

Dielectrophoresis를 이용한 초소형 세포융합시스템의 설계 및 해석

양성동*, 이상욱, 김용권
서울대학교 전기공학과

Design and Analysis of the Microfabricated Cell Fusion System using Dielectrophoretic Force

Sung-Dong Yang, Sang-Wook Lee, Yong-Kweon Kim
Department of Electrical Engineering, Seoul National University

Abstract

Recently, micro-scaled cell fusion system in the biological cell fusion is preferred to Macro-scaled one by dint of microelectronic processes. The microfabricated cell fusion system has its components such as fusion chamber, selector and detector. In this paper, we describe the design rules of the micro-fabricated cell fusion system using dielectrophoretic force and analyze its components using finite element method.

1. 서론

세포융합에 있어서 기존의 방법은 많은 양의 세포를 동시에 다루는 것이었다. 이 방법들의 문제점은 용합체중에 원하지 않는 것들, 예를 들면 같은 종류의 세포들끼리 융합된 것들(AA, BB, AAB 등등)이 많기 때문에 이를 선별해야 하는 점이다. 이러한 이유 때문에 수율이 많이 낮아지고 사람이 이를 해야 하므로 좋은 방법이라고 할 수 없었다. 그래서, 세포융합 및 조작기를 초소형화 하여 세포를 하나씩 조작하는 방법이 필요하게 되었다.

세포를 하나씩 조작하는 방법에 있어서 여러가지가 있을 수 있는데, 우리가 원하는 것은 세포가 상하지 않고 현탁액속에서 조작할 수 있도록 하는 것이다. 그렇게 하려면 조작하는 기구가 세포와 접촉하지 않는 것이 유리한데 그러한 점에서 진계를 이용하는 것이 제안 될 수 있다. 세포가 전기적인 특성면에서 볼 때 중성인 입자이고 세포막이 부도체에 가까우므로 진계적으로 유전체라고 생각할 수 있다. 유전체에 진계에 의한 힘이 작용하여 움직이는 것을 Dielectrophoresis (DEP)라고 하고 우리는 이 힘을 세포를 조작하는데 이용할 수 있다.

현탁액속의 세포를 개별적으로 조작하기 위해서 세포크기와 비슷한 크기를 갖는 유체 통로와 전극, 절연구조를 반도체소자가공공정을 이용해서 제작할 수 있고, 전극에 교류전계를 가하여 DEP현상을 이용해서 세포를 비접촉으로 이동 또는 조작할 수 있다.

이 초소형기의 특징은 반도체 공정을 이용하기 때문에 구조가 평면적(2차원)구조가 된다는 것이다. 그러므로 설계와 해석이 용이하고, 절연물과 전극으로만 되어 있으므로 제작시 두장의 마스크만 필요하게 되어 공정이 비교적 간단해진다.

본 논문의 목적은 초소형으로 제작하는 세포융합시스템을 설계하고 해석하는 것이다. 우선, 2장에서는 DEP힘을 수학적으로 표현하고 세포의 전기적 모델에 대해서 기술했다. 3장에서는 초소형 세포융합시스템 설계시의 고려사항과 각 단위기구를 기술하였고, 이에 대한 설계와 해석을 하였다.

2. Dielectrophoresis

DEP이란 중성입자에 진계를 가해줄 때 입자내에 생기는 분극현상에 의하여 유기된 +, -전하가 전계에 끌리게 되는데, 이때 힘의 방향이 반대이므로 그 힘의 차이가 있다면 힘이 큰 쪽으로 움직이는 현상이다. 예를 들면 대전된 물체에 종이 가 끌려 가는 현상이나 전기기계에 인지가 모여드는 현상이다. 이 현상을 기술하면 다음과 같다. [1]

(1) DEP의 수학적 표현

DEP 힘은 입자내의 분극전하가 받는 힘으므로 이는 쌍극자가 받는 힘이다. 그것을 수학적으로 표현하면 식(1)과 같다.

$$\begin{aligned} \vec{F} &= (\vec{p} \cdot \nabla) \vec{E} \\ &= (\alpha \vec{E} \cdot \nabla) \vec{E} \\ &= \frac{1}{2} \alpha \nabla |\vec{E}|^2 \end{aligned} \quad \dots \text{식(1)}$$

$$\begin{aligned} \text{단, } \alpha &= \epsilon_0 \chi_e \quad U \\ \chi_e &: \text{실효전기감수율 (effective susceptibility)} \\ U &: \text{부피} \end{aligned}$$

