

Cyclic Capillary Electrophoresis Separator on Silicon Substrate with Synchronized Switching

鄭 鏞 元* · 金 奉 煥** · 李 俊 燁*** · 趙 慶 淵[§] · 張 準 根^{§§} · 全 國 鎭^{§§§}
 (Y. W. Jeong · B. H. Kim · J. Y. Lee · K. Y. Cho · J. K. Chang · K. Chun)

Abstract - We have developed a synchronously switched cyclic capillary electrophoresis (CE) separator that is fabricated on a silicon substrate and glass containing reservoirs, Au electrode, and isolated channels. The advantage of a cyclic separator is the high resolution and ability to separate each sample to the designated reservoir from mixed samples. This approach makes it possible to reduce the supplied voltage and the total size. Another goal of this work is to introduce the methodology of electroosmosis flow (EOF) to silicon substrate and to separate DNA samples using a modified double-T injector.

Key words Capillary electrophoresis, CE, Electroosmosis, EOF, Cyclic, Injector

1. 서 론

DNA 시료 분리의 첫 시도가 이루어진 이후[1] 마이크로 CE(capillary electrophoresis)시스템에 관한 많은 연구가 이루어져 왔다. 최근에는 실리콘이나 유리물질 대신 폴리머 계통의 물질들이 CE 분리의 기판 물질로 도입되어지고 있다. 실리콘 기판들이 배제되고 있는 이유는 고전압에서 발생하는 누설전류와 비싼 공정비용 때문이다. 그러나, 실리콘 공정기술은 고품질의 표준화된 공정기술이어서 제어회로나 센서회로를 집적화할 수 있을 뿐 아니라 대량생산을 하게 될 경우 일괄공정을 통한 저생산비용을 기대할 수 있다[2]. 본 논문에서는 회전형 CE 분리를 실리콘 기판 위에서 제작하였다. 이 방법은 높은 해상도와 복합된 원시료에서 분리된 시료를 각기 다른 저장고(reservoir)에 보낼 수 있는 장점을 가지고 있고, 동기적 스위치를 이용하여 사용전압을 낮출 수 있는 장점을 가지고 있다[3]. 이런 이유로 약 10 cm 길이의 기존채널을 15 mm x 20 mm로 크게 줄일 수 있게 되며 이것은 칩당 공정비용이 크게 줄어들 수 있다는 의미이기도 하다. 전기삼투(electroosmosis flow)를 발생시키기 위해서 용융실리카 모세관을 사용하는 기존의 CE 분리에 반해서 본 논문에서는 실리콘 기판 위에 열산화막을 성장시킴으로써 전기삼투를 구현할 수 있었으며 채널을 전기적으로 절연시키는 역

할도 할 수 있었다. CE 분리기에 사용되는 일반적인 주입기(injector)로는 cross 주입기와 double-T 주입기가 있다. 그러나 금속 전극선이 원형채널에 연결되어 있기 때문에 cross형 주입기는 사용할 수 없었다. 또한 double-T 주입기를 사용하기 위해서는 수정이 필요하게 되었으며 주입에 필요한 새로운 알고리즘이 필요하게 되었다.

2. CE(capillary electrophoresis)의 원리

2.1 CE의 기본원리

최근 5년간 화학분야에서 크게 주목을 받은 분야는 CE이며 특히 단백질 분석과 DNA 분석에 가장 뛰어난 방법으로 증명되었다[4,5]. 이 방법은 용융실리카 유리관과 높은 전기장만으로 용액 속의 여러 물질의 분리가 가능하고 외부의 광학장비와 기존의 여러 실험 정보만으로 그 물질의 조성비를 높은 해상도로 알 수 있는 장점을 가지고 있다. 전기삼투는 음전하로 대전된 모세관 벽에 인접한 양이온에 전기장이 걸려서 발생하게 되는 유체의 전체 흐름을 일컫는 말이다[6]. 이러한 현상은 용융실리카 표면의 실라놀그룹(SiOH)이 PH 2이상의 완충용액과 만나게 되면 $SiOH \leftrightarrow SiO^- + H^+$ 로 분리가 되고 표면은 음전하(SiO⁻)를 띠게 된다. 용융실리카 모세관 벽은 대부분의 pH 조건에서 음으로 대전되어 있고 모세관 벽 근처의 용액은 양으로 대전된다. 전기장이 걸리면 양전하의 층이 음극 쪽으로 이동하게 되어 전체 용액의 움직임으로 나타난다. 전기삼투 흐름은 모세관 전체에서 느껴지는 힘이며 유체 펌프의 역할을 하지만 힘의 근원은 표면 반전층(double layer)의 양전하가 인가되는 전기장에 의해서 시작되고 이 움직임이 이차적인 점성력을 유발하여 전체 유체를 움직이게 된다[그림 1].

* 正 會 員 : 서울대 工大 電氣工學部 博士課程
 ** 非 會 員 : 서울대 工大 電氣工學部 博士課程
 *** 非 會 員 : 서울대 工大 電氣工學部 碩士課程
 § 非 會 員 : 서울대 工大 電氣工學部 工博
 §§ 非 會 員 : 서울대 工大 電氣工學部 助教授 · 工博
 §§§ 非 會 員 : 서울대 工大 電氣工學部 教授 · 工博
 接受日字 : 2000年 6月 28日
 最終完了 : 2000年 11月 8日

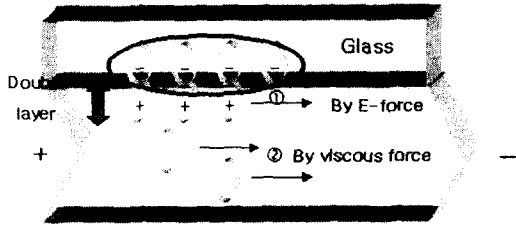
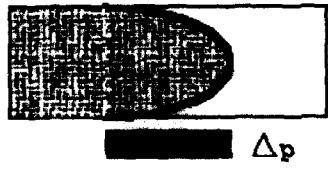


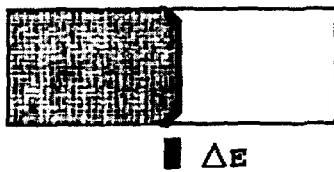
그림 1. 전기삼투의 원리
Fig.1 Principle of Electroosmosis

이러한 흐름은 그림2와 같이 결과적으로 laminar flow가 아닌 plug flow를 가지게 되므로 시료의 확산을 최소화시킬 수 있게 된다. 결국 이것은 시료부분에 전장이 일정하게 걸리게 함으로써, 분리가 진행되면서 분해능이 낮아지지 않게 하는 역할을 할 수 있게 된다.

