

담자균 *Phanerochaete chrysosporium*으로부터 유래한 Glycoside Hydrolase Family 74 유전자 클로닝과 전사산물 분석*1

이 재 원*2 · 鮫島正浩*3 · 최 인 규*2†

Molecular Cloning of Glycoside Hydrolase Family 74 Genes and Analysis of Transcript Products from the Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium**1

Jae-Won Lee*2 · Masahiro Samejima*3 · In-Gyu Choi*2†

요 약

셀룰로오스의 가수분해 기작을 구명하기 위하여 *Phanerochaete chrysosporium*으로부터 74A (*PcGHF74A*) 유전자를 클로닝한 결과 2162 bp의 염기서열에 해당하는 721개의 아미노산을 가지고 있으며, 다른 사상균에서 유래한 GHF74와 70~77%의 상동성을 나타냈다. *Phanerochaete chrysosporium* GHF74B (*PcGHF74B*)는 family 1에 속하는 Cellulose Binding Module (CBM)을 가지고 있으며 셀룰로오스 배양계에서 다양한 전사산물이 존재하였다. *PcGHF74B* 전사산물에서 나타난 splice variants를 조사하기 위해서 annotation data와 sequence data로부터 primer를 설계하여 RT-PCR분석을 수행하였으며 그 결과 다양한 배양조건에서 splice variants가 존재함을 확인하였다. 첫 번째는 annotation data와 다르게 11번째 intron을 포함하고 있어 full length로 추정되어지는 것으로 2562 bp에 stop codon이 존재했으며, 두 번째는 7번째 exon 1187 bp에 stop codon을 가지고 있으며 12개의 exon으로 구성되어 있다. 세 번째는 10개의 exon과 9개의 intron을 포함하고 있으며 7번째 exon에 stop codon이 존재했다. Splice variants로서 intron에 나타난 stop codon으로 인해 활성 단백질의 합성이 일어나지 않을 것이며 비활성 단백질을 생성하거나 원래의 GHF74의 기능이 아닌 다른 새로운 기능을 갖는 단백질을 생성할 수 있을 것으로 사료된다.

* 1 접수 2006년 2월 24일, 채택 2006년 3월 27일

* 2 서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부 Dept. of Forest Sciences, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

* 3 동경대학교 농업생명과학대학원 Graduate School of Agriculture and Life Sciences, The University of Tokyo, Yayoi 1-1-1, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

† 주저자(corresponding author) : 최인규(e-mail: cingyu@snu.ac.kr)

ABSTRACT

In order to evaluate the mechanism of cellulose hydrolysis, the complementary DNA encoding Glycoside Hydrolase Family (GHF)74 was cloned from *Phanerochaete chrysosporium*. Depending on the presence of Cellulose Binding Module (CBM), it can be classified as GHF74A or GHF74B. The GHF74A gene from *P. chrysosporium* (*PcGHF74A*) consists of 2163 bp encoding a protein of 721 amino acid residues. The *PcGHF74A* showed homology of 70~77% compared with the *GHF74* from other filamentous fungi. The *PcGHF74B*, which contains CBM and is a member of family 1, was transcribed to various transcripts depending on the nature of carbon sources and their concentration. To study the possible presence of splice variants in *GHF74B* transcripts in *P. chrysosporium*, we carried out RT-PCR analysis using primers that designed based on the annotation data and sequenced data. Our result indicated that *PcGHF74B* was transcribed to several splicing variants in various culture conditions. Especially in the culture of 2% cellulose, three transcript products were observed. First transcript was presumed to be a full length ORF that contained 11th intron with stop codon at position 2562 bp. The second one consisted of 12 exons and 11 introns with stop codon at position 1187 bp with 7th exon. The shortest transcript consisted of 10 exons and 9 introns with stop codon at 910 bp in the 7th exon. These premature stop codon might prevent the synthesis of fully active GHF74 or contribute for the production of protein with distinct function depending on the ambient carbon sources.