위의 식에서 보면 힘의 방향은 $\nabla |\vec{E}|^2$ 에 의해서 결정되는데 $\nabla |\vec{E}|^2$ 는 전극과 절연물의 기하학적인 형상에 좌우된다. 그리고 힘의 방향은 $\nabla |\vec{E}|^2$ 를 보면 알 수 있듯이 전계의 방향은 관계없고, 크기의 제곱의 Gradient에만 관계한다. 그리고 χ_e 의 부호에 따라 힘의 방향이 결정되는데 양수이면 전계가 큰 쪽으로, 음수이면 작은 쪽으로 향하게 된다. χ_e 는 물질상수(유전율과 전도율)와 가해지는 전계의 주파수에 의해서 결정이 된다. 이에 대해서는 세포 모델에서 자세히 설명하겠다.

(2) 세포 모델 [2]

위에서 보면 DEP 힘을 구하기 위해서는 세포의 실효전기감수율을 알아야 한다. 세포를 적당한 모델로 생각하여 이것을 구해야 하는데, 현재 두가지가 제안되어져 있다.

(가) 구 모델(Spherical Model)

가장 간단한 모델인 구 모델이다. 이는 세포를 구로 생각하고 여기에 극부적으로 일정한 교류전계가 가해졌다고 가정하여 전기적으로 해석하는 것이다. 이는 전계의 변화가 세포의 크기에 비해서 매우 작다고 가정하는데서 적당한 근사가 될 수 있다. 그림 1(a)에서 구의 안쪽과 바깥쪽에 전류연속이라는 경계조건을 가지고 풀어주면 그 결과는 다음과 같다.

$$\hat{\chi}_e = 3K_1 \frac{\hat{\epsilon}_2 - \hat{\epsilon}_1}{\hat{\epsilon}_2 + 2\hat{\epsilon}_1} \quad \dots \text{식(2)}$$

$$\text{단, } \hat{\epsilon}_k = \epsilon_k - i \frac{\sigma_k}{\omega}, \quad K_k = \frac{\epsilon_k}{\epsilon_0}$$

- 1: 현탁액
 - 2: 세포
- 그리고, DEP 힘의 시간 평균은

$$\langle \vec{F} \rangle = \frac{1}{4} v_0 \text{Re}[\hat{\chi}_e] \nabla |\vec{E}|^2 \quad \dots \text{식(3)}$$

이 된다.

위식을 보면, 전에 언급했던 것처럼 $\hat{\chi}_e$ 가 물질상수와 주파수의 함수가 되므로 $\hat{\chi}_e$ 에 대한 주파수 의존성을 정확하게 안다면 주파수를 조절하는 것만으로도 힘의 방향과 크기를 제어할 수 있다.

(나) 구 껍질 모델(Spherical Shell Model)

이는 구 모델보다 더 진보된 것으로 세포의 세포막을 첨가한 것으로 생각하면 된다. 그림 1(b)에서 경계조건을 가지고 풀어주면

$$\hat{\chi}_e = 3K_1 \frac{\hat{\epsilon}_m(\hat{\epsilon}_2 - \hat{\epsilon}_1) - \alpha(\hat{\epsilon}_1 + 2\hat{\epsilon}_m)(\hat{\epsilon}_2 - \hat{\epsilon}_m)}{\hat{\epsilon}_m(\hat{\epsilon}_2 + 2\hat{\epsilon}_1) + 2\alpha(\hat{\epsilon}_1 - \hat{\epsilon}_m)(\hat{\epsilon}_2 - \hat{\epsilon}_m)} \quad \dots \text{식(4)}$$

$$\text{단, } \alpha = \frac{1}{3} [1 - (1 - \delta)^3]$$

$$\delta = \frac{d}{R}$$

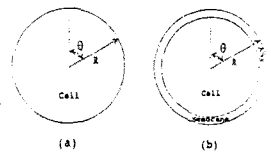


그림 1 세포 모델

- 1: 현탁액.
- 2: 세포질.
- 3: 세포막.

이 된다.

그리고, DEP 힘의 평균은 구 모델의 식(3)과 같다.

