

Peltier 기반 보급형 PCR Thermocycler

김지민*, 박찬영**, 김종대**

*한림대학교 컴퓨터공학과

**한림대학교 유비쿼터스 컴퓨팅학과

e-mail:{raineeee, cypark, kimjd}@hallym.ac.kr

Peltier-based low cost PCR Thermocycler

Ji-Min Kim*, Chan-Young Park**, Jong-Dae Kim**

*Dept. of Computer Engineering, Hallym University

**Dept. of Ubiquitous Computing, Hallym University

요 약

중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR)은 현재 유전물질을 조작하여 실험하는 거의 모든 과정에 사용하고 있는 검사법으로, 검출을 원하는 특정 표적 유전물질을 증폭하는 방법이다. GUI 개발 환경이나 사용자 접근성을 고려하여 윈도우시스템이 탑재된 PC나 그의 임베디드 버전들을 호스트로 사용할 경우, 개발 인력 및 기간 등의 자원 절약과 함께 제품의 보급에도 많은 도움이 될 것이다. 본 연구에서는 Peltier를 기반으로 PCR thermocycler에서 생화학 처리과정의 구동 기능을 저 기능의 지역시스템을 구현하고, PC에서 PCR 프로토콜 등의 데이터 처리 및 사용자 인터페이스 관리기능을 구현하여 제품 개발에 필요한 시간 및 비용과 유지보수 비용을 절감하여 저가의 보급형 PCR thermocycler를 연구 개발 하였다.

1. 서론

중합효소 연쇄 반응은 열을 이용하여 두 가닥의 DNA를 분리하는 열변성 과정(denaturation)을 거친 후, 온도를 낮추어 시발체(primer)가 증폭을 원하는 서열 말단에 결합(annealing)하게 하고, 다시 열을 약간 올려서 DNA를 합성하는 중합 반응(polymerization or extension)을 일으킨다[1]. PCR thermocycler는 챔버의 온도를 컨트롤하여 중합효소 연쇄 반응에 필요한 온도를 조절하는 장치이다[1]. PCR thermocycler는 생화학 처리과정의 구동 기능 뿐 아니라 데이터의 처리 및 사용자 인터페이스 등의 시스템 관리기능(system management function)도 갖추어야 한다[1,2]. 최근 간단한 전자 장비들조차도 그래픽 기능을 활용한 사용자 인터페이스(graphical user interface, GUI)와, 인터넷을 통한 관련 데이터들의 접근성을 요구 하고 있기 때문에, 범용의 컴퓨터 시스템에서 시스템 관리 기능을 담당하는 것이 여러 면에서 유리하다[1-5]. 반대로 생화학 처리 과정을 관찰하고 제어하는 기본 기능은 실시간과 데드라인의 요구를 만족해야 하기 때문에 분리된 컴퓨팅 시스템에서 구현되는 것이 안전하다. 만일 GUI를 전술한 기본 기능과 한 시스템에서 구현할 경우에 기본 기능보다 인터페이스 기능의 요구 사항을 구현하고 안정성을 확보하는 데 수십 배의 인력과 시간이 요구 된다[2-3]. 이 경우 강력한 GUI 개발 환경을 갖춘 호스트와 저 기능의 지

역시스템을 표준 인터페이스로 연결한 호스트-지역 시스템 구조로 분석시스템을 구현하는 것이 바람직하다[2-5]. GUI 개발 환경이나 사용자 접근성을 고려하여 윈도우시스템이 탑재된 PC나 그의 임베디드 버전들을 호스트로 사용할 경우, 개발 인력 및 기간 등의 자원 절약과 함께 제품의 보급에도 많은 도움이 될 것이다 [2-5].

본 연구에서는 Peltier를 기반으로 생화학 처리를 위한 PCR thermocycler의 구동 기능을 저 기능의 지역시스템에서 구현하고, PC에서는 PCR 프로토콜 등의 데이터 처리 및 사용자 인터페이스 관리기능을 구현하여 제품 개발에 필요한 시간 및 비용과 유지보수 비용을 절감하여 저가의 보급용 PCR thermocycler를 연구 개발 하였다. 그리고 이와같은 비용절감과 PCR Thermocycler의 소형화로 현장 현시 검사 장치로의 보급을 가속시킬 수 있을 것이다[6-9].

