

## 3mW 850nm Laser Diode가 Rat BM-Cell에 미치는 효과

천민우, 김성환, 박용필\*  
 조선대학교, 동신대학교\*

### The effect of 3mW 850nm Laser Diode on RAT BM-cell.

Min-woo Cheon, Seong-hwan Kim, Yong-pil Park\*  
 Chosun Univ. Dongshin Univ.\*

**Abstract :** Low level laser therapy has various therapy effects. This paper performed the basic study for developing the Low Level Laser Therapy Equipment for medical treatment. The apparatus has been fabricated using the laser diode and microprocessor unit. This equipment was fabricated using a micro-controller and a laser diode, and designed to enable us to control light irradiation time, frequency and so on. In this study, the designed device was used to find out how 850 nm laser diode affected the cell proliferation of RAT bone-marrow cells. Experiment was performed to irradiation group and non-irradiation group for Rat bone marrow cells. MTT assay method was chosen to verify the cell increase of two groups and the effect of irradiation on cell proliferation was examined by measuring 590 nm transmittance of micro plate reader. As a result, the cell increase of Rat bone marrow cells was verified in irradiation group as compared to non-irradiation group. The fact that specific wavelength irradiation has an effect on cell vitality and proliferation is known through this study.

**Key Words :** Laser diode, MTT ASSAY, Bone-marrow, Irradiation

### 1. 서 론

1960년대 최초의 루비레이저가 개발[1]되어, 다양한 매질의 개발로 급속도로 발전하고 있으며, 레이저의 단색성, 지향성등의 특정 성질을 이용하여 다양한 산업 및 의료 분야에 사용되어 지고 있다. 레이저를 이용한 의료 기술은 크게 고출력 레이저와 저출력 레이저로 나뉘며, CO<sub>2</sub>, YAG등의 고출력 레이저는 열적효과를 이용한 절개, 응고, 등의 외과적 치료[2-3]에 주로 사용되어 진다. 반면 저출력 레이저를 이용하여 치료에 사용하고 있으며 세포의 기능을 자극하여 세포를 활성화 시키는 역할[4]을 하기도 한다. 본 연구에서는 최근 급속도로 발전하고 있는 Laser Diode의 850nm를 이용하여 세포에 활성화에 미치는 영향을 확인하였다.

### 2. 실험

#### 2.1 실험장치

본 연구에서는 레이저 치료용으로 사용 가능하도록 마이크로 컨트롤러를 레이저 다이오드 발진기를 설계하였으며, 휴대 및 광조사가 용이하도록 구성하였다. 다음 그림 1에 기기의 구성도를 나타내었다. 구성된 기기는 휴대 사용이 가능하도록 Battery 및 12V DC Adapter를 겸용으로, 정정압 레귤레이터를 사용하여 입력 전원이 바뀌더라도 5V의 안정적인 전원이 인가될 수 있도록 구성하였다. 구성된 기기는 타이머 및 주기의 컨트롤이 가능하며, 이러

한 동작을 위한 신호를 기능 입력 스위치를 이용하여 제어부에 전달하여 원하는 동작이 가능하도록 하였다.

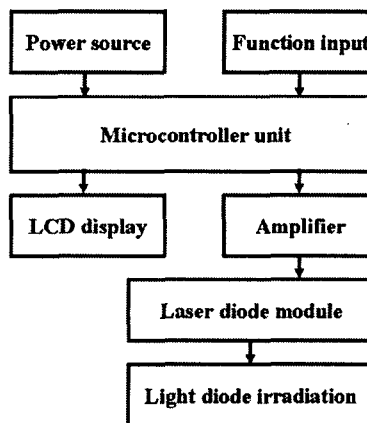


그림 1. 기기의 구성도

현재 동작중인 기기의 동작 확인이 용이하도록 14×2의 Text LED를 사용하여 기기의 상태를 표시하였으며, 전반적인 동작을 담당하는 마이크로 컨트롤러는 ATmega16을 사용하였으며, I/O 단자중 Port D에서 레이저 다이오드의 동작에 관여하는 미세 전류신호를 발생하도록 구성하였다. 이러한 미세 신호는 증폭부에서 레이저 다이오드에 맞는 동작 전류를 흘려주는 형태로 구성되어 있으며, 증폭부에 사용된 소자는 PNP형의 트랜지스터로 별도의 IC인 A1015를 사용하였으며, 마이크로 컨트롤러에서 발생된

전류를 A1015의 IC(Collector current)에서 150 mA의 전류가 흐르는 특성을 이용하였다. 증폭을 거친 전류를 레이저 다이오드 모듈의 ACP(Auto Current Controller) 회로와 APC(Auto Power Controller)회로를 거쳐 사용하여 레이저 다이오드에 불필요한 발열 및 파괴 현상을 최소화 하여, 레이저 다이오드의 안정적인 광조사가 가능하도록 구성되었다. 본 연구에 사용된 레이저 다이오드는 3-Laser diode Technology 社の 제품으로 파장이 850nm에 출력이 3mW/cm<sup>2</sup>급의 저출력 레이저 다이오드를 사용하였다.

