

유전자(DNA)증폭 온도 사이클 시스템에 열전소자 활용을 위한 연구

조재설[†]·정세훈*·남재영*·최재봉*·김영진*

Application of thermoelectric module to DNA amplifying thermal cycle system

Jae-Seol Cho, Se-Hun Jung, Jae-Young Nam, Jae-Boong Choi and Young-Jin Kim

Key Words: DNA(유전자), DNA amplifying thermal cycle system(유전자 증폭 온도 사이클 시스템), PCR(중합효소연쇄반응), PWM(펄스폭 변조 방식), TEM(열전소자), Thermoelectric module(열전기 모듈)

Abstract

A DNA analysis system based on fluorescence analysis has to have a DNA amplifying thermal cycle system. DNA amplification is executed by the temperature control. Accuracy of fluorescence analysis is influenced by the temperature control technology. For that reason, the temperature control is core technology in developing the DNA analysis system. Therefore, the objective of this paper is to develop the hardware to apply thermoelectric module to the DNA amplifying thermal cycle system. In order to verify the developed hardware for controlling the temperature of thermoelectric module, a DNA amplifying thermal cycle test was performed. From the test, the developed hardware controlled the temperature of thermoelectric module successfully. Therefore, it is expected that the developed hardware can be applied to the DNA amplifying thermal cycle system.

1. 서론

바이러스에 오염되거나 생물학작용제에 의해서 공격당한 곳의 경우에는 사태 수습을 위해 경계령 발표와 함께 장기간 철저한 격리, 도살(가축의 경우; 구제역 및 콜레라), 소각, 오염 제거를 실시하게 됨에 따라 경제활동이 일시에 중단되는 현상이 발생되며, 그 대상 지역은 원자력 발전소, 식수공급원, 화학공장, 지하철 등 어떠한 곳도 될 수 있기 때문에 국가 전체의 경제 활동이 일시에 중단될 수도 있다. 이로 인해 장기적

으로는 경제 침체로까지 이어지게 되어 그 피해 규모는 상상을 초월하게 된다. 예를 들어 2000년 발생했던 구제역의 경우 구제역 대책에 소요된 직접비용(3천억 원)과 수출중단 등의 간접비용까지 합하면 피해액이 1조원이라고 하는데 향후 더 광범위하게 발생하게 된다면 그 피해액은 수조내지 수십조에 이를 것이다⁽¹⁾. 이로 인해 미국을 비롯한 선진각국에서는 DNA분석을 통한 유전자변이 및 생물학작용제 탐지기술을 개발하는데 국가역량을 쏟아 붓고 있는 실정이다. 이런 DNA분석을 통한 유전자변이 및 생물학작용제 탐지기술은 형광분석이나 질량분석 등 복잡한 절차를 거치게 되는데 이를 위해서는 다양한 과정을 정밀하게 처리할 수 있는 시스템 구현이 필수적이다.

실시간 DNA분석 시스템 개발을 위해서는 우선 유전자변이 분석 및 생물학작용제를 검출할

[†] 회원, 성균관대학교 기계공학부

E-mail : adamboy96@safe.skku.ac.kr

TEL : (031)299-6578 FAX : (031)290-7916

* 회원, 성균관대학교 기계공학부

수 있는 방법이 확립되어야 하며 이러한 방법을 현장에서 실현할 수 있는 기술이 필요하다. 핵산 절단에 따른 형광분석법⁽²⁾은 유전자변이 분석 및 생물학작용제의 실시간 탐지가 가능한 방법으로 기존의 DNA분석 시스템에 비해 빠르고 정확한 기법이다. 또한 이 기법은 생물학 실험에 필요한 DNA 증폭 및 형광분석 기능을 포함하고 있고 상용화된 질량분석기에 비해 정확도 및 재현성도 우수하여 차세대 유전자변이 분석 및 생물학작용제 탐지기술로 각광받고 있는 기법이다.

