

Review

해양생물독소의 신속 검출을 위한 친화성 바이오리셉터 기반 바이오센서 개발 동향

조채환¹ · 박태정² · 박종필^{1*}

¹중앙대학교 생명공학대학 식품공학과,
²중앙대학교 화학과

Trends in Development of Affinity Bioreceptor-based Biosensor for Rapid Detection of Marine Biotoxins

Chae Hwan Cho¹, Tae Jung Park², Jong Pil Park^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, College of Biotechnology and Natural Resources,
GreenTech-Based Food Safety Research Group (BK21 Four),
Chung-Ang University, Anseong, Korea

²Department of Chemistry, Institute of Interdisciplinary Convergence Research, Research Institute of Chem-Bio
Diagnostic Technology, Chung-Ang University, 84 Heukseok-ro, Dongjak-gu, Seoul, Korea

(Received October 2, 2024/Revised October 14, 2024/Accepted October 15, 2024)

ABSTRACT - Marine biotoxins are becoming increasingly prevalent due to rising ocean temperatures driven by global warming, posing serious threats to food safety and public health. Traditional detection methods for marine biotoxins, such as mouse bioassays, high-performance liquid chromatography, and liquid chromatography-mass spectrometry, are limited by time-consuming procedures and high costs. Biosensor technology has emerged as a promising alternative. These biosensors employ bioreceptors (such as cells, antibodies, aptamers, and peptides) to detect marine biotoxins rapidly and accurately. In this review, we discuss the various types of bioreceptors and explore recent developments in biosensor technologies for marine biotoxin detection. Furthermore, we highlight the advantages of these bioreceptors and consider future directions for improving biosensor performance in detecting marine biotoxins.

Key words: Marine biotoxins, Biosensors, Bioreceptor, Sensitive detection

바다는 인구 증가, 자원 부족, 에너지 수요 등 글로벌 과제를 해결하는 데 중요한 역할을 하는 광대하고 복잡한 자연 생태계이며, 풍부한 광물 및 생물 자원을 바탕으로 식량 안전, 영양, 건강 보장, 그리고 사회 및 경제 발전을 촉진하는 데 중요한 역할을 한다. 특히, 수산물은 인간에게 이로운 다양한 영양소를 제공하며, 전 세계적인 수산물 소비량은 꾸준히 상향하고 있다¹⁾. 그러나, 최근 급격한

지구온난화로 인해 전 세계 해수 온도가 상승하면서 해조류와 플랑크톤의 성장과 번식의 가속화에 따른 유해조류의 대규모 발생(harmful algal blooms, HABs)이 빈번하게 일어남에 따라, 해양생물독소에 의한 오염의 빈도와 강도가 급격히 증가하고 있는 추세이다²⁾. 해양생물독소는 해양 생물에 존재하는 비단백질 저분자 독성 화합물로 운반체에 따라 패류 독소(shellfish toxins), 테트로도톡신(tetrodotoxin, TTX), 시구아톡신(ciguatoxin, CTX) 등으로 분류되고, 주로 해조류, 식물플랑크톤, 또는 미생물에서 생산되며 해양 생물의 먹이 사슬(food chain)을 통해 수산물의 체내에 축적된다³⁾. 이들 독소는 신경계와 소화계에 강한 독성을 나타내어 사람이 해양생물독소에 오염된 해양 생물을 섭취할 경우 설사, 마비, 심지어는 사망에 이를 수 있는 식중독 증상을 유발한다. 때문에, 해양생물독소는 공중 보건, 식품 안전, 식품 산업 및 어업을 비롯한 다양한

*Correspondence to: Jong Pil Park, Department of Food Science and Technology, GreenTech-Based Food Safety Research Group (BK21 Four), Chung-Ang University, Anseong, 17546, Korea
Tel: +82-31-670-4703

E-mail: jppark@cau.ac.kr (J.P. Park)

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

분야에 부정적인 영향을 미쳐 심각한 경제적 손실을 야기할 수 있으므로 해양생물독소의 신속한 검출 및 효과적인 모니터링의 중요성이 대두되고 있다^{4,5)}.

기존의 해양생물독소 검출 방법으로는 마우스 생체검사(mouse bioassay, MBA)⁶⁾, 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)⁷⁾, 액체 크로마토그래피-질량 분석법(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)⁸⁾ 등이 제시되어 왔다. 그러나 이들 방법은 긴 분석 시간, 고가의 분석 비용 및 장비, 숙련된 전문가에 의해 분석이 수행돼야 한다는 등의 한계점들이 있다. 예를 들어 마우스 생체검사는 독소의 독성 영향을 종합적으로 평가할 수 있지만, 민감도가 낮고 분석 절차에 장시간이 소요되기 때문에 광범위한 현장 분석에는 적합하지 않다. 반면, HPLC와 LC-MS는 높은 민감도를 제공하지만, 높은 비용, 큰 크기의 장비, 긴 분석 시간이 필요하여 현장 분석이 제한적이다⁹⁾. 이러한 문제를 해결하기 위해 다양한 바이오센서 기술이 주목받고 있다. 바이오센서는 흔히 알려진 항체와 같은 특정 분자를 특이적으로 인식하는 바이오리셉터(bioreceptor)를 이용해 표적 물질을 선택적으로 검출하고, 그 결과를 형광, 광학, 전기, 또는 질량 신호로 변환하는 장치이다¹⁰⁾. 이는 상대적으로 저렴한 비용, 짧은 분석 시간, 사용 편의성, 높은 민감도 및 소형화된 기기로 인해 현장 사용에 적합하다는 장점을 가지고 있어 임상 진단, 생명 과학, 환경, 식품 및 약물 등의 다양한 분야에 폭 넓게 사용되고 있으며, 최근 몇 년간 해양생물독소 검출 분야에서 주목받고 있다¹¹⁾.

따라서, 본 논문에서는 다양한 바이오리셉터의 특성 및 개발 전략에 대해 간략히 알아보고, 해양 생물 독소의 신속한 검출을 위한 바이오리셉터 기반 바이오센서의 최근 발전 동향을 요약한다. 각 바이오리셉터의 특성 및 개발 전략을 세포(cell), 항체(antibody), aptamer, 펩타이드(peptide)로 분류하여 소개하고, 이를 이용한 다양한 현장형 분석법 기반 바이오센서의 주요 성능을 비교한다. 마지막으로, 바이오리셉터 기반 바이오센서의 현재 한계와 도전 과제를 간략하게 논의하고, 미래 발전 동향을 전망한다.

해양생물독소 검출을 위한 바이오리셉터

바이오리셉터는 생물학적 분자나 구조로, 화학 물질, 독소, 병원체 등의 특정한 목표 대상을 인식하고 반응하는 역할을 하며, 대상과의 상호작용을 통해 신호를 생성하거나 변환한다. 바이오리셉터로는 세포, 항체, aptamer(DNA 또는 RNA), 펩타이드 등이 사용될 수 있으며, 각 리셉터는 고유의 방식으로 표적 물질을 인식한다¹²⁾. 이러한 특성 덕분에 바이오리셉터는 바이오센서에 높은 선택성과 민감도를 제공하며, 바이오센서의 핵심적인 구성요소 중 하나이다.

세포

세포는 생명체의 기본 단위로 생리화학적 반응을 통해 실시간으로 표적 물질을 인식한다. 1970년대 초부터 다양한 표적 물질의 존재 여부를 신속하게 탐지하기 위한 바이오리셉터로 사용되어 왔으며, 주로 세포주와 1차 배양 세포가 사용된다^{13,14)}. 세포주는 시험관 내에서 활발히 분열하여 준비 및 배양이 편리하고 적절한 세포 유형이 있을 경우 매우 유용하며, 1차 배양 세포는 주로 동물에서 직접 추출되고 생체 내 세포와 유사한 기능을 제공한다는 특징이 있다. 이러한 이유로 세포주는 독소 감지와 약물 스크리닝과 같은 생의학적 분야에서, 1차 배양 세포는 다양한 세포 유형을 사용하여 생체 감지 과정을 모방하는 인공 후각 및 미각 연구에서 주로 활용된다¹⁵⁾. 또한, 최근에는 유전자 편집 기술의 발달로 CRISPR-Cas9과 같은 기술을 이용해 세포 내에서 특정 물질에 대한 감지 및 반응을 유도하는 유전자를 삽입 또는 수정한 세포를 사용하기도 한다¹⁶⁾.

현재 해양생물독소 검출을 위해 사용되는 세포주는 해양생물독소의 독성에 반응하는 간세포(HepG2), 암세포(MCF-7), 단핵구 세포(THP-1), 신경세포(Neuro2a)와 같은 고등 진핵 세포주가 주로 사용되고 있다¹⁷⁾. 일반적으로 세포는 5.0% CO₂가 포함된 습윤한 공기 속에서 37°C로 배양되며, 해양 독소의 세포독성은 세포 성장, 형태 및 박동 상태의 변화를 통해 검출된다.

