

용균성 야생 점액세균의 분리

박수연 · 이봉수 · 김지훈 · 이차울 · 장은혜 · 조경연*
호서대학교 자연과학부

Isolation and Characterization of Bacteriolytic Wild Myxobacteria. Park, Sooyeon, Bongsoo Lee, Jihoon Kim, Chayul Lee, Eunhae Jang, and Kyungyun Cho*. *Division of Natural Science, Hoseo University, Asan 336-795, Korea* – Myxobacteria are Gram-negative soil bacteria known to be a rich source of potentially useful secondary metabolites. We have isolated 204 strains of bacteriolytic myxobacteria from soil samples collected in Korea and determined their 16S rRNA sequences. Sequence analysis of the partially determined 16S rRNA sequences has suggested that 132 isolates (65% of total isolates) belong to the genus *Myxococcus* and 59 isolates (29% of total isolates) belong to the genus *Coralloccoccus*. Meanwhile, 4 isolates appear to be *Archangium* spp. and the other 4 isolates appear to be *Stigmatella* spp. Genera of the remained 5 isolates have not been identified because their 16S rRNA sequences are distantly related to those of known myxobacteria.

Key words: Myxobacteria, isolation, characterization

점액세균(myxobacteria)은 *Proteobacteria* δ 그룹에 속하는 간균형태의 그람음성 토양박테리아로 단세포생물임에도 불구하고 군집 생활을 하며 수십만 마리의 박테리아가 모여 이루어진 다세포 자실체를 형성하는 특이한 생활사를 보이는 것으로 잘 알려져 있다[6, 11, 18]. 점액세균은 토양, 나무 껍질의 표면, 썩은 식물체 등에서 주로 서식하며, 셀룰로오스와 같은 유기물질을 분해, 이용해서 자라거나, 주변의 다른 미생물을 분해, 이용함으로써 영양분을 얻는다[15]. 점액세균이 다른 박테리아와 구별되는 대표적인 특징은 세포들이 무리를 지어 집단으로 행동하는 것으로, 영양분이 풍부한 환경에서는 집단의 박테리아들이 활주운동에 의해 이동하다가[4, 10], 먹이가 되는 미생물 또는 유기물을 접하게 되면 가수분해효소들에 의해 이를 분해하여 영양분으로 이용한다[7]. 그러나 주변의 영양분이 고갈되면 수십만 마리의 박테리아들이 협력하여 마치 아주 작은 버섯과 같은 모양의 자실체구조물을 형성하고, 각각의 박테리아 세포들은 이 자실체구조물 안에서 구형 또는 타원형의 포자로 변형됨으로써 성숙한 자실체(fruiting body)를 형성한다[9, 12]. 이때 자실체의 모양은 구형, 반구형, 나무, 버섯 등과 같은 여러 형태로 점액세균의 종류에 따라 다양하다[5, 14, 18].

점액세균은 방선균과 유사하게 여러 생리활성물질과 효소들을 생산 분리하는 것으로 잘 알려져 있다. 오늘날까지 야생으로부터 수집된 점액세균으로부터 450 종류 이상의 항생균, 항진균, 항암 등 다양한 효능의 생리활성물질이 분리되었으며, 이들 중 여러 물질들은 작용기작도 특이한 것으로

밝혀졌다[1, 8, 16, 17]. 하지만 점액세균은 순수분리 및 배양이 매우 까다로워 현재 방선균에 비해 훨씬 적은 수의 균주들이 자연계로부터 분리되었다. 따라서 자연계에서 아직 분리되지 않는 것은 경제적으로 가치 있는 생리활성물질과 효소를 생산하는 점액세균이 많이 존재할 것으로 예측된다.

많은 수의 야생 균주를 분리 수집함에 있어서 가장 문제가 되는 것은 동일 균주의 중복 분리이다. 따라서 본 연구에서는 한 지역 내에서 채취되는 시료의 수를 제한하고, 동일 지역 내에서는 가능한 한 서로 다른 환경에서 시료를 채취하여 용균성 야생 점액세균 204균주를 분리한 후, 16S rRNA 염기서열 분석 및 집락의 색과 모서리 형태 관찰을 통해 분리된 균주들의 다양성을 조사하여 보았다.

