

양식어류의 질병 원인세균에 대한 autoinducer의 profiling

강혜옥 · 박순양 · 이상준 · 이주석* · 김진만** · 염도영 · 구본탁 · 이정기

(주) 인바이오넷 · *국립수산과학원 · **여수대학교

서론

Acylated homoserine lactone (AHL)은 많은 그람 음성 세균에서 신호물질 (autoinducer)로 알려져 있다. 이들 신호물질은 세균의 밀도 감지 기작 (quorum sensing)을 일으키며, 특히 세균에 의한 발병과 관련된 독소 단백질이나 분해 효소 등의 발현을 유도한다. 본 연구에서는 넙치, 참돔, 조피볼락 등에 세균성 질병을 일으키는 원인세균으로부터 autoinducer와 발병과의 관련성을 조사하고자 하였다. 일차적으로 해산 양식어류에서 분리한 원인세균 (*Vibrio* sp. 및 *Edwardsiella tarda*) 및 담수어류에서 분리한 원인세균(*Aeromonas hydrophila*)으로부터 autoinducer의 존재유무 및 profile을 조사하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양 조건: 세균성 질병 감염증상을 보이는 어체로부터 분리한 *Vibrio* sp. 11주, *Edwardsiella tarda* 12주, *Aeromonas hydrophila* 1주를 분양 받아 Brain Heart Infusion (BHI) 배지에서 30°C, overnight 배양하였다.

Autoinducer Bioassay: Bioassay reporter 균으로 *Chromatium violaceum* CV026 (2) 과 *Agrobacterium tumerfaciens* NT1 (pDCI41E33) (3)을 사용하였다. 어병 원인세균의 배양 상등액을 이들 reporter 균이 함유된 plate에 loading 하여, 신호물질을 탐색하였다.

TLC (thin-layer chromatography) plate를 이용한 AHL 분석: 세포 배양 상등액을 에틸아세테이트에 추출한 후, 추출액을 C₁₈ TLC plate를 이용해 60% 메탄올에서 전개 하였다. 전개된 TLC plate를 reporter 균인 CV026 또는 NT1 (pDCI41E33)에 overlay하여 신호물질을 확인하였다.

결과 및 요약

Autoinducer bioassay을 통해, test한 어병 원인세균 24 균주 모두에서 autoinducer가 생성되는 것을 확인할 수 있었다 (표 1). 이들 24 균주는 모두 oxo-form의 AHL를 합성하였고, 주된 신호물질로 *N*-oxo-hexanoyl-L-homoserine lactone (OHHL)을 생성하였다. 그 중 *Vibrio* sp. 3 균주 (V-8, V-11, V-13), *Edwardsiella tarda* 1 균주(E-4) 그리고 *Aeromonas hydrophilla*의 경우는 OHHL만을 합성하는 특성을 보였다 (그림1). 또한 일부 세균들은 OHHL과 동시에 acyl기의 탄소수가 10개와 12개인 Long-chain AHLs (ODHL, ODDHL)를 합성하였다. *Edwardsiella tarda* 중 10개 균주의 경우는 oxo-form의 AHL 뿐만아니라, HHL (*N*-hexanoyl-L-homoserine lactone)을 생성하는 특성을 보였다.

표 1. 어병 원인 세균이 생성하는 autoinducer 분석

균주	AHLs
V-8, V-11, V-13, E-4, <i>A. hydrophilla</i>	OHHL
V-18, E-6	OHHL, ODDHL
V-25, V-YJ2	OHHL, OOHHL, ODHL
V-7, V-30, V-29, V-PT2, <i>V. anguillarum</i>	OHHL, OOHHL, ODHL, ODDHL
E-35, E-29, E-28, E-16, E-9, E-7	HHL, OHHL
E-6-1, <i>E. tarda</i> , E-910410, E-GY01	HHL, OHHL, ODDHL

V : *Vibrio* sp.

E : *Edwardsiella tarda*

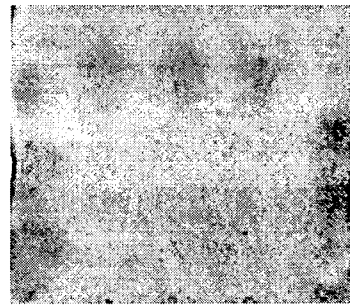


그림 1. 어병 원인 세균으로부터 생성되는 autoinducer의 TLC 분석
Lanes 1) Standard (OHHL, HHL, OHL, DHL), 2) V-8, 3) V-11, 4) V-13

본 연구에서는 Autoinducer Bioassay를 통해 양식어류의 세균성 질병 원인세균들이 생성하는 autoinducer를 확인하였으며, 이들 신호물질과 발병과의 관련 가능성을 알아보고자 하였다.

참고 문헌

- Whitehead, N.A. et al. 2001. FEMS Microbiol. Rev. 25 : 365-404
 McClean, K.H. et al. 1997. Microbiology 143 : 3703-3711
 Swift, S. et al. 1993. Mol. Microbiol. 10 : 511-520