

◆특집◆ 바이오 계측

마이크로 구조물을 이용한 심장세포의 기계적 성질 측정

김진석*, 양성욱*, 윤의성*

The Measurement of Mechanical Properties of Cardiomyocytes Using Microfabricated Structures

Jinseok Kim*, Sungwook Yang* and Eui-Sung Yoon*

Key Words : Cell measurement (세포 측정), Cardiomyocytes (심장근육세포), Mechanical sensor (기계적 센서), Microfabricated structure (미세가공 구조물), MEMS (미세기전시스템)

1. 서론

심부전은 심장에서 몸에 필요한 혈액의 분출이 제대로 이루어지지 않아 생긴다. 심장질환 중에는 초기단계에서부터 심장세포의 수축이완 능력을 악화시키는 것도 있는데, 이것은 정상세포와 심부전 세포 사이의 중대한 수축력 차이가 원인이 될 수도 있다.¹ 따라서 심장세포의 수축력에 대한 정보가 병든 심장세포의 분자변화를 이해하는데 매우 유용할 것이다.

심장은 우리 체내의 각종 장기 가운데서도 가장 많은 일을 하는 기계적인 장기로, 펌프와 같은 역할을 한다. 이렇듯 인체 내 장기지만 기계적인 운동을 하는 심장의 특성에 대한 분석 및 평가를 공학적인 관점에서 연구하려는 노력이 진행되고 있다. 생명공학자들의 생체학적 연구와 더불어 심장세포의 수축력을 정량적으로, 또한 외부의 영향을 최소화하는 방법으로 측정하기 위한 연구가 지속되고 있는 것이다.

심장세포의 수축력을 측정하는 것은 세포를

기본으로 하는 혼성의 마이크로 작동장치의 디자인과 제작, 특성뿐만 아니라, 심부전의 구조와 병든 심장세포의 분자변화를 이해하는데 매우 중요하다. 이미 많은 연구원들이 직간접적인 방법으로 심장세포의 수축력을 측정하기 위해 마이크로 기술을 연구하고 있다. 지금까지는 표준 힘이나 압력변환기를 사용하여 다세포조직과 전체 기관의 수준에서 힘이 측정되어왔지만,^{2,3} 시스템을 더 작은 단일 심장세포 수준까지 줄이는 것은 여전히 매우 흥미로운 일이며, 여러 가지 측면에서 몇 가지 접근방법들이 시도되었다. 본 논문에서는 이러한 심장세포의 기계적 성질을 측정할 수 있는 방법에 대하여 저자들의 연구결과와 함께 기존의 연구결과들에 대하여 전체적으로 고찰하였다.

2. 세포의 기계적 성질 측정 방법

생물학적 세포들은 형태가 불균일하고 쉽게 변형되며 조작 및 처리과정에서 중대한 손상을 입을 수 있다. 더군다나, 세포 배양접시 내에서 마이크로 피페트의 움직임에 따라서 유체의 흐름이 발생하고 세포의 행동에 영향을 주는 요소가 되기도 한다. 이러한 악영향 때문에, 세포 조작법은 숙련된 조작자에 의해서 매우 신중하게 대처되어야 함을 요구 받아 왔다. 이러한 제약을 극복하기 위해

*한국과학기술연구원, 나노과학연구본부, 나노바이오연구센터
Tel. 02-958-5651, Fax. 02-958-6910
Email: esyoon@kist.re.kr
생체구동기, 나노바이오센서, 뇌신경신호 측정장치, 캡슐형내시경의 이동기, 나노마찰공학 분야의 연구에 중점을 두고 연구활동을 하고 있다.

서, 단일세포의 힘과 세포막의 반발력 등의 측정과 같이 세포를 측정하는 방법에 있어서는 다양한 혁신적인 측정기술들이 개발되어 왔다. Crick 이 자석입자를 이용하여 세포의 기계적 특성을 측정하여 정량적인 연구를 시작한 이래,⁴ Mitchison 은 마이크로 피페트를 이용하여 성게알의 탄성도를 측정하였고,⁵ Band 는 이 방법을 사용하여 적혈구 세포의 세포막의 기계적 성질을 측정 할 수 있었다.⁶ 최근 들어서는 세포를 찌르는 기술과 더불어서, 입자 추적기술, 자기장 변형 유추기술, 원자현미경기술, 박막 조작기술, 세포주입기술, 세포막 전기저항 측정기술, 광학핀셋기술, 레이저 트랩, 그리고 인장력 측정기술 등이 다양하게 개발되며 발표되고 있다. Fig. 1 에서는 위에서 언급한 최근 세포의 기계적 성질을 측정하는 방법을 그림으로 보여주고 있다.