재료 및 방법

사용 배지 및 배양조건

용균성 야생 점액세균의 분리에는 WCX 배지와 CY 또는 VY/2 배지를 사용하였으며, 자실체 형성 유도는 WAT 배지를 사용하였다. WCX 배지는 10 mM 3-[N-Morpholino]propanesulfonic acid(MOPS), 0.1% CaCl₂ · 2H₂O, 300 µg/ml cycloheximide를 함유하고 있으며, CY 배지는 0.3% casitone, 0.1% yeast extract, 0.1% CaCl₂ · 2H₂O로 구성되어 있고, VY/2 배지는 0.5% Baker's yeast, 0.1% CaCl₂ · 2H₂O, 0.5 µg/ml cyanocobalamin을 함유하고 있다[18]. WAT는 0.1% CaCl₂ · 2H₂O로 구성되어 있다[18]. 한천평판 배지는 이들 배지에 1.5% 한천을 첨가함으로써 준비하였다. 액체배지는 32°C 진탕배양기에서 200 rpm으로 진탕배양하였으며, 평판배지는 32°C 배양기에서 배양하였다. 한편, 야생 점액세균의 먹이 미생물로는 *Escherichia coli* MC4100

*Corresponding author

Tel: 82-41-540-5627, Fax: 82-41-548-6231
E-mail: kycho@office.hoseo.ac.kr

를 사용하였으며[2], 먹이 미생물의 배양은 1% tryptone, 1% NaCl, 0.5% yeast extract로 구성된 LB 배지를 사용하였다.

용균성 점액세균의 분리

국내 여러 지역에서 채취한 토양 또는 식물체 시료를 *E. coli* MC4100가 도말된 WCX 평판배지에 올려놓은 후 32°C에서 배양하였다. 그리고 1~2 주일 후 실체현미경을 사용하여 자실체 형성 여부, 집락 등을 관찰하여 점액세균임을 확인하고, 자실체 또는 집락에서 소량의 세포를 채취하는 방식으로 균을 분리하였으며, 최종적으로 CY 평판배지 또는 VY/2 평판배지에서 하나의 분리된 집락으로 순수 분리하였다. 분리된 야생점액세균은 미생물유전체활용기술개발사업단의 MicroBank(www.microbank.re.kr)에 기탁하였다.

형태학적 특성 조사

영양세포 및 집락의 관찰은 야생 점액세균을 CY 평판배지에 접종 한 후, 32°C 배양기에서 4일 동안 배양한 후 이루어졌으며, 자실체와 포자의 관찰은 *E. coli* MC4100이 도말된 WCX 평판배지에 야생점액세균을 접종한 뒤, 32°C 배양기에서 3~5일간 배양하여 자실체 형성을 유도한 후 이루어졌다. 자실체 및 집락의 관찰은 Nikon SMZ1000 실체현미경에 의해서 이루어졌으며, 세포와 포자의 관찰은 Nikon Eclipse E600 위상차현미경에 의해 이루어졌다. 그리고 관찰된 모습의 사진은 Nikon Coolpix-950에 의해 촬영되었다.

16S rRNA 염기서열 분석

16S rRNA 유전자의 일부분(452~455 bp)에 해당되는 DNA 조각은 야생 점액세균으로부터 분리한 유전체 DNA를 주형으로 하고, 두개의 oligonucleotides, 5'-GCCTAACACATGCAAGTCGAGCG-3'(C101)과 5'-ATTACCGCGGCTGCTGGCAC-3'(C102)를 primer로 사용하여, *Taq* polymerase (다카라코리아바이오메디칼(주))로 증폭한 DNA 중합효소연쇄반응(PCR)을 통해 얻어졌다. 얻어진 PCR 조각은 PCR purification kit(바이오니아(주))를 사용하여 분리한 후, PCR에서 사용한 이 두 primer 들을 사용하여 염기서열을 결정하였다. 그리고 얻어진 염기서열은 DNASIS MAX(Hitachi Software)와 Ribosomal Database Project(RDP) II[3]를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

시료 채취 및 야생 점액세균의 분리

충남 일대 11개 시, 군 및 충남 이외의 3개 지역의 산림, 밭, 논, 과수원, 하천, 주택가, 시내 중심가 등의 다양한 장소로부터 197 종류의 토양 및 식물체 시료를 채취하였으며, 이들 시료로부터 204 용균성 야생 점액세균을 분리하였다. 이는 1개 군 또는 시 지역으로부터 평균적으로는 14 시료를

