

신규의 Aminopeptidase M 저해제 MR-387A 및 B 생산균주의 수리동정

정명철¹ · 박동진¹ · 김창진¹ · 김수일² · 고영희^{1*}

¹한국과학기술연구원 생명공학연구소, ²서울대학교 농업생명과학대학 농화학과

초록 : 토양으로부터 분리한 신규의 aminopeptidase M 저해제 MR-387A 및 B를 생산하는 균주 SL-387의 화학동정 및 수리동정을 하였다. 배양학적 및 형태학적 특성과 화학지표에 의하여 분리균주는 *Streptomyces*에 속하는 것으로 판단되었다. 종의 동정을 위하여 41개 동정 단위형질에 대하여 조사한 후 TAXON 프로그램을 사용하여 수리동정을 하였다. 분리균주는 *Streptomyces*의 주군집 18에 속하는 균주로 *Streptomyces neyagawaensis*와 공유도계수(S_{SM}) 75.6%로 가장 유사 하였다. 이상의 화학동정 및 TAXON 분석에 의하여 분리균주 SL-387은 *Streptomyces neyagawaensis*이거나 그 유연 균주인 것으로 동정 되었다(1995년 5월 24일 접수, 1995년 6월 19일 수리).

서 론

그람 양성에 속하는 방선균은 2차 대사산물의 생합성 능력이 다양하고 형태 분류학적 특성이 많아 생태적 연구나 다양한 대사산물 연구에 이용되고 있다. 그러나 이들은 한 두가지의 형태적 특성이나 배양 특성 차이 만으로도 새로운 속 또는 종으로 동정되어 *Streptomyces*의 경우 1970년대 이후 3,000종 이상이 보고되는 등 이른바 과다분류(overspecification) 현상을 보였다.¹⁾ 이러한 문제점을 극복하기 위하여 화학적 분류법 및 수리 분류법 등 여러 동정 방법들이 고안되어 보고되었다.²⁻⁵⁾

화학적 분류법(chemotaxonomy)은 세포내 성분 중 당, 아미노산, 인지질, menaquinone 및 지방산 분석 등으로부터 얻어진 화학지표(chemical marker)에 의해 방선균의 속(genera)을 동정하는 보조 자료로 이용되고 있다.⁶⁻⁷⁾ 또한 Silvestri 등⁸⁾에 의해 수리 분류 데이터로부터 확률동정키(probabilistic identification key)가 만들어진 이래, Willcox 등⁹⁾은 컴퓨터 프로그램을 이용한 확률 동정 행렬을 기본으로 하는 수리 동정 방법을 제안하였다. 컴퓨터 프로그램을 이용한 수리동정은 먼저 동정 행렬을 작성하고 CHARSEP 프로그램¹⁰⁾과 DIACHAR 프로그램⁴⁾을 이용하여 주군집(major cluster)을 동정한다. CHARSEP 프로그램은 단위 형질의 양성반응 백분율로부터 유도된 여러 분리 지표(separation indices)를 포함하고, DIACHAR 프로그램은 동정행렬에서 group의 주요 식별 형질(diagnostic character)을 결정한다. 한편 이들 동정 행렬에 기술된 분류군들이 얼마나 중첩되어 있는지를 알 수 있는 OVERMAT 프로그램,⁴⁾ 기지의 혹은 미지의 시험균주들의 확률동정 스코어를 사용하는 MATIDEN 프로그램,¹¹⁾ 확률동정행렬 내에 있는 각 분류군의 가장 대표적인 균주 즉 HMO(hypothetical median

organism)의 동정 스코어를 계산하기 위한 MOSTTYP 프로그램¹²⁾ 등의 동정행렬 평가 프로그램 등이 개발되어 보고 되었다.

