

랩온어칩을 위한 중합효소 연쇄반응 칩의 열설계

김덕종* · 김재윤* · 박상진* · 허필우* · 윤의수**

Thermal Design of PCR Chip for LOC

Duckjong Kim · Jaeyun Kim* · Sangjin Park* · Pilwoo Heo* · Euisoo Yoon***

ABSTRACT

In this work, thermal design of a PCR chip for LOC is systematically conducted. From the numerical simulation of a PCR chip based on the finite volume method, how to control the average temperature of a PCR chip and the temperature difference between the denaturation zone and the annealing zone is presented. The average temperature is shown to be controlled by adjusting heat input and a cooler as well as a heater is shown to be necessary to obtain three individual temperature zones for polymerase chain reaction. To reduce the time required, a heat sink for the cooler is not included in the calculation domain for the PCR chip and heat sink design is conducted separately by using a compact modeling method, the porous medium approach.

Key Words : Lab On a Chip(랩온어칩), Polymerase chain reaction(중합효소 연쇄반응), Continuous-flow PCR chip(연속류형 중합효소 연쇄반응 칩), Finite volume method(유한체적법), Heat sink(히트싱크), Compact modeling(간결한 모형화), Porous medium approach(다공성 매질 접근법)

* 열유체공정기술연구부 생물공정기계그룹 선임연구원

** 열유체공정기술연구부 생물공정기계그룹 책임연구원

기호 설명

R_{PCR}	중합효소 연쇄반응 칩의 열저항
T_{PCR}	중합효소 연쇄반응 칩의 평균 온도
$T_{ambient}$	외부 온도
Q_{total}	투입된 총 열량
a	송풍기의 소비 전력
ϵ_w	(폭 방향 Fin간 거리)/(Fin pitch)
ϵ_l	(길이 방향 Fin간 거리)/(Fin pitch)

1. 서론

중합효소 연쇄반응이란 각종 핵산 구성요소와 효소가 포함된 시료의 온도조절을 통해 핵산의 수를 증폭하는 생화학 반응으로서 최근 각광받고 있는 유전체학 연구의 중요한 밑거름이 되고 있으며 관련 기술의 개발에 따른 경제적, 기술적 파급 효과는 매우 크다고 할 수 있다. 중합효소 연쇄반응은 온도에 매우 민감하기 때문에 시료의 온도를 Denaturation (91~97 °C), Annealing(55~60 °C), Elongation (75~79 °C)의 세 과정에 해당하는 온도로 정확하고 신속하게 제어해 줄 수 있는 장치의 개발이 매우 중요하다⁽¹⁾. 최근 미세가공기술

의 발달에 따라 시료의 신속한 온도 제어를 위해 시료의 열적인 질량을 극소화한 중합효소 연쇄반응 칩에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 중합효소 연쇄반응 칩에는 Micro-chamber형^(2~6), 연속류형^(7~12)이 있는데 최근에는 시료의 채취, 전처리, 분리, 분석의 모든 공정을 하나의 칩 위에서 처리할 수 있는 랩온어칩(Lab On a Chip)이 주목받으면서 중합효소 연쇄반응 전, 후 공정과의 원활한 연결이 가능한 연속류형에 대한 관심이 커져가고 있다. 기존 중합효소 연쇄반응 시스템이 정지된 시료의 시간에 따른 온도를 제어하는 것과 달리 연속류형 중합효소 연쇄반응 칩은 Fig. 1에서 보여주는 것처럼 시료가 흐르는 모세관이 세 온도 영역들을 통과하도록 하고 시료의 위치 제어를 통해 시료의 온도를 제어하는 방법을 사용한다.

