



## 온습도가 제어되는 소형 세포 배양기 컨트롤러 개발

김철\*, 김송주\*\*

### Development of Small Cell Incubator Controller with Temperature and Humidity Control

Choel Kim\*, Song-Ju Kim\*\*

#### 요 약

세포 배양기를 이용한 세포배양 관찰 및 세포 기반 분석 작업은 신약 개발 등에 있어서 중요한 요소 중 하나이다. 하지만 현재 대부분의 상용화된 세포 배양기는 크기가 커서 운반, 설치 및 유지 보수에 많은 비용이 소비된다. 이에 본 논문에서는 세포 배양 시 가장 중요한 요소인 온도와 습도가 제어되는 소형 세포 배양기의 시스템을 제안하고 이의 컨트롤러를 개발하였다. 세포 배양의 조건을 확인하기 위하여 온도 및 습도 제어 프로그램을 작성하여 장치를 구동하고 결과를 확인하였다. 실험결과 대형 세포 배양기와의 차이가 거의 존재하지 않는 것을 알 수 있었으며 향후 신약개발 및 약물평가 등의 분야에서 제안된 소형 세포 배양기 시스템이 활용 가능할 것으로 기대된다.

#### Abstract

Cell culture observation and cell-based assay using a cell incubator are one of the important factors in the development of new drugs. However, most commercial cell incubators are large in size and are expensive to transport, install and maintain. In this paper, we propose a small cell incubator system that controls temperature and humidity, which is the most important factor in cell culture, and developed its controller. In order to confirm the condition of cell culture, a temperature and humidity control program was prepared and the device was driven and the results were confirmed. Experimental results show that there is almost no difference from large-scale cell incubator. It is expected that the proposed small cell incubator system will be available in the field of new drug development and drug evaluation in the future.

#### Keywords

cell incubator, cell-based assay, cell culture, chamber, temperature and humidity

\* 씨테크

- ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2960-5647>

\*\* 조선이공대학교 메카트로닉스과 교수(교신저자)

- ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4161-4909>

· Received: Sep. 25, 2018, Revised: Feb. 25, 2018, Accepted: Feb. 28, 2018

· Corresponding Author: Song-Ju Kim

Dept. of Mechatronics, Chosun College of Science & Technology,

Pilmundaero 309-1, Dong-gu, Gwangju, 501-744, Korea

Tel.: +82-62-230-8290, Email: [hsdady07@naver.com](mailto:hsdady07@naver.com)

## I. 서 론

최근 바이오산업의 비약적인 발전 및 신약 개발 등에 활용을 위해 세포 배양기를 활용한 실시간 세포배양 관찰 및 세포 기반 분석 작업이 증가하고 있다[1]-[3]. 세포 기반 분석기술(Cell-based Assays)은 줄기세포, 3D 배양 등의 신기술의 급속한 발전으로 관련 연구 및 신산업으로의 성장이 기대되는 분야이며[4][5], 2014년 기준으로 세포 기반의 분석시장은 연 34억 달러의 세계적 규모를 형성하였으며 향후 10년 동안 연평균 11% 이상으로 꾸준히 성장하고 확대될 전망이다[6].

세포배양을 위해서는 현미경, 배양기, 배양 용기 등이 필요한데 이 중 배양기는 온도, 습도, 가스농도 등의 조건들을 상시적으로 충족시켜주는 장치를 말한다. 현재 그림 1과 같은 상용화된 세포 배양기가 시중에 판매되고 있다. 하지만 현재 대부분의 상용화된 세포 배양기는 형태와 크기에 있어 냉장고와 유사하다. 이러한 대형 세포 배양기는 운반이 쉽지 않고 설치와 유지, 보수에 비용이 많이 소비되며 실시간 세포 관찰이 어려운 상황이 대부분이다.

보통 세포 배양은 실험용 쥐에서 추출한 세포를 배양액과 함께 배양 용기에 넣어 세포 배양기 안에서 배양을 하는데, 이때 온도, 습도, CO<sub>2</sub> 농도 등의 배양조건이 세포생존에 지대한 영향을 끼치기 때문에 항상 유지되어야 한다.