Keywords: *Phanerochaete chrysosporium*, cellulose binding module, glycoside hydrolase family 74, transcripts, splice variants

1. 서 론

목재부후균을 이용한 셀룰로오스, 리그닌, 난분해성 물질 등에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있지만(안 등, 1998; 최 등, 1998; 최 등, 2002; 이 등, 2004; 이 등, 2005), 이 효소들의 기능과 작용기작은 아직 잘 밝혀지지 않고 있는 실정이다. 담자균류에 속하는 *Phanerochaete chrysosporium*은 리그닌 분해효소 뿐만 아니라 당가수분해효소집단(Glycoside Hydrolase Family : GHF)에 속하는 다양한 셀룰로오스 분해효소를 균체 외로 분비하는 것으로 알려져 있어, *P. chrysosporium*를 이용한 난분해성 물질 분해 연구 및 셀룰로오스 가수분해 효소에 관한 연구가 활발하게 이뤄지고 있다(Martinez *et al.*, 2004). 최근 미국 에너지성에서 *P. chrysosporium*의 whole genome 염기서열분석을 완성함에 따라 *P. chrysosporium*는 난분해성 효소연구 및 셀룰로오스 가수분해 효소연구의 모델 system으로 이용되고 있다(Gold *et al.*, 1993;

Reddy 1995; 이 등, 2005).

미국 에너지성의 genome 정보에 의하면 *P. chrysosporium*에는 38종의 가수분해효소 family에 속하는 167개의 Glycoside Hydrolase (GH)유전자가 존재한다(<http://genome.jgi-psf.org>). 가수분해효소 중 GHF74는 cellulase, xyloglucanase 등의 활성을 가지고 있는데 현재 동정된 GHF74에는 *Agaricus bisporus*의 Cel6 (Morales, 2003), *Aspergillus aculeatus*의 avicelase (Takada *et al.*, 2002), *Aspergillus niger*의 xyloglucanase(Hasper *et al.*, 2002), *Thermotoga naritima*의 endo-1,4-glucanase (Nelson *et al.*, 1999), *Hypocrea jacorina*의 xyloglucanase (Foreman *et al.*, 2003) 등이 속한다. 하지만 *P. chrysosporium*가 분비하는 GHF74의 기능은 아직 밝혀져 있지 않으며 가수분해 기작을 구명하기 위해서 그 기능해석이 필요한 실정이다.

많은 유전자들이 alternative splicing에 의해 하나 이상의 splice variants를 만드는 경우가 있는데,

alternative splicing에 의해 활성단백질 생성이 저해되거나 단백질에 새로운 기능이 부여되기도 하여, 담자균 뿐만 아니라 고등생물의 유전자 발현 조절에 매우 중요한 역할을 담당하고 있다(Lopez, 1998; Elliott, 2000; Smith *et al.*, 1989; Hu *et al.*, 2001). *P. chrysosporium*에서도 exocellobiohydrolase (Sims *et al.*, 1994)와 cytochrome P450 monooxygenase gene (Yadav *et al.*, 2003)의 intron부분에서 발생하는 alternative splicing에 대한 연구가 보고되었으며, 최근에는 peroxidase (Macarena *et al.*, 2005), multicopper oxidase 유전자(*mco1-mco4*) 전사산물에 대한 incomplete splicing에 대한 연구도 보고된 바 있다(Larrondo *et al.*, 2004).

본 연구에서는 셀룰로오스 가수분해기작을 구명하기 위해 *P. chrysosporium*으로부터 GHF74 유전자를 클로닝하고 다양한 셀룰로오스 배양계에서 splice variants에 의한 전사산물 변이 해석을 수행하였다. 이러한 전사산물 해석을 통하여 *P. chrysosporium*으로부터 유래한 GHF74의 기능을 밝힐 수 있을 것이며, 이 유전자의 발현조절이 탄소원에 의해 조절된다는 것을 제시하는 바이다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시균주 및 배양조건

일본 동경대학 농업생명과학대학 산림화학과로부터 분양받은 *P. chrysosporium* strain K-3를 Potato Dextrose Agar에서 배양하였으며 4°C에서 보관하여 사용하였다. 1 ℓ 삼각플라스크에 400 ml Kremer & Wood medium과 탄소원으로 cellobiose (0.02~0.2%), cellulose (2%)를 각각 첨가하여 121°C에서 15분 동안 멸균한 후 PDA배지에서 보존하고 있는 *P. chrysosporium* strain K-3를 접종하였으며, 37°C에서 1주일 동안 배양하여 균사를 수집하여 RNA분리를 위해 사용하였다. Kremer & Wood medium 조성은 Table 1과 같다.