항체

가장 널리 사용되는 바이오리셉터인 항체는 면역체계에 생성되는 거대 분자 단백질로, 항원과의 높은 특이적 결합 능력을 가지고 있다. 항체는 일반적으로 2개의 중사슬(heavy chain)과 2개의 경사슬(light chain)로 구성된 Y자 형태를 가지며, 항원 결합 부위는 경사슬의 가변 부위에 위치하여 항원에 대한 높은 특이성과 친화도를 제공한다¹⁸⁾. 항체 개발을 위한 대표적인 기술로는 하이브리도마(hybridoma) 기술, 재조합 항체 기술, 그리고 파지 디스플레이가 있다. 하이브리도마 기술은 항체 생산을 위해 B 세포와 무기한 증식 능력을 가진 골수종 세포를 융합하여 단일클론 항체를 생성하는 방법으로, 높은 특이성을 가진 항체를 지속적으로 생산할 수 있지만, 동물 면역화를 위한 시간이 필요하다는 단점이 있다¹⁹⁾. 재조합 항체 기술은 항체 유전자를 클로닝하여 대장균, 효모, 동물세포 등의 발현 시스템에서 항체를 생산하는 방법으로, 동물 윤리 문제를 피할 수 있으며 항체의 구조적 최적화가 가능하다²⁰⁾. 파지 디스플레이 기술은 항체를 박테리오파지의 특정 부위에 표지하여 항원과의 상호작용을 통해 특이적 항체를 선택하는 방법으로, 다양한 항체 변형체를 신속하게 개발할 수 있다²¹⁾. 이렇게 개발된 항체는 높은 특이성과 결합력을 바탕으로 진단, 치료, 환경 모니터링 등 다양한 산업

과 과학적 연구에서 필수적인 역할을 수행하고 있다.

해양생물독소 검출을 위한 항체는 1964년 Johnson 등²²⁾에 의해 삭시톡신(saxitoxin, STX) 특이적 항체가 개발된 이래, 오키다산(okadaic acid, OA), TTX, 고니아톡신(gonyautoxin, GTX), 도모산(domoic acid, DA) 등의 다양한 독소를 검출하기 위해 단·다클론 항체, 재조합 항체, 항체 단편(single-chain Fv, scFv) 등 다양한 종류가 개발되어 왔으며, 특히 단·다클론 항체는 상용화되어 해양생물독소 검출에 사용되고 있다²³⁾. 일반적으로 해양생물독소 검출을 위한 항체는 하이브리도마 기술을 이용해 제조된다. 이 때 해양생물독소는 다른 단백질이나 바이러스와 달리 작은 분자량을 가져 면역원성이 약하므로, 항체 생성 유도를 위해 소 혈청알부민(bovine serum albumin, BSA), 구멍삿갓조개 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin, KLH), 오브알부민(ovalbumin, OVA)과 같은 운반체 단백질(carrier protein)에 합텐화(haptenization)하여 면역원으로 사용한다²⁴⁾. 이 과정에서 포름알데하이드(formaldehyde) 응축, 글루타르알데하이드(glutaraldehyde) 반응, 카보디이미드(carbodiimide) 반응 등 다양한 방법이 사용되며, 크기와 구조가 비슷한 유사체가 많은 해양생물독소의 특성을 고려하여 각 독소의 특성에 따라 적절한 합텐화 방법이 선택되어야 한다²⁵⁾. 이렇게 합성된 면역원은 항체의 특이성과 선택성에 큰 영향을 미치며, 고품질의 항체 생산을 위해서는 많은 시간과 비용이 소모될 수 있다.

압타머

압타머(aptamer)는 25개에서 90개의 염기로 구성된 단일 가닥의 DNA 또는 RNA로 이루어진 짧은 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide) 분자이다. 압타머는 특정 온도와 pH에서 안정적이고, 체외에서 개발이 가능하며, 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction, PCR) 기술을 이용하므로 생산 비용이 낮고 제작이 용이하다는 큰 장점이 있어 항체의 잠재적 대체재로 주목받고 있다²⁶⁾. 일반적으로 압타머는 줄기, 루프, 벌지, 헤어핀, 가위형 결합, 삼중 결합, 사중 결합 등의 2차 구조를 가지고 있으며, 특정 목적 분자와 결합 시 구조적·전기적 상호작용, 방향족 고리의 적층, 수소 결합, 반데르발스 힘 등의 다양한 결합 방식을 통해 3차원 구조를 형성하여 높은 친화성과 선택성을 나타낸다²⁷⁾. 이러한 특성들로 인해 단백질, 저분자 화합물, 금속이온, 세포 등 다양한 표적 물질에 특이적으로 결합하는 압타머가 개발되어 생명과학 및 의학 분야에서 약물 전달, 진단, 생체 이미징 등에 폭넓게 활용되고 있다^{28,29)}. 압타머는 일반적으로 systematic evolution of ligand by exponential enrichment (SELEX)라는 방법을 통해 시험관 내에서 체계적 진화를 기반으로 무작위 풀의 핵산 라이브러리로부터 선별(screening)된다³⁰⁾. 이 과정에서 다양한 무작위 서열을 포함한 단일 가닥 DNA 또는 RNA 라이브러

리는 목적 물질과 반복적으로 반응하며, 목적 물질에 높은 특이성과 친화도를 가진 압타머가 선별된다.

해양생물독소 검출을 위한 압타머는 2013년 Handy 등³¹⁾에 의해 STX에 특이적인 압타머가 처음으로 개발되었으며, 그 외에도 GTX³²⁾, TTX³³⁾, OA³⁴⁾ 등에 특이적인 압타머들이 개발되어 왔다. 해양생물독소에 특이적인 압타머는 앞서 언급한 SELEX 과정을 통해 개발되는데, 항체의 개발 과정과 유사하게 작은 분자량을 가진 해양생물독소를 큰 크기의 지지체를 이용해 면역원화 한 후에 선별 실험에 사용한다. 이 과정에서 해양생물독소를 운반체 단백질 또는 마그네틱 비드와 같은 나노물질에 결합시킨 후 SELEX를 수행하는 과정이 선호되고 있으며³⁵⁾, 최근 들어서는 음전하를 띄는 압타머가 산화 그래핀(graphene oxide, GO)과 같이 하이드록실기(-OH)가 많은 나노물질에 π - π 스택킹을 통해 비특이적으로 흡착한다는 점을 이용하여 독소의 면역원화 없이 SELEX를 수행하기도 한다³⁶⁾.

펩타이드

펩타이드는 2개에서 50개의 아미노산으로 이루어진 짧은 아미노산 서열을 의미하며, 다재다능한 물리화학적 특성, 다양한 pH 및 온도에서의 높은 안정성 및 합성 용이성 때문에 바이오센서에서 효과·효율적인 바이오리셉터로 주목받고 있다³⁷⁾. 펩타이드는 압타머와 유사하게 단층, 튜브, 이중층 등의 다양한 구조를 형성하고 있으며, 구조적/전기적 상호작용, 방향족 고리의 적층, 수소 결합, 반데르발스 힘 등의 다양한 결합 방식을 통해 3차원 구조를 형성하여 높은 친화성과 선택성을 나타낸다³⁸⁾. 또한, 압타머에 비해 다양한 결합 부위를 가지고 있어 바이오센서 응용을 위해 쉽고 다양한 화학적 수정 전략이 사용될 수 있다는 강점을 가지고 있다. 이러한 특성들로 인해 다양한 표적 물질에 특이적으로 결합하는 펩타이드가 개발되어 생명과학 및 의학 분야에서 널리 사용되고 있다³⁹⁾. 친화성 펩타이드를 개발하는 전통적인 방법은 펩타이드가 표지된 M13, T7 등의 다양한 박테리오파지 라이브러리를 이용한 파지디스플레이(phage display)기반의 바이오패닝(biopanning)법이다⁴⁰⁾. 이는 압타머의 SELEX와 매우 유사하게 결합(bind), 세척(wash), 유리(elution) 과정을 가지고 있으며, 이 과정에서 표적 물질과의 반복적인 반응을 통해 무작위의 펩타이드가 표지된 파지 라이브러리로부터 표적 특이적 펩타이드를 선별한다. 이때, SELEX와는 달리 박테리오파지를 이용해 선별실험을 수행하므로, 상대적으로 적은 시간 및 비용이 소요된다는 장점이 있다³⁹⁾. 하지만, 펩타이드 바이오리셉터는 압타머에 비해서 특정 표적 물질에 대한 선택성이 다소 낮을 수 있다는 단점이 있으며, 이를 극복하기 위해 최근 들어서는 분자 동역학 기반의 분자 도킹 모의 실험(molecular docking simulation)을 이용해 특정 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 최적

의 펩타이드 서열을 모델링하고 예측하여 펩타이드 바이오리셉터 개발에 응용하는 추세이다⁴¹⁾. 해양생물독소 특이적 펩타이드 바이오리셉터의 개발은 항체, 압타머의 개발 전략과 같이 해양생물독소를 운반체 단백질 또는 마그네틱 비드와 같은 나노물질에 결합시킨 후 바이오패닝을 수행하여 이루어지며, 현재까지 OA⁴²⁾, STX⁴³⁾, DA⁴⁴⁾ 등의 다양한 해양생물독소에 특이적인 펩타이드들이 개발되고 있다.

