

(S6-A)

섬유소분해 효소의 작용양상 및 기작

정 춘 수

울산대학교 자연대학 미생물학과

## 1. 서 론

섬유소(cellulose)는 포도당이  $\beta$ -1,4 결합을 통하여 연결된 사슬형 중합체로서, 섬유소사슬이 나란히 배열하여 결정상을 이루고있다. 이산화탄소가 광합성을 통하여 고정되어 생성되는 생체량의 50% 정도가 섬유소를 이루어, 현재 지구상에는 약 7천억톤의 섬유소가 존재하고있으며 매년 4백억톤이 생합성되고 있다. 이들 폐섬유소자원을 효율적으로 이용하여 대체에너지 및 식량자원을 생산하려는 목적으로 미생물들이 생성하는 cellulase에 관한 연구들이 활발하게 진행되어 왔다. 그 결과, 많은 종류의 미생물들로부터 섬유소 분해효소(cellulase)의 성분이 밝혀졌으며, 효소생성능이 뛰어난 균주들이 개발되었다. 최근에는 몇몇 미생물들로부터 cellulase 유전자가 cloning되고, 아미노산서열이 밝혀짐에 따라 미세구조가 알려지게 되었다.

본 논문에서는 현재까지 이루어진 연구들을 바탕으로 cellulase의 작용양상과 작용기작에 관하여 살펴보고자 한다.

## 2. Cellulase의 구성

섬유소 분해에 관여하는 효소들은 작용양상에 따라 다음과 같이 구분할 수 있다.

## 1) 가수분해효소(hydrolytic enzymes)

섬유소 분해에 있어서 가장 중요한 역할을 담당하는 효소들으로써, 섬유소를 가수분해하여 궁극적으로 미생물 내로 들어갈 수 있을 만큼 작고, 수용성인 당을 만드는 효소이다. 이들 효소들은 다음과 같이 세 성분으로 분류 할 수 있다: 1.

Endo-1,4- $\beta$ -glucanase(EC 3.2.1.4): cellulose 사슬의 중간중간을 무작위적으로 공격하여  $\beta$ -1,4 glycosidic 결합을 가수분해한다, 2. Exo-1,4- $\beta$ -glucanase(EC 3.2.1.91): cellulose 사슬의 비환원성 말단으로부터 cellobiose 단위로 가수분해한다, 3.  $\beta$ -glucosidase(EC 3.2.1.21): cellobiose와 다른 수용성 cellooligosaccharide를 가수분해하여 포도당을 생성한다.

## 2) 산화효소(oxidative enzymes)

가수분해효소이외에 산화효소들이 섬유소 분해에 커다란 기여를 하고 있는데 다음과 같다: 1. cellobiose: quinone oxidoreductase (cellobiose dehydrogenase): cellobiose 존재하에 quinone과 quinoxyl radical을 환원시켜서 cellobiose를 cellobiono- $\delta$ -lactone으로 산화 시킨다 (Westerman and Eriksson 1974), 2. cellobiose oxidase: 산소분자를 사용하여 cellobiose와 cellooligosaccharide를 산화시켜 그들의 -onic acid를 생성한다. cellobiose dehydrogenase는 lignin 분해시 생성되는 quinone 또는 quinoxyl radical을 전자수용체로 사용함으로써 *Phanerochaeta chrysosporium* (*Sporotrichum pulverulentum*) 과 같은 white-rot fungi에 의해서 진행되는 섬유소 분해와 lignin 분해를 연결해주는 역할을 담당한다고 할 수 있다(Eriksson, 1978). 이외에도 lignin 분해와 연결되지 않은 상태에서도 섬유소의 산화는 이루어지는데, 이러한 반응은 대략 다음과 같은 의미를 갖는다고 할 수 있다. 첫째로, cellobiose를 포도당으로 가수분해하지 않고 산화과정을 통하여 대사하는 역할을 담당한다. 둘째로, cellobiose에 의한 cellulase 활성의 저해를 방지한다. 셋째로, cellulase의 작용에 의하여 생성된 산물의 환원성 말단의 포도당 잔기를 산화시켜 그 역반응을 방지함으로써 섬유소 분해를 촉진한다 (Ayers 등, 1978).