3. 초소형 세포융합시스템

(1) 초소형 세포융합시스템 설계의 고려사항

(가) 세포에 인력을 주는 구조가 필요하다

진극에 교류전압을 가하면 절연물쪽으로 세포가 끌려가게 되서 합정에 걸리듯이 잡히게 된다. 이러한 요소가 그림2에서 보이는 것과 같은 세포조작기의 기본적인 요소인 유인기(Attractor)가 된다. 이때 끌려가는 힘의 크기는 절연물 경계의 곡률에 좌우되기 때문에 적절히 잘 설계되어야 한다.

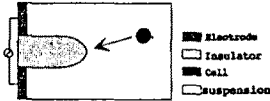


그림2 세포 유인기

(나) 유체역학을 고려한 설계

유체의 흐름이 원활한 구조로 설계하여야 한다. 왜냐하면, 유체흐름 자체가 세포의 움직임에 영향을 많이 주기 때문이다. 세포에 작용하는 힘은 관성력, 유체의 점성력과 압력, 그리고 DEP 힘인데, 세포의 질량이 매우 작으므로 관성력은 무시할 수 있게 된다. 즉, Reynolds 수가 작은 시스템이기 때문에 점성력이 주로 작용한다. 점성력은 유체와 세포의 상대적인 움직임 때문에 생기는 힘이므로 이 힘이 DEP 힘보다 크게 작용하지 않도록 유속에 대한 적절한 설계가 필요하게 된다.

(다) 세포의 크기와 부합되는 시스템의 크기

대상이 되는 세포의 크기와 세포융합시스템의 크기가 잘 부합되도록 설계해야 한다. 예를 들어, 세포의 크기보다 채널의 폭이 너무 크면 세포가 한번에 여러 개가 지나갈 수 있고, 반대로 너무 작으면 채널에 세포가 걸려서 움직일 수 없게 된다. 우리가 원하는 설계는 채널에 세포 한개만 통과할 수 있는 구조이다. 대략 세포의 평균지름을 1.5배 정도의 폭이 적절하다. 현재 우리가 신경하려는 세포의 지름이 20에서 40 μ m 정도이고 평균은 30 μ m로 정규분포를 갖는다고 알려져 있다. 이를 기초로 하여 채널의 크기는 50 μ m로 하였다.

(라) 원하지 않는 합정이 생기지 않아야 한다

만일 원하지 않는 합정이 생기면 자동작의 원인이 된다. 예를 들면, 진극과 절연벽의 연결부분같은 곳이 전계가 급격히 변하기 때문에 합정이 생길 수 있다. 그리고, 이것은 설계 당시에는 전혀 나타나지 않을 수도 있다. 우리가 해석한 것이 2차원적 해석이므로 실제인 3차원적으로 보면 보이지 않는 합정이 생길 수도 있다. 설계할 때는 가능한 이런 합정이 생기지 않는 모양이나 불가피한 경우 최대한 동작부에서 멀리 떨어지게 설계해야 한다.

(2) 세포융합시스템의 구성요소와 설계 및 해석

세포융합시스템의 블럭다이어그램은 그림3에 나와 있다. 입구 A, B에 세포 A, B가 들어오고 펌프에서 유체를 흘려주면 세포들이 선별기 쪽으로 가게 되는데 그 사이에 감지기가 있어서 세포가 오는지를 감지하여 세포를 하나씩만 융합기로 보내고 나머지는 다시 입구쪽으로 보낸다. 융합기에 세포가 들어오면 융합을 시킨후에 다시 선별기에 보내서 융합된 것만 출구로 보내고 융합에 실패한 것은 다른 저장조에 보내게 되어 융합된 것만을 골라내게 된다.

DEP 힘의 해석을 위해서는 먼저 전계 해석을 해야 하는데 이는 전계 해석용 상용프로그램인 MAXWELL을 사용하였다. 2차원으로 해석하고 낮은 주파수에 대한 문제이므로 전류분포를 계산하는 해석기로 해석했다. 우리가 사용할 절연물은 형상비가 큰 재료인 폴리이미드이고 진극도 높이를 주기 위해서 구로 도금을 하여 만드는 중이다. 전류분포이므로 문제를 푸는 때는 전도율만 알면 되는데 절연물은 0으로 놓고 현탁액의 전도율을 0.1(0.01) Ω^{-1} 로 하여 풀었다.

