

## 대장균 검출을 위한 항체고정화 Quartz Crystal Microbalance 시스템의 특성

박인선, 김남수

한국식품개발연구원 생물공학연구본부

전화 (031) 780-9131, FAX (031) 709-9876

## Abstract

The thiolated anti-*Escherichia coli* antibody prepared by thiolation with a thiol-cleavable heterobifunctional cross-linker, sulfosuccinimidyl 6[3-(2-pyridyldithio)propionamido]hexanoate (sulfo-LC-SPDP) was chemisorbed onto one gold electrode of the piezoelectric quartz crystal surface. In the QCM system employing a batch-type well holder, a steady-state frequency decrease was attained within 20 min when 100~200  $\mu\text{L}$  suspensions of *Escherichia coli* having viable cell counts of  $10^5\sim 10^6$  CFU/mL were added. The stability of sensor response was improved compared to the system with a batch-type dip holder.

## 1. 서론

바이오센서 기법에 의하여 대장균과 같은 오염지표균을 검출하는 기술은 최근 그 중요성이 인정되어 활발한 연구가 이루어지고 있고 그 한 예가 압전류적 (piezoelectric, PZ) 바이오센서의 적용이다. 이는 얇은 wafer 형태로 가공한 수정 결정에 항체와 같은 생물요소를 고정화하고 여기에 오염지표균 자체 혹은 그들의 추출 DNA나 RNA가 결합할 때에 나타나는 진동수변화를 측정하는 원리에 의하여 작동하며 Sauerbrey식 ( $\Delta f = -2.3 \times 10^{-6} f^2 \Delta m/A$ )에 의하여 설명할 수 있다. 여기에서  $\Delta f$ 는 coating된 결정의 기본진동수 (fundamental frequency) 변화,  $f$ 는 결정의 기본진동수,  $A$ 는 coating 면적,  $\Delta m$ 은 질량축적을 나타낸다.<sup>1)</sup>

## 2. 재료 및 방법

수정결정 혹은 티올화 가교화제에 의하여 티올화된 대장균 항체가 고정화된 수정 결정을 well holder 혹은 dip holder에 O-ring으로 고정하여 끼운 후 발진모듈과 진동수측정기에 연결하였다. Reference전극과 counter전극을 수정결정의 양쪽 옆에 두고 이것을 potentiostat (model 283, EG&G, NJ, USA)와 연결하여 일정한 전류가 완충용액으로 채워진 반응cell에 가해지도록 하였다. 시료를 가하고 경시적인 진동수변화량을 Echem software (version 4.3)에 의해 천송받아 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

고정화 방법에 따른 진동수감소량을 측정한 결과, 티올화 가교화제로 sulfo-LC-

SPDP를 사용한 경우 재현성의 척도인 변이계수는 가장 낮고 반응 감응도는 가장 높았다. Dip holder와 well holder를 사용하는 batch형의 항체센서 시스템의 감응도를 비교하였다. 전자의 경우 항체와 대장균간의 결합반응에 의해 정상상태 (steady-state)의 진동수감소가 일어나는 반응시간은 약 50분 정도였고 진동수 감소량은  $9.80 \times 10^8$  CFU/mL의 대장균을 주입하였을 때 약 1,400 Hz 정도였다. 한편, 후자의 경우에는 미생물의 주입량을 100~200  $\mu$ L 정도로 하여도 충분하였고 반응시간도 약 20분 이내로 감소되었으며 결합반응에 따른 진동수변화가 대단히 안정적으로 나타났다. 또한, 미생물 주입시의 진동수의 순간변화도 약 20 Hz 이내로 감소하였으며 고정화된 항체에 대장균이 결합되어 나타나는 진동수감소는 약 500 Hz 정도였다 (Fig. 1)

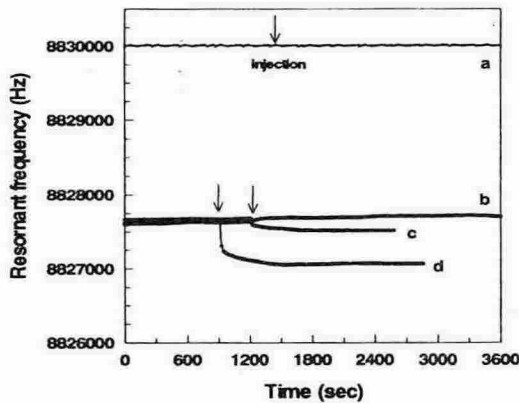


Fig. 1. Time-dependent resonant frequencies of the antibody-immobilized sensor. The bare quartz crystal (a), the crystal immobilized without the thiolation cross-linker (b) and the crystal immobilized with the thiolation cross-linker (c and d) were dipped into the well holder system, followed by the injections of *Escherichia coli* suspensions of  $3.10 \times 10^6$  (c) and  $3.20 \times 10^8$  (d) CFU/mL.

대장균 4종을 tryptic soy broth에서 배양하고  $2.45 \times 10^8 \sim 1.55 \times 10^9$  CFU/mL의 생균수를 지니는 배양액을 well holder 시스템내의 수정결정 표면에 200  $\mu$ L씩 주입하고 반응 감응도를 비교한 결과, 대장균의 종류에 관계없이 항체센서의 감응도는 약 403~582 Hz의 범위내에 있었다.

#### 4. 요약

대장균에 대한 항체를 수정결정상의 금전극에 고정화하여 압전류적 항체센서 시스템을 제작하고 그 특성을 평가하였다. 그 결과, 정상상태의 센서반응을 얻는데 소요되는 시간이 20분 이내로 단축되었으며 항원·항체결합에 의한 진동수변화도 대단히 안정적으로 나타났다.

#### 5. 참고문헌

1. Guilbault, G.G. and Jordan, J.M.: Analytical uses of piezoelectric crystals: A review. *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.* **19**: 1, 1988.