형광분석을 기반으로 하는 DNA분석 시스템은 기본적으로 PCR(polymerase chain reaction)을 위해 Thermal Cycle을 이용한 DNA 증폭 시스템이 있어야 한다. 이와 같은 DNA 증폭은 첨가제에 따라 차이가 있으나 샘플의 온도 제어를 통해 구현되며 온도 제어 기술에 따라 형광분석의 정밀도에 많은 영향을 주게 된다. 따라서 온도 제어는 형광분석을 이용한 DNA분석 시스템 개발에 있어서 핵심 기술로 분류되며, 상용화된 각 시스템 별로 다양한 방법을 이용하여 설계·제작되고 있다. 일반적으로 빠른 가열과 냉각, 사이클별(Denature, Anneal, Extend 등) 온도 유지 등이 핵심적인 제어 인자로서 외국에서는 이미 오래전부터 컴퓨터, 핵잠수함, 우주선등의 첨단장비나 각종 보건, 산업 기기류의 냉각에 활용되고 있는 열전소자를 DNA분석 시스템의 소형경량화, 저소음구동, 정확한 온도제어등의 목적으로 사용하고 있다.

대표적인 제조사인 AB(Applied Biosystems)사는 열전소자 기반의 Thermal Cycle을 이용해 온도제어를 하는 DNA 증폭 시스템을 개발하여 ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System등에 적용하고 있다.

그럼에도 불구하고 외국의 경우와는 달리 국내에서는 아직 이에 대한 연구 및 인식이 미흡한 실정이어서 열전냉각방식을 적용하기 위한 기초기술의 연구가 요구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 DNA 증폭에 필요한 Thermal Cycle 시스템에 열전소자(Thermoelectric Module :TEM)를 적용하기 위해 전류제어를 이용한 열전소자 온도 제어에 관한 연구를 수행하고자 한다.

2. 관련이론

2.1 열전효과

TEM(열전소자)⁽³⁾는 이미 전자냉각방식을 이용한 냉정수기, 김장독, 자동차용 냉온장고, 물수건 제조기등 다양한 전자제품분야, 컴퓨터 CPU Chip의 Cooler, 광통신용 Laser Diode Modulator, Ink Jet Printer Head의 항온제어 등 전자부품분야와 이동통신 무인기지국, 통신용 전자부품 캐비닛등에 적용되고 있다. 본 연구에서 사용된 열전소자는 열전효과를 이용한 냉각장치로 Seebeck Effect와 Peltier Effect라 한다.⁽⁴⁾

2.1.1 Seebeck Effect

서로 다른 두 종류의 금속으로 접속 폐회로를 만들고 두개의 접합부분을 서로 다른 온도 T_h 와 T_c 로 유지시키면 온도차에 의해 전류가 흐른다. 이러한 전류를 열전류라 하며 이 현상을 Seebeck Effect라 한다. 이 효과에 의한 기전력은 온도차에 비례하며 다음 식이 성립한다.

$$emf = \alpha_s \cdot (T_h - T_c) \quad (1)$$

여기서,

- emf : 기전력
- α_s : Seebeck 계수
- T_h : 고온 접점
- T_c : 저온 접점

2.1.2 Peltier Effect

X, Y의 서로 다른 두 종류의 금속으로 폐회로를 만들어 전압을 걸어 전류를 흘리면 양 접속점에서 온도가 한쪽은 올라가고 그 반대쪽은 내려가는 현상을 Peltier Effect라 한다. 이러한 현상은 각각의 금속마다 전위 포텐셜 구배에 따른 열류량이 서로 다르기 때문에 서로 다른 금속의 접속점에서는 열류량의 불연속으로 인해 열의 흡수 또는 방출이 생겨나게 된다. 이 효과에 의해 저온접점인 T_c 에서 흡수되는 열량은 저온접점의 온도와 흐르는 전류량에 비례하며 다음 식이 성립한다.

$$Q_c = \alpha_s \cdot T_c \cdot I \quad (2)$$

여기서,

Q_c : 저온 접점에서 흡수되는 열량

I : 금속에 흐르는 전류

T_c : 저온 접점

2.2 전류제어

전류제어는 크게 직류전류제어와 교류전류제어로 나눌 수 있다. 대표적인 직류전류제어 방법에는 구동전원을 일정 주기로 On/Off 하는 펄스형상으로 하고, 그 펄스의 Duty비(On 시간과 Off 시간의 비)를 바꿈으로써 실현하는 펄스폭 변조(PWM: Pulse Width Modulation) 방식이 있으며 교류전류 방법에는 트리거 펄스방법, 위상제어 방법 등이 있다. 이중 PWM 방식⁽⁵⁾은 결과적으로는 구동전압을 바꾸고 있는 것과 같은 효과를 내고 있지만 그 방법이 펄스폭에 따르고 있으므로 펄스폭 변조라 부르고 있다. 구체적으로는 Duty비를 조절을 조정함으로써 평균전력을 제어하는 것이다.

