

## Soraphen 생합성 유전자군을 갖는 점액세균의 분리

이차율 · 현혜숙 · 조경연\*  
호서대학교 생명공학과 점액세균은행

**Isolation of Myxobacteria Carrying Soraphen Biosynthetic Gene Clusters. Lee, Chayul, Hyesook Hyun, and Kungyun Cho\***. *Myxobacteria Bank, Department of Biotechnology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea* – Polymerase chain reactin (PCR) could be a simple way to screen new microbial strains producing useful secondary metabolites if their biosynthetic genes are known and candidate strains to be screened are available. In this study, we have screened two myxobacterial strains, KYC3047 and KYC3076, carrying genes appeared to be biosynthetic genes of soraphen A, a potent antifungal substance, out of 50 cellulose degrading myxobacteria using PCR. The two strains were identified as *Sorangium cellulosum* based on morphological, physiological, and molecular biological characteristics. Both of the strains produced substances having strong antifungal activities as expected against *Candida albicans*, a causative agent of candidiasis, and *Colletotrichum acutatum*, a causative agent of anthracnose on pepper.

**Key words** : Myxobacteria, *Sorangium cellulosum*, soraphen

### 서 론

Soraphen A는 phenyl side ring을 갖는 18-membered macrolide polyketide로 점액세균 *Sorangium cellulosum* So ce26에서 처음 발견되었다[3]. Soraphen A는 강력한 항진균 물질로 진균의 acetyl-coenzyme A carboxylase(ACC)를 특이적으로 저해하지만[18] 식물에는 영향을 주지 않아 새로운 살균제로서 기대를 모았으나 동물실험에서 약한 teratogen 활성을 포함한 부작용이 발견되어 더 이상 상업적으로 개발되지는 않았다[4, 6]. 사람의 ACC는 지방산 대사에서 필수적인 역할을 수행하는 효소로 비만, 당뇨, 암 등과 같은 질병 치료제 개발의 중요한 표적이기도 하다[1, 19, 20]. 그런데, soraphen A는 ACC에 대한 독특한 저해기작을 보여 ACC의 작용기작 규명 및 새로운 ACC 저해제 개발에 대한 정보를 제공하기도 한다[15]. Soraphen 생합성 유전자군은 미국 Syngenta Biotechnology사의 연구팀에 의해 *S. cellulosum* So ce26로부터 클로닝되어 염기서열이 밝혀졌는데[8, 14], 이들은 클론된 유전자들을 이용하여 점액세균이 아닌 방선균에서 생합성을 유도하기도 하였다[21]. 또 다른 연구팀은 soraphen 유도체들을 생합성하기도 하였으며[5], 국내에서도 최근까지 soraphen을 화학적으로 합성하는 연구가 진행되고 있다[7, 9, 10]. 한편, 클로닝된 *S. cellulosum* So ce26의 soraphen A 생합성 유전자군은 약 54 kb에 걸쳐 soraphen core를 만드는 두 개의 type I polyketide synthase

(PKS)와 다른 여러 효소들을 암호화하고 있다[8].

유용한 이차대사산물을 생산하는 미생물의 탐색은 숙련된 연구자의 오랜 노력이 필요하다. 하지만 목적하는 이차대사산물의 생합성 유전자가 알려져 있는 경우에는 중합효소연쇄반응(PCR)에 의해 쉽게 목적하는 이차대사산물을 생산하는 미생물을 탐색할 수 있다.

본 연구에서는 soraphen을 생산하는 국내 토착균주 및 이의 생합성유전자를 확보하기 위한 첫 번째 단계로 본 연구실이 국내 토양에서 직접 분리한 *S. cellulosum* 균주들을 대상으로 PCR을 통해 soraphen A 생합성 유전자군을 갖는 균주를 탐색하였으며, 얻어진 균주를 대상으로 항진균 활성을 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용 균주

본 연구에 사용된 점액세균들은 21C 프론티어 미생물유전체활용기술개발사업을 통해서 분리되었으며, 국가지정연구소재은행의 하나인 점액세균은행을 통해서 관리되고 있는 균주들이다. 항진균 활성조사를 위해서는 *Candida albicans* KCTC7121과 선문대학교 윤성철 교수팀에 의해 분리된 *Colletotrichum acutatum* ACYSJ001[2]을 사용하였다.

#### 사용 배지 및 배양 조건

점액세균의 일반적인 배양에는 ST21P 또는 VY/2 평판배지를 사용하였으며, 이차대사산물 생산을 위해서는 CSG/1 배지를 사용하였다. 그리고 *C. albicans*의 액체배양에는 Sabouraud Dextrose Broth(SDB)를 사용하였고 고체배양은

\*Corresponding author  
Tel: 82-41-540-5627, Fax: 82-41-548-6231  
E-mail: kycho@hoseo.edu

nutrient agar(NA)를 사용하였다.

