



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2010년04월09일
(11) 등록번호 10-0952330
(24) 등록일자 2010년04월05일

(51) Int. Cl.

G01N 35/00 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0131097

(22) 출원일자 2008년12월22일

심사청구일자 2008년12월22일

(56) 선행기술조사문헌

US7338778 B2

US5876959 A

논문1: Assay and drug development technologies

(73) 특허권자

고려대학교 산학협력단

서울 성북구 안암동5가1 고려대학교 내

(72) 발명자

박정호

서울시 강남구 대치3동 우성2차아파트 205동 901호

박정일

서울특별시 성북구 안암동5가 고려대학교자연계캠퍼스 공학관534호

김영미

서울특별시 강남구 대치3동 우성2차아파트 205동 901호

(74) 대리인

박보경, 송경근

전체 청구항 수 : 총 12 항

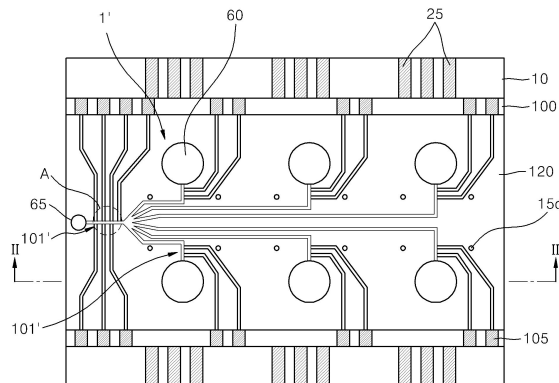
심사관 : 양성연

(54) 세포 계수기가 집적된 세포 호흡량 측정용 멀티 산소 센서 및 그 제작 방법

(57) 요약

세포 계수기가 집적된 세포 호흡량 측정용 멀티 산소 센서 및 그 제작 방법을 제공한다. 본 발명에 따른 센서는, 세포 용액을 주입하는 하나의 세포 용액 주입구로부터 분지하는 복수의 채널에 한 개씩 연결되며 상기 세포 용액 내의 용존 산소량을 측정하는 산소 센서가 배열되어 있고, 세포 개수를 세는 세포 계수기가 상기 세포 주입구와 상기 복수의 채널 각각에 집적되어 있는 것을 특징으로 하는 센서이다. 본 발명에 따르면, 단일 센서가 아닌 멀티 센서로 동시에 여러 샘플을 측정할 수 있고 세포의 개수를 셀 수 있는 세포 계수기가 집적되어 있어 정확한 분석을 할 수 있다.

대 표 도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R0120060001137102008

부처명 한국과학재단

연구사업명 특정기초연구

연구과제명 항온시스템이 내장된 멀티채널 용존산소 측정센서의 개발

주관기관 고려대학교

연구기간 2008년03월01일~2009년02월28일

특허청구의 범위

청구항 1

세포 용액을 주입하는 하나의 세포 용액 주입구로부터 분지하는 복수의 채널에 한 개씩 연결되며 상기 세포 용액 내의 용존 산소량을 측정하는 산소 센서가 배열되어 있고, 세포 개수를 세는 세포 계수기가 상기 세포 주입구와 상기 복수의 채널 각각에 집적되어 있는 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 2

제1 기관;

상기 제1 기관 상에 본딩되어 상기 제1 기관과의 사이에 복수의 챔버를 정의하고 상기 챔버 상에 산소를 선택적으로 투과시킬 수 있는 각각의 멤브레인을 갖는 멤브레인 기관; 및

상기 각 챔버 내에 상기 제1 기관 상으로 형성된 전극;을 포함하는 산소 센서 소자와,

상기 각각의 멤브레인에 대응하는 구멍이 형성된 제2 기관;

상기 제2 기관의 구멍에 대응하는 위치에 구멍이 형성되어 있고, 세포 용액을 주입하는 세포 주입구가 형성되어 있으며, 상기 제2 기관 상에 본딩되어 상기 제2 기관과의 사이에 상기 세포 용액이 상기 각 멤브레인 상으로 유입될 수 있도록 하는 채널을 정의하는 채널 기관; 및

상기 세포 주입구 부분 및 상기 멤브레인과의 연결 부분 채널에 각각 형성된 전극을 포함하는 세포 계수기 소자가 적층된 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 제2 기관의 구멍과 상기 채널 기관의 구멍은 상기 멤브레인 위로 상기 세포 용액을 담을 수 있는 레저보아(reservoir)를 형성하는 것을 특징으로 하는 센서.

청구항 4

제1 기관 상에 전극을 형성하는 단계;

상기 제1 기관 상에 본딩되어 상기 전극 위로 상기 제1 기관과의 사이에 복수의 챔버를 정의하고 상기 챔버 상에 산소를 선택적으로 투과시킬 수 있는 각각의 멤브레인을 갖도록 멤브레인 기관을 형성하는 단계; 및

상기 제1 기관과 상기 멤브레인 기관을 본딩하는 단계를 포함하는 산소 센서 소자 제작 단계와,

상기 각각의 멤브레인에 대응하는 구멍이 형성된 제2 기관 상에 전극을 형성하는 단계;

상기 제2 기관의 구멍에 대응하는 위치에 구멍이 형성되어 있고, 세포 용액을 주입하는 세포 주입구가 형성되어 있으며, 상기 제2 기관 상에 본딩되어 상기 제2 기관과의 사이에 상기 세포 용액이 상기 각 멤브레인 상으로 유입될 수 있도록 하는 채널을 정의하도록 채널 기관을 형성하는 단계; 및

상기 제2 기관과 상기 채널 기관을 본딩하는 단계를 포함하는 세포 계수기 소자 제작 단계와,

상기 산소 센서 소자와 상기 세포 계수기 소자를 적층하여 본딩하는 단계를 포함하는 센서 제작 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 전극은 Ti/Pt, Ti/Au 또는 Ti/Ag로 형성하는 것을 특징으로 하는 센서 제작 방법.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 전극이 형성된 제1 기관 위에 상기 챔버와 전극 리드간의 패시베이션(passivation)을 위한 패시베이션층을 형성하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 센서 제작 방법.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 멤브레인 기관과 채널 기관은 PDMS(Polydimethylsiloxane) 기관을 사용하는 것을 특징으로

로 하는 센서 제작 방법.

청구항 8

제4항 또는 제7항에 있어서, 상기 제1 기판과 제2 기판은 유리, 실리콘, 금속 산화물 및 플라스틱 물질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 물질을 사용하는 것을 특징으로 하는 센서 제작 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 제1 기판과 상기 멤브레인 기판을 본딩하는 단계와, 상기 제2 기판과 상기 채널 기판을 본딩하는 단계는 산소 플라즈마 처리를 통해 형성된 -OH기로부터 Si-O-Si 공유 결합을 유도하여 접착하는 것을 특징으로 하는 센서 제작 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 산소 플라즈마 처리 전에 3-APTES(실란 프라이머) 처리하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 센서 제작 방법.

청구항 11

제4항에 있어서, 상기 전극이 형성된 제2 기판 위에 불필요하게 노출된 전극을 패시베이션하기 위해 패시베이션층을 형성하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 센서 제작 방법.

청구항 12

제4항에 있어서, 상기 제2 기판의 구멍과 상기 채널 기판의 구멍이 상기 멤브레인 위로 세포 용액을 담을 수 있는 레저보어를 형성하도록 상기 산소 센서 소자와 상기 세포 계수기 소자를 정렬하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 센서 제작 방법.

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미세유동 장치(microfluidic device) 및 그 제작 방법에 관한 것으로 넓게 정의될 수 있고, 더욱 상세하게는 세포 용액을 이동시켜 세포의 산소 호흡량을 측정하는 미세유동 장치 형태의 산소 센서 및 그 제작 방법에 관한 것이다. "미세유동 장치"란 일반적으로 입구 및 출구로 구성되는 유체 포트(port)가 마이크로 채널 또는 마이크로 챔버와 같은 미세구조에 의하여 연결된 장치로서, 적은 양의 유체가 이동할 수 있는 장치를 말한다. 이러한 장치는 화학적 검출 및 측정을 위한 전기화학적 센서로서 사용될 수 있다. 또한, 상기 장치는 약물 탐색 및 진단을 위한 랩 온 어 칩(lab on a chip)과 같은 분석 장치로서 이용될 수 있다.

