

*Campylobacter jejuni*의 *groEL* 유전자 산물의 대장균에서의 Chaperon 효과

임채일 · 김처경* · 이길재¹

충북대학교 자연과학대학 미생물학과, ¹한국외국원대학교 생물교육학과

*Campylobacter jejuni*에 48°C의 열충격을 30분간 주었을 때, HSP90, HSP66, HSP60의 열충격 단백질들이 합성되었고, 이 단백질들은 각각 *E. coli*의 HSP87, HSP66 (DnaK), HSP58 (GroEL)에 상응하는 단백질들이었다. 여러가지의 제한효소로 처리한 *C. jejuni*의 chromosomal DNA에 *E. coli*의 *groEL* (4.0 kb)을 probe로 사용하여 Southern hybridization한 결과, 이들과 상동성을 가지는 유전자들이 있음을 확인하였다. *C. jejuni*의 *groEL* 유전자를 pWE15 cosmid를 이용하여 recombinant plasmid pLC1을 만들고, 이를 *E. coli* B178 *groEL44* ts mutant에 형질전환시켜 *E. coli* LC1을 얻었다. 이 pLC1에는 *groEL* 유전자가 존재하는 5.7 kb의 insert DNA가 포함되어 있었고, 그로부터 subcloning한 pLC101에는 *groEL*을 포함하는 4.0 kb의 DNA가 삽입되어 있었다. 이 recombinant plasmid들이 형질전환된 *E. coli* LC1과 LC101 균주에서는 *C. jejuni*의 GroEL 단백질이 과다 생산되었다. *C. jejuni*의 *groEL*이 cloning된 *E. coli* LC1은 42°C에서의 성장능력이 회복되었고, λ vir phage에 대한 감수성도 회복되는 등의 chaperon 효과가 입증되었다.

KEY WORDS □ *groEL*, cloning, heat shock proteins, chaperon effect, *Campylobacter jejuni*

생물의 열충격 반응은 온도의 증가 또는 기타 환경요소의 급격한 변화(환경충격)에 노출될 때 일련의 단백질군을 합성하는 동시에(4, 13). 그들 세포를 극한 환경으로부터 보호하는 현상이다. 현재 *E. coli*에서는 20개의 열충격 단백질이 분리 보고되었고(13). 그들 중 DnaK와 GroEL은 모든 생물체에서 공통적으로 발견되는 단백질들이 알려져 있다(25). 이 단백질에 있어서 흥미로운 점은 molecular chaperon으로서의 기능인데, 적절하게 folding되지 못하는 단백질에 강한 친화력으로 3차구조를 형성하는데 도움을 주는 것이다(16). 그 예로서 DnaK는 *E. coli*에서 발현되는 staphylococcal protein A의 재조합 단백질의 분해를 막고 안정화시켜 준다는 보고가 있고(5). 열처리로 불활성화된 RNA polymerase에 작용하여 ATP 가수분해하에서 그들을 재활성시켜 준다는 보고도 있다(20). 또 다른 열충격 단백질의 특성으로서는 GroEL 단백질이 새로이 합성된 재조합 단백질과 일시적으로 결합하여 그들의 assembly 혹은 분비, 그리고 association에 관여한다는 보고가 있다(5).

이와같은 열충격 반응은 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus megaterium*(23), *Clostridium acetobutylicum*(12) 등에서 *dnaK*와 상동성을 가진 유전자들이 분리 보고되었고, *Coxiella burnetii*(22), *Clostridium acetobutylicum*(12), *Synechococcus*(24) 등의 세균에서도 *groE*와 상동성을 가진 유전자가 분리 보고되었다. 또 *Caulobacter crescentus*와 *Vibrio cholerae*에서도 *E. coli*의 열충격 유전자의 consensus sequence와 비슷한 pro-

moter가 발견되었고(3, 15). *E. coli*의 *dnaK* 유전자를 *Agrobacterium tumefaciens*에 전이시켜 열충격 조절계의 기능을 실험한 결과, 두 세포간의 열충격 반응이 비슷할 뿐더러 σ^{32} 와 유사한 σ factor에 의해 조절된다는 것이 확인되었다(10).

