

Paraquat에 의한 *Escherichia coli*의 Superoxide Dismutase 활성저해

김미림 · 최경호[†]

효성여자대학교 식품영양학과

Inhibitory Action of the Paraquat on Superoxide Dismutase of *Escherichia coli*

Mi-Lim Kim and Kyoung-Ho Choi[†]

Dept. of Food Science and Nutrition, Hysung Women's University, Kyongsan 713-702, Korea

Abstract

Actively growing *Escherichia coli* (KCTC 1039) cells were treated with paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridilium dichloride) by cultivating them in the presence of 1.0mM paraquat. The treatment was carried out with or without shaking to understand the effect of oxygen on paraquat action to the bacterial superoxide dismutase (SOD). By the treatment with vigorous shaking, population growth of the organism almostly stopped and specific activities of SOD of the cells drastically decreased. On contrast to it, the herbicide showed only a limited inhibitory action on bacterial growth and SOD activity by stationary treatment. Proteins prepared from paraquat-treated cells divided into two peaks by Sephacryl column chromatography, while proteins from the intact cells formed a single peak. Cytoplasmic proteins and plasma membrane proteins of intact cells formed separated three peaks by Sephadex G-75 column chromatography, respectively. Among them, the second peak disappeared by paraquat treatment, while the third peak became more apparent. Fractions from the first and the third peak showed SOD activity. Paraquat was detected from the same fractions.

Key words : paraquat, bacterial SOD, *E. coli*

서 론

Paraquat은 1958년 영국 ICI사에서 개발하여 Gramoxone이라는 상품명으로 시판¹⁾된 유기염소계 비선택성 제초제로서 세계적으로 밭 작물 재배시에 널리 사용되고 있으며, 국내에서는 1970년 과원의 잡초제거제로 소개된 이래 사용량이 꾸준히 증가되어 왔다. 특히 농촌의 노동력 감소와 농업 기계화에 의하여 최근 10년간 사용량이 급속히 증가되는 추세에 있으며 앞으로 더욱 가속화 될 전망이다. Paraquat의 국내 생산량은 1992년 현재 연간 7,000MT를 상회하고 있으며 국내 농약 총생산량의 약 5%를 점유하고 있다²⁾.

식물에 대한 paraquat의 독작용에 관하여 Khan³⁾은 paraquat가 산소를 활성화 하여 singlet oxygen과 superoxide radical을 생성함으로써 photosystem I에서 전자

전달계에 이상이 생기는데 기인하는 것으로 보고하였고, 동물체에 대하여는 Bus 등⁴⁾과 Wenning과 Richard⁵⁾가 활성산소에 의한 지질과산화물을 원인으로 보고하였다. 그러나 근간 Cserhati와 Valko⁶⁾가 glutathione과의 복합체 형성, Bhatnagar와 Hussain⁷⁾이 폐조직의 collagen의 증가, Shibata와 Iwai⁸⁾가 간조직에서의 tryptophan에서 niacin으로의 전환율 감소 및 NAD⁺ 합성저해, Shinohara와 Seto⁹⁾ 및 Yasuo와 Toshiaki¹⁰⁾가 각각 acetylcholinesterase 활성억제 작용을 보고하는 등으로 지질과산화의 범주를 벗어난 paraquat의 독작용이 보고되고 있다.

미생물에 대하여는 Davison과 Papirmeister¹¹⁾, Fisher와 Williams¹²⁾, Hassan과 Fridovich¹³⁾, Peterson 등¹⁴⁾ 및 Kitzler와 Fridovich¹⁵⁾가 각각 *Escherichia coli*를 위시한 장내세균류에 대한 증식저해 내지는 살균작용을 보고하

[†]To whom all correspondence should be addressed

였으며, 박 등¹⁹⁾은 *Saccharomyces*에, Farag 등²⁰⁾은 *Aspergillus*에, 김²¹⁾은 세균, 효모, 곰팡이에 이르는 광범위한 호기성균주에 대한 paraquat의 독작용을 보고하였다.

Paraquat가 지질과산화물은 축적시키는 원인으로써 Bus 등²²⁾과 Fridovich²³⁾는 각각 paraquat가 산소를 활성화시키는 동시에 활성산소에 대한 생체 방어기전의 하나인 SOD의 작용을 저해하는 것으로 보고하였다.

