P-302

PCR과 RT-PCR에 의한 *Escherichia coli* O157:H7 생균의 검출

이준석, 이승배, 최석호*
상지대학교 응용동물과학부

Eshcherchia coli O157:H7의 lipopolysaccharide을 발현하는 rfb_{O157} 유전자을 증폭하기 위한 1개의 forward primer(RFB1)와 2개의 reverse primer(RFB2, RFB4)을 결정하였다. RFB1-RFB2 primer쌍과 RFB1-RFB4 primer쌍을 사용하여 PCR과 RT-PCR에서 합성된 DNA들은 각각 260bp와 660bp로서 염기서열로부터의 예상한 크기와 유사하였다. PCR에 의해 *E coli* O157:H7의 5균주들에서 DNA가 합성되었으며 다른 *E. coli* 균주 및 기타 그람음성세균 및 그람양성세균에서 합성되지 않았다. *stx1*과 *stx2* 유전자를 합성하는 MK1과 MK2 primer를 사용한 PCR에서 shiga-like toxin을 생산하는 4개의 *E. coli* O157:H7 균주들은 230bp의 DNA를 합성하였으나 shiga-like toxin을 생산하지 않는 *E. coli* O157:H7 ATCC43888 균주는 DNA를 합성하지 않았다. 우유(25ml)에 분산된 10^8개의 *E coli* O157:H7을 2회 원심분리로 회수한 후에 TRI reagent로 추출하여 얻은 RNA를 RNA-free DNase로 처리한 후에 RFB1-RFB4 primer을 이용하여 RT-PCR에 의해 합성할 때에 4×10^6개의 세균까지 검출이 가능하였다. 65℃에서 30분간 열처리된 세균에서는 RT-PCR에 의해 DNA가 합성되지 않았으나 PCR에서는 DNA가 합성되었다. RT-PCR반응 제품 중에서 *Tth* DNA polymerase, *rTth* DNA polymerase, Accupower RT-PCR premix, *C. therm* polymerase를 비교한 결과 *Tth* DNA polymerase와 Accupower RT-PCR premix 2개의 RT-PCR 제품이 DNA을 합성하였다. 이상의 결과에서 rfb_{O157} 유전자를 증폭하는 RT-PCR을 이용하여 *E coli* O157:H7의 생균과 열처리에 의한 사균을 분별하여 검출할 수 있었다.