3. 온도 사이클 시스템의 하드웨어 개발

3.1 하드웨어 구성

열전소자의 온도 제어를 위한 하드웨어는 크게 온도 측정부와 전류제어부로 구성되어 있으며 Fig. 1는 본 논문에서 개발한 하드웨어의 개략도이다.

온도측정부는 열전대, 측정된 신호에서 잡음을 제거하는 신호 조절기, 신호를 증폭하는 증폭회로, 아날로그 신호를 디지털 신호로 변환하는 A/D Converter, 최종적으로 온도를 판단하는 마이크로 컨트롤러로 구성된다. 또한, 전류제어부는 PWM 신호를 만드는 마이크로 컨트롤러, PWM 제어기, 제어기에서 나온 저전류 신호를 증폭하는 전류 증폭기, 전류 증폭기에서 나온 신호를 확인하고 제어하기 위한 전류센서인 Hall센서⁽⁶⁾를 이용한 피드백 제어기로 구성되어 있다.

3.1.1 전류제어부

전류제어부는 마이크로 컨트롤러, PWM 제어기, 전류 증폭기, 전류센서인 Hall센서를 이용한 피드백 제어기로 구성되어 있다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 전류제어부는 먼저 마이크로 컨트롤러에서 필요한 전류량을 만들기 위해서 신호를 PWM제어기로 입력되고 PWM제어기를 통해 출력된 신호는 앞에서 언급했듯이 PWM 제어기에서 발생한 출력은 논리회로의 출력으로 저전류이기 때문에 열전소자에 직접 인가했을 때 원하는 온도로 열전소자를 제어할 수 없기 때문에 전류 증폭기를 이용해 열전소자에 적절한 전류를 인가한다. 이때, PWM 제어기에서 출력되는 전류는 열전소자에 입력되는 전류량이 정확한지 확인하기 위해서 열전소자에 입력되는 것과 동시에 전류센서인 Hall센서를 통해 피드백 제어기로 입력되고 피드백 제어기에서 마이크로 컨트롤러에서 보낸 신호와 전류 증폭기에서 출력된 신호의 오차(Error)를 비교하여 전류량을 보정해 준다.

3.1.2 온도측정부

온도측정부는 열전대, 잡음 제거를 위한 신호 조절기, 증폭회로, A/D Converter, 최종적으로 온도를 판단하는 마이크로 컨트롤러로 구성되어 있다. 온도측정은 Fig. 3에서 보듯이 다음과 같은 과정을 거쳐서 측정하게 된다. 먼저 열전대에서 온도센서인 열전대를 이용하여 외부의 온도를 측정하고 측정된 신호는 신호 조절기를 거치면서 잡음을 제거하고 신호 조절기에 의해서 잡음이 제거된 신호는 증폭회로를 통해 증폭하게 된다. 온도를 측정하기 위해 열전대를 이용하는 경우에는 온도변화에 따른 센서의 감도가 매우 작기 때문에 온도변화를 정확히 측정하기란 매우 어렵다. 이런 문제점을 해결하기 위한 것이 바로 증폭회로이다. Fig. 4에 보는 것처럼 K Type 열전대는 온도에 따른 전압의 비가 작으므로 DNA 증폭에 필요한 Thermal Cycle의 온도 범위를 고려하여 증폭을 하게 되는데 K Type 열전대의 온도 변화에 따른 출력 신호가 $50\mu V/^\circ C$ 이기 때문에 $0^\circ C$ 에서 $200^\circ C$ 범위를 $10V$ 로 만들어 주기 위해서 1000배를 증폭하였다. 이것은 식 (3)에 의해서 $60dB$ 가 된다.