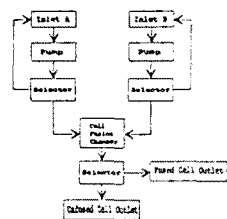


그림3 세포 융합시스템

(가) 세포융합기

세포 융합기는 이동해 온 세포 두개를 한 곳에 모아서 강한 전계로 융합시키는 장치이다. 세포 융합기의 설계된 모습은 그림 4(a)에 있다. 가로의 길이는 600 μ m이고, 세로의 길이는 480 μ m이다. 그림에서 융합기중앙에 있는 절연물사이드 모든 전계가 모이게 하면, 전계의 세기가 그 융합된 곳에서 상당히 커지게 된다. 그렇게 하면 각 입구로 서로 다른 세포가 들어오서 융합된 영역에서 모이게 된다. 이때 강한 Impulse의 전계를 가하면 세포막이 세포가 붙은 곳부터 터져서 융합이 일어나게 된다. 세포막이 터지면 그 사이로 세포질이 모여서 결국은 다시 구의 형태를 형성하게 된다. 융합된 이후에는 전계를 제거하거나 주파수를 바꾸어서 속력이 작음하게 하여 출구쪽으로 빠져나가게 한다. [3][4][5]

융합기의 채널폭은 세포 크기가 30 μ m 정도이므로 이를 고려해서 50 μ m로 하였다. 그리고, 진극간격은 150 μ m이다. 진극에 걸린 전압은 위크가 30V이고 아레파이 -/20이다. 융합기중앙의 절연물의 모양은 유체의 흐름을 고려해서 설계하였다. 입구쪽을 절결 벌린 이유는 외부와 연결하기 편하게 하기 위해서이다. 출구쪽을 넓게 설계한 것은 유체에 저항을 적게 하기 위해서이다. 해석한 그림4(b)는 힘의 방향성이 나타나 있는데, 이를 보면 전계유침이 일어나는 부분쪽으로 힘의 방향이 생기는 것을 볼 수 있다. 여기서 가정된 힘은 식(3)에 의한 것인데 이는 세포 모델링에서 가정했듯이 전계가 세포크기에 비해서 변화의 정도가 작다고 가정하고 구한식이다. 표1은 그림 4(a)에 나와 있는 각 지점의 $\nabla|E|^2$ 를 나타낸 것이다. 여기에 세포와 현탁액의 밀집상수에 의한 $\alpha/2$ 를 곱하면 세포에 작용하는 힘을 알 수 있다. 진극의 끝쪽으로도 $\nabla|E|^2$ 이 크게 계산되었는데 이는 진극 끝부분이 전계가 급변하기 때문이다. 이것이 위에서 진에 기술한 원하지 않는 합정이다.

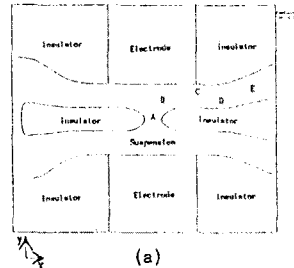
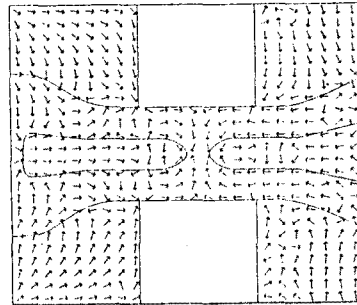


표1 융합기

Point	x방향	y방향
A	8.33e15	-8.81e15
B	-2.55e15	2.42e15
C	-1.99e15	-3.94e15
D	-3.66e11	2.85e10
E	3.69e08	1.67e08



(b)

그림4 융합기

(나) 선별기

세포 선별기는 세포를 선택적으로 골라내어 원하는 방향으로 보내는 장치이다.

선별기는 두가지를 설계하였는데 하나는 그림 5(a)에서 처럼 유인기 출구에 각각 하나씩 있는 것이고 다른 하나는 그림 5(c)처럼 한 쪽에만 있어서 전계를 가하면 위쪽으로 전계를 가지 않으면 유체의 흐름상 아래쪽으로 가게 되어있다. 둘다 가로는 250 μ m이고 세로는 200 μ m이다. [6]

그림 5(a)의 선별기는 일종의 선택기(Demultiplexor)로 입구에서 들어온 것을 두개의 출구중 하나를 선택하여 보내는 장치이다.

