

느린 전단흐름에서 편모운동에 의한 대장균의 거동 특성 Swimming Motion of Flagellated Bacteria Under Low Shear Flow Conditions

안용태[†] · 신항식*
Yongtae Ahn[†] · Hang-Sik Shin*

펜실바니아 주립대학교 토목환경공학과 · *한국과학기술원 건설및환경공학과
Department of Civil and Environmental Engineering, Pennsylvania State University
*Department of Civil and Environmental Engineering, KAIST

(2011년 2월 17일 접수, 2011년 3월 30일 채택)

Abstract : The measurement and prediction of bacterial transport of bacteria in aquatic systems is of fundamental importance to a variety of fields such as groundwater bioremediation ascending urinary tract infection. The motility of pathogenic bacteria is, however, often missing when considering pathogen translocation prediction. Previously, it was reported that flagellated *E. coli* can translate upstream under low shear flow conditions. The upstream swimming of flagellated microorganisms depends on hydrodynamic interaction between cell body and surrounding fluid flow. In this study, we used a breathable microfluidic device to image swimming *E. coli* at a glass surface under low shear flow condition. The tendency of upstream swimming motion was expressed in terms of 'A' value in parabolic equation ($y = Ax^2 + Bx + C$). It was observed that high shear flow rate increased the 'A' value as the shear force acting on bacterium increased. Shorter bacterium turned more tightly into the flow as they swim faster and experience less drag force. The result obtained in this study might be relevant in studying the fate and transport of bacterium under low shear flow environment such as irrigation pipe, water distribution system, and urethral catheter.

Key Words : *Flagella, Bacterial Motility, Microfluidic Device, E. coli*

요약 : 본 연구의 목적은 낮은 전단흐름조건에서 편모 운동성이 박테리아의 거동 특성에 미치는 영향을 파악하는데 있다. 대다수의 미생물은 편모를 이용하여 수용액 내에서 운동할 수 있는 능력을 가지고 있으며, 이러한 운동성은 수계나 수처리 시스템에서 미생물의 거동에 있어서 중요한 역할을 한다. 그러나 현재까지 병원성 미생물의 이동 현상과 관련된 연구에서 편모에 의한 운동성은 거의 고려되지 않고 있는 실정이다. 본 연구에서는 미세유체장치를 이용하여 전단흐름이 낮은 조건에서 *E. coli*의 거동 특성을 파악하고자 하였다. 실험을 통하여 유속이 작은 경우에 *E. coli*는 포물선의 형태의 궤적들을 그리며 이동하는 것을 알 수 있었으며, 벽면 근처에서는 상류로 헤엄쳐 올라간다는 것을 파악하였다. 또한 유속과 종횡비(aspect ratio)에 따른 궤적의 변화를 분석하였는데, 유속이 작을수록 포물선 형태의 궤적을 그리게 되며, 길이가 짧을수록 보다 작은 회전 반경을 그리며 운동하는 것을 관찰할 수 있었다.

주제어 : 편모, 미생물 운동성, 미세유체장치, 대장균

1. 서론

수계에서 박테리아의 이동현상은 하수처리, 지하수 오염 복원, 생의학 분야 등에서 매우 중요한 역할을 한다. 박테리아들은 편모를 이용하여 운동을 할 수 있는데, 운동방향의 뒤에서 보았을 때, 편모를 반시계 방향으로 회전 시켜서 얻어지는 추진력으로 운동을 한다.^{1,2)} 층류흐름(laminar flow)에서 박테리아의 이동은 유체의 전단력과 박테리아가 받는 항력, 그리고 박테리아의 운동특성에 의해 결정된다. 편모를 이용하여 운동하는 박테리아의 거동을 모사하기 위하여 Resistive force theory (RFT)나 Slender body theory (SBT) 등이 사용되어 왔다.³⁻⁵⁾ 점성의 용액에서 운동성이 있는 박테리아의 운동궤적은 거의 직선에 가깝지만, 벽 표면에 가까워질수록 궤적은 원의 형태를 그리는 것으로 관찰되었다.^{6,7)} 이러한 현상들 또한 RFT 를 근간으로 하는 수학적 모델로 모사가 가능하였다.⁸⁾ 최근에는 레이놀즈 수가 매우 작은 층

류 흐름 조건에서 대장균이 흐름을 거슬러 상류로 이동하는 현상이 관찰되었다.⁷⁾

본 연구의 목적은 층류 조건에서 전단 유속이 박테리아의 거동에 미치는 영향을 파악하는 데 있다. 미세유체장치(micro-fluidic device)를 이용하여 대장균의 이동현상을 비디오로 촬영하여 각각의 박테리아의 궤적을 추적하도록 하였다.

