

## *Streptomyces* sp. 50634 균주가 생산하는 *tipA* Promoter 활성화 물질, Sulfomycin Ia

심용호 · 윤봉식 · 세토 하루오<sup>1</sup> · 황세영<sup>2</sup> · 유익동\*

생명공학연구소, <sup>1</sup>동경대학 분자세포생물학연구소, <sup>2</sup>고려대학교 생명공학원

**Sulfomycin Ia, a Sulfomycin-derivative with *tipA* Promoter-inducing Activity Produced by *Streptomyces* sp. 50634.** Yong-Ho Shim, Bong-Sik Yun, Haruo Seto<sup>1</sup>, Se-Young Hwang<sup>2</sup> and Ick-Dong Yoo\*. Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon 305-600, Korea, <sup>1</sup>Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan, <sup>2</sup>Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea. In the course of screening for the *tipA* promoter-inducing substances, we isolated an active compound, sulfomycin Ia, from the mycelium of a microorganism designated 50634. The producing organism was identified as *Streptomyces* sp. on the basis of taxonomic studies. Sulfomycin Ia was purified from mycelial extract by silica gel column chromatography, LH-20 column chromatography, silica gel TLC, and preparative HPLC. The molecular weight of sulfomycin Ia was determined to be  $m/z$  1129 (M+Na)<sup>+</sup> by FAB mass measurement and <sup>1</sup>H NMR spectroscopic analysis. The structure was assigned as a derivative of sulfomycin I with thiazole, methyloxazole, oxazole, and pyridine rings by <sup>1</sup>H NMR spectral data.

*Streptomyces azureus*가 생산하는 thiostrepton은 thiazole, oxazole ring과 몇몇 이상 아미노산(unusual amino acid)을 함유한 thiopeptide 화합물로서 Gram 양성 세균에 대하여 매우 강한 항균활성을 나타내는 항생물질이다(1, 2). Thompson 등은 *Streptomyces lividans*의 배양시에 thiostrepton을 첨가한 결과, 기능을 알 수 없는 새로운 다양한 단백질의 발현이 유도되는 것을 발견하고, 생성된 단백질 중 19 KDa의 단백질을 정제하여 *tipA* (thiostrepton induced protein A)(3)라 명명하였다. 또한, 계속적인 연구에 의하여 thiostrepton에 의한 *tipA* 단백질의 발현 유도기작을 밝혔다. 즉, *tipA* gene promoter의 downstream에 있는 *tipA* 유전자는 *tipA<sub>L</sub>*과 *tipA<sub>S</sub>*라는 2개의 단백질을 생산한다. 이들 두 단백질은 thiostrepton과 결합하는데, 그 중 *tipA<sub>L</sub>*과의 결합산물이 *tipA* promoter에 결합함으로써 promoter를 활성화시킨다. 활성화된 promoter에 의해 *tipA<sub>L</sub>*과 *tipA<sub>S</sub>* 단백질이 발현되고 다시 *tipA<sub>L</sub>* 단백질은 thiostrepton과 결합하여 promoter를 활성화시킨다. 이같이 반복되는 *tipA* promoter 활성화 기작에 의해 *tipA* 단백질의 발현이 크게 증가하게 된다(4). Promoter 활성화 기작은 thiostrepton에 의해서 뿐만 아니라 thiostrepton과 구조적으로 유사한 nosiheptide(5, 6), berninamycin(7, 8), promothiocin(9) 등의 일부 thiopeptide 화합물에 의하여도 유발

된다.

최근 항생물질로 분리, 보고된 일련의 저분자 화합물들이 항균활성 이외에 유전자 발현을 유도하는 새로운 활성을 나타낸다는 보고는 방선균에서의 저분자 화합물의 기능 연구에 새로운 방향을 제시하고 있다. 따라서 *tipA* promoter 활성화 기작을 이용하여 미생물 배양액 및 천연물로부터 새로운 *tipA* promoter 활성화 물질을 탐색하는 것은 새로운 항생물질의 발견과 더불어 항생물질의 기능연구에도 유용할 것으로 사료된다. 본 연구는 *tipA* promoter 활성화 물질을 탐색하던 중 토양 분리주 50634의 균체 아세톤 추출물로부터 sulfomycin Ia(Fig. 1)를 분리 정제하고 화학구조를 밝혔기에 보고한다.

### 재료 및 방법

#### 시약 및 기기분석

활성물질의 분리, 정제에 사용된 silica gel은 Merck사의 Kiesel gel 60(70-230 mesh ASTM)을, Sephadex LH-20은 Pharmacia사의 제품으로 bead size 25-100  $\mu$ m를 사용하였다. 최종 정제단계에서 사용된 HPLC는 Waters사의 991제품으로 column은 Phenomenex사의 Maxsil 5 C<sub>18</sub>(10 $\phi$ mm $\times$ 250 mm) column을 사용하였다. HPLC의 전개용매는 45% CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O를 사용하였으며 유속은 분당 1.2 ml로, UV 254 nm에서 측정하였다. UV spectrum은 UV-260 spectrophotometer를, FAB mass 측정에는 Kratos Concept-1S FAB mass spectrometer를 사용하였다. <sup>1</sup>H NMR 측정에는 varian Unity 300

\*Corresponding author

Tel. 82-42-860-4330, Fax. 82-42-860-4595

E-mail: idyoo@kribb4680.kribb.re.kr

Key words: *TipA* promoter inducing compound, Screening, Chemical structure, Thiopeptide