기존의 상용 세포 배양기는 내부 구조가 밀폐되어 있기 때문에 세포배양과 동시에 관측할 수 있는 장비를 내부에 구축하기 어렵다. 그러므로 배양을 위해서는 상용화 된 배양 용기에 세포를 담아 밀폐된 세포 배양기 내부에서 배양하게 되는데 이때 세포 관측을 위해서는 배양 용기를 배양기에서 꺼내어 배양 조건이 불충분한 환경에서 현미경을 이용하여 관측하게 된다.

신약의 화학적 특성을 분석하기 위해서는 보통 세포를 배양하면서 생물현미경으로 세포의 형상이나 움직임을 관측하여야 한다[7]-[9]. 이 때 배양조건이 불충분한 공간에 세포가 장시간 노출되게 되어 세포의 생물학적 특성이 변하게 된다. 이러한 문제를 해결하기 위해 현미경 위에 장착이 되며 온도,

습도, CO<sub>2</sub> 농도를 유지할 수 있는 장치가 필요한 것이다.

앞서 언급한 문제들을 해결하기 위해서 대형 세포 배양기를 소형화하고 각 조건과 기능들을 소형 세포 배양기에서 구현시키는 방법이 요구된다. 이를 구현하기 위해서 장치의 소형화, 센서 신호처리, 히터 제어 등의 기술이 요구되며 이러한 기술들을 접목하여 배양조건이 충족되는 소형 세포 배양기가 필요한 상황이다.

이에 본 논문에서는 현미경에 장착된 테이블 위에 거치가 가능하고 세포 배양 및 관찰이 동시에 가능한 온습도가 제어되는 소형 세포 배양기 시스템을 제안하고 그 컨트롤러를 개발하고자 한다.

## II. 소형 세포 배양기 시스템

### 2.1 전체 시스템 구성

본 논문에서 제안하는 전체적인 시스템의 구성은 그림 2와 같다. 크게 챔버(Chamber)와 컨트롤러, 가습기로 이루어져 있다. 세포 배양기 내부의 온도 및 습도를 제어하기 위하여 상하부 챔버에 히팅 글라스(Heating Glass)를 이용하여 내부가 보이는 구조로 제작을 하여 서로 결합되는 세포배양 챔버를 구성하였다. 가습기는 CO<sub>2</sub> 가스를 습기와 함께 공급하는 역할을 하게 된다. 또한 이들을 제어하기 위한 터치형 소형 PC가 장착된 컨트롤러를 개발하였다. 본 논문에서 개발한 컨트롤러는 세포 배양 시 가장 중요한 요소인 온습도를 제어하는 역할을 담당하게 된다.



그림 1. 상용화된 세포 배양기  
Fig. 1. Commercialized cell incubator



그림 2. 전체 시스템 구성  
Fig. 2. Configuration of whole system

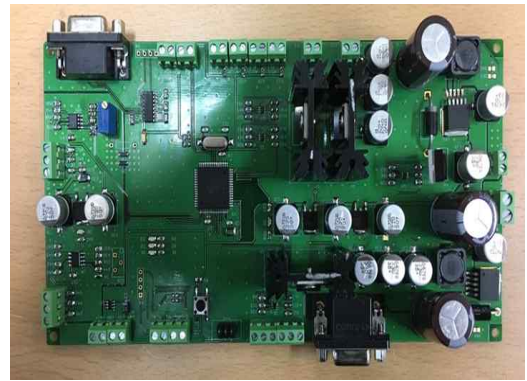


그림 3. 개발된 컨트롤러 보드  
Fig. 3. Developed controller board

## 2.2 컨트롤러 설계

컨트롤러는 메인 보드, 전원 공급장치, 터치형 소형 PC로 구성되어 있다. 세포 배양기 내부에 장착되어 있는 센서 및 히터를 제어하는 역할을 하게 된다. 제작된 PCB는 크게 전원부, 제어부, 통신부, AC 전원 제어부, PT100 온도센서 측정부로 구성되어 있다.

