

# 회절격자가 집적된 일회용 다중채널 SPR 생체분자 검출 칩

論 文

58-1-23

## A Disposable Grating-Integrated Multi-channel SPR Sensor Chip for Detection of Biomolecule

陳 令 鉉\* · 曹 永 昊†  
(Young-Hyun Jin · Young-Ho Cho)

**Abstract** - This paper presents a grating-integrated SPR (Surface Plasmon Resonance) sensor chip for simple and inexpensive biomolecule detection. The grating-integrated SPR sensor chip has two sensing channels having a nano grating for SPR coupling. An external mirror is used for multi-channel SPR sensing. The present sensor chip replaces bulky and expensive optical components, such as fiber-optic switches or special shaped prisms, resulting in a simple and inexpensive wavelength modulated multi-channel SPR sensing system. We fabricate a SPR sensor chip integrated with 835 nm-pitch gratings by a micromolding technique to reduce the fabrication cost. In the experimental characterization, the refractive index sensitivity of each sensing channel is measured as  $321.8 \pm 8.1 \text{ nm/RI}$  and  $514.3 \pm 8.1 \text{ nm/RI}$ , respectively.  $0.5 \mu\text{M}$  of the target biomolecule (streptavidin) was detected by a  $1.13 \pm 0.16 \text{ nm}$  shift of the SPR dip in the 10%-biotinylated sample channel, while the SPR dip in the reference channel for environmental perturbation monitoring remained at the same position. From the experimental results, multi-channel biomolecule detection capability of the present grating-integrated SPR sensor chip has been verified. On the basis of the preliminary experiments, we successfully measured the binding reaction rate for the  $2 \text{ nM} \sim 200 \text{ nM}$  monoclonal-antibiotin, thus verifying biomolecule concentration detectability of the present SPR sensor chip. The binding reaction rates measured from the present SPR sensor chip agreed well with those from a commercialized SPR sensor.

**Key Words** : SPR sensor chip, Grating, biomolecule detection, Detection of biomolecule concentration

### 1. 서 론

표면 플라즈몬 공명 현상 [1-4] (SPR, Surface Plasmon Resonance)은 단백질 등의 생체분자를 고속, 고감도로 검출할 수 있는 유용한 방법이다. SPR이란, TM 편광 된 빛이 프리즘 혹은 회절격자에 입사될 때 금속과 유전체 사이에 존재하는 표면 플라즈몬 파 (SPW, Surface Plasmon Wave)와 공명을 일으키는 현상으로, 입사된 빛은 금속 표면에서 반사되지 못하고 손실이 발생하게 된다. 입사된 빛과 표면 플라즈몬이 공명을 일으키기 위한 조건은 금속층과 유전체의 굴절률 뿐 아니라 입사된 빛의 파장과 입사각의 함수이다. SPR을 이용한 생체분자 센서에서는 금속층에 생체분자가 결합하게 됨에 따라 센서 칩 표면의 굴절률이 바뀌게 되고, SPR이 발생하는 빛의 파장 혹은 입사각의 변화를 측정하여 생체분자를 검출하게 된다. SPR 생체분자 센서는 형광물질을 이용한 광학적 생체분자 센서와는 달리, 표지과정 없이 직접 생체분자를 검출할 수 있어 Lab-on-a-Chip 혹은 Point-of-Care service 적용에 큰 장점을 가진다. Lab-on-a-Chip 혹은

Point-of-Care service와 같이 외부 교란 인자가 많은 환경에서 SPR 방법으로 생체분자를 검출할 경우, 생체분자 반응에 의한 신호와 온도 등 주위 환경 교란에 의한 신호를 구분하기 위한 reference 신호를 측정하여야 하고, 또한 검출하고자 하는 샘플의 수가 늘어나게 됨에 따라 다중채널 SPR 센서가 필요하다.

SPR 현상을 측정하는 두 가지 방법 중, 입사각 분석 방법은 단파장 빛을 프리즘 혹은 회절격자에 다양한 각도로 입사시키면서 그 반사율을 측정하여, 반사율이 최소가 되는 각도를 측정한다. 따라서, 입사각 분석 방법은 입사각을 조절하기 위해 정교한 기계장치 혹은 광학 기구를 필요로 하고, 이로 인해 측정 시스템이 크고 비싼 단점이 있다. 이와 반대로 파장 분석 방법은 고정된 입사각으로 프리즘 혹은 회절격자에 다파장 빛을 입사시킨 뒤, 반사된 빛의 스펙트럼을 분석하여 반사율이 최소가 되는 파장을 측정한다. 따라서 파장 분석 방법은 입사각 분석 방법에 비해 기계장치 등이 필요치 않아 간소한 측정 시스템을 구성할 수 있다는 장점이 있다. 하지만, 파장 분석 방법은 측정 채널이 늘어남에 따라 필요한 분광기 (spectrometer)의 수 또한 늘어나게 되어 다중채널 감지가 어려운 단점이 있다.

