



## 병원성미생물 및 유해물질 검출을 위한 PDA 센서

임민철·김영록\*

경희대학교 생명자원과학연구원 및 식품생명공학과

### PDA Sensors for the Detection of Pathogenic Bacteria and Hazardous Substances

Min-Cheol Lim and Young-Rok Kim\*

*Institute of Life Sciences and Resources and Department of Food Science and Biotechnology,  
College of Life Sciences, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea*

#### ABSTRACT

The increasing number of analytes in concern and the alarming health and environmental consequences have required effective means of monitoring for safety control. Biosensors offer advantages as alternatives to conventional analytical methods because of their inherent specificity, simplicity, and quick response. Colorimetric biosensor, one of biosensor group, is one of the easiest and the most convenient methods because detection can be done using naked eye. Recently, a novel method for rapid detection and read-out of specific immunoassays with naked eye using polydiacetylene (PDA) was developed. Polydiacetylene has recently been in the limelight as a transducing materials because of its special features that allow optical transduction of sensory signals and inherent simplicity and ease of use in supramolecular chemistry. Various forms of PDA are used as a sensor platform for detection of various biological analytes such as viruses, DNA, proteins, bacteria and hazardous molecules.

Keywords : polydiacetylene, biosensor, bacteria, pathogen

#### 서론

개인의 건강과 환경을 위협하는 표적 물질들의 수가 지속적으로 증가함에 따라, 그 물질들을 효과적으로 모니터링할 수 있는 방법들이 요구되어지고 있다. 바이오센서(biosensor)는 특이적이고 신속하며 간단한 방법으로 기존의 분석방법들을 대체할 기술로 각광을 받고 있다(Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2005). 하지만, 바이오센서는 표적 바이오 물질 인식(recognition)을 신호(signal)로 변환(transduction)시켜주는 중간 단계가 반드시 필요로 하다. 그래서 전기화학적(electrochemical), 전기

적(electrical), 광학적(optical), 열적(thermal) 신호 전환 방식 등과 같은 단계를 거치게 된다. 그 중에서도 비색형 바이오센서(colorimetric biosensor)의 경우, 신호 전환 방식이 가장 단순하고 눈으로 결과를 확인할 수 있다는 장점을 가지고 있다(Storhoff *et al.*, 1998).

최근에 비색형 바이오센서의 하나로 PDA(polydiacetylene)를 이용하여 표적 물질을 검출하는 방법에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다(Reppy과 Pindzola, 2007). PDA는 자가조립(self-assembly)을 통해 고체평면에 단일층(monolayer)으로 형성하기 용이하고, 양친매성(amphiphilic) 성질로 인해 수용액상에서 콜로이드(colloid) 형태로 분산시킬 수 있다. 그리고 PDA를 구성하는 단량체(monomer)의 말단을 화학반응을 통해 다양한 종류의 항체(antibody)나 리간드(ligand)로 기능화(functionalization)할 수 있다. 또한, 수용액상에서 콜로이드

\* Corresponding author: Young-Rok Kim, Institute of Life Sciences and Resources & Department of Food Science and Biotechnology, College of Life Sciences, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea. Tel: +82-31-201-3830, Fax: +82-31-204-8116, E-mail: youngkim@khu.ac.kr

형태로 존재하는 vesicle은 지질막(lipid membrane)을 모사한 형태이므로 다른 종류의 지질과 혼합하여 만들 수 있다는 장점을 가지고 있다(Yoon *et al.*, 2009).

PDA 센서는 앞서 설명한 바와 같이, 다양한 종류의 리간드와 지질들을 PDA에 기능화하거나, 혼합할 수 있으므로 넓은 범위의 표적 물질을 검출할 수 있다. 또한, PDA 센서와 같은 비색형 바이오센서는 간단한 방법으로 결과를 확인할 수 있다는 장점으로 인해 현장 진단형 시스템에 도입될 수 있다. 그중에서도, 여러 산업현장이나 환경의 모니터링에서 보다 식품산업에서 이와 같은 바이오센서의 도입이 필요한 이유는 다양하고 복잡한 경로를 거치는 식품산업에서 미생물과 유해물질을 관리한다는 것은 어려운 일이면서 동시에 반드시 선행되어야 하는 일이기 때문이다.

따라서 본고에서는 PDA 센서의 원리와 개발된 PDA 센서의 형태에 대해서 알아보고, 최근 연구 개발된 미생물 검출용 PDA 센서와 유해물질 검출용 PDA 센서의 사례를 식품산업에의 응용 관점에서 살펴보고자 한다.

