

세포외 Adenine Deaminase를 생산하는 방선균의 분리 및 Adenine Deaminase의 생산조건

전홍기·이상목·박정혜
부산대학교 자연과학대학 미생물학과

Isolation of an Actinomycetes Producing Extracellular Adenine Deaminase and Cultural Conditions of the Isolated Strain for the Enzyme Production

Jun, Hong-Ki, Sang-Mok Yee, and Jeong-Hae Park
Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Pusan National
University, Pusan, 607, Korea

ABSTRACT: The taxonomical properties of strain J-275L isolated from soil as a microorganism which produces extracellular adenine deaminase and cultural conditions for the enzyme production were studied. The hyphae of strain J-275L is fragmented into rod-or coccus-like elements. The elements of fragmented aerial hyphae has smooth surfaces. The cell wall of the organism contains LL-diaminopimelic acid. Mycolic acid are not produced. As a result of taxonomical studies, strain J-275L is designated as *Nocardioides* sp. J-275L. The optimum medium for the enzyme production from *Nocardioides* sp. J-275L was composed of 0.5% peptone, 0.5% dextrin, 1% yeast extract, and 0.2% K_2HPO_4 . The optimum initial pH of the medium was pH 7.5.

KEY WORDS □ Actinomycetes, Extracellular Adenine Deaminase

Purine nucleotide의 *de novo* synthesis와 salvage pathway에서 중요한 역할을 하는 adenine은 생체내에서 과량 존재할 때에 동물조직에 미치는 영향(Moyed, 1964; Nguyen *et al.*, 1984)과 미생물에 대한 생육저해(Mosteller and Goldstein, 1975) 및 분해산물의 생체내 축적 등으로 인한 독성효과(Edozien *et al.*, 1970) 등에 관하여 많은 연구가 이루어져 왔다. 특히 단세포 단백질을 섭취하였을 때 야기되는 생체내 염기의 축적 문제를 해결하기 위하여 Maul 등(1970)은 단세포 단백질에 열처리를 하여 핵산의 양을 줄이는 방법을 연구하기도 하였다. 단세포 단백질 내의 핵산관련 물질의 양을 효소적 방법으로 줄이기 위한 노력의 일환으로 Sakai 등(1978)이 *Pseudomonas* 속의 세균으로부터 purine 관련 물질의 분해효소를 연구한 바 있다.

Adenine deaminase(Adenine aminohydrolase, EC 3, 5, 4, 2)는 일반적으로 포유동물에서는 생산되지 않는 것으로 알려져 있다(Williams and Turner, 1957). 미생물에서는 효모(Abbondandolo *et al.*, 1971; Hartenstein and Fridovich, 1967; Medhat, 1966; Roush, 1954)와 세균(Hartenstein and Fridovich, 1967; Sakai and Jun, 1978)의 세포내 효소가 연구되어 있으나 방선균의 세포외 효소에 관한 연구는 아직 미비하다. 저자들은 전보(Jun and Park, 1984)에서 *Streptomyces* sp. J-350P의 세포외 adenine deaminase를 보고한 바 있다.

본 연구는 방선균이 생산하는 세포외 adenine deaminase에 관한 연구의 일환으로서, 전보(Jun and Park, 1984)의 *Streptomyces*와는 다른 속(genus)의 세포외 adenine deaminase를 생산하

는 방선균을 분리하여 분리균의 분류학적 검색을 실시하고, 효소생산 조건을 검토하였다.

재료 및 방법

세포의 adenine deaminase 생산균의 분리

토양으로 부터 방선균을 분리하여 adenine deaminase 생산균을 분리한 과정은 전보(Jun and Park, 1984)에서와 같으며, 분리된 방선균 중 육안과 현미경으로 관찰하여 전보(Jun and Park, 1984)의 *Streptomyces* sp. J-350P와는 분류학적 견지에서 뚜렷하게 표현형이 다른 것으로 인정되는 J-275L 균주를 택하여 본 실험에 사용하였다.

