

*Vibrio parahaemolyticus*의 Phage에 관한 연구*

부산대학교 자연과학대학 미생물학과¹·동국대학교 경주캠퍼스 의학부²·부산대학교 대학원 미생물학과³

주진우¹·이기희²·김 일³

= Abstract =

Studies on the Phage of *Vibrio parahaemolyticus*

Jin-Woo Ju; Ghee-Hee Rhee² and Il Kim³

Department of Microbiology, College of Natural Science, Pusan National University¹, Pusan, Korea

Department of Medicine, Kyongju Campus, Dongguk University², Kyongju, Korea

Department of Microbiology, Graduate School, Pusan National University³, Pusan, Korea

Authors have isolated phages of *V. parahaemolyticus* from shellfish and investigated some of their characteristics.

The results obtained were as follows:

Twenty-three phage strains(9.2%) out of 250 specimens were isolated. Plaques of phages were small, clear or turbid and 0.5~1.5mm in diameter. The electron micrographs of K3 phages showed two morphology; one was a hexagonal head about 105nm with a tail about 12nm, the other was a hexagonal head about 60nm with a tail about 25nm.

The host ranges of phages were limited to *V. parahaemolyticus* strains and there appeared to be no relationship between the K serotypes of *V. parahaemolyticus* strains and the host ranges of the phage isolates. The adsorption rate of phages were more than 80% for 10~15minutes, the inactivation rate at 60°C was more than 99% for 40~45 minutes. The pH stability range was between 6.0 and 8.0. The inactivation rate of phages by UV irradiation was more than 99% for 45~75 seconds.

Key Words: *Vibrio parahaemolyticus*, Phage.

서 론

1915년 Twort의 연구를 시초로 하여 1917년 d'-Herelle가 세균을 용균시키는 Bacteriophage(이하 파아지)작용을 보고한 이후 이질균, 장티푸스균, 포도구균 및 콜레라균등의 병원균에 대한 파아지가 계속적으로 발견되었다^{10, 11}.

Vibrio parahaemolyticus(이하 장염비브리오) 파아지는 1966년 Nakanish 등¹²) 이 해수, 설사환자의 분변 및 용원성균주에서 분리한 후 Hori¹³), Sklarow 등¹⁴), Baross 등¹¹⁻¹³), Koga 등^{13, 14}) 이 해수와 어패류에서 파아지를 분리하고 몇가지 성질을 연구하였다. 파아지의 숙주균인 장염비브리오는 여름철의 어패류를 생식하여 생기는 식중독 원인균이며, O

* 본 논문의 요지는 대한미생물학회 제57차 춘계 학술대회에서 발표하였음.

항원 및 K항원에 의하여 분류되고 있다.

저자들은 한국 남해안 일대에서 분리, 동정한 장염비브리오를 숙주균으로 사용하여 해수, 굴, 대합 및 피조개에서 파아지를 분리하였다. 그리고 분리된 파아지의 전자현미경적 형태, 숙주역, 흡착, 온도안정성, pH안정성 및 자외선조사에 의한 불활성화를 연구하였으므로 이에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 사용균주

1) 파아지분리에 사용한 숙주균

한국 남해안 일대의 해수 및 해산물로부터 분리, 동정⁵⁻⁷)한 20주의 장염비브리오 혈청형 K1, K3, K6, K9, K13, K17, K19, K20, K22, K24, K25, K28, K30, K33, K34, K42, K45, K52, K57 및 K59이다.

2) 숙주역시험에 사용한 균주

장염비브리오의 파아지분리에 사용한 20주이고, 장염비브리오 이외의 균주는 *V. alginolyticus* SB 221, *Staphylococcus aureus* P124, *S. epidermidis* P536, *Enterobacter aerogenes* P274(이상 분리균주), *V. damsela* ATCC33539, *V. fluvialis* NCTC 11327, *V. furnissii* NCTC11328, *V. hollisae* ATCC 33564, *V. mimicus* ATCC 33653, *V. vulnificus* ATCC 27562, *V. vulnificus* D3894, *V. vulnificus* E240, *V. vulnificus* 1115-80, *V. vulnificus* E571, *V. vulnificus* 91-81, *V. vulnificus* 1338-80(이상 일본 국립예방위생연구소 T. SHIMADA에서 분양), *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella paratyphi* A(S-58), *S. paratyphi* B(S-3), *Shigella sonnei* ATCC 9290, *S. flexneri* ATCC 12022 및 *S. boydii* ATCC 8700(이상 국립보건원에서 분양)이다.

2. 파아지분리재료

부산근해의 해수와 어관장에서 구입한굴, 대합 및 피조개를 파아지분리재료로 사용하였다.

3. 사용배지 및 완충액

1) 증균배지

숙주균의 증균배지는 3%식염첨가 펩톤수를 사용하였다.

2) 용균반형성배지

1,000ml당 조성이 Bacto-peptone 5g, Bacto-extract 3g, Soluble starch 5g, MgSO₄(0.1M) 10ml, CaCl₂(0.1M) 10ml, NaCl 30g, Bacto-agar 15g, pH 7.2인 평판배지와 1,000ml당 조성이 Bacto-beef extract 3g, Bacto-peptone 5g, Bacto-agar 7g, NaCl 30g, pH 7.2인 중층배지를 사용하였다.

