

국내토양에서 분리한 점액세균의 동정 및 특성

김재현 · 손승렬*

단국대학교 미생물학과

충남 대둔산의 토양으로부터 분리한 점액세균을 ARJ라 명명하고 그 특성을 알아보았다. CT 배지에서 swarming을 하며 성장한 이 균주는 slime를 형성하였고, 액체 및 고체배지 상에서 황록색의 색소를 방출하였으며 swarming 부분을 파장이 366 nm인 자외선으로 조사하였을 때 초록색의 형광을 띠었다. 또한 이 균주는 영양분이 고갈되었을 때 fruiting body를 형성하는 것으로 보아 Myxobacteria라고 생각되었으며 주사전자 현미경 관찰 결과 이 균주가 형성한 fruiting body는 stalk이 없었고 naked myxospore를 가지고 있었다. Myxobacteria의 분류에 있어서 가장 중요한 이러한 형태학적 특성들로 볼 때 이 균주는 *Myxococcus virescens*와 가장 유사한 것으로 밝혀졌다. 한편 이 균주는 특히 gram 양성 세균에 대해 antimicrobial activity가 있는 것으로 나타났는데, 여과한 배양 여액에서도 이러한 activity가 있었지만 비변성 polyacrylamide 전기영동을 하여 본 결과 이 물질이 단백질은 아닌 것으로 밝혀졌다. 또한 이 배양 여액은 상당한 proteolytic activity가 있었으며 최소한 2개의 proteolytic enzyme이 있는 것으로 비변성 polyacrylamide 전기영동을 통하여 밝혀졌다.

Key Words □ antimicrobial activity, myxobacteria, protease

점액세균(Myxobacteria)은 그람음성 세균으로서 gliding에 기초한 운동을 하고 복잡한 형태학적 잠재능력을 가지고 있으며 개개의 세포들간에 긴밀한 communication을 통해 하나의 fruiting body를 형성하기 때문에 “social” organism으로 알려져 있다(15). Gliding motility는 Myxobacteria의 특징 중의 하나인데 protein-polysaccharide-lipid (PPL) complex로 이루어진 점액(slime)을 분비하여 flagella 없이도 미끄러지듯이 운동을 하는 것으로 알려져 있다(3,4,17,18). 또 한가지 중요한 것은 두 가지 차원에서 형태 변화가 일어난다는 것인데, 수십만개의 세포들이 협동적으로 모여들어서 하나의 자실체(fruiting body)를 만들고 이 모여든 개개의 세포들이 모양이나 구조가 극단적으로 변화하여 휴지기의 세포인 myxospore가 된다. 이러한 일련의 과정들 때문에 원핵세포 morphogenesis의 조절기작을 연구하는데 있어서 myxobacteria는 model system이 되고 있다(10,11,15,16).

일반적으로 fruiting body의 형성은 영양분의 고갈에 의해 유도된다. 영양분이 충분한 배지 상에 있던 균들을 한천만이 들어있는 배지 등에 옮기면 fruiting body가 형성되기 시작되는데(19), 건조된 fruiting body를 vial에 넣어서 보관하면 5-15년까지 생존한다고 알려져 있다(14). 예외적으로 두 균주(*Chondromyces apicalatus*와 *Stigmatella aurantica*)에서는 빛과 GMP에 의해서 fruiting body 형성이 유도된다는 보고도 있다(1,2). Myxobacteria는 12 genera에 약 40여 species가 알려져 있는데 fruiting body의 모양은 종마다 특이하여 Myxobacteria의 분류에 있어서 중요

한 열쇠가 되고 있으며(12,14), *Myxococcus*속은 그 모양이 극히 단순하다고 알려져 있다.

Myxobacteria는 편성호기성, 중온성세균이며 보통 6-38°C의 성장범위를 갖는다. 이것들은 두 가지 physiologic type이 있는 것으로 알려져 있다. 하나는 *Sorangium*에 속하는 것들로서 이것은 cellulose decomposer이며 또 하나는 “micropredator”로서 bacteriolytic-proteolytic metabolism을 하는 것들인데 대부분 여기에 속한다. 이러한 bacteriolytic-proteolytic type의 myxobacteria들은 여러 종류의 세포의 효소와 항생물질을 분비한다고 알려져 있다(2,7,13,14,15,16). 그러나 Myxobacteria의 physiology에 대해서는 그렇게 많이 알려져 있지 않아 다른 호기성 그람음성 세균에 비해 물질대사에 대한 연구가 빈약한 실정이다.