## 3) 가인산분해효소(phosphorolytic enzyme)

섬유소분해 세균류들에는 phosphorylase를 생성하는 종류가 있다: *Ruminococcus flavefaciens*, *Cellvibrio gilvus*, *Cellulomonas fimi*(Ayers 1959). 이들중에는  $\beta$ -glucosidase를 생성하지 못하고 대신 phosphorylase로 섬유소 분해산물을 대사하는 것들이 있다.

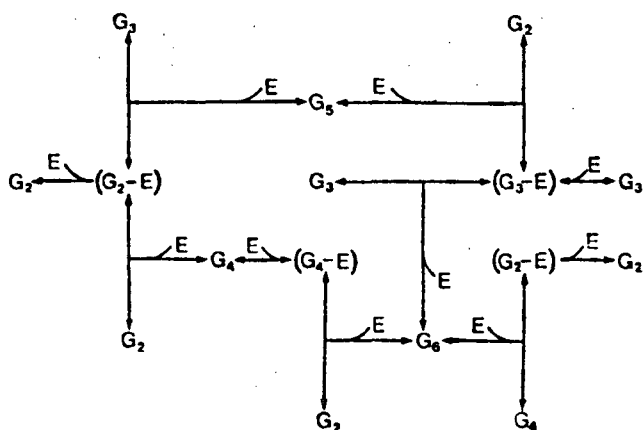


Fig. 1. Hypothetical scheme of cellooligosaccharide degradation by low-molecular-weight  $\beta$ -1,4-glucan glucanohydrolase from *Trichoderma koningii* (Hong et al, 1986).

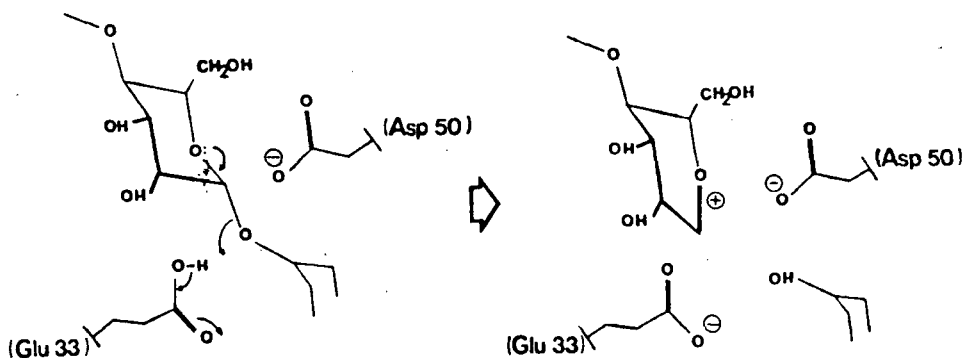


Fig. 2. Proposed mechanism for the endoglucanase-catalyzed cleavage of  $\beta$ -1,4 linkages in cellulose (Yaguchi et al, 1983)

### 3. Cellulase의 작용양상과 작용기작

섬유소 분해효소들이 활성을 나타내는 데에는 효소와 비수용성 기질인 섬유소와의 상호작용 즉, 흡착과 탈착 (adsorption and desorption)이 중요한 요소가 된다. 섬유소에 대한 cellulase의 흡착 및 탈착에 영향을 미치는 요소로는 기질의 종류, 온도, 결정성의 정도, 효소/기질의 비율, 기질에 대한 효소의 친화력, 기질에 대한 흡착을 촉진하거나 저해하는 반응산물 또는 기타 물질의 양을 들 수 있다. Ryu(1984) 등은 *T. reesei*의 cellulase에서 두가지의 endoglucanase의 fraction 즉, 흡착성이 강한 것과 약한 것의 성분이 존재함을 확인하였고, 다른 많은 미생물에서도 (Klesov 등, 1982) 이와 유사한 결과를 확인 하였다. 이 두성분중 전자는 결정형 섬유소의 분해에 강한 활성을 갖는 반면 후자는 동일한 기질에 잘 작용하지 못한다. 한편 비결정형 섬유소에는 두가지 성분이 비슷한 활성을 나타낸다.

