

*Campylobacter jejuni*의 열충격 반응과 그 유전자에 관한 연구

김치경¹ · 임채일 · 이길재*

충북대학교 자연과학대학 미생물학과, 한국교원대학교 생물학과*

*Campylobacter jejuni*에 열처리를 했을 때 그들의 생존성 및 열충격 단백질 합성의 양상과 더불어, *dnaK*와 *groESL* 유전자를 이용하여 *C. jejuni*의 열충격 유전자를 검출하여 그 특성을 *E. coli*의 열충격 유전자와 비교하였다. *C. jejuni*의 열충격 단백질은 48°C에서 가장 잘 발현되었으며, 48°C에서 30분간의 처리중 세포들의 생존율은 떨어지지 않았다. *C. jejuni*의 열충격 단백질로서 Hsp90, Hsp66, Hsp60이 합성되는 것을 SDS-PAGE 및 방사선 사진법을 통해 확인하였다. *dnaK*와 *groESL*을 DNA 탐침자로 이용하여 Southern hybridization한 결과, *C. jejuni*의 열충격 유전자도 *groESL*과 *dnaK* 유전자와 상동성을 가진 염기서열을 가지고 있었으나, 두 균주사이에는 열충격 유전자를 내포하고 있는 DNA 상에서 제한효소의 절단부위에 차이가 있었다.

KEY WORDS □ Heat shock response, heat shock gene, *Campylobacter jejuni*

원핵 및 진핵생물에서 공통적으로 관찰되는 열충격 반응은 온도 상승 혹은 다른 충격에 대하여 유도되는 특정 단백질군의 합성과 같은 일련의 현상을 통틀어 말한다. *E. coli*의 열충격 반응에 관한 연구는 1970년대 말부터 시작되어 현재 약 20 종류의 열충격 단백질들(Hsps)이 알려져 있다(11). *E. coli*의 열충격 반응은 *hspR*(*rpoH*) 유전자의 산물인 σ^{32} 에 의하여 전사 단계에서 조절된다고 알려져 있으며(12), 최근에는 또 50°C 이상의 열충격에 의해 유도되는 σ^E (σ^{24})에 의하여 조절받는 다른 열충격 조절계가 발견되었다(2). *E. coli*에서 밝혀진 열충격 단백질들 중에서 DnaK와 GroEL은 세포내에서 가장 풍부하게 합성되는 Hsps로서, 낮은 온도뿐 아니라 높은 온도에서 생존하는데 필수적인 단백질로 알려져 있다. 이들은 또한 진화학적으로도 잘 보존되어 온 단백질로 알려져 있으며, 세포내의 여러가지 단백질의 합성 과정에서 단백질 복합체의 조립과 분해에 관여하는 molecular chaperone으로도 잘 알려져 있다(22).

*E. coli*의 *dnaK*는 원래 lambda DNA의 복제에 관여하는 유전자로서 발견되었고 70 kDa의 분자량을 가진 단백질을 암호화하고 있으며, 열충격 반응의 음성 조절자로도 알려져 있다(16). 최근에는 *Bacillus subtilis*와 *Bacillus megaterium* (20), *Clostridium acetobutylicum* (10) 등에서 *dnaK*와 상동성을 가진 유전자들이 분리 보고되었다. 또한 *E. coli*의 *groE* (*groEL*과 *groES*)는 T4 혹은 lambda bacteriophage의 morphogenesis에 필요한 유전자로서, 각각 57 kDa와 10 kDa의 단백질을 암호화하는 하나의 operon으로 구성되어 있다(4).

Coxiella burnetii (17), *Clostridium acetobutylicum* (10), *Synechococcus*(21) 등의 세균에서도 *groE*와 상동성을 가진 유전자가 분리 보고되었으나, *Campylobacter jejuni*에서는 열충격 유전자 및 그에 대한 분자생물학적 연구가 본 연구실에서의 전보(7, 8)외에 거의 보고된 바가 없다. 따라서 최적 생장 온도가 인체의 다른 장내 세균보다 높은 41.5°C이며, 자연계의 많은 야생 조류와 포유 동물의 장내에서 normal flora로 서식하면서 물이나 음식을 통하여 인체에 감염될 때 설사 질환을 일으키는 *C. jejuni* (18)에 대해서는 특히 열충격반응에 대한 근본적인 이해가 요구된다.

