

표 지

(뒷면)

(측면)

(앞면)

(16 포인트 고딕체)	대사체 분석 및 분자네트워킹 분석기 법 기반 극지미 생물 유래 바이오 소재 발굴 고려대 학교 산학협 력단	대사체 분석 및 분자네트워킹 분석기법 기반 극지미생물 유래 바이오소재 발굴 Metabolomics and molecular networking based discovery of biomaterials derived from antarctic microorganisms 고려대학교 산학협력단
---------------------	--	--

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “포스트 극지유전체 프로젝트: 극지 유용유전자 발굴을 위한 기능유전체 연구에 관한 연구” 과제의 위탁연구 “대사체 분석 및 분자네트워킹 분석기법 기반 극지미생물 유래 바이오소재 발굴에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2026 . 01 . 22

(본과제) 총괄연구책임자 : 김진형

위탁연구기관명 : 고려대학교 산학협력단

위탁연구책임자 : 이동호

위탁참여연구원 : 장유주

“ : 박현서

“ : 정현규

“ : 백선희

“ : 최원제

보고서 초록

위탁연구과제명	대사체 분석 및 분자네트워킹 분석기법 기반 극지미생물 유래 바이오소재 발굴				
위탁연구책임자	이동호	해당단계 참여연구원수	5	해당단계 연구비	70,000,000
연구기관명 및 소속부서명	고려대학교 산학협력단		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 : 상대국연구기관명 :				
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)				보고서 면수	95
○ 연구내용 및 결과 - 다양한 극지 미생물의 추출물을 확보하고, LC-MS(Ion trap)를 이용하여 대사체 분석을 수행함. - 추출물 분석을 통해 산출된 UV와 MS spectrum 결과를 기반으로 chemical DB 검색과 분자네트워킹(Molecular networking)을 활용한 MS/MS fragment 분석을 수행하여, 기존에 보고된 다양한 활성물질에 대한 de-replication을 진행하고 추출물 내 대사체를 파악하여 DB를 구축함. - 극지연구소로부터 제공받은 균주 활성 리스트와 de-replication을 통해 도출된 추출물 내 대사체의 분석 결과를 종합적으로 활용하여 항암 활성과 관련된 후보 물질을 예측함. - 분석 및 예측 결과를 바탕으로 유용성이 높은 극지 미생물을 선정하고, 대량배양을 통해 추출물을 확보한 후 다양한 분리 기법을 적용하여 대사체를 분리함. - 다양한 분광학 분석 장비를 이용하여 분리된 대사체의 구조를 규명함. ○ 연구결과의 활용 이와 같은 연구결과는 극지 미생물 자원 활용연구, 데이터베이스 구축 및 관련 산업 활성화에 기여할 것임.					
색인어 (각 5개 이상)	한글	대사체, 극지 미생물, 추출물, MS 라이브러리, 분자네트워킹			
	영어	Metabolites, Antarctic microorganisms, Extract, MS-library, Molecular Networking			

요 약 문

I. 제 목

대사체 분석 및 분자네트워킹 분석기법 기반 극지미생물 유래 바이오소재 발굴

II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구의 목적은 극지 유래 미생물의 추출물을 제작하여 분석 후 대사체 라이브러리를 확보하고, 추출물 내 특이적 대사체 구조의 특성을 분석하여 바이오 연구를 활성화하는 데 있다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

본 연구개발의 목적을 달성하기 위해 아래와 같은 연구가 진행되었다.

- 극지 미생물 추출물 확보
- 극지 미생물 LC-MS 분석 및 분자네트워킹 분석
- 활성물질 관련 문헌자료 조사

IV. 연구개발결과

본 연구개발 결과는 다음과 같다.

- 극지 미생물 추출물 확보
극지연구소로부터 수령한 34종의 균주를 배양하여 추출물을 확보하였다.
- 극지 미생물 추출물 MS 분석 및 분자네트워킹 분석
극지 미생물 추출물 시료를 대상으로 LC-MS(Ion trap) 분석을 수행하였고, UV 및 MS spectrum 결과를 바탕으로 chemical DB 검색과 분자네트워킹 분석을 수행하여 de-replication 및 추출물 내 대사체 분석을 실시하였다.
- 극지 미생물 추출물 대량배양, 대사체 분리 정제 및 구조 규명
확보한 추출물 중 선정된 유용 극지 미생물을 대량배양하여 추출물을 확보하고 다양한 분리 기법을 통해 대사체를 분리 정제하였으며, 분리된 대사체에 대한 분광학 분석을 통해 구조를 규명하였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

극지 유래 미생물의 대사체 분석 결과를 통해 대사체를 미리 예측하여 신규 활성물질 또는 유용 활성 물질을 탐색하여 효용성이 높은 균주를 선택하는데 도움을 준다. 또한 신규 활성 대사체 분리 정제 연구를 위한 토대를 마련할 수 있으며 추출물 라이브러리를 구축함으로써 극지 미생물 자원들의 연구를 위한 기초 자료로써 기여한다.

S U M M A R Y

(영 문 요 약 문)

I. Title

Metabolomics and molecular networking based discovery of biomaterials derived from antarctic microorganism

II. Purpose and Necessity of R&D

The purpose of this study is to activate the antarctic research by constructing the extracts and library of metabolites from antarctic microorganism and analyzing the characteristics of specific metabolite structures.

III. Contents and Extent of R&D

The following studies were conducted to achieve the objectives of this study and development.

- Securement of metabolite derived from antarctic microorganisms
 - Acquisition of antarctic microorganisms extracts
 - LC-MS analysis and Molecular Networking analysis of antarctic microorganisms
 - Prediction of bioactive compounds in the extracts based on activity results

IV. R&D Results

The results of this research and development are summarized as follows.

- Acquisition of antarctic microorganisms extracts

A total of 34 microbial strains received from the Korea Polar Research Institute were cultivated, and their corresponding extracts were obtained.
- LC-MS Analysis and Molecular Networking Analysis of Polar Microbial Extracts.

LC-MS(Ion trap) analysis was performed on the extract samples. Based on the obtained UV and MS spectral data, chemical database searches and molecular networking analyses were conducted to perform de-replication and to analyze the metabolites present in the extracts.
- Large-Scale Cultivation of Polar Microorganisms, Metabolite Isolation and Purification, and Structure Elucidation.

Selected polar microorganisms were subjected to large-scale cultivation, followed by metabolite isolation, purification, and structure elucidation using spectroscopic analyses.

V. Application Plans of R&D Results

The results of the analysis of the metabolite derived from antarctic microorganisms can be used to predict the metabolites and to search for novel active substances or useful active materials. It also contributed as a basis for the study of antarctic microbial resources.

제1장. 서론

제 1절. 연구개발의 목적 및 필요성

1.1.1. 연구개발의 목적

- UV 및 MS spectrum을 기반으로 chemical DB 검색을 수행하여 de-replication 및 추출물 내 유용 대사체 분석
- MS fragmentation 기반 분자네트워킹(Molecular networking) 분석기법을 통하여 선정된 추출물 내 특이적 대사체 구조 특성 분석 및 표적화(targeting)
- 선정된 유용 극지 미생물의 대량배양 및 표적화된 신규 활성 대사체 분리 및 구조 연구 (targeted isolation)

1.1.2. 연구개발의 필요성 및 범위

- 극지 미생물은 극한 환경에서 생존하기 위해 특이한 적응 관련 유전자, 단백질 및 다양한 대사체를 보유하고 있으며, 특이적 대사체 자원과 신규 활성 대사체 개발의 가능성이 매우 큼.
- 해양 미생물 중 해양 유래 진균에서 얻은 2차 대사물질들이 주목받고 있고, 1990년대 이후 발표된 구조들의 수가 급격히 증가하였으며 많은 물질이 생물학적, 약리학적 특징을 가지고 있음. (Rateb and Ebel, 2011).
- 극지 미생물의 가치와 활용성을 극대화하기 위하여 LC-MS를 이용한 유용 극지 미생물 추출물 DB 구축, 대사체의 다양성 확보가 필요함.
- 신규 활성물질의 대량 표적 분리를 통해 신약 개발의 가능성을 가지는 생물자원의 대량확보를 위한 시스템 구축이 필요함.

제 2장 국내외 기술개발 현황

제1절 국외 연구현황

- 생물다양성협약에서 생물자원에 대한 국가 주권을 인정하면서 선진국들은 극지 및 해양생물정보은행을 구축하고 있으며, 유전체·단백체·천연물 대사체 탐색에 정부 차원의 대규모 투자를 하고 있다.
- 극지생물다양성, 생물계통·진화, 스트레스반응 등에 관한 연구를 위해 2007/2008 IPY를 통하여 국제 공동연구 체계가 이루어지고 있으며, 이외 저온효소 등의 신규 생물소재 연구를 보고하였다.
- 과학연구를 통해 극지 연구에 대한 영향력 확대를 위해 국제공동연구(북극해 환경변화 관측 공동연구; MOSAiC 프로젝트, 스위트 빙하 붕괴 연구 등)가 활발히 진행되고 있으며, 대규모 인프라 구축 등 국가 차원에서 투자가 강화되고 있다.
- 미국과학재단(National Science Foundation; NSF)에서 남극 연구 프로그램(U.S Antarctic Program; USAP)을 추진하며 매년 약 5,000억 원을 투자하여 남극 해양, 대기, 우주 관측과 생태연구, 인프라 운영을 진행하고 있다.
- 중국 극지연구소(Polar Research Institute of China; PRIC)에서 극지표본 자원 공유 플랫폼 사업을 통해 다양한 극지생물을 확보하고 관련 대사체에 관한 연구를 진행하고 있다.
- 중국 Shandong University 연구진은 남극 유래 해양 균주로부터 tremulane sesquiterpenoid 계열의 신규물질을 분리하였다. (Shi et al., 2021)
- 러시아 극지연구소(Arctic and Antarctic Research Institute of Roshydromet; AARI)에서 남북극 환경 내 기작 및 기작 간 상호작용에 대한 규명, 원거리 탐사 및 빙하시추 기술개발, 북극 생태연구, 남북극 해양활동 자원을 위한 연구 및 실시간 모니터링 활동을 하고 있다.
- 영국 극지연구소(British Antarctic Survey; BAS)에서 남극 환경의 미생물의 DNA를 연구하는 최첨단 유전적 방법을 통해 새로운 항생제 및 기타 화합물의 생산에 관해 연구를 하고 있다.
- 덴마크 Copenhagen University 연구진은 북극 해빙 아래에서 질소고정작용을 하는 박테리아를 처음으로 발견했고 질소 고정을 통하여 해양 생태계의 생산성에 영향을 줄 수 있음을 밝혔다.(Friesen et al., *Commun. Earth Environ.* 2025, 6, 811 ; <https://doi.org/10.1038/s43247-025-02782-4>)
- 국제 공동 연구팀이 남극 디셉션 섬에서 발견된 EPS(polymer) 생성 세균이 식품, 코스메틱, 의료 분야에서 산업적 활용 가능성을 조명 받고 있다.

제 2절 국내 연구현황

- 국내에서는 극지연구소(Korea Polar Research Institute; KOPRI)를 2004년 설립하고, 남·북극 과학기지 설치, 2009년 아라온호 건조를 통해 극지역의 대기, 지구물리, 빙하, 해양환경, 생물자원 연구 등 다각도의 연구 활동을 펼치고 있다.
- KOPRI에서 극지 유용유전자원 활용과 극지생물 유전체 특성 규명을 통해 국제적 연구를 선도하고 산업적 고부가가치 창출이 가능한 극지생물 유전자원을 15종을 발굴하는 “극지유전체 101 프로젝트: 극지생물 유전체 정보 분석 및 활용기반 구축” 과제를 진행하였다.
- 현재 극지생물의 새로운 유전자를 이용하여 항생제 내성을 극복할 수 있는 차세대 항생제 후보물질 발굴을 위한 “극지유전자원 기반 신규활성 항생제 후보 물질 발굴” 과제를 진행하였다.
- 또한, 미개발된 극지 고유생물 유래 대사체의 생물공학적 활용기반을 구축하기 위해 극지 고유생물 탐사 및 확보, 극지 고유생물 유래 대사체 활용가치 규명을 위한 “극지적응 고유생물 유래 대사체의 상용화 구축사업”을 진행하였다.
- 극지연구소는 미국과 공동연구를 통해 서남극 빙하 아래 메르세르 빙저호에서 새로운 미생물을 발견하고 생존전략을 규명했다.

제 3장. 연구개발 수행 내용 및 결과

1절. 1차 시료 연구개발 수행 내용 및 결과

3.1.1. 1차 시료 확보

- 2024년 5월 극지연구소로부터 극지 유래 박테리아 총 14종을 수령함(표 1).

KUNP code	미생물 번호 (stock No.)	샘플 번호 (Sample No.)	종 (Identification)	배지 (Media)
YU2-97-1	KS42016	29044	<i>Subtercolasp. NBXE_s</i>	R2A Agar
YU2-97-2	KS42018	29046	<i>Micrococcus luteus</i>	R2A Agar
YU2-97-3	KS42021	29049	<i>Micrococcus luteus</i>	R2A Agar
YU2-97-4	KS42023	29051	<i>Micrococcus luteus</i>	R2A Agar
YU2-97-5	KS42025	FW02-150125-01	<i>Lacisediminihabitans profunda</i>	R2A 1/10
YU2-97-6	KS42029	FW02-150125-02	<i>Subtercola boreus</i>	R2A 1/10
YU2-97-7	KS42038	FW02-150125-07	<i>Pseudomonas kitaguniensis</i>	R2A 1/10
YU2-97-8	KS42041	FW02-150125-16	<i>Sphingomonassp. SCIN_s</i>	R2A
YU2-97-9	KS42050	FW02-150125-19	<i>Pseudomonassp. CP025263_s</i>	R2A
YU2-97-10	KS42053	FW02-150125-22	<i>Sphingomonassp. RCWY_s</i>	R2A 1/10
YU2-97-11	KS42054	FW02-150125-28	<i>Lacisediminihabitans profunda</i>	R2A 1/10
YU2-97-12	KS42057	FW02-150125-34	<i>Variovoraxsp. OCMW_s</i>	R2A
YU2-97-13	KS40894	FW02-150125-35	<i>Lacisediminihabitans profunda</i>	R2A
YU2-97-14	KS42024	FW02-150125-43	<i>Sphingomonassp. RCWY_s</i>	R2A

표 1. 2024년 5월 극지연구소로부터 수령한 총 14종의 극지 유래 박테리아 리스트

3.1.2. 1차 시료 분석 조건 확립

3.1.2.1. 극지 미생물의 추출물 제조

- 총 14종의 극지 유래 박테리아를 두 가지의 배양 방법을 이용하여 액체배양을 진행함.
- 첫 번째 방법은 R2A broth 5ml에 전배양을 진행한 후, 본배양의 1/100인 3 ml을 접종하여 R2A broth 300 ml에 15 °C 조건에서 약 7일간 진탕 배양하였음.
- 두 번째 방법은 R2A agar에 배양된 극지 박테리아 single colony를 바로 접종하여 R2A broth 300 ml에 15 °C 조건에서 약 7일간 진탕 배양하였음,
- 배양 후 배양액과 같은 양의 EtOAc를 이용하여 용매 분획을 실시한 다음 EtOAc층을 회수 및 농축하여 추출물을 확보함.

3.1.2.2. LC/MS 대사체 분석 조건 확립

- 확보한 추출물을 MeOH에 녹여 0.2 µm의 membrane filter로 필터 후 UPLC-MS/ELSD로 분석하여 대사체가 충분히 분리되고 검출될 수 있는 최적의 분석 조건을 확립함(그림 1).

UHPLC conditions				
Instrument	Waters ACQUITY UPLC			
Column	AQUITY UPLC BEH C18 (100 x 2.1 mm x 1.7 μm)			
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: Acetonitrile	Time (min)	A	B
		0	95.0	5.0
Flow rate	0.3 mL/min	7.0	0.0	100.0
		8.5	0.0	100.0
Column temp.	35 °C	8.6	95.0	5.0
		10.0	95.0	5.0
Injection concentration	1.0 mg/mL			
Injection volume	2.0 μL			
MS/MS conditions				
Instrument	ThermoFisher LCQ Fleet ion trap MS			
Scan mode	Positive & Negative			
Mass Range	m/z 50-2000	Sheath gas flow rate	50.0	
Normalized collision energy	35.0	Aux gas flow rate	30.0	
Capillary Temp.	275 °C	Spray voltage	3.5 kV	
Capillary voltage	35.0 V	Tube lens	50.0 V	

그림 1. 최적의 UPLC-MS/ELSD 분석 조건 1

3.1.3. 1차 시료 연구개발 수행 결과

- 2024년 5월 극지연구소로부터 수령한 14종의 극지 유래 박테리아 추출물에 대한 분석을 진행함.
- 박테리아를 접종하지 않은 R2A broth에 대한 분석도 진행하여 R2A broth에서 공통적으로 나타나는 peak을 제외하고 대사체 분석을 진행함(그림 2).

- ✓ R2A broth 분석결과 (YU2-103-15) ➢ 균주를 접종하지 않은 R2A broth에서 A, B, C, D, E 다섯 개의 peak이 관찰됨.
➢ 따라서, 박테리아 추출물 내 해당 peak은 targeting하지 않음.

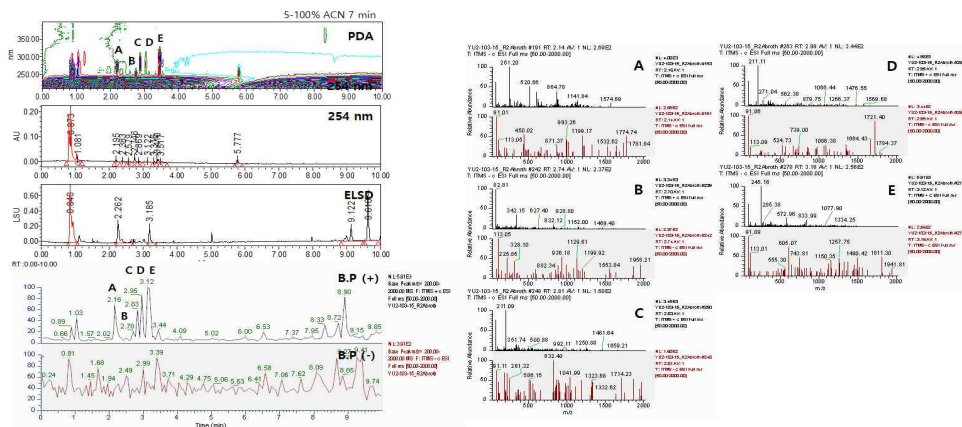


그림 2. R2A broth 분석 결과

- R2A broth에서 A, B, C, D, E 다섯 개의 peak이 관찰되었고 박테리아 추출물 내 해당 peak는 targeting 하지 않음.

3.1.3.1. YU2-97-1 (29044, *Subtercola* sp. NBXE_s)

3.1.3.1.1. 문헌조사 결과

- *Subtercola* sp. : cold adaption
- 분류: *Subtercola*-Microbactriaceae-Micrococcales-Actinomycetia-Actinomycetota-Bacteria
- DB searching 결과, *Subtercola* sp.에 대해 40(Scifinder) , 0(Reaxys)개의 문헌이 존재함.

3.1.3.1.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 3).

- ✓ *Subtercola* sp. NBXE_s (YU2-97-1)

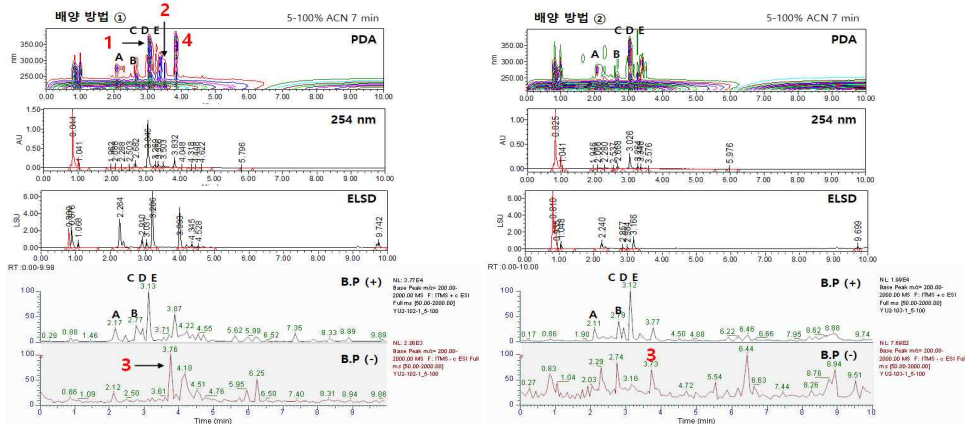
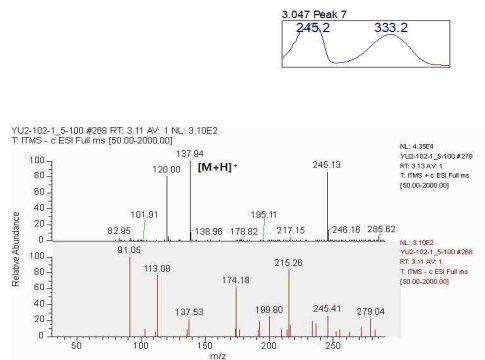


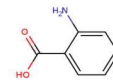
그림 3. YU2-97-1 추출물 분석결과

3.1.3.1.3 대사체 de-replication 결과(그림 4—7).

1 : MW137, Rt 3.05 min

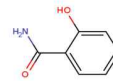


<dereplication 결과>



anthranilic acid

From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	221, 247, 335
Bioactivities	
Ref.	Addelfattah et al., <i>Tetrahed. Lett.</i> 2012 , 53(26), 3346–3348

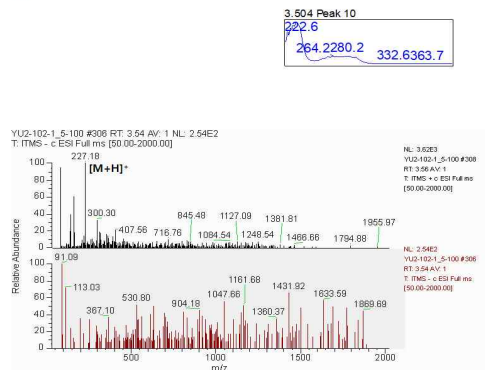


salicylamide

From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	211, 241, 305
Bioactivities	
Ref.	Yi et al., <i>Mar. Drugs</i> , 2020 , 18(8), 385

그림 4. YU2-97-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW226, Rt 3.54 min



<dereplication 결과>

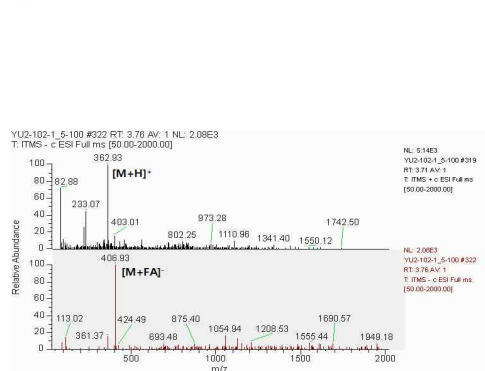


methyl troposulfenin

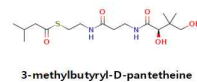
From	<i>Phaeobacter inhibens</i>
λ_{max} (nm)	216, 290, 360
Bioactivities	
Ref.	Phippen et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2019 , 82(5), 1387–1390

그림 5. YU2-97-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3 : MW362, Rt 3.76 min

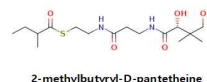


<dereplication 결과>



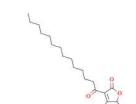
3-methylbutyryl-D-pantetheine

From	<i>Bacillus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Shin et al., <i>US2018/185257</i> , 2018, A1



2-methylbutyryl-D-pantetheine

From	<i>Bacillus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Shin et al., <i>US2018/185257</i> , 2018, A1

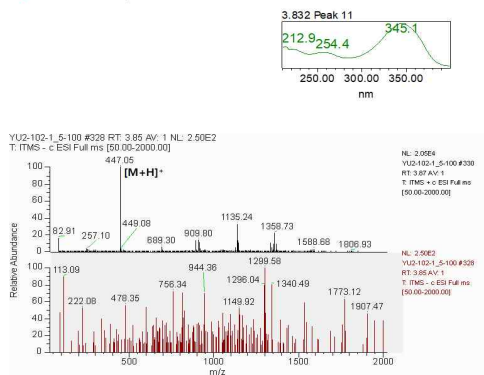


Sodium 2-hydroxymethyl-5-oxo-4-tetradecanoyl-2,5-dihydro-furan-3-olate

From	<i>Actinomycete</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Roggo et al., <i>J. Antibiot.</i> , 1994 , 47(2), 136–142

그림 6. YU2-97-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

4 : MW446, Rt 3.85 min



<dereplication 결과>

From	<i>Actinomadura spiralis</i>
λ_{max} (nm)	248, 354
Bioactivities	
Ref.	Kawamura et al., <i>J. Antibiotics</i> , 1995, 48(5), 435-437

그림 7. YU2-97-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

3.1.3.2. YU2-97-2, 3, 4 (29046, 29049, 29051, *Micrococcus luteus*)

3.1.3.2.1 문헌조사 결과

- *Micrococcus luteus* : producing cellulase, protease, amylase
- 분류: *Micrococcus*-Micrococcaceae-Micrococcales-Actinomycetia-Actinomycetota-Bacteria
- DB searching 결과, *Micrococcus luteus*에 대해 14,219(Scifinder), 4(Reaxys), *Micrococcus* sp.에 대해 33,296(Scifinder), 32(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.1.3.2.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 8, 9, 10)

✓ *Micrococcus luteus* (YU2-97-2)

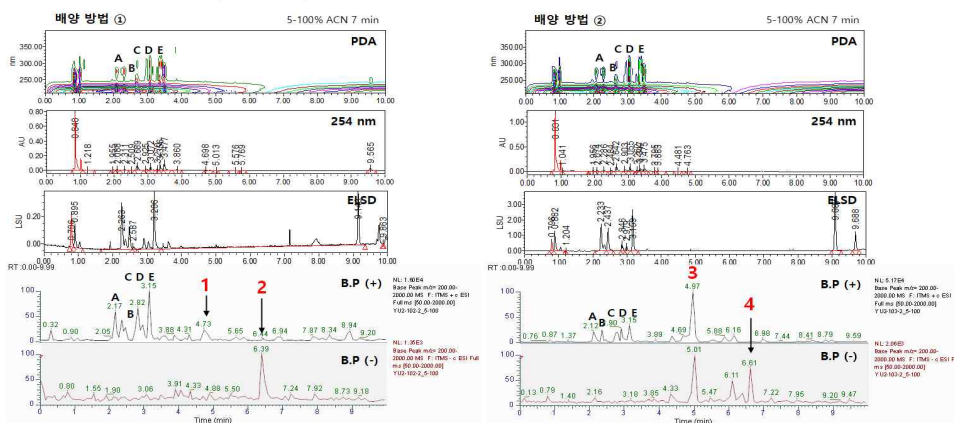


그림 8. YU2-97-2 추출물 분석결과

✓ *Micrococcus luteus* (YU2-97-3)

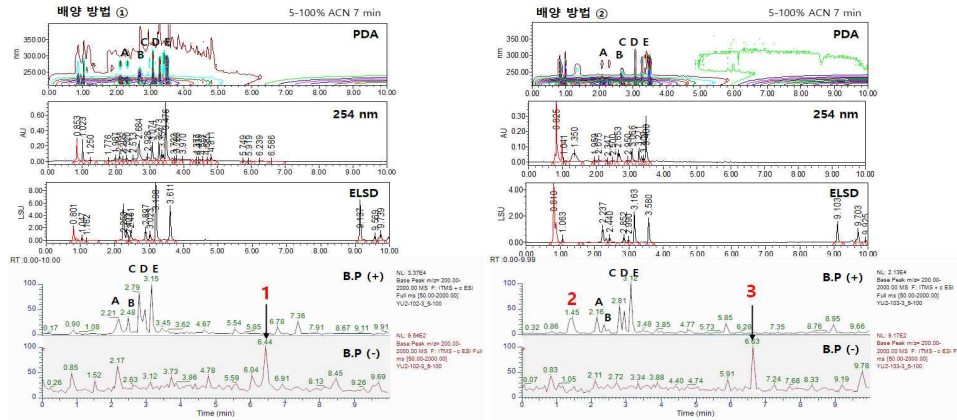


그림 9. YU2-97-3 추출물 분석결과

✓ *Micrococcus luteus* (YU2-97-4)

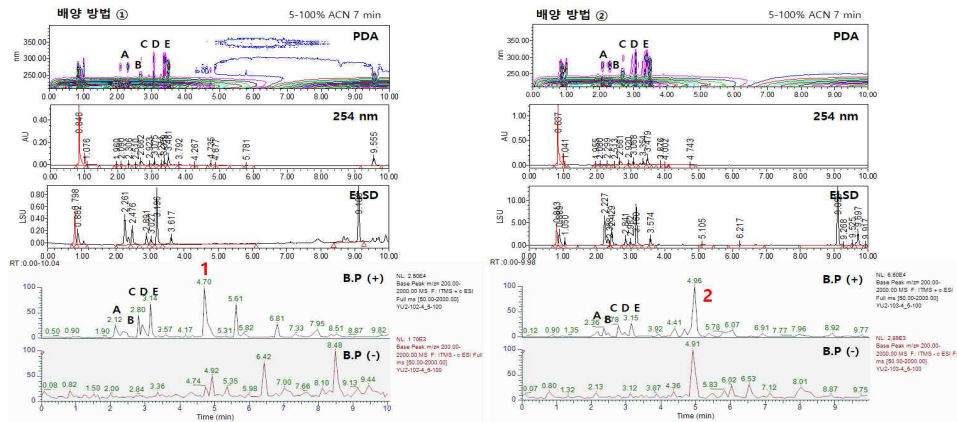


그림 10. YU2-97-4 추출물 분석결과

3.1.3.2.3 대사체 de-replication 결과(그림 11—21).

