

## *Streptomyces coelicolor* A3(2)의 Acetyl Xylan Esterase를 발현하는 *Escherichia coli*의 과산화수소 저항성

김재현\* · 최원일 · 윤석원<sup>1</sup> · 정상운<sup>1</sup> § · 오충훈<sup>1</sup>

단국대학교 미생물학과 · 단국대학교 의학레이저연구소

<sup>§</sup>국립환경연구원 환경위해성연구부 위해성평가과

*Streptomyces coelicolor* A3(2)의 acetyl xylan esterase (AxeA)가 *Escherichia coli*의 과산화수소 저항성에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. AxeA 발현은 isopropyl- $\beta$ -thiogalactoside로 유도되었고 생산된 AxeA는 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis 방법으로 확인하였다. AxeA 발현에 따른 과산화수소 저항성의 변화를 *E. coli*의 생장곡선과 생존율을 통하여 조사하였다. AxeA가 발현되지 않으면 모든 처리 농도 (1 mM, 2.5 mM, 5 mM)에서 균의 사멸이 일어났다. AxeA가 발현되는 조건에서는 5 mM을 제외한 과산화수소 1 mM와 2.5 mM에서 *E. coli*의 사멸이 저지되었다. 또한 1.5 mM의 과산화수소에 대한 생존율이 59%에서 74%로 높아졌다. 동시에 *E. coli*의 최고 생장온도에서 근접한 45°C에서의 생존율도 증가되는 결과를 얻었다. 그러므로 AxeA 단백질은 산화적 스트레스와 온도스트레스에 대해 교차 저항성을 나타내는 역할을 한다고 결론지었다.

**Key words** □ acetyl xylan esterase, heat, hydrogen peroxide, stress resistance, *Streptomyces coelicolor* A3(2)

과산화수소는 Fenton 반응으로 수산화 라디칼을 유발하고 이것의 활발한 반응성은 생체분자를 손상시킨다. DNA의 이중나선이 끊어지고 염기수식이 유발되며 돌연변이가 유발될 수 있다(7). 지질에 대해서는 임의의 장소에서 무작위로 탈수소반응을 하게 되므로 세포막의 지질을 손상시킨다(12). 이 라디칼 연속 반응은 불포화 지방산에서 특히 강하게 진행되며 malondialdehyde와 같은 독성이 강한 물질을 생산한다. Malondialdehyde는 DNA의 염기변화를 유발하거나 더욱 분해되어 succinate dehydrogenase의 경쟁적 저해제인 malonic acid로 된다(7). 이러한 과산화수소의 독성이 지방산조성과 관련되어 나타나는 것이 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Streptomyces coelicolor*에서 보고되었다(10, 15).

과산화수소 스트레스를 받은 *Escherichia coli*는 OxyR 조절군의 여러 유전자발현을 발현시키는데, 이에 *katG* (catalase-hydroperoxidase I), *ahpCF* (NADPH-alkyl hydroperoxide reductase), *dps* (DNA binding protein), *gorA* (glutathione reductase) 등이 포함되어 있다(5). OxyR은 이 유전자들의 promoter와 결합하여 유전자 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있다(16).

*S. coelicolor*에서도 독성 산소 대사산물로부터 자신을 보호하는 효소들이 생성된다고 보고 된 이래(13), 그 기능이 서로 다른 catalase들이 존재한다고 알려져 있다. CatA는 주된 과산화수소 분해효소로서 *S. coelicolor*의 모든 생장시기에 존재하며 과산화수소에 의해 유도되는 단백질이다(2). CatB는 기중균사 발달 시기부터 생산되는 단백질로서 삼투압스트레스에 의해서 발현되는

단백질이다(2). 기중균사 발달 초기에만 잠시 나타나는 catalase-peroxidase인 CatC도 알려져 있다(2).

