

Synechocystis sp. PCC 6803으로부터 광활성 종속영양 생장결핍 돌연변이체의 분리 및 특성

박미선¹ · 이영숙¹ · 김영창^{*1,2}

¹충북대학교 자연과학대학 미생물학과, ²서울대학교 분자미생물학 연구센터

Synechocystis sp. PCC 6803으로부터 광활성종속영양으로 생장할 수 없는 돌연변이체 PRM1을 분리하였다. PRM1을 혼합영양으로 배양하였을 경우에는 생장속도가 *Synechocystis* 6803과 거의 같았다. 그러나 PRM1을 하루에 5 분만 빛을 조사하면서 광활성종속영양으로 배양하였을 경우에는 전혀 생장하지 못하였다. 이러한 결과는 PRM1이 종속영양으로 생장하는데 필요한 대사 능력에 이상이 있는 것이 아니라 생장에 필요한 광신호 전이 체계에 이상이 있음을 시사한다. PRM1의 plasmid 양상, 균체의 absorption spectra, 세포 내부와 외부의 형태 등은 *Synechocystis* 6803과 유사하였으나 여러 세포들을 함께 엮어매는 부정형 점액성 물질을 형성하지 않는 점이 달랐다.

KEY WORDS □ *Synechocystis* PCC 6803, signal transduction, photoregulation, light-activated heterotrophic growth

Synechocystis sp. PCC 6803 (*S.* 6803)은 물을 전자공여체로 이용하여 식물성 산소발생 광합성을 하는 단세포 남세균(cyanobacterium)이다. *S.* 6803은 빛을 계속 조사하면서 최소배지에서 배양하면(광독립영양) 광합성을 하여 생장하지만, 환원당을 배지에 첨가해 주고 빛을 계속 조사하면서 배양하면(mixotrophy, 혼합영양) 광합성을 통해 에너지를 얻고 외부의 환원당을 세포내로 수송하여 탄소원으로 이용하므로 광독립영양하에서보다 생장 속도가 빨라진다. 또한 환원당과 함께 광계 II의 저해제인 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea를 첨가한 배지에서 빛을 계속 조사하면서 배양하면 광종속영양으로 생장한다. 그러나 빛을 완전히 차단한 상태에서 화학종속영양으로는 생장하지 못한다.

S. 6803이 화학종속영양으로는 생장하지 못하지만 광합성을 할 수 없을 정도의 약한 빛을 계속 조사해 주거나(7, 15) 하루에 5분 정도만 청색광을 조사해 주어도 환원당을 첨가한 배지에서 생장할 수 있는데 이러한 생장을 광활성종속영양생장(light-activated heterotrophic growth)이라고 한다(4). *S.* 6803이 화학종속영양으로 생장하지는 못하지만 광활성종속영양으로 생장할 수 있다는 사실은 청색광이 화학종속영양으로 생장하는데 필요한 대사 과정, 세포 분열, 또는 광형태형성 등을 조절하는 외부 신호로 작용하고 있다는 것을 시사한다(4). 광합성 세균들에서 빛이 세포 주기를 조절하며(5) 또한 광합성에 관련된 여러 유전자들의 발현을 조절하고 있음(2, 3, 10, 17, 21)이 보고되었으나 이 빛 신호가 어떻게 피조절 유전자에

전달되는지에 대해서는 전혀 알려진 바가 없다.

고등 식물에서 적색광, 청색광, 자외선들이 특별한 광수용체에 의하여 인지되고, 이어 G 단백질과 calmodulin 등이 관여하는 신호전달 및 전달과정을 거쳐 각각 여러 생명 현상들을 나타낸다고 보고된 바 있으나(6, 9, 12, 14, 16, 19, 22), 식물체를 대상으로 광신호 전이기작을 연구하는 데는 현상의 복잡성과 실험과정의 기술적, 시간적, 경제적 제약이 많기 때문에 이에 관한 연구가 아직 초보적 수준에 머물고 있다. 따라서 *S.* 6803이 광합성 연구의 모델이 되어 왔던 것에 비추어 볼 때, 광신호 전이기작과 응답기작에 관한 연구에도 *S.* 6803이 많은 정보를 제공해 줄 수 있을 것으로 기대된다(1).

