

## 시간 분해 직렬 펄초 결정학을 위한 3차원 프린팅 기반의 초고속 믹싱 및 인젝팅 시스템

지인서 · 강전웅 · 김태영 · 강민서 · 권순범 · 홍지우<sup>†</sup>

송실대학교 기계공학부  
06978 서울시 동작구 상도로 369  
(2021년 11월 9일 접수, 2021년 11월 23일 수정본 접수, 2021년 12월 14일 채택)

### 3D Printing-Based Ultrafast Mixing and Injecting Systems for Time-Resolved Serial Femtosecond Crystallography

Inseo Ji, Jeon-Woong Kang, Taeyung Kim, Min Seo Kang, Sun Beom Kwon and Jiwoo Hong<sup>†</sup>

School of Mechanical Engineering, Soongsil University, 369 Sangdo-Ro, Dongjak-Gu, Seoul, 06978, Korea  
(Received 9 November 2021; Received in revised form 23 November 2021; Accepted 14 December 2021)

#### 요 약

매우 짧은 펄스 폭의 X선 자유전자 레이저(XFEL)를 이용한 시간 분해능 연속 펄초 결정학(time-resolved serial femtosecond crystallography, TR-SFX)기법에서 반응 물질과 생체분자 결정 샘플간의 혼합률(mixing rate)과 결정 샘플과 X선 레이저 간의 충돌률(hit rate)은 생체분자의 시분해 구조 변화에 대한 정확한 이미지 획득 및 효율적인 샘플 소비와 같은 TR-SFX의 분석 성능을 결정짓는 핵심인자이다. 본 연구에서는 극초단 내 일어나는 생체분자의 시분해 구조 변화 해석을 위해 초고속 믹싱 기능을 가진다 동시에 공압 기반의 주문형 액적 젯팅이 가능한 두 가지 다른 방식의 샘플 전달시스템을 고안하였다. 한 방식은 이중 노즐을 통해 토출된 액적의 고속 충돌에 유발된 관성 믹싱을 기반으로 하고 있으며, 다른 방식은 마이크로믹서가 내장된 공압 젯팅을 기반으로 하고 있다. 먼저, 이중 노즐을 통해 토출된 액적의 충돌에 대한 동적 거동 및 액적 내부 관성 유동에 대한 믹싱에 대한 실험 및 수치해석적 연구를 수행하였다. 다음으로 마이크로믹서가 내장된 공압 젯팅 시스템의 성능을 유사한 방법을 통해 평가하였다. 본 연구에서 개발한 샘플 전달시스템은 질환을 유발하는 특정 단백질들의 기작을 규명하거나, 항체 의약품과 신약 후보 물질 탐색하는 데 있어 필수적인 3차원 생체 분자 구조분석 연구에 매우 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

**Abstract** – Time-resolved serial femtosecond crystallography (TR-SFX) is a powerful technique for determining temporal variations in the structural properties of biomacromolecules on ultra-short time scales without causing structure damage by employing femtosecond X-ray laser pulses generated by an X-ray free electron laser (XFEL). The mixing rate of reactants and biomolecule samples, as well as the hit rate between crystal samples and x-ray pulses, are critical factors determining TR-SFX performance, such as accurate image acquisition and efficient sample consumption. We here develop two distinct sample delivery systems that enable ultra-fast mixing and on-demand droplet injecting via pneumatic application with a square pulse signal. The first strategy relies on inertial mixing, which is caused by the high-speed collision and subsequent coalescence of droplets ejected through a double nozzle, while the second relies on on-demand pneumatic jetting embedded with a 3D-printed micromixer. First, the colliding behaviors of the droplets ejected through the double nozzle, as well as the inertial mixing within the coalesced droplets, are investigated experimentally and numerically. The mixing performance of the pneumatic jetting system with an integrated micromixer is then evaluated by using similar approaches. The sample delivery system devised in this work is very valuable for three-dimensional biomolecular structure analysis, which is critical for elucidating the mechanisms by which certain proteins cause disease, as well as searching for antibody drugs and new drug candidates.

**Key words:** Time-resolved serial femtosecond crystallography, Sample delivery, Inertial mixing, 3D printing, Micromixer, Pneumatic dispenser, Level set method

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: jiwoohong@ssu.ac.kr

‡이 논문은 포항공과대학교 강인석 교수님의 정년을 기념하여 투고되었습니다.  
This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 1. 서 론

질현을 유발하는 특정 단백질들의 기작을 규명하거나, 항체 의약품과 신약 후보 물질에 대한 생체 반응 특성을 이해하는데 있어서, 3차원 생체 분자 구조의 극초단(sub-millisecond)변화를 측정 및 분석하는 기술 개발의 필요성이 매우 중요하게 대두되고 있다[1, 2]. 이러한 3차원 생체 분자 구조 분석에 대한 대표적인 기술 중 하나인 초저온 전자현미경법(cryo-electron microscopy, cryo-EM)은 단백질을 비롯한 생체분자의 수용액을 비정질의 유리화된 얼음(vitreous ice) 상태의 시편으로 제작한 후 투과전자현미경(transmission electron microscope, TEM)을 통해 관찰하는 고분해능 생물 영상기술이다[3]. 질병과 밀접한 관련이 있는 다수의 단백질 복합체의 cryo-EM 분석이 가능해짐으로써 발병기작에 대한 이해도를 향상하며, 더 나아가서는 신약 개발의 중요한 구조생물학적 정보를 제공할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 하지만, 단백질 입자의 대량 분리 및 정제 과정 필요하며, 고분해능 분석을 위하여 비정질 얼음을 가지는 초저온 시료의 전처리 단계가 필요하다는 기술적 어려움을 가지고 있다. 또한, 건조 또는 동결과 같은 고상화 전처리로 인해 액상 시료의 분자동역학적 분석이 어렵다는 한계가 있다.

