

반사된 국소화 표면 플라즈몬 공명 신호를 이용한 광섬유기반 바이오센서의 측정 신호처리 방법

정현호 · 이승기*

The Method of Measurement Signal Processing of Biosensor Based on Optical Fiber Using Reflected Localized Surface Plasmon Resonance

Hyeon-Ho Jeong and Seung-Ki Lee*

Abstract

LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance) sensor measures the refractive index change on the sensor surface. The detection of biological reaction with the unknown refractive index needs to be converted into the signal sensitivity for the refractive index change for comparison with other measurements. To find the signal sensitivity, the three steps of signal processing are proposed, which are signal modeling, signal calibration and signal normalization of LSPR sensor. The detected signal of biotin-streptavidin interaction has been converted into unit of [RU](Resonance Unit) using the proposed method. The converted signal directly can be compared with the other sensors including commercialized one.

Keywords : LSPR, Optical fiber, Biosensor, Signal processing

1. 서론

국소화 표면 플라즈몬 공명(Localized Surface Plasmon Resonance : LSPR)은 금속 나노입자와 빛이 반응하여 일어나는 광학적 특성으로 다양한 바이오센서에 응용된다[1, 2]. LSPR 현상에 영향을 미치는 요소는 금속 나노입자와 흡착 표면이며 금속 나노입자는 가장 중요한 요소로서 금속의 종류, 크기, 밀도, 모양 등에 따라 신호 민감도가 변화된다[3, 4]. 흡착표면은 광학계 구성과 직접적인 연관성을 가지며 최근의 많은 LSPR 연구에서는 광학계 구성이 간편하고 원격측정이 가능한 광섬유를 이용하여 센서가 제작되고 있다.[3-7] 광학계는 광원과 검출부로 구성되는데 센서 표면의 후면에서 빛을 입사할 경우와 전면에서 입사할 경우, 그리고 이에 대응한 신호 검출부의 위치가 반사된 빛을 측정하는 경우와 투과된 빛을 측정하는 경우에 따라 측정신호가 달라진다[4-8]. 따라서 측정된 결과와 해석은 광학계의 구성에 따라 달라지며 결과에 대한 직접적인 비교가 어렵다. 표면 플라즈몬 공명(Surface Plasmon Resonance : SPR) 또는 LSPR 현상을 이용하여 다수의 제품을 제작한 Biacore사는 자체 제작 단위인 RU(Resonance Unit)를 사용하여 관련 연구 분야에 많은 활용이 되고 있다[9].

일반적으로 LSPR 현상을 측정하는 방법은 굴절률 변화에 대한 최대 공명 파장의 변화를 측정하는 방법과 특정 파장에서의 신호 세기의 변화를 측정하는 방법이 있다[2-8]. 일정한 굴절률 변화에 대한 공명 파장이나 신호의 세기는 선형적으로 변화되고 이를 이용하여 DNA, 항원-항체, 단백질 등의 굴절률 정보가 없는 생체물질의 측정이 가능하다.

본 연구에서는 광섬유기반 LSPR 바이오센서를 제작하여 특정 파장에서의 신호 세기의 변화를 측정하는 방법으로 반사되어 돌아오는 LSPR 신호를 측정하였다. 측정된 LSPR 신호를 객관적 정보로 나타내기 위한 신호처리 방법에 대해 분석하고 바이오틴과 스트렙타비딘의 결합을 측정하여 관련 연구 분야에서 가장 많이 활용되는 RU단위로 변환하여 비교하였다.

2. LSPR 신호처리 방법

2.1. 광섬유기반 LSPR 센서의 제작 및 측정방법

LSPR 센서로 제작할 광섬유는 측정 시 반사되어 돌아오는 빛의 수용성을 높이기 위해 센서 표면적이 넓고 여러 경로의 빛을 수용할 수 있도록 Fig. 1(a)와 같이 코어(core) 직경이 105 μm , 클래딩(cladding) 직경이 125 μm 인 다중모드 광섬유를 사용하였다. 평평한 센서 표면을 제작하기 위해 광섬유 절단기를 이용하였고 빛

단국대학교 전자전기공학부(Department of Electronics and Electrical Engineering, Dankook University)

*Corresponding author : skilee@dku.edu

(Received : Jan. 12. 2011, Accepted : Mar. 9. 2011)

의 이동경로에 대해 수직인 방향으로 제작하였다.

평평하게 제작된 광섬유 표면 위에 금 나노입자 형성을 위한 3 단계의 과정을 진행하여 LSPR 센서로 제작하였다[2, 10]. 첫 번째 단계에서 유기물 제거와 표면 활성화를 위해 황산과 과수를 4:1(v/v)로 혼합한 용액에 20분 담가둔다. 두 번째 단계에서 금 나노입자를 표면에 고정하기 위한 SAM(self-assembled monolayer)을 형성하기 위해 5% APDMS((3-amino-propyl)-dimethyl-ethoxysilane)용액에 90분 담가둔다. 마지막 단계에서 금 콜로이드 용액에 60분 담가두면 SAM이 형성된 표면에 금 나노입자가 흡착되어 LSPR 센서가 완성된다.

