

생체응용을 위한 휴대용 단일빔 음향집게시스템 개발

Development of portable single-beam acoustic tweezers for biomedical applications

이준수,^{1*} 박연성,^{2*} 김미지,² 윤창한^{2†}

(Junsu Lee,^{1*} Yeon-Seong Park,^{2*} Mi-Ji Kim,² and Changhan Yoon^{2†})

¹서강대학교 전자공학과, ²인제대학교 의용공학부

(Received June 10, 2020; revised July 21, 2020; accepted July 28, 2020)

초 록: 음향집게는 마이크로 단위의 미세입자를 비접촉 방식으로 조작할 수 있어 다양한 생체공학 응용에 사용되고 있다. 현재까지 음향집게는 *in vitro* 실험을 목적으로 개발되어 임의파형 발생기와 전력 증폭기와 같은 부피가 큰 고가의 장비를 사용하여 구현하였다. 따라서 이러한 시스템은 이동이 불편하여 한정된 공간에서만 사용이 가능하기 때문에 향후 *in vivo* 및 임상 실험에 적합하지 않은 구조를 가진다. 따라서 본 논문에서는 이동이 가능한 휴대용 음향집게를 개발하고 그 성능을 평가하였다. 개발한 휴대용 음향집게 시스템은 하나의 Field Programmable Gate Array(FPGA)와 2 개의 펄서로 구현되었으며, Universal Serial Bus(USB) 통신을 이용하여 Personal Computer(PC)에서 송신 주파수 및 펄스 길이 등을 실시간으로 조절이 가능하도록 설계하였다. 개발한 시스템은 최대 20 MHz의 중심 주파수까지 송신이 가능하며, 미세입자 및 세포를 포획할 수 있는 충분한 힘을 생성할 수 있었다. 개발한 시스템의 성능을 평가하기 위하여 40 μm 와 90 μm 크기의 폴리스티렌 입자를 포획 및 조정하였다.

핵심용어: 음향집게, 휴대용, 고주파수 초음파, 포획

ABSTRACT: Single-beam acoustic tweezers that are capable of manipulating micron-size particles in a non-contact manner have been used in many biological and biomedical applications. Current single-beam acoustic tweezer systems developed for *in vitro* experiments consist of a function generator and a power amplifier, thus the system is bulky and expensive. This configuration would not be suitable for *in vivo* and clinical applications. Thus, in this paper, we present a portable single-beam acoustic tweezer system and its performances of trapping and manipulating micron-size objects. The developed system consists of an Field Programmable Gate Array (FPGA) chip and two pulsers, and parameters such as center frequency and pulse duration were controlled by a Personal Computer (PC) via a USB (Universal Serial Bus) interface in real-time. It was shown that the system was capable of generating the transmitting pulse up to 20 MHz, and producing sufficient intensity to trap microparticles and cells. The performance of the system was evaluated by trapping and manipulating 40 μm and 90 μm in diameter polystyrene particles.

Keywords: Single-beam acoustic tweezers, Portable, High-frequency ultrasound, Trapping

PACS numbers: 43.80.Vj, 43.35.Yb

1. 서 론

분자 및 세포를 물리적 접촉 없이 정밀하게 조작하는 기술은 분자 생물학, 조직 공학 및 생물 분석 화

학 등과 같은 생물학적 응용 분야에서 활발히 사용되고 있다.^[1,2] 미세 입자를 조작하는 대표적인 기술에는 광집게, 자기집게 및 음향집게 등이 있다. 이러한 기술 중, 가장 각광받고 있는 광집게는 집속된 레이

*These authors contributed equally to this work.

†Corresponding author: Changhan Yoon (cyoon@inje.ac.kr)

Department of Biomedical Engineering, INJE University, 197 Inje-ro, Gimhae-si, Gyeongsangnam-do 50834, Republic of Korea
(Tel: 82-55-320-3301, Fax: 82-55-327-3292)



Copyright©2020 The Acoustical Society of Korea. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

