

연속류형 Micro-PCR 시스템의 설계

김덕종* · 김재윤* · 박상진* · 허필우* · 윤의수*

Design of Continuous-flow Micro-PCR System

Duckjong Kim*, Jae Yun Kim*, Sang-Jin Park*, Pil Woo Heo*, Eui Soo Yoon*

Key Words : Continuous-flow micro-PCR system(연속류형 Micro-PCR 시스템), Polymerase chain reaction(중합효소 연쇄반응), Finite volume method(유한체적법), Heat sink(히트싱크), Compact modeling(간결한 모형화), Porous medium approach(다공성 매질 접근법)

ABSTRACT

In this work, a continuous-flow micro-PCR system is systematically designed. From the numerical simulation based on the finite volume method, adapting oneself to a new environmental temperature without an external temperature controller is shown to be possible and a cooler as well as a heater is shown to be necessary to obtain three individual temperature zones for polymerase chain reaction. In addition, appropriate geometry of a heat sink for the cooler is determined by using a compact modeling method, the porous medium approach.

1. 서론

PCR(Polymerase Chain Reaction) 시스템이란 각종 핵산 구성요소와 효소가 포함된 시료의 온도조절을 통해 PCR을 수행하여 핵산의 수를 늘려주는 장치를 말한다. PCR 시스템은 최근 각광받고 있는 유전체학 연구에 필수적인 장비로서 PCR 시스템 관련 기술의 개발에 따른 경제적, 기술적 파급 효과는 매우 크다고 할 수 있다. PCR 시스템의 성능 제고와 관련하여 Wittwer와 Garling⁽¹⁾은 시료의 온도가 Denaturation(91~97 °C), Annealing(55~60 °C), Elongation(75~79 °C)의 세 과정에 해당하는 온도를 순차적으로 정확히 순환해야 핵산의 수가 충분히 증가하게 되며 이어지는 두 과정 사이의 온도 변화 속도를 증가시킬수록 원래 핵산과 동일한 길이를 가지는 복제물의 비율을 높일 수 있음을 밝힌 바 있다. 즉, 정확하면서도 신속한 시료의 온도 제어가 PCR 시스템의 성패와 직결된다고

할 수 있다.

미세가공기술의 발달에 따라 시료의 신속한 온도 제어를 위해 시료의 열적인 질량을 극소화하고 PCR 시스템 자체를 소형화한 Micro-chamber PCR 시스템이 제안, 연구되었으며^(2~6) 최근에는 시료의 채취, 전처리, 분리, 분석의 모든 공정을 하나의 칩위에서 처리할 수 있는 LOC(Lab On a Chip)가 주목받으면서 PCR 전, 후 공정과의 원활한 연결이 가능한 연속류형 Micro-PCR 시스템에 대한 연구가 활발히 수행되고 있다^(7~12). 기존 PCR 시스템이 시료의 시간에 따른 온도를 직접 제어하는 것과 달리 연속류형 Micro-PCR 시스템은 Fig. 1에서 보여주는 것처럼 시료가 흐르는 모세관이 세 온도 영역들을 통과하도록 하고 시료의 위치 제어를 통해 시료의 온도를 제어하는 방법을 사용한다.

그간 발표된 연속류형 Micro-PCR 시스템 연구 사례들을 살펴보면, 미세가공기술을 가지고 있는 연구자들이 자신의 아이디어를 시험해 보는 수준에 그치고

* 한국기계연구원

E-mail : dkim@kimm.re.kr

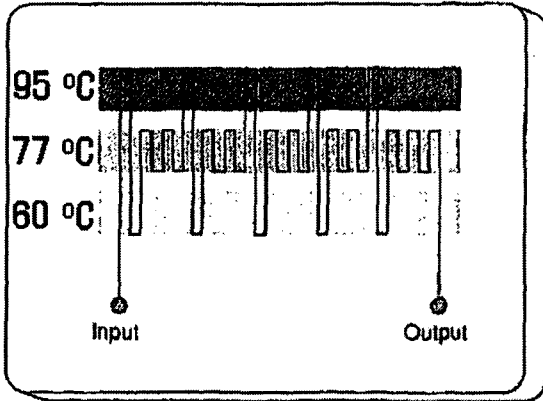


Fig. 1 Continuous-flow micro-PCR system⁽⁷⁾

있으며 열유체 분야를 전공한 연구자들이 체계적으로 접근한 사례는 찾아보기 힘든 실정이다. 따라서 본 연구에서는 열유체 분야 지식에 기반한 해석을 통해 연속류형 Micro-PCR 시스템의 세 온도 영역을 구현하기 위한 합리적인 방안을 제시하고자 한다.

