

< 논문 >

유체역학적 집속 효과를 이용한 단일 박테리아 주화성의 정량적 분석

전호정* · 이용구* · 진승완** · 구상모* · 이창수*** · 유정열†
(2006년 7월 7일 접수, 2007년 2월 2일 심사완료)

Quantitative Analysis of Single Bacterial Chemotaxis Using a Hydrodynamic Focusing Channel

Hojeong Jeon, Yongku Lee, Songwan Jin, Sangmo Koo,
Chang-Soo Lee and Jung Yul Yoo

Key Words : Chemotaxis(주화성), Bacteria(박테리아), Hydrodynamic Focusing(유체역학적 집속 효과)

Abstract

Bacterial chemotaxis is essential to the study of structure and function of bacteria. Although many studies have accumulated the knowledge about chemotaxis in the past, the motion of a single bacterium has not been studied much yet. In this study, we have developed a device microfabricated by soft lithography and consisting of microfluidic channels. The microfluidic assay generates a concentration gradient of chemoattractant linearly in the main channel by only diffusion of the chemicals. Bacteria are injected into the main channel in a single row by hydrodynamic focusing technique. We measured the velocity of bacteria in response to a given concentration gradient of chemoattractant using the microfluidic assay, optical systems with CCD camera and simple PTV (Particle Tracking Velocimetry) algorithm. The advantage of this assay and experiment is to measure the velocity of a single bacterium and to quantify the degree of chemotaxis by statistically analyzing the velocity at the same time. Specifically, we measured and analyzed the motility of *Escherichia coli* strain RP437 in response to various concentration gradients of L-aspartate statistically and quantitatively by using this microfluidic assay. We obtained the probability density of the velocity while RP437 cells are swimming and tumbling in the presence of the linear concentration gradient of L-aspartate, and quantified the degree of chemotaxis by analyzing the probability density.

1. 서론

물리화학적 약품의 농도 구배에 박테리아가 놓이게 되면 신호 전달 분자 쪽으로 또는 반대쪽으로 이동하게 되는데 이를 주성(taxis)이라고 하며,

화학 약품에 반응하는 것을 주화성(chemotaxis)⁽¹⁾ 빛에 반응하는 것을 주광성(phototaxis)이라고 한다. 농도 구배가 없는 상태에서는 무작위적으로 스위밍(swimming), 텀블링(tumbling)을 하지만, 화학적 인 유인물질(chemical attractant)이 존재하면 스위밍 횟수를 늘리고, 텀블링 횟수를 줄임으로써 유인물질의 농도가 높은 쪽으로 이동한다. 박테리아가 이동을 할 수 있는 이유는 세포막에 화학 수용기 관이 있어서 화학 물질의 농도 구배를 감지하고 세포질, 단백질과 상호작용하여 편모의 운동 방향에 영향을 주기 때문이다.

이러한 박테리아의 주화성에 대한 이해를 통하

† 책임저자, 회원, 서울대학교 정밀기계설계연구소
E-mail : jyyoo@snu.ac.kr
TEL : (02)880-7112 FAX : (02)883-0179

* 회원, 서울대학교 기계항공공학부

** University of California, San Francisco

*** 충남대학교 화학공학과

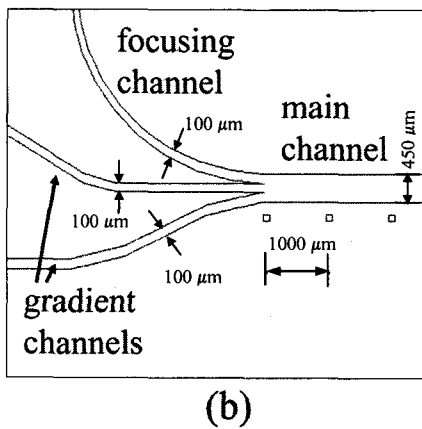
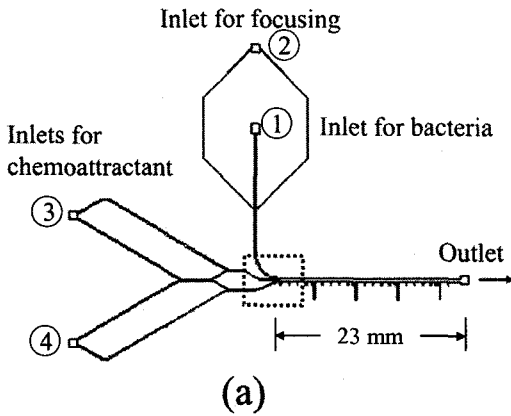


Fig. 1 Device for microfluidic chemotaxis assays. The main channel is 23-mm long, 450- μm wide and 20 μm high. The focused channel is 100- μm wide and each buffer inlet is 100- μm wide