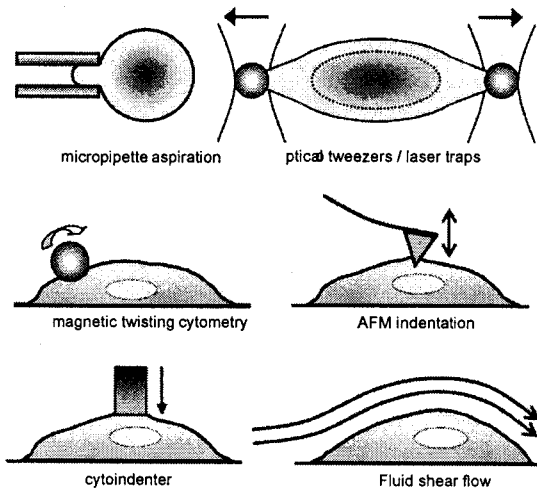


Fig. 1 Different experimental techniques lead to development of different types of cells

이렇듯 세포막의 기계적 성질을 측정하는 기술은 많은 방법들이 소개되었고 또한 연구되고 있지만 심장근육세포의 수축력을 측정하는 방법은 그 중요성에도 불구하고, 많은 연구가 진행되지 못했다. 여러 가지 이유가 있을 수 있겠지만, 심장으로부터 직접 떼어낸 조직으로부터의 연구는 한계가 있으므로, 심장세포를 배양하고 측정해야 하지만 자연적인 심장의 수축력에 가깝게 재연하기가 쉽지 않았으며, 또한 비침습적이고 영향을 최소화하는 심장세포 수축력 측정방법도 연구가

미진했었다. 그 동안의 근육세포 수축력 측정방법 들로는 다음과 같이 나눌 수 있다.

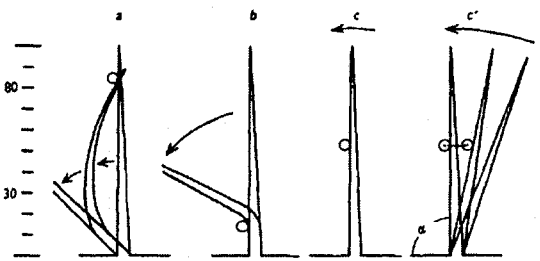


Fig. 2 Diagrammatic representation of 3 types of the ciliary responses when a glass needle is applied during the effective stroke

2.1 미세한 유리섬유

근육세포의 수축력을 측정할 수 있는 방법으로 미세한 유리 섬유를 구부리는 방법이 Yoneda와 Canaday에 의해 연구되었다.^{7,8} 미세한 유리섬유가 주어진 하중에 Fig. 2에서처럼 얼마만큼 구부러지는지 측정하는 것이다. Canaday는 작은 유리막대가 한 쌍의 미세한 유리섬유와 연구중인 세포를 연결하는 시스템을 연구했다. 유리섬유의 변위는 고감도의 광학시스템으로 측정하였고, 이 변환기는 단일 근육세포의 구조를 연구하는데 사용되어왔다. 이것은 어느 정도까지 단일 근육세포의 수축력을 측정 할 수 있었다. 하지만 이 시스템은 심장세포와는 매우 다른 평활 근육세포에서만 적용된다는 점에 주목해야 한다. 또한 측정하고자 하는 곳에 이 변환기를 직접 붙여야 하는데, 측정하고자 하는 곳은 조직표면의 아래에 있다. 변환기는 근육 조직 표면에도 접촉하게 되는데, 이 조직들이 힘의 측정에 영향을 미치는 것으로 보이며, 그 정도는 알려져 있지 않다. 따라서 측정상의 오류를 일으키게 된다. 또한 심장세포를 힘 변환기에 장착하는 것도 매우 어려운 일이다.⁹ 유리섬유에서부터 세포로의 반응력인 외부 인가력은 유리섬유 힘 변환기가 일단 조립되면 조절 또는 제어될 수 없다. 따라서, 이 방법은 외부 하중의 크기를 다르게 작용시키거나, 심장세포의 수축하려는 속성을 연구하는데는 사용될 수 없다. 실제로, 전신에 혈액을 공급하려면, 심장이 수축하는 동안 항상 외부의 하중력 (즉, 전체 혈액운반시스템이 만들어내는 심장에 대한 반응력)이 필요하다. 또한 이 외

부 인가력의 크기는 사람마다 다르고, 개인의 신체적 컨디션에 의해서도 달라진다. 따라서 외부 인가력의 크기가 다를 때 심장세포의 수축력을 측정할 수 있다면 이는 매우 유용한 것이 될 것이다.

