

이식형 혈당 센서의 생리활성 물질에 의한 방해 효과를 제거하기 위한 새로운 효소고정법 개발

○ 정택동, 김희찬

서울대학교 의학연구원 의용생체공학연구소, 서울대학교 의과대학 의공학교실

Development of Enzyme Immobilization Method to Remove Interference by Physiological Chemicals for Implantable Glucose Sensors

○ T. D. Chung, and H. C. Kim

Institute of Medical and Biological Engineering, Medical Research Center,
and Department of Biomedical Engineering, Seoul National University

ABSTRACT

A new method for enzyme immobilization has been developed to remove interference by potential interferents in body fluids. Instead of using electron mediators, we chose direct hydrogen peroxide measurement route. Extremely hydrogen peroxide-selective polymer was coated as an inner membrane to exclude interferents and then glucose oxidase(GOx) was entrapped by electropolymerization of inert monomers. There was no solvent casting step throughout the whole fabrication procedure but all membranes on Pt-Ir electrode were formed by electropolymerization. Thus, membrane thickness, quantity of enzyme loaded and can be controlled by electrochemical parameters. As a result, reproducibility of biosensor characteristics becomes remarkably improved in terms of mass production.

서론

기계식 인공체장은 크게 체내 혈당 정보를 제공하는 혈당 센서와 이를 바탕으로 지능적으로 작동하는 인슐린 펌프의 두 부분으로 구성된다. 외부로부터의 인슐린 주입은 결국 혈중 포도당 농도에 대한 정보를 바탕으로 시행되는 것이므로, 이 정보가 시간마다 정확히 주어지지 않는다면 인슐린 펌프를 통한 인위적인 혈당 조절은 매우 불안정하며 위험하기까지 하다. 이런 목적으로 사용되는 센서는 늘 신체에 부착하고 다닐 수 있어야 하고, 그러면서도 장시간동안 최소한의 제한된 보정(calibration)만으로 혈당의 정상치와 고/저혈당치를 분명히 구별해 줄 수 있는 수준의 정밀도(precision)와 정확도(accuracy)를 가져야만 한다. 지금까지 체내 삽입형 센서로서 *in vivo* 측정에 적합하다고 인정되는 방

법으로 미세투석(microdialysis) 측정법과 이식형 전류측정형 센서(implantable miniaturized amperometric sensor)를 이용하는 방법이 있는데, 그중 인공체장의 실제 사용환경을 고려하여 후자가 가장 널리 개발 추진중인 방법이다.

전류 측정형 센서의 개발은, 현재 임상실험 단계에 이르러 상용화를 얼마 남겨두고 있지 않다. 가장 상용화에 가까운 센서가 극복하지 못한 기본적인 면서도 중요한 과제는 제작에 따른 재현성 및 성능 조절의 용이성 여부이다. 실험실에서 만들어진 바이오센서는 필요한 성능을 거의 만족시키지만, 상품으로서 양산될 경우 똑같은 공정을 통해 생산되었음에도 불구하고 성능의 편차가 매우 크기 마련이다.[1] 따라서, 상품화했을 때 실제 제작 비용은 훨씬 들기 마련이고 백금을 사용해야 하는 대부분의 바이오센서에서는 심각한 문제이다. 본 논문에서는 현재 가장 상품화에 근접했다고 인정되는 전류측정형 혈당 센서를 바탕으로 체액 내 생리활성물질들의 방해효과를 제거하면서 성능의 재현성을 향상시킬 수 있는 새로운 센서 제작과정에 대하여 기술하기로 한다.

본론

효소 고정을 이용한 전류측정형 혈당 센서는 크게 O_2 측정식과 H_2O_2 측정식으로 분류된다. H_2O_2 측정식은 일정 농도 이상의 산소를 필요로 한다는 단점이 있어서 O_2 측정식이 제안되었으나, H_2O_2 측정식에 비하여 효소가 없는 동일한 전극이 별도로 필요하다는 점과, 이식형의 경우 전류 크기가 nA 수준에 불과하므로 필요한 산소 농도가 극히 미소하고 정확도에 문제가 발생할 확률이 높으며, 몇가지 화학적인 처리를 통해 H_2O_2 측정식도 체액내 산소 농도의 변화에 의존하지 않게 할 수 있음이 알려지면서 H_2O_2 측정식이 또다시 각광을 받고 있다. H_2O_2 측정식의 또다른 문제인 체액 내 산화 가능 물질들, 예를 들면, 아스코르브산(ascorbic acid), 아

