

# 극지 미생물로부터 생리활성 물질 확보 및 탐색

Collection and screening of bioactive compounds from the  
microbial diversity of polar environments



신라대학교 산학협력단

# 제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “ 극지적응 고유생물유래 대사체의 상용화 구축사업 ” 과제의 위탁연구  
“ 극지 미생물로부터 생리활성 물질 확보 및 탐색 ” 과제의 최종보고서로 제출합니다.



2020. 01. 31

총괄연구책임자 : 김 일 찬

위탁연구기관명 : 신라대학교 산학협력단

위탁연구책임자 : 손 재 학

위탁참여연구원 : 이 상 재

“ : 최 유 리

“ : 홍 기 섭

“ : 김 은 경

“ : 박 아 영

“ : 김 지 선

“ : 조 성 주

## 보고서 초록

위탁연구과제명	극지 미생물로부터 생리활성 물질 확보 및 탐색				
위탁연구책임자	손 재 학	해당단계 참여연구원수	8	해당단계 연구비	28,000,000
연구기관명 및 소속부서명	신라대학교 산학협력단 바이오산업학부 식품공학전공		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 : 상대국연구기관명 :				
요 약				보고서 면수	42
<p><b>○ 연구목표</b></p> <p>극지의 생물자원으로 미생물의 다양성을 확보하고 이를 통하여 생리활성물질의 확보를 위한 검색을 통하여 자원 활용성을 높이기 위한 DB를 구축하는 것을 목적으로 수행</p> <p><b>○ 연구내용 및 결과</b></p> <p><b>1. 극한 해양미생물의 확보</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 극지 생물시료로부터 미생물인 세균(130), 진균(88)로 총 218점을 분리·확보</li> </ul> <p><b>2. 극지 미생물로부터 추출물 구축</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 128점의 진균은 PDA배지에서 배양하였으며 이후 ethyl acetate를 이용하여 추출물을 확보하였으며, 확보된 추출물은 신규천연물 및 대사체 연구를 위한 공동연구팀에게 제공</li> </ul> <p><b>3. 극지 미생물유래 추출물의 생리활성 검색</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 항당뇨 및 항염 활성을 검색한 결과 총 128점의 추출물 시료중 73점의 시료에서 농도 의존적으로 강력한 활성을 보임</li> </ul> <p><b>4. 극지 미생물의 특성 및 분류</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ 세균과 진균의 온도별 성장특성을 조사한 결과, 세균은 99점 중 91점에서 내냉성을 그리고 1점은 저온성 특징을 보였으며, 또한 진균은 68점 중 37점에서 내냉성을 그리고 6점은 저온성 특징을 보임</li> <li>■ 우수활성을 보인 진균(16점)균주는 ITS 영역의 염기서열분석을 통하여 동정</li> </ul> <p><b>○ 활용계획 및 기대효과</b></p> <p>결과적으로 남극의 시료로부터 확보된 극한 미생물 및 추출물을 DB화하였으며 향후 공동연구 추진을 통하여 자원활용을 극대화하고자 함</p>					
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	극한 환경, 생물다양성, 극한미생물, PTP1B 저해활성, 곰팡이추출물, 생리활성			
	영 어	Polar environment, Bio-diversity, Polar microorganism, PTP1B inhibitory activity, Fungal extracts, Bio-active compound			

# 요 약 문

## I. 제 목

극지 미생물로부터 생리활성물질 분리 및 탐색

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

### 1. 연구의 목적

생리활성물질 탐색의 미개척 자원인 극지생물자원으로부터 극지 미생물의 확보 및 생리활성물질을 발굴을 통한 신규바이오소재개발을 위한 기초자료 제공

### 2. 필요성

- 신약개발에서 screening을 위한 library 구축에 있어서 보유하고 있는 화합물의 수가 중요한 것이 아니고, 보유하고 있는 화합물의 구조적 특징 및 화학구조를 형성하는 골격의 다양성이 중요하다는 사실을 시사하고 있음.
- 다양한 골격의 화학적 다양성을 천연자원유래 이차대사물질로부터 제공 받기 위해서는 이미 상대적으로 활발하게 생리활성물질 탐색연구가 진행된 육상생물에 대한 연구보다는 아직까지 많은 연구가 진행되지 않은 자원에 대한 연구가 최근 관심의 대상이 되고 있음.
- 극지 미생물유래의 천연물은 그 구조가 육상에서 분리되는 물질과 상이한 경우가 많음으로 신약 스크리닝시 중요한 요소로 인식되는 분자구조의 다양성구축면에서 장점을 지니고 있다고 판단됨
- 극한 지역에 서식하는 육상 및 해양생물은 위에서 언급한 생물자원으로서 가지는 고유의 특징에 추가하여 양극 지역의 독특한 극한환경 및 생태환경

이 이 지역에 서식하는 극한생물의 이차대사물질 생합성 과정에 영향을 유발했을 것으로 예상되므로 매우 독특한 생물자원으로 인식될 수 있음.

- 최근 극지생물로부터 얻어진 활성물질을 극지 미생물에 의해 생산되는 경우가 많고 숙주생물과 공생을 하는 미생물로부터 생리활성물질이 발견되는 기회가 많으며 이는 산업화를 위한 대량생산에 이점을 가지고 있음.
- 따라서 본 과제에서는 극지생물자원으로부터 미생물을 분리·보존하고, 미생물배양체로부터 제작된 추출물로부터 질병치료 및 기능성 소재의 유효한 타겟으로 인식되고 있는 효소 등을 이용하여 생리활성 탐색하여 DB하는 데 목적을 두고 있음.

### III. 연구개발결과

#### 1. 극한 미생물의 확보

- 북극 노르웨이 기지로 부터 채취된 24종의 시료로부터 세균(130 균주), 진균(88 균주)를 분리·보존하였다.

#### 2. 극지 해양미생물로부터 추출물 구축

- 본 연구에서 분리된 88점과 이전우수활성을 갖는 40종을 포함한 128점의 진균은 PDA배지에서 배양하였으며 이후 ethyl acetate를 이용하여 추출물을 확보하였다.
- 확보된 추출물은 신규천연물 및 대사체 연구를 위한 공동연구팀에게 제공하였다.

#### 3. 극지 해양미생물유래 추출물의 생리활성 검색

- 항당뇨 및 비만 등을 위한 검색법인 PTP1B 저해활성을 검색한 결과 총 128점의 추출물 시료중 73점의 시료에서 농도 의존적으로 강력한 PTP1B 및 항염 효과를 보였으며 향후 추가적인 연구를 진행할 예정이다.

#### 4. 극지 해양미생물의 특성 및 분류

- 세균과 진균의 온도별 성장특성을 조사한 결과, 세균은 99균주 중 저온성이 1균주 그리고 내냉성이 91균주로 나타났으며 진균은 68균주 중 저온성이 6균주 그리고 내냉성이 37균주로 나타났다.
- 분리된 미생물의 16S rRNA 및 ITS 영역의 염기서열분석을 통하여 진균 16균주를 동정하였다.

### IV. 연구개발결과의 활용계획

- 극지 생물로부터 분리된 극지 미생물, 추출물 및 생리활성검색자료를 바탕으로 신규소재발굴을 위한 원천생명자원으로 활용
- 확보된 극지 미생물 자원으로부터 생리활성소재의 발굴을 통한 논문투고 및 특허를 확보함으로써 신규자원의 우선권 확보
- 극지 미생물로부터 얻어진 자료의 DB를 구축하여 국내연구진과 공동연구를 통한 원천기술 및 응용을 통한 산업화 촉진

# SUMMARY

## **Title of project**

Study for the establishment of microbial diversity and extracts from the polar environments

## **Goal and necessity of research**

### **1. Goal**

To provide new materials for the development bio-functional products through the investigation of new bioactive compounds from unexplored marine and symbiotic microorganisms isolated from polar organisms.

### **2. Necessity**

- It has been recognized that the construction of compounds library with a wide variety of compounds with unique skeletons are for more important that a number of compound in drug discovery program.
- To access a diverse metabolites for druge discovery program, it is necessary to investigated new or rarely studied natural resources rather than reinvestigating traditional bioresources such as plants and soil microbes.
- In a line with the above concept, it could be suggested that marine and symbiotic microorganism from polar environments are potential resources for novel secondary metabolites because of their little expose to this field.
- In addition, it has been suggested that organisms in polar oceans might develop unique biosynthetic pathways to adapt their extreme environments.

- Moreover, the origin of many secondary metabolites from marine and symbiotic organisms are now being suggested to be microorganisms, suggesting their potential as new sources of biofunctional materials with easy large production.
  
- Therefore, this project is aiming to
  - isolate and identify microorganisms from marine and symbiotic organisms of polar environments.
  - prepare solvent extracts from the cultures of microorganisms.
  - carry out the screening of solvent extracts using druggable bioassay system

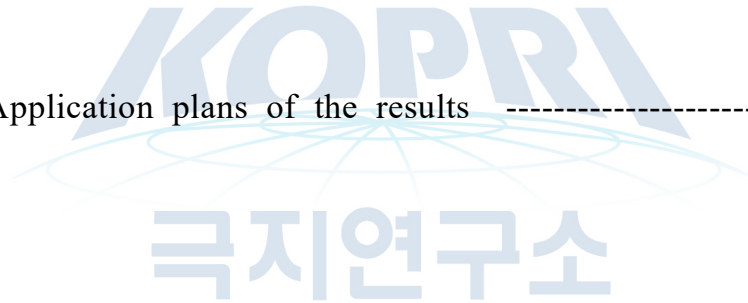
## **Results of the project**

1. Microorganisms such as bacteria (130 strain) and fungi (88 strain) were isolated from the organisms of the Arctic environments (Arctic Dasan station).
2. The ethyl acetate extracts of 128 fungal strain were prepared from the cultures, incubated on potato-dextrose agar plate at 10~15°C.
3. In the screening of the 128 extracts for their inhibitory effects against PTP1B and anti-inflammatory activity, 73 extracts displayed strong inhibitory activity, and these extracts will be subjects of further investigation.
4. From the phylogentic analysis based on ITS region gene sequence, 16 fungal strain were tentatively identified.



