

배양온도 변화에 따른 *Streptomyces viridochromogenes*의 지질과 지방산 조성변화

김재현*, 김우상

단국대학교 미생물학전공

Streptomyces viridochromogenes 야생형과 기증균사 형성 변이주들의 지질과 지방산의 조성을 배양온도와 배양시간에 따라 조사하였다. Triacylglycerol은 기증균사가 형성되는 경우에만 감소되어 기증균사 형성과 연관되어 있음을 나타내었다. 인지질의 경우에는 배양조건에 따른 특이적 변화를 볼 수 없었으나, 기증균사 형성능이 상실된 변이주 BR2가 20°C에서 배양되었을 때 phosphatidylethanolamine 조성이 특이하게 높게 나타났다. 그리고 변이주 BR2는 20°C 및 30°C 배양 시 다양한 R_f값의 동정되지 않은 아미노지질들을 함유하였다. 모든 균주에서 아미노지질의 일종인 ornithinolipid는 배양시간이 경과되면서 증가되는 경향을 나타내었다. 지방산조성은 온도에 민감하여 배양온도가 높을수록 불포화지방산 함량이 낮아졌다. 기증균사 형성은 직쇄형 포화지방산의 함량 감소를 수반하였으며, 기증균사 생성능이 우수한 변이주 M13은 배양초기의 직쇄형 포화지방산 함량이 가장 높았다. 변이주 BR2는 iso형 헐수탄소 지방산의 함량이 특이적으로 높았다.

Key words □ fatty acids, growth temperature, lipids, mutants, *Streptomyces viridochromogenes*

*Streptomyces*는 포자, 기저균사, 기증균사, 포자로 이어지는 형태적 분화를 거치는 세균이며, 다양한 생리활성물질과 유용한 효소를 생산하므로 학문적인 동시에 경제적 세균으로서 많은 관심의 대상이 되어왔다(5). 지질에 대한 연구 또한 활발히 이루어져 *Streptomyces*의 구성지질로는 diphosphatidylglycerol, phosphatidylethanolamine, ornithinolipid 등이 알려져 있다. 이 중에서 phosphatidylethanolamine은 성장배지의 인산이 고갈되면 감소되고 그 대신 ornithinolipid가 증가하여 phosphatidylethanolamine의 역할을 수행한다고 한다. 인산이 첨가되면 ornithinolipid의 생성이 억제된다(2).

*Streptomyces*의 지방산으로는 anteiso와 iso 형태의 분지형 지방산이 주성분이고 직쇄형 지방산 및 다양한 불포화 지방산도 존재한다. 분지형 지방산의 전구체는 아미노산으로부터 만들어지는 것으로 알려져 있다(21). 즉 L-valine은 짹수의 탄소를 갖는 iso지방산(isoC_{2n}), L-leucine은 헐수의 탄소를 갖는 iso지방산(isoC_{2n+1}), L-isoleucine은 anteiso형 지방산(anteisoC_{2n+1})의 전구체를 각각 공급한다. 그래서 이를 아미노산의 분해와 관련된 valine dehydrogenase의 활성이 저해되면 분지형 지방산의 비율이 감소하게 된다. 이러한 조건에서는 이를 전구체로부터 합성되는 tylosin과 같은 항생물질 생성도 함께 억제되었다(20).

배양온도의 변화에 대한 미생물의 적응은 생체막을 통해서 나타난다. 예를 들면 *Bacillus caldotenax*를 높은 온도에서 배양하면 phosphatidylglycerol에 비해서 phosphatidylethanolamine이 상

대적으로 증가하는데 이 변화는 고온에서의 막 유동성을 감소시키는 결과를 수반할 것으로 여겨진다(16). 그러나 지질성분의 변화는 미생물의 종류와 배양조건에 따라서 다르게 나타날 수 있으므로 특정 세균에서 얻은 결과를 일반화할 수는 없을 것이다(16).

