

DNA Chip 용 마이크로 핀에 관한 연구

신 흥 규*, 이 영 수†, 남 권 선‡, 김 병 희**

Manufacturing of Micro Dotting Pin

Hong-Gue Shin*, Young-Soo Lee†, Kwon-Sun Nam‡, Byeong-Hee Kim**

Abstract

The bio-micro pin has been usually used for the biochemistry analysis. The manufacturing capability of the micro-pin and the their array with the effective and low-cost way is very important and it gives great economical benefits to developers. The micro-pin is composed of *the sample channel* for holding the liquid with the fixed volume, *the flat tip* which determines the printing quality and *the pin head* for preventing the rotation of the pin in the holder.

In this study, we have manufactured newly designed micro-pins by the wire-EDM process with special jigs, and analyzed liquid holding and printing characteristics with respect to the variation of the shape and the tip size of the micro-pin.

Key Words : Micro dotting pin, Wire-EDM, DNA chip

1. 서론

지금 전 세계에서 거세게 일고 있는 게놈 (genome) 연구의 결실로 우리는 박테리아로부터 인간에 이르기까지 약 10만개 이상의 새로운 유전자 정보들을 가지게 될 것이다

게놈의 구조 (structural genomics)와 기능 (functional genomics) 정보들은 생명의 신비를 밝히는데 결정적인 도움을 줄 것이고 21세기 사회전반에 걸쳐 새로운 시대를 열게 만들 것이다. 지금까지 밝혀진 대부분의 유전공학 방법들이 한 연구자가 동시에 많은 수의 유전자를 가지고 실험을 하는데 한계가 있기 때문에 포스트게놈(post genome) 시대에는 새로운 기술의 개발이 절실히 요구되고 있다. 즉, 하루에도 수백 개 이상 밝혀지는 새로운 유전 정보들이나 모든 유전 암호가 밝혀진 생물들을 기존의 방법들로 연구한다는 것은 너무나 많은 시간을 요구하기 때문이다. 이

와 같은 문제점을 극복하여 아주 최근에 개발된 방법 중의 하나가 바로 DNA 칩을 이용한 유전자 검색 방법이다.

이에 DNA 칩의 제작방법의 하나인 핀 마이크로 어레이 (pin micro-array)에서 사용되는 마이크로 핀(micro pin)의 제작을 방전가공기(WEDM)를 이용하여 가공하는 방법과 제작된 핀의 형태에 따라 인쇄되는 과정을 고찰하였다.

2. DNA 칩과 micro-dotting 핀

DNA 칩이란 유전자 검색용으로서 엄청나게 많은 종류의 DNA를 고밀도로 붙여 놓은 것을 말한다. DNA 칩은 붙이는 유전물질의 크기에 따라 cDNA 칩과 oligonucleotide 칩으로 나누어 질 수 있다. cDNA 칩에는 최소한 500bp 이상의 유전자 (full length open leading

* 강원대학교 기계메카트로닉스공학과 대학원(rushhong@hanmail.net)

주소: 200-710 춘천시 효자2동 강원대학교

+ 강원대학교 대학원 기계메카트로닉스공학부

++ 강원대학교 기계메카트로닉스공학과 부교수

frame 또는 EST)가 붙여져 있고, oligonucleotide 칩에는 약 15~25개의 염기들로 이루어진 oligonucleotide가 붙여져 있다.

DNA 칩은 제작하는 방법에 따라 크게 포토 리소그래피 (Fig. 1. a), 핀 마이크로 어레이(Fig. 1. b), 잉크젯(Fig. 1. c), electronic array 방법으로 나뉘어진다.[1-4] 이들의 특징과 관련 정보는 Table 1에 요약하였다.

유전자 발현을 검색하는 데에는 cDNA 칩이나 oligonucleotide 칩이 기존의 방법들보다도 모두 뛰어나다. 일단 많은 수의 유전자들을 한번에 검색한다는 데에 그 의미가 있는 것이다. 이 두 가지의 DNA 칩들은 돌연변이 검색, 병의 진단 또는 유전자 발현 청사진을 만드는데 많은 기여를 할 것이다. DNA 칩의 사용 가능 분야들을 Table 2에 간략히 요약하였다.