*Campylobacter jejuni*의 열충격 반응에 대해서는 본 연구실에서 major heat shock protein으로 HSP90, HSP73 그리고 HSP66이 유도합성된다는 보고를 처음 한 바 있다(7). 48°C의 sublethal 온도에서 합성된 열충격 단백질들에 의하여 51°C 이상의 lethal한 온도에 균체가 노출될 때 내열 특성을 나타낸다는 것도 확인되었다. 또한, *E. coli*의 열충격 유전자인 *groEL*과 *dnaK*를 사용하여 제한효소로 절단한 *Campylobacter jejuni*의 chromosomal DNA에 Southern blotting을 하였을 때 약한 hybridization signal를 나타내는 fragment를 확인하였다(6). 따라서 다른 세균에 비해 최저 성장온도가 높은 *C. jejuni*의 열충격 유전자를 cloning하여 열충격반응을 분자생물학적으로 분석하고 그 산물의 chaperon기능을 연구하는 것은 *C. jejuni*의 열충격반응 뿐 아니라 유전학적 연구에도 큰 도움이 될 것이다.

따라서 본 연구에서는 *C. jejuni*의 열충격 반응과 GroEL 단백질의 특성을 조사하고 *C. jejuni*의 genomic library를 제조하여 *groEL* 유전자를 *E. coli* ts 변이주에서 cloning하였다. 그리고 재조합된 균주에서 *C. jejuni*의 열충격 단백질의 합성 양상과 그 단백질의 chaperon 기능을 연구하였다.

Table 1. Bacterial strains and plasmids used in this study.

Bacteria and plasmids	Characteristics	Source or references
Bacteria		
<i>C. jejuni</i>	Isolate from chicken	Kim <i>et al.</i> (1989)
<i>E. coli</i>		
B178	Parent cell with <i>groEL</i>	Tilly and Georgopoulos (21)
B178 <i>groEL44</i>	Temperature sensitive mutant with <i>groEL</i> ⁻	Tilly and Georgopoulos (21)
LC1	B178 <i>groEL44</i> with pLC1	This study
LC101	B178 <i>groEL44</i> with pLC101	This study
Plasmids		
pWE15	Ap ^r , cosmid vector	
pLC1	Ap ^r , pWE15 containing <i>groEL</i> of <i>C. jejuni</i>	This study
pLC101	Ap ^r , pWE15 containing 4 kb <i>EcoRI</i> fragment of pLC1	This study

재료 및 방법

실험 세균 및 배지

본 실험에 사용한 *Campylobacter jejuni*는 Kim 등 (8)에 의해 자연계 숙주인 닭의 내장으로부터 분리한 균주이다. 순수분리된 *C. jejuni*는 Brucella broth에 7~10%의 수혈용 혈액과 1.5% agar를 첨가한 Brucella blood agar에서 배양하였고 필요에 따라 Brucella agar와 그 위에 Brucella broth를 첨가한 biphasic 배양액에 균체의 현탁액을 접종한 후 42°C의 CO₂ 배양기에서 증식시켰다. 이때 각 배지에는 *Campylobacter* growth supplement와 *Campylobacter* selective supplement(Oxoid Ltd.)를 첨가하였다.

E. coli B178과 *E. coli* B178 *groEL44* 돌연변이주는 Utah대학의 Georgopoulos 박사로부터 분양받았다. 이 균주들은 Luria-Bertani(LB) broth와 LB agar medium에 50 µg/ml의 ampicillin과 17 µg/ml의 tetracycline을 첨가하여 배양하였다. 사용한 각 균주와 plasmid의 기타 특성은 Table 1과 같다.

단백질의 추출 및 전기영동

각 균체의 단백질 시료는 Silhavy 등(19)의 방법에 따라 SDS-sample buffer에 균체를 현탁하여 100°C에서 5분간 끓임으로서 추출하여 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)에 사용하였다. Separating gel로는 10%의 acrylamide slab gel(1.5 mm thick)을, stacking gel로는 4%의 acrylamide gel을 사용하였다. 전기영동이 끝난 후 Coomassie 염색 용액(Eastman Kodak Co.)으로 염색시켰다. 단백질의 분자량은 여러가지 reference 단백질들(MW-SDS-70 kit, Sigma Chemical Co.)을 함께 전기영동 함으로써 결정하였다.

