

***Streptomyces tubercidicus*에서 Adenine과 Histidine에 의한 Tubercidin 생합성 조절**

유진철 · 하영철*
 조선대학교 약학대학 약학과
 *서울대학교 자연과학대학 미생물학과

Regulation of Tubercidin Biosynthesis in *Streptomyces tubercidicus* by Adenine and Histidine

Yoo, Jin-Cheol and Yung-Chil Hah*

Department of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

**Department of Microbiology, Seoul National University*

ABSTRACT: The regulatory mechanism of tubercidin biosynthesis in *Streptomyces tubercidicus* was studied. In a wild type strain, addition of adenine and histidine into the medium decreased the tubercidin production by 60-65% and 40%, respectively. The effects of adenine and histidine were alleviated by the addition of inosine monophosphate and 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribotide. The production of tubercidin in *S. tubercidicus* K115 strain (*ade*⁻) was nearly shut off by histidine. In contrast with K115 strain, adenine inhibited the tubercidin biosynthesis in *S. tubercidicus* K412 strain (*his*⁻). In *S. tubercidicus* F667 strain (*ade*⁻, *his*⁻), tubercidin production was increased by adenine and histidine.

From the effects of adenine and histidine on tubercidin biosynthesis in *S. tubercidicus* wild type and mutant strains, it became known that feedback control by adenine and histidine of biosynthetic pathway for purine ribonucleotide and histidine are involved in the regulation of tubercidin biosynthesis.

KEY WORDS □ *S. tubercidicus*, tubercidin biosynthesis, regulation, primary metabolites, adenine, histidine

Tubercidin은 *Streptomyces tubercidicus*에서 생합성되는 항생물질로서 구조상 pyrrolopyrimidine nucleoside계열에 속하며, 항결핵, 항균, 항암효과가 있는 것으로 알려져 있다(Anzai 등, 1957; Willy 등, 1976; Suhadolnik, 1979).

Smulson과 Suhadolnik(1967)는 tubercidin의 생합성경로에 대한 방사선 동위원소 추적실험을 통하여 tubercidin의 pyrimidine 부분은 GTP에서 유리하며, tubercidin의 5, 6번 탄소는 GTP의 ribosyl group에서 유래하고, GTP의 8번 탄소는 생합성 도중에 떨어져 나간다고 보고하였다.

항생물질은 이차 대사물질로 간주되며, 일차대사에서의 마찬가지로 항생물질의 생합성 과정에서도 다

양한 조절양상이 나타나는 것으로 밝혀졌으며(Drew와 Demain, 1977; Piret와 Demain, 1988). 주요 조절방식으로는 항생물질 자체에 의하여 조절되는 방식(Malik와 Vining, 1979; Walker, 1975; Jones와 Westlake, 1974)과 일차대사 물질들에 의하여 조절되는 방식(Demain과 Masureckar, 1974; Luengo 등, 1980; Aharonowitz 등, 1984)으로 나뉠 수 있다.

Elstner와 Suhadolnik(1971, 1975)는 pyrrolopyrimidine nucleoside 계열에 속하는 항생물질들의 생합성과정은 첫 반응에 관여하는 효소인 GTP-8-formylhydrolase 수준에서 조절된다고 보고하였다. 그러나 지금까지 pyrrolopyrimidine nucleoside 계열의 항생물질들이 GTP를 전구물질로 이용하여 생

합성 된다는 사실을 고려하여, 이러한 항생물질들의 생합성과정이 GTP 및 GTP의 생합성에 영향을 주는 일차대사물질들에 의하여 어떠한 양상으로 조절되는 지에 대한 연구는 보고된 바가 없었다.

따라서 본 연구에서는 pyrrolopyrimidine nucleoside 계열의 항생물질인 tubercidin을 생산하는 균주인 *S. tubercidicus* 야생형균주를 이용하여 tubercidin 생합성과정이 GTP 공급에 관여하는 purine ribonucleotide와 histidine의 생합성 경로의 대사산물에 의하여 어떤 방식으로 조절되는지를 조사하고, 나아가 이와같은 경로에서 결함이 있는 돌연변이주들(blocked mutants)의 조절양상을 조사하여 야생형 균주의 경우와 비교해 봄으로써, adenine과 histidine 등의 일차대사 물질들에 의한 pyrrolopyrimidine nucleoside 계열에 속하는 항생물질들의 생합성 조절양상을 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양

