

집적화된 Lab-On-a Chip을 위한 광센서의 제작 및 특성 평가

Development of Photo-sensor for Integrated Lab-On-a-Chip

김주환^{1,2,a}, 신경식¹, 김용국¹, 김태송¹, 김상식², 주병권¹
(Ju-Hwan Kim^{1,2,a}, Kyeong-Sik Shin¹, Yong-Kook Kim¹, Tae-Song Kim¹, Sang-Sig Kim²,
and Byeong-Kwon Ju¹)

Abstract

We fabricated photo-sensor for fluorescence detection in LOC. LOC is high throughput screening system. Our LOC screens biochemical reaction of protein using the immunoassay, and converts biochemical reaction into electrical signal using LIF(Laser Induced Fluorescence) detection method. Protein is labeled with rhodamine intercalating dye and finger PIN photodiode is used as photo-sensor. We measured fluorescence emission of rhodamine dye and analyzed tendency of fluorescence detection, according to photo-sensor size, light intensity, and rhodamine concentration. Detection current was almost linearly proportional to two parameters, intensity and concentration, and was inversely proportional to photo-sensor size. Integrated LOC consists of optical-filter deposited photo-sensor and PDMS microchannel detected 50 [pg/ μ l] rhodamine. For integrated LOC including light source, we used green LED as the light source and measured emitted fluorescence.

Key Words : Lab-On-a-Chip, Photo-sensor, Fluorescence detection, Integration, LED

1. 서론

초기의 LOC에는 DNA나 RNA 단위의 생물학적 반응을 검출하기 위해서 다양한 검출 방법이 적용되었다[1]. 그러나, 현재는 광센서를 이용한 광학 검출법과 MEMS 기술로 제작된 마이크로 캔틸레버의 공진주파수를 이용한 검출 방법이 높은 신뢰성과 감도, 안정성으로 많은 LOC에 널리 적용되고 있다. 광학 검출법은 포토 다이오드 등의 광센서를 사용하여 형광 시료로 라벨링(labeling)된 DNA나 RNA의 방출 형광을 검출하는 방법으로 비교적 간단한 시스템 구조를 가진다. 따라서, 형광 검출법

이 적용된 LOC는 집적화에 유리한 장점을 가지게 된다. 형광 검출법이 적용된 LOC는 그림 1과 같이 크게 광원, 여기/방출 광학 필터, 마이크로 채널, 광센서의 4개의 주요한 부분으로 구성된다. 본 논문의 LOC는 RNA칩으로써 항원(antigen)인 단백질과 라벨링을 위해 항원에 결합하는 형광 시료인 로다민(rhodamine) 사이의 항원-항체결합을 이용한다. 특정 항원과 결합하는 항체(antibody)인 로다민에 적합한 여기 파장대의 광 에너지를 조사한 후, 여기된 로다민으로부터 방출되는 형광광을 광센서를 이용하여 전기적 신호로 검출함으로써 생화학적 반응을 검사하게 된다. LOC에서의 검사는 극소량의 시약을 사용하여 고속의 검사가 가능하다는 장점을 가진다. 그러나 기존의 LOC는 저농도의 검출을 위해 높은 광량과 큰 크기의 레이저 광원을 사용하므로 시스템의 집적화에는 한계가 있었다.

1. 한국과학기술연구원 마이크로시스템 연구센터

(서울시 성북구 하월곡동 39-1)

2. 고려대학교 전기공학과

a. Corresponding Author : ju_hwan77@kist.re.kr

접수일자 : 2003. 9. 27

1차 심사 : 2003. 12. 18

심사완료 : 2004. 1. 6

서, 형광 검출 위치 이외는 잡음 발생의 원인이 될 수 있으므로, 광센서는 검출 위치에 맞게 초소형화 되어야한다.

