

전기적 세포융합기의 제작 및 성능 개선을 위한 기초 연구

이 상 훈*

=Abstract=

A Basic Study for the Development of Electric-Cell Fusion Device and Performance-Improvement

Sang Hoon Lee*

Electrofusion of cabbage protoplasts was performed with a developed equipment which consists of a parallel wire electrode, a AC field generator, and a pulse generator. Exposure of protoplasts to an alternating current field of 450 KHz causes attraction to each other which leads to chains of protoplasts extending from the electrode. Intra-specific protoplast fusion was effectively induced within the pearl chains by the additional application of a single high-intensity DC square wave pulse of 1 KV/cm for 1-3 msec. To improve the performance, micro fusion electrode fabricated from the semiconductor technology and microcontroller based field and pulse generator was proposed.

The viability of protoplasts after an application of electric field at optimum condition was reduced by only 5% compared with that of pre-application. A prototype of fusion electrode, which consists of insulator-structure, was successfully fabricated by using photosensitive polyimide.

서 론

Carlson 등이 2종의 담배 원형질체(Protoplast)를 세포 융합법을 이용하여 체세포 잠종개체를 처음으로 보고한 이후 담배, 흰녹말풀, 페튜니아(Petunia) 등을 중심으로 한 많은 종간(種間)잡종이 획득되었다¹⁾. 이후 독일의 G. Melchers가 감자와 토마토의 세포융합에 의해 자연적으로는 결코 발생할 수 없는 속(屬) 간의 체세포 잠종인 포마토(Pomato)의 육성(育成)을 보고한 이후 원형질체에 의한 세포융합기술이 관심의 대상이 되어 왔다. 이와 같이 원형질체의 합성에 의한 세포융합을 위해 현재 개발되어 사용되고 있는 방식으로는 바이러스, 화학적, 전기적 방법에 의한 것이 개발되어 사용되고 있으며, 이 중 화학적 방법

과 전기적인 방법이 많이 사용되어 왔다. 그러나 화학적 방법은 낮은 생산성과 융합과정이 복잡하기 때문에 현재에는 전기적 융합방식에 관한 연구가 많이 진행되고 있다^{2, 3)}. 전기적 융합방식이란 세포막의 접촉을 Dielectrophoresis에 의해 이루어지게 하며, 이후 가해지는 전기적 펄스에 의해 융합이 시작되도록 한다. 이때 전기적 펄스에 의해 순간적으로 세포끼리의 접촉부위에 있는 인지질(Phospholipid)층이 파괴되며, 이 공간을 통하여 세포간의 융합이 발생한다. 일단 세포막의 파괴가 일어나면 세포면의 장력에 의해 융합된 세포의 모양이 구형(Spherical Shape)으로 복원된다.

