

세포 전기 융합 감지 장치에 관한 연구

권 기진*, 김 민수, 박 세광
경북 대학교 전기 공학과*

Development of System For Cell Fusion Detection

Kijin Kwon*, Minsoo Kim and Sekwang Park
Kyungpook National University, Department of Electrical Engineering*

Abstract

Cell fusion device is an artificial equipment which fuses electrically two types of cells fed from the respective micropump to the fusion chamber by electric pulses. In this case, the detective sensor of flowing cell, along with passage, is required to control the time of pulses applied to cell and the injection of cells which are fed from inlet to micropump. There are two methods of detection of flowing cell: optical, impedance method. The difference of output for optical sensor is about 426mV for 805nm wavelength, about 37mV for 665nm wavelength. In impedance method, sensor output is 132.33mV at middle point and 117.10mV at edge point in the channel. Experimental results show that the optimal frequency range of sensor output is from 50Hz to 400Hz.

1. 서론

세포 융합은 이종의 두 세포가 자연적으로 융합되기도 하나 융합의 시간이 오래걸리고, 원하는 세포를 임의로 융합하기가 어렵다. 따라서, 원하는 세포를 짧은 시간동안 융합하는 인공적 융합 방법인 세포 전기 융합 방법이 연구되어지고 있다. 이 방법은 세포의 유전성 접합력을 이용한 전기적 방법으로 세포를 인공적으로 접합시키는 가장 효과적인 방법이다.^[1-4]

세포 융합을 위한 핵심 기술에는 원하는 세포가 융합될 수 있도록 세포의 흐름을 감지하는 세포 감지 장치가 필수적이다. 이 세포 융합 장치는 세포를 다루는 장치이므로 미세하고 정밀하게 제작되어야 한다. 따라서, 고도의 미세 가공 기술을 필요로 한다. 본 연구에서는 수~수십 마이크로미터 정도 크기의 세포의 흐름을 감지하여 세포의 융합을 제어하기 위한 센서를 연구, 개발하고자 한다. 세포가 이동하는 상태를 감지할 수 있는 방법중에는 세포의 통과에 광 파이버를 이용하는 방법과 통과부에 세포가 통과할 때 세포의 임피던스가 변화로 세포의 흐름 유무를 판별하는 방법으로 분류할 수 있다.

2. 세포 융합 감지 시스템의 제작 및 실험 방법

2-1 광을 이용한 세포의 감지 센서

광 센서부의 광원으로 적색광과 적외광의 고휘도 LED를 사용하였고, 감지기 부분은 PIN photodiode를 이용하였다. 사용한 photodiode에서의 감도는 적외광 영역에서 최대의 감도를 나타내고 있다. 그리고, 광원부와 감지기부에는 LED와 photodiode가 세포의 크기에 비하여 너무 커서 적당하지 못하고, 불요한 외부의 외란광 때문에 single mode 광 파이버를 이용하여 접속하였다.

세포가 통과할 수 있는 통로는 지름은 최소 50 μ m 에서 최대 150 μ m 정도의 마이크로 피펫을 이용하여 실험하였다. 그리고, 제작된 마이크로 피펫의 입구 부분에 세포를 주입할 수 있도록 주사기를 연결하여 설계, 제작한후 마이크로 피펫을 유리판 위에 고정시킨 다음, 광 파이버를 마이크로 피펫의 양쪽에 위치시켰다. 센서에서 감지한 신호는 증폭 회로와 필터 회로의 신호 처리 회로를 거친 다음, A/D 변환기를 통하여 아날로그 신호를 디지털 신호로 변환시켜 마이크로프로세서를 이용하여 신호를 해석하였다. 그림 1은 제작한 신호 처리 장치를 나타낸 것이다.

