

나노 그레이팅 구조를 갖는 비표지식 바이오센서 성형에 관한 연구

조익현¹, 김병욱¹, 최성우¹, 김경현², 성건용², 강신일^{1,*}

Replication of label-free biosensor with nano grating structures

E.H. Cho, B.W. Kim, S.W. Choi, K.H. Kim, G.Y. Sung, and S. Kang

Abstract

This paper presents the development of a disposable label-free biosensor for bio molecular interaction analysis. Label-free biosensors have advantages of high performance in sensitivity and short detection time. Among various label-free systems, we introduced biosensor with nano grating structures based on white light source and spectrometer. And to develop high efficiency label-free biosensor, we suggest replicating processes satisfying required specification. We also report a system set-up to evaluate the characteristics of phenomenon shown in this biosensor system.

Key Words: Label-free biosensor, Nano grating structure, UV (ultraviolet) Nanoimprinting, Metallic stamp

1. 서 론

인간의 질병과 관련된 대부분의 항원·항체 반응은 프로테오믹스 (proteomics)에 기반을 두고 있다. 프로테오믹스 분야는 인류의 전반적인 삶의 질 향상과 더불어 신약개발, 질병의 치료 및 진단이라는 의료적 목표 아래 현재 많은 연구가 활발히 진행되고 있다 [1]. 하지만 질병 예측과 임상진단을 위해서는 생체분자간의 상호작용을 검출 및 분석할 수 있는 기술의 개발이 병행되어야 하며, 이를 위한 바이오센서 기반 기술 확보는 필수적인 요소이다.

기존의 상용화된 단백질 분석방법 (형광물질 등을 이용한 표지식 방법)은 고감도 검출 방식이기는 하지만 항원·항체 반응과 관련이 없는 다른 물질을 첨가함에 따라 순수 항원·항체 반응에 영향을 미칠 수 있으므로 신뢰성 확보의 문제점을 지니고 있다. 또한 표적 분자(target molecule)에 따라 라벨링 (labeling)을 새로 해야 하는 테스트 복잡성과 시간적인 문제를 지니고 있다 [2]. 최근 미세한 질량 변화를 감지해내는 QCM (quartz crystal

microbalance) 방식을 비롯 전기화학적 방식, 열센서를 이용한 방식 등 다양한 방식의 바이오센서가 개발되었으며 추가적인 연구가 지속적으로 진행 중에 있다 [3]. 하지만 아직까지는 감도의 한계를 가짐으로써 결국 고감도, 고신뢰성, 신호 검출의 신속성을 동시에 만족시켜주는 바이오센서는 개발되지 못한 실정이다.

본 연구에서 제작하고자 하는 바이오센서는 자외선 나노임프린팅 공정으로 제작된 나노 그레이팅 구조의 바이오칩을 이용하여, 백색광과 스펙트로미터를 통해 생체물질 반응 여부를 광학적으로 검출하는 비표지식 (label-free)방식이다. 따라서 추가로 첨가되는 물질이 없어 반응의 신뢰성 확보 문제가 발생하지 않으며, 광학적 방식의 특성상 신호 대 잡음비가 낮고, 적은 농도의 반응물질도 검출이 가능해 고감도 생체 분석이 가능하다. 또한 신속하게 실시간으로 반응 여부를 검출하게 해준다는 장점도 있어 비표지식 방식 중에서도 실용화 가능성성이 매우 큰 바이오센서라 할 수 있다. 하지만 이를 위해서는 고효율 바이오칩 제작을 위한 최적화된 공정 개발이 요구된다.

1. 연세대학교 기계공학부

2. 한국 전자통신 연구원

E-mail: snlkang@yonsei.ac.kr

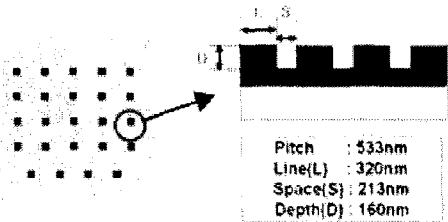


Fig. 1 Nano pattern design specification

2. 측정 원리 및 시스템구성

2.1 측정 원리

본 바이오센서 시스템은 항원·항체의 반응 여부에 따른 반사 (혹은 투과) 파장의 피크 (peak) 이동을 측정하여 반응 여부를 판단하게 된다 [4].

