Korean J. Environ. Biol. 22(3) : 472~477 (2004)

Bacillus lentimorbus WJ5의 감마선유도 돌연변이체들에서 공통으로 발현되는 방사선 관련 유전자의 microarray 분석

이영근* · 장화형 · 장유신 · 허재호 · 형석원 · 정혜영

한국원자력연구소 방사선이용연구부

Microarray Analysis of Radiation Related Gene Expression in Mutants of *Bacillus lentimorbus* WJ5 Induced by Gamma Radiation

Young-Keun Lee*, Hwa-Hyoung Chang, Yu-Sin Jang, Jae-Ho Huh, Seok-Won Hyung and Hye-Young Chung

Radiation Application Research Division, Korea Atomic Energy Research Institute, Yuseong, Daejeon 305-353, Korea

Abstract - To study the radiation related gene expression in mutants of *Bacillus lentimorbus* WJ5 induced by gamm radiation, the simultaneous gene expression was analyzed by DNA microarray. We constructed DNA chips including two thousand randomly digested genome spots of *B. lentimorbus* WJ5 and compared its quantitative aspect with seven mutants induced by gamma radiation (^{60}Co). From the cluster analysis of gene expression pattern, totally 408 genes were expressed and 27 genes were significantly upregulated by the gamma radiation in all mutants. Especially, genes involved in repair (*mutL, mutM*), energy metabolism (*acsA, sdhB, pgk, yhjB, citB*), protease (*npr*), and reduction response to oxidative stress (HMM) were simultaneously upregulated. It seems that the induction of the direct and/or indirect repair related genes in mutants induced by gamma radiation could be remarkably different from the adaptive responses against acute exposure to radiation.

Key words : *Bacillus lentimorbus* WJ5, gamma radiation, microarray, mutant

서 론

*Bacillus*속 균주는 그람 양성세균으로 자연계에 널리 퍼져 있으며, 인체에 무해한 것으로 알려져 있다 (Seddon *et al.* 1996; Lee *et al.* 2003a). *B. lentimorbus*의 경우는 *Popillia japonica*에 의해 유발되는 유화병(milky disease)의 방제를 위한 생물농약으로 사용되었으며 (Digman 1994), 최근 연구에서는 항진균 활성도 가지는 것으로 보고되고 있다 (Lee *et al.* 2003b). 또한, 환경 조건의 변화에 대하여 빠르게 적응하려는 생리활성 시스템을 가지고 있으며, 이는 특정 환경 자극에 대응하고 반응하는 유전자 발현 조절에 기초하고 있다. 따라서 세균의 생존은 DNA의 효율적 복제 및 수정과 관련한 유전적 안정성에 의해 직접 영향을 받는다.

DNA는 세포 내부의 산화반응, 세포 외부의 자외선, 이온화 방사선, 화학물질 등과 같은 유해 환경에 상시적으로 노출되어 있다(Hoeijmakers 2001). 이러한 DNA의 손

* Corresponding author: Young-Keun Lee, Tel. 042-868-8056, Fax. 042-862-6980, E-mail. yklee@kaeri.re.kr

상은 세포의 필수 대사인 DNA 복제, 전사 등을 저해할 수 있으며, 심지어는 세포의 사멸이나 돌연변이를 유발할 수도 있다 (Friedberg 2003). 특히, 감마선원의 코발트-60 이온화 방사선은 직접 DNA와 작용하거나 또는 물로부터 활성산소나 자유라디칼을 생산시켜 세포내 DNA에 다양한 돌연변이를 야기시키는 것으로 알려져 있다 (Becker and Sevilla 1993; Lee *et al.* 2000; Sauer *et al.* 2001). 이온화 방사선이 돌연변이원으로 알려진 이래 DNA 손상에 의한 돌연변이 기작의 일부가 연구되어졌으며, 돌연변이체 유도에 유용한 방법으로 보고되고 있다 (Lee *et al.* 2000; Lee *et al.* 2001; Chang *et al.* 2003). 세포는 genome 복제과정이나 외부 물리화학적 환경으로 인하여 발생한 DNA손상으로부터 생존 위협을 막기 위해 독립된 다양한 복구 시스템을 가지는 것으로 알려져 있다(Friedberg 2003). 직접 손상부위를 복귀시키는 damage reversion, 잘못된 염기쌍을 수정하는 mismatch 복구, 이중가닥 절단 복구, 염기 삭제에 의한 복구, SOS 복구 등이 보고되어 있다 (Friedberg 2003). 최근 개발된 DNA microarray 기술은 이온화 방사선과 같은 외부 자극으로부터 손상된 DNA 복구 및 이에 대한 반응을 genome 수준에서 연구하기에 적절한 방법이다 (Schena *et al.* 1995). DNA microarray는 수천 개의 유전자의 발현을 동시에 관찰할 수 있다 (Schena *et al.* 1995; Philippe *et al.* 2003). Philippe 등 (2003)은 대장균에 UV 조사 후 SOS 반응과 관련 있는 유전자의 발현을 분석한 바 있다. Bernadette 등 (1997)은 *Rhodobacter sphaeroides*에 UV 및 산화 자극에 반응하여 발현되는 단백질을 이차원전기영동으로 관찰하여 보고한 바 있다. 반면, 이온화 방사선으로부터 유도된 특정 기능 결핍 돌연변이체의 세포내에서 손상된 DNA 복구 및 저항 관련 유전자 발현에 대한 연구는 미진한 상태이다.