광신호 전이기작을 연구하기 위해서는 광신호 전이 체계에 이상이 생긴 돌연변이체를 선발하는 것이 필요하다. 우리는 *S.* 6803을 계대 배양하는 과정에서 우연히 광활성종속영양으로 생장하지 못하는 돌연변이체를 분리하였기에 이의 특성을 *S.* 6803과 비교 조사하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양

Synechocystis sp. PCC 6803과 광활성종속영양으로 생장하지 못하는 돌연변이체 PRM1은 30 °C 배양기에서 3,500~4,000 lx의 백색광을 조사하면서 배양하였다. 배지는 증류수 1 l에 citric acid 6.00 mg, ferric ammonium citrate 6.00 mg, Na₂EDTA 1.00 mg,

NaNO₃ 1.500 mg, K₂HPO₄ · 3H₂O 40.00 mg, MgSO₄ · 7H₂O 75.00 mg, CaCl₂ · 2H₂O 36.0 mg, Na₂CO₃ 20.00 mg, H₃BO₃ 2.86 mg, MnCl₂ · 4H₂O 1.81 mg, ZnSO₄ · 7H₂O 0.222 mg, Na₂MoO₄ · 2H₂O 0.391 mg, CuSO₄ · 5H₂O 0.079 mg, Co(NO₃)₂ · 6H₂O 0.05 mg, HEPES 0.02 M (pH 7.5)을 첨가한 BG-11 최소배지를 사용하였다(15). 혼합영양과 광합성종속 영양으로 배양할 때는 포도당 10 mM을 BG-11 배지에 첨가하였으며 광종속영양으로 배양할 때는 포도당 10 mM과 함께 광계 II의 저해제인 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea를 6 μ M로 BG-11 배지에 첨가하였다. 한천배지는 BG-11에 sodium thiosulfate를 0.3%, Bacto-agar를 1.0%로 첨가하여 제조하였다. 필요한 경우 Bacto-agar를 Braun과 Wood (8)의 방법에 따라 정제하여 사용하기도 하였다. 배양한 균의 생장은 730 nm에서의 흡광도를 측정하여 알아 보았다.

플라스미드 DNA 추출

S. 6803과 PRM1을 각각 5 l의 BG-11 액체배지에서 혼합영양으로 배양한 후 50 mM NaCl, 10 mM EDTA (pH 8.0)로 한 번 세척하고, 균체 1 g (wet weight) 당 10 ml의 TENS buffer (50 mM Tris-HCl, 20 mM EDTA, 50 mM NaCl, 250 mM sucrose, pH 8.0)에 현탁시켜 -70 °C에서 얼렸다가 상온에서 녹였다. 여기에 450 μ g/ml lysozyme, 750 μ g/ml hemicellulase를 넣고 37 °C에서 3시간 동안 천천히 흔들어 준 후 1 mg/ml pronase, 1% SDS가 되도록 첨가하고 37 °C에서 10시간 동안 천천히 흔들어 주었다. 5 M NaCl을 25%가 되도록 넣고 완전히 엉길 때까지 4 °C에서 12시간 동안 정치한 후 4 °C에서 12,000 \times g로 15분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 상층액을 phenol/chloroform으로 추출한 후 Sambrook 등 (20)의 방법에 따라 에탄올로 침전시켜 플라스미드를 분리하였다.

Spectroscopy

Visible 흡수 스펙트럼 조사에는 Pharmacia LKB Ultrospec III를 사용하였으며, BG-11 액체배지에서 혼합영양으로 배양한 전체 균체를 시료로 사용하였다. 360~840 nm 범위에서 1 nm 간격으로 파장을 달리 하면서 흡광도를 측정함으로써 균체의 분광학적 특성을 조사하였다.

전자현미경 관찰

S. 6803과 돌연변이체 PRM1의 외부 형태를 주사 전자현미경으로 관찰하였다. 두 균주를 30 °C에서 14 일 동안 BG-11 한천배지에서 혼합영양으로 배양한 후 집락을 0.5 cm² 크기의 agar block 상태로 떼어 내어 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.2)로 만든 2.5% glutaraldehyde 용액에서 3시간 동안 전 고정하고, 다시 0.1% OsO₄ 용액에서 5시간 동안 후 고정하였다. 균체를 agar block과 분리하기 위하여 Ap filter (prefilter size, Millipore)로 여과한 다음 50, 60, 70, 80, 90, 95% 에탄올에서 15분씩 단계적으로

탈수하고 100% 에탄올에서 20분씩 2번 탈수하였다. 그리고 100% isoamylacetate에서 20분 동안 치환하여 자연 건조시켰다. 건조된 시료를 Sputer coater (Edwards S150B)로 300 Å에서 gold coating하고 주사전자현미경 (Hitachi 570)으로 관찰하였다.