ST21P 배지는 0.1%  $K_2HPO_4$ , 0.002% yeast extract, 0.1%  $KNO_3$ , 0.1%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.1%  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0.02%  $FeCl_3$ , 0.01%  $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.1% 미량원소용액, 1% 환천을 함유한 배지(ST21)위에 멸균한 여과지(AVANTEC No. 1)를 올려놓아 준비하였다[13]. 이때 미량원소용액은 리터당 100 mg  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ , 20 mg  $CoCl_2$ , 10 mg  $CuSO_4$ , 10 mg  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ , 20 mg  $ZnCl_2$ , 5 mg  $LiCl$ , 5 mg  $SnCl_2 \cdot 2H_2O$ , 10 mg  $H_3BO_3$ , 20 mg  $KBr$ , 20 mg  $KI$ , 그리고 8 g EDTA  $Na-Fe^{3+}$  salt(trihydrate)를 넣어 제조하였다. VY/2 배지는 0.5% Baker's yeast, 0.1%  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 500 ng/L cyanocobalamine을 넣어 제조하였다[13]. CSG/1 배지(pH 7.4)는 한국생명공학연구원 손광희 박사연구팀에서 고안한 배지로 리터당 glucose 0.5 g, soluble starch 3 g, raffinose 1 g, casitone 2 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.5 g,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  1 g,  $K_2HPO_4$  0.25 g, vitamin  $B_{12}$  0.5 mg, 미량원소용액 4 mL을 넣어 준비하였다. 이때 미량원소용액은 리터당  $H_2SO_4$  10 mL,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  14.6 g,  $ZnCl_2$  2.0 g,  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  1.0 g,  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$  0.43 g,  $H_3BO_3$  0.31 g,  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$  0.24 g,  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$  0.24 g을 넣어 제조하였다.

점액세균은 모두 32°C 배양기에서 배양하였으며, 액체 배양은 200 rpm으로 진탕하면서 배양하였다.

#### Soraphen 생합성 유전자 탐색

Ligon 등에 의해 보고된 *S. cellulosum* So ce26의 soraphen A 생합성 유전자군 염기서열(GenBank accession number, U24241)을 이용하여 *sorA*와 *sorB* 유전자 중간부위를 각각 PCR 증폭할 수 있는 두 쌍의 oligonucleotide primer들을 디자인하여 합성하였다(Fig. 1). 그리고 이들 oligonucleotide들을 primer로 하고, 점액세균의 유전체 DNA를 주형으로 하여 PCR을 수행한 후, PCR 산물을 확인함으로써 soraphen 생합성 유전자군을 갖는 새로운 균주를 탐색하였다. Oligonucleotide 5'-GCTCCACGCAAGGCTCCCT-3'(C155)과 5'-TGGGGTCGGCTGTGAAGAGA-3'(C156)은 *sorA* 유전자의 중간부위 422 bp(PCR1)를 증폭할 수 있는 primer쌍이고, 5'-GCCCTCTCGCTTCTCTCGC-3'(C157)과 5'-CGGCTGATGAGGACGAGGTG-3'(C158)은 *sorB* 유전자의

중간부위 452 bp(PCR2)를 증폭할 수 있는 primer쌍이다(Fig. 1).

#### 16S rRNA 유전자 염기서열의 분석

16S rRNA 유전자 DNA는 야생점액세균으로부터 분리된 유전체 DNA를 주형으로 하고, 두 개의 oligonucleotide 5'-GAGTGTGCCGGCGAG-3'(27f), 5'-AGAAGGGGTATCAGC-3'(152r)를 사용하여 증폭하였다. PCR을 통해 증폭된 DNA 단편은 Solgent Co.(Korea)에 의뢰하여 DNA 염기서열을 결정하였다. 염기서열 결정에 사용된 DNA oligonucleotide는 Rainey 등에 의해 보고된 것을 사용하였다[11, 16]. 결정된 염기서열은 미국 National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 GenBank에 등록하였으며, KYC3047과 KYC3076의 GenBank accession number는 각각 FJ176770과 FJ176771이다. 16S rRNA 유전자 염기서열 분석에는 Clustal W 프로그램[17]을 사용하였다.

#### 형태학적 특성조사

단일세포 관찰에는 Nikon ECLIPSE E600 위상차현미경을 사용하였으며, 집락과 자실체의 관찰에는 Nikon SMZ1000 입체현미경을 사용하였다. 관찰된 영상은 Nikon D50 디지털 카메라를 사용하여 촬영하였다.

#### 생리활성 물질의 추출

ST21P 배지에서 7일간 배양한 점액세균을 Amberlite XAD-16(Sigma) 1 g을 함유한 CSG/1 배지 50 mL에 접종하여 32°C에서 5일간 진탕 배양하였다. 배양 후, XAD-16 레진만을 회수하여 증류수로 3회 세척하고, 2 mL methanol로 3회 반복 추출하였다. 그리고 추출물을 모두 합하여 증발 건조시킨 후, 1 mL의 methanol에 녹여 -80°C에 보관하였다.