파장 피크치는 고굴절율에 의해 가이딩(guiding)되는 빛과 그레이팅(grating)에 의해 회절되는 빛이 중첩되어, 누설모드 (leaky mode)라는 일정한 조건을 만족시키는 범위에서, 특정 파장의 빛이 모두 반사되는 현상에 의해 발생한다 [5]. 고감도의 바이오센서 시스템을 갖추기 위해서는 스펙트로미터 자체의 해상도도 중요하나 나노 그레이팅의 적절한 설계 및 제작을 통하여 생성되는 피크치 대역폭을 줄이는 것 역시 필요하다. 그러므로 나노 그레이팅에 대한 시뮬레이션을 통해 최적의 성능을 발현하는 나노 그레이팅 형상을 선정하고 이에 따라 역상의 패턴을 지닌 나노 스템프를 제작하는 기술과 나노 스템프 패턴 형상의 역상인 나노 그레이팅 패턴을 지닌 바이오칩을 복제 제작하는 기술이 바이오센서 효율을 결정하는 중요한 인자가 된다.

2.2 바이오센서 시스템 구성

본 연구에서는 700 nm 후반의 피크 파장을 형성

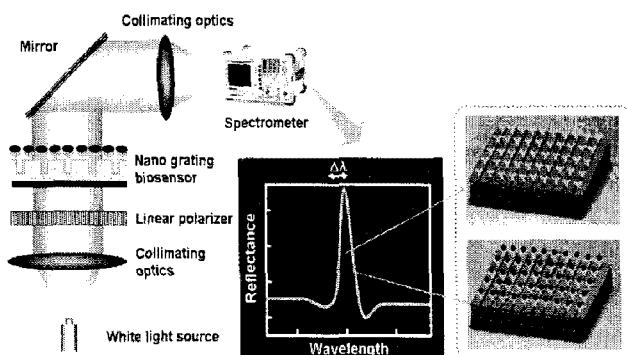


Fig. 2 Schematic design of label-free biosensor system with nano grating structures

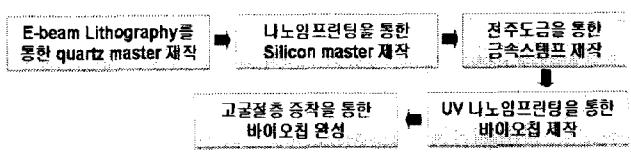


Fig. 3 Flow chart for replicating label-free biosensor

하기 위한 나노 그레이팅 구조를 설계하였으며 구체적인 나노 그레이팅 구조의 설계치는 Fig. 1에 제시되어 있다. 그리고 Fig. 2에서는 백색광과 스펙트로미터 및 나노 그레이팅 센서로 구성된 시스템 개략도를 보여준다.

생체 물질 검출을 위해서는 반응 전과 후의 피크 파장 비교가 하나의 피크 파장 변화에서만 필요하므로, 광원의 전면부에 선형편광 필터를 놓음으로써 편광방향에 따라 복수 개의 서로 다른 피크 파장이 생기는 문제를 해결하였다. 본 바이오센서 시스템에서는 빛이 나노 그레이팅에 수평인 방향으로 입사하는 TE (transverse electric) 편광을 이용하였으며, 광파이버 (optical fiber)를 이용하여 광원의 효율을 높이고자 하였다.

3. 바이오센서 제작

3.1 바이오센서 제작 공정

본 연구에서 제작하고자 하는 바이오센서는 유리나 플라스틱 기판 위에 나노 그레이팅 구조가 반복적으로 배열된 형태로, 통상적인 나노임프린팅 방식을 통하여 제작이 가능하다 [6].

