

생물정화를 위한 세슘 및 방사선 저항성 세균의 분리

김재훈^{1,*}, 류재혁¹, 김상훈¹, 안준우¹, 권순재¹, 김진백¹, 김민규¹, 임상용¹, 박재남²

¹한국원자력연구원 첨단방사선연구소, ²송원대학교 식품영양학과

Isolation of Cesium and Radiation Resistance Bacteria for Bioremediation

Jae Hoon Kim^{1,*}, Jai Hyunk Ryu¹, Sang Hoon Kim¹, Joon Woo Ahn¹, Soon Jae Kwon¹, Jin Baek Kim¹, Min Kyu Kim¹, Sang Young Im¹ and Jae Nam Park²

¹Korea Atomic Energy Research Institute (KAERI), 29, Geumgu-gil, Jeongeup-si, Jeollabuk-do 56212, Republic of Korea
²Songwon University, Department of Food and Nutrition, 73, Songam-ro, Gwangju-si 61756, Republic of Korea

Abstract The global problem of handling radioactive materials is facing limitations. Eco-friendly bioremediation methods using microorganisms are being studied. This study was conducted to screen cesium-resistant microbial strains. M1 strain was selected from the soil sample by enriched culture in R2A medium containing 100 mM CsCl. In liquid medium containing above 40 mM of CsCl, the growth of M1 was inhibited in a concentration-dependent manner. Otherwise, M1 can survive up to 80 mM CsCl in solid medium although the growth rate was slow and colony size was small. M1 strain was genetically identified as a strain of the genus *Acinetobacter* through 16S rRNA sequencing, and radiation resistance (D_{10} value) of M1 was found to be 0.307 kGy. These results showed that M1 strain is highly resistant to cesium and can grow in radiation environment. It was considered that M1 strain is useful in the field of biological decontamination of cesium.

Key words: Bioremediation, Decontamination, Cesium, Radiation, *Acinetobacter*

1. 서론

후쿠시마 원전사고 등으로 인한 방사능물질의 환경오염으로 인해 사회적으로 문제가 되고 있는 가운데 세슘의 핵분열로 인해 생성되는 핵종은 ¹³⁴Cs, ¹³⁵Cs 및 ¹³⁷Cs으로 각각 반감기가 2.1년, 230만년, 30년으로 길다[1,2]. 또한, 세슘은 높은 용해도와 1가 세슘 이온(monovalent cesium ion)의 생물학적 이용도 때문에 중요한 핵 분열 폐기물로 취급되고 있다. 무엇보다, 세슘은 생체 필수 원소인 칼륨과 유사한 화학적 거동특성으로 인해 생체 내로 쉽게 흡

수, 축적되어 토양과 해수 등에 치명적인 환경 오염 및 파괴를 일으키며 사람에게 흡수될 경우 장시간의 피폭으로 인해 심각한 질병을 초래하게 된다[3].

환경으로부터 독성물질의 제거를 위한 기술로는 화학적 침전, 산화환원 및 전기화학적 처리 등의 방법이 있으나, 이러한 방법들은 대부분 비용이 비싼 이화학적 공정일뿐만 아니라 이차적인 오염을 야기할 수 있다. 이러한 기존 방법의 단점들을 극복하기 위해 바이오기술 기반의 생물정화(Bioremediation) 방법에 대한 관심이 증대되고 있다. 미생물을 이용한 생물정화 공정은 이화학

<http://www.ksri.kr/>

Copyright © 2023 by
Korean Society of Radiation Industry

*Corresponding author. Jae Hoon Kim

Tel. +82-63-570-3205 E-mail. jaehun@kaeri.re.kr

Received 12 June 2023 Revised 22 June 2023 Accepted 22 June 2023

적 공정과는 달리 부작용이 적고 경제성이 있으며 생흡착 (biosorption), 생축적 (bioaccumulation), 생전환 (biotransformation), 생광물화 (biomineralization)와 같은 자연적인 과정에 의한 오염물질 분해를 통해 오염된 물과 토양의 정화에 이용되고 있다[4-8].

미생물의 세포벽은 화학적으로 음전하인 인산기(PO_4^{3-}), 카르복실기(COOH^-) 및 수산기(OH^-)로 구성되어 있으며, 양이온의 방사성 핵종은 음이온과 상호작용을 통해 흡착 또는 침전 반응을 일으킬 수 있다. 이와 같이 미생물의 대사작용을 통하여 방사성 핵종의 화학적 형태와 물리적 거동에 영향을 주어 방사성 핵종의 이동을 지연하거나 차단시킬 수 있는 매개체로 활용이 가능하다[3,9-13]. 미생물을 이용한 방사능 물질의 제거로 기대할 수 있는 긍정적 영향으로는 환경에서 일시적 또는 영구적으로 방사성 핵종을 제거할 수 있는 생체막 (biofilm)의 형성, 방사능 환경에서 미생물에 의한 지화학적 환경 즉, pH와 Eh 변화로 인한 방사성 핵종의 침전 및 미생물의 왕성한 성장에 의한 다공성 물질의 기공 막힘 (clogging)과 이로 인한 다공성 물질의 수력학적 전도도 감소 등이 있다[14].