본 연구에서는 감마선으로 유도된 돌연변이체들에서 공통으로 발현되는 방사선 관련 유전자들의 발현을 연구하기 위하여, 항진균 활성 균주인 *B. lentimorbus* WJ5와 방사선 조사로 유도된 7개 항진균 활성 결핍 돌연변이체들 사이에서 차이나게 발현되는 유전자를 DNA microarray로 동시에 탐색하였다.

재료 및 방법

1. 감마선 조사 및 방사선 돌연변이체 유도

Nutrient broth (NB, Difco, USA)에서 배양한 항진균 활성 균주 *B. lentimorbus*를 0, 5, 10, 15, 20 kGy 구간에서 방사선 조사하고 (^{60}Co irradiator, AECL, dose rate: 920 Gy hr^{-1}) 감수성을 조사한 후, LD_{95} (3.2 kGy) 선량에서 돌연변이체를 유도하였다. 선량율은 5 mm 직경의 알라닌 도시미터 (Bruker Instruments, Rjeomstettem, Germany)를 이용하여 측정하였으며, 자유라디칼은 Bruker EMS 104 EPR 분석기를 이용하여 측정하였다. 실제 선량과 목적 선량 사이의 편차는 ±2%였다. 조사된 시료는 nutrient agar (NA, Difco, USA)에 도말하여 단일 콜로니를 얻었으며, 이를 다시 NB에 배양하였다. 각 세균 배양액 50 μL를 *Phytophthora capsici* (KACC 40475)가 접종된 PDA배지에 paper disc로 접종하여 3일 배양 후, 항진균 활성이 결핍된 균주들을 1차 돌연변이체로 선발하였다. 1차 선발된 균주는 *Alternaria alternata* (KACC 40020), *Alternaria solani* (KACC 40570), *Colletotrichum gloeosporioides* (KACC 40804), *Colletotrichum higginsianum* (KACC 40193), *Fusarium oxysporum* (KACC 40239), *Pythium ultimum* (KACC 40705), *Rhizoctonia solani* (KACC 40124)가 접종된 PDA배지에서 항진균 활성 결핍을 재확인하였다.

2. DNA Microarray의 제작 및 분석

2,000개의 DNA 단편을 microarray하기 위하여 항진균 활성 균주 *B. lentimorbus* WJ5의 genomic DNA를 *EcoRI*과 *Sau3AI* 제한효소로 절단하였다. 이들을 agarose gel에 전기영동하여 500~1,000 base pair 크기의 genomic DNA 단편을 회수하였으며, 이미 *EcoRI*과 *BamHI* 제한효소로 절단해 놓은 pSK(+) vector에 클로닝하였다. Genomic DNA 단편이 cloning된 pSK(+) vector DNA를 *E. coli* XL1-Blue host cell에 electroporation하여 암피시린 배지에서 푸른색의 colony를 형성하는 것을 선택하였다. T7 및 T3 primer를 이용하여 colony PCR하여 product가 500~1,000 base pair임을 확인하는 방법으로 2,000개의 genomic DNA 단편을 얻어 정제하였다 (Eisen and Brown 1999).

