

중심부에 주입구가 존재하는 플레이트를 통한 방사성동위원소의 항균능력 측정

조은하*

한국원자력연구원 동위원소이용기술개발부

Received: November 13, 2013 / Revised: December 4, 2013 / Accepted: December 5, 2013

Antibacterial Activity Evaluation of Radioisotope Lu-177 with a Modified Tube on Plate Core. Joh, Eun-Ha*. Radioisotope Research Division, Department of Research Reactor Utilization, Korea Atomic Energy Research Institute, Daejeon 305-353, Korea

In this study, we measured the anti-bacterial activity of radioisotope Lu-177 using a new laboratory instrument. The disk method used for the measurement of existing anti-bacterial antibiotics is drug diffusion into the medium. To measure the antimicrobial activity of a radioisotope, a new type of laboratory instrument is necessary to prevent the drug from spreading and the present invention was thus tested. In the medium, a space isolated separately for radioisotope injection was used to prevent the radioisotope from spreading and radioisotopes are actually injected by this system. We found that the antibacterial activity increased according to the radiation dose increases. It is expected that, through the present study, measuring the antibacterial activity of the other radioisotopes easily in the laboratory will be possible.

Keywords: Radioisotope, antibacterial, lutetium-177

방사성동위원소는 각각의 원소 별로 고유의 반감기를 지니며 특정 에너지 범위의 방사선을 방출한다[9, 12]. 이때 방출되는 방사선의 물리적인 에너지에 의하여 세포가 파괴될 수 있으며, 이러한 특성은 암 치료 및 그와 관련된 연구에 이용되고 있다[1, 4, 8, 11]. 또한, 식품이나 여러 공산품들의 멸균 과정에도 방사선이 이용되고 있다[6, 7]. 따라서 방사선을 방출하는 방사성 물질에 의한 항균력을 평가하기 위한 측정장치가 필수적으로 요구된다.

현재 화학적 약물 등의 항균력을 측정하기 위하여 디스크법(disk method)이 널리 사용되고 있다[2, 10]. 이는 일반적인 화학적 약물에 의한 균의 사멸을 측정하고자 할 때 사용되는 방법으로써 유리 또는 플라스틱으로 형성된 얇은 원통형의 용기에 배지를 충전시키고 피검균을 도말한 후, 원형 또는 정방형의 여과지로 이루어지는 디스크에 일정농도의 항생물질을 함유시켜 준비하고, 준비된 디스크를 배지 위에

올려두고 일정 시간이 경과한 후에 디스크의 주변부에서 발생하는 균의 사멸 반경으로부터 항생물질의 항균력을 추정하는 과정을 거친다.

그러나 기존의 디스크법은 방사성동위원소의 항균력 측정에 적용하기 어렵다. 한 점에 위치하고 있는 방사성동위원소는 방사선을 방출하며, 그 반경 내에 존재하는 균의 증식을 억제한다. 따라서 균과 직접적으로 접촉하지 않아도 방사성동위원소의 항균력이 작용할 수 있다. 기존의 디스크법은 약물을 함유한 디스크를 배지 위에 올려놓고 약물을 확산시키는 방법이다. 이러한 방법으로는 방사성동위원소가 확산되게 되며, 방사선에 의해 사멸 가능한 반경을 정확하게 측정하기 어렵다. 따라서 방사성동위원소가 확산되지 않고 한 점에 머무르게 하여, 방출하는 방사선에 의하여 균이 사멸되는 정도를 평가할 수 있는 실험 기구가 필요하다.

일반적으로 생물학적 실험에 많이 적용되는 액체 형태의 방사성동위원소의 항균력을 측정하기 위하여 기존의 플레이트를 변형하여 새로운 실험기구를 제작하였다. 새롭게 제작한 실험기구는 기존의 플레이트의 중앙부에 방사성동위원소를 충전할 수 있는 원통형의 충전 구역을 둔 형태이다(Fig.

*Corresponding author

Tel: +82-42-868-8512, Fax: +82-42-868-8448

E-mail: Choeh36@kaeri.re.kr

© 2013, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

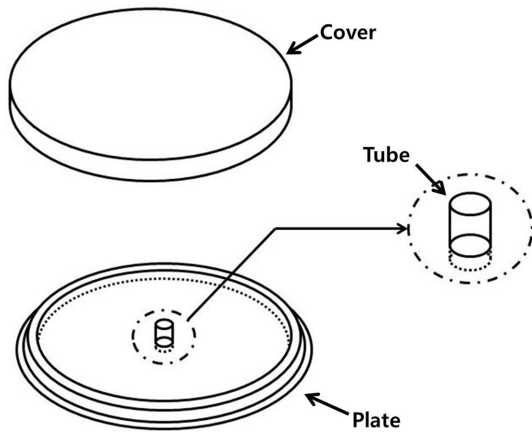


Fig. 1. Diagram of the new equipment for antimicrobial activity detection of radioisotope.

