

< 논문 >

나노입자를 이용한 마이크로 바이오칩의 전기적 신호검출

라광열* · 박재준* · 이성환† · 안유민** · 조남규** · 황승용***
(2005년 3월 9일 접수, 2005년 11월 29일 심사완료)

An Electrical Signal Detection System Using Nanoparticle for a Microbiochip

Kwang Youel Raa, Jae Jun Park, Seoung Hwan Lee,
Yoo Min Ahn, Nahm Gyoo Cho and Seung Yong Hwang

Key Words : Microbiochip(마이크로바이오칩), Electrical Detection(전기적 검출), Nanoparticle(나노입자), Conductivity(전도성), Microelectrode(마이크로전극), MEMS(초소형 기전 시스템)

Abstract

A system for the electrical bio signal detection for a microchip is proposed. Gold nanoparticles were selected for the system for their bio-compatibility and potential for higher sensitivity with large surface areas. For the estimation of the conductivity of gold nanoparticles, microchips with interdigitated microelectrodes of 3,5,7 and 9 μm spacing were fabricated. In addition, a simulation program was developed to estimate the electrical resistance of the fabricated microchip. The results of conduction simulation for the nanoparticles show good agreements with experimental data, which validate the proposed system.

기호설명

- R : 나노입자의 저항
- ρ : 나노입자의 비저항
- n : 나노입자의 밀도
- σ : 나노입자의 전기 전도도
- l : 길이
- A : 단면적
- K : 상수

1. 서론

지난 20세기 정보기술(Information Technology)산업의 발전은 우리 생활에 커다란 변화를 가져왔으며 21세기는 생명공학(BT: Biotechnology)기술과 나노기술(NT: Nanotechnology)이 우리 생활에 큰 영향을 미칠 전망이다. 그 중 반도체 공정을 통한 미세 전자 기계 제작기술을 바이오 분야에 적용한 바이오멤스(BioMEMS: Bio Micro Electro Mechanical System)는 새로운 IT, NT 및 BT 관련 기술의 산업 활용 및 응용을 가능하게 하는 도구로서 그 중요성이 높아지고 있다. 마이크로바이오칩은 유리나 실리콘, PDMS 등의 기질 위에 DNA, RNA, Protein 등의 생화학적 물질을 결합시켜, 빠른 시간 내에 분석 처리할 수 있는 생물학적 마이크로 칩을 말하며, 각종 생리 활성 물질 및 화학물질을 분석, 측정, 진단, 검색해 낼 수 있어 점점 그 중요성을 더 해가고 있다.⁽¹⁻³⁾ 마이크로바이오칩의 장점은 다음과 같다.

† 책임저자, 회원, 한양대학교 기계공학과
E-mail : sunglee@hanyang.ac.kr
TEL : (031)400-5288 FAX : (031)406-5550

* 한양대학교 대학원

** 회원, 한양대학교 기계공학과

*** 한양대학교 분자생명과학부

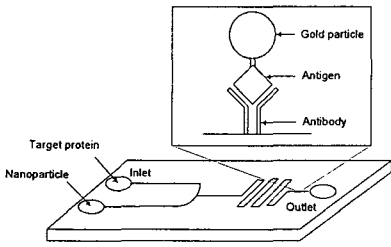


Fig. 1 Scheme of microbiochip

첫째, 이전보다 매우 적은 양의 시료만으로도 분석이 가능하다는 점이다. 따라서 고가의 시료의 사용시 비용을 절감할 수 있고, 환자의 조직 혹은 기타 생물학적 시료 등 수집이 어려운 시료도 적은 양으로 실험을 할 수가 있다. 또한 소량의 시료를 처리하기 때문에 실험 및 분석에 걸리는 시간이 매우 단축된다.

