

박막 처짐을 이용한 고해상도 무렌즈 형광 이미징 시스템

^{1,2} 신효근, ¹ 최웅선, ³ 윤건욱, ¹ 서수영, ^{1,2} 최낙원, ³ 윤준보, ^{1,2} 조일주*

¹ 한국과학기술연구원 바이오마이크로시스템연구단, ² 과학기술연합대학원대학교 Bio-Med 융합(의공학과),

³ 한국과학기술원 전기 및 전자공학과

E-mail: ijcho@kist.re.kr

A HIGH-RESOLUTION LENSLESS FLUORESCENCE IMAGING SYSTEM USING MEMBRANE DEFLECTION

^{1,2}Hyogeun Shin, ¹Woongsun Choi, ³Gun-Wook Yoon, ¹Suyoung Seo, ^{1,2}Nakwon Choi, ³Jun-Bo Yoon, ^{1,2}Il-Joo Cho*

¹Center for BioMicrosystems, Brain Science Institute, KIST

²Division of Bio-Medical Science and Technology, Korea University of Science and Technology

³Electrical Engineering, KAIST

Abstract

We reports on a high-resolution lensless fluorescence imaging system using membrane deflection for reducing the gap between fluorescent samples and a CMOS image sensor array. The presented system applied the principle of the total internal reflection of excitation light inside a PDMS chip to minimize the exposure of excitation light to the image sensor. We integrated a very thin (5.5 μm) PDMS membrane as a flexible deflector, which allowed for significant reduction of the gap ($\sim 20 \mu\text{m}$) inevitably created during the conventional packaging (i.e., wire bonding) of image sensors. In the fabricated system, we achieved minimum distance of 7.5 μm between fluorescent samples and a sensor array. This reduced gap almost directly corresponds to a resolution as high as $\sim 7.5 \mu\text{m}$, based on the point spread function (PSF).

Keywords: lensless fluorescence imaging system (무렌즈 형광 이미징 시스템), membrane deflection (박막 처짐), CMOS image sensor (CMOS 이미지 센서)

1. 서론

형광 현미경은 세포 관찰, 형광 분자 분석 등 바이오·의료 분야에서 유용한 도구로 사용되고 있다. 일반적인 형광 현미경은 고비용·복잡한 시스템 구성 그리고 좁은 시야로 인해 접근성 및 휴대성 그리고 활용폭이 제한된다. 최근, 무렌즈 형광 이미징 시스템은 기존 형광 현미경의 단점을 극복한 새로운 형광 이미징 시스템으로 각광받고 있다. 하지만, 무렌즈 형광 이미징 시스템들은 형광 필터 집적 및 본딩 와이어의 높이로 인해 형광 시료와 이미지센서 사이의 거리가 증가하여, 해상도를 높이기 어려웠다. 이를 극복하기 위해, 최근 개발된 무렌즈 형광 이미징 시스템들은 추가적인 광학 장치를 집적하거나 이미지 프로세싱을 적용하였다. [1-3] 하지만, 이러한 방법들은 시스템을 복잡하게 만들거나, 실시간 형광 시료 관찰을 제한한다는 추가적인 문제를 야기하였다.

본 연구에서는 형광 시료와 이미지 센서 사이의 거리 감소를 통한 해상도 향상을 위해, PDMS 박막 처짐을 이용한 고해상도 무렌즈 형광 이미징 시스템을 제작하였다. 또한, 형광 구슬을 이용하여 박막 두께와 박막 처짐 정도에 따른 해상도 성능을 비교하였다.

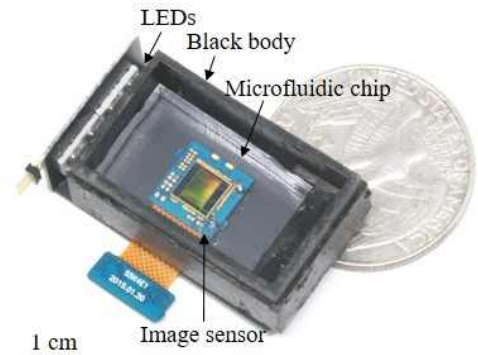


그림 1. 제작된 박막 처짐을 이용한 고해상도 무렌즈 형광 이미징 시스템 사진.