1). 중앙부의 충전 구역에는 솜을 충전하여, 주입되는 액체 형태의 방사성동위원소가 충전 구역 내에 고르게 분포될 수 있도록 하였다. 원통형의 충전 구역과 연결되는 플레이트 뒷면의 관통부는 고무재질의 소재로 마감하였으며, 니들(needle)을 이용하여 주입된 방사성동위원소가 밖으로 배출되지 않고 고정되도록 구성하였다. 새로 제작한 플레이트를 사용함으로써 방사성동위원소와 배지간에 물리적인 차단막이 형성되었으며, 이로 인해 한 점에 위치한 방사성동위원소가 방출하는 방사선에 의하여 균의 증식이 억제되는 효과를 측정하는 것이 가능하다. 이때 형성되는 충전구역에 의하여 감소되는 방사능량은 각 핵종별로 차폐평가를 통하여 계산될 수 있으며 여기에서 계산된 값을 항균평가에 대입한다면 충전구역에 의하여 감소된 후 직접적으로 영향을 주는 방사능량에 의한 항균효과의 측정이 가능하다.

새로 제작된 실험기구를 사용하여 간균인 *Escherichia coli*와 구균인 *Staphylococcus aureus*에 대한 방사성동위원소 ¹⁷⁷Lu의 항균능력을 측정하였다. 플레이트에 한천배지가 함유된 Tryptic Soy (TS) media를 멸균 후 15 ml씩 충전하였다. 배지가 굳은 후 *E. coli*와 *S. aureus*를 각각 10¹⁰씩 도말하였다. 도말 후 플레이트의 뚜껑을 닫고, 후면 중앙에 위치한 주입구를 통하여 한국원자력연구원의 연구용 원자로인 하나로에서 생산한 방사성동위원소 ¹⁷⁷Lu을 1, 10, 100, 200, 500 μCi의 용량으로 각각의 플레이트에 주입하였다. 주입이 완료된 플레이트는 37°C를 유지하는 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 24시간의 배양 후 플레이트를 꺼내서 균의 생장이 억제된 영역의 반지름을 측정하였다.

*E. coli*와 *S. aureus*의 억제반경 반지름을 측정한 결과 500 μCi의 Lu-177이 투여되었을 때 각각 32, 19 mm의 값을 나타내었다(Fig. 2).

두 종류의 균 모두 Lu-177에 의해서 생장이 억제되었으며,

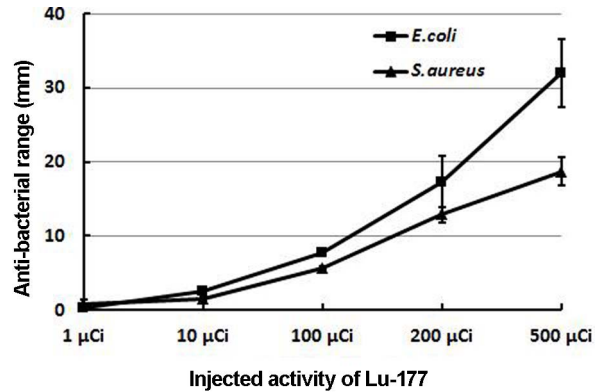


Fig. 2. Bacteria growth range has been suppressed by the radioisotope, ¹⁷⁷Lu. TS media was filled on the plate, and then inoculated with *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

¹⁷⁷Lu was injected into the plate through the inlet, and the plate was incubated for 24 hours at 37°C. The ranges of the radius of growth inhibition were measured.

*E. coli*가 *S. aureus*보다 ¹⁷⁷Lu에 의한 방사선에 의한 감수성이 큰 것으로 확인되었다.

방사성동위원소는 의료적으로 암을 진단하거나 치료하기 위하여 주로 이용되고 있으며, 항생제로 사용하기 위한 연구는 거의 진행되지 않고 있다[3, 5, 13]. 그러나 방사성동위원소가 방출하는 방사선은 균을 사멸하는 효과를 확실하게 가지고 있다. 이러한 특성에 의하여 방사성동위원소는 항생제로 이용되기 적합하며, 따라서 이에 대한 연구가 필요한 현실이다.

본 연구가 진행되기 이전에는 실험실 내에서 간단하게 방사성동위원소의 항균능력을 측정하기가 불편하였다. 하지만 이번 연구에서 새로 제작된 플레이트를 이용하여 실험실에서 방사성동위원소의 항균 능력을 간단하게 측정하는 것이 가능해졌다. 본 연구를 시작으로 여러 방사성동위원소의 특정 균에 대한 항균력 평가가 이루어질 것이며, 향후 특정 균에 의하여 유발되는 질병들을 극복하기 위한 연구로 발전될 수 있다.

