

표면 플라즈몬 현미경을 이용한 자기조립 단분자막의 이미징

표현봉[†] · 신용범 · 윤현철 · 양해식 · 김윤태

한국전자통신연구원 반도체 · 원천기술연구소

☎ 305-350 대전광역시 유성구 가정동 161번지

(2002년 9월 10일 받음, 2002년 12월 5일 수정본 받음)

이차원 표면 플라즈몬의 공명 흡수와 포토 마스크를 이용하여 11-MUA(11-Mercaptoundecanoic acid)와 11-MUOH(11-Mercaptoundecanol) 등으로 이루어진 자기조립 단분자막(Self-Assembled Monolayer; SAM)의 다채널 영상을 얻었다. 통상의 Photoresist를 이용한 리토그래피 대신에 Thiol bonding의 광산화를 이용하여 패터닝 과정을 줄이고, 백색광 및 대역통과 필터($\lambda_0=633\text{nm}$)를 이용하여 입사광으로써 레이저를 사용할 때 나타나는 간섭무늬를 줄였다. 이로부터 나타나는 이차원 영상의 명암을 정량적으로 보정하면 수 나노미터(nm) 두께의 변화를 측정할 수 있다. 또한 표면 플라즈몬 공명법은 국소화된 근접장(소산장)을 이용하는 방법으로서, 통상 많이 이용되는 형광법 등에서 나타나는 광탈색(Photobleaching)이나 소광(Quenching) 현상이 없이 시료의 처리가 간단하고, 영상 신호의 시간에 따른 변화가 극히 적으며, 실시간으로 신호의 변화를 측정할 수 있다는 장점이 있다.

주제어 : surface plasmon resonance, self-assembled monolayer, protein chip, imaging system.

I. 서 론

최근 들어 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance; SPR), 표면 강화 형광(Surface Enhanced Fluorescence; SEF) 등 강화된 전자장 내에서의 단백질, 효소, 그리고 핵산의 결합 분리를 정량화하려는 노력은 DNA 칩 혹은 단백질 칩의 제작과 측정 시스템에 있어서 측정 한계(Detection limit)를 나노 몰(10^{-9} M)에서 피코 몰(10^{-12} M) 이하로 낮추고자 하는 노력과 관련하여 큰 관심을 끌고 있다. 특히 기존의 단일 채널에 있어서의 분자 결합을 측정하는 것에서 벗어나, 한 번에 여러 시료를 동시에 측정하고자 하는 다중 채널 측정(Multiple channel detection), 즉 여러 종류의 DNA나 항체 등의 단백질을 기관 상에 고정화하여, 결합하는 염기쌍 혹은 항원의 종류와 결합 정도를 한 번에 알아 낼 수 있는 다중 채널 DNA 칩이나 단백질 칩에의 응용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.^[1-3]

한편 금속과 유전체의 계면에서 양자화된 전자의 요동, 즉 표면 플라즈몬의 공명 흡수를 이용하여 유전체 표면에 있어서의 굴절률 변화를 관찰함으로써 분자 사이의 결합(Adsorption)과 분리(Desorption)를 정량적으로 측정하는 것은 여러 면에서 유리한 점을 갖고 있다: 먼저, 통상 면역센서(Immunosensor)나 DNA/단백질 칩에서 가장 흔히 이용하는 형광법과 같이 측정하고자 하는 시료(Target molecule)에 형광체를 붙여야 하는 번거로움이 없고(Non-labeling method), 강화된(enhanced) 전자 자기장은 금속-유전체의 경계면에서 지수적으로 감소함으로써 표면의 변화에 매우 민감하며, 또한 분자간의 결합/분리를 실시간으로 측정하여 그의 Kinetics를 관찰 할 수 있는 등의 장

점이 있다.