그간 발표된 연속류형 중합효소 연쇄반응 칩 연구 사례들을 살펴보면, 미세가공기술을 가지고 있는 연구자들이 자신의 아이디어를 시험해 보는 수준에 그치고 있으며 열유체 분야를 전공한 연구자들이 체계적으로 접근한 사례는 찾아보기 힘든 실정이다. 따라서 본 연구에서는 열유체 분야 지식에 기반한 해석을 통해 연속류형 중합효소 연쇄반응 칩의 세 온도 영역을 구현하기 위한 합리적인 방안을 제시하고자 한다.

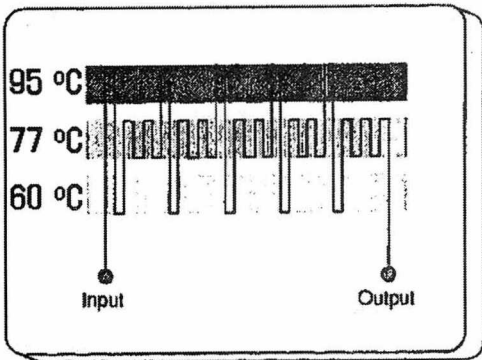


Fig. 1 연속류형 중합효소 연쇄반응 칩⁽⁷⁾

2. 시스템 열설계

2.1. 문제 정의

Fig. 2는 본 연구에서 설계하게 될 연속류형 중합효소 연쇄반응 칩을 뒤집어 놓았을 때의 모식도이다. 미세유로가 새겨진 판 위에는 의

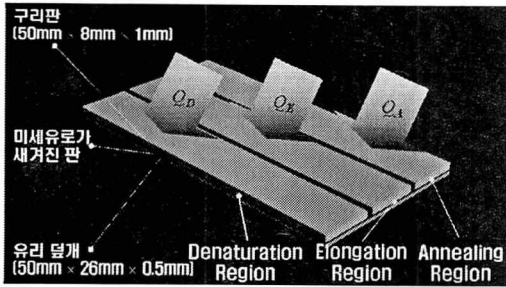


Fig. 2 문제 정의

부로 노출되는 유리덮개(50 mm × 26 mm × 0.5 mm)가 씌워지며 아래에 부착된 구리판(50 mm × 8 mm × 1 mm) 세 개를 통해 열이 유입되거나 방출된다(각각 Q_D , Q_E , Q_A). 구리판과 미세유로가 새겨진 판 사이에는 접착을 위한 Epoxy층(0.02 mm 두께)이 존재한다.

시료가 미세유로를 통해 세 온도 영역을 차례로 거치게 되면 Denaturation 영역에서는 유로 벽면으로부터 시료로, Annealing 영역에서는 시료로부터 유로 벽면으로 열전달이 일어나게 되는데 이러한 열전달 현상이 미세유로가 새겨진 판의 온도 분포에 영향을 줄 수 있는지 알아보기 위해 Denaturation 영역의 유로 벽면으로부터 시료로 전달되는 열전달량과 외부에서 미세유로가 새겨진 판으로 유입되는 열량을 비교해 보았다. Zhang 등⁽¹⁰⁾의 실험 결과를 바탕으로 계산해 보면 미세유로가 새겨진 판으로부터 시료로 전달되는 열량은 약 0.008 W인 반면 외부에서 유입되는 열량은 17 W로 시료로 손실되는 열량의 2000배가 넘는다. 이처럼 미량의 시료를 다루는 중합효소 연쇄반응 칩의 경우 시료의 흐름이 유로가 새겨진 판의 온도 분포에 거의 영향을 미치지 않게 되므로 본 연구에서는 미세유로 내의 유동은 고려하지 않았으며 문제 해석에는 상용 해석 프로그램인 CoventorWare를 이용하였다.

2.2. 평균 온도 제어

Table 1은 미세유로가 새겨진 판이 실리콘으로 만들어져 있고 두께가 0.3 mm인 경우 유입되는 열량이 중합효소 연쇄반응 칩의 온도 분포와 어떤 관계를 가지는지 보여준다. 투입되는 총 열량이 0.96W로 일정하게 유지되면서 각 구리판으로 투입되는 열량의 비가 변화하게 되면 중합효소 연쇄반응 칩의 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 일정하게 유지된다는 점에서 식 (1)과 같이 정의되는 중합효소 연쇄반응 칩의 열저항은 고유의 값을 가진다고 할 수 있다.

