

## Proteomics 기법을 이용한 *Salmonella enteritidis*의 항원 단백질 분석

박미림 · 신용승 · 한대용 · 김용환 · 정태성 · 이후장 · 이응구<sup>2</sup> · 김종수 · 김은희<sup>1</sup> · 김근섭\*

경상대학교 수의과대학(생명과학연구소)

<sup>1</sup>진주국제대학교, <sup>2</sup>성균관대학교

(게재승인: 2003년 10월 22일)

## Proteome analysis: *Salmonella enteritidis* antigen proteins

Mi-rim Park, Yong-seung Shin, Dae-yong Han, Yong-hwan Kim, Tae-sung Jung,  
Hu-Jang Lee, Eung-Goo Lee<sup>2</sup>, Jong-su Kim, Eun-hee Kim<sup>1</sup>, and Gon-sup Kim\*

Research Institute of Life Science, College of Veterinary Medicine,

Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>1</sup>Jinju International University, Jinju 600-701, Korea

<sup>2</sup>SungGyunKwan University, Suwon 440-746, Korea

(Accepted: October 22, 2003)

**Abstract :** The common pathogen *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*) is the major cause of foodborne disease. Protein identification by peptide mass fingerprinting using the matrix-assisted laser desorption ionization time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry (MS) can unambiguously identify the spots from 2-dimensional electrophoresis (2-DE) gel. In this report, we examined protein components from patterns of *S. enteritidis* proteins. In addition, antigens that are recognized by sera can be identified by immunoblotting. This study that 2-DE analysis of *S. enteritidis* yields useful information concerning *S. enteritidis* proteome, the results that have been obtained led to a more detailed understanding of *Salmonella* pathology and open further interesting fields for future work.

**Key words :** *Salmonella enteritidis*, matrix-assisted laser desorption ionization time of flight, 2-dimensional electrophoresis, antigens, proteome

## 서 론

*Salmonella* spp.는 Enterobacteriaceae과에 속하는 gram 음성의 lactose 비분해 균종 중 대표적인 병원균 [9, 16]으로 자연계에 널리 편재하고 거의 모든 척추동물 및 계란 어류 그리고 일부 채소류 등 [1] 자연계의 광범위한 숙주영역에서 생존할 수 있는 것으로 알려져 있다.

1980년대 초까지만 하더라도 *S. typhimurium*이 식중독의 가장 주된 병원체로 알려져 왔으나 특이하게도 1980년대 중반부터 세계적인 경향으로 *S. enteritidis*에 의한 폭발적인 증가 [2, 8], 현상이 보고됨에 따라 이에 관련

된 연구가 집중적으로 진행되어 왔다 [5, 12, 15].

특히, *S. enteritidis*와 *S. typhimurium*의 경우 사람과 동물에 대해서 특이적으로 적응능을 획득한 *S. typhi* (사람), *S. dublin* (소), *S. choleraesuis* (돼지), *S. gallinarum* 및 *S. pullorum* (가금)과는 달리 사람을 비롯한 모든 동물에 감염하여 장염과 패혈증을 일으킬 수 있으며 특히 닭에서 파라티푸스를 일으키는 비숙주 적응성의 대표적인 혈청형으로 [7, 14] 공중보건학상 더욱 중요하게 취급되고 있다.

최근 인간을 비롯한 수많은 미생물과 하등동물, 식물 유전체의 정보가 하루가 늘어감에 따라 그 염기 서열 자체가 아닌 염기의 기능, 특히 세포 내에서의 유전자 발

이 논문은 농림기술개발사업(과제번호 20010067), KOSEF(과제번호:R01-2003-000-10049-0)에 의해 수행되었습니다.

\*Corresponding author: Gon sup Kim

Laboratory of Veterinary Biochemistry, Collage of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea  
[Tel: 82-55-751-5823, Fax: 82-55-751-5803, E-mail: gonskim@nongae.gsnu.ac.kr]

현의 산물인 단백질의 기능을 밝히려는 학문이자 테크닉으로서 생물학 연구에 있어서 새로운 paradigm으로 그 중요도가 세계적으로 증가하고 있다.

