

# 일회용 스트립형 효소면역센서용 플랫폼의 개발

최지혜<sup>1</sup> · 이승재<sup>2</sup> · 장승철<sup>1,+</sup> · 김경천<sup>2,+</sup>

## Development of Disposable Enzyme-linked Immunosensor Strip Platform

Ji Hye Choi<sup>1</sup>, Seung Jae Yi<sup>2</sup>, Seung-Cheol Chang<sup>1,+</sup>, and Kyung Chun Kim<sup>2,+</sup>

### Abstract

This study introduced the development of a strip type disposable enzyme-linked immunosensor platform for the detection of IgG. Strips of the strip sensor were fabricated by using commercial nitrocellulose filter membranes and a housing holder for the strips was manufactured by using a standard injection molding process for a plastic material. An IgG-urease conjugate was prepared and used for the competitive immune-binding with sample IgG. From the enzymatic reaction between the conjugated urease and urea added, ammonia was generated and caused a localized alkaline pH change on the immobilized antibody band which was coated onto the sensor strips. This pH increase subsequently caused a color change of the antibody band in the presence of a pH indicator, phenol red. Used in conjunction with a competitive immunoassay format, the intensity of the color produced is directly linked with the concentration of target analyte, IgG, and specific measurement of IgG in a lateral flow immunoassay format was achieved over the range 100 ppb to 2000 ppb IgG.

**Keywords :** Enzyme-Linked Immunosensor, Disposable, Strip Sensor, IgG

### 1. 서론

현재 결핵 등과 같은 마이코박테리아 감염에 의한 전염을 통한 질병의 진단법은 주로 마이코박테리아의 발현 유무를 확인하는 것이 대부분이다[1,2]. 그러나 이러한 세균학적인 방법을 위한 배양검사는 평균 4-8주가 필요하기 때문에 조기 진단에 적합하지 않고 PCR과 같은 분자 생물학적인 방법은 보다 신속한 진단을 할 수 있는 방법이지만 현재까지 높은 검사 비용으로 인하여 다수를 대상으로 하는 건강검진 등의 대중적인 진단법으로의 적용에는 문제점이 있다[3-5]. 이러한 문제점을 극복하기 위한 대안으로 질병 발현에 따른 특정 항체를 측정하는 enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)등의 UV 또는 형광분석기를 이용하는 광학적 검출 방법과 전류법 등을 활용한 전기화학적 센서시스템이 적절한 진단 시스템으로 관심을 가져오고 있다[6-9].

그러나 광학적 및 전기화학적 분석법 또한 별도의 측정기가 필요하며 특히 POCT(Point of Care Test) 등과 같은 간편하고 신속한 진단법으로의 활용에 필요한 바이오마커 항원을 검출하는 상품화된 전기화학적 진단 kit 의 개발은 아직 제한적으로 보고되고 있

다. 하지만 이에 반하여 스트립 형태의 바이오/면역 센서는 가장 널리 알려져 있는 가장 기본적인 바이오센서의 형태인 임신진단kit가 1970년대 초부터 개발되어 왔으며 현재 각종 질병의 초기 진단을 위하여 수 백 종류 이상의 진단 kit 이 여러 분야에 널리 사용되고 있다[14,15]. 이에 본 연구에서는 질병 균에서 분비되는 단백질인 항원 검출을 위하여 널리 알려진 효소 면역검출법(enzyme immunoassay)[10-12]에 기반을 둔 면역센서 형태 중 제일 간편하게 사용할 수 있고 단순한 형태로 제작할 수 있는 일회용 스트립 형태의 면역센서를 개발한 후 모델 시스템인 IgG를 competitive 면역검출법에 의한 검출을 시도하여 질병의 조기진단에 사용할 수 있는 스트립 형 면역센서의 기본 플랫폼으로서의 활용의 가능성을 확인하였다.

