

인장력에 의한 세포 반응 연구를 위한 PDMS 플랫폼 개발 업데이트 (2022년 9월)

동물세포의 인장력에 따른 반응을 관찰하는데 있어서 2차원 및 3차원 배양 방식이 있다. 평면의 세포배양표면에 인장력이 가해졌을 때 세포의 배열이나 이동방향이 2차원과 3차원에서 다른 현상을 보인다. 우리 몸 안의 세포는 3차원 환경에 있어 3차원 배양 방식에서 인장력 반응성을 평가하는 것이 더 정확하나 2차원 배양에 비해 기술적인 어려움이 많다. 본 연구에서는 준3차원, 즉 2차원 배양 플랫폼처럼 단순하면서 3차원 배양의 효과를 기대할 수 있는 새로운 플랫폼을 제작하였다. 3차원 환경에 있는 것과 같은 효과를 얻기 위해 세포를 작은 마이크로 사이즈의 기둥들이 있는 신축성 있는 막에 갇힌 상태로 배양할 수 있도록 특수한 멤브레인을 제작하였다(그림 1a 및 b). 위 연구에서는 특히

이런 특수한 멤브레인에 인장력을 가할 수 있는 플랫폼으로 polydimethylsiloxane(PDMS)로 제작된 오간온어칩(organ-on-a-chip)을 사용하였다. 예를 들어 기존에 폐포를 모사한 lung-on-a-chip의 경우 폐포에 작용하는 인장력을 모사하기 위해 양 미세채널에 음압을 가하였다. 이 경우 폐포 세포가 배양되어있는 얇은 PDMS 막에 지속적으로 인장력을 가할 수 있기에 폐포 세포 반응을 연구하고, 폐포에 작용하는 약물을 테스트 하는 등 다양한 분야에 사용되었다. 이러한 오간온어칩 디자인에 기초하여 본 저자들은 해당 마이크로 사이즈의 기둥이 있는 PDMS 막을 음압을 가할 수 있는 플랫폼에 적용함으로써 성공적으로 준 3차원 환경에서 인장력 테스트를 할 수 있게 하였다. 이러한 플랫폼을 만드는데 있어 가장 큰 기술적 문제는 마이크로 기둥이 있는 얇은 막과 두꺼운 PDMS 몰드를 완벽한 각도로 결합시키는 것이다. 위 문제를 해결하기 위해 얇은 막과 두꺼운 PDMS 몰드를 유리나 플라스틱 판에 각각 놓고 현미경으로 정교하게 x/y/z 축을 조절하여 완벽히 배열 시킨 후 고온에서 결합하는

