

## *Methylobacterium extorquens* AM1의 메탄올을 이용한 성장과 세포내 폴리아민 구성에 미치는 배양조건의 영향

엄치용 · 박기정 · 강빈구 · 김영민\*

연세대학교 이과대학 생물학과

## Effects of Cultivation Conditions on the Growth and Polyamine Composition in *Methylobacterium extorquens* AM1 Growing on Methanol

Eom, Chi Yong Ki Jung Park, Bin Goo Kang, and Young Min Kim\*

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

**ABSTRACT:** *Methylobacterium extorquens* AM1 growing on methanol as a sole source of carbon and energy was found to grow most rapidly ( $t_d=6$  h) at 30°C in a mineral medium (pH 7.0) containing 0.5% (v/v) methanol which was agitated at 200 rpm (optimal cultivation condition). Cells grown under the optimal cultivation condition contained more spermidine, but less putrescine, than the cells grown on 2.5% (v/v) ( $t_d=8$  h) or at 20°C ( $t_d=8$  h). Cells cultivated under the optimal condition was found to contain more spermidine than the cells grown at pH 6.0 ( $t_d=7$  h) and pH 8.0 ( $t_d=7.3$  h). The cells growing at the stationary phase under the optimal condition accumulated more spermine or putrescine than the cells growing at the same phase on 2.5% (v/v) methanol or at pH 6.0 and pH 8.0, respectively. *M. extorquens* AM1 grown in a medium agitated at 100 rpm ( $t_d=8.8$  h) contained less spermidine and spermine than the cells grown under the optimal cultivation condition.

**KEY WORDS** □ *Methylobacterium extorquens* AM1, Methanol, Polyamine, Methylo-troph

### 서 론

폴리아민(polyamine)은 거의 모든 생물에 존재하는 다가 양이온(polycation) 화합물로 핵산과 단백질의 합성등 생물체내에서 일어나는 여러가지 생리적 현상에 관계되어 있는 것으로 추측되고 있다(Tabor와 Tabor, 1984와 1985). 현재까지 보고된 바에 의하면 대부분의 세균들은 putrescine과 spermidine만 가지고 있으나 일부 세균들은 spermine을 비롯한 여러가지 특이한 폴리아민을 소유하고 있어 세균에 존재하는 폴리아민의 존재와 함량을 분석함으로써 더 정확한 세균의 분류도 기대할 수 있다(Hamana등, 1989, 1990a와 b; Tabor와 Tabor, 1985). 세균에 존재하는 폴리아민의 함량은 대사현상과 밀접하게 관련되어 있는 성장조건에 따라 변하는 데

특히 에너지 및 탄소원, 배지내의 용존산소량과 수소이온 농도 등에 큰 영향을 받으며 동일조건하에서도 성장시기에 따라 크게 달라지는 것으로 보고되었다(엄 등, 1990; Tabor와 Tabor, 1969와 1985; Tabor등, 1958).

*Methylobacterium extorquens* AM1 통성메탄올 자화세균으로 지금까지 발견된 메탄올 자화세균중 생리, 생화학, 분자유전학적으로 가장 많이 연구된 세균이지만(Anthony, 1982와 1986). 이 세균을 대상으로 한 폴리아민에 대한 연구는 이 세균이 서로 다른 에너지원을 이용하여 성장할 때 세포내에 축적하는 폴리아민의 구성에 대해 연구한 것이 전부이다(엄 등, 1990). 따라서 본 연구에서는 메탄올 자화세균의 메탄올 산화와 폴리아민과의 관계에 대한 본격적인 연구에 앞서 *M. extorquens* AM1이 메탄올을 이용하여 서로 다른 배양조건 하에서 성장할 때 세포내에 축적하는 폴리아민의 양과 세균의 성장속도를 측정함으로써 메탄올을 이용한 세균의 성장과 폴리아민의

\*To whom correspondences should be addressed.

관계에 대해 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 세균배양

*M. extorquens* AM1 (NCIB 9133)이 서로 다른 배양조건하에서 메탄올을 유일한 에너지 및 탄소원으로 이용하여 성장할 때의 성장속도와 세포내에 축적되는 폴리아민의 구성을 알아보기 위해 이 세균을 메탄올의 농도, 수소이온 농도, 용존산소량, 배양온도 등이 서로 다르게 조절된 환경 하에서 배양하였다. 이때 배지는 Kim과 Hegeman (1981)의 염류배지 (mineral medium)를 사용하였으며, 세균의 성장속도는 분광분석기를 사용하여 436 nm에서의 흡광도를 측정하여 결정하였다.