2. 시험적인 Micro-PCR 시스템

2.1. 문제 정의

Kopp등⁽⁷⁾의 연속류형 Micro-PCR 시스템을 참고하여 Fig. 2와 같은 Micro-PCR 시스템 문제를 만들어 보았다. 맨 아래층은 외부로 노출되어 있는 유리판(50 mm × 26 mm × 0.5 mm)이며 그 위에는 미세 유로가 새겨진 실리콘 판(50 mm × 26 mm × 0.3 mm)이 위치한다. 실리콘 판에 Denaturation, Annealing, Elongation에 해당하는 세 온도 영역을 구현하기 위해 실리콘 판 위에는 세 개의 구리판(50 mm × 8 mm × 1 mm)이 1 mm씩 서로 떨어져서 설치되고 각 구리판의 윗면을 통해 열(각각 Q_D , Q_E , Q_A)이 유입된다. 구리판과 실리콘 판 사이에는 접착을 위한 Epoxy층(0.02 mm 두께)이 존재한다.

시료가 미세 유로를 통해 세 온도 영역을 차례로 거치게 되면 Denaturation 영역에서는 실리콘 판으로부터 시료로, Annealing 영역에서는 시료로부터 실리콘 판으로 열전달이 일어나게 되는데 이러한 열전달 현상이 실리콘 판의 온도 분포에 영향을 줄 수 있는지 알아보기 위해 Denaturation 영역의 실리콘 판으로부

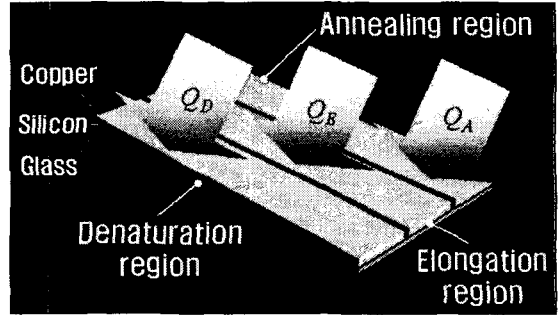


Fig. 2 Trial micro-PCR system

Table 1 Effect of heat input

Q_D (W)	Q_E (W)	Q_A (W)	Q_{total} (W)	T_{PCR} (°C)	Temperature difference (°C)
0.32	0.32	0.32	0.96	89.8	0
0.64	0.32	0	0.96	90.1	2.4
0.96	0	0	0.96	90.3	4.9
0.768	0	0	0.768	76.2	3.9

터 시료로 전달되는 열전달량과 외부에서 실리콘 판으로 유입되는 열량을 비교해 보았다. Zhang등⁽¹⁰⁾의 실험 결과를 바탕으로 계산해 보면 실리콘 판으로부터 시료로 전달되는 열량은 약 0.008 W인 반면 외부에서 실리콘 판으로 유입되는 열량은 17 W로 시료로 손실되는 열량의 2000배가 넘는다. 이처럼 미량의 시료를 다루는 Micro-PCR 시스템의 경우 시료의 흐름이 유로가 새겨진 판의 온도 분포에 거의 영향을 미치지 않게 되므로 본 연구에서는 미세 유로 내의 유동은 고려하지 않았으며 문제 해석에는 상용 해석 프로그램인 CoventorWare를 이용하였다.

2.2. 투입 열량의 영향

Table 1에서는 구리판으로 유입되는 열량이 Micro-PCR 시스템의 온도 분포와 어떤 관계를 가지는지 보여준다. 투입되는 총 열량이 0.96W로 일정하게 유지되면서 각 구리판으로 투입되는 열량의 비가 변화하게 되면 Micro-PCR 시스템의 평균 온도는 약 90 °C로 거의 일정하게 유지되고 투입되는 열량이 하나의 구리판으로 집중될수록 고온부와 저온부간 온도차는 증가하게 됨을 확인할 수 있다.

