체류 인자를 이용한, 알부민의 정량 분석용 종이 칩

정성근¹, 이상호^{2*}, 이창수^{1*}

Diagnostic Paper Chip for Reliable Quantitative Detection of Albumin using Retention Factor

Seong-Geun Jeong¹, Sang-Ho Lee^{2*}, and Chang-Soo Lee^{1*}

접수: 2013년 6월 28일 / 게재승인: 2013년 8월 25일
© 2013 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Herein we present a diagnostic paper chip that can quantitatively detect albumin without external electronic reader and dispensing apparatus. We fabricated a diagnostic paper chip device by printing wax barrier on the paper and wicking it with citrate buffer and tetrabromophenol blue to detect albumin in sample solution. The paper chip is so simple that we dropped a sample solution at sample pad and measure the ratio of two travel distances of the sample solvent and albumin under the name of retention factor. Our result confirmed that the retention factor was constant in the samples with same concentration of albumin and useful determinant for the measurement of albumin concentration. The paper chip is affordable and equipment-free, and close to ideal point-of-care test in accordance with the assured criteria, outlined by the World Health Organization. We assume that this diagnostic paper chip will expand the concept of colorimetric determination and provide a inexpensive diagnostic method to aging society and developing country.

Keywords: Retention factor, Albumin, Quantitative detection, Paper chip, Printing

¹충남대학교 공과대학 화학공학과

¹Department of Chemical Engineering, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Tel: +82-42-821-5896

e-mail: rhadum@cnu.ac.kr

²한국생산기술연구원 마이크로노공정연구그룹

²Micro/Nano Scale Manufacturing Research Group, Korea Institute of Industrial Technology, Ansan 426-910, Korea

Tel: +82-82-31-8040-6432

e-mail: sholee7@kitech.re.kr

1. 서론

고령화 사회가 심각해지면서 생산 가능 인구 감소로 인하여 노인 부양 비율이 크게 증가하고 있다 [1]. 이는 생산 가능 연령층 (30~64세 이하)에 비해서 상대적으로 질병 발생률이 높은 고 연령층 (65세 이상)들의 진단 비용에 대한 관심으로 이어지고 있다. 고령층에서 발생할 수 있는 심각한 질병 중 하나는 단백뇨이다. 단백뇨란 소변 속에 0.3 mg/mL 농도 이상의 소혈청알부민 (Bovine serum albumin, BSA)이 나타나는 증상을 말한다. 이 증상은 신장 질환을 진단할 수 있는 척도가 되는데, 그 이유는 단백뇨가 혈중의 알부민을 여과하지 않는 정상 사구체와 달리 신장 질환의 합병 증상으로 알부민이 사구체를 통하여 소변으로 배출되는 질병이기 때문이다. 또한, 단백뇨는 전신부종을 가져오는 면역질환을 일으키므로, 면역질환 특성상 조기 진단은 필수적이다. 이에 노인들이 저렴한 비용으로 조기에 단백뇨의 유무 또는 진행 상황을 손쉽게 진단을 할 수 있는 진단기구 (이하 바이오센서)에 대한 필요성이 부각되고 있다 [2,3]. 이는 세계 보건 기구도 저렴한 (Affordable)과 편리성 (User-friendly)을 이상적인 진단 기구의 요소로서 삼고 있는 것을 보면 잘 알 수 있다 [4].

