

*Campylobacter jejuni*에서 고온충격 단백질의 합성과 내열성

김치경 · 김현옥 · 이길재*

충북대학교 자연대 미생물학과 · 한국교원대학교 생물교육학과*

Synthesis and Thermotolerance of Heat Shock Proteins in *Campylobacter jejuni*

Kim, Chi-Kyung, Hyun-Ok Kim and Kil-Jae Lee*

Department of Microbiology, College of Natural Sciences,
Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea

Department of Biology Education,
Korea National University of Education, Cheongwon 360-890, Korea*

ABSTRACT: The heat shock responses of *Campylobacter jejuni* were studied by examination of their survival rates and synthesis of heat shock proteins. When *C. jejuni* cells were treated at the sublethal temperatures of 48°C for 30 minutes, most of the cells maintained their viabilities and synthesized the heat shock proteins of 90, 73, and 66 kD in molecular weight. By the method of two-dimensional electrophoresis, the heat shock proteins of *C. jejuni* were identified to be Hsp90, Hsp73, and Hsp66. During the heat shock at 48°C, the heat shock proteins were induced from about 5 minutes after the heat shock treatment. Their synthesis was continued upto 30 minutes, but remarkably retarded after 50 minutes. When *C. jejuni* cells were heat shocked at 51°C for 30 minutes, the survival rates of the cells were decreased by about 10³ fold and synthesis of heat shock proteins and normal proteins was also generally retarded. The cells exposed to 55°C for 30 minutes died off by more than 10⁵ cells and the new protein synthesis was not observed. But when *C. jejuni* cells were heat-shocked at the sublethal temperature of 48°C for 15 to 20 minutes and then were exposed at the lethal temperature of 55°C for 30 minutes, their viabilities were higher than those exposed at 55°C for 30 minutes without pre-heat shock at 48°C. Therefore, the heat shock proteins synthesized at the sublethal temperature of 48°C in *C. jejuni* were thought to be responsible for thermotolerance. However, when *C. jejuni* cells heat-shocked at various ranges of sublethal and lethal temperatures were placed back to the optimum temperature of 42°C, the multiplication patterns of the cells pre-treated at different temperatures were not much different each other.

KEY WORDS □ Heat shock response, Hsp synthesis, Thermotolerance, *Campylobacter jejuni*

서 론

*Campylobacter jejuni*는 자연계의 많은 야생 조류와 포유 동물의 장내에서 normal flora로 서식하는 Gram 음성의 미호기성 나선 간균이다. 이들은 최적 생장 온도가 인체의 다른 장내 세균들 보다는 높은 42°C~43°C로써, 45°C에서도 대부분 완만하게 성장하는 것으로 알려져 있어 열에 대한 안정성이 비교적 높은

세균이다. *C. jejuni*는 물이나 음식을 통하여 인체에 전염될 때에는 설사 질환을 일으키는 병원성 세균으로 *Salmonella*와 *Shigella*만큼 자주 설사 환자로 부터 분리된다고 보고되어 있다(Doyle, 1981; Voget 등, 1982). 따라서 수인성 전염병을 유발하는 *C. jejuni*의 감염을 효과적으로 예방하기 위해서는, 음료수나 음식물의 철저한 위생 처리가 필요하며, 일상 생활에서 위생 처리방법으로써 가장 보편적으로 사용되는 열

처리를 통하여 *C. jejuni*를 효과적으로 살균하기 위해서는 열 충격에 대한 반응 현상을 연구해야 할 필요가 있다.

Heat shock response는 세포가 정상 생장 온도로 부터 급격히 상승된 온도에 처할때 heat shock protein(Hsp)이라고 칭하는 특정 단백질 군을 일시적으로 대량 합성함으로써 열에 대한 저항성뿐 아니라 기타 생리 작용을 조절하는 현상을 말한다. Heat shock protein의 기능은 근본적으로 고온의 열 충격에 대한 세포의 보호 조절작용으로써, thermotolerance를 나타내거나 (Yamamori와 Yura, 1982), 특정한 macromolecule의 생합성 및 전달(Chirico 등, 1988), 그리고 분해(Goff와 Goldberg, 1985) 등의 생리 및 대사 작용과 관계있는 것으로 알려져 있다. 특히 thermotolerance는 생물이 열뿐만 아니라 ethanol, virus의 감염, UV-light와 같은 여러가지 외부 환경의 충격을 받았을 때 유도된 후 lethal temperature에 노출될 때 나타나는 세포의 저항성을 말하는데, 이와 같은 세포의 heat shock response는 특정 단백질의 합성뿐 아니라 세포 소기관이 기능을 보호한다는 것도 보고되었다(Hahn과 Li, 1990).

