

How much *E. Coli* need to fall you Down

KyungJin Lee¹, Donghyeok gang¹

¹ Department of Chemistry , Korea Advanced Institute of Science and Technology, Korea

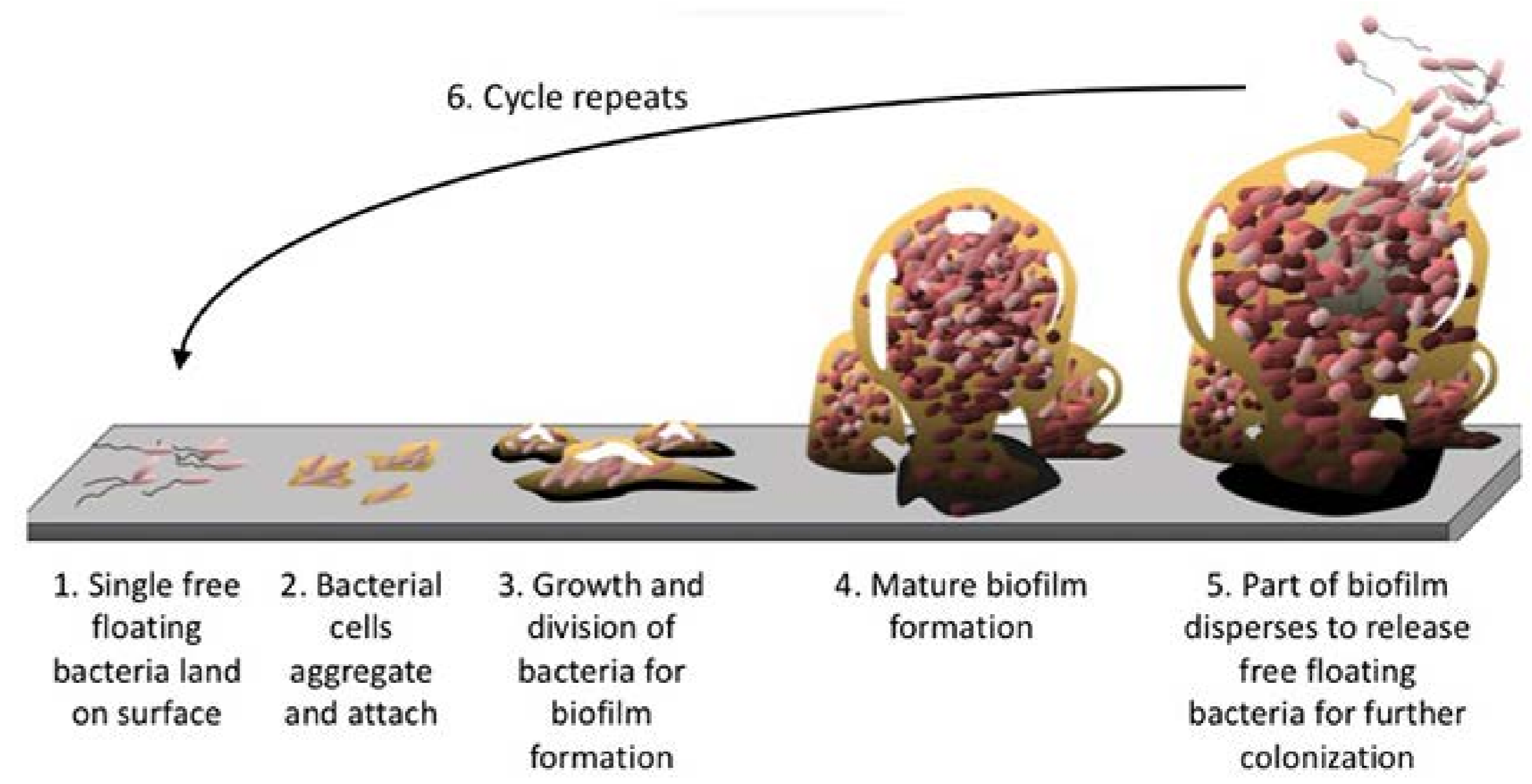


Introduction

사람이 자꾸 이사를 다니면 잘 적응하지 못하고 힘들듯이 세균도 자신이 익숙한, 원래 번식하던 지역에서 계속 살아가기를 원합니다. 주로 액상에서 살아가는 세균에게 가장 위험한 것은 빠르게 흐르는 급류에 자신과 자신의 후손이 모두 떠내려가 사라져버리는 것일 겁니다. 이런 위험을 줄이기 위해 세균은 바이오 필름이라는 저항법을 개발했습니다.

