

***Streptomyces* sp. YS-943 균주가 생산하는 아미노산 대사길항물질의 정제와 성상**

유성재 · 박부길*
강원대학교 식품공학과

Isolation and Properties of Amino Acid Antimetabolite from *Streptomyces* sp. YS-943

Seong-Jae Yoo and Boo-Kil Park*

*Department of Food Science and Technology, College of Agriculture,
Kang Won University, Chunchon 200-701, Koera*

Abstract — A *Streptomyces* strain YS-943, which produced amino acid antimetabolite, was isolated from soil. During the course of screening for new amino acid antimetabolites from the culture broth of Actinomycetes, we found that the strain produced a substance active against Gram-positive bacteria and its activity was reversed by L-methionine and L-histidine on the synthetic minimal agar medium in the culture broth. The morphological and cultural characteristics serve to identify the producing organism strain YS-943 as the genus *Streptomyces*. Fermentation was carried out in the synthetic medium at 28°C for 48 hours. The fermentation yield reached about 12 mg per liter of the broth. The YS-943 substance was obtained as white powder, mp 194°C and has the molecular formula of C₄H₈N₂O₄. Its structure was determined to be o-carbamyl-D-serine by spectroscopic data. It is active against some Gram-positive bacteria and reversed by L-methionine and L-histidine.

여러 연구실에서는 미생물기원의 대사길항물질 탐색에 관심을 가지고 연구하고 있으며 미국의 Hoffman-La Roche 사의 Scannell(1-7), Pruess(8-12), Eli Lilly 사의 Molley(13), 독일 Tübingen 대학의 Bayer (14, 15), 일본의 Sugiura(16), Inouye(17) 국내의 박(18) 등에 의하여 amino 산, 펩타이드, 핵산관련 대사길항물질이 다수 발견 보고되고 있다. 일반적으로 항생물질의 screening 방법과는 달리 최소 검정배지에 있어서의 대사저해에 핵산, 아미노산, vitamin 등의 첨가로 대사저해 회복을 screening 함으로써 새로운 화합물의 발견이 가능하게끔 되었다. 대사길항물질은 필수대사산물의 구조 analogue의 경우가 대부분이며 주로 아미노산 analogue의 대사길항물질이 많이 알려져 있다. 그 중에서도 glutamine의 대사길항물질(6, 9, 14)인 경우는 dipeptide 또는 tripeptide 물질이 많고 L-threonine의 대사길항물질인 plumbemycin(18)은 tripeptide로 밝혀져 있다. 기타 아미노산 대

사길항물질의 경우는 대개 그의 구조 analogue가 대부분이다.

필자들은 이와같은 견지에서 방선균이 생산하는 새로운 아미노산 대사길항물질의 탐색을 목적으로 screening 한 결과 토양에서 분리한 *Streptomyces* sp. YS-943의 배양액에서 L-methionine과 L-histidine에 길항작용을 나타내고 특정시험균에 항균작용을 나타내는 물질의 존재를 확인하였다. 현재까지는 L-methionine과 L-histidine에 의해 길항작용을 나타내는 물질이 보고된 바 없으므로 본 물질의 신규 가능성을 기대하여 본 연구를 수행하였다. 본 보에서는 대사길항물질의 screening 방법, 생산균주의 분류동정, 유효물질의 분리정제, 이화학적, 생물학적 성질과 구조결정에 관하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

Screening 방법

생산균의 분리 각지에서 채취한 토양시료를 10배 수의 멸균수에 현탁하여 soluble starch 1%, K₂HPO₄

Key words: Antimetabolite, YS-943 substance, o-carbamyl-D-serine, L-Met., L-His. antimetabolite
*Corresponding author

0.05%, NH_4Cl 0.05%, agar 1.5%로 조제된 배지에서 30°C , 4~7일간 평판 배양하고 평판 배지상의 방선균으로 보이는 colony를 modified Bennett's agar에 사면배양하여 순수분리하였다.

