

세포의 배양과 분석을 위한 나노 및 마이크로 기술 동향

Trends in Nano & Micro Technologies for Culture and Analyses of Cells

정 윤¹ · 이관희¹ · 최중훈² | Yoon Jeong¹, Kwan Hyi Lee¹, Jonghoon Choi²

¹Biomedical Research Institute, Korea Institute of Science and Technology(KIST),
Hwarangno 14-gil 5, Seongbuk-gu, Seoul 136-79, Korea

²Department of Bionano Engineering, Hanyang University,
55, Hanyangdaehak-ro, Sangnok-gu, Ansan-si, Gyeonggi-do 426-791, Korea
E-mail: jonghchoi@hanyang.ac.kr

1. 서론

1.1 세포 배양과 분석의 중요성

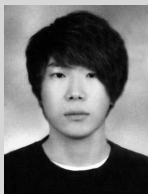
1.1.1 세포 배양과 분석의 목적

유기체의 기본 구조 및 활동 단위인 세포에 대한 접근을 통해서 우리는 생명 현상의 이해를 높일 수 있다. 이런 생명체의 기본 구조 단위인 세포들의 다양한 관찰 연구(배양, 분리, 분석)를 통함으로써 조직, 기관 등과 같은 macro 레벨의 생물학적 시스템에 대한 이해의 접근이 보다 용이 할 것이고, 의학연구, 기초연구, 유전공학 등의 다양한 분야에 있어 연구의 토대가 될 것이라 기대된다.

1.1.2 나노 및 마이크로 기술의 세포 분야 응용 기술 흐름

나노 및 마이크로 기술은 디자인, 합성, 특성분석, 재료와 디바이스 개발 및 응용분야를 포괄하는 광범위한 과학 분야이다. 물리적인 관점에서 바라본다면 scanning tunneling microscope(STM)과 같은 전자현미경 분석 장비들의 도움을 받아 이미 수 nm의 구조체까지 관찰이 가능한 단계까지 발전했다.¹ 잠재적인 나노 및 마이크로 기술의 응용분야 중 이번 리포트에서는 세포 배양과 분리, 분석에 관한 내용을 다루고자 한다. 더 세부적으로 이런 기술동향적인 흐름에 관하여 나노 및 마이크로 기술의 다양한 측면이 합쳐진 융합 기술 분야에 대해서

Author



정 윤

2014 고려대학교 의공학과 (학사 예정)
2012-현재 한국과학기술연구원 학연연구원



이관희

1996 연세대학교 금속공학 (학사)
1998 연세대학교 재료전기화학 (석사)
2010 Johns Hopkins Univ.
Nanomedicine (박사)
1998-2005 한국과학기술연구원 재료연구본부
연구원
2010-현재 한국과학기술연구원 의공학연구소
선임연구원



최중훈

2004 서울대학교 응용화학부 (학사)
2008 메릴랜드대학교 화학생물공학과 (박사)
2005-2009 미국 표준과학연구원 객원연구원
2007-2008 미국 FDA 객원연구원
2008-2009 미국 Johns Hopkins Univ. 박사후연구원
2009-2012 미국 MIT 화학공학과 박사후연구원
2012-2013 한국과학기술연구원 의공학연구소 선임연구원
2013-현재 한양대학교 생명나노공학과 조교수

언급하고자 한다. 세포 단위의 기본적인 나노 및 마이크로 구조체는 여러 내부 구성 물질과 함께 복잡한 구조를 이루고 있으나, 이들의 적절한 처리와 응용을 통해 *in vitro*, *in vivo* 상에서 세포들의 molecular manipulation에 활용되고 있다.

1.2 세포 배양 및 분석 기술의 현주소

1.2.1 세포 배양 원리

생물체의 조직이나 조직에서 분리된 세포들을 생물체 내의 환경과 유사한 배양시스템에서 유지시켜줌으로써 조직이나 세포의 원래 기능을 보유하도록 하는 것이 주된 세포 배양의 목적이자 원리이다. 20세기 중엽에 HeLa 세포를 비롯한 여러 세포주가 성립되기 전까지는 다양한 세포배양법은 연구자가 일반적으로 실험실에서 손쉽게 사용할 수 있는 방법이 되지 못했다.² 오늘 날에는 세포의 종류와 목적에 따른 다양한 배양법이 존재하는데, 크게 부착세포를 배양하는 조건과 부유세포를 배양하는 조건의 두 가지 방식으로 나뉜다. 두 가지 방식 모두 결국엔 *in vitro* 세포 조건의 cue를 모방하도록 matrix와 media를 적절히 조절하는가 등의 표준화된 조건을 찾는 것이 배양 방식의 주된 포인트이다.³ 세포배양법의 기술동향은 생물학 분야에 한정되어 사용되는 것이 아니라 여러 분야에 응용되어 사용되고 있으며, 예를 들어 새로운 생리 활성 물질의 발견 및 생산 기술⁴ 배양시스템의 개발,⁵ 천연 생리활성물질로부터 유도체의 제작,⁶ 치료용 세포의 생산⁷ 등에 이용되고 있으며, 그 응용 분야가 점점 더 다양해지고 있다.