지방산은 지질의 물리화학적 성질을 결정하는데 중요한 역할을 하기 때문에 온도와 같은 외부 환경에 의해 변화하게 된다. *S. griseus*의 배양온도를 35°C에서 15°C로 옮기면서 변화하는 지방산 조성을 분석한 결과 녹는점이 낮은 지방산인 anteiso지방산과 불포화 지방산의 성분비가 증가되었고 포화 지방산인 iso지방산은 감소하였다(19). 이와 같이 세균에서는 불포화지방산, anteiso와, iso지방산의 조성이 변화하여 다양한 배양온도에서도 세포막의 안정성을 유지하는 것으로 알려졌다(9).

우리 실험실에서는 *S. viridochromogenes*에서도 여러 종류의 아미노지질과 함께, diphosphatidylglycerol, phosphatidylethanolamine 등이 존재하며 이들 중에서 아미노지질은 생장에 따른 성분변화가 있음을 관찰할 수 있었다(17). 또한 지방산 조성과 분화의 연관성을 제시한 바 있다(13). 이 논문에서는 *S. viridochromogenes*의 야생형과 돌연변이주의 온도에 따른 지방산과 지질의 변화를 관찰하여, 이들에게서 나타난 특징적 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양

이 실험에서는 *S. viridochromogenes* KCTC9009와 그의 기증균사 형성이 빠르고 왕성한 돌연변이주인 M13과 기증균사 형성

*To whom correspondence should be addressed.

Tel: 041-550-3452, Fax: 041-551-9229

E-mail: jaehkim1@dankook.ac.kr

능이 상실되고 생장속도가 느린 균주 BR2를 사용하였다(13). 배양 및 보관용 배지는 International Streptomyces Project의 No.2인 yeast extract-malt extract agar (YEME)를 사용하였다. 접종에 사용된 포자 또는 균체는 사면배지에서 일주일 이상 배양된 균을 투프로 긁어서 얻었다. 접종은 투프를 사용하여 배지 표면에 고루 퍼지도록 하였으며 접종된 YEME 평판배지는 20°C, 30°C 및 40°C에서 정해진 시간까지 배양하였다.

지질분석을 위한 배양에서는 접종 후 22, 34, 46, 58시간에 균체를 수확하였다. 단 배양온도가 20°C인 경우에는 초기성장이 지연되었으므로 접종 후 22시간에는 생략하였다. 지방산조성 분석을 위하여 야생형과 M13 균주는 배양온도가 30°C, 40°C인 경우에는 접종 후 22, 34, 46, 58시간에, 20°C 배양에서는 접종 후 34, 46, 58시간과 12일에 균체를 회수하여 분석하였다. BR2 균주는 배양온도가 30°C, 40°C인 경우에는 접종 후 34, 46, 58시간에, 20°C 배양에서는 접종 후 58시간, 6일, 12일에 균체를 회수하여 분석하였다. 얻어진 결과는 구체적인 배양시간을 표시하지 않고 시간순으로 나열되어 표로 작성하였다.

균체의 수확과 지질 추출

평판배지 위의 균체를 예리한 면도날로 얇게 오려 수확하여 Radin(1991)의 방법대로 hexane:isopropylalcohol(3:2 v/v)을 추출 용매로 균질화한 후 50°C에서 10분간 반응시켜 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 추출액을 모아서 여과지(Whatman No.1)로 거른 후 진공상태에서 용매를 증발시켜 건조하고 chloroform에 녹여 -20°C에서 보관하였다.

지질의 TLC

TLC를 위하여 유리판에 silica gel H가 입혀진 완제품을 구입하였고(Sigma Co. USA) 100°C에서 1시간 건조한 후 사용하였다. 인지질과 아미노지질의 전개용매는 chloroform:acetic acid:methanol:water (80:18:12:5 v/v/v/v)이었고 인지질은 phosphorous 염색법으로, 아미노지질은 0.2% ninhydrin이 첨가된 물이 포화된 butanol로 염색하여 확인하였다. 중성 지질의 전개용매는 petroleum ether:diethylether:acetic acid(80:10:0.2 v/v/v)이었으며 5% phosphomolibdic acid로 염색하였다(6). 나타난 지질 띠는 정성적으로 관찰되었고 뚜렷이 차이가 나는 경우에만 그 차이를 결과로 기술하였다.