본 연구에 사용한 방선균 분리주 SL-387은 신규의 aminopeptidase M 저해제 MR-387A 및 B를 생산하는 균주로서 여러 형태학적 배양학적 특징에 의하여 *Streptomyces*에 속하는 것으로 동정되었으나 그 종의 동정에는 상당한 어려움이 있었다.¹³⁾ 특히 Nonomura¹⁴⁾가 제안한 동정키(identification key)에 의하여 이 균주는 *Streptomyces naganishii*와 유사하였으나 몇가지 특성에서 차이를 보여 확실한 종의 동정이 곤란하였다. 따라서 본 연구에서는 여러 형태적 배양학적 특성 및 화학 지표를 이용하여 속(genera)을 동정하고, 영국의 Allen Ward 박사에 의해 개발된 CHARSEP, DIACHAR, MOSTTYP, MATIDEN 등의 기능을 갖는 TAXON 프로그램(unpublished)을 이용하여 분리 균주의 종(species)을 동정하고자 하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양조건

본 연구에 사용한 균주는 토양에서 분리한 방선균 SL-387로서 보관용 평판배지(Bennett's agar : 1% glucose, 0.2% Bacto peptone, 0.1% yeast extract, 0.1% beef extract, 2% agar)에서 2주간 28°C에서 배양하여 포자를 형성시킨후 냉장 보관하면서 사용하였다. 배양학적 특성과 형태적 특징을 관찰하기 위해 International Streptomyces Project(ISP)의 배지를 이용하였으며,¹⁵⁾ 고체배지는 agar 배지를, 액체 배지에서의 배양은 회전식 진탕배양기를 이용하여 배양(175 rpm, 27°C) 하였다.

찾는말 : taxonomy, aminopeptidase M, inhibitor, *Streptomyces*

*연락처자

화학적 동정을 위한 특성분석

Bennett 액체배지에서 5일간 배양한 배양액을 원심 분리하여 균체를 모아 생리식염수로 세척하고 다시 증류수로 세척하여(2번 반복) 동결건조한 후 분석을 위한 시료로 사용하였다. 세포벽의 diaminopimelic acid(DAP)와 아미노산은 균체를 6N HCl로 가수분해시킨 후 cellulose TLC(Merck)에서 MeOH-H₂O-6N HCl-pyridine(80:26:4:10)의 용매로 전개하여 분석하였으며,¹⁶⁾ menaquinone은 균체를 MeOH-CHCl₃(1:2)로 추출하여 HPLC로 분석하였다.¹⁷⁾ 균체의 지방산 조성은 무수의 5% methanolic-HCl로 methyl ester화 하여 alkaline methanolysis 법에 의하여 추출한 후 가스 크로마토그래피로 분석하였다.¹⁸⁾

단위형질의 분석

주군집(major cluster)의 수리 동정에 이용된 단위 형질(unit character)은 Williams 등⁵⁾의 방법을 따랐다. CHAR-SEP와 DIACHAR 프로그램의 적용에 있어서 Williams 등에 의하여 제안된 주군집 분류에 필요한 형질은 최소 50개 단위 형질이지만 본 연구에서는 Table 1과 같이 그중 41개의 단위형질만을 사용하였다. 항균활성은 *Bacillus subtilis* IAM 12118 및 *Candida albicans* IFO1385 두 균주를 이용하여 조사하였다.

Table 1. Taxonomic unit characters used to the identification of an isolate from the probability matrix of *Streptomyces* major cluster.*

1. Morphology and pigmentation
Spore chain morphology: Rectiflexible (RFS), Spiral (SPI)
Color of spore mass: Red (RED), Grey (GRY)
Mycelial pigment: Red/Orange (ROS)
Diffusible pigment: Production (PIG), Yellow/Brown (YBP)
Melanin production on: PYI medium (MPI), Tyrosine medium (MTY)
2. Antimicrobial activity
<i>Bacillus subtilis</i> (SUB), <i>Candida albicans</i> (ALB)
3. Biochemical tests
Lecithinase (LEC), Lipolysis (LIP), Pectin hydrolysis (PEC)
Nitrate reductase (NO ₃), H ₂ S production (H ₂ S)
4. Degradative tests
Elastin (ELA), Xanthine (XAN), Arbutin (ARB)
5. Antibiotic resistance
Neomycin (NEO), Rifampicin (RIF), Oleandomycin (OLE), Penicillin G (PEN)
6. Growth test
45°C (45C), NaCl (7NA), Sodium azide (01Z), Phenol (PHN)
7. Compounds as sole source of nitrogen (0.1%, w/v)
DL-α-amino-n-butyric acid (BUT), L-Cysteine (CYS), L-Valine (VAL) L-Phenylalanine (PHE), L-Histidine (HIS)
8. Organic compounds as sole source of carbon (1%, w/v)
Sucrose (SUC), myo-Inositol (INO), Mannitol (MAN), L-Rhamnose (RHA) Raffinose (RAF), Adonitol (ADO), D-Melibiose (MEB), Xylitol (XYT)

Characters in parenthesis is the code name for computer program.