3) 파아지액체배지

1,000ml당 조성이 Bacto-peptone 15g, Tryptone 8g, Bacto-yeast extract 1g, NaCl 30g, MgSO₄(0.1M) 10ml, CaCl₂(0.1M) 10ml, pH 7.2되도록 사용하였다.

4) 완충액

1,000ml당 조성이 Na₂HPO₄(anhydrous) 9.5g, KH₂PO₄ 3g, NaCl 30g, MgSO₄(0.1M) 10ml, CaCl₂(0.1M) 10ml, pH 7.2되도록 사용하였다.

4. 파아지의 분리 및 보관

장염비브리오파아지분리는 Baross 등^{11, 13)}의 분리방법에 의하였다.

각 숙주균을 증균배지에서 대수증식기까지 진탕

배양하고 가검물을 분쇄기에서 파쇄하여 균배양액에 혼합하고 37°C, 48~72시간 진탕배양하였다. 배양액을 10,000rpm 20분 원심분리(Hitachi Automatic Refrigerated Centrifuge, 20PR-5, Japan)하고 얻어진 상청액을 중층법으로 준비된 숙주균 평판위에 0.01ml씩 떨어뜨려 37°C, 하룻밤 배양하고 용균부위를 관찰하여 파아지의 존재유무를 확인하였다. Spot시험으로 확인된 배양상청액의 파아지액을 Adams¹⁶⁾의 중층법으로 plaque(이하 용균반)형성을 관찰하고 한 용균반을 선택하여 2회 이상의 단일 용균반분리를 함으로써 파아지를 순수분리하였다.

파아지의 정량은 Adams¹⁶⁾의 중층법에 의한 용균반계수법으로 실시하였다.

파아지의 번식^{16, 13, 15, 17, 20, 20)}은 액체배지에 숙주균과 파아지액을 함께 넣고 배양하여 원심분리 하는 방법과 많은 용균반이 형성된 평판을 파아지액체배지를 넣고 끊어내어서 원심분리하는 방법을 병용하

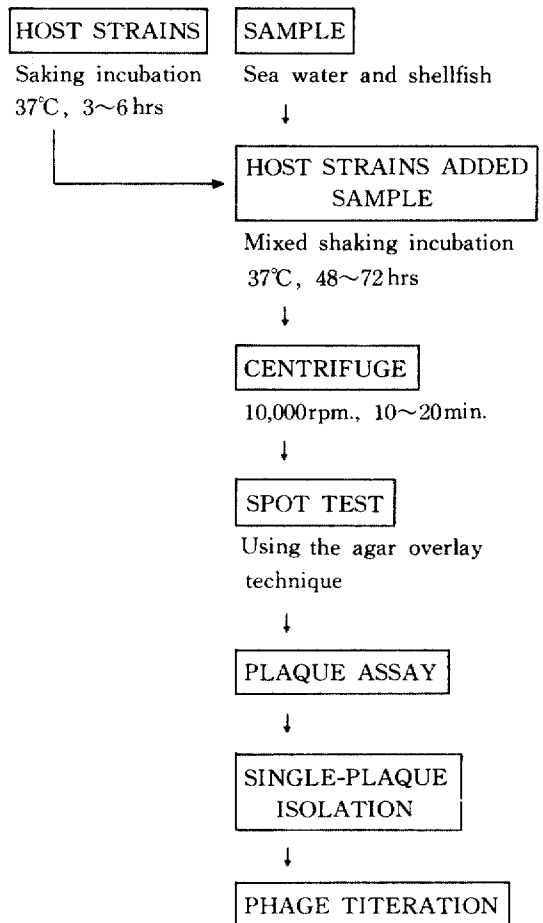


Fig. 1. Procedure on isolation of *V. parahae-molyticus* phage.

였다.

파아지의 보관^{10, 13, 23, 30}은 번식시켜 얻은 상청액을 용균반계수법으로 파아지의 역가를 측정하여 10¹¹ Plaque Forming Unit(PFU)/ml 이상일 때 0.45μm 막여과기(Gelman Science, Inc., USA.)로 2회 여과하고 4°C에서 보관하였다.

파아지의 농축^{13, 15, 30}은 50,000rpm, 120분 원심분리(Sorvall OTD-75B Ultracentrifuge, USA.) 하여 파아지를 침전시키고, 이 침전물을 파아지완충액으로 재현탁하여 10,000rpm, 20분 원심분리하는 과정을 2회 반복하여서 파아지액을 농축하였다. 농축된 파아지액은 전자현미경관찰에 사용하였다.

파아지 분리과정은 Fig. 1과 같다.

5. 파아지의 특성

1) 전자현미경 관찰^{1-3, 8, 23, 24}

Collodion 지지막을 입힌 300mesh의 구리 grid에 carbon을 증착하고 파아지농축액을 묻혀 건조시킨 다음 1% uranyl acetate 용액으로 30초 동안 negative 염색을 하고, JEM 100S 전자현미경(Japan Electron Optics Laboratory, Ltd., Japan.) 60KV 하에서 관찰하였다.

2) 숙주역^{2-4, 13, 28}

대수성장기의 시험균을 중층법으로 접종한 평균 배지위에 10¹⁰ PFU/ml인 파아지액을 0.01ml씩 떨어뜨려서 37°C, 하룻밤 배양하여 관찰하였다.