그러나 SOD의 작용이 paraquat에 의하여 직접적으로 저해되는지, 아니면 paraquat에 의하여 생성된 활성산소에 의하여 간접적으로 저해되는지, SOD 활성저해가 paraquat의 살균작용과 어떠한 상관이 있는지에 대하여는 불분명한 점이 많다. 본 논문에서는 paraquat에 의한 SOD 활성저해의 양식 및 SOD활성과 살균작용과의 관계를 검토하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양

한국 종균협회로부터 분양받은 *Escherichia coli*(KC-TC 1039)를 공시균으로 사용하였다. Luria-Bertani의 액체배지에 1~2 백금이의 균체를 접종하고 37°C에서 15~18시간 진탕배양(stroke 3cm, 90rpm)한 것을 신선한 배지에 재 접종한 후 전배양과 동일한 조건으로 배양하였다. 재 접종시에는 광전비색계(東京光電, 7H)를 사용하여 660nm에서 초기탁도가 0.1이 되도록 접종량을 조절하였으며 대수증식 중기에 도달할 때(4~5시간 배양) 까지 진탕배양하였다.

Paraquat 처리

대수증식 중기의 공시균 배양액에 1.0mM이 되도록 paraquat를 첨가한 후 진탕 또는 정지배양하여 처리하였다. Paraquat는 동경화성특급시약을 사용하였다.

조효소액 조제

Paraquat를 처리한 균체를 경시적으로 집균한 후 빙냉한 인산완충용액(1/15M, pH 6.8)으로 1회 세척하여 여분의 paraquat를 제거하고, 균체를 같은 완충용액에 탁도가 1.0이 되도록 재 현탁하였다. 이 현탁액을 초음파 처리(0°C, 50watt, 10min)하여 균체를 파쇄하고 여기에 최종농도 10 μ g/ml의 난백 lysozyme 및 0.1%의 Triton X-100을 가하여 30°C에서 30분간 처리하여 세포벽과 원형질막을 용해하였다. 이것을 원심분리(4°C, 10,000 \times g, 30min)하여 잔사를 제거한 상정액을 조효소액으로 하였다. 균체파쇄에는 초음파 세포파쇄기

(Otake, model-5202)를 사용하였다.

원형질 및 원형질막 단백질 분리

Bengis와 Grement²⁴⁾의 방법에 따라 초음파로 파쇄한 균체를 원심분리(4°C, 10,000 \times g, 30min) 하여 상정액과 침전물로 나눈 후 상정액은 바로 염석하였고, 침전은 0.1%의 sodium laurylsulfate를 함유한 완충용액으로 37°C에서 3시간 처리하여 원형질막을 용해시킨 후 다시 같은 조건으로 원심분리하여 잔사를 제거하고 염석하였다. 분리한 상정액은 80% 및 60% 포화 ammonium sulfate로 염석한 후 2L의 인산완충액으로 4°C에서 24시간 투석하였다. 파쇄균체의 원심상정액으로부터 분리한 단백질을 원형질 단백질분으로, 침전으로부터 분리한 원심상정액을 원형질막 단백질분으로 하였다.

Paraquat와 효소단백질의 복합체 형성

원형질과 원형질막 획분으로부터 분리한 단백질에 최종농도 1.0mM의 paraquat를 가하여 3시간 반응시킨 후 투석하여 여분의 paraquat를 제거하였다. 투석액을 Sephadex G-75(Sigma)와 Sephacryl S-500(Sigma)으로 분획한 후 280nm에서 각 획분의 흡광도를 측정하였다. 분획시에는 1.7cm(id) \times 40cm의 column을 사용하여 tris-HCl 완충용액(pH 7.0)으로 유하하였으며 획분의 크기는 2.5ml/fraction, 유하속도는 2~3drops/min로 하였다.

SOD 활성측정

Marklund와 Marklund²⁵⁾의 방법에 따라 조효소액 0.2ml에 tris-HCl 완충용액(50mM tris+10mM EDTA, pH 8.5) 3.0ml와 7.2mM pyrogallol 0.2ml를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1.0N HCl 0.1ml를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420nm에서 측정하였다. 효소의 활성은 10분 동안에 반응액 중의 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는 효소량을 1단위로 하였다. 조효소액 중 단백질은 Lowry의 방법²⁶⁾으로 정량하였다.

