전사조절인자를 활용한 바이오센서 개발 동향

한국생명공학연구원 권오석

1. 서론

합성생물학은 대사공학, 단백질공학, 전산생물학, 유전체 엔지니어링 등 여러 분야에 막대한 영향을 미치며 지난 십 수년간 크게 발전하였다. 특히 최근 DNA 서열분석과 합성 비용이 큰 폭으로 감소함에 따라 연구자들은 다양한 합성생물학적 디자인들을 저렴한 비용으로 제작할 수 있게 되었고 그 만큼 새로운 합성생물학적 설계의 성능을 신속하고 정확하게 평가하기 위한 수단의 수요도 증가하고 있다. 타겟 리간드의 존재를 검출할 수 있고 그에 따른 신호를 유발할 수 있는 생물학적 요소들로 구성된 바이오센서는 생물학적 부품 특유의 다양성, 특이성, 그리고 민감성 때문에 기존의 분석수단을 대체할 초고속 스크리닝 도구로써 또 발전하는 합성생물학 기술의 직접적인 결과물로서 주목 받고 있다 [1,2]. 나아가 센서를 이용한 진단에 생물학적 요소를 도입하면서 주로 물리적 혹은 화학적인 수단에 의존하던 기존 분석 체계가 급격하게 변화하고 있다. 바이오센서는 특히 환경, 농업, 산업 등 대규모 집단이나 광범위한 지역의 시료를 측정하거나 의료나 안전 관련 현장에서 많은 수의 개별 시료를 신속하게 정확하게 진단하는데 혹은 대사공학 혹은 합성생물학적 개발 측면에서 단일세포 수준의 특정 대사물질 검출 등에 활용되고 있다.

바이오센서 중에 가장 많이 연구된 것은 세포의 전사 및 번역 기구를 이용하여 타겟 리간드 검출에 대한 반응으로 신호를 유발하는 단백질 기반의 센서인 전사조절인자 기반의 바이오센서이다 (그림 1). 전사조절인자는 세포 내부 혹은 외부 환경변화에 따른 유전자 발현조절기구로 지난 수십 년 간 거의 모든 생물 종에서 연구되어 왔다. 전사조절인자 기반 바이오센서는 리간드 결합에 의해 활성이 조절되는 전사조절단백질, 전사조절단백질이 부착하는 타겟 오퍼레이터 서열, 감지된 신호를 발현하는 리포터 등 각 구성 요소가 갖는 모듈성과 또한 비교적 설계 및 제작이 용이하다는 이유 등으로 인해 가장 활발하게 연구되고 있는 바이오센서이다 [3]. 본 보고서에서는 야생형 전사조절인자, 이종 전사조절인자,

모듈성 합성 전사조절인자 등을 활용한 바이오센서 개발의 최근 동향을 살펴보고자 한다.

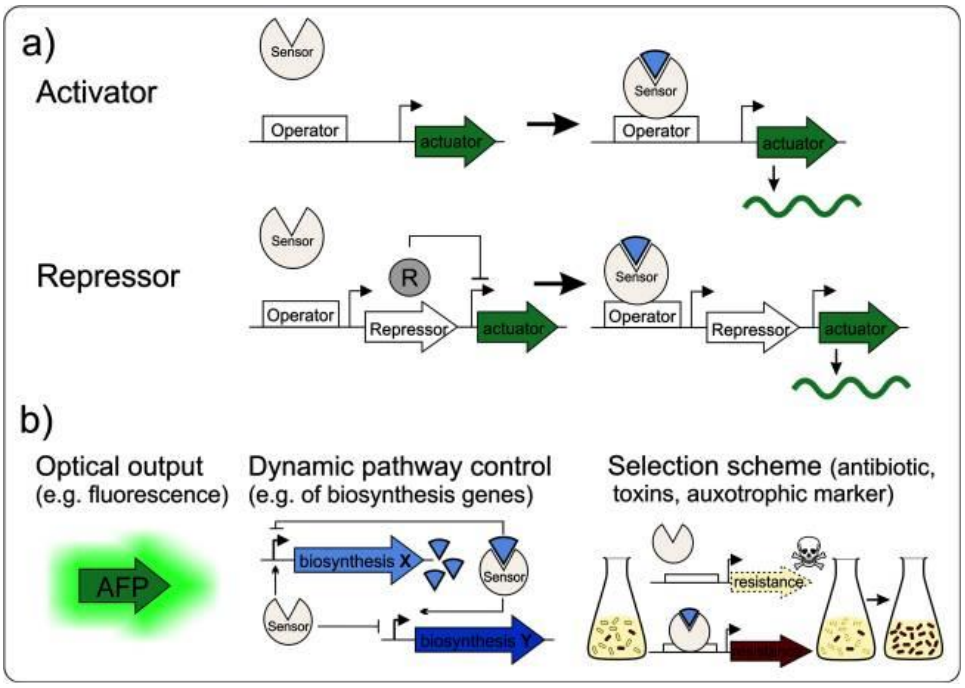

그림 1. 전사인자 기반 바이오센서 제작 원리

a. 전사조절인자 기반 바이오센서는 타겟 리간드 결합에 의해 전사조절 기능이 조절되는 전사조절단백질과 전사조절단백질이 부착하는 오퍼레이터 서열, 신호감지용 리포터 유전자로 구성된다. b. 리포터로는 형광단백질, 생합성경로, 항생제 내성과 같은 선별인자들이 사용된다 [3].

