

<학술논문>

DOI:10.3795/KSME-A.2009.33.1.49

유전영동을 이용한 입자분리기의 효율적인 분리를 위한 전극 형태

안재민*·채승엽*·박석호**·김병규†

(2008년 7월 16일 접수, 2008년 9월 24일 수정, 2008년 11월 25일 심사완료)

The Electrode Shape for the Efficient Separation of Cell in Dielectrophoresis-Activated Cell Sorter

Jaemin An, Seungyeub Chae, Seokho Park and Byungkyu Kim

Key Words: Conductivity(전도도), Dielectrophoresis(유전영동), Electrode(전극), Permittivity(유전율), Separation (분리)

Abstract

This paper presents the optimal shape of microelectrode that generates dielectrophoretic(DEP) force to separate particles in homogeneous medium. The principle of the particles sorting is based on the use of the relative strengths of negative DEP (nDEP) and drag forces, as in a general DEP-activated cell sorter (DACS). To numerically calculate the DEP force and drag force, the simulation is implemented in MATLAB 7.0. The properties of particles, which are used in simulation, are similarly selected as those of cells to apply cell separation. The most optimized shape of electrode is selected by numerical simulation according to a variety of electrode shape such as rectangle, trapezoidal, and right-triangle. Through, in addition, parameter study, we found that applied frequency is more significant factor on the separation than various parameters, such as applied voltage and permittivity of medium, that decide on the strength of DEP force.

기호설명

- // : 매질의 유전율
- // : 매질의 전도성
- ▲ : 입자의 유전율
- ▲ : 입자의 전도성
- μ : 매질의 점성계수
- U : 유체의 속도
- ω : 주파수

1. 서론

분자 생물학, 약물 검사와 진단 그리고 세포 대체 치료법(CRT)에서 살아있는 세포의 분석 및 분리는 필수적이다. 세포를 분리함에 있어서 지금까지의 세포 분리 방법인 FACS(fluorescence-activated cell sorter)와 MACS(magnetic-activated cell sorter)는 대상세포를 분리하기 위해 표식자(immuno-labeling)를 사용하고 많은 양의 샘플을 필요로 한다. 이러한 단점을 극복하기 위하여 최근에 유전영동(Dielectrophoresis)을 이용한 세포분리 장치에 관한 연구가 선진국을 중심으로 활발히 연구 중이다. 유전영동의 기본 원리와 응용은 Pohl⁽¹⁾과 Pethig⁽²⁾에 의해 정립되었다. 이 기술을 마이크로 채널을 포함하는 Lab-on-a-chip 형태로

† 책임저자, 회원, 한국항공대학교, 항공우주 및 기계공학부

E-mail : bkim@kau.ac.kr

TEL : (02)300-0101 FAX : (02)3158-4429

* 한국항공대학교 항공우주 및 기계공학부

** 전남대학교 기계시스템공학부

구현하면 채널 내 매질에 존재하는 세포와 같은 입자를 고주파의 전기장을 발생시킴으로써 비접촉 방식으로 조작하는 것이 가능하다.⁽³⁾ 이로 인해 외부오염의 차단과 분리의 오차율을 줄일 수 있을뿐더러 적은 양으로도 세포를 분리할 수 있는 장점이 있다.

DACS(DEP-activated cell sorter)는 세포의 고유 전기적 특성과 세포에 가해지는 교류 전기장의 상호작용에 의한 세포분리 방법이다. 유전영동은 단일 세포의 전기적 특성파악, 병원균조사 바이러스와 거대분자의 조적을 통해 세포를 분리하는데 비파괴성, 효율성이 입증되었고 의학진단, 마이크로 생물학 등 여러 분야에서 응용되었다.⁽⁴⁾

본 논문에서는 실제 입자분리기 제작에 앞서 마이크로채널 내에서의 여러 전극 형상에 대한 입자 분리 지점을 계산함으로써 분리효율 극대화를 위한 기초 자료를 제공하고자 한다. 직각삼각형, 사각형, 그리고 사다리꼴의 전극에서 입자의 분리 지점을 계산하여 가장 효율적인 전극 모양을 제시하였다. 전극 주위에서의 입자 분리 지점은 분리 효율과 직접적으로 연관되는 변수로서 분리하고자하는 입자들 간의 분리 지점을 최대화함으로써 분리 효율을 높일 수 있다. 이를 위하여 마이크로채널 내에서 입자에 작용하는 유전영동과 항력을 수치적으로 계산하고 비교함으로써 입자들이 분리될 위치를 분석하였다. 또한 입자분리의 변수로서 인가전압(voltage), 주파수(frequency), 매질의 성질을 변화시켜가며 분리 효율에 영향을 많이 미치는 변수를 도출하였다.