우리 실험실에서는 *S. coelicolor* A3(2)에 고농도의 과산화수소를 처리하면 peroxidase와 같은 산화효소이외에 esterase의 생산도 증가하는 것이 관찰된바 있다(17). Acetyl xylan esterase (AxeA)는 xylan으로부터 acetyl 측쇄를 분리하는 효소로서 최근에 유전자 (*axeA*)를 클로닝하여 *E. coli*에 발현시킨 결과를 보고 하였다(1). 이 논문에서는 *axeA*로 형질전환된 *E. coli*의 과산화수소에 의한 치사율을 정상적인 *E. coli*와 비교함으로써 acetyl xylan esterase가 과산화수소 저항성을 높였음을 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 균주 및 배지

*S. coelicolor* A3(2)의 *axeA* 유전자가 삽입된 재조합 플라스미드인 pAXEA#4가 형질전환된 *E. coli* Tuner<sup>TM</sup>(DE3)pLacI (Novagen, USA)를 *E. coli* 균주#4-1로 명명하고 본 실험에 사용되었다(1). pAXEA#4는 1,008 bp의 *axeA* 유전자가 T7 promoter의 조절을 받도록 pETBlue-1 AccepTor Vector (Novagen, USA)에 삽입하여 제조하였다. *E. coli* 균주 #4-1를 항생제(carbenicillin 50 µg/ml, chloramphenicol 34 µg/ml)와 1% glucose가 포함된 LB 배양액 100 ml에 접종한 후, 37°C, 130 rpm에서 9 시간동안 진탕배양 하였다. 배양 후 1 ml씩 수확한 후 15,000 rpm에서 5 분 동안 원심분리 하였다. 상청액을 제거한 후 균체에 50% glycerol이 첨가된 LB broth 100 µl를 넣고 -70°C에 보관하였다. LB 배양액은 Difco사의 완제품을 구입하여 사용하였다. 고체배지가 필요한

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 041-550-3452, Fax: 041-551-9229  
E-mail: jaehkim1@dankook.ac.kr

경우에 한천을 1.5%가 되도록 첨가하여 평판배지를 제작하였다. 발현 여부를 판정하기 위한 비교 균주로는 *E. coli* 균주#8이 사용되었다. 이 균주가 보유한 재조합 플라스미드는 pETBlue-1 AccepTor Vector (Novagen, USA)에 *axeA*가 거꾸로 삽입되어 만들어진 것으로서 *AxeA*가 생산이 불가능한 균주이다.

**생장곡선측정**

LB 배양액에서의 세균의 증식은 흡광도를 측정하여 추적하였다. 각 시간별로 배양액 3 ml을 cuvette에 넣은 후 Spectronic 20D (Milton Roy, USA)로 600 nm에서 흡광도(OD<sub>600</sub>)를 측정하였다.

**AxeA의 발현 유도**

냉동고에 보관중인 균주들을 해동시키고 37°C 배양기에서 약 10분간 활성화시켰다. 그리고 10 µl을 LB 배양액 100 ml에 접종한 후 진탕 배양하였다(37°C, 130 rpm). OD<sub>600</sub> 값이 0.5~0.6에 도달하면 배양을 멈추었다. 이 배양액 10 ml을 0.1 mM isopropyl-β-thiogalactoside (IPTG)가 첨가된 새로운 배양액 100 ml에 접종하였고 IPTG가 첨가되지 않는 경우에는 5 ml을 접종하였다. 시간이 경과되면서 발현되는 *AxeA*는 전기영동을 통하여 확인하였다.

**조효소 제조 및 단백질 정량**

*E. coli* 배양액 20 ml를 원심분리 하여 세포를 수확하였다. 세포를 초음파 분쇄기(Fisher, USA)를 이용해서 파괴시켰다. 원심분리하여(13,000×g, 4°C, 30 min) 상청액을 얻어 단백질 전기영동을 위한 조효소 용액으로 사용하였다. 조효소 용액의 단백질 농도는 Bradford 방법으로 결정하였다. 가장 낮은 단백질 농도를 기준으로 0.1 M 인산완충용액(pH 7.2)으로 희석해서 시료의 단백질 농도를 동일하게 맞추어 전기영동을 실시하였다.

**전기영동**

Laemmli의 방법에 의한 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 시행하였다(11). 표준단백질은 prestained SDS-PAGE standards (Bio-Rad, Broad Range, USA)를 사용하였다. 80 V의 전압으로 20 분간 stacking gel을 통과시킨 다음에 120 V로 90분간 전기영동 하였다. 단백질은 Coomassie brilliant 염색하였다.

