

상이한 에너지를 이용하여 성장한 *Methylobacterium extorquens* AM1내의 폴리아민

엄치용 · 이순희 · 김영민
연세대학교 이과대학 생물학과

Polyamines in *Methylobacterium extorquens* AM1 Grown on Different Energy Sources

Eom, Chi Yong, Sun Hi Lee and Young Min Kim

Department of Biology, College of Science, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea

ABSTRACT: Putrescine, spermidine, and spermine were found to present in *Methylobacterium extorquens* AM1 growing on methanol, succinate, glucose, or nutrient broth as an energy source. Spermidine was found to be a major polyamine in cells growing on methanol or succinate, while putrescine to be the one in nutrient broth-grown cells. The overall content of polyamines in cells growing on glucose was less than that in cells growing on other substrates. Spermine was the most abundant polyamine in glucose-grown cells. Accumulation of polyamines in *M. extorquens* AM1 was maximal at the mid-exponential or early stationary phase during growth on each substrate. The effect of polyamines added into the medium on the polyamine composition in *M. extorquens* AM1 was variable. Each polyamine added into the nutrient broth medium was found to increase the amount of the respective polyamine in the cell. Exogenously added polyamines had no effect on the growth of *M. extorquens* AM1.

KEY WORDS: □ *M. extorquens* AM1, methylotroph, polyamine

폴리아민(polyamine)은 호염성세균인 *Halobacterium halobium* 등 극히 일부를 제외한 모든 생명체에서 발견되는 다가 양이온 화합물로(Chen and Martynowicz, 1984; Hamana *et al.*, 1985 and 1990; Kamekura *et al.*, 1986; Tabor and Tabor, 1984 and 1985), 세균의 경우 성장과 분화 및 세포구조유지는 깊이 관련되어 있는 것으로 보고 되었으나 그들의 정확한 작용기작은 밝혀져 있지 않다(Cataldi and Algranati, 1986; Igarashi *et al.*, 1986; Jain and Tyagi, 1987; Kamio *et al.*, 1986; Kashiwagi *et al.*, 1986; Miret *et al.*, 1986; Paulin *et al.*, 1986; Rokka *et al.*, 1985; Satishchandran and Boyle, 1986; Tabor, 1984 and 1985). 그리고, 폴리아민은 복합배지에서 성장하는 세균들에서도 다량 합성되고 세균세포내로 직접 흡수되기도 한다(Kamekura *et al.*, 1986; Tabor *et al.*, 1973). 폴리아민의 세포내 축적은 대사현상과 밀접히 연관되어 있는데, 특히 세균의 성장시기, 배

지내의 용존산도량, 수소이온농도 등이 세포내의 폴리아민의 농도에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Tabor *et al.*, 1958; Tabor and Tabor, 1969 and 1985).

Methylobacterium extorquens AM1(이 전에 *Methylobacterium* sp. strain AM1으로 불리웠음)은 메탄올은 물론이고 다른 여러 가지 유기물도 에너지원으로 이용하여 성장할 수 있는 통성메탄올산화세균으로 현재까지 이세균의 메탄올 산화에 대한 생리, 생화학 및 분자유전학적 연구는 큰 진전을 보이고 있지만, 메탄올이라는 유독한 기질을 에너지원으로 이용하는 이 세균내에 존재하는 폴리아민에 대한 연구는 전무하다(Anthony, 1982, 1986 and 1988). 따라서 본 연구에서는 장차 실시할 세균에 의한 메탄올 대사와 폴리아민과의 연관성에 대한 연구에 앞서 메탄올을 포함한 몇 가지 에너지원에서 성장하는 *M. extorquens* AM1세포내에 존재하는 폴리아민을 조사하고 배지에

첨가해 준 폴리아민이 세포내 폴리아민 구성 및 세균의 성장속도에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

세균배양

기질의 종류와 성장시기에 따른 *M. extorquens* AM 1(NCIB 9133) 세포내의 폴리아민의 종류와 상대적인 양을 규명하기 위하여 이 세균을 최소배지 및 복합 배지를 이용하여 30°C에서 호기적으로 진탕배양 하였다. 최소배지로는 0.2%(w/v) 포도당, 0.2%(w/v) sodium succinate 및 0.5%(v/v) 메탄올을 사용하였고, 복합배지로는 0.8%(w/v) nutrient broth를 사용하였다. 이때 최소배지내의 기본염류 조성은 Kim and Hegeman(1981)의 standard mineral medium 조성에 따랐다.