세포의 내부 구조는 균체를 원심 분리하여 모은 후 Hayat (13)의 방법에 따라 시료를 제조하고, 박편으로 절단하여 투사전자현미경 (Carl Zeiss EM109)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

광합성종속영양으로 성장하지 못하는 돌연변이체의 성장 특성

S. 6803을 혼합영양 상태로 계대 배양을 하던 중 우연히 광합성종속영양으로 성장하지 못하는 돌연변이체를 분리하고 이를 PRM1으로 명명하였다. S. 6803과 PRM1을 혼합영양과 광합성종속영양으로 배양하였을 때의 성장 곡선을 Fig. 1에 나타내었다. Fig. 1의 A에서 보는 바와 같이 탄소원을 첨가하고 계속

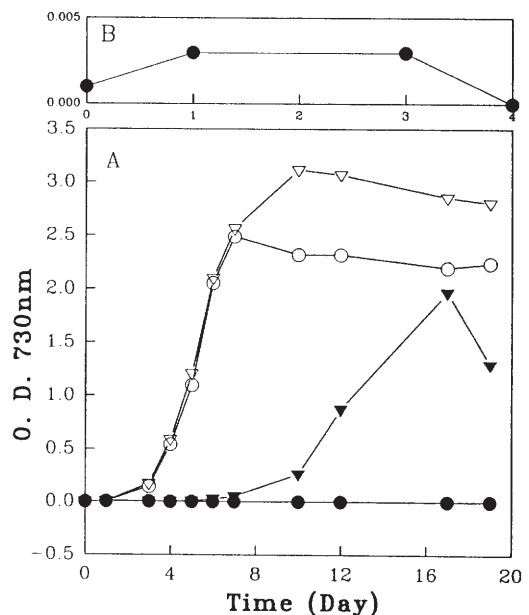


Fig. 1. Growth curves of *Synechocystis* 6803 and PRM1 under mixotrophic and light-activated heterotrophic conditions.

(A) *Synechocystis* 6803 (triangle) and PRM1 (circle) were grown in liquid BG-11 media supplemented with 10 mM glucose at 30 °C under light (open symbols) or light-pulsed (closed symbols) conditions. (B) Growth of PRM1 under light-activated heterotrophic conditions.

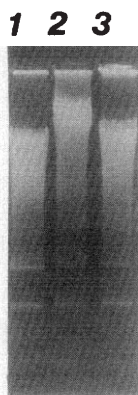


Fig. 2. Plasmid patterns of *Synechocystis* 6803 and PRM1.

Electrophoresis was performed in 0.7% agarose gel. Lane 1, plasmids from *Synechocystis* 6803 grown under mixotrophic conditions; 2, plasmids from *Synechocystis* 6803 under light-activated heterotrophic conditions; 3, plasmids from PRM1 under mixotrophic conditions.

