

Polydimethylsiloxane 기반 미세유체시스템의 음향열적 가열 및 응용

성형진⁺ · 하병항^{*} · 박진수^{*} · 굴람 데스트기르^{*} · 정진호^{*}

Acoustothermal Heating of Polydimethylsiloxane Microfluidic Systems and its Applications

Byunghang Ha, Jinsoo Park, Ghulam Destgeer, Jin Ho Jung, and Hyung Jin Sung

Abstract. We report a finding of fast(exceeding 2,000 K/s) heating of polydimethylsiloxane(PDMS), one of the most commonly-used microchannel materials, under cyclic loadings at high(~MHz) frequencies. A microheater was created based on the finding. The heating mechanism utilized vibration damping of sound waves, which were generated and precisely manipulated using a conventional surface acoustic wave(SAW) microfluidic system, in PDMS. The penetration depths were measured to range from 210 μm to 1290 μm , enough to cover most microchannel heights in microfluidic systems. The energy conversion efficiency was SAW frequency-dependent and measured to be the highest at around 30 MHz. Independent actuation of each interdigital transducer(IDT) enabled independent manipulation of SAWs, permitting spatiotemporal control of temperature on the microchip. All the advantages of this microheater facilitated a two-step continuous flow polymerase chain reaction(CFPCR) to achieve the billion-fold amplification of a 134 bp DNA amplicon in less than 3 min. In addition, a technique was developed for establishing dynamic free-form temperature gradients(TGs) in PDMS as well as in gases in contact with the PDMS.

Keywords : Acoustothermal Heating(음향열적 가열), Surface Acoustic Wave(표면탄성파), Temperature Gradient(온도구배), Continuous Flow PCR(연속흐름중합효소연쇄반응)

1. 서 론

랩온어칩(Lab-on-a-chip) 시스템이 여러 가지 정교한 생 물리화학 실험 및 공정에 광범위하게 쓰임에 따라, 마이크로 유동 시스템의 열적 제어는 오랜 기간 동안 중요한 논 점이 되어 왔다.⁽¹⁾ 따라서, 마이크로 가열 시스템의 개발은 핵산 증폭 기술, 세포의 용해 및 죽음, 세포 배양, 효소 역 학의 연구, 가스 센서, 주열성, 열이동(Thermophoresis), 기포 생성 및 발달 연구, 마이크로/나노 입자 합성, 폴리머 합성, 미세조류로부터 바이오연료 생산 등 다양한 분야에서 필수적인 요소가 되었다.

그러나, 현재까지 제안된 마이크로 가열 시스템의 온도 조절은 복잡하고 비효율적이다. 예컨대, 구리 막대로부터

진화하여 유리 기판 위에 복잡한 금속 저항선을 인쇄하여 저항열을 일으키는 줄 가열(Joule heating)은 정확하고 빠르게 온도를 제어하나, 금속과 샘플이 직접 접촉하는 침습적인 전도 가열이기 때문에 샘플을 오염시키기 쉬우며 샘플의 표면과 내부의 온도차를 가지는 단점이 있다.⁽²⁾ 심지어 불투명하여 샘플의 변화를 관찰할 수 없을 뿐만 아니라 비싼 제조 공정에 비해 온도 제어 기능이 매우 제한적이다. 반면에, 적외선이나 마이크로웨이브를 활용하여 원거리에서 샘플을 가열하는 비접촉식 방식은 침습적이지 않으면서도 원하는 유체 샘플만을 선택적으로 가열하기 때문에 가열 대상의 열용량이 작아 가열과 냉각의 반복이 빠르게 되어 번은 과정에 특히 유리하나 복잡한 최적화 과정이 필수라는 단점이 있다. 더욱이, 적외선 가열 방식의 경우 방사된 에너지를 한 곳으로 모아줄 렌즈가 필요하며,

⁺ Department of Mechanical Engineering, KAIST, 291 Daehak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34141, Korea
E-mail : hjsung@kaist.ac.kr

과동과 유체 샘플과 마이크로 채널 사이의 간섭을 줄여줄 수 있는 필터 또는 주파수 조율이 필수적이다.⁽³⁾ 그리고 마이크로웨이브 가열 방식의 경우 에너지 효율적으로 가열이 가능하지만 공정이 복잡하다.⁽⁴⁾ 또한, 비접촉식 히터는 대체로 부피가 크고 복잡한 제작 공정을 거쳐야 하기 때문에 일회용 또는 휴대용으로 쓰기 어려운 단점을 갖는다.