### 2. 센서 제작 및 감응 원리

본 연구에서 제작된 스트립 형 센서의 기본 플랫폼은 nitrocellulose막(NC막, Whatman, pore size: 8  $\mu$ m)의 양쪽 가장 자리에 Whatman CF3 막으로 제작된 substrate 패드와 conjugate 패드를 접착력이 있는 플라스틱 판 위에 2 mm 겹쳐지게 부착하여 제작하였다. 제작된 NC 막은 Fig. 1의 점선 부분에 나타난 바와 같이 10 mm 간격으로 잘라 최종 스트립의 기본 구조를 제작하였다.

<sup>1</sup>부산대학교 바이오피지오센서연구소 (Institute of BioPhysio Sensor Technology, Pusan National University)

<sup>2</sup>부산대학교 기계공학부 (School of Mechanical Engineering, Pusan National University)

+Corresponding authors: s.c.chang@pusan.ac.kr and kckim@pusan.ac.kr  
(Received : Oct. 17, 2011, Revised : Oct. 26, 2011, Accepted : Oct. 27, 2011)

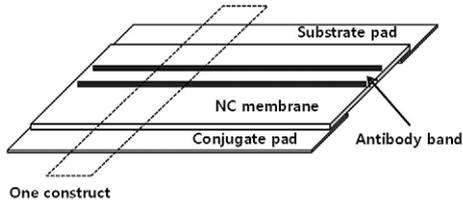


Fig. 1. Construction of sensor strips. The dotted lines running horizontally indicate a construct of the sensor strips.

Conjugate 패드는 NC막과의 부착 전에 본 논문의 저자가 발표한 논문[13, 16]에서 사용된 센서의 기본 감응 원리를 응용하여 제조한 효소와 항체가 결합된 우레아제-IgG conjugate 용액을 이용하여 제작하였다. Conjugate 제조는 0.2 % (wt/v) 우레아제 (urease, Type III (jack beans), Sigma), 20 % (v/v) 글루타르알데히드 (glutaraldehyde, 25 %, Sigma)를 PBS (Phosphate Buffered Saline, 50 mM, pH 7.4)와 혼합한 후 상온에서 18시간 동안 rolling shaker를 이용하여 혼합 시켰다. 5 mL 부피의 주사기에 3 ml 겔 (gel) 형태의 sephadex G25 흡성수지 (Sigma)와 제조된 우레아제 용액 2 mL 가한 후 주사기 끝을 의학용 솜으로 막은 후 주사기를 통해 혼합 용액을 걸러주면 글루타르알데히드와 우레아제가 결합된 용액이 만들어진다. 1 ml의 우레아제와 글루타르알데히드가 결합한 용액과 1 mL의 1 mgmL<sup>-1</sup> IgG 용액 1ml를 혼합시킨 후 4 °C에서 24시간 동안 혼합시킨다. 1 % BSA가 들어있는 PBS 500 μl를 상기 혼합용액에 가한 후 2시간 동안 4 °C에서 혼합시켜 블로킹한다. 마지막으로 블로킹된 용액을 Mixed cellulose ester (pour size: 0.25 μm)로 만들어진 DISMIC-25AS (Advantec) 필터를 사용하여 블로킹된 우레아제와 항원이나 항체가 결합한 conjugate을 걸러주어 제조를 완료하였다. 준비된 conjugate는 사용 전까지 영하 20 °C에 보관하였다.

NC 막 위에 anti-IgG 검출을 위하여 0.5 mgmL<sup>-1</sup> anti-IgG 용액과 탄산염 코팅 완충용액 (0.4 M NaHCO<sub>3</sub>, 0.4 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, pH 9.4)을 1:1의 비율로 혼합한 용액을 Fig. 1과 같이 NC막에 일직선으로 떨어뜨려 항체를 고정하고, 2시간 동안 상온에서 건조시킨 후 블로킹 완충용액 (0.5 % BSA, 140 mM NaCl, 0.2 mM EDTA)으로 NC 막 전체를 블로킹하였다. 제작된 패드는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 housing을 위하여 3차원 모델링 프로그램을 이용하여 제작하고자 하는 housing의 형상을 설계하여 housing 내부에 스트립 센서를 설치하기 위해 윗면과 아랫면을 따로 제작하였다. Housing 윗면에는 시료와 substrate를 주입하기 위한 구멍과 검사 결과를 확인할 수 있는 창을 구성하였고 아랫면에는 NC 막의 위치를 고정하기 위한 가이드를 구성하였다. 설계된 제품은 제작된 사출금형 (Fig. 2a)을 이용하여 Fig. 2b와 같이 사출 공정을 거쳐 완성하였다 (Fig. 2b).