**과산화수소에 의한 치사**

*AxeA* 발현을 유도하고 OD<sub>600</sub> 값이 0.4~0.5에 도달하면 과산화수소를 투여하여 이후 나타나는 OD<sub>600</sub> 값의 변화를 측정하여 치사효과를 조사하였다. 한편 생존율을 측정하기 위해서는 각각의 세포들을 3,000 rpm, 10 분간 원심분리 하여 모은 후, 0.1 M 인산완충용액 (pH 7.2)으로 3번 세척한 후 20 ml의 동일한 인산완충 용액에 부유시키고 과산화수소를 필요한 만큼 첨가하였다. 45 분 동안 37°C, 130 rpm에서 진탕배양하면서 15 분 간격으로 LB 배지에 100 µl씩 분주 도달 하였다. 37°C에서 하루 배양하여 나타난 콜로니를 세었다. 과산화수소가 처리된 시점의 세균수를 기준으로 하여 시간이 경과되면서 줄어드는 세균수를 %로 나타

내었다. 비교 실험으로써 *AxeA* 발현을 유도하지 않은 경우에는 IPTG 첨가를 제외한 모든 과정을 동일하게 수행하였다.

**높은 온도에서의 생존율**

위와 같은 방법으로 균주를 활성화시키고 IPTG를 첨가한 LB 배지와 첨가하지 않은 LB배지에 각각 접종하고 37°C와 45°C에서 하루 동안 배양하였다. 37°C에서 자란 콜로니 수를 기준으로 하여 45°C에서 자란 콜로니를 %로 나타내었다.

**결과 및 고찰**

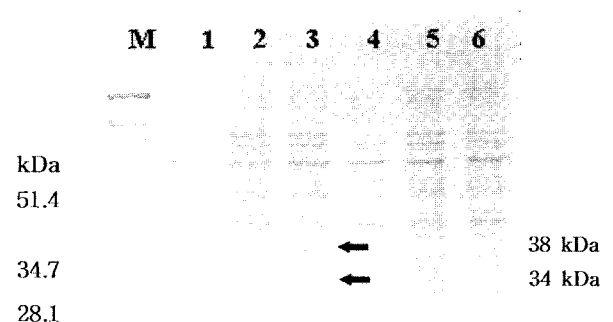
**AxeA 발현**

*AxeA* 생산 균주인 *E. coli* 균주#4-1과 비생산 균주인 균주#8을 carbenicillin 50 µg/ml, chloramphenicol 34 µg/ml, 1% glucose가 포함된 100 ml의 LB 배지에 배양하였다. OD<sub>600</sub> 값이 0.5에 도달했을 때 0.1 mM의 IPTG를 첨가하였다. 그 후, 3 시간 또는 5 시간 더 배양하고 균체를 수확하였다. 균체를 초음파 파괴하여 얻은 조효소 용액의 단백질 양상을 SDS-PAGE로 확인하였다(Fig. 1).

*AxeA* 생산 균주#4-1은 IPTG 투여 후 3시간, 5시간에서 각각 약 38 kDa과 34 kDa의 단백질을 발현하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 균주#8에서는 동일한 위치에서 발현되는 단백질을 확인할 수 없었다. 38 kDa은 *AxeA* 전체 단백질이며 34 kDa의 단백질은 signal peptide 부분이 잘려 나간 단백질로 추정되었다(1). 그러므로 이 실험에서 사용된 *E. coli*는 *S. coelicolor* A3(2)에서 유래된 *AxeA* 단백질을 IPTG 유도 시스템에 의해 정상적으로 발현하는 것으로 확인되었다.

**AxeA 생산 E. coli의 과산화수소 저항성**

앞에서 기술한대로 *axeA*를 보유하는 *E. coli*를 IPTG (0.1 mM)가 포함된 배양액에 접종하면 5시간 후에 *AxeA*가 생산되어 있



**Fig. 1.** Expression of *AxeA* by IPTG treatment in *E. coli* strain #4-1 harboring *axeA* insert. M; Broad range marker (BioRad), Lane 1; 0 hr, Lane 2; 3 hr, Lane 3; 5 hr, Lane 4, 5, 6; *AxeA* non-producing *E. coli* strain #8 for comparison.

