

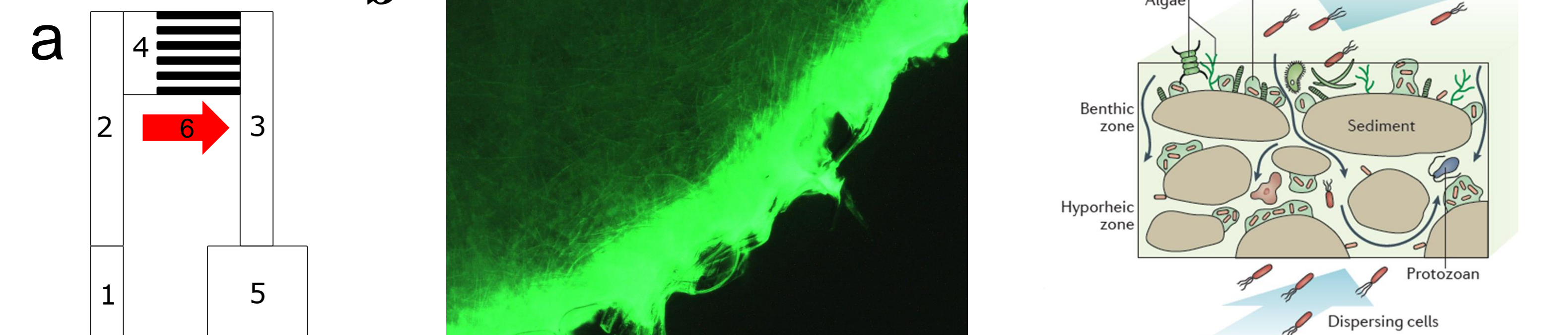


# Corchea: Sistema microfluídico de cultivo bacteriano en papel

Autor: Gonzalo Vidal-Peña    Profesor Supervisor: Tim Rudge  
Laboratorio de Biología Sintética, Instituto de Ingeniería Biológica y Médica.  
Pontificia Universidad Católica de Chile.

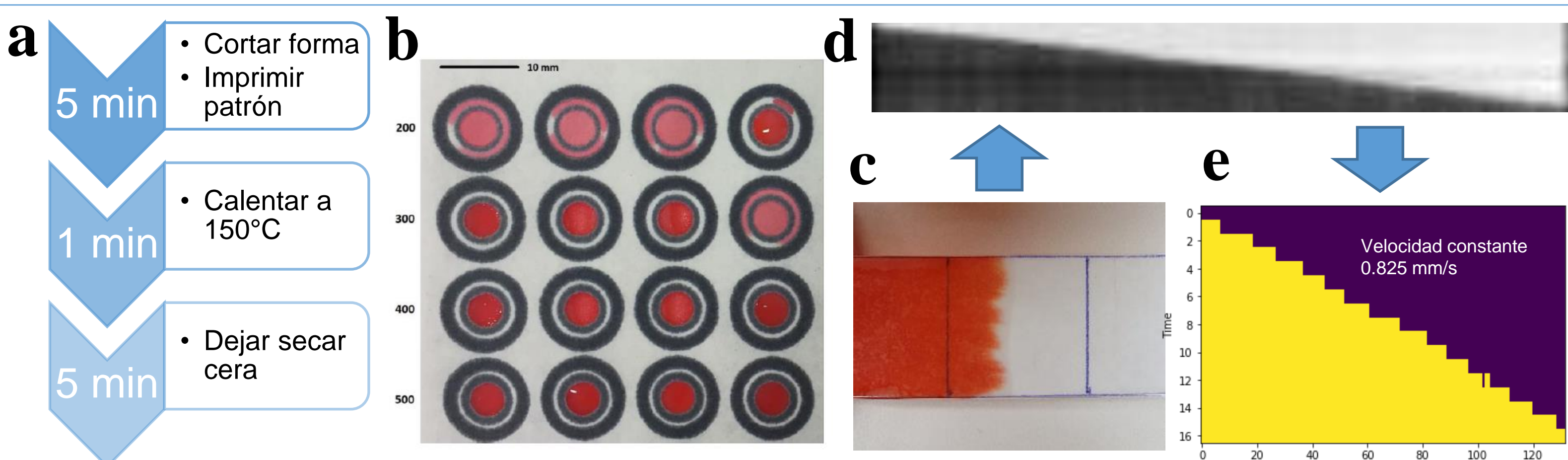
## RESUMEN

Corchea es un dispositivo a base de papel, los cuales han tenido un gran auge en los últimos años debido a su gran utilidad y bajo costo. La particularidad de este sistema es que genera un flujo laminar de líquido a través de papel, el cual posee patrones hidrofóbicos que crean canales que permiten controlar la topología y dirección de este. El ambiente generado con Corchea es similar a lechos de ríos o al tracto gastrointestinal, que son básicamente una matriz porosa a través de la cual fluye un medio líquido permitiendo a las bacterias desplazarse y adherirse para la formación de biofilms.

