

중금속내성균의 세포내 중금속 분포

조주식 · 이원규¹⁾ · 최형섭¹⁾ · 허종수¹⁾

경상대학교 공동실험실습관, ¹⁾경상대학교 농화학과

Distribution of Heavy Metal in the Cell Components of Heavy Metal-Tolerant Microorganisms

Ju-Sik Cho, Won-Kyu Lee¹⁾, Hyoung-Sub Choi¹⁾, and Jong-Soo Heo¹⁾ (Central Laboratory, Gyeongsang National University, Chin Ju 660-701, Korea ; ¹⁾Dept. of Agricultural Chemistry, Gyeongsang National University, Chin Ju 660-701, Korea)

Abstract : Heavy metal-tolerant microorganisms, such as *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *P. chlororaphis* and *P. stutzeri* which possessed the ability to accumulate cadmium, lead, zinc and copper, respectively, were isolated from industrial wastewaters and mine wastewaters polluted with various heavy metals. The distribution of heavy metal in the cell components, and amino acid compositions, was investigated.

The distribution of heavy metal in the cell fractions of each heavy metal-tolerant microorganism grown for 20 hours in the basal medium containing 100mg/l of each heavy metal was investigated. In the case of cadmium-tolerant *P. putida*, lead-tolerant *P. aeruginosa* and copper-tolerant *P. stutzeri*, approximately 50~60%, 30~40% and 10~17% of each heavy metal absorbed were distributed to cell wall, cell membrane and cytoplasm fractions, respectively. In the case of zinc-tolerant *P. chlororaphis*, approximately 32%, 55% and 13% of zinc were distributed to cell wall, cell membrane and cytoplasm fractions, respectively. These results indicated that the cell wall was a major adsorbing fraction of cadmium, lead and copper, and the cell membrane was that of zinc.

Total amino acid content per gram of the cell grown in the culture media with heavy metal was higher than that of the cell grown in the culture media without heavy metal, and the content of acidic amino acids, such as aspartic acid(Asp. + Asn.) and glutamic acid(Glu. + Gln.) was higher than that of basic amino acids, such as histidine, lysine and arginine.

서 론

폐수중 중금속처리에 미생물의 이용 가능성을 시사한 것은 1949년 Ruchloff¹⁾가 황철슬러지에 의해서 plutonium이 효과적으로 제거되는 것을 관찰하면서 젤라틴 성분을 가지고 있는 미생물군이 탁월한 중금속 처리능력을 갖는다고 한 이후부터 였으며, 그후 도시 및 산업 폐수로 부터의 생물학적 처리방법에 의한 중금속 처리에 관한 연구가 진행되어 왔고, 관련연구로 Gale 등²⁾의 광산폐수중 Pb, Zn, Cu, Mn등 중금속을 처리하기 위한 광합성 생물의 이용, Schumate 등³⁾의 잔류 우라늄 제거를 위한 *pseudomonas*속 세균을 이용한 유동층 형태의 bio-reactor개발, Norberg 등⁴⁾의 중금속처리에 응집성 미생물인 *Zoogloea ramigera*를 이용한 연속적 처리공정의 개발 등을 들 수 있다.

미생물이 중금속을 축적하는 기작은 세포내부로 중금속을 흡수하는 과정과 세포벽의 단백질과 지질 혹은 세포벽의 peptidoglycan, teichoic acid, 다당류, 단백질 및 지질의 음전하를 띤 phosphoryl, carboxyl, sulfhydryl 혹은 hydroxyl 관능기에 결합 흡착되는 과정으로 구분할

수 있으며, 그 중에서도 carboxyl group, phosphoryl group 및 sulfhydryl group이 중요한 중금속 결합부위들인 것으로 알려져 있다. Carboxyl group은 세균 세포벽의 단백질과 다당류의 일종인 muramic acid 등에 존재하고, sulfhydryl group은 조류의 다당류에 다량 함유되어 있으며, phosphoryl group은 세균 세포막의 지질, 핵산의 backbone 및 세균의 teichoic acid에 많이 존재하고 있는 것으로 알려지고 있다.⁵⁻⁹⁾

근래 미생물 세포내 중금속 이온의 축적기작을 구명하기 위한 연구가 진행되고 있는데, Tsezos 등^{10,11)}은 *Rhizopus arrhizus*의 cell wall에 uranium과 thorium이 흡착되었다는 사실을 확인하여 생물흡착이 3단계로 일어난다는 가설을 설정하였으며, Nakajima 등⁵⁾은 미생물이 중금속이온을 흡수하는 기작을 구명하기 위하여 미생물 세포를 화학적으로 전처리하여 세포구성성분을 인위적으로 조절한 후 세포내 중금속 이온의 흡수거동을 조사하였고, Doyle 등¹²⁾은 중금속 이온과 결합하는 관능기를 조사하기 위하여 중금속이 결합할 것으로 예상되는 관능기의 전하를 변형시켜 변형시키기 전과의 중금속 결합능력을 비교 조사하기도 하였다.

