

Acyl CoA 합성효소 억제제를 생산하는 토양균의 분리 및 특성 연구

김경자* · 김태성

순천향 대학교 자연과학대학 생명과학부

(Received September 20, 1996)

Isolation and Characterization of Soil Microorganism Producing Acyl CoA Synthetase Inhibitor

Kyoung-Ja Kim* and Tae-Sung Kim

Department of Life Science, Soonchunhyang University, Onyang 337-880, Korea

Abstract—Identification of soil microorganism strain B-6, a producer of acyl CoA synthetase inhibitor, based on its morphological, physiological, biochemical and chemotaxonomical characteristics was performed. The strain B-6 was identified as *Bacillus subtilis*. The acyl CoA synthetase inhibitor produced by this strain was highly achieved in fermentation medium that contained glucose 1.0%, soluble starch 1.0%, NH₄Cl 0.3%, oatmeal 1.0%, pharmanedia 1.0%, basic magnesium carbonate 0.5%, pH 7.5 at 30°C for 7 days. The optimal pH and temperature for growth were 9.0 and 30°C, respectively. Butanol extract of culture filtrate of strain B-6 in acyl CoA synthetase inhibitor production medium containing corn steep liquor exhibited high acyl CoA synthetase inhibitor activity and antimicrobial activity against *C. albicans*. But chloroform extract of culture filtrate of strain B-6 in medium containing NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄ or urea in stead of corn steep liquor exhibited higher antimicrobial activity against *C. albicans* than that of butanol extract.

Keywords □ Acyl CoA synthetase inhibitor, *Bacillus subtilis*.

지방의 대사는 정상적인 상태에서는 합성과 분해 사이의 균형을 잘 이루고있으나 균형이 깨어졌을 때에 과콜레스테롤증(hypercholesterolemia)과 과지방증(hyperlipidemia)으로 진행된다. 이것은 결국 동맥경화, 고혈압, 비만, 당뇨병과 같은 심각한 병을 야기시킬 수 있다. 이러한 비정상적인 지방 대사에 기인한 질병을 치료하기 위하여 지방 대사 관련 효소 저해제들이 이와 같은 질병 치료제로 관심을 끌고 개발되기 시작하였다. 비정상적인 지방 대사의 저해 물질로 fatty acid synthetase 저해제인 cerulenin¹⁾이 1963년에 발견되었으나 부작용때문에 약으로는 개발되지 못하고 지방 연구의 생화학적 도구^{2, 3)}로 널리 이용되었다. 1983년에는 type II fatty acid synthetase 억제제인 thiotetro-

mycin⁴⁾ 이 발견되었으며 1986년에는 acyl coA synthetase 억제제인 triacsin⁵⁾이 *Streptomyces* sp. SK-1894에 의해 생성됨이 밝혀졌으며, 그 중에서 triacsin A는 ATP와 coenzyme A에 대해서는 비경쟁적으로, 긴 사슬 지방산에 대해서는 경쟁적으로 작용하는 것으로 보고되었다.⁶⁾ 세계적으로 식생활 양식이 육류 위주로 바뀌에 따라 과지방, 과콜레스테롤증 환자가 급증하고 있어서 지방산 대사 관련 효소^{7, 8)}의 저해제 개발시 그 시장성이 매우 클 것으로 생각된다.⁹⁾ 지방 대사와 관련된 효소로서 fatty acid thio kinase는 long chain- 과 medium chain-이 있는데^{10, 11)}, long chain-fatty acid thio kinase(EC 6.2.1.3)는 acyl CoA synthetase로 C₆-C₂₀ acid에 작용하고 medium chain fatty acid thio kinase(EC 6.2.1.2)는 butyryl-CoA synthetase로 C₄-C₁₁ acid와 3-hydroxy-and 2,3- or 3,4-unsaturated acids에 작용한다. 두 효소 모두 acyl-activating en-