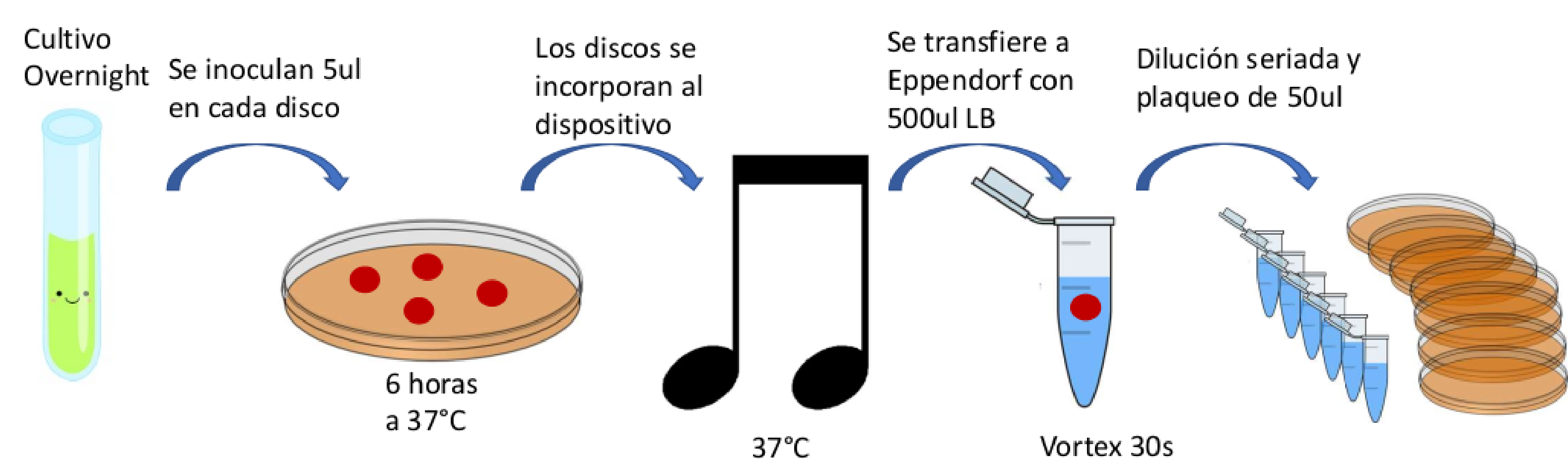


**Figura 1. Modelo de ambiente.** (a) Diagrama de Corchea, 1-Fuente de recursos. 2 y 3-Conectores. 4-Área de observación con patrones de cera en negro. 5-Área de evaporación 6-Dirección de flujo. (b) Microscopía de fluorescencia de un disco de papel con bacterias que expresan constitutivamente YFP. (c) Modelo de ambiente que recrea Corchea.

## MÉTODOS



**Figura 2. Construcción de Corchea y medición de flujo .** (a) Flujo de trabajo para confeccionar Corchea. (b) Prueba de retención de líquido, el patrón de 400 µm de grosor logra formar una barrera hidrofóbica. (c) Imagen del frente de migración de colorante rojo en papel. (d) Kymografía formada con una secuencia temporal de c. (e) Imagen resultado del análisis y medición de velocidad de flujo usando un código Python, que usa kymografías como input.