빛을 조사하면서 배양하였을 경우 PRM1은 *S.* 6803 보다 정지기에서의 흡광도는 낮았지만 대수기에서의 성장속도는 거의 같았다. 그러나 *S.* 6803을 광활성종속영양으로 배양하면 비록 혼합영양으로 배양할 때에 비해 성장속도가 느리고 균체의 밀도도 낮지만 성장할 수 있는데 반해 PRM1은 전혀 성장하지 못하였다. 이러한 결과는 PRM1이 종속영양으로 성장하는데 필요한 대사 능력에 이상이 있는 것이 아니라 성장에 필요한 광신호 전이 체계에 이상이 있음을 시사한다. Fig. 1의 B에서 보는 바와 같이 PRM1은 빛이 하루에 5분만 조사되는 조건에서 1~2일 정도는 성장할 수 있었는데, 이는 혼합영양으로 배양하였을 때에 세포 내에 이미 만들어져 있던 광신호 전이와 관련된 산물들이 잔재해 있기 때문인 것으로 사료되며, 이후에는 더 이상 신호가 전달되지 않으므로 사멸하는 것으로 추측된다. 특히 *S.* 6803이 광활성종속영양으로 성장하는데 필요한 것은 청색광이라는 보고 (4)를 고려해 볼 때 PRM1은 바로 이 청색광의 수용체 또는 신호전이 기구에 변이가 생길 수 가능성이 높다. 그리고 광합성 기구들은 주로 적색광에 의해 조절되기 때문에 PRM1은 적색광 신호 전이에는 이상이 없는 것으로 해석된다. 따라서 돌연변이체 PRM1은 청색광 신호 전이 기구와 응답 기작을 연구하는데 잘 활용될 수 있을 것으로 기대된다. 현재 PRM1에서 변이가 생긴 유전자를 클로닝하기 위하여 *S.* 6803의 게놈 library를 제작하고 PRM1에 이들을 형질전환하여 광활성종속영양으로 성장할 수 있는 클론을 선발하는 실험을 진행 중이다. 또한 PRM1으로부터 새로운 광신호 전이 변이체를 얻기 위하여 reversion 실험을

진행 중이다.

플라스미드 양상

S. 6803과 PRM1의 플라스미드 양상을 조사하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 혼합영양으로 배양한 *S.* 6803에서 2.4 kbp와 5.2 kbp의 플라스미드들을 확인하였는데 이것은 Chauvat 등 (11)과 Yang과 McFadden (24)의 결과와 일치한다. PRM1을 혼합영양으로 배양하여 조사하였을 때도 플라스미드의 숫자와 크기가 *S.* 6803과 동일하였다. 따라서 PRM1이 *S.* 6803으로부터 유래한 돌연변이체임을 확인할 수 있었다. 또한 플라스미드의 양상과 복제수 (copy number)가 관찰되지 않았으므로 플라스미드와 광신호 전이와의 관련 가능성은 희박한 것으로 생각된다. *S.* 6803을 혼합영양 또는 광활성종속영양으로 배양하였을 때 같은 플라스미드 양상을 나타내고 있었으므로 빛이 플라스미드의 복제에 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다.

균체의 흡수 스펙트럼

고등식물에는 적색광, 청색광, 자외선 수용체들이 각각 존재하며 이들 신호가 세포에 미치는 영향도 각각 다르다는 것을 감안할 때 *S.* 6803에도 여러 수용체가 존재하며 그 역할도 서로 다를 가능성이 있다. *S.* 6803을 광활성종속영양으로 배양한 시료의 경우에는 흡광 파장에는 변화가 없었으나, 흡광도는 매우 낮게 나타났다. 그 이유는 대부분의 광합성 식물이나 세균이 광합성을 수행하지 않을 경우에는 광합성에 요구되는 단백질과 색소를 합성하지 않기 때문인 것으로 사료된다. 하루에 5분 동안 조사되는 청색광으로는 *S.* 6803이 광합성을 할 수 없으므로 이러한 조건에서는 광합성에 필요한 단백질과 색소를 생산하지 않을 것이다. 그러나 광활성종속영양으로 배양한 *S.* 6803에서 약간의 색소가 존재함을 확인할 수 있었는데 이들은 청색광에 의해 발현이 유도되었거나 아니면 적색광에 의해 유도되지 않은 상태에서 기본적인 수준으로 만들어진 것으로 사료된다. 이 때문에 *S.* 6803을 광활성종속영양으로 배양하였을 때에도 매우 연한 녹색을 띠는 것으로 생각된다.

PRM1 균체의 색이 *S.* 6803에 비해 약간 연한 녹색을 나타내기 때문에 PRM1에서 생긴 청색광 신호전이의 이상이 세포의 색소 생성능에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보았다. *S.* 6803과 PRM1을 혼합영양으로 배양하여 균체의 흡수 스펙트럼을 비교하여 본 결과 큰 차이가 없었으나 PRM1이 *S.* 6803보다 630과 680 nm에서의 흡광도가 약간 낮았다 (Fig. 3). 이 결과는 PRM1 균체의 색이 약간 연한 녹색을 나타낸다는 것과 일치하는 것으로서 PRM1이 *S.* 6803에 비해 chlorophyll a와 phycocyanin 함량이 약간 적기 때문인 것으로 해석된다. 따라서 PRM1은 광합성에 필요한 색소 유전자 자체에 돌연변이가 생긴 것은 아니며 단지 광신호 전이의 이상으로 색소 유전자의 발현이 영향을 받은 것으로 사료된다.