1 : MW384, Rt 4.79 min

<dereplication 결과>

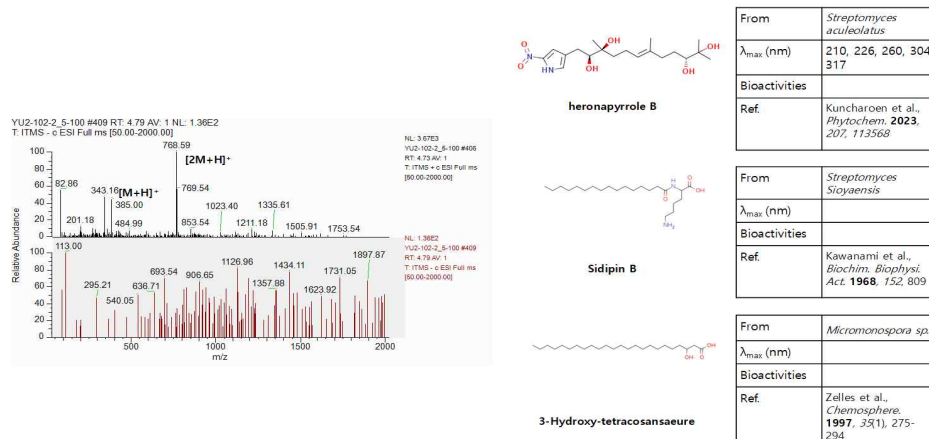
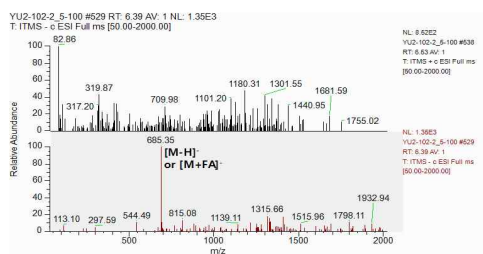


그림 11. YU2-97-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

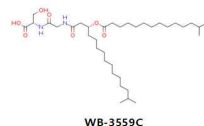
2 : **MW640 or 686, Rt 6.39 min**



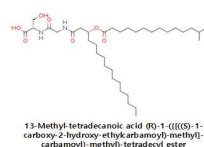
<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Nonaka et al., <i>J. Antibiotics</i> , 2000 , 53(7), 694-704



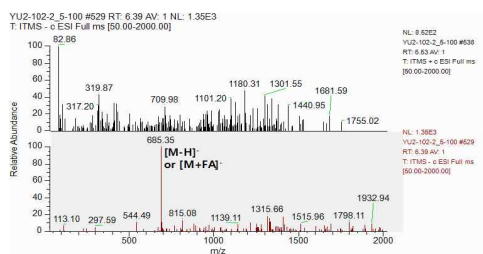
From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Lin et al., <i>Chem. Pharm. Bull.</i> , 1985 , 33(1), 424-427



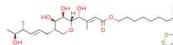
From	<i>Flavobacter topostinus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Netoma et al., <i>Tetrahed.</i> , 1998 , 54(12), 2683-2690

그림 12. YU2-97-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

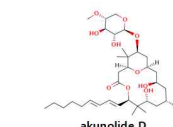
2 : **MW640 or 686, Rt 6.39 min**



<dereplication 결과>



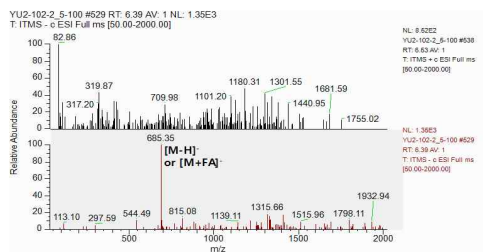
From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Murphy et al., <i>Angew. Chem., Int. Ed.</i> , 2011 , 50(14), 3271-3274



From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Umeda et al., <i>J. Nat. Prod.</i> , 2023 , 86(11), 2529-2538

그림 13. YU2-97-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

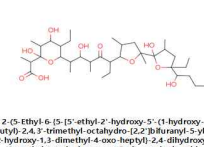
2 : **MW640 or 686, Rt 6.39 min**



<dereplication 결과>



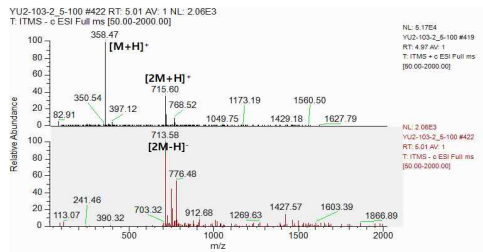
From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Baker et al., <i>J. Chem. Soc. Chem. Commun.</i> , 1986 , 1(11), 874-876



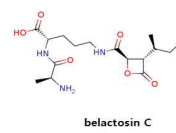
From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Odai et al., <i>J. Antibiotics</i> , 1994 , 47(8), 939-941

그림 14. YU2-97-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

3 : MW357, Rt 5.01 min



<dereplication 결과>

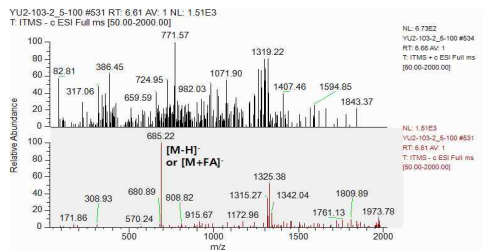


belactosin C

From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Asai et al., <i>J. Antibiotics</i> 2000 , 53(1), 81–85

그림 15. YU2-97-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 5

4 : MW640 or 686, Rt 6.61 min

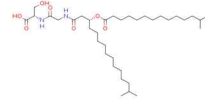


<dereplication 결과>



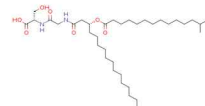
milbemycin a21

From	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Nonaka et al., <i>J. Antibiotics</i> 2000 , 53(7), 694–704



WB-3559C

From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Lin et al., <i>Chem. Pharm. Bull.</i> 1985 , 33(1), 424–427



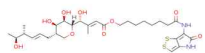
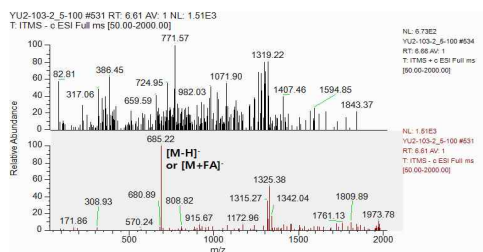
13-Methyl tetradecanoic acid (9S)-1-((E)-1-carboxy-2-hydroxy-ethylcarbamoyl)-methyl]-carbamoyl)-methyl)-tetradecyl ester

From	<i>Flexibacter topostinus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Netoma et al., <i>Tetrahed.</i> 1998 , 54(12), 2683–2690

그림 16. YU2-97-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 6

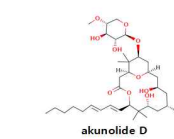
4 : MW640 or 686, Rt 6.61 min

<dereplication 결과>



thiomarinol A

From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Murphy et al., <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> 2011 , 50(14), 3271–3274

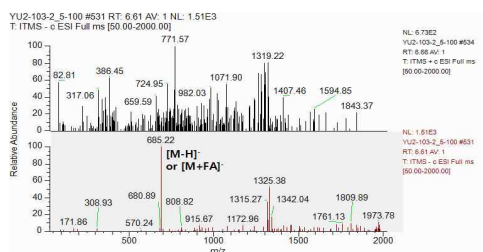


akunolide D

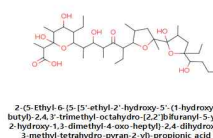
From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Umeda et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2023 , 86(11), 2529–2538

그림 17. YU2-97-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 7

4 : MW640 or 686, Rt 6.61 min



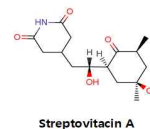
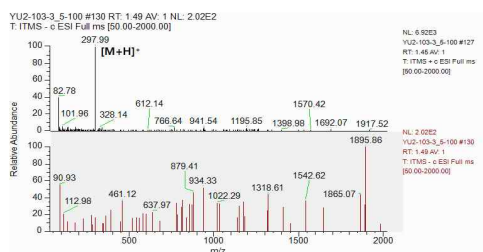
From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Baker et al., <i>J. Chem. Soc. Chem. Commun.</i> 1986 , 17(11), 874–876



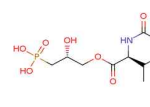
From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Odai et al., <i>J. Antibiotics</i> , 1994 , 47(8), 939–941

그림 18. YU2-97-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 8

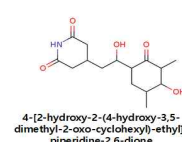
2 : MW297, Rt 1.49 min



From	<i>Streptomyces griseus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Eble et al., <i>Antibiotics</i> , <i>Annual</i> , 555–557



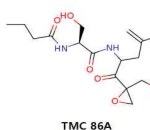
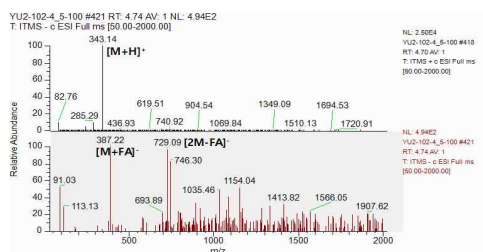
From	<i>Streptomyces durhamensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	William et al., <i>WO2016014539A1</i> , 2016-01-28



From	<i>Streptomyces griseus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Eble et al., <i>Antibiotics</i> , <i>Annual</i> , 555–557

그림 19. YU2-97-3 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

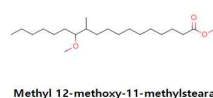
1 : MW342, Rt 4.70 min



From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Koguchi et al., <i>J. Antibiotics</i> , 1999 , 52(12), 1069–1076



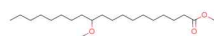
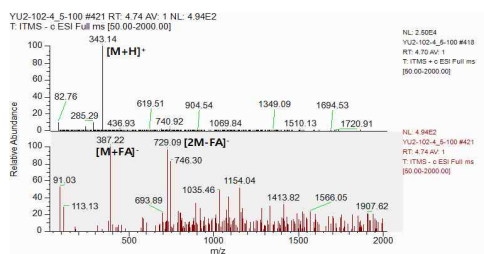
From	<i>Pseudogymnascus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Liu et al., <i>Chem. Biol. Interact</i> 2023 , 385, 110718



From	<i>Rhizobium</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Gerson et al., <i>Lipids</i> , 1975 , 10, 134–138

그림 20. YU2-97-4 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

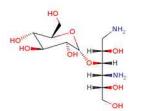
<dereplication 결과>



Methyl-11-methoxynonadecanoat



Methyl-13-methoxynonadecanoat



From	<i>Rhizobium</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref	Gerson et al., <i>Lipids</i> 1975 , 10, 134-138

From	<i>Rhizobium</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref	Gerson et al., <i>Lipids</i> 1975 , 10, 134-138

From	<i>Pseudomonas sorbicini</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref	Tsukira et al., <i>J. Antibiot.</i> 1976 , 29, 1137-1142

그림 21. YU2-97-4 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

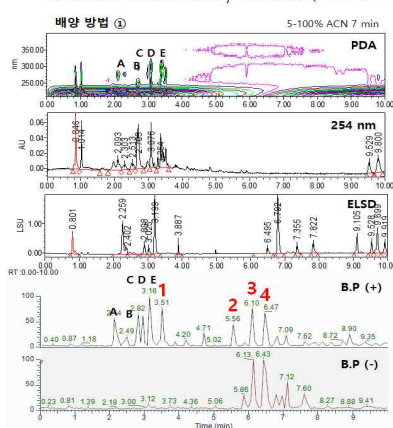
3.1.3.3. **YU2-97-5, 11, 13** (FW02-150125-01, FW02-150125-28, FW02-150125-35, *Lacisediminihabitans profunda*)

3.1.3.5.1 문헌조사 결과

- *Lacisediminihabitans profunda* : novel reductase LpSDR
- 분류:
Lacisediminihabitans-Microbactriaceae-Micrococcales-Actinomycetia-Actinomycetota-Bacteria
- DB searching 결과, *Lacisediminihabitans profunda*에 대해 0(Scifinder), 0(Reaxys), *Lacisediminihabitans* sp.에 대해 4(Scifinder), 3(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.1.3.3.2 UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 22, 23 24).

✓ *Lacisediminihabitans profunda* (YU2-97-5)



배양 방법 ② 5-100% ACN 7 min

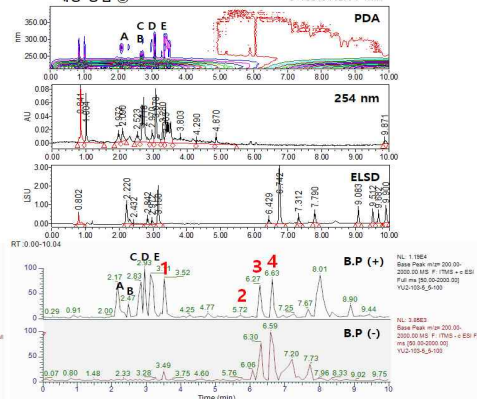


그림 22. YU2-97-5 추출물 분석결과

✓ *Lacisediminihabitans profunda* (YU2-97-11)

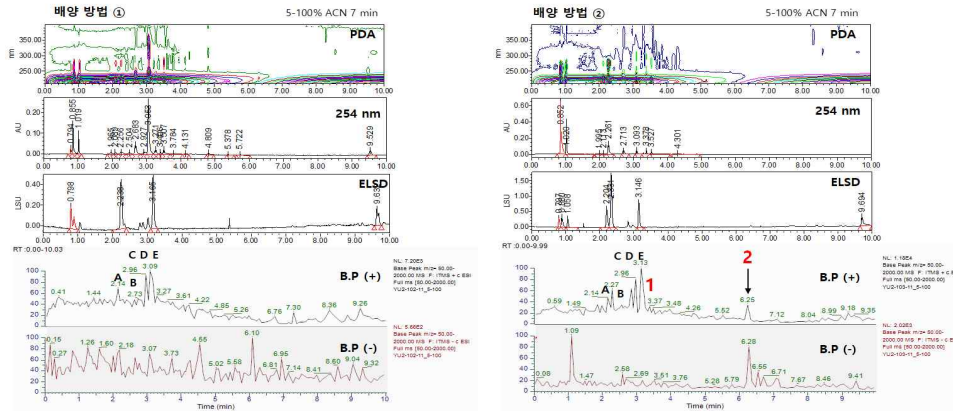


그림 23. YU2-97-11 추출물 분석결과

✓ *Lacisediminihabitans profunda* (YU2-97-13)

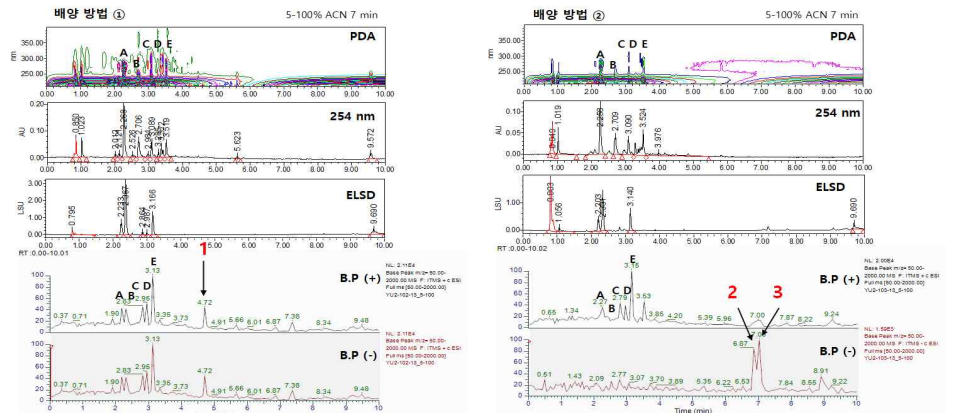


그림 24. YU2-97-13 추출물 분석결과

3.1.3.3.3. 대사체 de-replication 결과(그림 25—36).

1 : MW202, Rt 3.49 min

<dereplication 결과>

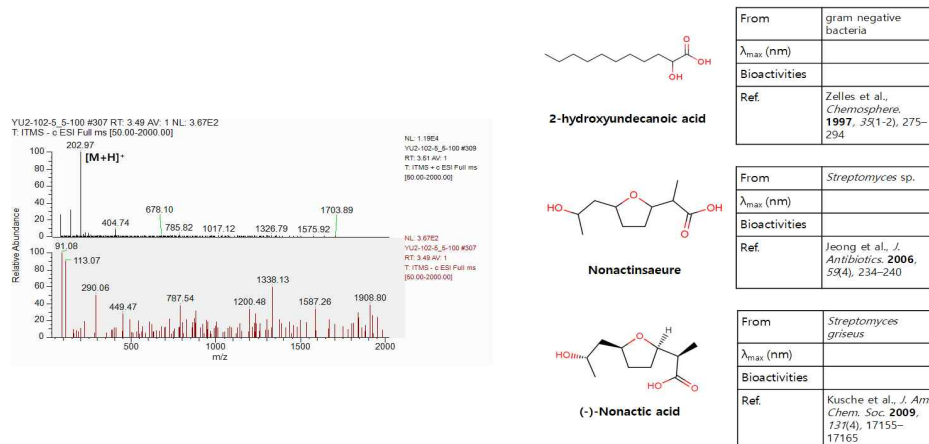
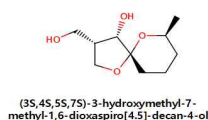


그림 25. YU2-97-5 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

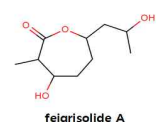
1 : MW202, Rt 3.49 min



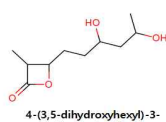
<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Jeong et al., <i>J. Org. Chem.</i> 2006 , 71(9), 7125-7132



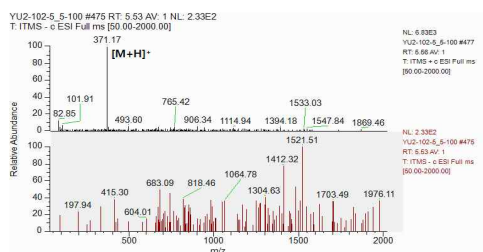
From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Jeong et al., <i>Chem. Nat. Compd.</i> 2004 , 40(3), 282-285



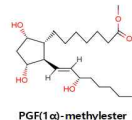
From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Yuan et al., <i>Phytochemistry Letters</i> , 2013 , 6(4), 625-628

그림 26. YU2-97-5 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

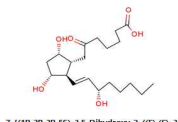
2 : MW370, Rt 5.53 min



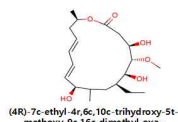
<dereplication 결과>



From	<i>Oscillatoria</i> and <i>Microcystidaceae</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kafanova et al., <i>Chem. Nat. Compd.</i> 1996 , 32(6), 861-865



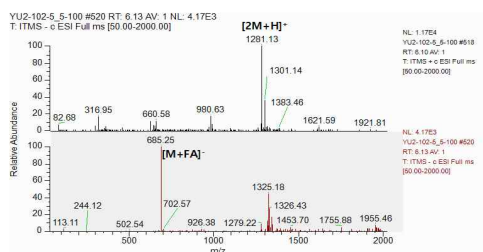
From	<i>Oscillatoria</i> and <i>Microcystidaceae</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kafanova et al., <i>Chem. Nat. Compd.</i> 1996 , 32(6), 861-865



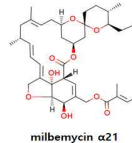
From	<i>Streptomyces platensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kinumaki et al., <i>J. Antibiotics</i> 1976 , 29(11), 1209-1217

그림 27. YU2-97-5 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

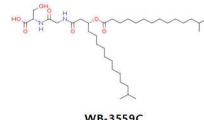
3 : MW640, Rt 6.13 min



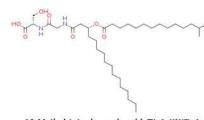
<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Nonaka et al., <i>J. Antibiotics</i> 2000 , 53(7), 694-704



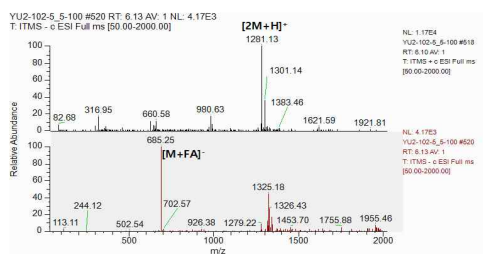
From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Lin et al., <i>Chem. Pharm. Bull.</i> 1985 , 33(1), 424-427



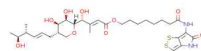
From	<i>Flexibacter topostinus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Netoma et al., <i>Tetrahed.</i> 1998 , 54(12), 2683-2690

그림 28. YU2-97-5 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

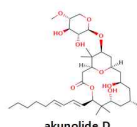
3 : MW640, Rt 6.13 min



<dereplication 결과>



thiomarinol A



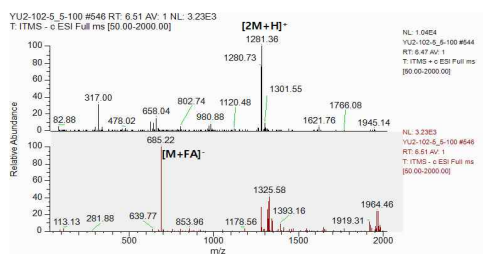
akunolide D

From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Murphy et al., <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> 2011 , 50(14), 3271–3274

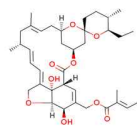
From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Umeda et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2023 , 86(11), 2529–2538

그림 29. YU2-97-5 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 5

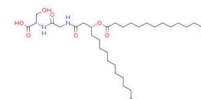
4 : MW640, Rt 6.51 min



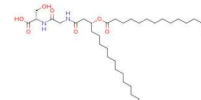
<dereplication 결과>



milbemycin a21



WB-3559C



13-Methyl-tetradecanoic acid (13-MT)

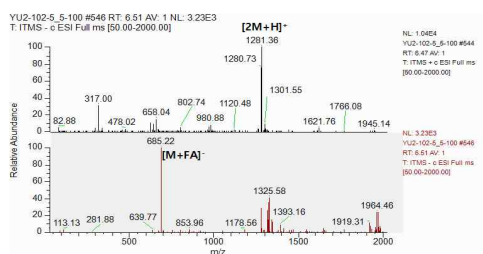
From	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Nonaka et al., <i>J. Antibiotics</i> 2000 , 53(7), 694–704

From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Lin et al., <i>Chem. Pharm. Bull.</i> 1985 , 33(1), 424–427

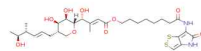
From	<i>Flexibacter topostinus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Netoma et al., <i>Tetrahed.</i> 1998 , 54(12), 2683–2690

그림 30. YU2-97-5 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 6

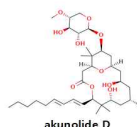
4 : MW640, Rt 6.51 min



<dereplication 결과>



thiomarinol A



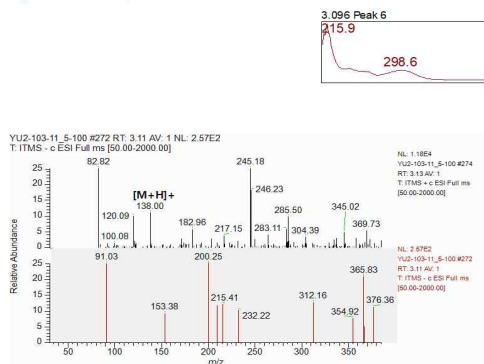
akunolide D

From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Murphy et al., <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> 2011 , 50(14), 3271–3274

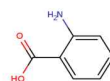
From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Umeda et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2023 , 86(11), 2529–2538

그림 31. YU2-97-5 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 7

1 : MW137, Rt 3.16 min

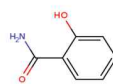


<dereplication 결과>



anthranilic acid

From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	221, 247, 335
Bioactivities	
Ref.	Addelfattah et al., <i>Tetrahed. Lett.</i> 2012 , 53(26), 3346–3348

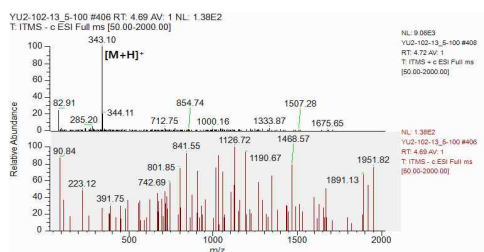


salicylamide

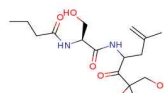
From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	211, 241, 305
Bioactivities	
Ref.	Yi et al., <i>Mar. Drugs</i> , 2020 , 18(8), 385

그림 32. YU2-97-11 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

1 : MW342, Rt 4.72 min

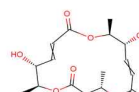


<dereplication 결과>



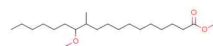
TMC 86A

From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Koguchi et al., <i>J. Antibiotics</i> , 1999 , 52(12), 1069–1076



macrosphelide A

From	<i>Pseudogymnosascus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Liu et al., <i>Chem. Biol. Interact.</i> 2023 , 385, 110718

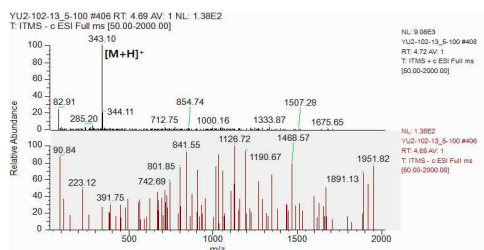


Methyl 12-methoxy-11-methylstearat

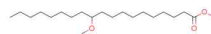
From	<i>Rhizobium</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Gerson et al., <i>Lipids</i> , 1975 , 10, 134–138

그림 33. YU2-97-13 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

1 : MW342, Rt 4.72 min

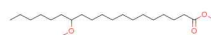


<dereplication 결과>



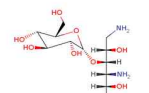
Methyl-11-methoxynonadecanoat

From	<i>Rhizobium</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Gerson et al., <i>Lipids</i> , 1975 , 10, 134–138



Methyl-13-methoxynonadecanoat

From	<i>Rhizobium</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Gerson et al., <i>Lipids</i> , 1975 , 10, 134–138

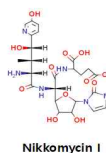
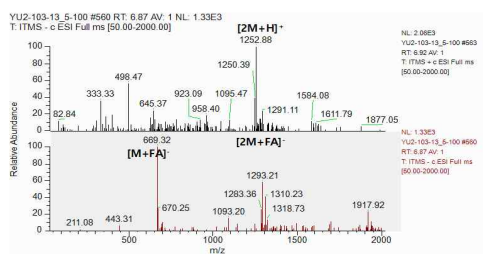


Sorbistin C

From	<i>Pseudomonas sorbicini</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Tsukira et al., <i>J. Antibiot.</i> 1976 , 29, 1137–1142

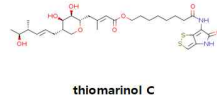
그림 34. YU2-97-13 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

2 : MW624, Rt 6.87 min



<dereplication 결과>

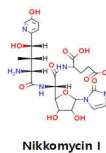
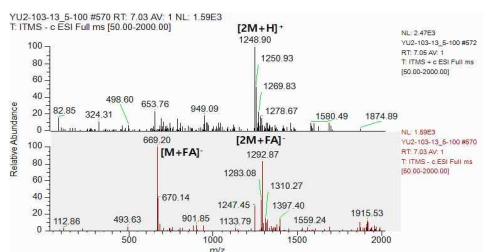
From	<i>Streptomyces tendae</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Hagenmaier et al., <i>Lieb. Ann. Chem.</i> 1981 , 6(6), 1018-1024



From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Murphy et al., <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> 2011 , 50(14), 3271-3274

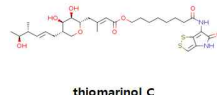
그림 35. YU2-97-13 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

3 : MW624, Rt 7.03 min



<dereplication 결과>

From	<i>Streptomyces tendae</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Hagenmaier et al., <i>Lieb. Ann. Chem.</i> 1981 , 6(6), 1018-1024



From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Murphy et al., <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> 2011 , 50(14), 3271-3274

그림 36. YU2-97-13 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

3.1.3.4. **YU2-97-6** (FW02-150125-02, *Subtercola boreus*)

3.1.3.4.1 문헌조사 결과

- *Subtercola boreus* : psychrophilic bacteria (thriving at a relatively low temperature)
- 분류: *Subtercola*-Microbactriaceae-Micrococcales-Actinomycetia-Actinomycetota-Bacteria
- DB searching 결과, *Subtercola boreus*에 대해 11(Scifinder), 0(Reaxys), *Subtercola* sp.에 대해 40(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.1.3.4.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 37).

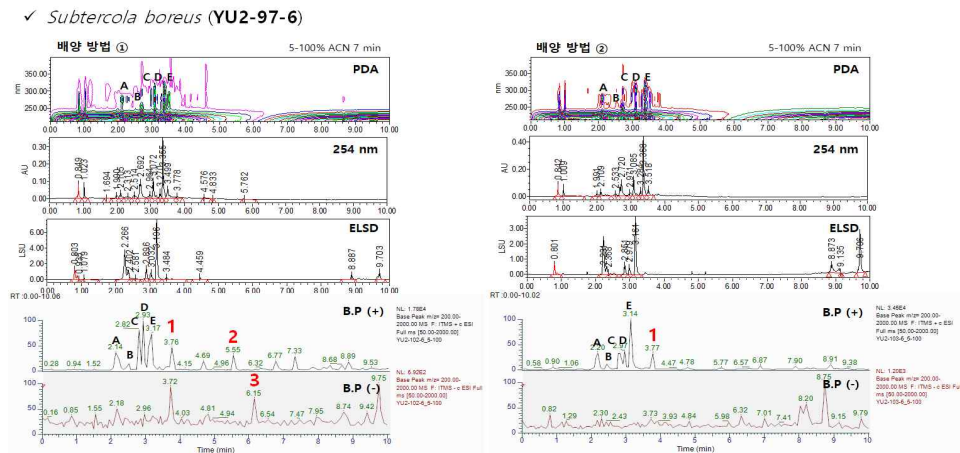
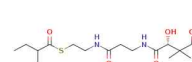
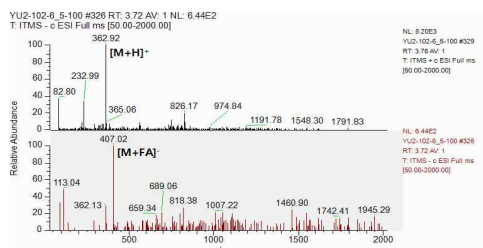


그림 37. YU2-97-6 추출물 분석결과

3.1.3.4.3. 대사체 de-replication 결과(그림 38—41)

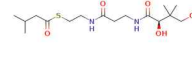
1 : MW362, Rt 3.72 min

<dereplication 결과>



2-methylbutyryl-D-pantetheine

From	<i>Bacillus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Shin et al., US2018/185257, 2018, A



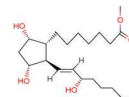
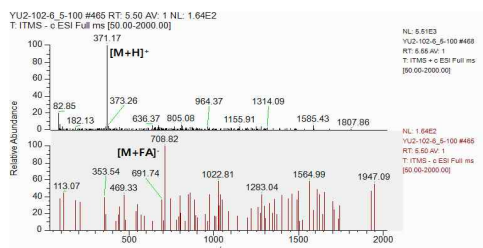
3-methylbutyryl-D-pantetheine

From	<i>Bacillus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Shin et al., US2018/185257, 2018, A

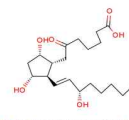
그림 38. YU2-97-6 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW370, Rt 5.50 min

<dereplication 결과>



PGF(1α)-methyl ester



7-((1R,2R,3R,5S)-3,5-Dihydroxy-2-((E)-((S)-3-hydroxy-oct-1-en-8-yl)-cyclopentyl)-6-oxo-heptanoic acid



(4R)-7c-ethyl-4r-6c-10c-trihydroxy-5t-methoxy-9c-16c-dimethyl-oxa-cyclohexadeca-11t,13t-dien-2-one

From	<i>Oscillatoria</i> and <i>Microcystidaceae</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kafanova et al., <i>Chem. Nat. Compd.</i> 1996, 32(6), 861– 865

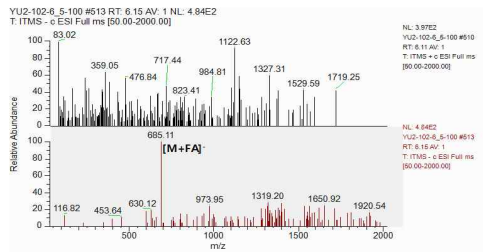
From	<i>Oscillatoria</i> and <i>Microcystidaceae</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kafanova et al., <i>Chem. Nat. Compd.</i> 1996, 32(6), 861– 865

From	<i>Streptomyces</i> <i>platanensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kinumaki et al., <i>J. Antibiotics</i> , 1976, 29(11), 1209–1217

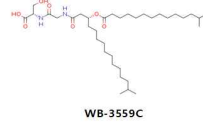
그림 39. YU2-97-6 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3 : MW640, Rt 6.15 min

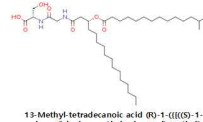
<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Nonaka et al., <i>J. Antibiotics</i> , 2000 , 53(7), 694–704



From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Lin et al., <i>Chem. Pharm. Bull.</i> , 1985 , 33(1), 424–427

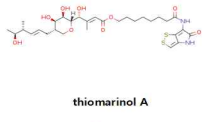
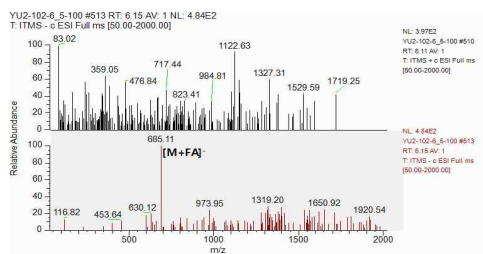


From	<i>Flexibacter topostinus</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Netoma et al., <i>Tetrahed.</i> , 1998 , 54(12), 2683–2690

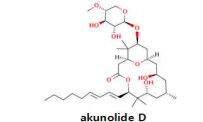
그림 40. YU2-97-6 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

3 : MW640, Rt 6.15 min

<dereplication 결과>



From	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Murphy et al., <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> , 2011 , 50(14), 3271–3274



From	<i>Flavobacterium</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Umeda et al., <i>J. Nat. Prod.</i> , 2023 , 86(11), 2529–2538

그림 41. YU2-97-6 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

3.1.3.5. YU2-97-7 (FW02-150125-07, *Pseudomonas kitaguniensis*)

3.1.3.5.1 문헌조사 결과

- *Pseudomonas kitaguniensis* : severe rot symptoms at lower temperature, disease of onion
- 분류:
Pseudomonas-Pseudomonadaceae-Pseudomonadales-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Pseudomonas kitaguniensis*에 대해 6(Scifinder), 0(Reaxys), *Pseudomonas* sp.에 대해 320,398(Scifinder), 660(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.1.3.5.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 42).