파장 분석형 다중채널 SPR 검출을 위해, 기존의 연구 [5]에서는 다수의 측정 채널에서 출력되는 광 신호를 광섬유 스위치 (fiber-optic switch)를 사용해 한 개의 분광기에 시간차를 두고 입사시키는 방법을 제안하였다. 한편, sequential spectral encoding [6] 방법에서는 입사된 빛이 SPR 센서 칩

\* 非 會 員 : 한국과학기술원 기계공학과, 디지털나노구조동연구단

† 交 訊 者, 正 會 員 : 한국과학기술원 바이오및뇌공학과 및 기계공학과, 디지털나노구조동연구단

E-mail : nanosys@kaist.ac.kr

接受日字 : 2008年 7月 15日

最終完了 : 2008年 10月 6日

상의 두 측정 채널에서 각기 다른 입사각을 가지고 입사되도록 설계된 특수 형상의 프리즘을 사용하여, 최종 반사되는 빛의 스펙트럼으로부터 각 채널의 SPR 정보를 분석한다. 두 방법은 한 개의 분광기를 이용해 파장 분석형 다중채널 측정이 가능한 장점을 지니고 있으나, 광섬유 스위치 또는 특수 형상 프리즘으로 인해 측정 시스템이 크고 복잡해지는 단점이 있다.

본 논문에서는 sequential spectral encoding 방법을 변형한 파장 분석형 다중채널 SPR 검출을 위해 회절격자가 집적된 SPR 센서 칩을 제안한다 (Fig. 1). 제안한 SPR 센서 칩은 기존의 연구와 달리 광섬유 스위치나 특수 형상 프리즘 없이 외부 거울만을 사용하기 때문에 간단하고 저가의 파장 분석형 다중채널 SPR 검출 시스템 구성이 가능하다. 또한, 나노미터 피치의 회절격자를 마이크로 몰딩 공정을 통해 제작함으로써, 센서 칩의 제작 단가를 낮추어 일회용 SPR 센서 칩을 구성할 수 있다. 본 논문에서는 제작된 SPR 센서 칩을 이용해 다중채널 SPR 검출 시스템을 구성하여, 굴절률에 대한 감도 (sensitivity) 를 측정하였으며, 단백질 검출에 적용하였다.

## 2. 다중채널 SPR 센서 칩의 원리 및 설계

본 논문에서 제안하는 다중채널 SPR 센서 칩의 원리를 Fig. 1에 나타내었다. 첫 번째 회절격자에  $\theta_1$ 의 각으로 입사된 빛의 반사 스펙트럼은 SPR 현상이 발생하는 특정 파장에서 급격한 손실 (SPR dip) 을 보이게 된다 (SPR curve 1, Fig. 1a). 첫 번째 회절격자에서 반사된 빛을 다시 거울을 이용하여 두 번째 회절격자에  $\theta_1$ 과 다른  $\theta_2$ 의 각으로 입사시키게 되면, SPR 현상이 첫 번째 회절격자와는 다른 파장에서 발생하게 되어, SPR curve 1과는 다른 SPR curve 2 (Fig. 1b) 를 얻을 수 있다. 따라서, 최종 반사되는 빛의 스펙트럼은 SPR curve 1과 SPR curve 2가 합쳐진 SPR curve total (Fig. 1c)의 형태를 나타내고, 각 SPR dip의 이동을 관찰함으로써 한 개의 분광기를 사용하여 각 측정 채널의 SPR 정보를 동시에 측정할 수 있다.

입사면과 수직으로 격자의 방향이 정렬된 회절격자에서 SPR이 일어나기 위한 조건 [7] 은 다음의 식으로 나타낼 수 있다.

$$n_d \sin \theta + m \frac{\lambda}{\Lambda} = \text{Re} \left( \sqrt{\frac{\epsilon_m n_d^2}{\epsilon_m + n_d^2}} \right) \quad (\text{Eq. 1})$$

$n_d$ 는 금속표면에 결합된 생체분자에 의한 유전체 막의 굴절률을,  $\theta$ 와  $\lambda$ 는 각각 입사된 빛의 입사각과 파장을 나타내고,  $\Lambda$ 는 회절격자의 피치,  $m$ 은 회절차수를 나타내며,  $\epsilon_m$ 은 금속의 복소유전상수값을 나타낸다. Buffer 용액속의 생체분자 검출을 위해 유전체 막의 굴절률을 1.33 ~ 1.40으로 가정하고, 사용할 입사각을  $35^\circ \sim 45^\circ$ , 파장을 600nm ~ 750nm로 가정하였다. 금속층으로 사용할 금의 복소유전상수값은 문헌 [8] 을 참고하였다. 가정한 조건과 Eq. 1로부터 회절격자의 피치를 833nm (1200 groove/mm) 로 설계하

였다.

회절격자가 집적된 SPR 센서 칩은 Fig. 2와 같이 설계되었다. 먼저, 첫 번째 회절격자에서 회절된 빛이 반사되는 것을 방지할 수 있도록 거울의 위치를 결정하고, 이로부터 측정 채널간의 거리를 결정하였다. 회절격자에 입사된 빛의 입사각 ( $\theta_{ic}$ ) 과 회절되는 빛의 회절각 ( $\theta_d$ ) 사이에는 다음과 같은 관계가 있다.

$$m \frac{\lambda}{\Lambda} = \sin \theta_{ic} + \sin \theta_d \quad (\text{Eq. 2})$$

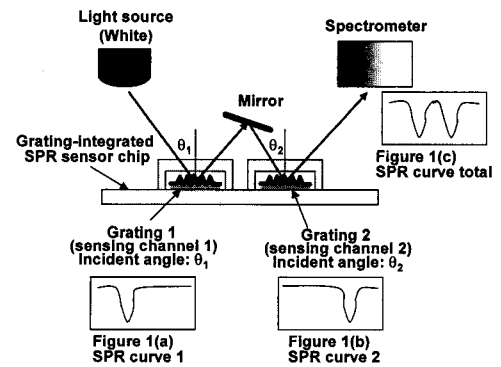


Fig. 1 Schematic view of the frequency-modulated multi-channel SPR sensing system using a grating-integrated SPR sensor chip and an external mirror

