

Xylanase를 생산하는 *Streptomyces* sp. YB914의 특성과 효소 생산성

윤기홍*

우송대학교 식품생물과학과

Characterization and Xylanase Productivity of *Streptomyces* sp. YB914. Yoon, Ki-Hong. Department of Food Science & Biotechnology, Woosong University, Daejeon 300-718, Korea – A strain YB914 was isolated from soil as a producer of the extracellular xylanase, which catalyzes the hydrolysis of oat spelt xylan. The strain YB914 was identified as *Streptomyces* sp. on the basis of its morphological, cultural and biochemical properties. The xylanase of culture filtrate was the most active at 55°C and pH 5.5, and retained 80% of its maximum activity at the range of pH 4.5~7.0. In order to optimize the culture medium for xylanase production, ingredients of G.S.S medium were replaced by several carbohydrates. The carbohydrates such as oat spelt xylan, corn cob xylan, wheat bran and lactose increased the xylanase productivity of *Streptomyces* sp. YB914. However, xylanase production was greatly repressed by galactose or arabinose. The maximum xylanase productivity was reached to 48 U/mL in the modified medium containing 1% oat spelt xylan and 1.5% lactose.

Key words: Identification, productivity, *streptomyces*, xylanase

서 론

Xylanase(endo-1,4- β -xylanase)는 oat spelt, birchwood, beechwood와 밀가루 등에 존재하는 다양한 xylans의 β -D-1,4-xylopyranosyl 결합을 무작위로 가수분해하는 효소로서 β -xylosidase와 함께 xylan의 가수분해에 중요한 역할을 하며, 제지의 표백공정, 사료효율 개선, 과일음료의 청징, 제빵, xylo 올리고당 생산뿐만 아니라 바이오매스 자원의 당화 등에 활용되는 산업용 효소이다. 곰팡이와 세균 및 방선균으로부터 다양한 종류의 xylanases가 보고되었으며 종류에 따라 기질특이성, 분해산물의 중합크기와 반응특성이 다르다. 현재 까지 알려진 glycosyl hydrolase(GH)는 아미노산 배열에 근거하여 115 families로 분류되었고 거의 대부분의 xylanase는 GH10과 GH11에 속하며 GH10의 xylanase는 일반적으로 GH11에 속하는 효소보다 분자량이 큰 것으로 알려져 있다.

방선균은 토양환경에서 리그닌이나 키틴과 같은 생체유래 고분자물질을 분해하고 물질을 순환하는데 있어서 중요한 역할을 하는 미생물 군집으로 xylanase 생산균이 다수 존재하며, 가금류의 배설물에서도 xylanase를 생산하는 *Streptomyces thermocoprophilus*가 발견되었다[8]. *Streptomyces*속 균주를 대상으로 xylanase의 유전자특성, 효소특성과 그 생산성에 대한 연구가 활발히 진행되어 2종류 이상의 xylanases를 생산하는 *S. coelicolor* A3(2)(GenBank accession no. NP733679, CAB61191, NP624448, NP_626540), *S. lividans*

1326(GenBank accession no. AAC06114, AAA26836, AAC26525), *S. thermocyaneoviolaceus* KCCM 40049(GenBank accession no. AAF04600, AAF04601)와 *S. thermoviolaceus* OPC-520(GenBank accession no. BAD02382, BAA19778)가 보고되었고 이들 균은 GH10과 GH11에 속하는 xylanase를 모두 생산하는 것으로 확인되었다. 한편, *Trichoderma*속의 균주가 세균이나 방선균 보다는 xylanase 생산성이 높아 효소 생산균주로 사용되고 있으나, 특성이 다른 xylanase의 생산을 위해 *Streptomyces*속 균주를 이용하여 효소 생산성을 높이고자 하는 연구가 수행되고 있으며 균에 따라 차이는 있지만 밀기울[15], 벧짚[5], xylan 함유 농업부산물[3, 5, 12, 15] 등이 xylanase 생산성을 증가시킨다고 보고되었다. 본 연구에서는 국내 토양으로부터 xylan 분해력이 우수한 방선균을 분리하여 이를 동정하고 xylanase 생산성에 미치는 배지성분의 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

