

장백 폭포에서 분리한 *Acinetobacter koreensis* sp. nov.의 보고

이하안 · 유용규¹ · 서필수² · 이정숙³ · 이근철³ · 이상섭*

경기대학교 생명공학과, ¹환경산업미생물 및 유전자은행,

²경기대학교 생물자원 특성화 사업단, ³한국생명공학연구원 생물자원센터

JB10과 JB15^T 균주들은 양강도 삼지연군의 북서부에 위치한 백두산에 있는 장백 폭포의 폭포수에서 분리되었다. 그람 음성성의 호기성 균주로서, 약 0.9-1.6×1.5-2.5 μm의 짧은 간균이었다. JB10, JB15^T 균주들과 표준 균주들은 생리·생화학 특성 실험에서 서로 차이점을 보였다. JB10과 JB15^T 균주들의 16S rDNA 염기서열을 분석한 결과 γ -proteobacteria에 속하였으며, *Acinetobacter tandoii* 4N13T (97.3%), *Acinetobacter haemolyticus* ATCC17906^T (97.2%), *Acinetobacter johnsonii* DSM6963^T (97.2%), *Acinetobacter junii* DSM6964^T (96.7%), *Acinetobacter schindleri* LUH5832^T (97.0%) 및 *Acinetobacter ursingii* LUH3792^T (96.6%)와 높은 유사도의 염기서열 상동성을 보여주었다. 그리고 이 외의 표준 균주들과는 93-96%의 염기서열 상동성을 보였다. 균체 지방산 분석 결과 주요 지방산으로 C_{18:1} ω9c와 C_{16:1} ω7c/C_{15:0} iso 2OH를 함유하고 있는 것을 확인하였으며, 흥미롭게도 JB15^T 균주에서 C_{19:1} iso I이 검출되었다. 이상과 같이 생리·생화학적 특성, 16S rDNA 염기서열 분석 결과 및 균체 지방산 분석 결과에서 선별된 JB10과 JB15^T 균주들이 표준 균주들과는 다른 특성을 나타내는 것으로 확인되어 JB10 (=KEMC 52-093)과 JB15^T (=KEMC 52-094^T) 균주들을 *Acinetobacter koreensis* sp. nov.로 동정하였다.

Key words □ 16S rDNA sequence, *Acinetobacter koreensis*, fatty acid

Acinetobacter 속의 균종은 그람 음성이며, 약 0.9-1.6×1.5-2.5 μm의 짧은 간균 형태이다. 호기성 균주로 *Moraxellaceae*과 (科)에 속하며, 토양, 물, 야채, 생선, 우유, 치즈, 사람의 피부와 호흡기관 등에서 광범위하게 나타난다. *Acinetobacter* 속의 균종은 Trypticase Soy Agar (TSA, BBL) 배지에서 테두리가 매끄럽고 흰색을 띠는 원형의 볼록한 콜로니를 형성한다. 포자 형성은 하지 않으며, 비운동성 균주이고, catalase 실험은 양성반응을 보이며, 같은 과(科)에 속해있는 *Moraxella* 속, *Psychrobacter* 속과는 다르게 oxidase 실험에서 음성반응을 보인다. *Acinetobacter* spp.는 일반적으로 15-30°C에서 생장을 하며, 몇몇 균주들은 37°C, 41°C와 44°C 이상의 온도에서 생장이 저해되거나, 생장하지 않는다(5).

Acinetobacter spp.는 임상적 중요성으로 인해 꾸준히 연구되어 왔으며, Juni 등에 의해 처음 알려지게 되었다(10, 13). *Acinetobacter* 속은 Bouvet과 Grimont 등에 의해 12 genome species로 분류되었으며, 그 중 6종만이 *Acinetobacter calcoaceticus*와 *A. baumannii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. lwoffii*로 명명되었다(1, 3). 그 후, *A. radioresistens* 균주가 1988년에(16), *A. ursingii*와 *A. schindleri*가 2001년에 분류·명명되었고(14), *A. baylyi*와 *A. bouvetii*, *A. grimontii*, *A. tjernbergiae*, *A. towneri*, *A. tandoii*, *A. gernerii* 7종이 Emma 등에 의하여(7), *A.*

*parvus*가 Memec 등에 의하여 2003년도에 분류·명명되었다(15).