1.2.2 세포 분석 방법의 종류와 한계

세포의 biochemical한 기능적인 측면을 찾는 연구의 의의는 세포 자체의 반응과 세포와 외부환경 간의 반응에 어떤 영향을 끼치는가의 질문들에 대해서 해답을 찾아봄으로써 생체의 기본 구성단위인 세포에 대한 다양한 부분들에 대해 이해도를 높이기 된다. 이를 이루기 위하여 cell proliferation, cell viability, cytotoxicity, apoptosis, gene analysis 등과 같은 인자들의 분석에 집중한다. 이들을 분석하는 기법 중 대표적인 두 가지는 microtiter plate assay,⁸ flow cytometry⁹ 등이 있다. 첫 번째 방법은 microplate 혹은 microwell plate 라고도 하고 multiple well 형태의 테스트 튜브이다. 두 번째 방법은 세포면역염색을 싱글 세포별로 형광 분석하는 방법으로 cell counting, sorting, biomarker detection 등에 광범위하게 사용되고 있다. 그러나 이런 방법은 세포 면역 염색을 위한 항체의 sensitivity와 selectivity 또한 중요한 factor로 작용하고, 세포를 희생해야 하므로 cellular kinetic 분석이 불가능하다는 점에서 한계를 가지고 있다. 여러 extracellular matrix의 조건과 pathological 세포 기능에 관여하는 중요한 부분 등이 아직 명확히 그 역할이 제대로 밝혀지지 않았다는 부분에서 cellular micro- and nano-environment 상에서

internal and external 자극에 따른 세포의 반응에 관한 연구도 중요한 관심 분야가 될 것이다.

1.3 새로운 기술들의 대두

기존 기술들의 한계점을 극복하기 위한 세포 응용 기술에 대해서 크게 두 가지 방식으로 새로운 접근이 필요하다. 먼저 유전적 variation이나 세포의 subpopulation이 질병의 원인이 된다고 가정하여 각각 발현 양상을 구별할 수 있는 단일 세포 분석 연구가 필요하다. 또한 조직 내 분화 상태에서 세포들이 유연한 적응성을 가지고 있다는 사실에 근거해 세포 population 단위의 분석방법이 필요하게 된다. 실제로 세포에 대해서 많은 부분이 연구되고 있지만 세포 내외부적으로 복합적으로 고려해야 할 사항들이 많이 존재하고, 세포 배양과 분석의 관심사는 extrinsic 외부 환경의 영향과 여러 개체의 세포 population에서 단일 세포 단위까지의 분석까지 다양한 범주에 걸쳐 있다. 얼마나 효율적인 방법으로 단일 세포를 관찰하는지 혹은 세포 extrinsic interaction에 초점이 맞추어지거나 나노 및 마이크로 융합기술들이 발전해오고 있다. 대표적인 예로서 단일 세포 모니터링을 통해 세포의 기능적인 측면에 대해서 접근하려는 기술¹⁰이 있고, 마이크로유체 기술을 통한 cytometry 세포 분석법¹¹ 등 여러 기술이 계속해서 발전하고 있다. 이러한 새로운 기술들을 바탕으로 intrinsic property와 extrinsic property의 세포 기능적인 깊이 있는 관찰과 분석이 가능해질 것임은 명백한 사실이다.

1.4 리뷰의 목표

이 논문의 주된 목적은 다양한 범주를 가지고 있는 나노 및 마이크로 기술 중에서도 세포와 관련된 분야의 기술동향 및 흐름 분석을 통해 세포 배양과 분석의 효율적인 접근과 이해를 높이고, health care와 큰 관련이 있는 clinical 응용 분야 미래에 대한 개요를 간략히 제시하고자 한다.

2. 본론

2.1 세포 배양 및 분석 기술의 동향

세포 자체는 살아있는 유기체의 기본적인 구조적, 기능적 단위이고, 내부를 구성하는 여러 물질의 복합적인 구조를 가지고 있으며 일반적인 사이즈는 보통 1~100 μm 정도이다. 세포는 조직과 기관까지 나아가는 매크로 생물학적 시스템까지 포괄적 범주의 기반이 된다.¹² 초창기 시대의 세포연구에 일반적인 흐름은 배양법과 분석법의 기술적인 발전과 함께 세포 자체를 *in vitro* 상에서 *in vivo* 환경과 같이 환경을 조성해 주는 것이 중요한 연구목표 중 하나였고, 점차적으로 발전해서 세포 외 내부 환경에 대한 반응, 조절, 변화를 관찰하는 것이 연구동향의 주된 흐름이었다.