Western hybridization

열충격 단백질에 대한 Western blot은 Sambrook 등(17)의 방법에 따라 transfer buffer(50 mM Tris,

380 mM glycine, 0.1% SDS, 20% methanol)에서 150 mA로 12시간 전개하여 실시하였다. Western hybridization은 ProtoBlot Western Blot AP Systems(Promega Co.)의 지침서에 따라 실시하였다. 1차 항체는 비특이성 antigenic determinant를 가지는 X bacteria의 *groEL*에 대한 monoclonal antibody를 사용하였다. 2차 항체는 alkaline phosphatase로 표지된 항체를 사용하였으며 NBT(*p*-nitro blue tetrazolium)와 BCIP(5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate)로 발색하였다.

DNA 추출 및 제한효소 처리와 전기영동

*Campylobacter jejuni*의 genomic DNA는 Ausubel 등(1)의 방법에 따라 추출하였고 plasmid DNA는 Sambrook 등(17)의 alkaline lysis 방법에 따라 추출하였다. Plasmid DNA에 대한 제한효소 처리, ligation, transformation, 전기영동 등의 기술은 기본적으로 Sambrook 등(17)의 방법을 사용하였다. 제한효소 및 T4 DNA ligase(Promega Co.)의 반응 조건은 제조회사의 지침서에 따라 DNA 농도, 효소 역가 등이 최적이 되도록 조절하였다. 제한효소 처리 후, 각 절편들의 분자량을 측정하기 위한 표준 DNA로는 λ DNA를 *Hind*III, *Eco*RI-*Hind*III로 처리한 절편들을 사용하였다. 전기영동은 0.7~1%의 agarose (Sigma Chemical Co.) gel 과 TAE(40 mM Tris-acetate; 1 mM EDTA) buffer 또는 TBE(45 mM Tris-borate; 1 mM EDTA) buffer를 사용하여 5 V/cm 이하로 실시하였다. 전기영동 후, gel은 0.5 µg/ml의 ethidium bromide 용액에서 20분간 염색하여 UV-transilluminator(305 nm)로 관찰하였고 사진촬영은 UV DNA SLII camera system(Seolin)을 이용하였다.

Genomic library의 제조 및 cloning

Genomic library는 Sambrook 등(17)의 방법에 따라 *C. jejuni*의 genomic DNA를 *Sau*3AI으로 부분 절단시키고 *Bam*HI으로 절단된 cosmid pWE15를

사용하여 ligation 하고 *E. coli* BHB2688과 BHB2690으로 부터 제조된 DNA packaging kit(Boehringer Mannheim GmbH)를 사용하여 Fig. 2에서와 같이 packaging하였다. 숙주 균주로는 *E. coli* B178 groEL44를 사용하여 infection하고 50 µg/ml의 ampicillin을 포함하는 LB배지에 도달한 후, 42°C에서 배양하여 재조합 균주를 선발하였다.

42°C에서의 성장 및 λ phage에 대한 감수성

30°C에서 배양한 *E. coli* B178 groEL44 ts 돌연변이 균주에 pOF39 또는 pWE15을 형질전환시킨 후 plasmid의 존재를 확인하였다. 이들 균주와 함께 *C. jejuni*의 groEL를 포함하는 pLC1으로 재조합된 균주들을 50 µg/ml의 ampicillin이 포함된 LB배지에 도달하여 30°C와 42°C에서 각각 12시간 배양하여 성장 여부를 조사하였다. pOF39, pWE15, 또는 pLC1을 포함하는 *E. coli* groEL44 돌연변이 균주들을 50 µg/ml ampicillin, 0.1% maltose, 10 mM MgSO₄가 포함된 LB 액체배지에서 overnight 배양한 후, 1 ml을 원심분리하여 0.1 ml로 농축한 균체에 5 µl의 λ vir phage(5×10⁵ pfu/ml)를 혼합하여 37°C에서 20분간 감염시켰다. 감염된 균주는 3 ml의 0.7% top agar와 혼합하여 50 µg/ml의 ampicillin이 포함된 LB배지에 pour plating하여 42°C에서 12시간 배양한 후 plaque의 형성여부를 확인하였다.