수리동정을 위한 동정 스코어

종의 동정을 위하여 Ward 등(unpublished)이 개발한 TAXON 프로그램을 이용하여 분리균주의 동정 스코어를 결정하였으며, Willcox probability는 분리균의 Taxon J에 대한 유사정도를 모든 분류군(U)에 대한 분리균의 유사정도의 합으로 나눈 값으로 정의 하였다.^{5,9)} 1.0에 가까운 값일수록 그 matrix의 group과 잘 맞는다는 것을 의미한다. 분류학적 거리(Taxonomic distance)는 분리균과 비교되는 group의 중심(centroid)으로부터 거리를 나타낸다. 값이 낮을수록 그 group과 높은 상관관계를 나타내며, 그 값은 다음 식으로 계산할 수 있다.

$$[\sum(U_i - P_{ij})^2/m]^{1/2}$$

이때 m은 형질의 수이고 U_i는 형질 i에서 나온 U의 점수(positive일때 1이거나 negative일때 0), P_{ij}는 특성 i에서 Taxon J의 strain에 주어지는 positive의 비율을 의미한다. 95% 분류반경(95% Taxon radius)은 분류군 J의 95%의 구성군이 포함되는 분류군의 반경을 의미한다. 한편, Probability of Strain Further Away(%)는 동정된 미지의 시험균주 밖에 존재하는 균주가 확률적으로 몇 %에 해당하는가를 나타낸다.

결과 및 고찰

화학지표에 의한 속의 동정

분리 균주 SL-387은 ISP 배지상에서 회색계통의 포자를 왕성하게 형성하며 melanin색소와 용해성 색소를 분비하는 등의 배양특성과 전자 현미경하에서 포자사슬이 나선형이며 포자의 표면은 매끄러운 형태를 나타내는 등의 형태적 특성에 의하여 전형적인 actinomycetes인 것으로 나타났다.¹³⁾ 본 연구에서는 이러한 특성 외에 화학 지표를 사용하여 분리 균주의 속을 더 정확하게 동정 하고자 하였다.

분리 균주 SL-387을 액체배지에서 5일간 배양한 후 균체를 가수 분해하고 이로부터 세포벽의 2,6-diaminopimelic acid(DAP) 이성체를 분석한 결과 L-DAP로 확인되었으며, 그의 구성 아미노산으로는 D/L-alanine, D/L-glutamic acid 및 glycine 등이 검출되었다(Fig. 1). 세포의 지방산 분석 결과는 Fig. 2와 같으며, 주로 분지형인 iso와 anteiso 지방산(C14:0 iso, C15:0 iso, C15:0 anteiso, C16:0 iso, C17:0 iso, C17:0 anteiso)으로 이루어져 있으며, 포화지방산인 C16:0이 18.58%, 불포화 지방산인 C16:1(cis 9)이 소량(2.20%) 포함되어 있는 것으로 나타났다. HPLC에 의한 menaquinone(MK)의 분석 결과, isoprene의 단위수가 9인 MK-9이 관찰되었으며, 수소포화도가 주로 6 및 8인 형태로 구성되어 있었다(Fig. 3).

이상의 결과로부터 분리균주의 세포벽 DAP 이성체와 아미노산을 방선균 세포벽 chemotype과 peptidoglycan type과 비교해 볼때 세포벽의 peptide는 glycine에 의하여 서로 연결되어 있는 peptidoglycan type A3γ이며,¹⁹⁾ 세

