

## 나노임프린트를 이용한 바이오칩용 나노 패턴 제작

<sup>1</sup>최 호 길 · <sup>1</sup>김 순 중 · <sup>1,2</sup>오 병 근 · † <sup>1,2</sup>최 정 우  
<sup>1</sup>서강대학교 화공생명공학과, <sup>2</sup>서강대학교 바이오 융합기술 연구단  
(접수 : 2007. 11. 14., 게재승인 : 2007. 12. 7.)

### Fabrication of Nanopatterns for Biochip by Nanoimprint Lithography

Ho-Gil Choi<sup>1</sup>, Soon-Joong Kim<sup>1</sup>, Byung-Ken Oh<sup>1,2</sup>, and Jeong-Woo Choi<sup>1,2†</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemical & Biomolecular Engineering, Sogang University, Mapo-gu, Seoul 121-742, Korea

<sup>2</sup>Interdisciplinary Program of Integrated Biotechnology, Sogang University, Mapo-gu, Seoul 121-742, Korea

(Received : 2007. 11. 14., Accepted : 2007. 12. 7.)

A constant desire has been to fabricate nanopatterns for biochip and the Ultraviolet-nano imprint lithography (UV-NIL) is promising technology especially compared with thermal type in view of cost effectiveness. By using this method, nano-scale to micro-scale structures also called nanopore structures can be fabricated on large scale gold plate at normal conditions such as room temperature or low pressure which is not possible in thermal type lithography. One of the most important methods in fabricating biochips, immobilizing, was processed successfully by using this technology. That means immobilizing proteins only on the nanopore structures based on gold, not on hardened resin by UV is now possible by utilizing this method. So this selective nano-patterning process of protein can be useful method fabricating nanoscale protein chip.

**Key Words** : Nanoimprint, lithography, nanopore, patterning, protein chip

#### 서 론

최근 의료보건 산업을 중심으로 빠르게 보급되고 있는 바이오 소자는 신약개발 프로세스 및 임상진단 등의 분야에 혁신적인 변화를 일으킬 것으로 주목받고 있으며, 특히 임상진단 분야에서 암 및 에이즈 등에 관련된 유전자 돌연변이를 검출하여 진단할 수 있는 진단용 바이오소자로서 바이오칩이 개발되고 있으며, 농업, 식품, 환경모니터링과 같은 분야에도 이 기술이 파급될 것으로 전망된다. 바이오칩 (biochip)은 DNA나 단백질과 같은 생물에서 유래된 물질을 반도체와 같은 무기물과 고밀도로 집적화하고 조합하여 만든 것으로서, 사용용도나 응용분야에 따라 정의가 달라질 수 있으나, 기본적으로 생체분자의 고유한 기능을 이용하여 유전자발현 양상, 유전자결합, 단백질분포 등의 생물학적 정보를 얻거나 생화학적 공정 및 반응속도 또는 정보처리속도를 높이는 생물학적 BT기술과 전자공학, 반도체 등 IT기술이 접목된 대표적인 융합기술이다. 바이오칩은

사용되는 생체물질의 용도, 시스템화 정도에 따라 크게 마이크로어레이칩 (microarray chip)과 랩온어칩 (lab-on-a-chip, LOC) 또는 마이크로플루이딕스칩 (microfluidics chip)으로 나뉜다. 때로는 랩온어칩과 마이크로플루이딕스칩을 구분하기도 하나, 마이크로플루이딕스는 랩온어칩에서 구현되는 기술에 포함된다는 것이 전문가들의 공통된 견해이다. 마이크로어레이칩은 대상유전자나 단백질을 감지하기 위하여 프로브 (Probe)라 불리는 수 천 혹은 수 만개 이상의 DNA나 단백질과 같은 생물 분자가 부착된 칩에 분석 대상물질을 처리하여 그 결합양식을 분석할 수 있는 바이오칩으로서 부착하는 생물분자에 따라 DNA칩, 단백질칩이 대표적이며 그 밖에 세포칩, glyco chip 등을 들 수 있다. DNA칩은 어레이되어진 DNA의 종류, genomic DNA, cDNA, oligo DNA 등에 따라 세분화되어지기도 하고 사용 시료가 DNA 또는 mRNA인지에 따라 genotyping chip과 expression chip으로 나누어진다.

바이오칩 제조를 위한 나노 미터 크기의 집적회로 소자를 만들기 위해서는 신뢰성 있는 패터닝 (patterning) 기술을 필요로 한다. 하지만 현재까지 사용되어 왔고 가까운 미래까지 주요 기술로 사용될 photolithography는 해상도 면에 있어서 많은 한계를 가지고 있어 electron-beam lithography, X-ray lithography, scanning probe lithography, capillary force lithography (CFL), microcontact printing,

† Corresponding Author : Department of Chemical & Biomolecular Engineering, Sogang University, 1 Sinsoo-dong, Mapo-gu, Seoul 121-742, Korea

