

PDMS chip상에서 Microfluidic gel valve의 제작 및 DNA분리

서두원¹, 윤원중¹, 김종성^{1,2,*}
¹경원대학교 화학생명공학과,
²경원대학교 나노입자기술혁신센터
 (jskim@kyungwon.ac.kr*)

Fabrication of microfluidic gel valves and Separation of DNA in a PDMS chip

Doo Won Seo, Won Jung Yoon, Jong Sung Kim*
 Department of Chemical and Bio Engineering, Kyungwon University
 (jskim@kyungwon.ac.kr*)

서론

1990년대에 들어 여러 연구 그룹들이 Lab-on-a-chip을 실현하기 위해서는 GC와 같은 기체상 분리방법보다 액체상의 분리방법이 유리하다는데 인식을 같이 하였고, 이러한 생각을 바탕으로 Manz와 Harrison등이 모세관 전기이동의 원리를 이용하여 미세 모세관 전기이동 장치(Micro Capillary Electrophoresis)를 개발 하였다[1][2]. 이후 Bio-MEMS에 관한 연구가 활발히 진행되었고, PDMS, PDMA, PC등의 폴리머가 실리콘 등의 다른 소재보다 제작이 용이하고, 비용이 저렴하며, 광 투과성이 좋아 검출이 용이할 뿐만 아니라 생체 적합한 성질을 지니고 있어 플라스틱 마이크로머시닝에 대한 관심과 개발이 고조되었다. 이런 폴리머 소재를 이용하여 가공하는 기법에는 REM(Replica Molding) μ TM(Micro Transfer Molding), MIMIC(Micro Molding In Capillaries), Hot embossing, Casting 등의 방식이 있다[3].

본 연구에서는 MEMS 공정을 통해 DNA의 전기영동이 가능한 PDMS chip을 제작하였다. 제작된 PDMS chip을 이용해 DNA를 분리 검출하였으며, 미세채널에서 DNA혼합물의 흐름을 제어하기 위한 gel valve를 제작하였다.

실험

1. 포토마스크 제작

상용프로그램을 이용 하여 채널의 넓이는 $50\mu\text{m}$, 길이는 6cm의 MCE 패턴을 설계하였다. 채널의 깊이는 감광제의 두께로 조절 하였는데, 약 $50\mu\text{m}$ 정도가 되도록 조절하였다. 설계된 패턴을 투명 플라스틱 필름에 전사한 후, 이를 광학 유리에 부착하여 포토마스크로 사용하였다.

2. 몰드 제작

실리콘 웨이퍼 상에 상기 마스크를 이용하여 감광제(SU-8) 몰드를 제작하였다[4]. Buffered Oxide Etch (BOE) 용액으로 실리콘 웨이퍼를 세척한 후 고점도용 피펫을 사용하여 4mL의 SU-8을 웨이퍼 상에 도포한 뒤 회전속도를 2단계로 나누어 스핀코팅을 실시하여 uniform한 SU-8 도막을 얻을 수 있었다. 소프트 베이크는 핫플레이트에서 65°C 에서 5분간 유지한 뒤 온도를 천천히 올려가며 95°C 에서 20분간 유지하였다. SU-8은 에폭시 계열의 네거티브 감광막으로서 열 변화에 의한 스트레스가 심한 물질이다. 따라서 급작스러운 열적 변화를 줄이기 위해 핫플레이트의 전원을 끄고 감광막이 도포된 기판과 함께 상온까지 서서히 냉각시켰다. 제작된 마스크와 얼라이너(EV group)를 사용하여 노광공정을 실시하였다. 이 후 65°C 에서 2분간 유지 후 천천히 온도를 높여 95°C 에서 5분간 유지시켜 Post Exposure Bake (PEB)를 실시한 후 상온으로 서서히 냉각시켰다. Propylene

glycol methyl ether acetate로 5분간 감광막을 현상한 후 IPA와 DI water로 세척 후 150°C에서 약 20분간 hard bake를 실시하여 SU-8몰드를 제작하였다.

3. PDMS칩 제작

PDMS oligomer 액상 혼합물을 진공 챔버에서 degas 시킨 후 이를 SU-8 몰드 위에 도포하여 스핀코팅하고 핫플레이트에서 70°C에서 45분간 열경화하여 고형화시키고 이를 몰드로부터 탈착시켜 1mm두께의 상판을 제작하였다. PDMS 하판도 같은 방법으로 제작하였고, 채널이 형성된 PDMS면을 플라즈마로 표면 처리 한 후 접합시켰다[5]. 이때 working pressure는 200~600atm이었고 6.5W의 power와 0.2sccm의 산소를 흘려주었다. 접합 후 상판의 well 부위에 구멍을 뚫고 커팅하여 PDMS chip을 완성시켰다. Fig. 1은 완성된 PDMS chip을 보여준다.