미생물의 배양과 사용배지

방선균의 분리하기 위한 배지로는 humic acid vitamin 평판배지(humic acid 1.0 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.05 g/L, Na₂HPO₄ 0.5 g/L, FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g/L, CaCO₃ 0.02 g/L, KCl 1.7 g/L, thiamine-HCl 0.5 mg/L, riboflavin 0.5 mg/L, niacin 0.5 mg/L, inositol 0.5 mg/L, pyridoxin-HCl 0.5 mg/L, Capantothenate 0.5 mg/L, biotin 0.25 mg/L, aminobenzoic acid 0.5 mg/L, cycloheximide 50 mg/L, nalidixic acid 50 mg/L, agar 18 g/L(pH 7.2))를 사용하였으며, 토양시료를 생

*Corresponding author

Tel: 82-42-630-9742, Fax: 82-42-636-2676

E-mail: ykh@lion.woosong.ac.kr

리식염수에 현탁하여 도달한 후 28°C에서 7일간 배양하였다. Xylanase 생산성을 조사하기 위해서는 Bennett 배지 (Glucose 10 g/L, beef extract 1 g/L, yeast extract 1 g/L, peptone 2 g/L(pH 7.2))와 G.S.S 배지(soluble starch 10 g/L, K₂HPO₄ 0.25 g/L, soybean meal 25 g/L, beef extract 1 g/L, yeast extract 4 g/L, NaCl 2 g/L, glucose 20 g/L, CaCO₃ 2 g/L(pH 7.2))를 기본배지로 사용하여 그 성분을 변화시킨 배지를 사용하였다. 최종적으로 효소 생산을 위해서 사용한 배지인 GSS-X1은 G.S.S 배지성분 중 soluble starch 대신 oat spelt xylan(1%)을 첨가한 배지이다.

분리균주 동정

분리균주의 동정은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[6]와 International Streptomyces Project(ISP) 방법 [16, 19]에 준하여 실시하였다. 배양 특성의 조사는 ISP 방법에 따라 ISP 평판배지(Difco, USA) No. 2, 3, 4, 5, 7과 glucose asparagine 평판배지 및 Bennett 평판배지에 접종한 후 28°C에서 7일, 14일, 21일 간격으로 기균사의 색깔, 배면색깔, 배지색깔, 생육정도, 가용성 색소 생성 유무 및 멜라닌 색소 생성 유무를 관찰하였다. 탄소원 이용성은 부가 탄소원을 첨가하거나 첨가하지 않은 Bennett 평판배지에서 분리균을 배양한 후 성장정도를 비교하여 결정하였다. 분리균주의 형태적 특성은 포자의 사슬형태, 표면상태, 포자형성능 등의 관찰을 통해 파악하였으며 포자형성능은 oatmeal 평판배지를 이용하여 28°C에서 21일간 배양한 후 조사하였다.

Xylanase 조효소액 제조

분리균을 G.S.S 배지에 접종하여 28°C에서 4일 동안 진탕 배양한 후 원심분리하여 얻은 배양상등액을 사용하였다. 배양상등액에 15~70% ammonium sulfate를 처리하고 12,000 rpm에서 30분 동안 원심분리 한 후 침전물을 취하여 20 mM sodium phosphate buffer(pH 6.0)에 녹이고 동일 buffer에 투석하여 조효소액을 제조하였다.