아트웍(Artwork) 설계 시 DC와 AC부를 철저히 구분하여 AC 노이즈 방지와 쇼트로 인한 발열 및 화재를 예방할 수 있도록 설계되었다. 특히 PT100 온도센서 측정 시 노이즈를 최소화하기 위하여 디지털 그라운드와 아날로그 그라운드를 분리하여 설계하였고 그라운드 바이어(Via)를 배치하여 그라운드 전위 차이에 따른 문제를 최소화하였다. 그림 3은 제작된 컨트롤러 보드이다.

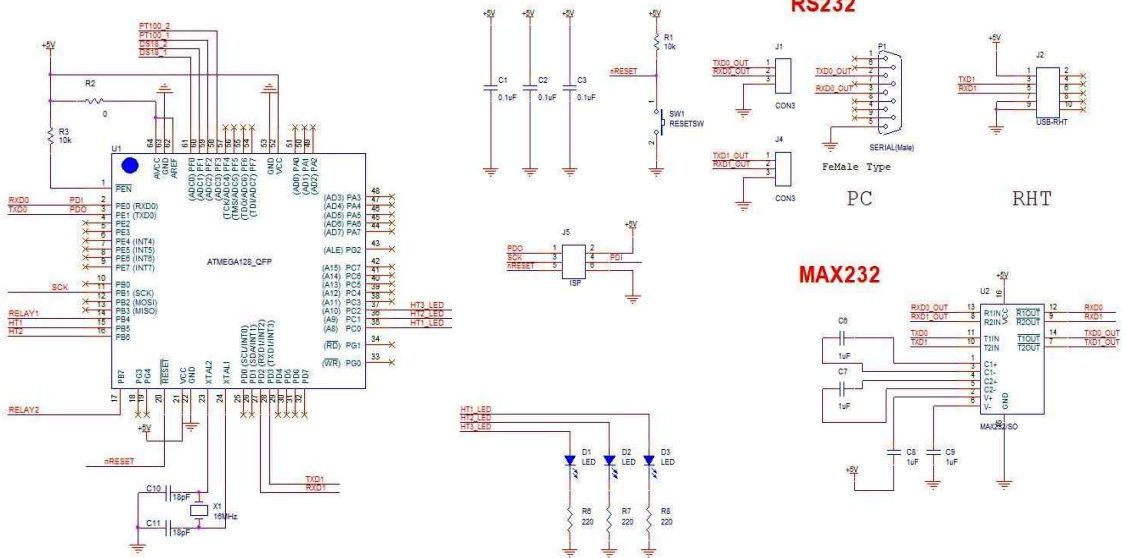


그림 4. 메인 제어부 회로  
Fig. 4. Main control circuit

2.2.1 메인 제어부 회로

메인 제어부에 사용되는 마이크로 컨트롤러는 ATmega128을 사용하였다. ATmega128에 내장된 10비트 AD 컨버터를 이용하여 실시간으로 온도를 측정하고 이 데이터를 기반으로 AC, DC 히터를 PWM(Pulse Width Modulation) 제어를 한다. 또한 USART 통신을 활용하여 PC와 데이터를 송수신하고 모니터링이 가능하며 원하는 제어를 할 수 있는 장점을 가지고 있다. 그림 4는 메인 제어부 회로를

나타낸다.

2.2.2 DC-DC 컨버터

DC 전원회로는 24V 전압이 인가될 때 각각 12V와 5V를 출력되게 설계되었다. 글라스 히터의 경우 최대 25W의 전력을 소모하므로 약 36W까지 출력이 가능한 스위칭 레귤레이터로 설계하였고 메인 제어부는 리니어 레귤레이터로 전원을 공급한다. 그림 5는 DC-DC 컨버터 회로를 나타낸다.