LSPR 센서의 측정을 위한 광학계는 Fig. 1(b)와 같이 2×1 광섬유 커플러를 이용하여 구성하였다. 백색광원을 사용하여 센서표면까지 코어를 통해 빛이 입사되고 센서표면에서 금 나노입자와 반응을 일으킨 후 반사되어 돌아오는 빛은 스펙트로미터를 사용하여 신호를 측정하였다.

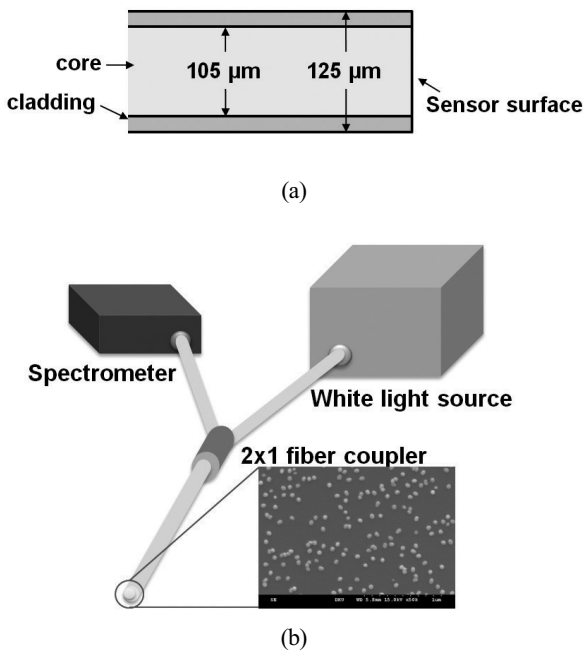


Fig. 1. Schematic view of (a) optical fiber and (b) optical setup.

2.2. 굴절률 변화에 대한 LSPR 신호처리 방법

LSPR 센서를 이용하여 생체물질을 측정하고 분석하기 위해서는 일정한 굴절률 변화에 대한 신호 세기의 변화율, 즉 신호 민감도(sensitivity)가 필요하다. 신호 민감도를 구하기 위해서 일정한 굴절률을 갖는 매질에 대한 신호의 세기를 측정하여 센서 신호의 모델링(modeling), 교정(calibration), 표준화(normalization)의 3 단계를 거치도록 신호 처리 방법을 구성하였다.

먼저 첫 번째 단계에서는 센서 신호의 이해를 위해 Fig. 2와 같

이 센서의 신호를 모델링한다. 본 연구에서 측정하는 LSPR 신호는 금 나노입자에 의해 발생된 LSPR 신호 중 반사되어 돌아오는 빛의 신호이다. 따라서 광섬유 표면 위에 SAM이 형성된 구조에서 반사되는 I_{rb} 신호와 SAM 위에 금 나노입자가 형성된 구조에서 반사되는 신호 I_{rs} 에 대해서만 고려한다.

I_{rb} : 센서 표면에 SAM이 형성된 구조에 빛이 입사되었을 때 반사되어 측정되는 신호.

I_{tb} : 센서 표면에 SAM이 형성된 구조에 빛이 입사되었을 때 투과되어 잃어버리는 신호.

I_{rs} : 센서 표면에 금 나노입자가 형성된 구조에 빛이 입사되었을 때 반사되어 측정되는 신호.

I_{ts} : 센서 표면에 금 나노입자가 형성된 구조에 빛이 입사되었을 때 투과되어 잃어버리는 신호.

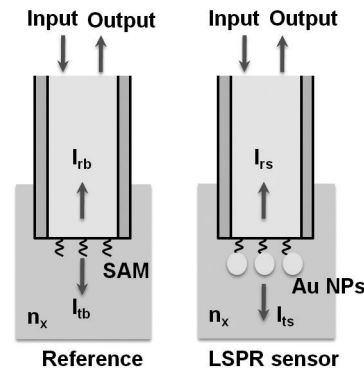


Fig. 2. Concept of (a) bare sensor and (b) LSPR sensor.

두 번째 단계에서는 특정 굴절률 n_x 에서 측정된 신호 $I_{rb}(n_x)$ 와 $I_{rs}(n_x)$ 를 사용하여 전기적·구조적 소신호를 제거하고 순수한 LSPR 신호를 얻기 위한 과정을 수행하며 이를 신호 교정이라 정의한다.