2. 실험방법

2.1. 박테리아

본 연구에 사용된 박테리아는 *Escherichia coli* (strain K12)이며, 1%의 트립톤 배지에 배양되었다. 모든 실험에 앞서 미생물의 성장 상태를 일정하게 하기 위하여 한천 평판배지(agar plate)에서 12시간 동안 배양 후에, 트립톤 배

[†] Corresponding author E-mail: hangshin@kaist.ac.kr Tel: 042-350-3613 Fax: 042-869-8460

양액에서 4시간 동안 배양하였으며, 5,000 g에서 5분 동안 원심분리하여 박테리아만을 분리해 낸 뒤에 현미경 관찰이 가장 용이하고, Matlab을 이용한 입자추적에 적합한 조건인 최종 광학밀도(optical density)가 0.04가 되도록 희석하여 사용하였다.

2.2. 미세유체장치(micro-fluidic device)

본 실험에 사용한 미세유체장치의 제작은 Soft lithography 기법을 이용하였다. 현미경을 이용한 관찰이 용이하도록 PDMS (poly-dimethylsiloxan) 재질로 제작하였다. 아래 그림에서와 같이 총 3개의 유입구가 있으며 이 중 가운데로는 박테리아를 주입하고 측면의 유입구에는 미생물 배양액을 syringe pump로 주입하여 박테리아가 장치 내에 골고루 분포될 수 있도록 하였다. 메인 채널의 넓이와 깊이는 각각 150 μm, 100 μm이다.

2.3. 이동현상 관찰

미세유체장치를 위상차 광학현미경(BX50, Olympus, Tokyo, Japan)에 탑재하여 박테리아의 이동현상을 관찰할 수 있도록 하였다. 현미경에는 고해상도 카메라(MagnaFire, Optronics, USA)를 장착하여 초당 33.3 프레임의 이미지를 촬영할 수 있도록 하였다. 실제 관찰할 수 있는 영역은 폭 231 μm, 너비 92 μm이었다. 컴퓨터 소프트웨어(QCapture PRO, Q imaging, Canada)를 이용하여 비디오 이미지로 저장하였으며, Matlab을 이용하여 궤적을 분석하였다.

2.4. 궤적 추적

궤적의 추적은 기존에서 문헌에 보고된 알고리즘(Crocker and Grier, 1996)을 변형하여 사용하였으며, 포물선 형태의 궤적들을 비교하기 위하여 각 궤적을 포물선 방정식으로 fitting 하도록 하였다. 또한 박테리아의 크기, 종횡비

(aspect ratio), 유영 속도(swimming speed)를 분석하여 박테리아의 크기가 궤적에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 유영 속도는 각 프레임별 박테리아의 중심점이 이동하는 거리의 평균치로 정하였다.

2.5. 박테리아 운동 방정식

일반적으로 점성 유체 내에서 입자의 운동은 다음의 식과 같이 항력(drag force), 양력(lift force), 중력(gravity force), 브라운 운동(Brownian motion)의 합으로 나타낼 수 있다.

$$\frac{du_p}{dt} = F_D(u_p - u) + F_L(u_p - u) + (1 - \frac{1}{S})g + n(t)$$

여기서 u 는 유체의 속도, u_p 는 입자의 속도, F_D 는 항력, F_L 은 양력, S 는 유체와 입자의 밀도 비(ratio), $n(t)$ 는 단위 질량당 받는 브라운 운동력이다. 전단 흐름이 낮은 조건에서는 항력이 다른 힘들에 비해 매우 작기 때문에 항력을 제외한 다른 힘들은 무시할 수 있다.⁹⁾ 항력의 경우에는 다음의 식으로 묘사할 수 있게 되는데 본 미분방정식을 풀어서 속도를 계산한 결과 수 초 내에 입자와 유체의 속도 차이가 0으로 근접함을 알 수 있었다. 즉, 이와 같이 낮은 전단 흐름에서는 입자의 이동 속도는 입자 자체의 운동속도와 유체의 속도의 합으로 나타낼 수 있는 것이다.