ATCC에서 분양받은 *Streptomyces tubercidicus* ATCC 25502 균주를 야생형으로 사용하였으며, 본 균주의 포자에 Yoo(1983)의 방법으로 자외선 조사하여 획득한 각각 adenine과 histidine을 요구하는 영양요구형 돌연변이주들인 *S. tubercidicus* K115 strain(*ade*⁻), K412 strain(*his*⁻) 및 이 균주들의 원형질체 융합(Yoo 등, 1986)에 의하여 획득한 adenine과 histidine을 동시에 요구하는 재조합균주인 *S. tubercidicus* F667 strain(*ade*⁻, *his*⁻) 균주를 사용하였다. 균체성장을 위하여 포자를 peptone-yeast extract-glucose broth(Williams와 Cross, 1971)에 접종하고 27°C에서 72시간 진탕배양하였다. Tubercidin 발효목적으로는 Vavra 등(1959)이 사용한 발효배지에 균체성장배지액을 2%(v/v) 되게 옮겨준 후 27°C에서 5일동안 진탕배양하였다.

돌연변이주 분석

S. tubercidicus K115(*ade*⁻)와 K412 strain(*his*⁻)를 최소배지(Yoo, 1983) 및 각 대사의 중간물질들을 15 µg/ml 농도로 첨가하여준 최소배지에 접종하고, 7일 후에 각 배지에서의 성장여부를 확인하여 생합성 과정중의 결손부위를 확인하였다.

Tubercidin 정량분석

발효 배양액에 adenine, guanosine, cytosine, histidine, inosine monophosphate (IMP), 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribotide(AICAR)와 같은 일차대사 물질들을 농도별로 첨가하여 배양하면서 일정시간 간격으로 수확하여 균체와 배양액을 분리하였다. 여액에 charcoal(1 g/100 ml)을 가하고 NH₄OH 용액으로 pH를 8.0으로 조정후 30분동안 방치하여 tubercidin을 charcoal에 흡착시켰다. 여과하여 charcoal 만을 회수하고 80%(v/v) acetone 용액(pH 2.0)으로 세척하여 tubercidin을 회수한 후 acetone 용액을 증발시켰다. 남아있는 고형물에 10

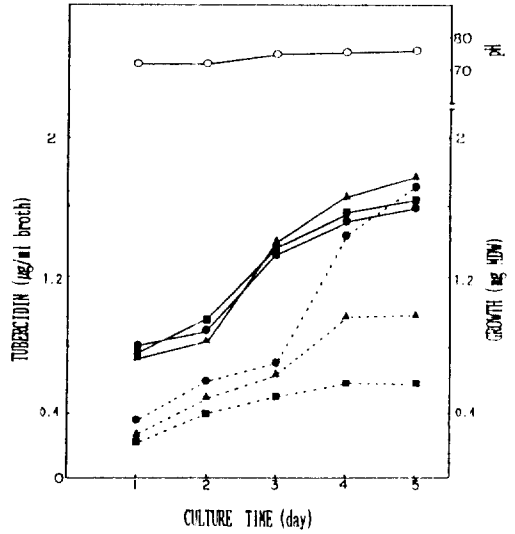


Fig. 1. Growth and tubercidin production of *Streptomyces tubercidicus* ATCC 25502 in the presence of adenine. (●, none; ▲, 200 µg/ml; ■, 500 µg/ml; ○, pH) Broken lines represent tubercidin production.

ml의 에탄올을 가한 후 2-3 ml로 농축하여 nucleopore membrane으로 여과한 후 Yoo 등(1984)의 방법으로 HPLC를 이용하여 정량분석하였다. 균체 성장도는 균체의 건조중량(mycelium dry weight, MDW)을 측정하여 결정하였으며, 균체건조중량값(mg)에 대한 tubercidin 생성량(µg)을 tubercidin 비생성율값(specific production rate of tubercidin, µg/mg)으로 정하였다.

결과 및 고찰

S. tubercidicus 야생형 균주의 tubercidin 생합성 조절

S. tubercidicus 야생형 균주는 배양 후 약 3일 후에 정체기에 들어갔으며, 배지내의 pH는 7.2-7.5 정도로 비교적 일정하게 유지되었다(Fig. 1). Adenine에 의한 tubercidin 생합성 저해효과는 정체기에 도달하기까지는 다소 미약하였으나 tubercidin이 대량으로 생합성되는 정체기 이후부터는 뚜렷한 저해 효과를 볼 수 있었다. 5일 배양 후 adenine 농도별 저해 정도를 조사하였을 때, 200 µg/ml 농도로 adenine을 첨가하였을 때부터 tubercidin 생성도가 급격히 감소하기 시작하여 500 µg/ml의 농도에서는 60-65%가 감소함을 볼 수 있었는데, tubercidin 비생성율값으로 환산하여 비교하였을 때에도 비슷한 결과를 나타내었다. 또한 tubercidin의 생합성은 histidine에 의하여도 저해되었는데, 600 µg/ml이 되게 histidine을 배지에 첨가하였을 때 tubercidin 생성도가 40% 정도 감소함을 볼 수 있었다(Fig. 2). 이상의 결과들은

