

|                                                                                                                 |                                                             |                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|                                | (19) 대한민국특허청(KR)<br>(12) 공개특허공보(A)                          | (11) 공개번호 10-2014-0063338<br>(43) 공개일자 2014년05월27일 |
| <hr/>                                                                                                           |                                                             |                                                    |
| (51) 국제특허분류(Int. Cl.)<br>C12N 1/20 (2006.01) C07D 493/04 (2006.01)<br>A01N 63/02 (2006.01) C12R 1/465 (2006.01) | (71) 출원인<br>고려대학교 산학협력단<br>서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가) |                                                    |
| (21) 출원번호 10-2012-0130591                                                                                       | (72) 발명자<br>김범석<br>서울 용산구 회나무로32길 45, SOD10차 303호 (이태원동)    |                                                    |
| (22) 출원일자 2012년11월16일<br>심사청구일자 2012년11월16일                                                                     | 김정도<br>서울 동대문구 안암로18가길 5, 지층 102호 (제기동)                     |                                                    |
|                                                                                                                 | 전병준<br>서울 성북구 인촌로13길 14, 203호 (안암동2가)                       |                                                    |
|                                                                                                                 | (74) 대리인<br>김순웅                                             |                                                    |

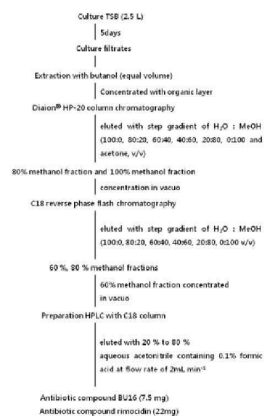
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 식물병원성 진균에 항균 활성을 갖는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 및 이로부터 생산된 리모사이딘 유도체

### (57) 요약

본 발명은 식물병원성 진균인 고추 탄저병균 등에 대해 항균효과를 가지는 항생제인 리모사이딘 및 신규 리모사이딘 유도체 BU16을 생성, 분비하는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16) 및 이 균주로부터 생산되는 항생제의 제조 방법에 관한 것이다. 미생물 대사산물은 쉽게 분해되어 자연환경에서 잔류에 의한 부작용을 최소화 하는 이점이 있고, 상기 본 발명도 환경친화적 살균제 조성물을 제공하는 효과와 피해가 크고 방제하기 힘든 병원균인 콜레토트리쿰 코코데스(*Colletotrichum cocodes*)가 일으키는 고추 탄저병, 여러 식물병원성 진균 등에 대한 방제 효과가 있으므로 식물병 방제산업상 유용하게 이용될 수 있다.

### 대표도 - 도6



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 R1000793

부처명 (주)경농연구기금

연구사업명 지정기부금과제

연구과제명 3차년도 [제3세부-4세세부] 특이적 항진균 target을 대상으로 하는 스크리닝기법 개발과  
 유용 생리활성물질의 대사공학연구

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2012.01.01 ~ 2012.12.31

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P).

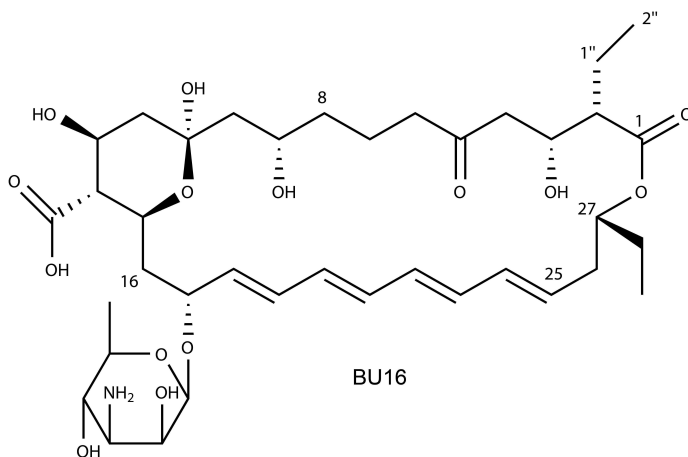
### 청구항 2

스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 균체, 포자, 이들의 혼합물 또는 상기 균주의 배양액을 포함하는 식물병원성 진균 방제용 조성물.

### 청구항 3

하기 화학식 1로 표시되는 리모사이딘 유도체(BU16).

(화학식 1)



### 청구항 4

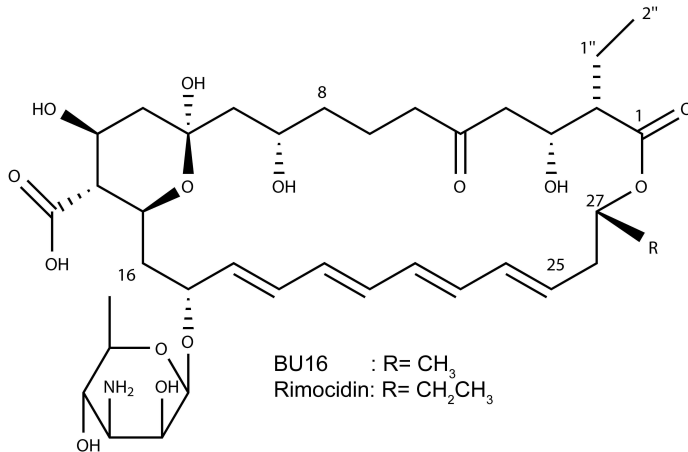
제3항 기재의 리모사이딘 유도체(BU16)를 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 식물병원성 진균 방제용 조성물.

### 청구항 5

스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 균체, 포자, 이들의 혼합물 또는 상기 균주의 배양액을 부탄올로 추출하는 단계; 및

상기 부탄올 추출물로부터 하기 화학식 2로 표시되는 리모사이딘 및 리모사이딘 유도체(BU16)를 분리 및 정제하는 단계를 포함하는 식물병원성 진균에 항균 활성을 갖는 항생제 제조방법.

(화학식 2)



## 청구항 6

검체 균주의 포자가 0.7 에서 0.9  $\mu\text{m}$  크기로 표면은 가시가 있는 모양을 가지며(spiny) 포자의 배열이 나선형(spiral shape) 체인인지를 확인하는 단계; 및 검체 균주의 16S rDNA와 서열번호 1의 염기서열을 대비 분석하는 단계를 포함하는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)를 동정하는 방법.

## 명세서

## 기술분야

[0001] 본 발명은 식물병원성 진균에 항균 활성을 갖는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 및 이로부터 생산된 리모사이딘 유도체에 관한 것이다. 더욱 상세하게, 본 발명은 고추, 오이 탄저병균, 토마토 시들음병균, 잣빛곰팡이병균, 무름병균 등의 식물병원성 진균에 대해 항균 활성이 우수한 리모사이딘 및 새로운 유도체 리모사이딘(BU16)을 생성, 분비하여 항균 활성을 가지는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주, 이 균주에서 생산되는 리모사이딘 유도체를 함유하는 식물병 방제용 조성물, 및 리모사이딘 및 새로운 유도체 리모사이딘 항생제 제조방법에 관한 것이다.

## 배경기술

[0002] 일반적으로, 고추 탄저병 (anthracnose)은 전국 고추 재배 지역에 발생하여 역병과 더불어 매년 많은 피해를 주고 있는 가장 중요한 고추 병해로서 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0003] 탄저병을 일으키는 콜레토티리쿰 spp. (*Colletotrichum* spp.) 중 콜레토티리쿰 코코데스 (*Colletotrichum cocodes*)는 고추 유묘기에 잎과 줄기에 수침상의 퇴색반점이 커지면서 원형의 갈색 반점을 형성하고, 줄기에 발생하면 병환부가 구부러지게 하는 탄저병균이다. 탄저병균은 기생과 부생을 하는 능력이 뛰어나며, 장기간 토양에서 생존하는 것이 가능해 작물에 쉽게 감염을 시키고, 병반 진행속도가 무척 빠르게 퍼지게 된다. 따라서, 예년에 탄저병력이 있는 장소에서 다시 감염될 확률이 높다. 병원균은 균사 또는 포자의 형태로 병든 줄기나 잎 또는 열매 등에서 월동하여 다음해 접종원이 되고, 종자의 표면에 부착하거나 종자내부에 침입 월동하여 1차 접종원이 되기도 한다. 2차 접종원은 병부위에 형성된 분생포자에 의하며, 포자는 끈끈한 점질물에 싸여 있으므로 바람에 의한 비산이 불가능하고 비바람, 폭풍우, 태풍 등 외부의 물리적 힘에 의하여 전파되어 발아하고, 부착기를 형성하며, 기주의 각피를 직접 뚫고 체내에 침입한다. 고병원성인 탄저병원균의 적정 온도는 28-32  $^{\circ}\text{C}$ 로 습기가 많은 상태가 지속되는 토양의 과습상태에서 장마철에 쉽게 발생한다.

