

RecN 유전자 특이적 PCR을 이용한 *Weissella* 속 유산균의 검출법 개발 및 적용

이명재¹ · 조경희¹ · 한응수² · 이종훈^{1*}
¹경기대학교 식품생물공학과, ²농협식품안전연구원

Received: November 4, 2010 / Revised: January 31, 2011 / Accepted: February 16, 2011

Development and Application of PCR-Based *Weissella* Species Detection Method with *recN* Gene Targeted Species-Specific Primers. Lee, Myeongjae¹, Kyeong Hee Cho¹, Eung Soo Han², and Jong-Hoon Lee^{1*}. ¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea, and ²Nonghyup Food Research Institute, Seoul 137-130, Korea – PCR-based *Weissella* species-specific detection method was developed to apply for the discrimination of Korean and Chinese *kimchi* by detecting a *Weissella* species only found in Korean or Chinese *kimchi*. PCR primers were designed from the species-specific sequence in the *recN* gene of each species. The primers allowed the species-specific detection and identification of nine species in the genera *Weissella*, and were successfully applied to the detection of *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. koreensis*, and *W. soli* in *kimchi* with 20 ng template DNA. *W. cibaria*, *W. confusa*, and *W. koreensis* were detected from the Korean *kimchi* samples tested but *W. soli* was not detected. However, the four species were detected from Chinese *kimchi* samples. PCR-based *W. soli*-specific detection could not be perfectly applied as the Chinese *kimchi* discriminating method but has significance as an approach to evaluate the potential of scientific verification method based on the difference of microbial community.

Key words: *Weissella*, *kimchi*, species-specific PCR, *recN* gene

서 론

김치는 각종 채소를 소금에 절여 젓갈 및 고추를 비롯한 다양한 부재료를 혼합하여 발효, 숙성시킴으로써 독특한 풍미와 물성이 만들어지는 우리나라 고유의 전통 발효식품이다. 우리나라는 경제 성장에 따른 주거환경의 변화, 가공식품산업의 발달, 여성의 사회참여 증가 등의 사회적 변화에 의해 상품김치의 수요가 지속적으로 증가하고 있다. 최근에는 수입개방 확대와 외식산업의 발달로 중국산 김치의 수입량이 급증하고 있어, 국내 김치산업은 물론 김치의 원료 및 부재료 농산물의 생산, 공급 및 가격에도 큰 영향을 미치고 있다. 특히 국내유통 과정에서 발생하는 수입김치의 국내산 둔갑으로 인한 유통질서 혼란과 안전성 부분에서 큰 문제를 야기하고 있다. 이러한 문제점의 해결을 위해 정부는 2008년 12월 28일부터 김치의 원산지 표시를 소규모 음식점에까지 확대 시행하고 있지만, 완벽한 해결책이 되지 못하고 있다. 수입김치의 지속적인 증가 및 저질 중국산 김치의 국내산 김치로의 둔갑 판매로 인해 발생하는 생산자와 소비자의 피해 방지, 김치에 대한 소비자의 신뢰회복 그리고 한국산 김치의

국가 경쟁력 강화를 위해서는 신속, 정확한 과학적 원산지 판별기술이 시급히 개발되어야 한다.

한편, 국내에서 진행된 많은 김치 관련 미생물 연구를 통하여 *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Weissella* 속 등의 다양한 유산균이 발효에 관여하는 것으로 알려져 있다[3, 6, 7, 11]. 이미 김치의 주발효 미생물이 유산균이라는 사실이 잘 알려져 있기 때문에 김치에 존재하는 다른 미생물에 대한 연구는 거의 보고되지 않고 있다. 그러나 원료에서 유래하는 다양한 미생물이 발효 초기에 존재할 것이고, 이들 미생물은 원재료가 재배된 원산지의 환경을 반영한다. 따라서 한국산 및 중국산 김치에 존재하는 bacteria 다양성의 차이가 예상되며 그 차이는 발효가 진행되어 유산균이 증가하기 전단계에서 현저하게 나타날 것으로 추정된다. 본 연구자들은 bacteria의 16S ribosomal RNA 유전자(16S rDNA) 상동성을 이용한 계통발생학적 동정을 통하여 pH 5 이상의 발효 초기 한국산 및 중국산 김치에서 분리한 bacteria의 다양성을 평가한 선행연구를 통하여 한국산 김치에서는 *Weissella confusa*, 중국산 김치에서는 *Weissella soli*가 특이적으로 검출되는 결과를 얻게 되었다[8]. 이러한 결과는 *W. confusa* 또는 *W. soli*의 빠른 검출을 이용하여 김치 원산지 판별을 위한 과학적 검증법이 개발될 수 있음을 시사한다.