전기삼투는 전기영동에서 어느 정도 존재하지만 CE에서는 크게 작용한다. 그 이유는 높은 표면면적대 부피의 비와 완충용액의 낮은 점성력 때문이다.



(a) laminar flow



(b) plug flow

그림 2. 모세관 흐름의 차이
Fig 2. Flow profile

최근에는 CE 분리기를 MEMS기술을 이용하여 소형화하는 기술이 많은 진보를 이루었다[7]. 이러한 소형화 기술로 인하여 기존에 인가하던 높은 전압(10kV)을 줄일 수 있고 사용되는 시료의 양도 크게 줄일 수 있다. 또, 반도체 일괄공정을 이용하여 대량생산이 가능하게 되고 칩(lab-on-a chip)위에 구현함으로써 휴대용이 가능하게 된다[8].

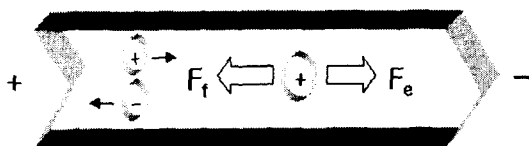
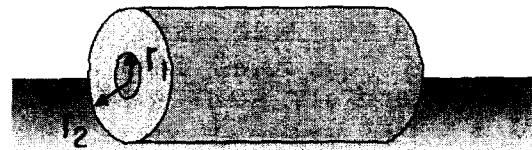


그림 3. 전기영동의 원리
Fig 3. Principle of electrophoresis

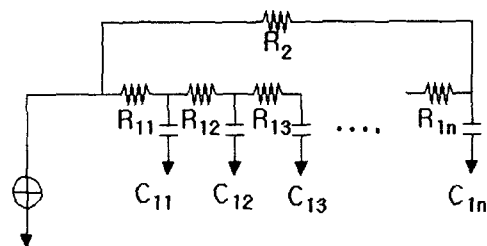
그림3과 같이 전기영동힘은 국지적인 이온에서 보는 시각에서 보이는 힘이며 전기장이 가해지면 F_e (electrostatic force)와 F_f (friction force)가 균형을 이룰 때까지 이온이 가속하게 된다.

모세관에 정전력을 가했을 때 내부에서는 모세관 전체에서 전기삼투압이 존재하게 되고 모세관을 흐르는 시료 용액에서는 전기영동힘을 받게 된다. 이 두 힘의 조화로 인하여 용액 성분의 전하대 질량비에 따라서 속도차이가 발생하게 된다.

2.2 CE의 전기적 모델링



Si. Substrate



- r_1 : 모세관 채널 반지름
- r_2 : 실리콘관의 반지름
- R_{in} : 채널이 완충용액으로 채워져 있을 경우 길이 방향으로의 저항 성분
- R_2 : 유리벽 길이 방향으로의 저항 성분
- C : 전압강하에 의하여 병렬로 연결되는 정전용량

그림4. CE의 전기적 모델링
Fig 4. Electronic modeling of CE

그림4에서 열이 발생하는 성분은 오로지 저항에만 연관되어 있고 DC상에서 정전용량의 임피던스는 무한대가 된다. 따라서 정전용량은 시료 주입의 초기 transient delay time에 영향을 주지만 큰 의미가 없으므로 무시할 수 있다. 실리콘 기판 위에 열산화막을 성장시켜서 실험을 할 경우 항복 전압을 주의하여야 한다. 열산화막의 항복전압은 약 $10^3 V/\mu m$ 이므로 기판과 전극사이에 충분한 두께의 절연막을 두어야만 절연 파괴에 의한 누설 전류가 흐르는 것을 막을 수 있다.

2.3 소형화를 할 때 고려해야 할 사항

일반적인 CE 분리기에서는 30cm정도의 긴 채널사이에 10kV 이상의 높은 전압이 걸리게 된다. 이런 높은 전압을 사용하게 됨으로써 채널에서는 많은 열이 발생하게 되고 발생하는 열은 채널내의 유체를 대류시켜 버리는 악영향을 주게 된다. 소형화를 시킬 경우 따로 냉각시스템을 장착할 수 없기 때문

표 1. 스케일 척도 대비표
Table 1. Scaling down table

	길이(L)	넓이(D)	전압(V)	발생 열	소모 열	측정 시간(s)	저항	전류	속도 ($\mu\text{m/s}$)
상관관계				V^2D^2/L	DL	L^2/V	L/D^2	VD^2/L	V/L
Macro	30cm	$30\mu\text{m}$	10kV	Pg	Pd	350	$5\text{G}\Omega$	$4\mu\text{A}$	857
Micro	13mm	$30\mu\text{m}$	10V	$\text{Pg}/174,223$	$\text{Pd}/22.95$	92	$218\text{M}\Omega$	46nA	9.836

에 전력소모에 의한 열발생 문제는 소형화를 생각할 경우 가장 큰 문제가 된다. 그리고, 소형화를 통하여 적은 전압을 사용하게 될 경우 속도가 너무 느려지는 결과에 대한 검토가 필요하며, 짧은 채널을 사용하게 되면 상대적으로 전극에 걸리는 전압이 상승하게 되어 전기분해 현상이 발생하게 되는 결과를 가지게 되는데 이 부분에 대한 충분한 고찰이 이루어져야 한다.

