

카드뮴이 카드뮴 내성 효모세포내의 효소 활성에 미치는 영향

유대식* · 박은규 · 박정문
계명대학교 자연과학대학 미생물학과

The Effects of Cadmium on the Enzyme Activities in Cadmium-Tolerant Yeast Cells. Tae-Shick Yu*, Eun-Kyoo Park and Jong-Moon Park. Department of Microbiology, College of Natural Science, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea - An extremely cadmium tolerant yeast, *Hansenula anomala* B-7 used to determine the modification of the intracellular enzyme activities by cadmium ion. The activities of alcohol dehydrogenase, phosphofructokinase, and cytidine deaminase were decreased up to 90%, 40%, and 86% compared with the control by 1 mM cadmium nitrate respectively, but the activities of malate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, cytochrome c oxidase, and alkaline phosphatase were increased up to 440%, 136%, 260% and 155% compared with the control by 1 mM cadmium nitrate respectively. These results show that the activities of the enzymes participating in Embden-Mayerhof pathway (e.g. anaerobic metabolism) were reduced by cadmium, but those involved in hexose monophosphate pathway and tricarboxylic acid cycle (e.g. aerobic metabolism) were stimulated in contrast. It has been suggested that the diminished activity of cytidine deaminase in pyrimidine nucleotide dissimilation occurred due to the inhibited nucleotide dissimilation by cadmium ion; the enhanced activity of cytochrome c oxidase was specifically required in order to oxidize a raised amount of NADH and NADPH due to the increased aerobic metabolism.

골연화증 증상인 Fanconi 증후군(Itai itai 증)이 카드뮴에 의한 공해병으로 인정된 이래 카드뮴이 생체에 미치는 영향에 관한 연구는 매우 활발히 진행되었다.

생체에 흡수된 카드뮴은 주로 간과 신장에 50~70% 축적되어 배설이 잘 이루어지지 않으므로 심각한 독성을 발현한다고 알려져 있다(1).

일반적으로 과량 흡수된 카드뮴은 폐기중, 신경장애, 빈혈, 신기능 장애, 간조직 손상, 골연화증 등을 유발시키는 것으로 알려져 있다(2, 3). 특히 흡수된 카드뮴은 간과 신장조직을 손상시키는데, 간조직의 변화로는 유조직 세포의 팽윤, 세포질의 호산구다중, 미토콘드리아의 형태변이 등이 나타나고(4, 5), 신장조직의 변화로는 만성 중독시 근위 세뇨관의 위축과 퇴화, 미세구조의 변화등이 관찰되며(6), 당뇨, 단백뇨 그리고 아미노산뇨증 등의 증상이 나타난다고 알려져 있다(7, 8).

흡수된 카드뮴의 일부는 각 장기조직에서 생성되는 metallothionein과 결합하며, 결합되지 못한 유리 카드뮴이 조직을 손상시키는 것으로 알려져 있다(9). 이러한 카드뮴의 독성에 대한 방어 및 치료효과에 관해서도 많은 연구가 진행되어 왔다(9, 10). Methionine, cysteine 및 vitamin B의 함황화물이 카드뮴의 독성에 대한 방어효과를 나타내며, 칼슘, 아연, 구리 등의 금속류는 생체내에서 카드뮴과 경쟁적으로 작용하여 카드뮴 흡수를 저하시키는 것으로 알려져 있다.

