

DOCUMENT MADE AVAILABLE UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

International application number:	PCT/KR2015/006544
International filing date:	26 June 2015 (26.06.2015)
Document type:	Certified copy of priority document
Document details:	Country/Office: KR
	Number: 10-2014-0085482
	Filing date: 08 July 2014 (08.07.2014)
Date of receipt at the International Bureau:	06 July 2015 (06.07.2015)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a),(b) or (b-bis)



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office

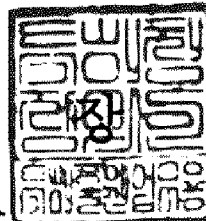
출 원 번 호 : 10-2014-0085482
Application Number

출 원 년 월 일 : 2014년 07월 08일
Filing Date JUL 08, 2014

출 원 인 : (주)시지바이오
Applicant(s) CG Bio Co., Ltd.

2015 년 07 월 02 일

특 허 청
COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【참조번호】	0197
【출원구분】	특허출원
【출원인】	
【명칭】	(주)시지바이오
【출원인코드】	1-2007-011945-4
【대리인】	
【성명】	최규팔
【대리인코드】	9-1998-000563-8
【포괄위임등록번호】	2009-060239-1
【대리인】	
【성명】	배정일
【대리인코드】	9-2004-000081-1
【포괄위임등록번호】	2013-043948-0
【발명의 국문명칭】	세포분리 용기 및 이를 이용한 세포분리 방법
【발명의 영문명칭】	CONTAINER FOR SEPARATING STEM CELLS FROM FATTISSUE AND METHOD FOR SEPARATING STEM CELLS FROM FATTISSUE USING THE SAME
【발명자】	
【성명】	유현승
【성명의 영문표기】	Ryu Hyun Seung
【주민등록번호】	730531-1XXXXXX
【우편번호】	446-727
【주소】	경기도 용인시 기흥구 구성로 411 807동 1302호
【국적】	KR

【발명자】

【성명】 최원익
【성명의 영문표기】 Choi Weon Ik
【주민등록번호】 750202-1XXXXXX
【우편번호】 463-915
【주소】 경기도 성남시 분당구 백현로 234 305동 1202호
【국적】 KR

【발명자】

【성명】 박희준
【성명의 영문표기】 Park Hee Jun
【주민등록번호】 810224-1XXXXXX
【우편번호】 135-867
【주소】 서울특별시 강남구 봉은사로57길 33 301호
【국적】 KR

【발명자】

【성명】 홍순기
【성명의 영문표기】 Hong Soon Gee
【주민등록번호】 850815-1XXXXXX
【우편번호】 560-840
【주소】 전라북도 전주시 완산구 평화7길 40 101동 1405호
【국적】 KR

【발명자】

【성명】 전강진
【성명의 영문표기】 Jeon Kang Jin
【주민등록번호】 861028-1XXXXXX
【우편번호】 462-800

【주소】 경기도 성남시 중원구 금상로 95 403호
【국적】 KR
【발명자】
【성명】 김용수
【성명의 영문표기】 Kim Young Su
【주민등록번호】 761111-1XXXXXX
【우편번호】 431-843
【주소】 경기도 안양시 동안구 매곡로27번길 24-10
【국적】 KR
【심사청구】 청구
【취지】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 최규팔 (서명 또는 인)

대리인 배정일 (서명 또는 인)

【수수료】

【출원료】	0 면	46,000 원
【가산출원료】	22 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원
【심사청구료】	8 항	495,000 원
【합계】		541,000 원
【감면사유】	중기업[1]	
【감면후 수수료】	162,300 원	

【명세서】

【발명의 명칭】

세포분리 용기 및 이를 이용한 세포분리 방법{CONTAINER FOR SEPARATING STEM CELLS FROM FATTISSUE AND METHOD FOR SEPARATING STEM CELLS FROM FATTISSUE USING THE SAME}

【기술분야】

<1> 본 발명은 세포분리 용기 및 이를 이용한 세포분리 방법에 관한 것으로서, 특히 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 데에 이용되는 세포분리 용기 및 이를 이용한 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 세포 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 동일

