



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0090081
(43) 공개일자 2009년08월25일

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01) *C12N 1/21* (2006.01)

C12N 1/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2008-0015342

(22) 출원일자 2008년02월20일

심사청구일자 2009년03월02일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천 남구 용현동 253 인하대학교

주식회사 핸슨바이오텍

대전광역시 유성구 전민동 461-6

(72) 발명자

김웅수

서울 송파구 방이동 올림픽선수촌아파트 120-501

김병균

서울 동대문구 회경1동 183-104 구암빌라 102

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이원희

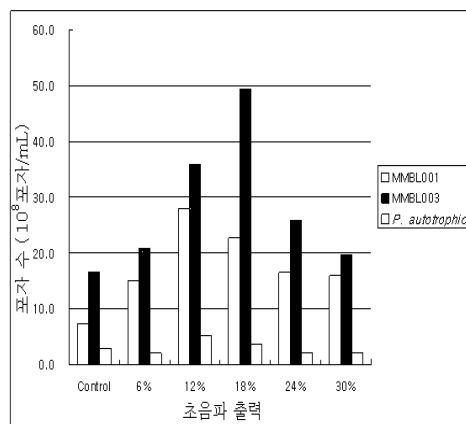
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 초음파 파쇄에 의한 항진균 폴리엔 생성 방선균의 포자형성최적화

(57) 요약

본 발명은 초음파 파쇄에 의한 항진균 폴리엔(antifungal polyene) 생성 방선균(actinomycete)의 포자형성 최적화에 관한 것으로, 보다 상세하게는 항진균 폴리엔 생산 방선균을 초음파 파쇄기를 이용하여 충격을 주면 단일 포자(spore) 형태로 전환될 수 있고, 특정 초음파 파쇄조건에서 최적의 포자 전환 효율을 가지므로 높은 농도의 포자 생산이 가능하므로 미생물농약으로서 유용하게 이용될 수 있다.

대표도 - 도3



(72) 발명자

이미진

인천 남구 용현4동 49-21번지 뉴캐슬빌 302호

한규범

대전시 유성구 신성동 럭키하나아파트 102동 1002호

특허청구의 범위

청구항 1

- 1) 항진균 폴리엔 생성 방선균을 배양하는 단계;
- 2) 단계 1)의 배양 과정에 생성되는 균사체를 초음파로 파쇄하는 단계; 및
- 3) 단계 2)의 초음파 파쇄 후 변환 포자를 회수하는 단계를 포함하는 초음파 파쇄를 이용한 항진균 폴리엔 생성 방선균의 포자형성 방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 단계 1)의 항진균 폴리엔 생성 방선균은 슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*) 또는 스트렙토마이세스속(*Streptomyces sp.*)인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 단계 1)의 배양은 20 내지 40 ℃에서 150 내지 250 rpm으로 10 내지 20일 동안 배양하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 단계 2)의 초음파는 700 W를 100%로 하여 6 내지 24% 출력으로 파쇄하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제 1항의 방법으로 제조된 동결건조 전, 후 모두 항진균 활성을 가지는 포자.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

- <1> 본 발명은 초음파 파쇄에 의한 항진균 폴리엔(antifungal polyene) 생성 방선균(actinomycete)의 포자형성 최적화에 관한 것으로, 보다 상세하게는 초음파 파쇄기를 이용한 항진균 폴리엔 생산 방선균의 포자형성 방법 및 상기 방법의 최대 효율을 위한 초음파 파쇄의 조건에 관한 것이다.