Tel : +82-02-3273-0331, Fax : +82-02-3273-0331

E-mail : jwchoi@sogang.ac.kr

electrically induced structure formation 등의 많은 연구가 진행 되어왔다(1-6). 특히, nanoimprint lithography 기술은 보다 저렴한 비용으로 나노구조물을 대량으로 제조할 수 있을 것으로 기대되는 기술로써, 나노 구조물 (nanostructure)이 각인된 스탬프 (stamp)를 기판 (substrate) 위에 spin-coating 또는 dispensing된 resist의 표면에 눌러 나노 구조물을 전사하는 기술이다. 이 공정은 1995년 프린스턴 대학의 Steven chou 교수(3, 7, 8)가 최초로 제안했으며, 나노 크기의 패턴 (pattern)이 형성된 스탬프로 poly(methylmethacrylate) (PMMA) 재질의 resist가 코팅되어 있는 기판 표면을 고온, 고압으로 누른 후 분리하여 RIE (reactive ion etching)같은 비등방성 에칭 (etching) 작업을 거쳐 resist 표면에서 눌러진 부분인 잔여층 (residual layer)을 제거하는 공정을 말한다. 즉, 고분자 층에 빛을 조사하여 화학구조를 변형시키는 photolithography와는 달리 열적으로 고분자 층을 유동성 있게 만든 다음 패턴이 있는 주형 (mold)을 접촉시키고 물리적으로 눌러서 고분자 층에 원하는 패턴을 만들어 내는 방법이다.

나노임프린트 리소그래피 기술은 크게 thermal nanoimprint lithography와 ultraviolet (UV)-assisted nanoimprint lithography로 나눌 수 있으며, Steven chou 교수가 제안한 기술은 thermal nanoimprint lithography에 속한다. 하지만, thermal nanoimprint lithography는 다층화 작업이 필수적인 반도체 디바이스 제작에 있어서 열변형에 의해 다층 정렬이 어려우며, 점도가 큰 resin를 임프린트하기 위해서는 고압이 필요하기 때문에 제작된 하단의 나노 구조물을 파손시킬 소지가 있고, 불투명한 스탬프는 다층화 정렬작업에 불리하게 작용하는 단점이 있다. 반면, UV-assisted nanoimprint lithography는 1996년 Haisma 등(9)에 의하여 최초로 제안되었는데, PMMA와 같은 열가소성 재질을 사용하는 thermal-type 기술과는 달리 저점성 광경화성 수지와 이를 경화하기 위하여 UV를 사용하는 것이 특징이며, 상온 저압공정이 가능하여 다층화 공정 및 대량생산에 적합하다.

본 연구에서는 위와 같은 장점을 가진 UV-assisted nanoimprint lithography 기술을 사용하여 gold를 미리 증착하고 임프린트 함으로써 lift-off 시에 필요한 bi-layer를 필요로 하지 않게 하였고, 산소 플라즈마 에칭을 실시하여 생성된 잔여층을 제거하여 lift-off 공정이 생략될 수 있도록 하였다. Quartz 스탬프를 사용하여 스탬프와 같은 크기의 500 nm line, 600 nm pore, 1  $\mu$ m pore, 2.5  $\mu$ m pore로 전사된 gold 패턴을 제작하여 원자현미경 (atomic force microscopy, AFM)과 주사전자현미경 (scanning electron microscope, SEM)을 사용하여 관찰하였다. 이와 같은 방법으로, 원하는 패턴의 크기와 모양의 스탬프만 제작할 수 있다면 다량의 나노수준 패턴 제조가 가능하며 상대적으로 간단한 공정에 의해 공정비용이 절감되는 나노임프린트 리소그래피를 이용하여 나노 수준의 바이오칩을 제조할 수 있을 것으로 기대된다.

## 재료 및 방법

### 재료

Expattern(TM)NIP-K28 (Chemoptics Inc., Korea)을 UV-curable resin으로 사용하였다. NIP-K28 resin은 viscosity modifier, anti-sticking agent, UV photo-initiator와 perfluorinated acrylate monomer를 혼합한 투명한 물질로서 UV 조사량이 2500 mJ/cm<sup>2</sup>일 때 경화되게 된다. 또한 점도가 10 cps 미만으로 낮기 때문에 미세패턴을 임프린팅하기 쉽고 UV 조사 시간이 짧으며 산소 플라즈마에 쉽게 식각되어 추후 잔여층을 제거하기 용이하다는 장점을 갖는다. 피라나 (piranah) 처리를 위한 용액을 만들기 위해 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Duksan chemical Co. Ltd, Korea)와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich MO, USA)를 사용하였다.