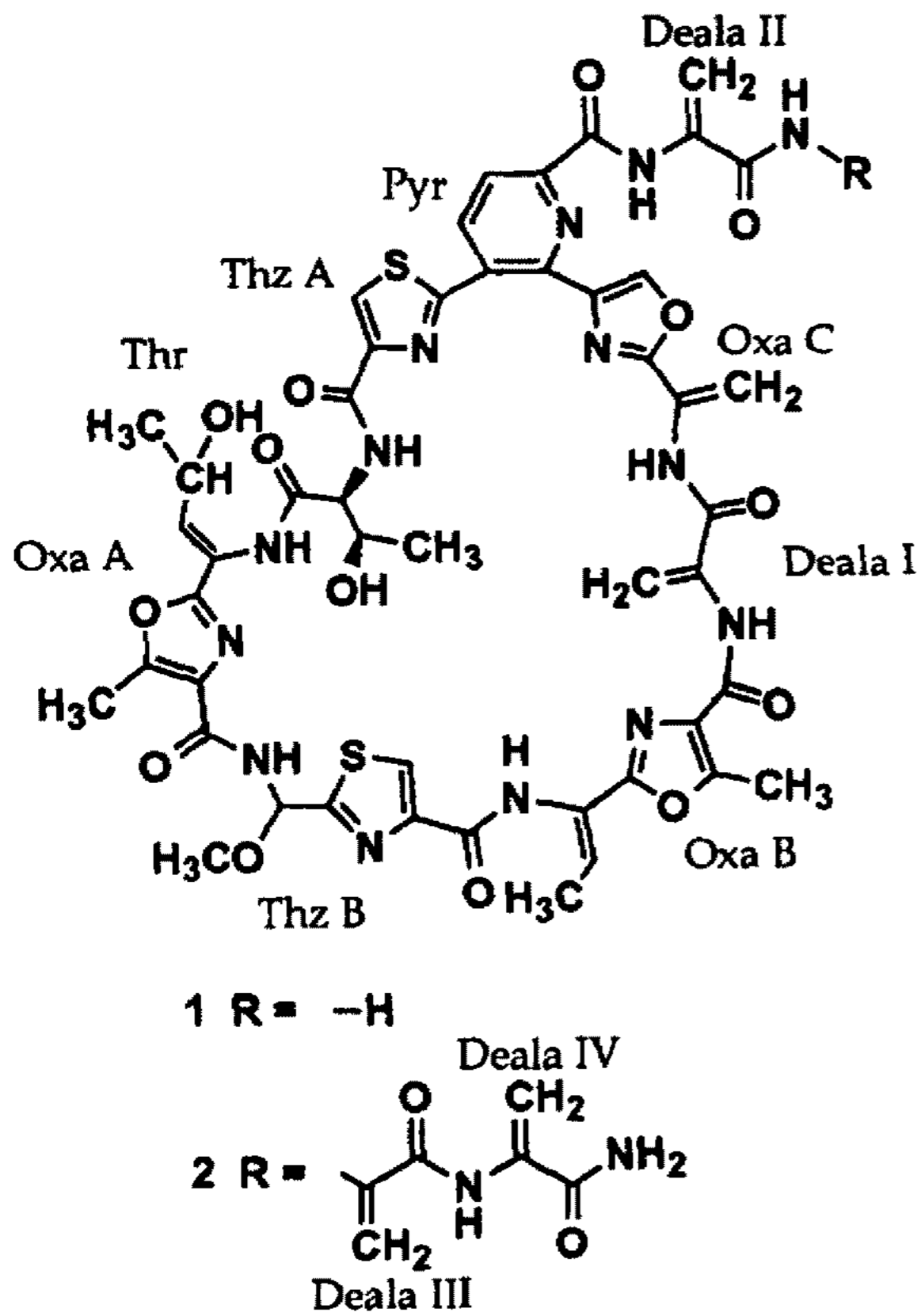


Fig. 1. Structures of sulfomycin Ia (1) and sulfomycin (2).

(300 MHz)을 사용하였으며 용매는 CDCl<sub>3</sub>:CD<sub>3</sub>OD(2:1) 혼합용매 및 DMSO-d<sub>6</sub>를, 내부표준물질로는 tetramethylsilane을 사용하였다.

TipA promoter 활성화 물질의 탐색 방법

Kanamycin 내성 유전자를 reporter 유전자로 하는 pJ486 plasmid에 tipA promoter를 도입하여 pAK 114를 제작한 후, pAK 114로 S. lividans를 형질전환시켰다. 형질전환된 S. lividans(pAK 114)는 kanamycin 존재하에서는 생육할 수 없으나, thiostrepton 등의 tipA promoter 활성화 물질을 첨가하면 kanamycin 내성 유전자가 발현되어 생육할 수 있게 된다(4). 따라서 kanamycin(5 µg/ml)을 첨가한 영양한천배지에 S. lividans(pAK 114)

의 포자현탁액을 도말하고, 검정하고자 하는 시료액을 묻힌 paper disk를 배지위에 올려 놓은 후, 28°C에서 24시간 배양하여 paper disk 주변의 생육환 형성 유무를 조사하였다.

생산균주의 분류, 동정

TipA promoter 활성화 물질 생산균주 50634의 분류 동정은 ISP(International Streptomyces Project) 분류 방법(11) 및 Bergy's manual(12)의 방선균 분류 동정방법에 준하여 수행되었다.