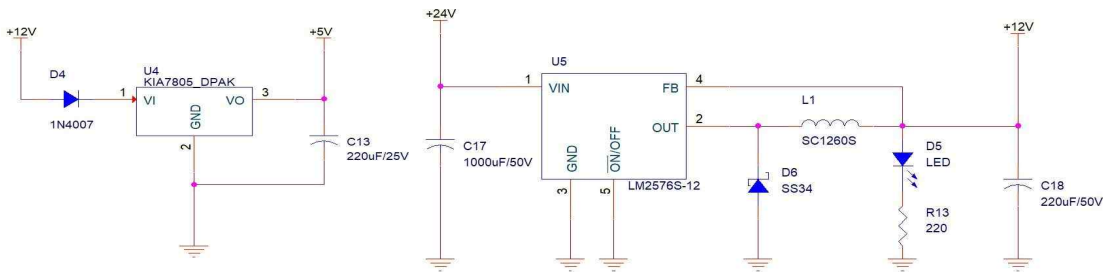


그림 5. DC-DC 컨버터 회로  
Fig. 5. DC-DC converting circuit

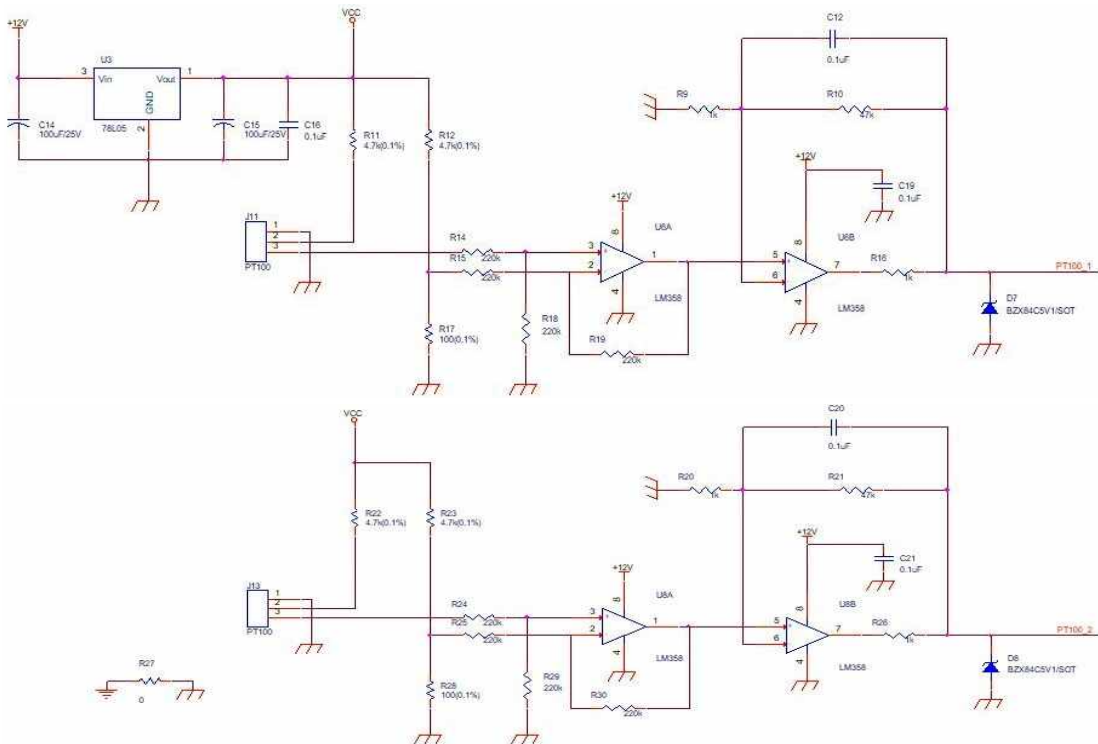


그림 6. PT100 온도센서 측정회로  
Fig. 6. PT100 temperature sensor measuring circuit

### 2.2.3 PT100 온도센서 측정 회로

온도센서로 사용된 PT100 센서를 측정하기 위하여 OP amp로 브릿지 회로를 구성하였다. 0~255℃ 온도 값은 0~5V의 전압 값으로 변환되고 변환된 전압 값을 AD 컨버터를 통하여 온도 값으로 변환시켜 표현하였다. 특히 PT100 센서 대신에 195.9Ω의 저항을 삽입하고 가변저항을 조절하여 출력 값을 5V로 조절하면 온도센서 오차를 보정할 수 있는 특징을 가지고 있다. 그림 6은 PT100 온도센서 측정 회로를 나타낸다.

