Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.
Vol. 18, No. 5, 535-540 (1990)

Bacillus sphaericus ts-D1290 치사돌연변이체의 핵산과 단백질합성

서정희 · 이형환* · 이희무[1]

건국대학교 이과대학 생물학과 [1]안동대학교 생물학과

Biosyntheses of Nucleic Acids and Proteins of *Bacillus sphaericus* ts-D1290 Lethal Mutant

Suh, Junghee, Hyung-Hoan Lee* and Heemoo Lee[1]

Department of Biology, Kon Kuk University, Seoul 133-701, Korea
[1]Department of Biology, Andong University, 760-380, Korea

***Bacillus sphaericus* ts-D1290 was characterized comparatively with the wild type strain 1593 by the measurements of the biosynthesis of total DNA, RNA and protein on the temperature-shift cultures at permissive temperature of 30°C and at nonpermissive temperature of 42°C. The growth patterns of the wild type strain and ts-D1290 were similar at 30°C, but at 42°C the mutant almost did not grow (temperature-sensitivity). When the growth temperatures of both stains were shifted-up from 30°C to 42°C after a 4 hour culture, their growths were normal, but when shifted-down from 42°C to 30°C after a 4 h culture, the mutant did not grow. When shifted up from 30°C to 42°C after a 4 h culture, the DNA syntheses of the two strains were at a normal rate for 1 h, but after 1 h the biosyntheses decreased. The rate of DNA synthesis of the wild type strain at the nonpermissive temperature was about 93%, and that of the mutant was about 50% of the ratio of the wild type strain, and the RNA synthesis of the wild type strain was maintained for 3 h, and that of the mutant for 2 h. Thereafter the RNA synthesis decreased, and the synthesis of proteins in the both strains were similarly kept high for 8 h. The reversibility of the DNA synthesis of the mutant at 42°C was lessened when the culture times were increased.**

Bacillus sphaericus 균은 그람 양성의 간균이며, 세포의 말단에 아포를 형성하고, 모기유충을 치사시키는 단백질성 내독소 결정체를 형성한다(1-5). 세균의 돌연변이체(주)의 연구는 세균의 유전자 기능을 밝히는데 유용하다. Imae와 Strominger(6)는 세포벽의 pepetidoglycan을 약간 생산하는 돌연변이주를 분리하였고, Kim과 Lee(4)는 *B. sphaericus* sporeless temperature-sensitive mutants, asporogensous mutant 그리고 conditional lethal temperature-sensitive mutants를 분리하여 일부 특성을 보고하였다. *B. sphaericus* 조건치사 돌연변이주 중에 ts-D1290 돌연변이주는 허용온도인 30℃에서는 정상적으로 증식을 하나, 비허용온도인 42℃에서는 증식이 안되는 것이 보고되었다.

본 연구에서는 *B. sphaericus* ts-D1290 돌연변이주의 특성을 더욱 밝히고자 이 균주의 고분자물질인 DNA, RNA와 단백질의 전체적인 합성량과 온도에 의한 영향을 연구하였다.

Key words: *Bacillus sphaericus*, ts mutant.
*Corresponding author

재료 및 방법

사용한 균주와 배지

본 연구에 사용한 균주는 *Bacillus sphaericus* 1593 정상형 균주와 돌연변이주인 *B. sphaericus* ts-D1290이며(4), 건국대학교 생물학과 미생물학교실 보관 중이다. Spizizen glucose minimal(SGM) 배지(7)를 개조하여 사용하였다. 배지의 성분은 다음과 같다. 즉 $(NH_4)_2SO_4$ 0.2%, sodium citrate 0.1%, K_2HPO_4 1.4%, KH_2PO_4

0.6%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2%, glucose 0.5%, casein hydrolyzate 0.5%, thiamine 0.25%, biotin 5×10^{-6}%, 배지의 pH는 7.0이고, 121℃에서 15분간 멸균하여 사용했다.

방법

균주의 증식곡선 측정 : 평판배지상에서 증식한 *B. sphaericus* 1593과 *B. sphaericus* ts-D1290 돌연변이주의 집락에서 각각 1백금이를 취하여 멸균된 SGM 액체배지 25 m*l*에 접종한 후 각각 허용온도(30℃)와 제한온도(42℃)에서 180 rpm으로 20시간 진탕 전배양한 후 각 배양액 5 m*l*를 30℃와 42℃의 멸균된 SGM 액체배지 100 m*l*에 접종하여 30℃와 42℃에서 180 rpm으로 12시간 동안 진탕 배양하면서 접균 즉시부터 각 배양액을 3 m*l*씩 취하여 600 nm에서 O.D.(spectrophotometer UV 120-02, shimazu 120)를 측정한 후 증식곡선을 작성하였다.

균주의 온도상승과 하강 배양 : 평판배지에서 성장한 *B. sphaericus* 1593와 *B. sphaericus* ts-D1290 돌연변이 균주의 집락에서 각각 1백금이를 SGM 액체배지 25 m*l*에 접종하여 각각 30℃와 42℃에서 180 rpm으로 20시간 진탕 전배양한 후, 온도상승과 하강(temperature shift-up and shift-down) 배양실험을 하였다.

온도상승 배양실험은 30℃의 SGM 액체배지 100 m*l*에 30℃ 전배양액을 600 nm에서 O.D. 0.3이 되게 5 m*l*를 접종하여 회전진탕 배양기에서 180 rpm으로 4시간 진탕 배양한 후, 42℃로 온도를 상승하여 회전진탕 배양하면서 600 nm에서 매시간 증식유무를 측정하였으며, 온도하강 배양실험은 42℃의 SGM 배지 100 m*l*에 42℃의 전배양액을 600 nm에서 1593는 O.D. 0.18 그리고 ts-D1290 돌연변이주는 0.05되게 5 m*l* 접종하여 42℃ 회전진탕 배양기에서 180 rpm으로 4시간 배양한 후 온도를 30℃로 하강하여 회전진탕 배양하면서 600 nm에서 매시간 O.D.를 측정하였다.