여 세포간 의사 소통을 파악할 수 있고, 박테리아를 제어하여 환경오염 물질을 제거하거나 신호 전달 물질로 활용도 가능하다. 또한 박테리아의 주화성을 이용하여 확산 효과를 늘리거나⁽²⁾ 펌프를 개발할 수도 있다.⁽³⁾ 박테리아 뿐만 아니라 인체 내 세포의 주화성을 관찰하여 질병 발생 유무를 확인할 수도 있다.^(4,5)

박테리아의 주화성에 대한 연구는 40 여 년 전부터 이어져 왔으며 많은 실험 결과들이 있다. 그러나 농도 구배를 선형적으로 만들고 오래 유지하는 방법을 찾는 데 어려움이 있었다. 그 문제를 해결하기 위한 방법으로 최근에 미세 채널(micro channel)을 이용한 방법들이 제시되고 있다. 미세 채널에서는 유동의 특성을 결정하는 레이놀즈수(Reynolds number)가 작기 때문에 층류 유동의 특

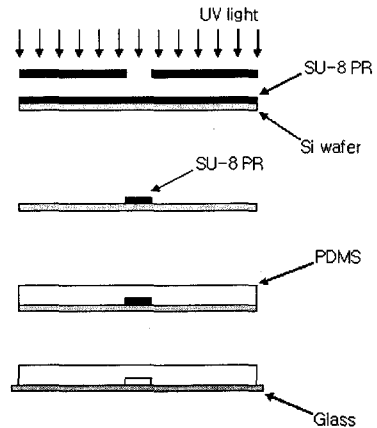


Fig. 2 Fabrication process of a PDMS channel

성을 보이며, 혼합(mixing)이 잘 일어나지 않는다. 이러한 특성을 고려한 T 자 모양의 미세 채널을 이용하여 농도 구배를 형성하고 박테리아를 주입하여 최종 말단에서 박테리아 농도를 측정함으로써 운동 경향을 확인한 실험이 있으며,⁽⁶⁾ 채널 형상을 이용하여 혼합을 유발함으로써 농도 구배를 만들고 세포를 주입하여 주화성 실험을 하기도 하였고,^(4,5) 다공질의 재료를 이용한 평행한 세 개의 미세 채널을 제작하여 농도 구배를 만들기도 하였다.⁽⁷⁾

그러나, 기존의 많은 연구에서는 박테리아 무리의 주화성 유무와 정도의 크기가 주된 관심사였다. 본 연구에서는 유체역학적 집속 효과(hydrodynamic focusing)⁽⁸⁾를 이용하여 박테리아를 개별적으로 채널 내에 주입할 수 있으며, 동일선상에서 출발하는 박테리아의 위치를 추적하여 동일 조건에서의 운동성을 가시화하고 정량화한다. 또한 화학적 유인물질의 농도 구배 제어의 편의성과 제작의 용이성을 고려한 채널을 설계한다. 이 실험장치와 PTV(particle tracking velocimetry, 입자추적속도 측정) 알고리즘을 이용하여 박테리아를 개별적으로 추적함으로써 화학적 유인물질의 농도 구배에 따른 박테리아의 운동성을 측정할 수 있다.

2. 실험 장치 및 방법

2.1 미세 채널 제작

선형적인 농도 구배를 만들어주기 위하여 Fig. 1과 같은 미세 채널을 제작하였다. 미세 채널은 2 개의 화학유인물질 주입구(inlet) ③, ④와 1 개의 박테리아 주입구 ①, 1 개의 유체역학적 집속 효과를 위한 버퍼 주입구 ②, 그리고 1 개의 흡출구

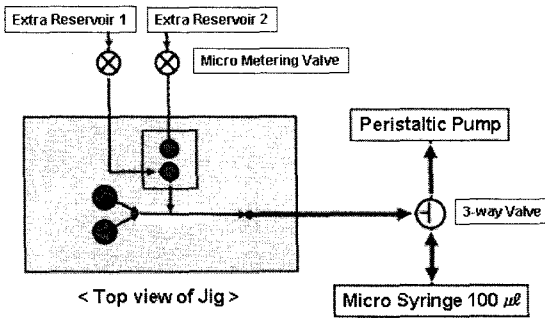


Fig. 3 Flow control system with jig

(outlet)로 이루어져있다. 유동의 레이놀즈수가 낮을 때에는 층류 유동이 나타나며 이때에는 확산만이 유일한 농도 변화의 원인이 된다. 다른 농도의 화학유인물질이 각각 다른 주입구로 들어와 주 채널로 합쳐지면 확산에 의하여 선형적인 농도 구배가 만들어진다. 이때 화학유인물질은 주채널과 연결되기 전에 한번 교차가 일어남으로써 농도 구배가 선형의 형태로 쉽게 변화되도록 돕는다. 유체역학적 집속 효과를 위한 버퍼는 한 개의 주입구를 통해 유입되며 두개의 채널로 갈라졌다가 박테리아가 주입되는 채널과 다시 만나면서 박테리아가 포함된 유동에 압력을 가하여 집속 효과를 만든다. 이 압력에 의하여 박테리아는 일렬로 주채널에 주입되며 주입되는 부분에서 선형적인 농도 구배를 가지는 화학유인물질과 만나게 된다.