투입되는 총 열량이 일정할 때 평균 온도 역시 일

정하게 유지된다는 점에서 식 (1)과 같이 정의되는 Micro-PCR 시스템의 열저항 R_{PCR} 은 고유의 값을 가진다고 할 수 있다.

$$R_{PCR} = \frac{T_{PCR} - T_{ambient}}{Q_{total}} \quad (1)$$

여기서 T_{PCR} 은 PCR 시스템의 평균 온도를, $T_{ambient}$ 는 외부 온도를, Q_{total} 은 투입된 총 열량을 각각 나타낸다. 식 (1)을 이용하면 Fig. 2의 PCR 시스템의 평균 온도를 조절하는 것이 가능하다. PCR을 위해 요구되는 Denaturation 영역의 최고 온도가 97 °C이고 Annealing 영역의 최저 온도가 55 °C임을 감안할 때 T_{PCR} 값은 76 °C가 되어야 한다. 또한 R_{PCR} 은 PCR 시스템의 재질 및 구조에 의해 좌우되는 값으로 임의의 외부 온도에 대한 실험을 통해 그 값이 결정되는 상수이다. Table 1에서 보여주는 것처럼 외부 온도가 20 °C인 경우에도 총 0.96 W가 투입되면 PCR 시스템의 평균 온도가 약 90 °C이므로 평균 온도를 76 °C로 조절하기 위해서는 총 투입 열량은 $0.768 \text{ W} (= 0.96 \times (76 - 20) / (90 - 20))$ 여야 함을 알 수 있으며 이와 같이 투입 열량을 조절하게 되면 Table 1에서 보여주는 것처럼 PCR 시스템의 평균 온도가 76 °C로 제어됨을 확인할 수 있다.

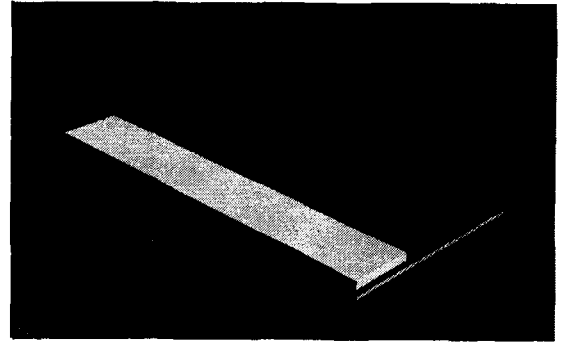
Micro-PCR 시스템이 고유의 열저항 값을 가진다는 점을 이용하면 투입 열량의 조절만으로 외부 온도 변화에 대응할 수 있는 시스템의 구현이 가능하게 된다. 식 (1)을 변환한 식 (2)에서 보여주는 것처럼 외부 온도가 낮아지게 되면 투입 열량을 증가시키고 외부 온도가 높아지게 되면 투입 열량을 감소시킴으로써 평균 온도를 적정하게 유지할 수 있다.

$$Q_{total} = \frac{76(^{\circ}\text{C}) - T_{ambient}}{R_{PCR}} \quad (2)$$

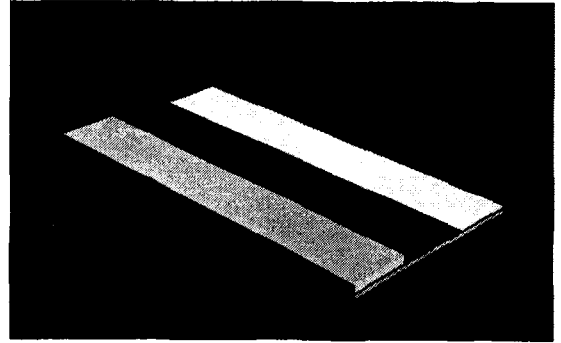
3. 개선된 Micro-PCR 시스템

3.1. 시스템 설계

PCR 반응이 일어나기 위해서는 최고온부와 최저온부간의 온도차가 31 °C 이상은 되어야 하는데 Table 1의 최종 결과를 살펴보면 온도차가 4 °C에도 미치지