배경 기술

[0002] 생체의료 분야에서 세포의 산소 호흡량 측정은 대사증후군의 발병 원인을 규명하고 치료제를 개발하는 데 매우 중요한데, 세포의 산소 호흡량을 측정하기 위한 방법으로 전기화학적 분석법을 이용하고 있으며, 대표적인 것이 클락-타입(Clark-type) 센서이다. 많은 연구자들이 반도체 공정을 이용하여 이 산소 센서를 소형화시키기 위한 연구를 해 오고 있다.

[0003] 세포의 산소 호흡량 측정시, 세포의 개수는 중요한 요소이므로 정확한 세포의 개수를 아는 것이 중요하다. 세포의 개수를 세는 장치 중에 범용으로 사용되는 것 중에 혈구 계산기라고도 하는 헤모사이토미터(hemocytometer)가 있는데, 이는 현미경을 이용하여 육안으로 세포를 세야 하는 방법이기에 세포를 정확하게 세는 것은 어려운 일이고 많은 시간이 소비된다. 다른 하나는 월러스 에이치 쿨터(Wallace H. Coulter)가 발명한 입자 계수기(particle counter)로, 이는 쿨터 카운터(Coulter counter)라는 이름으로 상품화되었고, 반도체 공정을 이용하여 소형화하는 연구가 진행되고 있다.

[0004] 세포의 특성상, 세포를 상온에서 방치할 경우 세포의 호흡 활성은 급격히 감소하여 거의 활성이 사라지게 되므로 여러 샘플의 호흡 활성도를 동시에 측정하기 위해서는 멀티 형태의 센서를 개발하는 것이 중요하다. 또한,

정확한 분석을 위해서는 세포의 개수 및 농도를 신속하고 정확하게 파악하는 것이 중요하다.

[0005] 하지만 기존의 산소 센서는 단일 센서로 제작되어 여러 샘플을 동시에 측정할 수 없는 단점이 있다. 뿐만 아니라 세포 계수기와 산소 센서가 별개의 소자로 운용이 되므로, 세포 계수기를 이용하여 세포의 개수를 측정한 후 세포의 호흡 활성도 측정을 위해 산소 센서로 이동하는 동안 시간이 많이 소비되며, 외부 영향으로 인해 세포의 호흡 활성도가 급격히 감소하게 되는 문제가 있다.

[0006] 그리고, 기존의 미세유동 장치 형태의 산소 센서는 혈액의 산소 포화도 측정을 목적으로 하였거나, 세포의 산소 호흡량 측정을 위해 개발된 센서라도 출력값의 범위가 작아 산소 농도 구별이 어렵다는 단점이 있다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0007] 본 발명은 상기의 문제를 해결하기 위해 안출된 것으로, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 여러 샘플의 호흡 활성도를 동시에 측정하는 멀티 형태의 산소 센서와 정확한 분석을 위해 세포의 개수를 파악할 수 있는 세포 계수기가 집적된 센서 및 그 제작 방법을 제공하는 것이다.

과제 해결수단

[0008] 상기 기술적 과제를 해결하기 위한 본 발명에 따른 센서는, 세포 용액을 주입하는 하나의 세포 용액 주입구로부터 분지하는 복수의 채널에 한 개씩 연결되며 상기 세포 용액 내의 용존 산소량을 측정하는 산소 센서가 배열되어 있고, 세포 개수를 세는 세포 계수기가 상기 세포 주입구와 상기 복수의 채널 각각에 집적되어 있는 것을 특징으로 하는 센서이다.

[0009] 일 구성에 따르면, 본 발명에 따른 센서는 산소 센서 소자와 세포 계수기 소자가 적층된 것이다.

[0010] 여기서 상기 산소 센서 소자는, 제1 기판, 상기 제1 기판 상에 본딩되어 상기 제1 기판과의 사이에 복수의 챔버를 정의하고 상기 챔버 상에 산소를 선택적으로 투과시킬 수 있는 각각의 멤브레인을 갖는 멤브레인 기판, 및 상기 각 챔버 내에 상기 제1 기판 상으로 형성된 전극을 포함한다.

[0011] 상기 세포 계수기 소자는 상기 각각의 멤브레인에 대응하는 구멍이 형성된 제2 기판, 상기 제2 기판의 구멍에 대응하는 위치에 구멍이 형성되어 있고, 세포 용액을 주입하는 세포 주입구가 형성되어 있으며, 상기 제2 기판 상에 본딩되어 상기 제2 기판과의 사이에 상기 세포 용액이 상기 각 멤브레인 상으로 유입될 수 있도록 하는 채널을 정의하는 채널 기판, 및 상기 세포 주입구 부분 및 상기 멤브레인과의 연결 부분에 각각 형성된 전극을 포함한다.

[0012] 상기 센서에 있어서, 상기 제2 기판의 구멍과 상기 채널 기판의 구멍은 상기 멤브레인 위로 상기 세포 용액을 담을 수 있는 레저보아(reservoir)를 형성한다.

[0013] 상기 기술적 과제를 해결하기 위한 본 발명에 따른 센서 제작 방법은, 산소 센서 소자 제작 단계, 세포 계수기 소자 제작 단계, 그리고 상기 산소 센서 소자와 상기 세포 계수기 소자를 적층하여 본딩하는 단계를 포함한다.

[0014] 상기 산소 센서 소자 제작 단계는, 제1 기판 상에 전극을 형성하는 단계, 상기 제1 기판 상에 본딩되어 상기 전극 위로 상기 제1 기판과의 사이에 복수의 챔버를 정의하고 상기 챔버 상에 산소를 선택적으로 투과시킬 수 있는 각각의 멤브레인을 갖도록 멤브레인 기판을 형성하는 단계, 및 상기 제1 기판과 상기 멤브레인 기판을 본딩하는 단계를 포함한다.

[0015] 상기 세포 계수기 소자 제작 단계는 상기 각각의 멤브레인에 대응하는 구멍이 형성된 제2 기판 상에 전극을 형성하는 단계, 상기 제2 기판의 구멍에 대응하는 위치에 구멍이 형성되어 있고, 세포 용액을 주입하는 세포 주입구가 형성되어 있으며, 상기 제2 기판 상에 본딩되어 상기 제2 기판과의 사이에 상기 세포 용액이 상기 각 멤브레인 상으로 유입될 수 있도록 하는 채널을 정의하도록 채널 기판을 형성하는 단계, 및 상기 제2 기판과 상기 채널 기판을 본딩하는 단계를 포함한다.

[0016] 상기 제작 방법에 있어서, 상기 전극은 Ti/Pt, Ti/Au 또는 Ti/Ag로 형성할 수 있고, 상기 전극이 형성된 제1 기판 위에 상기 챔버와 전극 리드간의 패시베이션(passivation)을 위한 패시베이션층을 형성하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0017] 또한, 상기 멤브레인 기관과 채널 기관은 PDMS(Polydimethylsiloxane) 기관을 사용할 수 있고, 상기 제1 기관과 제2 기관은 유리, 실리콘, 금속 산화물 및 플라스틱 물질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 물질을 사용할 수 있다.

[0018] 이 경우, 상기 제1 기관과 상기 멤브레인 기관을 본딩하는 단계와, 상기 제2 기관과 상기 채널 기관을 본딩하는 단계는 산소 플라즈마 처리를 통해 형성된 -OH기의 공유결합으로 접착하는 것이 바람직하며, 경우에 따라서는 상기 산소 플라즈마 처리 전에 3-APTES(실란 프라이머) 처리하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0019] 뿐만 아니라, 상기 전극이 형성된 제2 기관 위에 불필요하게 노출된 전극을 패시베이션하기 위해 패시베이션층을 형성하는 단계를 더 포함할 수 있으며, 상기 제2 기관의 구멍과 상기 채널 기관의 구멍이 상기 멤브레인 위로 세포 용액을 담을 수 있는 레저보아를 형성하도록 상기 산소 센서 소자와 상기 세포 계수기 소자를 정렬하는 단계를 더 포함할 수 있다.

효 과

[0020] 본 발명에 따르면, 복수의 산소 센서와 세포 계수기를 융합하여 센서를 제작한다. 멀티 타입의 산소 센서를 구성한 형태라서 하나의 세포 용액에 대해 2개 이상의 시약을 처리하는 경우 여러 가지 특성을 동시에 측정할 수 있다. 동시 측정이 가능하므로 세포의 활성도가 높을 때 여러 샘플을 측정할 수 있어 정확한 분석이 가능하다. 정확한 분석을 위해 세포의 개수를 셀 수 있는 세포 계수기를 집적화하므로 헤모사이토미터를 사용하는 것보다 더 정확하게 세포의 양을 측정할 수 있다. 따라서, 생체의료 분야에서 세포의 산소 호흡량의 측정용 센서로 유용하게 사용될 수 있다.