## 본 론

### 1. PDA 센서의 원리

PDA(polydiacetylene)는 유용한 광학적 특성을 가지는 공액고분자(conjugated polymer)로 생체물질을 검출하는 기반 물질로 다양하게 이용되고 있다. PDA는 공액 고분자의 자가조립시스템(self-assembled system)을 통해 쉽게 형성될 수 있으며, 추가적인 화학반응을 통해 표면을 기능화(functionalization)하는 과정을 진행하여 원하는 물질을 PDA 표면에 형성시킬 수 있다(Kolusheva *et al.*, 2000). 그리고 형성된 PDA vesicle과 외부자극간의 반응 혹은 PDA vesicle 표면에 기능화된 탐침(probe)과 표적 물질간의 결합에 의한 색 변화로 표적물질을 정성적 및 정량적으로 검출이 가능하다(Guo *et al.*, 2005).

### 1) 다이아세틸렌(Diacetylene)의 구조와 중합과정(Polymerization)에 의한 PDA 형성

PDA는 자가조립된 다이아세틸렌(diacetylene)들의 광중합(photopolymerization) 과정을 통한 1,4-첨가 반응을 거쳐 형성된다. 다이아세틸렌(diacetylene)의 구조는 두 개의 아세틸렌기가 결합된 형태로 단일결합과 삼중결합이 교대로 존재하는 형태이다(Fig. 1). 자가조립을 통해 정렬된 다이아세틸렌들이 자외선 조사를 통해 중합과정을 거치게 되면, 고분자의 주쇄에 삼중결합과 이중결합이 교대로 존재하는 PDA가 형성된다(Kim *et al.*, 2006). 그리고 광중합과정을 거치게 되면 구조적 안정성이 향상되어, 열적(thermal), 물리적 자극(mechanical stress)에 대한 안정성(stability) 또한 향상된다

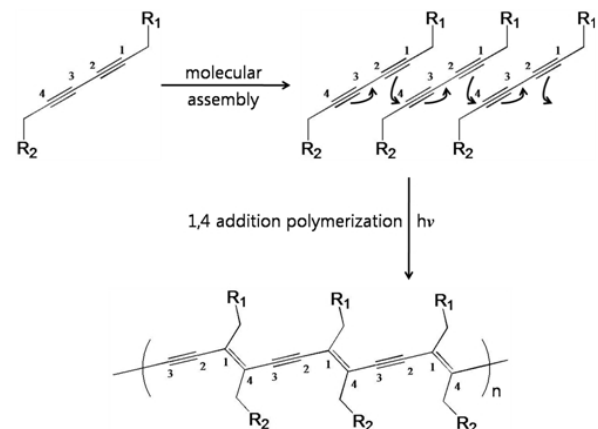


Fig. 1. Schematic representation of photopolymerization of diacetylenes by UV irradiation.

(Sheth와 Leckband, 1997). 특히, 다이아세틸렌(diacetylene)을 이용한 PDA의 형성은 광촉매를 통해서 가능하기 때문에 다른 화학적 촉매제 혹은 개시제가 요구되지 되지 않는 장점을 가진다(Yoon *et al.*, 2009).

### 2) PDA의 광학적 특성

양친매성(amphiphilic)인 다이아세틸렌(diacetylene)은 초음파처리를 통해 수용액상 콜로이드(colloid) 형태로 분산될 수 있다(Okada *et al.*, 1998). 수용액상에서 분산된 후 광중합과정을 통해 형성된 PDA vesicle은 특유의 푸른색을 나타낸다. 그리고 온도, pH, 물리적 스트레스와 같은 외부의 자극에 의해서 PDA vesicle의 안정성(stability)에 변화가 생기면 붉은색을 나타내게 된다(Fig. 2). 이런 광학적 특성이 PDA가 센

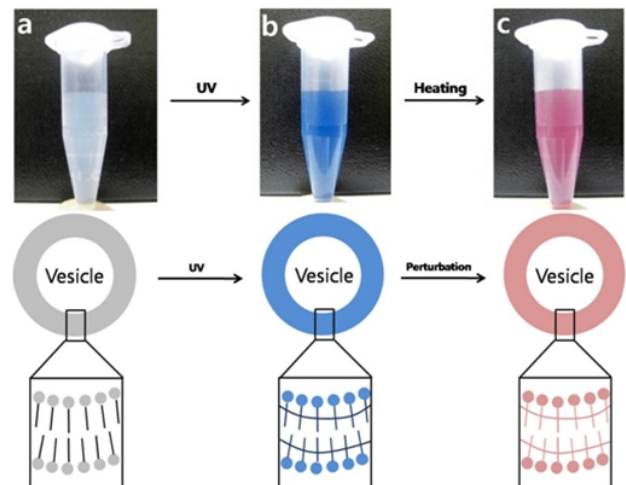


Fig. 2. Color transitions of PDA vesicles solution from blue to red induced by heating. (a) Prepared PDA vesicle solution, (b) Blue-colored PDA vesicle solution by photopolymerization, and (c) Red-colored PDA vesicle solution by heating.