# CONTENTS

Chapter 1. Introduction -----	10
Chapter 2. Technical status of domestic and foreign states -----	13
Chapter 3. Contents and results of the project -----	18
Chapter 4. Achievement and contribution of the project -----	49
Chapter 5. Application plans of the results -----	42



# 목 차

제 1 장	서 론	-----	10
제 2 장	국내외 기술개발 현황	-----	13
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	-----	18
제 4 장	연구개발목표 달성도 및 대외기여도	-----	40
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	-----	42



# 제 1 장 서 론

## 제 1 절 연구개발의 목적

- 극지 미생물의 다양성 확보 및 추출물을 구축하고 대사성 질환을 타겟으로 생리활성을 검증하여 극지 자원활용을 위한 DB를 구축하는 것을 목적으로 하고 있다.
- 구축된 DB는 본사업의 공동연구기관들에게 추출물 및 생물자원을 제공함으로써 사업의 성과물을 확산하도록 지원 : 제브라피쉬를 이용한 후보물질탐색을 위한 추출물을 확보 및 공급할 수 있는 체계 구축

## 제 2 절 연구개발의 필요성 및 범위

- 해양유래의 천연물은 그 구조가 육상에서 분리되는 물질과 상이한 경우가 많음으로 신약 스크리닝시 중요한 요소로 인식되는 분자구조의 다양성 측면에서 장점을 지니고 있다.
- 극지의 독특한 극한환경 및 생태환경이 이 지역에 서식하는 공생 및 해양생물의 이차대사물질 생합성 과정에 영향을 미치고 있으며 특히, 이러한 대사산물은 공생미생물과 밀접한 상관관계가 밝혀짐으로서 공생미생물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 극한미생물은 고등생물보다 생산성 측면에서 높은 산업적인 활용성을 가지고 있다.
- 따라서 본 연구에서는 극지의 생물자원로부터 극한 미생물자원의 다양성을 확보하고 배양체로부터 얻어진 추출물을 구축하고 그 활용성을 높이기 위한 생리활성검색을 통한 DB를 구축하는데 그 목적이 있다.

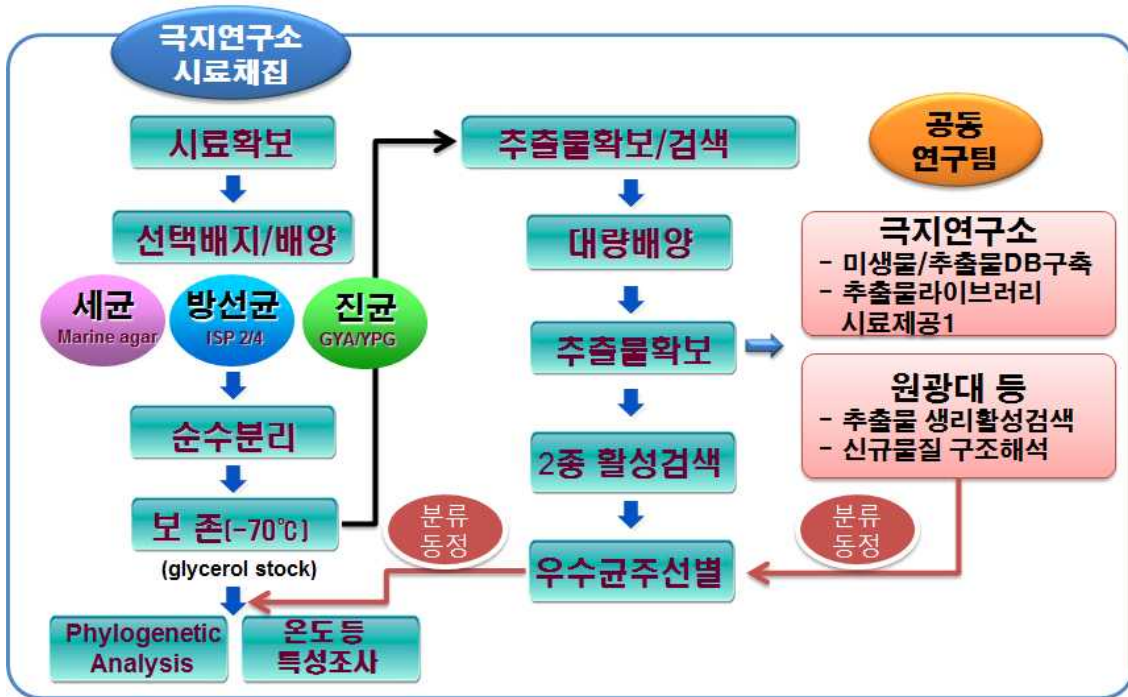


Fig. 1-1. Research method of this project

극지연구소

○ 연구개발 내용 및 범위

연구개발목표	연구개발내용	연구범위
○ 극지미생물(세균, 방선균, 진균)자원의 분리 및 확보	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 극지시료로부터 미생물(세균, 방선균, 진균)의 분리 및 확보</li> <li>- 극지시료로부터 5종의 배지를 이용한 극지미생물 분리 및 순수배양체 확보</li> <li>- 미생물 확보목록 (세균, 방선균, 진균) 제시/기탁</li> </ul>	200점 이상의 분리/보존균주 확보여부
○ 극지 미생물 유래 추출물 확보	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 극지미생물유래 생리활성물질 탐색을 위한 대량배양 및 추출물 확보</li> <li>- 고체배지를 통한 대량배양체 확보 및 ethyl acetate를 이용한 추출 및 농축</li> <li>- 추출물 확보목록(질량등)제시/DB구축</li> <li>• 극지미생물유래추출물을 대상으로 생리활성물질탐색(항당뇨)을 통한 DB구축</li> <li>- 추출물을 대상으로 항당뇨(PTP1B) 저해활성탐색</li> <li>- 극지연구소 대사체연구를 위한 시료제공</li> <li>- 원광대 등 천연물연구를 위한 시료제공</li> </ul>	120건 이상의 추출물 DB 구축여부
○ 우수균주의 분류 동정	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 온도에 따른 성장특성</li> <li>- 저온미생물선별(세균/진균)</li> <li>- 형태/분자생물학적 방법에 의한 우수균주의 분류동정</li> </ul>	10건 이상 우수균주의 분류동정여부

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 개요

- 바이오 신의약 산업은 차세대 우리나라의 성장 동력산업이며, 특히 해양생물 산업은 국가 경제의 중추적 역할을 할 미래의 성장산업임
- 천연자원으로부터 분리된 순수 화합물이나 추출물 혹은 부분 정제된 생리활성 분획물을 이용한 기능성 식품 또는 신약개발은 높은 투자 효율성 및 고부가가치 산업으로 평가되고 있음.
- 육상생물로부터의 생리활성물질 탐색은 활발히 이루어져 많은 부분이 제품화되어 있으나, 극지 미생물자원에 대해서는 깊은 연구가 이루어지지 않아 미지의 개발요소가 많음
- 기능성 소재나 신약 개발에 있어서 성패는 질적, 양적으로 우수한 화합물 또는 추출물 라이브러리를 확보했는지의 여부에 달려 있으며, 극지 미생물 유래의 추출물이나 화합물구축은 미래 핵심 산업인 신약후보 물질을 제공 할 수 있는 매우 중요한 자원으로 인식되고 있음.
- 극지 미생물 및 그 추출물 그리고 기타 연구정보에 대한 국내 연구자들의 체계적인 접근은 전무한 실정이며 공동 연구자들이 근접할 수 있는 미생물 및 추출물을 구축하고 그 활용성을 극대화하기 위한 system을 구축 할 필요가 있음.
- 신약개발의 여러 단계 중 특정 질병에 대한 치료를 위한 분자표적이 정해진 후 분자표적에 작용하는 선도 화합물을 도출하기 위하여 다양한 종류의 화합물 library를 검색 하게 되는 단계 (target selection 및 screening 단계)는 전체적인 신약개발 과정에서 매우 중요한 출발점이라 할 수 있음.
- 특히 인간 유전체 연구와 더불어 현대 과학에서는 인간의 질병, 예방 및 진단과 관련된 천~만개 정도의 새로운 표적 단백질이 새로이 규명된 것으로 평가되고 있으며, 고속 혹은 초고속 스크리닝 방법의 발전에 의하여 일회에 수천종의 화합물에 대한 분자표적을 대상으로 한 활성 탐색이 가능 하므로 더 이상 분자 표적을 대상으로 한 탐색 단계

자체는 신약 개발과정에 있어서 많은 시간과 노력이 필요한 속도결정 단계가 아니며 오히려 이러한 스크리닝 시스템에 적용할 화합물 라이브러리의 질 및 양이 신약 개발의 성공에 있어서 중요한 요소로 간주됨

- 다양한 분자표적에 작용하는 생리활성 물질의 창출을 위한 스크리닝 단계에서 필요한 다양한 분자의 확보는 전 세계적으로 관심을 가지고 추구할 분야가 될 것임
- 최근 생명공학기술이 급진적으로 발전하고 생물자원의 활용 방안이 광범위하게 가속화되면서, 세계 각국은 자국의 생물자원에 대한 network체제 구축을 중요시하고 있음.
- 세계 인구의 지속적 증가와 경제수준의 향상으로 건강에 대한 관심이 고조하여 난치병에 대한 치료제 개발 등 의약산업과 건강식품, 기능성 식품산업은 지속적으로 성장할 것으로 예상되며 따라서 극지 해양자원의 활용도 극대화 및 재산권 확보의 측면에서 우리나라도 시급히 구축해야 할 필요가 있다고 판단됨

## 2. 기술동향

### □ 국외기술동향

- 체계적인 해양생물을 대상으로 한 연구는 식물 등 육상 생물계에 대한 연구에 비해 상당히 늦은 1970년대 중반에 시작 되었으며 약 2500여종의 새로운 물질 1977-1987년 사이에 이 해양생물로 부터 분리된바 있으며 이는 해양생물체가 주요한 신물질의 보고로서 가치고 가지고 있음을 보여주는 증거라 볼 수 있다.
- 해양유래의 천연물은 그 구조가 육상에서 분리되는 물질과 상이한 경우가 많음으로 신약 스크리닝시 중요한 요소로 인식되는 분자구조의 다양성 측면에서 장점을 지니고 있다고 판단된다.
- 특히 극지에 서식하는 해양생물은 위에서 언급한 해양생물자원으로서 가지는 고유의 특징에 추가하여 양극해 지역의 독특한 극한환경 및 생태환경이 이 지역에 서식하는 해양생물의 이차대사물질 생합성 과정에 영향을 유발했을 것으로 예상되므로 매우 독특한 생물자원으로 인식될 수 있다.