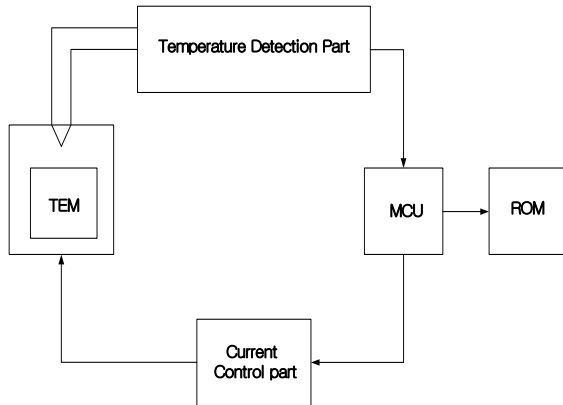


Fig. 1 Schematic diagram of developed hardware for detecting temperature and current control

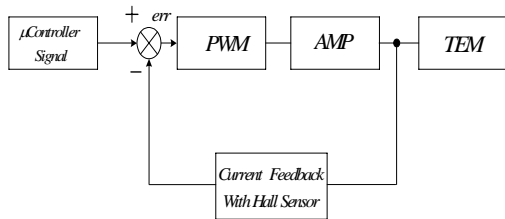


Fig. 2 Schematic diagram of current control part

$$dB = 20 \cdot \log_{10} \frac{Output}{Input} \quad (3)$$

증폭회로를 통해서 증폭된 신호를 A/D Converter를 통해서 아날로그 신호에서 디지털 신호로 변환된다. 사용된 A/D Converter는 분해능(Resolution) 12bit로서 열전대를 이용해 측정할 수 있는 민감도는 다음 식에 의해서 결정된다.

$$Resolution = \frac{200\text{ }^{\circ}\text{C}}{2^{12}} \quad (4)$$

식 (4)에 의해서 측정할 수 있는 온도 민감도는 0.05°C가 된다. A/D Converter에서 나온 신호는 최종적으로 마이크로 컨트롤러에서 온도로 측정되며 측정된 온도에 의해서 열전소자에 인가되는 전류를 제어하게 된다.

3.2 하드웨어를 이용한 PWM 제어

본 논문에서 개발한 하드웨어를 이용해 지능

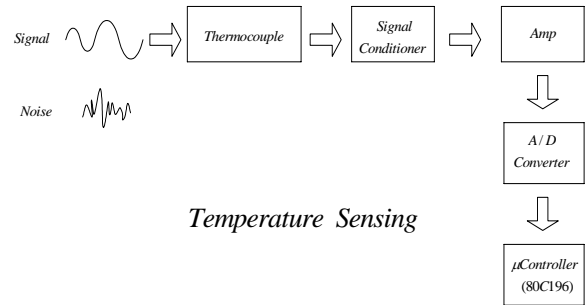


Fig. 3 Schematic diagram of temperature sensing part

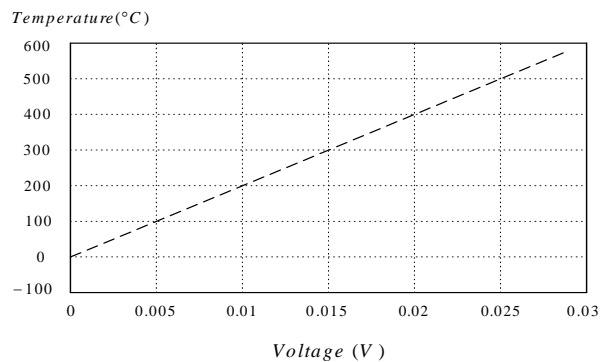


Fig. 4 Relationship between the temperature and the voltage of K type thermocouple

적인 소프트웨어 방식으로 PWM 전류제어를 실현하였다.

4. 검증실험

4.1 실험장치 및 방법

Fig. 5는 열전소자의 온도 제어를 위한 실험장치의 개략도이며, 실험에 사용된 열전소자의 규격은 Table 1에 정리하였다. 이 열전소자를 이용해 가열, 냉각을 하기 위해서 열전소자의 Heat Sink 역할을 하는 방열판 및 냉각팬을 이용해 가열, 냉각부를 구성 하였다.