섬유소 분해효소들의 또다른 특징의 하나로 상승작용을 들 수 있다. 각각의 endoglucanase, exoglucanase, 및  $\beta$ -glucosidase 성분 혼자서는 결정형 섬유소를 거의 분해하지 못하지만 endo- 및 exoglucanase가 혼합되어 있으면 효과적으로 가수분해할 수 있고, 여기에  $\beta$ -glucosidase가 혼합되면 더욱 가속화된다는 (Selby, 1969; Wood, 1975, 1980; Wood와 McCrae, 1977; Eriksson, 1975). 이들의 결과를 종합하면, endoglucanase가 먼저 섬유소에 무작위적으로 작용하여 만든 섬유소 말단을 exoglucanase가 cellobiose 단위로 분해하게 된다. 이러한 공동작용은 상승효과를 나타내게 되며 섬유소를 cellobiose와 작은 cellooligosaccharide로 분해하고 이를 다시  $\beta$ -glucosidase가 포도당으로 분해하게되는 것이다.

이제 가수분해에 관여하는 각 효소들의 작용양상 및 기작에 관하여 자세히 살펴보기로 한다.

#### 1) Endoglucanase

Endoglucanase는 비결정형 섬유소, CMC 같은 가용성 섬유소 유도체, 그리고 cellooligosaccharide와 같은 기질에 작용한다. Endoglucanase의 작용양상에 관한 연구는 cellooligosaccharide를 기질로 사용하여 많이 이루어졌는데, *Trichoderma konigii* (Halliwell과 Vincent, 1981)로부터 분리된 endoglucanase는 기질의 내부에 존재하는 glycosidic 결합들을 더 쉽게 공격한다는 사실이 밝혀졌다.

Endoglucanase는 transglycosylation을 일으키는 성질을 가진다. Transglycosylation 반응은 glycosyl기가 어떤 수용체에 전달되는 반응으로써 *Irpeus lacteus* (Nisizawa와 Hashimoto, 1959), *T. virde* (Okada와 Nisizawa, 1975), *T. koningii* (Maksimov, 1982) 등의 몇몇 균주로부터 분리된 endoglucanase의 경우에서 보고된 바 있다. Maeng 등(1986, 1987)은 transglycosylation 반응의 결과 생성되는 새로운 glycosidic 결합이  $\beta$ -1,4 결합인지 아니면 다른 형태의 결합인지를 HPLC와  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy 등의 방법을 통하여 분석하였다. 이들은 *T. koningii*의 배양액으로부터 분리 정제된 저분자량의 endoglucanase를 cellotriase에 반응시킨 다음, 그 산물들(cellobiose, -triose, -tetraose)을 HPLC로 분리하고, 이들과 cellooligosaccharide 표준시료의 200 MHz  $^1\text{H-NMR}$  spectrum을 비교하였다. 이 실험에서 *T. koningii*로부터 분리된 endoglucanase가 cellooligosaccharide에 작용하여 생성되는 모든 산물은 오직  $\beta$ -1,4 glycosidic 결합만을 갖는 것을 확인하였다. Hong 등(1986)과 Maeng 등(1986)은 *T. konigii*의 endoglucanase가 cellooligosaccharide를 분해하는 경로를 밝힌바 있는 데 (Fig. 1), 3개 이상의 포도당 잔기를 갖는 기질이 효소와 반응하면 최외곽 결합을 제외한 위치의 결합(포도당이 생성되기는 하지만 그 양이 극히 미약하다)이 주로 효소에 의하여 분해된 후, 효소와의 intermediate를 형성하고, 이것이 다른 수용체(cellooligosaccharide)에 전달된다. Hurst 등(1978)은 *A. niger*에서 분리된 endoglucanase들이 최대의 활성을 나타내기 위해서는 적어도 5-6개의 포도당잔기를 갖는 기질이 요구된다고 밝혔다. *T. konigii*에서 분리한 다른 endoglucanase에서 PNPG<sub>2</sub> (p-nitrophenyl cellobioside)를 기질로 사용하였을 경우 소량의 cellobiose (1-10mM)를 첨가하면 활성도가 증가하였다 (일반적으로 cellobiose는 endoglucanase의 경쟁적 억제제가 된다.). 이 사실은 기질의 결합부위에 기질이 결합하는 것이 효소의 활성을 촉진함을 의미하고, 기질의 길이는 친화도 이상의 의미를 갖고 있음을 시사한다.

