

전극의 임피던스 감소를 위해 백금 도금한 ITO 신경신호 검출용 다중 전극 제작

권광민, 최준호\*, 이경진\*, 박정호  
 고려대 전기공학과, \*고려대학교 물리학과 신경망 동력학 연구센터

The fabrication of Pt electroplating on ITO multi-electrode array  
 in neuronal signal detection

Gwangmin Kwon, Joonho Choi\*, Kyoung J. Lee\*, Jungho Pak  
 Department of Electrical Engineering, Korea University  
 \*National Creative Research Initiative Center for Neurodynamics  
 and Department of Physics, Korea University

**Abstract** - In investigating the characteristics of a neural network, the use of planar microelectrode array shows several advantages over normal intracellular recording[1]. A transparent indium tin oxide(ITO) multi-electrode array (MEA) was fabricated and its top surface was insulated with photodefinable polyimide(HD-8001) except the exposed area for interfacing between the ITO electrodes and the neuronal cells. The exposed ITO electrodes were platinized in order to reduce the impedance between the electrodes and electrolyte. The one-minute platinization with  $0.99nA/\mu m^2$  current density reduced the average impedance of the electrodes from  $2.5M\Omega$  to  $90k\Omega$  at 1kHz in normal ringer solution. Cardiac cells were cultured on this MEA as a pilot study before neuron culture. The signals detected by the platinized electrodes had larger amplitudes and improved signal to noise ratio(SNR) compared to non-platinized electrodes. It is clear that microelectrodes need to have lower impedance to make reliable extracellular recordings, and thus platinization is essential part of MEA fabrication. Burst spike of cultured olfactory bulb was also detected with the MEA having platinized electrodes.

킬 수 있다[3,4]. Indium tin oxide(ITO) 전극과 photo-definable한 polyimide(HD-8001) 절연막을 사용하여 제작된 다중 채널 전극에 백금 도금을 진행하고 전기 화학적 AC 임피던스를 측정하여 임피던스 변화를 확인하고 심장세포를 배양하여 신호 검출을 통해 향상된 신호 대 잡음비(SNR)를 확인하였다. 또한 신경 세포인 olfactory bulb를 배양하고 신경 신호를 검출하였다.

2. 본 론

2.1 ITO와 polyimide를 이용한 MEA 제작

신경 신호를 감지하는 전극 물질은 전도성이 좋아야 하고, 전극면에서 성장하는 세포들의 성장 상태와 위치를 확인하기 위해서는 불투명한 Au보다 투명하면서 전도성을 가지는 ITO를 사용하는 것이 좋다. 본 실험에서는 sputtering으로 증착된 ITO 막에서 심장세포를 10일 동안 성장시킴으로써 생체 적합함을 확인하였고(그림 1(a)) 증착된 ITO막을 습식 식각하여 다중 채널을 가진 ITO 패턴을 만들었다(그림 1(b)).

1. 서 론

생명현상의 중추적 역할을 하는 뇌에 대한 연구는 의학, 자연과학 그리고 공학분야 등의 다양한 분야에서 진행되고 있다. 뇌를 구성하는 기본 단위인 신경세포들은 시냅스 간의 전기 화학적 정보교환을 통해 성장, 분화, 사멸 등의 생명 현상과 외부 자극에 대한 반응을 한다. 평판 다중 채널 전극(MEA)을 이용하면 전극 위에 신경 세포를 배양한 후에 장시간 동안 신경세포를 손상시키지 않고 신경세포들의 활동 전위 신호의 측정 및 신호 전달 양상을 기록하고 동시에 여러 세포들의 신호 검출이 가능하다. MEA의 전극으로부터 신경세포의 활동 전위에 의한 신호만을 측정하기 위해서는 전극부위는 세포와의 직접 접촉을 위해서 노출시키되, 분리된 전극들 간의 액상에서의 신호 간섭(cross-talk)을 줄여야 하므로 노출된 부위를 제외하고는 절연막으로 표면을 보호하는 것이 필요하다. 특히 MEA 위에 세포를 성장시켜 세포와 접촉된 전극면을 통해 검출되는 신호의 손실을 줄이고 신경신호의 정확한 주파수 특성을 검출하기 위해서는 전극과 전해질 사이의 임피던스를 줄일 필요가 있다[2]. 전극의 임피던스를 낮추기 위한 방법으로써 세포의 크기와 유사한 수십  $\mu m$  지름을 가지는 전극면과 세포와의 접촉 면적을 넓히기 위해서 전극면의 조도(roughness)를 높이는 방법이 있다. 전기 도금 방법을 이용해 백금 도금을 전극면에 진행하면 유효 표면적을 넓이는 동시에 절연막의 높이보다 낮게 형성된 ITO 전극면을 절연막보다 높게 하여 세포 조직과의 접촉을 더욱 향상시