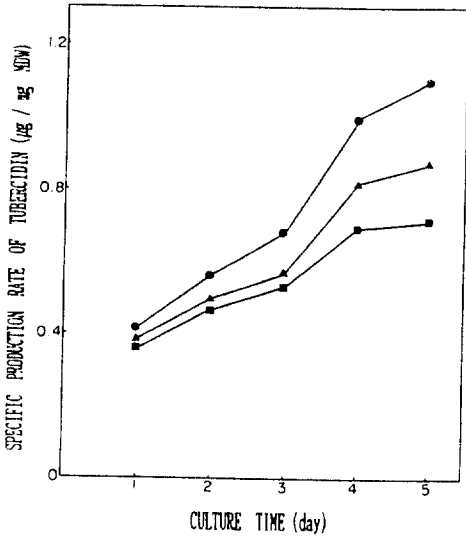


Fig. 2. Effect of histidine on the production of tubercidin in *S. tubercidicus* ATCC 25502. (●, none; ▲, 200 µg/ml; ■, 600 µg/ml).

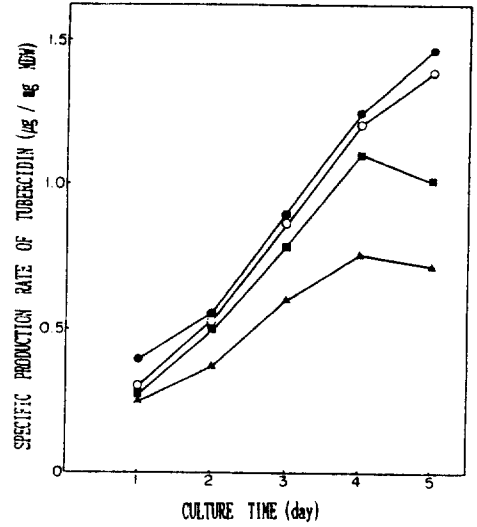


Fig. 3. Effect of IMP On the production of tubercidin in *S. tubercidicus* ATCC 25502. (●, none; ▲, ade 500+his 600 µg/ml; ■, ade. his+IMP 100 µg/ml; ○, ade.his+IMP 300 µg/ml).

adenine 및 histidine이 각각 purine ribonucleotide synthesis와 histidine 생합성 경로에 대한 영향을 주어 GTP 생합성 나아가 tubercidin 생합성 조절에 관여하는 것으로 추정되었으므로, 이를 확인하고자 adenine(500 µg/ml)과 histidine(600 µg/ml)을 함께 넣어주어 tubercidin 생성도를 감소시킨 배지에 GTP 생합성과정의 중간물질인 IMP나 AICAR를 첨가하여 주었을 때, adenine과 histidine의 조절효과가 상쇄되어 tubercidin 생성도가 정상수준으로 회복되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3, 4).

이로부터 발효배지에 첨가해준 adenine은 purine phosphoribosyltransferase에 의하여 세포내로 수송되면서 adenine ribonucleotides 형태로 변화되어 (Hochstadt-Ozer와 Stadtman, 1971) purine ribonucleotide synthesis 과정을, 그리고 histidine은 histidine 생합성과정을 각각 feedback 조절함으로써 전구물질인 GTP 생성을 감소시켜 결과적으로 tubercidin 생합성과정을 조절함을 알 수 있었으며, 특히 adenine에 의한 영향이 더욱 현저한 것으로 보아 histidine 생합성경로 보다는 purine ribonucleotide synthesis 과정이 주요역할을 함을 알 수 있었다. 그런데 지금까지 보고된 바에 의하면, 조생합성과정의 첫 효소들이 각각의 생합성과정을 조절하는 주요 조절부위로 밝혀져 있으므로(Wong 등, 1981; Umbarger, 1978), *S. tubercidicus*에서의 adenine 및 histidine에 의한 purine ribonucleotide synthesis와 histidine 생합성 과정의 조절에서도 첫 효소들이 관여할 가능성이 크기 때문에, 앞으로 purine ribonucleotide synthesis 과정의 첫 효소인 amidotransferase와 histidine 생합성 경로의 첫번째