상기한 문제점을 해결하기 위한 본 연구의 목적은 점탄성 물질의 표면탄성과 흡수에 따른 발열 현상을 이용하여 마이크로 유동 시스템 등의 열적 제어를 이룰 수 있도록 하는 음향열적 미소가열 장치 및 이를 이용한 가열 제어 방법을 제공하는 것이다.⁽⁵⁾ 방법은 피에조 기관 상에 형성된 IDT(Interdigital Transducer) 전극을 통해 기설정된 표면탄성파를 발생시켜 피에조 기관 상층에 적층 형성된 점탄성 물질로 이루어지는 가열체를 발열시키도록 구성하고 상기 가열체로서 내부 유체 채널이 형성된 유체칩 역할을 수행하도록 한다. 기존의 마이크로 유동 시스템을 그대로 사용하기 때문에 제작 시 아무런 추가 공정 없이도 쉽게 제작이 가능하고, 투명하며 샘플 채적을 빠르고 정교하고 균일하게 가열할 수 있으며, 접촉식이어서 샘플 특성에 구애 받지 않고 유체 샘플 내에 난류를 일으켜 혼합을 촉진시킬 수 있고, 균일한 온도 분포를 가질 수 있어 차세대 핵산 증폭기 개발 및 랩온어칩 시스템의 혁신에 크게 기여할 수 있는 효과를 갖는다.

본 연구의 응용으로 연속 흐름 중합효소 연쇄반응 시스템(CFPCR; Continuous Flow Polymerase Chain Reaction System)을 개발하여 λ-DNA의 일부인 134 bp를 3분 이내에 효과적으로 증폭했다. 또한, slanted IDT(SIDT)를 응용하여 고체 및 기체 내 시공간적, 동적 제어가 가능한 자유형태 온도구배를 형성하였다. 이를 통해 high-resolution DNA melting analysis를 수행하여, DNA의 single nucleotide polymorphism (SNP)을 검출하였다.⁽⁶⁾

2. 본 론

2.1 침투 깊이

우리는 leaky SAW가 PDMS내에 침투하여 PDMS를 가열하는 것을 적외선 카메라를 이용하여 영상화하였다(Fig. 1b). 시스템 구성은 다음과 같다. 공진 주파수가 각각 다른 IDT가 인쇄된 피에조 기관 위에 두꺼운(~5 mm) PDMS 조각을 올려놓았다. IDT를 가진하여 PDMS를 가열한 뒤, PDMS 조각 단면의 온도 변화를 적외선 카메라로 측정하였다(Fig. 1a). Fig. 1b는 가열 시작 후 정확히 1 초 뒤에 최고온도가 68°C에 이르렀을 때 측정된

상황에서 스냅샷을 찍은 것이다. 가진 주파수 및 사용된 IDT의 종류는 각각 다음과 같다: (i) 128.5 MHz (focused), (ii) (1) 36, (2) 32, (3) 28, (4) 24, and (5) 20 MHz(slanted; 사진은 최대 밝기 기준으로 증첩합성하였음), (iii) 16.1 MHz(straight), and (iv) 9.8 MHz(straight). 점탄성 물질 내 음파는 흡수되어 진행방향을 따라 점차 세기가 줄게 되는데, 따라서 침투 깊이는 제한적일 수밖에 없다. 여기서 침투 깊이는 최고 온도의 절반에 해당하는 위치만큼의 거리로 정의하였다. 측정 결과, 침투 깊이는 다음과 같은 power law를 따르는 것으로 밝혀졌다.