분리균의 분류학적 검색

분리균 J-275L 균주의 배양상의 성질, melanin 생성 확인 실험, 탄소원의 이용성 등에 관한 실험은, 일반적으로 방선균의 분류에 이용되는 여러 종류의 배지를 사용하여 행하였으며(Shirling and Gottlieb, 1966), 세포벽의 아미노산 조성은 Becker 등(1964)의 방법에 따라 조사하였다. 기타 분리균의 생리적 실험 및 분류학적 검색은 "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" 제 7판(Breed *et al.*, 1957)과 제 8판(Buchanan and Gibbons, 1974) "Actinomycetes"(Schaal and Paulverer, 1981), "The Prokaryotes"(Starr *et al.*, 1981) 및 International Streptomyces Project (ISP)의 보고(Shirling and Gottlieb, 1966) 등을 참고로 하여 진행하였다.

균주의 배양 및 세포의 adenine deaminase 생산 조건

분리균의 세포의 adenine deaminase의 생산조건을 검토하기 위하여, glucose 0.5%, peptone 0.5%, meat extract 0.5% 및 NaCl 0.5% (pH 7.5)로 조성된 기본배지를 사용하여 효소생산에 미치는 탄소원, 질소원, 무기염의 영향을 검토하였다. 각 배지 10 ml씩이 든 시험관에 균을 이식하여 30°C의 진탕항온기에서 120 Rev. × 6 cm Stroke로 40시간 진탕배양한 후, 배양액을 원심분리(10,000×g, 5분)하여 그 상등액을 취하여 효

소활성을 측정하였다.

균주는 dextrin 0.5%, meat extract 0.1%, peptone 0.1%, yeast extract 0.2%, agar 1.7% (pH 7.5)로 조성된 사면배지에 이식하여 배양한 다음 4°C의 냉장고에서 보관하였다.

건조 균체량의 측정

균의 생육도는 균배양액을 일정한 시간 간격으로 취하여 원심분리(10,000×g, 5분)하여 침전된 균체를 모아 증류수로 2회 세척한 후 aluminium foil에 옮겨 105°C의 건조기에서 항량이 될 때까지 건조시켜 평량하였다.

조효소액의 조제

Dextrin 0.5%, peptone 0.5%, yeast extract 1%, K₂HPO₄ 0.2% (pH 7.5)로 조성된 효소생산 최적배지 3 ml씩이 든 시험관(12×150 mm)에 균을 접종하여 40시간 진탕배양한 전배양액을, 동일 배지 100 ml씩이 든 500 ml용 진탕 flask에 접종하여 30°C에서 30시간 본배양한 후, 배양액을 원심분리(10,000×g, 5분)하여 그 상등액을 조효소액으로 사용하였다.

효소의 활성측정

효소의 활성은 Kalckar(1947)의 방법에 따라 측정하였다. 5 mM의 adenine, 50 mM의 potassium phosphate buffer (pH 7.0)와 적당량의 효소액을 넣은 반응 혼합물(최종 용량 1 ml)을 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 100°C에서 3분간 중탕하여 반응을 중지시킨 다음 265 nm에서의 흡광도의 차로써 측정하였다. 효소의 활성단위는 1시간에 1 mM의 hypoxanthine을 형성하는데 필요한 효소의 양을 1 unit로 하였다.

결과 및 고찰

분리균 J-275L의 균학적 성상 및 동정

분리균 J-275L은 고체배지에 배양하였을 경우 대체로 무색의 colony로 표현이 주름지거나 조면상의 1차 균사(primary mycelium)를 형성하였으며, 기균사(aerial mycelium)의 형성은 미약하였다. 대개 colony 가장자리에 분말상의 흰색 계열의 기균사를 형성하였으나 생육이 미약하여 색깔의 판정이 어려웠다. 1차 균사의 생육은 풍부하였