한 것으로 알려졌다. 즉, 지방줄기세포는 골수 기원의 간엽줄기세포를 대체할 수 있는 높은 가능성을 가진 줄기세포로서 의학적 유용성이 상당한 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, 일반적으로 1개의 분리 용기에서 지방조직으로부터 지방줄기세포가 분리되는 모든 과정이 이루어진다. 이때, 과정 중 생성되는 생성물의 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 내용】

【해결하려는 과제】

<7> 본 발명은 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 데에 있어서 효율을 향상시키고 장치에 따른 비용을 절감하도록 하는 세포분리 용기 및 이를 이용한 세포분리 방법을 제공하고자 한다.

【과제의 해결 수단】

<8> 본 발명은 회전축을 중심으로 회전가능하며, 원주방향을 따라 측면으로부터 불록하게 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 용기를 개시한다.

<9> 또한, 상기 교반 날개부들은 상기 하우징부의 하부에서 상기 제 1 출입관을 중심으로 배열되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기를 개시한다.

<10> 또한, 상기 교반 날개부에는 복수 개의 관통홀들이 형성되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기를 개시한다.

<11> 또한, 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 용기를 개시한다.

<12> 또한, 상기 하우징부가 상기 회전축을 중심으로 회전할 때, 상기 제 1 출입관 및 상기 제 2 출입관은 고정되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기를 개시한다.

<13> 또한, 상기 제 1 출입관은 상기 하우징부의 바닥면에 근접하도록 연장되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기를 개시한다.

<14> 또한, 상기 하우징부는 상기 하우징부의 하부에 연결된 모터에 의해 회전되는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기를 개시한다.

<15> 또한, 본 발명은 상기의 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 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 하우

정부가 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 하우정부로부터 제거되는 단계; 및 (h) 상기 하우정부가 정지되고, 상기 세척액을 상기 제 2 출입관을 통해 공급받아 상기 줄기세포와 혼합시켜 수집 수용액을 생성하고, 상기 수집 수용액이 상기 제 1 출입관을 통해 상기 하우정부로부터 배출되는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 방법.

【발명의 효과】

<16>

본 발명에 따른 세포분리 용기 및 이를 이용한 분리 방법은 하우정부, 제 1 출입관, 교반 날개부들, 및 제 2 출입관을 포함하여, 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 데에 이용된다. 여기서, 하우정부는 원주방향으로 측면으로부터 볼록하게 돌출된 수집공간부를 갖는다. 또한, 하우정부는 지방조직, 세척액 및 효소를 공급 받고, 회전하여 교반하거나 원심분리함으로써, 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 데에 이용된다. 제 1 출입관 및 제 2 출입관은 하우정부에 삽입되어 하우정부의 외부와 내부를 연결하고, 특히, 제 2 출입관은 내부의 종단이 수집공간부 내에 위치되도록 구부러진다. 이로 인해, 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리에 의해 생성된 생성물(예를 들어, 혈액오염물, 줄기세포를 포함한 수용액)이 하우정부의 내부에서 위치에 따라 제 1 출입관 및 제 2 출입관을 통해 선택적으로 배출될 수 있고, 적절하게 하우정부로부터 제거되어 최종적으로 줄기세포가 추출된다. 이로 인해, 세포분리 용기는 수집공간부를 갖는 1개의 하우정부만으로도 2개의 하

우징부들을 갖는 효과를 구현한다. 따라서, 본 발명에 따른 세포분리 용기는 수집 공간부를 갖는 하우징부로 인해 지방조직으로부터 줄기세포의 분리, 분리된 줄기세포의 세척 및 추출을 효율적으로 구현하고, 장치에 따른 비용을 절감하는 효과를 갖는다.

【도면의 간단한 설명】

<17> 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 용기를 도시하는 단면도이다.

도 2는 도 1에 도시된 세포분리 용기를 선 B-B'을 따라 취하여 도시하는 단면도이다.

도 3은 도 1에 도시된 세포분리 용기를 이용한 세포분리 방법을 도시하는 흐름도이다.

