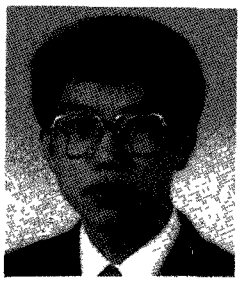
새로운 마이코플라즈마 (Mycoplasma)진단법



송 덕 진
(주)중앙케미칼

최근 아틀란타 양계쇼(Atlanta Poultry Show)에서 이덱스 실험실(IDEXX Lab.)은 마이코플라즈마 갈리셉티컴(Mycoplasma gallisepticum)을 진단할 수 있는 새로운 Flock Chek DNA 진단킷을 선보였다.

1. 경제성

마이코플라즈마는 양계의 만성호흡기질병(CRD)을 유발하며 산란율 저하, 부화율 저하, 난가공식품질 저하 등 양계산업에 경제적 손실을 주고 있다. 더우기 마이코플라즈마는 닭이 다른질병에 2차감염 될 수 있는 가능성을 더 높여준다.

현재의 진단방법은 정확도가 떨어지는 혈청학적 방법과 4주씩 기다려야 하는 배양법이 사용되고 있다. 그러면 DNA진단 방법은 무엇인가?

DNA 유전자 즉, 세포내의 정보전달 물질로서 모든 유기체는 각자의 독특한 특성을 가지고 있다. IDEXX는 기본적으로 그러한 DNA의 특성을 구분하는 기능을 갖고 있는데 여기서 더 발전하여, 마이코 플라즈마에 관련된 DNA만을 가려내는 방법을 개발한 것이다.

그러나 실제로 테스트 방법은 그리 간단하지 않다. 테스트는 증식을 위해 합성에 의해 만들어지는 두개의 DNA분자와 두개의 시험분자들이 사용되고 샘플내의 마이코플라즈마 DNA를 찾아내는 것이다. 샘플은 기관부위를 채취하여 사용하게 된다.

샘플내에 마이코플라즈마균이 있게 되면, DNA를 분리하여 원형유전자 또는 목표분자로 작용한다. 그런 뒤 중합효소제(Polymerase) 연결반응이 진행되는 동안 DNA중합효소(Polymerase)와 연관된 분자들이 마

이코플라즈마 DNA의 증식을 위해 사용된다.

이 실험에는 마이코플라즈마 DNA연결을 색측할 수 있는 효소를 지닌 합성 DNA분자도 포함되는데 오늘날까지의 실험을 보면, M.Synoviae, M.gallinacium, M.gallinarum, M.iowae, M.pullorurom 등 마이코플라즈마 종간의 교차반응을 나타낸 적은 없다.

2. 합성 DNA

이와같은 고도의 특성은 샘플내 M.gallisepticum DNA를 증폭하고 찾아내기 위한 DNA분자의 합성이 가능했기 때문에 얻을 수 있었던 성과였다.

그러나, 진단성과는 M.gallisepticum DNA를 증식함으로써 감수성을 높이는 중합효소(Polymerase)연결반응에 의해 가능한 것이었다.

*Flock Chek DNA진단 시스템은 다음의 3단계로 작용한다.

① 기관분위에서 배양을 하기위해 샘플을 채취하고, 기존의 배양법이나 혈청학적 방법과 동일하게 취급한다.

그런뒤 세척을 하고 M.gallisepticum DNA를 방출할 수 있도록 고온용해를 시킨다.

② 프라이머(Primer)나 DNA 중합효소(Polymerase)를 사용하여 감수성을 높이기위해 증식을 시킨다.

③ 그런뒤 DNA 식별을 하는것인데, 이 과정에서 DNA 연결막에 증식된 샘플을 떨구고 용액과 배양을 한다. 이 용액은 M. g-a. DNA와 교잡하게 된다.

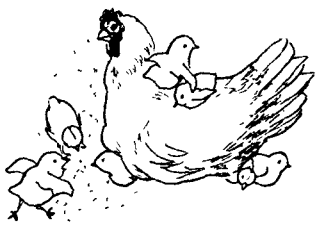
3. 비색측정(Colormetric detection)

배양중에 기질은 DNA에 붙은 효소와 작용을 하며 색측에 의해 세포막의 M.gallisepticum DNA를 식별하게 된다.

진단을 함으로서, 정확한 규명을 할 수 있게 되는데, M.gallisepticun이 출현하게 되면, 정확하게 M.gallisepticon인지 아니면 F strain인지 구별이 가능하다.

4. 양성반응

양성반응을 나타낸 계군에서 종래의 배양방법에 의한 방법으로는 음성 또는 양성이 있던 것이 이 새로운 방법으로는 양성이 나타나는 경우도 있다.

다른 연구를 보면 5주령 레그혼 수닭을 감염시킨후 3개월후에 샘플을 채취하여 배양법과 DNA법으로 진단해 본 결과 새로운 DNA진단법이 더 감수성이 좋았으며, 다른 마이코플라즈마균과 교차반응없이 36시간내에 결과를 볼 수 있었다.

다만 혈청테스트만큼 싸지는 않으나 배양법에 의한 테스트와 비교해서는 그리 비싼 가격은 아니다. 양계