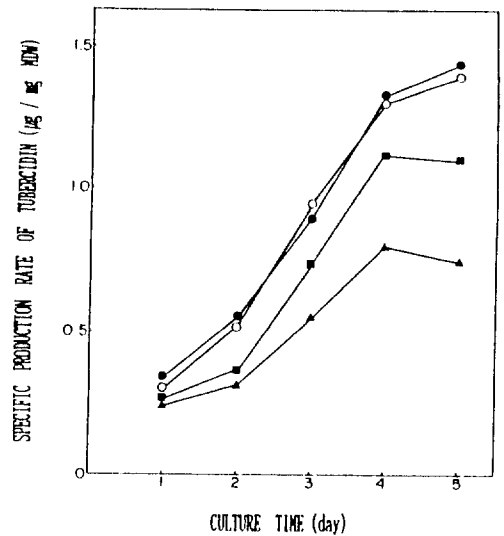


Fig. 4. Effect of AICAR on the production of tubercidin in *S. tubercidicus* ATCC 25502. (●, none; ▲, ade 500+his 600 µg/ml; ■, ade. his+AICAR 100 µg/ml; ○, ade.his+AICAR 300 µg/ml).

효소인 phosphoribosyl (PR)-ATP synthetase에 대한 검토가 필요하다고 사료된다.

Adenine이나 histidine의 경우에는 달리, guanosine에 의하여는 tubercidine의 생합성이 별 영향을

Table 1. Characterization of *S. tubercidicus* K115 (*ade*⁻) and K412 (*his*⁻) strain.

K115 strain (*ade*⁻)

Supplements	SMM*	Guanosine	IMP	ASA**	AMP	Adenine
Growth	-	-/+	-/+	-	+	+

K412 strain (*his*⁻)

Supplement	SMM	Histidinol	Histidine
Growth	-	-	+

*Streptomyces Minimal Medium

**Adenylosuccinate

-/+ Poor growth

받지 않아서 800 µg/ml의 농도에서도 5% 내외의 tubercidin 생성도만이 감소하였는데, 이러한 결과는 adenine의 경우처럼 purine ribonucleotide synthesis를 feedback 조절함으로써 나타내는 guanosine의 GTP 생합성 방해효과가 배지에 존재하는 guanosine이 GTP의 전구물질인 GMP 형태로 변화되어(Hochstadt-Ozer와 Stadtman, 1971) 세포 내로 직접 공급됨으로 인하여 상쇄되었기 때문임을 알 수 있었다. 그리고 pyrimidine base인 cytosine의 경우에도 800 µg/ml의 농도에서도 거의 tubercidin 생합성에 영향을 주지 못했는데, 이로부터 *S. tubercidicus*의 purine ribonucleotide synthesis 과정은 *B. subtilis* 등의 세균들에서 처럼(Meyer와 Switzer, 1979), pyrimidine ribonucleotides에 의하여 조절을 받지 않으며, 결과적으로 tubercidin 생합성조절에도 영향을 주지 못함을 알 수 있었다.

돌연변이주의 분석

Adenine 요구 균주인 *S. tubercidicus* K115 strain (*ade*⁻)은 최소배지에 adenylosuccinate를 첨가해준 배지에서는 성장을 못하였으나 adenine이나 AMP를 넣어줄 경우에는 정상성장을 하는 것으로 보아(Table 1), 이 균주는 purine ribonucleotide synthesis 과정의 adenylosuccinate에서 AMP로 변화되는 단계가 결손되었음을 알 수 있었다. 그런데 adenylosuccinate에서 AMP로 변화되는 반응을 촉매하는 효소로 알려진 adenylosuccinate lyase는 purine ribonucleotide synthesis 과정의 phosphoribosylpyrophosphate(PRPP)에서 IMP에 이르는 8 번째 반응도 동시에 촉매하는 효소로 밝혀져 있으며(Moat와 Foster, 1988), 본 균주의 경우에도 IMP와 guanosine에 의하여 다소간의 성장도를 보여주는 것으로 보아, K115(*ade*⁻) 균주도 purine ribonucleotide synthesis 과정의 IMP에 이르는 8 번째 반응과 IMP에서 AMP에 이르는 2번째 반응에서 동시에 결함이 있는 균주로 보여지므로, 이에 대한 확인을 위해 효소수준의 분석이 필요하다고 사료되었다.