2.3.1 Joule열 발생 문제

모세관 내부의 완충용액은 길이방향의 큰 저항으로 근사화시킬 수 있다. 이 저항에 전압을 가하게 되면 전류가 흐르게 되고 전력이 소모되면서 열이 발생하게 된다. 이 열이 외부로 방출되지 않으면 내부의 용액을 가열하게 되고 가열된 용액은 열에너지에 의하여 대류하게 된다. drift 속도에 의하여 정렬되어야 하는 시료가 대류현상에 의하여 정렬이 되지 않게 된다. 거시 세계의 큰 분리기에서는 joule열의 피해가 몹시 크기 때문에 냉각기가 따로 장착되어 있다. 그러나, MEMS 기술을 이용하여 소형으로 제작하게 되면 발생하는 열보다 방출되는 열이 훨씬 많기 때문에 이러한 문제를 신경 쓰지 않아도 된다. 이러한 이유를 수식으로 정량화 시킨 결과는 다음과 같다.

$$R_1 = \frac{L}{\sigma_{buffer} r_1^2 \pi} \tag{1}$$

$$R_2 = \frac{L}{\sigma_{glass} (r_2 - r_1)^2 \pi} \tag{2}$$

$$I_1 = \sigma_{buffer} E r_1^2 \pi = \sigma_{buffer} \frac{V r_1^2 \pi}{L} \tag{3}$$

$$P_{buffergeneration} = I_1 V \tag{4}$$

$$P_{bufferdissipation} \Rightarrow \text{표면적} 2\pi r_1 L \text{에 비례} \tag{5}$$

식 (1)과 식 (2)는 각각 완충용액과 채널의 등가 저항식이며 일반적으로 완충용액의 저항이 채널의 저항에 비해 무시할 만큼 적으므로 채널 쪽의 전류는 무시할 수 있다. 식 (4)와 식 (5)에 의해서 완충용액에서 발생하는 열은 같은 전기장 세기를 인가했을 때 반지름과 전압의 제곱에 비례하게 되고, 방출되는 열은 표면적(반지름과 길이)에만 비례함으로써 전압이 줄어들게 되면 발생하는 열만 줄어들게 된다. 다른 것이 같은 조건이라면 발생하는 열이 보다 효율적으로 방출될 수 있게 된다. 즉, 저전압을 사용하며 전기장의 세기를 줄이고 반지름이 적은 모세관을 사용하는 소형 CE 분리기에서

는 joule열 문제가 심각하지 않게 된다.

2.3.2 시료의 속도

일반적인 CE 분리기에서는 약10kV의 전압을 가해준다. 그러나 MEMS 기술로 소형화하게 되면 적은 전압을 이용해도 같거나 훨씬 빠른 분리기를 만들 수 있게 된다. 이러한 속도에 관한 수식을 정리해보면 다음과 같다.

$$v = \mu_{app} \frac{V}{L} \tag{6}$$

$$\mu_{app} = \mu + \mu_{os} \tag{7}$$

$$\mu_{os} = \frac{\sigma^* k^{-1}}{\eta} \tag{8}$$

σ^* : 표면전하(surface charge)

k^{-1} : 반전층의 두께(double layer)

η : 점성력(viscosity)

식 (6)에서와 같이 시료의 속도는 전기장의 세기와 시료의 전체 이동도(apparent mobility)에 비례하게 된다. 여기서 전체 이동도는 시료의 이동도와 완충용액의 전기삼투이동도의 합으로 나타내게 된다[식 7]. 전기삼투이동도는 식 (8)에서와 같이 채널의 표면전하와 전하의 세기에 의해서 생기는 전기적 반전층의 두께에 비례하게 되고, 완충용액의 점성(viscosity)에 반비례하게 된다.

2.3.3 Scaling down table

표 1에서는 위의 수식 정의를 바탕으로 일반 CE 분리기와 MEMS기술을 이용하여 소형화된 분리기를 비교 정리하였다. 채널 길이를 일반적인 분리기의 30 cm에서 13 mm로 적게 하고 전압을 일반회로와 호환성이 있는 10V로 줄였을 경우 발생하는 열은 174,223배가 줄어들게 되고 방출되는 전력(열)은 22.95배가 줄어들게 되었다. 이러한 이유는 발생하는 열은 전압의 제곱성분에 비례하지만 방출되는 열은 길이성분에 비례하기 때문이다. 결과적으로 소형화된 CE 분리기는 일반 분리기보다 joule 열의 문제가 훨씬 적어짐을 알 수 있으며, 거의 열이 발생하지 않는다. 채널내부의 저항 성분은 길이가 짧아짐으로써 저항이 줄어들게 되고, 전류는 상승하게 된다. 저항이 적어지는 문제는 앞에서 설명한 전기분해를 일으킬

수 있는 큰 문제가 될 수 있다. 용액의 속도나 전기장은 줄어드는 전압으로 인하여 작아지게 되지만 짧은 길이 때문에 끝단까지 도달하는 시간은 오히려 줄어들게 된다. 또한 분해능을 가능하게 되는 시료간의 간격은 짧은 채널이지만 N바퀴만큼 회전시킴으로써 원하는 해상도가 나오게 할 수 있게 된다. 따라서, 일반 CE 분리기와 비교해서 소형화된 CE 분리기는 joule열 문제는 쉽게 해결 할 수 있지만 짧은 채널로 인하여 분해능이 그만큼 나빠지게 됨을 알 수 있으며 회전형 CE 분리기는 소형화된 분리기의 단점인 분해능까지 해결할 수 있는 좋은 방법이란 결론을 내리게 되었다.