2.1.1 Molecular Manipulation

마이크로 기술의 생물학 연구에 활용의 시작은 DNA 사슬 인 구조내의 염기서열 관찰 즉, 세포 내 나노 및 마이크로 구조에 대하여 관찰하려는 관점에서부터 출발하게 된다(그림 1). 염기서열 구조체의 재조합과 아미노산 구조체 결합, 단백질 구조 conformation 형성까지 molecular level에서의 세포에 접근하는 방식에서의 나노 및 마이크로 기술 도움이 있기에 가능했다. Genetic analysis, 분자생물학의 응용 분야에 있어서 연구의 발전은 large scale의 physical 관찰을 기반으로 microscale 과 nanoscale까지의 genetics에 내려가는 연결 연구에 기반하여 이뤄지게 된다. Mass spectroscopy(MS)와 nuclear magnetic resonance(NMR)의 응용은 genomics에서의 RNA, 펩타이드, 단백질 등의 구조적인 분석에 있어 중요한 역할을 하게 된다.¹³ 또한 proteomics 분야에서도 이러한 기술의 응용으로 단백질의 정량적인 질량 분석이 가능하게 만들었다.¹⁴

2.1.2 Cellular Manipulation

세포를 *in vivo* 환경과 비슷하게 맞출 수 있는 외부 환경적인 요인이 점차적으로 발전하고 세포의 움직임과 성장에 관련된 세포 자체적인 접근방법에 의해서 활발한 연구가 진행되었다. 세포의 크기가 100 μm 이하인 점을 감안하면 세포의 형태, 움직임, 성장 등과 같은 특성을 분석 관찰함으로써 organism의 physiology, pathology 등과 macro 분야에 대해서 이해도를 높일 수 있고, 마이크로 나노 기술과 같이 생물학적 기술의 동반 발전이 있었을 것이다. 다른 cellular environment에서의 micro-organism의 움직임을 보는 것부터^{15,16} 시작해서 세포 성장, 세포 사이클의 연구^{17,18}가 꾸준히 다른 기술들과 함께 발전하여 오늘 날에 이르고 있다.

2.2 최근의 나노 및 마이크로 기술 이용 세포 배양 및 분석 연구 정리

생물학 단일 학문분야에서 바라보던 세포는 post-genome ear 이전과 이후로 나눌 수 있는데 BT, NT, IT 분야의 범주가 점차 불분명해지는 융합학문 발전과 함께 수많은 연구가 이루어지게 되었다. 세포의 더욱 복잡한 형태의 구조적인 측면과

기능적인 측면에서 cell proliferation, cell viability, cytotoxicity, apoptosis, gene analysis 등과 같은 인자들의 분석으로 세포 자체를 제어하고 조절이 가능하도록 하는 연구흐름이 나타나게 된다. 그 중에서도 나노 및 마이크로 표면 위에서 세포의 배양, 나노 및 마이크로 기술을 통한 세포 분리, 나노 및 마이크로 기술에 의한 세포 분석 등의 연구 동향에 대해서 살펴본다.

2.2.1 Nano- & micro- patterned Cell Cultures and

Nanotechnologies for Cell and Substrate Interaction

나노 및 마이크로 패터닝을 통한 표면 위에서 세포가 어떤 역할을 하는가에 대해서도 많은 연구가 진행되고 있고¹⁹, surface-fabricated biomaterial을 통해서 세포의 proliferation, differentiation 등 세포 활성에 관한 응용 분야들을 위주한 연구들 또한 활발하다. 배지 표면의 구조적 variation과 함께 표면의 charge, 친수성, 소수성, 그리고 topology 등이 어떤 식으로 세포 기능에 역할을 하는가에 대해서 분석 가능하다. 사이즈가 1~100 μm 인 세포에 관해서 마이크로 패턴으로 접근하는 방식과 나노 패턴으로 접근하는 방식의 크기적 차이는 존재하지만 최종적으로 추구하는 목적이 clinical diagnostics, treatment 등에 있다는 면에서 연구의 방향과 목적이 비슷하다고 볼 수 있다. 최근에는 다양한 biomolecule의 표면처리와 함께 세포의 기능적인 역할, cell adhesion, proliferation, differentiation, molecular pathways 등에 대한 분석을 가능케 하는 키트 및 디바이스의 개발이 연구의 중심 흐름으로 진행되고 있다(그림 2).²⁰