Fig. 2는 채널의 제작 과정을 보여준다. 채널 제작은 실리콘 웨이퍼(silicon wafer) 위에 포토레지스트(photoresist)를 도포하여 노광 과정을 거치는 리소그래피(lithography)를 이용하였으며, 포토레지스트는 SU-8 을 사용하였다. 실리콘 웨이퍼 위에 SU-8 을 코팅한 후 펠름마스크를 씌워 자외선(UV light)을 조사하여 노광 시킨 후, 현상과정을 거쳐 채널의 형상을 만든다. 이렇게 만들어진 마스터 위에 PDMS 를 붓고 12 시간 이상 경화시킨 후 마스터에서 분리한다. PDMS 는 다우코닝사의 SYLGARD® 184 silicone Elastomer 를 사용하였다. 분리한 PDMS 는 리저버(reservoir)와 연결되기 위한 채널의 주입구와 흡출구에 펀칭을 사용하여 지름 1 mm 의 구멍을 뚫는다. 구멍 가공을 거친 PDMS 는 45 초 동안 공기 플라즈마(air plasma) 처리를 하여 슬라이드 글라스와 밀착시킨다.

2.2 박테리아 준비

본 연구에서는 부드러운 유영종(smooth-swimming

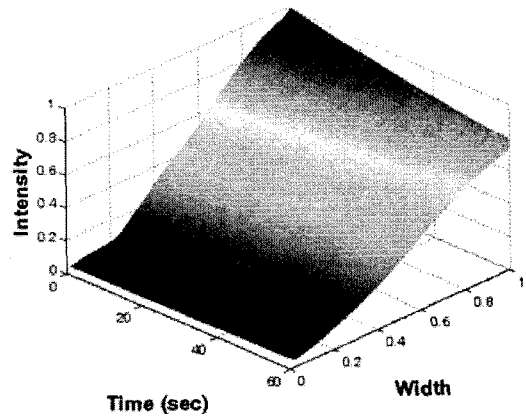


Fig. 4 Variation of intensity of Rhodamine B with time

mutant)인 RP437-pET-eGFPmut2 종을 이용하였으며, 이 박테리아의 경우 eGFP(enhanced Green Fluorescence Protein) 유전자를 가지고 있어 유전자 발현을 통해 GFP 을 발현시킨다. 이 GFP 단백질은 488 nm 의 파장을 가지는 빛을 흡수하면 507 nm 의 파장을 가지는 빛을 방출하게 된다. 박테리아는 LB 배지(Luria-Bertani medium)에서 배양되었으며, 30℃의 Shaking incubator 안에서 150 rpm 으로 교반, 6 시간 동안 배양하여 mid-exponential phase 에 이르게 하였으며 OD(optical density)는 1 이 되도록 하였다. 또한 배지로 인한 박테리아 간의 상호작용을 방지하기 위해서 세포세척(cell washing) 과정을 수행하였으며, 운동성 완충 용액(motility buffer)에 분주하여 박테리아의 활동성이 떨어지지 않도록 하였다. 운동성 완충 용액은 10 mM KH₂PO₄, 67 mM NaCl 그리고 0.1 mM EDTA 으로 구성된다.

2.3 실험 방법

Fig. 3 은 실험 조작의 편리성을 위하여 제작한 지그(jig)의 윗면 그림 및 유동 흐름 모식도이다. 각각의 주입구는 지그의 리저버에 연결되고 흡출구에서 peristaltic pump (INSTECH, Model P720)로 흡입하여 압력을 낮추어 유동을 제어하였다. 이 펌프는 0.2 mL/h ~ 180 mL/h 사이의 유량 조절이 가능하다. 또한 유동을 멈추기 위하여 100 µL 미세용량주사기를 사용하여 유동을 멈추기 위한 미세 조절을 하였다.