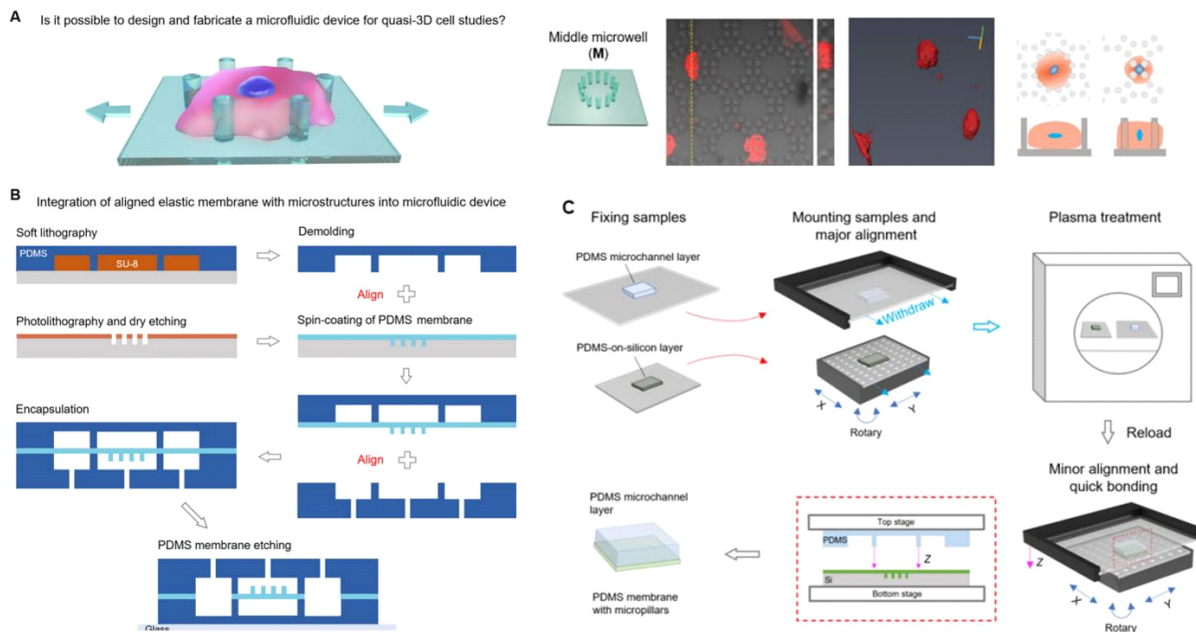


그림 1. 인장력에 의한 세포반응을 연구하기 위한 (a) 플랫폼 모식도 및 세포의 형광현미경 사진, (b) Photolithography, dry etching 및 soft lithography를 이용한 PDMS 막 및 레이어 제작, (c) 현미경을 이용한 막과 PDMS 레이어의 배열 방법.

방법을 사용하였다(그림 1c).

준 3차원 환경에서 세포를 배양하고 인장력을 가했을 때 세포는 인장력과 90도 방향으로 세포가 배열 및 늘어나는 경향을 보였으며, 실제 세포의 모양 및 세포골격에 있어 2차원과 3차원의 중간적 성질을 보임을 확인하였다. 특히 마이크로 기둥의 사이즈나 배열에 따라 세포를 다르게 배치할 수 있으므로 다양한 세포 테스트가 가능함을 제시하였다.

본 연구는 Design and aligner-assisted fast fabrication of a microfluidic platform for quasi-3D cell studies on an elastic polymer”의 제목으로 2022년 *Bioactive Materials*에 게재되었다.

Y He et al., *Bioactive Materials*, 15, 288 (2022),
DOI: 10.1016/j.bioactmat.2021.12.010

하이드로젤을 이용한 3차원 뇌혈장벽 오간온어칩 업데이트 (2020년 1월)

뇌혈장벽은 뇌와 혈액 내 환경을 구분함으로써 뇌의 항상성을 유지하기 위한 생체적 장벽이다. 다른 모세혈관과 다르게 혈관 내피세포의 연결 단백질이 잘 발달되어 500 Da 이상의 물질들은 세포간 통과가 불가능하고 내피세포의 transporter나 receptor에 의해 선별적으로 물질이 뇌 내로 통과될 수 있다. 이러한 특성은 뇌혈관 내피세포를 감싸고 있는 성상아교세포의 도움이 필수적이다. 성상아교세포가 2차원 배양환경에서보다 3차원에서 기능적으로 우수하며 특유의 세포 특성을 보인다는 다양한 연구가 있으나 이를

2-채널의 뇌혈장벽 오간온어칩에서 구현하기 어려웠다. 본 연구에서는 위 채널에는 인체 뇌혈관 내피세포를 단일 레이어로 배양하고, 아래 채널에는 하이드로젤 내에 성상아교세포를 배양함으로써 성상아교세포 특유의 AQP4 발현 및 endfeet을 관찰하고자 하였다(그림 2a). 이를 위해 그림 2b와 같이 PDMS 상부 레이어에는 뇌혈관 내피세포를 배양하기 위한 마이크로 채널을, PDMS 하부 레이어에는 성상아교세포를 3차원 배양하기 위한 중간 채널 및 양 옆의 배지 공급 채널을 photolithography와 soft lithography를 통해 제작하였다. 두 PDMS 레이어를 물리적으로 분리하여 다른 미세환경을 공급하기 위해 다공성 polyester 소재의 막을 레이어 사이에 결합시켰다. 그림 2에서 보이듯 AQP4가 성상아교세포에서 발현되어있고, 뇌혈관 내피세포 부위의 막에 맞닿은 endfeet 형태를 보임을 확인할 수 있었다(그림 2c). 이는 기존에 2차원 배양에서는 볼 수 없는 성상아교세포의 특징으로서 이로 인해 뇌혈장벽의 기능성이 유의적으로 향상됨을 보여주었다. 이러한 뇌혈장벽 모델은 뇌 투과를 위한 약물전달체를 테스트 하는 데 이용될 수 있다. 뇌혈장벽으로 인해 어려운 약물의 뇌 내 전달을 위해 다양한 나노입자 등 약물전달체가 개발되고 있으나 인체의 뇌혈장벽과 유사한 모델이 부족하여 그동안 연구가 동물 모델 중심으로 이루어졌었다. 본 연구에서 개발된 뇌혈장벽 모델을 이용을 이용하여 뇌혈장벽 투과성의 나노 입자를 테스트함으로써 본 모델이 뇌혈장벽 투과성 여부를 구분하는데 효율적인 도구로 이용될 수 있음을 증명하였다 (그림 2d).

