

힘반향 기반의 바이오매니플레이션을 위한 세포 조작력 측정

김덕호*, 김병규, 윤석, 강현재 (한국과학기술연구원 마이크로시스템연구센터)

Cellular Force Measurement for Force Feedback-Based Biomanipulation

D. H. Kim, B. Kim, S. Yun, and H.J. Kang (Microsystem Center, KIST)

ABSTRACT

In biological cell manipulation, manual thrust or penetration of an injection pipette into an embryo cell is currently performed by a skilled operator, relying on visual feedback information only. Accurately measuring cellular forces is a requirement for minimally invasive cell injections. Moreover, the cellular force sensing is essential in investigating the biophysical properties for cell injury and membrane modeling studies. This paper presents cellular force measurements for the force feedback-based biomanipulation. Cellular force measurement system using piezoelectric polymer sensor is implemented to measure the penetration force of a zebrafish egg cell. First, measurement system setup and calibration are described. Second, the force feedback-based biomanipulation is experimentally carried out. Experimental results show that it successfully supplies real-time cellular force feedback to the operator at several tens of μN and thus plays a main role in improving the reliability of biological cell injection tasks.

Key Words : Cellular force sensing (세포력 센싱), Force feedback (힘 반향), Piezoelectric polymer (압전폴리머), Biomanipulation (바이오 조작), Egg cell (난자 세포).

1. 서론

최근 바이오 분야에 대한 관심이 고조되고, 다양한 과학기술분야의 접목이 시도되는 동향에도 불구하고, 기존의 불임시술 IVF (In Vitro Fertilization)에 사용되어 왔던 ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection)와 같은 세포조작시스템은 현미경을 통해 얻는 시각 정보만을 사용하여 매니플레이터를 조작자가 수동으로 조작하고 있다. 이와 같이 배아복제, 유전자 발현 등의 생명공학 분야에서 세포 조작 작업은 조작자의 경험에 의존하여 이뤄짐으로써 효율성 및 생산성이 많이 떨어졌다. 또한 조작자의 숙련도에 따라 큰 성능의 차이를 보이며, 정밀한 조작을 위해서는 오랜 기간의 조작 훈련을 해야만 하는 실정이다 [1], [2], [3].

생체 세포는 모양새가 불균일하고, 조작시 쉽게 변형이 되며, 손상되기 쉽다 [4]. 보통 액체상태에서 살아있는 세포를 조작해야 하는데, 이는 미세 피펫 조작시 유동(flow)에 의한 외란 등이 발생하는

불안정한 작업환경이라 수동작업이라 하더라도 상당한 숙련성이 요구된다 [5], [6].

세포조작에 있어 자동화 조작 시스템을 구현하기 위해서는 세포 인젝션 작업시 세포벽을 투과 (penetration) 하는 힘정보를 실시간으로 센싱하는 것이 중요하다. 세포조작시의 힘을 실시간으로 센싱 하여 역각 피드백 정보를 획득할 수 있으면 세포조작 작업시 여러가지 이점을 얻을 수 있다.

첫째, 힘센싱 정보를 통해 세포막을 미세 피펫이 관통했는지를 역각 피드백을 통해 보조적으로 판별할 수 있어, 작업속도가 향상되고 작업자의 편의성이 향상된다. 둘째, 세포막을 미세 피펫이 투과할 때 역각 피드백을 통해 세포가 인젝션 되는 정확한 시점(timing)과 힘의 크기를 알 수 있다. 이러한 역각 피드백 정보를 통해 작업자는 세포를 최소 침습하면서 인젝션(minimally invasive injection)하는 것이 가능하여 세포에 물리적인 해(damage)를 줄이고 발생 성공률을 높일 수 있다.