## 2.2 세포 실험

특정 파장의 저출력 레이저 광원이 세포의 활성화에 미치는 영향을 확인하기 위해 제작된 기기를 사용하여 세포에 광자극을 행하였으며, 실험에 사용된 세포는 골수 세포로 8주령의 수컷 NTacSam:SD를 이용하여 골수에서 Primary culture를 통하여 얻었다. 세포의 배양은 습도 95 %, 온도 37 °C 및 5 %의 CO<sub>2</sub>로 조성된 인큐베이터에서 혼합배지를 사용하여 배양하였으며, 주기적으로 배지를 교환하였다. 본 실험에는 passage 3을 사용하였으며, 세포의 Seeding은 culture dish에서 배양 중인 Passage 3의 골수세포의 배양액을 제거하고 PBS(Phosphate Buffered Saline pH 7.2 : GibcoBRL, UK)로 2 회 세척 후 0.05 % Trypsin-EDTA 1.5 ml로 세포를 dish에서 회수 하였다. 회수된 세포 현탁액을 원심 분리하여 골수 세포만 분리한 후, Precision pipettes으로 배양액을 1 ml 첨가하여 혼합하였다. 혼합된 1 ml의 세포 현탁액에서 10 µl를 채취, Trypan blue(0.4 % : Walkersville, Inc) 10 µl와 희석하여 Hemocytometer slide에 넣어 현미경으로 생세포의 총량을 확인하였으며, 6 Well plate의 1개 Well 당 1 × 10<sup>5</sup> 개의 세포가 들어가도록 세포 현탁액의 볼륨을 조절하여 분주하였다. 850nm 레이저 다이오드의 광조사가 세포 활성화에 미치는 영향을 비교하기 위해 조사군과 비조사군으로 나누었으며, 광 조사 조건표를 다음 1표에 나타내었다.

표 1. 광조사 조건표

	Irradiation plate
Wavelength	850 nm
Light intensity	3 mW/cm <sup>2</sup>
Irradiation time	5 min/day for 2 days
Wave type	Continuous wave
Cell round number	1 × 10 <sup>5</sup>

## 3. 결과 및 고찰

광의 조사에 따른 세포의 증식 변화 확인을 위해 광을 조사한 그룹과 조사하지 않은 그룹에 MTT ASSAY 법을 사용하여, 흡광도를 비교함으로써 cell의 증식 및 활성화 정도의 변화를 비교하였다. 사용된 MTT ASSAY 법은 Tada

의 방법을 사용하였으며, MTT (Thiazolyl Blue Terazolium Bromide, approx. 98 % : SIGMA-ALDRICH, Inc) 및 SDS(Sodium Dodecyl Sulfate : Fluka, Inc)의 약품 처리 후 96 well plate에 옮겨 Molecular Device 社の Microplate reader인 VERSA MAX의 590 nm 파장을 이용하여 흡광도를 측정하여 다음 그림2에 나타내었다.

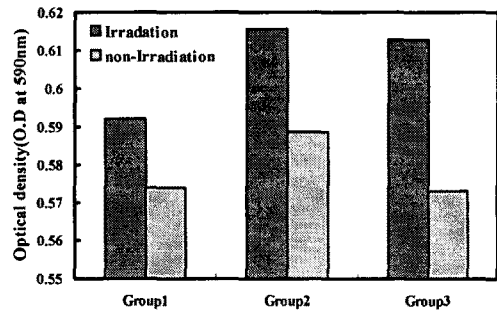


그림 2. 흡광도 비교

## 4. 결론

특정파장의 광원이 세포에 작용하여 세포의 활성화에 미치는 영향을 확인하기 위해 최근 많이 사용되는 레이저 다이오드를 이용하여 광조사가 용의 하도록 기기를 개발하였다. 850nm 레이저 다이오드를 이용하여 NTacSam:SD의 Bonemarrow cell에 24시간 간격으로 5분씩 광을 조사하여 주었다. 광조사후 MTT ASSAY 법을 통하여 흡광도를 비교하였으며 그 결과 광 조사 그룹과 비조사 그룹간에 3~7% 정도의 차이가 발생하였다. 이는 850nm 레이저 다이오드의 광원이 세포의 활성화에 영향을 미치는 것으로 세포의 활성화에 좋은 효과가 있는 것으로 사료되며, 세포의 빛에 대한 반응 및 기전에 대한 더 많은 연구가 필요한 것으로 예상 된다.

## 참고 문헌

- [1] T. H. Maiman, "Stimulated optical radiation in ruby", Nature, 187, 493, 1960.
- [2] Mullins, F. et al, The effects of high energy laser pulses on the primate liver, Surg. Gynecol. Obste, 122, 727, 1966.
- [3] Fox, J.L, The use of laser radiation as a surgical "light knife", Surg. Gynecol. obster, 9, 199, 1969.
- [4] Karu T., Photochemical effect upon the cornea, skin and other tissues: photobiology of low-power laser effects. Health Phys, 56, 691, 1989.