

## 韓國 土壤菌중 抗生物質 生成菌에 관한 研究(第 1 報)

스트렙토마이세스屬 菌株 DMC-72號의 分離 및 抗菌作用

金光旭 · 崔應七 · 沈美慈\* · 金炳珏

서울大學校 藥學大學 · 서울市立大學\*

Studies on Antibiotic Producers of Korean Soil Microbes(I)

Isolation and Antibiotic Activity of *Streptomyces* Strain DMC-72

Kwang Wook KIM, Eung Chil CHOI, Mi Ja SHIM\* and Byong Kak KIM

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, and Seoul City University\*, Seoul 131, Korea

**Abstract**—To find antimicrobial strains of the soil microorganisms in Korea, they were isolated from the soil samples of different locations and screened for antibiotic activity against several standard microbes. An isolate among them had an antibacterial activity against gram-positive bacteria. The examination of its morphological and biochemical characteristics according to the International Streptomyces Project methods showed that it belongs to the genus *Streptomyces*. The strain was named DMC-72. The strain appears to be a new strain when it was compared with the species within the genus which have been so far reported. The antibiotic metabolite of the strain was produced in submerged culture method. It was found to be a quinone compound and was named soulomycin. This strain was also found to produce an  $\alpha$ -amylase inhibitor in the submerged culture.

**Keywords**—*Streptomyces* strain DMC-72, antibiotic activity, microbial metabolite, soulomycin,  $\alpha$ -amylase inhibitor.

*Penicillium*속으로부터 penicillin이 발견된 이래, 주로 *Streptomyces*속으로부터 항생물질이 발견되어 왔다. 이러한 항생물질을 생성하는 균주를 동정 및 분류하는데 통일된 방법이 없어 혼란이 있었다. 또한 특허 등록에 의한 정보의 부재와 생리 및 생화학적면에서 근소한 차이가 있는 경우에도 다른 종으로 분류하는 경향이 혼란을 더욱 가중시켰다. 이러한 문제를 해결하기 위하여, 1966년부터 1972년까지 Shirling의 주도하에 세계 18개국의 40여 실험실에서 International Streptomyces Project (I.S.P.)를 통하여 지금까지 보고된 모든 종을 통일된 실험 방법과 분류 기준에 의해서 1974년까지 458종으로 재분

류하였다.<sup>1)</sup> Bergey's Manual of Determinative Bacteriology(8판)에는 416종 47아종이 수록되어 있다.<sup>2)</sup>

한편, 우리나라의 *Streptomyces*속에 대한 연구로는 최 등이 24종을 분류 동정하였고,<sup>3)</sup> 조 등도 6종을 분리 동정하였다.<sup>6)</sup> 또한 서 등과 이등도 분리 동정하였다.<sup>5-6)</sup> 이들은 I. S. P. 방법으로 분류했으나, 세포벽 성분 분석은 하지 않았다.

이에 저자들은 우리나라 토양중 항균작용을 가지고 있는 *Streptomyces*속 균으로 예상되는 세균을 분리하고 그중 항균작용이 우수한 균주를 선택하여 DMC-72로 명명하고, 세포벽 성분 등의 분석을 실시하여 I. S. P. 방법에 의해 *Strep*

*tomyces*속으로 동정하였으며 이 균주를 액내 배양하여, column chromatography 등을 시행하여 항균성분을 분리 정제하였고 이 물질에 대한 생리 활성과 화학적 성질 등을 연구하였다.

## 실험 방법 및 재료

### 1. 항균성 물질 생성 균주의 검색

#### 1) 토양 시료

전국 각지의 토양을 채취하였으며, 지표면에서 부터 5~10 cm사이의 건조한 토양을 채취하였다.

#### 2) 배지

Oat meal배지(oat meal 20 g, distilled water 1,000 ml, agar 20 g, chloramphenicol 4 mg)를 균 분리용 배지로 사용하였으며 항균 실험용 배지로는 nutrient agar배지(nutrient broth 8g, agar 20 g, distilled water 1,000 ml)를 사용하였다.

#### 3) 사용 균주

항균력의 검사에 사용한 균주는 서울대학교 의과대학에서 분리 동정하여 분양된 *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium smegmatis* 등이었다.