*Corresponding author

Tel: +82-31-249-9656, Fax: +82-31-253-1165

E-mail: jhl@kyonggi.ac.kr

최근 들어 빠르고 정확한 bacteria의 검출을 위하여 대상 bacteria의 지표유전자를 특이적으로 증폭하는 PCR이 많이 이용되고 있다. 지표유전자로는 16S rDNA가 가장 많이 사용되고 있지만, 유산균과 같이 16S rDNA의 상동성이 높은 경우에는 적합하지 않은 것으로 보고되고 있다[2, 13, 14]. 이러한 문제점의 보완을 위해 *gyrB* [4], *oriC* [12], *recA* [13, 14], *recN* [1], *rpoB* [10] 등의 단백질 구조유전자를 지표유전자로 이용하는 예가 증가하고 있고, 특히 *recN* 유전자는 16S rDNA보다 종(species) 간의 구분에 유용한 것으로 보고되었다[1, 16].

본 연구에서는 특정 미생물의 특이적 검출을 이용한 중국산 김치 판별법 개발을 최종 목표로 *W. confusa* 및 *W. soli*를 포함하는 *Weissella* 속 9종 균주의 PCR 검출법을 개발하였고, 중국산 김치 판별의 가능성을 검토하였다. *Weissella* 속 균주의 빠른 동정 및 검출을 위한 PCR 검출법에 사용된 종 수준의 특이적 PCR primer (Species-specific PCR primer)의 개발에는 *recN* 유전자를 지표유전자로 사용하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양 조건

본 실험에 사용한 표준균주(type strain)는 Korean Collection for Type Cultures (KCTC), Korean Culture Center for Microorganisms (KCCM), ATCC the global bioresource center로부터 구입하였다(Table 1). 그러나 *W. koreensis* 표준균주는 특허균주로 등록되어 분양이 불가능한 관계로 본 연구자들이 한국산 김치로부터 직접 분리 동정한 *W. koreensis* KK0101 균주를 사용하였다. 유산균주들은 MRS broth (Difco, USA)를 사용하여 30°C 미호기적 조건에서 배양하였으며, 고체배지의 제조에는 한천을 1.5% (w/v) 첨가하였다.

Weissella 속 9종 균주의 특이적 검출을 위한 PCR primer 및 PCR 조건

Weissella 속 균주의 특이적 검출을 위한 PCR primer는 *Leuconostocaceae*과(family)에 속해 있어 *Weissella* 속과 근

Table 1. Reference strains and *recN* genes used in this study.

Species	<i>recN</i> accession number	Strain designation
<i>Weissella</i>		
<i>W. cibaria</i>	AM698013	KCTC 3817 ^T
<i>W. confusa</i>	AM698014	KCTC 3499 ^T
<i>W. hellenica</i>	AM698016	KCTC 3668 ^T
<i>W. kandleri</i>	AM698017	KCTC 3610 ^T
<i>W. koreensis</i>	AM698018	KK0101
<i>W. minor</i>	AM698019	KCTC 3604 ^T
<i>W. soli</i>	AM698020	KCTC 3789 ^T
<i>W. thailandensis</i>	AM698021	KCTC 3751 ^T
<i>W. viridescens</i>	AM698022	KCTC 3504 ^T
<i>Lactobacillus</i>		
<i>Lb. brevis</i>	CP000416.1	ATCC 14869 ^T
<i>Lb. curvatus</i>		KCTC 3767 ^T
<i>Lb. paraplantarum</i>		ATCC 700211 ^T
<i>Lb. pentosus</i>		KCCM 40997 ^T
<i>Lb. plantarum</i>	NC_012984	KCTC 3108 ^T
<i>Lb. sakei</i> subsp. <i>sakei</i>	NC_007576	KCTC 3603 ^T
<i>Leuconosotc</i>		
<i>Lc. carnosum</i>	AM698023	KCTC 3525 ^T
<i>Lc. citreum</i>	DQ489736	KCTC 3526 ^T
<i>Lc. gelidum</i>	AM698027	
<i>Lc. lactis</i>	AM698029	
<i>Lc. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	AM698031	
<i>Lc. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	AM698032	KCTC 3530 ^T
<i>Lc. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	AM698033	KCTC 3505 ^T
<i>Oenococcus</i>		
<i>O. oeni</i>	AM698012	KCTC 3072 ^T

^T, type strain; KCTC, Korean Collection for Type Cultures; KCCM, Korean Culture Center for Microorganisms; ATCC, ATCC the global bioresource center.