*E. coli*의 경우 모든 heat shock protein이 thermotolerance에 영향을 미치는지는 않으며(VanBogelen 등, 1987), *htrA* 유전자의 산물이 thermotolerance에 관여하는 것으로 추정되고 있다(Lipinska 등, 1989). 그러나 heat shock protein들 중 일부는 정상생장 온도에서도 생존을 위해 필수적인 것으로 보고되었으나(Zhou 등 1988), 이들의 정확한 기능은 아직 밝혀지지 않고 있다. 특히 *C. jejuni*의 heat shock response에 대해서는 아직까지 연구 발표된 바가 없다.

그러므로 본 연구에서는 *C. jejuni*를 최적 생장 온도보다 높은 여러가지 온도에서 열 처리를 했을 때 그들이 나타내는 생존성과 함께 heat shock protein의 합성을 연구하였으며, 특히 heat shock protein의 기능 중 내열성 기능과 연관되는 heat shock response를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험 균주 및 그 배양

본 실험에 사용한 *Campylobacter jejuni*는 시장에서 구입한 닭의 내장으로 부터 Oxoid manual (1982)과 조 등 (1983)의 방법에 따라 Butzler's agar medium을 사용하여 분리한 균주이다(김 등, 1986). 순수 분리된 이 세균은 CO₂ incubator나 candle jar를 사용하여 42°C에서 24시간 배양한 후, 나타나는 colony를 Brucella broth에 현탁하였다. 이 균체의 현탁액을 Rollins 등 (1983)의 방법에 따라 biphasic

culture system에 접종한 후 42°C에서 다시 24시간 배양하여 그 균체를 실험에 사용하였다.

생존율의 측정

Biphasic culture system에서 대수기로 자란 *C. jejuni*를 2,000×g로 원심 분리하여 균체를 회수하고, 0.08 M phosphate buffer(pH 7.2)로 세 번 이상 세척하였다. 이 균체는 Westfall 등 (1986)의 방법에 따라 pH 7.2의 MEM Eagle's medium (M7270, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)과 0.08M phosphate buffer(pH 7.2)를 1:1로 혼합한 용액에 10⁸~10⁹ cell/ml이 되도록 현탁하여 42°C의 수조에서 30분 이상 정치시켰다. 각 시료는 Kim 등(1989)의 방법에 따라 45°C, 48°C, 51°C 또는 55°C등의 실험 목적에 맞게 수온을 조정한 수조에 옮겨 열 충격을 가하면서 일정한 처리 시간 별로 시료를 채취하였다. 이 시료는 0.85% 생리 식염수로 십진 희석한 다음, 3장의 Butzler's agar plate에 0.1 ml 씩을 도말하고 42°C의 CO₂ incubator 또는 candle jar에서 72시간 배양하였다. 이때 형성된 colony를 계수하여 survival fraction을 결정하였다.

단백질의 pulse-labeling 및 추출

C. jejuni 균체를 Westfall 등 (1986)의 방법에 따라 methionine이 포함되지 않은 MEM medium(pH 7.2)과 0.08 phosphate buffer(pH 7.2)의 혼합 용액(1:1)에 현탁하여 42°C에서 30분 이상 정치하였다가 각각의 실험 온도에서 원하는 시간 동안 열 충격을 준 후, 20 µCi/ml의 [³⁵S]-methionine(New England Nuclear Corp, Boston, MA)을 첨가하여 동일 온도에서 10분 동안 pulse-labeling을 하였다. 그리고 나서 Gomes 등 (1986)의 방법에 따라 시료와 동일한 양의 25% trichloroacetic acid과 1 mg의 non-radioactive methionine을 첨가하여 얼음에서 30분간 방치함으로써 단백질 합성을 중지시켰다. 균체는 4°C에서 12,000×g로 1분간 원심 분리하고 냉각시킨 5% trichloroacetic acid로 한번, 그리고 0.08 M phosphate buffer(pH 7.2)로 세번 이상 세척하였다.