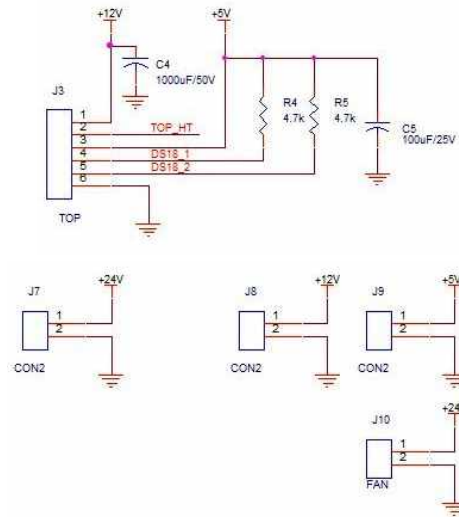


그림 7. 히터 제어회로  
Fig. 7. Heater control circuit

### 2.2.4 히터 제어회로

DC 히터 제어는 트랜지스터와 MOSFET을 이용하여 구성하였다. 마이크로컨트롤러에서 출력되는 PWM 신호는 상보형(Complementary) 트랜지스터 회로를 거쳐 n-채널 FET를 제어한다. 상보형 트랜지스터 회로는 FET ON/OFF 시간을 최소화시켜 게이트 전압을 충분히 공급하여 발열을 줄여 안정적인 제어가 가능한 특징을 가지고 있다. 그림 7은 히터 제어회로도이다.

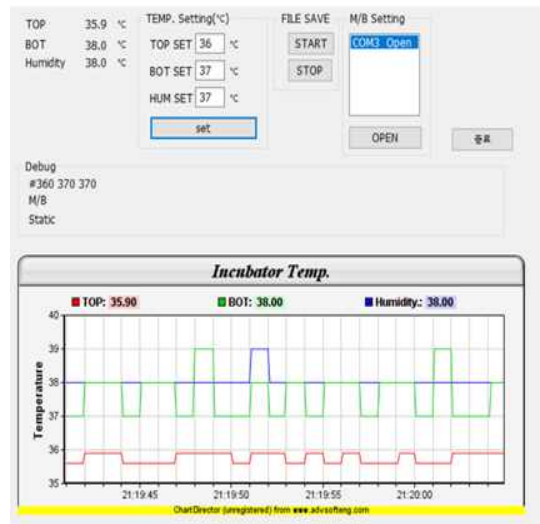
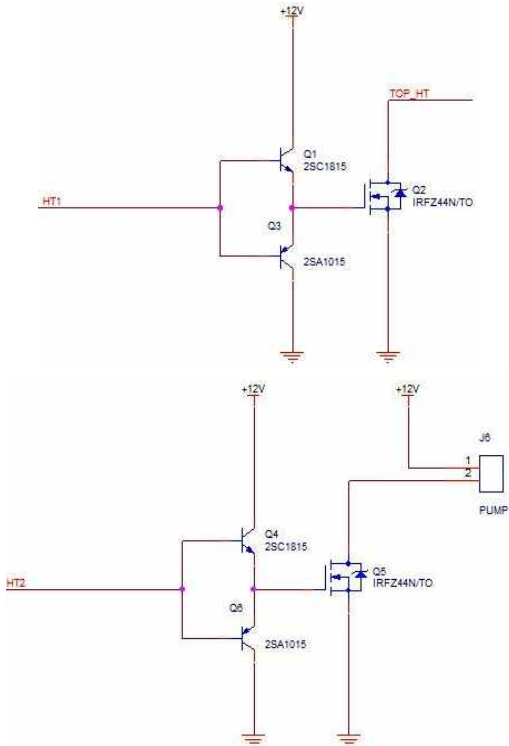