지방산의 메틸 에스테르화

지질에 BCl_3 -methanol를 가하여 30°C에서 12시간 반응시켜 지방산을 메틸 에스테르화시킨 다음 petroleum ether를 사용하여 2번 추출하였다. 정제를 위하여 완제품의 silica gel H 유리판을 산성용액에 처리하여 건조시키고 hexane:diethylether(9:1 v/v)로 전개시킨 후 R_f =0.75 부위를 긁어 모아 diethyl ether로 추출하였다. 질소가스를 흘려 보내면서 용매를 제거하고 -20°C에서 보관하였다(11).

기체 크로마토그라피에 의한 지방산분석

위에서 준비된 에스테르화된 지방산을 모세관 컬럼(Ultra 1,

30 m×0.2 mm, film thickness 0.33 μm)과 FID 검출기가 장착된 기체크로마토그라피(Hewlett Packard 5890)를 사용하여 분석하였다. 분석조건은 다음과 같다. 시료 투입구와 검출기 온도: 280°C, 오븐 온도: 초기 4분 140°C, 최종 2분 220°C, 오븐 온도증가: 4°C/min.

지질의 상전이 온도 측정

추출된 지질의 상전이 온도는 미분주사 열량계(DuPont 2100)에서 10°C/min의 속도로 온도를 높이면서 측정하였다.

결과 및 고찰

온도에 따른 성장과 기중균사의 형성

*S. viridochromogenes*는 30°C 배양시에는 30시간부터 기중균사를 형성하기 시작한다. 58시간에는 충분한 기중균사가 발달하였다. 40°C에서는 30°C보다 약간 빠르게 성장하며 기중균사가 2-3시간 빠르게 형성되었다. 반면 20°C에서는 생장속도가 매우 느리며 12일까지 배양하여도 기중균사가 형성되지 않았다. 돌연변이주 M13은 30°C와 40°C에서 야생형과 비슷한 생장을 보였으며 20°C에서는 6일째부터 기중균사 형성을 나타내었다. 돌연변이주 BR2는 모든 온도에서 기중균사만 형성하며 20°C에서는 성장속도가 매우 느렸다.

온도에 따른 지질의 변화

*S. viridochromogenes*의 중성지방의 성분은 triacylglycerol, 1,2-diacylglycerol, 1,3-diacylglycerol, monoacylglycerol 등으로 확인되었다. 이들 중 triacylglycerol이 주요 성분으로 배양 온도와 시간에 따라 상대적인 양의 변화를 보여 주었다. 20°C에서는 triacylglycerol이 배양 시간에 따라 증가하였다. 반면에 30°C와 40°C에서는 생장에 따라 감소하는 경향을 나타내었고(Fig. 1a), 돌연변이주 M13은 야생형과 유사한 경향을 보였다(Fig. 1b). 돌연변이주 BR2는 모든 배양 온도에서 야생형과는 달리 일정 수준의 triacylglycerol 함량을 유지하였다(Fig. 1c). 이 결과는 기중균사 형성이 triacylglycerol의 감소와 서로 밀접하게 연관되어 있음을 제시하는 것이다. 기중균사 형성이 주변의 영양물질이 고갈

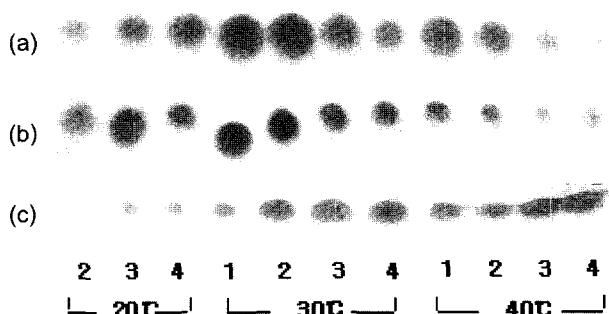


Fig. 1. The changes in triacylglycerol contents during the growth of different strains of *S. viridochromogenes*; (a) wild type, (b) mutant strain M13, (c) mutant strain BR2. 1: 22 hr, 2: 34 hr, 3: 46 hr, 4: 58 hr

되는 시점에서 일어나기 때문에 그때까지 기증균사에 축적된 저장체가 기증균사 형성을 위한 영양분으로 쓰여진다고 한다(4). Glycogen과 triacylglycerol 모두 영양원으로 쓰여질 수 있을 것으로 생각되며 *S. coelicolor* A3(2)에서는 기증균사의 형성은 물론 항생물질인 actinorhodine의 생성도 triacylglycerol의 감소와 정량적으로 연관되어 있음이 보고되었다(5, 14, 18).