요 약

본 연구를 통하여 우리는 새로운 실험기구를 사용하여 방사성동위원소(Lu-177)의 항균능력을 측정하였다. 기존에 약물의 항균능력을 측정하는데 사용되었던 디스크법은 배지의 약물 확산에 의해서 항균능력을 측정하는 방법이기 때문에 방사성동위원소에 적용하기는 적합하지 않아 새로운 실험 방법이 요구된다. 방사성동위원소의 항균능력을 측정하기 위해서는 배지의 약물 확산을 막고 한점에 머무르게 하

는 방법이 필요하다. 본 연구에서 우리는 새로운 실험도구를 이용하여 Lu-177의 방사능량이 증가할수록 항균능력이 증가함을 확인하였다. 본 연구에서 사용된 실험방법을 통해 다른 방사성동위원소의 항균능력도 쉽게 측정할 수 있을 것으로 기대된다.

References

1. Abedi D, Feizizadeh S, Akbari V, Jafarian-Dehkordi A. 2013. In vitro anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Res. Pharm. Sci.* **8**: 260-268.
2. Bryan RA, Guimaraes AJ, Hopcraft S, Jiang Z, Bonilla K, Morgenstern A, et al. 2012. Toward developing a universal treatment for fungal disease using radioimmunotherapy targeting common fungal antigens. *Mycopathologia.* **173**: 463-471.
3. De Guzman ZM, Cervancia CR, Dimasuay KG, Tolentino MM, Abrera GB, Cobar ML, et al. 2011. Radiation inactivation of *Paenibacillus* larvae and sterilization of American Foul Brood (AFB) infected hives using Co-60 gamma rays. *Appl. Radiat. Isot.* **69**: 1374-1379.
4. Huclier-Markai S, Alliot C, Varmenot N, Cutler CS, Barbet J. 2012. Alpha-emitters for immuno-therapy: a review of recent developments from chemistry to clinics. *Curr. Top. Med. Chem.* **12**: 2642-2654.
5. Hueting R, Tavaré R, Dilworth JR, Mullen GE. 2013. Copper-64 radiolabelling of the C2A domain of synaptotagmin I using a functionalised bis(thiosemicarbazone): A pre- and post-labelling comparison. *J. Inorg. Biochem.* **128**: 108-111.
6. Jeon YH, Lee HW, Lee YL, Kim JE, Hwang MH, Jeong SY, et al. 2011. Combined E7-dendritic cell-based immunotherapy and human sodium/iodide symporter radioiodine gene therapy with monitoring of antitumor effects by bioluminescent imaging in a mouse model of uterine cervical cancer. *Cancer. Biother. Radiopharm.* **26**: 671-679.
7. Kang CS, Sun X, Jia F, Song HA, Chen Y, Lewis M, et al. 2012. Synthesis and preclinical evaluation of bifunctional ligands for improved chelation chemistry of ⁹⁰Y and ¹⁷⁷Lu for targeted radioimmunotherapy. *Bioconjug. Chem.* **23**: 1775-1782.
8. Otani Y, Yamada T, Kato S, Shikama N, Funakoshi K, Kuroda I, et al. 2013. Source strength assay of iodine-125 seeds sealed within sterile packaging. *J. Appl. Clin. Med. Phys.* **14**: 4082.
9. Somily AM. 2010. Comparison of E-test and disc diffusion methods for the in vitro evaluation of the antimicrobial activity of colistin in multi-drug resistant Gram-negative Bacilli. *Saudi. Med. J.* **31**: 507-511.
10. Towers S. 2013. Improving the control of systematic uncertainties in precision measurements of radionuclide half-life. *Appl. Radiat. Isot.* **77**: 110-114.
11. Ujjani C, Cheson BD. 2013. The current status and future impact of targeted therapies in non-Hodgkin lymphoma. *Expert. Rev. Hematol.* **6**: 191-202.
12. Vera DR, Eigner S, Henke KE, Lebeda O, Melichar F, Beran M. 2012. Preparation and preclinical evaluation of ¹⁷⁷Lu-nimotuzumab targeting epidermal growth factor receptor overexpressing tumors. *Nucl. Med. Biol.* **39**: 3-13.
13. Yong KJ, Milenic DE, Baidoo KE, Brechbiel MW. 2013. Sensitization of tumor to ²¹²Pb radioimmunotherapy by gemcitabine involves initial abrogation of G2 arrest and blocked DNA damage repair by interference with Rad51. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **85**: 1119-1126.