본 연구에서는 힘센싱이 가능한 세포 조작용 엔드

이펙터(end-effector)를 개발하여 조작대상 세포의 투과시 발생하는 역각정보를 실시간으로 피드백받으며 인젝션할 수 있도록 하였다. 센싱 메커니즘으로서 PVDF 압전폴리머센서를 이용한 센서부와 미세 피펫, 캐필러리 홀더(capillary holder)로 구성되어 있다. 실제로 제브라피쉬 난자 (zebrafish egg) 세포 조작 시스템에 통합하여 세포 인젝션시 실시간으로 역각 피드백을 하는 실험을 수행하여 유용성을 검증하였다.

2. 세포조작력 측정센서

2.1 1-D 압전폴리머 센서

본 연구에서는 세포조작력 측정을 위해 PVDF (Poly VINYLIDENE FLUORIDE) 압전폴리머 센서를 이용하였다. 다른 압전재료와 마찬가지로 PVDF 압전폴리머 필름도 기계적인 접촉에 의한 압력, 음향(acoustic) 및 열에 의해 전기적인 신호를 발생하게 된다. 특히 센서로서 선형성이 좋고, 넓은 대역폭을 지니며, 신호대 노이즈 비가 높아 신호의 신뢰성이 높다 [7], [8]. 이러한 특성을 활용하여 미세피펫을 부착한 PVDF 센서를 고정지그 (clamping fixture)에 탑재한 생체세포 조작 엔드이펙터를 제작하였다. 28um 두께의 PVDF 필름 (모델: LDT1-028K, MSI Inc.)을 사용하였는데, 필름의 양면에는 니켈 전극이 도포되어 전기적인 출력을 얻을 수 있다.

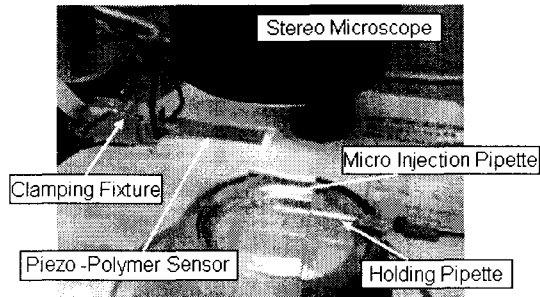


Fig. 1 1-D PVDF force sensing system

2.2 캘리브레이션 실험

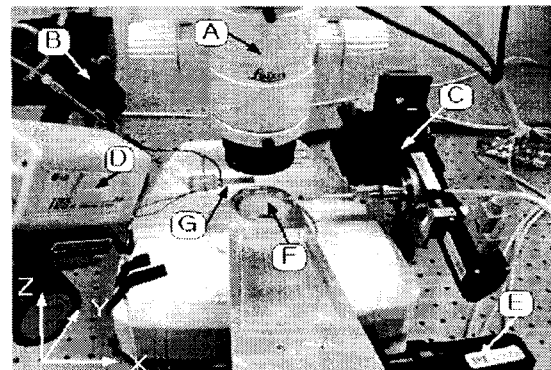
캘리브레이션을 위해 실제 세포를 침습하기 위한 미세 피펫을 PVDF 필름의 끝단에 부착하고, 초정밀 로드셀 (모델: GSO-10, Transducer techniques 사, 최대 측정범위: 100mN, 정밀도: 50uN)에 수직인 방향으로 일정한 선형적 힘을 인가시 나오는 로드셀과 PVDF 센서의 신호를 측정하여 비교하였다. 센서의 출력 신호는 전하증폭기 회로와 저주파역 필터를 통해 DAQ 보드로 획득하였다.

3. 햅틱 인터페이스

3.1 바이오매니플레이션 시스템 구성

Fig. 2는 힘반향이 가능한 세포조작 시스템을 나타내고 있다. 시스템의 구성은 기존의 ICSI 와 같은 세포조작을 위한 시스템을 기반으로 사용자의 조작 능력 향상을 위한 힘반향 기반의 센서를 장착하여 세포조작시의 미세한 힘을 사용자에게 피드백 할 수 있도록 하였다. 세포 조작 시스템은 8 자유도의 분산형 마이크로 매니플레이터 (3 자유도 미동 holding 매니플레이터, 3 자유도 미동 injection 매니플레이터, 2 자유도 x-y 스테이지)와 스테레오 현미경, 작업자에게 힘 반향 정보를 제공하는 햅틱 디바이스(모델: 6 자유도 PHANToM 1.5 Premium, SensAble Technologies, Inc.)로 구성 하였다.