저 빔이 물체와 매질간의 굴절률에 의해 운동량이 변환됨에 따라 기인되는 힘을 기반으로 수백 nm의 크기의 미세입자를 정밀하게 조작이 가능하여 다양한 응용분야에 널리 사용되고 있다.^[3-5] 하지만 광집계는 수 pN에서 수십 nN의 포획힘을 가져 상대적으로 큰 입자를 조작하기 힘들며, 광학적으로 정제된 샘플만 사용이 가능하다. 또한 고출력의 집속된 레이저 빔을 사용하기 때문에 시료에 손상이 갈 수 있는 문제점이 있다.^[6] 자성을 이용한 자기집계는 높은 공간분해능을 제공하여 DNA나 단백질과 같은 분자들을 다룰 수 있지만, 표지된 물체만 조작이 가능한 단점이 있다.^[7]

음향집계는 광집계와 자기집계의 한계점을 해결할 수 있는 대안으로 개발되었으며, 500 MHz 이하의 광범위한 주파수의 음향을 이용하여 다양한 크기의 입자를 조작할 수 있다.^[6] 또한 초음파 진단에서 사용하는 에너지와 유사한 음장 세기(I_{spat} : $10^2 \sim 10 \text{ W/cm}^2$)를 사용하기 때문에 시료에 손상이 없이 단일 또는 다중 세포 및 미세 입자를 조작할 수 있다.

음향집계는 크게 정상파 집계, 단일 빔 음향집계로 분류할 수 있다.^[6] 정상파 집계는 입자가 음향 방사력을 통해 압력 노드 또는 안티노드로 이동하는 원리로, 음파의 생성 방법에 따라 Surface Acoustic Waves(SAWs)와 Bulk Acoustic Waves(BAWs)로 나뉜다. SAWs는 압전 소자위에 패터닝된 InterDigital Transducers(IDTs)를 이용하여 음파를 생성하는 방식으로 소형화에 용이하며 정밀한 조작이 가능하다. BAWs는 일반적인 초음파 변환기를 이용하여 정상파를 형성하는 방식으로 정밀도는 SAWs비해 떨어지나 많은 입자(10 mL/min)를 동시에 조작이 가능한 장점이 있다.

최근 음향집계의 한 종류인 단일 빔 음향집계(Single-Beam Acoustic Tweezer, SBAT)는 단일 혹은 배열 초음파 변환기를 사용하여 단일 또는 다중의 미세 입자 조작이 가능함을 보임으로써 그 관심이 증대되고 있다.^[8-10] 광집계와 유사한 메커니즘을 가지는 SBAT는 임상에서 사용하는 일반 초음파 변환기를 사용하여 구현이 가능하며, 한 방향에서만 초음파를 조사함으로써 미세 입자 포획이 가능하여 *in vivo* 또는 임상 연구의 대안으로 대두되고 있다. 또한 SBAT를 이

용하여 세포의 기계적 특성 측정 및 암세포 판별 등에 다양한 응용분야에 적용되고 있다.^[11,12] 하지만 기존 SBAT 시스템은 임의파형발생기와 전력증폭기와 같은 부피가 큰 고가의 장비로 구성되어 있어 *in vitro* 실험 환경에서만 적용이 가능하였다. 따라서 본 논문에서는 다목적의 휴대 가능한 SBAT 시스템의 제작 및 성능 평가를 소개한다.

II. 음향집계 원리

음향집계의 포획힘에 대한 이론은 입자의 반경이 파장에 비해 충분히 큰 미(Mie) 영역에서만 음선 이론으로 해석이 가능하지만 최근 입자의 반경이 파장보다 작은 레일리(Rayleigh) 영역에서도 입자가 포획됨을 실험적으로 보였다. 본 논문에서는 이론적으로 정립이 된 음선이론에 대해 간략히 소개를 하겠다.

음선 이론은 Fig. 1과 같이 입사하는 초음파 빔이 입자의 표면에서 빔의 방향이 바뀔으로써 발생하는 방사력에 의한 것이다. 가우시안 형태의 빔을 가지는 집속된 송신 초음파 빔이 Fig. 1에서와 같이 구형의 입자에 작용한다고 가정하고, 이 중 두 개의 음선(P1과 P2)에 대해서만 살펴본다. Fig. 1에서 보는 것과

