



THEME 04

마이크로 시스템 내의 유동제어와 세포연구로의 적용

박 중 열 | 중앙대학교 기계공학부, 교수 | e-mail : jrpark@cau.ac.kr.
이 상 훈 | 고려대학교 보건과학대학 생체의공학과, 교수

최근 약 10년 동안 마이크로 유체 시스템은 다양한 세포연구에 광범위하게 활용되며 생물학과 의학 분야에 새로운 전기를 가져왔다. 마이크로 유체 시스템 내의 유동현상을 설계하고 연구에 적용하는 일은 기계공학도가 중추적인 역할을 해야 하는 분야이다. 유동장 내에서 관찰되는 세포의 반응은 매우 흥미로울 뿐 아니라 학술적으로 막대한 파급력있는 결과를 가져오기도 한다. 이 글을 통해 전통적인 접근법으로는 성취하기 힘들었던 세포연구들이 마이크로 유체 시스템을 이용하여 어떻게 효과적으로 수행되는지 소개하고자 한다.

세포들은 많은 수용기(receptor)로 끊임없이 주변의 물리적, 화학적 환경 요소들을 감지하고 그 변화에 반응한다. 세포 주변의 환경 요소들은 그림 1에서 보이는 것처럼, 접촉하는 대상의 강도와 형상, 인장/압축 응력, 전기 신호/자극, 기체 분자, 분비물, 영양소, 외부의 압력, 유체 유동에 의한 전단응력 및 대류효과 등과 같이 다양하며, 시간적으로도 끊임없이 변화한다. 이러한 세포들의 활동을 점검하고 분석하는 일은 의학, 약학, 생물학, 생리학, 병리학 등에 광범위하게 이용된다. 전통적인 세포연구는 생화학적인 자극에 대한 연구가 주로 수행되었고 그림 1의 자극 중 역학적인 자극(압력, 전단응력 등)에 관한 연구에는 취약할 수밖에 없다. 이는 전통적 세포배양 방식인 Petri-dish 세포배양법의 한계가 주된 요인이다. Petri-dish 세포배양법은 세포를 배양액이 있는 그릇에 담아서 배양하는 것으로 유동이 전혀 없고 배양액의 세포 대비 비율이 매우 높다. Petri-dish에서는 바이오 분자 물질들이 확산(diffusion)에 의해서만 이동하고 매우

빠르게 과량의 배양액 속으로 희석된다. 한편 체내에는 혈류나 기타 유동에 의해 영향을 받는 세포가 많고 바이오 분자 물질들 또한 쉽게 희석되지 않기 때문에 Petri-dish에서 배양되는 세포 반응은 체내에 있을 때와 다를 수밖에 없다. 이러한 문제점들은 마이크로 유체 시스템을 활용하여 해결할 수 있다. 마이크로 유체 시스템은 전통적인 세포배양법과 비교하여 세포가 배양되는 공간의 크기(scale)를 체내와 유사하게 제공할 수 있다는 큰 장점을 가지고 있다.

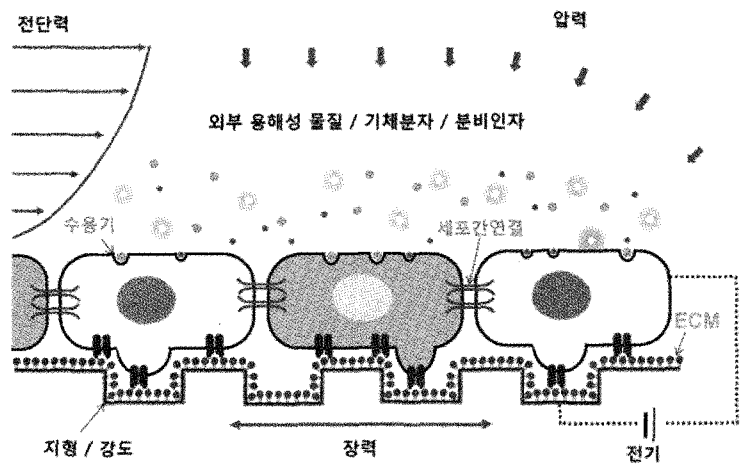


그림 1 세포에 영향을 미치는 다양한 외부의 자극

마이크로 유체 시스템에서의 유동제어

마이크로 시스템의 유동을 발생/제어하는 원리는 대표적으로 다음과 같이 분류될 수 있다. 압력에 의한 유동(pressure-driven flow), 전기삼투압에 의한 유동(electroosmotic flow), 중력에 의한 유동(gravity-driven flow), 미생물에 의한 유동(biologically driven flow), 기포에 의한 유동(bubble-driven flow), 음파에 의한 유동(acoustically driven flow), 삼투압에 의한 유동(osmosis-driven flow), 모세관현상에 의한 유동(capillarity-driven flow), 표면장력에 의한 유동(surface-tension driven flow), 열변화에 의한 유동(thermally driven flow) 등이다. 이들 각각의 원리와 적용의 범위는 서로 다르며 장단점이 있으나 지면의 한계로 인해 대표적으로 세포의 유동전단응력 반응에 관련된 연구들을 몇 가지 소개하고자 한다.