#### 배양추출물의 활성조사

추출물 20  $\mu$ L를 흡수시킨 6 mm paper disc(AVANTEC)를 건조시킨 후,  $1 \times 10^6$ 개의 *C. albicans* 세포가 도말된 NA 배지 중앙에 올려놓고 32°C에서 3일간 배양하면서 성장이 억제되어 생성되는 투명환을 관찰하였다.

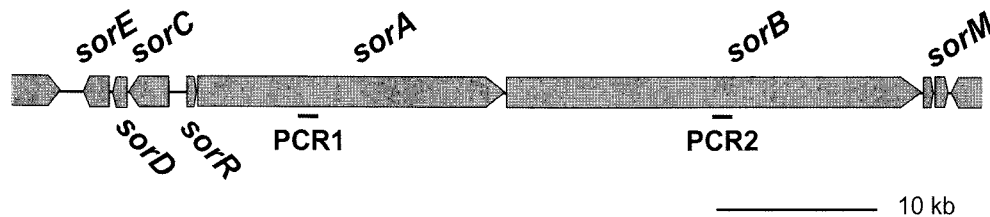


Fig. 1. Physical map of the soraphen biosynthetic gene cluster in *S. cellulosum* So ce26 and the position of the PCR fragments used to screen the strains carrying soraphen biosynthetic gene-like clusters. The map was deduced from the reported sequence in the database (GenBank accession number, U24241)[8].

결과 및 고찰

Soraphen 생합성 유전자를 가지고 있는 점액세균 탐색

Soraphen A는 셀룰로오스 분해성 점액세균 *S. cellulosum* So ce26에서 처음 분리된 이차대사산물로 강력한 항진균 활성이 있는 macrolide polyketide이다[3]. *S. cellulosum* So ce26의 soraphen A 생합성 유전자군은 미국 Syngenta Biotechnology사에 의해 클로닝되어 염기서열이 결정되었는데 [8](Fig. 1), 본 연구에서는 이들의 정보를 기반으로 이미 본 연구팀이 국내에서 분리한 셀룰로오스 분해성 점액세균 균주들로부터 soraphen 생합성 유전자군을 가지고 있는 새로운 균주를 탐색하고자 하였다. 이를 위해 먼저 보고된 *S. cellulosum* So ce26의 soraphen A 생합성 유전자군 염기서열을 이용하여 *sorA*와 *sorB* 유전자 중간부위를 각각 PCR 증폭할 수 있는 두 쌍의 oligonucleotide들을 합성하여 primer로 사용하고, 분리된 점액세균 균주의 유전체 DNA를 주형으로 하여 PCR을 수행함으로써 soraphen 생합성 유전자군을 갖는 새로운 균주를 탐색하고자 하였다. 본 연구팀에 의해 순수 분리된 50균주의 셀룰로오스 분해성 점액세균에 대해 제작한 두 쌍의 primer를 사용하여 PCR을 수행한 결과 Fig. 2에서 보인 바와 같이 균주 KYC3047과 KYC3076의 유전체 DNA를 주형으로 사용한 반응에서 예측한 크기의 PCR1과 PCR2 조각이 생성되었다.

하지만 이들 PCR 산물들이 비특이적인 PCR 증폭의 결과로 생성된 산물일 가능성도 존재하므로 이러한 가능성을 배제하기 위하여 생성된 PCR 산물의 DNA 염기서열을 분석하였다. 그 결과, C155와 C156 oligonucleotide를 PCR primer로 사용하고, KYC3047과 KYC3076의 유전체 DNA

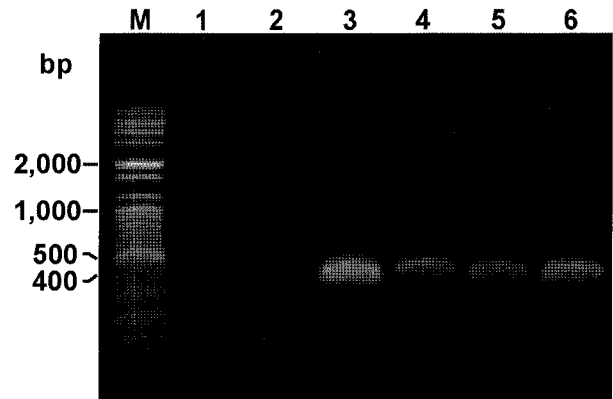


Fig. 2. Screening of myxobacteria carrying soraphen biosynthetic gene-like clusters by PCR. Genomic DNAs of KYC3060 (lane 1 and 2), KYC3047 (lane 3 and 4) and KYC3076 (lane 5 and 6) were used as DNA templates to amplify the 422 bp internal DNA fragment of *sorA* gene homologues (lanes 1, 3 and 5) and the 452 bp internal DNA fragment of *sorB* gene homologues (lanes 2, 4 and 6) by PCR. KYC3060 was a negative control. M, DNA size markers.