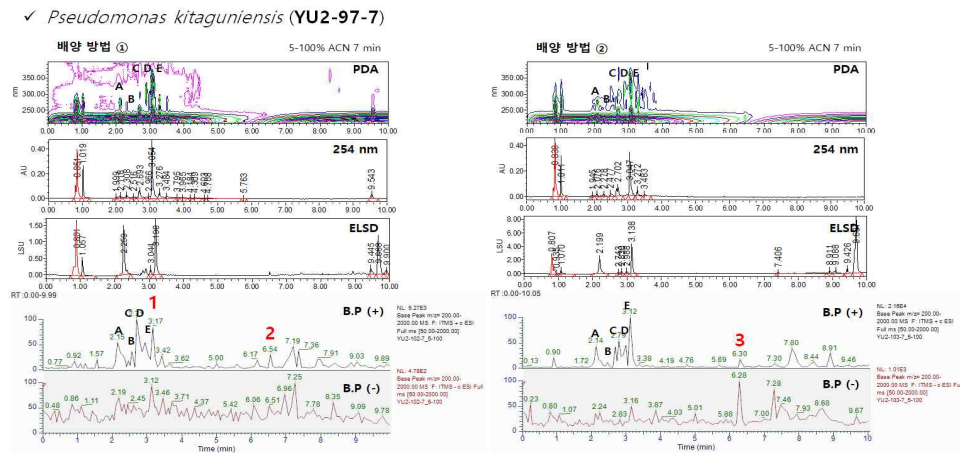
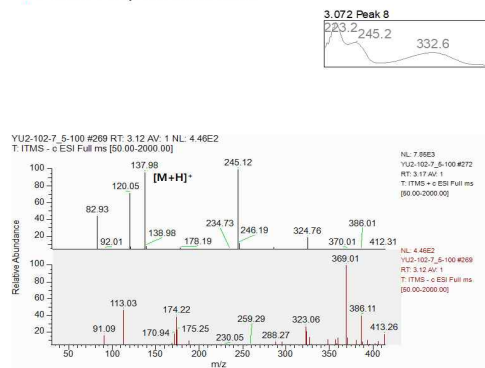


그림 42. YU2-97-7 추출물 분석결과

3.1.3.5.3 대사체 de-replication 결과(그림 43, 44, 45).

1 : MW137, Rt 3.05 min



<dereplication 결과>



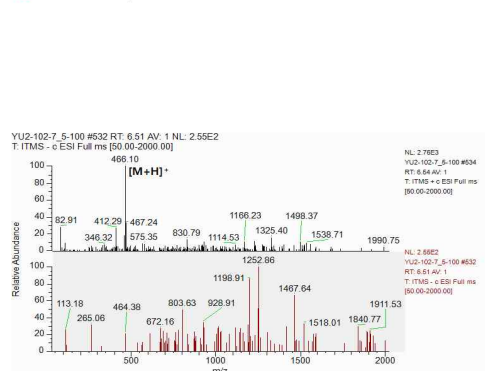
From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	221, 247, 335
Bioactivities	
Ref.	Addelfattah et al., <i>Tetrahed. Lett.</i> 2012, 53(26), 3346-3348



From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	211, 241, 305
Bioactivities	
Ref.	Yi et al., <i>Mar. Drugs</i> 2020, 18(8), 385

그림 43. YU2-97-7 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW465, Rt 6.51 min



<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces</i> <i>tenjiamariensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Ikeda et al., <i>Carbohydr. Res.</i> 1982, 109, 33-46

그림 44. YU2-97-7 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3 : MW302, Rt 6.30 min

<dereplication 결과>

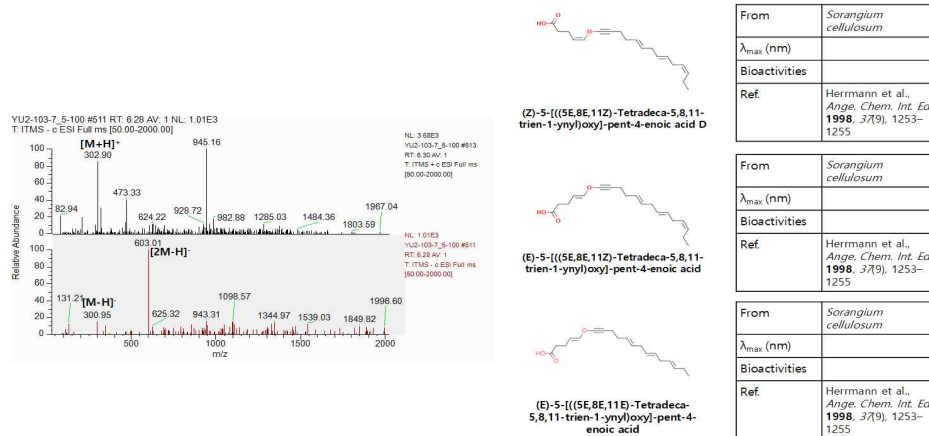


그림 45. YU2-97-7 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

3.1.3.6. YU2-97-8 (FW02-150125-16, *Sphingomonas* sp. SCIN_s)

3.1.3.6.1. 문헌조사 결과

- *Sphingomonas* sp. : biodegradation and bioremediation
- 분류:
Sphingomonas-Sphingomonadaceae-Sphingomonadales-Alphaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Sphingomonas* sp.에 대해 6(Scifinder), 8(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.1.3.6.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 46).

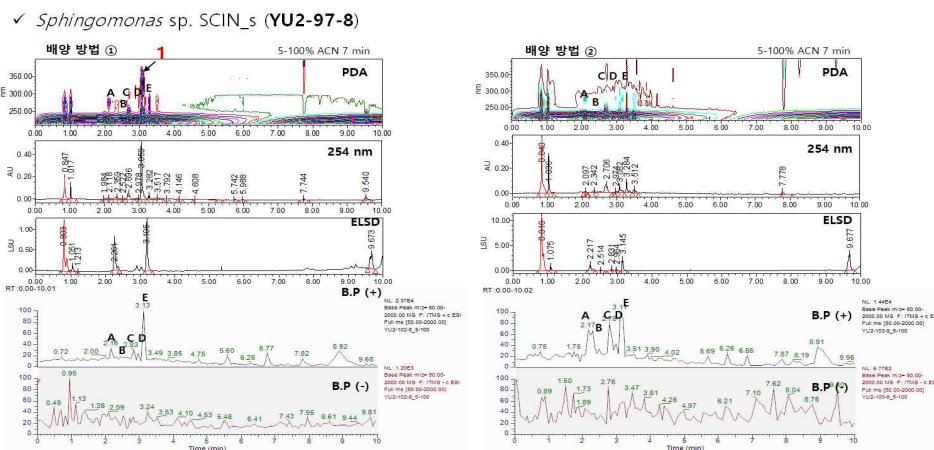


그림 46. YU2-97-8 추출물 분석결과

3.1.3.6.3. 대사체 de-replication 결과(그림 47).

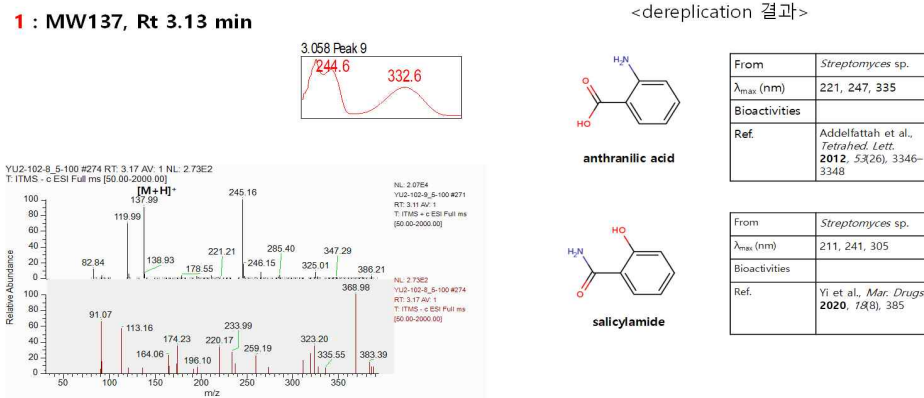


그림 47. YU2-97-8 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.1.3.7. YU2-97-9 (FW02-150125-19, *Pseudomonas* sp. CP025263_s)

3.1.3.7.1. 문헌조사 결과

- *Pseudomonas* sp. : widely distributed and play relevant ecological roles, with bio-technological application
- 분류:
Pseudomonas-Pseudomonadaceae-Pseudomonadales-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Pseudomonas* sp.에 대해 320,398(Scifinder), 660(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.1.3.7.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 48).

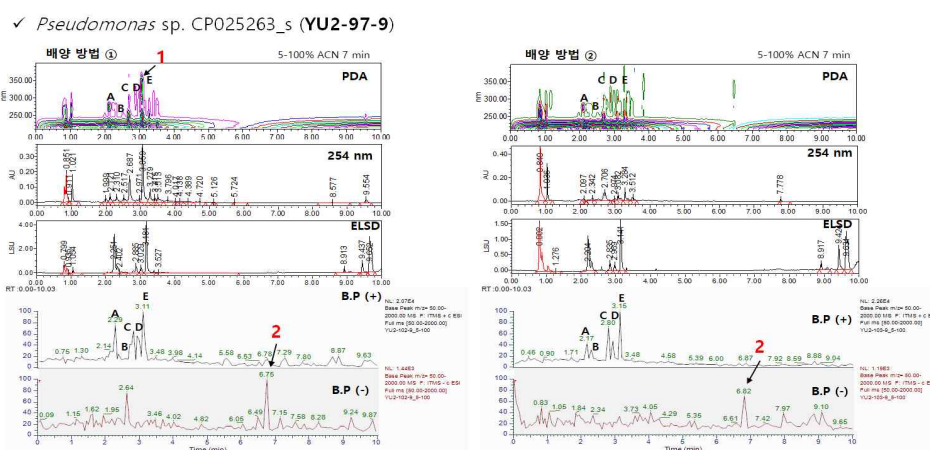
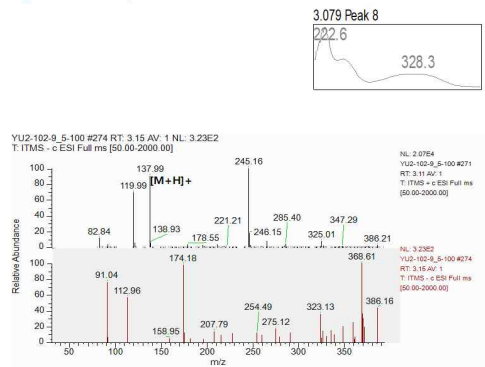


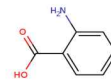
그림 48. YU2-97-9 추출물 분석결과

3.1.3.7.3. 대사체 de-replication 결과(그림 49, 50).

1 : MW137, Rt 3.11 min

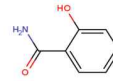


<dereplication 결과>



anthranilic acid

From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	221, 247, 335
Bioactivities	
Ref.	Addelfattah et al., <i>Tetrahed. Lett.</i> 2012 , 53(26), 3346–3348

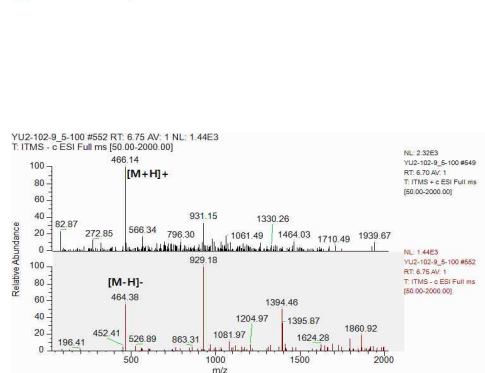


salicylamide

From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	211, 241, 305
Bioactivities	
Ref.	Yi et al., <i>Mar. Drugs</i> , 2020 , 18(8), 385

그림 49. YU2-97-9 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW465, Rt 6.75 min



<dereplication 결과>



istamycin C

From	<i>Streptomyces</i> <i>terramariensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Ikedo et al., <i>Carbohydr. Res.</i> 1982 , 109, 33–46

그림 50. YU2-97-9 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3.1.3.8. YU2-97-10, 14 (FW02-150125-22, FW02-150125-43, *Sphingomonas* sp. RCWY_s)

3.1.3.8.1. 문헌조사 결과

- *Sphingomonas* sp. : biodegradation and bioremediation
- 분류:
Sphingomonas-Sphingomonadaceae-Sphingomonadales-Alphaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Sphingomonas* sp.에 대해 6(Scifinder), 8(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.1.3.8.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 51, 52)

✓ *Sphingomonas* sp. RCWY_s (YU2-97-10) 대사체 X

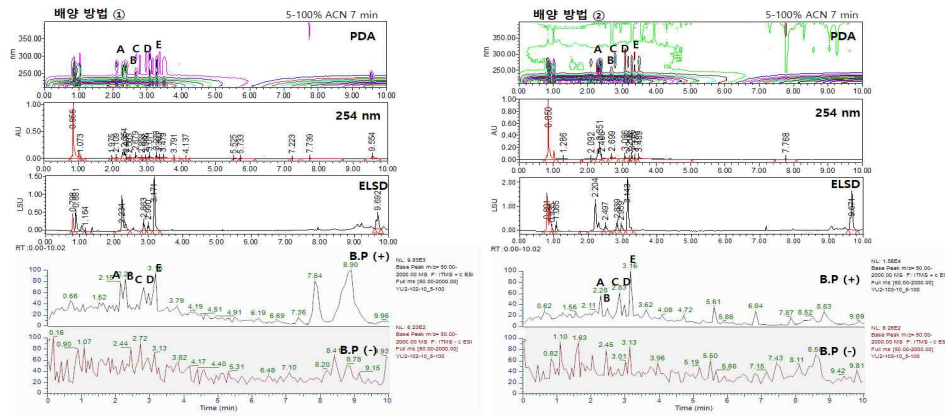


그림 51. YU2-97-10 추출물 분석결과

✓ *Sphingomonas* sp. RCWY_s (YU2-97-14)

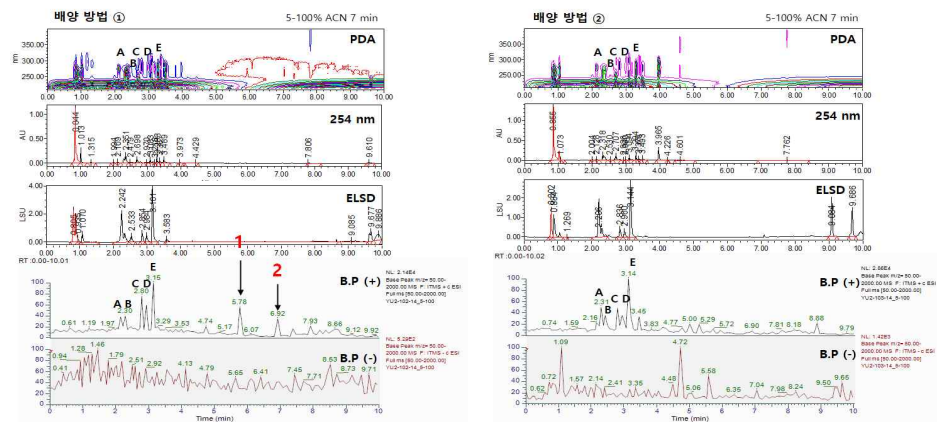
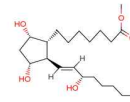
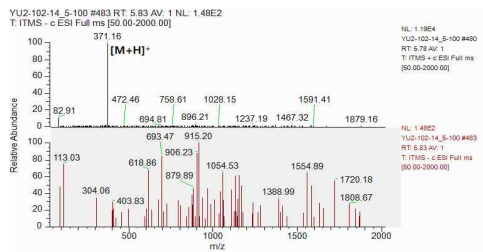


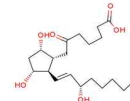
그림 52. YU2-97-14 추출물 분석결과

3.1.3.8.3. 대사체 de-replication 결과(그림 53, 54).

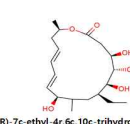
1 : MW370, Rt 5.78 min



PGF(1α)-methylester



7-[(1R,2R,3R,5S)-3,5-Dihydroxy-2-(E)-5-hydroxy-oct-1-enyl]-cyclopentyl-6-oxoheptanoic acid



(4R)-7c-ethyl-4r,6c,10c-trihydroxy-5t-methoxy-9c,16c-dimethyl-oxa-cyclohexadeca-11,13t-dien-2-one

<dereplication 결과>

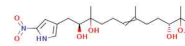
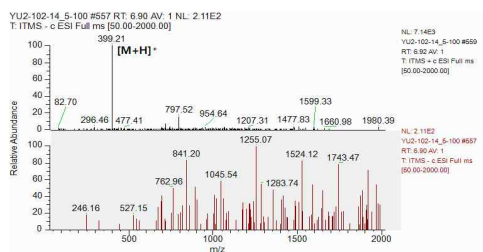
From	<i>Oscillatoria</i> and <i>Microcystidaceae</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kafanova et al., <i>Chem. Nat. Compd.</i> 1996 , 32(6), 861–865

From	<i>Oscillatoria</i> and <i>Microcystidaceae</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kafanova et al., <i>Chem. Nat. Compd.</i> 1996 , 32(6), 861–865

From	<i>Streptomyces platensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kinumaki et al., <i>J. Antibiotics</i> , 1976 , 29(11), 1209–1217

그림 53. YU2-97-14 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW398, Rt 6.92 min



heronapyrrole A

<dereplication 결과>

From	<i>Streptomyces aculeolatus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kuncharoen et al., <i>Phytochem.</i> 2023 , 207, 113568

그림 54. YU2-97-14 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3.1.3.9. YU2-97-12 (FW02-150125-34, *Variovorax* sp. OCMW_s)

3.1.3.9.1. 문헌조사 결과

- *Variovorax* sp. : salt stress conditions

- 분류:

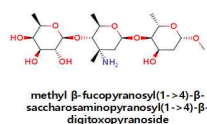
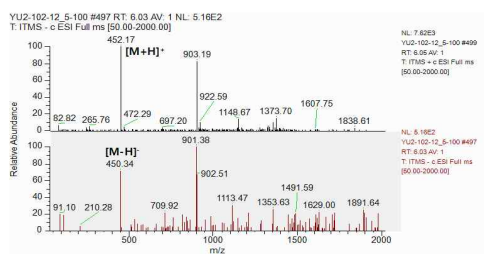
Variovorax-Comamonadaceae-Burkholderiales-Betaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteri

a

- DB searching 결과, *Variovorax* sp.에 대해 7(Scifinder), 6(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3 : MW451, Rt 6.05 min

<dereplication 결과>

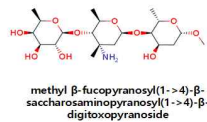
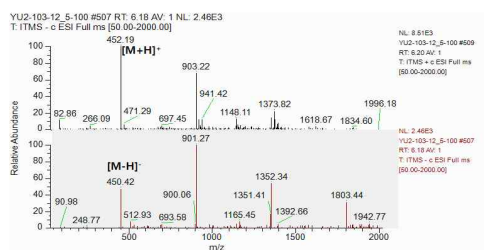


From	<i>Saccharothrix espanaensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kong et al., <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 1998 , 120(51), 13301–13311

그림 58. YU2-97-12 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

4 : MW451, Rt 6.18 min

<dereplication 결과>



From	<i>Saccharothrix espanaensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kong et al., <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 1998 , 120(51), 13301–13311

그림 59. YU2-97-12 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

3.1.4. 1차 시료 결론

- 2024년 5월 극지연구소로부터 수령한 극지 유래 박테리아 14종을 LC-MS를 이용하여 추출물의 대사체 분석을 실시함.
- 분석결과를 기반으로 다양한 문헌 검색을 실시하여 추출물 내 anthranilic acid, salicylamide 등의 저분자량의 대사체를 예상하고, thiomarinol A와 같은 항생효과를 가지는 대사체가 예상됨.
- 그러나, 대량 배양을 진행할 신규 활성 대사체 분리 가능성이 높은 균주는 선정하지 못함.
- 따라서, 추가적인 대량 배양 진행은 하지 않음.

2절. 2차 시료 연구개발 수행 내용 및 결과

3.2.1. 2차 시료 확보

- 2024년 7월 극지연구소로부터 극지 유래 박테리아 총 11종을 수령함(표 2).

KUNP code	미생물 번호 (stock No.)	샘플 번호 (Sample No.)	종 (Identification)	배지 (Media)
YU2-122-1	KS50458	5A02	<i>Sphingomonas aquatilis</i>	R2A
YU2-122-2	KS50459	5A03	<i>Qipengyuania sitrea</i>	R2A
YU2-122-3	KS50460	5A04	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	R2A
YU2-122-4	KS50461	5A05	<i>Methylobacterium brachiatum</i>	R2A
YU2-122-5	KS50480	5B12	<i>Methylobacterium phyllosphaerae</i>	R2A
YU2-122-6	KS50541	5H01	<i>Rhodococcus qingshengii</i>	MB
YU2-122-7	KS50543	5H03	<i>Psychrobacter fozii</i>	MB
YU2-122-8	KS50547	5H07	<i>Rhodococcus qingshengii</i>	MB
YU2-122-9	KS50550	5H10	<i>Rhodococcus qingshengii</i>	MB
YU2-122-10	KS50560	6A08	<i>Microbacterium oxydans</i>	MB
YU2-122-11	KS50564	6A12	<i>Microbacterium flavescens</i>	MB

표 2. 2024년 7월 극지연구소로부터 수령한 총 11종의 극지 유래 박테리아 리스트

3.2.2. 2차 시료 분석 조건 확립

3.2.2.1. 극지 미생물의 추출물 제조

- 총 11종의 극지 유래 박테리아의 고체배양을 진행함.
- 총 11종의 극지 유래 박테리아를 R2A agar 및 MB agar에 15 °C 조건에서 약 14일간 배양하고, MeOH를 이용하여 추출하고 여과 후 농축함. 이를 다시 증류수에 현탁시킨 후 같은 양의 EtOAc로 용매 분획을 실시함. (YU2-122-5는 잘 자라지 않음.)

3.2.2.2. LC/MS 대사체 분석 조건 확립

- 확보한 추출물을 MeOH에 녹여 0.2 μm 의 membrane filter로 필터 후 UPLC-MS/ELSD로 분석하여 대사체가 충분히 분리되고 검출될 수 있는 최적의 분석 조건을 확립함(그림 60).

UHPLC conditions				
Instrument	Waters ACQUITY UPLC			
Column	AQUITY UPLC BEH C18 (100 x 2.1 mm x 1.7 μm)			
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: Acetonitrile	Time (min)	A	B
		0	80.0	20.0
		7.0	0.0	100.0
		8.5	0.0	100.0
		8.6	80.0	20.0
Flow rate	0.3 mL/min	10.0	80.0	20.0
Column temp.	35 °C			
Injection concentration	1.0 mg/mL			
Injection volume	2.0 μL			
MS/MS conditions				
Instrument	ThermoFisher LCQ Fleet ion trap MS			
Scan mode	Positive & Negative			
Mass Range	m/z 50-2000	Sheath gas flow rate	50.0	
Normalized collision energy	35.0	Aux gas flow rate	30.0	
Capillary Temp.	275 °C	Spray voltage	3.5 kV	
Capillary voltage	35.0 V	Tube lens	50.0 V	

그림 60. 최적의 UPLC-MS/ELSD 분석 조건 2

3.2.2.3. MS/MS 기반 Molecular Networking 분석을 위한 최적의 parameter 조건 확립함(그림 61).

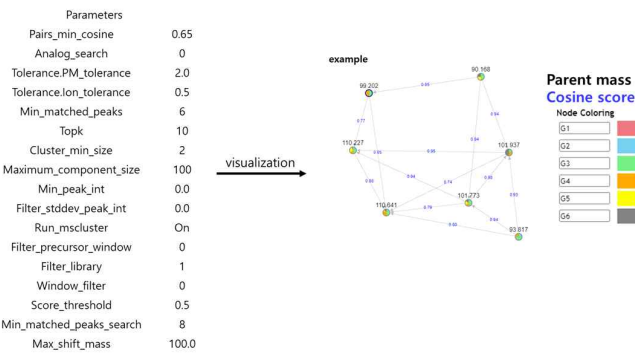


그림 61. Molecular networking 분석을 위한 최적의 parameter 조건 1

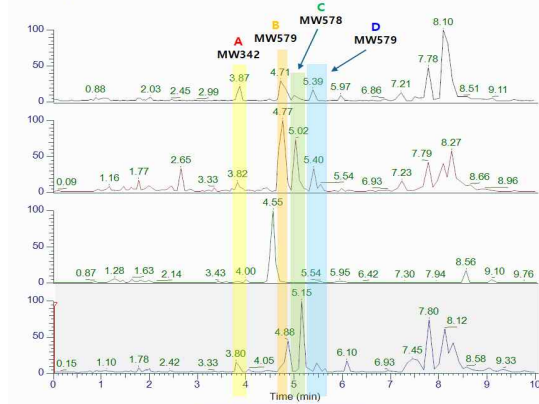
3.2.3. 2차 시료 연구개발 수행 결과

- 2024년 7월 극지연구소로부터 수령한 11종의 극지 유래 박테리아 추출물에 대한 분석을 진행함.
- R2A agar에 대한 배양한 균주 YU2-122-1—4 추출물의 분석결과를 비교분석하여 공통된 peak을 선정하고 공통 peak에 대한 de-replication을 진행함(그림 62—66). (YU2-122-5는 자라지 않음.)

