

# 세포칩 기술과 응용

Technology and Application of Cells on Chips

만물 지능 서비스를 준비하는 신기술 특집

김창범 (C.-B. Kim)

융합기술원천연구팀 선임연구원

송기봉 (K.-B. Song)

융합기술원천연구팀 팀장

## 목 차

- .....
- I . 서론
  - II . 마이크로 세포배양 시스템
  - III . 마이크로 세포자극 시스템
  - IV . 세포응해물 생화학적 분석
  - V . 응용

셀칩(cells on chips)이란, MEMs/NEMs 응용분야 중 생명공학과 관련된 세포분야로의 응용에 이용되는 대표적인 기술로서 현재 전세계에서 경쟁적으로 연구, 개발되고 있다. 셀칩은 생체내부에서 세포가 성장하는 공간적(spatial), 시간적(temporal) 조건을 정교하게 모사(mimicking)함으로써, 복잡한 생화학적 생체 내(in vivo) 환경을 이해할 수 있는 새로운 기회를 창조하고 있다. 또한 셀칩과 다양한 형태의 분석용 센서와의 결합된 시스템을 통하여, 세포기반 질병진단 시스템의 소형화 및 조기진단 시스템 개발을 위한 바이오멤스 핵심 플랫폼 기술로 인식되고 있다. 즉 DNA, 단백질, 세포 등의 바이오 물질을 마이크로/나노시스템 위에서 검출 및 분석함으로써 극미량의 생체물질을 실시간 고감도 분석이 가능하게 할 것이다. 본 고에서는 셀칩분야의 기술 및 응용에 관해 정리하고 있다.

## I. 서론

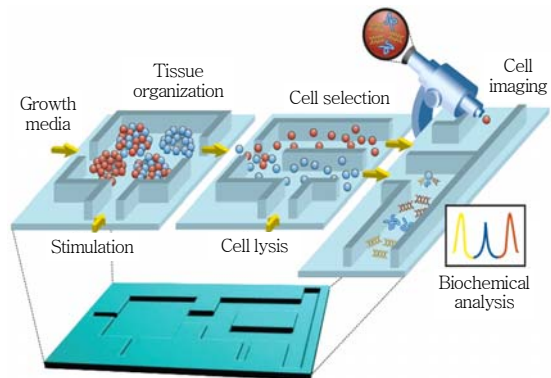
MEMs/NEMs 기술과 생명과학 및 의료분야 기술과의 접목을 통하여, 질병인자물질 검출 및 조기진단 기술을 개발하는 생명공학 분야의 연구가 전세계적으로 활발히 진행되고 있다. 세포, 단백질(protein), DNA, 유전자(gene) 등 바이오 물질들을 마이크로/나노기술로 제작된 시스템 위에서 검출 및 분석을 수행함으로써, 극소량의 생체물질만을 이용하여 실시간 고감도 분석 및 진단을 가능하게 한다. 이와 같이 생명공학과 접목된 MEMs/NEMs 기술분야를 바이오멤스/바이오넵스 기술이라 하며, 좀더 넓은 개념으로 설명하자면 바이오센서와 바이오칩 분야를 모두 포함할 수 있다. 바이오칩의 다양한 응용 중 한 분야인 셀칩은 생체내부에서 다양한 종류의 세포들이 성장하는 환경을 각 세포종류에 따라 적당하게 설계 및 모사를 함으로써 복잡한 생화학적 생체환경을 분석하고 이해하는 기술이라 할 수 있다. 마이크로유체 시스템(microfluidic system)을 적용한 미세칩 내에서 세포를 배양하여 물리적, 화학적, 전기적 자극을 줌으로써 세포의 반응을 관찰, 분석을 하는 시스템이라 할 수 있다.

정상적인 생체 내의 환경에서 세포는 시간적, 공간적으로 다양한 생화학적(biochemical) 신호에 노출되어 있다. 그러한 신호들은 주로 주변세포에서 분비된 cytokine과 단백질, 세포외기질(ECM)과의 생화학적 또는 기계적 상호작용, 그리고 세포간 직접적 접촉 등으로 알려져 있다. 바이오 마이크로시스템은 통상적인 조직배양(tissue culture)으로서는 할 수 없는 조절가능(controllable)하며 재현가능(reproducible)한 방식으로 앞서 언급된 신호들을 계획적, 반복적으로 세포에 자극할 수 있으며, 분석시스템과의 통합(integration)을 통하여 세포의 행동양식(behavior)