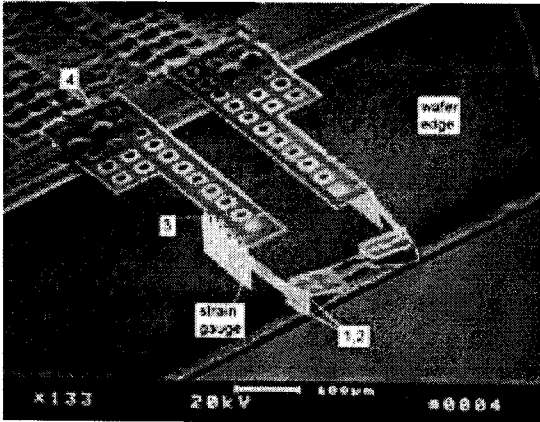


Fig. 3 SEM photo of the MEMS force measurement device after the cell is attached

2.2 미세기전시스템 기술

다음에 소개할 기술은 최근에 가장 많은 연구가 진행되고 있는 미세기전시스템 (microelectromechanical systems, MEMS) 기술이다.¹⁰ MEMS 기술은 힘 변환기를 심장세포의 변환기에 비길만한 크기로 축소 시킬 수 있는 기술이다. Lin 이 묘사한 방법에서, Fig. 3의 그림에서와 같이 세포의 부착과 수축력의 측정은 표면 마이크로 제작기술을 응용하여 제작된 폴리실리콘 재질로 만들어진 경첩모양의 장치로 제작되었다. 받침대 없이 서있는 두개의 폴리실리콘 집게는 한 쌍의 캔틸레버에 의해서 매달려있는데, 심장세포 각각의 끝부분을 잡고 있다. 세포가 수축할 때, 측정된 빔의 굴절과 탄성률에 의해서 빔이 구부러지고, 힘이 결정된다. 측정된 평균적인 최대수축력은 12.6 mN이고, 이는 다른 방법들에 의하여 얻어진 데이터와 비슷한 것으로 평가되고 있다.⁹ 그러나 이러한 기술적 접근은 세포를 누르고, 접촉제를 붙이며 집게로 잡는 일련의 세포의 조작이 필요한데, 이것은 세포의 끝부분과 기능에 우리가 알 수 없는 어떤 작용을 하고 있을 가능성이 크다. 즉, 세포의 끝부분에서 수축섬유의 중단이 발생할 수도 있으며 세포 끝부분의 형태는 세포마다 다르기 때문에, 이러한 중단의 양을 나타내는 것이 어려우며, 이로 인해 정

확한 측정을 할 수 없게 된다.

또 다른 MEMS 기술을 이용한 방법으로는, Tan 이 설명한 방법으로,¹¹ 세포는 마이크로미터 스케일 탄성체의 기둥들이 배열된 판 위에 배양된다. 각각의 탄성체 기둥들은 부착된 세포가 만들어내는 국부적인 힘에 반응하여 독립적으로 구부러진다. 각각의 기둥이 구부러지는 정도와 방향은 Fig. 4에서와 같이 특정부분에서 세포가 만들어내는 힘의 크기와 방향을 나타낸다. 그러나, 세포와 바늘층 (즉, posts) 사이의 강한 접촉이 세포의 피막과 근육세포의 기능에 영향을 다시 끼칠 수도 있다. 더욱이, 세포의 배양되는 형태가 평평한 표면 위의 세포와 마이크로 탄성 기둥 위에서 배양되는 세포에서 매우 다르므로, 마이크로 탄성 기둥을 통해서 이루어지는 수축력 측정은 평평한 표면 위에 있는 세포를 이용하여 확인되어야 한다. 심장 세포로부터 생기는 스트레스는 탄성이 있는 미세 패턴 된 기질과 형광 영상을 사용하여 측정되었다. 스트레스는 2-5 nN/m² 사이에서 다양하게 발견되었다.

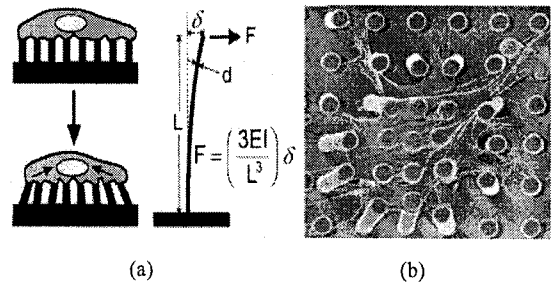


Fig. 4 For small deflections, the posts behave like simple springs such that the deflection is directly proportional to the force applied by the attached cell. (a) Schematics of the bending motion of the posts by cell force (b) SEM image of bended posts by cell force

2.3 점착 하중

다른 접근방법으로 점성하중을 이용한 것이 있다. 세포를 액체에 담그고 수축성이 서로 다른 액체의 점성하중 아래서 연구된다. 서로 다른 하중은 세포 주위에 있는 액체의 점착성을 바꾸거나,^{12,13} 액체에 첨가되는 마이크로 크기의 입자의 농도를 바꾸어서 만들어진다.¹⁴ 이 접근방법의 유용성은 세포와 주변의 액체 매질 사이에 부드러운

접촉이 이루어져 침습을 최소화하는 방법이라는 점이고, 점성 하중을 바꾸어서 외부 하중력을 바꿀 수 있다는 점이다. 그러나 액체의 불안정한 움직임이 수반하는 부정확함으로 인해 점성 하중력의 정확한 값을 측정하는 것이 매우 어렵다. 이 방법은 수축성과 점성 하중 사이의 질적인 관계(단축속도와 상대 저항 하중 사이의 관계와 같은)를 규명할 수 있으나 정확한 수축력을 측정하기는 어렵다.