채취한 것에 해당하며, 대략적으로 시료 한 개당 한 점액세균을 분리한 것에 해당한다. 점액세균의 순수분리는 WCX 평판배지를 사용하였으며 먹이 미생물로는 살아있는 *E. coli* MC4100을 사용하였다. 그리고 곰팡이의 성장을 저해하기 위하여 배지에 cycloheximide를 첨가해 주었다. 야생 점액세균의 분리는 배지 위에 시료를 올려놓은 후 1~2주일이 지나면 형성되는 자실체 또는 집락으로부터 일부 세포를 채취하는 방식으로 이루어졌다. 평균적으로 시료당 4~5종류의 서로 다른 형태의 자실체 형성이 관찰되었지만, 순수 분리하는 과정에서 균주들이 소실되어 최종적으로는 시료당 1~2 종류의 균주들만 순수 분리 배양할 수 있었다. 처음 관찰된 많은 점액세균들이 순수 분리하는 과정에서 소실된 주요한 이유는 대부분의 균주들이 처음 WCX 배지에 시료가 올려져 있을 때는 시료 내에 포함되어 있는 미량 영양소 또는 다른 미생물의 존재로 인해 성장할 수 있었지만, 제한된 영양소들만으로 이루어진 배지에서는 알 수 없는 특정 영양소의 부족으로 인해 더 이상 성장할 수 없는 것으로 사료되었다. 또 다른 이유는 다른 미생물에 의한 오염 때문으로, 성장속도가 매우 느린 점액세균은 다른 박테리아나 cycloheximide 존재 하에서도 성장하는 곰팡이가 먼저 자랄 경우 순수 분리할 수 없었다. 한편, 점액세균의 분리 과정에서 2~5% 정도로 점액세균이 아닌 다른 활주박테리아들이 분리되었는데, 이는 활주박테리아의 집락 모습이 점액세균과 유사하여 분간이 힘들며, 초기에 점액세균과 함께 분리될 경우 성장이 빠른 활주박테리아가 점액세균보다 우선하여 자라기 때문인 것으로 사료되었다. 이러한 활주박테리아는 집락 및 세포의 형태를 현미경으로 관찰함으로써 분리 과정 중에 일부 제외되었으며, 나머지는 16S rRNA 염기서열 분석을 통해서 제외되었다.

16S rRNA 염기서열 결정

점액세균은 일반적으로 자실체, 포자, 집락 및 영양세포의 형태와 색과 같은 외형적 특성에 의해 분류되며, 이러한 분류는 16S rRNA 염기서열에 의한 분류와 밀접한 상관관계가 있다[18]. 따라서 본 연구에서도 분리된 점액세균들의 외형적 특성 조사 이외에도 16S rRNA 유전자 조각의 염기서열을 결정하여 점액세균 여부의 확인 및 분류, 동정에 사용하였다. 이를 위해 먼저 RDP II로부터 얻은 63 점액세균의 16S rRNA 염기서열을 정돈하여 비교한 결과를 바탕으로 주어진 조건 내에서 최대한의 다양성을 얻을 수 있도록 두 개의 DNA oligonucleotide를 디자인하였다. 이들을 PCR primer로 하고 분리균주의 유전체 DNA를 주형으로 하는 PCR 반응을 통해 얻어진 DNA 조각은 두 primer의 염기서열을 제외하고 452~455 bp 크기의 16S rRNA 유전자 조각을 갖고 있었다. 초기에 얻어진 101 균주에 대해서는 양방향으로 염기서열을 결정하였고, 나머지 103 균주에 대해서는 한 방향으로만 염기서열을 결정하였다. 한 방향으로 염

기서열이 결정된 경우에도 RDP II에서의 분석에 큰 차이를 보이지 않았지만, 이 경우 염기서열 결정에 어려움이 존재할 가능성이 있으므로 분리균주들간 염기서열의 정밀 비교 분석은 염기서열이 양방향으로 읽혀지고 서열이 정확한 것으로 확인된 101 균주에 대해서만 이루어졌다.

