

# 방선균의 항생제 생합성에 관여하는 생리적 인자 및 조절 유전자의 특성 Physiological Factors and Regulatory Genes Involved in Streptomycetes Antibiotic Biosynthesis

김 응 수

인하대학교 화학공학부 생물공학전공

방선균은 필라멘트 형태를 띤 대표적인 그람 양성 세균으로서, 다양한 자연환경에 존재하는 대표적인 토양 미생물이다. 방선균이 항생제를 포함한 다양한 구조의 많은 유용 생리활성물질을 생성하며, 이들의 생합성 시기가 세포의 배양상태 및 성장속도와 관련이 있다는 것은 이미 주지의 사실이다. 비록 방선균은 액체 배양 시에는 정체기 (stationary phase)나 낮은 성장속도 하에서만 항생제를 생성하며, 고체 배양 시에는 aerial mycelia로 형태적 분화 (morphological differentiation)를 시작함과 동시에 생합성을 시작한다고 알려져 있으나, 각 방선균 및 항생제의 종류에 따른 특징적인 조절 기작은 매우 다양한 것으로 알려져 있다. 따라서 본 총설에서는 항생제 생합성이 조절되는 기작을 지금까지 밝혀진 방선균의 여러 생리적 인자 및 생합성 조절 유전자를 중심으로 정리해 보고자 한다. 항생제 생합성에 관여하는 다양한 생리적 인자와 조절 유전자의 특성 및 이들의 상호관계에 대한 종합적인 이해는, 방선균 유래 항생제 조절 기작의 체계적인 규명뿐만 아니라 방선균을 이용한 유용 생리활성물질의 생산성 향상에도 응용될 수 있다는 점에서 매우 중요하다.

## 1. 방선균의 항생제 조절에 관여하는 일반적인 생리적 인자

### 1-1. 특정 대사물질 (metabolite)에 의한 조절

방선균은 쉽게 이용할 수 있는 탄소원, 인, 질소 등과 같은 영양분이 풍부할 때, 대부분의 불필요한 생합성 기작을 억제함으로써 최적의 성장을 이룬다. 따라서 대부분의 항생제 생산은 주된 영양분이 고갈된 후, 주요 대사물질에 의한 항생제 생합성 기작의 억제가 해소되는 정체기 동안에 이루어진다. 비록 glucose, ammonium, phosphate 등에 의한 다양한 항생제의 생합성 조절이 보고되고 있으나 (Table 1), 대부분의 경우 자세한 메카니즘은 아직 밝혀지지 않고 있다. *S. antibioticus*의 경우, actinomycin 생합성에 관여하는 마지막 효소인 phenoxazinone synthase의 전사 (transcription)가 glucose에 의해 억제 (repression) 된다는 것이 보고되었다 (Jones, 1985). Phosphate도 *S. griseus*의 candicidin 생합성 (Asturias 등., 1990)과 *S. coelicolor*의 actinorhodin 생합성 (Hobbs 등., 1992)에 관여하는 유

**Table. 1.** Metabolites that interfere with antibiotic production in streptomycetes

Interfering metabolites	Regulated Antibiotics
<b>Carbon sources:</b>	
Citrate	Novobiocin
Glucose	Actinomycin, Chloramphenicol, Chlorotetracycline, Kanamycin, Mitomycin, Neomycin, Oleandomycin, Puromycin, Siomycin, Streptomycin, Tetracycline, Tylosin
Glycerol	Actinomycin, Cephamycin
<b>Nitrogen sources:</b>	
Ammonium ions	Actinorhodin, Chloramphenicol, Leucomycin, Streptomycin, Streptothricin, Tetracycline, Tylosin, Undecylprodigiosin
L-Glu, L-Ala, L-Phe, D-Val	Actinomycin
L-Tyr, L-Phe, L-Trp, PABA	Candicidin
<b>Inorganic phosphate</b>	
	Actinorhodin, Candicidin, Cephamycin, Nanaomycin, Nourseothricin, Streptomycin, Tetracycline, Tylosin, Undecylprodigiosin, Vancomycin

전자들의 전사를 억제한다고 보고된 바 있다. 현재까지 방선균 배양시 영양분의 농도 및 특정 성장제한 인자의 규명 등에 관한 체계적인 연구가 많지 않아서, 이들 대사물질이 성장시기와 밀접한 연관이 있는 항생제 생산에 미치는 영향의 정도를 예측하거나 또한 일반화하기가 그리 쉽지 않다. 더욱이 여러 2차 대사물질을 생산하는 한 종의 경우에도 이들의 생합성은 각기 다른 영양분의 고갈에 의해 유발될 수 있는데, 회분식으로 *S. cattleya*를 배양할 경우 melanin, cephamycin C, thienamycin의 생합성은 각각 glucose, ammonia, phosphate의 고갈에 의해 시작되며, 연속배양의 경우에는 phosphate에 의해 특이적으로 억제되는 thienamycin를 제외하고는 영양분의 종류와 무관하게 성장속도가 느린 배양조건 하에서만 이들의 생성이 유발된다 (Lilley 등., 1981).

### 1-2. 대사 불균형에 의한 조절

항생제 생합성은 방선균의 주요 대사기작의 불균형에 의해서도 유발될 수 있다. *S. coelicolor*가 생성하는 붉은 색소인 undecylprodigiosin (Tsao 등., 1985)의 생합성은 아미노산 proline에서 일부 유도된다 (Wasseman 등., 1974; Gerber 등., 1978). Hood 등 (1992)의 보고에 의하면, proline 수송과 proline 이화작용에 이상이 있는 *S. coelicolor put* 돌연변이주는 undecylprodigiosin을 대량생산함으로써, 세포 내에 축적된 여분의 proline을 소비한다고 한다. 이 같은 연구결과는 비록 proline의 축적이 undecylprodigiosin의 생합성의 시기를 얼마나 앞당기는지와 어떤 유전자의 조절이 이에 관련되었는지는 아직 알 수 없으나, 주요 대사기작의 불균형도 항생제 생합성 조절을 유발시킬 수 있다는 가능성을 보여주고 있다. *S. coelicolor*에서도 탄소 대사기작 불균형이 methylenomycin A라는 항생제의 생성을 유발시킬 수 있다고 한다. 일반적으로 *S. coelicolor*를 회분식 배양할 경우, methylenomycin A의 생성은 방선균의 mycelia에서 유출된  $\alpha$ -ketoglutarate와 pyruvate에 의한 배양액 pH의 갑작스런 감소와 그 시기를 같이 한다고 보고 되었다 (Hobbs 등., 1992). 따라서 acid shock에 의해서 methylenomycin A의 생성이 유발된다는 사실은 탄소 대사기작의 불균형에서 기인한 배양액 pH의 변화에 따른 stress response에 의한 조절이라 할 수 있다 (K. Chater 와 M. Bibb, unpublished data).

