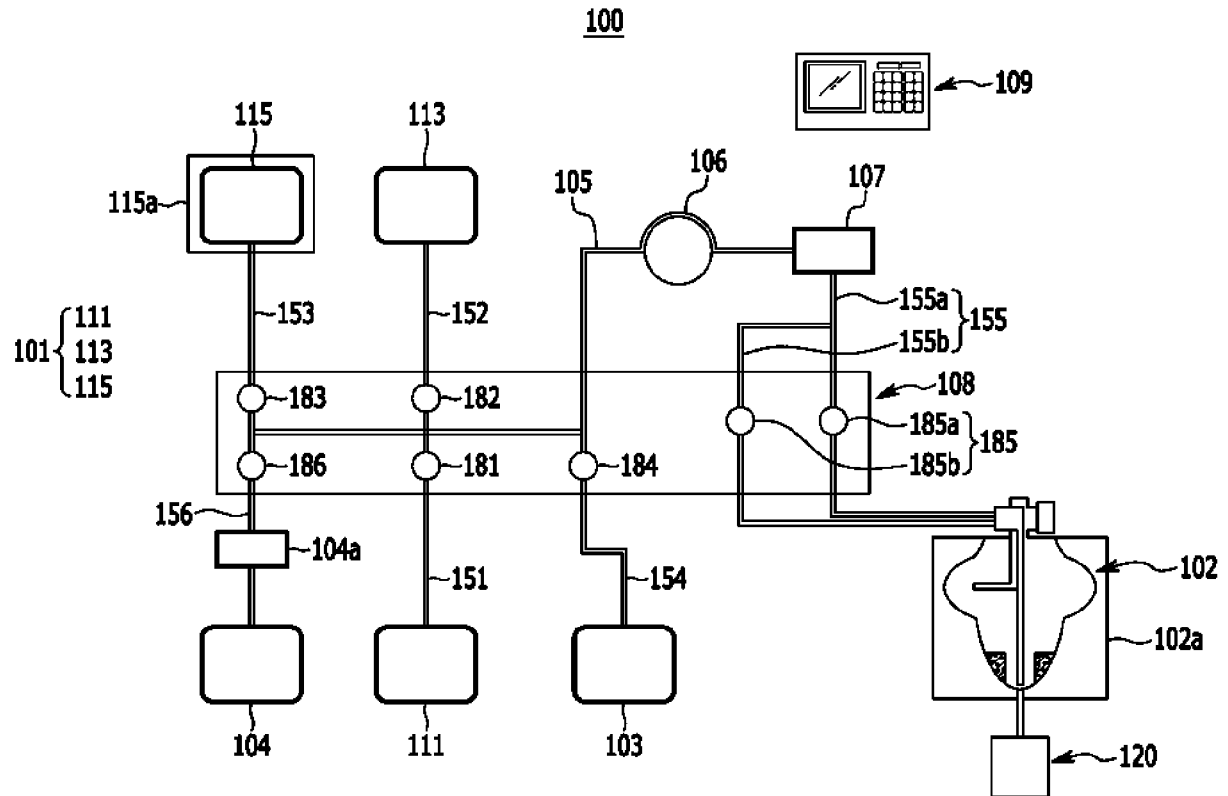
- [청구항 18] 제 17 항에 있어서, 상기 연결부는,
상기 유도부에 연결되는 공유 연결관;
상기 저장 저장부와 상기 공유 연결관을 연결하는 지방조직 연결관;
상기 세척액 저장부와 상기 공유 연결관을 연결하는 세척액 연결관;
상기 효소 저장부와 상기 공유 연결관을 연결하는 효소 연결관;
상기 폐기물 저장부와 상기 공유 연결관을 연결하는 폐기물 연결관;
상기 세포분리 용기와 상기 유도부를 연결하는 분리 연결관; 및
상기 세포 수집부와 상기 공유 연결관을 연결하는 수집 연결관을
포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 19] 제 18 항에 있어서, 상기 세포분리 시스템은,
상기 연결부 상에 설치되어, 상기 연결부를 개폐시키는 조절부를 더
포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 20] 제 19 항에 있어서, 상기 조절부는,
상기 지방조직 연결관 상에 설치되어 상기 지방조직 연결관을
개폐시키는 지방조직 조절부;
상기 세척액 연결관 상에 설치되어 상기 세척액 연결관을 개폐시키는
세척액 조절부;
상기 효소 연결관 상에서 설치되어 상기 효소 연결관을 개폐시키는 효소
조절부;
상기 폐기물 연결관 상에 설치되어 상기 폐기물 연결관을 개폐시키는
폐기물 조절부;
상기 분리 연결관 상에 설치되어 상기 분리 연결관을 개폐시키는 분리
조절부; 및
상기 수집 연결관 상에 설치되어 상기 수집 연결관을 개폐시키는 수집
조절부를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 21] 제 19 항에 있어서, 상기 세포분리 시스템은,
상기 회전부, 상기 유도부 및 상기 조절부에 연결되어, 상기 유도부 및
상기 조절부가 작동하여 상기 지방조직, 상기 세척액, 상기 효소, 상기
폐기물 및 상기 줄기세포를 상기 연결부를 따라 유도하기 위하여
조작되고, 상기 회전부가 작동하여 상기 세포분리 용기를 회전시키기
위하여 조작되는 제어부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리
시스템.
- [청구항 22] 제 17 항에 있어서,
상기 효소 저장부 및 상기 세포분리 용기는 각각 온도 조절부에 결합되고,
상기 온도 조절부에 의해 35°C 내지 40°C로 유지되는 것을 특징으로 하는
세포분리 시스템.
- [청구항 23] 제 17 항에 있어서,
상기 지방조직 저장부, 상기 효소 저장부 및 상기 세포 수집부는 주사기

형태로 이루어진 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.