Microarray는 Schena 등 (1995)의 방법을 응용하여 Telechem Stealth SMP3 (Telechem International Inc.)를 이용하여 정제된 2,000개의 PCR product를 pin 방식으로 제작하였다 ((주)지노믹트리). Total RNA는 NB배지에서 8시간동안 37°C에서 배양한 후 harvesting하여 RNeasy spin columns (QIAGEN, Germany)을 이용하여 분리하였다. RNA의 정량은 500배 희석하여 UV/vis 분광광도계(UV S-2100, Scinco)로 260 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였고, $OD_{260/280}$ 값으로부터 순도를 확인하였으며 probe 제작 전까지 −70°C에서 보관하였다. 형광표지된 cDNA probe는 역전사 반응을 통하여 준비하였다. 100 μg의 total RNA, 5 μg random 6-mer primer

(Amersham Phamasia)를 이용하여 65°C에서 10분간, 얼음에서 1분 정도 방치한 후 1 μL dNTPs (25 mM; dA, C, GTP), 3 μL 0.1 M DTT, 6 μL 5X first-stand buffer, 3 μL씩의 Cy3-dUTP (NEN, 1 mM)와 Cy5-dUTP (NEN, 1 mM)을 각각 Cy3 반응 튜브 (야생형 균주)와 Cy5 반응 튜브 (돌연변이 균주)에 넣고, 2 μL Superscript II (Gibco-BRL, 200 U μL^{-1}) enzyme으로 42°C에서 2시간동안 반응시켜 역전사 과정중 Cy3-dUTP와 Cy5-dUTP가 삽입되어 표지되도록 하였다. 15 μL 0.1 N NaOH를 넣고 65~70°C에서 30분동안 반응시켜 RNA를 제거하고 15 μL 0.1N HCl로 중화시켰으며, 에탄올 침전 후 20 μL의 3차 멸균 증류수에 녹여서 hybridization 반응에 사용하였다. Array 위에 준비된 prehybridization buffer 15 μL를 놓고 cover glass로 덮어 50 mL tube에 2X saline sodium citrate buffer (2X SSC) 500 μL를 넣어 상온에서 2시간 방치하였다. 그리고, 2X SSC에서 2분동안 씻어주고, 0.2X SSC에서 2분간 세정하였다. Probe를 95°C에 2분간 끓인 후 곧바로 얼음에 놓고, 15,000 × g에서 8분동안 원심 분리하여 준비된 15 μL probe를 놓고 cover glass를 덮었다. 이를 2X SSC 1 mL 정도 분주해 놓은 50 mL 튜브에 넣어 62°C hybridization incubator에서 12시간 동안 hybridization 시켰다. 2X SSC/0.2% sodium dodecyl sulfate (SDS)로 58°C에서 30분동안 2번 씻어주고, 0.05X SSC로 5분간 상온에서 세정하였다.

Microarray scanner를 이용하여 GenePix Pro 3.0 (Axon, USA)으로 slide를 red와 green 파장에서 스캔하여 각각의 이미지를 저장하고 유전자들의 발현 양상을 분석하였다 (Colantuoni *et al.* 2002a; Chen *et al.* 2003). Microarray의 결과는 RT-PCR로 재확인하였다.

결과 및 고찰

1. 감마선 조사 및 방사선 돌연변이체 유도

야생형 균주 *B. lentimorbus* WJ5 (Lee *at al.* 2003b)를 0, 5, 10, 15, 20 kGy에서 각각 조사하여 생균수를 측정하였으며, 초기 세포 수 (N_0)에 대한 각 조사 선량에서 생존한 세포 수 (N)의 로그값을 환산하여 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1로부터 D_{10} 및 LD_{95}가 각각 2.6 kGy와 3.2 kGy임을 확인하고, 방사선 돌연변이체를 유도하기 위하여 *B. lentimorbus* WJ5를 LD_{95} 선량에서 감마선 (^{60}Co)을 조사하였다. *P. capsici*에 대한 항진균 활성에 변화를 보이는 90균주를 1차 선정하고, 이들 중 *C. gloeosporioides* 등 7진균에 대한 항진균 활성이 소실된 7균주를 최종 선발하였다 (Table 1). 이들을 10 세대 이상 계대하여 활성이 복구되지 않는 것을 확인하였다. 항진균 활성이 소실된 돌연변이 균주는 각각 *B. lentimorbus* WJ5-m4, -m12, -m16, -m35, -m42, -m63, -m86으로 명명하였다.

