

후성유전학을 통한 대장균의 열충격 반응 및 적응 가능성 파악

나은솔, 박승준, 한서희

충남삼성고등학교

=Abstract=

Heat Shock Response and Adaptation Potential in *Escherichia Coli* Populations through Epigenetics

Na Eun Sol, Park Seung Jun, Han Seo Hee

chloenes06@gmail.com, perrkang03@gmail.com, hseohee06@naver.com

Chung Nam Samsung Academy, Asan-si, Chungcheongnam-do, Korea

With the world recording abnormally high temperatures in September, 2023, it has been analyzed that the possibility of the collapse of the Maginot Line of climate change, which scholars are concerned about, has increased.[1] Increased temperatures may have adverse effects on their production performance and animal welfare.[2]

This study was conducted using wild-type *Escherichia Coli*(DH5- α) which is not resistant to antibiotics. The *Escherichia Coli*(DH5- α) was grown in a liquid medium and later mixed with a saline solution containing 0.8% NaCl. After dilution, 10 μ l of the solution was taken with a micropipette and spread evenly on an LB agar plate. The plate was then incubated at 37°C for 10 hours. Afterwards, the resulting colony was transferred to the LB broth medium using an inoculation loop. There were a total of 3 groups: the control group, experimental group 1, and experimental group 2. The control group was cultured at 37°C for 24 hours, while experimental group 1 was heat-treated at 42°C for 15 minutes, and experimental group 2 was heat-treated at 42°C for 30 minutes. Each group was subcultured to the third stage.

Keywords: *Escherichia Coli*, Heat-Shock Response, Epigenetics

I. 서론

기후변화가 심화되어 우리의 일상에까지 눈에 보일만큼 영향을 끼치고 있는 현 시점, 기후변화가 우리 인간의 건강에 미치는 영향 또한 주목받고 있다. 가장 큰 요인은 온도 상승으로, 인간에게 있어 온도의 환경 요인은 항상성 유지, 단백질 변성 등 체내의 생화학적 기전에 매우 큰 영향을 미치기 때문에 온도 변화에 따른 생물체의 변화를 관찰하는 연구 또한 급증하고 있다. 이번 연구의 시작점은 이러한 온도 상승에 따른 생물체의 열충격에 대한 관심으로부터 시작되었다.

모든 세포는 스트레스 상황에서 대응이나 적응을 택해 해당 상황에서 생물체를 유지한다. 이번 연구에서 탐구해 보고자 하는 열 스트레스 상황, 즉 생리적 온도보다 높은 온도에 노출되었을 때에는 열충격단백질(HSP)이 합성되어 방어기작을 이룬다. 이 방어 기작은 세균에서부터 인간에 이르기까지 모든 생물 종에서 공통적으로 나타나는 보편적 기작으로, 이 덕분에 생물체가 적절한 스트레스 상황에서 생명을 보전해 나갈 수 있다. 이번 연구에서 각 개별 개체의 단백질 발현 수준을 확인하는 것 또한 유의미할 수 있으나, 이는 우리 연구 수준에서 진행하기 어려울 것으로 사료되어 열 충격 시의 개별적 수준에서의 차이로 인해 나타나는 개체군의 차이를 확인하는 것으로 연구 방향을 설정하였다.

이에 더해, 연구 기간 중 연세대 시스템생물학과 양성욱 교수님과과의 담화를 통해 접하게 된 '후성 유전학'의 개념을 연구에 추가적으로 적용하였다. '열 충격이라는 자극에 의해 나타난 후천적 변형이 다음세대까지 유전될 수 있는가?'의 해답을 찾기 위해 열 충격 상황에서의 개체 수 변화, 이후 계대 배양을 통해 배양한 다음 세대까지의 개체 수 변화 및 영향을 확인하는 연구를 계획하였다.

II. 이론적 배경

1. 열충격 반응성

가. 32도와 42도에서 대장균을 배양했을 때, 대장균에서는 열충격 단백질이 생성되며 열충격단백질의 생성 40시간 이후 원래의 상태로 돌아가는 모습을 보인다[1]. 열충격 동안 대장균의 형태학적 변화, 즉 열충격 30분 전의 모습과 42도에서의 열충격 40시간 이후에서의 형태는 변화하는 모습을 보였다[1]. 대장균의 세포 크기는 충격 이후 충격 전에 비해 길어진 모습을 보인다[1]. 열충격이 지속된다면 후기에 발현되는 고도의 유전자는 열내성을 부여하는 잠재적인 표적이 될 수 있다[1]. 특정 유전자를 발견한다면 후기 단계에서 높게 발현되는 유전자를 중심으로 연구가 진행되어야 할 것이다[1].