### 메탄올 농도의 영향

0.5%와 2.0% 및 4.0% (v/v)의 메탄올이 포함된 배지 (pH 7.0)에 세균을 접종한 후 30°C에서 200 rpm의 속도로 진탕배양하면서 성장속도를 측정하는 한편, 각 성장 시기별로 균체를 모아 폴리아민의 변화를 조사하였다.

### 수소이온 농도의 영향

0.5% (v/v)의 메탄올이 포함된 배지의 수소이온 농도를 pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 및 9.0 등으로 조절하여 세균을 접종한 다음 30°C에서 200 rpm의 속도로 진탕배양하면서 성장속도를 측정하고 성장시기별로 균체를 모아 세포내 폴리아민을 조사하였다.

### 진탕속도의 영향

0.5% (v/v)의 메탄올이 포함된 배지 (pH 7.0)에 세균을 접종한 후 30°C에서 100 rpm과 200 rpm의 속도로 진탕배양하면서 성장속도를 측정하고 폴리아민의 함량을 분석하였다.

### 배양온도의 영향

0.5% (v/v)의 메탄올이 포함된 배지 (pH 7.0)에 세균을 접종한 후 20°C, 30°C, 40°C에서 200 rpm의 속도로 진탕배양하면서 성장속도를 측정하고 폴리아민의 함량을 조사하였다.

### 폴리아민 분석

세균에 존재하는 putrescine과 spermidine 및 spermine의 함량은 Sciler (1983)의 방법을 변형한 엄 등 (1990)의 방법을 사용하여 측정하였다. 즉, 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5)로 세척한 세균을 초음파로 분쇄한 후 5% HClO<sub>4</sub>를 처리하여 원심분리 (15,000 ×g/30분/4°C)한 다음, 상등액을 모아 빛이 차단된 곳에서 dansyl chloride를 처리하였다. 세포추출액속에 형성된 dansyl 유도체는 benzene으로 추출, silica gel plate 상에서 chloroform과 triethylamine의 혼합용액 (100:9)으로 전개한 다음, 자외선 아래서 표준시료의 위치와 비교하여 끓여낸 후 ethyl acetate로 용출하여 형광분석분석기 (Hitachi F-2000)로 형광강도를 측정 (excitation:350 nm, emission:500 nm)하여 산출하였다. 그리고 세포추출액속의 단백질 양은 bovine serum albumin을 표준시료로 하여 Lowry등

**Table 1.** Effect of methanol concentration on the polyamine content in *M. extorquens* AM1<sup>a</sup>

Methanol concentration (% v/v)	Growth phase	Polyamines (μM/mg protein)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
0.5	ME <sup>b</sup>	28.3	278.3	19.5
	ES <sup>c</sup>	24.3	276.4	31.0
	MS <sup>d</sup>	23.0	201.5	27.3
	LS <sup>e</sup>	12.1	187.6	34.0
2.5	ME	33.6	191.0	21.5
	ES	24.6	175.0	10.5
	MS	33.4	169.8	13.7
	LS	22.2	137.0	8.4

<sup>a</sup>Cells were cultivated at 30°C in mineral media (pH 7.0) of Kim and Hegeman (1981) supplemented with different concentrations of methanol. The media were agitated at 200 rpm.

<sup>b</sup>Mid-exponential. <sup>c</sup>Early stationary. <sup>d</sup>Mid-stationary. <sup>e</sup>Late stationary.

(1951)의 방법으로 결정하였다.

## 결과 및 고찰

### 성장속도와 폴리아민 구성에 미치는 메탄올 농도의 영향

*M. extorquens* AM1을 서로다른 농도의 메탄올을 기질로 하여 pH 7.0과 30°C에서 200 rpm의 속도로 진탕배양하였을 때, 메탄올의 농도가 4.0% (v/v)일때는 거의 성장을 하지 않았으며 0.5% (v/v)와 2.5% (v/v)에서의 doubling time은 각각 6시간과 8시간이었고 정체기에서의 흡광도는 모두 2.0이었다. 그리고 모든 배양조건에서 성장한 세균들로부터 spermidine이 putrescine이나 spermine보다 평균 3-10배 많이 존재하는 것을 발견하였고, 0.5% (v/v) 메탄올이 함유된 배지에서 성장한 세균은 모든 성장 시기에서 2.5% (v/v) 메탄올이 함유된 배지에서 성장한 세균보다 더 많은 spermidine을 축적하였음은 물론 정체기에서는 spermine도 더 많이 축적하였으나 putrescine은 상대적으로 약간 적게 축적하는 것으로 나타났다 (Table 1).