[0004] 탄저병에 대한 예방은 토양관리와 충분한 영양공급을 해줌으로서 면역체계를 갖춰 주는 것이 튼튼한 개체를 만들어 병해에 대한 저항력을 길러 주고, 장마가 오기 전, 예방적 약제 살포를 하는 것이 바람직하다. 또한 종자를 소독하여 과종을 하고, 무병지 건전한 식물에서 채종하며, 생육 중에는 병든 잎이나 열매를 일찍 제거하여 포자의 전반을 막아주도록 한다. 화학적 방제는 콜레토티리쿰 spp. 주요 방제 법 중 하나로, 몇몇 계열의 살균

제가 복합적 또는 대안으로서 탄저병 방제를 위해 사용되고 있다. 그 중에서도 유효약제로 다코닐수화제 (유효 성분: 클로로탈로닐 75%) 1000배액을 병 발생이 급격히 늘어나면 4-5일 간격으로 수회 살포하고 예방의 경우에는 7-10일 간격으로 1-2회 살포한다.

[0005] 하지만 최근에 유기합성 살균제에 과도한 사용으로 인해 약제저항성 병원균 출현과 환경오염으로 인해 인간과 동, 식물에 심각한 부작용을 초래하여 식물병을 방제할 새로운 친환경 살균제에 대한 필요성이 증대 되고 있다. 미생물이 생산하는 미생물 이차대사산물은 다양한 화학적 구조와 생물학적인 활성을 지니고 있어 바이오스피어 (생물권)에서 쉽게 분해가 된다고 보고되어 있다 (Tanaka and Omura, 1993). 그러므로 미생물이 생산하는 미생물 이차대사산물은 새롭고, 가능성 있는 살균제의 원천으로서 중요하다.

[0006] 세균, 곰팡이가 생산하는 항생제 보다 스트렙토마이세스는 가장 많은 6650여개의 항생제를 생산한다고 알려져 있고 (Berdy, 2005), 스트렙토마이세스에서 분리 되어진 항생제 블라스티사이드인 S, 카스가마이신, 나타마이신, 폴리옥신, 발리다마이신 (Kimura and Yamaguchi, 1996, Tanaka and Yamaguchi, 1966, Welscher et al., 2008, Isono and Suzuki, 1979, Kameda et al., 1987) 등은 식물병원균에 대해 방제효과가 있다고 보고되어 있다. 그러므로 스트렙토마이세스는 다른 미생물들 보다 새로운 항생제와 식물병원균에 대해 방제효과가 좋은 항생물질을 얻을 수 있는 무궁무진한 가능성을 보여준다.

[0007] 테트라 마크롤라이드계 구조를 갖는 리모사이딘과 그것의 유도체는 실험실상에서 식물병원균에 대해 항균활성을 보였다 (Francisco et al., 2004, Elena et al., 2005, Elena et al., 2005). 하지만 리모사이딘과 그것의 유도체에 대한 온실조건하에서 식물병 방제 효과에 대한 연구는 없었으며, 새로운 유도체 리모사이딘 (BU16)을 분리한 연구도 없었다.

[0008] 본 발명의 배경이 되는 기술로, 대한민국 공개특허 10-2011-0070398(2011.06.24)은 항진균제의 제조를 위한 크립토크스 네오포만스(*Cryptococcus neoformans*)의 Ras1, Ras2, Cdc24, Gpa1, Cac1, Aca1, Pka1, Hsp12 및 Hsp122로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 단백질 또는 이를 코딩하는 유전자에 대한 저해제의 용도, 상기 저해제를 포함하는 항진균용 의약 조성물에 관한 것으로, 리모사이딘이 의약조성물로 기재되어 있다.

[0009] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 10-2011-0070398(2011.06.24)

### 비특허문헌

[0011] (비특허문헌 0001) Francisco et al, CE-108, a New Macrolide Tetraene Antibiotic

(비특허문헌 0002) Elena et al, Two Polyene Amides Produced by Genetically Modified *Streptomyces diastaticus* var. 108.

(비특허문헌 0003) Elena et al, A Tailoring Activity Is Responsible for Generating Polyene Amide Derivatives in *Streptomyces diastaticus* var. 108

## 발명의 내용

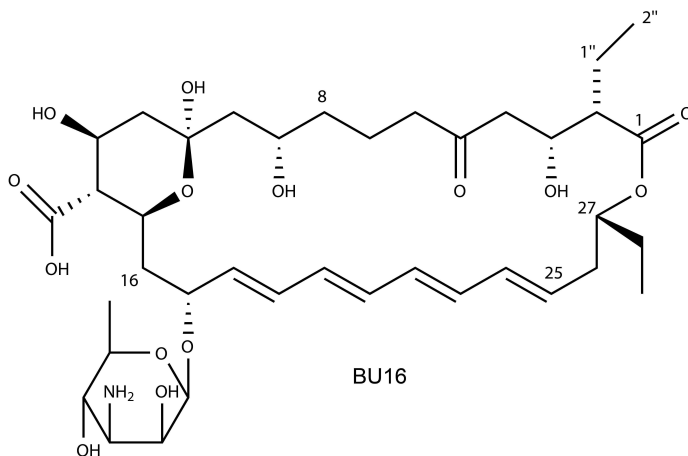
### 해결하려는 과제

- [0012] 본 발명은 상기와 같은 종래기술의 문제점 및 요구를 해결하고자 하는 것으로, 그 목적은 콜레토티리움 코코테스가 일으키는 고추 탄저병을 포함한 식물병원성 진균에 대한 항균 활성을 가지는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주를 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 다른 목적은 상기 균주로부터 분리된 신규 리모사이딘 유도체 및 이 리모사이딘 유도체를 함유하는 저독성이고 환경에 해가 없는 친환경적인 살균제 조성물을 제공하고자 하는 것이다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 균주를 이용하여 저독성이고 친환경적인 항생제를 제조할 수 있는 방법을 제공하는 것이다.
- [0015] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 더욱 명확하게 된다.

### 과제의 해결 수단

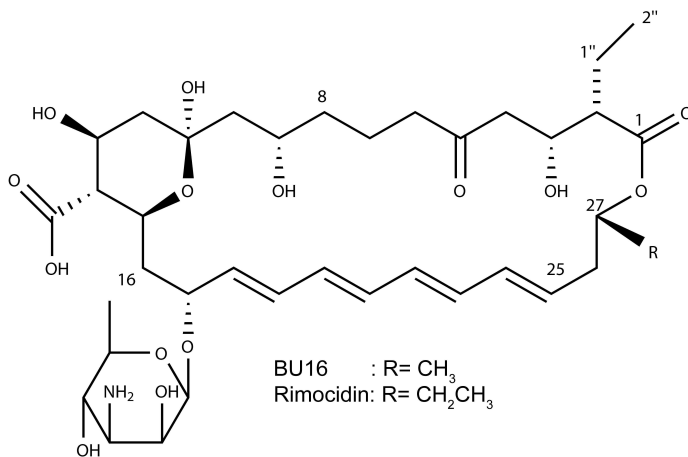
- [0016] 본 발명의 일 양태에 의하면, 본 발명은 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)를 제공한다.
- [0017] 본 발명의 다른 양태에 의하면, 본 발명은 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 균체, 포자, 이들의 혼합물 또는 상기 균주의 배양액을 포함하는 식물병원성 진균 방제용 조성물을 제공한다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 양태에 의하면, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 리모사이딘 유도체(BU16)를 제공한다.

### 화학식 1



- [0019]
- [0020] 본 발명의 또 다른 양태에 의하면, 본 발명은 상기 리모사이딘 유도체(BU16)를 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 식물병원성 진균 방제용 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 양태에 의하면, 본 발명은 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 균체, 포자, 이들의 혼합물 또는 상기 균주의 배양액을 부탄올로 추출하는 단계; 및 상기 부탄올 추출물로부터 리모사이딘 및 리모사이딘 유도체 (rimocidin 및 BU16, 화학식 2)를 분리 및 정제하는 단계를 포함하는 식물병원성 진균에 항균 활성을 갖는 항생제 제조방법을 제공한다.

화학식 2



[0022]

[0023]

본 발명의 또 다른 양태에 의하면, 본 발명은 검체 균주의 포자가 0.7 에서 0.9  $\mu\text{m}$  크기로 표면은 가시가 있는 모양을 가지며(spiny) 포자의 배열이 나선형(spiral shape) 체인인지를 확인하는 단계; 및 검체 균주의 16S rDNA와 서열번호 1의 염기서열을 대비 분석하는 단계를 포함하는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)를 동정하는 방법을 제공한다.

[0024]

이하, 본 발명에 대해 상세하게 설명한다.