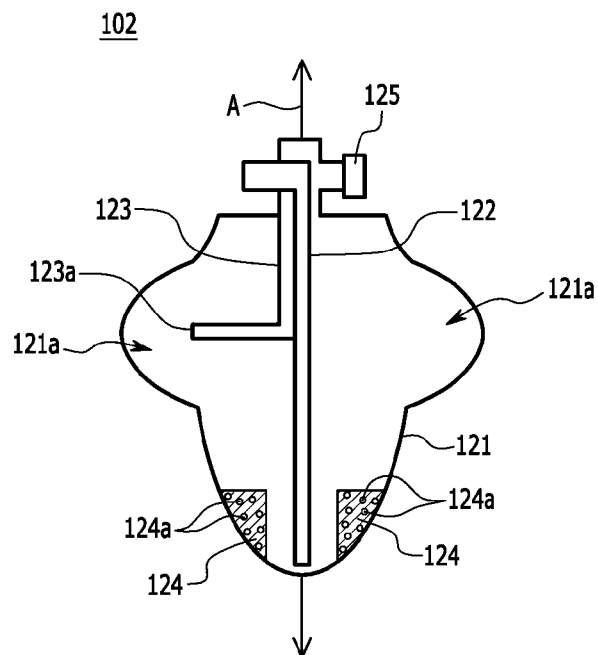
- [청구항 24] 제 11 항에 있어서, 상기 연결부는,
상기 유도부를 상기 세포분리 용기의 제 1 출입관에 연결시키고, 제 1 분리 조절부에 의해 개폐되는 제 1 분리 연결관; 및
상기 유도부를 상기 세포분리 용기의 제 2 출입관에 연결시키고, 제 2 분리 조절부에 의해 개폐되는 제 2 분리 연결관을 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 25] 제 9 항에 있어서, 상기 세포 수집부는,
상기 세포 수집부와 상기 유도부 사이의 상기 연결부 상에 설치되고, 상기 연결부를 따라 상기 세포 수집부로 유도되는 상기 줄기세포를 여과시키는 세포 여과부를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 시스템.
- [청구항 26] (a) 상기 유도부가 지방조직 저장부로부터 세포분리 용기로 지방조직을 유도하는 단계;
(b) 상기 유도부가 세척액 저장부로부터 상기 세포분리 용기로 세척액을 유도하고 상기 세포분리 용기는 회전부에 의해 회전되어 상기 지방조직과 상기 세척액을 교반하며, 회전이 정지된 후에 세척된 지방조직과 혈액오염물이 각각 상부층과 하부층으로 분리되는 단계;
(c) 상기 유도부가 상기 혈액오염물을 상기 세포분리 용기로부터 폐기물 저장부로 유도하는 단계;
(d) 상기 유도부가 효소 저장부로부터 상기 세포분리 용기로 효소를 유도하고 상기 세포분리 용기는 상기 회전부에 의해 회전되어 상기 효소와 상기 세척된 지방조직을 교반하며, 회전이 정지된 후에 소화된 지방조직과 1차 수용액이 각각 상부층과 하부층으로 분리되는 단계;
(e) 상기 세포분리 용기가 상기 회전부에 의해 회전되어 상기 소화된 지방조직과 상기 1차 수용액이 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 동안에, 상기 유도부가 상기 소화된 지방조직을 상기 세포분리 용기로부터 상기 폐기물 저장부로 유도하는 단계;
(f) 상기 세포분리 용기가 정지되고, 상기 유도부는 상기 세척액을 상기 세포분리 용기로 유도하며, 상기 세포분리 용기는 상기 1차 수용액과 상기 세척액을 교반하여 2차 수용액을 생성하는 단계;
(g) 상기 세포분리 용기가 상기 회전부에 의해 회전되어 줄기세포가 분리된 2차 수용액 및 상기 줄기세포가 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 동안, 상기 유도부가 상기 줄기세포가 원심분리된 2차 수용액을 상기 세포분리 용기로부터 상기 폐기물 저장부로 유도하는 단계;
(h) 상기 세포분리 용기가 정지되고, 상기 유도부는 상기 세척액을 상기 세포분리 용기로 유도하여 상기 원심분리된 줄기세포를 상기 세척액으로