제작한 세포조작용 엔드이펙터는 인젝션용 매니플레이터 (3 자유도, 분해능 500nm)에 부착된 캐필러리 홀더에 연결이 가능하게 설계 제작하여 세포조작 시스템에 통합하였다.



A: Optical Stereo Microscope
B: Micromanipulator (injector pipette)
C: Micromanipulator (Holder pipette)
D: Global Camera
E: X-Y Stage
F: Petridish
G: PVDF Force Sensor

Fig. 2 Experimental setup for cellular force sensing system

3.2 힘반향을 위한 햅틱 인터페이스

세포조작시 엔드이펙터가 센싱한 힘의 정보는 사용자에게 햅틱 인터페이스를 통해 전달된다. 사용자에게 세포 침습시 힘의 정보를 햅틱 피드백을 통해서 뿐만 아니라 Fig. 3 과 같이 그래픽 유저 인터페이스(GUI)를 통하여 시각적으로 전달함으로써 조작시의 편의를 도모 하도록 하였다.

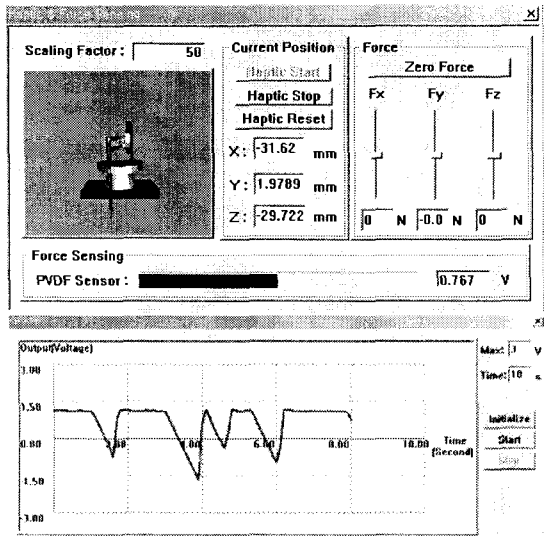


Fig. 3 Graphic user interface for force feedback-based biomanipulation

4. 실험결과

제브라피쉬(zebrafish)는 발생과정이 24시간으로 매우 짧아 돌연변이 유기가 쉽고, 구조가 투명하여 발생단계구분이 용이하여 발생학(embryology)의 중요 모델로서 사용되고 있다. 따라서, 본 연구에서 제작한 힘센싱이 가능한 바이오 엔드 이펙터를 세포조작시스템에 통합하여 비전과 햅틱 인터페이스를 이용한 힘 반향(force feedback) 정보기반의 제브라피쉬 난자세포 조작실험을 수행하였다. 난자세포의 구조는 세포막(chorion)과 난향막(outer membrane of yolk)으로 구성되어 있고, 직경은 약 700 μm 이다.

Fig. 4는 제브라피쉬 난자(egg)를 인젝션하는 일련의 과정을 나타내고 있다. Fig. 4에서 보듯이 비전정보 피드백을 받으며 인젝션 유리 피펫이 3자유도 매니플레이터의 조종에 의해 부드럽게 세포막에 접근한다 (A과정). 그 다음, 햅틱 인터페이스를 통해 힘반향을 느끼며 1차적으로 세포막을 뚫고 깊이 들어가고 (B과정), 내부의 난향막 (yolk)에 접촉하여 뚫기 시작한 뒤 (C과정), 힘을 좀더 작용하여 난향막내의 핵막을 깊이 뚫는다 (D과정). 대부분의 핵 제거, 핵치환, DNA 주입과 같은 생명공학 분야의 세포조작 작업은 상기와 같은 일련의 조작 과정을 거친다.