3. 마이크로 핀의 제작

마이크로 핀은 미리 정해진 체적의 액체를 담은 샘플 채널(0.2 μ l의 용액을 로딩 할 수 있도록 설계되었으며 1회에 인쇄할 수 있는 양은 1nl 이다), 평탄한 팁, 핀이 홀더에서 회전하는 것을 방지하기 위한 깃으로 구성된다. 마이크로 핀은 인쇄 요소의 균일성을 위하여 정밀하게 가공되어야 한다.

Table 1 Manufacture technology classification of DNA chip

DNA 칩 개발기술	특징	칩의 종류	DNA 칩 제조회사
pin micro-array	pin을 이용한 micro-dotting	cDNA & oligonucleotide	Hyseq Incyte
inkjet	inkjet 원리를 이용한 micro-dropping	cDNA & oligonucleotide	Incyte
Photolithography	photolithography를 이용한 oligonucleotide 직접 합성	oligonucleotide	Affymetrix
Electronic array	전기를 이용한 oligonucleotide addressing	oligonucleotide	Clinical Sensors Nanogen

Table 2 Application field of DNA chip

DNA 칩 활용 가능 분야	Oligonucleotide 칩 활용가능 분야
인체 유전자 기능분석 연구	암 관련 유전자 돌연변이
산업용 유전자 재조합 동식물 및 미생물 연구	검색 진단
실험용 동식물 모델 연구	유전병 관련 유전자 돌연변이 검색진단
암 및 질병관련 유전자 진단	약제 내성 검색 진단
유전자 치료	DNA 염기서열 분석
임상 병리학	유전자 변이 가계도 작성
동식물 검역	장기 이식 가능 조직검사
환경 변화에 따른 생태학 연구	병원성 미생물 동정
식품 안정성 검사	법 의학
신약 개발	DNA 고고학

Fig. 2의 마이크로 핀 형상과 크기는 미합중국 특허(특허번호 6,101,946)에서 제안한 근거를 바탕으로 설계하였다. 마이크로 핀의 가공은 소재가공, 채널부의 가공, 깃부분 가공으로 나뉜다. 재료는 화학적으로도 안정적이고 강도도 강한 스테인레스강(SUS402)을 선택하였다.

깃 부분의 가공은 두 가지 방법을 이용할 수 있다. 깃 부분을 소형선반에서 가공하여 핀 부분을 끼워 맞춘 후 프레스로 눌러 고정시키는 방법(Fig. 3)과 센터리스 연삭으로 깃 부분과 핀 부분을 일체형으로 가공하는 방법(Fig. 4)이다. 후자의 방법이 전자의 방법보다 공정도 좋고 핀의 정정도 향상시킬 수 있다.

