

신경 신호 증대를 위한 Multi Electrode Array 전극의 표면 처리

이병갑, 황용하, 이경진, 박정호
고려대학교

Surface Treatment of Multi Electrode Array for Enhancement of Neuronal Signal

Byoung-Kab Lee, Young-Ha Hwang, Jung-Ho Pak, Kyung-Jin Lee
Korea Uni.

Abstract

다중 채널 전극 위에 세포를 성장시켜 전극면을 통해 검출되는 신경 신호의 손실을 줄이고 주파수의 변형을 줄이기 위해서 전극과 전해질의 사이의 impedance를 줄이는 것이 바람직하다. 전하 이동을 증대시키기 위해서는 낮은 impedance가 요구되며 이를 위한 전극의 개선 방안으로 전극면이 증착될 기관의 표면을 거칠게 하여 결과적으로 전극면의 표면적을 넓히는 방법을 모색하였다. 기관으로 사용되는 glass(Pyrex#7740)의 구성 물질 중에서 4%를 차지하는 N⁻ 이온을 황산 용액으로 표면 처리하여 제거함으로써 매끈한 표면을 거칠게 하여 표면적을 넓힐 수 있다. 기관으로 사용되는 glass (pyrex#7740) 1cm×1cm×0.05cm를 50%, 95% 농도의 황산 용액 내에서 각각 30분, 60분 동안 상온에서 표면처리를 진행하였다. AFM을 이용하여 표면을 관찰한 결과 황산 용액 95%에서 30분간 표면 처리를 진행한 시편에서 최대 4000Å 정도의 조도를 얻었다. 이후 동일 시편에 대해 전극으로 사용될 Ti/Au를 각각 500Å/2500Å 증착 후 사진식각 공정으로 MEA(Multi-channel electrode array)를 제작하여 impedance를 측정된 결과, 표면 처리 후 impedance가 70% 개선되었음을 측정하였다.

Keyword : multi-electrode array(MEA), neuronal signal

1. 서 론

신경 신호의 감지 및 자극을 위한 도구로써 생체 시스템과 외부시스템의 중요한 전기 화학적 인터페이스(electrochemical interface) 역할을 하기 위한 평판형 다중 채널 전극 (MEA: multi-channel electrode array)이 개발되어 왔다[1].

제작된 MEA 위에 세포를 성장시켜 세포와 접촉하는 전극면을 통해 신경 신호를 효과적으로 측정하기 위해서는, 신호의 손실을 줄이고 신경 신호의 정확한 주파수 특성을 검출하기 위해 전극과 전해질

사이의 임피던스를 줄여야 한다[2]. 전극의 임피던스를 낮추기 위해 기관으로 사용되는 유리 기관의 표면을 황산 용액을 이용하여 표면 처리 함으로써 신경 신호 검출을 위해 유리 기관 위에 증착되는 금속전극의 표면적을 넓힐 수 있고[3], 그렇게 함으로써 전극과 신경 세포와의 impedance를 줄일 수 있다.

본 논문에서는 유리 기관의 표면적을 넓히기 위해 황산 용액으로 표면 처리를 하고 MEA를 제작하여 impedance에 미치는 영향을 고찰 하였다.

2. 실험 방법 및 결과

2.1 유리 기판의 표면 처리 실험

2.1.1 유리 기판의 표면 처리

MEA(Multi-channel electrode array) 제작에 사용되는 상용화된 pyrex(corning #7740) 3" glass wafer를 1cm×1cm×0.05cm로 자른 후 5개의 시편을 사용하여 실험을 진행하였다. 유리 기판에 포함되어 있는 구성물질의 농도는 표 1에 나타내었다. 5개의 시편 중 4개는 황산 용액의 농도 및 반응 시간에 따른 조건을 변화시켜서 상온에서 표면처리를 진행하고 다른 하나는 대조군으로 이용하였다. 표 2에 실험 조건을 제시하였다.

2.1.2 표면 처리 실험 후 AFM 측정 결과

표면의 조도를 측정하기 위해 AFM을 사용하였는데 세포와 접촉하게 될 부분 중 임의의 40 μ m×40 μ m 면적을 선택하여 진행하였다.