외부 폴리아민의 영향

상기 네 가지 배지에서 자라고 있는 세균 세포내의 폴리아민의 종류 및 상대적인 농도에 미치는 외부 폴리아민의 영향을 조사하기 위하여 각 배지에 putrescine, spermidine 또는 spermine(Sigma)을 100 µg/ml로 첨가하여 배양하면서 세포내의 폴리아민의 변화를 성장시기별로 조사하였다.

세균성장속도

세균의 성장속도는 분광분석기(Hitachi U-2000)를 사용하여 436 nm에서의 흡광도를 측정하여 결정하였다.

단백질정량

Bovine serum albumin을 표준시료로 하여 Lowry 등(1951)의 방법으로 결정하였다.

폴리아민의 분리, 확인 및 정량

세포내에 존재하는 폴리아민을 확인, 분석하기 위하여 Seiler(1983)의 방법을 변형하여 실시하였다. 먼저 세포를 모아 0.05 M Tris-HCl(pH 7.5) 완충용액으로 세 번 세척한 다음 동일한 완충용액으로 제현탁하여 초음파로 분쇄하였다. 그런 다음 5% HClO₄ 용액을 처리한 뒤 15,000×g에서 30분 동안 원심분리하여, 상등액을 모아 16시간 동안 dansyl chloride(Sigma)를 사용하여 dansylation 시켰다. 세포 추출물내에 생긴 dansyl 유도체는 benzene으로 추출하여 silica gel plate(20×20 cm, Merck)상에 spotting한 뒤 전개용매(chloroform : triethylamine=100 : 9)로 전개시킨 다음, 자외선 아래서 표준 폴리아민 시료(putrescine, spermidine, spermine)와 비교하여 굵어낸 뒤 ethyl acetate에 용출시켜 luminescence spectrometer(Perkin-Elmer LS5, excitation : 350 nm, emission : 500 nm)로 형광강도를 측정하여 정량하였다.

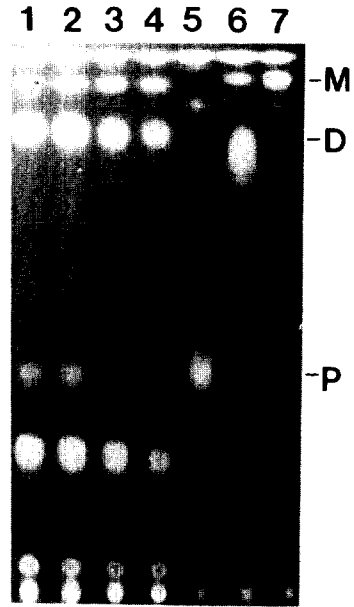


Fig. 1. Polyamines in *M. extorquens* AM1.

Thin-layer chromatography was carried out on silica gel plate with dansylated cell-free extracts prepared from cells growing on sodium succinate (0.2%, w/v). Cells were harvested at mid-exponential (lane 1), early stationary (lane 2), mid-stationary (lane 3), and late stationary phases (lane 4). Lanes 5, 6, and 7 represent chromatograms of three reference polyamines, putrescine (P), spermidine (D), and spermine (M), respectively.

결 과

에너지원과 성장시기에 따른 세포내 폴리아민 구성

M. extorquens AM1은 succinate를 이용하여 성장할 때는 물론이고(Fig. 1), 메탄올, 포도당, nutrient broth를 이용하여 성장할 때도 대표적인 폴리아민인 putrescine, spermidine, spermine 등을 모두 축적하였으나 cadaverine은 축적하지 않았다(결과 표시 없음). 세균내에 축적된 폴리아민의 양은 에너지원의 종류 및 성장시기에 따라 다르게 나타났다(Table 1). 즉, 메탄올 또는 succinate를 이용하여 성장하는 세균의 경우는 세가지 폴리아민중 spermidine을 가장 많이 가지고 있는 반면, putrescine과 spermine은 소량 함유하고 있었다. 그리고, 포도당을 이용하여 성장하는 세균은 전반적으로 다른 에너지원을 이용하여 성장하는 세균들보다 적은 양의 폴리아민을 포함하고 있었는데, 그 중에서 putrescine의 함량이 가장

