

바이오용 마이크로 핀의 제작에 관한 연구

A study on Manufacturing of Micro Dotting Pin

이 영 수^{*} 김 광·순^{**} 김 병 희^{***}
Lee, Young-Soo Kim, Kwang-Soon Kim, Byeong-Hee

Abstract

The bio-micro pin is usually used for biochemistry analysis. The capability of manufacturing the micro-pin and array with effective and low-cost way is very important to developers. The micro-pin is composed of 「sample channel」 putting liquid into already fixed volume, 「flat tip」 having connection with printing quantity, and 「head part」 for preventing it from rotation of pin in the holder.

We analyzed out printing variation in accordance with shape and tip size of the micro-pin point channel.

In this study, we suggested the manufacturing progress and shape demand condition of the micro-pin which could put $0.2\mu\text{l}$ -biochemistry material into the sample volume, and will be able to produce the micro-pin which can put $10\text{n}\ell$ -biochemistry material into the sample volume in the future.

키워드 생화학, 마이크로 핀, 프린팅

Keywords : biochemistry, micro pin, printing

1. 서론

지금 전세계에서 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. 지금

까지 쓰여진 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 수백개 이상 밝혀지는 새로운 유전 정보들이나 모든 유전 암호가 밝혀진 생물들을 기존의 방법들로 연구한다는 것은 너무나 많은 시간을 요구하기 때문이다. 이와 같은 문제점을 극복하여 아주 최근에 개발된 방법중의 하나가 바로 DNA 칩을 이용한 유전자 검색 방법이다.

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

* 강원대학교 산업대학원 정밀기계공학과, 공학석사

** 강원대학교 대학원 기계메카트로닉스공학과 석사과정

*** 강원대학교 기계메카트로닉스공학부 부교수, 공학박사

2. DNA 칩과 마이크로 도팅 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 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 나뉘어 진다.[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.

Table 1 Classification of manufacture technologies about DNA chips

DNA chip Technology	Character	Kind	DNA chip Company
Pin micro array	micro dotting availing pin	cDNA & oligonucleotide	Hyseq Incyte
Inkjet	micro dropping availing inkjet	cDNA & oligonucleotide	Incyte
Photolithography	oligonucleotide availing photolithography	oligonucleotide	Affymetrix
Electronic array	oligonucleotide availing electricity	oligonucleotide	Clinical Sensors Nanogen

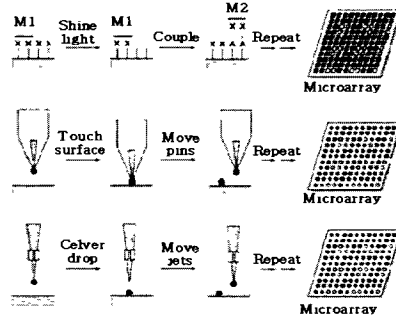


Fig. 1 Fabrication of DNA chip

Table 2 Application field of DNA chip

DNA chip application	Oilgonucleotide chip application
DNA analysis/ Industrial DNA re-combination/ Study of animals, plants, microorganism/ Animals and plants model experiment/ Cancer and disease DNA diagnosis/ DNA treatment/ Clinical pathology/ Animal and plant health inspection/ Ecology/ Food safty test/ Wonder drug development	Cancer DNA/ Mutation search/ Hereditary disease DNA/ Dug resistance search/ DNA genomic sequence/ Mtation map/ Ogan transplantation/ Pthogenic microorganism/ Frensic medicine DNA archaeology

3. 마이크로 핀의 제작

마이크로 핀(인쇄 핀)은 미리 정해진 체적의 액체를 담은 샘플 채널(Fig. 2, 0.2 μ l의 용액을 로딩할 수 있도록 설계되었으며 1회에 인쇄할 수 있는 양은 1nl이다), 평탄한 팁(Fig. 3, 평탄한 팁의 형상은 수명과 인쇄량과 밀접한 관계를 가진다). 핀이 홀더에서 회전하는 것을 방지하기 위한 것으로 구성된다. 마이크로 핀은 인쇄 요소의 균일성을 위하여 정밀하게 가공되어야 한다.