이처럼 생체내에 축적되어 다양한 독성을 일으키는

카드뮴에 관한 연구는 주로 동물의 생리적인 측면에서 연구되어 왔으며(11-14), 최근에는 환경에 오염된 카드뮴을 미생물학적으로 처리 정화하기 위한 목적으로 카드뮴에 높은 내성을 나타내는 균주를 분리하여 여러 측면에서 연구해 오고 있다(15-17). 카드뮴 내성균주에 관한 연구중에 카드뮴이 1,500 ppm 함유된 배지에서도 생육이 가능한 *Pseudomonas aeruginosa*를 분리하여 건조균체 g당 최고 23.0 mg의 카드뮴이 축적된다는 보고(18)와 *Klebsiella rhinoscleromatis*가 1,000 ppm의 카드뮴 존재하에서도 생육하며 건조균체 g당 27.3 mg의 카드뮴을 축적한다는 보고(19) 등이 있다. 국내에서도 다양한 연구가 진행되어 카드뮴 1,500 ppm의 액체배지에서도 생육하며, 건조균체 g당 7.8 mg의 카드뮴을 축적하는 연구가 세균인 *Enterobacter cloacae*를 분리·동정한 바 있다(20). *Staphylococcus aureus*도 카드뮴 500 ppm의 액체배지에 내성을 나타내는 균주가 분리되었고(21), 2,800 ppm의 카드뮴에 내성을 나타내며 건조균체 g당 28.6 mg의 카드뮴을 축적하는 *Erwinia* 속 세균이 분리되어 보고된 바도 있다(22). 특히 카드뮴 내성균의 분리가 어려운 것으로 알려진 진핵미생물 중에서 고도 카드뮴 내성효모 B-7이 분리되었으며, 이 효모는 고체 배지 희석법에 의해 카드뮴 3,000 ppm에 내성을 가지며, 농도구배 한천평판법에 의해 카드뮴 2,700 ppm에 내성을 나타내었다(23). 건조균체 g당 34.17 mg의 카드뮴을 축적한다고 보고된 B-7 균은 *Hansenula anomala* B-7으로 동정되었다(24). 이처럼 카드뮴에 관한 미생물학적인 연구는 주로 미생물의 카드뮴 내성능, 균체내 축적량, 세포내 축적부위 등에 관해 진행되어 왔으며,

*Corresponding author.

Key words: Cadmium tolerance, enzyme activity by cadmium, cadmium tolerant yeast

카드뭴 내성균과 감수성균을 비교·검토하여 독성 발현 기구, 내성기구 등을 규명한 생화학적 측면에서의 연구도 시도되고 있다.

따라서 본인 등은 카드뭴에 대한 미생물의 생화학적 측면에서의 연구를 바탕으로(23, 25-27), 연구가 극히 제한되어 있는 진핵미생물 중에서 카드뭴에 고도의 내성을 가진 *Hansenula anomala* B-7을 연구 대상균으로 사용하여, 배지에 여러 농도의 카드뭴을 첨가하여 배양하였을 때 나타나는 세포내 효소생성의 변화양상을 관찰함으로써, 카드뭴에 의해 발현되는 진핵미생물 세포 대사계의 변화를 연구하고자 했다.

재료 및 방법

공시균주

계명대학교 미생물학과 연구실에 보관되어 있는 고도 카드뭴 내성 효모인 *Hansenula anomala* B-7균(24)을 공시균으로 사용하였다.

균의 배양 및 생육도 측정

공시균의 배양은 250 ml 삼각 플라스크에 YM-기본 배지(1% 포도당, 0.5% peptone, 0.3% 효모 추출물, 0.3% 맥아추출물, pH 6.2) 100 ml를 넣고 1 kg/cm², 15 분간 가압증기 살균하여 냉각시킨 후, 공시균을 접종하여 28°C에서 72시간 회전(130 rpm) 진탕배양하였다. 카드뭴 첨가 실험에서는 배지를 살균 냉각한 후, 균접종 직전에 카드뭴을 무균적으로 첨가하였다. 공시균의 생육도는 분광 광도계(Hitachi UV 100-40)를 사용하여 600 nm에서 배양액의 흡광도(OD) 및 건조균체 중량(mg)으로 측정하였다.

조효소액 조제

배양된 균체를 원심분리하여 집균하고 증류수로 2회 세척하였다. 세척한 균체를 100 mM Tris-HCl 완충액(pH 7.5)에 현탁시키고 적당한 양의 alumina를 첨가한 다음, 120 Hz로 20분간 초음파 파쇄시켰다. 파쇄된 균액을 원심분리하여 균체를 제거하고 그 상등액을 조효소액으로 사용하였으며, 세포내에 축적된 카드뭴이 조효소액에 용출되어 효소활성에 미칠 영향을 고려하여 조효소액을 4°C에서 10 mM Tris-HCl 완충액(pH 7.5)으로 1일간 투석하여 카드뭴을 제거시킨 후, 효소활성을 측정하였다.

효소활성 측정

Alcohol dehydrogenase(EC 1.1.1.1), malate dehydrogenase(EC 1.1.1.37.)와 6-phosphogluconate dehydrogenase(EC 1.1.1.44)의 효소활성은 25°C에서 1분간 각 기질의 반응에 따른 환원형 NAD⁺ 량과 NADP⁺ 량을 분광광도계(Hitachi UV 100-40)를 사용하여 340 nm에

서의 흡광도의 증가로 각각 측정하였다.