3) 흡착^{3, 16, 18}

10⁷ PFU/ml인 파아지액과 10⁸ Cell Forming Unit (CFU)/ml인 균액을 각각 1ml씩 취해서 시험관에 혼합한 후 5분 간격으로 0.1ml씩을 취해서 파아지액체배지로 100배 희석함과 동시에 흡착의 진행을 정지시키기 위해 3,500rpm, 10분 원심분리하여 균에 흡착한 파아지를 침전시켰다. 흡착정도는 상청액의 파아지수를 측정함으로써 결정하였다.

4) 온도안정성^{3, 16, 28}

0.9ml의 파아지액체배지를 30°C~70°C의 각 온도에서 미리 항온시켜 10⁸ PFU/ml인 파아지액을 0.1ml 넣고 10분후에 0.1ml을 취해 생존파아지를 정량하였다. 그리고 60°C로 미리 항온시킨 배지 4.5ml에 파아지액 0.5ml을 가하고 10분 간격으로 0.1ml씩 취하여 차거운 액체배지로 희석하여 생존파아지수를 정량하였다.

5) pH 안정성^{2, 3, 13}

pH 3~10으로 조정된 파아지액체배지 0.9ml에 10⁸ PFU/ml인 파아지액 0.1ml를 첨가하고 37°C에서 60분동안 반응시킨 후에 각 pH의 생존파아지수를 정량하였다.

6) 자외선조사에 의한 불활성화^{2, 28}

파아지액체배지로 희석한 10⁸ PFU/ml의 파아지액 5ml를 페트리접시에 넣고 실온에서 15W의 자외선등으로 50cm의 거리를 두고 소정의 시간동안 조사한 후 생존파아지수를 정량하였다.

성 적

1. 파아지의 분리

파아지의 분리성적은 Table 1과 같다. 장염비브리오파아지는 장염비브리오 20주를 숙주균으로 사

Table 1. Incidence of isolation of *V. parahaemolyticus* phage from enrichments with sea water and shellfish

Specimen	Phage isolated
Sea water	0 ^a /40 ^b (0.0) ^c
Oyster	6/80 (7.5)
Clam	9/80 (11.3)
Anadana inflata	8/50 (16.0)

a: Total number of isolated phage.

b: Total number of enrichments.

c: Figures with parentheses indicate per cent.

Fig. 2. Spot test and plaque morphology.

용하여 해수, 굴, 대합 및 피조개의 총 가검물 250 예에서 23주(9.2%)를 분리할 수 있었다. 굴 80예 중 6주(7.5%), 대합 80예 중 9주(11.3%) 및 피조개 50예 중 8주(16.0%)가 분리되었다.

파아지의 명명은 편의상 그 파아지숙주균의 혈청 형과 같도록 하였다.

2. 파아지의 특성

1) 용균반

일반적인 파아지의 용균반형태는 Fig. 2와 같다. 대체적으로 용균반의 크기는 직경 0.5~1.5mm이었다.

2) 전자현미경적 형태

K3 파아지의 전자현미경적 형태는 Fig. 3과 같다. 2가지 형태를 관찰할 수 있었는데, 한 형태는 직경 105nm인 다면체의 두부와 12nm길이인 미부

Fig. 3. Morphology of *V. parahaemolyticus* phage K3.

Table 2. Host ranges of *V. parahaemolyticus* phages on *V. parahaemolyticus* strains

Strains tested	Types of phages								
	K3	K6	K9	K24	K30	K33	K34	K42	K45
01: K1	+	-	-	-	-	-	-	-	-
K25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
02: K3	+	-	-	-	-	-	-	-	-
K28	+	-	-	-	-	-	-	-	-
03: K6	-	+	-	-	-	-	+	-	-
K30	-	-	-	-	+	-	-	+	-
K33	+	-	-	-	-	+	-	+	-
K45	+	-	-	-	-	-	-	-	+
K57	+	-	-	-	-	-	-	-	-
K59	-	-	-	-	-	-	-	-	-
04: K9	+	-	+	-	-	-	-	-	-
K13	+	-	-	-	-	-	-	-	-
K34	+	-	-	-	-	-	+	-	-
K42	+	-	-	-	-	-	-	+	-
05: K17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
07: K19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08: K20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K22	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10: K24	-	-	-	+	-	-	-	-	-
K52	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : Lysis of host strain, - : No lysis reaction.

Table 3. Host ranges of *V. parahaemolyticus* phages on *Vibrio* species and various bacteria

Strains tested	Types of phages								
	K3	K6	K9	K24	K30	K33	K34	K42	K45
<i>V. alginolyticus</i> SB 221	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>V. damsela</i> ATCC 33539	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>V. fluvialis</i> NCTC 11327	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>V. furnissii</i> NCTC 11328	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>V. hollisae</i> ATCC 33564	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>V. mimicus</i> ATCC 33653	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>V. vulnificus</i> ATCC 27562	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D 3894	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E 240	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1115-80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E 571	-	-	-	-	-	-	-	-	-
91-81	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1338-80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 10536	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. aerogenes</i> P 274	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. paratyphi</i> A(S-58)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. paratyphi</i> B(S-3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. sonnei</i> ATCC 9290	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. flexneri</i> ATCC 12022	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. boydii</i> ATCC 8700	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> P 124	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i> P 356	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : No lysis reaction.