연 관계에 있는 *Oenococcus* 및 *Leuconostoc* 속 유산균들과 김치에서 많이 검출되는 *Lactobacillus* 속 균주들 중에서 GenBank에 등록된 *recN* 유전자 염기서열을 PHYDIT program (<http://plaza.snu.ac.kr/~jchun/phydit/>)을 이용하여 정렬한 후, 중 수준에서 각 균주에 특이적인 부분을 선정하여 제작하였다. Table 1에는 primer 제작에 사용한 *recN* 유전자의 accession number를 균주 별로 정리하였다.

실험에 사용한 균주의 total DNA는 MRS 배지에서 30°C, 24시간 배양한 균체로부터 Genome DNA extraction kit (Axygen, CA, USA)을 사용하여 추출하였다. PCR은 50 µL 반응계에서 10 ng template DNA, 0.1 mM dNTP, 1.25 U *Taq* polymerase (RBC Bioscience, Taipei, Taiwan) 및 각 primer를 10 pmol 농도로 첨가하여 T3000 thermal cycler (Biometra, Germany)를 사용하여 수행하였다. 반응조건은 95°C에서 5분간 예비가열 후, 95°C 1분간 변성, 검출 균주에 따른 annealing 1분, 72°C 1분간의 중합반응 과정을 30회 반복하고, 마지막으로 72°C에서 5분간 처리한 후 반응을 중단했다. Table 2에는 *Weissella* 속 균주들의 PCR 검출을 위한 primer의 염기서열과 annealing 온도를 나타내었다. PCR 산물은 2% agarose gel을 사용하여 전기영동한 후, ethidium bromide 용액으로 염색하여 band를 확인하였다.

한국산 및 중국산 김치시료 및 DNA 추출

한국산 및 중국산 김치에 특이적으로 존재하는 *Weissella* 속 균주의 검출을 위해 사용된 김치시료는 본 연구자들이 발

효 초기 한국산 및 중국산 김치의 bacteria 다양성 평가를 위해 선행연구에서 수집한 한국산 및 중국산 김치시료의 여과액을 냉동보존하였다가 해동하여 사용하였다[8]. 김치국물 여과액 4 mL을 원심분리하여 균체를 회수한 다음, Genome DNA extraction kit (Axygen)을 사용하여 DNA를 추출하였고, 추출한 DNA는 spectrophotometer를 이용하여 정량하였다.

결 과

Weissella 속 균주의 빠른 동정을 위한 *recN* 유전자 특이적 PCR primer의 유용성

Table 2에는 *Weissella* 속 9종 균주의 빠른 동정 및 검출을 위해 최종적으로 결정된 *recN* 유전자 특이적 PCR primer, PCR 산물의 크기, annealing 온도를 정리하였다. Table 1에 나타난 8종의 *Weissella* 속 표준균주 및 *W. koreensis* KK0101, 그리고 김치에서 자주 검출되는 *Lactobacillus* 속 균주 6종, *Weissella* 속과 근연 관계에 있는 *Oenococcus* 및 *Leuconostoc* 속의 5종 표준균주를 대상으로 PCR을 수행한 결과, 각각의 primer pair에 의해 *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. hellenica*, *W. kandleri*, *W. koreensis*, *W. minor*, *W. soli*, *W. thailandensis*, *W. viridescens* 특이적인 PCR 산물이 증폭되었으며, 증폭된 PCR 산물의 크기도 예상과 일치하였다(Fig. 1). 또한 증폭산물의 염기서열 결정을 통하여 각 균주에 해당하는 증폭산물이 생성된 것을 확인하였다. 그러나 증폭 대

Table 2. Sequences of the oligonucleotide primers and annealing temperatures used for species-specific PCR amplification and PCR product sizes.