우리는 항 미생물활성이 있는 물질을 찾고자 한국의 자연환경에 존재하는 미생물들을 대상으로 탐색하던 중에 충청남도 대둔산의 토양으로부터 분리한 균주가 점액세균이면서 항균활성이 뛰어난 것을 보고, 이 세균의 분류 및 동정, 그리고 bacteriolytic-proteolytic activity를 알아보았다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지 조성

본 실험에서 사용된 균주는 충청남도에 위치한 대둔산의 토양으로부터 분리되어 ARJ로 명명된 균주를 사용하였다. 대조균으로는 *Myxococcus xanthus* KCTC 3409를 사용하였다. 실험균으로는 *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10701, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2329, *Candida albicans* ATCC 10231, 그리고

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 041-550-3455, Fax: 041-551-9229
E-mail: syson@anseo.dankook.ac.kr

Escherichia coli HB101이 사용되었다.

모균주 보존 및 접종용 고체사면배지와 액체배지는 CT 배지를 사용하였다. CT 배지의 조성은 Casitone 2%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2% 이며 고체배지에는 한천 2%를 첨가하였고, 멸균한 후 potassium phosphate buffer (pH 7.2)를 0.01 M이 되도록 첨가하여 사용하였다.

Fruiting body 형성 유도

CT 액체배지 50 ml에 균주를 접종한 후 700 rpm에서 흡광도가 0.3이 될 때까지 진탕배양한 후 배양액을 6,000×g에서 15분간 원심분리하여 상층액은 버리고 침전물을 10 mM의 HEPES 완충용액으로 세척하여 다시 원심분리하여 동일 완충용액 500 μl에 재부유시켰다. 이것을 HEPES 고체배지(10 mM HEPES, Agar 1.8%)에 5 μl씩 접종하였다. 이 배지를 30°C에서 배양하면서 관찰하였다.

Fruiting body의 주사전자현미경 관찰

주사전자현미경 관찰을 위하여 fruiting body가 형성된 배지를 사방 7 mm로 도려낸 후 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde (4°C, 2 hrs)로 전고정하여 완충용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 2회 세척하고 1% osmium tetroxide (4°C, 2 hrs)로 후고정하여 동일 완충용액으로 2회 세척하였다. 고정된 조직을 alcohol 농도 상승순으로 탈수시킨 후 acetone으로 alcohol을 제거하였다. 만들어진 sample을 광학현미경으로 확인한 후 고진공 상태에서 금으로 coating하여 주사전자현미경으로 관찰하였다.

생화학적 특성

전분의 가수분해는 starch agar plate에 균을 도말한 후 30°C에서 5일간 배양한 후, iodine을 넣고 방치하여 세균의 집락부위가 맑으면 전분이 분해된 것으로 판독하였고, skim milk 분해력은 skim milk agar plate에 균을 도말한 후 30°C에서 5일간 배양 후 나타난 clear zone으로 판별하였다. 젤라틴 액화력은 기본배지(beef extract 0.3%, peptone 0.5%, pH 7.0)에 gelatin 0.4%를 첨가한 사면배지에 균주를 접종한 후 30°C에서 배양하여 4°C 냉장고에서 1시간 방치했다가 배지가 액화되었으면 양성으로 판정하였다.

Citrate 이용능은 Simmon's citrate 사면배지에 균을 접종하여 30°C에서 5일간 배양한 후 균이 citrate를 이용하여 배지가 알칼리로 변해 푸른색을 띠는 것을 양성반응으로 판정하였고, Tween 80 분해능은 Tween 80 hydrolysis medium (agar 12 g, pepton 10 g, NaCl 5 g, $CaCl_2$ 0.1 g, Tween 80 10 ml in 1 l ddH₂O)에 균을 접종하여 30°C에서 5일간 배양하여 집락부위에 물방울 같이 맑은 부위가 생기면 Tween 80을 분해한 것으로 판정하였다. Indole 생성시험은 Trypticase soy broth에 균을 접종하여 30°C에서 24 시간 배양한 후 Kovac's 시약을 첨가하여 적색이 되면 indole을 생성한 것으로 판정하였다.