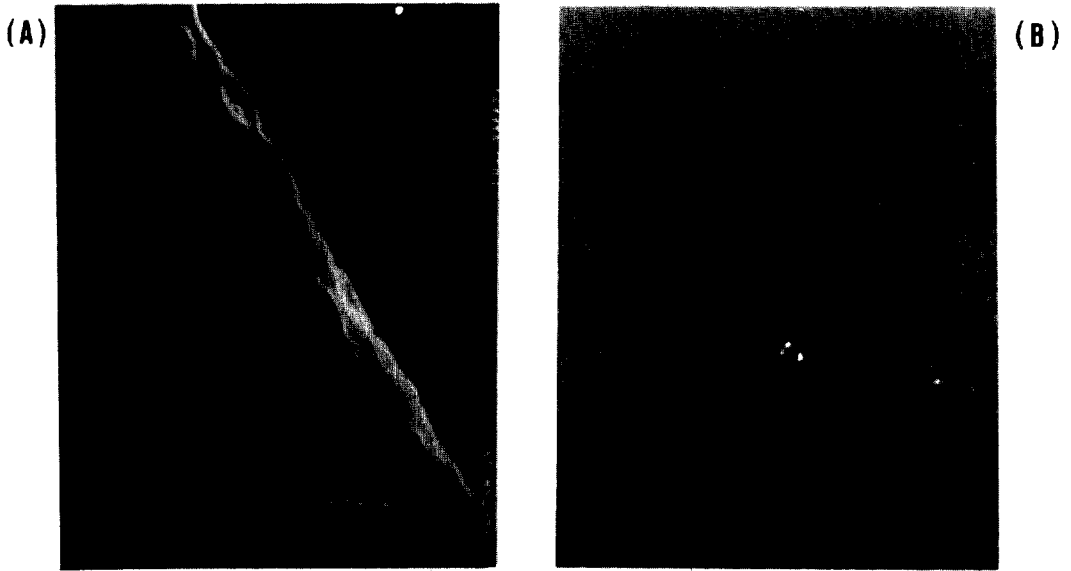


Photo. 1. (A) Electron micrograph of aerial hyphae of J-275L fragmented into spore-like elements from glycerol-asparagine agar. Ten days.

(B) Fragmentation of primary mycelium of J-275L on oatmeal agar. Seven days.

으며, 단절하여 불규칙적인 간상 또는 구상의 절편으로 분절되었다(Photo. 1, A). 기균사는 oidiospore를 형성하여 간상, 또는 구상의 절편으로 분절되며, oidiospore의 표면은 smooth 하였다(Photo. 1, B). J-275L 균주의 형태적 특성은 Table 1에 요약하였다.

배양상의 특징으로서, 분리균 J-275L은 대체로 무색의 1차 균사를 풍부하게 생성하지만 기균사는 생성되지 않거나 아주 미약하게 생성되기도 하여 여러 배지상에서 기균사의 색을 판정하기가 곤란하였다. Table 2에 나열한 배지 중에서 가용성 색소(soluble pigment)는 일반적으로 생성되지 않았거나, tyrosine agar (ISP No. 7) 배지에 배양하였을 때에는 배지 중에 짙은 갈색의 가용성 색소를 형성하였다.

Table 1. Morphological characteristics of strain J-275L

Oidio spore	Produced
Primary mycelium and aerial mycelium	Produced. Fragmented into irregular elements
Cell wall constituent	LL-diaminopimelic acid
Mycolic acid	Not produced

분리균의 생리적 성질을 검토하여 그 결과를 Table 3에 나열하였다. 분리균 J-275L은 30°C ~ 35°C에서 생육이 왕성하였으며, 45°C 이상에서는 증식되지 않았다. 진분을 가수분해 하였고, gelatin 액화능은 없었으며 질산환원력을 나타내었다. 세포벽의 아미노산 성분으로서 아미노산의 유도체인 LL-diaminopimelic acid를 함유하였다.

Table 4에 나열된 여러가지 탄소원을 첨가한 배지에서 균의 탄소원의 이용성을 관찰하였다. Glucose를 첨가한 배지에서의 생육을 대조로 하여 균의 생육정도를 표시하였다. 분리균 J-275L 균주의 경우 탄소원으로서 mannose, arabinose, rhamnose, inuline, raffinose, cellobiose, xylose, maltose, mannital, fructose, inositol, galactose를 이용하여 생육하였다.