배양과 활성검정 방선균의 배양은 glucose 10 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.64 g, KH_2PO_4 2.38 g, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 5.65 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g, trace salts mixture 1 ml, distilled water 1 liter의 액체 배지에서 30°C , 3~5일간 진탕배양하였다. 배양액의 활성검정은 Scannell 등(2)의 방법을 따랐으며 최소 검정배지로는 Stephenson-Whetham 배지(S-W 배지)(19)를 사용하였다. 일차로 각 방선균의 배양액을 paper disc(ϕ 7.5 mm, Toyo Rochi)에 적셔서 S-W 합균배지와 0.2% polypeptone 과 0.1% yeast extract를 첨가한 합균배지(S-W complex 배지) 위에 각각 놓고 S-W 배지에서 활성을 나타내나 S-W complex 배지에서는 활성을 나타내지 않는 균주를 선발하였다. 이차 검정으로는 일차검정에서 활성을 나타내는 배양액의 주위에 20종의 아미노산 수용액(mg/ml)을 적신 paper disc를 각각 놓고 특정 아미노산에 의해 항균활성이 회복되는 것을 검색, 선발하였다. 시험균은 *Bacillus subtilis* IFO 12210을 Bouillon 배지에 하룻밤 진탕배양하여 saline solution(0.85%)으로 2회 세척 후 평판배지 100 ml 당 균현탁액 5 ml를 첨가하여 합균배지를 만들었다.

생산균주의 분류동정

균주의 형태학적 검정은 sucrose-nitrate agar와 inorganic salt-starch agar에서 28°C , 약 2주간 배양한 균의 형태를 광학현미경으로 검정하였으며 포자표면은 modified Bennett's agar에서 생육한 균의 포자를 전자현미경으로 관찰하였다. 배양학적 성상은 주로 International Streptomyces Project(ISP)(20)에 나타난 배지를 사용하여 28°C , 14일간 배양하면서 균의 생육과 포자형성, 포자의 성상, reverse side의 색조 및 가용성 색소 등을 육안으로 관찰하였으며 Waksman에 의하여 추천된 배지(21)도 병용하였다. 탄수화물의 자화성은 Pridham과 Gottlieb(22)의 방법에 따랐으며 세포벽의 아미노산 조성은 Boone과 Pine(23)의 방법에 따랐다. 기타 생리학적 특성은 상법에 준하였다.

생산균의 액체배양

500 ml 용 진탕 flask에 전술한 액체배지 100 ml를 분주하고 고압살균 후 종배양액 각 2%를 접종하여 reciprocal shaker(108 rpm)에서 30°C , 48시간 진탕배양하였다. 종배양은 보존균의 사면배지에서 1 백금이

를 종배지(modified Bennett's medium)에 접종하고 30°C , 24시간 진탕배양하였다.

활성물질의 분리정제 및 이화학적 생물학적 성질

배양액을 여과하여 균체를 제거하고 배양여액을 2 N-HCl으로 pH 3.0으로 조정후에 Dowex 50×8 이온교환수지 column chromatography, silica gel column chromatography 등을 이용하여 활성물질을 분리 정제하였다. 활성물질의 이화학적 성질 및 생물학적 성질을 규명하기 위하여 정제된 물질의 Rf 치, 정색반응, 용해성 등을 검정하였으며 spot 확인은 bioautogram과 ninhydrin 정색반응으로 하였다. 생물학적 검정으로는 paper disc method에 의한 활성물질의 발육 저지원의 크기를 측정하였다. 또한 L-Met.과 L-His.에 대한 항균활성의 길항 작용을 검정하였다.

결과 및 고찰

각 지역에서 채취한 토양시료에서 약 400주의 방선균을 분리하여 1차 screening 한 결과 43주의 활성균주를 얻었다. 선발된 43주의 2차 screening의 결과 시험균중 *Bacillus subtilis* IFO 12210에만 활성을 나타내고 L-Met.과 L-His.에 의해 항균활성이 길항되는 물질을 생산하는 방선균을 추천 근교로부터 채취한 토양시료로부터 분리하였으며 이 균주의 단포자 분리균중 활성이 강한균주를 선발하여 strain YS-943으로 잠정 명명하였다.

생산균주의 분류동정

YS-943 균주의 배양학적 성상은 Nutrient agar와 Nitrate agar(ISP.No.8)에서는 생육이 보통이었으며 대부분의 배지에서 생육이 양호하였다. 기균사의 색상은 light red였으며 vegetative mycelium은 white였고 soluble pigment는 없었다. 포자연쇄형태는 광학현미경으로 검정한 결과 rectus flexibilis(RF)로 판정되었으며 전자현미경상의 포자표면은 smooth로 나타났다. Pridham-Gottlieb 배지를 basal medium으로 하여 각 탄소원을 2% 씩 첨가하고 28°C , 7~14일간 배양한 결과 D-xylose, L-arabinose, D-fructose, D-galactose 등에서 자화성이 없었으며 나머지 주요 탄소원은 자화하였다. 세포벽 조성은 균체의 가수분해 잔유물을 diamino pimelic acid(DAP)와 TLC 상에서 비교하여 본 결과 LL-DAP를 함유하고 있는 것으로 나타났다. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology(24)에서 검색한 결과를 Table 1에 요약하였다.