좀 더 과학적인 측면으로 다가가면 바이오필름은 표면에 붙어있는 박테리아들의 군집이고 Extracellular polymeric Substances (EPS)로 둘러싸여 있고 이 EPS는 slimy하고 film-like 같은 물질로써 polysaccharides, proteins, 그리고 nucleic acid로 이루어져 있습니다.

아직도 어렵습니까? 당신의 치아가 미끌미끌 하고 입문에서 어떤 *E. coli* 이 종류중 제일 잘 자라는지 알아보고 귀해성 중화할 때까지 난다면 이미 바이오필름이 형성되었으니까요. 상공 차와 식탁에서 많이 쓰이는 대장균 균주 5가지 에 Contamination 과



Gregory D. Bixler and Bharat Bhshn , The Royal Society 2012

Method & Results

microscope 상태에서 잘 보이게 하기 위해 GFP vector 를 만들어서 집어 넣었습니다. 시간 , 온도 , shaking, material, cell adherent 를 돕는 poly lysine coating 그리고 여러가지 culture media 조건을 테스트 해보았습니다. biofilm 의 생성은 microtiter plate에서 정량적으로까지 측정이 가능한 crystal violet (CV)를 이용해 보았습니다.

여러 조건 중에서 크게 차이가 나는 것은 없었고 약간의 shaking과 37°C 에서 제일 나은 결과를 보였으나 오랜 incubation에 의해 자주 말라서 실험 진행은 LB media, RT조건에서 실험을 진행하였습니다. DH5a, TG-1이 biofilm 생성을 잘 하였고 산소와 잘 맞닿아있는 부분에 생성되는 것을 볼 수가 있었고 다른 벡터가 들어가 있어도 잘 자라는것을 확인 하였습니다. 다양한 용기와 poly-lysine 이 처리된 곳에서는 바닥에 잘 부착될 거라 예상했으나 산소와 맞닿아 있지 않아서 생장이 되지 않았습니다 (그림 1).