Alcohol dehydrogenase의 효소 활성화는 Creaser 등의 방법(28)을 약간 수정하여 측정했으며, 효소 반응액의 조성은 500 mM ethanol, 1.5 mM NAD⁺, 100 mM Tris-HCl 완충액(pH 8.0)과 조효소액 0.5 ml였으며, malate dehydrogenase 효소의 활성화는 Zimmerle와 Alter의 방법(29)을 약간 수정하여 측정했으며, 효소 반응액의 조성은 8.3 mM malate(pH 10.0), 1.5 mM NAD⁺, 100 mM Tris-HCl 완충액(pH 7.4)과 조효소액 0.5 ml였으며, 효소 반응액의 용량은 3 ml 되게 하였다. 그리고 6-phosphogluconate dehydrogenase의 효소활성 측정은 Marks의 방법(30)에 준했으며, 효소 반응액의 조성은 10 mM 6-phosphogluconate, 2.5 mM NADP⁺, 100 mM MgCl₂와 250 mM glycylglycine 완충액(pH 7.5)과 조효소액 0.5 ml였으며, 효소 반응액의 용량은 2.5 ml 되게 하였다. 효소 활성 단위는 25°C에서 효소반응 초기 1분간의 340 nm에서 흡광도의 증가 0.01을 1 unit로 했다.

Phosphofruktokinase(EC 2.7.1.11)의 효소 활성 측정은 Stellwagen과 Wilgus의 방법(31)에 준하여 3.3 mM fructose-6-phosphate, 1.67 mM ATP, 56 mM Tris [hydroxymethyl] aminomethane, 5 mM MgSO₄, 10 mM ammonium sulfate와 5.6 mM 2-mercaptoethanol을 혼합한 용액의 pH를 7.6으로 조절하여 기질 용액으로 사용했으며, 4.4 mM NADH와 2.0 M ammonium sulfate 용액에 10 mg aldolase/ml 되게 용해한 용액과 2.8 M ammonium sulfate 용액에 10 mg glycerophosphate dehydrogenase-triosephosphate isomerase/ml 되게 용해한 용액을 각각 pH 6.0으로 조절하여 효소 용액으로 사용했다. 이들 용액과 조효소액을 혼합하여 25°C에서 1분간 효소 반응을 시켜 340 nm에서 흡광도의 감소 0.01을 1 unit로 했다.

Cytochrome c oxidase(EC 1.9.3.1) 활성화는 Yamana와 Fujii의 방법(32)에 준했으며, 효소 반응은 15 μM 환원형 cytochrome c를 포함하는 75 mM 인산 완충액(pH 6.0)에 조효소액을 반응시켰다. 효소 활성 단위는 25°C에서 1분간 cytochrome c의 산화로 550 nm의 흡광도의 감소 0.01을 1 unit로 했다.

Alkaline phosphatase(EC 3.1.3.1) 활성화는 Sakurai 등의 방법(33)에 준했으며, 효소 반응액의 조성은 20 mM *p*-nitrophenylphosphate, 100 mM Tris-HCl 완충액(pH 8.0)과 조효소액 1 ml였으며, 효소 반응액의 총량은 5.0 ml 되게 하여 30°C에서 1분간 반응시킨 후, 반응액에 500 mM trichloroacetate를 첨가하여 효소반응을 정지시키고 1 M sodium carbonate로 발색시켜 400 nm에서 효소 반응 전후의 흡광도의 차 0.01을 1 unit로 했다.

Cytosine deaminase(EC 3.5.4.1.)와 cytidine deaminase(EC 3.5.4.5.)의 활성화는 cytosine과 uracil, cytidine과 uridine의 290 nm에서의 흡광도 차를 측정하는 Sa-

kai 방법(34)으로 측정하였다. 효소반응액의 조성은 20 mM Tris-HCl 완충액과 0.4 ml/조효소액을 넣은 효소반응액에, cytosine deaminase 활성측정시 0.2 mM cytosine을, cytidine deaminase 활성측정시 0.2 mM cytidine을 첨가하여 전체용량 1 ml가 되게 하였다. 효소활성 측정은 37°C에서 1시간 반응시킨 후, 4 ml의 0.1 N HCl을 효소반응액에 첨가하여 효소반응을 정지시켜 효소반응 전후에서의 290 nm의 흡광도의 감소로 측정하였다. 효소활성의 단위는 1시간에 1.0 μ M의 cytosine, 혹은 cytidine을 탈아미노화 시키는 효소량을 1 unit로 한다.