염기서열이 확인된 101 균주를 대상으로 DNASIS MAX를 사용하여 염기서열을 비교한 결과 하나 이상의 염기서열이 차이를 보이는 경우는 51 그룹으로, 101 균주 안에는 최소한 50종류의 16S rRNA 염기서열이 서로 다른 균주가 존재함을 보여 주었다. 하지만 본 연구에서 사용된 염기서열은 16S rRNA 유전자 크기의 1/3에 못 미치는 455 bp에 대한 것으로 455 bp 크기의 DNA 조각이 동일한 염기서열을 갖는다고 해서 전체 16S rRNA 염기서열이 동일하다고 판단할 수 없다. 또, 아래에서 보였듯이 16S rRNA 부분 염기서열이 동일하다 하더라도 분리 지역 또는 장소(환경)에 따라 서로 다른 균주일 가능성이 높다. 101 균주들에 대해 동일한 염기서열을 가지면서 동일 지역(시 또는 군)에서 분리된 균주들을 확인해본 결과, 모두 32 균주가 13 그룹 내에서 동일 지역에서 분리된 것으로 나타났다. 만일 이들 균주들을 중복된 균주들로 가정하여 제외하면 서로 다른 염기서열을 갖거나 염기서열이 동일하더라도 분리된 지역이 다른 점액세균은 전체 분리 균주의 81%에 해당하는 82 종류인 것으로 나타난다. 한편, 101 균주 중 동일한 염기서열을 가지며 동일 시료(장소)에서 분리된 균주들은 모두 17 균주, 7 그룹으로 확인되었다. 만일 이들 균주들을 중복된 균주들로 가정하여 제외하면 서로 다른 염기서열을 가지거나 동일하더라도 분리된 장소가 다른 점액세균은 분리 균주의 90%에 해당하는 91 종류인 것으로 나타난다.

분리균주의 특성 조사

RDP II를 통해 분리 균주 각각에 대해 분석한 결과 전체 204 분리 균주들은 크게 5 그룹으로 분류할 수 있었다 (Table 1). Group 1은 *Myxococcus* 속에 속할 것으로 분석된 균주들로 전체 균주의 65%를 차지하는 132 균주들이며, Group 2는 전체 균주의 29%를 차지하는 59 균주들로 *Coralloccoccus* 속에 속할 것으로 분석되었다. 또, Group 3은

Table 1. Predicted genus and family of the isolates.

Group	Number of isolates	Predicted genus	Predicted family
Group 1	132	<i>Myxococcus</i>	Myxococcaceae
Group 2	59	<i>Coralloccoccus</i>	
Group 3	4	<i>Archangium</i>	Cystobacteraceae
Group 4	4	<i>Stigmatella</i>	
Group 5	5	- ^a	-
Total	204		

^a unknown.

Archangium 속에 속하는 것으로 예측된 4 균주들이며 (2%), Group 4는 *Stigmatella* 속에 속할 것으로 분석된 4 균주들이다. 한편, 분류가 확실하지 않은 5 균주는 Group 5로 분류하였다. Fig. 1에서는 Group 1~4에 속하는 4개 균주와 16S rRNA 서열이 알려진 균주 중에서 이들 균주 각각과 가장 가까운 유연관계를 보이는 균주들과의 계통수를 보였다. 또, Fig. 2에서는 이들 4 균주들의 세포모양, 집락모서리 형상, 포자 모양, 자실체 형태를 보였는데, 관찰된 형태학적 특징들이 지금까지 알려진 분류 특징들과 잘 부합하는 것을 볼 수 있었다. 점액세균은 분류학상 δ-Proteobacteria에 속해있는 *Myxococcales* 목으로 분류되며[13], *Myxococcales* 목은 *Cystobacterineae*와 *Sorangineae* 두개의 아목으로 구성되어 있다[14]. 그리고 *Cystobacterineae* 아목은 *Myxococcaceae*와 *Cystobacteraceae*의 두 과로 구성되어 있으며, *Myxococcus* 속과 *Coralloccoccus* 속은 *Myxococcaceae* 과에, *Archangium* 속과 *Stigmatella* 속은 *Cystobacteraceae* 과에 속한다[14]. 따라서 분리된 204 균주는 모두 *Cystobacterineae* 아목에 속하는 균주들로 이중 94%가 *Myxococcaceae* 과에 속하며, 4%의 균주들은 *Cystobacteraceae* 과에 속할 것으로 예측되었다. 나머지 2%는 분류가 확실하지 않아 Group 5에 속하는 균주들이다. 하지만 이러한 분석 결과는 채취된 시료 내에 존재하는 점액세균의 분포를 보여주는 것은 아니며 시료 내에는 다양한 점액세균이 존재하지만 본 연구에서는 제한된 배양조건으로 인해 주로 *Myxococcaceae* 과에 속하는 점액세균들이 분리된 것으로 보인다. 따라서 *Cystobacteraceae* 과에 속하는 균주 및 *Sorangineae* 아목에 속하는 균주들을 분리하기 위해서는 본 연구에서 사용된 *E. coli* MC4100를 먹이로 하는 WCX 배지 외에 다른 배양조건에서 야생 균주를 분리해야함을 보여주었다. 한편, 전체 분리균주의 2%에 해당하는 Group 5에 속하는 5 균주들은 RDP II 데이터베이스 내에 유사한 균주들에 대한 16S rRNA 염기서열 정보