이러한 접근은 게놈(Genome)의 상대어로서 <PROTEin expressed by a genOME>의 합성어인 프로테옴(Proteome)이라는 말로 널리 인식되고 있다 [17].

이러한 프로테옴을 연구하는 학문인 프로테오믹스(Proteomics)는 (1) 기능을 갖는 단백질의 발현을 종합적이고 정량적으로 측정하고 (2) 생물학적인 동요(perturbation)에 의해 변하는 단백질들의 발현양상의 변화를 정확하게 관찰하며, (3) *in vivo*에서 유전자 발현의 궁극적인 양상을 규명하여, (4) 유전자, 단백질 및 질병간의 연결고리를 제공하는데 그 목적이 있다.

특히 이차원전기영동(Two-dimensional electrophoresis; 2-DE)은 가장 보편적으로 사용되는 proteomics의 기법으로 단백질의 등전점(pI)으로 나타내는 net charge에 따라 단백질을 제 1차 나열을 한 후, 이어서 분자량에 따라 분리하는 방법으로, sample 속에 포함된 수백, 수천 가지의 단백질을 동시에 나열하여 특정 생리 조건 등에 따라 다르게 나타나는 단백질의 양적인 비교를 통하여 특정 단백질을 질량분석기로 분석하여 아미노산 서열을 결정하고 이를 바탕으로 단백질이나 genome data base를 bioinformatics tool로 찾아 단백질의 정체를 확인하는 연속적인 과정이다 [13].

이 연구에서는 *S. enteritidis*를 2-DE map에 전개시킨 다음 serological proteomics 분석 기법 [3]으로 immunoblotting map과 비교하여 MALDI-TOF MS를 이용하여 항원 단백질을 동정하였다.

## 재료 및 방법

### 공시 균주

실험에 사용된 균주는 경남 보건 환경 연구원에서 분양 받은 *Salmomella enteritidis* (ATCC 13076)를 공시하였다.

### 배양조건 및 이차원 전기영동용 시료

*S. enteritidis* 12시간 예비 배양한 후 100  $\mu$ l를 15 ml의 LB borth에 접종하고, 37°C에서 shaking incubator에서 220 rpm으로 진탕하면서 24시간 배양하였다. 세균 배양액은 4°C에서 6000 rpm 원심 침전시키고, 침전된 균괴는 40 mM Tris-HCl buffer(pH 7.2)로 4°C에서 6000 rpm으로 10분간 3회 세척한 다음 흡광도 1.0( $\lambda=610$  nm) 수준으로 희석하였다. 희석된 세균액은 각각 4 ml, 8 ml로 분주하고, 다시 원심 침전시켜 이차원 전기영동용 시료로 사용하였다.

### 이차원 전기영동을 위한 시료 준비

이차원 전기영동을 위한 *S. enteritidis*의 단백질 추출은 O' Farrell [10]의 방법을 준용하였으며, 준비된 시료에 500  $\mu$ l의 lysis buffer (9 M urea, 4% CHAPS, 40 mM Tris-HCl)를 첨가하여 얼음에서 1시간 반응시킨 다음 13,000 $\times$ g에서 1시간 원심시켜 상층액을 회수하고, 회수된 상층액은 Bradford 법을 준용하여 단백질을 정량하였다.

### 이차원 전기영동

#### (1) First-dimension Isoelectric focusing(IEF)

IPGphor system을 이용하여 IEF를 수행하였다. rehydration buffer(9 M urea, 4% CHAPS, 40 mM Tris-HCl, 65 mM DTT, and 0.5% IPG buffer, bromophenol blue)에 정량한 시료 단백질을 일정량 혼합하여 IPGphor strip holder에 250  $\mu$ l를 로딩한 후 13 cm immobilized pH Gradient (IPG) strip을 잘 올려놓고, 시료가 건조되지 않도록 cover fluid oil을 가하였다.