전기적 소신호는 빛이 입사되지 않을 때 스펙트로미터에서 측정되는 소신호를 의미하고 구조적 소신호는 빛이 입사되었을 때 SAM과 매질사이의 반응에 의해 측정되는 소신호를 의미한다. $I_{rb}(n_x)$ 가 전기적·구조적 소신호에 해당하며, $I_{rs}(n_x)$ 내에 포함된 전기적·구조적 소신호를 제거하기 위해 $I_{rb}(n_x)$ 를 측정하여 식 (1)과 같이 신호 $I_{rs}(n_x)$ 로부터 차감하면 순수한 LSPR 신호 $I_{ext,r}(n_x)$ 를 얻을 수 있다.

$$I_{ext,r}(n_x) = I_{rs}(n_x) - I_{rb}(n_x) \text{ [a. u.]} \quad (1)$$

$I_{ext,r}(n_x)$: 신호 교정을 통해 얻어진 굴절률 n_x 매질에서의 순수한 LSPR 신호.

세 번째 단계에서는 측정 장비에 의존하는 교정된 신호 $I_{ext,r}(n_x)$ 를 단위가 없는 표준화된 신호로 변화시켜주는 과정을 수행하며

이를 신호 표준화라 정의한다. 교정된 신호 $I_{ext,r}(n_x)$ 는 측정 장비에 따라 다르게 나타나기 때문에 굴절률 변화 시 측정된 신호를 이용하여 신호의 선형성은 확인할 수 있으나 기울기 값 자체는 측정 장비마다 다르므로 이를 신호 민감도로 정의하여 다른 측정 결과와 직접 비교하기는 어렵다. 따라서 표준화된 신호 민감도를 구하기 위해서는 굴절률에 따른 상대적인 신호 변화를 구해야 하며 이는 식 (2)와 같이 n_x 의 굴절률 매질에서 교정된 신호인 $I_{ext,r}(n_x)$ 를, 기준신호인 특정 굴절률 n_0 매질에서 교정된 신호 $I_{ext,r}(n_0)$ 로 나누어 구할 수 있다. 이때 구해진 표준화 신호를 $I_{RI}(n_x)$ 라 정의한다. 굴절률이 n_0 인 매질에서는 $I_{RI}(n_0)=1$ 이 되며 표준화된 신호는 굴절률 n_0 에서의 신호에 대한 상대적 변화율을 의미한다.

$$I_{RI}(n_x) = \frac{I_{ext,r}(n_x)}{I_{ext,r}(n_0)} \quad (2)$$

$I_{RI}(n_x)$: 신호 표준화를 통해 얻어진 굴절률 n_x 매질에서의 LSPR 신호.
 $I_{ext,r}(n_0)$: 신호 교정을 통해 얻어진 굴절률 n_0 매질에서의 LSPR 신호. (기준신호)

신호 민감도는 굴절률 변화에 따른 표준화 신호의 변화 ΔI_{RI} 를 굴절률 변화량 Δn_{RI} 로 나누어 주면 구할 수 있으며 식 (3)과 같이 표현할 수 있다. 여기에서 표준화 신호는 무차원(dimensionless)이므로 신호 민감도의 단위는 단위 굴절률당 표준화 신호 변화인 [RIU](per refractive index unit)로 나타낸다.

$$S_{RI} = \frac{\Delta I_{RI}}{\Delta n_{RI}} = \frac{\Delta I_{ext,r}}{\Delta n_{RI}} \times \frac{1}{I_{ext,r}(n_0)} \quad [RIU] \quad (3)$$

S_{RI} : 굴절률 변화에 대한 표준화 신호의 변화율.(신호 민감도)
 ΔI_{RI} : 표준화 신호의 세기 변화.
 Δn_{RI} : 굴절률 변화.

교정된 신호 $I_{ext,r}(n_x)$ 와 표준화 신호 $I_{RI}(n_x)$ 의 표시 방법의 차이는 Fig. 3을 통해 확인할 수 있다. x축은 각각 n_0, n_1, n_2 의 굴절률을 갖는 매질에 대해 측정된 신호의 결과를 도식적으로 나타낸 것으로 n_0 는 물의 굴절률인 1.33을 의미하며 기준 신호를 측정하기 위한 굴절률로 사용한다. y축의 값을 교정된 신호와 표준화 신호로 표시한 두 그래프를 비교하면 신호의 선형성은 변화가 없지만 기울기인 신호 민감도를 구하게 되면 y축의 값에 의해 단위는 각각 [a.u./RIU]와 [RIU]가 된다. 여기에서 교정된 신호의 y축 값 a.u.는 전압(V) 혹은 이득(dB) 등의 값으로 측정 장비마다 다르게 나타난다. 반면 신호 표준화를 통해 y축의 단위를 무차원(dimension-less)으로 만들게 되면 기준 굴절률($n_0=1.33$)에 대한 신호 $I_{RI}(n_0)=1$ 에 대한 상대적 변화율로 나타냄으로써 측정 장비와 상관없이 다른 센서와의 직접적인 신호 비교가 가능해진다.