나노 및 마이크로 패터닝에 있어서 접근하는 방식은 크게 두 가지로 분류 할 수 있다. Surface 패터닝에 따른 topology의 변화를 주고 이와 관련된 세포의 반응을 보고, 그에 따른 차이를 분석하는 것과, 표면에 stimuli-responsive molecule에 의해서 modification을 주고 이에 따른 세포 반응을 관찰 및 분석하는 것이다.²¹ 위에 언급한 나노 및 마이크로 패터닝 기법으로는 여러 가지가 존재하는데, soft lithography 기법으로 표면에 직접적인 contacting을 통해서 물리적 특성을 변화시키는 방법, 그리고 liquid-phase 상태에서 표면 변화

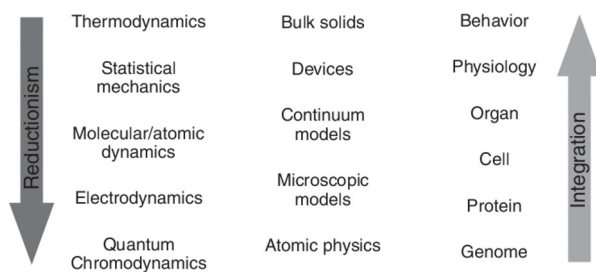


그림 1. 여러 학문 분야에 있어 macro에서 micro로 연결되는 연구 개념(Image adapted from J.P. Wikswo et al., IEE proceedings Nanobiotechnology, (2006).

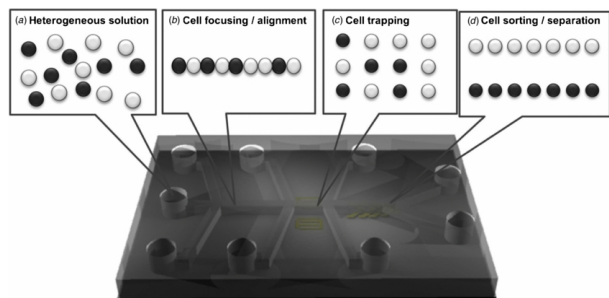


그림 2. 세포 manipulation을 위한 나노 및 마이크로 기술 개발의 중점 영역 요약(Image adapted from H. Yun et al., Biofabrication (2013)).

miniature analytical devices들(Biochip, Microchip, Nanochip)은(그림 4) 기존의 분석화학적 연구와 biomedical science의 융합을 통해 연구의 영역이 더욱 확장되고 있다. 이 영역의 지속적인 발전은 세포에 관해서 microenvironment/nanoenvironment 상으로 세포들의 배양조건을 한정시켜서 세포에 대해서 분석할 수 있다. Microarray를 이용한 이들, 즉 biomolecules, cells, tissues의 분석은 solid substrate상에서 복합적으로 연구할 기회를 제공한다. 이런 분석의 장점은 multiplexible, high-throughput, rapid 분석이 가능하며 편리하고 cost-effective 하다는 점이다.

나노 및 마이크로 분석 기술 및 장치(biochip, microchip, nanochip)들은 이미 여러 연구에서 사용되고 있는 polymerase chain reaction(PCR), immunoassay 등에도 융합되어 사용된다. 이러한 장치들은 여러 스텝에 의해서 복합적인 과정이 통합된 형태로 구성이 되어있으며, 분석결과가 자동적으로 보여지고 저장되는 형식의 간편화, 소형화되는 방향으로 기술발전을 이루고 있다.²⁸ 세포 단위 뿐만 아니라 DNA scale 까지를 유체 통로상에서 탐지하고 분석하는 chip 상에서 형광분석,²⁹ chemiluminescence,³⁰ electrochemical detection³¹ 하는 기술들 또한 활발히 연구중이다. 단일 세포의 zeptomole-level detection이 가능한 nanocapillary electrophoretic electrochemical(Nano-CEEC) chip과 같은 최신의 보고도 따르고 있다.³²

세포의 molecular적인 분석 장치로는 단백질, oligodeoxynucleotides, DNA, cDNA 등에 대해서 분석이 가능하며, 이미 대부분 연구들의 커다란 비중을 차지하고 있다. 이러한 분석 format은 한번 테스트로 수십에서 수백가지 tumor cell, mutation,³⁴ immunoassay³⁵ 등의 테스트를 동시에 가능하게 한다는 큰 장점을 가지고 있다.