2. 후성유전

가. 후성유전학의 정의

1999년 Wolffe A. P.가 사이언스지에서 말했던 "후성유전학은 DNA 염기서열이 변하지 않은 상태에서 유전자 발현의 변화가 이루어지는 유전적 변화[4]"를 후성유전학으로 정의하고있다.

나. 후성유전의 과정

후성 유전의 경우, DNA 메틸화, 히스톤 변형 등에 의해 이루어지며, 이는 세포의 발달과 유전자 발현 조절에 큰 영향을 미친다. 중요한 점은 이러한 후성유전학적 변화가 문자 그대로 한 세대에서 다음 세대로 전달되는 유전현상이지만, 이러한 현상을 유발한 외부환경이 제거되거나 수정되면 후성 유전학적 변화는 원상태로 돌아갈 수 있는 가역반응[6]이라는 것이다.

3. E.coli

가. E.coli의 종류와 사용 의의

위장병성 대장균은 장병성 대장균(EPEC), 장병성 대장균(ETEC), 장침습성 대장균(EIEC), 장집성 대장균(EAEC) 및 장출혈성 대장균(EHEC)을 포함한다[7]. 이 장은 주로 식인성 질환을 일으키는 대장균 균주 중 미국에서 식인성 질환의 빈도와 질병의 중증도를 기준으로 가장 중요한 그룹인 EHEC 그룹에 초점을 맞추고 있다[7]. 일부 유형의 EPEC는 특정 준수 패턴에 따라 enteroadherent E. coli (EAEC)라고 불린다[7]. 실험실에서의 가용성 증가는 비-O157 EHEC에 기인하는 질병의 검출을 계속 향상시킬 것이다[7].

III. 연구 방법 및 절차

1. E.coli의 계대 배양

가. E.coli 단일 배양

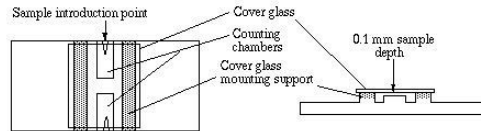
본 연구에 사용한 E.coli(DH5- α 종)는 컴사이언스(comscience)에서 구입하였다. 먼저 액체 배지에 배양된 E.coli를 saline (0.8%NaCl) 용액으로 희석하였다.($10^{-1} \sim 10^{-7}$) 이후 micropipette으로 용액 10 μ l를 취해 LB agar plate에 spreading 한다. 이후 incubator에서 37°C 10시간 배양한 뒤 발현된 colony를 백금이를 이용하여 LB Broth 배지에 도말한다.

나. 개체 수 파악

도말한 액체 배지를 shaking incubator 37°C 10시간 배양한다. 배양된 개체 수는 cell counting과 흡광광도법을 이용하여 정량적으로 측정한다.

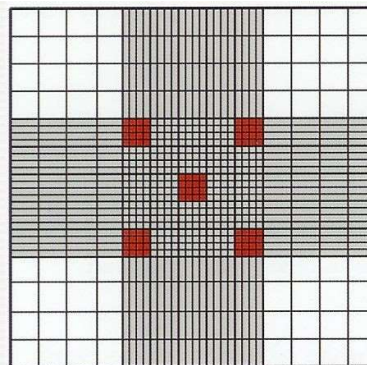
1) Cell counting

1. 상층액 제거 후, medium 1ml 넣고 pipetting 후 10ul를 커버글라스를 올린 혈구계산판의 홈(정 가운데에 있는 홈)에 흘려넣는다.



<그림1 혈구계산판>

2. 현미경을 통해 cell 분포가 고르게 되었는지 확인하고, 25개의 칸 중에서 모서리 4칸, 가운데 1칸 안에 있는 세포수를 counting한다.



<그림 2 cell counting 면적>

3. 붉은색으로 표시되어 있는 구역 내 세포들의 수를 세고, x5 (=중앙(0.1μL)의 25칸 세포 수) x10000-> 1mL 당 세포 수를 계산하여 확인한다.

2) 흡광광도법

1. 빈 LB Broth를 blank 값으로 잡는다.
(이 때, 빈 배지는 기존 E.coli가 배양된 배지를 원심 분리하여 얻은 상층액을 사용할 수도 있다.)