Paraquat 검정

획분중에 함유된 paraquat는 Lim and Bong²⁷⁾의 방법에 따라 분액 2.5ml에 0.2% sodium dithionite-0.1N NaOH 0.5ml를 가하여 발색시키고 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

통기조건이 paraquat의 독작용에 미치는 영향
생균수에 미치는 영향

공시균을 정지 또는 진탕배양하여 통기상태가 paraquat의 독작용에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 1과 같다. Paraquat를 첨가하지 아니하고 정지배양한 경우에는 배양 8시간째의 생균수가 3.90×10^9 cells/ml로 배양 0시간의 1.8배에 이르는데 그쳤으나 전반적으로는 생균수가 배양 0시간 부터 배양 8시간 까지 서서히 증가되었다. 진탕 배양한 경우에는 정지배양과는 달리 배양 4시간째의 생균수가 4.58×10^{11} cells/ml로서, 0시간의 200배 이상으로 까지 급속히 증가되었다. 그러나 4시간 이후 부터는 생균수가 서서히 감소되었다. 이 결과는 공시균수가 진탕배양 4시간 까지 대수증식이 가능함을 나타내고 있다.

Paraquat 첨가에 의하여 정지배양구는 배양 8시간째의 생균수가 3.08×10^9 cells/ml로서 대조구에 비하여 균체증식이 다소 억제(대조구의 80%)되었으나 전체적으로는 배양시간이 경과함에 따라 생균수가 점차적으로 증가되는 비슷한 경향을 나타내었다. 한편, 통기배양시에는 배양 4시간째의 생균수가 3.94×10^9 cells/ml로서 공시균의 증식이 현저히 억제(대조구의 0.8%)되었다.

이 결과는 공시균의 증식에 대한 paraquat의 독작용

Table 1. Changes in the number of viable cell counts of *E. coli* by paraquat treatment according to cultural condition

Cultural method & time after paraquat treatment	Viable cell counts (cells/ml)	
	Control culture	Paraquat-treated culture
Stationary culture		
0 hour	$(2.27 \pm 0.47) \times 10^{10A}$	$(1.50 \pm 0.18) \times 10^{9AB}$
2	$(3.08 \pm 0.12) \times 10^{9BA}$	$(2.71 \pm 0.15) \times 10^{9BB}$
4	$(3.25 \pm 0.16) \times 10^{9BA}$	$(2.91 \pm 0.03) \times 10^{9CB}$
8	$(3.90 \pm 0.10) \times 10^{9CA}$	$(3.08 \pm 0.11) \times 10^{9CB}$
Shaking culture		
0 hour	$(2.14 \pm 0.17) \times 10^{10A}$	$(1.55 \pm 0.10) \times 10^{10B}$
2	$(3.95 \pm 0.13) \times 10^{10A}$	$(3.84 \pm 0.10) \times 10^{9BB}$
4	$(4.58 \pm 0.22) \times 10^{9CA}$	$(3.94 \pm 0.07) \times 10^{9CB}$
8	$(3.87 \pm 0.25) \times 10^{9BA}$	$(3.12 \pm 0.20) \times 10^{9CB}$

Actively growing *E. coli* cells, previously cultivated for 4 hours with vigorous shaking, were cultivated in the presence of 1.0 mM paraquat. The succeeding cultivation was carried out with or without shaking

Values in the Table indicate means \pm SEM. Living cell counts assayed by using plate method. Different first letters in same column and different second letters in same line were significantly different at the level of $p < 0.05$, respectively

은 산소에 의하여 강화됨을 나타내는 것으로서, Bus 등²⁴과 Carr 등²⁵도 paraquat의 독작용이 산소의 존재에 의존하는 것으로 보고하였으며, 최 등²⁶도 paraquat가 호기적인 상태에서만 *Bacillus megaterium*의 증식을 저해하는 것으로 보고하였다.

Superoxide dismutase 활성에 미치는 영향

통기상태에 따라 paraquat가 공시균의 SOD의 활성 및 비활성에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 2와 같다. Paraquat를 처리하지 아니한 경우에는 정지배양구와 진탕배양구가 비슷한 경향으로서, 배양 2시간째에 가장 높은 활성을 나타내었으며 이 후로는 배양시간이 경과될수록 서서히 감소되었다. 배양 2시간째의 진탕배양구의 SOD활성과 비활성이 각각 0.569unit/ml와 2.268unit/mg protein으로서 정지배양구 보다 유의적으로 높았다. Paraquat를 처리하였을 때에도 정지배양구는 SOD활성과 비활성이 각각 대조구의 80~85%와 80~95%로 다소 낮아지기는 하였으나, 배양 2시간째에 최고치를 나타낸 후 배양시간이 길어짐에 따라 점차적으로 저하되는 대조구와 유사한 변화를 나타내었다. 진탕배양한 경우에는 정지배양과는 달리 paraquat를 처리한 시점 부터 SOD활성과 비활성이 저하되었다. 특히, 배양 2시간째의 활성이 0.288unit/ml(대조구의 50.6%), 비활성이 0.874unit/mg protein(대조구의 38.5%)으로서 대조구에서 가장 큰 폭으로 증가되는 배양 2시간 사이에 가장 큰 폭으로 저하되었다.