- 낙하시켜 수집 수용액을 생성하는 단계; 및
(i) 상기 유도부가 상기 수집 수용액을 상기 세포분리 용기로부터 세포 수집부로 유도하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 방법.
- [청구항 27] 제 26 항에 있어서,
상기 (c) 단계는 감지부가 상기 세척된 지방조직을 감지할 때까지 이루어지는 것을 특징으로 하는 세포분리 방법.
- [청구항 28] 제 26 항에 있어서,
상기 (c) 단계에서 감지부가 소정 수준 아래의 농도를 갖는 상기 혈액오염물을 감지할 때까지 상기 (b) 단계 및 상기 (c) 단계가 반복적으로 이루어지는 것을 특징으로 하는 세포분리 방법.
- [청구항 29] 제 26 항에 있어서, 상기 세포분리 용기는,
회전부에 의해 회전축을 중심으로 회전가능하며, 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출되어 내부에 수집공간부를 형성하는 하우징부;
상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하는 제 1 출입관;
상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하며, 내부 종단이 수집공간부 내에 위치되도록 구부러진 제 2 출입관; 및
상기 하우징부의 내면으로부터 돌출된 복수 개의 교반 날개부들을 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 방법.
- [청구항 30] 제 29 항에 있어서,
상기 제 1 출입관은 상기 (a) 단계, 상기 (b) 단계, 상기 (c) 단계, 상기 (d) 단계, 상기 (f) 단계 및 상기 (i) 단계에서 이용되고,
상기 제 2 출입관은 상기 (e) 단계, 상기 (g) 단계 및 상기 (h) 단계에서 이용하는 것을 특징으로 하는 세포분리 방법.
- [청구항 31] 제 29 항에 있어서,
상기 (e) 단계에서, 상기 소화된 지방조직과 상기 1차 수용액은 상기 수집공간부 내에서 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되고,
상기 (g) 단계에서, 상기 줄기세포가 분리된 2차 수용액 및 상기 줄기세포는 상기 수집공간부 내에서 각각 내부층과 외부층으로 원심분리되는 것을 특징으로 하는 세포분리 방법.

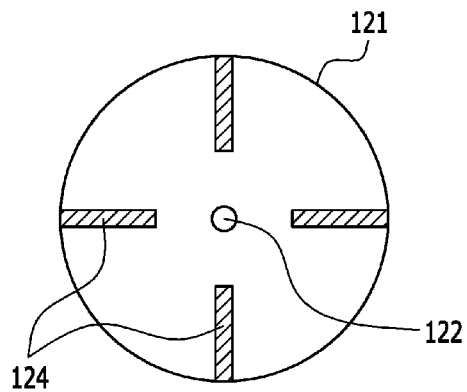
[도1]



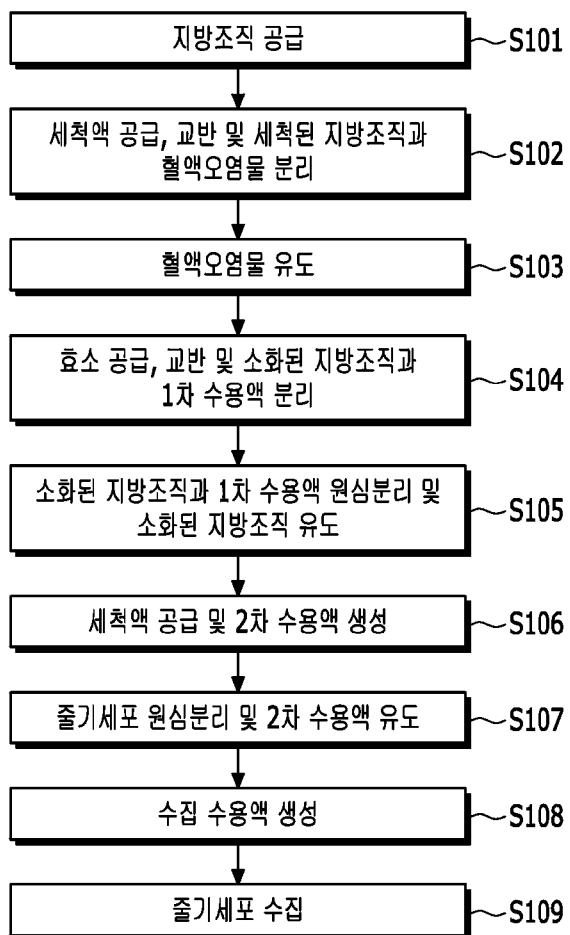
[도2]