마이크로 스케일상에서 point-of-care(POC)를 넘어선 나노스케일의 nanochip은 individual atoms과 molecules에 대해서 세포 자체의 기능적인 molecular machinery에 대해

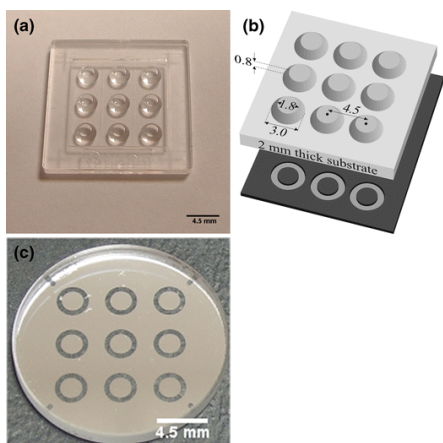


그림 4. 세포를 간단히 구분해 내는 chip 및 기술/장비의 예(Image adapted from D. Hill et al., Biomedical Microdevices (2011)).

서 접근할 수 있을 것이고, 이는 보다 원초적으로 세포에 대한 self-assembling에 관한 분자적인 접근이 가능하다. 이 기술 중 하나로 DNA nanochip 상에서 DNA Base-Excision repair에 직접적인 분석이 가능하다는 흥미로운 연구결과가 있다.³⁶ 그림 5.에서 제시하고 있는 연구와 같은 기술은 앞으로 세포에 대해서 보다 본질적이고 구조적으로 접근해서 세포 기능적인 면을 정확히 분석할 수 있을 것이라는 점을 기대하게 한다.

2.3 앞으로 필요한 연구의 방향

세포가 interaction하는 외부 환경적인 요인은 기술적인 발전에 의해서 *in vivo* 조건과 유사하게 만들 수 있는 기술이 최근에는 많은 성과를 도출하여 이제는 세포 자체의 근본적인 교신과 발현의 principle을 규명하는 연구의 방향이 기대된다. 지속적인 나노 및 마이크로 기술의 발전으로 인해서 많은 부분이 진행되고 있지만 아직도 나아갈 방향과 밝혀지지 않은 세포 또는 세포군의 기능 더 나아가서는 조직 그리고 기관 범주까지의 확장해서 기능적인 면을 수행하는 부분이 충분히 연구가 되어야 한다.

2.3.1 Single-Cell Assay

단일 세포를 분석하는 연구들은³⁷ 세포들 각각의 개별적인 분석을 통해 각각의 특성을 따로 파악하고 이에 바탕 하

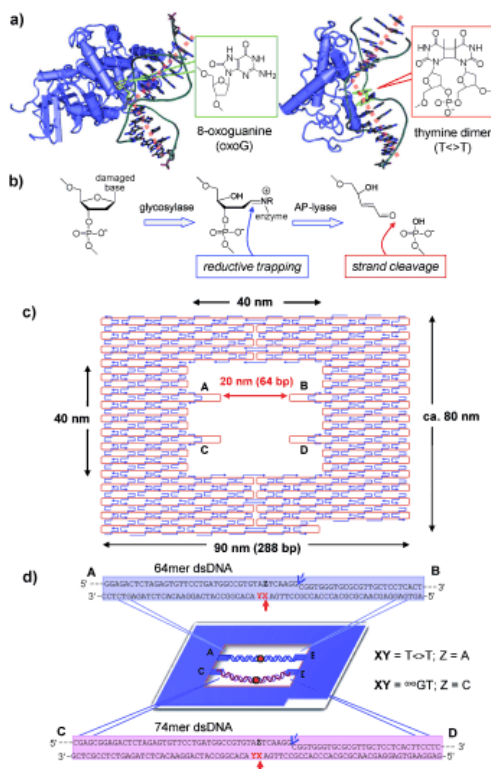


그림 5. 세포 내 DNA 발현 분석을 가능케 하는 디바이스의 대표적인 예(Image adapted from M. Endo et al., Angewandte Chemie, (2010)).