해양생물독소 검출을 위한 바이오리셉터 기반 바이오센서

바이오리셉터를 기반으로 한 바이오센서는 바이오리셉터와 물리적 변환기(transducer)가 결합된 장치이다. 바이오리셉터가 분석 대상을 인식하고 반응하면, 변환기는 이 생물학적 반응을 전기적, 광학적, 열적, 또는 화학적 신호로 변환하여 감지할 수 있게 한다⁴⁵⁾. 예를 들어, 항체를 기반으로 한 바이오센서는 항원이 결합할 때 생기는 변화를 감지하고, 세포 기반 바이오센서는 세포와 목적 물질과의 물리·화학적 반응의 결과를 측정가능한 신호로 변환하고 감지할 수 있게 한다. 이러한 바이오센서는 특정 분석 대상의 농도나 존재 여부를 실시간으로 감지할 수 있으며, 높은 선택성과 신속한 반응 속도를 가진다는 장점으로 인해 의학, 환경

모니터링, 식품 안전 등 다양한 분야에서 사용되고 있다¹²⁾. 그러나 바이오리셉터의 복잡한 구조와 환경에 대한 민감성으로 인해 사용 수명이 제한되는 경우가 많으며, 이러한 한계를 해결하기 위해 바이오리셉터의 안정성을 높이고 나노기술을 적용하는 등 새로운 기술과의 융합이 연구되고 있는 추세이다⁴⁶⁾. 현재 해양생물독소 검출을 위한 바이오센서로는 광학, 형광, 전기화학 등의 다양한 검출 방법들이 널리 사용되고 있으며, 앞서 언급된 한계점들을 해결하기 위해 생명공학, 나노, 전자기술 등의 다양한 기술과 융합된 형태의 새로운 바이오센서들이 개발되고 있다¹⁷⁾.

해양생물독소 검출을 위한 세포기반 바이오센서

세포 기반 바이오센서는 가장 오래된 바이오센서의 종류 중 하나로, 살아있는 세포를 통해 생화학적 효과를 직접적으로 감지하고 이를 변환기를 통해 측정 가능한 신호로 변환한다. 분자 기반 접근법과 달리 세포 기반 바이오센서는 광범위한 감지 능력을 가지고 있다는 독특한 특징이 있으며, 다양한 해양생물독소의 감지와 감별에 사용되고 있다⁴⁷⁾. 다양한 분석방법 중 세포 기반 바이오센서의 개발을 위해 가장 전통적이고 빈번하게 사용되는 검출법은 광학 방식이다. Aballay-Gonzalez 등⁴⁸⁾은 나트륨 채널(Na channels)을 억제하는 물질을 감지하는 Neuro-2a 세포

Table 1. Cell-based biosensors

	Sensing method	Recognition element	Analyte	LOD	Linear range.	Detection time	Ref.
1	Colorimetric	Neuro-2a	STX	1.8 ng/mL	0.78-100 nM	>48 h	[48]
			Dc STX	5.2 ng/mL	0.78-100 nM		
			Neo STX	0.6 ng/mL	0.78-100 nM		
			GTX 1&4	2.0 ng/mL	0.78-100 nM		
			GTX 2&3	9.5 ng/mL	23-3000 nM		
			GTX 5	77.4 ng/mL	23-3000 nM		
			Dc GTX 2&3	6.1 ng/mL	0.78-100 nM		
2	Colorimetric	HepG2	OA	33.95 ng/mL	10-800 ng/mL	3 h	[49]
			OA	3.41 ng/mL	5-200 ng/mL		
3	Colorimetric	THP-1	OA	13.45 ng/mL	5-200 ng/mL	3 h	[50]
			OA	13.45 ng/mL	5-200 ng/mL		
4	Electrochemical	Neuro-2a	STX	0.03 ng/mL	0.1-1000 ng/mL	>24 h	[51]
			OA	7.16 ng/mL	10-800 ng/mL		
5	Electrochemical	Cardiomyocytes	STX	5.19 ng/mL	50-1000 ng/mL	>24 h	[53]
			STX	0.29 ng/mL	0.5-800 ng/mL		
			TTX	0.30 ng/mL	0.5-800 ng/mL		
6	Electrochemical	Cardiomyocytes	TTX	0.30 ng/mL	0.5-800 ng/mL	>24 h	[52]
			GTX-2	0.16 ng/mL	0.5-800 ng/mL		
7	SAW	ECA9706	OA	0.4 ug/g	-	-	[54]

STX: saxitoxin; Dc-STX: decarbamoylsaxitoxin; Neo-STX: neosaxitoxin; GTX: gonyautoxin; Dc-GTX: decarbamoylgonyautoxin; OA: okadaic acid; TTX: tetrodotoxin; SAW: surface acoustic wave.

의 특성을 이용하여 STX, decarbamoylsaxitoxin (dc-STX), neosaxitoxin (Neo-STX), decarbamoylneosaxitoxin (Dc-Neo-STX) 및 GTX 1-5를 포함한 다양한 마비성패류독소(paralytic shellfish toxin, PSP)를 검출하였으며, Su 등⁴⁹⁾은 OA가 세린/트레오닌 단백질 인산화효소(PP1 및 PP2A 단백질)를 억제하여 세포 사멸을 유도한다는 점을 이용해서 HepG2 세포를 기반으로 OA를 검출할 수 있는 시스템 개발하였다. 또한, 같은 연구진은 HepG2 및 THP-1를 기반으로 하는 OA 검출 시스템을 구축하고 스마트폰 광학 검출 시스템과의 접목을 통해 효율성 및 편의성을 대폭 개선하였다⁵⁰⁾. 이에 더해, 최근 들어서는 다양한 전기화학 분석법을 적용한 바이오센서들도 제안되고 있다. 살아있는 세포는 세포막에 의해 전극 표면에 부착되어 계면 저항 값을 증가시키는 반면 죽은 세포는 전극 표면에서 떨어져 나가 계면 저항 값을 감소시킨다. 때문에, 해양생물독소로 인한 세포의 생존율 변화를 전류 값의 변화를 통해 검출할 수 있다. 이러한 원리를 이용하여, Zou 등⁵¹⁾은 Neuro-2a 세포에 우아베인(ouabain)과 베라트리딘(veratridine)을 처리하면 세포 내 나트륨 유입을 유도하고, PSP 독소가 이 나트륨 유입을 억제함으로써 세포 생존율을 높일 수 있다는 점을 활용해 임피던스 분광법(impedance spectroscopy) 기반 전기화학센서가 개발되었다. 이 과정에서 세포는 젤라틴을 매개체로 금 전극위에 고정화되었으며, 개발된 바이오센서는 0.03 ng/mL의 낮은 검출 한계와 우수한 특이성을 보여주었다. 또한, 심장근세포(cardiomyocytes) 기반 전기화학센서가 STX, TTX, GTX-2와 같은 나트륨 통로(sodium channel) 특이적 해양 독소의 검출을 위해 개발되었으며⁵²⁾, OA, STX 검출을 위한 전기화학을 응용한 하이

브리드 바이오센서가 Li 등⁵³⁾에 의해 제안되었다. 그 외에도 표면탄성파(surface acoustic wave, SAW)기술을 이용해 OA를 검출하는 시스템이 개발되었다⁵⁴⁾. 이와 같이 세포 기반 바이오센서는 자연 수용체, 효소, 채널 등을 이용해 다양한 자극에 민감하게 반응하며 해양생물독소 검출에 있어 특정 조건에서 여러 유형의 독소를 정량적으로 측정할 수 있다. 또한, 생물과 독소 간의 상호작용을 현실적으로 시뮬레이션할 수 있다는 장점으로 인해 독성 평가와 미지의 독소 탐지에 널리 사용되고 있다^{11,55)}. 하지만 세포 배양, 부착 및 생물활성 유지가 필요하며, 비용이 높고 검출 시간이 길며 휴대성이 부족한 단점이 있으며, 신호가 복잡하여 분석에 어려움이 있을 수 있다. 이를 개선하기 위해 세포를 개량하거나 3D 바이오프린팅, 나노물질, 마이크로어레이 및 미세유체역학 기술과의 융합을 통해 보다 민감하고 정확하며 효율적인 세포 기반 바이오센싱 기술들이 연구되고 있다¹⁴⁾.

해양생물독소 검출을 위한 항체기반 바이오센서

항체는 특정 항원(독소나 병원균)에 선택적으로 결합하는 특성으로 인해 바이오센서 개발에 가장 널리 사용되는 바이오리셉터이다. 항체 기반 바이오센서를 개발할 때는 표적 독소에 대해 높은 특이성을 가진 항체를 선택하거나 제작해야 하며, 이 항체는 물리적 흡착, 화학적 결합, 또는 나노물질을 활용한 고정화 기법을 통해 센서 표면에 고정화된다. 고정화된 항체는 표적 독소가 존재할 때 항원-항체 반응을 일으키며, 이 반응은 전기화학적 신호, 형광, 색 변화 등으로 변환되어 독소의 농도를 정량적으로 측정할 수 있게 한다⁵⁶⁾. 이러한 항체 기반 바이오센서는

Table 2. Antibody-based biosensors

	Sensing method	Recognition element	Analyte	LOD	Linear range.	Detection time	Ref.
1	Colorimetric	OA-mAb	OA	0.02 ng/mL	0.02-33.6 ng/mL	2 h	[59]
2	Colorimetric	OA-mAb	OA	0.02 ng/mL	0.02-50 ng/mL	45 min	[60]
3	Colorimetric	OA-mAb	OA	0.5 ng/mL	0.8-6.8 ng/mL	1 h	[83]
4	Colorimetric	AZA-1-mAb	AZA-1	37 ng/mL	0.3-4.1 ng/mL	5 h	[84]
5	Fluorescence	OA-mAb	OA	1.3 ng/mL	2.0-98.9 ng/mL	3 h	[61]
6	Electrochemistry	OA-mAb	OA	0.3 ng/mL	0.195-12.5 ng/mL	1 h	[62]
7	Electrochemistry	OA-mAb	OA	2.65 pg/mL	5-100 pg/mL	40 min	[63]
8	Electrochemistry	AZA-1-pAb	AZA-1	63 ng/mL	120-2875 ng/mL	15 min	[85]
9	PEC	OA-mAb	OA	7 pg/mL	0.001-80 ng/mL	1 h	[64]
		TTX-mAb	TTX	5 pg/mL	0.001-100 ng/mL		
10	CE	CTX3C-mAb	CTX3C	0.09 pg/mL	0.6-150 pg/mL	15 min	[65]

STX: saxitoxin; OA: okadaic acid; TTX: tetrodotoxin; AZA-1: azaspiracid-1; CTX3C: ciguatoxin CTX3C; PEC: photoelectrochemical; CE: capillary electrophoresis.

