

특 집

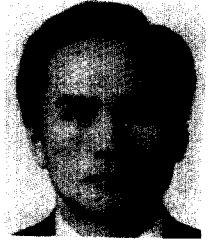
미생물의 생리활성물질

1. 미생물의 대사산물로부터 신생리활성 물질창출의 최근 경향	이계준
2. 생리활성 물질 생산 미생물의 선택적 분리법	姜熙日
3. 우수균주 개발의 최적화	오태광
4. 유전자 재조합 기법을 통한 신물질 창출	유명희
5. 대사산물의 분리, 정제 및 화학구조의 결정	이강만
6. 신생리활성 물질의 독성시험	김영철

미생물의 대사산물로부터 얻어진 유용한 생리활성물질은 매우 많아서 그 모두를 다 열거할 수는 없다. 우연한 관찰에서부터 얻어진 페니실린이 발견된지 근 반세기를 지나는 동안 발견된 많은 유용생리물질을 사용하여 각종 질병의 치료와 예방 및 건강향상 등이 놀라울 정도로 이루어졌다. 또한 생물산업의 발전에 따른 연구자와 그 소속국가에 많은 물질적 이익을 가져다 주었다. 세계적으로보아 기술선진국은 자국의 기술보호와 이익을 위해 물질특허제도를 후진국에 강요함에 따라 원천적 연구개발 능력이 부족한 나라는 과학·기술적 예측이 불가피하게 되었다. 이러한 현황을 살펴볼 때 우수한 연구인력이 많고 또한 그간 축적해 온 연구개발 능력이 향상된 우리나라에서도 각 분야에서 자생적 연구가 진척되고 있는 것은 다행한 일이라 할 수 있다. 미생물의 대사산물로부터 유용한 물질의 창출은 전세계가 무서운 경쟁하에서 연구에 몰두하는 분야이므로 그 방법과 원리 및 현황과 미래를 정리하는 것은 매우 뜻있는 일이라 생각된다.

미생물의 대사산물로부터 신생리활성물질창출의 최근 경향

서울대학교 미생물학과 이 계 준



1929년 Fleming 에 의하여 발견된 penicillin 을 시초로하여 미생물의 대사산물로부터 얻은 항생물질은 10,000여종이 된다. 물론 지금도 계속하여 새로운 항생물질을 얻고자하는 연구가 계속되고 있으며 그 주된 대상 미생물은 방선균(Actinomycetes)이다. 방선균은 매우 다양한 물질을 생합성 해낼 수 있는 능력이 있으므로 해서 새로운 물질을 찾을 가능성이 높기 때문에 세계 각국의 토양미생물학자나 신규 생리활성물질을 탐색하려는 학자들은 지금도 방문지의 흙을 반드시 채취하고 있는 실정이다.

과거의 연구는 경험에 크게 의존하여 수많은 인력과 재료를 사용하면서 오랜시간을 거쳐 이루어졌다. 또한 일반적 시험균에 대한 단순한 성장억제효과를 측정하는 것에 의하여 신규물질을 얻고자 하였으므로 화학적 신규 항생물질 또는 기타 생리활성물질을 얻을 확률이 매우 낮았던 것도 사실이었다.

미생물(특히 방선균)의 생리·유전 등의 기초연구가 많이 진전되고 한편으로는 질병의 진행과정 및 질병의 치유과정 등이 점차 밝혀짐에 따라 생리활성물질의 탐색방향이 새로워지고 있다. 즉, 방선균의 특이성 중의 하나인 유전자의 불안정성(gene instability)에 대한 이해와 genotype 과 phenotype 간의 연관성이 차츰 밝혀짐에 따라 현재까지 발견되지 않았던 새로운 대사산물의 생합성이 가능한 배양조건을 확립함으로써 새로운 물질을 창출할 수 있다. 또한 시험균의 구조가 변화된 항생물질 감수성이 증가한 시험균을 개발함으로써 종전까지 발견되지 않았던 새로운 물질을 얻을 수 있고 내성균에 작용하는 신물질들을 탐색할 수 있다.