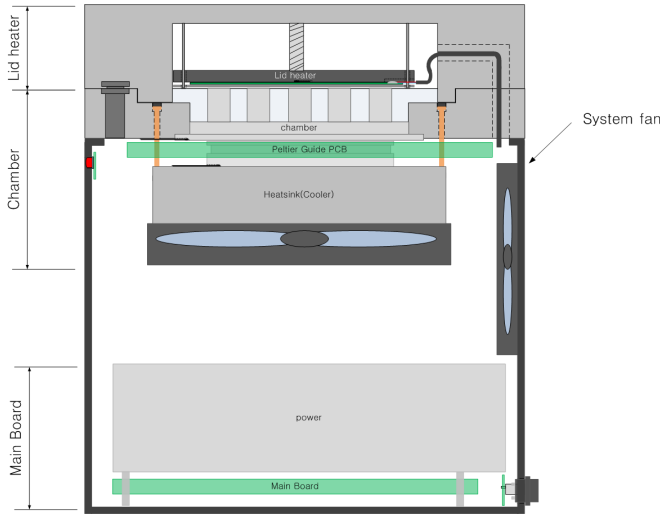
2. H/W 시스템 구성



(그림 1) 제안한 시스템의 기구 외관

이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임 (2012R1A1A2040381).

그림 1은 제안한 시스템의 정면 및 내부 측면도 이다. 시스템은 LED를 제외한 다른 사용자 인터페이스를 갖고 있지 않아 시스템을 소형화하고 비용을 절감할 수 있었다. LED는 파워의 인가 여부, 호스트와의 연결, PCR thermal cycling중의 에러를 표시한다.

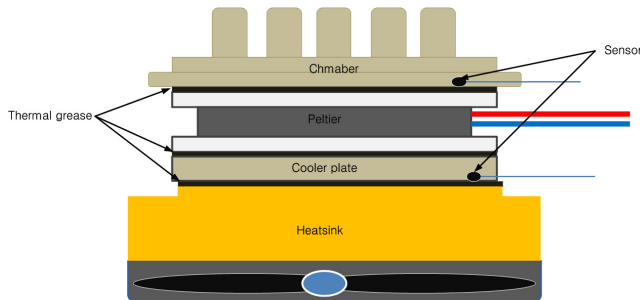


(그림 2) 제안한 시스템의 내부 구성도

그림 2는 제안한 시스템의 내부를 보여주는 단면도이다. 내부 구조는 리드 히팅을 위한 리드 히터 파트와 챔버의 온도를 조절하기 위한 챔버 파트, 그리고 전체 시스템 컨트롤을 위한 메인보드 파트로 구분 된다.

리드 히터는 IT 산업에서 제조공정이 잘 개발되어있는 PCB(Printed Circuit Board)의 copper pattern를 이용하여 열을 발생하기 때문에 이 또한 비용을 절감할 수 있는 요소가 된다.

챔버의 온도를 조절하기 위한 device로는 IT 산업에서 저가격으로 쉽게 얻을 수 있는 Peltier를 선정하였다. Peltier의 효과는 열전대에 전류를 흐르게 했을 때, 전류에 의해 발생하는 줄 열량 외에도 열전대의 각 접점에서 발열 혹은 흡열 작용이 일어난 현상을 말한다. 이렇게 두 금속의 접촉점에서 한 쪽은 열이 발생하고, 다른 쪽은 열을 빼앗기는 현상을 이용하여 냉각과 가열이 가능하다. Peltier를 사용하여 제품을 설계할 때, 제품의 전기적 최대 허용치 값의 70% 정도를 사용하는 것이 좋다. 만약 전압과 전류를 최대치로 사용한다면 흡열 성능이 감소하고 줄 난방이 증가하여 효율이 감소하게 되고, 내부의 반도체에 좋지 않은 영향을 미쳐 제품의 수명이 줄어들게 된다.



(그림 3) Peltier & 방열판 조립도

그림 3은 Peltier를 이용한 방열판의 조립도를 나타낸다. 챔버의 온도를 낮추는 냉각 상태에서 Peltier의 윗면은 흡열면이 되고 밑면은 발열면이 된다. 흡열면의 온도를 낮은 온도로 낮추기 위해서는 발열면의 열을 방열해 주어야 한다. 만약, 발열면의 열이 충분히 방열되지 않을 경우 발열면의 열이 흡열면으로 전도되게 된다. 이를 해결하기 위해 PC에 사용되는 방열판(LP-775HP)을 사용하여 Peltier의 열을 방출시킨다.

