

바이오센서 응용을 위한 자기 분리장치

강문식, 김운호, 유금표, 민남기, 홍석인
고려대학교.

Polymer magnetic separator for biosensor applications

Moon Sik Kang, , Nam Ki Min, Suk-In Hong
Korea university.

Abstract - 본 논문은 UV-LIGA 공정, 후막공정을 이용한 바이오센서용 magnetic bead 분리 장치의 제작 기술개발에 관한 것이다. 최근 MEMS(microelectromechanical system) 기술을 이용한 바이오센서에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 이러한 바이오센서 분야 중 혈액이나 다른 원하지 않는 물질을 분리해 주는 분리장치는 MEMS 기술을 이용해 구현이 매우 어려운 부분 중에 하나이다. 기존의 UV-LIGA 공정과 도금법을 이용한 마이크로 전자석 제작하여 분리장치를 제작하는 경우 제작 공정이 매우 복잡하며 매우 많은 공정비용을 요구한다. 이러한 단점을 해결하기 위해 본 논문에서는 Sr 계열의 고분자 자석과 3차원 PDMS(poly-dimethylsiloxane) 마이크로 채널 공정을 이용해 분리장치를 제작하였다. 제작된 분리장치는 0~30 μ l/min 의 속도에서 유체를 흘렸을 90% 이상의 분리 효율을 나타냈다. 개발된 분리 장치는 연재질의 PDMS 로 제작되어 일회용 바이오센서에 적용이 가능하다.

통로 내부에 집적화 되었다. 자성체 분리장치는 2층의 PDMS 층으로 이루어져 있으며, 이 두층의 마이크로채널 패턴에 의해 3차원 구조의 채널이 형성 되어진다. 두 층의 채널 중 바닥층의 채널은 채널과 함께 자성체가 인쇄되어 있으며 채널과 채널 사이에 자성체가 가장 근접한 구조를 이룰 수 있도록 설계하였다 또한 이러한 바닥층의 채널을 연결해주기 위해 상부의 PDMS 채널의 구조를 하판과 같은 동일한 간격의 채널 구조를 갖도록 제작하였다. 제작되어진 채널은 테프론 튜브를 이용해 연결되어 magnetic bead 가 함유된 용액을 마이크로채널에 syringe 펌프를 이용해서 분리장치로 흘렸으며 마이크로채널을 지날 때 유속에 따라 분리되는 현상을 관찰하였다. 기존의 반도체 공정에 의해 제작되는 자성체 분리장치에 비해 낮은 공정비와 간단한 공정으로 제작이 가능하였으며, 0~30 μ l/min 까지의 범위의 유체흐름에서 90% 이상의 분리효율을 관찰할 수 있었다. 그림 1은 제작된 3차원 마이크로채널의 구조이다.

1. 서 론

자성체 분리기술은 생체물질이 혼합된 상태의 용액으로부터 우리가 검출하고자 하는 물질만을 분리하는데 매우 유용한 방법 중에 하나이다. 특히 세포분리공정에 매우 효과적인 방법으로 알려져 있다. 일반적인 다른 방식의 세포분리법에 비해 자성체 분리 방식을 이용한 세포분리방식은 매우 빠르면 간편한 방식이다. 이러한 여러가지 장점과 더불어 자성체 분리방식은 MEMS 기술을 이용한 마이크로 채널형 바이오센서분야 및 μ -TAS(total analysis system) 소자 내부에 집적화가 가능한 방식으로 많이 응용되고 있다. 또한 RNA와 DNA를 분리 정제할 수 있으며 마이크로 시스템 내부에서 분리공정을 연속적으로 진행할 수 있다. 이러한 자성체를 이용한 분리는 대량의 바닥침전물의 분극을 관찰하기 위해 Kolm 에 의해 처음으로 시도되었다[1]. 일반적으로 magnetic bead 분리장치는 고밀도 자성체 분리기와 반도체공정을 이용한 집적화된 솔레노이드구조의 자성체 분리장치가 여러 연구 기관에 의해 연구되어졌다[2-6].

본 연구에서는 일회용 바이오센서에 응용이 가능한 고분자형 자성체 분리장치가 UV-LIGA, 후막공정과 몰딩법을 이용해 100 μ m 높이의 채널을 갖는 유체



그림 1. 3차원 마이크로채널의 구조.