Table 4. pH stability of *V. parahaemolyticus* phage in phage broth

pH	Survival of phage(%)	
	K3	K9
3.0	0	0
4.0	5	3
5.0	47	40
6.0	100	100
7.0	100	100
8.0	100	100
9.0	75	72
10.0	29	33

pH stability at 7.0 was represented as 100%.

로 구성되었고(Fig. 3-1), 다른 형태는 직경 60nm인 다면체의 두부와 25nm 길이인 미부로 구성되어 있었다(Fig. 3-2).

3) 숙주역

각 파아지의 숙주역은 Table 2 및 Table 3과 같다. 장염비브리오에서는 대부분의 파아지가 분

리할 때 사용한 원숙주균과 몇몇 혈청형에 대해서 감수성이 있었으나, K3 파아지는 숙주역이 상당히 넓었다. 그리고 각종 비브리오균과 일반 세균에서는 모두 감수성이 없었다. 즉 본 파아지들의 숙주역은 장염비브리오에 제한되어 있었고, 파아지의 숙주역과 장염비브리오 K 혈청형간에는 연관성이 없는 것으로 나타났다.

4) 흡착

파아지의 흡착율은 Fig. 4와 같다. K3 파아지는 10분간 흡착시켰을 때 약 80% 흡착하였고, K9 파아지는 10분간 흡착시켰을 때 약 60% 흡착하여 15분간 흡착시켰을 때 90% 흡착하였다.

5) 온도안정성

30°C~70°C에서 10분간 열처리하였을 때 파아지의 안정성은 Fig. 5와 같고, 60°C에서 시간경과에 따른 파아지의 불활성화는 Fig. 6과 같다. 40°C까지는 안정하였으나 그 이상의 온도에서는 감수성이 점차 증가하여 70°C에서는 각각 99%, 90%이상 불활성화되었다. 60°C에서 시간경과에 따른 불활성화율은 K3 파아지는 40분에 99%이상, 50분에 약

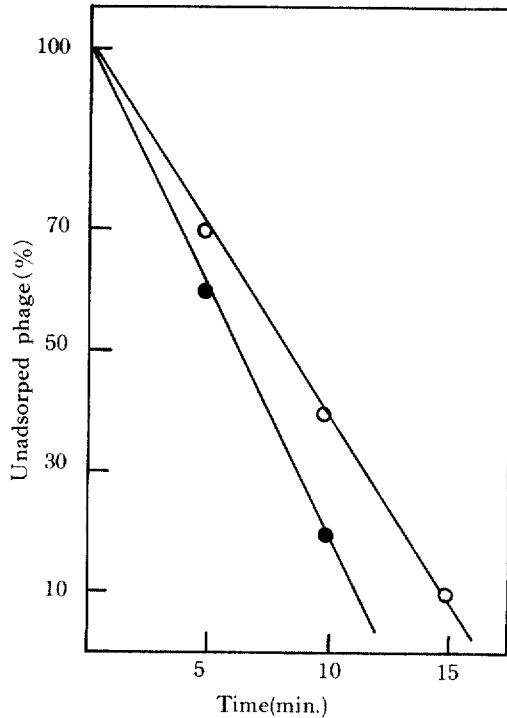


Fig. 4. Adsorption of *V. parahaemolyticus* phage. ● : K3, ○ : K9.

99.9% 불활성화 되었고, K9파아지는 50분에 99% 이상, 60분에 약 99.9% 불활성화 되었다.

6) pH 안정성

파아지의 pH 안정성은 Table 4와 같다. 파아지의 pH 안정성은 pH6~pH8이 가장 안정하였다. pH 3과 pH4에서는 거의 100% 불활성화 되었다.

7) 자외선조사에 의한 불활성화

자외선조사에 의한 불활성화율은 Fig. 7과 같다. K3파아지는 70초 조사에 99% 이상 불활성화 되었고, K9파아지는 45초 조사에 99% 이상, 60초 조사에 약 99.9% 불활성화 되었다.

고 찰

장염비브리오는 1950년 10월 20일 일본 오오사카를 중심으로 발생한 Shirasu 식중독사건 때 Fujino 등에 의해 발견된 세균으로써 치사율이 7%로 보고된 식중독원인균이며, 현재까지 혈청형은 O1~O11과 K1~K71로 분류되고 있다^{1-5, 16, 27}.

*Vibrio*속을 비롯한 각종 해양미생물이 보고된 후 Smith 등²⁸ 및 Spencer^{26, 27}에 의해서 각각 *Vibrio* bacteriophage(이하 비브리오파아지)와 marine bacteriophage(이하 해양성파아지)가 분리되었고, 계속