시간 분해능 연속 펄스 결정학(time-resolved serial femtosecond crystallography, TR-SFX)기법은 수 ~ 수십 펄스 초의 극초단 펄스 폭을 가진 X선 레이저를 생물학적 결정 시료에 조사하여 시료가 방사선손상을 입기 전에 구조 정보가 내재된 회절 이미지를 연속적으로 검출 및 분석하여 매크로분자의 3차원 구조 변화에 대한 정보를 얻는 실험 방법이다[4-8]. TR-SFX 기법을 이용한 생체 분자 구조 변화 연구 시, 생물 결정과 반응물을 빠르게 혼합하고, 이를 연속상의 유체류 또는 분산상의 액적 형태로 분사하는 믹싱 및 인젝팅(mixing and injecting)기술이 시료 소비 최소화 및 구조 분석 효율 증대에 매우 결정적인 영향을 미친다[9,10]. 하지만, 현재까지 개발된 믹싱 및 인젝팅 기술들은 반응물과 생물 결정 샘플간의 반응 시간의 한계로 인하여 극초단 내 일어나는 생체분자의 시분해 구조 변화 해석의 제약이 있으며, 제트를 통해 전달되는 결정 샘플과 X선 레이저 간의 낮은 충돌률(hit rate)으로 인한 비효율적인 시료 소비 및 낮은 이미지 정보 획득률 등의 기술적 문제들을 가지고 있다[11,12]. 따라서, i) 생체 분자의 극초단 시분해 구조 변화 규명을 위한 밀리 초(milliseconds) 이하의 극단 초 내에 초고속 믹싱과 ii) 생체 결정 시료의 소비량 최소화 및 입체적 구조 분석 효율 증대를 위한 주문형 인젝팅이 가능한 샘플 전달시스템의 개발이 필요하다.

이를 위해 본 연구에서는 두 가지 방식의 샘플 전달시스템을 고안하였다. 첫 번째 방식은 액적의 고속 충돌에 유발된 관성 믹싱을 통한 샘플 전달시스템이다. 고해상도의 3차원 프린팅(3D printing)기술을 이용하여 이중 노즐을 갖는 공압 젯팅 장치를 제작한 후, 이로부터 토출된 액적들이 고속으로 충돌 및 병합할 때 유발되는 관성 믹싱을 이용한 초고속 믹싱 및 인젝팅 시스템을 개발하고자 하였다. 이 시스템을 개발하기 위하여, 우선적으로 i) 단일 노즐에서 일정 체적을 갖는 액적을 안정적으로 토출할 수 있는 공압 조건과 ii) 인가한 공압과 액적 비행(충돌)속도 간의 상관 관계를 실험적으로 탐색하였다. 또한, 초고속이미지획득시스템을 통해 이중 노즐의 공압 젯팅을 통해 토출된 액적의 충돌 거동 및 액적 내부 믹싱 과정을 가시화하였다. 토출된 액적의 동적 거동을 예측하기 위하여 다상유동에 대한 수치해석을 진행하였다.

한편, 또 다른 샘플 전달시스템으로 마이크로믹서(micromixer)가 내장된 인젝팅 시스템을 개발하였다. 이 샘플 전달시스템은 고해상도의 3차원 프린터를 통해 제작된 마이크로믹서가 내장되어 있는 젯팅 노즐에 유체를 주입시켜 고속으로 믹싱시킨 후 공압 인가를 통해 액적 형태로 인젝팅하는 프로세스로 구성되어 있다. 작동 유체의 주입 속도에 따른 마이크로믹서의 믹싱 효율(mixing index)의 변화를 예측할 수 있는 수치해석 모델을 개발하였다. 끝으로, 사각과 형태의 공압을 인가할 때 지연시간에 따른 토출된 액적의 체적 및 비행(충돌)속도의 변화를 관찰함으로써 이에 대한 정성 및 정량적 실험 결과를 얻을 수 있었다.

## 2. 실험 장치 및 방법

Fig. 1(a)와 (c)는 본 연구에서 고안한 두 가지 다른 방식의 초고속 믹싱 및 인젝팅 시스템에 대한 개념도를 보여주고 있다. 공압 기반의 액적 토출장치를 마스크 투영 이미징(Digital Light Processing, DLP) 방식의 3D 프린팅 기법을 통해 제작하였다. 마스크 투영 이미징 방식은 액상의 광경화성 수지에 자외선 투사하여 조형하고자 하는 형태로 수지를 경화 조형하여 3차원 형태의 출력물을 얻는 3D 프린팅 방식이다. 픽셀 정밀도(pixel resolution)가 27  $\mu\text{m}$ 인 DLP 방식의 고해상도 3D 프린터(Max x27, Asiga)와 광경화성 수지(PlasClear V2 UV resin, Asiga)를 사용하여 Fig. 1(b)와 (d)와 같은 형상의 액적 토출장치를 제작하였다.

이중 액적 토출장치는 고해상도의 3D 프린터로 제작된 토출기 프레임워크(framework)에 노즐을 장착하여, i) 노즐 끝단에서 일정한 작동 유체를 주입하여 미소 체적의 액적을 생성함과 동시에 ii) 노즐과 동축인 채널에서 일정한 공압의 압축공기가 액적을 밀어 토출할 수 있도록 형상을 설계하였다(Fig. 1(b)). 본 실험에서는 27 gauge(내경: 0.2 mm 외경: 0.4 mm)의 크기를 갖는 상용 금속 노즐을 장착하였다. 한편, 마이크로믹서 내장형 토출장치는 일반적인 곡선형의 마이크로믹서(curved serpentine micromixer)를 기반으로 설계하였고, 이중 액적 토출장치와 마찬가지로 DLP 방식의 고해상도 3D 프린터로 제작하였다(Fig. 1(d)).

실린지 펌프(Fusion 4000, Chemxyx)를 통해 각 0.5, 1, 2  $\mu\text{L}$ 의 체적을 갖는 미소 액적이 일정하게 토출되도록 노즐에 작동 유체를 주입하였다. 작동 유체는 탈이온수(deionized water) 또는 탈이온수/글리세롤(glycerol)의 혼합유체를 사용하였으며 점도 효과를 파악하기 위하여 글리세롤 함량이 다른 탈이온수/글리세롤 혼합유체를 사용하였다. 글리세롤 함량에 따른 혼합유체의 물성 정보는 Table 1에 정리하였다. 한편, 액적의 토출 및 충돌 거동에 대한 선명한 가시화 결과들을 획득하기 위하여 청색과 황색 수용성 염료를 작동 유체에 소량(0.3 wt% ~ 0.5 wt%) 첨가하였다.