3. 회전형 CE 분리기의 설계

3.1 알고리즘

MEMS 기술로 소형화된 분리기의 장점을 최대한 살리면서 분해능을 일반적인 긴 채널을 사용하는 분리기만큼 크게 할 수 있는 기능을 가지는 분리기를 설계하였다. 이 분리기의 특징은 기존의 단일 전극에서 탈피하여 여러 전극을 이용하는 것이고 전극들에 전압을 동기 신호로 스위칭하여 원형 주 채널의 시료 용액을 충분한 해상도가 될 때까지 회전시킬 수 있는 것이다. 내부 주 채널을 원형으로 만든 이유는 코너에서 발생하는 움직임이 없는 용액부분(dead volume)을 최소한으로 줄이고 출입하는 보조 채널에 다시 확산하는 것을 방지하기 위함이다.

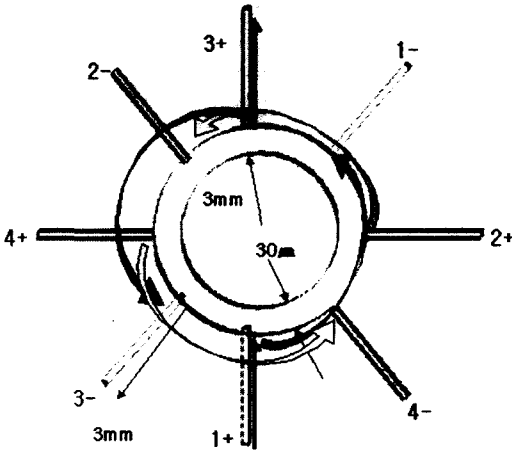


그림 5. 회전형 분리기의 개념도
Fig 5. Schematic of cyclic separator

그림 5는 동기모터형 분리기의 개념도이다. 기본적인 동작은 주 채널의 완충용액을 회전시키기 위해서 주변의 전극이 동기적으로 스위칭되는 형태를 가진다. 그림 5에 나와있는 화살표들은 각 전극쌍들에 의해 발생하게 되는 전기장을 의미하며, 이 전기장들은 각 전극쌍들이 동기적으로 스위칭되면서 순차적으로 발생하게 된다. 주 채널에 주입된 시료 용액은 초기에 1번 전극들에 의하여 1-전극과 2+전극 사이에 위치될 때까지 전기삼투에 의하여 진행하게 된다. 이 때 전기장은 1+, 4-, 2+, 1-과 1+, 3-, 4+, 2-, 3+, 1-의 두 갈래의 흐름을 가지게 된다. 하지만 전기장의 크기가 전자의 경우가 훨씬 크기 때문에 유체는 1+, 4-, 2+, 1-의 통로를 통하

여 흐르게 된다. 시료가 1-전극과 2+전극 사이에 도달하게 되면 1번 전극들은 꺼지고 2번 전극들이 켜지게 된다. 다시 2번 전극들에 의한 전기삼투의 영향으로 시료는 2-전극을 향하게 진행하게 되고 3+전극과 2-전극사이에 위치하게 되면 다시 2번 전극들은 꺼지게 되고, 3번 전극들에 의한 전기삼투의 영향을 받게 된다. 이러한 동기적인 전극들의 스위칭으로 주 채널의 시료는 계속 회전을 할 수 있게 된다. 채널 내의 회전하는 시료는 연속적인 전기삼투로 진행하게 되므로 최소의 크기에서 최소의 전압만으로 긴 모세관 채널에서 얻을 수 있는 분해능을 얻을 수 있게 된다.

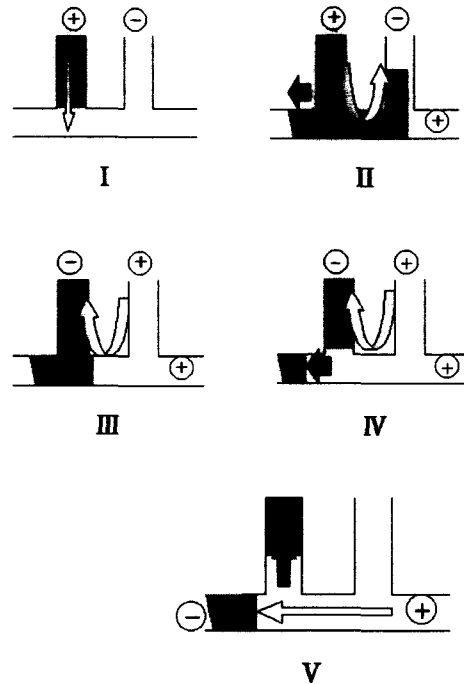


그림 6. Double T-junction 주입기의 새로운 알고리즘
Fig 6. Novel algorithm of double T junction injector

3.2 주입 알고리즘

전압을 이용하여 전기적으로 시료 플러그를 만드는 주입기는 물리적인 펌프나 밸브가 없이 전기장만으로 pico liter(10^{-12})단위의 시료만을 완충용액 용액 속으로 주입하는 기능을 의미한다. 전술한바와 같이 CE 분리기에서 사용되는 일반적인 주입기로는 cross 주입기와 double-T 주입기가 있다[9]. 그러나 금속 전극선이 원형채널에 연결되어 있기 때문에 cross형 주입기는 사용할 수 없었으며 double-T 주입기도 역시 사용하기 위해서는 수정이 필요하게 되었으며 주입에 필요한 새로운 알고리즘이 필요하게 되었다. 그림 6에서는 원형채널에 적용하기 위한 새로운 형태의 double-T 주입기의 개념을 도시하였다. 그림 6에서 사용된 흰색 화살표는 전극에 인가되는 전압에 의해 발생하는 전기장을 의미하며 회색 화살표는 이 전기장에 의해 발생하는 주변전기장(fringing field)을 의미한다. 채널들 사이의 공간에 채워진 시료만을 주입하는 기존의 수동적인 주입방식을 탈피하여 누설전기장에

의해 생기는 시료부분(그림 6.Ⅱ)을 채널들 사이의 전압을 역으로(그림 6.Ⅲ,Ⅳ) 다시 인가하면서 주입(그림 6.V)이 가능하게 된다. 또한, 이 방법은 주입되는 시료의 양을 전압인가 시간을 조절함으로써 인위적으로 조절할 수 있는 장점을 가지고 있다.