방사성동위원소를 이용한 균주의 핵산 및 단백질 합성 측정 : *B. sphaericus* 균주의 DNA 합성은 thymine, [2-^{14}C] (ICN, U.S.A. ; specific activity 56 mCi/mmol.)을 이용하여 측정하였고, RNA 합성은 uracil, [2-^{14}C] (ICN, U.S.A. ; specific activity 53.2 mCi/mmol.)을 이용하여 측정하였다. 그리고 단백질 합성 측정에는 L-phenylalanine, [U-^{14}C] (ICN, U.S.A. ; specific activity 405~495 mCi/mmol.)을 이용하였다. *B. sphaericus* 균주의 핵산 및 단백질 생합성시에 이용된 방사성동위원소량의 측정은 Maniatis 등(8)의 trichloroacetic acid (TCA) 침전법을 수정하여 사용하였다. Whatman GF/C 유리섬유 디스크(직경 2.0 cm, 1.2 mm GF/C whatman Ltd)에 100 μl의 배양액을 떨어뜨리고, 500 μl의 냉각된 10% TCA를 첨가한 후 얼음위에서 15분 동안 냉각시킨 후, 배양액이 침전된 whatman GF/C 유리섬유 디스크를 건조시켜 진공펌프를 이용하여 냉각된 10% TCA 10 m*l*로 세척하고 다음 95%에 에타놀 10 m*l*로 세척한 후, 건열기 아래서 상기 디스크를 건조시키고, 건조된 디스크를 scintillation vials(5.5×1.5 cm)에 넣고 toluene-based scintillation액(Luma gel, Lumc systems Inc. The Nethelands)을 정확히 3 m*l*씩 넣은 후 liquid scintillation counter(1217 RackBeta, LKB-wallac)로 DNA와 RNA 그리고 단백질 합성을 측정하였으며, 아울러 whatman GF/C 유리섬유 디스크에 100 μl의 배양액을 떨어뜨려 세척하지 않고 건열기에서 건조시킨 후 liquid scintillation counter로 측정하여 총 방사선 활성도를 측정 비교하였다.

온도상승 배양에 따른 균주의 증식 및 DNA, RNA, 단백질 합성 측정 : 온도상승 배양에 따른 *B. sphaericus* 균주의 DNA와 RNA 그리고 단백질의 합성을 측정하기 위하여 Mendelson과 Gross(9), Andersen과 Ganesan(10)의 방법을 수정하여 사용하였다.

평판배지에서 배양한 각 균주를 SGM 액체배지 25 m*l*에 1백금이 접종하여 30℃에서 180 rpm으로 20시간 회전진탕 배양한 배양액을 SGM 배지 30 m*l*에 10 : 1로 접종하여 30℃에서 대수증식기로 진탕 배양한 후 각 배양액을 3개의 실험구로 나누어 첫번째 실험구에는 DNA의 합성을 측정하기 위하여 m*l*당 0.1 μCi의 thymine 2-^{14}C과 10 μg의 thymine 2-^{12}C을 첨가하였고, 두번째 실험구는 RNA의 합성을 측정하기 위하여 m*l*당 0.05 μCi의 uracil 2-^{14}C과 6 μg의 uracil 2-^{12}C을 첨가하였으며, 세번째 실험구는 단백질의 합성을 측정하기 위하여 0.1 μCi의 phenylalanine U-^{14}C을 첨가한 후 각 실험구를 제한온도인 42℃로 배양하면서 배양 즉시부터 매시간 DNA와 RNA 그리고 단백질의 합성을 liquid scintillation counter로 측정하였으며, 아울러 600 nm에서 O.D.를 측정하였다.

균주의 DNA 생합성 회복능력 측정 : *B. sphaericus* 균주의 DNA 생합성의 회복능력을 측정하기 위해 Mendelson과 Gross(9)의 방법을 이용하였다.

각 균주를 SGM 배지 25 m*l*에 1백금이 접종하여 30℃ 항온기에서 180 rpm으로 진탕 배양한 후 배양액을 30 m*l*의 SGE 배지에 10 : 1로 접종하고 m*l*당 0.1 μCi의 thymine 2-^{14}C과 10 μg의 thymine 2-^{12}C을 첨가하여 30℃에서 대수증식기로 진탕 배양한 후 세 개의 실험