2. vortex mixer를 이용하여 섞어준 뒤, 큐벳으로 옮기기 전 마이크로 피펫을 이용하여 파이펫팅을 하여 최대한 균일하게 섞일 수 있도록 한다.
3. 분광광도계를 이용하여 OD 600nm 파장에서 배지의 흡광도를 측정한다.

1) 과 2) 로 개체 수 파악한 후 초기 세포 밀도가 2.0×10^4 - 5.0×10^5 cells/mL(부유형 세포 기준)가 되도록 배지를 추가해준 후 shaking incubator에서 10시간 배양한다.

다. 계대 배양

1차 배양 후 부유형 세포는 2.0×10^6 cells/mL까지 유지할 수 있으므로, 2~3일에 한 번씩 원심분리 후 cell counting을 하고, 계대 배양을 한다. 계대 배양 방법은 다음과 같다.

1. conical tube를 원심분리기 안에 넣고, 1500rpm에서 3분동안 원심분리를 진행한다.
2. 이후 기존의 배지를 파스퇴르 피펫으로 suction한다.
3. conical tube를 털어 멎어있는 세포를 풀어주고, 배지를 1ml 넣어준다.
4. 세포 현탁액을 만들기 위해 pipetting 해준다.
5. 현탁액에서 10 μ L씩 뽑아 헤모사이토미터 두 개의 칸에 각각 넣어준다.
6. 위 방법(나-1) cell counting)처럼 진행하고, 초기 세포 수와 같아지도록 배지를 추가해준다.

2. heat shock에 따른 개체 수 변화 확인

	Controlled	Treated 1	Treated 2
heat treatment	37°C 24h	42°C 15 min 37°C 11 h 45 min	42°C 30 min 37°C 11 h 30 min

<표 1> : 열 처리 대조군 및 실험군

대조군 및 실험군 집단은 총 3 그룹으로 설정하였다. 먼저, 대조군은 37°C 24시간 배양한 그룹이며, 실험군 1은 42°C 15분 동안 열처리를 하며, 실험군 2는 42°C 30분 동안 열처리를 한다. 각 집단에 따라 계대 배양은 3차까지 하며, 나) 개체수 파악에서 제시한 실험 방법을 통해 개체수를 파악한다.

3. Morphological changes in E.coli

가. 미생물 시료 전처리

E. coli 세포를 1차 고정액(0.1 mol/L Na-Cacodylate 완충액, pH 7.2 중 2.5% 글루타르알데히드, 2% 파라포름알데히드)으로 30분 동안 고정시킨다. 그런 다음 샘플을 초순수로 세 번 헹구고 일련의 에탄올 용액(10%, 30%, 50%, 70%, 90% 및 100%)으로 탈수한다. 탈수된 샘플을 임계점 건조기(Auto-Samdri 815 Automatic Critical Point Dryer; Tousimis, Rockville, MD, USA)로 즉시 건조시킨 후 SEM 스테이브에 장착하고 스퍼터 코팅(BAL-TEC/SCD 005 Sputter Coater; Balzers) Union AG, Balzers, Liechtenstein)하고, 코팅된 샘플은 FE-SEM(SUPRA 55VP FE-SEM; Carl Zeiss Ltd, Germany)으로 관찰한다.[5]