주형으로 사용하여 얻어진 두 PCR 조각(PCR1)은 모두 *sorA*의 중간부분이며, C157와 C158을 PCR primer로 사용하여 얻어진 두 PCR 조각(PCR2)은 *sorB*의 중간부위였음을 확인할 수 있었다. Fig. 3에서는 KYC3027과 KYC3076의 PCR1 염기서열을 *S. cellulosum* So ce26 *sorA* 유전자 중간부위, 즉 8,890번째 염기부터 9,294번째 염기까지(405 bp)의 서열과 비교한 것을 보였다. 그리고 Fig. 4에서는 KYC3047과 KYC3076의 PCR2 염기서열을 *S. cellulosum* So ce26 *sorB* 유전자 중간부위, 즉 3,275번째 염기부터 3,716번째 염기까지(442 bp)의 서열과 비교한 것을 보였다. 두 Figure에

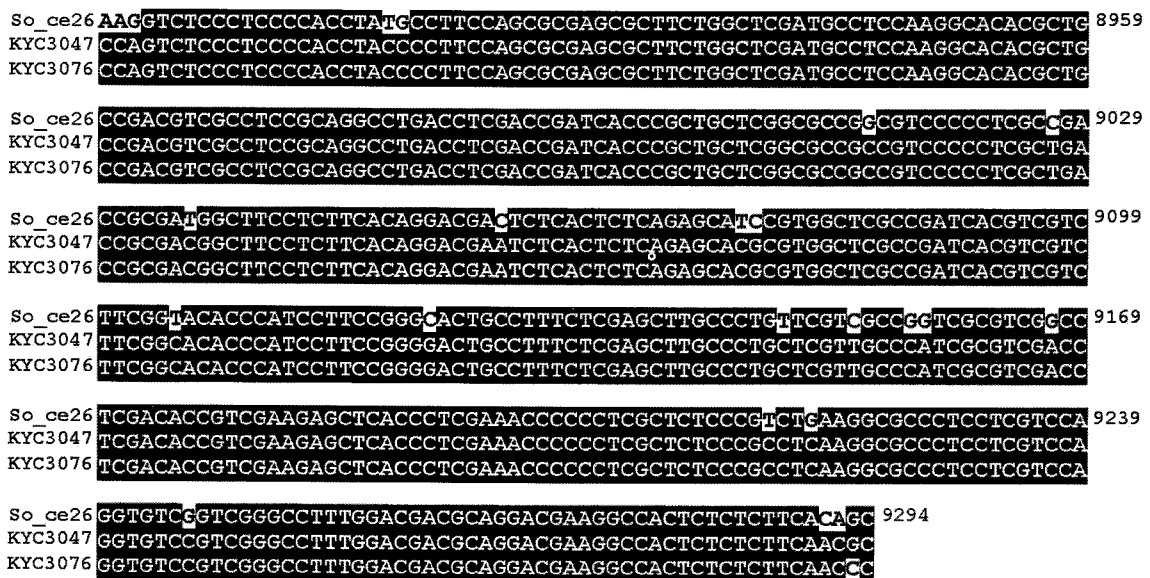


Fig. 3. DNA sequence alignment of PCR1 fragments of KYC3047 and KYC3076 with the internal DNA fragment of *sorA* from *S. cellulosum* So ce26. The numbers on the right of the sequence indicate nucleotide positions in the *sorA* gene. Conserved residues are inverted.

