식품 위해요소 신속검출을 위한 바이오 센서칩 제작

Biosensor Chip Fabrication for Rapid Detection of Food Hazards

최성욱[1] · 장현주[1] · 이나라[1] · 전향숙[1]* · 김재호[2]

Sung-Wook Choi[1], Hyun-Joo Chang[1], Nari Lee[1], Hyang Sook Chun[1]*, and Jae-Ho Kim[2]

[1]한국식품연구원 안전성연구단, [2]아주대학교 분자과학기술학과

[1]Food Safety Research Division, Korea Food Research Institute

[2]Department of Molecular Science and Technology, Ajou University

1. 서 론

최근 계절에 관계없이, 식품 위해 미생물에 의해 식중독 사고가 빈번하게 발생하고 있다. 웰빙문화에 따른 식/음료에 대한 질적 수준의 향상이 요구되고 있고 있는 가운데, 집단 급식의 식중독 사고는 경제적 손실뿐만 아니라 사회적 불신풍조를 야기하고 있다. 곰팡이독소 또한 농산물의 생육기간 및 저장, 유통 중에 곰팡이에 의해 생성되는 독소로 곰팡이독소에 오염된 사료나 식품을 섭취한 동물이나 사람에게 여러 가지 건강상 장해를 야기한다. 이러한 사회적/문화적 요구에 따라 이의 신속, 정확한 감지에 의해 사고를 예방하거나 빠르게 대처하는 것이 요구되고 있다.

국내에서는 2000년 식중독 발생 환자의 수는 7천 3백여명으로 총 104건이 발생하였으며, 이중 미생물에 의한 발생은 40%가 넘으며 특히 살모넬라균에 의한 식중독이 30건(28.8%)으로 가장 많이 발생하였다. 이러한 식중독균을 신속하게 감지할 수 있는 노력으로 미국 아칸소대학 (Univ. of Arkansas)과 조지아 공대 연구소 (GTRI)의 과학자들은 두 시간만에 O157:H7 대장균이나 살모넬라를 감지할 수 있는 바이오센서 기술을 개발하였다. 현재 실험실에서 쓰고 있는 방법으로는 5,000개/mL 정도의 민감도밖에 얻을 수가 없으며 24시간이 걸린다. 이들 연구소들은 살모넬라와 O157:H7 대장균, 일반적인 대장균과 리스테리아, 캠필로박터, 페스트균등 6가지에 초점을 맞추어 진행하고 있지만 이러한 바이오센서기술이 식중독균 검출에 응용되기 위해서는 감도, 선택성, 재현성의 향상이 요구되고 있어 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 예상된다.

바이오센서란 생체감지물질 (bioreceptor)과 분석대상물 (target)간의 선택적 인지로부터 유도되는 신호변화를 감지할 수 있는 분석장치이다[1-5]. 분석대상물은 여러 방해물질과 혼합된 상태로 존재하기 때문에 시료를 수집/분리하여 측정을 위한 시료 전처리 과정을 거쳐야 한다. 그리고, 전처리된 분석대상물은 화학적 결합 (공유, 이온, 수소, 정전기적 결합)을 통해 선택적으로 생체감지물질과 반응을 유도한다.

*Corresponding author : Hyang Sook Chun
Food Safety Research Division, Korea Food Research Institute, San 516, Baekhyundong, Bundang-Gu, Sungnam-si, Gyeonggi-do 463-746, South Korea
Tel: +82-31-780-9273
Fax: +82-31-709-9876
E-mail: hschun@kfri.re.kr

