

## *Streptomyces* sp. SL-387에 의한 Aminopeptidase M 저해제 MR-387A 및 B의 생산 배지 최적화

정명철<sup>1</sup> · 전호근<sup>1</sup> · 이호재<sup>1</sup> · 이충환<sup>1</sup> · 김수일<sup>2</sup> · 고영희<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>한국과학기술연구원 생명공학연구소, <sup>2</sup>서울대학교 농화학과

**초록** : 토양으로부터 분리한 *Streptomyces* sp. SL-387 균주에 의하여 신규 aminopeptidase M 저해제 MR-387A 및 B를 생산하기 위한 최적 배지 조건을 검토하였다. 최적 배지 조건으로 glucose 1%, soybean meal 3%, yeast extract 0.2%, beef extract 0.1%, NaCl 0.3%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.01%, CaCO<sub>3</sub> 0.3%, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.001%, ZnCl<sub>2</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.001%, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.0005%, pH 7.0가 적당한 것으로 나타났다. 이 배지를 발효용 배지로 사용하였을 때 저해제의 생산은 배양 120시간에 최대에 도달하였으며, 그때의 최대 생산성(total productivity)은 909.1 U/ml이었다.

### 서 론

돼지의 뇌에서 methionine 또는 leucine enkephalin이 발견된 이래 다양한 peptide성 opioid활성을 갖는 물질이 동물로부터 보고되어 많은 opioid peptide에 대한 의학적 또는 약리학적 연구가 진행되어져 왔다<sup>1)</sup>. 이들의 생체 내에서의 조절은 세포표면 효소인 여러 aminopeptidase에 의해 이루어진다. 그중에서 aminopeptidase M(EC 3.4.11.2, AP-M)은 대뇌에서 무통각 작용을 갖는 enkephalin을 불활화 하는 기능이 있으며, 따라서 opioid peptide 대사 및 이와 관련된 질병 병발 메카니즘에 대한 연구가 진행되고 있다<sup>2)</sup>. 이러한 연구의 일환으로 AP-M에 특이적인 저해제를 탐색하려는 노력에 의해 actinonin<sup>3)</sup>, amastatin<sup>4)</sup>, probestin<sup>5)</sup> 및 leuhistin<sup>6)</sup> 등이 개발되어 보고되었다.

최근 본 연구자들은 *Streptomyces* sp. SL-387의 배양액으로부터 신규의 AP-M 저해제 MR-387A 및 B를 분리한 바 있다. 이 물질은 구조내에 특이한 아미노산인(2S,3R)-3-amino-2-hydroxy-4-phenylbutanoic acid(AHPA)를 N-말단에 갖는 4 아미노산 잔기의 peptide로 밝혀졌다<sup>7)</sup>. 발효에 의한 MR-387의 생산은 탄소원으로서는 D-glucose가 적합하였고, 질소원으로서는 대두박, 어분, gluten meal 또는 soytone이 적합하였으나 soytone은 저해제 생산이 지연될 뿐만 아니라 비용도 비싸기 때문에 대두박을 선정하였다. 더우기, 발효에 의한 저해물질의 생산은 고농도의 glucose, ammonia 및 phosphate 등에 의하여 억제됨을 발견하였다(personal communication). 일반적으로 ammonium salts나 phosphate는 복합배지내에 함유되어 있고 고농도로 존재시 2차 대사산물의 생합성을 저해하기 때문에 복합배지에는 별도로 첨가하지 않는다. 따라서 질소원으로 암모니아를 적게 방출하는 대두박, 어분 같은 성분이 적절하였으며, 무기인산은

아주 낮은 농도(0.01%)로 첨가하는 것이 적합하였다. 본 연구에서는 MR-387의 발효 생산에 이용된 성분들이 저해제 생산을 억제하지 않는 적정 농도를 결정하고, yeast extract 또는 beef extract 같은 생육인자, 완충제 및 미량원소 등이 MR-387의 생산에 미치는 영향을 조사하여 저해물질의 생산배지를 최적화하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료

실험에 사용한 무기염류는 시약 특급을 사용하였고, 배지류는 Difco 제품을 사용하였다. 효소 AP-M은 돼지의 신장으로부터 분리한 Sigma사 제품을 구입하여 더 이상 정제하지 않고 사용하였으며, 합성기질인 L-leucine-p-nitroanilide도 Sigma사로부터 구입하여 사용하였다.