도 4는 도 3에 도시된 세포분리 방법에 대응하는 세포분리 용기의 내부상태를 도시하는 도면들이다.

【발명을 실시하기 위한 구체적인 내용】

<18> 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.

<19> 도 1은 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 용기(100)를 도시하는

단면도이고, 도 2는 도 1에 도시된 세포분리 용기(100)를 선 B-B'을 따라 취하여 도시하는 단면도이다.

<20> 도 1과 도 2에 도시된 바와 같이, 본 발명의 바람직한 실시예에 따른 세포분리 용기(100)는 하우징부(101), 제 1 출입관(102), 교반 날개부(103)들, 및 제 2 출입관(104)을 포함하고, 지방조직, 세척액 및 효소 등을 공급받아 교반 및 원심분리를 통해, 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 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. 이때, 세포분리 용기(100)는 별도의 장치와 연결되는 부분을 제외하고는 폐쇄된 상태로 유지되고, 무균상태를 유지한다. 또한, 최종적으로 분리된 줄기세포는 배양되어 필요에 따라 이용될 수 있다.

<21> 하우징부(101)는 하부에 위치한 모터(미도시됨)에 결합되어 모터에 의해 회전축(A)을 중심으로 회전가능하다. 지방조직, 세척액 및 효소 등이 하우징부(101)의 내부에 공급된다. 한편, 하우징부(101)의 하부는 곡면으로 이루어진다. 이때, 하우징부(101)의 하부는 하측으로 갈수록 점점 작아지는 횡단면을 갖는다. 이로 인해, 하우징부(101)의 내부에 공급된 지방조직, 세척액 및 효소 등이 하우징부(101)의 하부에서 안정적으로 수집될 수 있다.

<22> 또한, 하우징부(101)의 내부에는 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출된 수집공간부(111)가 형성된다.

<23> 제 1 출입관(102)은 관 형태로 이루어지고, 회전축(A) 방향을 따라 하우징부

(101)의 내부에 삽입되며, 하우정부(101)의 바닥면에 근접하도록 삽입되는 것이 바람직하다. 이때, 하우정부(101)의 내부와 외부는 제 1 출입관(102)을 통해 연결된다. 지방조직, 세척액 및 효소 등은 제 1 출입관(102)을 통해 하우정부(101)의 내부에 공급된다. 또한, 하우정부(101)가 회전축(A)을 중심으로 회전하는 경우에, 제 1 출입관(102)은 회전하지 않으며, 하우정부(101)의 내부에서 지방조직, 세척액 및 효소 등의 교반이 이루어지고, 생성된 생성물은 필요에 따라 제 1 출입관(102)을 통해 하우정부(101)의 내부로부터 배출될 수 있다. 또한, 제 1 출입관(102)은 별도의 호스에 연결된다.

<24> 교반 날개부(103)들은 복수 개로 이루어지고, 하우정부(101)의 내면으로부터 돌출된다. 하우정부(101)가 회전할 때, 교반 날개부(103)들도 회전축(A) 주위를 회전한다. 이로 인해, 지방조직, 세척액 및 효소 등은 하우정부(101)의 내부에서 실질적으로 효율적으로 교반이 이루어져 상호 간에 반응하게 된다.

<25> 한편, 교반 날개부(103)들은 도 2에 도시된 바와 같이, 하우정부(101)의 하부에서 제 1 출입관(102)을 중심으로 배열될 수 있다. 이로 인해, 지방조직, 세척액 및 효소 등이 적은 양으로 하우정부(101)에 공급되더라도, 교반 날개부(103)들에 의해 안정적으로 교반될 수 있다.

<26> 또한, 교반 날개부(103)에는 복수 개의 관통홀(131)들이 형성된다. 이로 인해, 교반 날개부(103)의 회전에 따른 저항이 감소되고, 관통홀(131)을 통한 지방조직, 세척액 또는 효소의 유동이 이루어져 교반효율이 향상된다.

