

**E313** Resuscitation of *Vibrio vulnificus* from Starvation-Induced 'Non-Culturable but Viable' (NCBV) State and the Presence of Its Regulatory Genes

Kyoung-Suk Shin<sup>\*1</sup>, Jiyoung Choi<sup>2</sup>, and Kyu-Ho Lee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, <sup>2</sup>Department of Environmental Science, Hankuk University of Foreign Studies.

본 논문은 marine pathogenic bacteria인 *Vibrio vulnificus*가 starvation 조건 하에서 NCBV로 entry 후 culturable 상태로 되는 resuscitation 시키는 factor(s)를 알아보고, 이에 관여하는 genes를 찾아보기 위함이다. *V. vulnificus*는 starvation 조건 하에서 cell의 physiological state (e.g., stationary 또는 exponential phase) 그리고 incubation temperature (e.g., 4 또는 30°C)에 따라 NCBV로의 entry rate이 달라진다. NCBV cell은 temperature upshift (4→30°C), 또는 30°C에서 spent-medium (SM)을 fresh medium (FM)으로 교환 시 resuscitation이 발생한다. *V. vulnificus* wild-type (wt; ATCC29307 strain)을 mini-Tn5로 random mutagenesis를 수행하여 resuscitation에 변화가 생긴 mutant strain CJY8을 얻었다. CJY8은 starvation 시, CFU 감소율은 변화가 없으나, NCBV 상태의 CJY8은 temperature upshift나 medium change에 의한 resuscitation의 정도가 wt에 비하여 100배 이상 낮은 결과를 보였다. 한편 SM에 존재하는 extracellular components에 의한 NCBV로의 induction을 보면 wt의 경우 CFU 감소율이 5-20배 더 빠르게 일어난다. 그러나 CJY8의 경우, 자신의 SM에 inoculation 시 FM의 경우와 비교하여 아무런 변화가 없었다. 아울러 이 mutant는 cold-, heat-, osmotic-shock에 대하여 wt과 같은 starvation response를 보이나, acidic pH에 대하여는 그 생존도가 wt에 비하여 약 400배나 빠른 감소를 보였다. 따라서 starvation, acid shock response, 그리고 resuscitation의 연관관계가 있다고 믿어지는 *rpoS*를 *V. vulnificus*에서 그 존재를 확인하였으며 이 gene의 cloning을 진행 중에 있다.

**E314** Expression of Immunologically Active Porcine Recombinant TGF-β1 Precursor Protein in Baculovirus System.

Hyun Lim\*, Pyeung-Hyeun Kim, Gie-Taek Chun, Eui Yul Choi<sup>1</sup> and Se Won Yie

Department of Microbiology, Kang Won National University,  
Department of Genetic Engineering, Hallym University<sup>1</sup>

In order to express recombinant form of porcine TGF-β1 protein in baculovirus expression system the entire TGF-β1 gene containing extra amino acids at the N terminus was cloned into pFBa and pFBb of Bac-To-Bac™ baculovirus expression system. One of them contains 106 extra amino acids, designated pFBa-106TGF-β1 and the other has 28 extra amino acids, pFBb-28TGF-β1. The orientation of the gene was identified with restriction enzyme mapping and PCR with internal TGF-β1 primers. Sf-9 cells were infected at a high m.o.i. by the recombinant viruses generated from two different plasmids. Both of the recombinant viruses produced precursor forms of TGF-β1, expected sizes of 55 kD and 46.4 kD. These precursor forms of TGF-β1 reacted with polyclonal antibody against human TGF-β1. No mature form of TGF-β1 protein was detected on SDS gels and an immunoblot indicates that TGF-β1 precursor is not properly processed in insect cells.