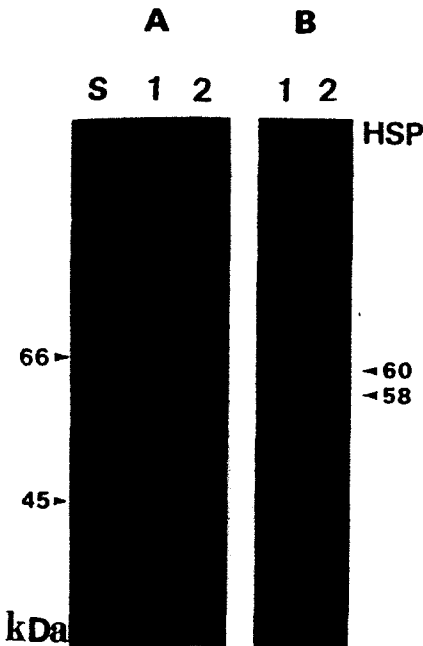


Fig. 1. SDS-PAGE (A) of total proteins and Western blot analysis (B) of the proteins with monoclonal antibody against GroEL. Lane 1, *C. jejuni*; lane 2, *E. coli*; lane S, size marker.

결과 및 고찰

*C. jejuni*의 열충격 단백질

*Campylobacter jejuni*에 42°C의 열충격을 15분 동안 주었을때 HSP90, HSP66, HSP60의 열충격 단백질들이 합성되었다. 이들에 대하여 *E. coli* GroEL 단백질의 항체를 사용하여 Western blot 분석을 한 결과는 Fig. 1과 같다. *C. jejuni*의 HSP60이 강한 반응을 보여줌으로써 이 단백질이 *E. coli*의 GroEL에 해당됨을 확인하였다. 그러나 *E. coli*의 GroEL은 58 kDa였으나 *C. jejuni*의 GroEL은 60 kDa로 분자량에 차이가 있었다. 현재까지 분리보고된 몇 가지 세균들의 GroEL 단백질의 분자량은 크기가 약간씩 차이가 있지만, 모두 4개의 주요 열충격 단백질군으로 구분된다(11, 25). *C. jejuni*의 HSP60은 Western blot으로 분석한 결과, *Helicobacter pylori*(2)에서와 같이 HSP60 단백질군에 해당되었다. 그러므로 *C. jejuni*의 열충격 단백질들은 각각 *E. coli*의 HSP87, HSP66(DnaK), HSP58(GroEL)에 상응하는 단백질이라는 것을 알 수 있었다.

*C. jejuni*의 열충격 유전자의 cloning

*C. jejuni*의 groEL 유전자를 cloning하기 위하여 *E. coli* B178 groEL44 ts 돌연변이 균주를 숙주세포로 사용하였다. 이 돌연변이 균주는 42°C에서 성장하지 못하지만, groEL 유전자를 포함하는 pOF39를 형질전환시키면 GroEL이 합성됨으로써 42°C에서도 성장하게 된다(21). pWE15 cosmid를 돌연변이 균주에

