

단백질 어레이칩 제작을 위한 고체 표면의 표면 개질 및 흡착특성

황상연¹, 임창환², 노을¹, 위아람¹, 이은규^{2,1,*}, 조형민²
¹한양대학교 화학공학과; ²한양대학교 바이오테크놀로지공학과
(eklee@hanyang.ac.kr*)

어레이칩 상에서 미량의 시료를 얼마나 민감하게 검출할 수 있는가는 표면에 고정된 리간드의 활성과 표면 밀도에 따라 다르다. 본 실험에서는 단백질 흡착 기관으로 가장 많이 사용되고 있는 멤브레인을 대상으로 표면 친수성에 따른 흡착 단백질의 활성과 최적 표면 밀도를 확인하고, 펩타이드를 고정화하기 위한 유리 표면의 개질 실험을 수행하였다. 친수성 멤브레인으로는 nitrocellulose (NC)를 사용하였으며, 소수성 멤브레인으로는 polyvinylidene difluoride (PVDF)를 사용하였다. 항원은 rabbit IgG, 항체는 anti-rabbit IgG antibody (goat 유래), 검출 항체로는 HRP-conjugated anti-goat IgG antibody를 사용하였다. ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)법을 이용하여 signal density를 확인하였다. NC가 PVDF보다 spot이 빠르게, 넓게 확산되며, 표면 밀도는 낮은 것으로 나타났다. 펩타이드 어레이칩에서는 트립신 결합 부위인 heptapeptide (Ac-LPPLRGK)을 합성하여 -SH로 개질된 아민 유리칩에 고정하였다. 트립신 결합 펩타이드는 iodoacetic anhydride를 이용하여 C말단을 -I로 개질하였다. 트립신 결합 펩타이드는 iodoacetic anhydride를 이용하여 C말단을 -I로 개질하였다. 결합된 트립신 결합 펩타이드의 최적 표면 밀도 (1.2 mg/cm², 7 mm²)는 트립신-FITC와 반응시킨 후 형광 스캐너로 검출하였다. 이 최적 밀도에서 spot 면적이 작아질수록 형광 밀도는 더 증가하였다.