



2007년도

# 제35회 대한의용생체공학회 춘계학술대회

“Neural Engineering: An Emerging Interdisciplinary Technology for Tomorrow”



일시 2007년 5월 11일(금) – 5월 12일(토)

장소 전북대학교 진수당

주최 대한의용생체공학회

주관 대한의용생체공학회, 대한의공협회, 전북대학교

후원 한국과학기술단체총연합회, 한국학술진흥재단,  
한국의료기기공업협동조합,  
전북대학교 헬스케어기술개발사업단,  
전북대학교 실버공학연구센터, (주)솔고바이오메디칼,  
(주)중외메디칼, (주)에이스메디칼, (주)인성메디칼,  
(주)파브메드, (주)리스템



사단법인 **대한의용생체공학회**

The Korean Society of Medical & Biological Engineering

# 신경신호 측정을 위한 SPR(표면플라즈몬공명) 시스템 개발

김신애<sup>1,2</sup>, 박형원<sup>2</sup>, 김성준<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 공과대학 전기컴퓨터공학부

<sup>2</sup>초미세생체전자시스템연구센터

## Development of Surface Plasmon Resonance (SPR) System for Detecting Neural Signals

S. A. Kim<sup>1,2</sup>, H. W. Baac<sup>2</sup>, and S. J. Kim<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>School of Electrical Engineering and Computer Science, Seoul National University

<sup>2</sup>Nano-Bio & System Research Center

### ABSTRACT

This study aims to develop a new effective extracellular recording system for detecting neural signal using Surface Plasmon Resonance (SPR). The SPR can directly detect electrochemical signals at the metal-electrolyte interface. In addition, this method has no time limit in measurement and no artifact noise during electrical stimulation compared with conventional electrophysiological methods. However, the low sensitivity of SPR has been known as a problem for detecting a subtle ionic changes like action potentials. To overcome this problem, we improved several parts of a conventional SPR system; i) introduction of a multi-cell photo-detector with a mask, ii) introduction of a ultra-low noise laser diode, iii) electrical shielding of the whole optic system using a custom-made faraday cage. Consequently, evoked Compound Action Potentials (CAPs) from rat sciatic nerves were successfully recorded. These recordings are the first time of detecting neural signal using SPR biosensor. These data indicate that the SPR system can be used as a valuable tool for the study of neural networks.

### 서 론

신경신호의 계측은 신경계 연구에서 필수적인 도구이다[1][2]. 신경신호의 발생은 세포막의 전기 생리학적 특성 때문에 가능해진다. 특히 이중에서도 막전위(membrane potential)의 변화는 신경 세포간의 활동에 가장 큰 영향을 미친다. 막전위는 크게 안정막전위(resting membrane potential)와 활동전위(action potentials; APs)로 나눌 수 있으며, 막전위의 발생 원리는 세포막을 경계로 세포 안과 세포 밖의 전기적 성질을 띠고 있는 이온의 농도차이에 의한 것이다. 이와 같은 세포막 안팎의 이온 농도 차이와 세포막의 선택적 막투과성으로 인해 막전위가 발생한다.

신경신호에 의한 세포 간의 의사소통과 네트워크를 이해하기 위해서는 효과적인 측정방법의 개발이 매우 중요하다. 특히 비침습적인 방법으로 다채

널 동시 기록이 가능한 측정법은 매우 유용하고 필수적이다. 현재까지 다채널 신경신호의 측정을 위해서 널리 사용되어온 방법은 평판형 다중미세전극(Micro-Electrode Arrays; MEA)[3]과 형광 염료(fluorescence dye)[4]를 사용한 방법이다. 그러나 MEA의 경우 전기자극 시 잡음(stimulation artifact)이 생겨, 잡음과 신호의 구분이 어려운 단점이 있다. 반면 형광 염료를 이용한 광학 기록 방법은 잡음이 적고 이미지화가 가능하지만, 염료의 특성상 측정시간이 제약을 받게 된다[5].

따라서 본 논문에서는 기존 신경신호 측정방법의 단점을 극복할 수 있는 새로운 광학적 신호측정 방법으로 표면플라즈몬공명(Surface Plasmon Resonance; SPR) 시스템을 제안하였다. TM 모드로 편광된 빛이 유전체(시료)와 금속의 경계면에 입사하면 표면 플라즈몬이라고 하는 전자들의 집단적인 움직임이 발생한다. 이때 공명 조건을 만족하는 특정 입사각에서는 공명 현상이 일어나게 되는데 이것을 SPR이라고 한다[6]. 금속과 시료의 상호 작용을 통한 혹은 시료 자체의 물리적·화학적 변화가 유전률의 변화로 이어지고 이는 곧 굴절률의 변화로 나타나 결과적으로 공명각이 변화된다. SPR을 이용한 신경신호 측정원리 역시 막전위 발생에 의한 세포막 주변의 농도변화가 금속계면 사이에서 SPR에 의해 공명각의 변화로 측정되는 것이다.