Xylanase 활성 측정

Xylanase 활성은 oat spelt xylan을 기질로 하여 효소 반응 후에 유리된 환원당을 3,5-dinitrosalicylic acid(DNS) 방법 [14]으로 다음과 같이 정량함으로써 측정하였다. 증류수에 현탁시킨 1.0%(w/v) oat spelt xylan 용액 0.5 mL와 200 mM sodium citrate buffer(pH 5.5) 0.25 mL를 효소 용액 0.25 mL와 혼합하여 50°C에서 15분 동안 반응시켰다. DNS 시약 3 mL를 첨가하여 반응을 정지시키고 끓는 물에서 5분 동안 방치하여 발색시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하고 이를 glucose를 표준시료로 사용하여 동일 조건하에서 발색시켜 조사한 흡광도와 비교함으로써 유리된 환원당의 양을 결정하였다. 효소 활성도 1.0 unit는 위의 조건하에서 1분 동안 xylan으로부터 1 μmol의 xylose에 상응하는 환원당을

생성하는 효소의 양으로 정의하였다. Xylanase 활성에 미치는 반응 온도의 영향을 조사하기 위하여 30°C~65°C까지의 온도에서 각각 효소 활성을 측정하였으며, 활성에 미치는 pH의 영향을 알아보기 위해서는 pH 3.5에서 pH 9.0까지의 범위에서 xylanase 활성을 각각 측정하였다.

결과 및 고찰

Xylanase 생산균주의 분리과 동정

국내의 다양한 환경에서 채취한 토양 시료를 생리식염수로 희석하여 humic acid vitamin 평판배지에 도달하고 28°C에서 7일간 배양하였다. 형태가 서로 다른 것으로 판단되는 수백개의 방선균 콜로니를 G.S.S 복합 액체배지에 접종하여 28°C에서 5일간 진탕 배양하여 얻은 배양상등액을 사용하여 oat spelt xylan의 분해활성을 조사하였다. 그 결과 다수의 분리균주가 xylanase를 생산하는 것으로 확인되었으며, 이들 중 oat spelt xylan을 분해하여 저당류로 전환하는 성질을 지닌 xylanase의 생산성이 높은 균주 YB914를 선발하였다.

선발된 YB914의 형태적 특성을 조사한 결과 Fig. 1과 같이 포자의 표면은 매끄럽고 실린더형이며 그 크기는 0.5~0.8 × 0.5~1.0 μm이었다. 포자는 10~20개 이상이 연결되어 직파형 구조를 이루는 것으로 확인되었다. YB914의 배양학적 특성을 확인하기 위해 ISP 배지를 포함한 9종의 평판배지에서 균의 성장, 기균사의 색깔, 배면의 색깔, 수용성의 색소생성 등을 관찰한 결과 Table 1과 같이 glycerol-asparagine과 tyrosine 평판배지를 제외한 다른 배지에서 균의 성장이 양호하였다. 수용성 색소를 생성하지 않으며, 콜로니 표면의 색깔은 주로 회색을 띄고 콜로니 배면은 배지에 따라 차이가 있었으나 다수의 배지에서 짙은 갈색을 나타냈다.

YB914 균주의 생리화학적 특성은 관찰한 결과 Table 2에서 보인바와 같이 탈지유의 가수분해능을 보이며 우유를 응고시키는 것으로 확인되었고 melanoid 색소를 생성하지 않

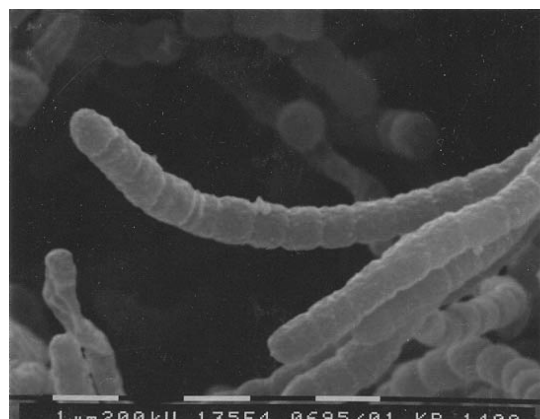


Fig. 1. Scanning electron microscopic photograph (1.68×10⁴ fold) of the isolate YB914 grown on oatmeal agar medium for 21 days.