본 연구에서는 양강도 삼지연군의 북서부에 위치한 백두산에 있는 장백 폭포에서 분리된 균주들 중에서 *Acinetobacter* 속의 신종으로 예상되는 JB10과 JB15^T 균주를 선별하여 이들 균주들의 분류·동정을 수행하였다.

장백폭포의 폭포수 시료를 채취하여 20-30°C에서 Nutrient Broth (NB, Bacto)에서 증식배양을 하여 13균주(JB3, JB5, JB7, JB9, JB10, JB11, JB15, JB17, JB19, JB29, JB37, JB41, JB54)를 순수분리 하였으며, 이들 균주 중 JB10과 JB15 균주를 대표 균주로 선별하였다. 그리고 KCCM (Korean Culture Center of Microorganisms, Korea)과 KCTC (Korean Collection for Type Cultures, Korea)에서 분양받은 *Acinetobacter* 속의 표준균주들을 이용하여 실험을 실시하였다(Table 1).

선별된 균주들의 형태학적 특징은 NB배지에서 배양한 균체를 이용하여 실험을 실시하여 위상차 현미경 (BX50, Olympus, Japan; ×1,000) 하에서 관찰하였다. 관찰결과 그람 음성균으로 판명되었고, 0.9-1.6×1.5-2.5 μm의 짧은 간균이었으며, NB 고체배지 상에서는 테두리가 매끄럽고 흰색을 띠며, 원형의 볼록한 콜로니를 형성하고, NB 0.3% 고체배지에서 비운동성인 것을 확인하였다.

각 균주들의 생리·화학적인 특징은 API 20E와 20NE kit (BioMeriux, France)와 표준법(6, 11)에 준하여 조사하였다. 그 결과 Bergey's Manual에 명시된 *Acinetobacter* 속과 유사한 형태적 특성을 보여주었다(5). *Acinetobacter* 균종은 35-37°C 이상의 온도에서 생장이 저해되지만, 각 종에 따라 저해되는 온도가 다소

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-31-249-9642, Fax: 82-31-251-4721
E-mail: sslee@kyonggi.ac.kr

Table 1. List of *Acinetobacter* type strains and isolated JB strains used in this study

<i>Acinetobacter</i> strains	Strain no.	Accession no.
<i>Acinetobacter baumannii</i>	KCCM40203 ^T (=DSM3007 ^T)	X81664
<i>Acinetobacter baylyi</i>	KCTC12413 ^T (=DSM14961 ^T)	AF509820
<i>Acinetobacter bouvetii</i>	KCTC12414 ^T (=DSM14964 ^T)	AF509827
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	KCCM40204 ^T (=DSM3006 ^T)	X81661
<i>Acinetobacter gerneri</i>	KCTC12415 ^T (=DSM14967 ^T)	AF509829
<i>Acinetobacter grimontii</i>	KCTC12416 ^T (=DSM14968 ^T)	AF509828
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	KCCM40205 ^T (=DSM6962 ^T)	Z93437
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	KCCM40206 ^T (=DSM6963 ^T)	X81663
<i>Acinetobacter junii</i>	KCCM40207 ^T (=DSM6964 ^T)	X81664
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	KCCM40172 ^T (=DSM2403 ^T)	X81665
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	KCTC12411 ^T (=DSM6976 ^T)	X81666
<i>Acinetobacter schindleri</i>	KCTC12409 ^T (=DSM16038 ^T)	AJ278311
<i>Acinetobacter tandoii</i>	KCTC12417 ^T (=DSM14970 ^T)	AF509830
<i>Acinetobacter tjernbergiae</i>	KCTC12418 ^T (=DSM14971 ^T)	AF509825
<i>Acinetobacter townneri</i>	KCTC12419 ^T (=DSM14962 ^T)	AF509823
<i>Acinetobacter ursingii</i>	KCTC12410 ^T (=DSM16037 ^T)	AJ275038
JB10	KEMC52-093 ^T	EF103564
JB15	KEMC52-094 ^T	EF103565

*KCTC: Korean Collection for Type Cultures, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Korea; KCCM: Korean Culture Center of Microorganisms, Korean Federation of Culture Collections (KFCC), Korea; KEMC: Korea Environmental Microorganism Center, Korea.