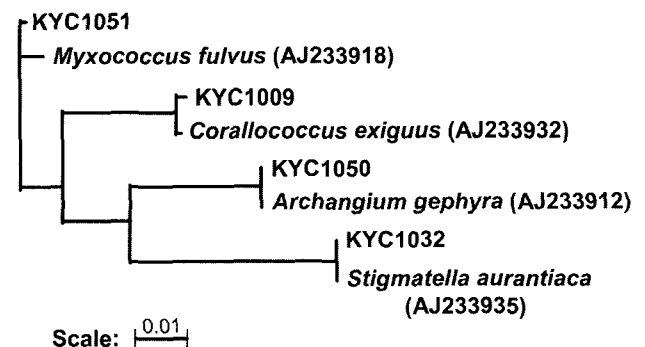


Fig. 1. Phylogenetic tree of the representative isolates. KYC1051 belongs to the group 1, KYC1009 belongs to the group 2, KYC1050 belongs to the group 3, and KYC1032 belongs to the group 4. The tree has been generated using the RDP web interface to Phylip[3] and the numbers in parentheses are the EMBL/GenBank/DBJ accession numbers of the 16S ribosomal RNA of the compared strains.

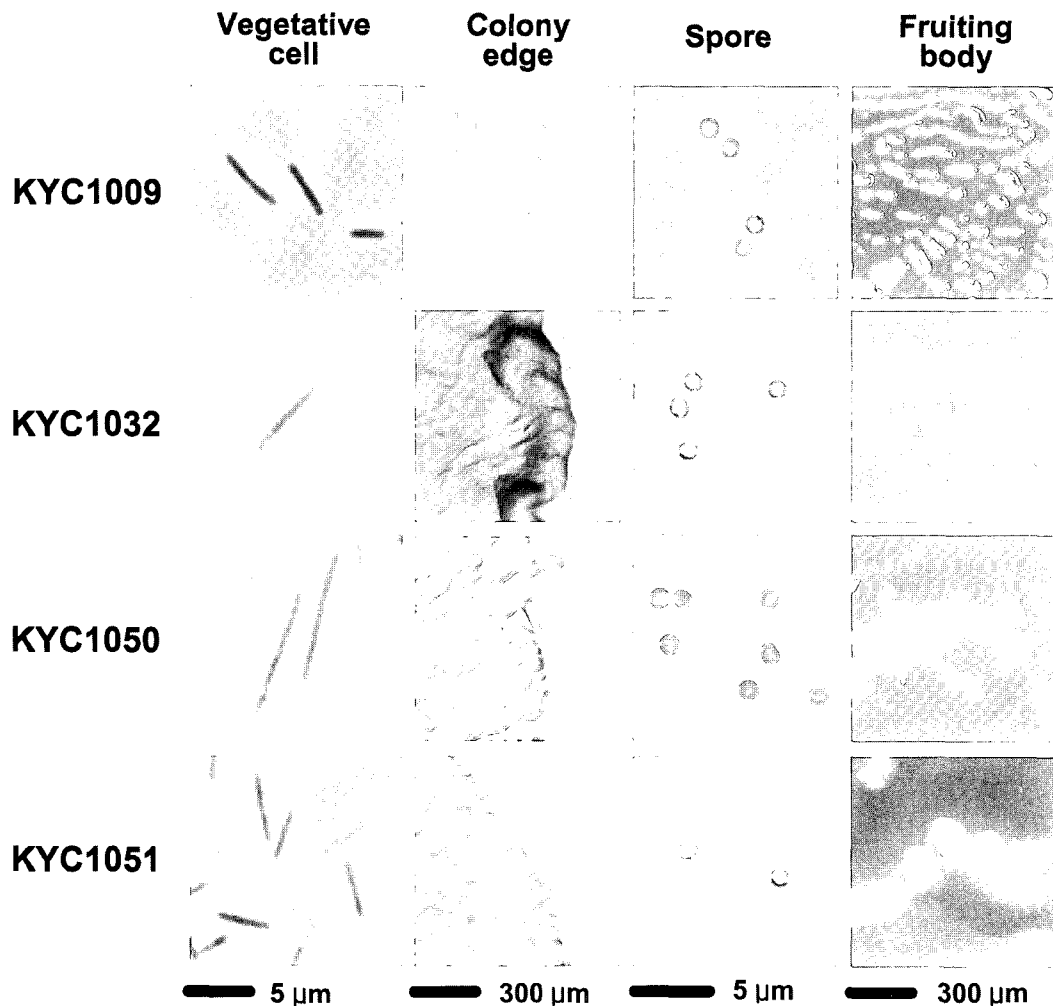


Fig. 2. Vegetative cells, colony edges, spores, and fruiting bodies of the representative isolates. KYC1009 belongs to the group 2, KYC1032 belongs to the group 4, KYC1050 belongs to the group 3, and KYC1051 belongs to the group 1.

가 없는 균주들로 이러한 균주들의 발견은 아직까지 분리되지 않는 새로운 종류의 점액세균들이 국내에 많이 존재할 가능성을 보여주는 것이다.

분리된 모든 야생 점액세균들은 대장균과 같은 미생물을 분해하여 영양분으로 섭취하지만 셀룰로오스는 분해 이용하지 못하는 용균성 점액세균으로 대장균 외에도 casitone과 같은 단백질을 주성분으로 함유한 배지에서 잘 성장하였다. 또 많은 균주들이 효모를 이용해서도 성장하였다. 