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0418-530-1352 (팩스) 0418-530-1494

zyme으로 불리운다.^{12, 13)} Acetyl CoA synthetase (EC 6.2.1.1)는 acetate를 acetyl CoA로 전환시키는 효소로 propanoate, propenoate에도 작용하는 acetate thiokinase로 acyl-activating enzyme으로도 불리운다. Acyl CoA synthetase(EC 6.2.1.3, fatty acid thiokinase)¹⁴⁾는 free fatty acid의 COOH기를 ATP를 이용하여 CoA의 SH group과 thioester결합 형성을 촉매하여 active thioester인 acyl-CoA로 변화시키며, 지방산 대사와 지질 생합성에 중요한 역할을 한다.^{15, 16)} 지방산이 산화되거나 지질로 합성되기 위해서는 먼저 acyl CoA synthetase에 의해 지방산의 COOH기가 ATP존재 하에서 CoA의 SH기와 thioester결합을 하여 활성화가 되어야 한다.^{17, 18)} 그러므로 acyl CoA synthetase억제제^{19, 20)}를 미생물 대사물로 부터 찾아 분리, 정제하여 지방 대사의 불균형을 치료할 수 있는 치료제로 개발하고자 하였다. 본 연구에서는 지방산 대사^{21, 22)}를 억제하는 억제제 개발의 일환으로 acyl CoA synthetase 억제제를 생산하는 토양 균을 분리하여 특성을 조사하고 억제제 생산의 최적 조건을 조사하였다.

실험방법

토양균 분리 - 충남 근교와 경북 근교의 토양을 채취하여 응달에 퍼서 1주일간 잘 말린 다음, 멸균 증류수로 희석한 후에 actinomycetes 분리 배지, starch-casein-nitrate agar 배지와 AS-1 배지에 도말 시킨 다음 28°C에서 7~10일간 배양하였다. 각 배지에 자란 집락을 외적 집락 모양, 색깔 또는 agar 배후 색에 따라 분류하여 agar plug에 옮겨 순수 배양하였다.

Acyl CoA synthetase 억제제 생산 균주의 분리 - agar plug에 순수 배양된 균들을 seed medium에 키운 후 acyl CoA synthetase production medium에 5~7일 키워 상등액을 취해 acyl CoA synthetase 억제 효과를 조사하고, 가장 강한 효소 억제 효과를 나타내는 균주를 실험 균주로 사용하였다.

seed medium - glucose 0.1%, starch 2.4%, peptone 0.3%, meat extract 0.3%, yeast extract 0.5%, CaCO₃ 0.4% (pH 7.0)

production medium - glucose 1.0%, soluble starch 1.0%, corn steep liquor 0.3%, oatmeal 1.0%, parmamedia 1.0%, basic magnesium car-

bonate 0.5% (pH 6.5)

Acyl CoA synthetase 억제 활성 측정법 - NEFA-C test kit(Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan)를 이용하여 kit의 manual에 따라 Acyl CoA synthetase 억제 활성을 조사하였다. 측정 원리는 유리 지방산이 coenzyme A와 ATP존재 하에서 acyl CoA synthetase와 acyl CoA oxidase의 작용에 의해 2,3-trans-enoyl-CoA 및 과산화수소를 생성시키고, 생성된 과산화수소가 peroxidase의 작용에 의해 3-Methyl-N-(hydroxyethyl)-aniline과 aminoantipyrine을 정량적으로 산화축합시켜 청자색을 띄게 되므로 흡광도를 측정하여 acyl CoA synthetase 활성을 측정할 수 있다. kit의 acyl CoA synthetase는 *pseudomonas*로 부터 정제된 것이다. 10 ul의 균주 상등액을 용액A(acyl CoA synthetase 함유) 1 ml에 넣고 10분간, 37°C에서 preincubation하였다. 여기에 oleic acid(1 mEq/liter) 50 µl을 넣어 반응을 시작하였다. 37°C에서 10분간 반응시킨 후에 2 ml의 용액 B(Acyl CoA oxidase 함유)를 첨가한 후에 다시 37°C에서 10분간 반응시킨 다음에 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 control로는 균주 상등액 대신에 균을 심지 않은 배지의 상등액을 이용하였다. Acyl CoA synthetase 활성 측정법으로 또 다른 방법으로는 CoASH가 감소되는 것을 측정하는 방법이 있다. 150 mM tris-HCl buffer (pH 7.4)에 0.25 mg Triton-X 100, 2 mM EDTA, 50 mM MgCl₂, 20 mM ATP, 300 uM CoA-SH, 균 상등액과 0.1 unit의 Acyl CoA synthetase를 전체 부피 0.25 ml이 되게 한 후 37°C에서 30분간 preincubation하였다. 그 후 200 uM의 sodium linoleic acid를 첨가하고 37°C에서 10분간 preincubation한 다음 0.75 ml의 0.5 mM의 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) in 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 8.0)를 첨가한 후에 413 nm에서 흡광도를 측정하였다. control은 반응 마지막에 효소를 첨가하였다. 이러한 조건하에서의 CoASH의 molar extinction coefficient는 $1.36 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ 로 알려져 있다.