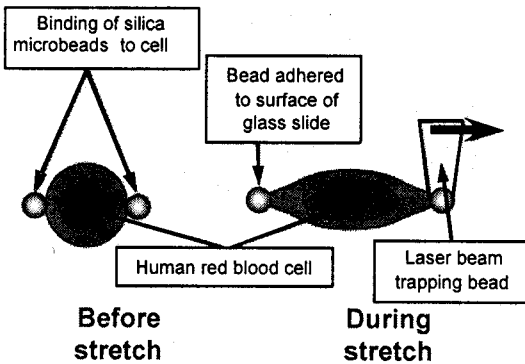


Fig. 5 Illustration of the optical trap - The left bead is anchored to the surface of the glass slide. The right bead can be trapped using the laser beam and stretching force applied to it via the movement of the laser beam

2.4 외부 원격하중

심장근육세포의 수축력을 측정하는 또 다른 방법으로써 외부로부터 멀리 떨어져서 인가되는 외부 하중력을 기본으로 하는 방법이 있다. 멀리 떨어져서 외부하중력을 추가하는 방법 중 한 가지는 광학 핀셋기술을 이용하는 것이다. Fig. 5에서와 같이 인간 적혈구 세포의 양쪽에 부착된 비드 중 한쪽을 고정 시키고 다른 하나의 비드를 레이저 빔을 이용해서 당기는 방식으로 외부 인가력을 바꾸어 세포의 기계적 성질을 측정하는 방식이다.

또 다른 방법은 멀리 떨어져서 추가된 자력을 이용하는 것이다. Fig. 6에서 설명한 방법처럼,¹⁵ 자성을 띤 마이크로 구는 연구대상이 되는 표본에 붙여지고, 두 개의 전자석 사이에 위치하게 된다. 비디오 현미경 검사와 가장자리 탐지는 표본이 힘을 만들 때 발생하는 마이크로 구의 작은 움직임을 관찰하기 위해 사용된다. 자동제어 시스템은

마이크로 구를 정지상태로 유지하기 위하여 전자석을 통과하는 전류를 조절한다. 마이크로 구가 정지상태에 있으므로 표본이 발생시키는 힘의 크기는 마이크로 구 위에서의 자력의 크기와 같다. 따라서 표본이 만들어내는 힘은 자장의 강도와 자성을 지닌 마이크로 구의 성질에 의해서 마이크로 구의 자력을 계산하여 얻을 수 있다. 이 방법은 등척성을 가지는 근육수축력과 비슷한 표본이 만들어내는 정지력을 측정할 수 있다. 그러나 심장 근육세포의 생리학적인 수축성(등척성과 등장성)을 연구하기 위해서는 근육세포의 수축과 이완과정 동안의 수축력을 알아야 한다.

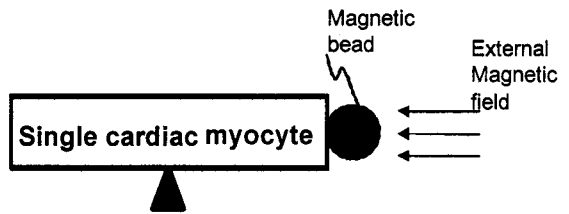


Fig. 6 External loading force by adding magnetic field on a magnetic bead attached on one end of cardiac myocyte

3. 캔틸레버 이용 심장세포 힘 측정

캔틸레버는 MEMS 장치에서 자주 사용되는데, 작동장치로써 뿐만 아니라 센서로도 유용하게 사용된다. 마이크로 캔틸레버를 기본으로 하는 미세 작동장치는 빛이나 유체의 흐름을 바꾸고 조절하고, 물체를 배치하거나 조작하는데 사용되고 있다. 센서로써 마이크로 캔틸레버는 기계적인 방법, 즉, 표면 압력에 의한 캔틸레버의 굴절을 통하여 새롭고 매우 섬세한 화학적/생물학적 센서로 사용되고 있다. 마이크로 캔틸레버를 기본으로 하는 바이오 센서는 원리의 단순함과 높은 정밀도로 인해 DNA, 전립선, 특수 항원, 포도당을 탐지하는데 성공적으로 응용되고 있고 더욱 많은 응용분야에서 연구되고 사용될 것으로 예측된다.

3.1 실리콘 캔틸레버

폴리실리콘 위에 마이크로 캔틸레버를 제작해서, 어린 쥐의 심장에서 추출한 살아있는 심장근육세포를 그 위에 배양하였다. 배양 3 일 후에 세포는 스스로 유기체가 되었고 수축력을 가지기 시

작했다. 세포가 수축하면서 붙어있는 마이크로 캔틸레버를 움직이면 심장근육세포가 만들어내는 수축력을 측정할 수 있다. 이렇게 간단한 장치로 매질의 구조나 온도 변화에 따른 세포의 기계적 반응을 평가할 수 있다.

