

폴리메라제연쇄반응장치에 강제랭각방식의 도입과 그 효과

김명룡, 박경범

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《과학연구기관들과 과학자, 기술자들은 우리 나라의 실정에 맞고 나라의 경제발전에 이바지할수 있는 과학기술적문제를 더 많이 풀어야 하겠습니다.》(《김정일선집》증보판 제13권 173페이지)

우리는 자력갱생의 원칙에서 우리 실정에 맞게 이미 개발리용하고있는 PCR(폴리메라제연쇄반응)장치에서 제기되는 중요한 부족점인 주위공기의 온도변화에 의하여 급랭속도가 변화되어 초래되는 실험결과의 불안정성에 대한 극복방도를 강제랭각방식의 도입에서 찾고 그 효과를 확증하기 위한 기초연구를 하였다.

현재까지 공기순환방식의 PCR장치[1-7]에서 강제랭각방식을 도입한 연구자료는 발표된것이 없다.

논문에서는 합리적인 예열온도설정과 랭각방식에 따르는 온도분포특성, 열순환방향에 의한 증발방지효과를 검토한 연구결과에 대하여 논의하였다.

재료와 방법

실험에서는 압력수감식판형컴퓨터를 내장한 폴리메라제연쇄반응장치를 리용하였으며 수온온도계와 LM35를 리용한 전자온도계로 시험관설치틀의 윗면과 아래면의 온도를 측정하였다.

예열블록의 체적은 25cm×20cm×20cm이며 소비전력은 1kW이다.

자연랭각방식과 강제랭각방식에서 랭각매체로는 주위공기를 그대로 리용하였다.

강제랭각방식의 실험에서는 시험관에 직접 열순환을 보장하기 위하여 두께가 0.8mm인 철판으로 동심원모양의 자리길을 따라 직경 6mm의 구멍을 가진 시험관설치틀을 리용하였다. 리용된 시험관설치틀에서 2개의 자리길을 리용하였으며 전체 구멍수는 40개 되게 하였다.

결과 및 논의

1) 예열블록의 온도값설정과 안정특성

현재 실용화되어 국제시장들에서 판매되고있는 대부분의 외국산PCR장치들과 달리 우리가 제작리용하고있는 PCR장치는 기존장치들에는 없는 급열보장을 위한 예열블록을 가지고있다.

이 예열블록의 온도를 어떤 값으로 설정하는가에 따라 가열 및 랭각속도가 결정되며 유지시간의 안정상태와 장치의 동작시간 및 전력소비에 영향을 줄수도 있다.

예열블록의 온도를 95, 100, 105°C로 설정하고 장치시동후 1min 지나서 열변성온도인 95°C까지의 온도증가와 아닐링온도인 55°C까지의 온도감소 및 안정상태를 보았다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 예열블록의 온도를 100°C로 설정하는 경우 실험이 끝나는 전 기간 $\pm 2^\circ\text{C}$ 정도의 온도변위를 나타냈다. 그러나 예열블록의 온도를 105°C로 설정하는 경우 온도가 열변성온도보다 10°C 이상 높고 110°C 근방에서 $\pm 5^\circ\text{C}$ 정도 요동하므로 이것은 급열속도보장에는 유리하지만 급랭속도보장에는 불리하다는 것을 보여준다. 예열블록의 온도를 95°C 로 설정하는 경우에는 온도가 열변성온도와 거의 같고 90°C 근방에서 $\pm 3^\circ\text{C}$ 정도 요동하므로 급랭속도보장에는 유리하지만 급열속도보장에는 불리하다고 본다.

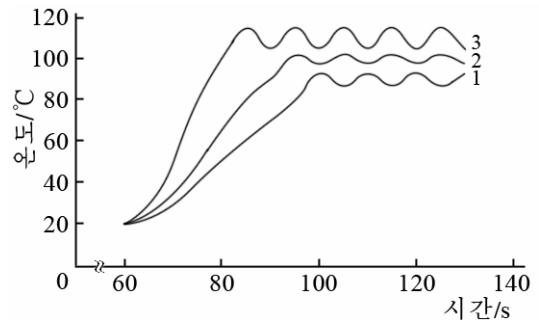


그림 1. 예열블록의 온도설정
에 따른 특성

1-3은 예열블록의 온도설정을 각각
95, 100, 105°C 로 하는 경우

이로부터 제작된 예열블록의 온도설정을 전원투입으로부터 실험이 끝나는 전 기간 $\pm 2^\circ\text{C}$ 정도의 온도변위를 나타내는 100°C 로 설정하는 것이 반응블록의 가열 및 랭각온도를 일정하게 유지하며 급열, 급랭속도를 보장하는데 효과적이라고 보았다.

