

*Streptomyces*屬 菌株가 生成한 物質의 生物活性에 관한 研究

第Ⅱ報 生化學的 作用 特異性

宋 邦 鎬 · 徐 正 墳
慶北大學校 農科大學 農化學科

Studies on the Biological Active Substance Produced by a Strain of *Streptomyce* sp

Part II. Biochemical Specificity

Bang Ho Song and Jung Hwn Seu
Department of Agricultural Chemistry
College of Agriculture
Kyung-Pook National University, Taegu, Korea
(Received May 9, 1975)

Abstract

Isolation of the toxic substance which was produced by *Streptomyces* sp. and its biochemical characteristics and toxicity to fishes were reported in the previous paper. The present report includes antibiotic activity of the substance, inhibitory activity of the substance on the succinic dehydrogenase of fishes, and its effect on the blood corpuscles of a rabbit. An evident antibiotic activity of this substance was observed on *Candida* yeasts, but not on molds or bacteria. The substance inhibited the growth of *Candida japonica* and *C. utilis* to the 50% at the concentrations of 7.5 and 10.2 μg per ml, respectively. The activity of succinic dehydrogenase obtained from various organs of *Cyprinus carpio* L. was also found to be inhibited by this substance. Original activities of the enzymes from the brain, kidney, and liver, were inhibited by 75.4%, 38.2%, and 26.2%, respectively, but not the enzymes from the heart and spleen. Neither leukopenia nor leukocytosis was detected after the intravenous administration of the substance to the rabbit at the level of 6 mg per 2 kg body weight.

序 論

*Streptomyces*屬 菌株가 生成하는 毒性物質을 分離하여 魚類에 대한 毒性 및 그 性質을 前報⁽¹⁾에서 發表하였으며 이어서 본 毒性物質의 菌에 대한 抗生作用, *Cyprinus carpio* L. 組織에 대한 succ-

inic dehydrogenase 活性에 미치는 影響 등에 대한 실험결과를 報告코져 한다. 微生物 毒의 生物에 대한 作用은^(2~4) 일반적으로 Hemolytic, Neurotizing, Proteolytic, Neurotoxic, Cardiotoxic, Hepatotoxic, Nephrotoxic, 등을 들 수 있으며 대부분의 毒性物質은 上記 毒作用 가운데 한 두가지로서 그 主因이 된다.

본 물질은 일부 眞菌類에 대한 抗生作用 및 *Cyprinus carpio* L. (잉어) 組織의 succinic dehydrogenase 活性에 대한 阻害作用이 認定되었으며 家兎에 靜脈注射한 결과 leukopenia 및 leukocytosis 現象이 일어나지 않았기에 그 毒作用에 대한 性質을 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 供試菌株

본 실험에 사용한 菌株은 *Streptomyces*屬 菌株로서 毒性物質의 分離過程 및 性質은 이미 前報⁽¹⁾에서 發表한 바와 같다.

2. 抗菌力 測定

본 毒性物質의 微生物에 대한 抗生作用이 있는 가와 여부를 알고저 *Saccharomyces cerevisiae* 의 약 10餘種의 菌株을 對象으로 檢討하였으며 그 培地組成은 다음과 같다.

Glucose 10% MgSO₄·7H₂O 0.05%
(NH₄)₂SO₄ 0.5% KH₂PO₄ 0.5% (pH 6.0)

上記 培地를 常法에 따라 殺菌 후 無菌의으로 본 物質을 最終濃度 100μg/ml까지 가하였는데 각 濃度の 단계별로 동일培地에 任意的 濃度로 懸濁한 菌液을 1白金耳씩 接種한 後 30°C에서 1~2일간 培養하여 본 毒性物質을 全然 가하지 않은 對照區에 대한 比生育度로서 抗菌力을 나타내었다. 즉, 그 毒性物質이 添加된 培養基에서 細菌의 生育細胞數를 計測하여 對照區에 비하여 50% 밖에 生育하지 못하는 毒性物質의 最低濃度로서 그 抗菌作用의 活性度를 나타내었다. 菌 生育度の 測定方法은 酵母는 Thoma의 Hematometer로서 細胞數를 直接 計測하였으며, 細菌은 colony數를 測定하였고, 糸狀菌은 肉眼的 觀察로써 그 生育程度를 判別하였다.