2. 야생형 전사조절인자를 활용한 바이오센서

자연계에 존재하는 야생형 전사조절인자를 기반으로 한 바이오센서는 조작하기 가장 용이하고 따라서 가장 널리 사용되는 바이오센서이다. 이 형태의 바이오센서를 설계하기 위해서는 우선 해당 타겟 리간드에 반응하도록 자연적으로 진화한 전사조절단백질이 해당 숙주에 존재해야 한다. 이런 전사조절단백질에 특정 리간드가 부착하면 구조변화가 일어나고 타겟 프로모터 상 부착부위에 대한 결합이 변화되어 조절 타겟 유전자의 전사가 유도되거나 억제되게 된다. 특정 전사조절단백질에 의

해 조절되는 타겟 프로모터가 알려진 경우 이 프로모터를 이용하여 일련의 출력신호를 방출하는 리포터 유전자의 발현을 조절할 수 있다. 통상적으로 사용되는 방출신호로는 형광, 항생제 내성, 성장속도 증가, 생물발광 등이 있다. 야생형 전사조절인자를 활용한 바이오센서 개발의 한 예로 폴리아민의 일종인 프트레신 검출용 대장균 바이오센서가 있다 [4]. 이 경우 프트레신과 결합할 수 있는 PuuR 전사조절단백질, PuuR이 결합하여 전사를 억제할 수 있는 합성 프로모터, *gfpmut3* 리포터 유전자로 구성되었으며 세포 내 프트레신 농도가 낮으면 PuuR이 타겟 프로모터에 부착하여 리포터 유전자의 발현을 억제하게 된다. 반면 프트레신 농도가 높아지면 프트레신이 PuuR에 결합하여 더 이상 타겟 프로모터에 연결된 리포터 유전자의 발현을 억제하지 못하게 된다. 또한 세포 내 PuuR 단백질 발현이나 프트레신 생합성을 조정함으로써 바이오센서의 구동을 정교하게 조절할 수 있도록 설계되었다 (그림 2). 이 밖에도 주로 대사공학적 혹은 합성생물학적 세포재설계에 활용하기 위하여 야생형 전사조절인자를 활용하여 특정 대사산물을 검출할 수 있는 바이오센서를 개발한 예가 많다 [5].

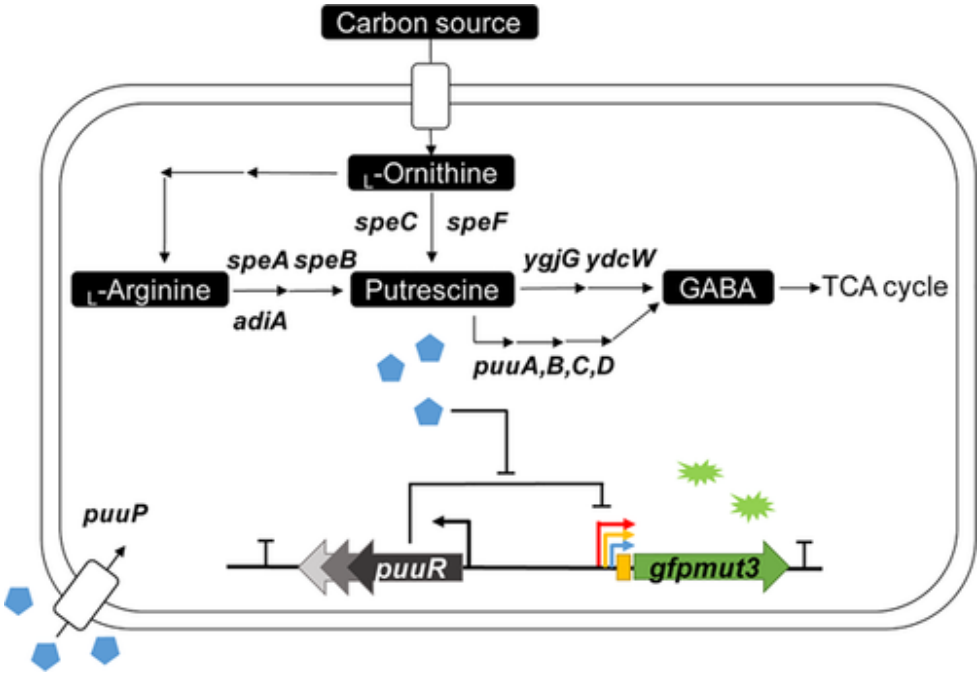

그림 2. PuuR 전사인자와 타겟 프로모터를 이용한 대장균 용 putrescine 바이오센서 [4]