주요 인지질로는 phosphatidylethanolamine과 diphosphatidylglycerol 등이 확인되었으나 배양온도와 균주에 따라서 뚜렷한 규칙성을 보이지 않았다(Fig. 2). 그러나 변이주 BR2를 20°C에서 배양하면 phosphatidylethanolamine의 조성이 높게 나타났다(Fig. 2c). Phosphatidylethanolamine^o 결핍된 *E. coli*는 세포분열이 차단되어 긴 시술을 형성한다고 알려져 있다. 이는 Ftz 조립이 불가능하거나 격막 형성에 필수적인 막융합이 불가능해서 나타난 현상으로 해석되고 있는데(12), streptomycetes에서는 아직까지 phosphatidylethanolamine과 세포분열의 연관성이 보고되어 있지 않다.

주요 아미노지질로는 ornithinolipid가 검출되었고 여러 종류의 동정 되지 않은 아미노지질들도 함께 나타났다. Ornithinolipid는 배양 시간이 오래되고 온도가 높을수록 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 3a, b). 이것은 배양액에서 인산이 고갈되면 나타나는 현상으로 이미 보고되었다(17). 그 밖의 아미노지질은 돌연변이주BR2가 20°C에서 생장할 때 가장 뚜렷이 나타났다. BR2 균주는 위에서 언급한 바와 같이 20°C에서 인지질 조성이 높으므로 인산소모가 클 것으로 예상된다. 이 경우에 아미노지질 합성이 일어나게 되는데 ornithinolipid가 생성되지 않고 다른 종류의 아미노지질이 나타났다(Fig. 3b). 따라서 BR2 균주는 특이한 아미노지질 합성 경로를 가질 것으로 생각된다. 세균의 아미노지질은 혈구응집반응을 나타내는 지질로서 알려져 있다. 그 구조는 아미노산과 지방산이 아마이드 결합과 에스테르 결합으로 연결된 형태인데 isopentadecanoic acid가 지방산 성분으로 존재하는 것으로 알려져 있다(10). 현재까지 *Streptomyces*가 이러한 혈구응집반응을 한

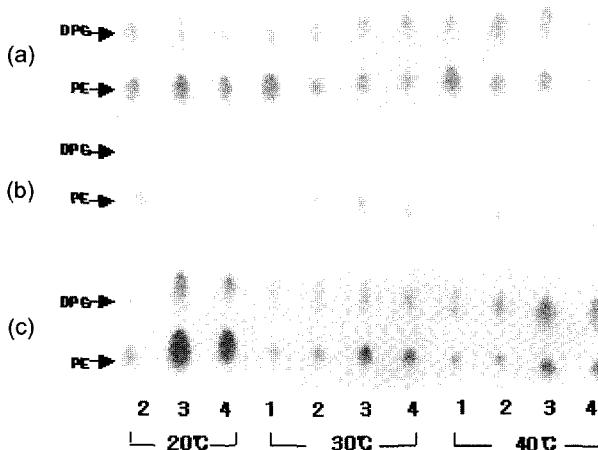


Fig. 2. The changes in phospholipids contents during the growth of different strains of *S. viridochromogenes*; (a) wild type, (b) mutant strain M13, (c) mutant strain BR2. DPG: diphosphatidylglycerol, PE: phosphatidylethanolamine 1: 22 hr, 2: 34 hr, 3: 46 hr, 4: 58 hr

다는 보고는 없으며 BR2 균주에서, 아래에 설명되는 것처럼 isopentadecanoic acid 등의 isoC_{2n+1}형 지방산 함량이 높은 것이 아미노지질의 존재때문인지는 앞으로 밝혀야 할 과제이다.