Table 1. Identification of strain YS-943

Color of mature sporulated aerial mycelium:	pale red
Spore chain morphology:	RF
Number of spores:	15-20 ea
Production of melanoid pigments:	negative
Surface of spore:	smooth
Utilization of carbon source	
Positive:	D-glucose, D-rhamnose, Sucrose, Maltose, Raffinose, D-mannitol, i-Inositol, Salicin
Negative:	D-xylose, L-arabinose, D-fructose, D-galactose

이상의 결과 YS-943 균주는 *Streptomyces* 속의 red series에 속하는 것으로 판명되며 포자의 연쇄모양, melanin 색소의 형성, 포자표면의 성상과 당 자화성 등의 결과를 종합하여 판단해 볼 때 reference 상의 유연균을 발견할 수가 없었다. 신종여부는 많은 type culture와 비교 검색하지 않아 알 수가 없고 다만 기균사의 포자형성과 세포벽성분의 조성으로 미루어 *Streptomyces* sp.로만 동정하였다.

활성물질의 분리 정제

본 배양여액 20 l를 2 N-HCl으로 pH 3.0으로 조정 한 후 ion exchange column(Dowex 50×8, H⁺ form, 50~100 mesh column size, 5×47 cm)에 흡착시키고 충분히 수세 후 5% pyridine 수용액으로 용출하여 100 ml 씩 분획한 후 활성부분을 모아 45°C에서 감압농축 하여 약 6 g의 조물질을 얻었다. 이 조물질을 소량의 용매(BuOH : AcOH : H₂O, 4 : 1 : 2)에 녹여 silica gel column(3.5×36 cm)에 charge 한 후 같은 용매로 전개하여 분획하고 활성부분을 모아 감압농축한 후 약 1.2 g 정도의 중간 정제물질을 얻었다. 최종단계로 propanol : H₂O(8 : 2)의 용매계에서 silica gel column chromatography를 행하고 3 ml 씩 분획한 후 TLC 상에서 단일 spot를 나타내는 활성부분을 감압 농축하여 약 500 mg의 활성분말을 얻었다. 이 물질을 EtOH : H₂O의 용매계에서 결정화 하여 백색분말의 정제된 활성물질 224 mg을 얻었다. 분리정제의 개략을 Fig. 1에 나타냈다.

YS-943 물질의 이화학적 성질

YS-943 물질은 백색분말상태로 융점이 194°C 였으며 각종 전개용매에서 단일 spot를 나타냈다. 원소분석 및 질량분석의 결과 분자식은 C₄H₈N₂O₄, 분자량은