2. 이론

균일한 매질(medium)속에서 극성이 없는 입자는 불균일한 교류 전기장에 노출되면 그 전기장의 전압, 주파수, 그리고 입자와 매질(medium)의 유전율(permittivity)과 전도도(conductivity)에 따라 유전영동을 받는다.⁽⁵⁻⁷⁾

구(sphere)의 형태를 갖는 입자(particle)가 전극에 의해 생성된 자기장의 내에 있을 때 발생하는 유전영동을 수식으로 표현하면 다음과 같다.⁽¹⁾

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_m r^3 \text{Re}[f_{CM}] |\nabla|E_{RMS}|^2 \quad (1)$$

여기서 ϵ_m 은 매질의 유전율, r 은 입자의 반지름, $\text{Re}[f_{CM}]$ 는 Clausius-Mossotti factor의 실수 부분

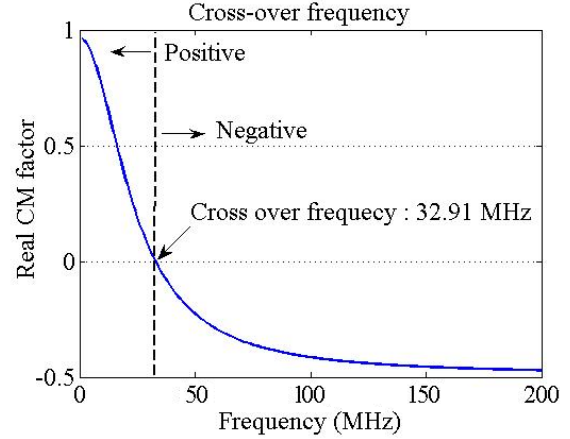


Fig. 1 Real CM factor of the particle that has specific dielectric properties, the permittivity of $8.854e-12$ F/m and the conductivity of 0.2 S/m

이다. 그리고 E_{RMS} 는 전기장의 최소 자승(root-mean square)를 의미한다.

유전영동은 negative DEP와 positive DEP로 분류되는데 분류기준은 $\text{Re}[f_{CM}]$ 의 부호에 따라 달라진다. 이 값은 $(-0.5 \sim 1.0)$ 의 분포를 가진다.

$$f_{CM} = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \quad (2)$$

여기서 ϵ^* 은 복소 유전율(complex permittivity)로서 $\epsilon^* = \epsilon - j(\sigma/\omega)$ 의 식으로 정의 되고, ϵ 는 유전율, σ 는 전도도, ω 는 전기장의 주파수이며 하첨자 p 와 m 는 각각 입자와 매질을 뜻한다. $\text{Re}[f_{CM}] > 0$ 이면 positive DEP로써 전기장의 구배가 높은 쪽으로 입자가 이동하며, $\text{Re}[f_{CM}] < 0$ 이면 negative DEP로써 입자는 전기장의 구배가 낮은 쪽으로 움직인다. 특히 $\text{Re}[f_{CM}]$ 이 0이 되는 주파수를 crossover frequency라고 부른다. Fig. 1은 본 논문에서 사용한 입자의 전기적 성질과 negative DEP, positive DEP 그리고 crossover frequency를 보여준다.