- 뉴질랜드의 캔터베리 대학의 연구진은 지난 수년간 남극해양 유래의 해양생물을 대상으로 한 이차대사물질을 지속적으로 수행하고 있으며 대표적으로 강력한 CDK 저해제인 variolins를 발굴한 바 있다.
- 미국 Univ. of South Florida의 연구진은 남극유래의 Tunicate로부터 항암세포 사멸효과를 가지는 palmerolide A라는 신규 macarolide형 대사체를 분리하였다.
- 기타 국가별 극한해양자원/추출물구축 현황

- **미국**

- 1958년부터 NCI (국립암연구소, www.nci.nih.gov)를 주축으로 천연물 유래 항암제 개발을 위한 연구 사업을 본격적으로 추진하여 1986년부터 약 5만 여종의 식물 추출물과 만 여종의 해양생물 유래 추출물 은행을 구축하고 분양사업을 실시하고 있음
- 주목으로부터 개발한 “Taxol”은 연간 12억 달러 이상의 매출을 기록하고 있으며 최근에도 AIDS 바이러스에 대한 치료가능성이 있는 화합물을 발굴
- 미국의 국립암연구소(NCI)에서는 항암제를 생산하는 해면과 이끼벌레를 해저에서 대규모로 양식하여 해당물질을 대량으로 확보하는 단계에 돌입
- 미국의 제약회사인 Lilly group, Corey group, Merck사 등에서도 천연물을 이용한 신약개발 프로젝트를 진행하고 있음

- **독일**

- 독일은 천연물 분야에 집중적인 투자와 연구를 시작하여 버드나무로부터 아스피린을 개발한바 있으며 은행잎으로부터 ginkoflavone glycoside를 분리 개발한 혈액순환 개선제는 연간 약 20억 달러이상의 매출을 기록하고 있으며 최근 정부주도하에 “Natural Product Pool”을 시작하여 천연물 성분물질과 유도체를 수집하여 대단위생리활성 검색을 통하여 신의약품, 신농약 등의 개발 사업을 시작

- **일본**

- 1990년 의약품진흥기금설치, 1991년 Human Science 진흥재단 발족, 1992년 Pharma Dream 계획 개시 등 천연물 분야에 적극적인 연구개발 투자 중임
- 현재는 미생물, 해양생물 등의 천연자원으로부터 활성물질분리, 열대식물로부터 활성물질 분리 등에 적극적인 투자 중임



- 호주

- CSIRO, AIMS, New South Wales Univ. 등 연구기관: 자국 및 아세안 국가 연안의 해양 생물로부터 항암제 등 신의약품과 신기능성 유용소재 생산연구를 진행 중임
- 특히 AIMS에서는 세계에서 가장 규모가 큰 해양추출물 library를 보유 (2만 여종)하고 있음

- 싱가포르

- 싱가포르의 경제개발청 등이 주관(1993년 발족)하여 Centre for Natural Products Resrarch (CNPR)을 설립 84,000점의 추출물 확보하였으며 2002년 영국의 제약회사 등이 투자한 MerLion Pharmaceuticals로 사명 화하여 운영하고 있으며 현재 세계에서 가장 다양한 추출물 Library를 보유한 것으로 평가되고 있음

## □ 국내기술동향

- 국내자원을 대상으로 한 신약개발의 소재로서 생리활성 해양천연물에 대한 국내의 연구는 1990년대에 비로소 시작되었다. 출연연구기관인 한국해양연구원을 비롯하여 일부의 대학연구진을 중심으로 이루어진 연구는 우리나라 주변해역의 저서동물과 대형해조류를 주된 연구대상으로 하였으며 1990년대 말부터는 방선균, 진균 등 미생물과 단세포조류도 포함되게 되었다.
- 2004년에 시작된 정부 주도의 장기연구사업인 마린바이오 21사업에서는 국내연안 및 해양을 중심으로 해양생물과 미생물로부터 비만, 당뇨, 골다공증 등 대사성 질환을 주요대상으로 하여 천연물탐색, 유도체 합성 및 전합성, 동물실험이 망라된 종합적인 천연물신약연구가 진행 중이며 in vivo 수준에서의 우수한 활성물질도 보고되고 있다. 그러나 국내 해양천연물 연구의 대체적인 수준은 신물질의 규명과 생리활성의 일차적인 탐색에 머물러 있다.
- 1990년대 말부터는 외국의 해양생물자원에 대한 접근도 시도되어 주로 극지 및 열대서부태평양의 생리활성 천연물 탐색이 제한적으로 이루어지고 있다. 특히 2007년 이후에는 정부 주도로 마이크로네시아 Chuk 섬 인근해역에 대한 해양생리활성물질 연구가 진행 중이다.

- 극지 생물자원을 이용한 천연물기반 연구는 극지연구소와 대학의 학연을 통하여 일부 진행되어 왔으며 특히, 남극의 지의류 등으로부터 생리활성을 갖는 신규천연물을 확보 하였으며 일부는 산업화를 위한 연구가 진행되고 있다.

### 3. 시사점 및 종합결론

- 극지 생물자원은 극한환경과 생태적 특성으로 인하여 공생미생물 및 2차대사산물에 대한 연구가 아직은 기초단계에 머무르고 있어 집중적인 투자를 경주할 경우 선진국과 대등한 지위를 차지할 수 있음
- 극지생물자원으로부터 신규천연물의 확보는 생물다양성과 성장속도가 낮아 양극해자원의 활용에 있어 산업화측면에서 극히 제한적이며 이에 따라 미생물자원의 확보가 무엇보다 중요함
- 신약, 화장품, 식품 등 산업화 촉진을 위해서는 미생물의 DB구축과 함께 활용성을 높이기 위한 추출물의 구축과 다양한 생리활성의 검색을 통하여 DB를 구축할 경우 기초연구를 위한 시간과 경비를 줄이고 자원의 활용 극대화를 꾀할 수 있음
- 특히, 대사체 및 신규천연물연구를 위한 공동연구팀간의 자원연계는 활용성 및 산업화 시기뿐만 아니라 자원/특허 주권확보의 시기를 줄일 수 있음

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제1절 연구개발수행 내용

#### 1. 시료 확보

- 북극 노르웨이 지역으로 부터 채취된 moss, palnt, lichen 등 시료 총 24점은 냉동상태로 보존된 시료를 확보하였다(표).

#### 2. 미생물의 분리

- 당초 시료는 해양시료를 제공받을 것으로 예상하였으나 육상시료를 제공받아 당초계획되었던 해양미생물 분리를 위한 5종의 배지에서 육상유래 미생물의 분리를 위한 배지를 변경하여 수행하였다.
- 사용된 배지는 세균분리를 위해서는 고영양배지인 NA와 빈영양배지인 0.1% NA 그리고 세균과 진균에 효과적인 R2A배지를 이용하였으며 진균분리를 위해 PDA와 YMA배지를 선정하였다.

< 세균분리를 위한 배지 >

NA(Nutrient agar)		0.1% NA		R2A	
Beef extract	3 g	Beef extract	0.3 g	Yeast extract	0.5 g
Peptone	5 g	Peptone	0.5 g	Proteose peptone	0.5 g
agar	2%	agar	2%	casamino acids	0.5 g
DW 또는 Seawater	1 L	DW 또는 Seawater	1 L	Dextrose	0.5 g
				Soluble starch	0.5 g
				Sodium pyruvate	0.3 g
				Dipotassium phosphate	0.3 g
				Magnesium sulfate	0.05 g
				Agar	15 g
				DW	1 L

< 진균분리를 위한 배지 >

PDA(potato dextrose agar)		YMA	
Potato infusion	4 g	Yeast extract	3 g
Dextrose	20 g	Malt extract	3 g
Agar	2%	Peptone A	5 g
DW 또는 Seawater	1 L	Glucose	10 g
		Agar	2%
		DW 또는 Seawater	1 L

- 채취된 시료는 일정량을 무균적으로 채취하여 멸균된 막자사발을 이용하여 균질화하였으며 멸균된 증류수와 해수를 이용하여 연속희석(10 fold dilution method)하여 5종의 고형 배지에 도말하여 10℃에서 10~30일간 배양한다. 배양된 plate는 colony의 형태, 색을 기준으로 순수분리하였으며 이 과정에서 세균 및 진균의 형태별 특성을 구분하기 위하여 세균은 NA배지에 그리고 진균은 PDA배지에 순수분리하여 형태적 중복을 최소화하였다. 이후 순수배양체는 10% glycerol 용액에 부유하여 -80℃ 초저온냉동고에 보존하였다.

### 3. 해양생물유래 공생미생물의 추출물 제조

- 분리된 미생물중 이차대사산물의 빈도가 높은 진균을 대상으로 대량배양을 진행하였다. 배지는 해수가 첨가된 PDA배지를 이용하여 plate (90mm x 15mm) 및 편박플라스크를 이용하여 10℃에서 7~30일 배양하였다(균의 종에 따라 차이가 있음).
- 배양후 ethyl acetate를 이용하여 추출하였으며 이후 여과한 후 진공농축기를 이용하여 용매를 제거하여 조추출물을 확보하였다. 추출과정의 대략적인 흐름은 아래의 그림과 같다.
- 농축된 시료는 계량하여 무게를 기록하였으며 이후 실험에 이용되기 까지 냉장보관하였다.
- 대사체/신규물질연구를 위해 공동연구팀에게 시료를 제공하였으며 대사체 및 신규물질의 가능성이 높은 시료는 대량배양을 통하여 추가적인 추출물을 제작하여 제공하였다.