생산균주의 배양

TipA promoter 활성화 물질 생산 균주의 배양은 G.S.S(glucose 10 g, soluble starch 20 g, soybean meal 25 g, beef extract 1 g, yeast extract 4 g, NaCl 2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.25 g, CaCO<sub>3</sub> 2 g, pH 7.2, D.W 1 L) 배지를 사용하였다. 500 ml 삼각 flask에 G.S.S 배지 100 ml를 분주하고 50634 균주를 접종하여 2일간(28°C, 140 rpm) 전배양하였다. 본 배양은 동일배지 3 l를 5 l용 jar-fermenter(한국 발효기, KFC-5L)에 넣어 멸균한 후 전배양액의 90 ml(3%)를 접종하고 28°C, 300 rpm, 1.5 vvm(vol./vol./min)의 조건으로 7일간 배양하였다. 배양 중 24시간 간격으로 pH, packed cell volume(%) 및 활성을 조사하였다. 또한, 동일조건으로 jar-fermenter에서 5일간 배양하여 tipA promoter 활성화 물질 정제용 시료로 사용하였다.

결과 및 고찰

생산균주의 분류, 동정

본 균주는 peptone-yeast extract iron agar 배지를 제외한 전 실험배지에서 양호한 생육을 보였으며 기균사는 흰색계통이고 기저균사는 갈색 바탕에 연노란색을 나타내었다(Table 1). 전자현미경 등의 관찰에서 포자의 사슬은 길고 직선형인 rectiflexible형이며, 포자의 표면은 spiny형이었다(Fig. 2).

Table 1. Cultural characteristics of strain 50634

Medium	Growth	Aerial mycelium	Substrate mycelium	Reverse color	Soluble pigment
Yeast extract-malt extract agar (ISP medium 2)	good	abundant, white	dark brown	yellowish brown	none
Oatmeal agar (ISP medium 3)	good	abundant, white	brown	pale yellow	none
Inorganic salts-starch agar (ISP medium 4)	moderate	grayish white	yellow	yellowish brown	none
Glycerol-asparagine agar (ISP medium 5)	moderate	brownish white	brownish yellow	pale yellow	none
Peptone-yeast extract iron agar (ISP medium 6)	poor	poor	grayish brown	yellowish brown	none
Tyrosine agar (ISP medium 7)	moderate	pale brownish white	grayish brown	grayish brown	none
Nutrient agar	moderate	white	yellowish white	pale yellowish brown	none
Bennett's agar	moderate	moderate, white	pale yellow	brown	none

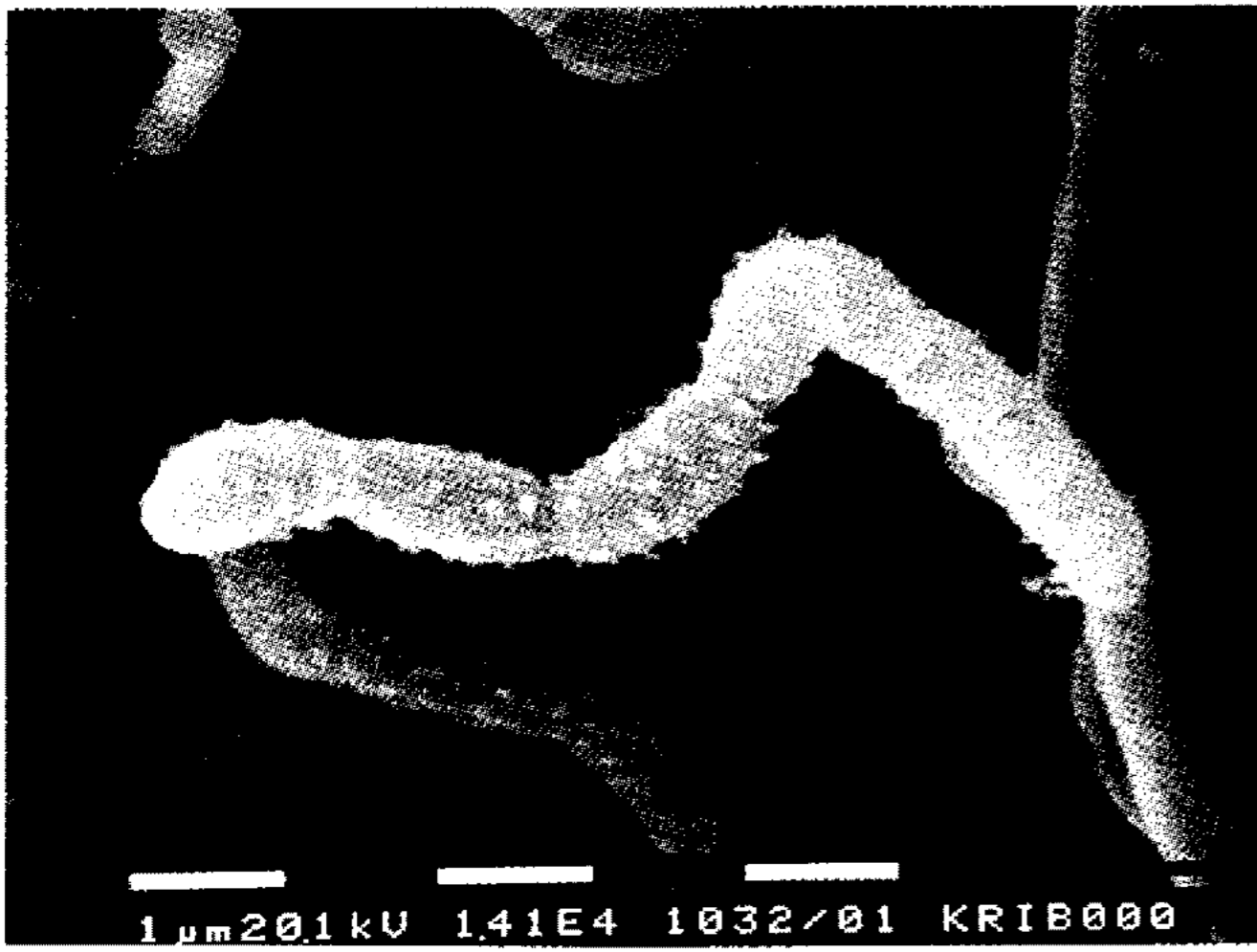


Fig. 2. Scanning electron micrograph of strain 50634 (bar represents 1 μm).

