

## *Bacillus sphaericus* ts-D1290 단백질의 전기영동적 분석

서정희 · 이형환\* · 김영희<sup>1</sup>

건국대학교 이과대학 생물학과, <sup>1</sup> 동의공업전문대학

### Electrophoretic Analysis of Total Proteins in *Bacillus sphaericus* ts-D1290

Suh, Junghee, Hyung-Hoan Lee\*, Younghee Kim<sup>1</sup>

Department of Biology, Kon Kuk University, Seoul 133-701, Korea

*Bacillus sphaericus* ts-D1290 was characterized by SDS-PAGE produced by the mutant at 30°C and 42°C. The total amount of proteins produced by the mutant at 42°C decreased to one-fifth of those at 30°C; however, when the culture was shifted down from 42°C after 4 to 30°C, the total amount of protein decreased to one-third and the 221 kd protein did not appear, but the 155 kd appeared remarkably. When the mutant and the wild type strain were cultured in the media containing 80 µg per ml of chloramphenicol at 42°C, the wild type strain synthesized half amounts of the total proteins than those at 30°C, and the mutant produced one-tenth of the total protein amounts. When the both strains were cultured in the media containing chloramphenicol, the 155 kd protein was produced was produced in lesser amounts than those without chloramphenicol. The 150 kd protein showed lethal activity to *Culex pipiens* 3rd instar larvae.

*Bacillus sphaericus* 는 세포내에 내독소를 생산하는 간균이며, 이 독소결정체는 모기유충을 치사시키는 능력을 가지고 있다(1-4). Tinelli 등(5)과 Davidson(6)은 내독소 단백질의 분자량을 측정하였다. Mendelson과 Gross(7), Andersen과 Ganesan(8), 그리고 Albertini와 Galizzi(9)는 *B. subtilis* 균의 감온성 돌연변이주를 분리하여 그 특성을 연구했고, 그리고 Kim과 Lee(10, 11)는 *B. sphaericus* 균의 돌연변이주를 분리하여 일부 특성을 보고하였다. Kim과 Lee(11)가 보고한 감온성 돌연변이주 중에 감온성 치사돌연변이주인 *B. sphaericus* ts-D1290 균주는 30°C의 허용온도에서는 정상기능을 가지나, 42°C의 제한온도에서는 치사되는 균주이다. 감온성 돌연변이주에서는 제한온도에서 감온성 단백질의 활성이 저해되는 균주로 추정되어 단백질의 합성의 차이점을 연구하여 유전자의 기능을 밝힐 수 있다.

본 연구에서는 *B. sphaericus* ts-D1290 균주의 단백질 생산이 허용온도와 제한온도에서 차이점을 전기영동적으

로 분석을 하였고, 곤충 치사성 단백질을 분리하여 그 기능을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 사용한 균주와 배지

본 연구에 사용한 균주는 *Bacillus sphaericus* 1593 정상형 균주와 돌연변이주인 *B. sphaericus* ts-D1290 이며(11), 건국대학교 생물학과 미생물학교실 보관 중이다. Spizizen glucose minimal(SGM) 배지(12)를 수정하여 사용하였다. 배지의 성분은 다음과 같다. 즉 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.2%, sodium citrate 0.1%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.4%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.6%, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.2%, glucose 0.5%, casein hydrolyzate 6.5%, thiamine 0.25%, biotin 5×10<sup>-6</sup>%, 배지의 pH7.0 이고, 121°C에서 15분간 멸균하여 사용했다.