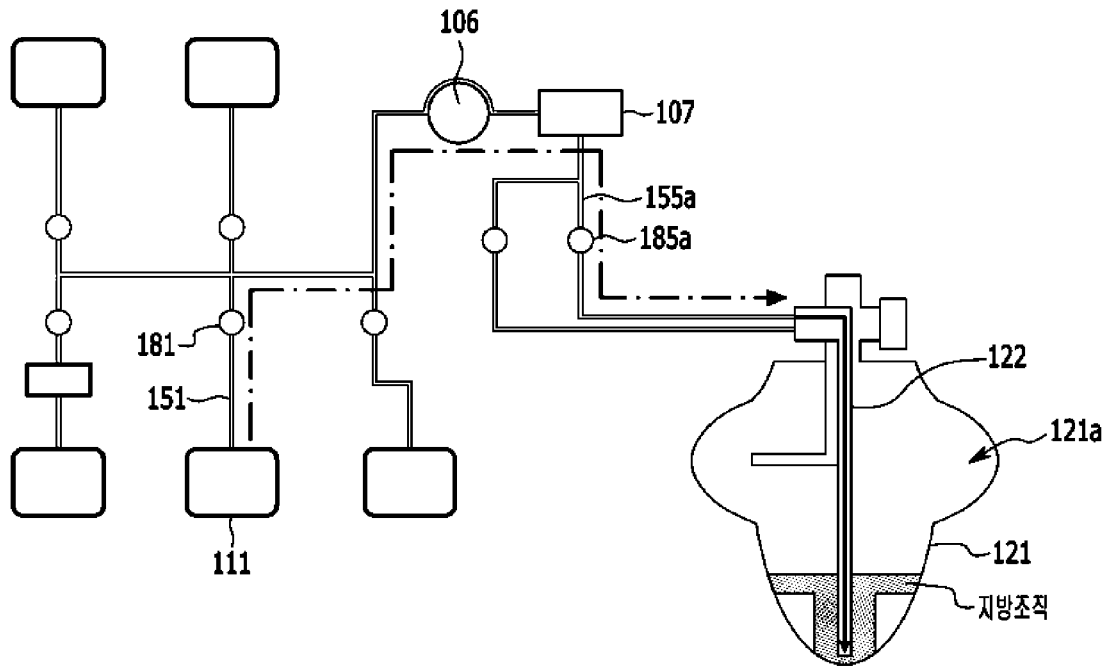
[도3]



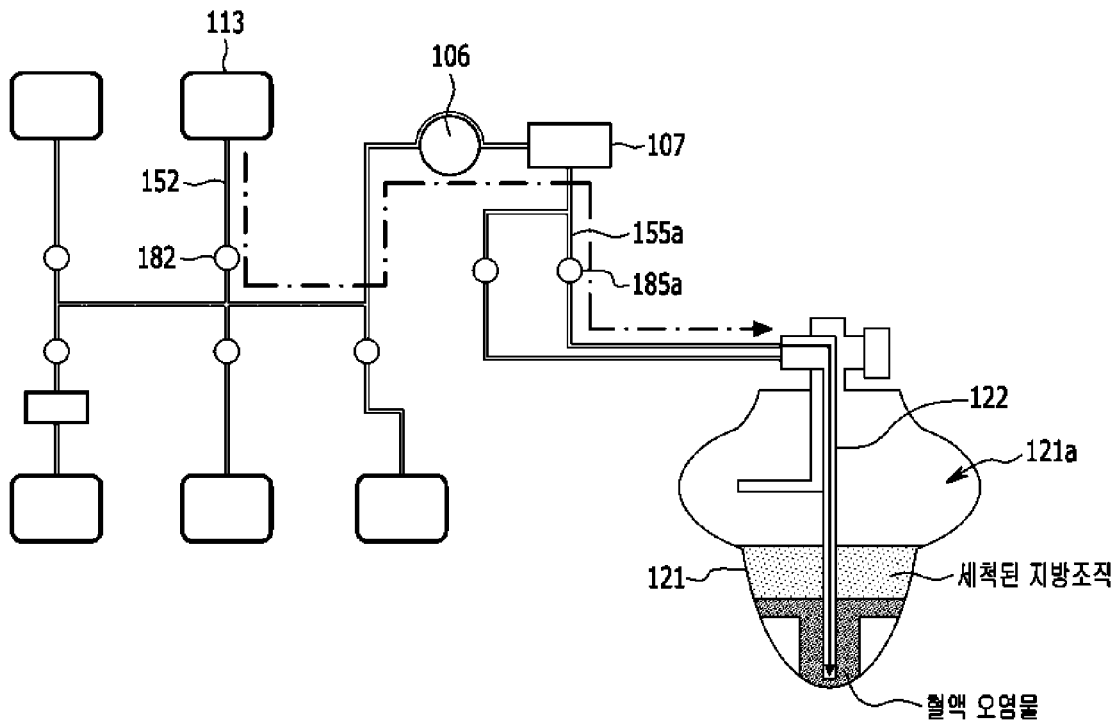
[도4]