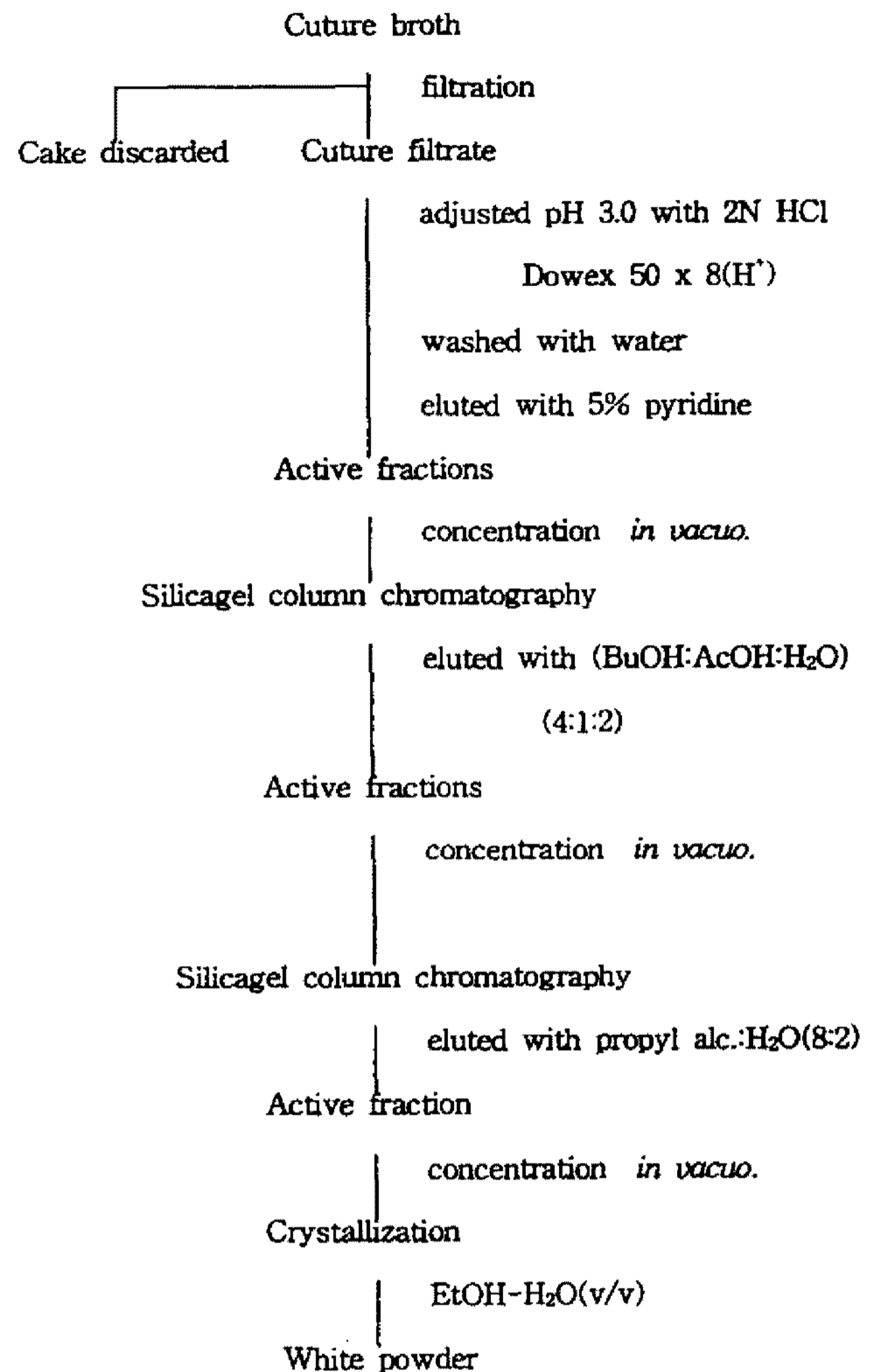


Fig. 1. Isolation procedure of YS-943 substance.

148을 나타냈다. UV spectrum은 말단 흡수를 보였으며 IR spectrum은 3400 cm⁻¹에 수산기, 1710과 1650 cm⁻¹에 carbonyl 기의 존재를 시사하였다. 이상의 YS-943 물질의 이화학적 성질을 Table 2에 요약하였다.

YS-943 물질의 화학구조 이화학적 성질과 UV, IR 등의 data를 기초로 하여 문헌을 검색한 결과 본 물질이 amino acid계 항생물질인 o-carbamyl-D-serine과 유사하다는 것을 발견하였다. 더욱이 분자량 분자식이 같고 IR spectrum의 특징적인 흡수가 문헌(25)와 일치하여 o-carbamyl-D-serine으로 추정했다. YS-943 물질이 o-carbamyl-D-serine과 일치하느냐를 확인하기 위하여 NMR spectra에 의하여 구조식을 분석하였다. ¹H-NMR spectrum에 3개의 proton signal이 나타났다. 나머지 5개의 proton은 용매 D₂O와 교환으로 나타나지 않았으며, 3개의 proton 중 δ.4.03 ppm(H,t)의 한개의 proton은 methylene기와 결합한 methine proton으로 귀속됐다. Chemical shift로 보

Table 2. Physico-chemical properties of YS-943 substance

Appearance	neutral, white powder
Melting point	194°C (decomposition)
Elemental analysis	Found; C: 32.3 H: 5.5 N: 17.9(%) Cald; C: 32.4 H: 5.4 N: 18.9(%)
Mass spectrum	m/z, 149(M ⁺) for C ₄ H ₈ N ₂ O ₄
UV λ _{max} (H ₂ O) nm	end absorption
IR ν _{max} (KBr) cm ⁻¹	3400,3190,2020 1710 1650, 1480, 1430
¹ H-NMR(ppm)	δ.4.03(H,t), δ.4.43(2H,dt), δ.4.80(5H,m)
C-NMR(ppm)	δ.56.64, δ.66.03, δ.161.06, δ.173.97
Solubility Soluble:	water
Insoluble:	MeOH, EtOAc, Benzene, chloroform
Color reaction (Positive)	Ninhydrin, o-Tolidine-KI I ₂ vapour, Ehrlich