따라서, 본 연구는 본 실험실에서 이미 분리한 중금속 내성균의 세포내 중금속 binding site를 구명하기 위한 기초실험으로서 세포 구성성분별 중금속 분포도 및 중금속 축적 유무에 따른 아미노산 조성 변화 등을 조사하였다.

재료 및 방법

공시 중금속 내성균주 및 배지

본 실험에 사용한 중금속 내성균주는 본인들이 광산 폐수 및 산업폐수로 부터 이미 분리한 Cd, Pb, Zn 및 Cu 내성균주인 *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *P. chlororaphis* 및 *P. stutzeri*를 사용하였으며¹³⁾, 균주의 배양은 basal medium (glucose 10g, polypepton 10g, yeast extract 5g, NaCl 5g, D.W. 1000ml, pH 6.0)에 중금속을 필요한 농도로 첨가한 액체배지를 사용하였다.

균체의 수확 및 중금속처리

균체는 Cho 등¹⁴⁾과 같은 방법으로 수확하였으며, 균체의 중금속 처리는 각 중금속 화합물(CdCl₂, Pb(NO₃)₂, ZnCl₂, CuSO₄)을 중금속 이온 농도로서 10,000mg/l이 되게 조제한 표준용액을 다시 일정한 농도가 되도록 멸균증류수로 희석 조제하여 처리하였다.

중금속 분석

균체내에 축적된 중금속 축적량과 용액중에 남아있는 중금속 잔존량은 Cho 등¹⁴⁾과 같은 방법으로 시료를 전처리하여 Atomic absorption spectrophotometer (Shimadzu AA-680, Japan) 및 Inductively coupled plasma spectrometer (ICP, Atomscan25, TJA, U.S.A.)로 정량하였다.

세포 구성성분내 중금속 분포

균체내에 축적된 중금속의 세포 구성성분중 함량은 중금속을 100mg/l 농도로 첨가한 액체 기본배지에 공시균주들을 접종하여 30°C에서 20시간 배양한 후 원심분리기(6,000rpm, 10min)로 균체를 회수하여 파쇄시킨 다음 아래와 같은 방법으로 세포 구성성분별로 분획하여 각 fraction내의 중금속 함량을 분석 조사하였다.

Cell wall fraction의 분리 원심분리기로 회수한 균체를 0.01M Tris-HCl 완충액(pH 7.0)으로 3회 세척한 후 동일 완충액에 현탁하여 실온에서 12시간 이상 방치한 다음, Sonicator(Soniprep-150, U. S. A.)로 파쇄한 후 파쇄되지 않은 균체를 분리해내기 위하여 원심분리(3,000×g, 30min, 4°C)한 후 상등액만 취하여 이 상등액을 39,000×g에서 30분간 재원심분리(Ultra centrifuge, Beckman LB-80M, SW28)하여 침전물인 cell wall을 수거하여 4°C의 멸균증류수로 3회 세척하여 불순물을 제거하였다¹⁵⁾.

분리된 cell wall은 Beveridge와 Murray의 방법¹⁶⁾에

따라 10, 50, 60, 70% sucrose를 포함하는 0.01M Tris-HCl 완충액으로 sucrose 농도 구배를 형성한 후 cell wall 현탁액을 주입한 다음, 12,000×g에서 30분간 원심분리(Beckman LB-80M, SW40 Ti)하여 50%와 60% sucrose 농도구배 사이에 cell wall층이 형성되는 것을 확인하였으며, cell wall의 건중량은 Dry oven에서 105°C로 12시간 건조시켜 측정하였다.

Cell membrane 및 cytoplasm fraction의 분리 Cell wall fraction을 분리하고 남은 상등액을 다시 초고속 원심분리기(Beckman LB-80M, SW40 Ti)로 100,000×g, 40min, 4°C로 원심분리하여 침전물인 cell membrane fraction과 상등액에 포함되어 있는 cytoplasm fraction을 각각 분리하였다. 분리된 cell membrane fraction은 Schnaitman의 방법¹⁷⁾에 따라 0.77, 1.44 및 2.02M-sucrose를 포함하는 0.01M-Tris HCl 완충액으로 sucrose 농도구배를 형성한 후 cell membrane fraction을 주입한 다음, 39,000×g에서 30분간 원심분리(Ultra centrifuge, Beckman LB-80M, SW40 Ti)하여 0.77M과 1.44M-sucrose 농도구배 사이에 cell membrane층이 형성되는 것을 확인하였으며, cell membrane과 cytoplasm의 건중량은 105°C의 Dry oven에서 12시간 건조시켜 측정하였다.