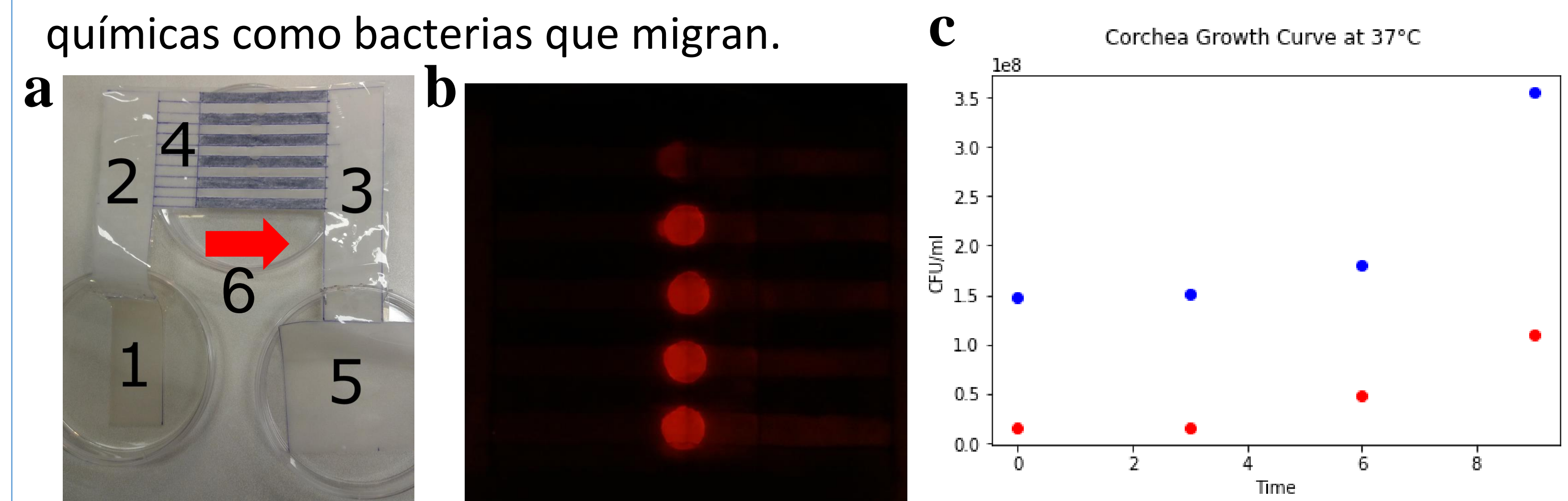
**Figura 3. Cuantificación de bacterias dentro de discos de papel.** Flujo de trabajo del protocolo desarrollado para medir la cantidad de bacterias dentro de discos de papel dispuestos en Corchea, la medición se puede hacer a través de OD o de UFC.

## AGRADECIMIENTOS

Gracias a Isaac Nuñez, Tamara Matute, Fernán Federici y a todo el SynBio Lab por su apoyo y buena disposición. Fondecyt Iniciación 11161046. Las imágenes de fluorescencia de Corchea fueron tomadas con FluoPi.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Corchea permite el cultivo de bacterias en discos de papel dispuestos sobre canales formados por barreras hidrofóbicas de cera, dentro de los cuales hay un flujo laminar constante de medio LB líquido. Debido a que los canales de cera permiten controlar la dirección del flujo, es posible controlar el flujo de información dentro del sistema, ya sea señales químicas como bacterias que migran.



**Figura 4. Crecimiento de bacterias en discos de papel en Corchea.** (a) Imagen de Corchea con identificación de las partes del diagrama en la figura 1a (b) Imagen de Corchea con discos de papel sembrados con bacterias que expresan BeRFP de forma constitutiva, dispuestos en canales en paralelo. (c) Curva de crecimiento bacteriano a 37°C en discos de papel sacados a distintos tiempos de Corchea.