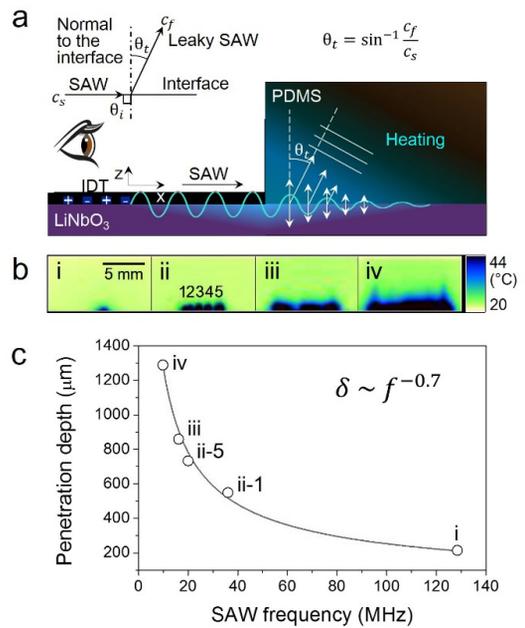


Fig. 1. Measurement of penetration depths of surface acoustic waves(SAWs).

여기서 는 침투 깊이, 는 음파의 주파수, 는 실험데이터에 의해 0.7로 fitting되는 양의 실수값이다. 침투 깊이는 9.8 MHz에서 128.5 MHz에 이르는 주파수에 대하여 각각 1290에서 210 μm에 달하는 것으로 측정되었다(Fig. 1c). 이는 대부분의 마이크로채널 높이를 커버하기에 충분하다.

2.2 로스 팩터(Loss Factor)

음향열적 가열은 주파수의 함수로 주어진다. 점탄성 PDMS의 음향열적 에너지 발산은 폴리머의 relaxation time이 가진주파수와 상응할 때 local maximum에 도달한다. 이러한 물질의 성질을 대변하는 인자를 로스 팩터라고

하며, 이는 영의 탄성계수의 허수부를 실수부로 나누는 것으로 정의된다. 로스 팩터는 진동흡수에 의해 잃어버린 에너지 대 피크에 도달하는 잠재적 에너지의 비율을 나타낸다. 따라서 로스 팩터는 발열 에너지에 비례하며, 동시에 물질의 온도 상승분에 비례한다. 로스 팩터가 주파수에 따라 가변하기 때문에, 로스 팩터의 주파수에 따른 프로파일은 PDMS 내 온도 상승분을 측정함으로써 얻어질 수 있다 (Fig. 2). Fig. 2는 30 MHz 근처에서 매우 날카로운 피크를 보여준다. 이 피크는 IDT에 가진된 주파수가 30 MHz 근처일 때 가열 효과가 가장 빠르고 에너지효율적이라는 것을 증명해준다. 30 MHz 주파수는 IDT 설계 측면에서 유리한데, 그 이유는 IDT의 인쇄 선폭이 32.5 μm 로서 마이크로칩 제작 시 비싼(>\$5,000) 공정이 필요하지 않다는 장점 때문이다.

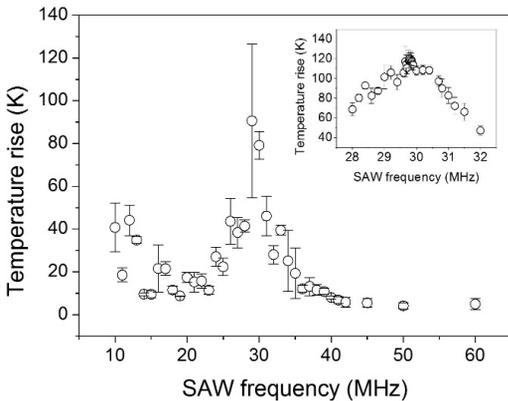


Fig. 2. Plot showing the measurements of the PDMS temperature rise as a function of the SAW frequency over the range 10-60 MHz.

