

16S rDNA PCR-RFLP를 이용한 *Bifidobacterium*의 동정

권우혁^{*}, 최석호, 고준수¹, 김평현², 이범진³

상지대학교 낙농자원식품학과, 강원대학교 ¹축산가공학과, ²미생물학과, ³약학과

*Bifidobacteria*는 장내 유용균주로서 정상작용 및 항 암·항 미생물 작용 등 건강기능 효과가 우수하므로 현재 발효산업분야에서 활발한 기술개발과 제품화가 이루어지고 있다. 이러한 *bifidobacteria* 균주의 선별 및 개발을 위해서는 먼저 균주를 분류 동정하는 작업이 선행되어야 한다. 최근 분자 유전학 및 생물학의 급속한 개발로 균주 간의 차이점을 여러 가지 분석기술을 이용하여 DNA 수준에서 직접 판별할 수 있는 새로운 가능성이 제시되었다.

따라서, 본 연구에서는 RAPD(Randomly Amplified Polymorphic DNA)와 16S rDNA의 PCR-RFLP(Polymerase Chain reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) 및 Southern blot 기법을 이용한 ribotyping 방법을 통하여 표준균주(*B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*)로부터 균주간의 차이를 동정 확인 할 수 있는 분류 체계를 개발하고, 한국인 성인 남자의 분변으로부터 분리한 *bifidobacteria* 야생균주에 이를 적용하고자 수행하였다. RAPD 방법을 이용하여 *bifidobacteria*의 균주 간에 다형성을 확인한 결과 균주간에 명확한 차이를 보였으나 일부 균주에서는 상호간에 동일한 banding pattern을 나타내어 균주간의 유사성도 확인할 수 있었다. *Bifidobacteria*의 16S rDNA를 PCR-RFLP 방법으로 분석한 결과 *RsaI*, *HhaI*, *HaeIII*, *AluI* 및 *MboI* 5가지 제한효소에 의해 절단된 DNA 절편 길이에 따라 다양한 형태의 banding pattern으로 검출됨으로써 다섯 종의 *bifidobacteria*에 대한 분류 체계를 확립할 수 있었다. 이러한 분류 체계를 적용하여 *bifidobacteria* 야생균주를 동정 한 결과 *B. bifidum*과 *B. adolescentis*로 확인되었다. *bifidobacteria*의 genomic DNA를 *EcoRI* 제한효소로 분해한 후 16S rDNA DIG-probe로 ribotyping 분석한 결과 3.7kb 범위에서 *bifidobacteria* 속과 동일한 공통 단편이 검출되었으며, 또한 2.8kb와 12kb 범위내에서 종간에 구별이 가능한 단편이 검출되었다. 따라서, 16S rDNA를 이용한 PCR-RFLP 분석방법과 ribotyping 방법은 *bifidobacteria*를 분류 동정하는데 정확하고 신속한 방법으로 사용될 수 있을 것이라 사료된다.