

PB3) 분자생물학적 기법을 사용한 질산화유도 반응기내 군집동태변화

조순자*, 정용주, 김정철, 이상준
부산대학교 미생물학과

1. 서론

다양한 서식처에서 생태계의 구성원으로 활발한 활성을 가지고 있는 균주라 할지라도 배양상의 제한적인 조건에서는 배양이 되지 않는 균주가 상당히 많다. 또한 때로는 이들 배양되지 않는 균주가 더더욱 그 생태계에서 주역할을 담당하고 있을 지도 모른다. 오늘날에는 이러한 배양되어 지지 않는 균주의 검출 등이 다양한 분자생물학적 기법을 응용함으로써 활발히 진행되고 있는데 본 실험에서도 동일한 군집상태에서 출발한 반응기를 서로 다른 환경조건으로 순화를 시킨 후, 군집의 변화를 다양한 군집분석 기술을 적용하여 보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

오염된 수중의 유기물질을 제거하는 것을 주목적으로하는 표준활성슬러지법에 의해 운전되고 있는 도시하수처리시설내의 포기조내 슬러지를 식종슬러지로 하여, 각각 무산소와 호기의 산소조건하에서 암모니아성 질소와 아질산성 질소를 함유한 무기염 배지로 약 5개월 정도 순화를 시킨 후 정상상태에 도달한 반응기에 하수처리설비의 현장의 조건처럼 다시 초침유출수를 유입시키면서 72시간동안의 수질변화를 살피면서 각각 달라진 반응기의 조건을 확인하고, 그 내부의 슬러지로부터 DNA를 뽑아 RAPD, ARDRA, DGGE의 기법을 동일한 DNA에 동시에 적용하여 보았다.

3. 결과 및 고찰

무산소 조건과 호기의 조건에서 잘 순화된 슬러지의 RAPD, ARDRA, DGGE 기법을 통해 보았을 때 현저한 군집변화가 일어났음을 알 수 있었다. 하지만 이들의 정확한 분류학적 위치는 sequencing을 통하여 추적하여야 할 것이며, 또 16S rDNA의 약 1.5 kb정도의 size에서는 RFLP보다는 RAPD가 훨씬 더 다양한 patterns 보여주었다. 또한 이러한 실험은 동일시료로 반복적으로 실시하였을 경우, band 크기와 농도면에서 재현성을 보여주었다. 그리고 DGGE의 경우 순화를 시키지 않은 초기의 슬러지구성과 암모니아와 아질산염의 무기염배지로 순화를 시킨 반응기의 슬러지 구성 미생물을 비교해볼 때, 순화를 시키지 않은 슬러지보다는 순화를 시킨 반응기의 슬러지 구성 미생물이 훨씬 단순해졌음을 band의 patterns이 단순해졌음을 통해 알 수 있었다. 이렇듯 군집의 다양성 및 특정 목적을 두고 배

양을 한 경우 관련 미생물이 순수 배양되기 힘들다 할지라도 배양적 방법의 한계를 극복하고 현장환경을 그대로 볼 수 있는 좋은 접근법이 될 것이다. 또한 이러한 기법들은 특정지역이나 제한된 환경설정을 두고 시간적인 경과에 따른 생태변화를 살펴보는 것에도 응용할 수 있는 좋은 기법들이 될 것이다.

4. 요약

본 연구는 서로 다른 조건에서 질산화를 유도한 반응기의 군집동태를 살피기 위해 RAPD, ARDRA, DGGE와 같은 기법들을 적용시켜 반응기 초기의 슬러지 구성 군집의 상태와 질산화 유도후의 군집변화를 살펴보고자 하였다. 결과적으로 1.5 kb정도의 16S rDNA를 이용한 RAPD와 ARDRA에서는 RAPD에 의한 군집 patterns변화가 훨씬 다양했으며, 250 bp정도의 PCR산물로 분리를 시도한 DGGE에서도 비교적 예상했던 바와 같이 군집이 단순화되는 양상을 볼 수 있었다.

참고 문헌

- Susanne Logemann, J.S., Saskia Bijvank, Mark van Loosdrecht, J. Gijs Kuenen, Mike Jetten, 1998, Molecular microbial diversity in a nitrifying reactor system without sludge retention. *FEMS Microbiolgy Ecology*, Vol. 27, pp. 239-249.
- Nicolaisen Mette Haubjerg, N.B.R., 2002, Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) approaches to study the diversity of ammonia-oxidizing bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 50, pp. 189-203.
- Concepcion Becerril, M.F., 2002, Argelia Castano, Detection by RAPD of genetic alterations in vitro: amplication and conservation conditions of DNA extracts. *Toxicology Mechanisms and Methods*, Vol. 12, pp. 155-167.
- Cindy E. Morris, M.B., Odile Berge, Pascale Frey-Klett, Nathalie Fromin, Helene Girardin, Marie-Helene Guinebretrere, Philippe Lebaron, Jean M. Thiery, Marc Trousselier, 2002, Microbial biodiversity:approachs to experimental design and hypothesis testing in primary scientific literature from 1975 to 1999. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 66, pp. 592-616.