##### 균주의 온도상승과 하강 배양시의 단백질의 변화

*B. sphaericus* 균주의 온도상승과 하강 배양시의 단백질 정량과 패턴 실험은 SGM 배지에서 배양한 *B.*

Key words: *B. sphaericus* ts mutant

\*Corresponding author

*sphaericus* 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주를 각 4개의 실험구로 하여 허용온도인 30°C와 제한온도인 42°C의 배양 그리고 30°C에서 4시간 배양 후 42°C로 상승배양과, 42°C에서 4시간 배양 후 30°C로 하강 배양하면서 대수증식 말기의 균체를 회수하여 Goldman 등(13)과 Johnson 등(14)의 방법에 준하여 배양액을 원심분리하고 세포를 모아 완충용액으로 현탁한 후 원심분리하여 세척하고, 침전된 세포에 리이소짐을 처리한 후 원심분리하여 얻은 침전물에 1% SDS를 첨가한 다음 원심분리하여 얻은 상층액을 젤 여과하여 시료로 하였다. 단백질의 정량은 Lowry-Folin 법(15)으로 표준단백질의 흡광도를 측정하여 표준곡선을 만들어 사용하였으며, 단백질 함량을 측정하기 위한 표준 단백질로는 0.02% bovine serum albumin 용액을 사용하였고 흡광도는 750 nm에서 측정하였다. 또한 단백질의 패턴은 O'Farrel 법(16)과 Laemmli 법(17)을 절충하여 12.5% SDS-PAGE를 실시하였고, 분자량이 알려져 있는 표준 단백질을 시료와 동일한 조건으로 전기영동하여 표준곡선을 구한 다음 분자량을 측정하였으며, 농도계로 단백질 양상을 분석하였다.

#### Chloramphenicol 첨가배양시의 단백질량의 변화

*B. sphaericus* 균주의 온도변화와 chloramphenicol (Cm) 첨가에 의한 단백질 정량과 패턴의 실험은 Mendelson과 Gross(7)의 방법에 준하여 실시한(6)의 방법으로 세 개의 실험구로 나누어 대수증식 말기의 균체를 Goldman 등(13)과 Johnson 등(14)의 방법에 준하여 단백질을 얻어서 Lowry-Folin 법(15)으로 정량하고 12.5% SDS-PAGE를 실시하여 단백질 패턴을 비교하고 분자량을 측정하였으며, 농도계로 단백질 양상을 분석하였다.

#### 단백질 분획의 독성검정

O'Farrel(16)과 Laemmli(17)의 방법을 사용하여 12.5% SDS-PAGE를 실시하였다. 단백질 밴드 중 분자량 150,000 달톤의 밴드를 염색하지 않고 조각내어 투석 주머니에 넣고 tris-glycine 완충액(pH 8.3)를 채워 70 볼트로 6시간 용출시킨 후(18) 투석 주머니속의 용액에 냉각된 포화(70% w/v) ammonium sulfate 용액을 2배 되게 넣고 4°C에서 16시간 방치한 후 20,000×g에서 15분간 원심분리하여 얻은 침전물에 ammonium sulfate를 제거하기 위해 소량의 증류수를 가하고 4°C에서 16시간씩 3회 증류수에 투석한 후 진공 농축시키고 Lowry-Folin 법(15)으로 정량한 후 모기유충에 대한 생

체검정의 시료로 사용하였다.

독성검정은 멸균된 식염수용액이 50 ml 들어있는 1회 용 종이컵(7π×80 mm)에 500 μg씩 넣고 *Culex pipiens* 3령 유충을 15마리씩 넣은 후 28°C 항온기에서 사육하면서 6시간 간격으로 24시간 동안 치사된 유충수를 조사하였다. 대조군으로는 멸균된 식염수 용액만 넣은 것과 배양조건에 따라 용출한 독성단백질을 동량 넣은 것 등으로 대조군을 설정하여 3회 반복 실시하였다.