지방산 조성

평판배양에서 *S. viridochromogenes*의 지방산은 탄소가 14개에서 17개까지의 다양한 지방산으로 구성되어 있다. 이 실험에서는 isomyristic acid(i14:0), myristic acid(14:0), isopentadecanoic acid (i15:0), anteisopentadecanoic acid(ai15:0), pentadecanoic acid (15:0), isopalmitoleic acid(i16:1), isopalmitic acid(i16:0), palmitoleic acid(16:1), palmitic acid(16:0), isoheptadecenoic acid(i17:1), anteisoheptadecenoic acid(ai17:1), isoheptadecanoic acid(i17:0), anteisoheptadecanoic acid(ai17:0), heptadecenoic acid(17:1), heptadecanoic acid(17:0) 등을 확인할 수 있었다. 이 논문에서는 이들의 개별적 함량 보다는 구조 및 기능적 유사성에 따라 iso형의 포화지방산, anteiso형의 포화지방산, 직쇄형 포화지방산, 불포화지방산 등으로 묶어서 각 집단별 지방산 함량의 합을 제시하였다. Iso형 포화지방산의 경우에는 isoC_{2n}과 isoC_{2n+1}을 구분하였다.

온도 변화에 따른 지방산 조성변화

대부분의 세균에서 배양온도가 낮을수록 불포화지방산의 함량이 높아지고 배양온도가 높을수록 포화지방산의 함량이 높아지고 있다. 이와 같은 반응은 지방산 조성을 변화시킴으로써 세포막의 유동성을 최적으로 유지하려는 세포의 적응 반응으로 잘 알려져 있다(3, 9). 이번 실험에서도 그 경향성이 분명히 나타나서 *S. viridochromogenes* 야생형은 물론 돌연변이주 모두 20°C에

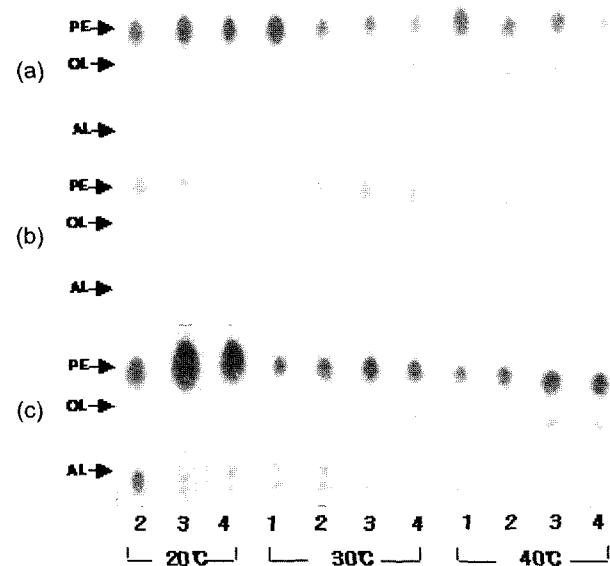


Fig. 3. The changes in aminolipids contents during the growth of different strains of *S. viridochromogenes*; (a) wild type, (b) mutant strain M13, (c) mutant strain BR2. OL: ornithinolipids, AL: aminolipids, 1: 22 hr, 2: 34 hr, 3: 46 hr, 4: 58 hr

Table 1. The compositions (%) of unsaturated fatty acids (iso16:1 + 16:1 + iso17:1 + anteiso17:1 + 17:1) during growth at different temperatures of *S. viridochromogenes* wild type and mutants

	20°C			30°C			40°C		
	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2
1*	29	7	23	15	17	13	9	7	4
2	20	23	20	16	14	9	16	22	4
3	31	27	20	21	18	23	16	11	4
4	24	29		22	20		17	14	

Wt; wild type, M13; a mutant strain showing faster aerial mycelium formation, BR2; a mutant strain without aerial mycelium formation

*; The numbers denote the sequential order of incubation times in which mycelium was harvested and analyzed for fatty acid compositions. The incubation times for each strain are described in Materials and Methods.

