

# 카본재질의 세포 배양 특성

남효근\* · 오홍기\* · 박혜빈\*\* · 김창만\*\*\* · 지광환\*\*\* · 송광섭\*  
\*금오공과대학교 메디컬 IT융합공학과  
\*\*금오공과대학교 응용화학과  
\*\*\*구미전자정보 기술원 전자의료기기 사업단

## Characteristics of cell culture on the carbon based materials

Hyo-geun Nam\* · Hong-gi Oh\* · Hye-bin Park\*\* · Chang-man Kim\*\*\* · Kwang-hwan Jhee\*\* ·  
Kwang-soup Song\*

\*Department of Medical IT Convergence Engineering, Kumoh National Institute of Technology

\*\*Department of Applied Chemistry, Kumoh National Institute of Technology

\*\*\*Gumi Electronics & Information Technology Research Institute, Biomedical IT Convergence Center

E-mail : kssong10@kumoh.ac.kr

## 요 약

고감도 바이오센서를 제작하기 위해서는 높은 생체적합성 및 물리적/화학적 안정성을 가진 재질이 필요하며 다양한 재질들이 바이오산업에 응용 가능 여부를 평가 받고 있다. 근래, 카본재질의 다이아몬드 및 그래핀 박막은 많은 주목을 받고 있으며 그 가능성이 부분적으로 평가되고 있다. 다이아몬드는 넓은 전위창(3.0~3.5 V), 낮은 누설전류, 물리/화학적 안정성과 같은 전기화학적이고 생물학적 응용의 장점이 있으며, 그래핀 또한 물리/화학적 안정성과 전도성이 뛰어난 장점을 가지고 있다. 본 논문에서는 나노결정 다이아몬드, 마이크로결정 다이아몬드, 그래핀 및 세포배양판 표면에 사람의 신경세포(SH-SY5Y)를 배양하고 세포독성시험(MTT assay)을 이용하여 재질에 따른 배양 특성을 비교 평가하였다. 그 결과 기존 사용되고 있는 세포배양판과 카본재질은 세포 배양 특성이 유사하였다. 우리는 본 연구결과를 바탕으로 카본재질이 향후 바이오센서와 같은 바이오산업에 응용될 것으로 예상된다.

## ABSTRACT

The material with superior biocompatibility and physical-chemical stability is required to fabricate high sensitive biosensors. Many kinds of biomaterials have been evaluated to apply for bioindustry. Recently, carbon based diamond and graphene thin films have been focal pointed as bio applications and their possibility is partially evaluated. Diamond thin film has many advantages for electrochemical and biological applications, such as wide potential window (3.0~3.5V), low background current and chemical-physical stability. And graphene film has many advantages as biomaterial, chemical-physical stability and conductivity. In this work, we have cultured human nerve cell (SH-SY5Y) on the nanocrystalline diamond, microcrystalline diamond, graphene film and cell culture dish. We use MTT assay to evaluate the characteristics of cell culture on the substrates. As a result, nerve cell is well cultured on the carbon based diamond and graphene films as similar as cell culture dish. We expect that carbon materials have been applied for bioindustry such as biosensors.

## 키워드

카본, 그래핀, 다이아몬드, 생체적합성, 세포 배양

## keyword

carbon, graphene, diamond, biocompatibility, cell culture

### I. 소개

근래 질병의 조기 진단이 중요시되고 있으며 질병의 조기 진단을 위해서는 질병을 검출할 수 있는 고감도 바이오센서가 필요하다. 고감도 바이오센서의 기초가 되는 재질은 물리적/화학적 안정성과 생체적합성을 필요로 한다. 여기에 부합하는 재질로는 카본으로 이루어진 다이아몬드와 그래핀이 있으며 많은 연구자들에게 각광을 받고 있다. 다이아몬드는 안정된 구조를 가지고 있으며 생체적합성과 열전도율, 내구성이 뛰어나고 열팽창이 낮아 물리/화학적 안정성을 가지고 있어 전기화학적, 생물학적 응용의 장점이 있다[1]. 또한 원자 한 개 두께인 그래핀은 뛰어난 전기적특성과 열전도도를 가지며 기계적으로 단단하다는 장점을 가지고 있다.