2) 자연랭각방식에서의 랭각특성

자연랭각방식은 반응블록안에 있는 선풍기로만 공기순환 즉 가열, 랭각을 진행하는 방식이다.

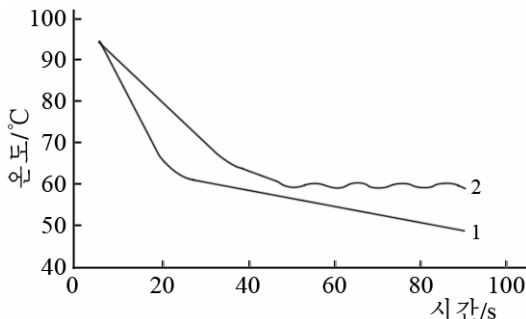


그림 2. 자연랭각때 주위온도에 따른
반응블록의 랭각특성

1, 2는 주위온도가 각각 15, 25°C 인 경우

자연랭각때 주위온도에 따른 반응블록의 랭각특성을 조사한 결과는 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 자연랭각때 주위온도가 25°C 이상인 경우 반응블록의 온도를 95°C 로부터 55°C 까지 떨어뜨리는 랭각속도는 약 $\pm 0.4^\circ\text{C/s}$ 로서 급랭속도를 보장하지 못할뿐 아니라 60°C 근방에서는 랭각기능을 잃고 온도가 그대로 유지되었다. 이것은 주위온도가 아닐링온도보다 낮기때문에 PCR장치의 동작에서 랭각이 원리적으로 가능하지만 반응블록이 열용량이 큰 예열블록안에 위치하고있고 아무리 바깥면에 1.0

$\sim 1.5\text{mm}$ 의 두께를 가진 단열재료를 씌운 반응블록이라고 해도 PCR전기간 열교환을 위해 송강동작을 하기때문에 예열공기와 완전히 격리되지 못하는데 그 원인이 있다고 볼수 있다.

결국 PCR장치의 결면에 랭각을 위해 뚫어놓은 방열구멍들이 아무리 많다해도 공기순환방식에서는 보통 주위공기의 온도가 15°C 정도일 때에만 리용가능성을 가지며 그 이상의 온도에서는 자연랭각방식을 리용할수 없다는 것을 보여준다.

3) 강제랭각방식에서의 랭각특성

강제랭각방식은 PCR장치의 결면에 자연랭각을 위한 방열구멍대신 2개의 선풍기를 설

치하여 주위공기를 강제로 빨아들여 반응블록쪽으로 보내줌으로써 반응블록안에 있는 선풍기와 함께 주위공기와 순환능력을 높여 가열, 냉각을 진행하는 방식이다.

실험에서는 주위온도가 30℃일 때 공기순환방식으로 시험관에 대하여 직접 열순환을 보장하는 경우 시험관내부와 외부에서의 온도변화특성을 보았다.(그림 3)

가열때 실험에서 가열특성은 연장온도 (72±1)℃로부터 열변성온도인 (94±1)℃까지의 온도범위에서 조사하였다.

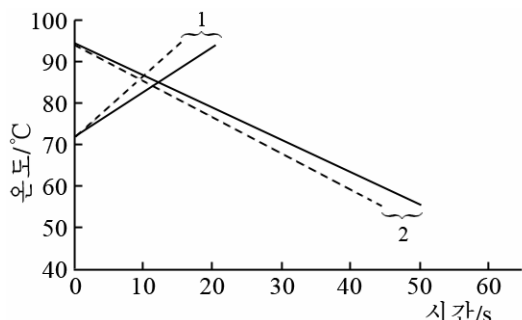


그림 3. 강제랭각방식에서 시험관내부(실선)와 외부(파선)에서 온도변화특성
1-가열, 2-냉각

그림 3에서 보는바와 같이 강제랭각방식을 도입하는 경우 가열상태에서 시험관내부와 외부의 온도편차는 시험관용적이 0.2mL인 때 약 5.5℃였고 같은 온도에 도달하는데 걸리는 시간차는 5s정도로서 가열평균속도는 1.3℃/s라는것을 알수 있다.

랭각때 실험에서 랭각특성은 열변성온도 (94±1)℃로부터 아닐링온도인 (55±1)℃까지의 온도범위에서 조사하였다.