#### 4) 분리 방법

토양 시료 1 g 정도를 멸균 시험관에 채취하여 멸균 증류수 10 ml를 무균적으로 주입하고 강하게 진탕후 이중 1 ml를 취하여 9 ml의 증류수가 든 멸균 시험관에 넣고 희석후 다시 같은 방법으로 희석하여 1,000 배 희석액을 만들었다. 이 중 1 ml를 취하여 oat meal agar 배지 위에 도말하고 27 ± 1 °C에서 3일간 배양하였다. 생성된 방선균의 colony를 취하여 oat meal agar slant에 옮겨 3일 배양하였다. 이렇게 2~3차례 계대 배양하여 순수한 colony를 얻었다.

#### 5) 항균 실험

분리한 균주를 oat meal 액체 배지에 4일간 액내 배양후 여과하여 배양액과 균체로 나누고 균체는 건조후 acetone으로 추출하였다. 배양액과 acetone 추출액은 paper disc (Toyo Seisakush Co., Ltd., Tokyo, Japan)에 50 μl씩 취하여

실험용 disc를 만들었다. 항균력 검사를 위하여 상기 균주를 nutrient broth에 1일간 배양하여 각각 1 ml씩 취하여 nutrient broth agar 배지 200 ml로 희석하여 (200 : 1) Petri dish에 10 ml씩 취하여 항균실험용 배지를 만들었다. 이들 배지에 배양액과 acetone추출액의 disc를 각각 올려 놓은 후 1일간 배양하여 그 저지원의 직경을 측정하였다.

### 2. DMC-72 균주의 동정

상기 방법으로 분리한 세균중 DMC-72로 명명된 균주에 대해 다음의 실험을 실시하였다.

#### 1) 세포벽 성분의 생화학적 실험

##### i) Diaminopimelic acid(DAP) isomer의 동정

DMC-72 균주에 대해 Staneck와 Roberts의 방법으로 실험하였다.<sup>7)</sup> nutrient broth에서 27 ± 1 °C 180 rpm으로 3일간 배양하여 얻은 배양물을 감압 여과하여 균체를 얻었다. 균체를 동결 건조한 후 밀봉 용기에 건조 균체 3 mg과 6 N염산 1 ml를 넣은 후 100 °C로 18시간 동안 가열 가수분해하였다. 가수분해물을 냉각시킨 후 여과지를 이용하여 여과하였다. 여액을 40 °C에서 감압 농축하고 잔류 염산을 제거하기 위해서 증류수 소량을 넣어 용해시킨 후 다시 농축하였다. 농축물에 소량의 증류수를 넣어 용해시켜 cellulose plate에 5 μl 정도를 spot하였다. 이것을 methanol-water-6N HCl-pyridine(80 : 17.5 : 2.5 : 10)의 용매계에서 전개시켰다. Spot 확인은 acetonic ninhydrine (0.1% w/v)을 분사시킨 후 100 °C에서 2분간 가열시 olive green에서 노란색으로 변하였다. 표준으로는 Sigma사 제품인 DL-α, ε-DAP를 사용하였다.

##### ii) 단당류의 동정

① 사용 균주 : 본 연구실에 소장되어 있는 *Mycobacterium smegmatis*와 DMC-72균주를 본 실험에 사용하였다.

② 재료 및 시약 : 단당으로는 D-galactose, arabinose와 xylose를 사용하였고, 확인 시약으로는 aniline과 phthalic acid를 사용하였다.

③ 실험 방법 : 밀봉 용기에 건조 균체 50 mg과 2N 황산 1 ml를 넣고 밀봉한 후 100 °C에서 2시간동안 가수분해 하였다. 가수분해후 수산화

바름으로 pH를 5.0~5.5로 맞추고 생성된 황산 바름 침전물을 6,000 rpm으로 원심분리하여 제거하였다. 상정액을 pipet으로 취하여 40°C에서 감압 건조 시킨후 증류수 소량에 녹여 5  $\mu$ l cellulose plate에 spot하였다. 이것을 ethylacetate-pyridine-water(100 : 35 : 25)의 용매계에서 전개시켰다. 완전 분리를 위하여 동일 plate를 연속으로 3번 전개하였다. aniline 2 ml, phthalic acid 3.3g과 수화된 n-butanol 100ml액을 분사한 후 plate를 상온에서 완전히 건조시킨후 100°C에서 2~5분간 가열한 후 생성된 색으로 spot를 확인했다.