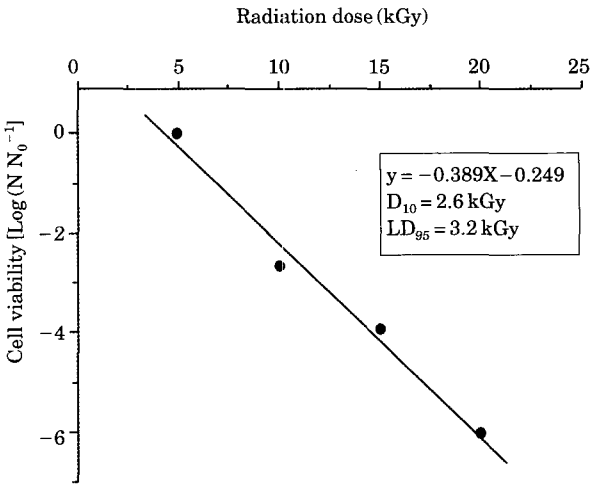

Fig. 1. Gamma radiation sensitivity of *Bacillus lentimorbus* WJ5.

Table 1. Antifungal spectra of mutants induced by gamma radiation (^{60}Co)

Fungi	Antifungal activities							
	WJ5 (wild)	WJ5 m4	WJ5 m12	WJ5 m16	WJ5 m35	WJ5 m42	WJ5 m63	WJ5 m86
Alternaria alternata	+	–	–	NT	NT	–	NT	NT
Alternaria solani	+	–	–	NT	NT	–	NT	NT
Colletotrichum gloeosporioides	+	–	–	–	–	–	–	–
Colletotrichum higginsianum	+	–	–	–	–	–	–	–
Fusarium oxysporum	+	–	–	NT	NT	–	NT	NT
Phytophthora capsici	+	–	–	–	–	–	–	–
Pythium ultimum	+	–	–	NT	NT	–	NT	NT
Rhizoctonia solani	+	–	–	NT	NT	–	NT	NT

NT: not tested

2. 감마선유도 돌연변이체들에서 공통으로 발현이 증가되는 유전자

DNA microarray 슬라이드를 532 nm (Cy3)와 635 nm (Cy5)에서 각각 스캔한 결과 야생형 균주 및 돌연변이체 시료에서 408개의 발현된 유전자들을 확인할 수 있었다. 두 형광 검출 파장에 있어서 형광 신호 (signal)의 중간

Table 2. Up-regulated gene cluster of the mutants induced by gamma radiation (^{60}Co)

Mutants* m63	m4	m86	m42	m35	m16	m12	Chip ID	Gene (or protein)	Function
							K1673	*npr*	Neutral proteases
							K227	*sdhB*	Iron-sulphur subunit of succinate dehydrogenase
							K1199	*acsA*	Acetyl-CoA synthetase
							K465	–	Unknown
							K1006	–	Unknown
							K1315	HMM	Oxidoreductase, aldo/keto reductase family
							K146	–	Unknown
							K585	–	Unknown
							K966	–	Unknown
							K964	–	Unknown
							K1602	*ilvD*	Dihydroxy-acid dehydratase
							K1654	–	Unknown
							K595	*mutM*	DNA repair
							K541	*punA*	Purine nucleoside phosphorylase
							K797	–	Unknown
							K194	*ftsZ*	Cell-division initiation protein
							K656	–	Unknown
							K572	*mutL*	DNA mismatch repair
							K1408	–	Unknown
							K275	*pgk*	Khosphoglycerate kinase
							K223	–	Knknown
							K207	*tpiA*	Kriose phosphate isomerase
							K1755	*pgk*	Khosphoglycerate kinase
							K1757	–	Knknown
							K567	*citB*	Kconitase
							K1734	–	Unknown
							K250	*yhjB*	Similar to metabolite permease
							K451	–	Unknown

*Color of gene clusters represents the ratio of median (mutant/wild type, 0.6 53.4).

값의 합 (sum of median)이 300 이하인 spot은 무효로 판단하여 그들을 제외한 유효 signal의 전체값과 중간값을 맞추어 보정 계수를 산출하는 global normalization법을 이용하여 각 signal의 spot 강도를 보정하였다 (Colantuoni *et al.* 2002a,b; Chen *et al.* 2003).