## 결 과

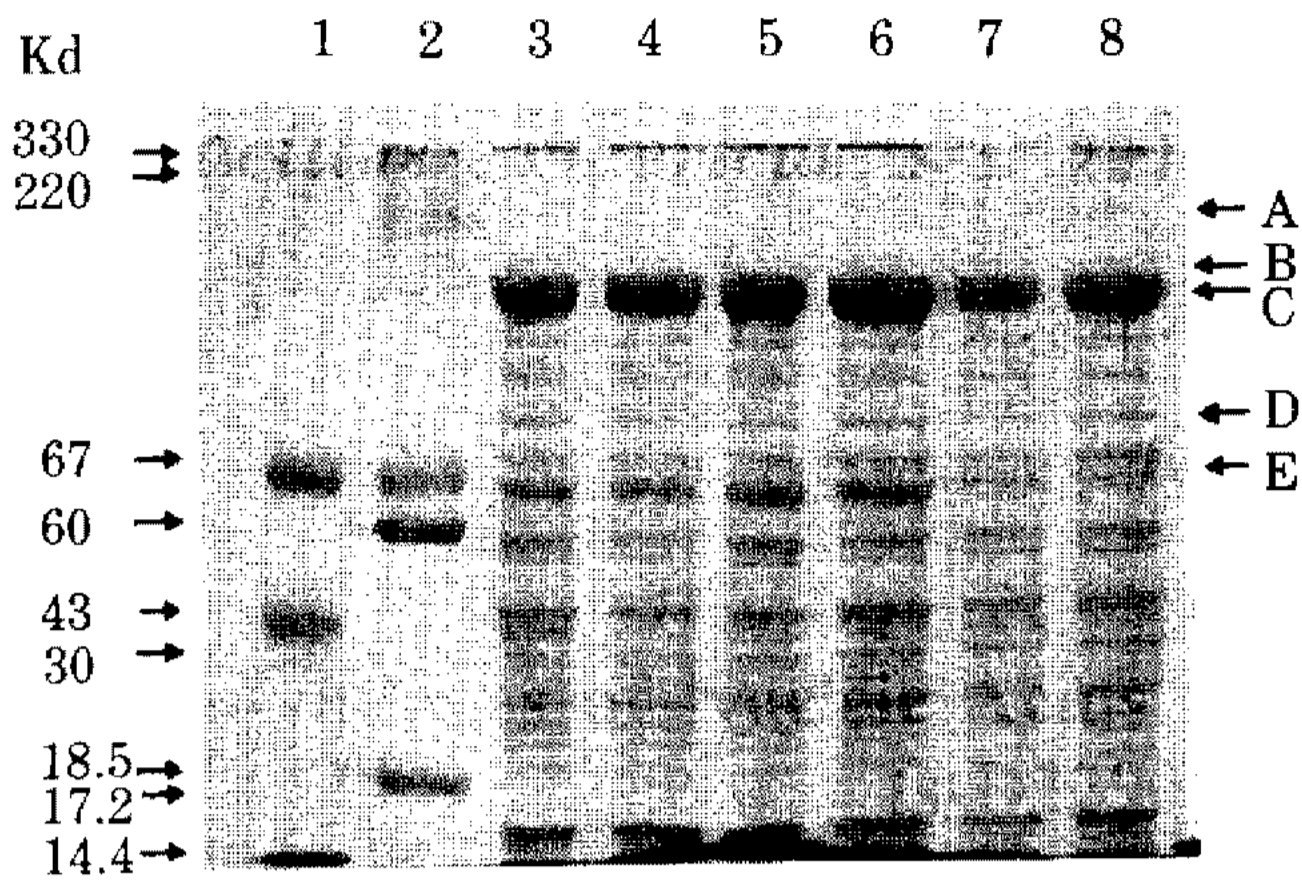
### *B. sphaericus* 1593균주와 ts-D1290 돌연변이주의 온도상승 하강 배양시 단백질 생산에 미치는 영향

*B. sphaericus* 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주를 허용온도인 30°C 배양과 제한온도인 42°C 배양, 30°C에서 4시간 배양 후 42°C로 온도상승 배양 그리고 42°C에서 4시간 배양 후 30°C로 하강 배양하였을 때의 균체의 단백질 함량 측정결과는 Table 1과 같다. 1593 균주의 경우는 30°C, 42°C, 30°C에서 42°C로 상승 배양, 42°C에서 30°C로 하강 배양하였을 때 단백질 함량이 1425 μg/ml에서 1975 μg/ml로 높게 나타났다. ts-D1290 돌연변이주의 경우는 30°C 배양시 함량이 1255 μg/ml로 높았으며, 30°C 배양에서 42°C로 상승 배양하였을 때는 900 μg/ml로 다소 높은 단백질 함량을 나타내었으나 42°C의 배양이나 42°C에서 30°C로 하강 배양하였을 때는 단백질 함량이 매우 낮았으며, 1593 균주에 비하면 단백질 함량의 차가 컸다. 온도상승 배양과 온도하강 배양에 따른 균체의 단백질 구성(Fig.1)을 살펴보면 30°C 배양

**Table 1. Effect of temperature-shifts on the total protein productions of *Bacillus sphaericus* 1593 and ts-D1290**

Strains	Temp. (°C)	Protein productions (μg/ml)
1593	30	1975
	42	1425
	30 → 42	1825
	42 → 30	1524
ts-D1290	30	1255
	42	250
	30 → 42	900
	42 → 30	375

(→) indicates the temperature-shifted cultures.