이때 육탄당은 갈색이고 오탄당은 적갈색이었다. 표품은 arabinose, galactose와 xylose를 섞어서 사용하였다.

## 2) 형태학적 특징

### i) 고체 배지상에서의 성장 형태

① 사용 배지 : Oat meal agar, yeast extract-malt extract agar, inorganic salt starch agar, glycerol asparagine agar, glucose-peptone agar, glucose-nitrate agar 배지를 International Streptomyces Project (ISP) methods에 의해 조제 사용하였다. 배지의 조성은 다음과 같다.

a) Yeast extract-malt extract agar (ISP No. 2 medium). yeast extract 4.0g, malt extract 10.0g, glucose 4.0g, agar 20.0g, distilled water 1l

b) Oat meal agar (ISP No. 3 medium): oat meal 20g, agar 18g, distilled water 1l

c) Inorganic salts-starch agar (ISP No. 4 medium): soluble starch 10.0g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.0g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (anhydrous basis) 1.0g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.0g, NaCl 1.0g,  $\text{CaCO}_3$  2.0g, agar 12.0g, trace salts soln. 1.0ml, distilled water 1l

(Trace salts solution:  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1g,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.1g,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1g, distilled water 1l).

d) Glycerol-asparagine agar: glycerol 10.0g, L-asparagine (anhydrous basis) 1.0g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.0, agar 12.0g, trace salts soln. 1.0ml, distilled water 1l

e) Glucose-asparagine agar (Krainsky's medium): glucose 10g, asparagine 0.5g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5g, agar 15g, distilled water 1l

f) Glucose nitrate agar: glucose 5.4g,  $\text{NaNO}_3$  1.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.0g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g, thiamine·HCl 2ml of 1000-ppm stock soln.

g) Glucose-peptone agar: peptone 2g, glucose 10g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5g, agar 15g, distilled water 1l

② 실험 방법 : DMC-72 균주를 각 배지에 동시에 접종하여 27  $\pm$  1°C에서 14일간 배양하여, colony의 상면과 底面의 색깔, 성장 상태, 가용성 색소 생성 등을 관찰하였다.

### ii) 현미경적 관찰

Petri dish에 증류수를 포화시킨 탈지면을 깔고 위에 slide glass를 넣고 멸균한 후, nutrient broth agar 배지를 slide glass에 바르고 굳은후 DMC-72균주를 접종 하였다. 27  $\pm$  1°C에서 14일간 배양한후 현미경으로 150배 및 1,500배의 영양 균사, 공중균사와 포자 사슬의 형태 등을 관찰하였다.

### 3) 생리적 특징

#### i) 탄소원 이용

① 사용 배지 및 탄소원 : basal medium:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2.64g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.38g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  5.56g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.00g,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  6.40mg,  $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  1.10mg,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  7.90mg,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.50mg, agar 15.0g,  $\text{H}_2\text{O}$  1000ml, (pH 6.8~7.0).

D-glucose, fructose, L-arabinose, D-xylose, rhamnose, sucrose, raffinose, D-mannitol, L-inositol과 salicin 등의 탄소원을 millipore filter에 의해 여과 멸균하여 각각 10% 용액을 만들고, basal medium을 멸균하여 60°C로 냉각시킨후, 최종농도가 1%가 되게 하여 배지를 조제하였다.

② 실험 방법 : 상기 배지에 DMC-72균주를 접종한 후 27  $\pm$  1°C에서 배양하여 10~16일 사이에 관찰하였다. glucose가 들어 있는 배지를 positive control로 하고 탄소원이 들어 있지 않은 배지를 negative control로 하였다.

#### iii) Melanin색소 생성에 관한 실험

사용 배지는 I. S. P 방법에서 Shirling과 Gottlieb가 1966년에 사용한 것이다.<sup>11)</sup>

② 실험 방법 : Petri dish에 상기 배지를 만들어 부은후 굳힌다음 DMC-72균주를 접종하여  $27 \pm 1^\circ \text{C}$ 에서 1~2일간 배양하였을때 colony 주위에 짙은 회색~청흑색의 색소가 생성되는지 여부를 관찰하였다.

