

발광유전자 재조합 균주 활성 촉진 조건이 석유계 탄화수소 오염지하수 모니터링에 미치는 영향

고경석* · 공인철†

*한국지질자원연구원 지질환경재해연구부 · 영남대학교 건설환경공학부 환경공학전공

(2007년 11월 5일 접수, 2008년 1월 3일 채택)

Effect of Bioluminescence Stimulating Agent of the Genetically Engineered Strain KG1206 on the Monitoring of the Petroleum Hydrocarbon Contaminated Groundwater Samples

Kyung-Seok Ko* · In Chul Kong†

*Geological & Environmental Hazards Division, Korea Institute of Geoscience & Mineral Resources(KIGAM)
School of Construction and Environmental Engineering, Yeungnam University

ABSTRACT : This paper describes the application of bioluminescence stimulating agents on a genetically engineered microorganism, *Pseudomonas putida* mt-2 KG1206, to monitor toluene analogs using in groundwater samples from petroleum hydrocarbon contaminated sites. The maximum bioluminescent response with pure chemicals followed in the order: *m*-methyl benzyl alcohol > *m*-toluate > toluene > *m*-xylene > benzoate > *p*-xylene > *o*-xylene. Generally, the bioluminescence production of strain mixed with groundwater samples was dependent on the contaminated total inducer concentrations. However, few samples showed opposite results, where these phenomena may be caused by the complexity of environmental samples. Two chemicals, SL(sodium lactate) and KNO₃, were tested to determine a better bioluminescence stimulant. Both chemicals stimulate the bioluminescence activity of strain KG1206, however, a slightly high bioluminescence was observed with nitrogen chemical. This selected stimulant was then tested on samples collected from contaminated groundwater samples. The bioluminescence activity of all samples mixed with the strain was stimulated with KNO₃ amendment. This suggests that the low bioluminescence activity exhibited by the environmental groundwater samples can be stimulated by amending the culture with a proper agent, such as nitrogen compound. These findings would be useful, especially, when strain was used to monitor the groundwater samples contaminated with low inducer contaminants. Overall, the results of this study found the ability of bioluminescence producing bacteria to biosensor a specific group of environmental contaminants, and suggest the potential for more efficient preliminary application of this engineered strain in a field-ready bioassay.

Key Words : Bioluminescence, Genetically Engineered Bacteria, Groundwater, Stimulant, Toluene Analogs

요약 : 본 연구에서는 유전자 재조합 발광균주, *Pseudomonas putida* mt-2 KG1206,의 발광 촉진조건을 석유계 탄화수소 오염 지하수에 적용 가능성에 대해 조사하였다. 일반적으로 순수 유도제 오염원에 대한 발광 강도는 *m*-methyl benzyl alcohol > *m*-toluate > toluene > *m*-xylene > benzoate > *p*-xylene > *o*-xylene의 순으로 나타났다. 일반적으로 지하수에 오염된 유도제 오염원의 농도에 따라 발광 정도가 관찰되었다. 그러나 일부 지하수 시료의 경우에는 낮은 농도에 높은 발광과 같은 현상을 관찰할 수 있었다. 이러한 현상은 환경시료의 수질 복잡성에 따른 영향일 것이다. 선행연구에서 발광촉진제로 알려진 SL (sodium lactate)와 KNO₃에 의한 발광 영향을 비교하였다. 모두 발광을 촉진하였지만, KNO₃가 조금 더 촉진력이 강한 것으로 조사되었다. 질소화합물(20 g KNO₃/L) 첨가군 시료의 발광균주는 첨가하지 않은 대조군에 비해 뚜렷하게 발광이 높게 나타났다. 따라서 일반적으로 낮은 유도제 오염원 함유 시료에 대해서는 발광촉진 조건이 지하수 오염원 검출 및 모니터링을 용이하게 할 수 있을 것이다. 또한 비슷한 특성을 가진 다양한 발광균주를 더욱 효율적으로 오염지역의 기초평가에 이용할 수 있는 조건이 될 수 있을 것이다.