야생형 전사조절인자를 활용한 바이오센서 개발의 주요 한계점은 활용 가능한 전사조절단백질-타겟 프로모터 쌍의 존재 여부이다. 각 생물 종 별로 대사활성을 조절하기 위해 가지고 있는 조절기전의 수가 제한적이고 또 모든 대사물질 마다 인지 가능한 전사인자가 존재하는 것은 아니기 때문이다. 오히려 한 대사경로에서도 단지 몇 개의 대사물질 만이 feedback 전사조절에 관련되어 있는 것이 일반적이다. 만약 특정 타겟 리간드에 반응하는 전사조절 요소가 알려진 게 없다면 해당 리간드의 처리에 따른 숙주세포의 전사체 분석이나 유전체 대상 삽입 돌연변이 분석을 통해 바이오센서 개발에 활용가능한 전사조절 요소를 발굴해야 한다 [6]. 우선 숙주에 타겟 리간드를 처리하였을 때 발현이 증가하는 유전자를 동정하고 동일한 실험을 타겟 리간드와 약간의 기능적 차이가 있는 화합물을 처리하여 반복 수행한다. 이런 과정을 통해 유사한 화합물에는 반응하지 않지만 타겟 리간드에 만 특이적으로 반응하여 발현이 변화되는 프로모터를 확보할 수 있다. 이런 전사체 분석전략을 통해 *Saccharomyces cerevisiae* 1-butanol 바이오센서와 대장균의 farnesyl-diphosphate 바이오센서가 개발된 바 있다 [7,8].

전사체분석 방법이 프로모터/오퍼레이터 발굴을 위한 유용한 방법이 될 수 있지만 해당 리간드에 특이적으로 반응하는 전사인자를 확보하지 못한다면 프로모터/오퍼레이터만을 이용해 제작된 바이오센서는 특이성 문제를 가질 수 있다. 비록 전사체 반응이 리간드 유사물질에 비교해 해당 리간드에 특이적이라 할지라도 발굴된 프로모터/오퍼레이터가 예측하지 못하는 이유로 잘못 활성화될 가능성도 배제할 수 없다. 즉 타겟 리간드 외에 또 다른 미지의 인자가 동일한 반응을 유발할 가능성도 있고 발굴된 프로모터/오퍼레이터의 발현변화가 해당 리간드에 대한 직접적인 반응이 아닌 숙주세포가 받는 최종적인 영향을 반영하는 것일 수도 있다. 이런 문제점은 특히 유도진화 스크리닝을 위한 단일세포 분석이나 high throughput 스크리닝에서 오류의 원인이 될 수도 있다 [9].

3. 이종 전사조절인자를 활용한 바이오센서

만약 특정 리간드에 대한 전사인자가 해당 숙주 종에 존재하지 않는 경우에는 다른 종의 전사인자를 이용하여 바이오센서를 개발하는 것도 가능하다 [10]. 특히 자연적으로 해당 리간드를 생산하지 않거나 접촉할 가능성이 없는 종에서 검출시스템을 만들고자 할 때에는 이 방법의 활용이 대안이 될 수 있다.

구동 정보가 충분히 알려진 전사조절기구를 확보하고 활용하고자 하는 숙주에 적합하도록 전사조절단백질 유전자의 코돈을 최적화하고 프로모터 길이, 부착도메인 길이와 숫자 등을 정교하게 조율하는 것이 필요하다. 예를 들어 대장균에서 활용할 부탄올 바이오센서개발을 위하여 *Thauera butanivorans* 의 σ^{54} 인자와 프로모터서열을 사용한 경우가 있다 [11]. 테트라사이클린 내성 *tetA-gfp* 융합 유전자 앞에 σ^{54} 인자 의존성 알콜조절 P_{BMO} 프로모터를 연결하고 σ^{54} 인자 BmoR 유전자는 P_{bmoR} 프로모터를 이용하여 발현하였다 (그림 3). P_{bmo} 와 P_{bmoR} 프로모터는 둘 다 부탄올이 결합한 BmoR 에 의해 활성화된다. 세포 내 부탄올 농도가 낮을 경우 제한된 양의 BmoR σ^{54} 인자가 생성된다. 하지만 부탄올 농도가 증가하면 BmoR σ^{54} 인자는 부탄올과 결합하여 P_{BMO} 프로모터에 부착하여 TetA-GFP 의 발현을 증가시킴과 동시에 P_{bmoR} 프로모터에 부착하여 BmoR σ^{54} 인자 자체 발현을 증가시킴으로써 결과적으로 신호를 증폭시킨다. 이렇게 신호를 증폭함으로써 FACS 를 이용하거나 세포생존을 이용하여 세포 내 부탄올 농도가 증가한 세포의 선별이 가능하게 되었다. 이 부탄올 바이오센서의 경우 BmoR σ^{54} 인자를 대장균에 도입하는 것이 가능했는데 이는 BmoR 의 경우 다른 σ 인자들과 달리 인지단백질과 같은 다른 활성화 신호가 필요 없고 다만 부탄올 결합에 의해 활성화 될 수 있기 때문이다 [11]. 또한 *T. butanivorans* 도 원핵생물이기 때문에 *E. coli* 에서도 BmoR 에 의한 RNA polymerase 유인과 전사가 가능 했을 것으로 여겨진다.