매우 높은 특이성과 민감도를 가지며, 다양한 해양생물독소를 신속하고 정확하게 검출할 수 있어, 해양 환경 모니터링, 식품 안전 검사, 생태계 보호 등 여러 분야에서 널리 사용되고 있다⁵⁷⁾. 여러 가지 검출법들 중 광학 검출법의 일종인 ELISA는 전통적으로 사용되는 항체기반 바이오센서의 일종으로, 다양한 기업들에 의해 상용화되어 널리 사용되고 있다. 이러한 상용화된 ELISA kit들의 대부분은 경쟁 항원(독소-단백질 또는 효소 복합체)을 이용한 경쟁 ELISA 방식과 2개의 항체(1차 및 2차 항체)를 이용한 샌드위치 방식을 동시에 채택하고 있어, 가격이 고가이고 안정성이 낮다는 단점이 있어 이를 개선하기 위한 여러가지 연구들이 수행되고 있다⁵⁸⁾. Li 등⁵⁹⁾은 산화 그래핀(graphene oxide, GO)을 이용한 바이오센서의 신호 증폭 및 진보된 스마트폰 검출 시스템과 마이크로어레이 시스템을 통합함으로써 기존 ELISA 시스템에 비해 민감도, 효율성 및 휴대성이 개선된 OA 검출용 바이오센서를 개발하였으며, 같은 연구진은 GO와 금 나노입자를 종이기반의 팁(tip)에 적용해 OA 검출용 바이오센서의 효율성 및 휴대성을 극대화했다⁶⁰⁾. 또한, Yin 등⁶¹⁾은 서로 다른 파장의 형광 물질을 이용하여 OA와 STX를 동시에 검출하는 바이오센서를 개발하였다. 이를 위해 항체에 같은 방출(extension) 파장에서 서로 다른 방출(emission) 파장을 가지는 형광 물질을 OA와 STX 항체에 각각 표지하고, 이를 이용해 각 독소를 동시에 정량적으로 측정하였다. 다양한 전기화학 분석법을 적용한 바이오센서들도 제안되고 있다. Hayat 등⁶²⁾은 OA 항체를 전극 위에 고정화 한 후 OA의 농도에 따라 변화하는 임피던스 값을 이용하여 OA를 정량적으로 측정하였으며, Li 등⁶³⁾은 높은 전도성과 넓은 표면적을 가진 나노물질을 이용하여 기존의 전기화학 검출법에 비해 향상된 민감도를 가지는 보다 진보된 형태의 OA 검출용 전기화학 바이오센서를 제안하였다. 또한, 최근에는 여러가지 독소의 다채널 분석에 장점이 있는 광학과 전기화학 검출법을 융합한 광전기화학(photoelectrochemical, PEC) 분석법을 이용해 OA와 TTX의 동시 검출이 가능한 바이오센서가 개발되었으며⁶⁴⁾, 그 외에도 OA 검출용 모세관 전기영동(capillary electrophoresis, CE) 기반의 바이오센서가 제안되기도 하였다⁶⁵⁾. 그러나 항체 기반 바이오센서는 온도나 pH 같은 환경 변화에 매우 민감하여 쉽게 변성되거나 기능을 상실할 수 있으며, 생산 과정이 복잡하고 비용이 높다는 단점이 있다. 또한, 항체를 대량으로 생산하려면 동물 면역화, 세포 융합 등의 복잡한 공정이 필요하고, 이는 많은 시간과 비용을 요구한다. 이러한 단점들을 극복하기 위해 항체 대비 생산 비용, 소모 시간이 적고 안정성이 높은 나노바디(nanobody)가 대안으로 제시되고 있으며, 실제 다른 곰팡이 독소들을 대상으로 한 나노바디들이 연구되고 있다⁶⁶⁾. 그 외에도 항체의 개선, 항체 표지 방법 최적화, 면역 PCR 기술 도입, 고감도 검출 장

비 사용 및 나노물질의 응용 등을 통해 민감도를 더욱 개선하기 위한 연구가 진행되고 있다⁵⁷⁾.

해양생물독소 검출을 위한 압타머기반 바이오센서

압타머는 특정 표적 분자에 선택적으로 결합하는 특성 덕분에 바이오센서 개발에서 유망한 바이오리셉터로 주목받고 있다. 특히, 크기가 큰 항체에 비해 상대적으로 작은 크기를 가지고 있어 저분자 화합물인 해양생물독소에 결합하기 유리하다는 점으로 인해 압타머는 해양생물독소 검출을 위한 바이오센서 개발에 활발히 사용되고 있다⁶⁷⁾. 압타머 기반 바이오센서를 개발할 때는 표적 물질에 대해 높은 친화력과 특이성을 가진 압타머를 선별하거나 합성하며, 선별된 압타머는 화학적 수정을 통해 바이오센서 개발에 활용된다. 이 과정에서 다른 바이오리셉터에 비해서 화학적 수정이 상대적으로 용이하기 때문에 상대적으로 다양한 분석법에 적용될 수 있다⁶⁸⁾. 압타머 기반 바이오센서는 독소가 압타머와 결합할 때 발생하는 구조적 변화나 전기화학적 신호 변화를 감지하여 항체 기반 센서처럼 높은 특이성과 민감도로 다양한 해양생물독소를 신속하고 정확하게 검출할 수 있다. Tian 등⁶⁹⁾은 브레베톡신-2(brevetoxin-2, BRX-2)에 특이적인 압타머를 SELEX과정을 통해 발굴한 후 해양생물독소 검출용 비색 검출법에서 가장 전통적으로 사용되는 간접 경쟁 ELISA(indirect competition ELISA)를 활용한 BRX-2 검출용 바이오센서를 개발하였으며, 최근에는 효소역할을 할 수 있는 나노물질인 나노자임을 이용한 압타머 기반 바이오센서가 활발히 연구되고 있다. Zhao 등⁷⁰⁾은 STX 특이적 압타머와 금 입자 나노자임을 하이브리드화 체인 반응(hybridization chain reaction, HCR)을 통해 결합하여 민감도, 효율성 및 안정성이 개선된 STX 검출용 경쟁적 비색 압타머 기반 바이오센서를 개발하였으며, Liu 등⁷¹⁾은 이중 금속 유기 골격체(bimetal-organic framework, MOF) 나노자임을 이용하여 테트로도톡신을 검출할 수 있는 압타머 기반 바이오센서를 개발하였다. MOF의 높은 과산화효소 유사 활성은 표면에 흡착된 TTX 특이적 압타머에 의해 억제되며, TTX와 압타머가 결합할 때 다시 활성화되는 원리를 이용하여 0.07 ng/mL의 검출한계를 갖는 TTX 검출용 바이오센서를 개발하였다. 형광을 이용한 압타머 기반 바이오센서는 형광물질을 이용한 기술로 압타머 센서에 관한 연구가 가장 활발하게 이루어진 분야이다⁷²⁾. 형광 기반 압타머 기반 바이오센서는 주로 형광 물질이 표지된 압타머를 이용해 퀸칭(quenching) 효과 또는 형광 공명 에너지 전이(fluorescence resonance energy transfer, FRET) 효과를 이용해 해양생물독소를 검출한다. 퀸칭 효과는 형광 물질이 표지된 압타머가 표적 독소와 결합할 때 형광 신호가 소멸되어 감소하는 현상이며, FRET 효과는 형광 물질이 표지된 압타머와 표적 독소가 근접하여 에너지가 공여체에서 수용체로 비복사적으

Table 3. Aptamer-based biosensors

	Sensing method	Recognition element	Analyte	LOD	Linear range.	Detection time	Ref.
1	Colorimetric	Bap 5 aptamer (ssDNA)	BRX-2	3.125 ng/mL	3.125-200 ng/mL	5 h	[69]
2	Colorimetric	M-30f aptamer (ssDNA)	STX	42.13 pM	78.13-2500 pM	4 h	[70]
3	Colorimetric	TTX aptamer (ssDNA)	TTX	0.07 ng/mL	0.1-200 ng/mL	-	[71]
4	Fluorescence	OA27-FAM (ssDNA)	OA	6.35 ng/mL	25-200 ng/mL	40 min	[73].
		TTX-07 (ss DNA)	TTX	1.21 ng/mL	5-150 ng/mL		
5	Fluorescence	STX-41 (ss DNA)	STX	0.39 ng/mL	1-100 ng/mL	1.5 h	[74]
		DA-06 (ss DNA)	DA	0.45 ng/mL	0.5-50 ng/mL		
6	Fluorescence	Duplexed aptamer	OA	0.003 ng/mL	0.1-1000 ng/mL	2.5 h	[86]
7	Electrochemistry	STX aptamer (ssDNA)	STX	4.67 pg/mL	10 pg/mL – 1 µg/mL	4 h	[75]
		MC-LR aptamer (ss DNA)	MC-LR	0.0033 nM	0.073-150 nM		
		CYL aptamer (ss DNA)	CYL	0.0045 nM	0.018-200 nM		
8	Electrochemistry	Ana-α aptamer (ss DNA)	Ana-α	0.0034 nM	0.018-200 nM	20 min	[76]
		STX aptamer (ss DNA)	STX	0.0053 nM	0.018-200 nM		
		OA aptamer (ss DNA)	OA	0.0048 nM	0.018-200 nM		
9	Electrochemistry	STX aptamer (ss DNA)	STX	0.09 nM	0.5-100 nM	1 h	[87]
10	SERS	OA aptamer (ss DNA)	OA	2.45 ng/mL	10-800 ng/mL	35 min	[78]
11	QCM	PbTx-2 aptamer (ss DNA)	BRX-2	220 nM	10-1000 nM	1.5 h	[77]

BRX-2: brevetoxin-2; STX: saxitoxin; TTX: tetrodotoxin; OA: okadaic acid; DA: domoic acid; CYL: cylindrospermopsin; Ana-α: anatoxin-α; SERS: surface enhanced raman scattering; QCM: quartz crystal sensor.