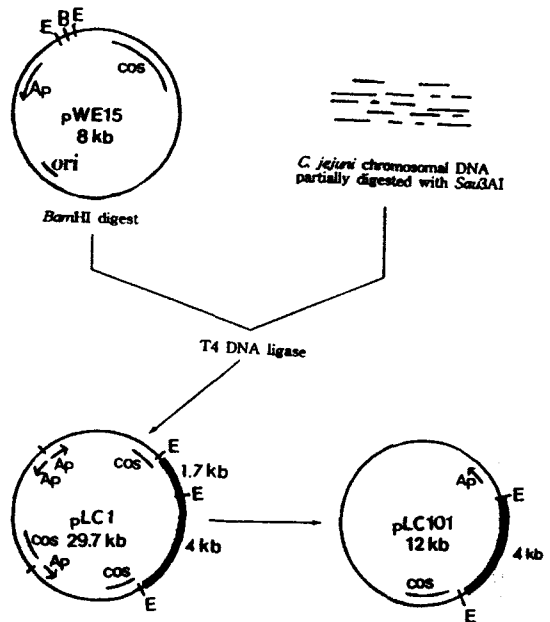


Fig. 2. Construction of recombinant plasmids. E, EcoRI; B, BamHI; Ap, ampicillin.

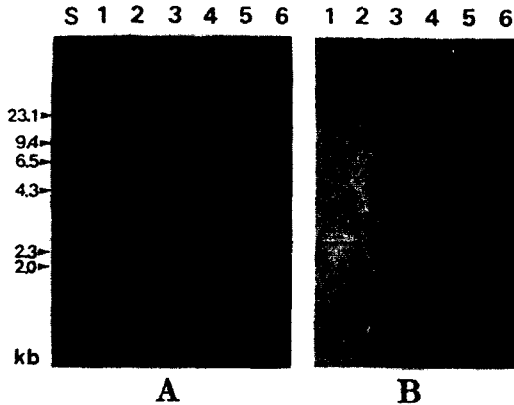


Fig. 3. Electrophoresis (A) of the chromosomal DNAs of *E. coli* (lane 1 and 2) and *C. jejuni* (lane 3 to 6) which were digested with various restriction endonucleases and Southern hybridization (B) of the gel with the *groEL* gene (4.0 kb) in pLC1 as a probe. Lane S. λ HindIII size marker: lane 1, *EcoRI*; lane 2, *PstI*; lane 3, *BamHI*; lane 4, *HindIII*; lane 5, *PstI*; lane 6, *PvuII*.

형질전환하여 얻은 균주들도 42°C에서 성장하지 못함을 확인한 후, 이를 vector로 사용하여 *C. jejuni*의 *groEL* 유전자를 cloning하였다. 이러한 결과를 바탕으로 하여 *C. jejuni*의 chromosomal DNA를 *Sau3* AI으로 부분 절단하고 pWE15를 *BamHI*으로 절단하여 ligation한 후 λ phage에 packaging하여 host에 infection시켰다. *E. coli* HB101에 대한 packaging yield는 ligation된 DNA(μ g)당 약 2×10^6 이었다.

이와 같이 제조한 재조합 plasmid인 pLC1의 제한효소지도는 Fig. 2에서와 같다. Plasmid의 크기는 약 30 kb였으며 약 5.7 kb의 *groEL* 유전자의 절편과 pWE15 vector 3개를 포함하고 있었다. 이 재조합 plasmid로 형질전환된 균주로 *E. coli* LC1을 얻었다.

pLC1의 4.0 kb와 1.7 kb의 *EcoRI* 절편을 DNA probe로 사용하여 여러가지 제한효소로 처리된 *E. coli*와 *C. jejuni*의 chromosomal DNA에 Southern hybridization한 결과는 Fig. 3과 같다. *C. jejuni*에서는 15 kb의 *PstI* 절편(Lane 5), 20 kb의 *PvuII* 절편(lane 6), 그리고 0.9, 1.3, 1.5 kb의 *HindIII* 절편들(lane 4)에서 hybridization signal이 나타났으나, 이 조건의 *E. coli*(lane 1과 2)에서는 hybridization signal이 뚜렷하게 나타나지 않았다. *E. coli*의 anti-GroEL 항체에 의한 *C. jejuni*의 GroEL에 대한 Western blot에서는 강한 반응을 보였지만, *C. jejuni*와 *E. coli*의 *groEL* 유전자 사이의 homology는 전보(6)에서와 같이 낮았다.