아 amino 산의 α-수소로 추정할 수 있었으며 또한 δ.4.43 ppm(2H,dt)의 signal은 methine기와 결합하고 있는 methylene기로 저자장으로 shift 되어 있는 것으로 보아 산소와 결합하고 있는 것으로 추정하였다. ¹³C-NMR에서는 4개의 탄소 signal을 확인할 수가 있었다. δ.56.64 ppm에 methine기 유래의 탄소, δ.66.03 ppm에 methylene기 유래의 탄소 signal이 각각 나타났고 δ.161.06 ppm과 δ.173.97 ppm에 2개의 carbonyl carbon의 signal을 볼 수가 있었다. 이것은 off-resonance 조건 하에서 δ.56.64 ppm의 signal이 doublet으로, δ.66.03 ppm의 signal이 triplet으로, δ.161.06 ppm과 δ.173.97 ppm의 signal이 각각 singlet으로 나타나는 것으로도 확인되었다.

이상의 기기분석 결과 YS-943 물질은 o-carbamyl-D-Serine(26, 27)으로 판명되었다.

YS-943 물질의 생물학적 성질

최소검정배지에서의 YS-943 물질의 항균성 시험을 paper disc 법으로 행하고 각종 시험균에 대한 발육 저지원을 측정하여 본 결과 *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* 등에는 강한 항균 활성을 나타내었으나 기타 세균 및 진균에는 활성이 없고 몇 종의 시험균에 대해서만 항균 활성을 나타냈다.