그러므로 본 연구에서는 *C. jejuni*의 최적 생장 온도보다 높은 48°C에서 열 처리를 했을 때, 그들의 생존성과 함께 열충격 단백질의 합성 양상을 연구하였고, DNA 탐침자를 이용하여 *C. jejuni*의 열충격 유전자를 확인하고 그들의 분자생물학적 특성을 비교 실험하였다.

재료 및 방법

시험 세균 및 배지

본 실험에 사용한 *Campylobacter jejuni*는 Kim 등(7)에 의해 자연계 숙주인 닭의 내장으로 부터 분리된 균주이다. 순수 분리된 *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 Rollins 등(13)의 biphasic 배양액에 균체의 현탁액을 접종한 후 42°C의 CO₂ 배양기에서 증식시켰다. 이때 각 배지에는 Oxoid Ltd.의 *Campylobacter* growth

*Corresponding author

supplement와 *Campylobacter* selective supplement를 첨가하였다.

*E. coli*는 Luria-Bertani(LB) medium 과 LB agar medium에 50 µg/ml의 ampicillin과 17 µg/ml tetracycline을 필요에 따라 첨가하여 배양하였다. 사용한 각 균주와 plasmids의 기타 특성은 Table 1 과 같다.

생존율의 측정

Kim 등(7)의 방법에 따라 준비한 *C. jejuni* 균체의 현탁액을 15 ml의 시험관에 10 ml씩 넣어 42, 46, 48, 51°C, 또는 55°C의 수온으로 조절된 수조에 옮겨 열충격을 주었다. 일정한 시간에 따라 시료를 채취하여 0.85% 생리 식염수로 십진 희석한 다음, 3장의 Brucellar blood agar에 0.1 ml 씩을 골고루 도말하고 42°C의 CO₂ 배양기에서 72시간 배양하였다. 이때 형성된 colony를 계수하여 생존율을 측정하였다.

열 충격 실험 및 단백질의 표지

열충격 단백질의 합성을 조사하기 위하여 Westfall 등 (19)의 방법에 따라 pH 7.2의 MEM Eagle's medium (Sigma Co.)에서 [³⁵S]-methionine으로 표지하였다. 단백질 합성을 중지시키기 위하여 Gomes 등(5)의 방법에 따라 1mg의 non-radioactive methionine을 첨가하는 동시에, 시료와 동일한 양의 25% trichloroacetic acid를 첨가하여 얼음에서 30분간 방치하였다. 그리고 시료는 4°C에서 12,000×g로 1분간 원심 분리한 후 균체만을 회수하여, 냉각시킨 5% trichloroacetic acid로 1번, 그리고 0.08 M phosphate buffer(pH 7.2)로 3번 이상 세척하였다.

단백질의 추출, 전기영동 및 방사선 사진법

Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel 전기영동법(SDS-PAGE)을 위한 단백질 시료는 Silhavy등(15)의 방법에 따라 *C. jejuni* 균체를 SDS-sample buffer에 현탁하여 100°C에서 5분간 끓임으로서 추출하였다. Separating gel로는 10%의 acrylamide slab gel(1.5 mm thick)을, stacking gel로는 4% acrylamide gel을 사용하였다. 전기 영동이 끝난 후 Coomassie 염색 용액(Eastman Kodak

Co.)으로 염색시켰다. 단백질의 분자량은 여러가지 reference 단백질들(MW-SDS-200 kit, Sigma Chemical Co.)을 함께 전기영동 함으로써 결정하였다.

염색과 탈색과정을 통하여 세포의 전체 단백질의 농도를 확인한 후 [³⁵S]-methionine으로 표지된 열충격 단백질을 검출하기 위하여 방사선 사진법을 하였다. 65°C의 gel 건조기에서 1시간 동안 gel을 건조시킨 후 -70°C에서 3~6일간 X-ray film(X-OMAT, Eastman Kodak Co.)에 노출시켰고 Eastman Kodak Co.의 developer와 fixer로 현상하였다.