한편, 생물정화 공정은 기존의 중금속 고정화 (immobilization) 방식과 같은 물리화학적 기술에 비해 친환경적이며 비용이 적게 소요되기 때문에 방사능물질과 중금속에 오염된 환경에서 매우 효과적으로 사용되어 질 수 있다. 그러나, 금속에 저항성이 있는 대부분의 미생물은 방사선에 민감하기 때문에 방사선 환경에서의 생물정화를 위해서는 방사선 저항성을 필요로 한다[15]. 따라서, 본 연구는 세균의 생물정화를 위해 한국원자력연구원 첨단 방사선연구소 인근 토양에서 분리된 균주의 세균 (CsCl) 및 방사선 저항성을 평가할 목적으로 수행되었다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 샘플채취

CsCl (Sigma-Aldrich, NY, USA) 저항성 균주를 분리하기 위해 R2A 액체 배지 (medium)를 이용하였으며 구성 성분은 다음과 같다. Proteose Peptone No.3 (Merck, Germany), Casamino Acids (BactoTM, NJ, USA), Dextrose (Yakuri, Kyoto, Japan), Yeast Extract (BactoTM, NJ, USA), Soluble Starch (Junsei, Tokyo, Japan), $\text{CH}_3\text{COCOONa}$ (Sigma-

Aldrich, NY, USA), KH_2PO_4 (Junsei, Tokyo, Japan), MgSO_4 (Sigma-Aldrich, NY, USA), Agar (BMA, ME, USA)를 이용하여 성장배지 및 R2A 평판 배지 (R2A agar plate)를 준비하였다. 한국원자력연구원 첨단방사선연구소 인근지역 (전라북도 정읍시)의 토양 표면으로부터 10~15 cm의 깊이에서 시료를 채취하였으며, 채취한 토양시료 100g에 500 mL의 1차 증류수를 가하여 현탁처리 하였으며 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 멸균한 500 mL 유리병에 담아서 -70°C에서 보관 후 시료로 사용하였다.

2.2. 균주 분리 및 생육곡선

세균 저항성 균주의 분리는 Kim 등의 방법에 따라 실험을 진행하였다[3]. 보다 상세하게는 한국원자력연구원 첨단방사선연구소 인근지역 10~15 cm 깊이의 토양에 멸균증류수를 넣은 현탁액 제조한 후 100 mM CsCl (Sigma-Aldrich, NY, USA)이 함유된 R2A 액체배지에 주입하여 30°C, 150 rpm으로 1주간 농화배양 (enrichment culture) 하였다. 세균 저항성이 있는 우점종을 분리하기 위해 상기 농화배양액을 다시 1주일간 농화배양을 실시한 후 R2A 평판배지에 백금으로 쿼드런트 획선법 (quadrant streak method)으로 생존한 균주 (M1)를 분리하였다. 분리된 세균 저항성 균주 (M1)를 R2A 액체 배지에 계대배양 (subculture)한 후, CsCl 농도에 따른 생존곡선을 확인하기 위해서 Nutrient liquid medium (Difco)에 각각 CsCl 10, 20, 40, 60, 80, 100 mM 농도로 첨가한 배양액을 준비하였다. 그 다음, M1 균주를 배양액에 100 μL 씩 접종한 후 24시간 (30°C, 150 rpm) 동안 배양하면서 시간별로 샘플링을 하여 Optical Density (OD) 600 nm에서 흡광도를 측정 후 CsCl 농도 및 배양 시간에 따른 생육곡선 (growth curve)를 분석하였다[16-18]. 한편, 세균 외에 주요 방사성 물질인 스트론튬과 코발트에 대한 저항성을 확인하기 위해 SrCl_2 과 CoCl_2 (Sigma-Aldrich, NY, USA)를 각각 10, 20, 40, 60, 80, 100 mM의 농도로 배양액을 준비한 후 M1균주를 세균 생육곡선 분석과 동일한 방법으로 생육곡선을 확인하였다.

2.3. 생균수 분석 및 방사선 저항성 비교

방사성 동위원소인 세균의 생물정화를 위해서는 방사선 환경에서의 생존이 중요하기 때문에 방사선 저항성이 가장 높은 것으로 알려진 *Deinococcus radiodurans* (ATCC