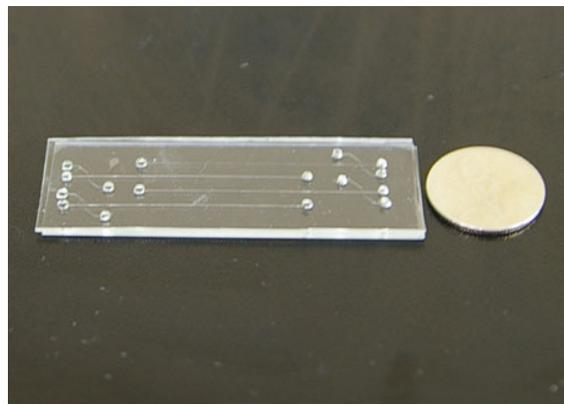


Fig. 1 Fabrication of PDMS chip.

4. DNA 분리

DNA분리를 위한 sieving matrix로 hydroxyethyl cellulose(HEC), hydroxypropyl cellulose(HPC)를 사용하였으며, 샘플 DNA는 Promega사의 Control Insert DNA를 사용하였다. 미세채널에서 EtBr-intercalating DNA가 Detection area를 지나갈 때 형광염료의 빛을 형광현미경을 통해 검출하였다. Fig. 2에 PDMS칩의 주입구와 배출구 Detection area를 나타내었다.

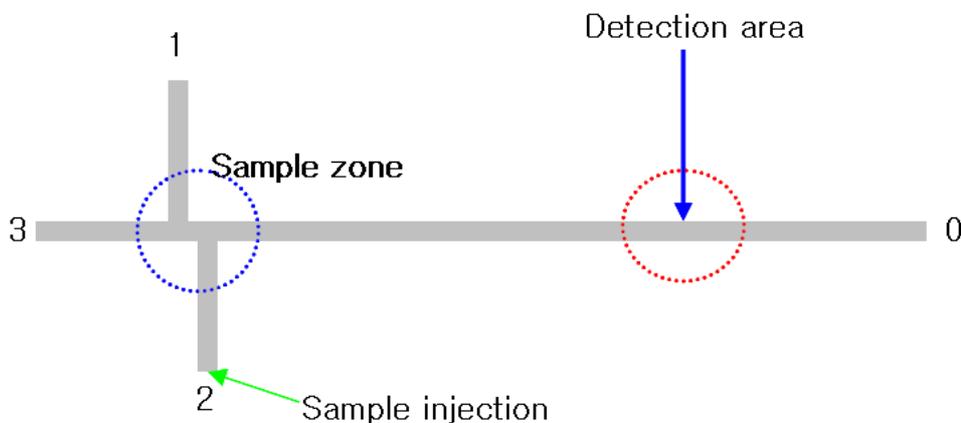


Fig. 2 Schematic drawing of micro-channel on PDMS chip

Fig. 3에 DNA Detecting apparatus를 나타내었다. Fluorescence Microscope는 Olympus사의 IX-71을 사용했으며, Olympus사의 Emission 파장이 520nm인 필터를 사용했다. 광원은 파장이 470nm인 UV를 사용하였다.

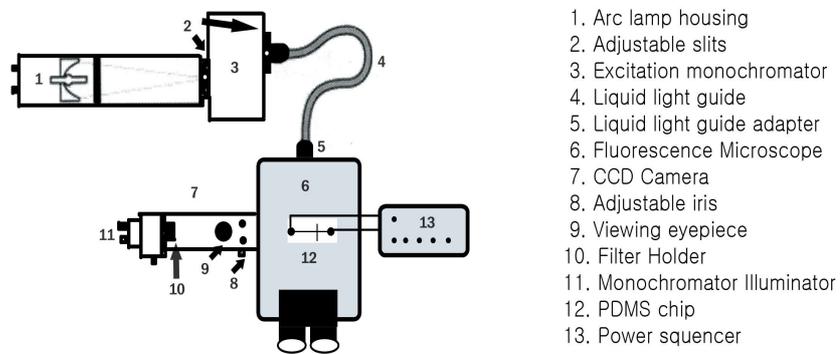


Fig. 3 Schematic diagram of the DNA detecting apparatus.

결과 및 고찰

Microfluidic gel valve 제작을 위해 375mM Tris-HCl, 8% acrylamide/bis solution, HCPK를 구성된 용액을 PDMS 칩의 모든 채널과 웰에 채운후, gel valve가 패터닝된 포토마스크를 PDMS칩 위에 올려놓은 후 UV 램프를 이용해 노광시켜 광중합을 개시하였다[6]. 포토마스크에 의해 가려져 노광되지 않은 부분은 중합이 일어나지 않았으며, 중합되지 않은 용액은 channel에서 제거하였다.

Fig. 4 (a)는 패터닝된 SU-8 몰드의 단면이다. 이 이미지에서 확인할 수 있듯이 SU-8은 수직성이 좋은 네가티브 감광막 중의 하나이다. Fig.4 (b)에서 보듯이 PDMS chip 역시 수직성이 좋은 특성을 나타낸다.