이 결과는 paraquat가 산소공급이 원활한 상태에서 공시균의 SOD활성을 보다 강하게 저해함을 나타내는 것으로서, paraquat에 의한 SOD 활성저해와 공시균의 증식저해 사이에 밀접한 관계가 있음을 시사하고 있다.

Paraquat와 SOD와의 관계에 있어서는 Bus 등²⁷은 일찌기 paraquat에 중독된 동물세포에 지질과산화물이 축적되는 점으로부터 SOD를 paraquat의 target로 추정하였고, Furusawa 등²⁸은 SOD 생합성능력이 강화된 tobacco callus가 paraquat에 내성임을 보고하였으며, 김¹⁹은 SOD를 가지지 아니하는 *Clostridium*을 위식한 편성혐기성 세균류에는 paraquat가 독작용을 미치지 못하는 것으로 보고하였다.

그러나, SOD활성은 측정방법상 생성된 과산화물의 양을 기준으로 평가되기 때문에 paraquat에 의하여 활성산소의 양이 증가되어 과산화물이 생성되는 경우에는 SOD활성이 실제 보다 낮게 평가될 것이다. 따라서 paraquat의 SOD 활성저해에 관한 많은 보고들에도 불구하고 구체적인 활성저해의 기작은 아직 불분명한 것

Table 2. Changes in activities of superoxide dismutase of *E. coli* cells cultivated with or without shaking

Cultural method & time after paraquat treatment (hour)		Enzyme activity (unit/ml)	Protein content ($\mu\text{g/ml}$)	Specific activity (unit/mg protein) (% against 0 hour)
Stationary culture				
Control	0	0.387 ± 0.007^a	327 ± 0.5	$1.184 \pm 0.022^a(100.0)$
	2	0.468 ± 0.004^b	246 ± 2.6	$1.905 \pm 0.020^b(160.9)$
	4	0.371 ± 0.005^c	229 ± 1.0	$1.619 \pm 0.022^c(136.7)$
	8	0.283 ± 0.003^d	224 ± 3.6	$1.265 \pm 0.014^d(106.8)$
Paraquat	0	0.378 ± 0.005^a	320 ± 3.0	$1.179 \pm 0.017^a(100.0)$
	2	0.422 ± 0.004^c	234 ± 3.0	$1.804 \pm 0.017^c(153.0)$
	4	0.311 ± 0.004^d	217 ± 3.0	$1.432 \pm 0.018^d(121.6)$
	8	0.220 ± 0.003^h	216 ± 1.7	$1.018 \pm 0.014^h(86.3)$
Shaking culture				
Control	0	0.387 ± 0.003^a	328 ± 2.0	$1.177 \pm 0.012^a(100.0)$
	2	0.569 ± 0.005^b	251 ± 1.7	$2.268 \pm 0.020^b(192.7)$
	4	0.437 ± 0.004^c	222 ± 2.6	$1.968 \pm 0.021^c(167.2)$
	8	0.260 ± 0.003^d	199 ± 1.7	$1.306 \pm 0.018^d(111.0)$
Paraquat	0	0.393 ± 0.004^a	332 ± 2.0	$1.183 \pm 0.013^a(100.0)$
	2	0.288 ± 0.004^e	238 ± 1.7	$0.874 \pm 0.018^e(38.5)$
	4	0.128 ± 0.005^f	189 ± 2.0	$0.679 \pm 0.029^f(34.5)$
	8	0.054 ± 0.006^h	170 ± 5.2	$0.317 \pm 0.037^h(24.3)$

Enzyme activity was assayed according to Marklund's method²³. Values indicate mean \pm SEM. Values in the parenthesis indicate specific activity in percent relative against control. Different letters in same column and same cultural method were significantly different at the level of $p < 0.05$.