2. 본 론

2.1 마이크로 자기 분리장치의 제작공정

마이크로 채널 내부에 고분자 자성체가 장착된 마이크로필터를 제작하는 공정은 다음의 그림 2와 같다. 우선 UV-LIGA 공정을 이용한 몰딩마스터를 제작하기 위해 SU-8을 이용하였다. SU-8을 4인치 실리콘 웨이퍼위에 스펀코터를 이용해 코팅을 하였다. 1000rpm, 35초의 조건으로 코팅한 후 SU-8 의 편평도를 높이기

위해 진공 오븐을 이용해 100mtorr 정도의 분위기에서 약 70도의 온도를 유지하며, 평탄화 공정을 수행하였다. 크라운과 기포가 제거된 SU-8을 일반적인 베이킹 공정인 65℃, 95℃의 경화공정을 수행한 후 포토리소 공정을 하였다. 제작되어진 2장의 몰딩 마스트를 이용해 채널을 제작하였다. 제작되어진 몰딩 마스트중 자성체가 도입되는 부분의 채널은 우선 마이크로 채널 내부에 유체가 흐를때 용액과 자성체 금속물질과의 반응을 방지하기 위하여 마스터 위에 자성체와 마이크로채널 내부와 차단시켜주는 순수한 PDMS 막을 스펀코트 공정으로 표면에 얇은 막을 형성시켰다. 막이 형성된 마스터를 이용해 Sr, Ba 이 혼합된 PDMS 액을 이용해 마스터위의 자성체를 인쇄기법을 이용해 형성하였다. 본 연구에서는 Sr 계열의 자성체가루를 사용하여 PDMS 와 12시간 이상 혼합공정을 거쳐 사용하였다. 이러한 자성체가 형성된 기판위에 다시 PDMS를 채운 뒤 경화공정을 통해 마이크로채널의 하판과 상판을 제작하였다. 제작되어진 두장의 마이크로채널의 두께는 각각 2mm 의 두께를 갖도록 제작하였다. 이를 이용하여 플라즈마 표면 처리공정으로 PDMS 의 소수성 표면을 친수성 표면으로 표면 처리하여 SiOH 구조의 표면을 형성하였다. 이러한 표면 특성을 갖는 두 장의 기판을 정렬하여 접합공정을 수행하였다. 접합공정은 두 장의 기판을 얼라인 마크에 맞춰 정렬한 뒤 100℃에서 약 5분간 가열하여 접합 공정을 수행하였다.

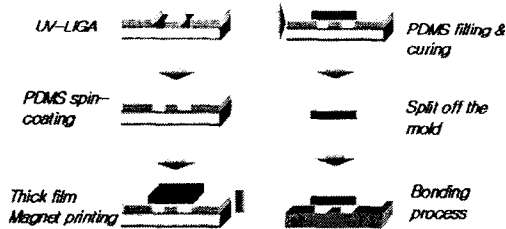


그림 2. 마이크로채널형 자성체 분리장치의 제작공정

제작된 자기 분리장치는 100 μ m의 높이와 200 μ m 폭의 마이크로채널로 제작되었으며 다음의 그림 3 에 3차원 구조의 채널에 필요한 상·하판의 채널의 구조이다.

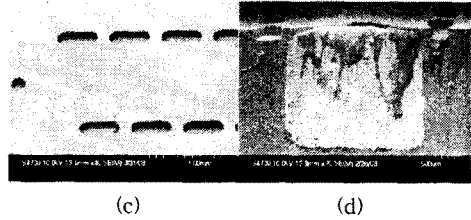


그림 3. 제작된 상·하판 PDMS 마이크로채널의 구조:(a)(b) 상판의 PDMS 마이크로채널,(c)(d)자성체가 형성된 하판 PDMS 마이크로채널의 구조.

상·하판의 채널 구조는 2차원의 채널구조와 동일하며 상판과 하판을 접합하여 3차원 채널을 제작하게 된다. 상판의 경우 PDMS 만으로 이루어진 채널이며, 하판의 경우 채널과 채널 사이의 PDMS가 채워지는 영역에 Sr 계열의 자성체를 형성하여 채널내부 통로와 자성체와의 거리를 최소화하였다.

