

# Dielectrophoretic Levitation을 이용한 세포막의 전기적 특성 결정

김용욱\*, 이상욱\*, 이상훈, 김용권  
서울대학교 전기공학과, \* 단국대학교 의공학과

## Determination of Electric Parameters of Cell Membranes Using Dielectrophoretic Levitation

Yongwook Kim\*, Sangwook Lee, Sanghun Lee, Yongkweon Kim  
Dept. of Electrical Eng., Seoul Nat'l Univ., \* Dept. of Biomedical Eng., Dankook Univ.

### Abstract

A new method for determination of electric parameter of cell membranes is proposed. Two circular electrodes is designed to have repulsive force. From the potential energy analysis, stable points where a cell is levitated between electrodes exist and move as frequency or voltage change. The levitated cell in the stable point fall freely when DEP force is zero. The DEP force is dependent on the frequency and the force is zero at the critical frequency. The critical frequency is determined by measuring the difference between the time taken at zero-applied voltage and the time taken at the frequency and the voltage. For example, the critical frequency and stable points of *N. crassa* slime cell is numerically evaluated. In the experiment, polystyrene in water is levitated at the stable point. We show that the stable point move as the applied voltage is changed.

### 1. 서론

최근 바이오테크놀로지 분야에서 전기장에서 세포를 조작하는 방법에 관한 연구가 많이 이루어지고 있다. 전기장에서 세포를 조작하기 위해서는 세포의 전기적 특성(전기전도도, 유전율)을 알아야 한다. 세포에서 세포막의 전기적 특성은 특히 중요한데, 세포막의 전기전도도는 이온 수송 활동을 이해하는 중요한 양이며, 유전율은 세포막 내의 분자들 간의 상호 정전력을 이해하는 중요한 양이다. 전기적 특성 측정 방법에는 "suspension" 방법[1], "micropipet" 방법[2], Dielectrophoresis (이하 DEP) 방식이 있다. 이 중에서 미세촉이므로 접촉으로 인한 세포의 손상을 막을 수 있고 전계를 이용하여 쉽게 조작이 가능한 DEP 방식이 많이 연구되고 있다. 여기에는 크게 나누어 인력을 이용한 방식[3]과 척력을 이용한 방식[4]이 있다. 인력 방식은 전계의 세기가 강한 쪽으로 세포가 끌려가며 이를 positive DEP라 부른다. 전극 사이에 퍼텐셜 에너지의 극소점이 없으므로 안정점이 없다. 그래서, 세포가 전극 사이에 고정되지 못하고 전계가 강한 전극 쪽으로 끌려가서 붙어버리므로 feedback control에 의존해야 하는 단점이 있다. 한편, 척력 방식은 전계의 세기가 약한 쪽으로 세포가 밀리며 이를 negative DEP라 부른다. 퍼텐셜 에너지를 구해보면 극소점이 있으므로 안정점이 존재한다. 이것을 Dielectrophoretic levitation이라고 한다. 하나의 고정된 안정점에 입자를 위치시키기 위해 전압과 주파수의 관계를 측정하면 입자의 전기적 특성을 구할

수 있다. 그러나, 이 경우는 대부분 negative DEP를 나타내는 gas bubble이나 절연 입자의 전기적 특성을 구하는 방법이다. 세포나 minerals, laser targets, 금속구 등 많은 입자들이 negative DEP와 positive DEP를 전 주파수 영역에서 동시에 가지므로 위의 척력 방식은 negative DEP만을 나타내므로 쓸모가 없게 된다.

따라서, 본 논문에서는 세포막의 전기적 특성을 측정하기 위한 방법으로 다음과 같은 새로운 방법을 제안한다. 세포를 척력에 의해 안정점에 위치시킨 뒤에 주파수를 바꿔서 negative DEP와 positive DEP의 경계점, 즉 실효 분극율이 0이 되는 주파수(임계 주파수  $F_0$ )에서 DEP힘이 0이 되어 중력(부력, 점성력을 포함한)에 의해서 일정한 속도로 떨어지는데 이 때의 속도는 전압을 가하지 않았을 때 세포가 떨어지는 속도와 같으므로 이들을 비교하여  $F_0$ 를 측정한다. 유체의 전기전도도를 바꿔가면서  $F_0$ 를 측정하여 회귀분석으로 세포막의 전기적 특성을 알 수 있다. 이 방법은 세포를 전극 사이에 고정시키므로 안정점이 없어서 한쪽 전극으로 붙어 버리는 인력 방식의 단점을 극복할 수 있다. 그리고,  $F_0$ 만 측정하면 되므로 한 고정점에 위치시키기 위해 전 주파수 영역에서 전압을 측정해야 하는 실험에서의 복잡하고 번거로움이 덜어졌다.