Cell wall 구성성분별 중금속 분포 분리된 cell wall의 구성성분별 중금속 분포도는 Heo 등¹⁸⁾과 같은 방법으로 cell wall 구성성분별로 분획하여 각 fraction내의 중금속 함량을 정량하였다.

Cell wall의 전자현미경 관찰 Cell wall내 축적된 중금속의 외형적인 축적형태는 Cho 등¹⁴⁾과 같은 방법으로 시료를 전처리 하여 carbon coated 200 mesh nickel grid에 고정시켜 전자현미경(TEM, Hitachi H-600) 75 KV에서 관찰하였다.

중금속 처리 유무에 따른 균체내 아미노산 조성변화

중금속을 첨가하지 않고 배양한 균체와 중금속을 100 mg/l농도로 첨가하여 배양한 균체중 아미노산 분석은 Sparkman 등의 방법¹⁹⁾에 따라 시료를 전처리하여 Amino acid analyzer(LKB-Biochrome 20, Pharmacia, England)로 분석하였다.

결과 및 고찰

세포 구성성분내 중금속 분포

중금속을 100mg/l농도로 첨가한 기본배지에 공시 중금속 내성균주들을 접종하여 20시간 배양한 다음 원심분리기로 회수한 균체를 파쇄하여 cell wall, cell membrane 및 cytoplasm fraction으로 각각 분획한 후 각 fraction의 양과 fraction내 중금속 함량을 비교함으로써 균체내 축적된 중금속의 세포 구성성분별 분포도를 조사한 결과는 Table 1, 2, 3 및 Photo. 1, 2와 같다.

Table 1. Distribution of cell components in the cell of heavy metal-tolerant microorganisms.

Heavy metal-tolerant microorganisms	Cell fractions	Amount of each fraction	
		mg	(Index)
<i>P. putida</i> (Cd)	Whole cell	137	(100.0)
	Cell wall	42	(30.7)
	Cell membrane	16	(11.7)
	Cytoplasm	79	(57.7)
<i>P. aeruginosa</i> (Pb)	Whole cell	184	(100.0)
	Cell wall	67	(36.4)
	Cell membrane	34	(18.5)
	Cytoplasm	83	(45.1)
<i>P. chlororaphis</i> (Zn)	Whole cell	305	(100.0)
	Cell wall	100	(32.8)
	Cell membrane	63	(20.7)
	Cytoplasm	142	(46.7)
<i>P. stutzeri</i> (Cu)	Whole cell	153	(100.0)
	Cell wall	45	(29.4)
	Cell membrane	21	(13.7)
	Cytoplasm	87	(56.9)

Cultivation was carried out in 400ml of the basal medium treated with 100mg/l of each heavy metal with shaking at 30°C for 20 hours.

Table 2. Distribution of heavy metal accumulated in the cell, classified by cell components.

Heavy metal-tolerant microorganisms	Cell fractions	Amount of each fraction	
		mg	(Index)
<i>P. putida</i> (Cd)	Whole cell	5.7	(100.0)
	Cell wall	3.0	(52.6)
	Cell membrane	1.7	(29.8)
	Cytoplasm	1.0	(17.5)
<i>P. aeruginosa</i> (Pb)	Whole cell	8.2	(100.0)
	Cell wall	4.8	(58.5)
	Cell membrane	2.6	(31.7)
	Cytoplasm	0.8	(9.8)
<i>P. chlororaphis</i> (Zn)	Whole cell	8.8	(100.0)
	Cell wall	2.8	(31.8)
	Cell membrane	4.9	(55.7)
	Cytoplasm	1.1	(12.5)
<i>P. stutzeri</i> (Cu)	Whole cell	6.1	(100.0)
	Cell wall	3.0	(49.2)
	Cell membrane	2.3	(37.7)
	Cytoplasm	0.8	(13.4)

Cultivation was carried out in 400ml of the basal medium treated with 100mg/l of each heavy metal with shaking at 30°C for 20 hours.