### 1-3. 성장속도 및 ppGpp에 의한 조절

대장균의 성장속도 및 성장상태에 관여하는 여러 유전자들이 ppGpp에 의해 조절된다는 사실은 (Sarubbi 등., 1988; Hernandez 와 Bremer, 1993; Schreiber 등., 1991) 성장속도 및 성장상태와 매우 밀접한 연관이 있는 항생제 생합성 시기 역시 ppGpp에 의해 조절될 수 있을 것이라는 추측을 가능하게 하였다. An 과 Vining (1978)은 처음으로 *S. griseus*에서 ppGpp가 항생제 생합성을 유발시킬 수 있다고 보고했으며, 그 후 여러 방선균에서 ppGpp의 생성이 밝혀졌고 (Hamagishi 등., 1980; Simuth

등., 1979; Hamagishi 등., 1981; Nishino 와 Murao, 1981; Stastna 와 Mikulik, 1981), 특히 *S. aureofaciens* (Simuth 등., 1979)와 *S. galilaeus* (Hamagishi 등., 1981)에서는 ppGpp의 생성시작이 항생제의 생합성 시기와 깊은 관련이 있다고 밝혀졌다. *S. lavendulae* MA406-A-1에서 nutritional shift-down에 의한 ppGpp에 축적은 formycin의 생성을 8배나 증가시켰다 (Ochi, 1986). 그러나 아미노산의 고갈에도 불구하고 ppGpp를 축적시키지 못하는 *rel* 돌연변이주 (relaxed phenotype)에서는 formycin의 생성이 관찰되지 않았다. 또한 nutritional shift-down 직후에 wild-type에 비해 약 15% 정도의 낮은 농도의 ppGpp만을 생성하는 *relC* 돌연변이주인 *S. antibioticus* 3720 (Ochi, 1987), *S. griseoflavus* (Ochi, 1988), *S. griseus* 13189 (Ochi, 1990a), *S. coelicolor* (Ochi, 1990b) 모두 정상적인 항생제 생성을 하지 못하였으며, 이와 같은 연구결과는 결국 ppGpp가 항생제 생합성을 조절하는데 매우 중요한 역할을 함을 시사한다. 구체적으로, *S. antibioticus relC* 돌연변이주에서는 actinomycin 생합성 효소와 mRNA의 양이 감소되는 것이 관찰되었으며 (Kelly 등., 1991), *S. hygroscopicus*의 경우에는 bialaphos 생합성에 관여하는 특정 조절 유전자 전사의 시작이 ppGpp의 축적과 그 시기를 같이 한다는 것도 보고되었다 (Holt 등., 1992). 그러나 예외적으로 *S. clavuligerus*의 경우에는 배양기간 동안 cephalosporin의 생성 유무와 무관하게 ppGpp의 양이 일정하게 유지되었으며, *relC* mutant와 유사한 돌연변이 균주에서도 뚜렷한 cephalosporin의 감소가 관찰되지 않았다 (Bascaran 등., 1991). ppGpp와 *S. coelicolor*의 actinorhodin 및 undecylprodigiosin 생성과의 상관관계에 관한 연구에 의하면, 이들의 경로 특이적 조절 유전자 (2-2. 항)인 *actII-orf4*와 *redD*의 전사는 ppGpp의 축적이 보이는 정체가 시작되면서 증가하여 궁극적으로 이들의 생합성 유전자의 전사를 유도하였다 (Strauch 등., 1991; Takano 등., 1992). 그러나 대수기 상태에서 인위적인 nutritional shift-down에 의한 ppGpp의 생성은 경로 특이적 조절 유전자의 전사를 곧바로 유도시키지는 못하여 얼마간의 시간적 지체현상이 관찰되었다 (Takano와 Bibb, 1994). 이와 같은 연구결과는 ppGpp가 항생제 생합성을 조절하는 중요한 인자임은 분명하나, 아마도 ppGpp의 독자적인 조절이 아니라 다른 인자들과 함께 항생제 생합성을 조절하리라는 가능성을 암시하고 있다. 아울러 위에서 언급한 대부분의 *Streptomyces relC* 돌연변이주들은 wild-type에 비해 성장속도가 50% 정도 감소했음을 감안할 때 (Ochi, 1986; 1987; 1988; 1990a; 1990b), ppGpp가 항생제 생합성을 직접적으로 조절하기보다는 ppGpp 축적의 간접적인 영향에 의한 생합성 조절 가능성도 완전히 배제하기 어렵다.

### 1-4. 특정 신호전달 물질에 의한 조절

일정 농도 이상의 작고 쉽게 확산될 수 있는 신호 전달물질 역시 여러 방선균의 항생제 생합성을 유발시킬 수 있다고 보고

되어 있다 (Horinouchi 와 Beppu, 1992). 특히 이런 물질은 주어진 환경에서 특정 항생제의 생성을 필요로 하는 생리적 요구에 따라 합성되리라고 추측된다. 그람 음성 세균의 homoserine lactone과 구조적으로 유사한  $\gamma$ -butyrolactone의 생성은 여러 방선균에서 관찰되었으며, 또한 이들이 항생제 생합성과 형태적 분화에도 관여한다는 것이 여러 종류의 방선균에서 보고되었다. 현재까지 가장 연구가 많이 진행된 A factor (2-isocaprolyl-3R-hydroxymethyl-c-butyrolactone)는 *S. griseus*의 streptomycin 생성 및 형태적 분화뿐만 아니라 (Khokhlov, 1982), streptomycin 내성에도 절대적으로 필요한 화합물이다 (Hara 와 Beppu, 1982a). A-factor는 streptomycin 생성이 시작되기 바로 직전에 일정 농도 이상으로 배양액에 축적된다 (Hara 와 Beppu, 1982b). A-factor는 세포질 막을 쉽게 통과하여 약 26 kD의 cytoplasmic A-factor 결합 단백질과 1:1의 stoichiometry 및 0.7 nM의 낮은 dissociation constant로 결합한다. A-factor와 A-factor 결합 단백질과의 결합은 streptomycin 생성과 포자 형성에 필요한 가상 유전자 X가 A-factor binding 단백질에 의해 억제되는 것을 방지해 준다. 가상 유전자 X는 streptomycin 경로 특이적 조절 유전자인 *strR*의 전사를 촉진시켜 streptomycin의 생합성을 증가시킨다. 실제로 A-factor를 생성하는 균주의 단백질 추출액은 *strR* 유전자의 upstream 부위에 결합하였으나, A-factor를 생성하지 못하는 균주에서는 이와 같은 현상이 관찰되지 않았다. 비록 A-factor 생합성 유전자로 추정되는 *afsA*가 *S. griseus*로부터 분리, 동정되었으나 이들이 지정하는 단백질은 기능이 알려진 다른 어떤 단백질과도 유사성이 없어서, A-factor가 실제로 어떻게 생합성되며 또한 조절되는 지에 대한 정확한 기작은 아직 밝혀지지 않고 있다 (Horinouch 등., 1989b). 또한 *afsA* 유전자는 A-factor와 구조적으로 유사한  $\gamma$ -butyrolactones을 생합성하는 다른 방선균의 DNA와 hybridization을 하지 못하는 것으로 밝혀졌다 (Horinouch 등., 1984). 그러나 *S. griseus*의 배양 초기에 A-factor를 인위적으로 배양액에 첨가하거나, multi-copy plasmid에 cloning된 *afsR* 유전자로 형질전환된 균주는 streptomycin 생성 및 포자 형성 시기가 wild-type에 비해 빠르다는 사실로 A-factor가 이들 기작을 조절하는 중요한 인자임이 입증되었다 (Beppu, 1992). *S. coelicolor*의 경우에는, A-factor의 생합성이 확인되지 않았으며, *afsA* 돌연변이주도 항생제 생합성과 형태적 분화에 전혀 영향을 미치지 않는 것으로 밝혀졌다. 비록 *S. coelicolor*는 A-factor를 생성하지는 못하나, A-factor와 구조적으로 유사한 여러 화합물들을 생합성하며 (Anisova 등., 1984; Efremenkova 등., 1985) 이들 중 몇몇 화합물은 *S. griseus*에서의 A-factor 기능을 대신할 수 있다고 보고되었다 (Hara 등., 1983). 따라서 *S. coelicolor*에서의 항생제 생합성은 A-factor가 아닌 이와 유사한 다른 화합물에 의해 조절되거나, A-factor와 같은 화합물이 전혀 조절에 관여하지 않을 가능성이 모두 있는 것으로 추측된다.