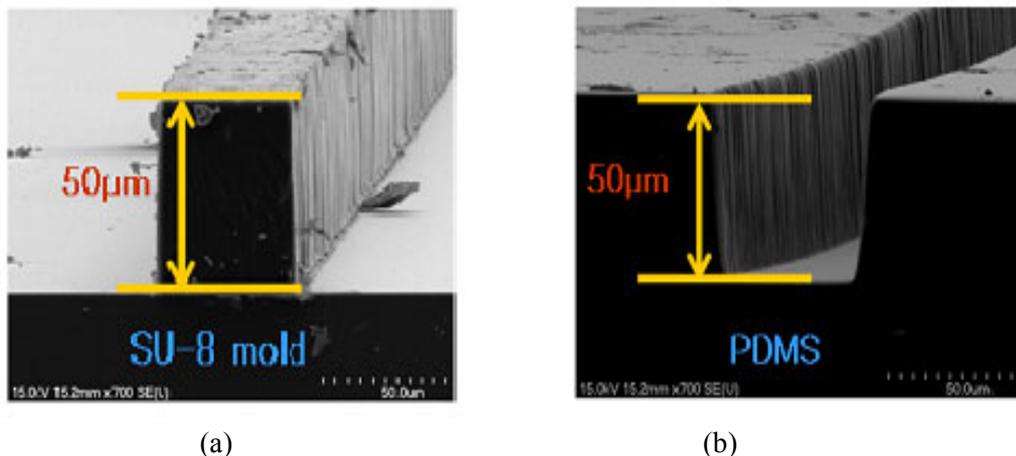


Fig. 4 SEM image for mold and PDMS.

모든 채널에 1X TBE buffer에 1.5%(w/v) HPC, 0.4%(w/v) HEC, 4 μ M EtBr로 구성된 sieving matrix를 채운 후, 2번 웰에 DNA 샘플을 주입하였다. 2번 웰과 0번 웰에 각각

-100V, 900V의 전압을 걸어주었다. Fig.5 에서보면 분석에 소요된 시간은 600s 이며, 500s 부근에서 intensity가 3750정도의 peak가 나타났는데, 이를 통해 Control Insert DNA가 검출되었음을 확인할 수 있다.

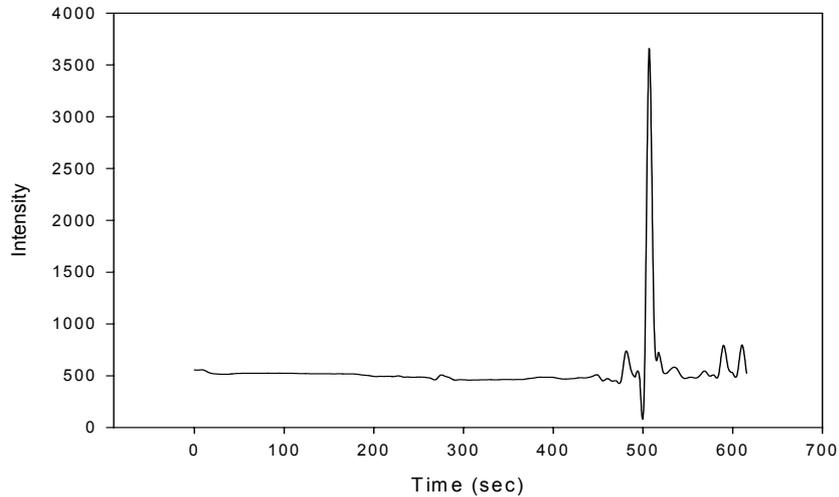


Fig. 5 Fluorescence spectrum of DNA.

참고문헌

- [1] D.J.Harrison, A. Manz, Z. Fan, H. Lu and H.M. Widmer, Anal. Chem, 64, 1926(1992)
- [2] Kurt Seiler, D.J. Harrison and A. Manz, Anal. Chem, 65, 1481(1993)
- [3] Marc Madou., "Fundamentals of MICROFABRICATION", CRC Press
- [4] J, Zhang, K. L. Tan, H. Q. Gong., "Characterization of the Polymerization of SU-8 photoresist and its applications in micro-electro-mechanical system(MEMS)", Polymer Testing, 20, 693-701 (2001)
- [5] M. J. Owen and P. J. Smith., "Plasma treatment of polydimethylsiloxane, Polymer Surface Modification : Relevance to Adhesion", K. L. Mtiial(Ed), 3-15 (1995)
- [6] Chee G. Koh, Woei Tan, Ming-qi Zhao, Antonio J. Ricco and Z. Hugh Fan., "Integrating Polymerase Chain Reaction, Valving, and Electrophoresis in a Plastic Device for Bacterial Decion", Anal.Chem, 75, 4591-4598 (2003)

감사의 글

이 논문은 경원대학교 신소재응용연구센터 (GRRC)의 지원을 받아 수행되었다.