[0021] 또한, 세포 계수기와 산소 센서를 집적하는 형태이지만, 산소 센서 이외에도 다른 전기화학적 센서뿐만 아니라 미세유체공학 시스템과 일체형으로 제작이 가능하도록 미세유동 장치 타입으로 형성된다. 전극의 간격 및 채널의 폭, 높이에 따라 다양한 크기의 세포를 측정할 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0022] 이하, 첨부 도면들을 참조하면서 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 그러나 본 발명의 실시예는 여러 가지 다른 형태로 변형될 수 있으며, 본 발명의 범위가 아래에서 상술하는 실시예로 한정되는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위하여 제공되는 것이다. 도면에서의 요소의 형상 등은 보다 명확한 설명을 강조하기 위해서 과장되어진 것이며, 도면 상에서 동일한 부호로 표시된 요소는 동일한 요소를 의미한다.

[0023] 앞서 언급한 종래 기술의 문제를 해결하기 위해, 본 발명에서는 한 기관에 2개 이상의 산소 센서를 구성하여 여러 샘플을 동시에 측정할 수 있을 뿐만 아니라, 여기에 세포 계수기를 집적하여 세포 용액 속에 있는 세포의 개수를 세는 동시에 세포 호흡량의 미소한 변화를 측정하여 비교하고 분석할 수 있는 멀티 형태의 랩 온 어 칩형 센서를 구현한다.

수학식 1

$$I(t)=nFAP_m\left(\frac{\partial C}{\partial x}\right)_{x=0} \quad (1)$$

[0024] n : 전자 개수(the number of electrons)

[0025] F : 패러데이 상수(Faraday's constant)

[0026] A : 작업전극의 면적(surface area of the working electrode)

[0027] P_m : 멤브레인의 산소 투과율(permeability of the membrane)

[0028] 또한 상기 수학식 1을 토대로 산소 센서의 작업전극의 표면적(A)을 늘리고 산소 투과율(P_m)이 높은 멤브레인을 이용하여 출력 전류의 범위를 높일 수 있다.

[0029] 도 1은 본 발명에 따른 센서의 평면 개념도이고, 도 2는 도 1의 II-II' 단면도이다. 도 3은 도 2에서 산소 센서 부분(B)의 확대도이고, 도 4는 도 1에서 세포 계수기 부분(A)의 확대도이다.

- [0031] 도 1 및 도 2에 도시한 바와 같이, 본 발명에 따른 센서는 크게 산소 센서 소자(1)와 세포 계수기 소자(101)의 두 부분으로 나누어지며, 특히 산소 센서 소자(1) 위에 세포 계수기 소자(101)가 적층되어 하나의 칩 형태로 집적되어진 구조를 갖는다.
- [0032] 산소 센서 소자(1)는 복수의 산소 센서(1')를 포함한다. 산소 센서(1')는 세포 용액을 주입하는 하나의 세포 용액 주입구(65)로부터 분지하는 복수의 채널(70)에 한 개씩 연결되어 있으며, 세포 용액 주입구(65)에 주입된 세포 용액 내의 용존 산소량을 측정하는 것인데, 도 1에 도시한 바와 같이 평면 상에 복수가 배열되어 있을 수도 있지만 공간 상에 높이 차를 두고 여러 개가 배열되어 있을 수도 있다.
- [0033] 한편, 세포 계수기 소자(101)는 복수의 세포 계수기(101')를 포함하는데, 세포 계수기(101')는 세포 주입구(65)와 복수의 채널(70) 각각에 집적되어 있으며, 채널(70)을 따른 세포 용액 이동시 임피던스 변화를 측정하여 세포 개수를 세게 된다. 임피던스 변화 측정 대신에 광학적인 측정을 이용하는 세포 계수기를 집적할 수도 있다.
- [0034] 도 3에서 더욱 자세히 보는 바와 같이, 각각의 산소 센서 소자(1)는 제1 기관(10) 위에 전기화학적 측정을 위한 내부 전해질(예컨대 0.1M KCl)(20)이 담기는 챔버(15)와, 챔버(15) 내에 제1 기관(10) 상으로 형성되어 배치된 3-전극(작업전극, 상대전극, 기준전극)(30), 그리고 산소를 선택적으로 투과시킬 수 있는 멤브레인(50)을 챔버(15) 상에 가진 멤브레인 기관(55)으로 구성된다. 내부 전해질(20)은 센서 상면에서부터 내부로 이어지는 주입구(도 1에서는 상면의 주입구(15c)만 보임)를 통해 챔버(15)에 주입되어 채워진다.
- [0035] 챔버(15)는 제1 기관(10)과 멤브레인 기관(55)의 본딩에 의해 형성되며, 이를 위해 멤브레인 기관(55)은 제1 기관(10)과의 사이에 챔버(15)를 정의하도록 그 위치에 멤브레인(50)을 구비하게 가공된 것이다. 3-전극(30) 주변으로는 SU-8, 광경화성 에폭시 수지)과 같은 물질로 패시베이션층(35)이 형성되어 있다. 패시베이션층(35)은 챔버(15)와 전극 리드간의 패시베이션을 위한 것이다.
- [0036] 세포 용액을 담을 수 있는 부분인 레저보아(reservoir)(60)는 산소 센서(1) 위로 집적된 세포 계수기(101)에서의 구멍(60', 60'')을 이용하게 된다. 이 때 챔버(15), 내부 전해질(20), 3-전극(30), 멤브레인(50) 및 레저보아(60)가 하나의 산소 센서(1')를 구성한다고 볼 수 있다. 3-전극(30)은 도 1에서 보는 바와 같이 제1 기관(10) 상에 형성된 전극 패드(25)로 연결된다.
- [0037] 상기 제1 기관(10)은 유리, 실리콘, 금속 산화물 및 플라스틱 물질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 물질일 수 있다. 바람직하게는 빛에 투명한 파이렉스 유리(pyrex glass)이나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다. 상기 멤브레인 기관(55)은 PDMS(Polydimethylsiloxane) 기관을 사용할 수 있다.
- [0038] 각 산소 센서(1')의 측정 원리는 세포 용액 내의 용존 산소가 멤브레인(50)을 투과하여 내부 전해질(20)로 이동하고, 이동한 산소는 음전위가 인가된 작업전극에서 환원되고, 이 환원 전류를 측정함으로써 용존 산소의 농도를 분석하는 것이다.
- [0039] 다시 도 2에서 보는 바와 같이, 세포 계수기 소자(101)는 제2 기관(100) 위에 전극(110), 그리고 채널 기관(120)으로 구성된다. 전극(110) 주변에는 불필요하게 노출된 전극을 패시베이션하기 위해 패시베이션층(115)을 더 포함할 수도 있다.
- [0040] 제2 기관(100)과 채널 기관(120)은 산소 센서(1')의 레저보아(60)로 사용될 구멍(60', 60'')이 각각의 멤브레인(50)에 대응하는 위치에 형성되어 있다. 도 1에 도시한 바와 같이, 채널 기관(120)에는 세포 주입구(65)가 형성되어 있으며, 제2 기관(100)과 채널 기관(120) 사이에 유체가 흐르는 채널(70)이 정의되도록 가공되어 있어, 세포 용액이 각 멤브레인(50) 상으로 유입될 수 있도록 제2 기관(100)과의 본딩에 의해 채널(70)을 형성하게 된다.
- [0041] 또한, 상기 제2 기관(100)도 제1 기관(10)과 마찬가지로 유리, 실리콘, 금속산화물 및 플라스틱 물질로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 물질일 수 있으나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다. 상기 채널 기관(120)도 PDMS 기관을 사용할 수 있다.
- [0042] 전극(110)은 세포 주입구(65) 부분 및 멤브레인(50)과의 연결 부분 채널(70)에 형성되어 있으며 도 1에서 보는 바와 같이 제2 기관(100) 상에 형성된 전극 패드(105)로 연결된다. 이에 따라, 세포 주입구(65) 채널과 산소 센서로 이어지는 채널(70)로 세포가 지나갈 때 임피던스(저항) 변화를 측정하여 세포의 개수를 계수하는 세포 계수기(101')가 구현된다.
- [0043] 도 4에서 보는 바와 같이, 세포 주입구(65) 부분에는 2개 이상의 채널(70)이 분기하여 나누어져 있고 각 채널

(70)들은 각각의 산소 센서(1')로 연결된다. 세포 주입구(65) 부분에 샘플인 세포 용액을 넣으면 랜덤하게 세포가 채널(70)을 통해 각 산소 센서(1')로 흘러가게 되고, 각 채널(70)로 흘러 들어간 세포의 양은 세포 계수기(101')로 측정하는 것이다. 각 산소 센서(1')의 레지보아(60)에 서로 다른 시약을 주입시켜 서로 다른 조건에서 세포의 산소 호흡량을 측정할 수 있으므로 세포 활동량이 떨어지기 전에 여러 가지 측정을 정확하게 동시에 할 수 있다. 세포 계수기(101')의 전극(110)의 크기는 동일하며 동일한 간격을 가지고 있다. 다양한 크기의 세포를 측정하기 위해서는 채널(70)의 크기 및 채널(70) 크기에 맞는 전극의 면적을 고려해야 한다. 유체의 이동은 세포 주입구(65)에서 밀어주는 압력에 의존한다. 이렇게 구성된 센서는 랩 온 어 칩 개념의 센서로 동작하게 된다.