균체중의 cell wall, cell membrane 및 cytoplasm fraction의 양은 Table 1에서 보는 바와 같이 Cd 내성균주의 경우에는 약 30%의 cell wall, 11%의 cell membrane 및

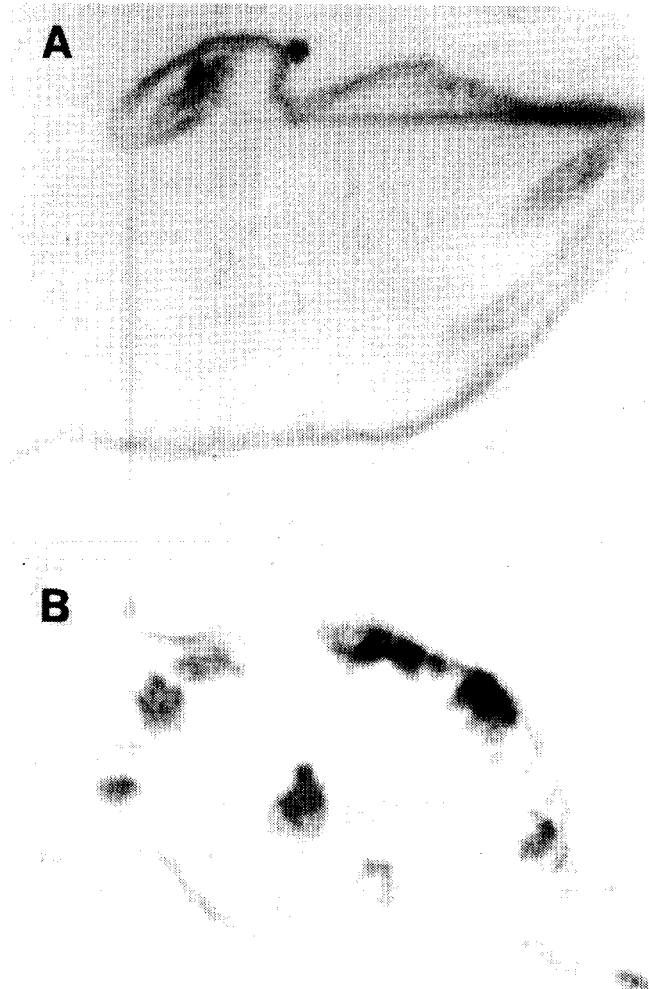


Photo. 1. Electron microphotographs of *P. putida* cell walls before(A) or after(B) Cd accumulation (40,000X).

58%의 cytoplasm fraction으로 구성되어 있었으며, Pb, Zn 및 Cu 내성균주의 경우에도 Cd 내성균주와 비슷한 경향이였다. 미생물 체내의 각 구성성분은 미생물 종류와 배양조건 등에 따라 변화되며, 세포벽은 일반적으로 균체 건중량의 10~40%인 것으로 알려져 있으며²⁰⁾, Brown 등²¹⁾은 *Staphylococcus aureus*의 세포막 양이 전체 세포의 약 7~8%정도라고 하였다.

세포 구성성분내 중금속의 분포도를 조사한 결과, Table 2에서 보는바와 같이 Cd 내성균의 경우 균체내 축적된 총 Cd중 cell wall에 약 53%, cell membrane에 약 30%, cytoplasm에 약 18%가 분포되어 있었으며, Pb 내성균주의 경우 각각 약 59%, 32%, 10% 그리고 Zn 및 Cu 내성균주의 경우 각각 약 32%, 56%, 12% 및 49%, 38%, 13%가 분포되어, Horitsu 등²²⁾이 카드뮴 축적 능력이 있는 *Pseudomonas aeruginosa*의 세포 구성성분별 카드뮴 분포도를 조사한 결과와 유사한 경향이였으며, 전반적으로