DNA의 추출 및 DNA 탐침자의 준비

*Campylobacter jejuni*의 genomic DNA는 Ausubel 등(1)의 방법에 따라 추출하였다. Plasmid DNA는 Sambrook 등(14)의 alkaline lysis 방법에 따라 추출하였고, 제한효소(Promega Co.)로 처리된 특정 DNA 절편은 agarose 전기영동방법으로 전개시킨 후 GeneClean kit(Bio 101 Co.)를 이용하여 agarose gel로부터 순수 분리하였다. Utah 대학의 Costa Georgopoulos로 부터 분양받은 pCG1 plasmid (6)에서 *Hind*III로 처리하여 얻은 5.4 kb의 *dnaK* 유전자와 pOF39 plasmid)에서 *Hind*III-*Eco*RI로 얻은 2.2 kb의 *groESL* 유전자를 순수 분리하여 nick translation system(BRL Co.)의 지침서에 따라 biotin-7-dATP로 DNA 탐침자를 제조하였다.

Southern hybridization

Southern hybridization은 기본적으로 Sambrook 등(14)의 방법에 따라 수행하였다. *Eco*RI, *Hind*III, *Pst*I의 제한효소로 각각 처리한 chromosomal DNA를 0.8~1% agarose gel에서 전기영동한 후 nylon 막(Amersham Co, Hybond-N)으로 옮겼다. 이 nylon 막은 80°C에서 1시간 동안 고정화시킨 후 42°C에서 2시간동안 prehybridization을 수행하였다. Prehybridization 용액의 조성은 50% formamide, 6x SSC, 5x Denhardt's reagent, 25 mM sodium phosphate, 100 µg/ml denatured,

Table 1. Bacterial strains and plasmids used in this study

| Strain or plasmid | Characteristics | Source or Reference |
|-------------------|---|---------------------|
| <i>C. jejuni</i> | Isolate from chicken | 7 |
| <i>E. coli</i> | <i>supE44 hsdR17 recA1 endA1 thi</i> | Stratagene Ltd |
| XL1-Blue | <i>F</i> '[<i>proAB</i> ⁺ <i>lacI</i> ^q <i>lacZ</i> ΔM15 Tn10 (<i>tet</i> ^r)] | |
| CG1849 | Strain carrying chromosomal insertion of pOF39 | 3 |
| CG2468 | Strain carrying chromosomal insertion of pCG1 | 6 |
| Plasmid | | |
| pOF39 | Ap ^r , pBR325 containing 2.2 kb <i>Eco</i> RI- <i>Hind</i> III fragment of <i>E. coli groES</i> ⁺ and <i>groEL</i> ⁺ genes | 3 |
| pCG1 | Ap ^r , pBR322 containing 5.4 kb <i>Hind</i> III fragment of <i>E. coli dnaK</i> ⁺ gene | 6 |

fragmented salmon sperm DNA, 0.5% SDS 이었다. 그 다음 42°C에서 12시간 동안 hybridization 하였다. Hybridization 용액은 prehybridization 용액에 5% dextran sulfate와 DNA 탐침자를 첨가하여 사용하였다. 혼성화 반응은 전술한 바와 같이 비방사선 핵산 검출 시약인 BluGENE(BRL Co.)을 사용하여 검정하였다.

결과 및 고찰

고온에서 C. jejuni의 생존율

C. jejuni의 최적 성장 온도인 42°C보다 더 높은 온도가 생존율에 미치는 영향을 실험한 결과는 Fig. 1 과 같다. 46°C와 48°C에서 30분 간 처리했을 때에는 최적 온도인 42°C에서와 같이 생존율에 큰 변화가 없었으나, 51°C와 55°C에서 30분 간 처리했을 때에는 약 3 log 와 5 log 이상의 세포가 각 각 사멸하였다. 이와 같은 결과로부터 30분 간의 열 처리 기간동안 세포를 사멸시키지 않으면서 C. jejuni의 성장을 억제하는 최고 온도로 48°C를 선정하고, C. jejuni의 열충격 단백질 합성 실험을 시행하였다.