한편 $\nabla|E_{RMS}|^2$ 항은 $(\partial E^2)/(\partial x)$ 의 계산 값이 전극의 폭이 넓어짐에 따라 작아지는 것을 알 수 있다. 따라서 $\nabla|E_{RMS}|^2$ 대신 이 값을 수치적으로 분석하여 식을 구성하면 다음과 같다.⁽⁶⁾

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_m(r/a)^3 \text{Re}[f_{CM}]U_{RMS}^2 f(w/a) \quad (3)$$

위 식에서 w , a , U_{RMS} 은 각각 전극의 폭, 채널의 높이, 전압의 RMS(Root-Mean-Square)을 나타낸다. 또한 마지막 항 $f(w/a)$ 는 *geometric scaling factor*라 불리우며 식 (1)과 식 (3)를 비교함으로써 다음과 같이 수치적으로 표현가능하다.⁽⁸⁾

$$f(w/a) = 1.6347 - 1.7123 \times \exp\{-3.4941(w/a)\} \quad (4)$$

입자들이 받는 항력은 채널 내에서 유전영동과 상호작용을 통해 입자의 분리 지점을 정해줄 중요한 변수이다. 항력은 다음과 같이 표현된다.

$$F_{Drag\ center} = 6\pi\eta r v \quad (5)$$

$$F_{Drag} = F_{Drag\ center} \times [1 - (0.5h - w)/(0.5h)^2] \quad (6)$$

채널이 아주 작더라도 유체(매질+입자)의 흐름이 Poiseuille 유동을 보일 것이라 판단하여 원래의 항력에 속도형상 수식을 추가하여 최종적으로 식 (6)을 항력 식으로 이용하였다. 여기서 η 는 매질의 점성계수, v 는 유체의 속도를 나타낸다.

교류 전기장에 존재하는 마이크로채널 내로 매질과 미세입자가 흐르면 입자는 유전영동과 항력을 받게 된다. 매질과 입자가 정해지면 입자의 항력은 유체의 속도에 비례하여 유체가 흐르는 방향으로 받는다. 그러나 유전영동은 전극의 모양에 따라 Fig. 2와 같이 전극에 수직한 방향으로 발생한다. 결과적으로 입자는 항력과 유전영동의 합력 방향으로 힘을 받아 이동한다. $F_{DEP} < F_{DRAG}$

인 경우에는 최초 세포가 주입된 위치를 유지하고, 전극에 가까워짐에 따라 F_{DEP} 가 작용하여 입자들은 F_{DEP} 와 F_{DRAG} 의 합력 방향으로 이동한다. 결국 입자는 채널 폭 방향으로 이동을 하면서 F_{DRAG} 가 우월한 지점에서 분리가 이루어져 입자는 유선을 따라 이동하게 된다.

이때, 입자의 분리 지점은 입자가 받는 F_{DEP} 가 크면 클수록 채널 폭 방향으로 더 많이 이동하여 분리가 일어나고, F_{DRAG} 가 크면 클수록 입자가 주입된 최초 지점 가까이에서 분리가 이루어진다.

3. 입자 분리의 수치적 해석

3.1 전극 형상

본 논문에서는 수치적 해석을 바탕으로 설계된 전극형상에서 입자의 분리지점을 계산하고 그 전극에 인가될 전압, 주파수, 그리고 매질의 유전율을 변화시켜가며 세포 분리에 가장 효율적인 변수를 찾는다. 그러므로 가장 우선적인 변수는 전극의 형상이다. DACS에서 가장 일반적으로 쓰이는 여러 형상의 전극(직사각형, 직각삼각형, 사다리꼴) 주위에서의 유전영동과 항력을 수치적으로 비교 분석하였으며 입자의 크기에 따른 분리지점을 찾아 가장 효율적인 전극 형상을 제시한다.

입자들의 분리지점을 해석한 채널과 전극 형상은 Fig. 3과 같고, 채널의 높이(전극간 거리)는 $80\ \mu\text{m}$, 폭은 $200\ \mu\text{m}$ 이다. 직사각형 형상의 전극은 가장 전형적인 전극형상으로 $200\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$ 이다. 사다리꼴 형상의 전극과 직각삼각형 형상의 전극은 직사각형 형상의 전극의 폭($200\ \mu\text{m}$)을 유지하였으며 각각의 치수는 Fig. 3에서와 같이 사다리