#### (2) Second dimension SDS-PAGE

IEF가 끝난 IPG strip은 1%(w/v) DTT를 첨가한 equilibration buffer (1.5 M Tris-HCl, pH8.8, 6 M urea, 30% glycerol, 2% SDS, bromophenol blue)에 15분간 반응시키고 다시 1.25%(w/v)의 iodoacetamide를 첨가한 equilibration buffer에 15분간 반응시킨 다음 IPG strip을 12.5% acrylamide gel의 상단부에 loading 시키고 빈 공간은 low melting agarose gel을 분주하였다. 15 mA의 조건으로 5분 전개한 후 30 mA로 변환시켜 bromophenol 이 gel의 하단부에 도달할 때까지 전개하였다.

### 도은염색

2차원 SDS-PAGE를 마친 gel에서 단백질 spot을 검출하기 위하여 도은염색을 하였다. Gel을 고정액 (50% metanol, 12% acetic acid, 37% formic acid)으로 한 시간 이상 고정 한 다음 50% etanol으로 30분간 2회 반복 세척하고, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-5HO로 1분간 전처리 하였다. 전처리 한 Gel을 3차 증류수로 20초간 3번 세척하고 AgNO<sub>3</sub>와 37% HCOH로 30분간 반응시킨 다음 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 37% formic acid로 발색시켰다. 단백질 Spot을 확인한 후 stop solution (50% metanol, 12% acetic acid)으로 발색을 중지하였다.

### Immunoblotting

2-DE 한 gel에서 항원 spot을 검출하기 위하여 nitrocellulose(NC) membrane으로 60 Volt에서 70분 동안 transfer 후 membrane은 5% skim milk로 37°C에서 1시간 동안 blocking 한 다음 TBS-T (10 mM Tris buffer

solution 그리고 0.01% Tween-20)로 10분간 세번 세척하였으며 *S. enteritidis*에 대한 rabbit anti-serum을 TBS-T에 1:200으로 희석하여 membrane에 가한 후 2시간 동안 가볍게 진탕하면서 반응을 시킨 다음 세척은 앞의 과정과 동일하게 하였다. Anti-rabbit horseradish conjugated IgG는 TBS-T에 1:2,000으로 희석하여 1시간 동안 가볍게 진탕하면서 반응을 시켜 세척한 다음 ECL kit (Amersham Pharmacia Biotech Inc.)를 이용하여 항원을 검출하였다.

**통계처리**

도연염색한 결과는 scanning한 후 전용 이미지 분석 프로그램인 Phoretix 2D program (Ver. 5.01)을 이용하여 분석하였다.

**MALDI-TOF MS를 위한 sample 준비**

**(1) Spot excising**

Phoretix 2D program을 통해 분석된 2-D gel을 분석한 후, 관심 있는 단백질의 identification을 위해 관련 spot

을 피펫 tip을 이용하여 1 mm<sup>3</sup> 크기로 잘라내었다.

**(2) Destaining and Washing**

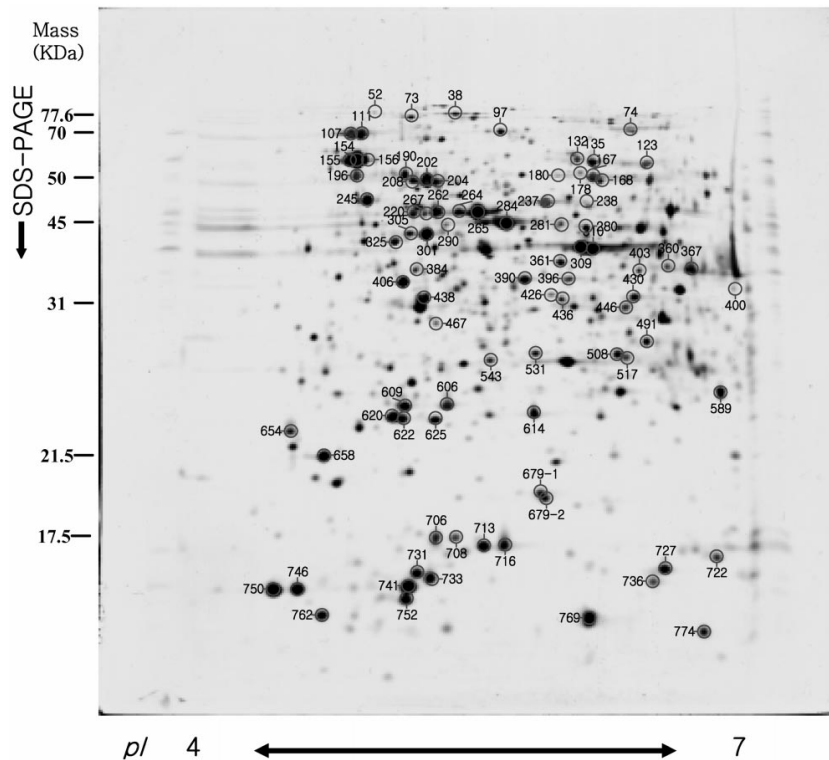
잘라낸 spot은 도연 염색 상태이므로 30 mM potassium ferricyanide와 100 mM sodium thiosulfate를 1:1로 혼합한 용액에 넣어 5분 동안 반응시켜 탈염색하였고, 탈염색되어진 gel은 pure water를 이용하여 5분 동안 3~4회 세척하였다.

