

이동형 암세포 형광분석기

과제번호 | 기업-19-03

- 팀 명 : 암세포도생명이조
- 학부(과)명 : 메디컬IT융합공학과
- 참여학생 : 남준영, 이창희, 백동재, 이주형
- 지도교수 : 최세운

작품개요

- 목적** : 기존의 유동 세포 분석 법(Flow cytometry, FCM)은 고가이며 다루는 데 있어 전문가가 필요하다. 그뿐만 아니라, 다양한 광원에 따른 필터의 선택에 추가적인 비용이 들어가 사용자가 형광 약물을 선택하는 데 있어 제한적이라는 문제점이 있다.
 형광 처리된 세포에 빛을 공급하면 빛이 산란 되는데, 이때 산란 되는 빛은 전방에 산란 되는 빛(Forward Scatter, FSC)과 수직으로 산란 되는 빛(Side Scatter, SSC) 두 가지 종류가 있다. 이를 측정하여 세포 수나 밀도 같은 변수와의 관계를 실험을 통해 살펴보고, 상업적으로 흔히 구할 수 있는 발광 다이오드, 마이크로컨트롤러, 포토다이오드 등의 부품을 이용하여 저가로 사용자가 원하고자 하는 세포의 형광을 측정할 수 있는 기기를 개발하고자 한다.
- 작품설명** : 3D 프린터를 활용한 이동성 세포 분석기를 구성하기 위해 먼저, LED에 정 전류를 흘려주며 최대 전력을 안정적으로 소비할 수 있도록 커패시터, 저항, 트랜지스터 등을 사용하여 각 소자의 성능에 적합한 회로를 설계한다.
 두 번째로, 모듈형 설계로 지향함으로 3D 프린터를 활용하여 LED, 큐벳, 형광 필터, 광량의 조절을 위해 LED의 거리를 조절할 수 있는 슬롯이 있고, filter와 PD도 사용 목적에 따라 탈부착이 용이하도록 한다. 수직 산란과 전방산란을 측정할 공간을 정확한 측정을 위해 Photo Diode(PD)와 filter의 거리를 가깝게 설계한다. 이때 강도, 내구성이 강하고 범용성이 발열에 의한 휨이나 각종 손상 등을 방지할 수 있는 검은색 ABS 필라멘트를 사용한다.
 마지막으로, 가변저항을 설치하여 PD에 Scattering 되는 Voltage를 증폭할 수 있게 하고 text LCD display를 활용하여 Voltage를 측정한다. 3D Printer 설계로 LED로부터 방출되는 빛을 집광시키고 빛의 직진성에 불필요한 빛을 차단할 수 있는 환경을 조성한다.
 실험에 사용될 3~4일 동안 증식된 자궁경부암세포(HELA CELL)를 PBS를 사용하여 세포 세척작업을 하고 Trypsin EDTA를 사용하여 세포 배양 플라스크로부터 자궁경부암세포를 분리시킨다. 원심분리기를 통하여 Trypsin EDTA와 세포를 다시한번 나누어 준 뒤 Trypsin EDTA를 빼준 후 세포만 남긴 상태에서 PBS를 사용하여 피펫팅 작업을 하고 trypan blue와 일정량을 섞어준 뒤 hemocytometer를 통하여 m당 어느 정도의 세포가 있는지 확인하기 위해 셀 카운팅(cell counting)을 해준다. 셀카운팅이 끝난 세포들을 형광염료 Rhodamine 6G으로 염색한 세포와 형광염색을 하지 않은 세포로 나누었다.
 측정에 사용된 filter, Photo Diode(PD)는 3D 프린터로 제작한 필터 홀더에 장착하고 LED와 필터 홀더 3D 프린터로 제작한 메인 프레임에 장착한다. 그리고 메인 모듈과 설계된 회로, 전원 그리고 led를 연결하고 포토다이오드와 입력받은 아날로그 신호를 처리하여 Arduino ADK와 연결하면 결과값이 시리얼 포트에 디스플레이 되고 회로 설치된 text LCD에는 전압의 세기가 디스플레이 되게 된다. 산란 측정의 민감도가 너무 낮거나 값이 이상할 경우 3D Printer를 활용하여 메인 프레임의 설계를 변경하거나, 가변저항을 통해 scattering 되는 빛의 전압 값을 조절해 다시 측정할 수 있도록 개발한다.

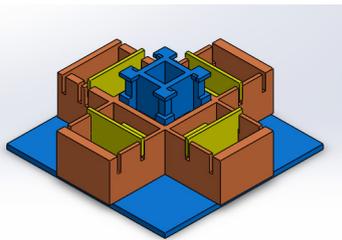


그림1 (각 부품들이 결합된 메인 프레임)

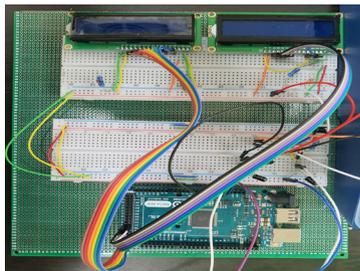


그림2 (아두이노 모듈을 구성하는 각 부품)

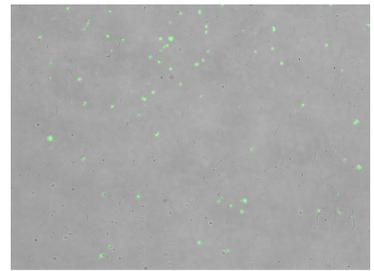


그림3 (Rhodamine 6G를 이용한 세포 형광 사진)

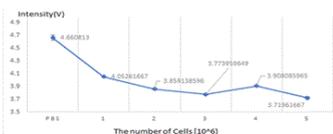


그림4 Control 형광 처리 하지 않은 FSC 그래프

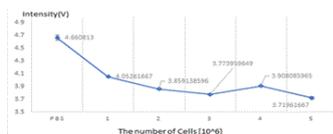


그림5 FI 형광 처리 한 FSC 그래프

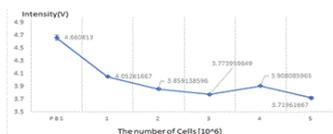


그림6 Control 형광 처리 하지 않은 SSC 그래프

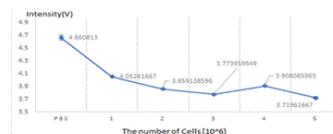


그림7 FI 형광 처리 한 SSC 그래프

- 기대효과** : 3D 프린터를 활용한 이동성 세포 분석기를 통한 기대효과는 기존 유동 세포 측정기의 가격과 이동성을 개선하여 질환 세포의 진단에 활용 가능하다는 점이다. 구체적으로 가격 부분은 상용화된 마이크로컨트롤러와 LED를 활용하여 기존의 유동 세포 측정기와 정확성에서 많은 차이를 내지 않고 실험을 진행할 수 있기 때문에 가격을 절대적으로 절감할 수 있고 이동성 부분은 휴대 및 이동이 가능 했을 뿐만 아니라 광원, 형광필터, 광검출기의 교체가 쉬워졌다. 이로 인하여 다양한 형광 염료를 사용할 수 있다.