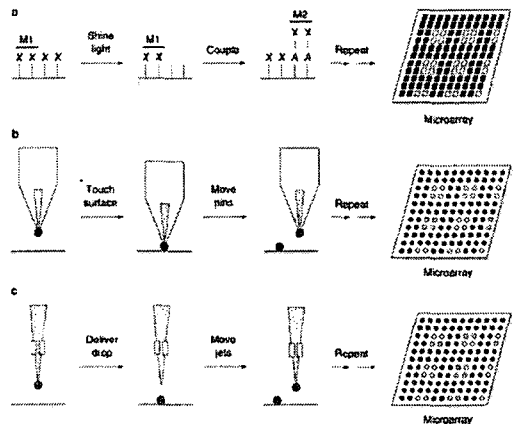


Fig. 1. Fabrication of DNA chip

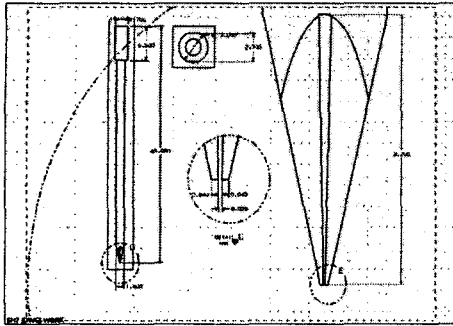


Fig. 2. Micro pin

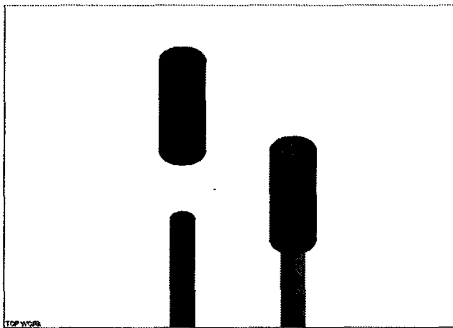


Fig. 3. Assembly type

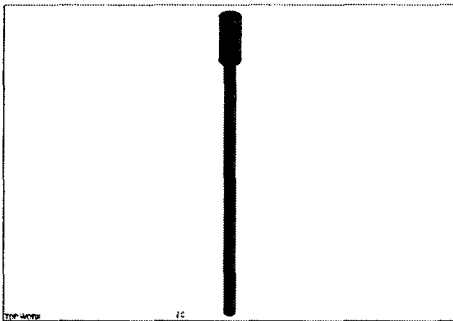


Fig. 4. Solid type

본 연구에서는 가공된 소재를 와이어 방전가공기를 이용하여 가공하였다. 마이크로 핀의 팁 부분의 사각뿔 부분을 가공하기 위하여 마이크로 핀을 고정된 후 90도 회전할 수 있는 고정 지그를 제작하였다. 지그는 정사각을 갖는 육면체로 마이크로 핀이 구멍에 틈새 없이 제작하였고, 직각도, 위치도, 동축도 등이 0.002mm 이하로 설정하였다. 이 지그도 와이어 방전가공기를 이용하면 쉽게 제작할 수 있다. 와이어는 마이크로 핀의 채널부의 홈 폭이 0.1mm 이므로 방전 겹을 고려하여 와이어의 직경 $\Phi 0.07\text{mm}$ 황동 선으로 선정하

였다. 지그를 이용하여 와이어 방전가공기에 마이크로 핀 소재를 설치하였으며, 소재길이 46mm를 정밀한 가공을 위하여 45mm로 정확히 고정하였다. 가공조건을 선정한 후, 마이크로 핀 팁 부분을 가공하여 길이 45mm를 정확히 맞추어 채널부의 각진 부분을 가공하였다(팁 부분 길이 0.1mm). 이때, 핀을 고정된 지그를 90° 회전하여 고정시킨 후, 채널부의 각진 부분을 가공하였다(팁 부분 길이 0.18mm). 그리고 Fig. 5와 같이 채널부의 홈 부분을 가공하였으며, 핀을 고정된 지그를 방향을 바꾸어 깃 부분을 평면부의 길이가 2.7mm가 되도록 가공하였다. 이때, 평면부가 핀 중심선 기준으로 대칭이 되어야 한다. 마이크로 핀의 가공이 완료되면 세척 후, 공구현미경으로 오차 범위를 측정하여 실제 도면과의 차이 및 가공조건의 오차가 발생하면 재가공 하였다.

채널부의 끝단은 Fig. 6과 같이 0.02mm가 되도록 지그를 이용하여 변형하였다. 특히, 이 부분의 작업이 마이크로 핀의 성능을 좌우하는 가장 중요한 작업이다. 채널부의 경사진 부분을 프레스하여 변형시켜야 하는데 측면부와 채널의 경사진 부분의 접촉하는 위치가 중요하였다. 수십 번의 실험 끝에 팁 끝 부분으로부터 2.5mm 부근에서 압축할 때 스프링 백에 의한 변형이 적고 영구변형이 일어난다는 것을 알게 되었다.

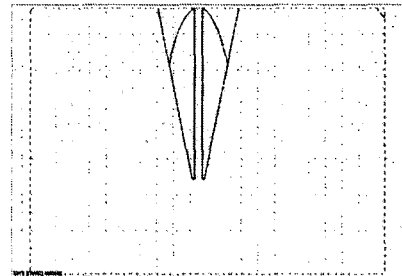


Fig. 5. Shape of micro channel

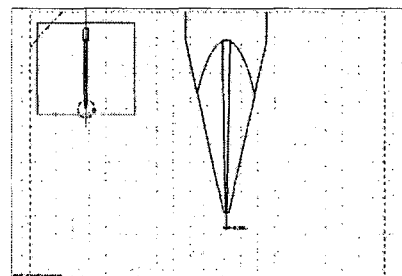


Fig. 6. Deformed shape of micro tip (channel width = 0.02mm)

Shanel 와이어 직경 $\Phi 0.1\text{mm}$ 로 되어 있어 채널부의 크기(폭)를 0.18mm 로 하여 마이크로 핀 가공 후 측정 결과는 Table 3과 같이 나타났으며, 실제 핀의 형상은 Fig. 7과 같았다. 당초 기대한 만큼의 예상 형상은 나오지 않았으며, 그 원인으로 분사식 가공으로 인한 가공액 분사 압력에 의하여 팁 부분이 떨림이 발생하여 가공 변형이 생겼다고 사료된다.