Gel 내부의 수분을 제거시켜 주기 위해 acetonitrile을 넣어 15분 동안 반응시킨 후 gel이 하얀색으로 탈수상태가 된 것을 확인한 후 acetonitrile을 제거시켜 주고 gel은 vacuum centrifuge를 이용하여 완전 건조하였다.

**(3) In-gel Reduction and Alkylation**

건조된 gel에 10 mM DTT가 함유된 100 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>를 넣어 30분간 반응시킨 후 다시 55 mM iodoacetamide가 함유된 100 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>를 넣어 암실에서 30분간 다시 반응시켰다. 100 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>를 이용하여 한번 더 세척한 후 acetonitrile을 이용하여 gel을 탈수시켰다.

**(4) In-gel Digestion**



**Fig. 1.** 2-DE map of protein from *S. enteritidis*. Proteins were separated by 2-DE and visualized by silver staining. Approximate molecular weights are shown on the left and pIs are shown along the bottom. Circled spots are specific matched with immunoblotting image (Fig. 2) spots. The proteins identified are designated with their spot number.

건조된 gel에 50 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 와 5 mM  $\text{CaCl}_2$ 의 digestion buffer를 넣어 녹인 12.5 ng/ $\mu\text{l}$ 의 trypsin을 15  $\mu\text{l}$ 를 넣어 45분 동안 ice에서 정치시키고 흡수되지 않고 남은 용액은 모두 제거한 후 20  $\mu\text{l}$ 의 trypsin이 포함되지 않은 digestion buffer를 넣어 37°C에서 16시간 정도 digest을 시행하였다.

#### (5) Extraction of Peptides

15  $\mu\text{l}$ 의 pure water를 넣어 30분간 vortex 시킨 후 20  $\mu\text{l}$ 의 acetonitrile을 넣어 다시 30분간 vortex 시킨 후 상층액만 수거, vacuum centrifuge를 이용하여 dry 하였다.

#### (6) On Target sample preparation (Dried-Droplet Method)

Matrix solution으로 40 mg의 HCCA( $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid)를 50% acetonitrile과 0.3% TFA 1 ml에 녹인 상층액에 적당량의 calibrant(Bradykinin, Angiotensin)를 섞어 dry된 sample과 mix한 후 MALDI target에 2  $\mu\text{l}$  targetting 한 후 dry 시켜 MALDI-TOF를 시행하였다 [4].

#### (7) Data analysis

얻어진 peptide의 mass는 Protein Prospector(<http://prospector.ucsf.edu>)에 있는 MS-Fit program을 이용하여 NCBI nr database에 접속하여 protein을 동정하였다. 이때 mass tolerance는 50 ppm 이내로 하였고 최소 4개 이상의 peptide가 matching 되어진 protein만을 선택하였다.