효소 생성량의 표기는 100 ml 배지에서 배양된 전 균체로부터 추출된 전 효소량으로 표시했다.

시약

실험에 사용한 NAD^+ 과 NADP^+ , 6-phosphogluconate(trisodium salt), α -glycerophosphate dehydrogenase-triosephosphate isomerase(rabbit muscle), aldolase(rabbit muscle), cytochrome c(horse heart), *p*-nitrophenylphosphate와 Tween 20은 Sigma Chemical Co.(U.S.A) 제품을 구입 사용했으며, cytosine과 cytidine은 Yamasa Shoyu Co.(Chiba, Japan)의 특급시약을 사용하였으며, cadmium nitrate($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)는 林純藥(Japan) 제품, peptone은 極東製藥(Japan) 제품의 특급시약을 사용하였다. 효모추출물과 맥아추출물은 DIFCO(USA) 제품을 사용하였다. 그 이외의 시약은 시판 특급시약을 사용하였다.

결과 및 고찰

해당계 효소생성에 미치는 Cd^{2+} 의 영향

Alcohol dehydrogenase(ADH)와 malate dehydrogenase(MDH), phosphofructokinase(PFK)와 6-phosphogluconate dehydrogenase(PGDH)의 생성에 미치는 카드뮴의 영향을 측정하기 위하여 카드뮴의 농도를 다르

게 조절한 YM-배지에 공시균을 진탕배양하여 균체내 효소활성을 측정했다.

혐기적 대사계의 key enzyme인 ADH의 생성은 0.2 mM 카드뮴 첨가에 의해서 카드뮴 무첨가시에 비해 74.4% 감소하였으며, 1 mM 이상의 카드뮴 첨가에 의해서는 90% 이상 감소함으로써 배지 중의 카드뮴이 ADH의 생성을 현저하게 감소시키는 것이 확인되었다(Table 1). 이상의 결과는 정상적인 혐기적 대사계가 카드뮴의 존재에 의해 변화함을 나타내었다.

그러나 대표적인 호기적 대사계인 tricarboxylic acid (TCA) cycle의 중요한 효소인 MDH의 생성은 배지 중의 카드뮴 농도가 증가함에 따라 ADH의 생성이 감소하는 것과는 반대로, 0.5 mM 카드뮴 존재시 120%, 1 mM과 2 mM 카드뮴 존재시 440% 및 400%로 효소생성이 크게 증가했다(Table 1). 특히 고농도 카드뮴인 3 mM 농도에서도 본 공시균의 MDH의 생성은 억제되지 않고 오히려 효소생성이 140% 증가되었다.

이러한 결과는 균의 생육이 왕성한 시기에 카드뮴을 첨가하면 균체내의 ADH와 malic enzyme(ME)의 생성이 카드뮴에 의해 억제된다는 보고와 일치하였다(35).

해당계 효소 중 Embden-Mayerhof Pathway(EMP) 대사계와 Hexose Mono-phosphate Pathway(HMP) 대사계의 key 효소인 PFK와 PGDH 효소의 생성은 배지 중의 카드뮴 농도에 대하여 상반된 결과를 나타내었다. 즉, EMP 대사계의 PFK의 생성은 배지 중의 카드뮴 농도의 증가에 반비례하여 감소하여 1.0 mM 카드뮴에 의하여 약 40% 감소되었으며, HMP 대사계의 PGDH의 생성은 카드뮴 농도의 증가에 비례적으로 증가되어 0.2~1.0 mM의 카드뮴에 의하여 약 130% 이상의 효소생성 증가를 나타냈다(Table 1).

이상의 결과로부터 카드뮴에 의한 MDH와 PGDH 생성의 증가는 카드뮴의 존재로 환경조건이 악화됨에 따라 공시균이 생명현상을 영위하고 환경에 적응해 가기 위해서 더 많은 에너지를 필요로 하게 되고, 이러한 요구를 충족시키기 위해 효율적인 호기적 에너지 생성

Table 1. Effect of cadmium concentration on the alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase, phosphofructokinase and 6-phosphogluconate dehydrogenase activities.