✓ R2A agar 배양균주 MS chromatograms

❖ YU2-122-5 는 자라지 않음

RT: 0.00-10.05



YU2-122-1

YU2-122-2

YU2-122-3

YU2-122-4

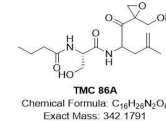
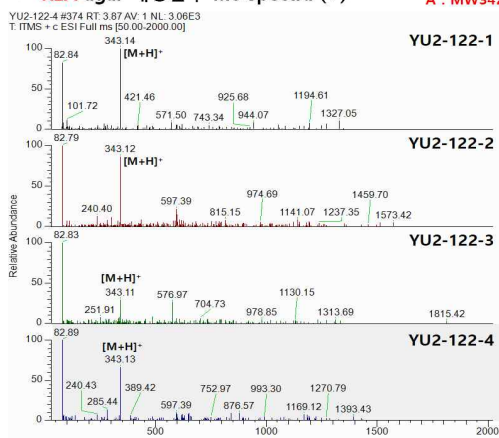
YU2-122-1	<i>Sphingomonas aquatilis</i>
YU2-122-2	<i>Qipengyuania sitrea</i>
YU2-122-3	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
YU2-122-4	<i>Methylobacterium brachiatum</i>

그림 62. R2A agar 배양 추출물 MS chromatograms

✓ R2A agar 배양균주 MS spectra (+)

A : MW342, Rt 3.87 min

<dereplication 결과>



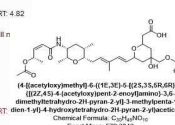
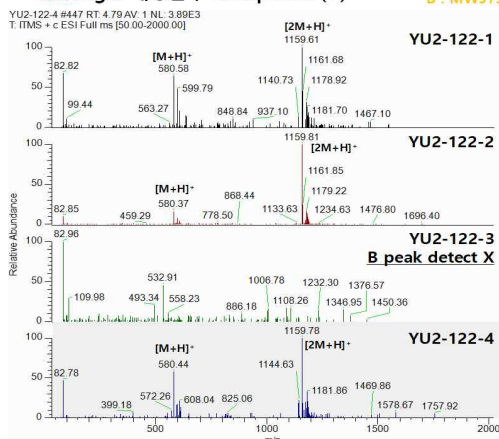
From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Koguchi et al., <i>J. Antibiot.</i> 1999 , 52(12), 1069–1076

그림 63. R2A agar 배양 추출물 4종 내 공통 대사체의 de-replication 결과 1

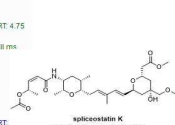
✓ R2A agar 배양균주 MS spectra (+)

B : MW579, Rt 4.79 min

<dereplication 결과>



From	<i>Pseudomonas</i> sp. No. 2663
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Current Patent Assignee: PFIZER - WO/2014/68443, 2014, A1



From	<i>Pseudomonas</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Zhao et al., <i>Chem. Biodivers.</i> 2019 , 16(9), E1900266

그림 64. R2A agar 배양 추출물 4종 내 공통 대사체의 de-replication 결과 2

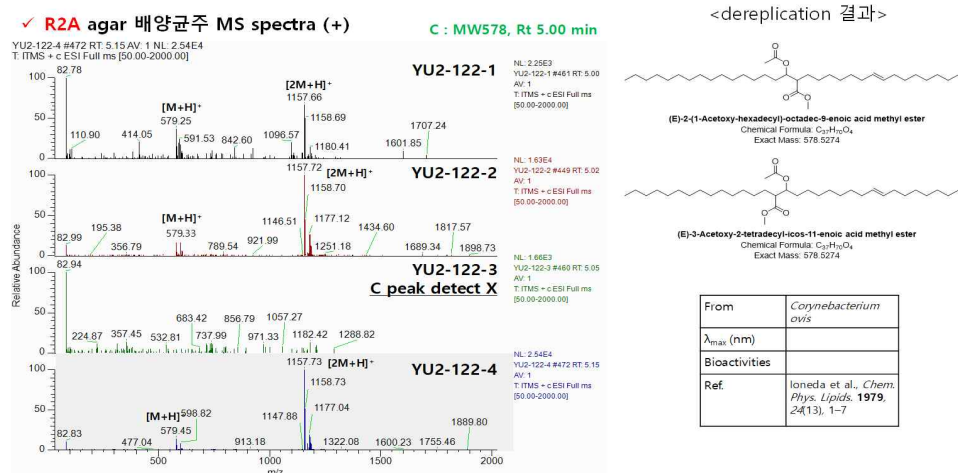


그림 65. R2A agar 배양 추출물 4종 내 공통 대사체의 de-replication 결과 3

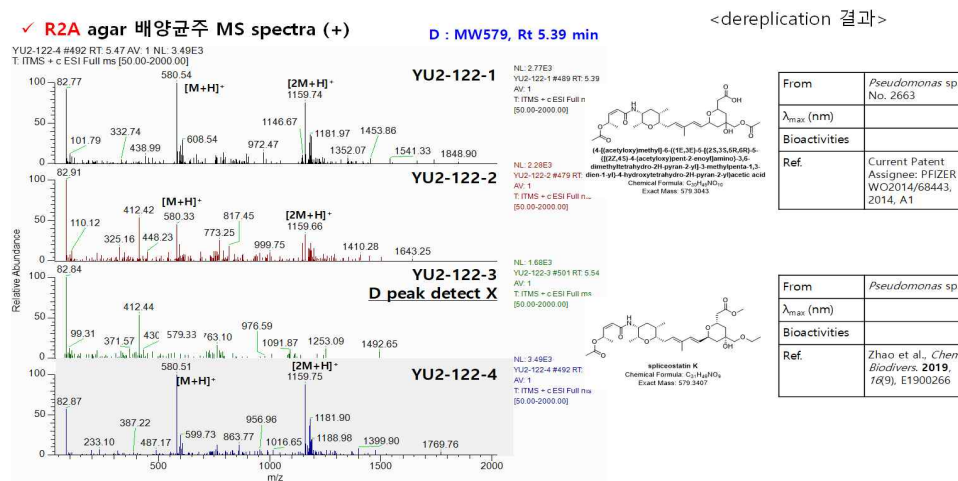


그림 66. R2A agar 배양 추출물 4종 내 공통 대사체의 de-replication 결과 4

- 균주가 자라지 않아 분석할 수 없었던 YU2-122-5를 제외한 R2A agar에 배양한 균주 YU2-122-1—4 추출물의 MS를 비교 분석하여 공통 peak 선정 및 공통 peak에 대한 de-replication 진행한 결과, 총 4개의 peak이 공통 peak으로 선정되었으며, 각 추출물 내에 공통 peak을 제외한 특이적 대사체에 대한 추가적인 de-replication을 진행함.

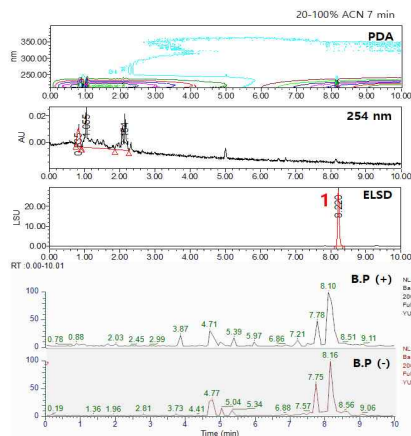
3.2.3.1. YU2-122-1 (KS50458, *Sphingomonas aquatilis*)

3.2.3.1.1. 문헌조사 결과

- Sphingomonas aquatilis* : yellow pigment bacteria
- 분류:
Sphingomonas-Sphingomonadaceae-Sphingomonadales-Alphaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Sphingomonas aquatilis*에 대해 60(Scifinder), 0(Reaxys), *Sphingomonas* sp.에 대해 11,512(Scifinder), 8(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.2.3.1.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 67, 68, 69).

✓ *Sphingomonas aquatilis* (YU2-122-1)



ELSD에서 주성분으로 생각되는 peak이 분석시간 안으로 들어오지 않아 이동상조건 수정하여 분석 진행함.
→ Next slide

그림 67. YU2-122-1 추출물 분석결과 1

✓ *Sphingomonas aquatilis* (YU2-122-1)

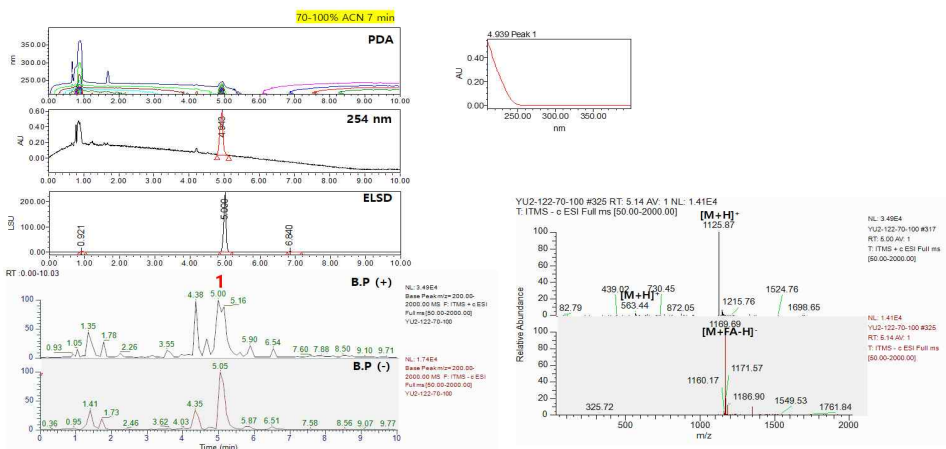


그림 68. YU2-122-1 추출물 분석결과 2

1 : MW1125, Rt 8.22 min

<dereplication 결과>

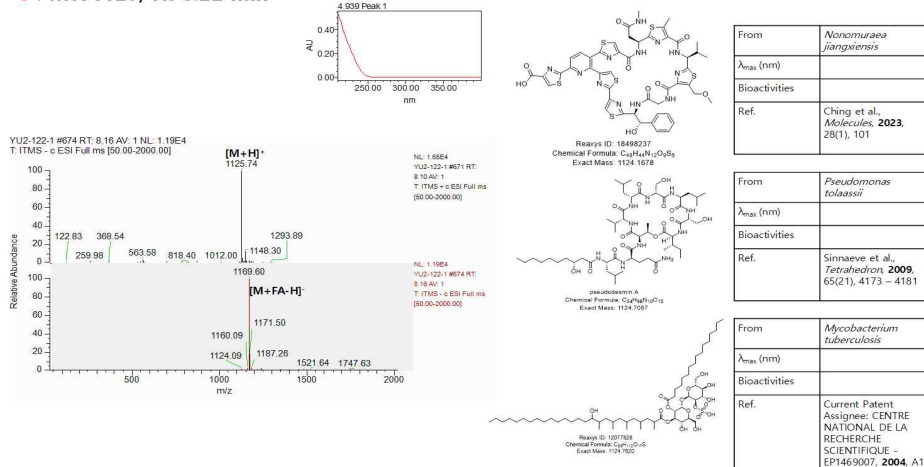


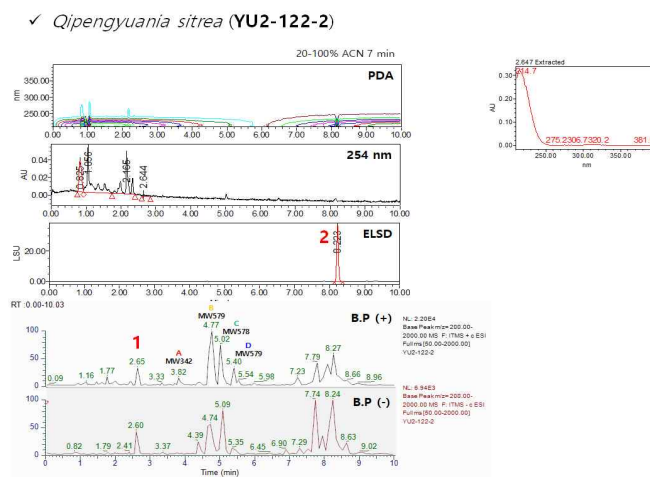
그림 69. YU2-122-1 추출물 내 대사체 de-replication 결과

3.2.3.2. YU2-122-2 (KS50459, *Qipengyuania sitrea*)

3.2.3.2.1. 문헌조사 결과

- *Qipengyuania sitrea* : isolated from seawater
- 분류:
Qipengyuania-Erythrobacteraceae-Sphingomonadales-Alphaproteobacteria-Pseudomonadot
a-Bacteria
- DB searching 결과, *Qipengyuania sitrea*에 대해 0(Scifinder), 0(Reaxys), *Qipengyuania*
sp.에 대해 98(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.2.3.2.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 70.)



2 : MW562, Rt 8.22 min

<dereplication 결과>

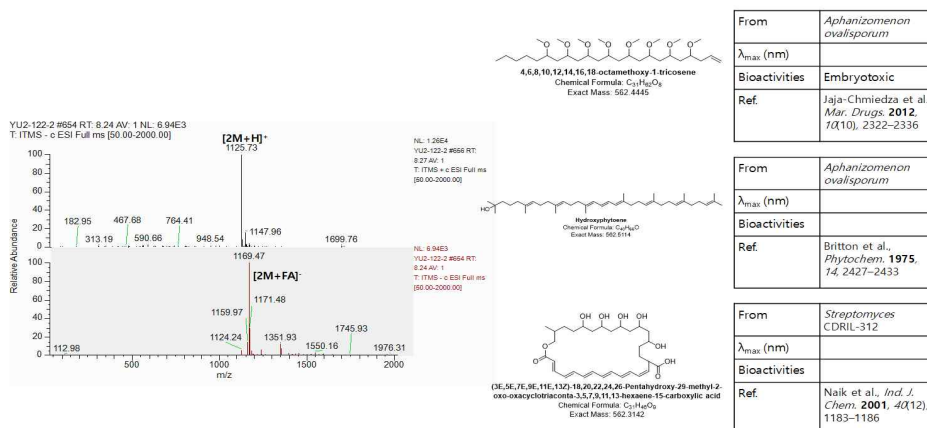


그림 72. YU2-122-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

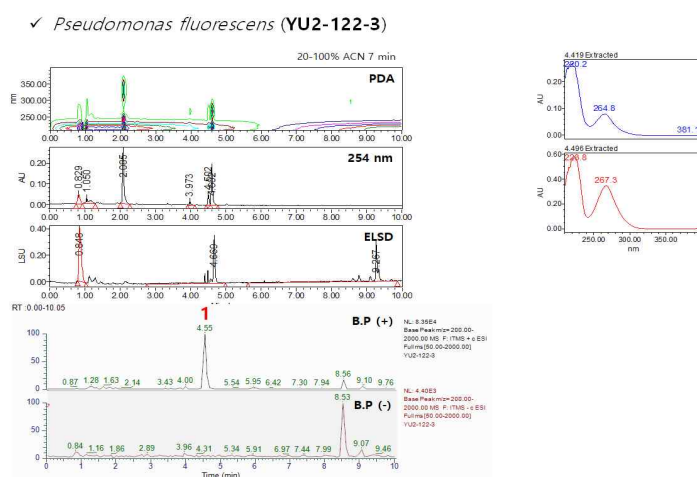
3.2.3.3. YU2-122-3 (KS50460, *Pseudomonas fluorescens*)

3.2.3.3.1. 문헌조사 결과

Pseudomonas fluorescens : common gram-negative bacteria

- 분류:
Pseudomonas–Pseudomonadaceae–Pseudomonadales–Gammaproteobacteria–Pseudomonadota–Bacteria
- DB searching 결과, *Pseudomonas fluorescens*에 대해 22,967(Scifinder), 95(Reaxys), *Pseudomonas* sp.에 대해 324,195(Scifinder), 660(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.2.3.3.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 73).



3.2.3.3.3. 대사체 de-replication 결과(그림 74, 75).

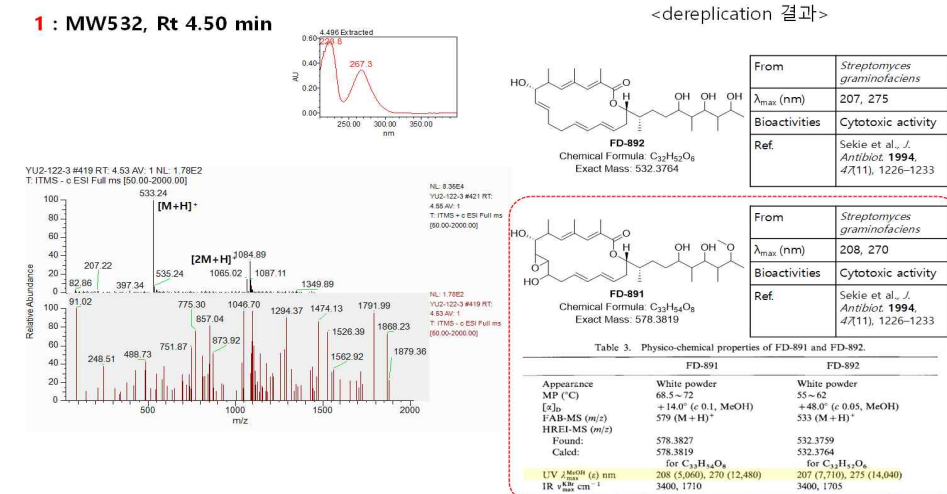


그림 74. YU2-122-3 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

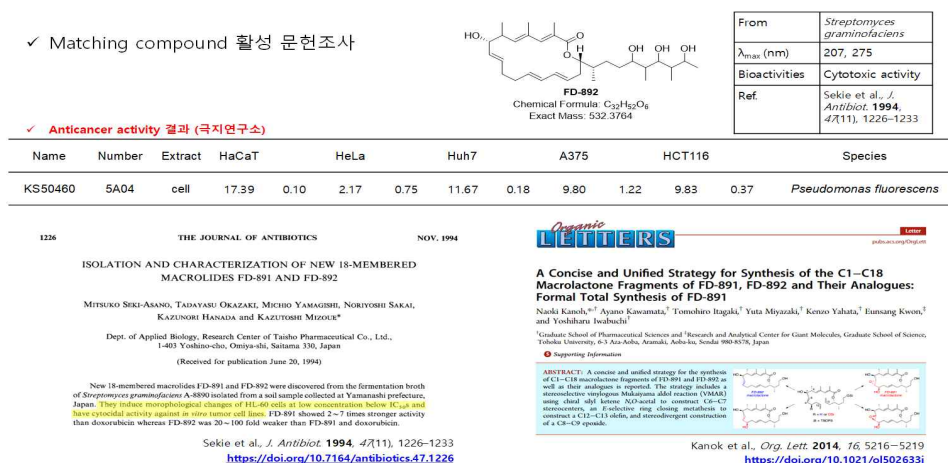


그림 75. YU2-122-3 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 matching한 대사체에 대한 활성 문헌조사

- YU2-122-3 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 matching한 대사체에 대한 tumor cell line 활성 관련 문헌이 존재하였음.

3.2.3.4. YU2-122-4 (KS50461, *Methylobacterium brachiatum*)

3.2.3.4.1. 문헌조사 결과

- Methylobacterium brachiatum* : aerobic alphaproteobacterium
- 분류:
Methylobacterium-Methylobacteriaceae-Hyphomicrobiales-Alphaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Methylobacterium brachiatum*에 대해 56(Scifinder), 0(Reaxys), *Methylobacterium* sp.에 대해 5,038(Scifinder), 4(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.2.3.4.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 76).

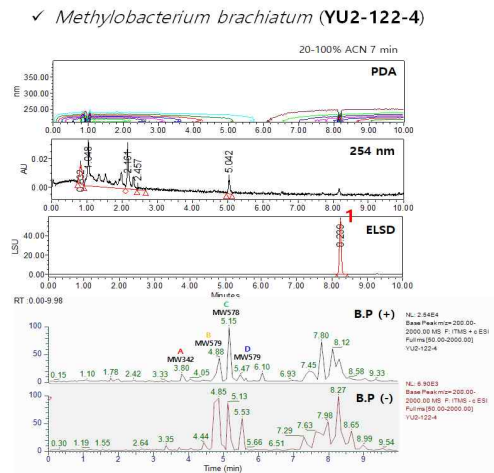


그림 76. YU2-122-4 추출물 분석결과

3.2.3.4.3. 대사체 de-replication 결과(그림 77).

1 : MW562, Rt 8.27 min

<dereplication 결과>

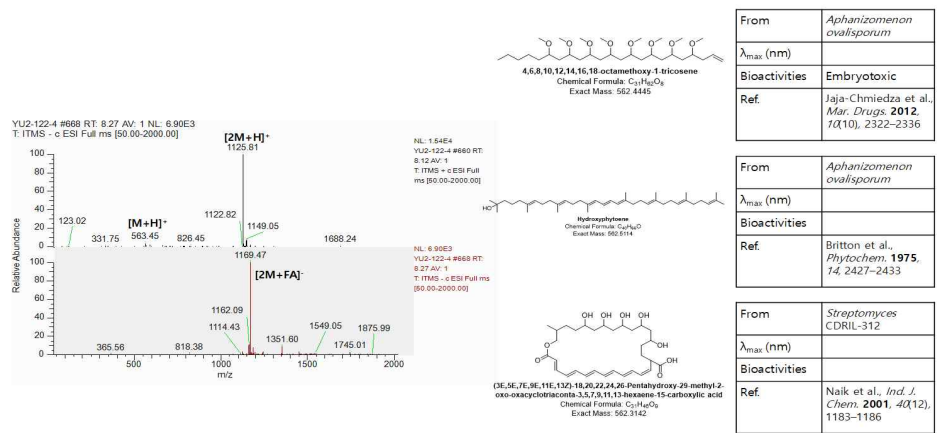
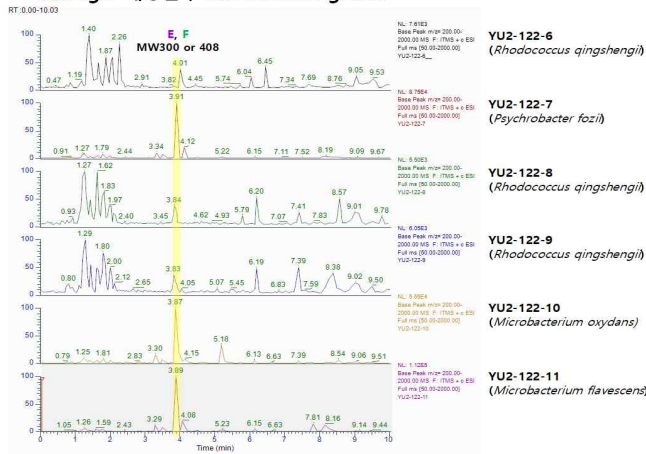


그림 77. YU2-122-4 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

- MB agar에 대한 배양한 균주 YU2-122-6—11 추출물의 분석결과를 비교분석하여 공통된 peak을 선정하고 공통 peak에 대한 de-replication을 진행함(그림 78—81).

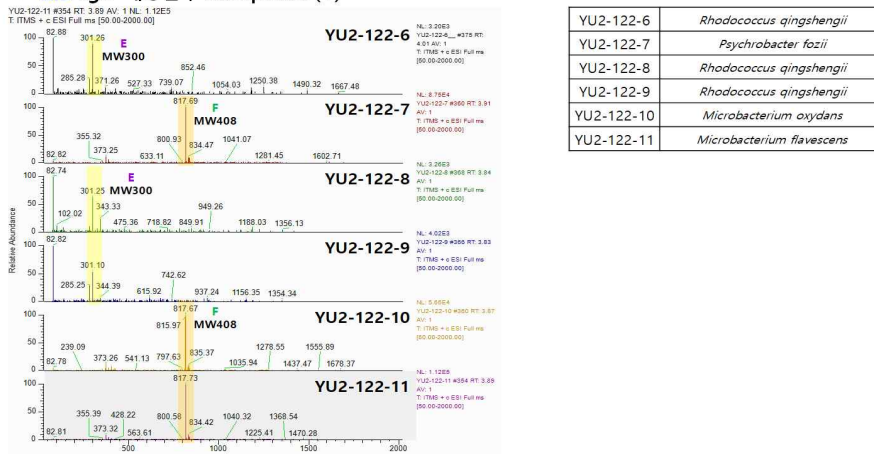
✓ MB agar 배양균주 MS chromatograms



비슷한 retention time을
갖는 peak 1개가 선정됨.

그림 78. MB agar 배양 추출물 MS chromatograms

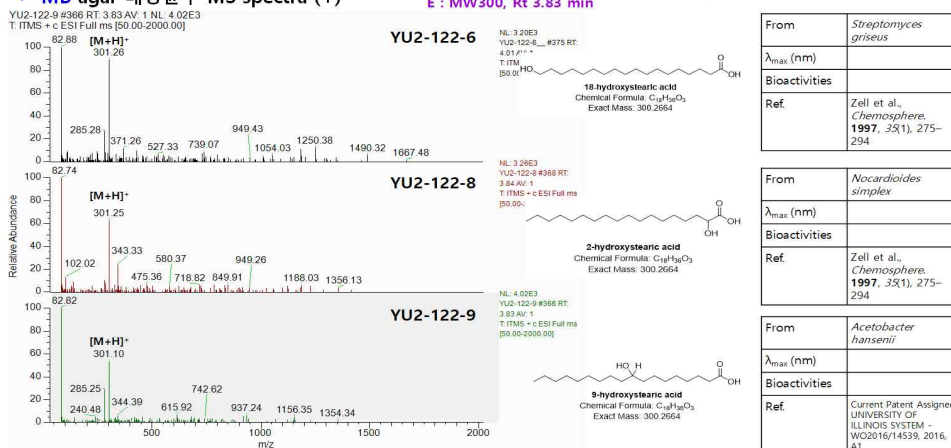
✓ MB agar 배양균주 MS spectra (+)



YU2-122-6	<i>Rhodococcus qingshengii</i>
YU2-122-7	<i>Psychrobacter fozii</i>
YU2-122-8	<i>Rhodococcus qingshengii</i>
YU2-122-9	<i>Rhodococcus qingshengii</i>
YU2-122-10	<i>Microbacterium oxydans</i>
YU2-122-11	<i>Microbacterium flavescens</i>

그림 79. MB agar 배양 추출물 6 종 내 공통 대사체의 MS spectra

✓ MB agar 배양균주 MS spectra (+)



<dereplication 결과>

From	<i>Streptomyces griseus</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Zell et al., <i>Chemosphere</i> , 1997, 35(1), 275-294

From	<i>Nocardioides simplex</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Zell et al., <i>Chemosphere</i> , 1997, 35(1), 275-294

From	<i>Acetobacter Hansenii</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Current Patent Assignee: UNIVERSITY OF ILLINOIS SYSTEM - WO2016/14539, 2016, A1

그림 80. MB agar 배양 추출물 3종 내 공통 대사체의 de-replication 결과 1

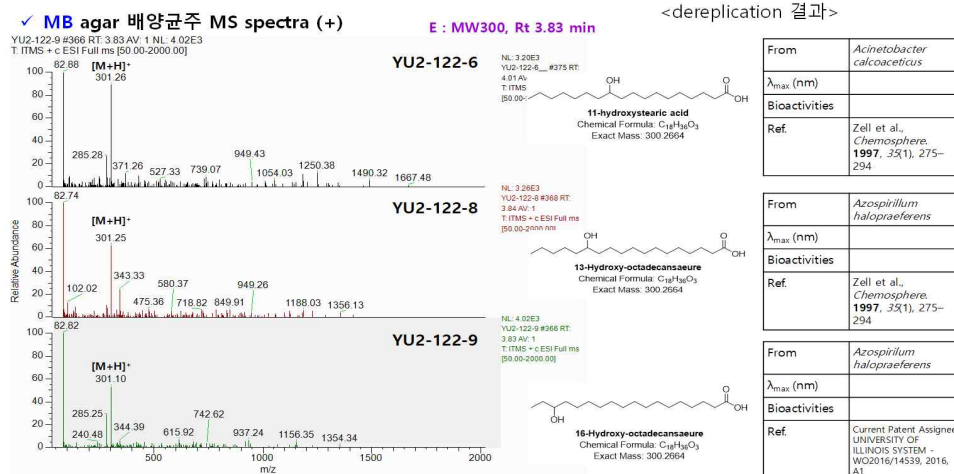


그림 81. MB agar 배양 추출물 3종 내 공통 대사체의 de-replication 결과 2

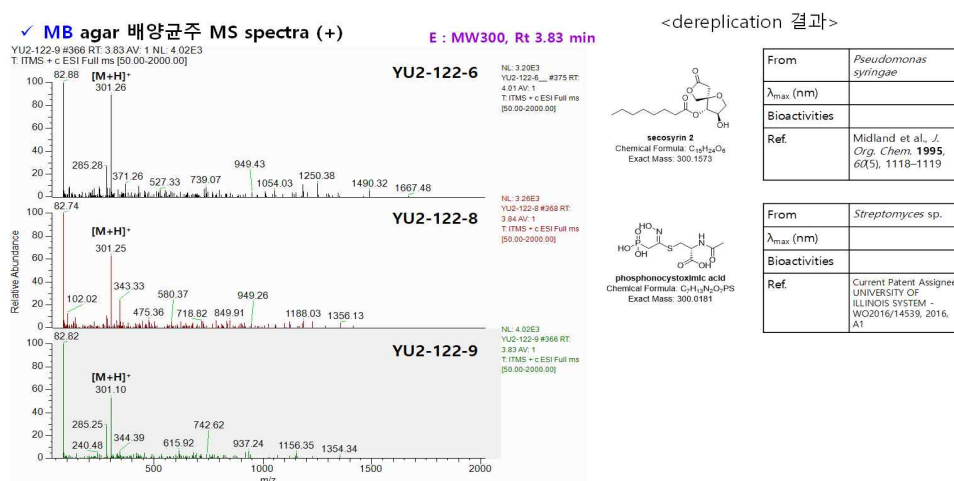


그림 82. MB agar 배양 추출물 3종 내 공통 대사체의 de-replication 결과 3

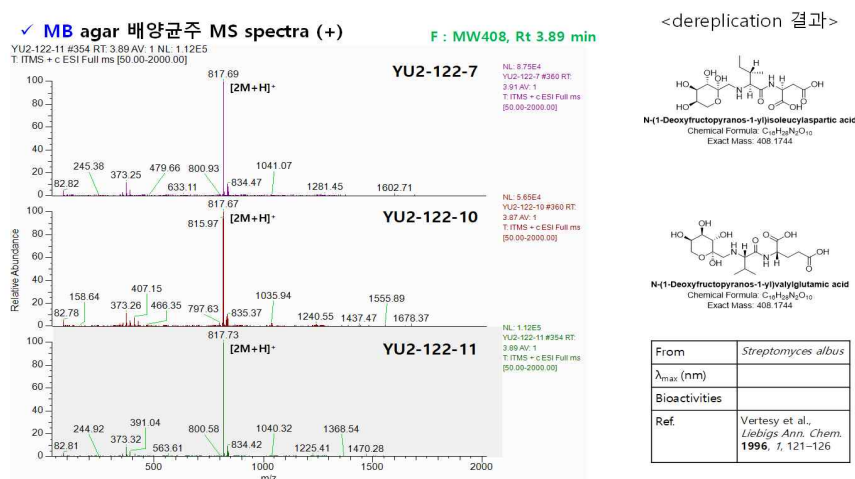


그림 83. MB agar 배양 추출물 3종 내 공통 대사체의 de-replication 결과 4

- MB agar에 배양한 균주 YU2-122-6—11 추출물의 MS를 비교분석하여 공통 peak 선정 및 공통 peak에 대한 de-replication 진행한 결과, MS chromatogram에서 비슷한 retention time을 갖는 peak 1개가 선정됨.
- 각 peak의 mass spectra를 비교하여 YU2-122-6, 8, 9가 공통된 대사체 1개, YU2-122-7, 10, 11이 공통된 대사체 1개로 선정되었으며, 각 추출물 내에 공통 peak를 제외한 특이적 대사체에 대한 추가적인 de-replication을 진행함.

3.2.3.5. YU2-122-6, 8, 9 (KS50541, KS50547, KS50550, *Rhodococcus qingshengii*)

3.2.3.5.1. 문헌조사 결과

- *Rhodococcus qingshengii* : isolated from a carbendazim-contaminated soil sample
- 분류: *Rhodococcus*-Nocardiaceae-Mycobacteriales-Actinomycetia-Actinomycetota-Bacteria
- DB searching 결과, *Rhodococcus qingshengii*에 대해 214(Scifinder), 0(Reaxys), *Rhodococcus* sp.에 대해 16,618(Scifinder), 56(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.2.3.5.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 84, 85, 86).

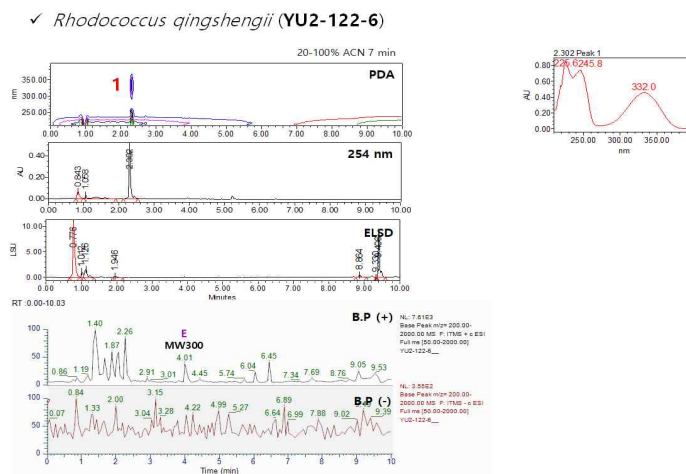


그림 84. YU2-122-6 추출물 분석결과

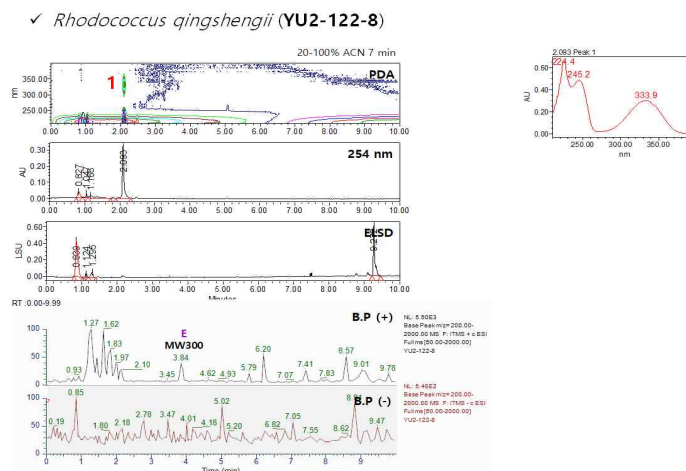


그림 85. YU2-122-8 추출물 분석결과

✓ *Rhodococcus qingshengii* (YU2-122-9)

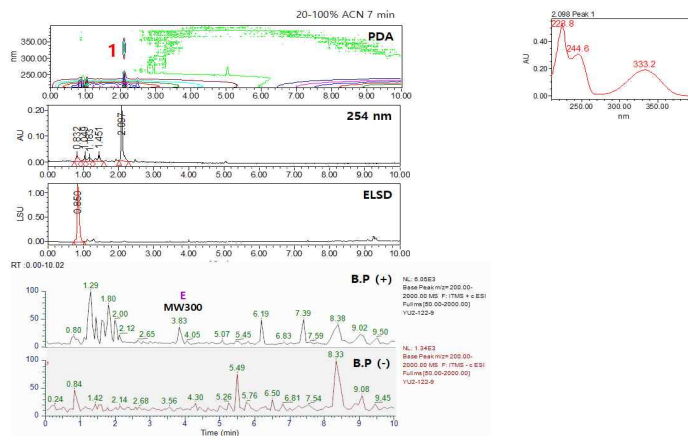
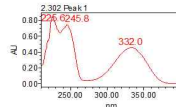


그림 86. YU2-122-9 추출물 분석결과

3.2.3.5.3. 대사체 de-replication 결과(그림 87).