[0025]

본 발명의 목적을 달성하기 위해, 본 발명자들은 한국 부산 지역의 토양에서 64 개의 방선균을 분리하여 3% TSA 상에서 4가지 식물병원 진균에 대해 검정한 결과 최소 한 가지 이상의 항균 활성을 나타낸 균은 23 개였다. 그 중 항균 활성이 뛰어난 폴리엔 항생제인 리모사이딘, 및 리모사이딘 유도체 BU16을 생산하는 균주 스트렙토마이세스 마우브컬러를 선발하여 동정하고, 식물병원성 진균에 대한 인비트로 상(*invitro*)에서의 항균 효과와 온실 조건하에서 고추 탄저병에 대한 방제 효과를 생물 검정한 결과 유의적으로 높은 수준의 항균활성을 확인하여 본 발명을 완성하였다(도 1 및 표 2 참조).

[0026]

본 발명자들은 계속적인 연구를 통해 16S rDNA(서열번호 1, 도 3) 분석, 형태적인 특징, 배양학적 특성, 생리 및 생화학적 특성을 기초로 하여 본 발명에 의한 균주가 방선균 스트렙토마이세스 마우브컬러라는 것을 동정하였고, 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16로 명명하고, 2012년 8월 10일자로 국립농업과학원 농업유전자원센터에 수탁번호: KACC91735P로 기탁하였다(도 3 ~ 도 5 및 표 1 참조).

[0027]

본 발명에 의한 균주는 그 포자가 0.7 에서 0.9  $\mu\text{m}$  크기로 표면은 가시가 있는 모양을 가지며(spiny) 포자의 배열이 나선형(spiral shape) 체인이다(도 5 참조).

[0028]

따라서, 본 발명은 검체 균주의 포자가 0.7 에서 0.9  $\mu\text{m}$  크기로 표면은 가시가 있는 모양을 가지며(spiny) 포자의 배열이 나선형(spiral shape) 체인인지를 확인하는 단계; 및 검체 균주의 16S rDNA와 서열번호 1의 염기서열을 대비 분석하는 단계를 포함하는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)를 동정하는 방법을 제공한다. 상기 동정된 균주를 이용하여 식물병원성 진균 방제용 조성물을 제조하거나, 식물병원성 진균의 방제에 이용할 수 있다.

[0029]

따라서, 본 발명은 항균 활성을 갖는 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 균체, 포자, 이들의 혼합물 또는 상기 균주의 배양액을 포함하는 식물병원성 진균 방제용 조성물을 제공한다. 본 발명에 의한 조성물에 의하면 비교적 안전하고 지속적으로 생물적 방제를 할 수 있다.

[0030]

본 발명에 있어서 상기 식물병원성 진균은 이에 한정되는 것은 아니나 알터나리아 말리 (*Alternaria mali*), 아스페질러스 오라이제 (*Aspergillus oryzae*), 보트라이티스 시네리아 (*Botrytis cinerea*), 콜레토티리쿰 코코데스 (*Colletotrichum cocodes*), 콜레토티리쿰 그로에오스포리오이데스 (*Colletotrichum gloeosporioides*), 콜레토티리쿰 오비쿨레어 (*Colletotrichum orbiculare*), 실린드로카르폰 테스트룩탄스 (*Cylindrocarpum*

*destructans*), 푸자리움 옥시스포룸 f.sp. 라이코펠시사이 (*Fusariumoxysporum* f.sp. *lycopersici*), 푸자리움 옥시스포룸 f.sp. 라이코펠시사이 JCM12575 (*Fusariumoxysporum* f.sp. *lycopersici* JCM12575), 라이족토니아 솔라니 (*Rhizoctonia solani*), 라이조퍼스 스토로니퍼 var. 스토로니퍼 (*Rhizopus stolonifer* var. *stolonifer*)로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 병원균임이 바람직하며, 보트라이티스 시네리아 (*Botrytis cinerea*), 콜레토티리쿰 코코데스 (*Colletotrichum cocodes*), 라이족토니아 솔라니 (*Rhizoctonia solani*)가 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0031] 본 발명에 있어, 식물병원성 진균 방제용 조성물은 본 발명에 의한 균주를 유효량 함유하고 농화학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 발명에 의한 조성물은 당업계에 공지된 방식의 미생물 농약 제제화 방식에 따라, 예컨대 배양된 균체의 배양액, 동결건조 균체와 전분, 조단백질 및 암석분 등을 포함하도록 분말, 펠렛 또는 과립, 마이크로캡슐 등으로 제형화하여 그대로 사용할 수 있다. 상기 조성물은 표면 활성제, 비활성 담체, 보존제, 습윤제, 공급 촉진제, 유인제, 캡슐화제, 결합제, 유화제, 염료, U.V. 보호제, 완충제 등 목적 병원균 및 작물에 따라 적용하기 용이한 다른 성분을 부가함으로 수득할 수 있다. 본 발명의 조성물은 적용하기 전에 적당한 양의 물 또는 다른 희석제로 희석을 하여 직접 적용하기에 적합한 형태 또는 농축액 또는 1차 조성물일 수 있다. 항진균성 농도는 특히 농축 또는 직접 사용하거나 하는 것은 특정 제제의 성질, 적용 식물의 종류, 재배 지역의 토양 및 기후 등에 따라 다양할 수 있음은 당업계에 명백히 이해될 것이다.

[0032] 또한, 본 발명자들은 상기 균주 배양액의 부탄올 추출물로부터 항균활성을 가진 물질을 순화, 정제하여 화학구조를 밝혔으며(도 6 ~ 도 8d), 여러 식물병원 진균에 대한 인비트로 상에서의 항균 효과와 온실조건하에서 고추 탄저병에 대한 방제 효과를 생물 검정하였다(도 9a 및 도 9b). 그 결과 확인된 항생제인 리모사이딘과 새로운 유도체 리모사이딘(BU16)은 스트렙토마이세스 마우브컬러에서 발견된 것은 처음이며, 본 발명자들이 식물병원 진균 특히, 고추 탄저병균, 오이 탄저병균, 토마토 시들음병균, 잿빛곰팡이병균 뿐만 아니라 다른 여러 식물병원균에 대해서도 유의적으로 높은 수준의 항균활성을 가지고 있음을 확인하였다. 특히 새로운 리모사이딘 유도체, BU16은 넓은 항진균 범위를 지니고, 기존의 리모사이딘 정도로 높은 항균활성을 보여 식물병 방제제의 유효 성분으로 유용하게 이용될 수 있다.

[0033] 따라서, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 상기 리모사이딘 유도체(BU16) 및 이를 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 식물병원성 진균 방제용 조성물을 제공한다. 이에 한정되는 것은 아니나, 바람직하게 상기 식물병원성 진균은 콜레토티리쿰 코코데스 (*Colletotrichum cocodes*)이고 이에 의한 고추 탄저병 방제용 조성물을 제공한다. 본 발명에 의한 조성물에서 상기 리모사이딘 유도체 BU16은  $1 \sim 500 \mu\text{g mL}^{-1}$ 을 함유하는 것이 바람직하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 리모사이딘, BU16의 함유량이  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  미만이면 방제효과가 낮을 수도 있으며,  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ 를 초과하는 경우 부작용이 있을 수 있으므로 살균제 조성물의 생산단가가 높아진다.

[0034] 또한, 본 발명은 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 균체, 포자, 이들의 혼합물 또는 상기 균주의 배양액을 부탄올로 추출하는 단계; 및 상기 부탄올 추출물로부터 리모사이딘 및 BU16 (화학식 2)을 분리 및 정제하는 단계를 포함하는 식물병원성 진균에 항균 활성을 갖는 항생제 제조방법을 제공한다. 본 발명에 의한 균주를 이용하여 식물병원성 진균에 항균 활성이 우수한 리모사이딘 및 BU16 (화학식 2)을 분리하여 제조할 수 있다. 리모사이딘 및 BU16의 구체적인 분리 및 정제방법은 본 발명이 속하는 기술 분야의 공지의 기술을 이용할 수 있고, 바람직한 방법은 도 6에 나타나 있다.

[0035] 상기 제조방법은 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)를 TSB 배지에서 대량 배양하여 항생제를 생산할 수 있다.

[0036] 또한, 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 균체, 포자, 이들의 혼합물 또는 상기 균주의 배양 추출물을 식물체 또는 토양에 처리하여 식물병원성 진균을 친환경적으로 방제할 수 있다.

## 발명의 효과

- [0037] 이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)는 광범위한 항균력을 지닌 방선균으로, 상기 균주를 이용하여 방선균 유래의 천연물질인 항생제 리모사이딘, 및 신규 리모사이딘 유도체, BU16를 제조할 수 있어 상용 살균제인 클로로탈로닐 보다 좋은 방제효과를 가지고 있으면서도 자연환경에서의 미생물에 의한 생분해성이 큰 환경친화적 살균제 조성물을 제공하는 효과가 있다.
- [0038] 또한, 본 발명의 살균제 조성물은 콜레토티리쿰 코코데스가 일으키는 고추 탄저병 방제 등에 효과가 있어 본 발명은 식물병 방제산업상 유용한 발명인 것이다.