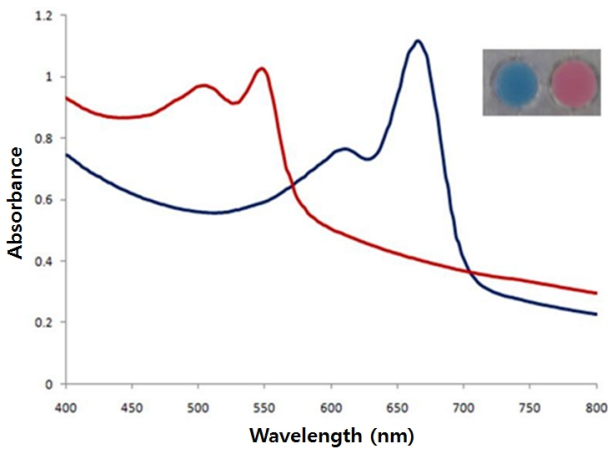


Fig. 3. UV-vis adsorption spectra of the blue and red colors of the PDA vesicle solution.

서로써 많이 이용되고 있는 주된 이유 중 하나이기도 하다. PDA vesicle은 수용액상에서 약 650 nm에서 최대 흡수파장을 지니며, 붉은색으로 변한 경우에는 약 550 nm에서 최대 흡수파장을 지닌다(Fig. 3). 즉, 흡광도 측정법을 통하여 PDA vesicle의 색 전이(color transition) 유무와 정도를 판단하게 되고, 그 결과로 정성적, 정량적 검출이 가능하게 되는 것이다. PDA vesicle은 외부 자극에 의해 푸른색에서 붉은색으로의 색 전이(color transition) 현상을 보이기도 하지만, 붉은색을 띄는 경우에만 붉은 형광을 발산하는 특징을 가지고 있기도 하다. 그래서 PDA vesicle의 구조적 안정성의 변화를 광학적인 색 변화를 확인함으로써 판단하기도 하지만 경우에 따라서 붉은 형광을 관찰함으로써 PDA vesicle의 안정성 변화를 판단할 수도 있다(Shim *et al.*, 2004).

예를 들어, PDA vesicle을 화학적 반응을 통해 유리 표면에 고정화 시키고 열처리를 한 경우는 붉은 형광을 발산하는 것을 확인할 수 있다(Fig. 4c). 하지만 PDA vesicle이 화학적 반응 없이 비특이적(non-specific)으로 유리 표면에 결합된 경우는 상대적으로 낮은 강도의 붉은 형광이 발산되는 것을 확인할 수 있다(Fig. 4b).

## 2. PDA 센서의 형태 및 활용분야

PDA 센서는 다이아세틸렌(diacetylene) 분자를 정렬시키거나 고체 표면에 고정화시키는 방법에 따라 다양한 형태로 제작될 수 있으며, 그 형태로 인해 적용될 수 있는 센서 분야가 나뉘지기도 한다. 따라서 PDA로 제작 가능한 센서의 형태 및 최근 개발 동향에 대해서 알아보고, 그 PDA를 센서로서의 활용분야에 대해서 살펴보겠다.

### 1) PDA 센서의 형태

자가조립된(self-assembled) PDA는 다양한 방법으로 제작할 수 있으며, 그 방법은 크게 다섯 가지로 분류할 수 있다. Langmuir(LB와 LS), 자가조립단분자층(SAM, Self-assembled monolayer), 다층 코팅(multilayer coatings), 콜로이드(colloids), 그리고 고정화된 콜로이드(immobilized colloids) 방법이 주로 사용되는 다섯 가지 PDA 제작법이다(Reppy와 Pindzola, 2007). Langmuir 기반의 제작방법은 고체 기판 위에 필름 형태의 제작이 용이하며(Wang *et al.*, 2000), 자가조립단분자층(Batchelder *et al.*, 1994)과 다층 코팅(Kuo와 O'Brien, 1990) 역시 고체 기판 위에 형성하기 쉬운 방법이다. 그리고 콜로이드 형태(Peek *et al.*, 1994)는 기존의 방법과 달리 수용액상에 PDA vesicle이 분산되어 존재하고, 그렇게 형성된 콜로