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

식 (1)을 이용하면 중합효소 연쇄반응 칩의 평균 온도를 조절하는 것이 가능하다. 중합효소 연쇄반응을 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 칩의 재질 및 구조에 의해 좌우되는 값으로 임의의 외부 온도에 대한 실험을 통해 그 값이 결정되는 상수이다. Table 1에서 보여주는 것처럼 외부 온도가 20 °C인 경우에 총 0.96 W가 투입되면 칩의 평균 온도가 약 90 °C이므로 평균 온도를 76 °C로 조절하기 위해서는 총 투입 열량은 0.768 W(=0.96×(76-20)/(90-20))여야 함을 알 수 있으며 이와 같이 투입 열량을

Table 1 투입되는 총 열량의 영향

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

Table 2 중합효소 연쇄반응 칩의 소비 전력

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

조절하게 되면 Table 1에서 보여주는 것처럼 칩의 평균 온도가 76.2 °C로 제어됨을 확인할 수 있다.

열저항 개념을 이용하면 투입 열량의 조절만으로 외부 온도 변화에 대응할 수 있는 중합효소 연쇄반응 칩의 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.

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

2.3. 온도차 제어

중합효소 연쇄반응이 일어나기 위해서는 최고온부와 최저온부간의 온도차가 31 °C 이상은 되어야 하는데 Table 1의 최종 결과를 살펴보면 온도차가 4 °C에도 미치지 못하기 때문

에 고온부와 저온부간 온도차를 증가시킬 수 있는 방안을 모색해 보았다. 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). 시스템 설계의 효율성 제고를 위해 냉각 장치는 계산 영역에서 제외하고 냉각 장치와 접촉하는 면에 냉각 성능에 따른 열유속 경계조건을 주었으며 냉각 장치 자체에 대한 설계는 3장에서 별도의 방법으로 수행하였다. Type 1과 Type 2 중 어느 유형이 보다 바람직한지를 밝히기 위해 외부 온도가 20 °C인 경우에 대해서는 적절한 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. 3, 4에서 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 직사각형의 규

