

SPREETA for Detecting Human IgG and *P. aeruginosa*

Young-Jin Lee¹, Jeong-Soon Park¹, Ki-Young Lee²

¹Department of Material & Biochemical Engineering,

²Faculty of Applied Chemical Engineering, Chonnam National University

TEL: +82-62-530-0327, FAX: +82-62-530-1869

Abstract

Surface Plasmon Resonance (SPR) sensor system can be applicable for detecting of many biospecific interactions. In this study, the feasibility of the experimental SPREETATM evaluation kit to analyze human IgG, *Pseudomonas aeruginosa*, was investigated. The sensor prepared for detecting of anti-human IgG has response on 0.1 μ l of the anti-human IgG solution. SPREETA was able to detect *P. aeruginosa* solution in the range above 10⁸ CFU/mL with the chitosan/ alginate multilayers.

Introduction

SPR형 바이오센서는 생물분자 또는 미생물을 실시간 또는 준 실시간으로 검출할 수 있는 센서로서 특이성과 정확도 측면에서 일찍이 큰 관심을 받아왔다. 본 연구에서는 소형화되고 실용적인 SPR 바이오센서 장비인 SPREETATM (Texas Instrument, USA) 센서를 사용하여, 면역센서와 미생물 검출 센서로서의 가능성을 평가하였다. 항체 고정화 기법을 이용하여 센서 칩에 anti human IgG를 미리 고정화하여 SPR 바이오센서 시스템을 구성하고, 이에 따른 항원의 검출 능력을 분석하였다. 그리고 병원성 미생물인 *P. aeruginosa* 와 alginate의 흡착 특이성을 이용하여, 미생물 검출 광 센서로서의 가능성을 알아보았다.

Materials and methods

Materials

SPR 바이오센서는 Texas Instrument(USA)에서 제작된 SPR 센서(제품명:SPREETATM)를 활용하여 센싱부에 항체를 고정화하여 사용하였다.

Procedure of Human IgG reagent immobilization

센서의 gold surface 부분에 항체를 고정화하기 위하여 칩 표면을 NaOH/triton cleaning solution으로 세정과정과 nitrogen gas로 건조과정을 여러 차례 반복하였다.

다음으로, 2%(w/v) Human IgG solution 을 gold surface 부분에 떨어뜨린 후, 70°C oven 에서 20분 동안 건조하였다. 마지막으로, 증류수로 세정 후 nitrogen gas로 건조하였다.

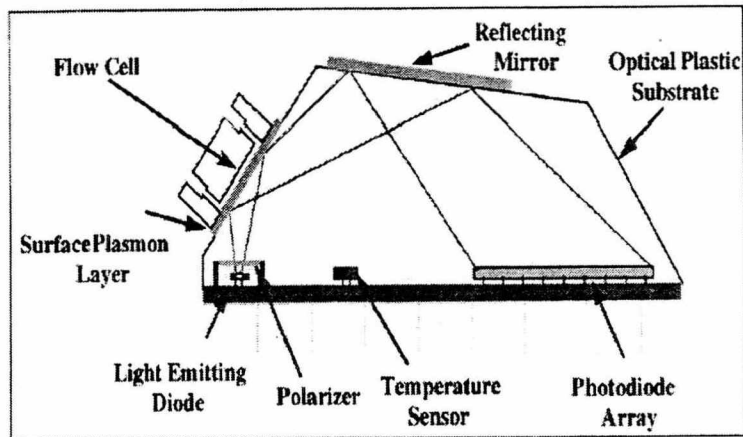


Fig. 1. Schematic of SPREETA SPR sensor²

Specificity of SPR biosensor immunoassay

SPREETATM의 gold surface 부분에 ligand를 고정화 하지 않은 bare 상태와 고정화 과정을 통해 고정화된 상태에 분석 용액을 주입 했을 때, 시간에 따른 굴절율의 변화를 측정하였다. Flow system을 갖춘 후 공기 주입 상태에서 센서를 초기화하고, 일정 시간 baseline buffer를 흘려 보내준 후 분석 용액을 주입하였다.

Preparation of self assembled chitosan/alginate multilayer

센서의 gold surface 부분에 chitosan/alginate multilayer를 형성하기 위하여 칩 표면을 NaOH/triton cleaning solution으로 세정과정과 Nitrogen gas로 건조과정을 여러 차례 반복하였다. 다음으로, 0.2%(w/v) 2-iminothiolane hydrochloride solution에 gold surface 부분을 담가둔 후, chitosan과의 결합을 위해, 2.5%(v/v) glutaraldehyde solution에 1시간 담가두었다. 다음으로, 0.4%(w/v) chitosan solution에 1시간 담가둔 후, 충분

히 건조 후, 1%(w/v) alginate solution을 gold surface 부분에 떨어뜨린 후 상온에서 건조하였다.