2.2. RNA 분리 및 RT-PCR

다양한 탄소원 조건으로 Kremer & Wood medium

Table 1. Chemical composition of Kremer & Wood medium

Composition (per liter)	
(NH ₄) ₂ HPO ₄	26 g
KH ₂ PO ₄	11 g
Dimethylsuccinic acid	2.2 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5 g
Trace 1*	1 ml
Trace 2*	1 ml
Carbon sources (cellobiose or cellulose)	0.02% ~ 2%

*Trace 1 : CaCl₂ · 2H₂O 740 mg, CoCl₂ · 6H₂O 10 mg per liter

*Trace 2 : FeSO₄ · 7H₂O 100 mg, MnSO₄ · 7H₂O 50 mg, ZnSO₄ · 7H₂O 50 mg per liter

에서 자란 균사체를 수집하여 액체질소를 이용하여 냉동시킨 후 막자사발에 넣어 분쇄하여 E.Z.N.A. Fungal RNA Kit (Omega Bio-tek, Inc., Doraville, GA)를 사용하여 total RNA를 분리하였다. 분리된 total RNA로부터 mRNA를 분리하였으며(mRNA purification kit, Invitrogen, USA) mRNA는 -80°C에서 보관하면서 사용하였다. 분리된 mRNA로부터 역전사(reverse transcription) 반응을 통해 first-strand cDNA를 합성하였다(Ready-To-Go™ First-strand cDNA Synthesis Kit, Amersham Biosciences, USA). 1 μl의 cDNA를 이용하여 RT-PCR을 수행하였는데, PCR 반응은 95°C에서 1분 동안 변성반응을 실시하고, 95°C에서 30초, 68°C에서 1분 30초 동안 결합반응을 실시한 후 68°C에서 2분 동안 확장반응을 실시하였다. RT-PCR에 사용된 oligonucleotide 서열은 Table 2에 나타난 바와 같은데, 이는 *Agaricus bisporus*로부터 동정된 GHF74의 아미노산 배열을 *P. chrysosporium* genome 정보(<http://genome.jgi.pst.org/Whiterot/>)에 대입하여 BLAST 검색을 수행한 후, 두 균류간 염기서열이 보존된 부분인 *P. chrysosporium* genome상의 Scaffold 19과 129로부터 primer를 설계하였다.

2.3. GHF74 유전자 클로닝

GHF74 유전자의 전사물질의 염기서열을 확인하기

Table 2. Oligonucleotides used as primers for RT-PCR

Site	Oligonucleotide
GHF74A Forward	5'-GCACCCCTCAATTTTCGACCCAGTCT-3'
GHF74A Reverse	5'-TCACCTTCCGTTCCGTGCC-3'
GHF74B Forward	5'-GCAAGCCCACAAGCATACA-3'
GHF74B Reverse	5'-TCATAGACACAAATTGCCGGTACT-3'

위하여 약 2100 bp *GHF74A*와 2400 bp *GHF74B*의 RT-PCR 산물을 각각 pGEM-T easy vector(Promega, Madison, WI, USA)에 ligation한 후, *Escherichia coli* JM109에 열 충격으로 transformation하였다. X-gal과 IPTG가 포함된 LB-kanamycin broth에서 37°C로 배양하여 colony를 선발하였으며 선발된 colony는 다시 LB-kanamycin broth에서 37°C로 16~18시간 배양한 후 plasmid DNA를 추출하여 정제하였다. 제한효소로 *GHF74A*는 NotI, XbaI, *GHF74B*는 EcoRI, XbaI를 이용하였으며 전기영동으로 insert를 확인하였다. Thermo Sequenase primer Cycle Sequencing Kit (Amersham Biosciences)를 사용하여 DNA sequence SQ5500E (Hitachi Electronic Engineering, Tokyo)로 염기서열을 확인하였다. Signal peptide의 유무를 SignalP (<http://www.cds.dtu.kd/services/SignalP>)를 이용하여 확인하였으며, 다른 사상균의 *GHF74*와의 상동성은 CLUSTAL W (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>)와 NCBI BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)를 이용하여 비교 분석하였다.