Tyrosine, hypoxanthine, xanthine, casein, guanine의 분해력 시험은 modified Benetti's agar에서 조사하였으며 4일간 배양하여 colony 주변의 투명한 형성 유무를 관찰하였다.

분리균에 의한 당 이용능은 Shring과 Gottlieb (18)의 carbon utilization배지에 L-arabinose, cellobiose, D-fructose, meso-inositol, lactose, D-raffinose, sucrose, sodium citrate, sodium acetate, galactose, mannitol, D-glucose 또는 rhamnose를 최종농도가 1% 되도록 배지에 첨가하고 30°C에서 4일간 배양하여 양성 대조군(D-glucose 첨가군) 및 음성 대조군(탄소원 무첨가군)과 비교하여 판정하였다.

질소원 이용은 기초배지(% w/v): D-glucose(1.0), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.05), NaCl(0.05), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.001), K_2HPO_4 (0.1), agar(1.2), pH 7.0에 L-asparagine, L-arginine, L-cysteine, L-methionine, L-valine, L-phenylalanine, L-serine, L-threonine 또는 potassium nitrate 등을 최종농도가 0.1% 되도록 첨가하여 30°C에서 4일 배양 후 양성 대조군(L-asparagine 첨가군)과 음성 대조군(질소원 무첨가군)과 비교하여 판독하였다.

배양 여액의 활성실험

배양 여액은 CT 액체배지 50 ml에 균주를 접종하여 30°C, 120 rpm으로 24 시간동안 진탕배양한 후, 원심분리한 상층액을 0.2 μm membrane filter로 여과하여 -20°C에 보관하면서 실험하였다. Bacteriolytic activity 측정을 위해 nutrient 고체 평판배지에 멸균된 면봉으로 실험 균들을 도말한 후 30°C에서 24시간 배양하였다. 이 배지에 직경 1 mm의 구멍을 뚫어서 준비한 배양 여액을 2 μl씩 접종하여 배양한 후 bacteriolysis zone을 관찰하였고, antimicrobial activity 측정은 nutrient 고체 평판배지에 멸균된 면봉으로 실험 균들을 도말한 후 직경 1 mm의 구멍을 뚫고 여기에 준비한 배양 여액을 2 μl씩 접종하여 30°C에서 배양한 후 성장 억제현을 관찰하였다. Proteolytic activity도 skim milk 배지에 직경 1 mm의 구멍을 뚫어서 준비한 배양 여액을 2 μl씩 접종하여 배양한 후 clear zone을 관찰하였다.

전기 영동 및 Agar overlay

Hames의 방법(6)에 따라 7.5%와 10%의 비변성 폴리아크릴아마이드 젤 전기영동(non-denatured polyacrylamide gel electrophoresis)을 하였다. Running gel에서는 ammonium persulfate를 촉매로 사용하였고 stacking gel에서는 riboflavin을 촉매로 사용하여 gel을 경화시켰다. Tracking dye가 젤 하단 부분을 통과할 때까지 4°C를 유지하면서 80 V의 전압으로 여과한 배양 여액을 전기영동하였다.

Antimicrobial activity를 알아보기 위한 실험으로, nutrient broth 10 ml에 실험균을 24시간 배양하여 1500 rpm에서 20분간 원심분리하여 균을 모은 다음 동일한 액체배지 1 ml에 재부유시켰다. Nutrient broth에 agarose 0.5%를 첨가하여 멸균한 후 water bath에서 40°C로 식혀서 재 부유시킨 실험균 200 μl를 접종하여 전기영동한 젤에 부었다. Agar overlay 된 젤을 30°C에서 24시간 배양한 후 관찰하였다.

Proteolytic activity를 알아보기 위하여 전기영동한 gel을 skim milk 배지 위에 올려놓고 30°C에서 24시간 배양한 후 관찰하였다.

결과 및 고찰

형태학적 특성

분리된 균주는 CT 고체평면배지에서 24 시간 배양하여 관찰하였다. 3차 희석도말상에서 배양 초기에는 일반 세균과 같이 한 개의 집락이 구분되었지만 후기에는 배지 전체로 균이 퍼져나가는 swarming 현상을 보였다.