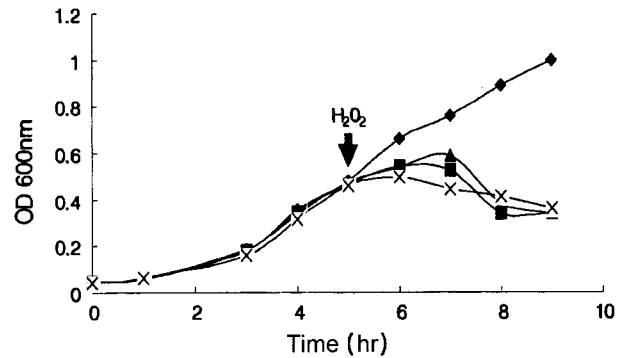
음을 확인할 수 있었다. 이때에 1 mM, 2.5 mM, 5 mM의 과산화수소를 투여하여 그 결과 일어난 생장의 변화를 600 nm에서의 흡광도(OD<sub>600</sub>)로 측정하였다. 과산화수소 투여 시점의 흡광도는 0.45 정도였다. 대조군은 계속 성장하는 반면에 1 mM과 2.5 mM을 처리할 경우에는 생장이 크게 저지되어 흡광도의 증가가 미미하게 일어나서 과산화수소 투여시의 상태를 유지하였다. 그러나 5 mM이 처리된 경우에는 약 1시간 이후부터 지속적으로 감소하여 첨가 시보다 낮게 나타났다(Fig. 2). 이는 과산화수소에 의해 세균이 파괴된 결과로 생각되었다.

한편 IPTG가 없는 배양액에서는 AxeA가 생산되지 않는 것을 확인하였다. 이 경우에도 흡광도가 0.45 정도 되도록 배양하고 과산화수소를 1 mM, 2.5 mM 또는 5 mM가 되도록 처리하였다. 5 mM에서는 앞의 경우와 마찬가지로 약 1시간 후부터 흡광도의 감소를 볼 수 있었다. 1 mM과 2.5 mM에서는 처리 후 2시간까지 흡광도가 약간 증가하였으나 그 이후에는 급격히 감소하여 5 mM의 과산화수소가 처리된 경우와 비슷한 흡광도를 보였다(Fig. 3).

따라서 AxeA가 없으면 처리된 과산화수소의 농도에 따라 약간의 차이는 있으나 결국 세포가 사멸되고 AxeA가 발현된 경우에는 1 mM 및 2.5 mM의 과산화수소에서 비록 생장은 저지되지만 세포의 사멸은 크게 나타나지 않는 것으로 생각되었다. 5 mM의 과산화수소에서는 AxeA의 발현 여부와 상관없이 뚜렷한 사멸을 볼 수 있었다. 따라서 AxeA 단백질은 *E. coli*에 어느 정도의 과산화수소 저항성을 부여한다고 할 수 있었다.

**과산화수소와 고온에 대한 교차저항성**

AxeA 단백질 발현 균주의 과산화수소에 대한 저항성을 생균 수 계수를 통하여 확인하고자 하였다. AxeA를 발현시킨 경우와 그렇지 않은 경우에 균주를 인산완충용액에 부유시키고 과산화수소를 1.5 mM와 2 mM가 되도록 각각 첨가하고 일정한 시간 간격으로 균을 채취하여 희석하여 LB 배지에 접종하였다. 하룻밤 배양 후 나타나는 콜로니 수를 계산하였다. 그 결과 과산화수소 2 mM에서는 AxeA 발현 여부와 관계없이 20 분 후에 모두 사멸하였다. 1.5 mM에서는 첨가 후 시간이 지남에 따라 생존 세

