

고휘도 LED를 이용한 세포배양 컨트롤러에 관한 연구

A Study on the Cell Culture Controller using the High Brightness LED

천민우¹, 김성환^{1,a}, 송창훈¹, 문성표¹, 김태곤², 박용필², 김대영³, 김영수³
(Min-Woo Cheon¹, Seong-Hwan Kim^{1,a}, Chang-Hun Song¹, Seong-Pyo Mun¹,
Tae-Gon Kim², Yong-Pil Park², Dae-Young Kim³, and Young-Su Kim³)

Abstract

We developed the equipment palpating cell proliferation using a high brightness LED. This equipment was fabricated using a micro-controller and a high brightness LED, and designed to enable us to control light irradiation time, intensity, frequency and so on. Especially, to control the light irradiation frequency, FPGA was used, and to control the change of output value, TLC5941 was used. Control stage is divided into 30 levels by program. Consequently, the current value could be controlled by the change of level in Continue Wave(CW) and Pulse Width Modulation(PWM), and the output of a high brightness LED could be controlled stage by stage.

Key Words : High brightness LED, Continue wave, Pulse width modulation, Cell culture controller

1. 서 론

빛은 모든 생명체의 에너지 근원으로서 식물의 광합성에 기여하여 인간의 피부에는 살균, 비타민 D 생성 등 유익한 점이 많이 있어 이를 활용하여 의료 분야에 많이 적용되고 있다. 의료 분야에서 대표적으로 활용되고 있는 저출력 레이저는 특정 파장을 가진 광자가 세포의 고유 파장과 일치할 때 조직 세포를 강하게 여기 시켜 세포의 기능을 활성화 시키는데 이를 이용 하여 상처 치유[1]나 염증 치료[2]에 효율적으로 응용되고 있다. 레이저는 발생 파장이 정확하고, 다양하며 제어가 용이해 치료의 목적으로 많이 사용되고 있지만 특성상 열적인 파괴 현상을 나타낸다. 최근 실생활에 많이 사용되어 지고 있는 Light emitting diode(LED)는 특정 파장의 빛을 발하는 성질을 가지고 있지만 저출력 레이저와는 다르게 열에 의한 손상이 발생하지 않는다는 장점을 지니고 있어 LED를 이용한

의료 영역이 확장되어 가는 추세이다.

이러한 LED의 다양한 파장 중에서 근 적외선에 해당하는 파장은 피부나 근육에 대한 투과율이 23 cm 정도로 높은 것으로 알려져 있다. Rat이 가지고 있는 상처에 LED 빛을 조사하여 치료의 효과를 높일 수 있는 것을 Harry[1]는 확인하였고, Vinck[3] 등은 LED 광과 저출력 레이저를 특정 세포에 조사하였을 때 모두 높은 증식을 보였으며 저출력 레이저에 비해 LED에서 보다 높은 증식을 보였다고 보고하였다. 그러나 이런 생물학적인 실험은 실험 조건이 매우 상이하여 연구 결과가 관찰에만 머물러 있는 실정이다.

본 연구에서는 특정 파장의 빛을 방출하는 고휘도 LED와 광 조사 시간, 강도, 및 주기 등을 컨트롤할 수 있는 자체 설계 제작한 컨트롤러를 사용하여 세포 배양 시 응용할 수 있는 기기를 개발하였으며, 개발된 기기의 구성 및 제어에 대하여 연구 보고하고자 한다.

2. 실험

2.1 고휘도 LED

LED는 활성 층의 혼합 재료와 혼합비에 의해 발광 파장이 결정되며 단자 간에 전류가 흘러 활

1. 조선대학교 의과대학 (광주시 동구 서석동 375)
2. 동신대학교 전기전자공학과
3. (주)바이오아텍
a. Corresponding Author : shdkim@mail.chosun.ac.kr
접수일자 : 2006. 10. 30
심사완료 : 2006. 11. 13

표 1. 고휘도 RED LED의 특성.

Table 1. Characteristic of high brightness RED LED.