Swarming 부분은 자외선(366 nm)을 조사하였을 때 초록색의 형광을 띠었다. 또한 배지 전체로 황록색의 색소를 방출하였다. 영양세포의 형태를 광학현미경으로 450배와 1,000배에서 관찰한 결과 균체는 간균의 형태이며 길이는 5-7 μm 정도로서 swarming edge는 세포들이 한 층으로 배열 된 모양이 관찰되었으며 바깥으로 gliding하는 것으로 보이는 모양이 관찰되었다(Fig. 1).

Fruiting body형성을 유도시킨 지 7 일째 시료를 광학현미경으로 관찰한 결과 직경 100-150 μm 정도의 볼록한 원형구조물이 발견되었다(Fig. 2). 이 원형구조물이 fruiting body인지 확인하기

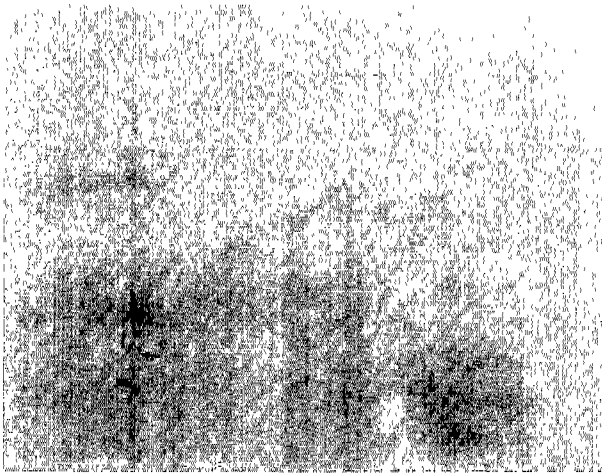


Fig. 1. Swarming edge of ARJ (Phase Contrast Microscope, $\times 1000$).

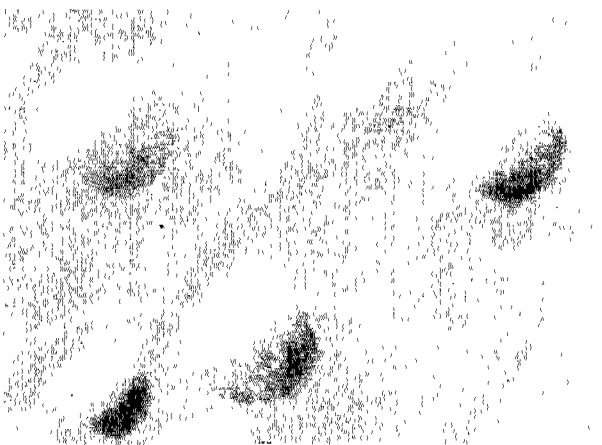


Fig. 2. Fruiting bodies of ARJ incubated for 7 days at 30°C on nutrient depleted agar medium (phase contrast microscope, $\times 1000$).

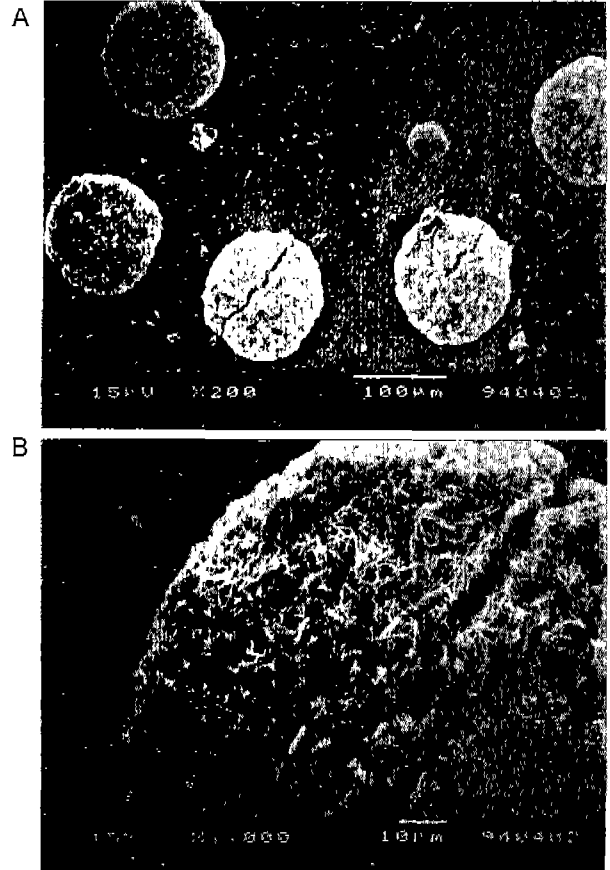


Fig. 3. Fruiting bodies of ARJ under S.E.M. incubated for 7 days at 30°C on nutrient depleted agar medium. A; $\times 200$, B; $\times 1000$.

