

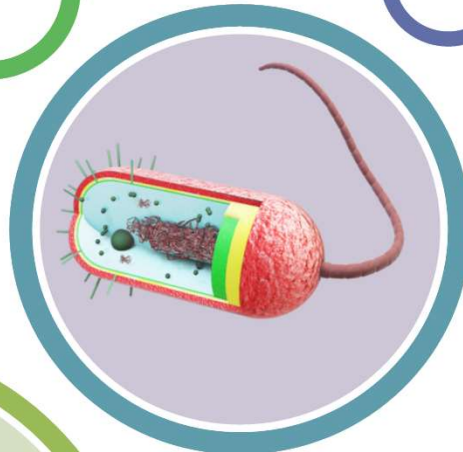
# 분자식물세균병학 실험실

저희 실험실에서는 식물에 영향을 주는 식물병원세균의 생활사를 연구합니다. 현장에서의 채집을 통해 식물병원세균을 확보하고, 식물에 존재하는 식물병원세균을 분리합니다. 그리고 아래의 PCR, Gram staining, KOH test 등을 통해 분리한 식물병원세균에 대한 정보를 얻을 수 있습니다. 이렇게 얻은 정보들은 식물의 세균병 방제법을 개발하는 데 이용됩니다.

PCR



Gram staining



KOH test

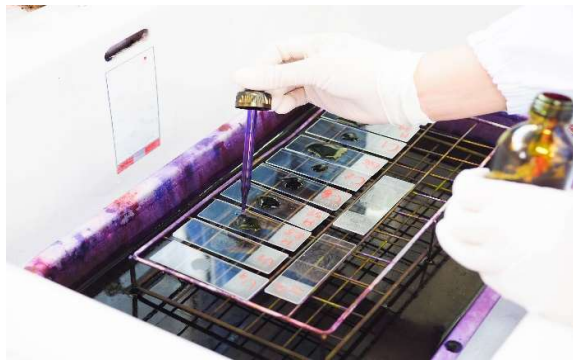


## Gram staining

### 그람염색법

#### 그람염색법이란?

그람염색법은 1884년 덴마크의 의사인 한스 크리스티안 그람이 고안한 특수 염색법입니다. 세균류를 염색하여 크게 둘로 나누는 방법입니다. 대부분의 세균들은 세포벽의 구조에 따라 두 종류로 분류됩니다. 그람 염색법에 의해 보라색으로 염색되는 세균을 그람양성균이라 부르고, 붉은색으로 염색되는 세균을 그람음성균이라 부릅니다.



#### 실험 방법

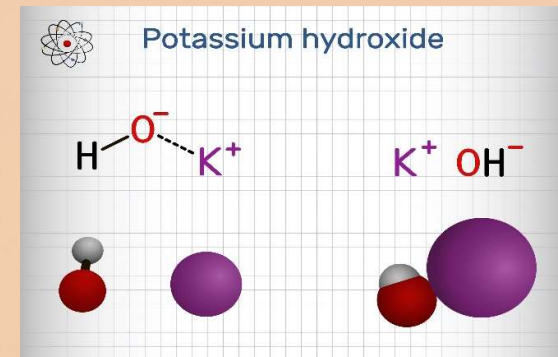
1. 슬라이드글라스에 콜로니(균총)를 올립니다.
2. 크리스탈바이올렛 염색약을 처리합니다.
3. (착색단계) 요오드를 처리합니다.
4. (탈색단계) 95% 에탄올을 처리합니다.
5. (대비염색) 사프란인 염색약을 처리합니다.
6. 결과를 확인합니다.

## 세균 KOH test

### KOH 시험

#### KOH 시험이란?

그람양성균과 그람음성균을 구분하는 비염색적 방법입니다. 3% KOH 실험은 몇 번의 그람염색법을 진행한 후에도 결과가 불분명할 경우, 이 결과를 재확인하기 위해 보조적으로 진행되는 실험입니다.