Banks와 Vernon (1963)은 모든 glycosylase는 lysozyme과 유사한 분해 기작을 갖는다고 제안하였다. 섬유소는  $\beta$ -1,4-glycosidic 결합을 갖는다는 점에서 lysozyme의 기질과 유사하다. Hurst 등(1977)은 *A. niger*에서 분리한 endoglucanase의 kinetics를 통하여 pKa 4.0-4.5와 pKa 5.0-5.5의 amino acid가

활성부위에 관여하고 있다고 보고하였으며, Clark와 Yaguchi (1985)는 *S. commune*에서 분리된 endoglucanase에 EAC (1-ethyl-3-(4-azonia-4,4-dimethyl-pentyl)-carbodiimide iodide)를 처리함으로써 carboxyl group을 변환하여 효소를 불활성화시킬 수 있었다. Lim 등(1989)에 따르면, *T. konigii*에서 분리한 endoglucanase의 pH profile에서 pKa 3.5와 5.4의 amino acid가 효소의 활성부위에 관여하며, 이 효소는 N-ethyl-5-phenyl- isoxazolium(Woodwar reagent K; WRK)에 의하여 불활성화되었다. 이 실험에서 효소 (10.2  $\mu$ M)는 5.0 mM WRK에 의하여 불활성화되어 20 °C에서 10분 후에 남아있는 활성은 10 % 이내였다. WRK의 농도 (0-5.0 mM)에 따른 화학적 변환 실험에서 시간과 남아있는 효소 활성도의 상용대수 값에 대하여 회귀곡선을 그렸을 때 직선을 보여주었고, 이 직선의 기울기인 kapp와 WRK 농도의 각각 상용대수 값에 대하여 회귀곡선을 그려 k' (second-order rate constant)을 구하였을 때 k'값은 0.95로서 이 효소에 적어도 하나의 carboxyl group이 WRK에 의하여 modification되어 효소가 불활성화 된 것으로 나타났다. pH 변화에 따른 효소의 화학적변환 실험에서 pH 4.5에서 5.5까지 kapp 값이 증가하고 pH 5.4-6.0에서 가장 큰 값을 보였다. 이 결과로부터 pH profile에서 추정된 두개의 ionizable group 중에서 pKa 값이 5.4인 carboxyl group이 변환되었다고 추정되었다. 효소의 기질이며 다른기질에대한 경쟁억제제인 cellotetraose는 WRK에 의한 효소 불활성화를 60 % 정도 방해하였다. 이는 변환되는 carboxyl group에는 효소의 활성 부위를 포함하며, 이 부위가 cellotetraose에 의하여 보호되었음을 의미하였다. 이러한 결과는 endoglucanase의 활성에 carboxyl group이 관여함을 의미한다. 한편 tetranitromethane이나, iodoacetamide에 대한 modification실험에서는 효소활성이 거의 감소하지않아 다른 amino acid (Tyr, Cys, His)는 촉매작용과 무관함을 알 수 있었다. 한편, Yaguchi 등(1983)은 *S. commune*에서 분리한 endoglucanase의 N-terminal amino acid의 서열을 분석하여, 이효소의 Glu-35로부터 Tyr-51까지의 서열이 egg-white- lysozyme의 활성부위 (활성잔기: Glu-35, Asp-52, 기질 결합잔기: Asn 44)와 유사함을 보여주었는데, 이러한 일치성은 같은 곰팡이에서 분리된 또다른 endoglucanase에서도 확인된 바 있다 (Paice 등, 1984). 이러한 결과들은 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 cellulase가 lysozyme과 동일한 기작에따라 반응한다는 사실을 뒷받침 해준다고 하겠다. 이러한 기작은