개발된 하드웨어를 이용해 제어된 전류가 열전소자에 인가되어 온도를 제어하게 된다. 이렇게 전류 제어를 통해 온도를 제어하는 과정은 두 개의 온도센서를 이용해 측정한다. 두 개의 온도센서중 하나는 K Type 열전대로 하드웨어에 의해서 제어되는 열전소자의 온도를 측정하게 되며 측정된 신호를 하드웨어로 보내게 된다. 측정된 신호는 다시 하드웨어에서 측정신호에서

Table 1 Specification of thermoelectric module

Property and Geometry	Value
Q_c max	56.1Watt
I max	7.3A
V max	15.2V
Δ max	73°C
Width	40mm
Length	40mm
Thickness	3.9mm

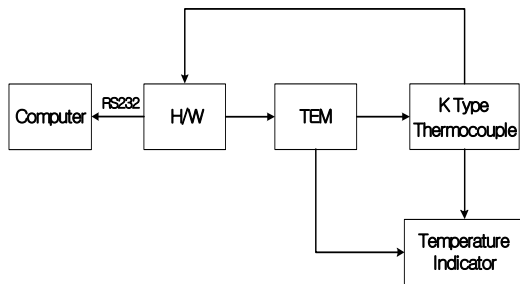


Fig. 5 Schematic diagram of temperature control system

잡음을 제거하는 신호 조절기, 신호를 증폭하는 증폭회로, 아날로그 신호를 디지털 신호로 변환하는 A/D Converter를 거쳐서 최종적으로 마이크로 컨트롤러에 의해서 온도가 측정되고 이 신호를 기반으로 열전소자에 인가되는 전류량이 결정되어 열전소자의 온도를 제어하게 된다. 측정된 온도는 데이터로 저장하기 위해서 RS232C 케이블을 통해서 컴퓨터로 전송된다. 또한, 상용화된 온도 지시계를 이용하여 열전소자의 온도를 모니터링 하면서 K Type 열전대에 의해 측정된 온도 데이터를 검증하게 된다.

DNA 증폭 Thermal Cycle에 열전소자 적용 가능성 및 개발된 하드웨어의 검증을 위하여 두 종류의 실험을 수행하였다. Fig. 6과 같이 60°C와 95°C에서의 온도유지와 60°C ~ 95°C의 Cycle을 실험을 통해 실현하였다.

PWM신호의 주파수는 50kHz를 사용하였고 온도유지 실험은 PWM신호의 Duty비를 증가시키면서 열전소자의 온도를 측정하였다. 측정된 온도가 일정온도에 도달하면 그때의 Duty비를 유지하면서 온도를 유지시켰다. Thermal Cycle은 Duty비를 변화시키면서 60°C와 95°C과정을 반복 실험하였다.

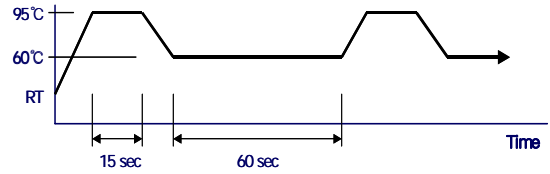


Fig. 6 Thermal cycle for DNA amplification

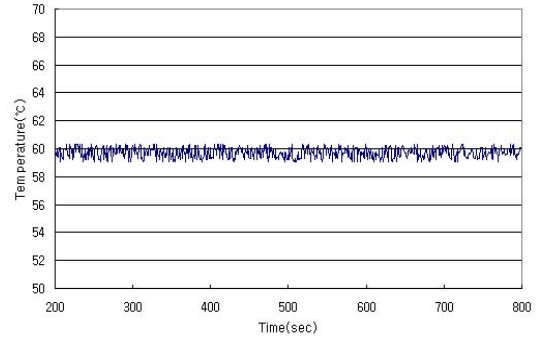


Fig. 7 Temperature signal obtained from temperature control experiment for 60°C

4.2 실험결과 및 고찰

Fig. 7는 60°C유지 실험에서 측정된 온도 신호를 나타낸다. 600초 동안 측정하였고 측정된 온도 신호의 최대 값은 60.2°C이며 최소 값은 59.1°C로 1.1°C 범위 내에서 온도가 유지됨을 확인할 수 있었다.

Fig. 8는 95°C유지 실험에서 측정된 온도 신호를 나타낸다. 600초 동안 측정하였고 측정된 온도 신호의 최대 값은 95.3°C이며 최소 값은 93.8°C로 1.5°C 범위 내에서 온도가 유지됨을 확인할 수 있었다.

Fig. 9는 60°C와 95°C Thermal Cycle 실험에서 측정된 온도 신호를 나타낸다. 1127초 동안 측정하였고 측정된 온도 신호의 최대 값은 95.9°C이며 최소 값은 59.3°C이다. 95°C에서는 0.9°C, 60°C에서는 0.7°C 내에서 Thermal Cycle이 실현되는 것을 확인할 수 있었다.