(a) Type 1



(b) Type 2

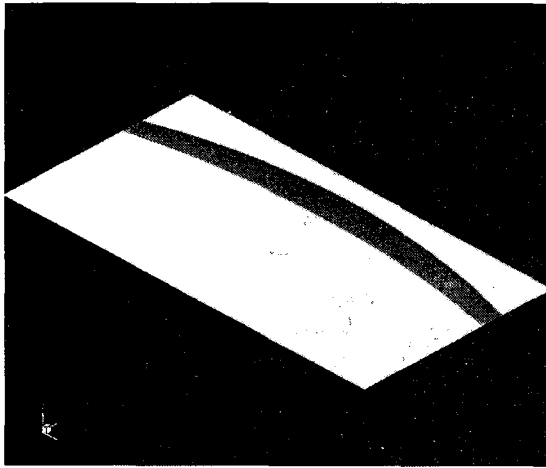
Fig. 3 Improved micro-PCR systems

못함을 알 수 있다. 따라서 고온부와 저온부간 온도차를 증가시킬 수 있는 방안을 가미하여 2장에서 제안한 Micro-PCR 시스템을 개선할 필요가 있다. 고온부와 저온부간 온도차를 증가시키는 방법에는 크게 두 가지가 있다. 첫째, 고온부와 저온부간 열저항을 증가시키는 방법으로 미세 유로가 새겨진 판을 더 얇게 만들거나 열전도도가 낮은 재질로 만드는 것이다. 전자의 경우 미세 유로의 크기를 제한할 수 있으므로 본 연구에서는 후자를 택하여 미세 유로가 새겨질 판을 실리콘 판에서 1.55 mm 두께의 유리판으로 대체하였다(Type 1). 둘째, Table 1에 나타난 경향성을 응용하여 고온부와 저온부간의 투입되는 열량차를 증가시키는 방법으로 고온부에는 히터를 저온부에는 냉각 장치를 설치하였다(Type 2). Fig. 3에서는 Fig. 2의 초기 형상으로부터 수정된 Type 1과 Type 2의 형상을 보여주고 있다. Type 1의 경우 히터가 붙은 구리판이 Denaturation 영역 위에 하나만 설치되도록 하였고 Type 2의 경우 히터가 붙은 구리판 하나가 Denaturation 영역에 설치되고 Annealing 영역에 냉각 장치가 설치되도록 하였다. 시스템 설계의 효율성 제고를 위해 냉각 장치는

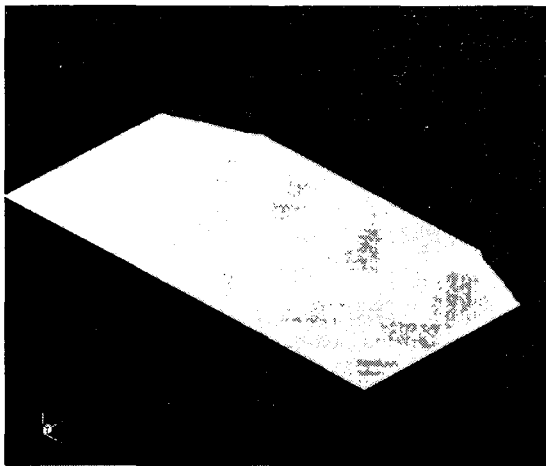
Table 2 Power consumption of micro-PCR systems

Ambient temperature (°C)	Type 1 (W)	Type 2 (W)
10	1.08	5.56 +a
20	0.92	5.40 +a
30	0.75	5.23 +a