YS-943 물질의 L-methionine과 L-histidine에 의한 길항 YS-943 물질의 항균성은 L-Met.과 L-His.에

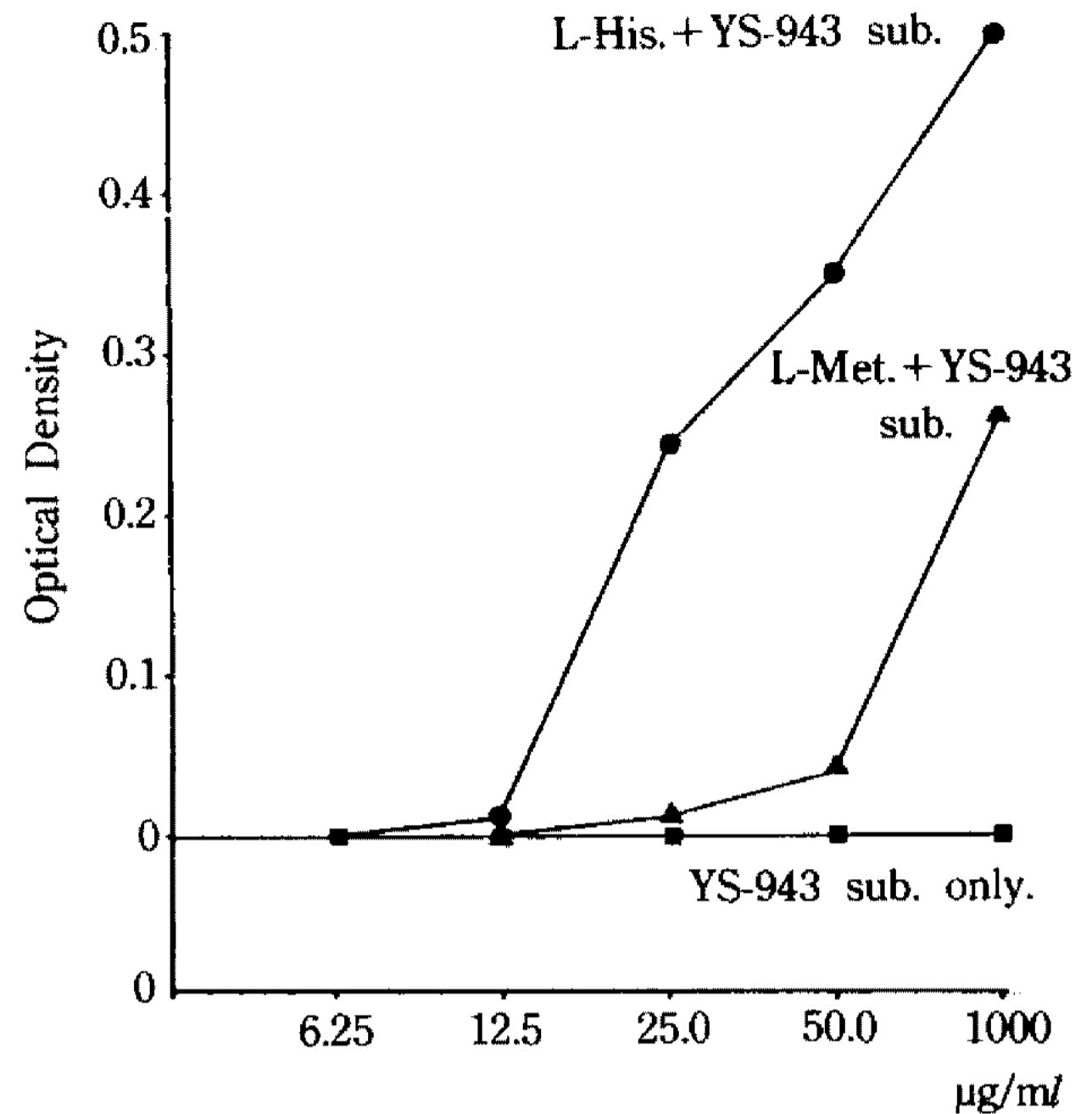


Fig. 2. Reversal effect of L-Met. and L-His. upon inhibition of growth caused by YS-943 substance.

OD values were measured at 660 nm. after incubation on shaker for 16 hrs. at 30°C in a test tube using *Bacillus subtilis* IFO 12210 on the Stephenson-Wheatam medium with 25 µg/ml of YS-943 substance only, and YS-943 substance plus L-Met. or L-His. at the concentration of 6.25 µg/ml to 100 µg/ml indicated in Fig.

의해 길항되어 일정 농도 이상의 L-Met.과 L-His.을 첨가한 합성배지에서는 그의 발육저지원이 소멸되었다. *Bacillus subtilis* IFO12210을 시험균으로 한 액체합성배지에서의 YS-943 물질과 L-Met. 및 L-His.과의 활성저해 회복관계를 Fig. 2에 나타냈다. L-Met. 농도 25.0 µg/ml에서부터 흡광도가 증가하여 생육이 회복되는 것을 알 수 있었으며 L-His.은 12.5 µg/ml의 농도에서 생육이 회복되었다. 따라서 YS-943 물질은 L-Met.과 L-His.의 대사길항물질임을 알 수 있었다.

미생물이 생산하는 대사길항 물질은 많은 종류가 보고되어 있으며(28) 그 중에서도 방선균이 생산하는 것과 아미노산과 길항하는 아미노산 대사길항 물질이 대부분이다. 아미노산 대사길항물질인 YS-943은 최소 검정배지에서 *Bacillus subtilis*에 대해 항균활성을 나타내고 그 활성을 L-Met.에 의해 경쟁적으로 회복되며 L-His.에 의해 비경쟁적으로 회복되기 때문에 기존의 아미노산과는 reversal pattern이 달라 신규의 가능성이 있는 것으로 사료되었으나 구조 분석을 한 결과 o-carbamyl-D-serine으로 판명되었다. 그러나 o-carbamyl-D-serine은 *Streptomyces* 속의 한 균종이 생산하는 약한 항생물질로서 1955년 Hagemann 등(26)에 의해 발표되었으며 *Bacillus* sp.의 DL-alanine의 anti-

metabolite로 알려져 있다. 또한 생산균주로는 *St. polychromogenes* 외에 *St. narbonensis*, *St. fradiae* 등이 생산하는 것으로 알려져 있다(25). YS-943 strain의 분류 동정 결과는 기존의 생산균주와는 형태학적, 배양학적 성상이 다르고 그 중에서 *St. fradiae*와 가장 유사한 균주로 보였으나 기균사의 색조 및 탄수화물의 자화성이 상이하어 기존의 생산균주와는 다른 균주로 볼 수가 있다. 다만 종까지의 동정은 더 많은 실험을 거쳐야만 할 과제로 남아 있다. YS-943 물질은 기기 분석결과 o-carbamyl-D-serine으로 판명되었으나 기존의 길항양상과는 달리 L-Met.과 L-His.에 의해서 reversal 당하는 것으로 나타나 새로운 대사길항 양상을 나타내는 것으로 확인되었다.