## 2. 방선균의 항생제 생합성에 관여하는 조절 유전자

### 2-1. 조절 유전자의 종류 및 연구방법

*S. coelicolor*는 현재까지 유전학적으로 가장 연구가 많이 된 대표적인 방선균으로서, 구조적으로 다른 4가지 항생제 actinorhodin, undecylprodigiosin, methylenomycin, calcium-dependent antibiotic (CDA)을 생합성 한다. 이들 생합성 유전자는 플라스미드 유래 methylenomycin을 제외하고는 모두 염색체 상에 운집 되어있다. 특히 actinorhodin은 이중에서도 분자 유전학 및 생화학적으로 가장 많이 연구된 대표적인 polyketide계 화합물이며, 생합성에 관련된 모든 유전자가 염색체 상에 운집되어 있다고 밝혀진 최초의 항생제이기도 하다 (Malpartida 와 Hopwood, 1984; Malpartida 등., 1990). 대부분의 항생제 생합성에 관여하는 조절 유전자는 *S. coelicolor*와 이와 유전학적으로 매우 유사한 *S. lividans*에서 분리, 동정되었다. 이들을 조절 기능에 따라 분류하면, 1) 특정 항생제의 생합성만을 조절하는 경로 특이적 (pathway-specific) 조절 유전자, 2) 구조적으로 다른 2가지 이상의 항생제 생합성을 조절하는 global 조절 유전자 (조절을 받는 항생제의 수에 따라 class I, II, III로 더 세분화 됨), 그리고 3) 항생제 생합성과 형태적 분화에 모두 관여하는 pleiotrophic 조절 유전자로 구분할 수 있다. 경로 특이적 조절 유전자는 일반적으로 항생제 생합성에 관여하는 모든 생합성 유전자군 (gene cluster)을 분리, 동정함으로써 밝혀졌는데, actinorhodin과 undecylprodigiosin의 경우 각각 *actIII-orf4*와 *redD* 라는 경로 특이적 조절 유전자가 생합성 유전자군 안에 존재하는 것으로 밝혀졌다 (Chater, 1992).

일반적으로 global 조절 유전자를 찾기 위해서는 두 가지 연구방법이 가장 많이 사용되는데, 우선 푸른색의 actinorhodin과 붉은색의 undecylprodigiosin을 모두 생성하지 못하는 *S. coelicolor* 돌연변이주를 검색하여 *absA*와 *absB* 라는 global 조절 유전자가 밝혀졌다 (adamidis 등., 1990; Adamidis와 Champness, 1992). 또 다른 방법은 *S. coelicolor*와 유전학적으로 매우 유사한 *S. lividans*가 actinorhodin의 생합성에 관여하는 유전자들은 모두 갖고 있으나 일반적인 배양조건 하에서는 이들의 생합성이 억제된다는 사실을 이용하는 것이다 (Vogtli 등., 1994). *S. coelicolor*의 전체 염색체 DNA로 library를 만들어 이를 *S. lividans*에 형질전환시켜 푸른색의 actinorhodin을 생성하는 형질전환체를 찾음으로써, *afsR* (Horinouchi 등., 1983; Stein 과 Cohen, 1989), *afsR2* (Vogtli 등., 1994), *afsQ1/Q2* (Ishizuka 등., 1992), *abaA* (Fernandez-Moreno 등., 1992) 등의 global 조절 유전자들이 밝혀졌다.

마지막으로 형태적 분화에도 관여하는 pleiotrophic 조절 유전자들은 aerial mycelia로 형태적 분화를 하지 못하고 substrate mycelia 상태에서 성장이 멈추는 *bld* 돌연변이주 중에서 항생제의 생합성에도 이상이 있는 것으로, *bldA*, *bldB*, *bldD*, *bldG* 등이 이에 속한다 (Champness 와 Chater 1994). 이렇게 하여

찾아진 *S. coelicolor* 항생제 생합성 조절 유전자들과 이들이 조절하는 항생제의 종류를 Table 2에 정리하였다.

## 2-2. 경로 특이적 조절 유전자 *actII-orf4*와 *redD*

*S. coelicolor* *actII-orf4*와 *redD* 돌연변이주는 생합성 유전자에 이상이 있는 다른 대부분의 항생제 비생산 돌연변이주들과는 전혀 다른 표현형을 나타내며, 이들 유전자가 생합성 유전자군에 포함되어 있다는 것과 여러 사본수로 존재할 경우 actinorhodin과 undecylprodigiosin을 대량생산한다는 사실로부터, *actII-orf4*와 *redD*가 각각 actinorhodin 과 undecylprodigiosin의 경로 특이적 조절 유전자임이 증명되었다. 또한 정체기에서만 *actII-orf4*와 *redD*의 전사가 시작되어 actinorhodin과 undecylprodigiosin의 생합성을 유도한다는 사실도 밝혀졌다 (Takano 등., 1992; Gramajo 등., 1993). 유전자 *actII-orf4*와 *redD* 서로 염기서열이 유사하며, *S. peucetius*의 daunorubicin의 생합성 유전자 cluster에서도 이와 유사한 daunorubicin pathway-specific 조절 유전자 *dnrI*가 밝혀졌다 (Stutzman-Engwall 등., 1992). 실제로 *actII-orf4*나 *redD*와 같은 경로 특이적 조절 유전자로부터 만들어지는 단백질을 배양초기에 대량생산시키면 야생형에 비해 훨씬 빨리 많은 양의 actinorhodin과 undecylprodigiosin 생합성을 유도할 수 있다. 비록 경로 특이적 조절 유전자의 산물이 항생제 생합성 유전자의 전사를 촉진시키는 것으로 추정되나, helix-turn-helix와 같은 DNA binding motif (Dodd 와 Egan, 1990)는 밝혀지지 않은 것으로 보아 *actII-orf4*와 *redD*는 아마도 새로운 유형의 DNA 결합 단백질을 만드는 것으로 추측된다.