### 패턴 제작 공정

나노임프린트 리소그래피 기술을 사용하여 gold 기판을 resin영역으로 패턴화하는 실험과정을 Fig. 1에 개략도로 표현하였다. Fig. 1-(a)에 보는 바와 같이 먼저 4 inch 지름의 실리콘 기판을 Sputter (ALPS-C03, 알파플러스, Korea)를 사용하여 Ti 10 nm를 증착하고 그 위에 gold를 30 nm의 두께로 증착한 후, Dicing Saw (DAD522, Disco, Japan)을 이용하여 증착된 기판을 2 cm × 2 cm 크기로 절단하였다. 제작된 gold 기판의 표면을 친수성으로 하기 위하여 70 vol% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Duksan Chemical Co. Ltd, Korea)와 30 vol% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich MO, USA)을 혼합하여 피라나 용액을 만들고, 70°C에서 5분간 gold 기판을 피라나 처리한 후에 DI water와 alcohol로 여러 번 세척하여 건조시켰다. 피라나 처리는 gold 표면을 친수성으로 바뀌게 하여, UV-curable resin이 quartz 스탬프 패턴 사이에 고루 퍼지게 되어 임프린트 후 균일하고 정밀한 패턴을 전사할 수 있게 한다. Resin 도포 방식은 micropipette을 사용하여 0.5  $\mu$ l의 resin을 피라나 처리된 gold 기판 위에 dropping 하였다.

샘플을 임프린트 챔버에 로딩하여 vacuum step을 30분 이상 진행하여 불필요한 기포나 resin이 샘플 밖으로 새어나오게 하였다. NND (Nano & Device)에서 제작한 NANOSIS<sup>TM</sup> 610을 사용하여 resin이 도포된 gold 기판위에 quartz 스탬프를 사용하여 패턴을 전사하였으며 스탬프와 기판의 holding 시간을 30분 이상으로 하여 resin이 패턴 사이에 고루 스며들게 하였고 15 bar의 압력을 준 다음 UV를 1분 10초간 조사하여 resin이 완전히 경화되도록 하였다. 이 장비는 다양한 크기와 모양의 패턴을 자유롭게 조절하여 기판 위에 전사할 수 있고 또한 잔여층을 매우 적게 남기는 장점이 있다. Fig. 1-(b)는 스탬프의 패턴을 기판에 전사시킨 후 releasing한 공정이다. Resin을 완전히 경화시킨 다음 챔버 안의 압력을 빼고 스탬프와 기판을 releasing 하였으며 releasing 한 후 임프린트로 전사된 패턴을 120°C에서 3분간 baking 하여 resin 패턴과 기판과의 결합력을 증가토록 하였다.

Fig. 1-(c)는 산소플라즈마를 이용하여 releasing한 후 기판위의 잔여층을 제거한 패턴을 보여준다. 활성이 매우 강한 이온과 라디칼로 이루어진 산소플라즈마에 의한 잔여층의 제거로 실리콘 기판 위에 증착된 gold의 표면이 resin

패턴 속에 완전히 노출되도록 하였다. 우리가 사용한 나노 임프린트 공정에서는 일반적인 나노임프린트 공정에서 금속 패턴을 제작할 시 주로 사용되는 lift-off 공정을 생략할 수 있으며 gold를 미리 증착하여 임프린팅 함으로써 lift-off 시에 필요한 bi-layer 층이 필요가 없어 산소 플라즈마를 이용한 에칭이 더욱 쉽고 따로 추가되는 공정이 없도록 하였다.