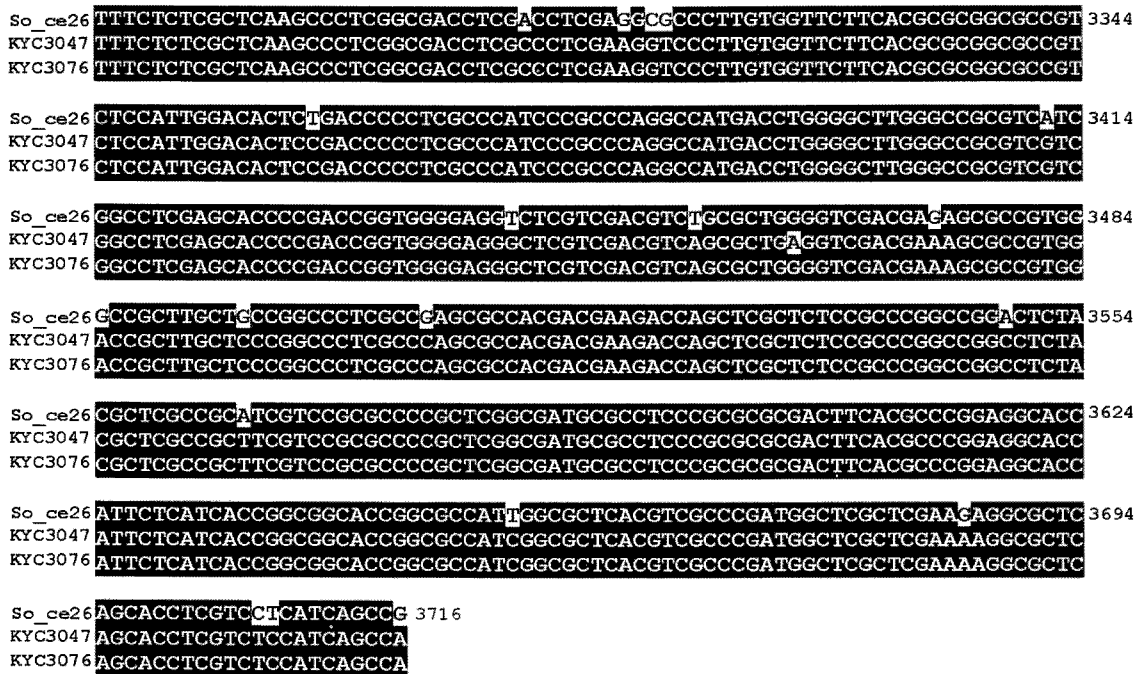


Fig. 4. DNA sequence alignment of PCR2 fragments of KYC3047 and KYC3076 with the internal DNA fragment of *sorB* from *S. cellulosum* So ce26. The numbers on the right of the sequence indicate nucleotide positions in the *sorB* gene. Conserved residues are inverted.

서 보인 바와 같이, KYC3047과 KYC3076의 PCR1 염기서열은 So ce26의 *sorA*와 94% 동일하였으며, PCR2 염기서열은 *sorB* 유전자와 95% 동일하였다. 이러한 결과는 KYC3047과 KYC3076가 *S. cellulosum* So ce26과 마찬가지로 *sorA*와 *sorB* 유전자를 포함하는 soraphen 생합성 유전자군을 갖는 균주일 가능성이 매우 높음을 보여주었다.

**분리균주들의 동정**

점액세균은 활주운동으로 이동하며, 다세포 자실체를 형성하는 그람 음성 토양세균으로 외형적 특성인 자실체, 포자, 집락 및 영양세포의 형태와 색에 의해 분류된다[12]. 특별히 *S. cellulosum*은 셀룰로오스를 유일한 탄소원으로 이용하여 자랄 수 있는 점액세균이므로 셀룰로오스 분해 능력이 분류의 중요한 기준이 된다. Soraphen 생합성 유전자를 가지고 있을 것으로 탐색된 균주 KYC3047과 KYC3076은 균주 분리 과정에서부터 셀룰로오스 분해 능력이 있는 것으로 확인된 균주이다. 두 균주는 모두 여과지, cellulose crystal, cellobiose 등을 유일한 탄소원으로 이용하여 자랄 수 있다. 그리고 두 균주가 형성하는 집락은 활주운동성으로 인해 *S. cellulosum* 특유의 형태로 세포의 집단(swarm)이 고체배지의 표면에 얇게 펼쳐있는 모습이였다. Fig. 5에서는 KYC3047과 KYC3076의 세포와 자실체 모습을 보였는데, 두 균주의 영양세포는 모두 *Sorangium* 속이 속한 *Polyangiaceae*과 특유의 간균형태이며, 자실체는 *S. cellulosum* 특유의 색과 모양이었다. Fig. 6에서는 KYC3047과 KYC3076의 16S