## 2-3. Global 조절 유전자 *absA*와 *absB*

자외선 돌연변이 유도 방법으로 탐색한 *S. coelicolor*의 *absA*와 *absB* 유전자는 actinorhodin과 undecylprodigiosin 생합성 뿐만 아니라, *S. coelicolor*가 생성하는 나머지 두 항생제 CDA

와 methylenomycin의 생합성에도 관여하는 class I global 조절 유전자로 밝혀졌다(Adamidis 등., 1990; Adamidis 와 Champness, 1992). *S. coelicolor* *absA* 돌연변이주는 4가지 항생제를 모두 생합성하지 못하므로 *absA*가 지정하는 단백질은 positive activator로 추정되며, 최근 *absA* 돌연변이를 보상시키는 DNA의 염기서열을 분석한 결과 *absA*가 지정하는 단백질이 세균 two-component signal transduction system의 histidine kinase와 매우 유사하며, *absA*의 downstream에는 response regulator로 추정되는 유전자가 위치하고 있음이 밝혀졌다 (Brian 등., 1996). 야생형에 비해 *absB* 돌연변이주는 포자 형성이 잘 안되며, 배지의 종류에 따라 actinorhodin과 undecylprodigiosin의 생성이 감소되는 것이 관찰되기도 했다. 돌연변이주는 *absB* *actII-orf4*나 *afsR*과 같은 조절 유전자에 의해 actinorhodin 생합성의 기능이 복원되며, 최근에는 *absB* 유전자를 low-copy plasmid에 cloning하여 연구중이다 (Adamidis 와 Champness, unpublished data).

## 2-4. Global 조절 유전자 *abaA*

Multiple-copy plasmid에 *abaA*를 cloning하여 *S. lividans*에 형질전환 시키면, actinorhodin 생합성을 촉진시키는 positive activator 유전자이다 (Fernandez-Moreno 등., 1992). 약 2 kb의 *PstI* DNA 단편상에 5개의 ORF가 존재하는데, 이중 ORFB와 downstream의 137개 nucleotides만으로도 positive activator로서의 기능이 가능하며 ORFB가 disruption된 돌연변이주에서는 actinorhodin과 undecylprodigiosin의 생성이 관찰되지 않았고 CDA의 생합성도 현저히 줄어들었다. 그러나 *S. coelicolor* *abaA* 돌연변이주에서는 methylenomycin의 생성이 전혀 영향을 받지 않았다. Multiple-copy plasmid에 cloning되어있는 *abaA*도 *actII-orf4* 조절 유전자에 이상이 있는 돌연변이주의 경우 actinorhodin 생성을 유발시키지 못한다는 연구결과는 *abaA*에 의한 조절 기작이 *actII-orf4*와 같은 경로 특이적 조절 유전

**Table 2.** *S. coelicolor* regulatory genes involved in antibiotic biosynthesis

Class	Regulatory genes (putative function)	Regulated Antibiotics
Pleiotrophic	<i>bldA</i> (tRNA for rare leucine UUA codon)	Act <sup>a</sup> , Red <sup>b</sup> , Mmy <sup>c</sup> , CDA <sup>d</sup>
Global class I	<i>absA</i> (Histidine kinase),	Act, Red, Mmy, CDA
	<i>absB</i> (Leaky phenotype)	Act, Red, Mmy, CDA
class II	<i>abaA</i> (Unknown)	Act, Red, CDA
class III	<i>afsK</i> (Ser/Thr kinase),	Act, Red
	<i>afsR</i> ( <i>afsK</i> -dependent DNA-binding protein)	Act, Red
	<i>afsR2</i> (Conditionally <i>afsR</i> -dependent)	Act, Red
	<i>afsQ1</i> ( <i>afsQ2</i> -dependent DNA-binding protein)	Act, Red
	<i>afsQ2</i> (Histidine kinase)	Act, Red
Pathway-specific	<i>actII-orf4</i> (DNA-binding protein)	Act
	<i>redD</i> (DNA-binding protein)	Red

a: actinorhodin, b: undecylprodigiosin, c: methylenomycin, d: calcium dependent antibiotic

자를 통해야만 가능함을 시사한다고 하겠다.

## 2-5. Global 조절 유전자 *afsQ1/Q2*

Global 조절 유전자 *afsQ1/Q2*도 *abaA*와 유사한 방법으로 *S. lividans*에 cloning되었을 때, 푸른색의 actinorhodin을 생성시키는 유전자이다. 이런 *afsQ1/Q2*는 전형적인 박테리아의 two-component signal transduction system으로서 *afsQ2*는 sensory histidine kinase 유전자이며, *afsQ1*은 OmpR sub-family (Volz, 1993) 유전자이다 (Ishizuka 등., 1992). 이들 두 유전자들은 번역이 함께 일어나며 (translationally-coupled) AfsQ1은 전형적인 세포막 단백질의 아미노산 서열상의 특징을 갖고 있다. AfsQ2의 His294를 Glu294로 치환하면 activator로서의 기능이 상실되는 점으로 미루어서, *afsQ1/Q2*의 phosphate 전달체계는 우선 AfsQ2 kinase의 His294가 autophosphorylation 되고 이것이 다시 AfsQ1의 Asp52로 전달되는 것으로 추측된다. 또한 *afsQ1*이 *absA* 돌연변이주의 결함을 보상시킬 수 있다는 결과는 이 두 system 간의 cross-talk이 가능함을 암시하고 있다. 그러나 *afsQ1/Q2*가 손상된 *S. coelicolor* 돌연변이주에서는 항생제 생합성의 현격한 감소가 관찰되지 않았다. 따라서 *afsQ1/Q2* system은 아직 밝혀지지 않은 특정 생리적 상태에서만 조절 유전자로서의 기능을 발휘하는 것으로 예측된다.