2.4. 탄소원에 의한 RT-PCR 전사산물 분석

다양한 농도의 탄소원배지로부터 배양된 *PcGHF74B*의 RT-PCR산물 분석을 위해 annotation data와 sequence data로부터 intron을 제외한 다양한 primer를 설계하여 제조된 primer 조합 5 set (F1:R1, F2:R1, F3:R1, F2:R2, F3:R2)로 RT-PCR을 수행하였으며 밴드의 분리능을 증가시키기 위해 5% agarose gel을 이용하여 전기영동을 수행하였으며 밴드의 패턴으로 전사산물 분석을 수행하였다. RT-PCR

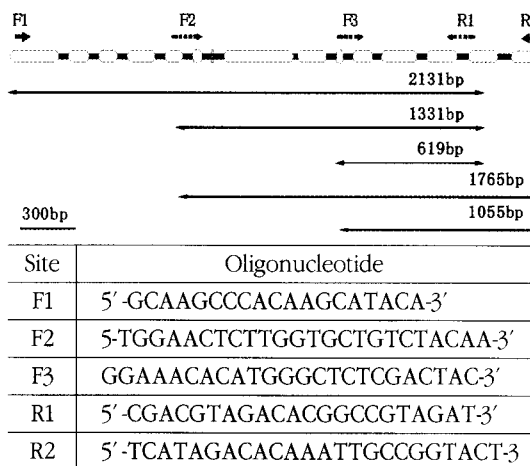


Fig. 1. Locations and nucleotide sequences of primers used for PCR.

산물을 증폭하기 위해 사용된 primer조합은 Fig. 1과 같다.

3. 결과 및 고찰

3.1. GHF74 유전자의 클로닝

*PcGHF74*에는 Cellulose Binding Module (CBM)이 없는 Scaffold 129에 해당하는 *PcGHF74A*와 CBM을 가지는 Scaffold 19의 *PcGHF74B*가 존재하는 것을 *A. bisporus* GHF74 아미노산 정보를 *P. chrysosporium*의 genome 정보에 대해 BLAST검색을 통해 확인하였다. CBM을 가지는 *PcGHF74B*의 RT-PCR을 수행한 결과 다양한 전사산물이 확인되어 full-length에 해당하는 염기서열 분석이 이뤄지지 못했다. 반면 *PcGHF74A*에 대한 full-length 염기서열 분석은 성공적으로 이뤄졌으며 염기서열에 대한 아미노

MHWLTAFALAASAASLAHAAPSISTQSYTWKNVKIGGGGFTPGIVFNPSQKGLAFLRT 60
DIGGVYKLNPDSSWTPLLDFADNDHWDYWGSDAIATDPI DPQRLYLIAAGMYTNFWDPNNG 120
TILISKDQKFTTESPLPFKVGGNMPGRGVGERLAVDPHSNNILLFGARSGNGLWKRSTDF 180
GATWSKVTSLPDSQTYAPDPTDSSGINSDKTGVTFTVTFDSTSGAAGAATPRI FVGVASVG 240
SPNIFRSDDAGETWTAIQGTNSMAHKGVLSPKKEGVLYLSTSDGVGPNDGSIGAVYKYD 300
IASETITNISPVSGSDLFFGFGGLAVDVQRPGTFMVAALNCWWPDGQVWRRTDGGSTWSP 360
LWAWEAYPALYKYTTYDSSLAPWIGPDYTNPN DIVQQIGWMEALVIDPFDNSHWLYGTGE 420
TVYGGHDLKWDTTHTNITLTKSLADGIEEDAVQSLISPPAGPPLLSAVGDNGGFVHLDLSK 480
APTAAARFNPVWATNVLDLFAGNVPSTIVRIGNSNGEFALSTDAGNTWSQNIGGTGNVNS 540
GKIALSANGTNI LWSSGNAGVLLSQAGGAFAPVSSLP SGAAVAADRKNDNVFYAAAGPKF 600
FVSTDGGKTFTTAAGTLGGSTSPVKVAVNPKTSGDVVWSTDKGLFHSTNSGASFSAVSGI 660
TQAWAIALGAPESTNAYPAVFAAANVAAGSGGGIGYYSRSDNGGKNWVKINDAAHGFSGSIS 720
SNVLTADPRVYSRVYIGTNGR

———— : Signal peptide □ : Glycosylation site

Fig. 2. Deduced amino acid sequence of GHF74A gene derived from *P. chrysosporium*.