<추출물제작을 위한 흐름도>

1. PDA배지 제작	- 1L 삼각플라스크에 50ml의 PDA배지를 멸균하여 준비
2. 미생물 접종/배양 (10~15°C, 7~30일 배양)	- 멸균해수 3ml에 stock 균주 150~200ml을 첨가하고 Vortex 후 배지에 첨가, 배양
3. 추출용매인 Ethylacetate 첨가 (배지용량대비 6~7배)	- 포자가 형성된 정치기, Ethylacetate 300ml 을 첨가
4. Sonication(30분, 2회 반복)	- 30분간 sonication 2회 반복한 후 냉암소에서 overnight한다.
5. 상등액 회수	- Beaker에 상등액을 회수한다. 이후 100ml의 동일용매로 세척하고 Beaker에 모은다(총 500ml)
6. Magnesium Sulfate 첨가 (수분제거)	- Beaker에 Magnesium sulfate(MS) 2스푼 (1g)을 첨가한 후 혼합한다(수분이 MS에 흡착)
7. 여과	- 여과장치에 wattman 여과지를 놓고 상기 용액 일부를 첨가하고 진공펌프를 작동(여과지가 밀착)한다. 이후 나머지 용액을 첨가하여 회수한다(단 MS가 여과되어선 안됨).
8. 농축	- Evaporator 를 이용하여 여과액을 제거하여 추출물을 농축한다(Evaporator 작동방법 숙지)
9. Methanol 첨가/재용해	- 용매를 제거한 후 5~10ml의 Methanol을 이용하여 추출물을 재용해하고 Capillary tube를 이용하여 20ml tube에 옮긴다. (단 20ml의 tube 무게를 용기에 기록)
10. 농축/ weighting	- Evaporator 를 이용하여 용매를 제거한다(아답터 이용). 이후 질소가스로 용매를 완전히 제거하고 무게를 측정후 병 무게를 빼어 회수율을 기록한다.
11. 시료분배	- 9. 과정과 같이 4ml로 재용해 후 3개의 용기(EP tube)로 재분배 (1. Tube 1mg (신라대); 2. Tube 1mg(극지연구소); 3. Tube 나머지 (원광대))

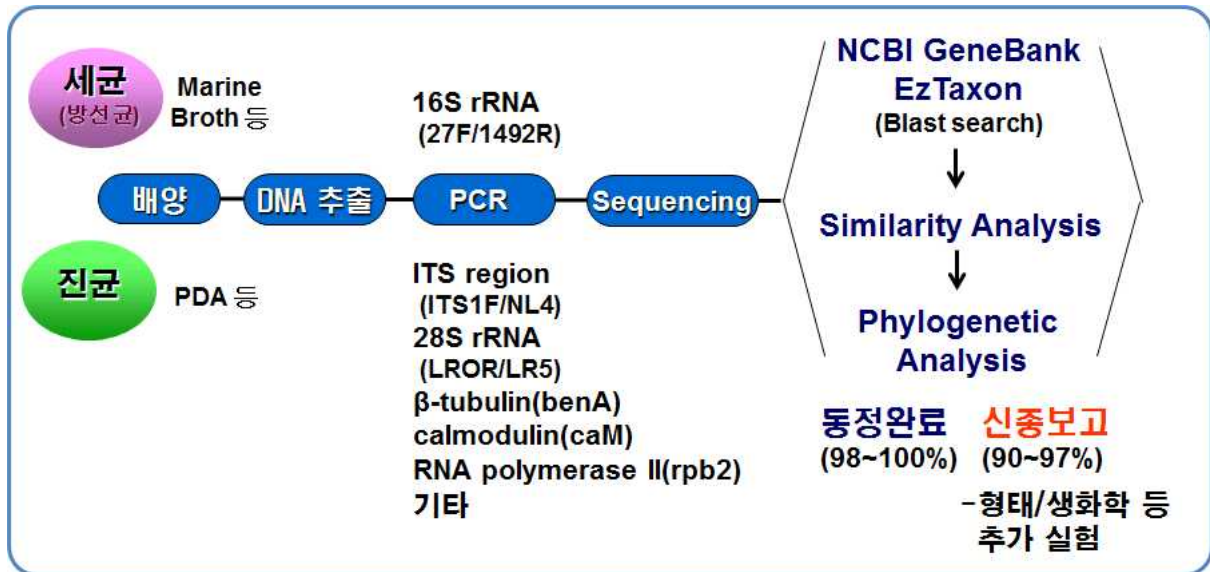
#### 4. 조추출물의 생리활성측정

- 생리활성은 각종 질병치료의 분자표적으로 인식되는 탈인산화 효소(PTP1B)를 이용한 항당뇨관련 활성 검색법을 1차 스크리닝의 방법으로 적용하여 각 추출물에 대한 활성을 검토하고 그 결과를 토대로 향후 적용할 생리활성 평가법을 결정 하였다. 또한 얻어진 자료는 추출물과 함께 DB를 구축하였다.
- PTP1B분석: PTP1B는 BIOMOL International LP에서 구입하였다. 효소활성은 p-nitrophenyl phosphate (pNPP)를 사용하여 측정하였다(Na et al., 2007). 각각의 96 well plate에 2 mM pNPP와 50 mM citrate (pH 6.0), 0.1 M NaCl, 1 mM EDTA, and 1 mM dithiothreitol (DTT)를 포함하는 완충용액을 100 uL첨가한 후 시료(0.3~30 ug/ml)를 첨가하였으며 대조구는 시료대신 시료용해액을 첨가하였다. 이 후 37°C 배양기에서 30분 동안 반응시킨다. 10M NaOH를 넣어 반응을 종결시켰다. 생산된 p-nitrophenol의 양을 405 nm의 흡광도에서 측정하였다.

$$\text{Inhibition \%} = \left\{ \frac{[(\text{DMSO OD value} - \text{DMSO blank OD value}) - (\text{samples OD value} - \text{samples blank OD value})]}{(\text{DMSO OD value} - \text{DMSO blank OD value})} \times 100 \right\}$$

#### 5. 미생물동정을 위한 분자생물학적 분류

- 분리균주를 대상으로 2개의 온도에서 성장특성  
분리된 세균과 진균은 각각 2장의 Marine agar와 PDA agar 배지에 도말한 후 5, 10, 25°C 배양기에서 배양한 후 일정 기간간격으로 성장여부를 확인하여 기록하였다. 이를 통하여 저온성균주와 내냉성 및 저온균주 여부를 판정하였다.



○ 세균 (16S rDNA 염기서열분석)

- 16S rDNA는 16S rDNA primer, 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3'; *Escherichia coli* nucleotide 8~27) 와 1518R (5'-AAG GAG GTG ATC CAN CCR CA-3'; *Escherichia coli* nucleotide 1541~1522) (Giovannoni, 1991)을 사용하여 PCR에 의해 genomic DNA로부터 증폭하였다. PCR 산물은 전기영동 (0.8% agarose)에 의해 DNA가 증폭되었음을 확인하였다. 16S rDNA는 자동염기서열장치를 이용하여 염기서열을 결정하였다(마크로젠에 의뢰).

- 16S rDNA염기서열의 분석은 National Center Biotechnology Information (NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)(Altschul *et al.*, 1990)로부터 얻어진 분류군의 염기서열을 이용하여 서열화하였으며 Phylogenetic Interference Package (PHYLIP) (Felsenstein, 1993)로 서열 데이터를 분석하기 위해 사용되었다. Phylogenetic tree는 neighbour-joining (Saitou & Nei, 1987)방법을 이용하였으며, Evolutionary distances matrices는 Jukes & Cantor (1969)모델에 따라 작성되었다. neighbour-joining tree topology는 1000 resampling에 기초한 bootstrap analysis (Felsenstein, 1985)에 의해 평가되었다.

○ 진균 (28S rDNA 염기서열분석)

- 균류는 액체질소를 이용한 gliding 방법을 이용하여 세포를 파쇄한 후 DNA분리키트를 이용하여 genomic DNA를 분리하였으며 partial 28S rDNA 염기서열은 LROR (ACCCGCTGAACTTAAGC; 26~42)과 LR5(TCCTGAGGGAACTTCG; 964~948)을 그리고 ITS(ITS1-5.8S-ITS2)는 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA)과

NL4(5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG)을 사용하여 PCR에 의해 genomic DNA로부터 증폭하였다. PCR 산물은 전기영동 (0.8% agarose)에 의해 DNA가 증폭되었음을 확인하였다. 28S rDNA는 자동염기서열장치를 이용하여 염기서열을 결정하였다(마크로젠에 의뢰). ITS 및 28S rDNA염기서열의 분석은 National Center Biotechnology Information (NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)로부터 얻어진 분류군의 염기서열을 이용하여 서열화하였으며 Phylogenetic Interference Package (PHYLIP) (Felsenstein, 1993)로 서열 데이터를 분석하기 위해 사용되었다. Phylogenetic tree는 neighbour-joining (Saitou & Nei, 1987)방법을 이용하였으며, Evolutionary distances matrices는 Jukes & Cantor (1969)모델에 따라 작성되었다. Neighbour-joining tree topology는 1000 resampling에 기초한 bootstrap analysis (Felsenstein, 1985)에 의해 평가되었다.

## 제2절 연구개발수행 결과

### 1. 극지미생물유래 미생물의 분리 및 보존

- 극지시료(표 1)로부터 5종의 분리배지에 도말하여 배양하였으며, 이중 균체의 특성에 따라 1차로 세균과 진균을 분리하였고 필요에 따라 2~3차에 걸쳐 순수배양체를 확보하였다.
- 시료별로 순수분리된 세균, 진균은 표 1에 정리하였다. 결과적으로 진균은 88점(표 2), 세균은 130점(표 3)을 포함하여 총 218점을 확보하였다.



표 1. 북극 다산과학기지 주변으로부터 얻어진 시료의 특성 및 미생물분리 요약

	Sample No.	Scientific name	Note	Country of origin	Fungi	Bacteria
1	2018 Arc #P01	<i>Arcticmoss</i> sp.	Moss	Norway	7	15
2	2018 Arc #P02	<i>Arcticmoss</i> sp.	Moss	Norway	5	17
3	2018 Arc #P03	<i>Arcticlichen</i> sp.	Lichen	Norway	3	2
4	2018 Arc #P04	<i>Stereocaulon</i> sp.	Lichen	Norway	5	7
5	2018 Arc #P05	<i>Arcticlichen</i> sp.	Lichen	Norway	2	8
6	2018 Arc #P06	<i>Stereocaulon</i> sp.	Lichen	Norway	2	5
7	2018 Arc #P07	<i>Arcticlichen</i> sp.	Lichen	Norway	6	8
8	2018 Arc #P08	<i>Saxifraga oppositifolia</i>	Plant	Norway	10	6
9	2018 Arc #P11	<i>Salix</i> sp.	Plant	Norway	4	6
10	2018 Arc #P12	<i>Salix polaris</i>	Plant	Norway	0	14
11	2018 Arc #P13	<i>Cerastium</i> sp.	Plant	Norway	5	4
12	2018 Arc #P15	<i>Oxyria digyna</i>	Plant	Norway	7	11
13	2018 Arc #P16	<i>Dryas octopetala</i>	Plant	Norway	4	3
14	2018 Arc #P17	Arctic lichen	Lichen	Norway	1	10
15	2018 Arc #P19	<i>Stereocaulon</i> sp.	Lichen	Norway	11	0
16	2018 Arc #P20	<i>Cladonia</i> sp.	Lichen	Norway	2	4
17	2018 Arc #P21	<i>Arcticlichen</i> sp.	Lichen	Norway	1	1
18	2018 Arc #P22	<i>Arcticlichen</i> sp.	Lichen	Norway	10	1
19	2018 Arc #P24	<i>Arcticlichen</i> sp.	Lichen	Norway	1	5
20	2018 Arc #P28	Arctic lichen	Lichen	Norway	2	3
					88	130