1		2		3		4		5		6		7
시료채취	▶	1차 고정	▶	2차 고정	▶	탈수	▶	건조	▶	코팅	▶	분석

<표2 SEM 전처리 및 분석 과정>

IV. 연구 결과

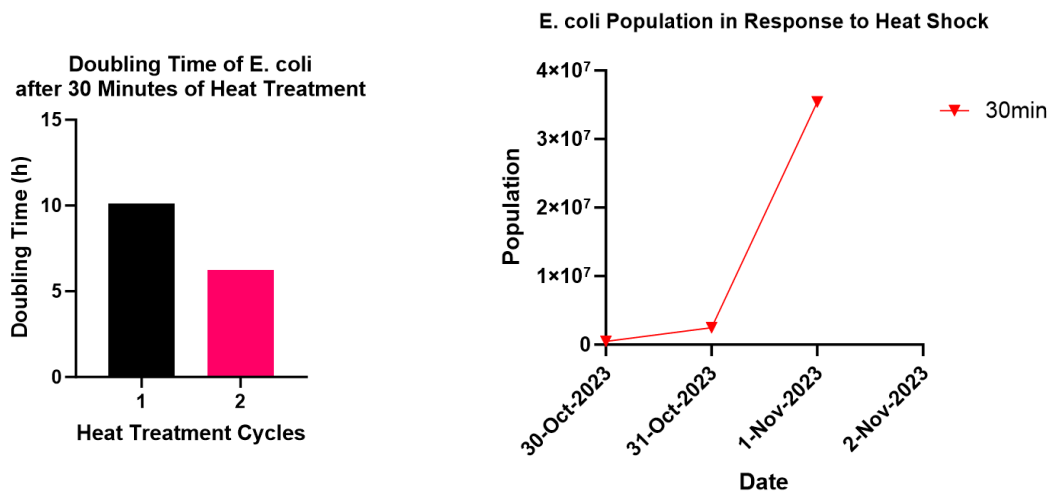
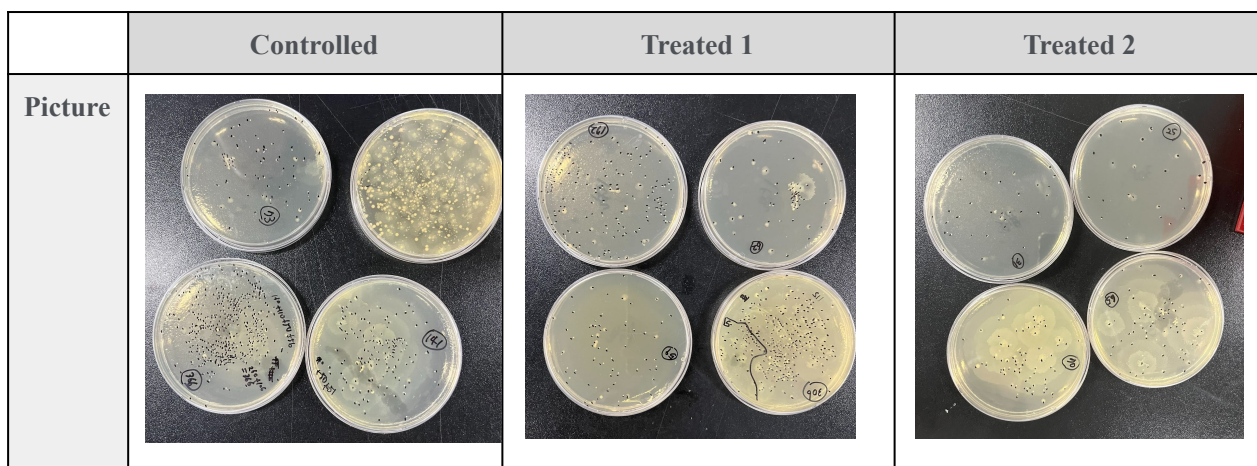


Fig 1. Doubling Time of E. coli after 30 Minutes of Heat Treatment

Fig 2. E. coli population in Response to Heat Shock



<Pic1: 열처리에 따른 대장균 표현형 변화(24h)>

표 2에 따르면, 열 충격 시간이 증가함에 따라 E. Coli를 도말한 고체 배지에서 관찰되는 형태적 변화를 확인할 수 있다. 초기에는 반점 및 원형의 형태를 보였으나, 열 충격 시간이 증가함에 따라 가장 자리가 구불구불한 형태로 변화하는 것이 관찰된다.. 본 연구에서는 동일한 E. Coli 균주를 사용하였으며, 시사점은 이들의 염기서열이 변하지 않았다는 것이다. 이러한 결과는 후성유전학적 변화에 의한 표현형의 변화가 발생한 것으로 해석된다.

본 연구에서 주목할 만한 한계점은 열 충격을 주지 않은 대조군에서도 유사한 형태의 집락이 관찰된다는 점과 계대 배양이 진행됨에 따른 표현형 변화를 정확히 추적하지 못한 점이 있다. 이러한 한계점은 추가적인 탐구가 필요할 것으로 예상된다.

더불어 표/그림 ~에 따르면 30분간 열처리를 받은 실험군2의 더블링 타임은 10.13에서 6.245로 약 38% 감소하였다. 이는 계대배양 후 동일한 스트레스를 받았을 때의 E. Coli의 적응력이 향상된 것으로 해석된다. 대조군 및 실험군 1의 개체 수는 희석 배수가 맞지 않아 정확한 개체 수 변화를 도출할 수 없었지만, 동일한 실험 조건에서 개체 수 증가율이 상당히 향상된 것으로 해석된다.