전기적인 융합의 전형적인 방법으로 미소전극에 의한 융합과 평형판 전극에 의한 융합의 2가지가 있다. 전자는

* 단국대학교 의과대학 의학과

* College of Medicine, Dankook University

통신저자: 이상훈, (330-714) 충남 천안시 안서동 산 29, Tel. (0417) 550-3920, Fax. (0417) 556-0524

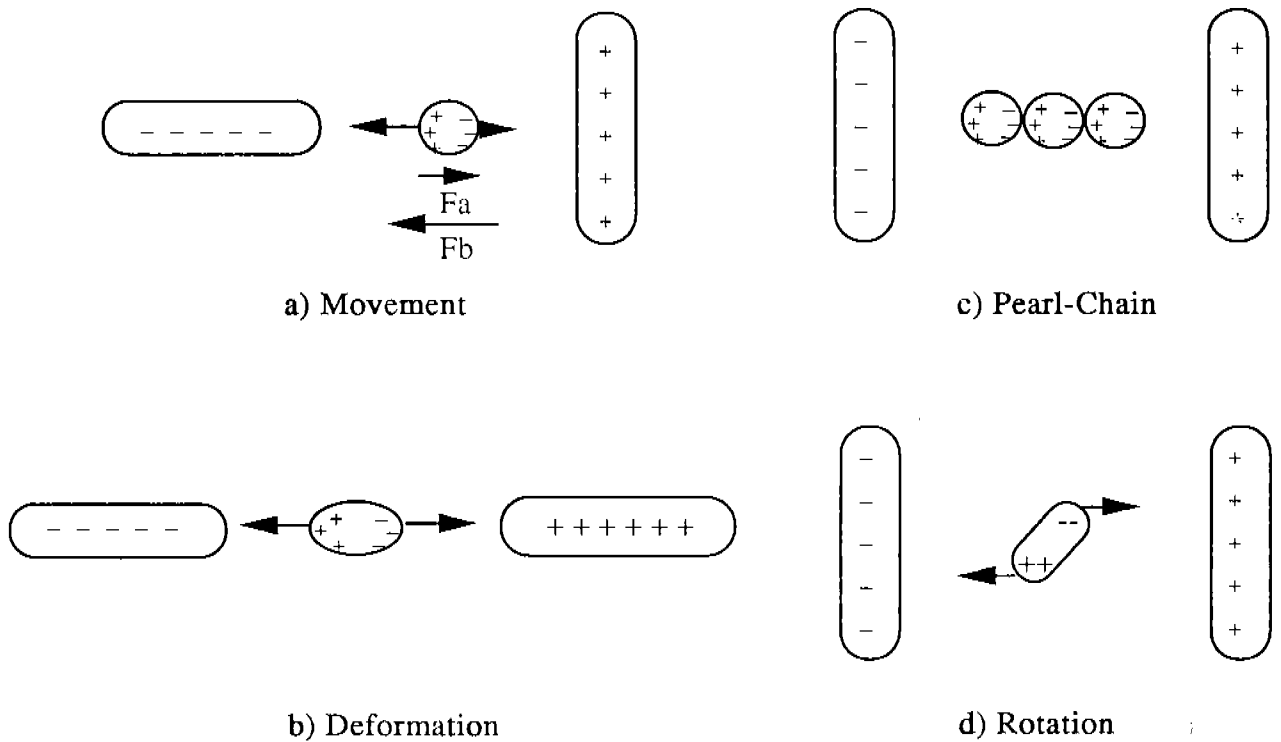


그림 1. 교류전계가 세포에 미치는 영향
 Fig. 1. Effect of AC electric field on the plant cell

현미경과 미세조작기(Micromanipulator)를 사용하는 수동적인 방법으로 2종류의 세포를 일렬로 둔 다음 전기적인 자극을 가하여 융합을 시작하게 하는 방법이며, 후자의 경우는 일종의 배치(Batch)시스템으로 비슷한 수의 A, B 세포를 갖고 있는 세포용액을 전극사이에 떨어뜨린 다음 고주파의 전압을 가하여 Pearl-Chain이 일어나게 하고 이후 직류전압을 펄스형으로 가하여 융합이 일어나게 하는 방법이다^{4, 11)}.

한편 이들 융합방식중 미소전극에 의한 융합은 1:1로의 세포융합이 가능한 반면 작업자체가 매우 지리하고 융합되는 세포의 생산성이 매우 낮다는 단점을 가지고 있다. 실제 연구실에서 이 방법을 사용할 경우 하루 200여개 정도의 융합된 세포를 얻을 수 있는 것으로 알려져 있다. 평형전극을 사용하는 경우는 별도의 노하우가 필요없고 생산성이 미소전극법 보다는 훨씬 우수하지만 필요한 A, B 세포만이 융합된 세포를 따로 얻기가 어렵다는 단점이 있다.

본 논문은 기존의 전기적 융합방식이 가지고 있는 단점을 보완한 새로운 세포융합시스템을 구현하기 위한 기초

연구를 함을 목적으로 한다. 이를 위하여 우선 기존의 세포융합장치에서 많이 사용하고 있는 평형선 전극을 이용한 융합기를 제작하고, 융합을 위한 전계인가방식에 관한 연구를 진행하였다. 이후 제작한 융합장치를 이용하여 전계인가에 관한 정보를 얻기 위하여 양배추의 엽육세포로부터 추출한 원형질체를 준비하여 이를 세포융합실험을 위한 대상으로 사용하였다. 이러한 실험을 토대로 최근 많이 연구되고 있는 반도체 공정기술에 의한 초소형 전극을 구현하기 위한 연구를 진행하였다. 이 전극을 사용할 경우 세포의 이동 및 일대일 융합이 별도의 수동적인 조작없이 가능하며, 원하는 융합세포만을 얻을 수 있다. 또한 이러한 초소형 전극을 사용할 경우 인가하는 교류전계와 직류 펄스의 여러 변수들을 변경하기가 상대적으로 용이하다. 본 논문에서는 전계 인가시 필요한 여러 변수들의 값을 마이크로 콘트롤러와 컴퓨터를 사용하여 쉽게 변경할 수 있도록 하였다. 이는 앞으로 세포의 위치를 탐지하는 기능과 결합하여 초소형 전극에 의한 세포융합방식의 전과정을 자동화하는데 필수적인 기능이 될 것이다.

Dielectrophoresis (DEP)

원형질체에 전계를 가하여 전기적 융합이 일어나게 하기 위하여서는 일차적으로 원형질체끼리 서로 근접하게 하여야 하며, 본 연구에서는 DEP를 이용하여 Pearl-Chain을 만들어 주는 방식을 사용하였다. DEP는 Pohl⁵⁾이 개발한 것으로 중성입자에 전계를 가할 때 분극현상에 의하여 유기된 전하가 전계에 끌려가면서 생기는 힘의 차이로 인하여 발생한다. 그림 1(a)에서와 같이 막대쪽으로 작용하는 힘 F_a 와 평판쪽으로 작용하는 힘 F_b 는 각각 +, -로 대전된 전하가 받는 힘이며, 그 합력 F_a 와 F_b 가 실제로 세포에 작용하게 된다.