2. 본론

2.1. PDMS 박막이 포함된 미세유체 칩 제작 및 시스템 패키징

본 연구에서 제안하는 고해상도 무렌즈 형광 이미징 시스템은 LED 어레이, 무렌즈 이미지센서, 그리고 PDMS 박막이 포함된 미세유체 칩으로 구성된다. PDMS 박막이 포함된 미세유체 칩은 얇은 박막 두께와 유체의 무게로 인한 박막 처짐으로 인해 형광 시료와 이미지센서 사이의 거리를 최소화 만들어 준다. 또한, 공기층($n=1$) 대비 높은 PDMS 굴절률($n=1.4$)로 인해 LED의 여기(excitation) 파장 빛은 칩 내부에서 전반사되어 형광 시료로만 전달되고, 이미지 센서로는 전달되지 않는다. 이로 인해, 개발한 시스템은 형광 필터 집적 없이 형광 이미징이 가능하며, 형광 시료와 이미지센서 사이 거리를 최소화하여 고해상도 이미징이 가능하다.

PDMS 박막이 포함된 미세유체 칩은 그림 2 와 같은 공정도를 통해 제작하였다. 우선, 실리콘 웨이퍼 위에 SU-8 을 패터닝한 뒤, 액상의 PDMS 를 붓고 80° C 오븐에서 2 시간 동안 경화하였다. 고형화된 PDMS 를 떼어낸 뒤, 패터닝 PDMS 와 얇은 PDMS 박막이 증착된 웨이퍼를 산소 플라즈마 본딩을 통해 접합하였다. 이후, 웨이퍼에서 PDMS 칩을 떼어내어 얇은 PDMS 박막이 포함된 미세유체 칩을 제작하였다.

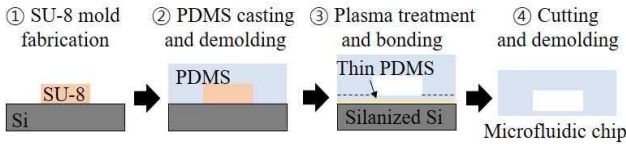


그림 2. PDMS 박막을 포함한 미세유체 칩 공정도.

렌즈가 없는 이미지센서 위에 제작된 미세유체 칩을 배치하고, 미세유체 칩 옆면으로 형광 시료 발광을 위한 LED 어레이를 접합하여, 고해상도 무렌즈 형광 이미징 시스템을 제작하였다.

2.2. 박막 두께에 따른 형광 이미징 해상도 성능 비교

제작된 시스템의 박막 두께에 따른 형광 이미징 해상도 성능을 비교하기 위해, 박막 두께가 다른 3 가지 미세유체 칩을 준비하였다. 각기 다른 박막 두께를 가진 미세유체 칩 내로 30 μm 크기의 형광 구슬을 주입하고, 동일한 광 세기로 유체 채널내의 형광 구슬을 발광시켜, 두께에 따른 해상도를 비교하였다. 그림 3 과 같이 얇은 박막 두께를 가진 미세유체 칩을 이용하였을 때, 형광 구슬과 이미지센서 사이의 거리가 가까워 해상도가 향상됨을 확인하였다.

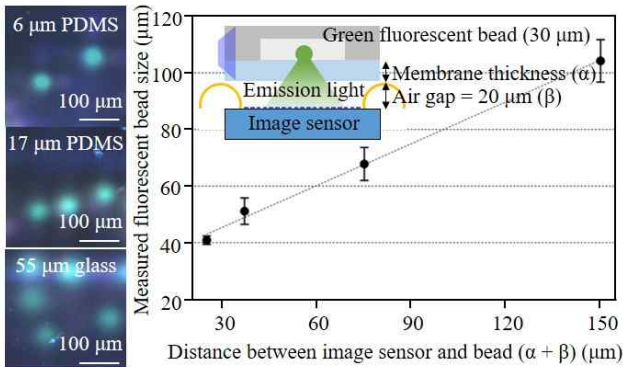


그림 3. 박막 두께에 따른 형광 구슬 미가공 이미지 및 형광 구슬과 이미지센서 거리에 따른 측정된 형광 구슬 크기 비교.

