

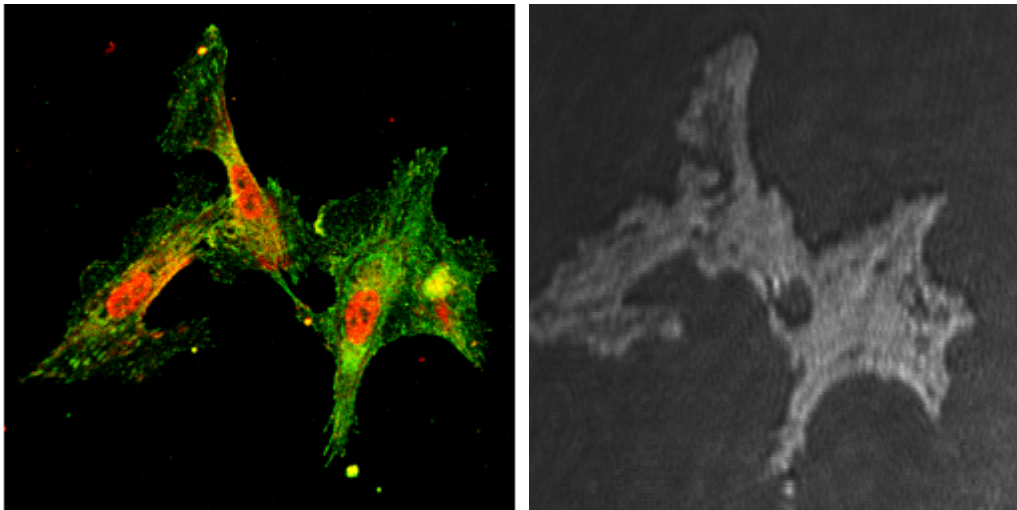
**전반사 타원계측법을 이용한 고체 표면에 고정화된
세포의 부착 패턴 이미징**
Surface Sensitive Imaging of Cell Adhesion Pattern
on Solid Surfaces with Total Internal Reflection
Ellipsometry

제갈원, 조용재, 조현모, 김세화, 길정은, 박미희, 문대원
한국표준과학연구원 나노바이오융합연구단
wchegal@kriss.re.kr

고체 표면에 고정화된 세포의 부착 패턴 이미징을 위하여 전반사 타원계측법을 이용하였다.⁽¹⁻³⁾ 전반사 타원계측법은 편광 이미징을 위한 null-type imaging ellipsometer와 바닥면이 30 nm 정도의 금박막으로 코팅된 프리즘을 이용하여 표면 플라즈몬 공명을 여기 시켰다. 금박막이 코팅된 프리즘을 이용하여 여기된 표면 플라즈몬파는 프리즘 바닥면에 고정된 세포 부착면으로 부터 수백 nm 정도의 침투 깊이를 갖게 되고, 표면 플라즈몬 공명 조건은 프리즘 표면의 유효 굴절률 변화에 매우 민감하게 변화하기 때문에 소거화된 타원계측 영상을 실시간으로 측정한다면 cell adhesion pattern의 변화와 cell migration을 fluorescence labeling 없이 고감도 영상을 획득할 수 있다.

실험에 사용된 타원계측기는 편광자/보정자/검광자, intensified-CCD camera, 20배 대물렌즈, 532 nm DPSS 레이저로 구성된 null-type imaging ellipsometer 이다. 시료의 준비는 금박막이 코팅된 프리즘 바닥면을 11-mercaptopundecanoic acid maleimide self-assembled-monolayer와 1-dodecanethiol self-assembled-monolayer로 성장시킨 후 collagen 및 fibronectin을 부착하여 세포를 배양시켰다. 부착된 세포의 활성 유지를 위하여 silicon rubber를 이용하여 제작된 incubation chamber 내부에 fluid circulation loop를 이용하여 CO₂ 농도가 조절된 배양액을 실험 시간동안 연속으로 순환시켰다. 세포는 rat smooth muscle cell (A10 cell)과 human umbilical vein endothelial cell (HUVEC cell) 등을 사용하였으며 ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) 처리 및 shear stress 등의 변화에 따른 cell adhesion pattern 및 migration 변화를 관찰하였다. 실험 후 cell adhesion에 관여하는 단백질인 paxillin과 tensin에 대한 immunostaining하여 형광 현미경으로 관찰한 결과와 전반사 타원계측기를 이용하여 얻은 결과를 비교하였다. 이로써 전반사 타원계측기를 이용한 세포의 adhesion pattern의 무표지 이미징 기술이 유효함을 확인하였다.

1. H. Arwin, M. Poksinski, K. Johansen, "Total internal reflection ellipsometry: principles and applications", *Applied Optics*, 43, 3028-3036 (2004).
2. P. Westphal, A. Bornmann, "Biomolecular detection by surface plasmon enhanced ellipsometry", *Sens. Actuators B*, 84, 278-285 (2002).
3. K.-F. Giebel, C. Bechinger, S. Herminghasu, M. Riedel, P. Leiderer, U. Weiland, M. Bastmeyer, "Imaging of cell/substrate contacts of living cells with surface plasmon resonance microscopy", *Biophysical Journal*, 76, 509-516 (1999).



[Figure. Comparison of immunostained and total internal reflection ellipsometric images (HUVEC cell)]