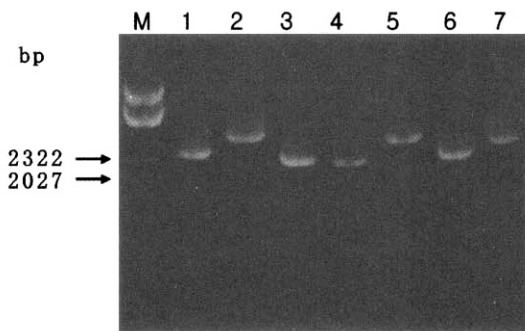


Fig. 3. Analysis of the RT-PCR products obtained with GHF74 specific primer pairs. M: Marker, 1~7: Various size of GHF74B transcript products on cellulose culture (lines 2,5,7 : 2500 bp, lines 1,6 : 2350 bp, lines 3,4 : 2100 bp obtained from used template).

산 배열 정보는 Fig. 2에 나타났다.

SignalP 3.0 Server에 의해 putative signal peptide가 N-terminal end의 20개의 아미노산으로 구성되어 있음을 확인하였고 이로부터 균체 외 효소임을 짐작할 수 있었다. GHF74A는 signal peptide를 제외하고 전체 721개의 아미노산으로 이루어져 있으며 예상되는 분자량은 75 kDa이며 3곳에서 putative glycosylation site가 존재하여 균체 외로 분비되었을 경우에는 75 kDa 이상의 분자량으로 나타날 것으로 예상된다.

*PcGHF74A*는 *A. bisporus* (Morales, 2003), *A. niger* (Hasper *et al.*, 2002)가 가지는 셀룰로오스 또

Table. 3 Comparative analysis of homology with GHF74

Strain	Homology (%)
<i>Agaricus bisporus</i>	77
<i>Aspergillus niger</i>	70
<i>Aspergillus aculeatus</i>	70
<i>Caldicellulosiruptor sp.</i>	60
<i>Clostridium thermocellum</i>	60
<i>Geotrichum sp. M128</i>	49

는 헤미셀룰로오스 가수분해효소를 암호화하는 유전자와 약 70~77%의 비교적 높은 상동성을 보이므로 이와 유사한 가수분해효소를 암호화할 것으로 예상된다. *PcGHF74A*와 다른 미생물에서 유래한 GHF74와 의 상동성을 비교한 결과는 Table 3과 같다.

3.2. GHF74B에서 탄소원에 따른 RT-PCR 전사산물 분석

CBM을 가지는 *PcGHF74B*의 경우 셀룰로오스 배지에서 배양된 균사로부터 얻어진 RT-PCR산물을 전기영동으로 확인한 결과 다양한 크기의 전사산물이 확인되었다. Table 2에 나타난 *PcGHF74B*의 primer를 사용하여 PCR을 수행한 결과는 Fig. 3에 나타났다. 예상 intron을 제외하고 약 2300 bp의 전사산물을 예상하였으나 명백하게 size가 다른 3종류의 전사산물

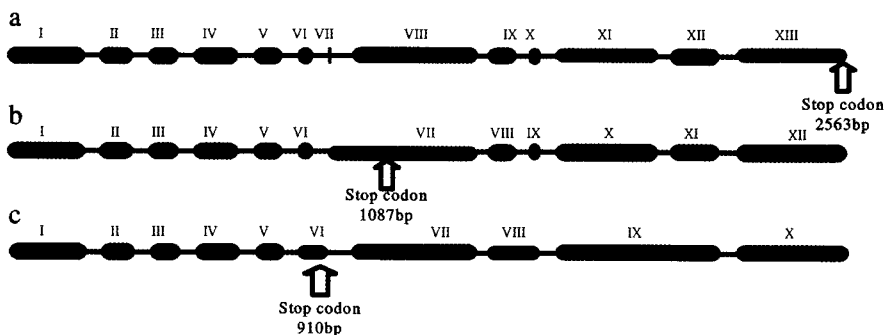


Fig. 4. Diversity of intron/exon structure of GHF74B gene. Introns are represented as black line; exons correspond to the bands.