기존의 보편적인 단백뇨 진단기구 형태 중 하나는 요검사 시험지(Urine dipstick)이다. 시험지에는 소혈청알부민에 민감하게 반응하는 Tetrabromophenol Blue (TBPB)가 흡착되어 있다 [5]. 진단은 요검사 시험지에 소변 (샘플)을 적신 후, TBPB의 색깔 변화를 분석하여 질병을 진단한다. pH 3.0의 요검사 시험지에 흡착된 TBPB는 짧은 컨쥬게이션 결합 길이를 갖는 구조를 가진다 [6-8]. 이중 결합에 관여하는 파이 전자는 한 곳에 국한되지 않고, TBPB의 짧은 컨쥬게이션 결합 사슬을 따라서 움직인다. 컨쥬게이션 결합 사슬을 따라

움직이는 파이전자의 이동거리가 짧을수록, 자유전자모델 [9]에 따르면 높은 에너지를 갖는 에너지를 가진, 짧은 파장의 빛을 흡수하게 되고 우리 눈에는 긴 파장의 빛인 노란색을 띄게 된다. 그러나 분석하고자 하는 소변 내부에 BSA가 존재할 경우, TBPB는 BSA와 결합 하게 된다. 여기서 BSA의 결사슬들이 TBPB의 컨주게이션 결합 사슬에 전자들을 기여하게 되고, 컨주게이션 결합 사슬의 전자 전위가 낮아지게 된다. 따라서 낮은 에너지인 보다 긴 파장을 흡수하게 되므로 우리 눈에는 긴 파장의 노란색이 아닌 짧은 파장인 초록색으로 보이게 된다. 이와 같이 구조적 변화로 인하여 변색점이 변하게 되어서 pH 4.3 이상에서 노란색에서 초록색으로 변해야 하는 pH 지시약 (Indicator)인 TBPB가 pH 3.0에서 색이 변하게 된다. 이처럼 pH의 변화가 없음에도 불구하고 단백질 (BSA)에 의해 pH가 변한 것처럼 지시약의 색이 변하는 것을 이용하여 단백질의 농도를 측정하는 것을 단백오차법 (Protein Error Method for Measurement of Protein) 라고 한다 [10].

이 단백오차법과 같이 검출하고자 하는 성분과 반응하여 색이 변하는 시약의 성질을 이용하는 방법을 비색 분석법이라고 한다. 시약의 색이 변하는 정도를 표준물질과 비교하여 그 성분을 정성 또는 반정량분석법으로 병을 진단한다. 여기서 말하는 반정량분석법은 검출 성분의 농도를 반 정량적으로 측정하는 방법을 뜻한다. 따라서 이 분석법은 검출 성분의 농도를 특정 수치로 나타내는 것이 아니라 어느 정도의 폭을 가진 기준 수치로 농도를 표현한다 [11].

이와 같은 방법은 진단기구 사용자가 병의 진행 상황을 정확히 알 수 없고, 정확한 진단을 위한 정량분석을 위해서는 시약의 변색 정도를 정량적으로 측정할 수 있는 이미지 분석 장비가 필요하다. 이것은 진단기구 이외에 외부의 장비가 필요하므로 진단 비용을 증가시키는 요소로 작용한다. 이와 같이 이미지 분석 장비를 필요로 하는 형태의 진단기구는 단백질과 같이 수시로 진단해야 하는 질병인 경우, 큰 진단 비용을 초래한다 [12]. 따라서 경제적 능력이 거의 없는 노인이 사용하기에는 부적합한 형태의 진단기구이다.

이러한 문제를 해결하기 위한 노력의 일환으로, 최근 이미지 분석 장비를 사용하지 않고 정량분석을 할 수 있는 농도-길이 기반 진단기구가 최근에 개발되었다 [13]. 이 진단기구는 농도를 시약의 색 변화 정도로 표현 하는 것이 아니라, 시약의 색이 변한 부분의 길이를 측정하여 이를 농도로 환산함으로써 이미지 분석 장비 없이 정량 분석을 할 수 있다. 그러나 이와 같은 방법은 낮은 재현성을 가지고 있다. 그 이유는 측정하고자 하는 샘플 (소변)이 종이에 흡수될 때, 종이의 모든 면적에서 흡수성이 동일하지 않기 때문에 같은 부피의 샘플을 떨어뜨려도 종이에 흡수되어 퍼지는 면적이 달라질 수 있기 때문이다.