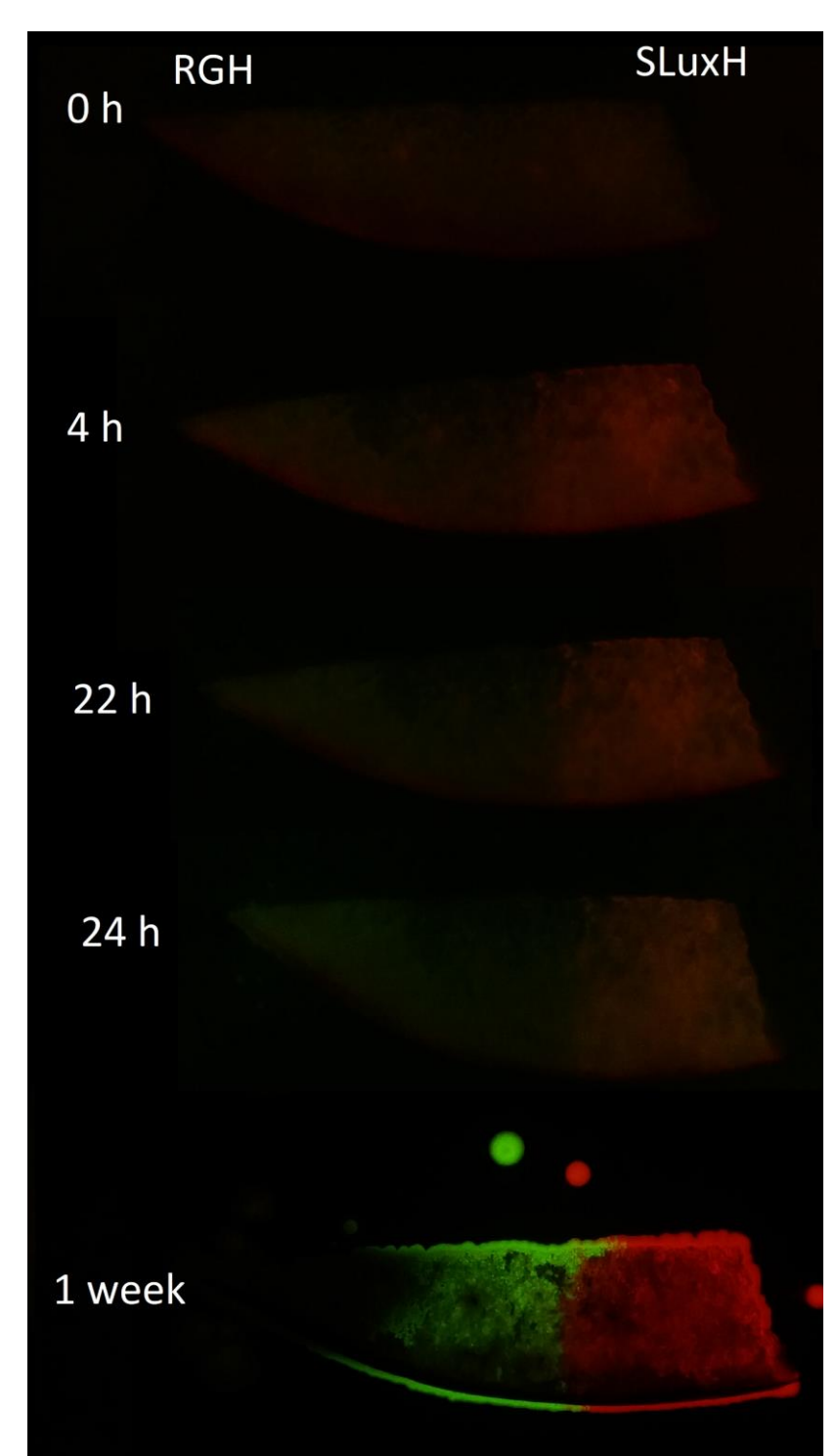


Disfruta del Gif !  
Escanea el Código QR

**Figura 5. Sólo los discos a favor del flujo reciben la señal química.** Las bacterias en el disco SLuxH expresa C6 y BeRFP constitutivamente, mientras que las bacterias en los discos RGH responden a C6 expresando sfGFP, este sistema otorga direccionalidad al flujo de información como señales y bacterias.

## DISCUSION

La generación de flujo en una matriz porosa no se acota al papel sino que también se pueden usar trozos de frutas y verduras para estudiar el crecimiento bacteriano en estos. El control de la direccionalidad y topología del flujo de señales químicas a través de los canales que pueden ser usados como “cables” que permitirían escalar la complejidad de conexiones de comunicación entre biofilms. Corchea sigue en desarrollo de un hardware que le de soporte al sistema y un software que facilite la obtención de información biológica para su uso tanto en investigación como en educación.



**Figura 6. Crecimiento de bacterias en trozos de manzana.** Crecimiento y comunicación sintética entre bacterias sender (SLuxH) y receiver (RGH) en un trozo de manzana en el transcurso de una semana.

Contacto  
Trudge@uc.cl



## Bibliografía

- Battin, T. J., Besemer, K., Bengtsson, M. M., Romani, A. M., & Packmann, A. I. (2016). The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 14(4), 251–263. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.15>
- Carrilho, E., Martinez, A. W., Whitesides, G. M., Martinez, B. A. W., B. G. M. W., Martinez, A. W., & Whitesides, G. M. (2009). Understanding Wax Printing: A Simple Micropatterning Process for Paper-Based Microfluidics. *Analytical Chemistry*, 81(16), 7091–7095. <https://doi.org/10.1021/ac901071p>
- Nuñez, I., Matute, T., Herrera, R., Keymer, J., Marzullo, T., Rudge, T., & Federici, F. (2017). Low cost and open source multi-fluorescence imaging system for teaching and research in biology and bioengineering. *PLoS ONE*, 12(11), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187163>
- Srimongkon, T., Ishida, T., Igarashi, K., & Enomae, T. (2014). Development of a bacterial culture system using a paper platform to accommodate media and an ink-jet printing to dispense bacteria. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 10(1), 81–87. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2014.81.87>
- Zhong, Z. W., Wang, Z. P., & Huang, G. X. D. (2012). Investigation of wax and paper materials for the fabrication of paper-based microfluidic devices. *Microsystem Technologies*, 18(5), 649–659. <https://doi.org/10.1007/s00542-012-1469-1>