

Physiological Role of β -lactamase Inhibitory Proteins (BLIP-I) in *Streptomyces exfoliatus* SMF19

Jin Chang Hyun, Hyun Sook Lee and Sung Gyun Kang

School of Biological Science, Seoul National University, Seoul 151-742

Two β -lactamase inhibitory proteins (BLIP-I and BLIP-II) was identified from *Streptomyces exfoliatus* SMF19 (Kang et al, JBC 2000). The gene consisting of 558bp (bliA) for BLIP- I and 1116bp (bliB) for BLIP- II were identified, respectively. The bliA and bliB genes in the wild strain were disrupted by inserting hygromycin or apramycin resistance gene in the corresponding genes. The mutants disrupted single gene (bliA::hyg, bliB::apr) and and the both genes (bliA::hyg with bliB::apr) showed a bald phenotype, indicating that the these genes play a role in morphological differentiation.

H303

Cloning, Sequencing and Expression of Phosphohydrolyase Gene in *Streptomyces clavuligerus* ATCC27064

Jin Young kim

School of Biological Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742

In order to elucidate the physiological role of guanosine tetraphosphate (ppGpp) on the biosynthesis of antibiotics in *S. clavuligerus*, genes (sclA and sclB) those may encode phosphohydrolyase were cloned and identified. Those genes are heterologously expressed in *E. coli* and the gene products were purified for the preparation polyclonal antibody. The characteristics of the genes and the products were compared with those from *E. coli* and from other *Streptomyces* spp. From

the current research, the role of ppGpp or mechanism of ppGpp on the onset of secondary metabolism in *Streptomyces* spp. are going to be discussed.

H304

Expression and Proteolytic Modification of Protease Inhibitor (SFI) from *Streptomyces fradiae* SMF9

Sungjin Choi

School of biological science, Seoul National University Seoul, 151-742

A proteinous protease inhibitor (SFI) produced in *Streptomyces fradiae* SMF9 was found to be encoded from a gene (sfi). The molecular weight of the SFI deduced from the DNA sequence was 21,450Da, although that determined by SDS-PAGE was 18,000Da. Moreover amino acid sequence of the active form (SFI: 18,000Da) and the inactive protein (SFIp: 21,450Da) was identical except 3 amino acids from the N-terminal. Hence it is thought that the SFI may be activated from the SFIp through post-translational modification. In order to elucidate the differences in the molecular weight and also to determine the site of cleavage at the post-translational modification step, C-terminal sequence of SFI and the N-terminal sequence of the protein (3,000Da) cleaved from the SFIp are being determined.

H305

Mannanase를 생산하는 *Bacillus* sp. WL-1 균주의 분리 및 mannanase의 생산

김대원*, 오영필, 오화균¹, 조기행¹, 윤기홍
 우송대학교 식품생명공학부 응용미생물실;
 (주)CTC 바이오 중앙연구소¹

토양으로부터 Mannase를 분리하는 미생

물을 탐색하여 생산성이 우수한 1균주를 분리하였다. 분리 균의 형태학적 생화학적 특징을 조사한 결과 *Bacillus* sp. 균주로 판명되었고 이를 *Bacillus* sp. WL-1으로 명명하였다. WL-1 균주의 mannase생산을 위한 배지 성분을 검토한 결과 tryptone 1%, yeast ext. 0.5%, NaCl 0.5%, lactose 1%, wheat bran 1%의 배지에서 24시간 배양시에 약 190 U/ml의 활성을 나타내었다. 특히 mannase는 wheat bran 및 lactose에 의해 유도화 되어 이들 물질을 첨가하지 않았을 때 보다 생산성이 약 95배 증가하는 것으로 확인되었다. 균주의 증식에 따른 효소의 생산성을 조사한 결과 mannase는 균주의 증식에는 큰 영향없이 배양시간의 증가에 따라 24시간까지 증가하였다. WL-1 배양상등액을 이용하여 효소의 반응특성을 조사한 결과 WL-1의 mannase는 반응온도 65°C에서 최고활성을 나타내는 고온성 효소이었고, 반응 pH 5-7 사이에서 90% 이상의 활성을 나타내어 중성 mannase임을 알 수 있었다. 또한 효소로 가축 사료의 재료로 많이 사용되는 대두박을 중성, 37°C에서 반응한 결과 시간의 증가에 따라 환원당의 생성이 증가하는 것으로 나타나, 본 연구에서 이용한 *Bacillus* sp. WL-1의 mannase 효소는 사료첨가를 위한 용도로 개발할 수 있을 것이라 판단된다.