C. jejuni의 열충격 단백질

48°C에서 열충격을 주었을 때 C. jejuni가 생성하는 열충격 단백질(Hsps)은 Fig. 2에서와 같다. 48°C에서 15분 동안 열충격을 주고 10분 (lane 3) 과 30분 (lane 4) 동안 표지한 결과를 42°C에서 10분 (lane 1)과 30분 (lane 2) 동안 [35S]-methionine으로 표지한 결과와 비교하였을 때, 분자량이 각각 90, 66, 60 kDa인 Hsp90, Hsp66, Hsp60 등의 열충격 단백질의 합성이 48°C에서 급격히 증가하였다. C. jejuni를 48°C에서 15분동안 열충격 처리한 다음 최적

성장 온도로 옮겨 5분 간 정지배양한 후 10분 (lane 5) 과 30분 (lane 6) 동안 표지했을 때에는 정상 단백질의 합성이 회복되는 동시에, 열충격 단백질들도 여전히 합성되는 것은 Kim 등(8)의 결과와 동일하였다. 이는 48°C의 열충격 처리에 의하여 유도 발현되는 열충격 단백질들이 여러가지 대사기능의 회복에도 어떤 역할을 담당한다는 것을 시사해 준다.

열충격 단백질들의 비교

E. coli와 C. jejuni를 각각 42°C와 48°C에서 15분간 열충격을 준 다음 이들이 합성하는 열충격 단백질을 방사선사진법으로 비교한 결과는 Fig. 3과 같다. E. coli에서는 열충격 단백질들인 Hsp90, Hsp70, Hsp60 군이 각각 87, 66(DnaK), 58 kDa(GroEL)의 단백질들(lane 1-5)임을 CG1849(lane 1), CG2468(lane 2), XL1-blue (lane 3-5)등의 균주들을 통하여 확인할 수 있었다. Fig. 2에서 보여주는 C. jejuni의 90, 66, 60 kDa의 열충격 단백질(lane 6)들은 분자량에 있어서 약간의 차이는 있었으나 E. coli에서 발견되는 열충격 단백질군과 유사하였다. Eukaryotes 와 prokaryotes 에서 발견된 Hsp들을 Morimoto 등(9)이 4개의 단백질군으로 분류한 특성에 비추어 볼때,

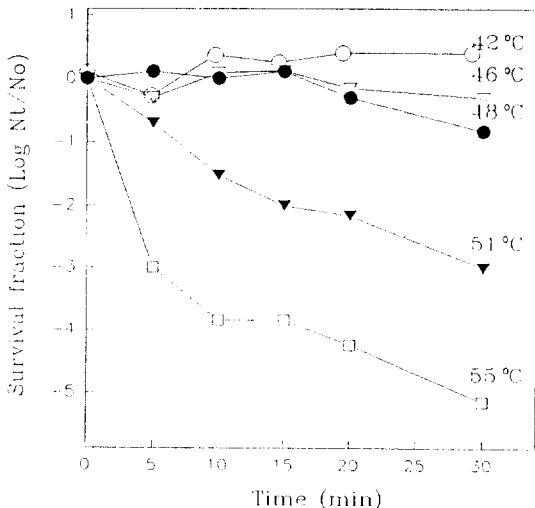


Fig. 1. Survival of C. jejuni at 42°C and elevated temperatures.

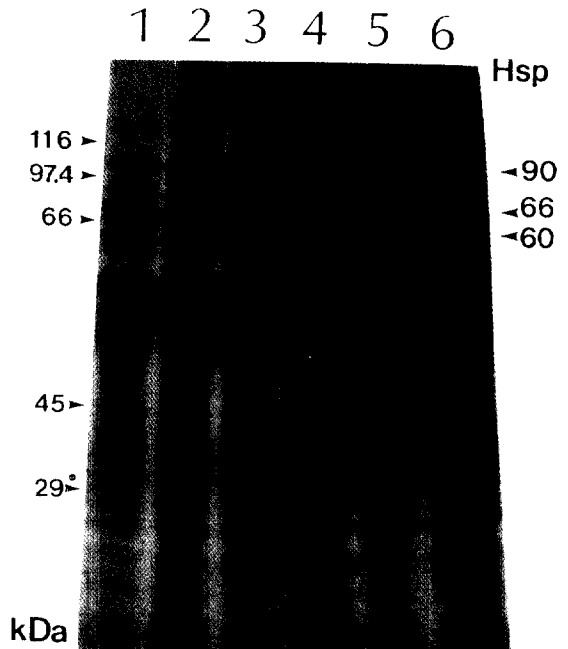


Fig. 2. Autoradiogram of the proteins synthesized in C. jejuni heat-shocked at 48°C and duration of the heat shock proteins in the cells. Lane 1-2, 42°C→labeling for 10 min(1) and 30 min(2); Lane 3-4, 48°C(15 min)→labeling for 10 min(3) and 30 min(4); Lane 5-6, 48°C(15 min)→42°C(5 min)→labeling for 10 min(5) and 30 min(6).