[0044] 상술한 바와 같은 본 발명에 따른 센서는 산소 센서 소자(1)와 세포 계수기 소자(101)를 각각 제작한 후 본딩하여 제작하게 되는데, 이 때의 순서도는 도 5와 같으며, 도 6 내지 도 11은 산소 센서 소자 제작 공정의 사시도 또는 단면도이고, 도 12 내지 도 16은 세포 계수기 소자 제작 공정의 사시도 또는 단면도이며, 도 17 및 도 18은 본 발명에 따른 센서의 사시도와 단면도이다.

[0045] 도 5 내지 도 18을 참조하여 본 발명에 따른 센서 제작 방법을 설명하면 다음과 같다.

[0046] 산소 센서 소자 제작 공정(도 5의 단계 S)

[0047] 제1 기판(10), 예를 들면 파이렉스 유리(pyrex glass 7740) 기판을 세척한다(도 5의 단계 S1). 도 6은 제1 기판(10)의 사시도이다. 세척 방법은 아세톤을 이용한 초음파 세척(5분), 메탄올을 이용한 초음파 세척(5분) 및 탈이온수 세척(5분)을 이용할 수 있다.

[0048] 다음으로 산소 센서(1')에서의 전기화학적 전극 및 필요한 경우 온도 센서 제작을 위해 Ti/Au 증착 및 패터닝을 실시한다(도 5의 단계 S2).

[0049] 증착에는 전자빔 진공증착 또는 열 증착(E-beam/thermal evaporation) 장비를 이용할 수 있으며, Ti/Au의 두께는 500Å/2500Å으로 할 수 있다. Ti/Au 증착 후에는 포토레지스트 패터를 형성하고 이를 통해 Ti/Au를 습식 식각한 후 포토레지스트 패터를 제거함으로써, 도 7에 도시한 바와 같이 전극 패드(25), 전기화학적 전극인 3-전극(30) 중 상대전극(31)과 작업전극(32)을 형성하고 3-전극(30)을 둘러싸는 형태로 온도 센서(34)도 형성한다. 이 때 상기 수학적 1을 토대로 작업전극(32)의 표면적(A)을 늘려 출력 전류의 범위를 높일 수 있다.

[0050] 다음으로 3-전극(30) 중 기준전극 제작을 위해 Ti/Ag 증착 및 패터닝을 실시한다(도 5의 단계 S3).

[0051] Ti/Ag 증착에도 전자빔 진공증착 장비를 이용할 수 있으며, Ti/Ag의 두께도 500Å/2500Å으로 할 수 있다. Ti/Ag 증착 후에는 포토레지스트 패터를 형성하고 이를 통해 Ti/Ag를 습식 식각한 후 포토레지스트 패터를 제거함으로써, 도 8에 도시한 바와 같이 기준전극(33)을 형성한다.

[0052] 상기의 과정을 통해 3-전극(30)이 형성된 제1 기판(10) 위에 패시베이션층(35)을 형성한다(도 5의 단계 S4). 이것은 내부 전해질이 담기는 챔버(15)와 전극 리드간의 패시베이션을 위해서이다. 도 9는 패시베이션된 상태의 기판 사시도이다. 특히 본 실시예에서는 작업전극(32)이 5개의 블록을 갖도록 패터닝하기 때문에 이 부분의 패시베이션층(35)도 5개의 스트립 모양으로 형성된다.

[0053] 상기 패시베이션층(35)은 당업계에 알려진 임의의 방법에 의하여 형성될 수 있다. 예를 들면, MICROCHEM사, 미국으로부터 구입할 수 있는 음성 포토레지스트 물질인 SU-8을 스핀 코팅한 후 패시베이션이 필요한 부위를 노광하여 노광된 부분의 (화학)결합을 변형시킨 후 현상하여 남기는 것이다.

[0054] 다음에, 제1 기판(10)과 멤브레인 기판(55) 본딩을 실시한다(도 5의 단계 S5).

[0055] 본 실시예에서는 멤브레인 기판(55)으로서 PDMS 기판을 사용한다. 우선, 멤브레인(50)을 소정 위치에 형성하도록 PDMS 멤브레인 몰드를 패터닝한다. 이 때 챔버(15)로 전해질 용액을 주입할 수 있는 주입구(15a)도 형성될 수 있도록 몰드를 패터닝한다. 이 PDMS 멤브레인 몰드를 이용하여 멤브레인(50)을 제작한다.

[0056] 3-전극(30)이 패터닝된 제1 기판(10)과 이 멤브레인(50)이 형성된 멤브레인 기판(55)을 산소 플라즈마 처리한 후 본딩한다. 도 10은 제1 기판(10)과 멤브레인 기판(55) 본딩 후의 사시도이고 도 11은 도 10의 XI-XI' 단면도이다. PDMS는 산소 플라즈마 처리를 통해 형성된 -OH기로부터 Si-O-Si 공유 결합을 유도하여 접착을 하기 때문에 접착 공정이 간단하다. 또한 PDMS는 산소 투과율(P_o)이 높기 때문에 수학적 1에서의 출력 전류의 범위를 높일 수 있다.