3. Succinic Dehydrogenase Inhibition (SDI)試驗⁽⁵⁻⁷⁾

S. D. I 시험은 Thunberg tube를 利用하여 환원되는 환원형 2,4,6-Triphenyltetrazolium chloride (T. T. C-H₂)의 色度を 測定하여 檢定하였다.

Cyprinus carpio L. (體重 130 g, 體長 15cm)의 臟器 및 筋肉組織을 切取적 후 약 0.5g에 대하여 1 ml의 生理食鹽水를 가하여 磨碎한 후 三重으로한 가재침으로 여과하여 얻은 均一한 細胞懸濁液과 0.2mg/ml의 본 物質 溶液을 각각 1 ml씩

Thunberg tube 主室에 가하고 혼합하여 37°C에서 1.5시간 前處理시킨 후 T. T. C. 0.4mg/ml 溶液과 sodium succinate 27mg/ml 溶液을 각각 1 ml씩 가한 副室을 附着하여 3분간 減壓한 후 tube內의 兩液을 混合하여 37°C에서 2시간 동안 作用시킨 후 環元되는 T. T. C. -H₂를 10ml의 acetone으로 溶解시키고 魚類의 細胞 및 기타 沈澱은 遠心키고 除去한 후 그 上澄液을 취하여 Erma colorimeter (470mμ)로 그 吸光度를 測定하여, 본 物質을 가하지 않는 對照區와의 optical density의 차로써 그 阻害能을 나타내었다.

4. 血球 變化度 測定

系統不明의 家兎에 본 毒性物質을 靜脈注射한 후 經時的으로 末梢血液內의 遊走白血球와 赤血球의 數的 變化를 測定하였으며 특히 白血球는 differential counting을 하여 白球組成의 變化도 아울러 觀察하였다. 이때 白球 測定은 Thoma의 dilution pipette로서 家兎의 귀 靜脈에서 鮮血을 採取 후 常法에 따라 Thoma의 Hematometer로서 血球를 計測하였으며 이때 稀釋溶液으로서 赤血球는 Dacie's 溶液을 白血球는 Giemsa's 染色溶液을 使用하였으며 白血球의 differential counting은 常法에 따라 smear 후 역시 Giemsa's 染色液으로 染色 후 檢鏡하였다.

結果 및 考察

1. 抗生作用

魚類에 대하여 毒作用을 강하게 나타내는 본 微生物性 毒性物質의 抗生作用 與否를 檢討한 結果는 다음 Table 1 과 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 본 物質은 일반적으로 糸狀菌類나 細菌類에 대하여는 抗菌作用이 認定되지 않았으며 酵母類에서도 일부 菌株에 한하여 다소 抗菌活性이 認定되었으며 *Candida japonica*에 대해서는 GI 50(μg/ml, growth inhibitory ratio 50%)이 7.5μg/ml, *C. utilis*는 10.2 μg/ml, *Cryptococcus neoformans*는 6.4 μg/ml 이었다.

2. Succinic Dehydrogenase 活性에 대한 阻害作用

본 物質이 生物毒으로 作用할 境遇 優先 그 作用機作의 究明의 基礎의 段階로서, 組織細胞內의 T CA cycle에서의 succinic dehydrogenase 活性에

Table 1 Antibiotic Activity of the Extracted Substance from *Streptomyces* sp.

Strain	*GI ₅₀ (μg/ml)
<i>Saccharomyces coreanus</i>	**—
<i>S. cerevisiae</i>	—
<i>S. carsbergensis</i>	—
<i>Candida japonica</i>	7.5
<i>C. intermedia</i>	—
<i>C. pulcherima</i>	—
<i>C. utilis</i>	10.2
<i>Rhodotorula glutilis</i>	25.0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6.4
<i>Bacillus subtilis</i>	—
<i>Aspergillus nigar</i>	—
<i>Penicillium</i> sp.	—

* : 50% inhibition on growth

** : growth was not affected by the substance.

대한 阻害作用을 檢討하였다.

Cyprinus carpio L.의 각 組織에 대한 S. D. I. 실험결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 心臟이나 脾臟을 除外한 全 組織에서의 succinic dehydr-

Table. 2 Inhibitory Activity of the Sample on Succinic Dehydrogenase of the Organs of *Cyprinus carpio* L.