요 약

토양으로부터 아미노산 antimetabolite를 생산하는 방선균 YS-943을 분리하고 그의 배양여액으로부터 합성배지에서 항균 활성을 나타내는 YS-943 물질을 분리 정제하였다. 본 물질은 합성배지에서 특정의 시험균에 대해 항균활성을 나타내고 *Bacillus subtilis*에 대한 항균 활성이 L-Met.과 경쟁적으로, L-His.과는 비경쟁적으로 저해된다는 것을 발견했다. 본 방선균은 형태학적, 배양학적 성상으로부터 *Streptomyces* sp.로 동정하였다. 배양은 합성배지에서 30°C, 48 시간 행하였으며 활성물질은 ion exchange resin, silica gel column chromatography 등을 행하여 정제하였다. 원소 분석과 IR, Mass, NMR 등의 기기분석을 통하여 YS-943 물질을 o-carbamyl-D-serine으로 동정했다. o-carbamyl-D-serine은 *Bacillus* 속과 *Streptococcus faecalis*에 대해 D-,L-alanine과 glutamine에 의해 각각 길항되는 아미노산 antimetabolite로 알려져 있으나 *Bacillus subtilis*에 대해 L-Met과 L-His에 의해서도 길항된다는 사실을 밝혔다.

참고문헌

- Scannell, J.P., D.L. Pruess, T.C. Demny, and T. Williams. 1970. L-3-(2,5-Dihydrophenyl)alanine, an antimetabolite of L-phenylalanine produced by a *Streptomyces*. *J. Antibiot.* **23**: 618-619.
- Scannell, J.P., D.L. Pruess, T.C. Demny, F. Weiss, T. Williams, and A. Stempel. 1971. Antimetabolites produced by microorganism II, L-2-Amino-4-pentynoic acid. *J. Antibiot.* **24**: 239-244.
- Scannell, J.P., D.L. Pruess, M. Kellett, T.C. Demny, and A. Stempel. 1971. Antimetabolites produced by microorganisms III, 2-Aminopurine-6-thiol (Thioguanine). *J. Antibiot.* **24**: 328-329.
- Scannell, J.P., D.L. Pruess, T.C. Demny, L.H. Sello, T. Williams, and A. Stempel. 1972. Antimetabolites produced by microorganisms V, L-2-amino-4-methoxy-trans-3-butenoic acid. *J. Antibiot.* **25**: 122-127.
- Scannell, J.P., H.A. Ax, D.L. Pruess, T. Williams, T.C. Demny, and A. Stempel. 1972. Antimetabolites produced by microorganism VI, L-N⁵-(1-iminoethyl)ornithine. *J. Antibiot.* **25**: 179-184.
- Scannell, J.P., D.L. Pruess, J.F. Blount, H.A. Ax, M. Kellett, F. Weiss, T.C. Demny, T.H. Williams, and A. Stempel. 1975. Antimetabolites produced by microorganism XII, (s)-Alanyl-3-[α -(s)-chloro-3-(s)-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl]- (s)-alanine, a new β -lactam containing natural product. *J. Antibiot.* **28**: 1-6.
- Scannell, J.P., D.L. Pruess, H.A. Ax, A. Jacoby, M. Kellett, and A. Stempel. 1976. Antimetabolites produced by microorganisms XIII, The synthesis and microbiological production of a novel amino acid, L-2-amino-4-(2-aminoethoxy) butanoic acid. *J. Antibiot.* **29**: 38-43.
- Westely, J.W., D.L. Pruess, L.A. Volpe, T.C. Demny, and A. Stempel. 1971. Antimetabolites produced by microorganisms IV, L-Threo- α -amino- β , γ -dihydrobutyric acid. *J. Antibiot.* **24**: 330-331.
- Pruss, D.L., J.P. Scannell, H.A. Ax, M. Kellett, F. Weiss, T.C. Demny, and A. Stempel. 1973. Antimetabolites produced by microorganism. VII, L-(N⁵-phosphono) methionine-S-sulfoximinyll-L-alaninyl-L-alanine. *J. Antibiot.* **26**: 261-266.
- Maehr, H., J.F. Blount, D.L. Pruss, L. Yarmchuk, and M. Kellett. 1973. Antimetabolites produced by microorganisms VIII, N⁵-Hydroxy-L-arginine, a new naturally occurring amino acid. *J. Antibiot.* **26**: 284-288.
- D.L. Pruess, J.P. Scannell, M. Kellett, H.A. Ax, J. Janecek, T. Williams, A. Stempel, and J. Berger. 1974. Antimetabolites produced by microorganisms X, L-2-amino-4-(2-aminoethoxy)-trans-3-butenoic acid. *J. Antibiot.* **27**: 229-233.
- D.L. Pruess, J.P. Scannell, J.F. Blount, H.A. Ax, J. Janecek, T. Williams, and A. Stempel. 1974. Antimetabolites produced by microorganisms XI, L-(s)-Hydroxy-2-(s,s)-Valylamido-cyclobutane-1-acetic acid. *J. Antibiot.* **27**: 754-759.
- Molley, B.B., D.H. Lively, R.M. Gale, M. Gorman, L.D. Boeckk, C.E. Higgins, R.E. Kastner, L.L. Huckstep, and N. Neuss. 1972. A new dipeptide antibiotic from *Streptomyces collinus*. Lindenbein. *J. Antibiot.* **25**: 137-140.
- Bayer, E., K.h. Gugel, K. Hagele, H. Hagenmaier, S. Jessipow, W.A. Konig, und H. Zahner. 1972. Stoffwechsel produkte von mikroorganismen, phophinothricin und phosphinothricinyl-alanyl-