으로 판단된다.

Paraquat와 효소단백질의 복합체 형성

균체단백질의 chromatography

Sephacryl S-500으로 균체 단백질을 분획하고 280nm에서의 흡광도를 측정된 결과는 Fig. 1과 같이 대조구에서는 27번 fraction을 최고치로 하는 단일 peak가 검출된 반면, paraquat로 전처리하고 분획한 경우에는 2개의 peak가 검출되었으며 26번과 34번 fraction이 가장 높은 흡광도를 나타내었다. 희분중에 함유된 paraquat를 검출하기 위하여 sodium dithionite로 발색시킨 후 405nm에서 흡광도를 측정된 결과도 280nm에서와 같은 위치에서 2개의 peak를 형성하였으며, peak fraction도 26 및 34번으로서 280nm의 peak fraction과 일치하였다.

Sephadex G-75로 chromatography한 결과는 Fig. 2와 같다. 대조구에서는 8, 14 및 28번 fraction을 최고치로 하는 3개의 peak로 분리되었으나, paraquat 처리구에서는 대조구의 첫번째와 세번째에 해당하는 2개의 peak만이 검출되었다. 이 fraction들을 sodium dithionite로 발색시킨 경우에도 단백질과 같은 위치에서 3개의 peak가 검출되었다.

원형질단백질의 column chromatography

원형질획분에서 분리한 단백질을 Sephadex G-75로

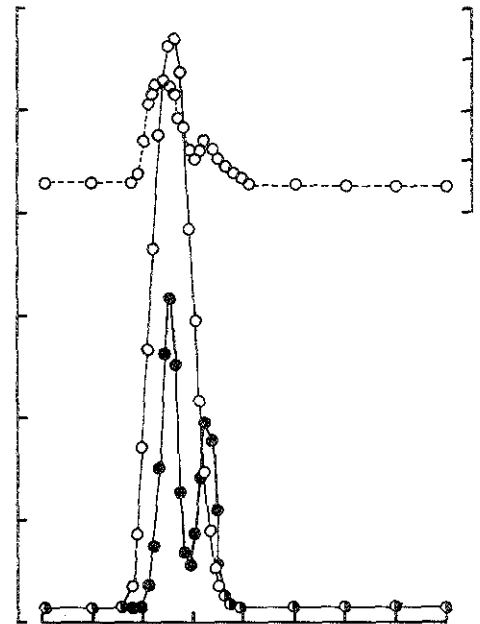


Fig. 1. Sephacryl column chromatogram of paraquat-treated bacterial proteins and distribution of paraquat.

Water soluble proteins were prepared from sonic disrupted *E. coli* cells. After salting and dialysis, the proteins were eluted through Sephacryl S-500 column by using tris-HCl (pH 7.0) buffer. Symbols represent the absorbance at 280nm as \circ — \circ : control and \bullet — \bullet : paraquat-treated protein, while \circ — \circ : represents the absorbance of paraquat-treated protein at 405nm after coloring by sodium dithionite. Fraction size: 2.5ml/tube, Column size: 1.7cm (id) \times 40cm.

chromatography한 결과는 Fig. 3과 같다. 대조구에서는 3개의 peak로 분리되었으며 각 peak에서 최고의 흡광도를 나타낸 것은 각각 9번(OD₂₈₀ 2.75), 16번(0.43) 및 28번(0.23) fraction으로서 첫번째 peak의 흡광도가 나머지 peak에 비하여 현저히 높았다. Paraquat 처리구의 경우에도 대조구와 동일한 위치에서 3개의 peak가 검출되었으며 첫번째와 두번째 peak는 대조구와 비슷한 흡광도를 나타내었으나 3번째 peak는 28번 fraction의 흡광도가 0.94로 대조구에 비하여 현저히 높았다.

원형질막 단백질의 column chromatography

원형질막으로부터 분리한 단백질을 동일한 방법으로 chromatography한 결과 Fig. 4와 같이 대조구 및 paraquat 처리구에서 모두 9번과 27번을 최고치로 하는 2개의 peak가 검출되었다. Paraquat 처리구의 경우에도 동일한 장소에서 2개의 peak가 형성 되었으며, 흡광도 Fig. 3과 같은 경향으로써 두번째 peak(최고치 : 1.

98, 27번 fraction)가 대조구에 비해 상당히 높았다.