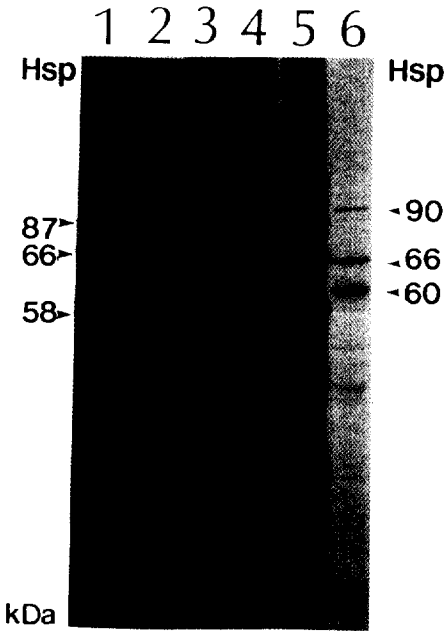


Fig. 3. Comparison of the major heat shock proteins synthesized in *C. jejuni* and *E. coli*.

Lane 1, CG1849 strain labeled at 42°C for 5 min; Lane 2, CG2468 strain labeled at 42°C for 5 min; Lane 3-5, XL1-blue strains labeled at 30°C (lane 3), 42 °C (lane 4), 48°C (lane 5) for 5 min; Lane 6, *C. jejuni* labeled at 48°C for 30 min.

SDS-PAGE 상에서 같은 크기의 단백질로 확인된 *C. jejuni*의 Hsp66은 모든 Hsp중에서 진화학적으로 가장 잘 보존되어 온 것으로 알려진 Hsp70 단백질군인 DnaK 에 해당하는 것으로 판단된다. 또 *C. jejuni*의 Hsp90 과 Hsp60은 각각 *E. coli*의 Hsp90 및 Hsp60 단백질군과 같은 것들이었다.

***C. jejuni*의 열충격 유전자의 확인**

pOF39와 pCG1에 대한 제한효소 분석 결과는 Fig. 4와 같다. *dnaK*는 5.4 kb의 *Hind*III 절편에 포함되어 있고(lane 4), *groESL*은 2.2 kb 의 *Hind*III-*Eco*RI 절편임을 확인하였다(lane 1).

C. jejuni (lane 1 과 3)와 *E. coli* (lane 2 와 4)의 chromosomal DNA를 *Pst*I (lane 1 과 2) 과 *Hind*III (lane 3 과 4) 으로 각각 절단하고 agarose gel 전기영동한 결과는 Fig. 5 A와 같다. 이 gel로부터 5.4 kb의 *Hind*III 절편(*dnaK*)를 탐침자로 사용하여 Southern hybridization한 결과는 Fig. 5 B와 같다. *E. coli*에서는 *Pst*I에 의해서 4.3 과 2.8 kb (lane 2)의 절편에서 그리고 *Hind*III에 의해서 5.4 kb (lane 4)의 절편에서 혼성화 반응을 보여주는 반면, *C. jejuni*에서는 *Pst*I에 의해서 5.4 kb (lane 1) 와 *Hind*III에 의해서 6.0과 4.3 kb (lane 3)의 절편에서 다른 혼성화



Fig. 4. Restriction enzyme analysis of pOF39 and pCG1 containing *groESL* and *dnaK* respectively.