로 전달되면서 신호가 변하는 메커니즘을 말한다. 이러한 원리를 이용해 Kweon 등⁷³⁾은 퀀칭 효과에 기반한 OA 검출용 형광센서를 개발하였으며, Gu 등⁷⁴⁾은 FRET 기반의 STX 검출용 형광센서를 개발하기도 하였다. 또한, 최근 들어서는 압타머를 이용한 다양한 형태의 전기화학 기반의 바이오센서들도 개발되고 있다. Park 등⁷⁵⁾은 민감도 및 정확도를 높이기 위해 다공성 백금 나노입자(pPtNP)가 적용된 원형 마이크로 간격 전극을 설계하고 STX 특이적 압타머를 전극 표면에 고정화 시켜 네모파 전압전류법(square wave voltammetry, SWV) 기반의 전기화학 바이오센서를 개발하였으며, Rhouati 등⁷⁶⁾은 실린드로스퍼모핀(cylindrospermopsin, CYL), 아나톡신-α(anatoxin-α, Ana-α), STX 및 OA 등의 여러 가지 해양생물독소에 특이적인 압타머를 다중 전극에 각각 고정화한 후 동시에 검출할 수 있는 SWV 기반의 전기화학 바이오센서를 개발하였다. 그 외에도 양자결정 마이크로밸런스(quartz crystal microbalances, QCM)⁷⁷⁾이나 표면증강 라만 산란(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)⁷⁸⁾을 이용한 검출법들도 다양하게 개발 및 연구되고 있다. 이와 같이 압타머 기반 바이오센서는 해양생물독소 검출에 있어서 기존 항체 기반 센서에 비해 우수한 민감도, 선택성, 짧은 검출 시간 및 뛰어난 검출 성능을 제공한다. 또한, 다양한 구조적 수정과 최적화가 가능하여 대량 생산이 용이하고, 저장과 사용이 간편하여 해양독소의 신속한 모니터링과 검

출에 있어 유망한 기술로 평가받고 있다⁶⁷⁾. 그럼에도 불구하고, 압타머 기반 바이오센서는 pH, 온도, 이온 강도와 같은 다양한 환경 요인에서 압타머의 안정성 부족, 특이성의 한계, 발굴 과정의 어려움 등의 한계점을 가지고 있으며, 특히 생물학적 유체 내에서 뉴클레아제에 의해 쉽게 분해된다는 점으로 인해 압타머 기반 바이오센서는 특정 환경에서 제한적으로 사용되고 있다¹¹⁾. 이러한 한계를 극복하기 위해서는 압타머의 화학적 수정을 통한 안정성 강화, SELEX 과정의 최적화 및 나노기술과의 융합을 통한 민감도, 안정성 향상이 추후 연구 방향으로 제시되고 있다⁷⁹⁾.

해양생물독소 검출을 위한 펩타이드 기반 바이오센서

펩타이드는 압타머와 유사한 특징을 가지고 있어 다양한 표적 물질을 검출하는 바이오리셉터로 바이오센서에 널리 사용되고 있다. 특히, 다양한 작용기를 보유하고 있어 화학적 수정이 용이하며, 이를 통해 광학 또는 형광 물질로 표지하거나 센서 표면에 쉽게 고정화 할 수 있다는 장점 덕분에 광학, 형광, 압전 및 전기화학 등의 다양한 바이오센서로 개발되었다. 그러나 해양생물독소에 특이적인 펩타이드를 이용한 바이오센서는 다른 바이오리셉터 기반의 바이오센서에 비해 비교적 최근에 개발되기 시작했다. Cho 등⁴²⁾은 파지 디스플레이를 이용한 바이오패닝을 통해 OA에 특이적인 펩타이드를 발굴하고, 펩타이드 기

Table 4. Peptide-based biosensors

	Sensing method	Recognition element	Analyte	LOD	Linear range.	Detection time	Ref.
1	Colorimetric	OA BP1	OA	5.41 ng/mL	0-1000 ng/mL	2.5 h	[42]
2	Colorimetric	STX BP	STX	3.17 ng/mL	0-1000 ng/mL	2.5 h	[88]
3	Colorimetric	DA BP1	DA	0.29 ng/mL	0.5-10 ng/mL	3 h	[44]
3	Fluorescence	STX BP1	STX	1.5 ng/mL	0-800 ng/mL	10 min	[80]
5	Electrochemistry	STX BP1	STX	0.026 ng/mL	1-1000 ng/mL	8 h	[43]
6	Electrochemistry	STX S4	STX	0.69 pg/mL	10-1000 pg/mL	5 h	[82]
7	Electrochemistry	TTX peptide	TTX	2.8 ng/mL	2-1000 ng/mL	3 h	[81]

STX: saxitoxin; TTX: tetrodotoxin; OA: okadaic acid; DA: domoic acid.

반의 직접 경쟁 ELISA (direct competition ELISA)를 개발하였다. 이 펩타이드는 바이오틴(biotin)으로 표지되어 마이크로플레이트에 고정되었으며, 고정된 펩타이드에 OA가 표지된 HRP와 OA를 동시에 반응시켜 나타나는 경쟁 작용을 통해 시료 내 OA를 정량적으로 검출했다. 개발된 펩타이드 기반 바이오센서는 5.41 ng/mL의 검출 한계를 나타내었다. 또한, Kim 등⁴⁴⁾은 DA가 고정된 마그네틱 비드를 제조한 후, 이를 이용해 파지 디스플레이를 이용한 바이오패닝을 수행하여 DA 특이적 펩타이드를 발굴하였다. DA 특이적 펩타이드는 바이오틴-아비딘 결합을 이용해 마그네틱 비드에 고정 되었으며, 이를 이용해 개발된 직접 경쟁 기반 ELISA는 0.29 ng/mL의 검출한계를 나타내었다. 형광을 이용한 펩타이드 기반 바이오센서도 개발되었다. Kim 등⁸⁰⁾은 형광물질의 일종인 5-carboxyfluorescein (FAM) 이 표지된 STX 특이적 펩타이드를 산화 그래핀 (GO)에 π - π 결합을 통해 비특이적으로 흡착시켜 형광을 소광시키고 STX를 첨가했을 때 발생하는 경쟁 효과에 의해 펩타이드가 GO와 분리되면서 나타나는 형광 신호를 측정하여 STX를 정량적으로 측정하였다. 또한, 전기화학을 이용한 펩타이드 기반 바이오센서들도 개발되었다. Raju 등⁴³⁾은 바이오패닝을 통해 STX에 특이적인 펩타이드를 발굴하고, 이중 금속 나노입자(Pt 및 Ru)로 도포된 금속-유기 골격체(MOF)가 고정된 전극 표면에 이를 고정화하여 STX 검출용 전기화학 센서를 개발하였다. 또한, Kim 등⁸¹⁾은 바이오패닝을 통해 TTX에 특이적인 펩타이드를 발굴하고, 금 나노입자가 도포된 폴리피롤 필름이 코팅된 전극을 이용해 TTX 검출용 전기화학 센서를 개발하였다. 이와 같이 바이오패닝을 통해 해양생물독소에 특이적인 펩타이드들이 발굴되어 바이오센서로 개발되었지만, 바이오패닝을 통해 펩타이드를 발굴하는 과정은 상대적으로 비용, 시간이 소모된다. 이를 보완하기 위해, Liu 등⁸²⁾은 분자 도킹 모의 실험(molecular docking simulation)을 이용해 STX에 특이적으로 결합할 수 있는 최적의 펩타이드 서열을 모델링하고 예측하여 STX 특이적 펩타이드를 개발하였다.

이 펩타이드를 이용해 개발된 EIS 기반의 바이오센서는 0.69 pg/mL의 매우 낮은 검출 한계 값을 나타내었다. 이와 같이 펩타이드 기반 바이오센서는 해양생물독소 검출에 있어서 다양한 분석 방법을 이용해 개발되고 있으며, 우수한 민감도, 선택성, 짧은 검출 시간 및 뛰어난 검출 성능을 제공한다. 하지만, 펩타이드 기반 바이오센서는 단백질 분해효소나 환경적 요인에 의해 쉽게 분해되어 안정성이 낮고, 특정 표적 물질에 대한 결합 특이성이 낮아 검출 정확도가 떨어질 수 있다. 이러한 한계점을 극복하기 위해서 화학적 수정을 통한 펩타이드의 물리적, 화학적 특성 강화 또는 나노물질과의 통합을 통해 안정성 및 민감도를 높이거나, 인공지능과 분자 동역학 시뮬레이션을 활용해 결합 특이성을 향상시키는 연구들이 수행되고 있다⁴¹⁾.