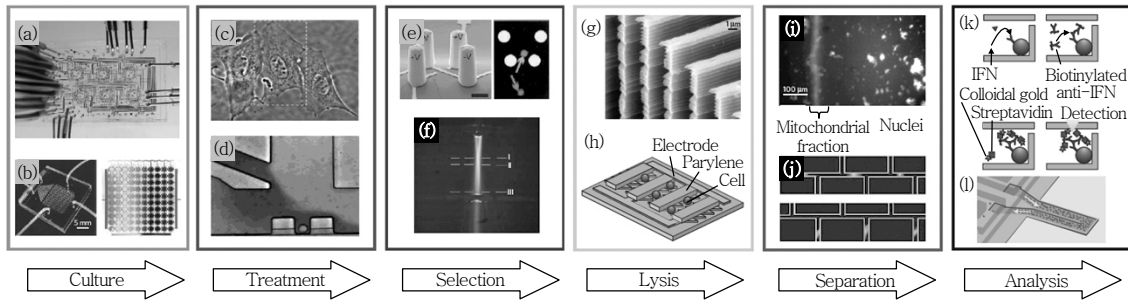
을 총괄하는 생화학적 프로세스에 관한 연구를 가능하게 한다.

셀칩 개발에는 마이크로유체칩(microfluidic chip), 마이크로어레이(microarray), 나노기술을 이용한 표면개질 등의 방법을 바탕으로, PDMS, 바이오친화적 폴리머 등과 같은 다양한 생체친화적인 재료를 이용하여 세포의 생체 내(in vivo) 환경과 가장 유사한 환경을 조성하는 연구가 수반되어야 한다. 셀칩의 최종적인 시스템은 하나의 칩 위에서 모든 생체의 반응과 검출, 진단을 가능하게 하는 것으로써, (그림 1)과 같은 마이크로종합분석시스템( $\mu$ TAS)의 개념을 기반으로 한다. 이러한 개념은 기존의 노동 및 시간 집약적이고 고비용의 바이오 관련 실험을 간편하게 대체할 수 있으며, 실험실을 소형 칩 위에서 구현하는 바이오분석소자로서, 최근 정보통신기술(IT)과의 접목으로 응용을 넓혀가고 있다. (그림 2)는 마이크로시스템을 이용하여 세포배양을 시작으로 조작(treatment), 선택(selection), 용해(lysis), 분리(separation) 및 분석(analysis) 작업이 가능한 셀칩의 예를 보여 준다.

본 고에서는 셀칩에 관한 마이크로 기술(micro-technology)과 응용에 관해 알아보고, 미세시스템 내부에서의 세포배양, 세포외부로부터의 신호 조절, 생화학적 신호 분석에 관한 방법들을 기술하고자 한다.



(그림 1) 마이크로종합분석시스템( $\mu$ TAS)[1]

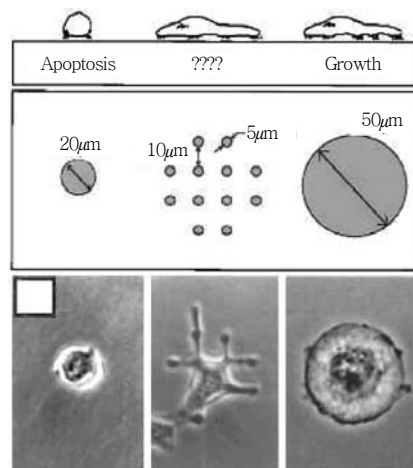


(그림 2) 배양에서 생화학적 분석까지 가능한 세포기반 마이크로 분석시스템[1]

## II. 마이크로 세포배양 시스템

### 1. 세포(Cell) 및 세포외기질(ECM)

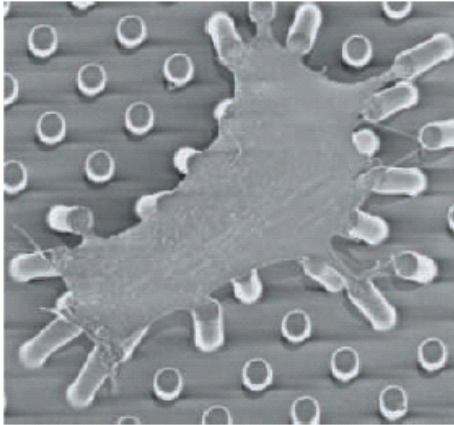
생체 외 세포배양(in vitro cell culture) 기술은 현대 바이오 연구에서 가장 중요한 기본작업 중의 한 가지이다. 전형적인 생체 내 세포환경을 모사하기 위한 한 가지 방법으로써, 마이크로스케일로 제작된 3차원 세포외기질 구조(3D ECM structure)를 산소 및 영양분을 이송하는 microfluidic network system 내에 구현하여 통합된 시스템을 이용하는 것이다. 이는 전형적인 2차원 세포배양용 dish 위에서 배양을 하는 방법과는 현저히 차이가 있다. 왜냐하면 실제 생체 내에서 연구대상 세포는 주변 세포들과 3차원 구조로 존재하기 때문이다. 진보된 화학적 표면개질 방법을 이용한 표면 마이크로패터닝(surface micropatterning) 기술을 microfluidics에 접목함으로써, 세포관점에서 생리학적으로 적합한 생존환경 구성이 공학적으로 가능하다. 다양한 표면 패터닝 기술로는 photolithography liftoff, photoreactive chemistry, microcontact printing 및 fluidic patterning과 같은 soft lithography 기반 기술 등이 있다. 이러한 마이크로스케일 표면패터닝 기술은 세포와 ECM 구조와의 상호작용을 보다 활성화시키며, 적당한 크기의 미세구조체 내에서 세포가 생존할 수 있도록 도와주는