위와 같은 사항을 고려하여 LOC의 광센서로서 마이크로 채널과 형광 검출 면적에 맞는 포토 다이오드를 설계하였다. 첫째, 고감도를 구현하기 위해 PIN 구조로 설계하였으며[2], 공핍영역이 측면형으로 형성되게 하였다. 이는 공핍영역이 방출되는 형광과 수직을 이루어 보다 많은 광량을 받을 수 있도록 하기 위함이다. 둘째로, PIN 포토 다이오드는 일반적인 직사각형의 형태와 n+ finger와 p+ finger가 교차하는 finger형태로 설계하였다. 직사각형의 형태는 n+층과 p+층의 두 직사각형 사이에서만 공핍영역이 형성되는 반면에, finger형은 교차하는 finger사이의 모든 영역에서 공핍영역이 형성되는 효과를 얻을 수 있다. 설계 이후, 시뮬레이션 과정을 거쳐 n+층과 p+층 사이의 거리를 15 μm 로 설계함으로써 바이어스 인가시에 도핑영역 사이가 모두 공핍되도록 하였다. 표 1은 사용된 기판과 포토 다이오드 제작을 위한 이온 주입 조건을 나타낸다.

표 1. 포토 다이오드 공정 조건.

Table 1. Process parameters for PIN photodiode.

Substrate	n-type, (100), Arsenic, 4000 $\Omega \cdot \text{cm}$
n+ region implant	Arsenic, 80keV, 3 $\times 10^{15}/\text{cm}^2$
p+ region implant	BF2, 30keV, 5 $\times 10^{15}/\text{cm}^2$
Oxidation	0.3 μm , 1000 $^{\circ}\text{C}$, 1.5hours

이온 주입 공정 후, 950 $^{\circ}\text{C}$ 의 질소 분위기에서 약 30분간 열처리하여 드라이브-인 공정을 하였다. 그림 2는 두 형태로 설계된 PIN 포토 다이오드의 평면도를 보여주고 있다.

이미, 여러 그룹에 의해 생화학 반응을 검출하기 위한 광센서와 LOC의 제작이 이루어졌으나[2,3] 실제적 사용을 위해서는 기존보다 저농도에서의 검출이 요구되고 있다. 따라서 최근의 연구는 보다 고감도의 광센서 제작과 LOC 집적화 구조의 최적화가 중요시되고 있다. 본 연구에서는 광학 검출법을 이용한 동시 다중 검사가 가능한 RNA칩의 제작을 목적으로 분자 단위의 생화학적 반응 검출과 LOC의 집적화를 위해 매우 낮은 암전류(dark current)와 기존보다 고감도를 갖는 포토 다이오드를 개발, 제작하였다. 또한, 제작된 포토 다이오드와 로다민(rhodamine) 형광 시료를 사용하여 실제로 형광 검출 실험을 실시하였으며, 검출 시스템 감도의 최적화를 위해 포토 다이오드의 크기, 광량, 로다민의 농도에 따른 형광 검출의 감도를 살펴보았다. 또한, 광학필터가 증착된 광센서와 PDMS 마이크로 채널로 구성된 집적화된 LOC를 구현하여 로다민의 형광을 검출하였다. 마지막으로, LED를 광원으로 사용하여 광원을 포함하는 집적화된 LOC의 구현 가능성을 실험하였다.

2. 본 론

2.1 광센서의 제작 및 특성

RNA의 형광 방출에 의한 검출 전류는 수백 pA에서 수십 nA에 불과한 미세한 신호이므로, 저농도의 검출과 시스템의 신뢰성, 정확성을 위해 수십 pA레벨의 매우 낮은 누설전류와 높은 광학적 감도의 포토 다이오드가 필요하게 된다. 또한, 마이크로 채널상에는 광센서에 의해 형광이 검출되는 검출면적이 매우 작은 면적으로 제한되어 있다. 따라

링하였으며[2], 10 mW출력의 레이저를 광원으로 사용하여 실험하였다. 광센서로는 제작된 70 μm \times 130 μm 크기의 finger PIN 다이오드를 사용하였으며, 로다민을 70 μm 의 폭과 12 μm 의 깊이를 갖는 마이크로 채널에 주입하여 형광을 측정하였다.

형광 측정에 있어서 광센서 크기, 광원의 출력, 로다민 농도에 따른 광센서 전류의 변화 경향을 살펴보고, 이를 통하여 형광 검출의 최적화를 위한 결과를 얻고자 하였다.