One-dimensional electrophoresis를 위한 단백질 시료는 균체를 Silhavy 등 (1984)의 방법에 따라 sodium dodecyl sulfate(SDS)-sample buffer에 현탁하여 하여 100°C에서 5분간 끓임으로써 추출하였다. Two-dimensional electrophoresis를 위해서는 O'Farrell (1975)의 방법에 따라 균체를 sonication buffer에 현탁하여 냉각 상태를 유지하면서 50 W의 sonicator (Labsonic 2000, Laboratory Supply Co. Friedberg, Germany)에서 15초간 6회 반복해서 파쇄하였다. 이 시료에 50 µg/ml의 DNase와 2 M의 urea를 첨가하고 다시 시료와 동일한 양의 lysis buffer를 첨가하여 12,000×g로 10분간 원심 분리함으로써 단백질을 추출하였다.

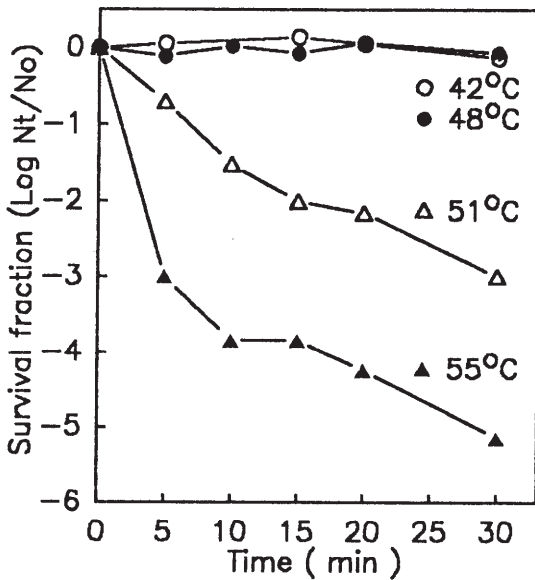


Fig. 1. Survival of *C. jejuni* at various temperatures. The cells were heat-shocked at 48°C, 51°C and 55°C. Survival fractions of the heat-shocked organisms were determined by enumerating the colonies developed after incubation of the cells at 42°C for 48 hours.

전기영동 및 autoradiography

One-dimensional electrophoresis는 Laemmli(1970)의 방법에 따라 SDS-poly acrylamide gel(10%)에서 30 mA로 5시간 동안 실시하였다. Two-dimensional electrophoresis는 O'Farrell(1975)의 방법에 따라 2% ampholyte (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA)를 첨가하여 pH를 5~8로 조절한 tube gel에서 400 V로 12시간 그리고 다시 800 V로 1시간 동안 isoelectric focusing 전기 영동을 한 후, 10% poly acrylamide gel에서 30 mA로 5시간 동안 SDS-PAGE를 실시하였다. 이 gel은 Coomassie brilliant blue R-250으로 염색한 후 탈색하고, 65°C의 gel dryer에서 건조시킨 다음 -70°C에서 6일간 X-ray film(Kodak XAR-5, Kodak Eastman Co., Rochester, NY)에 노출시켜 autoradiography하였다. 단백질의 분자량은 여러 가지 reference proteins(MW-SDS-200 Kit, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)을 함께 전기 영동함으로써 각 단백질의 R_f 값을 측정하여 결정하였다.

결과 및 고찰

열 충격에 대한 *C. jejuni*의 생존율

*C. jejuni*를 최적 생장 온도인 42°C로 부터 더 높은

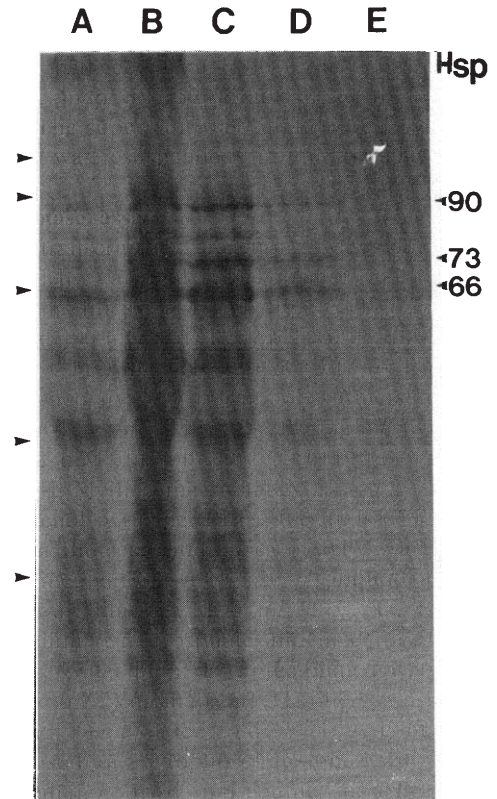


Fig. 2. Autoradiogram of the proteins synthesized in *C. jejuni* heat-treated at various temperatures for 15 minutes.