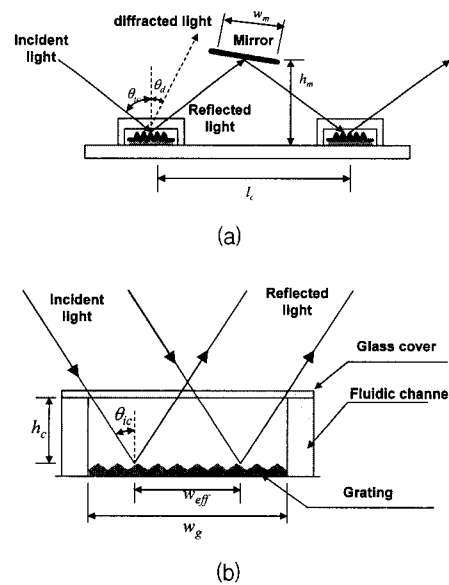


Fig. 2 Geometrical model of the grating-integrated SPR sensor chip: (a) for determination of the sensing channel distance considering diffracted light; (b) for determination of the grating width considering fluidic channel.

**Table 1** Designed dimensions of the grating-integrated SPR sensor chip (Fig. 2)

Sensing channel distance, $l_c$	30 mm
Fluidic channel height, $h_c$	1.5 mm
Grating width, $w_g$	9 mm

여기에서  $m$ 은 회절차수를,  $\lambda$ 와  $\lambda'$ 는 각각 입사된 빛의 파장과 회절격자의 피치를 나타낸다. 첫 번째 차수로 회절된 빛 ( $m=1$ )의 반사를 막기 위한 거울의 높이 ( $h_m$ )은 다음의 식을 만족하여야 한다.

$$h_m (\tan \theta_{ic} - \tan \theta d) > \frac{w_m}{2} \quad (\text{Eq. 3})$$

$w_m$ 은 거울의 너비를 나타낸다. 입사각 ( $\theta_{ic}$ )을  $35^\circ$ , 거울의 폭은 15mm로 가정하여, 측정 채널간의 거리,  $l_c$ 를 30mm로 설계하였다.

Fig. 2b에서, 회절격자의 유효 반사영역은 유체 채널의 높이 ( $h_c$ )가 낮을수록, 회절격자의 폭 ( $w_g$ )이 넓을수록 커지게 된다. 유체 채널의 높이는 생체분자 주입을 위한 유체 접속포트의 크기를 고려하여 1.5mm로 설계하였다. 또한, 회절격자의 폭은 유체 채널을 채우기 위해 필요한 생체분자 샘플의 양을 200 $\mu$ l 이하로 제한하기 위하여 9mm로 설계하였다. Table 1에 SPR 센서 칩의 설계치수를 정리하였다

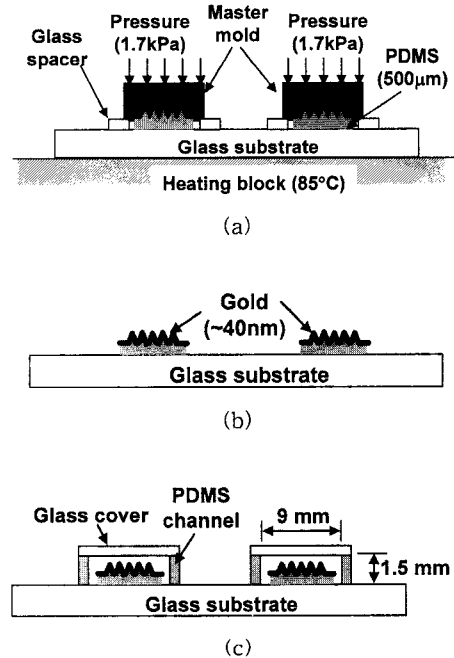
### 3. 다중채널 SPR 센서 칩 제조공정

K. Hosokawa 등은 기존 연구 [9]에서 10 $\mu$ m의 피치를 가지는 PDMS (polydimethylsiloxane) 회절격자가 마이크로 몰딩 공정을 이용해 제작된 바 있다. 실리콘 웨이퍼를 DRIE (deep reactive-ion etching) 방법을 사용하여 식각한 뒤, 이를 master로 사용하였다. 하지만, buffer 용액 안의 생체 분자 검출을 위해서는 나노미터 피치의 회절격자가 필요하다. 이를 위하여 본 논문에서는 상용화된 회절격자를 master로 사용하여 833nm 피치의 PDMS 회절격자를 마이크로 몰딩 공정을 통해 제작하였다.