여 이들이 그룹으로 존재하는 상황에서의 드러나는 성질을 찾는 데에 목적이 있다. 단일 세포로 연구할 때의 장점은 세포들이 그룹으로 존재하는 상황에서 간과하기 쉬운 세포간의 signaling과 개별 세포의 교신을 찾아낼 수 있어, 겉으로 드러나는 반응의 기전에 대해서 보다 정확하게 알 수 있다. 세포간 signaling의 분석을 위해서는 한 세포가 다른 세포에게 또는 한 세포가 자기 자신에게 어떠한 인자들(단백질, 당류 등)을 분비하고 이를 받아들여 연결되는 교신 네트워크를 활성화 시키는 지 알아내야 하고 이를 위해서는 단일세포로 여러 가지 지표(단백질 발현, 분비, 당복합체 발현, 분비)들에 대해 assay 함이 요구된다. 최근의 단일세포 assay 연구들은 단일세포들의 단백질 마커 분비를 정량적으로 알 수 있는 enzyme-linked immunosorbent spot(ELISPOT)³⁸ 및 세포 내 분비 단백질의 양상을 검출 가능한 intracellular staining(ICS)³⁹ 등이 대중화되어 있다. 각각의 방법들은 검출능에서나 정확도의 측면에서 장점이 있어 널리 연구되어 왔으나 각각의 방법들에 있어 단점들이 존재하여 이에 대한 향상이 요구된다. ELISPOT의 경우 1-2가지의 단백질 분비에 대하여 단일세포 별로 그 분비량까지 측정이 가능하나, multiplexing한 분석이 어렵고, 어떤 세포가 단백질을 분비하였는지 tracking이 불가능한 단점이 있으며 한 번 측정 후에는 세포를 sacrifice하여야 하므로 다시 시간별 단백질 분비양상의 검출이 불가능하다. 세포 간 signaling을 관찰하기 위해서는 시간에 따른 다양한 마커들의 발현에 따른 분석이 필요하므로 이에 대한 부족한 점은 해결되어야 하는 측면이 크다. 마찬가지로 ICS의 경우에서도, 세포 내 발현된 단백질의 면역학적 염색을 통한 측정은 가능하나, 이 또한 fixing 과정을 거친 세포에만 가능하므로 살아있는 싱글 세포의 시간에 따른 분석은 불가능하다. 세포 내의 단백질 분비 상황만 측정 가능하므로 실제 세포막 밖으로 배출되는 signaling molecule 들의 측정이 불가능하여 paracrine, autocrine 메커니즘의 연구에 효율이 떨어진다.

이러한 기존의 단일 세포 연구의 단점들을 보완하기 위해 최근 나노 및 마이크로 기술을 응용한 세포의 배양 및 분석의 연구가 활발히 진행 중이다. 나노 및 마이크로 웰(well)을 제작하여 그 안에서 세포를 배양하며 각각의 단일 세포들을 단백질

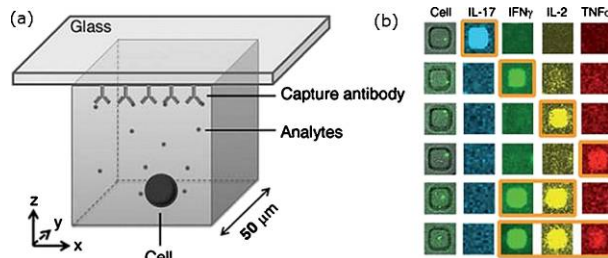


그림 6. 단일 세포 분석을 위한 microwell array의 예(Image adapted from H. Qing et al., Lab Chip (2011)).

분비, 표면 발현, 유전체 발현의 양상에 따라 구분하는 기술이 발표된 바 있다. 그림 6에서 제시하고 있는 이러한 well-type 연구의 장점은 세포를 계속해서 디바이스 안에서 배양할 수 있으므로 시간에 따른 세포의 반응 양상을 추적할 수 있다. 또한 세포의 단백질 분비뿐만 아니라 형광 현미경을 이용한 세포의 단백질 표면 발현양상까지도 추적이 가능하여 두 종류의 다른 데이터 셋을 한 세포로부터 동시에 얻어낼 수 있다.

Microfluidic channel을 이용한 연구에 있어서는, 채널 안에 세포들을 흘려 보냄으로써 세포들 각각의 특성을 분석할 수 있다.⁴⁰ 정렬과 mixing을 통하여 원하는 세포들을 잡아내고 이들의 단백질 발현 양상 등을 면역염색을 통해 측정할 수 있다. 최근에 droplet을 이용하여 단일 세포들을 감싼 이후 그 안에서 세포의 배양과 분석을 동시에 진행하는 방법 또한 활발히 진행되고 있다.⁴¹

2.3.2 3D Tissue Culture

Multicellular organisms 상에서 세포는 동적으로 시스템이 변화하고, 일정한 genome을 유지하면서 세포를 분화하는 능력과 함께 복잡한 형태를 가지고 있다. 이런 과정에 대한 연구가 진행되기 위해서 과거의 2D 세포 배양의 단점을 극복해야 하고 전체적인 micro/nano environment condition과 세포의 종류, three-dimensional(3D) extracellular matrix(ECM), 그리고 분자적인 cascades 반응, physical signals(hormones, growth factors, cytokines and secreted protein)의 복합적인 연구가 함께 진행되어야 한다.⁴² 세포의 3D matrix 안에서의 배양 연구는 현재 가장 활발한 토픽(그림 7)의 하나로써 다양한 platform의 개발이 활발히 이뤄지고 있다.⁴³ 3D matrix의 연구에 있어서 중요시 되는 부분은 세포의 접착력, 세포 배양을 위한 성장인자의 함유, 세포의 성장을 도와주는 구조적 특성 등이 그러하다. 이에 대한 전세계 연구 그룹들의 노력으로 줄기세포와 같이 일반적인 2D 배양 환경에서 분화 및 성장 특성이 변