이상의 실험결과를 토대로 하여, 분리균 J-275L 균주가 1차 균사와 기균사가 단절하여 oidiospore를 형성하며 cell wall type I에 속하고 mycolic acid를 생성하지 않는 점 등으로 보아 저자들은 본 균주를 *Nocardioides* 속으로 분류하였으며, *Nocardioides* sp. J-275L로 명명하였다.

일반적으로 균사의 단절이 일어나는 방선균을

Table 2. Cultural characteristics of strain J-275L

Medium	Growth*	Substrate mycelium	Soluble pigment
Glucose-asparagine agar (Waksman medium No. 2)	P	Brown	None
Tyrosine agar (ISP No. 7)	A	Yellowish brown	Dark brown
Nutrient agar	M	Pale yellow	None
Yeast-malt extract agar (ISP No. 2)	A	Dark brown	None
Oatmeal agar (ISP No. 3)	A	Pale yellow	None
Peptone-yeast extract iron agar (ISP No. 6)	M	Yellow	None
Skim milk agar	P	Yellowish brown	None
Glucose-peptone-gelatin	M	Pale yellow	None
Starch-inorganic salts agar (ISP No. 4)	M	Pale yellow	None
Glycerol-asparagine agar (ISP No. 5)	P	Dark brown	None
Starch agar	M	Light yellow	None

*P, poor; A, abundant; M, moderate.

Table 3. Physiological characteristics of strain J-275L

Melanin production	Dark brown on tyrosine agar (ISP No. 7)				
Nitrate reduction	Positive				
Indole test	Negative				
Catalase test	Positive				
Oxidase test	Negative				
Urease test	Negative				
Decarboxylase test	Negative				
Hemolysis	Positive				
Voges-Proskauer test	Negative				
Methyl red test	Negative				
Starch hydrolysis	Positive				
Gelatin liquifaction	Negative				
Litmus milk	Peptonized with coagulation becoming deeply purple				
Optimum temperature	30-35°C, no growth at 45°C				
NaCl tolerance	Not inhibited by 5% NaCl				
Acid production from carbohydrate					
Mannitol	-	Rhamnose	+	Fructose	+
Galactose	+	Xylose	+	Inositol	-
Inuline	-	Maltose	+	Arabinose	+
Raffinose	-	Sorbose	+	Ribose	+
Mannose	+	Sucrose	-	Glucose	+
Lactose	+	Dextrin	+		

포함하는 nocardioform actinomycetes에 관한 분류체계는 아직 명확하게 확립되어 있지 않아서 많은 연구자들이 관심을 기울이고 있다. Goodfellow

와 Minnikin(1977)은 nocardioform bacteria로서 21속과 6과를 보고하였으나 이들 nocardioform bacteria들은 그 형태적 성질이 서로 유사하여 형태적 성질만으로는 정확한 분류가 이루어지기 어려웠다. 최근에는 세포벽의 아미노산, 지질, 당 등의 성분과 DNA의 G+C 함량, phage type 등을 분류 기준으로 삼기 위한 많은 연구가 행하여지고 있다.

1971년 Lechevalier 등이 처음으로 보고하였고, 그 이후 Prauser(1976)가 속명으로 도입한

Table 4. Utilization of carbon sources by strain J-275L

Carbon source	Utili- zation*	Carbon source	Utili- zation*
L-Rhamnose	+	Melobiose	+
Sucrose	-	D-Mannitol	+
Mannose	++	D-Fructose	±
Inuline	+	Sorbose	-
L-Arabinose	++	Inositol	+
Trehalose	-	Salicin	-
Raffinose	+	Maltose	+
Cellobiose	+	D-Galactose	+
D-Xylose	+		

*+, normal utilization; ++, good utilization; -, poor utilization.