추가적으로, 종이에 흡수되는 샘플의 부피가 조금만 달라져도 색이 변한 부분의 길이가 달라질 수 있기 때문에 마이크로 파이펫을 사용하여 일정한 부피의 샘플을 진단기구에 흡수시킨다. 그러나 아무리 일정한 부피의 샘플을 진단기구

에 흡수시켜도 종이의 불균일한 흡수성 때문에 재현성이 떨어지는 문제는 해결할 수 없다. 이와 같이 재현성이 떨어지면서, 마이크로 파이펫을 사용하는 형태의 진단기구는 노인들이 사용할 진단기구로서 매우 부적합하다.

그러므로 본 논문에서는 고가의 이미지 분석 장비와 마이크로 파이펫을 사용하지 않으며, 재현성이 높고, 저렴한 진단비용으로 간편하게 질병의 진행상황을 정량적으로 분석을 할 수 있는 종이 기반 진단기구 (이하 종이 칩)를 제시하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

체류 인자를 이용한, 정량분석이 가능한 종이 칩을 제시하기 위하여, 검출 대상으로 BSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)를 사용하였고, 이를 검출하기 위하여 BSA와 민감하게 반응하여 색이 변하는 Tetrabromophenol Blue (TBPB)를 사용하였다. TBPB는 Tetrabromophenol Blue sodium salt (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)를 52.5% 에탄올에 용해시켜서 0.866 mg/mL TBPB의 용액으로 만들어 냉장고 (4°C)에 보관하여 사용하였다. BSA는 Albumin from bovine serum (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)을 증류수 (용제)에 용해하여, 0.3~8.0 mg/mL로 각 농도 별로 BSA용액을 만들어서 냉장고 (4°C)에 보관하여 사용하였다. BSA에 의한 TBPB의 색 변화는 일정한 pH를 유지한 상태에서 발생하는 단백오차법 원리를 이용하고 있으므로, TBPB의 pH 3.0으로 일정하게 유지해줄 Citrate buffer solution (CBS)을 사용하였다. CBS는 0.1 M Citric acid monohydrate과 0.1 M Sodium citrate tribasic dehydrate를 82:18 비율로 섞어서 pH 3.0으로 만든 후 냉장고 (4°C)에서 보관하였다. 종이 칩의 패턴은 Adobe Illustrator CS5를 사용하여 설계하였다. 설계된 패턴은 왁스 프린터 (Wax printer, Xerox colorcube 8870)를 사용하여 종이 크로마토그래피 (Whatman No. 1 chromatography paper)에 인쇄하였다.

2.2. 제작 과정

종이 크로마토그래피 위에 Assay site (분석구간) (1.5 mm × 80 mm)와 3.5 mm 직경을 가진 흡수 패드 (Sample pad)로 구성된 왁스 패턴 (왁스 장애물)을 왁스 프린터로 인쇄하였다 (Fig. 1(a)). 왁스 패턴이 인쇄된 종이 크로마토그래피를 150°C의 핫 플레이트 (Hot plate) 위에서 2분 동안 가열하였다. 종이 크로마토그래피 상의 왁스는 가열로 인하여 점도가 높아지고, 점도가 높아진 왁스는 주위로 퍼진다. 녹은 왁스가 종이에 퍼지는 과정은 Washburn's equation [14]에 의하여 설명될 수 있다. (1)