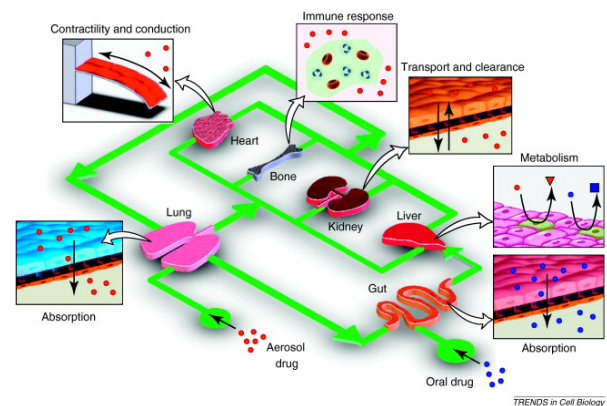


그림 7. Human-on-a-chip 개념을 묘사한 모식도, 모든 장기의 부분을 디바이스에서 묘사하고 생체 현상을 분석할 수 있음을 나타냄(Image adapted from D. Huh et al., Trends in cell biology (2011)).

화할 수 있는 민감한 세포들에 대한 배양이 가능해 지고 있으며, 이를 통한 줄기세포의 다양한 연구가 활발히 진행 중이다.

3. 결론

오늘날까지 세포 배양 기술이 확립된 이래 다양한 기법/장비들이 개발되어 왔고, 이들이 현대 생명공학/생물학/의학에 기여한 바는 이루 말할 수 없다. 그러나 생명현상을 조직적으로 밝혀내고, 생명현상의 기본 building block인 세포를 완전히 mapping하는 데에는 한계가 있었고, 이에 최근 나노/마이크로 기술의 개발로 이러한 문제들에 대한 해법이 서서히 드러나고 있다. 이번 리뷰에서는 이러한 최신 기술을 이용한 세포/단일세포/조직의 연구 동향을 정리하였고, 앞으로의 방향에 대해 제시하여 보았다. 미래의 세포배양/분석 기술은 좀 더 인체 내에서 일어나는 현상을 제대로 모사하는 환경이 될 것으로 기대되며, 이러한 연구들이 계속적으로 발전하는 기술들과 잘 융합되어 생물학/의학/생명공학 등 학문의 경계없이 모든 학문에 두루 연결되고 더 나아가 서로 유익을 끼치는 통합적이고 융합적인 연구의 방향으로 계속 나아가리라 기대된다.

4. Acknowledgement

This work is supported by KIST Global Research Laboratory (K-GRL) program(2Z03720) and the National Research Foundation of Korea(Grant Number R11-2008-0061852).