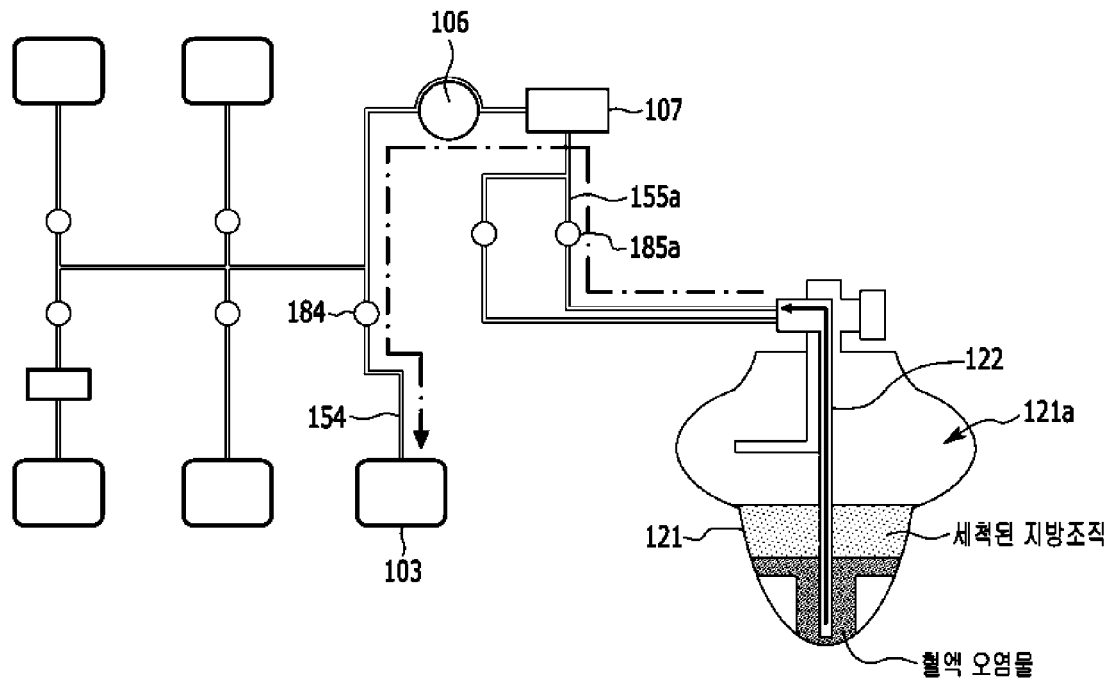
[도5]



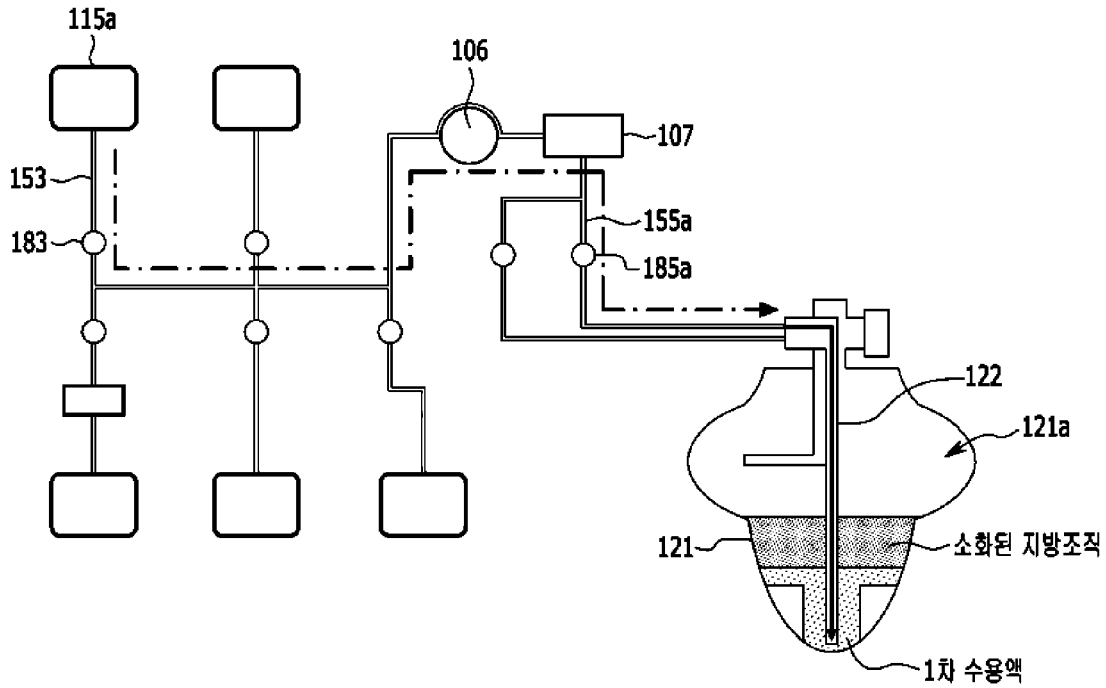
[도6]



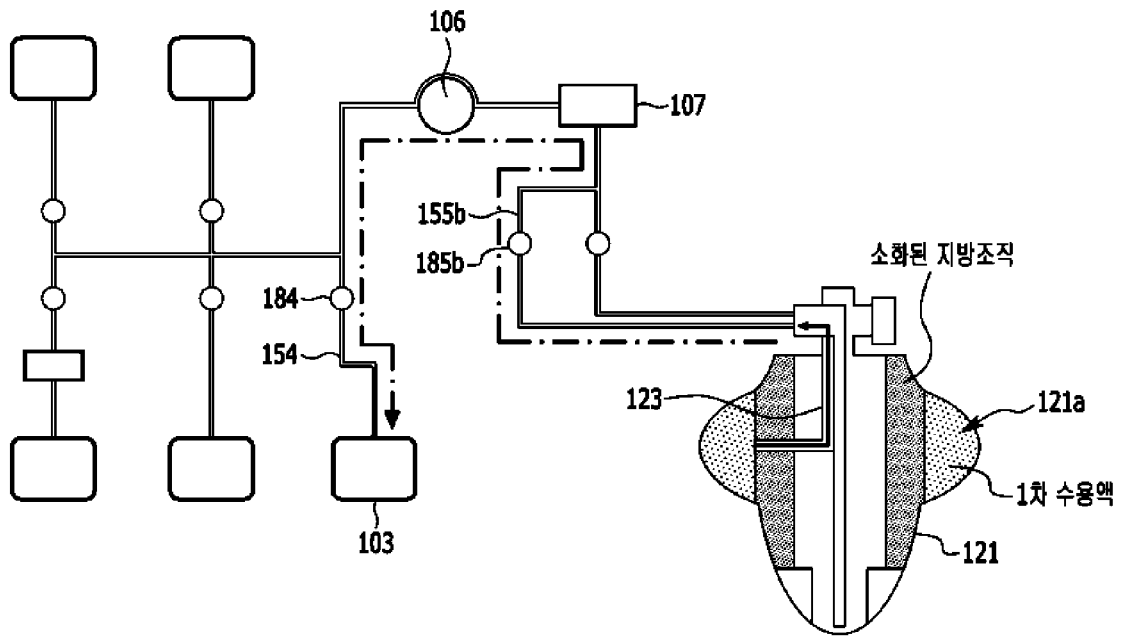
[도7]