일반적으로 많이 사용되는 생체감지물질로는 항원, 항체, 효소, 렉틴, DNA, 합성단백질, apatimer 등이 사용되고 있다. 분석대상물과 생체감지물질간의 선택적 반응으로부터 온도, 색깔, 무게와 같은 물리적 변화와 새로운 반응기의 형성과 같은 화학적 변화를 형성하게 되고, 이 변화를 감지/증폭하여 인간이 인지할 수 있는 신호로 변환하게 된다. 바이오센서는 MEMS (microelectromechanical system) 기술, μ-TAS (total analysis system) 기술, microfluidics 기술 그리고 나노기술이 접목되면서 측정의 편의성 향상과 소형화에 많은 연구가 이루어 지고 있다. 특히, 바이오센서에 있어 시료전처리 문제는 센서의 정확성과 신뢰성뿐만 아니라 상용화에 영향을 미치기 때문에 다른 요소보다 먼저 고려되어야 할 부분이다. 예를 들어, 면역센서의 경우는 반응에 참여하지 않는 물질을 제거하거나, 표시인자를 화학반응을 통해 결합해주는 단계가 필요할 때가 많다. 이러한 경우 반응 및 세척 등 일련의 분석단계가 센서의 감도를 높이기 위해 필요하다. 따라서, 바이오센서가 현장에서 손쉽게 활용되기 위해서는 시료전처리 과정이 자동화되고 간편화될 필요가 있다. 최근 이를 칩 (chip) 상에 구현하고자 하는 것이 "Lab-On-a-Chip (LOC)" 개념이다[6]. 분석대상물을 고체기판 (유리, 금속, 반도체, 고분자 등)상에 고정화시키는 바이오칩 기술은 인간 유전자 정보, 보건의료와 정밀화학 산업에서 대량 검색 및 분석을 위한 수단으로 많은 연구가 진행되어 왔다. 이를 DNA칩, 단백질칩으로 표현되며 최근 세포칩에 대한 연구 또한 진행되고 있다[7,8]. 이러한 칩을 이용한 센서는 소형화 및 대량 동시 분석이 가능하기 때문에 최근 바이오센서는 칩을 기반으로 연구되고 있다. 칩을 기반으로 한 센서는 분석대상물을 인지할 수 있는 생체감지물질을 고정시키는 기술과 어레이 기술이 요구된다. 또한 생체감지물질과 분석대상물이 특이적 결합을 통해 인식했을 때 신호의 변화를 나타낼 수 있어야 하며, 이를 인식할 수 있는 측정기술이 요구된다.

센서 칩제작을 위한 고정화 기술은 분자수준에서 생체활성물질의 배향 및 농도를 조절할 수 있어야 하고 검출물과의 효과적으로 반응할 수 있어야 한다. 그러나 지금까지 바이오센서 칩 제작에서 생체활성 단백질의 고정화와 관련된 제반사항을 고려하지 않고 하드웨어적 검출 기기의 감도 향상에만 관심을 기울여 왔다. 최근 검출기기의 감도가 한계에 달한 시점에서 극미량 검출을 위한 최적의 센서를 구현하기 위하여 센서 칩 제작기술에 많은 연구가 요구되고 있다.

2. 본 론

반도체 공정기술과 microfluidic 기술의 발전은 센서의 소형화에 원동력이 되고 있다. 센서에 있어 감지부는 센서의 속도, 정밀도 및 다중 검출을 위해 가장 핵심적인 기능을 수행하며, 센서 소형화를 위해 고체기질상에 칩형태로 제작되고 있다. 곰팡이 독소, 항생제 및 병원성 미생물들을 검출하기 위한 센서칩은 분석대상물과 선택적으로 반응할 수 있는 감지물을 고체기질상에 고정시키게 된다. 일반적으로 항원-항체반응을 이용한 면역센서 형태로 항체인 단백질을 감지물질로 많이 이용하고 있다. 일부 아미노산만을 선택적으로 감지할 수 있는 cyclodextran과 같은 유기 분자 리간드들이 알려져 있지만 항체를 이용하였을 때 보다 선택도와 감도를 나타내지 못하고 있다. 따라서, 대부분 식품위해 물질 관련 센서들은 면역반응을 이용한 항체 단백질을 고체기질상에 고정시키게 된다[9,10].

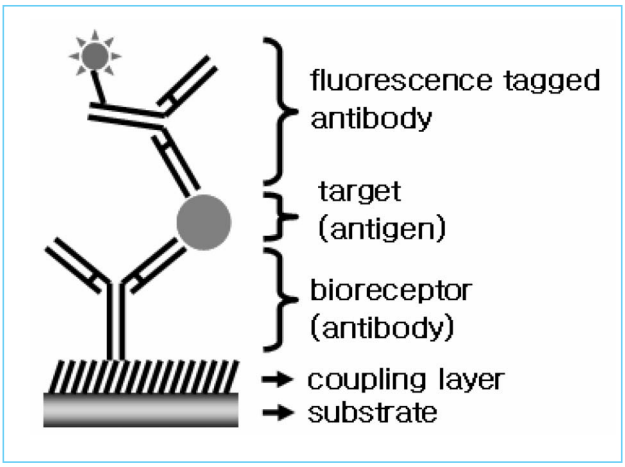

그림 1. 일반적인 형광표지된 면역센서 칩.