종전까지 미생물의 대사산물 중 질병치료에 쓰일 수 있는 것은 일반적 시험균의 성장을 억제하는 항생물질이라는 좁은 의미에서부터 탈피하여 좀더 다양한 새로운 검색방법을 고안하고 이로부터 넓은 의미의 생리활성물질을 얻고 있는 바 그 몇 가지를 열거하고자 한다.

Mucor 속 곰팡이의 성장을 완전히 억제하지 않지만 zygospore 형성을 억제하는 nikkomycin 을 분리하였는데, 이는 해당 곰팡이 뿐만 아니라 곤충·진드기에서의 chitin 합성을 저해하는 것으로 나타나 phosphoester 와 같은 유독농약을 대체할 수 있는 무공해 식물의 해충방제에 사용되게 되었다. 미생물의 대사물질 중 시험균의 세포막을 투과하지 못하는 것은 생리활성물질로서의 검색에서 일단 제외되었다. 만약 정상적인 세포막 투과 조절작용이 결여된 균을 시험균으로 사용하거나, 아니면 세포막 투과성 조절물질을 동시에 사용할 경우에는 현재까지 제외되었던 물질을 검색할 수 있게 된다. 세포투과성 조절물질로서 EDTA(투과성 증진물질)와 상순적으로 생리활성을 나타낸 물질로서 *Aspergillus* 에서 얻은 ethericin 을 들 수 있다. 이들은 독성을 야기하지 않을 정도의 낮은 농도에서도 이가의 양이온(bivalent cation) 물질의 투과성을 증진시켜 세포를 사멸시킨다. 이와 같이 ions 의 생물세포막 투과성을 조절하는 물질을 ionophoric compounds 라 하는데 ionophoric compounds 는 생리적 활성에 미치는 영향이 크다. 이 한 예로서는 *Streptomyces* 배양물질로서 분리한 친유성(lipophilic) 물질인 desferri-ferri-thiocin 은 미생물에서의 cephalosporine 의 투과성을 증진시켜 그 효율성을 증진하였다. 이러한 이온투과성 조절물질(ionophoric compounds)은

심장질환(congestive heart failure), 쇼크치료제로서 이용될 가능성이 높다.

생체내 신경계에 중요한 물질인 adrenaline의 생합성에는 tyrosine hydroxylase, dopamine β -hydroxylase, monoamine oxidase, catechol-O-methyltransferase 등이 관여하는데 이 각각의 효소의 작용을 저해하는 물질들을 미생물의 배양액으로부터 분리하였고 장차 신경질환에 사용될 확률이 높은 편이다.

Thrombin, thrombokinase, cathespin, papain, trypsin, plasmin, chymotrypsin 과 같은 thiol 또는 serine 계의 단백질 분해효소는 인체내의 각종 염증(inflammatory) 혈전 또는 출혈(thrombotic or haemorrhagic conditions)증과 관련되어 있음이 오래전부터 알려져 왔다. 따라서 이러한 효소작용을 특이적으로 저해하는 물질은 상기의 증세에 치료제로서 사용될 가능성이 있다고 생각되어 미생물의 대사산물에서부터 protease inhibitor를 분리하였다. 그 중 분자량이 비교적 작은 물질인 leupeptin, chymostatin, antipain, elastanal 등을 *Streptomyces* 속 세균의 배양물로부터 추출분리하였다. 이러한 물질의 천연단백질 또는 합성된 간단한 기질에 대한 효소작용을 저해하는 정도를 측정한 결과 서로 다른 저해작용을 나타내고 있다고 보고되었다. 화학적 구조를 결정할 결과 몇 개의 peptide 결합을 가진 물질로서 우단의 -COOH 대신에 -CHO기가 들어있는 것이 공통된 점이라 하겠다. 이러한 공통점을 감안하여 새로운 구조를 가진 신물질들을 합성하려는 연구가 진행되고 있다.

