

E311

한국에서 분리한 *Ustilago maydis* SH14 toxin protein에 관한 연구

하은수*, 이세원, 최형태
강원대학교 자연과학대학 미생물학과

*Ustilago maydis*의 세포질내에 존재하는 dsRNA는 동종이나 그와 관련된 유사종에 killing effect를 나타내는 toxin을 발현 분비한다. 본 실험에서는 한국에서 분리한 *U. maydis* SH14 strain으로부터 toxin을 분리 정제하였다. *U. maydis* SH14 strain을 실험실에서 개발한 최소배지를 이용하여 대량 생산한 후 alcohol 침전단계를 거쳐 CM sephadex C-50을 이용한 cation exchange chromatography와 sephadex G-75를 이용한 gel filtration chromatography, DEAE-sepharose CL-6B를 이용한 anion exchange chromatography를 통하여 분리 정제되었다. 정제된 toxin은 SDS denaturing gel electrophoresis에서 분자량이 8.5kDa으로 나타났다. Toxin의 killing mechanism을 알아보기 위하여 competition assay를 통해 sensitive strain의 toxin receptor를 찾고자 한다. 또한 정제된 toxin을 mouse에 면역시킴으로써 antibody를 얻어내었으며 ELISA test를 통하여 이를 확인하였다.

E312

Laccase를 과량 분비하는 *Coprinus congregatus* mutant의 생리학적 특성

김순자*, 최형태
강원대학교 자연과학대학 미생물학과,
서울대학교 분자미생물학 연구센터

담자균류인 *Coprinus congregatus* Fries monokaryon(cc 16)은 고체배지 조건에서 분화단계에 관여하는 laccase가 균사 끝부분에 존재하며 이 효소는 배지로 전혀 분비되지 않는다. 이 균류를 U.V.로 돌연변이 시킨 결과 성장속도가 wild type과 비슷하고 laccase가 과량 분비되는 변이주(CL110)를 얻었다. 변이주(CL110)는 *Cop. congregatus* dikaryon(Cc-d)의 효소 유도배지(pH 4.2 YpSs)에서는 물론 Cc-d의 laccase가 분비되지 않는 정상적인(pH 7.0 YpSs) 액체 진탕배양에서 효소를 생성분비 하였다. 효소 유도배지에서 배양 4일 후 효소활성이 없어지는 Cc-d의 경우와 달리 CL110균주는 배양 8일 후까지 효소를 분비하였고 산성배지의 중화가 나타나지 않았으며 laccase에 의한 색소 생성정도는 정상적인 배지에서 빠르게 관찰되었다. 변이주(CL110)의 laccase를 전기 영동법으로 분석한 결과 Cc-d의 laccase와 동일한 효소가 존재함과 동시에 mobility가 다른 isozyme도 관찰되었다.