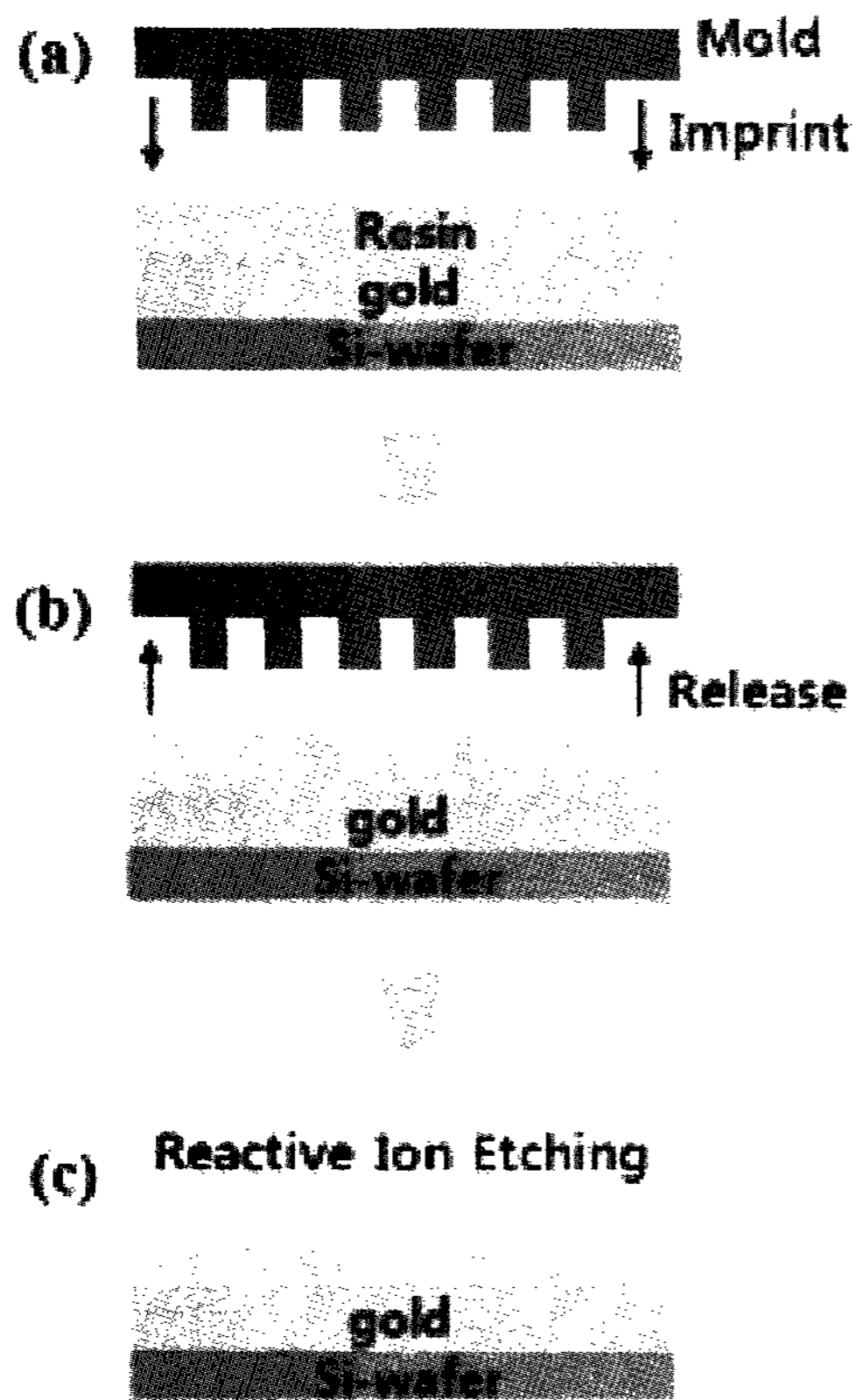


Figure 1. Schematic diagram of fabricating nanopore patterns on the gold substrate.

패턴의 표면관찰

Quartz 스탬프의 패턴 이미지를 관찰하기 위해서 AFM (atomic force microscopy, Autoprobe cp, Veeco, USA)을 contact mode로 측정하여 스탬프의 패턴의 이미지를 확인 하였다. 또한, 임프린트된 패턴의 표면에 Pt를 증착한 후 SEM (scanning electron microscope, Hitachi, S-48000, Japan)을 이용하여 확인한 결과, 산소플라즈마 에칭 후, 잔여층을 제거한 nanopore 패턴 속의 gold 표면이 완전히 드러나게 되어 Pt 증착을 할 필요 없이 nanopore의 SEM 이미지를 관찰하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 바이오칩 제작을 위한 패턴을 제작하는 기술로서 나노임프린트 리소그래피를 이용하였다. Si 기판 위에 gold를 증착하여 단백질을 패턴화하여 고정할 수 있

는 여러 가지 크기의 nanopore 형태의 gold 패턴 구조를 UV-assisted nanoimprint lithography 기술을 이용하여 개발하였다.