먼저, 광센서의 크기 변화에 따른 검출 전류의 경향을 실험하였다. 광센서 크기는 방출되는 로다민 형광의 흡수광과 상관관계가 있을 것으로 생각하여, 광센서의 크기에 따른 형광 검출 실험을 진행하였다. 실험에는 70 μm \times 130 μm 와 70 μm \times 480 μm 의 두 포토 다이오드와 25 ng/ μl 농도의 로다민, 100 mW 출력의 레이저가 사용되었다. 측정 결과, 표 2와 같이 다이오드의 면적은 3.77배 증가하였으나 검출 전류는 2.2배 증가하였다.

표 2. 내부저항에 대한 경향.

Table 2. Tendency for internal resistance.

	Area [μm^2]	Resistance	Current [A]
1 st	70 μm \times 130 μm	about 2k Ω	8.148E-9
2 nd	70 μm \times 480 μm	about 1k Ω	17.904E-9
Ratio(2 nd /1 st)	3.77	0.5	2.2

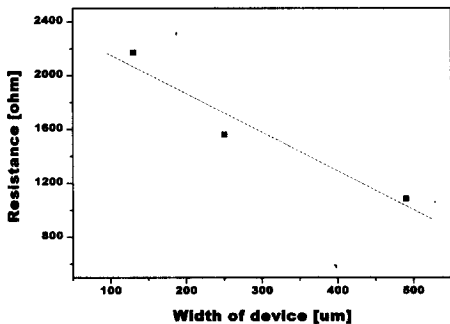


그림 6. 포토 다이오드의 내부 저항.

Fig. 6. Internal resistance of photodiode.

그러나 이 2.2배의 검출 전류 증가는 그림 6과 같이 광센서의 내부 저항이 크기의 증가에 따라 약 1/2배로 감소한 것에 기인되었으며, 따라서 제한된 검출 위치에서는 광센서의 크기 증가에 따른 형광 흡수량의 증가 효과는 얻을 수 없었다.

레이저 광원의 출력을 10 mW와 100 mW의 두 가지로 변화시키며, 150 ng/ μl 의 농도로 실험을 했을 때, 70 μm \times 130 μm 크기의 광센서 검출 전류는 광원의 10배의 출력 증가에 따라 약 8.77배로 선형적으로 증가하였다. 따라서 LOC의 저농도 반응 검출에서는 검출 한계(Limit of detection)가 광원의 출력에 크게 의존하며, 광원의 출력 증가를 통해 검출 한계를 극복할 수 있다. 표 3은 광원의 출력 변화에 따른 검출 전류의 경향을 보이고 있다.

표 3. 광원의 출력에 대한 경향.

Table 3. Tendency for light intensity.

	Intensity[mW]	Current[A]
1 st	10	17.195E-9
2 nd	100	150.78E-9
Ratio(2 nd /1 st)	10	8.77

그림 7은 로다민 농도에 따른 검출 전류의 경향을 보여주고 있다. 농도에 대한 실험은 70 μm \times 130 μm 의 광센서를 사용하였으며, 레이저의 출력을 10 mW와 100 mW로 변화시켜 검출 전류의 변화를 실험하였다.

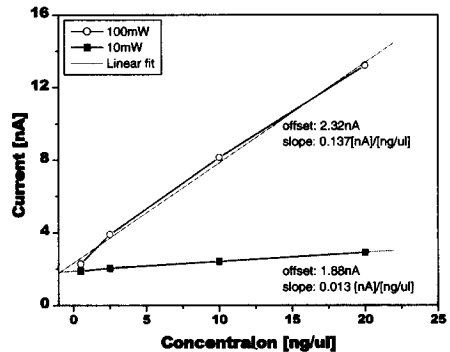


그림 7. 농도에 대한 경향.

Fig. 7. Tendency for concentration.

측정 결과, 광센서의 검출 전류는 농도에 따라 매우 선형적으로 변화했으며, 광원의 출력 증가에 따라 검출 전류의 출력과 offset이 증가되는 경향을 보였다. 10 mW 출력시, 측정된 최저 농도는 500 pg/ μl 이며, 레이저 광원에 의한 offset은 1.88 nA, 농도에 대한 의존 기울기는 0.013 nA/ng/ μl 이다. 또한, 100 mW 출력의 경우엔 offset이 2.32

nA, 기울기가 0.137 nA/ng/μl로 광원 출력의 10배 증가에 따라 농도에 대한 의존 기울기도 약 10배 증가된 것을 확인할 수 있었다.