보통 반경이 a 인 구(球)형의 입자에 E 라는 외부전계를 가해줄 때 DEP에 의해 발생하는 힘은 다음식과 같이 쓸 수 있다.

$$F_d = (\rho_{eq} \cdot \nabla) E = 2\pi a^3 \epsilon_m \text{Re}[K^*(\omega)] \nabla (E_{rms}^2)$$

이때

$$K^*(\omega) = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*}$$

$$\epsilon_p^* = \epsilon_p - j \frac{\sigma_p}{\omega}$$

$$\epsilon_m^* = \epsilon_m - j \frac{\sigma_m}{\omega}$$

$\epsilon_p^*, \epsilon_m^*$: 입자와 현탁액의 유전상수

σ_p, σ_m : 입자와 현탁액의 전도율

ω : 인가되는 전계의 주파수

이 외에도 세포에 전계가 가해지면 형상변화(Deformation), 회전 등이 DEP에 의하여 발생한다.

방법 및 재료

1. 원형질체의 준비

전기적 세포융합을 시행하기 위하여서는 우선 원형질체가 준비되어야 한다. 본 연구에서는 양배추, 컴프리, 담배의 엽육세포와 접시꽃 캘러스(Callus) 등을 재료로 하여 원형질체를 준비하여 보았으며, 이 중 양배추를 이용하여 원형질체를 만드는 과정을 정리하면 다음과 같다.

1) 크기가 2cm 이하인 양배추의 하표피를 벗겨 낸 후 Clorox액에 10분간 담궈 소독한다.

2) 소독한 잎을 pH 5.8인 효소용액에 18시간 정도 담궈 둔다(효소의 성분: CPW10M + Cellulase 1% + Pectinase 2% + 5mM MES buffer).

3) 필터를 이용하여 찌꺼기를 걸러낸다.

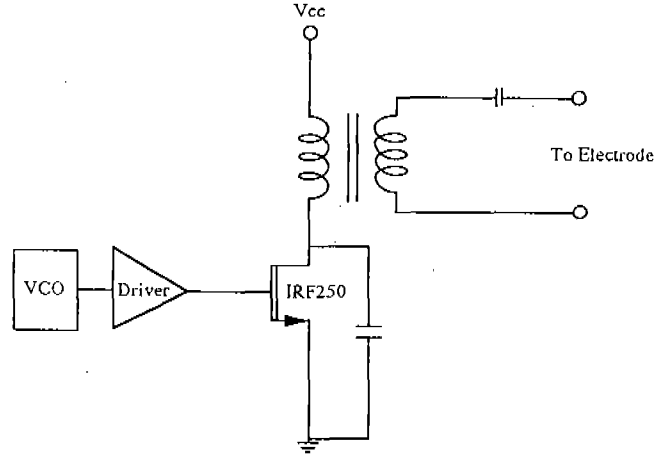


그림 2. Class-E 공진인버터를 사용한 교류전계 인가장치
Fig. 2. AC electric field generator using class-E resonant inverter

4) 현미경으로 관찰하여 세포가 충분히 분리된 것이 확인되면 CPW10M용액으로 효소를 여러번 씻어낸다.

2. 평형선 전극에 의한 세포융합장치의 제작

평형선 전극에 의한 세포융합기에서 전계인가장치로는 Class-E 공진 인버터⁶⁾를 사용하여 구현하였으며, 기본 회로는 그림 2와 같다. 이는 단일 스위치와 하나의 인덕터 및 콘덴서로 간단하게 구성되어 있으며 스위칭소자로는 IRF250 MOSFET를 사용하였다. VCO 회로는 주파수와 듀티비를 조절할 수 있도록 제작되었으며, 그 출력은 TC4404라는 FET 드라이브 소자의 입력으로 들어 가도록 제작되었다. 한편 발생한 교류전원은 공진 변압기를 통하여 원형질체에 공급되도록 제작되었는데 이는 60 Hz 공급 전원이 세포와 직접 접촉하여 치명적인 해를 미치는 것을 방지하기 위함이다. 이 경우 전압의 자유로운 조절은 불가능하며, 따라서 변환되는 주파수마다 별도의 공진코일과 커패시턴스가 필요하다. 직류펄스발생장치는 FET를 Bootstrap회로를 사용한 드라이브와 함께 사용하여 제작하였다. 이때 펄스폭은 1msec에서 3msec 까지 1msec 단위로 조절될 수 있도록 하였고, 진폭은 250까지 조절될 수 있도록 제작하였다.