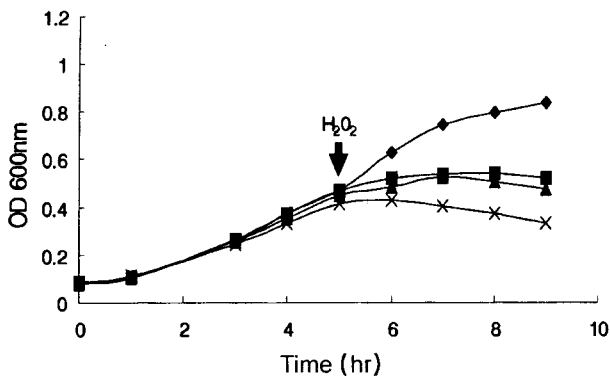


**Fig. 3.** Growth curve of AxeA non-induced cultures of *E. coli* strain #4-1 treated with different concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. ◆ ; Control, ■ ; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 mM, ▲ ; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2.5 mM, × ; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 mM.

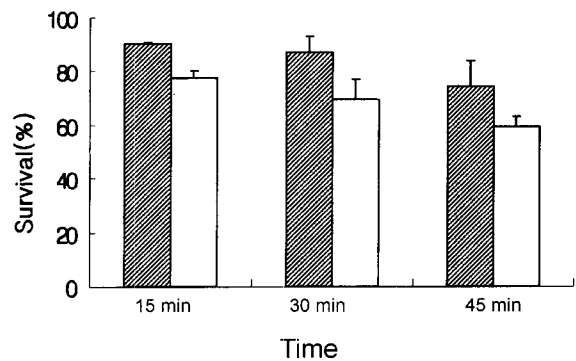
균이 점차 감소하였는데 45 분경과 후에 AxeA가 발현된 경우에 74%의 생존율을 보여 발현되지 않은 경우의 59%보다 높은 생존율을 보이는 것으로 나타났다(Fig. 4). 따라서 AxeA가 *E. coli*의 과산화수소에 대한 저항성을 높이는 것을 확인하였다.

산화적 스트레스와 온도스트레스는 교차 저항성을 나타낸다는 것은 잘 알려져 있는 사실이다(5, 14). 따라서 AxeA 생산 균주의 온도스트레스에 대한 저항성을 알아보았다. IPTG가 들어 있는 배지와 들어 있지 않은 배지에 균주#4-1을 접종하고 37°C와 45°C에서 각각 하루 배양하였다. 그 결과 37°C에서 자라난 세균수를 100%로 볼 때, AxeA를 발현하는 경우에는 62%의 생존율을 보였고, AxeA를 발현하지 않은 경우에는 36.3%의 생존율만을 보였다(Table 1). 따라서 AxeA에 의해서 고온스트레스에 대한 저항성도 함께 부여되는 것으로 생각되었다.

과산화수소의 치사효과는 염기이탈이나 DNA가닥 끊김과 같은 DNA의 손상에서 비롯된다. *E. coli*의 경우에 5 mM에서 뚜렷한 치사효과를 보는데(3), 이번 실험에서도 같은 농도에서 가장 큰 치사효과를 보았으나 생존율을 정량적으로 분석하지 못하고 OD<sub>600</sub>의 감소로만 나타났다. *Bacillus subtilis*의 경우에도 5 mM 이상의 과산화수소에서 1% 정도의 생존율을 보이는 뚜렷한 치사효과가 나타났다(8). *S. coelicolor*의 경우에는 비슷한 치사 효과를 나타내기 위해서 더 높은 농도인 20 mM를 투여하였다(13). 따



**Fig. 2.** Growth curve of AxeA induced cultures of *E. coli* strain #4-1. treated with different concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. ◆ ; Control, ■ ; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 mM, ▲ ; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2.5 mM, × ; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 mM.



**Fig. 4.** Survival of *E. coli* strain #4-1 against 1.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. ▨ ; AxeA induced cell, □ ; AxeA non-induced cell.

**Table 1.** The changes in heat resistance of *E. coli* cultures after AxeA induction by IPTG

Temperature	Survival (%)	
	+ IPTG	- IPTG
45°C	62.7 ± 6.6	36.3 ± 15.6

라서 본 실험에서 생존을 측정에 사용된 1.5 mM는 45분이 경과 되어도 약 60%의 생존율을 나타내는 비교적 낮은 농도였다.