이 논문에서는 척력 구조로 안정하게 부상한 세포의 전기적인 특성을 측정하는 방법을 제안하였고 이의 유효성을 보이기 위한 해석과 기초적인 실험을 하였다. DEP 힘을 이용한 척력을 발생시키는 전극 구조를 설계하고 안정하게 부상하는 안정점을 해석적으로 구하였다. 이를 *Neurospora crassa* slime cell에 적용하여 제안된 방법을 수식적으로 보였으며, 이 방법의 유효성을 실험적으로 보이기 위하여 마이크로 구조물과 폴리스티렌과 물을 사용하여 안정하게 부상함을 보인다.

### 2. 이론

#### 2.1 Dielectrophoresis

DEP란 중성 입자에 작용하는 힘으로 입자 내에 분극 현상에 의해 유기된 +, - 전하가 전계에 끌리게 되는데 힘의 차이가 있다면 힘이 큰 쪽으로 끌리는 현상이다. DEP힘의 시간 평균을 취하면[5],

$$\langle F \rangle = \frac{1}{4} v \epsilon \operatorname{Re}[\hat{\chi} \nabla |E|^2] = \frac{1}{4} v \chi_{eff} \nabla |E|^2 \dots (1)$$

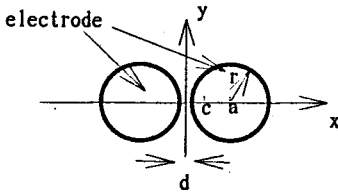
$\chi_{eff}$ : effective polarizability,  $v$ : volume,  $\chi_e$ : effective susceptibility

DEP 힘은 입자의 부피, 유체와 입자 간의 실효 분극율, 전계의 방향에 상관없이 크기 제곱의 공간 기울기에 의존한다.  $\nabla |E|^2$ 은

전극의 기하학적인 형상에 의해 좌우된다. 또,  $\chi_{eff}$ 의 부호에 따라 힘의 방향이 결정된다.  $\chi_{eff}$ 가 양이면 전계가 강한 쪽으로 끌리거나 이를 positive DEP라 한다.  $\chi_{eff}$ 가 음이면 전계가 약한 쪽으로 밀리거나 이를 negative DEP라 한다.  $\chi_{eff}$ 는 물질 상수(전기전도도와 유전율)와 전계의 주파수에 의해 결정된다.

### 2.2 전극 구조의 설계

칙력을 발생시키는 전극 구조로 그림 1과 같은 원형 전극을 설계하였다. 한 쌍의 반대로 대전된 평행한 선전하가 있을 때, 경계조건으로 반지름이  $r$ 인 곳에서  $\phi_0$ 의 등전위면을 갖도록 복소 해석법에서 2차원으로 가정하여 전극 사이의 퍼텐셜을 구하고 식(2)에 나타내었다. 식(2)를 풀면 원점 부근으로 갈수록 전계의 세기가 강하고,  $y$ 축을 따라 위로 올라갈수록 전계가 약해지는 것을 알 수 있다. 따라서, DEP힘은  $\chi_{eff}$ 가 음이 되는 주파수 영역에서 전계가 좌우 대칭이므로 입자를 전계가 약한 쪽인  $y$ 축을 따라 위쪽으로 밀어내므로 칠크력을 발생시킨다고 볼 수 있다.



c: 선전하, a: 전극의 중심, r: 전극의 반지름, d: 두 전극의 최소 간격

그림 1 원형 전극의 구조

$$\phi = \frac{\phi_0}{\ln \left| \frac{a+r-c}{a+r+c} \right|} \ln \left| \frac{z-c}{z+c} \right| \dots (2)$$