고체기질상에 분석대상물을 인식할 수 있는 생체감지 물질을 고정화시키기 전, 생체감지 물질을 고정화 시킬 수 있는 coupling layer를 형성시키기도 한다. 또한, 신호전달을 위해 고체기질상에 고정화되는 생체감지 물질과 같은 물질에 형광이나 방사선 동위원소를 붙여서 샌드위치형태로 제작하기도 한다. 이를 그림 1에 간단히 나타내었다.

Gold (Au), silver (Ag), cupper (Cu) 금속기질

이들 금속류는 대부분 thiol (-SH) 또는 dithoil (-S-S-) group을 가지는 물질과 안정적인 자기조립 단분자막 (self assembled monolayer, SAM)을 형성할 수 있다[11]. 특히 Au는 SPR, QCM, 전기화학장치, Raman, FTIR-RAS와 같은 표면 분석기기에 사용될 수 있는 금속이기 때문에 가장 많이 사용되는 고체기질중의 하나이다. 또한 -SH기를 가지는 물질과 가장 결합력이 크기 때문에 안정적 결합이 가능하며, -SH기를 가지면서 단백질과 결합할 수 있는 많은 -SH 유도체는 잘 알려져 있으며 구입 또한 용이하다.

그림 2 에서와 같이, 한 쪽 말단은 gold와 결합할 수 있는 기능기 (-SH, -SS-)를 가지고 다른쪽은 단백질이나 다른 물질을 연결할 수 있는 기능기, 즉 amine ($-NH_2$), carboxylic acid (-COOH) 또는 aldehyde (-COH)를 가지는 thiol 유도체를 많이 사용한다. 단백질과의 결합은 N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide (EDC)와 N-hydroxysuccinimide (NHS)를 사용하여 실온에서 coupling agent와 amide bond를 형성하여 안정적으로 결합시킬 수 있다 (그림 3)[12-16].

Si, SiO_2, glass, metal oxide 고체기질

반도체 성질을 이용한 다이오드나 트랜지스터 제작기술이 발전하면서 Si wafer를 기반으로한 바이오센서 제작에 대해 많은 연구가 진행되고 있다. 특히 field effect transistor (FET) sensor, porous silicon optical sensor 및 surface acoustic wave (SAW) sensor의 많은 연구로부터 고감도 칩을 제작하기 위한 시도가 진행되고 있다. 이들 기기의 칩으로 사용되는 고체기질은 Si, SiO_2 또는 metal oxide 류로, 표면에 hydroxyl group (-OH)기를 가지고 있거나 간단한 표면 전처리로부터 형성될 수 있는 기질들이다. 이들은 trimethoxy silane이나 trichlorosilane 기를 가지고 있는 coupling agent들과 화학적 반응을 형성시킬 수 있다. 이들에 대한 반응 모식도를 그림 4에 도식하였다.

다양한 구조를 가지는 silane 유도체는 잘 알려져 있으며 상용적으로 구입해서 이용할 수 있다. 그러나 silane은 물질에 따라 공기중에 노출되었을 경우 수분의 영향으로 aggregation되기 때문에 고체기질상에 균일하게 형성하기 어렵다. 이런 문제를 해결하기 위해 액상 반응인 SAM 방법보다 기상 반응인 CVD 방법에 의해 고체기질상에 형성시키는 방법이 많이 이용되고 있으며, 이 방법은 대량생산을 위해 보다 효율적 방법이다. Silane에 의해 개질된 고체기질은

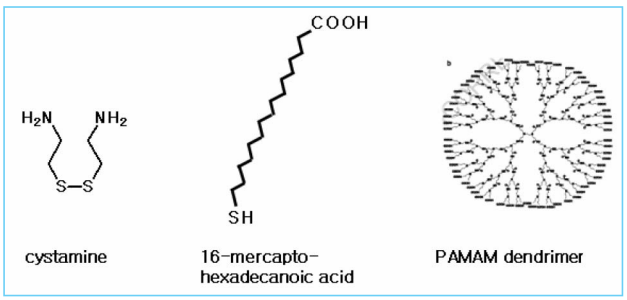

그림 2. 일반적으로 많이 사용되고 있는 -SH기를 가지는 coupling agent들.