Fig. 4의 마이크로 핀 형상과 크기는 미합중국 특허(특허번호 6,101,946)에서 제안한 근거를 바탕으로 설계하였다.

마이크로 핀의 가공은 소재가공, 채널부의 가공, 깃부분 가공으로 나뉜다.

자료는 화학적으로도 안정적이고 강도도 강한 스테인레스강(SUS402)을 선택하였다.

깃 부분의 가공은 두 가지 방법을 이용할 수 있다 깃 부분을 소형선반에서 가공하여 핀 부분을 끼워 맞추는 후 프레스로 눌러 고정시키는 방법(Fig 5)과 센터리스 연삭으로 깃 부분과 핀 부분을 일체형으로 가공하는 방법(Fig. 6)이다 후자의 방법이 전자의 방법보다 공정도 간편하고 핀의 정도도 향상시킬 수 있다(금형에서 사용되는 밀핀 형상으로 제작).



Fig 2 Channel part

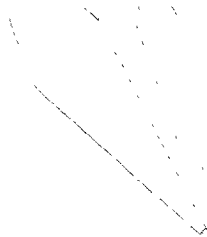


Fig. 3 Flat tip of micro pin

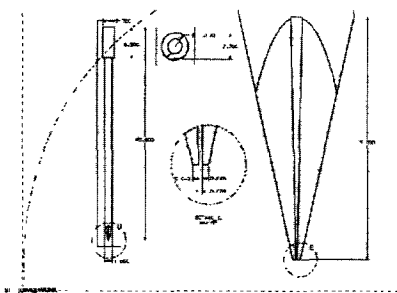


Fig. 4 Micro pin



Fig. 5 Assembly type



Fig. 6 Solid type

가공된 소재를 와이어 방전가공기를 이용하여 가공한다.

1) 작업순서

(1) 지그 제작 마이크로 핀의 팁 부분의 사각뿔 부분을 가공하기 위하여 마이크로 핀을 고정할 수 있는 90도 회전할 수 있는 고정 지그를 제작한다 지그는 정사각을 갖는 유연체로 마이크로 핀이 구멍에 틈새 없이 제작되어야 하고 직각도, 위치도 동축도 등이 0.002mm 이하여야 한다. 이 지그도 와이어 방전가공기를 이용하면 쉽게 제작할 수 있다

(2) 와이어 선정

마이크로 핀의 채널부의 홈 폭이 0.1mm 이므로 방전갭을 고려하여 와이어의 직경 $\phi 0.07mm$ 황동선으로 선정한다

(3) 기계에 고정

지그를 이용하여 와이어 방전가공기에 마이크로 핀 소재를 설치한다 이때, 소재길이가 46mm이므로 가공 시 길이도 45mm로 정확히 가공할 수 있도록 고정되어야 한다

(4) CAD소프트웨어에서 작성된 도형을 기계에 입력한다

(5) 가공조건을 선정한다.

① 가공재료의 두께, 재질, 형상, 치수정도, 표면 거칠기 등을 고려하여 기계에 맞는 가공조건을 입력한다.

② 가공횟수를 결정한다

(6) 가공한다.

① 먼저 마이크로 핀 팁 부분을 가공하여 길이 45mm를 정확히 맞춘다

② Fig 7과 같이 채널부의 각진 부분을 가공한다(팁부분의 길이가 0.1mm)

③ 핀을 고정된 지그를 90° 회전하여 고정시킨다(이때 핀의 중심선은 변동이 없고 방향만 바뀌

어야 한다).

④ 채널부의 각진 부분을 가공한다 (팁부분의 길이가 0.18mm).

⑤ Fig. 8과 같이 채널부의 홈 부분을 가공한다.

⑥ 핀을 고정한 지그를 방향을 바꿔서 깃부분을 평면부의 길이가 2.7mm 가 되도록 가공한다. 평면부가 핀 중심선 기준으로 Fig. 9와 같이 대칭이 되어야 한다.

⑦ 가공이 끝나면 세척제로 세척 한다.