세포벽의 DAP 유형을 조사한 결과 LL 형으로 나타났으며 아미노산 분석 결과 alanine, glycine, glutamic acid 등을 함유하고 있음을 알 수 있었다. Glucose, arabinose 등을 포함한 14종의 탄소원에 대하여 이용성을 조사한 결과 glucose, cellulose, inositol, xylose, arabinose, galactose, melibiose, rhamnose, sucrose 등의 탄소원은 잘 이용하였으나 그 외의 탄소원은 이용하지 못

Table 2. Morphological and physiological characteristics of strain 50634

DAP type	LL
Spore chain	rectiflexible
Spore surface	spiny
Aerial mass color	white
Soluble pigment	none
Melanoid pigment	brown
Starch hydrolysis	positive
Nitrate reduction	negative
Gelatin liquefaction	negative
Milk peptonization	negative
Hydrolysis of skim milk	positive
Carbon utilization	
D-glucose	+
D-fructose	-
cellulose	+
inositol	+
D-manitol	-
raffinose	-
D-xylose	+
L-arabinose	+
cellobiose	-
D-galactose	+
inullin	-
melibiose	+
L-rhamnose	+
sucrose	+

하였다. 또한 본 균주는 starch, skim milk를 가수분해하나 질산염 환원, gelatin liquefaction, milk peptonization에는 음성이었다(Table 2).

이상의 배양적, 형태적, 생리적 특성을 토대로 분류, 동정을 실시한 결과, 본 균주는 *Streptomyces* 속에 속하는 것으로 동정되었다. 따라서 상기의 분류학적 특성을 근거로 *Streptomyces* 속의 각 종과 비교하였으나 동일종 또는 유사종이 발견되지 않아 본 균주를 *Streptomyces* sp. 50634라 명명하였다.

### 배양

*Streptomyces* sp. 50634주의 배양조건을 검토하기 위하여 7일간 배양하면서 24시간 간격으로 pH의 변화, packed cell volume(%) 및 활성물질 생산성등을 조사하였으며 그 결과는 Fig. 3과 같다. 배양 초기의 pH는 균이 생육함에 따라 감소하였으나 배양 4일 이후부터는 증가를 보였다. Packed cell volume은 배양 초기부터 점진적인 증가를 나타내었으나 배양 5일 이후부터는 감소하는 경향을 보였다. *TipA* promoter 활성화능을 측정된 결과 배양 5일째에 가장 높은 활성을 보였다. 이상의 결과로부터 pH의 증가와 함께 균의 생육이 급격히 증가하는 시기에 가장 높은 활성을 나타내는 것을 알 수 있었으며 따라서 이 외의 모든 배양은 배양 5일째에 배양액을 회수하였다.

### 활성물질의 분리, 정제

*Streptomyces* sp. 50634의 배양액을 원심 분리하여 균체와 상등액으로 나누고, 활성을 나타내는 균체는 acetone으로 추출한 후 여과하여 감압농축하였다. 농축된 시료를 1 N HCl을 이용하여 pH 3으로 조절한 후 ethyl