표 2. 북극 다산과학기지 주변으로부터 얻어진 시료로부터 분리된 진균

No	Station No.	분리 배지	부여 번호 (SF-)	Stock 수	제조일	No	Station No.	분리 배지	부여 번호 (SF-)	Stock 수	제조일
1	P1	0.1%NA	7569	4	19.09.11	45	P19	NA	7623	4	19.10.26
2	P1	YMA	7570	4	19.09.11	46	P19	NA	7624	4	19.10.26
3	P1	R2A	7572	4	19.09.11	47	P19	NA	7625	4	19.10.26
4	P1	NA	7573	4	19.09.11	48	P19	NA	7626	4	19.10.26
5	P1	PDA	7575	4	19.09.11	49	P19	NA	7627	4	19.10.26
6	P2	PDA	7577	4	19.12.18	50	P19	NA	7628	4	19.10.26
7	P2	PDA	7578	4	19.09.11	51	P19	YMA	7629	4	19.10.26
8	P2	NA	7579	4	19.09.11	52	P19	R2A	7630	4	19.11.09
9	P2	YMA	7580	4	19.09.11	53	P20	NA	7631	4	19.11.09
10	P2	PDA	7581	4	19.09.11	54	P21	NA	7634	4	19.11.09
11	P3	NA	7582	4	19.09.11	55	P22	NA	7635	4	19.11.09
12	P3	R2A	7585	4	19.09.11	56	P22	NA	7636	4	19.11.09
13	P4	NA	7586	4	19.09.25	57	P22	YMA	7638	4	19.11.09
14	P4	PDA	7588	4	19.09.25	58	P22	YMA	7639	4	19.11.09
15	P4	R2A	7589	4	19.12.18	59	P22	PDA	7640	4	19.11.09
16	P4	PDA	7590	4	19.09.25	60	P22	YMA	7641	4	19.11.09
17	P5	NA	7591	4	19.09.25	61	P22	0.1%NA	7642	4	19.11.09
18	P5	YMA	7593	4	19.09.25	62	P22	YMA	7643	4	19.11.09
19	P6	R2A	7594	4	19.09.25	63	P28	PDA	7645	4	19.11.09
20	P6	PDA	7595	4	19.09.25	64	P28	0.1%NA	7646	4	19.11.09
21	P7	YMA	7597	4	19.09.25	65	P1	PDA	7648	4	19.11.09
22	P8	R2A	7598	4	19.09.25	66	P3	PDA	7652	4	19.11.09
23	P8	YMA	7599	4	19.09.25	67	P4	0.1%NA	7653	4	19.11.09
24	P8	PDA	7600	4	19.09.25	68	P7	NA	7656	4	19.11.09
25	P8	NA	7601	4	19.10.12	69	P7	NA	7657	4	19.11.16
26	P8	0.1%NA	7602	4	19.10.12	70	P7	NA	7659	4	19.11.16
27	P8	0.1%NA	7603	4	19.10.12	71	P7	PDA	7661	4	19.11.16
28	P8	R2A	7604	4	19.10.12	72	P7	PDA	7662	4	19.12.18
29	P11	0.1%NA	7605	4	19.10.12	73	P8	R2A	7663	4	19.11.16
30	P11	NA	7606	4	19.10.12	74	P8	NA	7665	4	19.11.16
31	P11	NA	7607	4	19.10.12	75	P8	PDA	7666	4	19.11.16
32	P11	NA	7608	4	19.10.12	76	P13	PDA	7672	4	19.11.16
33	P13	NA	7610	4	19.10.12	77	P13	YMA	7673	4	19.11.16
34	P13	PDA	7611	4	19.10.12	78	P13	PDA	7674	4	19.11.16
35	P15	YMA	7612	4	19.10.12	79	P16	YMA	7675	4	19.11.16
36	P15	YMA	7613	4	19.12.18	80	P20	PDA	7677	4	19.11.16
37	P15	YMA	7614	4	19.10.12	81	P22	R2A	7678	4	19.12.07
38	P15	YMA	7615	4	19.10.26	82	P22	PDA	7679	4	19.12.07
39	P15	YMA	7616	4	19.10.26	83	P24	R2A	7681	4	19.12.07
40	P15	PDA	7617	4	19.10.26	84	P19	NA	7684	4	19.12.07
41	P16	PDA	7618	4	19.10.26	85	P19	NA	7685	4	19.12.07
42	P16	R2A	7619	4	19.10.26	86	P1	NA	7686	4	19.12.07
43	P16	YMA	7620	4	19.10.26	87	P15	YMA	7687	4	19.12.07
44	P17	0.1%NA	7621	4	19.12.18	88	P19	NA	7688	4	19.12.07

표 3-1. 북극 다산과학기지 주변으로부터 분리된 세균

No	Station No.	분리 배지	부여 번호 (SF-)	Stock 수	제조일	No	Station No.	분리 배지	부여 번호 (SF-)	Stock 수	제조일
1	P1	NA	3898	3	19.09.26	41	P21	R2A	3941	3	19.11.07
2	P1	NA	3899	3	19.09.26	42	P24	0.1%NA	3942	3	20.01.23
3	P1	NA	3900	3	19.09.26	43	P6	0.1%NA	3944	3	19.10.11
4	P1	NA	3901	3	19.09.26	44	P11	NA	3948	3	20.01.09
5	P1	NA	3902	3	19.09.26	45	P12	PDA	3949	3	19.11.07
6	P4	YMA	3903	3	19.10.11	46	P17	NA	3951	3	20.01.08
7	P4	YMA	3904	3	19.10.11	47	P17	R2A	3952	3	20.01.23
8	P4	YMA	3905	3	19.10.11	48	P1	R2A	3953	3	19.09.26
9	P4	R2A	3906	3	19.10.11	49	P1	R2A	3954	3	19.09.26
10	P8	R2A	3908	3	19.10.11	50	P1	R2A	3955	3	19.09.26
11	P8	0.1%NA	3909	3	19.10.11	51	P1	R2A	3956	3	19.10.04
12	P12	PDA	3910	3	19.11.04	52	P1	R2A	3957	3	19.10.04
13	P12	PDA	3911	3	19.11.04	53	P1	R2A	3958	3	19.10.04
14	P12	PDA	3912	3	19.11.04	54	P1	R2A	3959	3	19.10.04
15	P12	R2A	3913	3	19.11.12	55	P1	R2A	3960	3	19.10.04
16	P12	R2A	3914	3	19.11.12	56	P7	R2A	3964	3	19.10.11
17	P12	R2A	3915	3	20.01.09	57	P8	NA	3965	3	19.10.11
18	P12	R2A	3916	3	19.11.04	58	P11	NA	3967	3	20.01.03
19	P12	R2A	3917	3	19.11.04	59	P11	NA	3968	3	19.11.26
20	P15	R2A	3918	3	20.01.23	60	P11	NA	3969	3	20.01.09
21	P15	R2A	3919	3	20.01.23	61	P12	PDA	3970	3	20.01.09
22	P15	R2A	3920	3	19.11.12	62	P12	PDA	3971	3	20.01.13
23	P15	R2A	3921	3	19.11.07	63	P12	R2A	3972	3	19.11.12
24	P15	0.1%NA	3922	3	19.11.07	64	P17	NA	3973	3	20.01.13
25	P16	PDA	3923	2	19.11.26	65	P17	NA	3974	3	19.11.09
26	P16	PDA	3924	3	20.01.13	66	P17	NA	3975	3	20.01.13
27	P28	PDA	3925	3	19.11.07	67	P17	YMA	3976	3	19.11.07
28	P28	PDA	3926	3	19.11.07	68	P17	R2A	3977	3	20.01.09
29	P2	NA	3927	3	19.10.05	69	P17	R2A	3978	3	20.01.13
30	P2	PDA	3928	3	19.10.11	70	P20	NA	3979	2	20.01.13
31	P8	PDA	3929	3	19.10.11	71	P20	NA	3980	3	19.11.26
32	P13	R2A	3931	3	19.11.04	72	P24	0.1%NA	3981	3	20.01.13
33	P13	R2A	3932	3	19.11.04	73	P2	NA	3982	3	20.01.23
34	P13	R2A	3933	3	19.11.04	74	P2	NA	3983	3	19.10.04
35	P16	PDA	3935	3	20.01.13	75	P2	NA	3984	3	19.10.04
36	P17	NA	3936	3	20.01.09	76	P2	NA	3985	3	19.10.05
37	P1	R2A	3937	3	19.09.26	77	P2	YMA	3986	3	19.10.05
38	P5	0.1%NA	3938	3	19.10.11	78	P2	YMA	3987	3	19.10.05
39	P8	R2A	3939	3	19.10.11	79	P2	YMA	3988	3	19.10.05
40	P20	NA	3940	3	20.01.09	80	P2	YMA	3989	3	19.10.05

표 3-2. 북극 다산과학기지 주변으로부터 분리된 세균

No	Station No.	분리 배지	부여 번호 (SF-)	Stock 수	제조일	No	Station No.	분리 배지	부여 번호 (SF-)	Stock 수	제조일
81	P2	YMA	3990	2	19.10.05	106	P24	0.1%NA	4015	3	20.01.09
82	P2	PDA	3991	3	19.10.05	107	P28	PDA	4016	3	20.01.09
83	P2	PDA	3992	3	19.10.05	108	P15	NA	4017	3	20.01.13
84	P2	PDA	3993	3	19.10.11	109	P15	R2A	4018	3	20.01.23
85	P2	PDA	3994	3	19.10.11	110	P15	R2A	4019	3	20.01.13
86	P2	R2A	3995	3	19.10.11	111	P12	R2A	4020	3	20.01.08
87	P5	NA	3996	3	19.10.11	112	P4	YMA	4021	3	20.01.13
88	P5	NA	3997	3	19.10.11	113	P4	YMA	4022	3	20.01.13
89	P5	NA	3998	3	19.10.11	114	P5	R2A	4023	3	20.01.13
90	P5	R2A	3999	3	19.10.11	115	P6	NA	4024	3	20.01.13
91	P5	R2A	4000	3	19.10.11	116	P7	R2A	4025	3	20.01.13
92	P5	R2A	4001	3	19.10.11	117	P7	R2A	4026	3	20.01.13
93	P6	NA	4002	3	19.10.11	118	P12	R2A	4027	3	20.01.08
94	P6	NA	4003	3	19.10.11	119	P6	0.1%NA	4028	3	20.01.13
95	P7	R2A	4004	3	19.10.11	120	P20	NA	4029	3	20.01.13
96	P7	R2A	4005	3	19.10.11	121	P24	YMA	4030	3	20.01.23
97	P7	R2A	4006	3	19.10.11	122	P1	NA	4031	3	20.01.23
98	P7	0.1%NA	4007	3	20.01.04	123	P11	NA	4032	3	20.01.23
99	P11	NA	4008	3	19.11.12	124	P2	PDA	4033	3	20.01.23
100	P13	R2A	4009	3	19.11.07	125	P3	PDA	4034	3	20.01.23
101	P15	NA	4010	3	19.11.12	126	P7	NA	4035	3	20.01.23
102	P15	NA	4011	3	20.01.09	127	P3	R2A	4036	3	20.01.23
103	P15	R2A	4012	3	19.11.12	128	P22	YMA	4037	3	20.01.23
104	P17	YMA	4013	3	19.11.07	129	P4	R2A	4038	3	20.01.23
105	P24	0.1%NA	4014	3	20.01.13	130	P8	YMA	4039	3	20.01.23

## 2. 극지생물 유래 미생물의 추출물 확보 연구

### 1) 추출물 확보 현황

- 분리된 진균은 이차대사산물의 빈도가 높은 진균을 대상으로 대량배양을 진행하였다. 본 연구에서 분리된 진균 88점과 이전 확보된 진균중 항염 및 항당뇨활성을 나타내었던 40점을 포함하여 총 128점의 진균은 PDA배지를 이용하여 제작된 plate (90 mm x 15 mm) 및 편박 플라스크에 접종하여 10℃에서 7~30일 배양하였다(균의 종에 따라 차이가 있음). 배양된 진균은 ethyl acetate 용매추출을 통하여 추출물 제조를 완료하였다(표 5).