H306

Xylanase를 생산하는 *Streptomyces* sp. WL-2의 분리와 효소 생산

이은희^{*}, 김대원, 오화균¹, 조기행¹, 윤기홍
우송대학교 식품생명공학부, (주)CTC바이오
중앙연구소¹

토양에서 분리된 방선균의 배양 상등액을 이용하여 xylanase 활성을 조사함으로써 xylanase의 생산성이 우수한 방선균 1주를 분리하고, 분리균의 배양 및 생리적 특성을 조사한 결과 *Streptomyces* sp.로 확인되었다. 전자현미경적 관찰에서 포자사슬의 모양은 직파형이며, 포자사슬의 포자수는 10-20개 이상인 것으로 밝혀졌다. 분리균 *Streptomyces* sp. WL-2는 35°C 이상의 온도에서는 자라지 못하였으나, 10°C에서 30°C까지는 정상적인 성장을 보였다. 부가 탄소원이 WL-2 균주의 xylanase 생산

에 미치는 영향을 조사한 결과 maltose, a-cellulose, oat spelt xylan이 효소 생산성을 향상시키는 것으로 밝혀졌다. 그리하여 maltose (1.0%)를 함유한 G.S.S 배지에 a-cellulose (1.5%)와 oat spelt xylan (1.5%)을 각각 첨가하여 WL-2를 배양하였을 때 4~5 일째 가장 효소 생산성이 높았으며, G.S.S 배지에서 효소 생산성과 비교하였을 때 a-cellulose를 첨가한 배지에서는 15 배 정도 효소 생산성이 증가하여 120 U/ml의 생산성을 보였다. 또한 oat spelt xylan을 첨가한 배지에서는 약 12 배 효소 생산이 증가한 것으로 확인되었다. 배양상등액을 조효소액으로 사용하여 xylanase의 반응특성을 조사한 결과 WL-2가 생산하는 xylanase는 60°C와 pH 6.0 부근에서 최고의 효소 활성을 보였으며, pH 4.5에서 pH 6.5 범위에서 90% 이상의 활성을 보였다. 특히 생리적 조건인 pH 6.5에서 95% 이상의 활성을 보이고, 사료 원료인 밀기울의 탄소원을 가수분해하는 것으로 확인되어 사료첨가용 효소로 개발 가능성이 있다.

H307

Purification and Characterization of Xylanase from *Streptomyces* sp. WL-2

Eun-Hee Lee^{*}, Dae-Weon Kim, Ki-Haeng Cho¹ and Ki-Hong Yoon

School of Food Biotechnology, Woosong University, San 7-6, Jayang-dong, Dong-ku, Taejeon 300-100; CTC Bio R&D center¹

Two types of xylanase were purified and characterized from the culture supernatant of *Streptomyces* sp. WL-2, which was isolated from soil. The purification of the xylanase was performed by procedure including 15~70% ammonium sulfate precipitation and column chromatography on DEAE-Sephadex, Phenyl-Sephadex and Superose 6H/R. The molecular mass of the xylanase I and II were estimated to be 34.5 and 38.5 kDa by SDS-PAGE, respectively. The optimal pHs was identified to be 6.5 for the xylanase I and 6.0 for xylanase II. and optimal temperature of 65°C was identical.