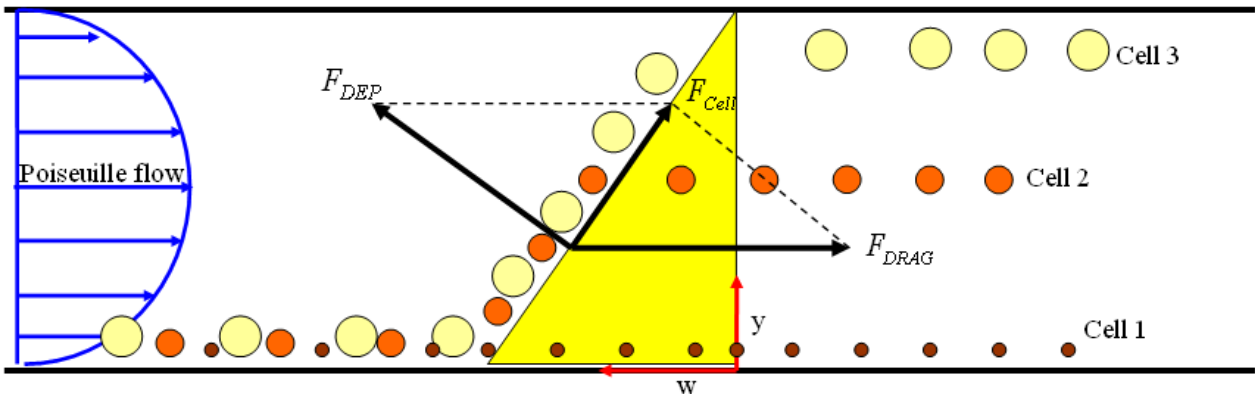


Fig. 2 The concept of cell separation near a pair of electrodes in a microchannel

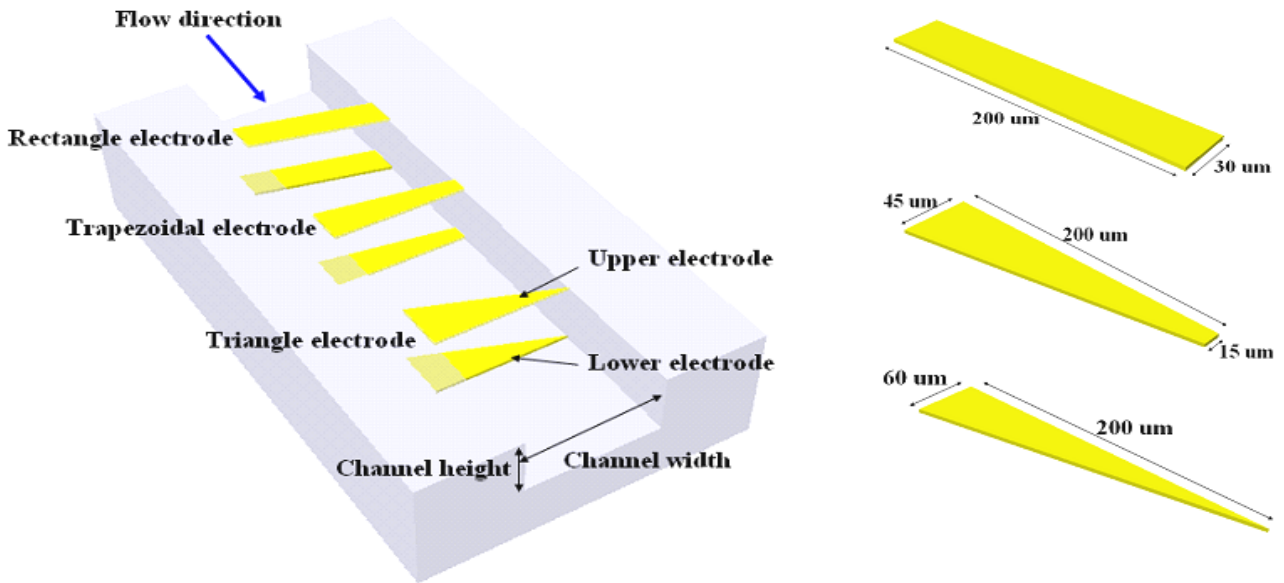


Fig. 3 The concept of device and the shape of electrodes (rectangle, trapezoidal, right-triangle)

폴 전극은 $200 \mu\text{m} \times 45 \mu\text{m} \times 15 \mu\text{m}$, 직각삼각형 전극은 $200 \mu\text{m} \times 60 \mu\text{m}$ 이다.