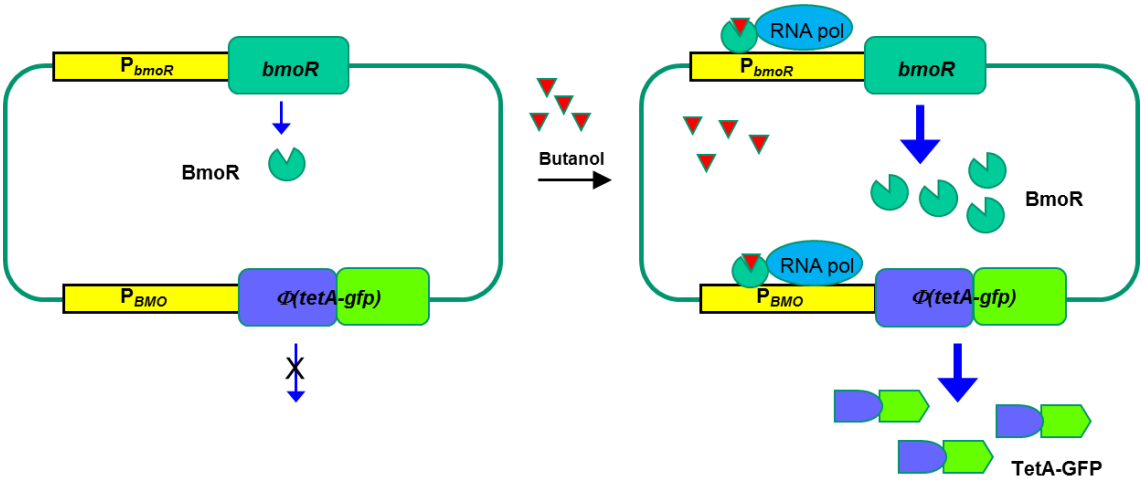

그림 3. 대장균용 부탄올 바이오센서 모식도 [11]

간혹 다른 종 특히 진화상 오래 전에 분리되어 상이한 전사기구를 갖고 있는 원핵생물의 전사조절단백질 특히 전사억제단백질을 진핵생물에 도입하여 바이오센서를 구축하는 경우도 있다. 우선 원핵생물에서 해당 리간드에 반응하는 전사조절단백질과 해당 전사조절단백질이 부착하는 오퍼레이터 DNA 서열 확보가 필요하다. 이 오퍼레이터 서열을 바이오센서를 구축하고자 하는 진핵세포의 프로모터 TATA 박스나 upstream 활성서열 부근에 삽입하여 인공 프로모터-오퍼레이터를 제작한다. 여기에 형광단백질이나 항생제 내성 유전자를 리포터 유전자로 연결하면 타겟 리간드 존재 시 형광발현이나 항생제 내성이 변화하게 된다. 이런 전략이 XylR 전사조절단백질 기반의 *S. cerevisiae* 용 자일로스 바이오센서 구축에 적용되었다 [12]. 우선 기존에 잘 알려진 세균 (*Staphylococcus xylosus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*) 유래의 자일로스가 결합할 수 있고 타겟 서열에 부착할 수 있는 3 종의 XylR 전사억제단백질이 사용되었다. 각각의 XylR 부착 DNA 서열을 GFP 리포터 유전자 앞에 연결된 단순화된 P_{GPM1} 프로모터 내 활성화 서열 (UAS) 혹은 TATA 박스 부근에 삽입하였다 (그림 4). 정상 조건에서 XylR 전사억제단백질은 타겟 오퍼레이터 서열에 부착하여 UAS 나 TATA 박스에 전사기구단백질들이 부착하는 것을 방해한다. 그러나 자일로스 농도가 올라가면 XylR 에 자일로스가 결합하여 오퍼레이터 서열에 부착하는 것이 감소되어 결과적으로 P_{GPMI} 프로모터의 원래 조절기전이 회복되고 GFP 리포터 유전자의 발현이 일어나게 된다. 이런 방법으로 구축한 12 개 센서 중 11 개가 자일로스 검출에 반응하는 것으로 확인되었다 [12].

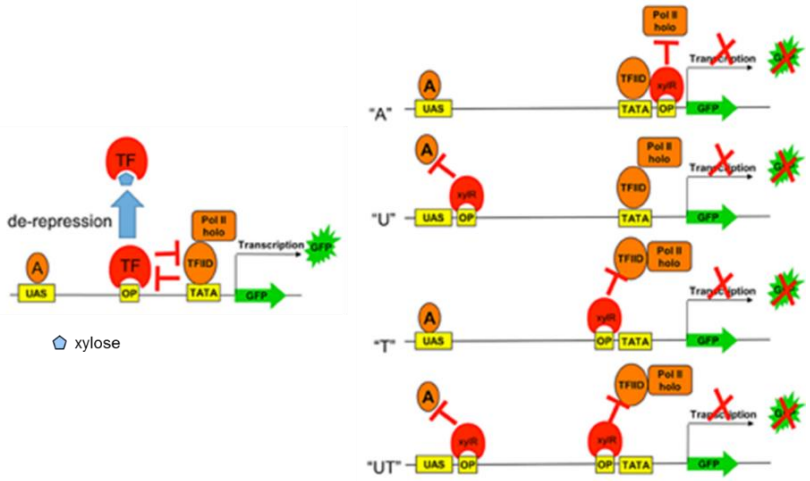

그림 4. *S. cerevisiae* 용 자일로스 바이오센서 디자인 및 구동 [12]