다르다(5). 장백폭포에서 분리된 JB10과 JB15^T 균주들은 최적 생장온도가 20-30°C이었으며, 두 균주들은 37°C와 41°C에서 생장하였으나, 온도의 영향으로 생장이 다소 저해되었다. 그리고 44°C에서는 생장하지 않았다(Table 2). 각 균주들은 catalase와

oxidase 실험에서는 각각 양성과 음성반응을 보였으며, gelatine을 분해하지 못하였다. JB10과 JB15^T 균주들은 D-glucose와 L-arabinose 등에서 산 형성을 하지 않았다. 그리고 탄소원으로 citrate, sucrose, phenylacetate, malonate, caprate와 malate를 이용

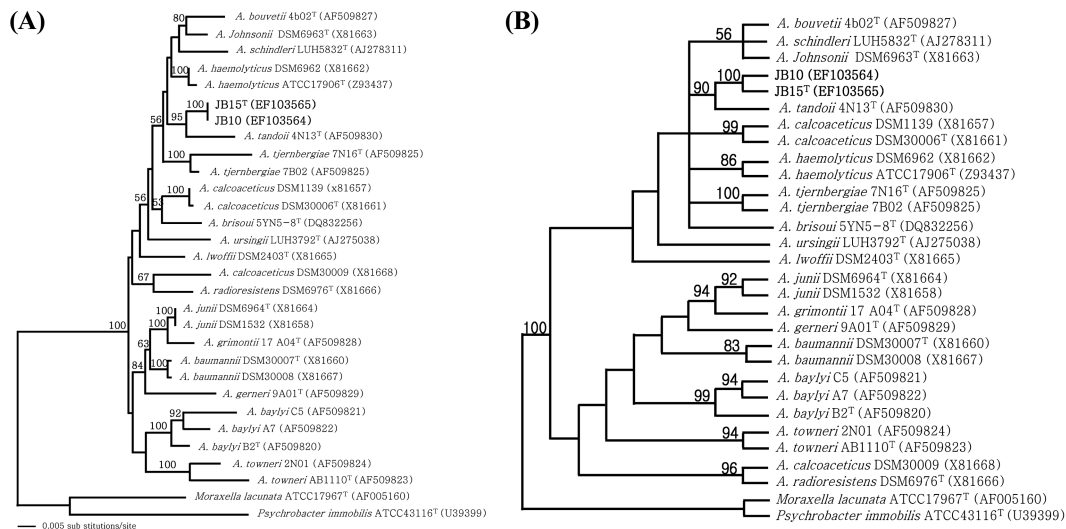


Fig. 1. Phylogenetic tree for 16S rRNA gene nucleotides of genus *Acinetobacter* and newly isolated strains analyzed by the neighbor-joining method (A) and maximum-parsimony (B). Strict consensus of five equally parsimonious tree (B). The genetic distances tree were computed by using Jukes and Cantor model (A). The 16S rRNA sequences of *Psychrobacter immobilis* and *Moraxella lacunata* were included as outgroups. The scale bar indicates a genetic distance of 0.005 substitutions/site (A). The number shown next to each node indicates the percentage bootstrap value of 1000 replicates.

Table 2. Biochemical characteristics of isolated JB strains and *Acinetobacter* type strains

Characteristic	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Motility	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at:																	
37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
41°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
44°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Nitrate reductase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl Red	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Voges Proskauer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urea	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ONPG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PNPG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid production from:																	
D-Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Glucose	-	-	-	-	-	-	+	+	-	v	-	-	-	+	-	-	-
L-Arabinose	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-
L-Rhamnose	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
D-Melibiose	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Hydrolysis of:																	
ESC ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelatine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Assimilation of:																	
L-lysine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Tryptophane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Arginine	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
L-Ornithine	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	v	-	-	-
Phenylalanine	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
L-Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NAG2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GNT3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citrate	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
L-Arabinose	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
D-Mannose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
D-Glucose	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Sucrose	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
Adipate	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-