이와같은 사실은 *M. extorquens* AM1이 최소배지에서 성장할 때 putrescine과 spermidine이 이 세균의 성장과 관계된 생리현상에 밀접히 연관되어 있을 것이라고한 엄 등 (1990)의 결과를 뒷받침해주는 것으로, spermidine은 메탄올을 이용한 성장에 직접적인 영향을 주며, putrescine은 이 세균의 메탄올 독성에 대한 저항성을 높여주는 것으로 짐작된다. 그리고 spermine은 메탄올 농도가 높은 환경에서 성장하는 세균이 정체기에 있을 때에 적게 생산되는 것으로 보아 성장후기에서 세균의 생명유지와 관련된 일련의 생리현상에 관여할 것으로 추측되는 데, 2.5% (v/v) 메탄올 농도에서 성장한 세균의 최종 흡광도가

**Table 2.** Effect of pH on the polyamine content in *M. extorquens* AM1 growing on methanol<sup>a</sup>

pH	Growth phase	Polyamines ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
6.0	ME <sup>b</sup>	22.5	255.5	25.8
	ES <sup>c</sup>	16.5	155.0	26.4
	MS <sup>d</sup>	15.5	134.0	18.3
	LS <sup>e</sup>	13.0	144.5	20.1
7.0	ME	28.3	278.3	19.5
	ES	24.3	276.4	31.0
	MS	23.0	201.5	27.3
	LS	12.1	187.6	34.0
8.0	ME	29.5	175.0	28.5
	ES	18.5	140.5	31.2
	MS	15.5	159.5	20.8
	LS	17.0	123.5	24.7

<sup>a</sup>Cells were grown at 30°C in mineral media of different pHs supplemented with 0.5% (v/v) methanol. The media were agitated at 200 rpm.

<sup>b</sup>Mid-exponential. <sup>c</sup>Early stationary. <sup>d</sup>Mid-stationary. <sup>e</sup>Late stationary.

0.5% (v/v) 메탄올을 이용하여 성장한 세균의 흡광도와 동일한 것으로 보아 생체내의 다른 물질이 생명유지와 관련된 spermine의 역할을 대신 해 줄 수 있음을 암시한다.

#### 성장속도와 폴리아민 구성에 미치는 수소이온 농도의 영향

*M. extorquens* AM1을 30°C에서 0.5% (v/v) 메탄올이 포함된 서로 다른 수소이온 농도의 배지에서 200 rpm의 진탕속도로 배양하였을 때 pH 5.0과 9.0에서는 성장하지 않았고, pH 6.0과 7.0 및 8.0에서의 doubling time은 각각 7.0시간과 6시간 및 7.3시간으로 나타났으며 정체기에서의 흡광도는 모두 2.0이었다. 이 경우에도 모든 세균에서 spermidine이 가장 많았으며, pH 7.0에서 성장한 세균은 모든 성장시기에서 pH 6.0이나 8.0에서 성장한 세균보다 더 많은 spermidine을 함유하였고, 정체기 초기 및 중기에서는 putrescine도 더 많이 함유하였다 (Table 2).

이 결과는 메탄올 농도에 따른 세균의 성장속도와 폴리아민의 함량분석 결과에서 나타난 것과 같이 *M. extorquens* AM1의 메탄올을 이용한 성장에 spermidine이 긍정적인 조절양상을 나타내고, putrescine은 성장후기에서 세균의 생명유지와 관련된 생리현상에도 관련되어 있을 것으로 추측되며, 서로 다른 pH에서 성장한 세균의 최종 흡광도가 동일한 것으로 보아 putrescine의 이와 같은 역할은 세포내에 존재하는 다른 물질에 의해서도 수행될 수 있음을 짐작케 한다.