Luminous Intensity(mcd) @If=20 mA		피크파장 (nm)	방사범위 (deg.)
Min	Typ		
6,250	6,500	630 nm	30°
Forward Voltage(V) : (Typ 2.2, Max 2.3)			
Reverse Current(mA) @Vr=5 V : Max 10			

성 층에서 전자와 홀의 결합에 의해 빛을 방출한다[4]. 보편적으로 사용되고 있는 RED 계열의 LED는 InGaN(Indium, Gallium, Nitride)의 3원소, AlGaInP(Aluminium, Gallium, Indium, Phosphide)의 4원소 계열이 있고 화학적으로 매우 안정되어 있다[5]. 본 기기에 사용된 LED는 4원소 계열의 LED로 피크 파장이 630 nm인 고휘도 LED(U-JIN INC.)를 사용하였으며 표 1에 특성을 나타내었다.

고휘도 LED는 전류 구동 소자로서 같은 종류의 LED라도 서로 다른 전압-전류 특성을 가지고 있다. 그러므로 고휘도 LED를 최적의 조건에서 동작시키기 위해서는 각각의 동작 특성에 따라 전류를 조절하여야 한다. 즉, 같은 계열의 LED라 하더라도 각각의 내부 활성 층의 구성비가 조금씩 다르기 때문에 LED를 직렬이나 병렬로 서로 조합하여 회로를 구성하는 경우 발생 전압과 전류의 변화를 고려하여야 한다.

2.2 기기의 구성

설계된 기기는 안정적인 전원공급 및 과전류에 대한 내부 하드웨어 보호를 위한 전원부와 설정값을 제어부에 입력해 줄 수 있는 Key switch부, 기기의 타이머·모드 선택(PWM, CW)·Power (mW) 설정·해당 모듈에 대한 동작 on/off를 담당하는 마이크로 컨트롤러와 현재 상태를 표시 해주는 Display LCD부, 매트릭스 형태로 배치된 LED 광 모듈부와 LED 모듈을 동작시켜주는 LED

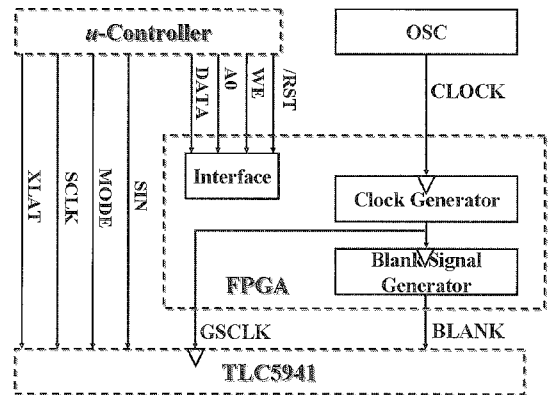


그림 1. 하드웨어 개략도.

Fig. 1. Diagram of hardware.

Driver부로 나누어져 있다. 본 기기는 NAND나 NOR 같은 게이트를 미리 배열해 놓은 후, 이들 게이트들 상호간의 연결을 프로그래밍하여 제작할 수 있도록 만들어 놓은 FPGA를 사용하였다. 이 FPGA는 기기에서 PWM(Pulse width modulation) 제어와 CW(Continuous wave) 제어를 위한 신호 생성 및 TLC5941의 제어를 위한 신호를 생성 시키는 역할을 하고 있다.

그림 1에 본 기기의 블록도를 나타냈다.

사용된 PWM 주파수 및 Continuous wave를 발생시키는 회로로 구성되어 있으며 Clock Generator에서 100 Hz, 1,000 Hz, 10,000 Hz 및 100,000 Hz의 Clock 주파수를 발생 시킬 수 있다. 본 기기에 사용된 FPGA는 Interface, Clock generator, Blank signal generator로 구성된다. Interface는 ATmega128과 FPGA 사이를 연동시키는 역할을 하며 4개의 단자에 의해 신호가 전달되고 FPGA의 Clock Generator는 PWM 방식일 경우 필요로 하는 Clock 주파수를 생성시키며 생성된 주파수를 TLC5941에 공급해주는 역할을 한다. 또한 Blank signal generator는 다수의 샘플을 동시에 광 조사 할 수 있도록 6개의 각각 다른 LED Driver로 구성된다. 본 기기에서 각각의 LED Driver의 동작을 ON/OFF하기 위한 것으로 LED Driver의 Blank 단자와 연결되어있다. LED Driver는 Blank 입력 Data가 1이면 모든 OUT 라인은 강제적으로 OFF 되며 Blank의 입력 Data가 0이면 모든 출력 값이 12bit Grayscale PWM control에 의해 동작하는 IC소자의 특성을 이용하였다.