선형적인 농도 구배를 만들기 위하여 박테리아 및 집속 효과를 위한 주입구 ①, ②에는 화학유인물질의 농도를 0 %, 2 개의 화학유인물질 주입구 ③, ④에는 각각 실험 조건으로 사용할 화학유인

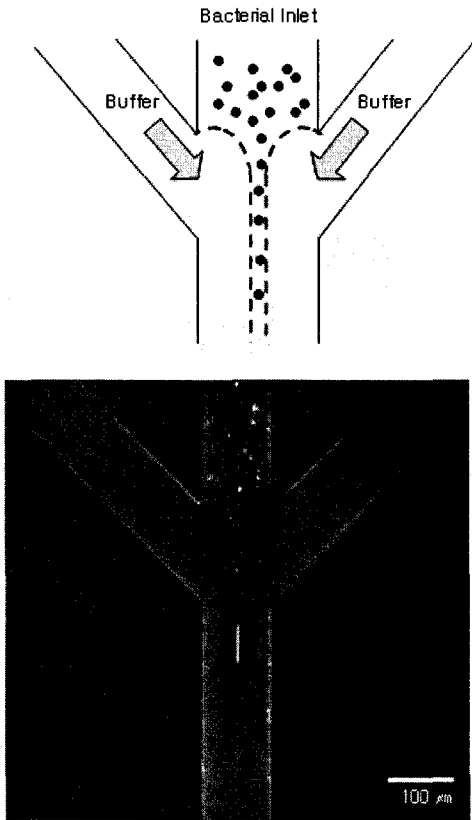


Fig. 5 Hydrodynamic Focusing

물질 농도의 50%, 100%를 주입하여 준다.⁽⁹⁾

농도 구배 현상을 가시화하기 위한 선행 실험으로 버퍼로서 70% 에탄올을 사용하였으며, 농도 구배를 확인하기 위한 용질로서 형광 염료 (fluorescent dye, Rhodamine B)를 사용하였다. Rhodamine B는 박테리아 및 집속 효과를 위한 주입구 ①, ②에 0 mM, 그리고 화학유인물질 주입구 ③, ④에 각각 0.01 mM, 0.02 mM의 농도로 섞어주었다. peristaltic pump를 사용하여 0.5 mL/h의 유량으로 유체를 흘려주어 농도 구배를 형성하고, 100 μ L 미세유량주사기로 미세 조절함으로써 유동을 멈추어 주었다. Fig. 4는 유동이 멈춘 후 세 채널이 합쳐진 곳에서 10 μ m 떨어진 곳에서 60 s 동안 농도 구배 변화를 보여주는 그래프이다. 60 s가 지난 후에 기울기가 80% 정도로 감소했으며 실제 주화성 실험을 실행한 40 s 동안에는 87% 정도로 감소한다. 박테리아의 운동성에 큰 영향을 미치는 것은 배양조건이므로 13% 정도 감소한 농도 구배는 실험 결과에 큰 영향을 미치지 않는다고 가정하기로 한다.

RP437의 운동성을 측정하기 위한 실제 실험에서는 유동을 멈춘 뒤 40 s 이내의 데이터만을 측정한다. 농도 구배는 대표적인 주화성 유발 물질의 하나인 L-aspartate를 사용하며, 각각 0 M/mm에서 2.2×10^{-5} M/mm, 2.2×10^{-4} M/mm, 2.2×10^{-3} M/mm, 2.2×10^{-2} M/mm, 2.2×10^{-1} M/mm까지 선형적인 농도 구배를 가지는 다섯 가지 경우와 대조군으로서 L-aspartate가 없을 때 및 균일한 농도의 2.2×10^{-3} M/mm속에서의 운동을 측정한다. 주화성에 의한 운동성을 분석하기 위하여 농도가 증가하는 방향, 즉 채널 내 유동의 수직 방향의 속도를 측정하여 운동성을 분석한다.

유체역학적 집속 효과⁽¹⁰⁾를 위한 채널에서 박테리아 주입구의 폭을 제어하기 위하여 위치에너지에 따른 압력의 차이를 이용한다. 즉, 박테리아 주입구의 리저버와 집속 효과 주입구의 리저버의 높이 차를 달리하고 주입구와 리저버 사이에 미세유량 조절 밸브(micro-metering valves, Upchurch Co., P-445)를 달아서 압력을 조절한다. 이와 같은 방법으로 평균 크기가 $2 \mu\text{m} \times 0.8 \mu\text{m}$ 인 RP437 박테리아는 폭이 100 μm 인 채널 내에서 5~6 μm 로 집속된 유로를 따라 일렬로 주채널에 주입된다.

RP437의 운동 특성을 확인하기 위하여 채널 내 유동을 멈춘 뒤 10 Hz의 비율로 40 s 동안 10 배 확대된 이미지를 촬영한다. 각 실험에서 10X 대물렌즈와 Olympus LX50 형광 현미경을 사용하였으며, 광원은 수은 램프(Mercury Lamp)를 사용한다.