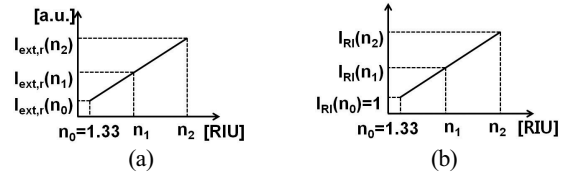


Fig. 3. (a) Calibrated signal and (b) normalized signal for various refractive index.

2.3. 생체물질 측정에 대한 LSPR 신호처리 방법

본 연구에서 제작된 센서를 사용하여 생체물질에 대해 측정된 신호를 RU 단위로 환산하기 위해서는 Biacore사에서 제공한 10^{-3} [RIU] \approx 1000 [RU]의 조건을 사용하며 식 (3)에서 구한 S_{RI} [RIU]의 역수를 취하면 RU 단위로 변환이 가능하다.[9]

측정된 생체물질 신호의 RU 단위 변환을 위한 신호처리는 신호 민감도를 구하기 위한 3 단계의 신호처리 방법인 센서 신호의 모델링, 교정, 표준화의 과정을 거치고 이 과정을 통해 구해진 신호 민감도와 Biacore사에서 제공한 10^{-3} [RIU] \approx 1000[RU]의 조건을 사용하여 단위를 변환한다. 먼저 신호 민감도를 구하기 위해, 신호 모델링은 Fig. 2와 동일하게 구성하고 신호 교정은 식 (4)와 같이 특정 농도 C_xM 물질에 대한 신호 $I_{rs}(C_x)$ 를 $I_{rb}(C_x)$ 로 차감하여 구할 수 있다. 이때 구해진 교정된 신호를 $I_{ext,r}(C_x)$ 라 정의한다. 신호 표준화는 식 (5)와 같이 특정 농도 C_xM 의 물질에서 교정된 신호 $I_{ext,r}(C_x)$ 에 기준신호인 특정 굴절률 n_0 매질에서 교정된 신호 $I_{ext,r}(n_0)$ 를 나누어 구할 수 있다. 이때 구해진 표준화된 신호를 $I_M(C_x)$ 라 정의하며 이 신호는 기준 굴절률($n_0=1.33$)에 대해 상대적으로 변화된 신호를 의미한다.

$$I_{ext,r}(C_x) = I_{rs}(C_x) - I_{rb}(C_x) \quad [a.u.] \quad (4)$$

$$I_M(C_x) = \frac{I_{ext,r}(C_x)}{I_{ext,r}(n_0)} \quad (5)$$

$I_{ext,r}(C_0)$: 신호 교정을 통해 얻어진 특정 농도 C_xM 의 생체물질 측정 LSPR 신호.
 $I_M(C_x)$: 신호 표준화를 통해 얻어진 특정 농도 C_xM 의 생체물질 측정 LSPR 신호.

교정된 신호 $I_{ext,r}(C_x)$ 와 표준화 신호 $I_M(C_x)$ 의 표시 방법의 차이는 Fig. 4를 통해 확인할 수 있다. Fig. 4 (a)는 생체물질 농도 변화에 대한 교정된 신호를 도식적으로 나타냈으며 x축은 기준 굴절률 ($n_0=1.33$)과 생체 물질의 C_1M, C_2M 의 농도이며 y축은 교정된 신호 $I_{ext,r}(C_x)$ 이다. 앞에서 살펴본 바와 같이 교정된 신호는 측정 장비에 의존한 결과로서 신호 민감도를 구할 수 없기 때문에 표준화

신호 $I_M(C_x)$ 로 변경해야 하며 이를 Fig. 4(b)에 나타내었다. 또한 x 축을 동일한 변수로 일치시키기 위해 C_1M 생체물질에 해당하는 굴절률 $n_M(C_1)$, C_2M 생체 물질에 해당하는 굴절률 $n_M(C_2)$ 로 변환하였다. 두 그래프를 사용하여 교정된 신호와 표준화 신호의 기울기인 신호 민감도를 구해보면 각각 [a.u./M]과 [RIU]가 되며 이를 통해 교정신호와 표준화 신호의 차이를 볼 수 있으며 다른 센서와의 직접적인 비교를 위해서는 신호 표준화 과정이 필요한 것을 확인할 수 있었다.

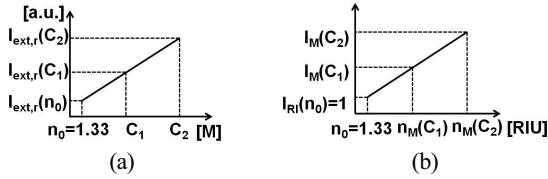


Fig. 4. (a) Calibrated signal and (b) normalized signal for biomolecule detection.

