

마이크로 PCR 칩의 제작과 thermal cycling system

이윤경^{***}, 김종성^{*}, 이달호^{**}, 윤영수^{***}
 경원대학교 화학공학과^{*}, 경원대학교 전자공학과^{**},
 한국과학기술연구원 박막기술연구센터^{***}

Fabrication of the micro-chip and thermal cycling system

Yun-Kyoung Lee^{***}, Jong Sung Kim^{*}, Dal Ho Lee^{**} and Youngsoo Yoon^{***}

^{*}Department of Chemical Engineering, Kyungwon University,

^{**}Department of Electronics Engineering, Kyungwon University,

^{***}Thin Film Technology Center, Korea Institute of Science and Technology

서론

마이크로 소자 공정을 이용하여 기존의 시스템을 대체해가는 MEMS(Micro Electro Mechanical System) 기술과 Bio분야가 결합하여 등장한 Bio-MEMS 기술이 요즘 새롭게 각광받고 있다.¹⁾ 특히 의학 및 생명공학 연구에 필수적인 DNA 증폭법인 PCR(Polymerase chain Reaction)을 chip 상에 구현하는 micro-PCR에 대한 연구가 LOC(Lab-on-a chip)와 함께 활발하게 연구되게 연구되고 있다.^{2,3)} 마이크로 소자화된 PCR은 소량의 sample을 필요로 하고, 온도 사이클 시간이 짧고, 저가로 만들 수 있는 장점이 있다. 본 연구에서는 DNA 정제를 통해 얻은 소량의 DNA를 2ⁿ배로 증폭할 수 있는 micro-PCR 소자를 MEMS 기술을 이용해 제작하였다. 또한 이 소자에서의 반응을 구동할 수 있는 시스템을 구축하였다.

실험 및 토의

마이크로 PCR chip 제작을 위해 사용된 기판은 glass와 silicon 두 가지이며 그 사양을 표.1에 나타내었다. On-chip에 있어서 glass의 선택은 중요한 요소 중 하나로 작용하는데, 이는 300℃ 이상의 온도에서 bonding과정이 이루어지기 때문이다. 또한, 서로 다른 물질을 bonding할 때 각각의 다른 열팽창계수로 인해 냉각시 깨지기 쉽다. 따라서 300℃ 이상에서 견디고, 서로 열팽창계수가 비슷한 물질을 선택해야 bonding이 이루어진다고 할 수 있다.

소자의 패터닝 형성은 아래에 기술된 바와 같은 순서로 sputtering, lithography를 이용하여 실시하였고, wet etching 방법으로 glass와 silicon을 etching하였다. 먼저 마이크로 PCR의 채널을 디자인하여 유리는 Au/Cr 층상에 PR 패터닝을 하였다. Au/Cr 층을 etching하여 metal mask를 형성 후 유리를 직접 제작한 etchant에서 wet etching하고, Au/Cr을 striping하여 최종적으로 유리기판에 채널을 형성하였다. 한편 silicon은 SiO₂ 위에 PR 패터닝을 하여, RIE (Reactive Ion Etching) 또는 BOE (Buffered Oxide Etch)로 에칭하여 패터닝된 SiO₂를 20% TMAH (TetraMethylAmmonium Hydroxide)용액에 넣고, wet etching 하였다.

Substrate	Glass	Silicon
specific	borofloat (pyrex) double side polished 4in × 0.8 mm	p-type(100) one side polished 4in × 500 μ m SiO ₂ 3000Å

표 1 기판의 사양

패턴 디자인

마이크로 PCR chip은 크게 두 가지로 나뉘어진다. PCR mixer가 한곳에 머무르면서 DNA가 증폭이 되는 well type²⁾과 PCR mixer가 나누어진 각각의 다른 온도 조절부를 이동하면서 DNA가 증폭되는 continuous type³⁾이다. 본 연구에서 사용된 type은 well type으로써, continuous type에 비해 패턴이 간단하고, 온도 조절부를 3곳으로 나누지 않아도 된다는 장점이 있어 사용하게 되었다. 그리고 채널이 직선인 경우와 곡선인 경우로 나누어 시료의 주입과 회수의 효율을 비교하여보았다.