1 : MW137, Rt 2.30 min



<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	221, 247, 335
Bioactivities	Antimicrobial
Ref.	Abdelfattah et al., <i>Tetrahed. Lett.</i> 2012, 53(26), 3346-3348

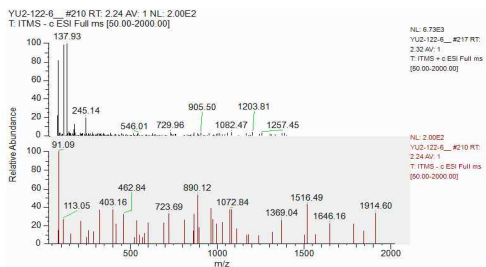


그림 87. YU2-122-6, 8, 9 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.2.3.6. YU2-122-7 (KS50543, *Psychrobacter fozii*)

3.2.3.6.1. 문헌조사 결과

- *Psychrobacter fozii* : biodegradation of petroleum and petroleum products

- 분류:

Psychrobacter-Moraxellaceae-Moraxellales-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria

- DB searching 결과, *Psychrobacter fozii*에 대해 29(Scifinder), 0(Reaxys), *Psychrobacter* sp.에 대해 2,628(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.2.3.6.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 88).

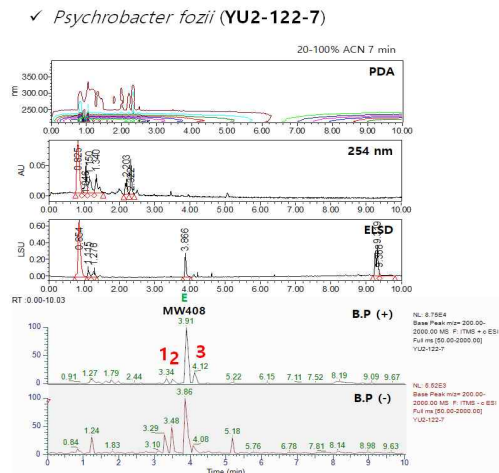


그림 88. YU2-122-7 추출물 분석결과

3.2.3.6.3. 대사체 de-replication 결과(그림 89, 90, 91).

1 : MW465, Rt 3.29 min

<dereplication 결과>

Matching X

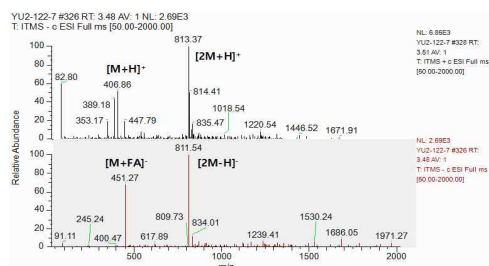


그림 89. YU2-122-7 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW406, Rt 3.48 min

<dereplication 결과>

정확한 matching X



From	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	Antibiotic activity
Ref.	Mason et al., <i>J. Antibiot.</i> 1969 , 22(6), 289-291

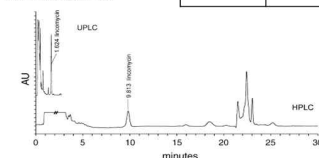


Fig. 3. The comparison of UPLC and HPLC chromatograms of fermentation broth of *S. lincolnensis* DSM 40355. UPLC: Waters BEH C18 column (50×2.1 mm I.D., particle size $1.7 \mu\text{m}$); mobile phase: solvent A, 1 mM ammonium formate (pH 9.0), and solvent B, acetonitrile (76:24, v/v); flow rate, 0.5 ml min^{-1} ; column temperature, 35°C ; data sample rate, 20 pts s^{-1} ; filter constant, 0.5; injection volume, $5 \mu\text{l}$; analyses time, 3.5 min. Each analysis was followed with column washing step (100% acetonitrile, 1 min) and equilibration step (0.5 min). HPLC: Column, XTerra RP18 (150×3.9 mm I.D., particle size $5 \mu\text{m}$), protected with Waters XTerra RP18 Guard column (20×3.9 mm I.D., particle size $5 \mu\text{m}$); mobile phase consisted of solvent A, 1 mM ammonium formate (pH 9.0) and solvent B, acetonitrile (78:22, v/v); flow rate, 1.0 ml min^{-1} ; injection volume, $30 \mu\text{l}$; analyses time, 10 min. Each analysis was followed with column washing step (100% acetonitrile, 8 min) and equilibration step (12 min).

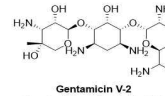
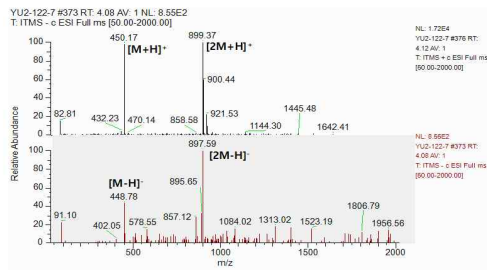
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.017>
Olšovská et al. *J. Chromatogr. A*, **2007**, 1139, 214-220

그림 90. YU2-122-7 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3 : MW449, Rt 4.08 min

<dereplication 결과>

정확한 matching X



Gentamicin V-2
Chemical Formula: C₁₉H₃₉N₅O₇
Exact Mass: 449.2849

From	Micromonospora sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	Antibiotic activity
Ref.	Berdy et al., J. Antibiot. 1977, 30(11), 945-954

Gentamicins and related antibiotics are basic, water-soluble substances of the aminoglycoside family produced by various *Micromonospora* species.⁽¹⁾

Fig. 1. Chromatographic separation of gentamicin components. Weights and RT values of components. * (TLC, system B)
Reins: Amberlite CG-50 1 (100~200 mesh)
Column: 12 x 120 cm
Sample: 500 g crude gentamicin
Elution: 30~30 liters of 0.05, 0.10, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18, 0.20, 0.25, 0.30 and 0.50 N ammonium hydroxide
Fractions: 1,200 ml

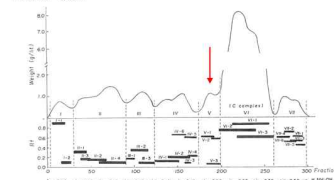


그림 91. YU2-122-7 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

3.2.3.7. YU2-122-10 (KS50560, *Microbacterium oxydans*)

3.2.3.7.1. 문헌조사 결과

- *Microbacterium oxydans* : bioremediation
- 분류:
Microbacterium-Microbacteriaceae-Micrococcales-Actinomycetes-Actinomycetota-Bacteria
- DB searching 결과, *Microbacterium oxydans*에 대해 154(Scifinder), 0(Reaxys), *Microbacterium* sp.에 대해 6,410(Scifinder), 28(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.2.3.7.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 92).

✓ *Microbacterium oxydans* (YU2-122-10)

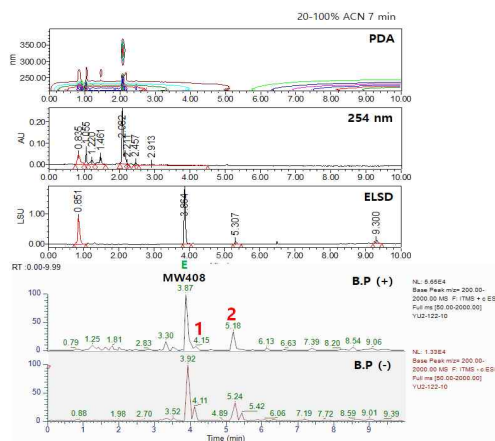


그림 92. YU2-122-10 추출물 분석결과

1 : MW448, Rt 4.11 min

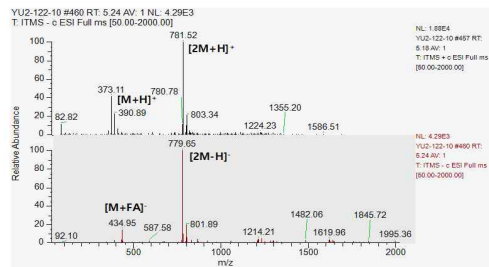

Chemical Formula: $C_{18}H_{32}N_4O_9$
Exact Mass: 448.2169

Top Plot: $[2M+H]^+$
Y-axis: Relative Abundance (0 to 100)
X-axis: m/z (500 to 2000)
Peaks (m/z): 82.83, 272.22, 458.13, 458.20, 466.74, 560.32, 560.33, 897.45 (base peak), 896.46, 1120.37, 1288.90, 1436.79, 1705.08

Bottom Plot: $[2M-H]^-$
Y-axis: Relative Abundance (0 to 100)
X-axis: m/z (500 to 2000)
Peaks (m/z): 91.06, 448.67, 567.34, 896.75 (base peak), 896.49, 916.10, 1365.10, 1401.03, 1796.46, 1893.58

2 : MW390, Rt 5.24 min

Matching X



48

3.2.3.8.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 95).

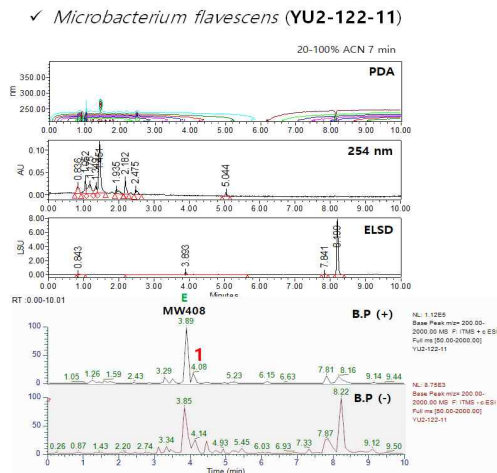


그림 95. YU2-122-11 추출물 분석결과

3.2.3.8.3. 대사체 de-replication 결과(그림 96).

1 : MW449, Rt 4.14 min

정확한 matching X

<dereplication 결과>

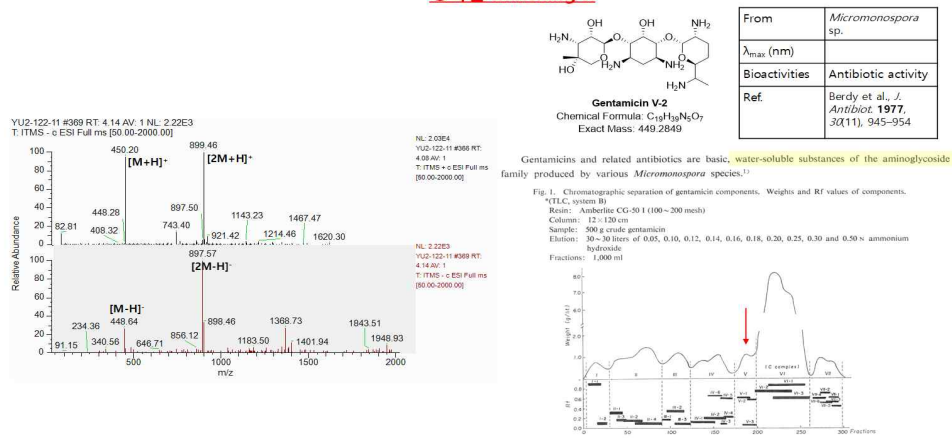


그림 96. YU2-122-11 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.2.3.9. 극지연구소로부터 받은 극지 유래 박테리아의 항암활성 결과(그림 97).

KUNP code	Name	Number	Extract	HaCaT		HeLa		Huh7		A375		HCT116		Species
YU2-122-1	KS50458	5A02	supernatant	30.99	7.99	over	-	7.19	1.69	over	-	2.78	0.40	<i>Sphingomonas aquatilis</i>
YU2-122-2	KS50459	5A03	supernatant	over	-	over	-	over	-	over	-	2.99	0.66	<i>Qipengyuania sitrea</i>
YU2-122-3	KS50460	5A04	cell	17.39	0.10	2.17	0.75	11.67	0.18	9.80	1.22	9.83	0.37	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
YU2-122-4	KS50461	5A05	cell	9.78	0.52	1.69	1.58	9.67	0.63	over	-	6.93	0.13	<i>Methylobacterium brachiatum</i>
YU2-122-5	KS50480	5B12	supernatant	24.25	1.29	21.89	1.65	5.77	1.36	17.79	4.42	5.07	2.77	<i>Methylobacterium phyllosphaerae</i>
YU2-122-7	KS50543	5H03	cell	65.84	5.56	over	-	8.12	0.53	over	-	24.15	2.52	<i>Psychrobacter fozii</i>
YU2-122-10	KS50560	6A08	cell	over	-	29.64	2.58	16.95	1.60	over	-	over	-	<i>Microbacterium oxydans</i>
YU2-122-11	KS50564	6A12	cell	over	-	over	-	over	-	over	-	4.47	2.59	<i>Microbacterium flavescens</i>
-	KS50556	6A04	cell	over	-	50.68	1.94	5.82	1.95	over	-	7.91	1.18	
YU2-122-5	KS50480	5B12	cell	under	-	under	-	under	-	under	-	under	-	<i>Methylobacterium phyllosphaerae</i>
YU2-122-6	KS50541	5H01	cell	under	-	under	-	under	-	under	-	under	-	
YU2-122-8	KS50547	5H07	cell	under	-	under	-	under	-	5.79	3.05	under	-	
YU2-122-9	KS50550	5H10	cell	under	-	under	-	under	-	under	-	under	-	
-	KS50540	5G12	cell	under	-	under	-	under	-	under	-	under	-	

그림 97. 극지연구소에서 수행한 극지 유래 박테리아의 항암활성 결과

3.2.3.10. Molecular Networking 분석 결과

- 14종의 박테리아 추출물의 de-replication 결과를 바탕으로 4종의 박테리아 YU2-122-1, 3, 7, 10을 선별하여 Molecular Networking 분석을 실시함.

3.2.3.10.1. YU2-122-1 Molecular Networking 분석결과(그림 98).

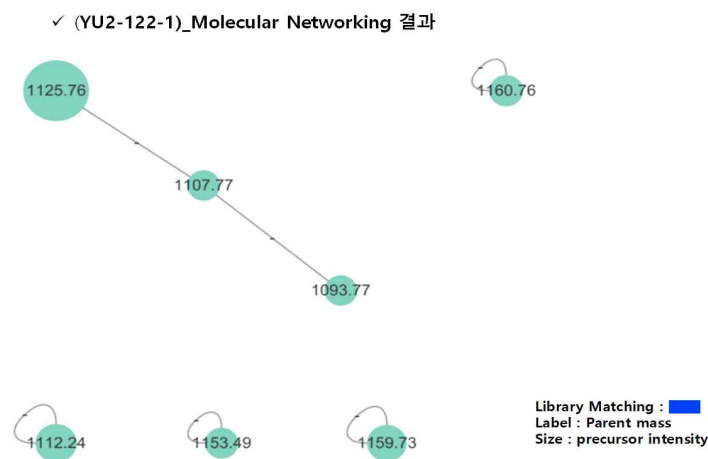


그림 98. YU2-122-1 Molecular Networking 분석결과

- YU2-122-1의 Molecular Networking 분석 결과 주성분의 node가 library와 matching이 없는 것을 확인함.

- 따라서, YU2-122-1의 대량배양을 진행하고자 함.

3.2.3.10.2. YU2-122-3 Molecular Networking 분석결과(그림 99).

✓ (YU2-122-3)_Molecular Networking 결과

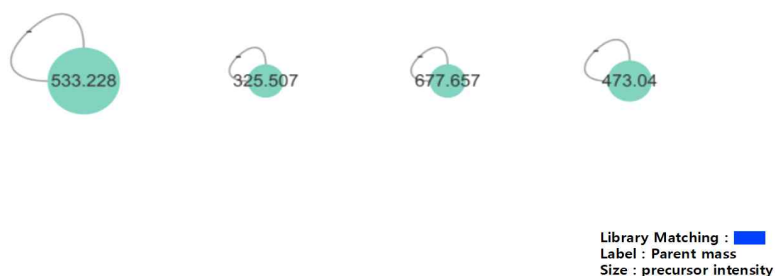


그림 99. YU2-122-3 Molecular Networking 분석결과

- YU2-122-3의 Molecular Networking 분석결과 주성분의 node가 library와 matching이 없는 것을 확인함.
- 따라서, YU2-122-3의 대량배양을 진행하고자 함.

3.2.3.10.3. YU2-122-7 Molecular Networking 분석결과(그림 100).

✓ (YU2-122-7)_Molecular Networking 결과

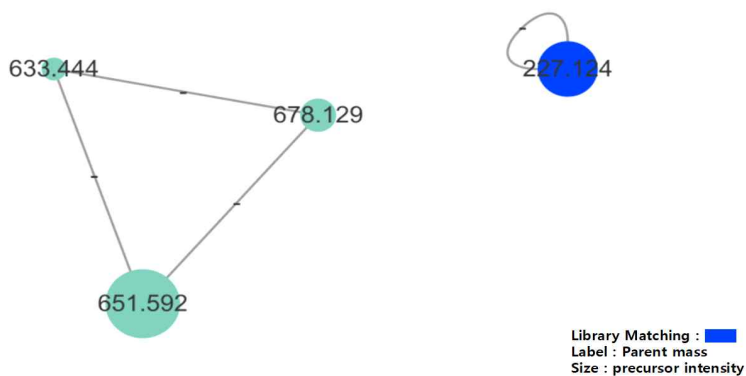


그림 100. YU2-122-7 Molecular Networking 분석결과

- YU2-122-7의 Molecular Networking 분석결과 주성분의 node가 library와 matching이 없는 것을 확인함.
- 따라서, YU2-122-3의 대량배양을 진행하고자 함.

3.2.3.10.4. YU2-122-10 Molecular Networking 분석결과(그림 101).

✓ (YU2-122-10)_Molecular Networking 결과



그림 101. YU2-122-10 Molecular Networking 분석결과

- YU2-122-10의 Molecular Networking 분석결과 주성분의 node가 library에서 cholic acid로 예측되어 추가적인 대량배양은 진행하지 않음.

3.2.3.11. 3종의 박테리아 대량배양 추출물 제조

- de-replication과 Molecular Networking 분석결과를 기반으로 총 3종의 극지 유래 박테리아 YU2-122-1, 3, 7의 대량배양을 진행함.
- 총 3종의 극지 유래 박테리아를 R2A agar 및 MB agar에 15 °C 조건에서 약 14일간 150 mm petri dish 100장을 배양하고, MeOH를 이용하여 추출하고 여과 후 농축함. 이를 다시 증류수에 현탁시킨 후 같은 양의 EtOAc로 용매 분획을 실시함.

3.2.3.12. 3종의 박테리아 대량배양 추출물 UPLC-MS/ELSD 분석 결과

- 분석 결과를 바탕으로 선정된 YU2-122-1, 3, 7의 대량배양 추출물의 UPLC-MS/ELSD 분석을 실시함.

3.2.3.12.1. YU2-122-1의 UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 102).

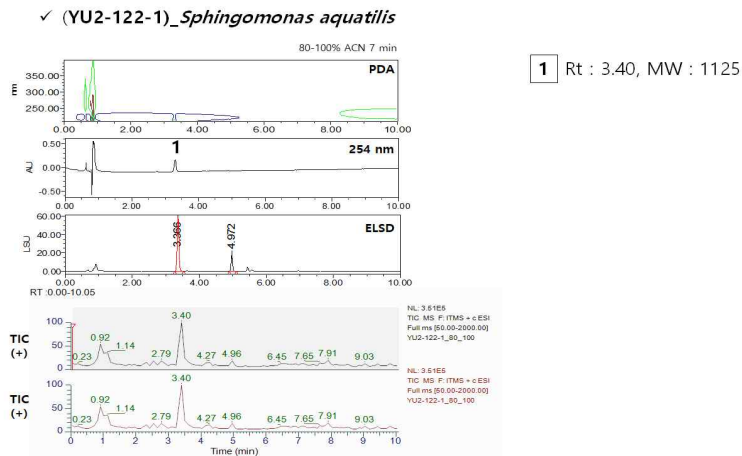


그림 102. YU2-122-1 대량배양 추출물의 UPLC-MS/ELSD 분석 결과

- YU2-122-1 소량배양과 대량배양 추출물의 UPLC-MS/ELSD와 비교분석 결과 대사체가 일치하여 YU2-122-1 추출물의 분리를 진행하고자 함.

3.2.3.12.2. YU2-122-3의 UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 103).

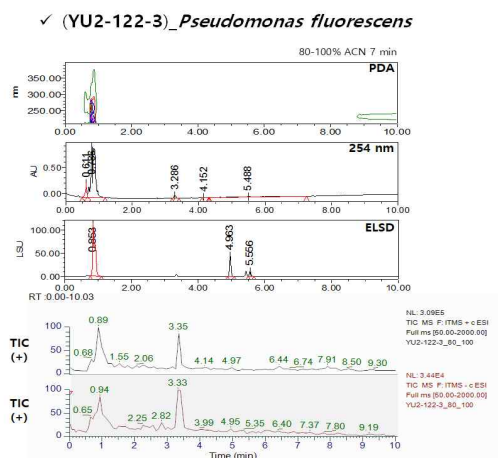


그림 103. YU2-122-3 대량배양 추출물의 UPLC-MS/ELSD 분석 결과

- UPLC-MS/ELSD 분석 결과 대사체가 없어 추가적인 분리는 진행하지 않음.

3.2.3.12.3. YU2-122-7의 UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 104).

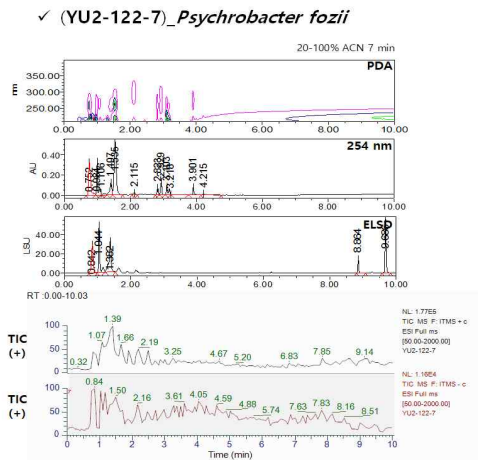


그림 104. YU2-122-7 대량배양 추출물의 UPLC-MS/ELSD 분석 결과

- UPLC-MS/ELSD 분석 결과 대사체가 없어 추가적인 분리는 진행하지 않음.

3.2.3.13. YU2-122-1 대량배양 추출물의 Molecular Networking 분석 결과 및 표적 대사체 선정(그림 105).

- 대량배양을 진행한 3종의 박테리아 중 소량배양한 박테리아 추출물의 UPLC-MS/ELSD 분석결과와 비교분석하여 YU2-122-1을 선정하여 Molecular Networking 분석을 진행함.
- YU2-122-1 추출물의 주성분을 표적 대사체로 분리를 진행하고자 함.

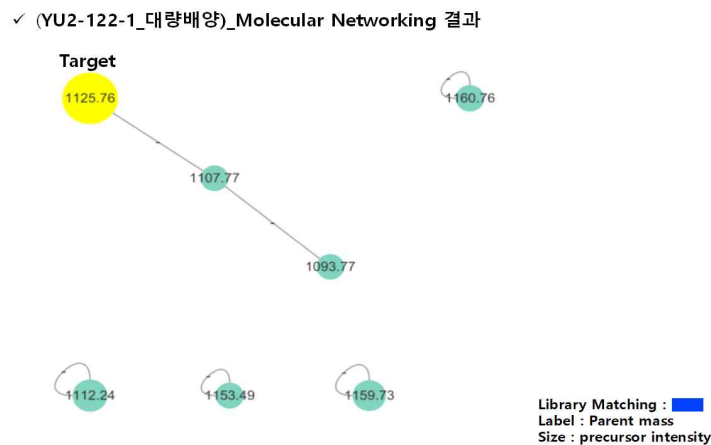


그림 105. YU2-122-1 대량배양 추출물의 Molecular networking 분석결과 및 표적 대사체 선정

3.2.3.14. 표적 대사체의 분리 정제 및 구조 규명

3.2.3.14.1. 표적 대사체의 분리 조건 및 결과

- 추출물의 분리 정제는 preparative HPLC를 이용하여 수행하였음.
- YMC-ODS Pack 컬럼(250 × 20 mm)을 사용하였고 ACN 85 - 95% 구배 조건을 80분간 유지하였고, 유속은 4 mL/min으로 설정하였음.
- 210 nm 파장에서 검출하여 분리를 진행함.

3.2.3.14.2. 표적 대사체의 분리 정제 결과

- 표적 대사체의 분리 정제 결과, 대량배양 추출물에서 분자량 1125의 대사체를 분리함(그림 106).

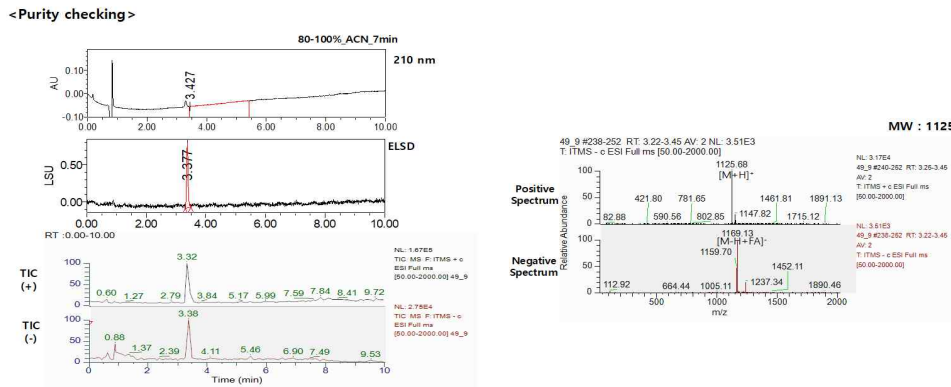


그림 106. 표적 대사체의 분리 정제 결과

3.2.3.14.3. 표적 대사체의 구조 규명

- 표적 대사체의 구조를 규명하기 위해 ^1H NMR을 측정함(그림 107).

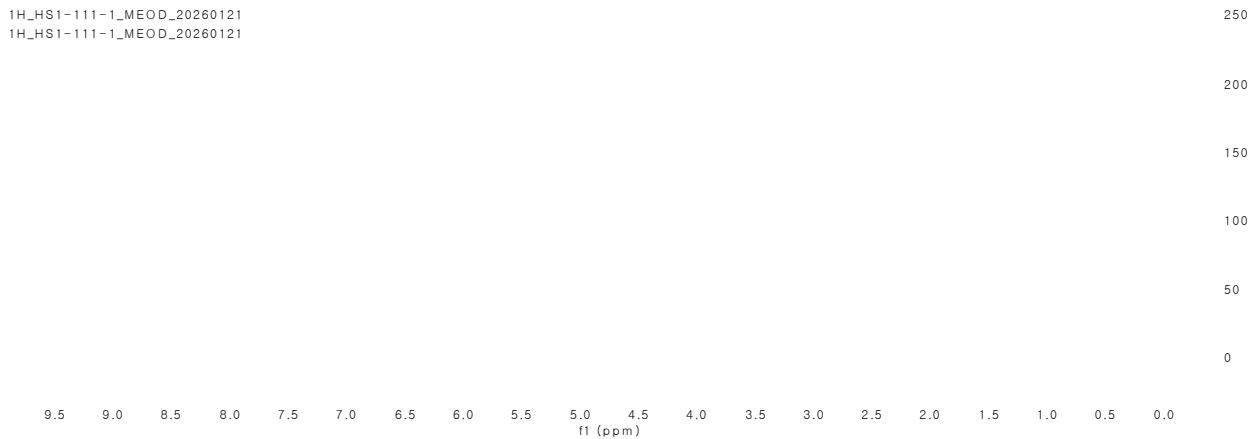


그림 107. 표적 대사체의 ^1H NMR 측정결과

- 표적 대사체의 구조를 규명하기 위해 추가적으로 MS/MS fragment 분석을 실시함(그림 108).

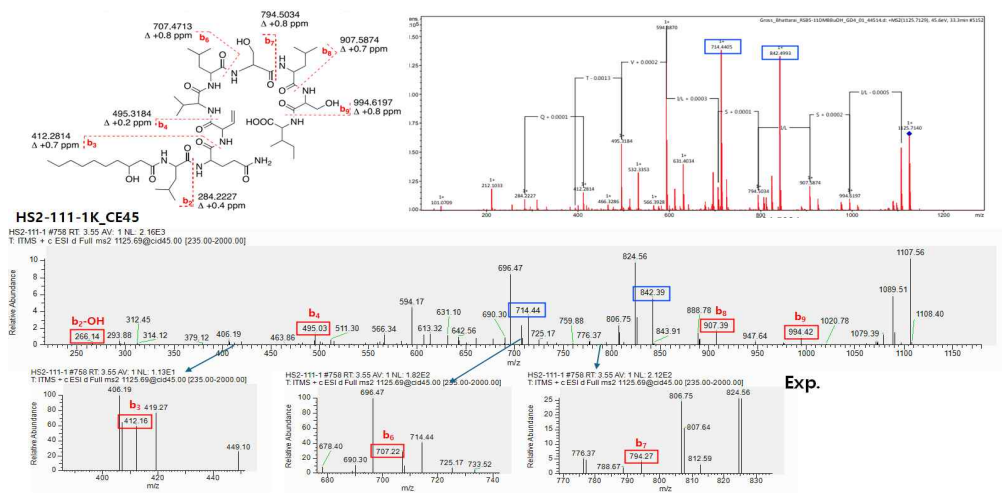


그림 108. 표적 대사체의 MS/MS fragment 분석 결과

- ^1H NMR data와 MS/MS fragment 분석 결과를 바탕으로 표적 대사체가 Pseudodesmin A로 규명함(그림 109).