(7) 공구현미경으로 측정한다.

(8) 도면과 차이가 나면 가공조건 및 설치등을 점검한 후 재가공한다.

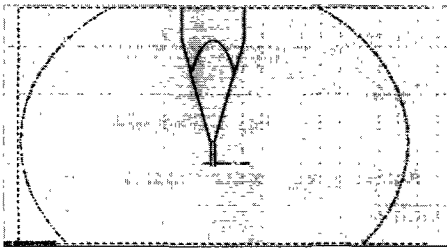


Fig. 7 Shape of tip (tip width = 0.1mm)

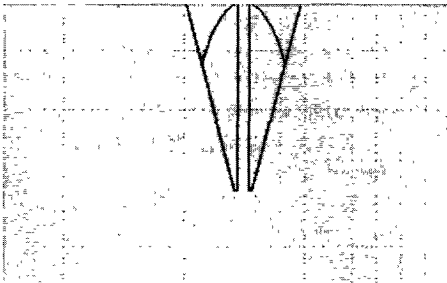


Fig. 8 Shape of micro channel

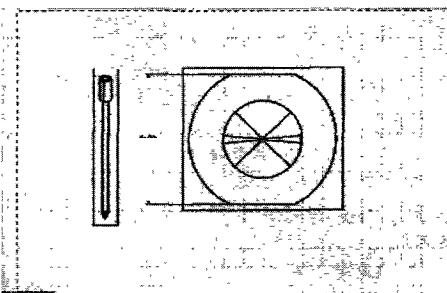


Fig. 9 Shape of collar

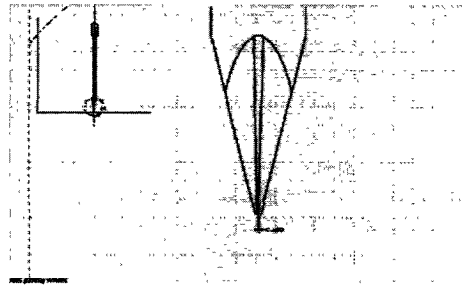


Fig. 10 Deformed shape of micro tip (channel width = 0.02mm)

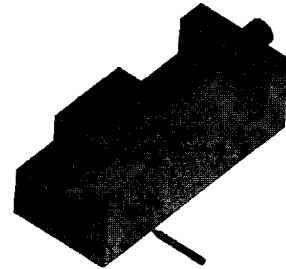


Fig. 11 Channel deformation jig

2) 채널부의 끝부분을 Fig 10과 같이 0.02mm가 되도록 지그(Fig. 11)를 이용하여 변형 한다. 이 부분의 작업이 마이크로 핀의 성능을 좌우하는 중요한 작업이다.

채널부의 경사진 부분을 프레스하여 변형시켜야 하는데 측면부와 채널의 경사진 부분의 접촉하는 위치가 중요하다. 몇 번의 시행결과 팁 끝 부분으로부터 25mm 부근에서 압축할 때 스프링 백에 의한 변형이 적고 영구변형이 된다. 압축은 마이크로 메타를 이용하고 공구현미경에서 변형량을 확인하여 작업한다. 대량 생산 시에는 전용 프레스를 제작하면 정확한 작업을 할 수 있을 것이다.

3)마이크로 핀 가공 결과

① Shanel 와이어 방전가공기 (모델명 : ROBOFIL 2030SI) 와이어 직경 $\phi 0.1\text{mm}$ 로 되어 있어 채널부의 크기(폭)를 0.18mm로 가공하였다. 와이어 방전 가공 후 측정 결과는 Table 3 과 같으며 실제 핀의 형상은 Fig. 12와 같다. 당초 기대한 만큼의 형상은 나오지 않았다. 그 원인으로서는 분사식 가공을 함으로써 가공액 분사 압력에 의하여 팁 부분이 떨림이 생겼고 1차 가공으로 완성함으로서 가공 변형이 생겼다.

② Sodick 와이어 방전가공기 (모델명 : AP200L) 와이어 직경 $\phi 0.07\text{mm}$ 로 하여 채널부의 크기(폭)를 설계대로 0.1mm로 가공하였다.