(그림 3) Micro Grid 간격에 의한 세포의 착상 및 성장 안정화 비교[2]

결정적 역할을 한다고 할 수 있다. Lamination, moulding, photo-polymerization과 같은 기술 또한 나노스케일 3차원 scaffold 제작에 이용된다.

마이크로 기술에 의해 제작된 체외(in vitro) 세포 성장환경을 정밀하게 컨트롤함으로써, 세포형상이 성장에 미치는 영향과 같은 생화학적, 기계적 반응의 변화를 이해할 수 있는 새로운 기회를 제공한다. 예를 들어 (그림 3)과 같이 마이크로채널 내에 세포가 착상할 수 있는 grid의 dimension을 변화시킴으로써, 세포와 ECM의 접촉면적은 유지하면서 세포의 착상을 안정화시킬 수 있다. 좁은 간격으로 구성된 grid 위의 세포들은 더 이상 성장하지 않고 사멸하게 되며, 적당한 간격으로 배치된 grid 배열 위의 세포는 안정

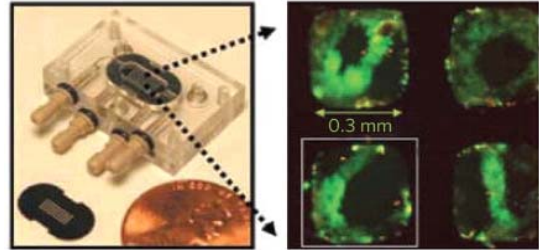


(그림 4) 마이크로 크기의 기둥 위에 착상된 세포의 힘에 의한 기둥의 변형 방향과 세기[3]

된 형상으로 착상을 하며 증식(proliferation)을 하게 된다. 또한 ECM을 마이크로 스케일로 패터닝하는 형태에 따라 그 위에서 상호작용을 하는 세포 형성의 형성과정에 영향을 주며 이후의 성장과정에도 중요한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. (그림 4)와 같이, 마이크로 기술에 의해 제작된 수직 탄성기둥 형태의 EMC 구조에 세포가 국부적으로 착상된 것을 볼 수 있으며, 마이크로 크기 탄성기둥을 굴절시키는 세포의 힘은 100 나노뉴턴 정도로 측정되었다. 이처럼 마이크로 기술에 의해 세포 성장환경을 적당하게 조절함으로써 세포착상 및 증식을 안정화시킬 수 있으며 세포분열의 방향성도 제어를 할 수 있게 된다.

## 2. 간세포 배양(Hepatocyte Culture)

체외에서 간세포의 배양 기술은 최근 바이오 연구에서 상당한 각광을 받고 있다. 그 이유는 많은 종류의 약들이 개발되었으나 간 조직에 직접적으로 손상을 입히는 등 임상 실험에서 실패를 거듭하고 있기 때문이다. 이처럼 간세포독성에 관한 연구는 간세포를 체외배양할 수 있는 기술이 절대적으로 필요하며, 실제 간의 환경을 적절하게 모사할 수 있어야 한다.

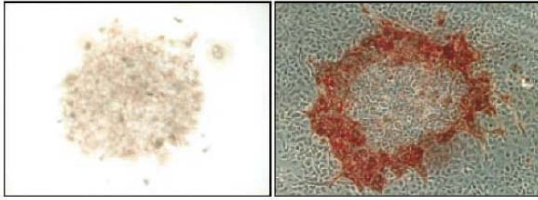


(그림 5) 간세포 배양용 Microfluidic 시스템[4]

실제 간세포들은 모세혈관을 통하여 영양분, 산소 등이 전달되는 복잡한 3차원구조 환경에 구성되어 있으며, 이를 모사하기 위하여 (그림 5)와 같이 여러 개의 너비 300 $\mu$ m 마이크로채널과 함께 제작된 ECM 구조가 개발되었다. 구형태(spheroid)의 간세포 군집(aggregate)을 마이크로채널 내에 seeding을 함으로써, 장시간(3주 이상)의 배양을 통하여 간세포의 생존성을 증가시켰고 안정되게 분화된 간세포 표현형(phenotype)을 확립하였다. 마이크로 3차원 체외 배양 기술을 통하여 실제 체내 조직에서 볼 수 있는 세포간 밀접한 접합지점(junction)과 접착반(desmosome)의 형성이 가능해졌다.