4. 제작공정

CE 분리기는 원형 채널(30 μ m width x 10 μ m depth), 저장고와 원형 채널을 연결하는 보조 채널, 용액을 보관하는 저장고(1mm x 1mm)와 유리의 Au 전극으로 구성된다[그림 7]. 분리되는 일련의 과정을 관찰할 수 있는 시각적인 투명성과 채널의 절연을 얻기 위하여 여러 연구그룹에서는 플라스틱[10]이나 얇은 실리콘 질화막[11]을 사용한다. 그러나 본 연구에서는 열산화막(SiO₂)을 사용하여서 채널을 절연하였고 시각적인 투명성을 얻기 위하여 pyrex #7740 유리를 이용한 양극접합기술을 사용하였다. 열산화막은 채널의 절연의 역할뿐만 아니라 용융실리카의 성질을 가지게 되므로 전기삼투흐름을 발생시킬 수 있는 커다란 장점이 있게 된다. 분리 채널인 내부의 원형 채널은 실리콘 deep RIE(Reactive Ion Etching)로 10 μ m 식각되었고 여덟 개의 완충용액 저장고는 뒷면에서 90 $^{\circ}$ C TMAH 용액으로 식각되었다[그림 8]. 그 후 5000 \AA 열산화막이 성장시킴으로서 채널과 저장고는 전기적으로 절연이 된다. 유리기판에는 전극의 용도로 Ti/Au (Ti : 1000 \AA , Au : 4500 \AA)가 증착되었으며, 제작된 실리콘과 전극패턴이 이루어진 유리기판은 1600 V, 430 $^{\circ}$ C에서 양극접합이 이루어진다[그림 9]. 이런 높은 전압과 고열이 필요한 이유는 실리콘 기판의 열산화막의 영향으로 저항이 증가되기 때문이다. 이런 공정 결과로 모든 채널 표면은 열산화막으로서 둘러싸여져 전기적으로 절연이 될 뿐 아니라 표면의 실라놀그룹으로써 전기삼투흐름을 발생하게 된다.

5. 측정

5.1 완충용액과 시료의 선정

완충용액은 주어진 채널 내에서 전기장이 걸리더라도 전기분해가 최소로 일어나면서 분리가 되어야 한다. 이러한 조건을 충족시키기 위해서 본 연구에서는 다음과 같은 4가지 종류의 완충용액을 시도하였다.

- a. TAE buffer(40mM Tris-acetate, 0.001M EDTA (ethylenediaminetetraacetate))
- b. TAE buffer + 1% agarose
- c. 20mM Borate buffer
- d. 50mM Tris (Tris-(hydroxymethyl)-aminomethane)

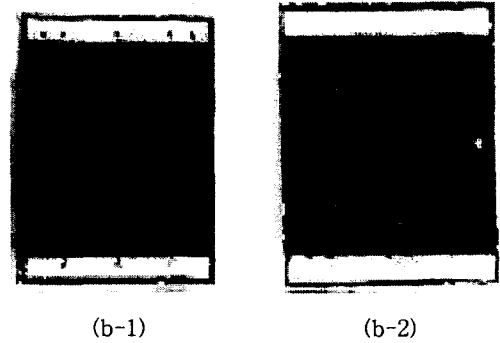
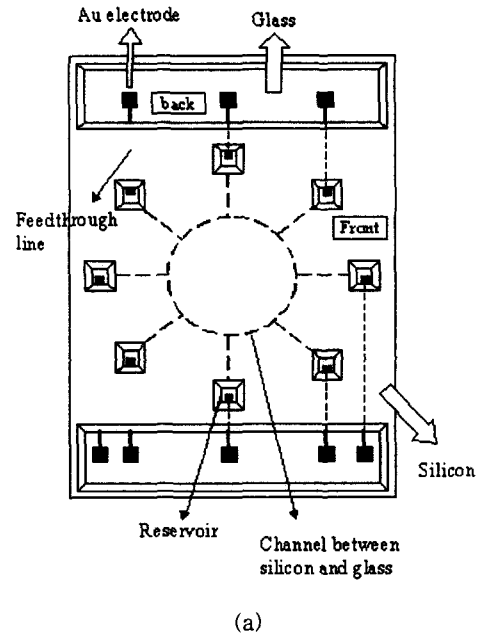


그림 7. 기판 뒷면에서의 개념도(a)
기판 앞면에서의 근접사진(b-1)
뒷면에서의 근접사진(b-2)
Fig 7. Design schematic viewed from backside(a)
Frontside close-up picture(b-1)
Backside close-up picture(b-2)



그림 8. 습식식각으로 형성된 저장고 (a)
실리콘 deep RIE로 식각된 채널 단면 (b)
Fig 8. Reservoir by wet etching (a)
Channel cross section by silicon deep RIE (b)