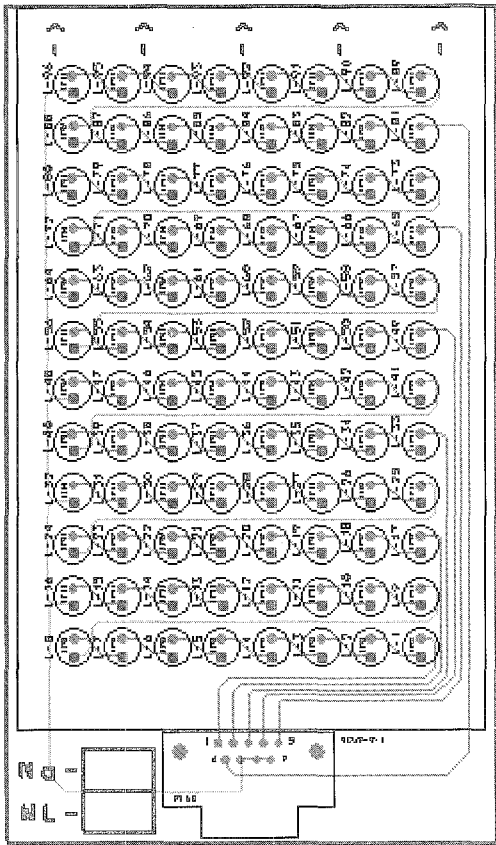


그림 2. 기기의 96well LED 모듈.
Fig. 2. 96well LED module of equipments.

3. 결과 및 고찰

3.1 Continue wave

LED에 필요 이상의 전류를 공급하게 되면 열 발생에 의해 파괴 현상이 일어나게 되며 이를 방지하기 위해 저항을 사용, 전류를 제한하게 된다. 일반적으로 LED를 직렬로 연결한 경우 전류 제한용 저항을 사용하지만 본 기기에서는 다수의 LED를 Level에 따라 출력을 조정하며, 획일적으로 컨트롤하기 위해 TLC5941 IC소자를 이용하여 LED Driver를 구성 하였다. TLC5941의 64 step의 정전류 Sink(Dot correction)기능을 이용하여 프로그램 상에서 30 Level로 단계를 조절 하였다.

현재 본 기기에 구성된 LED는 RED 계열의 고휘도 LED로서 배양 세포의 측정 시 가장 많이 사용되는 96well에 맞추어 LED를 16개씩 직렬배열하여 6개의 채널로 설계하였다. 그림 2에 설계한 96well LED 모듈을 나타냈다.

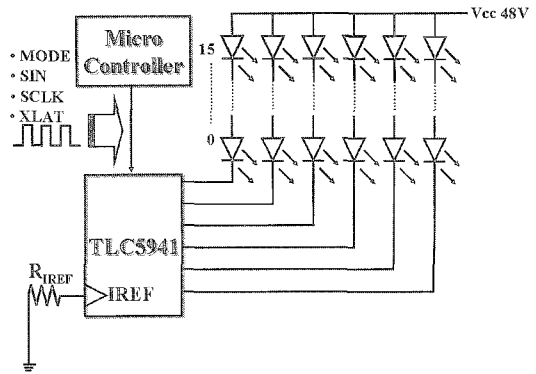


그림 3. 기기의 스위칭 회로.
Fig. 3. Switching circuit of equipments.

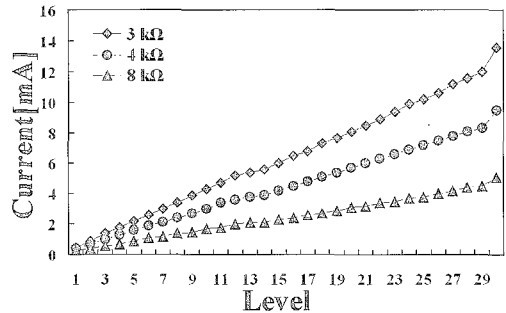


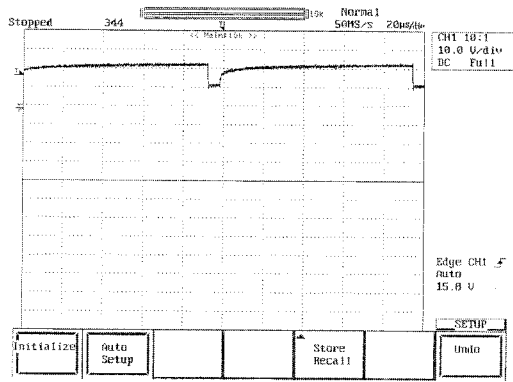
그림 4. Level에 의한 전류 변화.
Fig. 4. Current variation according to level.