pLC1 plasmid에서 *groEL* 유전자를 subcloning한 결과, Fig. 2에서와 같이 4.0 kb의 *EcoRI* 절편을 가진

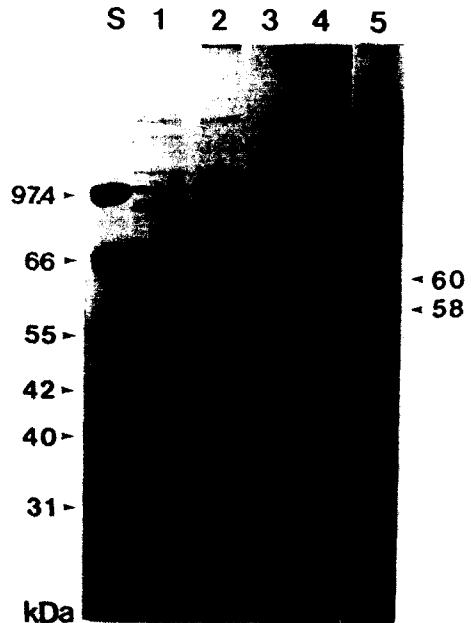


Fig. 4. PAGE of the proteins isolated from *C. jejuni* and *E. coli* containing *groEL* recombinant plasmids. Lane 1, *E. coli groEL44* mutant (42°C); lane 2, *E. coli* LC1 (42°C); lane 3, *E. coli* LC101 (42°C); lane 4, *C. jejuni* (42°C); lane 5, *E. coli groEL44* (pOF39) (30°C).

pLC101을 얻었다(Fig. 2). 현재 보고된 *groEL* 유전자의 크기는 대략 2.0 kb 정도로 알려져 있다(9, 12, 18). 따라서 약 4.0 kb로 subcloning된 *C. jejuni*의 pLC101에 존재하는 *groEL* 유전자는 더 작은 크기로 subcloning할 필요가 있다. 이 hybrid plasmid를 *E. coli* B178 *groEL44*에 형질전환시켜 얻은 재조합 균주들이 열충격에 의하여 합성한 단백질을 SDS-PAGE로 분석한 결과는 Fig. 4와 같다. pOF39로 형질전환된 *E. coli* B178 *groEL* 균주(lane 5)에서는 58 kDa의 열충격 단백질이 합성되었다. 그러나 pLC1 뿐 아니라 pLC101 plasmid로 형질전환된 *E. coli* LC1과 LC101 균주들(lane 2와 3)에서는 60 kDa의 열충격 단백질이 대량 합성되었다.

열충격 단백질의 chaperon 효과

E. coli LC1은 Table 2에서와 같이 42°C에서 잘 성장하였다. *E. coli groEL44* 돌연변이 균주는 30°C에서 성장할 수 있었으나 42°C에서는 성장하지 못하였다. 그러나 pOF39나 pLC1에 존재하는 *GroEL* 유전자가 형질전환체에서 발현될 경우에는 42°C에서 잘 성장하였다. *E. coli groEL44* 돌연변이 균주는 Table 3에서와 같이 λ vir phage에 의해 감염되지 않는데 비해, pOF39의 *groEL*이 재조합된 균주는 λ

Table 2. Growth of the wild-type and transformant cells at 42°C.

Host strains	Host	Transformants		
		pOF39	pWE15	pLC1
<i>E.coli</i> B178	+	+	+	+
<i>E.coli</i> B178 groEL44	-	+	-	+

+, growth ; -, no growth.

Table 3. Susceptibility of the wild-type and transformant cells to the λ phage.

Host strains	Host	Transformants		
		pOF39	pWE15	pLC1
<i>E.coli</i> B178	+	+	+	+
<i>E.coli</i> B178 groEL44	-	+	-	+

+, cell lysis ; -, no cell lysis.