억제 활성은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{con}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{con}} - A_{\text{sup}}}\right) \times 100$$

A_{con}: control, A_{sup}: 배지 상등액의 반응 후의 흡광도,

A_{sample} : 균상등액의 반응 후의 흡광도

분리주의 형태학적 특성 및 배양학적 특성 조사 -

acyl CoA synthetase 억제 활성이 가장 높은 균주를 골라 nutrient agar 배지에 도말하여 30°C에서 10일간 배양 후에 생긴 집락을 광학 현미경으로 관찰하고, 주사 현미경으로 포자의 사슬 형태와 크기 등을 조사하였다. 배양학적 특성은, 여러 배지에 키워 성장 정도, 가용성 색소 형성, 멜라닌 생성 유무 등을 조사하였다.

분리주의 생리학적 특성 조사 - 분리주의 당 이용성과 젤라틴 액화력, 전분 분해력등을 Shirling and Gottlieb (1964)²³⁾의 방법으로 조사하고, 황화 수소 생성은 Kuster and Williams의 방법²⁴⁾에 따라 행하였다. 그 외의 특성은 'Manual for Identification of Medical Bacteria'에 따라 일반적인 방법에 따라 조사하였다.

분리주의 항균력 조사 - 균주 상등액 및 균주 상등액을 n-hexane, chloroform, benzene, ethyl acetate 등의 용매로 추출 후에 감압증발하여 농축시킨 다음 ethanol에 10 mg/ml 농도로 녹여 40 μ l 취하여 직경이 8 mm인 종이 디스크에 적시고, 용매를 날려보낸 뒤 검사 대상균주가 접종되어 있는 한천 플레이트에 얹었다. 이 플레이트를 4°C에서 30분간 확산시킨 후 28°C에서 17시간 배양하여 성장이 억제된 영역의 직경을 측정하였다. 검정균주로는 *M. smegmatis*와 *C. albicans*를 이용하였다.

Acyl CoA synthetase 억제 활성과 항균력과의 관계

조사 - Acyl CoA synthetase 억제 활성과 *M. smegmatis*에 대한 항균력과의 관계를 조사하기 위하여 균주 상등액 및 각 유기 용매 추출액의 양을 달리하여 효소 활성 억제 정도를 측정하고 8 mm 종이 디스크에 점적하여 *M. smegmatis*의 성장 억제 직경을 측정하였다.

Acyl CoA synthetase 억제제의 유기 용매 추출성 조

사 - 균주 배양액을 원심 분리한 후에 동일 부피의 butanol, ethyl acetate, chloroform, n-hexane 등의 유기 용매로 3회 추출후 감압증류하여 10 mg/ml의 농도로 ethanol에 녹여 *M. smegmatis*와 *C. albicans*에 대한 항균력을 조사하였다.