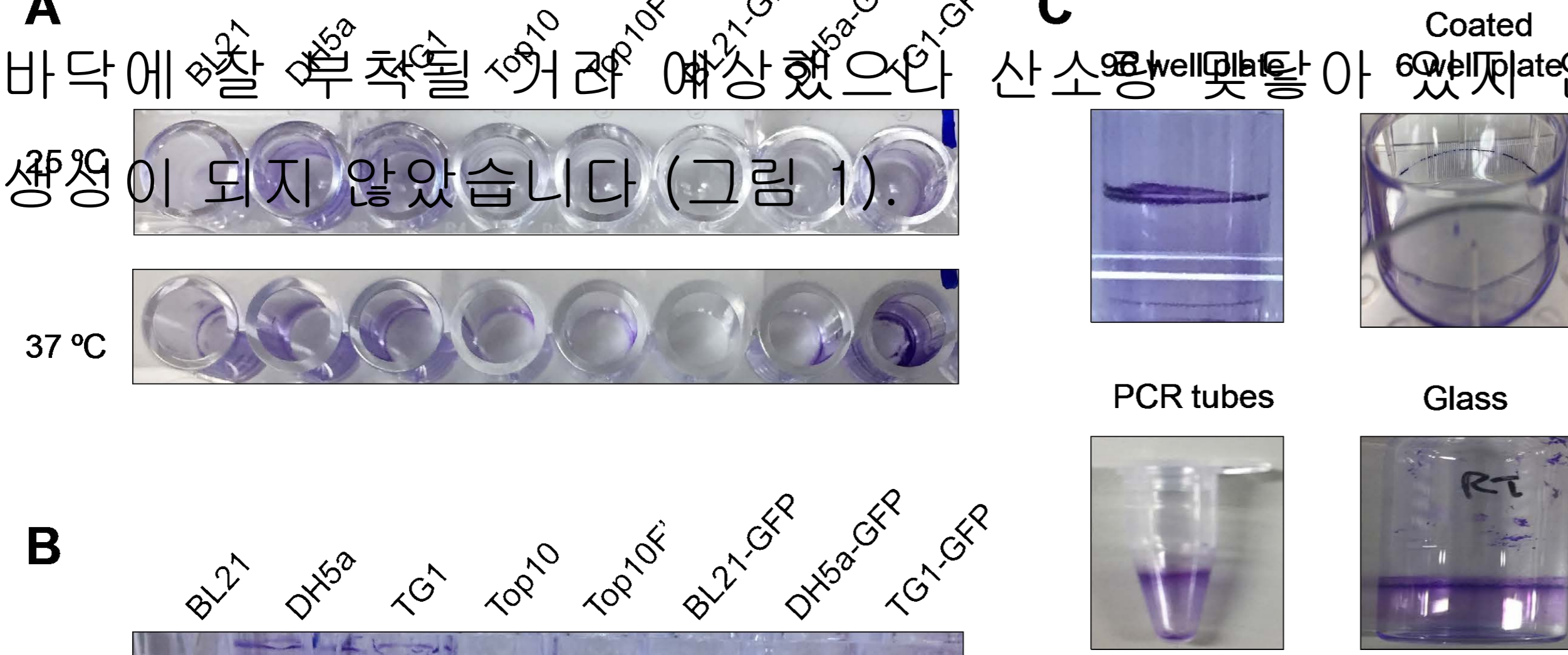


그림 1. Biofilm 생성 조건 . (A) 다양한 *E. coli* 균주와 온도 실험 결과를 위에서 촬영한 사진 72h 동안 생성. (B) 25°C 사진을 측면에서 본 사진. (C) . 다양한 용기를 poly-lysine 처리된 용기에서 결과 하였으며 촬영을 위해 다양한 희석 상태와 시간에 따른 실험 결과 대략 36시간 이후에 생성되었고 1:1 정도로 고 농도에서 전체적으로 자라서 이미지 촬영이 가능했습니다 (그림 2).

산소의공급이 원활해야 많은 양의 biofilm의 생성이 가능할 것이라 생각을 하여서 지속적으로 성장이 가능할 수 있는 시스템을 구축하였다 (그림 3A).