*E. coli*의 경우에는 중성 pH 및 최소배지에서 성장할 때는 putrescine과 spermidine의 합성을 위한 ornithine decarboxylase의 활성이 낮으나 (Morris와

**Table 3.** Effect of agitation speed on the polyamine content in *M. extorquens* AM1 growing on methanol<sup>a</sup>

Agitation speed (rpm)	Growth phase	Polyamines ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
200	ME <sup>b</sup>	28.3	278.3	19.5
	ES <sup>c</sup>	24.3	276.4	31.0
	MS <sup>d</sup>	23.0	201.5	27.3
	LS <sup>e</sup>	12.1	187.6	34.0
100	ME	32.9	123.7	20.1
	ES	23.0	112.2	14.6
	MS	22.8	65.8	13.9
	LS	9.9	62.4	14.1

<sup>a</sup>Cells were grown at 30°C in mineral media (pH 7.0) supplemented with 0.5% (v/v) methanol. The media were agitated at different speeds.

<sup>b</sup>Mid-exponential. <sup>c</sup>Early stationary. <sup>d</sup>Mid-stationary. <sup>e</sup>Late stationary.

Pardee, 1965와 1966) 배지내의 pH를 낮춰 주변 ornithine decarboxylase의 활성이 높아지는 것으로 알려져 있는데 (Applebaum 등, 1975), 이와같은 현상은 낮은 pH 환경에 대한 세균자체의 방어기작의 일환으로 생각되었다 (Cataldi 와 Algranati, 1986). 그러나 본 연구에서는 배양액의 pH가 5.0이하에서 *M. extorquens* AM1이 성장하지 않았음은 물론, pH 6.0보다 pH 7.0인 조건에서 spermidine과 putrescine이 더 많이 축적되는 것으로 나타났다. 이는 *M. extorquens* AM1에서는 putrescine과 spermidine의 합성이 세균에서 많이 알려진 ornithine decarboxylase를 통해 합성되는 것이 아니라 *Bacillus alcalophilus* (Chen과 Cheng, 1988)의 경우처럼 arginine decarboxylase를 통한 과정을 거쳐 합성되고 있을 가능성을 암시한다.

#### 성장속도와 폴리아민 구성에 미치는 진탕속도의 영향

0.5% (v/v)의 메탄올이 포함된 염류배지 (pH 7.0)에 *M. extorquens* AM1를 접종하여 30°C에서 서로 다른 속도로 진탕배양하였을 때, 100 rpm과 200 rpm에서 doubling time은 각각 8.8시간과 6시간이었고, 정체기에서의 흡광도는 각각 2.0과 1.5이었다. 그리고 200 rpm의 속도로 진탕배양한 세균의 경우 100 rpm에서 성장한 세균보다 2배 이상의 spermine을 함유하고 있었고, 정체기의 세포는 spermine도 2배 정도 함유하고 있었다 (Table 3).

이 결과는 *M. extorquens* AM1의 성장이 spermidine에 의해 촉진됨을 재확인하는 한편, 배지내의 용존산소의 양이 spermidine의 생합성은 물론 정체기에 있는 세포내의 spermine의 생합성에도 긍정적인 조절양상을 나타내고 spermine의 함유량이 적으면 세포의 성장이 초기에 멈추게 됨을 암시해 주고 있다.

**Table 4.** Effect of temperature on the polyamine content in *M. extorquens* AM1 growing on methanol<sup>a</sup>

Cultivation temperature (°C)	Growth phase	Polyamines ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein)		
		Putrescine	Spermidine	Spermine
30	ME <sup>b</sup>	28.3	278.3	19.5
	ES <sup>c</sup>	24.3	276.4	31.0
	MS <sup>d</sup>	23.0	201.5	27.3
	LS <sup>e</sup>	12.1	187.6	34.0
20	ME	39.6	183.2	35.4
	ES	29.2	149.7	31.2
	MS	26.4	149.3	22.9
	LS	23.9	127.0	16.7

<sup>a</sup>Cells were grown at different temperatures in mineral media (pH 7.0) supplemented with 0.5% (v/v) methanol. The media were agitated at 200 rpm.

<sup>b</sup>Mid-exponential. <sup>c</sup>Early stationary. <sup>d</sup>Mid-stationary.

<sup>e</sup>Late stationary.