vir phage에 의해 감염되어 plaque을 형성하였다. *C. jejuni*의 groEL이 재조합된 *E. coli* groEL44 변이주 또한 λ vir phage에 의해 감염되어 plaque이 형성되었다. 따라서 *E. coli* LC1이 *C. jejuni*의 groEL이 재조합된 clone임을 확인할 수 있었을 뿐 아니라, *C. jejuni*의 GroEL 단백질이 재조합 균주에서 합성됨으로써 *E. coli*의 GroEL 단백질이 합성되지 않더라도 그 기능을 보완해 주었다. *C. jejuni*와 같은 세균으로부터 유래되는 heterologous한 groEL 유전자가 *E. coli* groEL44 ts 변이주에 형질전환되어 HSP60을 합성함으로써 GroEL의 결손을 보완할 수 있었던 본 연구의 실험결과는 Ohtaka 등(14)이 지적한 바와 같이 *C. jejuni*의 HSP60이 *E. coli*에서 molecular chaperon으로서의 기능을 한다는 것을 알 수 있었다.

사 사

본 연구는 교육부 학술연구 조성비(1992년도 유전 공학연구)에 의하여 수행되었으며, *E. coli* B178 groEL44 ts 변이균주를 제공해 준 Utah대학의 Georgopoulos박사와 GroEL 단백질의 항체를 공급해 준 서울대학교의 안태인 교수에게 감사드린다.

참 고 문 헌

1. Ausubel, F.M., R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, and K. Struhl, 1987. Current protocols in molecular biology. Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, New York.
2. Dunn, B.E., R.M. Roop, C.C. Sung, S.A. Sharma,

- G.I. Perez-Perez, and M.J.J. Blaser, 1992. Identification and purification of a Cpn60 heat shock protein homolog from *Helicobacter pylori*. *Infect. Immun.* 60, 1946-1951.
3. Gomes, S.L., J.W. Gober, and L. Shapiro, 1990. Expression of *Caulobacter* heat shock gene dnaK is developmentally controlled during growth at normal temperatures. *J. Bacteriol.* 172, 3051-3059.
4. Gross, C.A., D.B. Straus, J.W. Erikson, and T. Yura, 1990. The function and regulation of heat shock proteins in *Escherichia coli*, p. 167-189. In R.I. Morimoto, A. Tissieres, and C. Georgopoulos (ed.), Stress proteins in biology and medicine. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
5. Hellebust, H., M. Uhlen, and S.O. Enfors, 1990. Interaction between heat shock protein DnaK and recombinant staphylococcal protein A. *J. Bacteriol.* 172, 5030-5034.
6. Kim, C.K., C.I. Lim, and K.J. Lee, 1992. Heat shock response and heat shock genes in *Campylobacter jejuni*. *Kor. J. Microbiol.* 30, 232-238.
7. Kim, C.K., H.O. Kim, and K.J. Lee, 1991. Synthesis and thermotolerance of heat shock proteins in *Campylobacter jejuni*. *Kor. J. Microbiol.* 29, 49-55.
8. Kim, C.K., S.H. Lim, M.S. Yun, H.S. Oh., and M.K. Cho, 1989. Disinfection effects of heat- and cold-treatment and UV-irradiation on *Campylobacter jejuni*. *Kor. J. Microbiol.* 27, 291-296.
9. Li, M. and S., Wong, 1992. Cloning and characterization of the groESL operon from *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 174, 3981-3992.
10. Mantis, N.J. and S.C. Winans, 1992. Characterization of the *Agrobacterium tumefaciens* heat shock response: Evidence for a σ³²-like sigma factor. *J. Bacteriol.* 174, 991-997.
11. Morimoto, R.I., A. Tissieres, and C. Georgopoulos, 1990. The stress response. function of the proteins and perspectives. p. 1-36. In R.I. Morimoto, A. Tissieres, and C. Georgopoulos(ed.). Stress proteins in biology and medicine. Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor.
12. Narberhaus, F. and H. Bahl, 1992. Cloning, sequencing, and molecular analysis of the groESL operon of *Clostridium acetobutylicum*. *J. Bacteriol.* 174, 3282-3289.
13. Neidhardt, F.C. and R.A. Van Bogelen, 1987. Heat shock response. p. 1334-1345. In F.C. Neidhardt, J.L. Ingraham, K.B. Low, B. Magasanik, M. Schaechter, and H.E. Umbarger(ed.), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular and molecular biology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. Ohtaka, C., H. Nakamura, and H. Ishikawa, 1992. Structures of chaperonins from an intracellular symbiont and their functional expression in *E. coli* groE mutants. *J. Bacteriol.* 174, 1869-1874.
15. Pasort, T.A. and J.J. Makalanos, 1990. Expression of ToxR, the transcriptional activator of the