위하여 주사 전자현미경으로 저 배율에서 관찰한 결과 이 구조물은 세포들이 뒤엉켜 있는 모양을 하고 있었으며 포자낭과 입병(stalk)과 같은 구조는 발견할 수 없었다(Fig. 3). 고 배율로 관찰한 결과 모여든 세포들이 spore 형태로 변형되는 부분이 발견되었고(Fig. 4A), 20 일째 시료에서는 직경 1 μm 의 타원형 spore가 관찰됨으로써(Fig. 4B) 이것이 ARJ가 형성한 fruiting body임을 확인할 수 있었다.

생화학적 특성

Myxobacteria는 slime에 Congo red를 흡착하는 cell type과 흡착하지 않는 cell type이 있는데 ARJ의 slime은 Congo red를 흡착하였다. Myxobacteria는 호기성 세균이며 발효가 아닌 호흡을 통하여 energy를 얻는데, ARJ 역시 혐기적 조건에서 성장하지 않았고 H₂S 등의 가스생산을 하지 않았다. ARJ는 starch를 제외한 citrate와 casein 그리고 gelatin등 대부분의 macromolecule들을 분해하여 이용할 수 있는 것으로 나타났다(Table 1).

당류의 이용에 있어서 ARJ는 glucose를 제외한 대부분의 단당류와 이당류의 이용능이 상당히 저조한 것으로 나타났는데 이것은 Myxobacteria의 일반적인 특징이다(Table 2).

한편 질소원 이용능을 조사해 본 결과 asparagine과 arginine,

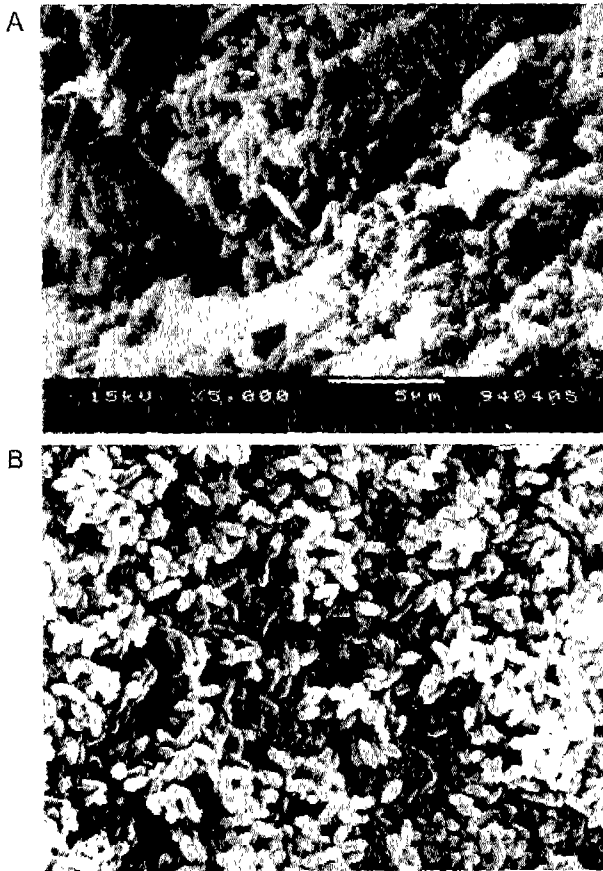


Fig. 4. Scanning electron micrograph of the fruiting bodies of ARJ. A: incubated for 7 days, at 30°C. B: incubated for 7 days, at 30°C.

그리고 serine을 특히 잘 이용하는 것으로 나타났으며 질소원이 첨가된 배지에서는 대부분 이들을 이용하는 것으로 나타났다 (Table 3).