#### 실험 방법

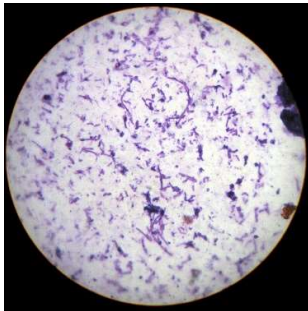
1. 슬라이드글라스에 3% KOH 한방울을 올립니다.
2. 배양한 미생물을 이쑤시개를 이용해 적당량을 취합니다.
3. 이를 3% KOH 용액에 잘 현탁되게 문지릅니다.
4. 1분 대기합니다.
5. 루프를 이용해 점성을 확인합니다.

# 그람염색법

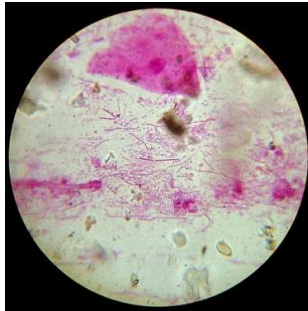
## 실험 원리

그람양성균과 그람음성균의 세포벽 차이를 이용한 염색법입니다. 그람양성균의 세포벽은 여러 층의 펩티도글리칸(peptidoglycan)으로 구성되어 있으나 그람음성균은 한 층의 펩티도글리칸으로 구성되어 있습니다.

그람염색의 첫 단계에서 크리스탈바이올렛과 요오드 용액을 처리하면 서로 반응하여 불용성 복합체를 형성하게 됩니다. 그 뒤 탈색제인 알코올을 처리하면 불용성 복합체가 용해됩니다. 이때 그람양성균은 세포벽이 두껍기 때문에 내부에 침투한 불용성 복합체들이 빠져나가지 못하고 남아있게 됩니다. 반면 그람음성균은 얇은 세포벽으로 불용성 복합체들이 용해됩니다. 따라서 대비염색 시 사프란인으로 인해 분홍색으로 관찰됩니다.



그람양성균



그람음성균

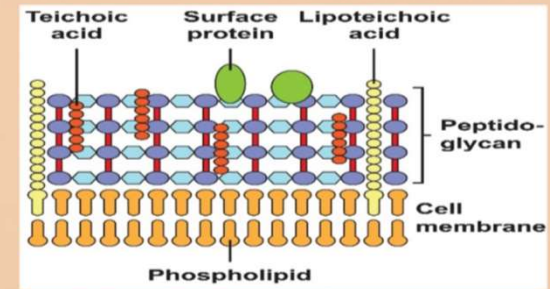
그람양성균은 그람염색법에 의하여 자주색으로 나타납니다. 그람음성균은 그람염색법에 의하여 자주색은 탈색되고 사프란인으로 붉게 염색됩니다.

# 세균 KOH test

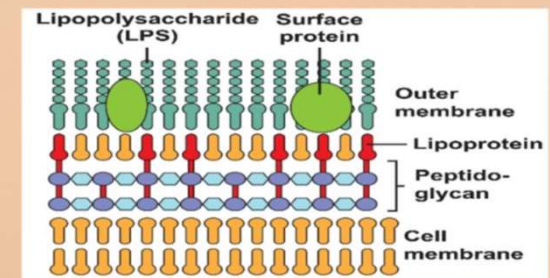
## 실험 원리

그람양성균은 두꺼운 펩티도글리칸층을 지니고 있어 3% KOH 용액을 가해주었을 때 용해되지 않습니다. 반면 그람음성균은 3% KOH 용액에 용해되어 세포 내 구성물들이 방출되는 '스트링(string) 현상'을 관찰할 수 있습니다. 3% KOH 실험은 몇 번의 그람염색법을 진행한 후에도 결과가 불분명할 경우, 이 결과를 재확인하기 위해 보조적으로 진행하는 실험입니다.

미생물 균체를 3% KOH 용액에 1분동안 문질렀을 때 스트링현상이 나타나면 '그람음성'으로 판정하고, 1분이 넘었음에도 스트링현상이 나타나지 않으면 '그람양성'으로 판정합니다.



그람양성세균



그람음성세균