

전립선암 지표의 광간섭 방식의 검출

최정민, 안희철, 김병우*
성균관대학교 화학공학과
(bwkim@skku.ac.kr*)

Biomonitoring a Prostate Specific Antigen using Interferometric Biosensor Chips

Jung-Min Choi, Hee-Chul An, Byung-Woo Kim*
Department of Chemical Engineering, Sungkyunkwan University
(bwkim@skku.ac.kr*)

서 론

Prostate Specific Antigen (PSA)은 인간의 전립선암 발생 시 나타나는 특정 단백질로서 α -1-antichmotrypsin (ACT)라는 PSA의 항체를 이용하여 결합시킴으로서 결합에 따른 변화를 면밀히 측정해 전립선암 조기 진단 할 수 있다. 이 특정 단백질인 PSA는 미량 농도인 혈액 내 4.0 ng/ml 이상 존재할 때 전립선암을 의심할 수 있다. 이처럼 PSA의 혈액 내 전립선암 감염여부를 결정짓는 4.0 ng/ml의 농도까지 검출할 수 있는 칩 개발이 필요하고, 이러한 칩을 구현하기 위해서는 기관표면이 면밀하고 안정화되어 PSA의 항체인 α -1-antichmotrypsin(ACT)가 고르게 결합하는 칩을 만드는 기술이 먼저 선행되어야 한다. 본 실험에서는 dendrimer 와 ProlinkerTM-A 의 biolinker 등을 이용해 얻은 다공성 Si biochip상 PSA의 결합 정도를 알아 보았다.

재료 및 실험 방법

1. Si 표면 다공화 및 기능화

재료

H₂SO₄, 실리콘 wafer, EtOH, HF, H₂O₂, 3-aminopropyltrimethoxysilan, ProlinkerTM-A

제작 및 실험

실험에 사용된 p-type(boron-doped, 100) Si wafer는 식각에 앞서 ohmic contact 형성을 위해 wafer 뒷면에 silver paste을 피복시켰다. 만들어진 wafer는 teflon 재질의 식각기 내부에서 HF/ethanol 혼합용액으로 일정 시간동안 양극 식각하였다. 식각이 진행되는 동안 pore의 깊이를 고르게 하기 위해 UV light (254 nm)를 조사하였다. Silicon 표

면을 hydrogen peroxide와 sulfonic acid의 혼합 용액으로 상온에서 세척 후 400°C에서 thermal oxidation 시킨다. 그리고 난 후 3-aminopropyltrimethoxysilane로 기능화를 시킨 후 prolinker™-A를 다공성 실리콘 표면상 SAM(self-assembled monolayer)방식에 의해 고정화 하였다. 또한 면밀한 기판을 제작하기 위하여 Prolinker™-A 대신에 dendrimer를 사용하여 기판을 다공성 Si표면을 기능화시킨 후, 두 칩을 비교 실험하였다.

2. PSA antibody 의 Prolinker™-A 및 Dendrimer로 기능화된 Si 표면상 사전결합

재료

PBS buffer, PBST buffer, prostate specific antigen (PSA), α-1-antichymotrypsin(ACT)

실험 방법

PBS buffer 에 일정량의 PSA의 항체인 α-1-antichymotrypsin (ACT)를 녹인후 기판에 결합 시킨다. 그리고 난후 일정 시간이 지난 후에 그 기판을 PBST 용액으로 세척한다. PSA를 기판위해 떨어트린 후 일정 시간 배양을 하고 나서 CCD detector (S2000, Ocean Optics, Inc., Dunedin, Florida, U.S.A.)를 사용하여 광간섭 효과를 관찰하였다. 광간섭 효과에 의해 나타나는 fringe pattern의 변화를 측정하면 알고자 하는 용액 내 PSA의 유무를 알 수 있다.