2.3 연속흐름중합체효소연쇄반응

본 연구팀은 발견분석한 현상을 기반으로 마이크로히터를 개발하였다. 그리고 히터의 유용성을 평가하기 위해 연속흐름중합체효소연쇄반응을 수행하였다. 연속흐름중합체효소반응은 PCR 샘플이 용기에 담긴 채 가열과 냉각을 통해 고온과 저온을 번갈아 겪는 것이 아니라, 마이크로채널을 통해 흐르며 서로 다른 고정된 온도 영역을 거침으로써 이루어지는 방식을 말한다. 연속흐름 방식은 샘플의 온도 변화가 매우 빠르고, 처리량이 크고, 전후(upstream and downstream) 프로세스와 연동되기 때문에 랩온어칩 시스템에 매우 적합하다. 그러나 연속흐름중합체효소연쇄반응은 그 단점 때문에 널리 쓰이지 못하였다. 채널 및 히

터 레이아웃이 고정되기 때문에 PCR 사이클 횟수와 각 프로세스의 시간 비율이 고정되어 사용자의 다양한 실험 요구를 만족시키지 못했기 때문이다.

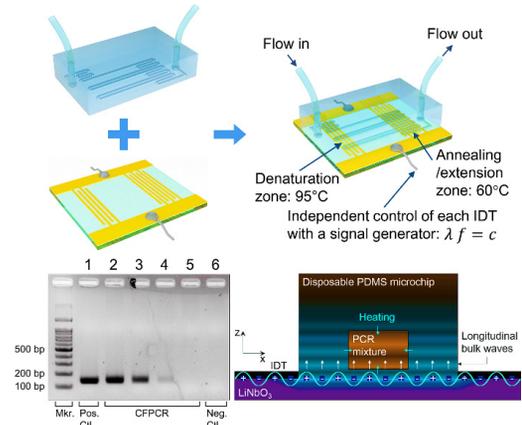


Fig. 3. Schematic diagram showing the fabrication of a CFPCR chip, electrophoresis result, and schematic showing the heating principle.

본 연구팀이 개발한 마이크로히터는 이러한 한계를 극복하게 해주었다. 마이크로히터는 2차원 평면 위에서 시간적 온도제어를 가능하게 해준다. 시간적 온도제어는 IDT를 가진하는 전기신호의 세기를 시간에 따라 변화함으로써 가열에 필요한 에너지를 변화시켜 이루어진다. 공간적 온도제어는 IDT가 공진되는 주파수가 정해져 있음에 기인한다. IDT의 가진은 그 선폭이 얼마냐에 따라 선택적으로 이루어진다. 따라서 선폭이 서로 다른 IDT를 피에조기판 위에 인쇄한 뒤, 가진하고자 하는 IDT의 선폭에 맞는 공진주파수를 갖는 전기신호를 가함으로써 IDT를 선택적으로 가진할 수 있다. 아울러 서로 다른 주파수와 세기를 가지는 전기신호들을 시간적으로 분할하여 함께 보내는 다중시간분할 방식을 통해 여러 IDT를 동시에 가진할 수 있다. 이것은 연속흐름중합체효소반응 시스템의 히터 구성에 있어서 각각의 온도존의 영역을 변화가능하게 한다. 그리하여 PCR의 각 프로세스 간 시간 비율을 조절할 수 있게 해준다. 이를 통하여 우리는 기존의 연속흐름중합체효소반응 시스템의 한계를 극복할 수 있었다. 개발된 시스템의 구성은 Fig. 3에 표현되어있다. 서로 다른 공진주파수를 가지는 2개의 IDT를 피에조 기판 위에 인쇄하였다. 가진 시, 한 IDT는 PDMS 마이크로채널 내 흐르는 액체의 온도를 95°C로 유지하고 다른 IDT는 60°C로 유지한다. 반응 샘플은 두 개의 온도존을 번갈아 흐르며 30회를