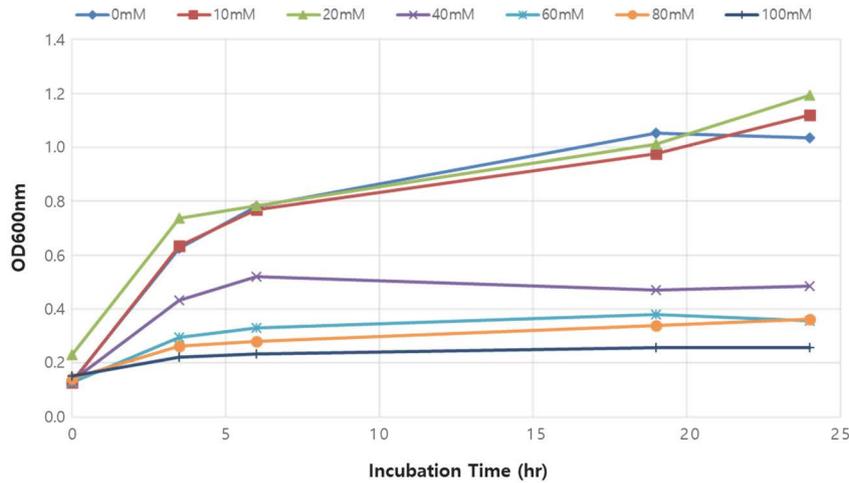


Fig. 1. Growth curve of isolated strain (M1) incubated in nutrient liquid medium with CsCl 0, 10, 20, 40, 60, 80, and 100 mM.

13939)를 이용하여 세습 및 방사선 저항성을 비교 평가 하였다. 흡광도를 측정하여 얻은 생육곡선 결과는 균주의 생존유무를 구분하기 어렵기 때문에 보다 정확한 생균수(viable colony)를 분석하기 위해 각각 CsCl 20, 40, 60, 80, 100 mM 농도로 Nutrient Agar 평판배지를 제조하였다. 이후 M1 균주 및 *D. radiodurans* 균주배양액을 도말하여 30°C에서 48시간 동안 배양한 후 생성된 집락수를 계수하여 CFU (Colony Forming Unit)로 나타내었으며, 최종적으로 Log 값으로 환산하여 산출하였다. 한편, 방사선 저항성 분석의 경우 Nutrient liquid medium에 배양한 M1 및 *D. radiodurans* 균주배양액을 실온에서 감마선(0~10 kGy)을 조사한 후 다시 Nutrient agar 배지에 도말접종하여 30도에서 48시간 배양한 뒤 생성된 집락수를 Log CFU mL⁻¹로 나타내었으며, 이후 X축(감마선 조사선량) 및 Y축(Log CFU mL⁻¹)으로부터 회귀분석을 통해 최종적으로 방사선 저항성을 D₁₀ value (미생물수를 1/10로 감소시키는데 필요한 방사선 에너지 값)으로 산출하였다. 이때 감마선 조사는 한국원자력연구원 첨단방사선연구소에 위치한 감마선 조사시설(IR-221 gamma irradiator, MDS Nordion, Canada)을 이용하여 실온에서 시간당 10kGy의 선량률로 흡수선량이 0.5~10kGy가 되도록 감마선을 조사하였다.

2.4. 16S rRNA 염기서열 분석

M1 균주의 유전적 유사도 분석을 위해 16S rRNA 염기서열과 NCBI's BlastN database 염기서열을 비교분석하여 상동성을 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 세습 저항성 평가

분리 균주 M1의 세습 저항성 확인을 위해 CsCl이 함유된 배지에서 생육곡선을 분석한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. CsCl 첨가 직후(0 hr) M1 균주의 흡광도는 변화가 없어 단시간에 걸친 세습의 영향은 없는 것으로 나타났다. CsCl 10 및 20mM 첨가구의 경우 배양 3시간부터 24시간까지 대조구(CsCl 0mM)와 거의 유사한 생육곡선을 나타내고 있어 CsCl 20mM 이하의 농도에서는 M1 균주의 생육에 영향이 없는 것으로 확인되었다. 그러나, CsCl 40 mM 이상 첨가구의 경우 배양 3시간부터 생육이 지연되면서 24시간까지 CsCl 농도에 의존적으로 생육이 억제되는 것으로 나타났다. 배양 24시간 후의 흡광도(OD600 nm)를 기준으로 CsCl 10 및 20mM 농도에서는 무첨가 대조구 이상의 성장율을 보였으며, CsCl 40, 60, 80 및 100 mM 처리시의 성장율은 무첨가 대조구(100%) 대비 각각 50%, 35%, 25% 및 25% 정도로 확인되었다.

Kang 등 [19]은 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1을 대상으로 24시간(30°C, 180 rpm) 배양기간 동안의 생육곡선(OD 600 nm) 분석을 통해 CsCl 저항성을 확인한 결과 CsCl 20, 40, 60, 80 및 100 mM 농도에서의 성장률은 각각 85%, 80%, 60%, 30% 및 20% 정도로 M1 균주의 성장률과 유사한 결과를 보였으며, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1은 세습을 약 76% 제거할 수 있는 우수한 균주로서 매우 효과적인 생물정화 능력이 있는 것으로 보고하여 M1 균주