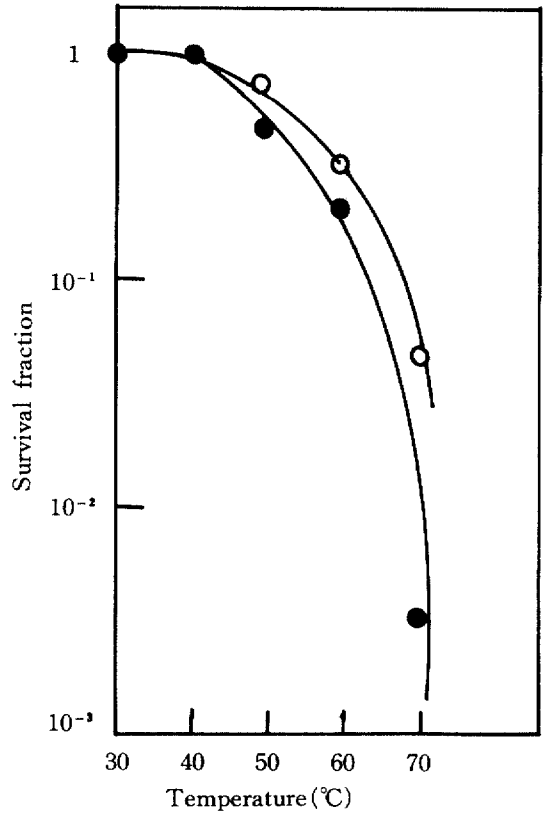


Fig. 5. Thermostability of *V. parahaemolyticus* phage. ● : K3, ○ : K9.

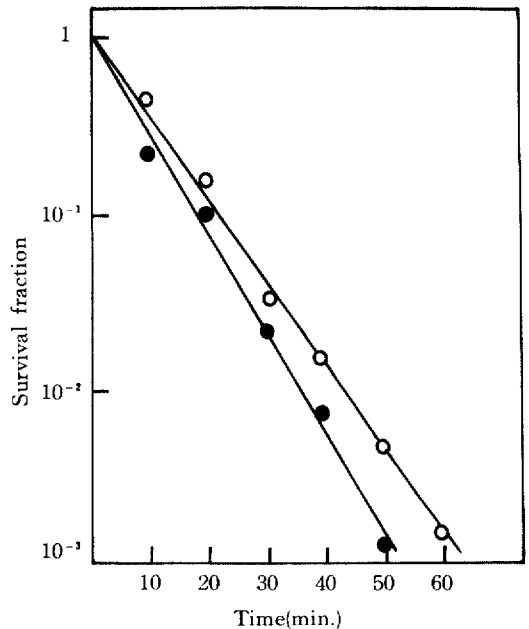


Fig. 6. Inactivation of *V. parahaemolyticus* phage at 60°C. ● : K3, ○ : K9.

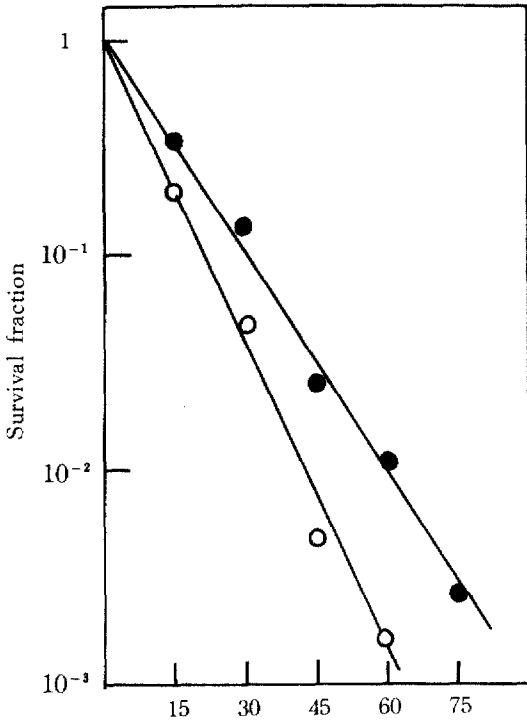


Fig. 7. Inactivation of *V. parahaemolyticus* phage by ultraviolet irradiation. ● : K3, ○ : K9.

적으로 많은 연구자들^{14, 21, 22, 26, 42, 44-46})에 의하여 연구되었다.

장염비브리오파아지는 비브리오파아지 및 해양성 파아지의 존재가 알려진 후 Nakanish등²¹)이 해수, 설사환자의 분변 및 용원성균주에서 분리하여 몇가지 성질을 연구하였고, 그후로 Hori¹⁹), Sklarow등²⁴) Baross 등¹¹⁻¹³) 및 Koga 등^{22, 26})이 해수, 패류 및 갑각류등에서 파아지를 분리하고 파아지의 형태와 숙주역등을 연구하였다.

본 연구에서는 장염비브리오가 빈번하게 분리되는 해수, 굴, 대합 및 피조개를 분리재료로 하고 장염비브리오 혈청형 K1~K59의 20주를 숙주균으로 하여 23주의 파아지를 분리하였다.

분리파아지들의 용균반은 작고 투명하거나 탁한 형태로 직경 0.5~1.5mm 사이였고, 파아지의 전자현미경적 형태는 K3파아지의 경우, 다면체의 두부와 짧은 미부로 구성되어 있었다. 일반적으로 파아지입자는 다면체의 두부와 길거나 짧은 미부를 가지며 사상체로된 형태와 다면체의 두부모만 구성된 형태도 보고되어 있다. 파아지의 두부에는 핵산이 함유되어 있고 미부는 숙주균에 대한 흡착기관이다. Brenner 등에 의해서 보편적으로 사용하게 된 negative 염색법을 적용하여 파아지입자의 구조가 밝혀졌다. 그리고 파아지입자의 형태나 크기는 파아지

의 종류에 따라 다르므로 그 특성이 파아지분류의 한가지 기준이 되고 있다.^{9, 10, 22, 26}) Sklarow등²⁴), Baross 등¹¹⁻¹³) 및 Koga 등^{22, 26})이 보고한 형태는 서로 차이가 있으나, Koga 등²²)은 Group I~IV로 분류하고 있다. 그러나 K3파아지는 이들과는 구별되는 형태로서 Hori¹⁹)가 보고한 장염비브리오파아지 No. 14의 형태와 유사하였고, 대장균파아지²⁰) T3, T7 및 N4와도 유사한 형태였다.