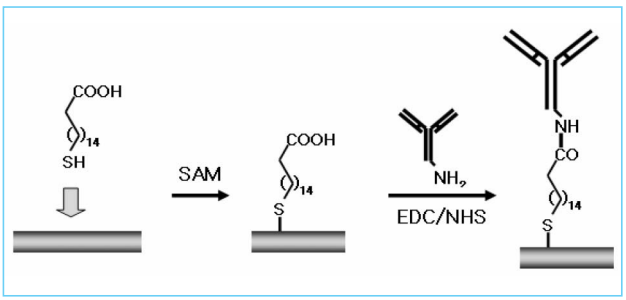

그림 3. 고체기질상에 coupling agent를 이용한 단백질의 고정화.

thiol이 고정된 Au 기질과 유사한 반응에 의해 단백질을 고정시킬 수 있다 (그림 3).

표면 고정 항체의 특성조절

극미량 측정을 위해 센서 감지능력을 향상시키기 위한 노력으로, 최근 생체감지 물질의 최적화에 대해 많은 연구가 시도되고 있다. 고체기질상에 고정화되는 단일분자형태의 생체감지 물질은 그들의 배향이나 표면 농도 또는 표면 전하에 따라 분석대상물의 감지 능력에 영향을 준다. 따라서, 고체기질상에 고정되는 생체감지 물질의 표면 특성을 조절하는 연구가 많이 시도되어 왔다[17-20]. 물리적인 힘으로 생체감지 물질을 고정화하는 벌크 스케일의 바이오센서는 분자활성도를 저하시키며 극미량 시료에 대한 분석능을 저하시키게 된다. 또한, 센서의 직접도가 저하되기 때문에 다중동시측정이 어려우며, 센서의 신호대 잡음비가 저하되는 문제점을 가진다. 바이오칩 제작은 생체감지 물질과 고체기질상에 coupling layer를 형성시켜 화학적 반응을 유도하여 생체감지 물질의 고체기질상에서의 안정성, 배향성, 표면 농도를 조절하고 있다. 예를 들어, Y 형태의 immunoglobulin G는 항체를 인식할 수 있는 F_{ab} 영역을 2개가지고 있으며, 구조를 안정화시켜 주는 F_c 1개 영역으로 구성되어 있다. 항체를 인식할 수 있는 F_{ab} 영역 2개를 가지고 있기 때문에 이를 어떻게 항체와 잘 반응하도록 배향시켜 주는 것이 칩제작에 관건이라 할 수 있다[21, 22]. 이들의 배향을 위해 protein A (Pro.A) 또는 protein G (Pro.G)가 이용되고 있다. (그림 5a). 또한 immunoglobulin G와 같은 단백질은 유동성이 크기 때문에 고체기질과의 물리적 흡착으로 단백질의 3차원적 구조가 변형되어 항체를 잘 인식하지 못하게 될 수 있다. 항원, 즉 immunoglobulin G가 결합하지 않은 defect 영역을 다른 저분자, 고분자 또는 바이오물질로 주변환경을 개질할 필요성이 있다. 그림 5b는 Y-형태를 가지는 항원인 human immunoglobulin G (hIgG, i, ii)와 구형인 hepatitis B (HB, iii, iv)를 고체기질상에 고정된 항체의 배향과 주변환경의 개질에 따라 흡착되는 상대적 양을 SPR의 공명각 변화로 나타낸 그림이다. Coupling layer로써 선형인 mercaptohexadecanoic acid (MHDA, i, iv)와 구형인 3.5G dendrimer (ii, iii)를 항체 고정을 위해 사용하였고, 항체의 배향성을 증가시키기 위해 Pro.A를, 비특이적 반응을 억제하기 위해 BSA를 각각 사용하였다. 그림 5b에서와 같이, hIgG는 coupling layer, pro.A, BSA를 사용함에 따라 반응 효율을 최대 5배 정도 더 증가 시킬 수 있었다. 또한 항원의 크기에 따라 적절한 coupling layer를 선택해야 된다는 것을 확인할 수 있다.

