

P46

유기용매 내성균주 *Ps. putida* BCNU 171과 *Micrococcus* sp. BCNU 121에서의 단백질 발현조사를 통한 heat shock 반응과 oxidative stress 반응의 유기용매내성과의 연관성

최승태*, 김순정**, 이지아***, 배기정***, 문자영****, 이호원*****, 주우홍**

Relations between heat shock and oxidative stress to *Ps. putida* BCNU 171 and *Micrococcus* BCNU 121 by protein expression survey

*창원대학교 유전공학연구소, **경남대학교 생명과학부, ***창원대학교 생물학과, ****창원대학교 보건생화학과, *****경남대학교 생물학과

E. coli, *Salmonella typhimurium*에서 heat, H₂O₂, 중금속의 존재, starvation 등에서 오는 다양한 환경 스트레스에 대한 적응 및 방어기작이 많이 연구되고 있다. 최근 이러한 자연의 환경 스트레스 외에 인간의 산업활동에 의하여 배출되는 유해 오염물질도 정상적인 생명활동을 저해하는 스트레스로 작용한다고 보고되고 있다. 주요 환경오염원인 방향족 화합물에 내성을 갖는 유기용매 내성균주는 주로 *Pseudomonas* 속이라는 것이 이미 보고되고 있는데, 최근에는 *Pseudomonas* 속 이외의 균종에서 toluene 내성세균이 발견되고 있으며, benzene 내성세균도 보고되고 있다. 이렇게 분리에 대한 보고가 있음에도 불구하고 방향족 화합물에 대한 내성기작에 대한 연구는 단편적인 수준이다. *Ps. putida*에서 toluene의 LD₅₀ (50% 성장저해)은 5mM 농도이고 supersaturation 농도가 약 6.28mM (580mg l⁻¹)이라고 보고되고 있다. 대부분의 유기용매는 biotoxic하며, 낮은 농도에서 미생물의 성장을 저해하며, 특히 toluene은 매우 유독한 용매이고 0.1%의 농도에서 대부분의 미생물을 사멸시킨다. 그러므로, 자주 toluene은 미생물 배양시 멸균과 세균의 효소측정에서 세포를 용출시키는데 사용되어왔다. 유기용매 내성기작에 있어 세포막의 조성도 중요하지만 세포막 화합물의 생합성도 내성기구에서 중요한 역할을 한다. *Ps. putida* Idoho는 xylene 노출 후 인지질의 합성비율이 증가하였으며, 용매내성

균주 *Ps. putida* 균주는 toluene에 적응하는 동안 지질의 headgroup 즉, diphosphatidylglycerol의 상대적 양이 증가됨이 관찰되었다. 1997년 Ramos는 toluene 내성기작의 하나인 능동적인 efflux를 발견하였으며, 이미 잘 알려진 항생제의 능동적인 efflux에 관계있는 export system과 매우 유사하다고 보고하고 있다. 또한 Hirayama는 이러한 solvent transport에 연관된 유전자가 다른 *Pseudomonas* 균주에도 존재한다고 보고하고 있다. Isken 과 de Bont은 유기용매 내성세균의 생존은 다양한 내성기작의 combination에 의해 이루어지고 있으며, 유기용매 내성균주는 다른 해로운 환경적인 요인에 대하여 강한 내성을 나타내므로, 유기용매 내성기작에 관여하는 다양한 반응체계는 일반적인 스트레스와도 연관되어 있음이 시사되고 있다. 일반적인 스트레스 반응 중 원핵세균에서 가장 많이 연구된 것은 Heat shock이다. 이러한 heat shock 단백질은 중금속, 에탄올, 산화적인 스트레스 등의 다양한 스트레스 요인에 의해서도 유도되며, Chemical pollutant에 의해서도 몇 가지 종류의 heat shock 단백질이 유도 합성된다는 것이 보고되고 있다.

한편 호기성미생물은 호흡활동하는 동안에 물에서 4개의 활성 산소분자 즉, H_2O_2 , superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), singlet oxygen (1O_2), hydroxyl radical (OH^{\cdot})을 방출한다. 이러한 활성 산소들은 지질 과산화물을 생성하여 세포막 지방산과 단백질을 손상시키고 DNA를 손상시킨다. 세균은 산화적인 손상으로부터 세포를 방어하기 위해 여러 항산화 효소를 보유하고 있으며, 이러한 항산화효소의 유도는 저농도의 H_2O_2 처리, 혐기성에서 호기성 조건으로의 전환 등의 조건에서도 확인되고 있다.

본 연구에서는 유기용매 내성 세균인 그람양성 *Micrococcus* sp 121균주와 그람음성 *Pseudomonas* sp. BCNU171을 공시하여 heat shock 반응과 oxidative stress 반응과 유기용매내성의 관련성을 규명하였다.

(본 연구는 한국학술진흥재단 연구비에 의하여 진행되었음. 과제번호: KRF-99-005-D00012)