둘째, 마이크로 바이오 칩은 MEMS 기술을 이용하여 제작하기 때문에 소형화가 가능하며, 저렴한 비용으로 대량 생산이 가능하다. 이로 인해 휴대하기 쉽고, 한번 쓰고 버릴 수 있는 진단/분석 시스템의 구현을 가능하게 한다. 일반적으로 마이크로 바이오 칩 기반의 진단/분석 시스템의 검출 방식⁽⁶⁻⁸⁾ 중 가장 흔히 쓰이는 방법은 광학시스템을 이용한 형광법(fluorescence detection)이다. 형광법은 항원 항체의 결합 유무를 검출하기 위한 가장 보편화된 방법으로 타겟(target DNA/Protein)에 인공적인 형광 물질을 첨가시켜 바이오 반응 후 UV 레이저에 의한 발광을 CLSM(Confocal Laser Scanning Micro-scope) 등을 통해 관찰 하는 것이다.^(9,10) 하지만 이 같은 분석방법은 광학장비를 이용하므로 시스템의 대형화를 초래하고 이로 인해 건강진단이나 현장에서의 사용이 불가능하며, 장비의 가격 또한 고가이다. 하지만 최근 부각되고 있는 전기적인 검출방법을⁽¹¹⁻¹⁴⁾ 사용하면 시스템의 소형화 뿐만 아니라, 휴대성, 경제성, 일회성등을 만족시키는 진단/분석 시스템의 구현이 가능하다. 바이오 전기 신호 검출에 있어 신호향상을 위해 쓰이는 나노크기 입자는 같은 양의 물질이라도 그 표면적 증대 등에 따라 분석에 있어 효율성을 크게 해주며, 특히 골드 나노 파티클은 바이오물질과의 친화성을 가지고 있으므로, 전극 사이에서 전자를 전달시켜주는 역할로써 바이오센서에 적합하다.⁽¹⁵⁾

Fig. 1 은 본 연구 및 선행연구⁽¹⁶⁾에서 사용된 금 나노입자를 이용한 마이크로바이오칩의 개념도이다.

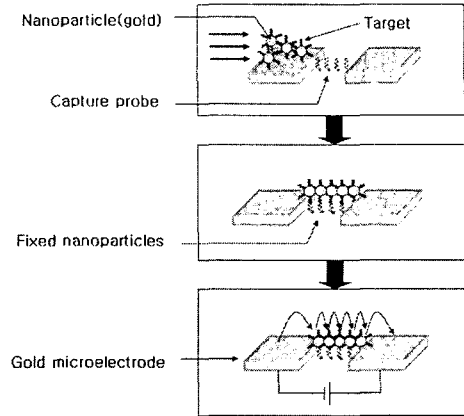


Fig. 2 The concept for detecting electric signals⁽¹¹⁾

선행 연구에서 상기한 바이오 신호 전기검출을 위한 바이오센서 시스템이 설계 제작되었고, 신호 검출에 의한 시뮬레이션 및 실험이 수행되었으나, 시뮬레이션 및 센서제작, 실험방법 등에 있어 미비점이 발견되었으며, 본 연구에서는 개선된 센서 시스템의 제작 및 신호검출에 관해서 논하였다.

2. 마이크로바이오센서의 설계 및 제작

2.1 전기신호 검출 원리

본 연구에서 사용하고 있는 나노입자를 이용한 전기신호 검출 방법은 다음과 같다. Fig. 2 에서 보는 바와 같이 금으로 된 나노입자의 표면에 타겟(Target:검출하고자 하는 바이오 물질)을 입힌다. 센서의 검출부에는 프로브(probe: 타겟과 반응하여 결합하는바이오 물질)가 고정된다. 타겟이 결합된 나노입자가 들어있는 시료를 넣어주면, 센서의 검출부에서 타겟과 프로브가 반응한다. 이에 따라 나노입자가 검출부에 고정된다. 결국 나노입자가 전극사이의 간격을 채우게 되고, 전극 양단에 전기를 흘려주면 나노입자가 전자를 전달해, 타겟과 프로브의 반응여부를 전기적으로 검출할 수 있게 된다.