## 2-6. Global 조절 유전자 *afsR/R2*

*S. coelicolor*의 염색체에 위치한 *afsR* 유전자는, *S. coelicolor*와 *S. lividans*에서 화학적 구조가 다른 두 항생제 actinorhodin과 undecylprodigiosin의 생합성을 조절하는 positive regulatory 유전자로 밝혀졌다 (Horinouchi 등., 1983; Stein 과 Cohen, 1989). 또한 multiple-copy plasmid에 cloning된 *afsR* 유전자를 갖는 *S. lividans*와 *S. coelicolor*에서 항생제가 과다 생산되는 것은 생합성 유전자의 전사 양의 증가에 기인한다는 사실이 실험적으로 증명되었다 (Horinouch 등., 1989a). AfsR은 933개의 아미노산으로 이루어져 있고, helix-turn-helix motif와 ATP 결합부위를 갖는 전형적인 DNA 결합 단백질이다 (Horinouchi 등., 1986; Dodd 등., 1990). 유전자 *afsR*를 site-directed mutagenesis시켰을 때 항생제 생합성이 완전히 억제되지 않고 약 4배 정도만 감소되는 것으로부터 *afsR*이 항생제 생합성의 유일한 조절자가 아님을 알 수 있다 (Horinouchi 등., 1990). AfsR은 *S. coelicolor* 염색체상의 *afsR* 유전자의 downstream에 위치하고 있는 *afsK* 유전자 산물인 eukaryotic-type serine/threonine protein kinase에 의해서 인산화되어 활성을 갖게되는 전형적인 two-component signal transduction system으로 추정되고 있다 (Hong 등., 1991, 1993; Matsumoto 등., 1994). 유전자 *afsR2*는 *S. lividans* 염색체 상의 *afsR* 유전자 3' 일단 바로 downstream에 위치하고 있으며, 최근에는 이와 염기서열이 거의 같은 유전자 *afsS*가 *S. coelicolor*에서 발견되었다 (Vogtli 등., 1994; Matsumoto 등., 1995). 아미노산 63

개를 지정하는 *afsR2* 유전자는, *afsR*과 유사하게 *S. lividans*와 *S. coelicolor*에서 actinorhodin과 undecylprodigiosin의 과다생산을 유발시킨다는 사실이 실험적으로 증명되었다 (Vogtli 등., 1994; Matsumoto 등., 1995). 특이한 사항은 매우 작은 *afsR2* 유전자의 절반 정도의 C-terminal 부분을 결실 (deletion) 시켜도 조절 유전자로서의 기능이 유지되며 기존에 밝혀진 조절 유전자들과 염기서열 상의 유사성이 없다는 점이다 (Vogtli 등., 1994). 유전자 *afsR2*의 정확한 조절 기작은 현재 계속 연구 중이나, *S. lividans*의 경우 *afsR2*의 조절기능은 *afsR* 유전자의 유무 및 배양상태와 밀접한 관련이 있으며 (Kim 등., 2001), 경로 특이적 조절 유전자의 전사의 증감을 통해 항생제 생합성을 조절한다고 밝혀졌다 (Vogtli et al., 1994).

## 2-7. Pleiotropic 조절 유전자, *bldA*

위에서 언급하였듯이, 방선균의 항생제 생성은 한천과 같은 고체 배지에서 배양할 경우 aerial mycelia의 생성시기와 그 때를 같이한다. 이는 방선균의 형태적 분화와 항생제 생합성이 같은 유전자에 의해 조절을 받는다는 증거이며, 실제로 substrate mycelia에서 성장이 멈춘 많은 *bld* 돌연변이주들은 항생제 생합성을 하지 못하는 것으로 밝혀졌다 (Champness 와 Chater, 1994). 이중 가장 연구가 많이 진행된 *S. coelicolor bldA* 유전자는 방선균에서 흔히 발견되지 않는 leucine UUA codon을 번역시키는 tRNA를 생산한다 (Lawlor 등., 1987; Leskiw 등., 1991a). 또한 경로 특이적 조절 유전자 *actIII-orf4*와 *redD* 유전자에도 UUA codon이 있다는 것이 밝혀졌다 (Fernandez-Moreno 등., 1991). 실제로 *actIII-orf4*에 있는 UUA codon을 방선균에서 흔히 사용되는 UUG로 치환시키면, *S. coelicolor bldA* 돌연변이주에서도 정상적인 actinorhodin의 생합성이 관찰되었다 (Fernandez-Moreno 등., 1991). 따라서 *bldA* 유전자의 조절 기작은 UUA codon을 포함하는 경로 특이적 조절 유전자의 mRNA 번역을 가능케 함으로써 항생제 생합성을 조절하는 것이라 할 수 있다 (Leskiw 등., 1991b).

## 3. 결론 : 방선균의 항생제 조절 기작 및 산업적 응용

지금까지 밝혀진 방선균 항생제들의 생합성 조절 기작을 종합적으로 분석하여 정리하면 다음과 같다. 세포의 성장을 둔화시키는 어떤 환경변화 (특정 영양분의 고갈, 대사 불균형, ppGpp 축적, 특정 신호물질 분비 등)가 우선 세포막에 위치하고 있는 *afsK*, *afsQ2*, *absA*와 같은 membrane protein kinase에 의해 인지되고, 이러한 신호가 two component signal transduction system의 phosphate 전달 기작에 의해 *afsR*, *afsQ1*, *absA*-downstream 유전자 등이 coding 하는 response regulator 단백질들을 각각 인산화를 통하여 활성화시킨다. 이렇게 활성화된 response regulator들은 특정 항생제의 생합성에만 관여하는 *actIII-orf4*와 *redD*와 같은 경로 특이적 조절 유전자의 발현을 유발시키며, 이런 경로 특이적 조절 유전자가 생산하는 단백질

이 결국 생합성 유전자 operon의 발현을 유도함으로써 항생제 생합성이 시작된다. 유사한 여러 two-component signal transduction system이 방선균에 존재하는 이유와 이들의 상호작용에 관한 정확한 분자수준에서의 기작은 아직 밝혀지지 않았으나, 아마도 이들 각각의 조절 기작은 어느 특정한 생리적 상태에서만 작용하리라고 추측된다. 따라서 방선균의 항생제 생합성을 조절하는 가장 중요하고 직접적인 요소는 경로 특이적 조절 유전자이며, 이 조절 유전자의 발현은 여러 다양한 경로를 통해서 이루어 질 수 있음을 알 수 있다.