적응 가능성 및 내열성의 향상은 여러 가능성을 통해 해석할 수 있다. 실험군 2에서 관찰된 형태적 변화와 더불어 더블링 타임의 감소는 후성유전학적 적응이 일어난 결과로 볼 수 있다. 이는 환경 스트레스에 대한 생존 전략으로서 E. Coli 균주가 형성된 적응적 특성을 갖춘 것으로 보인다. 따라서 이러한 연구 결과는 환경적 압력에 대한 민감한 미생물의 진화 메커니즘을 이해하는 데 큰 기여를 할 수 있을 것이다.

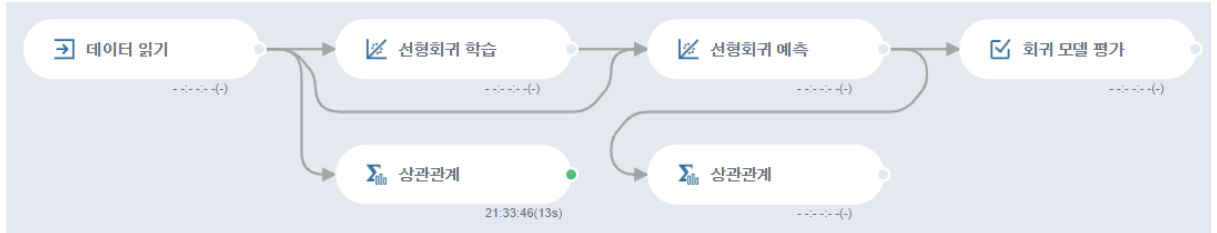
V. 고찰

본 연구에서는 계대 배양과 평판 계수법을 활용하여 열 충격에 의해 나타난 후성 유전학적 변화가 다음 세대까지 유전될 수 있는가에 대한 답을 찾고자 하였다.

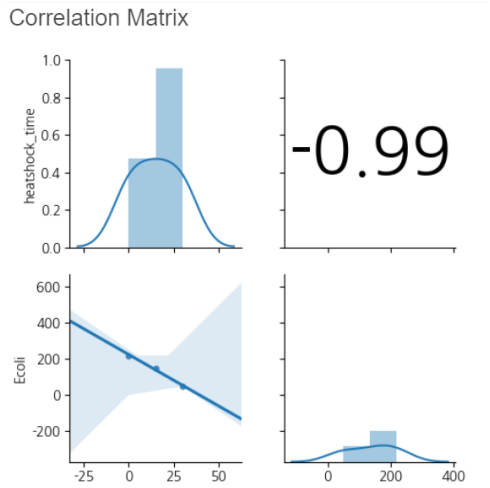
1. 열처리에 따른 E.coli 개체 수 성장 곡선 해석 및 예측

가. 방법 및 과정

Brightics Studio를 이용해 실험 결과 데이터를 시각화 및 선형회귀 학습을 시도하였다. 데이터 분석은 다음과 같은 경로로 진행하였으며, 결과값 데이터를 csv 파일로 변환하여 Brightics studio를 이용하였다.



나. 기본 상관관계 실행 결과



correlation table

x	y	corr	p_value	cov
E.coli	heatshock_time	-0.9941748514787243	0.0687479364580523	-1288.125

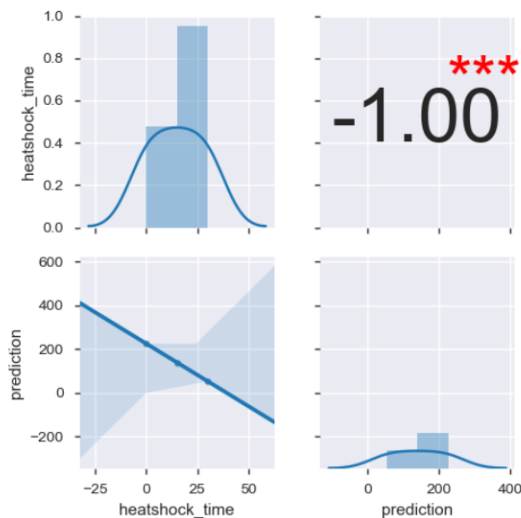
대장균의 열 충격 시간에 따른 1일차 개체 수의 상관관계는 음의 상관관계를 나타냄을 알 수 있었다. 이를 나타낸 그래프에서는 35~40분의 열 충격 시 대장균의 수가 0에 가까워질 것임을 알 수 있었다. correlation table에서 개체 수를 x축, 열충격 시간을 y축으로 설정하였을 때의 상관계수가 -0.994...이므로 우리가 알아보고자 하는 열충격 시간에 따른 개체 수의 상관계수는 -1.006...이 된다. 좌측 하단의 그래프에서 y축 한 칸의 간격이 x축 한 칸의 간격의 8배이고, 상관계수가 -1.006...로 나온 것을 보아 평균적으로 열 충격 시간이 1분 늘어남다면 약 8개의 콜로니가 줄어들 것으로 짐작해 볼 수 있다. 다만, 이는 한 번의 시행에 따른 결과를 분석한 것이므로 정확한 결과값을 나타낸다고 단정짓기 어렵다.