결과 및 고찰

균주의 동정 - Acyl CoA synthetase 억제 활성이 가장 높은 것으로 판명된 균주 B-6의 전자 현미경 관찰

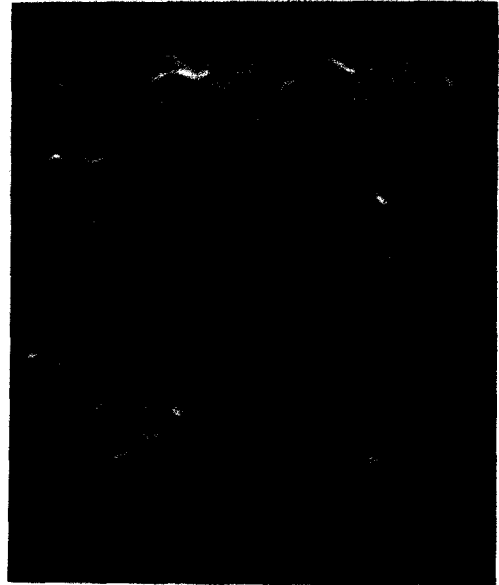


Fig. 1—Scanning electron micrograph of the isolated Strain B-6 cultured on NBA medium for 7 day.

Table 1—Taxonomical properties of the strain B-6

Morphological	
Gram stain	positive
Shape	rod
Cell size	0.5~0.6 \times 1.2~1.4 μ m
Motility	motile
Physiological	
Optimum temperature	30°C
Oxidase	++
Catalase	-
Urease	-
Methyl red test	+
Voges-Proskauer reaction	-
Indole test	+
Casein hydrolysis	+
Starch hydrolysis	-
H ₂ S production	-
Gelatin liquefaction	+
Acid production from	
glucose	+
lactose	+
maltose	+
sucrose	+

은 Fig. 1과 같고, 균체의 크기는 0.5~0.6 m \times 1.2~1.4 m이며, 분류학적 특성을 조사한 결과는 Table 1에 나타내었다. 본 균주는 Gram 양성균이고 운동성을 가진 간균으로 포자를 형성하며, catalase 와 VP test에서는 양성인 반면 urease, indole 형성능과 황화 수소 형성능 등에서는 음성을 보였으며 starch, casein,

gelatin을 가수분해하였다. Lactose, glucose, maltose와 saccharose 등의 당류에서 산을 생성하는 중온균으로 *Bacillus subtilis*와 같으므로 *B. subtilis* B-6 균으로 명명하였다.

분리주의 항생제 감수성 검사 - Ampicillin(10 µg), cephalothin(30 µg), neomycin(30 µg), tetracyclin(30 µg)이 함유된 종이 디스크로 항생제 감수성 검사를 한 결과, cephalothin과 tetracyclin에 감수성을 나타내었으며 ampicillin과 neomycin 에서는 중등도를 나타내었다.

분리주 B-6의 항균력 검사 - 균주 배양액의 유기 용매 추출성을 조사한 결과, butanol 추출액에서 *M. smegmatis*와 *C. albicans*에 대하여 억제 직경이 14~18 mm로 항균력이 가장 강하게 나타났으며, ethyl acetate 추출액에서는 항균력이 전혀 나타나지 않았다. 그 외에 n-hexane, benzene, chloroform 추출액에서도 세가지 검정균주에 대하여 10~11 mm 정도의 억제역을 나타내었다.

Acyl CoA synthetase 억제 활성과 항균력과의 관계 - 46%의 효소 억제 활성을 나타내는 butanol 추출액 (10 mg/ml) 20 µl의 경우 *M. smegmatis*의 성장억제 직경이 10 mm로 나타났으며, 71%의 효소 억제 활성을 나타내는 butanol 추출액 40 µl의 경우 *M. smegmatis*의 성장 억제 직경이 13 mm를 나타내었다. 50 µl 이상의 butanol 추출액에서는 억제 직경이 14 mm로 동일하였으며, *C. albicans*에 대해서는 butanol 추출액

20 µl의 경우 15 mm의 성장 억제 직경을 나타내었으며 40 µl 이상에서는 18 mm의 성장 억제 직경을 나타내었다. 이 butanol 추출액을 butanol-acetic acid-water (4:1:5)를 전개 용매로 silica gel TLC 상에서 분리하여 Rf치가 0.4~0.5인 항균력을 나타내는 spot (KS-II)을 긁어 acyl CoA synthetase 억제 활성을 쟀 결과 항균력이 없는 spot(KS-I)과는 달리 acyl CoA synthetase 억제 활성이 강하게 나타났다(Fig. 2.).