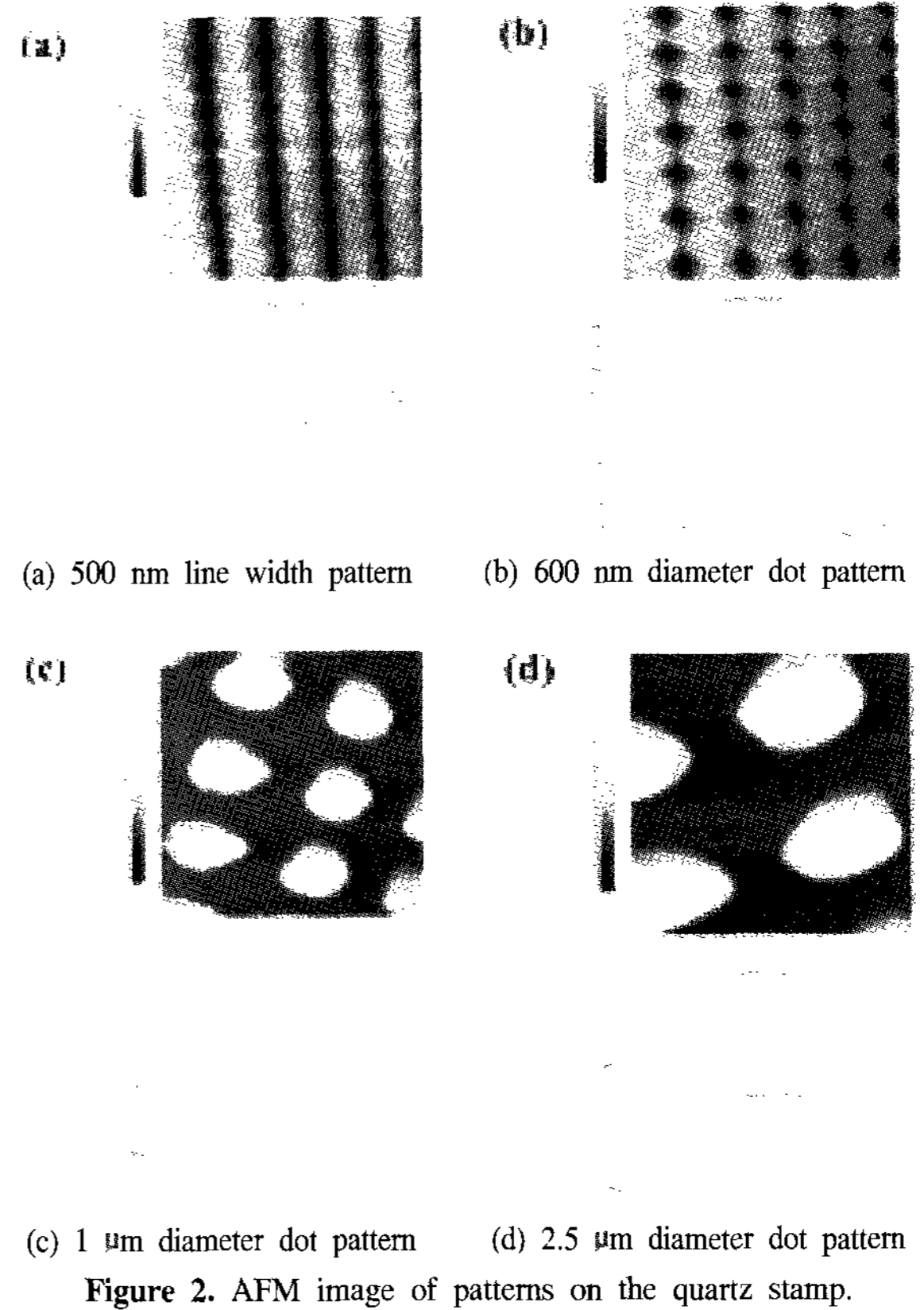


Figure 2. AFM image of patterns on the quartz stamp.

Fig. 2는 사용된 quartz 스탬프 패턴의 AFM 이미지이며 Fig. 2-(a)는 500 nm의 선폭을 가지는 라인패턴이다. Fig. 2-(b)는 600 nm의 지름을 갖는 dot 형태의 패턴이며, Fig. 2-(c)는 1 μm의 지름을 갖는 dot 형태의 패턴, Fig. 2-(d)는 2.5 μm의 지름을 갖는 dot 형태의 모양을 보여준다. 스탬프는 임프린팅 후 스탬프와 기판과의 releasing을 용이하게 하기 위해 스탬프 표면에 (heptadecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrodecyl) trichlorosilane의 monolayer층을 코팅하여 quartz 스탬프의 표면에너지를 낮추었다. 임프린팅 시 사용한 resin은 Chemoptics사에서 생산된 Expattern(TM) NIP-K28 UV curable resin을 사용하였으며, 이 resin은 점도가 낮아 미세패턴을 임프린팅 하기 쉽고, UV 조사시간이 짧으며, 산소플라즈마 에칭에 쉽게 식각되어 추후 잔여층을 제거하기 용이하다는 장점을 갖는다.

NIP-K28 UV curable resin을 사용하여 압력은 15 bar, UV 조사시간은 1분 10초, 스탬프와 기판과의 holding 시간은 30분 정도로 충분히 주어 균일한 패턴 정렬을 갖도록 공정을 진행하였으며 골드가 증착된 실리콘 기판 위에 패턴을 전사하였다. 패턴을 제작한 다음 단단하고 기판과의 접착력을 좋게 하기 위해 120℃에서 3분간 baking하였다.

Fig. 3은 임프린팅 후 전사된 패턴의 SEM 이미지이며 패턴이 결함 없이 균일하게 전사됐음을 보여준다. 전사된

패턴은 잔여층이 제거되지 않아 전도성을 띠지 않으므로 Pt를 5 nm 높이로 증착하여 SEM 이미지를 얻었다. 전사된 패턴의 크기와 모양은 Fig. 2의 스탬프의 패턴 AFM 이미지의 negative 형태로 전사가 되었으며, 스탬프의 돌출된 패턴은 임프린팅 후 기판에서는 pore 형태를 갖는다.

