

## 양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*에서 분리한 *Streptococcus parauberis*의 표현형 및 분자생물학적 동정

조미영 · 김재훈 · 오윤경 · 김명석 · 이창훈\* · 박명애  
국립수산과학원 병리연구팀 · \*제주수산연구소

### 서론

*Streptococcus parauberis*는 약한 α-용혈성을 나타내거나 용혈성이 없는 연쇄상 구균의 일종으로 소 유전염의 원인균인 *S. uberis* genotype II로 분류되었다가 이후 새로운 종으로 구분되어 *S. parauberis*로 명명되었다 (Williams & Collins, 1990). 어류에서는 스페인의 양식 터봇에서 처음으로 분리되었으며 표현형 및 혈청학적 패턴에 의해 *Enterococcus seriolicid*로 동정되었으나 (Toranzo *et al.*, 1994), 이후 16S ribosomal DNA (rDNA) 분석 결과 *S. parauberis*에 속하는 것으로 보고되었다 (Domenech *et al.*, 1996). 본 연구에서는 양식 넙치에서 분리된 *S. parauberis*를 대상으로 표현형적 특징을 조사하고, 16S rRNA gene 및 16S-23S intergenic spacer region (ISR)의 species-specific oligonucleotide probes를 이용한 분자생물학적 동정을 실시하였다.

### 재료 및 방법

2004년부터 2005년 동안 제주, 전남 완도 및 경남 지역의 넙치 양식장에서 분리한 *S. parauberis* 균주와 표준 균주로 *S. iniae* KCTC 3657 및 *S. parauberis* KCTC 3651을 실험에 사용하였다. 분리 균주는 표준 균주에 대한 토끼 항혈청으로 슬라이드 응집 시험 및 multi-plex PCR (Mata *et al.*, 2004)을 실시하여 *S. parauberis*를 확인하였다. 또한, 양혈액한천배지 (아산제약, Korea)에 접종하여 용혈성을 조사하였으며, API 20 STREP system (Biomerieux, France)으로 생화학적 특성을 조사하였다. 유전형 조사를 위해 분리 균주 및 표준 균주의 genomic DNA를 분리하여 16S rRNA universal primer 및 16S-23S ribosomal ISR 특이 primer로 PCR을 실시하고 그 산물을 cloning하여 sequencing하였다.

### 결과 및 요약

주요 넙치 양식 단지에서 분리한 *S. parauberis* 12 균주 (제주 4균주, 완도 4균주 및 기장·울산 4균주)와 표준 균주 2균주를 실험에 사용하였다. 먼저

multiplex-PCR 및 16S-23S ISR 특이 primer를 이용한 PCR 결과에서 각각 718bp 및 251bp의 PCR 산물을 형성하는 것을 *S. parauberis*로 동정하였다. 분리 균주의 16S rRNA gene에 대한 염기서열 분석 결과 *S. parauberis* (AY942572) 및 KCTC 3651 균주와 98%의 상동성을 나타내었다. 또한, 양혈액 한천 배지에서 배양한 결과 용혈성이 없는 것으로 나타났으며, 슬라이드 응집 반응 결과 *S. parauberis* KCTC 3651에 대한 토끼항혈청에 대해 응집 반응을 나타내었다. API 20 STREP에 의한 생화학적 동정 결과, 국내에서 분리된 *S. iniae*가 생화학적 성상에서 동일한 패턴을 나타낸 것 (김 등, 2005)과는 달리 *S. parauberis*의 경우  $\beta$ -galactosidase, Arginine dihydrolase의 활성 유무와 D-ribose, D-mannitol, D-sorbitol, D-trehalose의 이용능에서 다양한 차이를 나타내었다.

## 참고문헌

- Domenech, A., Fernandez-Garayzabal, J. F., Pascual, C., Garcia, J. A., Cutuli, M. T., Moreno, M. A., Collins, M. D. and Dominguez, L. : Streptococcosis in cultured turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), associated with *Streptococcus parauberis*. J. Fish Dis., 19:33-38, 1996.
- Mata A. I., A. Gibello, A. Casamayor, M. M. Blanco, L. Dominguez, J. F. Fernandez-Garayzabal. : Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water Streptococcosis in fish. Appl. Environ. Microbiol., 70(5): 3183-3187, 2004.
- Toranzo, A. E., Novoa, B., Baya, A. M., Hetrik, F. M., Barja, J. L. and Figueras, A. : Histopathological study in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), and striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), experimentally infected with *Carnobacterium piscicola*. J. Fish Dis., 16:261-267, 1993.
- Williams, A. E. and Collins, M. D. : Molecular taxonomic studies on *Streptococcus uberis* types I and II. Description of *Streptococcus parauberis* sp. nov. J. Appl. bacteriol., 68:485-490, 1990.
- 김명석, 오윤경, 조미영, 최혜승, 김이청, 김진우. : 양식 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)에서 분리된 *Streptococcus iniae*의 생화학적, 혈청학적 및 분자생물학적 특성. 2005년도 추계 한국어병학회 학술발표회 발표요지집, p. 44-45, 2005.