

Myxobacteria, a New Microbial Source for Bioactive Substances

Jong-Woong Ahn

Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon Korea

유기체의 생합성 산물인 천연물로부터 독창적인 신규 생리활성 물질을 얻기 위해서는 먼저 새로운 생물 검정법 (new screening system)이나, 혹은 새로운 자원 (new source)의 확보가 무엇보다 중요하다(1). 이러한 관점에서, 새로운 의약품의 개발을 위해 신규 생리활성 물질의 source로서의 미생물에 관한 연구는 페니실린의 발견과 함께 70년의 역사와 더불어 수많은 신규 물질의 창출을 가능하게 하였음은 주지의 사실이다.

점액세균(myxobacteria)은 그람음성의 활주세균(gliding bacteria)으로써 토양이나 부패된 식물체 등에 서식하는 일반 미생물이면서도 통상의 세균 분리법으로는 자연계로부터 분리되지 않고, 원핵생물 중 가장 복잡한 life cycle과 까다로운 생육조건 때문에 배양이 어려워 지금까지 연구대상에서 소외되어 온 특이 미생물이다(2). 그러나, 최근 선진국을 중심으로 이들의 분리 및 배양법이 개발되면서 그 대사산물에 관한 연구가 진행됨에 따라 점액세균은 방선균에 필적하는 다양한 구조의 물질을 생산하며, 특히 지금까지 타 미생물로부터 분리된 예가 없는 그들 특유의 물질들을 생산함이 밝혀지게 되었고(3), 이에 선진국들은 점액세균을 생리활성 물질의 새로운 source로 인식하여 그들의 이용 연구에 많은 관심을 갖기에 이르렀다. 특히 점액세균의 일종인 *Sorangium cellulosum*의 대사산물로부터 최근 taxol과 동일한 기전으로 암세포의 증식을 억제하며, 활성과 물성 면에서 taxol 보다 우수한 macrolide계 항암물질인 epothilone(4)이 보고된 후, 점액세균은 세계적 관심사가 되고 있다(5). 이와 같이 분리조건 등이 까다로워 지금까지 미지의 상태로 남아 있을 수 있었던 점액세균은 이제 신물질 창출의 미개척 자원으로써 관심이 집중되고 있으므로 가까운 장래에 선진국을 중심으로 점액세균에 관한 산업적 이용연구가 대단히 활성화 될 것으로 전망된다.

이러한 관점에서, 본 연구에서는 먼저 점액세균의 분리 및 배양기술을 국내 최초로 확립하여 국내 토양으로부터 다양한 점액세균을 분리하였으며, 그들이 생산하는 신규 생리활성 물질 및 고 부가가치의 선도물질을 분리하여 화학구조를 밝히고 당 연구소 스크리닝 센터와 공동 연구로 생물활성을 규명하였다.

방 법

국내의 논, 밭, 과수원 및 산림 토양을 지표에서 3~5 cm의 범위로 채취하여 풍건 후 점액세균의 분리에 공시하였다.

용균성 점액세균(bacteriolytic myxobacteria)은 대장균과 효모의 생균체를 이용하여 분리하였으며 (Placing soil on bacterial smears), 셀룰로오스 용해성 점액세균(cellulolytic myxobacteria)의 분리에는 filter paper를 이용하였다 (The filter paper method)(6). 계대 및 보존용 배지로는 VY/2 agar 배지를 사용하였고 30°C에서 flask 진탕 배양하였다(150~160 rpm).

Bioassay-guided fractionation을 통하여 생리활성 물질을 분리, 정제하였으며, 각 단계마다 Human cancer cell 및 식물 병원균에 대한 각 분획물의 성장저해 활성을 monitoring 하였다. 아울러 신규 화합물의 검색 효율을 높이기 위해 NMR, IR 등을 이용한 chemical screening 기법을 병용하였다.

결과 및 고찰

점액세균의 분리

용균성 점액세균의 경우 먹이균 위에 시료토양을 처리한 후 4~5일째 먹이균에서 용균현상이 나타났으며 7~10일째 육안으로도 확인할 수 있는 크기의 자실체가 형성되었다. 이 자실체를 새로운 분리용 plate

에 2~3회 반복 계대하여 순화시킨 후 VY/2 agar에 옮겨 배양한 결과 2~3일째에 특유의 불규칙한 경계를 가진 확산성 colony가 형성되었다. 지금까지 49종의 셀룰로오스 용해성 점액세균을 비롯해 약 450여종의 용균성 점액세균을 분리하였다.

생리활성 물질의 분리

용균성 점액세균의 일종인 *Myxococcus* sp.로부터 bithiazole계의 신규 항암물질을 분리하여 KR-025 및 stipithiazole로 각각 명명하고 입체구조를 포함한 화학구조를 밝힌 다음 그 생물활성을 규명하였다 (7).

용인지방에서 채취한 토양시료에서 apicularen 화합물을 생산하는 *Chondromyces* sp.를 분리하여 현재 대량생산 방법을 확립하고 있는데, apicularen A (8)는 미 국립 암 연구소가 지금까지 자연계에서 분리한 어떠한 천연물과도 그 항암활성 pattern이 일치하지 않는 매우 독특한 항암물질임이 밝혀져 현재 새로운 항암제 선도물질로 관심 받고 있는 물질이다.

*Sorangium cellulosum*의 분리

Epothilone 화합물을 분리할 목적으로 먼저 *S. cellulosum*의 분리기술을 확립하고 현재 49종을 분리하여 그 물질의 생산을 조사하고 있다. *S. cellulosum*의 strain중 약 2%가 이 물질을 생산한다는 연구결과 (4)로 미루어, 가까운 시일안에 epothilone 생산균주의 확보가 기대된다.

References

1. Omura, S. 1986. Philosophy of new drug discovery. *Microbiol. Rev.* 50(3): 259-279.
2. Yamanaka, S. 1989. Myxobacteria—bacteria forming fruiting body. *Chem. & Biol.* 27: 656-662.
3. Hofle, G. and H. Reichenbach. 1990. Biologically active substances from Microorganism. *GBF, Scient. Ann. Report*, 5-22.
4. Gerth, K., N. Bedorf, G. Hoffle, H. Irschik, and H. Reichenbach. 1996. Epothilones A and B: Antifungal and cytotoxic compounds from *S. cellulosum* (Myxobacteria). *J. Antibiotics* 49: 560-563.
5. Cowden, C. J. and I. Paterson. 1997. Cancer drugs better than taxol? *Nature* 387: 238-239.
6. Yamanaka, S., A. Kawakuchi, and K. Komagata. 1987. Isolation and identification of myxobacteria from soils and plant materials. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 31: 247-265.
7. Ahn, J.-W., S.-H. Woo, C.-O. Lee, K.-Y. Cho, and B.-S. Kim. 1999. KR-025, a new cytotoxic compound from *Myxococcus fulvus*. *J. Nat. Prod.* 62: 495-496.
8. Kunze, B., R. Jansen, F. Sasse, G. Hoffle, and H. Reichenbach. 1998. Apicularen A and B, new cytostatic macrolides from *Chondromyces* species (Myxobacteria). *J. Antibiotics* 51: 1075-1080.