Lane A, 42°C; Lane B, 45°C; Lane C, 48°C; Lane D, 51°C; Lane E, 55°C. The arrowheads indicate standard molecular weight markers of 116, 97.4, 66, 45, and 25 kD, respectively, from the top.

여러 가지 온도로 처리했을때, 생존율에 미치는 heat shock의 영향을 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. 48°C에서 30분간 처리했을 때에는 최적 온도인 42°C에서와 같이 생존율에 변화가 없었으나, 51°C에서 30분간 처리했을 때에는 약 10^3 의 세포가 사멸하였다. 또 55°C의 경우에는 10분 이내에 약 10^4 의 세포가 사멸하였고, 30분 후에는 10^5 이상의 세포가 사멸하였다. 이와 같은 결과와 Kim(1991)의 논문으로 부터 30분간의 열 처리 기간동안 세포를 죽이지 않으면서 *C. jejuni*이 생장을 억제하는 최고 온도인 48°C를 sublethal temperature로 결정하였고, 10분간의 열 처리에 의하여 10^4 이상의 세포를 빠르게 죽일 수 있는 온도인 55°C를 lethal temperature로 결정하여 이후의 실험에 적용하였다.

고온에서 *C. jejuni*의 단백질 합성 양상

최적 생장 온도인 42°C와 그 보다 높은 여러가지

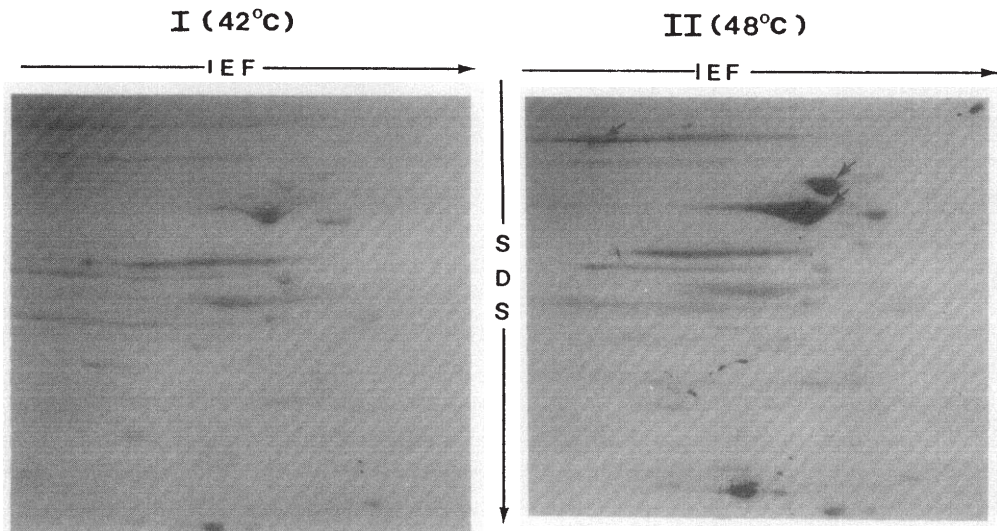


Fig. 3. Autoradiograms of the heat shock and normal proteins of *C. jejuni* separated by two-dimensional electrophoresis.

(I) The cells grown at 42°C were labeled with [³⁵S]-methionine at 42°C for 30 min. (II) The cells heat-shocked at 48°C for 15 min were labeled at 48°C for 30 min. Arrows on the gel indicate heat shock proteins (90, 73, and 66 kD).

온도에서 열 충격을 주었을 때 *C. jejuni*의 단백질 합성 양상을 autoradiography 방법으로 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. 45°C (lane B)와 48°C (lane C)에서 각각 15분 동안 열 충격을 주었을 때에는 분자량이 각각 90, 73, 66 kD인 Hsp90, Hsp73, Hsp66 등의 heat shock protein의 합성이 증폭된 반면, 51°C에서 열 충격을 주었을 때 (lane D)에는 정상 단백질 뿐만 아니라 heat shock protein들의 합성도 크게 저하되었으며, 55°C의 경우 (lane E)에는 어떤 단백질의 합성도 거의 찾아 볼 수 없었다. 이러한 결과는 Fig. 1에서의 생존율의 결과와 일치하는 것으로, *C. jejuni*의 heat shock protein은 최적 생장 온도인 42°C보다 6°C가 높은 48°C에서 가장 현저하게 생성되었으며 이 단백질들이 열 저항성에 관련되어 있음을 추정할 수 있었다. 이는 넓은 온도 범위에서 생장할 수 있는 세균에서는 최적 생장 온도보다 약 10~15°C 높은 온도에서 heat shock response가 최대로 나타나고, 비교적 좁은 온도 범위에서 생장하는 생물들은 최적 생장 온도보다 약 5°C 높은 온도에서 그 반응이 최대로 나타났다는 Craig(1985)의 보고에 따르면, *C. jejuni*는 비교적 좁은 온도 범위의 세균으로써 그 heat shock response의 특성을 이해할 수 있다.