2.2 마이크로바이오센서의 제작 및 개선점

유리기판(Pyrex glass substrate) 위에 금 전극(gold electrode)이 마주보게 하고, 작은 전기신호에도 민감하도록 검출부로 갈수록 좁아지는 형상으로 설계하였다. 최대한 검출 접촉 영역을 넓히기 위해 검출부는 Fig. 3(a)에서 보는 것처럼 두 개의 빗(comb)이 엇갈려 있는 모양으로 설계하였다. 선행 연구에서 센서 간의 간극이 넓어서(10 μm 이상) 신호 감도가 떨어지는 단점을 보강하기 위해 크롬마스크를 적용하여 센서부 전극사이의 간격을

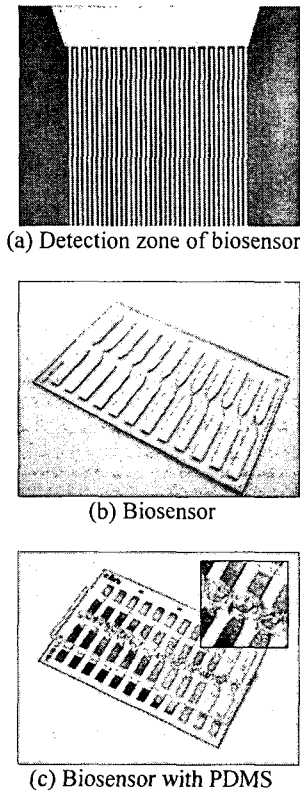


Fig. 3 Photograph of biosensors

최소화 하였고, 두께 및 센서간격 변화에 따른 특성치 변화 검토를 위해 3,5,7,9 μm 로 각각 센서전극을 제작하였다. 한편, 선행 연구에서는 센서부에 바로 시료를 떨어뜨렸기 때문에 시료가 정확히 센서부에 떨어지게 하기가 어려웠고, 센서부에 떨어진 시료도 퍼지는 경향이 있었다. 이 단점을 개선하기 위해 제작한 바이오센서 위에 PDMS-(polydimethylsiloxane)를 이용 하여 well 을 제작하였다. Fig. 3(b)는 제작된 바이오센서이고, Fig. 3(c)는 제작된 바이오센서 위에 PDMS 를 이용 하여 Well 을 만든 것을 보여준다. 이는 나노입자 시료를 검출부에 정확하게 주입하고, 주입된 시료가 주위로 퍼지지 않게 하여, 센서의 감도를 높이는데 도움이 된다. Fig. 4 에서 바이오 센서의 제작과정을 보이고 있다. 먼저 유리 기판 위에 전극을 형성하기 위해 열증착 방법으로 전면이 크롬/금(Cr/Au)을 증착 하였다. 여기에 스펀코터를 이용하여 양성 감광제(Photoresist)를 회전 도포하고, 그 후 전극형상이 새겨진 크롬 마스크를 통해 자외선을 비취준다. 그 후 전극 부분의 형상만 남을 수 있도록 크롬/금 박막을 습식 식각한다. 금속막이 전극 부분만을 남기고 식각되면 아세톤 용액에 담그어 PR

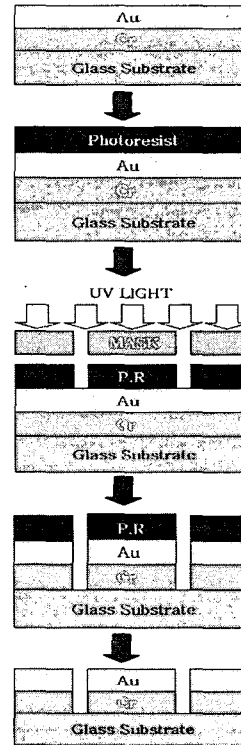


Fig. 4 Fabrication process

층을 없애주면 바이오 센서가 완성된다.

