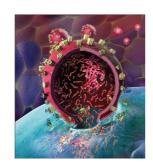
Exosome Separation Platform

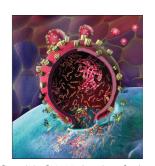
Ultracentrifuge-free-Size based Exosome Separation

The Biocon exosome separation platform is a method and instrument to separate exosomes based on size difference without any kind of force which can damage the exosome. Undamaged exosomes are important to study intercellular cell signaling process which are based on functionality of exosomes. We suggest two kinds of separation model, one is based on Brownian motion and the other is using electrophoretic mobility difference ofparticle. The Biocon exosome separation platform can play a key role in investigate biochemical cell signaling process.



(Copyright © 2012, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.)

바이오콘의 엑소좀 분리 플랫폼은 엑소좀을 손상 없이 분리해내기 위해 개발 되었다. 엑소좀은 세포막에서 분비되는 작은 소포체로 세포간 신호전달과정에 중요한 역할을 한다. 손상되지 않은 엑소좀을 분리하여 각각의 기능을 밝히는 것은 세포간의 신호전달 과정을 연구, 임상 진단 및 치료에 중요하다. 이를 위 하여 브라운 운동과 측면 전기영동 기술에 기반한 두 가지 다른 엑소좀 분리 기술을 개발하였다. 이는 사용하기 쉽고, 수득률이 높으며, 재현성이 높아 연 구용 수요 뿐 아니라 개인맞춤형 진단과 치료를 위한 큰 신규시장 개척을 가 능케 할 것이다.



(Copyright @ 2012, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.)

Exosome Separation by Brownian Motion —

Chip • Chip is composed of PDMS and PC (polycarbonate) membrane filter

- This chip can separate exosomes by size
- This technique is based on Brownian motion, it does not give damage to exosomes after separation

Separation • Between the two PDMS chip, nanoporous membrane filter is placed which has specific pore size (50nm, 100nm, 200nm, 400nm)

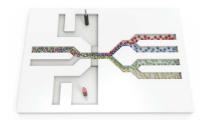
• Exosomes which are smaller than membrane pore size can pass through the filter



Exosome Separation by Lateral Electrophoresisy

Chip • Material : B270 glass

- AZ 1500 PR for etching mask
- Specific pattern can be made by film mask and own lithography device
- Wet etching using 10:1 BOE
- Chip size is 1X1 inch and height is 1mm
- Channel width and height are 60, 12 um

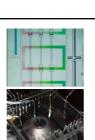


- Separation Electrophoretic mobility difference based separation which is determined by particle size and surface charge
 - Electric field is applied to sample flow(main channel) by side channel which has a role to supply ions to main channel through ion selective polymer
 - Both channels are separated by ion selective polymer which exchange only ions

ARS enzyme kinetics chip

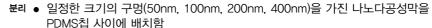
Chip • PDMS chip

- It is designed to measure sample quantity, make concentration gradient and mix 36 kinds of parallel reaction can be performed simultaneously
- Reagents induced to channel can be quantized by the distance of horizontal valve
- Each processors are designed to mix different concentration ratio
- Fast fluid mixing using peristaltic mixing valves



브라운 운동을 이용한 엑소좀 분리 -

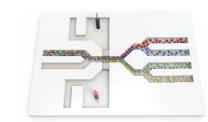
- 칩 PDMS와 PC (폴리카보네이트)로 구성된 장치 용액 내 단백질을 제거하여 엑소좀만을 얻을 수 있으며, 크기가 다른 나노다공성 막을 직렬로 연결하여 엑소좀의 크기별 분리가 가능함.
- 원심분리와 같은 기계적 힘을 가하지 않아 수득된 엑소좀에 손상이 없음



• 나노다공성막의 구멍 직경보다 작은 단백질 또는 엑소좀 만이 브라운 운동에 의해 반대편으로 넘어갈 수 있음

측면전기영동에 의한 엑소좀 분리

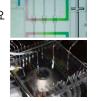
- 칩 재질 : B270 glass
 - Photoresist 와 자체 제작한 lithography 장비를 이용하여 특정 패턴의 glass chip 제작
- 10:1 BOE 를 이용한 wet etching
- 칩: 가로,세로 1x1 inch, 높이 1mm
- 채널 : 넓이 60 um. 높이 12 um
- Syringe pump를 이용한 시료주입
- Power supply를 이용한 전압 인가



- ^{분리} 각 입자의 크기, 표면전하에 의해 결정되는 전기영동 이동도의 차이를 이용.
 - 시료를 흘리는 주 채널과 전압을 인가하는 부 채널.
 - 부 채널이 10V 미만의 전압을 인가, 이온선택적 폴리머를 통해 주 채널과 이온교환
 - 주 채널이 폴리머와 맞닿은 부분에 전기장 형성
 - 입자의 전기영동 이동도에 따라 채널에 수직으로 전기영동. 분리

ARS 효소 활성도 측정 칩 -

- 칩 PDMS 칩
- 세포에서 일어나는 다양한 생물반응을 이해하기 위해서 ARS의 효소반응의 이해 및 정량화가 필요
- 동시에 36개의 mixing chamber 안에서 각각의 다른 농도기울기를 주어. 동시에 반응 결과를 실시간으로 확인할 수 있도록 제작되었다.
- 실험하고자하는 시약을 channel에 넣어 주기만 하면 가로 방향의 벨브 사이의 거리에 의해서 정량을 할수 있다.
- 이 칩에서 36개의 모두 다른 농도의 비율로 실험할 수 있다.
- 각각의 mixing chamber 모두에 연동하는 mixing valve가 있어 시약을 매우 빠른 속도로 혼합할 수 있다.



49