<27> 제 2 출입관(104)은 제 1 출입관(102)과 마찬가지로 관 형태로 이루어지고,

회전축(A) 방향을 따라 하우정부(101)의 내부에 삽입된다. 이때, 하우정부(101)의 내부와 외부는 제 2 출입관(104)을 통해 연결된다. 특히, 제 2 출입관(104)은 내부 종단(141)이 수집공간부(111) 내에 위치되도록 구부러진다. 이로 인해, 하우정부(101)의 회전시 원심력에 의해 수집공간부(111)에 유입되어 수용되는 생성물은 제 2 출입관(104)을 통해 하우정부(101)의 외부로 배출될 수 있다. 또한, 제 2 출입관(104)도 제 1 출입관(102)과 마찬가지로 별도의 호스에 연결된다.

<28> 특히, 하우정부(101)가 회전하더라도, 제 2 출입관(104)은 제 1 출입관(102)과 함께 고정된 상태로 유지된다. 이로 인해, 제 1 출입관(102)과 제 2 출입관(104)에 연결된 호스는 하우정부(101)의 회전에 영향을 받지 않고 제 1 출입관(102)과 제 2 출입관(104)에 연결된 상태로 유지되고, 제 1 출입관(102)과 제 2 출입관(104)을 통한 지방조직, 세척액, 효소, 생성물 및 줄기세포 등의 공급 및 배출이 안정적으로 이루어질 수 있다.

<29> 한편, 본 발명의 세포분리 용기(100)는 공기 배출부(105)를 더 포함한다. 공기 배출부(105)는 하우정부(101)의 상면에 설치되어 하우정부(101)의 내부와 외부를 연결한다. 이로 인해, 하우정부(101)의 내부 압력은 공기 배출부(105)를 통해 조절되어 일정하게 유지된다. 또한, 공기 배출부(105)는 여과기능을 갖는다. 이로 인해, 공기 배출부(105)에 의해 이물질이 하우정부(101)의 내부로 유입되지 않아, 하우정부(101)의 내부는 공기 배출부(105)에 의해 무균상태로 유지될 수 있다.

<30> 상기과 같은 세포분리 용기(100)는 획득하고자 하는 줄기세포의 양에 상응하는 크기를 가질 수 있다. 이로 인해, 획득하고자 하는 줄기세포에 상응하는 양의

지방조직이 세포분리 용기(100)에 공급되고, 세포분리 용기(100)는 지방조직에 상응하는 양의 세척액 및 효소 등을 공급하여 지방조직으로부터 줄기세포를 분리할 수 있다. 따라서, 본 실시예에 따른 세포분리 용기(100)는 필요한 양, 획득하고자 하는 양만큼의 줄기세포를 한꺼번에 획득할 수 있다.

<31> 도 3은 도 1에 도시된 세포분리 용기(100)를 이용한 세포분리 방법을 도시하는 흐름도이고, 도 4는 도 3에 도시된 세포분리 방법에 대응하는 세포분리 용기(100)의 내부상태를 도시하는 도면들이다. 도 3과 도 4에 도시된 바와 같이, 세포분리 용기(100)는 하기의 세포분리 방법을 통해 지방조직으로부터 줄기세포를 분리하는 데에 이용된다.

<32> 우선, 하우정부(101)가 제 1 출입관(102)을 통해 지방조직을 공급받는 단계(S101)가 이루어진다. 이때, 지방조직은 하우정부(101)의 하부에 위치된다.(도 4(a)를 참조)

<33> 다음으로, 하우정부(101)가 제 1 출입관(102)을 통해 세척액을 공급받은 후, 회전 및 정지를 반복하여 지방조직 및 세척액을 교반하는 단계(S102)가 이루어진다. S102 단계에서 세척액의 양은 지방조직의 양 이상이다. 지방조직과 세척액의 교반은 교반 날개부(103)들에 의해 이루어지고, 지방조직은 세척액에 의해 세척된다. 이때, 하우정부(101)에서는 세척된 지방조직과 생성물인 혈액오염물이 생성된다. 하우정부(101)의 회전이 정지되어 교반이 완료되면, 세척된 지방조직과 혈액오염물은 상이한 밀도를 갖기에 중력에 의해 분리된다. 이로 인해, 혈액오염물은 하우정부(101)에 가라앉아 하부층을 형성하고, 세척된 지방조직은 혈액 오염물