Target species	Primer	Oligonucleotide sequence (5' → 3')	Product size (bp)	Annealing Temp.
<i>W. cibaria</i>	WeicibaF	TTG ATT GAC ATA GAA CCT GAT	596	55°C
	WeicibaR	TTC GGT GCT AGT TCT TCA ATA		
<i>W. confusa</i>	WeiconF	CGC CAT TTA TCA TTG CTG	637	55°C
	WeiconR	GTT TCT CAG CAT GFG TAC G		
<i>W. hellenica</i>	WeihelF	GCG GCA AGC AGA TGA ACA GGC	513	67°C
	WeihelR	AGG GCA GCA TTT TCTTCA TTA		
<i>W. kandleri</i>	WeikanF	ACT TCC CT GAT GGC GAT TG	673	65°C
	recNR	CWC CTG TAT CAA CTT CAT CAA A		
<i>W. koreensis</i>	WeikorF	GTG CTG GTC TGC GTA AAA TA	812	64.5°C
	recNR	CWC CTG TAT CAA CTT CAT CAA A		
<i>W. minor</i>	WeiminF	GTT ACA GAC GCA ACA GGC CT	325	65°C
	recNR	CWC CTG TAT CAA CTT CAT CAA A		
<i>W. soli</i>	WeisolF	AGA GAT TGA ACC CCT GCT A	661	67°C
	WeisolR	GGC TTG GCG GAC TGC GGT TA		
<i>W. thailandensis</i>	WeithF	GCG ACG GCA ATG AGT GAG TT	660	65°C
	recNR	CWC CTG TAT CAA CTT CAT CAA A		
<i>W. viridescens</i>	WeiviF	CGA CAA AGC GTACGC GGA G	343	67°C
	WeiviR	CTC TAA TCC GTC ATG CAC		

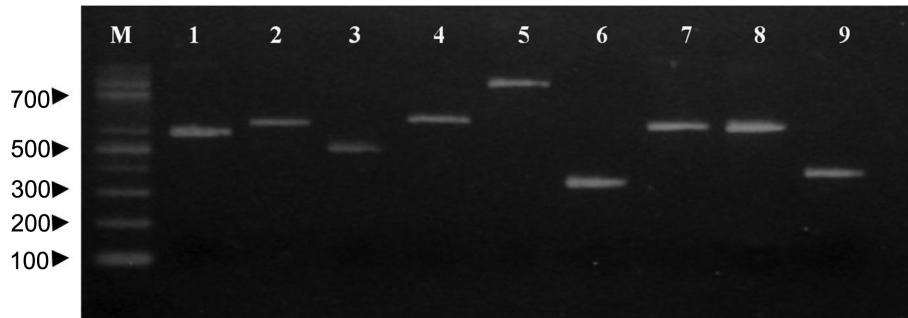


Fig. 1. PCR amplification of the *recN* gene from *Weissella* spp.

Lanes: M, 100 bp DNA size marker (SolGent, Korea); 1, *W. cibaria* KCTC 3817; 2, *W. confusa* KCTC 3499; 3, *W. hellenica* KCTC 3668; 4, *W. kandleri* KCTC 3610; 5, *W. koreensis* KK0101; 6, *W. minor* KCTC 3604; 7, *W. soli* KCTC 3789; 8, *W. thailandensis* KCTC 3751; 9, *W. viridescens* KCTC 3504. All reference strains are type strains except *W. koreensis* KK0101.

상 균주를 제외한 다른 균주들로부터는 각 primer pair에 의한 증폭산물이 형성되지 않아 *recN* 유전자 특이적 PCR이 *Weissella* 속 균주들의 중 수준에서의 특이적 검출 및 동정에 이용될 수 있음을 확인하였다.

recN 특이적 PCR을 이용한 한국산 및 중국산 김치 중의 *Weissella* 속 균주의 특이적 검출

선정된 primer pair가 중 수준에서의 *Weissella* 속 균주 검출 및 동정에 유용한 것으로 확인됨에 따라 한국산 및 중국산 김치를 대상으로 *Weissella* 속 균주들의 PCR 검출을 시도하였다. 검출 대상은 *Weissella* 속 균주 중에서 김치에서 빈번하게 검출되는 *W. cibaria*와 *W. koreensis* 그리고, 본 연구자들의 선행연구에서 한국산 김치 및 중국산 김치로부터 각각 특이적으로 검출된 *W. confusa* 및 *W. soli*로 한정하였다. 김치시료에 존재하는 4종 *Weissella* 속 균주의 특이적 PCR 검출에 앞서 *recN* 유전자의 특이적 증폭에 필요한 김

치시료 유래 DNA의 농도를 결정하였다. 이들 4종의 검출을 위해 사용한 template DNA는 각 균주들이 검출된 선행연구에 근거하여 각 균주들이 가장 많이 검출된 시료로부터 추출하였다. PCR법을 통해 검출 가능한 DNA의 최소농도 결정을 위해 김치로부터 추출한 DNA를 단계적으로 희석하여 PCR을 수행한 결과, *W. cibaria*는 10 ng, *W. koreensis*는 20 ng 농도에서 그리고 *W. confusa*와 *W. soli*는 1 ng 농도에서 검출이 가능하였다(Fig. 2). 따라서 김치시료에 존재하는 *Weissella* 속 균주의 중 수준에서의 검출을 위한 template DNA는 20 ng을 적용하였다.