간세포의 기능적 측면에서 볼 때, 간 상피세포(epithelial cells) 또는 Kupffer 세포와 함께 배양되면 생존기간이 더욱 증가되며 알부민 분비와 같은 기능이 강화될 수 있다. 2차원 마이크로패터닝 공생배양(co-culture) 기술을 이용하여 이형(heterotypic) 세포간 상호작용을 유도함으로써 간세포기능을 증가시킬 수 있다. (그림 6)과 같이 이형세포와 공생배양을 통하여 상호작용을 하는 간세포의 알부민 분비기능은 6일 이상 유지되는 반면(오른쪽 그림), 공생배양을 하지 않은 경우는 배양 6일 이후에 알부민 분비기능을 상실하였다. 이와 같이, 단순히 평평한 표면 위에 서로 다른 세포를 seeding하는 기존의 공생배양과는 달리, 마이크로패터닝 기술을 이용한 표면질을 통하여 동형(homotypic) 또는 이형세포들의 상





(그림 6) 다른 종류의 세포와 공생배양을 통하여 상호작용을 하는 간세포(오른쪽)와 그렇지 않은 경우(왼쪽). 공생배양의 경우 일부만 생성기능이 활발함[5]

호작용을 상당히 활성화시킬 수 있다. 간세포 제외배양과 더불어 체내 조직에서 발견되는 단백질 및 유전자분비의 연구도 가능한 마이크로 기술은 독성학 분야로의 응용이 가능하고 장기조직의 체외 유사체(in vitro analogue) 모델 시스템으로서 역할을 할 수 있다.

### 3. 골세포 배양(Osteoblast Culture)

폐경기 이후 또는 장시간에 걸쳐 활동을 하지 않거나 우주궤도 상태와 같은 극미중력에 노출되었을 경우, 골세포 상실은 심각한 의학적 문제를 야기시킨다. 골세포는 체내에서 전단응력(shear stress)이 반복되거나 기계적 하중이 작용하는 위치에 있는 하나의 조직(tissue)이다. 그러므로 골세포를 체외배양하기 위하여 기계적인 상호작용이 존재하는 환경이 필요하다. 2차원 배양시스템에서 10 $\mu$ Pa 정도의 전단응력이 골세포의 분화를 향상시키는 것으로 알려져 있다. 마이크로 기술은 골세포가 성장하는 체내 환경을 모사하기 위하여 3차원 scaffold와 미세유체 네트워크가 통합적으로 구성된 시스템 제작을 가능하게 한다. 이러한 미세유체시스템은 골세포에 영양분을 공급하거나 생리학적 수준의 전단응력에 노출시키는 역할을 하게 된다. 3차원 microstructured channel network는 골세포 내의 알칼리 인산염(alkaline phosphate) 활동이 구조적인 영향으로 인하

여 정적(static) 배양시스템보다 3배 이상 증가시키며, 또한 2차원 배양시스템과 비교해 볼 때 구조 및 전단력의 통합된 영향으로 인하여 7.5배 이상의 증가 효과가 나타난다.

## III. 마이크로 세포자극 시스템

미세유체시스템을 이용한 마이크로 세포환경의 제어는 세포생물학 관점에서 기본적인 연구를 수행하기 위한 중요한 수단이다. 세포의 표현형(phenotype) 및 반응을 제어하는 생화학적 경로(pathway)에 관한 생물학적 이해는 세포 외부환경에서의 제어된 자극에 대한 반응을 모니터링함으로써 얻어질 수 있다. 그래서 넓은 의미의 마이크로시스템은 생화학적 경로, 세포생명 결정, 또는 조직의 형태형성(morphogenesis)에 대한 기본 연구를 가능하게 하는 중요한 수단이다.

### 1. 착상된(Adherent) 세포 자극

미세유체시스템 내의 착상된 세포에 자극을 가하기 위하여 시공간적으로 제어되는 미세시스템내 세포성장환경을 유동을 이용하여 변화를 줄 수가 있다. 유체유동은 용해성 인자(soluble factors)의 이송뿐만 아니라 전단력(shear force)을 통하여 세포에 기계적 자극을 가할 수 있다. Microfluidic 시스템 내에서 층류(laminar flow)의 확산(diffusion) 현상을 이용하여 복잡한 농도구배(concentration gradient) 분포를 만들어 낼 수가 있다. 이러한 구배를 통하여 체내의 상태를 다소 유사하게 실현시킴으로써 시스템 내의 세포가 여러 상태를 동시에 접하게 할 수 있다. 예를 들면, 시스템 내에서 농도구배를 반복적으로 변화를 줌으로써 세포들이 원하는 농도환경으로 이동을

하는 주화성(chemotaxis) 반응을 연구할 수 있다. 또한 유량의 세기에 따라 전단응력에 대한 세포의 반응 현상도 microfluidic 시스템 내에서 관찰이 가능하다. 시스템 내에 착상된 세포에서 분비된 자가분비(auto-crine) 및 측분비(paracrine) 신호 전달 물질의 분자(molecule) 농도분포를 유지한 채 다른 외부인자의 시스템내 농도구배를 동시에 구현할 수가 있다. 세포 배양을 위한 응용으로써, 구배현상을 이용하여 하나의 시스템 내에서 다양한 세포 성장인자(growth factor) 분포를 동시에 형성하여 세포들의 반응을 관찰할 수 있다.