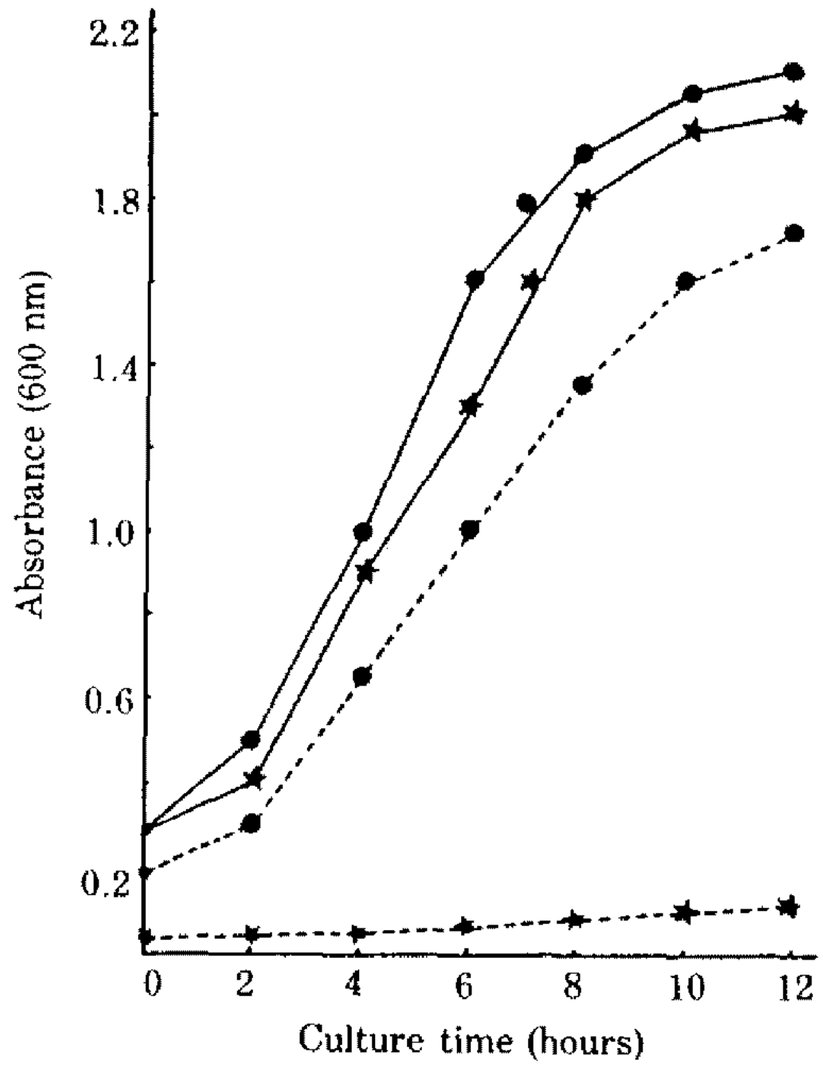

Fig. 1. Comparative growth patterns of *Bacillus sphaericus* 1593 and ts-D1290 at permissive (30°C) and nonpermissive temperatures (42°C).
Symbols: (●—●), 1593 strain at 30°C; (●···●), 1593 at 42°C; (★···★) ts-D1290 at 30°C and (★ ★), ts-D1290 at 42°C.

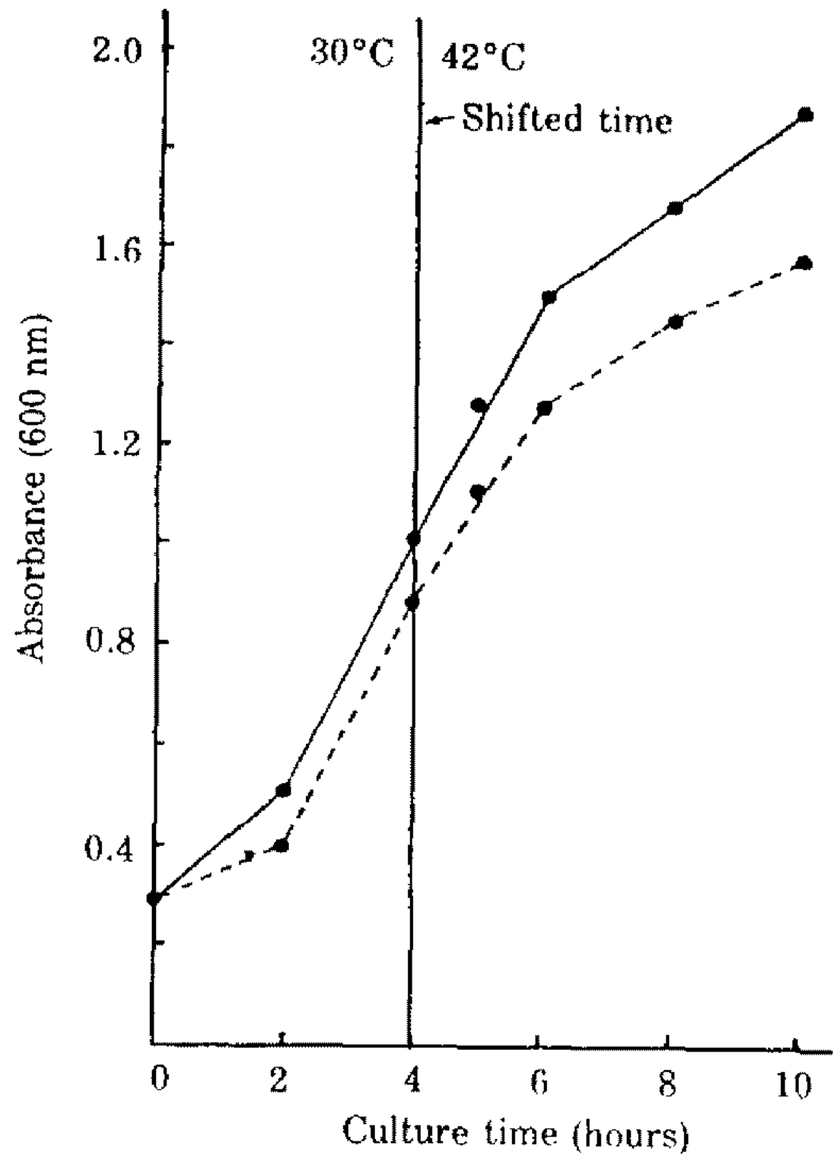

Fig. 2. Comparative temperature shift-up growth (30°C to 42°C) patterns of *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290.
Symbols: (●—●), 1593 strain and (●···●), ts-D1290.

구로 나누어 배양온도를 제한온도인 42℃로 하여서 30분, 60분, 120분간씩 배양한 다음 다시 허용온도인 30℃로 온도를 하강하여 배양하면서 42℃의 배양시간에 따른 DNA 합성의 회복능력을 매시간마다 scintillation counter로 측정하면서 O.D.를 측정하였다.