$$L = (\gamma Dt/4\eta)^{1/2} \quad (1)$$

여기서 L 은 점도(η)과 표면장력(γ)를 가진 액체가 시간 t 동안

안 평균 직경 D 의 기공을 가진 물질을 통과할 수 있는 이동 거리를 의미한다. 그러므로 가열시간과 온도만 조절하면 원하는 폭을 가진 유로를 제작할 수 있다 [15]. 우리는 왁스 패턴이 인쇄된 종이를 2분 동안 가열하여, 종이 한쪽 면에만 인쇄된 왁스 패턴을 종이의 내부를 거쳐서 종이 반대 쪽 면까지 퍼지도록 하였다. 이 과정을 통하여 종이에 친유성 왁스 장애물을 형성시켜서, 친수성 유체가 흐를 수 있는 유로를 만들었다. 우리는 유로가 형성된 종이를 종이 유체 칩 또는 종이 칩이라고 한다. 종이 칩의 유로 안 쪽에 37 μ L, pH 3.0 CBS를 흡수시켰다. 그 이후 공기 중 상온에서 1시간 동안 건조하였다. 종이를 완전히 건조시킨 후 37 μ L, 0.866 mg/mL TBPB용액을 유로 안에 흡수시켰다. 그 후 1시간 동안 공기 중에서 건조하였다. 완전히 건조되어 완성된 종이 칩 (Fig. 1(c))은 외부와의 접촉을 막기 위하여 밀봉하여 보관하였다.

2.3. 분석 방법

우리는 각기 다른 농도의 BSA 용액 (샘플)을 진단기구의 흡수 패드에 떨어뜨렸다 (Fig. 1(b)). BSA 용액은 종이에 흡수되고 모세관 현상에 의하여 흡수 패드에서 분석 구간 (Assay site)으로 점차 이동하다가 5분이 지나고 정지했다. 분석 구간에서 샘플의 용제 (Solvent) 또는 BSA는 종이에 흡수된 TBPB와의 친화력의 차이에 기인하여 분리된다. 이로 인하여 분석 구간에는 BSA에 의하여 초록색으로 변한 부분과 샘플의 용제가 이동한 부분으로 나뉘어진다. 여기서 분석 구간의 시작 지점에서 초록색으로 변한 부분의 길이는 BSA의 이동거리 (Travel distance of BSA)를 의미하며, 용제가 이동한 총 거리는 용제의 이동거리 (Travel distance of solvent)에 해

당한다 (Fig. 1(b)). 각각의 이동 거리는 분석 구간 우측에 위치한 눈금을 사용하여 육안으로 측정하였다. BSA의 이동거리 또는 TBPB의 색 변화 길이를 측정할 시, 노란색의 TBPB와 초록색의 TBPB의 경계선이 직선 형태가 아니므로, 가장 많이 이동한 지점 (BSA 이동거리 최대값)을 BSA의 이동거리로 정하였다. 또한 용제의 이동거리 또한 BSA의 이동거리와 마찬가지로, 가장 많이 이동한 지점 (용제의 이동거리 최대값)을 용제의 이동거리로 정하였다. 우리는 측정된 BSA의 이동거리와 용제의 이동거리를 나눈 값을 체류인자 (Retention factor, R_f)로 정의했고, 이를 또한 BSA의 농도라고 정의하였다. (2)

$$R_f = \frac{\text{Travel distance of BSA}}{\text{Travel distance of solvent}} = \text{Concentration of BSA} \quad (2)$$

3. 결과 및 고찰

3.1. 불균일한 종이의 흡수성과 BSA 이동거리의 비일정성

우리는 마이크로 파이펫을 사용하여, BSA 용액들 (샘플)을 흡수 패드에 주입시킨 후 분석 구간에 나타나는 현상을 관찰하였다. 그 결과 분석 구간에서 BSA에 의하여 노란색에서 초록색으로 변한 TBPB 구간 길이와 BSA 용액의 용제가 이동한 거리가 존재하는 것을 확인하였다. Fig. 2(a)에서 보는 바와 같이 용제는 BSA보다 상대적으로 더 많이 이동하였다. 그 이유는 모세관 현상에 의하여 종이에서 자유롭게 이동하는 용제와 달리, BSA는 종이 칩에 흡수되어 있는 TBPB의 술

Fig. 1. Illustration of a diagnostic paper chip using retention factor that can quantify the level of BSA (Albumin from bovine serum) in a sample by simply measuring travel distance of solvent and BSA. (a) The method of fabricating a diagnostic paper. The sample pad and assay site on the paper is patterned by wax printer. We wick Citrate buffer solution (CBS) and Tetrabromophenol Blue (TBPB) in the sample pad and assay site, and air dry. (b) The assay that use the method of spotting a sample at sample pad and measuring the ratio of two travel distance of solvent and BSA in a sample. The ratio means the concentration of BSA in a sample. (c) The actual image of a diagnostic paper chip.