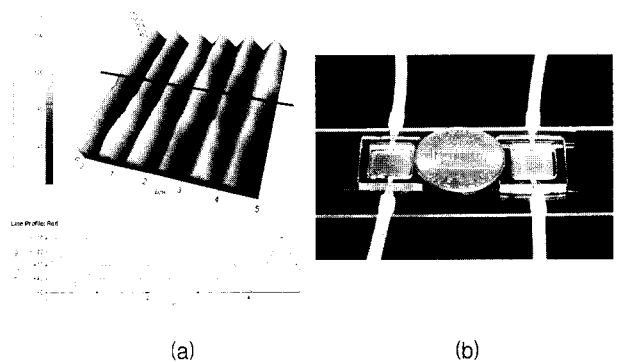
제안된 SPR 센서 칩은 Fig. 3과 같이 제작되었다. PDMS pre-polymer와 curing agent (Sylgard 184, Dow Corning, Midland, MI, USA)를 10:1의 비율로 혼합한 뒤, 진공상태에서 30분 간 공기방울을 제거하였다. 혼합된 PDMS를 유리 기판에 부은 뒤, master 회절격자에 1.7kPa의 압력을 가하며 회절격자 패턴을 전사함과 동시에 85 $^\circ$ C에서 두 시간 동안 PDMS를 경화시켰다 (Fig. 3a). 이 때, PDMS 회절격자의 두께는 유리 spacer를 이용하여 500 $\mu$ m로 조절하였다. 완성된 PDMS 회절격자 위에 SPR 현상 뿐 아니라, 생체분자 고정을 위해 사용될 40nm 두께의 금 박막을 증착하였다 (Fig. 3b). 마지막으로 Fig. 3c와 같이 생체분자 샘플 주입을 위한 PDMS로 제작된 유체 채널과 유리 덮개를 접합하여 소자를 완성하였다.

제작된 PDMS 회절격자의 표면 형상은 AFM (Atomic Force Microscope, XE-120, Park System, Korea)을 사용

하여 Fig. 4와 같이 측정하였다. 제작된 회절격자의 치수 측정을 위해 다섯 개의 회절격자에서 각각 5 $\mu$ m $\times$ 5 $\mu$ m 넓이의 다섯 지점을 측정하였다. Table 2에 제작된 회절격자의 측정 치수와 master 회절격자의 치수를 비교하였다. 그 결과, 다섯 개의 회절격자 사이에 측정된 피치는 835 $\pm$ 18nm로, 2.2%의 오차를 가지며 설계 치수와 일치하는 결과를 보였다. 제작된 회절격자가 집적된 SPR 센서 칩의 사진이 Fig. 4b에 나타나 있다.



**Fig. 3** Fabrication process of the grating-integrated SPR sensor chip: (a) micromolding of the PDMS grating using a commercialized grating as a master mold; (b) gold sputtering on the PDMS grating; (c) fluidic channel (flow cell) and glass cover bonding.



**Fig. 4** PDMS grating and grating-integrated SPR sensor chip: (a) AFM topography and surface profile of the PDMS grating; (b) photograph of the grating-integrated SPR sensor chip.

**Table 2** Grating dimensions of the master mold and the fabricated PDMS grating (\*Edmund Optics, Inc.)

	Grating pitch	Grating depth
Master mold*	833 nm	180 nm
PDMS grating	835 ± 18 nm	118 ± 16 nm

**Table 3** The refractive indices depending on the IPA concentrations

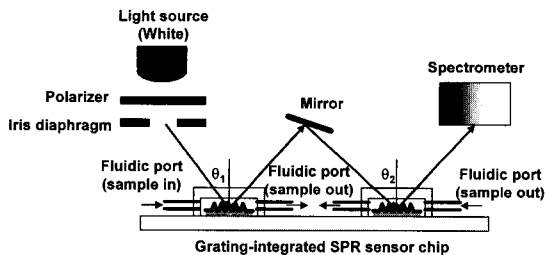
IPA concentration [%]	Refractive index
0	1.3333
5	1.3373
10	1.3420
14	1.3459
20	1.3514
24	1.3547
32	1.3600

**4. 실험 결과**

제작된 SPR 센서 칩의 특성 분석을 위해 Fig. 5의 측정 장치를 사용하였다. 다파장 광원으로는 할로겐 램프 (Navitar, Inc., USA) 를 사용하였다. 첫 번째 측정 채널에 45°의 입사각으로 빛을 입사시킨 뒤, 두 번째 측정 채널에는 거울을 사용하여 입사각을 35°로 고정하였다. 최종 반사된 빛의 스펙트럼을 fiber optic 분광기 (fiber optic spectrometer, S2000, Ocean Optics, Inc., USA) 를 사용하여 측정하였다. 측정된 TE 및 TM 편광 된 빛의 스펙트럼으로부터, TE 편광 스펙트럼에 대한 TM 편광 스펙트럼의 비를 구하여 파장에 따른 SPR curve를 구하였다. TE 편광 된 빛은 SPR 현상을 일으키지 않으므로, TE 편광 스펙트럼에 대한 비율을 구하게 되면, 파장에 따른 에너지 차이 없이 정규화 된 SPR curve를 구할 수 있다.

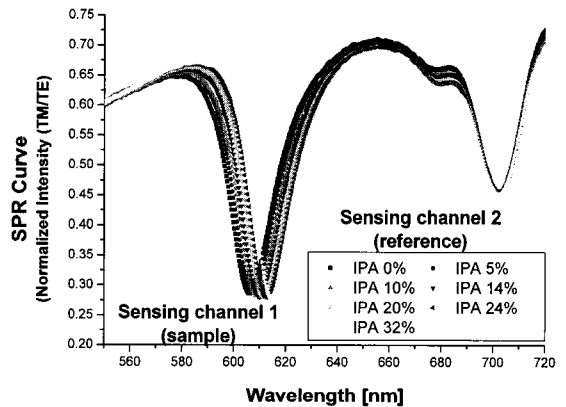
**4.1. 굴절률 변화에 대한 감도**

제작된 SPR 센서 칩의 굴절률 변화에 대한 감도를 분석 하기 위해 IPA (isopropylalcohol) 용액을 샘플로 사용하였다. IPA 용액의 굴절률은 IPA 농도에 따라 변화하게 되고, 농도에 따른 굴절률 값 [10] 을 Table 3에 정리하였다. 제작된 SPR 센서 칩의 한 쪽 측정 채널에는 IPA 농도를 바꾸 며 IPA 용액을 주입하여 SPR이 발생하는 파장을 측정하고, 다른 쪽 측정 채널에는 D.I. water를 주입여 외부 환경 변화를 분석 하였다.