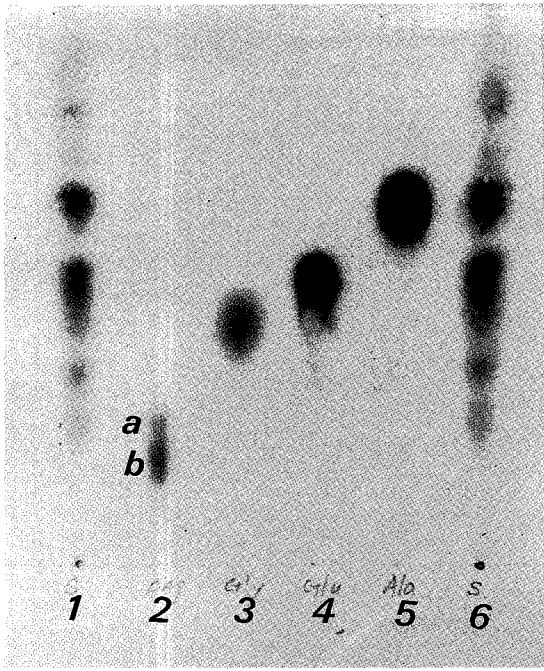


Fig. 1. Cellulose thin layer chromatogram of acid hydrolyzates of the isolate SL-387 cell wall. Developing solvent system, MeOH-H₂O-6N HCl-pyridine(80:26:4:10); Color reaction, ninhydrin. Lanes 1 and 6, cell wall hydrolyzate; lane 2, DAP isomers(a, L-DAP and b, meso-DAP); lane 3, glycine; lane 4, DL-glutamic acid; lane 5, DL-alanine.

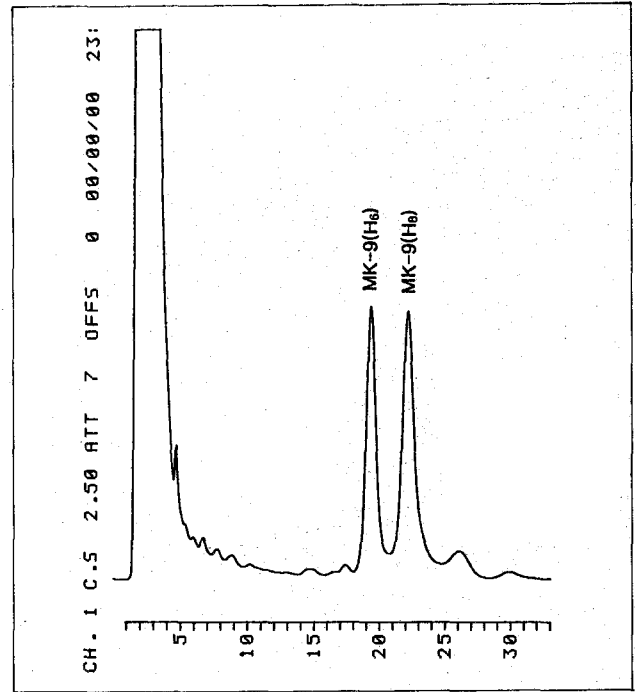


Fig. 3. HPLC chromatogram of menaquinones (MK) extracted from the mycelium of isolate SL-387. Column, Cosmosil(5C₁₈-AR, 150×4.6 mm, Waters); Mobile phase, methanol-isopropanol(2:1); Detection, UV 270 nm; Flow rate, 1.0 ml/min.