Fig. 2. The reproducibility test of the retention factor in different volume and same concentration of the samples. (a) Negative control test: the image of paper chip after spotting a sample without BSA (17 μ L, 0 mg/mL) (b) Positive control test: the image of paper chip after spotting samples with same volume and same BSA level (17 μ L, 1 mg/mL). (c) The reproducibility test of the retention factor of two travel distance of BSA and solvent.

폰화기와 정전기적 결합을 하면서 정체 현상이 일어나기 때문이다 [16]. 이러한 정체현상은 용제에 의하여 이동하는 BSA 용액의 BSA가 분석 구간의 시작 지점에서 존재하는 TBPB와 차례로 결합하면서 발생한다. 추가적으로 정체된 BSA는 노란색의 TBPB의 컨쥬게이션 결합 길이에 변화를 주어서 흡수 파장영역을 다르게 함으로써 노란색에서 초록색으로 변화시킨다 [17]. 이러한 원리로 BSA에 의하여 TBPB의 색이 변화되며, BSA의 양이 많을수록 분석 구간의 시작 지점에서부터 차례로 더 많은 면적의 TBPB를 노란색에서 초록색으로 변화시킨다. 초록색으로 변한 길이를 측정하면 BSA의 총 이동거리를 알 수 있다. BSA의 이동거리 및 TBPB 색이 변한 길이는 BSA의 양에 따라 비례한다. 여기서 BSA의 이동거리를, 샘플 (BSA의 용액)의 BSA 농도로 정의하려면 [7], 같은 부피 및 같은 BSA 농도를 가진 용액을 흡수시켰을 때 나타나는 BSA의 이동거리는 항상 일정해야한다. 이를 확인하기 위하여, 우리는 같은 부피 및 같은 BSA 농도를 가진 BSA 용액 (샘플)들을 종이 칩에 흡수시킨 후, 분석 구간에 나타나는 BSA의 이동거리를 측정하였다. 그 결과, 동일한 부피를 가진 BSA 용액들을 흡수시켰음에도 불구하고 용제의 이동거리가 일정하지 않다는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2(a)). 이는 종이의 불균일한 흡수성 때문에 용제가 종이에 퍼지는 영역 즉, 용제가 이동하는 거리가 달라지기 때문이다. 실제로 BSA가 없는 용제만 존재하는 샘플을 주입시킨 음성 반응 실험 (Negative control test)에서 보는 바와 같이, 일정한 부피의 샘플을 흡수시켰음에도 불구하고, 샘플의 용제 이동거리가 일정하지 않는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2(a)). 그러므로 불규칙한 용제의 이동거리 변화에 의하여, 용제에 의해 이동하는 BSA의 이동거리 또한 불규칙하게 달라진다. 따라서 같은 부피, 같은 BSA 농도를 가진 BSA 용액들의 BSA의 이동거리가 항상 일정하지 않으므로, BSA의 이동거리를 BSA 용액의 농도로 정의하기에는 다소 재현성 문

제가 있다.