배경 기술

- <2> 사람, 가축 및 작물에는 해가 없으면서 대상 병해충을 효과적으로 방제할 수 있는 미생물 유래 생물농약은 화학농약의 과도한 사용으로 인한 환경오염을 최소화할 수 있다는 장점이 있다(Lee, J. H. et al., *Kor J Env Hlth.* 31, 31-38, 2005; Sudakin, D. L., *Toxicol Rev.* 22, 83-90, 2003). 현재 아버멕틴(ivermectin)계 농업용 항생제, 바실러스 투린지엔시스(*Bacillus thuringiensis*, Bt) 및 배큘로바이러스(baculovirus) 등을 포함한 다양한 천연 화합물들이 개발 및 활용되고 있으며, 최근에는 재조합 유전자 기술을 이용한 신규 생물농약의 발굴 및 효과적 생산을 위한 실용화 연구도 매우 활발하게 진행되고 있다(Yoon, Y. J. et al., *Appl Microbiol Biotechnol.* 63, 626-634, 2004; Lee, J. et al., *J Biosci Bioeng.* 89, 606-608, 2000; Yang, X. M. *Biotechnol Appl Biochem.* 28, 95-98, 1998).
- <3> 항진균 및 항바이러스 활성을 지닌 폴리엔 항생제는, 일반적으로 20 내지 40개의 탄소로 이루어진 거대한 마크로락톤(macrolactone) 링 구조를 지니며, 분자 내에 약 3 내지 8개의 접합된 이중결합(conjugated double bond)을 갖는 전형적인 유형 I 폴리케타이드 매크로라이드(polyketide macrolide) 화합물이다(도 1 참조).
- <4> 현재까지 보고된 대부분의 폴리엔 계열의 항생물질들은 그람 양성 토양미생물인 방선균(actinomycetes)에 의해 생합성 된다고 알려져 있으며, 진균류의 세포막에 존재하는 스테롤(sterol)과 결합하고 채널(channel)을 형성하여 K^+ 및 Mg^{2+} 등의 세포 내 성분을 세포 외로 누출시키는 대사장애를 일으킴으로써, 곰팡이 및 효모와 같은 진균류에 대한 우수한 항진균 활성을 갖는다고 알려져 있다(Aparicio, J. F. et al., *Appl Microbiol Biothchnol.*

61, 179-188, 2003; Zotchev, S. B., *Curr Med Chem.* 10, 211-223, 2003).

<5> 스트렙토마이세스 리디쿠스(*Strptomyces lydicus*)의 포자를 이용한 생물농약 상업화의 성공사례가 최근 보고됨을 계기로 다양한 생리활성을 지닌 방선균의 발굴 및 실용화 연구의 필요성이 제기되고 있다(Crawford, D. L. et al., *SIM NEWS*, 55, 88-95, 2005). 포자형성 능력을 갖는 방선균은 발아하면 식물이 뿌리를 내리듯이 토양 또는 배지 밑으로 자라는 기질 균사체(substrate mycelia)를 형성하고, 이후 일정 시간이 지나 영양분의 고갈과 같은 외부로부터의 자극이 주어지면 기질 균사체를 바탕으로 위로 자라는 기중균사(aerial mycelia) 형태를 띠면서 다시 포자를 형성하는 독특한 생활사를 가진다(Bibb, M. J., *Microbiology*. 142, 1335-1344, 1996; Ohinishi, Y., et al., *FEMS Microbiol Lett.* 216, 1-7, 2002). 영양물질의 결핍 또는 건조한 환경에서의 포자형성 능력은 방선균 유래 생물농약 제제화에 있어 가장 큰 장점이며, 건조, 열 및 기타 화학물질에도 안정성을 보임으로써 장기보관시의 활성유지 및 다른 화학 제제와의 혼합 적용에도 유리함을 가지게 한다(Crawford, D. L. et al., *SIM NEWS*, 55, 88-95, 2005). 이러한 장점으로 인해 방선균은 식물의 성장과 질병으로부터의 방제를 위한 중요한 자원으로 오랫동안 연구되어왔지만, 토양 진균 방제에 대한 방선균의 생태학적 이해 부족 및 제제화의 어려움 등으로 앞서 언급한 스트렙토마이세스 리디쿠스를 제외하고는 대부분 상업화에 실패하였다(Doumbou, C. L. et al., *Phytoprotection* 82, 85-102, 2002; Whipps, J. M., *Adv. Bot. Res.* 26, 1-134, 1997).

<6> 이에, 본 발명자들은 신규 항진균 폴리엔 생성 방선균주에 초음파 파쇄기를 이용한 충격을 주어 단일 포자 형태로 전환하는 방법을 규명하고, 상기 방법에 있어서 최적의 포자 전환 효율을 갖는 초음파 파쇄 조건을 확립함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<7> 본 발명의 목적은 초음파 파쇄를 이용한 항진균 폴리엔 생성 방선균의 포자형성 방법 및 상기 방법에 의해 제조된 포자를 제공하는 것이다.