Umezurike (1981)이 *B. theobromae*에서 분리한  $\beta$ -glucosidase의 작용기작에서 제시한 general acid에 의한 촉매작용과 일치한다. Fig. 2에서 하나의 carboxyl group (Asp-50)은 general acid로 작용하여 포도당의 C-1을 carbonium carbon으로 만들고, 다른 하나의 carboxyl group (Asp-33)은 carbonium carbon의 positive charge를 안정화시켜 OH<sup>-</sup>같은 수용체에 전달하게 된다. 이때 OH<sup>-</sup>가 수용체로 작용하면 가수분해가 되고, 다른 수용체 (cellooligosaccharide 같은)에 전달되면 transglycosylation이 되는 것으로 보인다. *T. reesei*의 endoglucanase 유전자중의 일부는 cloning되어 그 총 amino acid 서열이 밝혀졌는데 (van Arsdell 등, 1987; Penttila, 1986), 그 결과와 low angle X-ray diffraction study (Schmuck 등, 1986)로부터 제시된 가수분해효소의 가상적인 model (Knowles 등, 1987)을 Fig 3에 나타내었다. 이 그림에서 Hinge와 Tail 부분은 이 효소가 갖고있는 당의 80%가 모여있으며 효소가 섬유소에 결합하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보인다. Tail과 Hinge의 일부가 (N-말단부분의 61 amino acids) 단백질 가수분해효소에 의하여 잘려나간 나머지 효소부위는 수용성 기질에는 여전히 활성을 보인 반면, 결정형 섬유소에는 흡착도 되지 않았고 활성도 나타내지 않은 것으로 보고되었다 (Stahlberg 등 1988).

## 2) Exoglucanase

Exoglucanase는 cellulose 비환원성 말단으로부터 cellobiose 단위를 가수분해하는 효소로서, 종류에 따라 포도당잔기를 생성하기도 한다. 부분적으로 분해된 비결정형의 기질과, celloextrin을 분해 할 수 있으며, endoglucanase와의 공동작용으로 결정형 섬유소를 분해할 수 있다. *T. koningii*에서 분리한 두 종류의 exoglucanase에 대한, WRK에 의한 변환 실험에서 (Jeong 등, 1989), 모두 endoglucanase 와 유사한 결과를 얻은 바 있다. 이는 exoglucanase도 endoglucanase와 같이 lysozyme과 유사한 작용기작을 갖음을 의미한다. *T. reesei*에서 얻은 exoglucanase의 amino acid 서열은 같은 균주의 endoglucanase의 서열과 일치하는 부위가 있음이 보고 되었는데, 이는 바로 endoglucanase의 구조에서 언급한 tail 부분 즉, 섬유소와의 결합부위였다 (Teeri 등, 1987)

### 3) $\beta$ -glucosidase

$\beta$ -glucosidase는 endo- 및 exoglucanase의 작용에 의하여 생성된 cellooligosaccharide를 가수분해하고 transglucosylation 활성을 갖는다는 점에서 섬유소의 분해와 유도에서 중요한 역할을 담당하는 효소이다.  $\beta$ -glucosidase가 갖는 transglycosylation 활성은 *B. theobromae* (Umezurike, 1971), *A. foetidus* (Gusakov 등, 1984), *T. koningii* (Maeng 등, 1986) 등의 미생물에서 확인된 바 있다. Gusakov 등(1984)은 *A. foetidus*에서 분리한  $\beta$ -glucosidase가 cellobiose에 작용하여 생성한 산물들을 HPLC로 분석하여, 이 효소가 일으키는 transglycosylation 산물은 isocellotriose와 gentiobiose라고 보고하였다. 따라서 그들은 *A. foetidus*의  $\beta$ -glucosidase가 일으키는 transglucosylation 반응에서 glucosyl기가 수용체에 전달되어 생성되는 결합은  $\beta$ -1,4-가 아니고,  $\beta$ -1,6-glycosidic 결합이라고 주장하였다. 한편 Jeong (1990)은 *T. koningii*에서 분리된  $\beta$ -glucosidase를 cellobiose 또는 gentiobiose와 반응시킨 후, transglycosylation 반응산물을 HPLC로 부분정제하고, 이를  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy로 분석하였다. Cellobiose를 기질로 사용하였을 경우, glucose dimer 중에서 기질인 cellobiose 외에 gentiobiose는 HPLC로 분리하여 NMR 상에서 확인할 수 있었고, sophorose의 존재는 HPLC 상에서는 분리할 수 없었으나, NMR 상에서 확인할 수 있었다. Glucose trimer는 HPLC 상에서 하나의 분리된 peak와 미량이고 여럿이 섞인 것으로 보이는 peak에 대하여 NMR spectroscopy를 행하였는데, 하나의 분리된 peak는 cellotriose임을 확인할 수 있었고, 미량의 부분정제된 peak에서는  $\beta$ -1,2-glycosidic 결합을 포함하는 isocellotriose의 존재를 확인할 수 있었고,  $\beta$ -1,3- 및  $\beta$ -1,6- 결합의 존재 가능성을 확인할 수 있었다. Gentiobiose를 기질로 사용하였을 경우에 생성되는 glucose trimer는 HPLC 상에서 하나의 분리 가능한 peak와 세개의 다른 물질이 섞인 것으로 보이는 peak로 분리 되었는데, 이들에 대한 NMR spectroscopy 상에서 전자의 peak는  $\beta$ -1,6 결합만을 갖는 것으로 나타났고, 후자의 peak에서는  $\beta$ -1,2결합의 존재를 확인할 수 있었으며 이와함께  $\beta$ -1,4- 및  $\beta$ -1,3- 결합도 존재하는 것으로 생각되었다. 이와같이 *T. koningii*에서 분리된  $\beta$ -glucosidase에 의한 transglycosylation 반응에서는,  $\beta$ -1,6- 결합만이 생성된다고 보고된 *A. foetidus*의 경우와는 달리, 매우 다양한  $\beta$ -glycosidic 결합이 생성