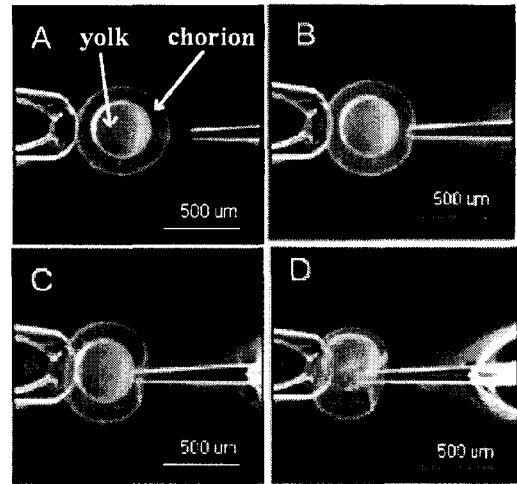


Fig. 4 Micro injection of a zebrafish egg cell

Fig. 5는 실제 난자세포를 인젝션하여 세포막을 투과할 때 발생하는 힘 반향 정보를 나타내고 있다. 인젝션용 매니플레이터의 속도에 따라 인젝션 피펫이 세포막을 투과할 때 힘이 다르다. 매니플레이터의 속도제어를 통해 다양한 인젝션력을 인가한 결과, 인젝션 작업시 난자세포막을 투과하기 위해서 수 mN 정도의 힘이 요구됨을 예상할 수 있다.

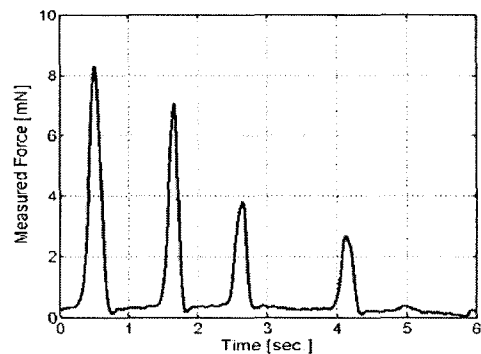


Fig. 5 Experimental result

난자세포는 표면막이 약해서 조작시 쉽게 변형이 되고, 손상되기 쉽다. Fig. 6은 인젝션 실험시 과도한 힘을 인가한 경우 난자세포막이 물리적으로 파괴(rupturing)되는 경우를 관찰한 것이다. 이러한 결과를 통해 세포조작 작업시 난자세포막에 최소한 침습을 가하기 위해 힘 피드백 및 최적의 힘제어가 필요함을 알 수 있다.

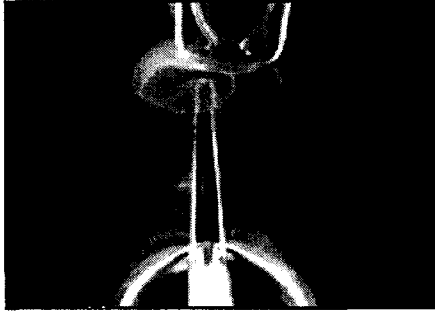


Fig. 6 Experimental result

Fig. 7 은 제작한 피펫조작 엔드이펙터가 프로그램된 위치를 추적하며 난자세포막, 난항막에 주기적으로 기계적인 인젝션을 가했을 때 침습력 힘센싱 신호를 측정된 결과이다. 일련의 반복적인 실험에도 재연성 있는 결과임을 알 수 있으며, 신호대 노이즈 비(S/N 비)가 우수하고 침습력의 역각 피드백을 줄 수 있는 민감한 센서 신호임을 확인하였다.