결 과

B. sphaericus 1593와 ts-D1290의 증식조사

B. sphaericus 1593를 허용온도인 30℃에서 배양하였을 때의 증식은 접균 후 3시간부터 대수증식기에 들어가 5시간 후에는 정체기에 들어갔으며, *B. sphaericus* ts-D1290 돌연변이주도 1593와 유사한 증식을 보였다(Fig. 1). 제한온도인 42℃에서 *B. sphaericus* 1593의 증식율은 30℃에서 배양할 때보다 낮았으며 뚜렷한 대수증식기가 없이 배양 9시간 후부터 정체기에 도달하였으며, *B. sphaericus* ts-D1290 돌연변이주는 42℃에서는 거의 증식이 일어나지 않았다(Fig. 1).

B. sphaericus 1593와 ts-D1290의 온도상승과 온도하강 배양시의 증식조사

B. sphaericus 1593와 ts-D1290 돌연변이주를 허용온

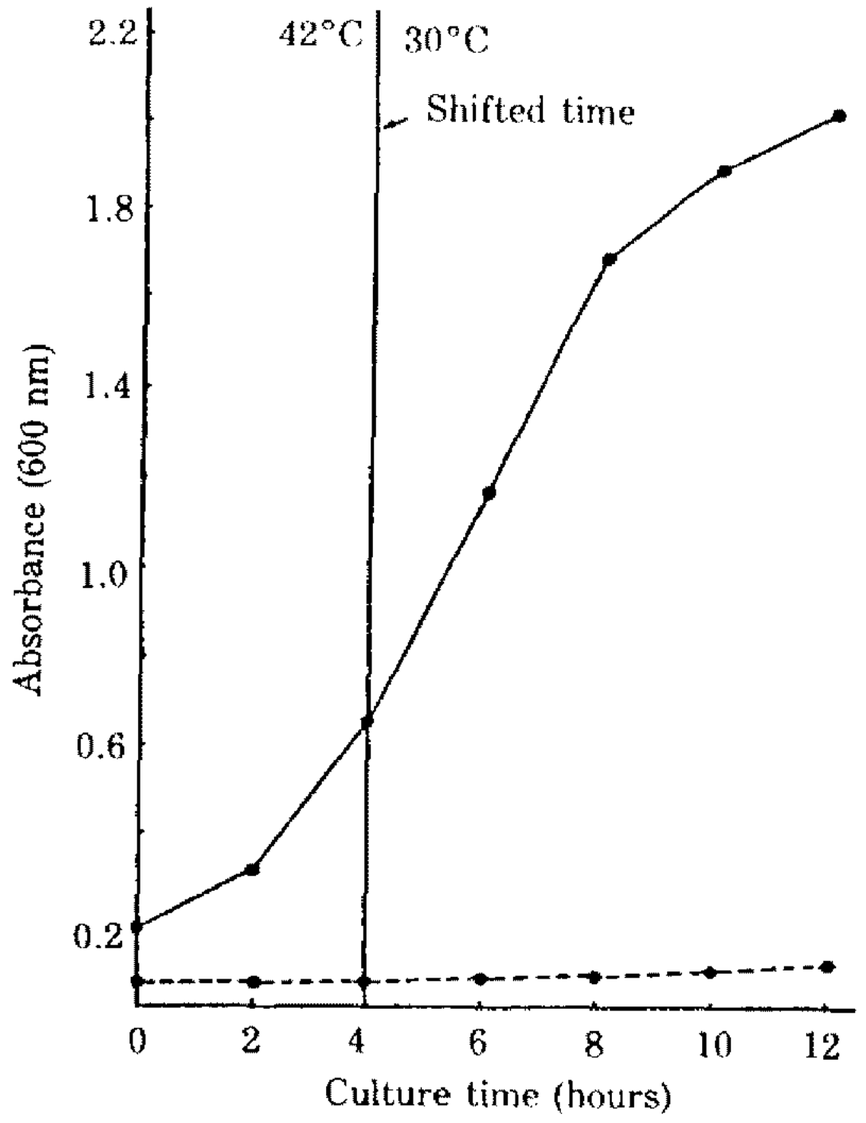

Fig. 3. Comparative temparature shift-down growth (42°C to 30°C) patterns of *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290.
Symbols: (●—●), 1953 strain and (●···●), ts-D1290.

