

# 펄토초 레이저를 이용한 초정밀 인공지지체 제작과 선 폭과 선 간격에 따른 셀 증식 평가

## A study on the effect of scaffold patterns on the cell proliferation using femto second laser

\* 손유선<sup>1</sup>, 김종영<sup>2</sup>, # 조동우<sup>1,3</sup>

\*Y. S. Sohn<sup>1</sup>, J. Y. Kim<sup>2</sup> and #D.-W. Cho(dwcho@Postech.ac.kr)<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>포항공과대학교 기계공학과, <sup>2</sup>안동대학교 기계공학과, <sup>3</sup>포항공과대학교 융합생명공학과

Key words : Femto second laser, Nano stereolithography, MC3T3-E1 cell proliferation, Line pitch, Line width

### 1. 서론

현재 인체의 결손된 조직을 재생하기 위하여 인공지지체에 세포를 배양하여 이식하는 기술에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 조직공학 분야에서 나노, 마이크로 공정 기술의 효용성이 입증됨에 따라 인공지지체를 SFF 방식으로 정밀하게 제작하는 연구가 급속히 진행되었다. 또한 배양된 세포들은 인공지지체의 표면에 접촉하여 자라게 되는데, 어떠한 형태의 표면을 제작하느냐에 따라 세포의 반응이 달라진다는 연구결과가 보고되고 있다. 이에 따라, 원하는 세포의 거동을 이끌어내기 위하여, 인공지지체에 다양한 패터닝을 시도하는 연구들이 계속해서 이뤄져 오고 있다. [1,2]

마이크로미터에서 나노미터 단위로 표면의 패턴을 구현하기 위하여 많은 기술들이 이용되고 있다. 그 중 펄토초 레이저를 통한 광경화를 이용한 기술은 두 개의 광자를 동시에 흡수하는 이광자 흡수원리에 의하여 더욱 정밀한 구조물을 제작할 수 있다.

본 연구에서는, 펄토초 레이저를 이용하여 정밀한 구조물을 제작할 수 있는 광조형 시스템을 개발하였다. 개발된 시스템으로 패턴의 선 폭과 선 간격을 달리하여 인공지지체를 제작하고, 이에 따른 세포 증식의 변화 양상을 살펴보았다.

### 2. 펄토초 레이저를 이용한 광조형 시스템

펄토초 레이저는 비선형 광학 현상인 이광자 흡수를 이용하므로 정밀한 3차원 구조의 제작을 가능하게 한다[3]. 펄토초 레이저를 이용한 광조형 시스템의 개략도는 Fig. 1과 같으며, Table 1은 시스템의 사양을 보여준다. 레이저에서 나온 빛은 ND

filter를 통해 세기가 조절되고, planar-convex 렌즈를 통과하면서 크기가 조절된다. 이 빛은 대물렌즈를 통하여 stage 위에 경화시키고자 하는 광경화성 수지 내에 초점으로 조사된다. 빛이 조사됨에 따라 stage 위에 놓인 광경화성 수지가 monomer 상태에서 polymer 상태로 경화됨으로써 구조물을 제작할 수 있다.

### 3. 실험 방법 및 결과

#### 3.1 초정밀 인공지지체의 제작

광경화 수지 ORMOCER®s (microresist, Germany)을 이용하여 Fig. 2와 같이 3mm x 3mm x 0.5mm 크기의 격자구조 인공지지체를 제작하였다. 패터닝 조건은 Table 2와 같고, 총 12가지의 다른 패턴을 갖는 인공지지체를 각각 3개씩 제작하

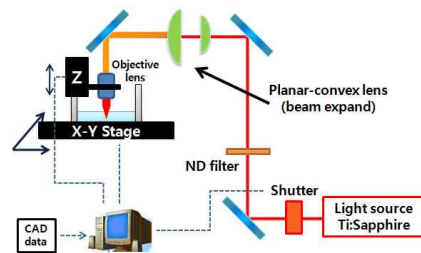


Fig. 1 Schematic diagram of the system

Table 1 Specification of the system

	Source	Ti: Sapphire
Laser	Wavelength	800nm
	Pulse width	<100fs
	Numerical aperture	0.70
Objective lens	Magnification	50X
	Resolution	<10nm
X-Y-Z stage	Moving range	±25mm

였다. 또한 패턴이 존재하지 않는 구조물을 제작하여 다른 인공지지체와 비교하였다.