일반적으로 흐름이 없는 조건에서 박테리아의 운동을 묘사하는데 있어서 박테리아의 몸통과(cell) 편모를 각각 완벽한 구(sphere)와 코일(coil)의 구조로 가정한다.¹⁰⁾ 몸통과 편모가 받는 표면 장력을 몸통 전체에 대해 적분하는 방법으로 힘과 토크를 산정하게 된다.¹¹⁾ 이를 근간으로 Resistive force theory (RFT)가 개발되었으며 편모 운동을 하는 박테리아의 운동과 관련한 다양한 연구에 사용되고 있다.^{8,12,13)} 주목할 점은 박테리아의 유영속도와 외부로부터 가해지는 힘 사이에는 선형적인 관계가 있으며, 토크와 회전속도 역

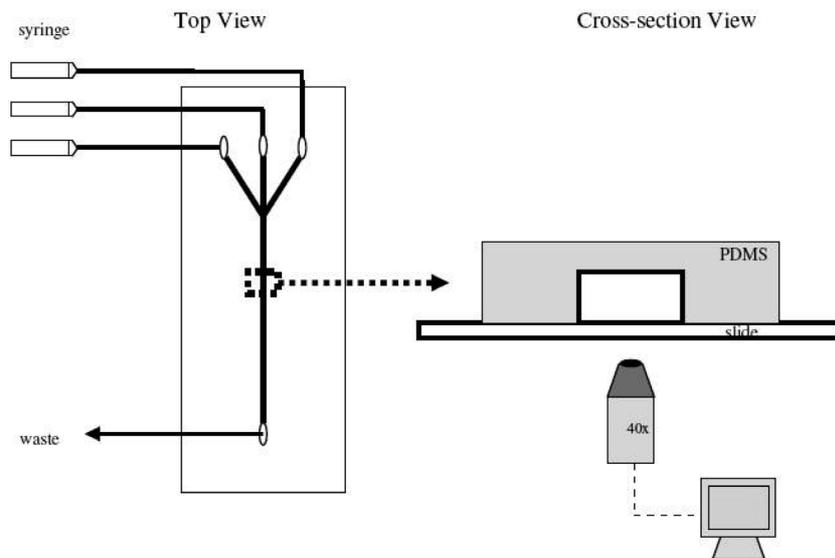


Fig. 1. Schematic diagram of microfluidic device.

Table 1. Parameters used in mobility matrix for bacterial velocity calculation

parameter	value
μ (fluid density)	0.001002 Ns/m ²
a (radius of <i>E. coli</i> /body)	5 μm
h (distance from surface to <i>E. coli</i> cell)	30 nm
$c_{ }$ (local drag coefficient)	0.47
$L_{ }$ (length of flagella)	7.5 μm
ϵ (slenderness)	0.6283
ω (rotation rate of flagella)	150 Hz

시 선형적인 관계가 있다는 것이다. 최근에 이러한 관계를 행렬식으로 나타낼 수 있으며 흐름이 없는 조건에서 *E. coli*가 그리는 원의 궤적 및 유영속도를 예측할 수 있었다고 보고되었다.⁸⁾ 본 연구에서는 본 방정식을 이용하여 흐름이 있는 조건에서의 유영속도를 예측하였으며 다음과 같은 상수 값을 사용하였다. 이론적으로 no-slip 조건에서 Navier-Stokes 방정식의 해는 다음과 같이 나타낼 수 있으며,¹⁴⁾ 이를 박테리아의 운동속도와 합산하여 각 시간에 따른 박테리아의 이동 속도를 산정할 수 있다.

$$u_y(x,z) = \frac{4h^2\Delta p}{\pi^3\mu L} \sum_{n=1,3,5,\dots}^{\infty} \frac{1}{n^3} \left[1 - \frac{\cosh(n\pi \frac{x}{h})}{\cosh(n\pi \frac{w}{2h})} \right] \sin(n\pi \frac{z}{h})$$

3. 결과 및 고찰

3.1. 박테리아 기본 운동 특성

광학현미경을 이용하여 흐름이 없는 조건에서 *E. coli*의 기본 특성을 분석한 결과는 다음의 표와 같다. 유영속도는 평균 12.3 $\mu\text{m/s}$ 이었으며 정규분포 곡선의 형태를 나타내고 있었다. 종횡비는 길이를 너비로 나눈 값이며, 동일 궤적 내에서도 이 값들은 일정하지 않고 일정 범위 내에서 변동하였는데, 이는 박테리아가 표면과 이루는 각이 3차원 상에서 변화하기 때문에 기인한 것으로 판단된다.