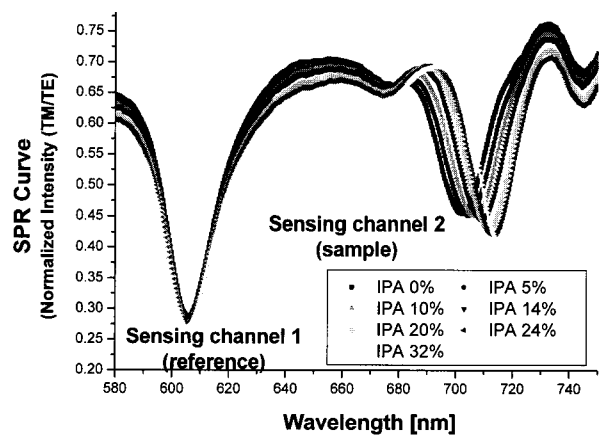


**Fig. 5** Test apparatus for the fabricated grating-integrated SPR sensor chip.

Fig. 6에 IPA 농도에 따른 SPR curve 측정결과를 도시하였다. 먼저, 측정된 그래프에서 두 개의 SPR dip을 관찰할 수 있었으며, 이는 제한한 SPR 센서 칩의 다중채널 SPR 검출 성능을 증명하는 것이다. Fig. 6a는 측정 채널 1에, Fig. 6b는 측정 채널 2에 각각 IPA 용액을 주입한 결과이다. 두 실험 결과에서 모두 외부 환경 변화 측정을 위한 SPR dip은 이동하지 않아 실험이 오류 없이 진행되었음을 보여준다. 반면, IPA 용액을 주입한 측정 채널에서는 IPA의 농도에 따라 SPR dip이 이동하는 것을 볼 수 있다. Fig. 7에 IPA 농도에 따른 굴절률과 이에 따른 SPR 파장 변화를 도시하였다. Fig. 7의 그래프에서 굴절률 감도는 측정 채널 1의 경우 321.8±8.1nm/RI로, 측정 채널 2의 경우 514.3±8.1nm/RI로 측정되었다. 또한, 분광기의 분해능을 0.1nm로 가정하였을 때, 각 측정 채널의 굴절률 분해능은 0.00031RI와 0.00019RI로 계산되었다. 각 측정 채널의 굴절률 감도 및 분해능을 Table 4에 정리하였다. 이 결과에서 측정 채널 2의 감도가 측정 채널 1에 비하여 약 1.6배 가량 높은 것을 알 수 있는데, 이는 SPR이 발생하는 파장이 길어 질수록 감도가 증가 [7] 하기 때문이다.



(a)



(b)

**Fig. 6** SPR curves measured from the grating-integrated SPR sensor chip for different IPA concentrations: (a) at sensing channel 1; (b) at sensing channel 2.

**Table 4** The refractive index sensitivity and resolution of the present grating-integrated SPR sensor chip

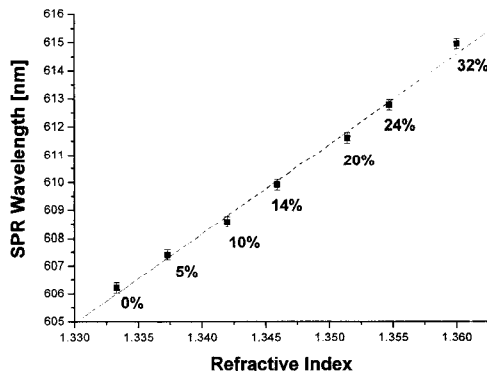
	Refractive index sensitivity	Refractive index resolution*
sensing channel 1 ( $\Theta=45^\circ$ )	$321.8 \pm 8.1$ nm/RI	0.00031 RI
sensing channel 2 ( $\Theta=35^\circ$ )	$514.3 \pm 8.1$ nm/RI	0.00019 RI

(\* It is assumed that the resolution of the spectrometer is 0.1 nm.)

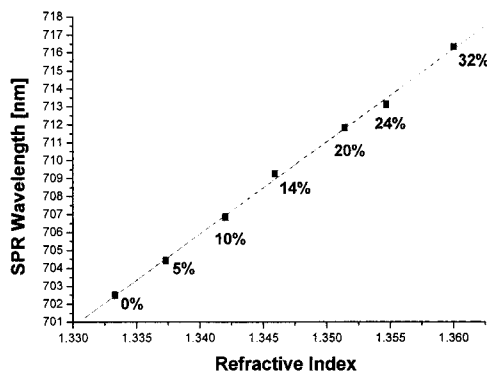
**4.2. 단백질 검출 실험**

**4.2.1. 단백질 검출을 위한 금 표면 개질**

제작된 SPR 센서 칩의 단백질 검출 성능 평가를 위해 Fig. 8의 방법을 사용하여 금 표면을 화학적으로 개질하였다. 관련 약품은 다음과 같다: 11-mercaptoundecanol (MUO, Sigma), 16-mercaptohexadecanoic acid (MHDA, Sigma), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC, Pierce), biotinamidohexanoic acid hydrazide (BACH, Sigma), streptavidin (SA, Sigma).