Histidine 요구주인 *S. tubercidicus* K412 strain

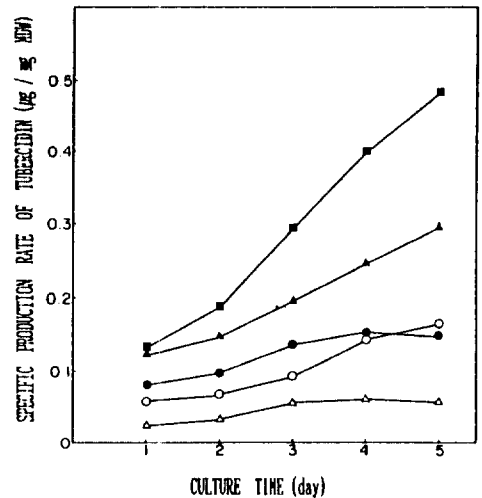


Fig. 5. Production of tubercidin in *S. tubercidicus* K115 strain (*ade*⁻) in the presence of various supplements.

(●, none; ▲, *ade* 200 µg/ml; ■, *ade* 500 µg/ml; ○, *his* 200µg/ml; △, *his* 600 µg/ml).

(*his*⁻)은 histidinol을 첨가한 최소배지에서는 성장하지 못하였으나 histidine에 의하여는 정상성장을 하는 것으로 보아 histidine 생합성 경로의 마지막 반응이 결손되었음을 알 수 있었다(Table 1). 그리고 영양요구형 변이주들은 첨가물들을 넣어주지 않은 tubercidin 발효배지에서, 다소간의 차이는 있었으나, 야생형과 비슷한 수준의 성장을 보였는데, 이로부터 발효배지내의 영양물들은 돌연변이주들이 최소한의 일차대사를 수행하는데 필요한 첨가물들을 제공하고 있음을 알 수 있었다.

이러한 GTP 생합성경로에서 결함이 있는 돌연변이주들 및 이들의 재조합체인 *S. tubercidicus* F667 strain(*ade*⁻, *his*⁻)들은 GTP 생합성조절양상 및 나아가 tubercidin 생합성 조절양상에서도 야생형 균주와는 다르게 나타나리라 예상되었다.

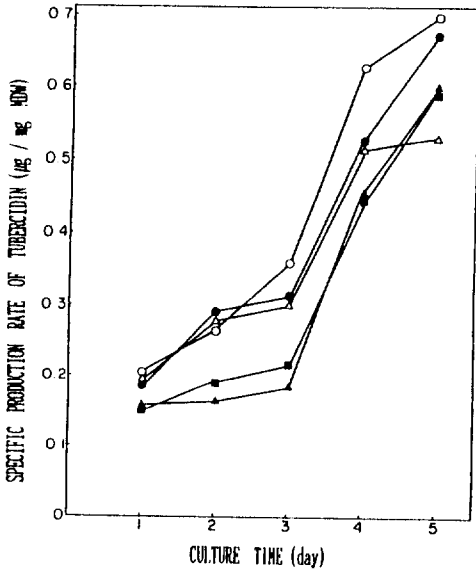


Fig. 6. Production of tubercidin in *S. tubercidicus* K412 strain (*his*⁻) in the presence of various supplements.

(●, none; ▲, ade 200 µg/ml; ■, ade 500 µg/ml; ○, his 200 µg/ml; △, his 600 µg/ml).

***S. tubercidicus* K115(*ade*⁻)의 tubercidin 생합성조절**

Adenine을 요구하는 115균주는 첨가물을 넣어주지 않았을 경우 균성장에서는 정상이었음에도 불구하고 tubercidin 생성도에서는 야생형균주에 비하여 약 10-15%에 불과하였는데(Fig. 5). 이는 purine ribonucleotide synthesis 과정의 결손으로 인하여 tubercidin 생합성의 전구물질인 GTP 공급을 histidine 생합성 과정에서 생성되는 AICAR에 전적으로 의존하기 때문임을 알 수 있었다. 배지에 histidine을 넣어줄 경우, tubercidin의 생성은 200 µg/ml 농도에서부터 감소하기 시작하여 600 µg/ml 농도에서는 거의 중단되었는데, 야생형 균주에서의 40% 감소 효과와 비교하였을 때 이 균주에서의 histidine에 의한 tubercidin 생합성 저해효과는 더욱 현저하였다. 이러한 결과는 이 균주의 GTP 생합성이 전적으로 histidine 생합성과정에 의존하기 때문에 histidine에 의한 feedback 조절효과가 야생형의 경우보다 더욱 현저하게 나타남을 알 수 있었다. Adenine에 의하여는 오히려 tubercidin의 생성도가 증가하여 500 µg/ml 농도에서 adenine을 넣어주지 않았을 경우보다 4배 정도까지 증가하였는데, 이는 adenine이 세포내에서 ATP 형태로 변화되어(Bell 등, 1974), histidine 생합성경로의 첫 효소인 PR-ATP synthetase의 기질 및 활성화제 역할을 하여, histidine 생합성을 촉진시켜서 다량의 AICAR를 공급하기 때문이라 사료되었다.