### iii) Gelatin 가수분해

① 사용 배지 : 6.4% gelatin을 첨가한 nutrient broth agar 배지를 사용하였다.

② 실험 방법 : Smibert와 Krieg의 방법에 의해 실험 하였다.<sup>8)</sup>

상기 배지에 균을 접종하여  $27 \pm 1^\circ \text{C}$ 에서 3~4일간 배양한후 gelatin 침전제인 20% HCl에 15%  $\text{HgCl}_2$ 를 가하여 colony 주위의 투명 부위 생성 여부를 관찰하였다.

### iv) 전분 가수분해

① 사용 배지 : 0.2% 가용성 전분을 첨가한 nutrient broth배지를 사용하였다.

② 실험 방법 : 상기 배지에 DMC-72균주를 접종하고  $27 \pm 1^\circ \text{C}$ 에서 3~4일간 배양한후, iodine soln. 을 가하여 colony 주위를 관찰하여 무색이면 양성으로 하고 청색이면 음성으로 하였다.

## 3. 항균성 물질의 배양, 분리, 정제, 물리화학적 성질 및 항균 스펙트럼

### 1) DMC-72 균주의 배양

① 배지 : oat meal yeast extract 배지를 사용하였다 : oat meal 30g, yeast extract 2g, trace salts soln. 1ml, distilled water 1,000ml

#### a) 종균 배양

oat meal agar 배지에서 자란 균주를 무균적으로 분리하여 상기 배지 10 ml를 가한 50 ml 삼각 flask에 접종하여  $27 \pm 1^\circ \text{C}$ 에서 180rpm으로 3일간 진탕 배양하였다.

#### b) 본 배양

상기 배지 100ml를 포함한 500ml flask에 종균 배양액 10 ml를 접종하여  $27 \pm 1^\circ \text{C}$ 에서 180 rpm으로 4일간 진탕 배양하여 균체의 성장과 pH의 변화, 항균물질의 활성을 각 날짜별로 1, 2, 3, 4, 5, 7일에 각각 측정하였다. 또한 이것으로 항균물질의 분리 및 정제를 행하였다.

### 2) 항균 스펙트럼 검사

① 사용 균주 : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus fragilis*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus megatherium*, *Bacillus licheniformis*, *Sarcina lutea*, *Mycobacterium smegmatis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 등을 사용하였다.

② 사용 배지 : nutrient broth agar배지를 사용하였다.

③ 실험방법 : 항균성 물질 생성 균주의 검색 중 항균실험에 동일한 방법을 적용하였다. 대조항생물질로는 ampicillin(2mg/ml), chloramphenicol(8mg/ml), gentamicin(0.2mg/ml)을 사용하였다.

### 3) 항균성 물질의 분리 및 정제

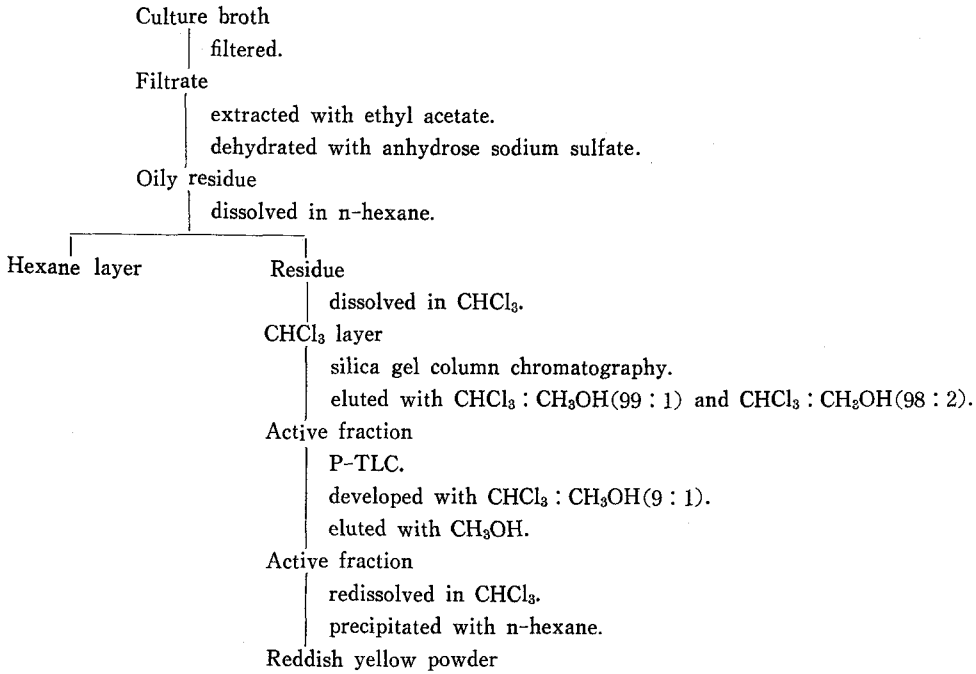
상기 방법으로 배양하고 여과하여 얻은 배양 여액을 ethyl acetate 동량으로 2회 반복 추출한 후 ethyl acetate층에 소량 혼재해 있는 수분을 완전히 제거하기 위하여 무수황산 나트륨을 넣고 1일간 방치하였다.