독성파아지의 숙주역은 매우 특이적이어서 동일 균종내에서도 감염되지 않는 저항성의 변종이 존재하기도 하며, 한편 유사균종간에 감염되는 다중독성을 나타내기도 한다⁹). 장염비브리오파아지의 경우, Baross 등¹³) 및 Koga 등²⁶)의 연구와 다른 연구자^{19, 24})들의 성적에 의하면 파아지의 숙주역은 장염비브리오에 제한되었으나, 숙주역과 장염비브리오 K혈청형간에는 특별한 연관성이 없는 것으로 보고되고 있다.

본 파아지의 숙주역시험에서는 파아지의 숙주역이 장염비브리오에 제한되었으나, 20주의 장염비브리오 K혈청형 시험균에 대해서 분리할 때 사용한 원숙주균에만 감수성이 있는 6주의 파아지 K6, K9, K24, K30, K33 및 K45와 원숙주균외의 다른 시험균에도 감수성이 있는 3주의 파아지 K3, K34 및 K42로 구분되었다. 따라서 원숙주균에만 감수성이 있는 6주의 파아지가 실제로 단일의 원숙주균에만 감수성이 있는지는 시험균을 늘여서 검토해볼 필요성이 있다. 하지만 본 연구의 숙주역 성적과 Baross 등¹³) 및 Koga 등²⁶)의 숙주역시험 보고는 다소 일치하였으며, 본 파아지들의 숙주역이 장염비브리오에 제한된 숙주특이성을 이용하여 장염비브리오의 동정에 이용할 가치는 있음을 알 수 있었다.

파아지감염의 제 1단계인 흡착에서 K3과 K9파아지는 숙주균에 80%이상 흡착하는데 10분~15분이 소요되었다. 파아지가 숙주균에 흡착할 때 숙주균의 단백질, 다당류, 당지질등이 특이적인 수용부위로 작용하고, 파아지가 숙주균의 수용부위에 화학적으로 결합할 수 있는 상보적인 흡착부위를 가지면 비가역적인 흡착이 일어나서 다시 떨어지지 않는다.^{2, 16, 17, 20}) 그리고 일반적으로 파아지의 흡착은 온도의 영향을 받으며, 중성역 pH에서 흡착속도가 가장 크다고 보고되어 있다.^{2, 16, 20})

파아지는 보통 배지액내에서는 실온에서도 안정한 것으로 알려져 있는데, 30°C~70°C에서 10분간 방치하였다가 안정성을 검토했을 때, 30°C~40°C에서는 안정하였고, 그 이상의 온도에서는 감수성이 증가하였다. 그리고 60°C에서 시간경과에 따른 불

활성화율은 K3과 K9과아지가 각각 40분과 50분에 99% 이상 불활성화 되었는데, 이것은 Nakanish 등²⁰⁾의 V12와 V14과아지가 60°C, 50분에 99% 이상 불활성화되는 점과 유사하였다. 이렇게 열에 의한 과아지의 불활성화는 과아지의 단백질변성에 기인하는 것으로 간주되고 있으며, 각 과아지의 온도 안정성은 실험방법이나 회석액의 차이에 따라 상당히 다른 것으로 알려져 있다.^{2, 16, 19)}

과아지는 어느 일정한 pH 범위에서만 안정성을 나타내며, 일반적으로 중성역에서 안정하다고 여겨지는데^{2, 16, 30)}, 본 과아지들도 pH6~pH8에서 안정하였다. 자외선에 의한 불활성화는 과아지의 핵산 분자 중의 어떤 요소가 자외선양자의 에너지를 흡수하여 여기되면 흡수된 에너지의 일부가 과아지의 용균반형성능을 파괴하기 때문이며, 이러한 변화는 동일 polypeptide쇄위에 인접해 있는 thymine 잔기가 dimer를 형성하기 때문이다.^{2, 16, 17)}

수서환경에 존재하는 과아지에 관한 연구는 비브리오과아지외에 하수, 담수, 해안의 염습지 및 생선등에서 분리되는 Coliphage⁹⁾, *Aeromonas*속 과아지^{15, 31, 33)}, *Halobacterium*속과아지^{30, 32, 39, 43)}, *Pseudomonas*속과아지^{25, 29)} 및 Methanotrophs 과아지^{40, 41)}에 대해서도 여러 가지로 연구되고 있다. 자연환경에서 나타나는 과아지의 중요한 기능중에는 이들에 감수성이 있는 세균을 용균함으로써 세균군집의 수량을 감소시키는 역할을 한다. 해안에 서식하는 해양미생물인 장염비브리오는 해수온이 상승하는 여름철에 높은 빈도로 나타나고 이 세균을 용균하는 과아지의 계절적 분리빈도 역시 해수온에 의존함으로써 과아지의 개체수량은 숙주균의 개체수량과 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있다.^{11-13, 22, 26)}

해안의 해수, 어패류등에서 과아지의 분리연구는 해양미생물들을 숙주균으로 하는 각종 해양성과아지의 존재유무, 형태, 숙주특이성 및 여러 가지 특성연구를 가져올 수 있다. 특히 과아지의 숙주특이성에 의하여 포도구균, 콜레라균 처럼 장염비브리오 및 *V. vulnificus* 등의 *Vibrio*속을 동정하고 분류하는데 이용하면 큰 도움이 있을 것으로 기대된다.