#### 공시균주 및 배양

본 실험에 사용한 *Streptomyces* sp. SL-387은 전남 월출산 도립공원 근처의 토양에서 분리동정한 것을 냉장 또는 냉동 보관하면서 사용하였다<sup>7)</sup>. 이 균주의 포자를 백금으로 취하여 50 ml의 seed용 배지(1% glucose, 3% soytone, 0.2% yeast extract, 0.3% NaCl, 0.01% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)에 접종하여 28°C에서 2일간 진탕 배양하여 발효용 접종원으로 사용하였다. 저해제 생산을 위한 발효는 발효용 배지(2% glucose, 1% soluble starch, 2.5% soybean meal, 0.4% yeast extract, 0.1% beef extract, 0.2% NaCl, 0.025% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.0005% CuSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.005% MgCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.0005% ZnCl<sub>2</sub>·7H<sub>2</sub>O)가 든 250 ml-baffled flask에 배양한 seed를 1% 수준으로 접종하여 4일간 28°C에서 175 times/min(진폭 4 cm)으로 진탕 배양하였다. 각 배지 성분의 농도 및 각 농도에서 배양 시간별 저해제 생산 정도를 조사하기 위하여 발효용 배지를 기본배지 조성

찾는말 : fermentation, aminopeptidase M, inhibitor, *Streptomyces*

\*연락처

으로 하여 각각의 배지 성분을 달리하여 발효용 배지를 만들었으며, 배양 1일, 2일 및 4일에 각 배양액으로부터 1 ml씩 채취하여 균체의 성장, pH 및 AP-M 저해활성 정도등을 조사 하였다.

**균체의 성장**

균체의 성장은 건조중량 및 packed cell volume(PCV)으로 결정 하였다. 균체의 건조중량은 배양액 2 ml을 원심분리하여 동일부피의 물로 2번 세척하고 이를 105 °C에서 3시간 건조하여 무게를 측정하여 결정 하였다. PCV는 대두박이 고형물이기 때문에 건조중량으로 균체의 성장을 나타낼 수 없을때 사용하였다. 약 10 ml을 원심분리한 후 전체배양액에 대하여 packed cell이 차지하는 비율로 PCV(% , v/v)를 결정하였다.

**AP-M 활성 및 저해활성**

AP-M의 활성 및 저해활성은 Chung 등의 방법<sup>7)</sup>에 따라 L-leucine-p-nitroanilide을 기질로 사용하여 측정하였다. 저해활성 1 unit는 1 mU의 AP-M의 활성을 50% 저해하는 저해물질의 양으로 정의하였다. 저해제의 비생산성(specific inhibitor formation)은 균체 건조중량 mg당 저해활성(U/mg of dry cell weight)으로 나타내었으며, 생산성(total productivity)은 배양액 ml당 저해활성(U/ml of culture broth)으로 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**탄소원 농도의 영향**