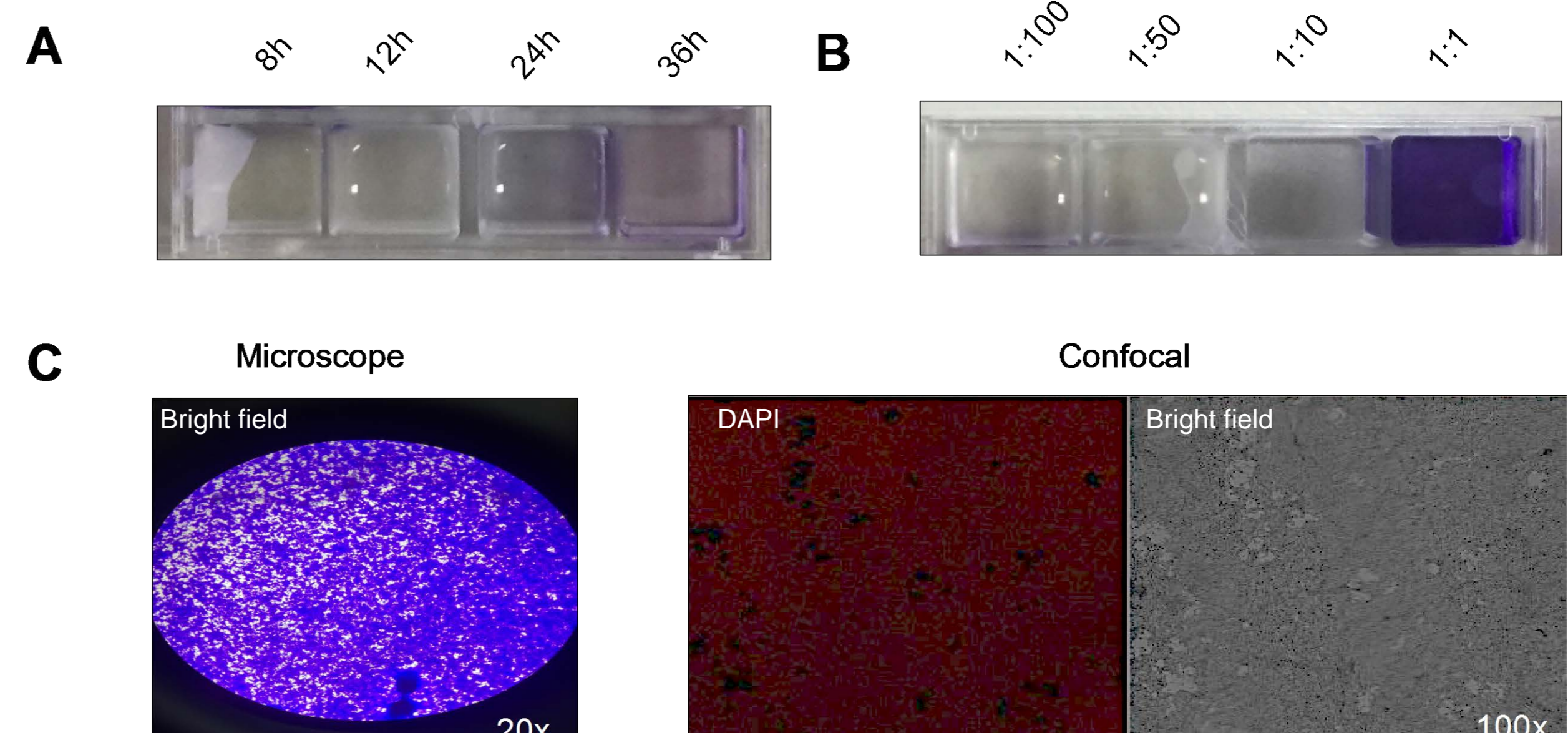


그림 2. Biofilm 이미지. (A) 30 시간 이상을 키운 TG1-GFP 를 추가로 1:10으로 희석후 8시간부터 36시간을 더 키웠다. (B) 희석 비율을 1:100 부터 1:1 로해서 36시간을 키운 사진 (C) Crystal violet 으로 염색후 현미경으로 본 사진 (왼쪽) 과 confocal 로 본 사진 (오른쪽)