도인 30℃에서 4시간 배양 후 제한온도인 42℃로 온도를 상승 배양한 결과 두 균주 모두 높은 증식률을 나타내

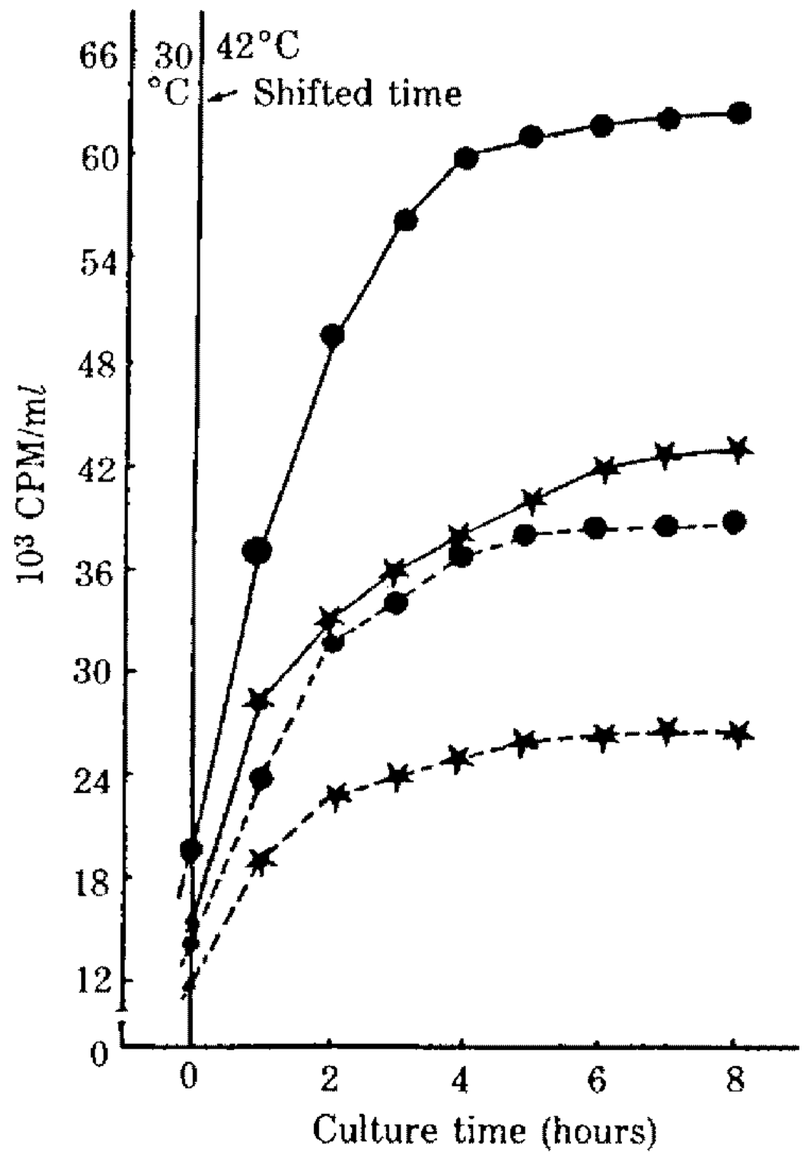

Fig. 4. Effect of a temparature shifted from 30°C to 40°C on the synthesis of DNA and RNA by *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290.

Symbols: (●—●), 1593 strain treated with Uracil-^{14}C; (★–★), 1593 strain with Thymine-^{14}C; (● ··· ●), ts-D1290 with Uracil-^{14}C and (★ ··· ★), ts-D1290 with Thymine-^{14}C.

었으며, ts-D1290 돌연변이주는 42℃에서 2시간 후 정체기에 도달하였다(Fig. 2).

또한, *B. sphaericus* 1593와 ts-D1290 돌연변이주를 42℃에서 4시간 배양 후 30℃로 온도를 하강 배양하였을 때는 1593의 경우 정상적인 증식을 하였으나 ts-D1290 돌연변이주는 거의 증식이 일어나지 않았다(Fig. 3).

B. sphaericus 1593와 ts-D1290의 온도상승 배양시의 증식및 DNA, RNA, 단백질 합성

B. sphaericus 1593와 ts-D1290 돌연변이주를 30℃에서 42℃로 온도를 상승 배양한 결과 1593는 DNA 생합성이 2시간 동안 높은 비율로 일어나다가 그 후 생합성이 둔화되었으며, RNA 생합성은 3시간 동안 계속 높은 합성을 하여 RNA 생합성이 DNA 생합성보다 평균 1.4배 높은 합성률을 나타냈다(Fig. 4).

단백질 합성은 Fig. 5에서 보는 바와 같이 계속 높은 합성을 나타내었으며, RNA 생합성이 일어나지 않아도 단백질 합성은 DNA의 생합성과 유사하게 증가율이 둔화되었다.

B. sphaericus ts-D1290의 증식과 DNA 생합성 회복

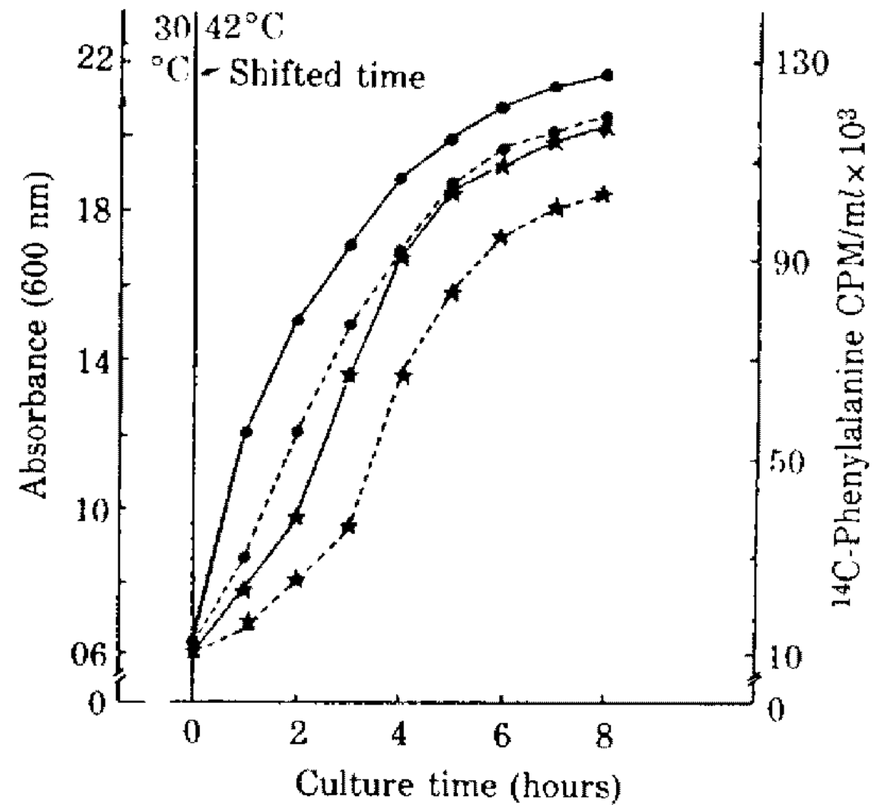

Fig. 5. Effect of a temperature shifted from 30°C to 40°C on the synthesis of total proteins and on the growth of *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290.