나노입자상에 단백질 고정화 및 감도 향상

나노입자를 이용하여 시료를 전처리하거나 염색 또는 발광시켜 바이오물질 검출에 많이 사용되어 왔다[23]. 시료전처리를 위해 많이 사용되는 마그네틱 나노입자는 Fe_2O_3 또는 Fe_3O_4 로 구성되어있으며, SiO_2기판처리와 동일한 방법을 이용하여 표면의 native oxide와 수분에 의한 silanization에 의해 단백질을 고정시킬 수 있다. 금이나 은 나노입자는 thiol유도체를 이용하여 기판과 동일하게 고정시킬 수 있다. 또한 금이나 은 나노입자는 가시선 영역을 흡수하거나 산란시킬 수 있기 때문에 표면플라즈몬 공명 (SPR)

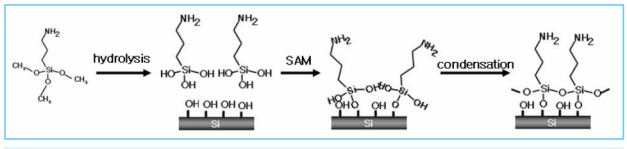

그림 4. Si wafer상에 aminopropyl trimethoxysilane의 고정화를 위한 반응 모식도.

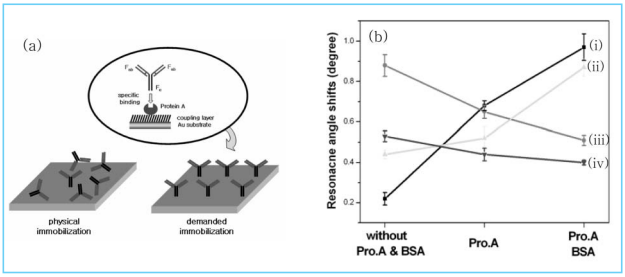

그림 5. 배향 조절을 위한 센서칩 제작 모식도 (a)와, protein A와 BSA를 이용해서 배향조절된 항체를 고정시킨 후 측정한 SPR 공명각 변화 (b) (i, ii: antihIgG-hIgG, iii, iv: antiHB-HB, i, iv: MHDA, ii, iii: dendrimer)

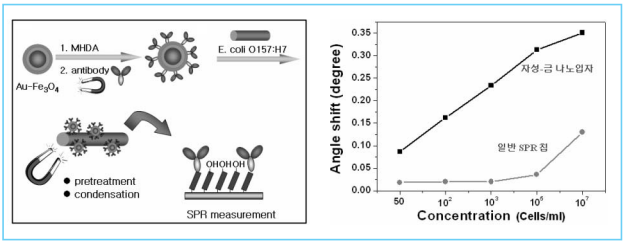

그림 6. 자성-금 나노입자를 이용한 SPR 센서칩 실험 모식도와 E. Coli O157:H7 농도에 따른 공명각 이동

계측기의 감도를 향상시키는 것으로 잘 알려져 있다[24-27]. SPR의 감도를 증가시키기 위해서 금 나노입자를 labeling 시키는 방법이 1998년 Natan에 의해 20배 이상의 공명각 증가를 보고하였다[24].

그림 6은 E. Coli O157:H7의 미량검출을 위하여 나노입자를 이용한 실험 모식도이다. 시료전처리에 사용되는 마그네틱 비드를 코어로 가지며 SPR 신호증가와 용액 분산도를 증가시키기 위해 금을 코팅한 자성-금 나노입자이다. 이 자성-금 나노입자 표면에 E. Coli O157:H7 항체를 고정시킨 후 E. Coli O157:H7와 반응시킨다. 나노입자가 흡착된 E. Coli O157:H7은 자석으로 농축시킨 후 항체가 고정된 SPR 칩을 이용하여 검출하였다. 지금까지 알려진 SPR의 E. Coli O157:H7 검출감도는 10^4 cells/ml (그림 6, 일반 SPR 칩)이며[28], 자성-금 나노입자를 이용하였을 때 10^2 cells/ml 이하까지 검출되는 것을 확인할 수 있었다.