그림 3에서 보는바와 같이 시험관용적이 0.2mL일 때 시험관내부와 외부의 온도편차는 약 4℃정도였고 같은 온도에 도달하는데 걸리는 시

간차는 5s정도로서 랭각평균속도는 0.82℃/s이다.

이로부터 공기순환방식에서 강제랭각방식은 급열 및 급랭을 위한 속도보장측면에서 자연랭각방식보다 우월하다는것을 알수 있다.

4) 시험관설치틀의 자리길변화에 따르는 온도분포특성

강제랭각방식에서도 직접열순환때 반응시험관의 담체로서 공기를 직접 쓰게 된다.

공기는 열용량이 시험관설치틀로 리용한 철재료보다 매우 작으므로 온도분포특성이 자리길위치에 따라 달라지게 된다.

실험에서는 기준온도계의 위치를 자리길 1로 고정하고 온도를 측정하였는데 열변성온도 (94±1)℃에서 반응블록안에 설치된 공기순환장치인 선풍기의 동작에 따르는 온도변화특성은 그림 4와 같다.

그림 4에서 보는바와 같이 선풍기를 동작시키는 경우의 자리길 1과 자리길 2의 온도분포는 자리길당 5℃의 차를 나타내는데 이 편차는 중심축으로부터 멀어질수록 심해지며 결과 반응블록안에 설치된 시험관설치틀의 매 자리길에서 온도가 같지 않다는것을 알수 있다. 그것은 가열된 공기가 선풍기의 중심으로부터 날개쪽 방향으로 가면서 반응블록의 안쪽 면에 부딪치면서 빨리 배출되지 못하기때문이라고 본다.

만일 그림 5에서 보는바와 같이 선풍기를 동작시키지 않는 경우의 자리길 1과 자리길 2의 온도분포는 선풍기를 동작시키는 경우보다 자리길

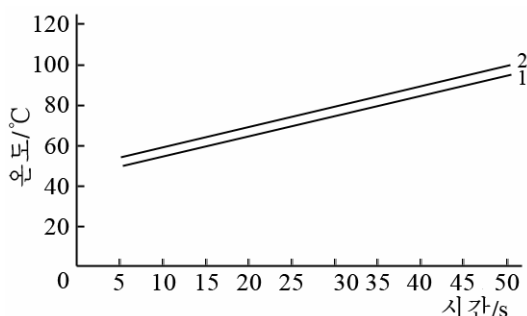


그림 4. 선풍기를 동작시킬 때 자리길에 따르는 온도변화특성
1-자리길 1, 2-자리길 2

당 1~2°C의 편차를 나타낸다. 그렇다고하여 선풍기를 동작시키지 않는다면 랭각특성을 얻을수 없으므로 PCR장치로서의 기능을 수행할수 없게 된다.

결국 똑같은 하나의 반응조건에서도 자리길 1과 자리길 2의 온도차(보통 3~5°C)로 인하여 비특이적인 증폭현상이 일어날수 있기때문에 반응블록전체에 대한 온도균일성보장이 불가능하다 해도 반드시 선풍기를 지속적으로 동작시키면서 시험관을 설치하는 자리길은 고정해야 한다는 결론을 얻을수 있다.

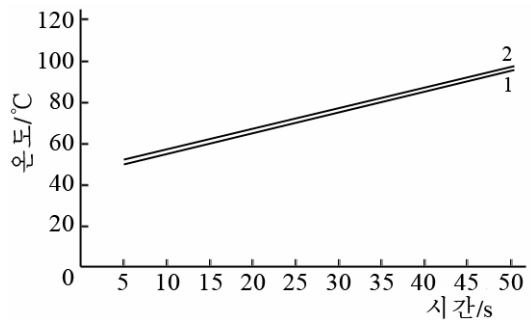


그림 5. 선풍기를 동작시키지 않을 때 자리길에 따르는 온도변화특성
1-자리길 1, 2-자리길 2

5) 열순환방향에 따르는 증발방지효과

강제랭각방식을 도입할 때 공기순환방향을 옳게 결정하는것은 가열 및 랭각속도의 제고뿐만아니라 증발방지를 위한 광물성기름을 쓰지 않게 하는 중요한 방도의 하나로 된다.