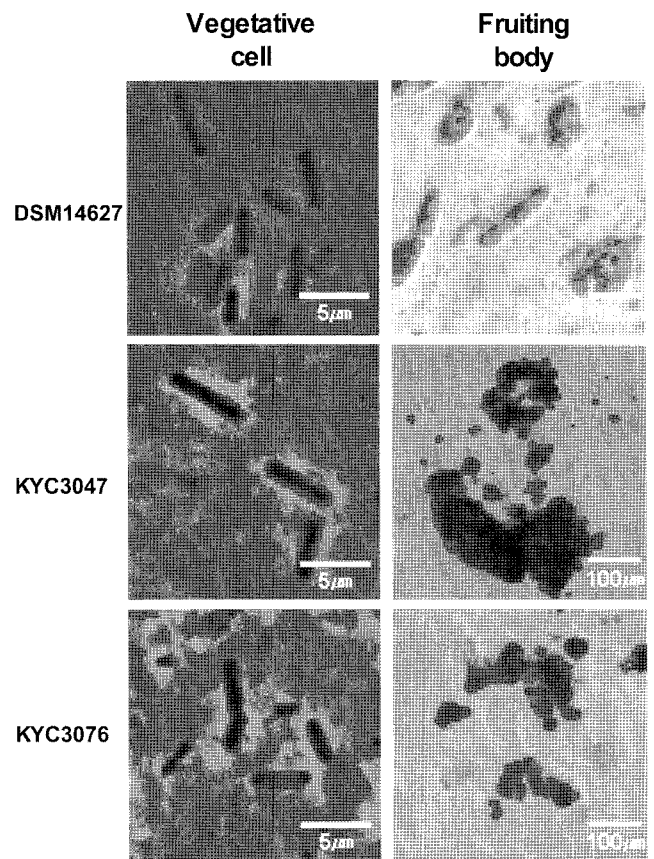
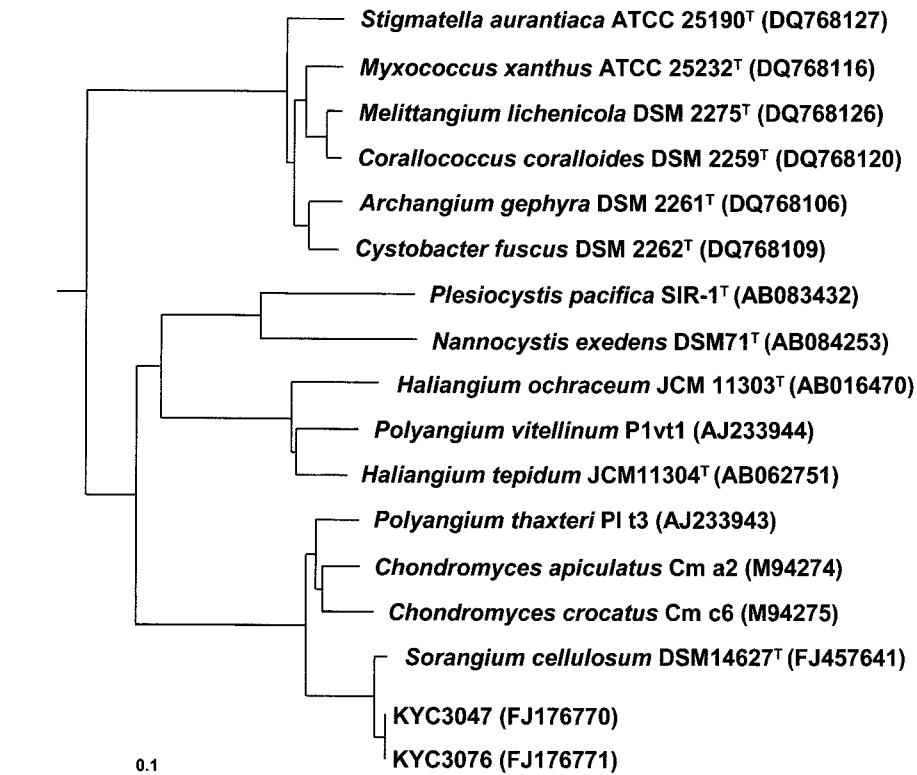


Fig. 5. Vegetative cells and fruiting bodies of the type strain of *S. cellulosum*, DSM14627, and the isolates.

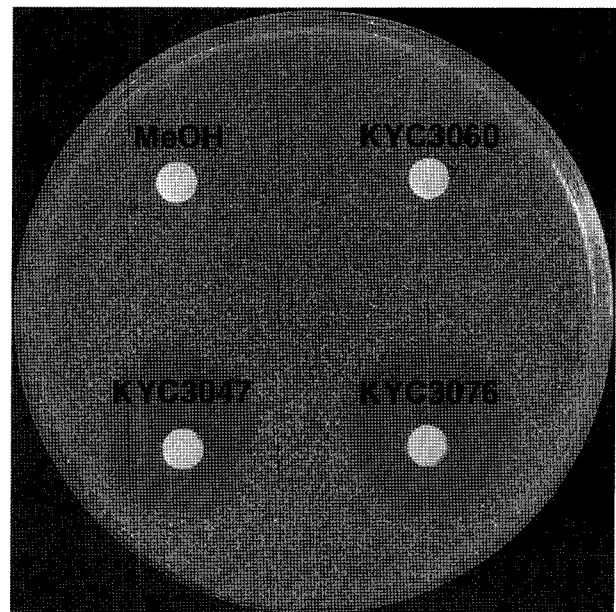


**Fig. 6. Phylogenetic dendrogram of the isolates based on 16S rRNA gene sequences.** The sequences were aligned by ClustalW[17] and the tree was constructed by the neighbour-joining method. Approximately 1,450 nucleotides were used for comparison. *Escherichia coli* ATCC 11775<sup>T</sup> (GenBank accession number, X80725) was used as an out-group (not shown). Scale bar, 0.01 substitutions per nucleotide position.

rRNA 유전자 염기서열을 분석한 결과를 보였는데, 두 균주 모두 *S. cellulosum*의 표준균주인 *S. cellulosum* DSM14627 [12]의 16S rRNA 유전자 염기서열과 99% 동일함을 보였다. 이러한 형태적, 생리적, 분자생물학적 특성들에 기초하여 본 연구에서는 균주 KYC3047과 KYC3076를 셀룰로스 분해성 점액세균인 *S. cellulosum*으로 동정하였다. KYC3047과 KYC3076은 각각 경기도 이천과 안성의 밭에서 분리된 균주로 16S rRNA 유전자 염기서열이 100% 동일하지 않으며, Fig. 3과 Fig. 4에서 보였듯이 *sorA*와 *sorB* 염기서열도 100% 동일하지 않으므로 서로 다른 균주로 판단된다.