세포의 구조적 특징

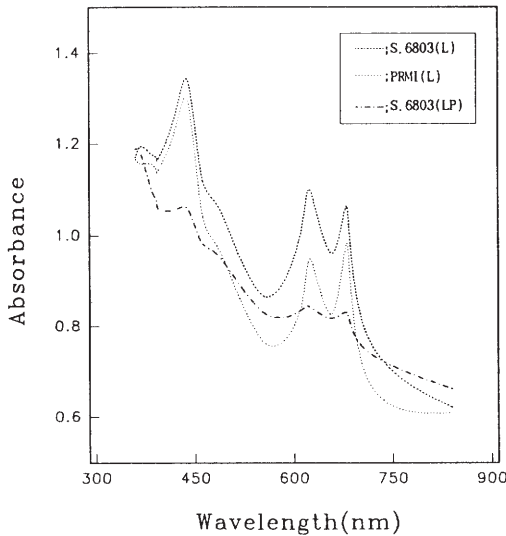


Fig. 3. Absorption spectra of whole cells of *Synechocystis* 6803 and PRM1.

Whole cells from *Synechocystis* 6803 grown under mixotrophic (L) or light-activated heterotrophic (LP) conditions and PRM1 grown under mixotrophic conditions (L) were used.

청색광 신호전이에 이상이 생긴 PRM1 세포의 구조적 특징을 알아보았다. 그람염색을 하여 광학현미경으로 관찰한 결과 *S. 6803*과 PRM1 모두 그람음성이었으며 세포의 크기나 형태에 큰 차이가 없었다. 그러나 *S. 6803*은 약 20여개의 세포들이 모여 있는데

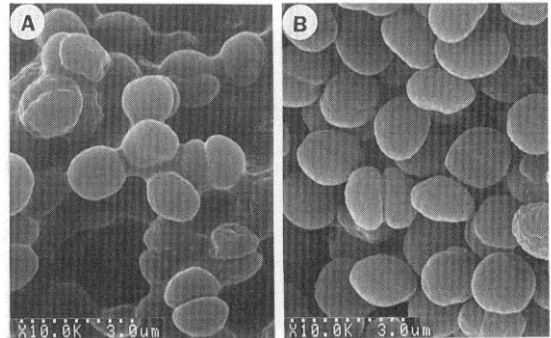


Fig. 4. Scanning electron micrographs of (A) *Synechocystis* 6803 and (B) PRM1.

Cells were grown under mixotrophic conditions (light, air levels of CO₂, and 10 mM glucose). Bar=3 μm.

비해 PRM1은 1개의 세포로 각각 떨어져 있었다. 그 이유는 주사전자현미경으로 관찰한 결과 점액성 물질의 생성 유무 때문임을 알 수 있었다. 즉 *S. 6803*에는 세포와 세포를 엮어매는 부정형의 점액성 물질이 있었으나 PRM1에서는 관찰할 수 없었다 (Fig. 4). *S. 6803*이 이와같은 점액성 물질을 생성하는지에 대해서는 보고된 바 없으나 *Synechocystis* 중에서는 균주 또는 배양 조건에 따라 점액성 물질을 생성하는 경우도 있음이 알려져 있다 (23). 그러므로 점액성 물질 생성과 청색광 신호 전이가 어떠한 연관 관계가 있는지를 앞으로 연구할 필요가 있다고 사료된다. *S. 6803*의 내부 구조에 관해서는 아직 보고된 바 없기 때문에 PRM1에 생긴 청색광 신호전이의 이상이 세