Cadmium conc. (mM)	Total activity (units/100 ml/ borth)			
	ADM	MDH	PFK	PGDH
0.0	2,5000 (100.0%)	100 (100%)	352 (100%)	312 (100.0%)
0.2	640 (25.6%)	100 (100%)	280 (79.5%)	412 (132.0%)
0.5	320 (12.8%)	120 (120%)	244 (69.3%)	418 (133.9%)
1.0	240 (9.6%)	440 (440%)	220 (62.5%)	426 (136.5%)
2.0	60 (2.4%)	400 (400%)	ND	ND
3.0	0 (0.0%)	140 (140%)	ND	ND

Hansenula anomala B-7 was cultivated and the enzyme activity was assayed according to the Materials and Methods. ADH, alcohol dehydrogenase; MDH, malate dehydrogenase; PFK, phosphofructokinase; PGDH, 6-phosphogluconate dehydrogenase; ND, not determined.

대사계인 TCA cycle이 더욱 활성화 되는 것으로 추정된다. 이러한 현상은 카드뮴의 균체내 축적이 에너지 의존성이고, 막의 능동수송에 의해서 이루어진다는 보고(36-38)와 카드뮴에 의하여 카드뮴 내성균인 *Klebsiella aerogenes*가 생성하는 해당계 효소인 glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성은 감소되고 phosphoglucose isomerase 활성은 오히려 증가되어 카드뮴 내성 세균과 감수성 세균과의 해당계 효소 활성화는 다르다는 보고와 일치했다(26). 또한 *Bacillus megaterium*의 배양시 카드뮴이 Mn^{2+} 의 흡수를 저해함으로써 활성 발현에 Mn^{2+} 을 필요로 하는 phosphoglycerate mutase의 활성은 저하시키지만, fructose-1,6-diphosphate aldolase 및 lactate dehydrogenase의 활성은 오히려 촉진시킨다는 보고(27) 등으로부터 위의 연구결과는 충분한 타당성을 가진다고 사료된다.

Cytochrome c oxidase와 alkaline phosphatase 생성에 미치는 Cd^{2+} 의 영향

Cytochrome c oxidase와 alkaline phosphatase의 생성에 미치는 카드뮴의 영향을 측정된 결과는 Table 2에 정리했다.

Mitra 등(25)은 *Escherichia coli*가 생성하는 zinc metalloenzyme인 alkaline phosphatase의 활성이 배지 중에 아연이 존재할 때 46%의 효소 활성이 촉진되지만 카드뮴과 아연이 공존할 때는 효소 활성의 변화는 없으며, 균 생육이 왕성할 때에 카드뮴을 첨가하면 alkaline phosphatase 활성이 65~70% 감소되었다고 한다.

그러나 Table 2에 나타난 바와 같이, 공시균은 카드뮴에 의하여 전자 전달계 효소인 cytochrome c oxidase와 알칼리성 인산화 효소인 alkaline phosphatase 생성은 카드뮴 농도의 증가에 비례적으로 증가되었다. Cytochrome c oxidase 생성은 1 mM 카드뮴에 의하여 약 260% 증가했으며, alkaline phosphatase 생성은 155% 증가했다.

공시 카드뮴 고도 내성 효모인 *Hansenula anomala* B-7은 카드뮴에 의하여 호기적 대사계의 효소 생성은 증가되었다.

Table 2. Effect of cadmium concentration on the cytochrome c oxidase and alkaline phosphatase activities.

Cadmium conc. (mM)	Total activity (units/100 ml/ borth)	
	cytochrome c oxidase	alkaline phosphatase
0.0	53.40 (100.0%)	5.99 (100.0%)
0.2	93.20 (174.5%)	9.34 (155.9%)
0.5	100.40 (188.0%)	9.30 (155.2%)
1.0	140.00 (262.1%)	9.34 (155.9%)

Hansenula anomala B-7 was cultivated and the enzyme activity was assayed according to the Materials and Methods.