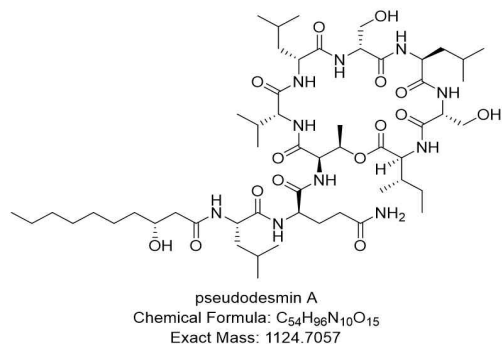


그림 109. 표적 대사체의 구조 규명결과

- Pseudodesmin A는 HIV1, VZV의 antiviral 활성과 antimicrobial 활성이 보고된 바 있음. (Bhattarai et al. *J. Nat. Prod.* **2025**, 88(4), 1012–1022; <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5c00084>)

3.2.4. 2차 시료 결론

- 2024년 7월 극지연구소로부터 수령한 극지 유래 박테리아 11종에 대해 UPLC-MS/ELSD를 이용하여 추출물의 대사체 분석을 실시함.
- 분석결과를 기반으로 문헌조사를 수행하고 de-replication 및 Molecular Networking 분석을 진행한 결과, 11종 중 3종의 박테리아를 선별하여 대량배양을 실시함.
- 선별된 3종의 박테리아에 대한 Molecular Networking 분석 및 UPLC-MS/ELSD 분석 결과를 바탕으로 1종 박테리아의 표적 대사체를 선정한 후 preparative HPLC를 통해 분리 정제를 진행함.
- 분리된 표적 대사체를 ^1H NMR 분석과 MS/MS fragment 분석을 통해 구조를 규명함.
- 분리된 표적 대사체의 활성을 문헌조사를 통해 확인한 결과, antiviral 활성 및 antimicrobial 활성이 보고된 바 있음을 확인함.
- 분리한 Pseudodesmin A는 de-replication 결과의 후보 대사체 목록에는 포함되었으나 Molecular Networking library에는 포함되지 않아 신규 대사체 분리를 목적으로 분리를 진행하였으나, 구조 규명 결과 기지 대사체로 확인됨.

3절. 3차 시료 연구개발 수행 내용 및 결과

3.3.1. 3차 시료 확보

- 2024년 11월 극지연구소로부터 극지 유래 박테리아 총 2종을 수령함(표3, 4).

KUNP code	미생물 번호 (stock No.)	샘플 번호 (Sample No.)	종 (Identification)	배지 배양온도15℃
YU2-158-1	020803#5 A11	20803	<i>Methylobacterium brachiatum</i>	R2A
YU2-158-2	022601#5 H5	22601	<i>Loktanella</i> sp.	MB

표 3. 2024년 11월 극지연구소로부터 수령한 2종의 극지 유래 박테리아 리스트

KUNP Code	HaCat (normal cell)	A549 (폐암)	MKN74 (위암)	PANC1 (췌장암)	HeLa (자궁경부암)	HCT116 (대장암)	Huh7 (간암)	A376 (피부암)	HS578T (유방암)	등급 (grade) (A,B,C)
YU2-172-1	43.0838 1732	37.9386 5979	32.988 12547	32.9831 2547	44.2153028	15.37439 14	22.54265 09	52.6266 197	53.626843 47	A
YU2-172-2	40.1146 5486				43.00588049	28.77836 13	38.25060 193	53.6268 4347	-	B

표 4. 2024년 11월 극지연구소로부터 수령한 총 2종의 극지 유래 박테리아의 항암활성 결과(극지연구소)

3.3.2. 3차 시료 분석 방법 확립

3.3.2.1. 극지 미생물의 추출물 제조

- 총 2종의 극지 유래 박테리아를 R2A broth 및 MB broth에서 15℃ 조건으로 전 배양한 후, 본 배양액의 1/100 양을 본 배양액에 접종함. 배양은 각각 7일 및 14일 동안 진행함(그림 110).

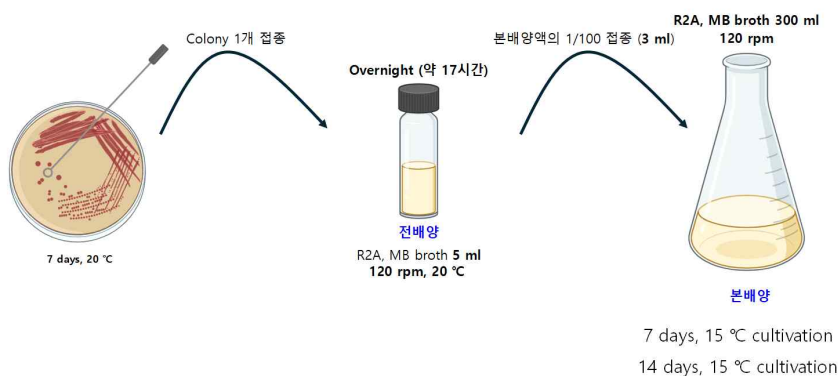


그림 110. 극지 유래 박테리아 배양 방법

3.3.2.2. LC/MS 대사체 분석조건 및 Molecular Networking 분석조건 확립

- 배양된 박테리아는 MeOH를 이용하여 추출하고, 여과, 농축 과정을 수행함. 이후 농축된 추출물을 증류수에 현탁시킨 후, 동일한 양의 EtOAc를 이용하여 용매분획을 실시함.
- 확보한 추출물은 MeOH에 녹인 후 0.2 μm membrane filter를 이용해 여과함. 이후 UPLC-MS/ELSD를 활용한 분석을 통해 대사체가 충분히 분리되고 검출될 수 있는 최적의 분석 조건을 확립함(그림 111).

UHPLC conditions				
Instrument	Waters ACQUITY UPLC			
Column	ACQUITY UPLC BEH C18 (100 x 2.1 mm x 1.7 μm)			
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: Acetonitrile	Time (min)	A	B
		0	80.0	20.0
Flow rate	0.3 mL/min	7.0	0.0	100.0
		8.5	0.0	100.0
Column temp.	35 °C	8.6	80.0	20.0
		10.0	80.0	20.0
Injection concentration	1.0 mg/mL			
Injection volume	2.0 μL			
MS/MS conditions				
Instrument	ThermoFisher LCQ Fleet ion trap MS			
Scan mode	Positive & Negative			
Mass Range	m/z 50-2000	Sheath gas flow rate	50.0	
Normalized collision energy	35.0	Aux gas flow rate	30.0	
Capillary Temp.	275 °C	Spray voltage	3.5 kV	
Capillary voltage	35.0 V	Tube lens	50.0 V	

그림 111. 최적의 UPLC-MS/ELSD 분석 조건 3

3.3.3. 3차 시료 연구개발 수행 결과

- 극지연구소로부터 수령한 2종의 극지유래 박테리아 추출물에 대한 분석을 진행함.
- 박테리아를 접종하지 않은 R2A broth 및 MB broth에 대한 분석도 함께 수행하여, 해당 배지에서 공통적으로 나타나는 peak을 제외한 대사체 분석을 진행함.

3.3.3.1. YU2-158-1 (020803_#5_A11, *Methylobacterium brachiatum*)

3.3.3.1.1. 문헌조사 결과

- Methylobacterium brachiatum* : phyllosphere
- 분류 : *Methylobacterium*-Methylobacteriaceae-Hyphomicrobiales-Alphaproteobacteria-Alphaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과 : *Methylobacterium brachiatum*에 대해 58(Scifinder), 0(Reaxys), *Methylobacterium* sp.에 대해 5,192(Scifinder), 4(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.3.3.1.2 UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 112—115).

✓ YU2-158-1 (*Methylobacterium brachiatum*)_TIC (+)

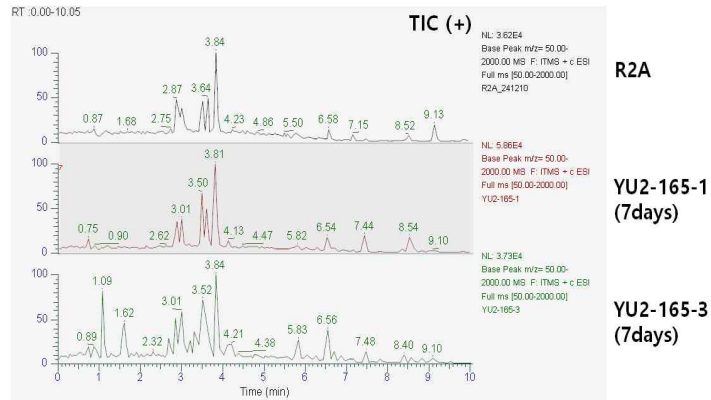


그림 112. YU2-158-1 균주 추출물 분석결과 (MS)

✓ YU2-158-1 (*Methylobacterium brachiatum*)_PDA

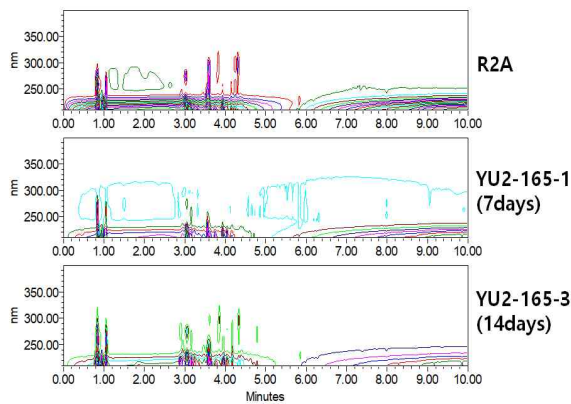


그림 113. YU2-158-1 균주 추출물 분석결과 (PDA)

✓ YU2-158-1 (*Methylobacterium brachiatum*)_254 nm

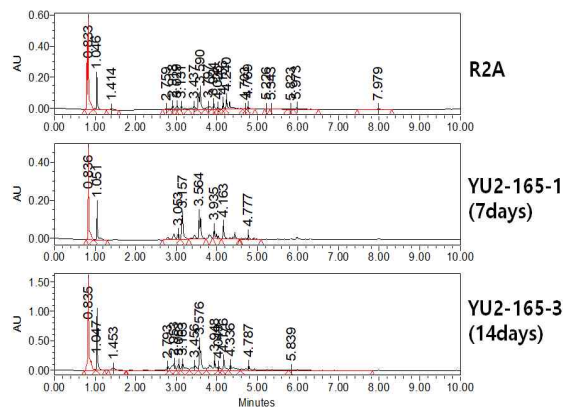


그림 114. YU2-158-1 균주 추출물 분석결과 (254 nm)

✓ YU2-158-1 (*Methylobacterium brachiatum*)_ELSD

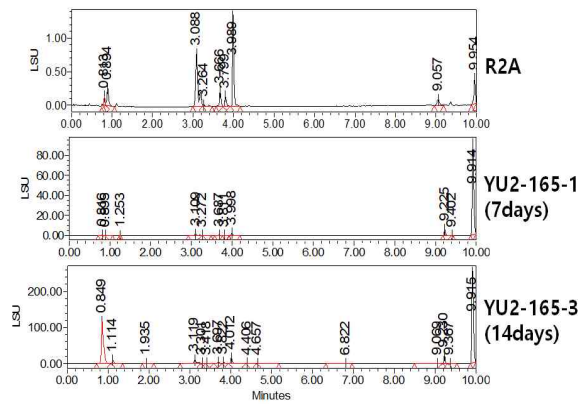


그림 115. YU2-158-1 균주 추출물 분석결과 (ELSD)

3.3.3.1.3. 대사체 de-replication 결과

- R2A broth배지와 YU2-158-1 균주를 접종한 추출물을 비교 분석한 결과, 특이적으로 생산되는 대사체는 확인되지 않음.
- 따라서, 추가적인 대량 배양 진행은 하지 않음.

3.3.3.2. YU2-158-2 (022601_#5_H5, *Loktanella* sp.)

3.3.3.2.1. 문헌조사 결과

- *Loktanella* sp. : algicidal bacteria
- 분류: *Loktanella*-Rhodobacteraceae-Rhodobacterales-Alphaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Loktanella* sp.에 대해 307(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.3.3.2.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 116—119).

✓ YU2-158-2 (*Loktanella* sp.)_TIC (+)

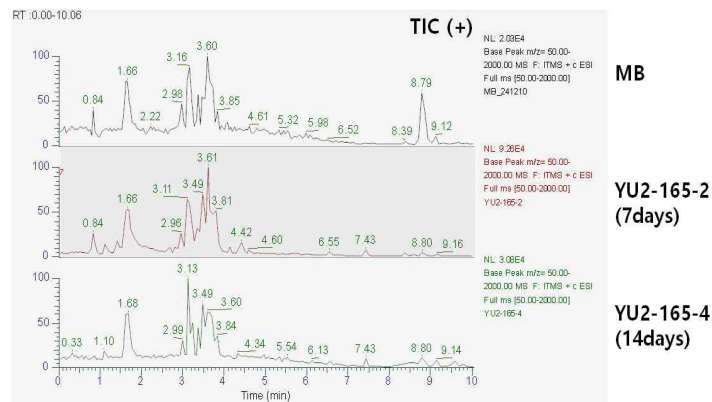


그림 116. YU2-158-2 균주 추출물 분석결과 (MS)

✓ YU2-158-2 (*Loktanelia* sp.)_PDA

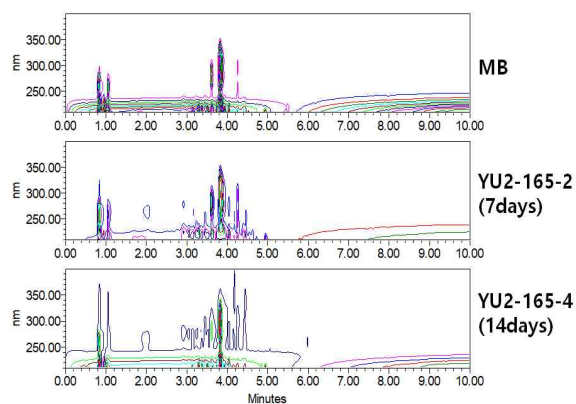


그림 117. YU2-158-2 균주 추출물 분석결과 (PDA)

✓ YU2-158-2 (*Loktanelia* sp.)_254 nm

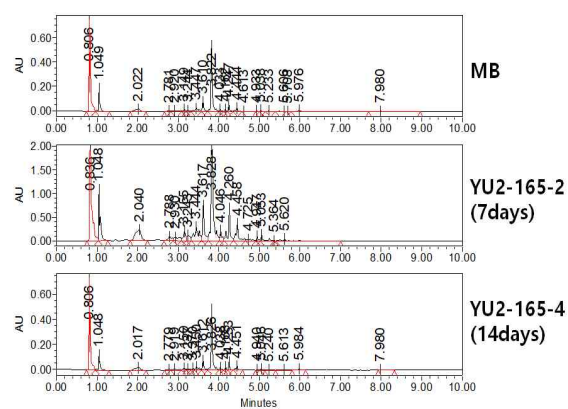


그림 118. YU2-158-2 균주 추출물 분석결과 (254 nm)

✓ YU2-158-2 (*Loktanelia* sp.)_ELSD

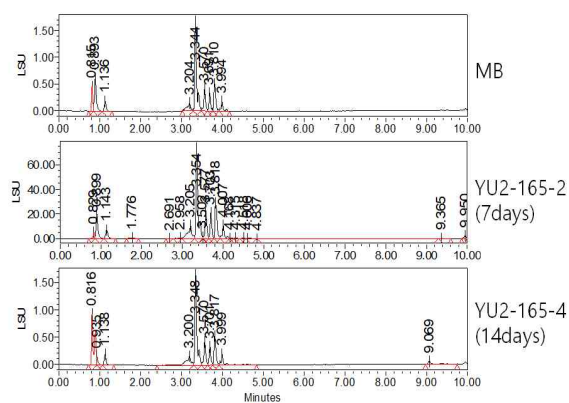


그림 119. YU2-158-2 균주 추출물 분석결과 (ELSD)

3.3.3.2.3. 대사체 de-replication 결과

- MB broth배지와 YU2-158-2 균주를 접종한 추출물을 비교 분석한 결과, 특이적으로 생산되는 대사체는 확인되지 않음.

3.3.3.4. 3차 시료 결론

- 2024년 11월 시료 MS 분석 결과, 대량 배양을 진행할 신규 활성 대사체 분리 가능성이 높은 균주는 선정하지 못함.
- 따라서, 추가적인 대량 배양 진행은 하지 않음.

4절. 4차 시료 연구개발 수행 내용 및 결과

3.4.1. 4차 시료 확보

- 2025년 1월에 극지연구소로부터 극지 유래 곰팡이 총 4종을 수령함(표 5, 6).

KUNP Code	미생물 번호 (Stock No.)	종 (Identification)	배지 (Media)
YU2-172-1	KS40003	<i>Tolypocladium</i> sp.	PDA
YU2-172-2	KS40006	<i>Aspergillus terreus</i>	PDA
YU2-172-3	KS40021	<i>Cladosporium perangustum</i>	PDA
YU2-172-4	KS40026	<i>Cladosporium</i> sp.	PDA

표 5. 2025년 1월 극지연구소로부터 수령한 총 4종의 극지 유래 곰팡이 리스트

KUNP Code	HaCat (normal cell)	A549 (폐암)	MKN74 (위암)	PANC1 (췌장암)	HeLa (자궁경부암)	HCT116 (대장암)	Huh7 (간암)	A376 (피부암)	HS578T (유방암)
YU2-172-1	○	-	-	-	○	X	X	○	○
YU2-172-2	○	-	-	-	○	○	X	○	○
YU2-172-3	○	-	-	-	○	○	X		○
YU2-172-4	○	-	-	-	○	X	X	○	○

• 항암 (cell death 50% 이상) ○

표 6. 2025년 1월 극지연구소로부터 수령한 총 4종의 극지 유래 곰팡이의 항암활성 결과
(극지연구소)

3.4.2. 4차 시료 분석 조건 확립

3.4.2.1. 극지 미생물의 추출물 제조

- 배양된 곰팡이는 MeOH를 이용하여 추출하고, 여과, 농축 과정을 수행함. 이후 농축된 추출물을 증류수에 현탁 시킨 후, 동일한 양의 EtOAc를 이용하여 용매분획을 실시함.

3.4.2.2. LC/MS 대사체 분석 조건 확립

- 확보한 추출물은 MeOH에 녹인 후 0.2 µm membrane filter를 이용해 여과함. 이후 UPLC-MS/ELSD를 활용한 분석을 통해 대사체가 충분히 분리되고 검출될 수 있는 최적의 분석 조건을 확립함(그림 120).

UHPLC conditions				
Instrument	Waters ACQUITY UPLC			
Column	ACQUITY UPLC BEH C18 (100 x 2.1 mm x 1.7 μm)			
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: Acetonitrile	Time (min)	A	B
		0	80.0	20.0
Flow rate	0.3 mL/min	7.0	0.0	100.0
		8.5	0.0	100.0
Column temp.	35 °C	8.6	80.0	20.0
		10.0	80.0	20.0
Injection concentration	1.0 mg/mL			
Injection volume	2.0 μL			
MS/MS conditions				
Instrument	ThermoFisher LCQ Fleet ion trap MS			
Scan mode	Positive & Negative			
Mass Range	m/z 50-2000	Sheath gas flow rate	50.0	
Normalized collision energy	35.0	Aux gas flow rate	30.0	
Capillary Temp.	275 °C	Spray voltage	3.5 kV	
Capillary voltage	35.0 V	Tube lens	50.0 V	

그림 120. 최적의 UPLC-MS/ELSD 분석 조건 4

3.4.3. 4차 시료 연구개발 수행 결과

- 2025년 1월에 극지연구소로부터 수령한 4종의 극지 유래 곰팡이 추출물에 대한 분석을 진행함.

3.4.3.1. YU2-172-1 (KS40003, *Tolypocladium* sp.)

3.4.3.1.1. 문헌조사 결과

- Tolypocladium* sp. : endophytes
- 분류:
Tolypocladium-Ophiocordycipitaceae-Hyporeales-Sordariomycetes-Ascomycota-Fungi
- DB searching 결과, *Tolypocladium* sp에 대해 885(Scifinder), 122(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.4.3.1.2 UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 121).

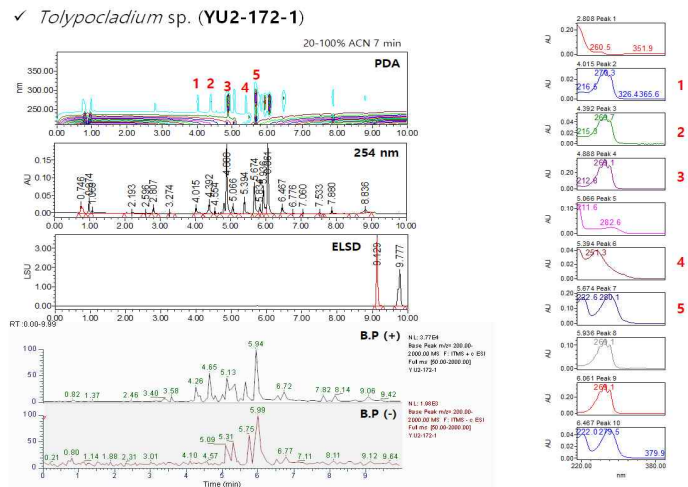


그림 121. YU2-172-1 추출물 분석결과

3.4.3.1.3. 대사체 de-replication 결과(그림 122—126).

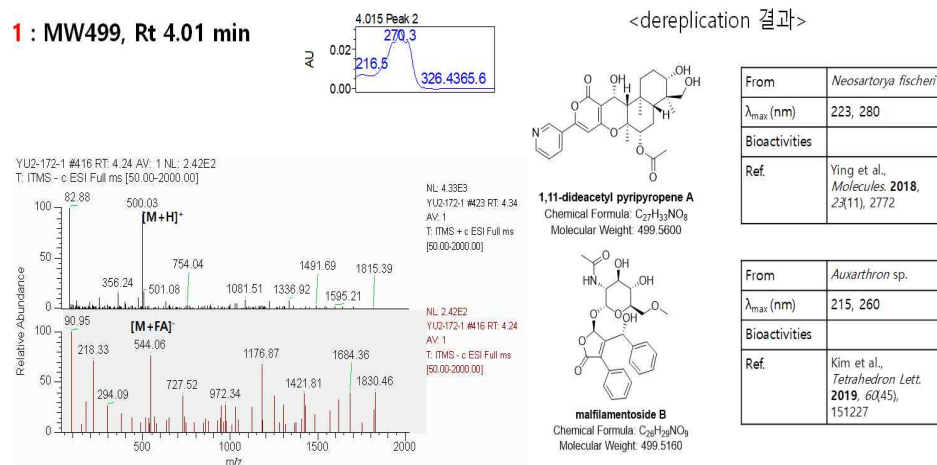


그림 122. YU2-172-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

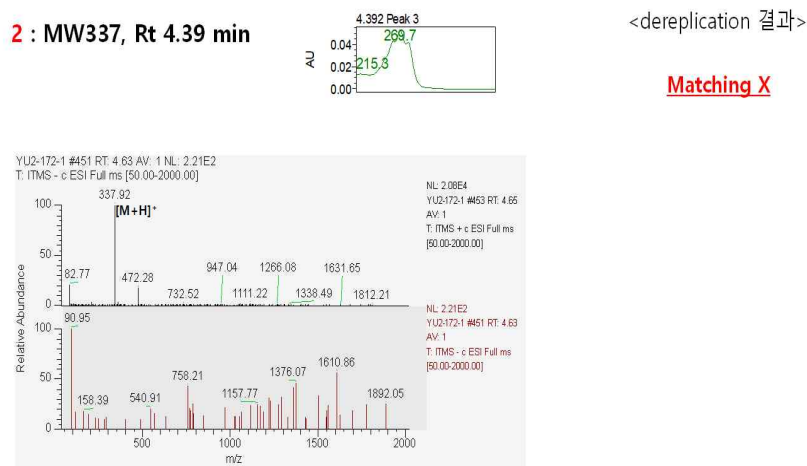


그림 123. YU2-172-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3 : MW277, Rt 4.88 min

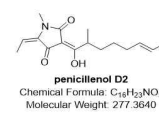


✓ Penicillenol D1, D2 cytotoxicity
Ref. Chen et al., *Heterocycles*. **2015**, 97(5), p. 1007-1016
<https://doi.org/10.3987/com-15-13178>

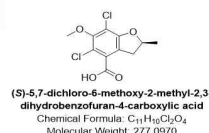
<dereplication 결과>



From	<i>Penicillium citrinum</i>
λ_{max} (nm)	264
Bioactivities	A-549 (배양), HL-60 (백혈병)
Ref.	Chen et al., <i>Heterocycles</i> . 2015 , 97(5), 1007-1016



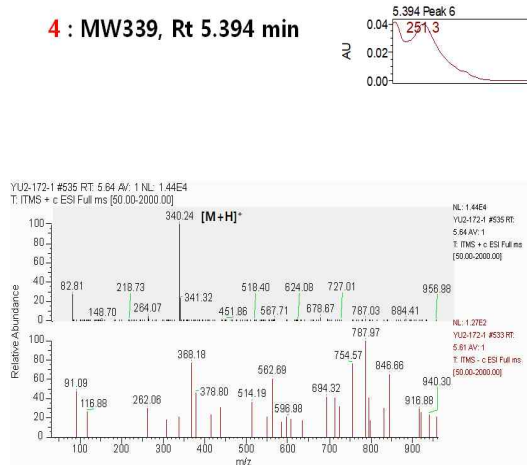
From	<i>Penicillium citrinum</i>
λ_{max} (nm)	264
Bioactivities	A-549 (배양), HL-60 (백혈병)
Ref.	Chen et al., <i>Heterocycles</i> . 2015 , 97(5), 1007-1016



From	foliar endophytes fungi <i>Pinus strobus</i>
λ_{max} (nm)	268
Bioactivities	
Ref.	Richardson et al., <i>Phytochem.</i> 2015 , 117, 436-443

그림 124. YU2-172-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

4 : MW339, Rt 5.394 min



<dereplication 결과>



From	<i>Tolypocladium cylindrosporum</i>
λ_{max} (nm)	213, 252
Bioactivities	
Ref.	Wu et al., <i>Mar. Drugs</i> . 2014 , 12(3), 1208-1219

그림 125. YU2-172-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

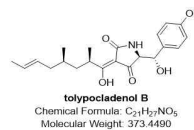
5 : MW373, Rt 5.67 min



✓ Equisetin cytotoxicity
Ref. Prama et al., *J. Antibiot.* **2010**, 63(4), 195-198
<https://doi.org/10.1038/ja.2010.8>

✓ Aszonalenin cytotoxicity
Ref. Eamvijarn et al., *Tetrahedron*, **2013**, 69(40), 8583-8591
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.07.078>

<dereplication 결과>



From	<i>Tolypocladium cylindrosporum</i>
λ_{max} (nm)	227, 280, 335
Bioactivities	
Ref.	Li et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2015 , 78(9), 2155-2160



From	<i>Fusarium equiseti</i>
λ_{max} (nm)	230, 295
Bioactivities	P388 (백혈병)
Ref.	Taman et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2013 , 76(9), 1709-1716



From	<i>Aspergillus zonatus</i> IFO 8817
λ_{max} (nm)	210, 290
Bioactivities	MCF-7 (유방암), NCI-H460 (폐암), A379-C5 (피부암)
Ref.	Kimura et al., <i>Tetrahedron lett.</i> 1982 , 23(2), 225-228

그림 126. YU2-172-1 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 5

3.4.3.2. YU2-172-2 (KS40006, *Aspergillus terreus*)

3.4.3.2.1. 문헌조사 결과

- *Aspergillus terreus* : found worldwide in soil
- 분류: *Aspergillus*-Aspergillaceae-Eurotiales-Eurotiomycetes-Ascomycota-Fungi
- DB searching 결과, *Aspergillus terreus*에 대해 7,301 (Scifinder), 482 (Reaxys), *Aspergillus* sp.에 대해 182,912 (Scifinder), 4,730 (Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.4.3.2.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 127).

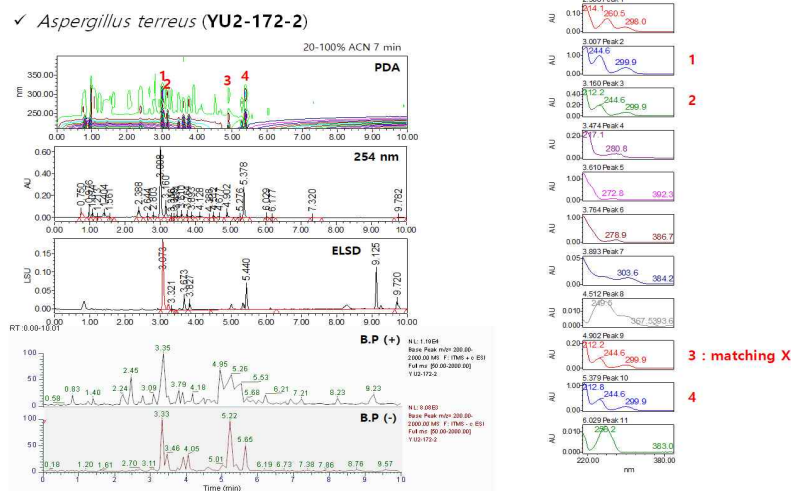


그림 127. YU2-172-2 추출물 분석결과

3.4.3.2.3. 대사체 de-replication 결과(128—131).