Acyl CoA synthetase 억제제 생산을 위한 배양 및 배지 조성의 최적화배양 시간에 따른 억제 활성 - 균주 B-6를 acyl CoA synthetase 억제제 생산 배지에서 배양 시간을 달리하여 상등액의 acyl CoA synthetase 억제 활성을 조사한 결과 7~8 일에 최대치를 나타내었다 (Fig. 3).

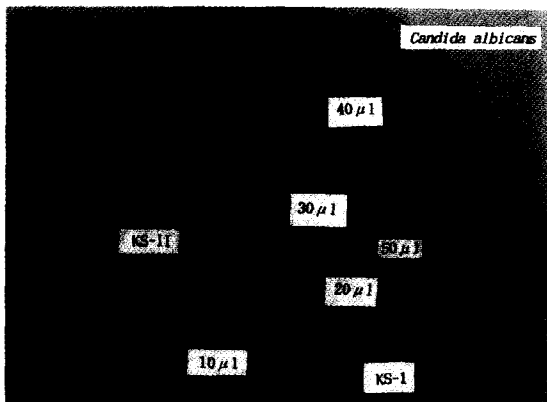


Fig. 2—Relation of the concentration of butanol extract (10 mg/ml) of strain B-6 Culture filtrate and antimicrobial activity against *C. albicans*.
KS-I : ninhydrin negative spot on silica gel plate.
KS-II : ninhydrin positive spot on silica gel plate.

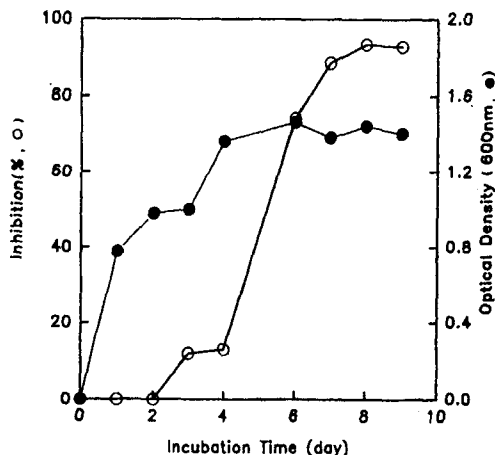


Fig. 3—Relationship of growth and acyl CoA synthetase inhibitory activity of strain B-6 in acyl CoA synthetase inhibitor production medium.

Table II—Effect of pH on the antimicrobial activity of strain B-6 in acyl CoA synthetase inhibitor production medium

pH	Incubation time (Days)			
	1	2	5	7
	Inhibition zone (mm)*			
3.0	-	-	10	10
6.0	-	10	10	13
6.5	-	10	10	13
7.5	-	10	10	23
9.0	-	10	10	12
10.0	-	10	10	-

* 8 mm paper disk, against *C. albicans*

배양 온도와 초기 pH의 영향 - 본 균주의 성장과 생산에 미치는 온도 및 초기 pH의 영향을 조사하기 위하여 acyl CoA synthetase 억제제 생산 배지에 균을 접종하여 각 온도와 pH 별로 균의 성장과 acyl CoA synthetase 억제 활성을 조사한 결과, pH 3.0~9.0에서 모두 성장이 좋았으며 pH 9.0에서 약간 더 성장이 높았다. 항균력은 pH 7.5에서 가장 높은 것으로 나타났다. 성장 최적 온도는 30°C인 것으로 나타났다(Table II).

탄소원의 영향 - 본균주의 성장과 억제제 활성에 미치는 탄소원의 영향을 조사하기 위하여 acyl CoA synthetase 억제제 생산 배지에 각종 탄소원을 1.0% 되도록 첨가하여 pH 6.5, 배양 온도 30°C에서 7일간 배양한 결과, glucose, galactose, fructose, maltose, lactose 와 sucrose 를 탄소원으로 이용하여 모두 성장이 좋았으나, glucose를 탄소원으로 한 경우에만 *M. smegmatis*에서 항균력을 나타내었고 다른 탄소원에서는 *C. albicans*에 대해서만 항균력을 나타내었다. *C. albicans*에 대한 항균력은 galactose를 탄소원으로 한 경우에 가장 높았다(Table III).