압력에 의한 유동(pressure-driven flow)은 가장 기초적인 유동 발생원리로서 유체에 가압을 하여 유동이 발생되도록 하는 것이며 대표적인 펌프는 주사기 펌프(syringe pump)이다. 모터(electric motor)기술과 제어기술이 발달하여 매우 소량($\sim 0.001 \mu\text{L/hr}$)의 유량을 제어할 수 있다. 작동법이 용이하여 의료기관, 화학실험실, 생물학실험실, 기계공학실험실 등에서 광범위하게 사용된다. 발생된 유동의 형태는 물리적, 수학적 해석이 쉬운 Poiseuille flow이어서 마이크로 유체 시스템 내의 유체역학적 해석, 즉, 세포에 전달되는 전단응력 예측에 유용하다. 단점은 펌프의 크기와 무게가 마이크로 칩에 비해 100배 이상이다. 또한 유량과 채널의 단면적의 관계에 의해 유속을 결정하게 되는 원리를 고려할 때 마이크로 크기의 채널에서 여전히 상당히 큰 유속이 발생되기 때문에, 극저속 유동 제어가 필요한 일부 세포 연구에는 부적합하다. 또한 마이크로 유체 칩의 경우 많게는 수십 개의 유량 입력(inlet)이 필요한 경우가 있는데, 이런 경우에 많은 수

의 펌프가 필요하여 비용, 부피, 무게 등의 면에서 매우 불편하다.

전기삼투압에 의한 유동(electroosmotic flow)은 액체가 전압에 의해 이동하는 현상을 이용한 것이다. 액체를 모세관으로 가두어 두고 그 양쪽에 전극을 담근 후 전압을 걸면, 모세관 내에서 계면전기 2중층의 전하가 전기장에 의해 이동하는데 용액도 점성에 의하여 이동한다. 이때 유동의 속도는 전기장의 강도, 전하량, 용액의 농도, 점성도에 따라 결정된다. 쿨롱력(Coulomb force)에 의해 발생하는 이러한 유동은 기계적으로 물리적인 동작이 필요하지 않아 단순한 구조에서 유동이 발생하는 큰 장점이 있다. 유체역학적 특징은 앞서 이야기한 Poiseuille flow 현상은 보이지 않고 벽면의 유속이 관의 중심부의 유속보다 빠르다. 단점은 여전히 외부 전력장치가 필요하며, 유동의 발생이 벽면에서 일어나기 때문에 유속의 중심부로의 전파에 한계가 있다. 원리적으로 수~수십 마이크로 크기의 채널에서 효과적이며 그보다 큰 경우는 현실적으로 부적합 경우가 많다. 또한 유동의 원동력이 전기장의 강도에 비례하므로 채널 내부의 세포는 항상 전기장에 노출되는 단점이 있다.

표면 장력에 의한 유동(surface-tension driven flow)은 최근에 제안되었다. 일반적으로 표면장력은 역학적으로 일반적인 상황에서 무시할 만큼 그 절대적인 힘의 크기가 작지만, 마이크로의 세계에서는 펌프의 동력으로 사용될 만큼 크다. 두 개의 서로 다른 크기의 물방울(droplet)을 마이크로 채널의 양단에 놓아 두면 표면장력의 차이에 의해 채널에서 유동이 발생한다. 원리적으로 외부의 유입 용액이 따로 없기 때문에 세포 배양에 적용하는 경우 생물학적인 감염요소로부터 안전하다는 장점이 있다. 단점으로는, 유동이 일시적이며 입출구가 복잡하지 않아야 하는 설계의 제약이 있고 시간에 따라 물방울 크기가 변화하므로 유속도 변화한다. 즉, 매우 정밀하고 오랜 시간 지