Conclusion

해양생물독소를 신속하고 정확하게 검출하기 위한 바이오센서의 개발은 식품 안전과 공중보건의 측면에서 매우 중요한 과제이다. 최근 지구온난화로 인한 해수 온도의 상승은 해양생물독소의 발생 빈도를 증가시키고 있으며, 이에 따라 해양 생태계와 인류 건강에 미치는 영향이 점차 커지고 있다. 따라서 해양생물독소를 빠르고 효율적으로 검출할 수 있는 시스템 개발의 필요성이 대두되고 있다. 바이오센서는 생물학적 분자가 표적 물질과의 특이적인 상호작용을 통해 신호를 감지하는 기술로, 해양생물독소와 같은 작은 분자들을 고감도로 검출할 수 있다. 본 리뷰에서는 다양한 바이오리셉터를 기반으로 한 바이오센서 기술의 최근 발전 동향을 논의했다. 특히 세포, 항체, 압타머, 펩타이드 등 각각의 바이오리셉터가 고유한 특징을 바탕으로 해양생물독소를 효과적으로 검출하는 다양한 센서들로 개발되고 있음을 확인할 수 있었다. 세포 기반 바이오센서는 실제 생체 반응을 모방하여 높은 신뢰성으로 독소를 검출할 수 있으며, 항체 기반 바이오센서는 높은 특이성으로 표적 독소를 선택적으로 검출하는 데 유리하다. 압

타머와 펩타이드는 화학적 수정이 용이하고, 다양한 표적 물질에 대한 선택성을 가지며, 작은 크기와 다기능성 덕분에 세포와 항체를 대체할 수 있는 유망한 후보로 부각되고 있다. 그러나 각 바이오센서 기술은 아직 해결해야 할 과제가 남아 있다. 예를 들어, 세포 기반 바이오센서는 배양 및 유지가 어려우며, 반응 시간이 길고, 항체는 대량 생산이 어렵고 제조 비용이 높다. 또한, 압타머와 펩타이드는 환경적 안정성에 한계가 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해 다양한 분야와의 융합을 통해 각 바이오리셉터 기반 바이오센서의 성능을 높이는 기술이 개발되고 있다. 나노물질의 개발과 생명공학 기술의 발전으로 민감도와 안정성이 향상되고 있으며, 분석 기술의 발달로 휴대용 분석 장비가 개발되면서 현장에서 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 시스템들이 효율적으로 개선되고 있다.

결론적으로, 해양생물독소 검출을 위한 바이오센서 기술은 현장 적용 가능성이 매우 높으며, 향후 연구 방향은 이러한 기술의 안정성, 민감도, 생산 비용 등을 개선하는 데 집중한다. 이를 통해 해양생물독소를 신속하고 정확하게 검출할 수 있을 것이며, 식품 안전과 공중 보건에 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

Acknowledgement

본 연구는 2024년도 식품의약품안전처의 연구개발비 (20163MFDS641)로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

국문 요약

기후 변화로 인한 해양 온도 상승으로 해양생물독소의 발생 빈도가 점점 증가하고 있으며, 이는 식품 안전과 공중 보건에 중대한 위협을 가하고 있다. 해양생물독소를 검출하기 위한 기존의 방법인 마우스 생체검사(MBA), 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 액체 크로마토그래피-질량 분석법(LC-MS) 등은 절차가 오래 걸리고 비용이 많이 든다는 한계가 있다. 이러한 문제를 해결하기 위한 대안으로 바이오센서 기술이 유망한 해결책으로 부상하고 있다. 이러한 바이오센서는 세포, 항체, 압타머, 펩타이드와 같은 바이오리셉터를 이용해 해양생물독소를 신속하고 정확하게 검출한다. 본 리뷰에서는 다양한 종류의 바이오리셉터를 논의하고, 해양생물독소 검출을 위한 바이오센서 기술의 최근 발전을 탐구한다. 또한, 이러한 바이오리셉터의 장점을 강조하며, 해양생물독소 검출을 위한 바이오센서 성능 향상을 위한 미래 연구 방향을 고려한다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Chae Hwan Cho <https://orcid.org/0000-0002-9500-3655>
Tae Jung Park <https://orcid.org/0000-0001-8918-0957>
Jong Pil Park <https://orcid.org/0000-0002-4119-1574>

References

- Murray, G.D., Fail, R., Fairbanks, L., Campbell, L.M., D'Anna, L., Stoll, J., Seafood consumption and the management of shellfish aquaculture. *Mar. Policy*, **150**, 105534-105546 (2023).
- Tan, K., Sun, Y., Zhang, H., Zheng, H., Effects of harmful algal blooms on the physiological, immunity and resistance to environmental stress of bivalves: special focus on paralytic shellfish poisoning and diarrhetic shellfish poisoning. *Aquac.*, **563**, 739000-739012 (2023).
- Hinder, S.L., Hays, G.C., Brooks, C.J., Davies, A.P., Edwards, M., Walne, A.W., Gravenor, M.B., Toxic marine microalgae and shellfish poisoning in the British isles: history, review of epidemiology, and future implications. *Environ. Health*, **10**, 1-12 (2011).
- Cusick, K.D., Saylor, G.S., An overview on the marine neurotoxin, saxitoxin: genetics, molecular targets, methods of detection and ecological functions. *Mar. Drugs*, **11**, 991-1018 (2013).
- Bialojan, C., Takai, A., Inhibitory effect of a marine-sponge toxin, okadaic acid, on protein phosphatases. Specificity and kinetics. *Biochem. J.*, **256**, 283-290 (1988).
- Ruberu, S.R., Langlois, G.W., Masuda, M., Kittredge, C., Perera, S.K., Kudela, R.M., Receptor binding assay for the detection of paralytic shellfish poisoning toxins: comparison to the mouse bioassay and applicability under regulatory use. *Food Addit. Contam.*, **35**, 144-158 (2018).
- Dell'Aversano, C., Tartaglione, L., Polito, G., Dean, K., Giacobbe, M., Casabianca, S., Capellacci, S., Penna, A., Turner, A.D., First detection of tetrodotoxin and high levels of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish from Sicily (Italy) by three different analytical methods. *Chemosphere*, **215**, 881-892 (2019).
- Costa, C.Q., Afonso, I.I., Lage, S., Costa, P.R., Canário, A.V., Da Silva, J.P., Quantitation overcoming matrix effects of lipophilic toxins in *Mytilus galloprovincialis* by liquid chromatography-full scan high resolution mass spectrometry analysis (LC-HR-MS). *Mar. Drugs*, **20**, 143-154 (2022).
- Wang, Q., Yang, Q., Wu, W., Ensuring seafood safe to spoon: a brief review of biosensors for marine biotoxin monitoring. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **62**, 2495-2507 (2022).
- Bano, K., Khan, W.S., Cao, C., Khan, R.F., Webster, T.J., 2020. Biosensors for detection of marine toxins. in *Nanobiosensors: Design to Applications*, Wu, A., Khan, W.S., (Ed), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, pp. 329-356.
- Liu, R., Pei, Q., Sun, T., Xu, F., Shao, X., Liu, J., Yan, Z.,

