

**Lactobacillus casei bacteriophage의 분류 및 특성에 관한 연구****— Phage DNA의 제한효소 절편 비교 분석 —**

金永昌 · 姜炫三\*

忠北大学校 生物学科 · \*서울大学校 微生物学科

**Classification and Characterization of Bacteriophages of  
Lactobacillus casei****— Analysis of Restriction Patterns of Phage DNA —**

Kim, Young-Chang and Hyen-Sam Kang\*

Department of Biology, Chungbuk National University,

\*Department of Microbiology, Seoul National University

Five representative virulent phages (J1, TK93, K1, PD5, and CP1) and one temperate phage ( $\phi$ 1043) of *Lactobacillus casei* were compared to each other by analyzing the agarose gel electrophoretic patterns of restriction enzyme-digested phage DNAs. Nucleic acids of all the tested phages were double stranded DNA. DNAs of J1, TK93, K1, and  $\phi$ 1043 phages had a size of about 42kb, but the size of PD5 and CP1 DNAs was about 140kb. J1, TK93, K1, PD5, CP1, and  $\phi$ 1043 DNAs were digested to 13, 13, 11, 14, 14, and 12 fragments by *Eco*R1, respectively, and showed its characteristic restriction patterns. Cohesive ends were present in J1, TK93, and  $\phi$ 1043, but were absent in K1, PD5, and CP1. Restriction maps of J1 and TK93 DNAs showed nearly complete homology and their evolutionary relationship based upon the restriction analysis was discussed.

최근 DNA의 제한효소 분석과 DNA-DNA hybridization을 이용한 상동성 분석을 통하여 세균, virus 및 plasmid 상호간의 유연관계를 밝히고자 하는 시도가 많이 이루어지고 있다 (Capage et al., 1982; Johnson et al., 1980; Labigne-Roussel et al., 1982; Jarvis, 1984). Kim 등 (1979)은 *Lactobacillus casei*에 감염하는 독성 (virulent) phage를 숙주역과 형태학적 특성에 의해서 7개의 군으로 분류 보고한 바 있다. 따라서 핵산의 구조적 특성을 서로 비교 조사함으로써 기분류 방법의 타당성과 각 군간의 유연관계를 검토해 보는 의미있는 과제가 아닐 수 없다. 또한 감수성균이 없기 때문에 제

반 특성을 조사 분류하지 못한 용원 (temperate) phage들도 핵산의 특성을 비교 검토함으로써 용원 phage간의, 혹은 독성 phage와 용원 phage간의 유연관계를 밝힐 수도 있을 것이다. 본 연구에서는 이러한 관점에서 우선 각 군을 대표하는 5종의 독성 phage와 1종의 용원 phage로부터 핵산을 추출하여 각종 제한효소로 절단한 DNA 절편을 비교 분석하였다.

**재료 및 방법****Phage 및 숙주균**

*L. casei* phage J1, TK93, K1, PD5와 CP1을 각각 PLC-B1, B3, B4, B5, C1형의 독

상 phage를 대표하여 사용하였으며 용원 phage로는 용원균 IAM 1043으로부터 mitomycin C (M. C.)로 유발시켜 얻은  $\phi$ 1043을 사용하였다. PLC-B형 phage의 숙주균으로는 *L. casei* S-1을, PLC-C형 phage의 숙주균으로는 *L. casei* IAM1045를 사용하였다.

### Phage DNA의 분리정제

Phage를 증식시키기 위한 MRT배지의 조성, 숙주균의 배양조건, phage의 감염비율, M.C. 유발조건등은 전보(Kim et al., 1979)의 방법을 그대로 사용하였으며 CsCl gradient 원심분리법에 의한 phage의 순수분리 및 DNA의 분리정제는 Maniatis등(1982)의 방법을 사용하였다.

### 제한효소 및 반응조건

제한효소 *EcoR* I, *Hind* III, *Bam* HI, *Kpn* I, *Pst* I 과 *Sal* I 은 Bethesda Research Laboratory, Inc.로부터 구입하여 사용하였으며 이들 효소의 반응 완충용액의 조성은 제조사의 처방을 따랐다.