측정 결과 황산 용액 95%에서 표면 처리한 그림 1(d)와 그림 1(e)의 시편에서 최고 4000Å의 조도가 형성되었다. 표 3에서 시편들의 rms 조도 및 평균 조도를 나타내었으며, 황산 용액 95% 30분 조건

으로 표면 처리한 경우(표 3.(d)) 가장 거친 표면을 갖는 유리 기판을 얻을 수 있었다.

2.1.3 Au 증착 후 AFM 측정

다음으로 표면 처리된 유리 기판 표면에 전극으로 사용될 Au를 증착 시킨 후 유리 기판의 표면과 증착된 Au 면의 조도와와의 상관관계를 관찰하였다.

표 1. Pyrex glass (Corning#7740) 물성표

구성 물질	SiO ₂	B ₂ O ₃	Na ₂ O	K ₂ O	Al ₂ O ₃
농도(%)	81%	13%	4%	-	2%

표 2. 유리 기판의 표면 처리 실험 조건

시편	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
농도(%)	-	H ₂ SO ₄ 50%	H ₂ SO ₄ 50%	H ₂ SO ₄ 95%	H ₂ SO ₄ 95%
시간(min)	-	30'	60'	30'	60'

표 3. 표 2의 실험 조건에 따른 실험 후 AFM으로 측정된 유리 기판의 표면 조도

구분	표면처리	rms 값	평균 값
(a)	bare	80.9Å	59.4Å
(b)	50% 30'	231Å	156Å
(c)	50% 60'	425Å	234Å
(d)	95% 30'	663Å	384Å
(e)	95% 60'	538Å	346Å

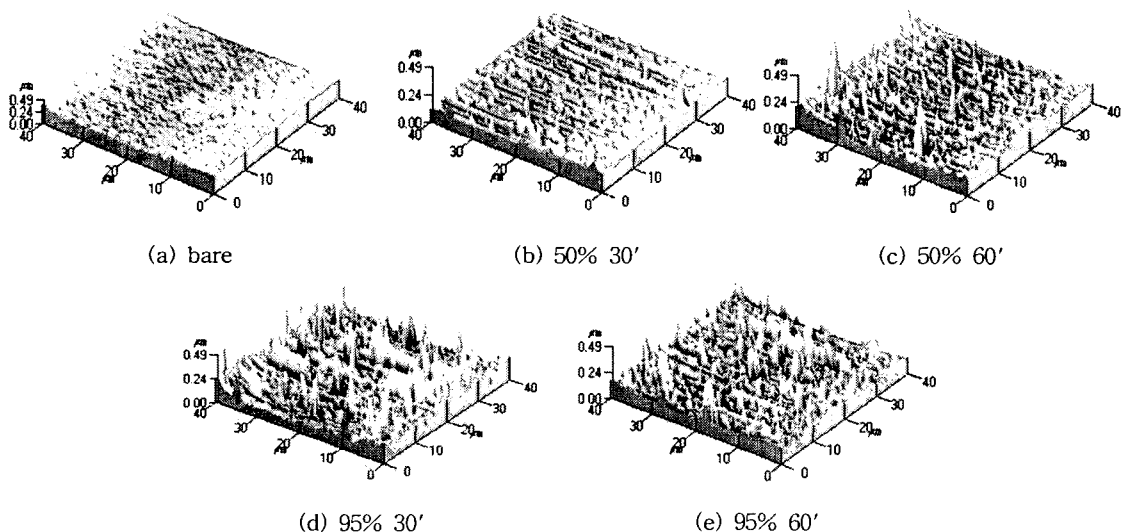


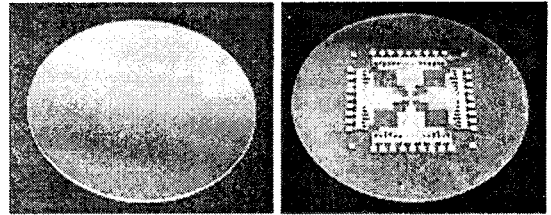
그림 1. 표 2의 실험 조건에 따라 표면 처리 한 이후 AFM으로 측정된 결과 사진