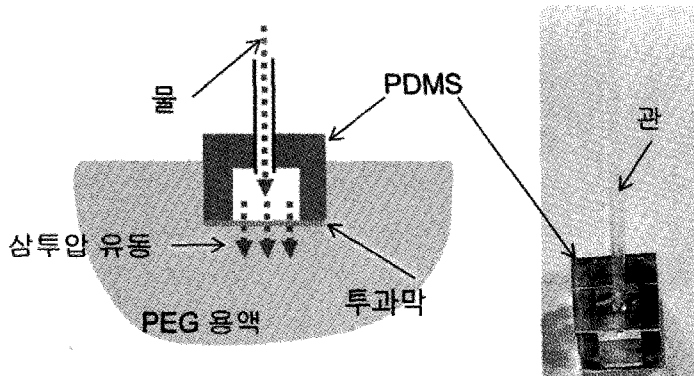


그림 2 삼투압펌프의 구조와 원리(펌프 크기: 1×1×1cm)

속되는 유동이 필요한 경우 사용할 수 없다.

마지막으로 삼투압에 의한 유동(osmosis-driven flow)은 삼투압 원리를 이용한 것이다. 삼투현상은 외부의 에너지를 필요로 하지 않는 물리 현상으로써 용매는 통과시키나 용질은 통과시키지 않는 고정된 반투막을 기준으로 양쪽에 농도가 다른 용액을 두어 용매 분자가 농도가 진한 쪽으로 이동하는 현상이다. 자연계에서 식물의 물 흡수가 일어나는 원리와 같다. 이 현상을 적용하면 그림 2와 같은 삼투압 펌프를 만들 수 있다. 이 펌프는 용액의 농도를 조절하여 유량을 늘이거나 줄일 수 있다. 또한 마이크로 채널에서도 극저속 유동을 발생시킬 수 있을 정도로 저속 유동의 제어가 가능하다. 또한 외부의 동력원이 필요 없고, 매우 안정적으로 제어가 되고, 수일 수주 간의 장시간 사용도 가능하며, 세포에 해가 되는 오염물질의 발생이 없고, 크기가 매우 작고 가볍다.

유동에 관한 세포의 반응과 의미

유동은 체내 어디에서나 발견된다. 혈류나 림프액의 흐름이 체내의 유동의 전부로 인식되기 쉽지만, 대부분의 세포는 체내에서 그 외의 유동에 노출이 되어 있다. 심지어는 뼈 내부에서도 발생하는데, 혈관이 없

는 조직 내에서도 걷는다든지 숨을 쉬는 등의 물리적인 운동에 의해 스며드는(permeation) 방법으로 유동이 발생된다. 이러한 유동을 조직내 유동(interstitial flow)이라고 부른다. 세포가 다양한 유동에 반응하는 것을 고찰하면 세포 특성을 알아 낼 수 있으며, 특히 줄기세포와 암세포는 주변 환경에 의해 줄기세포분화, 암세포화 전이 등 메커니즘이 발생되기 때문에 이들 세포의 특성을 확보하는

것은 매우 중요하다.

혈관내피세포와 마이크로 유체 유동

혈류의 전단응력은 혈관 내피세포의 각종 기전에 영향을 미친다. 내피세포들이 전단응력을 어떻게 감지하는가에 대한 연구가 수행되고 있다. 혈관세포는 표면에 부착되어야만 제 기능을 발휘하는데, 물리적인 고정은 세포의 표면에 존재하는 수용체분자의 하나인 인테그린(integrin)이 초점접착부위(focal adhesion spot)에 부착되면서 이루어진다. 이와 함께 세포 내 골격계를 이루는 골격섬유구조(cytoskeletal fiber structure)와도 연동이 되어 있어, 외부의 자극의 변화에 민감하게 감지할 수 있다. 외부 역학적 자극이 세포 내로 전달되는 것을 'mechanotransduction' 이라고 한다. 이 전달은 혈관내피세포의 증식뿐 아니라 기본적인 혈관내피세포의 기능성에 영향을 미친다. 이러한 세포의 고정이나 기계적인 자극이 없으면 세포는 그 기능을 잃거나 분열이 되지 않거나 죽게 되어 혈관계 질병으로 이어진다. 혈관내피세포가 혈류에 노출이 되어 있는 것과 각종 암이나 다른 혈관의 질병이 혈관계의 발달, 쇠퇴에 달려있는 것을 고려할 때, 혈관세포와 혈류전단응력과의 관계 규명은 중요하며,