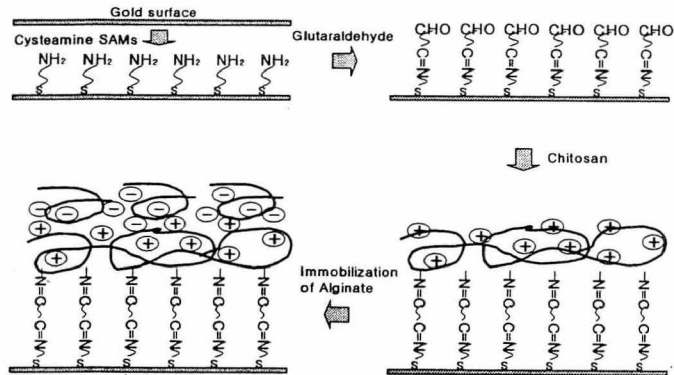


Fig. 2. Schematic diagram of self assembled chitosan/alginate multilayer formation.

Results and discussion

Specificity of SPR biosensor immunoassay

센서칩 표면인 gold surface 부분에 ligand 물질인 Human IgG를 고정화하고 굴절율의 변화를 측정된 결과, anti-human IgG의 농도가 증가함에 따라 굴절율의 변화도 점차 증가하였다(Fig. 3).

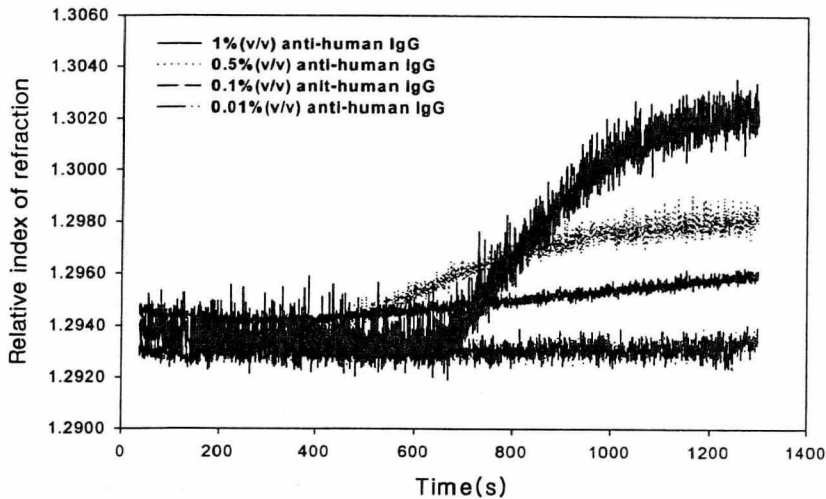


Fig. 3. Biosensor response to increasing concentrations of ANTI-HUMAN IgG solution. Binding of ANTI-HUMAN IgG solution to HUMAN IgG on the sensor surface.

Specificity of SPR biosensor for the determination of *P. aeruginosa*

Chitosan/alginate multilayer와 *P. aeruginosa*와의 흡착에 의한 시간에 따른 굴절율 변화를 Fig. 4에 나타내었다. *P. aeruginosa*의 반응특성은 gold surface의 multilayer와의 흡착에 의해 굴절율이 크게 증가하였다. 그러나, 동일 조건하에서 다른 병원성 미생물인 *P. fluorescens* 경우는 약간의 굴절율 상승이 있었지만, *SM* (*Serratia Marcenscens*)은 chitosan/alginate multilayer와 흡착 특성을 보이지 않았다.

Acknowledgement

이 논문은 2004년도 광주광역시 바이오광 기반기술 개발사업단의 지원에 의하여 연구(BPF-2004-1-2) 되었으므로 이에 감사드립니다.

References

1. Y.J.Cho, N.S. Kim, Recognition of Microorganisms Using SPR Biosensor Immobilized with Thiolated Antibody(2003), Journal of Korean Society of Agricultural Machinery, VOL(28) 167-172.
2. Isa Mohammed, Wayne M. Mullett, Edward P.C. Lai, Jupiter M. Yeung, Is biosensor a viable method for food allergen detection?(2001), Analytica Chimica Acta 444 97-102.

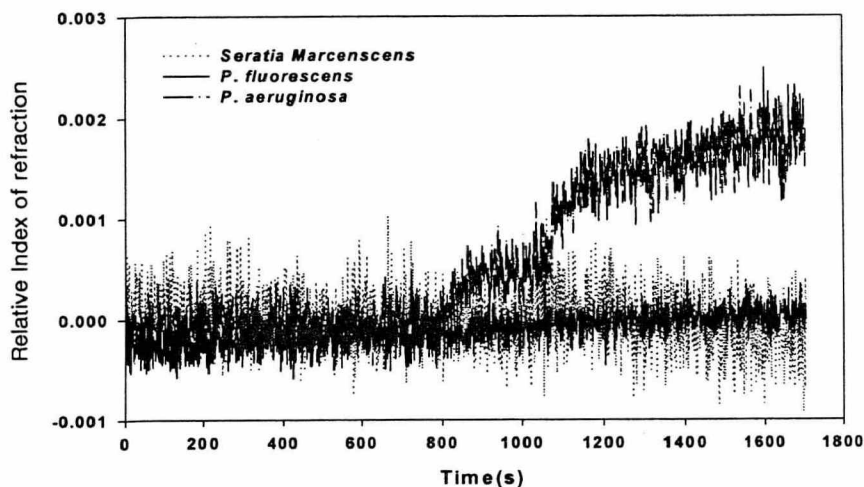


Fig. 4. Kinetics of *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, and *S. Marcenscens* solution (10^8 CFU/mL) binding to chitosan/alginate multilayers immobilized sensor chip.