## 도면의 간단한 설명

- [0039] 도 1은 4종류의 식물병원성 진균에 대한 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 항균 활성을 나타내는 도면이다. A: 모잘록병균, B: 토마토 시들음병균, C: 고추 역병균, D: 오이 탄저병균
- 도 2는 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 용매별 조추출물의 오이 탄저병균에 대한 항균 활성을 나타내는 도면이다.
- 도 3은 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 16S rDNA 염기서열을 보여주는 도면이다.
- 도 4는 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 계통도이다.
- 도 5는 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 주사 전자현미경 사진이다.
- 도 6은 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)의 부탄올 추출액에서 리모사이딘 및 BU16을 정제하는 과정을 보인 블록도이다.
- 도 7a 및 도 7b는 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)로부터 분리, 정제된 BU16 및 리모사이딘의 분자량을 나타낸 그래프이다.
- 도 8a 및 도 8b (BU16), 도 8c 및 도 8d (리모사이딘)는 본 발명에 의한 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)로부터 분리, 정제된 BU16 및 리모사이딘 구조분석 결과를 보여주는  $^1\text{H-NMR}$  및  $^{13}\text{C-NMR}$  스펙트럼을 나타낸 것이다.
- 도 9a 및 도 9b는 온실조건의 풋트 실험에서 본 발명에 의한 항생제인 리모사이딘 및 BU16의 고추 탄저병에 대한 방제효과를 상용살균제인 클로로탈로닐과 비교 실험한 결과를 도시한 그래프 및 사진이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0040] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

### [0041] <실시예 1> 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주의 분리

- [0042] 방선균을 선별하기 위하여 부산 지역의 표토로부터 5-20 cm 깊이의 토양을 채취하여 토양 시료 10 g을 1L 플라스크 크기에 담긴 100 mL의 멸균수에 혼합하고 3시간동안 170 rpm 회전 진탕기에서 토양 현탁액을 제조하였다. 상기 현탁액을 왓만 제 1 여과지 (Whatman No. 1 filter paper)를 통과시켜 여과하고, 멸균수로 1:10 (v:v)

비율로  $10^{-5}$  까지 희석하였다.

[0043] 각각의 희석액 100  $\mu$ l를 휴믹 애시드 비타민 한천배지 (humic acid vitamin agar medium: 1.0 g humic acid, 0.5 g of  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1.71g of KCl, 0.05 g of  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.01g of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.02g of  $\text{CaCO}_3$ , 0.5mg of thiamine-HCl, 0.5mg of riboflavin, 0.5mg of niacin, 0.5mg of pyridoxine-HCl, 0.5mg of inositol, 0.5mg of Ca-pantothenate, 0.5mg of *p*-aminobenzoic acid, 0.25mg of biotin, 50mg of cyclohexamide, 18g of agarin 1L  $\text{H}_2\text{O}$ , adjusted to pH7.2; vitamins and cyclohexamide were filter-sterilized)에 접종하고, 접종된 휴믹 애시드 비타민 한천배지를 28  $^{\circ}\text{C}$ 에서 4-14일간 균총 (colony)이 발생될 때까지 배양시켰다. 상술한 바와 같이하여 발생한 균총들 가운데 서로 형태적으로 다르고 방선균으로 보이는 균총, 즉 일반 세균과는 달리 기질 균사를 형성하며 한천 배지상에서 딱딱한 균총을 형성한 것을 선택하여 모잘록병균, 토마토 시들음병균, 고추 역병균, 오이 탄저병균에 대한 항균 활성을 검사하였다.

[0044] 이를 위하여 선발된 방선균류를 3% TSA (tryptic soybean agar)의 중앙에 접종 (Streaking)하고 28  $^{\circ}\text{C}$ 에서 3일간 배양한 후, 그 배지 중앙으로부터 30mm 떨어진 곳에 식물병원성 진균인 모잘록병균, 토마토 시들음병균, 고추 역병균, 오이탄저병균을 배양체로부터 떼어내어 균사절편 (mycelia disk, 직경 5mm)을 양쪽에 놓고 다시 7일간 배양한 뒤 방선균과 식물병원성 진균의 사이에 저지원을 측정하였다.

[0045] 그 결과 4개의 식물병원성 진균 중 3개의 식물병원성 진균의 균사 생장을 강하게 저해하는 것으로 나타났다 (도 1).

[0046] 한편, 상기 선발된 방선균의 보관방법은 일일 사용을 위해서는 3% TSA 배지에 접종하여 사용하였고, 장기보관을 위해서 3% TSB에서 3일간 순수 배양하여 40% 글리세롤과 혼합하여 -80  $^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

#### [0047] <실시예 2> 방선균이 생성하는 항생제 항균 활성 검정

[0048] 선발된 방선균이 생성하는 항생제의 항균 활성검정을 위하여 다음과 같은 방법으로 항생제 조추출물을 추출하였다.

[0049] 이와 같이 조추출물을 추출하는 것은 미생물이 생성하는 항생제의 완전 순화에는 시간과 비용이 많이 투자되므로 검정 초기 단계에서 이 균주가 생성하는 물질이 실제로 식물상에서 병방제 효과가 있는지를 검정하기 위한 것이다. 스트렙토마이세스 마우브컬러가 생성하는 이차 대사산물을 회수하기 위해서 에틸아세테이트, 부탄올, 메탄올을 사용한 유기용매 추출법을 사용하였다.

[0050] 상기 방선균은 진탕 플라스크 배양으로 단일 균총 (single colony)을 500 mL에 플라스크에 담긴 50 mL tryptic soy broth에 접종하여, 28  $^{\circ}\text{C}$  3일간 배양한 후, 상기 배양액들을 10,000 g로 30분간 원심분리 (centrifuse)하여 배양 여액과 세포를 분리하여 에틸아세테이트, 부탄올로 추출하고, 세포는 메탄올로 추출하였다. 또한, 상기 유기용매 층은 37  $^{\circ}\text{C}$  감압 증류기에서 농축한 후, 남아있는 잔류물을 최소량의 메탄올에 녹여 4  $^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

[0051] 상기 방선균의 항생제 조추출물들을 가지고 다음과 같은 방법으로 생물학적 검정 (bioassay)을 실시하였다. 항생제 조추출물들의 생물학적 검정은 오이 탄저병균이 접종된 PDA (potato dextrose agar: 24 g potato dextrose, 0.7% agar and distilled water 1L) 배지에서 페이퍼디스크법 (paperdisk method)을 이용한 것으로, 이를 좀 더 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0052] 100 mL PDA (agar 0.7%) 배지에 오이 탄저병균의 분생포자 현탁액 ( $10^8$  conidia  $\text{mL}^{-1}$ )을 분주하여 생물검정 평판 배지를 만들었다. 그리고 상기 항생제 조추출물들을 분주한 멸균여과지 (filter paper disk, 8mm)를 상온에서 1시간 건조하여 오이 탄저병균이 접종된 배지 (seeded media)에 올려놓고, 28  $^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양한 결과 생성된 저지원 크기로 항균활성을 검정하였다(도 2).

#### [0053] <실시예 3> 16S rDNA 분석과 생리 및 생화학적 특성을 기초로 한 방선균 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주의 동정

[0054] PCR 프라이머 fwd\_seq: agagtttgatcctggctcag (서열번호 2)와 rev\_seq: acggctacctgttagactt (서열번호 3)를 이용한 상기 방선균 균주의 16S rDNA 분석을 기초로 하여, 본 발명에 의한 방선균 균주의 16S rDNA 염기서열

(서열번호 1, GeneBank accession number: JX490157)은 *Streptomyces mauvecolor* 균주 NBRC13854의 염기서열과 99% 일치하였다(GeneBank accession number: AB184532) (도 3 및 도 4).

[0055] 상기 선발된 본 발명의 방선균 균주는 기질 균사를 배지상에서 생성하는 방선균의 특징을 갖고 있으며, 상기 방선균 균주의 동정 (identification)을 위한 생리 및 생화학적 그리고 형태학적 검정은 모두 버지스 매뉴얼 시스템에틱 박테리올로지 (bergey's manual of systematic bacteriology)에서 서술한 방법에 따라 동정되어졌다.

[0056] 본 발명의 방선균 균주의 배양학적 특성을 6가지 ISP 배지와 Bennett's 배지에서 시행하였다. 상기 방선균 균주는 ISP5, ISP6 배지를 제외한 모든 배지에서 생장이 좋았으며, ISP4 배지에서만 기중 균사의 색이 연보라색으로 보였으며, 다른 배지에서는 보이지 않았다. 기저 균사의 색은 ISP1 배지는 노르스름한 갈색, ISP2 배지는 어두운 갈색, ISP3, ISP4 그리고 Bennett's 배지는 갈색이 도는 흰색을 보였고, ISP5는 노란색, ISP6는 어두운 회색을 보였다. 색소는 ISP1 배지에서 노르스름한 갈색을 보였고, ISP6 배지는 어두운 회색을 보였다. 나머지 배지에서는 색소를 분비하지 않았다. 표 1에 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주의 배양학적 특성을 나타내었다.