한편 평형선 전극은 현미경용 슬라이더 글래스위에 굵기가 각각 0.3mm와 0.6mm인 알루미늄선을 유리에 접착력이 좋은 에폭시로 고정한 후 그 주위를 메니큐어로 다시 고정하여 제작하였다. 선 사이의 간격은 1mm이고, 선의 길이는 5cm이며 2cm 간격으로 에폭시로 고정시켰다. 전

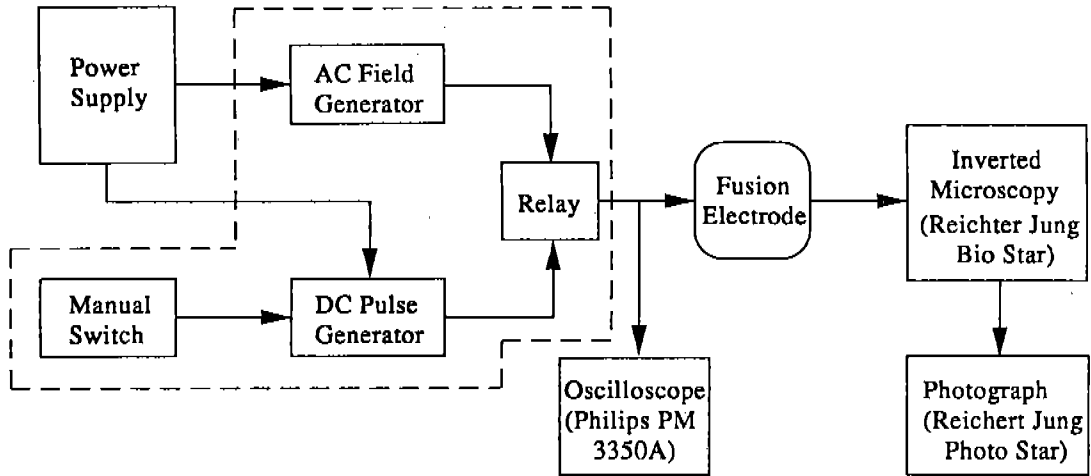


그림 3. 세포융합기의 전체시스템에 대한 블록선도
Fig. 3. Block diagram of integrated cell fusion device

극을 전계인가장치와 접속하기 위하여 평형선의 한쪽 끝단에 접속단자(Connector)를 부착하였다.

이상에서 제작한 각 부분들을 통합하여 그림 3과 같은 세포융합기를 구현하였다. 그림에서 점선부분내에 있는 교류발생기, 펄스발생기, 전극 및 릴레이는 직접 제작한 것이며 전원도 일부는 제작하여 사용하였다. 수동스위치를 한번 누를 때 마다 펄스가 하나씩 생성되며, 릴레이는 전극에 2가지 전기적 신호중 한가지만을 선택하는데 사용된다. 한편 오실로스코프(Philips, PM3350A)는 전극에 가해지는 전기적 신호를 측정하기 위한 것으로 이를 통하여 주파수, 진폭, 펄스의 주기등을 측정한다. Inverted Microscope(Reichert Jung, Bio Star)를 통하여 전계를 가한 후 세포의 상태를 점검하였으며 그 결과를 자동사진기(Reichert Jung, Photo Star)를 통하여 수집할 수 있도록 하였다.

제작된 시스템으로 세포융합을 위한 실험과정을 정리하면 다음과 같다.

- 1) 전극을 현미경에 고정시킨 후 소량의 원형질체를 피펫으로 조심스럽게 전극의 평형선 사이에 떨어뜨린다.
- 2) 세포의 유동이 가라앉을때 까지 기다린 후 교류전원을 가하여 Pearl Chain을 만든다.
- 3) 직류펄스를 가해준다.
- 4) 전극을 현미경으로 부터 분리한 다음 습한 장소에 20분 가량 배양한다
- 5) 전극을 다시 현미경에 고정시킨 다음 융합정도를 관찰한다.

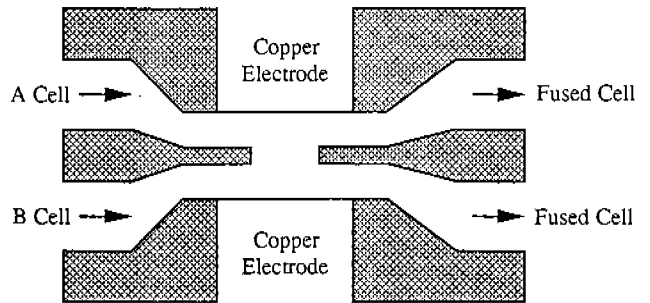


그림 4. 세포융합용 초소형 전극의 모형도
Fig. 4. Schematic diagram of microelectrode for cell fusion

3. 초소형전극의 제작

세포를 하나하나씩 일대일로 융합시키기 위한 장치를 구현하기 위하여 반도체 소자 가공기술을 이용한 초소형 전극을 제작하였다. 이 전극은 구조가 평면적이어서 기존의 반도체 가공기술을 적용하기가 비교적 용이하고 공정이 간단하다. 그림 4는 제작한 초소형 전극의 모형도이다. 2개의 채널을 통하여 각기 다른 세포가 유입되면 전극에 가해지는 교류전계와 절연구조물에 의하여 세포는 융합부까지 이동하게 된다. 융합부는 절연구조물이 없기 때문에 이동된 세포는 DEP에 의하여 서로 밀착하게 되며, 이는 평형선 전극에서 세포가 Pearl-Chain을 이루는 것과 비슷한 현상이다. 이 상태에서 교류전계를 끊고 직류펄스를 가