이 ethyl acetate층을 감압 농축하여 얻은 적색갈 유상 잔류물을 n-hexane으로 처리하여 용해물을 제거하고 나머지를 chloroform에 용해시킨 후 농축하여 silica gel(230 mesh이하, E. Merck Co., Darmstadt)을 사용하여 silica gel column chromatography를 행하였다. elution은  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$ (99 : 1)  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$ (98 : 2)  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$ (95 : 5) 순으로 행하였다. 이때  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$ (99 : 1)의 조건에서 활성물질이 분리되었으며 이 활성물질을  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$ (9 : 1)의 용매계에서 TLC를 행하여 단일 물질 여부를  $\text{c-H}_2\text{SO}_4$ , iodine vapor, UV 등으로 확인하였다.

더욱 정제하기 위하여 preparative TLC를 행하였다. 용매계에는  $\text{CHCl}_3$  :  $\text{CH}_3\text{OH}$ (9 : 1)이었으며, 위와 동일한 방법으로 확인하였다.

이렇게 하여 얻은 적황색 물질을 소량의  $\text{CHCl}_3$ 에 녹인후 n-hexane를 가하여 저온( $4^\circ \text{C}$ )에서 침전을 형성시킨후 3,000rpm으로 10분간 원심 분리하여 적황색 물질을 얻었다. 이상의 과정을 Scheme I에 요약하였다.

### 4) 항균 물질의 기기 분석



**Scheme I.** The procedure for isolation of antibiotic metabolite, soulomycin, from *Streptomyces* strain DMC-72.

분리 정제된 항균 성분을 기기분석하였다.

i) UV spectrum : 95% 메탄올에 녹여 분석하였다.

ii) IR (Beckman IR-20A) : KBr disc법으로 분석하였다.

## 실험 결과

### 1. 항균성 물질 생성 균주의 검색

상기 방법으로 선발한 100여종의 균주중 *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*와 *M. smegmatis*에 대하여 높은 항균력을 갖는 균주를 DMC-72균주라 명명하고 본 실험에 사용하였다.

### 2. DMC-72균주의 동정

#### 1) 세포벽 성분의 생화학적 실험

세포벽 성분중 DAP-isomer와 당당류의 존재 여부에 대한 실험결과, LL-DAP가 존재하였으며 당당류 표준물질로 사용한 xylose, arabinose와 mannose 등이 관찰되지 않았으며 따라서 이 균주는 cell wall type 1에 해당 하였다. Fig. 1과 Fig. 2에 결과를 표시하였다.

#### 2) 형태학적 특성

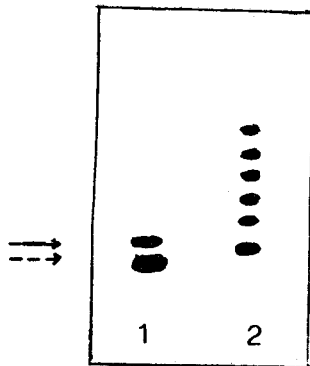
고체 배지상에서의 성장 정도, colony의 색깔, 低面의 색깔, 가용성 색소 등을 관찰하여 그 결과를 Table I에 표시 하였다. Table I에서 보는 바와같이 oat meal agar, yeast malt extract agar와 glucose nitrate agar 배지에서 좋은 성장을 보였고 그 이외의 배지에서는 성장이 좋지 않았다.

colony의 색은 회색에서 갈색 계통이고 가용성 색소는 노란색에서 갈색이었다. 150배, 1,500배로 현미경 관찰하여 공중 균사가 풍부하고 포자사슬이 나선형인 것을 관찰하였다.