금속 표면의 플라즈몬을 여기시키는 입사광의 파수벡터를 k_{ph} 이라 하면 입사각이 θ 일 때 그의 파수벡터(wave vector)는 $k_{ph}=(2\pi/\lambda)n_0\sin\theta$ 이고, 여기서 n_0 는 입사광의 파수벡터를 표면 플라즈몬의 파수벡터와 일치시키기 위한 프리즘 커플러의 굴절률을 나타낸다. 이 파수벡터 k_{ph} 과 플라즈몬의 파수벡터 k_{SP} 가 일치할 때 $[n_0\sin\theta=(\epsilon_1\epsilon_2/(\epsilon_1+\epsilon_2))^{1/2}]$ 의 각도 $\theta=\theta_{SPR}$ 가 플라즈몬의 공명 각도가 되고, 이 각도에서 금속과 이웃하는 유전체(단백질 등 측정하고자 하는 시료)의 두께가 변화하면 그에 따라 반사율이 달라지며, 확장된 형태의 평행광을 이용할 경우 이차원 평면 상에서의 두께 분포에 따라 각 화소마다 서로 명암이 다른 이차원 영상으로 표현된다. 여기서 ϵ_1 , ϵ_2 는 각각 금속(Au, Ag 등)과 유전체(단백질 등 측정하고자 하는 시료)의 유전율(Dielectric function)을 나타낸다. 한편 표면 플라즈몬은 금속과 유전체의 계면을 따라 전파되므로 그의 표면 도달거리(Lateral propagation length)도 얻어진 이차원 영상의 해상도에 영향을 미칠 수 있으나, 이 실험의 조건에서와 같이 각 채널의 크기가 수 백 μm 이상이 되는 경우에는 이들의 간섭에 의한 가로해상도의 저하(Degradation)는 없다고 봐도 될 것이다. 플라즈몬의 도달 거리 Γ 는 그의 파수벡터 $k_{SP}=k'_{SP}+ik''_{SP}$ 의 허수부 k''_{SP} 에 반비례하고 ($\Gamma=1/2k''_{SP}$) 이는 금(ϵ_1)과 단분자막 (ϵ_2)의 경우 $\lambda=633\text{nm}$ 에서 약 $5\mu\text{m}$ 이하가 된다.^[13]

본 논문에서는 위와 같은 표면 플라즈몬 공명의 특성과 장점을 고려하여 다채널의 표면 플라즈몬 이미징 시스템을 구현하고, 이의 측정 한계를 검증하기 위하여 11-MUA(11-Mercaptoundecanoic acid), 11-MUOH(11-Mercaptoundecanol) 등 자기조립 단분자막을 금속(Au) 박막이 코팅된 기관 위에 패터닝하였다. 이의 이미징을 위하여는 프리즘을 이용한 내부 전반사(Total Internal Reflection; TIR) 방법, 즉 프리즘 커플러를

[†]E-mail: pyo@etri.re.kr

이용하여 소산파를 유도하는 Kretschmann방법을 이용하여 그의 반사율의 변화를 CCD카메라로 측정하였다. 적층된 임의의 갯수의 유전체 및 금속 박막의 광특성을 계산할 수 있는 다중 Fresnel 방정식을 이용하여 금 표면 위에 광경화성 수지(Photoresist)가 코팅되었을 때의 이론적인 반사율을 구하였다. 그리고 11-MUA 및 11-MUOH의 입사각에 대한 공명 흡수 조건의 변화를 측정하여 다채널 영상으로 부터 명암의 차이의 보정을 가능하게 하였다. 이로 부터 센서 표면에서의 두께 변화는 nm정도임을 알 수 있다. 이는 대응하는 단백질의 질량 변화로는 수 ng/mm² 정도, 시료의 농도 변화로는 단백질 미오글로빈(MW 17,000)의 경우 피코 몰(pM) 정도의 측정 한계를 가짐을 의미한다.¹⁴⁻⁶⁾

II. 실험 및 결과

2.1. 센서 칩의 준비 및 이미징 시스템

패터닝된 단분자막의 영상을 얻기 위하여 우선 크기 22×22 mm, 두께 0.13 mm의 커버 글라스 위에 전자빔 진공 증착기로 접착력의 강화를 위한 약 2 nm 두께의 크롬(Cr)을 증착하고 연이어 SPR 특성의 최적화를 고려하여 약 45 nm 두께의 금(Au)을 증착하였다. 증착 이전에 Piranha solution(H₂SO₄:H₂O₂, v/v 4:1)으로 기판을 세척한 다음 곧이어 아세톤과 DI-water로 헹구었다. 증착 조건은 진공도 약 1.6×10⁻⁶ Torr에서 약 0.5 nm/sec의 속도로 증착하였다. 이어서 2 mM의 11-MUA와 11-MUOH 용액에 칩을 담가 상온에서 약 20-24시간 동안 두어서 단분자막이 형성되도록 하였다. 단분자막이 형성된 칩은 에타놀로 여분의 분자를 세척한 후에 자연 건조시켰다.

칩의 패터닝은 두 가지 방법으로 실행하였다. 첫 번째 방법은 형성된 단분자막 위에 Photoresist(AZ5214E)를 스핀 코팅한 후 크롬 마스크를 이용하여 통상의 positive photolithography 방법으로 PR 패터를 만들고, 이어서 노출된 SAM 표면의 산화(Photo-oxidation), 즉 alkylthiolate를 alkylsulfonate(SO₃⁻)로 변환시키기 위해 150 W의 Xenon 램프(OSRAM XBO 150)에 센서 칩 전체를 5시간 조사한 후, 에타놀로 세척하였다.¹⁷⁻⁹⁾ 그러나 위와 같은 방법은 센서 칩의 제조에 있어서 PR을 이용하여 패터닝을 하므로 통상의 리토그래피 공정이 부가적으로 필요하다는 단점이 있다. 두 번째 방법은 지름이 300 μm 정도의 구멍(Hole)이 규칙적으로 배열되어 있는 금속 Shadow mask를 직접 SAM 코팅된 센서 칩 위에 두고, 1000 W의 자외선 광원(UV solar simulator, Oriel)을 쬐어 Thiol 결합을 광 산화(photolyzed)시킨 후 에타놀로 세척하였다. 광 산화시키는 방법은 첫 번째와 두 번째의 방법이 동일하나, 광원의 세기와 노출시간의 적절한 조건에는 차이가 있었다. 광 산화를 위한 자외선은 1000 W에서 약 63.5 mW/mm²의 Hg(Xe) 램프를 금속 마스크가 고정된 센서 칩에 약 5시간 동안 조사시킨 후에 에타놀로 세정, 건조하였다.