과제 해결수단

<8> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은

<9> 1) 항진균 폴리엔 생성 방선균을 배양하는 단계;

<10> 2) 단계 1)의 배양 과정에 생성되는 균사체에 초음파로 파쇄하는 단계; 및

<11> 3) 단계 2)의 초음파 파쇄 후 변환 포자를 회수하는 단계를 포함하는 초음파 파쇄를 이용한 항진균 폴리엔 생성 방선균의 포자형성 방법을 제공한다.

<12> 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 동결건조 전, 후 모두 항진균 활성을 가지는 포자를 제공한다.

효 과

<13> 본 발명의 초음파 파쇄에 의한 항진균 폴리엔 생성 방선균의 포자형성 방법은 미생물농약으로서 폴리엔 생산 균주의 실용화를 제시하였고 포자 형성 균주의 상업적 적용에도 기여할 수 있다. 또한, 본 발명의 방법에 의해 생산된 포자는 장기보관을 위한 동결건조 및 항진균 활성을 가짐으로써 미생물농약 제제화에 유용하게 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<14> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<15> 본 발명은

<16> 1) 항진균 폴리엔 생성 방선균을 배양하는 단계;

<17> 2) 단계 1)의 배양 과정에 생성되는 균사체에 초음파로 파쇄하는 단계; 및

<18> 3) 단계 2)의 초음파 파쇄 후 변환 포자를 회수하는 단계를 포함하는 초음파 파쇄를 이용한 항진균 폴리엔 생성 방선균의 포자형성 방법을 제공한다.

- <19> 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 항진균 폴리엔 생성 방선균은 슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*) 또는 스트렙토마이세스속(*Streptomyces sp.*)인 것이 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <20> 본 발명자들은 선행연구에서 폴리엔 생합성에만 특이적으로 관여하는 사이토크롬 P450 하이드록시라제(Cytochrome P450 hydroxylase) 유전자를 PCR 프라이머(primer)로 사용하는 '방선균 유전체 스크리닝 전략'을 성공적으로 개발하였고, 상기 유전체 스크리닝 방법을 이용하여 기존에 밝혀지지 않은 3 종류의 신규 폴리엔 생산 방선균주[슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*), 스트렙토마이세스속(*Streptomyces sp.*) MMBL001 및 MMBL003]를 확보하였다(Lee, M. Y. et al., *J Ind Microbiol Biotechnol*, **33**, 84-87, 2006) (도 2 참조).
- <21> 상기 방법에 있어서, 단계 1)의 배양은 10 내지 20일 동안 배양하는 것이 바람직하고 15일 배양하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <22> 상기 배양의 배양온도는 20 내지 40℃인 것이 바람직하고 30℃인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다. 또한, 상기 배양은 150 내지 250 rpm으로 진탕하는 것이 바람직하나 200 rpm으로 진탕하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <23> 본 발명자들은 상기 3종의 폴리엔 생산 방선균주(*Pseudonocardia autotrophica*, *Streptomyces sp.* MMBL001, MMBL003)를 R2YE 고체배지에서 4℃로 단기 보관하였고, 20% 글리세롤(glycerol)의 포자 현탁액(suspension)에서 -70℃로 장기 보관하였다. 또한, 동결건조 상태에서는 상온에 보관하였으며, 배양시 30℃, 200 rpm으로 15일간 배양하였다.
- <24> 상기 방법에 있어서, 단계 2)의 초음파 파쇄는 700 W를 100%로 하여 6 내지 24% 출력을 사용하는 것이 바람직하고 12 내지 18% 출력으로 사용하는 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <25> 상기 방법에 있어서, 단계 3)의 회수는 유리 주사기 필터를 이용하는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- <26> 본 발명자들은 방선균 균주별 초음파 파쇄 후 포자 전환율을 알아보기 위해 상기 3종의 폴리엔 생산 방선균주(*Pseudonocardia autotrophica*, *Streptomyces sp.* MMBL001, MMBL003)의 배양과정에 생성된 환(pellet) 형태의 균사체를 초음파 파쇄기를 이용하여 최대 700 W를 100%로 하여 0, 6, 12, 18, 24 및 30%의 출력으로 초음파 파쇄한 후 포자만을 회수하여 포자 수를 측정하였다. 그 결과, 스트렙토마이세스속 MMBL001은 12% 출력의 초음파 파쇄를 하였을 때 가장 효율적인 포자로의 전환이 이루어졌으며, 이는 초음파 파쇄 없이 포자를 회수했을 경우에 대비하여 약 389%에 해당하는 회수율로 측정되었다. 또한, 스트렙토마이세스속 MMBL003은 18% 출력에서 가장 효율적으로 전환되었으며 초음파 파쇄 없이 포자를 회수했을 경우에 대비하여 약 298%에 해당하는 회수율로 측정되었다. 아울러, 슈도노카르디아 오토트로피카는 12% 출력에서 가장 효율적으로 전환되었으며 초음파 파쇄 없이 포자를 회수했을 경우에 대비하여 약 186%에 해당하는 회수율로 측정되었다(도 3 참조). 최대 전환 출력 이상으로 초음파 파쇄를 하였을 경우, 포자 회수 효율은 오히려 감소하였고 이는 과도한 초음파에 의한 세포들의 사멸에 기인하는 것을 확인하였다. 또한, 배양부피 및 배양시간의 변화에서도 각 균주들의 최적의 포자 회수율은 유사하게 측정되었다. 따라서, 포자 수확을 위한 최적의 조건은 배양 조건보다는 각각의 방선균주의 특성에 따라서 다르게 결정됨을 확인할 수 있었다.
- <27> 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조된 포자를 제공한다.
- <28> 상기 포자는 동결건조 전 대비 후의 생존률이 15 내지 70%인 것이 바람직하고 19 내지 66%인 것이 더욱 바람직하나 이에 한정되지 않는다.
- <29> 본 발명자들은 동결건조 후 생존률의 변화를 알아보기 위해 상기 회수된 포자를 동결건조한 후생균수를 측정하였다. 그 결과, 세균주 모두 동결건조로 인한 세포 생존률의 감소가 관찰되었으나, 스트렙토마이세스속 MMBL003은 스트렙토마이세스속 MMBL001 및 슈도노카르디아 오토트로피카에 비해 약 3배의 상대적으로 높은 생존률을 보였다(표 1 참조). 따라서 스트렙토마이세스속 MMBL003은 생물농약 제제화로의 가능성이 가장 우수하다고 판단되며, 스트렙토마이세스속 MMBL003에 특성화된 동결 보호제를 선별한다면 추가적인 생존률 증가도 기대할 수 있다(Kuznetsov, V. D. et al., *Mikrobiologiya*, **46**, 318-323, 1977).
- <30> 상기 포자는 동결건조 전, 후 모두 항진균 활성을 가지는 것이 바람직하나 이에 한정되는 것은 아니다.
- <31> 본 발명자들은 동결건조 후의 각 균주들의 항진균 활성 유지 여부를 규명하기 위하여, 캔디다 알비칸스를 대상으로 동결건조 전, 후의 항진균 활성을 측정하여 비교하였다. 그 결과, 세 균주 모두 동결건조 전, 후의 배양