본 연구에서 자체 제작하여 사용한 공압 인가시스템은 에어 컴프레서(air compressor), 압력 조절기(pressure regulator), 압력 용기(pressure vessel), 유량제어밸브(flow control valve) 등으로 구성되어 있다. 수동 압력조절기에서 60 psi로 조절된 압축공기가 에어 컴프레서로부터 전동 압력조절기로 공급되며, 전압 제어 방식의 전동 압력조절기에서 강하된 일정한 공압(0.6 psi ~ 1.2 psi)을 0.29 L의 체적을 갖는 압력용기에 공급하였다. 전력 조절장치(power controller, JDC305A, JLMAGNET)를 통해 작동 전압 20 V를 전동 압력조절기에 인가하여 전력을 공급하고, 함수발생기(wave form generator,

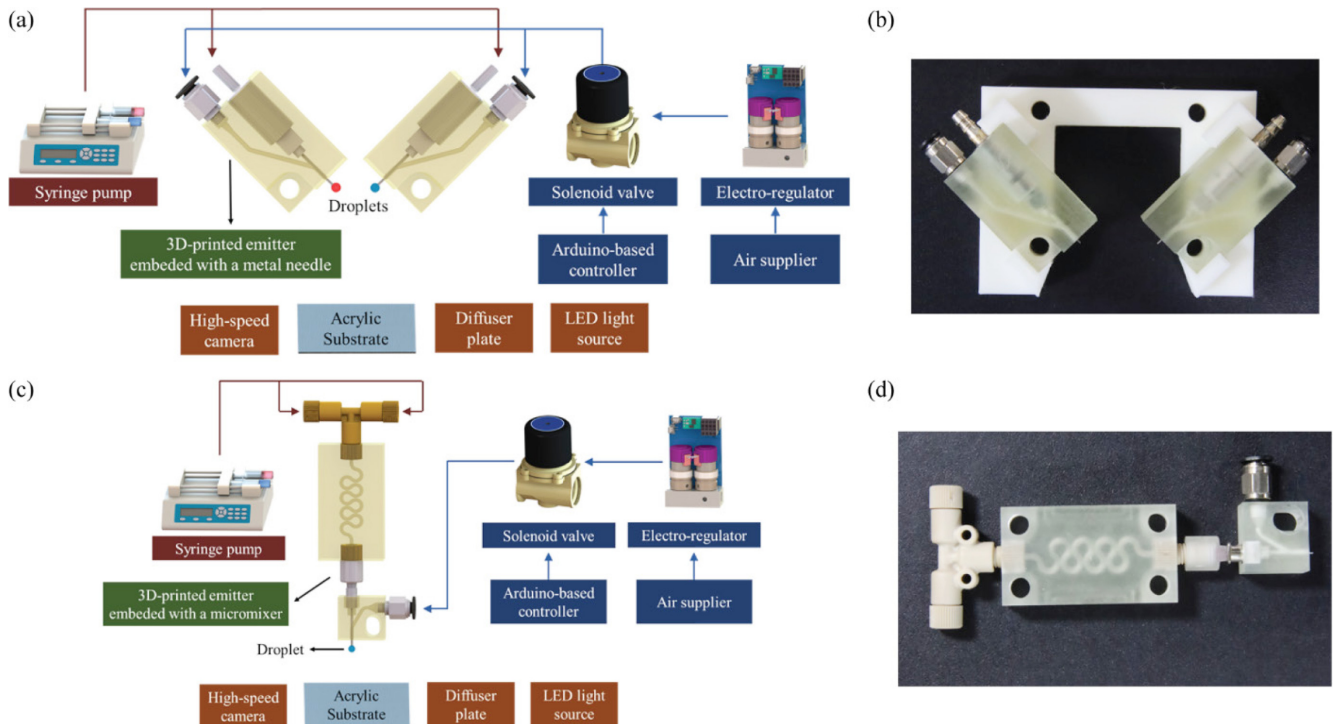


Fig. 1. Schematic diagrams of experimental setups for mixing and delivery systems (a) based on double droplet collision and (c) integration of 3D-printed micromixing and pneumatic dispensing. 3D-printed emitters embedded with a metal needle and a micromixer are shown in (c) and (d), respectively.

Table 1. Physical properties of the working fluids [13] (23±1 °C)

Percentage of glycerol (wt%)	Viscosity $\mu$ (mPa·s)	Surface tension $\gamma$ (dyne/cm)	Density $\rho$ (g/cm <sup>3</sup> )
0	1.0	71.2	0.99
46	4.8	65.5	1.12
60	10.7	64.8	1.16
70	22.5	64.5	1.18

33220a, Agilent)로 공압 조절을 위한 신호전압(100 mV ~ 200 mV)을 인가하였다. 일정한 공압으로 유지된 압력용기에서 솔레노이드 밸브의 개폐를 통해 액적 토출장치로 압축공기가 전달되며, 개폐 주기는 아두이노 기반의 마이크로컨트롤러(arduino-based microcontroller)를 이용하여 조절할 수 있었다.

토출된 액적의 거동을 가시화하기 위하여 매크로 렌즈를 연결한 초고속 카메라(Fastcam Mini UX100, Photron), 확산판(diffuser plate), 광원(1kW의 LED light)을 일렬로 배치하였으며, 토출된 액적의 거동에 대한 이미지를 얻기 위해 초당 8000 프레임 이상으로 고속 촬영하였다.

### 3. 수치해석 모델 개발

유한요소법(finite element method)기반의 상용 수치해석 프로그램인 COMSOL Mutiphysics (v5.5, COMSOL Inc.)를 이용하여 이 중 노즐을 갖는 공압 젯팅 시스템을 통해 토출된 액적 거동 예측을 위한 수치해석 모델을 개발하였다(Fig. 2(a)). 본 수치해석에서는 유체(flow field)와 레벨 셋(level set)에 대한 전달 방정식(transport equation)을 연동하여 계산하였다[14]. 유체와 레벨셋 함수에 대한

지배방정식은 아래와 같이 각 Navier-Stokes식(Eq. (1)), 레벨셋 함수( $\phi$ )의 전달 방정식(Eq. (2))을 사용하였다.

$$\rho(\phi) \left( \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} \right) = \nabla \cdot \left[ -p\mathbf{I} + \mu(\phi) (\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T) \right] + \sigma \kappa(\phi) \mathbf{n}(\phi) \delta(\phi) + \rho(\phi) \mathbf{g} \quad (1)$$