Table 2. Continued

Characteristic	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Phenylacetate	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
Malonate	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
Caprate	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Malate	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Strains: 1, JB10; 2, JB15^T; 3, *A. junii* DSM6964^T; 4, *A. schindleri* LUH5832^T; 5, *A. townneri* AB1110^T; 6, *A. bouvetii* 4B02^T; 7, *A. radioresistens* DSM6976^T; 8, *A. gernerii* 9A01^T; 9, *A. baylyi* B2^T; 10, *A. calcoaceticus* DSM30006^T; 11, *A. haemolyticus* DSM6962^T; 12, *A. ursingii* LUH3792^T; 13, *A. lwoffii* DSM2403^T; 14, *A. tandoii* 4N13^T; 15, *A. baumannii* DSM30007^T; 16, *A. johnsonii* DSM6963^T; 17, *A. tjernbergiae* 7N16^T. Symbols: +, positive; -, negative; V, variable. Abbreviation: ¹Esc, Esculin ferric citrate; ²NAG, N-acetyl-gluconate; ³GNT, Potassium gluconate.

할 수 있었으며, L-arginine, L-arabinose와 adipate 등을 탄소원으로 이용하지 못하였다. 위의 결과를 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 2 Part B와 참고문헌에 따라 확인한 결과 JB10과 JB15^T는 각각 94%와 98%로 *A. lwoffii* DSM2403^T과 부합되는 생리생화학적 특성을 나타내었다(3, 5, 7, 10, 14, 15).

분리된 균의 16S rDNA 염기서열분석을 위하여 Proteinase K 방법을 이용하여 genomic DNA를 확보하였으며(1), universal primer인 27F와 1492R (13)을 이용하여 PCR 실시 후, 염기서열을 결정하였다. 결정된 JB10과 JB15^T 균주에 대한 16S rDNA 염기서열은 GenBank에 accession no. EF103564와 EF103565로 등록하였다. 염기서열에 대한 상동성 검사는 GenBank의 database에 등록된 정보를 대상으로 수행하였다. 근연한 균속을 확인한 후, *Acinetobacter* 속 내 각 표준 균종과 선별균주들 간의 유사도를 조사하였으며, *Acinetobacter tandoii* 4N13^T (97.3%), *Acinetobacter haemolyticus* ATCC17906^T (97.2%), *Acinetobacter johnsonii* DSM6963^T (97.2%), *Acinetobacter junii* DSM6964^T (96.7%), *Acinetobacter schindleri* LUH5832^T (97.0%)에서 높은 유사도의 염기서열 상동성을 보여주었고, 이외의 표준 균주들과는 94-96%의 염기서열 상동성을 보였다.

계통분석은 표준 균주들과 선별 균주의 16S rDNA 염기서열을 MacClade 4.06 OS 프로그램과 PAUP 4.0 b10 프로그램을 이용하여, Neighbor-joining (NJ)(18), Maximum-likelihood (ML)와 Maximum-parsimony (MP)방법에 의해 계통수를 작성하였다(1, 19). 유전적 거리는 Jukes and Cantor 모델과 Kimura's two-parameter 모델을 이용하여 계산하였으며, outgroup으로는 같은 과(科)에 속하는 *Psychrobacter immobilis* ATCC 43116^T과 *Moraxella lacunata* ATCC17967^T을 이용하였다(3, 4). Branch의 신뢰도(bootstrap 값)는 1,000회의 재구성된 자료로부터 새로운 계통수를 작성하여 계산하였다(3, 4, 8, 9, 19). JB10과 JB15^T 균주들은 NJ와 MP에서 100%의 신뢰도 값으로 한 cluster를 형성하였고, 16S rDNA 유사도 조사에서 가장 높은 상동성을 보인 *A.*

Table 3. 16S rDNA sequence homology (%) between isolated JB strains and the *Acinetobacter* type strains