Table 1. Viable cell counts of M1 (A) and *D. radiodurans* (B) incubated in nutrient agar medium with CsCl 0, 10, 20, 40, 60, 80, and 100 mM after incubation at 30°C for 48 hr

| CsCl (mM) | Colony forming unit (Log CFU) | |
|-----------|-------------------------------|-----------------------|
| | M1 | <i>D. radiodurans</i> |
| 0 | 9.36 ± 0.25 | 9.26 ± 0.07 |
| 20 | 9.47 ± 0.13 | 9.24 ± 0.12 |
| 40 | 9.36 ± 0.17 | ND |
| 60 | 9.25 ± 0.19 | ND |
| 80 | 9.13 ± 0.27 | ND |
| 100 | ND ¹⁾ | ND |

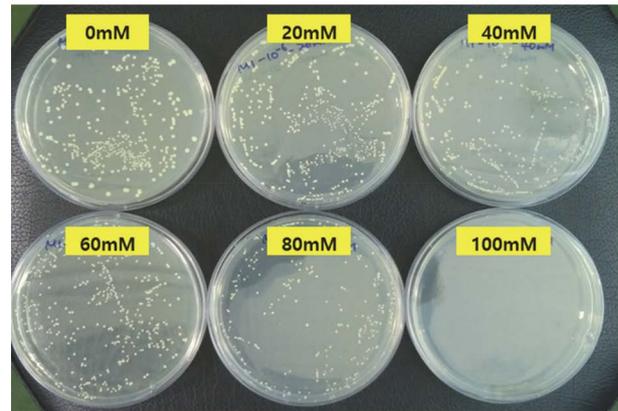
¹⁾Not Detected

또한 세습제거에 효과가 있을 것으로 기대된다.

또한, Kim 등 [3]의 연구에 따르면 *Bacillus* 속으로 동정된 분리균주의 세습 저항성은 CsCl 10 mM 이하의 농도에서 세습 저항성을 보이는 것으로 나타났으며, 50 및 100 mM CsCl의 농도를 처리하였을 때 30°C에서 30시간(180 rpm) 동안 무첨가 대조군에 비하여 각각 59% 및 56% 성장하였다고 보고하였다. 비록 완전히 동일한 실험조건은 아니지만 본 연구결과에서 M1 균주의 경우 24시간(30°C, 150 rpm) 기준 CsCl 20 mM 이하의 농도에서는 생육에 전혀 영향이 없었으며, 40 mM에서는 무첨가 대조군 대비 생육정도가 약 50% 정도로 *Bacillus* 속 균주와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나, 100 mM CsCl의 농도에서는 M1 균주 성장율이 약 25% 정도로 M1 균주는 *Bacillus* 속 균주의 성장률(56%)에 비해 낮은 수치를 나타내었다.

보다 정확한 M1 균주의 세습 저항성 평가를 위해 각각 CsCl 20, 40, 60, 80, 100 mM 농도로 첨가한 Nutrient Agar 평판배지에 M1 균주 및 *D. radiodurans* 균주배양액을 도말한 후 30°C에서 24시간 동안 배양하여 생성된 집락수(CFU)를 계수하여 Table 1에 나타냈다. 그 결과 M1 균주의 경우 CsCl 80 mM 이하의 농도에서는 생존한 집락수가 CsCl 무첨가 대조군과 유사한 9 log CFU를 유지하는 것으로 나타나 생균수에 영향이 없는 것으로 나타났으나, CsCl 100 mM 농도에서는 생존이 불가능한 것으로 확인되었다(Table 1). 이는 액체배양을 통한 생육곡선 분석결과(Fig. 1)에서 CsCl 40 mM 이상의 농도에서는 M1 균주의 생육이 저해되는 결과와 차이가 있는 것으로 Fig. 2(A)에서와 같이 생존한 콜로니를 육안으로 확인하였을 때 CsCl 농도가 증가함에 따라 콜로니의 크기는 점차 작아지는 것

(A) Isolated strain (M1)



(B) *Deinococcus radiodurans* (ATCC 13939)

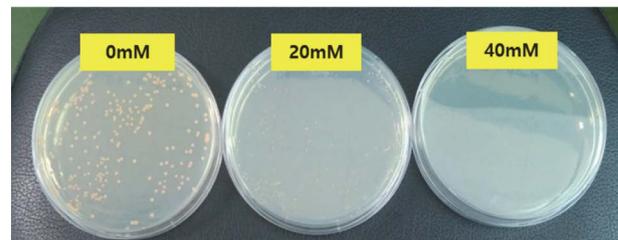


Fig. 2. Comparison of cesium resistance between M1 (A) and *D. radiodurans* (B) incubated in nutrient agar medium with CsCl 0, 10, 20, 40, 60, 80, and 100 mM.

으로 확인되었다. 따라서, M1 균주는 CsCl 20 mM까지는 생육에 영향이 없으며 40~80 mM 사이에서는 농도의존적으로 생육이 저해되고, 100 mM 이상의 농도에서는 생존이 불가능한 것으로 확인할 수 있었다.