Table 2. The compositions (%) of straight chain saturated fatty acids (14:0 + 15:0 + 16:0 + 17:0) during growth at different temperatures of *S. viridochromogenes* wild type and mutants

	20°C			30°C			40°C		
	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2
1	11	18	13	25	30	17	23	36	20
2	15	17	13	17	22	17	17	13	17
3	10	14	12	18	16	9	14	19	14
4	9	8		15	15		14	12	

Abbreviations and notes; See Table 1

서의 불포화지방산 함량은 30°C나 40°C에 비해서 높은 경향을 보였다(Table 1). 이와 반대로 직쇄형 포화지방산의 함량은 20°C에서 낮게 나타났다(Table 2). *S. griseus*에서 나타났던 온도가 낮아짐에 따라 불포화지방산과 직쇄형 포화지방산의 함량이 모두 증가한 결과는 다른 결과이며(19), 그 밖의 지방산 조성에서는 뚜렷한 경향성을 관찰할 수 없었다. 지방산의 조성 변화는 총체적으로 작용하여 지질의 유동성에 영향을 준다. 야생형에서 추출된 지질의 상전이 온도를 측정한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 20°C에서 자란 균체의 지질은 30°C에 비해서 9°C 정도 낮은 상전이 온도를 나타내었다. 30°C와 40°C는 큰 차이를 보이지 않았으나 40°C에서 배양된 균체가 가장 높은 상전이 온도를 보였다. 즉 배양온도의 변화에 대응하여 지방산조성이 변하고, 그 결과 막의 적절한 유동적 액체결정상태를 유지된다고 할 수 있다(8, 19).

기중균사 형성과 지방산 조성변화

기중균사 형성과 관련된 특징적인 결과는 30°C와 40°C에서 돌연변이 균주 M13가 나타내는 바와 같이 배양초기의 직쇄형 포화지방산의 함량이 높고 또 빠르게 감소하는 경우에만 기중균사가 발달되었음을 알 수 있었다(Table 2). M13균주는 20°C에서도 장시간 배양하면 예외적으로 기중균사를 형성하는데 이때에도 직쇄형 포화지방산의 함량 감소를 볼 수 있었다. 반면에 BR2 균주에서는 직쇄형 포화지방산의 초기 함량과 그 감소정도가 모든

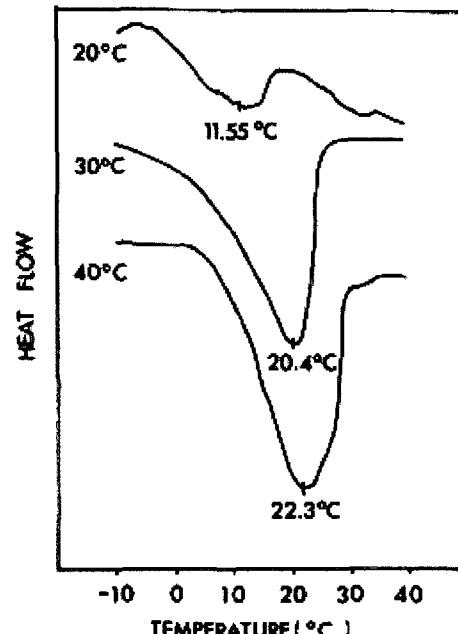


Fig. 4. Differential scanning calorimetry of the total lipids extracted from *S. viridochromogenes* grown at different temperatures.

Table 3. The compositions (%) of anteiso odd numbered saturated fatty acids (anteiso15:0 + anteiso17:0) during growth at different temperatures of *S. viridochromogenes* wild type and mutants

	20°C			30°C			40°C		
	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2
1	30	32	27	26	21	26	29	23	25
2	29	25	33	27	26	24	35	27	26
3	32	25	32	29	29	36	37	34	29
4	26	32		32	32		37	40	

Abbreviations and notes; See Table 1

배양온도에서 상대적으로 낮았다.

AnteisoC_{2n+1} 포화지방산들은 기중균사 형성이 일어나는 30°C와 40°C에서 배양시간에 따라서 함량이 증가되었다. 그러나 기중균사 형성능이 없는 BR2 균주에서도 같은 현상이 나타나므로 이 변화는 기중균사 형성과 직접적으로 연관된 것으로 보이지 않았다(Table 3). 그리고 BR2 균주는 isoC_{2n+1} 지방산 함량이 특이하게 높았는데 이 경향성은 20°C에서 보다는 30°C와 40°C에서 뚜렷이 나타났다(Table 4). 반면에 isoC_{2n} 지방산에서는 특이한 변화를 볼 수 없었다(Table 5).