본 실험에서는 세포배양판과 나노결정 다이아몬드, 마이크로결정 다이아몬드, 그래핀 표면에 동일한 조건 하에 사람의 신경세포(SH-SY5Y)를 배양하였고 각 샘플의 세포적합성을 평가하기 위하여 세포독성 시험(MTT assay)을 이용하여 세포 배양에 특성을 비교·측정했다.

### II. 실험

그래핀의 성장에서부터 전사는 크게 세가지의 과정을 거친다. 첫번째로 먼저 석영관에 구리호일을 넣고 석영 챔버내부에 90 mtorr 압력으로 수소( $H_2$ ) 기체를 8 sccm의 유량으로 유입하면서 1000°C의 열을 가한다. 그 후 메탄( $CH_4$ )과 수소( $H_2$ ) 혼합기체를 30분간 460 mtorr 압력에서 24 sccm과 8 sccm 유량으로 유입 후에, 샘플을 수소기체 90 mtorr에서 급속 냉각을 시키면 그래핀이 형성이 된다[2]. 그래핀이 형성된 구리호일에 온도 접착 테이프를 이용하여 롤링 방식으로 폴리머 물질을 접착한다. 두번째로 APS(ammonium persulfate)용액을 사용하여 구리호일 에칭(etching)을 하고 마지막으로 폴리머(polymer) 재질에 접착된 그래핀을 전사할 기판에 롤링 방식을 이용하여 전사한다.

다이아몬드는 핫필라멘트 화학증착법(HF-CVD) 방식으로 증착을 하였다. 마이크로다이아몬드의 증착은 우선 기판을 초음파진동과 0.5  $\mu m$  크기의 다이아몬드 가루를 이용하여 미리 처리한다. 그 후 60 torr의 기압에 메탄과 수소 기체를 3%의 비율로 주입한다. 증착시킬 때의 기판의 온도는 900°C로 고정한다. 나노다이아몬드는 마이크로 다이아몬드와 같은 조건이지만 메탄과 수소 기체를 주입할 때 질소( $N_2$ ) 기체를 0.1의 비율로 주입한다[3].

다이아몬드와 그래핀 표면을 측정하기 위하여 전계방출 주사전자현미경(FE-SEM, JEOL, JSM 6701 F)을 이용하여 가속전압 15 kV, 작동거리 7.9 mm의 조건에서 측정하였다.

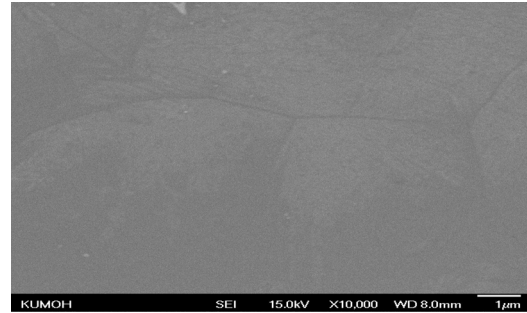


그림 1. 전계방출 주사전자현미경을 이용하여 측정한 그래핀 표면이미지

Fig 1. Graphene surface image measured by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM)

그림 1은 전사된 그래핀을 주사전자현미경을 이용하여 5,000배를 확대하여 측정하였다. 짙은색으로 보이는 부분은 그래핀 필름이 접혀진 부분이고, 옅은색으로 보이는 부분들은 갈라진 부분으로 이것은 롤링 방식을 이용해 전사를 할때 생기는 특성으로 알려져 있다. 나머지 대부분의 넓은 영역에 그래핀이 고르게 분포되어있는 것을 전계방출 주사전자현미경 측정 이미지를 통해서 알 수 있다.