그림 5(c)의 것은 세포의 크기에 따라 선별할 수 있는 선별기이다. DEP 힘은 세포의 부피에 비례하므로 세포 반지름 r 의 세제곱에 비례하고, 유체저항력(Drag force)는 $6\pi\eta r v$ 로 반지름에 비례한다. 단 이때 η 는 점성계수이고 v 는 유체와 세포와의 상대속도이다. 그러므로 DEP 힘과 저항력의 비는 반지름의 세제곱에 비례하므로 세포의 반지름이 커지면 DEP힘의 효과가 제곱의 비로 커지게 된다. 이를 이용하면 전계의 세기를 일정하게 고정 시켜서 DEP힘이 저항력을 이길 수 있는 크기의 세포만 선별할 수 있다. 다시 말하면 크기 선별기라고 할

그림 5(b)는 그림 5(a)를 해석한 것으로 위의 전극, 2에 30V, -30V를 걸어준 것이다. 힘의 방향을 보면 위쪽의 출구쪽으로 향해 있다. 이 상태에서 유체가 흐르면 위쪽 출구로 나가게 된다. 표2는 그림 5(a)의 각 지점에서의 $\nabla|\vec{E}|^2$ 를 구한 것이다.

그림 5(d)의 경우도 마찬가지로 30V, -30V를 걸어준 것인데 그림 5(b)의 경우처럼 위쪽으로 힘이 작용한다. 표3은 그림 5(c)의 각 지점에서의 $\nabla|\vec{E}|^2$ 를 구한 것이다. $a/2$ 의 크기는 세포 모델이 구할 때 $2\alpha^2 \epsilon_0 \kappa_1 \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1}$ 이고 $\kappa_1 \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1}$ 는 물질에 대한 상수이므로

$2\alpha^2 \epsilon_0 = 5.563e-11 \text{ a}^3$ 의 자리수가 된다. 세포가 편향되는 것은 B점이고 y방향의 성분은 $7.38e12$ 이므로 DEP 힘은 약 $410 \text{ a}^3 \text{ N}$ 정도가 된다. η 가 약 $1.0e-3 \text{ N} \cdot \text{s/m}^2$ 정도이고 v 가 약 $5 \mu\text{m/s}$ 라면, 저항력은 약 ax $9.42e-8 \text{ N}$ 되므로 a 가 약 $15 \mu\text{m}$ 이상의 크기를 가진 세포는 끌려 가게 된다.

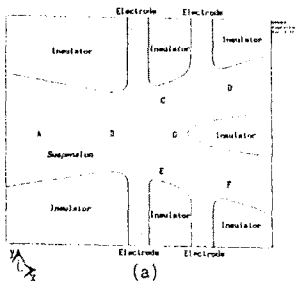
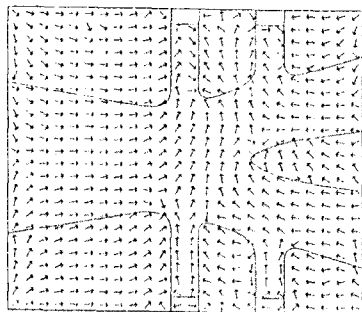


표2 선별기

Point	x방향	y방향
A	6.20e11	4.20e10
B	7.96e13	4.76e13
C	1.28e14	1.85e15
D	-2.01e14	4.81e12
E	-4.17e13	4.18e13
F	-5.75e10	8.46e09
G	8.41e14	1.26e15



(b)

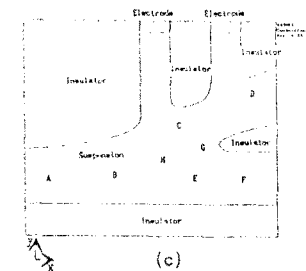


표3 선별기

Point	x방향	y방향
A	4.21e10	1.42e09
B	1.80e13	7.35e11
C	1.35e13	2.38e15
D	-6.52e14	1.10e11
E	-3.12e12	1.57e12
F	-1.96e12	3.23e11
G	2.51e14	1.90e15
H	6.48e13	2.26e14

그림5 선별기

(다) 세포 감지기

세포 감지기는 세포가 채널사이로 통과하는지를 알아내는 장치이다. 그림6에서 보면 채널 양쪽에 전극을 놓고 전류를 흘려준다. 이때 세포가 지나가면 세포에 의해서 전극 양단의 저항이 증가하기 때문에 (세포막은 일반적으로 절연체임) 그 전류변화를 감지해서 세포가 지나가는 것을 알 수 있는 장치이다.