분리된 점액세균은 실험실 조건에서 대부분 자실체를 형성하며, 영양세포는 간균이었고, 포자는 구형이었다. 또 활주운동성으로 인해 집락은 활주박테리아 특유의 한천 표면에 얇게 펼쳐진 집락 모습을 보였다. 하지만 Fig. 2에서 보인 바와 같이 자실체와 집락 모서리의 형태는 그룹간 큰 차이를 나타냄을 보였다.

동일한 16S rRNA 부분 염기서열을 갖는 균주들의 분석
동일한 16S rRNA 부분 염기서열을 갖는 균주들이 중복

분리로 얻어진 동일한 균주들인지 아니면 서로 다른 균주들인지 알아보기 위하여 16S rRNA 부분 염기서열이 동일한 균주 집단 중에서 가장 많은 수의 균주를 갖는 그룹을 선택하여 여러 특성을 조사하였다. Table 2에 보인 8개 균주들은 16S rRNA 부분 염기서열이 동일한 균주들로 모두 동일한 모양의 자실체와 유사한 모양의 오렌지색 집락을 형성하였다. 하지만 이들을 CY 배지상에서 배양하면서 형성된 집락을 실체현미경으로 관찰한 결과, Fig. 3에 보인 바와 같이 KYC1015, KYC1036, KYC1038, KYC1090, KYC1223이 서로 다른 독특한 모습의 집락모서리를 형성하는 것으로 관찰되었다. Table 2에서는 이를 구별하기 위하여 각 균주의 집락형태를 균주번호 순서에 따라서 A~E-type으로 구분하여 표시하였다. 한편, KYC1219와 KYC1225는 KYC1036과 유사한 집락모서리를 형성하였고, KYC1228은 KYC1223과 유사한 집락모서리를 형성하였다. 따라서 이들 8 균주들은 455 bp의 16S rRNA 부분 염기서열이 모두 동일하기는 하지만 집락의 모서리 형상이 다른 점으로 보아 최소한 5 종

Table 2. Colony morphology of the isolates carrying same partial 16S rRNA sequences.