결 론

장염비브리오 20주를 숙주균으로 하여 해수, 굴, 대합 및 피조개에서 장염비브리오과아지를 분리하고 몇가지 특성을 비교 연구한 성적은 다음과 같다.

과아지는 250예의 가검물에서 23주(9.2%)가 분리되었는데, 굴 80예중 6주(7.5%), 대합 80예중

9주(11.3%) 및 피조개 50예중 8주(16.0%)가 분리되었다. 분리과아지의 일반적인 용균반은 작고 투명하거나 탁한 형태로 직경 0.5~1.5mm였다. K3과아지의 전자현미경적 형태는 직경 105nm의 두부와 12nm길이인 미부로된 형태와 직경 60nm인 두부와 25nm길이인 미부로된 형태가 있었다. 과아지의 숙주역은 장염비브리오에 제한되어 있었고, 장염비브리오 K혈청형과 과아지의 숙주역간에는 연관성이 없었다. 흡착율은 10~15분에 80% 이상이었으며, 온도에 의한 불활성화율은 60°C, 40~50분에 99% 이상이었다. 대체로 중성역인 pH6~pH8이 제일 안정한 pH범위였으며, 자외선조사에 의한 불활성화율은 45초~75초 조사에 99% 이상이었다.

참 고 문 헌

- 1) 김영창, 박민철, 강국희, 윤영호, 이광용: *Lactobacillus casei* Bacteriophage의 분류 및 특성에 관한 연구. 한국미생물학회지, 17:165, 1979.
- 2) 이태우: L-글루타민산 생산균 *Brevibacterium lactofermentum* Bacteriophage에 관한 연구. 한국미생물학회지, 17:97, 1979.
- 3) 이태우: *Bacillus cereus*의 RK-용원 과아지에 관한 연구. 한국미생물학회지, 23:129, 1985.
- 4) 이오형: SP816 박테리오파아지의 생리적특성, 한국미생물학회지, 24:261, 1986.
- 5) 주진우: 한국 남해안 일대의 장염비브리오 분포연구-제주, 거제, 남해, 목지, 부산 및 마산근해의 해수, 해저퇴 및 해산물에서 장염비브리오 분리-. 대한미생물학회지, 18:1, 1983.
- 6) 주진우, 송 철, 손준용, 임승호, 이기희: 부산근해의 해수, 해니, 어패류 및 해조류등에서 장염비브리오 분리연구. 부산대학교 자연과학 논문집, 38:247, 1984.
- 7) 주진우, 이미현: 한국 남해안 일대의 장염비브리오 분포에 관한 연구-부산, 마산, 충무 및 울산 근해의 해수, 해니 및 각종 해산물에서 장염비브리오 분리-. 부산대학교 자연과학 논문집, 41:191, 1986.
- 8) 주진우, 이미현, 김 일: 한국 울등도 근해의 *Vibrio*속의 분리연구. 대한미생물학회지, 21:345, 1986.
- 9) Ackermann HW and Nguyen TM: Sewage coliphages studied by electron microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:1049, 1983.
- 10) Adams MH: Bacteriophages. Interscience Publishers, Inc., New York, 1959.