을 확인할 수 있었다. 목재를 탄소원으로 사용한 이전의 실험에서 정치배양 진탕배양 등 배양조건에 따른 전사산물의 변이에 대해 보고된 바 있으므로(Macarena *et al.*, 2005), *PcGHF74B*의 전사조절은 배양조건에 따라 영향을 받는 것으로 사료된다.

Fig. 3에서 나타난 서로 다른 size를 가지는 3종류의 전사산물에 대한 염기서열을 분석한 결과는 Fig. 4에 나타났다. Fig. 3에서 가장 큰 size를 가진 전사산물의 유전자 구조는 annotation data와 약간의 차이는 보였는데, full-length로 추정되어지는 것으로 7번째 micro exon을 포함하여 13개의 exon을 가지며 2563 bp에서 stop codon이 존재하는 것으로 나타났다(Fig. 4a). 두 번째로 큰 전사물질의 유전자 구조는 1087 bp에서 stop codon이 존재하는 것으로 7번째 micro exon 뒤의 intron을 포함하고 있으며 intron이 포함되면서 염기서열의 변화로 아미노산의 변화가 일어나 7번째 exon에 stop codon이 존재하게 된 것으로 판단된다(Fig. 4b). 가장 짧은 전사산물의 유전자 구조는 7번째 micro exon 앞의 intron을 포함하고 있으며 910 bp에서 stop codon이 존재하였다(Fig. 4c). 여기서도 intron을 포함하게 되면서 일어나는 염기서열의 변화로 아미노산의 변화가 일어나 stop codon이 존재하게 된 것으로 판단된다. 기존 연구 결과에 의하면 *P. chrysosporium*으로부터 얻어진 multicopper oxidase cluster의 경우도 scaffold 56에 해당하는 25 kb 내에 4개의 multicopper oxidase genes이 존재하며 intron에 stop codon이 존재하여 일어났음을 보여주고 있다(Larrondo *et al.*, 2004). 뿐만 아니라 전

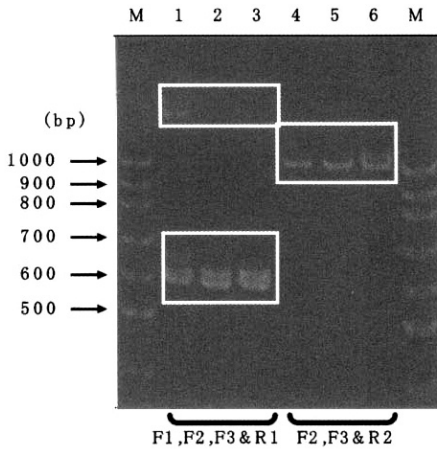
사산물의 변이를 일으키는 위치가 주로 micro exon 전후임을 확인하였고 micro exon이 전사산물 변이에 관여함을 예측할 수 있다.

탄소원으로 셀룰로오스 이외의 cellobiose를 처리하였을 때 전사산물의 분석결과는 Fig. 5와 같다. 다양한 농도(0.02~0.2%)의 cellobiose에서도 size가 다른 몇 가지 전사산물이 존재하여 밴드의 분리능이 높은 5% agarose gel에서 전기영동을 수행하여 확인하였다. Cellobiose의 경우 농도에 따라 다양한 전사산물 패턴을 나타냈다. 500~700 bp 사이에서 0.2% cellobiose는 3개, 0.02%와 2% cellulose는 2개의 전사산물이 존재하였고, 900~1000 bp 사이에서는 cellobiose 농도와 관계없이 1개, cellulose에서는 2개의 전사산물이 존재하였다.

4. 결 론

*P. chrysosporium*으로부터 유래한 GHF74는 BLAST 검색으로 CBM을 가지지 않는 *PcGHF74A*와 CBM을 가지는 *PcGHF74B*가 존재함을 확인하였다. *PcGHF74A* 유전자의 클로닝 결과 20 amino acid 길이의 signal peptide를 가지고 있어 균체 외 효소임을 짐작하였고, signal peptide를 제외하고 721개의 아미노산으로 구성되어 있으며, putative glycosylation sites가 존재하므로 분자량은 75 kDa 이상으로 예상된다. 반면 *PcGHF74B*는 splice variants에 의한 전사산물의 변이로 염기서열 분석이 이뤄지지 못했다.