Strain	Color of colony	Type of colony edge morphology ^a	Isolated region
KYC1015	orange	A	Muju, Jeonbuk
KYC1036	orange	B	Dangjin, Chungnam
KYC1038	dark orange	C	Buyeo, Chungnam
KYC1090	orange	D	Cheongyang, Chungnam
KYC1219	orange	B	Yesan, Chungnam
KYC1223	dark orange	E	Gongju, Chungnam
KYC1225	orange	B	Nonsan, Chungnam
KYC1228	dark orange	E	Seongnam, Gyeonggi-do

^aType of the colony edge morphology of KYC1015, KYC1036, KYC1038, KYC1090, and KYC1223 were designated A, B, C, D, and E, respectively.

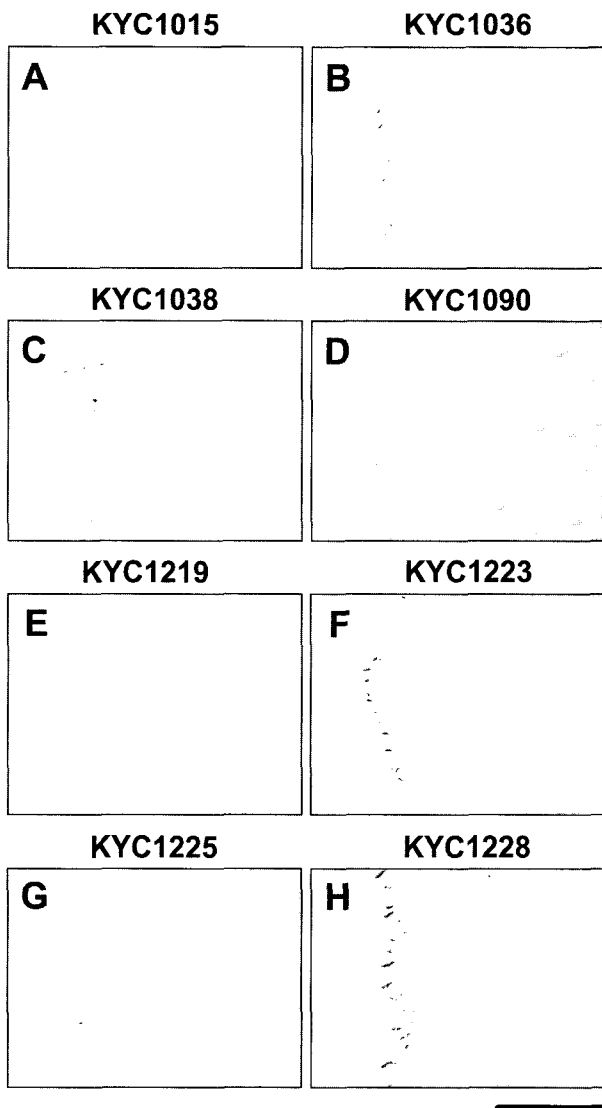


Fig. 3. The colony edge of the isolates that carry same partial 16S rRNA sequences. Bar, 0.5 mm.

류의 서로 다른 균주들임을 알 수 있었다. 이러한 결과들은 비록 16S rRNA 부분 염기서열이 일치하더라도 동

일한 균주로 판단할 수 없음을 나타내며, 다른 지역 또는 동일 지역이라 할지라도 다른 환경에서 시료를 채취하는 경우에는 새로운 균주를 분리할 수 있음을 보여주는 것이다. 또, 분리된 균주의 50%만이 16S rRNA 부분 염기서열상에서 차이를 보이고 있지만 실제 분리균주의 다양성은 50%를 훨씬 상회하는 것으로 보여진다. 즉, 8균주 중 5균주에 해당하는 비율(62%)을 동일 염기서열이 갖는 나머지 50% 균주들에 적용시킬 경우, 전체 균주의 다양성은 16S rRNA 부분 염기서열 차이에서 얻어진 50%에 31%를 더한 81% 부근일 것으로 추정된다.