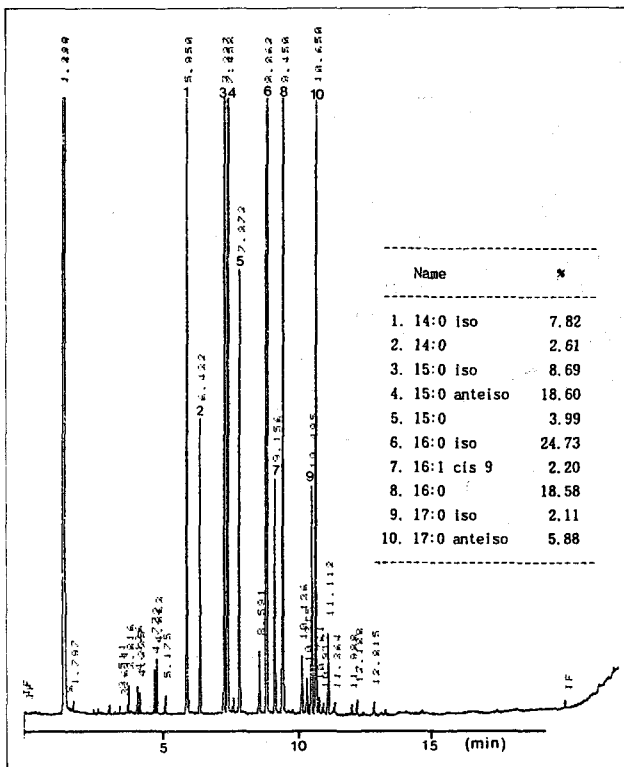


Fig. 2. Gas chromatogram of cellular fatty acid methyl esters of the isolate SL-387. Column, 25×0.2 mm methyl phenyl silicone fused silica capillary column(Hewlett-Packard Co.); Detector, flame ionization detector; Injector temperature, 250°C; Detector temperature, 250°C; Column temperature, 180°C; Carrier gas, N₂ (30 ml/min).

포벽 chemotype I에 해당되는 것을 알 수 있었다.²⁰⁾ 지방산은 iso와 anteiso 지방산(C₁₄~C₁₇)으로 주로 이루어져 있는 것으로 나타났으며, menaquinone은 MK-9(H_a) 또는 MK-9(H_b)로 이루어졌음을 알 수 있었다. 특히 분리주는 *Streptomyces*속이 *Streptovorticillium*속과 구별되는 중요한 특징인 verticil은 관찰되지 않았다.¹³⁾ 따라서 이러한 생화학적 분석을 통하여 본 균주는 *Streptomyces*속에 속하는 것으로 동정 되었다(Table 2).

TAXON program을 이용한 종의 수리동정

Williams 등⁵⁾은 *Streptomyces* 394주를 포함한 475주의 방선균을 수리 분류학적으로 조사하여 23 phena(19 major *Streptomyces* cluster, 1 minor *Streptomyces* cluster, 2 *Streptovorticillium*, *Nocardia mediterranea*)와 CHARSEP, DIACHAR 프로그램에 의해 선별된 41 형질로 이루어진 컴퓨터 확률 동정행렬을 제시하였다. 최근, Langham²¹⁾은 Williams 등의 분류 데이터를 기본으로 하여 26 주군집 *Streptomyces*와 28 부군집 *Streptomyces*를 동정할 수 있는 확률 동정행렬을 발표하였다. 본 연구에서는 이러한 수리 분류학적 기능을 갖고 있는 TAXON 프로그램을 사용하여 분리균주의 종을 동정하였다.

TAXON 프로그램을 이용하여 정확한 동정이 되기 위해서는 Willcox probability가 높고(>0.85) 분류학적 거리가 짧고 될 수 있는 한 분류학적 거리가 95% 분류군 반경내에 들고 % Probability of strain further away가 큰 것이 좋다고 할 수 있다.

분리주 SL-387을 *Streptomyces* 주군집을 대상으로 TA-

XON 프로그램을 이용하여 수리동정을 한 결과는 Table 3과 같았다. Willcox probability가 0.999504로 나타났는데 이는 주균집 19 (*Streptomyces diasticus*)의 0.000485 보다 월등히 높으므로 주균집 18(*Streptomyces cyaneus*)에 속할 확률이 높음을 알 수 있다. 본 분리주의 단위 형질 특성은 주균집 Hypothetical Median Organism(HMO), 중심균주(centrotype)인 *S. coeruleus*, 본 분리주와 가장 근접한 균주(best match organism) *S. neyagawaensis* 및 최외각 균주(outer-most strain) *S. fumanus*의 TAXON 단위형질과 Willcox probability를 분석한 결과 Table 4와

같았다. HMO의 분류군 거리(0.2728)가 95% 분류군 반경보다 작고 Willcox probability가 0.998976으로 높게 나타났다. 또 중심균주와 HMO는 균집에 포함될 확률(% Prob. of strain further away)이 높으므로 주균집 18은 매우 조밀한 균집이라 할 수 있다.

본 분리주 SL-387은 주균집 18에서 TAXON distance가 0.4806으로 95% 분류군 거리(0.4593) 보다 크고 또한 균집 중심에 있을 확률(% Prob. of strain further away)이 낮은 것으로 보아 분리균은 주균집 18에 속하기는 하나 주균집의 중심으로부터 떨어져 있다고 판단된다. 따라서

Table 2. Diagnostic characteristics of the genera *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Kineosporia*, *Sporichthya*, and the isolate.