### Agarose gel 전기영동

Agarose는 Sigma Type I 을 사용 하였으며 전기영동 완충용액은 TBE 완충용액 (Maniatis et al., 1982)을 사용하였다. Agarose의 농도와 전기영동 조건은 각 그림에 표시된 대로 실시하였으며 전기영동 후 염색 및 사진촬영은 Kim 등(1983)의 방법대로 실시하였다. 제한효소 절편의 분자량을 측정하기 위한 표준 DNA 로는  $\lambda$ c1857 Sam 7 DNA를 *EcoR* I 또는 *EcoR* I 과 *Hind* III 로 혼합 처리하여 사용하였다 (Southern, 1979).

## 결과 및 고찰

### *EcoR* I 에 의한 각 종 phage DNA 절편의 비교

지금까지 밝혀진 *L. casei* phage의 핵산은 double stranded (ds) DNA형으로서 (Khosaka, T., 1977; Stetter et al., 1978; Watanabe et al., 1980) 본 연구에서 사용된 phage의 핵산들도 제한효소 *EcoR* I 에 의해 절단되어지는 것으로 보아 모두 ds DNA임을 알 수 있었다. 형태적으로 50nm 정도의 비슷한 크기의 두부분을 갖

고 있는 phage들(J1, TK93, K1, &  $\phi$ 1043)은 핵산의 분자량도 42kb 정도로 모두 유사하였으며 80nm 정도의 훨씬 커다란 두부를 갖고 있는 PD5와 CP1은 역시 J1 등의 핵산보다 훨씬크며 서로 비슷한 분자량(약 140kb)을 나타내었다(Table 1). Khosaka(1977)의 J1, phage나 Stetter등(1978)과 Watanabe등(1980)의 PL-1 phage 그리고 Shimizu-Kadota와 Tsuchida(1984)의 용원 phage  $\phi$ FSW등의 핵산들도 42kb 정도의 분자량을 나타내므로 현재 까지 밝혀진 *L. casei* phage의 핵산의 크기는 42kb와 140kb 정도의 2 종류로 구분할 수 있을 것이다. Phage 상호간의 DNA의 유연성을 조사하기 위하여 우선 각각의 phage DNA를 제한효소 *EcoR* I 으로 절단하여 전기영동을 실시한 결과 각각의 phage들은 특징적인 절단양식을 보여주었다. Table 1에서 보는 바와 같이 J1과 Tk93은 13개의 절편, K1은 11개의 절편, PD5와 CP1은 14개의 절편 그리고  $\phi$ 1043은 12개

**Table 1.** List of restriction endonuclease *EcoR* I fragments of various phage DNA molecules.<sup>a</sup>

Fragment	J1	TK93	K1	PD5	CP1	$\phi$ 1043
A	9.45	8.88	12.12	25.05	21.71	8.41
B	5.10	6.30	7.42	17.09	17.99	6.65
C	4.06	5.10	6.30	15.39	17.05	5.15
D	3.71	4.87	3.30	14.47	16.49	4.20
E	3.68	3.68	3.30	13.09	14.73	3.92
F	3.66	2.65	2.99	12.20	13.39	3.82
G	2.99	2.65	2.70	9.52	11.97	2.50
H	2.65	2.39	2.02	8.60	6.67	2.39
I	2.39	1.51	0.99	8.26	6.67	1.65
J	1.51	1.42	0.82	6.62	5.00	1.52
K	1.15	1.34	0.82	4.70	4.62	1.28
L	0.77	1.15		1.90	3.05	1.15
M	0.60	0.77		1.56	1.85	
N				1.56	0.96	
Total	41.72	42.71	42.78	140.01	142.15	42.64