Table 1. Polyamine content in *M. extorquens* AM1 growing at different growth stages on different substrates^a

Substrate	Growth phase	Polyamines ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
Methanol	Me ^b	28.3	278.3	19.5
	ES ^c	24.3	276.4	31.0
	MS ^d	23.0	201.5	27.3
	LS ^e	12.1	187.6	34.0
Succinate	ME	30.4	327.0	41.4
	ES	30.0	210.2	64.4
	MS	10.4	190.8	61.9
	LS	9.1	147.3	64.4
Glucose	ME	6.4	42.8	37.0
	ES	17.3	40.3	66.2
	MS	7.6	29.3	31.5
	LS	3.4	11.8	27.6
Nutrient broth	ME	49.3	4.2	13.4
	ES	162.2	5.1	10.0
	MS	116.1	4.4	7.7
	LS	45.2	1.9	1.9

^aCells were grown on 0.5% (v/v) methanol, 0.2% (w/v) sodium succinate, 0.2% (w/v) glucose, and 0.8% (w/v) nutrient broth as described in methods.

^bMid-exponential.

^cEarly stationary.

^dMid-stationary.

^eLate stationary.

낮았고 spermine의 함량이 상대적으로 높게 나타났다. 한편, 각각의 에너지원을 이용하여 성장하는 세균들의 성장시기에 따른 폴리아민의 함량을 비교했을 때 대체로 mid-exponential phase나 early stationary phase에서 가장 높은 것으로 나타났다.

세포내 putrescine축적에 미치는 세포외 폴리아민의 영향

각각의 배지에 putrescine을 첨가하여 *M. extorquens* AM1을 배양한 경우 putrescine을 첨가하지 않은 배지에서 성장하는 세균보다 1.4-4배가 많은 양의 putrescine을 축적하였다(Table 2, 3, 4, 5). 그리고 succinate나 포도당, 메탄올 등을 포함한 최소배지에서 성장하는 세균의 경우에는 spermidine이나 spermine을 첨가한 경우에도 세포내 putrescine의 함량이 증가하였으나(Table 2, 3, 4), nutrient broth 배지에서 성장하는 세균의 경우는 spermidine이나 spermine의 첨가가 오히려 putrescine함량의 감소를 유발하였다(Table 5).

Table 2. Effect of exogenous polyamines on the composition of polyamines in *M. extorquens* AM1 growing on methanol^a

Polyamine added	Growth phase	Polyamines ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
None	NE ^b	28.3	278.3	19.5
	ES ^c	24.3	276.4	31.0
	MS ^d	23.0	201.5	27.3
	LS ^e	12.1	187.6	34.0
Putrescine	ME	79.0	262.7	12.2
	ES	58.6	205.1	18.9
	MS	45.9	201.1	14.9
	LS	31.5	223.0	22.7
Spermidine	ME	75.5	298.6	10.0
	ES	56.8	253.7	12.5
	MS	59.4	224.0	11.1
	LS	10.4	205.1	20.2
Spermine	ME	73.7	288.4	14.6
	ES	40.6	233.9	38.5
	MS	35.7	210.5	11.7
	LS	22.3	203.0	18.0

^aCells were grown on methanol (0.5%, v/v) in the presence of putrescine, spermidine, or spermine as described in methods.

^bMid-exponential.

^cEarly stationary.

^dMid-stationary.

^eLate stationary.

세포내 spermidine축적에 미치는 세포외 폴리아민의 영향

배지에 putrescine을 첨가한 경우 succinate배지를 제외한 나머지 배지에서 성장하는 세균들에서 spermidine의 증가를 확인하였다(Table 2, 3, 4, 5). 그 중에서 특히 nutrient broth 배지(Table 5)와 포도당 배지(Table 4)에서 성장하는 세균의 경우에는 spermidine을 첨가하지 않은 동일 배지에서 성장하는 세균들보다 3-4배의 spermidine을 축적하였음은 물론, putrescine이나 spermine을 첨가한 경우에도 spermidine의 양이 크게 증가하였다. 한편, succinate에서 성장하는 세균의 경우는 세가지 폴리아민의 첨가가 세포내에 축적되는 spermidine의 감소를 초래하였다(Table 3).