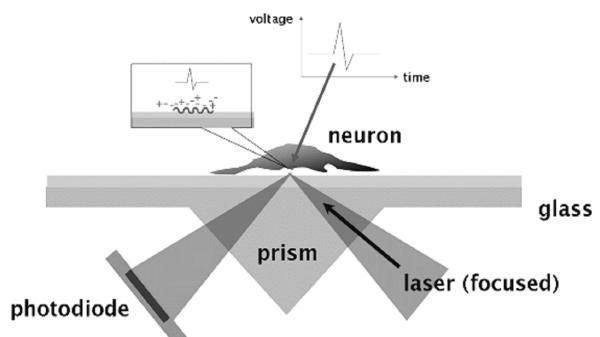


그림 1. SPR을 이용한 신경신호 측정원리 모식도

이처럼 SPR을 이용하여 신경신호를 측정할 경우 광학적 측정 방법을 사용하므로 MEA의 전기적 잡음이 측정에 방해가 되지 않으며, 형광 염료를 사용하지 않으므로 염료에 의한 측정시간의 제약도

극복할 수 있다[5].

## 본 론

### 1. SPR 시스템의 구성

SPR 시스템은 그림2와 같이 구성되었으며 크게 SPR을 여기시키는 광학부, 측정시료의 전처리부, 신호처리부로 나눌 수 있다. 광학부는 다시 SPR을 여기시키는 데 필요한 광원부(635nm laser diode), SPR변환부, 광검출부(photodetector)로 나뉘며, 측정시료의 전처리부는 금속막(gold)이 증착된 유리기판(BK7 glass)을 중심으로 시료챔버(Teflon ring)와 프리즘 등으로 구성되어 있다. 신호처리부는 측정된 반사도를 컴퓨터에 연결해서 실시간으로 측정할 수 있는 증폭기와 필터, 신호수집보드 및 소프트웨어를 말한다.

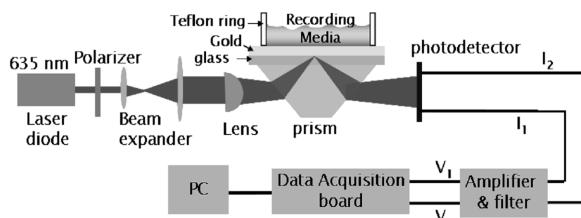


그림 2. SPR 시스템 모식도

신경신호 측정 시 신경세포는 시료챔버 안에 세포 배양액(recording media)과 함께 위치하며 바닥에 밀착하도록 구성하였다. 바닥에 밀착한 신경세포는 막전위의 활성화에 의해 굴절률의 변화를 야기시키고 이는 SPR에 의해서 광검출부에서 측정되는 신호의 크기를 변화시킬도록 구성되었다.

### 2. SPR 시스템의 특성 및 성능

신경신호를 측정하기 위해서 시스템은 생물학적 적합성(biocompatibility)을 검증해야 한다. 그림3은 유리기판 중에서 굴절률이 큰 SF10 glass을 사용하였을 때와 굴절률이 작은 BK7 glass를 사용하였을 때 생물학적 적합성을 비교 실험하였다. 두 실험 모두 각각의 유리기판 위에 동일한 금속막(gold)이 50nm 두께로 증착되었다. 실험은 태아 쥐(embryo-SD rat, TP-18)의 해마세포(hippocampal neuron)을 사용하였으며 2주 동안 배양한 사진이다.

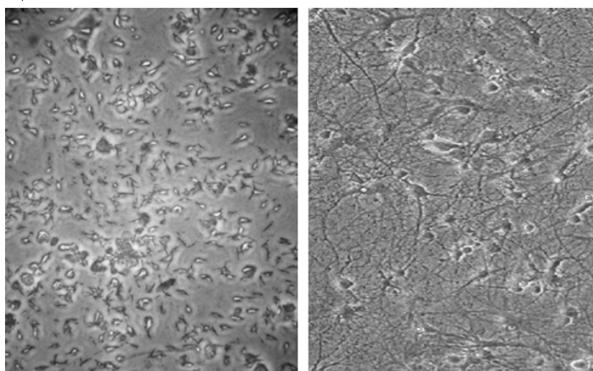


그림 3. 금속막(Au)이 증착된 SF10 glass(좌)와 BK7 glass(우)에서 배양된 해마세포 사진

그 결과 SF10 glass 위에 배양된 세포의 경우 2주

후 모두 죽었으며 축색돌기나 수상돌기를 전혀 확인할 수 없었다. 반면 BK7 glass에 배양된 세포의 경우 건강하게 자란 것을 확인할 수 있었다. 따라서 BK7 glass를 이용한 SPR 시스템은 신경세포를 배양하고 측정하기에 생물학적으로 안전한 특성을 갖춘 것으로 확인하였다.