Antimicrobial and proteolytic activity

그람양성 세균 2 균주, 그람음성 세균 2 균주, 그리고 진균 2 균주를 실험군으로 하여 고체 평판배지상에 cross-streak하여 본 결과 그람양성 균주들에서 growth inhibition이 나타났다(Table 4). 실험군들을 도말한 배지에 배양 여액을 접종하여 배양해 본 결과 역시 그람양성 세균들에 대해서 inhibition zone이 나타났다. 그러나 실험군들을 24시간 배양하여 배양여액을 접종해 본 결과 lytic zone은 나타나지 않았다. 배양 여액을 전기영동하여 gel 위에 실험군을 agar overlay 하여 24시간 배양해 본 결과 inhibition zone이 나타나지 않았다. 그러나 배양여액을 protease로 처리한 후에는 활성이 남아 있었다. 이 결과로 보아 antimicrobial activity를 나타내는 것은 enzyme이 아닌 것으로 생각되어진다.

Skim milk 배지에 배양 여액을 접종하여 본 결과 clear zone이 나타났다. 배양 여액을 전기영동하여 gel을 skim milk 배지에 올려놓고 30°C에서 incubation해 본 결과 처음에 강한 clear band

Table 1. Biochemical characteristics of ARJ

Biochemical test	Result
Gram staining	-
Congo red adsorption	+
H ₂ S production	-
Anaerobic jar culture	-
Indole formation	-
Starch hydrolysis	-
Skim milk hydrolysis	+
Gelatin liquefaction	+
Citrate utilization	+
Tween 80 hydrolysis	+
Tyrosine hydrolysis	+
Hypoxanthine hydrolysis	+
Xanthine hydrolysis	+
Casein hydrolysis	+
Guanine hydrolysis	+

Table 2. Utilization of various compounds as a sole carbon source by ARJ

Carbon source	Utilization
L-Arabinose	-
Cellobiose	-
D-Fructose	+
meso-Inositol	-
Lactose	-
D-Raffinose	-
Sucrose	-
Sodium citrate	+++
Sodium acetate	++
Galactose	-
Mannitol	-
D-glucose ^a	++
Rhamnose	-
No carbon source ^b	-

^aPositive control, ^bNegative control

가 나타났고 적어도 1개의 작은 clear band가 천천히 나타났다 (Fig. 5). 배양 여액을 cold acetone으로 침전시켜서 증류수에 재부유시켜 전기영동해 본 결과 역시 동일한 양상의 clear band가 나타났다. 대조군으로 사용된 *Myxococcus xanthus*의 배양여액 lane에서는 4개의 약한 clear band가 나타났다. 이 결과로 보아 분리균주의 배양 여액에는 최소한 2개 이상의 proteolytic enzyme이 있는 것으로 밝혀졌다.

Myxobacteria를 분류하는데 있어서 관점이 되는 것은 fruiting

Table 3. Utilization of various compounds as a sole nitrogen source by ARJ

Nitrogen source	Utilization
L-Asparagine ^a	++
L-Arginine	++
L-Cysteine	+
L-Methionine	+
L-Valine	+
L-Phenylalanine	+
L-Serine	++
L-Threonine	+
Potassium nitrate	+
No nitrogen source ^b	-

^aPositive control, ^bNegative control.

Table 4. Antimicrobial properties of ARJ

Test strain	Result
<i>Bacillus subtilis</i>	+
<i>Micrococcus luteus</i>	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Escherichia coli</i>	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-

body와 swarming colony, 영양세포들의 모양이나 크기, 구조 등과 같은 형태학적인 특징이라 할 수 있다. 분리된 균주 ARJ는 fruiting body의 모양이 단순하고 포자낭이 없이 myxospore가 노출되어 있으며 입병(stalk)과 같은 구조도 가지고 있지 않았다. 또한 영양세포의 모양은 간균의 형태로서 길이는 5~7 μm 였으며 이러한 형태학적 특징으로 보아 *Myxococcus* 속으로 판정되었다.