주제어 : 생물발광, 유전자 재조합균주, 지하수, 발광촉진, 석유계 탄화수소

1. 서론

다양한 환경 오염물질 중에서 석유계 탄화수소(petroleum hydrocarbons; PHCs)는 발생량 및 위해성 측면에서 생태계

및 인간 건강에 위해성을 유발하는 중요 오염원이다.^{1,2)} 오염원에 노출된 환경 관리를 위한 방법 중의 하나인 생물공정을 이용한 모니터링(biomonitoring)은 환경 내 오염물질의 존재 여부 및 오염 정도, 환경에서의 변화와 물리, 화학적 그리고 생물학적 인자에 의한 영향을 결정하기 위해 생물체를 이용하는 방법으로 정의할 수 있다.³⁾ 이용 가능한 미생물공정으로는 균주 자체 활동도, 특정한 효소 활

† Corresponding author
E-mail: ickong@ynu.ac.kr
Tel: 053-810-2546

Fax: 053-810-4624

성, 유전자 발현, 재조합 유전자 발현 등이 있다. 이러한 미생물 공정은 화학적 수단에 비해 단순하며, 신속하며, 경제적으로 저렴한 장점이 있으며, 오염 지역의 기초평가 (preliminary assessment) 및 탐지 과정에 효과적으로 사용할 수 있다. 따라서 오염지역의 생물학적 복원 가능성이나 효율적인 관리, 감시를 위해 다양한 특성을 가진 지시 생물(bioreporter)들이 있으며, 이 중에서 생물발광(bioluminescence)이나 형광단백질(green fluorescence protein)을 생산하는 유전자 재조합균주를 이용한 기술은 적절한 방법으로 다양하게 개발되고 있다.⁴⁻⁶⁾ 특히 생물발광은 자연현상으로 생물내의 화학반응에 의해 생물로부터 발광하는 빛이며, (무)척추동물(firefly *Photinuspyralis*), 박테리아(*Photobacterium*, *Vibrio*) 등의 다양한 생물에서 관찰되는 특성이다.^{7,8)} 이는 특정생물의 독특한 특성이므로 발광생물 외의 다른 생물에 의한 결과분석 오차를 방지할 수 있고, 화학적 분석에 의한 관리 및 감시와 비교해 볼 때 생태계에 오염된 총량보다는 생물이용(bioavailable) 가능한 양, 즉 생태계에 영향을 미치는 양을 가늠할 수 있다.

생물발광을 생산하는 유전자와 특정오염원을 분해하는 유전자를 재조합하여 개발한 발광유전자 재조합균주는 균주가 특정오염원에 노출되었을 때 생물발광을 나타내는 특성이 있기 때문에, 이러한 재조합 균주를 현장에 적용하기 위한 연구들이 다양하게 이루어지고 있다.^{9,10)} 이러한 균주는 단순하면서도 환경에 2차적 오염 영향이 없는 친화적인 기술로 특수 오염원에 오염된 토양이나 지하수의 관리 및 감시에 적절하게 이용할 수 있을 것이다.

재조합 균주를 현장에 적용하기 위해서는 균주저장, 보관 및 운반 등의 문제점을 해결하기 위한 적절한 균주 보관 방법이 마련되어야 하지만, 특히 낮은 농도로 오염되어 있는 시료에 대한 발광 활성화(촉진) 조건에 대한 적절한 정보도 필요하다. 다양한 화합물들이 발광 유전자 재조합 균주의 발광활성을 촉진 및 억제하는 것으로 알려져 있다.¹¹⁾ 따라서 적절한 발광촉진 조건은 오염지역에 대한 더욱 효율적인 관리 및 오염원 검출을 이룰 수 있게 할 것이다.

본 연구를 위해 발광 유전자 재조합 균주인 *Pseudomonas putida* mt-2 KG1206를 이용하였다. KG1206 균주는 toluene 계열 화합물(toluene, xylene 이성질체, *m*-MBA) 및 중유 분해 산물(*m*-toluate, benzoate)에 노출되었을 경우, 생분해와 함께 발광을 생산하는 특성을 가지고 있다(Fig. 1).¹¹⁾ 본 연구에서는 먼저 순수 유도제 오염원에 대한 균주의 발광

촉진 조건을 조사하였다. 결정된 촉진 조건을 유도제 화합물에 오염된 지하수에 적용하여 촉진 조건의 적용 가능성에 대하여 조사하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 유전자 재조합균주 배양