Glucose 농도의 영향 - Acyl CoA synthetase 억제제 생산 배지에 glucose농도를 0.1%, 0.5%, 1.0%, 2.0%와 3.0%로 변화시켜 균주의 성장과 항균력을 조사한 결과, 1.0%에서 성장도 가장 좋았으며 항균력도 가장 높았다.

3.0% 농도에서는 균주 성장률은 1.0% 농도에서와

Table III— Effect of the various carbon sources on the antimicrobial activity of strain B-6 in acyl CoA synthetase inhibitor production medium

Carbon sources	Test strains	Incubation time (Days)		
		4	5	6
		Inhibition zone* (mm)		
Sucrose	<i>C. albicans</i>	-	9	12
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
Maltose	<i>C. albicans</i>	-	9	11
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
Lactose	<i>C. albicans</i>	9	11	15
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
Fructose	<i>C. albicans</i>	15	15	13
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
Galactose	<i>C. albicans</i>	12	15	16
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
Glucose	<i>C. albicans</i>	10	12	13
	<i>M. smegmatis</i>	10	10	14

* 8 mm paper disk

비슷하게 높았으나 항균력은 나타나지 않았다.

무기 질소원의 영향 - Glucose를 탄소원으로 한 acyl CoA synthetase inhibitor 생산 배지에 corn steep liquor 대신에 NH_4NO_3 , NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 와 urea와 같은 무기 질소원을 0.3% 첨가하여 항균력과 균의 성장을 조사한 결과, NH_4NO_3 를 첨가한 경우 성장률은 높았으나 항균력은 전혀 나타나지 않았다. NH_4Cl 를 넣은 경우 *C. albicans*에 대해 억제 직경이 29 mm로 가장 강한 항균력을 나타내었으며 성장 속도도 빨랐다. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Urea를 첨가한 경우에도 7일간 배양한 상등액 50 μl 로 *C. albicans*에 대하여 성장 억제를 조사한 결과, 억제 직경이 22~27 mm로 나타났다(Table IV). 특히 NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 와 Urea를 첨가한 경우에 배지의 색깔이 5~6일째부터 녹색으로 변화되면서 항균력도 급격히 증가하였다. Corn steep liquor를 넣은 경우에는 색의 변화가 없었다. 녹색으로

Table IV— Effect of inorganic nitrogen sources on the antimicrobial activity of strain B-6 in acyl CoA synthetase inhibitor production medium

Inorganic nitrogen compounds	Test strains	Incubation time (Days)		
		5	6	7
		Inhibition zone* (mm)		
NH_4NO_3	<i>C. albicans</i>	-	-	-
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
NH_4Cl	<i>C. albicans</i>	21	23	29
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	<i>C. albicans</i>	-	27	26
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
Urea	<i>C. albicans</i>	-	21	22
	<i>M. smegmatis</i>	-	-	-
Corn steep liquor	<i>C. albicans</i>	12	13	13
	<i>M. smegmatis</i>	10	14	12

* 8 mm paper disk

Table V— Effect of organic solvent extracts on the antimicrobial activity of strain B-6 in various inorganic nitrogen sources

Solvents	Inhibition zone* (mm)			
	NH_4NO_3	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	NH_4Cl	Urea
Butanol	-	24	26	20
Ethyl acetate	-	-	21	16
Chloroform	-	27	22	29
Hexane	-	-	-	-

* 8 mm paper disk

변한 배지를 각 유기 용매로 추출하여 항균력을 비교한 결과, 색의 변화가 없는 배지의 경우에는 butanol추출액이 가장 항균력이 높았으나 녹색으로 변한 배지의 경우에는 chloroform 추출액이 가장 항균력이 높았으며, 색의 변화가 없는 배지의 경우 균주상등액의 ethyl acetate 추출액이 항균력을 가지지 않았으나 녹색으로 변한 배지의 경우에는 n-hexane 추출액이 전혀 항균력을 나타내지 않았다(Table V). 무기 질소원에 따라 B-6균주의 상등액에 다른 항균 물질이 나타나는 것으로 생각된다.