Characteristics	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptoverticillium</i>	<i>Kineosporia</i>	<i>Sporichthya</i>	the isolate
Colony size	Discrete	Discrete	Small	Microscopic	Discrete
Substrate mycelium	+	+	+	-	+
Spores	-	-	-	-	-
Sporangia	-	-	+	-	-
Motile spores	-	-	+	-	-
Aerial mycelium	+	+	-	+	+
Chains of AS	+	+	-	+	+
AS in verticils	-	+	-	-	-
Motile spores	-	-	-	+	-
Cell wall type	I	I	I	I(ara, gal, xyl)	I
Lipid characters					
Phospholipid types	PII	PII	PIII	ND	ND
Predominant menaquinones	MK-9(H ₆) or MK-9(H ₈)	MK-9(H ₆) or MK-9(H ₈)	MK-9(H ₄)	MK-9(H ₆) or MK-9(H ₈)	MK-9(H ₆) or MK-9(H ₈)
Fatty acids					
Sat. straight chain	+	+	ND	+	+
Iso-/anteiso-branched	+	+	ND	+	+
Unsaturated	-	-	ND	+	-
10-Methyl branched	-	-	ND	+	-
Mol% G+C of DNA	69~78	69~73	ND	44	ND

Abbreviations: AS, arthrospore; Ara, arabinose; Gal, galactose; Xyl, xylose; MK, menaquinone. Symbols: +, 90% or more of strains are positive; -, 10% or less of strains are positive; ND, not determined. *Cited from Locci(1989).²²⁾

Table 3. Identification of the isolate SL-387 to the major clusters of *Streptomyces* by TAXON program.

TAXON Major cluster distance (centrotype member)	Tax TAXON	95% TAXON radius	% Prob of strain further away	Willcox probability
18 (<i>S. cyaneus</i>)	0.4806	0.4593	1.6183	0.999504
19 (<i>S. diasticus</i>)	0.5220	0.4695	0.2293	0.000485
33 (<i>S. chromogenus</i>)	0.5260	0.4153	0.0004	0.000001
29 (<i>S. lydicus</i>)	0.5291	0.3944	0.0000	0.000000

Table 4. Comparison of taxonomic scores among hypothetical median organism (HMO), centrotype, outer-most member strain (OMS), best matched organism (BMO) and the isolate SL-387 in cluster 18.

Member of cluster 18	TAXON distance	95% TAXON radius	Probability of further away (%)	Willcox probability
HMO	0.2728	0.4593	99.6295	0.998976
Centrotype 146CO (<i>S. coeruleus</i>)	0.2954	0.4593	98.4385	0.999282
OMS 154FU (<i>S. fumanus</i>)	0.4712	0.4593	2.7361	0.099753
BMO 588NI (<i>S. neyagawaensis</i>)	0.4299	0.4593	16.7632	0.963331
Isolate SL-387	0.4806	0.4593	1.6183	0.999504

Table 5. Comparison of taxonomic unit characters among organisms in cluster 18 of *Streptomyces* and the S_{SM} value calculated by TAXON program.

Taxonomic unit characters (TAXON code)	Positive characters state (%)	HMO in cluster 18	Centrotype <i>S. coeruleus</i>	Best matched strain <i>S. neyagawaensis</i>	SL-387
RFS	5	-	-	-	-
SPI	82	+	+	+	+
RED	32	-	-	-	-
GRY	29	-	-	+	+
ROS	21	-	-	-	+
PIG	34	-	-	+	+
YBP	13	-	-	+	+
MPI	97	+	+	+	+
MTY	84	+	+	+	+
BUT	32	-	-	-	-
CYS	74	+	+	+	-
VAL	71	+	+	+	+
PHE	66	+	+	+	+
HIS	84	+	+	+	+
LEC	11	-	-	-	+
LIP	50	+	+	+	-
PEC	55	+	-	-	-
NO3	37	-	-	-	-
H2S	89	+	+	+	+
SUB	45	-	-	-	-
ALB	3	-	-	-	-
ELA	42	-	+	-	-
XAN	82	+	+	-	-
ARB	55	+	+	-	+
NEO	1	-	-	-	-
RIF	45	-	+	-	-
OLE	13	-	-	-	-
PEN	63	+	+	-	+
45C	42	-	+	+	-
7NA	18	-	-	-	-
01Z	16	-	-	-	-
PHN	63	+	+	-	-
01T	45	-	-	-	-
SUC	92	+	+	+	-
INO	95	+	+	+	+
MAN	97	+	+	+	+
RHA	92	+	+	-	+
RAF	99	+	+	+	+
ADO	84	+	+	-	-
MEB	97	+	+	+	+
XYT	21	-	-	-	+
Matching to SL-387		28	26	31	41
Mismatching to SL-387		13	15	10	0
S_{SM} value		68.3	63.4	75.6	100

