

광섬유 생물센서에 의한 혈액 중 포도당 및 젖산 모니터링

손옥재^{1,3}, 김진희⁴, 임용식^{1,3}, 서국화^{1,3}, 정상윤^{1,3}, 이종일^{2,3}

전남대학교, 물질·생물화학공학과¹, 응용화학공학부², 생물공정기술연구실³, 동아병원⁴
전화(062)530-0847, FAX(062)530-1847

Abstract

In this work fiber-optic biosensor that has been used in medical applications was developed. And we can monitored the concentration of glucose and lactate in blood sample by using developed fiber-optic glucose and lactate sensor. Glucose oxidase(GOD) and Lactate oxidase(LOD) were immobilized by using acrylamide adhesive and zeolite on the tip of the optic fiber.

서 론

광섬유 센서는 기존의 전자소자대신에 빛을 이용하여 측정하고 측정정보를 빛으로 전달하므로 전자기 잡음이 발생하지 않는 장점이 있다. 그리고 높은 선택성, 민감도 등의 특징으로 의료용 진단기기분야에서 개발 및 이용이 부각되고 있다. 현재 대부분 임상적으로 체내 포도당, 젖산, 콜린 그리고 콜레스테롤의 함유량을 분석하기 위해 혈액 등의 sample을 채취하여 분석하고 있다. 그러나 포도당 등은 신체 내 주요 대사물질이므로 혈중농도를 빠른 시간 내에 측정 하는 것은 당뇨병 환자의 진단 및 치료에 매우 중요하다. 또한 젖산을 실시간으로 모니터링 함으로써 신체활동의 혈중 산소 전달량이나 피로정도를 알 수 있으며, 콜레스테롤의 양은 신체 내 지질대사현상의 이상 유무를 판단하는 주요 수단이 된다. 본 연구에 앞서 산소가 형광발색물질과 반응할 때 빛을 흡수, 발광하는 특성을 이용하여 광섬유에 형광발색물질을 고정화한 광섬유 산소센서를 제작하였다. 따라서 본 연구에서는 광섬유 산소센서 말단에 포도당과 젖산 산화효소를 고정화하여 광섬유 생물센서를 개발하였다. 또한 개발된 포도당 센서와 젖산 센서를 사용하여 혈액 중 포도당과 젖산의 농도를 모니터링 하였다.

재료 및 방법

1) 기기구성

본 연구에서는 600 μm 의 광섬유에 두께 200 μm 의 검은색 고분자 막으로 피복되어

있는 optic fiber를 사용하였다. Optic fiber에 의하여 받아들이는 광학신호는 MOPS (COMTE사, 독일)의 검출기를 이용하여 광학신호를 전기적 신호로 변환하였고, 검출기의 데이터 및 결과분석을 위해 컴퓨터 소프트웨어 (LABTECH NOTEBOOK, labtech사)를 사용하였다. 산소센서는 Fig. 1과 같이 optic fiber 말단에서 산소분자와 반응할 때 형광을 발생시키는 형광발색물질인 Ruthenium(II)-complex를 고정화시킨 후 검정색 실리콘과 톨루엔으로 피막을 형성하여 외부 빛을 차단하였다. 한편, 광섬유 포도당센서를 제작하기 위해 acrylamide adhesive, zeolite를 사용하여 GOD를 광섬유 산소센서 말단에 고정화 하였다.

2) 측정 원리

산소전극을 이용하여 glucose 농도를 측정하는 연구가 광범위하게 수행되었는데, 혈액 중에 포도당과 젖산은 각각 GOD와 LOD 그리고 산소분자에 의해 산화되면서 결과적으로 혈액 중 산소농도가 감소하게 된다.

광섬유 산소센서 말단에 고정화된 형광물질(Tris(2,2'-bipyridine) ruthenium(II)-chloride (RuBPY))은 excitation 470 nm/ emission 580 nm에서 형광을 발하며 산소 농도의 증가에 따라 형광세기는 감소한다. 이러한 형광물질의 특성을 이용하여 감소된 산소량을 모니터링 함으로써 포도당과 젖산의 농도를 알 수 있다.

3) 효소의 고정화

GOD와 LOD의 고정화는 acrylamide adhesive를 사용한 공유결합과 zeolite를 이용한 흡착에 의해 광섬유 말단에 고정화하였다. 효소용액은 phosphate buffer(pH 7, 1 M)를 사용하여 준비하였다. 고정화 된 광섬유 생물센서는 phosphate buffer(pH 7, 0.1 M)로 세척한 후 냉장보관(4 °C)하였다.

결과 및 고찰

광섬유 산소센서 말단에 GOD 및 LOD를 고정화 하기 위해 공유결합법 및 zeolite를 이용한 효소 흡착법을 사용하고, 포도당 센서와 젖산 센서를 개발하였다. 그리고 각각의 고정화 방법에 의해 고정화된 효소의 활성 및 안정성을 테스트하기 위해 분석 시료를 수십 회 반복 측정하여 생물센서의 안정성, 오차범위를 조사하고 또한 장시간 온라인 모니터링 하여 센서의 내구성 등을 조사하였다. 그리고 혈액 중 포도당과 젖산의 모니터링을 위해 선형 영역의 검정곡선을 조사하였다. Acrylamide adhesive를 사용한 공유결합법에 의한 광섬유 생물센서는 검출가능 영역이 낮은 농도에 국한되었다. 반면에 Acrylamide adhesive와 zeolite를 사용하여 제작한 광섬유 생물센서는 넓은

영역에서 검출 가능함을 보였다. GOD 및 LOD가 고정화된 광섬유 생물센서는 제작 후 0.1 M phosphate용액에 담귀 4 °C 냉장보관 하였을 때 약 4주 동안은 효소의 활성 저하를 볼 수 없었으나 그 이후로는 활성의 감소를 조금씩 보였다. 또한 온도에 대한 특성을 살펴본 결과 낮은 온도(실온)에서 보다는 35 °C 부근에서 더 활성이 높았다.

요약 및 전망

본 연구에서는 인체 내 포도당, 젖산, 콜레스테롤 및 콜린을 모니터링하기 위해 산화효소의 고정화 기술을 개발하였다. 그리고 개발된 효소 고정화 방법을 이용하여 광섬유 포도당 센서와 광섬유 젖산 센서를 제작하고 혈액 중 포도당과 젖산을 검출하였다. 향후 광섬유 포도당 및 젖산 센서 외 콜레스테롤 및 콜린 센서를 개발하고 혈액 중, 콜레스테롤 및 콜린의 모니터링 기술을 개발하고자 한다.

감 사

본 연구는 2002년 보건복지부 의료공학 융합 기술 개발사업(과제번호 02-PJ3-PG3-31401-0001)에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Aravind. S, S. J. Kennel, P. I. Oden, K. B. Jacobson, J. Woodward, M. J. Doktycz (1999), *Enzyme and Microbial Technology*, **24**:26-34.
2. Stefan. M, C. Lindemann, R. Ulber and Thomas Scheper (1999), *Trends in Biotechnology*, **17**:30-34.
3. 이종일, A. Comte, L. T. Hung, and 김준홍 (2000), "Fiber optic 산소센서를 이용한 생물공정의 모니터링", *한국생물공학회지*, **2000**년도 춘계학술발표대회
4. Bambang. K, R. Andres and R. Narayanswamy (2001) *The Royal Society of Chemistry*, **126**:1469-1491.
5. Brian E (1996), *Biosensors An Introduction*, John Wiley & Sons, New York.