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi \mathbf{u}) = \gamma \nabla \cdot \left[ -\phi(1-\phi) \frac{\nabla \phi}{|\nabla \phi|} + \varepsilon \phi \right], \quad (2)$$

여기서,  $\rho$ ,  $\mathbf{u}$ ,  $p$ ,  $\mu$ ,  $\sigma$ ,  $\kappa$ ,  $\mathbf{n}$ ,  $\mathbf{g}$ 는 밀도, 유속, 압력, 점도, 표면장력, 곡률, 법선 벡터, 중력가속도를 의미한다. 수치해석에 필요한 초기 조건 및 경계조건, 유체의 물성은 실험과 동일한 조건으로 부여하였다. Fig. 2(b)에서 보듯이, 본 수치해석 모델에서 사용한 격자(mesh)는 매핑된 직육면체 격자(mapped hexahedra mesh)로 구성하였으며, 유체 전달방정식의 종속변수 유속( $u$ )과 압력( $p$ )은 선형변수(linear variables)로, 레벨셋 전달방정식의 종속변수 레벨셋 함수( $\phi$ )는 2차변수(quadratic variables)로 설정, 시간의존(time-dependent)해석을 진행하였다.

3차원 프린팅 기반의 마이크로믹서[15]의 믹싱 성능을 예측하기 위한 수치해석도 COMSOL Mutiphysics를 이용하여 진행하였다(Fig. 2(c)). 3차원 정상상태 비압축성 유동에 대한 Navier-Stokes식을 해석하여 채널 내부 유동장 분포를 구한 후, 이 정보들을 이용하여 물질에 대한 전달방정식을 계산하여 농도 분포를 구하였다. 이 수치해석 모델에서 사용한 격자는 사면체 격자망(tetrahedral mesh)들로 구성하였으며(Fig. 2(d)), 유체 전달방정식의 종속변수 유속( $u$ )은 2차변수로, 압력( $p$ )은 선형변수로, 물질 전달방정식의 종속변수 농도( $c$ )는 선형변수로 설정하여 정상상태(stationary) 해석을 진행하였다.

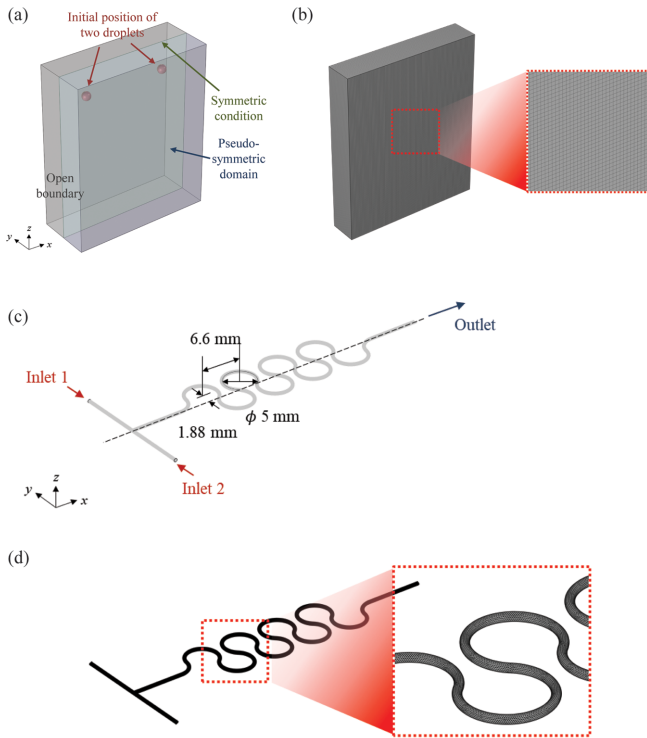


Fig. 2. (a) Computational domain and (b) mesh of the numerical model for the double droplet collision-based mixing and delivery system. (c) Computational domain and (d) mesh of the numerical model for the 3D-printed micromixer.

## 4. 결과 및 고찰

### 4-1. 유체 점도 및 공압에 따른 액적의 비행(충돌) 속도

이중 노즐을 갖는 공압 젯팅 기반의 초고속 믹싱 시스템 개발을 위해 우선적으로 단일 노즐에서 일정한 체적을 갖는 액적을 안정적으로 토출할 수 있는 공압 조건에 대한 실험을 수행하였다. 일정 체적(0.5  $\mu\text{L}$ , 1  $\mu\text{L}$ , 2  $\mu\text{L}$ )의 작동 유체를 노즐에 주입하며, 인가하는 공압의 세기를 증가하며 액적의 토출 과정을 관찰하였다. 0.6 psi ~ 1.2 psi의 인가 공압 범위에서 액적을 안정적으로 토출할 수 있으며, 토출된 액적은 1 m/s ~ 3 m/s의 빠른 비행(충돌)속도를 갖음을 확인하였다. 또한, 토출된 액적의 비행(충돌)속도는 액적의 체적에는 거의 무관하며, 액적의 점도 증가에 따라 감소하는 경향을 보였다.

### 4-2. 이중 노즐에서 토출된 두 액적의 충돌 거동 및 믹싱 과정

액적 충돌의 동적 거동 및 충돌 후 액적 내부에서의 믹싱 과정을 관찰하기 위해, 탈이온수에 각각 0.3 wt%의 청색, 황색색 수용성 염료를 첨가한 두 작동 유체를 체적 2  $\mu\text{L}$ 로 노즐 끝단에 주입한 뒤 사선(45°) 및 수평방향으로 토출하여 충돌 실험을 진행하였다(Fig. 4(a) and (b)). 각 실험에서 노즐 끝단 간의 수평거리는 각  $16\sqrt{2}$ 와 32 mm로 고정하였다. 초고속이미지획득시스템을 통해 이중 노즐의 공압 젯팅을 통해 토출된 액적의 충돌 거동 및 액적 내부 믹싱 과정을 가시화할 수 있었다. Fig. 4에서 보듯이, 공압 젯팅을 통해 이중 노즐로부터 토출된, 서로 다른 색소를 포함한 두 액적이 빠르게 충돌한 후 수 밀리초의 극단 초안에 초고속 믹싱되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 사선(45°) 방향으로 충돌한 액적이 수평 방향으로 충돌한 액적