오가게 된다. 버퍼는 각각의 시료 사이에 흐르게 되어 마이크로채널을 세척하고 샘플 간 오염을 방지한다. 용해(denaturation)와 풀림(annealing)/연장(extension)에 소요되는 시간 비율은 1:4로 맞추었다. 유량은 30-240 $\mu\text{L/hr}$ 로 주어져, 30 사이클에 소요되는 시간 범주는 12분에서 1.5분이었다. 증폭된 DNA 조각은 λ -DNA의 일부인 134 bp 이었다. 채집된 샘플은 2% 아가로스 겔에서 전기영동으로 분석되었다(Fig. 3). Lane 1은 DNA ladder이고, Lane 2는 상용 PCR 기계로 샘플을 증폭한 결과이며, Lane 2-5는 각각 12분, 6분, 3분, 1.5분의 증폭시간이 소요된 결과이며, Lane 6은 λ -DNA template이 결여된 샘플의 증폭 결과이다. 본 연구팀은 3분의 증폭 시간이 소요된 Lane 4의 결과를 유효하다고 보았다. 우하의 그림은 leaky SAW가 PDMS채널의 벽면을 가열하는 원리를 나타내는 모식도이다. 실험 결과는 일반적인 PCR 기계의 결과와 마찬가지로 효과적인 PCR이 본 연구팀이 개발한 히터를 통해 매우 빠르게(3분 이내) 수행되었음을 보여준다.

2.4 자유형태 온도구배의 형성

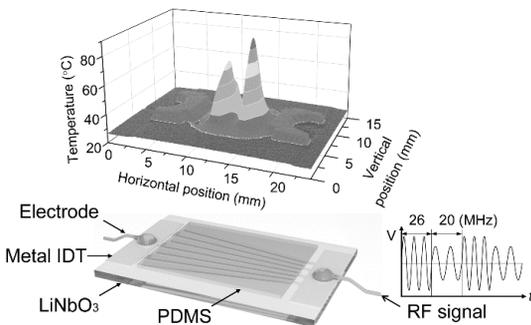


Fig. 4. Schematic diagram of the free-form, dynamic temperature gradient generation system.

온도구배는 전기장과 더불어 이온화된 분자들을 제어하는데 매우 효과적인 접근방식이다.⁽⁷⁾ 그리고 생화학 분야에서 온도의 함수로 주어지는 실험을 효과적으로 수행할 수 있는 방법이기도 하다. 그런데 현재까지 제안된 온도구배 형성 방식은 매우 제한적인 형태의 고정된 온도구배 형성만 가능했다.⁽⁸⁾ 본 연구팀은 고체(PDMS) 및 PDMS에 맞닿은 기체 내 자유형태의 동적 온도구배 형성 시스템을 개발하였다. 가열 원리는 주지한 대로 고주파수(5-200 MHz) 표면탄성파에 의해 PDMS가 효율적으로 흡수발열하는 원리에 기인한다. Fig. 4는 시스템의 구성 및 작동 원리를 나타내는 모식도이다. 시스템의 구성은 slanted

IDT(SIDT)가 인쇄된 피에조 기관 위에 약 500 μm 두께의 PDMS 막을 올려놓는 것으로 완성된다. SIDT는 IDT의 전극 두께 및 간격이 일정하지 않고 한쪽 끝에서 다른 끝까지 선형으로 가변하게끔 설계된 것을 말한다. 그래서 특정 범위 내의 공진주파수에 의해 넓은 영역 중 일부가 선택적으로 가열된다. Fig. 4에 표시된 것처럼 다중시간분할 방식으로 전기신호를 가하면, 복수의 위치의 온도를 독립적으로 제어할 수 있다. 예컨대, 26 MHz와 20 MHz의 전기신호를 세기를 달리하며 0.0001초씩 번갈아 IDT에 가하면, 그 주파수에 공진되는 IDT 위의 PDMS가 서로 다르게 가열되어 Fig. 4의 그래프에 표기된 것처럼 온도분포가 이루어지는 것이다. 이처럼 PDMS 내부 및 PDMS 표면 위 기체상에 1차원적 온도구배를 자유형태로 구현할 수 있다. 다양한 전기신호를 시간에 따라 동적으로 가변할 수 있으므로, 온도구배 역시 동적으로 제어가 가능하다. PDMS는 -45°C에서 200°C에 이르는 범위에서 안정하다고 알려져 있으며, 실제 6개월에 걸친 실험에서 동일한 PDMS막의 온도를 18°C에서 150°C까지 반복적으로 변화시켰으나, 아무런 열적 피해를 관찰하지 못하였다. 이 기술은 기체 및 고체 내 자유형태 동적 온도구배 형성을 가능케 하여, 가스 크로마토그래피 또는 가스 센서에 유용하게 응용될 수 있을 것으로 기대된다.