Organ	O. D. (-logT)	inhibition (%)
gill	*0.0697	36.3
kidney	0.1919	38.2
brain	0.0963	75.4
muscle	0.1107	63.2
heart	0.0048	0
spleen	0.0002	0
liver	0.0570	26.2

* : O. D. value of the control.

ogenase 活性이 강하게 阻害되었으며 특히 骨髓, 腎臟, 筋肉, 아가미組織에서는 肝 組織에 비하여 더 강하게 阻害됨을 알 수 있었다. 위의 결과로서 본 物質은 魚類에 대하여 어느 特定組織에만 作用하는 것이 아니고 全體적으로 作用함을 알 수 있었다.

3. 家兎 血球에 미치는 影響

體重 2.2kg의 家兎에 본 毒性物質 6.6mg을 1.0 ml의 生理食鹽水에 溶解하여 (3mg/kg)一回, 家兎의 귀 靜脈에 注射한 후 약 50시간까지 經過하

면서 經時的으로 赤血球, 白血球의 數的 變化를 檢討한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 본 物質은 家兎 血液에 影響을 미치지 않음을 알게 되었다.

또한 白血球의 differential counting의 결과 顆粒球 및 淋巴球의 比率에 있어서도 變化가 認定되지 않았으며 이것은 본 物質이 家兎에서는 急性毒性을 나타내지 않는다고 생각된다.

본 실험은 毒作用의 性質을 究明기 위한 基礎的 段階로서 家兎 각 組織에 대한 病理學的 檢査 및 血液에서의 影響 등에 대한 詳細한 檢討가 남은 課題로 생각된다.

Table. 3 The Variation of Blood Corpuscles after Injection of the Sample on Rabbit. After injection of the sample to the rabbit intravenously, the variation of the blood corpuscles and the ratio of lymphocyte and myelocyte were observed.

Hour after injection	R. B. C. total no.	Total W. B. C. no.	neutrophill	Lymphocyte
-24	*1.34×10 ⁶	*1.05×10 ⁴	36.2%	60.5%
0	1.24	0.96	35.7	59.2
sample injection				
0.3	1.47	0.90	30.8	66.2
2	1.26	1.05	34.3	61.2
5	1.13	1.21	38.1	58.5
10	1.21	1.05	37.2	61.4
25	1.24	0.96	40.4	55.8
50	1.27	0.90	36.1	54.7

* : cell number per c. mm

要 約

魚類에 대하여 毒作用을 나타내는 본 物質의 抗生作用, succinic dehydrogenase 活性에 대한 阻害作用 및 家兎의 血球에 미치는 影響 등에 대한 실험결과는 *Candida japonica*에서 GI₅₀ (細胞生育의 50% 阻害濃度)이 7.5μg/ml, *C. utilis*에서 10.2 μg/ml, *Cryptococcus neoformans* 6.4μg/ml 등으로서 극히 일부의 菌에서만 抗菌作用이 認定되었으나 전반적으로 菌에 대한 抗生作用이 認定되지 않았다. 또 *Cyprinus carpio* L.의 각 組織에 대한 succinic dehydrogenas活性阻害能을 測定한 결과 비교적 全 臟器組織에서 그 活性을 阻害하였으며 특히 아가미 組織에 대한 阻害現象은 興味있는 일

이다.

또 家兔의 血液에 leukopenia 및 leukocytosis 現象의 與否 등을 알코져 本 物質을 靜脈注射後 血球變化度를 檢討해 보았으나 別로 影響을 나타내지 않았으며 neutropenia 및 lymphopenia 現象도 일어나지 않았다.

參 考 文 獻

(1) 宋邦鎔·徐正垣：本報 投稿中

- (2) Davis, B. D.: Principles of Microbiology & Immunology, Harper & Row, 579 (1969).
- (3) 栗飯原景昭：食品衛生微生物(朝食)15(1970)
- (4) Wintroube, M. M.: Clinical Hematology, 25-257 (1965).
- (5) Konto, T.: GANN, 57, 113 (1966).
- (6) 近藤達千：癌の臨床, 117(1966).
- (7) Konto, T.: Cancer Clinical Investigation Review Committee Symposium thesis, 251 (1970)..