## 2. 부유상태(Suspended) 세포 자극

부유상태의 세포는 유체의 흐름에 의해 이송되지만 필터나 trap에 의해 물리적으로 시스템 내에서 고정된다. 농도구배와 microtrap 장치를 이용하여 세포를 특정 위치에 고정된 후 ATP-dependent 칼슘 흡수현상이 관찰되어 왔다. Microfluidic channel 양면에 만들어진 유체역학적 trap 시스템을 이용하여 유동 중인 세포들을 물리적으로 포획하여 세포간 접촉형태를 잘 형성하거나, 다채널 시약이송 마이크로시스템에서 세포를 적당한 위치에 고정된 후 버퍼(buffer)와 시약의 빠른 교체(switching)를 통하여, 칼슘 flux와 같은 세포반응을 연구할 수가 있다. 또한 유동을 분할(segmentation)함으로써 마이크로 스케일의 재순환(recirculation) 유동형태를 조장하여 mixing 기능을 강화할 수 있으며, 그러한 유동형태로 발생된 응력에 대한 세포의 반응을 연구할 수가 있다.

## IV. 세포용해물 생화학적 분석

최근 마이크로 스케일의 생화학적 물질의 분석을

위한 통합수단의 개발에 많은 연구와 노력이 이루어지고 있다. 세포의 용해물(lysates)과 같은 매우 복잡한 생화학적 혼합물의 정량적 분석법 개발은 매우 중요하다. 현재까지는 복잡성이 다소 떨어지는 샘플을 분석하는 장치들만 개발되어 있다. 예를 들어, 단백질 분석은 물리적, 화학적 특성에 따른 변수가 다소 많아서 다른 생화학적 물질들, 예를 들어, 핵산(RNA, DNA)보다 분석이 대체적으로 더욱 어렵다. 게다가 핵산과는 달리 단백질을 증폭(amplification)할 수 있는 방법이 아직까지 알려지지 않고 있다. 그러기에 성공적인 단백질 분석을 위해서는 민감도와 측정 범위에 대한 연구가 필요하다고 할 수 있다. 적은 양과 복잡한 구조를 가진 단백질들은 크게 두 가지 방법으로 분석될 수 있다. 먼저, 생리화학적(physiochemical) 방법으로 시료를 분리 및 농축과정을 거친 다음 분석을 진행할 수 있고, 또 다른 방법은 특정 단백질만을 선택할 수 있는 방법으로써 항체(antibody)를 이용한 친화성 방법이다. 게다가, 단백질의 손실을 줄이기 위하여 비특정 표면흡착(nonspecific surface adsorption)을 방지하기 위한 표면 코팅을 할 수 있다.

## 1. 세포용해

세포용해(cell lysis)는 화학적 방법(세제와 같은 역할)과 물리적 방법(세포막 파괴)을 이용하며 microfluidic device에서의 응용이 두 가지 방법 모두 가능하다. 화학적 용해방법으로는 triton x-100 과 SDS를 사용하여 효과적으로 세포용해가 가능하며, 이러한 화학적 방법은 기존의 생물학적 실험에 이미 최적화되어 있는 버퍼에서 그대로 사용할 수 있는 편리한 장점이 있다. 그러나 용해용 용액들이 차후에 진행될 실험에 방해가 될 시 물리적인 용해방법을 사용한다. 예를 들면, microscale shear lysis는 세포

들을 nanoscale barbs에 강제로 넣는 방법이다(그림 2g) 참조). 이 테크닉은 완벽하게 세포를 lysis 시키지만 5% 미만의 총 단백질 양만 분석이 가능하다고 할 수 있다. 전기천공법(electroporation)은 기계적 용해방법의 대안으로써 SDS를 이용해서 lysis 한 것보다 8배로 빠르게 세포를 lysis 할 수 있다. 이 테크닉은 전기장의 세기를 조절하여 세포막(membrane)을 불안정하게 만들어 gene transfection 응용에도 가능하다.