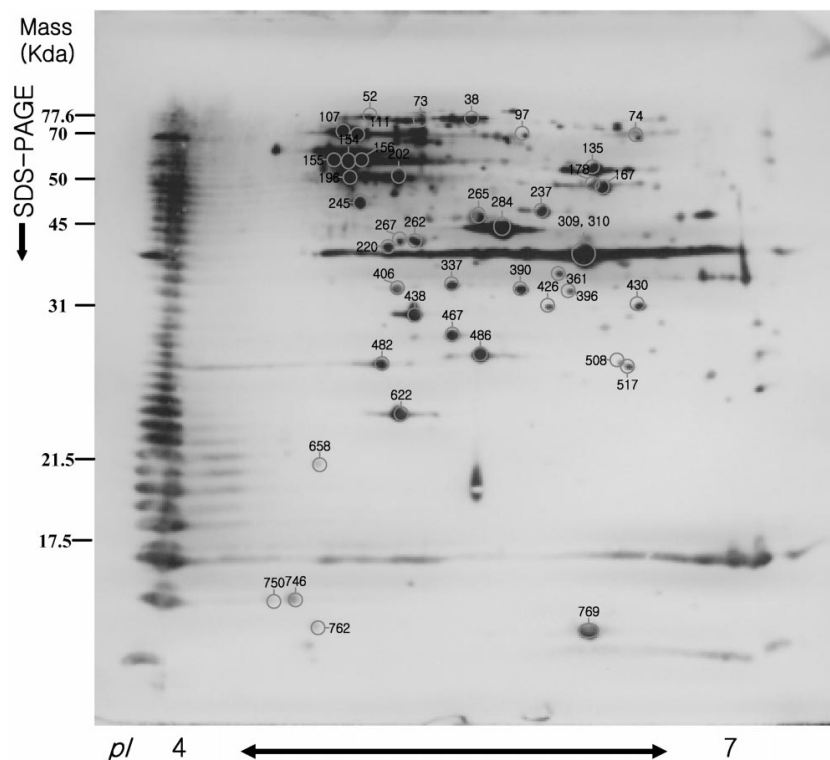
## 결 과

### *S. enteritidis*에 대한 이차원 전기영동 결과

본 실험에서는 *S. enteritidis*의 soluble protein 만을 이용하여 protein map을 작성하였다.

pH 3-10으로 실험한 결과 pH 4 이하의 부위와 7이상의 부분에서는 protein이 거의 발견되지 않았으므로(data not shown) pH 4-7 사이에 있는 protein에 중점을 두었다.

Fig. 1은 도문검색한 pH 4-7의 *S. enteritidis*의 soluble protein의 reference map 이다. IEF에서 loading 되는 protein의 양과 SDS-PAGE 당시 진행시킨 위치에 따라 spot 수와 위치의 다양성을 보이긴 했지만 비교적 높은 재현성을 보였으며, Phoretix 2D Advanced program을



**Fig. 2.** 2-DE map of antigen protein from *S. enteritidis* (ATCC13076). Immunoblotting by PVDF membrane. Isoelectrofocusing(IEF) was performed using pI4-7 and separation in the second dimension was performed using 12.5% polyacrylamide gel. Approximate molecular weights are shown on the left and pIs are shown along the bottom. The proteins identified are designated with their silver stained spot number. The protein names are listed in Table 1.

이용하여 pH 4-7 범위 13 cm silver stained gel에서 788 개의 spot 들을 count 할 수 있었고(Fig. 1), 이들을 분자 량에 따라 번호를 지정하였다.