**Fig. 1. Electrophoretic analysis of the total proteins produced by *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290 when temperature shift-up and shift-down.**

Lanes 1 and 2, low and high molecular weight standards. Lane 3, ts-D1290 culture at 30°C after 4 h at 42°C. Lane 4, 1593 culture at 30°C after 4 h at 42°C. Lane 5, ts-D1290 at 42°C after 4 h at 30°C. Lane 6, 1593 at 42°C after 4 h at 30°C. Lane 7, ts-D1290 at 30°C. Lane 8, 1593 at 30°C. The molecular weights were in kilodaltons. The A to E letters indicate protein bands.

에서는 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주가 유사한 단백질로 구성되었으며, 특히 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주를 30°C에서 배양하거나 30°C에서 배양 후 42°C로 상승 배양하였을 때에는 A (221,000 달톤) 단백질이 적게 나타났으나 ts-D1290 돌연변이주를 42°C에서 전배양 후 30°C로 하강 배양하였을 때에는 A (221,000 달톤) 단백질이 나타나지 않았다. 그리고 두 균주 어느 경우나 B (155,000 달톤) 단백질이 적게 나타났으며, C (150,000 달톤) 단백질은 많이 나타났다. 또한 두 균주 모두 30°C에서 42°C로 상승 배양하거나 42°C에서 30°C로 하강 배양하였을 때는 D (70,000 달톤) 단백질과 E (65,000 달톤) 단백질이 많이 나타났으며, 분자량이 작아질수록 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주의 단백질 구성은 유사하였다.

***B. sphaericus* 1593균주와 ts-D1290 돌연변이주의 단백질생산에 미치는 chloramphenicol 영향**

*B. sphaericus* 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주를 30°C에서 대수증식 배양 후 Cm을 첨가하지 않고 42°C 배양과 80 µg/ml 농도의 Cm을 첨가한 후 30°C와 42°C에서 배양하였을 때의 균체의 단백질 함량 결과는 Table 2와 같다.

1593 균주의 경우 Cm을 첨가하지 않았을 때는 30°C와 42°C의 배양에서 단백질 함량이 높았고 Cm을 첨가

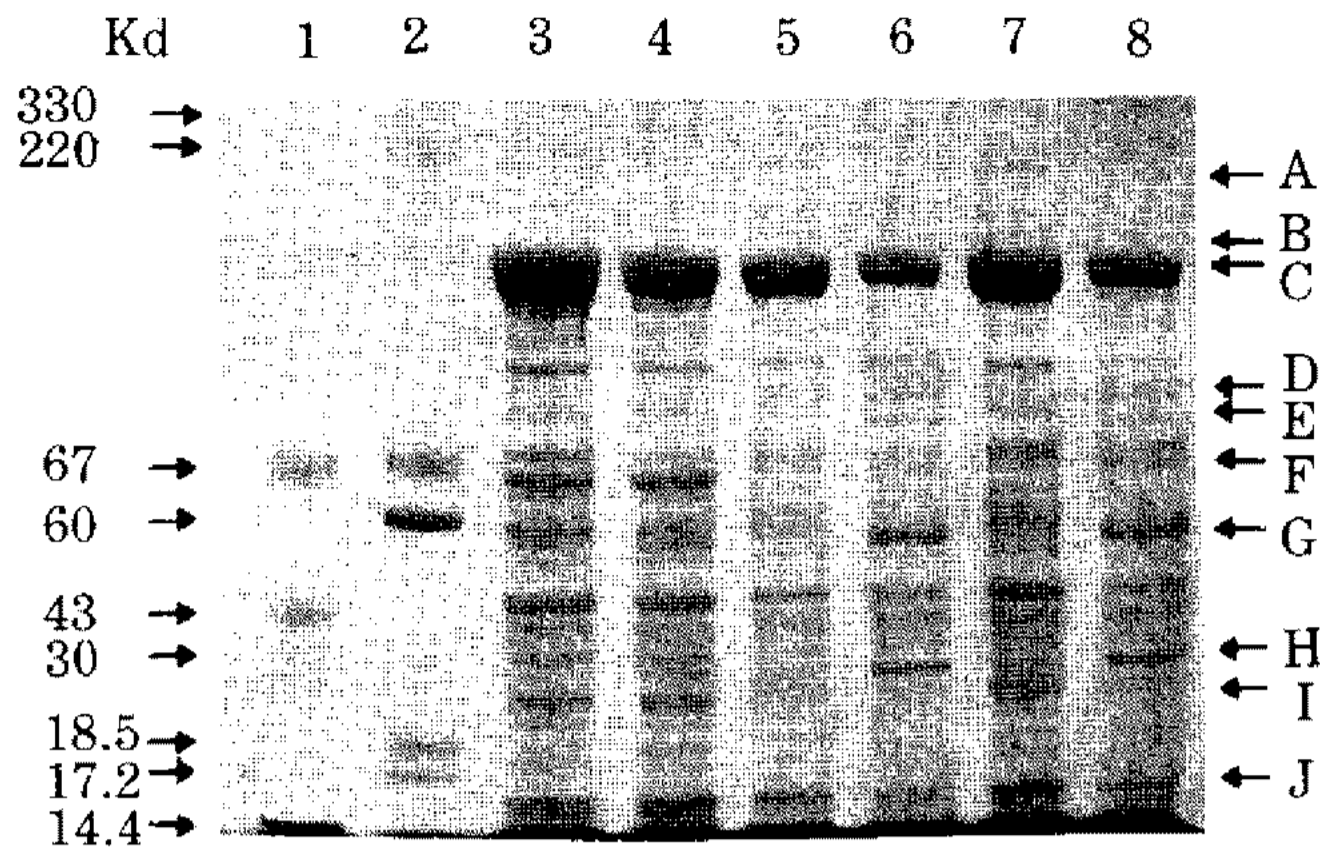
**Table 2. Changes of the total protein productions in the *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290 according to temperature and chloramphenicol treatments.**

