

## A microfluidic multiple bio-analysis platform based on the enzyme-immobilized barcoded strip

SungRak Kim, SangHoon Lee

Institute of Dankook Biomedical Engineering (Dept. Biomedical Eng., Dankook Univ.), San29, Anseodong, Cheonan, Chungnam, 330-714, South Korea  
TEL: +82-41-550-3893, FAX:+82-41-562-7937

### Abstract

In this paper, we report a novel technique for the manufacture of polymeric bar-coded strips having diverse characteristics such as sensing with biocatalysts using a microfluidic platform and 'on the fly' photopolymerization. This method is a very simple, cost-effective means for mass production, and diverse materials sensitive to hazardous environments such as enzymes, DNA, or antigens are expected to be immobilized stably, as the fabrication process does not need any hazardous environments. On the basis of this technology, we fabricated enzyme-immobilized barcoded strip for multiple bio-analysis.

### 1. 서론

최근 microfluidic device(MFD)는 광중합(photopolymerization)을 사용하는 마이크로섬유(microfiber)나 마이크로스피어(microsphere)와 같은 다양한 구조물들은 제작하기 위한 도구로써 사용되고 있다.<sup>[1]</sup> 본 논문에서는, 생물학적인 물질을 이용하여 바코드형식의 다중 생 분석을 위한 폴리머 스트립(polymeric microstrip)의 제작에 대한 새로운 기술과 효소의 고정화를 통하여 어떤 응용을 할 수 있는지에 대하여 보고하였다.

### 2. 재료 및 방법

바코드화 폴리머 스트립을 만들기 위해서 우선, PDMS를 기반으로 하는 microfluidic chip(MFC)을 제작해야 하는데, 이는 우리가 이전에 보고했던 방법을 사용하여 제작하였고<sup>[2]</sup> 그 구조는 그림1과 같고, 실험하기 위한 장비들의 설치는 그림 2와 같다. 폴리머 스트립을 만들기 위한 물질로는 PEG-DA(Poly ethylene glycol diacrylate)를 사용하는데 crosslinker (EGDMA (ethylene glycol dimethacrylate)와 photo-initiator

(DMPA (2,2-dimethoxy-2-phenyl-aceton -phenone))를 섞어 광중합을 일으킬 수 있는 용액으로 만들고, 조효소(Glucose Oxidase(GOX)+Horseradish Peroxidase(HRP)/Lactate Oxidase (LOX)+HRP)를 섞어서 효소(enzyme)와 반응할 수 있는 2가지 용액을 만든다. 이 두 용액을 샘플로 사용하여 바코드 형식처럼 원하는 부위의 MFC에 홀리고 광중합을 할 수 없는 용액을 제일 바깥쪽에 홀리면, 마이크로단위에서 생기는 현상 (예를 들면, laminar flow) 때문에 입구로 들어간 모든 유체들은 분리되어 출구까지 그 흐름을 유지하면서 채널 끝까지 섞이지 않고 흐르게 된다. 채널의 끝에서 자외선(Ultraviolet, 365nm)을  $300 \text{ mW/cm}^2$ 의 세기로 흐르는 채널에 쬐게 되면 샘플은 굳게 된다. 국소적으로 조효소가 들어가서 고정화가 된 바코드화 폴리머 스트립은 주변의 광중합을 일으킬 수 없는 유체들 때문에 MFC에서 빠져나오게 된다. 효소 glucose의 검출을 위해서, 50mM의 glucose와  $64\mu\text{M}$ 의 amplex red를 섞은 용액을 폴리머 스트립에 뿌리고 관찰하였다. glucose와 공기 중의  $\text{O}_2$ 가 있으므로 GOX는  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 만들고 이 과산화수소는 amplex red를 산화시키면서 HRP와 반응하여 형광 resorufin으로 바뀐다. 또한, lactate검출은 50mM의 lactate와  $64\mu\text{M}$ 의 amplex red를 섞은 용액을 폴리머 스트립에 뿌리고 관찰하였다. lactate 역시 공기 중의  $\text{O}_2$ 와 반응하여 LOX는  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 만들고 이 과산화수소도 amplex red를 산화시키면서 HRP와 반응하여 형광 resorufin으로 바뀐다. 그림 3은 이 원리를 설명해주고 있다. 형광 관찰은 confocal microscope(LSM 510 META, Carl Zeiss)를 사용하여 검출하였다.