Table 1. Cultural characteristics of *Streptomyces* sp. YB914.

Media	Growth	Aerial mycelium color	Reverse side color	Soluble pigment
Yeast extract-malt extract agar (ISP No.2)	Good	Pinkish gray	Dark brown	None
Oatmeal agar (ISP No.3)	Good	Gray	Dark brown	None
Inorganic salt-starch agar (ISP no.4)	Good	Gray	Dark brown	None
Glycerol-asparagine agar (ISP No.5)	Poor	Light faint gray	Light faint yellow	None
Peptone-yeast extract-iron agar (ISP No.6)	Moderate	Faint gray	Faint yellow	None
Tyrosine agar (ISP No.7)	Poor	Light faint gray	Light faint yellow	None
Glucose-asparagine agar	Good	Gray	Dark brown	None
Bennet's agar	Good	Gray	Faint brown	None
Nutrient agar	Moderate	Gray	Faint yellow	None

Table 2. Physiological characteristics of *Streptomyces* sp. YB914.

Unit character	Description	Unit character	Description
Melanoid pigment	-	Carbohydrate utilization	
Soluble pigment	-	D-Glucose	+
Coagulation of milk	+	L-Arabinose	+
Peptonization of milk	-	D-Xylose	+
Reduction of nitrate	-	Inositol	°æ
Hydrolysis of skim milk	+	D-Mannitol	°æ
		D-Fructose	°æ
Cell chemistry		L-Rhamnose	+
Diaminopimelic acid	LL type	Sucrose	-
		Raffinose	+
		Cellulose	°æ

+, positive; -, negative.

았다. 또한 각종 탄수화물을 1%가 되도록 첨가한 배지와 이를 첨가하지 않은 배지에서 분리균의 성장정도를 비교한 결과 YB914는 sucrose를 거의 이용하지 못하였으며, fructose와 당 알코올 및 cellulose이 이용성은 낮은 상태이고, glucose와 오탄당인 arabinose, xylose, rhamnose 및 삼당류인 raffinose를 탄소원으로 잘 이용하였다. 한편 분리균의 세포벽에 존재하는 diaminopimelic acid의 형태를 TLC를 통해 분석한 결과 YB914는 LL형의 diaminopimelic acid를 지니고 있어 *Streptomyces*속의 균주로 판단되었다.

Xylanase의 반응 특성

Streptomyces sp. YB-914의 배양상등액을 ammonium sulfate로 분획하여 얻은 xylanase 조효소액을 사용하여 oat splet xylan의 가수분해 반응성을 조사하였다. 반응온도와 pH를 달리하여 xylanase 활성을 측정함으로써 반응온도와 pH가 효소활성에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 2에서 나타난 바와 같이 반응온도 55°C와 pH 5.5에서 최대 효소활성을 보였으며, pH 4.5에서 pH 7.0까지의 범위에서 80% 이상의 활성을 나타냈다. *Streptomyces* sp. K37[13], S38[4], WL-2[9]와 Ab106[18]가 생산하는 xylanase는 60°C와 pH 6.0에서 최대활성을 보이는 것으로 보고된 바 있으며, *S. galbus* NR[7]의 xylanase는 반응 최적온도가 50°C이고, 반응 최적pH는 *S. albus*[1] 및 *Streptomyces* sp. S9[10]의 효소와 동일하게 6.5로 알려졌다. 그러므로 YB914의 xylanase