한편, *D. radiodurans*는 생물정화 공정에서 사용되는 방사선 저항성이 가장 높은 균주로서 높은 방사선 환경에서 환원(reduction), 광물화(mineralization), 흡착(adsorption)과 같은 기전을 통해 중금속 물질을 효과적으로 제거할 수 있는 균주이다[20]. 이에 방사성물질의 생물학적 제염에 폭넓게 연구되고 있는 *D. radiodurans* (ATCC 13939)의 세습저항성을 분석한 결과 CsCl 20 mM 첨가구는 무첨가 대조군과 동일한 집락수를 나타냈다(Table 1). 또한, M1 균주와 마찬가지로 육안으로 확인된 콜로니의 크기는 대조군에 비해 상대적으로 작게 나타났으며(Fig. 2(B)), 40 mM 이상의 농도에서는 생존이 불가능한 것으로 확인되어 세습 저항성은 *D. radiodurans*에 비해 M1 균주가 높은 것으로 판단되었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 연구에서 분리한 M1 균주는 CsCl 100 mM의 고농도에서는 생존이 불가능한

것으로 나타났으나, 방사선 저항성이 높은 *D. radiodurans*에 비해 세습 저항성이 높았으며, 세습에 저항성이 있는 것으로 보고 되어진 *Bacillus* 및 *Psuedomonas* [19]와 거의 유사한 저항성을 가진 것으로 확인되어 세습의 생물학적 제염을 위한 미생물로 활용 가능할 것으로 사료되었다.

3.2. 방사선 저항성 평가

방사선 저항성 확인을 위해 M1 균주 및 *D. radiodurans*

Table 2. Comparison of radiation resistance between M1 and *D. radiodurans* after gamma-irradiation

| Strain | Irradiation dose (kGy) | Viable cells (Log CFU) | D ₁₀ value (kGy) |
|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------|
| M1 | 0 | 10.12 ± 0.21 | 0.307 |
| | 0.5 | 6.80 ± 0.13 | |
| | 1.0 | 5.29 ± 0.29 | |
| | 1.5 | 4.53 ± 0.22 | |
| | 2.0 | 3.13 ± 0.14 | |
| <i>D. radiodurans</i> | 0 | 6.11 ± 0.27 | 3.420 |
| | 10 | 3.10 ± 0.20 | |

배양액에 감마선을 조사한 후 평판배지에 접종하여 생존한 집락수 분석 결과를 Table 2에 나타냈다. M1 균주의 경우 감마선 2 kGy까지 조사선량이 증가함에 따라 생존수가 감소하였으며, 회귀분석을 통한 D₁₀ 값은 0.307 kGy로 나타났다. 한편, 방사선 저항성이 높은 것으로 알려진 *D. radiodurans*의 D₁₀ 값은 3.42 kGy로 확인되었다.

*D. radiodurans*는 독특한 DNA repair system과 강력한 항산화 작용으로 인해 생물체에 매우 치사적인 10~20 kGy 이상의 급성 방사선 노출 환경에서도 생존 가능한 미생물로 D₁₀ 값이 15.0 kGy 이상인 것들도 있다 [21,22]. 본 연구에서는 *D. radiodurans*의 값은 약 3.4 kGy이었으며, M1 균주의 경우 D₁₀ 값이 0.3 kGy로 *D. radiodurans*에 비해 약 1/10 수준으로 상대적으로 방사선 저항성이 약한 것으로 나타났다. 그러나, 일반적인 방사성 폐기물의 방사선 선량은 1.0 Gy h⁻¹ 이하이기 때문에 [14] M1 균주의 방사선 저항성은 방사성오염 환경에서의 생물정화에서 충분히 생육이 가능할 것으로 사료된다.