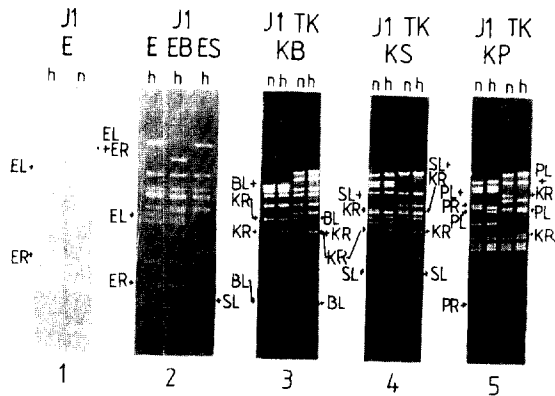
<sup>a</sup>The size of the fragments (in kb) was estimated after agarose gel electrophoresis using  $\lambda$ c1857 DNA digested by *EcoR* I or *EcoR* I + *Hind* III (Southern, 1979) as molecular size standard.

의 절편이 생기기므로 각각 3.2, 3.3, 3.9, 10.0, 10.2, 3.6kb당 1개의 *EcoR*I 인식부위가 존재하는 셈이다. 따라서 J1, Tk93, K1 및  $\phi$ 1043뿐만 아니라 Stetter등(1978)의 PL-1도 화물식인 수치(4 kb)와 유사한 값을 나타내나 PD5와 CP1은 화물식 수치와 매우 커다란 차이를 나타낸다. PD5와 CP1 DNA가 이와같이 아주 적은 빈도로 *EcoR*I 인식부위를 갖는 것이 과연 진화학적으로 혹은 분류학적으로 어떤 의미를 갖는지는 아직 미지수이다.

*EcoR*I으로 절단한 J1 DNA 시료를 65°C에서 10분간 가열하지 않고 직접 전기영동하거나 가열 후 4°C에서 장시간 방치후 전기영동을 실시하면 작은 band 2개가(H와 K 절편) 아주 희미하게 변하며 대신 분자량이 큰 band 1개가(H+K 절편) 새로이 나타난다(Fig. 1-1). 이는 J1 DNA가  $\lambda$  DNA와 같이 cohesive end를 갖고 있기 때문이다(Helling et al., 1974; Hershey et al., 1963; Khosaka, 1977). 즉 cohesive end를 포함하는 제일왼쪽절편(cosL)과 제일오른쪽 절편(cosR)에 존재하는 single strand부분이 서로 상보적이기 때문에 쉽게 결합되어 새로운 cosL+cosR 절편이 생기는 것이다. J1 외에 Tk93(F와 L 절편)과  $\phi$ 1043(G와 L 절편)도 cohesive end를 갖고 있었으나 K1, PD5 및 CP1에서는 발견할 수 없었다. K1, PD5 및 CP1 DNA는 원형으로 존재해서 끝이 없을 가능성과 선상으로 존재하지만 blunt end를 갖고 있을 가능성이 있다. 만약에 후자의 경우라면 끝부분의 형태가 *L. casei* S-1의 용원 phage  $\phi$ FSW(Shimizu-Kadota와 Tsuchida, 1984)와 같이 circularly permuted, terminally redundant한 것일지 앞으로 밝혀져야 할 것이다.

**Cohesive end부위의 제한효소 인식부위결정**

J1과 TK93 DNA에 대한 *EcoR*I 절단 양식을 비교해 보면 13개의 절편 중 7개의 분자량이 같을 뿐만 아니라 cohesive end를 포함하는 *EcoR*I의 절편의 크기도 같았기 때문에 이들 phage 사이의 유연관계를 밝히기 위하여 우선 cohesive end부위의 제한효소 인식부위를 알아 보았다. 편의상 cohesive end를 포함하는 *Eco*

