

E333 *Methylobacillus* sp. strain SK1의 superoxide dismutase

서성남*, 김영민
연세대학교 이과대학 생물학과

메탄올을 이용하여 성장한 *Methylobacillus* sp. strain SK1으로부터 7단계를 거쳐 superoxide dismutase (SOD)를 순화하고 몇가지 특성을 조사하였다. 이 세균의 SOD는 세포질에 존재하였다. 순화된 효소의 분자량은 44,000이었고, 23,100인 동일한 소단위 두 개로 이루어져 있었다. 이 효소의 pI 값은 4.4였다. 효소의 흡수 스펙트럼을 조사한 결과 289 nm 부근에서 shoulder를 나타내었다. 이 효소는 NaCN에 의해서는 활성이 억제되지 않고 H₂O₂와 NaN₃에 의해서 활성이 억제되었다. 효소 1 분자는 망간 0.7원자와 철 1.1원자를 포함하는 것으로 분석되었다. 기본배지에 망간을 많이 첨가해준 경우 *Methylobacillus* sp. strain SK1에서 생성되는 SOD는 H₂O₂에 의해 활성이 전혀 저해되지 않았고, 10 mM NaN₃에 의해 16%의 활성이 저해되었다. 철을 많이 첨가해 준 배지에서 배양한 세균에 존재하는 SOD는 1 mM H₂O₂에 의해 30%활성이 감소되었고, 10 mM NaN₃에 의해서는 52%의 활성이 저해되었다. 이 효소는 pH 8에서 최대활성을 나타내었고, pH 6-8 사이에서 안정한 활성을 보였으며, 열처리 결과 고온에서도 상당히 안정하여 50°C에서 30분간 처리한 후에도 100%의 활성이 남아있었다. 정제된 효소의 N-말단 아미노산 서열은 AYTLPLNYAY이었다. 순화된 SOD는 *Methylobacillus glycogenes*의 SOD와 면역학적 연관성을 나타내었다.

E334 *Methylovorus* sp. strain SS1의 충격반응

박중환*, 김영민
연세대학교 이과대학 생물학과

제한 통성 메탄올 자화세균인 *Methylovorus* sp. strain SS1에서 여러가지 충격에 의해 유도되는 독특한 단백질의 합성에 대한 특성을 조사하였다. 30°C에서 자라던 세균을 40°C로 옮겼을 때 열충격 단백질을 합성하기 시작하였으며, 43°C까지는 성장이 정지되지 않았다. 47°C와 50°C에서 열충격은 1시간 후에 각각 10³이상, 10⁴이상의 viable cell population를 감소시켰다. 그러나 43°C에서 15분 동안 전 처리된 세균은 47°C와 50°C에서 1시간 후에 10배 정도의 내열성을 나타냈다. 에탄올과 메탄올 충격 반응은 열충격 반응과 유사하였고, 산화 충격 반응은 이들 반응과 서로 달랐다. Two-dimensional gel electrophoresis로 확인한 결과 열충격시 정상적 조건에서 발현되는 대부분의 단백질은 합성이 억제되고, 최소한 15분 이내에 열충격 반응을 나타냈다. 12가지의 열충격 단백질을 확인하였으며 이중 3가지 단백질 (90,000, 70,000, 58,000)이 분자량만으로 보면 원핵세포 생물의 주된 열충격 단백질에 해당하는 Lon, DnaK, GroEL과 유사했다. 열충격 반응에서 가장 극적으로 합성이 증가되는 58,000 단백질과 70,000 단백질은 각각 대장균의 GroEL과 DnaK 항체와 반응하는 GroEL-like protein과 DnaK로 밝혀졌으며, N-말단 아미노산 서열은 다른 그람 음성 세균의 것과 유사하였다. *Methylovorus* sp. strain SS1의 열충격 단백질은 다른 원핵세포 생물과 달리 최소한 2시간 이상 합성이 지속되었으며, 합성된 열충격 단백질은 90분 이상 안정하게 유지되었다. 메탄올 탈수소효소는 열충격과는 무관하게 발현되었다.