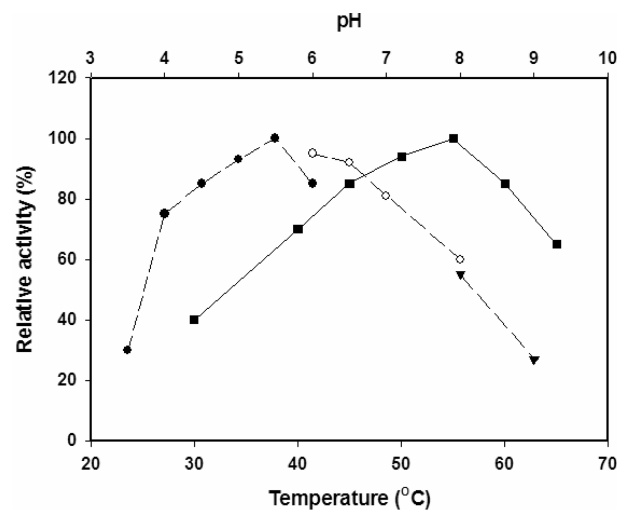


Fig. 2. Effects of reaction temperature and pH on the xylanase activity. Temperature profile (bold line) was obtained by measuring the xylanase activities at pH 6.0 and different temperatures. The reactions were done at 50°C and various pHs for the determination of pH profile (dotted line). The following buffer systems were used: pH 3.5 to 6.0; 50 mM citrate (●), pH 6.0 to 8.0; 50 mM sodium phosphate (○), pH 8.0 to 9.0, 50 mM KCl-borate (▽).

는 이들 균이 생산하는 효소보다는 약산성에서 반응활성이 높은 것을 알 수 있다. 최근에는 pH 7.8에서 최대활성을 보이는 xylanase가 *S. fradiae* k11로부터 생산되었다[11].

Xylanase 생산에 적합한 배지조성

Streptomyces sp. YB914를 방선균 배양배지인 G.S.S 배지와 Bennet 배지에서 배양하면서 배양상등액의 효소활성을 조사한 결과 Bennet 배지에서는 xylanase 생산성이 G.S.S 배지에 비해 매우 낮았다. 따라서 G.G.S 배지를 기본 배지로 하여 배지조성을 변화시켜 xylanase 생산성을 높이기 위해 우선 배양시간에 따른 효소 생산성을 검토하였다. *Streptomyces* sp. YB914 균주를 G.S.S 배지에 접종하여 28°C, 180 rpm으로 baffled flask에서 진탕배양하면서 배양상등액에 존재하는 xylanase의 활성을 측정한 결과 배양 4-5일째에서 효소 생산성이 가장 높았다. 배지성분 중 탄소원이 xylanase의 생산에 영향을 미치는 경우가 다수보고 되었으므로 G.S.S 배지 성분중 주요 탄소원인 soluble starch와 glucose를 다른 탄소원으로 대체하여 효소 생산성을 조사하였다.

Soluble starch 대신 filter paper, microcrystallin cellulose, oat spelt xylan, corn cob xylan, 벧짚, 밀기울 또는 α -cellulose를 사용하여 각각 1%씩 첨가하거나 고분자 탄소원을 첨가하지 않은 배지에서 4일간 배양한 후 xylanase 생산성을 조사하였다. 그 결과 Table 3에 보인바와 같이 G.S.S. 배지성분 중 soluble starch를 제거한 배지에서 배양하였을 때 효소 생산성이 0.52 U/mL인데 비해 soluble starch를 첨가한 배지에서 배양하였을 때 도리어 작은 범위이기는 하지만 효소 생산성이 약 20% 정도 저하되는 것으로 나타났다. 한편 oat spelt xylan, corn cob xylan 또는 밀기울을 첨가한 배지에서는 효소 생산성이 각각 34배, 11.7배와 11.2배 증가하였으며 이외의 다른 첨가물질에 의해서는 약간씩 증가하는 것으로 나타났다. 이는 α -cellulose에 의해 xylanase 생산성이 크게 증가되고 벧짚에 의해서는 크게 감소가 되는 것으로 보고된 *Streptomyces* sp. WL-2와는 다른 결과이나, xylan 함유 탄소원이 첨가된 배지에서 xylanase 생산성이 증가되는 현상은 *S. thermonitrificans* NTU-88[3], *S. lividans* [2], *S. cyaneus* SN32[15], *Streptomyces* sp. WL-2[9], *S. flavogriseus* 및 *S. olivochromogenes*[12]와 일치하였다.