a: power consumption of blower



(a) $T_{ambien}=10\text{ }^{\circ}\text{C}$

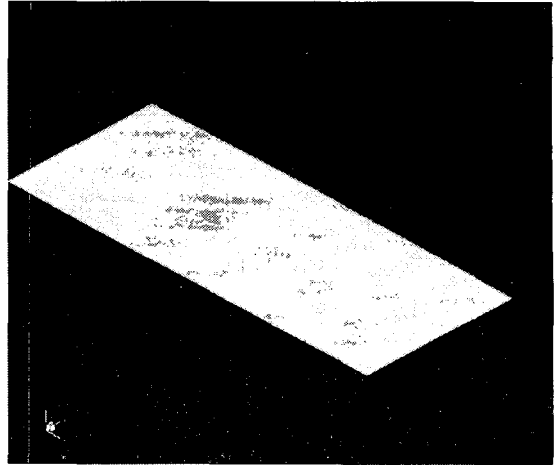


(b) $T_{ambien}=30\text{ }^{\circ}\text{C}$

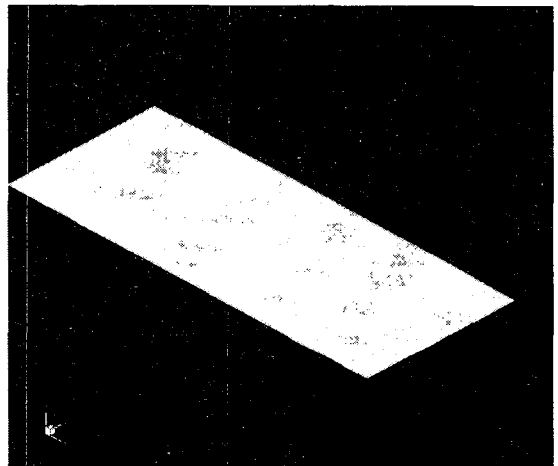
Fig. 4 Annealing region of type 1

계산 영역에서 제외하고 냉각 장치와 접촉하는 면에 냉각 성능에 따른 열유속 경계조건을 주었으며 냉각 장치 자체에 대한 설계는 3.2절에서 별도의 방법으로 수행하였다.

Type 1과 Type 2 중 어느 유형이 보다 바람직한지



(a) $T_{ambien}=10\text{ }^{\circ}\text{C}$



(b) $T_{ambien}=30\text{ }^{\circ}\text{C}$

Fig. 5 Annealing region of type 2

를 밝히기 위해 외부 온도가 20 °C인 경우에 대해서는 적정한 투입 열량 및 냉각 용량을 시행착오로 결정하고 외부 온도가 10 °C, 30 °C로 변화할 경우 식 (2)를 통해 순수 투입 열량을 결정하여 평균 온도가 유지되도록 하면서 두 유형의 소비 전력 및 온도 분포를 비교해 보았다. Table 2에서 보여주는 것처럼 소비 전력 측면에서는 히터만을 사용하는 Type 1이 히터와 냉각 장치를 함께 사용하는 Type 2보다 유리함을 확인할 수 있다. 하지만 Fig. 4, 5에서 보여주는 것처럼 외부 온도에 따라 Type 1의 경우 고온부와 저온부간 온도차가 변하면서 세 온도 영역의 위치가 변할 뿐만 아니라 형상도 불규칙한 반면 Type 2의 경우 세 온도 영역의 위치가 외부 온도의 영향을 거의 받지 않고 직사

Table 3 Constraints on heat sink design

Size	width: 50 mm length: 8 mm height: 16 mm
Substrate thickness	8 mm
Fin pitch	2 mm
Material	Aluminum
Blower	GB0545AFV3-8 (Sunon Inc.)
Thermal resistance	5.58 °C/W

각형의 규칙적인 형상을 가지고 있으므로 Type 2가 온도 분포 구현 측면에서는 분명 앞선다고 할 수 있다. 연속류형 Micro-PCR 시스템의 성능은 온도 분포 구현 성능에 의해 좌우되므로 본 연구에서는 Type 2를 바람직한 유형으로 선정하였다.

3.2. 냉각용 히트싱크 설계

본 연구에서 선정한 Type 2가 성공적으로 구현되기 위해서는 외부 온도에 관계없이 4.48 W를 외부로 방출할 수 있는 냉각 장치가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 외부 온도가 가장 높은 30 °C인 경우에 송풍기가 정격전압으로 작동하면서 4.48 W의 열을 외부로 방출하도록 히트싱크를 설계하고 외부 온도가 낮아짐에 따라 송풍기의 회전 속도를 줄여서 냉각 열량을 유지하는 전략을 사용하고자 한다.