액으로부터 캔디다 알비칸스에 대한 명확한 항진균 활성이 관찰되었다(도 4 참조). 따라서 스트렙토마이세스속 MMBL001, 스트렙토마이세스속 MMBL003 및 슈도노카르디아 오토트로피카는 초음파 파쇄 및 동결건조의 처리 후에도 항진균 활성이 변함없이 유지됨을 알 수 있다.

실시예

<32> 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 상세히 설명한다.

<33> 단, 하기 실시예는 본 발명을 구체적으로 예시하는 것이며, 본 발명의 내용이 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<실시예 1> 균주의 배양

<35> 본 발명자들은 선행연구에서 폴리엔 생합성에만 특이적으로 관여하는 사이토크롬 P450 하이드록시라제(Cytochrome P450 hydroxylase) 유전자를 PCR 프라이머(primer)로 사용하는 '방선균 유전체 스크리닝 전략'을 성공적으로 개발하였고, 상기 유전체 스크리닝 방법을 이용하여 기존에 밝혀지지 않은 3 종류의 신규 폴리엔 생산 방선균(*Pseudonocardia autotrophica*, *Streptomyces* sp. MMBL001, MMBL003)를 확보하였고, 상기 균주들은 KRIIB 소속 MRDB(미생물자원데이터베이스(www.mrdb.or.kr))에 기탁하였다(MMBL001의 기탁명: MRDB0301, MMBL003의 기탁명: MRDB264)(Lee, M. Y. et al., *J Ind Microbiol Biotechnol*, **33**, 84-87, 2006)(도 2).