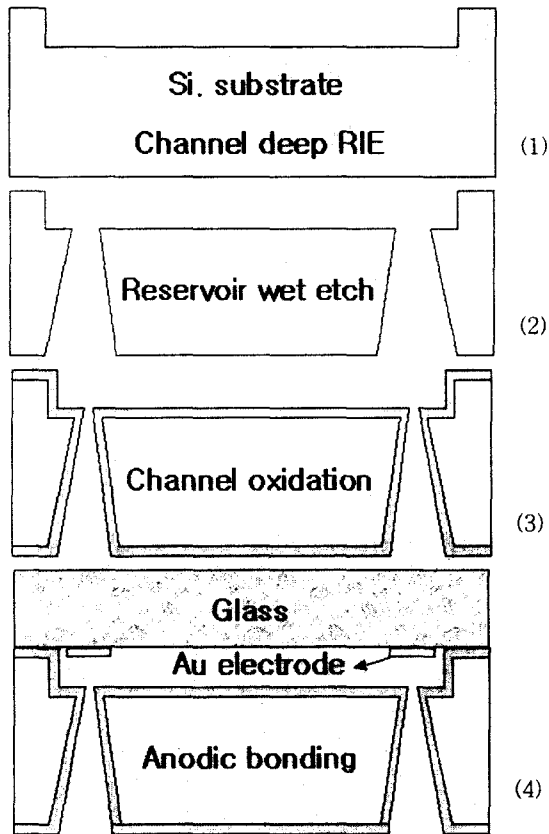


그림 9. 공정 순서
Fig 9. Fabrication sequence

TAE 완충용액을 쓸 경우 (+)전극과 (-)전극에서 전기분해가 관찰되었다. 이 원인은 TAE 완충용액 중에 acetate의 전도도가 매우 높기 때문이다. 전기분해가 일어나면 채널에 공기방울이 밀려들어오는 경우가 많아서 실험에 어려움이 존재하게 되며 전극표면의 전위가 일정하게 유지되기가 어렵게 된다. 이러한 어려움을 극복하기 위하여 TAE 완충용액에 1% agarose를 섞어서 겔상태로 굳히는 실험을 시도하였다. agarose를 섞으면 50°C 이상에서는 점성이 있는 액체 상태로 존재하고 상온으로 식게 되면 겔 형태로 굳게 된다. 그러나, 미세한 채널에 점성이 있는 액체를 모세관 힘만으로 밀어 넣어야 하므로 모든 채널을 채우는데 어려움이 뒤따르게 된다. 이러한 어려움을 borate 완충용액으로서 해결할 수 있었다. TAE 완충용액에 비해서 전도도가 낮아서 전기분해가 일어나지 않고 액체 상태이므로 채널을 채우기가 용이하게 된다.

그렇지만, borate 완충용액내에서 시료용액은 전기삼투의 반대 방향인 -전극에서 +전극으로 이동을 하게 된다. 이러한 움직임은 전기삼투압이 전기영동력보다 적게 됨을 의미하고 전기삼투압의 역방향으로 분리가 가능하긴 하지만 주입의 어려움이 존재하게 된다. 이러한 문제를 해결하기 위해서는 주어진 시료 용액에서 전기삼투압이 전기영동력보다 강한 완충용액이 필요로 하게 되고 이러한 조건을 50mM Tris 완충용액이 충족할 수 있게 되었다. 완충용액은 종류별로 다른 특성을 가지고 있으며 같은 완충용액라도 pH, 이온 농도등의 요인으로 전기삼투압에 다른 영향을 미치게 된다[표 2]. pH가 증가할수록 ζ potential이 커지게 되고 이 영향은 전기삼투압을 증가시키게 된다. 높은 농도에서는 모세관 표면의 실라놀그룹이 해리현상을 일으켜서 전기삼투압을 줄이게 된다. 그래서 전기삼투압을 최대로 하기 위해서는 저농도의 완충용액에서 높은 pH를 유도하면 된다[12,13].

5.2 측정 순서

제작된 시편은 측정하기 위해서 다음과 같은 일련의 과정을 거쳐야 한다.

- H₂SO₄ 황산 용액과 H₂O₂ 과산화수소용액을 4:1로 섞은 세척용액에 30분간 세척함으로써 채널의 이물질들을 제거한다.
- DI 물에 세척
- 0.1M NaOH용액을 모세관에 흐르게 함으로서 표면의 실라놀 그룹을 전기삼투에 적합하게 활성화한다.
- DI 물에 세척 후 건조
- 주사기로 저장고에 완충용액용액 주입하면 모세관 힘으로 채널에 완충용액이 채워지게 된다.
- 시료 저장고에 시료 용액투입
 - 완충용액이 전 채널에 채워져 있는 상태에서 시료를 시료 저장고에 투입하게 되는데 이 때 전기장이 걸려있지 않으면 시료가 채널 내의 완충용액으로 확산을 하게 된다. 따라서 초기에는 시료 저장고에 (-)전압을 걸고 나머지 완충용액 저장고에 (+)전압을 걸어서 전기삼투압에 의하여 완충용액 저장고에서 완충용액이 시료 저장고쪽으로 흐름으로써 확산이 일어나지 않게 한다.

5.3 측정 결과

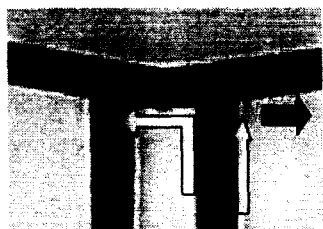
초기 측정을 위하여 쓰이는 시료 용액은 현미경으로 볼 경우 가시광선에서 식별할 수 있고 실제 DNA와 유사한 이동

표 2. 완충용액의 종류별 특성
Table 2. Characteristics of buffer solutions

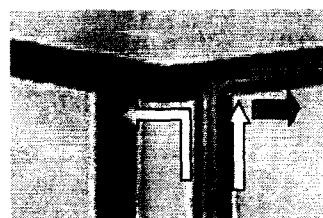
분리시스템의 변수	전기삼투의 영향	비고
완충용액의 pH	pH값이 커지면 전기삼투 상승	시료의 전하량에 영향을 주게 된다.
완충용액의 이온농도	이온농도가 커지면 전기삼투 하강	높은농도의 완충용액은 고전류 발생
유기물 첨가제들	완충용액의 점성과 전기삼투에 영향	선택 분리도에 영향을 주어서 분해능에 여러 영향을 주게 된다.

속도를 가지는 염색시약을 사용하였다. 이 염색시약은 완충 용액에 다음과 같은 비율로 혼합하였다.