탄소나노튜브상에 항체고정화 및 검출

항체중 항원을 인식하는 부분만을 선택적으로 분리하여

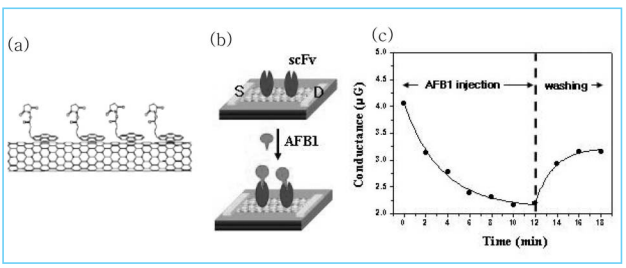

그림 7. 곰팡이 독소 검출을 위한 탄소나노튜브에 항체의 고정화

항체의 표면 고정 농도 및 배향을 조절할 수 있다. 그림 7에서와 같이 항체 활성부위인 single-chain variable fragment (scFv)를 이용하여 alflatoxin B1 (AFB1)곰팡이 독소를 conductance의 변화로 검출하기 위해 고정화하는 방법이다. AFB1 첨가에 따른 전하량 변화를 유도하기 위하여 반도체성을 가지는 단일벽 탄소 나노튜브를 이용하였다. 그림 7a에서와 같이 단일벽 탄소나노튜브에 scFv의 고정은 pyrene과 나노튜브 벽면과의 π-π 결합에 의해 coupling agent를 고정시킨 후 amide 결합을 통해 고정시킬 수 있다 (그림 7b). Source (S)에서 drain (D)으로 전류를 흘렸을 때 검출물인 AFB1과 scFv간의 결합에 의해 반도체성인 탄소나노튜브의 전공 농도를 감소시키기 때문에 그림 7c와 같이 conductance는 감소하게 된다.

3. 결 론

식/음료에 함유된 미량의 위해물질을 평가하기 위한 바이오센서는 선택도 뿐만아니라 대형 정밀 분석기기 감도 정도의 높은 감도를 요구한다. 최근 나노기술이 바이오센서에 접목되면서, 소형화와 실시간 검출에 대해 많은 연구가 이루어지고 있다. 분자수준에서 정밀하게 측정할 수 있는 나노 측정기술이 발전하면서 바이오센서의 감도가 향상되고는 있으나 항체 고정화 기술에 대한 정확한 이해없이는 분석기기만의 감도 한계에 도달할 것으로 판단된다. 몇 개의 항체를 고정시켰을 때 항원이 결합하게 되고, 결합된 항원에 의해 전달되는 신호의 크기가 어느정도 되는지를 정확하게 판단하여야 한다. 또한 특정 간격으로 항체를 후 나타나는 각각의 항원에 대한 신호전달을 이해하여야 한다. 최적 항체 고정화를 위한 고려사항들을 정리하면 다음과 같다. (1) 항원의 표면전하, 크기, 형태를 고려한 후, (2) coupling layer로써 선형 유기분자를 사용할 것인지, 구형의 유기/무기 분자를 사용할 것인지 표면 고정 농도를 고려한 후 선정을 하여야 하고 (3) 항체의 배향성을 유지할 것인지를 제조 공정의 단순화 및 감도를 고려하여 결정하여야 한다. 이러한 일련의 과정은 고 감도 검출기를 사용하는 최초의 기본설계라 할 수 있고

향후 나노기술을 접목한 많은 연구가 수행되어야 할 부분이라 생각된다.