저해제의 생산에 여러 탄소원이 미치는 영향을 조사 하였으나 탄소원의 종류에 따라 저해제의 생산에는 큰 변화가 없었다. 그러나 glucose, galactose, mannose 및 xylose 등이 상대적으로 높은 것으로 나타났다<sup>7)</sup>. 이들 중 glucose가 가격이 저렴하기 때문에 농도별, 배양 시간별 저해제 생산 정도를 조사하였다. Fig. 1A에서와 같이 1% 농도에서 가장 높은 생산성을 나타냈으며, 점점 농도가 증가할수록 그 생산성은 감소하였다. 1% 농도에서는 배양 4일째 가장 높은 생산성을 나타냈으며, 6% 첨가시는 그 생산이 지연됨을 알 수 있었다. Glucose 농도와 MR-387의 생산과의 관계에 있어서 glucose는 1% 이상 첨가시 농도에 반비례 관계를 나타냈다. 이로서 glucose 1% 첨가에 의하여 저해제 생산이 억제됨을 알 수 있다. 또한 cyclic AMP를 배지에 첨가하여 배양하였을 때 저해제의 생산이 약간 억제되었으며, 배양액의 최종 pH가 감소하는 것으로 보아 glucose에 의한 저해제 생산의 억제는 carbon catabolite repression을 받는 것으로 판단되었다(personal communication). 한편, glucose가 첨가된 기본배지에 가용성 전분을 첨가 하였을 경우 Fig. 1B에서와 같이 농도가 증가 할수록 점점 저해제의 생산이 감소하여 가용성 전분은 발효용 배지에 첨가하지 않는 것이 좋은 것으로 판단되었다.

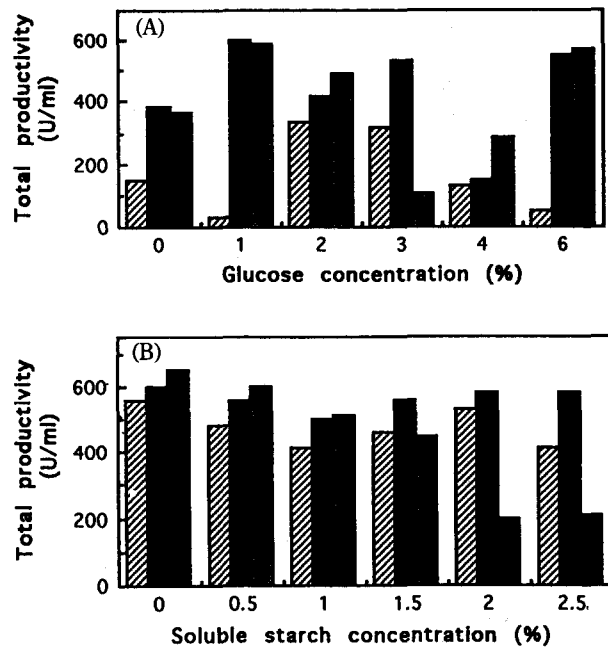


Fig. 1. Effect of D-glucose(A) and soluble starch(B) concentrations and culture time on the inhibitor production. Soluble starch was added to the fermentation medium containing 1% of glucose before autoclaving. ▨-▨, 1 day; ■-■, 2 days; □-□, 4 days of fermentation.

**질소원 농도의 영향**

질소원으로는 대두박, 어분, gluten meal 및 soytone이 저해제 생산에 좋은 것으로 나타났다<sup>7)</sup>. 그러나 soytone의 경우 저해제의 생산이 지연될 뿐만 아니라 그 가격도 비싸기 때문에 발효용 질소원으로는 적당치 않은 것으로 판단 되었다. 또한 저해제의 생산에는 ammonia를 첨가한 배지에서 현저하게 낮아지기 때문에 ammonia를 적게 방출하는 대두박을 사용하여 농도별, 배양 시간별 저해제 생산 정도를 조사하였다.

Fig. 2A에서와 같이 대두박의 농도가 증가할수록 저해제의 생산이 증가하였으며, 3% 이상 첨가시 그 생산이 다소 억제되어 증가가 없었다. 따라서 저해제의 발효에 있어서 질소원으로 3% 이내의 대두박 사용은 ammonia에 의한 catabolite repression을 극복하는 좋은 방법 이라 할 수 있다<sup>8)</sup>.