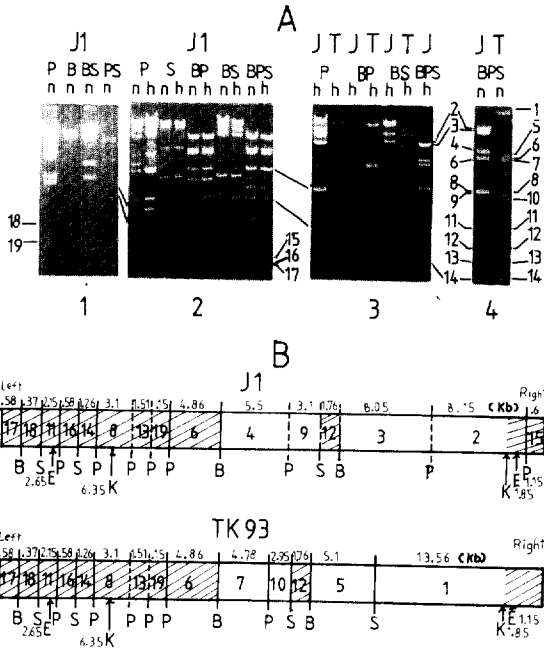


**Fig. 1.** Analysis of restriction enzyme recognition sites on the cohesive end region of J1 and TK93 DNAs. The gel (0.7%) was run at 50V for 3hrs (1), 50V for 4hrs (2), and 100V for 2hrs (3, 4 and 5). Samples of lane h were heated 10 min to 65°C and quenched on ice before loading onto the gels. Samples of lane n were not heated to detect the cosL+cosR fragment joined by sticky ends. The following abbreviations were used: TK, TK93; E, *EcoR*I; B, *Bam*HI; S, *Sal*I; P, *Pst*I; K, *Kpn*I; EB, *EcoR*I + *Bam*HI double digestion; EL, *EcoR*I digested left cohesive end fragment; ER, *EcoR*I digested right cohesive end fragment. For the restriction enzyme sites on the cohesive end region, see Fig. 2B.

*R*I 절편 중 분자량이 큰 H 절편(EL)을 왼쪽 끝에 놓고 분자량이 작은 K 절편(ER)을 오른쪽 끝에 놓기로 하였다(Fig. 1-1와 2B).

*Bam*HI으로 절단한 경우는 J1과 TK93 모두 4개의 절편이 나타났으나 cos 절편은 하나밖에 검출할 수 없었다. 즉 0.58kb의 *Bam*HI-D 절편은 cos 절편으로 분명하게 확인되었으나 다른 한쪽 끝의 절편은 구분이 되지 않았다. 이것은 이 절편이 매우 크기 때문에 gel 상에서 cosL+cosR 절편과 구분이 되지 않기 때문인 것으로 사료된다. 0.58kb의 *Bam*HI-D 절편이 선상 DNA의 왼쪽 끝에 존재하는지 아니면 오른쪽 끝에 존재하는지를 알아보기 위하여 J1 DNA를 *EcoR*I과 *Bam*HI으로 동시에 처리하였다. Fig. 1-2에서 보는 바와 같이 *EcoR*I 절편 중 cosL(EL) 절편은 *Bam*HI에 의해 절단되나 cosR(ER) 절편은 절단되지 않았다. 이것은 0.58kb의 *Bam*HI-D 절편이 왼쪽 끝에 존재함을 뜻하는 것이며 또한 오른쪽 절편은 매우 크다는 앞서의 결론을 뒷받침해 주는 것이다.

*Sal*I은 J1과 TK93 DNA를 각각 4개와



**Fig. 2.** A) Restriction analysis of J1 and TK93 phage DNAs. The 0.7% agarose gel was run at 100V for hrs (1), for 2 hrs (2), for 3hrs (3), & for 4 hrs (4). Triple (BPS) digest fragments are identified by numbers assigned according to size with number 1 being the largest. 16, 17, 18, and 19 fragments of TK93 were not shown. B) Restriction maps of J1 and TK93 DNAs. The following abbreviations were used: J, J1; T, TK93; For others, see the legend to Fig. 1. Dashed vertical line indicated uncertain but highly expected restriction sites. Hatched region showed homologous region between J1 and TK93 DNAs.

5 개로 절단하였다. *Bam*H I의 경우와 마찬가지로 *Sal*I의 경우도 0.95kb의 한쪽 끝 cos 절편은 확인되었으나 다른 한쪽 끝의 cos 절편은 구분할 수 없었다. J1 DNA를 *Eco*R I과 *Sal*I로 동시에 처리한 결과 EL 절편은 *Sal*I에 의해 절단되나 ER 절편은 절단되지 않았다(Fig. 1-2). 이것은 0.95kb의 *Sal*I 절편이 왼쪽 끝에 존재함을 의미하며 오른쪽 절편은 매우 크다는 것을 시사해 준다.