(a)



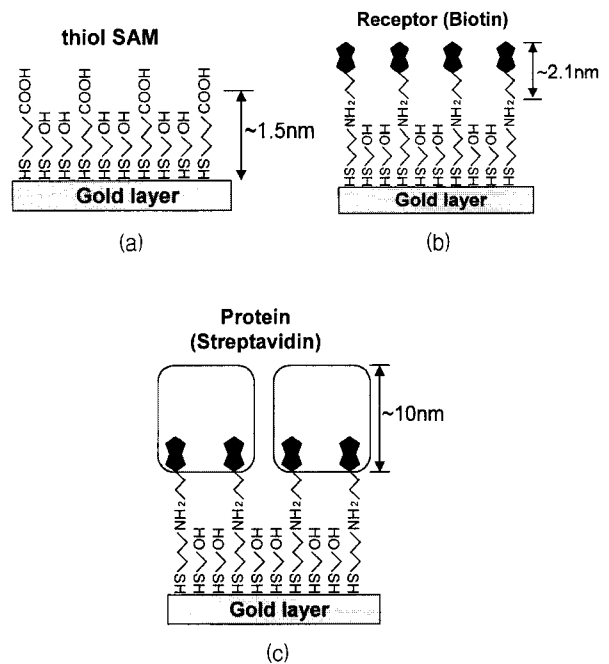
(b)

**Fig. 7** SPR wavelength shift according to the refractive index depending on IPA concentrations: (a) at sensing channel 1; (b) at sensing channel 2.

먼저, 목적 단백질 샘플의 표면 반응 밀도 조절을 위해 0.9mM의 MUO와 0.1mM의 MHDA가 혼합된 에탄올 용액을 이용하여 10% 기능화 된 thiol SAM (self-assembled monolayer) [11] 를 증착하였다. 다음으로 목적 단백질 샘플을 감지하기 위한 receptor인 biotin의 고정을 위해 0.1M의 EDC 수용액을 표면에 두 시간 반응 시킨 뒤, 0.1M의 sodium acetate buffer (pH. 5.5) 에 녹아있는 5mM의 BACH를 역시 두 시간 반응시켰다.

**4.2.2. 단백질 검출 성능 측정**

제작된 SPR 센서 칩의 측정 채널 1에는 10mM PBS (phosphate buffered saline) buffer (pH. 7.4) 에 녹아있는 0.5 $\mu$ M (25 $\mu$ g/ml) 의 streptavidin을 주입하여 2시간 동안 반응시켰다. 반면, 측정 채널 2에는 PHB buffer solution만을 주입하여 외부 환경 변화를 분석하였다. Fig. 9는 streptavidin 주입 전과 후의 두 측정 채널의 SPR curve를 보여준다. 각 측정 채널에 해당하는 SPR dip을 확대한 그림 (Fig. 10) 으로부터 측정 채널 1의 SPR dip이 streptavidin 반응 후 1.13 $\pm$ 0.16nm 이동한 것을 관찰할 수 있으며, 이로부터 제안한 SPR 센서 칩의 단백질 검출 성능을 확인할 수 있다. 한편, 외부 환경 변화 측정을 위한 측정 채널 2에서는 SPR dip이 이동하지 않아 본 실험이 오류 없이 수행되었음을 알 수 있다.



**Fig. 8** Biomodification of the gold layer in the grating-integrated SPR sensor chip: (a) deposition of 10%-functionalized SAM (sensing channel 1 and sensing channel 2) (b) receptor immobilization (sensing channel 1 and sensing channel 2) (c) target biomolecule addition (sensing channel 1 only).

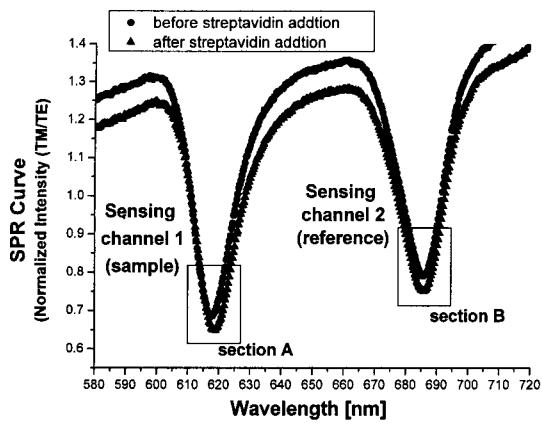
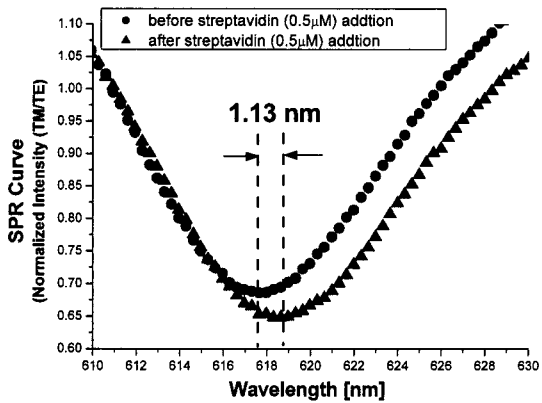
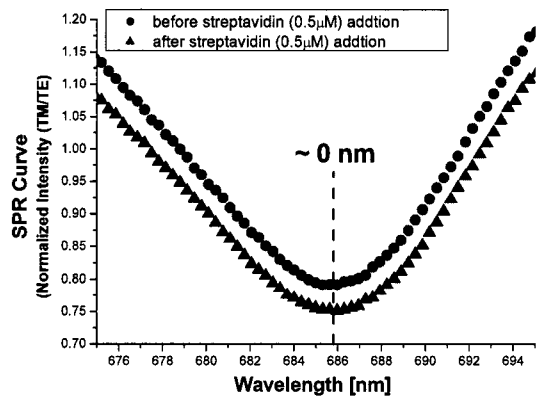