김치시료로부터 추출한 DNA를 이용한 PCR 검출 결과에 따라 한국산 및 중국산 김치시료 각각 15종을 대상으로 20 ng의 template DNA 농도를 적용하여 특이적 PCR (Species-specific PCR)을 수행, 4종 *Weissella* 속 균주의 존재를 확인하였다. 한국산 김치의 경우, *W. cibaria*는 8종, *W. confusa*는 9종, *W. koreensis*는 4종의 김치에서 검출되었지만, *W.*

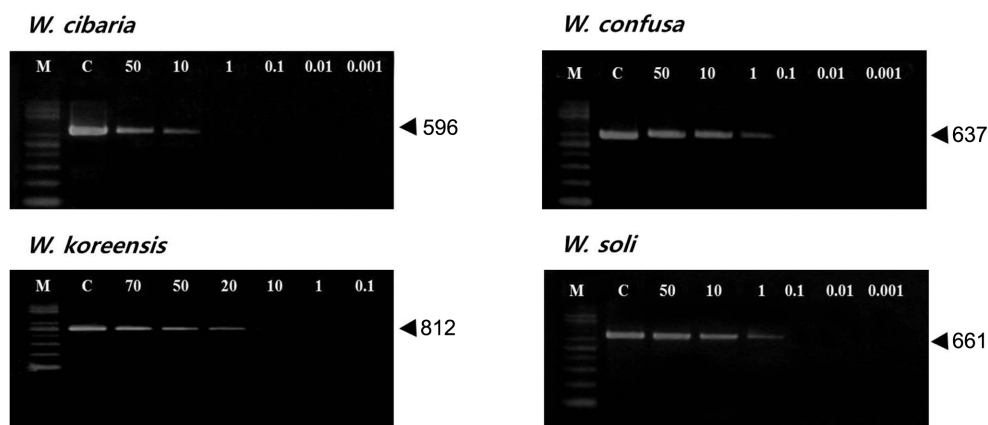


Fig. 2. Amplified PCR products according to the template DNA concentration. Template DNA was extracted from kimchi samples. PCR primer pairs specific for *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. koreensis*, and *W. soli* were used for the detection of each species. Lanes M and C are a 100 bp DNA size marker (SolGent, Korea) and positive control, respectively. Template DNA was used at the ng concentration.

