



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년04월06일
(11) 등록번호 10-1724015
(24) 등록일자 2017년03월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/02 (2017.01) C12M 1/34 (2006.01)
G01N 33/20 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0169737
(22) 출원일자 2014년12월01일
심사청구일자 2014년12월01일
(65) 공개번호 10-2016-0065577
(43) 공개일자 2016년06월09일
(56) 선행기술조사문헌
J. Appl. Toxicol., Vol. 24, No. 5, pp.
333-342 (2004)*
Nat. Methods., Vol. 2, No. 9, pp. 685-689
(2005.09.)*
J. Micromech. Microeng., Vol. 20, No. 9, pp.
1-6 (2010.08.05.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
김태성
울산광역시 울주군 범서읍 구영로 75-9, 303동
1205호 (구영우미린1차아파트)
김민석
광주광역시 북구 우치로40번길 46, 2층 (중흥동)
임지원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50,
303-1402
(74) 대리인
전용준

전체 청구항 수 : 총 5 항

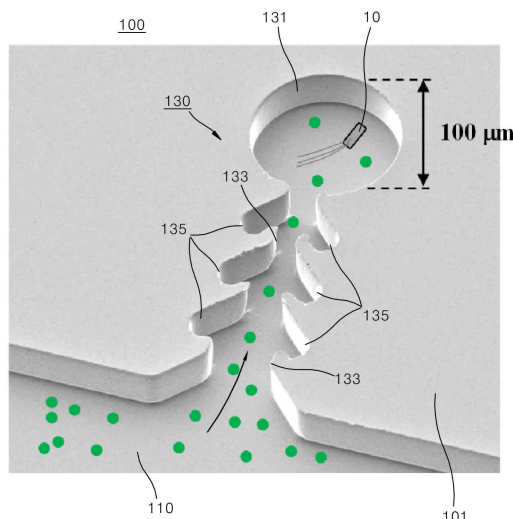
심사관 : 윤준호

(54) 발명의 명칭 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서

(57) 요약

본 발명은, 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서에 있어서, 상기 바이오센서는, 기관; 상기 기관 상에 형성되며, 중금속을 포함하는 유체가 공급되어 유동되는 공급유로채널; 및 상기 기관 상에 형성되며, 내부에 상기 중금속에 반응하는 미생물이 구비되고 상기 유체가 집적되도록 형성된 집적 공간이 형성되어 있는 감지챔버를 포함하며, 상기 감지챔버의 상기 집적 공간으로 상기 유체가 집적되면 상기 유체 내 상기 중금속에 상기 미생물이 반응하면서 중금속의 유무 여부를 판단할 수 있는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서를 제공한다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1395036127[PJ009549052014]
 부처명 농촌진흥청
 연구관리전문기관 농촌진흥청
 연구사업명 차세대바이오그린 21
 연구과제명 바이오부품의 기능분석 및 HTS 를 위한 미세유체기술 개발
 기 여 율 1/2
 주관기관 울산과학기술대학교
 연구기간 2013.02.01 ~ 2014.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711015489[2009-0093499]
 부처명 미래창조과학부
 연구관리전문기관 한국연구재단
 연구사업명 기후변화대응기술개발
 연구과제명 바이오연료용 인공미생물에 적합한 최적 발효공정 설계 기술 개발
 기 여 율 1/2
 주관기관 울산과학기술대학교
 연구기간 2009.09.30 ~ 2015.09.29

명세서

청구범위

청구항 1

미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서에 있어서,

상기 바이오센서는,

기관;

상기 기관 상에 형성되며, 직관 형상을 가져 중금속을 포함하는 유체가 공급되어 유동되는 공급유로채널; 및

상기 기관 상에 형성되며, 내부에 상기 중금속에 반응하는 미생물이 구비되고 상기 유체가 집적되도록 형성된 집적 공간이 형성되어 있고, 상기 공급유로채널과 상기 집적 공간을 연통시키며 상기 공급유로채널을 유동하는 상기 유체가 상기 집적 공간으로 유입되도록 형성되는 유입유로채널과, 상기 유입유로채널 상에서 상기 집적 공간을 향해 경사각을 갖는 형성되어 상기 유입유로채널로 유동된 상기 유체의 흐름이 상기 집적 공간으로만 향하도록 흐름을 유도하는 복수 개의 보조유로채널들을 포함하는 감지챔버를 포함하며,

상기 감지챔버의 상기 집적 공간으로 상기 중금속이 집적되면 상기 중금속에 상기 미생물이 반응하면서 중금속의 유무 여부를 판단할 수 있고,

상기 감지챔버는 상기 기관 상에 상기 유체가 유동되는 방향을 따라 상호 이격되어 복수 개 구비되는 감지챔버 유닛을 더 포함하며,

상기 감지챔버 유닛의 상기 감지챔버들은 상기 공급유로채널에 의해 서로 연통되며,

상기 바이오센서는,

상기 기관 상에 상기 감지챔버가 병렬 형태로 상호 이격되어 복수 개 배치되고,

상기 공급유로채널은 상기 각 감지챔버와 대응되게 복수 개 형성되며, 상기 각 공급유로채널을 통해 상기 각 감지챔버로 상기 유체가 각각 공급되며,

상기 각 유체의 상기 중금속의 농도는 서로 다르게 설정되고,

상기 미생물은 상기 중금속과 반응하면 발광하도록 형질 전환된 것이며,

상기 보조유로채널들은 래칫 형태로 형성되는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 중금속의 농도는 상기 병렬 방향으로 농도 구배가 형성되는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서.

청구항 7

청구항 1에 있어서,

상기 미생물은 대장균(*Escherichia coli*)을 포함하는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서.

청구항 8

삭제

청구항 9

청구항 1에 있어서,

상기 중금속은 카드뮴 또는 납 중 어느 하나를 포함하는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서.

청구항 10

삭제

청구항 11

청구항 1에 있어서,

상기 보조유로채널들은 상기 유입유로채널을 기준으로 상호 대칭으로 형성되는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서.

청구항 12

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 중금속에 반응하도록 형질 전환된 미생물과, 유체를 집적 시키는 구조를 이용하여 미생물을 통해 유체 내 중금속을 탐지할 수 있는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 중금속은 각종 현대인의 질병과 환경오염의 주범이다. 중금속의 탐지 및 분석을 위해서 종래에는 다양한 기기 또는 복잡한 분석장비가 사용되었다. 그러나 이러한 장비들은 대부분 분석비용이 비싸거나, 조작방법이 쉽지 않아 이러한 장비들을 사용할 줄 아는 전문가들에 의해 이루어져야 했기 때문에 응용범위가 제한적이었다.