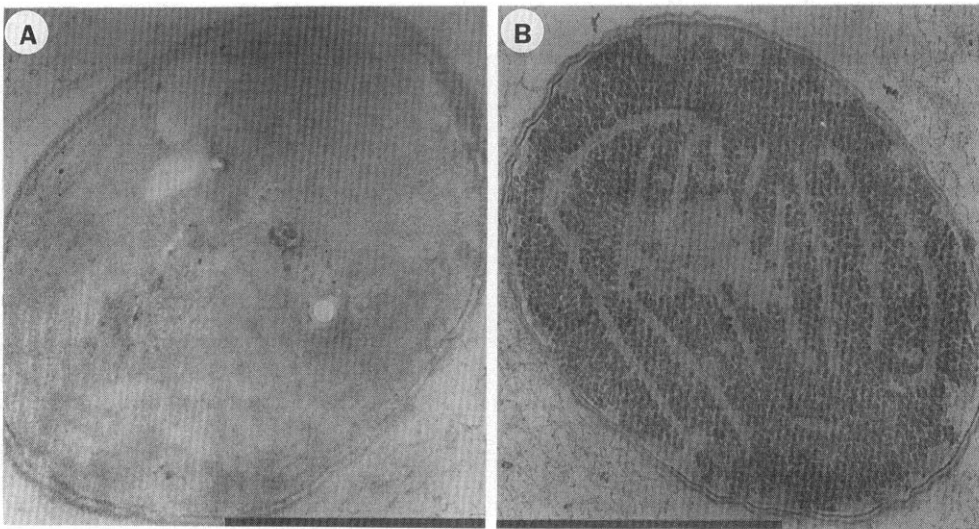


Fig. 5. Transmission electron micrographs of (A) *Synechocystis* 6803 and (B) PRM1.

Cells were grown under mixotrophic conditions (light, air levels of CO₂, and 10 mM glucose). Bar=1 μm.

포의 내부 구조에 미치는 영향을 알아보기 위하여 투사전자현미경으로 *S. 6803*과 *PRM1*의 세포 내부를 비교 관찰하였다 (Fig. 5). *S. 6803*의 경우는 점액성 물질때문에 *PRM1*에 비해 상이 뚜렷하지 않았지만 두 균주 모두 세포내막과 세포외막을 갖고 있고 세포 내부에는 thylakoid 막과 phycobilisome들이 잘 발달되어 있음을 확인하였다. 그러나 탄소원으로 포도당을 이용하여 생장하였기 때문에 CO_2 고정에 관여하는 carboxysome은 관찰할 수 없었다. 두 균주 사이에 내부 구조에 별다른 차이가 없다는 점과 광합성 기구들은 주로 적색광에 의해 조절된다는 점을 고려할 때 *PRM1*에서 적색광 신호 전이에는 이상이 없다는 앞서의 해석이 타당한 것으로 사료된다.