## 2. 시료 준비

단백질과 DNA 분류는 나노사이즈 필터를 이용한 microfabricated sieving 시스템을 이용해 왔다. 그러나, 모세관 전기이동(capillary electrophoresis), 젤 전기영동법(gel electrophoresis), electrochromatography 또는 isoelectric focusing(IEF)과 같은 동전기적인(electrokinetic) 분리기술이 통합된 microsystem이 더욱 일반적으로 사용되고 있다. 이 방법들의 특징은 기존시스템과 비교할 때 적은 양의 시료로 빠른 분리가 가능하다. 또한, 세포의 기관의 분리도 가능하다. 더 높은 해상도의 동전기적인 분리방법, 예를 들어, electrochromatography와 모세관 전기이동, 또는 IEF와 젤 전기영동법의 조합으로 더 농축되고 확실하게 단백질과 펩타이드를 분리하여 얻을 수 있다(그림 2j) 참조). PCR 또는 역전사 PCR(reverse transcription PCR, RT-PCR)은 DNA와 RNA의 양을 증폭시켜 핵산의 존재와 양을 알아낼 수 있는 매우 중요한 도구이다. PCR 증폭용 micro-device에는 PCR cycle에서 열적 반응을 제어하는데 사용되는 heating과 온도 센싱을 위한 전극들이 통합되어 있다. DNA 증폭 역시 전기영동 분리방법으로 시료의 사전처리가 가능하다.

## 3. 분석 기술

현재 세포용해물의 정량화 분석을 위한 마이크로 기술에는 다양한 종류들이 있다. 전기영동(electrophoretic)을 이용한 세포 분리기술과 통합된 마이크로시스템의 주요 장점은, 흡수(absorption) 기술 또는 비교적 간단하게 형광 마커를 붙임으로써 단백질 검출(detection) 및 정량화가 가능하다. 최근 전기영동 분리기술을 질량분석기(mass spectrometer)와 통합하여 단백질 post-translation 후 해석 및 식별 작업을 종합적으로 수행하게 된다.

현재 마이크로시스템에서 널리 사용되고 있으며 복잡한 생체시료에 대한 선분류(pre-sorting) 작업이 필요하지 않는 정량적 단백질 검출분석 방법은 항체포섭 방법이다. 항체기반 기술들은 항체-항원간 결합력에 있어 높은 선택성(selectivity)과 친연성(affinity)에 기초하여 특이적 분석을 시행한다. 이러한 생체시료 분석용 microfluidic system에는 channel 내부의 고체 지지대나 표면을 항체로 코팅 처리한 다음 analyte 또는 2차항체(secondary antibody)를 처리한다. 유사한 방식을 이용한 DNA 혼성화(hybridization)용 microsystem이 개발되었으며, 10분 내에 1 $\mu$ L의 시료로 실험을 진행할 수 있게 되었다.

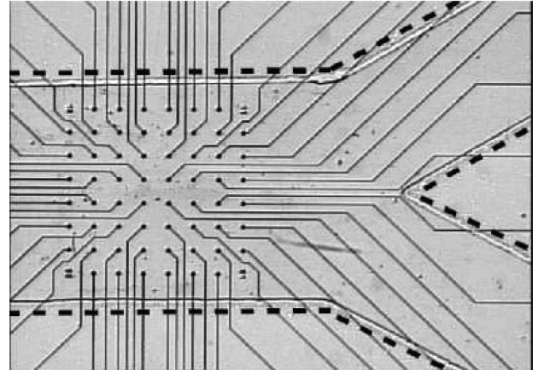
Label-free 검출방식은 fluorescent 또는 luminescent 검출방식에 대한 유력한 대체방식이다. 일반적인 응용방법으로서, 표면에 항체가 부착된 센서의 센싱기능은 그 항체와 특이적으로 작용을 하는 생체물질의 접착에 의해 발생하는 질량과 전기적 특성의 변화를 검출하는 것이다. 센싱 요소로서 carbon nanotube 또는 silicon nanowire와 같은 재료들이 field-effect 센서에 주로 사용된다. 근래에 질량 기반의 센싱 기술인 cantilever technology도 눈여겨 볼 수 있다. 이 시스템의 친연성과 민감도(sensitivity)는 femtomole 수준의 단백질량도 측정이 가능

하게 된다. 이러한 분석용 microfluidic system들은 시료준비단계와 분리단계의 통합으로 적은 시료량으로 많은 결과를 획득함으로써 유전체학(genomics)과 단백질유전정보학(proteomics) 분야에서의 상업적 응용에 중요한 역할을 하고 있다.