표 1

| Medium                                | Cultural characteristic |                    |                 |        |
|---------------------------------------|-------------------------|--------------------|-----------------|--------|
|                                       | Aerial Mycelium         | Substrate mycelium | Soluble pigment | Growth |
| ISP1<br>(trypton-yeast extract agar)  | None                    | Yellowish brown    | Yellowish brown | Good   |
| ISP2<br>(yeast-malt extract agar)     | None                    | Dark brown         | None            | Good   |
| ISP3<br>(oatmeal agar)                | None                    | White-brown        | None            | Good   |
| ISP4<br>(inorganic salts starch agar) | Violet-White            | White-brown        | None            | Good   |
| ISP5<br>(glycerol asparagine agar)    | None                    | Yellow             | None            | Bad    |
| ISP6<br>(peptone-yeast extract agar)  | None                    | Dark gray          | Dark gray       | Slow   |
| Bennett's agar                        | None                    | White-brown        | None            | Good   |

[0057]

[0058] 본 발명에 의한 방선균 균주의 균사 모양을 주사 전자 현미경을 통해 확인하였다 (도 5). 본 발명에 의한 방선균 균주의 포자는 0.7 ~ 0.9  $\mu\text{m}$  크기로 표면은 가시가 있는 모양을 가지며(spiny) 포자의 배열이 나선형(spiral shape) 체인을 갖는다.

[0059] 방선균의 세포벽 구성성분의 하나인 디아미노 피메릭 엑시드 (DAP) 이성질체 확인을 위해, 본 발명에 의한 방선균 균주의 세포벽 구성성분을 분석한 결과, 그람양성균이 가지는 LL-form 형태를 구성하고 있는 것으로 확인되었다.

[0060] 이상의 결과와 전자현미경하에서의 형태적인 특성 및 배양학적 특성을 고려하여, 본 발명에 의한 방선균 균주를 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)로 동정하였다.

[0061] <실시예 4> 항생제 리모사이드 및 BU16 분리 및 정제

[0062] 본 발명자들은 한국 부산지역에서 수집한 토양시료로부터 64개의 미생물을 분리하여 3% TSA 배지에서 병방제 효

과를 검정한 결과 오이 탄저병균에 대하여 항균효과가 뛰어난 방선균 균주를 선발하여 항생제 리모사이드 및 BU16을 분리, 정제하고, 그 구조를 결정하였다.

[0063] 방선균 균주 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)를 28 °C, 200rpm 회전진탕기에서 5일간 TSB (tryptic soybean medium)에서 배양한 후 원심 분리하여 배양 여액을 부탄올을 이용하여 추출하였다.

[0064] 분리되어진 추출액은 감압 농축한 후 Diaion® HP-20 크로마토그래피를 이용하여, 각 분획을 물과 메탄올을 일정비율로 섞어 전개시킨 뒤, 그 중 활성분획을 모아 감압 농축한 후, C18 크로마토그래피를 실시하였다. 각 분획은 물과 메탄올을 일정비율로 섞어 전개시켰으며, 그 중 활성 분획을 감압 농축한 후 메탄올로 녹이고 유속 2 mL min<sup>-1</sup>, UV검출기 254nm, 용매 0.1% 포믹에시드를 포함한 20-80% 아세트나이트릴을 이용하는 분취 조건으로, C18 역상 column을 이용한 HPLC 시스템을 통해 항균제 리모사이드 및 BU16을 분리 정제하였다 (도 6).

[0065] 정제되어진 활성물질의 분자량 및 스펙트럼 분석을 하여 (도 7 ~ 도 8d), 본 발명에 분리된 물질은 리모사이드인 과 신규 리모사이드 유도체 BU16임을 확인하였다.

[0066] 더욱 상세하게 살펴보면, HR FAB-MS (fast atom bombardment mass spectrometry)을 이용하여 분자량 확인결과 리모사이드와 BU16의 각각 측정된 값은 768.9219, 754.8950 나타내었으며, 화학식 C<sub>39</sub>H<sub>61</sub>NO<sub>14</sub>([M+H]<sup>+</sup>768.9196), C<sub>38</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>14</sub>([M+H]<sup>+</sup>754.8927)와 100% 일치하였고, 에러율은 -0.2 ppm, 0.1 ppm 이었으며, 스펙트럼 분석결과 BU16는 리모사이드에 CH<sub>2</sub> 시그날이 보이지 않는 것을 확인하였다.

#### [0067] <실시예 5> 항생제 리모사이드, BU16의 여러 가지 식물병원성 진균에 대한 억제 농도 평가

[0068] 알터나리아 말리 (*Alternaria mali*), 아스퍼질러스 오라이제 (*Aspergillus oryzae*), 보트라이티스 시네리아 (*Botrytis cinerea*), 콜레토티리쿰 코코데스 (*Colletotrichum cocodes*), 콜레토티리쿰 그로에오스포리오이데스 (*Colletotrichum gloeosporioides*), 콜레토티리쿰 오비쿨레어 (*Colletotrichum orbiculare*), 실린드로카르폰 데스트럭탄스 (*Cylindrocarpon destructans*), 푸자리움 옥시스포룸 f.sp. 라이코펠시사이 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*), 푸자리움 옥시스포룸 f.sp. 라이코펠시사이 JCM12575 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* JCM12575), 파이토포썸라 캡시사이 (*phytophthora capsici*), 라이족토니아 솔라니 (*Rhizoctonia solani*), 라이조퍼스 스톨로니퍼 var. 스톨로니퍼 (*Rhizopus stolonifer* var. *stolonifer*) 등의 식물병원성 진균들을 1.5% PDA (potato dextrose agar) 배지에서 배양했다.

[0069] 상기 실시예 4에서 분리 및 정제한 리모사이드, BU16을 96 웰 플레이트 (96-well plate)에 4 X PDA 및 멸균수와 섞어 일련의 농도 (1 ~ 128 µg mL<sup>-1</sup>)로 분주한 후, 각각의 분생 포자 및 세균 현탁액을 4 x 10<sup>5</sup>개 mL<sup>-1</sup>의 농도로 맞추었고, 유주자 현탁액은 4 x 10<sup>4</sup>개 mL<sup>-1</sup>의 농도로 맞춰서 각각의 웰 (well)에 분주하였다. 접종된 96 웰 플레이트에서 보트라이티스 시네리아 (*Botrytis cinerea*)와 실린드로카르폰 데스트럭탄스 (*Cylindrocarpon destructans*)는 20 °C에서 배양되었으며, 나머지 접종된 식물병원성 진균들은 28 °C에서 1일 내지 3일간 배양한 후, 곰팡이 생장이 일어나지 않는 가장 낮은 농도를 최소억제농도 (minimum inhibitory concentration; MIC)로 평가하였으며, 그 결과는 하기 표 2 여러 식물병원성 진균에 대한 리모사이드, BU16의 최소억제 농도 (MIC)로 나타냈다. 상기 리모사이드 (rimocidin) 및 BU16는 파이토포썸라 캡시사이 (*Phytophthora capsici*)를 제외한 식물병원 진균에 대해 높은 수준의 항균활성이 나타나는 것을 확인하였다.

표 2

| 식물병원 미생물                                                    | 최소억제농도<br>( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) |           |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------|
|                                                             | BU16                                | Rimocidin |
| <i>Alternaria mali</i>                                      | 32                                  | 8         |
| <i>Aspergillus oryzae</i>                                   | 16                                  | 8         |
| <i>Botrytis cinerea</i>                                     | 16                                  | 2         |
| <i>Colletotrichum cocodes</i>                               | 32                                  | 8         |
| <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>                       | 32                                  | 8         |
| <i>Colletotrichum orbiculare</i>                            | 32                                  | 8         |
| <i>Cylindrocarpon destructans</i>                           | 8                                   | 4         |
| <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>          | 32                                  | 8         |
| <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> JCM12575 | 32                                  | 8         |
| <i>Phytophthora capsici</i>                                 | >128                                | >128      |
| <i>Rhizoctonia solani</i>                                   | 8                                   | 2         |
| <i>Rhizopus stolonifer</i> var. <i>stolonifer</i>           | 32                                  | 8         |

[0070]

[0071] <실시예 6> 온실조건의 고추 유묘에서 리모사이딘 및 BU16과 상용 살균제 클로로탈로닐의 고추 탄저병 방제효과 비교

[0072] 온실조건하에서 고추 유묘에서의 탄저병에 대한 방제효과를 비교하기 위하여, 리모사이딘, BU16 그리고 상용살균제인 클로로탈로닐을 농도별로 처리한 후, 고추 탄저병균인 콜레토틱리쿰 코코데스 (*Colletotrichum cocodes*)를 접종하여 각 처리구와 약제 처리를 하지 않은 무처리구에서 병피해도를 평가하였다. 병 피해도는 고추의 잎의 반점의 면적을 평가하여 비교하였다.