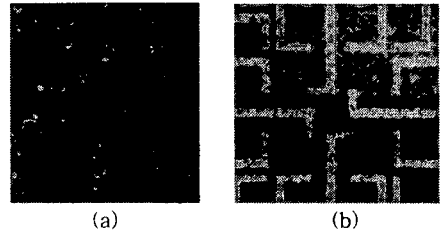


그림 1. (a) ITO 막 위에 배양된 심장세포의 사진  
 (b) 패터닝된 ITO 전극의 사진

패터닝된 ITO 전극간의 신호 간섭을 막기 위해 유전상수가 일반적인  $SiO_2$  ( $\epsilon_r = 3.9$ )와  $Si_3N_4$  ( $\epsilon_r = 7.4$ )에 비해 작은 3.4이면서 물리·화학적 내구성이 우수한 특성이 있는 polyimide(HD-8001, HD Systems)를 사용하여 제작하였다. Polyimide는 photo-definable하여 photolithography 공정을 통해 간단한 습식 식각으로 절연막을 형성시킬 수 있는 장점이 있다. 그 후에 세포 배양을 위한 culture ring을 부착시키고 세포 배양 후 전극을 통해 검출되는 신경신호가 polyimide 절연막에 덮인 전극 채널을 통해 손실되는 것을 줄이기 위해 채널 부분을 Sylgard silicon curing agent와 Sylgard silicon elastomer 184(Dow Corning Corp.)를 1대 10의 비율로 섞은 PDMS를 채워 절연막을 두껍게 하였다(그림 2).

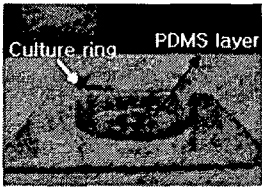


그림 2. 세포 배양을 위한 culture ring 부착시키고 PDMS를 전극의 채널 부분에 덮은 MEA 사진.

## 2.2 ITO 임피던스를 낮추기 위한 백금 전기도금

신경세포는 ITO 전극면과 접촉하여 그 사이에서 이동하는 이온과 전자들을 통해 전기적 신호를 전극으로 전달한다. 이 신호는 전극 계면의 전기적 임피던스에 의해 측정되는 그 크기가 감소하거나 왜곡될 수 있다. 전극 계면에서의 임피던스를 낮추기 위해서는 전도성이 우수한 물질을 사용하거나 표면적을 넓혀 임피던스를 낮추는 방법이 있다. 본 연구에서는 ITO 전극의 임피던스를 낮추기 위해 MEA의 전극면에 백금 도금을 진행하였다. 그림 3은 백금 도금에 사용된 최대 100 $\mu$ m까지 인가되는 전류원과 전극의 64 채널을 동시에 연결시킬 수 있는 홀더와 cable을 보이고 있다. 백금 도금은 culture ring내에 도금액(100ml H<sub>2</sub>O-1g PtCl<sub>6</sub>H<sub>2</sub>-0.01g Pb(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>)을 넣고 64개의 전극에 -1.99nA/ $\mu$ m<sup>2</sup>의 전류를 인가해 도금을 진행하였다.