세포내 spermine축적에 미치는 세포외 폴리아민의 영향

Nutrient broth 배지에서 성장하는 세균의 경우 putrescine, spermidine 또는 spermine의 첨가가 모두

Table 3. Effect of exogeneous polyamines on the composition of polyamines in *M. extorquens* AM1 growing on succinate^a

Polyamine added	Growth phase	Polyamines ($\mu\text{M}/\text{mg protein}$)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
None	ME ^b	39.4	327.0	41.1
	ES ^c	30.0	210.2	64.4
	MS ^d	10.4	190.8	64.9
	LS ^e	9.1	147.3	64.4
Putrescine	ME	56.9	178.5	12.2
	ES	33.8	166.6	12.6
	MS	32.6	121.7	10.6
	LS	21.8	84.5	12.8
Spermidine	ME	53.8	219.7	13.7
	ES	44.0	197.8	15.9
	MS	36.5	138.4	11.7
	LS	35.0	109.8	14.7
Spermine	ME	55.2	195.1	7.5
	ES	29.9	131.8	10.3
	MS	22.5	120.8	10.3
	LS	24.0	112.8	10.9

^aCells were grown on sodium succinate (0.2%, w/v) in the presence of putrescine, spermidine, or spermine as described in methods.

^bMid-exponential.

^cEarly stationary.

^dMid-stationary.

^eLate stationary.

세포내 spermine의 증가를 유발하였다(Table 5). 그러나 메탄올, succinate, 포도당 최소배지에서 성장하는 세균들의 경우에는 모든 폴리아민들이 축적되는 spermine의 양에 큰 영향을 미치지 못하였거나 약간 감소시켰다(Table 2, 3, 4).

세포의 성장속도에 미치는 세포외 폴리아민들의 영향

각각의 폴리아민이 첨가된 배지에서 성장하는 *M. extorquens* AM1의 성장속도는 폴리아민이 첨가되지 않은 배지에서 성장하는 세균의 성장속도(메탄올 최소배지: $d_t=7.7$ h, succinate 최소배지: $d_t=6.7$ h, 포도당 최소배지: $d_t=8.2$ h, nutrient broth: $d_t=3.7$ h)와 거의 동일한 것으로 나타났다(결과 표시 없음).

고 찰

세포에 존재하는 폴리아민에 대한 연구는 대장균을

Table 4. Effect of exogeneous polyamines on the composition of polyamines in *M. extorquens* AM1 growing on glucose^a

Polyamine added	Growth phase	Polyamines ($\mu\text{M}/\text{mg protein}$)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
None	ME ^b	6.4	42.8	37.0
	ES ^c	17.3	40.3	66.2
	MS ^d	7.6	29.3	31.5
	LS ^e	3.4	11.8	27.6
Putrescine	ME	47.0	97.3	47.0
	ES	91.0	79.8	58.5
	MS	24.3	63.8	37.3
	LS	2.8	50.8	16.8
Spermidine	ME	37.8	116.0	41.0
	ES	42.0	60.3	65.5
	MS	14.5	54.3	47.8
	LS	2.5	43.0	33.5
Spermine	ME	32.5	97.3	28.3
	ES	34.8	56.5	31.5
	MS	24.5	48.8	16.0
	LS	4.0	28.5	4.5

^aCells were grown on glucose (0.2%, w/v) in the presence of putrescine, spermidine, or spermine as described in method.

^bMid-exponential.

^cEarly stationary.

^dMid-stationary.

^eLate stationary.