표준화 신호 $I_M(C_x)$ 에 대한 신호 민감도는 S_M 이라 정의하며 표준화 신호의 변화율 ΔI_M 을 굴절률 변화량 Δn_M 으로 나누어 구할 수 있다. 이 값은 기준 굴절률($n_0=1.33$)을 사용하여 구했기 때문에 굴절률 변화에 대한 신호 민감도 S_{RI} 와 같으며 식 (6)과 같이 표현할 수 있다. RU 단위의 변환을 위해 식 (6)을 식 (7)과 같이 변환하면 측정을 통해 구해진 ΔI_M 과 S_{RI} 를 사용하여 Δn_M 을 구할 수 있다. 이때 곱해지는 10^6 은 Biacore사에서 제공하는 정보인 10^{-3} [RIU] \approx 1000 [RU]를 사용하여 RIU 단위로 구해진 신호의 값을 상용화 제품과 비교하기 위하여 RU 단위로 변환하였다.

$$S_{RI} = S_M = \frac{\Delta I_M}{\Delta n_M} \quad [RIU] \quad (6)$$

$$\Delta n_M = \frac{\Delta I_M}{S_{RI}} \times 10^6 \quad [RU] \quad (7)$$

ΔI_M : 생체 물질 측정 시 표준화 신호의 변화.

Δn_M : 생체 물질 측정 시 굴절률 변화.

S_M : 생체 물질 측정 시 굴절률 변화에 대한 표준화 신호의 변화율.
(신호 민감도)

3. LSPR 신호 측정

굴절률 변화에 대한 신호 민감도 S_{RI} 를 구하기 위해서는 $I_{rb}(n_x)$ 와 $I_{rs}(n_x)$ 의 측정이 필요하다. Fig. 2에서 보인 두 구조에 대해 기준 굴절률($n_0=1.33$)인 물과 굴절용액(1.34, 1.35, 1.36, 1.37, 1.38)을 사용하여 1.33부터 1.38까지 0.01씩 굴절률을 변화시켜 신호 $I_{rb}(n_x)$ 와 $I_{rs}(n_x)$ 를 측정하였다.

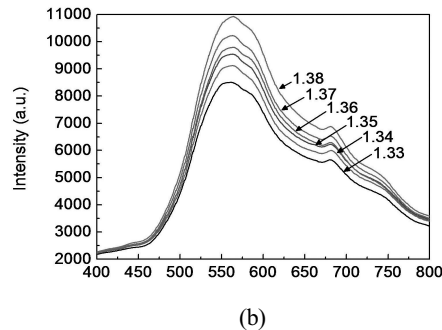
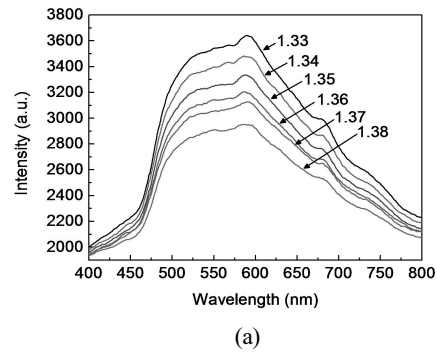
생체물질 측정에 대한 LSPR 신호처리 방법의 검증을 위해 굴절률 정보가 없는 바이오틴(biotin)과 스트렙타비딘(streptavidin)

의 결합을 측정하였다. 바이오틴-스트렙타비딘의 결합은 전처리 과정, 바이오틴의 흡착, 스트렙타비딘의 흡착의 3과정으로 진행된다. 첫 번째 단계는 바이오틴을 금 나노입자에 고정하기 위한 전처리 과정으로 1 mM MPA(mercap-topropionic acid)에 10분 담가둔 후 0.1 M EDAC(1-e-thy-3-(3-dimethylamino-propyl)carbodiimide)와 0.2 M PFP(pentafluorophenol)를 1:1 혼합한 용액에 20분 담가둔다. 이어서 5 % TEG(4,7,10-rioxa-1,13-tridecanediamine)와 0.5 % DIEA(N,N-diisopropylethylamine)를 1:1로 혼합한 용액에 120분 담가두어 작용기 말단에 아미노기를 형성하였다. 두 번째 단계에서 금 나노입자에 바이오틴을 고정하기 위해 100 μ g/ml 바이오틴에 담가 120분 동안 흡착하고, 마지막으로 50 μ g/ml 스트렙타비딘 용액에 30분 담가두어 바이오틴과 스트렙타비딘을 결합시켰다.