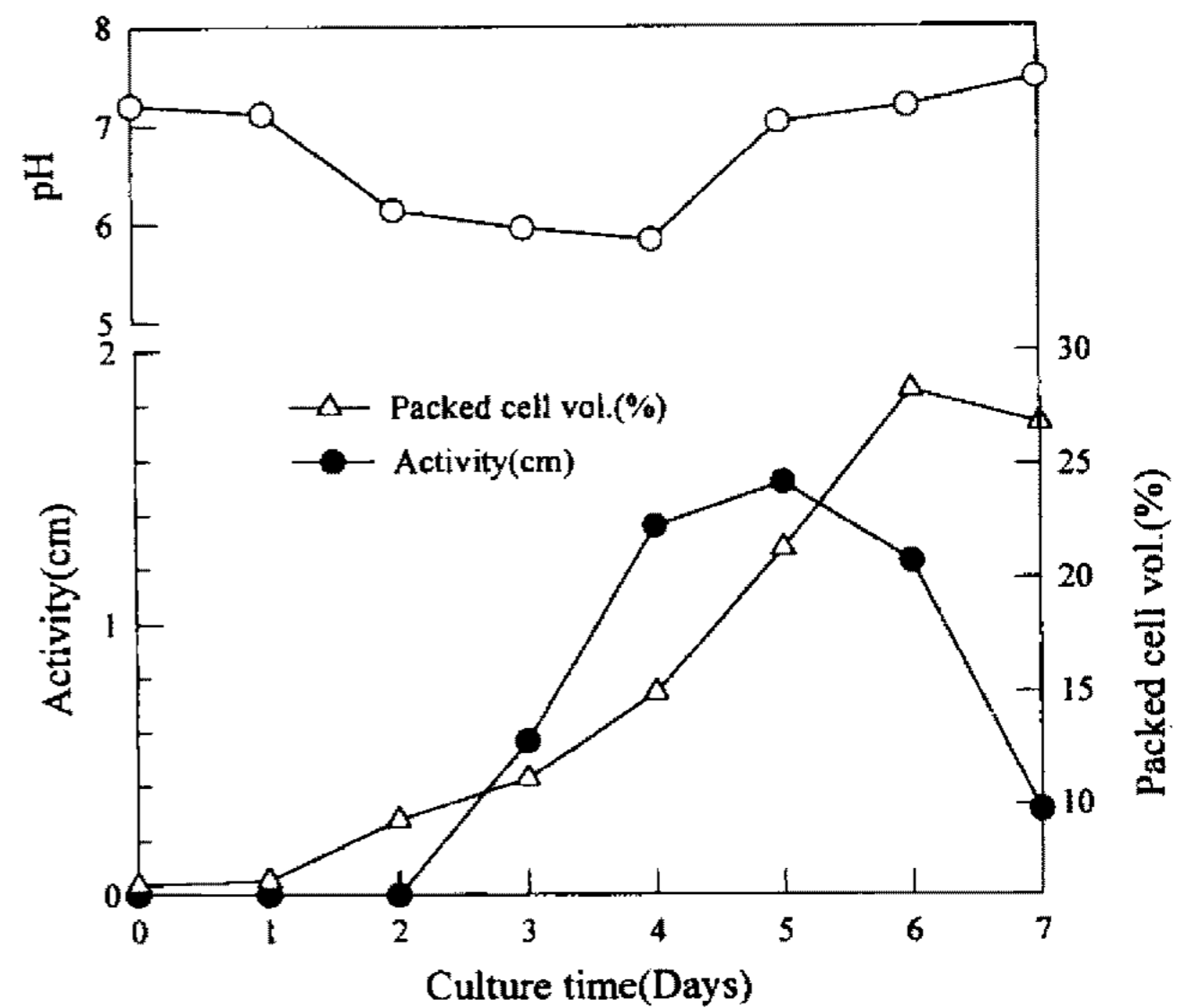


Fig. 3. Fermentation profiles for the production of sulfomycin Ia.

The fermentation was carried out in a 5-liter jar fermentor at 28 °C, 1.5 vvm and 300 rpm.

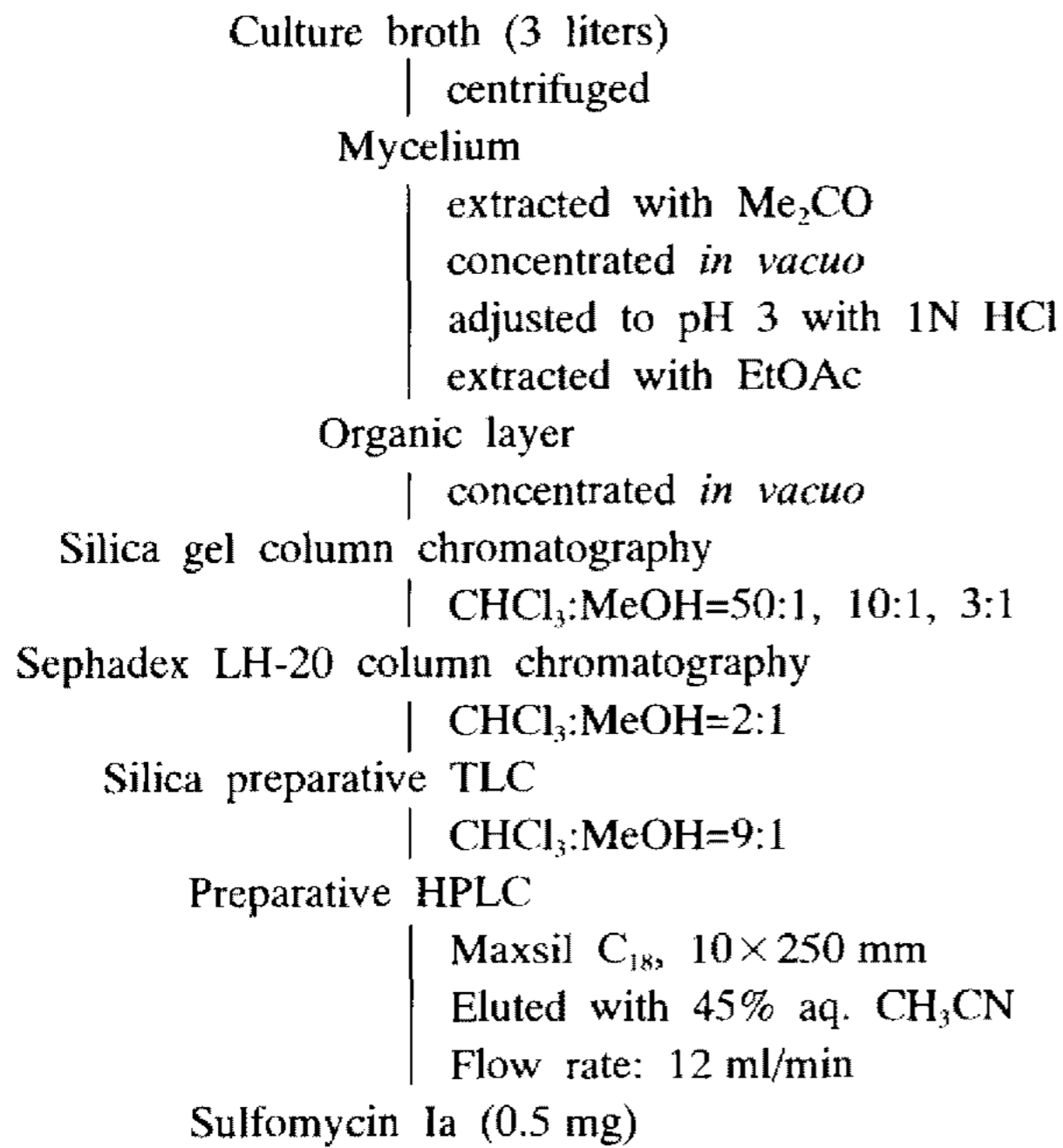


Fig. 4. Isolation procedure of sulfomycin Ia.