2.2.2 집적화된 LOC에서의 형광 검출

집적화된 LOC를 제작하기 위해 방출 형광 이외의 잡음 광원을 필터링하기 위한 광학 필터를 광센서 제작된 기판에 증착하였다[2]. 필터는 SiO₂ 층과 TiO₂층을 16쌍, 32층으로 설계된 증착되었으며, 532 nm에서 95.5 %의 반사율(reflection)과 로다민의 형광 방출 파장대인 580 nm에서 95.0 %의 투과율(transmission)을 나타내었다.

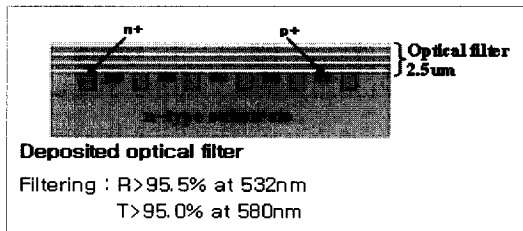


그림 8. 광학 필터가 증착된 광센서.

Fig. 8. Optical filter deposited photo-sensor.

필터가 증착된 70 μm × 1890 μm 크기의 finger PIN 다이오드를 측정된 결과, 그림 9와 같이 -1 V의 역바이어스 상태에서 암전류가 34.81 nA, 감도(I_{light}/I_{dark})는 69.135를 보였고, 암전류와 광전류의 차이는 대략 10³정도의 차이를 나타내었다.

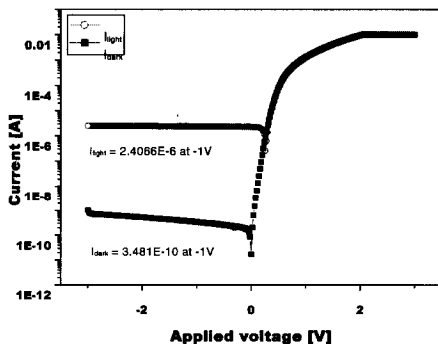


그림 9. 광학 필터가 증착된 광센서의 I-V 특성.

Fig. 9. I-V characteristics of optical filter deposited photo-sensor.

PDMS(PolyDiMethylSiloxane)를 사용하여 폭이 50 μm, 깊이가 12 μm인 마이크로 채널을 제작하여 광학 필터가 증착된 광센서와 접합하였다. 그림 10(a)는 접합된 모습을 보여주고 있다. 집적화된 LOC에서의 형광 측정은 레이저 광원, 대역통과필터를 사용하여 진공 압력에 의해서 유동하는 로다민을 측정하였다.

레이저의 출력은 10 mW였으며, -1 V의 역바이어스 상태에서 70 μm × 1890 μm 크기의 finger PIN 다이오드로 측정하였다. 실험은 로다민의 농도에 따른 형광 측정을 하였으며, 그림 11은 집적화된 LOC에서의 형광 측정 결과를 보여주고 있다. 측정 결과, 집적화된 LOC에서는 50 pg/μl의 저농도까지 형광 검출이 가능하였으며, 마찬가지로 농도에 대해서 매우 선형적인 경향을 보였다. 광학 필터가 증착된 광센서와 유동 상태의 로다민 형광 측정으로 offset 전류가 102 nA로 증가하였으나 농도에 대한 의존성을 나타내는 기울기는 0.366 nA로 증가되어 생물학 반응의 검출에는 더 높은 감도를 나타내었다.

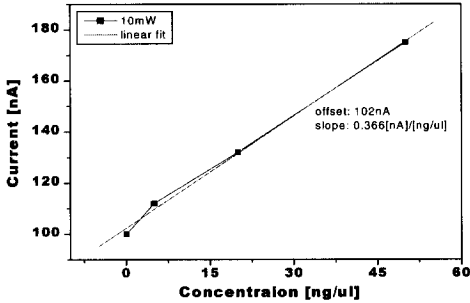


그림 11. 집적화된 LOC에서의 형광 측정.
Fig. 11. Fluorescence detection in integrated LOC.