3.2 매질과 입자

실제 세포분리기에 적용하고자 해석에 사용된 입자의 전기적 성질은 MCF7(초기 유방 종양 세포)의 유전율과 전도도를 사용하였다. 또한 매질은 PBS 용액의 전기적 성질을 이용하였다. 해석에 사용된 입자와 매질의 전기적 성질과 그 밖의 실험 변수들은 Table 1과 같다. 여기서 주파수의 값을 40 MHz로 정한 이유는 이용하고자 하는 힘이 negative DEP이고 입자의 crossover frequency가 32.913 MHz이므로 그 이상의 주파수를 흘려주어야 전극 주위에서 입자는 nDEP를 받기 때문이다.

4. 결 과

4.1 형상 비례 계수(Geometric scaling factor)⁽⁸⁾

식 (3)에서 보듯이 유전영동을 계산함에 있어서 전기장의 항은 형상비례계수로 대체 하여 계산하였다. 또한 주파수, 매질의 유전율, 전압은 각각 20%, 40%, 60%로 변화시켜가며 입자가 분리되는 위치를 계산하였다.

두 전극 사이의 거리가 $80 \mu\text{m}$ 로 고정되어 있으므로 식 (4)에서 형상비례계수는 전극 폭(w)의 함수이다. 직사각형의 형태에서는 전극 폭의 변화량이 없기 때문에 형상비례계수는 채널 폭 방향

의 어느 구간에서든지 같게 된다. 그러므로 다른 실험변수가 같을 경우 입자가 받는 유전영동은 오직 입자의 크기에 의해 결정되게 된다.

사다리꼴 형상의 전극은 직각삼각형과 사각형의 모양을 합쳐놓은 형태를 띠며 전극의 폭이 변하기 때문에 유전영동은 형상비례계수에 영향을 받는다. 하지만 직각삼각형보다 전극의 폭이 줄어드는 기울기가 작으며 직각삼각형 전극 끝의 폭은 0인 반면 사다리꼴은 $15 \mu\text{m}$ 의 폭을 가지므로 서로 다른 결론을 도출할 수 있었다. 뿐만 아니라 이 형상 역시 형상비례계수의 변화는 유전영동의 변화를 주게 되고 최종적으로 입자가 분리되는 구간에 영향을 미치게 된다.

직각삼각형 형상의 전극은 직각사각형 형상의 전극과 같은 방법으로 유전영동을 계산하였는데 직각사각형과의 차이점은 채널 폭에 따라 전극의 폭이 줄어든 다는 것이다. 이것은 식 (4)의 형상

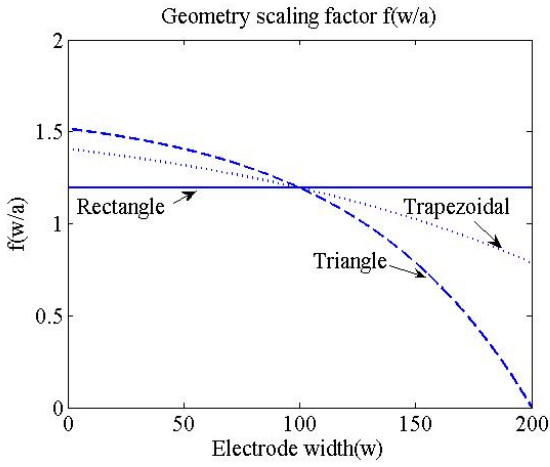


Fig. 4 A variation of geometric scaling factor according to shape of electrodes : rectangle, trapezoidal, right-triangle

Table 1 Experimental standard parameters⁽⁹⁾

parameters	value	units
ϵ_0	8.854e-12	[F/m]
σ_p	0.2	[S/m]
ϵ_p	8.854e-12	[F/m]
σ_m	0.0025	[S/m]
ϵ_m	6.903e-12	[F/m]
voltage	8	[V _{pp}]
frequency	40	[MHz]
flow rate	0.16e-9	[m/s]

비례계수에서 전극 폭의 항이 포함되어 있기 때문에 유전영동에 결정적인 영향을 주는 인자에

속한다. 세 가지 전극의 폭이 변화함에 따른 형상비례계수의 변화를 살펴보면 Fig. 4와 같다. 이 형상비례계수의 변화는 유전영동의 변화를 유발하기에 전극 주위에서 형상비례계수가 항상 일정한 사각형 전극과는 달리 직각삼각형 전극에서는 각 지점마다 다른 유전영동을 가진다.

