

## 먹물버섯 자실체 및 균사체 추출물의 돌연변이 억제효과

김현정 · 이병훈 · 김옥미 · 배준태 · 박선희 · 박동철\* · 이갑랑†

영남대학교 식품영양학과

\*김천대학 식품가공과

### Antimutagenic Effect of the Fruiting Body and the Mycelia Extracts of *Coprinus comatus*

Hyun-Jeong Kim, Byeung-Hun Lee, Ok-Mi Kim, Jun-Tae Bae,  
Sun-Hee Park, Dong-Chul Park\* and Kap-Rang Lee†

Dept. of Food and Nutrition, Yeungnam University, Kyoungsan 712-749, Korea

\*Dept. of Food Processing and Technology, Kimchun College, Kimchun 740-200, Korea

#### Abstract

The inhibitory effect of *Coprinus comatus* on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and SOS chromotest were studied. In Ames test, the ethanol and water extracts and the cultured mycelia fractions of *Coprinus comatus* did not show any mutagenicity, but the *Coprinus comatus* ethanol extracts showed inhibitory effects of 80~90% on the mutagenicity induced by indirect mutagen of benzo(a)pyrene (B(a)P) and aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. The antimutagenic effect increased with increasing concentration of the ethanol extract toward N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG). However, the water extracts inhibited about 40~50% against direct and indirect mutagen. The cultured mycelial filtrate of *Coprinus comatus*, the fraction II, showed antimutagenic effect of 90% on MNNG and 25~50% on B(a)P and AFB<sub>1</sub>. In SOS chromotest, the ethanol extracts of *Coprinus comatus* showed antimutagenic effect of 65~81% on SOS function induced by 4-NQO, and the cultured mycelia fraction II showed low inhibitory effect of 20~50%.

**Key words:** *Coprinus comatus*, *Salmonella* assay, SOS chromotest, antimutagenicity

#### 서론

최근 식품 중의 일부 성분들이 발암물질의 불활성화, 발암 전구물질의 대사활성 저해 그리고 최종발암 원으로의 전환을 억제하는 등 암을 예방하고 억제하는 기능을 가진다고 보고되면서 식품 및 천연식물 자원으로 부터 생리활성을 가진 물질 검색에 대한 많은 연구가 수행되고 있다(1,2). 그 중에서도 항균활성, 항콜레스테롤성, 항변이원성 그리고 항암성 등의 생리활성 작용이 확인되고 있는 버섯류에 대한 영양학적 가치 뿐만 아니라 의약적 가치로 인하여 관심이 점점 증가하고 있다(3-6). 많은 버섯류 중에서 상황버섯(*Phellinus linteus*), 영지버섯(*Ganoderma lucidum*), 구름버섯(*Coriolus versicolor*) 등의 자실체로부터 얻은 단백단당체가 항암효과가 있다고 보고되었고(7,8), 팽나무버섯

(*Flammulina velutipes*), 표고버섯(*Lentinus edodes*), 장수버섯(*Formitella fraxinea*) 등의 자실체 열탕 추출물에서도 중앙 억제작용이 있음이 밝혀졌다(9-11). 또한 표고버섯, 구름버섯, 영지버섯 등의 균사체 배양물에서 항암성분이 확인되었으며(12-14), 구름버섯, 표고버섯 및 느타리버섯 등의 배양 대사산물의 항종양 성분이 보고되기도 하였다(15,16). 이처럼 버섯류는 자실체 뿐 아니라 균사체에서도 새로운 생리활성 물질이 탐색될 수 있는 좋은 소재라 할 수 있다.

한편 먹물버섯(*Coprinus comatus*)은 식용버섯으로 우리나라에서 봄~가을 정원이나 목장 또는 잔디밭 부식질이 많은 곳에 널리 자생하며, 건위작용 및 중추신경 자극의 약리 작용과 소화촉진 및 치질 치료제 등(17)으로 보고되고 있다. 따라서 본 연구에서는 별로 알려지지 않은 이 먹물버섯을 이용하여 암발생과 관련된 돌

† To whom all correspondence should be addressed

연변이의 억제효과를 검토하고자 먹물버섯의 자실체와 배양 균사체 추출물을 각각 제조한 후, 발암성과의 상관관계가 높다고 알려진 *in vitro* 실험계인 *Salmonella typhimurium* reversion assay 및 SOS chromotest를 행해 먹물버섯의 자실체 및 균사체 추출물의 항돌연변이 효과를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료 및 시약

본 실험에 사용한 먹물버섯(*Coprinus comatus*)의 자실체는 경주 남산에서 채취하였고, 먹물버섯 균사체는 자실체로부터 분리 배양한 후 사용하였다. *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100은 미국 캘리포니아 대학의 B. N. Ames 교수로부터 제공받았으며, *E. coli* PQ37은 한국과학기술연구원의 유재천 교수로부터 분양받아 사용하였다. 돌연변이 유발원인 aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), benzo(a)pyrene(B(a)P), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) 그리고 4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO)는 Sigma사로부터 구입하였으며, 기타 시약들은 특급 또는 일급 시약을 사용하였다.