본 연구는 “Microengineered human blood-brain barrier

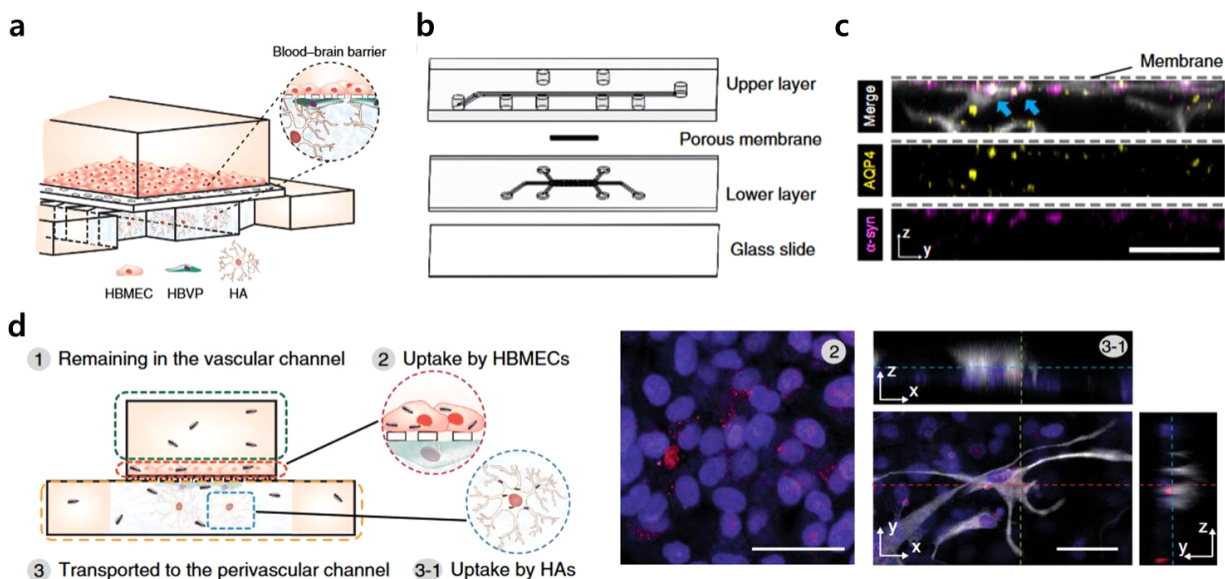


그림 2. 3차원 성상아교세포 및 뇌혈관 내피세포로 구성된 뇌혈장벽 플랫폼: (a) 모식도 및 (b) PDMS 오간온어칩 플랫폼 모식도, (c) 성상아교세포의 endfeet 염색, (d) 나노입자의 뇌혈관 투과성 평가 방법 및 구성세포에 uptake된 나노입자(red) 형광 이미지.

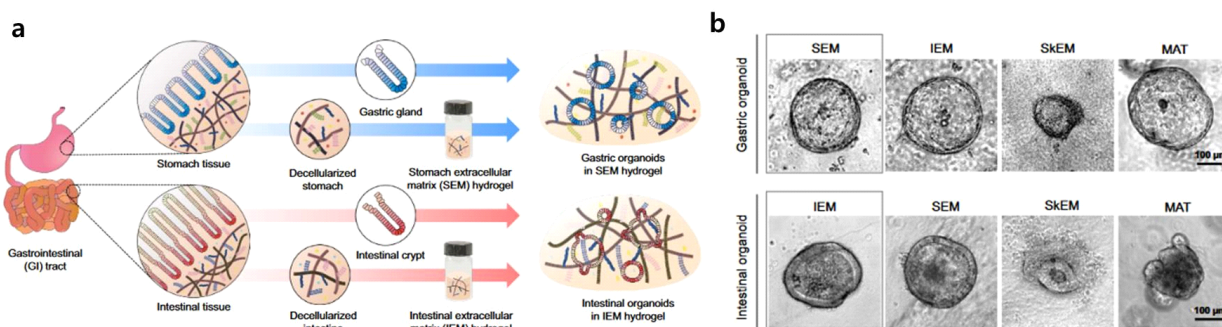


그림 3. (a) 탈세포 하이드로젤을 이용한 위, 장 오가노이드 배양 모식도 및 (b) 지지체에 따른 오가노이드 모양과 형성(SEM: 위 탈세포 하이드로젤; IEM: 장 탈세포 하이드로젤; SkEM: 피부 유래 탈세포 하이드로젤).