그림 8. MFC 프로그램 구동화면  
Fig. 8. MFC program running screen

## 2.3 MFC 프로그램

컨트롤러를 구동시키기 위하여 컨트롤러에 장착된 터치형 소형컴퓨터에 윈도우 기반의 MFC 프로그램을 작성하였다. 작성된 MFC 프로그램은 온도, 습도, 가습기의 온도를 나타내며 직관적인 값을 확인하기 위한 그래프를 실시간으로 확인할 수 있도록 구성하였다. 특히 컨트롤러와의 통신연결을 확인할 수 있는 메뉴를 배치하였다. 측정된 온도 값은

10초 주기로 기록되는 데이터를 저장할 수 특징을 가지고 있다.

그림 8은 작성된 MFC 프로그램의 구동화면이다. 그림에서 하단의 그래프는 세포 배양기의 온도(상부/하부)와 습도의 변화를 직관적으로 알아볼 수 있도록 나타내었다.

### III. 실험 및 고찰

#### 3.1 실험방법

세포를 배양하기 위한 온도 및 습도에 대한 특성을 확인하기 위하여 세포 배양기 내부에 장착되는 배양 용기를 가공하여 내부에 아두이노 온습도 센서를 배치시켜 각 부분의 온도 및 습도에 대한 분포를 확인하였다.

그림 9는 소형의 아두이노 센서가 장착된 배양 용기의 모습이다. 사용된 온습도 센서는 SHT31-D이며 I2C 인터페이스를 지원하고 온도는  $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ , 습도는  $\pm 2\%$ 의 측정 정밀도를 가지고 있다.



그림 9. 아두이노 센서가 장착된 웰 플레이트  
Fig. 9. Well plate with arduino sensor

#### 3.2 결과 및 고찰

온도 및 습도의 분포를 평가하기 위하여 세포 배양기의 설정 온도 값을  $37\text{--}40^{\circ}\text{C}$ 로 각각 변화시켜 120분 이상 순차적으로 실험을 진행하였다.

그림 10은 각각의 설정온도에서의 온도의 변화를 표현하였다. 그래프 A는 설정온도  $37^{\circ}\text{C}$ , B는  $38^{\circ}\text{C}$ , C는  $39^{\circ}\text{C}$  D는  $40^{\circ}\text{C}$ 를 나타내며 표현된 그래프를 통해 알 수 있는 사실은 상온에서 구동을 시작하여 설정된 온도 값에 도달하는 시간은 약 30~40분 정도 소요되며 이후의 온도 값은 외부온도의 영향을 받는 것으로 추정되어 외부온도를  $24^{\circ}\text{C}$ 로 보정하였다.