저항은 다음과 같이 구한다. 현탁액의 전도율은 $0.01 (\Omega \cdot \text{m})^{-1}$ 정도이고 전압차는 30V를 가한 상태에서 1/h를 적분하여 구해서 여기에 높이 $h=50 \mu\text{m}$ 를 곱하여 전류를 구한다. 여기서 구한 전류로 전압을 나눈 것이 저항값이다. 이 표를 기준으로 저항변화를 감지하여 적당한 처리를 할 수 있다.

표4는 반지름이 $15 \mu\text{m}$ 이고 d 가 $10 \mu\text{m}$ 일 때 전극으로 부터의 거리를 변화시켰을 때의 값들이다.

표5는 세포가 전극 정중앙에 있고 세포의 반지름을 변화시켰을 때의 값들이다.

표6은 세포의 반지름을 $15 \mu\text{m}$ 로 하고 전극사이에 있을 때 d 를 변화시켰을 때의 값이다.

결과를 분석해 보면 전류 측정만 정밀하면 세포가 지나가는 것을 판단할 수 있는 감지기로 쓸 수 있다.

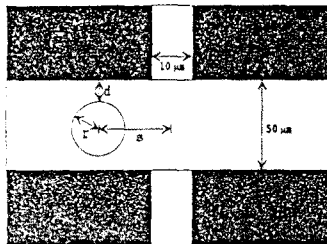


그림6 감지기

표4 a에 대한 저항변화

거리(s μm)	1/h(A/m)	I(μA)	R(M Ω)
0	0.1487	7.435	4.035
35	0.1453	7.267	4.128
17	0.1261	6.309	4.756
0	0.1027	5.135	5.842

표5 r에 대한 변화

세포크기(r μm)	1/h(A/m)	I(μA)	R(M Ω)
10	0.1330	6.65	4.511
15	0.1027	5.135	5.842
20	0.0714	3.569	8.405

표6 d에 대한 변화

전극사이의 거리(h μm)	1/h(A/m)	I(μA)	R(M Ω)
1	0.058	2.93	10.33
5	0.036	1.797	6.253
10	0.1027	5.135	5.842

4. 결론

세포융합장치를 개발하는 기초 단계로 설계의 고려사항과 용합기, 선별기, 감지기 등의 구성요소에 대한 설계와 해석을 보였다. 해석결과를 놓고 볼 때, 위의 구성요소들은 수십Volt내에서 구동시킬 수 있다는 것을 알 수 있다. 구동회로의 제작에도 크기가 큰 용합장치보다 낮은 전압으로 구동할 수 있기 때문에 더 좋다고 말할 수 있다. 감지기인 경우 빛을 이용하는 방법보다는 간단하게 제작할 수 있다는 장점이 있다.

앞으로 해야 할 일은 실제로 제작을 하여 위의 해석결과를 검증하는 것이고 위의 해석보다 더 좋은 설계를 얻어내는 일이다. 선별기나 용합기의 경우는 더 좋은 모양의 설계가 필요하며, 이를 위해서는 유속 해석이 요구되어진다. 감지기의 경우는 전류의 정밀측정을 하는 방법이 요구되어진다.

5. 참고문헌

- [1] H. A. Pohl, Dielectrophoresis. Cambridge University Press, 1978.
- [2] I. Turcu & C. M. Lucaicu, "Dielectrophoresis: A Spherical Shell Model". J. Phys. A: Math. Gen. 22(1989) pp.985-993, Printed in the UK.
- [3] Senich Masuda, Masao Tashizu & Toshiyuki Nanba, "Novel Method of Cell Fusion in Field Constriction Area in Fluid Integrated Circuit", IEEE Transactions on Industry Applications, Vol., 25, NO.4, pp.732-737, July/August 1989.
- [4] Naoto Urano, Minoru Kamizura, Toshiyuki Nanba, Masaaki Okada, Masashi Fujimoto & Masao Tashizu, "Constriction of a Yeast Cell Fusion System using a Fluid Integrated Circuit", Journal of Biotechnology, 20(1991) pp109-115.
- [5] Piotr Marszalek & Jerzy J. Zielinski, "Experimental Verification of a theoretical Treatment of the Mechanism of Dielectrophoresis", Bioelectrochemistry & Bioenergetics, 22(1989) pp.289-298.
- [6] Masao Tashizu, Toshiyuki Nanba & Senichi Masuda, "Handling Biological Cells Using a Fluid Integrated Circuit", IEEE Transactions on Industry Applications, Vol. 26, No.2, pp.352-358 March/April 1990.