준비된 센서 칩의 패터를 영상화 하기 위하여 100 W의 텅스텐-할로겐 램프와 입사광의 집속 및 조준을 위하여 그 앞에 렌즈와 조리개를 사용하였다. 통상 레이저를 입사광으로 쓰는 경우에 나타나는 간섭무늬를 줄이고 명료한 이미지를 얻기 위

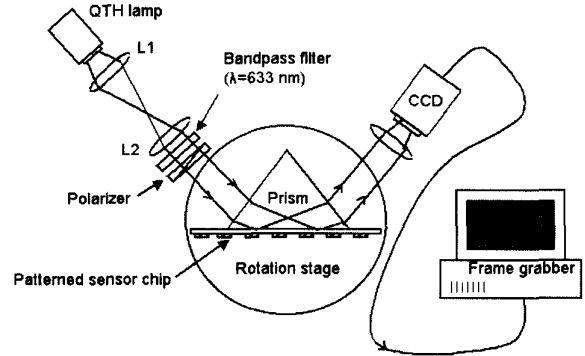


그림 1. 표면 플라즈몬 이미징 시스템의 개요도: 텅스텐-할로겐 램프(QTH lamp)에서 나온 빛은 렌즈(L1, L2)를 거쳐 평행광이 되고, 단색광을 얻기 위한 대역통과 필터(Narrow band-pass filter, λ₀=633 nm, Δλ=1 nm)와 표면 플라즈몬의 공명 조건(TM-mode)을 만족 만족시키기 위한 편광기를 거쳐 지름 약 7mm의 평행광으로 프리즘에 입사된다. 단분자막이 패터닝된 커버 글라스, 즉 센서 칩은 Index matching oil을 이용하여 삼각 프리즘에 부착된다. 그리고 센서 칩을 포함한 프리즘 커플러는 전기적으로 제어되는 θ-2θ Goniometer의 중심에 위치하고, 컴퓨터에 의해 제어되는 입사광의 각도의 변화에 따른 반사광은 1/3"의 CCD 칩이 장착된 768(H)×494(V)의 화소를 갖는 범용 CCD 카메라와 PC 내부에 장착된 Frame grabber에 의해 디지털화 되어 그림 파일로 저장 된다.

해 중심 파장이 λ₀=633 nm이고 폭이 Δλ=1 nm인 대역통과 필터와 TM-mode 편광을 위한 편광기를 부착하였다. 얻어진 평행광을 삼각 프리즘에 입사시켜 내부 전반사에 의해 반사되는 영상을 CCD 카메라로 찍어 PC에 장착된 Frame grabber로 디지털화 된 영상을 획득하였다. 표면 플라즈몬 이미징 시스템의 개요도는 그림 1에 나타내었다.

2.2. Photoresist 및 자기조립 단분자막의 영상

표면 플라즈몬 공명에 의한 입사광의 흡수는 입사각이나 광원의 파장에 따른 반사율의 변화로 나타나게 된다. 표면 플라즈몬 이미징의 경우는 고정된 입사각에서 이차원 평면 각 점의 공명 조건의 차이를 표현하는 것이므로, 센서의 구성과 광학적 특성에 따라 명암의 차이가 최대가 되는 입사각 혹은 광원의 파장 조건이 있다. 따라서 이를 위하여 이론적으로 계산이 가능한 반사율을 구하여 그에 따른 최적 조건을 알 필요가 있다. 그림 2는 프리즘 커플러를 이용한 m-line index measurement를 통해 실험적으로 구한 Photoresist(AZ5214E)의 굴절률과 Fresnel방정식을 토대로 센서 칩의 구성에 따라 이론적으로 구한 반사율을 나타낸 것이다. 먼저 현미경 커버 글라스(BK7) 위에 Cr 2nm, Au 45 nm, 920 nm의 AZ5214E가 순차적으로 코팅된 경우 (그림 2(A)의 점선)와 AZ5214E가 코팅되지 않은 경우 (그림 2(A)의 실선)를 비교해 보면 일정한 각도에 있어서의 명암의 밝기는 각각의 반사율의 차이로 나타나게 됨을 알 수 있다(그림 2(B)). 이론적으로 입사광의 파장이 가시광선(λ=633 nm 등)에서 근적외선(λ=830 nm 등)으로 길어지게 되면 플라즈몬 공명의 폭이 줄어들고, 그의 깊이가 커지는