platform for understanding nanoparticle transport mechanisms”의 제목으로 *Nature Communications*에 2020년 게재되었다.

〈SI Ahn *et al.*, *Nat Commun*, **11**, 175 (2020),

DOI: 10.1038/s41467-019-13896-7〉

오가노이드 배양 지지체로서 탈세포 하이드로젤의 기능에 관한 업데이트 (2022년 3월)

Matrigel은 마우스의 암조직의 세포외기질(extracellular matrix)을 이용해 제작된 것으로 대부분의 오가노이드 배양 지지체로서 사용되고 있다. 하지만 Matrigel의 높은 비용과 암 유래 조직으로부터 제작되었다는 점, 안전성 문제 등으로 인해 다양한 지지체가 대안으로 개발되고 있으나 Matrigel 만큼의 기능성을 확보하지는 못하였다. 본 연구에서는 소화장관 조직으로부터 제작된 탈세포 하이드로젤이 실제 소화장관 오가노이드의 배양에 이용될 수 있고 더 높은 기능성을 제공할 수 있음을 확인하였다(그림 3a). 돼지의 위조직과 장조직을 탈세포화 하여 온도 하이드로젤로 제작하고 조직에 따른 세포외기질의 구성 단백질을 조사한 결과 Matrigel에 비하여 두 탈세포 하이드로젤의 콜라겐 함량이 Matrigel에 비해 높고, 당단백질의 함량은 비교적 적은 것으로 확인되었다. 또한 조직에 따른 세포외기질 구성성분이 다른 것을 확인함으로써 장기 특유의 세포외기질 환경을 제공할 수 있음을 시사하였다. Matrigel을 대체할 수 있는지 여부를 오가노이드의 모양, 오가노이드 형성의 효율성, 분화 마커의 차이를 통해 확인 하였으며 5 mg/ml의 탈세포 하이드로젤에서 Matrigel과

유사한 오가노이드 배양 효율을 보임을 확인하였다. 특히 오가노이드의 경우 여러번 계대배양을 함으로써 세포 수를 늘리는 과정이 요구되는데, 8번 계대배양을 하는 과정에서도 오가노이드의 기능과 형성이 잘 유지됨을 확인하여 대체재로서의 가능성을 보였다. 이러한 탈세포 하이드로젤은 어느 조직을 사용하는지에 따라 단백질 구성성분이 달라지므로, 특유의 조직 환경을 제공할 수 있다. 예를 들어 피부 조직 유래 탈세포 하이드로젤에 장 오가노이드를 배양한 결과 장 세포외기질로부터의 생화학적 신호를 받지 못하기 때문에 오가노이드 형성효율이 매우 떨어짐을 확인하였다(그림 3b). 또한 본 연구에서는 자돈과 성돈의 장조직을 이용해 탈세포 하이드로젤을 제작하였고 이를 이용해 오가노이드를 배양하였을 때 줄기세포능, 분화능 등이 자돈에서 높은 현상을 보였으며, 이는 노화 조직의 세포외기질이 세포의 기능에 직접적인 영향을 준다는 것과 더불어 질병 혹은 노화 환경을 모사하는데 적합함을 증명할 수 있었다. 즉, 이러한 탈세포 하이드로젤은 Matrigel을 대체할 수 있으며 조직 특유의 환경을 모사하는데 더 큰 장점이 있음을 시사 한다.

본 연구는 “Tissue extracellular matrix hydrogels as alternatives to Matrigel for culturing gastrointestinal organoids”의 제목으로 *Nature Communications*에 2022년 게재되었다.

〈S Kim *et al.*, *Nat Commun*, **13**, 1692 (2022),

DOI: 10.1038/s41467-022-29279-4〉

〈박태은, email: tepark@unist.ac.kr〉