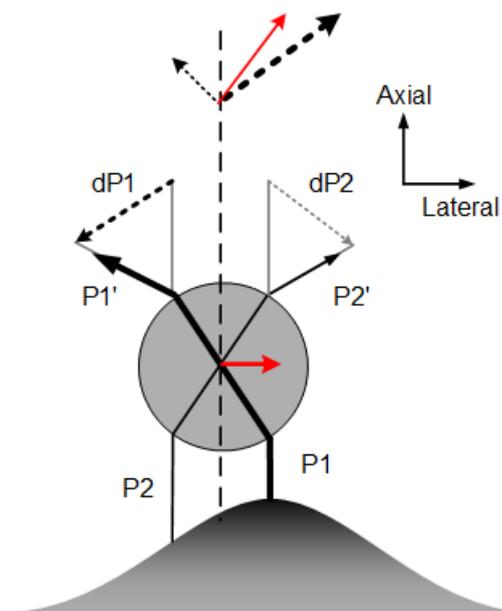


Fig. 1. (Color available online) Ray acoustic model for single-beam acoustic tweezers. Red line indicates the direction of trapping force by momentum transfer.

같이 입사된 음선(P1과 P2)은 구형의 입자 표면에 의해 진행방향이 변경되고 이렇게 변경된 음선은 입자를 통과하면서 다시 방향이 변경(P1'과 P2')되게 된다. 이때 발생하는 운동량의 변화를 $dP1(=P1'-P1)$ 과 $dP2(=P2'-P2)$ 이라고 하면, 초음파 빔의 모양으로 인해 $dP1$ 이 $dP2$ 보다 많은 운동량의 변화가 발생하게 된다. 이렇게 발생한 운동량의 변화는 Newton의 제3의 법칙에 의해 반대 방향으로 운동량이 전달되어 초음파 빔의 중심 축 방향으로 포획힘이 발생하게 된다.

III. 휴대용 음향집계시스템 및 실험구성

제안하는 SBAT 기반의 휴대용 음향집계시스템의 크기는 175 mm × 165 mm이었으며, Fig. 2(a)와 같이 시스템 제어를 위한 1개의 FPGA(XC7A200T-1SBG484I, Xilinx Inc., San Jose, CA), 최대 20 MHz의 송신 주파수 생성이 가능한 2개의 pulser(HV7361GA-G, Microchip Technology, Chandler, Arizona), high-voltage circuit, low-voltage circuit, high-speed USB Controller로 구성되어 있다. 또한 추후에 초음파 영상 및 음향집계를 동시에 수행하기 위하여 analog front-end(PGA5807A, Texas Instruments, Dallas, Texas), 120 MHz의 표본화 주파수를 가지는 12-bit analog-to-digital convertor(ADS 4229, Texas Instruments, Dallas, Texas)가 추가되어 있다. High-voltage circuit은 고전압 펄서를 위해 ±10 V ~ ±80 V까지 가변이 가능한 구조로 설계되었으며, 시스템에 필요한 모든 디지털 및 아날로그 전원은 low-voltage circuit에서 제공한다. 사용자 인터페이스는

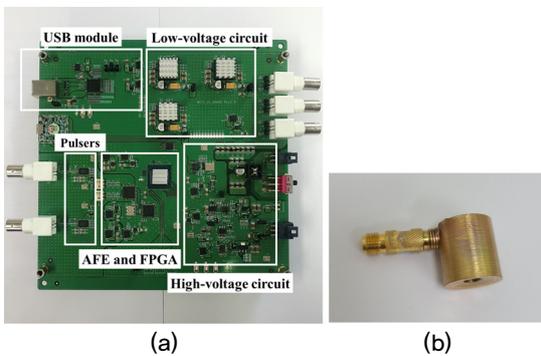


Fig. 2. (Color available online) Photographs of (a) the developed SBAT system and (b) transducer.

Visual C#을 이용하여 개발하였으며, Personal Computer (PC)를 통해 사용자의 목적에 맞는 펄스 지속시간, 펄스 반복 주파수, 주파수 및 송신 전압 등 다양한 가변 통제 요소를 제어 가능하도록 제작하였다. 실험에 사용한 변환기[Fig. 2(b)]는 PiezoCad 및 Field II 시뮬레이션을 통해 최적의 파라미터를 도출하여 제작하였으며, 제작한 변환기의 성능(펄스-에코 및 주파수 응답)은 Fig. 3에서 보여주고 있다. Fig. 3에서 알 수 있듯이 송신 집속 거리는 10 mm이고 중심 주파수는 20 MHz를 가지는 것을 확인하였다.