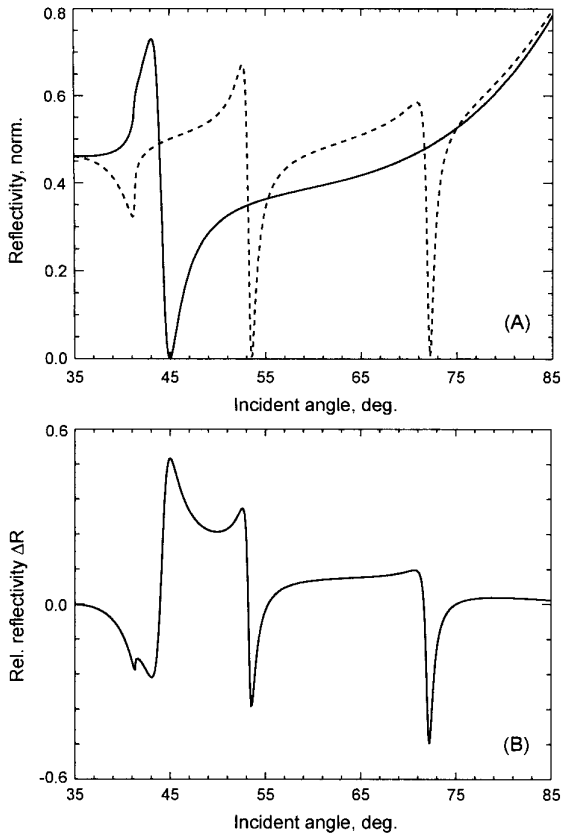


그림 2. (A)는 Fresnel 방정식을 이용하여 계산한 입사각의 각도에 따른 반사율의 변화. 입사각의 파장이 $\lambda = 633 \text{ nm}$ 이고 센서 칩의 구성이 각각 BK7/Cr 2nm/Au 45nm/AZ5214E 920nm/Air (점선), BK7/Cr 2nm/Au 45nm/Air (실선)일 때를 나타냈으며, 각 매질의 두께는 공명이 가장 잘 일어나는 최적 조건을 고려한 값들이다. (B)는 PR(AZ5214E)가 금 박막 위에 코팅 된 경우와 안 된 경우의 두 조건에 따른 반사율의 차이(ΔR)를 입사각의 변화에 따른 함수로서 나타낸 것이다. PR 면과 Au 표면 두 면에서의 표면 플라즈몬 공명 조건의 차이에 의해서 입사각이 약 45°일 때 PR 면과 금 표면의 명암 차이가 가장 크고, PR 면이 가장 밝게, 그리고 금 표면이 가장 어둡게 나타나게 된다. 이것이 표면 플라즈몬 이미징에서 얻어지는 영상이다(그림 3참조).

등 장점이 있음이 알려져 있으나, 그 파장대에서 폭이 좁은 대역통과 필터를 구하기가 쉽지 않아 본 실험에서는 폭 1 nm 인 $\lambda_0 = 633 \text{ nm}$ 의 가시광선 필터를 사용하였다. 그림 2(B)는 PR(AZ5214E)가 금 박막 위에 코팅 된 경우와 안 된 경우의 두 조건에 따른 반사율의 차이(ΔR)를 입사각의 변화에 따른 함수로서 나타낸 것이다. (B)에서 보이는 바와 같이 PR 면과 Au 표면 두 면에서의 표면 플라즈몬 공명 조건의 차이에 의해서 입사각이 약 45°일 때 PR 면과 금 표면의 명암 차이가 가장 크고, PR 면이 가장 밝게, 그리고 금 표면이 가장 어둡게 나타나게 된다. 물론 PR과 같이 μm 단위의 두께를 측정하는 것은 실제적인 응용면에 있어서 커다란 의미가 없다고도 할 수 있으나, 무엇보다도 PR을 포함한 각 매질의 광학 계수,