대상으로 가장 활발한 연구가 진행되었고(Cataldi and Algranati, 1986; Igarashi *et al.*, 1986; Kashiwagi *et al.*, 1986; Satishchandran and Boyle, 1986; Tabor and Tabor, 1984 and 1985), 그 외에도 몇 가지 호열성사상균(Hamana and Matsuzaki, 1987; Oshima, 1983a and b; Paulin *et al.*, 1983a and b), *Pseudomonas* (Karrer *et al.*, 1973; Kullnig *et al.*, 1970; Paulin *et al.*, 1986; Tobari and Tchen, 1971 and 1983), *Bacillus* (Chen and Cheng, 1988; Hamana *et al.*, 1989), *Selenomonas* (Kamio *et al.*, 1986), *Paracoccus* (Hamana *et al.*, 1990; Neilands, 1983; Peterson *et al.*, 1980), *Micrococcus* (Hamana *et al.*, 1990; Rokka *et al.*, 1985), agrobacteria(Neilands, 1983; Peterson *et al.*, 1980; Tait, 1985), acetobacteria(Paulin *et al.*, 1983b), 호열성세균(Chen and Martynowicz, 1984; Hamana *et al.*, 1985 and 1988; Kamekura *et al.*, 1986), 젖산균(Hamana *et al.*, 1989),

Table 5. Effect of exogenous polyamines on the composition of polyamines in *M. extorquens* AM1 growing on nutrient broth^a

Polyamine added	Growth phase	Polyamines ($\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
None	ME ^b	49.3	4.2	13.4
	ES ^c	162.2	5.1	10.0
	MS ^d	116.1	4.4	7.7
	LS ^e	45.2	1.9	1.9
Putrescine	ME	237.6	26.6	40.4
	ES	67.6	9.6	25.7
	ME	33.4	9.1	15.2
	LS	30.1	11.1	14.0
Spermidine	ME	46.3	17.3	23.7
	ES	42.9	13.1	22.5
	MS	38.0	12.0	19.3
	LS	40.1	11.8	20.0
Spermine	ME	53.9	17.2	25.4
	ES	46.0	10.5	21.3
	MS	45.2	13.0	18.0
	LS	45.5	9.1	12.6

^aCells were grown on nutrient broth (0.8%, w/v) in the presence of putrescine, spermidine, or spermine as described in methods.

^bMid-exponential.

^cEarly stationary.

^dMid-stationary.

^eLate stationary.

광합성세균(Hamana *et al.*, 1985), *Rhodobacter*(Hamana *et al.*, 1990), archaeobacteria(Kneifel *et al.*, 1986) 등에서의 폴리아민 분석 또는 여러 가지 생리현상과 폴리아민과의 관계에 대한 연구가 진행되어 왔으나 메탄올을 이용하여 성장하는 세균을 대상으로한 폴리아민에 대한 연구는 없었다.

현재까지 연구된 세균들에서 확인된 폴리아민의 종류와 함량은 세균에 따라 차이를 나타내지만 대부분의 세균들이 putrescine과 spermidine만 가지고 있고 spermine은 acetobacteria(Paulin *et al.*, 1983b), agrobacteria(Tait, 1985), 호열성사상균(Hamana *et al.*, 1987) 및 *Bacillus acidocaldarius*(Hamana *et al.*, 1989) 등 몇 가지 특정 세균에서만 발견되었는데, 서로 다른 에너지원을 이용하여 성장하는 모든 *M. extorquens* AM1에서의 spermine의 발견은 주목할 만하다.

본 연구에서 배지의 종류에 따라 *M. extorquens* AM1 세포내에 축적된 폴리아민의 함량이 다르게 나타났는데, 메탄올배지와 succinate배지에서 성장하는 경우에는 spermidine이, nutrient broth배지에서 성장하는 경우에는 putrescine이, 포도당배지에서 성장하는 경우에는 spermine이 상대적으로 많이 축적되는 것으로 보아 이 세균이 각 배지에서 성장할 때 이들 폴리아민들이 세포내의 각종 생리활동에 가장 중요한 영향을 미치고 있음을 짐작할 수 있다. 또한 메탄올이나 succinate, 포도당을 이용하여 성장하는 경우 시간이 경과 할수록 putrescine과 spermidine의 함량은 줄어들지만 spermine의 양에는 큰 변화가 없는 것은 *M. extorquens* AM1이 최소배지에서 성장할 때 putrescine과 spermidine은 성장과 관계된 생리현상에 밀접히 연관되어 있고 spermine은 세균의 현상유지를 위한 생리작용과 연관 되어 있을 것임을 암시한다.