이종의 전사인자를 활용하여 바이오센서를 제작하는데도 몇 가지 제한요소가 있다. 우선 활용하고자 하는 전사인자의 작용기전이 잘 규명되어 있어야 한다는 것이다. 전사조절이 단순한 과정이 아니고 종종 전사기구단백질의 유도에도 여러 개의 조절인자나 보조활성인자가 관여하는 경우가 있다. 따라서 자체 전사인자를 이용한 바이오센서와 달리 이종 전사인자를 활용하여 바이오센서를 개발하고자 할 때 특히 기본적인 전사기구 자체도 현격하게 상이한 이종 생물계 세포의 전사인자를 이용하여 바이오센서를 개발하고자 하는 경우에는 숙주의 발현시스템을 조절하는 요소에 대한 구체적 지식을 바탕으로 해당 이종 전사인자를 도입할 수 있어야 한다. 비록 한 생물 종에서 타겟 리간드에 대한 전사인자와 그 조절기전이 충분히 밝혀졌다고 해도 그 정보가 타 종에 그대로 적용될 수 있을 것으로 기대하기는 어렵다. 특히 방대한 신호흐름, 많은 보조인자, 혹은 막단백질이 포함되어 있는 신호전달 경로가 존재하는 경우는 생물계 간에 전사인자를 도입하여 활용하기는 매우 어렵다. 마지막으로 자체 전사인자 기반 바이오센서와 마찬가지로 특정 리간드 대상 바이오센서 구축에 활용할 수 있는 이종 전사인자의 수가 제한적이라는 문제점이 있다. 또한 전사인자와 그 타겟 프로모터 쌍이 밝혀지지 않은 경우나 전사체 분석을 통해 동정할 수 없는 경우에도 이런 방법으로 바이오센서를 제작하기는 쉽지 않다.

4. 모듈성 합성 전사조절인자를 활용한 바이오센서

전사인자를 활용하여 바이오센서를 구축할 수 있는 또 다른 방법은 단백질의 모듈성 감지도메인을 활용하여 타겟 특이적인 전사조절단백질을 개발하는 것이다 [13]. 따라서 이런 형태의 바이오센서 제작에 필수적인 요소는 리간드 존재 시 다이머를 형성하거나 서로 결합하는 감지도메인을 확보하는 것이다. 이런 감지도메인을 링커를 사용하여 잘 규명된 전사활성도메인이나 DNA 부착도메인에 연결된 상태로 발현하면 된다. 리간드가 없는 경우에는 이들 도메인은 서로 분리되어 리포터 유전자의 발현이 제한된다. 하지만 리간드 존재 시에는 리간드가 감지도메인에 결합하고 감지도메인들이 다이머를 형성하거나 결합함으로써 타겟 프로모터로부터 전사가 시작된다.

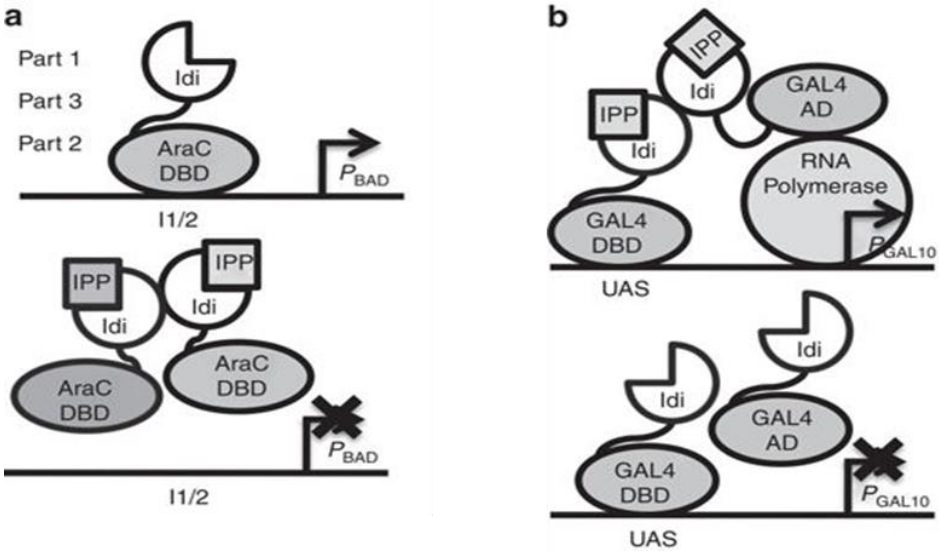

그림 5. Isopentenyl pyrophosphate (IPP) 바이오센서

대장균용 IPP 바이오센서; IPP isomerase (Idi)-AraC DBD 으로 구성된 합성 전사인자는 IPP 농도가 높아지면 다이머를 형성하여 더 이상 오퍼레이터 (I1/2)에 부착하지 못해 P_{BAD}로부터 전사가 일어날 수 없다. b. *S. cerevisiae* 용 IPP 바이오센서; Idi-GAL4 DBD 와 Idi-GAL4 AD 는 IPP 농도가 높아지면 다이머를 형성하며 P_{GAL10}으로부터 전사가 일어나게 된다 [14].