*PcGHF74B*에 대한 splice variants를 조사하기 위



1: 0.2% Cellobiose 2: 0.02% Cellobiose
 3: 2% Cellulose 4: 0.2% Cellobiose
 5: 0.02% Cellobiose 6: 2% Cellulose
 M: 100 bp ladder marker

Fig. 5. Transcripts of GHF74B gene on different cellulose cultures(The samples the lanes are: lines 1, 2, 3, used primer F3&R1, F2&R1, lines 4, 5, 6, used primer F3&R2).

해 *P. chrysosporium*의 genome 정보로부터 예측되어지는 CBM을 가지는 *PcGHF74B* 유전자를 다양한 탄소원 종류와 농도의 조건에서 RT-PCR로 유전자를 증폭한 결과 뚜렷하게 size가 다른 몇 가지 증폭산물이 관찰되었다. 특히 2% cellulose배지에서는 size가 다른 3가지 전사산물이 나타났으며 7번째 micro exon을 중심으로 splice variants가 나타났음을 염기서열 분석으로 확인할 수 있었다.

이와 같은 결과는 annotation data로부터 예측되어지는 intron을 포함하여 염기서열 및 아미노산의 변이를 가져온 것으로 인간을 포함한 고등생물에서 나타나는 splice variants로 판단된다. 고등생물에서 나타나는 splice variants는 full-length를 가지는 1개의 유전자로부터 다양한 기능을 가지는 단백질을 생산하는 것으로 intron을 포함하거나 micro exon을 기준으로 염기서열의 변이를 가져오는 것이다(Smith et al., 1989). 다양한 농도의 cellulose와 cellobiose 배지에서 전사산물 패턴이 다르게 나타난 것으로 탄소원에 의존한 splice variants 기구가 존재한다는 것

을 추측할 수 있다. 이것으로 *PcGHF74B*에서는 full-length로 예측되는 것 이외의 다른 분자량의 단백질을 생산할 가능성을 가지고 있으며 그 기능 또한 full-length가 가지는 기능과는 다를 것으로 사료된다. 따라서 *P. chrysosporium*으로부터 분비되는 cellulose 가수분해효소는 기질에 따라 전사산물의 변이를 일으켜 기질에 적합한 단백질을 생산하는 기구가 존재함을 예측할 수 있다.

이와 같이 탄소원에 의해 유전자발현이 조절되는 splice variants의 기능연구를 통하여 탄소원에 따라 다양한 활성을 나타내는 단백질의 genetic engineering이 가능하리라 사료된다.

사 사

이 연구의 일부분은 서울대학교 BK21(임산공학 연구인력 양성사업팀) 지원과 한국과학재단 해외공동연구과제 지원에 의한 수행결과입니다.

참 고 문 헌

1. 안세희, 최인규. 1998. 목질분해균에 의한 4,5,6-triguaiacol의 미생물 분해. 목재공학 26(3): 63~72.
2. 이수민, 구분옥, 이재원, 최돈하, 정의배, 최인규. 2004. 옥틸페놀(4-t-octylphenol)의 *Basidiobolus molare*와 *Schizophora paradoxa*에 의한 분해 및 에스트로젠성 저감 효과. 목재공학 32: 27~35.
3. 이수민, 박기령, 이성숙, 김명길, 최인규. 2005. 백색부후균 *Polyporus brumalis*에 의한 프탈산의 분해. 목재공학 33(1): 48~57.
4. 이재원, 양인, 五十嵐圭日子, 鮫島正浩, 최인규. 2005. 백색부후균 *Phanerochaete chrysosporium*에서 유래한 Manganese Peroxidase Gene (*mnp5*)의 *Pichia pastoris*에서의 이종발현. 목재공학 33: 45~52.
5. 최인규, 안세희. 1998. 목질 분해균에 의한 pentachlorophenol의 미생물 분해. 목재공학 26(3): 53~62.
6. 최인규, 이재원, 최돈하. 2002. Monochlorophenol의 목질 분해균에 의한 분해 특성. 한국환경농학회지 21(4): 261~268.
7. Elliott, D. J. 2000. Splicing and the single cell. *Histol. Histopathol.* 15: 239~249.
8. Foreman, P. K., D. Brown, L. Dankmeyer, R. Dean,