Strains	Temp. (°C)	Protein productions (µg/ml)
1593	30	1975
	42	1425
	Cm 30	975
	Cm 42	825
ts-D1290	30	1255
	42	250
	Cm 30	225
	Cm 42	125

Cm: chloramphenicol-treated culture.

하였을 때에는 30°C와 42°C 배양의 단백질 함량은 975 µg/ml과 825 µg/ml으로 다소 낮았다. 그리고 ts-D1290 돌연변이주는 Cm을 첨가하지 않은 30°C 배양에서는 높은 단백질 함량을 나타내었으나 1593 균주와는 달리 Cm을 첨가하지 않은 42°C의 배양이나 Cm을 첨가한 30°C 배양에서는 단백질 함량이 250 µg/ml과 225 µg/ml으로 매우 낮았으며, Cm을 첨가한 42°C 배양은 125 µg/ml으로 단백질 함량이 더욱 낮았다. 80 µg/ml 농도의 Cm을 첨가하였거나 Cm을 첨가하지 않은 30°C와 42°C 배양에서 균체의 단백질 구성 (Fig. 2)을 살펴보면 42°C 배양에서는 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주가 유사한 단백질로 구성되었으나 ts-D1290 돌연변이주의 경우 A (221,000 달톤) 단백질이 나타나지 않았고, 어느 경우나 C (150,000 달톤) 단백질량이 많이 나타났으며 Cm을 첨가하지 않았을 때가 단백질이 더욱 많았다.

1593 균주의 경우 Cm을 첨가하지 않고 42°C에서 배양하였을 때에는 F (65,000 달톤) 단백질이 많이 나타났으나 Cm을 첨가한 30°C와 42°C의 배양에서는 매우 얇게 나타났다. 그리고 Cm을 첨가하지 않았을 때와 Cm을 첨가한 42°C의 배양에서는 I (24,000 달톤) 단백질이 많이 나타났으나 Cm을 첨가한 30°C 배양에서는 단백질이 적게 나타났다. ts-D1290 돌연변이주의 경우도 1593 균주와 마찬가지로 Cm을 첨가하지 않았을 때가 Cm을 첨가하였을 때보다 C (150,000 달톤) 단백질량이 더 많았다. 그러나 1593 균주와는 달리 ts-D1290 돌연변이주에서는 Cm이 첨가되었을 때와 Cm이 첨가되지 않은 42°C 배양에서 A (221,000 달톤) 단백질이 나타나지 않았으며, Cm을 첨가한 30°C나 42°C 배양은 Cm을 첨가하



**Fig. 2. Electrophoretic analysis of the total proteins produced by *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290 after cultured in the Spizizen glucose medium without chloramphenicol.**

Lanes 1 and 2, low and high molecular weight standards. Lane 3, 1593 culture without chloramphenicol (Cm) at 42°C. Lane 4, ts-D1290 culture without Cm at 42°C. Lane 5, 1593 culture with 80 µg/ml of Cm at 30°C. Lane 6, ts-D1290 with Cm 80 µg/ml at 30°C. Lane 7, 1593 culture with Cm 80 µg/ml at 42°C. Lane 8, ts-D1290 with Cm 80 µg/ml at 42°C. The molecular weights were in kilodaltons. The A to J letters indicate protein bands.