acetate로 2회 반복 추출하였다. 추출물을 감압농축한 후 CHCl<sub>3</sub>:MeOH/50:1, 10:1, 3:1을 전개용매로 stepwise silica gel column chromatography를 실시하였다. Silica gel column에서 용출된 CHCl<sub>3</sub>:MeOH/3:1의 활성분획을 감압농축한 후, CHCl<sub>3</sub>:MeOH/2:1을 용출용매로 하여 Sephadex LH-20 column chromatography를 수행하였다. 각각의 분획들의 활성을 조사한 후, 활성분획들을 수거하여 농축한 후 preparative silica TLC(CHCl<sub>3</sub>:MeOH/9:1, v/v)를 수행하였다. R<sub>f</sub> 0.29의 활성분획을 수거하여 CHCl<sub>3</sub>:MeOH/9:1로 추출, silica를 제거한 후 농축하여 HPLC를 수행하였다. 45% CH<sub>3</sub>CN을 전개용매로 HPLC를 수행하여 retention time 9분대의 활성피크를 분취하였으며, 감압농축한 결과 흰색 분말의 활성물질 0.5 mg을 획득할 수 있었다(Fig. 4).

#### 활성물질의 화학구조

현재까지 *tipA* promoter 활성화물질로 밝혀진 화합물은 모두 thiopeptide계열의 화합물이었다. Thiopeptide 화합물은 구조 중에 pyridine, thiazole, methyloxazole ring들과 함께 다양한 이상 아미노산을 지니며 그로 인하여 다수의 hetero원소를 함유하게 되어 화학구조의 규명이 매우 어렵다. 그러나 이들 화합물들의 <sup>1</sup>H NMR spectrum은 각 구성 아미노산으로부터 기인된 특징적인 signal들을 나타내며 이들 피크의 해석은 구성아미노산의 추정을 가능하게 한다. 따라서 본 화합물의 구조는 기존의 화합물과 <sup>1</sup>H NMR을 비교, 분석하였으며 이를 통하여 추정된 화합물의 구조를 mass 분석으로 확인하였다.

본 화합물은 223(ε29000), 258(ε16000), 322(ε3300)

nm에서 UV 최대흡수피크를 나타내어 전형적인 thiopeptide 화합물의 UV 패턴을 나타내었다. CDCl<sub>3</sub>를 용매로 하여 <sup>1</sup>H NMR spectrum을 측정한 결과 1.17, 1.33, 1.90, 2.65, 2.67, 3.40 ppm에서 6개의 methyl signal들이, 5.55-6.75 ppm 사이에 약 8개의 signal들이, 8.25-8.50 ppm 사이에 5개의 signal들이 관찰되었다. 이들 signal 중 1.90 ppm에 있는 methyl signal은 coupling constants(*J*=7.5 Hz)로부터 6.71 ppm에 있는 quatet methine proton과 결합하고 있음을 알 수 있었다. 또한 2.65, 2.67 ppm의 저자장 shift한 methyl signal들은 methyloxazole의 methyl기와 chemical shift가 일치하여 본 화합물은 2개의 methyloxazole을 함유하고 있음을 추정할 수 있었다. 5.57-6.68 ppm 사이의 signal들은 thiopeptide 화합물에서 다수 존재하는 dehydroalanine의 말단 methylene signal들로 추측되었으며 그들의 적분치로 비추어 3개의 말단 methylene이 존재함을 추정할 수 있었다. 8.26 및 8.46 ppm에 있는 두개의 방향족 doublet proton은 상호간에 *ortho*-coupling하고 있으며 그들의 특징적인 coupling constants(*J*=7.8 Hz)로부터 pyridine환에 유래하는 signal로 추정되었다. 그 외의 8.37, 8.44, 8.49 ppm에 있는 방향족 singlet proton들은 oxazole 혹은 thiazole 환에 유래하는 것으로 추정되었다. 이상의 결과로부터 본 화합물은 한 개의 pyridine, 2개의 methyloxazole, dehydroalanine unit에 기인하는 3개의 말단 methylene, 3개의 oxazole 혹은 thiazole로 구성된 thiopeptide 화합물임이 입증되었다. 이들을 근거로 database검색을 실시한 결과 본 화합물은 항균항생물질로 보고된 sulfomycin I과 매우 유사함을 알 수 있었다(13, 14). 따라서 DMSO-*d*<sub>6</sub>를 용매로 <sup>1</sup>H-NMR을 측정하여 sulfomycin I의 <sup>1</sup>H-NMR spectrum과 비교, 분석하였다. 그 결과 sulfomycin I에서는 관찰되었던 dehydroalanine III과 IV의 amide signal(각각 10.09와 9.06 ppm)이 본 화합물에서는 관찰되지 않았고 더불어 5.60-6.60 ppm 사이에 존재하는 dehydroalanine 유래의 말단 methylene signal 중 dehydroalanine 두 개 분에 해당하는 peak가 본 화합물에서는 나타나지 않았다. 그러나 이같은 차이 외에는 sulfomycin I과 본 화합물의 <sup>1</sup>H NMR spectrum이 잘 일치하였다. 따라서 본 화합물의 구조는 sulfomycin I의 측쇄를 구성하는 3개의 dehydroalanine 중에서 두개의 dehydroalanine이 소실된 신규 sulfomycin I 유도체로 결정되었다. 본 화합물과 sulfomycin I의 <sup>1</sup>H NMR 귀속을 Table 3에 나타내었다. 또한 FAB mass 측정 결과 본 화합물의 분자량이 *m/z* 1129(M+Na)<sup>+</sup>이었으며(Fig. 5) 이는 상기의 구조와 일치하였다.