한편 다른 종류의 protease enzyme인 elastase는 인체의 급성관절염(acute arthritis), 염증(inflammations), 폐기종(pulmonary emphysema), 췌장통증(pancreatitis) 등에 관련되어 있다. 인체의 granulocyte elastase 및 pancreatic elastase를 test enzyme으로 하여 이 작용을 특이적으로 저해하는 물질을 역시 미생물의 대사산물에서 분리하였다. Elastin은 granulocyte elastase에 아주 특이적으로 작용하여 단지 $1.3\mu\text{g/ml}$ 정도의 극소량에서도 전체 elastase 역가를 50% 이상 저해(ID_{50})하였다.

또 다른 종류의 protease인 (carboxyl pro-

tease or acid protease) pepsin은 위궤양 형성과 깊은 관련이 있다. Pepsin의 inhibitor는 casein을 기질로 하여 pepsin의 작용을 저해하는 물질을 탐색하는 것으로 분리하였는데, 특히 단백질을 제거한 미생물의 배양물에 파장 280 nm에서 흡광이 뚜렷한데에서 저해물질을 분리할 수 있었다. 그 생리적 활성은 다양한데 위궤양, 대뇌손상, 관절염 등의 치료제로서 사용가능성이 있다.

Amylase나 saccharase와 같은 glycosidases의 저해제는 당뇨병이나 과지단백성빈혈(hyperlipoproteinaemia) 또는 과지방부종(hyperlipidemia) 비만 등의 치료 또는 예방제로서 사용될 여지가 많다. 즉 전분 등의 분해가 늦어져 결국 탄수화물 흡수가 느려지게 되기 때문이다. 한 예로 밀에서 분리한 amylase 저해제(inhibitor)는 위 및 소장에서의 전분 분해가 늦어져 흡수가 늦어짐이 밝혀졌다. *Streptomyces* 속 세균이 amylase 저해물질을 생산한다. 이 amylase inhibitor는 두 종류로 분류되는데 하나는 단백질이며 열에 약하고 protease 등에 의하여 분해되어 역가가 상실되는 것이며 또 다른 하나는 열에 강하며 비단백질성으로 protease에 의하여 분해되지 않는다. 후자의 성질을 지닌 것이 실제적 응용에 유리하며 분자량이 큰 물질은 α -amylase에 대한 저해작용이 뚜렷하며 분자량이 작은 물질은 saccharase 즉, sucrase와 maltase의 작용을 저해한다. 이 두 물질은 상호간 깊은 관계가 있어 α -amylase inhibition의 역가가 떨어지면 상대적으로 saccharase의 역가가 상승하는 것으로 나타났다.

Lipid 합성에 관련되는 효소의 저해물질은 비만이나 과콜레스테롤증(hypercholesterolaemia) 또는 염증상태에 유효할 것으로 생각된다. 첫번째로는 cholesterol 생합성에 관계되는 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase를 저해하는 물질은 쥐에서 cholesterol의 합성이 저해됨이 밝혀졌다. 즉 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase에 대한 inhibitors 중 monacolin K (mevinolin)은 cholesterol 농도 저해제로서 곧 시판될 전망이다.

곰팡이의 성장을 억제하는 항생물질인 cerulenin도 그 작용 mechanism을 규명한 결과 fatty acid synthetase complex를 저해하는 것으

로 밝혀졌는데 그 중에서 β -ketoacyl-acyl carrier protein synthetase 와 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthetase 를 저해하는 것으로 yeast 의 경우에서 나타났는데 이 작용 mechanism 은 포유동물세포에서도 적용될 것으로 판단된다. 한편 prostaglandin synthesizing enzymes 에 대한 저해작용을 지닌 물질도 소염작용 및 진통작용을 나타낸다.

면역학분야의 연구가 신속히 성장함에 따라 면역약학 (immunopharmacology) 이라는 새로운 분야가 형성되었다. 면역기능을 항진시키는 물질 (immunostimulants) 또는 면역기능을 저하시키는 물질 (immunosuppressants) 들이 개발되어 이들 immuno-modulators 의 이용범위가 크게 넓어졌다.