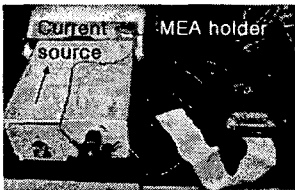


그림 3. 도금을 위한 시스템 구성(전류원, MEA 홀더).

그림 4와 5는 도금된 표면의 형상과 높이를 분석하기 위해 laser profiler와 atomic force microscopy(AFM)를 이용하여 얻은 도금 전극들의 사진과 측정된 값들을 보여준다. 도금 전에 10 $\mu$ m의 지름을 가지는 원형 ITO 전극면에 전류 밀도 1.99nA/ $\mu$ m<sup>2</sup>로 1분 동안 도금을 진행한 결과 절연막의 윗면으로부터 2.2 $\mu$ m 정도 돌출된 도금 전극면을 얻었고(그림 4(a)) 같은 전류밀도에서 2분 동안 도금을 진행한 결과 절연막의 윗면으로부터 4.94 $\mu$ m 정도 돌출된 도금 전극면을 얻었다.

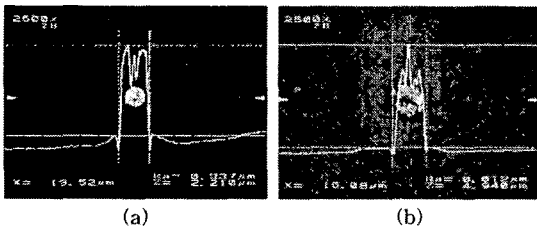


그림 4. 도금 전과 도금 후에 laser profiler(VF-7500)를 이용한 측정된 지름 10 $\mu$ m인 원형 전극의 표면 profile. 도금 전극을 1.99nA/ $\mu$ m<sup>2</sup>로 (a) 1분, (b) 2분 진행한 경우.

세포의 크기가 직경 10~20 $\mu$ m 정도임을 고려해 전류밀도를 0.99nA/ $\mu$ m<sup>2</sup>로 낮추고 1분 동안 도금을 진행하여 AFM image로 도금된 부위를 확인하였다(그림 5). 이 경우 돌출된 백금의 높이는 0.88 $\mu$ m이었으며 도금된 백금의 폭은 10.7 $\mu$ m이었다. 그림 5의 결과로부터 도금된 표면은 높은 조도를 보이며 표면적이 상당히 넓어짐을 알 수 있다.

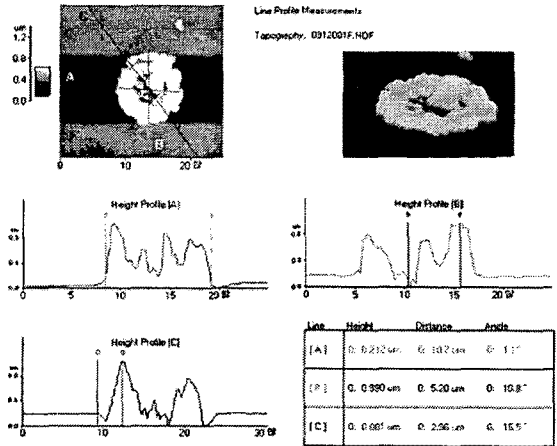


그림 5. 도금(0.99nA/ $\mu$ m<sup>2</sup>, 1분 진행) 후 AFM을 이용한 topographic image와 profile.