실제 DNA증폭 실험⁽⁷⁾이 92°C~95°C와 60°C경우 ±1.5°C 범위 내에서 증폭이 이루어지므로 개발한 하드웨어로 DNA증폭 온도 사이클을 실험한 결과와 비교해 보면 DNA증폭 온도 사이클 시스템에 열전소자와 본 연구에서 개발한 하드웨어의 적용이 가능하다고 판단된다.

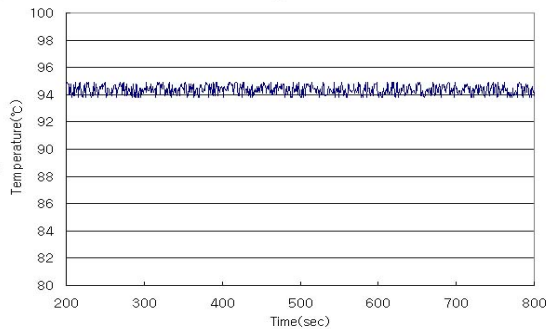


Fig. 8 Temperature signal obtained from temperature control experiment for 95°C

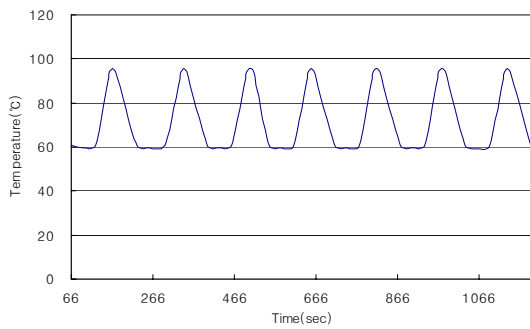


Fig. 9 Temperature signal obtained from temperature control experiment for thermal cycle 60°C ~ 95°C

5. 결론

본 논문에서는 열전소자의 온도제어를 위한 하드웨어를 개발하고 검증 실험을 통해 이를 검증하였다. 개발된 하드웨어를 이용한 열전소자의 온도유지 및 온도 사이클 실험을 통하여 얻은 결론은 다음과 같다.

(1) PWM방식을 적용하여 열전소자의 온도제어가 가능한 하드웨어를 개발하였다.

(2) 개발된 하드웨어를 검증하기 위해 온도유지 및 온도 사이클 실험을 수행하였다. 검증 결과 실제 유전자 증폭에 필요한 60°C 유지 실험에서 1.1°C, 95°C 유지 실험에서 1.5°C 범위 내에서 온도를 유지하였고, 60°C와 95°C Thermal Cycle은 가열시 평균 0.96°C/sec, 냉각시 평균 0.66°C/sec의 기울기를 유지하였다.

(3) 개발된 하드웨어를 이용하여 유전자 증폭 온도 사이클 시스템에 열전소자의 적용가능성을 확인하였다.

후기

본 논문은 한국과학재단 산하 성균관대학교 산업설비 안전성평가 연구센터의 연구비 지원으로 수행한 것으로서, 이에 관계자 여러분들께 감사드립니다.

참고문헌

- (1) 정찬길, 류영수, 정해동, 강정현, 김진현, 정호경, 2001, 가축질병으로 인한 양돈·양계산업의 경제적 손실분석 연구보고서, 건국대학교 .
- (2) Lee, S.P. and Han, M.K., 1997, Fluorescence Assays for DNA cleavage. *Methods in Enzymology* Eds. Brand, L. and Johnson, M.L. Vol. 278, pp. 343-363.
- (3) 김정두, 2002, 열전자소자의 응용기술 동향, 정보분석보고서, 한국과학기술정보연구원.
- (4) 이희진, 1999, 열전냉각기를 이용한 광통신 모듈의 냉각 성능에 관한 수치해석, 서울대학교 석사논문, pp. 3.
- (5) Thomas E. Kissell, 2000, *Industrial Electronics*, Prentice-Hall, Inc., pp. 505.
- (6) Rashid, M. H, 2001, *Power Electronics Handbook*, Academic Press.
- (7) 이윤환, 1999, Highest Speedy PCR and High Grade New PCR Thermal Cycle SP, 한국생화학회 춘계 학술대회, pp. 206.