참고 문헌

1. U. E. Spichiger-Keller, Chemical Sensors and Biosensors for Medical and Biological Applications, Wiley-VCH, 2004.
2. C. Nicolini, From Neural Chip and Engineering Biomolecules to Bioelectronic devices: An Overview, Biosensors & Bioelectronics 10, 105-127, 1995.
3. A. Broderick, Biochips Miniaturization and integration for microanalysis, SRI Consulting Report D99-2226, 1999.
4. A. P. F. Turner, Biosensors-sense and Sensitivity 290, 1315-1317, 2000.
5. E. Kress-Rogers, Handbook of Biosensors and Electronic Noses: Medicine, Food, and the Environment, CRC Press, New York, 1997.
6. M. Madou, J. Zoval, G. Jia, H. Kido, J. Kim, and N. Kim, Lab on a CD, Annu. Rev. Biomed. Eng. 8, 601-628, 2006.
7. E. Pennisi, DNA chips Gives New View of Classic Test, Science 283, 17-18, 1999.
8. R. F. Service, Searching for Recipes for Protein Chips, Science 294, 2080-2082, 2001.
9. D. W. Pimbley, and P.D. Patel, A Review of Analytical Methods for the Detection of Bacterial Toxins, Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement 84, 98S-109S, 1998.
10. B. Xu, X. Jia, L. Gu, and C. Sung, Review on the Qualitative and Quantitative Analysis of the Mycotoxin Citrinin, Food Control 17, 271-285, 2006.
11. B. Bhushan (ed.), Handbook of Nanotechnology, Chapter 27 Self-Assembled Monolayers for Controlling Adhesion, Friction and Wear, Springer, 2004.
12. H. S. Nalwa, Biomaterials and Their Appkications in Nanobiotechnology, Vol 1, American Scientific Publishers, California, 2005.
13. G. T. Hermanson, A. K. Mallia, and P. K. Smith, Immobilized Affinity Ligand Techniques, Academic Press, INC, San Diego, 1992.
14. R. G. Chapman, E. Ostuni, L. Yan, and G. M. Whitesides, Preparation of Mixed Self-Assembled Monolayers (SAMs) That Resist Adsorption of Proteins Using the Reaction of Amines with a SAM That Presents Interchain Carboxylic Anhydride Groups, Langmuir 16, 6927-6936, 2000.
15. M. Hong, H. C. Yoon, and H. Kim, Protein-Ligand Interactions at Poly(amidoamine) Dendrimer Monolayers on Gold, Langmuir 19, 416-421, 2003.
16. E. Brynda, J. Homola, M. Houska, P. Pfeifer, and J. Skovor, Antibody Networks for Surface Plasmon Resonance Immunosensors, Sensor and Actuators B, 54, 132-136, 1999.
17. V. Silin, H. Weetall and D. J. Vanderah, SPR Studies of the Nonspecific Adsorption Kinetics of Human IgG and BSA on Gold Surfaces Modified by Self-Assembled Monolayers (SAM), J. Colloid Interface Sci 185, 94. 1997.
18. D. M. Disley, D. C. Cullen, H. X. You, C. R. Lowe, Covlaent Coupling of Immunoglobulin G to Self-Assembled Monolayers as a Method for Immobilizing the Interfacial-recognition Layer of a Surface Plasmon Resonance Immunosensors, Biosensors & Bioelectronics 13, 1213-1225, 1998.
19. M. Mrksich, G. B. Sigal, and G. M. Whitesides, Surface Plasmon Resonance Permits in Situ Measurement of Protein Adsorption on Self-Assembled Monolayers of Alkanethiolates on Gold, Langmuir 11, 4383-4385, 1995.
20. H. Zhu and M. Snyder, Protein Chip Technology, Current Opinion in Chemical Biology 7, 55-63, 2003.
21. L. Stryer, Biochemistry Chapter3, Third edition, W. H. Freeman & Company, New York, 1998.
22. J. W. Goding, Use of Staphylococcal Protein A as an Immunological Reagent, J. Immunol. Methods 20, 241-253, 1978.
23. V.C.H. Wu, V. Gill, R. Oberst, R. Phebus, and D.Y.C. Fung, Rapid Protocol (5.25 H) for the Detection of Escherichia coli O157:H7 in Raw Ground Beef by an Immuno-capture System (pathatrix) in Combination with Colortix and CT-SMAC, Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology 12, 57-67, 2004.
24. L. A. Lyon, M. D. Musick, and M. J. Natan, Colloidal Au-Enhanced Surface Plasmon Resonance Immunosensing, Analytical Chemistry 70, 5177-5183, 1998.
25. L. A. Lyon, M. D. Musick, P. Cm Smith, B. D. Reiss, D. J. Pena, M. J. Natan, Surface Plasmon Resonance of Colloidal Au-modified Gold Films, Sensors and Actuators B 54, 118-124, 1999.
26. E. Hutter, S. Cha, J. Liu, J. Yi, J. H. Fendler, and D. Roy, Role of Substrate Metal in Gold Nanoparticle Enhanced Surfacee Plasmon Resoncnace Imaging, J. Phys. Chem. B 105, 8-12, 2001.
27. K. M. Byun nad S. J. Kim, Design Study of Highly Sensitive Nanowire-Enhanced Surface Plasmon Resonacne Biosensors Using Rigorous Coupled Wave Analysis, Optics Express 13, 3737-3742, 2005.
28. J. Waswa, J. Irudayaraj, and C. Debroy, Direct Detection of E. Coli O157:H7 in Selected Food Systems by a Surface Plasmon Resonance Biosensor, LWT 40, 187-192, 2007.