3. 전기신호검출 시뮬레이션

3.1 마이크로바이오센서의 제작 및 개선점

나노입자의 분포에 따른 전기전도도의 변화를 관찰하기 위해 Fig. 5 와 같이 바이오센서 위에 나노입자를 랜덤하게 분포시킨 후, 이에 의한 전기전도도 시뮬레이션을 수행하였다.(Fig. 6) Fig. 5 에서 양쪽 전극과 이어져 전기가 통하는 나노입자는 진한색으로 표시하였다. 선행 연구에서는 랜덤으로 입자를 분포시켜주었으나, 입자들이 모두 단일 평면상에 존재하는 것으로 가정하여 한 입자가 다른 입자와 같은 자리에 위치하거나 가까운 거리에 있게 되면, 두 입자가 서로 포개어 지거나 겹쳐져서 하나처럼 인식되었다. 또한 저항의 계산에 있어 나노 입자들의 배열 형상으로부터 도전부의 단면적과 길이를 산출하여 계산하였는데, 실제로 나노입자들은 서로가 맞닿아 접촉하고 있기 때문에 나노입자들 사이의 접촉저항을 고려해 주는 것이 보다 정확하다. 이에 본 연구에서는 실제입자의 분포를 고려하여 다층의 벌집모양 격자(Fig. 7)에 나노입자를 분포시켰고, 접촉 점을 중심으로 하여

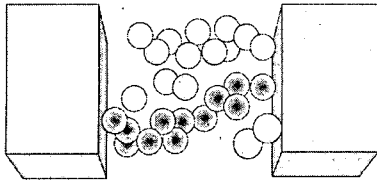


Fig. 5 The concept of the simulation

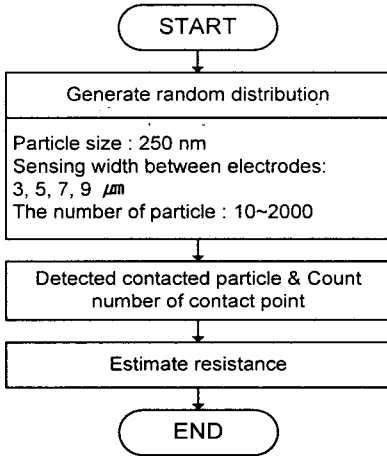


Fig. 6 Simulation process

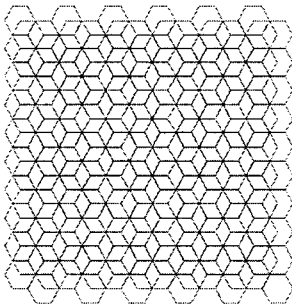


Fig. 7 A lattice hive for simulation

저항(R)을 계산하였다. 저항은 식 (1) 같이 표현되며, 총 저항은 단위길이 당 단면적의 저항을 모두 더해준 것과 같다. 식에서 나노입자의 길이(l)와 비저항(ρ)은 일정하므로 $l * \rho = k(\text{상수})$ 로 놓을 수 있다. 벌집모양의 격자에 분포시킨 나노입자의 한 열을 단위길이의 단면적으로 볼 수 있으므로 단면적(A)은 접촉점의 개수로부터 계산이 가능하다. 상기한 방법을 사용하여, 나노입자 분포에 따른 도전성의 평가지표로 나노입자의 밀도 변화와 센서간격의 변화에 따라 R/k 값이 검토되었다.