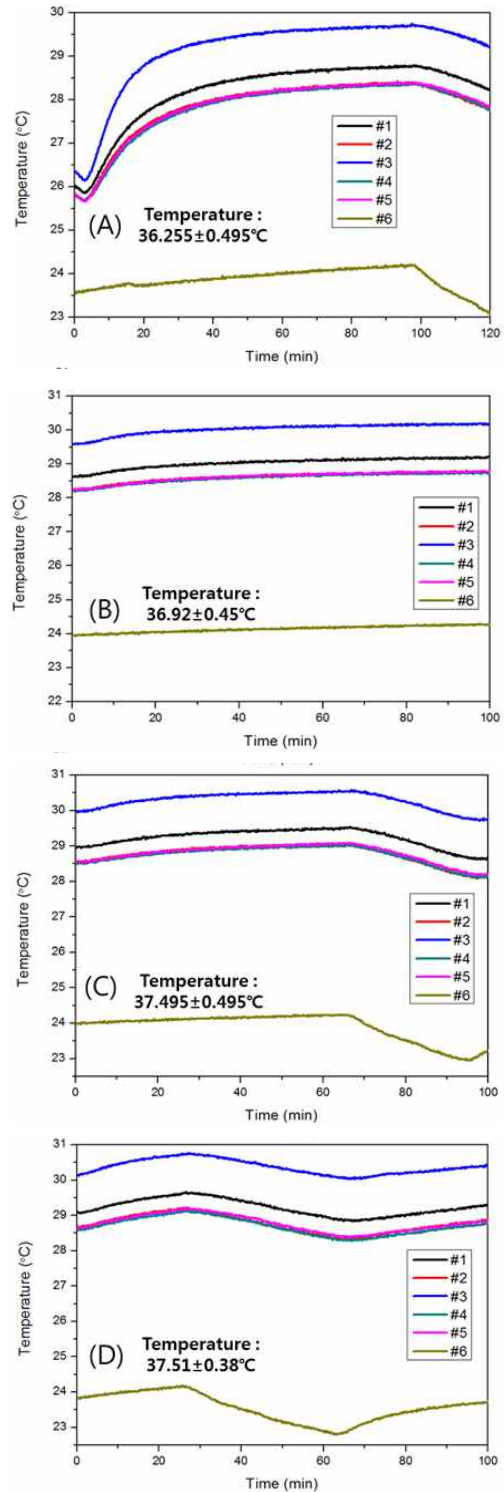


그림 10. 세포배양기 내부온도 측정 그래프  
Fig. 10. Graph of internal temperature of cell incubator

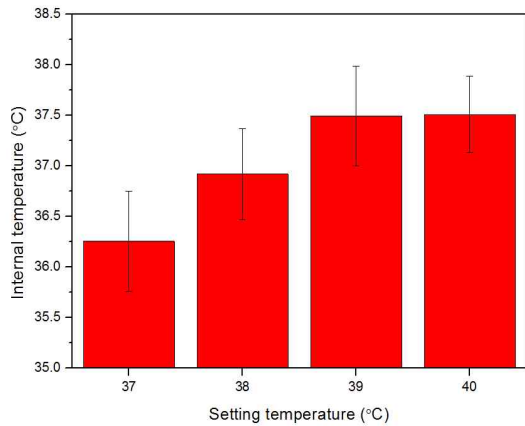


그림 11. 각 설정온도별 보정된 온도 그래프  
Fig. 11. Calibrated temperature graph for each set temperature

그림 11은 설정온도별 온도 분포 그래프를 나타내며 각 설정 온도별 보정 값에 대한 온도의 상하 편차의 균일성은  $\pm 0.46$ 으로 내부온도 편차를 확인할 수 있었다.

세포 배양기의 내부 평균 습도는 표 1과 같이 설정온도 37~40°C까지의 내부습도가 일정하게 유지됨을 확인할 수 있었으며 최종 습도의 분포는 평균 59.8%이다.

표 1. 세포 배양기 내부 평균습도  
Table 1. Internal average humidity of cell incubator

No.	Setting Temp.	Average Humi.
1	37°C	59.11%
2	38°C	60%
3	39°C	59.9%
4	40°C	60.2%
Average		59.8 %

본 논문의 실험을 통해 확인한 데이터와 기존 상용 대형 세포 배양기와의 비교를 위해 직접적인 가열방식의 구조를 가지고 있는 Thermo사의 세포 배양기의 온습도 특성을 확인하였다. 그 결과 Thermo사의 제품(311모델)의 최종 온도의 평균값은 36.25°C( $\pm 0.42$ )였고 습도는 평균 61%( $\pm 3\%$ )의 측정값을 확인할 수 있었다. 결론적으로 본 논문의 결과 값과 현재 상용화된 세포 배양기와 오차범위 내에서 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

#### IV. 결 론

본 논문에서는 기존에 바이오산업 및 신약 개발 등에 사용되던 대형 세포 배양기를 소형화시켜 제작하고 이를 통해 온습도가 제어되는 컨트롤러를 개발하였다. 세포 배양의 조건을 충족하기 위하여 온도 및 습도 제어 프로그램을 작성하여 장치를 구동하고 결과를 확인하였다.