또한 단당류 또는 이당류 탄소원이 효소 생산성에 미치는 영향을 조사하기 위해 G.S.S 배지성분 중 soluble starch를 oat spelt xylan(1%)로 대체한 배지(GSS-X1)에 포도당 대신 과당, 엿당, 유당, sucrose, galactose, arabinose 또는 xylose를 각각 2% 첨가한 후 4일간 배양하면서 배양상등액의 효소활성을 조사하였다. 그 결과 단당류 또는 이당류를 첨가하지 않은 배지에서는 xylanase 생산성이 13.7 U/mL이며 포도당, 엿당, 유당 또는 xylose를 첨가한 배지에서는 효소 생산성이 1.2-1.3배 정도 증가하였으며, 유당을 첨가하였을 때가 가장 xylanase 생산성이 높았다. 그러나 fructose 또는 sucrose 첨가한 배지에서는 xylanase의 생산성이 50-60% 이상 감소하였으며, 특히 galactose 또는 arabinose를 첨가한 배지에서는 효소 생산성이 90% 이상 감소하였다. 이로 보아 *Streptomyces* sp. YB914의 xylanase 생산은 과당, sucrose, arabinose와 galactose에 의해서는 억제되는 것으로 보인다. 우분 퇴비에서 분리된 *Streptomyces* sp.의 xylanase 생산은 glycerol에 의해 억제되며 포도당, 과당, arabinose, xylose와 mannose에 의해서 유도되지는 않는 것으로 알려졌다[5].

포도당 대신 단당류 또는 이당류를 첨가하였을 때 xylanase의 생산성을 증가시키는 정도가 크지 않은 것으로 나타나, soluble starch를 oat spelt xylan(1%)로 대체한 GSS-X1 배지에 lactose와 xylose의 첨가량을 0-5% 범위에서 달리한 배지를 제조하여 효소 생산성을 조사한 결과 xylose 보다는 lactose를 첨가하였을 때가 생산성이 전반적으로 우수하였으며, lactose를 1.5% 첨가하였을 때가 가장 높았다.

배양시간에 따른 xylanase 생산성

배양시간에 따른 효소 생산성을 조사하기 위해 glucose 대신 lactose를 1.5% 또는 5% 첨가하고 soluble starch대신 oat spelt xylan(1%)을 첨가한 배지에서 배양하면서 효소 생산성을 검토한 결과 Fig. 3에 보인바와 같이 1.5% lactose를 첨가한 배지에서 배양시간이 3-4일째 효소 생산이 최대에 이

Table 3. Effects of additional carbon sources on the xylanase production.

Additional carbohydrate ^a	Relative productivity (fold)	Additional sugar ^b	Relative productivity (fold)
None	1.0	None	1.0
Soluble starch	0.8	Glucose	1.3
Microcrystalline cellulose	1.1	Xylose	1.3
Wheat bran	11.2	Fructose	0.4
Corn cob xylan	11.7	Galactose	0.1
Oat spelt xylan	34.0	Lactose	1.4
Filter paper	2.5	Arabinose	0.1
Rice straw	4.5	Sucrose	0.5
α -Cellulose	1.4	Malotse	1.2

^aCarbohydrates were substituted for soluble starch of G.S.S medium

^bSugars were substituted for glucose of GSS-X1 medium which contained oat spelt xylan instead of soluble starch.