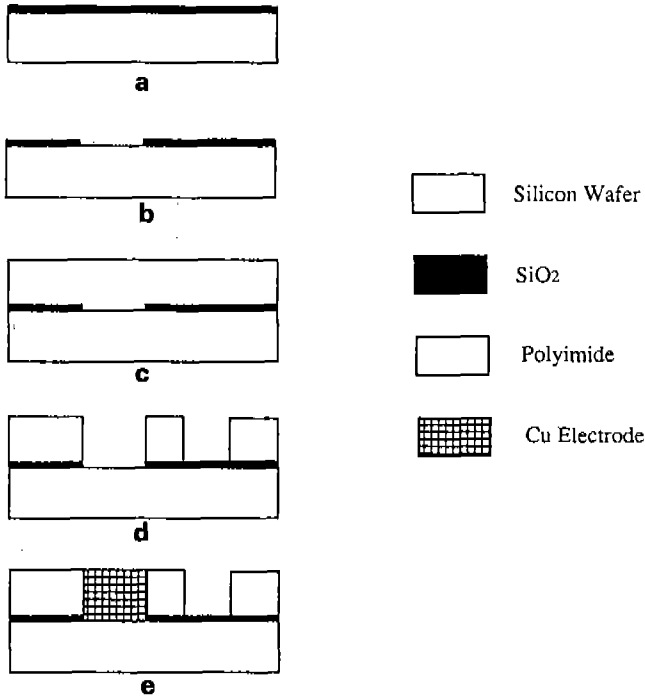


그림 5. 제작한 전극구조물의 단면도 a. 산화막을 입힘, b. 전극부를 에칭함, c. Polyimide를 코팅함, d. 절연구조물을 에칭함, e. 구리전극을 도금으로 입힘

Fig. 5. A cross sectional view of electrode. a. Evaporation of oxide, b. Electrode etching, c. Polyimide coating, d. Insulator etching, e. Electroplation of copper electrode

해주면 세포는 서로 융합하게 되며, 융합된 세포는 아래쪽으로 흘러나오게 된다.

초소형전극은 크게 폴리이미드에 의한 절연구조물과 구리도금에 의한 전극구조물로 구성되어 있다. 감광성 폴리이미드는 반도체 소자의 집적도 증가에 따라 층간 절연막(Interlayer dielectric)형성시 응용될 수 있는 재료로 각광받고 있다⁷⁾. 폴리이미드는 열적 안정성, 화학적 안정성, 절연 특성 및 기판과의 접착성이 우수할 뿐만 아니라 SiO₂, Si₃N₄ 등의 무기절연재료에 비하여 공정이 용이하고 평탄성 및 기계적 특성이 우수하여 응용범위가 대폭 확대되고 있다. 또한 감광성 폴리이미드는 그 자체가 감광성이므로 포토레지스트의 역할도 함께 하므로 공정을 줄일 수 있으며, 다른 방법에 비하여 비교적 형상비(구조물의 폭에 대한 높이의 비)가 크기 때문에 세포융합기와 같은 구조물의 제작에는 적격이다. 제작공정을 정리하여 보면 먼저 실리콘 기판위에 3000 Å의 산화막을 키우고 전극부를 식각하고, 여기에 폴리이미드를 스핀코팅한 후 열처리 한다. 이후 융합기의 포토마스크를 이용하여 폴리이미드를 감광

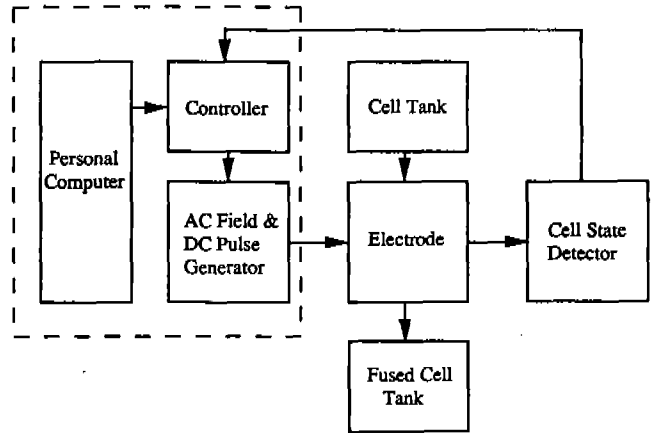


그림 6. 완전 자동화된 초소형전극용 세포융합장치의 블록선도
Fig. 6. Block diagram of automated cell fusion device

및 현상시킨 다음 오븐에서 건조시켰으며 전극구조물은 이상의 공정에 의해 제작된 절연구조물에 황산구리를 도금하여 제작하였으며, 그림 5는 제작한 구조물의 단면도이다.