**Yeast extract의 영향**

각종 아미노산 및 vitamin을 다량 함유하고 있는 yeast extract를 생육인자원으로 사용하여 Streptomyces sp. SL-387에 의한 AP-M 저해제의 생산을 조사한 결과, Fig. 2B에서와 같이 0.2% 수준 이후 농도에 반비례하여 감소하였으며, 배양 4일째 가장 높은 생산을 보였다. 특히 casamino acid를 유일한 질소원으로 사용했을때 yeast extract를 사용했을때 보다 저해제의 생산은 현저히 저하되었다<sup>7)</sup>. 이는 yeast extract내에 존재하는 thiamine, riboflavin, pyridoxine, niacinamide 및 pantothenic acid

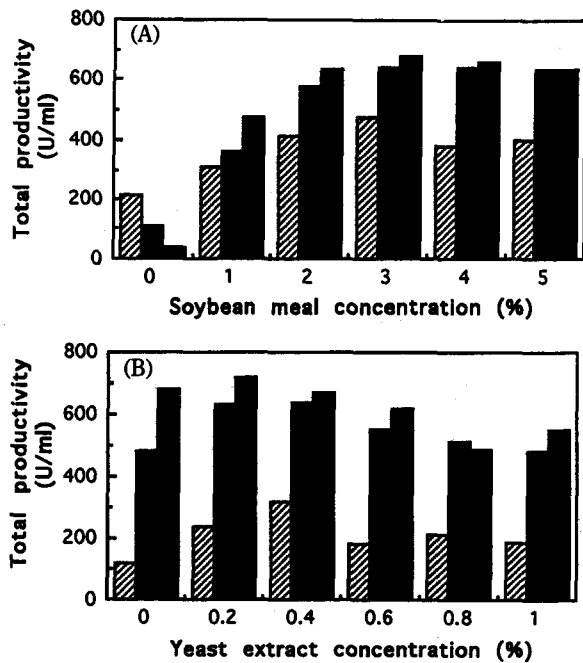


Fig. 2. Effect of soybean meal(A) and yeast extract(B) concentrations and culture time on the inhibitor production.

▨-▨, 1 day; ■-■, 2 days; ▤-▤, 4 days of fermentation.

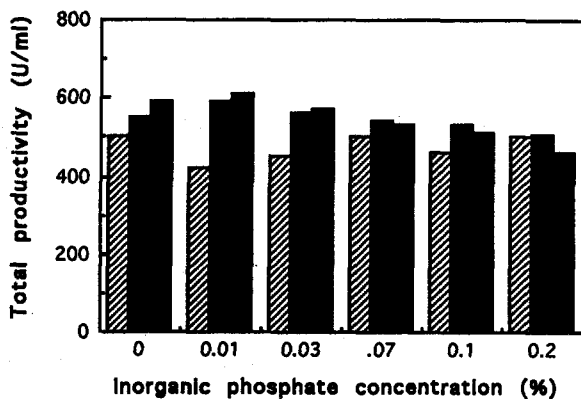


Fig. 3. Effect of phosphate concentration and culture time on the inhibitor production.

▨-▨, 1 day; ■-■, 2 days; ▤-▤, 4 days of fermentation.

등의 vitamin이 생육인자 혹은 저해제 생산의 cofactor로 작용했을 가능성을 시사한다. 저분자의 peptide 대사산물은 주로 peptide synthetase에 의하여 생산되며, 이 효소는 peptide 중간대사산물의 carrier로서 pantotheine을 갖고 있다<sup>9)</sup>. 따라서 yeast extract내에 존재하는 pantothenic acid(약 200 ppm)<sup>10)</sup>가 저해물질 생합성 효소의 cofactor로 작용했을 것으로 사료된다. Yeast extract 0.2% 이상 첨가시 저해제의 생산은 농도에 따라 감소하였는데 이는 yeast extract내에 있는 각종 아미노산과 ammonia성 질소가 다른 peptide 항생제에서의 마찬가지로 저해제 생산을 저해했을 것으로 생각된다<sup>9)</sup>. Beef extract의 경우는 저해제 생산에 별 다른 영향을 미치지