폴리 실리콘 캔틸레버의 제작방법은 실리콘 기판 위에 놓여진 얇은 SiO₂/polySi/SiO₂ 필름의 연속적인 건식 식각과정과 산화에 의해서 표준 무균실 과정을 통해 만들어진다. 간단히 말해, 실리콘 산화물, 폴리실리콘, 실리콘 산화물의 얇은 샌드위치 층이 Si 웨이퍼 위에 놓여진다. 광학적 식각법으로 규정된 레지스트를 이용하여 구조물이 건식 식각된다. 레지스트를 제거되고 poly-Si 측벽이 산화되어 다음 식각단계 동안 보호한다. 그러면 산화물로 둘러싸인 poly-Si 빔은 이방성 과정과 등방성의 과정을 차례로 이용하여 식각된다. 결국 산화물이 HF 기체환경에서 제거되고, 이로 인해 캔틸레버가 제작 완료된다.

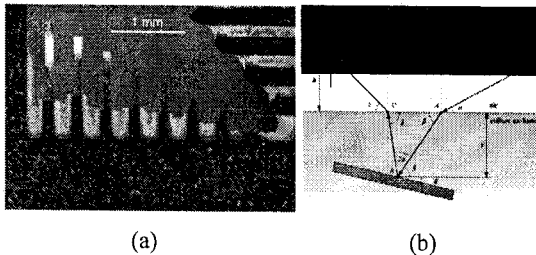


Fig. 7 Contraction measurement of cardiomyocytes grown on Silicon cantilevers (a) Cardiomyocytes on collagen patterned polysilicon structure. (b) Optical laser beam path

세포수축으로 인해 실리콘 캔틸레버가 구부러지고, 그 움직임을 현미경으로 측정한다 Fig. 7. 레이저가 캔틸레버의 끝을 가리키고 있고, 빔의 굴절이 캔틸레버의 굴곡량을 나타낸다. 광학거리의 구조와 캔틸레버의 굴절 및 힘의 간단한 모형을 이용하여, 세포의 수축력과 힘을 측정할 수 있는 것이다. 캔틸레버 위의 세포층에 의해 적용되는 힘은 10-20 nN/μm² 로 측정되었는데, 이것은 이전 연구들에서 나타난 값과 일치하는 것이다.

이 연구는 캔틸레버 위에 자율적으로 배양되는 심장세포의 힘을 측정한다는 취지에서 기존의 심장세포 측정방식의 가치는 외부에서의 많은 영향을 차단할 수 있음을 보여주고 있다. 하지만 캔

틸레버의 재료로 사용한 실리콘은 생체호환성이 좋다고 할 수 없는 재료이며 또한 Young's modulus 값이 커서 심장세포의 수축력을 높은 정밀도로 측정할 수 없는 단점을 가지고 있다고 할 수 있다.

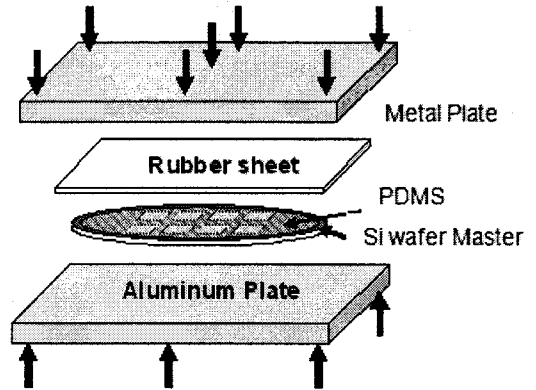


Fig. 8 Schematic diagram of the fabrication processes for hybrid biopolymer microcantilever. A sandwich molding process for 3-D structure made of PDMS

3.2 폴리머 캔틸레버

마지막으로 소개할 방식은 기존의 심장세포의 수축력 측정방식 중에서 단점을 최소화 하고 효율을 높은 우수한 방식이라 할 수 있는 폴리머 캔틸레버를 이용한 방식이다.^{16,17}

한국과학기술연구원에서는 합성소재와 자연소재를 모두 사용하여 복합화합물로 이루어진 마이크로 캔틸레버를 제작하여 심장근육세포의 수축력을 측정과 생체구동기 제작에 성공하였다.^{18,19} Fig. 8. 유연하고 투명한 PDMS 폴리머로 만들어진 캔틸레버 위에서 살아있는 세포가 배양되었다 Fig. 9. 따라서 기존의 캔틸레버를 혼성의 생물고분자 물질 캔틸레버로 대체한 것이다. PDMS는 낮은 Young's modulus를 가지는데, 이것은 혼합물의 비율을 조절하여 360에서 868 kPa까지 조절할 수 있다. 또한 외부 스트레스에 매우 민감해서 큰 굴절을 얻는데 사용할 수도 있다. PDMS는 또한 저렴하고 시각적으로 투명해서 광학탐지 방법으로 사용하기에 적합하며, 물이 스며들지 않고, 세포에 무독성이고, 가스가 침투할 수 있으므로 생물학적인 연구에서 사용하기에 적합하다. 따라서 마이크로 캔틸레버 위에 심장근육세포를 배양하는 것은 세포가 PDMS 마이크로 구조물 위에서 스스로 유기