3.2. 불균일한 종이의 흡수성과 체류 인자 일정성

우리는 종이의 불균일한 흡수성과 무관하게 샘플 (BSA의 용액)의 BSA 농도를 표현할 수 있는 인자를 찾기 위하여, 각기 다른 BSA 농도 (1~4 mg/mL)를 가진 BSA 용액들 (17 μ L)의 용제 이동거리와 BSA 이동거리의 비율을 측정하였다. 그 결과 불균일한 종이의 흡수성과 관계없이 같은 농도에서는 체류 인자는 항상 일정하다는 것을 확인하였다 (Fig. 2(c)). 그 이유는 종이의 불균일성 때문에 BSA의 용액의 용제의 이동거리는 달라지지만, 그에 비례하여 BSA의 이동거리 또한 달라지기 때문이다. 용제의 이동거리가 길어지면, 용제에 의해 이동하는 BSA의 이동거리 또한 비례하여 길어졌다. 반대로 용제의 이동거리가 짧아지면, 용제에 의해 이동하는 BSA의 이동거리 또한 비례하여 짧아졌다. 따라서 용제의 이동거리와 BSA의 이동거리의 비율은 한 농도에서 항상 일정했다. 그러므로 우리는 이 비율 (체류인자)을 BSA의 농도로 정의하였다.

이 단백질 진단법은 기존의 단백질 진단기구에서 채택하고 있는 방법인 TBPB의 색 변화를 BSA의 농도로 정의한 것 달리, TBPB가 색이 변화된 구간 길이 (BSA의 이동거리)와 용제의 이동거리의 비율을 BSA의 농도로 표현한 것이다. 이는 기존의 단백질 진단법의 문제점인 TBPB의 색 변화를 분석하기 위한 이미지 분석 장비 없이, 단순히 BSA의 이동거리와 용제의 이동거리의 비율만 구하면 BSA의 농도를 알 수 있는 진단법이라고 할 수 있다. 더 나아가 종이의 불균일한 흡수성에 의한 낮은 재현성을 가지고 있는 농도-길이 진단기구의 분석법이 가진 문제를 해결할 수 있는 진단법이다.

3.3. BSA 농도 변화에 따른 체류 인자 변화

우리는 BSA의 농도의 변화와 체류인자의 관계를 알기 위하

Fig. 3. The retention factor as a function of BSA concentration. In the result of assay for samples with the different BSA level, the retention factor is constant in the samples with same concentration of BSA.

여, 각각 다른 BSA 농도 (0~8.0 mg/mL)를 가진 BSA의 용액들을 17 μ L의 양만큼 흡수 패드에 흡수시켰다. 그 후 채널 옆에 있는 표시된 눈금을 사용하여 용제 및 BSA 이동거리를 측정하였다. 그 결과 BSA의 이동거리와 용제의 이동거리를 나눈 값인 체류 인자는 각각의 농도에서 각각 특정한 값들을 갖는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3). 육안으로 체류인자를 측정할 수 있는 BSA 농도 범위는 0.1~7.0 mg/mL이다. 이 범위는 실제 당뇨병 환자의 증상 정도를 판별하는 BSA 농도 구간 내에 부합한다. 당뇨병은 4단계 증상으로 구분하는데 증상의 정도에 따라 +1, +2, +3, +4로 나뉘어진다. 이는 BSA의 농도에 따라 TBPB의 색 변화 정도를 기준으로한 반정량 분석법에 기초한 것으로서, BSA의 농도 범위에 따라서 +1 (0.3~1.0 mg/mL), +2 (1.0~3.0 mg/mL), +3 (3.0~20 mg/mL), +4 (20 mg/mL 이상)으로 나뉜다 [10]. 따라서 0.3 mg/mL 이상이면 당뇨병이 있다고 진단한다.

본 종이 칩은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 당뇨병 환자 판별 기준인 0.3 mg/mL보다 낮은 농도 (측정 한계 0.1 mg/mL)도 측정할 수 있으므로, 피진단자가 자신이 당뇨병 환자인지 아닌지 판별할 수 있다. 또한 +1부터 +3에 해당하는 각각의 농도 범위 (0.3~3.0 mg/mL)도 측정이 가능하므로, +1에서 +3에 해당하는 당뇨병 환자들이 자신의 당뇨병 농도 변화를 정량적으로 측정하는 것이 가능하다.