됨을 알 수 있었다. 이러한 현상은  $\beta$ -glucosidase가 cellulose의 가수분해로부터 sophorose 등의 cellulose 유도물질을 생성하는 역할을 담당한다는 주장(Vaheri 등, 1979)에 대한 매우 뚜렷한 증거가 될 것이다.

$\beta$ -glucosidase는 cellobiose( $\beta$ -1,4) 뿐만 아니라 sophorose( $\beta$ -1,2), laminaribiose( $\beta$ -1,3), gentiobiose( $\beta$ -1,4)도 가수분해할 수 있는데, 이는  $\beta$ -glucosidase가 비록 그 속도는 다르지만 여러가지의  $\beta$ -glycosidic 결합을 분해할 수 있음을 의미한다 (Maeng 등, 1986)

$\beta$ -glucosidase의 작용기작을 알기 위하여 많은 연구가 이루어져 왔다. Umezurike(1981)은 kinetics를 통하여 general acid에 의한 기작을 주장하였고, conduritol- $\beta$ -epoxide 등의 활동부위 지향성 저해제들을 이용한 affinity lablling의 결과(Woodward와 Wiseman, 1982)를 통해서도 carboxyl기가 관여할 것이라는 주장이 뒷받침 되었다.

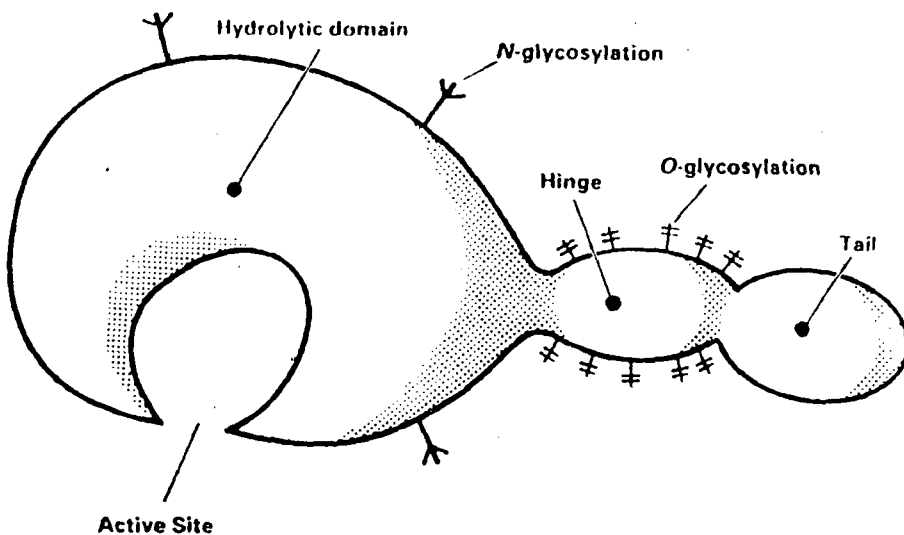


Fig. 3. A hypothetical model of a cellulolytic enzyme. This model is based on the analysis of amino acid sequence data and on low-angle X-ray diffraction studies (Knowles et al, 1987)