Table 5. Taxonomical properties of *Nocardioides albus* and *Nocardioides* sp. J-275L

Taxonomical properties	<i>Nocardioides albus</i> *	<i>Nocardioides</i> sp. J-275L
Surface of oidiospore	smooth	smooth
Primary mycelium and aerial mycelium	fragmented	fragmented
Color of primary mycelium	whitish to faintly yellowish	pale yellow
Optimum temperature	28°C, good growth at 18°C and 37°C, no growth at 50°C	30-35°C, no growth at 45°C
Utilization of carbon:		
glucose	+	+
L-arabinose	+	+
D-xylose	+	+
D-mannitol	+	+
D-fructose	+	+
L-rhamnose	+	+
raffinose	±	+
Iso-inositol	-	-
Starch hydrolysis	Positive	positive
Melanin pigment	+(dark brown on tyrosine agar)	-
Cell wall type	I	I
Mycolic acid	not produced	not produced
Nocardomycolic acid	not produced	NT**
DNA base composition	66.5 mol% G + C	NT
Phage susceptibility	Susceptible to one or more of x-phages	NT

*Prauser, 1976; ** NT, not tested.

*Nocardioides*는 일반적으로 토양에서 많이 분리되며, 그 형태적 특성이 *Nocardia*와 아주 유사하지만 세포벽의 성분이 cell wall type I에 속하기 때문에 Streptomycetaceae과로서 보고되었다 (Prauser, 1976). 그 이후 출판된 "The Prokaryotes"에서는 G+C 함량, 지질, 성분 등을 비교하였을 때 Streptomycetaceae과의 균들과 뚜렷하게 구분되므로 *Nocardioides*를 "genera without a family"에 포함시켰다고 하였다 (Starr *et al.*, 1981).

현재 *Nocardioides*에 관한 보고는 미약하며, 최근 발간된 "Actinomycetes", "The Prokaryotes"

등의 책에서 인용하기 시작하였으나 아직 *Nocardioides albus* 1종만 보고되어 있다. 분리균 J-275L은 Table 5에 나타낸 바와 같이 *Nocardioides albus*와 그 형태적, 생리적 성질에 있어서 서로 유사하며, 다만 탄소원으로서는 iso-inositol의 이용성과 melanoid pigment의 생성 유무에서 차이가 있었으므로, G+C 함량, phage 감수성 및 표준 균주와의 비교 실험을 행한다면 증명까지 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

세포의 adenine deaminase의 생산 조건

효소의 생산에 효과적인 배지를 설정하기 위하여 탄소원, 질소원, 무기염류 등이 효소생산에 미

Table 6. Effect of carbon sources on production of adenine deaminase

Carbon source (0.5%)	Enzyme activity (units/ml)
Fructose	1.41
Ribose	3.37
Rhamnose	0
Dextrin	3.48
Inositol	0
Soluble starch	2.17
Sorbose	0
Inulin	0
Glucose	1.85
Lactose	3.70
Xylose	0
Raffinose	2.28
Glycerol	0.87
Mannose	2.50
Galactose	2.39
Mannitol	2.61
Glycine	1.30
Arabinose	2.72
Trehalose	0.54
None	0

Each carbon source was added to the basal medium containing 0.5% meat extract and 0.5% NaCl. Each medium was adjusted to pH 7.0. The cells were inoculated to the test tube (22×200 mm) containing 10 ml of each medium, and cultivated at 30°C shaker for 40hr.

치는 영향을 검토하였다.

효소생산에 미치는 탄소원의 영향을 검토하기 위해서, meat extract 0.5%와 NaCl 0.5%가 든 기본배지에서 Table 6에 나열된 각 탄소원 0.5%씩을 첨가하여 공시균을 배양한 결과, 검토한 탄소원 중에서는 ribose, dextrin, lactose 등이 효소생산에 효과적 이었으며, rhamnose, inositol, sorbose, inulin, xylose 등은 효과가 없었다.