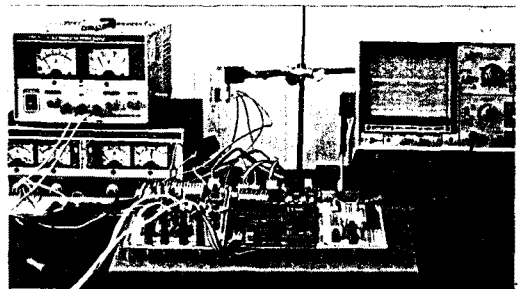


그림 1. 광 센서부의 신호처리 장치

실험에서 사용된 세포는 약 수 마이크로미터 정도의 크기의 대장균 사용하였다. 이 배양된 대장균과 Isotonic sodium

chloride solution를 일정 비율로 섞어 농도를 다르게 하여 1 센서의 출력 전압을 각 파장별로 측정하였다. 그림 2는 투과 광 방식을 이용하여 세포의 흐름 유무를 측정하는 실험 장치의 개략도를 나타낸 것이다.

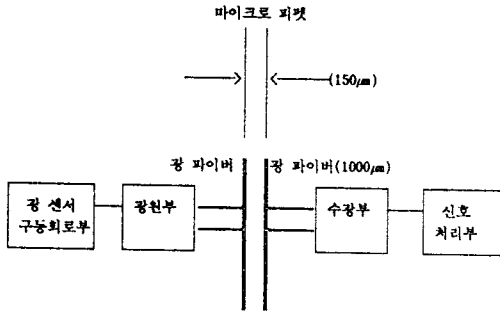


그림 2. 광파이버를 이용한 투과광 방식의 센서부 개략도

2-2 임피던스 변화를 이용한 세포 감지 센서

그림 3은 임피던스 변화를 이용한 세포 감지 장치의 개략도를 나타낸 것이다. 전극은 20 X 20mm의 구리 전극, 현탁액으로는 Isotonic sodium chloride solution을 사용하였으며, 전원에는 5V DC전압과 5Vp-p, 0Hz에서 1MHz의 AC 전압을 인가하였다. 세포의 흐름 통로(channel)를 21mm로 비교적 크게 제작한 이유는 실험을 통한 결과를 바탕으로 최적의 전극 구조를 설계하기 위함이다. 이 기초 실험을 한후, 실제 반도체 공정 기술을 이용하여 전극으로 백금(Pt)을 sputtering 공정을 통하여 수십 μm정도의 크기로 channel 영역에 형성시켜 실험하고자 한다.

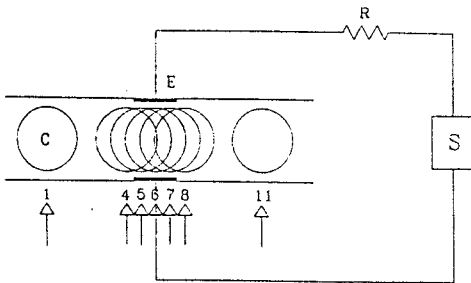


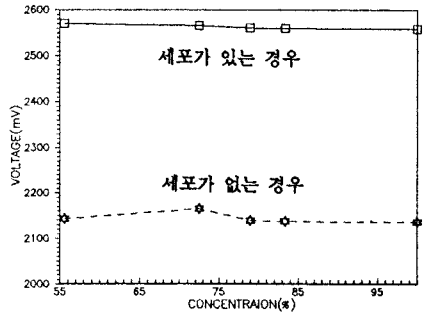
그림 3. 감지 회로의 개략도

3. 실험 결과 및 토의

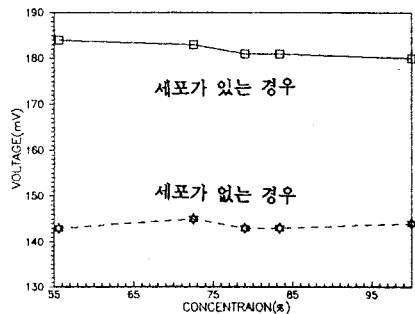
3-1 광 센서를 이용한 모의 실험 결과 및 토의

광원으로 665nm와 (805nm)의 파장을 가지는 두가지의 LED를 사용하여 각각의 시료에 대한 실험을 수행하였다. 실험 결과, 세포의 흐름 유무에 대한 감도는 적외광 영역에서 더욱