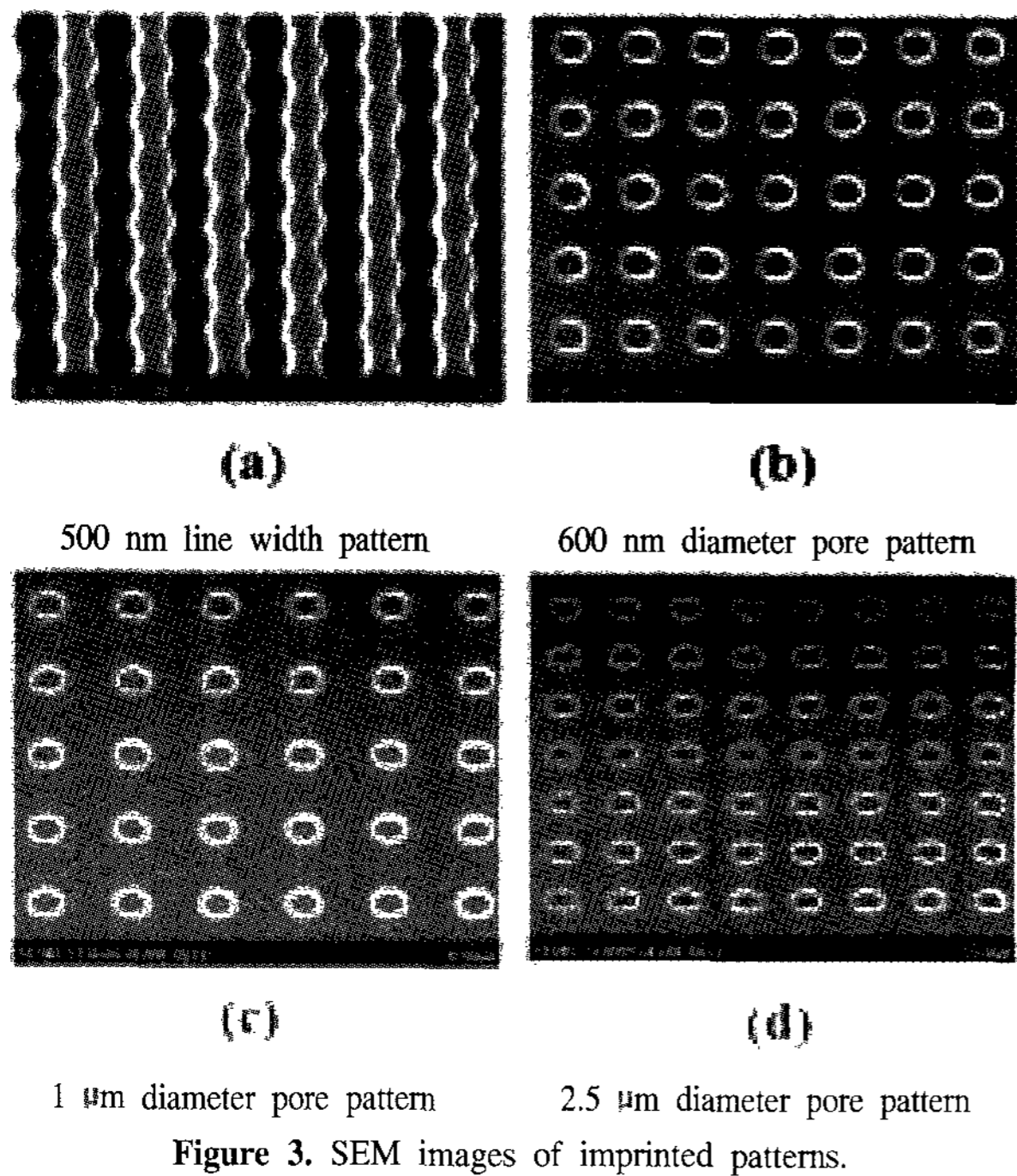


Figure 3. SEM images of imprinted patterns.

Pore 안쪽에서는 잔여층이 남아 gold 표면이 완전히 드러나지 않아 단백질이 고정화될 수 없으므로 산소 플라즈마를 사용하여 잔여층을 제거하였다. 이때 잔여층이 너무 높게 생성되어 있으면 잔여층을 제거하기 위해 에칭 시간을 늘리게 되고 결국 잔여층만 제거하는 것이 아니라 우리가 최종 얻으려는 패턴을 마모시킴과 동시에 원하는 높이의 패턴을 얻지 못하게 된다. 그리하여 임프린팅 시 적당한 압력과 holding 시간을 주어야 하며 낮은 점도의 UV curable resin을 사용하는 것이 필요하다. 산소플라즈마 공정은 고분자물질을 반응성 이온으로 식각하여 잔여층을 제거하게 되는데 이때 물리적 뿐만 아니라 라디칼이 고분자 물질과 화학적으로 결합하여 효과적으로 식각하게 된다. 이렇게 에칭 공정을 이용하여 잔여층을 제거한 후의 패턴이 Fig. 4의 SEM 이미지이며 잔여층은 제거되어 증착된 골드의 표면을 완전히 드러내었으며 울퉁불퉁한 골드 입자가 현격하게 보이게 된다. SEM 이미지에서 밝은 부분이 gold가 드러난 pore 패턴 영역이며 어두운 부분은 전도성이 없는 resin 영역이다. 패턴된 gold의 형태는 Fig. 4(a) 선폭이 500 nm인 line 모양, Fig. 4(b) 지름이 600 nm인 원형모양, Fig. 4(c) 지름이 1 μm 인 원형모양, Fig. 4(d) 지름이 2.5 μm인 원형모양으로 형성되었으며, 이러한 방식은 다양한 스탬프를 제작하여 단백질을 마이크로에서 나노수준까지 다양한 크기와 모양으로 패턴링할 수 있음을 보여준다. 밝은 부분인 gold pore에는 단백질의 SH기가 gold와 공유결합을 하여 단백질이 고정화될 수 있으며 어두운