*C. jejuni*의 heat shock proteins의 종류와 특성을 좀더 정확히 파악하기 위하여 two-dimensional electrophoresis를 실시한 결과는 Fig. 3과 같다. 48°C에서 15분간 열 처리를 한 후 heat shock protein의 합성 양상을 관찰하였을 때, 42°C에서 배양한 세포에

서 보다 월등하게 증가한 Hsp90, Hsp73, 그리고 Hsp66 등의 heat shock protein들이 검정되었다. 전체적으로 볼때 Hsp73과 Hsp66은 중성의 pI 값을 가지는 단백질들이나, Hsp90은 약산성의 pI 값을 갖는 것으로 나타났다. *C. jejuni*의 이 3가지 heat shock protein들은 *E. coli*에서 발견된 17 가지의 heat shock protein을 Neidhardt와 Van Bogelen (1987)이 4개의 family로 분류한 특성과 비교할때 Hsp90, Hsp70 (DnaK), 그리고 Hsp60 (GroEL)에 각각 해당되는 것으로 판단된다.

Hsp의 합성과 소멸

*C. jejuni*의 열 충격 반응의 민감성과 지속성을 알아보기 위하여, *C. jejuni*를 48°C로 열 충격을 가하면서 시간별로 단백질 합성 양상을 측정하였다. 그 결과는 Fig. 4에서와 같이, 열 충격을 주기 시작한 후 5분 (lane B), 10분 (lane C), 15분 (lane D), 20분 (lane E), 30분 (lane F), 50분 (lane G), 80분 (lane H)에 [³⁵S]-methionine을 각각 첨가하여 10분간 싹 pulse-labeling 하였을 때, 5분부터 Hsp90, Hsp73, 그리고 Hsp66의 heat shock protein들이 합성되는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 열 충격의 시간이 30분까지 길어짐에 따라 정상 단백질들의 합성은 저하되는 반면 heat shock protein의 합성은 30분 까지도 활발히 지속됨을 알 수 있다. 그러나 50분 이상의 열 충격을 주었을 때에는 정상 단백질 뿐만 아니라 heat shock protein의 합성도 크게 저하되었다.

그 반면, *C. jejuni*를 sublethal temperature에서 열

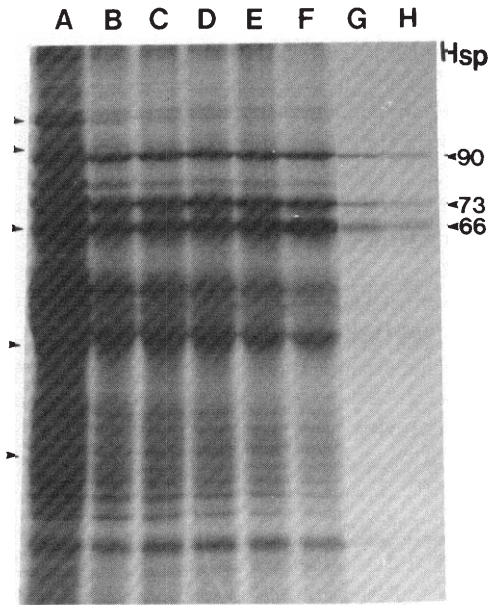


Fig. 4. Autoradiogram of the proteins synthesized in *C. jejuni* heat shocked at 48°C for various periods of time.

The cells were pulse-labeled for 10 min after 5 min(Lane B), 10 min(Lane C), 15 min(Lane D), 20 min(Lane E), 30 min(Lane F), 50 min(Lane G), 80 min(Lane H) shifted to 48°C. The control (Lane A) was pulse-labeled at 42°C. The arrowheads indicate the same molecular weight as in Fig. 2.