<36> 상기 3종의 폴리엔 생산 방선균인 슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*)(KCTC9441), 스트렙토마이세스속(*Streptomyces* sp.) MMBL001 및 스트렙토마이세스속 MMBL003를 R2YE 고체배지[103 g 슈크로즈(sucrose), 0.25 g K₂SO₄, 10.12 g MgCl₂·6H₂O, 10 g 글루코즈(glucose), 0.1 g 디프코 카사미노산(Difco casamino acids), 2 mL 미량원소용액(trace element solution), 5 g 효모 추출물(yeast extract), 5.73 g TES 버퍼(buffer), 22 g 아가(agar)를 증류수 1 L에 녹여 멸균한 후 1 mL KH₂PO₄(0.5%), 0.4 mL CaCl₂·H₂O(5M), 1.5 mL L-proline(20%), 0.7 mL NaOH(1N) 첨가]에서 포장상태로 4 °C에서 단기 보관하였으며, 중장기 보관으로는 20% 글리세롤(glycerol)의 포자 현탁액(spore suspension)으로 -70 °C에서 보관하였다. 또한, 동결건조 상태에서는 상온에 보관하였으며, 배양시 R2YE 25 mL를 차폐 플라스크(baffled flask)에 접종하여 30 °C, 200 rpm으로 15일간 배양하였다.

<실시예 2> 방선균 균주별 초음파 파쇄 후 포자 수 비교

<38> 본 발명자들은 상기 <실시예 1>의 배양과정에 생성된 환(pellet) 형태의 균사체를 초음파 파쇄기(Ulssco Hitech. Co. Korea)를 이용하여 포자 형태로 전환시켰다. 15일간 배양 후 최대 700 W를 100%로 하여 0, 6, 12, 18, 24 및 30%의 출력으로 환(pellet) 형태의 균사체를 초음파 파쇄하였다. 상기 초음파 파쇄의 조건은 상온에서 2초간 2회 파쇄하였고 펄스의 OFF 시간은 3초간 하였다. 파쇄 후 탈지면이 들어간 멸균된 유리 주사기 필터를 이용하여 포자만을 회수하였다. 상기 회수방법은 참고문헌(Kieser, T. et al., *Practical Streptomyces Genetics*. The John Innes Foundation, 2000)에 기재되어 있는 방법을 이용하였다. 회수한 포자를 다시 R2YE 고체 배지에 도말하여 활성을 갖는 포자의 수를 측정하였다.

<39> 그 결과, 스트렙토마이세스속(*Streptomyces* sp.) MMBL001은 12% 출력의 초음파 파쇄를 하였을 때 가장 효율적인 포자로의 전환이 이루어졌으며, 이는 초음파 파쇄 없이 포자를 회수했을 경우에 대비하여 약 389%에 해당하는 회수율로 측정되었다. 또한, 스트렙토마이세스속 MMBL003는 18% 출력에서 가장 효율적으로 전환되었으며 초음파 파쇄 없이 포자를 회수했을 경우에 대비하여 약 298%에 해당하는 회수율로 측정되었다. 아울러, 슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*)는 12% 출력에서 가장 효율적으로 전환되었으며 초음파 파쇄 없이 포자를 회수했을 경우에 대비하여 약 186%에 해당하는 회수율로 측정되었다(도 3). 최대 전환 출력 이상으로 초음파 파쇄를 하였을 경우, 포자 회수 효율은 오히려 감소하였고 이는 과도한 초음파에 의한 세포들의 사멸에 기인하는 것을 확인하였다. 또한, 배양부피 및 배양시간의 변화에서도 각 균주들의 최적의 포자 회수율은 유사하게 측정되었다.

<실시예 3> 동결건조 후 세포 생존률의 변화 측정

<41> 본 발명자들은 상기 <실시예 2>에서 회수된 포자를 같은 부피의 10% 탈지유(skim milk)를 동결보호제로 사용하여 장기보존을 위한 동결건조를 수행하였다. 시료를 -70 °C 냉장고에서 24시간 냉동시킨 후 동결건조기(freezer dryer)(Ilshin Lab Co., Ltd. Korea)의 셀(cell)에 넣고 실온(20 ~ 25 °C)에서 응축기 온도 -70 °C, 압력 10 mm Torr의 조건하에서 24시간 동결 건조하였다. 동결건조된 포자들의 생존도를 측정하기 위하여, 이들 포자를 다

시 도말하여 생균수를 측정하였다.