문헌에 보고된 바에 의하면 *E. coli*의 유영속도는 최대 가속도 70 $\mu\text{m/s}^2$ 에서 15 $\mu\text{m/s}$ 이상을 갖는 것으로 알려져 있다.^{1,15)} 본 실험에서는 문헌에서 보고된 값보다 느린 유영속도를 나타내고 있는데 이는 본 실험의 준비 단계에서 세척, 원심분리, 희석, 비디오 촬영 등을 하기 위하여 약 1시간 동안 상온에서 배양을 하기 때문인 것으로 판단된다.¹⁶⁾

표면 근처에서 박테리아는 기존에 보고된 바와 같이 원

Table 2. Basic properties of *E. coli* K12 used in this study

	length	aspect ratio	swimming speed	number of tracks (n)
Measured value	2.52 \pm 1.27 μm	2.09 \pm 0.56	12.3 \pm 4.9 $\mu\text{m/s}$	142

frame number 15; particle ID 127

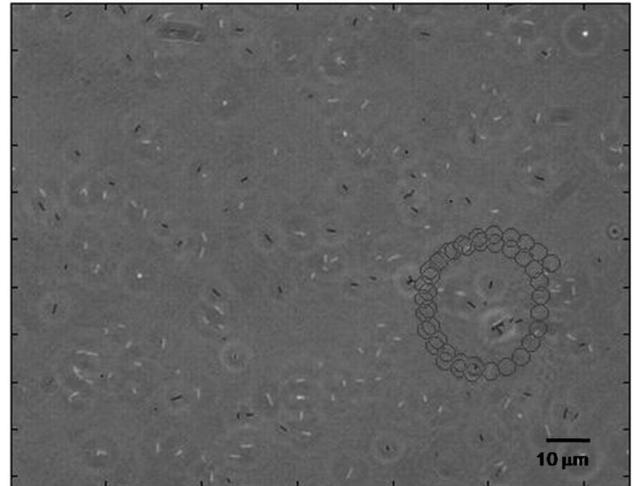


Fig. 2. Circular trajectory of *E. coli* K12 at quiescent condition.

을 그리며 회전하게 되는데,^{8,17,18)} 본 실험에서도 Fig. 2에서와 같이 시계방향으로 원의 궤적을 그리며 유영하는 것을 관찰할 수 있었다. 궤적의 반지름은 약 20~24 μm 이었으며 문헌에서 보고된 값과 유사한 범위(10~50 μm)의 값이었다.^{8,19)}

3.2. 낮은 전단 흐름 조건에서 *E. coli* 운동

다음의 Fig. 3에 실제 실험을 통해 측정된 *E. coli* K12의 궤적과 앞서 언급한 수식을 이용하여 예측한 궤적을 비교하였다. Fig. 3에서 알 수 있듯이 벽면(wall)으로 접근할수록 유체속도의 감소로 인하여 *E. coli*의 이동속도가 감소하였다. 또한 벽면에서의 거리가 증가할수록 전체 궤적은 더욱 직선의 형태를 나타내는 것으로 나타났다. 이는 벽면에서 멀리 떨어질수록 유체의 속도가 증가하여 *E. coli*의 편모에 의한 운동성보다는 유체의 속도에 의하여 전체 궤적이 결정된다는 것을 의미한다.

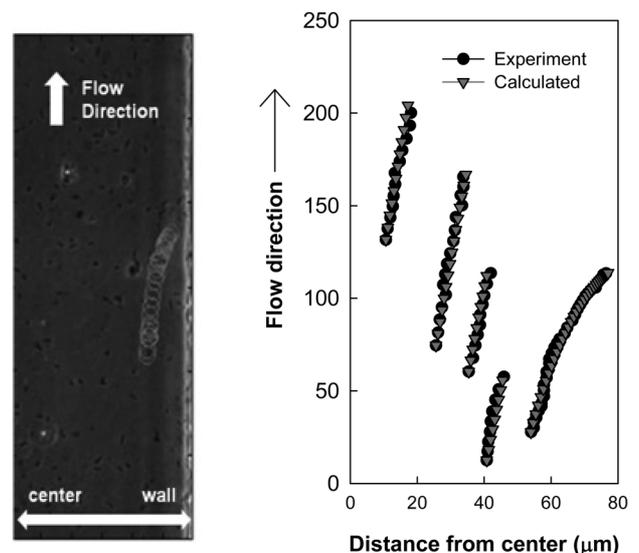


Fig. 3. Comparison of observed and calculated trajectory of *E. coli* K12 under the flow rate of 0.6 $\mu\text{L/min}$.