4.2 실험변수에 따른 입자의 분리지점

우선 채널 폭에 따라 동일한 형상비례계수를 가지는 직사각형 전극에서 주파수, 매질의 유전율, 전압을 변화에 따른 입자의 분리지점을 해석하여 입자 분리에 가장 효과적인 변수를 도출하였다. 단, 유량은 유전영동이 아닌 항력에 영향을 미치는 변수로서 실험 변수에서 제외된다.

Fig. 5는 주파수, 매질의 유전율, 전압을 각각 20% ~ 60%까지 변화시켜가며 그에 따른 입자의 분리지점을 나타낸 것이다. Fig. 5에서 보듯이 항력에 영향을 끼치는 유량을 제외한 다른 변수들은 변수의 값을 증가시키에 따라 입자가 분리되는 구간이 넓어짐을 확인 할 수 있다.

Fig. 5(a)에서 먼저 주파수의 변화에 따른 입자의 분리지점을 살펴보면 항력에는 주파수의 항이 존재하지 않고 유전영동의 수식에서는 Clausius-Mossotti factor의 실수 항을 계산함에 있어서 주파수가 사용됨을 알 수 있다. 이 실수 항은 주파수가 증가함에 따라 점차 커짐을 알 수 있고 주파수가 20, 40, 60% 증가할 때 2.89, 4.219, 5.185 배 증가된다. 이 Clausius-Mossotti factor의 실수 부분이 커짐에 따라 유전영동은 더 커지게 되고 입자가 분리되는 구간 역시 넓어짐을 확인 할 수 있다.

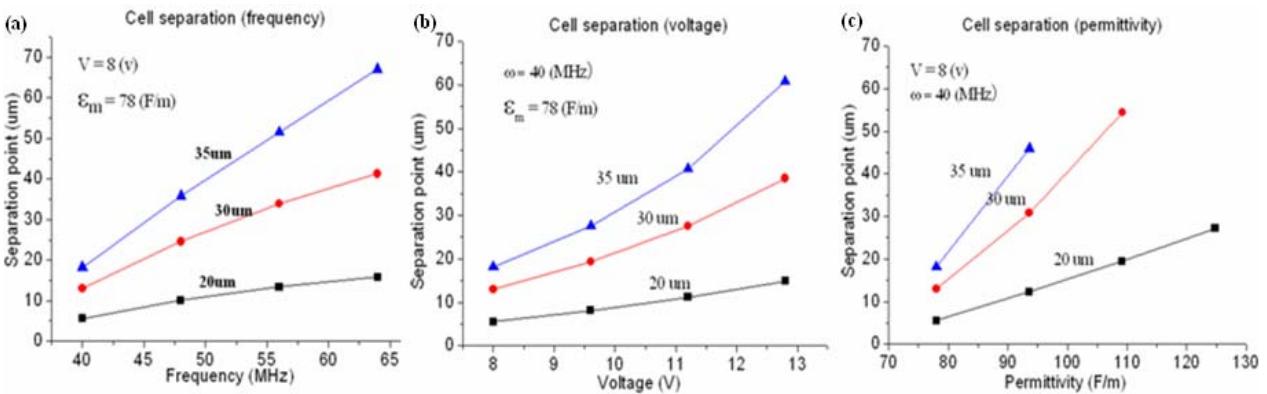


Fig. 5 Cell separation points of rectangle electrode according to variation of each parameter; a) frequency, b) voltage, and c) permittivity

Fig. 5(b)에서의 전압은 유전영동에 제공에 비례하여 영향을 미치는 변수로서 전압의 크기를 20, 40 60% 증가 시킬 경우 유전영동은 1.44, 1.96, 2.56배 커지게 되어 그만큼의 힘으로 입자를 분리 하게 된다.