충격을 준 다음 최적 생장 온도로 옮긴 후 단백질의 합성 양상을 관찰한 결과는 Fig. 5와 같다. *C. jejuni*를 48°C에서 15분간 열 충격을 준 후, 최적 생장 온도인 42°C로 옮겨 5분(lane D), 10분(lane E), 20분(lane F), 30분(lane G), 50분(lane H)에 각각 10분간씩 pulse-labeling을 했을 때에는 최적 온도에서의 시간이 길어짐에 따라 정상 단백질의 합성이 서서히 증가하였다. 이러한 결과는 Streips와 Polio(1985)가 *Bacilli*에서 연구한 heat shock response의 결과와 일치하였다. 또한 *C. jejuni*를 최적 온도로 옮긴 후 50분(lane H) 이후까지도 heat shock protein의 합성이 지속된 점으로 보아, heat shock protein은 열 충격을 받은 세포가 정상적인 생리 작용을 회복하는 데에도 관여하는 것으로 추정된다.

Hsp의 내열성 기능

많은 생물체들이 sublethal temperature에 노출되었을 때에는 열 저항성이 유도되기 때문에, 그 후 바로 lethal temperature에 처했을 때에도 생존율이 크게 감소하지 않는다는 것이 많은 연구에서 밝혀졌다(Neidhardt 등, 1987). 이러한 열 저항성은 heat

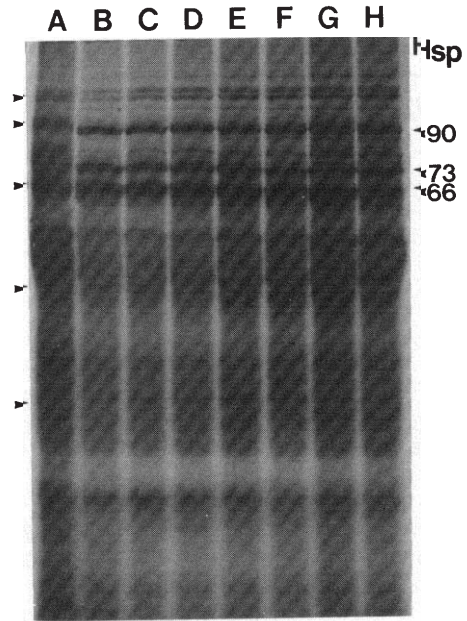


Fig. 5. Autoradiogram of the normal and heat shock proteins synthesized in *C. jejuni* which were returned to 42°C after heat shock at 48°C.

The cells were heat-shocked at 48°C for 5 min (Lane B) and 15 min (Lane C). The cells were heat-shocked at 48°C for 15 min and then returned to 42°C for 5 min (Lane D), 10 min (Lane E), 20 min (Lane F), 30 min (Lane G), 50 min (Lane H). The control (Lane A) was pulse-labeled at 42°C. The arrowheads indicate the same molecular weight as in Fig. 2.

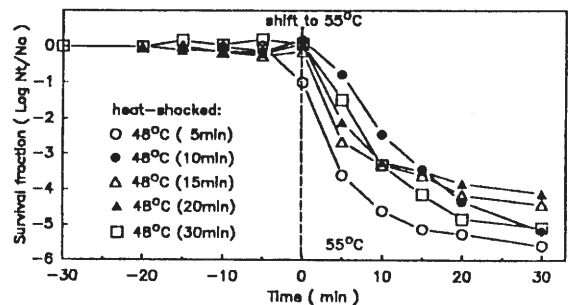


Fig. 6. Thermotolerance induction of *C. jejuni* at sublethal temperature (48°C) before shift-up to lethal temperature (55°C).

shock protein의 주된 기능 중 하나로 인식되고 있기 때문에, 48°C에서 시간별로 heat shock protein을 유발시킨 후 55°C로 옮겨 그 생존율을 측정한 결과는 Fig. 6에서와 같다. *C. jejuni*균체를 48°C에서 5분간 열 충격을 준 후 55°C에 노출시켰을 때에는 사전 처

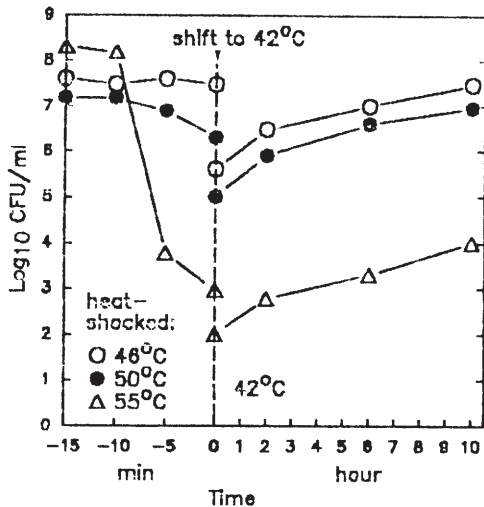


Fig. 7. Growth of *C. jejuni* at 42°C after heat shock. After the cells were heat-shocked at 46°C, 50°C and 55°C, they were diluted with the fresh medium and then incubated for appropriate time at 42°C.