resin 영역은 수지로 구성된 비활성 표면 부분이므로 SH기가 공유결합을 할 수 없어 단백질이 고정화될 수 없다. 그리하여 제작된 패턴으로 단백질을 선택적으로 패턴링할 수 있다. 게다가 산소 플라즈마 공정을 진행한 후에는 gold 표면이 친수성으로 바뀌어 추후 항체를 고정화 할 때 고정화를 용이하게 할 수 있도록 해준다. 이러한 방식으로 제작된 gold 패턴은 나노 크기의 바이오소자 제작을 가능하게 하며 단백질을 패턴링할 수 있는 다양한 크기의 nanopore의 제작에 활용될 수 있다. 아울러 한 가지 단백질에 국한되지 않고 여러 종류의 단백질을 고정화시킬 수 있게 수지가 각 gold 표면의 구획을 나누어 한 개의 기판 위에 여러 종류의 단백질이 패턴링되게 함은 물론 이를 기반으로 단백질의 비선택적 흡착을 최소화한 나노플랫폼 기술로 활용할 수 있다.

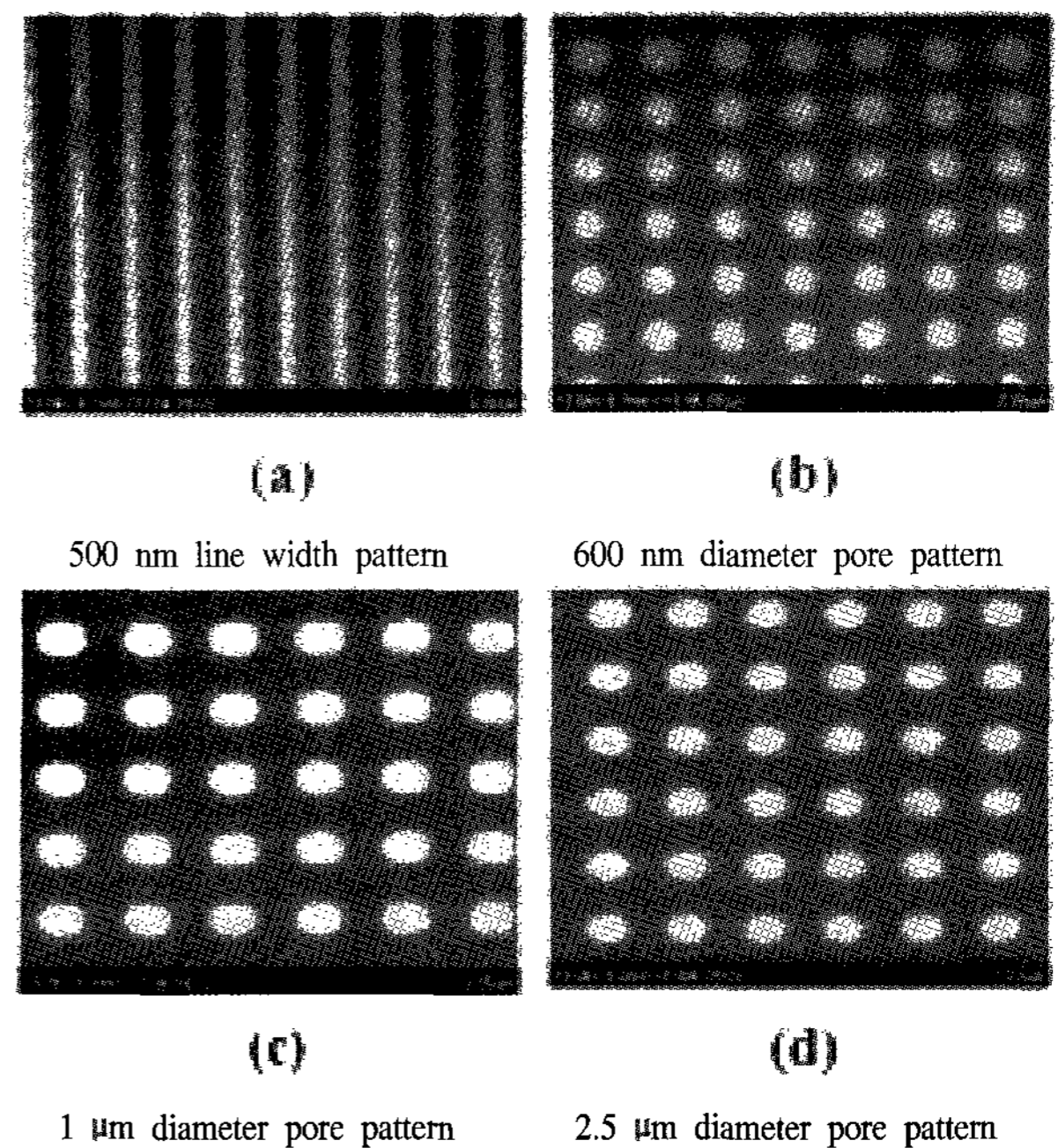


Figure 4. SEM images of imprinted patterns after O<sub>2</sub> plasma etching.