*S. enteritidis*에 대한 2-DE immunoblotting 결과 *S. enteritidis*에 대해 2-DE 후 균을 집중시켜 면역 시킨 *S. enteritidis* 특이 rabbit antisera를 이용하여

**Table 1.** Identified antigen proteins of *Salmonella enteritidis*

Spot No.	Accession #	MOWSE score	Protein Name	Protein MW (Da)/pI	No. of peptide matched	% Coverage
38	16762837 M	6.424E+03	Elongation factor G	77600/5.2	7(14)	15
52	16759214 M	1.213E+04	Outer membrane protein precursor	89467/4.9	7(13)	12
73	16766580 M	6.339E+05	Polynucleotide phosphorylase, member of mRNA degradosome	77039/5.1	11(24)	17
74	16763165 M	2.345E+07	Fumarate reductase, flavoprotein subunit	65493/6.0	12(42)	25
107	16759005 M	2.330E+04	Dnak protein (heat shock protein 70)	69232/4.8	11(28)	23
111	16759851 M	3.720E+04	30S ribosomal protein S1	61174/4.9	17(43)	32
135	16765090 M	5.856E+06	ABC superfamily(periplasm), oligopeptide transport protein with chaperone properties	65568/6.3	14(40)	35
154	16763152 M	2.826E+05	GroEL protein	57286/4.8	13(17)	28
155	16763152 M	6.963E+03	GroEL protein	57286/4.8	7(11)	21
156	16763152 M	3.404E+04	GroEL protein	57286/4.8	11(26)	21
167	16762459 M	2.381E+08	ATP synthase alpha subunit	55113/5.7	15(26)	39
190	16762606 M	5.910E+06	2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase	55555/5.0	10(14)	27
196	531889 M	2.304E+03	Phase-1 flagellin	51794/5.0	6(20)	14
202	16763147 M	1.559E+05	Aspartate ammonia-lyase	52287/5.1	9(17)	19
220	16761974 M	4.316E+05	ADP-heptose synthase	51125/5.1	12(35)	30
237	16767712 M	1.882E+05	Putative arginine deiminase	45562/5.5	10(38)	26
245	16762461 M	6.787E+09	ATP synthase beta subunit	50284/4.9	15(36)	43
262	16761303 M	5.972E+04	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase I	42373/5.1	7(27)	26
265	16761724 M	1.499E+06	Enolase	45599/5.3	12(54)	40
267	16765230 M	2.369E+03	Pyruvate kinase II, glucose stimulated	51388/6.1	8(18)	19
284	96718	1.882E+11	Translation elongation factor EF-Tu.A	43252/5.3	19(31)	58
309	16762910 M	2.643E+06	Periplasmic maltose-binding protein	43153/6.3	14(54)	40
310	16761850 M	1.534E+05	Fructose 1,6-bisphosphate aldolase	39157/5.7	11(46)	32
361	16762372 M	5.618E+06	p-phosphofructokinase	34915/5.6	15(38)	51
361	16767711 M	1.250E+02	Putative carbamate kinase	33351/5.4	5(17)	18
390	16767711 M	5.878E+04	Putative carbamate kinase	33351/5.4	10(12)	26
396	68319 M	4.350E+01	Threonine dehydratase(EC 4.2.1.16), biosynthetic	56277/5.7	4(20)	9
406	16759000 M	1.341E+06	Transaldolase B	35171/5.1	12(20)	52
430	16764640 M	4.235E+04	Putative enzymes related to aldose 1-epimerase	32560/5.7	8(18)	24
438	16759207	8.009E+05	Elongation factor Ts	30358/5.1	11(31)	34
508	16759697 M	9.420E+02	Phosphoglycerate mutase 1	28494/5.8	5(13)	20
517	16760352 M	1.854E+05	Putative oxidoreductase	27043/5.8	8(16)	35
620	16763234 M	1.817E+03	Inorganic pyrophosphatase	19677/5.0	6(28)	33
658	16761352 M	2.247E+03	Pts system, glucose-specific IIA component	18247/4.7	5(33)	38
746	15803726 M	1.106E+03	50S ribosomal subunit protein L21	11564/9.8	5(35)	35
769	20521562	2.800E+02	100 pct identical to gp:AB021078_3(YcgC of plasmid Collb-P9)-93 pct identical to gp:AP000342_35(YcjA of plasmid R100)	15767/4.5	5(33)	18

immunoblotting을 시행한 결과 100개의 항원성 spot을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

또 이들 spot들은 Phoretix 2D Advanced program을 이용하여 matching 시킨 후 도염색한 gel(Fig. 1)에서의 spot 번호를 같이 적용하였다.