#### 분리균주들의 항진균활성 능력

Soraphen은 강력한 항진균 활성을 갖는 물질이다. 따라서 두 균주 KYC3047과 KYC3076에서 탐색된 유전자들이 soraphen을 생합성하는 유전자라면 두 균주는 당연히 항진균 활성을 갖는 물질을 생산할 것이다. 이를 확인하기 위하여 본 연구에서는 두 균주의 배양추출물을 제조하고, 이들이 칸디다증을 유발하는 *C. albicans*의 성장을 저해하는지 조사하여 보았다. 그 결과 Fig. 7에서 보인 바와 같이, KYC3047과 KYC3076의 배양추출물이 *C. albicans*의 성장을 강하게 저해함을 확인할 수 있었다. 또, 고추탄저병을 유



**Fig. 7. Antifungal activity of the culture extracts of the isolates against *C. albicans*.** Paper discs absorbed with 20  $\mu$ L of each culture extract of KYC3060, KYC3047, and KYC3076 and then dried were placed on a NA plate spread with *C. albicans* and incubated 3 days at 32°C. *S. cellulosum* KYC3060 does not produce antifungal substance. The paper disc absorbed with 20  $\mu$ L of methanol and then dried was used as a control.

발하는 *C. acutatum*의 성장도 저해함을 확인하였다(결과 보이지 않음). 따라서 이러한 결과는 균주 KYC3047과 KYC3076에서 탐색된 유전자들이 실제 soraphen 생합성 유전자일 가능성이 매우 높음을 보여준다.

본 연구에서는 PCR에 의해 50균주의 셀룰로오스 분해성 점액세균으로부터 항진균 물질 soraphen의 생합성 유전자로 보이는 유전자를 가지는 두 점액세균 *S. cellulosum* KYC3047과 KYC3076을 선별하였는데, 생리활성 조사 결과 두 균주 모두 강한 항균활성을 갖는 물질을 생산함을 확인하였다. 선별된 균주에 대해서는 향후 실제 soraphen A를 생산하는지, 또는 다른 soraphen 유도체를 생산하는지가 분석될 것이며, soraphen 생산균주로 확인되면 생합성 유전자 클로닝의 재료로 사용될 것이다.

유용한 이차대사산물을 생산하는 미생물의 탐색은 숙련된 연구자의 오랜 노력과 분석비용이 필요하다. 특히 점액세균의 경우에는 이차대사산물 생산을 위한 배양조건이 까다롭고, 또 생산량도 극소량인 경우가 많기 때문에 새로운 균주의 탐색에 더욱 많은 노력이 요구된다. 하지만 PCR을 통해 균주를 선별한 본 연구 결과는 목표로 하는 이차대사산물의 생합성 유전자들에 대한 정보가 알려져 있는 경우 PCR을 통해 이들 이차대사산물을 생산하는 새로운 균주를 간편하게 탐색할 수 있음을 보여주었다.

## 요 약

생합성 유전자들이 알려져 있고 탐색할 후보 균주들이 확보되어있는 경우에 중합효소연쇄반응(PCR)은 유용한 이차대사산물을 생산하는 새로운 균주의 탐색에 있어서 간편한 방법이 될 수 있다. 본 연구에서는 중합효소연쇄반응에 의해 50균주의 셀룰로오스 분해성 점액세균으로부터 강력한 항진균 물질 soraphen의 생합성 유전자로 보이는 유전자를 가지는 두 점액세균 균주 KYC3047과 KYC3076를 선별하였다. 그리고 형태학적, 생리학적, 분자생물학적 특성에 의해 이들 균주들을 *S. cellulosum*로 동정하였다. 두 균주는 모두 예상한대로 칸디다증을 유발하는 *Candida albicans*와 고추 탄저병을 유발하는 *Colletotrichum acutatum*에 강한 항균활성을 갖는 물질을 생산하였다.

## 감사의 글

본 연구는 교육과학기술부 21세기 프론티어 미생물유전체 활용기술개발사업과 한국과학재단 국가지정연구소재은행지원사업의 지원에 의해 수행되었습니다.

## REFERENCES

1. Beckers, A., S. Organe, L. Timmermans, K. Scheys, A.

Peeters, K. Brusselmans, G. Verhoeven, and J. V. Swinnen. 2007. Chemical inhibition of acetyl-CoA carboxylase induces growth arrest and cytotoxicity selectively in cancer cells. *Cancer Res.* **67**: 8180-8187.