Fig. 5(c)에서는 매질의 유전율이 증가에 따라 큰 폭으로 입자가 분리됨을 볼 수 있다. 특이점은 크기가 35 μm 인 입자는 매질의 유전율을 40% 이상 증가 시 유전영동이 항력보다 훨씬 세져 전극 위를 흘러가지 못하게 된다. 유전율 역시 항력에는 영향을 끼치지 않고 Clausius-Mossotti factor의 실수 항을 비롯해서 유전영동을 구성하는 식 안에 포함되어 있다. 유전율을 각각 20, 40, 60% 증가 시켰을 경우에 유전영동의 값은 3.56, 6.05, 8.235배 증가 하여 주파수보다 더 큰 변화를 가져온다.

위 세 결과를 종합해보면 입자를 분리시키기 위한 가장 효율적인 변수는 매질의 유전율을 바꾸는 것이다. 그러나 세포가 존재하는 매질을 바꾸는 것은 세포 성장에 안정성 측면에서 바람직하지 않다. 따라서 function generator를 이용하여 전압 또는 주파수를 조절함으로써 세포의 분리 효율을 향상시키는 것이 좋다고 사료된다. 물론 일정치 이상의 전압과 주파수 증가는 살아있는 세포에 사멸에 악영향을 미칠 수 있지만 일정 한계치까지의 증가는 효율적인 입자분리를 가능하게 해준다.

4.3 전극 모양에 따른 입자 분리

입자 분리에 가장 효과적인 실험 변수인 주파수에 따라 각 전극에서 입자 분리 지점을 해석하

였다. 가장 전형적인 형상의 전극을 이용하여 보다 효율적인 전극형태를 고안해 낼 수 있을 것이라 기대된다. 또한 기본적인 형상의 전극 해석을 통하여 보다 복잡한 전극 해석에 응용이 가능하

다. Fig. 6은 직각사각형, 직각삼각형, 사다리꼴형태의 전극 별로 주파수 변화에 따른 입자 분리 지점을 나타낸 것이다. 전극별로 60 %의 주파수를 상승시켰을 때 Fig. 6(a)에서와 같이 직사각형 형태에서는 15.8, 41.3, 67.1 μm 의 분리지점을 보이고 (b)에서의 사다리꼴 형태에서는 18.5, 47.6, 75.6 μm 에서 분리된다.

또한 Fig. 6(c)에서의 직각삼각형에서는 20.1, 51.9, 81.1 μm 에서 분리되었다. 세 가지 형상 모두 전체적인 그래프 형상은 비슷하게 나왔지만 입자를 분리해 내는 효율에 있어서 차이를 보인다. 직각삼각형, 사다리꼴, 직각사각형의 순으로 큰 분리효율을 보여준다.

이와 같은 결과는 유전영동을 이용한 입자분리 시 이용할 수 있는 기본적인 모양의 전극형태 중에서 직각삼각형의 형태가 가장 효율적이라는 것을 보여 준다. 실제 세포분리를 위한 전극 설계에 있어서도 전극면적변화의 기울기가 큰 것이 보다 효율적인 전극 형상이 될 것이라 판단된다.

5. 결 론

이 논문은 세포분리기 제작 및 실험을 하기 전에 수치적 해석을 통하여 최적화된 전극모양을 찾고 그에 따른 전압 등의 실험 변수를 변화시켜 가며 가장 효율적인 실험변수를 찾는 데 있다. 손