- alanine. *Helv. Chim. Acta.* **55**: 224-239.
15. König, W.A., Kneifel, E. Bayer, G. Muller, and H. Zahner. 1973. Metabolic products of microorganisms 116, o-[L Norvalyl-5]-isourea, a new arginine antagonist. *J. Antibiot.* **26**: 44-50.
 16. Sugiura, M., M. Kisumi, and I. Chibata. 1985. β -Methylnorleucine, a novel antagonist of isoleucine. *Agric. Biol. Chem.* **49**: 1889-1890.
 17. Inouye, S., S., Shomura, T. Tsuruoka, Y. Ogawa, H. Watanabe, J. Yoshida, and T. Niida. 1975. L- β -(5-Hydroxy-2-pyridyl)-alanine and L- β -(3-hydroxyuredo)-alanine from *Streptomyces*. *Chem. Pharm. Bull.* **23**: 2669-2677.
 18. Park, B.K., A. Hirota, and H. Sakai. 1977. Structure of Plumbemycin A and B, antagonist of L-threonine from *Streptomyces plumbeus*. *Agri. Biol. Chem.* **41**: 573-579.
 19. 醫料學研究所 學友會 編 1958. 細菌學實習提要 p. 85 九善 (東京)
 20. Shiring, E.B. and D. Gottlieb. 1966. Cooperative description of type cultures of *Streptomyces*. *Intern. J. Synt. Bact.* **16**: 313-340.
 21. Waksman, S.A. 1961. Vol. 2. *Classification, identification and description of genera and species*, Pp. 328-334. In *The Actinomycetes*. The Williams and Wilkins co., Baltimore.
 22. Pridham, T.G. and D. Gottlieb. 1948. The utilization of carbon compounds by some Actinomycetes as an aid for species determination. *J. Bacteriol.* **56**: 107-114.
 23. Boone, C.J. and L. Pine. 1968. Rapid method for characterization of *Actinomycetes* by cell wall composition. *Applied Microbiol.* **16**: 279-284.
 24. Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Pp. 758-792 8th ed., The Williams and Wilkins Co. Baltimore.
 25. Umezawa, H. 1967. *Index of antibiotics from Actinomycetes*, Pp. 193, University of Tokyo press, Tokyo.
 26. Hagenian, G., L. Penasse, and J. Teillon. 1955. Sur Un Derive de La Serine, La o-carbamyl-D-serine product par un *Streptomyces*. *Biochim. Biophys. Acta.* **17**: 240-243.
 27. Bycroft, B.W. 1988. *Dictionary of antibiotics and related substance*, Pp. 195. Chapman and Hall, New York.
 28. Perlman, D. 1974. *Advanced in Applied Microbiology*. Vol. 17, Pp. 34 Academic press, New York and London.

(Received 1 October 1994)