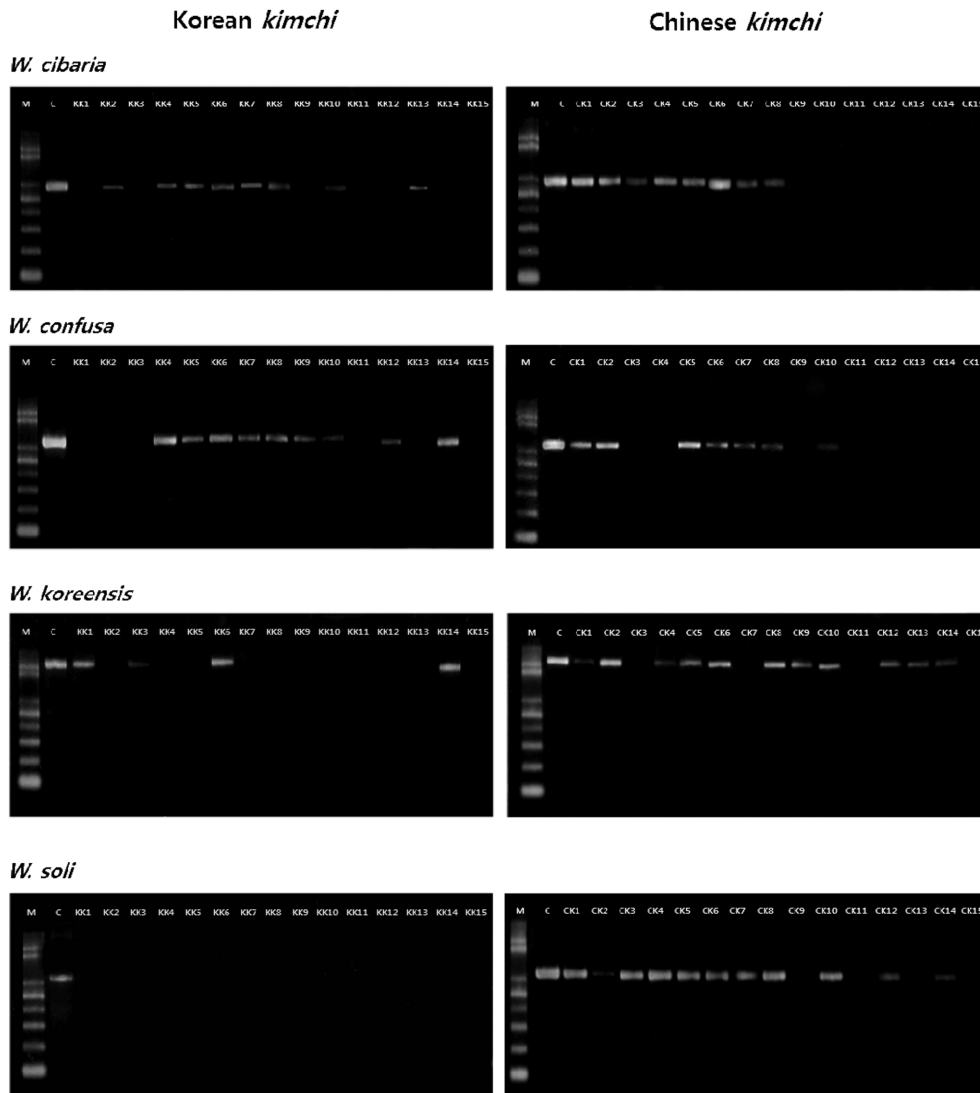


Fig. 3. Detection of *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. koreensis*, and *W. soli* from the DNA extracted from Korean and Chinese kimchi samples. Korean and Chinese kimchi samples are represented as KK and CK, respectively. C is the positive control.

*W. soli*는 검출되지 않았다. 중국산 김치에서는 *W. cibaria*가 8종, *W. confusa*는 7종, *W. koreensis*는 11종, *W. soli*는 11종의 김치로부터 검출되었다(Fig. 3). *W. cibaria*와 *W. confusa*는 7종 이상의 한국산 및 중국산 김치로부터 검출되었고, *W. koreensis*와 *W. soli*는 중국산 김치에서 빈번하게 검출되었다. 한국산 김치보다 다수의 중국산 김치에서 검출된 *W. koreensis*와 *W. soli*는 발효 초기의 한국산 김치에서는 상대적으로 적은 양이 존재하거나 존재하지 않는 것으로 나타났다.

검출방법에 따른 Weissella 속 유산균의 검출 비교

Table 3에는 배양법을 이용하여 미생물을 검출한 선행연구의 결과와 시료로부터 추출한 DNA에 존재하는 특정 미생물의 DNA를 PCR로 검출하는 배양 비의존적 방법의 적용 결

과를 정리하였다[8]. 배양법을 통하여 발효 초기 한국산 및 중국산 김치의 bacteria 다양성을 평가한 선행연구에서는 *W. confusa*가 한국산 김치에서만 검출되었지만, 추출한 DNA를 이용하는 PCR 검출법을 적용한 경우 중국산 김치에서도 검출되었고, 김치시료 별 *Weissella* 속 4종 균주의 PCR 검출 결과가 배양법을 적용한 결과와 다소 차이가 있는 것으로 나타났다. 배양법과 배양 비의존적 방법의 결과가 일치하는 확률은 한국산 김치의 경우 *W. cibaria* 60%, *W. confusa* 80%, *W. koreensis* 67%, *W. soli* 100%로 나타났고, 중국산 김치의 경우 *W. cibaria* 80%, *W. confusa* 53%, *W. koreensis* 47%, *W. soli* 33%의 일치율을 보였다. 중국산 김치보다는 한국산 김치의 분석 결과가 높은 일치율을 보인 점은 선행연구에서 중국산 김치의 미생물상이 한국산에 비해 다양한 것으로 분석

Table 3. Detection of *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. koreensis*, and *W. soli* in Korean and Chinese kimchi samples by culture-dependent and culture-independent methods.