Superoxide dismutase 활성

Sephadex로 분획한 원형질과 원형질막 단백질의 peak fraction의 SOD 활성을 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 원형질 획분의 1, 2번 peak에서 가장 높은 흡광도를 나타낸 9번과 28번 fraction의 SOD 비활성은 각각 0.447 및 7.555unit/mg protein이었으며 원형질막의 9번과 27번 fraction의 비활성은 1.073과 6.655unit/mg protein이었다.

Sephacryl과 Sephadex를 이용한 chromatography에서 paraquat 처리에 의하여 peak의 위치 또는 개수가 변하는 Fig. 1~3의 결과는 paraquat와 균체 단백질과의 직접적인 작용을 나타내고 있다. Peak fraction에서 paraquat와 어울러 높은 활성의 SOD가 검출된 Table 3의 결

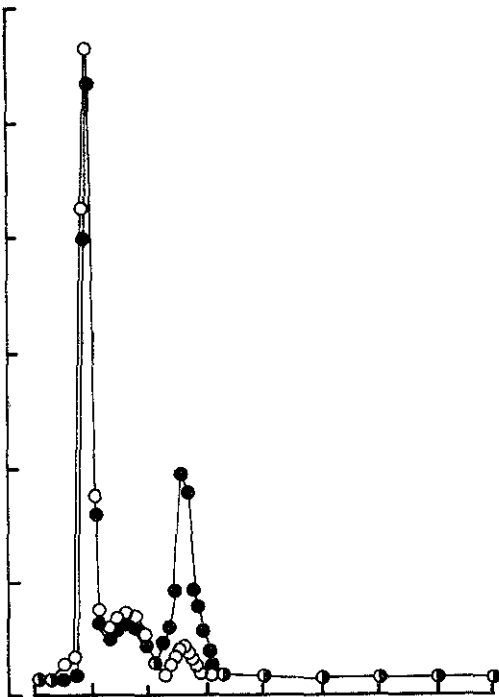


Fig. 2. Sephadex column chromatogram of paraquat-treated bacterial proteins and distribution of paraquat. Water soluble proteins prepared in Fig. 1 were eluted through Sephadex G-75 column. Other experimental conditions were same as Fig. 1. Symbols represent the absorbance at 280nm as ○—○ : control and ●—● : paraquat-treated proteins.

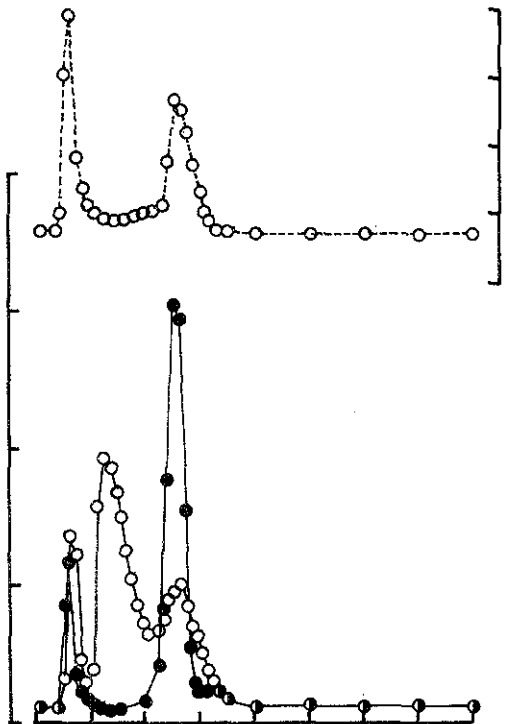


Fig. 3. Sephadex column chromatogram of paraquat-treated proteins from bacterial cytosol. Disrupted *E. coli* cells were centrifuged to remove membrane and cell wall component. Proteins in the supernatant fluid were eluted through Sephadex G-75 column after partial purification by salting and dialysis. Symbols represent the absorbance at 280nm as ○—○ : control, ●—● : paraquat-treated proteins and ○--○ : absorbance at 405nm after coloring by sodium dithionite. Other experimental conditions were same as Fig. 1.