#### 4. 결론

이상에서 살펴본 바와 같이 섬유소를 가수분해하는 효소들은 그 구조상 크게 측쇄부위와 기질결합 부위로 나누어 볼수 있다. 측쇄작용은 carboxyl기가 관여하는 general acid 반응에 의하여 이루어지는 것으로 보이고, 기질 결합부위에 의한 흡착이 결정형 섬유소를 분해하는데 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다. 이들 효소들은 exoglucanase를 제외하고 모두 transglycosylation 반응을 보였는데, endoglucanase는  $\beta$ -1,4-결합만을 생성한 반면,  $\beta$ -glucosidase는  $\beta$ -1,2-,  $\beta$ -1,6-결합을 포함하는 다양한 결합을 생성하였다.

#### 5. 참고서적

1. Ayers, L.R., S.B. Ayers, and K.E. Eriksson, 1978. Cellobiose oxidase, purification and partial characterization of a hemoprotein from *Sporotrichum pulverulentum*. *Eur. J. Biochem* 90: 171 - 181.
2. Clark, J., and M. Yaguchi, 1985. The role of carboxyl group in the function of endo- $\beta$ -1,4-glucanase from *Schizophyllum commune*. *Eur. J. Biochem* 194: 233 - 238.
3. Eriksson, K.E., 1975. Enzyme mechanism involved in the degradation of wood components. In: Symposium on Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. *SITRA*; 263 - 280.
4. Eriksson, K.E., 1978. Enzyme mechanisms involved in cellulose hydrolysis by the rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Biotech. Bioeng.* 20: 317 - 332.
5. Gusakov, A.V., A.P. Sinitsyn, G.H. Goldsteins and A.A. Kylosov, 1984. Kinetics and mathematical model of hydrolysis and transglycosylation catalyzed by cellobiase. *Enz. Microbiol. Technol.* 6: 275 - 282.
6. Halliwell, G., and R. Vincent, 1981. The action on cellulose and its derivatives of a purified 1,4- $\beta$ -glucanase from *Trichoderma koningii*. *Biochem. J.* 199: 409 - 417.
7. Hong, S.W., Y.C. Hah, P.J. Maeng, C.S. Jeong. 1986. Purification and mode of action of low molecular weight  $\beta$ -1,4-glucan glucanohydrolase from *Trichoderma koningii*. *Enz. Microb. Technol.* 8: 227 - 235.
8. Hurst, P.L., P.A. Sullivan, and M.G. Sepherd, 1977. Chemical modification of a cellulase from *A. niger*. *Biochem. J.* 167: 549 - 556.
9. Jeong, C.S., 1990. Characterization of the  $\beta$ -1,4-D-glucan cellobiohydrolase,  $\beta$ -1,4-D-glucan glucanohydrolase, and  $\beta$ -glucosidase from *Trichoderma koningii*. Ph.D. thesis, Seoul Natl. Univ.
10. Klesov, A.A., V.M. Chernoglazov, M.L. Ravinovich, and A.P. Sinitsyn, 1982. Role of the adsorption capacity of endoglucanases in the degradation of crystalline and amorphous celluloses. *Biorganicheskaya Khimiya* 8:

643 - 651.