Esterase와 과산화수소의 관계에 대한 문헌은 많지 않다. 과산화수소(1 mM)를 소의 폐동맥 내피세포에 투여하면 serine-esterase를 활성화시키고 serine-esterase는 연속적으로 phospholipase A2를 활성화 시키는데, 이것은 산화적스트레스에 의한 폐혈관의 수축이나 수종을 유발하는 기작으로 알려져 있다(4). *Pseudomonas putida*에서는 bromoperoxidase-esterase가 존재한다. 이 효소는 과산화수소와 Br를 사용하여 탄화수소를 브롬화 시킬 뿐만 아니라 esterase 활성과 catalase 활성을 보유했다(9). 이 bromoperoxidase-esterase가 과산화수소에 대한 방어 효소의 기능을 갖는지는 확실하지 않다. 그런데 *S. venezuelae*에서 조사된 bromoperoxidase-catalase는 산화적 스트레스에 대한 방어 효소일 가능성이 제시되어 있다(6). 우리 연구팀의 실험 결과에 따르면 *S. coelicolor*의 과산화수소 저항성 인자에 의해 peroxidase와 esterase가 동시에 비슷한 양상으로 활성화되었다(17). 그러므로 *S. coelicolor*에서도 peroxidase와 catalase는 물론 esterase 활성을 한 분자내에 한꺼번에 지니는 다중기능효소가 존재할 가능성이 있다고 생각된다.

*Streptomyces*의 esterase로는 *S. lividans*에서 xylan 분해에 필요한 효소인 AxeA의 단백질과 유전자가 이미 밝혀져 있었으므로 그 정보를 이용한 PCR 방법으로 *S. coelicolor* A3(2)로부터 axeA를 클로닝할 수 있었다(1). 이번 실험에서 *S. coelicolor*의 AxeA가 과산화수소에 대한 저항성을 높이는 결과를 얻었으므로 이 단백질이 esterase 활성뿐만 아니라 항산화 활성을 지니는 효소일지도 모른다는 가능성이 제시되었다. 이것은 앞으로의 연구에서 밝혀질 수 있을 것이다. AxeA는 여러 종류의 미생물에서 발견되었으나 현재까지 AxeA와 과산화수소에 대한 방어능과의 연관 관계는 보고되지 않았다.

어떤 단백질은 과산화수소스트레스와 열스트레스에 대하여 공통적 방어 단백질로 생산된다. 이것은 일반스트레스 단백질(universal stress protein; USP)로 명명되었는데, 세포가 팽박조건에 돌입했을 때 생존에 필요한 세포막 형성, 세포분열, 삼투압 조절 등의 기능과 관련이 있을 것으로 추측되고 있다(2). AxeA가 일반스트레스 단백질의 기능을 수행하는지는 앞으로 좀더 많은 실험을 수행하여야 알 수 있을 것이다.

### 감사의 말

이 연구는 2003학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었습니다.