효소생산에 미치는 각종 질소원의 영향을 검토하기 위하여 dextrin 0.5%, NaCl 0.5%가 함유된 기본배지에 여러가지 질소원을 Table 7에 표시된 농도로 첨가하여 효소생산성을 검토하였다. 배지 중의 단일 질소원으로서의 yeast extract가 효소생산에 가장 효과적이었으며, yeast extract와 peptone을 각각 1.0%와 0.5%씩 첨가해 주었을

Table 7. Effect of nitrogen sources on production of adenine deaminase

Nitrogen source	Concn. (%)	Enzyme activity (units/ml)
Peptone	0.5	0.65
	1.0	1.30
Yeast extract	0.5	0.54
	1.0	2.83
Meat extract	0.5	0.87
	1.0	0.13
Casein	1.0	1.85
Urea	1.0	1.96
Peptone + Meat extract	0.5	2.61
	0.5	
Peptone + Yeast extract	1.0	2.72
	0.5	
Yeast extract + Meat extract	0.5	2.28
	0.5	
Peptone + Meat extract	1.0	2.72
	0.5	
Yeast extract + Meat extract + Peptone	0.5	3.48
	0.5	
Yeast extract + Peptone	1.0	4.00
	0.5	
None		0

Each nitrogen source was added to the basal medium containing 0.5% dextrin and 0.5% NaCl. The other conditions were the same as those in table 6.

때가 가장 효과적이었다.

효소생산에 미치는 무기염의 영향을 검토하기 위해서 dextrin 0.5%, peptone 0.5% 및 yeast extract 1%를 첨가한 기본배지에서 효소생산성을 검토하였다. Table 8에 나타낸 바와 같이, 설정된 기본배지에 첨가한 무기염 중에서는 특이하게 효소생산에 효과적인 것은 없는 것으로 나타났다.

이상의 실험결과를 참고로 하여 peptone 0.5%, yeast extract 1.0%, K_2HPO_4 0.2%로 조성된 배지를 기본배지로 설정하여, 효소생산에 효과적인 탄소원 중에서 열에 안정한 다당류인 dextrin을 택하여 0.2%에서 3%까지 농도를 달리 하여 기본배지에 첨가하여 각 농도에서의 효소생산성을 비교하였다(Table 9). 실험결과 0.5에서 1%의 농도에서 가장 효소생산성이 양호한 것으로

Table 8. Effect of inorganic salts on production of adenine deaminase

Inorganic salt	Concn (%)	Enzyme activity (units/ml)
K ₂ HPO ₄	0.3	3.48
	0.2	4.34
	0.1	3.80
KH ₂ PO ₄	0.1	0
	0.05	0.76
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.1	1.30
	0.01	2.28
MgCl ₂	0.1	0.87
K ₃ PO ₄	0.5	3.04
	0.1	3.91
NH ₄ Cl	0.01	3.36
	0.1	2.50
KCl	0.05	2.61
	0.5	3.04
NaCl	0.2	3.26
	0.1	1.63
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.01	2.17
	None	4.02

Each salt was added to the basal medium containing 0.5% dextrin, 0.5% peptone, and 1.0% yeast extract. The other conditions were the same as those in table 6.

나타났다.

다음으로 dextrin 0.5%, peptone 0.5%, yeast extract 1%, K₂HPO₄ 0.2%로 조성된 배지를 최적배지로 설정하여 배지의 초발 pH를 5에서 9사이로 달리하여 각 pH별 효소생산성을 검토하였다. 그 결과 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 배지의 초발 pH는 7.5 부근이 가장 효소생산에 효과적

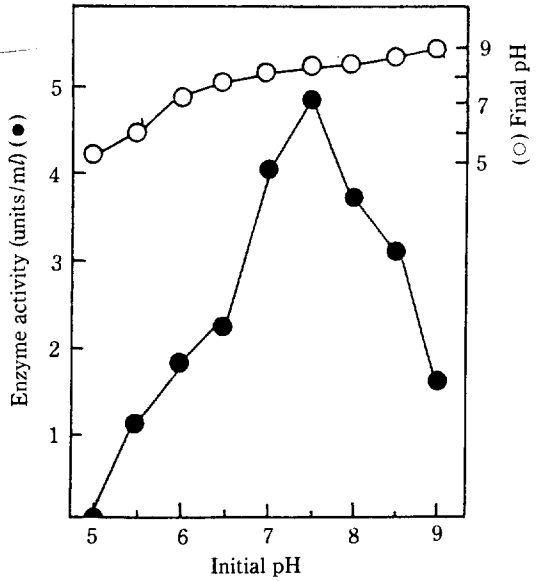


Fig. 1. Effect of the initial pH of medium on production of adenine deaminase

The medium contained 0.5% dextrin, 0.5% peptone, 1% yeast extract, and 0.2% K₂HPO₄. The initial pH of the medium was adjusted to indicated pH.