11. Knowles, J., O. Lehtovaara, T. Terri, 1987. Cellulase families and their genes. *Tibtech* 5: 255-261.
12. Maeng, P.J., C.S. Jeong, S.W. Hong, Y.C. Hah, 1986. Purification and characterization of low molecular weight  $\beta$ -glucosidase from *Trichoderma koningii*. *Kor. J. Microb.* 24: 251-261.
13. Maeng, P.J., S.W. Hong, Y.C. Hah, S.O. Kang, Y.H. Lee, J.H. Kim, and C.S. Jeong, 1987.  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopic evidence on the glycosidic linkages of the transglycosylated products of low molecular weight 1,4- $\beta$ -D-glucanglucanohydrolase from *Trichoderma koningii*. *Kor. J. Microb.* 25: 304 - 308.
14. Maksimov, V.I., 1982. Detection of transglycosylation reactions during action of cellulase preparations from *Trichoderma viride*. *Appl. Biochem. Microbiol.* 17: 422-426.
15. Nisizawa, K., and Y. Hashimoto, 1959. Cellulase-splitting enzyme: Difference in the specificities of cellulase and  $\beta$ -glucosidase from *Irpex lacteus*. *Arch. Biochem. Biophys.* 81: 211 - 222.
16. Okada, G., and K. Nisizawa, 1975. Enzymatic studies on a cellulase system of *Trichoderma viride*: Transglycosylation properties of two cellulase components of random type. *J. Biochem.* 78: 297-306.
17. Pentilla, M., P. Lehtovaara, H. Nevalainen, R. Bhikhabhai, and J. Knowles, 1986. Homology between cellulase genes of *Trichoderma reesei*: complete nucleotide sequence of the endoglucanase I-gene. *Gene* 45: 253-263
18. Rye, D.D.Y., C. Kim, and M. Mandels, 1984. Competitive adsorption of cellulase components and its significance in a synergistic mechanism. *Biotechnol. Bioeng.* 26: 488 - 496.
19. Schmuck, M., I. Pilz, M. Hayn, and H. Esterbauer, 1986. Investigation of cellobiohydrolase from *Trichoderma reesei* by small angle X-ray scattering. *Biotechnol. Lett.* 8: 397 - 402.
20. Selby, K. 1969. The purification and properties of the  $C_1$  component of the cellulase complex. In *Adv. Chem. Ser. Vol 95: Cellulase and their Applications* (R.F. Gougl, Ed). pp. 34-50. Am. Chem. Soc. Washington D.C.
21. Stahlberg, J., G. Johansson, and G. Pettersson, 1988. A binding-site-deficient, catalytically active, core protein of endoglucanase III from the culture filtrate of *Trichoderma reesei*. *Eur. J. Biochem.* 173: 179-183.
22. Teeri, T., P. Lehtovaara, S. Kauppinen, I. Salovuori, and J. Knowles, 1987. Homology domains in *Trichoderma reesei*. *Bio/Technol.* 1: 696-700.
23. Umezurike, G.M., 1971. The purification and properties of extracellular  $\beta$ -glucosidase from *Botryodiplodia theobromae* Pat. *Biochim. Biophys. Acta.* 227; 419 - 428.
24. Umezurike, G.M., 1981. The  $\beta$ -glucosidase from *Botryodiplodia theobromae*. *Biochem. J.* 199: 203 - 209.
25. Vaheri, M., M. Leisola, and V. Kauppinen, 1979. Transglycosylation products of cellulase system of *Trichoderma reesei*. *Biotechnol Lett.* 1: 41 - 46.
26. van Arsdell, J.N., S. Kwok, V.L. Schweikart, M.B. Ladner, D.H. Gelfand and M.A. Innis, 1987. Cloning, characterization, and expression in Saccha-

- romyces cerevisiae of endoglucanase I from *Trichoderma reesei*.  
*Biotechnol.* 5: 60-64.
27. Westermark, U., and K.E. Eriksson, 1974. Cellobiose: quinone oxidoreductase, a new wood degrading enzyme from white rot fungi. *Acta Chem. Scand. B* 28: 209-214.
  28. Wood, T.M., 1975. Properties and mode of action of cellulases. *Biotech. Bioeng. Sym.* 5; 111 - 137.
  29. Wood, T.M., and S.I. McCrae, 1979. Synergism between enzymes involved in the solubilization of native cellulose. In *Adv. Chem. Ser. Vol 181*: (R.D. Brown and L. Jurasek Ed). pp. 181-209. Am. Chem. Soc. Washington D.C.
  30. Woodward, J., and A. Wiseman, 1982. Fungal and other  $\beta$ -glucosidase: their properties and applications. *Enz. Microb. Tech.* 4: 73-79.
  31. Yaguchi, M., C. Roy, C.F. Rollin, 1983. A fungal cellulase shows sequence homology with the active site of hen egg-white lysozyme. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 116; 408 - 411.