[0003] 최근에는 미생물을 이용하여 다양한 환경에서 인체 또는 생물체에 유해한 중금속을 탐지하는데 많이 사용되고 있다. 그런데 최근의 미생물을 이용한 중금속 탐지 방법의 대부분도 시험관 등에 미생물을 넣고 중금속을 탐지하는 매우 고전적인 생물학적 실험방법을 기반으로 하고 있기 때문에 연속적이며, 정밀한 중금속 탐지를 하기에는 제한되는 점이 많은 문제점이 있다.

[0004] 따라서 보다 정밀하게 중금속을 탐지할 수 있는 미생물을 이용한 바이오센서의 개발이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 대한민국공개특허 제10-2010-0127531호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명은 중금속에 반응하도록 형질 전환된 미생물과, 유체를 집적 시키는 구조를 이용하여 미생물을 통해 유체 내 중금속을 탐지할 수 있는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0007] 본 발명은, 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서에 있어서, 상기 바이오센서는, 기관; 상기 기관 상에 형성되며, 중금속을 포함하는 유체가 공급되어 유동되는 공급유로채널; 및 상기 기관 상에 형성되며, 내부에 상기 중금속에 반응하는 미생물이 구비되고 상기 유체가 집적되도록 형성된 집적 공간이 형성되어 있는 감지챔버를 포함하며, 상기 감지챔버의 상기 집적 공간으로 상기 유체가 집적되면 상기 유체 내 상기 중금속에 상기 미생물이 반응하면서 중금속의 유무 여부를 판단할 수 있는 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서를 제공한다.

발명의 효과

- [0008] 본 발명에 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서는 다음과 같은 효과가 있다.
- [0009] 첫째, 중금속과 반응하면 형광신호를 발광하도록 형질 전환된 미생물을 구비되어 있기 때문에, 공급되는 유체가 집적되면 유체에 포함된 중금속과 미생물이 반응하여 형광신호를 발광함으로써 유체 내 중금속의 유무 여부를 판단할 수 있다.
- [0010] 둘째, 유체가 유입되고 집적되는 감지챔버는 유입유로채널 및 보조유로채널에 의해 유체가 집적 공간을 향한 방향으로 유동되도록 흐름이 유도되기 때문에 집적 공간 내부에 구비된 미생물이 외력을 가하지 않는 한, 집적 공간에 장시간 머무를 수 있어 지속적인 중금속 탐지가 가능해지는 효과를 기대할 수 있다.
- [0011] 셋째, 기관 상에 복수 개의 감지챔버를 구비함으로써, 고 집적화된 바이오센서를 구현하는 효과를 기대할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0012] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서가 도시된 것이다.
- 도 2는 도 1에 따른 바이오센서를 이용하여 바이오센서의 성능을 실험하기 위한 실험 구조가 도시된 것이다.
- 도 3 및 도 4는 도 2에 따른 실험 구조를 통해 배양물질의 농도구배와 미생물 발광 관계가 도시된 사진 및 그래프이다.
- 도 5 내지 8는 도 1에 따른 바이오센서 복수 개를 이용하여 중금속 농도 구배와 미생물의 발광 관계를 나타낸 사진 및 그래프이다.
- 도 9 및 도 10은 종래의 배치 배양과 본 발명에 따른 바이오센서를 이용하여 미생물의 중금속 탐지 성능을 실험하여 비교한 사진 및 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0013] 도 1을 참조하여 보면, 본 발명에 따른 미생물에 의한 중금속 탐지 바이오센서(100)는, 기관(101), 공급유로채널(110) 및 감지챔버(130)를 포함한다. 상기 기관(101)은 상기 바이오센서(100)의 본체와 같은 역할을 한다. 상기 기관(101)은 PDMS로 형성되는데, 예를 들면 미세유체장치의 제작에 많이 사용되는 엘라스틱 폴리머(elastic polymer)가 사용된다.
- [0014] 상기 공급유로채널(110)은 상기 기관(101) 상에 형성된다. 상기 공급유로채널(110)로는 중금속을 포함하는 유체가 공급되며, 상기 유체에 상기 공급유로채널(110)을 따라 유동된다. 한편, 상기 유체에는 상기 중금속 뿐 아니라, 미생물을 배양하기 위한 배양물질도 포함된다. 본 실시예에서 상기 유체에 포함되는 중금속은 카드뮴(Cd^{2+}) 또는 납(Pb^{2+})이 포함되는 것을 예로 들어 설명한다. 그러나 이는 본 실시예에만 해당하는 것일 뿐, 반드시 카드뮴 또는 납일 필요는 없다.
- [0015] 상기 감지챔버(130)는 상기 공급유로채널(110)로 공급되는 상기 유체 내 상기 중금속의 유무 여부를 판단할 수 있도록 상기 기관(101) 상에 형성된다. 상기 감지챔버(130)는 집적 공간(131), 유입유로채널(133) 및 보조유로채널(135)들을 포함한다. 상기 집적 공간(131)은 예시적으로 원형으로 형성되며, 내부로 상기 유체가 집적되는

공간을 형성한다. 본 실시예에서는 지름이 100 μ m인 원형의 형태로 형성되지만, 이는 본 실시예에 한정되는 것일 뿐 보다 다양한 크기와 다양한 형태의 집적 공간으로 형성될 수 있다.