#### 3) 생리적 특성

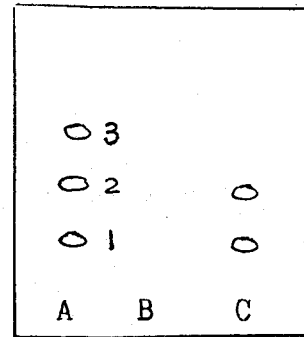
당 이용도, melanin색소 생성, gelatin 가수분해와 전분 가수분해 등을 실험하였다. melanin 색소는 1일 후에 관찰한 결과 생성하는 것으로 나타났으며, gelatin과 전분은 각각 가수 분해되었다. 당은 L-arabinose를 제외한 모든당을 매우 잘 이용하였다. 당 이용도의 결과는 Table II에 나타냈다.

### 3. 항균성 물질의 배양, 분리, 정제, 물리



1. —→ LL-DAP, - - - - -> DL-DAP  
2. *Streptomyces* DMC-72

**Fig. 1.** Determination of diaminopimelic acid isomers of strain DMC-72.



A. Standard mixture: 1 : Galactose,  
2 : Arabinose, 3 : Xylose.  
B. *Streptomyces* DMC-72  
C. *Mycobacterium smegmatis*

**Fig. 2.** Determination of monosaccharides of the cell wall of strain DMC-72.

**Table I.** Cultural characteristics of *Streptomyces* DMC-72 on various media

Media	Growth	Color of colony	Reverse color	Soluble pigment
Oatmeal agar	Good	White to gray white	Pale yellow	Yellow
Yeast malt extract agar	Good	White	Dark brown	Dark brown
Inorganic salt starch agar	Moderate	Brown	Brown	Yellowish brown
Glycerol asparagine agar	Poor	Partly white brown	White brown	Yellowish brown
Glucose asparagine agar	Poor	Partly white brown	White brown	Brownish yellow
Glucose peptone agar	Poor	Gray white to white	White to white brown	
Glucose nitrate agar	Good	White to gray white	Dark brown	Dark brown

**Table II.** Utilization of various carbon compounds by *Streptomyces* DMC-72

Carbon compound	Growth	Carbon compound	Growth
D-Glucose	+	Sucrose	+
Xylose	+	Galactose	+
Rhamnose	+	Raffinose	+
D-Fructose	+	Salicin	+
Inositol	+	Negative standard	-
L-Arabinose	-		

Symbol: + : positive, - : no utilization

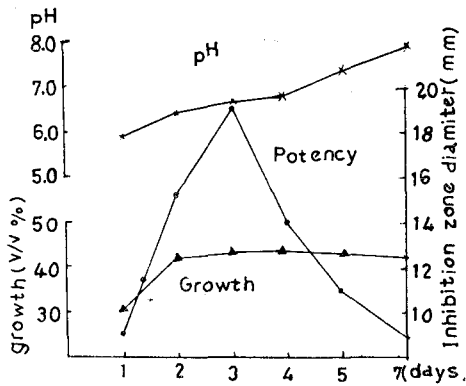


Fig. 3. Time course of the production of the antibacterial substance by strain DMC-72.

화학적 성질 및 항균 스펙트럼

1) 배양에 대한 결과

항균 성분을 생성하는 균주는 날짜별 배양에 따라 pH는 점차 증가하였으며 항균력은 3일을 최대로 점차 감소하였으며 균체의 성장은 이틀째를 최대로 하여 일정치를 유지하였다.

2) 항균 스펙트럼

그람 양성균에는 사용 균주 모두에 유효하였으며 그람 음성균에는 *E. coli*에만 유효하였다. 결과는 Table III에 표시하였으며 대조 항생물 질로는 ampicillin (2mg/ml), chloramphenicol (9mg/ml), gentamicin (0.2mg/ml)을 사용하였다.