sensitive함을 알 수 있었다. 이 결과는 감지기부인 photodiode의 최대 감도가 적외광 영역에서 존재하고, 세포에 대한 광의 흡수도가 적색광 보다는 적외광이 더욱 작기 때문이다. 그림 4는 적색, 적외 파장에서의 출력을 나타낸 것이다.



(a) 적외 파장 영역



(b) 적색 파장 영역

그림 4. 파장과 세포 농도의 변화에 따른 센서의 출력

적외 파장 영역에서는 세포의 흐름 유무에 따라 그 변화의 출력값의 차이가 약 426mV 정도이다. 이에 반하여 적색 파장 영역에서는 약 37mV의 변화가 발생하였다. 세포 농도의 변화에 따른 실험 결과, 세포의 농도가 증가할 수록 출력 전압이 감소하였고 이는 세포의 농도가 증가할수록 투과되는 광의 양의 적기 때문이라 생각되며, 출력변화의 폭은 크지 않았다(적외 파장: 10mV, 적색 파장: 3mV). 이는 사용된 광 파이버의 크기가 마이크로 피펫의 지름의 크기의 약 6~7배 정도로 더 크기 때문에, 즉, 세포의 농도 변화에 의한 광량의 변화가 전체 광량에 비하여 미약하기 때문에 나타나는 현상이라고 생각된다. 그러나, 실제로 사용되는 세포의 통로는 반도체 미세 가공 기술을 이용하여^{[6][7]} 약 40μm 정도의 폭으로 제작되기에 광파이버의 굵기를 40μm 이하의 것을 사용하면 이 현상을 충분히 보완할 수 있으리라고 생각한다.

실험에서 세포가 있을 경우와 없을 경우에 대한 출력 전압

을 살펴보면, 출력 전압이 시료가 있을 경우 광의 흡수와 산란으로 인하여 감지되는 광량이 감소하기 때문에 세포가 있을 경우가 세포가 없을 경우보다 크다는 사실을 예상한다. 그러나, 실제 투과광 방식에서 있어서는 이러한 실험 결과와는 반대의 현상이 발생하였다. 이는 실험에 사용된 마이크로 피켓이 원통의 형태로 되어 있기 때문에 시료가 존재할 경우, 이 원통 형태의 마이크로 피켓이 볼록 렌즈 효과를 나타내기 때문에 photodiode에 도달하는 광의 세기가 시료가 없을 경우보다 더욱 증가하기 때문이라고 생각된다.

3-2 임피던스 변화형 센서의 모의 실험 결과 및 토의

그림 5는 그림 3에서 세포의 위치에 따른 센서의 감도 변화를 나타낸 것이다. 실험에 사용된 전원은 AC 5Vp-p 120Hz를 사용하였으며, 세포의 위치가 전극의 외부에 있을 경우(위치 1, 11)에는 출력 전압이 117.10mV 정도이고 세포의 위치가 전극의 중앙에 위치한 경우(위치 6)는 출력 전압이 132.33mV 정도로서 전압 차이가 약 14mV 정도로 변화하였으며, 위의 실험은 반복성이 우수하였다. 그림 6은 전극부에 DC 전압을 인가한 경우에 있어서 출력의 변화를 나타낸 것이다. 시간이 지남에 따라 전압이 줄어드는 것을 관측되며, 이는 수용액 내부에서 DC 전압으로 인해 전기 분해가 발생하기 때문이라고 생각된다. 그리고, 이 전기 분해로 인하여 전극 또한 산화되고, 수용액 내부에서 기포가 발생하는 문제점이 있었다. 그림 7은 인가 전원의 주파수를 변화시킴으로써 수용액 내의 세포가