개발한 시스템의 미세 입자 포획 성능평가를 위하여 Fig. 4와 같은 실험 구성을 하였다. 본 실험에서는 20 MHz의 중심 주파수를 가지는 변환기를 사용하였으며, 3축 선형 스테이지(OSMS26-100, Optosigma, Santa Ana, California)를 이용하여서 변환기의 위치를 이동시켰다. 음향집계 실험에서 송신 주파수는 20 MHz이었으며, 펄스 지속시간은 10 μs, 펄스 반복 주파수는 1 kHz를 사용하였다. 또한 도립현미경(Eclipse Ts2, Nikon, Tokyo)을 이용하여 미세 입자를 관찰하

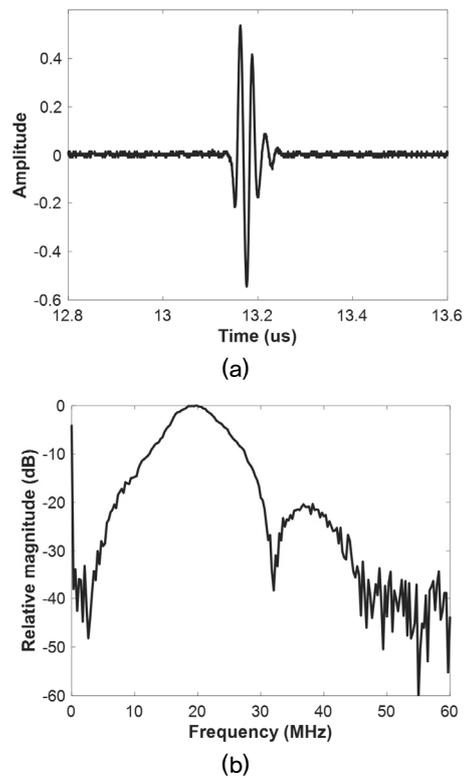


Fig. 3. (a) Pulse-echo and (b) its frequency response of the transducer.

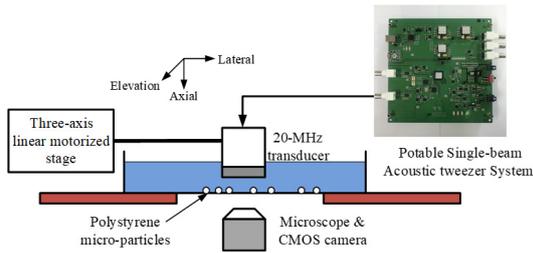


Fig. 4. (Color available online) Experiment setup of single-beam acoustic tweezer using the developed system. The transducer was mounted on an inverted microscope and the images were recorded using a CCD camera. Three axis linear motorized stage was used to position the transducer.

였으며, 고속 CCD 카메라(MSC-3M5.0, Mico system, China)를 이용하여 20 프레임률로 영상을 획득하였다.

IV. 실험 결과

Fig. 5은 개발한 시스템 및 20 MHz 변환기를 사용하여 송신한 결과 파형을 보여 준다. 본 실험에서는 변환기는 ± 40 V, 펄스 지속시간은 $1 \mu\text{s}$ 로 구동하였으며, 하이드로폰(HGL-0085, Onda Corp., Sunnyvale, CA)을 사용하여서 초음파를 수신하였다. 그림에서 알 수 있듯이 개발한 시스템은 20 MHz의 파형을 왜곡 없이 송신이 가능하였으며, 1.7 MPa의 음압(부압)을 가지는 것을 알 수 있다. 본 논문에서는 1.7 MPa의 음압을 충격 계수 1%을 사용($I_{\text{spta}} = 1.95 \text{ W/cm}^2$)하여 음향 집게 실험을 수행하였다.

Fig. 6는 개발한 휴대용 음향집게 시스템을 이용하여 미세 입자를 포획한 실험 결과를 보여주고 있다. 본 실험에서는 $90 \mu\text{m}$ [Fig. 6(a)]와 $40 \mu\text{m}$ [Fig. 6(b)]의 폴리스티렌 미세 입자를 사용하였으며 3축 선형 스테이지를 이용하여 초음파 변환기를 입자가 위치한 곳에 이동시킨 후, 초음파를 송신하였다. 입자가 포획이 되면 선형 스테이지를 이용하여서 카메라의 관측 시야 내에서 입자의 위치를 $350 \mu\text{m}$ 이동시켰다. 본 실험에서 사용한 초음파의 파장은 $75 \mu\text{m}$ ($= 1500/20\text{M}$)로 파장보다 입자의 크기가 큰 Mie 영역과 파장보다 입자의 크기가 작은 Rayleigh 영역에 모두 성공적으로 입자를 포획 및 조작이 가능한 것을 보였다.