HMO: Hypothetical Median Organism, S_{SM} : Simple match coefficient.

분리균은 주군집 18의 최외각 균주인 *S. fumanus* 보다 TAXON distance가 큰 것으로 보아 주군집 18의 외각에 존재한다고 볼 수 있다.

주군집을 동정하는데 필요한 50개의 단위 형질중 주요

41개 형질에 대하여 HMO, 중심균주, 가장 근접한 균주 *S. neyagawaensis*와 공유도계수(Simple match coefficient, S_{SM})로 비교한 결과 Table 5와 같았다. 중심균주인 *S. coeruleus*와는 63.4%의 S-level을 유지하였으나 가장 근접한 균주인 *S. neyagawaensis*와는 75.6%의 S-level을 나타내었다. 주군집 18의 일반적인 특성이 아닌, 즉 10% 이하의 양의 값을 갖는 특성 중 *Candida albicans*(ALB)에 대한 항균력 및 neomycin(NEO)에 대한 내성이 동일하였으며, 일반적인 특성 즉 90% 이상의 양의 값을 갖는 특성 중 rhamnose 이용성에서 차이를 보였다. 그외 균체색소(ROS), cysteine 이용성(CYS), lectinase 활성(LEC), lipolysis 활성(LIP), arbutin 분해능(ARB), penicillin 내성(PEN), 45°C 생육(45C) 및 xylitol 이용성(XYL) 등에서 *S. neyagawaensis*와 차이를 보였다.

이상의 수리동정 결과 분리균주는 주군집 18에서 가장 근접한 균주인 *S. neyagawaensis*²³⁾의 한 균주일 것으로 판단 되었으며, 방선균의 과다 분류 현상을 피하면서 aminopeptidase M 저해제 생성등의 균주 특성을 나타내기 위하여 균주 번호를 부여하여 *S. neyagawaensis* SL-387로 명명 하였다.

감사의 글

동정단위형질 분석에 도움을 주신 동경대 Akira Shimazu 박사과 TAXON 분석과 지방산 분석에 도움을 주신 생명공학연구소 유전자원센터 김홍중 박사과 배경숙 박사께 감사 드립니다.

참고 문헌

- Trejo, W. H. (1970) An evaluation of some concepts and criteria used in the specification of streptomycetes. *Trans. N. Y. Acad. Sci. Ser. II* **32**, 989-997.
- Lechevalier, H. A. and M. P. Lechevalier (1970) Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **20**, 435-443.
- Keddie, R. M. and I. J. Bousfield (1980) Cell wall composition in the classification and identification of coryneform bacteria. *In Microbiological Classification and Identification*, p. 167-188 Eds. M. Goodfellow and R. G. Board, Academic Press, London.
- Sneath, P. H. A. (1980) Basic program for detecting overlap between groups in an identification matrix of percent positive characters. *Comput. Geosci.* **6**, 267-278.
- Williams, S. T., M. Goodfellow, G. Alderson, E. M. H. Wellington, P. H. A. Sneath and M. Sackin (1983) Numerical classification of streptomycetes and related genera. *J. Gen. Microbiol.* **129**, 1743-1813.
- Minnikin, D. E. and M. Goodfellow (1980) Lipid composition in the classification and identification of acid-fast bacteria. *In Microbiological Classification and Identification*, p. 189-255, Eds. M. Goodfellow and R. G. Board, Academic Press, London.
- O'Donnell, A. G. (1985) Numerical analysis of chemotaxono-