### 2) 추출물의 활용

- 제조된 추출물은 신규천연물을 연구하는 원광대연구팀에게 일부시료를 지속적으로 제공하였으며, 일부시료는 극지연구소에서 대사체 연구를 위해 시료를 제공하였다.
- 본 연구팀이 생리활성검색에 사용된 시료 외에는 자체적으로 DB를 구축하여 보존하고 있다.



표 5-1. 극지 미생물 추출물제조 요약

No.	Stock No.	Culture period		Extract (mg)	No.	Stock No.	Culture period		Extract (mg)
		Start date	End date				Start date	End date	
1	7569	19.09.18	19.10.01	43.2	41	7618	19.10.30	19.11.18	32.2
2	7570	19.09.18	19.10.01	24	42	7619	19.10.30	19.11.18	38.4
3	7572	19.09.18	19.10.01	100	43	7620	19.10.30	19.11.18	9
4	7573	19.09.18	19.10.01	78	44	7621	19.12.30	20.01.15	Ongoing
5	7575	19.09.18	19.10.01	18.4	45	7623	19.10.30	19.11.18	42.5
6	7577	19.12.30	20.01.15	Ongoing	46	7624	19.10.30	19.11.18	83.4
7	7578	19.09.18	19.10.01	18.2	47	7625	19.10.30	19.11.18	83
8	7579	19.09.18	19.10.01	73.6	48	7626	19.10.30	19.11.18	121.6
9	7580	19.09.18	19.10.01	25	49	7627	19.10.30	19.11.18	4.3
10	7581	19.09.18	19.10.01	22.7	50	7628	19.10.30	19.11.18	108.3
11	7582	19.09.18	19.10.01	42.3	51	7629	19.10.30	19.11.18	4
12	7585	19.09.18	19.10.01	19.1	52	7630	19.11.12	19.12.02	69.4
13	7586	19.10.05	19.10.21	57.6	53	7631	19.11.12	19.12.02	3
14	7588	19.10.05	19.10.21	32.1	54	7634	19.11.12	19.12.02	118.1
15	7589	19.12.30	20.01.15	Ongoing	55	7635	19.11.12	19.12.02	20
16	7590	19.10.05	19.10.21	19.3	56	7636	19.11.12	19.12.02	14.7
17	7591	19.10.05	19.10.21	30.2	57	7638	19.11.12	19.12.02	6.3
18	7593	19.10.05	19.10.21	124.3	58	7639	19.11.12	19.12.02	14.7
19	7594	19.10.05	19.10.21	65.2	59	7640	19.11.12	19.12.02	121.1
20	7595	19.10.05	19.10.21	12	60	7641	19.11.12	19.12.02	3.5
21	7597	19.10.05	19.10.21	59.5	61	7642	19.11.12	19.12.02	72.3
22	7598	19.10.05	19.10.21	50.7	62	7643	19.11.12	19.12.02	27.2
23	7599	19.10.05	19.10.21	140.3	63	7645	19.11.12	19.12.02	125.1
24	7600	19.10.05	19.10.21	38.4	64	7646	19.11.12	19.12.02	27.3
25	7601	19.10.16	19.11.05	104.2	65	7648	19.11.12	19.12.02	3.6
26	7602	19.10.16	19.11.05	81.9	66	7652	19.11.12	19.12.02	3
27	7603	19.10.16	19.11.05	53.9	67	7653	19.11.12	19.12.02	7.1
28	7604	19.10.16	19.11.05	17.7	68	7656	19.11.12	19.12.02	5.3
29	7605	19.10.16	19.11.05	51.3	69	7657	19.11.20	19.12.9	28.8
30	7606	19.10.16	19.11.05	19.9	70	7659	19.11.20	19.12.9	108.3
31	7607	19.10.16	19.11.05	21.5	71	7661	19.11.20	19.12.9	37.7
32	7608	19.10.16	19.11.05	12	72	7662	19.12.30	20.01.15	Ongoing
33	7610	19.10.16	19.11.05	20.5	73	7663	19.11.20	19.12.9	62.1
34	7611	19.10.16	19.11.05	23.4	74	7665	19.11.20	19.12.9	11
35	7612	19.10.16	19.11.05	43.5	75	7666	19.11.20	19.12.9	53.5
36	7613	19.12.30	20.01.15	Ongoing	76	7672	19.11.20	19.12.9	21
37	7614	19.10.16	19.11.05	26	77	7673	19.11.20	19.12.9	15.9
38	7615	19.10.30	19.11.18	21.1	78	7674	19.11.20	19.12.9	19.8
39	7616	19.10.30	19.11.18	40.8	79	7675	19.11.20	19.12.9	17.7
40	7617	19.10.30	19.11.18	39.8	80	7677	19.11.20	19.12.9	15

표 5-2. 극지 미생물 추출물제조 요약

No.	Stock No.	Culture period		Extract (mg)	No.	Stock No.	Culture period		Extract (mg)
		Start date	End date				Start date	End date	
81	7678	19.12.21	20.01.06	34	105	7495	19.11.20	19.12.10	4.6
82	7679	19.12.21	20.01.06	12.9	106	7497	19.11.20	19.12.10	6.7
83	7681	19.12.21	20.01.06	73.8	107	7446	19.11.20	19.12.10	3.4
84	7684	19.12.21	20.01.06	89.4	108	7467	19.11.20	19.12.10	6.5
85	7685	19.12.21	20.01.06	16.1	109	7506	19.11.20	19.12.10	4.3
86	7686	19.12.21	20.01.06	43.6	110	7523	19.11.20	19.12.10	8.6
87	7687	19.12.21	20.01.06	3.1	111	7527	19.11.20	19.12.10	4.0
88	7688	19.12.30	20.01.15	Ongoing	112	7541	19.11.20	19.12.10	1.0
89	7412	19.11.08	19.11.25	1.0	113	7553	19.11.20	19.12.10	3.2
90	7425	19.11.08	19.11.25	6.6	114	7556	19.11.20	19.12.10	1.5
91	7427	19.11.08	19.11.25	5.2	115	7294	19.12.12	19.12.26	7.3
92	7428	19.11.08	19.11.25	1.0	116	7296	19.12.12	19.12.26	9.9
93	7432	19.11.08	19.11.25	1.0	117	7303	19.12.12	19.12.26	4
94	7451	19.11.08	19.11.25	9.2	118	7309	19.12.12	19.12.26	9.9
95	7452	19.11.08	19.11.25	10.7	119	7310	19.12.12	19.12.26	1.4
96	7457	19.11.08	19.11.25	8.2	120	7341	19.12.12	19.12.26	1.0
97	7466	19.11.08	19.11.25	5.4	121	7342	19.12.12	19.12.26	4.0
98	7473	19.11.08	19.11.25	8.9	122	7354	19.12.12	19.12.26	5.9
99	7477	19.11.08	19.11.25	9.9	123	7358	19.12.12	19.12.26	5.1
100	7488	19.11.08	19.11.25	4.5	124	7383	19.12.12	19.12.26	7.8
101	7492	19.11.08	19.11.25	6.3	125	7395	19.12.12	19.12.26	3.5
102	7453	19.11.20	19.12.10	12	126	7396	19.12.12	19.12.26	1.9
103	7460	19.11.20	19.12.10	3.2	127	7416	19.12.12	19.12.26	7.0
104	7478	19.11.20	19.12.10	4.9	128	7422	19.12.12	19.12.26	1.2

### 3. 생리활성검증

#### ○ PTP1B 저해활성에 의한 항당뇨 검색

- 진균 추출물을 대상으로 항당뇨 질병의 분자표적으로 인식되는 탈인산화효소인 PTP1B (Protein tyrosine phosphatase 1B)를 저해하는 *in vitro* assay를 수행하였으며 이를 통하여 진균 추출물의 항당뇨 저해능력을 평가하였다.
- 본 연구에서 분리된 진균 추출물을 대상으로 PTP1B 저해활성을 조사하였으며 총 00 균주 중 추출물의 농도를 0.3 ug/ml 수준에서 50%이상 PTP1B 저해활성을 보인 시료는 총 33균주로 나타났으며 이중 SF-7648균주가 97.58%로 가장 높은 활성을 보였다. 1 ug/ml의 농도로 추출물을 처리하였을 때 PTP1B 저해활성이 70%이상을 나타낸 시료는 총 52균주로 나타났다.
- 이전 균주로부터 얻어진 우수 추출물의 활성은 표 6-2에 No. 89-115까지 결과를 수록하였다.

#### ○ 항염활성

- RAW264.7 세포주 NO 억제실험에서 우수활성을 보인 균주인 13종의 측정결과는 표 7에 수록하였다.





