

## 일반학술발표(포스터) 초록

P1

### Competitive-PCR을 이용한 우유속의 *Listeria monocytogenes*의 신속정량

최 원 상

동국대학교 생명공학과

competitive-PCR (cPCR)을 이용하여 우유에 오염된 *Listeria monocytogenes*를 배양하지 않고 직접 검출/정량하는 방법을 개발하였다. 우유에 인위적으로 *L. monocytogenes*를 접종한 후 guanidine/phenol/chloroform을 사용하여 DNA를 추출한 후 PCR을 행하였다. *L. monocytogenes*만을 선택적으로 인식하는 primer를 찾기 위해 *hlyA* 유전자 염기서열로부터 5가지 primer set를 검사해서 DG69/DG74 primer set를 선택하였다. 이 primer set는 *L. monocytogenes*로 부터는 636-bp의 특이 band를 생성하지만 다른 6종의 *Listeria*로 부터는 아무런 band도 생성하지 않았다. 0.5 ml 우유로부터 배양하지 않고 직접 DNA를 추출하여 검사시에는 적어도  $10^3$  cfu (colony forming unit)는 있어야 band로 확인이 가능했으나, 이를 TSBY배지에서 희석하여 25°C 15시간 배양하면 단 1개의 *L. monocytogenes* 까지도 PCR로 확인이 가능하였다. cPCR을 행하기 위해 *hlyA* 유전자 조각을 pGem-4Z 벡터에 cloning한 후 *Eco* RI 자리를 수정하여 competitor DNA를 만들었다. 인위적으로 감염시킨 우유로부터 얻은 DNA와 양을 미리 알고있는 competitor DNA를 동일 tube에서 함께 PCR 한 후 *Eco* RI으로 잘라 전기영동을 행함으로써 시료 속의 *L. monocytogenes*의 개체수를 추정할 수 있었으며 이는 평판 배양법에 의한 콜로니형성 숫자와 거의 비슷하였다. 전체 과정에 소요된 시간은 약 5시간이었다.