Table III. The antibiotic spectrum of strain DMC-72

Test organism	I. Z. D. (mm)			
	Culture broth	Chloramphenicol	Ampicillin	Gentamicin
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	22	20	12
<i>Streptococcus fragilis</i>	16	28	19	12
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	16	26	17	12
<i>Bacillus megaterium</i>	—	22	14	13
<i>Bacillus licheniformis</i>	13	25	16	12
<i>Sarcina lutea</i>	32	44	44	17
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	15	26	25	12
<i>Escherichia coli</i>	18	15	19	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	—	14	—	12

3) 항균성 물질의 물리화학적 성질

상기 방법에 의해 분리 정제된 적황색 분말은 acetone, methanol, ethanol과 chloroform 등에 잘 녹으며 n-hexane, benzene, toluene과 물에는

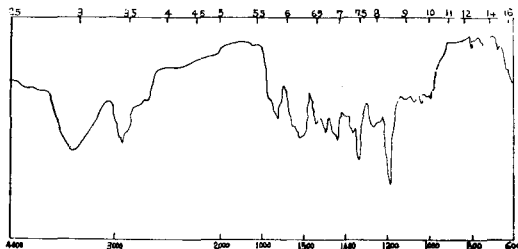


Fig. 4. IR spectrum of soulomycin produced by strain DMC-72.

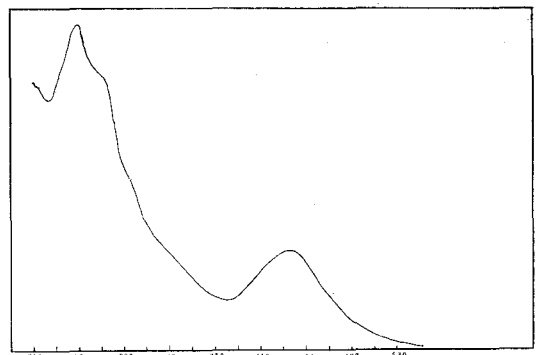


Fig. 5. UV spectrum of soulomycin produced by strain DMC-72.

녹지 않았다.

IR spectrum은  $1,600\text{ cm}^{-1}$  근처에서 C-O 신축 진동에 의한 강한 peak를 나타냈으며 UV 스펙트럼은 250 nm에서 최대 흡수치를 나타냈으며 노란색에 의해 430 nm에서 강한 흡수를 나타냈다.

이들 결과들로 부터 이 항균 성분은 quinone 유사 물질로 추정하였다. IR과 UV에 대한 결과는 Fig. 4 및 Fig. 5와 같다.

## 고 찰

한국 토양균중 항균성분을 생성하는 스트렙토마이세스속 균 100여종을 분리하였다. 그 중 강력한 항균작용을 나타내는 균주를 선택하여 DMC-72라 명명하였다. 이 균주를 동정하기 위하여, ISP 방법에 의하여 세포벽 성분을 분석해본 결과 아미노산으로 LL-DAP가 존재하였다.

단당류의 분석 결과로는 arabinose, galactose, xylose등이 존재하지 않았다. 위의 두 결과로 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology에 의거하여 cell wall type I로 판명되었다.

현미경 관찰을 행하여 풍부한 공중 균사 및 나선형의 포자 사슬을 관찰하여 스트렙토마이세스屬 균으로 동정하였다. 또한 DMC-72균주의 종을 구명하기 위하여 당 이용, melanin 색소 생성, 전분 분해, gelatin 분해, 등을 실험한 결과들을 종합하여 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology에 기재되어 있는 Streptomyces속들과 비교 해본 결과 DMC-72호와 유사한 균주가 없는 것으로 밝혀졌으며, 이로써 새로운 종의 Streptomyces속으로 추정하였다. 날짜별 배양에 대한 결과에서 3일제에서 항균력의 최대치를 나타냈으므로 대량 배양시 3일이나 4일 정도에서 배양액을 수확하여야 항균물질의 소실을 감소시킬 수 있음을 알 수 있다. 항균 스펙트럼으로는 대부분의 그람 양성균에 유효하였으며 그람 음성균에는 사용 균주용 E. coli를 억제하였다.