DNA microarray를 클러스터링한 결과, Table 2와 같은 감마선유도 돌연변이체들에서 공통적으로 발현이 증가된 유전자 클러스터가 발견되었다. 이 클러스터를 구성하는 28개의 유전자 염기서열을 분석하고 (ABI PRISM 3700 DNA Analyzer, Applied Biosystems) NCBI blastn (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)으로 상동성을 조사하였다. 그 결과, 28 유전자 중 14 유전자 (중복유전자 1개 포함)는 기능이 밝혀진 것이었으며, 나머지 14 유전자는 그 기능이 보고된 바가 없었다. 기능이 밝혀진 13 유전자에는 *npr, sdhB, acsA,* HMM, *ilvD, mutM, punA, ftsZ, mutL, pgk, tpiA, citB, yhjB*가 포함되어있다 (Table 2).

이 중 9개의 유전자 즉, *npr, acsA, citB, sdhB,* HMM, *mutL, mutM, pgk, yhjB*는 직/간접적으로 이온화 방사선에 의한 손상에 대해 저항 또는 복구에 관여하는 유전자들로 알려져 있다(Karlin and Mrazek 2001). *Bacillus subtilis*의 *mutT, mutM, mutY*는 손상된 DNA 복구와 연관된 것으로 알려져 있으며, *mutM*과 *mutY*는 G:C → T:A transversion을 막아주는 것으로 보고되고 있다 (Sasaki and Kurusu 2004). 대장균에서 *mutL*은 *mutS*와 *mutH*와 더불어 mismatch repair에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 진핵세포에서는 *mutL*이 MLH123, PMS1으로 세분화되어 있는 것으로 알려져 있다(Fabio *et al.* 2004). Karlin 등(2001)은 이온화 방사선에 저항성을 나타내기 위한 기작으로 무독화(detoxification), chaperone, 주요 전사/번역, 에너지 대사, protease, 복구 관련 유전자들이 높게 발현될 것으로 예상하고 있다. 본 연구에서 위의 9개의 유전자가 돌연변이체들에서 upregulation된 것으로 보아 *B. lentimorbus* WJ5의 DNA 손상에 대한 저항 또는 복구 유형을 분류해 보면: 1) 복구 (*mutL,*

mutM), 2) 에너지 대사 (*acsA, sdhB, pgk, yhjB, citB*), 3) protease (*npr*), 4) 산화자극에 대한 환원 (HMM)으로 대별된다고 생각된다.

기능이 알려진 유전자 중 나머지 4개 (*ilvD, tpiA, punA, ftsZ*)는 valine/isoleucine 생합성(*ilvD*), 해당과정(*tpiA*), purine 재생 (*punA*), 세포분열(*ftsZ*)에 관여하는 단백질을 코딩하는 것으로 알려져 있다. 이들이 아직 이온화 방사선에 대한 저항 또는 복구 관련 기능이 보고된 바는 없더라도, *ilvD, tpiA*는 저항 또는 복구관련 에너지 대사와 관련이 있을 것으로 생각된다. 또한 UV 조사에 대한 유전자 발현 연구에서 purine 생합성(*purA*)과 세포분열(*ftsK*)에 관여하는 유전자들의 발현이 증가하는 것으로 보고되어 있어(Philippe *et al.* 2003), 본 연구 결과 방사선 돌연변이체에서 발현이 증가된 *punA*와 *ftsZ* 역시 돌연변이체내 방사선관련 저항 또는 복구관련 기능의 요구에 따라 유도된 유전자일 것으로 생각된다.

Philippe 등(2003)은 UV 조사 후 대장균이 보이는 stress response를 관찰하였으며, 그 결과 발현이 증가한 268 유전자 중 9개는 SOS 관련임을 보고하였다. Philippe 등(2003)의 연구와 본 연구의 차이, 즉 UV 또는 이온화 방사선 조사 직후 세균이 나타내는 반응과 조사에 의한 영향이 고착화된 돌연변이체에서 나타난 결과를 비교함으로써 UV 또는 이온화 방사선에 직접 노출된 직후 나타날 수 있는 세포의 반응과 노출 후 몇 세대가 지난 돌연변이 세포 내에서 진행되는 반응을 연속적으로 고찰해 볼 수 있을 것으로 생각된다. Philippe 등 (2003)의 결과에 의하면, RecA와 RecN은 SOS response의 activator로 작용하는 조절자로 알려져 있으며, UV에 노출 직후 발현이 증가된 것으로 보고하고 있다. 반면, 본 연구의 이온화 방사선 조사 후 고착화된 돌연변이체들에서는 *recN*의 발현이 감소된 것으로 관찰되었다(ratio of median = 0.5). 이는 방사선 조사로 유도된 돌연변이체들에서 상시적으로 발현이 증가된 DNA 손상에 대해 저항 또는 복구 관련 유전자들은 조사 직후 세포에서 나타내는 반응과는 다른 것으로 생각된다.