일반적인 TR을 사용한 스위칭 회로와는 달리 본 기기는 프로그램을 이용하여 전류 컨트롤 회로를 구성하였다. 이를 위하여 TLC5941을 사용하였으며, IREF 핀과 GND 사이에 전류를 제한하기 위해 저항을 삽입하였다. 그림 3에 TLC5941과 GND 사이에 선택 외부 저항 R_{IREF} 를 삽입한 회로를 나타냈다.

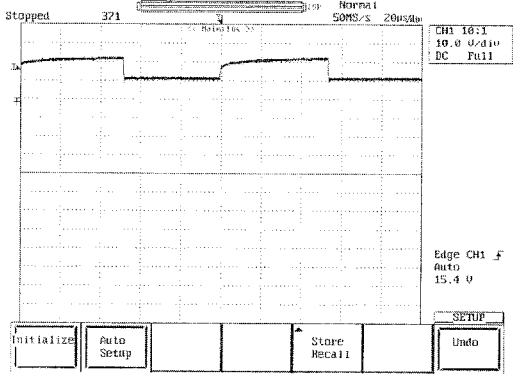
TLC5941 소자의 특성 IREF 전압은 1.24 V값을 가지며 내부 band gap V_{IREF} 에 의해 설정된다. 또한, 최대 채널 전류 I_{max} 는 31.5로 곱해진 R_{IREF} 를 통하여 흐르는 전류와 같다.

$$I_{max} = I_{max} = \frac{V_{IREF}}{R_{IREF}} \times 31.5 \quad (1)$$

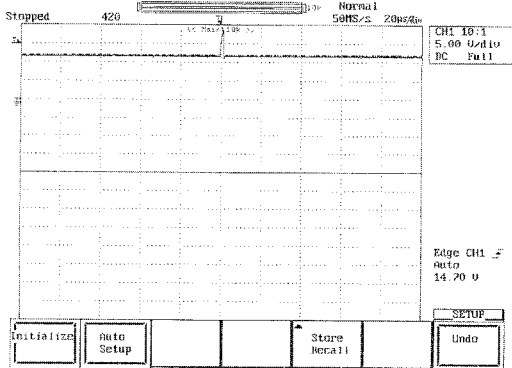
- I_{max} : 최대 채널 전류
- V_{IREF} : 1.24 V
- R_{IREF} : 사용자 선택 외부저항



(a) 10 kHz Level 1



(b) 10 kHz Level 15



(c) 10 kHz Level 30

그림 5. PWM에 의한 On/Off 스위칭 타임.

- (a) 10 kHz Level 1
- (b) 10 kHz Level 15
- (c) 10 kHz Level 30

Fig. 5. On/Off switching time according to PWM(Pulse width modulation).

- (a) 10 kHz Level 1
- (b) 10 kHz Level 15
- (c) 10 kHz Level 30

TLC5941의 최대 허용 전류가 90 mA이지만 소자의 안전성을 위해 최대 80 mA까지만 허용하도록 설계하였다. 식(1)의 최대 출력 전류식에 의하여 LED 정격 전류인 20 mA가 흐를 수 있는 허용 저항 R_{REF} 은 2 k Ω 이지만 TLC5941의 허용 전류를 고려하여 R_{REF} 의 값을 3 k Ω 이상으로 선택하였다.

출력 변화와 소자의 안전성 테스트를 위해 R_{REF} 를 3 k Ω , 4 k Ω 및 8 k Ω 으로 변화시켜 광 출력을 측정하여 그림 4에 나타냈다.