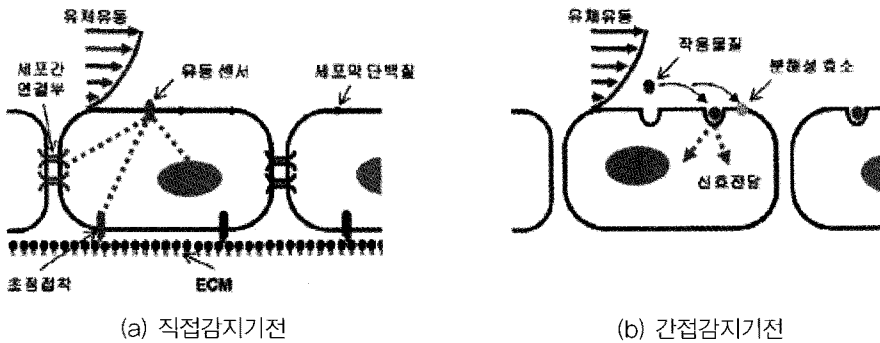


그림 3 혈관내피세포가 유동을 감지하는 메커니즘

앞서 소개된 삼투압펌프를 이용한 극저속 유동을 이용하여 혈관 세포의 간접감지기전 현상을 고찰하였다. 이런 연구 결과는 다음과 같은 초기 분지되는 혈관 형성의 원리를 밝혔다. 극저속 유동은 여전히 혈관세

포의 증식에 기여를 하고 세포간 연결력을 높이지만, 세포골격섬유의 발달을 촉진하지 않는다.

마이크로 유체 시스템이 이 연구에서 매우 유용하다. 체내의 혈관에서 혈류에 의한 전단응력은 대개 1~50dyn/cm² 범위에 걸쳐 발견된다. 혈류가 어떤 기전에 의해서든 방해받게 되면 동맥경화증이나 혈전증과 같은 치명적인 혈관계 질병으로 발전된다. 혈류가 모세혈관에 도달하게 되면 전단응력은 이보다 현저히 낮아서 0.1dyn/cm²에 이르게 된다. 이처럼 낮은 혈류도 여전히 혈관세포의 기능에 영향을 미쳐서 세포의 형태학적 변화나 림프계 질병으로 확산되기도 한다. 일반적으로 혈관세포가 혈류를 감지하는 기전은 두 가지로 분류되고 있다. 첫 번째는 직접감지기전 (Direct Sensing Mechanism)으로서 막관통기계수용체 (transmembrane mechanoreceptor)가 관여된다(그림 3(a)). 이 수용체들은 물리적인 변형에 의해 작동되므로 비교적 높은 혈류 전단응력이 이 수용체를 변형시키게 될 때 발현한다. 두 번째는 간접감지기전 (Indirect Sensing Mechanism)으로서 세포막의 외부에 있는 수용체에서 유체 내의 생화학적 요소의 농도 변화를 감지함으로써 이루어진다(그림 3(b)). 결국 직접감지기전에 의한 발현되는 혈관세포의 반응에는 간접감지기전에 의한 반응을 포함하며 이들 둘의 기전을 분리해서 하는 연구는 매우 드물다. 그 이유는 직접감지기전을 배제할 수 있는 극저속 유동의 제어가 매우 힘들기 때문이었다. 하지만 최근의 연구에서

마이크로 유체 유동과 여러 가지 세포

유동의 조절은 혈관내피세포에만 중요한 것이 아니고, 다양한 세포로의 적용 분야가 있다. 이러한 연구의 예로서 폐의 상피세포에 관한 연구가 대표적이다. 폐에는 폐포에서 기체교환이 이루어진다. 폐에 있는 상피세포들은 이러한 역할을 위해 한 쪽으로는 공기를, 다른 한 쪽으로는 혈류에 닿을 수 있는 구조로 되어 있다. 이러한 상피세포의 발생한 병은 심한 경우 환자를 사망에 이르게 한다. 이러한 폐 내부의 상피세포 구조는 전통적인 세포연구 기법으로는 구현하기 힘들다. 3차원 구조로 이루어질 뿐 아니라 두 가지 이상의 서로 다른 유체(공기와 액체)의 제어가 필요하다. 이 연구를 위해서 그림 4와 같은 마이크로 유체장치가 제안되어 연구되었다. 상피세포의 한 쪽 면에는 액체와 기체가 번갈아 가면서 공급되었다. 이러한 연구도 유동제어가 핵심이며 공기가 액체 내에서 만들어내는 플러그유동(Plug flow)의 분석이 가장 중요하다. 비교적 빠른 유동이 필요하며 유동의 시간에 따른 조절이 용이한 주사기펌프가 적합하며, 플러그유동이 세포에 가하는 전단응력의 크기 및 반복 주기에 관한