3. 결과 및 토의

3.1 농도 구배 및 유체역학적 집속 효과

본 연구에서 사용한 미세 채널은 화학유인물질을 포함한 채널이 주채널에 합류되기 전에 교차점을 둠으로써 확산에 의한 선형적인 농도 구배가 좀 더 빨리 형성될 수 있었다. 그리고 난 뒤 유동을 멈추어서 고정된 CCD 카메라로 40 s 이상 RP437의 이미지를 얻기 위한 실험을 하였으며, 특정 시간(60 s) 동안 형광 염료를 통한 농도 확산 실험을 수행한 결과 농도 구배의 기울기 변화가 크지 않음을 확인하였다.

박테리아 주입구는 유체역학적 집속 효과 기법을 이용하여 농도 구배가 형성된 주채널로의 박테리아 유입량을 조절할 수가 있다. Fig. 5는 유체역학적 집속 효과의 원리를 보여주는 그림이다. 가운데 채널로 RP437이 유입되고 양 옆의 채널에서 버퍼가 유입된다. 이때 가운데 채널과 양 옆 채널

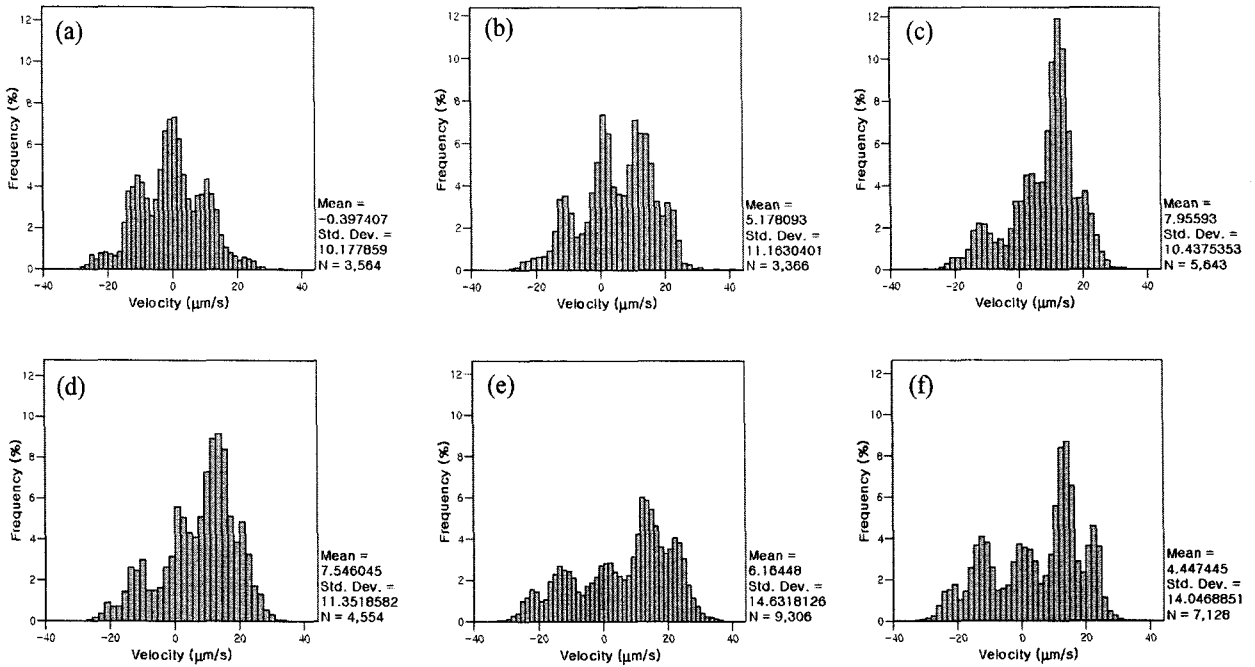


Fig. 6 Distribution of the velocities measured at intervals of 0.1 s in various concentration gradients of L-aspartate. The ordinate shows the velocity from $-40 \mu\text{m/s}$ to $40 \mu\text{m/s}$, where the negative sign means the migration to lower concentration, and the positive sign means the migration to higher concentration. The abscissa represents the probability: (a) no L-aspartate in motility buffer, (b) $2.2 \times 10^{-5} \text{ M/mm}$, (c) $2.2 \times 10^{-4} \text{ M/mm}$, (d) $2.2 \times 10^{-3} \text{ M/mm}$, (e) $2.2 \times 10^{-2} \text{ M/mm}$, (f) $2.2 \times 10^{-1} \text{ M/mm}$. The numbers on the right side of the chart denote mean velocity, standard deviation and total number of data, respectively

의 압력을 조절하면 가운데 채널로 유입되는 유체의 유동 폭을 조절할 수 있다. 이 장치를 통하여 RP437을 일렬로 주채널에 주입할 수 있다.