<42> 그 결과, 세균주 모두 동결건조로 인한 세포 생존률의 감소가 관찰되었으나, 스트렙토마이세스속(*Streptomyces* sp.) MMBL003은 스트렙토마이세스속(*Streptomyces* sp.) MMBL001 및 슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*) 보다 약 3배의 상대적으로 높은 생존률을 보였다(표 1).

표 1

<43> 동결건조 전, 후 포자 세포 생존률

종(Strain)	동결건조 전 (10 ⁷ 포자/mL)	동결건조 후 (10 ⁷ 포자/mL)	생존률 (동결건조 후/ 동결건조 전)
스트렙토마이세스속 MMBL001	154	29.4	0.19
스트렙토마이세스속 MMBL003	272	179	0.66
슈도노카르디아 오토트로피카	5.13	1.19	0.23

<44> <실시예 4> 동결건조 후 항진균 활성의 변화 측정

<45> 본 발명자들은 상기 <실시예 3>에서 동결건조된 포자들을 R2YE 25 mL에 콜로니(colony)를 접종하여 5일간 배양한 후 같은 부피의 부탄올(buthanol)로 추출한 후 증발하였고, 1 mL의 메탄올(methanol)에 녹여 캔디다 알비칸스(*Candida albicans*)(KCTC7965)를 대상으로 항진균 활성을 알아보았다. 단, 슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*)의 경우, R2YE 아가(agar) 배지에 도말한 후 1 부피(volume)의 부탄올을 사용해 추출하였다. 생물학적 정량(Bioassay)에 사용된 배지는 YM 고체배지[3 g 효모 추출물(yeast extract), 3 g 맥아 추출물(malt extract), 5 g 펩톤(peptone), 10 g 글루코즈(glucose), 15 g 아가(agar)를 증류수 1 L에 녹여 멸균]를 사용하였다. 캔디다 알비칸스가 접종된 YM 고체배지에 6 mm 메탄올 추출물 디스크(methanol extract disc, Watman사)를 이용하여 저해 정도를 확인하였다. 스트렙토마이세스속 MMBL001 및 스트렙토마이세스속 MMBL003은 R2YE 액체배지에 5일간 배양한 후 추출하였고, 슈도노카르디아 오토트로피카는 R2YE 고체배지에서만 폴리엔 화합물이 측정되었기에 R2YE 고체배지에서 도말 후 아가(agar) 추출을 하였다.

<46> 그 결과, 세 균주 모두 동결건조 전, 후의 배양액으로부터 캔디다 알비칸스에 대한 명확한 항진균 활성이 관찰되었다(도 4). 따라서 스트렙토마이세스속 MMBL001, 스트렙토마이세스속 MMBL003 및 슈도노카르디아 오토트로피카는 초음파 파쇄 및 동결건조의 처리 후에도 항진균 활성이 변함없이 유지됨을 알 수 있다.

도면의 간단한 설명

<47> 도 1은 항진균 및 항바이러스 활성을 지닌 폴리엔 항생제의 종류 및 이의 구조를 나타내는 그림이다.

<48> 도 2는 3종의 신규 폴리엔 생성 방선균주를 보여주는 그림이다:

<49> A는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) MMBL001;

<50> B는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) MMBL003; 및

<51> C는 슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*).

<52> 도 3은 신규 폴리엔 생성 방선균주들에 다양한 출력의 초음파 파쇄 후 포자 형성 정도를 나타내는 그래프이다.

<53> 도 4는 방선균 포자들을 동결건조 전, 후 캔디다 알비칸스(*Candida albicans*)에 대한 항진균 활성을 나타내는 그림이다:

<54> before: 동결건조 전;

<55> after: 동결건조 후;

<56> NC는 음성 대조군(Negative control);

<57> PC는 양성 대조군(Positive control);