연구에 사용된 재조합균주는 *Pseudomonas putida* mt-2 KG1206이며, KG1206은 TOL-plasmid와 재조합된 플라스미드를 보유하고 있으며 재조합 플라스미드의 특성은 다음과 같다(Fig. 1). TOL-plasmid *xyl*-gene 하부 promoter인 P_m이 벡터 pUCD615 플라스미드의 *lux*-gene 상부에 조합된 플라스미드로, 유도제로 작용하는 화합물에 의해 생성되는 조절인자(regulatory factor)가 P_m을 양성적으로 조절하여 발광유전자가 활동하도록 되어 있다.^{12,13)} KG1206은 toluene 계열 화합물의 중간산물인 benzoate, toluate 등에 노출될 경우 분해와 동시에 생물발광활성을 가진다.¹⁴⁾ 초저온고(-70℃)에 보관한 KG1206은 필요시 LB고형배지에 계대 배양하여 사용하였다. 균주를 LB배지에 27℃, 130 rpm 조건으로 overnight 배양 후 LB배지에 OD₆₀₀ = 0.6이 될 때까지 1:20 희석 배양하여 MSM(minimal salt medium)으로 OD₆₀₀ = 0.3으로 조정하여 실험에 이용하였다. KG1206은 kanamycin 저항유전자(Km^r)를 보유하고 있으므로 배지에 kanamycin을 50 mg/L 첨가하여 사용하였다. 배지의 조성은 Table 1과 같다.

2.2. 발광 촉진 조건 조사

선행 연구에 근거하여 유기물 sodium lactate(SL, C₃H₅NaO₃)와 무기물 질소화합물 KNO₃을 순수 유도제 오염원(toluene, *m*-xylene)과 균주의 혼합물에 첨가 후 발광 촉진을 관찰하였다. 초기 조건에서는 시험관에 9.7 mL 균주와 0.1 mL 유도제 오염원, 그리고 0.2 mL(최종 농도 2 g SL/L와 20 g KNO₃/L) 촉진화합물을 첨가한 후 시간에 따른 발광을 관찰하였다.

발광 촉진력이 높은 화합물의 초기 사용한 농도를 기준으로 하여, 다양한 농도 범위에서 발광 현상을 조사하여 최적 농도를 결정하였다. 최적 농도는 향후 지하수 오염원에 적용하였다.

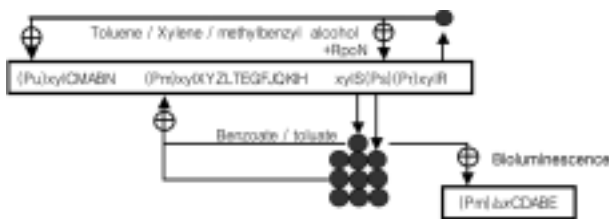


Fig. 1. Regulation of TOL catabolic and recombinated P_m-lux genes(⊕: positive control, ●: regulatory protein).¹¹⁾

Table 1. Components of LB broth and minimum salt medium

	LB broth medium	Minimum salt medium(MSM)
Tryptone	10 g	MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.2 g
Yeast extract	5 g	CaCl ₂ 0.1 g
NaCl	5 g	FeSO ₄ · 7H ₂ O 0.05 mg
2N NaOH	0.5 mL	NaMoO ₄ · 2H ₂ O 0.25 mg
Distilled water	1,000 mL	K ₂ HPO ₄ 0.43 g
pH	7.2	KH ₂ PO ₄ 0.23 g
		Distilled water 1,000 mL

2.3. 지하수 시료 채취 및 모니터링

주변지역의 가솔린 저장탱크로부터 석유계 탄화수소에 의해 오염된 지역 모니터링을 위해 설치된 관정들 중에서, 6곳을 선정하여 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 고무마개와 알루미늄 캔의 혈청병에 저장 후, 저온상태로 실험실에 운반하여 사용할 때까지 냉장고에 저장하였다. 지하수에 오염된 오염원 종류 및 농도는 purge-and-trap이 장착된 가스 크로마토그래피(HP Model 5890A GC/MS)를 이용하여 분석하였다.¹²⁾