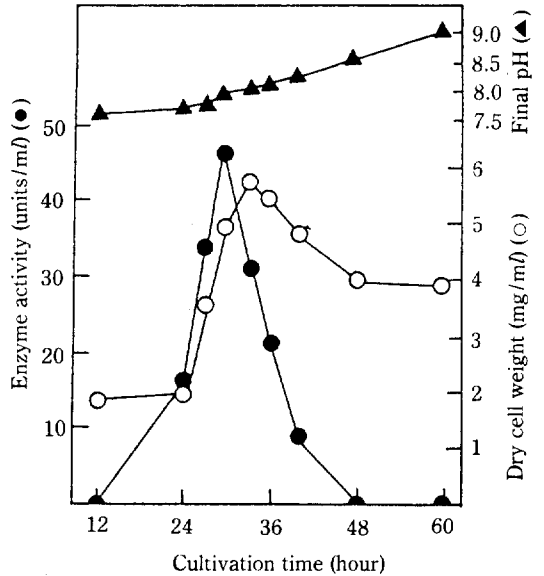


Fig. 2. Relationship of enzyme activity, growth, and final pH during cultivation of *Nocardioides* sp. J-275L

이었다.

위에서 설정된 최적배지의 pH를 7.5로 조절하여, *Nocardioides* sp. J-275L 균주를 접종하여

Table 9. Effect of dextrin concentration on production of adenine deaminase

Concn. of dextrin(%)	Enzyme activity (units/ml)
0.2	3.04
0.5	4.35
1.0	4.35
2.0	3.37
3.0	2.07

Details are given in the text.

효소의 생산성, 균의 증식, 배지의 pH 등의 변화를 경시적으로 관찰하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이, 배양개시 후 33시간 정도 경과할 때까지 건조 균체량이 계속 증가하다가 그 이후 서서히 감소하였다. 효소의 생산은 균의 대수증식기인 30시간 부근에서 가장 왕성하였으며 그 이후는 급격히 감소하였다. 배지의 final pH는 균의 대수증식기 이후에 현저히 증가되는 경향을 보였다.

효소의 생산량을 증가시키기 위하여 adenine을 배지 중에 첨가하여 효소의 유도를 검토하였으나 *Nocardioides* sp. J-275L의 세포의 adenine deaminase는 효모의 세포내 효소(Madhat, 1966)와는 달리 adenine에 의해 유도되지 않았으며, *Pseudomonas synxantha* A3의 효소와 마찬가지로 구성효소인 것으로 생각되었다(Sakai and Jun, 1978).

적 요

토양으로부터 분리된 세포의 adenine deaminase를 생산하는 방선균인 J-275L 균주의 분류학적 특성 및 효소생산 조건이 검토되었다.

J-275L 균주는 균사가 간상 또는 구상의 절편으로 단절되며, 세포벽의 아미노산 성분으로서 LL-diaminopimelic acid를 함유하고 mycolic acid를 함유하지 않았다. 분류학적 검색 결과 분리균 J-275L을 *Nocardioides* sp. J-275L로 명명하였다.

Nocardioides sp. J-275에 의한 세포의 adenine deaminase의 생산조건을 검토한 결과, 효소생산을 위한 최적배지는 0.5% dextrin, 0.5% peptone, 1% yeast extract 및 0.2% K_2HPO_4 로 설정되었으며, 배지의 최적 pH는 7.5 이었다.

사 사

본 연구는 '86년도 농원문화재단 연구비로 수행되었음.

