

LabVIEW 기반 세포 임피던스 측정시스템 개발

김철¹, 박정일², 김재영³, 조성보^{4†}, 박정호^{1,2†}

¹고려대학교 마이크로/나노시스템협동학과, ²고려대학교 전기전자전파공학부

³가천의과학대학교 생명과학과, ⁴가천의과학대학교 의공학과

Development of LabVIEW-based cell impedance measuring system

Chul Kim¹, Jungil Park², Jae Young Kim^{3†}, Sungbo Cho^{4†}, and Jungho Pak^{1,2†}

¹Department of Micro/Nanosystems Engineering, Korea University

²School of Electrical Engineering, Korea University

³Dept. of Biological Science, Gachon University of Medicine and Science

⁴Dept. of Biomedical Engineering, Gachon University of Medicine and Science

Abstract - 본 논문에서는 전극실에서 배양하는 세포의 활동성을 실시간으로 모니터링 하기 위해 AC 함수발생기와 Lock-in-amplifier (SR 830, Stanford Research System)를 이용하여 개발한 LabVIEW (National Instrument)기반 세포 임피던스 측정시스템을 제안하였다. 대장암 세포인 HT-29를 다 채널 전극실에서 60시간동안 배양하는 동안 LabVIEW기반 세포 임피던스 측정시스템을 이용해서 인가하는 신호의 주파수와 세포의 배양시간에 따른 세포 임피던스 변화를 관찰하였다. 결과 HT-29 세포가 전극에 안착하고 증식하기 때문에 전극의 임피던스가 증가한다는 이전 연구결과와 일치하는 측정결과를 얻었고, 이 결과를 통해서 제안한 LabVIEW 기반 세포 임피던스 측정시스템이 암세포 연구에 적합하고, 앞으로 유용하게 사용될 수 있음을 확인하였다.

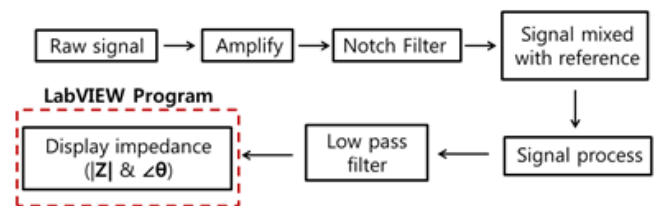
1. 서 론

최근 신약개발과 질병진단을 위해 보다 효율적이고 정확한 세포 기반 검사법이 지속적으로 요구되고 있으며, 이를 위해 다양한 배양조건 및 자극에 대한 세포의 반응과 상태를 비표지 및 실시간으로 분석할 수 있는 세포칩에 대한 연구가 활발해지고 있다 [1]. 전기 임피던스 분광법을 이용한 세포 모니터링은 세포의 생리 및 형태적인 변화와 세포 활동(유착, 증식, 탈착)을 반영하는 세포-기질의 전기적 임피던스를 측정하여 이로부터 세포의 상태와 반응을 실시간 비 파괴적으로 정량하는 기술이다 [1]. 세포 임피던스 분석은 전극을 통해 미약한 교류 전류가 흐를 때 세포의 안착 및 증식에 따라 전류는 방해받게 되고 따라서 측정되는 임피던스가 변하는 원리로 Giaver와 Keese에 의해 1984년에 최초로 시도되었다 [2]. 세포의 임피던스 측정을 위해 세포에 해를 주지 않을 정도의 교류 신호 인가 및 측정시스템이 필요한데, 최소한 국제 전기 표준 회의에서 제정한 규격(IEC 60601)을 만족해야 한다 [3]. 이렇게 변화하는 세포의 전기적 특성을 정확하게 측정하기 위해 세포 임피던스 측정시스템의 개발이 요구되고 있다. 본 연구에서는 10 Hz에서 100 kHz까지의 주파수 범위와 시간에 따라 전극에 흡착된 세포의 임피던스를 측정하는 시스템을 LabVIEW와 Lock-in-amp (LIA)를 이용하여 개발하였고, 실제 대장암 세포인 HT-29를 다 채널 전극칩에 60 시간 배양시켜 시간과 주파수 증가에 따른 세포 임피던스 변화를 관찰하였다.