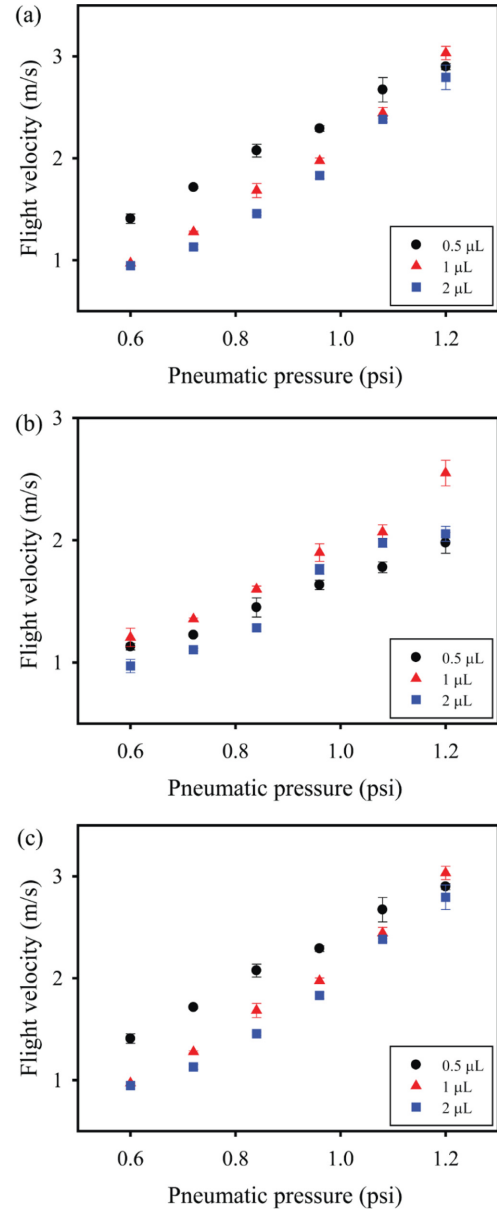


Fig. 3. Flight velocity of droplets ejected from the pneumatic dispenser as a function of pneumatic pressure and liquid viscosity.

에 비해 더 빠르게 믹싱되는 것을 관찰할 수 있었는데, 이는 사선으로 충돌 후 병합된 액적은 관성력을 유지한 채로 낙하는 반면에, 수평으로 충돌 후 병합된 액적은 관성력이 상쇄된 후 중력에 의해서만 자유 낙하하기 때문이다. Fig. 4(c)와 (d)는 (a)와 (b)에서의 동일한 실험 조건에서 매크로(클로즈업) 모드로 획득한 이미지로 충돌 후 병합된 액적 내부의 관성 믹싱을 보다 명확하게 관찰할 수 있다.

### 4-3. 3차원 프린팅 기반의 마이크로믹서가 내장된 공압 젯팅 시스템을 통해 토출된 혼합 액적의 거동

액적 충돌 실험에서 사용하였던 서로 다른 색소를 갖는 작동 유체를 각 4 mL/min, 총 8 mL/min의 유량으로 마이크로믹서가 내장된 공압 젯팅 시스템에 주입한 후 사각과 형태의 공압을 인가하여 액적 형태로 토출하였다. 사각과 형태의 공압은 솔레노이드 밸브가 열린 시간(trigger time)을 10 ms으로 고정하고 밸브가 닫혀있는 시간