Sample	Korean kimchi								Chinese kimchi							
	<i>W. cibaria</i>		<i>W. confusa</i>		<i>W. koreensis</i>		<i>W. soli</i>		<i>W. cibaria</i>		<i>W. confusa</i>		<i>W. koreensis</i>		<i>W. soli</i>	
	16S rDNA	PCR	16S rDNA	PCR	16S rDNA	PCR	16S rDNA	PCR	16S rDNA	PCR	16S rDNA	PCR	16S rDNA	PCR	16S rDNA	PCR
1					○	○			○	○			○	○		○
2		○			○				○	○			○	○		○
3	○						○			○						○
4	○	○	○	○	○				○	○				○		○
5	○	○	○	○					○	○			○	○	○	○
6	○	○		○			○		○	○			○	○		○
7		○	○	○					○	○						○
8	○	○	○	○					○	○			○	○	○	○
9	○		○	○					○				○	○	○	
10	○	○	○	○									○	○	○	○
11	○		○										○			
12	○		○	○										○		○
13	○	○	○		○								○	○		
14			○	○	○	○								○		○
15																
Total	10	8	10	9	5	4			7	8	7	5	11	3	11	

The isolated bacteria by culture-dependent method were identified by 16S rDNA sequence analysis and species-specific PCR amplification was applied to detect each species by culture-independent method.

된 결과와 관련이 있는 것으로 한국산 김치의 미생물상이 중국산에 비해 안정적인 것으로 추정된다[8]. 이러한 불일치는 기존의 미생물 군집분석 연구에서 지적되었던 문제점으로 본 연구에서 새롭게 나타난 결과는 아니다[5]. 미생물은 배양에 사용한 배지에 따라 선택적으로 성장하여 전체 군집에서 차지하는 비중이 다소 높게 평가되지만 실제로 전체 군집에서 차지하는 비중이 상대적으로 적어 PCR 증폭이 일어나지 않기도 한다. 뿐만 아니라 시료로부터 DNA를 추출하는 과정과 PCR 과정에서 특정 미생물의 존재가 축소될 가능성도 적지 않다. 또한 배양법을 적용한 경우에는 시료를 채취한 시점의 생균수가 결과로 나타나지만, 시료로부터 DNA를 추출하여 군집 내의 특정 미생물의 DNA를 검출하는 배양 비의존적 방법을 채택하는 경우, 사균(dead cell)의 DNA가 미생물 군집의 해석에 영향을 주게 되어 서로 다른 결과가 나타나게 된다. 따라서 배양 비의존적 방법에 의한 특정 미생물의 검출은 미생물의 상태에 관계 없이 그 미생물의 존재 여부를 결정하게 된다.

실험법에 관계 없이 한국산 김치로부터는 *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. koreensis*가 검출되었지만, *W. soli*는 검출되지 않았다. 한편 중국산 김치로부터는 PCR 검출법의 적용에 의해 배양법에 의하여 검출되지 않았던 *W. confusa*가 검출되

었을 뿐만 아니라, 배양법을 적용하였을 경우 15개 시료 중 3개 시료에서 검출되었던 *W. soli*가 11개 시료로부터 검출되어 73% 확률로 검출빈도가 높아졌다. 따라서 PCR 검출법의 적용으로 *W. confusa*는 김치의 원산지 판별을 위한 검출 대상이 되지 못하는 것으로 나타났지만, *W. soli*의 검출에 대한 신뢰도는 높아진 것으로 사료된다. *W. soli* 표준균주는 토양으로부터 분리되었고[9], 지금까지 김치에서 분리된 바 없으며, 양배추나 당근의 뿌리, 사료용 풀 등에서 검출되었다[15]. 중국산에서만 *W. soli*의 검출이 확인된 것은 *W. soli*가 김치 발효에 관여하는 유산균이라기 보다는 토양으로부터 유래되어 잔존하는 것으로 추측되며 본 연구자들이 예상한 바와 같이 원재료의 재배 산지가 미생물 검출의 차이로 나타난 것으로 추측할 수 있다.

본 연구에서 수행한 특정 미생물의 특이적 검출을 이용한 중국산 김치의 판별은 지표미생물의 선정 과정에서 중국으로부터 수입된 배추와 부채료를 사용한 경우 및 소금에 절여 수입된 절임배추로 한국에서 제조한 김치에 대한 고려가 없었다는 점과 *W. soli*가 모든 중국산 김치시료로부터 검출되지 않는다는 점에서 한계점을 가지고 있지만, 미생물 군집의 차이를 이용한 새로운 과학적 검증법이 제시되어 그 가능성이 검토되었다는 점에서 의의를 가지고 있다.