Fig. 3은 바이오센서를 제작하기 위한 세부적인 공정 도식도이다. 나노 그레이팅 패턴 성형을 위해 먼저 전자빔 리소그래피 및 RIE (reactive ion etching) 공정을 통해 나노 그레이팅 패턴을 갖는

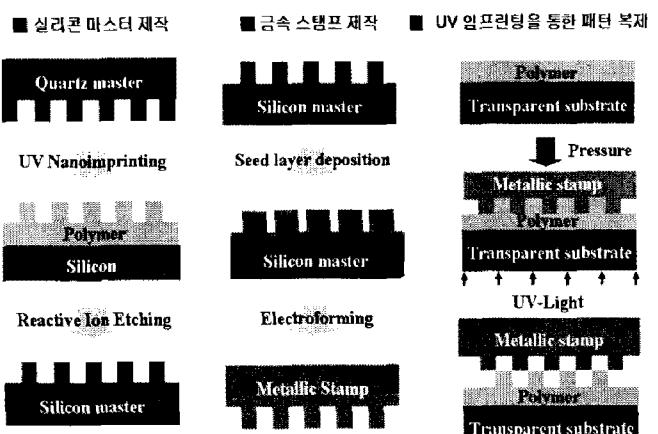


Fig. 4 Fabrication processes of label-free biosensor

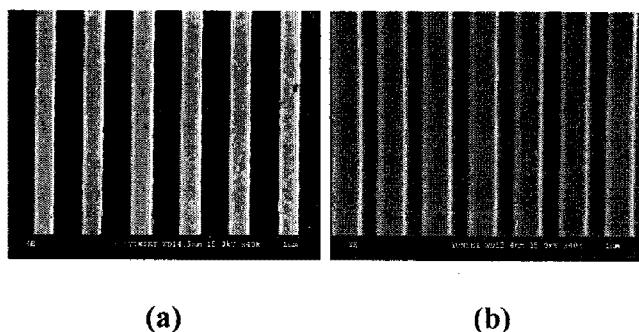


Fig 5. SEM images of (a) metallic stamp and (b) nanoimprinted polymer pattern

석영 (quartz) 마스터 패턴을 제작하였다. 제작된 석영 마스터 패턴을 바탕으로 Fig. 4와 같이 나노 임프린팅 공정 및 식각 공정을 진행하여 실리콘 마스터를 제작하였으며, 증착기를 이용하여 실리콘 마스터에 상에 금속 전도층을 도포한 후 전주 공정을 진행하였다. 전주 공정에서는 전도층의 접착성 및 표면응력 제어가 매우 중요하다. 접착성이 너무 약할 경우 박리현상이 일어날 수 있고, 접착성이 너무 강할 경우 제작된 금속 스템프와 실리콘 마스터 이형시 실리콘 마스터에 손상을 줄 수 있다. 따라서 초기 30분 동안 전압과 전류를 조절하는 램핑 (ramping) 시간을 설정하여 금속 스템프 제작시 니켈 금속층이 안정적으로 성장하도록 하였다. 전주공정을 통해 제작된 금속 스템프를 이용, 자외선 나노임프린팅 공정을 진행하여 바이오센서를 복제 제작하였다. 자외선 나노 임프린팅 공정에서 포토폴리머가 경화후 약 5 % 정도 수축함으로 이를 설계값에 반영하여 실리콘 마스터 패턴의 식각 깊이를 보정하였다.

3.2 금속 스템프 및 패턴 복제 결과 분석
제작된 금속 스템프 및 자외선 나노임프린팅 공정으로 제작된 폴리머 나노 그래이팅 패턴의 측정 및 분석을 위해서, AFM (atomic force microscopy) 측정 및 SEM (scanning electron microscopy) 측정을 수행하였다. Fig. 5는 금속 스템프와 자외선 나노임프린팅 공정으로 복제 제작된 폴리머 나노 그래이팅 패턴의 형상에 대한 SEM