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1																	
2	99.9																
3	97.2	97.2															
4	94.1	94.1	94.6														
5	95.9	95.9	95.0	93.9													
6	96.1	96.1	95.8	95.0	93.8												
7	94.6	94.6	96.1	94.5	94.4	93.9											
8	97.2	97.2	97.1	94.8	96.3	95.9	94.5										
9	97.2	97.2	96.3	94.3	96.9	95.5	93.5	98.6									
10	96.7	96.7	97.5	95.3	95.4	96.2	96.0	96.9	97.4								
11	96.1	96.1	96.1	95.4	95.4	97.0	94.0	97.5	97.5	97.4							
12	95.7	95.7	96.7	94.6	94.5	97.3	94.8	96.4	96.4	97.5	97.3						
13	97.0	97.0	96.3	93.6	95.7	96.2	94.4	98.0	97.8	96.4	96.1	96.0					
14	97.3	97.3	95.3	94.2	95.0	93.7	93.6	96.2	95.9	97.8	94.3	94.3	95.0				
15	95.1	95.1	94.3	93.5	93.9	92.9	92.4	95.4	95.3	95.3	94.0	93.3	94.3	94.0			
16	94.4	94.4	95.5	94.5	91.8	94.3	92.8	92.9	92.5	92.5	93.4	93.4	92.4	92.3	91.4		
17	96.6	96.6	96.1	95.4	95.3	95.4	93.4	97.1	96.8	96.8	96.8	96.1	95.6	94.7	94.2	93.0	

Strains: 1, JB10; 2, JB15^T; 3, *A. baumannii* DSM30007^T; 4, *A. baylyi* B2^T; 5, *A. bouvetii* 4B02^T; 6, *A. calcoaceticus* DSM30006^T; 7, *A. gernerii* 9A01^T; 8, *A. haemolyticus* DSM6962^T; 9, *A. johnsonii* DSM6963^T; 10, *A. junii* DSM6964^T; 11, *A. lwoffii* DSM2403^T; 12, *A. radioresistens* DSM6976^T; 13, *A. schindleri* LUH5832^T; 14, *A. tandoii* 4N13^T; 15, *A. tjernbergiae* 7N16^T; 16, *A. townneri* AB1110^T; 17, *A. ursingii* LUH3792^T.

tandoii 4N13^T 과 NJ와 MP에서 각각 95%와 90%의 신뢰도 값으로 cluster를 이루었다.

각 균주들은 Trypticase Soy Agar (TSA, BBL) plate에서 24시간 호기배양하여 균주를 확보하였으며, Makula and Finnerty의 방법(11)에 준하여 지방산 추출을 실시하였다. 지방산 추출에 사용된 시약은 모두 Sigma 제품을 사용하였다. 추출된 지방산에 대한 분석은 Gas Chromatography Flame Ionization Detector (GC-FID)(6890 N, Agilent, USA)를 사용하였으며, 분석된 peak는 Sherlock MIS version 4.5를 이용하여 분석하였다(MIDI, Inc., New York, USA)(17). 그 결과 모든 시험 균주에서 C_{18:1} ω9c와 C_{16:1} ω7c/C_{15:0} iso 2OH가 주요 성분으로 나타났으며, 이외에 C_{12:0}, C_{12:0} 3OH, C_{14:0}와 C_{16:0}이 모든 균주에서 검출되었다(Table 4). *A. tandoii* 4N13^T와 16S rDNA 계통수에서 cluster 이루었던 JB10, JB15^T 균주들과 지방산 성분을 비교한 결과 *A. tandoii* 4N13^T에서는 검출된 C_{15:1} iso G와 C_{14:0} 3OH/C_{16:1} iso I는 검출되지 않았으며, *A. tandoii* 4N13^T에서는 검출되지 않은 C_{15:0}과 C_{17:0} iso가 검출되었다. 특히, C_{19:1} iso I의 경우 유일하게 JB15^T 균주에서만 검출되는 특이적인 지방산이었다.

생리생화학적 특성 실험, 16S rDNA를 통한 유사도 분석, 계통분석과 지방산분석 결과를 종합해 본 결과 JB10과 JB15^T 균주들이 신종임을 확인하였으며, 이를 *Acinetobacter koreensis* 로 동정하였다.