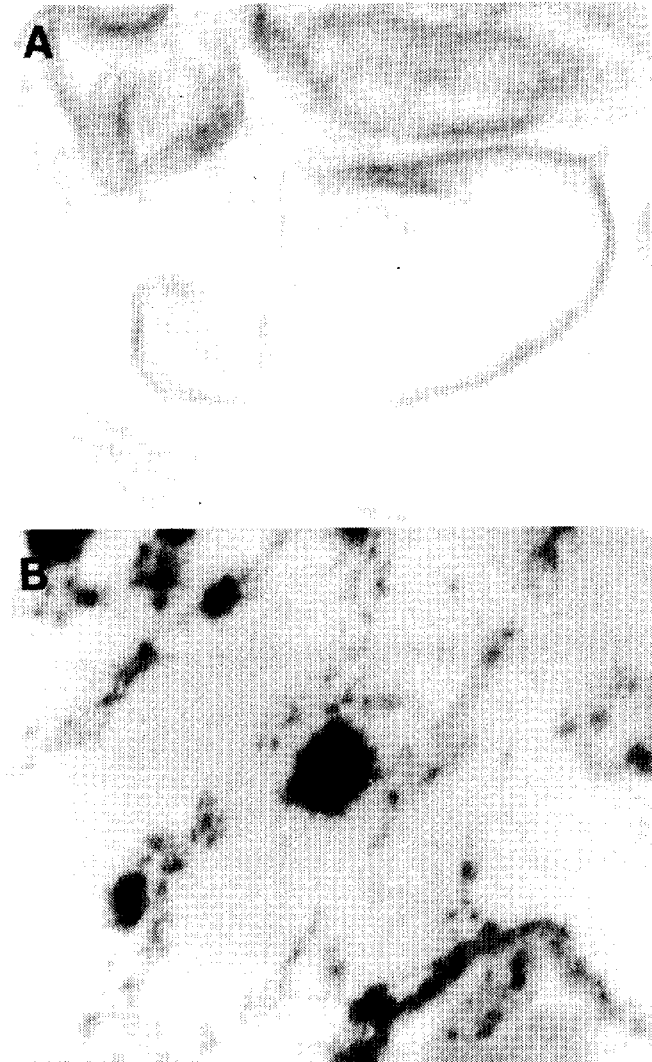


Photo. 2. Electron microphotographs of *P. aeruginosa* cell walls before(A) or after(B) Pb accumulation (40,000×).

Table 3. Distribution of heavy metals in cell wall fractions.

Cell wall fraction	Amount of heavy metals(mg)			
	<i>P. putida</i> (Cd)	<i>P. aeruginosa</i> (Pb)	<i>P. chlororaphis</i> (Zn)	<i>P. stutzeri</i> (Cu)
Whole cell wall	3.0 (100)	4.8 (100)	2.8 (100)	3.0 (100)
Polyphosphate & polysaccharide	2.28 (75.8)	2.96 (61.6)	1.05 (37.4)	1.95 (65.0)
Lipid	0.06 (1.9)	0.25 (5.1)	0.12 (4.3)	0.15 (5.1)
Poly-β-hydroxy-butyrate	- (-)	0.05 (1.1)	0.04 (1.3)	0.12 (3.9)
Mucopeptide	- (-)	- (-)	0.05 (1.9)	- (-)
Polysaccharide	0.53 (17.5)	0.89 (18.5)	1.39 (49.6)	0.62 (20.5)
Lipopolysaccharide & polysaccharide	0.15 (4.8)	0.66 (13.7)	0.15 (5.5)	0.17 (5.5)

() : Index

cell wall과 cell membrane fraction에 중금속이 많이 분포되어 있었으나, Cd, Pb 및 Cu 내성균주의 경우에는 cell wall fraction에 중금속이 가장 많이 분포되어 있었고 Zn 내성균주의 경우에는 cell membrane fraction에 가장 많이 분포되어 있는 것으로 나타났다.

Photo. 1 및 2는 분리된 Cd 및 Pb 내성균주의 cell wall에 흡착되어 있는 Cd 및 Pb의 외형적인 축적형태를 전자현미경으로 관찰한 결과로서 Cd와 Pb를 처리한 cell wall에는 많은 금속 복합체가 형성되어 있는 것을 관찰할 수 있었다.

그리고 cell wall에 흡착된 중금속의 cell wall 구성성분별 분포도를 조사한 결과, Table 3에서 보는바와 같이 Cd, Pb 및 Cu 내성균의 경우 cell wall에 흡착된 총 Cd, Pb 및 Cu중 polyphosphate & polysaccharide fraction에 각각 약 76%, 62% 및 65%가 분포되어 있었으며, polysaccharide fraction에 각각 약 18%, 19% 및 21%, lipopolysaccharide & polysaccharide fraction에 각각 약 5%, 14% 및 6%가 분포되어 polyphosphate & polysaccharide fraction에 가장 많이 분포되어 있었고, Zn 내성균주의 경우 polyphosphate & polysaccharide fraction에 약 37%, polysaccharide fraction에 약 50%, lipopolysaccharide & polysaccharide fraction에 약 6%가 분포되어 polysaccharide fraction에 가장 많이 분포되어 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Horitsu 등²²⁾이 카드뮴 축적 능력이 있는 *Pseudomonas aeruginosa*의 cell wall 구성성분별 카드뮴 분포도를 조사한 결과와 유사한 경향이었으며, 공시 중금속내성균주들의 cell wall내 중금속 흡착은 polyphosphate, polysaccharide, lipopolysaccharide와 같은 음전하를 많이 가지고 있는 물질들에 의해서 흡착되는 것으로 추측되었다.