또한, 조사 직후 세균이 주로 나타내는 복구 반응은 SOS임에 반하여 본 실험결과에서 보면 방사선의 영향을 받고 변이된 돌연변이체에서는 주로 base excision 복구 (*mutM*)와 mismatch 복구 (*mutL*)가 일어나는 것으로 생각된다. 알려진 대장균의 복구는 PhrAB, Ogt, Ada (direct repair), AlkA, MutM, MutY, MutT (base excision repair), Uvr, Mfd (nucleotide excision), MutS, MutL, MutH, Dam, Rep (mismatch 복구), Rec, Rad, Rud (recombination 복구), Din, Umu, DnaA (SOS response) 등의 많은 단백질이 독립된 과정으로 관여하는 것으로 알려져 있으며 (Fabio *et al.* 2004), 이온화 방사선으로 자극되어진 직후 세포에서 이러한 복구 유전자들이 많이 발현되는 것으로 보고되고 있다. 하지만, 외부자극이 종료된 시점에서 DNA 손상이 고착화되어진 돌연변이체에서는 다양한 복구 시스템이 작용하지는 않지만, base excision 복구(*mutM*)와 mismatch 복구(*mutL*)시스템은 계속적인 높은 발현을 보이는 것으로 관찰되었다. 이는 UV나 이온화 방사선에 노출된 직후에는 생존을 위한 SOS같은 강력한 복구 시스템이 작용하지만, 생존의 위협을 극복하면서 적절한 변이가 유발된 돌연변이체들에서는 SOS response가 지속적으로 유지되지 않고 방사선 관련 저항(*npr, acsA, citB, sdhB*, HMM, *pgk, yhjB* 12.1 ≥ ratio of median ≤ 1.6) 및 일부 복구 관련 유전자(*mutM, mutL*, ratio of median ≥ 2.1)만이 계속 높은 수준의 발현을 유지 하는 것으로 생각된다.

데이터베이스 검색 결과 상동성이 없었던 14개의 유전자는 본 연구에서 새롭게 밝혀진 방사선유도 돌연변이체에서 상시적으로 높게 발현되는 유전자로 방사선 관련 저항 및 복구 관련 기능과 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되어 보충연구가 필요하다고 생각된다.

본 연구 결과로부터 방사선 돌연변이체내에서 DNA 손상에 대한 저항 및 복구관련 유전자가 야생형 균주보다 높게 발현되고 있음이 밝혀졌다. 또한, 이 돌연변이체들에서 높게 발현되고 있는 유전자들은 방사선 조사 직후 나타내는 stress response 관련 유전자 발현과는 다른 유형을 나타내고 있음을 확인할 수 있었다.

적 요

본 연구에서는 감마선으로 유도된 돌연변이체들에서 공통으로 발현되는 방사선 관련 유전자들의 발현을 연구하기 위하여, *B. lentimorbus* WJ5의 방사선 유도 돌연변이체에서 발현되는 유전자를 DNA microarray로 동시에 탐색하였다. DNA microarray는 *B. lentimorbus* WJ5 genome을 무작위로 절단하여 2,000 단편으로 구성하였으며, 감마선 (^{60}Co)으로 유도된 7 돌연변이체의 발현을 정량적으로 관찰하였다. 클러스터 분석결과 발현된 408 유전자 중 27개가 감마선 유도 돌연변이체 모두에서 유의하게 발현이 증가되었다. 특히, 복구 (*mutL, mutM*)에너지 대사 (*acsA, sdhB, pgk, yhjB, citB*), protease (*npr*), 산화자극에 대한 환원 (HMM) 관련 유전자들이 동시에 증가되었다. 이는 감마선 유도 돌연변이체들에서 자발적인 직/간접 복구 관련 유전자의 발현 증가는 방사선 노출 직후 보이는 stress response와는 다른 현상임을 나타내

는 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 과학기술부의 원자력연구개발사업의 일환으로 수행되었음.

참 고 문 헌

Becker D and M Sevilla. 1993. The chemical consequences of radiation damage to DNA. Adv. Radiat. Biol. 17:121-180.

Bernadette BN and B Reinhard. 1997. Induction of stress proteins in the phototrophic bacterium *Rhodobacter sphaeroides*. FEMS Microbiol. Lett. 153:173-180.