- S. Diener, N. S. Dunn-Coleman, F. Goedegebuur, T. D. Houfek, G. T. England, A. S. Kelley, H. J. Meerman, T. Mitchell, C. Mitchinson, H. A. Olivares, P. F. M. Teunissen, J. Yao, and M. Ward. 2003. Transcriptional regulation of biomass-degrading enzymes in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *J. Biol. Chem.* 278(34): 31988~31997.
9. Gold, M. H. and M. Alic. 1993. Molecular biology of the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Microbiol. Rev.* 57: 605~622.
 10. Hasper, A. A., E. Dekkers, M. van Mill, P. J. I. van de Vondervoort, and L. H. De Graaff. 2002. EglC, a New endoglucanase from *Aspergillus niger* with major activity towards xyloglucan. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(4): 1556~1560.
 11. Hu, G. K., S. Madore, B. Moldover, T. Jakoe, D. Balaban, J. Thomas, and Y. Wang. 2001. Predicting splice variant from DNA chip expression data. *Genome Research.* 1237~1245.
 12. Larrondo, L. F., B. Gonzalez, D. Cullen, and R. Vicuna. 2004. Characterization of a multicopper oxidase gene cluster in *Phanerochaete chrysosporium* and evidence of altered splicing of the *mco* transcripts. *Microbiology.* 150: 2775~2783.
 13. Lopez, A. J. 1998. Alternative splicing of pre-mrna: developmental consequence and mechanisms of regulation. *Annu. Rev. Genet.* 32: 273~305.
 14. Macarena, S., L. L. Fernando, V. Monica, V. Rafael, and G. Bernardo. 2005. Incomplete processing of peroxidase transcripts in the lignin degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *FEMS.* 242: 37~44.
 15. Martinez, D., L. F. Larrondo, N. Putnam, M. D. S. Gelpke, K. Huang, J. Chapman, K. G. Helfenbein, P. Ramaiya, J. C. Detter, F. Larimer, P. M. Coutinho, B. Henrissat, R. Berka, D. Cullen, and D. Rokhsar. 2004. Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78. *Nature.* 1~6.
 16. Morales-Almora, P. and C. F. Thurston. 2003. Efficient isolation of genes differentially expressed on cellulose by suppression subtractive hybridization in *Agaricus bisporus*. *Mycol. Res.* 107: 401~407.
 17. Nelson, K. E., R. A. Clayton, S. R. Gill, M. L. Gwinn, R. J. Dodson, D. H. Haft, E. K. Hickey, J. D. Peterson, W. C. Nelson, K. A. Ketchum, L. McDonald, T. R. Utterback, J. A. Malek, K. D. Linher, M. M. Garrett, A. M. Stewart, M. D. Cotton, M. S. Pratt, C. A. Phillips, D. Richardson, J. Heidelberg, G. G. Sutton, R. D. Fleischmann, O. White, S. L. Salzberg, H. O. Smith, J. C. Venter, and C. M. Fraser. 1999. Evidence for lateral gene transfer between Archaea and bacteria from genome sequence of *Thermotoga maritima*. *Nature.* 399(6734): 323~329.
 18. Reddy, C. A. 1995. The potential of white rot fungi for the treatment of pollutants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 6: 320~328.
 19. Sims, P. F. G., M. S. Soares-Felipe, Q. Wang, M. E. Gent, C. Tempelaars, and P. Broda. 1994. Differential expression of multiple exo-cellobiohydrolase 1-like genes in the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Mol. Microbiol.* 12: 209~216.
 20. Smith, C. W., J. G. Patton, and B. Nadal-Ginard. 1989. Alternative splicing in the control of gene expression. *Annu. Rev. Genet.* 23: 527~577.
 21. Takada, G., M. Kawasaki, M. Kitawaki, T. Kawaguchi, J. Sumitani, K. Izumori, and M. Arai. 2002. Cloning and transcription analysis of the *Aspergillus aculeatus* No. F-50 endoglucanase 2 (*cmc2*) gene. *J. Biosci. Bioeng.* 94(5): 482~485.
 22. Yadav, J., M. B. Soellner, J. C. Loper, and P. K. Mishra. 2003. Tandem cytochrome P450 monooxygenase genes and splice variants in the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* cloning, sequence analysis, and regulation of differential expression. *Fungal Genet. Biol.* 38: 10~21.