- Wang, D., Tian, Y., Jing, D., Recent advances in shellfish toxin biosensing technologies: micro/nano molecule-and cell-based biosensors. *Trends Food Sci. Technol.*, **152**, 104692-104705 (2024).
12. Bazin, I., Tria, S.A., Hayat, A., Marty, J.L., New biorecognition molecules in biosensors for the detection of toxins. *Biosens. Bioelectron.*, **87**, 285-298 (2017).
 13. Liu, Q., Wu, C., Cai, H., Hu, N., Zhou, J., Wang, P., Cell-based biosensors and their application in biomedicine. *Chem. Rev.*, **114**, 6423-6461 (2014).
 14. Gupta, N., Renugopalakrishnan, V., Liepmann, D., Paulmurugan, R., Malhotra, B.D., Cell-based biosensors: recent trends, challenges and future perspectives. *Biosens. Bioelectron.*, **141**, 111435-111457 (2019).
 15. Bousse, L., Whole cell biosensors. *Sens. Actuators B: Chem.*, **34**, 270-275 (1996).
 16. Wang, X., Zhou, J., Wang, H., Bioreceptors as the key components for electrochemical biosensing in medicine. *Cell Rep. Phys. Sci.*, **5**, 101801-101838 (2024).
 17. Tang, X., Zuo, J., Yang, C., Jiang, J., Zhang, Q., Ping, J., Li, P., Current trends in biosensors for biotoxins (mycotoxins, marine toxins, and bacterial food toxins): principles, application, and perspective. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **165**, 117144-117157 (2023).
 18. Morea, V., Tramontano, A., Rustici, M., Chothia, C., Lesk, A. M., Antibody structure, prediction and redesign. *Biophys. Chem.*, **68**, 9-16 (1997).
 19. Tomita, M., Tsumoto, K., Hybridoma technologies for antibody production. *Immunotherapy*, **3**, 371-380 (2011).
 20. Siegel, D., Recombinant monoclonal antibody technology. *Transfus. Clin. Biol.*, **9**, 15-22 (2002).
 21. Hoogenboom, H.R., de Bruïne, A.P., Hufton, S.E., Hoet, R. M., Arends, J.W., Roovers, R.C., Antibody phage display technology and its applications. *Immunotechnol.*, **4**, 1-20 (1998).
 22. Johnson, H.M., Frey, P.A., Angelotti, R., Campbell, J.E., Lewis, K.H., Haptenic properties of paralytic shellfish poison conjugated to proteins by formaldehyde treatment. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **117**, 425-430 (1964).
 23. Vilariño, N., Fonfría, E.S., Louzao, M.C., Botana, L.M., Use of biosensors as alternatives to current regulatory methods for marine biotoxins. *Sensors*, **9**, 9414-9443 (2009).
 24. Forsyth, C.J., Xu, J., Nguyen, S.T., Samdal, I.A., Briggs, L.R., Rundberget, T., Sandvik, M., Miles, C.O., Antibodies with broad specificity to azaspiracids by use of synthetic haptens. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 15114-15116 (2006).
 25. Usleber, E., Dietrich, R., Bürk, C., Schneider, E., Märtilbauer, E., Immunoassay methods for paralytic shellfish poisoning toxins. *J. AOAC Int.*, **84**, 1649-1656 (2001).
 26. Banu, K., Mondal, B., Rai, B., Monica, N., Hanumegowda, R., Prospects for the application of aptamer based assay platforms in pathogen detection. *Biocybern. Biomed. Eng.*, **42**, 934-949 (2022).
 27. Kong, H.Y., Byun, J., Nucleic acid aptamers: New methods for selection, stabilization, and application in biomedical science. *Biomol. Ther.*, **21**, 423-434 (2013).
 28. Zhao, Y., Yavari, K., Liu, J., Critical evaluation of aptamer binding for biosensor designs. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **146**, 116480-116489 (2022).
 29. Qi, S., Duan, N., Khan, I. M., Dong, X., Zhang, Y., Wu, S., Wang, Z., Strategies to manipulate the performance of aptamers in SELEX, post-SELEX and microenvironment. *Biotechnol. Adv.*, **55**, 107902-107925 (2022).
 30. Qi, X., Li, L., Yan, X., Zhao, Y., Wang, L., Ma, R., Wang, S., Mao, X., A label-free colorimetric aptasensor containing DNA triplex molecular switch and AuNP nanozyme for highly sensitive detection of saxitoxin. *J. Ocean Univ. China.*, **21**, 1343-1350 (2022).
 31. Handy, S.M., Yakes, B.J., DeGrasse, J.A., Campbell, K., Elliott, C.T., Kanyuck, K.M., DeGrasse, S.L., First report of the use of a saxitoxin-protein conjugate to develop a DNA aptamer to a small molecule toxin. *Toxicon*, **61**, 30-37 (2013).
 32. Liu, Y., Jiang, C., Song, M., Cao, Y., Huang, Q., Lu, F., Optimization of Gonyautoxin1/4-binding G-quadruplex aptamers by label-free surface-enhanced raman spectroscopy. *Toxins*, **14**, 622-636 (2022).
 33. Li, Y., Song, M., Gao, R., Lu, F., Liu, J., Huang, Q., Repurposing of thermally stable nucleic-acid aptamers for targeting tetrodotoxin (TTX). *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, **20**, 2134-2142 (2022).
 34. Wang, Y., Rao, D., Wu, X., Zhang, Q., Wu, S., Aptamer-based microcantilever-array biosensor for ultra-sensitive and rapid detection of okadaic acid. *Microchem. J.*, **160**, 105644-105651 (2021).
 35. Ruscito, A., DeRosa, M.C., Small-molecule binding aptamers: Selection strategies, characterization, and applications. *Front. Chem.*, **4**, 14-27 (2016).
 36. Gu, H., Duan, N., Wu, S., Hao, L., Xia, Y., Ma, X., Wang, Z., Graphene oxide-assisted non-immobilized SELEX of okadaic acid aptamer and the analytical application of aptasensor. *Sci. Rep.*, **6**, 21665-21673 (2016).
 37. Karimzadeh, A., Hasanzadeh, M., Shadjou, N., de la Guardia, M., Peptide based biosensors. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **107**, 1-20 (2018).
 38. Boyle, A.L., Bromley, E.H.C., Bartlett, G.J., Sessions, R.B., Sharp, T.H., Williams, C.L., Curmi, P.M.G., Forde, N.R., Linke, H., Woolfson, D.N., Squaring the circle in peptide assembly: from fibers to discrete nanostructures by de novo design. *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 15457-15467 (2012).
 39. Xu, P., Ghosh, S., Gul, A.R., Bhamore, J.R., Park, J.P., Park, T.J., Screening of specific binding peptides using phage-display techniques and their biosensing applications. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **137**, 116229-116246 (2021).
 40. Takakusagi, Y., Takakusagi, K., Sugawara, F., Sakaguchi, K., Use of phage display technology for the determination of the targets for small-molecule therapeutics. *Expert Opin Drug Discov.*, **5**, 361-389 (2010).
 41. Wasilewski, T., Neubauer, D., Kamysz, W., Gębicki, J., Recent progress in the development of peptide-based gas

- biosensors for environmental monitoring. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.*, **5**, 100197-100209 (2022).
42. Cho, C.H., Park, C.Y., Chun, H.S., Park, T.J., Park, J.P., Antibody-free and selective detection of okadaic acid using an affinity peptide-based indirect assay. *Food Chem.*, **422**, 136243-136252 (2023).
 43. Raju, C.V., Reddy, Y.V.M., Cho, C.H., Shin, H.H., Park, T.J., Park, J.P., Highly sensitive electrochemical peptide-based biosensor for marine biotoxin detection using a bimetallic platinum and ruthenium nanoparticle-tethered metal-organic framework modified electrode. *Food Chem.*, **428**, 136811-136821 (2023).
 44. Kim, J.H., Cho, C.H., Park, T.J., Park, J.P., Rapid and sensitive detection of domoic acid in shellfish using a magnetic bead-based competitive ELISA with a high-affinity peptide as a molecular binder. *Chemosphere*, **364**, 143274-143284 (2024).
 45. Naresh, V., Lee, N., A review on biosensors and recent development of nanostructured materials-enabled biosensors. *Sensors*, **21**, 1109-1120 (2021).
 46. Malik, S., Singh, J., Goyat, R., Saharan, Y., Chaudhry, V., Umar, A., Ibrahim, A. A., Akbar, S., Ameen, S., Baskoutas, S., Nanomaterials-based biosensor and their applications: a review. *Heliyon*, **9**, e19929-e19952 (2023).
 47. Yang, K., Wu, J., Santos, S., Liu, Y., Zhu, L., Lin, F., Recent development of portable imaging platforms for cell-based assays. *Biosens. Bioelectron.*, **124**, 150-160 (2019).
 48. Aballay-González, A., Gallardo-Rodríguez, J.J., Silva-Higuera, M., Rivera, A., Ulloa, V., Delgado-Rivera, L., Rivera-Belmar, A., Astuya, A., Neuro-2a cell-based assay for toxicity equivalency factor-proposal and evaluation in Chilean contaminated shellfish samples. *Food Addit. Contam.*, **37**, 162-173 (2020).
 49. Su, K., Pan, Y., Wan, Z., Zhong, L., Fang, J., Zou, Q., Li, H., Wang, P., Smartphone-based portable biosensing system using cell viability biosensor for okadaic acid detection. *Sens. Actuators B: Chem.*, **251**, 134-143 (2017).
 50. Su, K., Zhong, L., Pan, Y., Fang, J., Zou, Q., Wan, Z., Wang, P., Novel research on okadaic acid field-based detection using cell viability biosensor and Bionic e-Eye. *Sens. Actuators B: Chem.*, **256**, 448-456 (2018).
 51. Zou, L., Wu, C., Wang, Q., Zhou, J., Su, K., Li, H., Hu, N., Wang, P., An improved sensitive assay for the detection of PSP toxins with neuroblastoma cell-based impedance biosensor. *Biosens. Bioelectron.*, **67**, 458-464 (2015).
 52. Sun, X., Xiang, Y., Liu, M., Xu, X., Zhang, L., Zhuang, L., Wang, P., Wang, Q., High-performance and-efficiency cardiomyocyte-based potential biosensor for temporal-specific detection of ion channel marine toxins. *Biosens. Bioelectron.*, **220**, 114837-114845 (2023).
 53. Li, H., Wei, X., Gu, C., Su, K., Wan, H., Hu, N., Wang, P., A dual functional cardiomyocyte-based hybrid-biosensor for the detection of diarrhetic shellfish poisoning and paralytic shellfish poisoning toxins. *Anal. Sci.*, **34**, 893-900 (2018).
 54. Wenjia, L., Jiasheng, C., Weicong, P., Yixue, D., Xiaoguo, Y., A novel high frequency SAWR based sensor combined with living cells for shellfish toxin quantitative determination. *J. Food Meas. Charact.*, **15**, 1810-1814 (2021).
 55. Deng, Y., Zheng, H., Yi, X., Shao, C., Xiang, B., Wang, S., Zhao, Z., Zhang, X., Hui, G., Paralytic shellfish poisoning toxin detection based on cell-based sensor and non-linear signal processing model. *Int. J. Food Prop.*, **22**, 890-897 (2019).
 56. Holford, T. R., Davis, F., Higson, S. P., Recent trends in antibody based sensors. *Biosens. Bioelectron.*, **34**, 12-24 (2012).
 57. Ji, Y., Wang, R., Zhao, H., Toward sensitive and reliable immunoassays of marine biotoxins: From Rational Design to Food Analysis. *J. Agric. Food Chem.*, **72**, 16076-16094 (2024).
 58. Pang, L., Quan, H., Sun, Y., Wang, P., Ma, D., Mu, P., Chai, T., Zhang, Y., Hammock, B. D., A rapid competitive ELISA assay of okadaic acid level based on epoxy-functionalized magnetic beads. *Food Agric. Immunol.*, **30**, 1286-1302 (2019).
 59. Li, X., Cheng, Y., Xu, R., Zhang, Z., Qi, X., Chen, L., Zhu, M., A smartphone-assisted microarray immunosensor coupled with GO-based multi-stage signal amplification strategy for high-sensitivity detection of okadaic acid. *Talanta*, **247**, 123567-123575 (2022).
 60. Shao, Y., Li, X., Qi, X., Li, J., Zhao, S., Sun, P., Wang, H., Cheng, Y., Zhang, Z., Chen, L., Zhang, X., Zhu, M., A graphene oxide-assisted protein immobilization paper-tip immunosensor with smartphone and naked eye readout for the detection of okadaic acid. *Anal. Chim. Acta*, **1314**, 342781-342788 (2024).
 61. Yin, M., Wang, W., Wei, J., Chen, X., Chen, Q., Chen, X., Oyama, M., Novel dual-emissive fluorescent immunoassay for synchronous monitoring of okadaic acid and saxitoxin in shellfish. *Food Chem.*, **368**, 130856-130863 (2022).
 62. Hayat, A., Barthelmebs, L., Marty, J.L., Electrochemical impedimetric immunosensor for the detection of okadaic acid in mussel sample. *Sens. Actuators B: Chem.*, **171**, 810-815 (2012).
 63. Li, R., Cao, L., Liang, C., Sun, S., Liu, H., Yan, P., Development and modeling of an ultrasensitive label-free electrochemical immunosensor for okadaic acid based on polythionine-modified three-dimensional gold nanoelectrode ensembles. *Ionics*, **26**, 4661-4670 (2020).
 64. Zheng, C., Ge, R., Wei, J., Jiao, T., Chen, Q., Chen, Q., Chen, X., NIR-responsive photoelectrochemical sensing platform for the simultaneous determination of tetrodotoxin and okadaic acid in Nassariidae. *Food Chem.*, **430**, 136999-137006 (2024).
 65. Zhang, Z., Zhang, C., Luan, W., Li, X., Liu, Y., Luo, X., Ultrasensitive and accelerated detection of ciguatoxin by capillary electrophoresis via on-line sandwich immunoassay with rotating magnetic field and nanoparticles signal enhancement. *Anal. Chim. Acta*, **888**, 27-35 (2015).
 66. Su, B., Zhang, Z., Sun, Z., Tang, Z., Xie, X., Chen, Q., Cao, H., Yu, X., Xu, Y., Liu, X., D. Hammock, B., Fluonanobody-