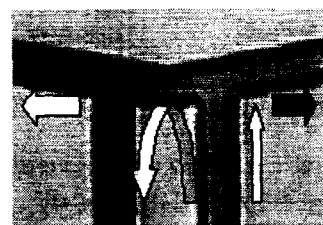
[0.25% bromophenol blue ($C_{19}H_9Br_3O_5SNa$ mol wt 691.9) + 0.25% xylene cyanol ($C_{25}H_{27}N_2O_6S_2Na$ mol wt 538.6)] in buffer solution



(a)



(b)

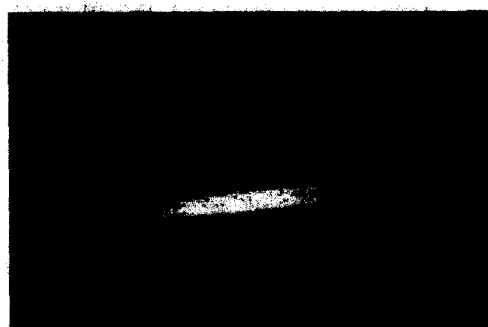


(c)

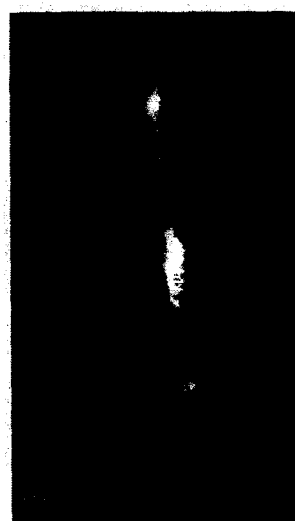
그림 10. 새로운 주입 알고리즘의 측정결과
Fig 10. Test result of novel injection algorithm

그림 10의 그림은 앞의 그림 6의 III,IV,V에 해당되며, 흰색 화살표는 전극쌍에 인가된 전압에 의한 전기장을 의미하며 회색 화살표는 주변전기장(fringing field)을 의미한다. 그림 10에서 초기에 전기삼투에 의하여 채널에 염색약으로 채워진 후 주변전기장에 의해 원형 채널쪽으로 염색시약이 흘러가게 되면 다시 전압을 역으로 걸어서 주변전기장에 의해 흘러들 어간 부분만큼을 원형 채널쪽으로 분리하여 주입하는 과정을 보여준다. 초기실험의 결과를 바탕으로 한 DNA 분리 실험을 위하여 100 mM Tris(Tris-(hydroxymethyl)-aminomethane) 완충용액(1 mM EDTA (Ethylenediaminetetraacetate) 포함) 이 완충용액으로 사용되었으며 DNA 시료는 형광물질인 ETBR (Ethidium bromide)로 염색되어서 380 nm 파장대의 UV에서 발광하게 된다. 약 0.3 μ l의 완충용액이 저장조에 주 사기로 채워진 후 DNA 시료가 전술한 방법으로 주입된다. 이때 주입되는 DNA 시료의 양은 30 p l 정도이다. 시료의 흐름은 20 V/cm의 전기장으로 제어되고 이 때의 속도는 16~20 μ m/sec이다. 채널내의 도전성 완충용액 용액으로 흐르는 50 nA이하이며 소모되는 전력은 1 μ W이하로서 채널 상에서 발

생할 수 있는 joule열 발생문제를 무시할 수 있다. 이 결과는 수백V를 사용하는 기존의 시스템에서 어려워 보이던 집적화 시스템의 가능성을 보여준다. 그림 11은 이러한 실험 순서로 주입된 30p l 의 DNA 시료와 약 20 mm진행 후 분리된 여러 종류의 DNA시료를 보여준다. 또한 분리된 시료들이 원래의 크기에서 약간씩 줄어드는 이유는 중앙부분이 진한 가우시안 분포를 가지고 있는 분리 시료들의 바깥쪽들의 농도가 발광 현미경으로 볼 수 있는 최소의 형광 농도보다 적은 분포를 가지고 있기 때문이다. 그림 12는 DNA의 BP(base pair)별 중앙부간의 분리 거리를 보여주며 전기삼투를 가지는 분리의 특성인 뛰어난 선형특성을 보여주고 있다. 이 결과에서 평균 37.6nm/bp의 이동도와 최대 선형에러 1.44nm(3.8%)를 가지게 된다.



(a)



(b)

224 bp
1371 bp
3675 bp
4324, 4822 bp
5686 bp
8454 bp

그림 11. (a) 주입된 30p l 의 DNA 시료
(b) 분리된 DNA의 결과
Fig 11. (a) Injected 30p l DNA sample
(b) Separated DNA fragments

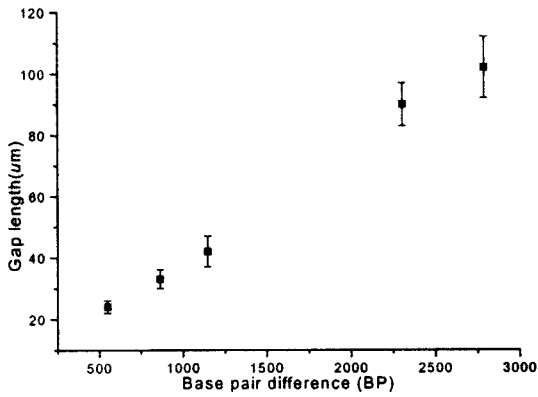


그림 12. 분리된 DNA의 base pair별 분리거리
Fig 12. Separated DNA's gap length

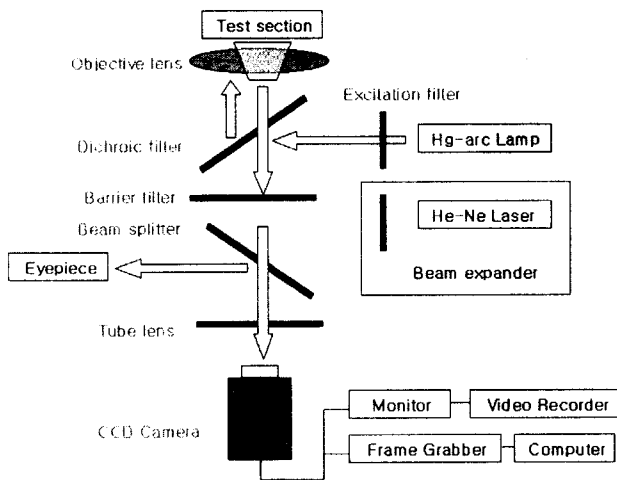


그림 13. 측정 개략도
Fig 13. Schematic of test setup

그림 13의 DNA 관찰용 측정 장치는 OLYMPUS사의 IX50 inverted system microscope로 측정을 하였으며 UV 빛을 분리기에 비춘 후 발광된 빛을 반사시켜 확인하게 된다.