세균이 성장하고 있는 배지에 putrescine을 첨가해 주면 *Staphylococcus*의 세포내에서는 putrescine의 함량이 증가하지는 않았지만(Rosenthal and Dubin, 1962) *E. coli*의 세포에서는 putrescine의 함량이 증가하였는데 이는 세포밖의 putrescine이 세포내로 이동하였기 때문인 것으로 판명되었다(Tabor *et al.*, 1958). 따라서 *M. extorquens* AM1의 경우에도 putrescine 첨가로 인하여 세포내의 putrescine이 증가한 것은 이 세균이 배지로부터 putrescine을 직접 흡수한 결과로 짐작된다. 한편, 최소배지에서 성장하는 세균에서 spermidine과 spermine의 첨가가 putrescine의 함량 증가를 유발시킨 것은 spermidine, spermine 및 putrescine의 상호전환으로 생각되며, 이는 동물세포에서 spermidine의 첨가가 putrescine의 증가를 유발한 것과 유사한 현상이다(Seiler *et al.*, 1980.; Matsui *et al.*, 1982). Succinate 배지를 제외한 나머지 배지에 spermidine을 첨가한 경우 성장하는 세균내의 spermidine의 양이 증가한 현상도 이 세균이 배지로부터 직접 spermidine을 흡수할 수 있음을 암시한다. 한편, succinate 배지나 포도당배지에 spermine을 첨가해 준 경우에는 세포내 spermine의 함량이 오히려 감소하였는데, 이는 이 세균의 세포내에 일정농도의 폴리아민 수준을 유지하기위한 폴리아민 internal pool의 존재 가능성을 암시해 준다. 한편, 배지에 첨가한 폴리아민들은 세균의 성장속도에 영향을 미치지 않았는데, 이와 같은 현상은 *Vibrio costicola*(Kamekura *et al.*, 1986)에서도 관찰된 바 있는 것으로 *M. extorquens* AM1의 성장에는 폴리아민외에도 여러 가지 복잡한 영향인자들이 관계되어 있음을 시사한다.

적 요

메탄올, succinate, 포도당 또는 nutrient broth배지에서 성장하는 *Methylobacterium extorquens* AM1으로 부터 putrescine과 sprmidine 및 spermine의 존재를 확인하였다. 메탄올과 succinate를 이용하는 세균에는 spermidine이 가장 많았고, nutrient broth배지에서 성장하는 세균에는 putrescine이 가장 많이 존재하였다. 포도당을 이용하여 성장하는 세균에는 다른 에너지원을 이용하여 성장하는 세균들 보다 적은 양의 폴리아민이 존재하였고 그 중에서 spermine이 가장 많았다. *M. extorquens* AM1은 mid-exponential phase와 early stationary phase에서 가장 많은 양의 폴리아민을 축적하였다. 세포내 폴리아민 구성에 미치는 세포의 폴리아민의 영향은 성장배지에 따라 다르게 나타났으며, 서로 다른 폴리아민이 첨가된 nutrient broth배지에서 성장하는 세균의 경우에는 첨가된 각 폴리아민의 양이 증가함을 관찰하였다. 배지에 첨가해 준 폴리아민들은 세균의 성장속도에 영향을 주지 않았다.

사 사

본 연구는 1989년도 문교부기초과학연구소 학술연구 조성비에 의해 수행된 것입니다.