- [0057] 상기의 과정을 통해 산소 센서 소자(1) 제작이 완료된다.
- [0058] 세포 계수기 소자 제작 공정(도 5의 단계 T)
- [0059] 제2 기판(100), 예를 들면 아크릴 기판을 세척한다(도 5의 단계 T1). 제2 기판(100)은 도 12에 사시도로 도시한 바와 같이 구멍(60')을 가진다. 또한, 챔버(15)로 전해질 용액을 주입할 수 있는 주입구(15a)에 대응되는 주입구(15b)도 가진다. 구멍(60')과 주입구(15b)는 레이저 가공 기법 또는 드릴을 이용하여 형성한 것이다. 세척 방법은 메탄올을 이용한 초음파 세척(1분) 및 탈이온수 세척(5분)을 이용할 수 있다.
- [0060] 다음으로 Ti/Au 증착 및 패터닝을 실시한다(도 5의 단계 T2).
- [0061] 증착에는 전자빔 진공증착 장비를 이용할 수 있으며, Ti/Au의 두께는 500Å/2500Å으로 할 수 있다. Ti/Au 증착 후에는 포토레지스트 패턴을 형성하고 이를 통해 Ti/Au를 습식 식각한 후 포토레지스트 패턴을 제거함으로써, 도 13에 도시한 바와 같이 전극 패드(105)와 전극(110)을 형성한다.
- [0062] 전극(110)이 패터닝된 제2 기판(100) 위에 폴리이미드와 같은 패시베이션층(115)을 도포한다(도 5의 단계 T3). 이것은 세포 계수기에서 불필요하게 노출된 전극을 패시베이션하기 위해서이다. 도 14는 패시베이션된 상태의 기판 사시도이다. 원 안에 하얗게 오프닝된 부분(0)이 사용할 전극(110)의 일부분이다.
- [0063] 다음에, 제2 기판(100)과 채널 기판(120) 본딩을 실시한다(도 5의 단계 T4).
- [0064] 본 실시예에서는 채널 기판(120)으로서 PDMS 기판을 사용한다. 우선, PDMS 몰드를 패터닝한다. 이 PDMS 몰드를 이용하여 제2 기판(100)의 구멍(60')에 대응되는 위치에 구멍(60")이 있고 주입구(15b)에 대응되는 주입구(15c)도 가지며 세포 용액이 흐를 수 있는 채널(70)이 형성된 PDMS 채널 기판(120)을 제작한다. 전극(110)이 패터닝된 제2 기판(100)에 3-APTES(실란 프라이머) 처리 후, 이 제2 기판(100)과 채널 기판(120)을 산소 플라즈마 처리한 후 본딩한다. 도 15는 제2 기판(100)과 채널 기판(120) 본딩 후의 사시도이고 도 16은 도 15의 XVI' 단면도이다.
- [0065] PDMS를 PDMS나 유리, 실리콘과 접착할 때는 산소 플라즈마 처리만으로 확실한 접착이 이루어지지만, PDMS를 제외한 다른 종류의 폴리머(아크릴)와의 접착은 안 되거나 약한 접착력을 갖는다. 따라서, 아크릴 기판을 먼저 3-ATPES로 표면 처리한 후 산소 플라즈마 처리하면 -OH기를 형성시킬 수 있기 때문에 PDMS와 아크릴 기판간의 견고한 접합이 가능하다.
- [0066] 상기의 과정을 통해 세포 계수기 소자(101) 제작이 완료된다.
- [0067] 산소 센서 소자와 세포 계수기 소자 본딩 공정(도 5의 단계 U)
- [0068] 단계 S1 내지 S5를 통해 제조한 산소 센서 소자(1)와 단계 T1 내지 T4를 통해 제조한 세포 계수기 소자(101)에 3-APTES 처리 후, 산소 플라즈마 처리하여 본딩한다. 도 17은 산소 센서 소자와 세포 계수기 소자 본딩 후의 사시도이고 도 18은 도 17의 XVIII-XVIII' 단면도이다.
- [0069] 본딩 전에 산소 센서 소자(1)와 세포 계수기 소자(101)에서 레저보아(60)와 구멍(60', 60")이 서로 대응되도록 정렬하는 단계를 포함한다. 본 발명의 방법에 있어서, 산소 센서 소자(1)와 세포 계수기 소자(101)를 서로 대응되는 위치에 정렬하는 것은 수작업 또는 장치(aligner)를 이용하여 자동으로 이루어질 수 있다.
- [0070] 이후 센서의 사용은 주입구(15a, 15b, 15c)를 통해 내부 전해질(20)을 챔버(15)에 채운 후, 세포 용액 주입구(65)에 세포 용액을 주입하여 각 레저보아(60)로 이동시키면서 세포 계수기(101')를 통해 각 레저보아(60)로 이동되는 세포의 개수를 측정하며, 각 레저보아(60)에는 서로 다른 종류의 시약을 넣어 세포 용액과 반응시킴으로써 각 산소 센서(1')에서 세포의 산소 호흡량을 동시에 측정하게 된다.
- [0071] 이상, 본 발명을 바람직한 실시예를 들어 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 상기 실시예에 한정되지 않으며, 본 발명의 기술적 사상 내에서 당 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의하여 여러 가지 많은 변형이 가능함은 명백하다. 본 발명의 실시예들은 예시적이고 비한정적으로 모든 관점에서 고려되었으며, 이는 그 안에 상세한 설명 보다는 첨부된 청구범위와, 그 청구범위의 균등 범위와 수단내의 모든 변형예에 의해 나타난 본 발명의 범주를 포함시키려는 것이다.

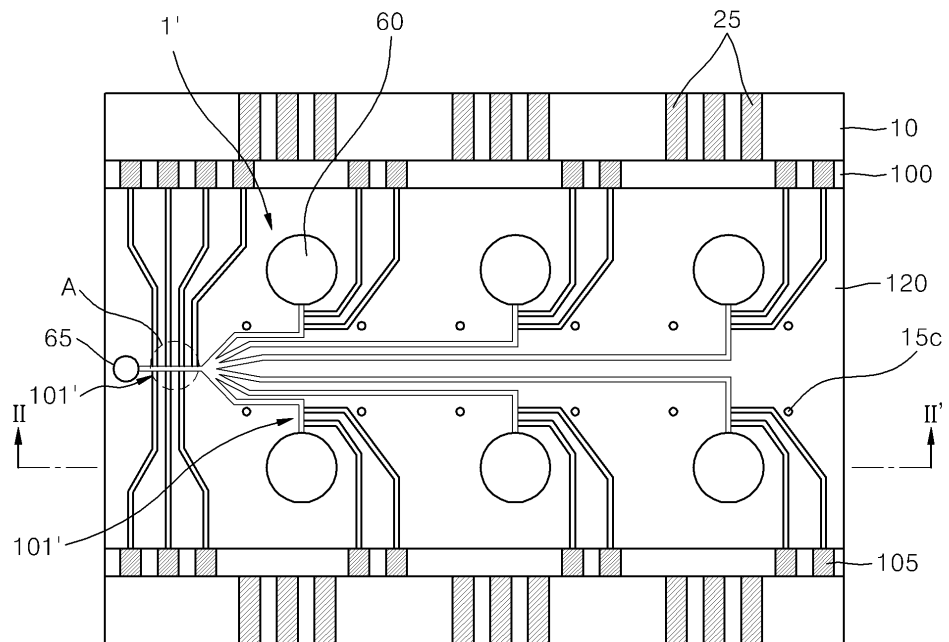
도면의 간단한 설명

- [0072] 도 1은 본 발명에 따른 센서의 평면 개념도이다.

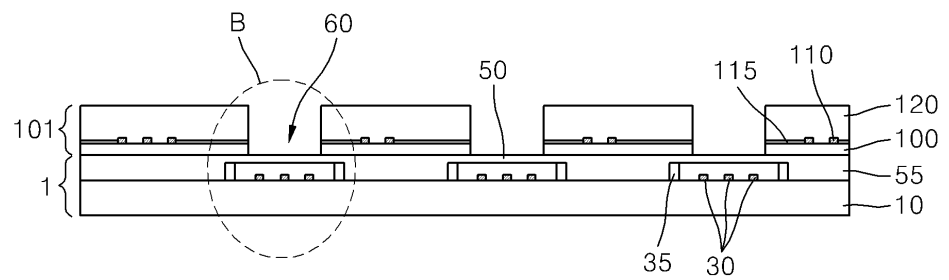
- [0073] 도 2는 도 1의 II-II' 단면도이다.
- [0074] 도 3은 도 2에서 산소 센서 부분(B)의 확대도이다.
- [0075] 도 4는 도 1에서 세포 계수기 부분(A)의 확대도이다.
- [0076] 도 5는 본 발명에 따른 센서 제작의 순서도이다.
- [0077] 도 6 내지 도 11은 본 발명에 따른 산소 센서 소자 제작 공정의 사시도 또는 단면도이다.
- [0078] 도 12 내지 도 16은 본 발명에 따른 세포 계수기 소자 제작 공정의 사시도 또는 단면도이다.
- [0079] 도 17 및 도 18은 본 발명에 따른 센서의 사시도와 단면도이다.
- [0080] <도면의 주요 부분에 대한 부호의 설명>
- [0081] 1...산소 센서 소자 1'...산소 센서
- [0082] 10...제1 기관 15...챔버
- [0083] 15a, 15b, 15c...주입구 20...내부 전해질
- [0084] 25...전극 패드 30...3-전극
- [0085] 31...상대전극 32...작업전극
- [0086] 33...기준전극 34...온도 센서
- [0087] 35...패시베이션층 50...멤브레인
- [0088] 55...멤브레인 기관 60...레저보아
- [0089] 60', 60"...구멍 65...세포 용액 주입구
- [0090] 70...채널 100...제2 기관
- [0091] 101...세포 계수기 소자 101'...세포 계수기
- [0092] 105...전극 패드 110...전극
- [0093] 115...패시베이션층 120...채널 기관