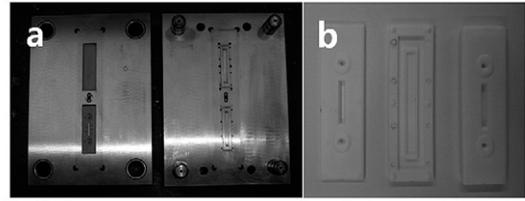


Fig. 2. Molds for the injection molding to manufacture the strip sensor housings (a) and plastic parts produced by the injection molding to assemble the strip sensor housing (b).

제작된 면역센서의 측정원리를 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에 도식된 바와 같이 우레아제-IgG conjugate가 미리 코팅된 conjugate 패드에 미리 코팅된 conjugate 패드에 검출 대상 항체인 IgG '시료 용액' 0.2 mL를 떨어뜨린다 (Fig. 3a). 떨어뜨린 IgG는 conjugate와 함께 NC막을 따라 substrate 패드 쪽으로 원활이 이동 되어 고정된 항체 띠에 이르러서 경쟁적 면역 반응에 (competitive immune-binding) 의하여 항체 띠에 고정화 되고 추가로 적용되는 0.4 mL의 '세척 용액' (0.5 % BSA와 0.1 % Tween 20가 함유된 50 mM PBS, pH 5.5)에 의하여 항체와 결합이 안된 여분의 conjugate와 IgG를 효과적인 제거와 블로킹을 수행한다 (Fig. 3b). 세척 용액의 이동이 완결된 후 substrate 패드에 우레아제의 substrate인 3 % (wt/v) 요소 (urea)와 0.02 % (wt/v) 페놀레드 지시약이 포함된 '검출 용액' 0.1 mL를 떨어뜨린다. 고정된 항체와 경쟁적으로 결합된 항원과 conjugate 중 conjugate의 우레아제는 요소와 효소반응을 시작하여 암모니아를 생성하고 생성된 암모니아는 항체밴드 표면의 pH를 증가시키고 이로 인하여 페놀레드 지시약은 붉은색으로 변하며 이 색깔변화가 NC 막의 항체밴드 주위를 붉은색의 띠가 나타내게 한다 (Fig. 3c). 발현되는 색깔의 강도는 시료의 항체의 농도의 양에 반비례하게 그리고 conjugate 패드에 적용된 conjugate의 농도에 비례하여 증가하게 되며 이를 이용하여 정성적이며 정량적인 항원의 검출을 수행할 수 있다.

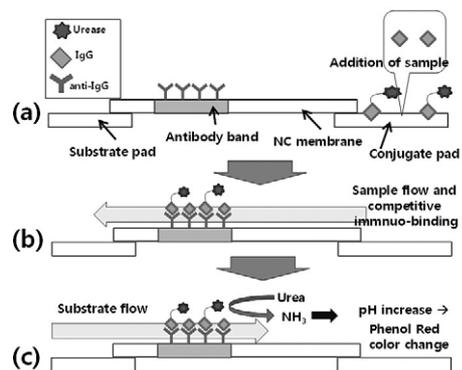


Fig. 3. Schematic diagram of a disposable enzyme-linked immunosensor strip platform, not in scale. (a) addition of sample, (b) sample flow and competitive immuno-binding, and (c) detection by using an enzyme immunoassay format.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 스트립센서 성능 최적화