2. Chung, J., C. Lee, S.-C. Yun, and K. Cho. 2008. Screening of myxobacteria inhibiting the growth of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose on pepper. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 21-27 (in Korean with English abstract).

3. Gerth, K., N. Bedorf, H. Irschik, G. Hfle, and H. Reichenbach. 1994. The soraphens: a family of novel antifungal compounds from *Sorangium cellulosum* (Myxobacteria). *J. Antibiot.* **47**: 23-31.

4. Gerth, K., S. Pradella, O. Perlova, S. Beyer, and R. Mller. 2003. Myxobacteria: proficient producers of novel natural products with various biological activities - past and future biotechnological aspects with the focus on the genus *Sorangium*. *J. Biotechnol.* **106**: 233-253.

5. Hill, A. M. and B. L. Thompson. 2003. Novel soraphens from precursor directed biosynthesis. *Chem. Commun.* **21**: 1360-1361.

6. Kim, Y. S., W. C. Bae, and S. J. Back. 2003. Bioactive substances from myxobacteria. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31**: 1-12 (in Korean with English abstract).

7. Lee, H. W., I.-Y. Choi Lee, Y.-S. Kim, and S.-U. Park. 2002. An efficient synthesis of C3-C9 segment of soraphen A. *Bull. Korean Chem. Soc.* **23**: 1197-1198.

8. Ligon J, S. Hill, J. Beck, R. Zirkle, I. Molnr, J. Zawodny, S. Money, and T. Schupp. 2002. Characterization of the biosynthetic gene cluster for the antifungal polyketide soraphen A from *Sorangium cellulosum* So ce26. *Gene* **285**: 257-267.

9. Park, S. H. and H. W. Lee. 2008. Synthetic studies on soraphen A: synthesis of the C1-C9 hemiketal segment. *Bull. Korean Chem. Soc.* **29**: 1445-1446.

10. Park, S. H., H. W. Lee, S.-U. Park. 2004. Synthesis of C3-C9 sulfonyl derivative of soraphen A. *Bull. Korean Chem. Soc.* **25**: 1613-1614.

11. Rainey, F. A., Rainey, W. N., Kroppenstedt, R. M., and Stackbrandt, E. 1996. The Genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: proposal of *Nocardiopsaceae* fam. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **46**: 1088-1092.

12. Reichenbach, H. 2005. Myxococcales. pp. 1059-1144. In Brenner, D. J., N. R. Krieg, J. T. Staley, and G. M. Garrity (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. Bergey's Manual Trust, East Lansing, MI.

13. Reichenbach, H. and M. Dworkin. 1992. The myxobacteria. pp. 3416-3487. In Balows, A., H. G. Trper, M. Dworkin, W. Harder, and K. H. Schleifer (eds.), *The Prokaryotes*, 2nd ed. vol. IV, Springer Verlag, New York.

14. Schupp, T., C. Toupet, B. Cluzel, S. Neff, S. Hill, J. J. Beck, J. M. Ligon. 1995. A *Sorangium cellulosum* (myxobacterium) gene cluster for the biosynthesis of the macrolide antibiotic soraphen A: cloning, characterization, and homology to polyketide synthase genes from actinomycetes. *J.*

- Bacteriol.* **177**: 3673-3679.
15. Shen, Y., S. L. Volrath, S. C. Weatherly, T. D. Elich, and L. Tong. 2004. A mechanism for the potent inhibition of eukaryotic acetyl-coenzyme A carboxylase by soraphen A, a macrocyclic polyketide natural product. *Mol. Cell.* **16**: 881-891.
  16. Sprer, C., H. Reichenbach, and E. Stackebrandt. 1999. The correlation between morphological and phylogenetic classification of myxobacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **3**: 1255-1262.
  17. Thompson, J. D., D. G. Higgins, and T. J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* **22**: 4673-4680.
  18. Vahlensieck, H. F., L. Pridzun, H. Reichenbach, and A. Hinnen. 1994. Identification of the yeast ACC1 gene product (acetyl-CoA carboxylase) as the target of the polyketide fungicide soraphen A. *Curr. Genet.* **25**: 95-100.
  19. Zhang, H., B. Tweel, J. Li, and L. Tong, L. 2004. Crystal structure of the carboxyltransferase domain of acetyl-coenzyme A carboxylase in complex with CP-640186. *Structure* **12**: 1683-1691.
  20. Zhang, H., Z. Yang, Y. Shen, and L. Tong. 2003. Crystal structure of the carboxyltransferase domain of acetyl-coenzyme A carboxylase. *Science* **299**: 2064-2067.
  21. Zirkle, R., J. M. Ligon, and I. Molnr I. 2004. Heterologous production of the antifungal polyketide antibiotic soraphen A of *Sorangium cellulosum* So ce26 in *Streptomyces lividans*. *Microbiology* **150**: 2761-2774.

(Received Nov. 12, 2008/Accepted Feb. 3, 2009)