#### 생물활성

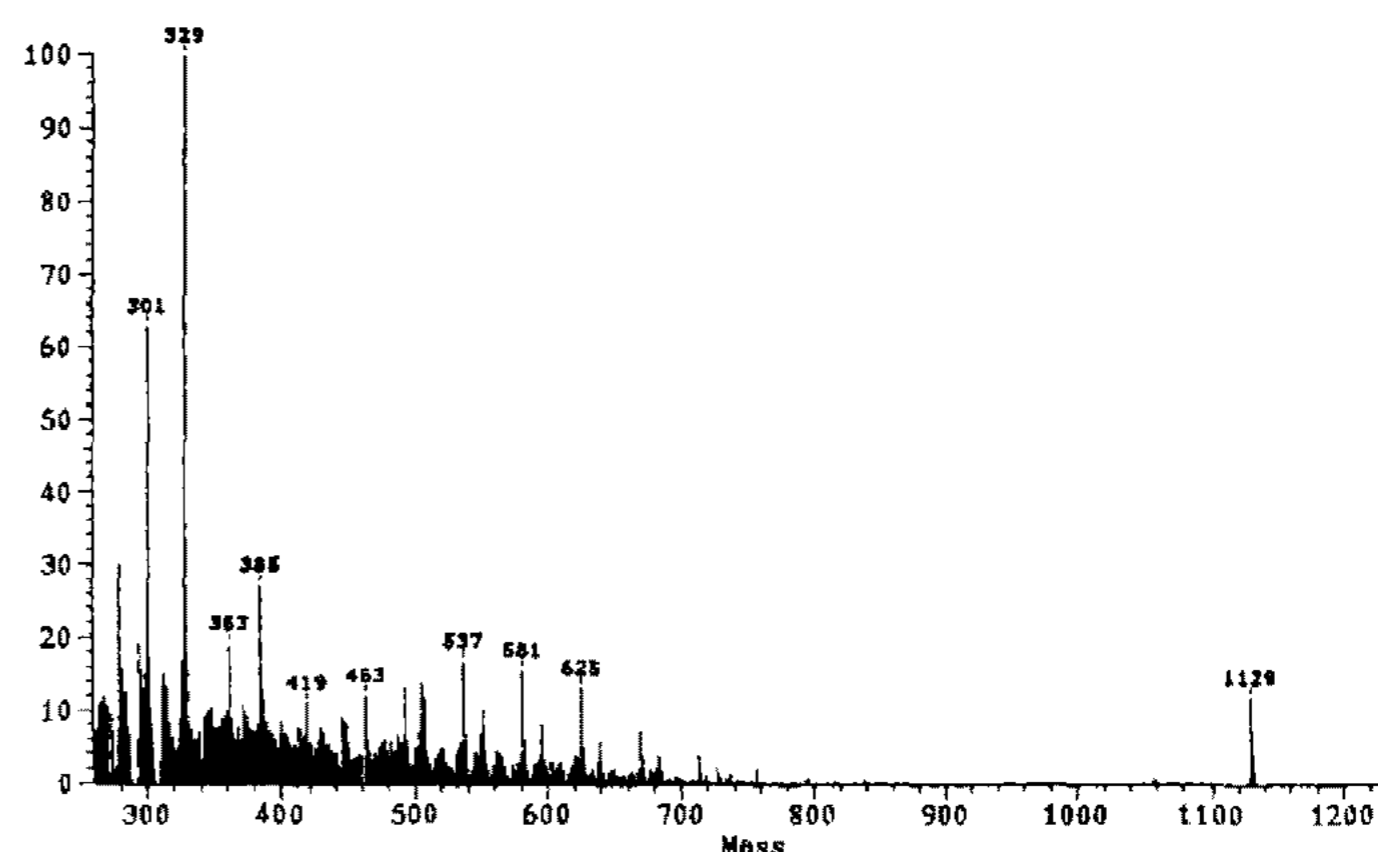
본 화합물의 *tipA* promoter 활성화능 및 항균활성을

**Table 3.**  $^1\text{H}$  NMR spectral data of sulfomycin Ia and sulfomycin I

Position		Sulfomycin Ia	Sulfomycin I
Thz A	5-CH	8.53	8.53
Thr	NH	8.18 ( <i>d</i> , 8.4)	8.19
	$\alpha$ CH	4.34 ( <i>dd</i> , 8.4, 3.0)	4.34
	$\beta$ CH	4.14 ( <i>m</i> )	4.14
	$\gamma$ CH <sub>3</sub>	1.09 ( <i>d</i> , 6.3)	1.09
	OH	5.23 ( <i>d</i> , 5.7)	5.24
Oxa A	NH	9.38	9.38
	$\beta$ CH	6.26 ( <i>d</i> , 8.1)	6.27
	$\gamma$ CH	4.45 ( <i>m</i> )	4.46
	$\delta$ CH <sub>3</sub>	1.20 ( <i>d</i> , 6.0)	1.20
	OH	4.94 ( <i>dd</i> , 4.5)	4.94
	5-CH <sub>3</sub>	2.55*	2.55*
Thz B	NH	8.36 ( <i>d</i> , 9.6)	8.36
	$\alpha$ CH	6.45 ( <i>d</i> , 9.6)	6.46
	OCH <sub>3</sub>	3.25	3.24
	5-CH	8.44	8.45
Oxa B	NH	10.04	10.04
	$\beta$ CH	6.49 ( <i>q</i> , 9.6)	6.49
	$\gamma$ CH <sub>3</sub>	1.75 ( <i>d</i> , 7.2)	1.75
	5-CH <sub>3</sub>	2.56*	2.56*
Deala I	NH	9.17	9.16
	$\beta$ CHc	5.80	5.78
	$\beta$ CHt	6.40	6.40
Oxa C	NH	10.01	9.99
	$\beta$ CHc	5.80	5.79
	$\beta$ CHt	5.67	5.66
	5-CH	8.59	8.64
	4-CH	8.71 ( <i>d</i> , 8.1)	8.71
Pyr	5-CH	8.29 ( <i>d</i> , 8.1)	8.30
	NH	10.56	10.42
Deala II	$\beta$ CHc	5.80	5.95
	$\beta$ CHt	6.54	6.58
	NH <sub>2</sub>	7.62, 8.13	
Deala III	NH		10.09
	$\beta$ CHc		5.72
	$\beta$ CHt		5.67
Deala IV	NH		9.06
	$\beta$ CHc		5.65
	$\beta$ CHt		6.12
	NH <sub>2</sub>		7.53, 7.94