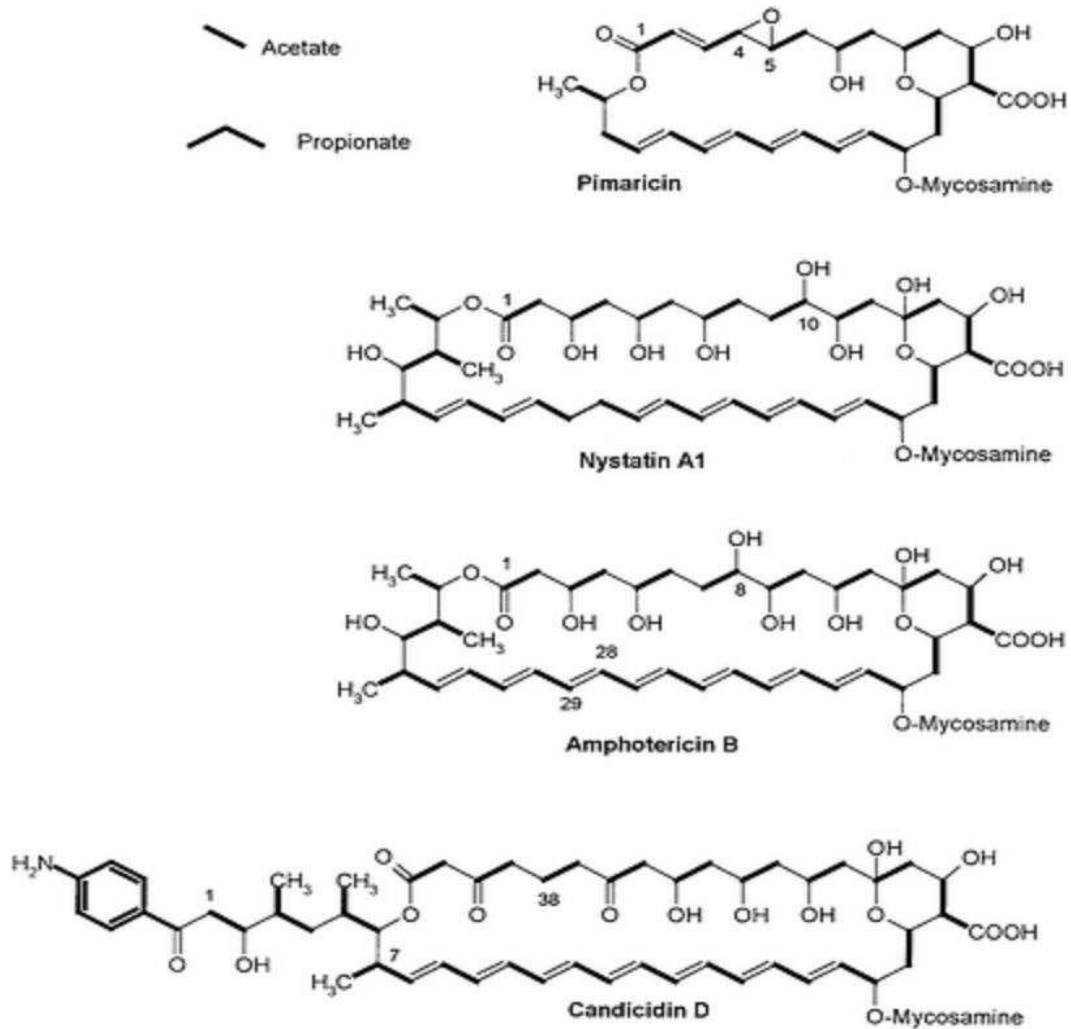
<58> A는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) MMBL001;