상에 부유하여 상부층을 형성한다. 이때, 혈액오염물은 세척액에 혈액뿐만 아니라 체액도 포함한 상태이다.(도 4(b)를 참조)

<34> 다음으로, 혈액오염물이 제 1 출입관(102)을 통해 하우정부(101)의 내부로부터 제거되는 단계(S103)가 이루어진다. S103 단계를 통해 하우정부(101)의 내부에는 세척된 지방조직만 남게 되고, 제거되는 혈액오염물의 농도가 소정 수준 아래로 내려갈 때까지 S102 단계가 반복될 수 있다.(도 4(b)를 참조)

<35> 다음으로, 하우정부(101)가 제 1 출입관(102)을 통해 효소를 공급받은 후, 회전 및 정지를 반복하여 세척된 지방조직 및 효소를 교반하는 단계(S104)가 이루어진다. 이때, 세척된 지방조직과 효소의 교반은 교반 날개부(103)들에 의해 이루어지고, 세척된 지방조직은 효소에 의해 소화된다. 이로 인해, 하우정부(101)에서는 소화된 지방조직과 1차 수용액이 생성된다. 하우정부(101)가 정지되어 교반이 완료되면, 소화된 지방조직과 1차 수용액은 상이한 밀도를 갖기에 중력에 의해 분리된다. 이로 인해, 하우정부(101)에서 1차 수용액은 가라앉아 하부층을 형성하고, 소화된 지방조직은 1차 수용액 상에 부유하여 상부층을 형성한다. 이때, 1차 수용액은 줄기세포와 효소를 포함하고 있다.(도 4(c)를 참조)

<36> 다음으로, 하우정부(101)가 회전되어 소화된 지방조직과 1차 수용액을 원심 분리하고, 소화된 지방조직이 제 2 출입관(104)을 통해 하우정부(101)의 내부로부터 제거되는 단계(S105)가 이루어진다. S105 단계에서 소화된 지방조직과 1차 수용액은 원심력에 의해 하우정부(101)의 수집공간부(111) 내로 유도된다. 하우정부(101)가 회전하는 동안, 소화된 지방조직과 1차 수용액은 상이한 밀도를 갖기에 원

심력에 의해 분리된 층을 형성한다. 이로 인해, 1차 수용액은 수집공간부(111)의 내측면에 위치되어 외부층을 형성하고, 소화된 지방조직은 1차 수용액의 내측에 위치되어 내부층을 형성한다. 이때, 제 2 출입관(104)의 내부 종단(141)은 소화된 지방조직에 접한 상태이기에, 소화된 지방조직이 제 2 출입관(104)을 통해 하우정부(101)의 내부로부터 제거될 수 있다. (도 4(d)를 참조)

<37>

다음으로, 하우정부(101)가 정지되고 세척액을 제 1 출입관(102)을 통해 공급받으며 회전 및 정지를 반복하여 1차 수용액 및 세척액을 교반하는 단계(S106)가 이루어진다. S106 단계에서 1차 수용액에 포함된 줄기세포가 세척액에 의해 세척된다. 이때, 1차 수용액은 세척액과 혼합되어 2차 수용액으로 생성된다. 즉, 2차 수용액은 1차 수용액에 세척액이 혼합된 수용액이다. (도 4(e)를 참조)