Lane 1, *Hind*III & *Eco*RI-treated pOF39; Lane 2, *Hind*III-treated pOF39; Lane 3, pOF39; Lane 4, *Hind*III-treated pCG1; Lane 5, pCG1. Lane S, *Hind*III-treated λ DNA size markers

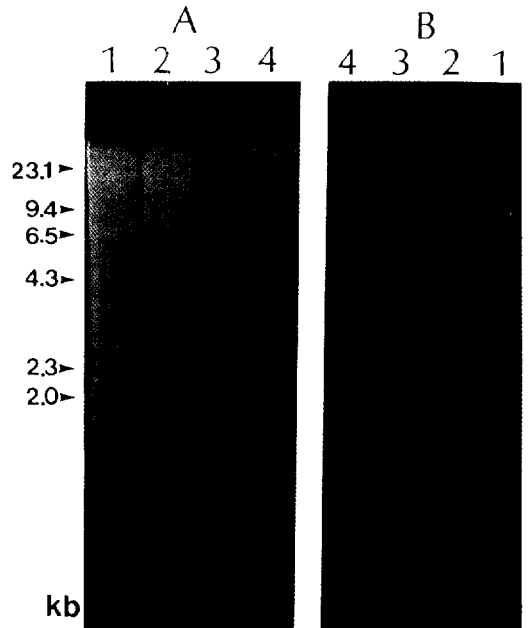


Fig. 5. Electrophoresis (A) of the restriction endonuclease-digested DNAs of *C. jejuni* and *E. coli*, and Southern hybridization (B) of the gel by using *dnaK* probe.

C. jejuni (lane 1 & 3) and *E. coli* (lane 2 & 4) digested with *Pst*I (lane 1 & 2) and *Hind*III (lane 3 & 4). Arrows on the panel B indicate hybridization signals.

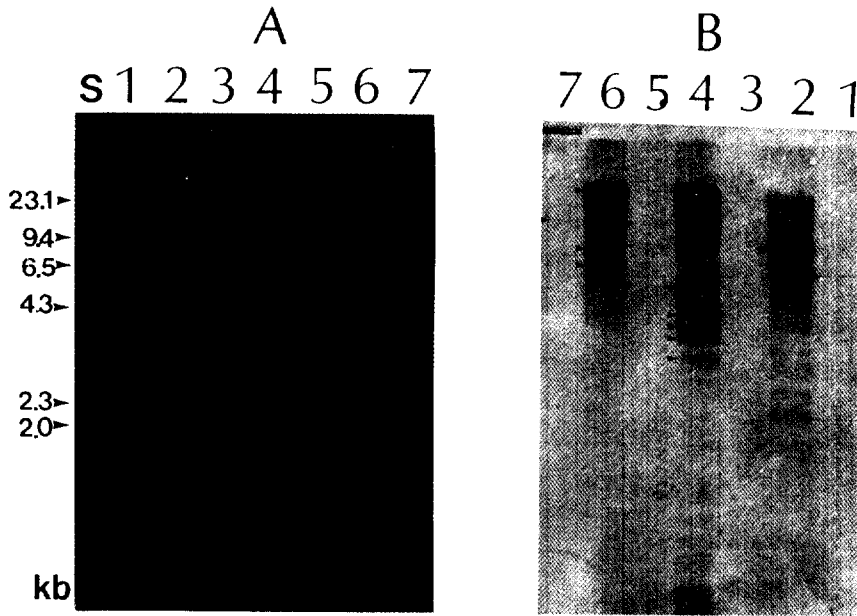


Fig. 6. Electrophoresis (A) of the restriction endonuclease-digested DNAs of *C. jejuni* and *E. coli*, and Southern hybridization (B) of the gel by using *groESL* probe. *C. jejuni* (lane 1, 3, 5, 7) and *E. coli* (lane 2, 4, 6) digested with *PvuII* (lane 1), *EcoRI* (lane 2 & 3), *PstI*(lane 4 & 5), and *HindIII*(lane 6 & 7). Arrows on the panel B indicate hybridization signals.

반응이 나타났다. 그러므로 *C. jejuni*는 *dnaK*와 상동성을 가진 열충격 유전자를 chromosome에 가지고 있음을 확인하였다.

