

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.

The apparent Km values of the purified xylanase I and II were 7.0 and 2.5 mg/ml respectively against oat spelt xylan. The purified enzyme is supposed to endo-type xylanase by the of TLC analysis of reaction products.

H308

Development of Method of Multiplex PCR for Specific Detection of *L.ivanovii* in Food

Ki-Ho Han¹, Chil-Woo Lee¹, Ok-Soon Yang¹, Yong-Soon Lee², Yoon-Kyu Lim³ and Byoung-Su Yoon¹

Department of Biology, College of Natural Science, Kyonggi University, Suwon 442-760¹; College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744²; College of Veterinary Medicine, Cheju National University, Cheju 690-756³

Study of development of multiplex PCR method was conducted to develop a rapid and precise detection method in foods using specific primer of *iap*(invasion-associated protein) gene encoding p60 protein that commonly exist in all of *Listeria spp.* We ensured that *L. ivanovii* and other *Listeria* species could be detected with the multiplex PCR method. We should demonstrate that this method is superior to biochemical detection by reinspecting biochemically classified species. This multiplex PCR is simple, precise and economic. Also, this detection method have various application potential.

H309

Purification of the *E.coli* Expressed p60 Protein from *Listeria welshimerii* by Amylose Resin Based Affinity Chromatography

Chil-Woo Lee¹, Hee-Young Lim¹, Ki-Ho

Han¹, Yong-Soon Lee², Yoon-Kyu Lim³ and Byoung-Su Yoon¹

Department of Biology, College of Natural Science, Kyonggi University, Suwon 442-760¹; College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744²; College of Veterinary Medicine, Cheju National University, Cheju 430-824³

The *Listeria welshimerii* is an animal and human pathogen and its p60 protein is a major extracellular protein, which is encoded in *iap*(invasion associated protein) gene. These proteins are believed to be involved in the invasion of these bacteria into their host cells. To produce p60 in *E.coli*, the *iap* gene was recombinantly cloned and overexpressed. A purification protocol was developed for MBP(maltose binding protein)-p60 fusion protein by amylose-resin based affinity chromatography. The purified MBP-p60 was detected either as denaturated or neutralized form using a specific p60 monoclonal antibody. The method might be an easy alternative to common purification protocols of p60 from *Listeria spp.* for antibody production.

H310

Enhanced Production of Avermectin B1a with *Streptomyces avermitilis* by Medium Optimization and Glucose Feeding

Jong-Kyun Kim¹, Byung-Kyu Lee, Ki-Young Yoon, Seung-Woo Ryoo, Kwang-Young Park, Heui-Il Kang and Jong-Wook Lee

Biotech Research Center, Yuhan Research Institute, Gunpo-Si, 435-715

Avermectin is a group of potent anthelmintic and insecticidal antibiotics produced by *Streptomyces avermitilis*. Productivity of avermectin B1a was enhanced by medium optimization and intermittent glucose feeding. Response