9차 가공까지 침적식으로 하여 형상, 치수 정도가 Table 4, Fig. 13과 같이 정확히 나왔다.

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

가공핀 번호	180	40	40	180	20	비고
pin1	175 182	39	42	180	25	
pin2	175 188	42	44	188	10	
pin3	173 179	46	44	186	0	
pin4	173 175	33	31	151	38	
pin5	180	30	0	132 153	180	
pin6	171 178	37	37	158	178	
pin7	171 178	35	49	160	25	
pin8	184 190	44	40	150 160	190	
pin9	173 188	44	44	177	188	
pin10	167 175	22	29	130	34	
pin11	178 182			121	182	
pin12	178		25	105		

Table 4 Machining results of test pins
 channel hole width : 0.1mm [unit μm]

가공핀 번호	100	40	40	100	20	비고
Pm14	108	30	38	100	22	
Pin15	99	38	38	96	20	
Pm16	99	42	40	94	42	
Pm17	103	42	40	101	40	
Pin18	105	38	40	100	100	
Pm19	101	38	42	105	58	
Pin20	103	37	42	101	29	

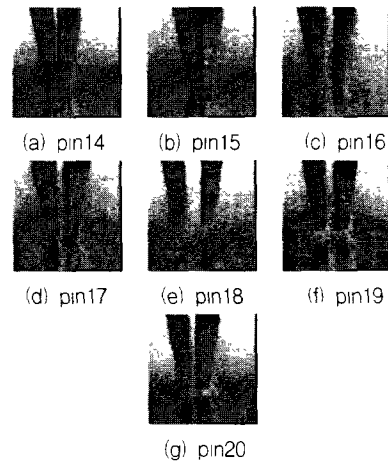


Fig 13 Shapes of micro pins

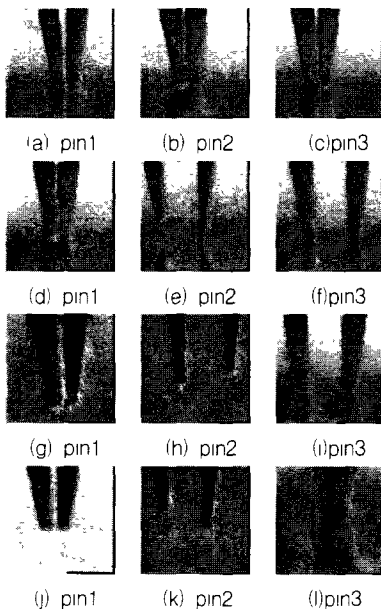


Fig 12 Tip shapes of machined pins

4. 실험 결과 및 고찰

4.1 실험 시 유의사항

- 1) 실험을 하기전의 중요한 것은 완성된 마이크로 핀의 세척이 중요하다. 세척은 초음파 세척기에서 1분 이상 세척하고, 고압의 공기로 건조 시켜야만 실험을 할 수 있었다.
- 2) 핀 포인트를 샘플에 넣어서 샘플을 채널부에 로딩한다. 이 때 사용한 샘플은 물, 5% 포도당 수액, 요오드 액을 사용하였다. 핀을 샘플에 넣어 로딩하는 시간은 5초 이상으로 하여 샘플이 채널부를 채워지도록 한다.
- 3) 샘플의 로딩 방법은 자동화된 모션 콘트롤 시스템이 없어 수동으로 하여 인쇄하였다.
- 4) 샘플 로딩된 핀을 실험 장치에 옮겨 실리콘 웨이퍼위에 직접 접촉시켜 인쇄를 한다.
- 5) 인쇄를 위한 접촉시간이 인쇄 량을 결정한다.