$$R = \rho \frac{l}{A} \quad (1)$$

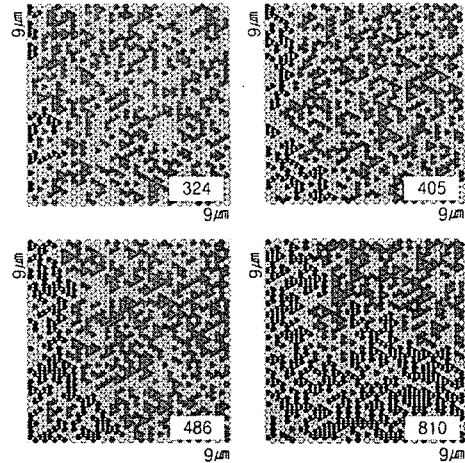
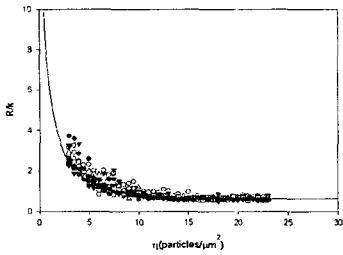


Fig. 8 Electrically charged gold particles in the detection zone (uniform random distribution)

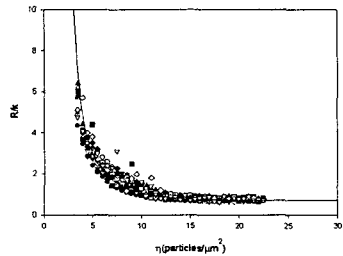
3.2 시뮬레이션 결과

Fig. 8 은 검출부 내에서의 나노입자 밀도 증가에 따른 입자들의 통전여부 확인을 위해 시행된 시뮬레이션 결과를 보이고 있다. $9 \mu\text{m} \times 9 \mu\text{m}$ 크기의 검출부 내에 250nm 크기의 구형 나노입자가 각각 324 ($=4 \text{ particles}/\mu\text{m}^2$), 405 ($=5 \text{ particles}/\mu\text{m}^2$), 486 ($=6 \text{ particles}/\mu\text{m}^2$), 810 ($=10 \text{ particles}/\mu\text{m}^2$)개 가 뿌려졌을 때의 예이다. 입자들은 균일분포를 따르는 랜덤함수를 적용하여 분포시켰으며, 나노입자의 밀도가 높아질수록 검은색을 띄는 도전 상태의 나노입자 수가 증가하여 전극 사이의 전류의 흐름이 발생할 확률이 증가하고 있음을 보여준다. Fig. 9 는 나노입자의 밀도에 따른 R/k 값의 변화이다. 나노입자의 밀도가 높아짐에 따라 저항 값이 낮아지는 경향을 볼 수 있으며, 동일한 밀도를 갖는 경우, 센서간격이 좁을수록 저항이 감소함을 볼 수 있다. Fig. 10 은 산출된 저항 값을 전도도로 환산한 결과이다. 나노입자의 밀도가 증가함에 따른 전도도의 증가는 식 (2)와 같이 누적 정규 분포 함수(cumulative distribution function)의 형태로 근사할 수 있다. Fig. 10 의 곡선 맞춤(curve fitting) 결과에서 모든 상관계수의 값이 0.97 이상이고, 부합도 검사결과가 0.05 이하로 산출되었으므로, 곡선맞춤이 적합하다고 판단할 수 있다. 선행 연구의 결과와 같이 나노입자의 밀도가 높을수록, 센서간격이 좁을수록 바이오 신호 검출이 용이함을 알 수 있다.

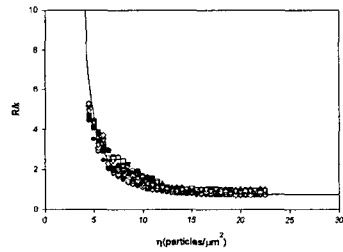
$$\frac{K}{R} = \frac{2}{\sqrt{2\pi}\sigma_0} \int_0^\eta e^{-\frac{(\eta-\mu)^2}{2\sigma^2}} d\eta \quad (2)$$



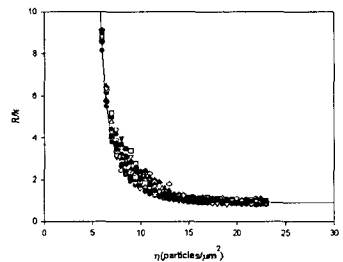
(a) Gap between sensing electrode : 3 μm