유기 질소원의 영향 - 무기 질소원으로 NH_4Cl 을 포함하는 acyl CoA synthetase 억제제 생산 배지에 각종 유기 질소원을 0.01% 첨가하여 항균력과 균주의 성장을 조사한 결과, yeast extract, bacto peptone, meat extract, tryptone과 casamino acid에서 모두 성장률이 높았으며 항균력도 모두 높았다(Table VI). Pharmamedia 대신 yeast extract, bacto peptone, meat extract, tryptone 과 casamino acid 를 첨가한 acyl CoA synthetase 억제제 생산 배지에서도 성장과 항균력이 비슷하게 높았다.

결 론

토양균으로부터 acyl CoA synthetase 억제제를 생산하는 균주를 선별하여 특성을 조사한 결과, 0.5~0.6×1.2~1.4 m크기의 Gram 양성 균이고 운동성을 가진 간균으로 포자를 형성하며, catalase 와 VP test에서는 양성인 반면 urease, indole 형성능과 황화 수소 형성능 등에서는 음성을 보였으며 starch, casein, gelatin을 가수분해하였다. Lactose, glucose, maltose 와 saccharose 등의 당류에서 산을 생성하는 중온균으로 *Bacillus subtilis* 와 같으므로 *B. subtilis* B-6 균으로 명명하였다. 균주 B-6를 acyl CoA synthetase 억제제 생산 배지에서 배지의 pH와 배양 시간을 달리하여 상등액의 acyl CoA synthetase 억제 활성을 조사한 결과 pH 7.5에서 7~8일째에 최대치를 나타내었다. 균주 B-6의 성장 최적 온도와 pH는 30°C, pH 9.0으로 나타났으며, corn steep liquor를 함유한 배지에서 배양한 균주 상등액의 butanol 추출액에서 가장 효소 억제 활성이 높은 것으로 나타났다. 반면에 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 나 urea를 함유한 배지에 배양한 균주 상등액의 경우는 chloroform추출액에서 효소 활성 억제제가

가장 높고 *C. albicans*에 대한 항균력도 가장 높았다.

앞으로 이 acyl CoA synthetase 억제제를 순수 분리한 후에 구조를 결정하고 억제제 생산에 관여하는 효소에 관한 연구와 더불어 억제제의 억제 기작에 관한 연구를 수행하고자 한다.

감사의 글

본 연구는 1995년도 순천향대학교 자체 연구비 지원에 의해 이루어졌으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Kawaguchi, A., Tomoda, H., Awaya, J., Omura, S. and Okuda, S. : Cerulenin resistance in a cerulenin producing fungus. Isolation of cerulenin resistant fatty acid synthetase. *Arch. Biochem. Biophys.* **197**, 30 (1979).
- 2) Omura, S. : The antibiotic cerulenin, a novel tool for biochemistry as an inhibitor of fatty acid synthesis. *Bacteriol. Rev.* **40**, 681 (1976).
- 3) Omura, S. : Cerulenin. *Methods Enzymol.* **72**, 520 (1981).
- 4) Omura, S., Iwai, Y., Nakagawa, A., Iwata, R., Takahashi Y., Shimizu, H. and Tana, H. : Thiotetromycin, a new antibiotic. Taxonomy, production, isolation, and physicochemical and biological properties. *J. Antibiot.* **36**, 109 (1983).
- 5) Omura, S., Tomoda H., Xu, Q. -M., Takahashi, Y. and Iwai, Y. : Triacsin, new inhibitors of acyl CoA synthetase produced by *Streptomyces* sp. *J. Antibiot.* **39**, 1211 (1986).
- 6) Tomoda, H., Igarashi, K. and Omura, S. : Inhibition of acyl-CoA synthetase by triacsin. *Biochim. Biophys. Acta* **921**, 595 (1987).
- 7) Powell, G. L., Tippett, P. S., Kiorpes, T. C., McMillin-Wood, J., Coll, K. E., Schult, H., Tanaka, E., Kang, E. S and Shrage, E. : Fatty acyl -CoA as an effector molecule in metabolism. *Fed. Proc.* **44**, 81 (1985).
- 8) Tanaka, H., Yoshida, K., Itoh, Y. and Imanaka, H. : Studies on new vasodilators, WS-1228A and B. I. Discovery, taxonomy, isolation and characterization. *J. Antibiot.* **35**, 157 (1982).