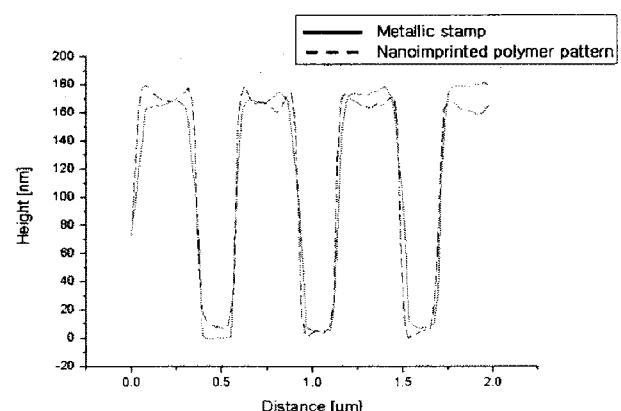


Fig. 6 AFM profiles of metallic stamp and nanoimprinted polymer pattern

측정 결과이다. Table.1에서 정리한 측정결과에서와 같이, 금속 스템프의 경우 피치는 542 nm로 설계값인 533 nm보다 2.2 % 더 큰 수치였다.

하지만 금속 스템프를 이용해 복제 제작된 나노 그래이팅 패턴은 피치값이 520 nm로 설계값보다 2.4 % 작은 값을 보였다. 따라서 금속 스템프를 이용한 자외선 나노임프린팅 공정을 통해 바이오센서 패턴을 제작할 경우 금속 스템프와 비교하면 4.1 %의 수축이 발생하며, 설계값과 비교해 2.4 % 작은 피치가 형성된다.

고굴절층 증착시 두 변수인 패턴 높이와 고굴절층 두께의 차이에 따라 피크 파장 영역의 sharpness가 영향을 받기 때문에, 정해진 설계값에 따른 복제 패턴의 정확한 높이 확보가 필요하다. Fig. 6은 금속 스템프 및 나노임프린팅으로 제작된 폴리머 패턴에 대한 AFM 측정의 결과로서 금속 스템프의 경우 그래프는 역상으로 보정된 값이고, 설계된 높이 160 nm 보다 약 5 % 증가된 168 nm 가 나왔다. 이 결과는 자외선 나노임프린팅 공정 시 발생되는 패턴 수축의 문제를 보정해주기 위해 초기 실리콘 마스터 제작시 추가 식각한 깊이와 일치한다. 자외선 나노임프린팅 공정으로 제작된 폴리머 나노 그래이팅 패턴의 경우 패턴 높이가 163 nm로 측정되어 설계값과 거의 동일하였다.

3.3 고굴절층 증착

자외선 나노임프린팅 공정으로 제작된 폴리머 나노 그래이팅 구조물 상에 고굴절 재료를 증착하여 좁은 대역폭을 지닌 고해상도 바이오센서의 제작이 가능하다. 증착한 고굴절 물질은 SiNx ($n = 2.0$)를 사용하였으며, 시뮬레이션을 통해 고굴절층

Table.1 Comparison of pitch, line/space data

	Pitch	Line	Space
Metallic stamp	542nm	223nm	319nm
Nanoimprinted pattern	520nm	305nm	215nm

두께 변화에 따른 피크 파장 영역의 대역폭을 비교하여 피크 파장 영역이 가장 좁은 고굴절층 두께를 선정하고 그 두께로 실제 고굴절층을 증착하여 제작하였다. 고굴절층은 PECVD (plasma enhanced chemical vapor deposition) 공정을 이용 250 °C에서 70 nm 두께로 증착되었다.

4. 신호 측정 결과

제작된 바이오센서의 성능 평가를 위해 피크 파장 생성을 측정하였다. 실제 측정 결과는 Fig. 8에서 알 수 있듯이 피크 파장이 814 nm에서 나타난다. 이 측정 결과는 Fig. 9에서의 시뮬레이션 값인 800 nm과 14 nm 차이를 보이며, 나노임프린팅 공정으로 제작된 폴리머 나노 그래이팅 패턴의 피치 및 선폭이 실제 설계값과 차이가 있어 생긴 결과로 판단할 수 있다. 또한 시뮬레이션 값은 고굴절층이 이상적으로 증착되고 나노 그래이팅 패턴이 완전하게 전사된 경우를 가정한 것이기 때문에 실제 피크 파장 값과는 다른 피크 파장 형태를 보인다고 판단된다.