리없이 직접 55°C에 노출시켰을 때와 비슷한 정도로 생존율이 감소되었으나, 48°C에서의 처리 시간을 10, 15, 그리고 20분으로 연장시킨 후 55°C에 노출시켰을

때에는 생존율이 점점 증가되었다. 이는 sublethal temperature에서 합성된 heat shock protein에 의하여 열 저항성이 유도되었음을 의미하는 것이다. 그러나 30분간 처리했을 때에 생존율이 감소한 것은 55°C에서 내열성을 나타내는 heat shock protein의 합성에 필요한 48°C에서의 유도시간이 20분 정도인 것으로 해석된다. 이러한 열 저항성의 유도는 Yamamori와 Yura(1982)에 의하여 *E. coli*에서도 확인되었으며, Plesofsky-Vig와 Bramble(1985)은 *Neurospora crassa*에서도 이와 같은 열 저항성을 보고하였다.

그리고 heat shock protein의 합성에 의하여 형성된 내열성 특성이 정상온도에서는 세포의 증식에 어떠한 영향이 있는가를 알기 위하여, *C. jejuni*를 다양한 온도로 열 충격을 준 후 정상 생장 온도인 42°C로 회복시켰을 때 세포의 증식 양상을 비교 관찰한 결과는 Fig. 7과 같다. *C. jejuni*를 46°C, 50°C, 55°C에서 각각 15분간 열 충격을 준 후, 균체를 Brucella broth로 희석하여 biphasic culture medium에 접종하여 42°C의 candle jar에서 배양하면서 시간별로 생존율을 측정하였을 때, 이들 세균은 그들이 받은 열 충격 온도와 상관없이 정상세포의 증식율과 동일한 수준으로 증식하였다.

적 요

*Campylobacter jejuni*에서 열 충격 단백질의 합성을 autoradiography 방법으로 조사함으로써 그 내열성 특성을 연구하였다. *C. jejuni*를 sublethal 온도인 48°C에서 30분간 열충격을 주었을 때에 대부분의 세포들은 열 충격 단백질을 생산하였으며 생존성의 감소는 없었다. 이 때 합성되는 열 충격 단백질들은 분자량이 각각 90, 73, 66 kD인 Hsp90, Hsp73, 그리고 Hsp66이라는 것을 two-dimensional electrophoresis방법으로 확인하였다. 그러나 lethal 온도인 51°C 또는 55°C에서 30분간 열 충격을 주었을 때에는 각각 10^3 또는 10^5 이상의 세포들이 사멸되었으며, 열 충격 단백질의 합성도 저하되거나 전혀 일어나지 않았다. 48°C에서 열 충격 단백질의 합성을 유도시킨 *C. jejuni*를 55°C에 노출시켰을 때에는 그들의 생존성이 48°C의 열 충격을 주지 않은 세포에 비하여 훨씬 높았던 결과로부터, 48°C에서 유도합성되는 열 충격 단백질은 55°C에 노출될 때 내열성 특성을 나타낸다는 것을 알 수 있었다. 그러나 여러가지 lethal 온도 뿐만 아니라 sublethal 온도에서 열 충격을 받은 *C. jejuni*를 최적온도인 42°C에 옮겼을 때에는 열 충격 단백질의 합성 여부와는 상관없이 각 세포의 증식양상이 유사하였다.

사 사

본 연구는 문교부 학술연구 조성비(유전공학)의 일부에 의하여 수행되었음.

REFERENCES

1. 조민기, 정대엽, 염 곤, 정연명, 이용우, 이명원, 이복권, 박미연, 오경수, 주영란, 성원근, 김기상, 신석우, 이주원. 1983. 전염성 설사 질환에 대한 세균학적 조사 연구. 국립보건원 연구 보고서. 50: 15-39.
2. Chirico, W., M.G. Waters, and G. Blobell, 1988. 70k heat shock regulated proteins stimulate protein translocation into microsomes. *Nature*, 332: 805-810.
3. Craig, E.A., 1985. The heat shock response. *Crit. Rev. Biochem.*, 18: 239-280.
4. Doyle, M.P., 1981. *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*: an old pathogen of new concern. *J. Food Prot.*, 44: 480-488.
5. Goff, S.A. and A.L. Goldberg, 1985. Production of abnormal proteins in *E. coli* stimulates transcription of *lon* and other heat shock genes. *Cell*, 41: 587-595.
6. Gomes, S.L., M.H. Juliani, J.C.C. Maia, and A. M. Silva, 1986. Heat shock protein synthesis during development in *Caulobacter crescentus*. *J.*