참고문헌

1. Anthony, C. 1982. The biochemistry of methylotrophs. Academic Press, Inc., New York.
2. Anthony, C. 1986. Bacterial oxidation of methane and methanol. *Adv. Microbiol. Physiol.*, **27**: 113-210.
3. Anthony, C. 1988. Quinoproteins and energy transduction. In "Bacterial energy transduction" (Anthony, C., ed.), pp. 293-316. Academic Press, Inc., New York.
4. Cataldi, A.A., and I.D. Algranati. 1986. A probable new pathway for the biosynthesis of putrescine in *Escherichia coli*. *Biochem. J.* **234**: 617-622.
5. Chen, K.Y., and S. Cheng. 1988. Polyamine metabolism in an obligately alkalophilic *Bacillus alcalophilus* that grows at pH 11.0. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **150**: 185-191.
6. Chen, K.Y., and H. Martynowicz. 1984. Lack of detectable polyamines in an extremely halophilic bacterium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **124**: 423-429.
7. Hamana, K., T. Akiba, F. Uchino, and S. Matsuzaki. 1989. Distribution of spermidine in bacilli and lactic acid bacteria. *Can. J. Microbiol.* **35**: 450-455.
8. Hamana, K., M. Kamekura, H. Onishi, T. Akazawa, and S. Matsuzaki. 1985. Polyamines in photosynthetic eubacteria and extreme-halophilic archaeobacteria. *J. Biochem.* **97**: 1653-1658.
9. Hamana, K., and S. Matsuzaki. 1987. Distribution of polyamines in actinomycetes. *FEMS Microbiol. Lett.* **41**: 211-215.
10. Hamana, K., S. Matsuzaki, M. Niitsu, and K. Samejima. 1990. Synthesis of novel polyamines in *Paracoccus*, *Rhodobacter* and *Micrococcus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **67**: 267-274.
11. Hamana, K., M. Niitsu, K. Samejima, and S. Matsuzaki. 1988. Occurrence of aminopropylcadaverine and its aminopropyl derivatives aminopentyl norspermidine and N,N'-bis(3-aminopropyl) cadaverine in *Halococcus acetofaciens*. *FEMS Microbiol. Lett.* **50**: 79-84.
12. Igarashi, K., K. Kashiwagi, H. Hamasaki, A. Miura, T. Kakegura, S. Hirose, and S. Matsuzaki. 1986. Formation of a compensatory polyamine by *Escherichia coli* polyamine-requiring mutants during growth in the absence of polyamines. *J. Bacteriol.* **166**: 128-134.
13. Jain, A., and A.K. Tyagi. 1987. Role of polyamines in the synthesis of RNA in mycobacteria. *Mol. Cell. Biochem.* **78**: 3-8.
14. Kamekura, M., S. Bardocz, P. Anderson, R. Wallace, and D.J. Kushner. 1986. Polyamines in moderately and extremely halophilic bacteria. *Biochem. Biophys. Acta.* **880**: 204-208.
15. Kamio, Y., H. Pösö, Y. Terawaki, and L. Paulin. 1986. Cadaverine covalently linked to a peptidoglycan is an essential constituent of the peptidoglycan necessary for the normal growth in *Selenomonas ruminantium*. *J. Biol. Chem.* **261**: 6585-6589.
16. Karrer, E., R.J. Bose, and R.A.J. Warren. 1973. Polamines of *Pseudomonas acidovorans*. *J. Bacteriol.* **114**: 1365-1366.
17. Kashiwagi, K., H. Kobayashi, and K. Igarashi. 1986. Apparently unidirectional transport by proton motive force in polyamine deficient *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **165**: 972-977.
18. Kim, Y.M., and G.D. Hegeman. 1981. Purification and some Properties of carbon monoxide dehydrogenase from *Pseudomonas carboxydohydrogena*. *J. Bacteriol.* **148**: 904-911.
19. Kneifel, H., K.O. Stetter, J.R. Andreesen, J. Wiegel, H. König, and S.M. Schoberth. 1986. Distribution of polyamines in representative species of archaeobacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* **7**: 241-245.
20. Kullnig, R., C.L. Rosano, and C. Hurwitz. 1970. Identification of 2-hydroxyputrescine in a *Pseudomonas* lacking spermidine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **39**: 1145-1148.
21. Lowry, O.H., N.J. Rosenbrough, A.L. Farr, and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
22. Matsui, I., H. Pösö and A.E. Pegg, 1982. Conversion of exogenous spermidine into putrescine after administration to rats. *Biochem. Biophys. Acta* **719**: 199-207.