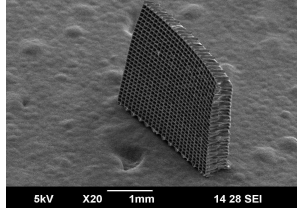


Fig. 2 SEM image of structure fabricated by nano stereolithography system

Table 2 Condition of experiments

Variables	Level
Line width	1 $\mu$ m, 5 $\mu$ m, 10 $\mu$ m
Line pitch	15 $\mu$ m, 30 $\mu$ m, 50 $\mu$ m, 80 $\mu$ m

### 3.2 세포의 배양 및 증식 실험

Pre-osteoblast(MC3T3-E1) 세포를 10% fetal bovine serum이 첨가된  $\alpha$ -MEM에 배양시켰다. 배양된 세포를  $1 \times 10^5$  cells/scaffold로 파종하여 증식을 유도하였다. 세포가 파종된 인공지지체를 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 인큐베이터에서 일주일간 배양하였고, 1,3,5,7일에 세포의 증식을 확인하였다.

### 3.3 선 폭과 선 두께에 따른 증식 평가

각 조건에 따른 패턴이 세포 증식에 어떻게 영향을 미치는지 알아보기 위해 CCK-8 분석을 이용하였다. Fig. 3은 7일째 측정된 흡광도를 선 폭과 선 간격에 따라서 그래프로 나타낸 것이다. 선 폭이 1 $\mu$ m이고 선 간격이 50 $\mu$ m로 패턴화 된 인공지지체에서 세포의 증식이 가장 활발히 일어난 것을 확인하였다. 선 폭보다는 선 간격이 세포의 증식에 많은 영향을 주는 것을 확인할 수 있다. 또한 선 폭이 5 $\mu$ m일 때, 일주일 간의 세포 증식 양상을

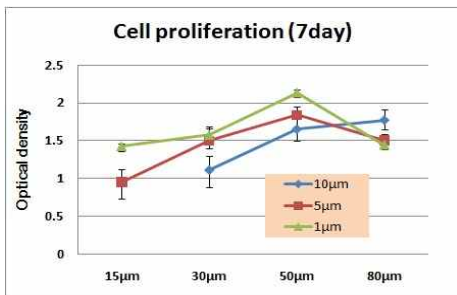


Fig. 3 The results of cell proliferation test in 7 days after cell seeding

살펴보았다. Fig. 4에서 볼 수 있듯이 패턴이 있는 인공지지체가 없는 구조물에 비해서 월등히 세포 증식이 뛰어남을 확인할 수 있었다. 또한 선 간격이 너무 작은 경우에는 세포의 증식이 잘 일어나지 않음을 확인할 수 있었다.

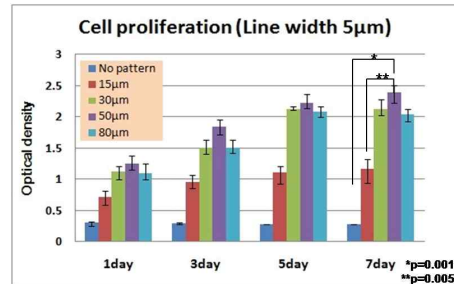


Fig. 4 The results of cell proliferation test with 5  $\mu$ m line width during 1 week

## 4. 결론

본 연구에서는 마이크로미터 이하의 정밀도를 갖는 인공지지체를 제작할 수 있는 펨토초 레이저 광경화 시스템을 개발하였다. 이를 이용하여 선 폭과 선 간격에 따른 인공지지체의 세포 증식 평가를 수행하였다. 인공지지체의 선 간격에 따라 세포의 증식 양상이 달라짐을 확인하였고, 세포의 증식에 효과적인 선 폭과 선 간격을 찾을 수 있었다. 이러한 연구는 골조직 재생을 위한 인공지지체 제작에 적용될 수 있을 것이다.

## 후기

본 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 2010-0018294). 또한 본 연구는 한국과학재단을 통해 교육과학기술부의 WCU 사업(WCU, World Class University)으로부터 지원받아 수행되었습니다 (R31-2008-000-10105-0).

## 참고문헌

1. Thomas W., Gerhard H., Ronald S. and Klaus L. "Two-Photon polymerization for microfabrication of three-dimensional scaffolds for tissue engineering application," Eng. Life Sci., 9, 384-390, 2009.
2. Ana I., George A., John D., Paul J., Paul F. and Christopher J. "The effect of environmental factors on the response of human corneal epithelial cells to nanoscale substrate topography," Biomaterials, 27, 3945-3954, 2006.
3. 손용, 임태우, 정유진, 양동열, Prabhakaran P., 이광섭 "펨토초 레이저를 이용한 3 차원 미세 급속 구조물 제작에 관한 연구", 한국정밀공학회, 605-606, 2009.