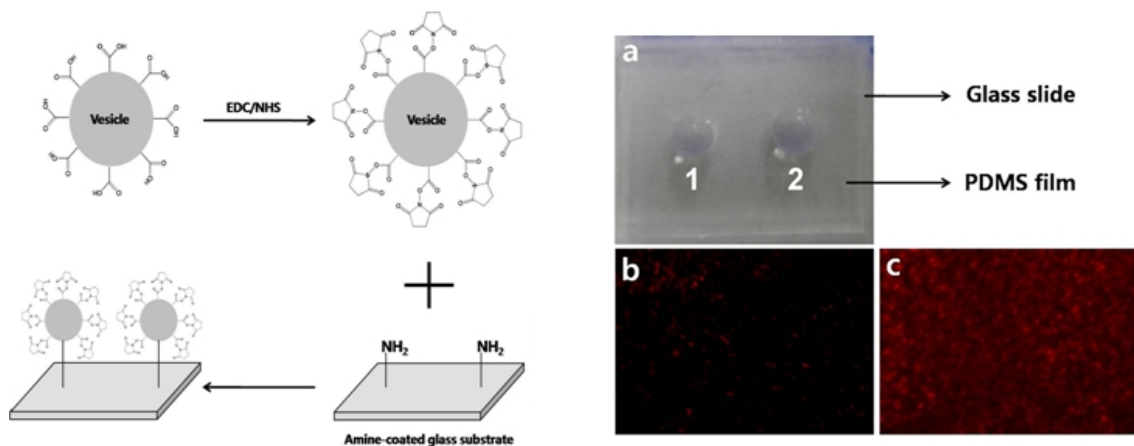


Fig. 4. Schematic representation of PDA vesicle immobilization onto solid surface via chemical linking and PDA vesicle immobilized glass chip. (a) Reaction areas made on PDMS film with circular opening, (b) Fluorescence image of the negative control after heating, and (c) Fluorescence image of the positive control after heating.

이드를 고체 표면에 고정화시키는 방법(Kim *et al.*, 2005)이 이용되고 있다.

기존의 다섯 가지 PDA 제작방법 외에도 새로운 개념의 PDA 센서가 최근 들어 보고되고 있다. 먼저, 콜로이드 형태의 PDA vesicle 혹은 고체 표면에 고정화된 PDA vesicle로 구분되어 연구된 것에서 PDA vesicle을 마이크로 사이즈의 실리카 비드(silica bead)에 고정화하여 수용액상에 재분산된 형태가 보고되었다(Lim *et al.*, 2011). PDA vesicle과 폴리비닐알콜(PVA, poly(vinyl alcohol))을 함께 수용액상에서 혼합한 후 건조과정을 거쳐 PDA vesicle을 함유한 PVA 필름을 제작하였다(Kim *et al.*, 2006). 또한, 전기방사(electrospinning)의 원리를 이용하여 PDA가 함유된 미세섬유의 제작 및 센서 응용이 보고되었다(Yoon *et al.*, 2007).

## 2) PDA 센서의 활용 분야

먼저, PDA를 센서로 활용하기 위해서는 PDA의 안정성 변화로 유발된 색 변화 혹은 붉은 형광의 발산을 감지하는 과정이 필요하다. PDA 기반의 센서에서 표적 물질을 검출하는 방법은 크게 세 가지로 나눌 수 있다. PDA vesicle의 푸른색에서 붉은색으로의 색 변화를 흡광도로 측정하는 방법(Jelinek *et al.*, 2001), 표적 물질 감지 후 발산하는 붉은색 형광을 확인하는 방법(Park *et al.*, 2008), 그리고 변화된 색 변화를 디지털 이미지화하여 소프트웨어 방식의 RGB 분석법에 의해 확인하는 방법이 보고되었다(Lim *et al.*, 2011).

위와 같은 PDA 기반의 검출 방법들을 이용하여 보고된 센서의 활용 예로는, PDA vesicle 표면에 고정화시킨 항체와 표적 항원간의 반응을 기반으로 한 센서가 개발되었으며(Xia *et al.*, 2010), PDA 표면에 바이러스를 인식하는 기능을 활성화하여 LB 필름으로 제작된 센서에서 바이러스에 노출 시 푸른색에서 붉은색으로 색 전이가 유발됨이 보고되었다(Charych *et al.*, 1993). 또한, 마이크로 사이즈의 실리카 비드에 PDA vesicle을 고정화하고 민감도가 향상된 단백질 검출 센서가 보고되었다(Lim *et al.*, 2011). 그리고 사이클로덱스트린(cyclodextrin)에 의한 PDA 색 전이 현상이 보고되었다(Eo *et al.*, 2008). PDA 표면에 단일가닥의 DNA를 고정시키고 표적 DNA와 결합하였을 때 색 전이가 유도되어 표적 DNA를 검출하는 방법이 개발되었다(Wang과 Ma, 2005). 이와 같이 다양한 형태의 PDA 센서가 보고되었으며, 그 중에서 미생물 검출과 관련된 연구들에 대해서 알아보도록 하겠다.