그림 3과 같이 방열판의 온도를 측정하기 위하여 Peltier와 방열판 사이에 NTC Thermistor를 삽입할 수 있는 Cooler Plate를 알루미늄으로 제작하여 방열판의 온도를 측정하고, 온도에 따라 방열판의 팬 속도를 조절하였다.

또한, 그림 3에서처럼 챔버와 Peltier, 방열판을 물리적으로 결합하면 접촉면 사이에 미세한 공기층이 생겨 열전도율이 떨어지는 문제가 발생할 수 있다. 위의 문제를 해결하기 위한 방법으로 thermal grease를 사용하여 열전도율을 향상 시켰다.

3. S/W 시스템 구성

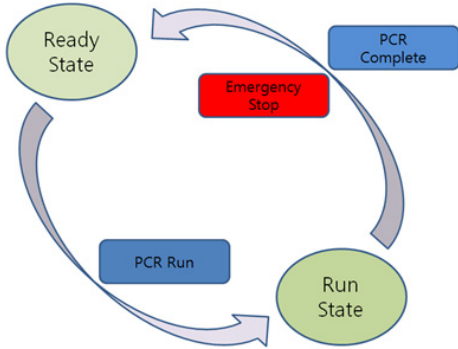
PCR 시스템을 Embedded System에 구현할 경우 기본 기능인 프로토콜 처리나 온도 제어와 같은 기본 기능보다는 프로토콜 파일 관리, 혹은 사용자 상호 작용 등의 사용자 인터페이스 기능 구현이 문제가 될 수 있다. 강력한 GUI의 제공이 필요한 경우, 이 기능의 구현이 기본 기능에 비하여 훨씬 더 많은 개발 기간 및 유지비용이 예상된다. 그러므로 호스트-지역시스템 구조에서 호스트가 이 기능을 처리하도록 하는 것이 효과적이다. 더욱이 호스트로 PC를 사용하면 우수한 파일 관리 및 사용자 상호작용을 위한 개발 환경을 제공 받을 수 있다.

Peltier기반 보급형 PCR Thermocycler는 LED를 제외한 입출력 장치가 없다. 본 시스템에 명령어를 입력하거나 상태를 체크하기 위해서는 PC의 입출력 인터페이스를 활용해야 한다. 시스템과 PC의 통신을 위해서 USB 인터페이스를 사용하는데 PC에서 PCR 시스템을 제어하게 되면 PCR 시스템 동작 중 USB 통신선이 제거되는 상황이 발생할 때 시스템이 오작동을 하게 될 수 있다. 또한, PC에서 장치관리자를 통해서 PCR 시스템을 HID(Human Interface Device)로 인식하게 되는데 PC OS의 문제로 장치관리자가 PCR 시스템을 인식 실패하는 문제가 발생하기도 하였다.

이 문제를 해결하기 위해서 PC에서 PCR 시스템에 RUN 명령을 내린 이후에는 PCR 시스템은 독립적으로 동작하게 되고, PC는 PCR 시스템의 상태를 모니터링하는 기능만 지원하게 되어 PC와 통신이 끊겨도 PCR 동작에는 영향이 없게 설계 하였다.

그림 4는 제안된 시스템의 State diagram을 나타낸다. 시스템의 상태는 Ready와 Run 2가지 상태만을 가진다. Ready 상태에서는 PC의 Run 명령에 의해 Run 상태로 전

환 된다. Run 상태에서 Ready 상태로 전환되는 경우는 PCR이 완료되어 완료 메시지를 PC로 전송해주는 경우와 중간에 온도 이상 등 시스템 오류가 발생하거나, 사용자의 강제 종료에 의한 emergency stop으로 Ready 상태로 전환될 수 있다. Error에 의한 emergency stop의 경우 시스템은 해당되는 error에 대한 메시지 값을 PC에 보내 주게 된다.



(그림 4) 제안된 시스템의 State Diagram

<표 1> 프로토콜 예제

label	temperature (°)	duration (sec)
1	95	30
2	95	30
3	55	30
4	72	30
GOTO	2	34
5	72	180

<표 1>은 프로토콜의 예로써 표의 1번 항목은 챔버를 워밍업하기 위하여 95°C를 30초 동안 유지 하는 것을 의미한다. 2, 3, 4번은 각각 변성, 복원, 확장 과정을 나타내며 한 사이클의 증폭을 나타낸다. GOTO 라벨은 2번 항목으로 34번 돌아가라는 흐름 제어 항목으로 예제의 경우 35번의 증폭 사이클로 구성되어 있다. 보통 5번 항목처럼 마지막 확장 과정을 넣어서 PCR을 완료한다.