표 6-1. The summary of PTP1B inhibitory activity(%) against fungal extracts

No.	Strain No.	Conc.(ug/ml)			No.	Strain No.	Conc.(ug/ml)		
		0.3	1	3			0.3	1	3
1	7569	54.48	68.09	92.36	31	7607	50.24	99.71	99.75
2	7570	71.69	80.99	97.73	32	7608	Ongoing		
3	7572	56.82	74.25	96.15	33	7610	16.85	22.59	27.75
4	7573	69.45	93.12	97.98	34	7611	61.10	22.59	99.97
5	7575	52.20	97.11	100.07	35	7612	57.71	99.82	100.00
6	7577	Ongoing			36	7613	Ongoing		
7	7578	62.19	97.66	99.75	37	7614	85.99	99.82	99.78
8	7579	42.83	76.43	99.51	38	7615	27.17	32.67	99.85
9	7580	59.72	90.22	98.46	39	7616	43.49	99.33	99.85
10	7581	40.72	82.14	98.40	40	7617	42.66	70.05	99.92
11	7582	34.77	99.04	98.51	41	7618	27.52	39.11	58.75
12	7585	36.72	63.75	97.01	42	7619	48.13	77.55	99.91
13	7586	73.72	92.86	104.63	43	7620	42.59	92.91	99.52
14	7588	57.32	91.80	99.81	44	7621	Ongoing		
15	7589	Ongoing			45	7623	44.84	87.04	99.81
16	7590	Ongoing			46	7624	35.65	89.73	99.78
17	7591	57.91	84.11	102.89	47	7625	9.65	17.95	43.87
18	7593	71.02	97.04	98.74	48	7626	27.99	40.58	91.26
19	7594	85.50	96.63	98.16	49	7627	48.66	99.37	99.14
20	7595	28.82	69.00	96.54	50	7628	45.44	73.67	99.47
21	7597	40.42	92.03	96.88	51	7629	20.38	36.73	42.30
22	7598	60.89	99.80	97.01	52	7630	39.57	99.17	99.79
23	7599	47.49	68.74	89.53	53	7631	44.95	99.91	99.96
24	7600	55.68	87.39	98.83	54	7634	27.31	76.81	99.96
25	7601	78.63	96.07	97.79	55	7635	32.16	69.76	99.89
26	7602	23.72	76.22	99.81	56	7636	33.39	100.06	99.67
27	7603	53.54	98.04	99.76	57	7638	Ongoing		
28	7604	58.24	81.55	98.48	58	7639	Ongoing		
29	7605	53.99	90.17	99.42	59	7640	35.05	98.45	99.43
30	7606	47.42	68.66	76.51	60	7641	53.74	97.70	99.40

표 6-2. The summary of PTP1B inhibitory activity(%) against fungal extracts

No.	Strain No.	Conc.(ug/ml)			No.	Strain No.	Conc.(ug/ml)		
		0.3	1	3			0.3	1	3
61	7642	10.29	43.34	99.87	89	7453	41.36	95.21	98.01
62	7643	92.42	100.64	99.40	90	7460	65.27	99.88	108.05
63	7645	4.39	28.96	92.34	91	7478	39.59	99.8	101.46
64	7646	81.52	99.74	99.99	92	7495	68.73	99.37	101.12
65	7648	97.58	99.06	98.89	93	7497	79.14	100.62	102.17
66	7652	51.54	96.97	99.24	94	7446	41.01	69.43	100.03
67	7653	24.58	28.74	98.51	95	7467	40.34	91.92	100.3
68	7656	29.33	76.23	99.94	96	7506	42.92	88.77	103.07
69	7657	34.02	37.65	98.69	97	7523	48.62	94.41	99.2
70	7659	86.89	98.76	100.23	98	7527	38.82	95.66	98.69
71	7661	79.71	100.00	100.10	99	7541	43.03	84.82	100.29
72	7662	Ongoing			100	7553	40.28	98.57	99.91
73	7663	94.31	99.93	99.68	101	7556	39.56	98.5	99.66
74	7665	78.75			102	7294	54.10	99.85	99.91
75	7666	8.67	21.76	84.48	103	7296	93.10	98.01	106.35
76	7672	21.03	30.18	69.51	104	7303	49.66	98.01	106.35
77	7673	16.55	27.03	46.65	105	7309	83.22	99.87	99.95
78	7674	62.85	79.89	99.74	106	7310	53.05	98.94	100.27
79	7675	4.50	17.28	20.86	107	7341	96.14	99.34	99.90
80	7677	67.73	83.81	99.97	108	7342	67.10	98.09	99.80
81	7678	6.52	50.45	100.00	109	7354	89.81	100.16	100.12
82	7679	80.25	99.47	99.75	110	7358	99.73	99.59	99.26
83	7681	27.11	59.50	99.14	111	7383	97.49	99.33	99.50
84	7684	12.48	18.68	28.98	112	7395	99.05	99.23	99.27
85	7685	17.74	75.35	99.96	113	7396	64.12	68.05	100.10
86	7686	14.24	69.40	99.45	114	7416	73.03	99.71	99.86
87	7687	20.92	65.74	99.93	115	7422	52.81	87.06	100.03
88	7688	Ongoing							

표 7. RAW264.7 세포주 NO억제 우수군주 실험 결과

No.	Name	Conc.	NO ( $\mu$ M)	Inhibition (%)
		Butein	10 $\mu$ M	0.775
1	SF 7412	25ug/ml	3.058	46.3
		50ug/ml	2.411	<b>59.6</b>
		100ug/ml	2.147	<b>65.0</b>
2	SF 7425	25ug/ml	4.400	18.7
		50ug/ml	3.250	42.4
		100ug/ml	1.453	<b>79.3</b>
3	SF 7427	25ug/ml	4.496	16.7
		50ug/ml	1.620	<b>75.9</b>
		100ug/ml	1.620	<b>75.9</b>
4	SF 7428	25ug/ml	4.064	25.6
		50ug/ml	2.507	<b>57.6</b>
		100ug/ml	1.788	<b>72.4</b>
5	SF 7432	25ug/ml	4.047	26.0
		50ug/ml	4.064	25.6
		100ug/ml	2.363	<b>60.6</b>
6	SF 7451	25ug/ml	2.339	<b>61.1</b>
		50ug/ml	1.381	<b>80.8</b>
		100ug/ml	1.093	<b>86.7</b>
7	SF 7452	25ug/ml	3.921	28.6
		50ug/ml	3.417	38.9
		100ug/ml	1.956	<b>69.0</b>
8	SF 7457	25ug/ml	4.208	22.7
		50ug/ml	2.842	<b>50.7</b>
		100ug/ml	2.459	<b>58.6</b>
9	SF 7466	25ug/ml	2.387	<b>60.1</b>
		50ug/ml	1.261	<b>83.2</b>
		100ug/ml	0.590	97.0
10	SF 7473	25ug/ml	3.513	36.9
		50ug/ml	2.962	48.3
		100ug/ml	1.285	<b>82.8</b>
11	SF 7477	25ug/ml	3.657	34.0
		50ug/ml	3.202	43.3
		100ug/ml	0.758	<b>93.6</b>
12	SF 7488	25ug/ml	3.417	38.9
		50ug/ml	2.746	<b>52.7</b>
		100ug/ml	2.986	47.8
13	SF 7492	25ug/ml	3.801	31.0
		50ug/ml	2.675	<b>54.2</b>
		100ug/ml	2.794	<b>51.7</b>

#### 4. 미생물동정을 위한 분자생물학적 분류

가. 분리균주를 대상으로 2개의 온도에서 성장특성

- 분리된 세균과 진균은 각각 2장의 NA 배지와 PDA agar 배지에 도말한 후 10와 25℃ 배양기에서 배양한 후 일정 기간간격으로 성장여부를 확인하여 저온성 또는 내냉성 균주 여부를 판정하여 균주의 DB화에 활용할 계획이다.
- 세균 130종중 99종에 대하여 온도별 성장시험을 진행하였으며(표 8), 이중 저온성균(25℃에서 보다 10℃에서 높은 성장을 보인 종)은 1종, 내냉성균이 91종 그리고 중온성균이 7종으로 나타났다. 전체적으로 내냉성균이 92%를 차지하는 현상을 보였으며 이는 기존 2018년 남극지역으로부터 분리된 세균에서 저온성이 22%, 내냉성이 60% 그리고 중온성이 18%인 결과와 비교하여 저온성균의 비중이 현저히 낮고 내냉성균의 비중이 높은 것으로 보아 남극보다는 온도 폭의 변화에 의한 영향을 받은 것으로 판단된다.
- 진균 89종을 대상으로 온도별 성장시험을 진행하였으며(표 9), 이중 68종에 대한 결과로부터 저온성균(25℃에서 보다 10℃에서 높은 성장을 보인 종)은 6종으로 9%를 차지하였다. 내냉성균은 37종으로 전체 가장 높은 비중인 54%를 그리고 중온성균은 25종으로 37%를 차지하고 있으며 결국 저온에서 성장이 가능한 종의 비중은 63%를 차지하는 것으로 나타났다

표 8-1. The effect of temperature on the growth of bacterial strains

No.	Strain No.	Incubation temp.		No.	Strain No.	Incubation temp.	
		10°C	25°C			10°C	25°C
1	3898	+++	+++	29	3927	+	++
2	3899	+++	+++	30	3928	+++	+++
3	3900	+++	+++	31	3929	+++	+++
4	3901	+++	+++	32	3931	++	+++
5	3902	+++	+++	33	3932	+	+++
6	3903	+++	+++	34	3933	++	+++
7	3904	Ongoing	Ongoing	35	3935	++	+++
8	3905	+++	+++	36	3936	+++	+++
9	3906	+++	+++	37	3937	+++	+++
10	3908	+++	+++	38	3938	Ongoing	Ongoing
11	3909	+++	+++	39	3939	++	+++
12	3910	+++	+++	40	3940	+	+++
13	3911	+++	+++	41	3941	+	+++
14	3912	+++	+++	42	3942	Ongoing	Ongoing
15	3913	+++	+++	43	3944	+++	+++
16	3914	++	++	44	3948	+	+
17	3915	+++	+++	45	3949	+	+++
18	3916	+++	+++	46	3951	Ongoing	Ongoing
19	3917	+++	+++	47	3952	Ongoing	Ongoing
20	3918	Ongoing	Ongoing	48	3953	+	++
21	3919	Ongoing	Ongoing	49	3954	Ongoing	Ongoing
22	3920	++	+++	50	3955	+++	+++
23	3921	+++	+++	51	3956	++	+++
24	3922	++	+++	52	3957	++	+++
25	3923	+++	+++	53	3958	+	++
26	3924	+++	+++	54	3959	+	++
27	3925	++	+++	55	3960	++	+++
28	3926	+++	+++	56	3964	Ongoing	+++