*C. jejuni*의 열충격 유전자의 구조적 특성을 *E. coli*의 열충격 유전자와 비교하기 위하여, *E. coli* (lane 2, 4, 6)와 *C. jejuni* (lane 1, 3, 5, 7)의 chromosomal DNA를 *PvuII* (lane 1), *EcoRI* (lane 2 와 3), *PstI* (lane 4 와 5), *HindIII* (lane 6 과 7)으로 각각 절단하여 agarose gel에서 전기영동한 결과는 Fig. 6 A와 같다. *E. coli*의 *groESL*를 탐침자로 사용하여 제한효소 처리된 *C. jejuni*의 DNA와 Southern

hybridization 한 결과는 Fig. 6 B와 같다. *E. coli*에서는 *EcoRI*에 의해서 8.1 kb의 절편에서 강한 혼성화 반응이 나타났으며(lane 2), *PstI* (lane 4)과 *HindIII* (lane 6)의 절편에서는 몇개의 위치에서 혼성화 반응을 보여주었다. *C. jejuni*에서는 *PvuII*에 의해서 6.5 kb(lane 1), *PstI*에 의해서 10, 8.1, 5.4 kb (lane 5), *HindIII*에 의해서 10 kb (lane 7)의 절편에서 혼성화 반응을 보여주었다. 이는 *C. jejuni*가 *groESL*과 상동성을 가진 열충격 유전자를 가지고 있음을 의미하는 것이다.

열충격 유전자를 포함하는 DNA의 비교

Table 2. Comparison of *C. jejuni* and *E. coli* DNAs containing heat shock gene by Southern hybridization analysis.

| DNA Probe | Restriction Enzyme | No. of Hybridized Band | |
|---------------|--------------------|------------------------|---------------------------|
| | | <i>C. jejuni</i> | <i>E. coli</i> |
| <i>dnaK</i> | <i>PstI</i> | 1 (5.4) | 3 (4.3, 2.8, 2.4) |
| | <i>HindIII</i> | 2 (6.0, 4.3) | 1 (5.4) |
| <i>groESL</i> | <i>PstI</i> | 3 (10, 8.1, 5.4) | 5 (5.4, 4.5, 4.3, 4.1, 3) |
| | <i>HindIII</i> | 1 (10) | 3 (25, 8, 7) |
| | <i>EcoRI</i> | NT | 1 (8.1) |
| | <i>PvuII</i> | 1 (6.5) | NT |

The numbers in parentheses represent size of the hybridized fragments in kilobases. NT, Not to tested

두 균주에서 보여주는 Southern hybridization 결과를 비교분석한 것은 Table 2와 같다. *E. coli*에서 *HindIII*에 의하여 절단된 5.4 kb의 절편에 완전한 *dnaK* 유전자가 포함된다는 Johnson 등(6)의 보고와 일치되는 결과를 본 연구에서도 명확하게 얻었으나, *PstI*에 의해서 보여준 3개의 혼성화 반응은 *dnaK* 유전자에 *PstI* 절단부위가 최소한 2개 이상 있음을 암시해 준다. 그러나 *C. jejuni*의 *dnaK* 유전자에서는 *PstI* 절단부위가 없고 1개의 *HindIII* 절단부위가 존재함을 알 수 있다. *E. coli*의 *groESL* 유전자를 포함하는 8.1 kb의 절편에 *EcoRI* 절단부위가 발견되지 않은 본 연구의 결과는 Fayet 등(3)의 보고와 일치하였으며, *PstI*과 *HindIII*에 의하여 절단되는 부위는 각각 최소한 4개와 3개가 존재함을 알 수 있었다. *C. jejuni*의 경우에는 *PvuI*와 *PstI*에 의해 절단되는 부위가 *groESL* 유전자에는 없고 *PstII*에 의하여 절단되는 부위는 최소한 2개가 입증되었다.

따라서 두 균주사이에 혼성화 반응의 위치가 일치하지 않는 것은 두 균주의 열충격 유전자를 포함하고 있는 genomic DNA 상에서 제한효소에 의하여 절단되는 위치(제한효소 지도)에 차이가 있음을 의미한다. 그리고 혼성화 반응이 *E. coli*에 비해 다소 약하게 나타났지만 각각의 제한효소에 의한 절편에 대하여 특이한 혼성화 반응이 나타나는 것으로 보아 *C. jejuni*에도 *groESL*과 *dnaK* 유전자와 상동성을 띄는 열충격 유전자를 가지고 있음을 알 수 있었다.

사 사

본 연구는 1990년도 문교부 학술연구 조성비(유전공학)에 의하여 수행되었음.