Symbols: (●—●), growth (O.D.) of 1593 strain: (● ··· ●), protein synthesis (CPM) of 1593 strain; (★–★), growth (O.D.) of ts-D1290 and (★ ··· ★), protein synthesis (CPM) of ts-D1290.

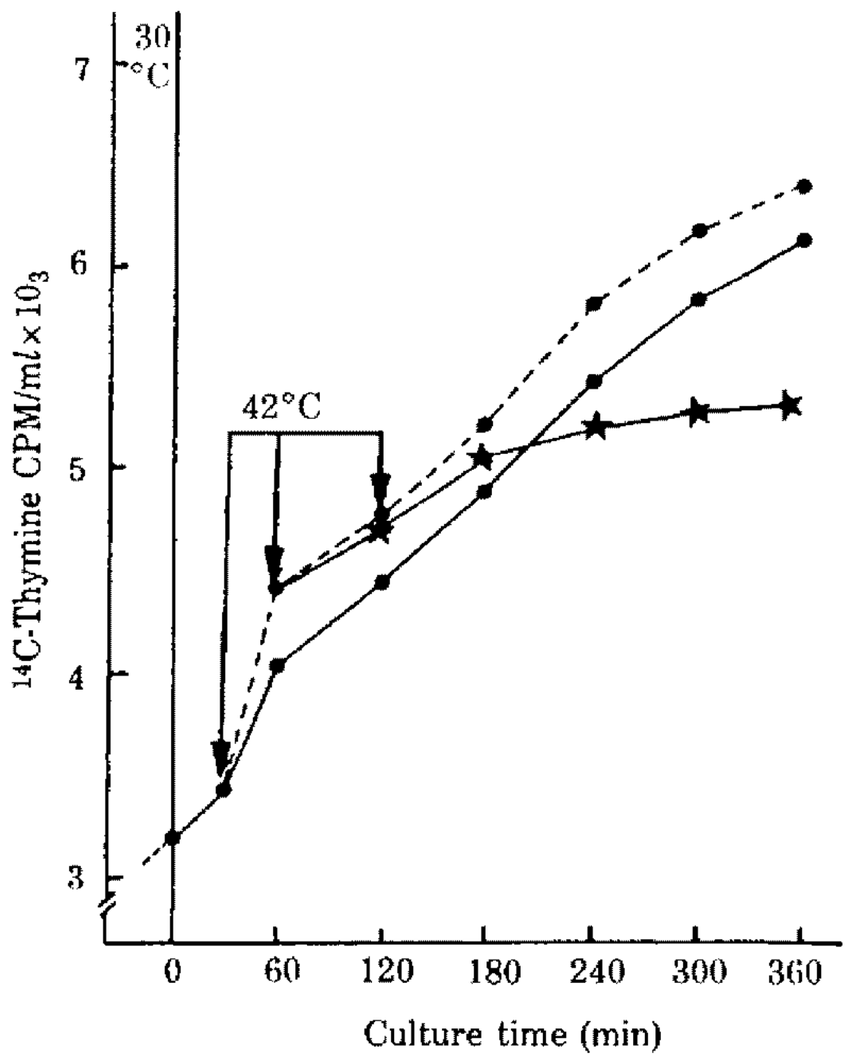

Fig. 6. Reversibility of DNA synthesis in *B. sphaericus* ts-D1290 and 1593 strain when cultural temperature was shifted from 30°C to 42°C and then vice versa.

Symbols: (●—●), shifted at 30 min: (● ··· ●), at 60 min and (★--★), at 120 min.

능력

B. sphaericus ts-D1290 돌연변이주의 DNA 생합성 회복능을 실험한 결과 Fig. 6에 나타난 바와 같이 42℃에서 30분간 배양한 후 다시 허용온도인 30℃로 하강 배양하였을 때 정상적인 DNA 생합성률을 나타내었으며,