- [0016] 상기 집적 공간(131)에는 설정 중금속에 반응하는 미생물이 구비된다. 본 실시예에서는 상기 유체에 카드뮴 또는 납을 포함하므로, 상기 미생물도 카드뮴 또는 납에 반응한다. 본 실시예에서 상기 미생물은 대장균(*Escherichia coli* K12 DH5a)이 사용된다. 보다 구체적으로는, 상기 미생물을 상기 설정 중금속(본 실시예에서는 카드뮴 또는 납)과 반응하면 발광하도록 인공적으로 합성한 플라스미드를 주입하여 형질 전환을 시킨 것이다. 상기 미생물은 대장균에 한정되는 것은 아니며, 특정물질 감지가 가능하게 형질 전환된 미생물이라면 어느 것이든 사용될 수 있다.
- [0017] 상기 유입유로채널(133)은 상기 공급유로채널(110)과 상기 집적 공간(131)을 연통시키도록 형성된다. 상기 공급유로채널(110)을 유동하는 상기 유체는 상기 유입유로채널(133)을 통해 상기 집적 공간(131)으로 유입된다. 상기 보조유로채널(135)은 상기 유입유로채널(133) 상에 복수 개 형성된다. 도 1을 참조하여 보면, 상기 보조유로채널(135)들은 상기 집적 공간(131)을 향해 경사각을 갖도록 형성된다. 상기 보조유로채널(135)들은 상기 유입유로채널(133)을 기준으로 상호 대칭으로 형성된다. 상기 보조유로채널(135)들이 상기 집적 공간(131)을 향해 경사각을 갖도록 형성되기 때문에 상기 유입유로채널(133)로 유입된 상기 유체가 상기 집적 공간(131)으로만 유동되도록 상기 유체의 흐름을 유도한다. 이렇게 유체는 상기 집적 공간(131)을 향해서만 흐르도록 흐름이 유도되기 때문에 상기 집적 공간(131) 내에 구비된 상기 미생물이 상기 집적 공간(131)을 벗어나지 않고, 상기 집적 공간(131)으로 유입되는 상기 유체 내 중금속과 지속적으로 반응할 수 있다.
- [0018] 상기 공급유로채널(110)로 공급된 상기 유체는 상기 공급유로채널(110)을 따라 유동되다가 상기 공급유로채널(110)과 연통되는 상기 유입유로채널(133)을 통해 분기되어 상기 집적 공간(131)으로 집적된다. 이때, 상기 집적 공간(131)에 구비된 상기 미생물이 상기 집적 공간(131)으로 집적된 상기 유체 내 상기 중금속에 반응하면서 상기 미생물이 발광하여 상기 유체 내 상기 중금속의 유무 여부를 판단할 수 있는 것이다.
- [0019] 전술한 바와 같은 상기 감지챔버(130)는 상기 기관(101) 상에 하나만 구비될 수도 있고, 복수 개 구비될 수도 있다. 상기 감지챔버(130)가 복수 개 구비되는 경우, 상기 감지챔버(130)들을 병렬 형태로 배치한다. 그리고 상기 공급유로채널(110)을 상기 각 감지챔버(130)와 대응되게 복수 개 형성한다. 이렇듯, 상기 감지챔버(130)를 병렬 형태로 복수 개 구비하면, 상기 각 감지챔버(130)로 공급되는 상기 유체 내 중금속의 농도를 다르게 설정하여 다양한 농도 구매(농도 기율기)에 따른 상기 미생물의 반응을 관찰할 수 있다. 이를 통해 하나의 바이오센서(100)에서 다양한 농도의 중금속을 탐지하는 효과를 기대할 수 있다.
- [0020] 상기 감지챔버(130)는 상기 유체가 유동되는 방향을 따라 상호 이격되어 복수 개 구비되는 감지챔버 유닛(130a)의 형태로 구비될 수도 있다. 이때, 상기 각 감지챔버(130)의 상기 유입유로채널(133)이 상기 공급유로채널(110)에 연통되므로, 상기 감지챔버 유닛(미표기)의 상기 감지챔버(130)들은 상기 공급유로채널(110)에 의해 서로 연통된다.
- [0021] 상기 감지챔버 유닛(130a)의 형태로 구비되면, 하나의 감지챔버(130)만 구비될 때 보다 상기 감지챔버 유닛(130a)을 형성하는 상기 각각의 감지챔버(130)에서 미생물이 발광하는 형광신호의 세기에 대한 데이터가 많이 누적되어 보다 정확하게 중금속 농도를 탐지해내는 효과를 기대할 수 있다.
- [0022] 도 3 및 도 4는 전술한 바와 같은, 상기 미생물을 이용한 중금속 탐지 바이오센서(100)의 작동 성능을 검사하기 위해 미생물의 생장실험을 한 결과를 도시한 것이다. 먼저, 도 2를 참조하여 보면, 본 실험에서는 감지챔버(130)들이 배양액이 유동되는 방향을 따라 복수 개 구비되는 감지챔버 유닛(130a)의 형태로 구비되며, 상기 감지챔버 유닛(130a)들이 병렬 형태로(본 실험에는 좌→우 방향) 상호 이격되어 복수 개 구비되어 있다. 설명의 편의를 위해 좌→우 순으로 상기 감지챔버 유닛들을 제1 감지챔버 유닛(ch1), 제2 감지챔버 유닛(ch 2), 제3 감지챔버 유닛(ch 3), 제4 감지챔버 유닛(ch 4), 제5 감지챔버 유닛(ch 5), 제6 감지챔버 유닛(ch 6)으로 표기하기로 한다.
- [0023] 본 실험에서는 공급유로채널(110)을 통해 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)으로 공급되는 상기 배양액 내 배양물질의 농도가 서로 다르게 설정되어 상기 제1 감지챔버 유닛(ch 1)에서 상기 제6 감지챔버 유닛(ch 6)으로 갈수록 농도구매(농도 기율기)를 형성한다. 도 2를 참조하여 보다 구체적으로 설명하면, 상기 제1 감지챔버 유닛(ch 1)에서 상기 제6 감지챔버 유닛(ch 6)으로 갈수록 상기 배양액 내 배양물질의 농도는 98%, 63%, 39%, 23%, 10%, 5%의 순으로 설정되어 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch

6)으로 공급됨으로써, 농도 구배(농도 기울기)를 형성한다.