## 3. 미생물 및 유해물질 검출용 PDA 센서의 개발 동향

식품의 생산에서부터 최종 소비될 때까지, 다양한 환경으로부터 식품의 안전성을 확보하기 위해 관리해야할 점들이 매우 다양하다. 특히, 식품에 포함되어 있을 수 있는 병

원성 미생물과 잔류 독소를 검출하는 방법들이 개발되어 현재 이용되고 있다. 그 방법들에는 가장 일반적인 PCR(polymerase chain reaction)법과 선택배지배양법, ELISA(enzyme linked immuno solvent assay)법 및 다양한 기기분석법으로 진행될 수 있다. 하지만 이와 같은 기존의 방법들은 표적 물질의 검출 결과를 판독하는 데까지 장시간이 소요되고, 대부분 실험실에서 이뤄져야 한다는 단점이 있다. 따라서 최근에는 PDA와 같이 광학적인 색 변화 여부로 표적 물질 검출 결과를 판별할 수 있는 센서들의 개발이 활발히 진행되고 있으며, 그 연구결과들에 대해 살펴보도록 하겠다.

### 1) 미생물 검출 PDA 센서

PDA 기반의 미생물 센서는 *Escherichia coli*의 검출에 초점을 두고 진행되었으며, 대부분 표적 *E. coli*와 결합하는 항체 혹은 표적 *E. coli*와 친밀도(affinity)가 높은 당(sugar)으로 기능화되어 있는 PDA를 사용하여 연구되었다. 미생물 검출 센서에서 *E. coli*가 표적 균주로 빈번하게 사용되는 이유는 그것과 결합하는 항체와 다양한 리간드(ligand)들에 대한 보고가 많이 이뤄져 있기 때문이기도 하다(Reppy와 Pindzola, 2007).

PDA 표면에 당지질(glycolipid)을 리간드로 기능화하여 *E. coli*를 검출하는 센서가 보고되었다(Su *et al.*, 2005). 이 연구에서는 PDA vesicle 제작시 당지질 및 인지질(phospholipid)을 삽입하여 표적 균주 검출은 물론 민감도(sensitivity)를 향상시키는 연구를 수행하였다. 이는 광중합 과정을 통해 견고해지는 PDA vesicle에 인지질을 삽입함으로써 PDA vesicle의 유동성(fluidity)을 향상시킴으로써 가능하다.

Silbert(2006) 등은 PDA와 인지질이 혼합된 vesicle을 만들고, Luria-Bertani(LB) agar에 혼합하여 고체 배지를 준비하였다. 그리고 세 가지 균주를 도말하여 콜로니(colony) 형성 전에 균의 생존 유무를 PDA의 색 전이로 확인하는 실험법을 보고하였다. 하지만 정량적인 결과는 얻을 수 없으며, 균주간 식별이 불가능하다는 단점을 가지고 있다.

최근에는 PDA 기반의 미생물 검출 연구가 국내 연구진들에 의해 활발히 진행되었다. 먼저, 콜로이드 형태의 PDA vesicle에 *Cryptosporidium parvum*과 결합하는 항체를 고정화시키고 수용액상에서 색 전이(Colorimetric response, CR%)로 확인하는 연구를 수행하였다(Lee *et al.*, 2007). 이때 표적 균주의 검출 범위는  $10^5 \sim 10^7$  CFU/mL이다.

콜로이드 형태의 PDA vesicle을 유리 표면에 고정화 시키고 형광칩(fluorescence chip)으로 제작한 경우, 표적 *Cryptosporidium parvum* 검출 한계가  $10^3$  CFU/mL로 수용액상에서 진행되는 경우 보다 향상될 수 있었다(Park *et al.*, 2008).

PDA vesicle을 유리 표면에 고정화 시키고 형광 검출법에

의해 표적 미생물을 검출하는 경우, PDA vesicle에 삽입된 인지질의 비율에 따른 검출능의 변화를 연구하였다(Kim *et al.*, 2008). 이 연구에서도 광증합을 통해 견고해지는 PDA에 유동성을 주기 위한 목적으로 인지질을 사용하였으며, 삽입된 인지질의 적정 비율을 선정하기 위한 연구를 미생물 검출과 함께 진행하였다.