- based nanosensor via fluorescence resonance energy transfer for ultrasensitive detection of ochratoxin A. *J. Hazard. Mater.*, **422**, 126838-126847 (2022).
67. Tian, Y., Du, L., Zhu, P., Chen, Y., Chen, W., Wu, C., Wang, P., Recent progress in micro/nano biosensors for shellfish toxin detection. *Biosens. Bioelectron.*, **176**, 112899-112910 (2021).
 68. Yoo, H., Jo, H., Oh, S.S., Detection and beyond: Challenges and advances in aptamer-based biosensors. *Mater. Adv.*, **1**, 2663-2687 (2020).
 69. Tian, R.Y., Lin, C., Yu, S.Y., Gong, S., Hu, P., Li, Y.S., Wu, Z.C., Gao, Y., Zhou, Y., Liu, Z.S., Ren, H.L., Lu, S.Y., Preparation of a specific ssDNA aptamer for brevetoxin-2 using SELEX. *J. Anal. Methods Chem.*, **2016**, 9241860-9241867 (2016).
 70. Zhao, Y., Li, L., Ma, R., Wang, L., Yan, X., Qi, X., Wang, S., Mao, X., A competitive colorimetric aptasensor transduced by hybridization chain reaction-facilitated catalysis of AuNPs nanozyme for highly sensitive detection of saxitoxin. *Anal. Chim. Acta*, **1173**, 338710-338717 (2021).
 71. Liu, S., Huo, Y., Li, G., Huang, L., Wang, T., Gao, Z., Aptamer-controlled reversible colorimetric assay: High-activity bimetallic organic frameworks for the efficient sensing of marine biotoxins. *J. Chem. Eng.*, **469**, 144027-144038 (2023).
 72. Bhupathi, P., Elhassan A-Elgadir, T. M., Mohammed Ali, R. H., Sanaan Jabbar, H., Gulnoza, D., Joshi, S., Kadhem Abid, M., Ahmed Said, E., Alawadi, A., Alsaalamy, A., Fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based sensor for detection of foodborne pathogenic bacteria: A review. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **2**, 1-18 (2023).
 73. Kweon, S.Y., Park, J.P., Park, C.Y., Park, T.J., Graphene oxide-mediated fluorometric aptasensor for okadaic acid detection. *Biochip J.*, **16**, 207-213 (2022).
 74. Gu, H., Duan, N., Xia, Y., Hun, X., Wang, H., Wang, Z., Magnetic separation-based multiple SELEX for effectively selecting aptamers against saxitoxin, domoic acid, and tetrodotoxin. *J. Agric. Food Chem.*, **66**, 9801-9809 (2018).
 75. Park, J.A., Kwon, N., Park, E., Kim, Y., Jang, H., Min, J., Lee, T., Electrochemical biosensor with aptamer/porous platinum nanoparticle on round-type micro-gap electrode for saxitoxin detection in fresh water. *Biosens. Bioelectron.*, **210**, 114300-114308 (2022).
 76. Rhouati, A., Zourob, M., Development of a multiplexed electrochemical aptasensor for the detection of cyanotoxins. *Biosensors*, **14**, 268-280 (2024).
 77. Ramalingam, S., Hayward, G. L., Singh, A., A reusable QCR aptasensor for the detection of brevetoxin-2 in shellfish. *Talanta*, **233**, 122503-122510 (2021).
 78. Wei, W., Wu, J., Hassan, M.M., Jiao, T., Xu, Y., Ding, Z., Li, H., Chen, Q., Generalized ratiometric surface-enhanced Raman scattering biosensor for okadaic acid in food based on Au-triggered signal amplification. *Anal. Chim. Acta*, **1310**, 342705-342714 (2024).
 79. Sequeira-Antunes, B., Ferreira, H.A., Nucleic acid aptamer-based biosensors: a review. *Biomedicines*, **11**, 3201-3223 (2023).
 80. Kim, T.H., Cho, C.H., Kweon, S.Y., Kim, S.M., Kailasa, S. K., Park, J.P., Park, C.Y., Park, T.J., Development of fluorometric detection for saxitoxin with its specific binding peptide. *Sens. Diagn.*, **3**, 301-308 (2024).
 81. Kim, S.M., Xu, P., Hyun, M.S., Park, J.P., Park, C.Y., Park, T. J., Development of an electrochemical biosensor for tetrodotoxin using specific binding peptide on polypyrrole/Au nanoparticle-modified electrodes. *Biochip J.*, **18**, 495-504 (2024).
 82. Liu, B., Chen, L., Zhu, Y., Zhao, X., Wang, H., Wang, S., A novel screening on the specific peptides by molecular simulation and development of the highly-sensitive electrochemical sensor for saxitoxin. *Microchem. J.*, **200**, 110432-110438 (2024).
 83. Hendrickson, O.D., Zvereva, E.A., Panferov, V.G., Solopova, O.N., Zherdev, A.V., Sveshnikov, P.G., Dzantiev, B.B., Application of Au@Pt nanozyme as enhancing label for the sensitive lateral flow immunoassay of okadaic acid. *Biosensors*, **12**, 1137-1151 (2022).
 84. Samdal, I.A., Løvberg, K.E., Kristoffersen, A.B., Briggs, L. R., Kilcoyne, J., Forsyth, C.J., Miles, C.O., A practical ELISA for azaspiracids in shellfish via development of a new plate-coating antigen. *J. Agric. Food Chem.*, **67**, 2369-2376 (2019).
 85. Leonardo, S., Rambla-Alegre, M., Samdal, I.A., Miles, C.O., Kilcoyne, J., Diogène, J., O'Sullivan, C.K., Campàs, M., Immunorecognition magnetic supports for the development of an electrochemical immunoassay for azaspiracid detection in mussels. *Biosens. Bioelectron.*, **92**, 200-206 (2017).
 86. Shan, W., Chen, K., Sun, J., Liu, R., Xu, W., Shao, B., Mismatched duplexed aptamer-isothermal amplification-based nucleic acid-nanoflower for fluorescent detection of okadaic acid. *Food Chem.*, **424**, 136374-136382 (2023).
 87. Ullah, N., Noureen, B., Tian, Y., Du, L., Chen, W., Wu, C., Label-free detection of saxitoxin with field-effect device-based biosensor. *Nanomaterials*, **12**, 1505-1516 (2022).
 88. Cho, C.H., Kim, J.H., Padalkar, N.S., Reddy, Y.V.M., Park, T.J., Park, J.Y., Park, J.P., Nanozyme-assisted molecularly imprinted polymer-based indirect competitive ELISA for the detection of marine biotoxin. *Biosens. Bioelectron.*, **255**, 116269-116279 (2024).