

논문 No.	Journal Title	First Author	Corresponding Author	Presenting Author	Organization
TP-2-34	소변 내 lipoarabinomannan (LAM)의 고감도 검출을 통한 결핵 진단	허용	정효일	허용	연세대학교
TP-2-35	환형 정전용량형 미세가공 초음파 트랜스듀서 배열을 이용한 3차원 영상	권영석	이병철	강동현	한국과학기술연구원
TP-2-36	전기습윤 기반 미세유체 시스템에서 진동하는 기포를 이용한 액적 혼합 향상 방법	김현우	정상국	김현우	명지대학교
TP-2-37	Analysis of the effect of simultaneous action of three-dimensional agar medium and hormone on plant root growth	김지관	최영수	최영수	광주대학교
TP-2-38	표면 미세가공법으로 제작된 압전 미세 초음파 트랜스듀서 제작 및 다양한 에칭 홀 구조에 따른 진동 특성 평가	김선형	최홍수	김선형	대구경북과학기술원
TP-2-39	기계적 자극 및 침침 된 AgNW를 통한 심근세포의 성숙도 및 수축력 향상	김중윤	이동원	김중윤	전남대학교
TP-2-40	Structural defect-induced SnO ₂ rod-flower by electrochemical cation implantation for enhancing H ₂ S gas sensor performance	강신준	정형모	강신준	성균관대학교
TP-2-41	고분자의 형광 소광을 이용한 공기 중의 폭발물을 탐지할 수 있는 시스템	박동출	김용권	박동출	동양미래대학교
TP-2-42	Mercury Ion Detection using 4-Mercaptopyridine-functionalized Gold Film by Electroless Deposition Method	라피타엘리아다위야	이정철	라피타엘리아다위야	한국과학기술원
TP-2-43	뉴턴 유체와 점탄성 유체의 공동 흐름을 이용한 T자형 단면 형상을 가진 미세채널에서의 입자 분리	송진혁	조영학	송진혁	서울과학기술대학교
TP-2-44	The Label-Free detection of nano electrokinetic preconcentrated plug with electric current sensing	이승하	김성재	이승하	서울대학교
TP-2-45	Resistive-type Soft Pressure Sensor with Liquid-metal and Wrinkle Micro-structure in Sealed Channel	권혁호	이이재	김남윤	한국과학기술연구원
TP-2-46	표면 근처 저해 확산 추적을 통한 개별 생체 나노 입자의 표현형 및 크기 분석	권용민	박재성	권용민	포항공과대학교
TP-2-47	단결정 PMN-PZT 기반의 압전 마이크로 디스펜서 제작	허근영	이병철	허근영	한국과학기술연구원
TP-2-48	Covalent organic framework based triboelectric nanogenerator for exercise rehabilitation	수가토하지라	김희준	수가토하지라	대구경북과학기술원
TP-2-49	현장진단을 위한 미세바늘 기반의 혈액 추출기	나중현	박우태	이강혁	서울과학기술대학교
TP-2-50	Triboelectric driven self-powered humidity sensor utilizing carbon allotropes	Vigneshwaran Mohan	김상재	Vigneshwaran Mohan	제주대학교

Poster Session 3 (FP-3)					3월 22일 금요일 08:50~10:20
논문 No.	Journal Title	First Author	Corresponding Author	Presenting Author	Organization
FP-3-01	단일벽 탄소나노튜브 필름으로 만든 완전 미세 가공 스트레인 센서	김진경	김준협	김진경	부산대학교
FP-3-02	Triboelectric nanogenerator from waste textiles for self-powered application in sports and athletics	마니샤사후	김희준	마니샤사후	대구경북과학기술원
FP-3-03	ICP-based origami paper sensor: Signal enhancement due to anti-adsorption studies	이나은	이정훈	이나은	고려대학교
FP-3-04	순환종양세포 클러스터의 분류를 위한 하이브리드 신경 합성망-서포트 벡터 머신 알고리즘	하성민	정효일	하성민	연세대학교
FP-3-05	전기습윤 장치를 위한 가열 방식 기반의 소수막 회복 연구	손영두	정상국	손영두	명지대학교
FP-3-06	A pumpless microfluidic device based on the reverse-Tesla structure for isolation of pure exosome	니에청	정효일	니에청	연세대학교
FP-3-07	저농도 황화수소 가스 감지를 위한 SnO ₂ 센서 제작	양이준	정대용	양이준	한국생산기술연구원
FP-3-08	ZnO를 이용한 암모니아 감지 센서의 개발 및 온도 따른 신호변화	정동혁	정대용	정동혁	생산기술연구원
FP-3-09	자기력과 음파로 구동하는 이동형 미소 혼합 장치	채린	정상국	채린	명지대학교
FP-3-10	Ultrathin Array Camera with Microaperture Variations for High Dynamic Range (HDR) Imaging	차영길	정기훈	차영길	한국과학기술원