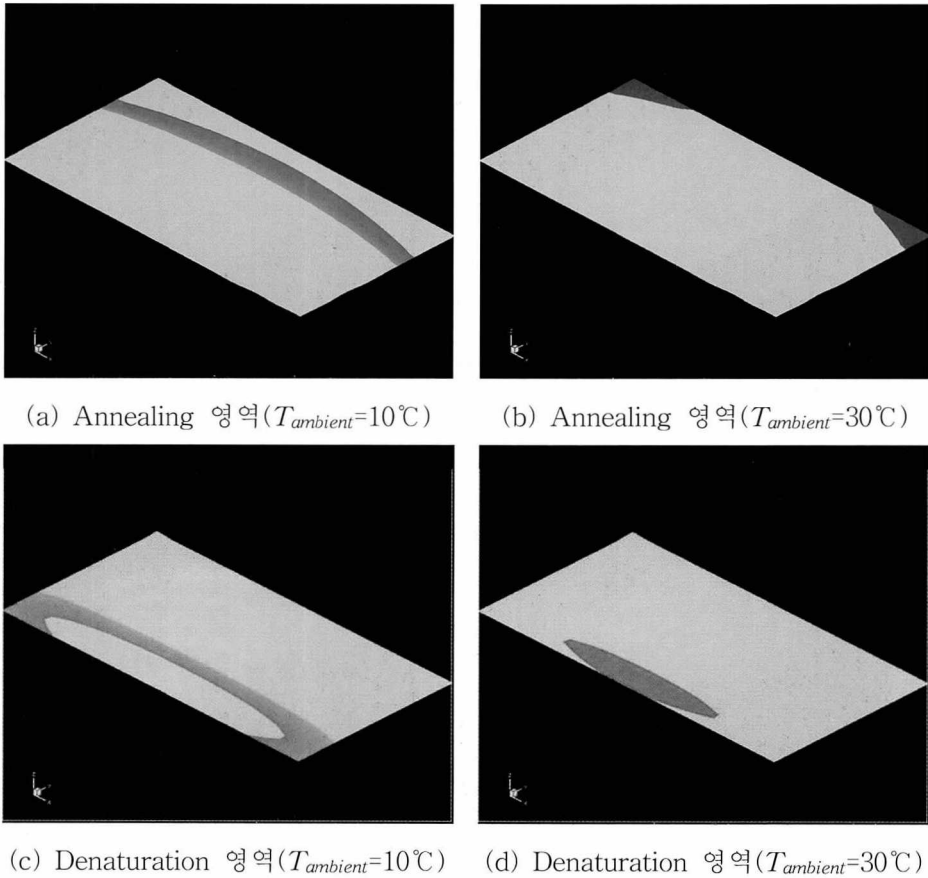


Fig. 3 외부 온도 변화가 Type 1 내 각 영역의 위치에 미치는 영향

적절한 형상을 가지고 있으므로 Type 2가 온도 영역 구현 측면에서는 분명 앞선다고 할 수 있다. 본 연구에서는 세 온도 영역을 적절하게 구현하는데 초점을 맞추고 있으므로 Type 2가 바람직하다고 결론 내렸다.

3. 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 사용하고자 한다. 히트싱크를 설계함에 있어서의 제약 조건 및 요구되는 열전달 성능은 Table 3에 제시하였다. Pin