Table 3 Machining results of test pins
channel hole width : 0.18mm [unit : μm]

가공핀 번호	Width (180)	Left (40)	Right (40)	Tip (180)
pin 1	175	39	42	180
pin 2	175	42	44	188
pin 3	173	46	44	186
pin 4	173	33	31	151
pin 5	180	30	0	132
pin 6	171	37	37	158
pin 7	171	35	49	160
pin 8	184	44	40	150
pin 9	173	44	44	177
pin 10	167	22	29	130
pin 11	178			121
pin 12	178		25	105

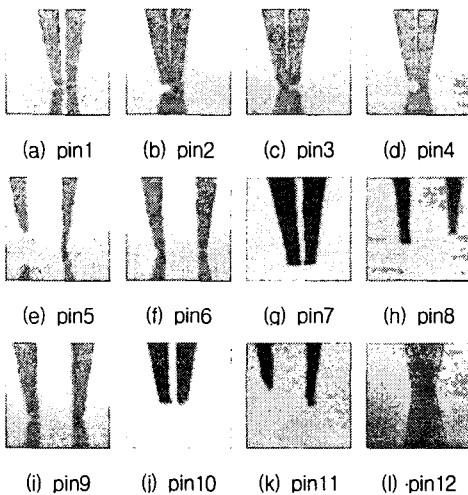


Fig.7. Tip shapes of machined pins

Table 4. Machining results of test pins

가공핀 번호	Width (100)	Left (40)	Right (40)	Tip (100)
Pin14	108	30	38	100
Pin15	99	38	38	96
Pin16	99	42	40	94
Pin17	103	42	40	101
Pin18	105	38	40	100
Pin19	101	38	42	105
Pin20	103	37	42	101

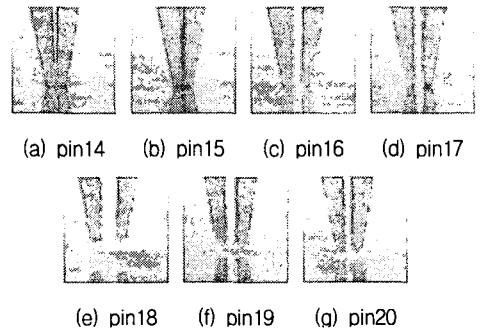


Fig.8. Shapes of micro pins

그리고 Sodick 와이어 방전가공기 (모델명 : AP200L) 와이어 직경 $\Phi 0.07\text{mm}$ 로 하여 채널부의 크기(폭)를 0.1mm 로 가공한 결과는 Table 4와 Fig. 8과 같이 정확히 나왔다.

4. 실험 결과 및 고찰

본 실험에서는 세척 후, 핀 포인트를 샘플에 넣어서 샘플을 채널부에 로딩하였다. 이 때, 사용된 샘플은 순수 증류수, 5% 포도당 수액, 그리고 요오드 액을 사용하였다. 핀을 샘플에 넣어 로딩하는 시간은 5초 이상으로 하여 샘플이 채널부를 채워지도록 하였으며, 샘플의 로딩 방법은 자동화된 모션 제어 시스템이 없이 수동으로 인쇄하였다. 샘플 로딩된 핀은 실험 장치에 옮겨 실리콘 웨이퍼위에 직접 접촉식 인쇄를 하였고, 그에 따른 접촉시간이 인쇄량을 결정한다는 사실이 증명되었다.