먼저 표면 처리된 유리 기판 표면에 adhesion layer로 Ti 500Å, Au 2500Å을 2Å/sec의 비율로 증착하였다. 이후 AFM을 이용하여 2.1.2에서 설명한 방법으로 표면을 관찰하였다. 표면 측정 결과, 표면 처리를 하지 않은 유리 기판의 경우에는(그림 2(a)) 40Å 정도의 조도를 갖는 Au 박막이 증착된 반면, 황산 용액 95%에서 30분간 표면 처리를 진행한 경우(그림 2(b))의 유리 기판에는 최고 1600Å의 조도를 갖는 Au 박막이 증착되었다.

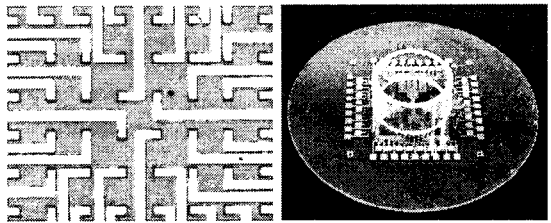
2.2 표면 처리에 따른 MEA의 impedance 결과

2.2.1 표면 처리를 포함한 MEA 제작 공정

유리 기판 표면 처리 실험의 결과에 따라 다음과 같은 방법으로 MEA를 제작하였다. 먼저 3" glass wafer(corning#7740)를 acetone과 methanol, DI water를 사용하여 세척 후 상온의 황산 용액 95%에서 30분 동안 표면 처리를 진행하였다(그림 3(a)). 다음으로 thermal evaporator를 이용하여 Ti 500Å, Au 2500Å을 증착한 후 사진식각 공정으로 MEA를 패터닝하였다(그림 3(b)). 이후 신경 세포와 접촉될 channel의 일부분과 외부 회로와 연결하기 위한 pad를 제외한 부분에 생체 적합하며 2.7의 낮은 유전 상수를 갖는 polyimide 절연막을 형성하였다. 그림 3(c)은 MEA의 중앙 channel 부분을 200배 확대한 사진이며 총 64개의 channel 끝단은 각각 40μm×40μm의 부분만 신경 세포와의 접촉을 위해 절연막 외부로 노출시켰다. 마지막으로 신경 세포를 배양하기 위해 직경 2cm의 지름을 가지는 culture-ring을 설치하여 MEA를 제작하였다(그림 3(d)).



(a) 표면 처리 후 glass (b) MEA patterning 후



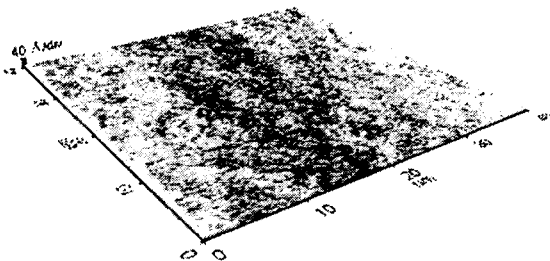
(c) 중앙 부분 전극 (d) Culture-ring 부착

그림 3. MEA 제작 과정

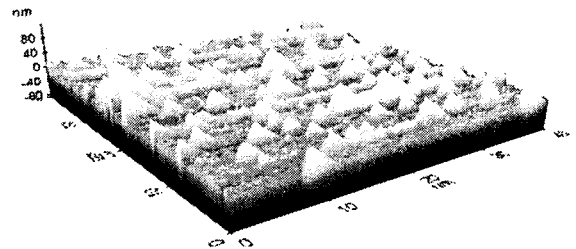
2.2.2 Impedance 측정

신경 세포가 전극과 접촉할 때, 신경 세포에서 발현되는 생체 신호는 이온 전류의 형태를 띠고 있으나, 세포와 전극 사이의 전해질과 전극의 계면에서의 반응에 의하여 전기적인 신호로 변환된다. 이때 전극/전해질 계면에서의 계면 impedance는 측정된 생체 신호의 전기적 특성에 많은 영향을 주므로, MEA를 이용하여 생체 신호를 측정하기 전에, 계면에서의 impedance를 측정하여 그 전기적 특성을 살펴야 한다[4][5]. 표면 처리 전과 후의 impedance를 3-전극 시스템을 이용하여 측정하였다. 그리고 유효 면적을 넓히고 절연막의 높이보다 낮게 형성된 Au 전극면을 세포 조직과의 접촉을 향상시킬 수 있도록 Pt 도금을 진행하였다[6][7].