다. 기존 데이터 선형회귀 학습 및 선형회귀 예측

다음은 기존 데이터를 선형회귀 학습하여 예측한 결과를 나타낸 표다. E.coli는 기존 데이터에서 E.coli의 개체수, prediction은 선형회귀 학습 후 예측한 결과값이다.

	heatshock_ti	Ecoli	prediction
1	0	219.5	224.8750...
2	15	149.75	139
3	30	47.75	53.12499...

예측값과 기존 데이터값이 약 +/-5~6의 오차를 나타냄을 알 수 있다. 기존 데이터의 표본 수가 너무 적기 때문에 학습과 예측의 결과가 부정확할 수 있음을 유념해야 한다.



correlation table

x	y	corr	p_value	cov
prediction	heatshock_time	-1.0	0.0	-1288.125

위의 그래프는 선형회귀 예측값과 열충격 시간 사이의 상관관계를 나타낸 것으로, 나.에서의 상관관계가 매우 유사함을 알 수 있다. 이 분석 결과에서는 단 한 번의 시행 데이터만을 분석하였기 때문에 기존 데이터 상관관계와 크게 다르지 않은 분석 결과가 나타났다. 만일 표본이 더 많았다면 각 시행 데이터 군 내에서의 오차를 극복하고 전체 시행 데이터의 평균적인 상관관계를 최종적으로 도출해 낼 수 있었을 것으로 보이나, 현재 상황에서 온전한 값을 갖추고 있는 데이터는 단 한 번의 시행뿐으로, 선형회귀 학습 및 예측을 통해 유의미한 결론을 내기는 이른 것으로 보인다.

Evaluate Regression Result

Metrics

r2_score	mean_squared_error	root_mean_squared_error	mean_absolute_error	mean_absolute_percentage_error	median_absolute_error	explained_variance_score
0.9883836353127434	57.78125	7.601397897755386	7.166666666666667	6.961307568996755	5.375000000000028	0.9883836353127434

회귀 모델 평가 결과는 위와 같다. 적은 표본을 학습해 예측한 결과이기 때문에 높은 신뢰도의 회귀 모델 평가 결과가 나온 것으로 보인다. 재실험 후 더 많은 표본 바탕으로 분석한 결과를 다시 평가해 볼 필요가 있다.

이를 통해 3가지 고찰 및 결론을 내릴 수 있다.

첫째, 대장균의 열 충격 시간에 따른 1일차 개체 수의 상관관계는 음의 상관관계를 나타내며, 약 35~40분의 열 충격 정도에서 대장균의 수가 0에 가까워질 것이다.

둘째, 평균적으로 열 충격 시간이 1분 늘어남에 따라 약 8개의 콜로니가 줄어든다.

셋째, 현재 선형회귀 학습 및 예측에 사용가능한 데이터 표본이 너무 적기 때문에 유의미한 선형회귀 예측 분석을 진행하기 위해서는 재실험을 통해 많은 표본 수를 확보하는 것이 필요하다.

2. 열 충격에 따른 E.Coli 집락 형태 및 표현형 변화

표2에 따르면 열 충격 시간이 증가할수록, E.Coli를 도말한 고체 배지는 반점 및 원형의 형태에서 가장 자리가 구불구불한 형태로 변화하는 것을 확인할 수 있다. 이는 실험 진행 시 같은 E.Coli를 사용하였으며, 이들의 염기서열은 변화하지 않았다는 점에서 후성유전학적 변화에 의한 표현형이 변화된 것으로 해석해볼 수 있다. 그러나, 열 충격을 주지 않은 대조군에서도 이러한 집락이 관찰된다는 점과 계대 배양이 진행됨에 따른 표현형의 변화를 추적하지 못하였다는 한계점에 의해 추가적인 탐구가 필요해보인다.