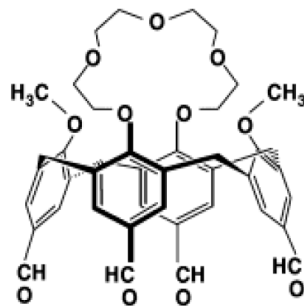


Fig.1. Prolinker™-A

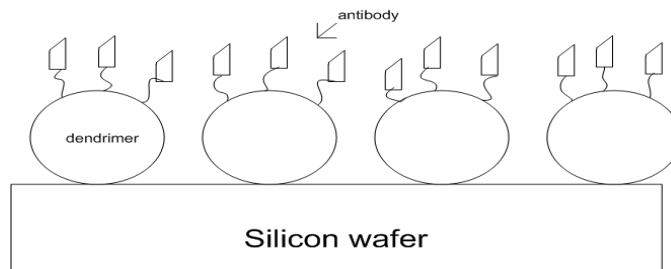


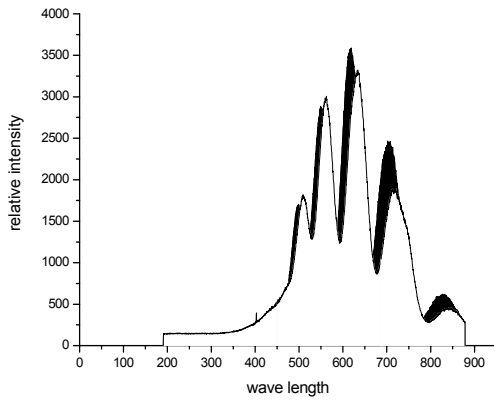
Fig.2. Dendrimer로 처리된 기판의 모식도

결과 및 고찰

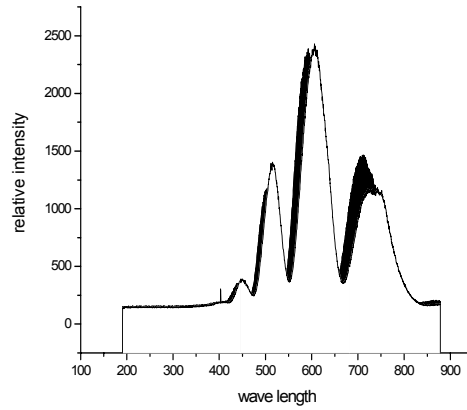
▶ 고농도에서 의 dendrimer 칩과 SAM 칩과의 비교

Ab = 20 $\mu\text{g/ml}$, Ag = 1000 ng/ml

ProlinkerTM-A



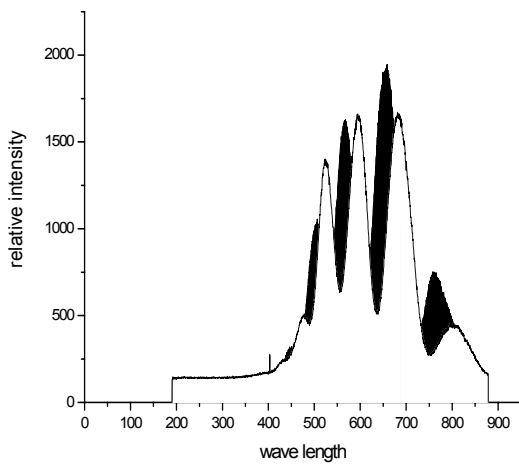
Dendrimer



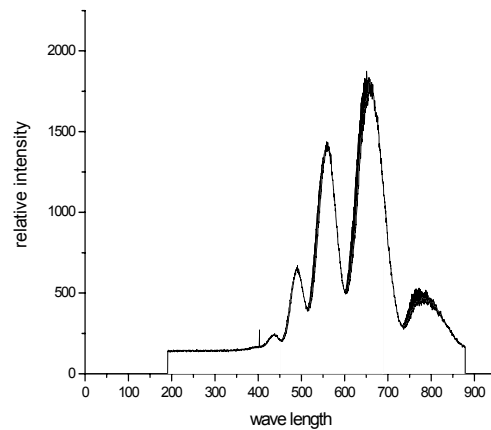
▶ 저농도에서 의 dendrimer 칩과 SAM 칩과의 비교

Ab = 20 $\mu\text{g/ml}$, Ag = 20ng/ml

ProlinkerTM-A



Dendrimer



상기 실험 결과 binding-site가 훨씬 많은 dendrimer 경우 anti-PSA의 결합 부위가 대폭 증대됨으로써 결과적으로 고농도의 PSA 경우 오히려 광간섭 효과에 있어 포화성을 초래할 수 있는 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Wink, Th., Zuilen, S.J., Bult, A. and Bennekom, W.P., Self-assembled Monolayers for Biosensors, *Analyst*, 122, 43-50(1997).
2. Lin, V.S., Motesharei, K., Dancil, K.S., Sailor, M.J. and Ghadiri, M.R., A Porous Silicon-Based Optical Interferometric Biosensor, *Science*, 278, 840-843(1997).
3. W. Horninger A. Reissigl, H. Rogatsch, K. Fink, H. Strasser, and G. Bartsch, Improvement of Specific in PSA-BASED Screening by Using PSA-transition Zone DENSITY and Percent Free PSA in Addition to Total PSA Level, 37,133-177(1998)
4. Msasru Ohi, Kazuto Ito, Kazuhiro Suzuki, Takumi Yamamoto, Hidetoshi Yamamoto. Diagnostic Significance of PSA Density Adjusted by Transition Zone V in males with PSA Levels between 2 and 4 ng/ml, 45, 92-97(2004)
5. Hyun C. Yoon and Hak-sung Kim Multilayered Assembly of Dendrimers with Enzymes on Gold: Thickness-Controlled Biosensing Interface, *Analyst*, 72,922-926(2000)