

# 살아있는 단일세포의 다양한 측정 및 조작용을 위한 모듈 교체 방식의 SPM Z 스캐너 개발

## Development of Exchangeable SPM Z Scanners for Single Live Cell Research

\*경구은<sup>1</sup>, \*조상훈<sup>2</sup>, 김준휘<sup>2</sup>, 박상일<sup>2</sup>, 강동욱<sup>3</sup>

\*G.-E. Jung<sup>1</sup>, \*S.-J. Cho(msjcho@ParkAFM.co.kr)<sup>2</sup>, J. Kim<sup>2</sup>, S.-I. Park<sup>2</sup>, T.M.Kang<sup>3</sup>  
<sup>1,2</sup> (주) 파크시스템스, <sup>3</sup> 성균관의과대학

Key words : Scanning Ion Conductance Microscopy, Live Cell Imaging, Atomic Force Microscope

### 1. 서론

기존에 시행되어왔던 세포 및 생체 조직 연구를 하기 위한 측정 기술은 기술적인 한계를 극복하지 못하여 세포와 조직을 파괴하여 얻은 시료에 대한 제한적인 정보 밖에는 얻을 수 없었다. 실제로 생명 현상에 대한 이해 및 세포 수준의 질병 진단 및 처방을 하기 위해서는 살아있는 세포의 실시간 표면 측정 기술을 이용한 관찰이 필요하다.

그러나 현재까지 개발된 분석 장비로는 살아있는 세포 및 조직에 대한 실시간 측정이 어렵거나, 또한 측정에 필요한 기능이 개별적인 장비로 구성되어 있어 민감한 단일 세포를 옮기면서 실험을 할 수 없기 때문에 이에 대한 연구를 진행하기 어려웠다.

이러한 문제점을 해결하기 위하여 원자현미경 (Atomic Force Microscope; AFM), 이온전도현미경 (Ion Conductance Microscope; ICM)과 광학현미경을 결합한 융합 현미경 (Convergence Microscope; XE-Bio, Park Systems)를 개발, 제작하게 되었다. 이 현미경은 광학현미경 위에 원자현미경에 쓰이는 정밀한 100 μm XY 스캐너와 모듈교체방식의 Z 스캐너를 사용하여 시료를 옮길 필요 없이 AFM과 ICM을 이용한 측정이 가능하다. AFM으로는 DNA나 단백질 등과 같은 생체분자의 구조와 기능을 연구할 수 있을 뿐 아니라 상호간섭력 (interaction force) 등을 측정할 수 있으며, 그 밖에도 세포막의 경도 측정 등 다양한 연구를 할 수 있고, ICM으로는 실시간으로 non-invasive imaging 및 이온통로 (ion channel) 분석 등을 할 수 있다.

### 2. Construction of convergence microscope (XE-Bio, Park Systems)

XE-Bio의 기본구성은 도립 현미경 (inverted op-

tical microscope; IOM)을 기반으로 한 AFM 및 SICM Z scanner의 결합으로 이루어져 있다. Fig 1과 같이 AFM은 XY와 Z 스캐너가 분리된 형태로 구성되어 있어, 비교적 쉽게 IOM에 장착할 수 있도록 XY 스캐너를 개발하여 장착하였고, IOM의 Condensor 모듈에 의해서 협소해진 공간에 맞추어 Z축의 모터 스테이지와 Z 스캐너를 결합할 수 있는 구조물을 제작하여 XE-Bio를 완성하였다.

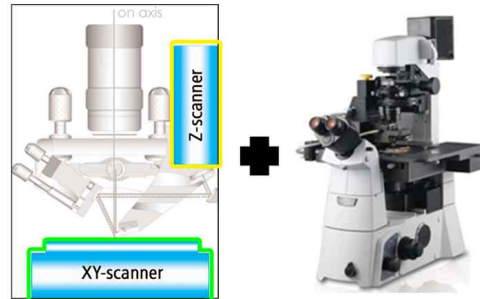


Fig. 1 Convergence Microscope의 구성.

IOM으로는 bright field, phase contrast, DIC mode 등의 광학적인 관찰 mode를 이용하여 시료 표면의 상태 관찰 및 AFM, ICM을 이용하여 측정할 세포를 선정 할 수 있으며, AFM Z 스캐너 모듈은 25um의 moving이 가능하여 단차가 높은 세포의 관찰이 가능하며, spring constant가 낮은 soft한 cantilever를 사용하여 세포막의 표면 이미징 및 force distance curve 분석을 통한 경도 측정도 할 수 있다. (Fig 2.)

ICM Z 스캐너 모듈 역시 25um의 moving이 가능하여 단차가 높은 세포의 관찰이 가능하며, 전기생리학에서 사용하는 pulled pipette (end diameter 는 100nm)을 탐침으로 이용하기에 이온통로를 통한

이온의 흐름을 조사할 수 있으며, 전해질에 존재하는 이온을 통한 전류(ion current)를 통하여 피드백을 하기 때문에 완전한 비접촉식 측정이 가능하다. (Fig 3.)

