

B328

Distribution of Mercury-Resistant Bacteria and Restriction Fragment Length Polymorphism of *mer* genes in Natural Waters

박정환, 정연주, 조기성¹

¹한국의국어대학교 자연과학대학 미생물학과

충청남도 아산만 일대의 해수와 강원도 태백의 계곡수를 채수하여 mercury-resistant bacteria 를 분리하였다. 아산만 일대의 바닷물에서 heterotrophic bacteria 중 mercury-resistant bacteria 의 비율은 0- 1.2%로 낮게 나타났으며, 태백의 계곡수는 17.8 - 94.6%였다. 이들 분리된 mercury-resistant bacteria 중 *mer* gene을 함유한 bacteria를 detection하기 위해 DIG-labeled detection 방법을 이용한 colony hybridization으로 detection 하였다. *mer* gene을 함유한 bacteria에서 *mer* genes 중 conserved sequences에 해당하는 약 1Kb의 *mer* gene fragment를 PCR을 이용하여 amplification하였다. 그 PCR products를 restriction enzyme으로 처리하여 restriction pattern으로 polymorphism을 조사하였다. 또 *mer* gene을 함유한 bacteria를 identification을 하였다. 아산만 일대의 바닷물에서는 주로 *Pseudomonas* 와 *Alcaligenes*였고, 태백의 계곡수에는 주로 *Vibrio* - *Aeromonas*였다.

B329

Purification and Some Properties of a Extracellular DNase from *Aeromonas hydrophila*

남인영*, 조기성, 명희준, 최영길¹

한국의국어대학교 자연대학 미생물학과,¹한양대학교 자연대학 생물학과

자연계로 방출되는 extracellular DNase는 생태계에서 인의 순환과정과 유전자 재조합 방법에 의하여 제조된 기능 균주의 안정성에 영향을 미치는 중요한 효소이다. 이를 위해 extracellular DNase producing bacteria의 빠른 detection 방법과 이 DNase의 특성을 밝히고자 cloning을 통한 purification으로 특성을 알아보았다.

현재 DNase producing bacteria로 알려진 *Aeromonas hydrophila*로 DNase gene의 ORF인 PCR product (about 700 base pair)를 얻어냈다. 그리고 이를 DIG-labeled probe로 사용하여 hybridization을 수행하여 빠른 detection 방법을 연구했다. 그 PCR product를 insert로 T-vector에 cloning 시켜 pIN 1, pIN 2를 제작하였고, 이를 바탕으로 DNase activity의 검증을 위하여 over-expression vector인 pUHE 21-2에 subcloning 시킨 pIN 4를 제작하였다. 또한 purification을 위한 MBP (maltose binding protein)와 DNase gene의 ORF인 insert를 fusion 시키기 위해 pIN 1에 site-directed mutagenesis를 일으킨 pIN 3을 제작하였다. 이는 DNA sequencing을 통하여 확인하였으며 published *A. hydrophila*의 sequencing과 비교하였다. 위의 fusion protein은 pMAL vector에 pIN 3의 DNase gene을 subcloning을 시켜 pIN 5를 제작하였으며 DNase activity의 확인과 column을 통해 DNase protein을 purification시켜 그 특성의 일부를 조사하였다.