

## 카드뮴 축적 변이주인 *Pseudomonas maltophilia* H-8M의 특성

류병호<sup>†</sup> · 노명훈 · 정수자\* · 배기철\*\*

경성대학교 식품공학과  
\*부산여자전문대학 식품영양과  
\*\*부산시 보건환경연구원

### Characteristics of Cadmium Accumulating Mutant, *Pseudomonas maltophilia* H-8M

Beung-Ho Ryu<sup>†</sup>, Myung-Hoon Rho, Su-Ja Jung\* and Ki-Chul Bae\*\*

Dept. of Food Science and Technology, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Pusan Woman's Junior College, Pusan 614-053, Korea

\*\*Institute of Pusan Public Health and Environment, Pusan 608-104, Korea

#### Abstract

This study was carried out to investigate the characteristics of a mutant, *Pseudomonas maltophilia* H-8M selected with the treatment of *Pseudomonas maltophilia* H-8 by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). This mutant showed highest ability of cadmium accumulation. The growth rate of *Pseudomonas maltophilia* H-8M showed about 80% in 1000ppm Cd containing medium when compare with control for 36h at 30°C. *Pseudomonas maltophilia* H-8M not inhibited on the growth in addition of various heavy metal such as Hg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup> and Co<sup>2+</sup>, but inhibited in Sn<sup>2+</sup> containing medium, respectively. *Pseudomonas maltophilia* H-8M was accumulated the highest cadmium level of 62.3% on whole cell in the medium containing 50 ppm and 80% of accumulated cadmium was distributed in the cell wall.

**Key words :** *Pseudomonas maltophilia*, cadmium accumulation

#### 서 론

고도 산업사회를 지향함에 따라 증가하고 있는 중금속에 의한 환경오염은 심각하며 중금속은 미량으로서도 상당한 독성을 갖는 것으로 알려져 국민의 건강을 위협하고 있다<sup>1)</sup>. 그러므로 선진에서는 산업근로자나 오염된 환경에서 재배된 식품의 섭취로 인한 중

독실태를 보고한 바 있고<sup>2)</sup> 우리나라에서도 수질 및 토양에 함유된 중금속함량을 매년 조사하고 있으며<sup>3)</sup> 식품에 대한 규격도 엄격히 규제하고 있다<sup>4)</sup>.

중금속 중 카드뮴은 카드뮴 광산지역, 제련, 전기노금, 사진재료 및 전자 가공업체에서 주로 배출되며, itai-itai병의 원인물질로 잘 알려져 있다. 이와같이 인간 및 환경을 오염시키는 중금속은 산업폐기물에 대량으로 존재하는 중금속을 보다 효과적으로 분리, 제거하기 위한 일련의 연구중에는 화합물과 결합 및 흡

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

착에 의해 제거하는 방법과 미생물을 이용하여 중금속의 함량을 감소시키는 방법 등이 다수 보고되었다<sup>5-7</sup>. 카드뮴을 축적하는 미생물로서는 *Bacillus*<sup>8</sup>, *Citrobacter*<sup>9</sup>, *Enterobacter*<sup>10</sup>, *Pseudomonas*<sup>11</sup>, *Staphylococcus*<sup>12</sup>, *E. coli*<sup>13</sup>, *Klebsiella*<sup>14</sup> 등의 세균과 fungi<sup>15</sup> 및 yeast<sup>16</sup> 등이 있다.

미생물을 이용하여 카드뮴을 분리한 연구로서는 Brown과 Lester<sup>17</sup>가 활성오니를 이용하여 효과적으로 중금속을 감소시킨 것을 비롯하여 김과 이<sup>18</sup>는 *Enterobacter coloaecae*가 0.5ppm의 카드뮴 첨가배지에서 59%의 카드뮴을 균체내에 축적하였음을 보고하였고, 유<sup>19</sup>는 *Erwinia* sp.를 이용하여 고농도인 2,800ppm의 카드뮴 내성균주를 분리하였음을 보고한 바 있다.