(b) Gap between sensing electrode : 5 μm



(c) Gap between sensing electrode : 7 μm



(d) Gap between sensing electrode : 9 μm

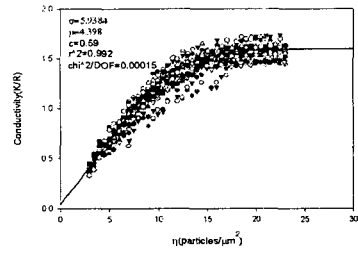
Fig. 9 Resistance of the nanoparticles between sensing electrodes. (Simulated)

식 (2)에서 σ 는 분산, μ 는 평균, η 는 확률변수를 나타낸다.

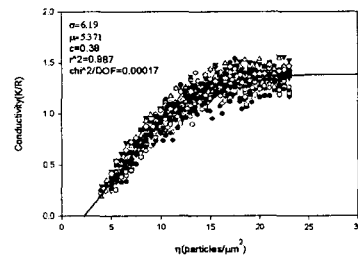
4. 전기신호검출 실험 및 결과

4.1 실험 방법

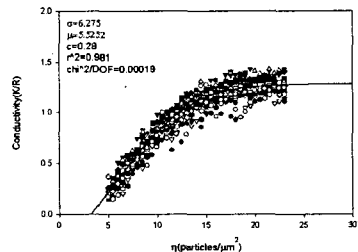
나노입자의 밀도와 센서간 간격에 따른 저항 및



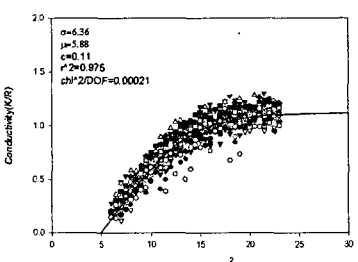
(a) Gap between sensing electrode : 3 μm



(b) Gap between sensing electrode : 5 μm



(c) Gap between sensing electrode : 7 μm



(d) Gap between sensing electrode : 9 μm

Fig. 10 Conductivity of the nanoparticles between sensing electrodes. (Simulated)

전도도의 변화를 알아보기 위해 실험이 수행되었다. Fig. 11과 Fig. 12은 각각 전기 신호 검출에 사용된 회로와 실험장치 구성이다. 저항의 변화는 미세한 전기신호의 변화를 감지할 수 있다고 알려진 휘트스톤 브릿지 회로로부터 검출되었다. Fig. 3과 같은 바이오센서에 나노입자가 고정된 상태에서, Fig. 12에서 보여지는 실험장치에

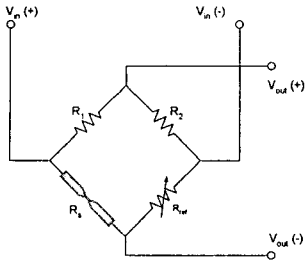


Fig. 11 Electric circuit for signal detection using wheatstone bridge (R_s : biosensor, R_{ref} : variable resistor)

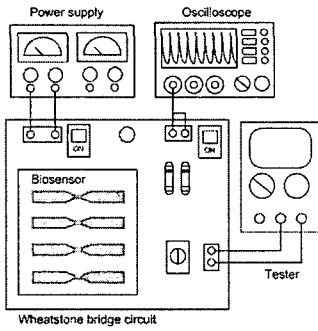


Fig. 12 Experiment setup

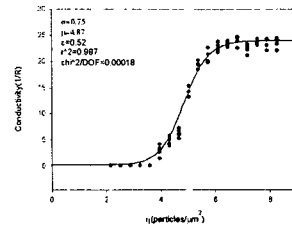
장착되어 저항이 측정 되었다. 나노입자의 밀도를 조절하기 위해, 버퍼용액에 담긴 나노입자를 원심분리기로 추출하여 회석하였다. 농도별로 준비된 나노입자 용액을 센서 검출부에 주입한 뒤 버퍼용액을 증발시켜 나노입자를 센서 검출부에 고정하였다. 실험에 사용된 나노입자는 직경이 250nm 인 금입자이다.