- 11) Baross JA, Liston J and Morita RY: Some implications of genetics exchange among marine vibrios, including *Vibrio parahaemolyticus*, naturally occurring in the Pacific oyster, p. 129. In Fujino T, Sakaguchi G, Sakazaki R and Takeda Y(ed.), International symposium on *Vibrio parahaemolyticus*, Saikon Publishing Co., Tokyo, 1974.
- 12) Baross JA, Liston J and Morita RY: Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* bacteriophages in marine samples. *Appl. Environ. Microbiol.* **36**: 492, 1978.
- 13) Baross JA, Liston J and Morita RY: Ecological relationship between *Vibrio parahaemolyticus* and agar-digesting vibrios as evidenced by bacteriophage susceptibility pattern. *Appl. Environ. Microbiol.* **36**:500, 1978.
- 14) Chen PK, Citarella RV, Salazer O and Colwell RR: Properties of two marine bacteriophages. *J. Bacteriol.* **91**: 1136, 1966.
- 15) Chow MS and Rouf MA: Isolation and partial characterization of two *Aeromonas hydrophila* bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**: 1670, 1983.
- 16) Clowes RC and Hayes W: Experiments in microbial genetics. Black Well Scientific Publications, 1968.
- 17) Eisenstark A: Bacteriophage technique, p. 449-524. In Maramorsch K and Koprowski H(ed.), Methods in Vibriology, vol. 1. Academic Press, Inc., New York, 1967.
- 18) Farmer JJ III, Hickman-brenner FW and Kelly MT: *Vibrio*, p. 282. In Lennette EH, Ballowes A, Hausler Jr WJ and Shadomy HJ(ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for microbiology, Washington, DC., 1985.
- 19) Hori M: On the phage of *Vibrio parahaemolyticus*, p. 147. In Fujino T, Fukumi H(ed.), *Vibrio parahaemolyticus* II. Naya Shoten, Tokyo, 1967.
- 20) Joklik WK, Willett HP and Amos DB: Zinsser microbiology, Appleton-Century-Crofts, Norwalk, Connecticut, 1984.
- 21) Kakimoto D and Nagatomi H: Study of bacteriophages in Kinoko Bay. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **38**:271. 1972.
- 21) Keynan A, Neelson K, Sideropoulos H and Hastings JW: Marine transducing bacteriophages attacking a luminous bacterium. *J. Virol.* **14**: 333, 1974.
- 23) Koga T, Toyoshima S and Kawata T: Morphological varieties and host ranges of *Vibrio parahaemolyticus* bacteriophages isolated from seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**: 466, 1982.
- 24) Koga T and Kawata T: Structure of a novel bacteriophage VP3 for *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiol. Immunol.* **25**: 737, 1981.
- 25) Krylow VN, Smirnova TA, Minenkova IB, Plotnikova TG, Zhazikov IZ and Khrenova EA: *Pseudomonas* bacteriophage ϕ KZ contains on inner body in its capsid. *Can. J. Microbiol.* **30**:758, 1984.
- 26) Landry EF, Vaughn JM, Vical TJ and Mann R: Accumulation of sediment-associated viruses in shellfish. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**:238, 1983.
- 27) Miwatani T and Takeda Y: *Vibrio parahaemolyticus*-a causative bacterium of food poisoning. Saikon Publishing Co., Tokyo, 1976.
- 28) Nakanish H, Iida Y, Maeshima K, Teramoto T, Hosaka Y and Ozaki M: Isolation and properties of bacteriophages of *Vibrio parahaemolyticus*. *Biken J.* **9**:149, 1966.
- 29) Nordeen RO, Morgan MK and Currier TC: Isolation and partial characterization of bacteriophages of the phytopathogen *Pseudomonas syringae*. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**: 1890, 1983.
- 30) Pauling C: Bacteriophages of *Halobacterium halobium*: Isolation from fermented fish sauce primary characterization. *Can. J. Microbiol.* **28**: 916, 1982.
- 31) Rodgers CJ, Prindgle JH, McCarthy DH and Austin B: Quantitative and qualitative studies of *Aeromonas salmonicida* bacteriophage. *J. Gen. Microbiol.* **125**:335, 1981.
- 32) Rohrmann GF, Cheney R and Pauling C: Bacteriophages of *Halobacterium halobium*: Virion DNAs and proteins. *Can. J. Microbiol.* **29**: 627, 1983.
- 33) Seely ND and Primrose SB: The effect of temperature on the ecology of aquatic bacter-

- io-phages. *J. Gen. Virol.* **46**: 87, 1980.
- 34) Sklarow SS, Colwell RR, Chapman GB and Zane SF: Characteristics of a *Vibrio parahaemolyticus* bacteriophage isolated from Atlantic Coast sediment. *Can. J. Microbiol.* **19**: 1519, 1973.
 - 35) Smith LS and Krueger AP: Characteristics of a new *vibrio* bacteriophage system. *J. Gen. Physiol.* **38**: 161, 1954.
 - 36) Spencer R: A marine bacteriophage. *Nature* **175**: 160, 1955.
 - 37) Spencer R: Indigenous marine bacteriophages. *J. Bacteriol.* **79**: 614, 1960.
 - 38) Sykes Ik, Lanning S and Williams ST: The effect of pH on soil actinophage, *J. Gen. Microbiol.* **122**: 271, 1981.
 - 39) Torsvik T and Dundas ID: Bacteriophage of *Halobacterium salinarium*. *Nature* **248**: 680, 1974.
 - 40) Tyutikov FM, Bespalova IA, Rebentish BA, Aleksandrushkina NA and Krivisky AS: Bacteriophages of methanotrophic bacteria. *J. Bacteriol.* **144**: 375, 1980.
 - 41) Tyutikov FM, Yesipova VV, Rebentish BA, Bespalova IA, Alexandrushkina NI, Galchenko VV and Tikhonenko. AS: Bacteriophages of methanotrophs isolated from fish. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**: 917, 1983.
 - 42) Valentine AF, Chen PK, Colwell RR and Chapman GB: Structure of a marine bacteriophage as revealed by the negative-staining technique, *J. Bacteriol.* **91**: 819, 1966.
 - 43) Wais AC, Kon M, Mac Donald RE and Stollar BD: Salt-dependent bacteriophage infecting *Halobacterium cutirubrum* and *H. halobium*. *Nature* **256**: 314, 1975.
 - 44) Zachary A: Isolation of bacteriophages of the marine bacterium *Beneckeia natriegens* from coastal salt marshes. *Appl. Environ. Microbiol.* **27**: 980, 1974.
 - 45) Zachary A: Physiology and ecology of bacteriophages of the marine bacterium *Beneckeia natriegens*: salinity. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**: 415, 1976.
 - 46) Zachary A: An ecology study of bacteriophages of *Vibrio natriegens*. *Can. J. Microbiol.* **24**: 321, 1978.