

젖산탈수소 효소 유전자의 PCR증폭을 통한 *Lactobacillus plantarum*의 동정

함준상*, 정석근, 인영민, 김동운, 안영태, 김현욱¹
 축산기술연구소 축산물 이용과, 서울대학교 동물자원과학과¹

미생물의 동정은 형태적, 생화학적 특성 및 유전적 확인을 거쳐야 하는 대단히 복잡하고도 어려운 작업이나, 미생물 이용의 증대와 함께 그 중요성이 더욱 높아가고 있다. 미생물의 전통적인 동정은 당발효 능력에 따라 이루어졌으나 불완전하며, DNA/DNA hybridization과 효소의 전기영동 형태를 이용하여 당 발효 시험을 보완하여 동정이 이루어져 왔다. 최근 분자유전학의 발전으로 종 특이적인 DNA probe와 primer를 사용한 dot blot 방법과 polymerase chain reaction(PCR)을 이용한 방법, 16S rRNA의 염기서열을 바탕으로한 종 특이적 DNA probe를 이용한 방법, 전체 genome DNA의 제한효소 분석방법, random primer를 이용한 PCR에 의해 합성된 DNA band의 형태를 분석하는 random amplified polymorphic DNA(RAPD) 방법과 RFLP(restriction fragment length polymorphism) 방법 등 다양한 방법들이 종 또는 균주의 구별을 위하여 개발되고 있다.

젖산균은 젖산의 생성을 특징으로하는 유용한 균주로, 대사과정의 핵심산물인 pyruvate를 LDH(lactate dehydrogenase)의 작용에 의해 젖산으로 전환시킨다. LDH에는 D-와 L- 형태가 있으며 균종에 따라 효소의 크기 및 분자량이 다른 것으로 알려지고 있으며, LDH 유전자의 염기서열도 균종에 따라 다르게 보고되고 있다. 그런데, 동일균종에 있어서는 유전자의 유사성이 높으며 이종간에도 유사성이 높을수록 근연관계에 있는 것으로 인정된다.

유전자은행에 보고된 *Lactobacillus plantarum*의 D-LDH gene의 염기서열에 기초하여 coding region 인근의 서열로 primer를 디자인하여 ATCC에 등록된 5개의 *L. plantarum* strains과 3종의 다른 lactobacilli의 genomic DNA를 PCR 증폭한 결과 *L. plantarum* 5 strains에서 모두 유사한 크기의 PCR product를 얻었으나 3종의 다른 lactobacilli에서는 PCR product가 발견되지 않았다. 유제품에서 분리한 *L. plantarum*도 PCR product를 얻을 수 있었으며 염기서열 분석결과 유전자은행에 등록된 *L. plantarum*의 D-LDH 유전자(D90339)와 95%의 동일성을 보였다.

PCR은 장비가격이 저렴하고 용도가 다양하여 널리 사용되고 있으며, template와 primer를 제외한 PCR 반응에 필요한 모든 재료가 담긴 premix가 tube에 담겨 판매되고 있어 간편하게 이용할 수 있다. *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. casei* 등 산업적으로 널리 이용되는 lactobacilli의 primer를 개발시 kit 형태로 간편하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.