현재까지 *S. coelicolor*에서 규명된 여러 항생제 생합성 조절 유전자들을 probe로 사용하여 다양한 종류의 방선균 DNA와 Southern hybridization 실험을 수행한 결과, 다른 여러 방선균에서도 유사한 항생제 조절 유전자들이 존재함이 확인되었다 (Champness 와 Chater, 1994). 따라서 앞서 언급한 항생제 조절 기작은 *S. coelicolor*와 같은 특정 방선균에만 국한된 것이 아니라, 대부분의 방선균 유래 항생제 생합성에 적용되는 일반적인 조절 기작으로 추정된다. 또한, 이와 같은 사실은 조절 유전자의 유전공학적 기법을 이용한 특정 유용 생리활성 물질의 고생산 균주의 개발 가능성을 시사하는데, 실제로 최근 *S. coelicolor* 유래의 global 조절 유전자 *afsR2*를 이용하여 *S. avermitilis* 유래의 avermectin의 생산성을 향상시킬 수 있음이 실험적으로 증명된 바 있다 (Table 3; Lee 등., 2000). 따라서, 방선균의 항생제 조절 기작에 관한 보다 체계적인 분자 유전학

및 생화학적 기초 연구는 산업적으로나 의학적으로 유용한 생리활성 물질의 생산성 최적화 및 대량생산에 적합한 산업용 균주 개량 방법의 새로운 가능성을 제시할 것으로 기대된다.

### Acknowledgement

본 총설은 Keith Chater와 Mervyn Bibb의 총설 논문들을 토대로 최근 발표된 연구결과를 첨가하여 재구성하였기에 두 분 교수님께 감사드립니다.

### 참고문헌

1. Adamidis, T. and Champness, W.C. (1992) Genetic analysis of *absB*, a *Streptomyces coelicolor* locus involved in global antibiotic regulation. *J. Bacteriol.* 174: 4622-4628.
2. Adamidis, T., Riggle, P., Champness, W.C. (1990) Mutations in a new *Streptomyces coelicolor* locus which globally block antibiotic biosynthesis but not sporulation. *J. Bacteriol.* 172: 2962-2969.
3. An, G. and Vining, L.C. (1978) Intracellular levels of guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate (ppGpp) and guanosine 5'-triphosphate 3'-diphosphate (pppGpp) in cultures of *Streptomyces griseus* producing streptomycin. *Can. J. Microbiol.* 24: 502-511.

**Table 3.** The carbon source dependent avermectin production by *S. avermitilis* ATCC31780 carrying pMOV532<sup>a</sup>

Carbon source <sup>b</sup>	Strain	PMV <sup>c</sup> (ml/10 ml)	AVMs <sup>d</sup> ( $\mu$ g/ml)	Specific AVMs production ( $\mu$ g/ml PMV)
Glucose	ATCC31780 (pIJ487)	1.10	12.9	11.7
	ATCC31780 (pMOV532)	0.82	25.4	31.0
Glycerol	ATCC31780 (pIJ487)	0.90	60.5	67.2
	ATCC31780 (pMOV532)	0.74	74.9	101.2
Starch	ATCC31780 (pIJ487)	1.38	17.4	12.6
	ATCC31780 (pMOV532)	1.20	21.6	18.0
Sucrose	ATCC31780 (pIJ487)	1.05	14.8	14.1
	ATCC31780 (pMOV532)	0.94	29.7	31.6
Xylose	ATCC31780 (pIJ487)	0.60	6.2	10.3
	ATCC31780 (pMOV532)	0.71	9.6	13.5

a: multiple copies of *afsR2* cloned in pIJ487 plasmid

b: Concentration and composition were described elsewhere (Lee et al, 2000).

c: Packed mycelium volume

d: Sum of 8 major avermectins (A1a, A2a, A1b, A2b, B1a, B1b, B2a and B2b).

4. Anisova, L.N., Blinova, I.N., Efremenkova, O.V., Koz' min, Yu, P. Onoprienko, V.V., Smirnova, G.M. and Khokhlov, A.S. (1984) Regulators of the development of *Streptomyces coelicolor* A3(2) *Izv. Akad. Nauk SSSR. Ser. Biol.* 1: 98-108.
5. Asturias, J.A., Liras, P., Martin, J.F. (1990) Phosphate control of *pabS* gene transcription during candicidin biosynthesis. *Gene*. 93: 79-84.
6. Bascaran, V., Sanchez, L., Hardisson, C., Brafia, A.F. (1991) Stringent response and initiation of secondary metabolism in *Streptomyces clavuligerus*. *J. Gen. Microbiol.* 137: 1625-1634.
7. Beppu, T. (1992) Secondary metabolites as chemical signals for cellular differentiation. *Gene*. 115: 159-165.
8. Brian, P., Riggle, P.J., Santos, R.A., Champness, W.C. (1996) Global negative regulation of *Streptomyces coelicolor* antibiotic synthesis mediated by an *afsA*-encoded putative signal transduction system. *J. Bacteriol.* 178: 3221-3231.
9. Champness, W.C. and Chater, K.F. (1994) Regulation and integration of antibiotic production and differentiation in *Streptomyces* spp., in: Regulation of bacterial differentiation (Piggot, P., Moran, C.P., Youngman, P., Eds.). pp.61-93. Washington DC: American Society for Microbiology.
10. Chater, K.F. (1992) Genetic regulation of secondary metabolic pathways in *Streptomyces*, in: Secondary metabolites: their function and evolution (Chadwick, D.J., Whelan, J., Eds.). pp.144-162. Chichester, U.K.: Wiley. Ciba Foundation Symposium 171.
11. Dodd, I.B. and Egan, J.B. (1990) Improved detection of helix-turn-helix DNA-binding motifs in protein sequences. *Nucleic Acids Res.* 18: 5019-5026.
12. Efremenkova, O.V., Anisova, L.N. Bartoshevich, Y.E. (1985) Regulators of differentiation in actinomycetes. *Antibiotiki i Meditsinskaya Biotekhnologiya* 9: 687-707.
13. Fernandez-Moreno, M.A., Caballero, J.L., Hopwood, D.A., Malpartida, F. (1991) The *act* cluster contains regulatory and antibiotic export genes, direct targets for translational control by the *bldA* transfer RNA gene of *Streptomyces*. *Cell* 66: 769-780.
14. Fernandez-Moreno, M.A., Martin-Triana, A.J., Martinez, E., Niemi, J., Kieser, H.M., Hopwood, D.A., Malpartida, F. (1992) *abaA*, a new pleiotropic regulatory locus for antibiotic production in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* 174: 2958-2967.
15. Gerber, N.N., McInnes, A.G., Smith, D.G., Walter, J.A., Wright, J.L.C. (1978) Biosynthesis of prodiginines, <sup>13</sup>C resonance assignments and enrichment patterns in nonyl, cyclononyl-, methylcyclodecyl-, and butylcycloheptyl-prodiginine produced by actinomycete cultures supplemented with <sup>13</sup>C-labeled acetate and <sup>15</sup>N-labeled nitrate. *Can. J. Chemistry* 56: 1155-1163.
16. Gramajo, H.C., Takano, E., Bibb, M.J. (1993) Stationary-phase production of the antibiotic actinorhodin in *Streptomyces coelicolor* A3(2) is transcriptionally regulated. *Mol. Microbiol.* 7: 837-845.
17. Hamagishi, Y., Yoshimoto, A., Oki, T., Inui, T. (1980) Occurrence of guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate and adenosine 5'-triphosphate 3'-diphosphate in *Streptomyces galilaeus*. *Agric. Biol. Chem.* 44: 1003-1007.
18. Hamagishi, Y., Yoshimoto, A., Oki, T. (1981) Determination of guanosine tetraphosphate (ppGpp) and adenosine pentaphosphate (pppGpp) in various microorganisms by radioimmunoassay. *Arch. Microbiol.* 130: 134-137.
19. Hara, O. and Beppu, T. (1982a) Induction of streptomycin-inactivating enzyme by A-factor in *Streptomyces griseus*. *J. Antibiot.* 35: 1208-1215.
20. Hara, O. and Beppu, T. (1982b) Mutants blocked in streptomycin production in *Streptomyces griseus*-the role of A-factor. *J. Antibiot.* 35: 349-358.
21. Hara, O., Horinouchi, S., Uozumi, T., Beppu, T. (1983) Genetic analysis of A-factor synthesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2) and *Streptomyces griseus*. *J. Gen. Microbiol.* 129: 2939-2944.
22. Hernandez, V.J. and Bfemer, H. (1993) Characterization of RNA and DNA synthesis in *Escherichia coli* strains devoid of ppGpp. *J. Biol. Chem.* 268: 10851-10862.
23. Hobbs, G., Obanye, A.I.C., Petty, J., Mason, J.C., Barratt, E., Gardner, D.C.J., Flett, F., Smith, C.P., Broda, P., Oliver, S.G. (1992) An integrated approach to studying regulation of production of the antibiotic methylenomycin by *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J. Bacteriol.* 194: 1487-1494.
24. Holt, T.G., Chang, C., Laurentwinter, C., Murkami, T., Garrels, J.I. Davies, J.E., Thompson, C.J. (1992) Global changes in gene expression related to antibiotic synthesis in *Streptomyces hygroscopicus*. *Mol. Microbiol.* 6: 969-980.
25. Hong, S.K., Kito, M., Beppu, T., Horinouchi, S. (1991) Phosphorylation of the AfsR product, a global regulatory protein for secondary-metabolite formation in