- [0024] 상기 배양액은 상기 공급유로채널(110)을 따라 유동하면서 상기 각 감지챔버(130)의 유입유로채널(133)로 분기되어 집적 공간(131)으로 집적된다. 상기 집적 공간(131)에 구비된 상기 미생물은 상기 집적 공간(131)으로 집적된 상기 배양액 내 배양물질에 의해 배양된다. 본 실험에서는 배양액에 형광물질을 포함한다. 따라서 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)의 미생물은 상기 배양액의 배양물질에 의해 배양될수록 발광하여 상기 미생물이 발광하는 형광신호의 세기를 측정할 수 있다.
- [0025] 도 3은 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)으로 공급된 상기 배양액 내 배양물질의 농도에 따른 상기 각 감지챔버 유닛(130a)에서 상기 각 감지챔버(130)의 상기 미생물이 발광하는 형광강도와 시간의 관계를 나타낸 것이다. 도 3의 그래프에서 좌측 좌표값은 정규화된 형광강도를 나타내는 것으로, 즉 도 3의 그래프는 시간에 따른 각 감지챔버 유닛의 정규화된 형광강도를 나타낸 그래프이다.
- [0026] 도 3을 참조하여 보면, 배양물질의 농도가 제일 높은 배양액을 공급한 상기 제1 감지챔버 유닛(Ch 1)이 제일 밝게 발광하였고, 배양물질의 농도에 비례하여 상기 각 감지챔버 유닛의 밝기도 비례하는 것을 알 수 있다. 그리고 배양액을 공급하는 시간이 증가할수록 상기 각 감지챔버 유닛 간 밝기의 차이가 점차 커지는 것을 알 수 있다.
- [0027] 도 4는 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)에서 하나의 감지챔버를 추출하여 시간에 따라 미생물이 배양되는 정도를 촬영한 사진이다. 도 4를 참조하면 알 수 있듯이, 배양되는 시간이 증가할수록 배양물질의 농도가 가장 높은 배양액을 공급한 상기 감지챔버의 미생물이 가장 많은 배양을 하여 가장 많이 발광하는 것을 알 수 있다. 또한 도 3에서와 마찬가지로 배양액 내 배양물질의 농도에 비례하여 상기 감지챔버 내 미생물의 배양정도와 미생물이 발광하는 형광신호의 세기가 비례하는 것을 알 수 있다.
- [0028] 전술한 바와 같이, 도 3 및 도 4를 근거로 실험을 통해 배양물질의 농도에 미생물이 발광하는 형광신호의 세기가 비례하는 것을 알 수 있다. 특히, 도 3을 통해 도시된 바와 같이, 미생물의 발광하는 형광신호의 세기의 차이가 배양액에 노출되는 시간이 증가할수록 더 커지는 것을 통해서 배양액에 연속적으로 노출되는 시간이 증가할수록 형광신호의 세기 신호가 증폭되는 것을 알 수 있으며, 이를 센서로 적용 시 배양액에 노출되는 시간이 증가할수록 누적되는 형광신호의 세기 신호값이 증가하므로 센서의 민감도가 향상되는 효과를 기대할 수 있다.
- [0029] 도 5는 상기 바이오센서(100)를 이용하여 중금속(납, Pb^{2+}) 검출을 시도한 결과를 촬영한 사진이며, 도 6은 이를 그래프로 도시한 것이다. 도 5를 참조하여 보면, 상기 바이오센서(100)를 이용하여 납 검출을 시도한 것을 알 수 있는데, 하나의 상기 바이오센서(100)는 납이 포함된 상기 유체에 10시간 노출시키고, 다른 하나의 상기 바이오센서(100)는 납이 포함된 상기 유체에 5시간 노출시킨 것이다. 상기 바이오센서(100)에는 납과 반응하여 발광하는 미생물이 구비되어 있고, 상기 미생물은 예시적으로 납 농도가 $20\mu M$ 일 때 최적으로 검출되는 미생물인 대장균 HK621이 적용된다.
- [0030] 상기 바이오센서(100)의 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)으로는 $20\mu M$, $12.6\mu M$, $7.8\mu M$, $4.6\mu M$, $2\mu M$, $1\mu M$ 의 중금속 농도를 갖는 유체가 공급된다. 도 6은 도 5에 따른 실험 결과를 도시한 그래프로서, 시간 변화에 따른 각 감지챔버 유닛의 형광강도(Fluor. Int.[A.U])의 변화를 그래프로 도시한 것이다. 도 5 및 도 6을 참조하여 보면, 전술에서 상기 미생물은 납 농도가 $20\mu M$ 일 때 최적으로 검출된다고 한 바와 같이 납의 농도가 $20\mu M$ 인 유체를 공급한 상기 제1 감지챔버 유닛(ch1)의 미생물이 가장 밝게 발광한 것을 확인할 수 있다. 특히, 도 5를 참조하여 보면, 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)이 상기 유체에 노출되는 시간이 증가할수록 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)에 구비된 상기 미생물이 발광하는 형광신호의 세기가 더욱 향상된 것을 알 수 있다.
- [0031] 도 7은 상기 바이오센서(100)를 이용하여 중금속(카드뮴, Cd^{2+}) 검출을 시도한 결과를 촬영한 사진이며, 도 8은 이를 그래프로 도시한 것이다. 도 7을 참조하여 보면, 상기 바이오센서(100)를 이용하여 카드뮴 검출을 시도한 것을 알 수 있는데, 하나의 상기 바이오센서(100)는 상기 유체에 10시간 노출시키고, 다른 하나의 상기 바이오센서(100)는 상기 유체에 5시간 노출시킨 것이다. 상기 바이오센서(100)에는 카드뮴과 반응하여 발광하는 미생물이 구비되어 있고, 상기 미생물은 카드뮴 농도가 1 내지 $2\mu M$ 일 때 최적으로 검출되는 미생물인 대장균 HK622가 예시적으로 적용된다.
- [0032] 상기 바이오센서(100)의 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)으로는 $20\mu M$, $12.6\mu M$, $7.8\mu M$, $4.6\mu M$, $2\mu M$, $1\mu M$ 의 중금속 농도를 갖는 유체가 공급된다. 도 8은 도 7에 따른 실험 결과를 도시한

그래프로서, 시간 변화에 따른 각 감지챔버 유닛의 형광강도(Fluor. Int.[A.U])의 변화를 그래프로 도시한 것이다. 도 7 및 도 8을 참조하여 보면, 전술에서 상기 미생물은 카드뮴의 농도가 1 내지 2 μ M일 때 최적으로 검출된다고 한 바와 같이 카드뮴의 농도가 1 내지 2 μ M인 유체를 공급한 상기 감지챔버 유닛(ch5, ch6)의 미생물이 가장 밝게 발광하는 것을 확인할 수 있다. 특히, 도 7을 참조하여 보면, 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)이 상기 배양액에 노출되는 시간이 증가할수록 상기 각 감지챔버 유닛(ch1, ch2, ch 3, ch 4, ch 5, ch 6)에 구비된 상기 미생물이 발광하는 형광신호의 세기가 더욱 향상된 것을 알 수 있다.

[0033] 도 9와 도 10은 종래에 미생물을 이용하여 중금속을 검출하는 방법(배치 배양방법; 시험관에 중금속에 반응하는 미생물과, 중금속이 포함된 유체를 넣고 배양하는 방법)과 본 발명에 따른 바이오센서를 이용하여 중금속을 검출하는 방법을 비교 실험한 결과이다.

[0034] 먼저, 도 9의 (a)는 납을 검출한 실험 결과를 촬영한 사진으로서, 본 발명에 따른 상기 바이오센서(100)와 배치 배양방법의 실험 조건을 동일하게 하기 위하여, 하나의 배치 배양방법은 미생물을 16시간 배양하여 실험하고 (Batch-type induction), 다른 하나의 배치 배양방법은 16시간 배양한 미생물을 15배 농축하여 형광신호를 관찰하는 것으로 실험한다(15x batch-type induction). 본 발명의 상기 바이오센서(100)에는 납을 포함하는 유체를 16시간 동안 지속적으로 공급한다(continuous induction).

[0035] 도 9의 (b)는 도 9의 (a)의 실험 결과, 납의 농도(Pb^{2+} concentration)에 따른 형광강도(Fluor.Int.[A.U.])의 관계를 그래프로 도시한 것이다. 도 9의 (b)를 참조하여 보면, 본 발명에 따른 상기 바이오센서(100)의 미생물이 종래의 검출 방법을 적용한 미생물보다 더 밝게 발광하는 것을 확인할 수 있다. 특히, 상기 바이오센서(100)에 구비된 상기 미생물은 납의 농도가 20 μ M일 때 최적으로 검출되는 대장균이므로, 유체 내 중금속의 농도가 20 μ M인 경우 미생물의 발광에 의한 밝기의 세기가 가장 큰 것을 확인할 수 있다.

