

음향 방사힘을 이용한 세포의 부유 및 가진 Levitation and excitation of cells using acoustic radiation force

이동주* · 정은희* · 엄원석†
Dongjoo Lee, Eunhee Jung, Won-Suk Ohm

1. 서론

일반적으로 초음파는 가청주파수 이상의 주파수를 갖는 음파로 산업전반에 걸쳐 사용되고 있다. 특히 초음파의 비침습성, 안전성 등의 특징 때문에 의료 분야에서 활발히 이용되고 있다. 의료용 초음파는 보편적으로 알려진 초음파 영상진단, 충격파를 이용한 쇄석치료뿐만 아니라 세포단위에서의 약물/유전자 전달⁽¹⁾ 및 세포 분화 촉진⁽²⁾⁽³⁾ 등 생명공학의 영역으로까지 광범위한 영역에서 활용되고 있다⁽⁴⁾. 더욱이 초음파를 이용한 세포 단위에서의 비 침습적인 자극 및 조작은 생명공학 영역의 기초 연구 방법으로서 주목 받고 있다. 하지만 현재까지 단일 세포 단위에서의 초음파 자극과 그에 따른 세포의 거동 특성은 명확하게 규명되지 않고 있다.

따라서 본 연구에서는 초음파 음장 내에서 세포 거동의 기계적인 특성을 광학적으로 검출하는 것을 목표로 한다. 이를 위해 음향 방사힘을 이용하여 세포가 외부의 구조물과 접촉하지 않은 채로 배양액 속에서 부유할 수 있도록 하는 음향 챔버를 제작하고, 부유하고 있는 세포의 공진주파수로 가진하여 현미경 및 고속카메라를 통해 세포의 거동을 광학적으로 검출한다.

2. 음향 부유챔버 설계

정재파 음장 내에 파장 대비 반지름이 작은 입자가 있을 경우엔 세포 표면에 가해지는 음압의 비선형 효과 때문에 time averaging(시간 평균 낸 값)의 총 합력의 불균형이 발생하여 방향을 가진 힘이 입자에 작용하게 되는데 이 힘을 음향 방사힘(acoustic radiation force) 이라고 한다.⁽⁵⁾

이 힘을 이용해 원하는 위치에 부유시킨 세포를 초음파로 가진한 후 광학적으로 검출할 수 있는

챔버를 설계 해야 한다. 서로 마주보는 면끼리 음파를 반사하여 정재파 음장을 형성시키기 위해 챔버의 모양을 직육면체로 만들 경우 x,y,z, 3 축에 대한 3개 면의 중심에 각각 압전체를 위치시켜야 하는데 이 경우 세포 거동의 광학적 검출을 위한 광경로가 확보되지 않아 관찰이 불가능하다. 또한 압전체의 가진면과 반대편 반사면과의 정렬이 맞지 않을 경우 3축의 교차지점에 세포를 부유시키기 어려워지는 단점이 있다.

이런 한계를 극복하기 위해 부유 챔버를 가진부와 반사면이 따로 있는 형태가 아닌, 원통형 형태의 유리관으로 선정하였으며, 아래 그림1과 같이 관과 압전체가 선접촉하도록 부착 후 가진하여 구조물 전체 진동에 의해 그 내부에 정재파 음장이 형성되게끔 한다.

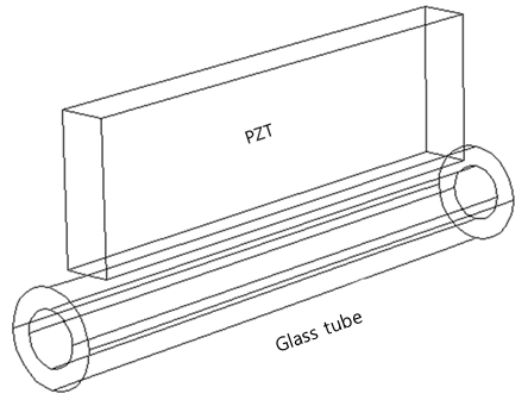


Figure 1 Glass tube levitation chamber

위와 같은 원통 형태의 챔버는 정재파 형성을 위한 가진체 / 반사면의 정렬을 맞출 필요가 없다는 이점을 가지고 있다. 압전체의 가진주파수는 유리관의 다이폴(Dipole) 모드 공진주파수로 한다. 유리관이 다이폴 모드로 진동할 때 내부에 압력 노드점이 존재하는 정재파 음장을 만들 수 있고 공진 주파수로 가진해야만 압전체의 진동 에너지가

유리관 내부로 효율적으로 전달될 수 있기 때문이다.

유리관이 다이폴 모드로 진동할 때 관 내벽의 변위 및 속도를 유한요소해석 시뮬레이션 프로그램인 COMSOL Multiphysics를 통해 계산하면 그림 2와 같다.

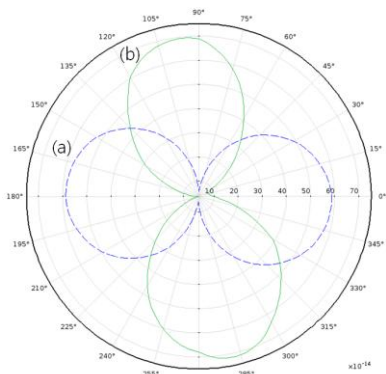


Figure 2 Circular plot of (a) displacement and (b) velocity profiles of the inner wall

위와 같은 내경의 거동에 의해 아래 음압 분포(그림 3)와 같은 정재파 음장이 형성되며 내부의 배양액 속에 잠겨있는 세포는 음압의 node로 이동하게 된다.