참고문헌

1. A. Ikai, *Surface Science Reports*, **26**, 261 (1996).
2. J. Fogh, N. B. Holmgren, and P. P. Ludovici, *In vitro*, **7**, 26 (1971).
3. A. W. Lund, B. Yener, J. P. Stegemann, and G. E. Plopper, *Tissue Eng. Part B., Rev.*, **15**, 371 (2009).
4. M. Ghoneum and S. Agrawal, *Int. J. of immunopathol. and Pharmacol.*, **24**, 941 (2011).
5. M. de la Llera Moya, V. Atger, J. L. Paul, N. Fournier, N. Moatti, P. Giral, K. E. Friday, and G. Rothblat, *Arterioscler. Thromb.* **14**, 1056 (1994).
6. K. Nishioka, A. A. Amoscato, G. F. Babcock, R. A. Banks, and J. H. Phillips, *Cancer Invest.*, **2**, 39 (1984).
7. M. Mimeault and S. K. Batra, *Adv. Exp. Med. Bio.*, **741**, 171 (2012).
8. S. Derbre, J. Gatto, A. Pelleray, L. Coulon, D. Seraphin, and P. Richomme, *Anal. Bioanal. Chem.*, **398**, 1747 (2010).
9. D. Galbraith, *Methods*, **57**, 249 (2012).
10. D. Wlodkowic, S. Faley, M. Zagnoni, J. P. Wikswo, and J. M. Cooper, *Anal. Chem.* **81**, 5517 (2009).
11. K.-S. Yun, and E. Yoon, *Biomed. Microdevices*, **7**, 35 (2005).
12. J. P. Wikswo, A. Prokop, F. Baudenbacher, D. Clifflé, B. Csukas, and M. Velkovsky, *IEE Pro. Nanobiotechnol.*, **153**, 81 (2006).
13. F. J. Moy, K. Haraki, D. Mobilio, G. Walker, R. Powers, K. Tabei, H. Tong, and M. M. Siegel, *Anal. Chem.*, **73**, 571 (2001).
14. M. Bantscheff, M. Schirle, G. Sweetman, J. Rick, and B. Kuster, *Anal. Bioanal. Chem.*, **389**, 1017 (2007).
15. M. F. Collins, *Clinical pediatrics*, **8**, 356 (1969).
16. H. Gruler, *Z. Naturforsch. C. Bio. Sci.*, **43**, 754 (1988).
17. D. M. Brown, *Pediatr. Res.* **1**, 395 (1967).
18. V. Sorrentino, *Anticancer Res.* **9**, 1925 (1989).
19. D. Falconnet, G. Csucs, H. Michelle Grandin, and M. Textor, *Biomaterials*, **27**, 3044 (2006).
20. Y. Ito, *Biomaterials*, **20**, 2333 (1999).
21. N. J. Sniadecki, R. A. Desai, S. A. Ruiz, and C. S. Chen, *Ann. Biomed. Eng.*, **34**, 59 (2006).
22. M. Radisic, R. K. Iyer, and S. K. Murthy, *Int. J. Nanomedicine*, **1**, 3 (2006).
23. S. S. Shevkoplyas, T. Yoshida, L. L. Munn, and M. W. Bitensky, *Anal. Chem.*, **77**, 933 (2005).
24. A. Martinon, U. P. Cronin, and M. G. Wilkinson, *Molecular Biotechnology*, **50**, 62 (2012).
25. M. Y. Lee and T. Lufkin, *J. Biomol. Tech.*, **23**, 69 (2012).
26. W. C. Chang, L. P. Lee, and D. Liepmann, *Lab Chip*, **5**, 64 (2005).
27. W. Korohoda and A. Wilk, *Cell. Mol. Bio. Lett.*, **13**, 312 (2008).
28. L. J. Kricka, *Clin. Chim. Acta*, **307**, 219 (2001).
29. D. Hill, B. McDonnell, S. Hearty, L. Basabe-Desmots, R. Blue, M. Trnavsky, C. McAtamney, R. O'Kennedy, and B. D. MacCraith, *Biomed. Microdevices*, **13**, 759 (2011).
30. J. C. Saucedo-Friebe, X. Y. Karsunke, S. Vazac, S. Biselli, R. Niessner, and D. Knopp, *Anal. Chim. Acta*, **689**, 234 (2011).
31. H. Ben-Yoav, P. H. Dykstra, W. E. Bentley, and R. Ghodssi, *Biosens. Bioelectron.* **38**, 114 (2012).
32. R. G. Wu, C. S. Yang, C. C. Cheing, and F. G. Tseng, *Interface Focus*, **1**, 744 (2011).
33. Y. Zhang, Y. Dai, Y. Huang, L. Ma, Y. Yin, M. Tang, and C. Hu, *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, **35**, 842 (2009).
34. C. Kim, K. J. Kim, J. Bok, E. J. Lee, D. J. Kim, J. H. Oh, S. P. Park, J. Y. Shin, J. Y. Lee, and H. G. Yu, *Mol. Vis.* **18**, 2398 (2012).
35. D. Feron, C. Charlier, V. Gourain, L. Garderet, M. Coste-Burel, P. Le Pape, P. Weigel, Y. Jacques, S. Hermouet, and E. Bigot-Corbel, *Anal. Biochem.*, **433**, 202 (2013).
36. M. Endo, Y. Katsuda, K. Hidaka, and H. Sugiyama, *Angewandte Chemi. Int. Ed. Engl.*, **49**, 9412 (2010).
37. D. Ryan, K. Ren, and H. Wu, *Biomicrofluidics*, **5**, 21501 (2011).
38. J. J. Augustine, and D. E. Hricik, *Clin. Chim. Acta*, **413**, 1359 (2012).
39. P. Lovelace, and H. T. Maecker, *Methods in molecular biology*, **699**, 165 (2011).
40. H. Yun, K. Kim, and W. G. Lee, *Biofabrication*, **5**, 022001 (2013).
41. I. Barbulovic-Nad, S. H. Au, and A. R. Wheeler, *Lab Chip*, **10**, 1536 (2010).
42. S. Cagnin, E. Cimetta, C. Guiducci, P. Martini, and G. Lanfranchi, *Sensors*, **12**, 15947 (2012).
43. K. Bott, Z. Upton, K. Schrobback, M. Ehrbar, J. A. Hubbell, M. P. Lutolf, and S. C. Rizzi, *Biomaterials*, **31**, 8454 (2010).