Table 1. Effect of NaCl concentration on the inhibitor production

NaCl (%)	Final pH	Total productivity (U/ml)
0	8.6	643.5
0.1	8.3	652.1
0.2	8.4	672.3
0.3	8.3	705.4
0.4	8.4	670.0
0.5	8.4	651.1

Table 2. Effect of trace salts on the inhibitor production

Trace salts	Concentration (mg/l)	Final pH	Total productivity (U/ml)
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	10	8.4	670.3
	50	8.2	588.9
CoCl <sub>2</sub>	10	8.0	645.2
	50	8.3	585.3
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10	8.0	688.7
	50	8.0	590.5
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5	8.0	645.2
	20	8.0	579.4
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	5	7.9	617.3
	20	7.9	587.6
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5	8.1	689.0
	20	8.0	632.9
None	-	8.0	657.7

Trace salts were added to the fermentation medium before autoclaving. Total productivities were measured by the inhibitory activities for aminopeptidase M at 96 hours of fermentation.

못했으나, 0.1%에서 최대였고 그 이후는 감소하는 것으로 나타났다(not shown data).

#### 무기염류의 영향

Phosphate는 2차 대사산물의 생합성을 억제하지만 균체의 생육에 없어서는 안될 중요한 영양원이다. 대체적으로 0.3~300 mM 범위에서 균체의 생육이 일어나지만 실제로 2차 대사산물의 생산은 1~10 mM 범위에서 이루어진다<sup>11)</sup>. 그러나 pyrrolnitrin<sup>12)</sup>, nocardicin<sup>13)</sup>, FK-156<sup>14)</sup> 등 몇몇의 경우는 오히려 고농도의 phosphate하에서만 2차 대사산물이 생성되는 경우도 있다. MR-387의 생성에 미치는 phosphate 농도의 영향을 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 0.01% 이상의 phosphate 농도 첨가시는 오히려 저해제 생성이 저해를 받았다. 이에 대한 자세한 메카니즘은 다른 논문으로 발표할 예정이다.

저해제 생성에 NaCl이 미치는 영향은 큰 변화는 없

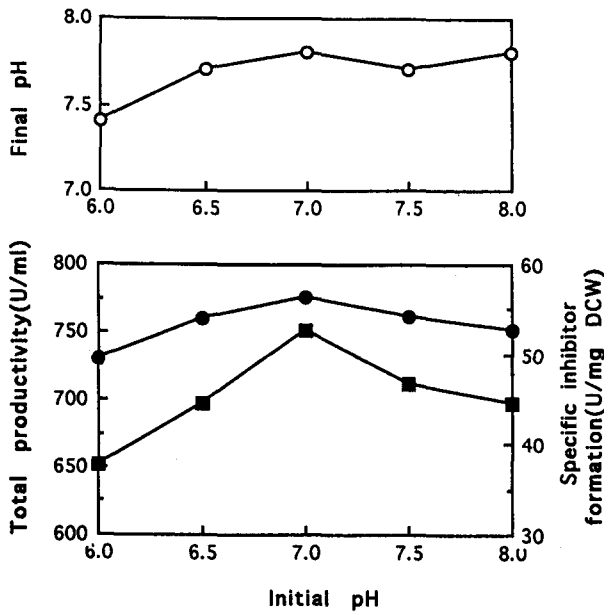


Fig. 4. Effect of initial pH on the inhibitor production. ○-○, final pH; ●-●, total productivity; ■-■, specific inhibitor formation

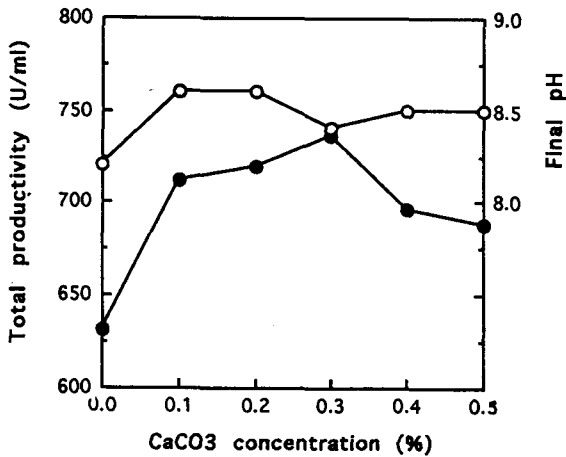


Fig. 5. Effect of CaCO<sub>3</sub> concentration on the inhibitor production. ○-○, final pH; ●-●, total productivity.