Fig. 9 SPR curves measured from both sensing channel 1 and sensing channel 2 before and after target biomolecule addition step.



(a)



(b)

Fig. 10 Enlarged views of the SPR dips in Fig.7: (a) section A in Fig. 9 - sensing channel 1 (sample); (b) section B in Fig. 9 - sensing channel 2 (reference).

#### 4.3. 단백질 농도 검출 성능 측정 및 상용 장비와 비교 실험.

제작된 SPR 센서 칩의 단백질 농도 검출 성능을 측정하고, 이를 상용 SPR 장비와 비교하여 분석하였다. 단백질 샘플은 monoclonal-antibiotic (m-antibiotic) 을 사용하였고, 검출을 위한 금 표면 개질은 4.2.1절에 기술한 방법을 사용하였다. 표면 개질된 측정 채널에 2 nM, 10 nM, 50 nM, 200 nM 의 m-antibiotic 용액을 차례로 주입한 후 SPR 파장 변화를 반응 시간에 따라 10분 간격으로 측정하였다. Fig. 11에 각 용액 주입 후 측정된 파장 변화 값을 표시하였다. 각 용액 주입 후 반응 시간에 따라 SPR 파장이 변화되는 것을 관찰할 수 있었으며, 이로부터 표면에 부착된 antibiotin과 m-antibiotin이 반응함을 알 수 있다. Fig. 11에서, 반응 시간에 대한 파장 변화 기울기로부터 각 농도에 대한 반응 속도를 유추할 수 있으며, 이를 Table 5에 정리하였다. 2 nM에서 50 nM의 용액에 대해, m-antibiotin 농도가 높아짐에 따라 증가되는 반응 속도를 측정할 수 있었으며, 이로부터 제작된 SPR 센서의 단백질 농도 검출 성능 확인이 가능하다.

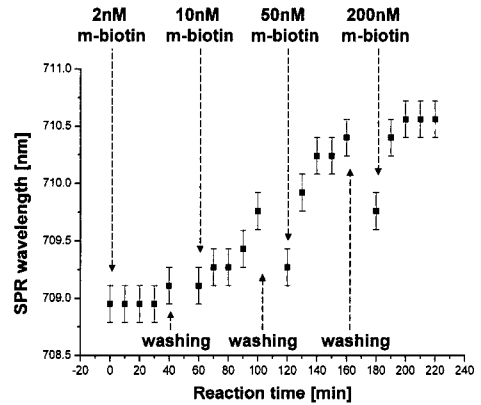


Fig. 11 SPR wavelength shift measured from the fabricated SPR sensor chip for different concentration of m-antibiotin solutions.

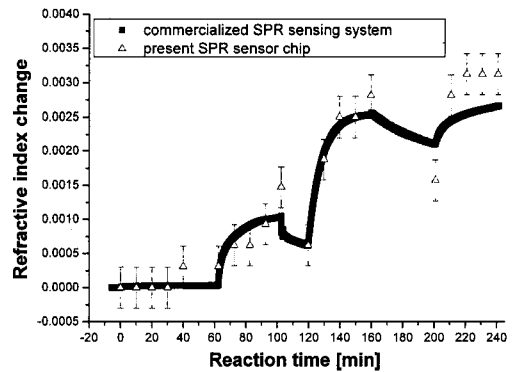


Fig. 12 Comparison between the refractive index change measured from the present grating-integrated SPR sensor chip and that from a commercialized SPR sensor.

**Table 5** Measured m-antibiotin binding reaction rates on biotin layer for different m-antibiotin concentration

M-antibiotin concentration	Measured reaction rate* [10 <sup>-4</sup> RI/min]	
	Present SPR sensor	Commercialized SPR sensor
2 nM	0.0 ± 3.0	0.11
10 nM	1.554 ± 3.0	4.25
50 nM	9.396 ± 3.0	8.74

\* reaction rate = reflective index shift / reaction time

또한, 동일한 실험을 상용 SPR 장비(Biacore X)를 사용하여 수행하였다. 제작된 SPR 센서 칩에서 측정된 파장 변화(Fig. 11)를 4.1절에서 얻은 굴절률 sensitivity 결과(Table 4)를 사용하여 굴절률 변화 값으로 환산한 후, 상용 SPR 장비를 사용하여 측정된 결과와 비교하여 Fig. 12에 도시하였다. 또한, 상용화된 장비에서 측정된 반응 속도와 제작된 SPR 센서 칩에서 측정된 반응속도를 Table 5에서 비교하였다. 전체적으로 두 결과가 잘 일치함을 알 수 있으며, 두 결과 사이의 오차는 대부분 측정 오차 미만이다. 이로써, 제작된 SPR 센서 칩의 단백질 측정 성능을 검증할 수 있었다.