### 2.3 퍼텐셜 에너지 해석

전체 퍼텐셜 에너지는 정전 퍼텐셜 에너지( $U_e$ )와 중력 퍼텐셜 에너지( $U_g$ )로 이루어져 있고 정전 퍼텐셜 에너지는 전계의 크기의 제곱에 비례하므로  $\chi_{eff}$ 가 음이면 원점에서  $y$ 축상의 위부분을 따라 위로 갈수록 줄어들고, 중력 퍼텐셜 에너지는 커지므로 식(3)에서 전체 퍼텐셜 에너지는 극소점이 존재하여 안정점이 생긴다. 그러나,  $y$ 축상의 아랫부분에서 원점으로 갈수록 정전 퍼텐셜 에너지와 중력 퍼텐셜 에너지는 모두 커지므로 극소점이 생기지 않는다. 따라서, 이 경우는 안정점이 없다. 전극이 좌우 대칭이고 칠크 구조이므로 입자는  $y$ 축을 따라 움직일 것이다.  $y$ 축 상의 전체 퍼텐셜 에너지는 다음과 같다.

$$U|(0,y) = U_e|(0,y) + U_g$$

$$= -\frac{1}{4} \nu \chi_{eff} \left( \frac{\phi_0}{\ln \left| \frac{a+r-c}{a+r+c} \right|} \right)^2 \frac{4c^2}{(c^2 + y^2)^2}$$

$$+ \frac{4\pi R^3}{3} (\gamma_2 - \gamma_1) g y \dots (3)$$

$\gamma_2$ : 세포의 밀도  $\gamma_1$ : 유체의 밀도  $R$ : 입자의 반지름

### 2.4 critical frequency $F_0$ 의 결정

안정점에 이르렀을 때 주파수를 바꾸어 임계 주파수  $F_0$ 에 이르면

입자에 칠크력을 주던 DEP 힘은 없어지고 중력, 부력, 점성력, 판성력이 작용하여 아래로 떨어지게 된다. 이 때의 입자의 운동방정식은 식(4)과 같다.

$$m \frac{d^2 y}{dt^2} = -6\pi R \eta \frac{dy}{dt} - \frac{4\pi R^3}{3} (\gamma_2 - \gamma_1) g \dots (4)$$

$\eta$ : 유체의 점성계수,  $m$ : 입자의 질량

식(4)를 풀어 주면 속도를 알 수 있는데, 이 속도와 전압을 가하지 않았을 때의 속도가 같으므로 두 속도를 비교하여 임계 주파수  $F_0$ 를 결정할 수 있다.

### 3. 수치 해석

앞에서 설계된 전극 구조에서 *Neurospora crassa* slime cell이라는 세포를 예로 들어 수치해석을 하였다. 세포를 그림 2와 같이 얇은 세포막을 첨가한 구껍질 모델로 보는 것이 일반적이다. 그림 2의 경계면에서 퍼텐셜 연속과 전기 변위  $\vec{D}$ 의 비선 성분이 연속이라는 경계조건으로 풀어주면,

$$\hat{\chi}_e = 3K_1 \frac{\hat{\epsilon}_m (\hat{\epsilon}_2 - \hat{\epsilon}_1) - \alpha (\hat{\epsilon}_1 + 2\hat{\epsilon}_m) (\hat{\epsilon}_2 - \hat{\epsilon}_m)}{\hat{\epsilon}_m (\hat{\epsilon}_2 + 2\hat{\epsilon}_1) + 2\alpha (\hat{\epsilon}_1 - \hat{\epsilon}_m) (\hat{\epsilon}_2 - \hat{\epsilon}_m)} \dots (5)$$

$$\alpha = \frac{1}{3} [1 - (1 - \delta)^3], \delta = \frac{d}{R}, K_k = \frac{\epsilon_k}{\epsilon_0}, \hat{\epsilon}_k = \epsilon_k - i \frac{\sigma_k}{\omega}$$

$k = 1$ (medium),  $2$ (interior),  $m$ (membrane)

얇고 낮은 전기전도도를 가진 세포막을 가정하여  $\chi_{eff}$ 를 구해

보면 그림 3과 같다.