<38>

다음으로, 하우정부(101)가 회전되어 2차 수용액으로부터 줄기세포를 원심분리하고, 줄기세포가 분리된 2차 수용액이 제 2 출입관(104)을 통해 하우정부(101)의 내부로부터 제거되는 단계(S107)가 이루어진다. S107 단계에서 줄기세포와 줄기세포가 분리된 2차 수용액(이하, 나머지 2차 수용액)은 원심력에 의해 하우정부(101)의 수집공간부(111)로 유도된다. 하우정부(101)가 회전하는 동안, 줄기세포와 나머지 2차 수용액은 상이한 밀도를 갖기에 원심력에 의해 분리된 층을 형성한다. 이로 인해, 줄기세포는 수집공간부(111)의 내측면에 위치되어 외부층을 형성하고, 나머지 2차 수용액은 줄기세포의 내측에 위치되어 내부층을 형성한다. 이때, 제 2 출입관(104)의 내부 종단(141)은 나머지 2차 수용액에 접한 상태이다. 이로 인해, 줄기세포가 제거된 2차 수용액이 제 2 출입관(104)을 통해 하우정부(101)의 내부로

부터 제거될 수 있다. (도 4(f)를 참조)

<39>

다음으로, 하우징부(101)가 정지되고, 제 2 출입관(104)을 통해 세척액을 공급받아 상기 줄기세포와 혼합시켜 수집 수용액을 생성하고, 상기 수집 수용액이 제 1 출입관(102)을 통해 하우징부(101)의 내부로부터 배출되는 단계(S108)가 이루어진다. S108 단계에서, 제 2 출입관(104)을 통해 공급된 세척액은 수집공간부(111)로 분사된다. 이때, 세척액은 수집공간부(111)의 내측면에 위치된 줄기세포를 하우징부(101)의 하부로 낙하시키고, 줄기세포는 세척액 상에 부유된 상태로 이르게 된다. 즉, 수집 수용액은 줄기세포를 세척액에 부유된 상태로 포함한다. 줄기세포는 수집 수용액에 포함된 상태로 제 1 출입관(102)을 통해 하우징부(101)의 외부로 배출된다.(도 4(g)를 참조)

<40>

상기와 같은 세포분리 용기(100)는 수집공간부(111)를 갖는 하우징부(101)를 갖고, 하우징부(101)에 대응하는 제 1 출입관(102) 및 수집공간부(111)에 대응하는 제 2 출입관(104)을 갖는다. 이로 인해, 하우징부(101)의 내부에서 공급된 지방조직, 세척액 및 효소의 교반 및 원심분리가 이루어지고, 이에 따라 생성된 줄기세포, 혈액오염물, 수용액 등이 분리되어 제거되고, 최종적으로 줄기세포가 추출된다. 즉, 본 발명에 따른 세포분리 용기(100)은 상기와 같은 구성으로 지방조직으로부터 줄기세포가 효율적으로 용이하게 추출될 수 있다.

<41>

한편, 세포분리 용기(100)에 대한 지방조직, 세척액, 효소, 혈액오염물, 또는 수용액 등의 공급 및 배출은 펌프(미도시됨) 등과 같은 장치를 통해 이루어질 수 있다.

<42>

또한, 세포분리 용기(100)는 세포분리 용기(100)에 대하여 공급 및 배출되는 지방조직, 세척액, 효소, 혈액오염물, 또는 수용액을 감지하는 감지부(미도시됨)에 연결되기도 한다. 특히, 감지부는 세척액에 의해 지방조직이 세척된 이후에, 세포분리 용기(100)로부터 배출되는 혈액오염물을 감지한다. 이때, 감지부가 소정 수준 아래의 농도를 갖는 색상을 갖는 혈액오염물을 감지하면 세포분리 용기(100)로부터의 배출을 중단시킬 수 있다. 또한, 감지부는 세척된 지방조직을 감지하여도 세포분리 용기(100)로부터의 배출을 중단시킬 수 있다.

<43>

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. 또한, 특허청구범위의 기재 중 괄호 내의 기재는 기재의 불명료함을 방지하기 위한 것이며, 특허청구범위의 권리범위는 괄호 내의 기재를 모두 포함하여 해석되어야 한다.

【부호의 설명】

<44>

100: 세포분리 용기

101: 하우징부

111: 수집공간부

102: 제 1 출입관

103: 교반 날개부

131: 관통홀

2014-07-08

104: 제 2 출입관

141: 내부의 종단

105: 공기 배출부

A: 회전축

【특허청구범위】

【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.