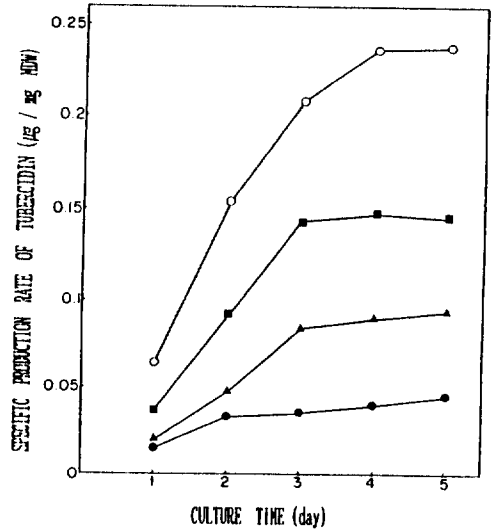


Fig. 7. Production of tubercidin in *S. tubercidicus* F667 strain (*ade*⁻, *his*⁻) in the presence of various supplements.

(●, none; ▲, ade 500 µg/ml; ■, 600 µg/ml; ○, ade 500 + his 600 µg/ml).

***S. tubercidicus* K412(*his*⁻)의 tubercidin 생합성조절**

Histidine을 요구하는 412 균주는 발효배지에 첨가물을 넣어주지 않았을 경우에 5일 배양후의 tubercidin 비생성율값이 0.7 µg/ml으로 야생형균주의 약 70%였는데(Fig. 6). 이러한 수준의 생성도는 이 균주의 성장이 불량하였던 점을 고려할 때 다소 높은 수준으로 사료되었다. Adenine에 의하여 tubercidin 생합성은 저해되었는데, 이는 이 균주가 야생형균주에서 처럼 purine ribonucleotide synthesis 과정이 GTP 공급에 관여하기 때문임을 알 수 있었다. Histidine 첨가시 200 µg/ml 농도에서는 tubercidin 생성도가 증가하였으나, 600 µg/ml 농도에서는 다소간 감소하였다. 이로부터 본 균주는 histidine 생합성 경로를 통하여 histidine 공급이 안되기 때문에, 저농도(200 µg/ml)의 histidine에서 보여주는 tubercidin 생합성 증가효과는 이 균주의 정상성장을 위하여 요구되는 histidine 양을 반영하는 것으로 사료되었고, 600 µg/ml의 고농도에서 나타나는 감소효과는 야생형 균주나 115 균주에서 처럼 histidine에 의한 feedback 조절에 의한 것임을 알 수 있었다.

***S. tubercidicus* F667 strain(*ade*⁻ *his*⁻)의 tubercidin 생합성 조절**

이 균주는 adenine 및 histidine을 넣어주지 않은 발효 배지에서 야생형과 비슷한 성장속도를 보여주었으며, tubercidin 비생성율값을 비교하였을 때 야생형의 3-4% 정도로 극히 낮은 수준이었는데(Fig. 7), 이러한 결과는 purine ribonucleotide synthesis와

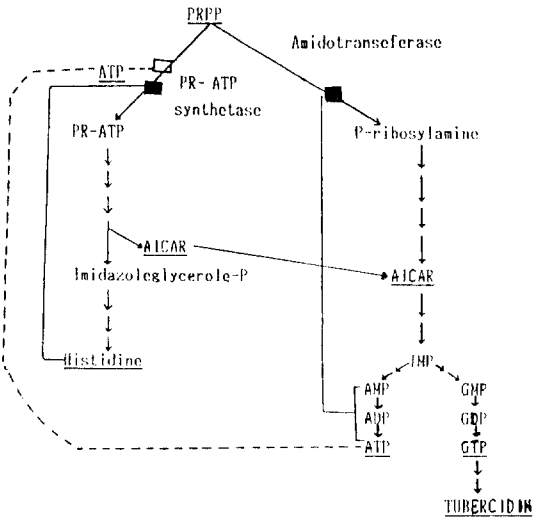


Fig. 8. Proposed regulation mode of tubercidin biosynthesis in *S. tubercidicus* by adenine and histidine.
 (— feedback inhibition and/or repression;
 - - - - activation).