Immunostimulants 로서는 (1) antigen 주입 시 그 immunogenicity 를 증가시키기 위하여 같이 사용하는 물질 (immunological adjuvants) (2) 숙주 내에서 특이적 면역반응을 증진시키는 물질 (immunopotentiators) (3) 숙주의 antigen 에 대한 면역반응을 특이적으로 증진시키는 물질 (immunostimulants) 로 구분된다. 한편 신체 일부의 이식 등을 수행할 때 일시적으로 면역기능을 저하시키는 immunosuppressants 의 개발도 가능한 것으로 판단된다.

세포표면에 존재하는 효소의 저해물질은 표면효소와 결합하는 능력이 있어 면역조절작용을 하게 된다. 표면효소로서 우선 aminopeptidase A, aminopeptidase B 의 두 효소는 lymphocytes 의 세포표면에 존재하는데 이 효소의 작용을 저해하는 물질을 미생물로부터 분리하였다. 이 물질은 세포의 표면에 결합하여 이 세포의 면역작용을 조절하게 된다. 실제로 이들 세포에 의하여 분해되는 β -naphthylamide 나 leucin β -naphthylamide 는 bestatin 에 의하여 경쟁적으로 (competitive inhibition) 저해되는 것이 확인되었다. Bestatin 에 의한 면역조절작용은 delayed-type hypersensitivity 를 증진시키며 동물의 anti-tumor agent 의 활성을 증진시키는 것으로 알려져 있다. 즉 쥐에서 서서히 자라는 암세포의 성장을 지연시키는 작용을 나타냈으며 한편 항암제인 adriamycin, bleomycin 등과 혼용하면 이들

항암제의 활성을 크게 증진시키는 것으로 보고되었다. 또다른 aminotransferase A 의 inhibitor 로 발견된 것은 amastatin 이라하여 amastatin 은 tetrapeptide 로 밝혀졌는데 이것은 cancer cell 의 aminotransferase A, B 및 leucin aminotransferase 의 활성을 저하시키므로 10-100 μ g 의 주사로써 antibody 를 생성하는 cell 의 수를 2.5~3.5배 증가시키고 있음이 밝혀졌다.

Streptomyces fulvoviridis var. *acarbovicus* 의 배양액에서 alkaline phosphatase 의 저해작용이 있는 물질을 미생물의 대사산물로부터 분리하였다. Forphenicine 으로 밝혀진 이 물질은 동물의 lymphocytes 와 결합하여 delayed-type hypersensitivity 촉진작용과, antibody-forming cell 의 수를 증진시키며 항종양성작용이 있음이 밝혀졌다.

Complement system 은 류마치스성 관절염 (rheumatoid arthritis), 신장사구체염 (glomerulonephritis) 및 기타 복합면역계질환 (immuno-complex disease) 에 관련이 있다. Kaise 등은 이 complement system 에 특이적으로 저해작용을 하는 물질 (k-76) 을 *Stachybotrys complementi* nov. sp. k-76 에서 분리하였는데 이 물질은 complement system 의 c-5 단계에서 작용하여 c-5 의 구조적 변화를 야기하여 불활성화시키는 것으로 보고하였다. 전술한 protease inhibitor 인 leupeptin, chymostatin, pepstatin, antipain 및 elastinal 등을 사람의 complement system 의 1 단계인 C1 의 subcomponent 인 C1s 를, leupeptin 은 C1r 과 haemolysis 를 억제하는 것으로 판단되었으며 이러한 protease inhibitor 가 관절염 및 기타의 염증에 치료효과가 있다고 보고하였다.

이상 항생물질 이외의 생리활성물질개발에 관한 최근 연구동향을 정리하였다. 이는 전세계의 많은 연구소에서 은밀히 진행되고 있는 연구의 방산일 각의 정도로서 현재의 모든 경향을 다 기술할 수 없는게 사실이다. 분명한 것은 세계가 신생리활성 물질의 창출을 위하여 부단한 연구가 계속되고 있고 그 주된 대상은 미생물의 대사산물이며 그 결과 아주 참신한 물질이 계속 출현될 것이다.