또한 작은 신경신호를 측정하기 위해서 잡음을 감소시키는 것이 중요하다. 따라서 본 실험에서 시스템의 잡음을 줄이는데 중점을 두었으며 그 결과 시스템의 전체 잡음은  $18\mu\text{VRMS}$  이하로 유지할 수 있었다. 잡음을 줄이기 위한 방법으로는 주변잡음을 없애기 위해 패러데이 케이지를 사용했으며 전원잡음과 전선간의 커플링을 막기 위해서 전선의 차폐(shielding)와 그라운딩 방법을 이용하였다. 그밖에도 fluctuation이 작은 광원의 선택과 슬릿을 이용한 광검출기, band-pass 필터를 사용하여 시스템의 잡음을 줄이기 위해 노력하였다.

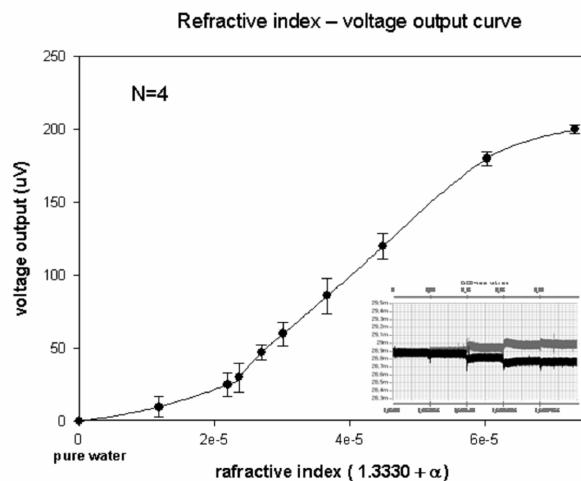


그림 4. 굴절률 변화에 따른 전압출력 특성

그 결과 그림4와 같은 시스템 성능을 얻을 수 있었다. 그림4는 시료챔버 안의 굴절률 변화에 따른 출력전원의 변화를 측정한 것이다. 이 시스템은 약  $10^{-5}$ 의 굴절률의 변화를 측정할 수 있으며 이는 기존에 상용화 되어있는 SPR 센서에 비해 동일하거나 우수한 특성을 보인다.

이상과 같은 두 가지 특성에 따라 이 시스템은 신경신호 측정에 적용할 수 있을 것으로 생각된다.

### 3. SPR시스템을 이용한 쥐의 좌골신경 신호 측정

우선 신경신호측정 가능성을 확인하기 위해 신경세포가 아닌 좌골신경다발(sciatic nerve)을 이용하여 복합활동전압(compound action potentials; CAPs)을 기록하였다. 실험동물은 체중 200~250g의 Sprague-Dawley 계 솟쥐를 사용하였다. 실험동물군의 좌골신경을 절단하여 금속(gold, 50nm) 코팅된 유리막 위에 고정하였으며, 신경신호 기록을 위한 배양액을 채워  $37^\circ\text{C}$ , pH=7.0~7.5를 유지하며 실험을 수행하였다. 신경다발의 CAPs의 경우 그 크기가 일반 APs에 비해 크며 측정 시간도 길어 실험에 용이한 장점이 있다[7].

그림 5는 전기자극 세기의 변화에 따른 좌골신경의 신경신호 측정결과이다. 이때 사용한 전기자극 조건은 구형파의 전류 자극이며, 진폭이 1.5 ms, 자극빈도가 0.5 Hz로 고정하고 자극의 세기만 변화

하며 측정하였다. 그 결과 그림5와 같이 0.4mA의 자극(上)을 주었을 때는 잡음 외에 신호파형이 관찰되지 않았으며, 0.6mA의 자극(下)을 주었을 때는 자극 뒤에 신경신호로 측정되는 신호파형이 관측되었다. 이 파형은 커플링이나 자극에 의한 잡음이 아닌 것으로 확인하였으며, 0.5mA 이상의 자극에서만 분명히 확인할 수 있었다. 따라서 이 신호는 0.5mA를 문턱전위(threshold level)로 갖는 좌골신경의 CAPs를 측정한 것으로 사료된다.