##### 3.1.1 스트립 센서 제작용 패드 재료

센서스트립의 성능에 영향을 주는 여러 조건에 대한 최적화 실험을 수행하였다. 우선 스트립센서의 기본 구조인 패드의 선택을 위하여 상업용 여과지로 널리 사용되는 Whatman 사의 제품을 기준으로 비교하였다. 우선 conjugate 패드와 substrate 패드로 사용한 CF3 패드는 동일 제조사의 GF/D 패드와 Millipore사의 STHF와 SPHF 패드와 비교실험을 수행했으나 결과에 큰 차이를 보이지 않아 향후 모든 실험에 CF3 패드를 사용하였다. 시료 이동과 항체 고정을 위한 패드로는 상업용 스트립센서를 제작 판매하는 영국의 Cambridge Life Science 의 K. Rawson의 자문을 통하여 효과적인 항체 고정에 적합한 패드 재료로서 Whatman 사의 NC 막을 사용하였다. NC 막의 경우, 막의 pore size 에 의하여 시료이동의 속도와 항체 고정을 위한 특성이 영향을 받을 수 있음을 비교 실험을 통하여 알 수 있었다. 비교 실험에는 4  $\mu\text{m}$ , 8  $\mu\text{m}$ , 12  $\mu\text{m}$ 의 pore size 를 가지는 3개의 제품을 사용하였다. pore size가 작을수록 보다 신속한 젖음 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 구체적으로, 4  $\mu\text{m}$  패드일 경우 실험에서 사용된 PBS 용액이 NC막 전체를 이동하는데 12 s ~16 s 정도의 시간이 소요되었으며 8  $\mu\text{m}$ 일 경우 18 s ~20 s 그리고 12  $\mu\text{m}$ 일 경우 30 s 이상이 소요되었다. 비록 스트립센서의 구동 특성상 빠른 이동 속도가 중요하나 4  $\mu\text{m}$  일 경우 시료의 이동이 종료되는 시간과 비슷한 시점에서 패드의 다른 끝이 건조 되는 경우가 발생하였고 사용된 패드들 간의 재현성이 보다 큰 pore size 의 제품의 결과와 비교하여 현저하게 낮아짐을 확인하였다. 패드의 '젖음'은 스트립 센서의 발색의 원인인 요소와 우레아제의 효소반응에 큰 영향을 줄 수 있다. 즉, 충분히 젖어있지 않은 상태에서는 효과적인 효소반응을 기대할 수 없기 때문에 8  $\mu\text{m}$  NC 막을 최적 제품으로 확인한 후 이후 모든 실험에 사용하였다.

##### 3.1.2 완충 용액의 pH 및 조성

본 센서의 구동원리의 핵심은 NC막에 고정된 항체 띠에서의 pH 변화에 따른 pH 지시약의 색깔 변화이다. 즉, 실험에 사용되는 완충용액의 pH 나 완충용량의 세기가 강할 경우 항원/항체간 선택적 면역 결합 주위에서 conjugate에 결합되어있는 우레아제와 요소와의 반응에 의하여 생성되는 암모니아에 의해서 변화되는 pH 변화가 지시약의 색깔변화에 영향을 줄 수 없을 수도 있으며 그 반대로 NC막에 잔류되어 있는 소량의 우레아제와 요소에 의해서 선택적인 발색이 아닌 패드 전체의 색깔 변화를 나타낼 수도 있다. 더불어 낮은 pH조건은 conjugate의 우레아제와 요소와의 효소반응을 저해

하는 원인이 될 수도 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 최적의 '이동'과 '발색' 조건을 만족 할 수 있는 완충용액을 결정하기 위하여 여러 조성과 다른 pH 조건을 가지는 완충용액을 제조하여 비교실험을 수행한 결과 예측한대로 완충용액의 pH 는 스트립 센서 작용에 큰 영향을 줄 수 있음을 확인하였다.