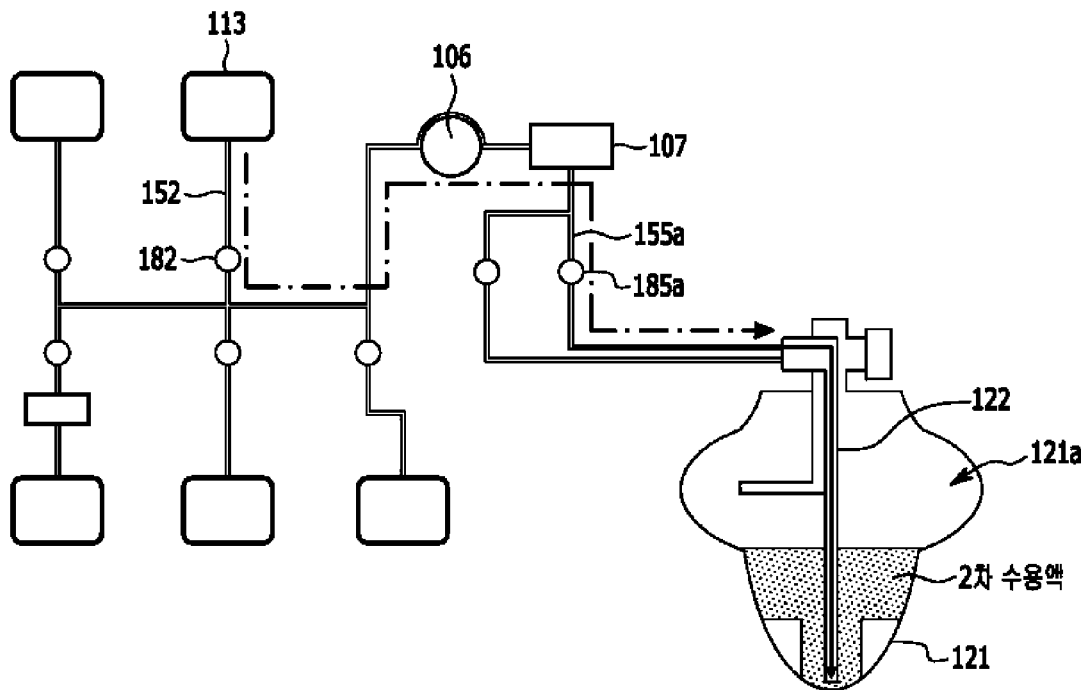
[도8]



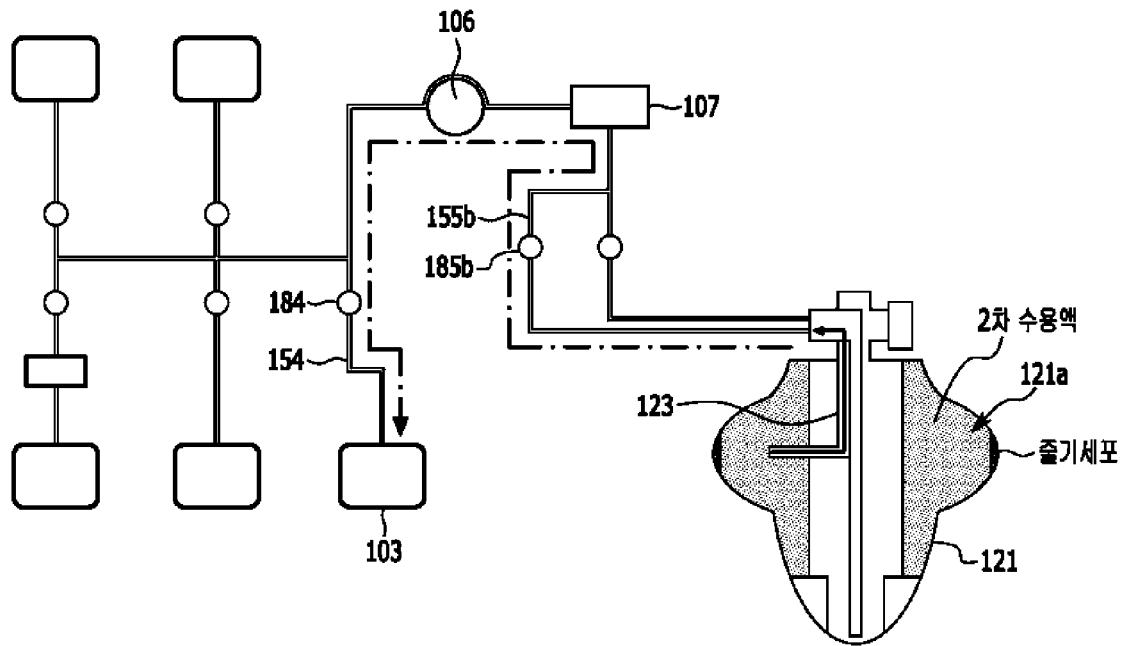
[도9]