- Streptomyces coelicolor* A3(2). J. Bacteriol. 173: 2311-2318.
26. Hong, S.K., Matsumoto, A., Horinouchi, S., Beppu, T.C. (1993) Effect of protein kinase inhibitors on in vitro protein phosphorylation and cellular differentiation of *Streptomyces griseus*. Mol. Gen. Genet. 236: 347-354.
  27. Hood, D.W., Heidstra, R., Swoboda, U.K., Hodgson, D.A. (1992) Molecular genetic analysis of proline and tryptophan biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2)-interaction between primary and secondary metabolism-a review. Gene 115: 5-12.
  28. Horinouchi, S. and Beppu, T. (1992) Autoregulatory factors and communication in actinomycetes. Annu. Rev. Microbiol. 46: 377-398.
  29. Horinouchi, S., Hara, O., Beppu, T. (1983) Cloning of a pleiotropic gene that positively controls biosynthesis of A-factor, actinorhodin, and prodigiosin in *Streptomyces coelicolor* A3(2) and *Streptomyces lividans*. J. Bacteriol. 155: 1238-1248.
  30. Horinouchi, S., Kumada, Y., Beppu, T. (1984) Unstable genetic determinant of A-factor biosynthesis in streptomycin-producing organisms: Cloning and characterization. J. Bacteriol. 158: 481-487.
  31. Horinouchi, S., Suzuki, H., Beppu, T. (1986) Nucleotide sequence of *afsB*, a pleiotropic gene involved in secondary metabolism in *Streptomyces coelicolor* A3(2) and *Streptomyces lividans*. J. Bacteriol. 168: 257-269.
  32. Horinouchi, S., Malpartida, F., Hopwood, D.A., Beppu, T. (1989a) *afsB* stimulates transcription of the actinorhodin biosynthetic pathway in *Streptomyces coelicolor* A3(2) and *Streptomyces lividans*. Mol. Gen. Genet. 215: 355-357.
  33. Horinouchi, S., Suzuki, H., Nishiyama, M., Beppu, T. (1989b) Nucleotide sequence and transcriptional analysis of *Streptomyces griseus* gene (*afsA*) responsible for A-factor biosynthesis. J. Bacteriol. 171: 1206-1210.
  34. Horinouchi, S., Kito, M., Nishiyama, M., Furuya, K., Hong, S.K., Miyake, K., Beppu, T. (1990) Primary structure of AfsR, a global regulatory protein for secondary metabolite formation in *Streptomyces coelicolor* A3(2). Gene 95: 49-56.
  35. Ishizuka, H., Horinouchi, S., Kieser, H.M., Hopwood, D.A., Beppu, T. (1992) A putative two-component regulatory system involved in secondary metabolism in *Streptomyces* spp. J. Bacteriol. 174: 7585-7594.
  36. Jones, G.H. (1985) Regulation of phenoxazinone synthase expression in *Streptomyces antibioticus*. J. Bacteriol. 163: 1215-1221.
  37. Kelly, K.S., Ochi, K., Jones, G.H. (1991) Pleiotropic effects of a *relC* mutation in *Streptomyces antibioticus*. J. Bacteriol. 173: 2297-2300.
  38. Khokhlov, A.S. (1982) Low molecular weight microbial bioregulators of secondary metabolism, in: Overproduction of microbial products (Krumphanzl, V., Sikyta, B., Vanek, Z., Eds.) pp. 97-109. London: Academic Press.
  39. Kim, E.-S., Hong, H.-J., Choi, C.-Y., and Cohen, S.N. (2001) Modulation of actinorhodin biosynthesis in *Streptomyces lividans* by glucose repression of *afsR2* gene transcription J. Bacteriol. 183: 2198-2203.
  40. Lawlor, E.J., Baylis, H.A., Chater, K.F. (1987) Pleiotropic morphological and antibiotic deficiencies result from mutations in a gene encoding a tRNA-like product in *Streptomyces coelicolor* A3(2). Genes & Dev. 1: 1305-1310.
  41. Lee, J.-Y., Hwang, Y.-S., Kim, S.-S., Kim, E.-S., and Choi, C.-Y. (2000) Effect of a Global Regulatory Gene, *afsR2*, from *Streptomyces lividans* on Avermectin Production in *Streptomyces avermitilis* J. Biosci. Bioeng. 89: 606-608.
  42. Leskiw, B.K. and Lawlor, E.J., Fernandez-Abalos, J.M., Chater, K.F. (1991a) TTA codons in some genes prevent their expression in a class of developmental, antibiotic-negative, *Streptomyces* mutants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 2461-2465.
  43. Leskiw, B.K., Bibb, M.J., Chater, K.F. (1991b) The use of a rare codon specifically during development. Mol. Microbiol. 5: 2861-2867.
  44. Lilley, G., Clark, A.E., Lawrence, G.C. (1981) Control of the production of cephamycin C and thienamycin by *Streptomyces cattleya* NRRL 8057. J. Chem. Tech. Biotechnol. 31: 127-134.
  45. Malpartida, F., Hopwood, D.A. (1984) Molecular cloning of the whole biosynthetic pathway of a *Streptomyces* antibiotic and its expression in a heterologous host. Nature 309: 462-464.
  46. Malpartida, F., Niemi, J., Navarrete, R., Hopwood, D.A. (1990) Cloning and expression in a heterologous host of the complete set of genes for biosynthesis of the *Streptomyces coelicolor* antibiotic undecylprodigiosin. Gene 93: 91-99.
  47. Matsumoto, A., Hong, S.K., Ishizuka, H., Horinouchi,