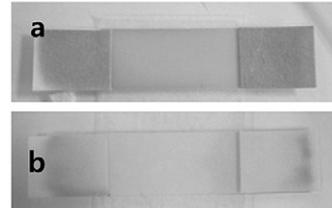


Fig. 4. Color change of phenol red indicator on NC membrane in PBS: a) 20 mM, pH 7.0 and b) 50 mM, pH 5.5.

Fig. 4a에 나타낸 바와 같이 pH 7.0인 20 mM PBS와 항체가 고정되어있지 않은 NC막을 사용하여 본 논문의 실험 방법에 기술한 방법과 같이 비교 실험 한 결과, NC막 전체가 붉은색으로 발색이 됨을 확인하였다. 이 결과로부터 여러 pH에 따른 영향을 분석한 결과 pH 5.5의 50 mM PBS일 경우 항원/항체의 반응에 의하여 변화되는 pH 변화가 아닌 비 선택적인 반응에 의하여 발생할 수 있는 발색이 거의 나타나지 않음을 확인하였다(Fig. 4b).

##### 3.1.3 시료 및 세척 용액의 양 및 조성

항원/항체의 반응을 위해 NC막을 이동하게 되는 항원과 경쟁 반응하는 conjugate의 상당 부분은 NC막의 항체 띠 부분 외에 NC막에 잔류 할 수 있다. 이러한 이동과정에서 항체/항원 반응 이전 또는 이후에 잔류되는 conjugate는 사용된 요소와의 반응에 의해서 비 선택적인 NC막 전체의 색깔 변화를 야기시킬 수 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 시료 이동 후 NC막의 세척과정이 필요하다. 또한 세척 후 수행되는 요소와 우레아제 사이의 효과적인 효소반응의 조건을 확인하기 위하여 여러 조성과 pH 값을 가지는 완충용액을 제조하여 Fig. 4의 실험에 사용된 방법과 같은 원리로 비교실험을 수행하였다. 우선 시료 용액과 세척 용액의 최적 양을 찾기 위하여 여러 부피의 용액으로 비교실험을 수행하였다. 즉 시료 용액은 NC 막의 항체 띠까지 원활하게 이동 할 필요가 있으나 substrate 패드에 거의 미치지 않을 정도의 양이 필요하다. 하지만 세척용액은 substrate 패드에 충분히 다다를 수 있어야 substrate 패드의 흡수력으로 NC막 상의 항체 띠 주위에 잔류되어 있는 conjugate를 효과적으로 제거할 수 있기 때문이다. 반복 된 실험의 결과, 시료 용액의 양은 0.2 mL일 경우 그리고 세척 용액은 0.4 mL일 경우 상기 조건에 부합함을 확인하였고 이 조건으로 모든 실험을 수행하였다. 더불어 최적의 세척용액의 조성은 이동 용액 이동 후 NC막의 추가적인 블로킹을 위한 0.5 % BSA 와 세척 용액의 원

활한 이동에 도움을 줄 수 있는 계면활성제 Tween 20가 0.1 % 함유된 50 mM PBS(pH 5.5)가 적합함을 확인하였다.

### 3.2 스트립형 효소면역센서를 이용한 IgG 검출

#### 3.2.1 검출 조건 및 소요시간

제작된 스트립 형 효소면역센서를 이용하여 IgG의 검출을 수행하였다. PBS(pH 7.4)로 제조된 0.2 mL IgG 시료 용액을 conjugate 패드에 가한 후 효과적인 항원/항체 반응의 완결을 위하여 10분간 상온에서 추가의 장치 없이 incubation 한 후 0.4 mL의 세척 용액을 conjugate pad에 가해 주었다. 약 5분 뒤 효소반응 및 지시약의 발색을 위하여 0.1 mL의 상기 실험방법에서 기술한 '검출 용액'을 가하였다. 발색을 위한 검출 용액의 요소의 농도는 본 실험의 저자가 발표한 선행 연구[16]에서 확인된 농도인 3 % (wt/v)을 사용하였으며 지시약의 농도는 일반적인 산염기 적정에서 사용하는 농도를 사용하였다. 검출 용액을 가한 후 약 1-2분 후 NC막의 항체 띠에서 붉은색의 발색이 시작됨을 확인하였으며 약 10-15분 후 제일 강한 색을 나타내었다. 검출 용액에 의한 발색은 발색이 시작되는 순간을 시점으로 약 40-60분간 유지되었으며 약 한 시간 후 점차 열어졌다. 이것은 사용된 시료 및 세척 용액의 낮은 pH에 기인하는 것으로 판단되나 항원 검출에는 큰 영향을 미치지 않음을 정량적인 IgG 검출 실험을 통하여 확인 할 수 있었다.