기계적 자극 및 함침 된 AgNW 를 통한 심근세포의 성숙도 및 수축력 향상

¹김중윤, ^{1,2}이동원 *

¹ 전남대학교 기계공학과, ² 전남대학교 차세대센서연구개발센터

E-mail: mems@jnu.ac.kr

Enhanced contractility of cardiomyocytes with increasing maturity by mechanical stimulation and embedded AgNW

¹ Jongyun Kim, ^{1,2} Dong-Weon Lee*

¹ School of Mechanical Engineering, Chonnam National University,

² Center for Next-generation Sensor Research and Development, Chonnam National University

Abstract

This study conducted an evaluation of the maturation and contraction characteristics of cardiomyocytes according to the AgNW imbedded groove structure by utilizing a mechanical stimulation(MS) system for the maturation of cardiomyocytes. The MS system consists of a step motor and a linear stage for tensile stress, and the entire system was controlled using the Arduino program. A laser vibrometer was used to measure real-time tensile stress changes, and the exact displacement was controlled through feedback to the Arduino program. Cardiomyocytes applied tensile stress at a cycle of 10 % and 1 Hz and grew in alignment in the vertical direction of tensile stress. The sarcomere length and Cx43 intensity increased by 4.5 %, and by more than three times according to MS system. The proposed MS system and the use of impregnated AgNW are expected to improve the reliability of drug reactivity tests according to the maturation of myocardial cells.

Keywords: *Cardiomyocytes(심근세포), Mechanical stimulation(기계적자극), Maturation(성숙), Contraction force(수축력), Heart rate(심장 박동수)*

1. 서론

심장은 수축 이완을 통해 혈액을 공급하는 가장 중요한 역할을 하는 기관이다. 이러한 심장은 신체 내에서 혈액 순환을 위해 가장 역동적으로 움직이지만 재생이 어려운 기관 중 하나이다[1]. 심근경색증(Myocardial infraction/MI)은 심근세포(Cardiomyocytes/CMs)의 비가역적인 손상을 유발하고[1, 2] 심장 조직의 손상은 흉터를 통해 자연적으로 회복되지만 흉터로 인한 섬유조직의 수축력 저하 현상은 심실 리모델링, 부정맥, 심부전의 원인이 되며 체외 환경에서 공학적 심장 조직(Engineered Heart Tissue/EHT)의 활용을 통한 심장 재생 능력 평가가 시행되어왔다. 지난 10 년 동안 동물 모델에서 심근세포의 성숙을 위해 기계 자극 및 전도성 물질을 통한 생물 반응기 (바이오 리액터)가 제안되었고 이러한 기계 자극 기반 생물 반응기는 약물 개발, 독성 스크리닝 및 심장 질환 모델링을 위해 ESC-CMs 및 iPSC-CMs 의 성숙을 유도하는 데에도 적용되고 있다.

본 연구에서는 심근세포의 성숙을 위해 일정한 주기와

힘으로 세포에 인장력을 주는 기계 자극 시스템 개발과 groove 구조체의 구조적 자극을 통한 심근세포의 성장 방향 정렬 및 AgNW 를 통한 전도성 소재에 따른 심근세포의 성숙도 향상을 목표로 한다. 심근세포에 기계자극을 인가하기 위해 PDMS well plate 를 제작하여 AgNW-embedded PDMS groove 구조체를 집적화 하였고 well plate 크기 및 인장 응력에 따른 응력분포를 측정하여 심근세포에 최적 성숙 인장인 10 %를 인가하였다. Groove 구조체를 인장방향의 수직으로 위치하여 인장방향의 수직방향으로 심근세포의 성장방향을 정렬시켰고 함침 된 AgNW 를 통해 심근세포의 성장 단백질 발현이 증가되고 성숙됨을 확인하였다.