결정한 최적 촉진제 및 농도를 환경 오염 지하수 침가한 균과 첨가하지 않은 대조군의 발광 활성 현상을 비교하였다. 지하수 발광 실험에 대해서는 7.8 mL 발광균주에 2 mL 지하수를 혼합한 후, 실험균은 0.2 mL 촉진제(최종 농도 20 g KNO₃/L)를 첨가하여 27°C, 130 rpm 조건에서 배양하면서 30분 간격으로 3~4시간 동안 발광을 측정하였다. 대조군에는 촉진제 용액 대신에 0.2 mL phosphate-buffer(p-buffer)을 첨가하였으며, 모든 실험은 3배수로 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 유전자 재조합균주 발광 특성

본 연구에 사용한 유전자 재조합 발광균주 *P. putida* mt-2 KG1206은 두개의 플라스미드를 보유하고 있다. 균주에 원래 존재하는 TOL 플라스미드는 toluene 계열 화합물을 크랩스 회로까지 산화하는 두개의 operon을 포함하고 있으며, toluene, xylene을 benzoate, toluate으로 전환하는 상부 경로 유전자와 benzoate, toluate 등을 pyruvate등으로 전환하는 하부 경로 유전자가 있다.^{13,14)} 또 다른 플라스미드는 하부 경로의 P_m promoter에 발광 유전자(*lux-gene*)가 재조합된 플라스미드이다. 따라서 균주는 생장과정 중에 유도제로 작용하는 오염 화합물(toluene 계열 화합물과 분해 중간산물)이 *xyl-gene* 하부 분해 경로 P_m promoter를 조절하는 XylS protein을 양성적으로 활성화 시켜 P_{m-lux} 조합 유전자에 작용하여 나타나는 것으로 알려져 있다.^{15,16)} 그러므로 재조합된 균주 KG1206은 toluene 계열 모화합물인 (parent compounds)인 toluene, xylene 이성질체들에만 발광 활성을 나타내는 균주 RB1401¹⁴⁾와는 달리, 모 화합물들과 주요 중간부산물인 *m*-toluate, benzoate 등에 대해서도 발광을 생산하는 특성을 보유하고 있다. 다양한 조건 및 농도에서 균주 발광 특성은 선행 연구 결과에서 발표하였다.¹⁷⁾ 발광활성 특성은 오염원 유도제 종류와 초기 농도 등에 따라 차이를 보이지만, 일반적으로 발광은 오염원에 노출 후 30분 정도부터 관찰되었고, 최대 발광은 1~2시간에 발생하였다. 또한 오염원에 따라 차이가 있지만, 일반적으로 1~3 mM 농도에서 최대 발광이 관찰되었다. Fig. 2는 각 오염원의 초기 농도 1 및 3 mM에서의 최대 발광 활성값을 비교한 자료이다. 일반적으로 발광활성은 유도제 오염원 *m*-MBA > *m*-toluate > toluene > xylene isomers,

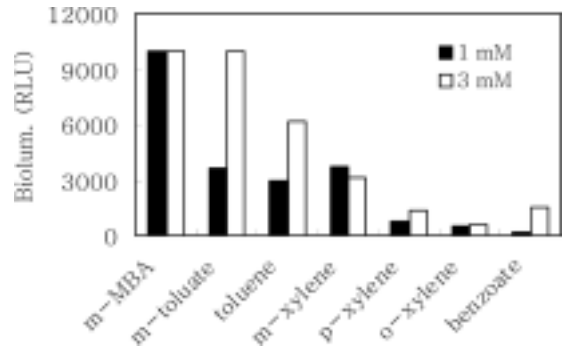


Fig. 2. Maximum bioluminescence activity of KG1206 strain on several inducer chemicals(1 and 3 mM).

benzoate 순으로 나타났으며, xylene 이성질체들도 상이한 발광활성 유도제 역할을 하였다(Fig. 2). 이러한 발광 차이는 비활성 조절 단백질들을 활성화하는 유도제로서의 역할(결합력)이 상이하기 때문일 것이다. 특히 중간 분해산물인 benzoate와 *o*-와 *p*-xylenes은 낮은 활성 유도제 화합물로 조사되었으며, 다른 유도제 화합물들은 모두 높은 수천 RLU의 높은 발광 활성을 나타내었다.