표 8-2. The effect of temperature on the growth of bacterial strains

No.	Strain No.	Incubation temp.		No.	Strain No.	Incubation temp.	
		10°C	25°C			10°C	25°C
57	3965	+++	+++	94	4003	+++	+++
58	3967	Ongoing	Ongoing	95	4004	+++	+++
59	3968	+	+++	96	4005	+++	+++
60	3969	+	+++	97	4006	+++	+++
61	3970	+++	+++	98	4007	+++	+++
62	3971	Ongoing	Ongoing	99	4008	+++	+++
63	3972	+	++	100	4009	+++	+++
64	3973	++	+++	101	4010	+	+++
65	3974	±	+	102	4011	Ongoing	Ongoing
66	3975	++	+++	103	4012	+++	+++
67	3976	Ongoing	Ongoing	104	4013	+++	+++
68	3977	++	+++	105	4014	+++	+++
69	3978	+++	+++	106	4015	+++	+++
70	3979	+++	+	107	4016	+++	+++
71	3980	++	+++	108	4017	+++	+++
72	3981	Ongoing	Ongoing	109	4018	Ongoing	Ongoing
73	3982	+++	+++	110	4019	+++	+++
74	3983	+++	+++	111	4020	+++	+++
75	3984	+++	Ongoing	112	4021	Ongoing	Ongoing
76	3985	+++	+++	113	4022	+++	+++
77	3986	+++	+++	114	4023	+++	+++
78	3987	+++	+++	115	4024	Ongoing	Ongoing
79	3988	+++	+++	116	4025	Ongoing	Ongoing
80	3989	+++	Ongoing	117	4026	++	+++
81	3990	+++	+++	118	4027	Ongoing	Ongoing
82	3991	+++	+++	119	4028	+++	+++
83	3992	+++	+++	120	4029	Ongoing	Ongoing
84	3993	+++	+++	121	4030	Ongoing	Ongoing
85	3994	+++	+++	122	4031	Ongoing	Ongoing
86	3995	+++	+++	123	4032	Ongoing	Ongoing
87	3996	+++	+++	124	4033	Ongoing	Ongoing
88	3997	+++	+++	125	4034	Ongoing	Ongoing
89	3998	+++	+++	126	4035	Ongoing	Ongoing
90	3999	+++	+++	127	4036	Ongoing	Ongoing
91	4000	+++	+++	128	4037	Ongoing	Ongoing
92	4001	+++	+++	129	4038	Ongoing	Ongoing
93	4002	+++	+++	130	4039	Ongoing	Ongoing

표 9. The effect of temperature on the growth of fungal strains

No.	Strain No.	Incubation temp.		No.	Strain No.	Incubation temp.	
		10°C	25°C			10°C	25°C
1	7569	+	++++	45	7623	+	++
2	7570	++	++++	46	7624	+++	+
3	7572	++	±	47	7625	++	+++
4	7573	±	++	48	7626	++	++
5	7575	+	+++	49	7627	+++	++
6	7577	Under incubation	Under incubation	50	7628	Under incubation	Under incubation
7	7578	+++	++++	51	7629	±	++++
8	7579	+	+	52	7630	+	+++
9	7580	++	+++	53	7631	±	-
10	7581	Under incubation	Under incubation	54	7634	Under incubation	Under incubation
11	7582	++	+++	55	7635	+	+++
12	7585	++	++	56	7636	++	++
13	7586	++	++	57	7638	++	-
14	7588	++	+++	58	7639	Under incubation	Under incubation
15	7589	Under incubation	Under incubation	59	7640	+	+++
16	7590	++	++++	60	7641	±	+
17	7591	+++	+++	61	7642	+	+++
18	7593	++	++++	62	7643	Under incubation	Under incubation
19	7594	+++	++++	63	7645	++	++
20	7595	++	+++	64	7646	Under incubation	Under incubation
21	7597	Under incubation	Under incubation	65	7648	Under incubation	Under incubation
22	7598	+	+++	66	7652	+++	++++
23	7599	Under incubation	Under incubation	67	7653	±	-
24	7600	++++	++++	68	7656	++	++
25	7601	++	+++	69	7657	+++	++++
26	7602	+	++++	70	7659	Under incubation	Under incubation
27	7603	++++	++++	71	7661	++	++++
28	7604	+++	++++	72	7663	+++	++
29	7605	++	+++	73	7665	±	+++
30	7606	+++	++++	74	7666	±	++
31	7607	+	+++	75	7672	++	+++
32	7608	++	++++	76	7673	±	-
33	7610	+	+++	77	7674	±	++
34	7611	+++	+	78	7675	++++	++++
35	7612	+++	+	79	7676	Under incubation	Under incubation
36	7613	±	+++	80	7677	±	+
37	7614	+++	+++	81	7678	+	+++
38	7615	±	++	82	7679	++	++
39	7616	++	++	83	7681	+	++
40	7617	Under incubation	Under incubation	84	7684	++	++
41	7618	+++	++++	85	7685	++	+++
42	7619	++	++	86	7686	Under incubation	Under incubation
43	7620	++++	++++	87	7687	Under incubation	Under incubation
44	7621	Under incubation	Under incubation	88	7688	Under incubation	Under incubation

나. 극지 미생물의 동정

- 이전 연구에서 우수한 활성을 보인 진균 16종에 대한 염기서열을 결정하였으며 NCBI BLAST search를 통하여 유사도가 높은 균주들을 대상으로 clustalW alignment를 통하여 유사도를 분석하여 표 10에 정리하였다.
- 우수균주 16점은 8속(genus) 13종(species)으로 나타났으며 *Cladosporium* 속이 6점, *Penicillium* 속이 4점으로 비중이 다소 높았다.

표 10. List of fungal strain identified by ITS region sequence analysis

No	Strain No. (SF- )	Closest relative	Similarity (%)	Reference*
1	7294	<i>Penicillium aeneum</i>	99.62	
2	7296	<i>Penicillium spathulatum</i>	100	KC427190
3	7303	<i>Cladosporium halotolerans</i>	99.64	KP701958
4	7309	<i>Penicillium dipodomycicola</i>	100	KT151579
5	7342	<i>Cladosporium asperulatum</i>	100	LN834357
6	7354	<i>Penicillium spathulatum</i>	99.47	KC427190
7	7358	<i>Cladosporium perangustum</i>	100	KP701968
8	7383	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	100	KX463059
9	7395	<i>Camarosporula persooniae</i>	90.3	JF770449
10	7396	<i>Tolyposcladium ophioglossoides</i>	98.98	EU834213
11	7416	<i>Leptosphaeria microscopica</i>	100	FN386274
12	7422	<i>Cladosporium cf. cladosporoides</i>	99.82	KY781769
13	7460	<i>Pseudogymnoascus destructans,</i>	99.78	MF467856,
14	7473	<i>Lachnellula fuscanguinea</i>	95.32	MH858769
15	7477	<i>Chrysosporium merdarium</i>	99.8	MH859164
16	7497	<i>Cladosporium perangustum</i>	100	MH863940



## 제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

### 1. 연구개발 목표의 달성도

목 표	달성도 (%)	내 용
○ 극지미생물 자원의 분리 및 확보 (200점 이상)	100	○ 극지시료로부터 세균(130), 진균(88)을 포함하여 총 218점을 순수분리 및 보존완료
○ 극지 미생물 유래 추출물 확보 (120건 이상의 추출물 DB 구축여부)	100	○ 고체배지를 통한 배양체 확보, ethyl acetate를 이용한 추출 및 농축 총 128점(6점 진행중) - 당해연도 분리균주 : 88점 - 우수활성 균주 : 40점 ○ 공동연구팀인 극지연구소(대사체 연구) 및 원광대(신규물질 확보)에 추출물을 제공 ○ 생리활성검색 : 128점의 균주로부터 확보된 추출물을 이용하여 항당뇨/항염증 활성 검색 진행 중
○ 우수균주의 분류 동정 (10건 이상)	100	○ 우수균주 선정을 위한 온도별 성장 특성조사 - 세균(130점), 진균(88점) 진행중 ○ 분자생물학적 동정 완료 - 진균 (16점)에 대하여 분자생물학적 분류동정

## ○ 학술발표 : 2건

- 학회발표 : 2건 (2019 한국미생물생명공학회 학술대회, 2019, 06월 23-25일)
  - L026 Diversity and Bioprospecting of Cold Adapted Antarctic Fungi Isolated from the King George Island
  - L027 The Effect of Cold Temperature on the growth and Diversity of Antarctic Bacterial Isolates from the King George Island

## 2. 대외 기여도

- 극지자원은 접근성이 어려워 자원의 확보와 활용성에 극히 제한되어 있어 학계 및 산업계에서 활용성이 제한되어 있음.
- 본 연구를 통하여 극지해생물로부터 극한미생물자원, 추출물제조, 생리활성검색 및 우수활성균주의 분류동정 자료의 활용성을 높이기 위해 기초자료(DB구축)를 제공함으로써 학계 및 산업계에서 신규소재의 발굴을 위한 연구활성화 도모
- 공동연구팀과 연계를 통하여 제브라피쉬를 이용한 후보물질탐색, 신규천연물 및 대사체 연구를 위한 자원을 제공함으로써 본 과제를 통한 성과활용을 극대화에 기여

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 세계적으로 생명자원 확보경쟁이 치열해지는 상황에서 “극지 생명자원의 확보 및 보존  
⇨ 가치 발굴 및 정보화 ⇨ 활용 및 산업화의 운영체계 구축”이라는 극지 미생물자원의  
선순환 구조를 위한 거시적 구도 하에서 극지유래 생명자원의 가치 발굴 및 정보화 단계  
를 촉진시키는 촉매의 역할을 할 것으로 기대
  
- 극지 미생물자원의 분리 및 보존을 통하여 다양한 국내외 연구팀 및 연구분야의 정보를  
제공함으로써 극한미생물연구 활성화 제공
  
- 추출물의 확보 및 생리활성검색의 DB화를 통하여 기초연구 및 산업화 연구개발기간 단  
축, 연구비용 절감 등을 위한 긍정적인 효과를 제공
  
- 공동연구팀과의 연계를 통하여 대사체의 생리활성을 기초로 하여 미지의 생명현상 규명  
또는 질병현상 규명과 관련된 연구 분야에 chemical probe 으로도 활용이 가능
  - 극지 미생물유래 배양체로부터 제브라피쉬를 이용한 후보물질탐색을 위한 추출물을  
확보하고 공급할 수 있는 체계 구축
  
- 새로운 물질의 제조나 생산에 대한 관련 특허의 확보가 가능하여 물질특허 외에도 이의  
활용에 의한 수입도 가능
  
- 국내에서 최종 상품화에 성공하면 관련 식품의약산업이나 제약산업의 성장과 활성화에  
획기적인 전기를 마련할 수 있음.

## 주 의

1. 이 보고서는 극지연구소 위탁연구기관에서 수행한 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 수행한 위탁연구의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.