$$\delta \langle 1, \sigma_m \rangle \langle 1, \chi_{eff} = \epsilon_0 \text{Re} \{ \hat{\chi}_e \} \rangle$$

$$\epsilon_2 = 45\epsilon_0, \sigma_2 = 0.5 \text{Sm}^{-1}$$

$$\epsilon_m = 8\epsilon_0, \sigma_m = 1 \times 10^{-8} \text{Sm}^{-1}$$

$$\epsilon_1 = 80\epsilon_0, \sigma_1 = 0.001 \text{Sm}^{-1}$$

$$R = 10 \mu\text{m}, d = 8 \text{nm}$$

$$\epsilon_1, \sigma_1$$

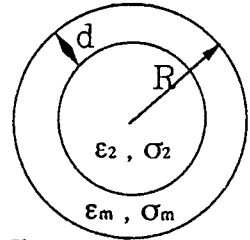


그림 2 세포 모델

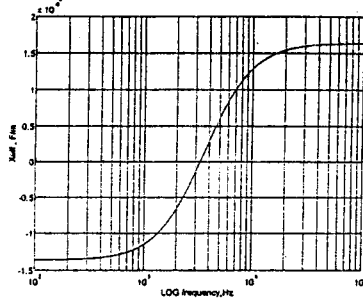


그림 3  $\chi_{eff}$  (effective polarizability)

그림 3에서  $\chi_{eff}$ 가 양이면 세포는 전계가 강한 쪽으로  $\chi_{eff}$ 가 음이면 전계가 약한 쪽으로 움직인다.  $\chi_{eff}$ 가 0이면 DEP힘이 0이 되며 그 점의 주파수가 바로 임계 주파수  $F_0$ 이다.

앞에서 설계한 전극 구조에 대하여,  $r = 500 \mu\text{m}$ ,  $a = 600 \mu\text{m}$ ,  $c = 332 \mu\text{m}$ ,  $\phi_0 = 5 \text{V}$ 로 하고,  $\gamma_2 = 1010 \text{Kg/m}^3$ ,  $\gamma_1 = 998 \text{Kg/m}^3$ 로 가정하여 전체 퍼텐셜 에너지를 주파수를 바꿔가며 구해보면 그림 4와 같이 극소점이 존재하여 안정점이 있음을 알 수 있고 주파수의 변화에 따라 안정점이 이동하는 것을 볼 수 있다.

따라서, 처음에 세포를 위에서 떨어뜨리 전계를 가하여 y축 윗부분의 한 점에 세포를 안정점에 이르게 한 뒤 주파수를 올렸을 때 critical frequency에 이르지 못하면 아래의 다음 안정점에 고정되거나 아래로 떨어질 것이고 critical frequency를 넘어서면 인력이 작용하게 되어 세포는 전계가 센 쪽인 원점 부근으로 끌려가므로 아래로 점점 가속될 것이다. critical frequency에 이르면 세포에 척력을 주면 DEP힘은 없어지고 중력, 부력, 점성력, 판성력이 작용하게 된다. 식 (4)에서 유체의 점성계수를  $\eta = 1 \times 10^{-3} \text{ Kg/m.s}$ 로 하고 수치해석으로 구한 결과, 판성력보다 점성력이 더 크므로 일정한 속도인  $2.5 \mu\text{m/s}$ 로 떨어지게 된다. 따라서, 유체의 전기전도도를 바꿨을 때 critical frequency를 측정하여 회귀분석으로 세포막의 전기적 특성을 알 수 있다.

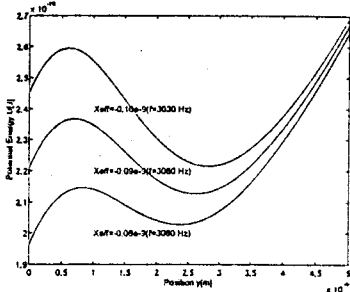


그림 4 주파수 변화시 전체 퍼텐셜 에너지

#### 4. 실험을 위한 입자 모델 해석

전극의 정밀한 형상을 위해 두께  $20 \mu\text{m}$ 의 전극 구조물을 마이크로머시닝 기술로 제작한다[6]. 제안 방법의 기초적인 유효성을 보이기 위하여 우선 실험적으로 지름  $10 \mu\text{m}$ 의 폴리스티렌 입자와 유체로 물을 사용하였다. 입자의 모델은 입자 내부의 유전율과 전기전도도는  $\epsilon_2, \sigma_2$ 이고 유체는  $\epsilon_1, \sigma_1$ 이다. 세포와 마찬가지로 경계조건을 풀어주면,  $\chi_{eff}$  (effective polarizability)는 그림 (5)과 같다.