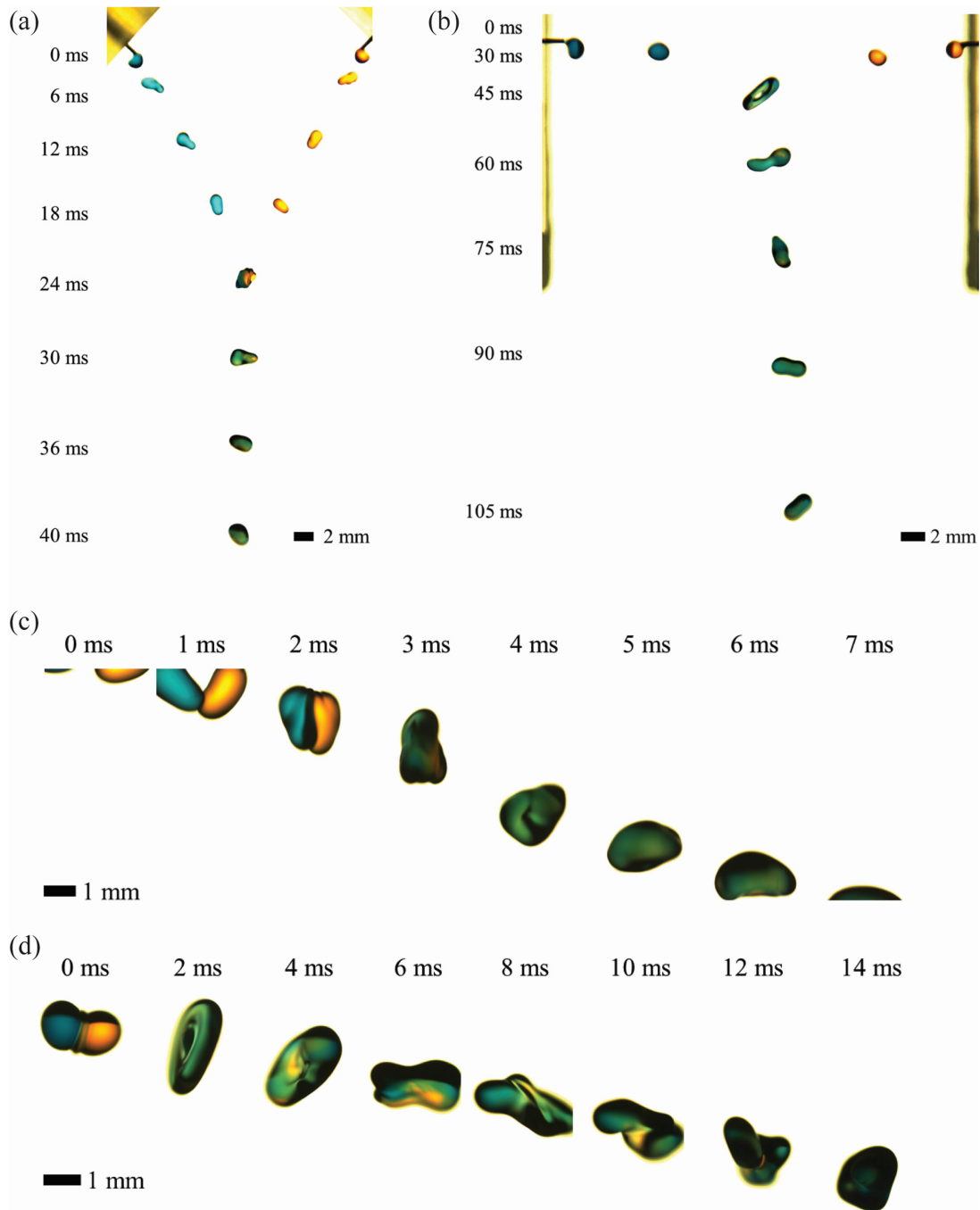


Fig. 4. Temporal variation of the shape and internal mixing of two colliding droplets with different colours in (a) the diagonal and (b) the horizontal directions. Consecutive photographs of (c) and (d) from a magnified view show colliding droplets diagonally and horizontally, respectively.

(delay time)을 20 ms, 30 ms, 50 ms, 100 ms로 바뀌가며 인가하였다. Fig. 5에서 보듯이, 마이크로믹서가 내장된 젯팅 노즐을 통해 고속으로 믹싱된 유체가 사각과 형태의 공압 인가 방식을 통해 액적 형태로 안정적으로 토출되는 것을 관찰하였다. 또한, 사각과 형태의 공압 인가시 지연시간에 따라 토출된 액적의 체적이 변하는 것을 정성적으로 확인할 수 있었다.

Fig. 5에서의 실험을 통해 사각과 형태의 공압 인가시 지연시간과 토출된 액적의 체적, 토출된 액적의 비행(충돌)속도간의 상관 관계를 도출하였다. Fig. 6에서 보듯이, 지연시간이 증가함에 따라 토출

된 액적의 체적은 선형적으로 증가하며, 지연시간과 토출된 액적의 비행(충돌)속도와는 거의 무관한 경향을 보임을 확인하였다. 따라서, 주입 유속이나 인가한 사각과 형태의 공압에 대한 지연시간 조절을 통해 토출된 액적의 체적이나 토출 주기를 제어할 수 있다. 최종적으로는, 본 결과들은 인젝팅을 통해 전달되는 결정 샘플과 X선 레이저 간의 충돌물을 증가시켜 시료의 소비를 최소화할 수 있으며 이미지 정보 획득률 또한 증가시키는데 중요한 정보가 될 것으로 예상된다.



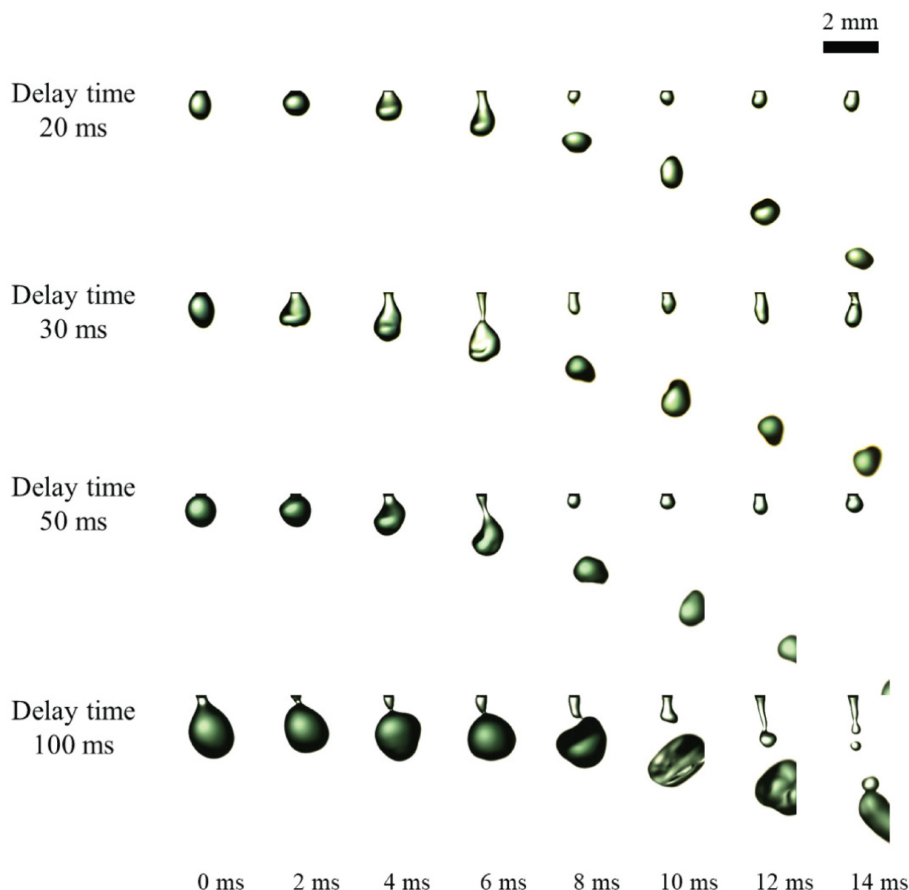


Fig. 5. Consecutive photos of a droplet emitted from the integrated system of 3D-printed micromixing and pneumatic dispensing.

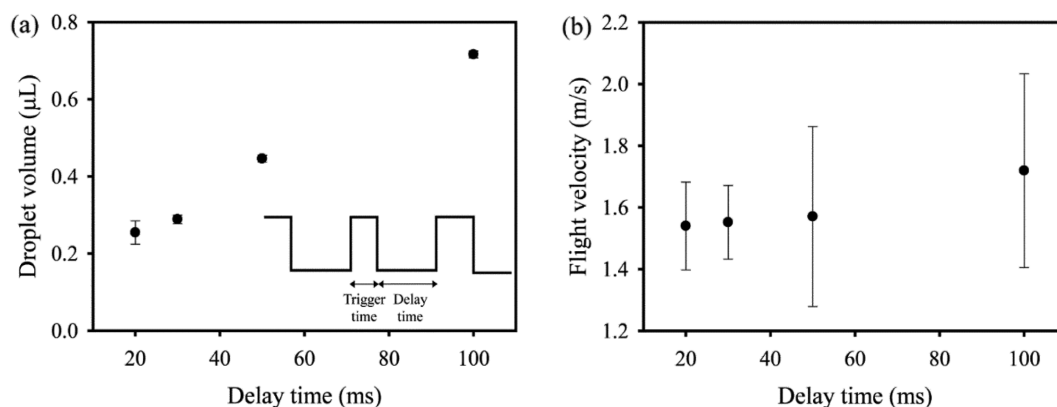


Fig. 6. (a) Volume and (b) flight velocity of the ejected droplet as a function of the delay time when pneumatic pressure is applied with a square pulse.