적 조직체가 되도록 만들고, 복합 시스템에서 세포를 안정적으로 배양된다. 따라서 이 시스템은 손으로 마이크로 시스템에 근육조직을 절개하고 붙이는 비능률성에서 초래되는 문제들을 피할 수 있다. 현재의 시스템이 PDMS 를 이용한 단순한 마이크로 몰딩 기술로 실현되고 있으므로, 많은 양의 샘플이 저렴하고 쉽게 제작될 수 있다. 또한 이 방법은 안전하고 비침습적 방법이며, 이는 장치 전체가 생체에 적합하고 근육세포의 기능이나 형태에 영향을 끼치는 강한 접촉이나 구조적 제한이 없기 때문이다. 이전의 수축력 측정기술들을 능가하는 시스템의 중요한 특징은 특정 마이크로 크기 부분에서 수축력을 실시간 양적으로 측정할 수 있다는 것이다. 또한, 이것은 심부전의 매커니즘을 더 잘 이해하게 해주고, 앞으로의 광학 마이크로 크기의 복합 생물고분자 물질 작동기와 마이크로 장치의 연구를 장려하게 될 것으로 판단된다.

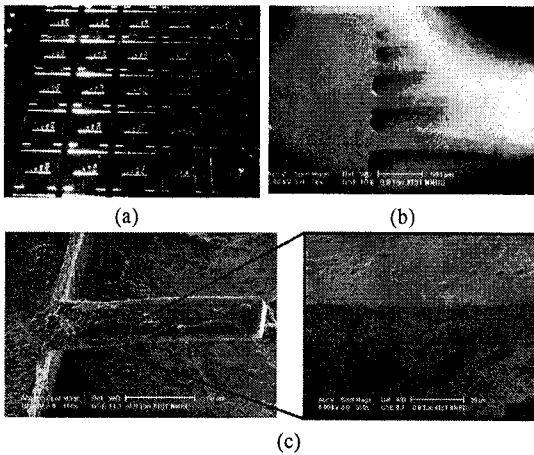


Fig. 9 ESEM images of the fabricated hybrid biopolymer microcantilever. Cardiomyocytes were fixed after 7 days in culture. (a) The cantilever mold array pattern on the Si wafer mold master (b) The overall view of the PDMS microcantilever array before cell seeding (c) The microcantilever viewed at higher magnification after cell seeding

3.2.1 폴리머 캔틸레버를 이용한 힘 측정

마이크로 캔틸레버 위의 심장근육세포에서 수축력은 Fig. 10 에서처럼 모형이 만들어진다. 복합 생체 고분자 물질 마이크로 캔틸레버는 두개의 면으로 이루어진 캔틸레버로 간주되는데, 이것의 바탕은

PDMS 이고 얇은 필름은 심장근육세포 이다. 마이크로 캔틸레버를 mesh 한 후에, 마이크로 캔틸레버의 길이가 N 영역 으로 나누어졌다. 힘의 크기 분류는 (화살표의 다양한 크기) 심장근육세포와 PDMS 의 교차지점에서 각각의 영역에 적용되었는데, 이는 단일 심장근육세포에서 세포의 힘이 지속적으로 변화한다는 것을 보여준다. 각각의 교점에 대한 힘은 스트레스가 작용하는 각각의 영역이 겹쳐져서 결정된다. 이것은 이전에 보고된 것처럼, $2-5nN/m^2$ 를 각각의 영역에서 최대 힘으로 생각되었다. 힘의 경사는 선형의 관계로 가정되었으며, 또한 x 방향의 힘과 같은 크기의 힘만이 z 방향을 따라 총축된다고 가정하였다. 이러한 추측은 실험 연구부분에서 세포에서 세포질의 면역검사법과 마이크로 캔틸레버의 이동측정에 의해 평가될 것이다. 분석해석학적 측면에서처럼, Fig. 10 에서의 전산모사는 Young's modulus 의 PDMS 계수 750 kPa 와 Poisson ratio 의 PDMS²⁰ 값은 0.49 를 이용하여 모의실험이 이루어졌다.

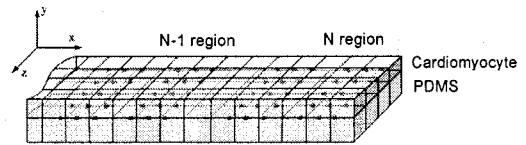


Fig. 10 Modeling contractile forces generated from cardiomyocytes Arrows indicate the forces on nodes. Continuously varying sizes of arrows represents gradient force distributions

각각의 $50 \times 250, 100 \times 500$ and $150 \times 750 \mu m$ 크기의 마이크로 캔틸레버들의 측정 해상도는 $6.97 \times 10^{-4}, 1.74 \times 10^{-4}$ and $7.74 \times 10^{-5} MPa/\mu m$ 로 개별 산출되었다. 이는 광학현미경을 통한 해상도가 일반적으로 $1\mu m$ 라고 가정할때, $150 \times 750\mu m$ 캔틸레버에서 최소 $7.74 \times 10^{-5} MPa/\mu m$ 의 응력을 측정할 수 있을것으로 보여진다. 또한, 이 폴리머 마이크로 캔틸레버가 제공하는 해상도는 실리콘 마이크로 캔틸레버가 가지는 해상도의 영역과 유사한 것으로 보여진다. 그러나, 전형적인 실리콘 마이크로 캔틸레버는 측정방법 측면에서 몇가지 단점을 가지고 있다. 일반적으로, 실리콘 마이크로 캔틸레버는 광학적 반사방법, 압전 방식, 그리고 압저항 방식을 병행하여 사용할 때 높은 해상도를 가진다. 광학적 측정방식은 측정 레이저 빔이 마이크로 캔