23. **Miret, J.J., S. Nainudel, and S.H. Goldenberg.** 1986. Altered heat-shock response in polyamine-depleted bacteria. *FEBS. Lett.* **200**: 117-122.
24. **Neilands, J.B.** 1983. Isolation and assay of 2,3-dihydroxybenzoyl derivatives of polyamines: the siderophores agrobactin and parabactin from *Agrobacterium tumefaciens* and *Paracoccus denitrificans*. *Methods Enzymol.* **94**: 437-441.
25. **Oshima, T.** 1983a. Novel polyamines in *Thermus thermophilus*: Isolation, identification and chemical synthesis. *Methods Enzymol.* **94**: 401-411.
26. **Oshima, T.,** 1983b. Unusual polyamines in an extreme thermophile, *Thermus thermophilus*. *Adv. Polyamine Res.* **4**: 479-487.
27. **Pualin, L., L.-A. Lindergerg, and H. Pösö,** 1986. Reversible inhibition of flagella formation after specific inhibition of spermidine synthesis by dicyclohexylamine in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol.* **52**: 483-490.
28. **Paulin, L., H. Ruohola, I. Nykänen, and H. Pösö,** 1983a. The incorporation of 1,3-diamino propane into thermine by an extreme thermophile: a novel route for the biosynthesis of polyamines. *FEMS Microbiol. Lett.* **19**: 299-302.
29. **Paulin, L., J. Venhmaanpera, I. Nykänen, and H. Pösö.** 1983b. GTP-insensitive ornithine decarboxylase in acetobacteria able to synthesis spermine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **114**: 779-784.
30. **Peterson, T., K.-E. Falk, S.A. Leong, M.P. Klein, and J.B. Neilands.** 1980. Structure and behavior: spermidine siderophores. *J. Am. Chem. Soc.* **102**: 7715-7718.
31. **Rokka, R., N. Futamura, and A. Ishida.** 1985. Role of putrescine oxidase in the generation of hydrogen peroxidase of *Micrococcus luteus*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **31**: 435-440.
32. **Rosenthal, S.M., and D.T. Dubin.** 1962. Metabolism of polyamines by Staphylococcus. *J. Bacteriol.* **84**: 859-863.
33. **Satishchandran, C., and S.M. Boyle.** 1986. Purification and properties of agmatine ureohydrolase, a putrescine biosynthetic enzyme in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **165**: 843-848.
34. **Seiler, N.** 1983. Liquid chromatographic methods for assaying polyamines using prechromatographic derivatization. *Methods Enzymol.* **94**: 10-25.
35. **Seiler, N., F.N. Bolkenius, and B. Knödgen.** 1980. Acetylation of spermidine in polyamine catabolism. *Biochim. Biophys. Acta* **663**: 181-190.
36. **Tabor, H., S.M. Rosenthal, and C.W. Tabor.** 1958. The biosynthesis of spermidine and spermine from putrescine and methionine. *J. Biol. Chem.* **233**: 907-914.
37. **Tabor, H., and C.W. Tabor.** 1969. Formation of 1,4-diaminobutane and spermidine by an ornithine auxotroph of *Escherichia coli* grown on limiting ornithine or arginine. *J. Biol. Chem.* **244**: 2286-2292.
38. **Tabor, C.W., and H. Tabor.** 1984. Polyamines. *Ann. Rev. Biochem.* **53**: 749-790.
39. **Tabor, C.W. and H. Tabor.** 1985. Polyamines in microorganisms. *Microbiol. Rev.* **49**: 81-99.
40. **Tabor, H., C.W. Tabor, and F. Irreverre.** 1973. Quantitative determination of aliphatic diamines and polyamines by an automated liquid chromatographic procedure. *Anal. Biochem.* **55**: 457-467.
41. **Tait, G.H.** 1985. Bacterial polyamines, structures and biosynthesis. *Biochem. Soc. Trans.* **13**: 316-318.
42. **Tobari, J., and T.T. Tchen.** 1971. Identification of (+)-hydroxyputrescine (1,4-diaminobutane-2-ol) from a *Pseudomonas* species. *J. Biol. Chem.* **246**: 1261-1265.
43. **Tobari, J., and T.T. Tchen.** 1983. Hydroxyputrescine: 1,4-diaminobutane-2-ol. *Method Enzymol.* **94**: 431-433.

(Received September 7, 1990)

(Accepted December 7, 1990)