

PD1) ITS library를 통한 황사 및 비황사시 대기입자상 물질 중 곰팡이 군집특성

Composition of Airborne Fungal Community during Asian dust and Non Asian dust Day with ITS(Internal Transcribed Spacer) Clone Library

전은미 · 이준복 · 김흥주 · 김영호 · 이광식 · 안경수 · 김주형 · 정 권
서울특별시 보건환경연구원

1. 서 론

최근 연구에 의하면 곰팡이 포자 및 다른 생물학적 입자들이 도시환경 전체 에어로졸 입자 질량의 상당부분을 차지하고 있으며 평균적으로 대륙경계층대기(continental boundary air)중에 곰팡이 포자의 숫자와 농도는 $10^3 \sim 10^4/m^3$, $1 \mu g/m^3$ 으로 알려져 있다(Nowoisky et al., 2009).

한편 사막먼지가 대륙 이동할 시에 다양한 곰팡이가 이동되며(Griffin, 2007) 황사시 서울 대기중 곰팡이 농도가 증가한다고 보고되었다(Yeo and Kim, 2002). 곰팡이포자의 이동매체가 공기이며, 특히 이들 중 일부 곰팡이는 사람, 동물, 식물에게 병원성이거나 allergen인 것이 있다. 이렇게 대기 곰팡이가 건강 유해 가능성이 있음에도 불구하고 몇몇 이들에 관한 연구는 밀도에 관한 연구(Yeo and Kim, 2002)만이 있을 뿐이다. 하지만 대기 곰팡이 유해가능성을 평가하기 위해서는 단지 밀도뿐만 아니라 종에 대한 정보가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 최근 분자생물학적 기법을 이용하여 대기 중 곰팡이 황사시 및 비황사시 대기 곰팡이의 구성종을 파악하고 비교하였다.

2. 연구 방법

본 연구는 2008년 5월 21일(비황사일), 5월 30일(황사일)에 TSP(Total suspended particles)를 high volume air sampler로 포집하였다. 포집시간은 4시간이었으며 여지는 poretics polyester membrane filter(GE, USA)를 사용하였다. 입자상물질을 포집후에는 50 mm 직경 원으로 자른후에 sterilized petri dish에 각각 넣은 후 DNA 분석전까지 $-20^{\circ}C$ 에 보관하였다. DNA 추출은 먼저 filter를 sorbitol based buffer로 입자상물질을 추출후에 Proteinase K로 처리하였으며 처리된 용액을 Mobio Ultra cleansoil DNA kit TM(USA)로 곰팡이 DNA를 추출하였다. ITS1과 ITS4 primer 을 사용하여 각각 ITS clone library를 작성하였다. 평일시에 45개, 황사시에는 105개를 sequencing하였다. sequencing한 자료는 MOTHUR를 사용하여 OTUs(operational taxonomic unit)로 나눈 후에 각 OTUs의 sequence로 NCBI (national center for biotechnology information)에서 blast를 통하여 가장 가까운 Genbank relatives를 구하였다.

3. 결과 및 고찰

표 1은 Asian dust와 normal day에 입자상물질에서 검출된 fungi을 정리한 결과이다. ADF(Asian dust fungi) library 및 NDF(normal day fungi) library 모두 *Ascomycota*가 90%, *Basidiomycota* 10% 정도 차지하였다. 황사시 및 비황사시 다수를 차지하는 종들은 둘 다 *Acremonium strictum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata*로 동일하다. 하지만 5종의 주요 곰팡이를 제외하고는 두 library 구성에 큰 차이를 보여주었다.

ADF(Asian dust fungi) library 결과를 African dust 연구결과와 비교하였을 때 *Acremonium strictum* 등 대부분은 검출된 것이지만 *Mycosphaerella genera*, *Pezizales genera*은 처음으로 검출되었다.

NDF(normal day fungi) library의 경우 기존의 연구와 비교하여 볼 때, *Lachnum genera* 및 *Trichothecium roseum*, *Blumeria graminis*는 배양에 의해서는 보고되지 않았던 종이었으나 본 연구의

분자생물학 방법으로 검출되었다.

이번 연구결과, allergy와 연관성을 보여주는 곰팡이 속은 황사시 및 비황사시 모두 존재하는 것으로 나타났으며, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Trichothecium*, *Epicoccum*가 이에 해당된다. 대기에서 많이 검출되고 있는 이들 곰팡이 포자는 알레르기성 비염 및 천식의 중요한 원인으로 알려져 있다. *Acronium strictum*은 초원 및 경작지 토양에 많이 보고되며 대기 중에 넓게 분포하며 면역저하환자(immunocompromised)에게는 기회감염을 일으키며 옥수수의 병원균으로 알려져 있다.

위와 같이 황사 및 비황사시 대기 곰팡이는 천식과 알러지를 악화시킬 수 있는 여러 종의 곰팡이들이 존재하는 것으로 확인되었으며 이들에 관한 지속적인 모니터링이 요구된다. 이들의 건강유해성을 평가하기 위해서는 앞으로 밀도에 관한 조사뿐만 아니라 다양한 분자생물학적 기법들을 이용하여 대기 곰팡이의 정성, 정량, 분포등을 조사하는 것이 필요하다.

Table 1. List of the fungi species, defined by the ITS encoding gene, the most closely match with the sequence isolated from particulate matter during Asian dust and a normal day.

Closest relative fungi in GenBank	NCBI Accession Number	% DNA identity	Composition rate(%)	
			ADF	NDF
<i>Acronium strictum</i>	AY138846	99.8	48	47
<i>Cladosproium Cladosporioides</i>	AY213640	100.0	15	7
<i>Alternaria alternata</i>	GQ249171	100.0	10	4
<i>Mycosphaerella berberidis</i>	EU167603	98.5	5	2
<i>Epicoccum nigrum</i>	AB369423	99.1	3	4
<i>Botrytis fabae</i>	EU563125	99.4	2	
<i>Teratosphaeria bellula</i>	EU767860	92.1	2	
<i>Phoma glomerata</i>	AB470828	100.0	1	
<i>Dothideomycetes</i> sp.	GQ153148	94.6	1	
<i>Aureobasidium pullulans</i>	EU272843	99.3	1	
<i>Articulospora tetracladia</i>	EU998918	95.9	1	
<i>Pezizales</i> sp. 11190.2	AJ969618	100.0	1	
<i>Eurotium chevalieri</i>	AY373886	100.0	1	
<i>Lachnum papyraceum</i>	AB267648	99.0		9
<i>Lachnum euterpes</i>	LEU58640	93.4		7
<i>Pithya cupressina</i>	U66009	94.8		2
<i>Trichothecium roseum</i>	EU715649	99.0		1
<i>Blumeria graminis</i>	AB273542	100.0		2

참 고 문 헌

- Griffin, D.W., N. Kubilay, M. Kocak, M.A Gray, T.C. Borden, and E.A. Shinn (2007) Airborne desert dust and aeromicrobiology over the Turkish Mediterranean coastline. Atmospheric Environment, 41, 4050-4062.
- Nowoisky, J.F., Daniel A. Pickersgill, Viviane R. Despres, and Ulrich Poschl (2009) High diversity of fungi in air particulate matter, PNAS, 106, 12814-12819.
- Yeo, H.-G. and J.H. Kim (2002) SPM and fungal spores in the ambient air of west Korea during the Asian dust(Yellow sand) period, Atmospheric Environment, 36, 5437-5442.