틸레버에 반사될 때 수광 소자와 엄밀하게 정렬이 필수적이다. 압저항 방식기술에서는 전류를 필수적으로 인가하는 방식이기 때문에 전기적 잡음과 열적 흐름현상에 의한 오차가 발생한다. 압전 방식의 경우에는 필요한 만큼의 압전신호를 측정하기 위해서는 후막의 막 두께가 필요하며, 따라서 정적거동 캔틸레버의 측정에 적합하지 않다. 그러나, 유연한 PDMS 마이크로 캔틸레버는 이러한 실리콘 마이크로 캔틸레버가 가지는 문제를 피하면서도 높은 해상도를 가질 수 있었다.

3.2.2 폴리머 캔틸레버의 장점

해상도 측면에서뿐만 아니라 이전의 연구들과도 비교하여 폴리머 캔틸레버를 이용한 심장근육세포의 힘 측정 연구의 주요 장점과 특징들은 다음과 같이 정리 할 수 있다. (1) 이전 연구들은 세포 레벨에서나 사용되었고, 잘게 절단된 조직의 경우에서는 조직의 수축에 대해 중점을 맞추어서 크기가 조절되지 않았었다. 그러나 이 방법은 특정부위에서 스스로 유기적인 심장근육세포의 총체적이고 협력적인 수축력을 측정할 수 있고, 캔틸레버를 기초로 하는 잘 알려진 형식으로 인해 매우 민감하고, 정량적인 실시간 측정이 가능하다. 실험결과에 대한 신뢰성은 다양한 크기의 캔틸레버 배열을 제작하면서 더욱 커질 것이다. (2) 폴리머 마이크로 캔틸레버 시스템의 소재들이 생체에 적합하고, 세포와 사이에 강한 접촉이 없으므로, 이 방법이 이전의 설명된 시스템들 보다 더 비침습적인 방법이다. (3) PDMS는 투명하기 때문에 현미경을 사용하여 복합 구조상의 세포 구조와 활성화를 쉽고 효율적으로 관찰할 수 있다. (4) 폴리머 몰딩방식을 이용해 마이크로 캔틸레버를 제작하는 접근방식은 매우 편리하고 비용효과가 크며, 간단한 제작 방법으로 실현될 수 있다. (5) 캔틸레버 모양으로 검증되어 있으므로, 복합 구동기로 직접 사용될 수도 있다. 투명한 하이브리드 생물고분자 물질 마이크로 캔틸레버를 사용하여 심장근육세포의 수축력을 측정하는 현재의 접근방식은 마이크로 스케일 연구와 심장근육세포의 특성을 연구하는 과학자들과 기술자들이 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

4. 결론

육체처럼, 살아있는 세포들은 구조적이고 신체적인 특징을 지니는데, 이것이 신체의 안과 밖에서 일어나는 기계적 자극과 마찬가지로 생리적인 환경을 견딜 수 있게 해준다. 이때 외부에서의 영향은 세포의 신체적 통일성뿐 아니라 세포의 생물학적 기능도 손상시킬 수 있으므로 단일세포 영역에서의 측정이 점차 중요해지며, 최근 세포 측정 연구가 단일세포 크기에 맞추어 진행 되는 이유이다.

본 논문에서는, 세포의 기계적 특성을 측정하기 위해서 이전에 진행된 연구들과, 앞으로 기대되는 접근 방법들에 대해서 알아보았다. 세포의 조작 즉, 광학적, 자기적, 유체학적, 기계적, 전기 공학적인 다양한 방법론적으로 세포의 기계적 성질을 측정하기 위한 연구가 진행중인 것을 확인하였다. 앞에서 언급한 각각의 기술들은 각기 장단점을 가진다. 광학적이고 자성을 띤 기술들을 이용하면 세포를 접촉하지 않고 측정할 수 있다. 그러나, 자기 강선을 사용하여 측정할 때, 높은 광학강도와 오랜 시간은 부분적인 가열을 초래할 수 있고, 세포를 손상시킬 수도 있다.

MEMS 기술을 이용해 제작된 마이크로 구조물을 이용한 기계적 센서는 높은 정밀도로 세포의 기계적 성질을 측정 할 수 있다는 장점을 가진다. 특히, 생체호환성이 좋은 합성소재와 생체물질의 복합구조물로 제작된 캔틸레버는 배양된 세포와의 일체화와 외부로부터의 자극 최소화의 영향으로, 비침습적이고 신뢰성이 큰 세포측정 방식으로 평가 받고 있다.

후 기

본 연구는 산업자원부 21 세기 프론티어 기술 개발사업인 지능형마이크로시스템개발사업 (<http://www.microsystem.re.kr>)의 연구비 지원을 받아 수행되었음.