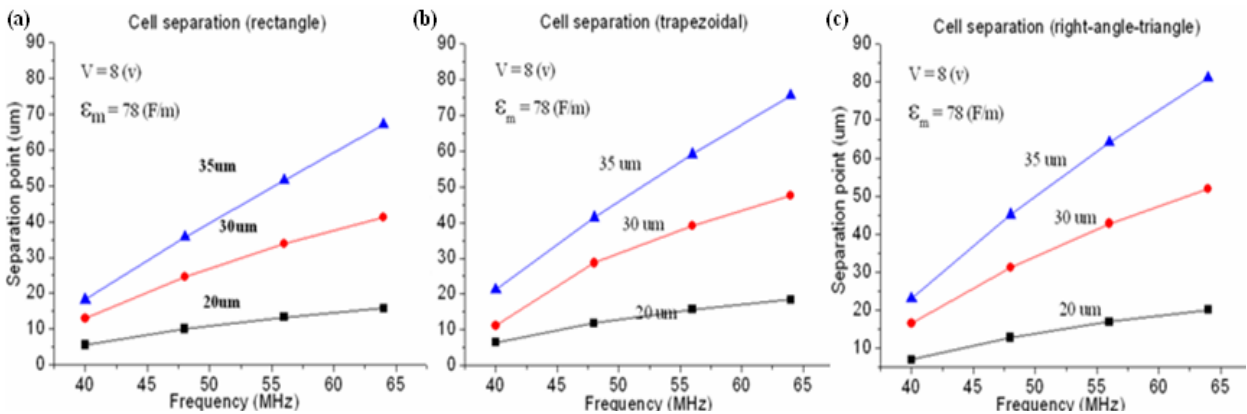


Fig. 6 Cell separation points according to variation of frequency at the each electrode; a) rectangle , b) trapezoidal, and c) right-triangle

쉽게 활용 가능한 공학용 프로그램인 MATLAB 7.0을 이용하여 전극 모양에 따른 입자들이 받는 유전영동과 항력을 계산하고 비교함으로써 입자들이 분리될 위치를 분석해보았다. 뿐만 아니라 실제 입자 분리 실험 시 변수로 지정할 수 있는 전압, 주파수, 매질의 유전을 중 가장 효율적인 변수를 제시하였다. 변수들 중 실험 시 번거로움을 줄이고 지나친 변수 조절은 세포에 악영향을 미칠 것을 고려한다면 가장 효율적인 변수는 주파수로 결론지었다. 또한 기본적인 모양의 전극 형태 중에서 직각삼각형의 형태가 가장 효율적이라는 것을 보여 주었다. 이는 실제 세포분리를 위한 전극 설계에 있어서도 각 위치 별 전극너비의 변화율이 큰 것이 보다 효율적인 전극 형상이 될 것이라 판단된다. 비록 전형적인 전극을 이용하여 세포 분리지점을 계산하였지만 이는 보다 복잡한 전극 설계에 있어 기초 자료로서 활용이 가능할 것으로 기대된다.

후 기

본 연구는 교육과학기술부 나노바이오기술개발사업 중 "세포연구용 바이오 툴 연구개발사업"의 지원을 받아 수행되었다.

참고문헌

- (1) Pohl, H., 1978, "Dielectrophoresis," Cambridge University Press, New York.
- (2) Pethig, R., 1979, "Dielectric and Electronic Properties of Biological Materials," JohnWiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto.
- (3) Jones, T.B, 1995, "Electromechanics of Particles," Cambridge University Press, Cambridge, New York, Melbourne.
- (4) Malyan, B., and Balachandran, W., 2001, "Sub-Micron Sized Biological Particle Manipulation and Characterization," *Journal of Electrostatics*, Vol. 51-52, pp. 15~19.
- (5) Pethig R., 1979, "Dielectric and Electronic Properties of Biological Materials," JohnWiley & Sons, Chichester.
- (6) Schnelle, T. et al., March 1999, "The Influence of Higher Moments on Particle Behaviour in Dielectrophoretic Field Cages," *Journal of Electrostatic*, Vol. 46, pp. 13~28.
- (7) Durr, M. et al., 24 Feb 2003, "Microdevices for Manipulation and Accumulation of Micro- and Nanoparticles by Dielectrophoresis," *Electrophoresis*, Vol. 24, Issue 4, pp. 722~31.
- (8) Park, J., 2005, "Design and Analysis of MEMS-based Cell Manipulation System for Cellomics," *Seoul National University*, Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Ph. D, pp. 46~48.
- (9) Coley, H. M., Labeed, F. H., Thomas, H. and Hughes, M. P., 2007 "Biophysical Characterization of MDR Breast Cancer Cell Lines Reveals the Cytoplasm is Critical in Determining Drug Sensitivity," *Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects*, Vol. 1770, pp. 601~608.