또한 Tynecka 등<sup>20</sup>은 카드뮴에 대한 내성을 가진 균주로 카드뮴을 흡착한 다음 배출하는 특이성을 보고한 바 있으며, Aiking 등<sup>21</sup>은 *Klebsiella aerogenes*가 중금속에 내성을 가지며 0.6mM의 카드뮴에 대해서도 내성을 나타내었음을 보고하는 등 많은 연구가 진행되고 있다.

본 연구는 카드뮴 축적균주인 *Pseudomonas maltophilia* H-8를 이용하여 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)로 처리하여 얻은 돌연변이주인 *Pseudomonas maltophilia* H-8M의 특성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

*Pseudomonas maltophilia* H-8을 사용하였다<sup>22</sup>.

### 배지

카드뮴을 축적하는 균주를 분리하기 위한 완전배지 (complete medium; CM)는 glucose 10g, peptone 10g, yeast extract 5g, NaCl 5g/L, pH 7.0으로 조절된 다음 멸균한후 따로 멸균한 CdCl<sub>2</sub>를 100ppm되게 첨가하여 사용하였다.

최소배지 (minimal medium; MM)는 Macaskie와 Dean 등<sup>9</sup>의 방법에 따라 FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.32mg, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.063g, KCl 0.62g, glycerol 2-phosphate (disodium salt hydrate) 0.67g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.96g, Tris-HCl 12.0g, glucose 1.5g/L, pH 7.0을 사

용하였으며 균주의 세척에 사용한 완충액은 Tris-maleate (0.05M Tris-maleate, 0.05M NaOH, pH 7.0) 이었고, plasmid 검출에 사용된 용액의 조성은 TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0), solution I (50mM glucose, 25mM Tris-HCl, 10mM EDTA, pH 8.0), solution II (0.2M NaOH, 1% SDS), solution III (5M potassium acetate 60ml, glacial acetic acid 11.5ml, H<sub>2</sub>O 28.5ml)을 사용하였다.

### 변이주의 분리

완전액체배지에서 대수증식기 중기 (1 × 10<sup>8</sup> cells/ml)까지 배양한 균액 20ml를 8,000 × g에서 5분간 원심분리하여 집균한 다음 Tris-maleate buffer (pH 7.0)으로 2회 세척한 후 2 × 10<sup>8</sup> cells/ml가 되게 현탁시켜 동량의 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) 용액 (500 μg/ml)을 가하여 30℃에서 30분간 처리하였다. 이를 상기 buffer로써 3회 세척하고 동일 buffer에 현탁시킨 다음 500ppm의 카드뮴이 첨가된 완전고체배지에 도말하여 30℃에서 3~5일간 배양하여 생육한 균주를 선발하였다.

### 균체내 카드뮴의 정량

배양액 (10~20ml)을 원심분리 (8,000 × g, 5분)하여 집균한 다음 탈이온수로써 2회 세척하고 냉각된 Tris-maleate buffer에 현탁하여 Bead beater (Life Science Lab. Luton, United Kingdom)에 bead (diameter; 0.25~0.3mm)를 넣어 2분간 균체를 파괴하였다. 원심분리 (8,000 × g, 5분)하여 상등액을 분리하고 침전물은 냉각된 탈 이온수로써 2회 세척하여 세척액은 상등액과 혼합하여 개별분석에 사용하였다.

시료의 전처리는 일본 위생시험법<sup>23</sup>에 따라 황산 및 질산으로 분해하였다. 이와같이 조제된 시료를 사용하여 MIBK (methyl isobutyl ketone) 용액으로 추출한 다음 원자흡광광도계 (Model: Varian spectra A-30)로 카드뮴을 정량하였다.

### Plasmid DNA의 분리 및 전기영동

카드뮴 축적균주에 대하여 plasmid를 갖고있는 균주를 확인하기 위하여 chloramphenicol (10 μg/ml)로 처리한 완전액체배지에서 24시간 배양한 다음 원심분리 (8,000 × g, 5분)하여 Ish-Horowicz와 Burke의 방법<sup>24</sup>에 따라 plasmid DNA를 분리하였다.