간접 유도제들인 toluene 및 xylene 이성질체 등은 알려진 바와 같이 TOL plasmid *xylR* 유전자로부터 생성된 XylR 단백질을 활성화하며, 활성화된 단백질은 P_S와 P_U의 전사(transcription)와 함께 P_m의 전사를 유도하기 때문에 발광활성을 관찰할 수 있었다.¹⁶⁾ 선행 연구에서도 밝힌 바와 같이 재조합균주 KG1206의 발광 특성은 환경시료의 복잡성 때문에 일부 해결해야 할 문제들을 포함하고 있지만, 톨루엔 계열 화합물을 함유하고 있는 석유계 탄화수소 오염지역의 감시 및 복원을 위한 기초 평가 및 탐지단계에서는 매우 적절하게 사용할 수 있을 것이다.

3.2. 다양한 촉진 조건 비교

유전자 재조합 균주의 발광 활성은 다양한 유기 및 무기 화합물에 의해 촉진 및 억제된다.¹³⁾ 환경 시료 중 특히 저농도의 유도제 오염원을 함유하고 있는 경우에는 발광 활성 촉진 조건을 적용하여 발광 측정을 용이하게 함으로써 모니터링을 더욱 효율적 수행할 수 있을 것이다. 본 연구에서는 지하수 시료에 대한 조사를 하기 이전에 선행 연구를 바탕으로 순수 유도제 화합물에 노출된 균주의 발광 활성 촉진조건을 조사하였다. 유도제 오염원은 적절한 세기의 발광을 유도하는 톨루엔과 *m*-xylene을 사용하였으며, 균주의 발광 활성을 촉진하는 것으로 알려진 SL과 KNO₃를 첨가 후 발광을 대조군과 비교하였다. 조사한 조건에서 두 화합물 모두 대조군 활성에 비하여 114~129% 정도의 발광 촉진을 나타내었다. 따라서 두 화합물 모두 발광을 촉진하는 화합물로 조사되었으며, 이러한 발광 촉진은 유도제 화합물 종류와 초기 농도 등에 따라 영향을 받을 수 있을 것이다.

두 화합물 중에 뚜렷한 차이는 없지만, 약간 높은 촉진을 유도한 질소화합물을 향후 실험의 촉진제로 선택하였다.

Table 2. Effects of chemicals on the bioluminescence activity of KG1206

Inducers	Bioluminescence stimulating agents			
	sodium lactate(-/+)		KNO ₃ (-/+)	
	control(-)	amend(+)	control(-)	amend(+)
toluene	4,111±990.4	↑ 4,874±197.1	4,188±594.9	↑ 5,422± 53.7
m-xylene	4,700±519.9	↑ 5,342±161.8	4,419±682.7	↑ 5,271±755.5

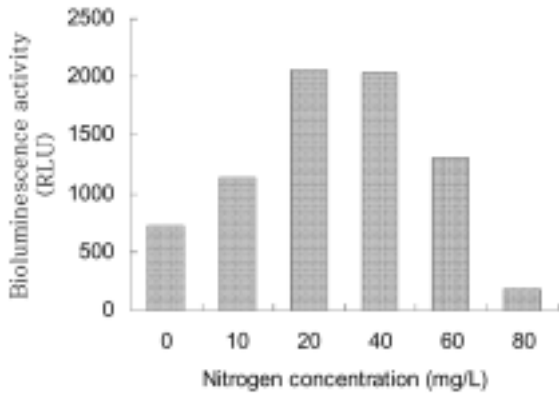


Fig. 3. Effect of nitrogen(10~80 g KNO₃/L) on the bioluminescence activity of strain KG1206(inducer 3 mM of *m*-toluete).