*Kpn*I은 J1과 TK93 DNA를 각각 8개와 5개 로 절단하나 둘다 6.35kb와 1.85kb의 cos 절편을 보여 주었다. J1과 TK93 DNA를 *Kpn*I과 *Bam*H I, *Kpn*I과 *Sal*I로 혼합처리 하였을 경우(Fig. 1-3, 4 & 5) 6.35kb의 cos 절편은 모두 없어졌으나 1.85kb의 cos 절편은 그대로 존재하였다. 따라서 6.35kb의 cos 절편

(KL)이 왼쪽 끝에 존재하고 1.85kb의 cos 절편 (KR)이 오른쪽 끝에 존재함을 알 수 있었다.

J1과 TK93 DNA를 *Pst*I로 절단하면 각각 9개와 7개의 절편이 나타난다. J1의 경우는 3.1kb와 0.6kb의 cos 절편이 둘 다 검출되었으나 TK93의 경우에는 3.1kb의 한쪽 cos 절편만을 확인 할 수 있었다. 따라서 다른 하나의 cos 절편은 매우 큰 것으로 사료된다. J1과 TK93 DNA를 *Pst*I과 *Kpn*I로 동시에 처리하면 J1과 TK93 공히 *Pst*I 절편 중 3.1kb의 cos 절편(PL)이 그대로 존재하였다. 따라서 이 절편이 왼쪽 끝에 존재함을 알 수 있었다. 만약 오른쪽 끝에 존재한다면 *Kpn*I에 의해 절단되어 1.85kb의 KR 절편이 생성되어야 하기 때문이다. J1의 경우에는 1.85kb의 KR 절편이 *Pst*I에 의해 1.25kb의 *Pst*I-*Kpn*I (PK) 절편과 0.6kb의 PR 절편으로 절단되었으나 TK93의 경우에는 KR 절편이 *Pst*I에 의해 절단되지 않으므로 J1과 달리 TK93은 오른쪽 끝에서 부터 0.6kb 위치에 *Pst*I 인식부위가 존재하지 않으며 PR 절편이 매우 크다는 앞서의 결론을 뒷받침해 준다.

**J1과 TK93의 제한효소지도 작성 및 비교**

Fig. 2에서 보는 바와 같이 J1 DNA에 *Bam*H I, *Pst*I 및 *Sal*I (BPS)을 동시에 처리하면 8.15(2), 7.96(3), 5.5(4), 4.86(6), 3.1(8), 3.1(9), 2.15(11), 1.76(12), 1.51(13), 1.26(14), 0.6(15), 0.58(16), 0.58(17), 0.37(18), 0.15kb(19) 등 15개의 절편이 생기는데 이 중에서 제일 왼쪽 절편은 앞서 살펴 보았듯이 BL 절편으로서 17에 해당되며 제일 오른쪽 절편은 PR 절편으로서 15에 해당된다. 위 15개의 절편 중 양쪽 끝이 모두 *Pst*I에 의해 절단된 PP 절편은 *Bam*H I과 *Sal*I 인식부위가 없으므로 BPS, PS, BP, P lane에 공히 나타난다. 한쪽 끝은 *Bam*H I으로 다른 한쪽 끝은 *Pst*I로 절단된 BP 절편은 *Sal*I 인식부위가 없으므로 BPS, BP lane에만 나타난다. 같은 원리로 PS 절편은 BPS, PS lane에만 나타나며, BS 절편은 BPS, BS lane에만 나타난다. BPS, BP, BS, PS, B, P, S, lane을 비교한 결과 2, 8, 13, 19는 PP, 3, 4, 6은 BP, 9, 11, 14, 16은 PS, 12, 18은 BS