도면

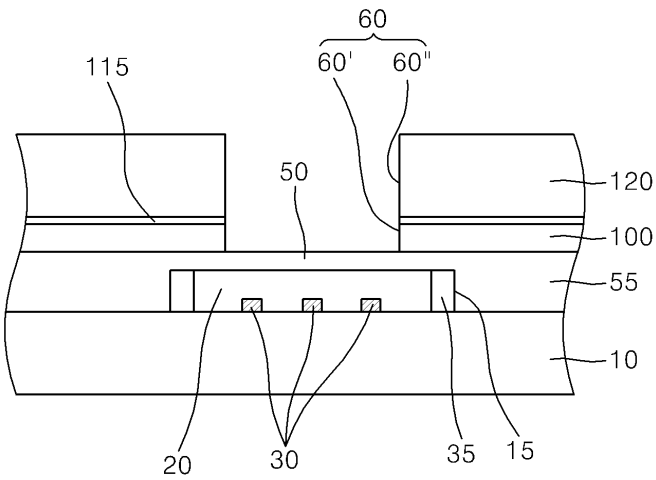
도면1



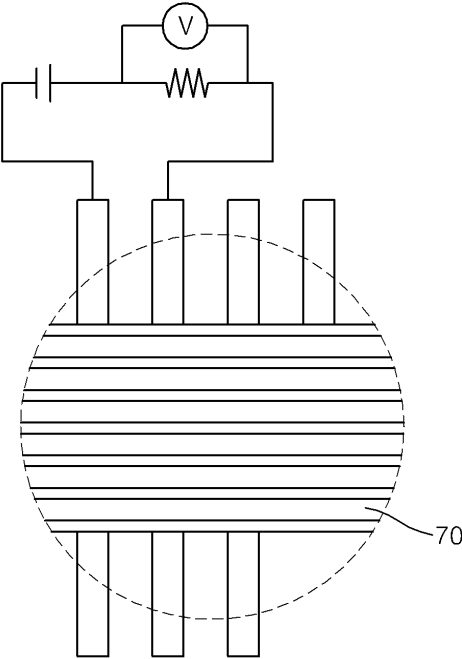
도면2



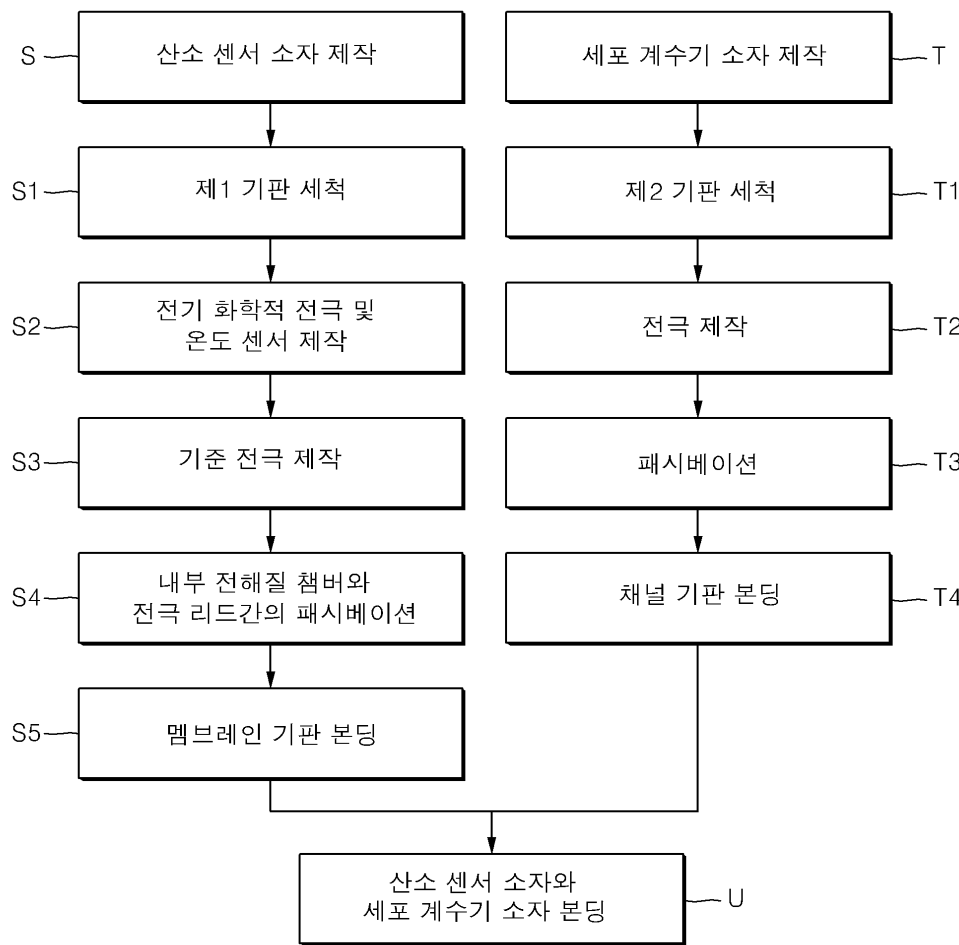
도면3



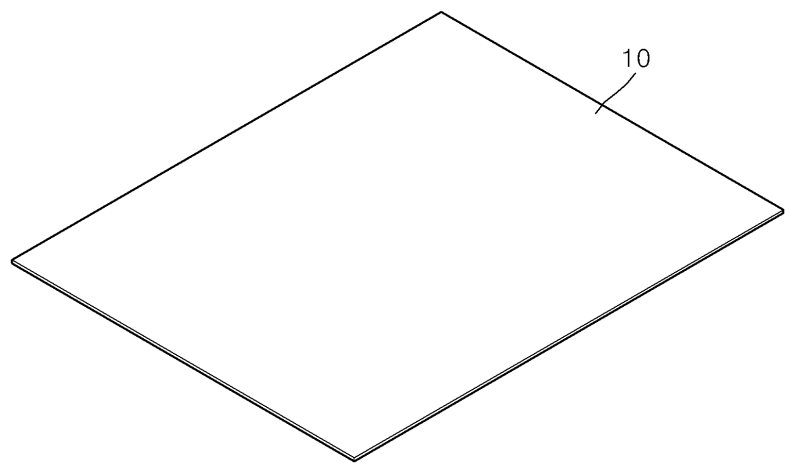
도면4



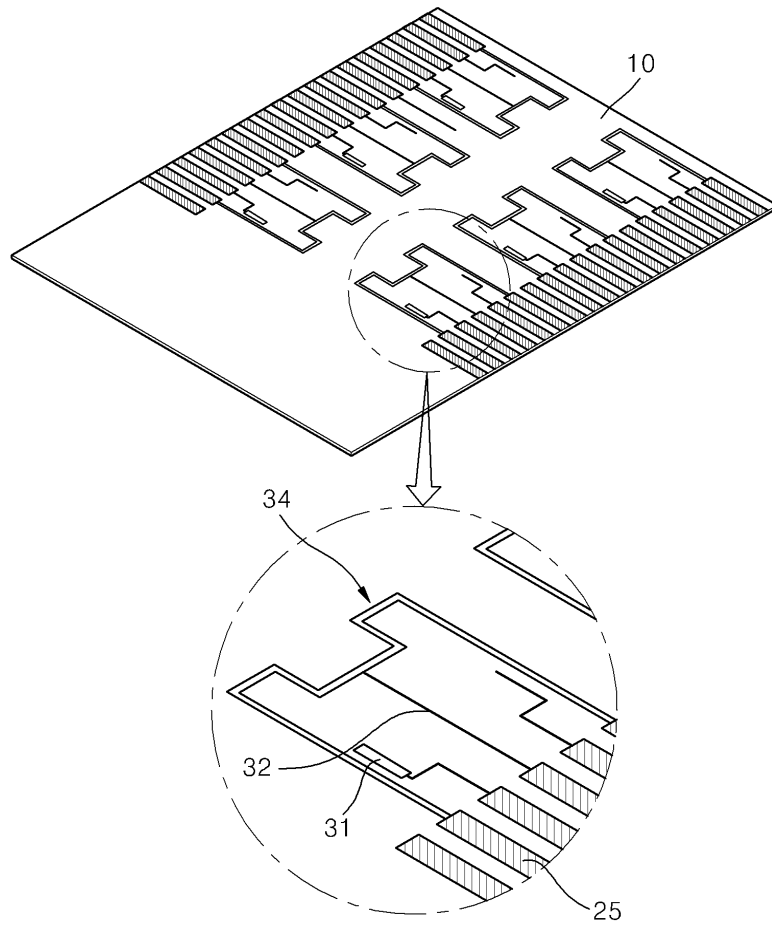
도면5