histidine 생합성 경로 모두로부터 tubercidin 생합성의 전구물질인 GTP를 공급받을 수 없는 이 균주의 특성과 잘 일치함을 알 수 있었다. 발효배지에 adenine과 histidine을 각각 500 µg/ml, 600 µg/ml 농도로 넣어 주었을 때, 각각의 경우에서 tubercidin의 생성도는 2-3배 증가하였으며, adenine과

histidine을 동시에 첨가하였을 경우에도 각각을 따로 첨가하였을 때에 나타난 증가율의 합인 4-5배 정도의 tubercidin 생성도 증가를 볼 수 있었다. 그리고 본 균주가 야생형 균주에서는 나타났던 adenine과 histidine에 의한 tubercidin 생합성 저해현상을 보이지 않았던 이유는, adenine에 의한 purine ribonucleotide synthesis과정의 feedback 조절능력과 histidine 생합성 과정의 feedback 조절능력을 동시에 잃었기 때문임을 알 수 있었다. 또한 tubercidin의 생성도가 adenine과 histidine에 의하여 오히려 증가한 결과는, 이 균주가 K115 균주와 K412 균주의 특성을 함께 가지고 있기 때문에, adenine에 의한 PR-ATP synthetase 활성화와 histidine에 의한 균체 성장 촉진의 효과가 협동적으로 나타났기 때문으로 해석되었다.

이상과 같은 *S. tubercidicus* 돌연변이주들의 tubercidin 생합성 조절양상은 야생형 균주에서 adenine과 histidine에 의한 AICAR 이전단계에서의 purine ribonucleotide synthesis 과정 및 histidine 생합성 과정의 feedback 조절이 tubercidin 생합성을 조절하게 되었던 결과들을 잘 지지하였으며, 특히 K115 strain(*ade*)에서 adenine에 의하여 tubercidin 생성도가 증가하였던 사실로부터 histidine에 의한 tubercidin 생합성조절에서 histidine 생합성 경로의 첫 효소인 PR-ATP synthetase가 관여함을 알 수 있었으므로, Fig. 8에 나타난 방식의 일차대사물들인 adenine과 histidine에 의한 tubercidin 생합성 조절양상을 제안하고자 하며, 이러한 제안들은 앞으로 효소수준에서의 연구를 통하여 구체적으로 확인되어야 할 것으로 사료된다.

적 요

Pyrolopyrimidine nucleoside 계열의 항생물질인 tubercidin을 생산하는 *Streptomyces tubercidicus* 균주들을 이용하여 tubercidin 생합성과정에서 일차대사물들에 의하여 나타나는 조절양상을 규명하고자 하였다. 야생형 균주에서는 tubercidin 발효배지에 adenine 및 histidine의 첨가에 의하여 tubercidin 생성이 각각 60-65%, 40% 감소하였으며, 이러한 감소효과는 inosine monophosphate와 5-aminoimidazole-4-carboxamide에 의하여 상쇄되었다. 그리고 adenine 요구주인 *S. tubercidicus* K115 strain(*ade*)의 tubercidin 생합성과정은 histidine에 의하여는 feedback 조절되었으나, adenine에 의한 feedback 조절현상은 나타나지 않았다. 반면에 histidine 요구주인 *S. tubercidicus* K412 strain(*his*)은 adenine에 의하여 feedback 조절되었으나, histidine 의하에는 조절양상이 크게 둔화되었다. 그리고 adenine과 histidine을 동시에 요구하는 *S. tubercidicus* F667 strain(*ade, his*) F667 균주에서는 adenine과 histidine 모두에서 feedback 조절에 의한 tubercidin 생합성조절 양상이 나타나지 않았다.

이상과 같은 야생형 균주와 돌연변이주들의 adenine과 histidine에 의한 tubercidin 생성도 변화양상으로부터, tubercidin 생합성은 전구물질인 GTP의 생합성과정을 조절하는 adenine과 histidine에 의하여 조절되며, 특히 GTP 생합성경로의 중간물질인 AICAR 생합성 이전단계에 대한 이들 일차대사물질들의 feedback 조절이 관여하고 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

- Aharonowitz, Y., S. Mendelovitz, F. Kirenberg and V. Kuper, 1984. Regulatory mutants of *Streptomyces clavuligerus* affected in free diamino-pimelic acid content and antibiotic biosynthesis. *J. Bacteriol.* **157**, 337-340.
- Anzai, K., G. Nakamura and S. Suzuki, 1957. A new antibiotic, tubercidin. *J. Antibiotic.* **10**, 201-204.
- Bell, R.M., S.M. Parsons, S.A. Dubravac, A.G. Redfield and D.E. Koshland, Jr., 1974. Characterization of slowly interconvertible state of