프로토콜은 대부분의 항목이 식(1)과 같이 라벨(L), 온도 (T), 기간(D)을 성분으로 갖는 벡터 단위 행위 (action) A(i)의 순열로 정의될 수 있다.

$$Q = \{A(i) | A(i) = (L, T, D), i = 1, \dots, n\} \quad (1)$$

라벨이 GOTO일 경우 T와 D성분은 각각 점프할 항목의 라벨과 점프횟수라고 정의한다면 프로토콜은 균일한 원소를 가지는 순열이 된다. 즉 L 성분은 자연수와 GOTO가 값이 될 수 있고, T는 온도와 라벨, 그리고 D 성분은 초단위 시간과 횟수가 값이 될 수 있다. 식에서 n은 프로토콜의 항목 수가 되어 <표 1>의 예제에서는 n=6이 된다.

챔버의 온도를 제어하기 위하여 일정한 주기로 온도를

측정하여 Peltier의 전류방향을 제어하는 프로시저가 필요하다. 아래 ControlProc와 같은 타이머 인터럽트 처리 프로시저로 구현할 수 있으며, 챔버 온도를 읽고 목표 온도와의 관계로부터 전류방향을 제어해서 가열이나 냉각의 강도를 조절하게 된다.

```

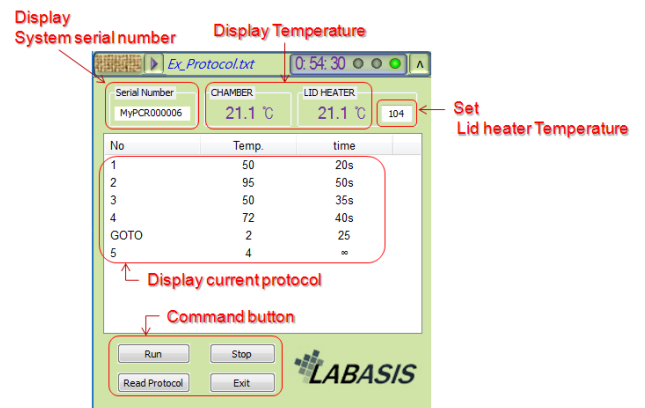
ControlProc %period=P
1. Tc = ReadTemp()
2. u = CalculatePID(T, A(i).temp)
3. SetHeaterOrFan(u)
    
```

온도 제어는 보통 PID 제어기(proportional-integral-derivative controller)를 이용하는 데, 목표 온도와 현재 챔버 온도의 차이에 비례하는 성분과 차이의 적분, 미분 성분의 선형 조합으로 제어 강도를 계산하므로, 2번 라인의 u는 보통 다음 식(2)와 식(3)으로 결정된다.

$$e = T - A(l).temp \quad (2)$$

$$u = K_p e + K_i \int e + K_d \frac{de}{dt} \quad (3)$$

여기서 상수 K_p , K_i , K_d 는 각각 비례이득, 적분이득, 미분이득으로서 여러 가지 방법으로 결정될 수 있으나 보통 실험에 의하여 결정한다. 제어 강도 u가 결정되면 출력을 PWM(pulse width modulation)의 지속기간(duration)으로 조절하며, u가 양수일 경우 heating, 음수일 경우 cooling을 동작을 하게 된다.



(그림 5) 제안한 PCR Thermocycler의 PC GUI

그림 5는 제안한 PCR Thermocycler의 PC GUI를 보여준다. 윈도우 파일 시스템은 다양한 사용자와 프로토콜을 다루기 위하여 꼭 필요하다. 하지만 이를 한 시스템에 모두 구현하기에는 제한적이고 가격이 높아지는 이유뿐만 아니라 안정성을 확보하는데 수십배의 인력과 시간이 요구된다. 그리하여 제안한 시스템의 GUI는 강력한 GUI 개발 환경을 갖춘 호스트와 저 기능의 지역시스템을 표준 인터페이스로 연결한 호스트-지역 시스템 구조로 분석시스템을 구현하였다. GUI는 UI 디자인과 debugging을 편

리하게 제공하는 Microsoft visual studio에서 개발하였다.