그림 4는 표면 처리 전과 후, 그리고 Pt 도금을



(a) bare



(b)95% 30'

그림 2. bare와 표면처리 후 조도가 높은 유리 기판 위에 Au 증착 후 AFM 측정 결과

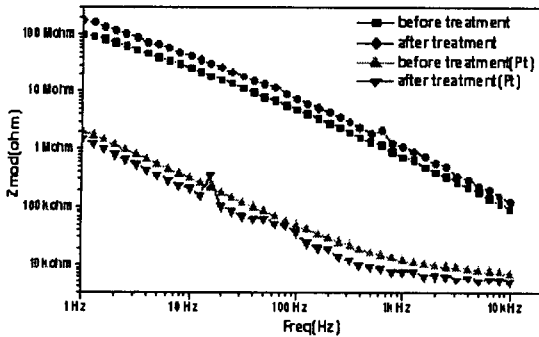


그림 4. 표면 처리 전과 후의 impedance 변화

표 4. 그림 4 그래프에서 1kHz에서의 impedance값

시편	Pt 도금 전	Pt 도금 후
표면 처리	6.95E5 ohm	7.62E3 ohm
-	1.05E6 ohm	1.12E4 ohm

진행 한 후의 MEA의 impedance를 측정 한 그래프이며 표 4는 1kHz에서 MEA의 impedance값을 나타내었다.

3. 결론

신경 신호 검출의 증대를 위해서는 전극과 전해질 사이의 impedance가 낮아야 한다. MEA 제작 시 기관으로 이용하는 유리 기관을 황산 용액을 이용하여 95%에서 30'의 표면 처리를 함으로써 유리 기관 표면의 조도를 증가시켜 표면적을 증가시킬 수 있었다. 표면 처리를 거친 유리 기관에 2500Å 두께의 Au 박막으로 구성된 MEA를 제작 하였다. 3-전극 시스템을 이용하여, MEA의 impedance를 측정하였으며, 표면 처리 전과 비교할 때 표면 처리 후 70%의 impedance 감소 효과를 얻을 수 있었다.

감사의 글

본 원고 작성을 위하여 도움을 주신 신경망동력학 연구실 분들에게 감사드립니다.

참고 문헌

- [1] John G. Webster, Medical Instrumentation, Second edition, Houghton Mifflin 1992
- [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] H. K. Jang, Y. D. Chung, S. W. Whanbo, Y. S. Lee, I. W. Lyo, and C. N. Whang. "Effects of chemical etching with sulfuric acid on glass surface." Atomic-scale Surface Science Research Center and Department of Physics, Yonsei University
- [4] M. Bove, M. Grattarola, G. Verreschi. "Interfacing cultured neurons to planar substrate microelectrodes: characterization of the neuron-to-microelectrode junction." *Bioelectrochemistry*, Vol. 38, pp. 255-265, 1995
- [5] T. Turkle-Huslig, S. J. Carter, G. W. Gross, "Stability of impedance characteristics at the microelectrode-saline interface," *IEEE Eng. Med. Bio. Soc. 11th Ann. Conf.*, pp. 1427-1428, 1989
- [6] D. A. Borkholder, J. Bao, N. I. Maluf, E. R. Perl, G. T. A. Kovacs, "Microelectrode arrays for simulation of neural slice preparations", *Journal of Neuroscience Methodes* No. 77, pp. 61-66, 1997
- [7] P. Thiebaud, N. F. de Rooij, M. Koudelka-Hep, and L. Stoppini, "Microelectrode Arrays for Electrophysiological Monitoring of Hippocampal Organotypic Slice Cultures," *IEEE Transaction on Biomedical Engineering*, Vol. 44, No. 11, November, 1997