4.2 실험결과

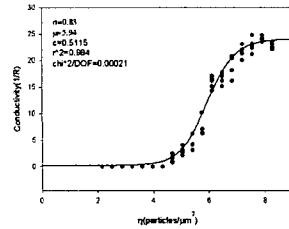
Fig. 13 은 나노입자의 밀도에 따른 전도도의 변화를 보여주고 있으며, 식 (3)과 같은 형태로 근사할 수 있고 시뮬레이션 결과와 마찬가지로 누적분포함수의 경향을 지닌다. 실제 실험 결과는 금입자의 비저항값(ρ)이 포함되어 표현되었다.

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{\rho} \left(\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \int_0^{\eta} e^{-\frac{(\eta-\mu)^2}{2\sigma^2}} d\eta \right) \quad (3)$$

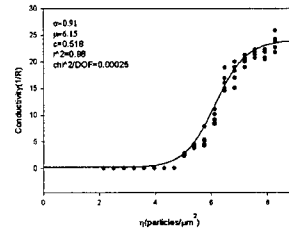
식 (3)에서의 μ 값은 그래프상에서 변곡점을 나타내며 이는 안정된 전도도에 이르기 위해 필요한 나노입자의 밀도와 관련성을 가진다. 즉 μ 값 이상의 나노입자의 밀도에서 전도도가 크다. Table 1 에서 선행 연구(5,6,7 번)와 본 연구에서의 시뮬레이션과 실험간의 μ 값 차이를 비교하였다.



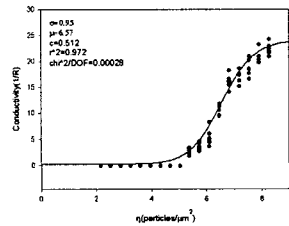
(a) Gap between sensing electrode : 3 μm



(b) Gap between sensing electrode : 5 μm



(c) Gap between sensing electrode : 7 μm



(d) Gap between sensing electrode : 9 μm

Fig. 13 Conductivity of the nano-particles between sensing electrodes (Experimented)

Table 1 Differences between simulation and experiments

	센서 간격	Simulation	Experiment	Diff.(%)
1	3 μm	4.398	4.87	9.69
2	5 μm	5.371	5.94	9.57
3	7 μm	5.5252	6.15	10.21
4	9 μm	5.88	6.57	10.50
5	10 μm	5.934	7.269	18.36
6	15 μm	6.991	8.31	15.87
7	20 μm	15.720	17	7.52

표에서 보는 바와 같이 실험과 시뮬레이션 모두 μ 값이 줄어들었고 그 차이도 하향 안정화됨을 볼 수 있다.

5. 결론

바이오신호의 전기검출을 위한 센싱시스템을 제작하였고 분석하였다. 센서의 두께 및 간격에 따른 전기 신호가 검출되었고, 나노입자의 밀도에 따른 저항값과 전도도의 변화가 관찰되었으며, 실험값이 시뮬레이션 값과 비교되었다. 주요결과는 다음과 같다.

(1) 전기신호 감도를 높이기 위해 마이크로 바이오칩 제작에 크롬마스크를 도입하여 센서 간격을 최소화 하였고, 입자의 밀도를 높이기 위한 장치를 고안하여 향상된 실험결과를 얻었다.

(2) 나노입자의 분포로 인한 전도도를 추정하기 위한 시뮬레이션을 함에 있어, 접촉저항을 고려하여 저항을 계산하였고, 다층구조를 고려하는 등 보다 실제와 가까운 상황을 모델로 설정하여 전도도 추정 알고리즘을 개발하였다.

(3) 향상된 시뮬레이션 및 실험결과로부터 제안된 전기신호 검출시스템의 효용성을 확인하였다.