## 5. 결 론

본 논문에서는 간단하고 저가의 생체분자 SPR 검출을 위한 회절격자가 집적된 SPR 센서 칩을 제안하고, 그 성능을 실험적으로 평가하였다. 제안한 SPR 센서 칩은 센서 칩에 집적된 회절격자와 외부거울을 사용하여 고가의 광학장비 없이 파장 분석형 다중채널 SPR 검출 시스템을 구현하였다. 또한, 마이크로 몰딩 공정을 통해 센서 칩의 제작 단가를 낮춤으로써 일회용 사용을 가능하게 하였다. SPR 센서 칩은 30mm의 간격으로 배치된 두 개의 9mm×9mm 유체 채널과 그 안에 집적된 835nm 피치의 회절격자로 구성된다. 제작된 센서 칩의 굴절률 감도는 측정 채널 1번에서 321.8nm/RI, 측정 채널 2에서 514.3nm로 측정되었고, 이는 분광기의 분해능을 0.1nm로 가정할 때 각각 0.00031RI, 0.00019RI의 굴절률 분해능을 나타낸다. 10% 기능화된 SAM 위에 고정된 biotin을 사용하여, 0.5μM의 streptavidin 검출을 시도하였으며, 반응 후 1.13±0.16nm의 SPR 파장 이동을 관찰함으로써 생체분자 검출 성능을 확인하였다. 한편, 다른 측정 채널에서는 단백질 검출과 동시에 외부 환경에서 발생하는 외란 유무를 분석할 수 있었다. 또한, 2 nM에서 200 nM 농도의 monoclonal-antibiotin 검출 실험을 통해, 농도에 따른 반응 속도를 측정하였으며, 이를 상용화된 장비를 통해 측정된 결과와 비교하여 제작된 센서 칩의 성능을 검증하였다. 따라서, 제안한 회절격자가 집적된 SPR 센서 칩은 Point-of-Care service나 Lab-on-a-Chip 등에 응용이 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 과학기술부/한국과학재단 창의적연구진흥사업(디지털나노구동연구단)인 “생체모사기법을 응용한 디지털나노구동기관의 구현이 관한 연구” 과제에 지원으로 수행되었습니다.

## 참 고 문 헌

- [1] J. Homola, S.S. Yee, and G. Gauglitz, "Surface Plasmon Resonance Sensors: Review," *Sensors and Actuators B*, Vol.54, pp.3-15, 1999.
- [2] I. Stemmler, A. Brecht, and G. Gauglitz, "Compact Surface Plasmon Resonance-transducers with Spectral Readout for Biosensing applications," *Sensors and Actuators B*, Vol.54, pp.98-105, 1999.
- [3] V. Silin and A. Plant, "Biotechnological Applications of Surface Plasmon Resonance," *Trends in Biotechnology*, Vol.15, pp.353-359, 1997.
- [4] S. Löfås, M. Malmqvist, I. Rönnberg, E. Stenberg, B. Liedberg, and I. Lundström, "Bioanalysis with Surface Plasmon Resonance," *Sensors and Actuators B*, Vol.5, pp.79-84, 1991.
- [5] G.G. Nenninger, J.B. Clendenning, C.E. Furlong, S.S. Yee, "Reference-compensated biosensing using a dual-channel surface plasmon resonance sensor system based on a planar lightpipe configuration," *Sensors and Actuators B*, Vol.51, pp.38-45, 1998.
- [6] J. Homola, J. Dostalek, J. Ctyroky, "A Novel Approach to Surface Plasmon Resonance Multichannel Sensing," *Proc. of SPIE*, Vol.4416, pp.86-89, 2001.
- [7] F.S. Ligler and C.A.R. Taitt, *Optical Biosensors: Present and Future*, Elsevier, Amsterdam, 2002, Chapter 7.
- [8] E.D. Palik, *Handbook of Optical Constants of Solids*, Academic Press, San Diego, pp.294-295, 1998.
- [9] K. Hosokawa, K. Hanada, and R. Maeda, "A Polydimethylsiloxane (PDMS) Deformable Diffraction Grating for Monitoring of Local Pressure in Microfluidic Devices," *J. Micromech. Microeng.*, 12, pp.1-6, 2002.
- [10] R.C. Weast and M.J. Astle, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Press, Boca Raton, p.D 257, 1979.
- [11] T. Cass and F.S. Ligler, *Immobilized Biomolecules in Analysis: A Practical Approach*, Oxford University Press, New York, 1998.

## 저 자 소 개



### 진영현 (陳令鉉)

1976년 9월 29일생. 1998년 한국과학기술원 기계공학 학사, 2000년 한국과학기술원 기계공학 석사, 2007년 한국과학기술원 기계공학 박사 졸업. 2007년~현재 스위스 로잔 연방공대 (EPFL) 박사후 연구원으로 근무 중.

Tel : +41-21-693-5995

Fax : +41-21-693-5880

E-mail : young-hyun.jin@epfl.ch



### 조영호 (曹永昊)

1957년 8월 10일생. 1982년 KAIST 기계공학과 졸업(석사). 1990년 UC Berkeley 기계공학과 졸업(박사). 1991년~현재 KAIST 바이오및뇌공학과 및 기계공학과 교수.

Tel : +82-42-350-8691

Fax : +82-42-350-8690

E-mail : mems@kaist.ac.kr