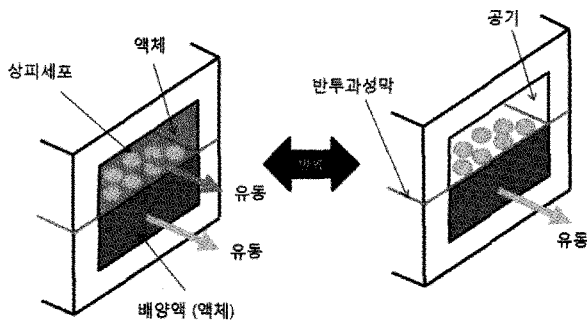


그림 4 폐의 상피세포의 유동변화에 대한 반응을 고찰하기 위한 마이크로 유체 시스템의 단면, 반투막 위에서 배양되는 세포는 유동의 제어에 따라 액체와 기체 유동에 노출된다.

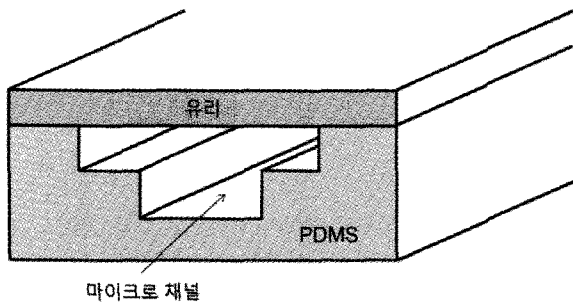


그림 5 다단 마이크로 채널. 이를 이용하여 한 가지의 입구 유동만으로 채널 내 계단구조로부터 서로 다른 유속/전단응력을 만들 수 있다.

정량적인 분석은 세포의 피사반응을 찾아내는 데 매우 중요한 결과가 되었다.

성체줄기세포도 이러한 유체 유동에 매우 민감하다. 성체줄기세포는 골수라는 뼈 내부에 있는 조직에서 만들어지는데, 이 부분은 혈류가 도달하지 않는다. 그럼 어떻게 이곳에서 성체줄기세포가 자라날 수 있을까. 이 곳은 혈류의 직접적인 영양분, 산소 등의 공급이 아닌 확산현상 및 세포간극저속유동에 의해 필요한 성분을 공급받고 폐기물을 배출한다. 이 극저속 유동은 사람의 걷기 등 활동에 의해 일어나며, 그 크기는 매우 작지만 중요하다. 삼투압펌프를 이용한 극저속 유동제어를 통해 결합조직세포인 섬유아세포 (fibroblast)에 비해 성체줄기세포가 극저속 유동에 민

감하게 반응하며 나아가 분화에 영향을 미칠 수 있다는 가설이 제안되었다.

마지막으로 소개할 연구는 마이크로 채널의 구조를 적합하게 설계(그림 5)하여 다양한 유체전단응력을 단일 채널 내에서 만들어내어 세포의 반응을 찾아낸 것이다. 단순하지만 효과적인 채널 설계는 다양한 세포의 반응을 한 번에 보여주며 유체 전단응력의 크기와 섬유아세포의 성장과의 관계를 정량적으로 보여주었다. 이 실험에는 주사기펌프가 사용되었으며 유체의 제어가 펌프가 아닌 채널의 형상을 통해 이루어졌다. 기계공학적인 단순한 설계/제어법과 생물학적인 관심요소가 결합하여 의미 있는 결과물이 창출된 예이다.

맺음말

과학과 기술의 눈부신 발전에도 최근까지 세포의 연구는 Petri-dish와 Pipette을 이용한 고전적 세포 연구기법에서 벗어나지 못하고 있다. 이 고전기법들은 세포 개개의 특성의 분석보다는 많은 세포들의 반응에 대한 평균적 값을 관찰할 수 있기 때문에 다양한 범위의 세포 특성연구에서 한계를 보인다. 세포는 생화학반응뿐 아니라 각종 기계적, 역학적, 전기적 자극을 감지하고 변화하고 반응한다. 마이크로 유체 시스템으로 통해 이러한 세포의 특성을 정량적으로 찾아내는 것은 차세대 생명과학 기술의 기반이 된다. 이 새로운 분야 연구에 유체역학, 구조역학 등에 정통한 기계공학도들의 적극적인 연구 참여가 필요하다. 최근 미국, 일본, 스위스, 독일 등의 선진국과 중국의 마이크로 테크놀로지와 생물학 의학과의 접목 시도 연구들이 거침없이 이루어지고 있고 그 중심에 기계공학이 중요한 역할을 하는 것을 보면서 우리나라 기계공학도들도 이러한 연구분야에서 적극적인 활동을 보여주기를 기대해본다.