- phosphoribosyladenosine triphosphate synthetase dependent on temperature, substrate and histidine. *J. Biol. Chem.*, **249**, 4110-4118.
4. **Demain, A.L. and P. Masurekar**, 1974. Lysine inhibition of in vivo homocitrate synthesis in *Penicillium chrysogenum*. *J. Gen. Microbiol.*, **82**, 143-151.
 5. **Drew, S.W. and A.L. Demain**, 1977. Effect of primary metabolisms on secondary metabolism. *Ann. Rev. Microbiol.*, **31**, 343-356.
 6. **Elstner, E.F. and R.J. Suhadolnik**, 1971. The biosynthesis of the nucleoside antibiotics. *J. Biol. Chem.*, **246**, 6973-6981.
 7. **Elstner, E.F. and R.J. Suhadolnik**, 1975. Guanosine triphosphate-8-formylhydrolase. In: *Methods in Enzymology*, ed. by J. H. Hash, **43**, 515-520. Academic Press, New York.
 8. **Hochstadt-Ozer, J. and E.R. Stadtman**, 1971. The regulation of purine utilization in bacteria. *J. Biol. Chem.*, **246**, 5312-5320.
 9. **Jones, A. and D.W.S. Westlake**, 1974. Regulation of chloramphenicol synthesis in *Streptomyces sp.* 3022a. Properties of arylamine synthetase, an enzyme involved in antibiotic biosynthesis. *Can. J. Microbiol.*, **20**, 1599-1611.
 10. **Luengo, J.M., G. Revilla, J.R. Villanueva and J.F. Martin**, 1980. Inhibition and repression of homocitrate synthetase by lysine in *Penicillium chrysogenum*. *J. Gen. Microbiol.*, **115**, 869-876.
 11. **Malik, M.S. and L.C. Vining**, 1979. Metabolism of Chloramphenicol by the producing organism. *Can. J. Microbiol.*, **16**, 173-179.
 12. **Meyer, E., R.L. Switzer**, 1979. Regulation of *Bacillus subtilis* glutamine phosphoribosyl-pyrophosphate amidotransferase activity by end products. *J. Biol. Chem.*, **254**, 5397-5402.
 13. **Moat, A.G. and J.W. Foster**, 1988. Microbial physiology. John Wiley & Sons Co., New York.
 14. **Piret, J.M. and A.L. Demain**, 1988. Actinomycetes in biotechnology: An overview. In: *Actinomycetes in biotechnology*, ed. by Goodfellow, M., S.T. Williams and M. Mordarski, pp. 461-481. Academic Press, San Diego.
 15. **Smulson, M.E. and R.J. Suhadolnik**, 1967. The biosynthesis of the 7-deazaadenosine ribonucleotide, tubercidin, by *Streptomyces tubercidicus*. *J. Biol. Chem.*, **242**, 2872-2876.
 16. **Suhadolnik, R.J.** 1979. Nucleosides as biological probes. John Wiley & Sons Co., New York.
 17. **Umbarger, H.E.** 1978. Amino acid biosynthesis and its regulation. *Ann. Rev. Biochem.*, **47**, 533-606.
 18. **Vavra, J.J., A. Dietz and B.W. Churchill**, 1959. Psicofuranine. III. Production and biological studies. *Antibiot. Chemother.*, **9**, 426-431.
 19. **Walker, J.B.** 1975. L-Arginine: inosamine-phosphate aminotransferase. *Methods in Enzymology.*, **43**, 451-458.
 20. **Williams, S.T. and T. Cross**, 1971. Actinomycetes. In: *Methods in Microbiology*, ed. by C. Booth, **4**, 295-334. Academic press, New York.
 21. **Wiley, P.F., J.H. Johnson and A.R. Hanze**, 1976. Alkyl and aryl derivatives of tubercidin. *J. Antibiot.*, **28**, 720-727.
 22. **Wong, J.Y., D.A. Bernlohr, C.L. Turnbough and R.L. Switzer**, 1981. Purification and properties of glutamine phosphoribosyl-pyrophosphate amidotransferase from *Bacillus subtilis*. *Biochemistry.*, **20**, 5669-5674.
 23. **Yoo, J.C.** 1988. Studies on protoplast of *Streptomyces tubercidicus* ATCC 25502 and quantitative analysis of tubercidin. M.S. Thesis, Seoul National University, Korea.
 24. **Yoo, J.C., Y.C. Hah and S.W. Hong**, 1984. Quantitative analysis of tubercidin in *Streptomyces tubercidicus* cultures by high pressure liquid chromatography. *J. Liquid Chromato.*, **7**, 151-158.
 25. **Yoo, J.C., Y.C. Hah and S.W. Hong**, 1986. Protoplast fusion of *Streptomyces tubercidicus*. *Kor. J. Microbiol.*, **28**, 364-369.

(Received April 8, 1991)

(Accepted July 7, 1991)