분리한 plasmid DNA의 전기영동은 0.7% agarose의 horizontal gel을 이용하였다. Buffer system은 TBE buffer를 사용하였으며 40mA, 30V에서 8시간동안 전개한 후 ethidium bromide로 30분간 염색하여 UV-transilluminator (Model : TR-302)에서 관찰한 다음 Polaroid camera (Model : UV DNA SL II Camera System, Seolin Scientific Co.)로 사진촬영하였다.

## 결과 및 고찰

### 변이주의 분리

카드뮴축적율이 높은 변이주를 분리하기 위하여 *Pseudomonas maltophilia* H-8에 강력한 변이원인 MN-NG 용액 (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)을 최종농도 250 µg/ml가 되도록 처리한 다음 Trismaleate buffer (pH 7.0)에 균체를 희석하여 500ppm의 카드뮴 첨가 배지에서 생육하는 변이주를 분리하였다.

*Pseudomonas maltophilia* H-8에서 유래된 변이주중 30°C에서 30시간 배양하였을 때 OD<sub>660</sub>에서 1.4로 가장 생육이 빠른 변이주를 *Pseudomonas maltophilia* H-8M으로 명명하고 이후의 실험에 사용하였다.

### 카드뮴농도에 따른 생육도

변이주 *Pseudomonas maltophilia* H-8M을 카드뮴을 첨가하지 않는 것을 대조구로 하고, 또 250-1, 500ppm의 카드뮴이 첨가된 완전배지에서 30°C에서 36시간 배양하였을 때의 생육도를 Fig. 1에 나타내었다.

변이주 *Pseudomonas maltophilia* H-8M의 경우 카드뮴을 첨가하지 않은 배지와 250ppm의 카드뮴처리한 배지에서는 24시간내에 최대의 성장을 보였으며 500ppm의 카드뮴을 첨가한 경우 약간의 생육억제를 나타내었으며 1,000ppm이상에서는 심한 생육억제를 보였다.

250ppm 및 500ppm의 카드뮴 농도에서 24~30시간 배양을 하였을 때 대조구에 비해 다소 생육억제를 보였으며 1,000ppm이상의 고농도의 카드뮴 첨가배지에서는 강한 생육억제를 나타내었다. 1000ppm에서 36시간 배양시 대조구의 약 80%정도의 생육도를 나타내었다.

이는 고농도의 카드뮴이 균체세포단백의 SH기와 강하게 결합하여 균체의 단백질 합성을 방해하여 세

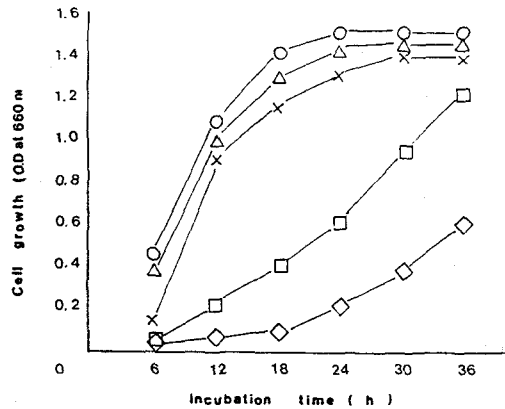


Fig. 1. Effect of cadmium concentration on growth of the *Pseudomonas maltophilia* H-8M.

○—○ : None △—△ : 250 ppm  
 ×—× : 500 ppm □—□ : 1000 ppm  
 ◇—◇ : 1500 ppm

포분열이 저해를 받으므로 생육도의 저하가 일어난다. 한편 저해물질에 대한 내성이 생성되어 증식기간이 다소 연장되는 것은 저해 물질에 대한 내성이 시간 때문인 것으로 생각된다.