4. 결과 및 고찰

4.1. 굴절률 변화에 대하여 측정된 신호처리

굴절률 n_x 를 1.33에서부터 1.38까지 0.01씩 변화시켜 $I_{rb}(n_x)$ 와 $I_{rs}(n_x)$ 를 측정하였다. Fig. 5(a)는 굴절률 변화에 대한 신호 $I_{rb}(n_x)$ 로서 전기적·구조적 소신호를 의미하며 굴절률이 증가할 때마다 신호의 세기가 감소하는 것을 볼 수 있었다. Fig. 5(b)는 굴절률 변화에 대한 신호 $I_{rs}(n_x)$ 로서 $I_{ext,r}(n_x)$ 와 $I_{rb}(n_x)$ 가 결합되어 있고 Fig. 5(c)는 $I_{rs}(n_x)$ 를 $I_{rb}(n_x)$ 로 차감하여 구한 교정된 신호 $I_{ext,r}(n_x)$ 이며 굴절률이 증가함에 따라 신호가 증가하는 것을 확인하였다.



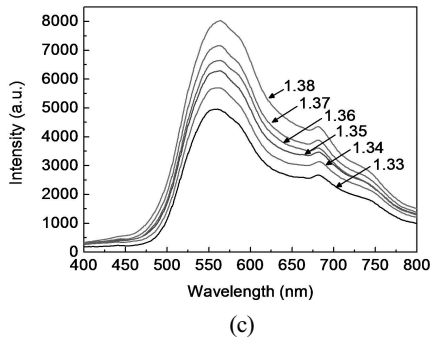


Fig. 5. (a), (b) and (c) for various refractive index solution.

신호 $I_{rb}(n_x)$ 와 $I_{rs}(n_x)$, $I_{ext,r}(n_x)$ 에 대한 차이는 Fig. 6에서 확인할 수 있었다. Fig. 6은 1.33에서 측정된 $I_{rb}(n_0)$, $I_{rs}(n_0)$, $I_{ext,r}(n_0)$ 를 같은 스케일에서 비교한 것으로 $I_{ext,r}(n_0)$ 와 $I_{rs}(n_0)$ 를 보면 전기적 소신호가 제거되면서 전체 파장에서 신호의 세기가 감소되었고 구조적 소신호가 제거되면서 가시영역에서 일부 신호 곡선이 변형되는 것을 확인하였다.

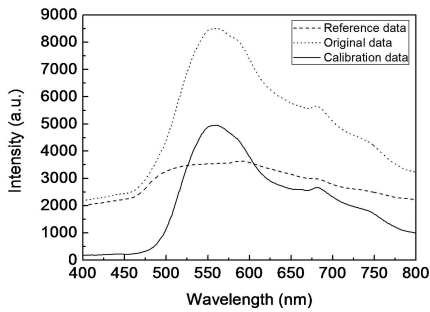


Fig. 6. Comparison of $I_{rb}(n_x)$, $I_{rs}(n_x)$ and $I_{ext,r}(n_x)$ at water ($n_0=1.33$).

특정 파장에 대하여 굴절률 변화에 대한 교정된 신호 $I_{ext,r}(n_x)$ 의 세기로 나타내면 Fig. 7(a)와 같이 선형적으로 증가하는 것을 볼 수 있었다. 본 연구에서 선택한 파장은 센서의 범용성과 실용성을 높이기 위해 레이저 또는 포토다이오드로 제작되어 많이 사용되는 633 nm 파장에서의 변화를 확인하였다. Fig. 7(b)는 신호 표준화를 통해 y축의 값을 $I_{Rl}(n_x)$ 로 나타내었다. 기준 굴절률 ($n_0=1.33$)일 때 신호 $I_{Rl}(n_0)=1$ 이 되고 굴절률이 0.01씩 증가될 때 마다 표준화 신호의 세기가 약 0.14씩 증가됨을 볼 수 있었다. 신호 민감도 S_{Rl} 는 Fig. 7(b)의 기울기로 13.997/RIU의 값을 구할 수 있었다.

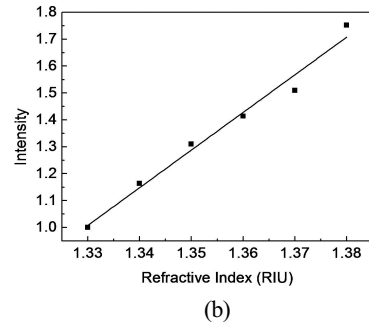
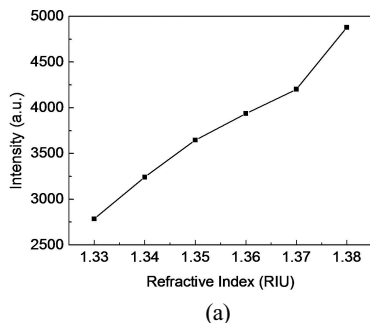


Fig. 7. (a) Calibrated signal and (b) normalized signal for various refractive index at wavelength of 633 nm.