3.3. 16S rRNA 염기서열 분석

M1 균주의 유전적 유사도 분석을 위해 16S rRNA 염기

M1, *Acinetobacter calcoaceticus*

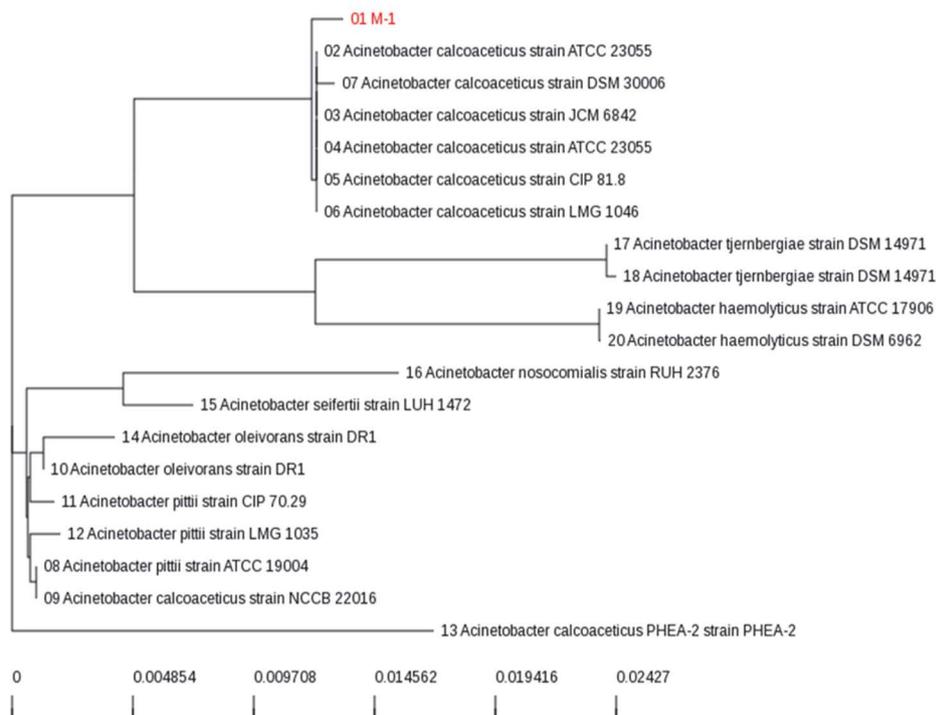
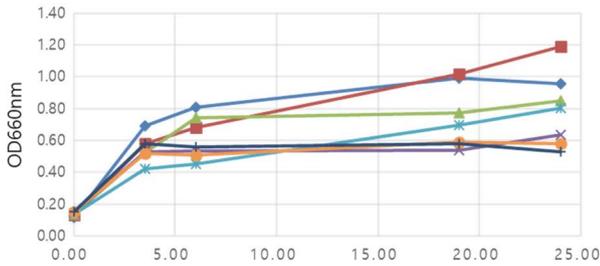


Fig. 3. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of M1 strain.

(A) Strontium (SrCl₂)



(B) Cobalt (CoCl₂)

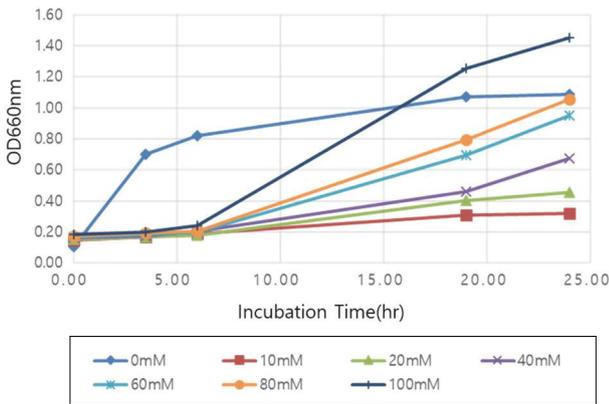


Fig. 4. Growth curve of *Acinetobacter calcoaceticus* (M1) incubated in nutrient liquid medium with SrCl₂ (A) and CoCl₂ (B) at concentrations of 0, 10, 20, 40, 60, 80, and 100 mM.

서열과 NCBI's BlastN database 염기서열을 비교분석하여 상동성을 분석한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 그 결과 M1 균주는 *Acinetobacter calcoaceticus*와 상동성이 가장 높은 것으로 확인되었다. *Acinetobacter* 속 균주는 끈적끈적한 집락 형성능이 있어 biofilm을 형성하는 gram (-) coccobacilli 세균으로 주로 토양에서 발견되며, 항생제 및 소독액 등에도 저항성이 강해 척박한 환경에서 생육이 가능한 것으로 알려져 있다 [23]. 또한, *Acinetobacter* 속 균주는 광범위하게 유기물과 무기물을 분해하고 제거할 수 있는 미생물로서 heavy metal뿐만 아니라 biphenyl, phenol, benzoate, crude oil, acetonitrile 등 다양한 오염원의 생물정화가 가능하며, 방사능핵종이 오염된 환경에서 자주 분리되는 균주이다 [24-26].

Saha와 Chopade [27]는 육류에서 분리된 *Acinetobacter* 속 균주를 대상으로 방사선 저항성을 분석한 결과 *Acinetobacter calcoaceticus*는 D₁₀ 값이 약 0.1~0.2 kGy로 본 연구에서 분리한 M1 균주와 유사한 결과를 보였으며, 방사선 저항성이 높은 것으로 알려진 *Acinetobacter radioresitens*는

D₁₀ 값이 1.2~2.2 kGy로 비교적 높게 나타났다고 보고하였다. 비록 *Acinetobacter* 속 균주를 이용한 세습의 생물정화와 관련된 연구는 현재까지 보고된 바 없으나, 상기의 연구결과에서와 같이 *Acinetobacter*와 유전적 상동성이 높은 M1 균주는 세습 및 방사선에 대한 저항성이 있는 것으로 확인되어 향후 방사선 환경에서의 방사능물질 및 중금속 등의 생물정화에 활용 가능할 것으로 기대된다.