【요약서】

【요약】

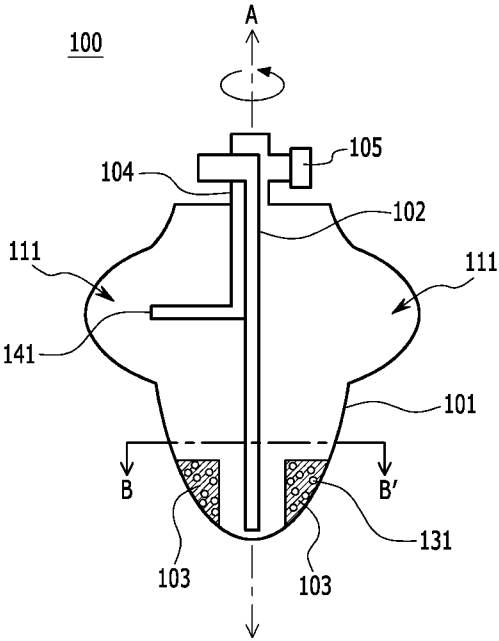
본 발명은 회전축을 중심으로 회전가능하며, 원주방향을 따라 측면으로부터 볼록하게 돌출되어 내부에 수집공간부를 형성하는 하우징부; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하는 제 1 출입관; 상기 회전축 방향을 따라 상기 하우징부의 내부로 삽입되어 상기 하우징부의 내부와 외부를 연결하며, 내부의 종단이 수집공간부 내에 위치되도록 구부러진 제 2 출입관; 및 상기 하우징부의 내면으로부터 돌출된 복수 개의 교반 날개부들을 포함하는 것을 특징으로 하는 세포분리 용기 및 이를 이용한 세포분리 방법을 개시한다. 상기와 같은 세포분리 용기 및 이를 이용한 세포분리 방법은 지방 조직으로부터 줄기세포를 분리하는 데에 있어서 효율을 향상시키고 장치에 따른 비용을 절감하도록 한다.

【대표도】

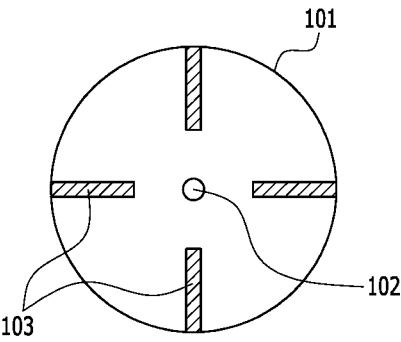
도 1

【도면】

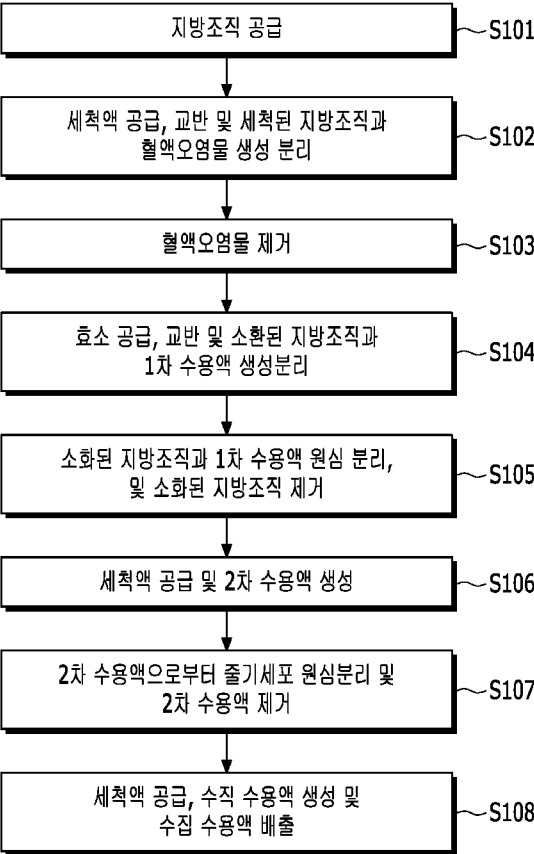
【도 1】



【도 2】



【도 3】



【도 4】