참고문헌

1. Yelamarty, R. V., Moore, R. L., Yu, F., Elensky, M., Semanchick, A. and Cheung, J., "Relaxation abnormalities in single cardiac myocytes from renovascular hypertensive rats," *Am. J. Physiol.*, Vol. 262, No. 4, pp. C980-C990, 1992.
2. Kawai, M., Sacki, Y. and Zhao, Y., "Crossbridge scheme and the kinetic constants of elementary steps

- deduced from chemically skinned papillary and trabecular muscles of the ferret," *Circ. Res.* Vol. 73, No. 1, pp. 35-50, 1993.
3. Roos, K. P., "Mechanics of force production. In *The Myocardium*, 2nd ed." Academic New York, pp. 235-323, 1997.
 4. Crick, F. H. C. and Hughes, A. F. W., "The physical properties of cytoplasm: a study by means of the magnetic particle method. Part I. Experimental," *Experimental Cell Research*, Vol. 1, Issue 1, pp. 37-80, 1950.
 5. Mitchison, J. M. and Swann, M. M., "The mechanical properties of the cell surface I. The cell elastimeter," *J. Exp. Biol.*, Vol. 31, Issue 3, pp. 443-460, 1954.
 6. Band, R. P. and Burton, A. C., "Mechanical properties of the red cell membrane. I. Membrane stiffness and intracellular pressure," *Biophysical Journal*, Vol. 4, Issue 2, pp. 115-135, 1964.
 7. Yoneda, M. "Force exerted by a single cilium of *Mytilus edulis*. I," *J. Exp. Biol.*, Vol. 37, Issue 3, pp. 461-468, 1960.
 8. Canaday, P. G. and Fay, F. S., "An ultrasensitive isometric force transducer for single smooth muscle cell mechanics," *J. Appl. Physiol.*, Vol. 40, Issue 2, pp. 243-246, 1976.
 9. Tarr, M., Trank, J. W. and Goertz, K. K., "Effect of external force on relaxation kinetics in single frog atrial cardiac cells," *Circ. Res.*, Vol. 52, Issue 2, pp. 161-169, 1983.
 10. Lin, G., Pister, K. and Roos, K., "Surface micromachined polysilicon heart cell force transducer," *IEEE/ASME J. MEMS*, Vol. 9, No. 1, pp. 9-17, 2000.
 11. Tan, J. L., Tien, J., Bhadriraju, K., Pirone, D., Gray, D. and Chen, C. S., "Feel the force: using a bed of needles to map single cell generated traction forces," *Proc. 2nd Joint EMBS/BMES Conference*, pp. 1648-1649, 2002.
 12. Kent, R. L., Mann, D. L., Urabe, Y., Hisano, R., Hewett, K., Loughnane, M. and Cooper, G., "Contractile function of isolated feline cardiocytes in response to viscous loading," *Am. J. Physiol.*, Vol. 257, Issue 5, pp. H1717-H1727, 1989.
 13. Yin, S., Chen, C. and Cheung, J., "Using optical particle image velocimetry for the nondestructive measurement of the single-cell contractile force," *Microw. Opt. Techn. Lett.*, Vol. 13, Issue 1, pp. 31-35, 1996.
 14. Wang, Z., Lam, C., Mukhersee, R., Hebbar, L., Wang, Y. and Spinale, F., "Relationship between external load and isolated myocyte contractile function with CHF in pigs," *Am. J. Physiol.*, Vol. 273, Issue 1, pp. H183-H191, 1997.
 15. Ashkin, A. and Dziedzic, J. M., "Optical levitation by radiation pressure," *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 19, Issue 8, pp. 283-285, 1971.
 16. Park, J., Ryu, J., Choi, S. K., Seo, E., Cha, J. M., Ryu, S., Kim, J., Kim, B. and Lee, S. H., "Real-Time Measurement of the Contractile Forces of Self-Organized Cardiomyocytes on Hybrid Biopolymer Microcantilevers," *Anal. Chem.*, Vol. 77, Issue 20, pp. 6571-6580, 2005.
 17. Kim, J., Park, J., Cha, J. M., Ryu, S., Park, S., Kim, B., Cha, J., Kim, H. C. and Chun, K., "The dependence of contractile force for the cardiomyocytes on a different engineered surface," *Proc. IEEE Sensors*, pp.299-302, 2005.
 18. Park, J., Kim, J., Roh, D., Park, S., Kim, B. and Chun, K., "Fabrication of complex 3D polymer structures for cell-polymer hybrid systems," *Journal of micromechanics and microengineering*, Vol. 16, No. 8, pp. 1614-1619, 2006.
 19. Kim, J., Park, J., Yang, S., Baed, J., Kim, B., Lee, S. H., Yoon, E. S., Chun, K. and Park, S., "Establishment of a fabrication method for a long-term actuated hybrid cell robot," *Lab Chip*, Vol. 7, Issue 11, pp. 1504-1508, 2007.
 20. Armani, D., Liu, C. and Aluru, N., "Re-configurable fluid circuits by PDMS elastomer micromachining," *Proc. IEEE Micro Electro Mechanical Systems*, pp. 222-227, 1999.