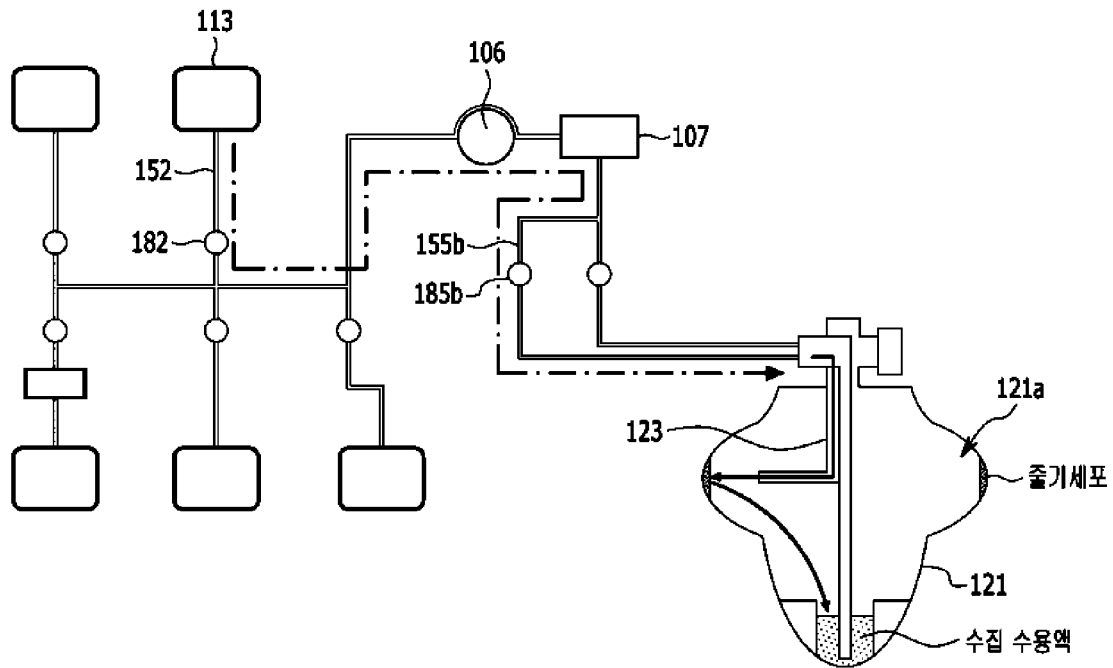
[도10]



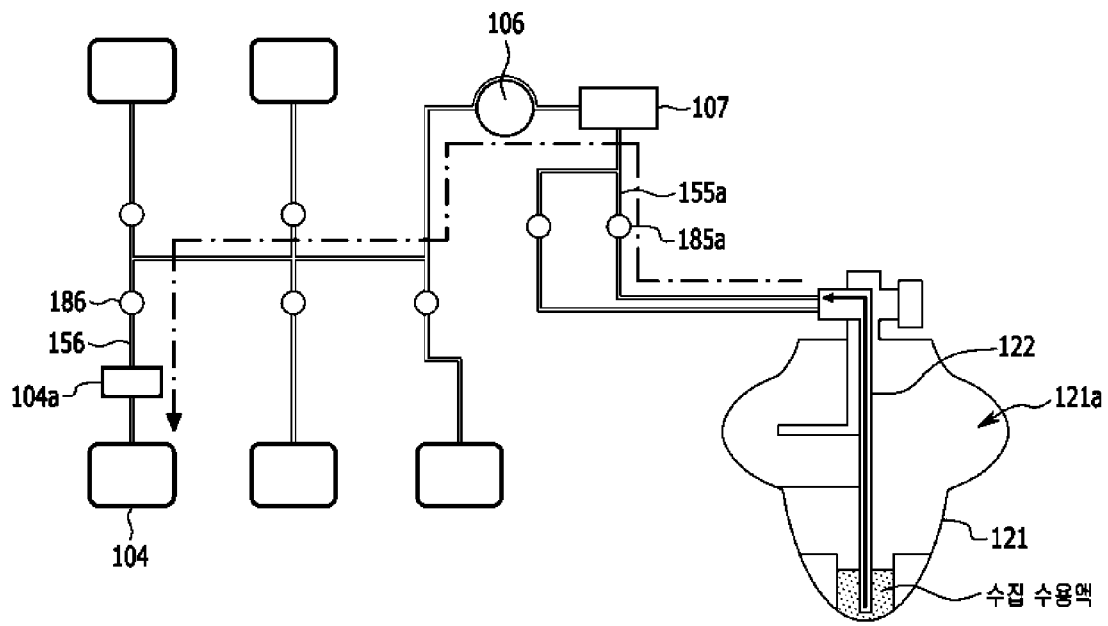
[도11]