## 2.2 도금 전과 후의 임피던스경향

백금 도금 전과 도금 후의 전극의 임피던스 크기와 임피던스 위상 이동에 대한 영향을 알아보기 위해 potentiostat(EIS300, Gamry)을 이용하여 ITO MEA의 임피던스를 측정하였다. 그림 6은 지름 10 $\mu$ m의 원형 전극면을 가진 MEA(I82)에 0.99nA/ $\mu$ m<sup>2</sup>의 전류 밀도를 1분 동안 인가하여 도금을 진행한 후에 도금 전과 후의 임피던스 측정 결과를 보여주고 있다. 1kHz 주파수에서의 임피던스는 도금 전에는 2.5M $\Omega$  정도였는데 도금 후에는 90k $\Omega$ 대로 낮아진 결과를 얻었다. 위상의 이동 역시 수십 Hz 이상의 주파수대에서 도금 후의 위상 이동값이 더 작은 값을 보였다. 도금을 통해 전극면의 면적을 넓혀 전해질과 전극 계면 사이의 정전용량 성분이 높아짐으로써 전체적인 임피던스의 크기가 낮아진 것이다. 따라서 ITO MEA의 전극면에 실시한 백금 도금은 임피던스를 낮추기 위한 방법으로 효과적임을 임피던스 측정을 통해 확인하였다.

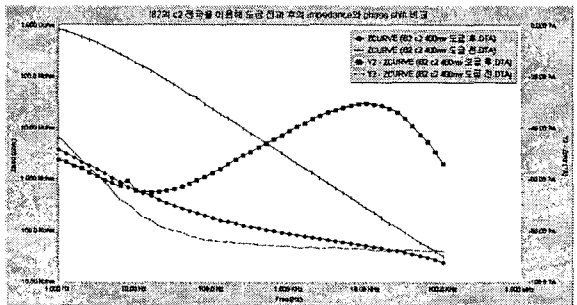


그림 6. 도금 전과 후의 impedance 및 phase shift 값 비교 (ZCURVE->|Z|: ○ 도금 전, ● 도금 후, Y2-CURVE->Phase shift: — 도금 전, ■ 도금 후).

## 2.3 백금 도금 전과 후의 심장세포 신호 비교 및 olfactory bulb 신호 검출

낮아진 임피던스를 가지는 백금 도금된 ITO MEA에 신경세포의 신호를 검출하기 전에 자발적인 신호를 발생시키는 심장 세포를 이용해 도금 전과 도금 후의 신호를 비교하였다. 세포의 신호는 다중 채널 전극을 통해 검출되었고 검출된 신호는 32-채널용으로 제작된 상용 pre-amplifier와 filtering amplifier(PA32S/FA32S, Multi channel systems, US)를 사용하여 처리하고 software(Spike version 1.06)를 이용해 신호를 디지털화하여서 저장 장치에 기록하였다. 0.44nA/ $\mu$ m<sup>2</sup>로 1분 동안 백금 도금을 진행한 30 $\mu$ m의 지름을 가지는 원형 ITO 전극(그림 7) 도금을 하지 않은 ITO

MEA를 이용하여 쥐의 심장세포를 배양하고 검출된 신호를 비교하였다. 도금된 전극으로부터의 신호가 크고 신호의 형태도 뚜렷함을 보여주고 있다. 신호 대 노이즈 비(SNR)를 비교하여도 백금 도금 전에 5~7이었으나 도금 후에는 SNR이 30~50으로 6배정도 향상되었다(그림 8).

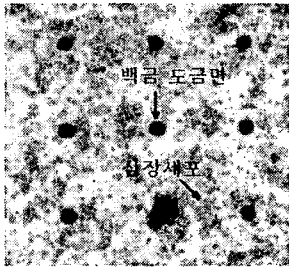


그림 7. 백금 도금된(0.44nA/μm<sup>2</sup>, 1분 진행) MEA에 심장 세포 성장.

백금 도금을 이용한 MEA의 특성 향상을 확인한 후에 신경세포인 olfactory bulb를 배양하여 신경신호를 검출하였다. 백금 도금된 MEA에 세포가 좋아하는 물질인 poly-D-lysine(PDL)과 laminine을 coating하여 신경세포가 배양될 MEA표면에 잘 정착되도록 하였다. MEA에 olfactory bulb를 배양 후 4일 지났을 때 신경신호를 검출하였으며 그림 9에서 보듯이 신경세포에서 잘 나타나는 burst spike가 나타나고 있다. 현재는 2 채널을 통해 전극 두 개의 신호만을 받아 분석이 가능하나 다수를 동시에 기록할 수 있는 recording and analysing system을 구축하면 더 많은 신호의 분석이 가능할 것이다.