Table 3. Activities of superoxide dismutase in the peak fractions by Sephadex column chromatography of the proteins prepared from cytosol and plasma membrane of *E. coli* cells

Proteins form	Fraction number	Protein ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Enzyme activity (unit/ml)	Specific activity (unit/mg protein)
Cytoplasm	9	440.0-2,000 ^a	0.197 \pm 0.040 ^a	0.447 \pm 0.093 ^a
	28	54.0 \pm 2.645 ^b	0.408 \pm 0.080 ^b	7.555 \pm 1.484 ^b
Membrane	9	310.0 \pm 1.732 ^c	0.332 \pm 0.019 ^c	1.073 \pm 0.061 ^c
	27	54.0 \pm 1.732 ^d	0.359 \pm 0.066 ^c	6.655 \pm 1.234 ^d

The fractions came from Sephadex column chromatography of Fig. 3 and 4. Values in the table indicate means \pm SEM. Different letters in same column were significantly different at the level of $p < 0.05$

과는 paraquat-SOD 복합체의 생성을 시사하는 것으로서, paraquat가 SOD활성을 직접적으로 저해할 수 있는 것으로 추정된다.

Paraquat와 효소류와의 복합체 형성에 관한 연구는 사례를 찾지 어려우나 Cserhati와 Valco²⁷가 paraquat와 glutathione과의 복합체 형성을 보고하였으며 Shinohara와 Seto¹⁶가 acetylcholinesterase의 활성중심부에 paraquat가 결합하여 활성을 억제한다고 보고하였다. Paraquat와 SOD가 2~3개의 peak에서 검출된 것은 공시균의 SOD가 타 생명체와 같이 isoenzyme system으로 구성²⁸되었기 때문으로 분석된다.

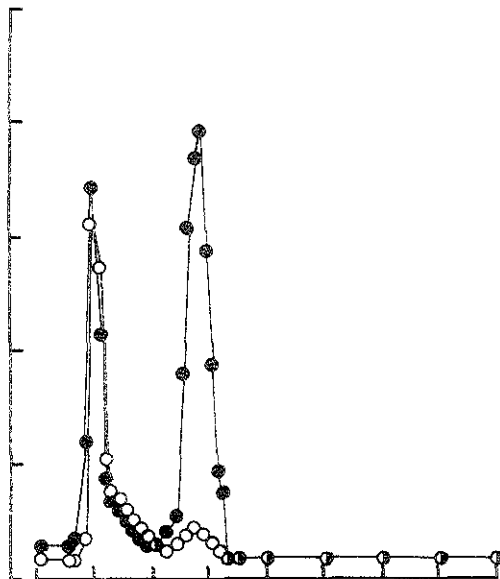


Fig. 4. Sephadex column chromatogram of paraquat-treated proteins from bacterial plasma membrane.

Membrane bound proteins were liberated from sonic disrupted cell debris by using sodium laurylsulfate. The proteins were eluted through sephadex G-75 column as Fig. 3. Symbols represent the absorbance at 280nm as \circ — \circ : control and \bullet — \bullet : paraquat-treated proteins.

요 약

공시균 (*E. coli*, KCTC 1039) 배양액에 1.0mM의 paraquat를 가하고 진탕배양 함으로서 공시균의 증식이 현저히 저해되었으며 SOD활성도 급속히 감소되었다. 그러나 paraquat 처리 후 정지배양한 경우에는 배양 8시간까지 공시균이 서서히 증식하였으며 SOD도 대조구의 80% 이상의 활성을 유지하였다. 한편, 초음파 파쇄한 세균의 원형질과 원형질막으로부터 분리한 단백질을 Sephadex 및 Sephacryl로 column chromatography한 결과 SOD의 활성 peak와 sodium dithionite로 발색시킨 paraquat의 peak가 일치하였다. 이상의 결과로부터 공시균에 대한 paraquat의 독작용은 산소의 존재에 의존하고 있으며, paraquat가 SOD와 복합체를 형성하여 SOD활성을 저해할 가능성이 높은 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 논문은 효성여자대학교의 교비 연구비 지원으로 수행되었습니다.

문 헌

1. Windholz, M. : The Merck index. Herk & Co., Inc. U.S.A., p.6896 (1983)
2. 한국농약협회 : 통계년보. 문서기획, 서울, p.155 (1992)
3. Khan, A. U. : Activated oxygen : Singlet molecular oxygen and superoxide anion. *Photochem. Photobiol.*, **28**, 615 (1978)
4. Bus, J. S., Aust, S. D. and Gibson, J. E. : Superoxide- and singlet oxygen-catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat (methyl viologen) toxicity. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **58**, 749 (1974)
5. Bus, J. S., Cagen, S. Z., Olgard, M. and Gibson, J. E. : A mechanism of paraquat toxicity in mice and rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **35**, 501 (1976)
6. Wenning, P. J. and Richard, T. D. : The effect of paraquat on microsomal oxygen reduction and antioxidant defenses in ribbed mussels. *Marine Environ. Res.*, **24**,