Tohoyama 및 Murayama<sup>25)</sup>는 UV조사로써 유도한 변이주 *Saccharomyces cerevisiae* 302로 고농도의 카드뮴에서 생육이 가능한 균주를 분리하였음을 보고한 바 있고 본 실험에서도 분리주의 경우 250ppm에서 생육억제를 나타내는데 비해 변이주의 경우 500ppm의 카드뮴 첨가배지에서 대조구에 비해 생육도에서 큰 차이를 보이지 않는 우수한 변이주를 분리하였다.

### 카드뮴염의 종류에 따른 영향

카드뮴염의 종류가 변이주 *Pseudomonas maltophilia* H-8M의 생육에 미치는 영향을 검토하기 위하여 4종류의 카드뮴염을 각각 100ppm 첨가한 완전액체배지에서 균주의 상대생육도를 측정된 결과는 Table 1과 같으며, 이때 기준배지는 cadmium chloride를 첨가한 배지를 생육도 100%로 하였다.

카드뮴염의 종류에 따른 균주의 생육도는 큰 영향을 미치지 않았으나 cadmium nitrate가 다른 염류보다 양호한 것으로 나타났는데 이는 균체의 생육에 있어 질산염의 이용성이 보다 높은 것으로 판단되며, 유 등<sup>26)</sup>이 *Hansenula anomala*를 이용하였을 때 cadmium sulfate에서의 생육이 우수하였다고 보고한 것과는 다소 상이하였는데 이는 균종의 차이에 의한

**Table 1. Bacteriostatic activity on the various cadmium compounds**

Cadmium salt	Relative growth(%)
Cd-chloride	100
Cd-nitrate	105
Cd-acetate	92
Cd-sulfate	87

것으로 생각된다.

### 카드뮴 이외의 중금속의 영향

산업폐기물은 카드뮴과 같이 단일성분만이 함유된 것으로는 볼 수 없는 까닭으로 각종 중금속에서의 생육도를 조사하였으며, HgCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, PbCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, SnCl<sub>2</sub>, CrCl<sub>3</sub> 및 CoCl<sub>2</sub>를 금속이온으로서 각각 100ppm 첨가한 배지에서의 균체의 상대생육도를 조사한 결과는 Table 2와 같으며 대조구로는 카드뮴을 첨가한 배지를 사용하였다.

각종 중금속 100ppm을 첨가한 완전액체배지에 변이주 *Pseudomonas maltophilia* H-8M을 접종하여 30℃에서 36시간 배양한 다음 카드뮴 100ppm을 첨가한 배지와 균체의 생육도를 비교시 Pb<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cr<sup>2+</sup> 및 Co<sup>2+</sup>을 각각 첨가하여 조사한 결과 92~105%로 대조구에 비해 큰 차이가 없었으나 Sn<sup>2+</sup>를 첨가한 배지에서는 심한 생육억제를 나타내었다. 이와같은 결과는 다른 중금속 보다 본 균주의 경우 Sn<sup>2+</sup>이 세포내의 가용성 단백질의 SH기 및 불용성의 당단백이나 복합인산기와 강한 결합에 의해 균체내에 축적됨에 따라 생육의 저해가 일어난 것으로 생각된다.

카드뮴 이외의 중금속의 균체내 축적효과에 대해 Venkateswerlu와 Stotzky<sup>27)</sup>가 *Cunninghamella blakesleeana*의 세포벽에 각종 중금속이 결합하여 있었음을 보고하였으며 Hall<sup>28)</sup>은 수은에 내성을 갖는 균주인 *Staphylococcus aureus*로 실험한 결과 수은의 다른 중금속에도 내성을 가지는 유전자가 존재하는 것을 확인하였고 Horitsu 등<sup>11)</sup>은 *Pseudomonas aeruginosa*에 흡수

**Table 2. Effect of various heavy metal on the growth of *Pseudomonas maltophilia* H-8M\***

Metal ions	Relative growth (%)
Cd <sup>2+</sup>	100.0
Hg <sup>2+</sup>	99.2
Zn <sup>2+</sup>	102.7
Pb <sup>2+</sup>	105.2
Cu <sup>2+</sup>	98.4
Sn <sup>2+</sup>	36.2
Cr <sup>2+</sup>	96.2
Co <sup>2+</sup>	92.1