Beveridge 등¹⁶⁾은 미생물에 의한 금속 양이온의 흡착은 세포표면의 음전하와 금속이온의 양전하가 상호결합함으로써 이루어지며 이 결합한 금속이온이 nucleation sites로 작용하여 더 많은 금속이온이 축적하게 된다고 하였으나, 본 실험에서는 세포막과 세포질에도 중금속이 분포되어 있었고 Zn 내성균주의 경우에는 세포벽보다 세포막에 더 많이 분포되어 있는 것으로 나타나 공시균주들에 의한 균체내 중금속의 축적은 단순히 세포 표면에만 흡착되는 것이 아니라 세포막이나 세포질에도 흡착 내지 흡수되는 것으로 생각되었으며, 이러한 결과는 전보^{14,23-25)}에서 중금속이 축적된 균체의 균체내 중금속 축적형태를 전자현미경으로 관찰한 결과에서도 명확하게 나타났다.

세포내 중금속이 축적되는 위치는 미생물의 종류에 따라 다르게 나타나는 것으로 알려져 있으며, Tornabene 등²⁶⁾은 *Micrococcus luteus*의 세포내에 축적된 Pb의 분포도를 조사한 결과 세포벽에 9%, 세포막에 90%, 세포질에 1%가 분포되어 있었으며, *Azotobacter* sp.의 경우에는 각각 38%, 61%, 1%의 Pb가 축적된다고 하였다. 또한 Friis 등²⁷⁾

은 *Streptomyces longwoodensis*의 세포를 세포벽과 세포막의 두성분으로 나누어 UO_2^{2+} 의 축적을 조사한 결과 세포벽과 세포막에 비슷한 양의 UO_2^{2+} 이 축적된다고 하였으며, 본 실험에서도 Cd, Pb 및 Cu 내성균의 경우 cell membrane과 cytoplasm fraction에 축적된 각 중금속의 양을 합해보면 cell wall fraction에 축적된 양과 거의 비슷함을 알 수 있었다.

중금속 처리 유무에 따른 균체내 아미노산 조성변화

중금속이 첨가되지 않은 기본배지에서 성장한 균체와 중금속이 100mg/l의 농도로 첨가된 기본배지에서 성장한 균체의 아미노산 조성을 조사한 결과는 Table 4에서 보는바와 같이 균체 g당 총 아미노산 함량은 중금속이 첨가되지 않은 배지에서 성장한 균체에 비하여 중금속을 첨가한 배지에서 성장한 균체의 아미노산 함량이 약간 증가되었으며, 중금속이 첨가되지 않은 배지에서 성장한 균체와 중금속이 첨가된 배지에서 성장한 균체 모두 alanine, aspartic acid(Asp.+Asn.), glutamic acid(Glu.+Gln.), leucine, arginine, lysine이 비교적 많이 함유되어 있었다. 그리고 잔기에 carboxyl기를 가지며 중성 pH에서 음전하를 띠는 산성 아미노산인 aspartic acid(Asp.+Asn.)와 glutamic acid (Glu.+Gln.)의 함량이 염기성 아미노산인 histidine, arginine에 비하여 상당히 많이 함유되어 있었으며, 미생물의 중금속 축적에 중요한 역할을 하는 metallothionein의 특성을 나타내는 cystine이 상당

량 함유되어 있는 것으로 나타났다.

적 요

광산폐수, 산업폐수등으로 부터 Cd, Pb, Zn 및 Cu등 중금속에 강한 내성을 지니고 있을 뿐만 아니라 균체내 중금속 축적능력이 우수한 중금속 내성 미생물 균주 *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *P. chlororaphis* 및 *P. stutzeri*를 각각 분리하여, 세포 구성성분별 중금속 분포 및 중금속 처리 유무에 따른 균체내 amino acid 조성변화 등을 조사한 결과는 다음과 같다.

중금속이 100mg/l 농도로 첨가된 배지에서 20시간 배양한 중금속 내성균주들의 균체내 축적된 중금속의 세포 구성 성분별 분포도를 조사한 결과, Cd, Pb 및 Cu 내성균은 cell wall에 약 50~60%가 분포되어 있었고 cell membrane 및 cytoplasm에 각각 약 30~40% 및 10~17%가 분포되어 있었다. 그러나 Zn 내성균주는 cell wall, cell membrane 및 cytoplasm에 각각 약 32%, 56% 및 13%가 분포되어 있었다.

중금속이 처리된 배지에서 배양한 중금속 내성균체의 g당 총 아미노산 함량은 중금속이 처리되지 않은 배지에서 배양한 균체에 비하여 높게 나타났으며, 산성 아미노산인 aspartic acid(Asp.+Asn.) 및 glutamic acid(Glu.+Gln.)의 함량이 염기성 아미노산인 histidine, lysine, arginine에 비하여 많이 함유되어 있었다.

Table 4. Amino acid compositions of heavy meter-tolerant microorganism with or without heavy metal.