본 논문에서는 이론적으로 정립이 된 Mie 영역에

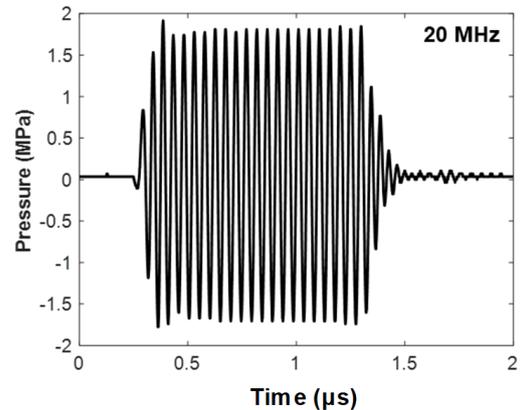
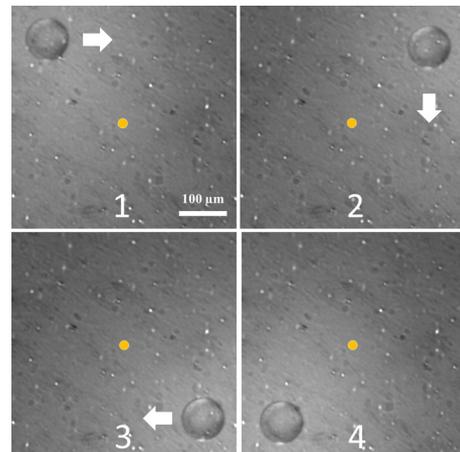
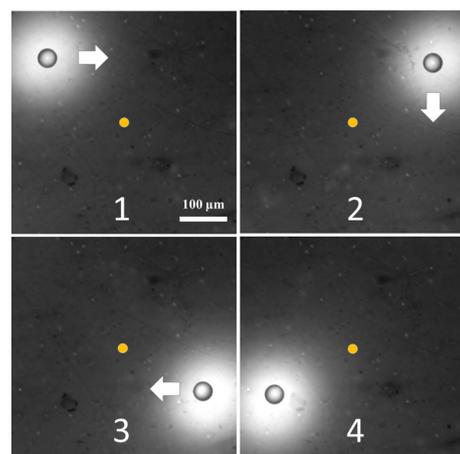


Fig. 5. Transmitted waveform received by a hydrophone. The center frequency and the pulse duration of transmitted waveform were, respectively, 20 MHz and $1 \mu\text{s}$.



(a)



(b)

Fig. 6. (Color available online) Acoustic trapping results using the developed portable single-beam acoustic tweezer system of (a) $90 \mu\text{m}$ and (b) $40 \mu\text{m}$ polystyrene particles.

서뿐 아니라 실험적으로만 증명이 된 Rayleigh 영역도 입자를 포획하였다. 음선 이론을 적용하여 포획 힘을 설명한 Mie 영역과는 달리 Rayleigh 영역에서는 난반사 현상이 지배적이기 때문에 음선 이론 적용이 불가능하며 새로운 이론을 정립하여야 한다. Rayleigh 영역에서의 입자 포획에 대한 이론은 더 많은 연구가 이루어져야 할 분야이다.

개발한 시스템은 2채널 시스템으로 추후 인체내에서 포획된 입자를 실시간 초음파 영상을 통해 관찰이 가능하도록 설계하였다. 개발한 시스템은 in vivo 실험을 위해 미세전자제어기술 Micro Electro Mechanical Systems(MEMS)을 이용하여 실시간 영상이 가능하도록 스캐닝 모듈을 추가할 예정이다. 실시간 영상 포획입자 관찰은 초음파 신호의 간섭을 최소화하기 위해 10 MHz 중심 주파수를 가지는 영상용 초음파 변환기와 20 MHz의 음향 집계용 변환기를 사용하여 구현할 수 있으며 현재 스캐닝 모듈을 제작 중에 있다.