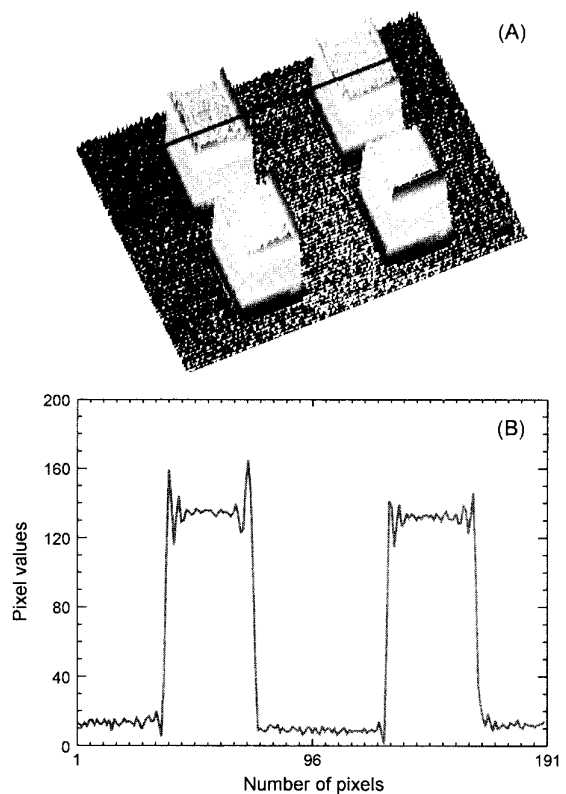


그림 3. (A) 2 nm의 크롬(Cr)과 45 nm의 금(Au), 그리고 약 920 nm 두께의 Photoresist(AZ5214E)가 코팅된 $500 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$ 크기의 채널이 패터닝 된 센서 칩의 표면 플라즈몬 이미지. 네 개의 채널만 나타내었음. (B) (A)에서 직선으로 표시된 부분의 Line profile을 화소 값으로 나타낸 그림. 값으로 볼 때 PR이 코팅된 채널 부분이 바탕 면인 금 표면에 비해 100이상의 차이를 보인다.

측 굴절률을 직접 측정할 수 있고, 이 데이터로부터 Fresnel 방정식을 이용하여 이론적으로 반사율을 계산하여 실험 결과와 비교할 수 있다는 장점이 있기 때문에 이 실험을 우선적으로 행하였다.

그림 3의 (A)는 실험적으로 얻은 BK7/Cr 2nm/Au 45nm/AZ5214E 920nm의 구조를 가진 센서 칩의 표면 이미지를 나타낸다. 여기서 각각의 크기가 $500 \mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$ 인 각 채널은 패터닝된 PR(AZ5214E)이고, 이 높이가 금 표면 위에 코팅된 PR의 두께에 상응한다. (B)는 (A)에서 직선으로 표시된 부분의 Line profile을 화소 값으로 나타낸 그림으로, 값으로 볼 때 PR이 코팅된 채널 부분이 바탕 면인 금 표면에 비해 100 이상의 차이를 보인다.

그림 4의 (A)는 지름이 약 $\phi = 300 \mu\text{m}$ 정도의 구멍이 규칙적으로 배열되어 있는 금속 Shadow mask를 이용하여 금 표면에 11-Mercaptoundecanic acid(11-MUA) 단분자막을 패터닝한 센서 칩의 표면 영상이다. 자외선으로 광산화(Photo-oxidation)처리를 하고 에타놀로 세척한 부분, 즉 금 표면이 드러난 부분이 어둡게, 그리고 나머지 11-MUA가 남아 있는 부분이 밝게 드러나 있다. (B)는 얻어진 표면 플라즈몬 영상

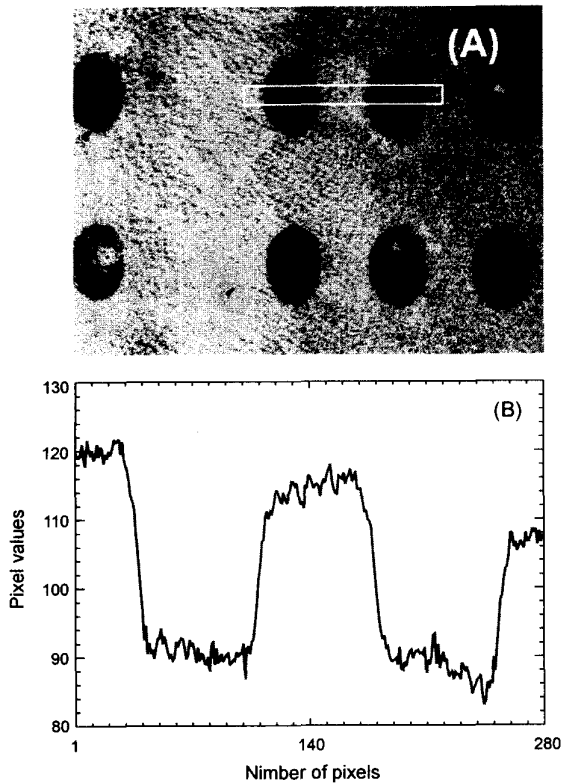


그림 4. (A)는 11-MUA의 표면 플라즈몬 이미지이다. 원래 지름 $\phi=300\ \mu\text{m}$ 인 원형의 각 채널은 반사광의 굴절로 인하여 약간 변형된 타원형으로 보인다. (B)는 (A)의 네모로 표시된 부분의 종방향으로 20 화소 값을 평균한 Line profile이다. 이로부터 단분자막의 두께를 정량적으로 보정하면 임의의 시료의 두께 변화를 알 수 있다. (B)에서 오른쪽 채널의 밑면이 아래로 치우친 것은 얻어진 전체 이미지에서의 음영에 의한 것이다.