#### 4-4. 두 가지 다른 타입의 초고속 믹싱 및 인젝팅 시스템에 대한 수치해석 결과

본 연구에서는 이중 노즐로부터 사선(45°) 및 수평방향으로 토출된 액적의 충돌 거동을 예측하는 수치해석 모델을 개발하였다(Fig. 7(a) and (b)). 본 수치해석 모델이 액적 충돌 거동에 대한 실험결과(Fig. 4(a) and (b))를 상당히 잘 예측하고 있음을 알 수가 있다. 이 모델을 통해 액적의 물성 조건(점도, 표면장력, 밀도 등)나 공정조건(토출 속도, 토출 각도 등)을 변화시켰을 때 액적의 충돌 시점 및 위치의 변화를 예측할 수 있을 것으로 예상된다. 향후 본 모델에 물질

수치 지배방정식을 연동하여 계산함으로써 충돌 후 병합된 액적 내부의 농도 분포를 예측할 수 있을 것으로 예상된다.

이와 더불어, 3차원 프린팅 기반의 마이크로믹서의 믹싱 성능을 예측하기 위한 수치해석 모델 또한 개발하였다(Fig. 7(c) and (d)). 본 수치해석 모델을 통해 관성력과 점성력의 상대적 크기 비를 나타내는 무차원 수인 Reynolds 수( $Re$ )에 따른 마이크로믹서 내부의 농도 분포 및 믹싱 효율(mixing index)의 변화를 예측할 수 있었다. Fig. 7(d)에서 확인할 수 있듯이, 실험에서의 사용한 주입 유속 조건( $Re=500$ )일 때 완전 믹싱이 가장 짧은 믹싱 거리(mixing length)에

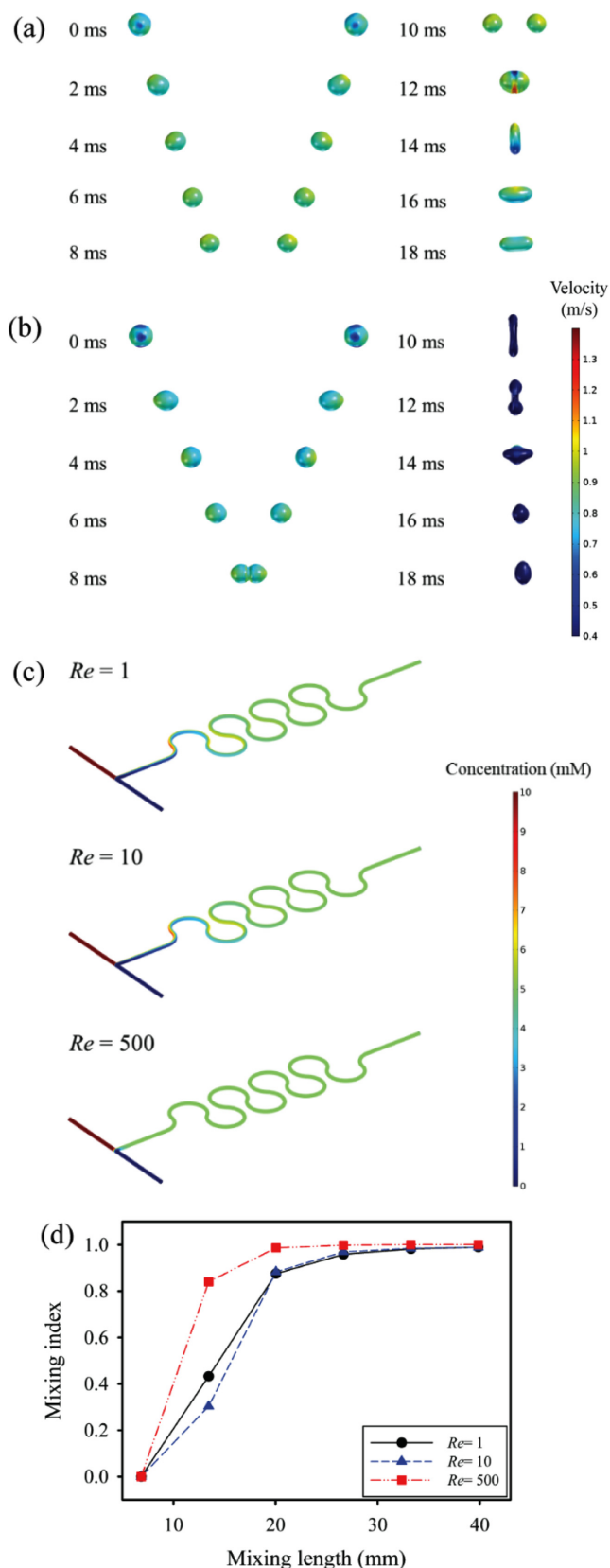


Fig. 7. Numerical predictions for the colliding dynamics of two droplets emitted from the double pneumatic dispenser in (a) the diagonal and (b) the horizontal directions. Numerical predictions for (c) concentration distribution and (d) mixing index of the micromixer as a function of Reynolds number.

서 일어남을 확인할 수 있었다. 따라서, 실험에서 주입된 유체들이 마이크로믹서를 통해 완전하게 믹싱된 후 공압을 통해 토출됨을 수치해석을 통해서도 검증할 수 있다.