질소화합물을 지하수에 적용하기 전에, 초기 사용한 농도 (20 g/L)를 기준으로 하여 낮은 농도와 높은 농도 조건 (10~80 g/L)에 대해 조사하여 최적의 농도를 결정하였다 (Fig. 3). 조사한 농도 범위에서 가장 높은 농도 80 g/L에서는 발광이 억제(대조군의 0.26배) 되었으나, 10~60 g/L의 범위에서는 모두 발광 촉진 현상을 관찰할 수 있었다. 특히 20~40 g/L에서는 대조군의 3배 정도에 해당하는 높은 발광 촉진 현상을 관찰할 수 있었기 때문에, 향후 지하수 환경시료의 유도제 오염원에 대한 조사에서는 20 g/L(0.2 g/10 mL working volume) 질소화합물을 첨가하여 영향을 관찰하였다. 발광 촉진원리에 대한 정확한 원인은 알려져 있지 않지만, succinate, citrate, pyruvate, glycerol 등이 상부 promoter P_h의 활성화를 촉진하는 반면에, glucose와 acetate 등은 억제한다고 보고하였다.¹³⁾ 또한 발광활성의 촉진 및 억제는 조절 유전자 *rpo-S*, 혹은 알려지지 않은 다른 조절계에 의해 발생한다고 한다.¹⁷⁾

3.3. 오염 지하수에 발광촉진 조건 적용

지하수 채취 지역은 주변의 주유소 저장 탱크로부터 오염된 지역이며, 가솔린과 등유가 주요 오염원이다.¹²⁾ 시료는 오염원 모니터링을 위해 이미 설치된 공을 이용하여 채취하였으며, 조사지역의 6공에서 채취한 시료에 대해 관찰하였다. 촉진 조건을 첨가하지 않은 조건에서 시료에 노출된 균주의 발광 강도와 시료에 오염된 유도제 오염원 총농도(toluene, three xylenes)의 관계를 나타내었다(Table 3). 총유도제 농도가 낮은 시료 #5(0.0 mg/L)과 #7(0.23 mg/L)에서는 거의 발광이 관찰되지 않는 수준으로 각 1.7과 0.65

Table 3. Relationships between contaminant concentration in groundwater samples and the bioluminescence produced by KG1206

	Samples					
	#1	#2	#3	#4	#5	#6
Total inducers(mg/L)	15.9	48.4	35.7	11	0.0	0.23
Toluene/xylenes(mg/L)	1.6/14.3	33/15.4	15/20.7	2.4/8.6	0.0/0.0	0.14/0.09
MTBE(mg/L)	95	560	0.2	11	4.8	12
Bioluminescence(RLU)	12	13	881	1,403	1.7	0.65

RLU를 나타내어, 발광 활성은 유도제 농도에 비례하는 이론적인 사실과 일치하는 현상을 나타내었다. 중간 정도의 총유도제 농도에 오염된 시료 #1(15.9)과 #4(11 mg/L)에서는 매우 상이한 발광 활성 현상이 나타났다. #1은 이론적인 사실과 일치하게 낮은 12 RLU를 나타내었으나, 역시 총유도제 농도가 낮은 #4(11 mg/L)의 경우에는 균주가 상당히 높은 강도의 발광 활성(1403 RLU)을 나타내었다. 정확한 원인 분석은 할 수가 없지만, 오염시료의 다양한 화합물 중의 특정성분에 의한 촉진 현상때문일 가능성이 있다. 이러한 현상은 유전자 재조합 발광균주와 같은 특성의 미생물을 현장 생물학적 모니터링에 이용할 경우에 환경 시료의 다양한 수질특성으로 인해 나타날 수 있을 것이다. 조사한 시료 중에서 높은 총유도제 농도에 오염된 시료 #2(48.4 mg/L)와 #3(35.7 mg/L)는 각 발광 13과 881 RLU를 나타내었다. #3의 시료는 높은 유도제 오염원 노출에 의한 높은 발광현상이 관찰되었지만, #2의 시료에 노출된 균주는 매우 낮은 발광을 나타내었다. #2의 시료에는 분석성분 중 대체적으로 높은 농도의 오염원이 연료의 산화제(oxygenates)인 methyl ter-butyl ether(MTBE)가 다른 오염원에 비해 매우 높은 농도(560 mg/L)로 존재하였다(Table 3). 따라서 #2시료의 낮은 발광은 MTBE와 같은 특정 오염원의 높은 농도가 균주의 발광 활성을 억제하였을 가능성이 있다고 사료한다. 또한 유도제의 종류에 따라 상이한 발광 정도를 나타내기 때문에, 환경 시료에 오염된 각 유도제의 농도 분포도 발광 강도와 총유도제 오염원 농도의 관계에 영향을 줄 것이다.