3. Doubling Time 변화를 통한 후성유전학적 적응 가능성 향상

표/그림 ~에 따르면 30분간 열처리를 받은 실험군2의 더블링타임(h)은 10.13에서 6.245로 약 38% 감소하였다. 이는 계대배양 후 동일한 스트레스를 받았을 때의 E.coli의 적응력이 향상된 것으로 해석할 수 있다. 대조군 및 실험군 1의 개체 수는 희석 배수가 맞지 않아 정확한 개체 수 변화를 도출할 수 없었기에 더블링타임 변화를 비교할 순 없었지만, 동일한 실험 조건에서 개체 수 증가율이 상당히 향상된 것으로 해석할 수 있다.

적응 가능성 및 내열성이 향상된 것은 몇 가지 가능성을 통해 해석할 수 있다.

가. 단백질 응집체(PA)의 형성

세포 내 단백질 응집체(PA)의 출현은 열, 과산화물 및 항생제에 대한 노출과 같은 치명적인 단백질 독성 스트레스와 밀접하게 연관되어 있다.[9] 단백질의 잘못된 접힘과 응집은 일반적으로 스트레스나 노화로 인한 세포 단백질 항상성 저하와 관련된 불가피하고 해로운 과정으로 인식된다.[9] 또한 PA는 신경 퇴행성 질병의 메커니즘과 단백질 접힘, 발현 및 기능의 측면으로 확장되는 주요 문제로 여겨진다.[8]

그러나, 선행 연구에 따르면 원핵생물에서 PA의 형성과 보존은 세포 생존을 돕는 적응 과정과 유사하여 적응 가능성 및 내열성을 향상시키는 요인으로 작용한다.[9] PA는 여러 세대에 걸쳐 전달되는 이전 단백질 독성 고통에 대한 후생적 장기 기억을 암호화하며, 세포에 향상된 견고성을 부여하기 때문이다.[9] PA 유발 스트레스 이후 여러 세대에 걸쳐 이 조상 PA를 물려받은 세포는 PA가 없는 동종 세포에 비해 내열성이 크게 증가한다.[9] PA는 열 스트레스 환경이 제거되면 다시 원래대로 돌아가는 가역적 반응이지만, 이전 열 충격 스트레스로 인해 유발된 PA가 후속 단백질 독성 스트레스에 대한 견고성을 향상시키는 기억 요소로 작용할 수 있는 가능성을 밝혔다.[9]

이를 통해 2가지 고찰 및 결론을 내릴 수 있으며, 이는 본 연구가 알아내고자 한 '열 충격이라는 자극에 의해 나타난 후천적 변형이 다음세대까지 유전될 수 있는가?'에 대한 답이 될 수 있다.

첫째, 본 연구에서 E.Coli 배양 시 제공한 열 스트레스 환경(42°C)에서는 PA가 형성되었을 것이고, 액체 배지에서의 계대 배양을 통해 PA는 다음 세대로 전달되어 실험군 1 및 실험군 2의 내열성을 향상시켰을 것이다. 따라서 수행한 실험에서 실험군 2의 더블링타임이 감소한 것은 PA의 작용을 통해 같은 환경에서의 적응 능력이 증진된 것으로 해석할 수 있다.

둘째, 만약 초기 개체 수가 통제된 대조군, 실험군 1, 실험군 2에 동일한 열 스트레스 환경을 제공한다면, 동일한 열 스트레스 환경을 여러 세대에 걸쳐 경험한 실험군 2의 성장 속도가 가장 빠를 것임을 예측할 수 있다. 이후 이에 대한 검증 실험이 수행될 수 있을 것이다.

나. 열충격 단백질(Hsp)의 형성

모든 살아있는 유기체는 열 충격 단백질(Hsp) 또는 스트레스 단백질이라고 하는 특정 단백질 그룹의 합성을 증가시켜 열 충격과 같은 환경 스트레스에 반응한다.[10] 주요 Hsp는 분자 샤페론과 프로테아제이며, 분자 샤페론은 폴리펩타이드의 적절한

접힘을 촉진하고, 다른 단백질이 비활성화되지 않도록 보호하며, 응집된 단백질을 재활성화한다.[10] 열 충격 프로테아제는 스트레스에 의해 돌이킬 수 없을 정도로 손상된 단백질을 제거한다.[10] 즉, Hsp는 적절한 단백질 접힘을 돕고, 손상된 단백질의 분해를 촉진하여 잘못된 PA 형성을 방지하는 데 도움을 준다고 이해할 수 있다. 또한 E.coli의 주요 Hsp는 DnaK와 GroEL로 Hsp 70과 Hsp 60 계열이며, 단백질 접힘과 관련된 주요한 역할을 담당한다.

이를 통해 2가지 고찰 및 결론을 내릴 수 있다.