요 약

Weissella 속 유산균 검출의 차이를 이용한 한국산 및 중국산 김치 판별의 가능성 검토를 위하여 *Weissella* 속 9종 균주의 PCR 검출법을 개발하였다. 종(species) 수준에서의 *Weissella* 속 균주의 특이적 PCR 검출을 위한 primer는 *recN* 유전자의 염기서열을 이용하여 선정하였으며, 김치로부터 *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. koreensis*, *W. soli*를 모두 검출하기 위해서는 20 ng template DNA가 필요한 것으로 나타났다. 한국산 김치시료로부터는 *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. koreensis*가 높은 빈도로 검출되었지만, *W. soli*는 검출되지 않았다. 한편 중국산 김치시료로부터는 이들 4종의 *Weissella* 속 균주들이 모두 검출되었다. 본 연구자들이 개발한 *W. soli* 특이적 PCR 검출은 현시점에서 중국산 김치의 원산지 판별법으로 적용되기에는 한계점을 가지고 있지만, 미생물 군집의 차이를 이용한 새로운 과학적 검증법이 제시되어 그 가능성이 검토되었다는 점에서 의의를 가지고 있다.

Acknowledgment

This work was supported by the 2009 grant from the Ministry for Food, Agriculture, Forestry, and Fisheries (#109175-2).

REFERENCES

- Arahal, D. R., E. Sanchez, M. C. Macian, and E. Garay. 2008. Value of *recN* sequences for species identification and as a phylogenetic marker within the family "Leuconostocaceae". *Int. Microbiol.* **11**: 33-39.
- Berthier, F. and S. D. Ehrlich. 1998. Rapid species identification within two groups of closely related lactobacilli using PCR primers that target the 16S/23S rRNA spacer region. *FEMS Microbiol. Lett.* **161**: 97-106.
- Cho, J., D. Lee, C. Yang, J. Jeon, J. Kim, and H. Han. 2006. Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol. Lett.* **257**: 262-267.
- Dauga, C. 2002. Evolution of the *gyrB* gene and the molecular phylogeny of *Enterobacteriaceae*: a model molecule for molecular systematic studies. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**: 531-547.
- Forney, L. J., X. Zhou, and C. J. Brown. 2004. Molecular microbial ecology: land of the one-eyed king. *Curr. Opin. Microbiol.* **7**: 210-220.
- Kim, M. and J. Chun. 2005. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *Int. J. Food Microbiol.* **103**: 91-96.
- Lee, J.-S., G.-Y. Heo, J. W. Lee, Y.-J. Oh, J. A. Park, Y.-H. Park, Y.-R. Pyun, and J. S. Ahn. 2005. Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.* **102**: 143-150.
- Lee, M., K. H. Cho, E. S. Han, and J.-H. Lee. 2010. Bacterial diversity in the initial fermentation stage of Korean and Chinese kimchi. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **38**: 207-215.
- Magnusson, J., H. Jonsson, J. Schnurer, and S. Roos. 2002. *Weissella soli* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**: 831-834.
- Mollet, C., M. Drancourt, and D. Raoult. 1997. *rpoB* sequence analysis as a novel basis for bacterial identification. *Mol. Microbiol.* **26**: 1005-1011.
- Park, J. A., G.-Y. Heo, J. S. Lee, Y. J. Oh, B. Y. Kim, T. I. Mheen, C. K. Kim, and J. S. Ahn. 2003. Change of microbial communities in kimchi fermentation at low temperature. *Korean J. Microbiol.* **39**: 45-50.
- Roggenkamp, A. 2007. Phylogenetic analysis of enteric species of the family Enterobacteriaceae using the *oriC*-locus. *Syst. Appl. Microbiol.* **30**: 180-188.
- Shim, S. and J.-H. Lee. 2008. PCR-based detection of lactic acid bacteria in Korean fermented vegetables with *recA* gene targeted species-specific primers. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 96-100.
- Torriani, S., G. E. Felis, and F. Dellaglio. 2001. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus* and *L. paraplantarum* by *recA* gene sequence analysis and multiplex PCR assay with *recA* gene-derived primer. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 3450-3454.
- Yang, J., Y. Cao, Y. Cai, and F. Terada. 2010. Natural populations of lactic acid bacteria isolated from vegetable residues and silage fermentation. *J. Dairy Sci.* **93**: 3136-3145.
- Zeigler, D. R. 2005. Application of a *recN* sequence similarity analysis to the identification of species within the bacterial genus *Geobacillus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **55**: 1171-1179.