V. 결 론

본 논문은 in vivo 및 임상 실험에서 사용될 수 있는 SBAT 기반의 휴대용 음향집계 시스템 개발하였으며 실험적으로 미세 입자 포획이 가능함을 보였다. 제안한 시스템은 휴대가 가능한 크기(175 mm × 165 mm)로 기존 함수 발생기와 전력 증폭기를 사용한 음향집계 시스템과 유사한 성능을 가지며 미세 입자를 포획할 수 있는 충분한 크기의 힘을 발생시킬 수 있음을 확인하였다. 본 시스템은 2채널 시스템으로 입자 포획 및 영상화가 동시에 가능하며 이를 이용하여 약물 전달과 같은 응용분야에 적용이 가능할 것으로 기대된다.

감사의 글

본 논문은 2018년도 인제대학교 학술연구조성비 지원을 받아 수행된 연구임.

References

1. A. Folch and M. Toner, "Microengineering of cellular interactions," *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2**, 56-227 (2000).
2. H. Andersson and A. van den Berg, "Microtechnologies and nanotechnologies for single-cell analysis," *Current Opinion Biotechnol.* **15**, 44-49 (2004).
3. A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm, and S. Chu, "Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles," *Opt. Lett.* **11**, 288-290 (1986).
4. A. Ashkin and J. M. Dziedzic, "Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria," *Science*, **235**, 1517-1520 (1987).
5. H. Zhang and I. K-K. Liu, "Optical tweezers for single cells", *J. R. Soc. Interface*, **5**, 671-690 (2008).
6. A. Ozcelik, J. Rufo, F. Guo, Y. Gu, P. Li, J. Lata, and T. J. Huang, "Acoustic tweezers for the life sciences," *Nature Methods*, **15**, 1021-1028 (2018).
7. A. R. Bausch, W. Moller, and E. Sackmann, "Measurement of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers," *Biophys. J.* **76**, 573-579 (1999).
8. J. W. Lee, K. L. Ha, and K. K. Shung, "A theoretical study of the feasibility of acoustical tweezers: Ray acoustic approach," *J. Acoust. Soc. Am.* **117**, 3273-3280 (2005).
9. C. Yoon, B. J. Kang, C. Lee, H. H. Kim, and K. K. Shung, "Multi-particle trapping and manipulation by a high-frequency array transducer," *Appl. Phys. Lett.* **105**, 214103 (2014).
10. H. G. Lim, H. H. Kim, C. Yoon, and K. Kirk Shung, "A one-sided acoustic trap for cell immobilization using 30-MHz array transducer," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr.* **67**, 167-172 (2020).
11. H. G. Lim and K. K. Shung, "Quantification of intererythrocyte forces with ultra-high frequency (410 MHz) single beam acoustic tweezer," *Annals of Biomedical Engineering*, **45**, 2174-2183 (2017).
12. S. Youn, J. W. Choi, J. Lee, J. Kim, I. H. Yang, J. H. Chang, H. C. Kim, and J. Y. Hwang, "Acoustic trapping technique for studying calcium response of a suspended breast cancer cell: determination of its invasion potentials," *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelect. Freq. Contr.* **66**, 737-746 (2019).

저자 약력

▶ 이 준 수 (Junsu Lee)



2010년 2월: 강원대학교 전자정보통신 공학부 학사
 2013년 2월: 서강대학교 바이오융합기술 협동과정 석사
 2019년 2월: 서강대학교 전자공학과 박사
 2019년 3월~현재: 지멘스 헬시니어스 선임연구원
 <관심분야> 고주파 변환기, 혈관내초음파 변환기

▶ 박 연 성 (Yeon-Seong Park)



2019년 2월: 인제대학교 의용공학부 학사
 2019년 3월~현재: 인제대학교 의용공학과 석사과정
 <관심분야> 초음파 및 광음향 영상 시스템

▶ 김 미 지 (Mi-Ji Kim)



2019년 2월: 인제대학교 의용공학부 학사
 2019년 3월~현재: 인제대학교 의용공학과 석사과정
 <관심분야> 초음파 영상 시스템, 웨어러블 도플러 초음파 시스템

▶ 윤 창 한 (Changhan Yoon)



2007년 2월: 서강대학교 전자공학과 학사
 2009년 2월: 서강대학교 전자공학과 석사
 2013년 2월: 서강대학교 전자공학과 박사
 2013년 6월 ~ 2015년 5월 : University of Southern California Postdoc
 2016년 1월 ~ 2016년 9월 : Georgia Institute of Technology Postdoc
 2016년 10월 ~ 현재 : 인제대학교 의용공학부 조교수
 <관심분야> 초음파/광음향 영상 시스템, 초음파 치료기술, 마이크로 초음파 응용 기술