PDA vesicle로 바이오칩(biochip)을 제작하는 경우, 고체 기판과 화학적 결합을 이룬 단일층을 제외하고 비특이적으로 표면에 존재하는 PDA 층이 샘플처리 등의 과정에서 씻겨나가는 현상을 방지하기 위하여 PDA vesicle 간의 결합을 다이아민(diamine)을 사용하여 진행하였다. 이를 통해 향상된 검출능( $10^2$  CFU/mL)을 가지며, 하나의 칩에서 최대 6개의 균주를 검출할 수 있는 연구 결과가 보고되었다(Park *et al.*, 2009).

PDA 기반의 미생물 검출법을 정리하면, 단순히 PDA의 색이 푸른색에서 붉은색으로 전이되는 정도를 판별하는 법에서 붉은 형광 발산을 확인하는 법으로 진행되었다. 그를 통해 표적 미생물의 검출능을 최대  $10^2$  CFU/mL까지 향상시킬 수 있었다(Table 1). 또한, 수용액상에서 콜로이드 형태의 PDA vesicle에 표적 균주와 특이적으로 결합하는 항체나 리간드(ligand)를 기능화하여 표적 미생물을 검출하는 방법에서 고체 표면에 PDA vesicle을 고정화하여 바이오칩 형태로 제작하는 방식으로 연구가 진행되었다. 최근에는 하나의 칩에서 최대 6종의 균주까지 검출 가능한 PDA 바이오센서가 연구 개발되었다(Park *et al.*, 2009).

2) 기타 유해 물질 검출용 PDA 센서

PDA vesicle을 이용해 미생물 공형성 독소(PFT, pore-forming toxin)를 검출한 연구가 보고되었다(Ma와 Cheng, 2005). 본

연구에서는 streptolysin O(SLO)가 지질막(lipid membrane)을 모사한 PDA vesicle에 삽입되어 PDA vesicle의 안정성에 변화를 주어 붉은색의 색 전이가 유발되는 것을 확인함으로써, SLO의 검출에 성공하였다. 또한, 푸른색에서 붉은색으로의 색 전이 정도와 SLO 농도와의 상관관계를 연구함으로써 100 pM에서 6.3 nM의 농도범위에서 SLO를 검출할 수 있었다.

PDA vesicle을 수용액상에서 분산시키고 *Microcystis* 종으로부터 생산되는 microcystin-LR(MC-LR)을 색 전이 분석법(Colorimetric response, CR%)으로 검출하는 연구가 보고되었다(Xia *et al.*, 2010). MC-LR은 식수의 오염원으로 세계보건기구(WHO, World Health Organization)에서 설정한 관리 프로그램에 의해 관리되어지고 있다. 본 연구에서는 세계보건기구의 MC-LR 관리 조건을 충족하는 1 ng/mL의 검출한계를 보이고 있다.

수용액상에서 그리고 마이크로어레이(microarray)에서 멜라민(melamine)을 검출한 연구가 최근 보고되었다(Lee *et al.*, 2011). 멜라민은 플라스틱 제조공정에서 많이 사용되고 있지만, 잔류량에 따라 급성독성을 나타내기 때문에 세계적으로 관리되고 있는 물질이다. Lee 연구팀은 PDA vesicle을 이용 색 전이 분석법(colorimetric response, CR%) 혹은 붉은 형광 발산 정도를 확인함으로써, 각각 1 ppm과 0.5 ppm의 검출 한계를 가진 센서를 개발하였다.

결론

PDA 기반 센서의 원리 및 응용사례에 대해서 최근의 연구결과들을 통해 알아보았다. PDA는 그 제작의 간편함과 색 전이 특성으로 인해 센서로의 응용에 대해 많은 연구들이 진행되었다. 특히, 색 전이 특성으로 검출 결과를 간단히 확

Table 1. Some examples of PDA sensors for the detection of microorganisms

Microorganisms	Detection methods	Detection limit	Reference
<i>E. coli</i>	Colorimetric response (CR%)	$10^8$ CFU/mL	Su <i>et al.</i> (2005)
<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Bacillus cereus</i>	Color scanner	-	Silbert <i>et al.</i> (2006)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Colorimetric response (CR%)	$10^5$ CFU/mL	Lee <i>et al.</i> (2007)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Fluorescence microscopy	$10^3$ CFU/mL	Park <i>et al.</i> (2008)
<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i>	Fluorescence microscopy	$10^7$ CFU/mL	Kim <i>et al.</i> (2008)
<i>Cryptosporidium parvum</i> , <i>Giardia lamblia</i> , <i>E. coli</i> O157, <i>Shigella flexneri</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Encephalitozoon intestinalis</i>	Fluorescence microscopy	$10^2$ CFU/mL	Park <i>et al.</i> (2009)

인할 수 있다는 장점을 가지고 있으므로 현장 진단과 같이 신속 검출 시스템이 요구되는 곳에 도입될 수 있을 것이라 전망된다.