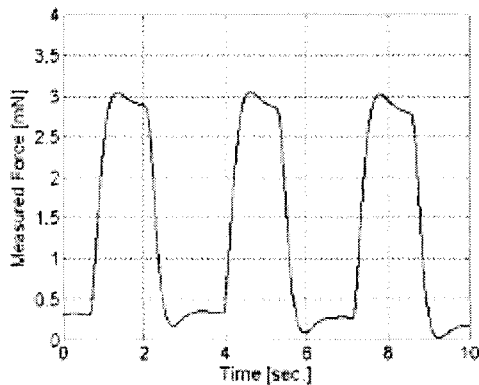


Fig. 7 Experimental result

5. 결론

본 연구에서는 센싱이 가능한 바이오 세포 조작용 엔드이펙터를 개발하여 세포 조작시 발생하는 침습력을 실시간으로 측정할 수 있도록 하였다. 센싱 메커니즘으로서 PVDF 압전폴리머센서와 미세 피펫 및 캐필러리 홀더로 구성되어 있다. 실제 센싱 메커니즘을 제작하고 햅틱 인터페이스를 통해 세포조작시에 역각 피드백을 하는 실험을 수행하였다. 본 연구를 통해 도출해 낼 수 있는 결과는 두 가지로 요약 될 수 있다. 첫째, 조작자의 수동 작업으로 이루어 지던 기존의 세포 조작 방법을 개선하여 세포 침습시의 힘의 반력을 센싱하고 피드백 함으로써 세포 조작 시스템의 자동화 요소로서 기여가 가능하다는 것이다. 둘째, 세포 침습시 외벽을 투과할

때 얻어지는 힘의 정보를 분석하여 최소침습을 위한 인젝션 시의 속도와 최적의 힘을 결정짓는데 기여하여 세포에 물리적 해를 적게 주고, 발생율을 높일 수 있는 발생학적인 부분이다.

후 기

본 연구는 과학기술부 21 세기 프론티어 연구개발사업인 지능형마이크로시스템개발사업 (<http://www.microsystem.re.kr>)의 연구비 지원을 받아 수행되었음 ; 과제협약번호 MS-02-324-01.

참고문헌

- [1] K. K. Tan and S.C. Ng, "Computer-controlled piezo micromanipulation system for biomedical applications," *Engineering Science and Education Journal*, pp.249-256, 2001.
- [2] K. Yanagida, H. Katayose, H. Yazawa, Y. Kimura, K. Konnai, and A. Sato, "The usefulness of a piezo-micromanipulator in intracytoplasmic sperm injection in humans," *Human Reproduction*, vol.14, no.2, pp.448-453, 1998.
- [3] T. Nakayama, H. Fujiwara, K. Tastumi, K. Fujita, T. Higuchi, and T. Mori, "A new assisted hatching technique using a piezo-micromanipulator," *Fertility and Sterility*, vol.69, no.4, 1998.
- [4] A. Menciassi, G. Scalari, A. Eisinberg, C. Anticoli, P. Francabandiera, M.C. Carrozza, and P. Dario. "An instrumented probe for mechanical characterization of soft tissues," *Biomedical Microdevices*, pp. 149-156, 2001.
- [5] Y. Kimura, R. Yanagimachi, "Intracytoplasmic sperm injection in the mouse," *Biology of Reproduction*, vol. 52, no. 4, pp. 709-720, 1995.
- [6] Y. Sun and B.J. Nelson, "Microbotic cell injection," in *Proc. of IEEE International Conference on Robotics and Automation*, Seoul, Korea, vol. 1, pp. 620-625, 2001.
- [7] C. K. M. Fung, I. Elhadj, W. J. Li, and N. Xi, "A 2-D PVDF force sensing system for micromanipulation and microassembly," *Proceedings of IEEE International Conference on Robotics and Automation*, Washington DC, USA, pp. 1489-1494, 2002.
- [8] J. Dargahi, "A piezoelectric tactile sensor with three sensing elements for robotic, endoscopic and prosthetic applications," *Sensors and Actuators*, vol.80, pp.23-30, 2000.