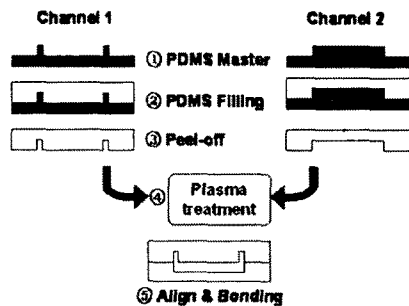


그림 3. 3차원 채널 제작을 위한 PDMS-PDMS 접합공정.

그림 3 은 PDMS-PDMS 접합공정에 관한 공정도이다. 이러한 공정에 의해 제작된 마이크로필터 는 다음의 그림 4 와 같다.

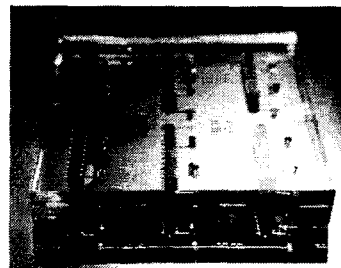


그림 4. 고분자 자성체가 내장된 마이크로필터 어레이.

제작된 자기 분리장치의 크기는 약 2mm * 10mm의 면적을 갖고 있으며 약 3~4mm 의 두께를 갖는다.

2.2 자기 분리장치의 특성 및 성능평가

상기의 제작된 자기분리장치는 아래의 그림 5와 같은 구조의 흐름을 갖는 구조의 채널이다.

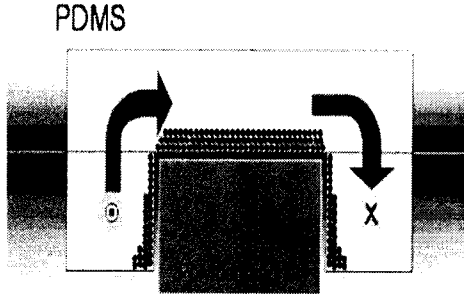


그림 5. 자기 분리장치내부에서의 magnetic bead 분리.

그림 1과 같은 구조의 마이크로채널의 단면에 대한 구조가 그림 5에 나타나있다. 그림 5와 같이 유체의 흐름이 2차원 평면적인 흐름이 아닌 3차원적인 수직 방향의 진행을 할 수 있도록 제작되었다. 이러한 채널 내부에 장착된 고분자 자성체는 일반적으로 자속밀도가 일반 고상의 자성체에 비해 매우 약하다.

본 연구에서 사용된 PDMS 와 Sr 계열의 자성체와의 혼합비에 대한 실험이 진행되었으며, 그 특성이 다음의 그림 6에 나타났다.

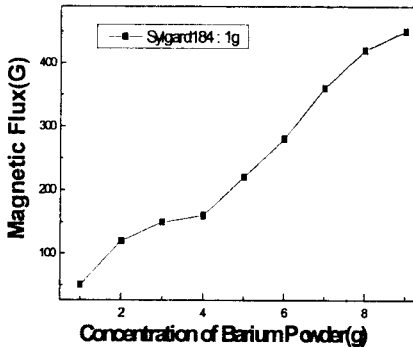


그림 6. PDMS vs. Sr 첨가량에 따른 자속밀도의 변화.

Sr 계열의 자성체 가루의 혼합공정은 1:1~10의 비율로 진행되었다. 생체물질을 분리하는데 사용되는 magnetic bead 는 superparamagnetic particle을 많이 사용하며, 본 연구에서는 Amine terminated magnetic bead(sigma-aldrich, Inc) 를 사용하여 실험을 수행하였다. 이러한 magnetic bead를 분리하기 위해서는 약 150~300 gauss 정도 이상의 자속밀도를 필요로 한다. 그러므로 그림 6에서와 같이 1:5 이상의 혼합비의 고분자 자성체를 사용하였을 때 충분한 자속 밀도를 얻을 수 있다는 것을 알 수 있다. 또한 채널 내부에서의 분리효

율을 높이기 위해 고분자 자성체를 채널 내부벽면과 근접한 영역에 위치하도록 배치하였다.

본 실험에서는 1:10의 혼합비를 갖는 고분자 자성체를 제작하여 사용하였다. 이러한 자성체를 이용해 자기 분리장치를 제작한 후 자화함으로서 magnetic bead 장치를 개발하였다. 제작된 분리 장치는 teflon 튜브와 연결하여 syringe 펌프를 이용한 외부 구동력을 이용해 용액을 일정 속도로 주입하면서 분리 효율 특성을 측정하였다.