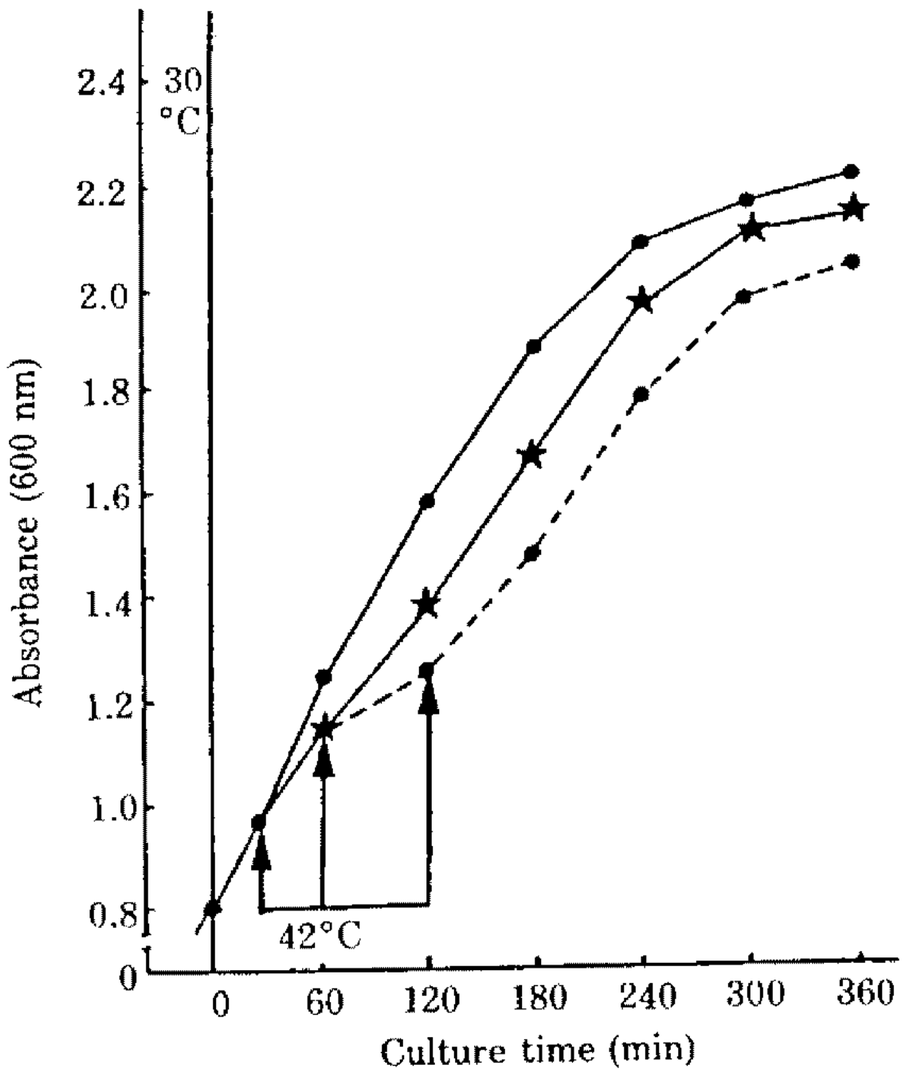

Fig. 7. Comparative growth patterns of *B. sphaericus* 1593 and ts-D1290 when cultural temperature shifted from 30°C to 42°C and then vice versa.
Symbols: (●—●), shifted at 30 min: (★- ★), at 60 min and (●···●), at 120 min.

42℃에서 60분간 배양 후 30℃로 온도를 하강 배양하였을 때는 30분간 배양한 후 DNA가 생합성되는 비율보다 더 높은 DNA 생합성률로 높은 회복능을 보였고, 120분 후 허용온도로 하강하여 배양하였을 때는 DNA 생합성 회복능이 낮게 나타났다. 그리고 증식을 측정한 결과 42℃에서 배양 30분, 60분 및 120분 순서로 유사한 형태의 높은 증식률을 나타냈다(Fig. 7).

고 찰

B. sphaericus 1593과 ts-D1290의 증식과 온도상승 배양시의 DNA, RNA 및 단백질 합성

B. sphaericus 1593 정상균주와 *B. sphaericus* ts-D1290 돌연변이주를 허용온도에서 제한온도로 상승 배양하였을 때 2시간까지는 대수증식으로 세포가 증식을 하다가 그 이후 증식이 둔화되었으며, DNA 생합성은 60분까지 급격히 증가되다가 그 후 감소하는 경향을 나타냈고, 42℃로 온도를 전이한 후 DNA 합성은 정지되기 전인 배양 6시간까지 정상균주인 1593가 약 93%, ts-D1290 돌연변이주 DNA 합성은 1593 정상균주의 약 50%이었다. 그리고 RNA 생합성률은 DNA 생합성률보다 약 1.4배 높은 결과를 보였는데, 정상균주 1593는 3시간 동안 그리고 ts-D1290 돌연변이주는 2시간 동안 생합성을 높게 지속되었으며, 단백질 합성은 1593 정상균주가 ts-D1290 돌연변이주보다 평균 1.2배 높았다. 이 결과는 *B. subtilis* 168 ts-134 돌연변이주의 대수증식 세포를 30℃에서 45℃로 상승 배양하였을 때 DNA 합성은 20~30분 동안 RNA와 단백질의 합성은 수시간 동안 정상적인 양상을 보이다가 그 후 감소하기 시작했고, 45℃에서 배양할 때 DNA 합성은 뚜렷이 감소되었으며, DNA 합성률은 30~60%라는 Mendelson과 Gross(9)의 보고와 유사하다. 또한, Andersen과 Ganesan(10)의 결과에서도 *B. subtilis* ts-SB1081 돌연변이주를 40℃ 이상의 온도에서 배양하면 DNA 합성은 30분 이내에 저해되었으나, RNA와 단백질의 합성은 계속되었으며, 돌연변이주를 30℃에서 43℃로 상승 배양했을 때, 세포수의 증가는 4시간 동안 계속되나, 그 증가율은 1시간 이내에 감소가 시작되었다. Hirota 등(11)의 보고에 의하면 *E. coli* ts-D247LT 돌연변이주의 DNA 합성은 제한온도에서 60분까지는 정상적으로 일어나다가 그 후는 정지되었는데, DNA 합성률은 약 60%이었고, RNA와 단백질의 합성은 계속되었음을 보고하였다. 또한 Lauren와 Vannier(12)는 *B. subtilis* ts-37 돌연변이주의 경우 제한온도에서는 DNA 합성이 저해되며 합성이 중지되기 전에 40~50%의 DNA가 합성된다고 하였다.

한편 제한온도인 42℃에서 DNA 합성이 60분 동안은 정상적인 비율로 일어나다가 그 이후 감소하는 것은 배지성분 중 티민(thymine)의 결핍 때문으로 생각할 수 있지만 본 연구에서는 희석법에 의해서 일정한 고유활성 상태에서 실험한 바 이는 감온성 돌연변이주의 특성으로 30℃ 대수증식기 배양액에서 일단 DNA 복제가 개시된 것은 42℃에서 복제사이클을 완결하기 때문에 60분 동안은 DNA 생합성이 정상적인 비율로 일어나다가 그 후 온도저해로 인해 DNA 복제는 더이상 일어나지 않아서 그 율이 감소되는 것으로 생각되며, 특히 제한온도에서 DNA 생합성이 감소되는 것은 제한온도에서는 감온성 단백질의 활성이 저해되기 때문으로 생각된다.