\*The strain *Pseudomonas maltophilia* H-8M was growth at 30℃ in the aqueous medium with various metallic ions of 100ppm

된 카드뮴 중 88%가 가용성 단백질 및 불용성의 복합인산이나 당단백에 축적되며 그외 구리, 크롬, 수은 등의 중금속에 내성을 갖는다고 보고하였는데 이와같은 보고들은 본 실험의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

한편 중금속의 종류에 따른 생육억제에 있어서 유등<sup>26)</sup>은 *Hansenula anomala* B-7균주로써 실험한 결과 Hg<sup>2+</sup>가 10~13%의 생육억제를 보였으나 그외의 중금속에 의한 저해는 없었다고 보고한 바와 상이하였는

**Table 3. Distribution of cadmium in the *Pseudomonas maltophilia* H-8M cells**

Cadmium concentration	Location	Relative amount of Cd <sup>2+</sup> detected (mg/g dry base)	Distribution(%)
50 ppm	Whole cell	26.46	
	Cell wall	21.24	80.3
	Cytoplasm	5.22	19.7
100 ppm	Whole cell	30.32	
	Cell wall	19.94	65.8
	Cytoplasm	10.38	34.2
250 ppm	Whole cell	24.36	
	Well wall	16.72	68.6
	Cytoplasm	7.64	31.4

\*The culture of the organism was washed twice by deionizing water, disrupted by bead beator and separated into fractions of cell wall (precipitate) and cytoplasm(supernatant) by centrifuge 5 mins at 8,000 × g

데 이와같은 차이는 균종에 따른 결과로 생각된다.

### 균체내 카드뮴의 함량

변이주의 균체내 카드뮴의 함량을 조사하기 위하여 50ppm, 100ppm, 250ppm의 카드뮴을 첨가한 완전액체배지에서 36시간 진탕배양한 후 균체내의 카드뮴 함량을 정량한 결과는 Table 3과 같다

변이주 *Pseudomonas maltophilia* H-8M는 50ppm의 카드뮴이 첨가된 완전액체배지에서 건조균체g당 26.46mg의 카드뮴을 축적하였으며 첨가량에 대해 52.92%의 높은 축적율을 보였다. 또 세포벽에 21.24mg 원형질에 5.22mg이 축적되어 19.7%의 축적율을 보였다. 100ppm의 카드뮴첨가배지에서는 30.32mg을 균체내에 축적하여 그중 세포벽에 19.94mg이 축적되어 65.8%, 원형질에 10.38mg이 축적되어 34.2%가 축적되었다. 또한 250ppm의 카드뮴이 첨가된 배지에서는 건조균체당 24.36mg의 카드뮴이 축적되었으며 첨가량에 대해 9.7%의 낮은 축적율을 나타내었다. 세포벽에 16.72mg으로 68.6%를 원형질에 7.64mg으로 31.4%의 축적율을 나타내었다.

이와같은 결과는 Horitsu 등<sup>10)</sup>이 *Pseudomonas aeruginosa*로 실험한 결과 세포내의 단백질 성분이 카드뮴과 결합한다고 보고한 바와 같이 카드뮴의 농도증가에 따라 세포벽 및 원형질내 단백질의 SH기와 결합하여 세포벽의 합성 및 균체의 증식을 억제하는 것으로 생각된다. Khazaeli 및 Mitra<sup>13)</sup>에 의하면 *E. coli*에서의 카드뮴 축적율은 단백질의 함량이 높은 세포벽보다 원형질내에서 카드뮴의 축적율이 80%로 높게 나타났는데, 본 실험결과와는 상이하였다.

### Plasmid DNA의 분리 및 확인

Smith와 Novick<sup>29)</sup>가 *Staphylococcus*의 변이주에서 카드뮴내성을 지배하는 plasmid에서 카드뮴 A 및 B의 유전자를 확인하고 카드뮴 A유전자에 의해 약 100배의 내성을 증가시켰음을 보고한 바 있다.