2. 본론

2.1 Mechanical stimulation system

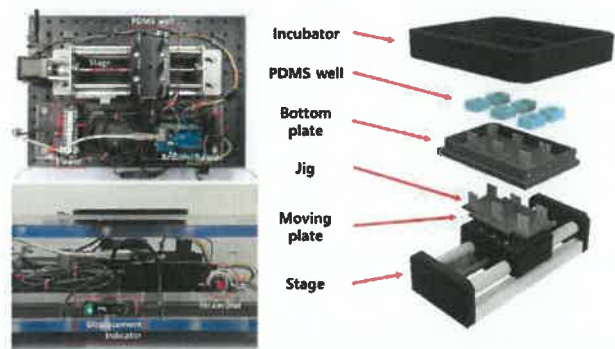


그림. 1 심근세포 기계자극 시스템의 개략도

제안된 심근세포 기계자극 시스템은 스텝 모터, 리니어 스테이지, 레이저 변위센서 functional well plate 및 세포 배양을 위한 stage-top incubator 로 구성된다. Stage-top incubator 는 세포 배양간 온도, CO₂ 농도 및 상대습도를 유지하며, 현미경 위에 거치가 가능하므로 실시간 세포의 형상 분석이 가능하다. Functional well plate 는 moving plate, bottom plate 및 PDMS well plate 로 구성되며 moving plate 와 bottom plate 는 알루미늄을 가공하여 제작하여 auto clave 를 이용한

떨균이 가능하다. 제작된 시스템은 아두이노 프로그램을 이용하여 제어되며, 레이저 변위센서를 통해 실시간 변화된 거리 측정이 가능하다. 기계자극 시스템을 이용하여 PDMS well plate 에 일정한 주기와 힘으로 인장응력을 인가하고 인장력에 따라 변화하는 심근세포의 수축특성 변화를 측정하였다.

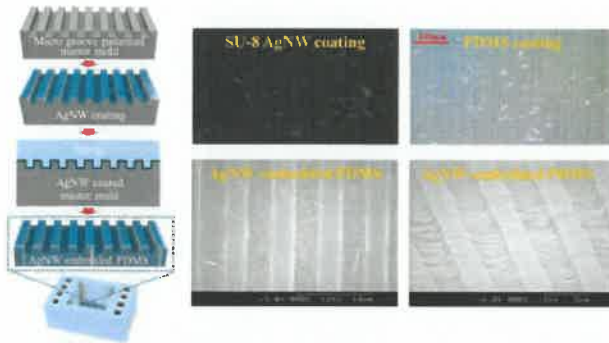


그림 2. AgNW-embedded PDMS 3 μ m groove

세포 배양 및 기계적 자극을 위한 functional well plate 는 사출 성형을 통해 제작된 Teflon mold 에 10:1 비율의 PDMS 를 경화시켜 제작한다. SU-8 mold 를 이용하여 심근세포가 배양될 PDMS 기판에 groove 구조체를 형성함으로써 배양되는 심근세포의 정렬을 유도하였다. 이후 plasma bonding 을 통하여 PDMS well plate 와 PDMS membrane 을 부착하였다. 그림 2 는 제작된 심근세포가 배양될 바닥 면 PDMS 에 groove 구조체 및 AgNW 함침 순서를 나타낸다. 3 μ m groove 구조체를 SU-8 2002 를 이용하여 제작하고 PDMS 를 casting 하여 제작하였고 AgNW 를 SU-8 groove mold 에 코팅하고 이후 PDMS 를 복제하였다. 복제 후 AgNW 는 PDMS groove 에 함침 된 형태를 지니며 SEM 이미지에서 확인 가능하다.