지 않은 42°C 배양보다 D(86,000 달톤) 단백질과 E(77,000 달톤) 단백질이 많이 나타났으나 F(65,000 달톤) 단백질은 적게 나타났다. 그리고, 1593 균주의 경우 Cm을 첨가하였을 때에는 G(55,000 달톤) 단백질과 H(29,000 달톤) 단백질이 적게 나타났으나 ts-D1290 돌연변이주에서는 많이 나타났다.

ts-D1290 돌연변이주의 경우 Cm을 첨가하지 않은 42°C 배양에서는 I(24,000 달톤) 단백질이 많이 나타났지만, Cm을 첨가한 30°C나 42°C 배양에서는 단백질이 적게 나타났으며, 30°C에서 Cm을 첨가한 ts-D1290 돌연변이체는 특히 J(15,500 달톤) 단백질이 적게 나타나는 등 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주는 온도와 Cm의 첨가 여부에 의한 단백질 구성에 많은 차이를 나타냈다.

**단백질 분석의 독성검정**

*B. sphaericus* 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주의 추출물질을 *Culex pipiens* 3령 유충에 먹여 살충력을 조사한 결과 Table 3과 같다. *B. sphaericus* 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주의 분자량 150,000 달톤 단백질은 모기유충을 사육 24 시간만에 100% 치사시켰다.

**Table 3. Toxicity of toxic proteins from *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290 against *Culex pipiens* 3rd larvae.**

Strains tested	Culture conditions (°C)	No. of larvae tested	No. of the dead at 12 h	No. of the dead at 24 h
Control	Saline	15	0	1
1593	30	15	15	15
	42	15	15	15
	30 → 42	15	15	15
	42 → 30	15	14	15
	Cm 30	15	14	15
	Cm 42	15	11	15
ts-D1290	30	15	15	15
	42	15	13	15
	30 → 42	15	11	15
	42 → 30	15	7	15
	Cm 30	15	12	15
	Cm 42	15	6	15

( → ) indicates temperature-shifted cultures. Cm indicates chloramphenicol-treated culture.

**고 찰**

*B. sphaericus* 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주는 온도상승과 하강 배양에 의한 균체의 단백질 함량에는 차이가 많았다. 정상균주인 1593 균주는 허용온도인 30°C에서 계속 배양할 때가 제한온도인 42°C에서 배양할 때보다 단백질 함량이 550 µg/ml 많았고, 30°C에서 4시간 배양 후 42°C에서 배양할 때는 42°C에서 4시간 배양 후 30°C에서 배양했을 때보다 단백질 함량이 300 µg/ml 많았다. 그러나 ts-D1290 돌연변이주의 경우는 30°C의 배양이 42°C의 배양보다 약 100 µg/ml 정도 단백질 함량이 많았으며, 30°C에서 배양 후 42°C의 배양은 42°C에서 배양 후 30°C로 하강하여 배양하였을 때보다 약 520 µg/ml 많았다. 이는 돌연변이주는 정상균주보다 허용 온도에서나 제한온도에서 단백질 생성량이 적은 것을 알 수 있다. 특히 돌연변이주는 제한온도인 42°C에서 10시간 배양했을 때 단백질 함량이 250 µg/ml으로 30°C 배양시의 약 1/5로 감소되었는데 이는 접종균의 체적은 증대되지만 세포분열이 왕성히 일어나지 않아 균의 수가 증가하지 못하기 때문으로 생각된다. 또한 chloramphenicol을 배지에 첨가하여 30°C와 42°C에서 배양하였

을 경우 정상균주인 1593 균주는 30°C 배양이 42°C 배양보다 단백질 함량이 150  $\mu\text{g}/\text{m}l$  많았으며, ts-D1290 돌연변이주는 Cm을 첨가하여 42°C에서 배양하였을 때는 Cm을 첨가하지 않고 30°C에서 배양한 대조군보다 단백질 함량이 1/10로 감소되었다. 정상균주나 돌연변이주를 허용온도와 제한온도에서 Cm을 첨가하여 배양하였을 때 균체의 단백질 함량이 다같이 낮게 나타난 것은 mRNA가 리보솜에 부착하는 것을 Cm이 방해하여 번역이 되지 않아 폴리펩티드를 이룰 수 없어 결과적으로 단백질 합성을 못하기 때문으로 생각된다.