질편임을 확인하였다. 0.95kb의 SL 질편에는 *Bam*H I 인식부위가 왼쪽 끝에서 0.58kb 위치에 존재하며 *Pst*I 인식부위는 없기 때문에 SL 질편은 S lane (D 질편)과 PS lane (I 질편)에만 나타나며 *Bam*H I에 의해 0.58kb의 BL 질편과 0.37kb의 BS 질편이 생기게 되므로 이 두 질편은 BS lane (F+G)와 BPS (17, 18)에 공히 나타나게 된다. 따라서 SL=17+18임이 확인되었다. BP lane에는 모두 12개의 질편이 나타나는데 (전기 영동 사진에서 첫번째 band와 세번째 band는 실제로 각각 2개의 band이다.) A, B, C, D, F, I, J, K, L 질편은 각각 2, 3, 4, 6, 8, 13, 15, 17, 19에 해당된다. BPS lane의 9 (3.1kb, PS 질편)는 BP lane에는 없으므로 이보다 큰 BP-A, B, C, D, E 질편 중 하나가 *Sal*I로 절단되어 생긴 것으로서 A, B, C, D 질편은 2, 3, 4, 6에 해당함으로 E 질편이 잘린 것이다. E 질편 (4.86kb)은 BP lane에만 존재하므로 BP 질편이고 BPS lane에서는 *Sal*I에 의해 PS 질편 (9, 3.1kb)과 BS 질편 (12, 1.76kb)으로 잘리게 된다. 따라서 BP-E=9+12임이 확인되었다. BPS lane의 11 (2.15kb, PS)은 BP lane에는 없으므로 이보다 큰 BP-F 또는 BP-G 질편 중의 하나가 *Sal*I로 절단되어 생긴 것으로서 F 질편은 8에 해당함으로 G 질편이 잘린 것이다. BP-G 질편 (2.52kb)은 B, P lane에서는 나타나 있지 않으므로 BP 질편이고 *Sal*I에 의해 PS 질편 (11, 2.15kb)과 BS 질편 (18, 0.37kb)으로 잘리게 된다. 따라서 BP-G=11+18임이 확인되었다. BPS lane의 14 (1.26kb, PS)는 BP lane에는 없으므로 이보다 큰 BP-H, I 질편 중의 하나로 부터 생긴 것으로서 I 질편은 13에 해당함으로 H 질편이 절단된 것이다. BP-H 질편 (1.84kb)은 P lane에도 나타나므로 PP 질편으로서 PS (14, 1.26kb)와 PS (16, 0.58kb)로 절단된다. 따라서 BP-H=14+16임이 확인되었다. BS-D 질편 (2.73kb)은 S lane에도 나타나므로 SS 질편으로서 *Pst*I에 의해 2개의 PS 질편 (혹은 2개의 PS 질편과 가운데 PP 질편)으로 잘리게 되는데 11 (2.15kb), 14 (1.26kb), 16 (0.58kb)의 PS 질편 중에서 크기로 보아 BS-D=11+16인 것

로 사료된다. 11+14는 3.41kb로 너무 크며 14+16은 1.84kb로 크기가 작을 뿐만 아니라 이것은 이미 BP-H 질편으로 확인된 바 있기 때문이다.

이상의 결과로부터 Fig. 2 B에 나타나 있는 바와 같이 왼쪽 끝에서부터 17, 18, 11, 16, 14의 순서로 배열되어 있으며 9, 12가 함께 인접하여 중앙 부위에 그리고 15가 오른쪽 끝에 존재함을 알 수 있었다.