그림 2. 전계방출 주사전자현미경을 이용하여 측정한 마이크로다이아몬드 형태 이미지

Fig 2. The morphology of microcrystalline-diamond measured by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM)

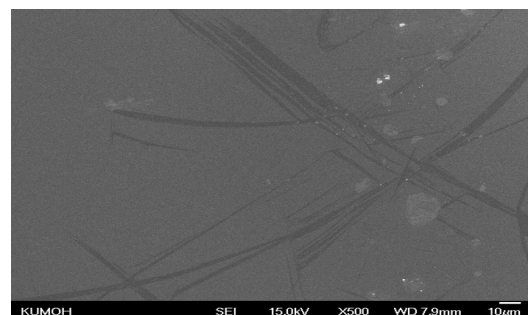


그림 3. 주사전자현미경을 이용하여 측정한 나노다이아몬드 형태 이미지

Fig 3. The morphology of nanocrystalline-diamond measured by field emission scanning electron microscopy (FE-SEM)

그림 2와 그림 3은 각각 증착된 다이아몬드를 주사전자현미경을 이용하여 500배의 배율로 측정된 것이다. 그림 2의 마이크로다이아몬드는 8-10  $\mu\text{m}$ 의 그레인을 측정할 수 있었고 그림 3의 나노다이아몬드는 30-50 nm의 그레인을 측정할 수 있었다. 나노다이아몬드와 마이크로다이아몬드는 모두 특정 연마공정(diamond wheel)을 통하여 표면 연마한 것이며 표면의 거칠기(roughness)는 1.2-1.4 nm로 유사하게 측정되었다. 그리고 그림2와 3 모두 연마 도중 발생한 긁힘(scratch)을 관측되었다.

그라핀, 마이크로다이아몬드, 나노다이아몬드 샘플에 사람의 신경세포(SH-SY5Y)를 배양하였고 세포독성실험을 하여 샘플의 생체적합성을 평가하였다. 세포배양은 48well의 세포배양판에 각각의 샘플을 넣고 50,000 cell/ $\text{cm}^2$ 의 세포와 350  $\mu\text{l}$ 의 배지(DMEM용액 89%, FBS용액 10%, 페니실린 1%)를 넣고 72시간동안 배양하였다. 72시간이 지난 후 세포독성실험(MTT assays)을 하기 위하여 다른 48well의 세포배양판에 샘플을 옮긴 후, 배지를 제거하고 PBS 용액(1 ml에 5 mg의 MTT용액)을 넣은 후 다시 4시간동안 배양을 하였다. 4시간 배양 후 PBS용액을 제거하고 다이메틸설폭사이드(DMSO)를 200  $\mu\text{l}$ 를 이용하여 포르마잔을 녹이면 세포의 미토콘드리아의 활성효소와 반응해서 보라색이 형성된다. 이 포르마잔을 엘리사 리더기를 이용해서 540 nm의 흡광도에서 측정한다. 세포 독성 실험 결과 세포배양판을 기준으로 보았을 때 나노다이아몬드가 93.99%, 그라핀이 92.58%, 마이크로다이아몬드가 85.65%,로 측정되었다.

### III. 결 과

카본재질의 기관들은 폴리다이신(poly-D lysine) 결합이 되어있는 세포배양판과 비교하였을 때 신경세포 배양 특성이 유사하게 나타났다. 카본 샘플들이 전도도와 안정성 등 여러 가지 장점을 미루어 보았을 때 다양한 응용이 가능 할 것으로 예상된다.

각 카본 샘플 모두 세포배양에 우수한 특성을 보였기에 차후 본 연구결과를 바탕으로 바이오센서 관련 연구를 수행할 예정이다.

### 참고문헌

- [1] K. S. Song, Y. Nakamura, Y. Sasaki, M. Degawa, J.H. Yang, H. Kawarada, pH-sensitive diamond field-effect transistors (FETs) with directly aminated channel surface, *Analytica Chimica Acta*, 5, 573-574, 2006.
- [2] S. K. Bae, H. K. Kim, Y. B. Lee, J. S. Park, Y. Zheng, J. Balakrishnan, T. Lei, H. R. Kim, Y. I. Song, Y. J. Kim, K. S. Kim, B. Ozyilmaz, J. H. Ahn, B. H. Hong, S. Iijima, Roll-to-roll production of 30-inch graphene films for transparent electrodes, *nature nanotechnology*, 5, 574-578, 2010.
- [3] K. W. Chae, J. K. Park, W. S. Lee, Adhesion strength of diamond films on heat-treated WC-Co cutting tools, *Diamond & Related Materials*, 16, 1992-1995, 2007.