Syringe 펌프는 Harvard 11 을 사용하였으며 분리효율 측정을 위해 5~40 μ l/min 의 속도로 유체를 구동하였다. 채널 내부에서의 분리 효율에 대한 그래프는 그림 7과 같다.

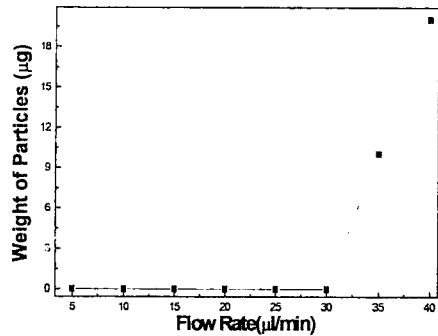


그림 7. 마이크로채널에서 분리된 후 배출되는 용액내부에서의 magnetic bead 잔존량.

그림 7은 유체 구동속도에 따른 분리 효율에 대한 그래프이다. 채널 내부에서의 유체흐름 속도에 따른 외부로 방출되는 용액에서의 magnetic bead 의 잔류량을 나타냈다. 본 실험에서는 5mg/ml의 농도를 갖는 magnetic bead 를 사용하였으며 분리 효율은 0~30 μ l/min 까지 비교적 높은 수준의 90% 이상의 분리 효율을 나타내는 것으로 나타내었다. 다음의 그림 8은 마이크로 채널 내부에서 분리된 magnetic bead 의 사진이다.

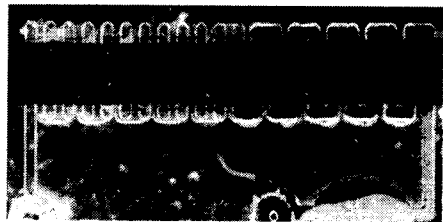


그림 8. 자기 분리장치 내부에서의 magnetic bead 분리.

3. 결 론

본 연구에서는 기존의 스트림렛 형태의 바이오센서에서 생체물질의 분리 정제에 사용되는 망사형태의 필터를 대체하기 위한 마이크로채널형의 자성체 분리 장치를

개발하였다. 제작된 분리 장치는 약 $100\mu\text{l}$ 의 내부 체적을 갖고 있으며 일반적인 스트립타입에서 사용되는 망사 형태의 채널에서의 문제점인 유체저항의 문제점을 보완할 수 있는 구조로 제작되었으며, 고분자 형태의 자성체를 사용하여 제작공정 및 공정비용을 줄일 수 있었다. 또한 $0\sim 30\mu\text{l}/\text{min}$ 의 속도로 유체를 구동시켰을 때 90% 이상의 높은 분리 특성을 나타내었다. 이러한 분리장치는 차세대 개발 산업인 바이오센서나 $\mu\text{-TAS}$ 의 핵심 부품으로서 마이크로채널형 바이오센서 제작에 응용이 가능할 것이다.

감 사 의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (R01-2002-000-00591-0) 지원으로 수행되었음.

[참 고 문 헌]

- [1] K. Kolm, F. villa, and A. odian, "search for magnetic monopoles,"Phys. Rev. D, Vol, 4, p. 1285, 1971.
- [2] Moore, L. R., Zborowski, M., Sun, L., Chalmers, J.J., 1998. Lymphocyte fractionation using immunomagnetic coolid and a dipole magnet flow cell sorter. J. Biochem. Biophys. Methods. 38, 11-33.
- [3] Blankenstein, G., 1997. Microfabricated flow system for magnetic cell and particle separation. In:Hafeli, U., et al. (Eds.), Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers. Plenum Press, New York, pp. 233-245.
- [4] Zborowski, M., Sun, L., Moore, L. R., Whilliam, P.S., Chalmers, J.J., 1999. Continuous cell separation using novel magnetic quadrupole flow sorter. J. Mag. Mater. 194, 224-230.
- [5] Ahn, C. H., Allen, M. G., Trimmer, W., Jun, Y-N.,1996. A fully integrated micromachines magnetic particle separator. J. Microelectromech. Syst., vol. 5, no. 3, September, 151-158.
- [6]Choi, J-W., Liakopoulos, T. M., Ahn, C. H., 2001. An on-chip magnetic bead separator using spiral electromagnets with semi-encapsulated permalloy. Biosensor & bioelectronics. 16. 409-416.