\*chemical shift interchangeable.

조사하였으며 그 결과는 다음과 같다. 본 화합물은 0.4  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서도 *tipA* promoter를 강하게 활성화하였다. 또한 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 209 및 항생물질에 내성을 보이는 *S. aureus* R-209, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 등을 대상으로 항균 활성을 조사하였다. 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도부터 순차적으로 2배 희석한 활성물질을 paper disk당 40  $\mu\text{l}$ 씩 적용하여 항균활성을 측정된 결과 *Staphylococcus aureus* 209 및 R-209에 대하여는 25  $\mu\text{g/ml}$ 에서 활성을 나타내었으나

**Fig. 5.** FAB-mass spectrum of sulfomycin Ia.

그 외의 대상균주에는 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서도 전혀 활성을 나타내지 않았다.

## 요 약

미생물 배양액 및 균체 추출물을 대상으로 *TipA* promoter 활성화 물질을 탐색하던 중 50634로 표식된 균주의 균체 아세톤 추출물이 강한 활성을 나타내는 것을 발견하였다. 본 50634균주는 방선균 분류 동정 실험에 의하여 *Streptomyces* 속에 속하는 것으로 동정되었으며 따라서 *Streptomyces* sp. 50634로 명명되었다. 균체아세톤 추출물로부터 용매추출, silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, preparative TLC 및 HPLC를 통하여 활성물질을 분리, 정제하였다. FAB mass 및 UV 측정 결과 본 화합물은 분자량이 1106인 thiopeptide 계열의 화합물로 판명되었다.  $^1\text{H}$  NMR 분석에 의하여 본 화합물은 thiazole, methyloxazole, oxazole, pyridine 및 dehydroalanine으로 구성된 thiopeptide 화합물로, sulfomycin I의 dehydroalanine 측쇄 중 dehydroalanine unit 두 개가 소실된 신규 sulfomycin I 유도체로 판명되었다.

## 참고문헌

- Pagano, J. F., M. J. Weinstein, H. A. Stout, and R. Donovick. 1955-1956. Thiostrepton, a new antibiotic. *Antibiotics Ann.*: 554-565.
- Anderson, B., D. C. Hodgkin, and M. A. Viswamitra. 1970. The structure of thiostrepton. *Nature* **225**: 233-235.
- Murakami, T., T. G. Holt, and C. J. Thompson. 1989. Thiostrepton induced gene expression in *Streptomyces lividans*. *J. Bacteriol.* **171**(3): 1459-1466.
- Holmes, D. J., J. L. Caso, and C. J. Thompson. 1993. Autogenous transcriptional regulation of thiostrepton-induced gene in *Streptomyces lividans*. *EMBO J* **12**(8): 3183-3191.

5. Prange, T., A. Ducruix, and C. Pascard. 1977. Structure of nosiheptide, a polythiazole-containing antibiotic. *Nature* **265**: 189-190.
6. Pasard, C., A. Ducruix, J. Lunel, and T. Prange. 1977. Highly modified cystein-containing antibiotics. chemical structure and configuration of nosiheptide. *J. Am. Chem. Soc.* **99**(19): 6418-6422.
7. Liesch, J. M. and K. L. Rinehart, Jr.. 1977. Berninamycin 3. Total structure of Berninamycin A. *J. Am. Chem. Soc.* **99**(5): 1645-1646.
8. Abe, H., K. Kushida, Y. Shiobara, and M. Kodama. 1988. The structures of sulfomycin I and berninamycin A. *Tetrahedron Lett.* **29**(12): 1401-1404.
9. Yun, B. -S., T. Hidaka, K. Furihata, and H. Seto. 1994. Promothiocins A and B, novel thiopeptide with *tipA* promoter inducing activity produced by *Streptomyces* sp. SF 2741. *J. Antibiotics* **47**(4): 510-514.
10. Stanek, J. L. and G. D. Roberts. 1974. Simplified approach to identification of aerobic actinomycetes by thin-layer chromatography. *App. Microbiol.*, **28**(16): 226-231.
11. Shirling, E. B. and D. Gottlieb. 1966. Methods of characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**: 313-340.
12. Williams, S. T., M. E. Sharpe, and J. G. Holt. 1989. Bergey's manual of systematic bacteriology. **4**: 2333-2585.
13. Egawa, Y., K. Umino, Y. Tamura, M. Shimizu, K. Kaneko, M. Sakurazawa, S. Awataguchi, and T. Okuda. 1969. Sulfomycins, a series of new sulfur-containing antibiotics. *J. Antibiotics* **22**(1): 12-17.
14. Kohno, J., N. Kaneda, M. Nishio, A. Kinumaki, and S. Komatsubara. 1996. The structures of sulfomycin II and III. *J. Antibiotics* **49**(10): 1063-1065.

(Received 10 June 1997)