3.2 L-aspartate에 대한 RP437의 주화성 확인

농도 구배가 형성되어있는 주채널로 RP437이 일렬로 주입되면 유동을 멈추어 주화성에 따른 운동성을 측정하였다. 유동의 흐름에 떠내려가는 RP437의 순간적인 속도가 0이 되는 것을 확인하여 유동이 멈춘 것을 확인하였다. 유동이 멈춘 후 40s 이내의 데이터만 측정하였으며, 1s 동안 10장의 이미지를 촬영하였다. 각 이미지마다 1~5마리 정도의 RP437이 분포하였으며, 그 이미지에서 주화성에 반응을 보일 수 있을 정도로 움직임이 활발한 RP437을 선택하여 각각에 PTV 알고리즘을 적용하여 0.1s 간격의 수직방향 속도 성분들을 구하였고, SPSS 12.0 소프트웨어를 사용하여 통계처리를 하였다. Fig. 6는 SPSS 12.0 소프트웨어를 사용하여 얻은 농도 구배에 따른 속도의 빈도를 보여주는 히스토그램이다. 각 그래프의 우측에 평균값, 표준편차, 통계 처리에 사용된 데이터의 개수

가 표시되어있다. 특히, 각 RP437 세포의 10s 동안 99개의 속도 벡터가 존재하므로 통계 처리에 사용된 데이터 개수를 99로 나눈 값은 박테리아의 개수가 된다. 가로축은 속도를 의미하며, 양의 부호는 농도가 높은 곳으로 이동하는 경우의 속도이고, 음의 부호는 농도가 낮은 곳으로 이동할 때의 속도이다. 그리고 세로축은 속도값의 빈도를 나타낸다. (a) 농도 구배가 없는 경우에 좌우가 거의 대칭이 되는 정규 분포의 경향을 얻을 수 있다. 특히 (c) $2.2 \times 10^{-4} \text{ M/mm}$, (d) $2.2 \times 10^{-3} \text{ M/mm}$ 의 경우에 양의 부호 속도가 지배적으로 나타난다. 이는 α -methyl-DL-aspartate의 높은 농도 구배 ($10^{-5} \text{ M/mm} \sim 10^{-3} \text{ M/mm}$)에서 주화성에 의한 RP437 세포의 운동이 활발하다는 기존의 연구⁽⁷⁾결과와 일치한다. 한편, (e) $2.2 \times 10^{-2} \text{ M/mm}$, (f) $2.2 \times 10^{-1} \text{ M/mm}$ 와 같이 농도 구배를 더 높임에 따라 여전히 양의 부호 속도가 많은 부분을 차지하지만 음의 부호 속도의 빈도가 다시 증가하는 경향을 확인할 수 있다. 이러한 주화성의 정도를 정량화하기 위하여 Migration Index라는 계수를 아래와 같이 정의한다.

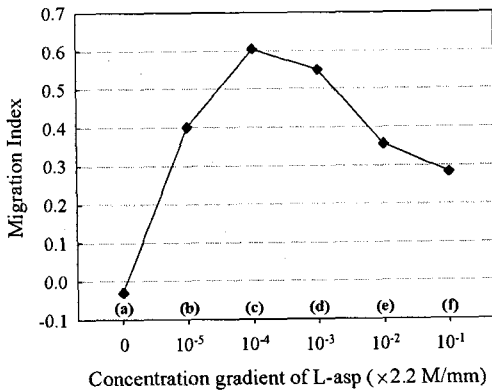


Fig. 7 Variation of migration index (◆) with concentration gradient for RP437

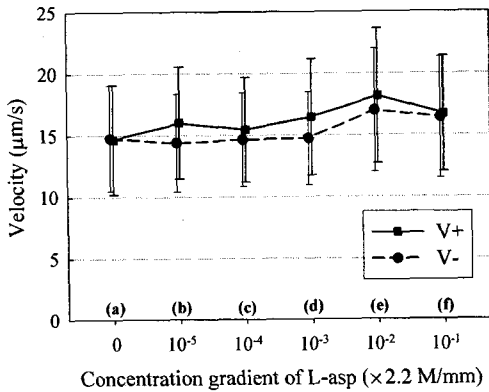


Fig. 8 Variation of velocity with concentration gradient, where solid line (■) denotes the velocity moving towards the chemo-attractant, and the dotted line (●) denotes the velocity moving away from the chemoattractant

$$\text{Migration Index} = \frac{\text{양의부호 속도 개수} - \text{음의부호 속도 개수}}{\text{전체 속도 개수}}$$