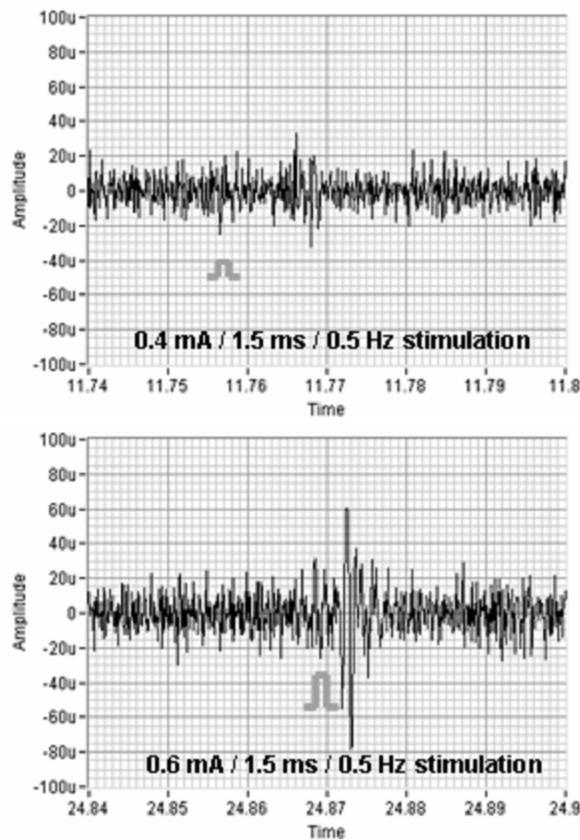


그림 5. 전기자극 크기에 따른 쥐의 좌골신경신호의 측정 결과

## 결 론

본 연구에서는 SPR이라는 기존의 광학센서를 이용하여 신경신호를 기록하는 새로운 방법을 제안하였다. 기존의 SPR 시스템에서 생물학적으로 적합하도록 시스템을 향상시키고, 시스템의 잡음을 크게 줄여 신경신호 측정에 적합한 고감도 SPR 시스템을 구성하였다. 그 결과 약  $\Delta\theta = 10^{-5}$  정도의 미세한 굴절률 변화를 측정하는데 성공하였다. 또한 쥐의 좌골신경의 신호를 측정하는데 성공함으로써 SPR을 이용하여 신경신호를 측정하는 것이 가능하다는 것을 보였다.

SPR을 이용한 신경신호의 기록방법은 광학적인 방법을 이용하기 때문에 다채널 시스템으로 확장하는데 제약이 훨씬 적으며, 앞서 언급한 바와 같이 전기적인 노이즈에 민감하기 않기 때문에 기존의 방법보다 효과적인 시스템의 개발이 가능하다. 뿐만 아니라 시스템의 개선을 통해 MEA 위에 배양된 신경회로망을 SPR을 이용하여 분석하게 되면, 전기적인 방법으로 신경세포를 자극하고 광학적인 방법으로 신경신호를 측정하는 이상적인 신경신호 측정 센서의 개발이 가능할 것으로 예상된다.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the NBS-ERC (Nano Bioelectronics and System Research Center) of Seoul National University, which is an ERC supported by MOST/KOSEF.

## 참고문헌

- [1] W. L. C. Rutten, "Selective electrical interface with the nervous system", *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 4, pp. 407-452, 2002
- [2] S. J. Oh, J. K. Song, and S. J. Kim, "Neural interface with a silicon neural probe in the advancement of microtechnology", *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, vol. 8, no. 4, pp. 252-256, 2003
- [3] F. O. Morin, Y. Takamura, and E. Tamiya, "Investigating neural activity with planar microelectrode arrays: achievements and new perspectives", *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 100, no. 2, pp. 131-143, 2005
- [4] S. Antic and D. Zecevic, "Optical signals from neurons with internally applied voltage-sensitive dyes", *J. Neurosci.*, vol. 15, no. 2, pp. 1392-1405, 1995
- [5] H. W. Baac, S. B. Jun, J. N. Tuner, W. Shain, K. L. Smith, M. L. Shuler, and S. J. Kim, "Extracellular optical recording configuration for neuronal action potential detection by using surface plasmon resonance: preliminary experiment", *Proceedings of the 2nd international IEEE EMBS Conference on Neural Eng.*, pp. 332-334, 2005
- [6] H. Reather, *Surface plasmons*, Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1988
- [7] P. K. Stys, B. R. Ransom, and S. G. Waxman, "Compound action potential of nerve recorded by suction electrode: a theoretical and experimental analysis", *Brain Research*, vol. 546, no. 1, pp. 18-32, 1991