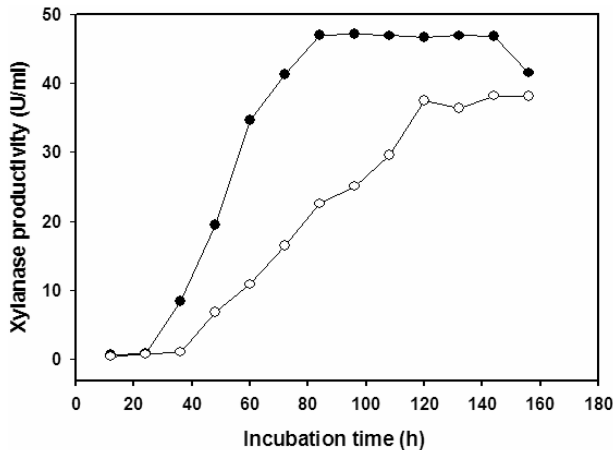


Fig. 3. Xylanase production of *Streptomyces* sp. YB914. *Streptomyces* sp. YB914 was grown respectively in GSS-X1 medium containing 1.5% lactose (●) and 5% lactose (○) instead of glucose at 28°C with vigorous shaking. Xylanase activities were determined with the culture filtrates.

르렀으며 최대효소 생산성은 약 48 U/mL로 나타났다. 한편 5% lactose를 첨가한 배지에서는 5일 이상 배양하였을 때 최대생산성을 보였으며 최대효소 생산성이 약 38 U/mL로 1.5% lactose를 첨가한 배지보다 낮은 것으로 나타났다. 따라서 YB914의 xylanase 생산성은 *S. albus* ATCC 3005(12 U/mL)[1]과 *Streptomyces* sp. Ab106(16 U/mL)[17] 보다는 높으나, α -cellulose와 엷당을 탄소원으로 배양한 *Streptomyces* sp. WL-2(120 U/mL)와 밀기울을 탄소원으로 배양한 *S. cyaneus* SN32(720 U/mL)[15]보다는 낮았다.

요 약

토양으로부터 세포외로 xylanase를 분비 생산하는 방선균 YB-914가 분리되었으며, 형태, 배양, 생화학적 특성을 조사한 결과 *Streptomyces* 속 균주로 확인되었다. 분리균의 배양 상등액에 존재하는 xylanase는 pH 5.5과 55°C의 반응조건에서 반응성이 가장 높았으며, pH 4.5~7.0 범위에서 최대활성의 80% 이상을 나타냈다. Xylanase의 생산을 위한 배지를 최적화하기 위해서 G.S.S 배지성분을 여러 종류의 탄수화물로 대체하였다. Oat spelt xylan, corn cob xylan, 밀기울 및 유당과 같은 탄수화물은 *Streptomyces* sp. YB914의 xylanase 생산성을 증가시키는 것으로 확인되었으며, galactose와 arabinose는 효소 생산을 크게 억제하였다. Oat spelt xylan(1%)와 유당(1.5%)을 함유한 변형배지에서 xylanase의 최대생산성이 48 U/mL로 확인되었다.

감사의 글

본 연구에 사용된 방선균 배양액을 분양해 주신 한국생명

공학연구원 김창진 박사님께 감사드립니다.