위 수식에서 주화성이 클수록 양의 부호 속도로 이동하는 RP437 이 많으므로 1 에 가까운 값을 얻게 되며, 주화성이 없이 불규칙 운동을 하는 경우에는 0 에 가까운 값을 갖는다. 데이터를 분석한 결과 (a) -0.029, (b) 0.401, (c) 0.606, (d) 0.551, (e) 0.356, (f) 0.283 의 값을 얻었다. Fig. 7 은 농도 기울기가 증가함에 따른 주화성 정도를 보여준다. 이 결과를 토대로 볼 때, L-aspartate 를 0 M/mm 에서 2.2×10⁻⁴ M/mm 까지의 농도로 구배를 만들어줄 때 가장 주화성이 크다는 사실을 알 수 있다. 그 이상의 기울기에서는 다시 주화성 정도가 감소하며,

이것은 주화성 물질의 농도가 높은 용액에 들어있는 박테리아의 세포막에 위치한 신호 전달 물질 수용체가 이미 포화 상태에 이르렀으므로 더 이상 주화성 물질에 반응하지 않기 때문이다.⁽¹²⁾

3.3 주화성에 따른 운동성 분석

본 연구에서는 주화성 유무, 주화성 정도의 결과만 확인하는데 그치지 않고 박테리아가 주화성에 의해 이동하는 경우의 속도에 대한 분석을 하였다. 기존 논문에 의하면 버퍼 속에서의 속도보다 화학유인물질이 들어있는 용액 속에서의 속도가 더 빠르다고 알려져 있다.⁽¹³⁾ 본 연구에서는 농도 구배에 따라 농도가 높은 쪽으로의 속도, 그리고 그 반대방향으로의 속도를 측정하여 각각의 평균을 구하였다. 이때 활발한 운동성을 보이는 RP437 의 데이터만 가지고 분석하기 위하여 속도의 절대값이 10 μm/s 이상인 속도로 평균을 구하였는데 이는 Fig. 6 (a)에서 0 μm/s 이외에 ±10 μm/s 근처에 분포하는 속도가 지배적이기 때문이다. Fig. 8 이 그 결과를 보여준다. (a) L-aspartate 가 없는 경우(14.65 ± 4.43 μm/s, -14.76 ± 4.28 μm/s)와 (f) 농도 구배가 아주 높은 경우(2.2×10⁻¹ M/mm, 16.71 ± 4.69 μm/s, -16.41 ± 4.90 μm/s)에 양의 방향 속도와 음의 방향 속도가 비슷한 크기의 값을 갖는다. 그러나 그 값의 크기는 (f) 2.2×10⁻¹ M/mm 의 경우가 더 크다. 그 외의 모든 경우에 있어서 농도가 높은 곳을 향할 때의 속도가 그 반대 방향의 속도보다 대체적으로 큰 값을 가지는 경향을 보인다는 것을 알 수 있다. 이것은 박테리아의 텀블링이 줄어들고 스위밍이 증가했다는 것을 의미한다. 특히 Fig. 6 의 그래프에서 속도 0 μm/s 의 빈도가 텀블링을 의미하기 때문에 주화성이 있을 때는 속도 0 μm/s 의 빈도가 확연히 줄어들었음을 알 수가 있다. 특이할 사항은 가장 큰 속도값을 가질 때의 농도구배는 주화성이 가장 클 때의 농도구배가 아닌 (e) 2.2×10⁻² M/mm 의 경우이다. 이 경우, 18.15 ± 5.45 μm/s, -16.97 ± 4.99 μm/s 의 값을 갖는다. 박테리아가 운동하고 있는 용액의 농도구배가 높아짐에 따라 운동성이 더 증가한다는 것을 의미한다.

4. 결론

본 연구에서 박테리아의 주화성 운동을 관찰하고 주화성 정도를 정량화하기 위한 실험을 위하여 선형적인 농도 구배를 구현할 수 있는 미세 채널을 제작하였으며, 유체역학적 집속 효과를 이용해

여 박테리아를 채널 내에 일렬로 주입하여 동일한 조건하에서 농도 구배 방향으로 운동을 시작하도록 하였다.