3.4. 스트론튬 및 코발트 저항성 평가

세습 외에 주요 방사성물질인 스트론튬과 코발트에 대한 M1 균주의 저항성을 확인하기 위해 각각의 농도에 따른 생육곡선 분석 결과를 Fig. 4에 나타냈다. 스트론튬 (SrCl₂)의 경우 배양 3시간 후부터 처리농도가 증가함에 따라 M1균주의 생육이 저해되는 경향을 보였으며, 배양 18시간째 10 mM 처리구만 무처리 대조구와 유사한 생육 정도를 보이면서, 20 mM 농도 이상에서는 생육이 저해되는 것을 확인할 수 있었다. 코발트 (CoCl₂) 처리시에는 배양 3시간째 무처리구를 제외한 10 mM 농도 이상의 모든 처리구에서 생육이 거의 불가능한 것을 확인하였다. 다만, 배양 18시간 이후 오히려 처리농도가 증가할수록 흡광도가 증가하는 것으로 확인되었는데, 이는 배양시간이 경과함에 따라 코발트의 자체 발색에 의해 흡광도가 높아지는 간섭현상에 의한 것으로 판단되었다. 따라서, 보다 정확한 결과를 얻기 위해서는 세습 저항성 평가에서와 같이 생균수를 측정하는 방법으로 분석을 해야 할 것으로 판단되며, M1 균주는 Cs 외에도 Strontium (SrCl₂) 및 Cobalt (CoCl₂)에 대한 저항성도 있는 것으로 확인되었으므로 향후에는 세습, 스트론튬 및 코발트 등 방사성물질을 사용한 생물학적 제염 실험을 통해 M1 균주의 활용 가능성을 평가하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

4. 결론

세계적으로 방사성 물질의 처리문제가 한계에 직면하고 있는 가운데 미생물을 활용한 친환경적 생물정화 (Bioremediation) 방법이 연구되고 있다. 세습은 대표적인 핵분열 생성물로서 본 연구는 세습에 저항성이 높은 미생물 균주를 확보할 목적으로 수행되었다. 세습 저항성 균주의 스크리닝을 위해 한국원자력연구원 첨단방사선연구소

인근 토양(10~15 cm)으로부터 회수한 시료를 100 mM의 CsCl을 함유한 R2A 배지에 주입한 후 30°C, 150 rpm에서 7일간 농화배양 하여 생존한 균주(M1)를 선별하였다. 세습 저항성 확인을 위해 CsCl이 함유된 액체배지에서 생육 곡선을 분석한 결과 CsCl 20 mM 이하의 농도에서는 생육에 아무런 영향이 없었으나, CsCl 40 mM 이상에서는 농도 의존적으로 생육이 억제되는 것으로 나타났다. 또한, CsCl을 함유한 고체배지에 M1 균주를 접종하여 배양한 결과 CsCl 80 mM까지 농도 의존적으로 콜로니 집락 크기가 작게 나타나 생육속도는 느리지만 세포사멸 없이 생존 가능한 조건으로 확인되었다. 방사선 저항성(D₁₀ 값)은 0.307 kGy로 나타났으며, 최종적으로 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 M1 균주를 동정한 결과 *Acinetobacter* 속 균주인 것으로 확인되었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 M1 균주는 세습에 대한 저항성이 높으며 저선량 방사선 환경에서도 생육이 가능한 것으로 확인되어 향후 세습의 생물학적 제어 분야에 활용성이 매우 높은 것으로 판단되었다.