- mic data. In Computer Assisted Bacterial Systematics, p. 403-414, Eds. M. Goodfellow, D. Jones and F. G. Priest, Academic Press, London.
8. Silvestri, L. G., M. Turri, L. R. Hill and E. Gilardi (1962) A quantitative approach to the systematics of actinomycetes based on overall similarity. *Symposium of the Society of General Microbiology*. **12**, 333-360.
 9. Willcox, W. B., S. P. Lapage, S. Bascomb and M. A. Curtis (1973) Identification of bacteria by computer: theory and programming. *J. Gen. Microbiol.* **77**, 317-330.
 10. Sneath, P. H. A. (1979) Basic program for a significance test for clusters in UPGMA dendrograms obtained from sequence euclidean distance. *Comput. Geosci.* **5**, 127-137.
 11. Sneath, P. H. A. (1979) Basic program for identification of unknown with presence-absence data against an identification matrix of percent positive characters. *Comput. Geosci.* **5**, 195-213.
 12. Sneath, P. H. A. (1980) Basic program for the detection of the best identification scores possible from the most typical examples when compared an identification matrix of percent positive characters. *Comput. Geosci.* **6**, 27-34.
 13. 정명철, 전효곤, 이호재, 고영희 (1994) 신규의 aminopeptidase M 저해제 MR-387A와 B를 생산하는 균주의 동정 및 저해제의 생산. *산업미생물학회지* **22**(5), 447-452.
 14. Nonomura, H. (1974) Key for classification and identification of 458 species of the streptomycetes included in ISP. *J. Ferment. Technol.* **52**, 78-92.
 15. Shirling, E. B. and D. Gottlieb (1966) Methods for the characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**(3), 313-340.
 16. Yamata, K. and K. Komagata (1970) Taxonomic studies on coryneform bacteria II. Principal amino acids in the cell wall and their taxonomic significance. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **16**, 103-113.
 17. Tomaoka, J., Y. Katayama and H. Kuraish (1983) Analysis of bacterial menaquinone mixtures by high performance liquid chromatography. *J. Appl. Bacteriol.* **54**, 31-36.
 18. Komagata, K. and K. I. Suzuki (1987) Lipid and cell wall analysis in bacterial systematics. In *Methods in Microbiology*, Vol. 19, p. 161-207, Eds. Colwell, R. R. and Grigorova, R., Academic Press.
 19. Goodfellow, M. and T. Cross (1984) Classification In *The Biology of the Actinomycetes*, p. 7-164, Eds. Gooffellow, Morarsky and Williams, Academic Press, London.
 20. 일본방선균학회편 (1988) 균체성분, '방선균의 동정실험법' p. 58-87. 일본방선균학회 동경.
 21. Langham, C. D. (1987) Aspects of the probabilistic identification of streptomycetes, Ph. D. Thesis, University of Liverpool, U. K.
 22. Locci, R. (1989) *Streptomyces* and related genera. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 4, p. 2451-2508, Eds. S. T. Williams, M. E. Sharpe and J. G. Holt, Williams & Wilkins, Baltimore.
 23. Shirling, E. B. and D. Gottlieb (1972) Cooperative description of type strains of *Streptomyces*, V. Additional descriptions. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **22**(4), 265-394.

Numerical Identification of a Strain Producing Novel Aminopeptidase M Inhibitors MR-387A and B
 Myung-Chul Chung¹, Dong-Jin Park¹, Chang-Jin Kim¹, Su-Il Kim² and Yung-Hee Kho^{1*} (¹Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Korea Institute of Science and Technology, Taejeon, 305-600; ²Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea)

Abstract: Chemo- and numerical taxonomic studies on the isolate SL-387 producing novel aminopeptidase M inhibitors MR-387A and B were carried out. The genus of the isolate was determined as *Streptomyces* by cultural and morphological data and chemical indices. Forty one taxonomic unit characters were tested for determining the species of the isolate, and the data were analyzed numerically using a computer program as called TAXON. The isolate was best matched to *Streptomyces neyagawaensis* in the major cluster 18 of *Streptomyces* with S_{SM} value of 75.6%. On the base of chemotaxonomic data and TAXON analysis, the isolate SL-387 was identified to be a member of *Streptomyces neyagawaensis*.

*Corresponding author