4.2. 생체물질에 대하여 측정된 신호처리

바이오틴과 스트렙타비딘의 결합에 대하여 측정된 결과 Fig. 8(a)의 신호를 확인할 수 있었다. 기준 신호를 위해 기준 굴절률 ($n_0=1.33$)에서 $I_{Rl}(n_0)=1$ 을 측정하였고 계속해서 바이오틴과 스트렙타비딘의 결합의 순서대로 측정하였다. 이 신호를 신호세기의 변화에 대한 RU 단위의 신호로 나타내기 위해 신호 교정과 표준화 단계를 거쳐 Fig. 8(b)와 같이 신호를 구하고 좌측 y축을 $I_M(C_x)$ 로 나타내었다. 첫 번째 단계인 전처리 과정은 ①에서 ③까지이며, ①은 1 mM MPA 용액에 10분 담가둔 후 측정된 결과로서 기준신호의 세기 $I_M(n_0)=1$ 에서 0.493 증가하였고, ②는 0.1 M EDAC와 0.2 M PFP의 혼합 용액에 20분 담가둔 후 측정된 결과로서 신호의 세기가 0.66 증가하였다. ③은 5% TEG와 0.5% DIEA의 혼합 용액에 120분 담가둔 후 측정하였고 신호의 세기가 0.059 증가하였다. 두 번째 단계는 바이오틴을 흡착시키기 위한 단계로서(④), 100 μ g/ml 바이오틴 용액에 120분 담가두었고 신호의 세기를 측정된 결과 0.35 증가하였으며 이 결과를 통해 바이오틴이 흡착된 것을 확인할 수 있었다. 마지막 단계는 바이오틴과 스트렙타비딘을 결합시켜 변화를 확인하는 단계로서(⑤), 50 μ g/ml 스트렙타비딘 용액에 30분 담가두어 바이오틴과 스트렙타비딘이 결합하도록 하였고 신호의 세기를 측정된 결과 0.756 증가하였다. Fig. 8(b)의 우측 y축은 상용화제품과 비교하기 위하여 RU 단위로 환산한 것으로서 그 변화를 살펴보면 각 단계별로 ① 30.36, ② 40.64, ③ 3.65, ④ 21.59, ⑤ 46.55[kRU] 증가된 것을 확인할 수 있었다. 이 결과를 살펴보면 각 단계마다 금 나노입자 위에 형성되는 작용기에 의해 굴절률이 변화되는 것을 확인할 수 있었고, 또한 스트렙타비딘 용액에 담가둔 후 측정된 결과 46.55 [kRU] 증가하는 것을 통해 센서 표면 위에서 바이오틴과 스트렙타비딘이 결합한 것을 확인할 수 있었다. 1992년 Biacore사의 O'Shannessy 연구진에 의해 SPR 장비를 사용하여 바이오틴과 스트렙타비딘의 결합을 측정하였고 50 μ g/ml 스트렙타비딘이 결합할 때 약 10 [kRU] 증가하는 것을 볼 수 있었다.[11] 이 결과는 본 연구진이 측정하여 보인 결과보다 낮은 수치로서 제작된 LSPR 센서가 바이오틴-스트렙타비딘의 결합에 대한 측정 성능이 우수하다는 것을 확인할 수 있었다.

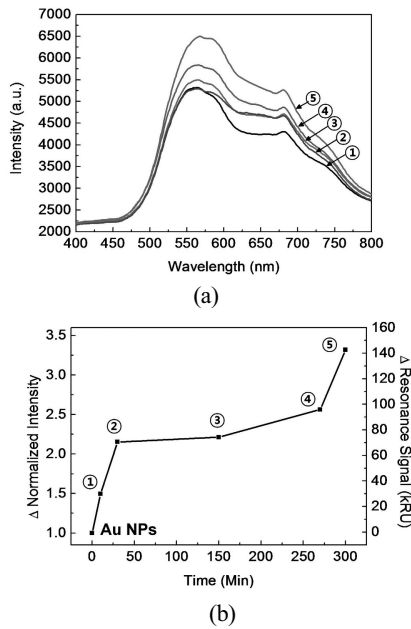


Fig. 8. (a) Measured signals, (b) Normalized signal and converted signal for biotin-streptavidin interaction.

5. 결론

본 연구에서는 반사된 LSPR 신호의 측정 방법에 대해 살펴보고 측정된 신호의 처리 방법에 대해 연구하였다. 굴절률 변화에 대한 신호 민감도 S_{RI} 는 3 단계의 신호처리과정을 수행하여 구할 수 있었다. 첫 번째 단계에서 센서 신호의 모델링을 통해 $I_{rs}(n_x)$ 와 $I_{ts}(n_x)$ 를 정의하였고 두 번째 단계에서 정의된 두 신호를 사용하여 신호 교정을 통해 순수한 LSPR 신호인 $I_{ext,r}(n_x)$ 를 얻을 수 있었다. 세 번째 단계에서 신호를 표준화 신호 $I_{RI}(n_x)$ 로 변환하였고 이 신호를 이용하여 신호 민감도 S_{RI} 를 구할 수 있었다. 또한 굴절률 정보가 없는 바이오틴과 스트렙타비딘의 결합 측정 시 변화되는 신호 $I_M(C_x)$ 에 대해 신호 민감도 S_{RI} 를 사용하여 RU 단위로 변환하였다.