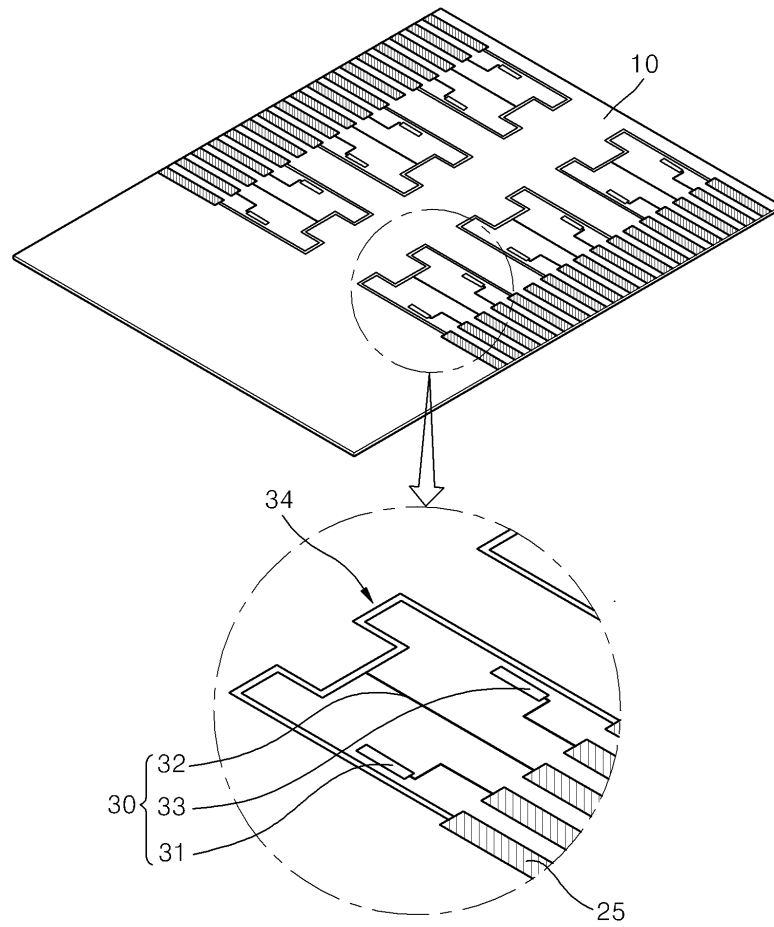
도면6



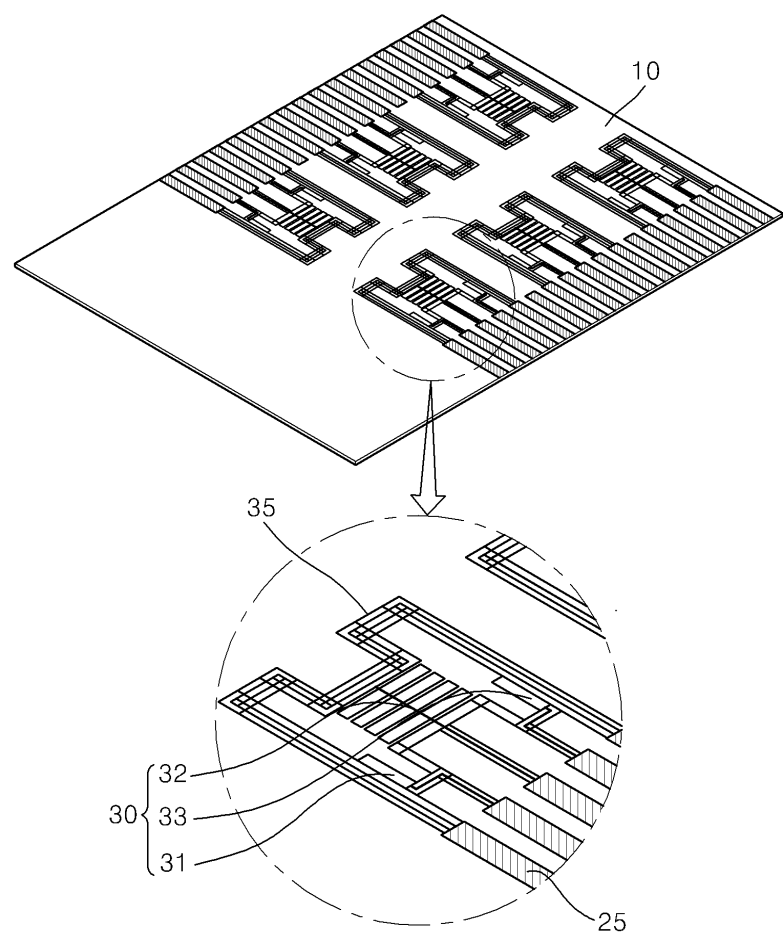
도면7



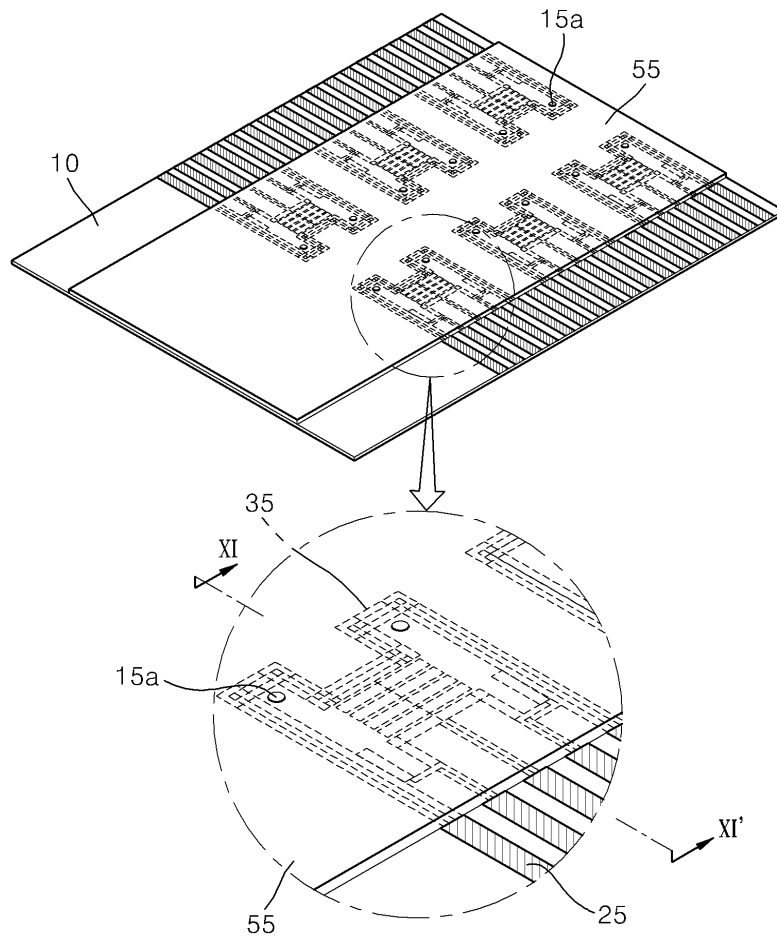
도면8



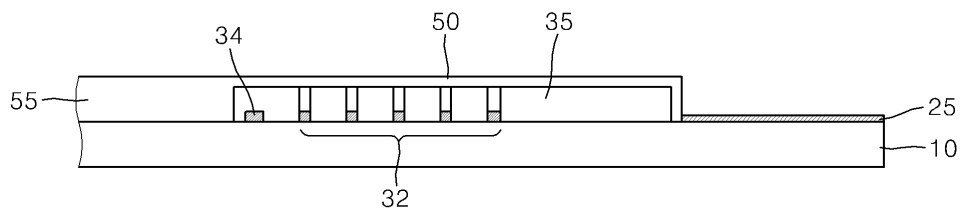
도면9



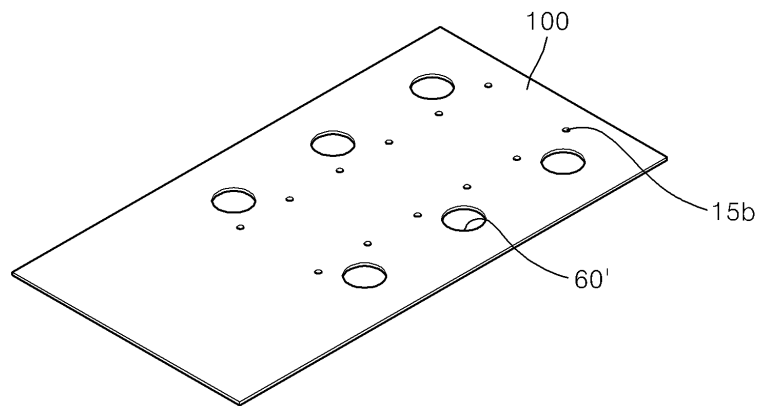
도면10