4. 초소형전극용 전계인가장치의 제작

제작한 미소전극을 사용하여 세포를 융합하는 경우는 전극간의 간격이 100 μm이하이기 때문에 인가하는 교류전계나 펄스의 진폭이 크지 않아도 된다. 그리고 세포 현탁액의 전기저항이 3KΩ이므로 소요되는 전류량도 수 mA 이하가 된다. 따라서 초소형 전극용 교류전계 인가 장치의 경우 Class-E공진회로 대신 입력전압의 변화에 따라 주파수를 변화시킬 수 있고, 구형파, 삼각파, 정현파를 동시에 발생시키는 펄스제너레이터용 전용 칩인 ICL8038을 이용하였다.

한편 직류펄스발생장치는 내압이 250 V 인 FET에 Bootstrap회로를 드라이버로 사용하여 제작하였으며, 주파수가 20 KHz인 PWM 파형에 의하여 전극에 가하는 인가전압과 직류펄스의 모양을 변형할 수 있도록 하였다. 이상과 같이 제작된 초소형 전극용 전계인가장치를 마이크로 콘트롤러를 사용하여 제어할 수 있도록 하였다. 또한 컴퓨터와 직렬전송선을 통하여 접속하였으며, 세포융합에 필요한 모든 변수를 컴퓨터를 통하여 입력할 수 있도록 제작하였다. 그림 6은 완전 자동화된 초소형전극에 의한 세포융합장치를 가상하여 그린 것이며, 점선내에 있는부분의 기능을 현재 제작된 전계인가장치가 담당하고 있다. 여기서 전계 인가장치의 제어부는 교류전계의 주파수, 직류펄스의 길이, 크기 및 모양을 조정하게 된다. 교류전계의 주파



그림 7. 평행판 전극에서 교류전계를 받아 형성된 Pearl-Chain
Fig. 7. Pearl-Chain formation under the parallel wire electrode

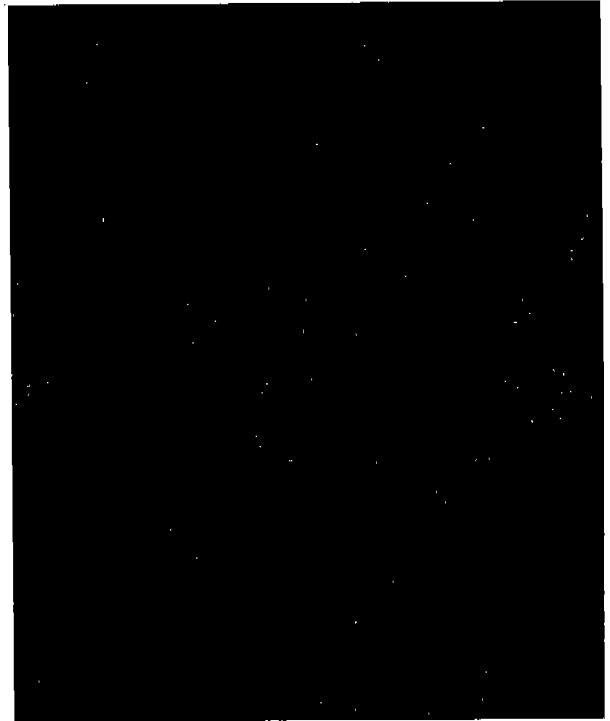


그림 8. 교류전계하에서 발생하는 세포의 회전현상. a. 빠른속도의 회전, b. 중간속도의 회전, c. 고정된 상태
Fig. 8. Rotation of cell under the AC electric field. a. Fast speed, b. Medium speed, c. No rotation

수를 변환시키기 위하여서는 4비트의 마이크로 콘트롤러 출력단자로 부터 나오는 값을 D/A 변환시킨 후 ICL8038의 입력단자로 입력시켜 16개의 주파수를 선택할 수 있게 하였다. 한편 직류펄스의 길이는 마이크로 콘트롤러의 내부클럭을 사용하여 최소 2 μ sec 부터 조절할 수 있게 하였으며, 여러개의 펄스열 (Pulse Train)도 가할 수 있도록 하였다. 그리고 마이크로콘트롤러의 PWM 펄스 발생기능을 이용하여 직류펄스의 진폭과 모형을 조절할 수 있도록 하였다.

실험 및 결과 고찰

담배의 엽육세포, 접시꽃 켈러스, 양배추세포 등을 사용하여 원형질체를 준비하여 보았으며, 이중 육안으로 검사한 결과 양배추로부터 가장 상태가 양호한 원형질체를 얻을 수 있었으며 제작한 세포융합기의 성능을 평가에 양배추로부터 추출한 원형질체를 사용하였다. 한편 준비한 원형질체를 가지고 융합을 하기 위한 전계 인가시스템을 제작한 후 전기적 특성을 시험하여 보았으며, 실험결과 최대 500 KHz까지의 AC 파형을 얻을 수 있었다.