[0036] 도 10은 카드뮴을 검출하기 위한 실험 결과로서, 도 10의 실험 조건은 도 9의 실험 조건과 동일하다. 다만, 검출하고자 하는 중금속이 카드뮴이므로 미생물은 카드뮴에 반응하는 미생물이다. 도 10의 (a)는 카드뮴을 검출한 실험 결과를 촬영한 사진으로서, 본 발명에 따른 상기 바이오센서(100)와 배치 배양방법의 실험 조건을 동일하게 하기 위하여, 하나의 배치 배양방법은 미생물을 16시간 배양하여 실험하고(Batch-type induction), 다른 하나의 배치 배양방법은 16시간 배양한 미생물을 15배 농축하여 형광신호를 관찰하는 것으로 실험한다(15x batch-type induction). 본 발명의 상기 바이오센서(100)에는 카드뮴을 포함하는 유체를 16시간 동안 지속적으로 공급한다(continuous induction).

[0037] 도 10의 (b)는 도 10의 (a)의 실험 결과, 카드뮴의 농도(Cd^{2+} concentration)에 따른 형광강도(Fluor.Int.[A.U.])의 관계를 그래프로 도시한 것이다. 도 10의(b)를 통해서도 도 9에서와 같이, 본 발명에 따른 상기 바이오센서(100)의 미생물이 종래의 검출 방법을 적용한 미생물보다 약 1000배 정도 밝게 발광하는 것을 확인할 수 있다. 특히, 상기 바이오센서(100)에 구비된 상기 미생물은 카드뮴의 농도가 1 내지 2 μ M일 때 최적으로 검출되는 대장균이므로, 유체 내 중금속의 농도가 200nM인 경우 미생물의 발광에 의한 밝기의 세기가 가장 큰 것을 확인할 수 있다.

[0038] 이렇듯, 본 발명에 따른 상기 바이오센서(100)는 미생물을 이용하여 유체 내 중금속의 유무 여부를 감지해낼 수 있을 뿐 아니라, 중금속과 반응하는 미생물이 발광하는 형광신호의 세기를 통해 유체 내 중금속의 농도까지도 감지해 낼 수 있는 효과를 기대할 수 있다.

[0039] 특히, 상기 바이오센서의 상기 감지챔버를 병렬 형태로 복수 개 구비하고, 상기 각 감지챔버로 공급하는 유체의 중금속의 농도를 서로 다르게 설정하여 농도구배(concentration gradient)를 형성할 수 있기 때문에 유체 내 중금속의 농도를 보다 세밀하게 검출하는 효과를 기대할 수 있다.

[0040] 본 발명은 도면에 도시된 실시예를 참고로 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 본 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 다른 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호 범위는 첨부된 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

부호의 설명

[0041]