REFERENCES

1. Abbondandolo, A., A. Weyer, H. Heslot, and M. Lambert, 1971. Study of adenine aminohydrolase in the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *J. Bacteriol.* **108**, 959-963.
2. Becker, B., M.P. Lechevalier, R.E. Gordon, H.A. Lechevalier, 1964. Rapid differentiation between *Noacardia* and *Streptomyces* by paper chromatography of whole-cell hydrolysates. *Appl. Microbiol.* **12**, 421-423.
3. Breed, R.S., E.G.D. Murray, N.R. Smith, 1957. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Seventh Edition. (Baltimore: The Williams and Wilkins Company).
4. Buchanan, R.E., N.E. Gibbons, 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eighth Edition (Baltimore: The Williams and Wilkins Company).
5. Edozien, J.C., U.U. Udo., V.R. Young, N.S. Scrimshaw, 1970. Effects of high level yeast feeding on uric acid metabolism of young men. *Nature.* **228**, 180.
6. Goodfellow, M., D.E. Minnikin, 1977. Nocardioform bacteria. *A. Rev. Microbiol.* **31**, 159-180.
7. Hartenstein, R.C. and I. Fridovich, 1967. adenine aminohydrolase. An investigation of specificity. *J. Biol. Chem.* **242**, 740-746.
8. Jun, H.K. and J.H. Park, 1984. Exogenous adenine deaminase production by *Streptomyces* sp. J-350. *J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **12**, 31-36.
9. Kalckar, H.M., 1947. Differential spectrophotometry of purine compounds by means of specific enzymes. II. Determination of adenine compounds. *J. Biol. Chem.* **167**, 445-459.
10. Lechevalier, H.P., M.P. Lechevalier, and N.N. Gerber, 1971. Chemical composition as a criterion in the classification of Actinomycetes. *Advan. Appl. Microbiol.* **14**, 42-72.
11. Maul, S.B., A.J. Sinskey, S.R. Tannenbaum, 1970. New process for reducing the nucleic acid content of yeast. *Nature.* **228**, 181.
12. Medhat, P., 1966. Purification and properties

- of adenine deaminase from *Saccharomyces cerevisiae*, Illinois Institute of Tech. Diss. Abster. B27(6), 1785-1786.
13. Mosteller, R.D. and R.V. Goldstein, 1975. Unusual sensitivity of *Escherichia coli* to adenine plus histidine. *J. Bacteriol.* **123**, 750-751.
 14. Moyed, H.S., 1964. Inhibition of the biosynthesis of the pyrimidine portion of thiamine by adenosine. *J. Bacteriol.* **88**, 1024-1029.
 15. Nguyen, B.T., Y.M.E. Sayed, and W. Sadee, 1984. Interaction among the distinct effects of adenine and guanine depletion in mouse Lymphoma cells, *Cancer Research.* **44**, 2272-2277.
 16. Prauser, H., 1976. *Nocardioides*, a new genus of the order Actinomycetales. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **26**, 58-65.
 17. Roush, A.H., 1954. Yeast adenase. *Arch. Biochem. Biophys.* **50**, 510-512.
 18. Sakai, T. and H.K. Jun, 1978. Purification and characterization of adenine deaminase in *Pseudomonas synxantha*. *J. Ferment. Technol.* **56**, 257-265.
 19. Schaal, K.P. and G. Paulverer, 1981. Actinomycetales (New York: Gustav Fischer, Verlag. Stuttgart).
 20. Shirling, E.B. and D. Gottlieb, 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**, 313-340.
 21. Starr, M.P., H. Stolp, H.G. Truper, A. Balows, H.G. Schlegel, 1981. The Prokaryotes. A handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria. Volume II. (Berlin Heidelberg: Springer-Verlag).
 22. Williams, W.P. and C.W. Turner, 1957. Adenine and adenosine deaminase activity of rat mammary gland homogenates through pregnancy and lactation. *Proc. Soc. Exptl. Med.* **94**, 196-197.

(Received July. 30, 1987)