- 9) Omura, S., Tomoda, H., Kumagai, H., Greenspan, M. D., Yodkovitz, J. B., Chen, J. C., Alberts, A. W., Martin, I., Mochals, S., Monaghan, R. L., Chabala, J. C., Schwaartz, R. E. and Patchett, A. A. : Potent inhibitory effect of antibiotic 1233A on cholesterol biosynthesis which specifically blocks 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A synthase. *J. Antibiot.* **40**, 1356 (1987).
- 10) Wakil, S. and Stoops, J. K. : Structure and mechanism of fatty acid synthetase. In: *The Enzymes*(Boyer, P.D., ed.), pp. 3-61, Academic Press, New York (1983).
- 11) Bartana, J., Rose, G. and Shaapiro, B. : The purification and properties of palmitoyl Coenzyme A synthetase. *Biochem J.* **122**, 353 (1971).
- 12) Grayson, N. A. and Westerkaemper, R. B. : Stable analogs of adenylates. Inhibition of acetyl and acyl CoA synthetase by adenosine 5'-alkylphosphates. *Life Science.* **43**, 437 (1988).
- 13) Massaro, E. J. and Lennarz, W. J. : The partial purification and characterization of a bacterial fatty acyl Coenzyme A synthetase. *Biochemistry.* **4**(1), 85 (1965).
- 14) Tomoda, H., Igarash, K., Cyong, J. C. and Omura, S. : Evidence for an essential role long chain acyl CoA synthetase in animal cell proliferation. *J. Biol. Chem.* **266**(7), 4214 (1991).
- 15) Vandel Heuvel, J. P., Stershele, P. F., Nesbit, D. J. and Peterson, R. E. : Coordinate Induction of acyl CoA binding protein, fatty acid binding protein and peroxysomal β -oxidation by peroxysome proliferators. *Biochimica et Biophysica Acta.* **1117**, 183 (1993).
- 16) Bar-Tana, J., Rose, G. and Shapirro, B. : The purification and properties of microsomal palmitoyl-Coenzyme A synthetase. *Biochem. J.* **122**, 353 (1971).
- 17) Tomaszewski, K. E. and Melnick, R. L. : In vitro evidence for involvement of CoA thioesters in peroxisome proliferation and hypolipidaemia. *Biochim. Biophys. Acta.* **1120**, 118 (1992).
- 18) Grimaldi, P. A., Knbel, S. M., Whitesell, R. R. and Abumrad, N. A. : Induction of a P2 gene expression by nonmetabolized long-chain fatty acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **89**, 10934 (1992).
- 19) Hayashi, M., Imai, Y., Tomoda, H., Omura, S. and Oh-ishi, S. : Enhanced production of platelet-activating factor in stimulated rat leukocytes pretreated with triacsin C. A novel acyl CoA synthetase inhibitor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **188**(3), 1280 (1992).
- 20) Abdel, A. S., Youssef, J., Badr, M., Morgan, P. and Frangkis, C. : The inhibition of long-chain fatty acid acyl-CoA synthetase by enoximone in rat heart mitochondria. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **19**(6), 899 (1992).
- 21) Tomaszewski, K. E. and Melnick, R. L. : In vitro evidence for involvement of CoA thioesters in peroxisome proliferation and hypolipodaemia. *Biochim. Biophys. Acta.* **1120**, 118 (1994).
- 22) Heuvel, J. P., Strechel, P. F., Nesbit, D. J. and Peterson, R. E. : Coordinate induction of acyl-CoA binding protein, fatty acid binding protein and peroxisome α -oxidation by peroxisome proliferators. *Biochim. Biophys. Acta.* **1177**, 183 (1993).
- 23) Shirling, E. B. and Gottlieb, D. : Streptomycetes Type Culture Projector. *Methods manual.* **1**, (1964).
- 24) Kuster, E. and Williams, S. T. : Selection of media for the isolation of Streptomycetes. *Nature.* **202**, 928 (1964).