#### 4. 결과 및 고찰

그림 4(a)는 로다민(rhodamin B)을 넣어 형광 현미경으로 유체의 흐름을 관찰한 것이고, 그림 4(b)는 광중합으로 만들어진 폴리머 스트립을 형광 현미경으로 관찰한 것이며, 이는 서로간의 확산이 일어나지 않고, laminar flow형상대로 굳는다는 것을 알 수 있다. 그림 4(c)는 SEM(scanning electro microscope, S-4300 Hitachi)으로 관찰한 것이고, 표면이 매끄럽고, 경계선이 표면에 나타나지 않는다는 것을 알 수 있다. 우리는 glucose나 lactate같은 효소의 반응을 나타내는 형광을 검출하였고, 형광 그래프는 그림 5에서 보여주고 있다. 이 결과는 조효소가 원하는 위치에 안정하게 고정화된다는 것을 말해주고 있다. 그림 6은 22줄로 만든 것과 그에 대한 3차원 강도 그래프를 보여준다. 이는 6줄의 폴리머 스트립을 만들 수 있을 뿐만 아니라 22줄의 폴리머 바를 만들 수 있다는 것을 의미하고 있으며, 현재 시판되고 있는 HPV(Human Papilloma Virus) 진단 키트에 들어가는 22개의 oligomer를 고정화하여 현재 시판되는 키트보다 제작이 간단하고 진단 시간이 더 빠른 칩을 제작할 수 있을 것이라고 예상하고 있다.

또한, 우리는 다른 DNA나 항원(antigen)도 고정할 수 있어 더 많은 응용을 할 수 있을 것이라고 생각하고 있다.

### 5. 결론

지금까지 미세유체역학에서 나타나는 현상을 이용하여 바코드화 폴리머 스트립을 제작하는 방법에 대해서 설명하였다. 제안된 방법은 MFD와 통합함으로써 다중 생분석을 할 수 있는 폴리머 스트립을 제작 가능하게 하였고, 앞으로 어떤 생물학적인 물질을 고정화하느냐에 따라 많은 응용이 있을 것이다.

### 6. Reference

1. S. Xu, Z. Nie, M. Seo, P. Lewis, E. Kumacheva, H.A. Stone, P. Garstecki, D.B. Welbel, I. Gitlin, G.M. Whitesides, *Generation of Monodisperse Particles by Using Microfluidics: Control over Size, and Composition*,(2004), *Angew. Chem.*, **43**, 2.
2. W.J. Jeong, J.Y. Kim, S.J. Kim, S.H. Lee, G. Mensing, D.J. Beebe, *Hydrodynamic microfabrication via 'on the fly' photopolymerization of microscale fibers and tubes*,(2004), *Lab Chip*, **4**, 576.

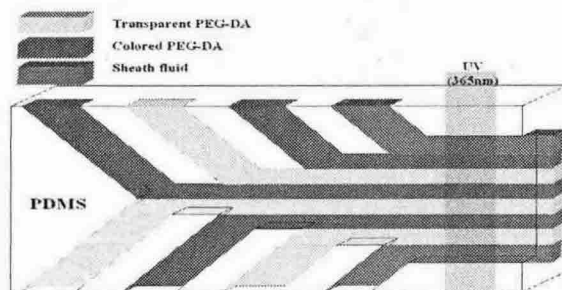


그림 1. 마이크로스트립(microstrip) 제작 장치의 요약도.

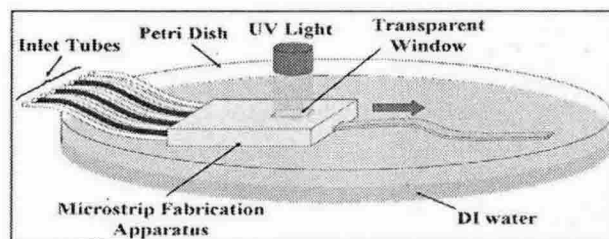


그림 2. 마이크로스트립의 제작을 위한 실험장비 설치 요약도.