4. 실험결과

장비의 성능 검증을 위하여 현재 시중에서 사용 중인 PCR 장비(APPLIED BIOSYSTEMS GENEAMP PCR SYSTEM 2700)와 HPV DNA를 사용한 PCR 실험을 통하여 장비의 성능을 비교 검증 하였다.

<표 2> 테스트 프로토콜

label	Temp.(°C)	dur.(sec)
1	50	180
2	95	900
3	95	30
4	50	30
5	72	30
GOTO	3	17
6	50	30

PCR 시스템의 성능 테스트를 위해서 <표 2> 프로토콜을 사용하여, HPV DNA 양성과 음성을 준비하여 기존 장비와 같이 PCR을 하였다. 실험결과 그림 5와 같이 양성 은 기존 장비와 동일한 결과를 얻었고, 음성의 경우 증폭 이 되지 않는 결과를 얻을 수 있었다.



(그림 5) PCR System 성능 비교 실험 결과

5. 결론 및 향후 연구 과제

본 연구에서는 Peltier를 기반으로 하는 보급용 PCR Thermocycler 개발을 목적으로 기존 PCR Thermocycler의 user interface를 PC로 옮기는 호스트-지역 시스템을 제안하고, 기존의 PCB 공정 및 PC의 heatsink 등의 기성품을 최대한 이용하여 제품의 소형화가 가능하였고, PCR Thermocycler를 구동하기 위하여 강력한 GUI 개발 시스템을 갖춘 호스트를 선택하여 구동시스템의 개발 기간을 단축하고, 유지보수 비용을 절감하며, 결과적으로 구동시스템의 가격을 낮출 수 있는 시스템을 제안하였다. PCR 프로토콜을 PC에서 관리함으로써 인해서 기존의 PCR Thermocycler에서 관리하던 방식에 비해 사용자가 프로토콜 편집 및 관리 편리성이 향상되어 사용자 편의성이 향상 되었다. 개발한 PCR Thermocycler에 독립적인 serial number를 부여하여 PC에서 다수의 PCR Thermocycler를 독립 장치로 인식하게 하여 하나의 PC에

서 다수의 PCR Thermocycler를 구동하는 multi-PCR Thermocycler의 구현이 가능해 바이오 실험실에서 PCR 시스템 구축에 소요되는 비용을 절감할 수 있을 것이다.

참고문헌

- [1] P. Singleton and P.L. Senger, "DNA Methods in Clinical Microbiology", Springer, Berlin, 2000.
- [2] C. E. Willam, "User Interface Design for the Engineer", Electro/94 International Conference Proceedings, Combined Volumes, pp. 415--419, IEEE press, New York, 1994.
- [3] C. Plaisant, A. Rose, B. Shneiderman, A. J. Vanniamparampil "Low-effort high-payoff user interface reengineering.", IEEE Software 14, 66, 1997.
- [4] J. D. Kim. Y. U. Lee, and S. Kim, "Efficient hardware-software partitioning for a digital dental X-ray system", IEICE Trans. Fundamentals, Vol. E86-A, No. 4, pp. 859-865, 2003.
- [5] J. D. Kim, J. Kim, G. Lee, "Efficient control system for PCR chips", Proceedings of SPIE, Jan. 22-27; San Francisco, 2011
- [6] Q. Xiang, B. Xu, and D. Li, "Miniature real time PCR on chip with multi-channel fiber optical fluorescence detection module", Biomedical Microdevices, Vol. 9, No. 4, pp. 443-449, Aug. 2007.
- [7] N. B. Trung, et al., "Multi-chamber PCR chip with simple liquid introduction utilizing the gas permeability of polydimethylsiloxane", Sensors and Actuators B, Vol. 149, Issue 1, pp. 284-290, Aug. 2010.
- [8] N. Pak, D. C. Saunders, C. R. Phaneuf, and C. R. Forest, "Plug-and-play, infrared, laser-mediated PCR in a microfluidic chip", Biomedical Microdevices, Vol. 14, No. 2, pp. 427-433, April. 2012.
- [9] Q. Xiang, B. Xu, R. Fu, and D. Li, "Real Time PCR on Disposable PDMS Chip with a Miniaturized Thermal Cycler", Biomedical Microdevices, Vol. 7, No. 4, pp. 273-279, Dec. 2005.