이 방법은 최근 대장균과 *S. cerevisiae* 에서 isopentenyl-pyrophosphate (IPP) 바이오센서 제작에 활용되었다 (그림 5). 대장균의 경우 *araBAD* 오페론 프로모터 (P_{BAD})와 전사인자 AraC 를 이용하였다 [14]. 원래 AraC 전사조절 단백질은 아라비노즈와 결합하여 그 구조가 변화되면 P_{BAD} 에 부착하여 전사를 개시한다. IPP 바이오센서의 경우 AraC DNA 부착도메인 (AraC DBD) 에 링커를 사용하여 IPP 감지도메인 (Idi) 을 연결하여 제작되었다. 이때 IPP 감지도메인으로는 단백질 결정구조분석결과 IPP 와 결합하면 다이머를 형성하는 것으로 밝혀진 IPP isomerase (Idi)를 사용하였다. 낮은 IPP 농도에서 AraC DBD-Idi 융합단백질은 자유롭게 P_{BAD} 에 부착하여 mCherry 리포터 유전자의 전사를 유도한다. 하지만 IPP 농도가 증가하면 AraC DBD-Idi 의 Idi 도메인이 다이머를 형성하여 AraC DBD 에 의한 P_{BAD} 발현 유도가 억제되어 결과적으로 mCherry 의 발현이 감소한다 (그림 5a). Idi 의 다이머 형성특성은 *S. cerevisiae* 의 IPP 바이오센서 구축에도 활용되었다. 이 경우 전사인자 GAL4 의 DNA 부착도메인 (DBD) 과 활성화도메인

(AD) 을 분리하여 각기 Idi 와 연결하였다. GAL 프로모터 (P_{GAL10}) 에 *yECitrine* 유전자를 연결하여 리포터로 사용하였다. 낮은 IPP 농도에서는 GAL4 DBD-Idi 융합단백질이 P_{GAL10} 프로모터에 부착하지만 전사를 유도할 수는 없다. IPP 농도가 증가하면 Idi 도메인의 다이머화가 촉진되어 GAL4 AD-Idi 융합단백질도 GAL 프로모터 (P_{GAL10})에 유인되어 *yECitrine* 리포터 유전자의 발현이 유도되게 된다 (그림 5b). 이 연구에서는 단백질의 모듈성 도메인 요소를 사용하였기 때문에 IPP 존재 시 Idi 도메인이 추정된 것처럼 다이머화하는 것을 확인하는 것과 DBD 도메인과 Idi 도메인을 연결하기 위한 최적 링커도메인을 확보하는 작업을 통해 활성형 바이오센서를 제작할 수 있었다. 추가적으로 대장균 IPP 바이오센서를 최적화하기 위하여 AraC DBD-Idi 융합단백질에 error-prone PCR 돌연변이 라이브러리를 구축하고 스크리닝을 통해 기능이 향상된 바이오센서를 선별하였다. *S. cerevisiae* 용 IPP 바이오센서의 경우 IPP 감지도메인으로 Idi 도메인 대신에 역시 IPP 를 기질로 사용하는 효소들인 효모의 isopentenyl diphosphate isomerase (IDI1) 나 farnesyl diphosphate synthase (ERG20) 을 사용한 바이오센서를 제작할 수 있었다 [14].

모듈성 전사조절단백질 바이오센서는 자연적인 전사조절단백질이 존재하지 않는 리간드 검출을 위한 바이오센서 제작을 위해 유용한 수단이 될 수 있다. 모듈성 도메인을 활용하면 비교적 단순한 방법에 의해 바이오센서를 제작할 수도 있다. 다만 범용 전사활성 도메인과 범용 DNA 부착 도메인은 용이하게 확보할 수 있지만 다양한 바이오센서 구조에 사용할 수 있는 모듈성 도메인의 확보가 제한적인 문제점이 있다. 즉 리간드와 결합하여 다이머화 하거나 구조적 변화가 유발되는 리간드 감지도메인은 발굴하기도 어렵고 설계하기도 쉽지 않다. 최근 이 문제점을 극복하기 위한 시도의 한 예로 benzoate 나 4-hydroxybenzoate 를 인지할 것으로 추정되는 15 종의 수용성 periplasmic 부착단백질 도메인, 19 종의 링커, 15 종의 전사억제단백질의 DNA binding 도메인을 부가적인 요소들과 함께 총 135,660 개의 가능한 조합으로 연결한 합성 전사조절단백질 라이브러리와 사용된 15 종의 DNA binding 도메인이 부착할 수 있는 오퍼레이터 서열을 Ptac 프로모터에 삽입하여 *gfp* 유전자에 연결한 합성 리포터를 이용하여 benzoate 를 감지할 수 있는 인공 바이오센서를 개발한 연구결과가 보고되었다 (그림 6) [15].