한편 RNA 합성이 DNA와 단백질의 합성보다 높게 나타난 것은 DNA의 한가닥을 주형으로 하여 RNA의 합성을 위해 필요한 효소의 생성이나 RNA의 강력한 인자에 의해 전사가 잘 일어나기 때문으로 추측되고, 단백질의 합성과 DNA의 합성 비율은 유사하였는데 이는 DNA의 합성이 일어나기 위해서는 단백질이 먼저 합성되어야 하기 때문으로 생각된다. 또한 DNA 합성률이 억제되어도 높은 증식률을 나타낸 것은 균체가 제한온도에서 저해를 받기까지는 다소 시간이 걸리며, 온도의 저

해를 받아 균체의 분열이 잘 일어나지 않아도 RNA, 단백질 혹은 효소 등의 합성이 계속되기 때문으로 사료된다.

B. sphaericus ts-D1290의 DNA 생합성 회복

B. sphaericus ts-D1290 돌연변이주를 제한온도인 42℃에서 배양하고 다시 허용온도인 30℃로 배양하였을 때의 DNA 생합성 회복능력은 제한온도에서 배양시간이 길수록 회복능력이 상실됨을 알 수 있었다.

Mendelson과 Gross(9)도 *B. subtilis* 168 ts-134 돌연변이주는 45℃에서 30분~60분간 배양 후 30℃로 온도를 하강 배양하였을 때에는 DNA의 합성은 원상회복되었지만, 45℃에서 보다 장시간 배양을 하면 DNA의 회복능력이 상실된다고 하였다. 또한 Andersen과 Ganesan(10)도 *B. subtilis* ts-SB1081과 ts-SB1082 돌연변이주들은 43℃에서 90분간 배양하였을 때에는 DNA 합성이 정지되었지만, 짧은 시간 43℃에서 배양 후 30℃로 하강 배양하였을 때에는 20분 이내에 DNA 합성이 다시 시작된다고 하였다. Laurent와 Vannier(12)도 *B. subtilis* ts-37 돌연변이주는 45℃에서 단시간 배양 후 30℃로 하강 배양하였을 때 DNA 합성 재개시는 균체 염색체의 동일한 영역에서 일어난다고 보고하였다. 본 연구에서도 제한온도에서 120분간 배양한 후에는 DNA 합성 회복능력이 없어졌으며, 제한온도에서 장시간 배양하면 DNA 생합성에 필요한 단백질의 구조나 활성의 변성이 심해져서 DNA 합성 능력이 상실된다고 생각된다. 제한온도에서 30분간 배양하였을 때보다 60분간을 배양하였을 때의 DNA 합성 회복률이 좀더 높은 것은 *B. sphaericus* ts-D1290 감온성 돌연변이주의 특성으로 생각된다.

요 약

B. sphaericus ts-D1290의 특성을 정상균주(*B. sphaericus* 1593)와 비교하기 위하여 방사성동위원소를 이용하여 DNA, RNA 그리고 단백질 생합성량을 허용온도와 비허용온도에서 측정하고, 온도의 영향을 조사하였다.

1. ts-D1290 돌연변이주를 30℃에서 배양하였을 때는 정상균주와 유사한 증식을 보였으나, 제한온도인 42℃에서는 거의 증식을 하지 않았다.

2. 온도를 30℃에서 42℃로 상승하여 배양하였을 때는 두 균주 모두 정상적인 높은 증식률을 보였으며, 온도를 42℃에서 4시간 배양 후 30℃로 하강하여 배양하였을 때는 정상균주는 정상적인 증식을 하였으나, ts-D1290 돌연변이주는 거의 증식을 하지 않았다.

3. 정상균주와 ts-D1290 돌연변이주의 대수증식기에 있는 세포를 30℃에서 42℃로 상승 배양하였을 때, DNA 생합성은 두 균주 모두 1시간 동안 많이 증가되다가 그 후 감소하는 경향이었고, DNA 합성이 정지되기 전에 배양 6시간까지는 정상균주가 약 93%, ts-D1290 돌연변이주는 정상균주 DNA 합성의 약 50%이었다. 그리고 RNA 생합성은 정상균주의 경우 3시간 동안, ts-D1290 돌연변이주는 2시간 동안 생합성이 많이 일어났으며, 단백질 합성은 두 균주가 유사하게 배양 8시간 동안 계속적으로 증가하였다.

4. ts-D1290 돌연변이주는 42℃에서 배양시간이 길수록 DNA 생합성 회복능이 상실되었다.

감사의 말

본 연구는 과학재단연구비 지원으로 수행되었음.

참고문헌

1. Larkin, J.M. and J.L. Stokes, Hand Book of microbiology Vol. III., Larkin and Alier, ed. p.157, CRC Press. (1967).
2. Davidson, E.W., S. Singer and J.D. Briggs, *J. Invertebr, Pathol.* **25**, 179 (1975).
3. Meyers, P and A.A. Yousten, *Can J. Microbiol.* **25**, 1227 (1979).
4. Kim, Y.H. and H.H. Lee, Han Guk *J. Gen. Eng.* Kon Kuk University, **1**, 15 (1984).
5. Kim, Y.H. and H.H. Lee, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **13**, 41 (1985).
6. Imae, Y. and J.L. Strominger, *J. Biol. Chem.* **251**, 1493 (1976).
7. Spizizen, *J. Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **44**, 1072 (1958).
8. Maniatis, T., E.F. Fritsch and J. Sambrook. Molecular cloning. Cold Spring Harbor Laboratory, p.473, (1982).
9. Mendelson, N.H. and J.D. Gross, *J. Bacteriol.* **94**, 1603 (1967).
10. Anderson, J.J. and A.T. Ganesan, *J. Bacteriol.* **121**, 173 (1975).
11. Hirota, Y., J. Mordoh and F. Jacob, *J. Mol. Biol.* **53**, 369 (1970).
12. Laurent, S.J. and F.S. Vannier, *J. Bacteriol.* **114**, 474 (1973).

(Received July 31, 1990)