의 각 화소 값을 이용하여 11-MUA의 막 두께를 정량화하기 위한 Line profile이다. 그림의 네모로 표시된 부분의 Line profile을 위치에 따른 그 화소 값으로 나타내었다. 이로부터 이차원 표면에 있어서의 단분자막의 두께를 화소 값에 대해 보정할 수 있고 DNA 및 단백질 칩으로부터 결합하는 염기쌍 혹은 항원 등 Target 물질의 흡착, 분리의 정도를 정량적으로 가능 할 수 있게 한다.

그림 5의 (A)는 그림 2(B)에서와 같은 원리로 약 44.2° 의 각도로 입사각을 고정시켰을 때 얻어지는 반사 이미지에서 금 표면(어두운 부분)과 11-MUA 단분자막(밝은 부분)의 명암 차이가 최대일 때, 즉 금 표면에 대한 플라즈몬 공명이 일어날 때의 이미지이고 (B)는 반대로 단분자막 11-MUA의 공명 흡수가 최대(어두운 부분)일 때를 나타낸다.

한편, 실험에서 사용된 단분자막, 즉 11-MUA와 11-MUOH의 두께의 차이에 따른 표면 플라즈몬 공명 각도의 변화를 관찰하기 위하여 이미징 실험과는 별도로 $\lambda=633\ \text{nm}$ 의 레이저를 이용하여 단분자막이 코팅되어 있을 때와 없을 때, 즉 센서 칩이 BK7/Cr 2nm/Au 45nm의 구조로만 이루어져 있을 때

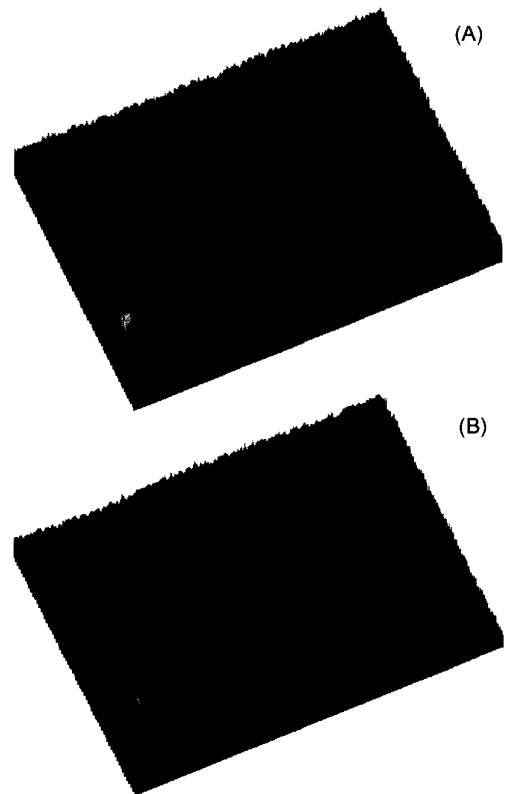


그림 5. 금속 Shadow mask와 자외선 광원을 이용하여 Thiol을 광산화시켜서 패터닝한 그림 4(A)의 단분자막 11-MUA에 대한 표면 플라즈몬 영상의 Surface plot: (A)는 금 표면(어두운 부분)과 11-MUA 단분자막(밝은 부분)의 명암 차이가 최대일 때, 즉 금 표면에 대한 플라즈몬 공명이 일어날 때의 반사 이미지이고 (B)는 반대로 단분자막 11-MUA의 공명 흡수가 최대(어두운 부분)일 때를 나타낸다.

와 11-MUA 혹은 11-MUOH이 코팅되어 있을 때의 공명각의 변화를 각각 관찰하였다.

이로부터 구한 두께 변화에 대한 공명각의 변화는 11-MUA (MW 218.36)의 경우 약 1.31° , 그리고 11-MUOH(MW 204.38)인 경우에는 0.068° 로 측정되었다. 그러나 타원형광계측법(Ellipsometry)로 알려진 11-MUA 단분자막의 두께는 약 1.6~1.9 nm이고, 파장이 $\lambda=633\ \text{nm}$ (He-Ne)에서의 추정되는 굴절률 $n_{\text{He-Ne}} \sim 1.45$ 를 이용하여 이론적으로 계산된 공명각의 변화는 $\Delta\theta=0.25\sim 0.3^\circ$ 정도로, 이와 비교해서 본 실험에서 측정된 변화량 1.31° 는 4배 이상 크다.^[11,12] 이는 hydrocarbon과 mercaptan의 굴절률로부터 추정된 단분자막의 굴절률^[11]이 실제보다 작던가 혹은 11-MUA 칩의 세척시 여분의 분자가 충분히 제거되지 않았을 가능성을 말해준다. 한편 이러한 SPR 신호로부터 추측할 수 있는 바와 같이 플라즈몬 이미징 시스템에서 얻어지는 그림 6의 11-MUOH의 영상에서의 두께 차이에 따른 명암의 변화가 그림 5의 11-MUA보다 훨씬 작음을 알 수 있다. 즉 11-MUOH는 11-MUA에 비해 약 1/20 정도의 각도 변화를 나타내었고, 이는 11-MUA 단분자막의 금 표면에서의 흡착 밀도가 11-MUOH의 그것보다 큰 이유인 것