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. Erickson, J. W. and C. A. Gross. 1989. Identification of the σ^H subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase: A second alternate factor involved in high-temperature gene expression. *Genes Dev.* 3, 1462-1471.
3. Fayet, O., J.-M. Louarn and C. Georgopoulos. 1986. Suppression of the *Escherichia coli dnaA46* mutation by amplification of the *groES* and *groEL* genes. *Mol. Gen. Genet.* 202, 435-445.
4. Friedman, D. L., E. R. Olson, K. Tilly, C. Georgopoulos, L. Herskowitz, and F. Banuett. 1984. Interactions of bacteriophage and host macromolecules in the growth of bacteriophage lambda. *Microbiol. Rev.* 48, 299-325.
5. Gomes, S. L., M. H. Juliani, J. C. C. Maia, and A. M. Silva. 1986. Heat shock protein synthesis during development in *Caulobacter crescentus*. *J. Bacteriol.* 168, 923-930.
6. Johnson, C., G. N. Chandrasekhar, and C. Georgopoulos. 1989. *Escherichia coli* DnaK and GrpE heat shock proteins interact both *in vivo* and *in vitro*. *J. Bacteriol.* 171, 1590-1596.
7. 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.
8. 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.
9. 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. Stress proteins in biology and medicine. CSH Press, Cold Spring Harbor, New York.
10. Narberhaus, F., and H. Bahl. 1992. Cloning, sequencing, and molecular analysis of the *groESL* operon of *Clostridium acetobutylicum*. *J. Bacteriol.* 174, 3282-3289.
11. Neidhardt, F. C., R. A. VanBogelen, and V. Vanughn. 1984. The genetics and regulation of Heat shock proteins. *Ann. Rev. Genet.* 18, 295-329.
12. Neidhardt, F. C., and R. A. VanBogelen. 1987. Heat shock response. pp. 1334-1345. In F. C. Neidhardt, et al.(ed), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular and molecular biology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Rollins, D. M., J. C. Coolbaugh, R. I. Walker, and E. Weiss. 1983. Biphasic culture system for rapid *Campylobacter* cultivation. *Appl. Environ. Microbiol.* 45, 284-289.
14. Sambrook, J., E. F. Fritsch, T. Maniatis. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
15. Silhavy, T. J., M. L. Berman, and L. W. Enquist. 1984. Experiments with gene fusions. pp. 208-212. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
16. Tilly, K., N. Mckittrick, M. Zyliec, and C. Georgopoulos. 1983. The *dnaK* protein modulates the heat shock response of *Escherichia coli*. *Cell* 34, 641-646.
17. 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.
18. Voget, R. L., H. E. Sour, T. Barretl, R. A. Feldman, R. I. Dickinson, and L. Witherell. 1982. *Campylobacter* enteritis associated with contaminated water. *Ann. Intern. Med.* 96, 292-296.

19. Westfall, H. N., D. M. Rollins, and E. Weiss, 1986. Substrate utilization by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Bacteriol.* **52**, 700-705.
20. 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.
21. 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.
22. Zylitz, M., D. Ang, and C. Georgopoulos, 1989. Initiation of lambda DNA replication with purified host- and bacteriophage-encoded proteins. *EMBO J.* **8**, 1601-1608.

(Received May 18, 1992)

(Accepted May 28, 1992)

ABSTRACT: Heat Shock Response and Heat Shock Genes in *Campylobacter jejuni*

Kim, Chi-Kyung, Chae-il Lim, and Kil-Jae Lee* (Department of Microbiology, Chungbuk National University and *Department of Biology Education, Korea National University of Education)

Campylobacter jejuni were studied for their heat shock responses at several elevated temperatures and their heat shock genes were detected by the technique of Southern hybridization. *C. jejuni* synthesized the major heat shock proteins of hsp90, hsp66, and hsp60 at 48°C and their survival rates were maintained as the same level at optimal temperature. The heat shock genes in chromosome of *C. jejuni* were determined to be homologous to the heat shock genes of *E. coli*, by showing strong signals in Southern hybridization analysis using *dnaK* and *groESL* as DNA probe. But the restriction sites for the fragments including heat shock genes were different between *E. coli* and *C. jejuni*.