이상의 결과로부터 카드뮴에 의하여 EMP 대사계보다 호기적 대사계인 HMP 대사계 효소인 PGDH의 생성이 증가되며 TCA cycle 중의 효소인 MDH의 생성도 증가되었다. 이러한 효소들의 생성 증가에 따라 생성된 NADPH와 NADH를 산화시키기 위하여 cytochrome c oxidase 생성의 증가는 필연적인 결과라 할 수 있다.

Pyrimidine nucleotide 분해 대사계 효소 생성에 미치는 Cd^{2+} 의 영향

Cytosine deaminase(CODase)는 pyrimidine nucleotide 대사계에서 cytosine의 4번탄소의 아미노기를 탈아미노화 시켜 uracil과 ammonia로 전환시키는 가수분해 효소로서, 염기 level에서 uracil을 생성하는 반응에 필수적인 효소이다(39). 그러나 CODase는 세균과 일부 진핵미생물에는 존재하나 생물이 진화함에 따라 서서히 소실된 효소로 알려져 있으며(40), 진핵미생물인 공시 효모인 *Hansenula anomala* B-7의 CODase에 관한 연구는 전혀 진행되어 있지 않다. 따라서 공시균의 CODase 생성유무와 카드뮴에 의한 효소활성 변화 등을 규명하기 위하여 YM-배지 중의 카드뮴 농도를 다르게 조절해서 공시균을 배양하여 CODase 활성을 측정하였다. 공시균은 배지 중의 카드뮴 농도에 관계없이 CODase의 존재가 확인되지 않은 것으로 보아(Table 3) *Hansenula anomala* B-7는 CODase를 생합성하지 않는 것으로 확인되었다.

카드뮴 내성 공시 효모인 *Hansenula anomala* B-7은 cytidine deaminase(CDDase)를 다량 생성시키는 균주였으며, ADH 생성 양상과 같이 환경 중에 존재하는 카드뮴에 의해 CDDase 생성이 급격히 감소하였는데, 배지 중에 1 mM 카드뮴에 의하여 CDDase의 생성은 80% 이상 감소되었으며, 2 mM 카드뮴 첨가로 CDDase의 생성은 95% 이상 감소하였다(Table 3).

본 공시균은 CODase를 생성하지 않고 CDDase를 생성하는 것으로 보아 본 공시균주의 pyrimidine nucleotide의 대사는 고등생물과 같이 cytidyl 산을 nucleoside level에서 CDDase의 촉매로 cytidine을 uridine으로 전환시켜 uracil로 분해되는 대사계로 영위되며,

Table 3. Effect of cadmium concentration on the cytosine deaminase and cytidine deaminase activities.

Cadmium conc. (mM)	Total activity (units/100 ml/ borth)	
	CODase	CDDase
0.0	0.0 (0.0%)	164 (100.0%)
1.0	0.0 (0.0%)	32 (19.5%)
2.0	0.0 (0.0%)	8 (4.8%)
3.0	0.0 (0.0%)	4 (2.4%)

Hansenula anomala B-7 was cultivated and the enzyme activity was assayed according to the Materials and Methods. CODase, cytosine deaminase; CDDase, cytidine deaminase.

카드뮴은 nucleotide의 분해를 억제한다고 추정할 수 있다.

요 약

카드뮴에 의하여 고도 카드뮴 내성 효모인 *Hansenula anomala* B-7 세포내 효소생성의 변화를 관찰하여 대사계의 변화를 추정했다.

1.0 mM 카드뮴에 의하여 공시균의 alcohol dehydrogenase의 생성은 무첨가에 비하여 90% 이상 감소하나 malate dehydrogenase의 생성은 440% 증가되어, 카드뮴에 의하여 혐기적 대사계는 억제되고 호기적 대사계인 TCA 회로는 활성화되었다.

그리고 1.0 mM 카드뮴에 의하여 공시균의 해당계 효소인 phosphofructokinase의 생성은 약 40% 감소되었으나, 당의 호기적 분해대사계 효소인 6-phosphogluconate dehydrogenase의 생성은 약 136% 증가되어, 카드뮴에 의하여 EMP 대사계는 억제되고 당의 호기적 분해대사계인 HMP 대사계는 활성화되었다. 더욱이 1.0 mM 카드뮴에 의하여 공시균의 cytochrome c oxidase와 alkaline phosphatase의 생성은 각각 260%와 155% 증가되었다.