첫째, 본 연구에서 제공한 열 스트레스 환경에서는 E.Coli의 증식 시 Hsp가 발현되었을 것이라고 추측할 수 있다. 이는 매우 손상되어 열 충격 제거 후 가역적 변화가 불가능해진 단백질을 제거하여 E.Coli의 열충격 환경에서의 내열성을 향상시켰을 것으로 보인다. 특히, 열 충격 후 계대 배양 시 Hsp 발현량이 증가하여, 단백질 접힘, 단백질 분해 및 세포 내 단백질 수송에 영향을 끼쳐 PA의 형성과 함께 실험군 2의 더블링 타임이 감소한 요인으로 추측할 수 있다. 그러나, 본 연구에서는 열 충격 시간에 따른 단백질 발현량 변화를 정량적으로 확인하는 과정을 거치지 않았기에, 추후 웨스턴 블롯(western blot)을 통해 검증할 수 있을 것이다.

둘째, 열 충격 시간에 따른 단백질 발현량 변화는 DNA 염기 서열의 변화 없이 일어난 후성유전학적 변화로 이는 실험군 2의 개체 수 변화율 증가 및 더블링 타임 감소를 통해 추측해볼 수 있듯 개체군의 적응 능력을 향상시키는 요인이 되었을 것이라고 예상한다.

VI. 결론

본 연구는 열 충격 시간에 따른 E.Coli의 후성유전학적 변화도 세대를 거듭함에 따라 유전될 수 있는가에 대한 답을 찾기 위해 진행하였다. 실험군 2를 통해 알아본 결과로 계대 배양 후 개체 수 증가율 향상 및 더블링 타임 감소를 통해 적응 능력이 증진되었음을 확인할 수 있었다. 적응 능력 증진에는 PA 형성, Hsp 발현 등의 요인이 있을 것으로 분석된다. 이에 더해 열 충격 시간에 따른 실험군1, 실험군2의 표현형 변화를 확인하여, 후성유전학적 변화가 집락 및 콜로니의 형성에 영향을 줄 수 있었다.

이 연구는 일반화된 결론을 도출할 수 있을 만큼의 다량의 결과 표본을 갖추지 못한 연구라는 점에서 한계를 갖지만, 열충격 후 E.coli의 단순 표면적 변화의 관찰에서 그치지 않고, 결과의 정량적 분석 및 후성유전학적 해석을 진행했다는 점에서 기여하였다.

■ 참고문헌

- [1] BBC news Korea(10/7/2023), Climate change: 'Climate disaster Maginot line 1.5°C likely to be breached
- [2] Y.moon(2020), Heat Shock Proteins in Heat Stressed Chickens, Semantic Scholar
- [3] [Sinyeon Kim](#), 외 5명(2020), Heat-responsive and time-resolved transcriptome and metabolome analyses of *Escherichia coli* uncover thermo-tolerant mechanisms, scientific reports
- [4] Wolffe, A.P., et al. (1999) Epigenetics: regulation through repression. *Science*, 286, 481-6.
- [5] Yoon,H.S(2014). *The Mechanism of Non-thermal Plasma ion (NPi) Technology Sterilization Using Escherichia coli* (Doctoral dissertation, Pukyong National University).
- [6] Lee,J.H., et al. (2013) Dietary phytochemicals and cancer prevention: Nrf2 signaling, epigenetics, and cell death mechanisms in blocking cancer initiation and progression. *Pharmacol Ther*, 137, 153-71.
- [7] Jianghong Meng 외 (2012), Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Wiley
- [8] Beka Solomon 외(1998) Activity of monoclonal antibodies in prevention of in vitro aggregation of their antigens, *Progress in Biotechnology*, Volume 15, Pp 183-188
- [9] Govers, S.K., Mortier, J., Adam, A. and Aertsen, A., 2018. Protein aggregates encode epigenetic memory of stressful encounters in individual *Escherichia coli* cells. *PLoS biology*, 16(8), p.e2003853.
- [10] Kedzierska S. Rola białek opiekuńczych *Escherichia coli* w ochronie komórki bakteryjnej przed nieodwracalną agregacją białek indukowaną termicznie [Role of *Escherichia coli* molecular chaperones in the protection of bacterial cells against irreversible aggregation induced by heat shock]. *Postepy Biochem.* 2005;51(2):146-53. Polish. PMID: 16209352.
- [11] Kyratsous CA, Panagiotidis CA. Heat-shock protein fusion vectors for improved expression of soluble recombinant proteins in *Escherichia coli*. *Methods Mol Biol.* 2012;824:109-29