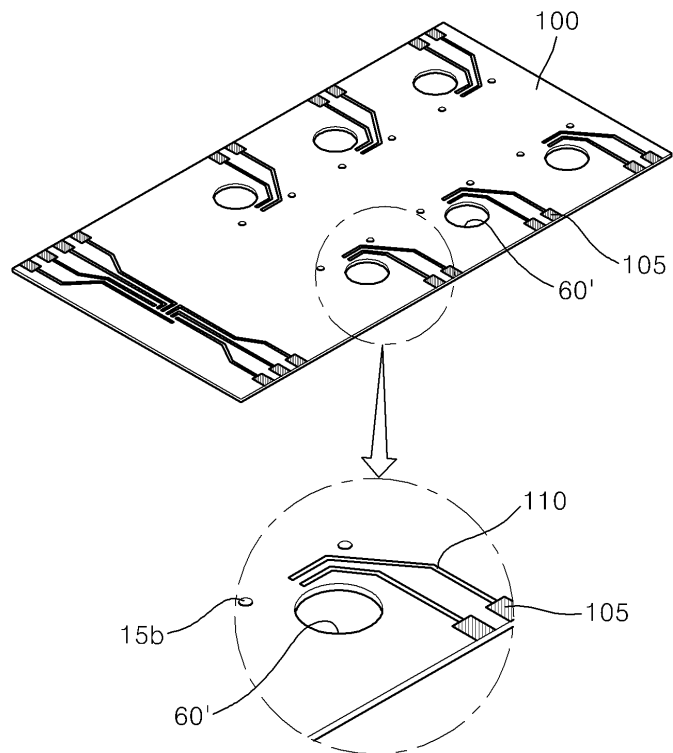
도면11



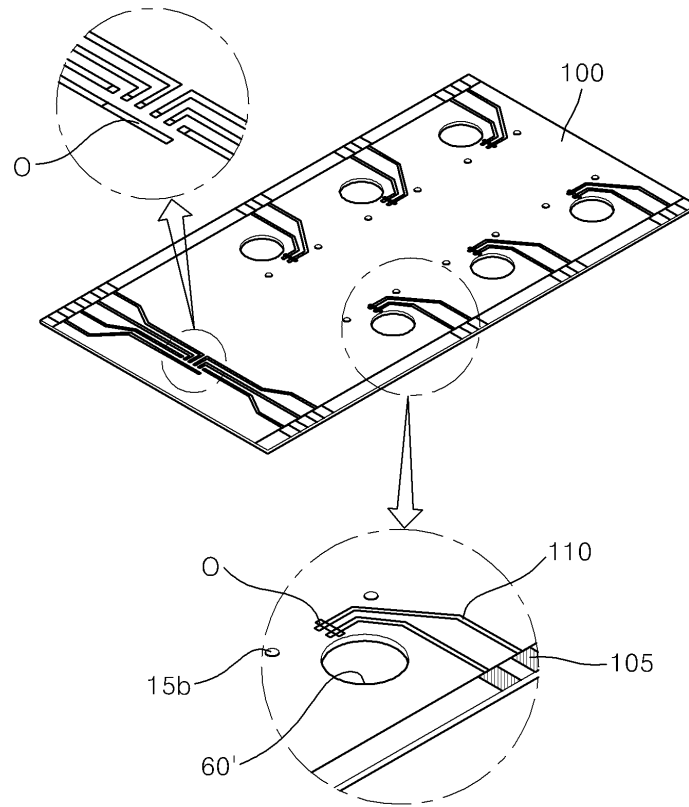
도면12



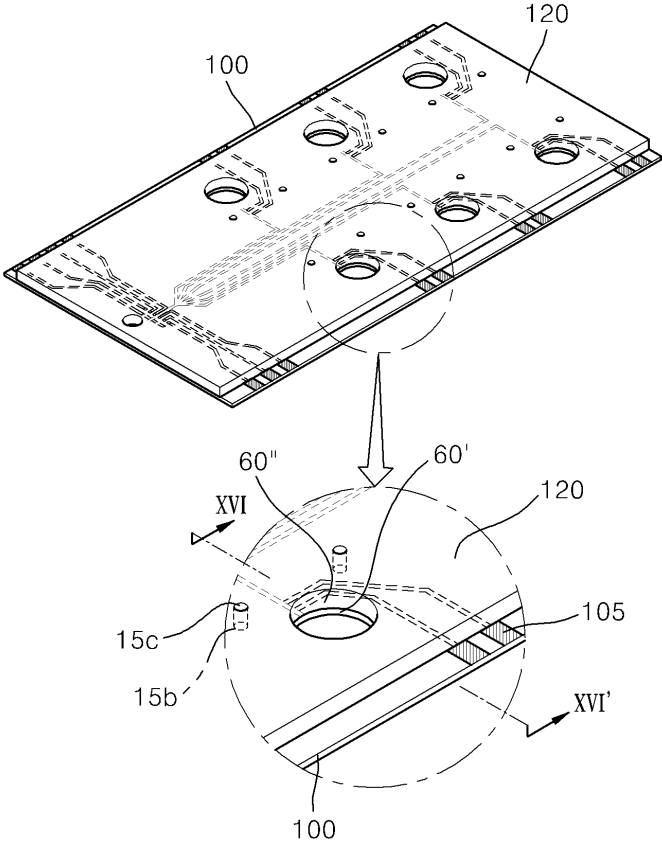
도면13



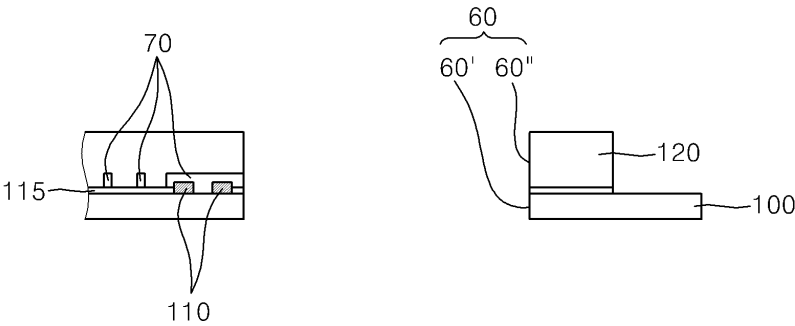
도면14



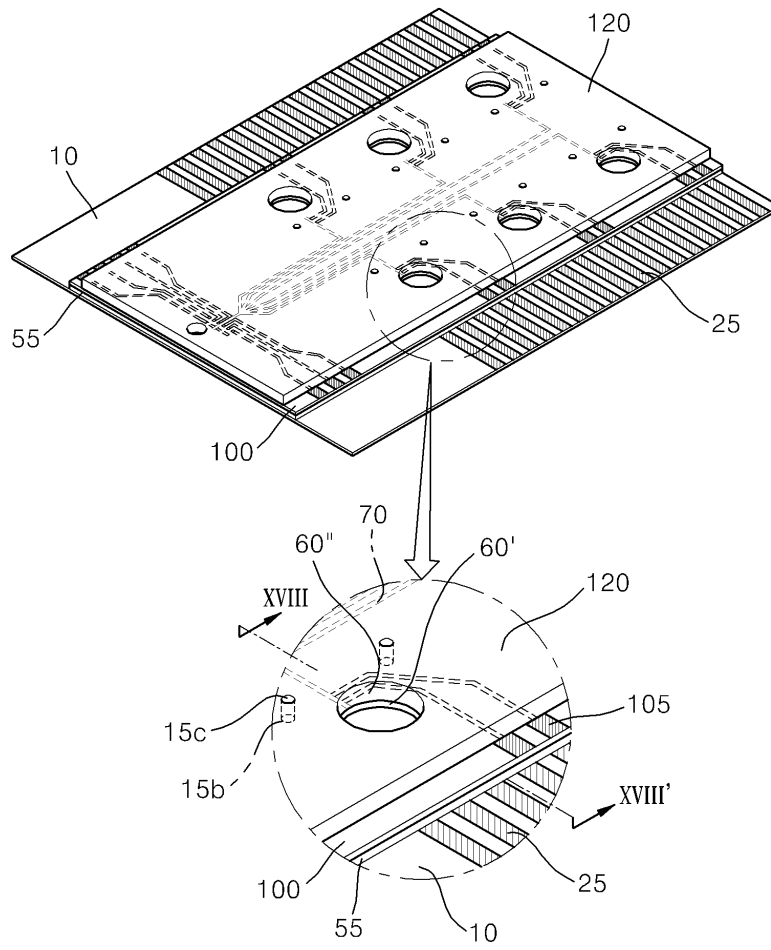
도면15



도면16



도면17



도면18

