

나노사출성형을 이용한 세포배양용기의 제작 Fabrication of cell culture dish having nanostructured surface by nano-injection molding

*차경제, #나문희, #김동성

*K. J. Cha, M.-H. Na, #D. S. Kim(smkds@postech.ac.kr)

포항공과대학교 기계공학과

Key words : Nano-injection molding, Nanostructured surface, cell-surface interaction study

1. 서론

세포의 다양한 거동들은 마이크로 환경(Microenvironment)에 의해 조절된다. 마이크로 환경은 크게 용해성 인자, 주변 세포, 그리고 세포외기질구조(ECM)와의 상호작용들로 나눌 수 있다 [1]. 최근에는 세포외기질구조를 모사한 나노구조 표면을 이용하여 줄기세포의 증식과 분화를 향상시키고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다 [2]. 이러한 연구를 위해서 나노구조 표면을 제작하기 위한 다양한 제작 방법 및 기술들이 고안되었다 [3]. 하지만 보다 체계적인 세포 연구를 위해서는 원활한 나노구조 표면의 공급이 요구되고 있으며, 해당 연구의 결과를 상용화하기 위해서는 나노구조 표면의 대량생산을 위한 기술 개발이 필수적이다. 이러한 측면에서 나노구조 표면을 대량생산할 수 있는 사출성형 기반기술에 대한 연구가 진행되고 있다.

본 연구에서는 나노사출성형 공정을 이용하여 기존 세포배양용기의 재료로 사용되는 PS(polystyrene) 수지를 사용하여 나노포어(nanopore) 구조를 갖는 세포배양용기를 제작하였다. 나노사출성형을 위해 니켈 나노금형 인서트를 제작하였고, 제작된 나노금형 인서트를 이용하여 나노사출성형 공정의 최적화를 위한 연구를 수행하였다. 나노사출성형으로 제작된 나노구조 표면을 포함하는 세포배양용기를 통해 세포거동 연구를 수행하였다.

2. 나노금형 인서트 제작

나노구조 표면을 갖는 세포배양용기를 나노사출성형으로 제작하기 위해서는 나노금형 인서트가 필요하다. 본 연구에서는 Fig. 1과 같이 나노금형 인서트를 제작하기 위해서 2단계 AAO(two-step anodic aluminum oxide) 공정을 이용하여 나노포어

형상의 나노템플릿을 제작하고, 이를 이용하여 니켈 전주도금공정을 진행하였다. 나노사출성형 공정을 위해 후 가공하여 최종적으로 20 × 20 mm의 크기와 1 mm 두께를 가지는 나노필라(nanopillar) 형상의 니켈 나노금형 인서트를 제작하였다. Fig. 2는 제작된 니켈 나노금형 인서트 FE-SEM(Field Emission Scanning Electron Microscopy) 사진이며, 나노필라 형상은 200 nm의 지름과 500 nm의 높이로 제작됨을 확인하였다.

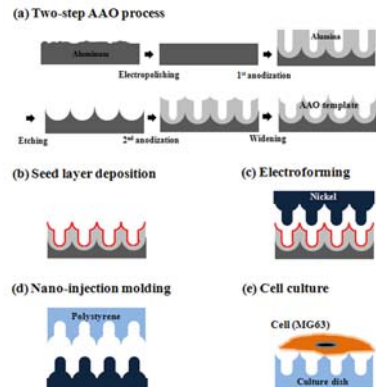


Fig. 1 Schematic diagram of fabrication method of PS cell culture dish having nanostructured surface.

3. 나노사출성형 공정

앞서 제작된 니켈 나노금형 인서트와 사출 성형기(SUMITOMO 50D)를 이용하여 나노포어 구조를 갖는 PS 재질의 세포배양용기를 위한 나노사출성형 공정을 수행하였다. Fig. 2는 본 연구에 이용된 금형 베이스와 니켈 나노금형 인서트의 SEM 사진을 보여준다. Table. 1은 PS 재질의 평평한 표면과 나노구조 표면을 갖는 세포배양용기를 성형하기 위한 최적화된 사출성형 조건이다. 나노구조 표면의 성형성을 확보하기 위해 수지온도(220, 230,

240°C), 금형온도(60, 75, 90°C), 충전시간(0.5, 1, 1.5s), 보압(70, 90, 120MPa)을 변화시켜 최적화된 조건을 도출하였다. 그 결과 나노구조 표면의 성형성을 높이기 위해서는 유리 전이 온도(glass transition temperature)에 가까운 금형온도와 충분한 보압이 필요하였다. Fig. 3은 최적화된 조건에서 성형된 나노포어 구조를 포함하는 세포배양용기와 SEM 사진을 보여준다.