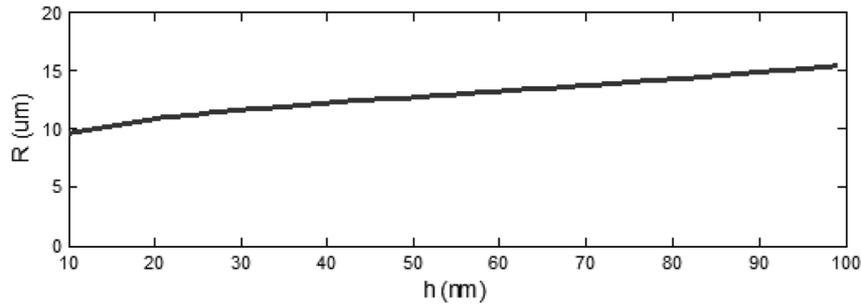


Fig. 4. Predicted radius of circular trajectory (R) at different height (h) from wall surface.

또한 흐름이 없는 조건에서 산정한 벽 표면과의 거리에 따른 *E. coli*의 회전반경과 운동속도 관계에서도(Fig. 4) 표면에서 멀어질수록 회전반경이 증가한다는 것을 알 수 있었다.

포물선 형태의 궤적을 보다 쉽게 비교하기 위하여 전체 궤적을 포물선의 방정식($y = Ax^2 + Bx + C$)로 표현하여 이중 전체 곡선의 모양에 가장 큰 영향을 미치는 2차항의 상수 값인 'A' 값을 비교해보았다. Fig. 5에서와 같이 동일한 유속 조건에서 'A' 값이 골고루 분포되어 있는 것은 *E. coli*의 편모 회전속도의 차이, 크기 차이, 채널 내 위치 차이에 의한 전단력 분포에 의해 *E. coli*가 받는 항력(drag force)에 차이가 있기 때문이다.¹¹⁾ 모든 유속 조건에서 대부분의 궤적이 작은 'A' 값을 갖는 포물선의 형태를 그리는 것으로 나타났다. 또한 유속이 감소할수록 'A' 값의 평균치는 점차 감소하는 것으로 나타났는데, 이는 유속이 작은 경우에는 *E. coli*의 운동성에 의해 실제 유체의 흐름과 다른 방향으로 움직일 수 있으며, 특히 벽면 근처에서는 흐름의 방향과 반대방향으로 거슬러 올라갈 수 있다는 것을 의미한다. 촬영한 비디오를 분석해 본 결과, 실제 벽면에서 흐름 방향과 반대방향으로 이동하는 *E. coli*의 속도는 $29.6 \pm 3.7 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로 나타났으며, 이는 운동성이 큰 경우가 보다 쉽게 상류로 이동할 수 있기 때문인 것으로 사료된다.

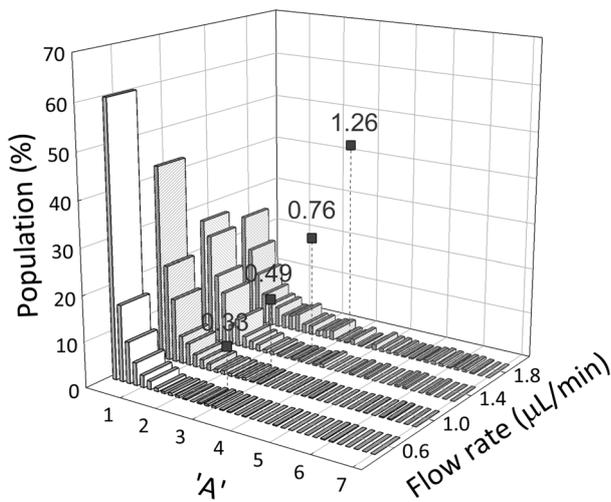


Fig. 5. The 'A' value distributions under different flow rates for *E. coli* K12 (data shown for 'A' < 7.0, n = 721, 955, 638, and 402).