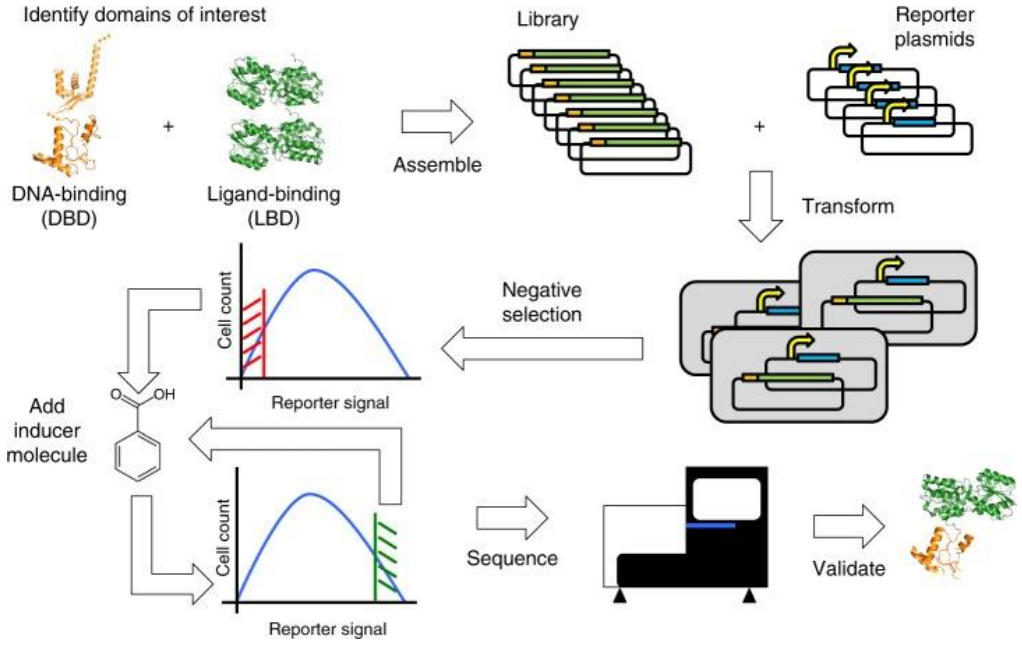

그림 6. 융합 바이오센서 라이브러리 구축 및 스크리닝

합성 전사인자 발현 플라스미드와 인공 리포터 발현 플라스미드로 형질전환 균주 라이브러리를 대상으로 우선 타겟 리간드를 처리되지 않은 상태에서 GFP 리포터 단백질이 발현되지 않는 세포들을 선별하고 여기에 타겟 리간드를 처리할 경우 GFP 리포터 단백질이 발현되는 균주를 선별하는 방법으로 인공 바이오센서를 스크리닝 하였다 [15].

5. 고찰

전사조절인자에 대한 방대한 정보의 축적과 프로모터와 오퍼레이터 그리고 조절대상 유전자로 구성된 모듈적 특성 때문에 전사조절인자 기반 바이오센서는 다른 형태의 바이오센서보다 설계/제작이 용이한 바이오센서가 될 수 있다. 하지만 이런 형태의 바이오센서는 살아있는 세포를 배양해야 하고 특수 기기나 장비가 필요하고 운용에 전문성이 요구되며 나아가 검출결과 도출을 위해서도 세포성장, 전사, 번역, 단백질접힘/성숙 등에 필요한 시간이 요구되는 특징을 갖고 있다 [13]. 따라서 다수의 개별적 시료를 신속하고 간편한 형태로 검사해야 하는 의료용 혹은 보안용 현장진단에는 적합하지 않다. 오히려 전사조절인자를 활용한 바이오센서는 대규모 집단이나 넓은 영역의 시료를 검사하는 데는 유용하게 활용될 수 있다. 즉 환경 모니터링 [5,16] 이나 생물공정 모니터링 등에 활용될 수 있다. 즉 이런 형태의 바이오센서를 유전자회로 형태로 도입하여 대규모의 생물공정에 대한

반응을 측정할 수 있을 것이며 실제 포도당, urea, unfolded protein response 를 검출하는 전자조절인자 기반 바이오센서가 대규모 발효공정 최적화에 적용된 바 있다 [17].

전사조절인자를 활용한 바이오센서의 주된 장점은 단일 세포 내 전사결과와 자연스럽게 연계할 수 있고 시간을 거쳐 일어나는 리포터 단백질의 전사와 번역 과정 중에 신호의 증폭이 가능하다는 점이다. 또한 각 세포 내 타겟 리간드의 농도 변화를 특이적이고 민감하게 검출할 수 있다는 점이다. 이런 특성 때문에 TFB 는 대사공학적 응용에 광범위하게 적용될 수 있다 [3,18,19]. 예를 들어 돌연변이가 유도되거나 재설계된 혹은 군집 내 각 세포들의 개별 대사산물 생산성을 검출하는데 사용하여 대량생산 세포를 선별해 내거나 FACS 를 이용하여 유전적 부품 라이브러리를 스크리닝하는데 적용할 수 있다 [9,20]. 그 밖에도 전사조절인자바이오센서로 자체 대사산물 생산수준에 따라 자동적이고 역동적으로 유전자 발현을 조절하여 최적의 대사흐름이 유지되고 독성 물질의 축적을 방지할 수도 있다 [8].