- Bacteriol.* **168**: 923-930.
7. **Hahn, G.M. and G.C. Li**, 1990. Thermotolerance, Thermoresistance, and Thermosensitization, pp. 79-100. In *Stress Proteins in Biology and Medicine*. R.I. Morimoto, A. Tissieres, and C. Georgopoulos(eds.). CSH Press. Cold Spring Harbor, New York.
 8. **김치경, 오학식, 염 곤, 조민기**, 1986. 하천수에서 *Campylobacter jejuni*의 오염도와 그 생존율에 관한 연구. 한국 육수 학회지., **19**: 39-48.
 9. **Kim, C.K., S.H. Lim, M.S. Yun, H.S. Oh, and M.K. Cho**, 1989. Disinfection effects of heat- and cold-treatment and UV-irradiation on *Campylobacter jejuni*. *Kor. J. Microbiol.*, **27**: 291-296.
 10. **Kim, H.O.** 1991. Synthesis of heat shock proteins and their thermotolerant function in *Campylobacter jejuni*. M.S. Thesis, Chungbuk National University.
 11. **Laemmli, U.K.** 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of bacteriophage T4. *Nature(London)*, **337**: 680-685.
 12. **Lipinska, B., O. Fayet, L. Baird, and C. Georgopoulos**, 1989. Identification characterization, and mapping of the *Escherichia coli* *htrA* gene, whose product is essential for bacterial viability only at elevated temperature. *J. Bacteriol.*, **171**: 1574-1584.
 13. **Neidhardt, F.C. and R.A. VanBogelen**, 1987. Heat shock response, pp. 1334-1345. In *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular and Molecular Biology. F.C. Neidhardt, J.L. Ingraham, K.B. Low, B. Magasanik, M. Schaechter, and H.E. Umbarger(ed.). American Society for Microbiology, Washington, D.C.
 14. **O'Farrell, P.H.**, 1975. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.*, **259**: 4007-4021.
 15. **Oxoid Ltd.**, 1982. Oxoid manual of culture media ingredients and other laboratory services, 5th ed., p. 84-88. Oxid, Hampshire, United Kingdom.
 16. **Plesofsky-Vig, N. and R. Bramble**, 1985. Heat shock response of *Neurospora crassa*: Protein synthesis and induced thermotolerance. *J. Bacteriol.*, **152**: 1083-1091.
 17. **Rollins, D.M., J.C. Coolbaugh, R.I. Walker, and E. Weiss**, 1983. Biphasic culture system for rapid *Campylobacter* cultivation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**: 284-289.
 18. **Silhavy, T.J., M.L. Berman, and L.W. Enquist**, 1984. Experiments with Gene Fusions. pp. 208-212. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York.
 19. **Streips, U.N. and F.W. Polio**, 1985. Heat shock proteins in Bacilli. *J. Bacteriol.*, **162**: 434-437.
 20. **VanBogelen, R.A., M.A. Acton, and F.C. Neidhardt**, 1987. Induction of the heat shock regulon does not produce thermotolerance in *Escherichia coli*. *Genes Dev.*, **1**: 525-531.
 21. **Voget, R.L., H.E. Sour, T. Barrett, R.A. Feldman, R.I. Dickinson, and L. Witherell**, 1982. *Campylobacter enteritis* associated with contaminated water. *Ann. Intern. Med.*, **96**: 292-296.
 22. **Westfall, H.N., D.M. Rollins, and E. Weiss**, 1986. Substrate utilization by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Bacteriol.*, **52**: 700-705.
 23. **Yamamori, T. and T. Yura**, 1982. Genetic control of heat-shock protein synthesis and its bearing on growth and thermal resistance in *Escherichia coli* K-12. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**: 860-864.
 24. **Zhou, Y.N., N. Kusakawa, J. Erickson, C. Gross, and T. Yura**, 1988. Isolation and characterization of *Escherichia coli* mutants that lack the heat shock sigma factor σ^{32} . *J. Bacteriol.*, **170**: 3640-3649.

(Received January 8, 1991)

(Accepted March 11, 1991)