### 성장속도와 폴리아민 구성에 미치는 배양온도의 영향

*M. extorquens* AM1을 0.5% (v/v) 메탄올이 포함된 배지 (pH 7.0)에 접종하여 다양한 온도에서 200 rpm의 속도로 진탕배양하였을 때, 40°C에서는 전혀 성장하지 않았으며 20°C와 30°C에서의 doubling time은 각각 8시간과 6시간이었고 정제기에서는 흡광도는 모두 2.0이었다. 그리고 20°C에서 성장하는 세균은 30°C에서 성장한 세균보다 putrescine을 약간 더 함유한 반면, spermidine은 적게 가지고 있었다

(Table 4).

이 결과는 앞의 다른 결과들과 함께 메탄올을 이용하여 성장하는 *M. extorquens* AM1에서 spermidine이 성장촉진 효과를 나타내고 있음을 다시 한번 확인해 주었다.

호열성 세균에는 여러가지 특이한 폴리아민 유도체들이 존재하여 이들 세균의 열안정성에 깊이 관여하고 있는 것으로 보고되었다 (De Rosa 등, 1976; Oshima, 1975와 1979; Oshima와 Baba, 1981). 그러나 mesophilic한 세균들은 주된 폴리아민으로 putrescine과 spermidine만 가지고 있는 것이 일반적이기 때문에 (Pösö 등, 1976; Tabor와 Tabor, 1976) 이들이 온도변화에 적응할 수 있는 능력을 부여할 것으로 추측되는데, *M. extorquens* AM1의 경우에는 putrescine이 최적성장온도 이하에서 성장하는 세균의 저온에 대한 저항성도 부여하고 있는 것으로 짐작된다.

이상의 모든 결과들은 종합해 볼 때 메탄올을 유일한 에너지 및 탄소원으로 이용하여 성장하고 있는 *M. extorquens* AM1에서 spermidine은 세균의 성장속도와 밀접한 관계에 있고, putrescine은 메탄올의 독성과 저온에 대한 저항성을 부여하며, spermine은 세균의 성장을 지속시켜 최종균체 생산량을 높여주는데, 이와 같은 각 폴리아민의 역할은 다른 폴리아민들에 의해 대신 수행될 수 없는 것으로 추측된다. 그리고 putrescine과 spermine은 성장후반기에 있는 이 세균의 생명유지와 관련된 생리현상에도 영향을 미치고 있는데, 이와 같은 역할은 서로 다른 폴리아민에 의해 상호보완될 수 있는 것으로 짐작된다.

## 적 요

메탄올을 유일한 에너지 및 탄소원으로 이용하여 성장하는 *Methylobacterium extorquens* AM1은 30°C에서 0.5% (v/v)의 메탄올이 포함된 영양배지 (pH 7.0)에서 200 rpm의 속도로 진탕배양할 때 가장 빠르게 성장하였다 (최적배양조건,  $t_d=6$  h). 최적배양조건에서 성장한 세균은 모든 성장시기에서 2.5% (v/v)의 메탄올이 포함된 배지에서 성장한 세균 ( $t_d=8$  h)이나 20°C에서 성장한 세균 ( $t_d=8$  h)보다 더 많은 spermidine을 함유하였으나 putrescine의 양은 적었다. 최적배양조건에서 성장한 세균은 또한 pH 6.0 ( $t_d=7$  h)과 8.0 ( $t_d=7.3$  h)에서 성장한 세균보다 더 많은 spermidine을 함유하였다. 정제기에서는 최적배양조건에서 성장하는 세균이 2.5% (v/v)의 메탄올이 포함된 배지에서 성장하는 세균보다 spermidine도 더 많이 함유하였고, pH 6.0과 pH 8.0에서 성장하는 세균보다는 putrescine도 더 많이 함유하였다. 최적배양조건에서 성장한 세균은 100 rpm의 속도로 진탕배양한 세균 ( $t_d=8.8$  h)보다 더 많은 최종균체생산량을 보였고 spermidine과 spermine도 더 많이 함유하고 있었다.

## 사 사

본 연구는 1990년도 교육부 기초과학연구소 학술연구조성비에 의해 수행된 것 입니다.