카드뮴과 같은 중금속을 선택적으로 흡수하거나 배출하는 정보를 가진 유전자의 존재를 확인하기 위한 방법 중 하나로 대수증식기 중기( $1 \times 10^8$  cell/ml)의 변이주에서 plasmid를 분리, 정제하여 전기영동으로 확인한 결과를 Fig. 2에 나타내었다.

변이주 *Pseudomonas maltophilia* H-8M은 plasmid를 가진 균주로 확인되었다(Fig. 2). 이 균체의 plasmid

를 이용할 경우 보다 우수한 균주의 개량이 가능할 것으로 사료되며 이 분야에 관한 많은 연구가 계속 진행되어야 할 것으로 판단된다.

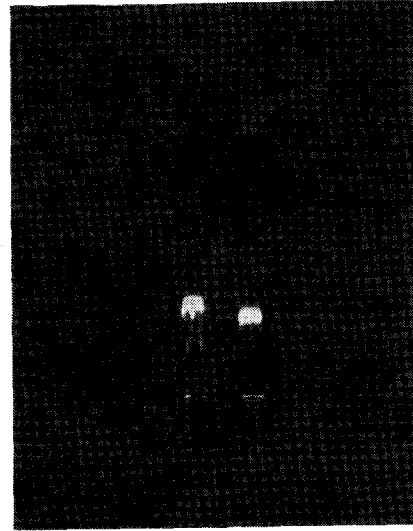


Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of plasmid isolated from *Pseudomonas maltophilia* H-8M.

Lane A : Bacteriophage  $\lambda$  DNA, Lane B : Plasmid DNA of *Pseudomonas maltophilia* H-8M. Electrophoresis was in 0.089M Tris-borate buffer (pH 8.0) on 0.7% agarose gel for 8hr.

## 요 약

본 연구는 cadmium의 축적균주인 *Pseudomonas maltophilia* H-8을 MNNG로 처리하여 cadmium축적능이 가장 우수한 변이균주인 *Pseudomonas maltophilia* H-8M을 얻었고 그 특성을 조사하였다. 변이주 *Pseudomonas maltophilia* H-8M은 카드뮴농도 1,000ppm에서 36시간 배양했을 시 대조구에 비해 약 80% 정도의 성장율을 나타내었다. 카드뮴 이외의 중금속의 첨가에 따른 생육상은  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cr^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  등에는 별다른 성장 억제는 없었으나  $Sn^{2+}$ 에서는 생육억제가 나타났다. 또한 50ppm의 카드뮴을 배지에 첨가 하였을 때 균체내 카드뮴 축적율은 52.92%로 가장 높게 나타났으며 축적부위는 세포벽에 80.3%의 축적율을 나타내었다.

## 문 헌

1. 茅野充男, 齊藤寛: 重金屬과 微生物. 博友社, p.