2.3 LED 광원을 이용한 형광 검출

위의 집적화된 LOC에 LED를 광원으로 적용하여 통합적으로 집적화된 LOC를 제작하고자[3], LED를 광원으로 하여 로다민의 형광 검출을 실험하였다. LED는 530 nm에서 5000 mcd의 출력을 갖는 TOYODA사의 E1L53-3GOA*-02모델을 사용하였다. 광센서는 광학필터가 장착된 같은 크기의 finger PIN 다이오드를 사용하였으며, 대역 통과필터로 선택성이 떨어지는 LED의 파장을 필터링하였다. 50 ng/ul 농도의 로다민을 유리 기판 마이크로 채널에 주입한 후 측정하였다.

본 실험은 LED와 마이크로 채널 사이의 거리가 4 cm 떨어진 상태에서 측정하였고, 측정 결과, 그림 12와 같이 offset이 43.877 nA으로 검출 전류와의 차이는 약 3 nA를 보였다.

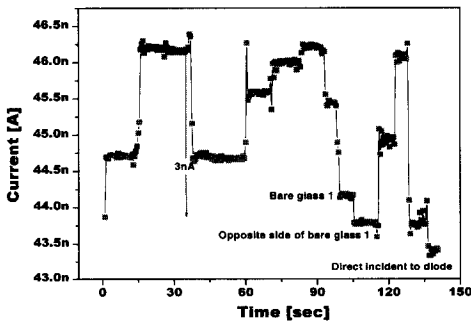


그림 12. LED 광원을 이용한 형광 검출.
Fig. 12. Fluorescence detection using LED.

본 실험을 통해 LED가 광원으로 적용된 LOC의

구현 가능성을 확인하였으며, LED의 적용은 마이크로 채널상의 검출 위치와 광원의 입사 위치에 대한 정렬이 불필요하게 하였다.

3. 결 론

광센서는 finger PIN 다이오드로 제작되어 -1 V의 역바이어스 상태에서 압전류와 광전류의 차이가 약 $10^3 \sim 10^4$ 정도를 보였으며, $I_{light}/I_{dark} = 8720$ 의 감도를 나타내었다. 또한 finger 형으로 제작된 광센서의 내부 저항은 직사각형에 비해 31.2 % 감소되었다. 제작된 광센서와 레이저를 이용한 형광 검출 실험에서는 광센서 크기, 광원 출력, 로다민 농도에 대한 검출 전류의 경향을 실험하였다. 실험 결과에 따르면, 검출 전류는 광센서의 내부저항에 반비례하였으며, 광원 출력, 로다민 농도에는 선형적으로 비례하였다. 10 mW 출력의 레이저를 사용한 형광 검출에 있어서는 실제의 검출 한계는 $500 \text{ pg}/\mu\text{l}$ 이었다. PDMS 마이크로 채널과 광학 필터가 장착된 광센서로 구성된 집적화된 LOC에서의 형광 검출은 유동 상태의 로다민 형광을 검출하였으며, $0.366 \text{ nA}/\text{ng}/\mu\text{l}$ 의 기울기로 높은 감도를 나타내었다. 또한 집적화된 LOC에서는 $50 \text{ pg}/\mu\text{l}$ 의 농도까지 검출할 수 있었다. 마지막으로, LED를 광원으로 사용한 형광 측정 실험에서는 $50 \text{ ng}/\mu\text{l}$ 의 로다민을 주입하여, 43.8 nA의 offset과 약 3 nA의 차이를 갖는 검출 전류를 확인함으로써 광원을 포함하는 집적화된 LOC의 구현 가능성을 확인하였다.

참고 문헌

- [1] 강신원, "테마기획/광센서 (3) : 집적광학 센서의 개발 및 연구동향", 한국전기전자재료학회지, 12권, 12호, p. 17, 1999.
- [2] E. Thrush, O. Levi, K. Wang, J. S. Harris, and S. J. Smith, "Integrated semiconductor fluorescent detection for biochip and biomedical applications", SPIE, Vol. 4626, p. 289, 2002.
- [3] J. R. Webster, M. A. Burns, D. T. Burke, and C. H. Mastrangelo, "Monolithic Capillary Electrophoresis Device with Integrated Fluorescence Detector", Analytical Chemistry, Vol. 73, p. 1622, 2001.