Acinetobacter koreensis sp. nov. 의 기재

Acinetobacter koreensis (ko.re.en' sis. N.L. fem. adj. *koreensis* pertaining to Korea, from where to novel micro-organism was isolated.) 균주는 그람 음성균의 균주로서, 0.9-1.6×1.5-2.5 μm 크기의 간균이다. Spore 형성은 하지 않으며, 비운동성이다. 37°C와 41°C에서 생장을 하며, 44°C에서는 생장하지 못한다. 20-30°C 온도일 때 Nutrient Agar와 Trypticase Soy Agar에서 호기배양 시 생육이 활발히 일어나며, 테두리가 매끄럽고 흰색을 띄며, 원형의 불룩한 콜로니를 형성한다. Gelatine은 분해하지 못하며, D-glucose와 L-arabinose 등에서 산 형성을 하지 않는다. 그리고 탄소원으로 citrate, sucrose, phenylacetate, malonate, caprate와 malate를 이용하며, L-lysine, L-tryptophane, L-ornithine, phenylalanine, L-maltose, D-mannitol, D-mannose, L-arginine, L-arabinose와 adipate를 탄소원으로 이용하지 못한다. 그리고 주요 지방산 성분으로 C_{18:1} ω9c와 C_{16:1} ω7c/C_{15:0} iso 2OH가 검출되었으며, 유일하게 C_{19:1} iso I가 검출되었다.

Acinetobacter koreensis sp. JB15^T (=KEMC 52-094^T)는 양강도 삼지연군의 북서부에 위치한 백두산에 있는 장백 폭포수에서 분리되었다.

감사의 글

본 연구는 환경부 차세대 핵심환경기술개발사업과 과학기술부

Table 4. Cellular fatty acid composition (% of total fatty acids) of isolated JB strains and related *Acinetobacter* species

Fatty acid	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
C _{10:0}	0.6	0.6	-	0.2	1.9	-	-	0.7	1.8	1.7	-	0.5	0.8	0.4	0.6	1.6	-
C _{10:0} 2OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	0.8	-
C _{10:0} 3OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-
C _{12:0}	7.4	7.4	4.8	5.9	5.8	5.7	3.5	5.0	9.5	2.8	6.0	8.0	8.4	5.7	11.2	2.6	7.4
C _{12:0} 2OH	2.5	2.0	2.0	2.4	-	1.6	0.6	3.1	1.9	4.4	-	2.2	-	1.8	0.6	2.5	0.9
C _{12:0} 3OH	8.0	6.9	3.6	5.6	5.7	5.7	4.9	6.2	8.9	6.6	4.3	7.2	5.8	5.8	7.6	6.8	3.6
C _{14:1} ω5c	-	0.2	-	-	-	0.1	0.2	0.4	0.4	0.1	-	0.2	-	0.2	-	-	-
C _{14:0}	0.4	0.7	0.5	0.6	0.6	0.7	0.5	0.9	1.5	1.0	2.2	0.5	1.0	0.6	0.9	0.6	-
C _{13:0} 2OH	-	0.1	-	-	-	-	-	0.4	0.3	-	0.9	-	-	0.1	-	-	-
C _{15:0}	0.1	0.2	0.6	-	-	0.2	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-	-
C _{15:1} iso G	-	-	-	-	-	-	0.2	0.5	0.5	-	1.5	-	-	0.4	-	-	-
C _{16:1} ω7c alcohol	0.5	0.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3	-	-	-
C _{16:0} N alcohol	1.4	1.2	-	0.4	0.1	-	-	1.7	-	-	-	-	-	2.6	-	-	0.6
C _{16:0} ω9c	-	-	-	0.8	-	-	-	0.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C _{16:0} ω5c	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	-	-	0.1	-
C _{16:0}	14.8	13.4	17.7	16.1	18.6	13.3	15.1	11.6	14.0	13.5	16.6	11.3	15.7	16.1	14.7	15.2	14.0
C _{16:0} 3OH	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-
C _{17:0} iso	0.2	0.3	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-	-
C _{17:1} ω8c	0.6	1.0	3.8	0.3	0.2	1.7	-	0.8	-	2.3	-	0.5	0.6	0.4	-	0.3	-
C _{17:0}	0.7	0.8	1.8	0.2	-	0.7	-	0.6	-	2.0	-	-	-	0.5	-	0.2	-
C _{17:0} 10 methyl	0.4	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0	-	-	-
C _{18:3} ω6c(6,9,12)	0.9	0.9	-	0.2	-	-	-	1.3	-	-	-	-	-	2.4	-	-	-
C _{18:1} ω9c	23.0	26.7	41.3	39.5	24.0	26.1	50.3	46.2	13.7	36.0	23.7	36.6	21.7	29.1	39.9	35.7	45.2
C _{18:1} ω7c	4.7	5.0	0.9	0.8	5.3	5.8	1.1	0.6	6.3	0.5	5.1	3.9	4.1	4.9	1.3	1.2	-
C _{18:1} ω5c	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-
C _{13:0}	1.1	1.4	0.8	1.0	2.2	1.4	0.9	2.7	0.4	1.3	-	1.2	0.5	2.3	0.3	0.5	2.1
C _{19:1} iso I	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Summed feature																	
C _{14:0} 3OH/C _{16:1} iso I	0.3	0.2	3.8	2.6	-	2.6	1.2	-	0.8	0.2	-	1.9	1.5	0.2	0.5	0.2	4.8
C _{15:1} iso I/C _{13:0} 3OH	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	0.6	-	-	0.1	-	-	-
C _{16:1} ω7c/C _{15:0} iso 2OH	31.7	29.0	17.9	22.3	34.9	33.2	15.3	15.9	38.2	25.9	38.5	24.7	39.3	23.6	21.7	31.0	20.6
C _{18:2} ω6,9c/C _{18:0} ANTE	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
unknown 12.484	0.7	0.7	0.6	0.7	0.6	0.9	0.6	-	1.0	0.6	-	0.9	-	0.6	0.9	0.5	0.8