몇몇 경우(예를 들면 *Myxococcus xanthus*와 *M. virescens*)에 있어서는 pigmentation이 중요한 분류학적 특징이 될 수 있다. 분리된 균주 ARJ는 고체 한천배지상에 황록색의 강한 pigment를 방출하였고 파장이 366 nm인 자외선을 조사하였을 때 또한 황록색의 강한 형광을 띠었다. 이러한 색소는 *Myxococcus virescens*와 *Polyangium vitellinum*이 내는 것으로 알려져 있는데 *Pl. vitellinum*은 fruiting body가 여러 개의 sporangiole로 구성되어 있는 점으로 봐서 분리된 균주 ARJ는 *Myxococcus virescens*와 가장 가까운 것으로 판정하였다. Myxobacteria는 여러 종류의 분해단백질을 분비하여 단백질, 핵산, 지질, 다당류와 peptidoglycan을 분해할 수 있는데 Myxobacteria의 분류에 있어서 열쇠가 될 만한 생리학적 특성은 cellulose 분해능에 관한 것이다.

Sorangium 속의 경우에만 cellulose 분해가 가능하며 나머지 속들은 단백질을 가수분해하여 탄소원과 에너지원으로 사용한다. 이러한 경우의 Myxobacteria들은 다른 미생물들을 잡아먹을 수

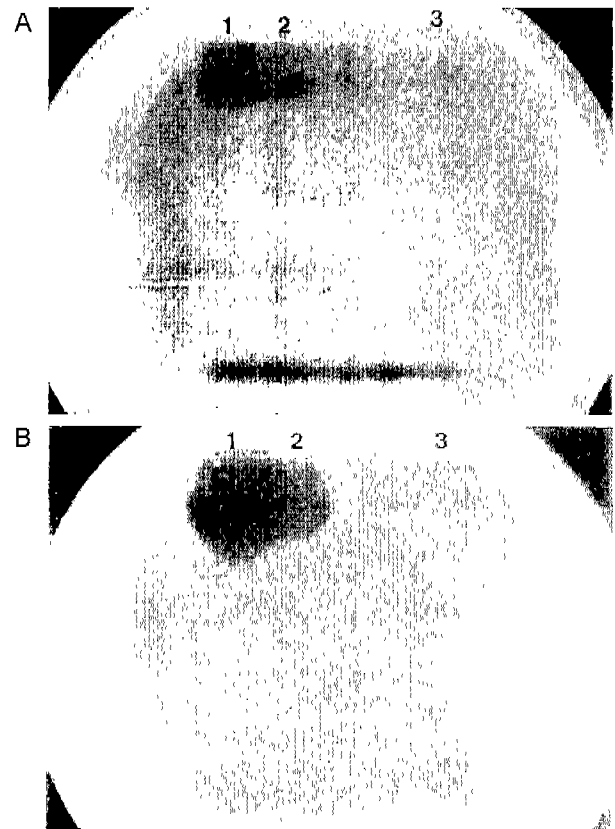


Fig. 5. Proteolytic activities of culture filtrate (non-denatured page on the skim milk agar plate). A, after 2 hours; B, after 6 hours; Lane 1, culture filtrate of ARJ; Lane 2, culture filtrate of ARJ(acetone precipitated); Lane 3, culture filtrate of *M. xanthus*.

있는 것으로 알려져 있다. 분리된 균주 ARJ는 그람양성 세균들에 대해서 antimicrobial activity가 있는 것으로 나타났으며 배양 여액이 다른 미생물들을 분해시키는 능력은 없었지만 성장을 어느 정도 억제하는 것으로 나타났다. 아마도 이것은 *M. virescens*에서 생산되는 myxovirescin과 같은 항생물질에 의한 효과라고 추정된다(5,8,9,10).

Myxobacteria가 다른 미생물을 잡아먹을 수 있는 능력이 있다고 해도 obligate predator는 아니며 bacteriolytic enzyme 또한 constitutive하게 생산되는 것은 아니기 때문에 분리된 균주 ARJ도 특별한 조건 하에서는 bacteriolytic enzyme을 생산할 것이라고 추정된다. 한편 분리된 균주 ARJ는 skim milk에 대해서 상당한 분해능을 보였는데 대조균으로 사용된 *M. xanthus*보다 월등하였다. 배양여액을 비변성 polyacrylamide 전기영동하여 skim milk위에 올려놓아 본 결과 최소한 2개의 proteolytic enzyme이 있는 것으로 나타났다.

최근 Myxobacteria에 대한 연구는 fruiting body의 형성에 관계된 발생과 "social" motility에 관계된 cell간의 communication 조절기작에 초점이 맞추어지고 있다. 본 균주 ARJ에 대해서도 물론 이러한 연구가 필요하며 bacteriolytic-proteolytic metabolism에 대한 구체적인 기작에 관한 연구가 요구된다고 하겠다.