온도의 변화와 Cm의 첨가에 따른 균체의 단백질 패턴을 비교해 보면 정상균주인 1593 균주와 ts-D1290 돌연변이주를 30°C에서 계속 배양하였을 때나 30°C에서 4시간 배양 후 42°C로 배양하였을 때는 221,000 달톤 단백질이 나타났으나 ts-D1290 돌연변이주를 42°C에서 4시간 배양 후 30°C로 배양하였을 때는 221,000 달톤 단백질은 나타나지 않았다. 그리고 Cm을 첨가하였을 때도 1593 정상균주는 30°C나 42°C의 배양에서 221,000 달톤 단백질이 나타났으나, ts-D1290 돌연변이주는 42°C의 배양이나 Cm이 첨가된 30°C와 42°C의 배양에는 이 단백질이 나타나지 않았다. 이는 ts-D1290 돌연변이주가 균접종 초기 42°C 배양에서 분자량 221,000 달톤 단백질을 나타내지 않은 것은 Cm보다는 제한온도의 영향이 더 받는 것으로 생각된다. 그리고 분자량 150,000 달톤 단백질은 온도변이와는 관계없이 1593 정상균주와 ts-D1290 두 균주 모두 단백질을 나타냈으나 1593 정상균주가 더 많은 양의 단백질을 나타냈다. 그리고 Cm을 첨가하지 않은 경우가 첨가하였을 때보다 더 많은 양의 단백질을 나타내어 Cm은 150,000 달톤 단백질 합성에 영향을 미치고 있다. 또한 두 균주 모두 70,000 달톤과 65,000 달톤의 단백질은 30°C에서 계속 배양하였을 때보다 30°C에서 42°C로 배양하거나 42°C에서 30°C로 배양하였을 때 더 확실하게 나타났으며, 배지에 Cm이 첨가되었을 경우는 30°C와 42°C의 배양에서 두 균주 모두 단백질이 약하게 나타나 65,000 달톤 단백질은 제한온도와 Cm의 영향을 받는 것으로 생각된다.

ts-D1290 돌연변이주의 경우 Cm이 첨가된 30°C나 42°C에서의 배양은 첨가되지 않은 42°C 배양보다 86,000 달톤과 77,000 달톤 단백질이 많이 나타나 Cm에 의해 억제됨을 보였다. 그리고 1593 정상균주의 경우 Cm이 첨가된 배지에서는 55,000 달톤과 29,000 달톤 단백질이 적게 나타났으나 ts-D1290 돌연변이주는 많은 양의 단백질을 나타내어 정상균주와 돌연변이주 사이의 차이를 나타내었다. 한편 1593 정상균주의 경우 24,000 달톤 단

백질은 Cm의 유무에 무관하게 42°C 배양에서 많은 양의 단백질을 나타내었으며, ts-D1290 돌연변이주는 Cm을 첨가하지 않은 42°C 배양에서 많은 양의 단백질을 나타냈으나 Cm 첨가 후 30°C나 42°C의 배양에서는 단백질이 약하게 나타나 24,000 달톤 단백질은 온도와 Cm에 의해 1593 정상균주와 ts-D1290 돌연변이주 사이의 단백질 구성에 차이를 보였다. 또한 ts-D1290 돌연변이주의 경우 30°C에서 Cm을 첨가하였을 때에는 15,500 달톤 단백질이 약하게 나타나는 등 1593 정상균주와 ts-D1290 돌연변이주에는 온도와 Cm에 의해 단백질 구성상의 많은 차이를 보였다.

1593 정상균주와 ts-D1290 돌연변이주의 세포질 단백질 중 가장 확실하게 나타난 분자량 150,000 달톤 단백질을 용출시켜서 모기유충에 대한 독성을 시험하였다. 독성시험은 1593 정상균주와 ts-D1290 돌연변이주를 30°C와 42°C의 배양이나 30°C에서 42°C로 그리고 42°C에서 30°C로 배양 또한 Cm을 첨가한 후 30°C나 42°C 배양에서 150,000 달톤의 세포질 단백질을 모기유충에 주었을 때 12시간까지는 ts-D1290 돌연변이주의 온도전이에 의한 단백질과 Cm 첨가에 의한 단백질에 의한 치사율이 6%~12%로 낮았지만, 24시간 후에는 여러 조건에서 배양하여 얻은 150,000 달톤의 단백질을 강력한 살충효과(100%)를 나타내어 세포질 독소로 생각되었다.