고찰

단백질 패턴링에 응용 가능한 nanopore 형태의 gold 패턴을 제작하였으며, 다양한 크기의 nanopore 를 제작하였다. 나노임프린트 기술의 핵심은 전자빔 리소그래피 등의 고급 리소그래피 기술을 이용하여 나노 스케일의 구조를 갖는 스탬프를 제작하고 그 스탬프를 고분자 박막에 각인하여 나노 스케일 구조를 전사하며, 제작된 스탬프를 반복하여 사용함으로써 빠르고 경제적으로 패턴을 제작하는 기술이다. 본 연구에서는 강한 압력으로 인한 대면적 공정의 어려움 및 기판이 깨지기 쉬운 문제 등 여러 가지 공정상의 문제점이 있는 thermal imprint 방식보다는 거의 물과 같은 점도를 가지고 있는 resin을 누르고 UV로 경화시키는 방식인 UV-assisted imprint 방식을 사용하였다. 누르는 압력이 15bar의 압력으로 thermal imprint에 비해 작으며, 이러한 UV-assisted imprint 기술의 장점을 살려 단백질 패턴링에 응용 가능한 nanopore 형태의 패턴을 제작하였다. 본 연

구를 통하여 나노임프린트 기술을 기반으로 한 패턴의 제작과 이를 이용한 단백질의 비선택적 흡착을 최소화한 바이오칩을 성공적으로 개발할 수 있다. 또한 센서 및 분자 메모리 소자 제작에도 다양하게 응용될 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구를 통하여 나노임프린트 리소그래피를 이용한 나노플랫폼 제작기술을 바탕으로 단백질 칩은 물론 DNA 칩, 세포 칩 등의 나노 스케일 다층정 바이오칩을 제작할 수 있으리라 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 나노임프린트 리소그래피를 이용하여 500 nm line, 600 nm pore, 1  $\mu$ m pore, 2.5  $\mu$ m pore의 마이크로 수준에서 나노 수준에 이르는 다양한 크기와 모양의 nanopore 형태 패턴을 제작하였다. Thermal imprint 방식과 달리 상온, 저압에서 임프린팅이 가능하며 사용되는 스탬프의 수명을 늘리고 보다 미세하고 복잡한 형태의 패턴을 제작할 수 있는 UV-assisted imprint 방식을 사용하였다. E-beam lithography로 패턴을 각인한 quartz소재의 스탬프를 사용하였으며 스탬프의 재질이 투명하여 UV 조사시 UV curable resin이 경화될 수 있도록 하였다. 또한 스탬프의 표면을 (heptadecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrodecyl) trichlorosilane의 monolayer 층으로 미리 코팅하여 임프린트 후 스탬프와 기판과의 releasing을 쉽게함과 동시에 패턴의 일부가 스탬프에 묻어 나와 전사된 패턴에 defect가 없도록 하였다.

또한, gold를 미리 증착하여 임프린팅함으로써 lift-off 시에 필요한 bi-layer 층이 필요 없게 되어 산소 플라즈마를 이용한 에칭이 더욱 쉽고 lift-off 공정이 생략될 수 있도록 하였다. 나노임프린트 공정에 있어 가장 큰 문제점은 잔여층의 생성이며 이러한 잔여층을 제거하고자 산소 플라즈마 에칭을 하였다. 에칭공정을 통해 gold의 표면이 완전히 드러났으며 산소 플라즈마를 통해 gold의 표면이 친수성으로 바뀌어 추후 단백질 고정화를 더욱 쉽게 하였다. 그리하여 나노임프린트 기술을 이용해 나노크기의 바이오소자 제작을 가능하게 하였다.

## 감 사

이 연구는 과학기술부(MOST) 나노/바이오과학기술프로그램 (M10536090001-05N3609-00110)과 환경부가 설립한 차세대핵심환경기술개발사업, 과학기술부(MOST)(2006-05374)에 의해 설립된 한국과학재단 (KOSEF)에 의해 지원되었습니다.

## REFERENCES

1. G. M. Wallraff and W. D. Hinsberg (1999), *Chem. Rev.* **99**, 1801.
2. Y. Xia, J. A. Rogers, K. E. Paul, and G. M. Whitesides (1999), *Chem. Rev.* **99**, 1823.
3. S. Y. Chou, P. R. Krauss, and P. J. Renstrom (1996), *Science* **272**, 85.
4. K. Y. Suh, Y. S. Kim, and H. H. Lee (2001), *Adv. Mater.* **13**, 1386.
5. Y. Xia and G. M. Whitesides (1995), *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 3274.
6. E. Schaffer, T. Thurn-Albrecht, T. P. Russell, and U. Steiner (2000), *Nature* **403**, 874.
7. S. Y. Chou, P. R. Krauss, and P. J. Renstrom (1995), *Appl. Phys. Lett.* **67**, 3114.
8. S. Y. Chou, P. R. Krauss, and P. J. Renstrom (1996), *J. Vac. Sci. Technol. B* **14**(6), 4129.
9. J. Haisma, M. Verheijen, and K. Heuvel (1996), *J. Vac. Sci. Technol. B* **14**(6), 4124.