후 기

본 연구는 2004년도 한국과학재단 기초과학 연구 사업 연구 과제(R01-2003-000-10614-0)의 연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 관계자 여러분께 감사 드립니다.

참고문헌

- (1) Nicolini, C., 1995, "From Neural Chip and Engineering Biomolecules to Bioelectronic Devices : and Overview," *Biosensors & Bioelectronics*, Vol. 1, No. 1/2, pp. 105~127.
- (2) Park.J.G, 2000, "Biochip Technology and Application," *Proceeding of KIEE*, Vol. 49, No. 2, pp. 17~23.
- (3) Albers, J., Grunwald, T., Nebling, E., Piechotta, G., Hintsche, R., 2003, "Electrical Biochip Technology - a Tool for Microarrays and Continuous Monitoring," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Vol. 377, No. 3, pp. 521~527.
- (4) Vo-Dinh, T., Cullum, B., 2000, "Biosensors and

- Biochips : Advance in Biological and Medical Diagnostics,* *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 366, pp. 540~551.
- (5) Harris, T., 2000, "Genetics, Genomics and Drug Discovery," *Medicinal Research Reviews*, Vol. 20, pp. 203~211.
- (6) Kerman, K., Kobayashi, M., Tamiya, E., 2004, "Recent Trends in Electrochemical DNA Biosensor Technology," *Measurement science & technology*, Vol. 15, pp. R1~R11.
- (7) Yoshio O., Yuka M., Kumiharu I., Masayuki M., Akira M., and Keisuke M., 1992, "Hybridization of Nucleic Acids Immobilized on a Quartz Crystal Microbalance," *Journal of the American Chemical Society*, Vol. 114, pp. 8299~8300.
- (8) Schwarz, M. A., Hauser, P. C., 2001, "Recent Development in Detection Methods for Microfabricated Analytical Devices," *Lab on a chip*, Vol. 1, pp. 1~6.
- (9) Wang, J., 2003, "Nanoparticle-Based Electrochemical DNA Detection," *Analytica Chimica Acta*, Vol. 500, pp. 247~257.
- (10) Piunno, P., Krull, U., Hudson, R., Dahma, M., Cohen, H., 1995, "Fiber-Optic DNA Sensor for Fluorometric Nucleic Acid Determination" *Analytical Chemistry*, Vol. 67, pp. 2635~2643.
- (11) Park.S.J, Taton, T.A., Mirkin, C. A., 2002, "Array-Based Electrical Detection with Nanoparticle Probes," *SIENCE*, Vol. 295, No. 5559, pp. 1506~1508.
- (12) Burnmeister, J., Bazilyanska, V., Grothe, K., Koehelr, B., Dorn, I., Warner, B.D., Diesel, E., 2004, "Single Nucleotide Polymorphism Analysis by Chip-Based Hybridization and Direct Current Electrical Detection of Gold-Labeled DNA," *Analytical Bioanalytical Chemistry*, Vol. 379, No. 3, pp. 391~398.
- (13) Haguët, V., Martin, D., Marcon, L., Heim, T., Stievenard, D., Oliver, C., El-Mahdi, O., Melnyk, O., 2004, "Combined Nanogap Nanoparticles Nanosensor for Electrical Detection of Biomolecular Interactions Between Polypeptides" *Applied Physics Letters*, Vol. 84, No. 7, pp. 12113~1215.
- (14) Moller, R., Csaki, A., Kohler, J. M., Fritzsche, W., 2001, "Electrical Classification of the Concentration of Bioconjugated Metal Colloids After Surface Adsorption and Silver Enhancement," *Langmuir*, Vol. 14, pp. 5426~5430.
- (15) Hyatt, M.A., 1989, "Colloidal Gold : Principles, Methods and Applications," *Academic Press*, pp. 1~32
- (16) Park, J.J., 2005, "A Study on an Electrical Biosignal Detection System for the Microbiochip" *KSPE*, Vol. 22, No. 4.