

## 원자력 현미경을 이용한 Type I Collagen Fibrils 박막의 기계적 특성 연구

Nano-mechanical Characterization of Thin Film of Type I Collagen Fibrils  
by Atomic Force Microscopy정구현<sup>a\*</sup><sup>a\*</sup>울산대학교 기계공학부(E-mail: [khchung@ulsan.ac.kr](mailto:khchung@ulsan.ac.kr))

**초 록:** The mechanical cues that adherent cells derive from the extracellular matrix (ECM) can effect dramatic changes in cell migration, proliferation, and differentiation. Using a thin film of Type I collagen fibrils comprised of 100 nm to 200 nm collagen fibrils overlaying a bed of smaller fibrils, changes in cellular response to systematically controlled changes in mechanical properties of collagen was investigated. Further, an experimental and modeling approaches to calculate the elastic modulus of individual collagen fibrils, and thereby the effective stiffness of the entire collagen thin film matrix, from atomic force microscopy force spectroscopy data was performed. These results demonstrate an approach to analysis of fundamental properties of thin, heterogeneous, organic films, and add further insights into the mechanical properties of collagen fibrils that are of relevance to cell response to the ECM.

## 1. 서론

Extracellular matrix (ECM)의 기계적 특성은 cell의 거동에 큰 영향을 미치며, 이러한 거동을 이해하기 위해서는 ECM에서 가장 많은 부분을 차지하는 collagen의 기계적 특성을 이해하는 것이 요구된다. 최근에는 박막 형태의 collagen fibrils를 이용하여 cell과의 운동을 실시간으로 관찰할 수 있을 뿐만 아니라, 다양한 현미경 및 분광기 분석이 가능한 것으로 제시됨에 따라, 이를 이용하여 cell과 collagen fibrils의 상호작용을 이해하기 위한 다양한 연구가 수행되고 있다 [1-4]. 본 연구에서는 atomic force microscopy (AFM)을 이용하여 다양하게 처리된 Type I collagen fibrils의 표면 topography, 기계적 물성(예: elastic modulus), 운동성(mobility) 등을 이해하기 위한 연구를 수행하였다.

## 2. 실험 방법 및 결과

본 연구에서는, 순수 collagen으로 제조된 fibril 박막, dehydration 및 fibronectin으로 처리한 박막들의 표면 및 기계적 물성을 AFM을 이용하여 분석하고, cell의 운동과 함께 연관 지어 고찰하였다. 약 40 nm의 끝단 반경을 가지는 AFM probe를 이용하여 각 처리에 따른 topography 변화를 관찰하였을 뿐만 아니라, 약 30  $\mu\text{m}$ 의 반경을 가지는 colloidal probe를 이용하여 force spectroscopy, friction loop 분석을 함께 수행함으로써, 기계적 물성 및 운동 특성을 서로 다른 스케일에서 비교/분석 할 수 있었다. 정량적 분석을 위하여 AFM probe는 수평 및 수직 방향 힘 교정 (calibration) 후 이용하였다.

실험 결과, cell은 dehydration 및 fibronectin 처리에 따라 다르게 거동하는 것으로 나타났는데, 특히, cell이 박막 위에서 차지하고 있는 영역을 비교함으로써, 그 영향을 효과적으로 고찰할 수 있었다. AFM을 이용하여 topography를 비교/분석한 결과, collagen 박막은 매우 작은 fibril로 형성된 층과 100~200 nm 정도의 직경을 가지는 큰 fibril들로 이루어진 층으로 구성되어 있음을 알 수 있었다. Dehydration에 따라, 작은 fibril들로 구성된 층의 두께 및 큰 fibril들의 직경은 감소하는 것으로 나타났으나, fibronectin 처리에 따른 topography의 변화는 크지 않은 것으로 관찰되지 않았다. Force spectroscopy 분석을 통하여, dehydration 및 fibronectin 처리에 따라 박막 전체의 유효 탄성계수가 증가하는 것으로 나타났으며, 특히, dehydration은 각 fibrils의 intrinsic 탄성계수에도 크게 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 기계적 성질의 변화는, fibril들 사이의 adhesion, crosslinking 등에 의한 영향과 더불어 collagen fibrils의 운동성에 크게 영향을 미치는 것으로 나타났으며, 결과적으로 cell의 거동에 영향을 미침을 알 수 있었다. 또한, friction loop의 정량적 분석을 통하여 cell이 collagen fibril들과 상호 작용하는데 발생하는 힘을 정량적으로 이해할 수 있었다.

## 후기

이 논문은 2011년도 정부 (교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 2011-0014367).

## 참고문헌

1. J.T. Elliott, A. Tona, J.T. Woodward, P.L. Jones, and A.L. Plant, Langmuir, 19 (2003) 1506.
2. D. P. McDaniel, G. A. Shaw, J. T. Elliott, K. Bhadriraju, C. Meuse, K. -H. Chung, and A. L. Plant, Biophys. J., 92 (2007) 1759.
3. K.-H. Chung, K. Bhadriraju, T.A. Spurlin, R. Cook, and A. L. Plant, Langmuir, 26 (2010) 3629.
4. A. K. Chen, F. W. Delrio, A. W. Peterson, K. -H. Chung, K. Bhadriraju, and A. L. Plant, Biotech. Bioeng. (2013) In press.