사 사

본 연구는 과학기술정보통신부의 재원으로 한국원자력연구원 주요사업(523320-23) 및 한국연구재단(RS-2022-00156231)의 지원을 받아 수행되었으며, 한국원자력연구원 해체기술개발부 노창현 박사님의 연구지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Avery SV. 1995. Caesium accumulation by microorganisms: uptake mechanisms, cation competition, compartmentalization and toxicity. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **14**:76-84.
2. Dekker L, Osborne TH and Santini JM. 2014. Isolation and identification of cobalt- and caesium-resistant bacteria from a nuclear fuel storage pond. *FEMS Microbiol. Lett.* **359**:81-84.
3. Kim Y, Jang SC, Song YH, Lee CS, Huh YS and Roh CH. 2016. Screening and Identification of a Cesium-tolerant Strain of Bacteria for Cesium Biosorption. *Korean J. Environ. Biol.* **34**(4):304-313.
4. Jeong SW and Choi YJ. 2017. Research Perspective of an Extremophilic Bacterium, *Deinococcus radiodurans* on Bioremediation of Radioactive Wastes. *Appl. Chem. Eng.* **28**(2):133-140.
5. Evans FF, Rosado S, Sebastian GV, Casella R, Machado P, Holmstrom C, Kjelleberg S, Van Elsas JD and Seldin L. 2004. Impact of oil contamination and biostimulation on the diversity of indigenous bacterial communities in soil microcosms. *FEMS Microbiol. Ecol.* **49**:295-305.
6. Brar SK, Verma M, Surampalli RY, Misra K, Tyagi RD, Meunier N and Blais JF. 2006. Bioremediation of hazardous wastes: A review, *Pract. Period. Hazard. Toxic Radioact. Waste Manag.* **10**:59-72.
7. Prakash D, Gabani P, Chandel AK, Ronen Z and Singh OV. 2013. Bioremediation: a genuine technology to remediate radionuclides from the environment. *Microb. Biotechnol.* **6**:349-360.
8. Gadd GM. 2000. Bioremediation potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization. *Curr. Opin. Biotechnol.* **11**:271-279.
9. Lovley DR, Phillips EJ, Gorby YA and Landa ER. 1991. Microbial reduction of uranium. *Nature* **350**:413-416.
10. Ahimou F, Boonaert CJ, Adriaensens Y, Jacques P, Thonart P, Paquot M and Rouxhet PG. 2007. XPS analysis of chemical functions at the surface of *Bacillus subtilis*. *J. Colloid Interface Sci.* **309**:49-55.
11. Beazley MJ, Martinez RJ, Sobecky PA, Webb SM and Taillefert M. 2007. Uranium biomineralization as a result of bacterial phosphatase activity: insights from bacterial isolates from a contaminated subsurface. *Environ. Sci. Technol.* **41**:5701-5707.
12. Shim HW, Jin YH, Seo SD, Lee SH and Kim DW. 2010. Highly reversible lithium storage in *bacillus subtilis*-directed porous Co₃O₄ nanostructures. *ACS Nano.* **5**:443-449.
13. Shim HW, Lim AH, Min KM and Kim DW. 2011. Synthesis of manganese oxide nanostructures using bacterial soft templates. *Cryst. Eng. Comm.* **13**:6747-6752.
14. Baik MH, Lee SY and Roh Y. 2009. Roles and importance of microbes in the radioactive waste disposal. *J. Kor. Radioactive Waste Soc.* **7**(1):63-72.
15. Luo X, Zeng X, He Z, Lu X, Yuan J, Shi J, Liu M, Pan Y, Wang Y. 2014. Isolation and characterization of a radiation-resistant bacterium from Taklamakan Desert showing potent ability to accumulate Lead (II) and considerable potential for bioremediation of radioactive wastes. *Ecotoxicology* **23**:1915-1921.
16. Kato F, Chikako K, Ayako O, Takayuki I, Hiroshi T, Yohoji M and Sugiyama H. 2000. Accumulation and subcellular localization of cesium in mycelia of streptomyces lividans and a Cs Tolerant Strain, *Streptomyces* sp. TOHO-2. *J. Health. Sci.* **46**:259-262.
17. Linda DK, Thomas O and Santini JM. 2014. Isolation and identification of cobalt- and caesium-resistant bacteria from a nuclear fuel storage pond. *FEMS Microbiol. Lett.* **359**:81-84.
18. Wang Xu, Chen C and Wang J. 2016. Bioremediation of cesium-contaminated soil by sorghum bicolor and soil microbial community analysis. *Geomicrobiol. J.* **33**:216-221.
19. Kang SM, Jang SC, Heo NS, Oh SY, Cho HJ, Rethinasabapathy M, Vilian ATE, Han YK, Roh C and Huh YS. 2017. Cesium-induced inhibition of bacterial growth of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and their possible potential applications for bioremediation.

- tion of wastewater. *J. Hazardous Materials* **338**:323-333.
20. Jeong SW and Choi YJ. 2017. Research Perspective of an Extremophilic Bacterium, *Deinococcus radiodurans* on Bioremediation of Radioactive Wastes. *Appl. Chem. Eng.* **28**(2):133-140.
21. Sghaier H, Bouchami O, Desler C, Lazim H, Saidi M, Rasmussen LJ and Hassen AB. 2012. Analysis of the antimicrobial susceptibility of the ionizing radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans*: implications for bioremediation of radioactive waste. *Ann. Microbiol.* **62**:493-500.
22. Cox MM and Battista JR. 2005. *Deinococcus radiodurans* - the consummate survivor. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**:882-892.
23. Koh JS, Ko YH, Kim GS, Ynag SH and Kang KS. 1992. Degradation of fat, oils and hydrocarbons by *Acinetobacter calcoaceticus*. *Kor. J. Appl. Microbial. Biotechnol.* **20**(4):477-482.
24. Abdel-El-Haleem D. 2003. *Acinetobacter*: environmental and biotechnological applications. *African J. Biotech.* **2**(4):71-74.
25. Francisco R, Alpoim MC, Morais PV. 2002. Diversity of chromium-resistant and -reducing bacteria in a chromium-contaminated activated sludge. *J. Appl. Microbiol.* **92**:837-843.
26. Lopez-Fernandez M, Jroundi F, Ruiz-Fresnedav MA and Merroun ML. 2020. Microbial interaction with and tolerance of radionuclides: underlying mechanisms and biotechnological applications. *Microbial. Biotechnol.* **14**:810-828.
27. Sahadev CS and Balu AC. 2009. Radiation sensitivity of *Acinetobacter* spp. and their redicidation for preservation of meat at low temperature. *Bangladesh Med. Res. Counc. Bull.* **35**:33-40.