[0073] 보다 구체적으로 살펴보면, 고추 식물에서 탄저병균의 감염에 대한 본 발명에 의한 방선균 균주 스트렙토마이세스 마우브컬러 균주 KP2010-BU16 (*Streptomyces mauvecolor* strain KP2010-BU16, 수탁번호: KACC91735P)가 생성하는 항생제인 리모사이딘 및 BU16의 병발생 억제 효과는 다음과 같이 평가하였다.

[0074] 먼저, 고추 탄저병에 이병성 품종인 고추 종자 (품종: 녹광)를 혼합토양 (바로커)이 담긴 36-플라스틱 포트에 파종하였다. 4엽기까지 자란 유묘 (seedling)에 리모사이딘, BU16, 클로로탈로닐을 각각의 농도별로 고추 식물 잎에 처리 한 후 24시간 뒤에 고추 탄저병균의 분생포자 현탁액을 잎에 똑같이 접종하여 24시간 습실 처리를 하였다. 병 피해도 (disease severity)는 고추 탄저병균을 접종한 후 14일 후에 리모사이딘, BU16 또는 클로로탈로닐을 처리한 고추 유묘에서 나타난 병징을 보고 반점의 면적을 평가하고, 3반복 실험을 하였다.

[0075] 실험 결과, 고추 탄저병균의 접종 후 6일째 약제를 처리하지 않은 고추 식물과 상용살균제 클로로탈로닐  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ ,  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ 를 처리한 식물의 잎에서 병징이 나타난 것을 볼 수 있었으며, 리모사이딘 및 BU16  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ 를 처리한 식물의 잎에도 병징이 나타난 것을 확인하였으나 미미한 정도였다. 리모사이딘 및 BU16  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ 을 처리하여도 방제 효과가 큰 것을 확인하였다. 다른 농도로 처리한 고추 식물에서는 어떤 병징도 관찰되지 않았다. 접종 후 10일 후에 약제를 처리하지 않은 고추식물과 클로로탈로닐  $1 - 10 \mu\text{g mL}^{-1}$  처리한 고추식물에서 대부분 많은 갈색반점 생성과 함께 황화현상을 보였고, 리모사이딘 및 BU16을  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$  처리한 고추 식물에서는 약간의 갈색반점 발생만 관찰되었을 뿐 그 이외 농도에서는 뚜렷한 병징이 관찰되지 않았다(도 9a 및 9b).

[0076] 이상과 같은 시험결과를 볼 때, 본 발명에 사용되는 리모사이딘 및 BU16은 상용 살균제인 클로로탈로닐과 비교

하여 볼 때 고추 탄저병 방제효과의 면에서 탁월한 효과를 나타내었다. 따라서 리모사이딘 및 BU16은 고추 탄저병 방제용 약제로서 유용하게 이용할 수 있음이 확인되었다.

[0077] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였으나, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 균등물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

## 수탁번호

[0078]