박테리아 중에 RP437 을 실험 대상으로 삼았으며, L-aspartate 를 사용하여 주화성 및 그에 따른 운동성을 정량적, 통계적으로 분석할 수 있었다. 기존 논문의 결과에 부합하는 주화성을 확인할 수 있었으며,⁽⁷⁾ 나아가 운동성 확인을 위해 속도를 분석하였다. 농도가 높은 쪽으로 이동할 때 속도가 그 반대의 경우보다 더 큰 것을 알 수 있었으며, L-aspartate 의 농도구배가 2.2×10^{-4} M/mm 일 때 가장 주화성 정도가 컸던 것에 반하여 속도는 2.2×10^{-2} M/mm 일 때 가장 컸다. 이것은 화학 유인 물질의 농도가 높을수록 RP437 절대 속도가 증가하는 경향을 보여준다. 또한 생존하기에 적절한 환경을 찾아 이동하는 RP437 은 L-aspartate 의 농도가 높은 곳을 향해 이동하는 경향을 보이지만 특정 농도($2.2 \times 10^{-4} \sim 2.2 \times 10^{-3}$ M/mm) 이상에서는 세포막에 위치한 수용체가 이미 포화 상태에 이르러 더 이상 화학 물질에 대한 방향성은 가지지 않게 된다.⁽¹²⁾ 하지만 농도가 더 증가할수록 운동성은 더욱 좋아지는 경향을 실험 결과로 알 수 있었다. 또한 모든 박테리아가 항상 농도가 높은 쪽으로만 이동하지 않고 농도가 낮은 방향으로 이동하는 경우도 있다. 이는 박테리아가 임의의 방향으로 운동을 하며 이동한 장소에서 수용체가 화학유인물질과 결합할 경우 그 방향으로 계속 이동하기 때문에 농도가 낮다 하더라도 화학유인물질이 존재하며, 수용체와 결합할 확률이 낮지만 그대로 결합하게 된다면 그 방향으로도 이동을 계속 할 수 있기 때문이다.⁽¹⁴⁾

후 기

이 연구는 한국과학재단 특정기초연구(R01-2005-000-10558-0) 지원과 서울대학교 마이크로 열 시스템 연구센터의 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

(1) Berg, H. C., 1975, "Chemotaxis in Bacteria," *Annual Review of Biophysics and Bioengineering*, Vol. 4, pp. 119~136.

- (2) Kim, M. J. and Breuer, K. S., 2004, "Enhanced Diffusion due to Motile Bacteria," *Physics of Fluids*, Vol. 16, No. 9, pp. L78~L81.
- (3) Kim, M. J. and Breuer, K. S., 2005, "Characteristics of Bacterial Pumps in Microfluidic Systems," *NSTI-Nanotech*, Vol. 1, pp. 712~715.
- (4) Jeon, N. L., Baskaran, H., Deringer S. K. W., Whitesides, G. M., Water, L. V. D. and Toner, M., 2002, "Neutrophil Chemotaxis in Linear and Complex Gradients of Interleukin-8 Formed in a Microfabricated Device," *Nature Biotechnology*, Vol. 20, pp. 826~830.
- (5) Saadi, W., Wang, S. J., Lin, F. and Jeon, N. L., 2006, "A Parallel-gradient Microfluidic Chamber for Quantitative Analysis of Breast Cancer Cell Chemotaxis," *Biomedical Microdevices*, Vol. 8, pp. 109~118.
- (6) Mao, H., Cremer, P. S. and Manson, M. D., 2003, "A Sensitive, Versatile Microfluidic Assay for Bacterial Chemotaxis," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 100, No. 9, pp. 5449~5454.
- (7) Diao, J., Young, L., Kim, S., Fogarty, E. A., Heilman, S. M., Zhou, P., Shuler, M. L., Wu, M. and DeLisa, M. P., 2006, "A Three-channel Microfluidic Device for Generating Static Linear Gradient and its Application to the Quantitative Analysis of Bacterial Chemotaxis," *Lab Chip*, Vol. 6, pp. 381~388.
- (8) Herr, A. E., Molho, J. I., Drouvalakis, K. A., Mikkelsen, J. C., Utz, P. J., Santiago, J. G. and Kenny, T. W., 2003, "On-chip Coupling of Isoelectric Focusing and Free Solution Electrophoresis for Multidimensional Separations," *Analytical Chemistry*, Vol. 75, No. 5, pp. 1180~1187.
- (9) Curran, K. and Davies, M., 2004, "Spectral Intensity Mapping and Analysis of Dyed Microflows," *Microfluidics and Nanofluidics*, Vol. 1, No. 2, pp. 146~154.
- (10) Knight, J. B., Vishwanath, A., Brody, J. P. and Austin, R. H., 1997, "Hydrodynamic Focusing on a Silicon Chip: Mixing Nanoliters in Microseconds," *Physical Review Letters*, Vol. 80, No. 17, pp. 3863~3866.
- (11) Mesibov, R. and Adler, J., 1972, "Chemotaxis Toward Amino Acids in Escherichia Coli," *Journal of Bacteriology*, Vol. 112, No. 1, pp. 315~326.

- (12) Endres, R. G. and Wingreen, N. S., 2006, "Precise Adaptation in Bacterial Chemotaxis Through Assistance Neighborhoods," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 103, No. 35, pp. 13040~13044.
- (13) Liu, Z. and Papadopoulos, K. D., 1996, "A Method for Measuring Bacterial Chemotaxis Parameters in a Microcapillary," *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 51, pp. 120~125.
- (14) Berthier, J. and Silberzan, P., 2005, *Microfluidics for Biotechnology*, 1st ed, Artech House Publishers, Norwood, pp. 241~242.