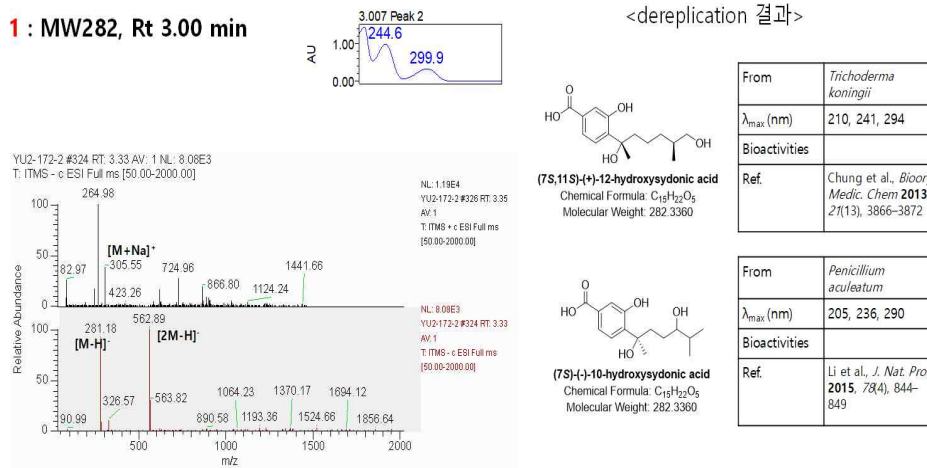
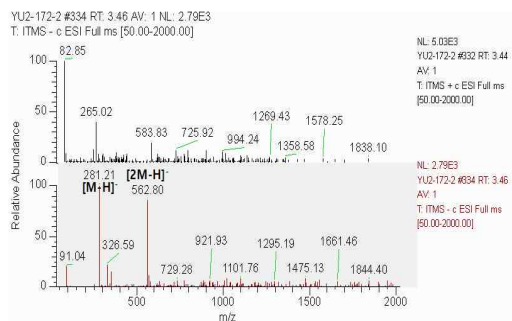
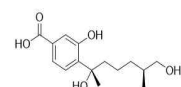


그림 128. YU2-172-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW282, Rt 3.16 min

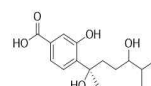


<dereplication 결과>



(7S,11S)-(+)-12-hydroxysydonic acid
Chemical Formula: $C_{15}H_{22}O_5$
Molecular Weight: 282.3360

From	<i>Trichoderma koningii</i>
λ_{max} (nm)	210, 241, 294
Bioactivities	
Ref.	Chung et al., <i>Bioorg. Medic. Chem</i> 2013 , 21(13), 3866–3872

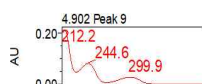


(7S)-(-)-10-hydroxysydonic acid
Chemical Formula: $C_{15}H_{22}O_5$
Molecular Weight: 282.3360

From	<i>Penicillium aculeatum</i>
λ_{max} (nm)	205, 236, 290
Bioactivities	
Ref.	Li et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2015 , 78(4), 844–849

그림 129. YU2-172-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3 : MW557, Rt 4.90 min



<dereplication 결과>

Matching X

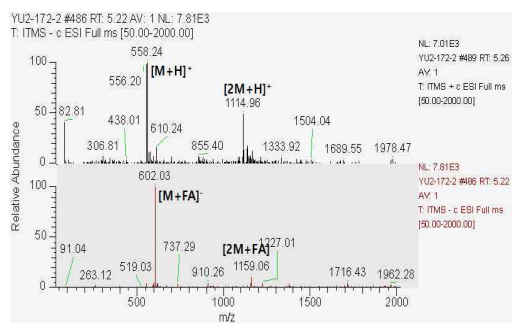
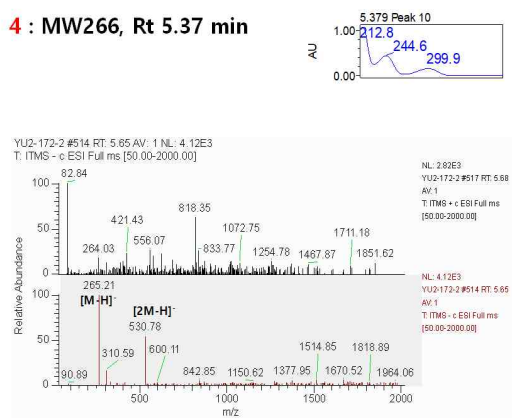


그림 130. YU2-172-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

4 : MW266, Rt 5.37 min



✓ Sydnonic acid cytotoxicity
Ref. Li, et al. *Mar. Drugs* **2012**, *10*(1), 234–241
<https://doi.org/10.3390/md10010234>

<dereplication 결과>



From	<i>Penicillium aculeatum</i>
λ_{max} (nm)	205, 236, 290
Bioactivities	A549 (백암)
Ref.	Li et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2015 , <i>78</i> (4), 844–849

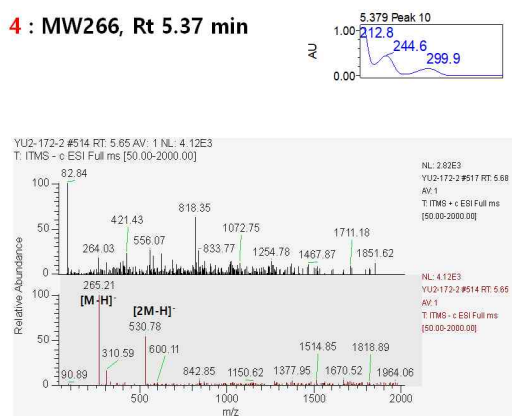


From	<i>Penicillium</i> sp. TGM112
λ_{max} (nm)	220, 245, 310
Bioactivities	
Ref.	Bai et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2019 , <i>82</i> (5), 1155–1164



From	<i>Penicillium</i> sp. TGM112
λ_{max} (nm)	220, 246, 310
Bioactivities	
Ref.	Bai et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2019 , <i>82</i> (5), 1155–1164

4 : MW266, Rt 5.37 min



<dereplication 결과>



From	<i>Emmericella varicolor</i> XSA-07-2
λ_{max} (nm)	220, 251, 294
Bioactivities	
Ref.	Wu et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2015 , <i>78</i> (10), 2461–2470

그림 131. YU2-172-2 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

3.4.3.3. YU2-172-3 (KS40021, *Cladosporium perangustum*)

3.4.3.3.1. 문헌조사 결과

- *Cladosporium perangustum* : marine sediment-derived fungus
- 분류: *Cladosporium*-Cladosporiaceae-Cladosporiales-Dothiomycetes-Ascomycota-Fungi
- DB searching 결과, *Cladosporium perangustum*에 대해 31(Scifinder), 6(Reaxys), *Cladosporium* sp.에 대해 14,414(Scifinder), 228(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.4.3.3.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 132).

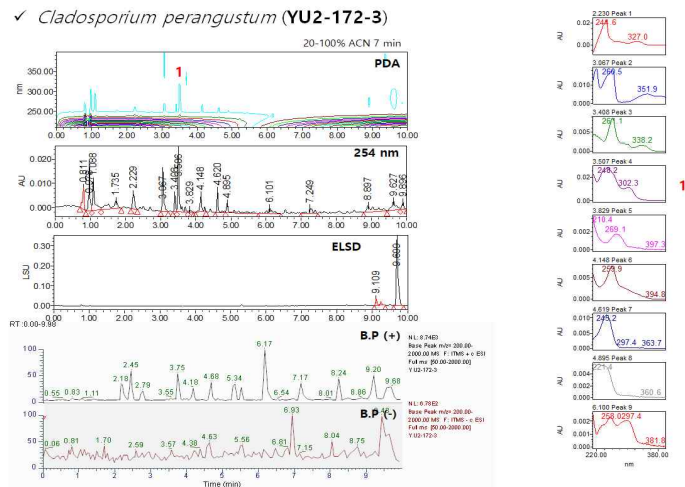


그림 132. YU2-172-3 추출물 분석결과

3.4.3.3.3. 대사체 de-replication 결과(그림 133).

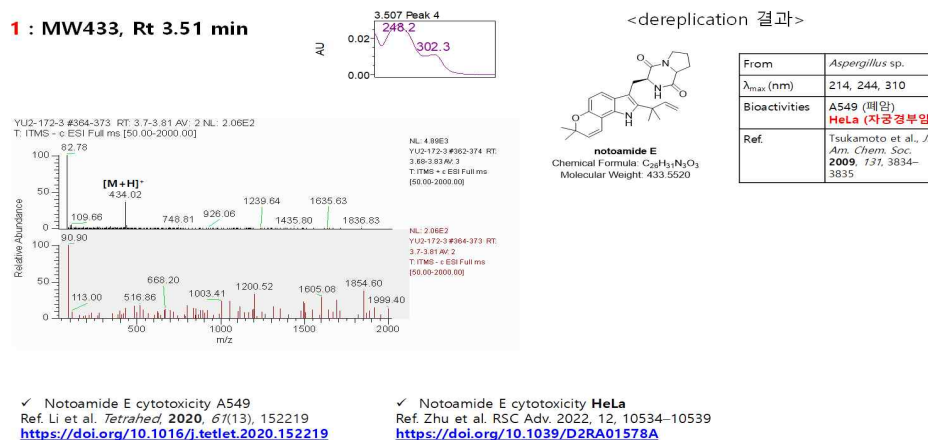


그림 133. YU2-172-3 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.4.3.4. YU2-172-4 (KS40026, *Cladosporium* sp.)

3.4.3.4.1. 문헌조사 결과

- *Cladosporium* sp. : ascomycete fungi
- 분류: *Cladosporium*-Cladosporiaceae-Cladosporiales-Dothiomycetes-Ascomycota-Fungi
- DB searching 결과, *Cladosporium* sp.에 대해 14,414(Scifinder), 228(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.4.3.4.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 134).

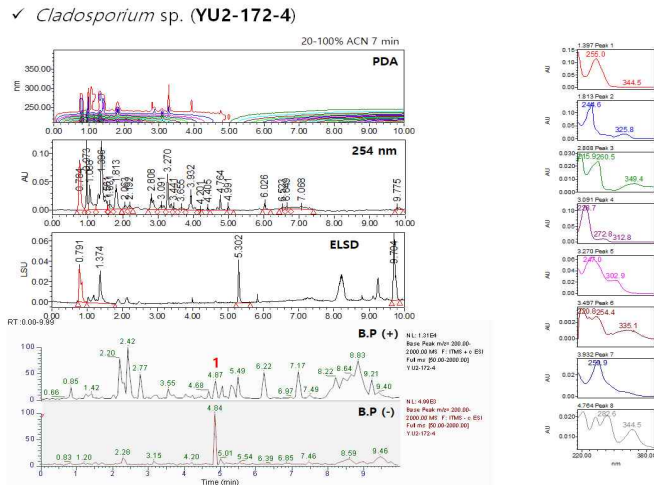


그림 134. YU2-172-4 추출물 분석결과

3.4.3.4.3. 대사체 de-replication 결과(그림 135).

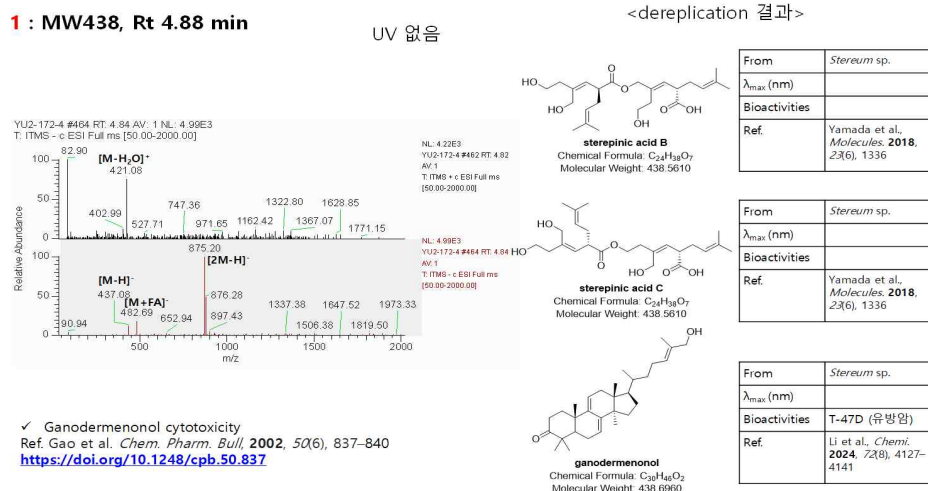


그림 135. YU2-172-4 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.4.4. 추출물 내 항암활성이 있는 예상 대사체 분석 결과

- 2025년 1월, 극지연구소로부터 수령한 극지 유래 곰팡이 4종에 대해 LC-MS를 이용하여 추출물의 대사체 분석을 실시함.
- YU2-172-1 곰팡이 추출물에서 곰팡이 추출물에서 penicillenol D1 및 penicillenol D2가 확인됨. 해당 물질은 A549 및 HL-60 세포주에 대한 항암 활성이 보고된 바 있음. (Chen et al., *Heterocycles*, **2015**, 91(5), 1007-1016; <https://doi.org/10.3987/com-15-13178>)
- 또한, YU2-172-1 곰팡이 추출물에서 equisetin 및 aszonalenin이 확인됨. 해당 물질은 각각 P388 및 MCF-7, NCL-H460, A375-C5 세포주에 대한 항암 활성이 보고된 바 있음. (Prama et al. *J. Antibiot.*, **2010**, 63(4), 95-198; <https://doi.org/10.1038/ja.2010.8>, Eamvijarnet al. *Tetrahedron*, **2013**, 69(40), 8583-8591; <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.07.078>)
- YU2-172-2 곰팡이 추출물에서 sydonic acid가 확인되었으며, 해당 물질은 A549 세포주에

대한 항암활성이 보고된 바 있음. (Li, et al. *Mar. Drugs*, **2012**, 10(1), 234–241;
<https://doi.org/10.3390/md10010234>)

- YU2-172-3 곰팡이 추출물에서 notoamide E가 확인되었으며, 해당 물질은 A549와 HeLa 세포주에 대한 항암활성이 보고된 바 있음. (Li et al. *Tetrahedron*. **2020**, 61(13), 152219; <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.152219>, Zhu et al. *RSC Adv.* **2022**, 12, 10534–10539; <https://doi.org/10.1039/D2RA01578A>)
- YU2-172-4 곰팡이 추출물에서 ganodermenonol이 확인되었으며, 해당 물질은 T-47D 세포주에 대한 항암활성이 보고된 바 있음. (Gao et al. *Chem. Pharm. Bull*, **2002**, 50(6), 837–840; <https://doi.org/10.1248/cpb.50.837>)

3.4.5. 4차 시료 결론

- 2025년 1월 극지연구소로부터 수령한 극지 유래 곰팡이 4종을 UPLC-MS/ELSD를 이용하여 추출물의 대사체 분석을 실시함.
- 분석결과를 기반으로 de-replication을 수행하여 추출물 내 대사체를 예측하였으며, 균주의 항암 활성 데이터와 비교 분석을 통해 일치하는 활성을 보이는 대사체 후보를 선별하고 해당 대사체에 대한 문헌조사를 진행함.
- 대량 배양을 진행할 신규 활성 대사체 분리 가능성이 높은 균주는 선정하지 못함.
- 따라서, 추가적인 대량 배양은 진행하지 않음.

5절. 5차 시료 연구개발 수행 내용 및 결과

3.5.1. 5차 시료 확보

- 2025년 9월 25일, 극지연구소로부터 극지 유래 박테리아 20종을 수령함.

No.	Stock No.	Identification	Type	Temperature	Import institution	Media
1	KS50952	<i>Pseudomonas</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	YS
2	KS50999	<i>Pseudomonas</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	ISP4
3	KS51002	<i>Penicillium</i> sp.	Fungi	25°C	KOPRI (극지연구소)	R2A
4	KS51025	<i>Sphingomonas</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	ISP4
5	KS51071	<i>Pseudomonas</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	YS
6	KS51072	<i>Pseudomonas</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	YS
7	KS51078	<i>Arthrobacter</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	R2A
8	KS51084	<i>Dermaococcus nishinomiyaensis</i>	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	YS
9	KS51089	<i>Caballeronia</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	R2A
10	KS51101	<i>Caballeronia</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	MY
11	KS51124	<i>Enterobacter</i> sp.	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	MY
12	KS51365	<i>Pseudomonas trivialis</i>	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	ZB
13	KS51366	<i>Flavobacterium frigidarium</i>	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	ZB
14	KS51367	<i>Psychrobacter urativorans</i>	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	ZB
15	KS51371	<i>Psychrobacter fozii</i>	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	MB
16	KS51380	<i>Psychrobacter cryohalolentis</i>	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	SZB
17	KS51383	<i>Bacillus subtilis</i>	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	NB
18	KS51389	<i>Psychrobacter cryohalolentis</i>	Bacteria	4°C	KOPRI (극지연구소)	MB
19	KS51430	<i>Paracoccus seriniphilus</i>	Bacteria	4°C	KOPRI (극지연구소)	SZB
20	KS51450	<i>Bacillus cereus</i>	Bacteria	25°C	KOPRI (극지연구소)	MB

표 7. 2025년 9월 극지연구소로부터 수령한 총 20종의 극지 유래 박테리아 리스트

3.5.2. 5차 시료 분석 조건 확립

3.5.2.1. 극지 미생물의 추출물 제조

- YU3-92-1, 2는 자라지 않음.
- 배양된 박테리아는 MeOH를 이용하여 추출하고, 여과, 농축 과정을 수행함. 이후 농축된 추출물을 증류수에 현탁시킨 후, 동일한 양의 EtOAc를 이용하여 용매분획을 실시함(그림 136).

- 극지 유래 박테리아 배양액 추출 방법

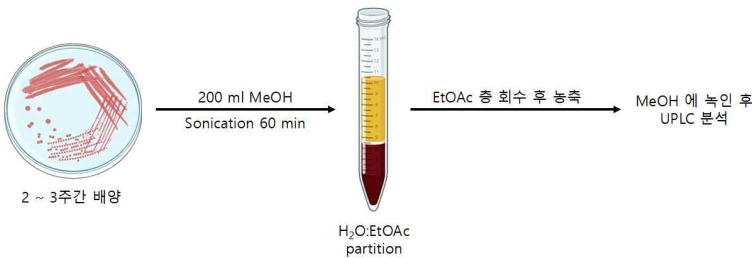


그림 136. 극지 유래 박테리아 배양액 추출 방법

3.5.2.2. LC/MS 대사체 분석조건 확립

- 확보한 추출물은 MeOH에 녹인 후 0.2 μm membrane filter를 이용해 여과함. 이후 UPLC-MS/ELSD를 활용한 분석을 통해 대사체가 충분히 분리되고 검출될 수 있는 최적의 분석 조건을 확립함(그림 137).

UHPLC conditions				
Instrument	Waters ACQUITY UPLC			
Column	AQUITY UPLC BEH C18 (100 x 2.1 mm x 1.7 μm)			
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: Acetonitrile			
		Time (min)	A	B
Flow rate	0.3 mL/min	0	80.0	20.0
		7.0	0.0	100.0
		8.5	0.0	100.0
Column temp.	35 °C	8.6	80.0	20.0
		10.0	80.0	20.0
Injection concentration	1.0 mg/mL			
Injection volume	2.0 μL			
MS/MS conditions				
Instrument	ThermoFisher LCQ Fleet ion trap MS			
Scan mode	Positive & Negative			
Mass Range	m/z 50-2000	Sheath gas flow rate	50.0	
Normalized collision energy	35.0	Aux gas flow rate	30.0	
Capillary Temp.	275 °C	Spray voltage	3.5 kV	
Capillary voltage	35.0 V	Tube lens	50.0 V	

그림 137. 최적의 UPLC-MS/ELSD 분석 조건 5

3.5.2.3. MS/MS 기반 molecular networking 분석을 위한 최적의 parameter 조건 확립함(그림 138).

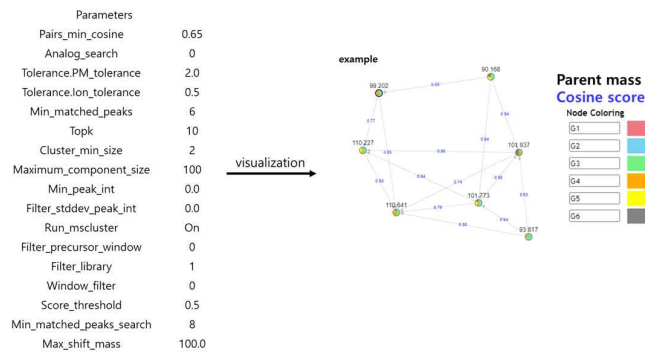


그림 138. Molecular networking 분석을 위한 최적의 parameter 조건 2

3.5.3. 5차 시료 연구개발 수행 결과

- 2025년 9월에 극지연구소로부터 수령한 20종의 극지 유래 곰팡이 추출물에 대한 분석을 진행함.

3.5.3.1. YU3-92-3 (KS50952, *Penicillium* sp.)

3.5.3.1.1. 문헌조사 결과

- *Penicillium* sp. : ascomycetous fungi
- 분류: *Penicillium*-Aspergillaceae-Eurotiales-Eurotiomycetes-Ascomycota-Fungi
- DB searching 결과, *Penicillium* sp.에 대해 37,652(Scifinder), 4,272(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.1.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 139).

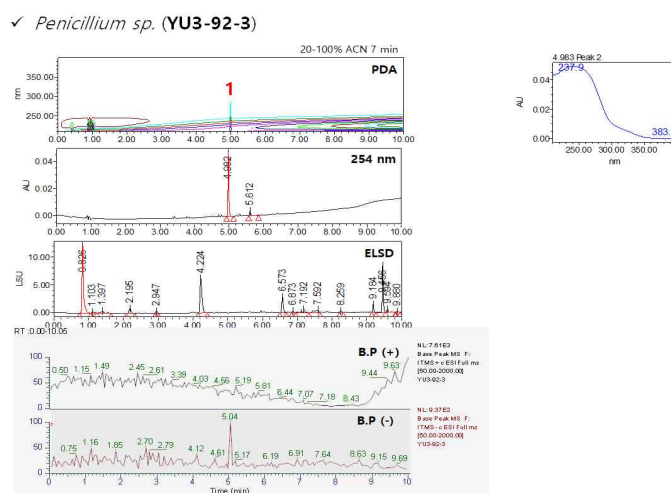


그림 139. YU3-92-3 추출물 분석결과

3.5.3.1.3. 대사체 de-replication 결과(그림 140).

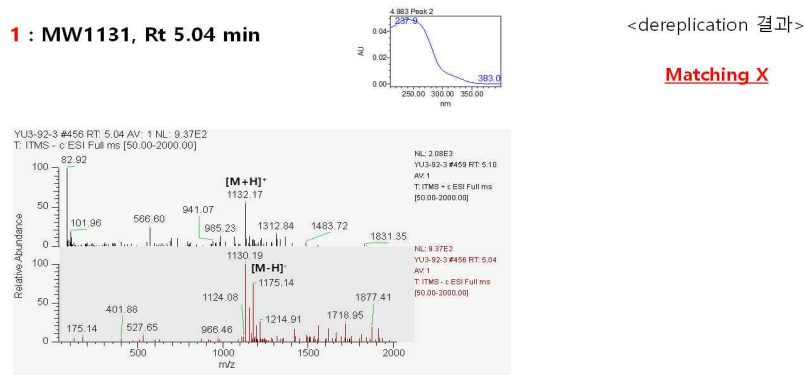


그림 140. YU2-172-4 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.5.3.2. YU3-92-4 (KS51025, *Sphingomonas* sp.)

5.3.2.1. 문헌조사 결과

- *Sphingomonas* sp. : biodegradation and bioremediation
- 분류: *Sphingomonas*-Sphingomonadaceae-Sphingomonadales-Alphaproteobacteria
-Pseudomonadota-Pseudomonadati-Bacteria
- DB searching 결과, *Sphingomonas* sp.에 대해 12,027(Scifinder), 17(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.2.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 141).

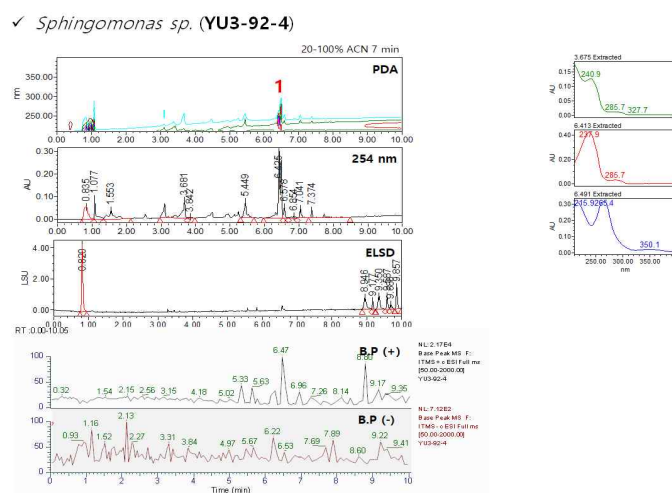


그림 141. YU3-92-4 추출물 분석결과

3.5.3.2.3. 대사체 de-replication 결과(그림 142).

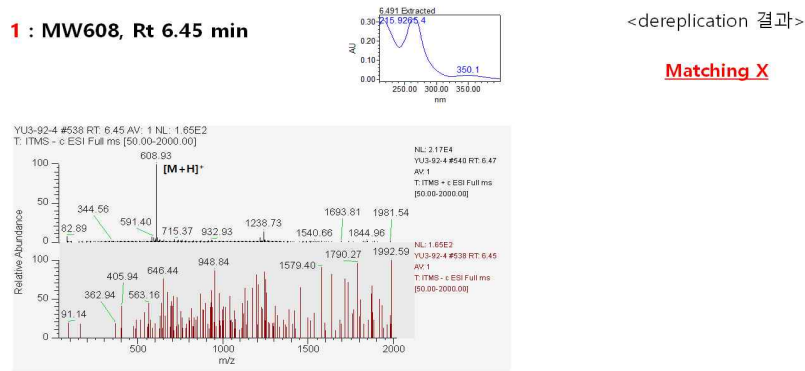


그림 142. YU3-92-4 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.5.3.3. YU3-92-5 (KS51071, *Pseudomonas* sp.)

3.5.3.3.1. 문헌조사 결과

- *Pseudomonas* sp. : widely distributed and play relevant ecological roles, with biotechnological application
- 분류:
Pseudomonas-*Pseudomonadaceae*-*Pseudomonadales*-*Gammaproteobacteria*-*Pseudomonadota*-*Bacteria*
- DB searching 결과, *Pseudomonas* sp.에 대해 205,351(Scifinder), 660(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.3.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 143).

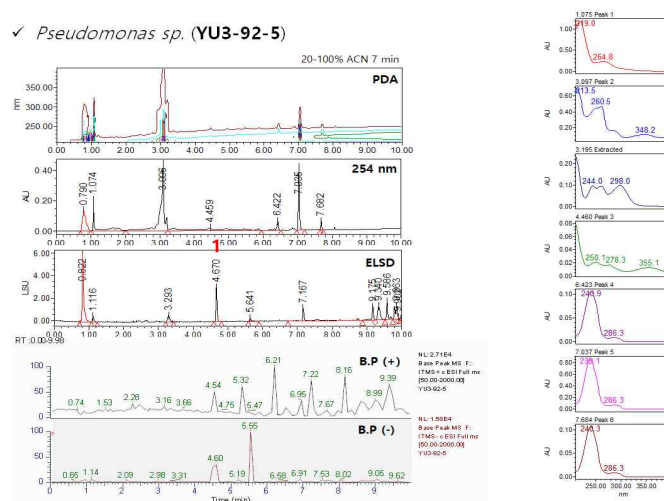


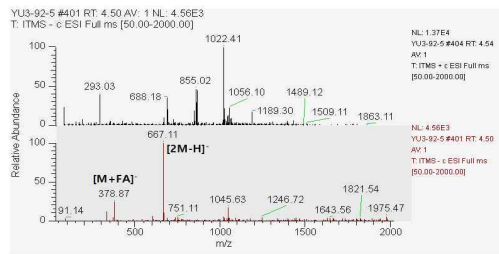
그림 143. YU3-92-5 추출물 분석결과

3.5.3.3 대사체 de-replication 결과(그림 144).

1 : MW334, Rt 4.50 min

UV 없음

<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	Insecticidal (against <i>M. persicae</i>)
Ref.	Wang et al., <i>J. Nat. Prod.</i> 2023 , <i>86</i> (4), 751–796

그림 144. YU3-92-5 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.5.3.4 YU3-92-7 (KS51078, *Arthrobacter* sp.)

3.5.3.4.1. 문헌조사 결과

- *Arthrobacter* sp. : genus of bacteria that is commonly found in soil
- 분류:
Arthrobacter-Micrococcaceae-Micrococcales-Actinomycetes-Actinomycetota-Bacteria
- DB searching 결과, *Arthrobacter* sp.에 대해 9,844(Scifinder), 42(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.4.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 145).

✓ *Arthrobacter* sp. (YU3-92-7)

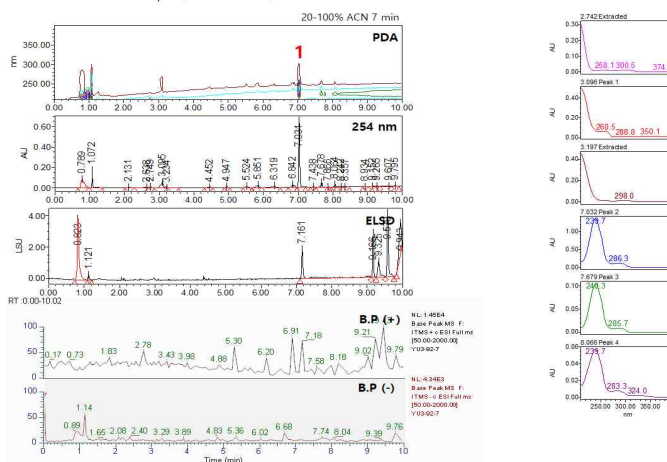


그림 145. YU3-92-7 추출물 분석결과

3.5.3.4.3. 대사체 de-replication 결과(그림 146).

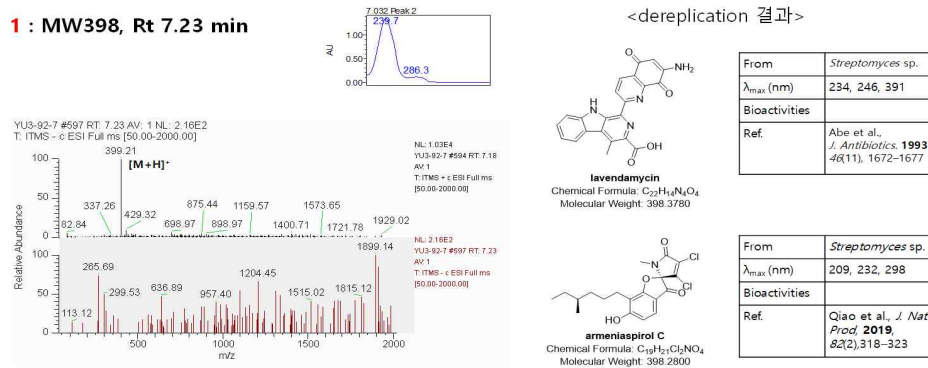


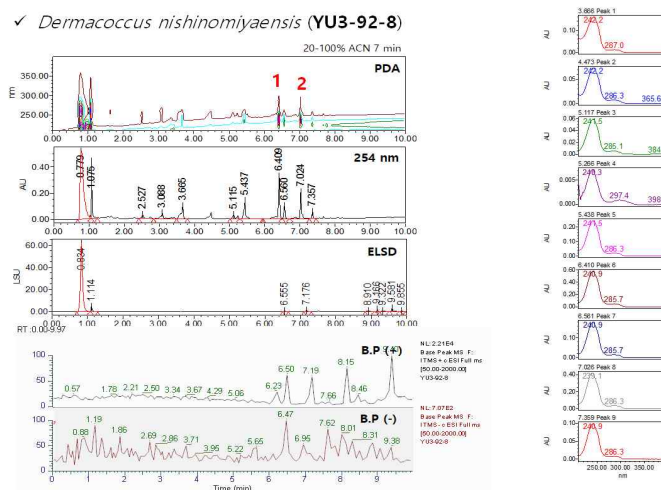
그림 146. YU3-92-7 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.5.3.5. YU3-92-8 (KS51084, *Dermacoccus nishinomiyaensis*)

3.5.3.5.1. 문헌조사 결과

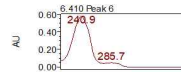
- *Dermacoccus nishinomiyaensis* : gram-positive, cocci-shaped bacterium common on human skin and in diverse environments.
- 분류:
Dermacoccus - Dermacoccaceae - Micrococcales - Actinomycetes - Actinomycetota - Bacteria
- DB searching 결과, *Dermacoccus nishinomiyaensis*에 대해 0(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.5.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 147).



3.5.3.5.3. 대사체 de-replication 결과(그림 148, 149).