감사의 글

이 연구는 2001학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

참고문헌

1. 김수옥, 김영민. 1984. *Stigmatella aurantica*의 발생에 대한 연구 (I). *Kor. J. Microbiol.* 22, 57-65.
2. 구남은, 김영민. 1984. *Stigmatella aurantica*의 발생에 대한 연구 (II). *Kor. J. Microbiol.* 22, 67-72.
3. Dworkin, M. 1972. The Myxobacteria: New directions in studies of procaryotic development. *Crit. Rev. Microbiol.* 1, 435-452.
4. Gnosselius, G. 1978. Myxobacterial slime and proteolytic activity. *Arch. Microbiol.* 116, 51-58.
5. Gnosselius, G. 1978. Purification and properties of an extracellular protease from *Myxococcus virescens*. *J. Bacteriol.* 133, 17-25.
6. Hames, B.D. 1981. Gel Electrophoresis of Proteins: A Practical Approach. pp23-64. B.D. Hames and D. Rickwood, eds. IRL Press, London, England.
7. Haska, G. and S. Stahl. 1971. Variants of *Myxococcus virescens* exhibiting dispersed growth. Growth and production of extracellular enzymes and slime. *Physiol. Plant* 24, 136-142.
8. Haska, G. 1971. Extracellular lytic Enzymes of *Myxococcus virescens*. I. Separation of the bacteriolytic enzymes from the bulk of the Proteinases. *Physiol. Plant* 25, 85-89.
9. Haska, G., B. Noren, and G. Odham. 1972. Effect of fatty acid on the activity of bacteriolytic enzymes. *Physiol. Plant.* 27, 187-194.
10. Kim, S-K. and D. Kaiser. 1991. C-Factor has distinct aggregation and sporulation thresholds during *Myxococcus development*. *J. Bacteriol.* 173, 1722-1728.
11. Kuspa, A., L. Plamann, and D. Kaiser. 1992. A-signalling and the cell density requirement for *Myxococcus xanthus* development. *J. Bacteriol.* 174, 7360-7369.
12. McCurdy, H.D. 1989. Order Myxococcales Tchan. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 3. Williams and Wilkins. Baltimore.
13. Petit, F. and J.F. Guespin-Michel. 1992. Production of an extracellular milk-clotting activity during development in *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* 174, 5136-5140.
14. Reichenbach, W. and M. Dworkin. 1981. The Myxobacteria. The Prokaryotes. Springer-Verlag. Berlin, Germany.
15. Rosenberg, E. (ed.). 1984. Myxobacteria. Development and Cell Interactions. Stringer-Verlag. New York.
16. Rosenbluh, A. and E. Rogenberg. 1989. Autocide AMI rescues development in dsq mutant of *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* 171, 1513-1518.
17. Rosenbluh, A. and M. Eisenbach. 1992. Effect of removal of pili on gliding motility of *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* 174, 5406-5413.
18. Stahl, S. 1973. Slime of *Myxococcus virescens*. *Physiol. Plant* 28, 523-529.
19. Wireman, J.W. and M. Dworkin. 1977. Developmentally induced autolysis during fruiting body formation by *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* 129, 796-802.

(Received June 12, 2001/Accepted August 7, 2001)

ABSTRACT: Identification and Characterization of Myxobacteria from Korean Soil

Jae-Heon Kim and Seung-Yeol Son* (Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea)

We isolated a Myxobacteria strain from a soil sample obtained from Mt. Daedoon located in Choongnam, Korea. This strain, ARJ, secreted slime while swarmed on the surface of CT medium. It produced greenish yellow pigment in liquid or solid media, and the swarming edge showed green fluorescence under U.V. at 366 nm. It formed fruiting bodies when nutrient was exhausted, which is one of the most important characteristics of Myxobacteria. The fruiting bodies did not have a stalk and consisted of naked myxospores when examined under the scanning electron microscope. These traits lead us to believe that this strain is very close to *Myxococcus virescens*. It showed antimicrobial activity, especially against Gram positive bacteria. Culture filtrate showed the activity but this was not due to protein. The culture filtrate also had proteolytic activity in which at least two enzymes are involved.