우의 실험들에서 논의하는 반응블록의 가열 및 랭각온도는 실제로 반응시험관이 설치되어있는 튜의 밑부분에서 측정한것이다.(그림 6)

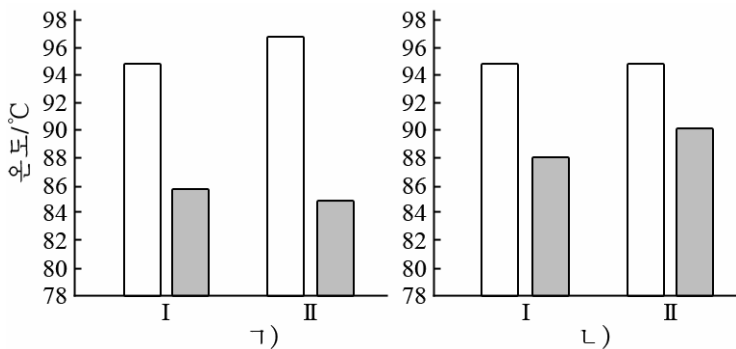


그림 6. 시험관윗면과 아래면의 온도

1) 선풍기를 리용하지 않는 경우, 2) 선풍기를 리용하는 경우;

I, II는 각각 반응블록의 덮개를 열었을 때와 닫았을 때;

□ 윗면, ■ 아래면

그림 6에서 보는바와 같이 선풍기를 동작시키는 경우와 동작시키지 않는 경우, 그리고 반응블록의 덮개를 닫았을 때와 열었을 때 다같이 시험관설치틀에 있는 시험관의 윗면과 밑면주위의 온도가 다르다는것을 알수 있다. 측정결과 윗면주위의 온도는 밑면주위의 온도보다 평균 5~11°C정도 더 높았다.

이것을 다음과 같이 논의할수 있다.

제작된 장치의 예열블록은 항상 100°C의 가열된 공기를 순환매체로 리용하게 되는데 가열된 공기는 언제나 위로 올라가므로 반응블록안의 선풍기를 동작시키지 않은 상태에서 덮개를 닫으면 시험관설치틀의 윗부분의 공기온도는 밑부분의 공기온도보다 항상 높게 된다. 이때 선풍기의 회전방향을 예열블록의 밑부분에서 가열된 공기를 아래로부터 위로 향하게 선정해주고 반응블록안의 선풍기를 동작시켜도 반응시험관의 마개와 반응액

이 들어있는 원추형부분의 온도중에서 시험관설치틀의 윗부분에 위치하는 마개쪽 부분의 온도가 더 높다는것을 보여주며 따라서 반응액의 증발현상이 나타나지 않게 된다. 반대로 반응블록안에서 선풍기의 공기순환방향을 우로부터 아래로 선정하면 가열속도는 증가하지만 랭각속도가 떨어질뿐아니라 온도유지를 위한 안정상태가 매우 불안하다는것을 보여준다.

결국 연구제작된 PCR장치에서 예열블록에서 가열된 공기의 순환방향을 아래로부터 우로 선정하면 증발방지효과와 속도제고효과를 다같이 보장할수 있다.

맺 는 말

연구제작된 PCR장치에서 예열온도의 설정값을 100℃로 보장하는것이 합리적이다.

강제랭각방식을 도입하면 주위온도가 30℃이상에서도 랭각속도를 0.82℃/s로 보장할수 있다.

공기의 순환을 아래에서부터 우로 시키는 경우 시료가 증발되는것을 방지할수 있다.

참 고 문 헌

- [1] D. M. Lieberman et al.; Hydrobiologia, **452**, 1, 191, 2001.
- [2] Yun Deng et al.; Science China, Technological Science, **54**, 1, 2001.
- [3] Y. Taniguchi et al.; Biophysical Journal, **95**, 12, 2008.
- [4] T. Coppieters et al.; Biomolecular Detection and Quantification, **12**, 6, 2016.
- [5] R. P. Wilkes et al.; Journal of Virological Methods, **220**, 35, 2015.
- [6] J. Hodgetts et al.; Plant Pathology, **64**, 559, 2015.
- [7] 福原健志; 日本国特許(JP), 特開2003-101974(P2003-101974A), 2003.

주체108(2019)년 4월 5일 원고접수

Introduction of Forced Cooling Mode into Polymerase Chain Reaction Device and Its Effect

Kim Myong Ryong, Pak Kyong Bom

This paper discussed the results that we examined a rational preheating temperature settlement, a temperature distribution character in the cooling mode and evaporation prevention effect of the heat circulation direction in PCR device with air circulation mode.

Key word: PCR