지만 Table 1에서와 같이 0.3% 농도로 첨가했을때 최고에 도달하였으며, 그 후에는 점점 줄어드는 경향을 나타냈다. 한편 미량원소들 중에서는 Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> 등이 낮은 농도(각각 10, 10, 5 mg/l)에서 저해제의 생산을 약간 증진시켰을 뿐 기타 Co<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 등은 영향을 주지 않거나 오히려 감소시키는 경향을 나타냈다 (Table 2).

**초발 pH의 영향**

pH가 저해제 생산에 중요한 요소이므로 배지의 초발 pH가 저해제 생산에 미치는 영향을 조사하였다. Fig. 4와 같이 초발 pH를 증가시키에 따라 최종 pH도 따라서 약간씩 증가하였으며 생산성에는 별다른 차이를 보이지

Table 3. Effect of precursors on the inhibitor production

Precursor (5 mM)	Final pH	Total productivity (U/ml)
L-phenylalanine	7.8	617.3
D-phenylalanine	7.6	657.9
L-valine	7.9	675.7
L-proline	7.6	632.9
L-hydroxyproline	7.8	529.1
D-Phe + Val + Pro + Hyp*	7.8	617.3
L-Phe + Val + Pro + Hyp*	7.6	645.2
Control	7.9	657.9

\*L-Amino acids except phenylalanine were added to the medium with 2 mM of concentration respectively.

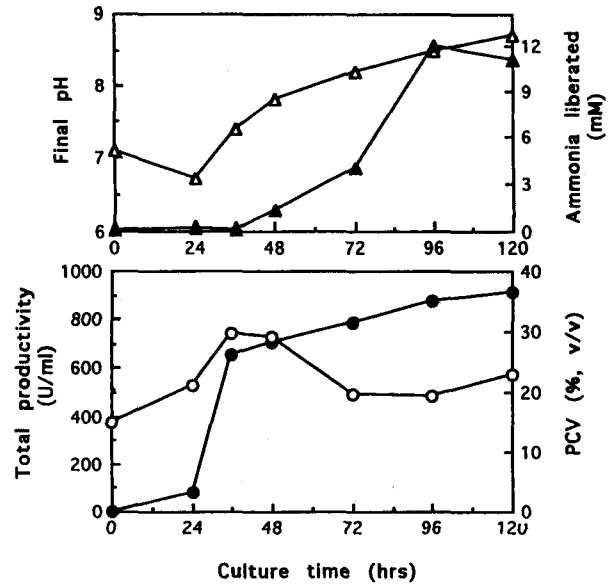


Fig. 6. Time course of the inhibitor production by a medium improved in this work. Ammonia concentrations liberated in the culture broth were measured by an ammonia electrode and calibrated by using NH<sub>4</sub>Cl solutions having known concentrations. ○-○, packed cell volume(%); ●-●, total productivity(U/ml); △-△, final pH; ▲-▲, ammonia concentration liberated(mM)

않았다. 그러나 저해제의 비생산성에는 영향을 미쳐 초발 pH 7.0에서 발효를 시작하였을 경우가 가장 좋음을 알 수 있었다.