#### 3.2.2 정량적 IgG 검출

정량적인 IgG의 검출을 위하여 0 ppm ~ 20 ppm( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) 농도 범위의 IgG 용액을 상기 기술한 PBS로 제조 한 후 각 농도에 대하여 상기 기술한 최적화 된 실험 조건에 따라 정량적인 항원 검출을 수행하였다. 제조된 IgG 시료 중 Fig. 5에 0 ppb, 10 ppb, 100 ppb, 200 ppb, 500 ppb, 1000 ppb, 2000 ppb, 5000 ppb( $\text{ng mL}^{-1}$ ) IgG 에 대하여 육안으로 확인할 수 있는 스트립 센서의 발색을 나타내었다. Fig. 5에서 나타난 바와 같이 IgG의 농도가 낮을수록(Fig. 5에서 왼쪽방향으로 진행할수록), IgG 와 IgG-우레아제 conjugate 의 경쟁반응에 의하여 상대적으로 많은 양의 conjugate가 NC막에 고정화 된 항체와 결합함에 따라 더 높은 농도의 암모니아를 항체 띠에 생성하게 되며 이로 인하여 더 강한 발색을 나타냄을 확인 할 수 있었다. 0 ppm ~ 20 ppm 농도 범위의 IgG 의 실험을 통하여 5 ppm 이상의 IgG 농도에 대해서는 육안으로는 판단하기 힘든 열은 발색이 나타냄에 따라 본 연구의 실험 조건에서는 5 ppm 이상의 IgG 농도는 검출이 어려움을 확인 하였다. 또한 0 ppm IgG 시료, 즉 conjugate 만으로 실험을 반복하여 두 개의 항체 띠 중 substrate 패드로부터 멀리 있는 띠(Fig. 5에서 하단 항체 띠)의 발색의 강도를 관찰하여 사용된 검출 용액의 최적의

양과 반응시간을 검토하였다. 즉 아래쪽 띠가 상단 띠와 비슷한 강도의 발색을 할 수 있는 조건을 확인하였으며 확인된 결과는 본 논문의 '3.2.1.' 항에 기술한 바와 같다. 정량적 실험 결과에 의하여 본 연구에서 제작된 스트립센서는 100 ppb 이상의 IgG를 검출할 수 있으며 IgG 농도가 200 ppb 이상이 되면 급격하게 발색이 약해짐을 확인할 수 있으며 100 ppb ~ 2000 ppb농도 범위의 IgG 정량적으로 검출할 수 있음을 확인하였다.

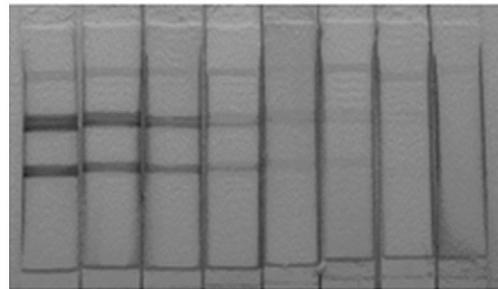


Fig. 5. Change in the stain intensity of anti-IgG band on the strip membranes. IgG concentrations were 0 ppb, 10 ppb, 100 ppb, 200 ppb, 500 ppb, 1000 ppb, 2000 ppb, 5000 ppb, from the left.