바이오센서 기술은 합성생물학기술의 산물인 동시에 합성생물학기술의 발전을 가능케 하는 기술이다. DNA 합성, 생체시스템 모델링, 생체부품의 모듈화, 고속 스크리닝 등 합성생물학기술의 발전은 다양하고 효율적인 바이오센서의 개발을 가속화하고 있다. 반면에 전형적인 설계-합성-시험 수순에 따라 진행되는 합성생물학적 부품이나 시스템 개발 효율을 높이기 위해 새로운 합성생물학적 설계의 성능을 신속하고 정확하게 평가하기 위한 수단으로 바이오센서의 활용 필요성이 점차 증대되고 있다. 따라서 유전체 및 메타게놈 분석을 통해 발굴되는 각종 전사조절단백질과 단순한 유전적 조작을 넘어 보다 복잡한 단백질공학 기술이나 무작위 돌연변이 스크리닝을 통해 확보하는 리간드 결합 단백질이나 펩타이드를 활용한 바이오센서 개발도 지속적으로 증가할 전망이다.

6. 참고문헌

1. Bhalla N., Jolly P., Formisano N., Estrela P. Introduction to biosensors. Essays Biochem. 2016, 60:1-8.

2. Turner A.P. Biosensors: Sense and sensibility. Chem. Soc. Rev. 2013, 42:3184-3196.

3. Mahr R., Frunzke J. Transcription factor-based biosensors in biotechnology: Current state and future prospects. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016. 100:79-90.

4. Chen X.F., Xia X.X., Lee S.Y., Qian Z.G. Engineering tunable biosensors for monitoring putrescine in *Escherichia coli*. Biotechnol. Bioeng. 2018. 115:1014-1027.

5. Fernandez-Lopez R., Ruiz R., de la Cruz F., Moncalian G. Transcription factor-based biosensors enlightened by the analyte. Front. Microbiol. 2015. 6:648.

6. Kenyon C.J., Walker G.C. DNA-damaging agents stimulate gene expression at specific loci in *Escherichia coli*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1980. 77:2819-2823.

7. Shi S., Choi Y.W., Zhao H., Tan M.H., Ang E.L. Discovery and engineering of a 1-butanol biosensor in *Saccharomyces cerevisiae*. Bioresour. Technol. 2017. 245:1343-1351.

8. Dahl R.H., Zhang F., Alonso-Gutierrez J., Baidoo E., Batth T.S., Redding-Johanson A.M., Petzold C.J., Mukhopadhyay A., Lee T.S., Adams P.D., *et al.* Engineering dynamic pathway regulation using stress-response promoters. Nat. Biotechnol. 2013. 31:1039.

9. Williams T.C., Pretorius I.S., Paulsen I.T. Synthetic evolution of metabolic productivity using biosensors. Trends Biotechnol. 2016, 34:371-381.

10. Trabelsi H., Koch M., Faulon J.-L. Building a minimal and generalizable model of transcription factor-based biosensors: Showing flavonoids. Biotechnol. Bioeng. 2018. 115:2292-2304.

11. Dietrich J.A., Shis D.L., Alikhani A., Keasling J.D. Transcription factor-based screens and synthetic selections for microbial small-molecule biosynthesis. ACS Synth. Biol. 2013. 2:47-58.

12. Wang M., Li S., Zhao H. Design and engineering of intracellular-metabolite-sensing/regulation gene circuits in *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnol. Bioeng. 2016. 113:206-215.

13. Carpenter A.C., Paulsen I.T., Willians T.C. Blueprints for biosensors:design, limitations, applications. Genes 2018, 9:375.

14. Chou H.H., Keasling J.D. Programming adaptive control to evolve increased metabolite production. Nat. Commun. 2013. 4:2595.

15. Juarez J.F., Lecube-Azpeitia B. Brown S.L., Johnston C.D., Church G.M. Biosensor libraries harness large classes of binding domains for construction of allosteric transcriptional regulators. Nat. Commun. 2018, 9:3101.

16. Ramos J.L., Martinez-Bueno M., Molina-Henares A.J., Teran W., Watanabe K., Zhang X., Gallegos M.T., Brennan R., Tobes R. The TetR family of transcriptional repressors. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2005. 69:326-356.

17. Polizzi K.M., Kontoravdi C. Genetically-encoded biosensors for monitoring cellular stress in bioprocessing. Curr. Opin. Biotechnol. 2015. 31:50-56.

18. Rogers J.K., Taylor N.D., Church G.M. Biosensor-based engineering of biosynthetic pathways. Curr. Opin. Biotechnol. 2016. 42:84-91

19. D'Ambrosio V., Jensen M.K. Lighting up yeast cell factories by transcription factor-based biosensors. FEMS Yeast Res. 2017. 17:fox076.

20. Zhang J., Jensen M.K., Keasling J.D. Development of biosensors and their application in metabolic engineering. Curr. Opin. Chem. Biol. 2015. 28:1-8.