[도12]



[도13]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2015/006544**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****C12M 1/10(2006.01)i, C12N 5/0775(2010.01)i, C12M 1/00(2006.01)i, C12Q 1/24(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M 1/10; C12M 1/24; C12M 3/08; C12N 5/06; C12M 1/02; C12M 1/12; C12M 1/38; C12N 5/0775; C12M 1/00; C12Q 1/24

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: centrifugation, cell separation, stem cell, rotation, layered, filtering

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2011-0045479 A (DO, Byung Rok et al.) 04 May 2011 See abstract, paragraphs [0100]-[0131], figures 1-3, claims 1-24.	1-31
Y	KR 10-2010-0007893 A (TISSUE GENESIS, INC.) 22 January 2010 See paragraphs [0021], [0022], [0067], [0076], [0082], [0091], figures 1-2, claims 1-102.	1-31
A	JP 2005-218376 A (MENKON CO., LTD.) 18 August 2005 See the entire document.	1-31
A	KR 10-1119955 B1 (MEDISARANG CO., LTD.) 15 March 2012 See the entire document.	1-31



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 SEPTEMBER 2015 (25.09.2015)

Date of mailing of the international search report

25 SEPTEMBER 2015 (25.09.2015)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2015/006544

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2011-0045479 A	04/05/2011	CN 102869761 A	09/01/2013
		JP 2013-507983 A	07/03/2013
		WO 2011-052946 A2	05/05/2011
		WO 2011-052946 A3	03/11/2011
KR 10-2010-0007893 A	22/01/2010	EP 2139428 A1	06/01/2010
		JP 05-285065 B2	11/09/2013
		JP 2010-524498 A	22/07/2010
		KR 10-1441424 B1	24/09/2014
		TW 200902710 A	16/01/2009
		US 2002-0142458 A1	03/10/2002
		US 2002-0142459 A1	03/10/2002
		US 2006-0188488 A1	24/08/2006
		US 2008-0014181 A1	17/01/2008
		US 2009-0220569 A1	03/09/2009
		US 7029838 B2	18/04/2006
		US 7052829 B2	30/05/2006
		WO 02-078439 A2	10/10/2002
		WO 02-078439 A3	14/11/2002
		WO 2008-133874 A1	06/11/2008
JP 2005-218376 A	18/08/2005	NONE	
KR 10-1119955 B1	15/03/2012	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12M 1/10(2006.01)i, C12N 5/0775(2010.01)i, C12M 1/00(2006.01)i, C12Q 1/24(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12M 1/10; C12M 1/24; C12M 3/08; C12N 5/06; C12M 1/02; C12M 1/12; C12M 1/38; C12N 5/0775; C12M 1/00; C12Q 1/24

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 원심분리, 세포분리, 줄기세포, 회전, 증상, 여과

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2011-0045479 A (도병록 등) 2011.05.04 요약, 식별번호 100-131, 도면 1-3, 청구항 1-24 참조.	1-31
Y	KR 10-2010-0007893 A (티슈 제네시스, 아이엔씨.) 2010.01.22 식별번호 21, 22, 67, 76, 82, 91, 도면 1-2, 청구항 1-102 참조.	1-31
A	JP 2005-218376 A (MENICON CO LTD) 2005.08.18 전체문헌 참조.	1-31
A	KR 10-1119955 B1 (주식회사 메디사랑) 2012.03.15 전체문헌 참조.	1-31

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2015년 09월 25일 (25.09.2015)

국제조사보고서 발송일

2015년 09월 25일 (25.09.2015)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



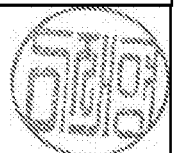
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

이재영

전화번호 +82-42-481-8169



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2011-0045479 A	2011/05/04	CN 102869761 A JP 2013-507983 A WO 2011-052946 A2 WO 2011-052946 A3	2013/01/09 2013/03/07 2011/05/05 2011/11/03
KR 10-2010-0007893 A	2010/01/22	EP 2139428 A1 JP 05-285065 B2 JP 2010-524498 A KR 10-1441424 B1 TW 200902710 A US 2002-0142458 A1 US 2002-0142459 A1 US 2006-0188488 A1 US 2008-0014181 A1 US 2009-0220569 A1 US 7029838 B2 US 7052829 B2 WO 02-078439 A2 WO 02-078439 A3 WO 2008-133874 A1	2010/01/06 2013/09/11 2010/07/22 2014/09/24 2009/01/16 2002/10/03 2002/10/03 2006/08/24 2008/01/17 2009/09/03 2006/04/18 2006/05/30 2002/10/10 2002/11/14 2008/11/06
JP 2005-218376 A	2005/08/18	없음	
KR 10-1119955 B1	2012/03/15	없음	