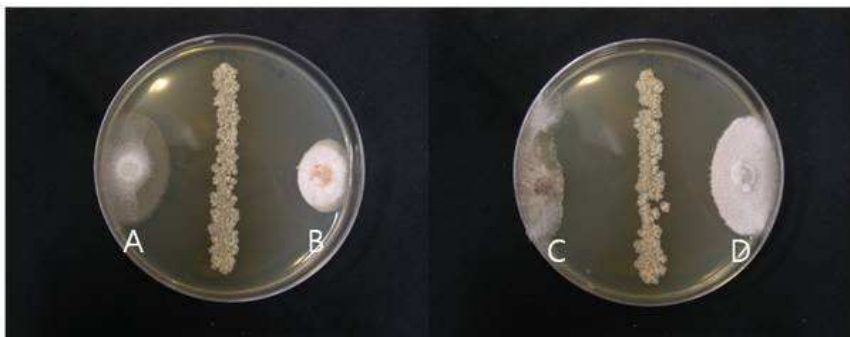
기탁기관명 : 농업생명공학연구원

수탁번호 : KACC91735

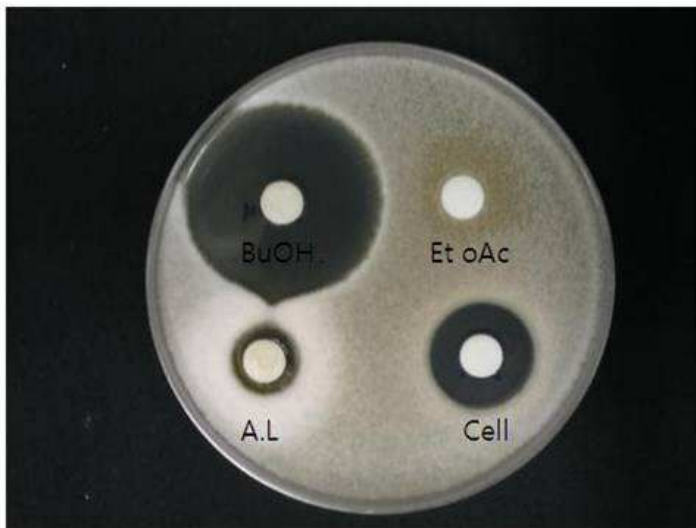
수탁일자 : 20120810

## 도면

### 도면1



### 도면2

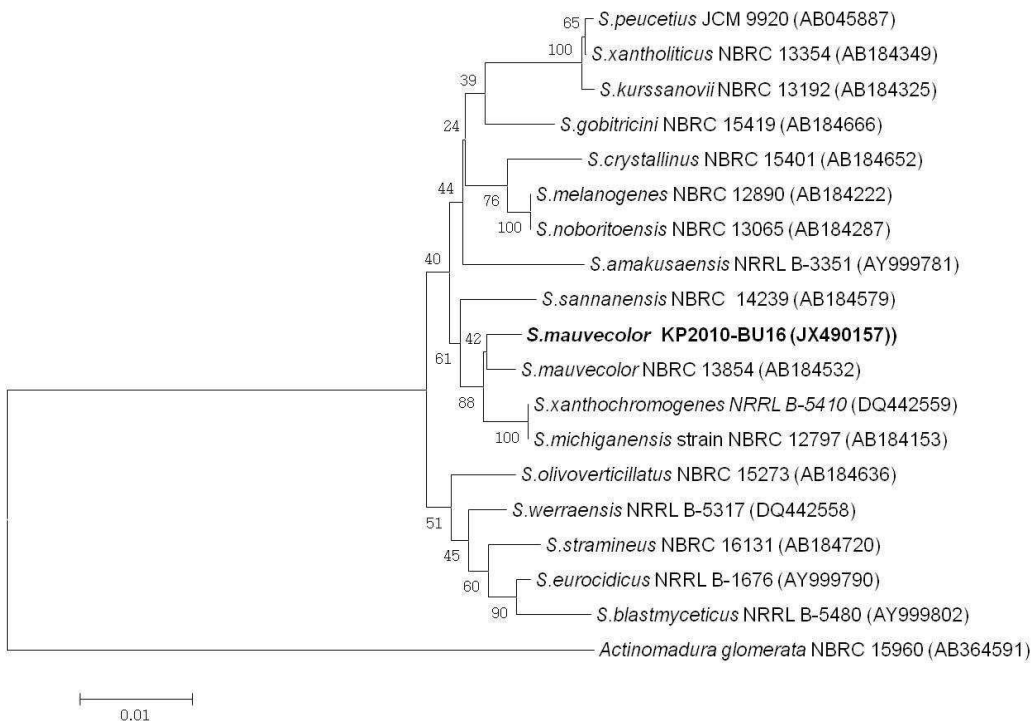


도면3

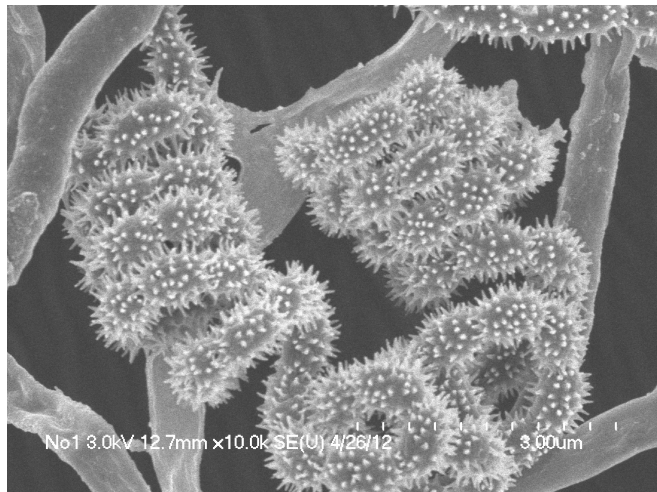
```

1  agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac
61  gatgaagcct ttcgggggtgg attagtggcg aacgggtgag taacacgtgg gcaatctgcc
121 cttcactctg ggacaagccc tggaaacggg gtctaatacc ggataacacc ttcaccgcga
181 tgggtggggg ttgaaagctc cggcggtgaa ggatgagccc gcggcctatc agcttggtgg
241 tgggggtgat gcctaccaag gcgacgacgg gtagccggcc tgagaggggc accggccaca
301 ctgggactga gacacggccc agactcctac gggaggcagc agtggggaat attgcacaat
361 gggcgaaagc ctgatgcagc gacgccgctg gagggatgac ggccttcggg ttgtaaacct
421 cttcagcag ggaagaagcg aaagtacggg tacctgcaga agaagcgcgg gctaactacg
481 tgccagcagc cgcggtaata cgtaggggcg aagcgtgtc cggaattatt ggcgtaaaag
541 agctcgtagg cggctgtgca cgtcggatgt gaaagccggg ggcttaacc cgggtctgca
601 ttcgatacgg gctagctaga gtgtggtagg ggagatcgga attcctggtg tagcggtgaa
661 atgcgcagat atcaggagga acaccggtgg cgaaggcgga tctctgggcc attactgacg
721 ctgaggagcg aaagcgtggg gagcgaacag gattagatac cctggtagtc cacgccgtaa
781 acgttgggaa ctagggtgtg gcgacattcc acgtcgtcgg tgccgcagct aacgcattaa
841 gttccccgcc tggggagtac ggcggcaagg ctaaaactca aaggaaattga cgggggccccg
901 cacaagcagc ggagcatgtg gcttaattcg acgcaacgcg aagaacctta ccaaggcttg
961 acatataccg gaaacatcca gagatggtgc ccctgtgtg tcggtataca ggtggtgcat
1021 ggctgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt ggggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt
1081 gttctgtgtt gccagcatgc cttcgggggt gatggggact cacaggagac tgccggggtc
1141 aactcggagg aaggtgggga cgacgtcaag tcactatgcc cttatgtct tgggtgcac
1201 acgtgctaca atggccggtg caaagagctg cgatgccgcg aggcggagcg aatctcaaaa
1261 agccggtctc agttcggatt ggggtctgca actcgacccc atgaagtcgg agttgctagt
1321 aatcgcatag cagcattgct gcggtgaata cgttccgggg cttgtacac accgcccgtc
1381 acgttacgaa agtcggtaac acccgaagcc ggtggcccaa cccctgtgg gaggagctg
1441 tcgaaggtgg gactggcgat tgggacgaag tcgtaacaag gtaccggt
    
```