100: 바이오센서

101: 기판

130: 감지챔버

133: 유입유로채널

10: 미생물

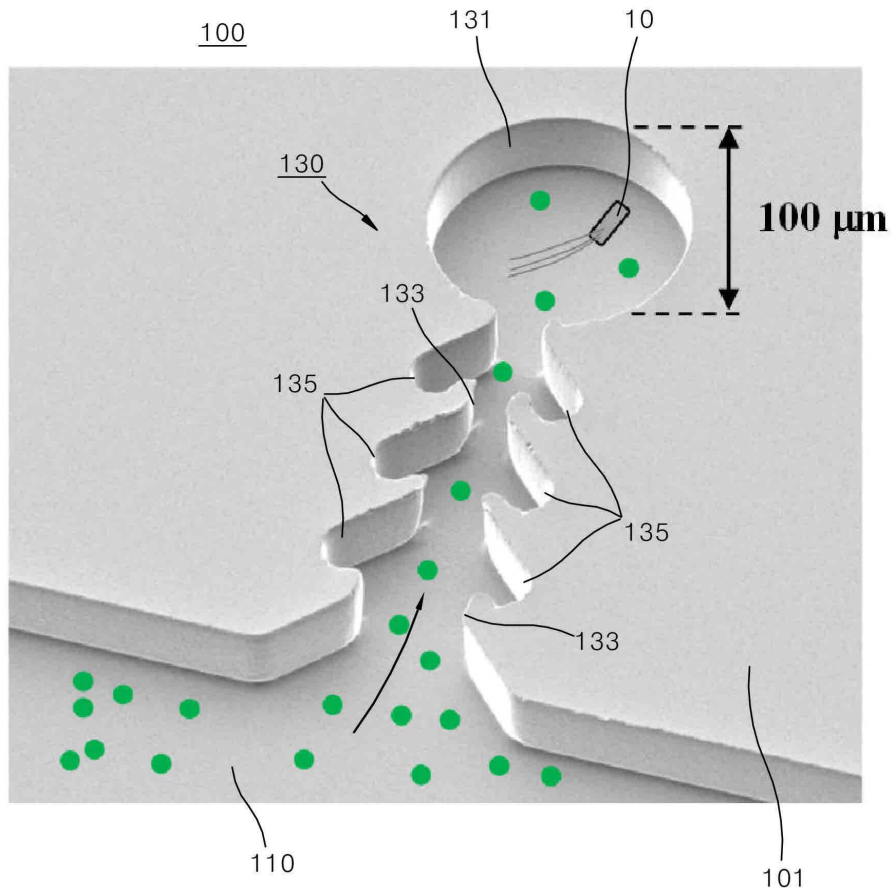
110: 공급유로채널

131: 집적 공간

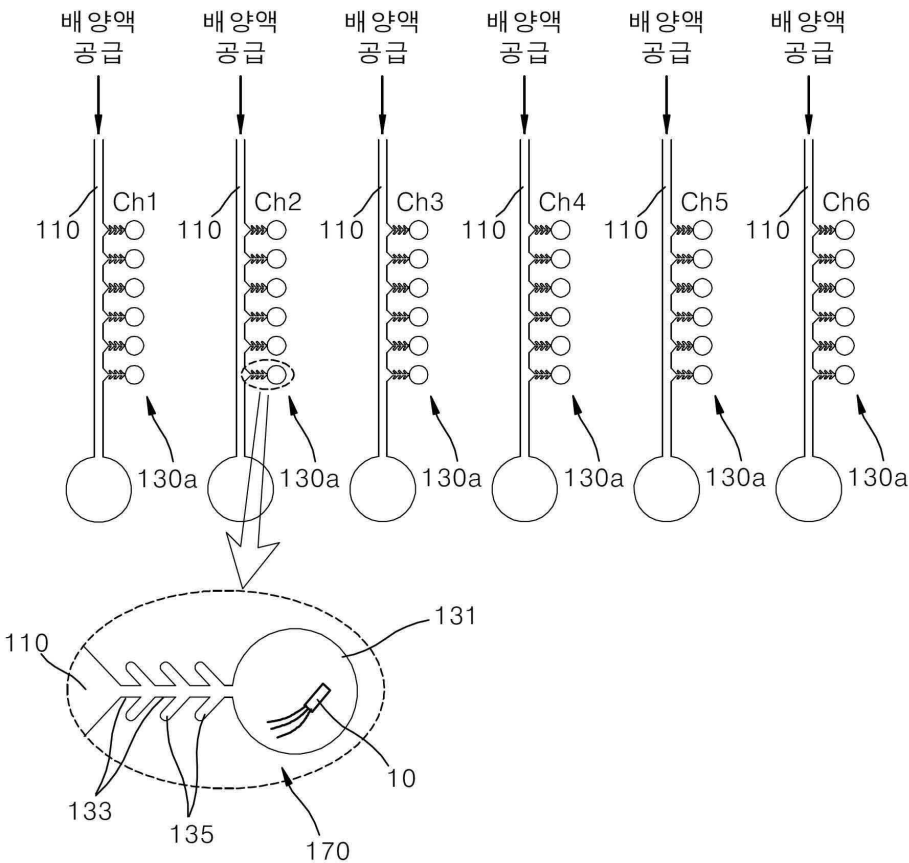
135: 보조유로채널

도면

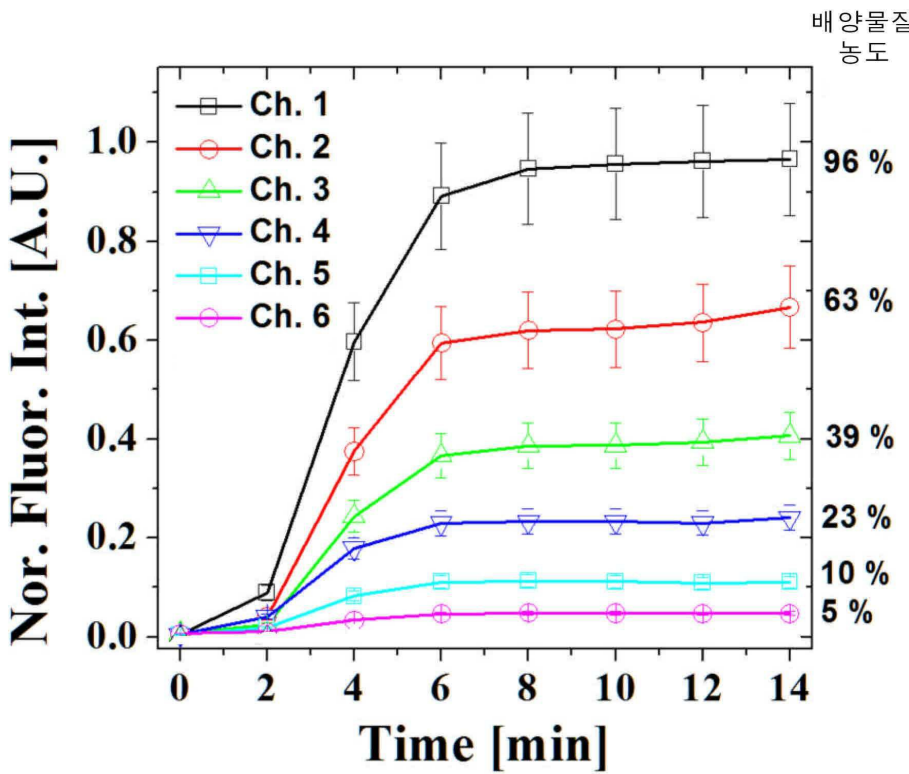
도면1