요 약

용균성 야생 점액세균 204 균주를 국내 토양으로부터 순수분리하였고, 분리균주의 16S rRNA 부분 염기서열을 결정하였다. Ribosomal Database Project(RDP) II를 이용하여 분리균주 각각의 16S rRNA 염기서열을 분석한 결과 전체 분리균주의 65%를 차지하는 132 균주들이 *Myxococcus* 속에 속할 것으로 예상되었으며, 29%를 차지하는 59 균주들이 *Corallococcus* 속, 4 균주가 *Archangium* 속, 그리고 4 균주가 *Stigmatella* 속에 속할 것으로 분석되었다. 그리고 나머지 5 균주는 알려진 균주와의 유연관계가 멀어 분류가 확실하지 않았다. 한편, 16S rRNA 염기서열의 비교분석은 분리균주의 50%가 16S rRNA 부분 염기서열상에 적어도 한 염기 이상의 차이를 지니고 있음을 보여주었다. 하지만 동일한 염기서열을 지니는 것으로 분석된 균주에서도 서로 다른 집락모서리를 형성하는 등 다른 균주로 판명되는 것으로 보아 전체 분리균주는 다양성이 81% 이상인 다양한 균주들인 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부 21세기 프론티어 미생물유전체활용기술개발사업의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Ahn, J. W., S. H. Woo, C. O. Lee, K. Y. Cho, and B. S. Kim. 1999. KR025, a new cytotoxic compound from *Myxococcus fulvus*. *J. Nat. Prod.* **62**: 495-496.
2. Casadaban, M. 1976. Transposition and fusion of the *lac* genes for selected promoters in *E. coli* using bacteriophage lambda and Mu. *J. Mol. Biol.* **104**: 541-555.
3. Cole, J. R., B. Chai, T. L. Marsh, R. J. Farris, Q. Wang, S. A. Kulam, S. Chandra, D. M. McGarrell, T. M. Schmidt, G. M. Garrity, and J. M. Tiedje. 2003. The Ribosomal Database Project (RDP-II): previewing a new autoaligner that allows regular updates and the new prokaryotic taxonomy. *Nucleic Acids Res.* **31**: 442-443.
4. Cho, K. 2002. Bacterial gliding motility. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **30**: 199-205.
5. Dawid, W. 2000. Biology and global distribution of myxobacteria in soils. *FEMS Microbiol. Rev.* **24**: 403-427.
6. Dworkin, M. and D. Kaiser. 1993. *Myxobacteria II*. ASM Press, Washington, D.C.
7. Guespin-Michel, J. F., B. Letouvet-Pawlak, and F. Petit. 1993. Protein secretion in myxobacteria. pp. 235-255. In Dworkin, M. and D. Kaiser (ed.), *Myxobacteria II*. ASM Press, Washington, D.C.
8. Kim, Y. S., W. C. Bae, and S. J. Back. 2003. Bioactive substances from myxobacteria. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31**: 1-12.
9. Kuner, M. J. and D. Kaiser. 1982. Fruiting body morphogenesis in submerged cultures of *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* **151**: 458-461.
10. McBride, M. 2001. Bacterial gliding motility: multiple mechanisms for cell movement over surfaces. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**: 49-75.
11. McCurdy, H. D. 1989. Order Myxococcales. pp. 2139-2170. In Staley, J. T., M. P. Bryant, N. Pfennig, and J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 3, Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
12. O'Connor, K. A. and D. R. Zusman. 1989. Patterns of cellular interactions during fruiting body formation in *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* **171**: 6013-6024.
13. Prescott, L. M., J. P. Harley, and D. A. Klein. 2002. *Microbiology*, 5th ed., McGraw-Hill, New York.
14. Reichenbach, H. 1993. Biology of the myxobacteria: ecology and taxonomy. pp. 13-62. In Dworkin, M. and D. Kaiser (ed.), *Myxobacteria II*. ASM Press, Washington, D.C.
15. Reichenbach, H. 1999. The ecology of the myxobacteria. *Environ. Microbiol.* **1**: 15-21.
16. Reichenbach, H. 2001. Myxobacteria, producers of novel bioactive substances. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 149-156.
17. Reichenbach, H. and G. Hofle. 1999. Myxobacteria as producers of secondary metabolites. pp. 149-179. In Grabley S. and R. Thiericke (ed.), *Drug Discovery from Nature*, Springer Verlag, Berlin.
18. Reichenbach, H. and M. Dworkin. 1992. The myxobacteria. pp. 3416-3478. In Balows A., H. G. Trüer, M. Dworkin, W. Harder, and K. -H. Schleifer (ed.), *The Prokaryotes*, 2nd ed., Springer Verlag, New York.
19. Sproer, C., H. Reichenbach, and E. Stackebrandt. 1999. The correlation between morphological and phylogenetic classification of myxobacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **3**: 1255-1262.

(Received Jul. 3, 2004/Accepted Sep. 6, 2004)