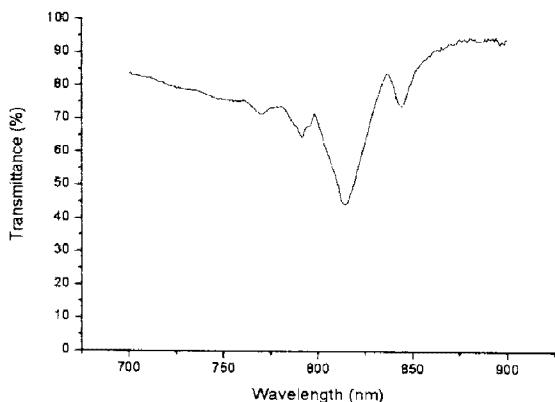


Fig.8 Biosensor spectra

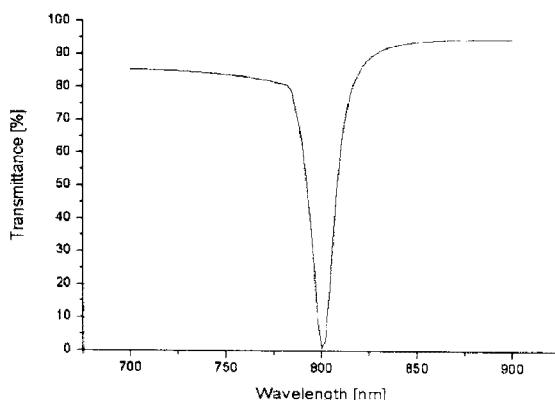


Fig.9 Simulation result

5. 결론

본 연구에서는 자외선 나노임프린팅 공정을 통해 나노 그래이팅 구조물을 가진 바이오센서를 제작하고, 이에 대한 형상 분석 및 피크 파장 측정을 통하여 그 이용 가능성을 확인하였다. 나노그래이팅 패턴을 지닌 바이오센서는 금속 스템프를 이용한 자외선 나노임프린팅 공정을 통해 복제 제작되었다. 복제된 바이오센서를 통해 피크 파장을 측정하여 시뮬레이션에서 보인 피크 파장과 비교 분석 결과, 본 공정이 바이오센서 제작에 적용 가능함을 확인하였다. 또한 본 연구를 통해 개발된 바이오센서 제작 공정은 추후 대량생산을 위한 방식으로서도 활용도가 높을 것으로 기대된다.

참고 문헌

- [1] Cunningham B, Li P, Lin B, Pepper J, 2002, Colorimetric resonant reflection as a direct biochemical assay technique, Sensors and Actuators B: Chemical, Volume 81, Number 2, pp. 316-328(13)
- [2] J. Hong, K.H. Kim, J.H. Shin, C. Huh, G.Y. Sung, 2007, Prediction of the limit of detection of an optical resonant reflection biosensor, Opt. Express, vol. 5, pp. 8972-8978,
- [3] M. V. Voinova, M. Jonson and B. Kasemo, 2002, Missing mass'effect in biosensor's QCM applications, Biosensors and Bioelectronics, Volume 17, Issue 10, Pages 835-841
- [4] Lin B, Qiu J, Gerstenmeier J, Li P, Pien H., Pepper J, Cunningham B, 2002, A label-free optical technique for detecting small molecule interactions, Biosensors and Bioelectronics, Volume 17, pp. 827-834(8)
- [5] Y. Ding, R. Magnusson, 2004, Resonant leaky-mode spectral-band engineering and device applications, Optics Express, Vol. 12, Issue 23, pp. 5661-5674
- [6] K.Y. Kim, D.C. Lee, S. Kang, 2003, Fabrication of metallic nano-stamper to replicate nanoscale patterns, The Korean society of Technology of Plasticity, Spring Session, pp481~484