silica gel column chromatography 등에 의해 분리해낸 항생물질의 각 용매 상에서의 Rf치는

actinomycin, chloramphenicol 등과 유사하였다. 이 항균성 물질은 acetone, methanol, chloroform 등에는 잘 녹았으나 n-hexane, benzene, 물 등에는 용해되지 않았다. 이 항생물질의 기기 분석 결과를 보면 UV최대 흡수치는 250nm이고 IR 스펙트럼은  $1,600\text{ cm}^{-1}$ 에서 강한 peak를 나타냈다. 또한 분리된 항균성분은 적황색이었다. 이들 결과를 미루어 quinone유사 물질인 것으로 해명되었다. 또한 이 균주가 starch의 분해를 억제하는  $\alpha$ -amylase inhibitor를 생성함을 발견하였다. 1965年 Umezawa 등이 효소 억제제에 대한 연구를 시작한 이래 이  $\alpha$ -amylase inhibitor는 세계적으로 약 15종이 미생물로 부터 발견되어 있을 뿐이다.<sup>9-12)</sup> 그러나 국내에서는 이 효소 억제제에 관한 연구가 전혀 이루어지지 않은 상태이고 또한 세계적으로도 그렇게 많은 연구가 진행되지 않은 분야이므로 항생물질의 탐색뿐만 아니라 반드시 이 분야의 연구도 이루어져야 할 것이다.

DMC-72 균주가 항생물질과 함께  $\alpha$ -amylase inhibitor를 생성한다는 점에서 학술면에서 뿐만 아니라 실용면에서 중요한 균주라고 사료되며, 이로 미루어 이 균주가 새로운 것일 가능성이 더욱 높은 것이다. 앞으로 더 자세한 연구를 계속 할 계획이다.

## 결 론

한국 토양에서 분리한 균주의 하나인 DMC-72 균주는 스트렙토마이세스속에 속하는 새로운 종으로 분류되었다. 이 균주의 항균 스펙트럼으로는 E. coli, B. subtilis, S. aureus, M. smegmatis 등에 강력한 항균작용을 나타내는 비교적 광범위한 항균력을 가지고 있었다. 항균 성분의 화학구조는 quinone구조를 가진 것으로 밝혀졌으며 soulomycin이라 명명하였다.

또한 이 균주는  $\alpha$ -amylase inhibitor를 생성함을 확인하였다.

감사의 말씀 : 이 연구에 소요된 경비의 일부는 1983년도 문교부 학술 연구 조성비로 충당되



있으며 이에 대하여 감사하는 바입니다.

이 연구에 끊임없는 격려와 조언을 주신 故 金泳垠 教授님 영전에 삼가 이 논문을 받치는 바입니다.

<1984년 1월 9일 접수; 2월 10일 수리>

### 참 고 문 헌

1. Shirling, E.B., and Gottlieb, D.: *Int. J. System. Bac.*, **16**, 313 (1966).
2. Buchanan, R. E., and Gibbons, N.E., eds.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., Williams and Wilkins, Baltimore (1974).
3. Lee, M.J., Hah. Y.C., and Ahn, C.S.: *Kor. J. Microbiol.*, **14**, 25 (1976).
4. Cho, S.H., Ahn, C.S., and Kwon, Y.H.: *Kor. J. Microbiol.*, **15**, 170 (1977).
5. Seo, Y.M., and Hong, S.W.: *Kor. J. Microbiol.*, **15**, 93 (1977).
6. Lee, D.Y., Kim, S.W., and Ko, K.: *Kor. J. Mycol.*, **9**, 103 (1981).
7. Stanneck, J.H., and Roberts, G.D.: *Appl. Microbiol.*, **19**, 226 (1974).
8. Smibert, R.M., and Krieg, N.R.: *Manual of Methods for General Bacteriology*, American Society for Microbiology, Washing., D.C.(1981).
9. Nakano. H., T., Koba, Y., and Ueda, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 1053 (1981).
10. Itoh, J., Omoto, S., and Inouye, S.: *J. Antibiotics*, **34**, 1424 (1981).
11. Murao, S., Goto, A., and Ohyama, K.: *Biol. Chem.*, **44**, 1679 (1980).
12. Yokose, K., Ogawa, K., and Suhara, Y.: *J. Antibiotics*, **36**, 1157 (1983).