2.2 Biological maturation

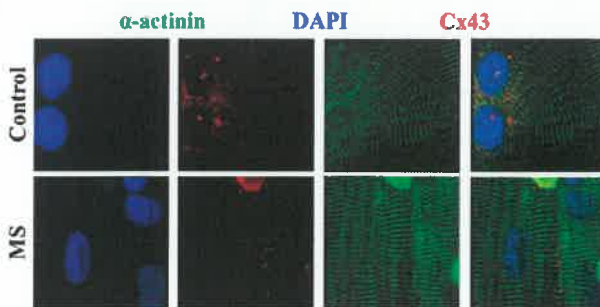


그림 3. 기계자극에 따른 심근세포의 염색 이미지

그림 3 은 flat PDMS 기판위에 배양된 심근세포의 기계자극에 따른 염색 이미지를 나타낸다. 기계자극에 따라 α -actinin 단백질은 수직방향으로 정렬하였고 DAPI 형상 역시 MS 방향에 수직으로 성장함을 알 수 있다. Sarcomere length 분석결과 기계자극에 의해 심근세포의 sarcomere length 는 대조군에 비해 0.03 μ m 증가하였다. 또한 기계자극 방향에 따른 sarcomere

정렬도를 분석결과 with MS 에서 자극 방향에 90 도로 정렬되는 세포가 35 %로 측정되었다. 기계자극에 의해 심근세포는 MS 수직 방향으로 정렬하여 성장한다. Groove 구조체는 MS 수직방향으로 제작하였으며 더 groove 에 의해 더 큰 sarcomere length 를 측정하였다. AgNW 유무에 따라 심근세포는 성숙하였으며 전도성 물질에 의한 성숙을 분석하기 위해 connexin43 intensity 를 측정하였다. 심근세포는 기계자극에 의해 gap junction 이 증가하고 성장단백질 발현양이 많아진다. 이에 따라 더 큰 수축특성 변화가 나타난다. NRVM 세포 대상으로 기계자극에 따라 Cx43 단백질 발현양은 약 3 배 이상 증가하였고 positive control 대비 intensity 는 작지만 매우 짧은 기간에서 높은 성장을 보였다.

3. 결론

심근세포의 기계적 자극을 위해 인장 시스템을 제작하였고 AgNW-embedded PDMS well plate 를 제작하여 구조적 자극, 전도성 소재 및 인장응력 등 복합 자극에 따른 심근세포 성숙도 분석을 진행하였다. 제작된 심근세포 기계자극 시스템은 스텝 모터, 리니어 스테이지, 레이저 변위센서 functional well plate 및 세포 배양을 위한 stage-top incubator 로 구성된다. Functional well plate 내부에 AgNW 함침 된 groove 구조체를 이용하여 심근세포의 성장 방향 정렬 및 성숙을 유도하였다. 아두이노 프로그램을 이용하여 전체 시스템을 제어하였고 심근세포에 10 %의 인장응력을 인가하였으며 NRVM 을 사용하여 자극의 유무에 따른 단백질 발현을 분석함으로써 제안된 기계자극 시스템의 사용 가능성을 검증하였다. 실험 결과 AgNW-embedded PDMS 에 10 %의 인장응력을 가한 세포는 대조군과 비교하여 sarcomere 길이는 최대 4.5 % 증가하였으며 Cx 43 intensity 는 약 3 배 이상 증가하였다. 이를 통해 세포 배양 및 기계적 자극이 용이한 기계자극 시스템은 세포 생물학 및 재생 의학 분야의 다양한 연구에 쉽게 적용될 수 있을 것으로 기대한다.

감사의글

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIT) (No. 2020R1A5A8018367 & 2022R1A6A3A01087316).

참고문헌

1. Laflamme MA, Murry CE. Heart regeneration. *Nature*. 2011, **473**, 326–335.
2. Reeve JL, Duffy AM, O'Brien T, Samali A. Don't lose heart—therapeutic value of apoptosis prevention in the treatment of cardiovascular disease. *J Cell Mol Med*. 2005, **9**, 609–622.
3. Hsieh PC, Segers VF, Davis ME, MacGillivray C, Gannon J, Molkentin JD. Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian cardiomyocytes after injury. *Nature Medicine*. 2007, **13**, 970–974.