몇 종류의 *Streptomyces*에서 지방산은 아미노산 분해산물로부터 생합성되는 것이 알려져 있다. 즉, L-leucine의 분해 산물인 3-methylbutyryl CoA가 지방산 합성의 전구체로 사용되면 isoC_{2n+1} 지방산이 생산된다(21). Oh 등(13)은 BR2 균주가 L-arginine 요구주인데 배양액에 L-arginine을 첨가하면 상대적으로 높았던 isoC_{2n+1} 지방산 함량이 정상수준으로 낮아졌음을 보고

Table 4. The compositions (%) of iso odd numbered saturated fatty acids (iso15:0 + iso17:0) during growth at different temperatures of *S. viridochromogenes* wild type and mutants

	20°C			30°C			40°C		
	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2
1	11	9	15	11	9	24	11	6	25
2	9	8	15	10	17	25	10	13	24
3	8	12	14	10	19	15	11	11	23
4	6	7		11	18		11	9	

Abbreviations and notes; See Table 1

Table 5. The compositions (%) of iso even numbered saturated fatty acids (iso14:0 + iso16:0) during growth at different temperatures of *S. viridochromogenes* wild type and mutants

	20°C			30°C			40°C		
	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2	Wt	M13	BR2
1	19	35	22	25	25	22	31	30	27
2	27	28	19	31	29	26	27	25	29
3	23	23	22	24	28	17	26	27	31
4	34	29		24	25		26	29	

Abbreviations and notes; See Table 1

하였다. 이는 *S. viridochromogenes*에서도 아미노산 분해와 지방산 조성이 연관되어 있음을 말해주고 있다. 한편 *S. coelicolor* A3(2)를 사용한 이전의 실험에서는 isoC2n+1 지방산의 소모와 이차대사 산물인 actinorhodin 생성이 연관되어 있음을 보인바 있다(1). 그리고 actinorhodin은 L-valine 보다는 L-leucine이 침가된 경우에 왕성하게 일어나는데(1), L-leucine은 isoC2n+1 지방산의 전구체를 공급한다고 알려져 있다(21). 따라서 L-leucine의 영향은 isoC2n+1 지방산을 통해서 actinorhodin 생성으로 나타난다고 생각할 수 있다. 이와 유사하게 *S. griseus*의 포자형성은 L-valine에 의해 억제되고 L-isoleucine은 L-valine에 의한 억제를 회복시키는 것이 알려져 있다. 이는 소수성 아미노산이 *Streptomyces*의 분화과정과 밀접한 연관이 있으며 그것이 지방산 조성과도 관계될 수 있음을 말한다(7). 이상과 같이 isoC2n+1 지방산의 생리적 역할을 추론해 볼 수는 있으나 형태적 분화와 같은 복잡한 현상을 한두 가지 지방산의 역할만으로 설명할 수는 없을 것이다. 또한 이를 증명하기 위해서는 앞으로 많은 실험이 수행되어야 할 것이다.