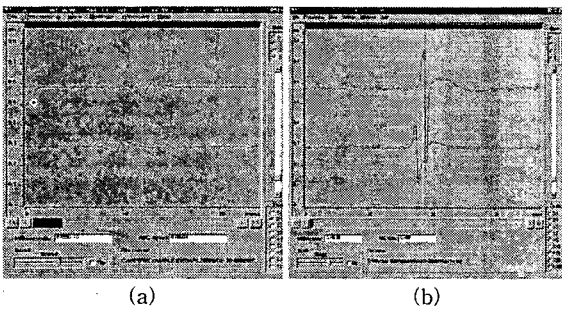


그림 8. (a) 도금 전과 (b) 도금 후의 심장 세포 신호

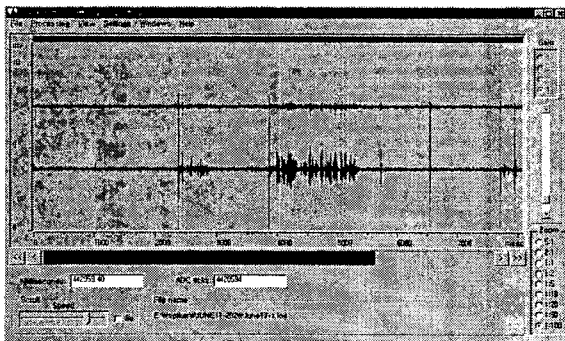


그림 9. Olfactory bulb를 배양한지 4일 후 측정된 신호.

### 3. 결 론

뇌세포의 생물학적 정보처리와 행동양식을 규명하기 위한 신경 신호 검출용 MEA를 전극면 위의 세포 성장 상태 및 위치 확인이 가능하도록 투명하고 전도성을 가지

는 ITO를 사용하여 제작하였다. 전극간의 절연을 통해 신호간섭을 줄이기 위해서 간단한 photolithography 공정으로 패터닝이 가능한 polyimide (HD-8001)를 절연물질로 이용하였다. 그리고 백금 전기 도금을 통해 전극면의 전기 화학적 AC impedance를 1kHz 주파수대에서 도금 전에 2.5 MΩ에서 도금 후에 90kΩ로 상당히 낮췄다. 그리고 심장세포의 신호를 검출하여 도금 전과 도금 후의 SNR이 6배 향상되었음을 확인함으로써 임피던스를 낮추기 위한 전극면의 백금 도금의 효과와 낮은 임피던스를 가지는 전극면에서 더 좋은 특성을 가지는 신호를 검출할 수 있음을 확인하였다.

### 후 기

본 연구는 한국 과학 기술부의 창의적 연구 진흥 사업과 BK21 사업의 부분적인 지원으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

### [참 고 문 헌]

- [1] L. J. Breckenridge, R. J. A. Connolly and C. D. W. Wilkinson, "Advantages of using microfabricated extracellular electrodes for in vitro neuronal recording," *Journal of Neuroscience Research*, Vol. 42, pp. 266-276, 1995.
- [2] Sherry J et al., "Comparison of Impedance at the Microelectrode-Saline and Microelectrode-Culture Medium Interface," *IEEE Transactions on Biomedical Eng.*, Vol. 39, No. 11, pp. 1123-1129, 1992.
- [3] P. Thiebaud et al., "Microelectrode Arrays for Electrophysiological Monitoring of Hippocampal Organotypic Slice Cultures," *IEEE Transactions on Biomedical Eng.*, Vol. 44, No. 11, pp. 1159-1163, 1997.
- [4] D. A. Borkholder et al., "Microelectrode arrays for stimulation of neural slice preparations," *Journal of Neuroscience Methods*, Vol. 77, pp. 61-66, 1997.