3.3. *E. coli*의 크기가 운동 궤적에 미치는 영향

동일한 유속 조건에서 *E. coli*의 크기가 미치는 영향을 파악하고자 하였다. 실제 관찰결과 *E. coli*의 너비에는 큰 차이가 없었으며 길이 차이가 주된 크기 차이였기 때문에 종횡비(aspect ratio)에 따른 'A' 값을 알아보았다. Fig. 6에서와 같이 모든 유속 조건에서 *E. coli*의 크기가 증가할수록 'A' 값의 평균치는 감소하는 것으로 나타났다. 일반적으로 장구형(長球, prolate spheroid)의 입자가 받는 항력은 다음의 식으로 나타낼 수 있다.¹¹⁾

$$F_D = 6\pi\mu a \left\{ 1 - \frac{1}{5} a \left(1 - \frac{a}{b} \right) \right\} v$$

여기서 μ 는 유체의 점도, a 는 입자의 너비, b 는 입자의 길이, v 는 입자의 속도이다.

모든 *E. coli*가 동일한 운동성을 가지고 있다고 가정하면, 크기가 작은 *E. coli*가 보다 작은 항력을 받게 될 것이다. 입자의 이동거리는 유체의 흐름방향으로 받는 항력과 반비례 관계가 있기 때문에 작은 *E. coli*가 보다 큰 회전 반경을 가지게 될 것이며, 본 실험결과와 마찬가지로 종횡비가 작은 *E. coli*가 보다 큰 'A' 값을 갖게 되는 것이다. 앞서 언급한대로 *E. coli*간의 운동성 차이로 인하여 각 조건에서 'A' 값은 골고루 분포되어 있었으며, 보다 정확한 실험을 위

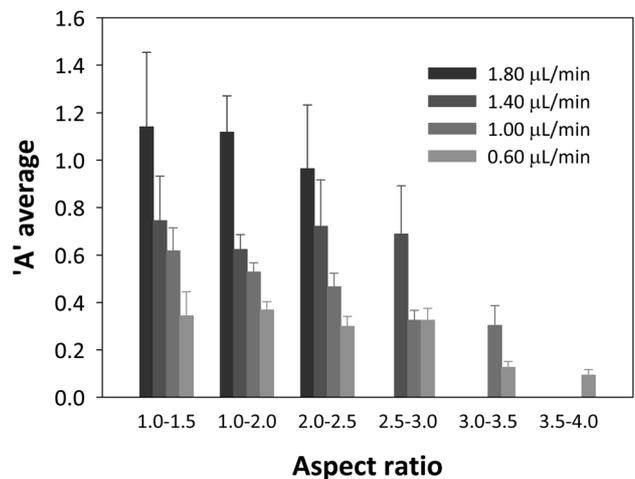


Fig. 6. Average 'A' value as a function of cell aspect ratio under different flow.

해서는 운동성이 동일한 *E. coli*만을 배양하여 사용할 필요가 있을 것으로 판단된다. 유속이 빠른 조건에서 종횡비가 3.0 이상인 *E. coli*들은 'A' 값을 측정할 수 없었는데, 이는 대부분이 포물선의 궤적을 그리지 않고 직선형태로 이동하였기 때문이다. 기존에 문헌에서는 흐름이 없는 조건에서 *E. coli*의 크기가 증가할수록 궤적의 회전반경이 증가하며 이를 수학적으로 모사할 수 있었는데,⁸⁾ 이는 크기가 큰 *E. coli*가 보다 직선에 가까운 궤적을 나타낸 본 실험 결과와 동일한 의미를 갖는다.

4. 결론

전단 흐름 유속이 낮은 조건에서 편모 운동을 하는 *E. coli*의 거동 특성을 파악하고자 하였다.

1) 흐름이 없는 조건에서 *E. coli*는 원의 궤적을 그리며 회전하는 것을 관찰할 수 있었으며, 문헌에서 보고된 수식을 바탕으로 회전반경을 계산할 수 있었다.

2) 전단 흐름이 낮은 조건에서는 포물선의 궤적으로 이동하는 것을 알 수 있었으며, 동일한 유속 조건에서도 벽면에 가까울수록 더욱 포물선의 형태를 그리며 이동하였다. 이러한 포물선의 궤적은 유체의 속도와 편모운동에 의한 *E. coli*의 운동속도를 이용하여 예측할 수 있었다.

3) 유속이 작을수록 보다 포물선에 가까운 궤적을 그리며 이동하였으며, 운동속도가 빠른 *E. coli*의 경우에는 벽면에서 상류로 거슬러 이동하는 것을 관찰하였다.