- S., Beppu, T. (1994) Phosphorylation of the AfsR protein involved in secondary metabolism in *Streptomyces* species by a eukaryotic-type protein kinase. *Gene* 146: 47-56.
48. Matsumoto, A., Ishizuka, H., Beppu, T., Horinouchi, S. (1995) Involvement of a small ORF downstream of the *afsR* gene in the regulation of secondary metabolism in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Actinomycetologica* 9: 37-43.
49. Nishino, T. and Muraio, S. (1981) Possible involvement of plasmid in nucleotide pyrophosphokinase production and the relationship between this productivity and cellular accumulation of guanosine tetraphosphate (ppGpp) in *Streptomyces*. *Agric. Biol. Chem.* 45: 199-208.
50. Ochi, K. (1986) Occurrence of the stringent response in *Streptomyces* sp. and its significance for the inhibition of morphological and physiological differentiation. *J. Gen. Microbiol.* 132: 2621-2631.
51. Ochi, K. (1987) A *rel* mutation abolishes the enzyme induction needed for actinomycin synthesis by *Streptomyces antibioticus*. *Agric. Biol. Chem.* 51: 829-835.
52. Ochi, K. (1988) Nucleotide pools and stringent response in regulation of *Streptomyces* differentiation, in: *Biology of Actinomycetes '88* (Okami, Y., Beppu, T., Ogawara, H., Eds.), pp. 330-337. Tokyo, Japan: Scientific Societies Press.
53. Ochi, K. (1990a) *Streptomyces relC* mutants with an altered ribosomal protein ST-L11 and genetic analysis of a *Streptomyces griseus relC* mutant. *J. Bacteriol.* 172: 4008-4016.
54. Ochi, K. (1990b) A relaxed (*rel*) mutant of *Streptomyces coelicolor* A3(2) with a missing ribosomal protein lacks the ability to accumulate ppGpp, A-factor and prodigiosin. *J. Gen. Microbiol.* 136: 2405-2412.
55. Sarubbi, E., Rudd, K.E., Cashel, M. (1988) Basal ppGpp level adjustment shown by new *spoT* mutants affect steady state growth rates and *rna* ribosomal promoter regulation in *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.* 213: 214-222.
56. Schreiber, G., Metzger, S., Aizenman, E., Roza, S., Cashel, M., Glaser, G. (1991) Overexpression of the *relA* gene in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 266: 3760-3767.
57. Simuth, J., Hudec, J., Chan, H.T., Danyi, O., Zelinka, J. (1979) The synthesis of highly phosphorylated nucleotides, RNA and protein by *Streptomyces aureofaciens*. *J. Antibiot.* 32: 53-58.
58. Stastna, J. and Mikulik, K. (1981) Role of highly phosphorylated nucleotides and antibiotics in the development of streptomycetes, in: *Proc. 4th Int. Symp. Actinomycetes Biology*, Cologne, pp. 481-486 (Schaal, K.P., Pulverer, G. Eds). Stuttgart, New York: Gustav Fisher Verlag.
59. Stein, D. and Cohen, S.N. (1989) A cloned regulatory gene of *Streptomyces lividans* can suppress the pigment deficiency phenotype of different developmental mutants. *J. Bacteriol.* 171: 2258-2261.
60. Strauch, E., Takano, E., Baylis, H.A., Bibb, M.J. (1991) The stringent response in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.* 5: 289-298.
61. Stutzman-Engwall, K.J., Otten, S., Hutchinson, C.R. (1992) Regulation of secondary metabolism in *Streptomyces* spp. and overproduction of daunorubicin in *Streptomyces peucetius*. *J. Bacteriol.* 174: 144-154.
62. Takano, E. and Bibb, M.J. (1994) The stringent response, ppGpp, and antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Actinomycetologica* 8: 1-10.
63. Takano, E., Gramajo, H.C., Strauch, E., Andres, N., White, J., Bibb, M.J. (1992) Transcriptional regulation of the *redD* transcriptional activator gene accounts for growth-phase-dependent production of the antibiotic undecylprodigiosin in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol. Microbiol.* 6: 2797-2804.
64. Tsao, S.W., Rudd, B.A.M., He, X., Chang, C., Floss, H.G. (1985) Identification of a red pigment from *Streptomyces coelicolor* A3(2) as a mixture of prodigiosin derivatives. *J. Antibiot.* 38: 128-130.
65. Vogtli, M., Chang, P.-C., Cohen, S.N. (1994) *afsR2*: a previously undetected gene encoding a 63-amino-acid protein that stimulates antibiotic production in *Streptomyces lividans*. *Mol. Microbiol.* 14: 643-653.
66. Volz, K. (1993) Structural conservation of the CheY superfamily. *Biochemistry* 32: 11741-11753.
67. Wasseman, H.H., Shaw, C.K., Sykes, R.J. (1974) The biosynthesis of metacycloprodigiosin and undecylprodigiosin. *Tetrahedron Lett.* 33 : 2787-2091.


**김 응 수 (Eung-Soo Kim)**

1983년 3월 - 1987년 2월	서울대학교 공업화학 (학사)
1987년 8월 - 1989년 9월	미국 아이오와 주립대 생화학 (석사)
1989년 9월 - 1994년 10월	미국 미네소타대 미생물학 및 생물공학 (박사)
1995년 1월 - 1997년 2월	미국 스탠퍼드대 미생물 유전학 (박사후 연구원)
1997년 3월 - 2001년 8월	한국외국어대학교 환경학과 전임강사, 조교수
2001년 9월 - 현재	인하대학교 생물공학과 조교수