3.4. 샘플의 부피 변화와 재현성

기존의 농도-길이 종이 기반 진단기구는 마이크로 파이펫으로 정밀하게 일정한 샘플의 부피를 주입시켜야 한다. 그러나 가정에서는 대부분 고가의 마이크로 파이펫을 가지고 있지 않다. 따라서 이를 해결하기 위하여 Fig. 1에서 보여준 종이 칩의 디자인을 응용하여 샘플에 담그는 요검사 시험지 형태로 만들었다 (Fig. 4(a)). 이 종이 칩을 2.0 mg/mL의 BSA 농도

Fig. 4. (a) Diagnostic paper chip with soaking sample pad (b) The retention factor as a function of absorbed volume of a sample (2.0 mg/mL).

를 갖는 샘플 (BSA 용액)에 흡수 패드 부분만 담갔다. 이때 담그는 시간을 달리하여 종이에 흡수되는 양과 체류 인자의 관계를 알아보았다. Fig. 4(a)의 왼쪽 그림부터 차례로, 흡수 패드를 0.5분, 1분, 3분 동안 샘플에 담갔다. 그 결과 흡수되는 샘플의 부피와 상관없이 모두 동일한 체류 인자를 얻을 수 있었다 (Fig. 4(b)). 또한 본 실험에서 얻은 체류인자 값 0.6은 앞서 구한 17 μ L, 2.0 mg/mL BSA 용액의 체류인자 값인 0.6과 일치하는 것을 알 수 있다 (Fig. 2(c)). 그러므로 본 종이 칩은 샘플 (BSA 용액)의 흡수 부피와 상관없이 체류인자는 한 농도에서 일정하므로 샘플의 BSA 농도를 체류인자로 정의할 수 있었다. 이는 기존에 당뇨병 진단에 쓰이는 요검사 시험지에 샘플을 흡수시키는 과정에서 외부 주입 장비 (마이크로 파이펫)가 필요 없는 장점을 유지하면서, 이미지 분석 장비가 필요한 TBPB 색변화 기반 진단법이 아닌 체류인자를 이용하므로, 어떠한 외부 장비 없이 오직 종이 칩 하나만으로 당뇨병을 정량적으로 진단하는 것이 가능하다는 것을 의미한다.

4. 결론

BSA의 농도가 일정하면 샘플 (BSA 용액)의 부피의 양과 상관없이 BSA에 의한 TBPB의 색이 변화된 길이와 용제의 이동 거리의 비율 (체류 인자)은 항상 일정하다. 따라서 샘플의 용제가 이동한 거리와 BSA가 이동한 거리의 비율을 농도로 환산하면 외부 이미지 분석 장비 없이 정량 분석을 할 수 있다. 또한 체류 인자는 종이 칩에 흡수되는 샘플 (BSA 용액)의 부피와 상관없이 있으므로 기존의 농도-길이 기반 진단기구와 달리 마이크로 파이펫과 같은 외부 장비가 필요 없다. 더 나아가 이는 본 논문의 종이 칩은 저렴한 종이와 간편한 공정과정으로 만든 값싼 진단 기구이므로, 당뇨병 증상의 진행 상황을 알기 위하여 수시로 진단해야 하는 당뇨병 환자의 경우 적은 비용으로도 반복적으로 자신의 증상을 실시간각 정

량적으로 정확히 진단할 수 있다는 것을 의미한다.

그러므로 본 논문에서 규명한 체류 인자를 이용한 종이 칩은 샘플을 흡수 패드에 흡수시키는 과정부터 분석까지 모든 과정에서 외부 장비를 필요로 하지 않고, 저렴한 비용으로 간편하게 질병의 진행상황을 정량적으로 진단하는 것이 가능하다. 이는 고령화 사회에서 경제적 약자이면서, 동시에 단백뇨를 앓고 있는 많은 노인들에게 저렴한 비용으로 단백뇨의 정량적 진단을 제공할 것으로 기대한다. 더 나아가 경제적 어려움으로 인하여 많은 사람들의 진단 비용을 감당하기 어려운 제 3세계 국가들에게 저가의 진단법을 제시할 것이라고 기대한다.