Chang H-H, Y-K Lee, J-S Kim, K-S Lee and KS Cho. 2003. Mutation spectrum of manganese (II) peroxidase gene in *Pleurotus ostreatus* mutants induced by gamma radiation. J. Microbiol. 41:52-57.

Chen YJ, R Kodell, F Sistare, KL Thompson, S Morris and JJ Chen. 2003. Normalization methods for analysis of microarray gene-expression data. Biopharm. Stat. 13:57-74.

Colantuoni C, G Henry, S Zeger and J Pevsner. 2002a. SNOMAD (Standardization and Normalization of MicroArray Data): web-accessible gene expression data analysis. Bioinformatics 18:1540-1541.

Colantuoni C, G Henry, S Zeger and J Pevsner. 2002b. Local mean normalization of microarray element signal intensities across an array surface: quality control and correction of spatially systematic artifacts. Biotechniques 32:1316-1320.

Digman DW. 1994. Physical properties of three plasmids and the presence of interrelated plasmids in *Bacillus popilliae* and *Bacillus lentimorbus*. J. Invertebr. Pathol. 63:235-243.

Eisen MB and PO Brown. 1999. DNA arrays for analysis of gene expression. Methods Enzymol. 303:179-203.

Fabio TD, MC Fabiola, BS Uaska, CS Katia, AGB Carlos and F Lucymara. 2004. DNA repair in *Chromobacterium violaceum*. Genet. Mol. Res. 3:167-180.

Friedberg EC. 2003. DNA damage and repair. Nature 421: 436-440.

Hoeijmakers JHJ. 2001. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. Nature 411:366-374.

Karlin S and J Mrazek. 2001. Predicted highly expressed and putative alien genes of *Deinococcus radiodurans* and implications for resistance to ionizing radiation damage. Proc. Natl. Acad Sci. U.S.A 98:5240-5245.

Lee Y-K, H-H Chang, J-S Kim and K-S Lee. 2000. Lignocellulolytic mutants of *Pleurotus ostreatus* induced by gamma-ray radiation and their genetic similarities. Radiat. Phys. Chem. 57:145-150.

Lee Y-K, J-S Kim, H-Y Chung, Y-S Jang and B-I Jang. 2003a. Two-dimensional electrophoresis analysis of proteins between *Bacillus licheniformis* DM3 and its antifungal activity deficient mutant. Kor. J. Envir. Agri. 22:203-209.

Lee Y-K, J-S Kim, I-G Song, H-Y Chung and H-H Chang. 2001. Characteristics of antifungal bacterium, *Bacillus subtilis* YS1 and its mutant induced by gamma radiation. Kor. J. Microbiol. 37:305-311.

Lee Y-K, J-S Kim, KS Cho, BI Jang and CH Choo. 2002. GroES expression related to antifungal activity of *Streptomyces* sp. SAR01. Kor. J. Microbiol. 38:162-167.

Lee Y-K, J-S Kim, Y-S Jang, K-S Cho and H-H Chang. 2003b. DNA microarray analysis of gene expression in antifungal bacterium of *Bacillus lentimorbus* WJ5. Kor. J. Microbiol. 39:141-147.

Philippe Q, MA Rouffaud and B Philippe. 2003. DNA array analysis of gene expression in response to UV irradiation in *Escherichia coli*. Res. Microbiol. 154:559-572.

Sasaki M and Y Kurusu. 2004. Analysis of spontaneous base substitutions generated in mutator strains of *Bacillus subtilis*. FEMS Microbiol. Lett. 234:37-42.

Sauer Jr MC, IA Shkrob and AD Trifunac. 2001. Radiation chemistry of organic liquids: saturated hydrocarbons. pp.175-221. *In* Radiation chemistry: present status and future prospects. CD Jonah and BSM Rao (eds.), Elsevier, Amsterdam.

Schena M, D Shalon, RW Davis and PO Brown. 1995. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. Science 270: 467-470.

Seddon B, SG Edward and L Rutland. 1996. Development of *Bacillus* species as antifungal agents in crop protection. pp.155-160. *In* Modern Fungicides and Antifungal Compounds. H Lyr, PE Russell and HD Sisler (eds.), Intercept, Andover, UK.

Manuscript Received: July 10, 2004
Revision Accepted: August 20, 2004
Responsible Editorial Member: Jin Kyu Kim (KAERI)