2. 본 론

2.1.1 세포 임피던스 측정시스템 개발

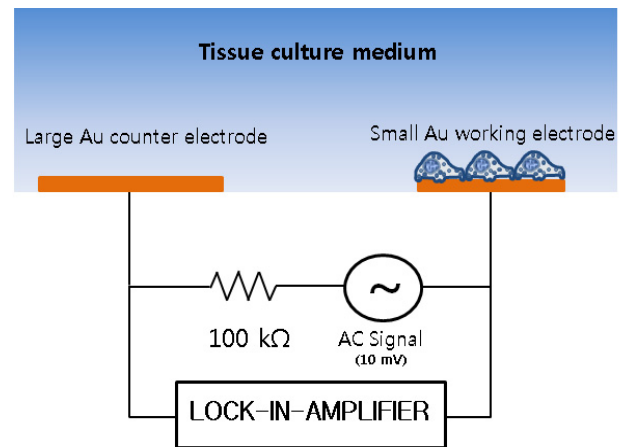
다 채널 전극칩의 작업전극(working electrode)와 상대전극(counter electrode) 사이에서 전압은 Lock-in-amplifier (LIA)으로 측정하고 국제 표준 통신 방법인 GPIB 통신 방법을 이용하여 측정된 전압을 PC로 전송한다. LIA로 측정된 전압은 매우 작은 스케일의 소신호이기 때문에 LIA 내부 증폭기와 필터에 의해 가공되고 mixer를 통해 LIA 내부 기준 (reference)신호와 섞이게 된다. 섞인 신호는 phase sensitive detector에 의해 90°의 위상 차이를 가진다. 이 신호는 마지막으로 고주파 간섭을 제거하기 위하여 low pass filter를 거친 후 LIA와 연결된 GPIB 케이블을 통해 PC로 전송된다. 전송된 신호는 LabVIEW 프로그램의 math 함수로 입력이 되고 일련의 계산과정을 거쳐 임피던스로 출력된다. 출력된 임피던스 신호는 크기(|Z|)와 위상(∠θ) 부분으로 나뉘어서 실시간으로 그래프화 할 수 있다. 그림 1은 LIA와 LabVIEW를 이용한 세포 임피던스 측정시스템의 블록다이어그램이다.



〈그림 1〉 세포 임피던스 측정 시스템 블록다이어그램

2.1.2 실험과정

그림 2는 다 채널 전극칩에서의 세포 임피던스 측정 모식도로서 AC 함수발생기에서 인가되는 10 mV_{AC}에 100 kΩ의 전류제한 저항을 직렬로 연결하여 인가되는 전류의 크기를 100 nA로 조절했다. 세포 임피던스 측정하기 위해 10 Hz ~ 100 kHz 주파수 범위와 dulbecco's modified eagle's medium(DMEM)을 사용하였다. 1×10⁵개의 HT-29 세포는 다 채널 전극칩 wells에서 60 시간동안 배양하였고, 배양 시간과 주파수 변화에 따른 세포 임피던스는 세포 임피던스 측정 시스템을 이용하여 측정하였다. 실험이 끝난 후, 전극표면에서 증식한 HT-29 세포의 분포는 금속 현미경(XJM 100)으로 관찰하였다.

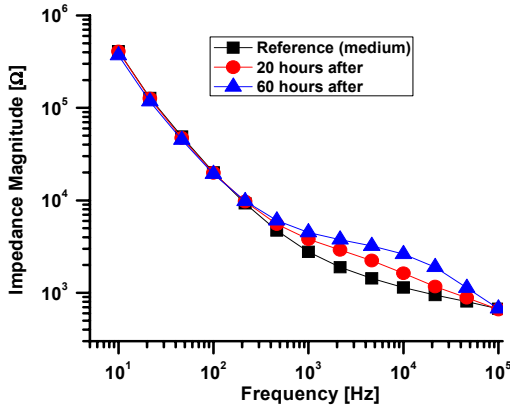


〈그림 2〉 세포 임피던스 측정 모식도

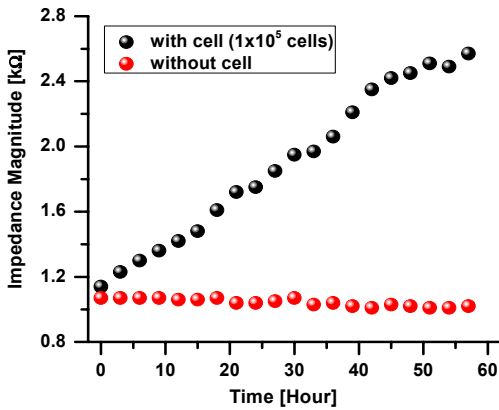
2.2 세포 임피던스 측정결과

그림 3은 10 Hz ~ 100 kHz 주파수 범위에서 대장암 세포인 HT-29 세포(1×10⁵ cells)를 배양시켜 세포를 넣은 직후 medium의 임피던스와 배양시간이 20 시간과 60 시간일 때 측정된 임피던스 결과 그래프이다. 110 Hz 이전 주파수 영역에서의 측정된 임피던스는 medium 임피던스와 유사하게 측정되었다. 110 Hz 이후 주파수 영역에서 medium에서의 임피던스 대비 측정된 임피던스는 주파수가 증가함에 따라 비율이 증가하기 시작하였고, 두 임피던스의 비율은 10 kHz에서 2.3으로 가장 큰 차이를 보였다. 그림 4는 10 kHz 입력주파수에서 60 시간 동