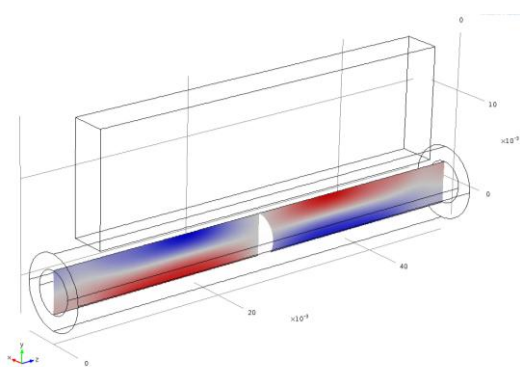


Figure 3 Standing wave pressure field by dipole-mode vibration of the glass tube

이와 같은 시뮬레이션 결과를 토대로 유리관 및 압전체로 구성된 부유 챔버를 제작하였다

3. 실험 구성

음향 부유 챔버의 내부 공간이 광학 현미경의

초점 작동거리 내에 포함되게끔 유리관의 외경은 8 mm로 제한하였으며 5 mm 내경을 가진 부유챔버를 설계하였다. 이 크기의 유리관의 다이폴 모드 공진 주파수는 190 kHz로 COMSOL Multiphysics를 통해 계산하였으며 부유 챔버 가진용 압전체도 동일 공진주파수로 진동할 수 있도록 설계 및 제작하였다.

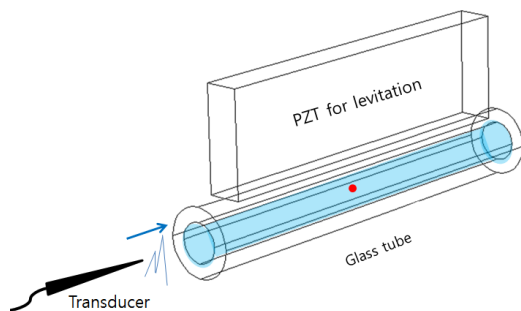


Figure 4 Ultrasonic levitation and excitation of a single cell

그림 4와 같이 유리관의 길이 방향으로 배양액으로 가득 찬 관 내부에 정재파를 형성시키기 위한 압전체를 부착하고 반지름 방향으로 세포 가진용 트랜스듀서를 배치하여 관찰하고자 하는 세포가 외벽과 접촉하지 않은 채로 특정 위치에 고정된 상태에서 공진 주파수로 가진될 수 있도록 실험 장치를 구성한다. 또한 세포의 거동을 광학적으로 관찰하기 위해 현미경(Nickon TS100F, 도립 위상차 현미경)과 1초에 10만 프레임 이상을 촬영할 수 있는 초고속 카메라(Phantom Miro V610)를 사용하였으며 전체 실험 구성도는 아래 그림 5와 같다.

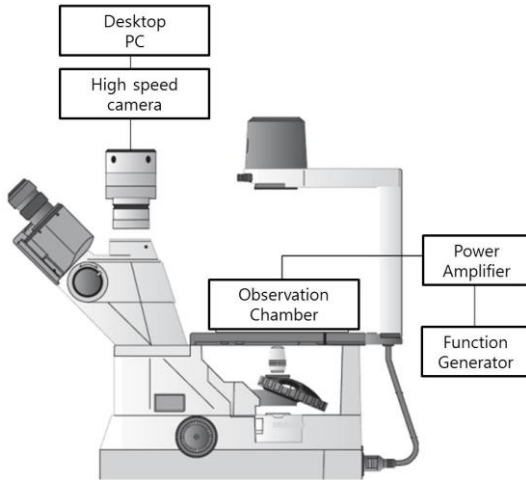


Figure 5 Sketch of the experimental setup

4. 결과

세포 가진용 트랜스듀서를 부착하기 전에 세포 부유용 압전체를 작동시킨 후 니들 하이드로폰 (Needle hydrophone)을 통해 유리관 내부에 정재파 음장이 형성되는 것을 확인하였으며 이를 이용하여 지름 500 μ m 의 공기방울을 챔버 내 한 지점에 고정시킬 수 있음을 확인하였다 (그림 6).

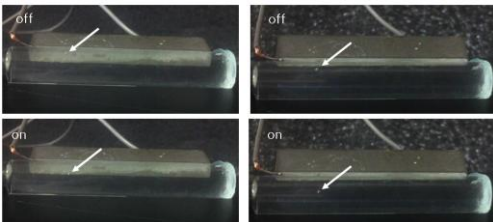


Figure 6 Position control of micro bubble

향후 실험에서는 적합한 세포를 선정하여 실제 세포의 경우에도 위치 제어가 가능한지 확인한다. 그리고 시뮬레이션을 통해 예측한 세포의 공진주파수를 토대로 세포를 가진하여 초음파 자극에 따른 세포의 거동을 현미경/ 고속카메라를 이용하여 광학적으로 검출할 예정이다.

후 기

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 연구 되었음 (20120003980).

참 고 문 헌

(1)Mitragotri S. Healing sound: the use of ultrasound in drug delivery and other therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov* 2005;4:255-260.

(2)S.R.Park, B.-H. Min, S.-H. Park, H. J. Lee, "Application of mechanical stimulation for chondrogenesis," *Tissue engineering and regenerative medicine*, 2(2), 77-85, 2005.

(3)Ebisawa K, Hata K-I, Okada K, Kimata K, Ueda M, Torii S, Watanabe H. Ultrasound enhances transforming growth factor β -mediated chondrocyte differentiation of human mesenchymal stem cells. *Tissue Eng* 2004;10:921-929.

(4)Joyce E, Phull SS, Lorimer JP, Mason TJ. The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species. *Ultrason Sonochem* 2003;10:315-318.

(5) L. P. Gor'kov., 1962, On the forces acting on a small particle in an acoustical field in an ideal fluid, *Sov. Phys. Dokl.* 6, 773,