지하수 오염시료에 대조군(발광 촉진제를 첨가하지 않은 그룹)과 시료군(촉진제 첨가 그룹)에 대한 균주의 발광을 비교하였다(Fig. 4). 결론적으로 촉진제를 첨가한 모든 시료군에서 뚜렷한 발광 촉진이 나타났다. 조사한 대조군 시료 중에서 최소 발광을 나타낸 #6(0.7 RLU)과 #5(1.7 RLU)는 촉진제 첨가 후 각 13.5와 28 RLU를 나타내었으며, 또한 높은 발광을 나타낸 대조군 #3(881 RLU)와 #4(1403 RLU)는 촉진제 첨가 후 각 1861 RLU와 4087 RLU를 나타내었다. 초기 발광 강도에 따라서 상대적인 촉진을 증가가 차이가 있지만, 대략 최소 2배에서 최대 19배 정도 까지 발광이 촉진되었다.

따라서 환경 시료의 복잡성(complexity)으로 인해 발생하는 문제점들을 해석하고, 이러한 요인들이 발광에 미치는 영향을 최소화 해야되는 문제가 있지만, 조사한 질소화합

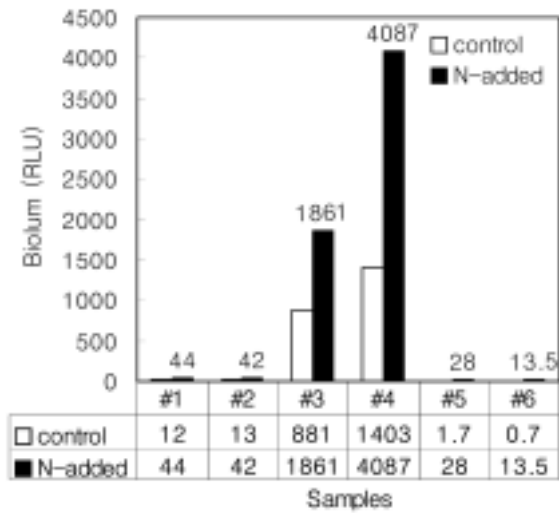


Fig. 4. Comparison of the bioluminescence activities between experimental sets with(N-added) and without(control) bioluminescence stimulating agent.

물과 같은 촉진제를 사용함으로써 인해 일반적으로 낮은 농도로 오염된 지하수 시료의 특정 오염원 검출 및 감소 여부 등을 모니터링, 특히 기초단계의 평가, 검출 및 탐지하는데 유용하게 이용할 수 있을 것이다.

4. 결론

Toluene 계열의 화합물에 노출된 지하수 시료의 모니터링을 위해 유전자 재조합 발광 균주를 이용하였다. 효율적인 모니터링을 위해 유전자 재조합 발광 균주의 활성을 촉진하는 조건을 조사하여 환경 지하수 시료에 적용한 결과 다음과 같은 결론을 도출할 수 있었다.

- 1) 유전자 재조합 균주의 활성 촉진은 SL과 KNO₃에 의해 촉진되었으며, 뚜렷한 차이는 없지만 질소화합물에 의한 약간 높은 발광 활성을 나타내었다.
- 2) 대체적으로 낮은 유도제 오염원 농도에서는 낮은 발광이, 높은 유도제 오염원 농도에서는 높은 발광이 관찰되었지만, 지하수 환경시료에 오염된 다양한 화합물과 수질의 특성이 발광생산에 영향을 미치는 현상을 관찰할 수 있었다.
- 3) 지하수에 노출된 균주는 질소화합물을 첨가함으로써 인해 대조군에 비해 발광 촉진 현상(촉진제 첨가하지 않은 대조군의 2~19배)이 뚜렷하게 관찰되었다.

따라서 비록 복잡한 환경오염의 특성이 총유도제 오염원 농도와 발광활성의 비례적 관계에 영향을 미치지만, 본 연구 결과는 현장의 신속한 오염원 존재 검출(detection), 평가(assessment) 및 생분해(biodegradation) 여부 등을 조사하기 위한 초기 단계의 생물학적 모니터링에 효과적으로 이용할 수 있을 것이다.