### 참고문헌

1. 이인숙, 윤석원, 정상운, 오충훈, 김재현. 2003. *Escherichia coli*에서의 *Streptomyces coelicolor* A3(2)의 acetyl xylan esterase 발현 양상. 미생물학회지 39, 83-88.
2. 조윤희. 1999. *Streptomyces coelicolor* A3(2)에서 catalase의 역할 및 유전자 발현. 박사학위논문. 서울대학교.
3. Asad, N. R. and A. C. Leita. 1991. Effects of metal ion chelators on DNA strand breaks and inactivation produced by hydrogen peroxide in *Escherichia coli*: Detection of ion independent lesions. *J. Bacteriol.* 173, 2562-2568.
4. Chakraborti, S. and J. R. Michael. 1991. Involvement of a serine esterase in oxidant mediated activation of phospholipase A2 in pulmonary endothelium. *FEBS Lett.* 281, 185-187
5. Christman, M. F., R. W. Morgan, F. S. Jacobson, and B. N. Ames, 1985. Positive control of a regulon for defenses-against oxidative stress and some heat-shock proteins in *Salmonella typhimurium*. *Cell* 41, 753-762.
6. Facey, S.J., F. Gross, L.C. Vining, K. Yang, and K.H. van Pee. 1996. Cloning, sequencing and disruption of a bromoperoxidase-catalase gene in *Streptomyces venezuelae*: evidence that it is not required for chlorination in chloramphenicol biosynthesis. *Microbiology* 142, 657-665.
7. Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge. 1999. Free radicals in biology and medicine, p. 246-350. Oxford University Press. Oxford.
8. Hartford, O. M. and B. C. A. Dowd. 1992. Cloning and characterization of genes induced by hydrogen peroxide in *Bacillus subtilis*. *J. Gen. Microbiol.* 138, 2061-2068.
9. Itoh, N., T. Kawanami, J. Liu, T. Dairi, M. Miyakoshi, C. Nitta, and Y. Kimoto, 2001. Cloning and biochemical characterization of Co<sup>2+</sup>-activated bromoperoxidase-esterase (perhydrolase) from *Pseudomonas putida* IF-3 strain. *Biochim. Biophys. Acta* 1545, 53-66.
10. Kim, J.H., M.S. Shim, and S.Y. Son, 1999. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resistance is linked to the degree of fatty acid unsaturation in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Biotech. Lett.* 21, 759-762.
11. Laemmli U.K., 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227, 680-685.
12. Lazar, M, J. Rychly, V. Klimo, P. Pelika, and L. Valko, 1989. Free Radicals in chemistry and biology, p. 283-292. CRC Press. Boca Raton.
13. Lee J.S., Y.C. Han, and J.H. Roe, 1993, The induction of oxidative enzymes in *Streptomyces coelicolor* upon hydrogen peroxide treatment, *J. Gen. Microbiol.* 139, 1013-1018.
14. Morgan, R. W., M. F. Christman, F. S. Jacobson, G. Storz, and B. N. Ames, 1986, Hydrogen peroxide-inducible proteins in *Salmonella typhimurium* overlap with heat shock and other stress protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83, 8059-8063.
15. Steels, E.L., R.P. Learmonth, K. Watson. 1994, Stress tolerance and membrane lipid saturation in *Saccharomyces cerevisiae* grown aerobically or anaerobically. *Microbiology* 140, 569-576.
16. Storz, G., L.A. Tartaglia, S.B. Far, and B.N. Ames. 1990, Bacterial defenses against oxidative stress. *Trends Genet.* 6, 363-368.
17. Um T.H., C.H. Oh, J.S. Lee, Y.D. Park, J.H. Roe, and J.H. Kim 1995. Pleiotrophic effect of a gene fragment conferring H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-resistance in *Streptomyces coelicolor*, *J. Microbiol.* 33, 339-343.

(Received July 19, 2004 /Accepted August 20, 2004)

---

**ABSTRACT: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Resistance of *Escherichia coli* That Expresses Acetyl Xylan Esterase of *Streptomyces coelicolor* A3(2)**

**Jae-heon Kim\***, Won-ill Choi, Seock-won Youn<sup>1</sup>, Sang Oun Jung<sup>1§</sup> and Chung-Hun Oh<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea, <sup>2</sup>Medical Laser Research Center, Dankook University Cheonan 330-714, Korea)

We investigated hydrogen peroxide resistance of *Escherichia coli* possessing acetyl xylan esterase(AxeA) of *Streptomyces coelicolor* A3(2). The induction of AxeA production by isopropyl- $\beta$ -thiogalactoside was confirmed by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. The differences in growth between induced and non-induced *E. coli* were determined by the changes in optical density of cultures after hydrogen peroxide treatment. The lethal effect of hydrogen peroxide was observed for non-induced cultures at all concentrations tested in this study (1 mM, 2.5 mM and 5 mM). However, cultures induced for AxeA production resisted the lethal effect, except at 5 mM where cells were killed irrespective of the AxeA production. The *axeA* induction increased survival against 1.5 mM hydrogen peroxide from 59% to 74%. In addition, AxeA producing *E. coli* showed increased survival at 45°C, near maximum growth temperature. Therefore, it was concluded that AxeA conferred a cross-resistance upon the bacterium against both oxidative- and heat stress.