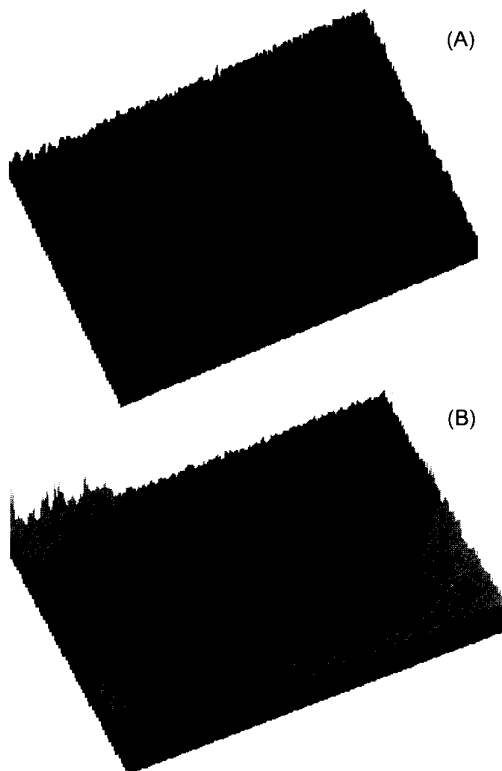


그림 6. 11-Mercaptoundecanol(11-MUOH) 단분자막에 대한 Surfaplot: 실험적으로 구한 두께 변화에 대한 공명각의 변화는 약 1.31°인 11-MUA에 비해서 11-MUOH인 경우 0.068°로 11-MUA의 약 5% 정도로, 이루어진 막의 두께도 그에 따라 11-MUA의 경우 보다 훨씬 작다. 그리고 그림 5의 경우와 반대로 이 그림의 사각형 패턴은 일반적인 크롬 마스크를 이용하였기 때문에 사각형 패턴 부분에 11-MUOH 단분자막이 성막되어 있고 나머지 부분이 금 표면이므로 그에 따라 얻어진 영상의 요철이 그림 5와 비교해서 반대가 되었다. 즉 (A)에서의 어두운 부분이 금 표면에서의 플라즈몬 공명에 의한 흡수 조건에 상응하고, 밝은 부분, 즉 사각형 패턴이 11-MUOH 단분자막을 나타낸다.

으로 보인다. 그림 6의 사각형 패턴은 금속 Shadow mask와 자외선 광원을 이용하여 Thiol을 광산화 시켜서 제작한 그림 5의 경우와 반대로 크롬 마스크를 이용하였기 때문에 사각형 패턴 부분에 11-MUOH 단분자막이 성막되어 있고, 나머지 부분이 금 표면이므로 그에 따라 얻어진 영상의 요철이 그림 5와 비교해서 반대가 되었다. 즉 (A)에서의 어두운 부분이 금 표면에서의 플라즈몬 공명에 의한 흡수 조건에 상응하고, 밝은 부분, 즉 사각형 패턴이 11-MUOH 단분자막을 나타내며 (B)의 경우에는 금 표면이 가장 밝은 부분, 11-MUOH 표면이 가장 어두운 부분, 즉 플라즈몬 공명 흡수 조건에 맞는 경우의 입사각에서의 영상을 나타낸다.