사 사

이 논문은 2006년도 정부 재원(교육인적자원부 학술연구 조성사업비)으로 한국 학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2006-521-D00239).

참고 문헌

1. 신창섭, 김기환, 원정일, "PCB 제조공정에서 발생하는 VOC를 처리하기 위한 흡착제의 흡착특성," 한국대기환경학회지, **17**(1), 67~74(2001).
2. West, O. R., Siegrist, R. L., Mitchell, T. J., and Jenkins, R. A., "Measurement error and spatial variability effects on characterization of volatile organics in the subsurface," *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 647~656(1995).
3. Brewley, R. J. F., Ellis, B., and Rees, J. F., "Development of a microbiological treatment for restoration of oil contaminated soil," *Land Degrad. Rehab.*, **2**, 1~11(1990).
4. Selifonova, O. S., Burlage, R. S., and Barkay, T., "Bioluminescence sensors for detection of bioavailable Hg(II) in the environment," *Appl. Microbiol.*, **59**(9), 3038~3090 (1993).
5. Chatterjee, J. and Meighen, E. A., "Biotechnological application of bacterial bioluminescence(*lux*) genes," *Photochem. Photobiol.*, **62**(4), 641~650(1995).
6. Burlage, R. S., "Emerging technologies: bioreporters, biosensors, and microprobes," *Manual of Environmental Microbiology*, 2nd ed., ASM press, Washington DC, pp. 147~157(2002).
7. Steinberg, S. M. and Poziomek, E. J., "A review of environmental application of bioluminescence measurements," *Chemosphere*, **30**(11), 2155~2197(1995).
8. King, J. M. H., Digrazia, P. M., Burlage, B., Sanseverino, J., Dunbar, P., Larimer, F., and Sayler, G. S., "Rapid, sensitive bioluminescent reporter technology for naphthalene exposure and biodegradation," *Science*, **249**, 778~781(1990).
9. Willardson, B. M., Wilkins, J. F., Rand, T. A., Schupp, J. M., Hill, K. K., Keim, P., and Jackson, P. J., "Development and testing of a bacterial biosensor for toluene-based environmental contaminants," *Appl. Microbiol.*, **64**(3), 1006~1012(1998).
10. Inouye, S., Nakazawa, A., and Nakazawa, T., "Overproduction of the *xy/S* gene product and activation of the *xy/DLEGF* operon on the TOL plasmid," *J. Bacteriol.*, **169**, 3587~3592(1987).
11. 공인철, 서혜영, 이건우, 김승현, 백성욱, "토양에 오염된 휘발성 유기화합물의 모니터링을 위한 발광 유전자 재조합 균주 이용 가능성," 대한환경공학회지, **25**(4), 440~445(2003).

12. Kong, I. C., Kim, M., Ko, K. S., Kim, J. G., Jeon, C. W., and Bhandari, A., "Use of recombinant bioluminescence bacteria for on-site monitoring of toluene analogs at petroleum contaminated sites," *J. Environ. Eng.*, **133**(7), 772~776(2007).
13. Holtel, A., Marques, S., Mohler, I., Jakubzik, U., and Timmis, K.N., "Carbon source - dependent inhibition of xyl operon expression of the *Pseudomonas putida* TOL Plasmid," *J. Bacteriol.*, **176**(6), 1773~1776(1994).
14. Burlage, R.S., Palumbo, A.V., Heitzer, A., and Sayler, G., "Bioluminescent reporter bacteria detect contaminants in soil samples," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **45/46**, 731~740(1994).
15. Assinder, S. J. and Williams, P. A., "The TOL Plasmid: Determinants of the catabolism of toluene and the xylenes," *Adv. Microbiol. Phys.*, **31**, 2~69(1990).
16. Harayama, S. and Rekik, M., "The meta cleavage operon of TOL degradative plasmid pWWO comprises 13 genes," *Mol. Gen. Genet.*, **221**, 113~120(1990).
17. Miura, K., Inouye, S., and Nakazawa, A., "The *rpoS* gene regulates OP2, an operon for the lower pathway of xylene catabolism on the TOL plasmid, and the stress response in *Pseudomonas putida* mt-2," *Mol. Gen. Genet.*, **259**, 72~78(1998).