3. 결론

본 연구에서는 표면탄성파를 효과적으로 흡수/발열하는 PDMS 마이크로유체시스템의 성질을 발견하고 원리를 규명하였다. 이에 기반하여 마이크로히터시스템을 개발하여, 연속흐름중합체효소연쇄반응을 3분 이내에 수행하고, 자유형태 동적 온도구배를 형성하였다. 본 연구는 히터뿐 아니라 MEMS, optofluidics, paper microfluidics에 적용될 액츄에이터, 센서에 응용되어 식품과학, 생화학 연구, 의학 분야를 막론하고 현재까지의 기술을 상회하는 능력을 제공함으로써 학계에 큰 기여를 할 수 있을 것으로 전망된다.

후 기

This work was supported by the Creative Research Initiatives program(No. 2016-004749) of the National Research Foundation of Korea(MSIP) and the KUSTAR-KAIST Institute.

REFERENCE

- 1) Miralles, V., Huerre, A., Malloggi, F. and Jullien, M.C., 2013, "A Review of Heating and Temperature Control in Microfluidic Systems: Techniques and Applications," *Diagnostics*, Vol.3(1), pp.33~67.
- 2) Chang, C.M., Chang, W.H., Wang, C.H., Wang, J.H., Mai, J.D. and Lee, G.B., 2013, "Nucleic Acid Amplification Using Microfluidic Systems," *Lab Chip*, Vol.13(7), pp.1225~1242.
- 3) Oda, R.P., Strausbauch, M.A., Huhmer, A.F.R., Borson, N., Jurrens, S.R., Craighead, J., Wettstein, P.J., Eckloff, B., Kline, B. and Landers, J.P., 1998, "Infrared-Mediated Thermocycling for Ultrafast Polymerase Chain Reaction Amplification of DNA," *Anal. Chem.*, Vol.70(20), pp.4361~4368.
- 4) Fermér, C., Nilsson, P. and Larhed, M., 2003, "Microwave-Assisted High-Speed PCR," *Eur. J. Pharm. Sci.*, Vol.18(2), pp.129~132.
- 5) Ha, B.H., Lee, K.S., Destgeer, G., Park, J., Choung, J.S., Jung, J.H., Shin, J.H. and Sung, H.J., 2015, "Acoustothermal Heating of Polydimethylsiloxane Microfluidic System," *Sci. Rep.*, Vol.5, pp.11851.
- 6) Ha, B.H., Park, J., Destgeer, G., Jung, J.H. and Sung, H.J., 2015, "Generation of Dynamic Free-Form Temperature Gradients in a Disposable Microchip," *Anal. Chem.*, Vol.87(22), pp.11568-11574.
- 5) Reichl, M., Herzog, M., Götz, A. and Braun, D., 2014, "Why Charged Molecules Move Across a Temperature Gradient: the Role of Electric Fields," *Phys. Rev. Lett.*, Vol.112(19), p.198101.
- 6) Mao, H., Yang, T. and Cremer, P.S., 2002, "A Microfluidic Device with a Linear Temperature Gradient for Parallel and Combinatorial Measurements," *J. Am. Chem. Soc.*, Vol.124(16), pp.4432~4435.