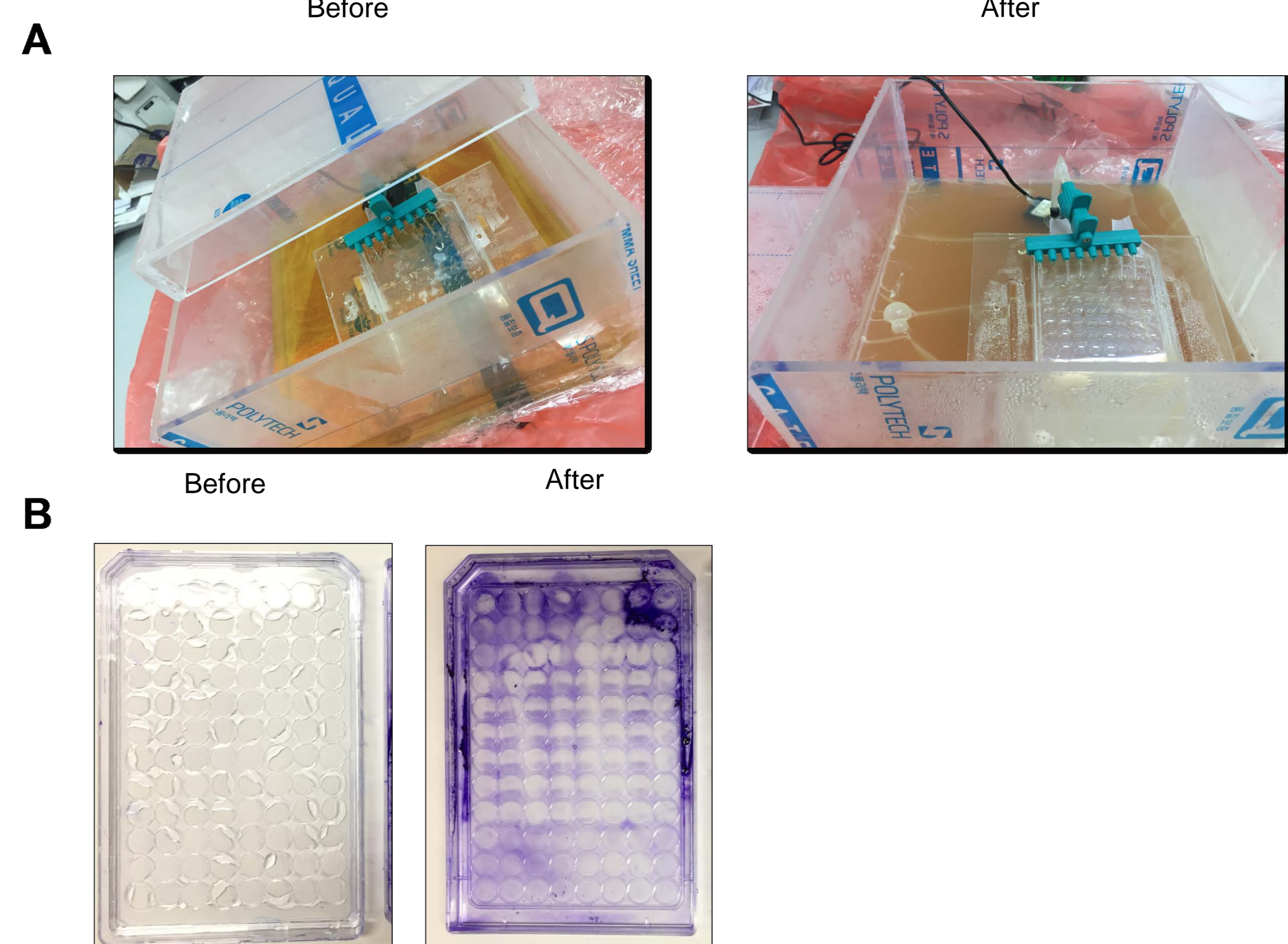


그림 3. Continues culturing system I (A)와 TG1-GFP를 키우기 전과 48시간 키운 후. (B) 48시간 키운 후 plate 사진 Flowrate 에 따른 생성 조건을 테스트 하지 못하고 진행을 하게 되었고 그 결과 생각보다 많은 양의 Biofilm 이 생성되지는 않아 아쉽지만 before & after 의 차이는 크게 보인것을 알 수 있다 (그림 3B).

Conclusion & Opinion

이 모형연구를 시작하게 된 계기는 논문과 같이 숫자와 영어 그리고 사진으로 도배되어 있는 데이터에서 벗어나 사람들에게 조금 더 쉽게 데이터를 전달하고 재미를 선사하기 위해 시작을 하였습니다. 처음의 목표는 사람을 넘어트릴수 있는 양의 biofilm을 생성함으로써 재미와 시연을 통해 시각적인 즐거움을 주려고 하였지만 시간과 데이터의 부족으로 결국 마지막 포스터를 만들면서 보여주는 데이터들은 다른 논문들의 사진과 다를 바가 없게 되었습니다. 앞으로 하게 될 미래 석.박사 연구자분들은 더욱 재미나고 독특한 아이디어를 가지고 많이 많이 신청해서 하시고 싶은 연구 시도해보세요 . 즐거운 석.박사 생활을 위해 화이팅 !