## 5. 결 론

본 연구에서는 생체분자의 시분해 구조 변화 해석을 위해 초고속 믹싱 기능을 가진 공압 기반의 주문형 액적 젯팅이 가능한 두 가지 다른 방식의 샘플 전달시스템을 고안하였다. 우선, 이중 노즐을 통해 토출된 액적의 충돌에 의해 유발된 관성 믹싱을 기반한 샘플 전달시스템에 대한 실험적, 수치해석적 연구를 수행하였다. 실험을 통해 액적의 충돌에 의해 유발된 관성 믹싱이 수 밀리 초의 극 단초에 일어남을 확인할 수 있었다. 또한, 액적의 충돌 거동을 예측하는 수치해석 모델 개발을 통해 두 액적의 충돌 시점 및 지점을 예측할 수 있었다. 다음으로, 마이크로믹서가 내장된 공압 젯팅 시스템의 성능을 실험과 수치해석을 통해 평가하였다. 마이크로믹서를 통해 완전 믹싱된 유체를 사각과 형태의 공압 신호를 인가하여 액적 형태로 토출할 수 있음을 실험을 통해 확인하였다. 또한, 사각과 형태의 공압 신호 인가시 지연시간 조절을 통해 토출되는 액적의 체적을 제어할 수 있음을 증명하였다. 마이크로믹서 내부의 농도 분포 및 믹싱 효율을 예측할 수 있는 수치해석 모델을 개발하여, 주입 유속 변화에 따른 마이크로믹서의 믹싱 성능을 검증하였다. 본 연구에서 개발한 샘플 전달시스템은 질환 유발에 대한 기작을 규명하거나, 항체 의약품과 신약 후보 물질 탐색하는 데 있어 핵심이 되는 3차원 생체 분자 구조분석 연구에 매우 유용하게 활용될 것으로 예상된다.

## 감 사

이 논문은 2020년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No. 2020R1F1A1066664). 또한, 과학기술정보통신부(MSIT)와 포항가속기(PAL)의 지원을 받아 본 연구를 수행하였음.

## References

1. Ourmazd, A., "Cryo-EM, XFELs and the Structure Conundrum in Structural Biology," *Nat. Methods*, **16**(10), 941-944(2019).
2. Henzler-Wildman, K. and Kern, D., "Dynamic Personalities of Proteins," *Nature*, **450**(7172), 964-972(2007).
3. Bai, X.-C., McMullan, G. and Scheres, S. H., "How Cryo-EM is Revolutionizing Structural Biology," *Trends Biochem. Sci.*, **40**(1), 49-57(2015).
4. Neutze, R., Wouts, R., Van der Spoel, D., Weckert, E. and Hajdu, J., "Potential for Biomolecular Imaging with Femtosecond X-ray Pulses," *Nature*, **406**(6797), 752-757(2000).
5. Chapman, H. N., Fromme, P., Barty, A., White, T. A., Kirian, R. A., Aquila, A., Hunter, M. S., Schulz, J., DePonte, D. P. and Weierstall, U., "Femtosecond X-ray Protein Nanocrystallography," *Nature*, **470**(7332), 73-77(2011).
6. Neutze, R. and Moffat, K., "Time-resolved Structural Studies at Synchrotrons and X-ray Free Electron Lasers: Opportunities and Challenges," *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **22**(5), 651-659(2012).
7. Tenboer, J., Basu, S., Zatsepin, N., Pande, K., Milathianaki, D., Frank, M., Hunter, M., Boutet, S., Williams, G. J. and Koglin, J.

- E., "Time-resolved Serial Crystallography Captures High-resolution Intermediates of Photoactive Yellow Protein," *Science*, **346**(6214), 1242-1246(2014).
8. Nogly, P., Weinert, T., James, D., Carbajo, S., Ozerov, D., Furrer, A., Gashi, D., Borin, V., Skopintsev, P. and Jaeger, K., "Retinal Isomerization in Bacteriorhodopsin Captured by a Femtosecond x-ray Laser," *Science*, **361**(6398), eaat0904(2018).
  9. Cheng, R. K., "Towards An Optimal Sample Delivery Method for Serial Crystallography at XFEL," *Crystals*, **10**(3), 215(2020).
  10. Orville, A. M., "Recent Results in Time Resolved Serial Femtosecond Crystallography at XFELs," *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **65**, 193-208(2020).
  11. DePonte, D., Weierstall, U., Schmidt, K., Warner, J., Starodub, D., Spence, J. and Doak, R., "Gas Dynamic Virtual Nozzle for Generation of Microscopic Droplet Streams," *J. Phys. D.*, **41**(19), 7(2008).
  12. Calvey, G. D., Katz, A. M., Schaffer, C. B. and Pollack, L., "Mixing Injector Enables Time-resolved Crystallography with High Hit Rate at X-ray Free Electron Lasers," *Struct. Dyn.*, **3**(5), 1-19(2016).
  13. Hong, J., Kim, Y. K., Kang, K. H., Oh, J. M. and Kang, I. S., "Effects of Drop Size and Viscosity on Spreading Dynamics in DC Electrowetting," *Langmuir*, **29**(29), 9118-9125(2013).
  14. Sethian, J. A., *Level Set Methods and Fast Marching Methods: Evolving Interfaces in Computational Geometry, Fluid Mechanics, Computer Vision, and Materials Science*, Cambridge university press (1999).
  15. Alijani, H., Özbey, A., Karimzadehkhoei, M. and Koşar, A., "Inertial Micromixing in Curved Serpentine Micromixers with Different Curve Angles," *Fluids*, **4**(4), 1-17(2019).

#### Authors

**Inseo Ji:** Master's course, School of Mechanical Engineering, Soongsil University, 369 Sangdo-Ro, Dongjak-Gu, Seoul, 06978, Korea; inseotropy@gmail.com

**Jeon-Woong Kang:** Master's course, School of Mechanical Engineering, Soongsil University, 369 Sangdo-Ro, Dongjak-Gu, Seoul, 06978, Korea; kangjw159@gmail.com

**Taeyung Kim:** Master's course, School of Mechanical Engineering, Soongsil University, 369 Sangdo-Ro, Dongjak-Gu, Seoul, 06978, Korea; rlaxodudsla@gmail.com

**Min Seo Kang:** Senior, School of Mechanical Engineering, Soongsil University, 369 Sangdo-Ro, Dongjak-Gu, Seoul, 06978, Korea; little123439@gmail.com

**Sun Beom Kwon:** Senior, School of Mechanical Engineering, Soongsil University, 369 Sangdo-Ro, Dongjak-Gu, Seoul, 06978, Korea; tnsqja8389@gmail.com

**Jiwoo Hong:** Professor, School of Mechanical Engineering, Soongsil University, 369 Sangdo-Ro, Dongjak-Gu, Seoul, 06978, Korea; jiwoohong@ssu.ac.kr