TK93 DNA에 BPS를 동시에 처리하면 13.56 (1), 5.1 (5), 4.86 (6), 4.78 (7), 3.1 (8), 2.95 (10), 2.15 (11), 1.76 (12), 1.51 (13), 1.26 (14), 0.58 (16), 0.58 (17), 0.37 (18), 0.15 kb (19) 등 14개의 질편이 생기는데 1은 S, BS, PS, BPS lane 공히 나타나므로 SS 또는 SR 질편 5는 BS 질편 7은 BP 질편 10은 PS 질편이며 나머지는 J1과 같다. 오른쪽 끝에 나타날 수 있는 질편은 1 (SS), 8 (PP), 13 (PP), 19 (PP) 중의 하나로서 J1에서 확인되었듯이 TK93에서는 8, 13, 19는 내부에 존재하는 질편임으로 1은 SR 질편임을 알 수 있다. 또한 *Sal*I 인식부위는 4군데이므로 전체 BPS 질편 중에서 8개의 S가 나타나야 하나 이미 5 (BS), 10 (PS), 11 (PS), 12 (BS), 14 (PS), 16 (PS), 18 (BS)에서 7개의 S가 나타났으므로 1은 SR 질편이어야만 한다. J1에서 확인되었듯이 SL=17+18 BP-G=14+16, BP-F=11+18, BS-E=11+16이며 BP-D 질편은 *Sal*I에 의해 10 (PS)과 12 (BS)로 절단되며 BP-A 질편은 *Sal*I에 의해 1 (SR)과 5 (BS)로 절단된다.

PS lane과 BPS lane을 비교해 보면 PS-B (PP) = 6 (BP) + 7 (BP)이며 PS-C (SS) = 5 (BS) + 12 (BS)이다. 이상의 결과로부터 Fig. 2 B에서 보는 바와 같이 왼쪽 끝에서부터 17, 18, 11, 16, 14의 순서대로 오른쪽 끝에서부터 1, 5, 12, 10의 순서대로 배열되어 있음을 알 수 있다. 중앙 부위에 있는 6 (4.86kb)과 7 (4.78kb)은 인접되어 있는 질편이나 그 크기가 매우 유사하여 상대적인 위치를 결정할 수는 없었으나 6 (4.86kb)이 J1과 TK93 공히 나타난다는 사실에 근거하여 6이 왼쪽에 위치할 것으로 추정하였으며 이때 *Bam*H I 질편의

크기로 보아 8 (3.1kb, PP) 과 13 (1.51kb, PP) 그리고 19 (0.15kb, PP) 는 6 의 왼쪽에 위치하는 것으로 사료되나 상대적인 위치는 알 수 없었다. 특히 19는 크기가 매우 작으므로 그 위치는 다른 *Pst* I site 의 옆에 존재할지도 모른다. 특정 절편만을 회수하여 제한효소를 처리 분석한다면 이를 정확히 밝힐 수 있을 것이다.

J1 의 중앙부위의 제한효소 지도는 TK93 의 제한효소 지도와 공통으로 나타나는 12 (BS) 절편을 같은 위치에 존재한다고 가정하여 작성되었으며 예상되는 B, P, S 절편과 잘 일치함을 볼 수 있었다. Genome 의 크기, cohesive end 의 유무, *Eco*R I 절단양식 등을 비교해 보면 각 phage 들 사이에는 뚜렷한 차이가 나타나나 각

분류군에 속하는 다른 phage 들도 이들과 동일한 혹은 아주 유사한 특성을 나타내는 것으로 밝혀야 할 것이다. 이들 중에서 J1 과 TK93 은 숙주의 R-variant 에 대한 흡착 여부 외에는 세반 특성이 매우 유사할 뿐만 아니라 (Kim et al., 1979) genome 의 크기, cohesive end 의 존재, 제한효소 인식부위 등 핵산의 특성도 매우 유사하여 유연관계가 매우 가까울 것으로 사료된다. 특히 양쪽 끝 16.41kb 는 거의 완벽한 homology 를 보여줄 뿐 아니라 중앙 부위에도 1.76 kb 의 SB 절편이 공히 존재한다. 따라서 중앙부위의 차이가 단지 점돌연변이에 의한 것인지 아니면 결실 또는 치환등에 의한 것인지 앞으로 연구되어야 할 것이다.