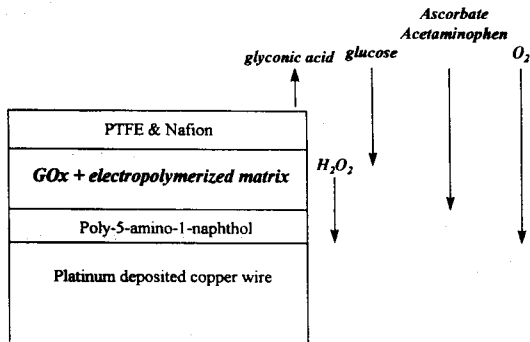


그림 1. 감응부의 화학적 단면도와 화학종의 투과

세트아미노펜(acetaminophen), 요산(uric acid) 등의 방해 효과는 전자전달체를 효소와 함께 넣거나 선택성이 뛰어난 내부막을 전극 표면에 입혀 H₂O₂ 만에 의한 전류를 측정함으로써 해결할 수 있다. 그러나, 전자전달체를 사용하는 경우 장시간 작동 시 활성도가 급격히 떨어져 감도(sensitivity)를 저하시키고 독성의 문제가 있어 이식형 혈당센서의 구조로는 내부막을 사용하는 방법이 최선이라고 판단된다. 문제는 내부막과 효소 층의 두께, 고정된 효소량을 얼마나 재현성있게 만들 수 있는냐이다. 그 방법으로서 전기화학적 고분자합성법의 이용을 제안할 수 있다[2,3]. 그림 1은 본 센서의 화학적 구조이다. 일단 전기화학적으로 내부막을 형성시킨 후, 또다시 단위체와 효소가 녹아 있는 용액에서 마찬가지로 방법으로 고분자를 형성시킨다. 이때, 흐른 전하량을 조절함으로써 고분자막의 두께와 고정되는 효소의 양을 미세하게 조절할 수 있다. 그림 2는 이미 형성된 내부막위에서 1,3-polyphenylene diamine이 약간의 전압차를 두고 마찬가지로 고분

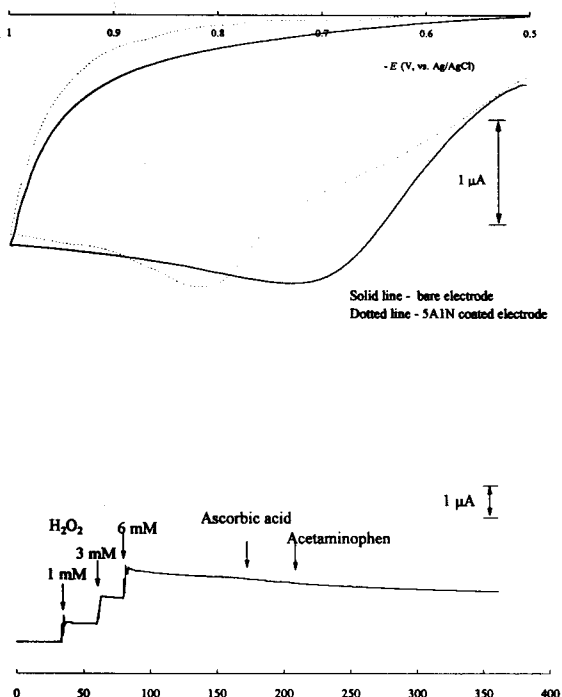


그림 3. 내부막(좌)과 내부막+PPD(우)의 감응 비교

자화 될 수 있음을 보여준다. 이렇게 제작된 센서는 내부막만 있는 것보다 오히려 H₂O₂ 에 대해 더 민감하게 반응한다(그림 3). 포도당에 대한 감응은 이식형 센서에 필요한 충분한 감도와 거의 완벽하게 제거된 방해 효과를 나타낸다(표 1, 2). 뿐만 아니라, 10개 이상의 동일한 센서를 제작하여 실험하여도 무시할만한 성능편차를 보인다.

항 목	결 과
바탕 전류	4.1 nA/mm ²
단위 전극 면적당 감도	6.7 nA/mM
감응 시간 (T ₉₀ %)	8-12 sec
선형응답구간	1 - 30 mM
정상작동 기간	over a month (<5%)*

표 1. 센서 성능 검사 결과.

*PBS에서 1개월 보관후 감도 변화

방해 물질	상대적인 영향
Ascorbic acid	< 0.7 %
Uric acid	not detected
Urea	not detected
Acetaminophen	< 1 %
L-Cysteine	not detected

표 2. 생리학적 최고 존재량의 방해물질이 공존했을 때 5.5 mM의 당 농도에 의한 센서의 신호가 영향받는 비율.

결 론

내부막 형성과 효소 고정 과정에 전기화학적 고분자 합성법을 적용함으로써 모든 제작과정이 전기화학적 조절을 통해 이루어지도록 하였다. 그 결과, 기존의 고분자 도포에 의한 방법보다 방해 효과는 더 줄이면서도 혈당 센서로서의 모든 성능이 향상됨과 아울러 바이오센서의 상용화에 따른 고질적인 문제점인 성능의 재현성 문제를 해결할 수 있는 방법을 제시하였다.

참고문헌

- [1] M. Alvarez-Icaza *et al.* *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 525A.
- [2] P. N. Bartlett *et al.* *J. Electroanal. Chem.* **1993**, *362*, 1.
- [3] S. Cosnier *et al.* *Electroanalysis* **1997**, *9*, 894.