$$\hat{\chi}_e = 3K_1 \frac{\hat{\epsilon}_2 - \hat{\epsilon}_1}{\hat{\epsilon}_2 + 2\hat{\epsilon}_1} \dots (6)$$

$$\chi_{eff} = \epsilon_0 \text{Re}[\hat{\chi}_e]$$

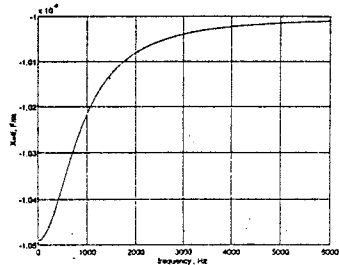


그림 5  $\chi_{eff}$  (effective polarizability)

그림 5에서 보듯이  $\chi_{eff}$ 가 전 주파수 영역에서 음이므로 전계가 약한 쪽으로 입자가 밀리게 되어 척력이 발생하게 된다.  $r = 500 \mu\text{m}$ ,  $A = 600 \mu\text{m}$ ,  $C = 332 \mu\text{m}$ ,  $\chi_{eff} = -1.008 \times 10^{-9}$  ( $f = 5000 \text{ Hz}$ )로 하고,  $\gamma_2 = 1055 \text{ Kg/m}^3$ ,  $\gamma_1 = 998 \text{ Kg/m}^3$ 로 퍼텐셜 에너지 해석을 보면 그림 6과 같이 극소점이 존재하여 안정점이 있음을 알 수 있고, 전압의 변화에 따라 안정점의 이동을 알 수 있다.

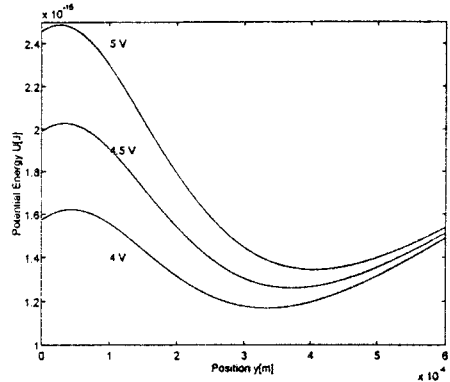


그림 6 전압 변화시 전체 퍼텐셜 에너지

#### 5. 결론

세포막의 전기적 특성을 결정하는 기초 단계로 척력 구조의 전극 구조를 설계하고 퍼텐셜 에너지 해석으로 안정점을 구하였으며 critical frequency의 판단 기준을 선정했다. 세포를 예로 들어 수치해석을 하였고, 폴리스티렌과 물에서 척력이 작용한다는 것을 보이기 위하여 마이크로머시닝 기술로 구조물을 제작하여 실험중이다. 앞으로의 할 일은 위의 해석 결과와 기초 실험 결과를 토대로 하여 세포의 입체 주파수를 측정하여 세포막의 전기적 특성을 구하는 것이다.

#### 6. 참고 문헌

- [1] Akihiko Irimajiri, Koji Asami, Takako Ickinowatari and Yoshito Kinoshita, "Passive Electrical Properties of the Membrane and Cytoplasm of Cultured Rat Basophil Leukemia Cells I. Dielectric Behavior of Cell Suspensions in 0.01-500MHz and its Simulation with a Single-Shell Model.", *Biochimica et Biophysica Acta* 896, pp.203-213, 1987.
- [2] S. Takashima, K. Asami and Y. Takahashi, "Frequency Domain Studies of Impedance Characteristics of Biological Cells Using Micropipet Technique.", *Biophys. J.*, Vol.54, pp.995-1000, December, 1988.
- [3] K.V.I.S. Kalce and T.B.Jones "Dielectrophoretic spectra of single cells determined by feedback-controlled levitation", *Biophys.J.* 57, pp 173-182 1990
- [4] G. A.Kallio and T.B.Jones "Dielectric Constant measurements Using Dielectrophoretic Levitation" *IEEE Transactions on Industry Applications*, IA-16, NO.1, 1980
- [5] Hebert A. Pohl, *Dielectrophoresis*, Cambridge University Press, 1978.
- [6] 안동섭, 이 상욱, 김 호성, 김 용권 "A Fundamental Study of Selective Metal Electroplating Without Seed Layers Using a Photosensitive Polyimide as Molds", 1993년 전기학회 추계종합학술대회 논문집, pp.204-206.