## 摘 要

*Lactobacillus casei* 에 감염하는 독성 phage 중 각 분류군을 대표하는 5 종의 phage (J1, TK93, K1, PD5 및 CP1) 와 1 종의 용원 phage ( $\phi$ 1043) 의 핵산의 특성을 비교 검토하였다. 실험한 6 종의 phage 는 모두 double stranded DNA 를 갖고 있었으며 J1, TK93, K1 및  $\phi$ 1043 DNA 의 크기는 약 42Kb, PD5 와 CP1 DNA 는 140 Kb 정도로 서로 비슷하였다. *Eco*R I 으로 절단시 J1, TK93, K1, PD5, CP1 및  $\phi$ 1043 은 각각 13, 13, 11, 14, 14 와 12 개의 절편을 갖는 특징적인 절단양식을 보여주었다. J1, TK93 및  $\phi$ 1043 DNA 에는 cohesive end 가 존재하였고 K1, PD5 및 CP1 DNA 에는 없는 것으로 사료되었다. J1 과 TK93 DNA 의 제한효소 지도를 작성하여 비교 검토하였으며 이상의 결과로부터 진화적 유연관계를 검토하였다.

## 사 사

본 연구는 1983년도 문교부 기초과학술연구 조성비의 지원으로 수행되었으며 이를 감사드립니다.

## REFERENCES

1. Capage, M.A., J.K. Goodspeed, and J.R. Scott, 1982. Incompatibility group Y member relationships: pIP 231 and plasmid prophages PI and P7. *Plasmid*, 8, 307-311.
2. Helling, R.B., H.M. Goodman, and H.W. Boyer, 1974. Analysis of endonuclease R. *Eco*RI fragments of DNA from lambdoid bacteriophages and other viruses by agarose-gel electrophoresis. *J. Virol.* 14, 1235-1244.
3. Hershey, A.D., E. Burgi, and L. Ingraham, 1963. Cohesion of DNA molecules isolated from phage lambda. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 49, 749-755.
4. Jarvis, A.W., 1984. Differentiation of lactic streptococcal phages into phage species by DNA-DNA homology. *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 343-349.
5. Johnson, J.L., C.F. Phelps, C.S. Cummins, J. London, and F. Gasser, 1980. Taxonomy of the *Lactobacillus acidophilus* group. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30, 53-68.
6. Khosaka, T., 1977. Physicochemical properties of a virulent *Lactobacillus* phage containing DNA with cohesive ends. *J. Gen. Virol.* 37, 209-214.
7. Kim, Y.C., M.C. Park, K.H. Kang, Y.H. Yoon, and K.W. Lee, 1979. Classification and characterization of bacteriophages of *Lactobacillus casei*. *Kor. Jour. Microbiol.* 17, 165-178.
8. Kim, Y.C., Y.B. Koo, S.J. Oh, and H.S. Kang, 1983. Studies on the structure and ex-

- pression of the penicillin G acylase gene. I. Cloning of the penicillin G acylase gene of *E. coli* ATCC 11105. *Kor. Jour. Microbiol.* **21**, 95-102.
9. Labigne-Roussel, A., J. Witchitz, and P. Courvalin, 1982. Modular evolution of disseminated Inc 7-M plasmids encoding gentamicin resistance. *Plasmid*, **8**, 215-231.
10. Maniatis, T., E.F., Fritsch, and J. Sambrook, 1982. Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor. New York.
11. Shimizu-Kadota, M, and N. Tsuchida, 1984. Physical mapping of the virion and the prophage DANs of a temperate *Lactobacillus* phage  $\phi$ FSW. *J. Gen. Microbiol.* **130**, 423-430
12. Southern, E., 1979. Gel electrophoresis of restriction fragments. In *Methods in Enzymology*, R. Wu (Ed), Vol. 68, p. 152-176. Academic Press, New York.
13. Stetter, K.O., H. Priess, and H. Delius, 1978. *Lactobacillus casei* phage PL-1. Molecular properties and first transcription studies *in vivo* and *in vitro*. *Virology*, **87**, 1-12.
14. Watanabe, K., S. Takesue, and K. Ishibashi, 1980. DNA of phage PL-1 active against *Lactobacillus casei* ATCC 27092. *Agric. Biol. Chem.* **44**, 453-455.

(Received May 20, 1985)