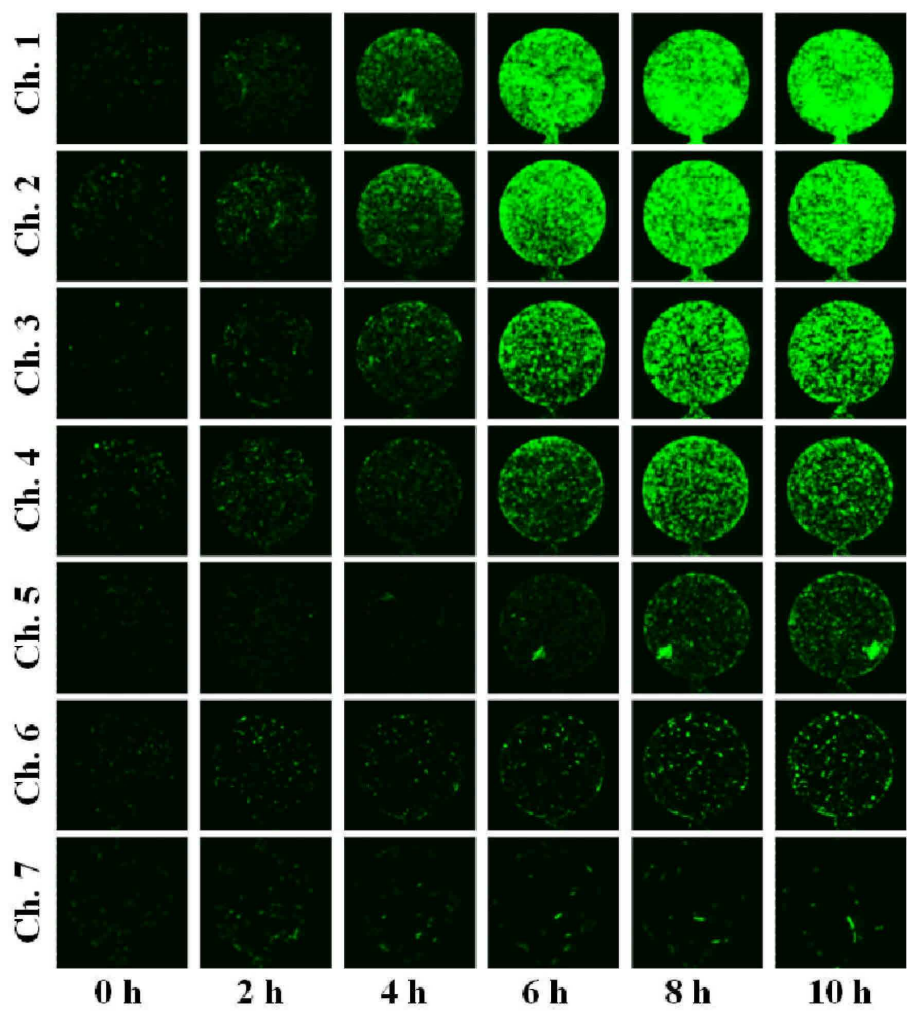
도면2



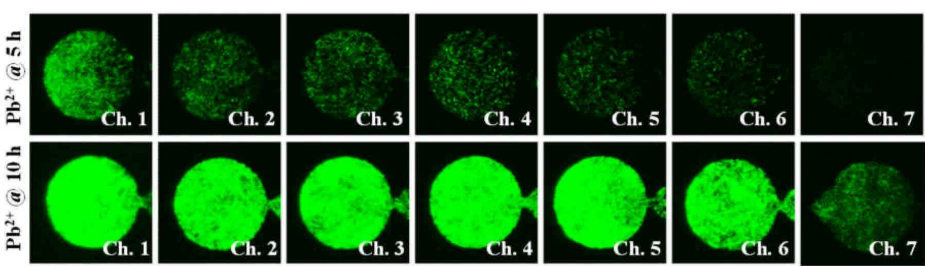
도면3



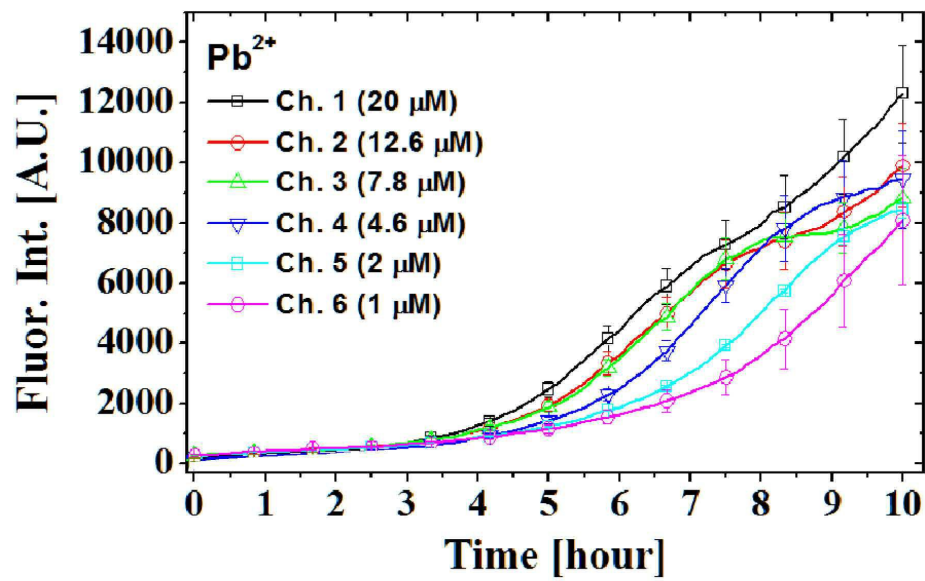
도면4



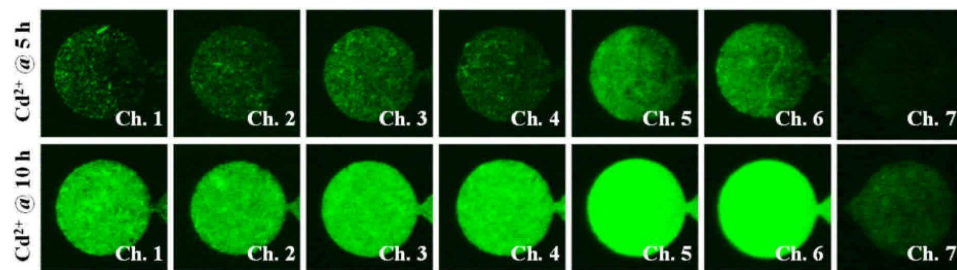
도면5



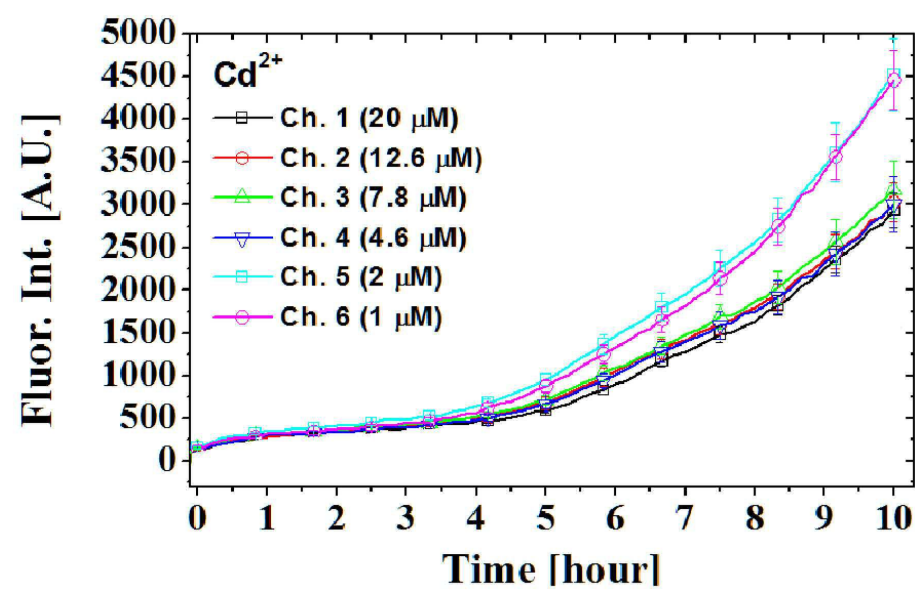