<59> B는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) MMBL003; 및

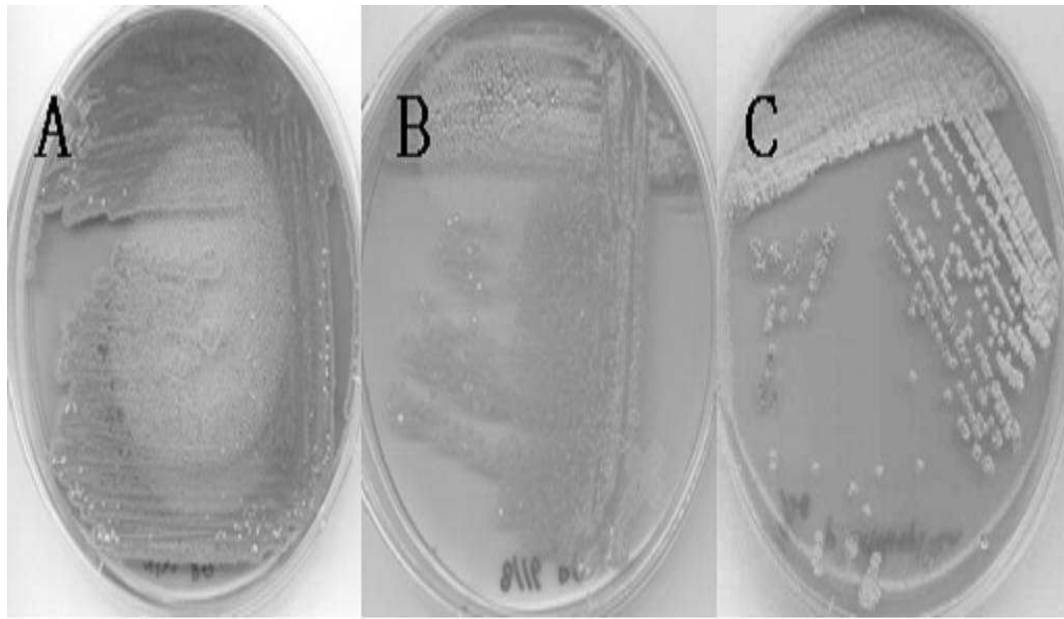
<60> C는 슈도노카르디아 오토트로피카(*Pseudonocardia autotrophica*).

도면

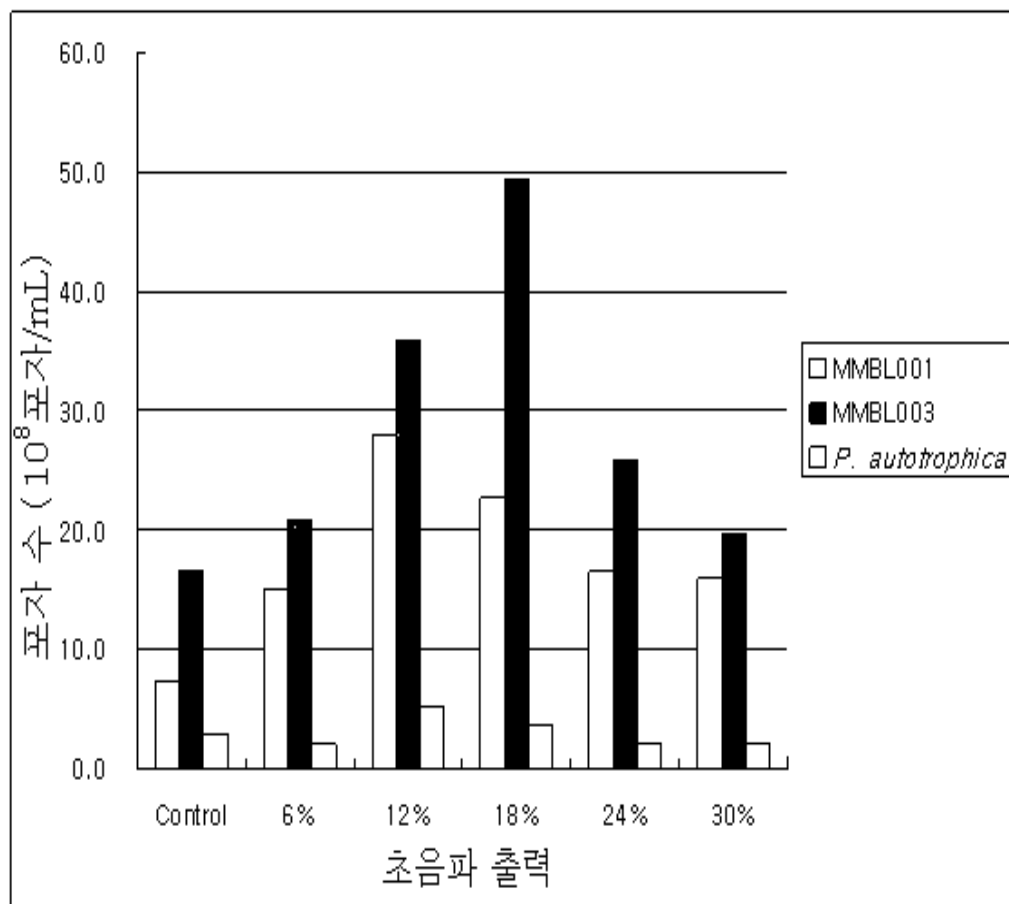
도면1



도면2



도면3



도면4