4.2 실험 결과

마이크로 핀의 채널부와 팁 부분의 형상을 정확하게 하기 위하여, 와이어 방전 가공 시, 시간이 걸리더라도 핀의 치수정도와 형상공차, 0.002mm 이내로 가공되어야 하며, 특히 채널부의 경사진 부분과 내면의 표면 거칠기는 샘플 체적에 영향을 미치는 것을 알았다

채널부의 끝 부분의 간격이 인쇄되는 과정과 인쇄량에 영향을 미친다. 채널부의 끝 부분 간격을 변형시키지 않았을 경우에는 팁 부분의 형상은 정상적이거나 채널부의 끝 부분을 좁히지 않아 채널부에, 인쇄샘플 용액은 채워지나 Fig. 14와 같이 인쇄는 되지 않는다. 시간이 지나면서 샘플 용액은 채널 윗부분으로 응집되는 현상이 생긴다.

채널부의 홈 간격이 0.01mm 이하일 경우 Fig. 15와 같이 샘플용액은 채워지나 인쇄는 연속적으로 이루어지지 않는다. 채널부의 홈 간격을 0.02mm 로 하였을 경우에는 Fig. 16과 같이 정상적으로 채널부에 샘플 용액이 채워지고 인쇄도 일정하게 이루어진다. 그리고 채널부의 홈 간격이 0.03~0.04mm 인 경우에는 Fig. 17과 같이 채널부에 샘플용액은 채워지고, 연속적으로 인쇄되나 인쇄 흔적이 크게 ($\phi 0.22 \sim 0.46\text{mm}$ 로 측정) 나타났다.

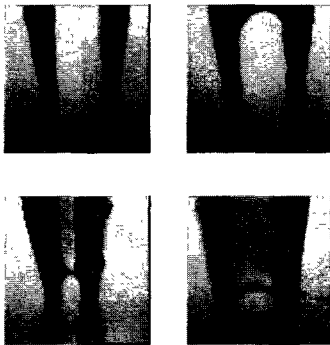


Fig. 14 Pins fail to print



Fig. 15 Pins fail to print continuously

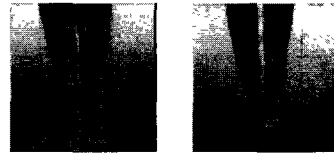
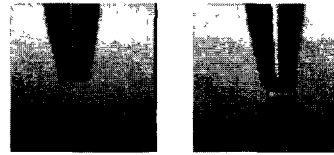


Fig. 16 Cases of stable printing

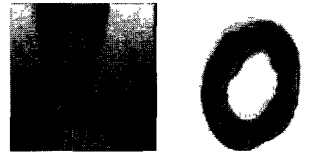
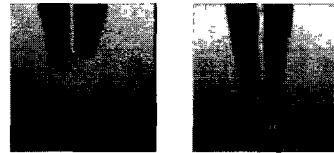


Fig. 17 Cases of stable printing

5. 결론

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

마이크로 핀 채널부의 끝부분 홈 간격은 0.02mm 이하로 하면 인쇄흔적의 크기를 직경 $\phi 0.1\text{mm}$ 정도로 할 수 있고 채널 홈 끝 부분의 간격을 0.02mm 로 하기가 어려우므로, 실험결과 홈 간격 0.04mm 이하에서는 인쇄과정에 문제가 발생하지 않아, 와이어 방전가공 시, 와이어 직경 $\phi 0.03\text{mm}$ 를 사용하여 홈 간격을 0.04mm로 제작하면 제작공정을 줄일 수 있을 것이다 인쇄 흔적의 크기(1nl)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 건조시켜 사용하여야 한다.

참 고 문 헌

- [1] Seung Yong-Hwang "DNA chip technologies
Array of hope", 2001
- [2] J. M. Kohler, J. Reichert, A. Csaki, W.
Fritzsche, "Statusseminar
A-Chiptechnologie", Anwendung und
Nutzen, Frankfurt / M 2.-25, 2000.
- [3] J. Michael Kohler, Andrea Csaki, Jorg
Reichert, R. Moller, W. Straube and
Wolfgang Fritzsche, "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, 2001.
- [4] C. A. Marquette, I. Lawrence, C.
Polychronakos and M. F. Lawrence,
"Impedance based DNA chip for direct T_m
measurement", Talanta, Volume 56, Issue 4,
pp. 763-768, 2002