## V. 응용

### 1. 바이오센서

바이오센서를 포함한 세포기반 microdevice들은 점차적으로 약물개발, 유전자 분석 및 단세포(single cell) 분석에 많이 이용되고 있다. 세포기반 바이오센서는 병원균, 오염물질, 생체분자, 약물 등에 노출된 세포들의 생리학적 변화를 감지할 수 있다. 감지 방식은 광학적(형광, 발광 또는 발색) 방법을 사용하거나 혹은 전기적(impedance 또는 potential의 변화) 신호를 받아들인다. 어떤 바이오센서들은 세포 표현형의 단순 반응인 생존과 사멸을 구별할 수 있다. 전기생리학(electrophysiology)적 활동이 활발한 신경세포나 심장세포의 경우, 칩기반(chip-based) 바이오센서에 빠르게 적용되었다. (그림 7)과 같이 세포의 전기적 반응 변화는 평면 microelectrode 배열에 의해 모니터 될 수 있다. 이러한 전극배열들은 microfluidic device 내에 비교적 쉽게 제작될 수 있으며 다수의 측정 포인트들을 channel 내에 위치시켜 세포의 화학적 자극에 대한 반응들을 측정할 수 있다. 전극배열 위 특정위치에 정밀하게 뉴런을 위치시키기 위하여 ECM 표면패터닝이 필요하며, 밀집한 뉴런 네트워크를 in vitro상에서 조절할 수 있다. Microfluidics 시스템은 세포성장에 필요한 가용성 인자들을 유동시킬 수 있을 뿐만 아니라, 뉴런간의 연결성(connectivity) 조절에 도움이 되는 형상적 실마리를 제공한다. 생화



(그림 7) Microfluidic Channel 내에 삽입되어 제작된 신경세포 신호저장용 Microelectrode[6]

학분석용 세포기반 바이오센서는 microfluidic 시스템내 세포배양환경을 유지하기 위한 온도조절용 micro heating electrode와 recording용 디지털 인터페이스인 oxide semiconductor(CMOS) 칩을 통합하여 제작된다. 하지만 살아있는 세포를 바이오센서로 사용하는 데에는 세포의 밀도와 세포 간의 상호작용이 센서에 상당한 영향을 미치기 때문에 현재로는 많은 어려움이 있다.

### 2. 줄기세포

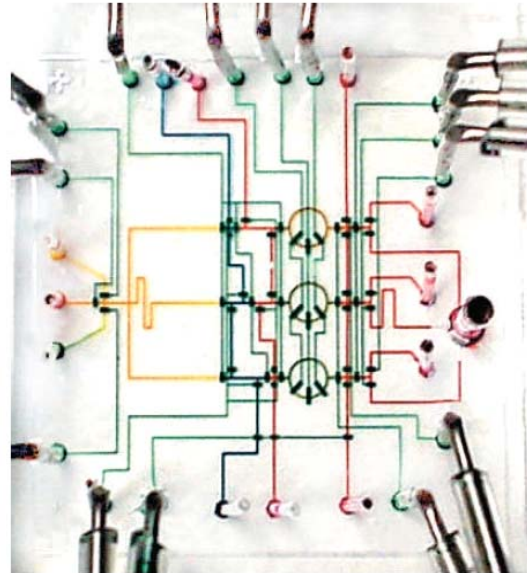
인간 질병 및 조직공학에 대한 세포기반 치료법으로서 줄기세포(stem cell)의 장래성은 줄기세포의 체외 배양을 위한 microtechnology의 응용에 대한 관심을 급증시키고 있다. 적절하게 제어된 미세환경으로 구성된 microfluidic platform은 줄기세포를 연구하는 데 매우 유용하다. 화학적 세포배양환경에 대한 시간적, 공간적 조절을 통하여 줄기세포의 증식과 분화와 같은 행동양식들이 조절될 수 있다. 농도구배(concentration gradient)의 생성이 가능한 microfluidic 줄기세포 배양용 platform은 세포성장인자(growth-factor)의 농도가 인간 neuronal 줄기세포의 성장에 미치는 영향을 연구하는 데 이용되고 있다.



어느 연구에서 관찰된 결과로서 줄기세포의 증식속도는 성장인자의 농도에 비례하지만 분화는 반비례하는 것으로 확인되었다. 최근 새로운 형태의 줄기세포 연구용 microfluidic system이 개발되었으며 이 시스템 내의 유량과 농도구배의 형태가 로그함수 형태로 변화되게 설계되었다. 이러한 시스템은 세포에 작용하는 전단응력과 같은 다양한 생체환경을 동시에 구성할 수 있는 장점이 있다. 이형배양과 3차원구조 배양이 통합된 세포배양 기술과 더불어 microdevice들의 역할이 앞으로 더욱 줄기세포연구에 중요하게 될 것이다.

### 3. 유전자 분석

현재까지 가장 발전된 형태의 분석용 microsystem은 DNA와 RNA 측정시스템이다(그림 8 참조). 이러한 디바이스들은 PCR 또는 그와 유사한 기술을 이용한 시료 증폭방식에 의존하고 있으며, hybridization arrays, real-time probes 또는 electrophoretic sizing 시스템 등이 있다. 인플루엔자 검출과 같이 병원체(pathogen)나 질병을 현장에서 빠르고 저렴하게 확인이 가능한 microdevice가 개발되어 왔다. 이러한 휴대용(portable) 디바이스들은 정교한 유동조절용 microvalve, DNA 증폭을 위한 온도조절용 microheater, 전기영동분리 기능 등을 통합하고 있으며, 칩 하나 당 가격은 점차적으로 칩 dimension을 축소함으로써 1달러 이하로 내려갈 전망이다. 또한 PCR 증폭과 전기영동 분리과정을 거친 후, 불과 2~3개의 병원체 박테리아 검출에 걸리는 작동시간은 단지 10분 이하이다. 또한, thermal cycling, 시료 정제(purification), 모세관 전기영동 등의 기능들이 통합된 microdevice들이 개발되어, 99% 이상의 정밀도를 가지고 나노스케일의 DNA 염기서열결정(se-