**완충제의 영향**

저해제의 생산은 배지의 최종 pH와 깊은 상관관계가 있는 것으로 나타나, 배지의 pH를 완충시키기 위하여 CaCO<sub>3</sub>를 완충제로 사용하여 저해제의 생산에 대한 영향을 살펴 보았다. 0.3%의 CaCO<sub>3</sub>를 첨가하였을 경우가 가장 높은 생산을 나타냈으며, 배지의 최종 pH는 8.0~8.5로 별 차이를 나타내지 않았다(Fig. 5). CaCO<sub>3</sub>의 영향이 제산효과에 의한 것인지 아니면 Ca 이온의 cofactor로서의 작용에 의한 것인지에 대해서는 조사하지 않아 알 수 없었다.

### 전구물질의 영향

AP-M 저해제 MR-387은 valine, proline, hydroxyproline 등의 아미노산과 3-amino-2-hydroxy-4-penylbutanoic acid(AHPA)의 특이한 아미노산으로 구성되어 있기 때문에 이들을 전구물질로 하여 합성될 것이라 생각하여 이들 아미노산이 저해제 생산에 미치는 영향을 조사하였다. 특히 AHPA는 D- 또는 L-phenylalanine으로부터 화학합성에 의해 얻을 수 있으므로<sup>15)</sup> 이들 아미노산을 전구체로 사용하였다. Table 3에서와 같이 이들 전구체 아미노산은 저해제 생산에 별 영향을 미치지 못하였다. 그러나 L-hydroxyproline의 경우는 오히려 그 생산을 20% 정도 억제되었다. 이 결과는 이들 아미노산이 전구물질 일지라도 복합배지에 첨가시 저해제생산에 영향을 미치지 못함을 보여준다. 이는 다른 peptide 저해제<sup>16)</sup>에 서와 마찬가지로 전구체 아미노산의 첨가가 관련 아미노산의 세포내 농도에 별 영향을 미치지 못함을 시사해 준다.

### 저해제 생산 최적배지

이상에서 살펴본 바와 같이 AP-M 저해제 MR-387의 생산을 위한 최적배지로 1% glucose, 3% soybean meal, 0.2% yeast extract, 0.1% beef extract, 0.3% NaCl, 0.01% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.3% CaCO<sub>3</sub>, 0.001% MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.001% ZnCl<sub>2</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.0005% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, pH 7.0가 적당한 것으로 나타났다. 이 배지를 발효용 배지로 사용하였을때 pH는 배양 24시간부터 증가하였으며, 암모니아는 48시간부터 유리되어 96시간에 최대에 도달하였다. 세포의 성장은 배양 48시간에 최대에 도달하였으며 그 이후는 감소하였다. 개선된 배지에 의한 저해제의 생산은 배양 120시간에 최대에 도달하였고, 그때의 최대 생산성은 909.1 U/ml이었다(Fig. 6).

### 참 고 문 헌

- Hughes, J., T. W. Smith, H. W. Kosterlitz, L. A. Fothergill, B. A. Morgan and H. R. Moris (1975) Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* **258**, 577-579.
- Gros, C., B. Giros and J. C. Schwartz (1985) Identification of aminopeptidase M as an enkephalin-inactivating enzyme in rat cerebral membranes. *Biochemistry* **24**, 2179-2185.
- Umezawa, H., T. Aoyagi, T. Tanaka, H. Suda, A. Okuyama, H. Naganawa, M. Hamada and T. Takeuchi (1985) Production of actinonin, an inhibitor of aminopeptidase M, by acti-