#### Mass spectrometry

Rabbit anti-sera specific *S. enteritidis*에 대해 양성 반응을 보인 단백질은 도염색한 gel과 match하여 그 단백질을 gel에서 잘라내어 in gel digestion한 후 MALDI-TOF를 시행하였다.

*S. enteritidis* 특이 rabbit antisera 대해 반응을 보인 89개의 단백질 중 35개의 단백질을 분석할 수 있었다(Table 1).

동정된 단백질을 그 기능으로 분류해 보면(Table 2) heat shock protein인 DnaK(spot No. 107), GroEL(spot No.154, 155, 156) 등과 단백질 생합성의 transcription에 관련된 elongation factor G, Tu, Ts (spot No. 38, 284, 438), translation에 관련된 30S ribosomal protein S1(spot No. 111), 50S ribosomal subunit protein L21(spot No. 746), 그리고 대다수의 에너지 대사에 관련된 단백질을 확인할 수 있었다.

**Table 2.** Identified antigen proteins of functional grouping

Functional categories	Spot No.
Heat shock Protein	
DnaK protein	107
GroEL protein	154
GroEL protein	155
GroEL protein	156
Intermediate and entry metabolism	
Polynucleotide phosphorylase, member of mRNA degradosome	73
Fumarate reductase, flavoprotein subunit	74
ATP synthase alpha subunit	167
2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase	190
Aspartate ammonia-lyase	202
Putative arginine deiminase	237
ATP synthase beta subunit	245
3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase I	262
Enolase	265
Pyruvate kinase II, glucose stimulated	267
Periplasmic maltose-binding protein	309
Fructose 1,6-bisphosphate aldolase	310
6-phosphofructokinase	361
Putative carbamate kinase	390
Transaldolase B	406
Putative enzymes related to aldose 1-epimerase	430
Phosphoglycerate mutase 1	508
Putative oxidoreductase	517
Pts system, glucose-specific IIA component	658
Trancription	
Elongation factor G	38
Translation elongation factor EF-Tu.A	284
Elongation factor T	438
Translation	
30S ribosomal protein S1	111
50S ribosomal subunit protein L21	746
Etc. protein synthesis	
Outer membrane protein precursor	52
Phase-1 flagellin	196
ADP-heptose synthase	220

그리고 동정되어진 대부분의 단백질들은 *S. enteritidis* 특이 rabbit antisera에 대해 특히 강한 양성 반응을 보인 것으로 나타났다.

## 고 찰

*Salmonella*속 균은 사람과 동물에 감염되어 장염, 위장염 및 패혈증을 일으키는 장내세균으로 사람과 동물 상호간의 감염증을 유발하는 인수공통전염병의 원인균이며 특히 이 속 균의 보균 동물이 사람에게 대한 감염원이 되어 환경이나 식품 오염을 통해 food borne disease를 일으키므로 공중 보건상 대단히 중요시되고 있다.

병원성 세균의 유전정보에 대한 이해는 병원성 세균의 대사와 생리를 예측하기 위한 필수적인 단계로서 여러 연구진에 의하여 연구가 진행되어 왔다. *Salmonella*의 경우 2001년 Parkhill과 McClelland 등에 의해 염기서열이 해독되어 병원성 및 생리학적 특성을 이해하는데 크게 기여하였다[6, 11].

이차원 전기영동과 질량분석법을 이용한 proteome 연구는 이미 구축되어 있는 염기서열 데이터 베이스를 바탕으로 발현된 단백질을 게놈 정보의 특정 유전자와 연결시켜 유전자의 산물인 최종 단백질과의 상관관계를 밝히는 것이다.

본 실험에서는 *S. enteritidis*를 이차원 전기영동법을 이용하여 2-DE gel 상에 단백질을 나열한 것과 동일한 gel을 PVDF membrane으로 immunoblotting을 시행한 후 *S. enteritidis* 특이 rabbit antisera를 반응시켜 얻은 2-DE blotting map을 서로 비교 항원 단백질로 추정되는 spot을 2-DE gel에서 오려 MAIDI-TOF MS를 시행한 후 얻어진 MS peak 값을 이용하여 genome database에 접속하여 단백질을 동정하였다.