이러한 LSPR 현상의 신호처리 방법은 측정 신호를 객관적 정보로 나타낼 수 있기 때문에 여러 센서들과의 직접적인 비교가 가능하다. 특히 Biacore사의 상용화 제품과도 비교가 가능하기 때문에 센서의 성능을 직접적으로 비교할 수 있다. 따라서 SPR 또는 LSPR을 이용한 바이오센서를 활용하여 단백질 결합이나 항원항체반응 측정을 통한 질병진단 시 절대적 정량분석 방법으로써 많은 활용이 가능할 것으로 기대된다.

감사의 글

이 연구는 단국대학교 대학원 연구보조장학금의 지원 및 2009년도 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단-신기술융합형 성장동력사업의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2009-0093661).

REFERENCES

- [1] A. J. Haes and R. P. V. Duyne, "A unified view of propagating and localized surface plasmon resonance biosensors", *Anal. and Bioanal. Chem.*, vol. 379, no. 7-8, pp. 980-983, 2004.
- [2] B. Sepulveda, P. C. Angelome, L. M. Lechuga, and L. M. Liz-Marzan, "LSPR-based nanobiosensors", *Nano today*, vol. 4, Iss. 3, pp. 244-251, 2009.
- [3] H. Lee and S. K. Lee, "Characterization of gold nanoparticles on optical fiber for localized surface plasmon resonance sensor", *J. Kor. Sensors Soc.*, vol. 18, no. 3, pp. 226-233, 2008.
- [4] H. Lee, H. J. Kim, J. H. Park, D. H. Jeong, and S. K. Lee, "Effect of surface density and size of gold nanoparticles in a fiber-optic localized surface Plasmon resonance", *Meas. Sci. and Technol.*, 21 085805, pp. 1-9, 2010.
- [5] B. H. Lee, S. K. Roh, and J. H. Park, "Current status of micro- and nano-structured optical fiber sensors", *Optical Fiber Technol.*, vol. 15, Iss. 3, pp. 209-221, 2009.
- [6] B. D. Gupta and R. K. Verma, "Surface plasmon resonance-based fiber optics sensors : principle, probe designs, and some applications", *Journal of Sensors*, vol. 2009, article ID 979761, pp. 1-12, 2009.
- [7] Y. Manaka, Y. Kudo, H. Yoshimine, T. Kawasaki, K. Kajikawa, and Y. Okahata, "Simultaneous anomalous reflection and quartz crystal microbalance measurements of protein binding on a gold surface", *Chem. Commun.*, 35746, 2007.
- [8] V. V. R. Sai, T. Kundu, and S. Mukjerji, "Novel U-bent fiber optic probe for localized surface plasmon resonance based biosensor", *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 24, Iss. 9, pp. 2804-2809, 2009.
- [9] K. Nagata and H. Handa, "Real-time analysis of biomolecular interactions", *Springer*, pp. 23-187, 2000.
- [10] H. Lee and S. K. Lee, "Formation of metal nanoparticles on optical fiber for fiber optic localized surface plasmon resonance sensor", *J. Kor. Sensors Soc.*, vol. 17, no. 2, pp. 95-99, 2008.
- [11] D. J. O'Shannessy, M. Brigham-Bruke and K. Peck, "Immobilization chemistries suitable for use in the BiAcCore surface plasmon resonance detector", *Anal. Biochem.*, vol. 205, Iss. 1, pp. 132-136, 1992.



정 현 호(Hyeon-Ho Jeong)

- 2010년 단국대학교 전자컴퓨터공학부 (공학사)
- 2010년~현재 단국대학교 전자전기공학과 석사과정
- 주관심분야 : MEMS, SPR 바이오센서



이 승 기(Seung-Ki Lee)

- 1986년 서울대학교 전기공학과(공학사)
- 1988년 서울대학교 전기공학과(공학석사)
- 1992년 서울대학교 전기공학과(공학박사)
- 1992년~1993년 일본 동북(東北)대학교 기계전자공학과 특별연구원(JSPS fellow)
- 1994년~현재 단국대학교 전자전기공학부 교수
- 2003년~2004년 미국 Univ. of Washington 기계공학과 방문교수
- 주관심분야 : MEMS, SPR 바이오센서, IPMC 액추에이터, 세포기반 환경 센서 및 전지