- 213(1988)
2. 用水廢水便覽 編纂委員會編：用水廢水便覽，改訂2版. 丸善株式會社, p.54(1972)
  3. 노창배, 송철, 심한섭, 유병천 : 국립보건연구원보, 11, 171(1974)
  4. 고인석, 노창배, 송철, 권혁희, 정국희, 주창백 : 국립보건연구원보, 9, 387(1974)
  5. Yu, T. S. : Microbial characteristics of heavy metal ion tolerant microorganisms. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 7, 183(1974)
  6. Sterritt, R. M. and Lester, J. N. : Interactions of heavy metals with bacteria. *Science of the Total Environment*, 14, 5(1980)
  7. Kobayashi, J. : Relation between the "itai itai" disease and the pollution of river water by cadmium from amine. In "Advances in water pollution research, 1-25/1-1-25/8". Jenkins S. H. (ed.), Oxford, Pergamon(1970)
  8. Pickett, A. W. and Dean, A. C. R. : Cadmium sensitivity and tolerance in *Bacillus subtilis* subsp. *niger* and in a *Pseudomonas* sp. *Microbiol.*, 24, 51(1975)
  9. Macaskie, L. E. and Dean, A. C. R. : Cadmium accumulation by a *Citrobacter* sp. *J. Gen. Microbiol.*, 130, 53(1984)
  10. Dohyle, J. J., Marshall, R. T. and Pfander, W. H. : Effects of cadmium on the growth and uptake of cadmium by microorganisms. *Appl. Microbiology*, 29, 562(1975)
  11. Horitsu, H., Kato, H. and Tomoyeda, M. : Uptake of cadmium by a cadmium chloridetolerant bacterium. *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Ferment. Technol.*, 57(4), 273(1979)
  12. Chopra, I. : Mechanism of plasmid mediated resistance to *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 7(1), 8(1974)
  13. Khazaeli, M. B. and Mitra R. S. : Cadmium-binding component in *Escherichia coli* during accommodation to low levels of this ion. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41(1), 46(1981)
  14. Aiking, H., Kok, K., Van Heerikhuizen, K. and Riet, J. H. : Adaptation to cadmium by *Klebsiella aerogenes* growing in continuous culture proceeds mainly via formation of cadmium sulfide. *Appl Environ. Microbiol.*, 938(1982)
  15. Babich, H. and Stotzky, G. : Sensitivity of various bacteria, including Actinomyces and fungi to cadmium and the influence of pH of sensitivity. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 681(1977)
  16. Norris, P. R. and Kelly, D. P. : Accumulation of cadmium and cobalt by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.*, 99, 317(1977)
  17. Brown, M. J. and Lester, J. N. : Metal removal in activated sludge ; the role of bacterial extracellular polymer. *Water Res.*, 13, 817(1979)
  18. 김영배, 이서래 : 카드뮴의 내성균 분리 및 균체내의 축적. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 4(3), 111(1976)
  19. 유대식 : 중금속 내성균주의 미생물학적 성질, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 7(4), 183(1979)
  20. Tynecka, Z., Zakac, J. and Gos, Z. : Plasmid dependent impermeability barrier to cadmium ion in *Staphylococcus aureus*. *Acta Microbiologica Pa-lonica*, series A, 7, 11(1975)
  21. Aiking, H., Sterkenburg A. and Tempest, D. W. : Influence of specific growth limitation and dilution rate on the phosphorylation efficiency and cytochrome content of mitochondria of *Candida utilis* NCYC 321. *Arch. Microbiol.*, 113, 65(1977)
  22. Edwin, H., Lennette, A., Balows, W., Hausler, J. R. and Shadomy, H. J. : *Manual of clinical microbiology*, 4nd eds., American Soc. for Microbiol., Washington, D. C., p.351(1985)
  23. 日本分析化學會關東支部編：公害分析指針 8, 食品編 2-6, 共立出版株式會社. 東京, p.22(1973)
  24. Ish-Horowicz, D. and Burke J. F. : Rapid and efficient cosmid cloning. *Nucleic Acids Res.*, 9, 2989(1981)
  25. Tohyama, H. and Murayama T. : Isolation and some characteristics of cadmium resistant yeast. *Agric. Biol. Chem.*, 41(8), 1523(1977)
  26. 유대식, 송형익, 정기택 : Characterization of a cadmium ion tolerant strain of *Hansenula anomala*. *Kor. J. Microbiol.*, 24(1), 57(1986)
  27. Venkateswerlu, G., Yoder, M. J. and Stotzky, G. : Morphological ultrastructural and chemical changes induced in *Cunninghamella blakesleeana* by copper and cobalt. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 654(1989)
  28. Hall, B. M. : Distribution of mercury resistance among *Staphylococcus aureus* isolated from a hospital community. *J. Hygi.*, 68, 121(1970)
  29. Smith, K. and Novick, R. P. : Plasmid DNA of *Staphylococcus* sp. exposed to Cd<sup>2+</sup>. *J. Bacteriol.*, 11, 761(1972)

(1991년 10월 8일 접수)