REFERENCES

- Antonopoulos, V. T., M. Hernandez, M. E. Arias, E. Mavrakos, and A. S. Ball. 2001. The use of extracellular enzymes from *Streptomyces albus* ATCC 3005 for the bleaching of eucalyptus kraft pulp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **57**: 92-97.
- Arias, E., H. Li, and R. Morosoli. 2007. Effect of protease mutations on the production of xylanases in *Streptomyces lividans*. *Streptomyces olivaceoviridis* E-86, *Can. J. Microbiol.* **53**: 695-701.
- Cheng, H. L., C. Y. Tsai, H. J. Chen, S. S. Yang, and Y. C. Chen. 2009. The identification, purification, and characterization of STXF10 expressed in *Streptomyces thermotrophicans* NTU-88. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **82**: 681-689.
- De Lemos Esteves, F., V. Ruelle, J. Lamotte-Brasseur, B. Quinting, and J. -M. Frere. 2004. Acidophilic adaptation of family 11 endobeta1,4xylanases: modeling and mutational analysis. *Protein Sci.* **13**: 1209-1218.
- Godden, B., T. Legon, P. Helvenstein, and M. Penninckx. 1989. Regulation of the production of hemicellulolytic and cellulolytic enzymes by a *Streptomyces* sp. growing on lignocellulose. *J. Gen. Microbiol.* **135**: 285-292.
- Goodfellow, M., T. Cross, and H. A. Lechevalier. 1989. Suprageneric classification of *Actinomyces*, pp 2333-2450. In S.T. Williams, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 4, Williams and Wilkins, Baltimore, MD, USA.
- Kansoh, A. L. and Z. A. Nagieb. 2004. Xylanase and mannanase enzymes from *Streptomyces galbus* NR and their use in biobleaching of softwood kraft pulp. *Antonie van Leeuwenhoek.* **85**: 103-114.
- Kim, B., A. M. al-Tai, S. B. Kim, P. Somasundaram, and M. Goodfellow. 2000. *Streptomyces thermocrophilus* sp. nov., a cellulase-free endo-xylanase-producing streptomycete. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **50**: 505-509.
- Lee, E. -H., C. -J. Kim, and K.-H. Yoon. 2005. Characterization and xylanase productivity of *Streptomyces* sp. WL-2. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **33**: 178-183.
- Li, N., K. Meng, Y. Wang, P. Shi, H. Luo, Y. Bai, P. Yang, and B. Yao. 2008. Cloning, expression, and characterization of a new xylanase with broad temperature adaptability from *Streptomyces* sp. S9. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **80**: 231-240.
- Li, N., P. Yang, Y. Wang, H. Luo, K. Meng, N. Wu, Y. Fan, and B. Yao. 2009. Cloning, expression, and characterization of protease-resistant xylanase from *Streptomyces fradiae* var. k11. *J. Microbiol. Biotechnol.* **18**: 410-416.
- Mackenzie, C.R., D. Bilous, H. Schneider, and K. G. Johnson. 1987. Induction of cellulolytic and xylanolytic enzyme systems in *Streptomyces* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 2835-2839.

13. Mansour, F. A., A. A. Shereif, M. M. Nourel-Dein, M. I. Abou-Dobara, and A. S. Ball. 2003. Purification and characterization of xylanase from a thermophilic *Streptomyces* sp. K37. *Acta Microbiol. Pol.* **52**: 159-172.
14. Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* **31**: 426-428.
15. Ninawe, S. and R. C. Kuhad. 2005. Use of xylan-rich cost effective agro-residues in the production of xylanase by *Streptomyces cyaneus* SN32. *J. Appl. Microbiol.* **99**: 1141-1148.
16. Shirling, E. B. and D. Gottlieb. 1966. Methods for the characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **16**: 313-340.
17. Techapun, C., N. Poosaran, M. Watanabe, and K. Sasaki. 2003. Optimization of aeration and agitation rates to improve cellulase-free xylanase production by thermotolerant *Streptomyces* sp. Ab106 and repeated fed-batch cultivation using agricultural waste. *J. Biosci. Bioeng.* **95**: 298-301.
18. Techapun, C., T. Charoenrat, N. Poosaran, M. Watanabe, and K. Sasaki. 2002. Thermostable and alkaline-tolerant cellulase-free xylanase produced by thermotolerant *Streptomyces* sp. Ab106. *J. Biosci. Bioeng.* **93**: 431-433.
19. Williams, S. T., M. Goodfellow, G. Alderson, E. M. H. Wellington, P. H. A. Sneath, and M. Sackin. 1983. Numerical classification of *Streptomyces* and related genera. *J. Gen. Microbiol.* **129**: 1743-1813.

(Received Oct. 10, 2009/Accepted Dec. 7, 2009)