동일한 제약 조건의 경우 Pin fin 형상의 히트싱크가 Straight fin 형상보다 열전달 성능이 우수하다는 사실이 알려져 있으므로⁽¹³⁾ 본 연구에서는 냉각을 위한 히트싱크로 Pin fin 형상의 히트싱크를 사용하고 히트싱크를 설계함에 있어 Table 3와 같은 제약 조건을 사용하였다. Pin fin 형상과 같이 비교적 복잡한 구조를 가지는 히트싱크 내의 열유동 현상에 대해서는 주로 완전 3차원 수치 계산 방법에 의존하고 있으며 극히 제한적인 열설계만이 이뤄져 왔다⁽¹⁴⁾. 완전 3차원 수치 계산 방법을 사용할 경우 미세구조물의 구조가 복잡해질수록 막대한 계산 용량이 필요해질 뿐만 아니라 Reattachment, Vortex Generation과 같은 복잡한 현상으로 인해 정확한 예측이 현실적으로 불가능하므로 본 연구에서는 주어진 유량에 대한 히트싱크의 압력강하량 및 열저항 값 계산에 다공성 매질 접근법을 사용하였다. 다공성 매질 접근법이란 해석하고자 하는 대상

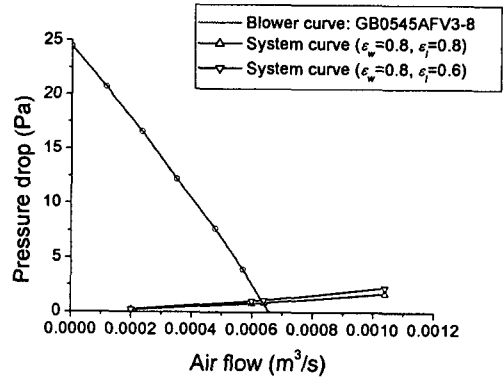


Fig. 6 Operating point of blower

Table 4 Cooling performance of heat sinks

ϵ_w	ϵ_l	Thermal resistance (°C/W)
0.8	0.6	4.92
0.8	0.71	5.58
0.8	0.8	6.27

ϵ_w : (space between fins in width direction)/(fin pitch)

ϵ_l : (space between fins in length direction)/(fin pitch)

을 거시적인 관점에서 동일한 열유동 특성을 지니는 다공성 매질로 모사하여 해석하는 방법이다. 다공성 매질 접근법의 핵심은 해석하고자 하는 대상의 열유동 특성을 지니는 최소한의 체적인 대표 체적 내에서 지배방정식을 Local volume-averaging하는 과정이라 할 수 있으며 이 과정을 통해 지배방정식이 단순해지기 때문에 해석, 설계의 신속성, 정확성이 향상된다. 다공성 매질 접근법의 자세한 내용은 Kim과 Kim⁽¹³⁾의 논문에서 기술되어 있으므로 본 논문에서는 반복하지 않겠다.

Table 3에 명시한 상용 송풍기의 작동점을 결정하기 위해 Fig. 6에서 보여주는 것처럼 다공성 매질 접근법으로 계산한 히트싱크의 유동저항 곡선과 송풍기 제조회사에서 제공하는 송풍기 특성곡선의 교점을 찾았으며 이때의 유량값에 대한 열저항 값을 다공성 매질 접근법으로 계산하였다. Table 4에서 보여주는 것처럼 Table 3에서 요구하는 냉각성능(열저항)을 얻기 위해서는 $\epsilon_w=0.8$, $\epsilon_l=0.71$ 의 Pin fin 형상 히트싱크를 사용해야 함을 알 수 있다.