표 1. 교류전계의 크기가 세포에 미치는 영향
Table 1. Effect of AC field's intensity on the cell

Electric Field	Movement	Rotation	Deformation	Lysis
50	-	-	-	-
70	-	+	-	-
90	+	++	-	-
120	++	++	+	-
150	++	+++	++	+
200	+++	+++	+++	+++
250	?	?	?	+++

* movement: -;almost not, +;slow, ++;fast, +++;very fast
 rotation: -;almost not, +;a few, ++;many, +++;almost
 → No. of Protoplast
 deformation: -;almost not, +;a few, ++;a part, +++;almost
 lysis: -;almost not, +;a few, ++;many, +++;all

그림 7은 선간 간격이 1 mm 인 평행선 전극에 450 KHz의 교류전계를 가하여 Pearl-Chain을 만든 결과이다. 일부 약한세포에서는 Deformation 현상이 발생함을 관찰할 수 있었으며, 이 때 체인이 형성되는 시간이나 모양은 가해주



그림 9. 직류펄스에 의해 융합된 세포. a. 2개의 세포가 융합된 형태, b. 3개의 세포가 융합된 형태

Fig. 9. Fused cell by the DC pulse. a. Fusion of 2 plant cells, b. Fusion of 3 plant cells

는 전압 및 세포의 농도 등에 영향을 받았으며, 세포가 회전하는 현상도 관찰할 수 있었다. 그림 8은 교류전계하에서 세포의 회전현상을 카메라의 노출시간을 조절하여 사진으로 찍은 것이다. C의 세포는 엽록소가 명확히 보이며, 이는 세포가 회전하지 않음을 의미한다. B의 경우는 세포에 엽록소 대신 회전한 결과로 생긴 녹색띠가 관찰되고 있으며 A는 세포의 회전속도가 빨라서 전체가 흐릿하게 보인다. 이러한 세포의 회전하는 속도는 인가하는 전계의 세기에 비례한다. 교류전계하에서 원형질체가 회전하는 현상은 다른 논문에서 관찰되는데^{8, 9)} 이는 공진(Resonance)현상이 충분히 일어나지 못해서 세포의 중성입자화가 이루어지지 않은 결과로 해석되며, 이 현상은 살아있는 세포에만 국한된다^{9, 10)}. 표 1은 450 KHz의 교류전계하에서 전압의 변화에 따른 세포들의 상태를 정리한 것이다. 그 결과 100 V/cm에서 120 V/cm 사이의 인가전압이 양배추에 있어 최적임을 알 수 있었다. 150 V/cm 이상의 전압을 가해 주었을 때는 일부 약한 세포들의 엽록체가 세포막 밖으로 튀어나오는 현상을 관찰할 수 있었으며, 이는 전압상승시 다른식물의 원형질체에서도 엽록체의 방출을 보고한 바와 같았다⁸⁾. 한편 200 V/cm 이상의 전압이 가해지면 세포들이 본격적으로 파괴되기 시작하였고, 250 V/cm 이상의 전압에서는 순식간에 모든 세포막이 파괴되어 다른 현상은 거의 관찰할 수 없었다. 한편 교류전계의 주파수로는 200 KHz와 450 KHz를 사용해 보았으나, 체인을 형성하는 과

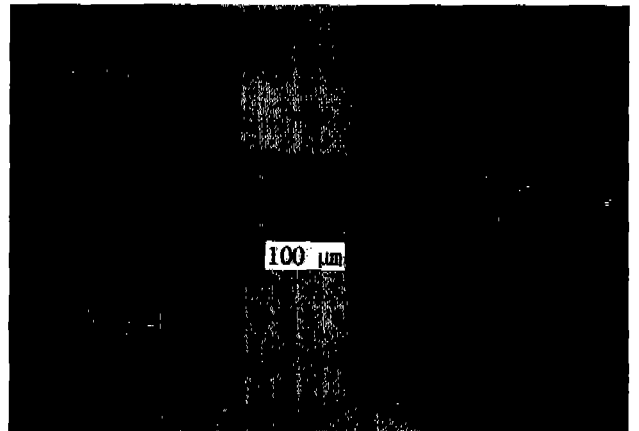


그림 10. 반도체공정에 의해 제작된 초소형 전극의 절연구조물
Fig. 10. Structure of insulator fabricated by the semiconductor-Process

정에서는 별 차이를 발견할 수 없었다. 그림 9는 체인이 형성된 세포에 2 KV/cm의 직류펄스를 3 msec동안 인가하고, 이후 20분간 배양(Incubation)한 이후의 사진이며 화살표로 표시된 A 부분은 2개의 원형질체가 접촉하여 융합을 시작하는 경우로 대부분의 융합은 이러한 형태이며, B 부분은 3개의 원형질체가 융합하여 하나의 융합된 세포로 형성되는 경우이며 소수 관찰할 수 있었으며 이때의 융합율은 2~5% 내외였다. 또한 교류전계를 가한 후 원형질체의 생존율을 형광현미경하에서 FDS염색(Fluorescein Diacetate Staining)에 의해 조사한 결과 $93 \pm 1.87\%$ 로 매우 높게 나타났다.