실험결과 상용 세포 배양기와의 차이점이 거의 존재하지 않는 것을 본 연구를 통해 알 수 있었으며 앞으로 신약개발 및 약물평가 등 세포기반 분석 시장에서 제안된 소형 세포 배양기 시스템이 활용 가능할 것으로 기대된다.

향후 연구과제로는 현미경 및 스테이지와의 연동을 통하여 세포의 형상을 자동으로 측정하고 기록할 수 있는 시스템을 구축하는 것이다. 이를 통해 본 연구가 향후 바이오산업 발전에 역할을 담당하길 바란다.

#### References

- [1] K. Solly, X. Wang, X. Xu, B. Strulovici, and W. Zheng, "Application of Real-Time Cell Electronic Sensing Technology to Cell-Based Assays", *Assay and Drug Development Technologies*, Vol. 2, pp. 363-372, Sep. 2004.
- [2] N. Yu, J. M. Aienza, J. Bernard, S. Blanc, J. Zhu, X. Wang, X. Xu, and Y. A. Abassi, "Real-Time Monitoring of Morphological Changes in Living Cells by Electronic Cell Sensor Arrays: An Approach To Study G Protein-Coupled Receptors", *American Chemical Society*, Vol. 78, pp. 35-43, Dec. 2005.
- [3] X. Yue, E. M. Drakakis, M. Lim, A. Radomska, H. Ye, A. Mantalaris, N. Panoskaltis, and A. Cass, "A real-time multi-channel monitoring system for stem cell culture process", *IEEE Trans. on Biomedical Circuits and Systems*, pp. 66-77, June 2008.
- [4] S. V. Kesavan, C. Allier, F. Momey, F. Navarro, O. Cioni, M. Menneteau, B. Chalmond, and J.

Dinten, "Real-time cell culture monitoring by means of lensfree video microscopy", Biomedical Optics 2014, OSA Technical Digest (online) (Optical Society of America, 2014), paper BT3A.21.T, 2014.

- [5] S. J. Kim and Y. W. Lee, "Experimental Study on LED Irradiating Effects on Human Cell with the Change of the Energy and Wavelengths", Journal of KIIT, Vol. 14, No. 1, pp. 79-84, Jan. 2016.
- [6] Visiongain, "Cell-Based Assays: World Industry and Market Prospects 2015-2025", Visiongain, Apr. pp. Apr. 2015.
- [7] T. Ando, N. Kodera, E. Takai, D. Maruyama, K. Saito, and A. Toda, "A high-speed atomic force microscope for studying biological macromolecules", Proc. Natl Acad Sci USA, pp. 12468-12472, Oct. 2001.
- [8] I. Turyan, T. Matsue, and D. Mandler, "Patterning and characterization of surfaces with organic and biological molecules by the scanning electrochemical microscope", American Chemical Society, pp. 3431-3435, Jul. 2000.
- [9] H. T. M. van Voort, G. J. Brakenhoff, J. A. C. Valkenburg, and N. Nanninga, "Design and use of a computer controlled confocal microscope for biological applications", SCANNING, Vol. 7, pp. 66-78, Jan. 1985.

김 송 주 (Song-Ju Kim)



1992년 2월 : 전남대학교  
전자공학과(공학사)  
1998년 2월 : 전남대학교  
전자공학과(공학석사)  
2012년 2월 : 전남대학교  
전자정보통신공학과(공학박사)  
2012년 ~ 현재 : 조선이공대학교

메카트로닉스과 조교수

관심분야 : 영상처리, 임베디드 시스템, RF-IC, IoT

저자소개

김 철 (Choel Kim)



2018년 2월 : 전남대학교  
기계공학과(공학석사)  
2014년 ~ 현재 : 씨테크 대표이사,  
조선이공대학교 메카트로닉스과  
겸임교수  
관심분야 : 기계 제작, 기구 설계,  
로봇 설계