Strains: 1, JB10; 2, JB15^T; 3, *A. baumannii* DSM30007^T; 4, *A. baylyi* B2^T; 5, *A. bouvetii* 4B02^T; 6, *A. calcoaceticus* DSM30006^T; 7, *A. gernerii* 9A01^T; 8, *A. haemolyticus* DSM6962^T; 9, *A. johnsonii* DSM6963^T; 10, *A. junii* DSM6964^T; 11, *A. lwoffii* DSM2403^T; 12, *A. radioresistens* DSM6976^T; 13, *A. schindleri* LUH5832^T; 14, *A. tandoii* 4N13^T; 15, *A. tjernbergiae* 7N16^T; 16, *A. townneri* AB1110^T; 17, *A. ursingii* LUH3792^T.

기초과학연구사업의 연구비로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Ashraf, I., G.S. Peter, and L. Werner. 1997. Phylogenetic relationship of the twenty-one DNA groups of the genus *Acinetobacter* as revealed by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 47, 837-841.
- Ausubel, F.M. R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J. G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl. 2002. Short Protocols in Molecular Biology 5th ed., p. 2-11, Wiley, USA.
- Bouvet, P.J.M. and P.A.D. Grimont. 1986. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii*

- sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and emended description of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36, 228-240.
4. Bouvet, P.J.M. and S. Jeanjean. 1989. Delineation of new proteolytic genomic species in the genus *Acinetobacter*. *Res. Microbiol.* 140, 291-299
 5. Brenner, D.J., N.R. Krieg, and J.T. Staley. 2005. Bergey's manual of systematic bacteriology 2nd ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Maryland, USA
 6. Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 2001. Microbiology: A Laboratory Manual, 6th ed., Benjamin-Cummings Publishing Company
 7. Emma, L.C., K. Peter, K.C.P. Bharat, G. Volker, and R.J. Seviour. 2003. Seven novel species of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 953-963.
 8. Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies, an approach using the bootstrap. *Evolution.* 39, 783-791.
 9. Juni, E. 1972. Interspecies transformation of *Acinetobacter*: genetic evidence for a ubiquitous genus. *J. Bacteriol.* 47, 837-841.
 10. Loubinoux, J., L. Mihaila-Amrouche, A.L. Fleche, E. Pigne, G. Huchon, P.A.D. Grimont, and A. Bouvet. 2003. Bacteremia caused by *Acinetobacter ursingii*. *J. Clin. Microbiol.* 41, 1337-133.
 11. Makula, R.A. and W.R. Finnerty. 1972. Microbial assimilation of hydrocarbone : cellular distribution of fatty acids. *J. Bacteriol.* 112, 398-407.
 12. MacFaddin, J.F., L. McGrew, A. Heubeck, D. Hartman, and K. Ruppert. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd edition. Lippincott Williams & Wilkins
 13. Misbah, S., H. Hassan, M.Y. Yusof, Y.A. Hanifah, and S. Abubakar. 2005. Genomic species identification of *Acinetobacter* of clinical isolates by 16S rDNA sequencing. *Singapore. Med. J.* 46, 461.
 14. Nemec, A., D.T. Baere, I. Tjernberg, M. Vanechoutte, T.J.K. Reijden, and L. Dijkshoorn. 2001. *Acinetobacter ursingii* sp. nov. and *Acinetobacter schindleri* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 1891-1899.