미생물 검출을 위한 PDA 센서의 연구 동향은 콜로이드 형태의 분산된 PDA vesicle에서 단일 칩에 다양한 균주를 검출할 수 있는 센서칩 형태로 제작되어 연구되어지고 있음을 알 수 있었다. 또한 검출방식으로는 색 전이 정도를 측정하는 방식에서 형광 발산 정도를 관찰하는 방향으로 진행되고 있음을 확인하였다. 그를 통해 좀 더 민감한 센서의 개발이 가능해지고 있다.

더불어, PDA는 지질막을 모사한 형태이므로 다양한 형태의 공형성독소(FPT)를 검출할 수 있을 뿐 아니라, 식품이나 수용액상에 존재하는 멜라민과 같은 기타 유해 물질을 검출할 수 있다. 따라서 세계적으로 연구되어지고 있는 다른 방식의 바이오센서와 더불어 PDA 기반 센서의 연구 개발이 계속될 것이라 기대된다. 이를 통해 미생물 혹은 유해물질의 오염으로 인한 식품산업의 경제적 손실을 원천적으로 줄이고, 더불어 국민의 건강증진에 기여할 수 바이오센서기술로 발전할 수 있을 것이라 예상된다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007586)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

## 참고문헌

- Betchelder, D. N., Evans, S. D., Freeman, T. L., Haussling, L., Ringsdorf, H. and Wolf, H. 1994. Self-assembled monolayers containing polydiacetylenes. *J. Am. Chem. Soc.* 116:1050-1053.
- Charych, D. H., Nagy, J. O., Spevak, W. and Bednarski, M. D. 1993. Direct colorimetric detection of a receptor-ligand interaction by a polymerized bilayer assembly. *Science* 261: 585-588.
- Eo, S. -H., Song, S., Yoon, B. and Kim, J. -M. 2008. A microfluidic conjugated-polymer sensor chip. *Adv. Mater.* 20:1690-1694.
- Guo, C. X., Boullanger, P., Liu, T. and Jiang, L. 2005. Size effect of polydiacetylene vesicles functionalized with glycolipids on their colorimetric detection ability. *J. Phys. Chem. B.* 109:18765-18771.
- Jelinek, R. and Kolusheva, S. 2001. Polymerized lipid vesicles as colorimetric biosensors for biotechnological applications. *Biotechnology Advances* 19:109-118.
- Kim, J. -M., Lee, Y. -B., Chae, S. K. and Ahn, D. J. 2006. Patterned color and fluorescence images with polydiacetylene supramolecules embedded in poly (vinyl alcohol) films. *Adv. Funct. Mater.* 16:2103-2109.
- Kim, J. -M., Lee, Y. -B., Yang, D. H., Lee, J. -S., Lee, G. S. and Ahn, D. J. 2005. A polydiacetylene-based fluorescent sensor chip. *J. Am. Chem. Soc.* 127:17580-17581.
- Kim, K. -W., Choi, H., Lee, G. S., Ahn, D. J. and Oh, M. -K. 2008. Effect of phospholipid insertion on arrayed polydiacetylene biosensors. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 66:213-217.
- Kim, K. -W., Choi, H., Lee, G. S., Ahn, D. J., Kim, J. -M. and Oh, M. -K. 2006. Micro-patterned polydiacetylene vesicle chips for detecting protein-protein interactions. *Macromolecular Research.* 14:483-485.
- Kolusheva, S., Shahal, T., and Jelinek, R. 2000. Peptide-membrane interactions studied by a new phospholipid/polydiacetylene colorimetric vesicle assay. *Biochemistry.* 39:15851-15859.
- Kuo, T. and O'Brien, D. F. 1990. Synthesis and properties of diacetylenic glutamate lipid monomer and polymer: thermochromic polydiacetylene free-standing films. *Macromolecules* 23:3225-3230.
- Lee, J., Jeong, E. J. and Kim, J. 2011. Selective and sensitive detection of melamine by intra/inter liposomal interaction of polydiacetylene liposomes. *Chem. Commun.* 47:358-360.
- Lee, S. W., Kang, C. D., Yang, D. H., Lee, J. -S., Kim, J. -M., Ahn, D. J. and Shim, S. J. 2007. The development of a generic bioanalytical matrix using polydiacetylenes. *Adv. Funct. Mater.* 17:2038-2044.
- Lim, M. -C., Shin, Y. -J., Jeon, T. -J., Kim, H. -Y. and Kim, Y. -R. 2011. Microbead-assisted PDA sensor for the detection of genetically modified organisms. *Anal. Bioanal. Chem.* 400:777-785.
- Ma, G. and Cheng, Q. 2005. Vesicular polydiacetylene sensor for colorimetric signaling of bacterial pore-forming toxin. *Langmuir* 21:6123-6126.
- Okada, S., Peng, S., Spevak, W. and Charych, D. 1998. Color and chromism of polydiacetylene vesicles. *Acc. Chem. Res.* 31:229-239.
- Park, C. H., Kim, J. P., Lee, S. W., Jeon, N. L., Yoo, P. J. and Sim, S. J. 2009. A direct, multiplex biosensor platform for pathogen detection based on cross-linked