한편 미소전극을 제작하기 위하여 세척된 실리콘 기판 위에 350 rpm 정도의 폴리이미드를 스핀 코팅한 핫플레이트에서 80C로 90분간 Prebake하고 정렬기로 600 mJ/cm^2 으로 노출시킨 다음 4분간 현상한다. 현상이 끝나면 린스액에 약 30초 정도 행군 후 DI Water로 세척하고 공기중에 건조시킨다. 이후 오븐내에서 200C로 열처리하면 견고한 구조물을 얻을 수 있으며, 그림 10은 이상의 공정에 의하여 구현한 구조물이다. 채널간의 폭은 약 $100 \mu\text{m}$ 이며 알파스캔으로 측정된 결과 약 $40 \mu\text{m}$ 의 두께를 가지고 있었다.

미소전극용 전계인가장치를 사용하여 세포융합에 필요한 여러 변수들을 변경시켜 보았으며, 20 KHz의 PWM 파를 이용하여 전극에 삼각파를 가한 후 오실로스코프로 측정된 결과, 고주파의 잡음성분이 많이 내재한 삼각파를 얻을 수 있었다.

결 론

본 연구를 통하여 2가지 점에서 의미있는 결과를 얻을 수 있었다. 첫째로는 평형선 전극을 통하여 제작된 전기적 융합기구에 의해 양배추의 원형질체를 성공적으로 융합하고 이로 부터 교류 전계의 인가조건을 실험적으로 구한 것이다. 이로 인하여 여태까지 외국제품에 의지하여 구성할 수 밖에 없었던 전기적 융합장치를 실험실에서 간단하게 융합에 관한 연구만을 목적으로는 충분히 사용할 수 있게 제작할 수 있게 되었다. 본 연구가 갖는 두번째 의미로는 반도체의 공정기술을 생물공학에 응용할 수 있는 가능성을 제시한 것이다. 외국에서는 반도체기술에 의해 세포, 단백질, DNA 등의 초소형 대상물을 조작하는데 많이 응용하여 왔으나 국내에서는 이와 유사한 연구가 전무한 실정이다. 본 연구의 앞으로 진행과정이 성공적으로 수행된다면 반도체의 가공기술이 생물공학이나 의학등에 광범위하게 연구될 수 있는 토대를 구축할 수 있을 것으로 생각된다. 한편 전기적 세포융합에 관한 앞으로의 연구는 다음과 같이 진행되어야 할 것이다. 우선 2가지의 이중세포를 전기적으로 융합시켜 배양한 후 어떤 종류의 세포가 생성되는지를 평가해야 하며, 다음으로는 초소형 전극에 의한 세포융합실험을 하는 것이다. 마지막으로 초소형 전극을 사용한 융합실험을 토대로 세포융합의 전과정을 자동화하는 연구가 진행되어 융합실험의 효율성을 향상시켜야 할 것이며, 이는 기존의 세포유압기에도 충분히 사용 가능한 기술로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 加古舜治. 園藝植物の器官と組織の培養. 誠文堂新光社
2. U. Zimmermann. *Electric Field-Mediated Fusion and Related Electrical Phenomena*. Biochem. Biophys. Acta 694, pp. 227-277, 1982
3. M. Senda, J. Takeda, S. Abe, T. Nakamura. *Induction of cell fusion of plant protoplasts by electrical stimulation*. Plant Cell Physiol. 20: pp. 1441-1443, 1979
4. M. Washizu. *Manipulation of Biological Objects in Micromachined Structures*. IEEE Proceedings of MEMS, pp. 196-201, 1992
5. H.A. Pohl. *Dielectrophoresis*. Cambridge University Press, Cambridge, 1978.
6. F.H. Raab. *Idealized Operation of the Class E Tuned Power Amplifier*. IEEE Trans. on Circuit and Systems, Vol. CAS-24, No. 12, pp. 725-735, 1977
7. A.B. Frazier, M.G. Allen. *High Aspect Ratio Electroplated Microstructures using a Photosensitive Polyimide Process*. IEEE Proceedings of MEMS '92, pp. 87-91, 1992
8. J.W. Suh, K.W. Lee. *Electrofusion of tobacco and pea protoplasts*. Kor. J. Bot. 29, pp. 1-10, 1986
9. U. Zimmermann, J. Vienken, G. Pilwat. *Rotation of cells in an alternating electric field: the occurrence of a resonance frequency*. Z. Naturforsch 36, pp. 173-177, 1981
10. J.A. Saunders, L.A. Roskos, S. Mischke, M. Aly, L.D. Owens. *Behavior and Viability of tobacco protoplasts in response to electrofusion parameters*. Plant Physiol. 80, pp. 117-121, 1986
11. S.H. Lee, H.C. Cha, Y.W. Kim, Y.K. Kim. *A Basic Study for the Fabrication of Micro Cell-Fusion-Device*. KIEE Summer Symposium (A), pp. 287-289, 1993