6. 결 론

본 논문에서 열산화막을 이용하여 CE 분리기에서 전기삼투를 발생하게 할 수 있다는 것을 보였고, 새로운 double-T 주입 알고리즘을 제안하게 되었다. 또한 회전형 분리기를 이용하여 낮은 전압과 극히 적은 전력소모를 가지면서 DNA를 분리할 수 있는 가능성을 보여 주었다. DNA나 단백질을 검출할 수 있는 전기화학적 검출시스템을 이 시스템에 집적화하는 연구가 이 후 진행될 것이다. 이 와 더불어 50%정도에 머무는 수율을 향상시키기 위해서 열산화막을 성장시킬 때 스트레스가 크게 되지 않게 저장고를 디자인하는 연구가 추가될 것이다.

감사의 글

본 연구 결과물은 "과학기술부 21세기 프론티어연구개발사업 중 지능형마이크로시스템개발 사업"의 연구지원을 받아 수행하는 데 따른 결과물임.

참 고 문 헌

- [1] Effenhauser, C.S., A. Paulus, A. Manz, and H.M. Widmer, High speed separation of antisense oligonucleotides on a Micromachined capillary electrophoresis device *Analysis chemistry*, 1994, 66, pp2949-2953
- [2] P. Renaud, H. Lintel, M. Heuschkel and L. Guerin, Photo-polymer microchannel technologies and applications, 1998, *Proceeding of uTAS, Canada*, pp17-22
- [3] F. Heeren, E. Verpoorte, A. Mantz, and W. Thormann, Miscellar electrokinetic chromatography separations and analyses of biological samples on a cyclic planar microstructure, *Analysis chemistry*, 1996, 68, pp2044-2053
- [4] St. Claire R. L. 1996 *Anal. Chem.* 68 569R-86R
- [5] H. Becker et al, planar quartz chips with submicron channels for two dimensional capillary electrophoresis applications, *J. micromech. microeng.* 8, 1998, pp24-28
- [6] A. Mantz, C.S. Effenhauser et al, electroosmotic pumping and electrophoretic separations for miniaturized chemical analysis systems, *J. micromech. microeng.* 1994, pp257-265
- [7] A. Mantz et al, u-tas: miniaturized total analysis systems, *u-TAS conference*, 1996, pp5-27
- [8] 권현정, 장용근 DNA chip technology, 1997, *생물화공 제 11권 3호*, pp18-25
- [9] L. Shultz-Lockyear et al Effects of injector geometry and sample matrix on injection and sample loading in integrated capillary electrophoresis devices, *Electrophoresis*, 1999, 20, pp529-538
- [10] J.R. Webster and C.H. Mastrangelo, Large-volume integrated capillary electrophoresis stage fabricated using micromachining of plastics on silicon sub, *Transducer 97*, 1997, pp503-506
- [11] R.B.M. Schasfoort, J. Hendrikse, and A. Berg, μ transparent insulating channels as components for miniaturized chemical separation devices, *proceeding of transducer 99*, 1999, pp872-875
- [12] P. Camilleri *Capillary electrophoresis: theory and practice* 2nd edition, CRC press, 1998, pp102-105
- [13] P.G. Righetti *Capillary electrophoresis in analytical biotechnology*, CRC press, 1996, pp3-5

저 자 소 개



정 용 원 (鄭 鏞 元)

1973년 1월 19일생. 1998년 경북대 전자공학과 졸업. 2000년 서울대 전기공학부(석사). 2000년 현재 동대학원 전기공학부 박사과정

Tel : 02-880-5449, Fax : 02-871-6989

E-mail : toymaker@mintlab.snu.ac.kr



장 준 근 (張 準 根)

1967년 9월 16일생. 1990년 서울대 기계공학과 졸업. 1992년 서울대 의공학과(석사). 1995년 동대학원 (공학). 1995년~1999년 서울대 의공학 연구소 특별연구원. 현재 서울대학교 전기공학부 조교수

Tel : 02-880-1766, Fax : 02-871-6989

E-mail : jkchang@amed.snu.ac.kr



김 봉 환 (金 奉 煥)

1970년 1월 13일생. 1996년 경북대 전자공학과 졸업. 1999년 서울대 전기공학부(석사). 2000년 현재 동대학원 전기공학부 박사과정

Tel : 02-874-5979, Fax : 02-871-6989

E-mail : bhkim@mintlab.snu.ac.kr



전 국 진 (全 國 鎭)

1955년 3월 24일생. 1977년 서울대 전자공학과 졸업. 1981년 University of Michigan, Ahn Arbor(석사), 1986년 University of Michigan, Ahn Arbor(공학) 1986년~1989년 워싱턴 주립대 조교수. 현재 서울대학교 전기공학부 교수. 서울대학교 마이크로시스템 기술센터장

Tel : 02-880-1811, Fax : 02-871-6989

E-mail : kchun@mintlab.snu.ac.kr

이 준 업 (李 俊 燁)

1974년 8월 1일생. 1999년 서울대 전기공학부 졸업. 2000년 현재 동 대학원 석사과정

Tel : 02-874-5979, Fax : 02-871-6989

E-mail : mrljy@mintlab.snu.ac.kr

조 경 연 (趙 慶 淵)

1956년 6월 20일생. 1979년 서울대 기계공학과 졸업. 1981년 한국과학기술원 기계공학과(석사). 1988년 Georgia Tech. 기계공학 (공학). 현재 서울대학교 정밀기계공동연구소 특별연구원

Tel : 02-880-7545(306), Fax : 02-871-6989

E-mail : emlab@edunet4u.net