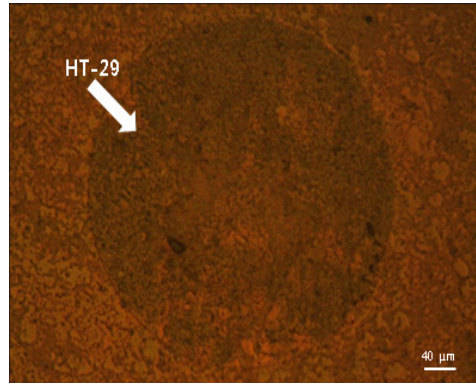
안 HT-29 (1×10^5 cells)를 배양시키며 실시간으로 측정된 세포 임피던스 그래프이다. 그 결과, HT-29 세포 배양 시간에 따라 임피던스는 증가하였다. HT-29 세포가 전극 위에서 증식함에 따라 전극의 표면적을 세포가 덮었고 세포의 지질 이중층(lipid bi-layer)과 세포질의 저항성분이 임피던스의 흐름을 방해하기 때문에 임피던스가 증가한 것이다 [2]. 반면 세포 없이 임피던스를 측정할 경우, 임피던스는 시간에 관계없이 1040 ± 21.3 (mean \pm standard deviation) ohm으로 일정한 값을 보였다. 그림 5는 60 시간동안 배양시킨 후 전극면적을 덮고 있는 HT-29 세포의 모습을 보여준다. 그림으로 부터 HT-29 세포가 전극과 절연층 위에 고루 퍼져 증식되었음을 알 수 있다.



<그림 3> 10 ~ 100 kHz 주파수 범위에서 측정된 HT-29 세포 임피던스 측정결과



<그림 4> 10 kHz에서 측정된 HT-29 세포의 배양시간에 따른 임피던스 측정결과



<그림 5> 60시간 후 전극 위의 HT-29 세포사진

3. 결 론

본 논문에서는 세포의 임피던스 측정을 위해 LabVIEW와 LIA를 이용한 세포 임피던스 측정시스템을 제안하였다. 제작한 다 채널 전극칩에 대장암 세포인 HT-29 세포를 배양시키며 배양시간과 주파수 변화에 따른 임피던스 변화를 관찰하였다. 10 Hz ~ 100 kHz 주파수 범위에서 배양시간 20 시간과 60 시간일 때 임피던스를 측정하였고, 10 kHz 주파수에서 medium에 의한 임피던스와의 비율이 2.3으로 가장 크게 나타났다. 10 kHz 주파수에서 배양시간에 따른 HT-29 세포의 임피던스를 관찰한 결과 배양시간이 증가할수록 임피던스가 증가하였지만, 세포가 없는 전극에서의 임피던스는 시간에 상관없이 일정한 임피던스를 나타냈다. 이 결과는 이전 연구와 일치하는 측정결과로서 제안한 LabVIEW 기반 세포 임피던스 측정시스템이 세포의 임피던스 측정에 적합한 시스템임을 증명해준다. 앞으로 LabVIEW 기반 세포 측정 시스템을 이용하여 다양한 암세포의 전기적 특성을 분석하고, 이를 통해 향후 암 조기진단에 이바지 할 것이라 기대된다.

본 연구는 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단 (No.:2010-0024122), 중소기업청에서 지원하는 2010년도 산학연 공동기술개발사업(No. 000424090110), 서울시 R&BD 프로그램(No. 10920)의 지원을 받아 수행하였습니다.

[참 고 문 헌]

- [1] J. Hong, et al., "Electrical cell-substrate impedance sensing as a non-invasive tool for cancer cell study," Analyst, 2010.
- [2] S. Cho and H. Thielecke, "Micro Hole-based Cell Chip with Impedance Spectroscopy," Biosensors & Bioelectronics, vol. 22 pp. 1764-1768. 2007
- [3] Giaever and C. R. Keese, "A morphological biosensor for mammalian cells," Nature, vol. 366, p. 591. 1993.
- [4] International Electrotechnical Commission, <http://www.iec.ch/>