Amino acid	Amount of amino acid							
	<i>P. putida</i> (Cd)		<i>P. aeruginosa</i> (Pb)		<i>P. chlororaphis</i> (Zn)		<i>P. stutzeri</i> (Cu)	
	Without mg/g(%)	With mg/g(%)	Without mg/g(%)	With mg/g(%)	Without mg/g(%)	With mg/g(%)	Without mg/g(%)	With mg/g(%)
Asx.	37.7(10.5)	40.7(10.8)	55.2(12.1)	56.5(12.1)	48.3(11.8)	42.9(10.0)	42.7(10.8)	41.3(10.3)
Thr.	17.9 (5.0)	20.3 (5.4)	20.5 (4.5)	20.8 (4.5)	17.2 (4.2)	14.1 (3.3)	14.9 (3.8)	15.1 (3.8)
Ser.	12.6 (3.5)	15.6 (4.2)	15.1 (3.3)	15.8 (3.4)	12.1 (3.0)	14.5 (3.4)	15.6 (3.9)	17.8 (4.4)
Glx.	38.4(10.7)	39.1(10.4)	61.2(13.5)	63.5(13.6)	51.2(12.6)	48.5(11.3)	49.6(12.6)	48.9(12.2)
Pro.	18.9 (5.3)	11.6 (3.1)	6.5 (1.4)	5.9 (1.3)	15.2 (3.7)	20.8 (4.8)	14.7 (3.7)	21.5 (5.4)
Gly.	21.1 (5.9)	23.4 (6.2)	18.7 (4.1)	17.9 (3.8)	25.9 (6.4)	23.5 (5.5)	25.1 (6.4)	21.8 (5.5)
Ala.	60.1(16.8)	60.5(16.1)	72.5(15.9)	76.0(16.3)	57.2(14.0)	61.7(14.4)	51.4(13.0)	52.3(13.1)
Cys.	5.7 (1.6)	5.9 (1.6)	8.7 (1.9)	8.6 (1.9)	6.8 (1.7)	6.9 (1.6)	5.1 (1.3)	5.3 (1.3)
Val.	19.9 (5.5)	21.1 (5.6)	25.9 (5.7)	25.1 (5.4)	22.9 (5.6)	27.3 (6.4)	22.5 (5.7)	21.8 (5.5)
Met.	6.7 (1.9)	7.6 (2.0)	12.1 (2.7)	13.5 (2.9)	10.5 (2.6)	9.7 (2.2)	12.0 (3.0)	11.6 (2.9)
Ile.	14.7 (4.1)	15.4 (4.1)	22.6 (5.0)	31.9 (6.8)	19.7 (4.8)	18.1 (4.2)	14.7 (3.7)	19.5 (4.9)
Leu.	28.8 (8.0)	30.7 (8.2)	31.3 (6.9)	29.6 (6.3)	23.8 (5.8)	25.3 (5.9)	28.1 (7.1)	25.6 (6.4)
Tyr.	9.8 (2.7)	11.3 (3.0)	9.2 (2.0)	9.7 (2.1)	11.6 (2.8)	16.7 (3.9)	11.7 (3.0)	9.8 (2.4)
Phe.	15.3 (4.2)	15.9 (4.2)	21.9 (4.8)	19.6 (4.2)	18.6 (4.6)	15.4 (3.6)	17.0 (4.3)	18.5 (4.6)
His.	6.5 (1.8)	7.0 (1.9)	13.7 (3.0)	13.2 (2.8)	11.9 (2.9)	16.5 (3.8)	9.8 (2.5)	8.4 (2.1)
Lys.	21.4 (6.0)	23.0 (6.1)	33.9 (7.4)	33.9 (7.3)	34.2 (8.4)	38.2 (8.9)	23.6 (6.0)	27.4 (6.8)
Arg.	23.2 (6.5)	26.5 (7.1)	26.3 (5.8)	24.9 (5.3)	20.7 (5.1)	29.5 (6.8)	36.5 (9.2)	33.6 (8.4)
Total	358.7(100)	375.6(100)	455.3(100)	466.4(100)	407.8(100)	429.6(100)	395.0(100)	400.2(100)

() : Index Asx. : Asp.+Asn. Glx. : Glu.+Gln.