Myers 등(3)은 *B. sphaericus* 1593 균주의 내독소는 열에 불안정하지만 다른 *B. sphaericus* 균주보다 모기유충에 대해 훨씬 더 강한 살충효과를 갖고 있으며, 150,000 달톤의 분자량을 가지는 단백질이라고 하였다. 그리고 아포에서 분자량 100,000 달톤의 세포질 용해성 내독소를 황산암모늄, 이온교환수지, 전기영동을 이용한 방법으로 정제 분리하였고, *B. sphaericus* 1593 세포를 0.05M NaOH로 처리하여 추출한 독소의 분자량은 35,000~54,000 달톤이라고 하였다(Davidson, 6, 19).

## 요 약

*Bacillus sphaericus* ts-D1290 치사돌연변이주의 특성을 연구하기 위하여 제한온도와 허용온도에서 생산하는 단백질의 차이점을 연구하였고, 모기유충에 치사력을 가진 단백질을 분리하여 모기유충에 치사되는지를 조사하였다. ts-D1290 균주를 42°C에서 배양했을 때는 30°C 배양보다 균체의 단백질 함량이 약 1/5로 감소하였고, 42°C에서 4시간 배양 후 30°C로 배양하였을 때는 약 1/3로 감소하였다. 그리고 단백질의 패턴은 ts-D1290 균주를 42°C에서 전배양 후 30°C로 하강 배양하였을 때는

30°C에서 전배양하여 42°C로 상승배양하였을 때와는 달리 분자량 221kd 단백질이 나타나지 않았지만 분자량 150kd 단백질은 30°C 전 배양하였을 때와 같이 현저하게 나타났다. 두 균주에 80 µg/ml 농도의 chloramphenicol을 첨가하여 42°C에서 배양하였을 때 정상균주는 30°C에서 배양한 대조군보다 단백질 함량이 1/2로 감소하였고, ts-D1290 균주는 30°C에서 배양하였을 때는 첨가하지 않았을 때보다 분자량 150kd 단백질이 약하게 나타났다. ts-D1290 과 정상균주가 생산한 150kd 단백질은 모기유충에 치사성을 나타냈다.

### 감사의 말씀

본 연구는 과학재단의 연구비지원에 의해서 수행되었음.

### 참고문헌

- Davidson, E.W. and S. Singer: *J. Invertebr. Pathol.* **25**, 179 (1975).
- Singer, S.: *Biotechnol. Bioeng.* **22**, 1335 (1980).
- Myers, P. and A.A. Yousten: *Can. J. Microbiol.* **25**, 1227 (1979).
- Myers, P. and A.A. Yousten: *Appl. Environ. Microbiol.* **39**, 1205 (1980).
- Tinelli, R. and C. Bourgoin *Febs Lett.* **142**, 155 (1982).
- Davidson, E.W.: *J. Invertebr. Pathol.* **39**, 6 (1982).
- Mendelson, N.H. and J.D. Gross: *J. Bacteriol.* **94**, 1603 (1967).
- Anderson, J.J. and A.T. Ganesen: *J. Bacteriol.* **121**, 173 (1975).
- Albertini, A.M. and A. Galizzi: *J. Bacteriol.* **124**, 14 (1975).
- Kim, Y.H. and H.H., H.G. Lee: *J. Gen. Eng., Kon Kuk University*, **1**, 15 (1984).
- Kim, Y.H. and H.H. Lee: *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **13**, 41 (1985).
- Spizizen: *J. Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **44**, 1072 (1958).
- Goldman, R.C. and D.J. Tipper: *J. Bacteriol.* **135**, 1091 (1978).
- Johnson, W.C. and D.J. Tipper: *J. Bacteriol.* **146**, 972 (1981).
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr: *Randall. J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- O'Farrel, P.H.: *J. Biol. Chem.* **250**, 4007 (1975).
- Laemnli, U.K.: *Nature.* **227**, 680 (1970).
- Weir, D.M.: *Handbook of experimental immunology.* Blackwell. p.2-5 (1978).
- Davidson, E.W.: *Can. J. Microbiol.* **29**, 271 (1983).

(Received July 31, 1990)