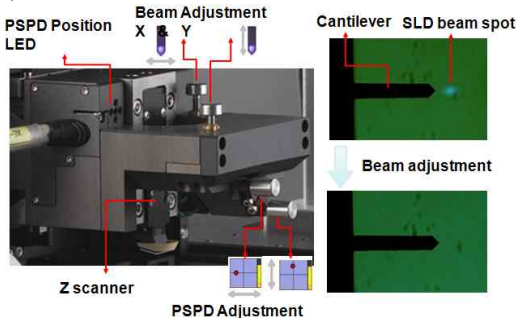


Fig. 2 AFM Z 스캐너 모듈의 구성.

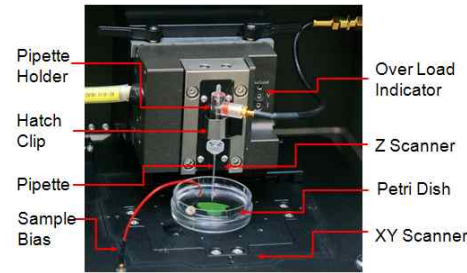


Fig. 3 ICM Z 스캐너 모듈의 구성.

### 3. Convergence microscope를 이용한 live rat left cardiac ventricle myocyte membrane의 특성조사

쥐에서 추출한 심실의 살아있는 단일 심실근세포막(rat left cardiac ventricle myocyte membrane)을 페트리 접시에 옮긴 후, IOM으로 관찰/분석한 뒤 특성평가를 하기 원하는 세포를 결정하였다. ICM modular Z 스캐너를 장착한 후, 선정된 세포위로 파이펫 끝이 위치하도록 하고, ion current를 피드백 신호로 하여 세포 표면 위로 접근시켜 관찰하였다. 관찰이 끝난 후,  $Ca^{2+}$  이온통로가 많은 것으로 알려진 t-tubule 구조 위에 파이펫 끝을 다시 위치시키고, 전기생리학 방법 중 하나인 patch clamping recording을 하기 위한 giga ohm sealing을 형성시킨 후 이온통로의 특성을 조사하였다. (Fig 4)

다음으로 세포가 들어있는 petridish는 움직이지 않은 상태에서 cantilever를 탐침으로 하는 AFM Z 스캐너 모듈을 장착시키고 cantilever tip의 위치를 ICM으로 imaging한 부분으로 위치시킨 후 세포 표면 위로 접근 후 이미징을 통한 관찰 및 경도 측정을

하였다.

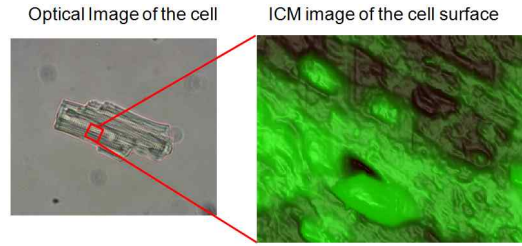


Fig. 4 ICM Z 스캐너를 이용한 세포관찰.

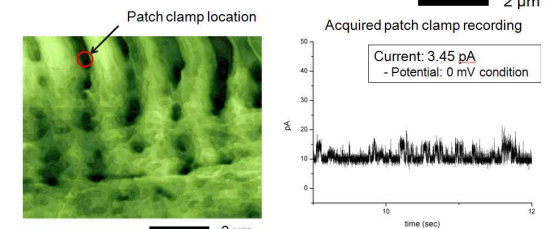
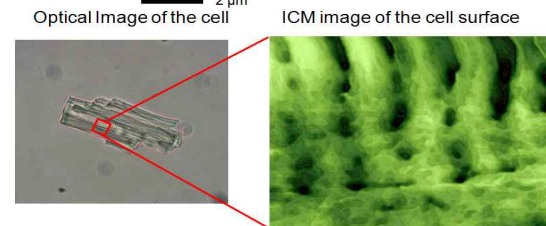
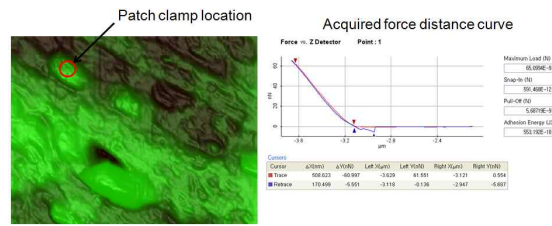


Fig. 5 AFM 이미지와 Force-Distance Curve.

### 4. 결과 및 결론

제작한 Convergence Microscope의 성능을 쥐에서 추출한 심실의 살아있는 단일 심근세포막의 특성 조사를 통하여 확인하였다.

### 후기

본 연구는 지식경제부 산업원천기술개발사업의 지원을 받았음 프로젝트번호 (ISTDP10033633)