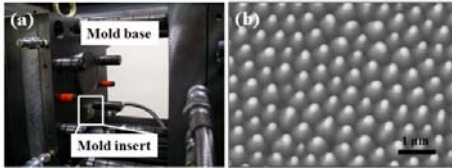


Fig. 2 (a) Mold base system and (b) SEM image of the nickel nano-mold insert.

Table 1 Processing conditions of nano-injection molding for cell culture dish having nanostructured surface

Processing parameter	Flat surface	Nano surface
Melting temperature (°C)	220	220
Filling time (s)	2	0.5
Mold temperature (°C)	60	90
Packing pressure (MPa)	55	120
Packing time (s)	1	1
Cooling times (s)	15	25

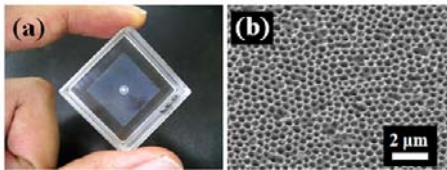


Fig. 3 (a) Photography and (b) SEM image of injection molded culture dish having nanostructured surface.

4. 세포실험

나노사출성형을 통해 제작된 나노포어 형상을 갖는 세포배양용기의 효과를 평가하기 위해서 세포 부착 및 세포 모양을 관찰하였다. 세포 부착을 향상 시키기 위해 O₂ plasma 처리를 한 후, 골세포의 한 종류인 MG63을 시딩(seeding) 하여 배양 7시간 후의 세포 부착 및 세포 모양을 관찰하였다. Fig 4.에서 보는 바와 같이 나노포어 형상을 갖는 세포배양용기에서 세포 부착 및 모양이 달라짐을 확인할 수 있었으며 이는 세포 이동과 증식에 영향을 줄 것으로 예상된다.

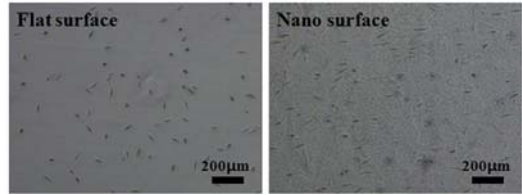


Fig. 4 Cell attachment and morphology on the flat and nanopore dish

5. 결론

본 연구에서는 나노포어 형상을 갖는 세포배양용기를 제작하기 위한 나노사출성형 공정에 관한 연구를 수행하였다. 이를 위해 AAO 공정과 니켈 전주도금 공정을 이용하여 경제적으로 니켈 나노 금형 인서트를 제작할 수 있었다. 기존 세포배양용기와 같은 재질인 PS를 사용하여 나노구조 표면의 성형성을 위한 성형공정 조건에 대한 연구를 수행한 결과 금형온도와 보압이 주요한 것을 확인하였다. 실제 제작된 세포배양용기를 이용하여 세포실험을 진행하여 나노구조 표면에 의해 세포 부착 및 세포 모양이 달라지는 것을 관찰할 수 있었다.

후기

이 논문은 2011년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (2011-0029454).

참고문헌

1. Kim, D.-H., Lee, H., Lee, Nam, J.-M., and Levchenko, A., "Biomimetic Nanopatterns as Enabling Tools for Analysis and Control of Live Cells", *Advanced Materials*, **22**, 4551-, 2010.
2. Teo, B. K. K., Ankam, S., and Yim, E. K. F., "Stem Cell Interaction with Topography, Biomaterials as Stem Cell Niche", Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2010.
3. Zhang, L. Z. and Webster, T. J., "Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration" *Nanotoday*, **4**, 66-80, 2009.