- nomycetes. *J. Antibiotics* **38**, 1813-1815.
- Aoyagi, T., H. Tobe, F. Kojima, M. Hamada, T. Takeuchi and H. Umezawa (1978) Amastatin, an inhibitor of aminopeptidase A, produced by actinomycetes. *J. Antibiotics* **31**, 636-638.
- Aoyagi, T., S. Yoshida, Y. Nakamura, Y. Shigihara, M. Hamada and T. Takeuchi (1990) Probestin, a new inhibitor of aminopeptidase M, produced by *Streptomyces azureus* MH 663-2F6. *J. Antibiotics* **43**, 143-153.
- Aoyagi, T., S. Yoshida, N. Matsuda, T. Ikeda, M. Hamada and T. Takeuchi (1991) Leuhistin, a new inhibitor of aminopeptidase M, produced by *Bacillus laterosporus* BMI156-14F1. *J. Antibiotics* **44**, 573-581.
- 정명철, 전효곤, 이호재, 고영희 (1994) 신규의 aminopeptidase M 저해제 MR-387A와 B를 생산하는 균주의 동정 및 저해제의 생산. *산업미생물학회지* **22**, 447-452.
- Demain, A. L. (1982) Catabolite regulation in industrial microbiology, pp 3-20. In 'Overproduction of Microbial Products' Z. Vanek *et al* (ed.) Academic press, London.
- Lanland, S. G., T. L. Zimmer and φ. Froyshov (1978) Biosynthesis of bioactive peptides produced by microorganisms, pp 7-34. In 'Bioactive Peptides Produced by Microorganisms' H. Umezawa *et al* (ed.) John Wiley & Sons, N. Y.
- Crueger, W. and A. Crueger (1984) In 'Biotechnology- a Textbook of Industrial Microbiology', pp 49-54, Sinouer Associate, Sunderland.
- Crueger, W. and A. Crueger (1984) In 'Biotechnology- a Textbook of Industrial Microbiology', pp 9-48, Sinouer Associate, Sunderland.
- Arima, K., H. Imanaka, M. Kohsaka, A. Furuta and G. Tamura (1964) Pyrrolnitrin, a new antibiotic substance, produced by *Pseudomonas*. *Agric. Biol. Chem.* **28**, 575-576.
- Aoki, H., H. Sakai, M. Kohsaka, T. Konomi, J. Hosoda, Y. Kubochi, E. Iguchi and H. Imanaka (1976) Nocardicin A, a new monocyclic β-lactam antibiotic. *J. Antibiotics* **29**, 492-500.
- Gotoh, T., K. Nakahara, M. Iwami, H. Aoki and H. Imanaka (1982) Studies on a new immunoactive peptide FK-156. *J. Antibiotics* **35**, 1280-1285.
- Nishizawa, R. and T. Saino (1977) Synthesis and structure-activity relationships of bestatin analogues, inhibitors of aminopeptidase B. *J. Med. Chem.* **20**, 510-515.
- Suzuki, K., S. Toda, T. Furumai, Y. Fukagawa and T. Oki (1994) Eurystatins A and B, new prolyl endopeptidase inhibitors: III. Fermentation and controlled biosynthesis of eurystatin analogs by *Streptomyces eurhythermus*. *J. Antibiotics* **47**, 982-991.

---

**Media Optimization for the Production of Aminopeptidase M Inhibitors MR-387A and B by *Streptomyces* sp. SL-387**

Myung-Chul Chung<sup>1</sup>, Hyo-Kon Chun<sup>1</sup>, Ho-Jae Lee<sup>1</sup>, Choong-Hwan Lee<sup>1</sup>, Su-Il Kim<sup>2</sup> and Yung-Hee Kho<sup>1\*</sup>(<sup>1</sup>*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, Taejeon*, <sup>2</sup>*Department of Agricultural Chemistry, Seoul National University, Suwon, Korea*)

**Abstract** : Media optimization for the production of MR-387A and B, novel aminopeptidase M inhibitors by *Streptomyces* sp. SL-387 isolated from a soil was studied. Optimized medium was consisted of 1% glucose, 3% soybean meal, 0.2% yeast extract, 0.1% beef extract, 0.3% NaCl, 0.01% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.3% CaCO<sub>3</sub>, 0.001% MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0.001% ZnCl<sub>2</sub>·7H<sub>2</sub>O, and 0.0005% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, and adjusted to pH 7.0 before autoclaving. When the optimized medium was used as a fermentation medium, maximum productivity of MR-387 was reached at 120 hours of fermentation, and total productivity was 909.1 U/ml.

---

\*Corresponding author