이상의 결과를 종합하면 카드뮴에 의하여 혐기적 대사계는 억제되나, 호기적 대사계는 활성화되며, 이로 인하여 생성된 다량의 NADH와 NADPH의 산화를 위하여 cytochrome c oxidase의 활성화는 필연적으로 요구되었다.

그리고 pyrimidine nucleotide 분해대사계 효소인 cytidine deaminase의 생성은 1.0 mM 카드뮴에 의하여 약 86% 감소되어, 카드뮴은 nucleotide 분해를 억제한다고 추측할 수 있었다.

감사의 말

본 연구는 한국학술진흥재단 1994년도 학술연구 조성비(과제번호: 02-D-0435) 지원으로 이루어졌으며, 이에 깊이 감사드립니다.

참고문헌

- Kotsonis, F.N. and C.D. Klassen. 1977. Toxicity and distribution of cadmium administered to rat at sublethal doses. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **41**: 667-680.
- Stacey, N.H., L.R. Cantilena Jr. and C.D. Klassen. 1980. Cadmium toxicity and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **53**: 470-480.
- Verschoor, M., R. Herber J. Van Hammen, A. Wibowo and R. Zielhuis. 1987. Renal function of workers with low-level cadmium exposure. *Scand. J. Work Environ. Health* **13**: 232-238.
- Hoffmann, E.O., J.A. Cook, N.R. Diluzio and J.A. Coover. 1975. The effect of acute cadmium administration in the liver and kidney of the rat. *Lab. Invest.* **32**: 655-664.
- 全珍錫, 具本哲, 金普淑. 1992. 카드뮴 投與에 의한 생쥐 基部細尿管 上皮細胞의 微細構造的 變化. 啓明大 基礎科學 研究論集 **11**(2): 157-168.
- Nishzumi, M. 1972. Electron microscopic study of cadmium nephrotoxicity in the rat. *Arch. Environ. Health* **24**: 215-225.
- Dudley, R.E., N.R. Di Luzio and C.D. Klassen. 1985. Cadmium-induced hepatic and renal injury in chronically exposed rat: Likely role of hepatic cadmium-metallothionein in nephrotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **77**: 414-426.
- Itokawa, Y., T. Abe and S. Tanaka. 1974. Bone changes in experimental chronic cadmium poisoning. Radiological and biological approaches. *Arch. Environ. Health* **26**: 241-224.
- Din, W.S. and J.M. Frazier. 1985. Protective effect of metallothionein of cadmium toxicity in isolated rat hepatocytes. *Biochem. J.* **230**: 395-402.
- Ahokas, R.A., P.V. Dilts, Jr. and E.B. LaHaye. 1980. Cadmium-induced fetal growth retardation: Protective effect of excess dietary zinc. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **136**(2): 216-221.
- Jacobs, E.E., M. Jacob, D.R. Sanadi and L.B. Bradley. 1956. Uncoupling of oxidative phosphorylation by cadmium ion. *J. Biol. Chem.* **223**: 147-156.
- 菅原千枝子, 菅原直毅. 1974. 消化管におけるカドミウムの毒性, 特にカルシウムとリンの吸収障碍 について. 日衛誌 **28**: 511-516.
- 小泉直子. 1975. カドミウムの生体内動態に 關する 基礎的研究. 日衛誌 **30**: 300-314.
- 永野隆夫, 渡邊與八郎, 本間達二, 祐田泰延, 山本丈夫. 1978. カドミウム含有クロレラ投與によるラットの カドミウム吸収と排池. 衛生化學 **24**: 182-186.
- Norris, P.R. and D.P. Kelly. 1977. Accumulation of cadmium and cobalt by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.* **99**: 317-324.
- Novick, R.P. and C. Roth. 1968. Plasmid-liked resistance to inorganic salts in *Saccharomyces aureus*. *J. Bacteriol.* **95**: 1335-1342.
- Peyru, G., L.F. Wexler and R.P. Novick. 1969. Naturally occurring penicillinase plasmids in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **98**: 215-221.
- Horitsu, H., H. Kato and M. Tomoyeda. 1979. Uptake of cadmium chloride-tolerant bacterium, *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Ferment. Technol.* **57**: 273-279.
- 小田雅夫, 南一生. 1978. カドミウムイオン耐性菌の分離・同定と耐性細胞によるカドミウムイオン蓄積. 醸工 **56**: 1-8.
- 金永培, 李瑞來. 1979. 카드뮴의 耐性菌 分離 및 菌體內 蓄積. 産業微生物學會誌 **4**: 111-115.
- 朴燃性, 催慶浩. 1979. 카드뮴에 特異적인 耐性菌의 分離. 韓國營養食糧學會誌 **8**: 25-30.
- 俞大植. 1979. 重金屬 耐性菌株의 微生物學的 性質. 産業