1 : MW608, Rt 6.45 min



<dereplication 결과>

Matching X

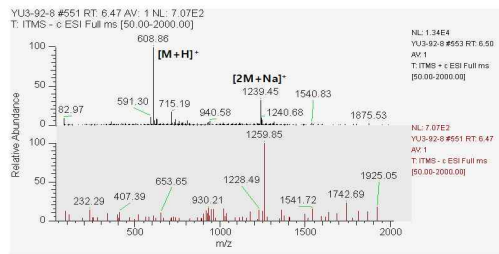
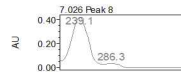


그림 148. YU3-92-8 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW398, Rt 7.23 min



<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	234, 246, 391
Bioactivities	Leukemia, Antitumor (Gastric, Colon, adenocarcinoma)
Ref.	Abe et al., <i>J. Antibiotics</i> . 1993 , 46(11), 1672-1677

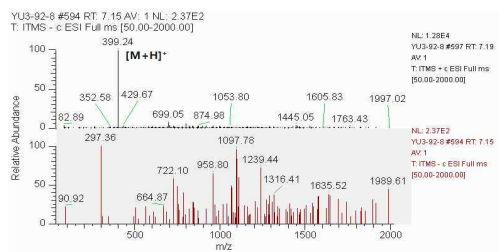


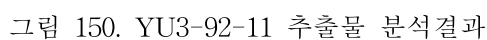
그림 149. YU3-92-8 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3.5.3.6. YU3-92-11 (KS51124, *Enterobacter* sp.)

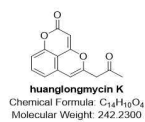
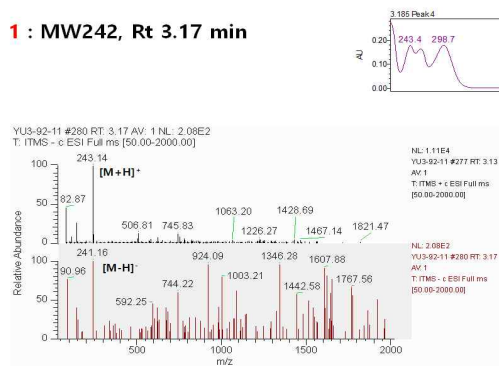
3.5.3.6.1. 문헌조사 결과

- *Enterobacter* sp. : genus of Gram-negative, facultatively anaerobic, rod-shaped, non-spore-forming bacteria
- 분류:
Enterobacter-Enterobacteriaceae-Enterobacterales-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Enterobacter* sp.에 대해 30,812(Scifinder), 16(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

✓ *Enterobacter* sp. (YU3-92-11)



1 : MW242, Rt 3.17 min



<dereplication 결과>

From	<i>Streptomyces</i> sp.
$\lambda_{\max}$ (nm)	243.5, 289.9, 346.8
Bioactivities	Antibacterial
Ref.	Zhu et al., <i>J. Org. Chem.</i> 2021 , 86(23) 16675– 16683

81

3.5.3.7. YU3-92-12 (KS51365, *Pseudomonas trivialis*)

3.5.3.7.1. 문헌조사 결과

- *Pseudomonas trivialis* : fluorescent, Gram-negative bacterium isolated from phyllosphere of grasses
- 분류 : *Pseudomonas*-Pseudomonadaceae-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Pseudomonas trivialis*에 대해 108(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.7.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 152).

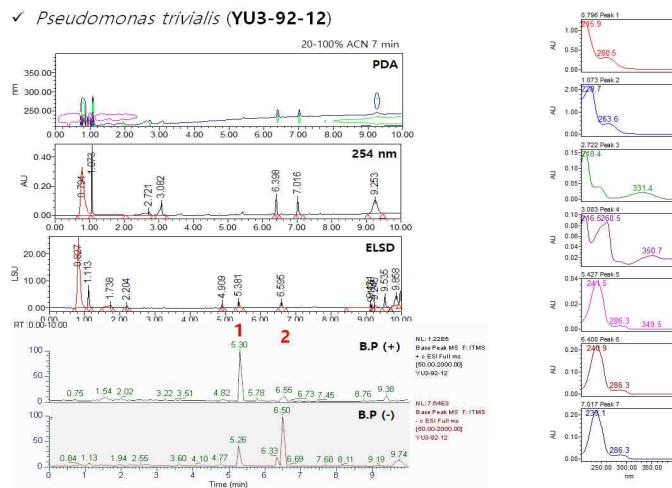
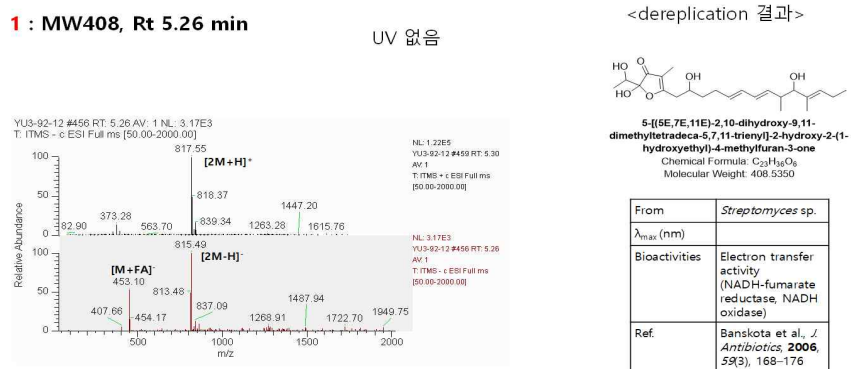


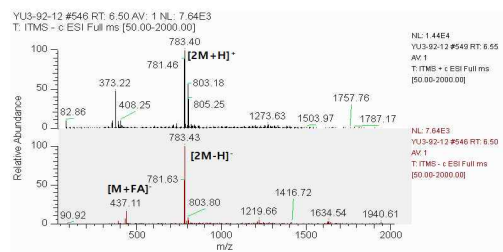
그림 152. YU3-92-12 추출물 분석결과

3.5.3.7.3. 대사체 de-replication 결과(그림 153—156).



1 : MW392, Rt 6.50 min

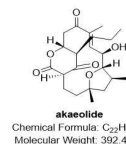
UV 없음



<dereplication 결과>



From	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Argoudelis et al., <i>Biochem</i> , 1965 , 4, 698–701



From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	Antibacterial, Antimicrobial, cytotoxic
Ref.	Igarashi et al., <i>Org. Lett</i> , 2013 , 15(22), 5678–5681

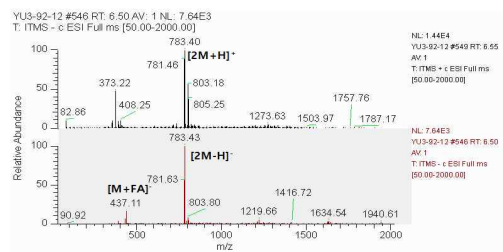


From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Wang et al., <i>J. Nat. Prod.</i> , 2017 , 80(4), 1141–1149

그림 154. YU3-92-12 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

1 : MW392, Rt 6.50 min

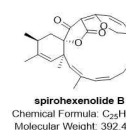
UV 없음



From	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Argoudelis et al., <i>Biochem</i> , 1965 , 4, 698–701



From	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Argoudelis et al., <i>Biochem</i> , 1965 , 4, 698–701

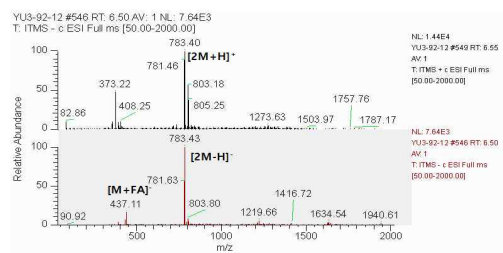


From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Kang et al., <i>J. Org. Chem</i> , 2009 , 74(23), 9054–9061

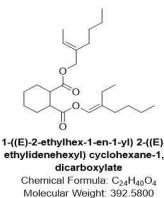
그림 155. YU3-92-12 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 3

1 : MW392, Rt 6.50 min

UV 없음



From	<i>Streptomyces</i> sp.
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	Insecticidal (against <i>M. persicae</i>)
Ref.	Wang et al., <i>J. Nat. Prod.</i> , 2023 , 86(4), 791–796



From	<i>Streptomyces coelicolor</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	Antimicrobial, Antioxidant
Ref.	Raghava et al., <i>J. Biotech</i> , 2017 , 241, 24

그림 156. YU3-92-12 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 4

3.5.3.8. YU3-92-14 (KS51367, *Psychrobacter urativorans*)

3.5.3.8.1. 문헌조사 결과

- *Psychrobacter urativorans* : gram-negative, aerobic, nonmotile bacterium
- 분류 :
Psychrobacter-Moraxellaceae-Pseudomonadales-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Psychrobacter urativorans*에 대해 27(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.8.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 157).

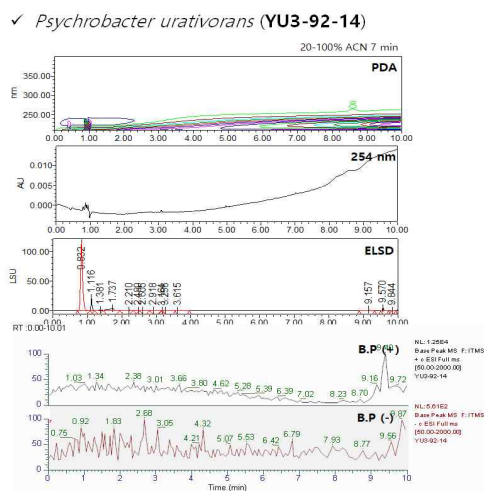


그림 157. YU3-92-14 추출물 분석결과

3.5.3.8.3. 대사체 de-replication 결과

- MS 분석 결과 대사체 없음

3.5.3.9. YU3-92-15 (KS51371, *Psychrobacter fozii*)

3.5.3.9.1. 문헌조사 결과

- *Psychrobacter fozii* : obligate aerobe, psychrophilic, Gram-negative prokaryote that was isolated from sediment
- 분류 :
Psychrobacter-Moraxellaceae-Pseudomonadales-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Psychrobacter fozii*에 대해 33(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.9.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 158).

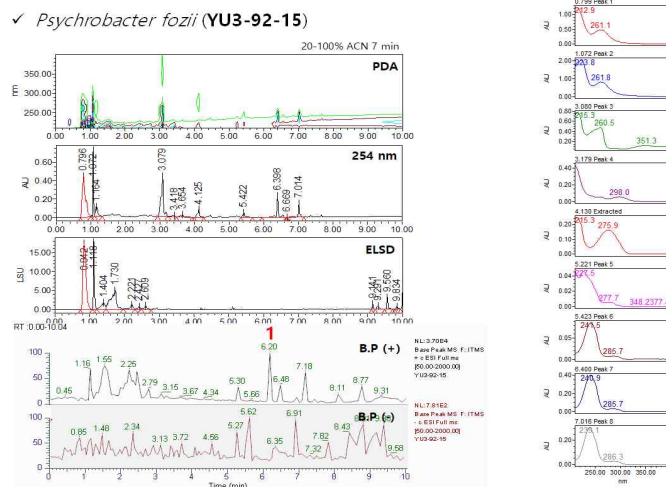


그림 158. YU3-92-15 추출물 분석결과

3.5.3.9.3. 대사체 de-replication 결과(그림 159).

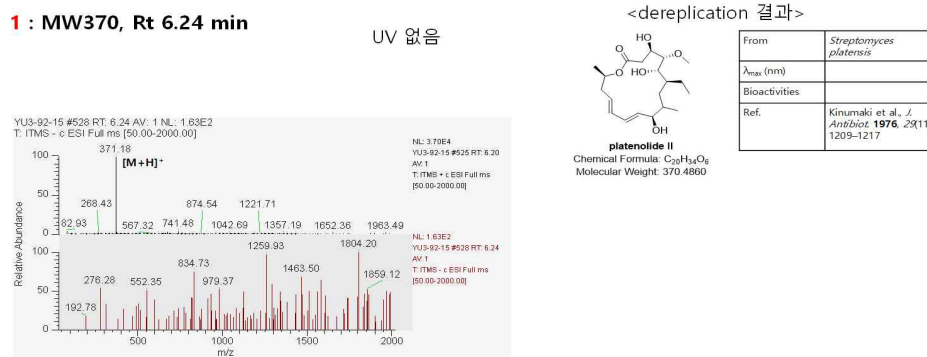


그림 159. YU3-92-15 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.5.3.10. YU3-92-16 (KS51380, *Psychrobacter cryohalolentis*)

3.5.3.10.1. 문헌조사 결과

- *Psychrobacter cryohalolentis* : gram-negative, nonmotile species of bacteria
- 분류 :
Psychrobacter-Moraxellaceae-Pseudomonadales-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Psychrobacter cryohalolentis*에 대해 123(Scifinder), 1(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.10.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 160).

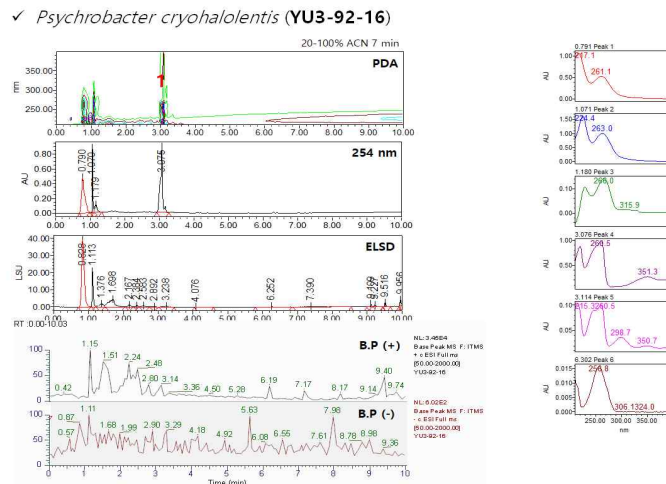


그림 160. YU3-92-16 추출물 분석결과

3.5.3.10.3. 대사체 de-replication 결과(그림 161).

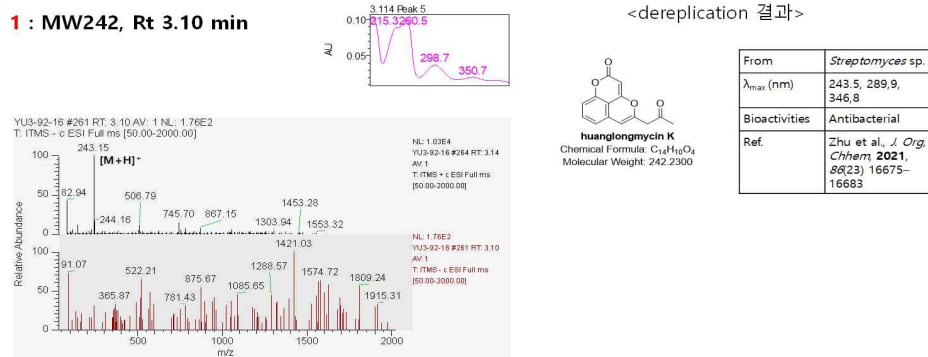


그림 161. YU3-92-16 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

3.5.3.11. YU3-92-17 (KS51383, *Bacillus subtilis*)

3.5.3.11.1. 문헌조사 결과

- *Bacillus subtilis* : gram-positive, catalase-positive bacterium, found in soil and the gastrointestinal tract of ruminants, humans and marine sponges
- 분류 : *Bacillus*-*Bacillaceae*-*Bacillales*-*Bacilli*-*Bacillota*-*Bacteria*
- DB searching 결과, *Bacillus subtilis*에 대해 155,115(Scifinder), 228(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.11.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 162).

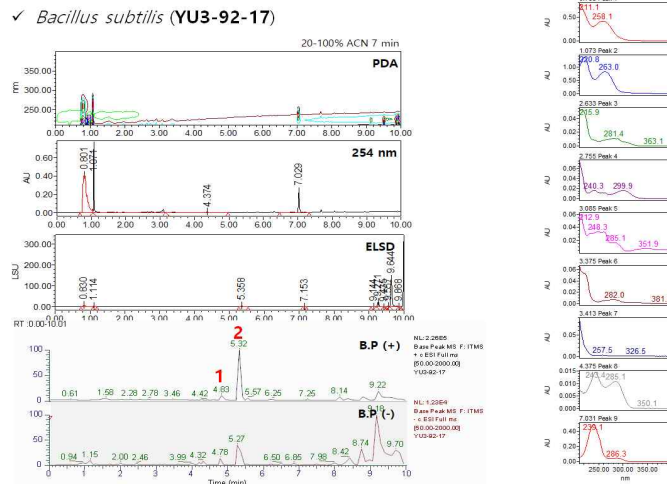


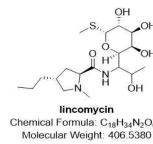
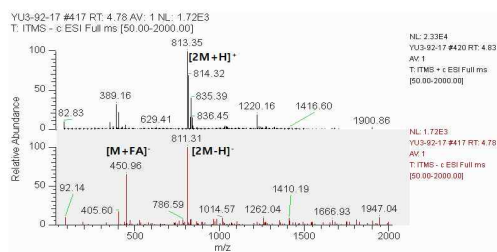
그림 162. YU3-92-17 추출물 분석결과

3.5.3.11.3 대사체 de-replication 결과(그림 163, 164).

1 : MW406, Rt 4.78 min

UV 없음

<dereplication 결과>



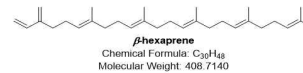
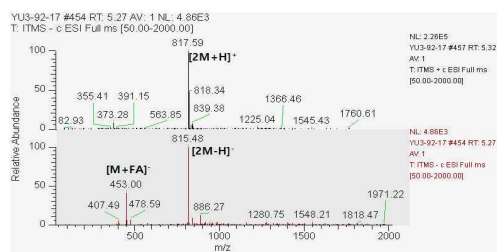
From	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Argoudelis et al., <i>J Antibiotics</i> , 1965 , 22(6), 289-291

그림 163. YU3-92-17 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 1

2 : MW408, Rt 4.78 min

UV 없음

<dereplication 결과>



From	<i>Bacillus clausii</i>
λ_{max} (nm)	
Bioactivities	
Ref.	Stao et al., <i>ChemBioChem</i> , 2013 , 14(7), 822-823

그림 164. YU3-92-17 추출물 내 대사체의 de-replication 결과 2

3.5.3.12. YU3-92-18 (KS51389, *Psychrobacter cryohalolentis*)

5.3.12.1. 문헌조사 결과

- *Psychrobacter cryohalolentis* : gram-negative, nonmotile species of bacteria
- 분류 :
Psychrobacter-Moraxellaceae-Pseudomonadales-Gammaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Psychrobacter cryohalolentis*에 대해 123(Scifinder), 1(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.12.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 165).

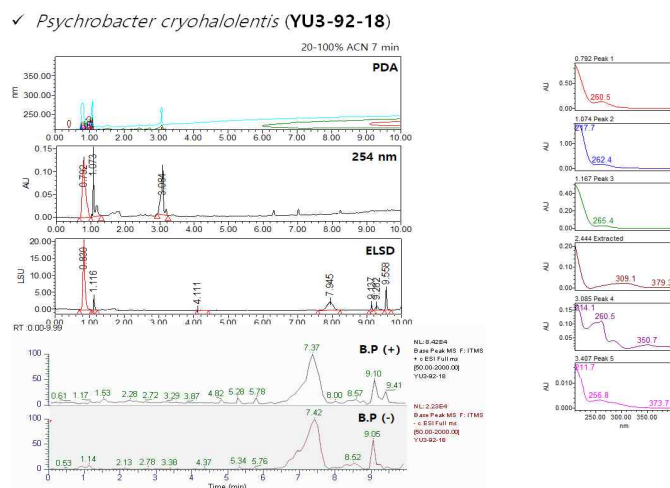


그림 165. YU3-92-18 추출물 분석결과

3.5.3.12.3. 대사체 de-replication 결과.

- 추출물 내 대사체 없음.

3.5.3.13. YU3-92-19 (KS51430, *Paracoccus seriniphilus*)

3.5.3.13.1. 문헌조사 결과

- *Paracoccus seriniphilus* : marine gram-negative, non-motile, non-spore-forming, aerobic bacterium
- 분류 :
Paracoccus-Paracoccaceae-Rhodobacteriales-Alphaproteobacteria-Pseudomonadota-Bacteria
- DB searching 결과, *Paracoccus seriniphilus*에 대해 24(Scifinder), 0(Reaxys) 개의 문헌이 존재함.

3.5.3.13.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 166).

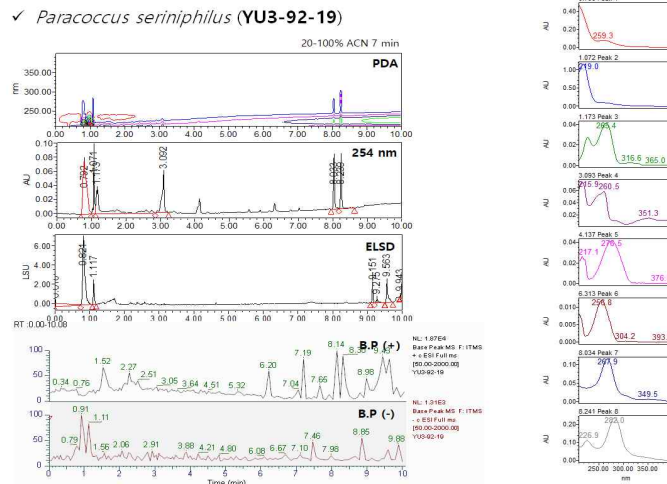


그림 166. YU3-92-19 추출물 분석결과

3.5.3.13.3. 대사체 de-replication 결과.

- 추출물 내 대사체 없음.

3.5.3.14. YU3-92-20 (KS51450, *Bacillus cereus*)

3.5.3.14.1. 문헌조사 결과

- Bacillus cereus* : gram-positive rod-shaped bacterium commonly found in soil, food and marine sponges
- 분류 : *Bacillus*-*Bacillaceae*-*Bacillales*-*Bacilli*-*Bacillota*-*Bacteria*
- DB searching 결과, *Bacillus cereus*에 대해 43,747(Scifinder), 44(Reaxys) 개의 문헌이 존 재함.

3.5.3.14.2. UPLC-MS/ELSD 분석 결과(그림 167).

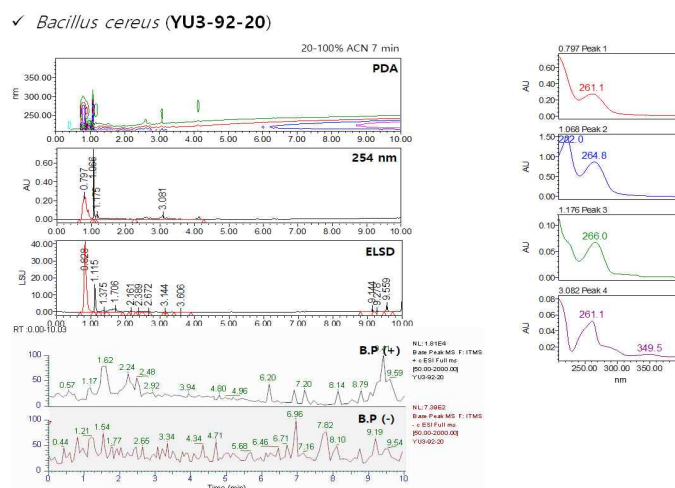


그림 167. YU3-92-20 추출물 분석결과

3.5.3.14.3. 대사체 de-replication 결과.

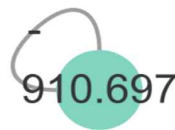
- 추출물 내 대사체 없음.

3.5.3.15. YU3-92-3, 18, 20의 Molecular Networking 분석 결과

- De-replication 결과를 바탕으로 3종의 박테리아 YU3-92-3, 18, 20을 선별하여 Molecular Networking 분석을 실시함.

3.5.3.15.1. YU3-92-3 Molecular Networking 분석 결과(그림 168).

✓ (YU3-97-3)_Molecular Networking 결과



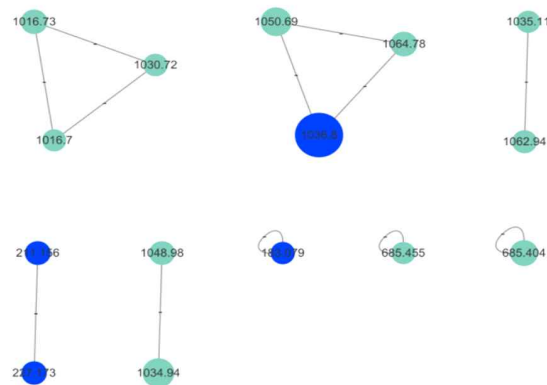
Library Matching : ■
Label : Parent mass
Size : precursor intensity

그림 168. YU3-97-3 추출물의 Molecular Networking 분석 결과

- YU3-97-3 추출물의 Molecular Networking 분석 결과 대사체가 없음.

3.5.3.15.2. YU3-92-18 Molecular Networking 분석 결과(그림 169).

✓ (YU3-97-18)_Molecular Networking 결과



Library Matching : ■
Label : Parent mass
Size : precursor intensity

그림 169. YU3-97-18 추출물의 Molecular Networking 분석 결과

- YU3-97-18 추출물의 Molecular Networking 분석 결과 주성분의 node가 library에서 Surfactin C15로 예측됨.
- 주성분이 포함된 node와 동일 cluster를 형성한 2개의 node는 Molecular Networking library matching 결과가 없어, 대량배양을 진행하고자 함.

3.5.3.15.3. YU3-92-20 Molecular Networking 분석 결과(그림 170).

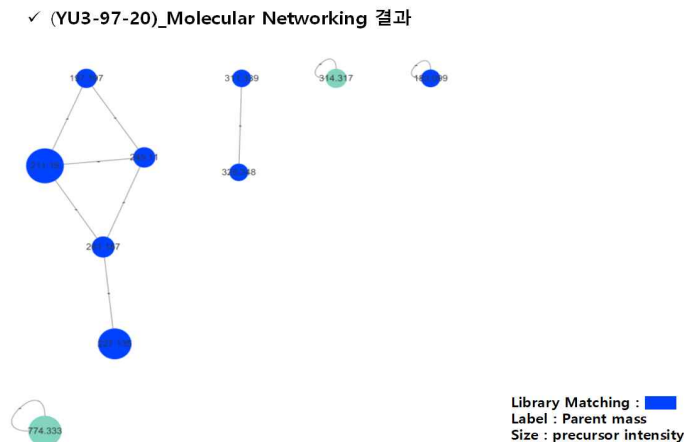


그림 170. YU3-97-20 추출물의 Molecular Networking 분석 결과

- YU3-92-20 Molecular Networking 분석 결과 추출물의 주성분이 포함된 cluster의 node들이 library에서 cyclo-(L-Leu-L-Pro), cyclo-[L-(4-hydroxy-Pro)-L-leu], cyclo-(L-Pro-L-val), Dihydroergotamine, Pro-Tyr로 예측됨.
- 따라서, 추가적인 대량배양은 실시하지 않음.

3.5.3.16. 극지 미생물 1종의 대량배양 추출물 제조

- Molecular Networking 분석 결과 1종의 극지 유래 박테리아 YU3-97-18의 대량배양을 진행함.
- 25 °C 조건에서 약 7일간 Marine Broth배지를 3 L 액체배양하고, 3 L EtOAc로 용매 분획을 실시함.

3.5.4. 5차 시료 결론

- 2025년 9월 극지연구소로부터 수령한 극지 유래 박테리아 20종을 UPLC-MS/ELSD를 이용하여 추출물의 대사체 분석을 실시함.
- de-replication 및 Molecular Networking 분석을 바탕으로 대량 배양을 진행할 신규 활성 대사체 분리 가능성이 높은 1종의 박테리아의 대량배양을 실시함.
- 대량배양한 박테리아 추출물에 대한 UPLC-MS/ELSD 추가 분석이 필요함.

제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제 1절 연차별 연구개발목표 달성도

년도	성과목표	세부목표	가중치	달성율(%)
1차년도(2024)	1. 대사체 분석 및 분자네트워킹 기법 기반 극지미생물 유래 바이오소재 발굴	LC-MS를 이용한 추출물의 대사체 분석(metabolomics)을 통한 유용 극지 미생물 추출물 선정(prioritizing) 및 DB화	30	100
		MS fragmentation 기반 분자네트워킹 분석기법을 통하여 선정된 추출물 내 특이적 대사체 구조 특성 분석 및 표적화	30	
		선정된 유용 극지미생물의 대량 배양 및 표적화된 신규 활성 대사체 분리 및 구조 연구	40	
2차년도(2025)	2. 대사체 분석 및 분자네트워킹 기법 기반 극지미생물 유래 바이오소재 발굴	LC-MS를 이용한 추출물의 대사체 분석(metabolomics)을 통한 유용 극지 미생물 추출물 선정(prioritizing) 및 DB화	30	100
		MS fragmentation 기반 분자네트워킹 분석기법을 통하여 선정된 추출물 내 특이적 대사체 구조 특성 분석 및 표적화	30	
		선정된 유용 극지미생물의 대량 배양 및 표적화된 신규 활성 대사체 분리 및 구조 연구	40	

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- ✓ 극지 유래 미생물의 LC-MS를 이용한 추출물의 대사체 분석(metabolomics)을 통한 유용 극지 미생물 추출물 선정(prioritizing) 및 DB화와 MS fragmentation 기반 분자 네트워킹(Molecular networking) 분석기법을 통하여 선정된 추출물 내 특이적 대사체 구조 특성 분석 및 표적화(targeting)를 통한 분리 결과를 바탕으로 대사체를 예측하여 신규 활성물질 또는 유용 활성물질을 탐색하여 효용성이 높은 균주를 선택하는 데 도움을 준다.
- ✓ 선정된 유용 극지 미생물의 대량 배양 및 표적화된 신규 활성 대사체 분리 정제 연구를 위한 토대를 마련할 수 있으며, 극지 미생물 기반 천연물 신약개발에 있어 선도 물질을 신속히 확보하는데 기여하며, 이를 통해 우선권을 선점할 수 있다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

✓ 없음.

제 7 장 참고문헌

- David and Gordon, *J. Nat. Prod.* **2007**, 70(3), 461–477.
- Rateb and Ebel, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, 28, 290–344.
- Shi et al., *Microbiol.* **2021**, 12, 688202.
- Friesen et al., *Commun. Earth Environ.* **2025**, 6, 811
- Sekie et al., *J. Antibiot.* **1994**, 47(11), 1226–1233
- Kanok et al., *Org. Lett.* **2014**, 16, 5216 - 5219
- Olšovská et al., *J. Chromatogr. A.* **2007**, 139, 214–220
- Chen et al., *Heterocycles.* **2015**, 91(5), 1007–1016
- Prama et al, *J. Antibiot.* **2010**, 63(4), 195–198
- Eamvijarnet et al., *Tetrahedron.* **2013**, 69(40), 8583–8591
- Li et al., *Mar. Drugs.* **2012**, 10(1), 234–241
- Li et al., *Tetrahedron.* **2020**, 61(13), 152219
- Zhu et al., *RSC Adv.* **2022**, 12, 10534–10539
- Gao et al., *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, 50(6), 837–840
- Bhattarai et al. *J. Nat. Prod.* **2025**, 88(4), 1012–1022

주 의

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