그 결과 heat shock protein인 DnaK, GroEL 등과 단백질 생합성의 transcription에 관련된 elongation factor G, Tu, Ts, translation에 관련된 30S ribosomal protein S1, 50S ribosomal subunit protein L21, 그리고 fumarate reductase, fructose 1,6-bisphosphate aldolase, 2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase, pyruvate kinase, 6-phosphofructokinase 등 당대사에 관련된 단백질과 phosphorylase, ATP synthase- $\alpha$ -subunit 산화적 인산화반응, oxydative phosphorylation에 관계된 효소 등 비롯한 에너지 물질대사에 관련된 단백질들을 확인할 수 있었다.

## 참고문헌

1. Davis, B. D., Dulbecco, R. and Eisen, H. N.

Microbiology. pp. 576-579, 4th ed, Lippincott, London, 1990.

2. Jean, G. P. The chicken, the egg and *Salmonella enteritidis*, Environmental Microbiology, 2001, 3, 421-430.

3. Klade, C. S., Voss, T., Krystek, E., Ahorn, H., Zatloukal, K., Pummer, K. and Adolf, G. R. Identification of tumor antigens in renal cell carcinoma by serological proteome analysis. Proteomics. 2002, 1, 890-898.

4. Landry, E., Lombardo, C. R. and Smith, J. W. A method for application of samples to Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of Flight targets that enhances peptide detection. Analytical Biochemistry, 2000, 279, 1-8.

5. Lee, Y. J. Kang, M. S., Woo, Y. K., Mo, I. P. and Tak, R. B. Competitive exclusion against *Salmonella gallinarum* of *Salmonella enteritidis* infected chickens, J. Vet. Sci. 2001, 2, 33-36.

6. McClelland, M., Sanderson, K. E. and Spieth, J. Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2, Nature, 2001, 423, 852-856.

7. Minor, L. L. *Salmonella*. In; Bergey's Manual of systematic bacteriology. pp. 427-458, 1st ed. Krig, NR, Holt JG (eds), Williams & Wilkins, Baltimore, 1984.

8. Molbak, K., Smidt, P. G. and Wegener, H. C. Increasing Quinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype enteritidis, Emerging infectious diseases, 2002, 8, 514-515.

9. Murray, P. R., Pfaller, M. A. and Tenour, F. C. Annual of Clinical Microbiology. pp. 467-471, 7th ed. ASM press, Washington DC, 1999.

10. O'Farrell, P. H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. J. Biol. Chem. 1975, 250, 4007-4021.

11. Parkhill, J., Dougan, G. and James, K. D. Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serova Typhi CT18, Nature, 2001, 423, 848-852.

12. Poppe, C., McFadden, K. A. and Brouwer, A. W. Characterization of *Salmonella enteritidis* strains. Can. J. Vet. Res. 1993, 57, 176-184.

13. Rabilloud, T. Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: Old, old fashioned, but it still climbs up the mountains. Proteomics, 2002, 2, 3-10.

14. Snoeyenbos, G. H., Williams, J. E. and Pomeroy, B. S. Salmonellosis, in; Disease of poultry. pp. 72-130, 9th

- ed. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CQ, (Eds.) Iowa State University Press, Ames Iowa, 1991.
15. **Su, X., Low, S., Kwang, J., Chew, V. H. T. and Li, S. F. Y.** Piezoelectric quartz crystal based veterinary diagnosis for *Salmonella enteritidis* infection in chicken and egg. Sensors and Actuators B. 2001, **75**, 29-35.
16. **Ward, L. R., De Sa, J. D. H. and Rowe, B.** A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. Epidem. Inf, 1987, **99**, 291-294.
17. **Wasinger, V. C., Cordwell, S. J., Cerpa-Poljak, A., Yan, J. X., Gooley, A. A., Wilkins, M. R., Duncan, M. W., Harris, R. and Williams, K. L.** Humphery-Smith I. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. Electrophesis. 1995, **16**, 1090-1094.