3.2 Pulse width modulation

LED Driver는 1~30 Level로 전류의 출력을 단계별로 구분 하였으며, PWM 구동방식을 기준으로 펄스 신호의 On/Off 주기를 제어함으로써 평균 동작 전류를 세밀하게 제어하는 방법을 사용하였다. 그림 5는 10 kHz의 주파수에서 Level 1, 15 및 30의 Duty cycle을 오실로스코프로 측정한 결과다.

본 기기는 High 상태에서는 전류가 Off 되고 Low 상태에서는 전류가 On이 되는 Common Anode Type으로 설계하였다.

측정 결과에서 알 수 있듯 Level 1인 경우 High 즉, 1의 입력 값의 폭이 크며 Level 15인 경우, High 와 Low의 입력 폭의 값이 비슷함을 알 수 있다. Level 30은 Low 즉, 0의 입력 폭이 매우 커져 1이 거의 감소된 것을 확인 할 수 있었다. 이를 이용하여 Duty 비의 변화에 따라 PWM 제어를 통해 전류값을 조정 할 수 있었고 LED 출력을 제어 하였다.

4. 결론

저출력 레이저 치료(Low Level Laser Therapy)는 이미 전 세계적으로 그 치유 능력을 인정받고 있고 치료에 사용되는 특정 파장의 광원이 세포에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 실생활에 보편적으로 사용되는 고휘도 LED 광원도 저출력 레이저가 방출하는 특정 파장의 빛을 방출한다. 또한, 저출력 레이저에 비해 안전하다는 장점을 가지고 있으며, 저출력 레이저와 마찬가지로 세포에서 증식이 일어나는 것으로 알려져 있어 값비싼 저출력 레이저를 대신하고 높은 효과를 얻을 수 있는 고휘도 LED를 이용한 세포배양 컨트롤러를 개발하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 광 조사 시간(Time), 강도(Intensity) 및 주기(Frequency)를 정밀하게 제어할 수 있는 컨트롤러를 자체 설계, 개발 하였다.

2. 광 조사 시간(Time)을 0~999 시간까지 1분 단위로 제어가 가능하게 구성하였다.

3. 광 조사 강도(Intensity)에 따라 세포에 미치는 영향을 연구할 수 있도록 고휘도 LED에 흐르는 전류를 제어하여 LED의 광 조사 강도를 조절하였다. 프로그램을 개발, 30 Level로 구분하여 각각의 Level에서 고휘도 LED에 흐르는 전류의 값이 단계별로 변화되는 것을 확인하였다.

4. 세포의 증식과 광 조사 주기(Frequency)의 관계를 연구 할 수 있도록 FPGA를 사용하여 광 조사 주기를 제어하였고 그 결과 100 Hz, 1,000 Hz, 10,000 Hz 및 100,000 Hz로 조사 주기를 제어할 수 있었다.

본 연구를 통하여 개발된 기기는 Level 선택에 의하여 전류를 제어할 수 있으며 CW와 PWM mode에서 모두 Level 증가 시 고휘도 LED의 출력값도 선형적으로 증가함을 확인하였다.

참고 문헌

- [1] M. T. Wongriley, X. Bai, E. Buchmann, and H. T. Whelan, "Light-emitting diode treatment reverse the effect of TTX on cytochrome oxidase in neurons", *Neuroreport*, Vol. 12, p. 3033, 2001.
- [2] H. T. Whelan, R. L. J. Smiths, E. V. Buchman, N. T. Whelan, S. G. Turner, D. A. Margolis, V. Cevenini, H. Stinson, R. Ignatius, T. Martin, J. Cwiklinski, A. F. Philippi, W. R. Graf, B. G. L. Hodgson, M. Kane, and G. Chen, "Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing", *J. Clin Laser Med Surg.*, Vol. 19, p. 305, 2001.
- [3] E. M. Vinck, B. J. Cagnie, M. J. Cornelissen, H. A. Declercq, and D. C. Cambier, "Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation", *Laser Med Sci.*, Vol. 18, p. 95, 2003.
- [4] H. G. Kim and D. C. Lee, "EL mechanism and properties of organic LED doped with DCM and Sq dye", *J. of KIEEME(in Korean)*, Vol. 12, No. 10, p. 909, 1999.
- [5] D. K. Kim, I. S. Yoo, and C. B. Park, "A study of properties of GaN and LED grown using in-situ SiN mask", *J. of KIEEME(in Korean)*, Vol. 18, No. 10, p. 945, 2005.