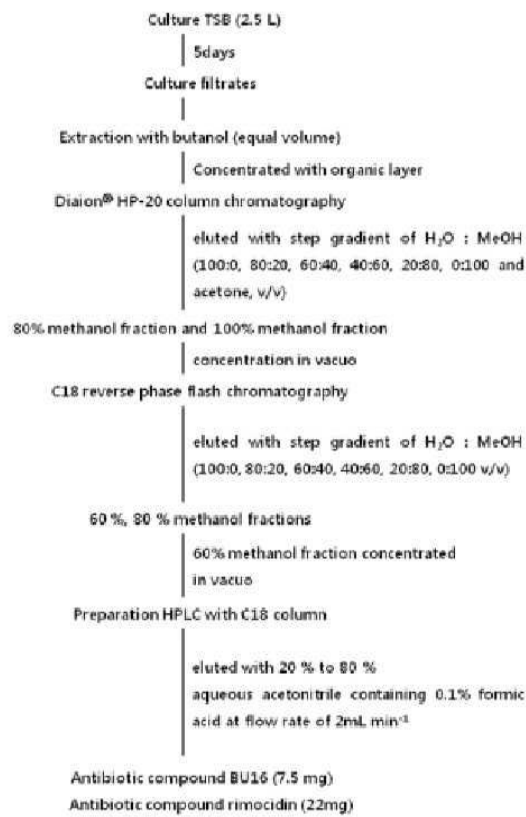
도면4



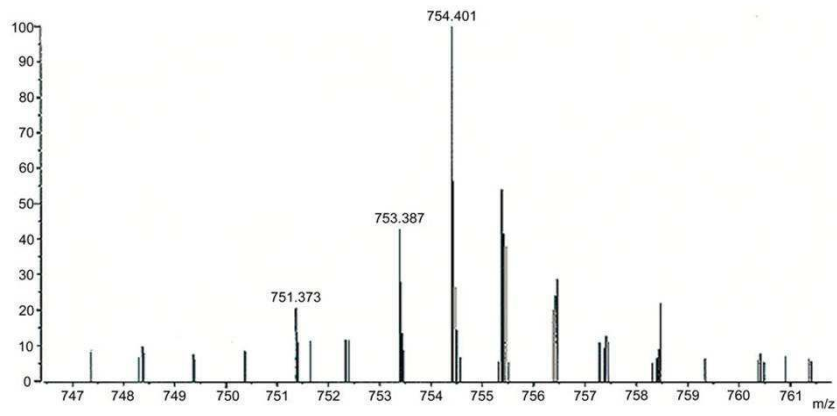
도면5



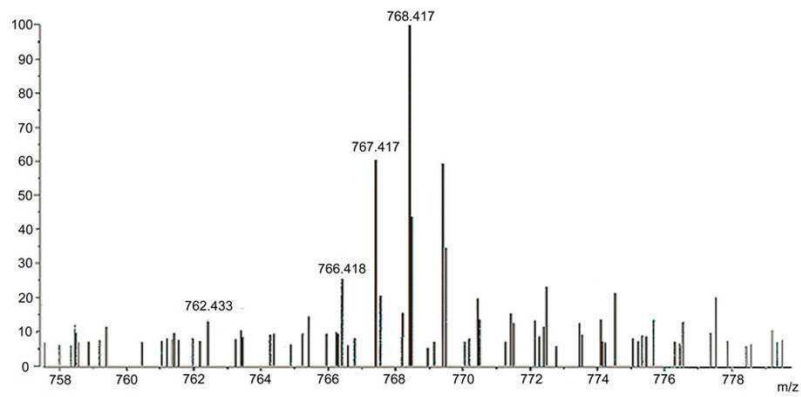
도면6



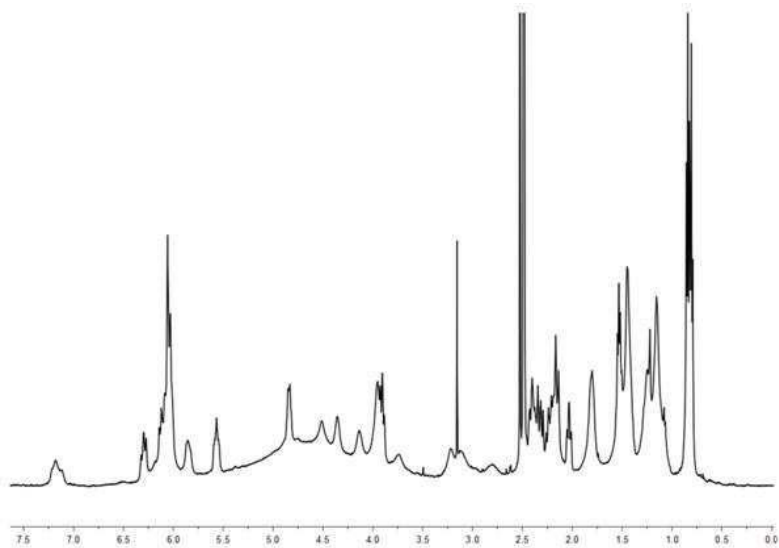
도면7a



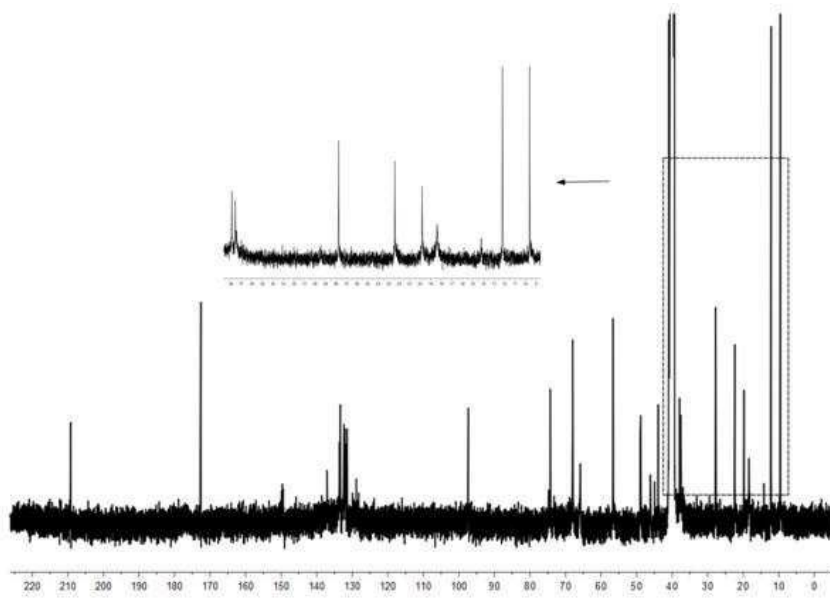
도면7b



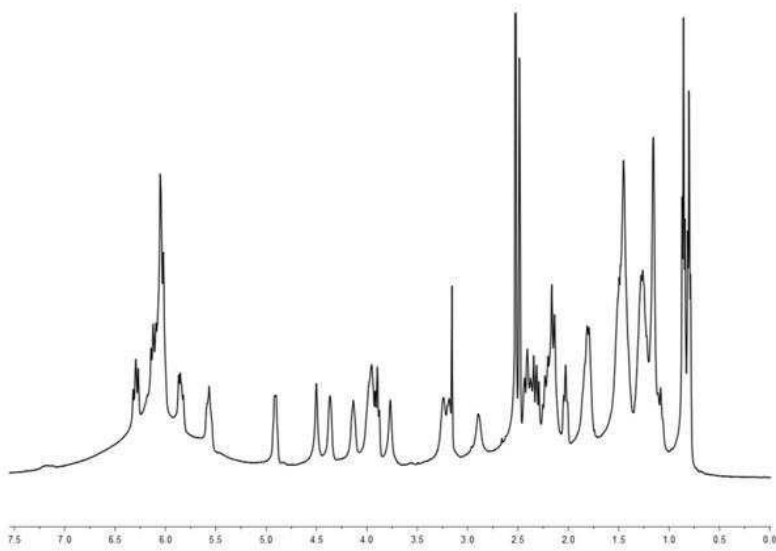
도면8a



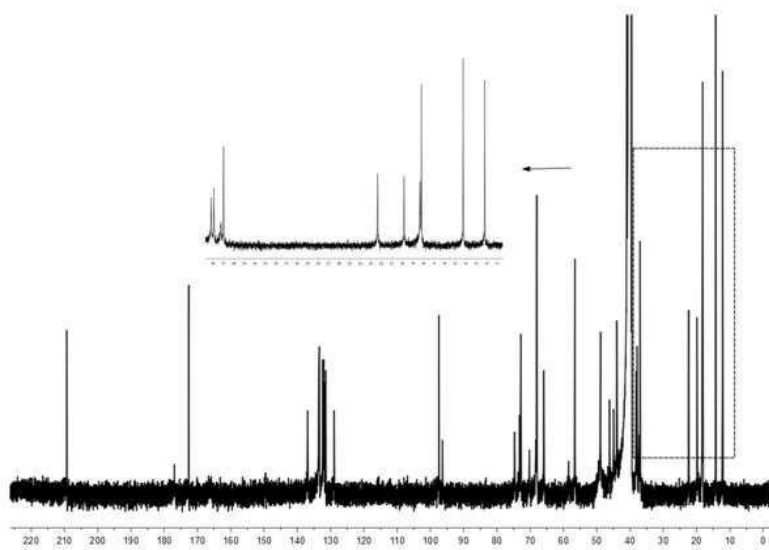
도면8b



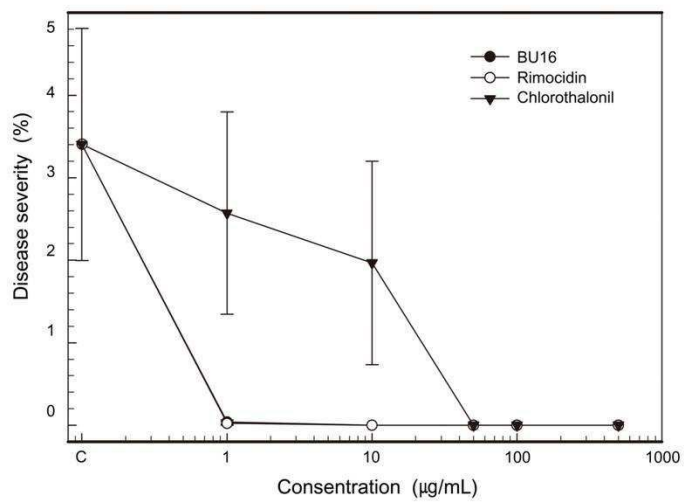
도면8c



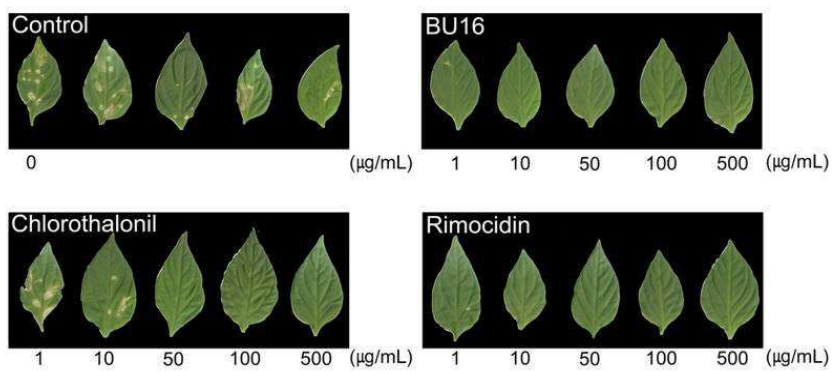
도면8d



도면9a



도면9b



<110> KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION  
 <120> Streptomyces mauvecolor strain effective against plant pathogenic  
 fungi and derivative rimocidin antibiotic produced therefrom  
 <130> P11-121011-01  
 <160> 3  
 <170> Kopatent In 2.0  
 <210> 1  
 <211> 1488  
 <212> DNA  
 <213> Streptomyces mauvecolor KP2010-BU16  
 <400> 1

```

agagtttgat cctggctcag gacgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac      60
gatgaagcct ttcggggtgg attagtggcg aacgggtgag taacacgtgg gcaatctgcc      120

cttcaactctg ggacaagccc tggaaacggg gtctaatacc ggataacacc ttccaccgca      180
tgggtgggggg ttgaaagctc cggcggtgaa ggatgagccc gcgcctatc agcttgttgg      240
tggggtgatg gcctaccaag gcgacgacgg gtagccggcc tgagaggcg accggccaca      300
ctgggactga gacacggccc agactcctac gggaggcagc agtggggaat attgcacaat      360
gggcgaaagc ctgatgcagc gacgccgct gagggatgac ggccttcggg ttgtaaacct      420
ctttcagcag ggaagaagcg aaagtgcagg tacctgcaga agaagcgccg gctaactacg      480
tgccagcagc cgcggtaata cgtaggcgcc aagcgttgct cggaattatt gggcgtaaag      540

agctcgtagg cgcttgta cgtcggatgt gaaagcccgg ggcttaaccc cgggtctgca      600
ttcgatacgg gctagctaga gtgtggtagg ggagatcgga attcctgggt tagcggtgaa      660
atgcgcagat atcaggagga acaccggtgg cgaaggcgga tctctgggcc attactgacg      720
ctgaggagcg aaagcgtggg gagcgaacag gattagatac cctggtagtc cacgccgtaa      780
acgttgggaa ctaggtgttg gcgacattcc acgtcgtcgg tgccgcagct aacgcattaa      840
gttccccgcc tggggagtac ggccgcaagg ctaaaactca aaggaattga cgggggcccc      900
cacaagcagc ggagcatgtg gcttaattcg acgcaacgcg aagaacctta ccaaggcttg      960

acataaccg gaaacatcca gagatgggtgc ccccttgtgg tcggtataca ggtgggtgcat      1020
ggctgtcgtc agctcgtgtc gtgagatgtt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctt      1080
gttctgtgtt gccagcatgc ccttcggggt gatggggact cacaggagac tgccggggtc      1140
aactcggagg aaggtgggga cgacgtcaag tcatcatgcc cttatgtct tgggctgcac      1200
acgtgtcaca atggccgta caaagagctg cgatgccgag aggcggagcg aatctcaaaa      1260
    
```

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| agccggtctc agttcggatt ggggtctgca actcgacccc atgaagtcgg agttgctagt | 1320 |
| aatcgcagat cagcattgct gcggtgaata cgttcccggg cttgtacac accgcccgtc  | 1380 |
|                                                                   |      |
| acgttacgaa agtcggtaac acccgaagcc ggtggcccaa cccttgttg gagggagctg  | 1440 |
| tcgaaggtgg gactggcgat tgggacgaag tcgtaacaag gtagccgt              | 1488 |
| <210> 2                                                           |      |
| <211> 20                                                          |      |
| <212> DNA                                                         |      |
| <213> Artificial Sequence                                         |      |
| <220><223> PCR PRIMER                                             |      |
| <400> 2                                                           |      |
| agagtttgat cctggctcag                                             | 20   |
| <210> 3                                                           |      |
| <211> 21                                                          |      |
| <212> DNA                                                         |      |
| <213> Artificial Sequence                                         |      |
| <220><223> PCR PRIMER                                             |      |
| <400> 3                                                           |      |
| acggctacct tggtacgact t                                           | 21   |