(그림 8) DNA 추출 및 정제를 위한 Microfluidic Chip. 세포배양용 Buffer 및 시료의 공급기능이 통합되어 작동하는 마이크로시스템[7]

quencing)에 이용되고 있다.

### 4. 단일세포 분석

지금까지 개발된 microsystem들은 단일세포 분석을 위하여 이미지기반 기술 또는 intracellular 형광 probe(예를 들면, Ca<sup>2+</sup> flux 측정)를 이용해 왔다. 그러나, 극미량의 시료를 정확하게 조절, 분석하는 통합된 기능을 가진 microfluidic 시스템을 이용하여 세포내부(intracellular)의 구성요소를 분석할 수 있게 되었다. 예를 들어, pneumatic 밸브로 구성된 microfluidic device에 단일세포를 분리한 후, 화학적 lysis buffer를 이용하여 mRNA를 추출할 수 있게 되었다. 전기영동 분리기능을 통합한 microdevice를 이용하여 용해된 세포에서 아미노산을 분석할 수도 있다. 전기영동 분리법과 electrokinetic 현상을 이용한 세포 loading, docking 및 용해과정이 통합된 단일세포 분석시스템도 개발되고 있다.

● 용어해설 ●

**Microfluidics:** 마이크로스케일로 설계된 미세채널 내에서 극미량의 유체를 정교하게 조절 및 조작할 수 있는 시스템으로서, 최근 바이오 분야와 연계되어 극미량의 분석대상 생체 물질을 분리, 합성, 정량분석 등이 가능한 통합시스템으로 발전하고 있음

**Surface micropatterning:** 세포를 microchannel 바닥면에 착상시켜 배양할 때 안정화를 향상시키기 위하여, 다양한 biomaterial을 photo/softlithography 등 여러 마이크로/나노기술을 이용하여 인위적으로 미세한 패턴을 만드는 기술

**Electrophoresis:** 하전된 이온, 고분자(단백질, 핵산), 입자 또는 세포내 괴립, 세포 등을 전해질용액 속에 넣고 직류전압을 걸어주면, 이들 물질이 하전과 반대부호의 극으로 이동하는 현상

약어 정리

$\mu$ TAS	micro Total Analysis Systems
ECM	Extracellular Matrix
IT	Information Technology
MEMS	Microelectromechanical Systems
NEMS	Nanotromechanical Systems
PDMS	Polydimethylsiloxane
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate

참고 문헌

[1] J. El-Ali, P.K. Sorger, and K.F. Jensen, "Cells on Chips," *Nature*, Vol.442, 2006, pp.403-411.

[2] C.S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, G.M. Whitesides, and D.E. Ingber, "Geometric Control of Cell Life and Death," *Science*, Vol.276, 1997, pp.1425-1428.

[3] J.L. Tan, J. Tien, D.M. Pirone, D.S. Gray, K. Bhadriraju, and C.S. Chen, "Cells Lying on a Bed of Microneedles: an Approach to Isolate Mechanical Force," *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, Vol.100, 2003, pp.1484-1489.

[4] A. Sivaraman, J.K. Leach, S. Townsend, T. Iida, B.J. Hogan, D.B. Stolz, R. Fry, L.D. Samson, S.R. Tannenbaum, and L.G. Griffith, "A Micro-scale in Vitro Physiological Model of the Liver: Predictive Screens for Drug Metabolism and Enzyme Induction," *Curr. Drug. Metab.*, Vol.6, 2005, pp.569-591.

[5] S.N. Bhatia, U.J. Balis, M.L. Yarmush, and M. Toner, "Effect of Cell-cell Interactions in Preservation of Cellular Phenotype: Cocultivation of Hepatocytes and Nonparenchymal Cells," *FASEB J.*, Vol.13, 1999, pp.1883-1900.

[6] T.M. Pearce, J.A. Wilson, S.G. Oakes, S.Y. Chiu, and J.C. Williams, "Integrated Microelectrode Array and Microfluidics for Temperature Camp of Sensory Neurons in Culture," *Lab Chip*, Vol.5, 2005, pp.97-101.

[7] J.W. Hong, V. Studer, G. Hang, W.F. Anderson, and S.R. Quake, "A Nanoliter-scale Nucleic Acid Processor with Parallel Architecture," *Nat. Biotechnol.*, Vol.22, 2004, pp.435-439.