III. 결 론

본 논문에서는 금속의 표면 플라즈몬 공명으로 인한 금속-

유전체 경계면에서의 국소적 전자기장의 강화 효과를 이용하여 표면 플라즈몬을 유발하는 금 박막을 유리 기판위에 증착하고, 프리즘 커플러를 이용한 소산장의 공명 흡수현상을 이차원 영상으로 얻었다. 특히 DNA/단백질 칩 등 향후 가능한 다채널 시스템에의 응용을 고려하여 11-MUA, 11-MUOH 등 자기조립 단분자막(SAM)을 크롬 마스크와 리토그래피, 그리고 Shadow mask와 광 산화반응을 이용하여 금 표면 위에 패터닝 하였다. 레이저를 입사광원으로 쓸 때 나타나는 간섭 무늬(Diffraction pattern)을 줄이기 위하여 텅스텐-할로겐 램프와 중심파장이 $\lambda_0=633$ nm의 대역통과 필터를 사용하였고 이의 평행광을 프리즘 커플러에 입사시켜 반사되어 나오는 반사광의 이차원 영상을 얻었다. 이와는 별도로 $\lambda_0=633$ nm의 레이저를 이용하여 단분자막이 코팅되어 있을 때와 없을 때의 공명각의 변화를 관찰하였다. 얻어진 이차원 영상의 위치에 따른 화소 값의 변화를 단분자 막의 두께의 변화에 따라 보정하고, 알려진 매질의 SPR 특성을 Fresnel 방정식에 따라 이론적으로 계산하면 다채널 표면 영상으로부터 항원-항체 등 단백질의 결합 정도를 정량적으로 측정할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 2001년도 및 2002년도 정보통신부의 연구비(01MB2220, 02MB1210)에 의해 수행되었으며, 지원에 감사드린다. 또한 Photoresist(AZ5214E)의 굴절률을 측정해 주시고, 그 데이터를 제공해 주신 주정진 박사님께 감사드린다.

참고문헌

- [1] E. Yeatman and E. Ash, "Surface Plasmon Microscopy," *Electron. Lett.*, vol. 23, no. 20, pp. 1091-1092, 1987.
- [2] B. Rothenhäusler and W. Knoll, "Surface-Plasmon Microscopy," *Nature*, vol. 332, pp. 615-617, 1988.
- [3] B. P. Nelson *et al.*, "Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of DNA and RNA Hybridization Adsorption onto DNA Microarrays," *Anal. Chem.*, vol. 73, no. 1, pp. 1-7, 2001.
- [4] E. Stenberg *et al.*, "Quantitative determination of surface concentration of protein with surface plasmon resonance by using radiolabeled proteins," *J. Coll. Interface Sci.*, vol. 143, pp. 513-526, 1991.
- [5] Jiri Homola *et al.*, "Surface plasmon resonance sensors: review," *Sensors and Actuators B*, vol. 54, pp. 3-15, 1999.
- [6] Biacore AB, Product Catalogue, 2000.
- [7] J. Huang and J. C. Hemminger, "Photooxidation of Thiols in Self-assembled Monolayers on Gold," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 115, pp. 3342-3343, 1993.
- [8] J. Huang *et al.*, "Photopatterning of Self-Assembled Alkanethiolate Monolayers on Gold: A Simple Monolayer Photoresist Utilizing Aqueous Chemistry," *Langmuir*, vol. 10, no. 3, pp. 626-628, 1994.
- [9] M. J. Tarlov *et al.*, "UV Photopatterning of Alkanethiolate Monolayers Self-Assembled on Gold and Silver," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 115, pp. 5305-5306, 1993.

- [10] E. D. Palik (Ed.), *Handbook of Optical Constants of Solids* Vol. I, II & III, Academic Press, New York, 1998.
- [11] C. D. Bain *et al.*, "Formation of monolayer films by the spontaneous assembly of organic thiols from solution onto gold," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 111, no. 1, pp. 321-335, 1989.
- [12] C. E. Jordan *et al.*, "Characterization of poly-L-lysine adsorption onto alkanethiol-modified gold surfaces with polarization-modulation Fourier transform infrared spectroscopy and surface plasmon resonance measurements," *Langmuir*, vol. 10, no. 10, pp. 3642-3648, 1994.
- [13] 실험으로부터 얻어지는 금의 유전율은 $\lambda = 633$ nm에서 $\epsilon_1 = -8.91 + i1.08$ 이고,^[10] 11-MUA의 추정되는 유전율은 $\epsilon_2 \sim 1.45$ 이다.^[11]

Imaging of self-assembled monolayers by surface plasmon microscope

Hyeon-Bong Pyo[†], Yong-Beom Shin, Hyun C. Yoon, Haesik Yang, and Youn Tae Kim

Basic Research Laboratory, Electronics and Telecommunications Research Institute, Daejeon 305-350, KOREA

[†]E-mail: pyo@etri.re.kr

(Received September 10, 2002, Revised manuscript December 5, 2002)

Multi-channel images of 11-MUA(11-Mercaptoundecanoic acid) and 11-MUOH(11-Mercaptoundecanol) self-assembled monolayers were obtained by using two-dimensional surface plasmon resonance (SPR) absorption. The patterning process was simplified by exploiting direct photo-oxidation of thiol bonding (photolysis) instead of conventional photolithography. Sharper images were resolved by using a white light source in combination with a narrow bandpass filter in the visible region, minimizing the diffraction patterns on the images. The line profile calibration of the image contrast caused by different resonance conditions at each point on the sensor surface (at a fixed incident angle) enables us to discriminate the monolayer thickness in nanometer scale. Furthermore, there is no signal degradation such as photo bleaching or quenching, which are common in the detection methods based on fluorescence.

Classification codes : SP.010, MO.010, OM.020.