

Development of Biosensor for the Detection of Gas Toxicity using Bioluminescent Bacteria

길근철 · 장석태 · 구만복

광주과학기술원 환경공학과

1. 서 론

대기의 오염은 세계적으로 문제가 되고 있는 환경문제 중의 하나이다. 특히 많은 양의 화학물질을 생산하는 공장이나 이러한 화학물질을 취급하는 시설의 대기환경은 오염되기 쉽다. 이러한 화학물질중에 휘발성 유기화합물(Volatile Organic Compounds, VOCs)은 증기압이 높아 쉽게 대기 중으로 증발되어 작업자의 인체에 심각한 영향을 미치기도 하고 여러 가지 환경문제를 발생시키기도 한다. 이러한 문제를 해결하기 위해서는 오염물질을 탐지하여 오염을 방지하고 제거하는 기술이 필요하다. 특히 가스상의 독성 유해물질을 탐지하는 방법으로 물리, 화학적인 특성을 이용한 것들이 있으나 가격이 비싸고 운영하기가 어려운 점이 있다. 이에 비해 바이오 기술을 이용한 센서는 생산이 쉽고 운영이 쉬우며 저렴하게 제작할 수 있는 이점이 있다. 특히 유해가스의 독성을 탐지하기 위한 연구는 최근 들어 많이 되어지고 있는데 크게 효소와 미생물의 세포를 이용한 바이오센서로 나눌 수 있다. 효소를 이용한 바이오센서는 민감도가 높고 특이적으로 반응하지만 구조가 비교적 복잡하고 운영이 용이하지 않다. 반면 세포를 이용한 바이오센서는 구조가 간단하고 쉽게 운영할 수 있는 장점이 있다. 본 실험에서는 유해 화학물질에 대해서 발광(發光)반응의 변화를 보이는 유전자 재조합된 박테리아를 고정화하여 가스상에 존재하는 유해 화학물질의 독성을 탐지할 수 있는 바이오센서를 연구하였다. 세포가 안정적으로 유지되면서 독성 물질을 민감하게 탐지할 수 있는 여러 조건들을 실험하였다.

2. 실험방법

유전자 재조합 박테리아를 약 12시간 동안 플라스크에서 배양한 후 원심분리를 하여 cell을 분리한 다음 농도로 농축하여 agar medium에 고정화 시켰다. 고정화 후 장기사용을 위해 4℃에서 보관하였고 세포의 수분을 유지하기 위하여 고정화된 미생물을 centrifuge tube 에 넣어 보관하였다. 실험장치로는 세포가 고정화되어 있는 kit와 부착되어 있는 광섬유를 chamber와 연결하여 chamber에 주입되는 화학물질과 반응시 변화하는 생물학적 빛을 측정하였다. 화학물질은 주사기를 통하여 주입하였고 다른 농도의 액상 용액을 주입하여 가스의 농도를 조절하였다. 미생물의 안정성 및 화학물질과의 반응성을 관찰하기 위해서 화학물질을 주입하지 않은 control과 비교하였다.

Strain: pLITE203

Temperature: 30℃

Chemical: Benzene

Medium: LB medium, AB medium

3. 결과 및 고찰

Liquid상의 Benzene을 Mineral oil과 섞어 농도를 조절한 후 chamber로 주입하여 vapor 농도를 조절하였다. Benzene을 주입하기전 발광 미생물의 Bioluminescence(BL)의 값이 일정하게 유지되도록 한후 Benzene을 주입하였다. BL값이 감소하는 정도를 Relative Bioluminescence(RBL=주입후 BL/주입전 BL)로 나타내어 반응의 변화를 관찰하였는데 반응정도가 농도와 상관관계를 가지는 것을 알 수 있었다.(Fig. 1) Benzene을 주입하지 않은 chamber의 BL값을 control로 잡고 일정한 값을 유지하는 시간을 측정해 보면 4℃ 저장 온도에서 30℃ 실험온도로의 적응시간이 약 20분 정도 소요되며 그후 약 200분간 일정한 값을 유지하는 것을 알 수 있었다.(Fig. 2)

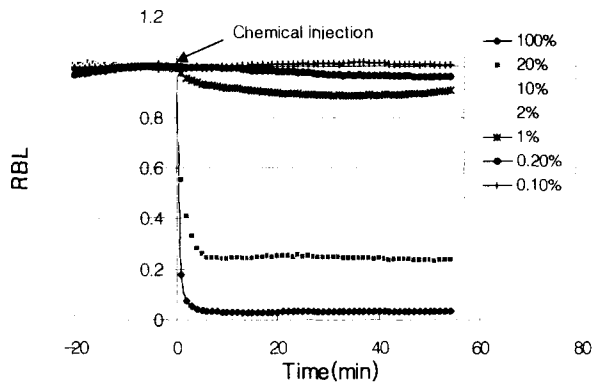


Fig. 1. Response ratio of bioluminescent bacteria to different concentration of benzene(Liquid Volume %).

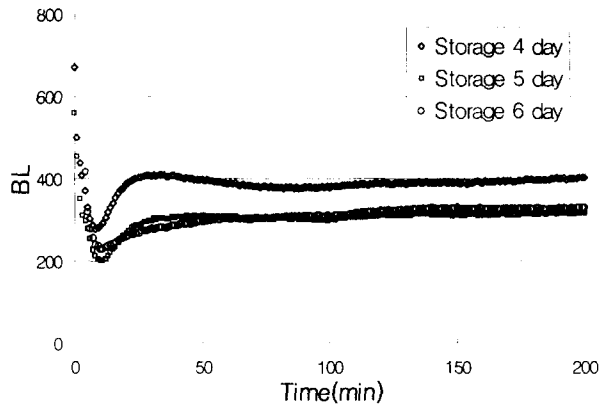


Fig. 2. Control bioluminescence of bacteria.

Agar Medium을 이용하여 고정화를 하면 세포성장에 필요한 영양분을 공급해 줄뿐만 아니라 소형으로 제작이 가능하므로 Vapor 상태의 독성을 탐지할 수 있는 휴대용 바이오센서로의 응용이 가능하며 여러 가지 factor에 대한 optimization을 한다면 민감도를 높일 수 있으리라 생각된다.

참 고 문 헌

- Matine Naessens & Canh Tran-Minh(1998) Whole-cell biosensor for direct determination of solvent vapors, *Biosensors & Bioelectronics*, Vol. 13, 3-4.
- Jeong Im Lee & Isao Karube (1996) Development of a biosensor for gaseous cyanide in solution, *Biosensors & Bioelectronics*, Vol. 11, 1147-1154.
- Manus J, Dennison, Jennifer M. Hall, and Anthony P. F. Turner (1995) Gas-phase microbiosensor for monitoring phenol vapor at ppb levels, 67, 3922-3927.