- 微生物學會誌 7: 183-190.
23. Yu, T.-S. and H.I. Song. 1981. Cultural conditions of heavy metal ion tolerant microorganism and accumulation of heavy metal ion into the cells. *Korea J. Microbiol. Bioeng.* **9**: 59-64.
 24. Yu, T.-S. and H.I. Song and K.-T. Chung. 1986. Characterization of a cadmium-ion tolerant strain of *Hansenula anomala*. *Kor. Jour. Microbiol.* **24**: 57-61.
 25. Mitra, R.S., R.H. Gray, B. Chin and I.A. Bernstein. 1975. Molecular mechanisms of accommodation in *Escherichia bulgaricus*. *J. Bacteriol.* **144**: 865-868.
 26. Pickett, A.W., I.S. Carter and A.C.R. Dean. 1976. Enzymatic activities of cadmium- and zinc-tolerant strains of *Klebsiella (Aerobacter) aerogenes* growing in glucose-limited chemostats. *Microbios.* **15**: 105-111.
 27. 今川正良, 西原 力, 市川富夫, 近藤雅臣. 1980. *Bacillus megaterium* QM B1551의 増殖ならびに若干の酵素活性におよぼす鹽化カドミウムの影響について. *衛生化學* **26**: 302-306.
 28. Creaser, E.H., R.L. Porter, K.A. Britt, J.A. Pateman and C.H. Doy. 1985. Purification and preliminary characterization of alcohol dehydrogenase from *Aspergillus nidulans*. *Biochem. J.* **225**: 449-454.
 29. Zimmerle, C.T. and G.M. Alter. 1983. Crystallization-induced modification of cytoplasmic malate dehydrogenase structure and function. *Biochem.* **22**: 6273-6281.
 30. Marks, P.A. 1966. 6-Phosphogluconate dehydrogenase. *Methods in Enzymology* **9**: 141-142.
 31. Stellwagen, E. and H. Wilgus. 1975. Phosphofructokinase of yeast. *Methods in Enzymology* **42**: 78-85.
 32. Yamanaka, Y. and K. Fujii. 1980. Cytochrome α -type terminal oxidase derived from *Thiobacillus novellus*, molecular and enzymatic properties. *Biochim. Biophys. Acta.* **591**: 53-62.
 33. Sakurai, Y., K. Toda and H. Shiota. 1981. Multiple forms and some properties of alkaline phosphatase produced by *Aspergillus oryzae* on solid medium. *Agric. Biol. Chem.* **45**: 1959-1967.
 34. Sakai, T., T.-S. Yu, H. Tabe and S. Omata. 1975. Purification of cytosine deaminase from *Serratia marcescens*. *Agr. Biol. Chem.* **39**: 1623-1629.
 35. 宋亨翼. 1982. 카드뮴 내성 효모에 관한 研究. 慶北大學校 大學院, 博士學位 論文.
 36. Chopra, I. 1971. Decreased uptake of cadmium by a resistant strain of *Staphylococcus aureus*. *J. Gen. Microbiol.* **63**: 265-267.
 37. Heldwein, R., H.W. Tromballa and E. Broda. 1976. Aufnahme von cobalt, brei und cadmium durch bacckerhefe. *Zeitschrift fur Allgemeine Mikrobiologie.* **17**: 299-308.
 38. 中原英臣. 1980. 플라스미드支配의水銀耐性機構とその遺傳的 解析. 蛋白質·核酸·酵素 **25**: 243-257.
 39. O'Donovan, G.A. and J. Neuhard. 1970. Pyrimidine metabolism in microorganism. *Bacterial Rev.* **34**: 273-343.
 40. 俞大植. 1987. Pyrimidine nucleotide 代謝系와 細菌 進化. 啓明大 基礎科學 研究論集 **6**: 25-30.

(Received 10 January 1996)