 15. Nemec, A., L. Dijkshoorn, I. Cleenwerck, T. Baere, D. Janssens, T.J.K. Reijden, P. Jezek, and M. Vanechoutte. 2003. *Acinetobacter parvus* sp. nov., a small-colony-forming species isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 1563-1567
 16. Nishimura, Y., T. Ino, and H. Iizuka. 1988. *Acinetobacter radiorensis* sp. nov. isolated from cotton and soil. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38, 209-211.
 17. Osterhout, G.J., V.H. Shull, and J.D. Dick. 1991. Identification of clinical isolates of Gram-negative nonfermentative bacteria by an automated cellular fatty acid identification system. *J. Clin. Microbiol.* 29, 1822-1830.
 18. Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406-425.
 19. Satoshi, Y. and H. Shigeaki. 1996. Phylogenetic analysis of *Acinetobacter* strains based on the nucleotide sequences of *gyrB* genes and on the amino acid sequences of their products. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 46, 506-511

(Received November 20, 2006/Accepted December 22, 2006)

ABSTRACT : Isolation and Identification of *Acinetobacter koreensis* sp. nov. from Jang-Baek Waterfall
Ha-Yan Lee, Yong-Kyu Yoo¹, Pil-Soo Seo², Jung-Sook Lee³, Keun-Chul Lee³, and Sang-Seob Lee* (Department of Biological Engineering, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea, ¹Korea Environmental Microorganism Center, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea, ²Department of Korea Biological Resource Center, Kyonggi University, Suwon 443-760, Korea, ³Korean Collection for Type Cultures, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, 52 Oeundong, Yusong, Daejeon 305-333, Korea)

Two isolates of genus *Acinetobacter* were obtained from Jang-Baek waterfall in North Korea. Morphological characteristics of the isolated 2 strains were Gram-negative, aerobic and rod shape bacteria. Physiological and biochemical characterization of the isolated 2 strains were some different aspect from those of type strains. 16S rDNA sequence analysis showed that the two isolates shared 99.9% sequence similarity. Strains JB10 and JB15^T were shown to belong to the Gammaproteobacteria and showed the highest levels of sequence similarity to *Acinetobacter tandoii* 4N13^T (97.3%), *Acinetobacter haemolyticus* ATCC17906^T (97.2%), *Acinetobacter johnsonii* DSM6963^T (97.2%), *Acinetobacter junii* DSM6964^T (96.7%), *Acinetobacter schindleri* LUH5832^T (97.0%) and *Acinetobacter ursingii* LUH3792^T (96.6%). The major cellular fatty acid in *Acinetobacter* type strains and isolated strains included C_{18:1} ω9c and C16:1 ω7c/C_{15:0} iso 2OH. Eventhough it was ascertained that the isolated strains were closely related to genus *Acinetobacter*, physiological and biochemical characteristics and the result of the isolated strains 16S rDNA analysis indicate some different aspects from those of type strains of genus *Acinetobacter*. It is considered that the isolated JB10 (= KEMC 52-093) and JB15^T (KEMC 52-094^T) strains be new species of genus *Acinetobacter*. We name it as *Acinetobacter koreensis* sp. nov.