감사

이 논문은 2013년도 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 (No. NRF-2011-0017322)과 첨단의료기 기사업본부-신기술융합형성장동력사업의 지원 (2013K000339)을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Nay, R. (2013) Public Health for an Aging Society. *Aust. Nz. J. Publ. Heal.* 37: 98-98.
2. Gervais, L., N. de Rooij, and E. Delamarche (2011) Microfluidic Chips for Point-of-Care Immunodiagnosics. *Adv. Mat.* 23: H151-H176.
3. Chin, C. D., V. Linder, and S. K. Sia (2007) Lab-on-a-chip devices for global health: Past studies and future opportunities. *Lab on a Chip*. 7: 41-57.
4. Peeling, R. W., K. K. Holmes, D. Mabey, and A. Ronald (2006) Rapid tests for sexually transmitted infections (STIs): the way forward. *Sex Transm Infect.* 82: V1-V6.
5. Hinberg, I. H., L. Katz, and L. Waddell (1978) Sensitivity of in vitro diagnostic dipstick tests to urinary protein. *Clin. Biochem.* 11: 62-64.
6. Davis, M. M., P. J. Schuhmann, and M. E. Lovelace (1948) Acid-base reactions in organic solvents; behavior of some halogenated derivatives of phenolsulfonephthalein with different classes of organic bases in benzene. *J. Res. Natl. Bur. Stand.* 41: 27-40.
7. Samiey, B., K. Alizadeh, M. F. Mousavi, and N. Alizadeh (2005) Study of kinetics of bromophenol blue fading in alcohol-water binary mixtures by SESMORTAC model. *B. Kor. Chem. Soc.* 26: 384-392.
8. Shapovalov, S. A., V. L. Koval, T. A. Chernaya, A. Y. Pereverzev, N. A. Derevyanko, A. A. Ishchenko, and N. O. Mchedlov-Petrosyan (2005) Association of indopolymethine cyanine cations with anions of sulfonephthalein and xanthene dyes in water. *J. Brazil Chem. Soc* 16: 232-240.
9. Congdon, R. W., G. W. Muth, and A. G. Splittgerber (1993) The binding interaction of coomassie blue with proteins. *Anal. Biochem.* 213: 407-413.
10. Suzuki, Y. (2001) Guidance for selecting the measurement conditions in the dyebinding method for determining serum protein: Theoretical analysis based on the chemical equilibrium of protein error. *Anal. Sci.* 17: 1263-1268.
11. Gyure, W. L. (1977) Comparison of several methods for semiquantitative determination of urinary protein. *Clin. Chem.* 23: 876-879.
12. Arredondo, A. (2013) Diabetes: a global challenge with high economic burden for public health systems and society. *Am. J. Public Health.* 103: e1-2.
13. Cate, D. M., W. Dungchai, J. C. Cunningham, J. Volckens, and C. S. Henry (2013) Simple, distance-based measurement for paper analytical devices. *Lab. Chip.* 13: 2397-2404.
14. Washburn, E. W. (1921) Note on a method of determining the distribution of pore sizes in a porous material. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 7: 115-116.
15. Carrilho, E., A. W. Martinez, and G. M. Whitesides (2009) Understanding wax printing: a simple micropatterning process for paper-based microfluidics. *Anal. Chem.* 81: 7091-7095.
16. Compton, S. J. and C. G. Jones (1985) Mechanism of dye response and interference in the Bradford protein assay. *Anal. Biochem.* 151: 369-374.
17. Wei, Y. J., K. A. Li, and S. Y. Tong (1996) The interaction of Bromophenol Blue with proteins in acidic solution. *Talanta.* 43: 1-10.