- polydiacetylene (PDA) supramolecules. *Adv. Funct. Mater.* 19:3703-3710.
18. Park, C. K., Kang, C. D. and Sim, S. J. 2008. Non-labeled detection of waterborne pathogenic *Cryptosporidium parvum* using polydiacetylene-based fluorescence chip. *Biotechnol. J.* 3:687-693.
  19. Peek, B. M., Callahan, J. H., Namboodiri, K., Singh, A. and Gaber, B. P. 1994. Effect of vesicle size on the polymerization of a diacetylene lipid. *Macromolecules* 27:292-297.
  20. Reppy, M. A. and Pindzola, B. A. 2007. Biosensing with polydiacetylene materials: structure, optical properties and applications. *Chem. Commun.* 42:4317-4338.
  21. Rodriguez-Mozaz, S., Alda, M. J., Marco, M. -P. and Barcelo, D. 2005. Biosensors for environmental monitoring: A global perspective. *Talanta* 65:291-297.
  22. Sheth, S. R. and Leckband, D. E. 1997. Direct force measurements of polymerization-dependent changes in the properties of diacetylene films. *Langmuir*. 13:5652-5662.
  23. Shim, H. Y., Lee, S. H., Ahn, D. J., Ahn, K. -D. and Kim, J. -M. 2004. Micropatterning of diacetylenic liposomes on glass surface. *Materials Science and Engineering C*. 24: 157-161.
  24. Silbert, L., Shlush, I. B., Israel, E., Porgador, A., Kolucheva, S. and Jelinek, R. 2006. Rapid chromatic detection of bacteria by use of a new biomimetic polymer sensor. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:7339-7344.
  25. Storhoff, J. J., Elghanian, R., Mucic, R. C., Mirkin, C. A. and Letsinger, R. L. 1998. One-pot colorimetric differentiation of polynucleotides with single base imperfection using gold nanoparticle probes. *J. Am. Chem. Soc.* 120: 1959-1964.
  26. Su, Y. L., Li, J. R., Jiang, L. and Cao, J. 2005. Biosensor signal amplification of vesicles functionalized with glycolipid for colorimetric detection of *Escherichia coli*. *Journal of Colloid and Interface Science* 284:114-119.
  27. Wang, C. and Ma, Z. 2005. Colorimetric detection of oligonucleotides using a polydiacetylene vesicle sensor. *Anal. Bioanal. Chem.* 382:1708-1710.
  28. Wang, S., Lunn, R., Krafft, M. P. and Lebane, R. M. 2000. One and a half layers? Mixed Langmuir monolayer of 10,12-pentacosadiynoic acid and a semifluorinated teracosane. *Langmuir* 16:2882-2886.
  29. Xia, Y., Deng, J. and Jiang, L. 2010. Simple and highly sensitive detection of hepatotoxin microcystin-LR via colorimetric variation based on polydiacetylene vesicles. *Sensors and Actuators B: Chemical* 145:713-719.
  30. Yoon, J., Chae, S. K. and Kim, J. M. 2007. Colorimetric sensors for volatile organic compounds (VOCs) based on conjugated polymer-embedded electrospun fiber. *J. Am. Chem. Soc.* 129:3038-3039.
  31. Yoon, B., Lee, S. and Kim, J. -M. 2009. Recent conceptual and technological advances in polydiacetylene-based supramolecular chemosensors. *Chem. Soc. Rev.* 38:1958-1968.

(Received 2011.11.7/Revised 2011.11.25/Accepted 2011.11.28)