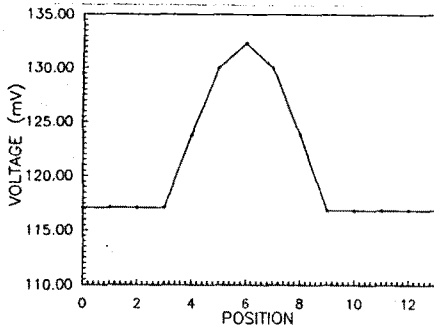


그림 5. 세포의 위치에 따른 감도의 변화

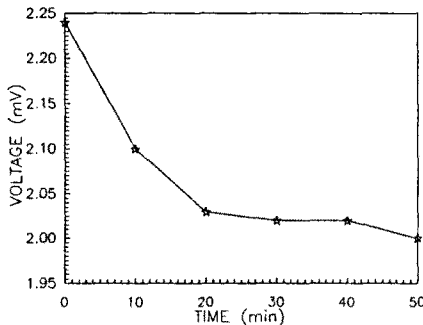


그림 6. DC 전압을 인가한 경우의 출력 변화

전극 중앙에 위치한 경우에 대한 출력 변화를 나타낸 것이다. 이 실험 결과에서 우리는 주파수의 변화가 50Hz에서 400Hz 사이에서 센서의 출력 변화가 최적일 것을 알 수 있다.

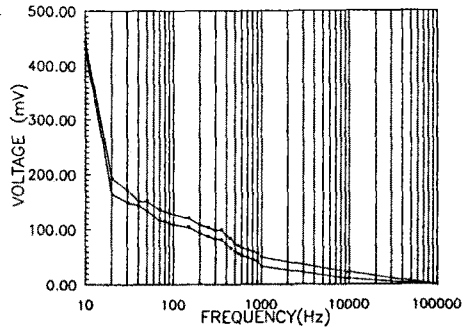


그림 7. 주파수 변화에 따른 출력 변화

4. 결론

광을 이용하는 방식과 임피던스의 변화를 이용하는 방식의 두가지 방법으로서 세포 전기 용합 감지 시스템에서 세포의 흐름을 감지하는 모의 실험을 수행하였다. 실험 결과, 두가지 방법이 모두 세포의 흐름을 감지할 수 있다는 가능성을 확인하였다. 세포의 농도의 변화에 따른 센서의 출력 변화는 비교적 작았지만 이를 보완하기 위하여는 보다 작은 크기의 광파이버를 사용한 실험이 수행하면 될것이다. 임피던스 변화를 이용한 방식은 세포의 위치에 따라 출력 전압의 차이가 약 14mV 정도 변화하였고, 주파수에 대한 센서의 출력 변화는 50Hz에서 400Hz 사이에서 최적의 주파수 범위를 가짐을 실험을 통하여 알 수 있었다.

5. 참고문헌

- [1] Senichi Masuda, "Novel Method of Cell Fusion in Field Constriction Area in Fluid Integrated Circuit", IEEE Transaction on Industry Application, Vol. 25, No. 4, pp. 732-737, 1989
- [2] H. Pohl and K. Kaler, "Continuous Dielectrophoretic Separation of Cell Mixtures", Cell Biophys., Vol. 1, pp. 15-28, 1979
- [3] H. Pohl, K. Pollock, and H. Rivera, "The Electrofusion of Cell", Int. J. Quantum Chem., Quantum Biology Symp. 11, pp. 327-345, 1984
- [4] U. Zimmermann, G. Pilwat, and H. Pohl, "Electric Field-mediated Cell Fusion", Bio. Phys., Vol. 10, pp. 43-50, 1982
- [5] Kurt E. Petersen, "Silicon as a Mechanical Material", Proceeding of The IEEE, Vol. 70, No. 5, 1982