감사의 말

이 연구는 2003년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음

참고문헌

- 김재현, 편재호, 오충훈, 최정은. 1996. *Streptomyces coelicolor* A3(2)의 actinorhodin 생성에 미치는 아미노산의 영향. 단국대학교 논문집 제30집, 자연과학편, 485-489.
- Batracov, S.G. and L.D. Bergelson, 1978. Lipid of the Streptomyces. Structural investigation and biological interrelation. *Chem. Phys. Lipids* 21, 1-29.
- Benev, L. and P. Gervais. 2001. Influence of the fluidity of the membrane on the response of microorganisms to environmental stresses. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 34-42.
- Chater, J.K. 1981. Morphological and physiological differentiation in *Streptomyces*. In *Microbial development*, pp. 89-115. Cold Spring Harbor Laboratory.
- Chater, J.K. 1998. Taking a genetic scalpel to the *Streptomyces* colony. *Microbiology* 144, 1465-1478.
- Christie, W.W. 1982. Lipid analysis, 2nd ed., p. 119-120. Pergamon press, Oxford.
- Ensign, J.C. 1988. Physiological regulation of sporulation of *Streptomyces griseus*, p. 309-315. In Okami, Y., T. Beppu, and H. Ogawara (ed.), *Biology of Actinomycetes '88*. Japan Scientific Societies Press Tokyo
- Hoischen, C., K. Gura, C. Luge, and J. Gumpert. 1997. Lipid and fatty acid composition of cytoplasmic membranes from *Streptomyces hygroscopicus* and its stable protoplast-type L form. *J. Bacteriol.* 179, 3430-3436.
- Kaneda, T. 1991. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: Biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol. Rev.* 55, 288-302.
- Kawazoe, R., H. Okuyama, W. Reichardt, and S. Sasaki. 1991. Phospholipids and a novel glycine-containing lipoamino acid in *Cytophaga johnsonae* Stanier strain C21. *J. Bacteriol.* 173, 5470-5475.
- Kutzner, H.I. 1981. The family Streptomycetaceae, p. 2028-2090. In Starr, M.P., H. Stolp, H.G. Truper, A. Balows, and H.G. Schlegel (eds.) *The prokaryotes*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Mileykovskaya, E., Q. Sun, W. Margolin, and W. Dowhan. 2001. Localization and function of early cell division proteins in filamentous *Escherichia coli* cells lacking phosphatidylethanolamine. *J. Bacteriol.* 180, 4252-4257.
- Oh, C.-H., S.-O. Jung, J.-H. Pyee, and J.-H. Kim. 1996. Effect of initial pH and L-arginine on the composition of fatty acids of *Streptomyces viridochromogenes*. *J. Microbiol.* 34, 316-319.
- Olukoshi, E.R. and N.M. Packter. 1994. Importance of stored triacylglycerols in *Streptomyces*: possible carbon source for antibiotics. *Microbiology* 140, 931-943.
- Radin, N. S. 1991. Extraction of tissue lipids with a solvent of low toxicity, p. 5-7. In J.H. Lowenstein (ed.), *Method in enzymology*, vol.72. Academic press, New York.
- Russel, N.J. and N. Fukunaga. 1990. A comparison of thermal adaptation of membrane lipids in psychrophilic and thermophilic bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 75, 171-182
- Shim, M.S. and J.H. Kim. 1993. Fatty acid lipid composition in mycelia from submerged or surface culture of *Streptomyces viridochromogenes*. *FEMS Microbiol. Lett.* 108, 11-14.
- Shim, M.-S., W.-S. Kim, and J.-H. Kim. 1997. Neutral lipids and lipase activity for actinorhodin biosynthesis of *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Biotech. Lett.* 19, 221-223.
- Suutari, M. and S. Laakso. 1992. Changes in fatty acid branching and unsaturation of *Streptomyces griseus* and *Brevibacterium fermentans* as a response to growth temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2338-2340.
- Vancura, A., T. Marsaleki, and V. Vancura. 1987. Effect of ammo-

- nium ions on the composition of fatty acids in *Streptomyces fradiae* producer of tylisin. *FEMS Microbiol. Lett.* 48, 357-360.
21. Wallace, K., B. Zhao, H.A.I. McArthur, and K.A. Reynolds. 1995. *In vivo* analysis of straight-chain and branched-chain fatty acid

biosynthesis in three actinomycetes. *FEMS Microbiol. Lett.* 131, 277-274.

(Received June 19, 2003/Accepted August 29, 2003)

ABSTRACT : Changes in Lipids- and Fatty Acids Compositions in Response to Growth Temperature of *Streptomyces viridochromogenes*

Jae-heon Kim, Woo-sang Kim (Department of Microbiology, Dankook University, Cheonan, 330-714, Korea)

The wild type and two morphological variants of *Streptomyces viridochromogenes* were studied for their lipid- and fatty acid compositions at different incubation temperatures. It showed that a decrease in triacylglycerol content was closely linked to the aerial mycelium formation. Phospholipids showed no characteristic changes, except that the contents of phosphatidylethanolamine were clearly high for aerial mycelium deficient strain BR2 grown at 20°C. The strain BR2 also presented unidentified aminolipids with various R_f values. Among the aminolipids, ornithinolipid increased gradually during the cultivation for all strains. The changes in fatty acid compositions showed a temperature dependency that the proportion of unsaturated acids decreased as the growth temperature increased. The proportion of straight chain saturated fatty acids decreased as the aerial mycelium developed, and it was most evident for the mutant strain M13 with more extensive aerial mycelium. The mutant strain BR2 presented significantly higher level of iso branched odd numbered saturated fatty acids.