## 5. 결론

본 연구에서는 효소 면역검출법을 이용한 일회용 스트립 형태의 플랫폼을 디자인 및 제작하여 IgG의 정량적 검출을 위한 면역센서 시스템을 개발하였다. 개발된 센서시스템은 비전문가가 쉽게 사용할 수 있고 또한 단순한 공정을 통하여 제작할 수 있는 저가의 항원 검출을 수행할 수 있는 기본 플랫폼으로서의 활용 가능성을 확인하였다. 또한 기존의 ELISA 나 스트립형태의 바이오/면역 센서에서 널리 사용하는 HRP(Horseradish Peroxidase)나 glucose oxidase를 label로 사용하여 형광 염료(fluorescence probe)를 통한 검출법을 사용하지 않고 요소/우레아제의 효소작용에 따른 pH 변화를 검출에 활용함으로써 손 쉽게 구할 수 있는 산염기 지시약을 발색에 사용할 수 있는 장점이 있다. 본 연구에서 개발한 센서의 검출 범위(100 ppb ~ 2000 ppb)는 최근 보고된 스트립형태의 바이오/면역 센서의 결과들과 비교하여 크게 벌어지지 않고 있으며 competitive 면역검출을 이용함에 따라 발색을 위한 추가의 항체가 필요한 sandwich 형태의 면역검출법에 의한 방법에 비하여 보다 간편한 검출을 수행할 수 있다[14,15]. 육안 관찰에 의존하는 스트립 형태 센서의 특성상 효과적인 정량적 검출에는 전기화학적 방법이나 형광분석기를 이용한 분석법과 비교하여 성능적으로 한계가 있으나 총 35분 내외의 분석시간과 별도의 분석기기가 필요 없는 높은 편의성은 독특한 장점으로 판단될 수 있다. 국지적인 pH 변화를 유발하는 요소/우레아제 label을 활용한 본 연구의 면역센서의

기본 감응원리는 본 논문의 연구자에 의하여 최근 발표된 논문[13, 16]을 통하여 전류법과 임피던스 측정법 등의 전기화학적 방법을 기본으로 하는 센서시스템과 연계하여 보다 효과적인 분석 시스템 구축에 활용할 수 있음을 확인하였다. 즉, 본 연구의 스트립센서를 활용하여 특정질병의 발현을 의미하는 항원의 일정 수준 이상의 유무 여부를 정성적으로 판단한 후, 비정상적인 수준의 결과를 얻은 경우에는 상기 전기화학적 방법을 통하여 보다 정확한 진단에 필요한 구체적인 정량적 정보를 제공 받을 수 있을 것이라 판단된다.