2.3. 박막 처짐 정도에 따른 형광 이미징 해상도 성능 비교

박막 처짐에 따른 해상도 성능을 비교하기 앞서, 동일한 박막 두께(5.5 μm)를 갖는 미세유체 칩의 유체 채널 면적에 따른 처짐 정도를 시뮬레이션과 실제 측정을 통해 확인하였다. 시뮬레이션과 측정값을 바탕으로, 30 μm 의 형광 구슬을 이용하여 처짐 정도에 따른 해상도 성능을 비교하였다.

그림 4 와 같이 박막 처짐이 클 때, 형광 구슬과 이미지센서 사이의 거리가 가까워져 관찰되는 형광 구슬의 크기가 형광 구슬의 실제 크기와 유사함을 확인하였다. 또한, 박막 처짐 정도가 클 때, 측정되는 형광 세기가 증가하여 선명도가 향상됨을 확인하였다.

최종적으로, 본 연구에서는 얇은 박막 두께 사용과 자연적인 박막의 처짐 현상을 이용하여, 형광 시료와 이미지센서 사이의 거리를 7.5 μm 로 최소화하여 고해상도 형광 이미징을 가능하게 하였다.

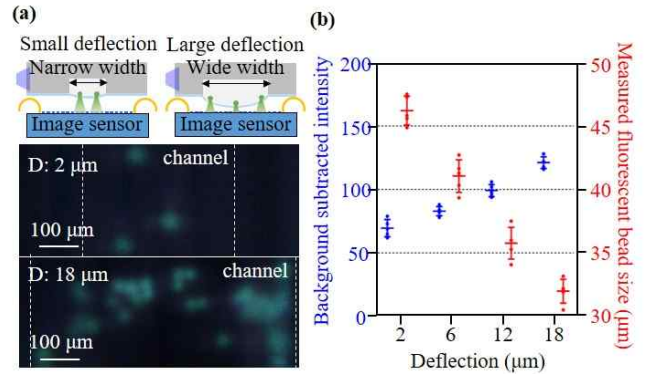


그림 4. (a) 박막 처짐 정도에 따른 형광 구슬 미가공 이미지 및 (b) 측정된 형광 구슬 크기 및 형광 세기 비교.

3. 결론

본 연구에서는 추가적인 광학 장치 집적 및 이미지 프로세싱 없이 고해상도 형광 이미징이 가능한 무렌즈 형광 이미징 시스템을 개발하였다. 개발한 시스템은 전반사를 이용하여 형광 필터 없이 형광 이미징이 가능하였으며, 얇은 박막 두께와 박막 처짐을 통해 고해상도 이미징이 가능하였다. 본 연구에서 개발한 박막 처짐을 이용한 고해상도 무렌즈 형광 이미징 시스템은 간단한 구성으로 고해상도 형광 이미징이 가능하며, 실시간 세포 특성 분석 · 체외 현장진단 등 다양한 바이오 · 의료 분야에 활용될 것으로 기대한다.

사사

본 연구는 한국연구재단을 통해 과학기술정보통신부의 중견연구지원사업 (501050201, 혈액 내 miRNA 검출을 통한 알츠하이머 병 진단용 CMOS 이미지 센서 기반 초소형 다중 형광 이미징 시스템 개발)의 지원을 받아 수행되었습니다.

참고 문헌

1. Lee, S., et al. Chip-scale fluorescence microscope based on a silo-filter complementary metal-oxide semiconductor image sensor. *Optics letters*, 1817-1819 (2013).
2. Coskun, A., et al. Wide-field lensless fluorescent microscopy using a tapered fiber-optic faceplate on a chip. *Analyst*, 3512-3518 (2011).
3. Coskun, A., et al. Wide field-of-view lens-free fluorescent imaging on a chip. *Lab on a chip*, 824-827 (2010).