4) 또한 종횡비가 큰 *E. coli*의 경우에는 유체에 의한 항력이 증가하여 더욱 완만한 포물선을 그리거나 직선의 궤적을 그리며 이동하였다.

본 연구결과는 추후 관개용수 관로나 지하수 배관 등에서 병원성 미생물의 이동 현상을 모사하는데 기본 자료로 활용될 수 있을 것이다.

사사

이 논문은 2009년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임[NRF-2009-352-D00176].

KSEE

참고문헌

1. Berg, H. C. and Brown, D. A., "Chemotaxis in *Escherichia coli* analysed by Three-dimensional Tracking," *Nature*, **239** (5374), 500~504(1972).
2. Macnab, R. M., "Bacterial flagella rotating in bundles - study in helica geometry," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **74**(1), 221~

- 225(1977).
3. Torre, J. G. and Bloomfield, V. A., "Hydrodynamic theory of swimming of flagellated microorganisms," *Biophys. J.*, **20**(1), 49~67(1977).
4. Johnson, R. E. and Brokaw, C. J., "Flagellar hydrodynamics - comparison between resistive-force theory and slender-body theory," *Biophys. J.*, **25**(1), 113~127(1979).
5. Goto, T., Nakata, K., Baba, K., Nishimura, M. and Magariyama, Y., "A fluid-dynamic interpretation of the asymmetric motion of singly flagellated bacteria swimming close to a boundary," *Biophys. J.*, **89**(6), 3771~3779(2005).
6. Lawrence, J. R. and Caldwell, D. E., "Behavior of bacterial stream populations within the hydrodynamic boundary layers of surface microenvironments," *Microb. Ecol.*, **14**(1), 15~27 (1987).
7. Hill, J., Kalkanci, O., McMurry, J. L. and Koser, H., "Hydrodynamic Surface Interactions Enable *Escherichia coli* to Seek Efficient Routes to Swim Upstream," *Physical Review Letters*, **98**(6), 68~101(2007).
8. Lauga, E., DiLuzio, W. R., Whitesides, G. M. and Stone, H. A., "Swimming in Circles: Motion of Bacteria near Solid Boundaries," *Biophys. J.*, **90**(2), 400~412(2006).
9. Feng, Z. G. and Michaelides, E. E., "Fluid-particle interactions and resuspension in simple shear flow," *J. Hydraul. Eng.-ASCE*, **129**(12), 985~994(2003).
10. Chattopadhyay, S., Moldovan, R., Yeung, C. and Wu, X. L., "Swimming efficiency of bacterium *Escherichia coli*," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **103**(37), 13712~13717(2006).
11. Happel, J. and Brenner, H., "Low Reynolds number hydrodynamics: with special applications to particulate media," Kluwer Academic Publisher(1991).
12. Magariyama, Y., Sugiyama, S., Muramoto, K., Kawagishi, I., Imae, Y. and Kudo, S., "Simultaneous measurement of bacterial flagellar rotation rate and swimming speed," *Biophys. J.*, **69**(5), 2154~2162(1995).
13. Darnton, N. C., Turner, L., Rojevsky, S., and Berg, H. C., "On torque and tumbling in swimming *Escherichia coli*," *J. Bacteriol.*, **189**(5), 1756~1764(2007).
14. White, F. M., "Viscous Fluid Flow," McGraw-Hill Inc(1974).
15. Mitchell, J. G., Pearson, L., Dillon, S. and Kantalis, K., "Natural assemblages of marine-bacteria exhibiting high-speed motility and large accelerations," *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**(12), 4436~4440(1995).
16. Maeda, K., Imae, Y., Shioi, J. I. and Oosawa, F., "Effect of temperature on motility and chemotaxis of *Escherichia coli*," *J. Bacteriol.*, **127**(3), 1039~1046(1976).
17. Berg, H. C. and Turner, L., "Chemotaxis of bacteria in glass-capillary arrays," *Biophys. J.*, **58**(4), 919~930(1990).
18. Frymier, P. D., Ford, R. M., Berg, H. C. and Cummings, P. T., "Three-dimensional tracking of motile bacteria near a solid planar surface," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **92**(13), 6195~6199(1995).
19. Li, G. L., Tam, L. K. and Tang, J. X., "Amplified effect of Brownian motion in bacterial near-surface swimming," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **105**(47), 18355~18359(2008).