- 301 (1988)
7. Cserhati, T. and Valko, K. : Interaction of diquat and paraquat with glutathione studied by means of charge-transfer chromatography. *J. Liquid Chromatography*, **14**, 3657 (1991)
 8. Bhatnagar, R. S. and Hussain, M. Z. : Involvement of superoxide in the paraquat-induced enhancement of lung collagen synthesis in organ culture. *Biochem. Biophys. Commun.*, **819**, 71 (1979)
 9. Shibata, K. and Iwai, K. : Effect of dietary paraquat on the enzyme activities involved in tryptophan-niacin metabolism in rats. *Agr. Biol. Chem.*, **50**, 255 (1988)
 10. Shinohara, T. and Seto, Y. : *In vitro* inhibition of acetylcholinesterase by paraquat. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 255 (1986)
 11. Yasuo, S. and Toshiaki, S. : Inhibitory effect of and its related compounds on the acetylcholinesterase activities of human erythrocytes and electric eel (*Electrophorus electricus*). *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2131 (1987)
 12. Davison, C. L. and Papirmeister, B. : Bacteriostasis of *Escherichia coli* by the herbicide paraquat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **136**, 359 (1971)
 13. Fisher, H. and Williams, G. : Paraquat is not bacteriostatic under anaerobic conditions. *Life Sci.*, **19**, 421 (1976)
 14. Hassan, H. and Fridovich, I. : Superoxide radical and the oxygen enhancement of the toxicity of paraquat on *E. coli*. *J. Biol. Chem.*, **253**, 8143 (1978)
 15. Peterson, E., Fairsher, R., Morrison, J. and cesario, T. : Effect of the herbicide paraquat dichloride on bacteria of human origin. *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 327 (1981)
 16. Kitzler, J. and Fridovich, I. : Effect of paraquat on *Escherichia coli*, distinction between bacteriostasis and lethality. *J. Free Radic. Biolo. Medic.*, **2**, 245 (1986)
 17. 박영실, 김미림, 최경호 : *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 제초제 paraquat의 증식저해 작용 및 효모균체의 미세구조의 변화. *한국농화학회지*, **29**, 359 (1986)
 18. Farag, R. S., El-Leithy, M. A., Basyony, A. E. and Daw, Z. Y. : Aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in a medium containing plant hormones herbicides or insecticides. *J. Food Protec.*, **50**, 1044 (1987)
 19. 김미림 : 미생물에 대한 paraquat의 독작용. 효성여자대학교 박사학위 논문집, p.10 (1994)
 20. Fridovich, I. : The biology of oxygen radicals, the superoxide radical is an oxygen toxicity. Superoxide dismutase provide an important defense. *Science*, **201**, 875 (1978)
 21. Bengis-Garber, C. and Gremet-Elhanan, Z. : Purification of the energy transducing adenosine triphosphate complex from *Rhodospirillum rubrum*. *Biochem.*, **18**, 3577 (1979)
 22. Marklund, S. and Marklund, G. : Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 468 (1974)
 23. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Landall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
 24. Lim, S. K. and Bong, W. A. : Studies on the several soil factors affection on alachlor and paraquat adsorption by soils. *Korean J. Environ. Agric.*, **2**, 101 (1992)
 25. Carr, R. J. G., Bilton, R. F. and Atkinson, T. : Toxicity of paraquat to microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 1112 (1986)
 26. 최경호, 김춘숙, 유지선 : Paraquat처리에 의한 *Bacillus megaterium*의 superoxide dismutase 활성저해. 효성여자대학교 연구논문집, **46**, 251 (1993)
 27. Bus, J. S., Aust, S. D. and Gibson, J. E. : A possible mechanism for paraquat toxicity. *Pathol. Pharmacol.*, **35**, 501 (1976)
 28. Furusawa, I., Yamaoka, N., Mizuguchi, A., Tanaka, K., Yamazaki, M. and Asada, K. : Paraquat resistant tobacco callus with enhanced superoxide dismutase activity. *Int. Symp. Genet. Manipul. Crops*, p.47 (1984)
 29. Albert, L. L. : Principles of biochemistry. Worth Pub. Inc., New York, p.481 (1982)

(1994년 7월 1일 접수)