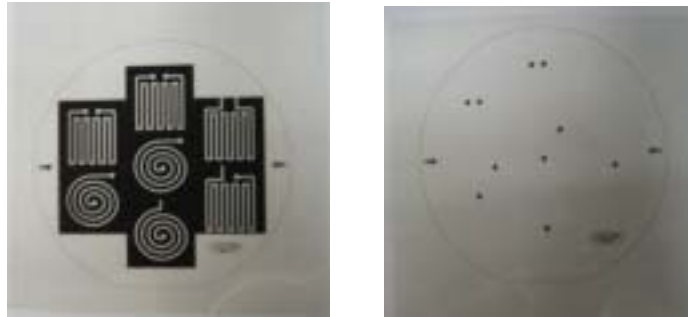


그림 1 Micro-PCR chip을 위해 디자인된 마스크

Etching Mask

유리와 실리콘을 에칭하기 위해 etching mask를 제작하였다. 유리의 경우 같은 산화막을 마스크로 쓸 수 없기 때문에 metal을 마스크로 선택하였으며, sputtering와 lithography 공정으로 메탈 마스크를 제작하였다. 먼저 유리와 Au의 adhesion을 좋게 하기 위해 Cr을 5 mtorr의 Ar 50 sccm 분위기에서 r.f.(radio frequency) power 200W로 500Å을 증착 하였다. 그리고 같은 분위기, d.c.(direct current) power 0.2A X 400 V에서 멀티 layer로 2500Å의 Au를 증착하였다. 실리콘은 dry 방식으로 LPCVD에서 SiO₂가 3000Å 증착된 것을 사용하였다. 그리고 사진식각공정을 이용해 PR패터닝을 하였다.

Wet Etching

Micro-PCR chip제작에서 채널을 형성하는 방법으로는 wet etching을 이용하였다. 먼저 유리의 경우 metal mask인 Au의 에칭용액으로는 왕수 (HCl : HNO₃ = 3 : 1)를 제조하여 사용하였고, Cr은 쉘본 씨알케이(J.T. Baker)로 에칭 하였다. 기판인 유리는 HF : NH₄F : H₂O = 1 : 1 : 2로 50분간 상온에서 에칭 하였다. 에칭속도는 분당 0.233 μ m로 총 에칭된 깊이는 14 μ m가 되었다. 다양한 농도에서 에칭 실험을 진행한 결과 HF의 농도가 높아질수록 에칭속도는 빨라지지만, 에칭된 유리의 표면이 거칠게 되어 bonding에 적합하지 않았다. 따라서 표면 상태와 에칭속도간의 관계를 고려해볼 때 위에 사용된 농도가 최적점 농도임을 알 수 있다. 실리콘의 경우 SiO₂ 층을 etching mask로 사용하기 위해 RIE로 식각하여, 95°C의 20% TMAH 용액에서 에칭을 하였다. 웨이퍼의 모든 곳에서 에칭속도가 일정하게 하기 위해 온도 구배가 생기지 않도록 수평으로 넣고 에칭 하였다. 에칭속도는 분당 0.85 μ m로 50분간 에칭하여 총 깊이가 34 μ m가 되었다. 여기에 다시 SiO₂ 1200Å를 PECVD로 증착 하였다. 깊이 14 μ m의 채널이 형성된 유리기판과 깊이 34 μ m의 채널이 형성된 실리콘 기판을 완성하였다. 그림. 2에 에칭된 SEM 이미지를 나타내었다.

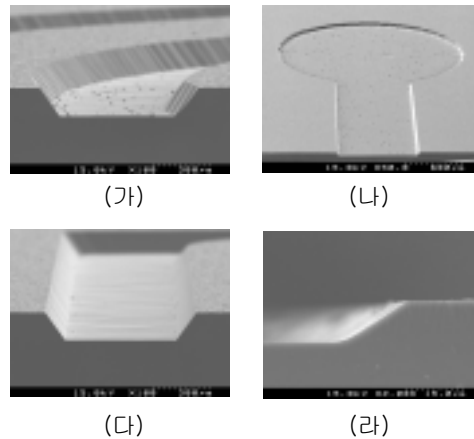


그림 2 에칭된 silicon & glass 채널 이미지

Bonding

먼저 본딩이 잘 이루어지도록하기 위해 CMP(Chemical Mechanical Polishing) 공정을 거쳐 에칭후 생긴 핀홀을 제거한다. 이때 두께 $1\mu\text{m}$ 정도를 없애주므로 전체 에칭된 깊이는 유리와 실리콘이 각각 $1\mu\text{m}$ 씩 줄게 된다. 다음으로 채널이 형성된 웨이퍼와 지름 2mm의 원형의 주입부와 회수부가 뚫린 양면 polishing된 상판 유리를 본딩 하였다. 유리-유리 본딩인 경우는 Direct bonding으로 높은 온도와 압력 하에서 진행된다. 유리-실리콘 본딩은 anodic bonding으로 실험방법은 핫플레이트를 350°C 로 가열하여 DC power supply로 실리콘에 양극, 유리에 음극을 연결하여 500V를 인가하여 실리콘 표면에 존재하는 결합이 끊긴 원자(+이온)과 유리의 산소이온(-이온)과 결합을 이루게 하였다. 그리고 저항을 측정하여 저항이 다시 증가하기 시작하여 최대값을 가질 때 핫플레이트와 DC power supply의 전원을 꺼서 상온에 샘플을 꺼냈다. 접합후 샘플의 경우 기공이 거의 없는 양호한 특성을 나타내었다. 유리와 실리콘의 접합장비를 그림. 3 에 나타내었고, 본딩이 끝나 완성된 소자의 사진을 그림. 4에 나타내었다.