### 감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유 과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

### REFERENCES

- [1] K. Ryan and C Ray, *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill, New York, pp. 137-142, 2004.
- [2] T. Parish and A. Brown, *Mycobacterium: Genomics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, New York, pp. 231-240, 2009.
- [3] K. Janssen, K. Flore, A. Piette, A. Vankeerberghen, and E. Padalko, "Implementation of real-time RT-PCR for detection of human metapneumovirus and its comparison with enzyme immunoassay", *Archiv. Virology*, vol. 155, pp. 207-215, 2010.
- [4] E. Brindle, M. Fujita, J. Shofer, and K. O'Connor, "Serum, plasma, and dried blood spot high-sensitivity C-reactive protein enzyme immunoassay for population research", *J. Immunological Methods*, vol. 362, pp. 112-120, 2010.
- [5] M. Diaz-Gonzalez, M. Gonzalez-Garcia, and A. Costa-Garcia, "Immunosensor for mycobacterium tuberculosis on screen-printed carbon electrodes", *Biosens. & Bioelectron.*, vol. 20, pp. 2035-2043, 2005.
- [6] S. Chang and D. Park, "Disposable in-field electrochemical potable sensor system for free available chlorine(FAC) detection", *J. Kor. Sensors Soc.*, vol. 16, no. 6, pp. 449-456, 2007.
- [7] S. Chang, "Disposable electrochemical immunosensors for the detection of herbicid", *Journal of Sensor Science and Technology*, vol. 20, no.1, pp. 35-39, 2011.
- [8] C. Medina-Torres, J. Weese, and H. Staempfli, "Validation of a commercial enzyme immunoassay for detection of clostridium difficile toxins in feces of horses with acute diarrhea", *J. Veteri. Internal Medicine*, vol. 24, no. 3, pp. 628-632, 2010.
- [9] S. Kwon, M. Seo, H. Yang, S. Kim, and J. Kwak, "Application of polyaniline to an enzyme-amplified electrochemical immunosensor as an electroactive report molecule", *Bull. Kor. Chem. Soc.*, vol. 31, no. 11, pp. 3103-3108, 2010.
- [10] M. Oellerich, "Enzyme-immunoassay - a review", *J. Clin. Chem. & Clin. Biochem.*, vol. 22, no. 12, pp. 895-904, 1984.
- [11] R. Okennedy, M. Byrne, C. Ofagain, and G. Berns, "A review of enzyme-immunoassay and a description of a competitive enzyme-linked-immunosorbent-assay for the detection of immunoglobulin concentrations". *Biochem. Edu.*, vol. 18, no. 3, pp. 136-140, 1990.
- [12] E. Garet, A. Gonzalez-Fernandez, J. Lago, J. Vieites, and A. Cabado, "Comparative evaluation of enzyme-linked immunoassay and reference methods for the detection of shellfish hydrophilic toxins in several presentations of seafood", *J. Agricul. Food Chem.*, vol. 58, no. 3, pp. 1410-1415, 2010.
- [13] W. Koh, E. Choe, D. Lee, S. Chang, and Y. Shim, "Monitoring the activation of neuronal nitric oxide synthase in brain tissue and cells with a potentiometric immunosensor", *Biosens. Bioelectron.*, vol. 25, pp. 211-217, 2009.
- [14] Y. Kim, "Immuno-strip biosensor system to detect enrofloxacin residues", *J. Industrial Engineer. Chem.*, vol. 15, no. 2, pp. 229-232, 2009.
- [15] S. Park, H. Kim, S. Paek, J. Hong, and Y. Kim, "Enzyme-linked immuno-strip biosensor to detect escherichia coli: H7", *Ultramicroscopy*, vol. 108, no. 10, pp. 1348-1351, 2008.
- [16] S. Yi, J. Choi, H. Kim, S. Chang, D. Park, K. Kim, and C. Chang, "An electrochemical enzyme immuno chip based on capacitance measurement for the detection of IgG", *Bull. Kor. Chem. Soc.*, vol. 32, no. 4, pp. 1298-1302, 2011.



최 지 혜(Ji Hye Choi)

- 2008년 2월 경남대학교 생명화학부(이학사)
- 현재 부산대학교 분자과학기술 협동과정 (석사과정)
- 주관심분야: 진단용 바이오 센서 시스템



이 승 재(Seun Jae Yi)

- 2007년 부산대학교 기계공학부(공학사)
- 2009년 부산대학교 기계공학부(공학석사)
- 현재 부산대학교 기계공학부 박사과정
- 주관심분야: 유동가시화 및 광응용 센서 기술



장 승 철(Seung-Cheol Chang)

- 2000년 영국 뉴캐슬대학교(이학박사)
- 1999년~2007년 뉴캐슬대학교 의대 선임/책임연구원
- 2007년~현재 부산대학교 바이오피지오 센서연구소 조교수
- 주관심분야: 바이오센서, 면역센서시스템



김 경 천(Kyung Chun Kim)

- 1987년 한국과학기술원 기계공학과(공학박사)
- 1986년~현재 부산대학교 기계공학부 교수
- 2004년~2009년 (재)부산테크노파크 MEMS/NANO 부품생산센터 센터장
- 주관심분야: 유체역학, Bio-MEMS, 광응용 센서, 마이크로플루이딕스, POCT