또한, 마이크로 핀의 채널부와 팁 부분 형상의 가공에서 치수정도 및 형상공차를 0.002mm 내로 가공하여야 하며, 특히 채널부의 경사진 부분과 내면의 표면 거칠기는 샘플 채

적에 영향을 주었다. 또한, 채널부의 끝 부분 간격이 인쇄되는 과정에서 직접 인쇄량에 영향을 준다는 사실을 증명하였다. 또한, 채널부의 끝 부분 간격을 변형시키지 않았을 경우에는 팁 부분의 형상은 정상적이지만 채널부 끝 부분을 좁히지 않았기 때문에, 채널부에 인쇄샘플 용액은 채워지지만 Fig. 9와 같이 인쇄되지 않았고, 시간이 지나면서 샘플 용액은 채널 윗부분으로 응집되는 현상이 발생하였다.

채널부의 홈 간격이 0.01mm 이하일 경우에는 Fig. 10과 같이 샘플용액은 채워지나 인쇄는 연속적으로 이루어지지 않았다. 그리고 채널부의 홈 간격을 0.02mm 로 하였을 경우에는 Fig. 11과 같이 정상적으로 채널부에 샘플 용액이 채워지고 인쇄도 일정하게 이루어졌다. 또한, 채널부의 홈 간격이 0.03~0.04mm 인 경우에는 Fig. 12와 같이 채널부에 샘플용액은 채워지고, 연속적으로 인쇄되나 인쇄 흔적은 ϕ 0.22~0.46mm 로 크게 나타남을 알 수 있었다.

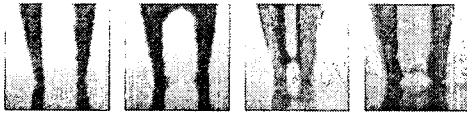


Fig.9. Pins fail to print

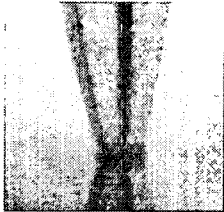


Fig.10. Pins fail to print continuously

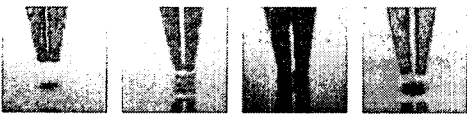


Fig.11. Cases of stable printing



Fig.12. Cases of stable printing

5. 결론

마이크로 핀의 채널부의 형상은 샘플 체적($0.2 \mu\ell$) 을 결정한다. 와이어 방전가공 시, 채널부와 팁 부분의 형상이 정확히 나오도록 가공되어야 한다.

마이크로 핀 채널부의 끝부분 홈 간격은 0.02mm이하로 하면 인쇄흔적의 크기를 직경 ϕ 0.1mm 정도로 할 수 있고 채널 홈 끝 부분의 간격을 0.02mm 로 하기가 어려우므로, 실험결과 홈 간격 0.04mm이하에서는 인쇄과정에 문제가 발생하지 않아, 와이어 방전가공 시, 와이어 직경 ϕ 0.03mm 를 사용하여 홈 간격을 0.04mm로 제작하면 제작공정을 줄일 수 있을 것이다. 인쇄 흔적의 크기(1 ml)는 핀의 팁 부분의 단면적을 작게 하고, 접촉 시간을 조절하여 결정할 수 있으며 채널부의 이물질이 존재하면 샘플 용액이 제대로 채워지지 않고, 인쇄도 일정하게 이루어지지 않으므로 사용 후 즉시 초음파 세척기를 이용하여 마이크로 핀을 세척하고, 고압의 공기로 건조 시켜 사용하여야 한다.

참고 문헌

- (1) J. M. Kohler, J. Reichert, A. Csaki, W. Fritzsche, 2000, "Statusseminar A-Chip technologie", Anwendung und Nutzen, Frankfurt, M.2-25.
- (2) Seung Yong-Hwang, 2001, "DNA chip technologies : Array of hope"
- (3) J. Michael Köhler, andrea Csáki, Jörg Reichert, R. Möller, W. Straube an Wolfgang Fritzsche, 2001, "Selective labeling of oligonucleotide monolayers by metallic nanobeads for fast optical readout of DNA-chips", *Sensors and Actuators B: Chemical*, Volume 76, Issues 1-3, pp. 166~172.
- (4) C. A. Marquette, I. Lawrence, C. Polychronakos and M. F. Lawrence, 2002, "Impedance based DNA chip for direct T_m measurement", *Talanta*, Volume 56, Issue 4, pp. 763~768.