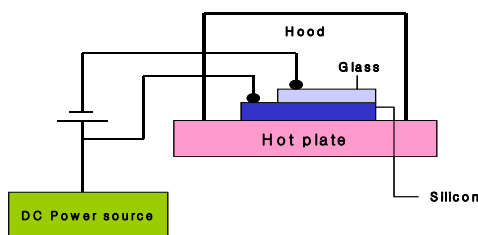


그림 3 Anodic bonding 장비



그림 4 완성된 micro-PCR chip

Thermal cyler

PCR을 수행하기 위한 thermal cyler를 그림 5에 나타내었다. 가열 및 냉각소자로 펠티에 효과로부터 극(+,-)전환을 통해 언제든지 동일한 면을 냉각시키거나 반대로 발열시킬 수 있으며, 정전압을 공급하면 특정 온도를 유지시킬 수 있는 TE-Cooler를 사용하였다. 제어를 위한 온도 감지 센서는 보정회로가 필요 없고 선형성이 뛰어난 반도체 IC 온도센

서 LM35DZ를 사용하였다 부착된 펠티에 소자와 chip을 고정하기 위해 나무를 이용한 프레임 제작해 로딩될 공간을 확보하였다. 측정되는 온도는 chip의 온도로가 되도록 chip에 부착하였다. 갑작스런 열전달(overshoot)의 영향을 최소화하기 위해 chip을 직접 소자에 부착하지 않고 두 개의 펠티에 소자로 생긴 공간에 제작된 칩을 띄워 로딩 했다. 로딩된 micro-PCR chip의 위치를 그림 6에 나타내었다.



그림 5 Thermal cycler

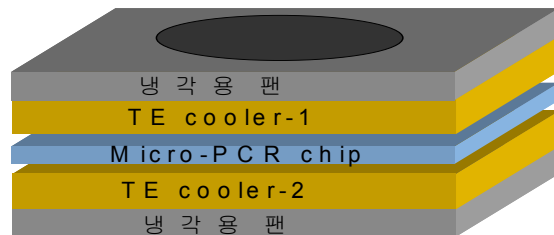


그림 6 Micro-PCR chip 로딩

본 연구에서 구성한 thermal cycling system으로 구현한 온도 조절을 그림 7에 도시하였다. 94°C, 37°C, 55°C, 72°C의 온도 변화를 갖는 사이클에서 각 온도의 유지 시간을 100sec로 설정하였을 때 한 사이클에서 heating rate는 평균 1.35°C/s, cooling rate는 0.9°C/s임을 확인할 수 있었다

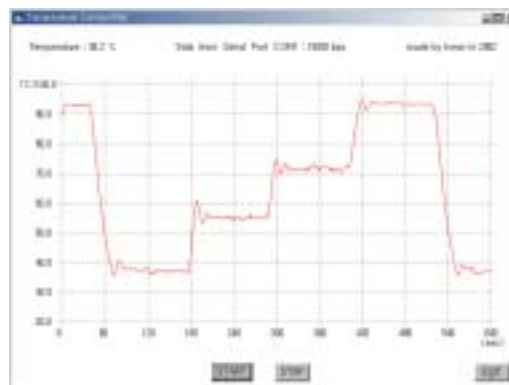


그림 7 Thermal cycler에서의 온도변화

결론

Micro-PCR chip 제작을 위한 디자인을 곡선과 직선을 이용해 두 가지 패턴을 적용하였다. 에칭결과 단면은 wet etching을 하였기 때문에 오버 에칭되어 사다리꼴 모양으로 에칭이 되었으며, 이로 인해 계산한 값보다 더 많은 시료가 들어가게 되었다. Thermal cycle 결과 펠티에 소자에 완전히 부착되었을 때보다 띄어진 경우 온도변화속도는 느리지만, 표면적대 부피비가 큰 chip이 받는 overshoot에 의한 영향은 훨씬 줄어든 것으로 예상된다.

감사

본 연구는 신소재 연구센터(KRRC)에서 지원 받아 수행되었습니다.

참고문헌

1. Larry J. Kricka (2001), *Clinica Chimica Acta*, 307, 219-223
2. Martin U. Kopp, Andrew J. de Mello, Andreas Manz, (1998), *SCIENCE*, **280**, 1046-1048
3. Yu-Cheng Lin, Ming-Yuan Huang, kung-Chia Young, Ting-Tsung Chang, Ching-Yi Wu, *Sensors and Actuators B* **71** (2000)2-8