- virulence factors in *Vibrio cholerae* is modulated by the heat shock response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 9898-9902.
16. Pelham, H.R.B., 1986. Speculations on the functions of the major heat-shock protein and glucose-regulated proteins. *Cell* **46**, 959-961.
 17. Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis, 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
 18. Segal, G. and E.Z. Ron, 1993. Heat shock transcription of the *groESL* operon of *Agrobacterium tumefaciens* may involve a hairpin-loop structure. *J. Bacteriol.* **175**, 3083-3088.
 19. Silhavy, T.J., M.L. Berman, and L.W. Enquist, 1984. *Experiments with gene fusions*, p. 208-212. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
 20. Skowrya, D., C. Georgopoulos, and M. Zylitz, 1990. The *E. coli dnaK* gene product, the hsp70 homolog, can reactivate heat-inactivated RNA polymerase in an ATP hydrolysis-dependent manner. *Cell* **62**, 939-944.
 21. Tilly, K. and C. Georgopoulos, 1982. Evidence that the two *E. coli groE* morphogenetic gene products interact *in vivo*. *J. Bacteriol.* **149**, 1082-1088.
 22. Vodkin, M.H. and J.C. Williams, 1988. A heat shock operon in *Coxiella burnetii* produces a major antigen homologous to a protein in both *Mycobacteria* and *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **170**, 1227-1234.
 23. Wetzstein, M., U. Volker, J. Dodio, S. Lobau, U. Zuber, M. Schiesswohl, C. Herget, M. Hecker, and W. Schumann, 1992. Cloning, sequencing, and molecular analysis of the *dnaK* locus from *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* **174**, 3300-3310.
 24. Webb, R., K.J. Reddy, and L.A. Sherman, 1990. Regulation and sequence of *Synechocystis* sp. strains PCC 7942 *groESL* operon encoding a cyanobacterial chaperonin. *J. Bacteriol.* **172**, 5079-5088.
 25. Yura, T., H. Nagai, and H. Mori, 1993. Regulation of the heat-shock response in bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* **47**, 321-350.

(Received January 4, 1994)

(Accepted February 1, 1994)

ABSTRACT: Chaperon Effects of *Campylobacter jejuni groEL* Genes Products in *Escherichia coli*

Lim, Chae-II, Chi-Kyung Kim*, and Kil-Jae Lee' ('Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, and Department of Biology Education, Korea National University of Education', Cheongwon-gun 363-791, Korea)

The cells of *Campylobacter jejuni* heat-shocked at 48°C for 30 min synthesized the heat shock proteins of HSP90, HSP66 and HSP60. Those heat shock proteins were found to correspond to the heat shock proteins of HSP87, HSP66 (DnaK), and HSP58 (GroEL) of *E. coli*, respectively. By Southern blot analysis of the chromosomal DNAs of *C. jejuni* with *groESL* and *dnaK* genes of *E. coli* as DNA probes, the heat shock genes of *C. jejuni* which are homologous to the *E. coli groESL* and *dnaK* genes were found to exist in the chromosomal DNA. The genomic libraries of *C. jejuni* were constructed with the cosmid vector pWE15 and the *groEL* gene of *C. jejuni* were cloned in *E. coli* B178 *groEL44* temperature sensitive mutant. The hybrid plasmid (pLC1) was inserted with the DNA fragment (about 5.7 kb in size) containing the *groEL* gene. *E. coli groEL44* mutant cell transformed with the pLC1 could grow at 42°C by synthesizing the HSP60 of *C. jejuni* and regained the susceptibility to the λ vir phage by expression of the *groEL* gene in the cloned cells. These indicated that the *groEL* products of *C. jejuni* had chaperon effects by synthesizing the heat shock proteins in the cloned cells of *E. coli*.