4. 결론

지금까지 연속류형 Micro-PCR 시스템과 여기에 필요한 냉각 부품을 유한체적법과 다공성 매질 접근법으로 해석, 설계하였다. 해석 결과 Micro-PCR 시스템은 고유의 열저항 값을 가지기 때문에 외부 온도가 변화하게 되면 투입되는 총 열량의 조절을 통해 적절한 평균 온도의 유지가 가능함을 알게 되었고 Denaturation, Annealing, Elongation에 해당하는 세 온도 영역의 위치 및 형상이 외부 온도에 무관하도록 하기 위해서는 히터뿐만 아니라 냉각 장치를 함께 사용하는 Type 2가 바람직함을 알게 되었다. 냉각 장치에 사용될 히트싱크의 냉각 성능 해석 및 형상 설계는 전체 시스템 설계에서 분리하고 완전 3차원 수치 계산 방법 대신 다공성 매질 접근법을 사용함으로써 설계 시간을 크게 단축하였으며 요구 조건을 만족하는 히트싱크 형상을 도출해 낼 수 있었다.

후 기

본 연구는 한국기계연구원 자체연구사업(KM0790)의 지원에 의하여 수행되었음.

참고문헌

- (1) Wittwer, C. T., and Garling, D. J., 1991, "Rapid Cycle DNA Amplification: Time and Temperature Optimization," *BioTechniques*, Vol. 10, pp. 76-83.
- (2) Poser, S., Schulz, T., Dillner, U., Baier, V., Kohler, J. M., Schimkat, D., Mayer, G., and Siebert, A., 1997, "Chip Elements for Fast Thermocycling," *Sensors and Actuators A*, Vol. 62, pp. 672-675.
- (3) Lin, Y., Yang, C., and Huang, M., 2000, "Simulation and Experimental Validation of Micro Polymerase Chain Reaction Chips," *Sensors and Actuators B*, Vol. 71, pp. 127-133.
- (4) Legally, E. T., Simpson, P. C., and Mathies, R. A., 2000, "Monolithic Integrated Microfluidic DNA Amplification and Capillary Electrophoresis Analysis System," *Sensors and Actuators B*, Vol. 63, pp. 138-146.
- (5) Legally, E. T., Medintz, I., and Mathies, R. A., 2001, "Single-Molecule DNA Amplification and Analysis in an Integrated Microfluidic Device," *Analytical Chemistry*, Vol. 73, pp. 565-570.
- (6) Shoji, S., Akahori, K., Tashiro, K., Sato, H., and Honda, N., 2001, "Design and Fabrication of Micromachined Chemical/Biochemical Systems," *RIKEN Review*, No. 36, pp. 8-11.
- (7) Kopp, M. U., Mello, A. J., and Manz, A., 1998, "Chemical Amplification: Continuous-Flow PCR on a Chip," *Science*, Vol. 280, pp. 1046-1048.
- (8) Schneegas, I., Brautigam, R., and Kohler, J. M., 2001, "Miniaturized Flow-through PCR with Different Temperature Types in a Silicon Chip Thermocycler," *Lab on a Chip*, Vol. 1, pp. 42-49.
- (9) Chiou, J., Matsudaira, P., Sonin, A., and Ehrlich, D., 2001, "A Closed-Cycle Capillary Polymerase Chain Reaction Machine," *Analytical Chemistry*, Vol. 73, pp. 2018-2021.
- (10) Zhang, Q., Wang, W., Zhang, H., and Wang, Y., 2002, "Temperature Analysis of Continuous-Flow Micro-PCR based on FEA," *Sensors and Actuators B*, Vol. 82, pp. 75-81.
- (11) Sadler, D. J., Changrani, R., Roberts, P., Chou, C., and Zenhausern, F., 2002, "Thermal Management of BioMEMS," 2002 Inter Society Conference on Thermal Phenomena, pp. 1025-1032.
- (12) Stern, S., Brooks, C., Strachan, M., Kopf-Sill, A., and Parce, W., 2002, "Microfluidic Thermocyclers for Genetic Analysis," 2002 Inter Society Conference on Thermal Phenomena, pp. 1033-1038.
- (13) Kim, D., and Kim, S. J., 2003, "Thermal Optimization of Microchannel Heat Sink with Pin Fin Structures," 2003 ASME International Mechanical Engineering Congress & Exposition.
- (14) Jonsson, H., and Moshfegh, B., 2002, "Enhancement of the Cooling Performance of Circular Pin Fin Heat Sinks under Flow Bypass Conditions," 2002 Inter Society Conference on Thermal Phenomena, pp. 425-432.