## 참 고 문 헌

1. 엄치용, 이순희, 김영민, 1990. 생이한 에너지원을 이용하여 성장한 *Methylobacterium extorquens* AM1 내의 폴리아민. 한국미생물학회지 28, 290-296.
2. Anthony, C., 1982. The biochemistry of methyloprophs. Academic Press.
3. Anthony, C., 1986. Bacterial oxidation of methane and methanol. *Adv. Microbial Physiol.* 27, 113-120.
4. Applebaum, D., D.L. Sabo, E.H. Fischer and D.R. Morris, 1975. Biodegradative ornithine decarboxylase of *Escherichia coli*. Purification, properties, and pyridoxal 5'-phosphate binding site. *Biochemistry.* 14, 3675-3681.
5. Cataldi, A.A., and I.D. Agriganti, 1986. A probable

- new pathway for the biosynthesis of putrescine in *Escherichia coli*. *Biochem. J.* **234**, 617-622.
6. **Chen, K.Y., and S. Cheng, 1988.** Polyamine metabolism in an obligately alkalophilic *Bacillus alkalophilus* that grows at pH 11.0. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **150**, 185-191.
  7. **De Rosa, M., S. De Rosa, and A. Gambacorta, 1976.** Occurrence and characterization of new polyamine in the extreme thermophile *Caldariella acidophila*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **69**, 253-261.
  8. **Hamana, K., and S. Matsuzaki, 1990a.** Five types of polyamine distribution patterns in thiobacilli. *FEMS Microbiol. Lett.* **70**, 347-352.
  9. **Hamana, K., and S. Matsuzaki, 1990b.** Polyamines of carbon monoxide-utilizing bacteria. *Pseudomonas thermocarboxydovorans* and *Pseudomonas carboxydohydrogena*. *FEMS Microbiol. Lett.* **70**, 353-356.
  10. **Hamana, K., S. Matsuzaki, M. Niitsu, and K. Samejima, 1989.** Polyamine distribution and the potential to form novel polyamines in phytopathogenic agrobacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* **65**, 269-274.
  11. **Hamana, K., S. Matsuzaki, M. Niitsu, and K. Samejima, 1990a.** Synthesis of novel polyamines in *Paracoccus*, *Rhodobacter*, and *Micrococcus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **67**, 267-274.
  12. **Hamana, K., K. Minamisawa, and S. Matsuzaki, 1990b.** Polyamines in *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, and *Agrobacterium*. *FEMS Microbiol. Lett.* **71**, 71-76.
  13. **Kim, Y.M. and G.D. Hegeman, 1981.** Purification and some properties of carbon monoxide dehydrogenase from *Pseudomonas carboxydohydrogena*. *J. Bacteriol.*, **148**, 904-911.
  14. **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.
  15. **Morris, D.R. and A.B. Pardee, 1965.** A biosynthetic ornithine decarboxylase in *Escherichia coli*. *Biophys. Res. Commun.*, **20**, 697-702.
  16. **Morris, D.R. and A.B. Pardee, 1966.** Multiple pathways of putrescine biosynthesis in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, **241**, 3129-3135.
  17. **Oshima, T., 1975.** Thermine: A new polyamine from an extreme thermophile. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **63**, 1093-1098.
  18. **Oshima, T., 1979.** A new polyamine. thermospermine. 1, 12-diamino-4,8-diazadodecane, from an extreme thermophile. *J. Biol. Chem.*, **25**, 8720-8722.
  19. **Oshima, T. and M. Baba, 1981.** Occurrence of sym-homospermidine in extremely thermophilic bacteria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **103**, 156-160.
  20. **Pösö, H., P. Hannonen, J.-J. Himberg, and J. Jänne, 1976.** Adenosylmethionine decarboxylase from various organisms: Relation of the putrescine activation of the enzyme to the ability of the organism to synthesize spermine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **68**, 227-234.
  21. **Seiler, N., 1983.** Liquid chromatographic methods for assaying polyamines using prechromatographic derivatization. *Methods Enzymol.*, **94**, 10-25.
  22. **Tabor, C.W. and H. Tabor, 1976.** 1,4-diaminobutane (putrescine), spermidine, and spermine. *Annu. Rev. Biochem.*, **45**, 285-306.
  23. **Tabor, C.W. and H. Tabor, 1984.** Polyamine. *Ann. Rev. Biochem.*, **53**, 749-790.
  24. **Tabor, C.W. and H. Tabor, 1985.** Polyamines in microorganisms. *Microbiol. Rev.*, **49**, 81-99.
  25. **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.
  26. **Tabor, H., S.M. Rosenthal, and C.W. Tabor, 1958.** The biosynthesis of spermidine and spermine from putrescine and methione. *J. Biol. Chem.*, **233**, 907-914.

(Received November 27, 1991)

(Accepted December 17, 1991)