감사의 말

본 연구는 한국과학재단 우수연구센터 (서울대학교 분자미생물학 연구센터)의 연구비로 수행되었음. *Synechocystis* sp. PCC 6803을 분양해 준 동아대학교 이진범 박사에게 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 김영창, 1991. Cyanobacteria에 대한 최근 연구동향 및 전망: 유전자 발현의 광조절 기작에 대한 연구의 모델 생명체. 미생물과 산업 17, 2-10.
- Abdel-Mawgood, A.L. and R.A. Dilley, 1990. Cloning and nucleotide sequence of the *psbH* gene from cyanobacterium *Synechocystis* 6803. *Plant Mol. Biol.* 14, 445-446.
- Anderson, L.K. and A.R. Grossman, 1990. Structure and light-regulated expression of phycoerythrin genes in wild-type and phycobilisome assembly mutants of *Synechocystis* sp. strain PCC 6701. *J. Bacteriol.* 172, 1297-1305.
- Anderson, S.L. and L. McIntosh, 1991. Light-activated heterotrophic growth of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803: a blue-light-requiring process. *J. Bacteriol.* 173, 2761-2767.
- Armbrust, E.V., J.D. Bowen, R.J. Olson, and S.W. Chisholm, 1989. Effect of light on the cell cycle of a marine *Synechococcus* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 425-432.
- Assmann, S.M., L. Simoncini, and J.I. Schroeder, 1985. Blue light activates electrogenic ion pumping in guard cell protoplasts of *Vicia faba*. *Nature* 318, 285-287.
- Astier, C., K. Elmorjani, I. Meyer, F. Joset, and M. Herdman, 1984. Photosynthetic mutants of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6714 and PCC 6803: sodium p-hydroxymercuribenzoate as a selective agent. *J. Bacteriol.* 158, 659-664.
- Braun, A.C. and H.N. Wood, 1962. On the activation of certain essential biosynthesis systems in cells of *Vinca rosea* L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 48, 1776-1782.
- Bruce, W., A. Christensen, T. Klein, M. Fromm, and P. Quail, 1989. Photoregulation of a phytochrome gene promoter from oat transferred into rice by particle bombardment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 9692-9696.
- Bustos, S.A., M.R. Schaefer, and S.S. Golden, 1990. Different and rapid responses of four cyanobacterial *psbA* transcripts to changes in light intensity. *J. Bacteriol.* 172, 1998-2004.
- Chauvat, F., L. De Vries, A. Van der Ende, and G.A. Van Arkel, 1986. A host-vector system for gene cloning in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Mol. Gen. Genet.* 204, 185-191.
- Green, P.J., M.H. Yong, M. Cuzzo, Y.K. Murakami, P. Silverstein, and N.H. Chua, 1988. Binding site requirements for pea nuclear protein factor GT-1 correlate with sequences required for light-dependent transcriptional activation of the *rbcS-3A* gene. *EMBO J.* 7, 4035-4044.
- Hayat, M.A., 1986. Basic techniques for transmission electron microscopy. Academic Press, Inc., New York.
- Hershey, H.P., R.F. Barker, K.B. Idler, M.G. Murray, and P.H. Quail, 1987. Nucleotide sequence and characterization of a gene encoding the phytochrome polypeptide from *Avena*. *Gene* 61, 339-348.
- Labarre, J., P. Thuriaux, and F. Chauvat, 1987. Genetic analysis of amino acid transport in the facultatively heterotrophic cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain 6803. *J. Bacteriol.* 169, 4668-4673.
- Lam, E., M. Benedyk, and N.H. Chua, 1989. Characterization of phytochrome-regulated gene expression in a photoautotrophic cell suspension: Possible role for calmodulin. *Mol. Cell. Biol.* 9, 4819-4823.
- Mohamed, A. and C. Jansson, 1989. Influence of light on accumulation of photosynthesis-specific transcripts in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803. *Plant Mol. Biol.* 13, 693-700.
- Rögner, M., P.J. Nixon, and B. Diner, 1990. Purification and characterization of photosystem I and photosystem II core complexes from wild-type and phycocyanin-deficient strains of the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 265, 6189-6196.
- Romero, L.C., D. Sommer, C. Gotor, and P.S. Song, 1991. G-proteins in etiolated *Avena* seedlings: Possible phytochrome regulation. *FEBS Lett.* 282, 341-346.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis, 1989. Molecular cloning: A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Schaefer, M.R. and S.S. Golden, 1989. Light availability influences the ratio of two forms of D1 in cyanobacterial thylakoids. *J. Biol. Chem.*

- 264, 7412-7417.
22. Sharrock, R. and P. Quail, 1989. Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: Structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes Dev.* 3, 1745-1757.
23. Staley, J.T., M.P. Bryant, N. Pfennig, and J.G. Holt, 1989. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 3. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
24. Yang, X. and B.A. McFadden, 1993. A small plasmid, pCA2.4, from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 encodes a Rep protein and replicates by a rolling circle mechanism. *J. Bacteriol.* 175, 3981-3991.

(Received April 18, 1994)

(Accepted May 13, 1994)

ABSTRACT: Isolation and Characterization of a Mutant Defective in Light-activated Heterotrophic Growth from *Synechocystis* sp. PCC 6803

Park, Mi-Seon¹, Young-Sook Lee¹, and Young-Chang Kim^{*1,2} (¹Department of Microbiology, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, and ²Research Center for Molecular Microbiology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea)

A mutant strain PRM1 defective in light-activated heterotrophic growth was isolated from *Synechocystis* sp. PCC 6803. PRM1 could be grown at growth rate equivalent to *Synechocystis* 6803 under mixotrophic growth conditions. However, PRM1 could not be grown under light-activated heterotrophic conditions, in which a daily pulse of light for 5 min was given. These results suggest that PRM1 is not defective in heterotrophic metabolism, but in the transduction pathway of light signal essential to the growth. Plasmid patterns, absorption spectra of whole cells, and the exterior and interior structures of PRM1 were similar to those of *Synechocystis* 6803, except that PRM1 could not produce amorphous slime holding cells together.