도면6



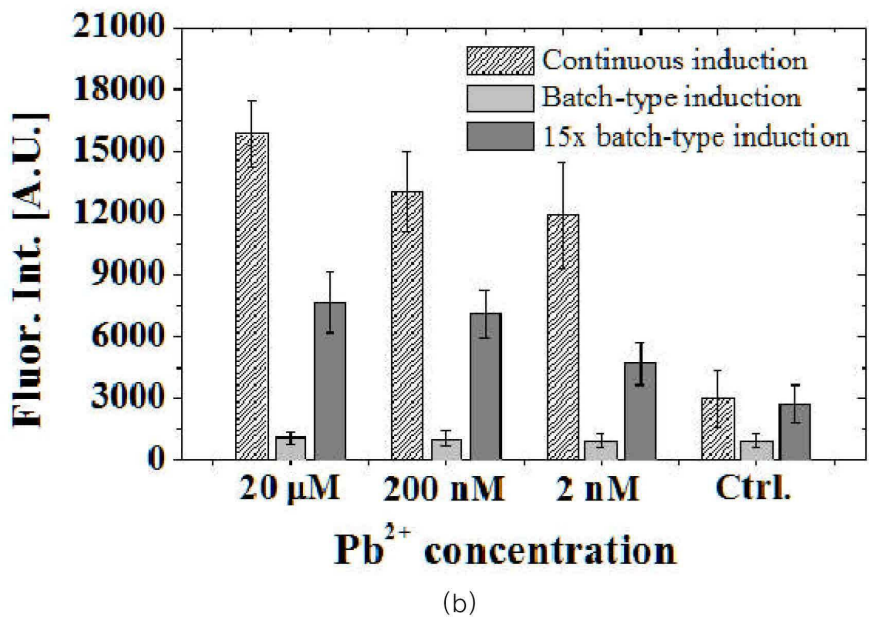
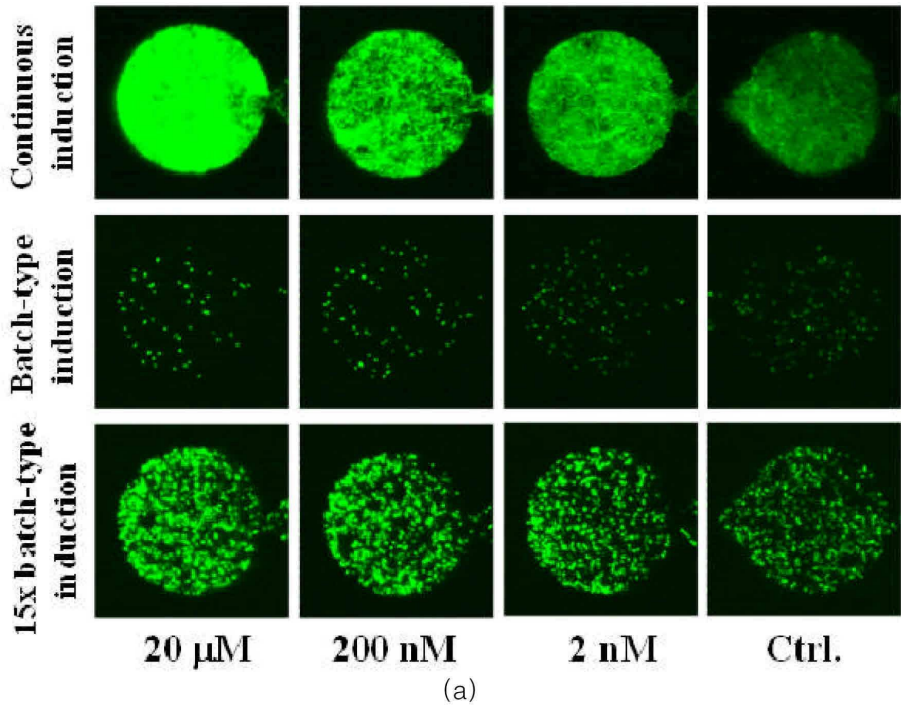
도면7



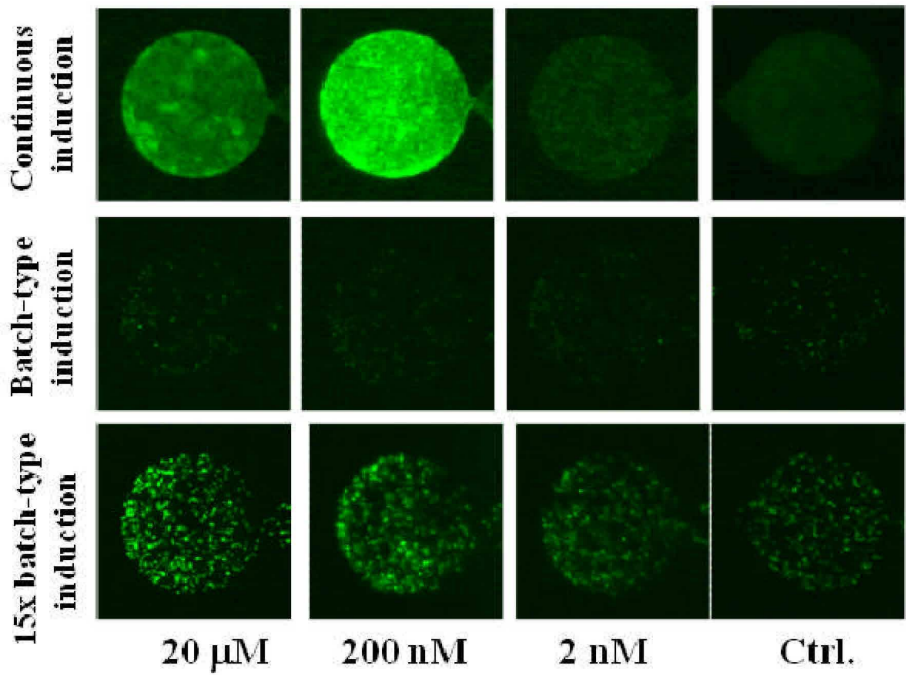
도면8



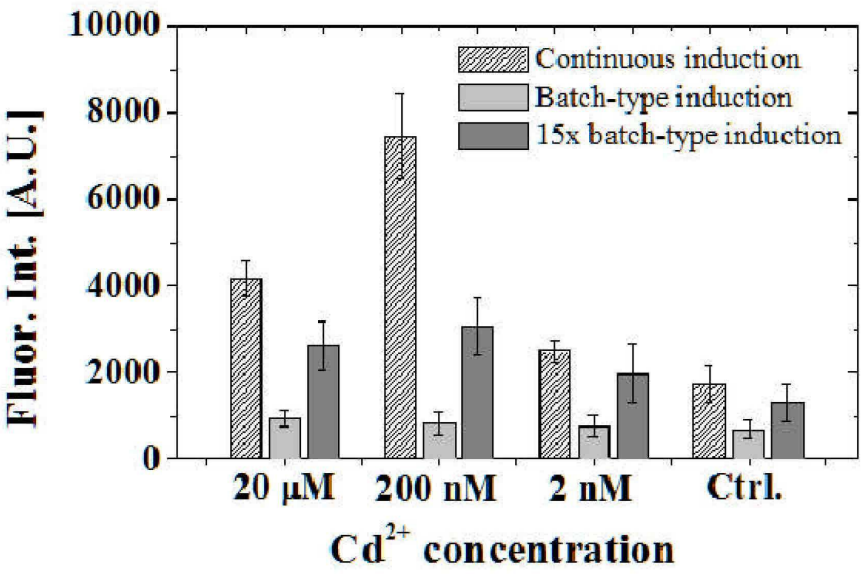
도면9



도면10



(a)



(b)