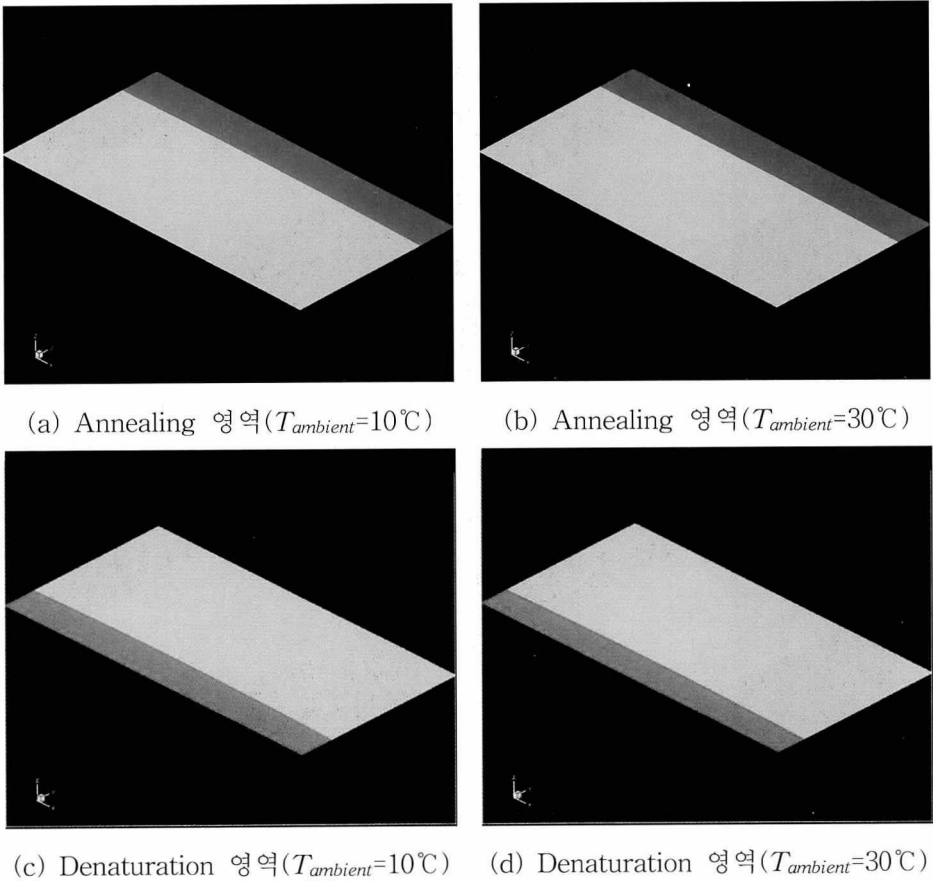


Fig. 4 외부 온도 변화가 Type 2 내 각 영역의 위치에 미치는

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 대상을 거시적인 관점에서 동일한 열유동 특성을 지니는 다공성 매질로 모사하여 해석하는 방법이다(Fig. 5). 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

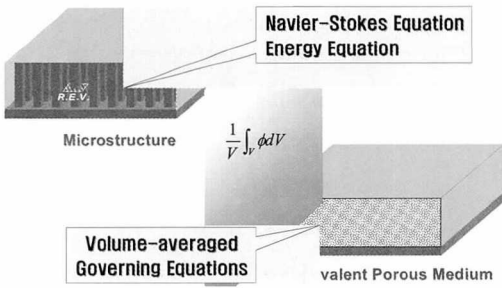


Fig. 5 다공성 매질 접근법의 개념

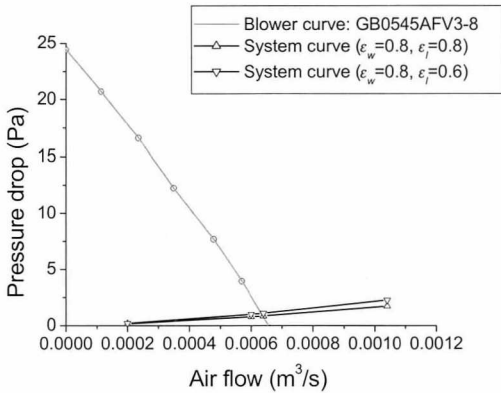


Fig. 6 송풍기의 작동점 결정

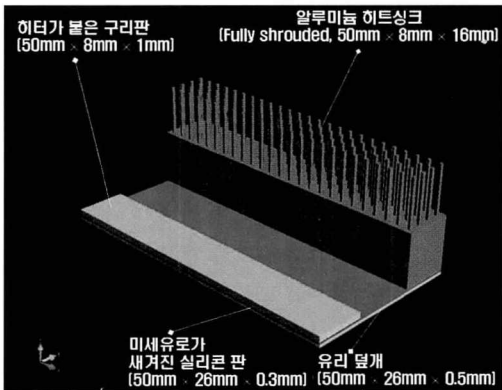


Fig. 7 설계된 중합효소 연쇄반응 칩의 개략도

Kim과 Kim⁽¹³⁾의 논문에 기술되어 있으므로 본 논문에서는 반복하지 않겠다.

Table 3에 명시한 상용 송풍기의 작동점을

Table 3 히트싱크 설계의 제약 조건 및 목표

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

Table 4 히트싱크의 열저항

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

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 $\epsilon_w=0.8$, $\epsilon_f=0.71$ 의 Pin fin 형상 히트싱크를 사용해야 함을 알 수 있다(Fig. 7).

4. 결 론

지금까지 중합효소 연쇄반응 칩과 여기에 필요한 냉각 부품을 유한체적법과 다공성 매질 접근법으로 해석, 설계하였다. 해석 결과 중합효소 연쇄반응 칩은 고유의 열저항 값을 가지기 때문에 외부 온도가 변화하게 되면 투입되는 총 열량의 조절을 통해 적정한 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.

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.