참고문헌

1. Ruchloft, C.C., 1949. The possibilities of disposal of radioactive wastes by biological treatments methods. *Sewage Works, J.*, 21 : 877~887.
2. Gale, N.L. and B.G. Wixon, 1979. Removal of heavy metals from industrial effluents by algae. *Dev. Ind. Microbiol.*, 20 : 259~273.
3. Shumate, S.E., et al., 1980. Separation of heavy metals from aqueous solution using biosorbents-development of contacting devices for uranium removal. *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 10 : 27~38.
4. Norberg, A.B. and H.Persson, 1984. Accumulation of heavy metal ions by *Zoogloea ramigera*. *Biotechnol. Bioeng.*, 26 : 239~246.
5. Nakajima, A., T. Horikoshi, and T. Sakaguchi. 1981. Studies on the accumulation of heavy metal elements in biological systems. XVII. Selective accumulation of heavy metal ions by *Chlorella regularis*. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 12 : 76~83.
6. Beveridge, T.J. and R.G.E.Murray. 1980. Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 141(2) : 876~887.
7. Sonnenfeld, E.M., T.J. Beveridge, A.L. Koch, and R.J. Doyle. 1985. Asymmetric distribution of charge on the cell wall of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 163(3) : 1167~1171.
8. Muraleedharan, T.R. and C. Venkobachar, 1990. Mechanism of biosorption of copper(II) by *Gonoderma iucidum*. *Biotechnol. Bioeng.*, 35 : 320~325.
9. Tobin, J.M., D.G. Cooper and R.G. Neufeld, 1990. Investigation of the mechanism of metal uptake by denatured *Rhizopus arrhizus* biomass. *Enzyme. Microbiol. Technol.*, 12 : 591~595.
10. Tsezos, M. and B. Volesky. 1982. The mechanism of uranium bio-sorption by *Rhizopus arrhizus*. *Biotech. Bioeng.*, 24 : 385~401.
11. Tsezos, M. and B. Volesky. 1982. The mechanism of thorium bio-sorption by *Rhizopus arrhizus*. *Biotech. Bioeng.*, 24 : 955~969.
12. Doyle, R.J., T.H. Matthews, and U.N. Streips. 1980. Chemical basis for selectivity of metal ions by the *Bacillus subtilis* cell wall. *J. Bacteriol.*, 143(1) : 471~480.
13. 허종수 외. 1996. 난분해성 독성 오염물질 분해 미생물의 수처리 이용에 관한 연구 (IV). 농촌진흥청 보고서.
14. Cho, J.S., M.G. Han, H.J. Lee and J.S. Heo, 1996. Zinc accumulation in the cell of zinc-tolerant bacteria, *Pseudomonas chlororaphis*, and recovery of zinc from the cells accumulating zinc. *J. Korean Environ. Sci. Soc.*, 5(3) : 317~327.
15. Doyle, R.J. and D.C. Birdsell. 1972. Interaction of concanavalin A with the cell wall of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 109(2) : 652~658.
16. Beveridge, T.J. and R.G.E. Murry, 1976. Uptake and retention of metals by cell walls of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, 127(3) : 1502~1518.
17. Schnaitman, C.A., 1970. Protein composition of the cell wall and cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 104(2) : 890~901.
18. Heo, J.S., J.S. Cho and M.G. Hsn. 1992. Mechanism of cadmium accumulation in the cell of cadmium-tolerant bacteria, *Pseudomonas putida*. *Kor. J. Environ. Agric.*, 11(1) : 67~76.
19. Spackman, D.H., W.H. Stein, and S. Moore. 1958. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, 30 : 1190~1197.
20. Pelczar, M.J. and E.C.S. Chan, 1981. Elements of microbiology. p. 79-80. McGraw-Hill, Inc., Tokyo.
21. Brown, J.W., 1961. Composition of fractions prepared from *Staphylococcus aureus*. *Biochem. Biophys.*, 52 : 368~374.
22. Horitsu, H., H. Kato and K. Tomoyeda, 1979. Uptake of cadmium by a cadmium chloride-tolerant bacterium, *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Ferment. Technol.*, 57 : 273~279.
23. Cho, J.S., M.G. Han, H.J. Lee and J.S. Heo, 1996. Characteristics of lead accumulation in the cell of lead-tolerant bacterium, *Pseudomonas aeruginosa*. *Kor. J. Environ. Agric.*, 15(3), 306~316.
24. Cho, J.S., M.G. Han, H.J. Lee and J.S. Heo, 1996. Copper accumulation in the cell of copper-tolerant bacteria, *Pseudomonas stutzeri*, and recovery of copper from the cells accumulating copper. *Kor. J. Environ. Agric.*.
25. Cho, J.S., Y.S. Lim and J.S. Heo, 1996. Cadmium accumulation in the cell of cadmium-tolerant bacteria, *Pseudomonas putida*, and recovery of cadmium from the cells accumulating cadmium. *J. Korea Soc. Water Quality.* 101~110.
26. Tornabene, T.G. and H.W. Edwards, 1972. Microbial uptake of lead. *Science.*, 176 : 1334~1335.
27. Friis, N. and P. Myers-Keith. 1986. Biosorption of uranium and lead by *Streptomyces longwoodensis*. *Biotechnol. Bioeng.*, 28 : 21~28.