

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, 오화균<sup>1</sup>, 조기행<sup>1</sup>, 윤기홍  
 우송대학교 식품생명공학부, (주)CTC바이오  
 중앙연구소<sup>1</sup>

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<sup>\*</sup>, Dae-Weon Kim, Ki-Haeng Cho<sup>1</sup> and Ki-Hong Yoon

School of Food Biotechnology, Woosong University, San 7-6, Jayang-dong, Dong-ku, Taejeon 300-100; CTC Bio R&D center<sup>1</sup>

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 Han<sup>1</sup>, Chil-Woo Lee<sup>1</sup>, Ok-Soon Yang<sup>1</sup>, Yong-Soon Lee<sup>2</sup>, Yoon-Kyu Lim<sup>3</sup> and Byoung-Su Yoon<sup>1</sup>**

Department of Biology, College of Natural Science, Kyonggi University, Suwon 442-760<sup>1</sup>; College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744<sup>2</sup>; College of Veterinary Medicine, Cheju National University, Cheju 690-756<sup>3</sup>

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 re-inspecting 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 Lee<sup>1</sup>, Hee-Young Lim<sup>1</sup>, Ki-Ho**

**Han<sup>1</sup>, Yong-Soon Lee<sup>2</sup>, Yoon-Kyu Lim<sup>3</sup> and Byoung-Su Yoon<sup>1</sup>**

Department of Biology, College of Natural Science, Kyonggi University, Suwon 442-760<sup>1</sup>; College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744<sup>2</sup>; College of Veterinary Medicine, Cheju National University, Cheju 430-824<sup>3</sup>

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 Kim<sup>1</sup>, 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