#### 버섯 자실체로부터 시료조제

먼저 채취한 버섯을 건조하여 분쇄기로 3,000 rpm에서 고르게 분쇄한 다음 10배의 80% 에탄올을 가한 후 10시간 동안 3회 반복추출하였으며, 그 상정액을 감압농축시킨 다음 동결건조하여 먹물버섯 에탄올 추출물을 얻었다. 그리고 남은 잔사는 다시 증류수를 가하여 80°C에서 3회 추출하여 여과한 후 상정액을 감압농축한 후 동결건조하여 물 추출물을 얻었다. 이 추출물들은 실험에 사용할 때 dimethyl sulfoxide나 증류수에 용해시켜 사용하였다.

#### 버섯 배양 균사체로부터 시료조제

먹물버섯 균사체는 먼저 PDA 배지(glucose 15g, bacto-peptone 10g, bacto-yeast extract 10g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.87g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5g, CaCl<sub>2</sub> 0.3g, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.01g, MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O 0.007g, ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.004g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.001g/L)에 접종하여 26±1°C에서 7일간 종균 배양한 후 분쇄기로 5,000 rpm에서 3분 동안 균질화한 다음 1:1(v/v)의 비율로 액체배지에 접종하여 180rpm에서 9일간 진탕배양하였다. 이 배양액을 15초간 재균질하여 1:30(v/v)의 비율로 액체배지에 접종하여 26±1°C에서 180rpm에서 12일간 배양한 다음, Kang 등(7)의 방법에 따라 균사체 및 배양여액 추출물을 분리하였

다. 즉 균사체는 증류수로 3회 세척한 다음 3배의 증류수를 가하여 95°C에서 4시간 동안 3회 추출하여 여과한 후 감압농축하고, 농축액 부피의 3배량의 80% 에탄올을 가하여 4°C에서 2일간 방치한 다음 8,000rpm에서 30분간 원심분리하여 침전물을 얻어 증류수로 이 침전물을 녹인 다음 동결건조하여 fraction I을 얻었다. 그리고 배양여액은 먼저 감압농축한 다음, 농축액 부피의 3배의 80% 에탄올을 가한 다음 앞의 방법과 동일하게 조작하여 fraction II를 얻었다.

#### 항변이원성 검사

##### *Salmonella typhimurium* reversion assay

Ames와 Maron(18)의 방법에 의해 실험하였다. 즉 미리 멸균시킨 capped tube에 시료 50μl, 돌연변이원 50μl, S9 mix 500μl(직접변이원의 경우, 0.2 M phosphate buffer), 균주 100μl를 넣고 37°C에서 20분 동안 pre-incubation시켰다. 이것을 top agar 2ml와 혼합한 후 최소평판배지(minimal glucose agar plates)에 골고루 도말하였다. 37°C에서 48시간 배양한 후 배지위의 복귀변이주(revertant)의 콜로니 수를 계수하였다. S9 mixture 제조는 전보(5)에서와 같이 Ames와 Maron(18)의 방법에 따라 웅성 Sprague-Dawley rat에 Aroclor 1254를 복강주사하여 제조하였다. 한 시료에 대하여 3개의 최소평판배지를 사용하였으며, 변이원에 대한 억제효과의 정도(Inhibition rate)는 아래의 식에 의하였다.

$$\text{Inhibitor rate(\%)} = \frac{(a-b)}{(a-c)} \times 100$$

a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이의 수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연복귀돌연변이의 수이다.

한편 실험에 사용된 시료와 돌연변이 유발물질의 농도는 예비 실험(독성 실험 및 dose response)을 통하여 결정하였다.

#### SOS chromotest

Quillardet 등(19)의 방법에 따라 행하였다. 즉 *E. coli* PQ37을 ampicillin(20μg/ml)이 첨가된 LB배지에 접종하여 37°C에서 12시간 동안 진탕배양한 후 새로운 La배지로 1:50(v/v)으로 희석하여 이를 재배양하였다(2×10<sup>8</sup> cells/ml). 이 배양액을 La배지로 1:10으로 희석하여 사용하였다. 멸균한 cap tube에 희석된 균주 0.4ml, 시료 20μl 그리고 돌연변이원 20μl를 가하고 최종 용량이 4ml가 되도록 LB배지를 첨가하여 37°C에서 2시간 동안 반응시킨 후, β-galactosidase와 alkaline

phosphatase의 활성을 측정하였다. 흡광도 420nm에서 측정된 O.D.값에서 Quillardet 등(19)의 방법을 이용하여 효소 활성 단위는  $[1000 \times A_{420}/t]$ 으로 나타내고( $t$ 는 반응시간(분)), alkaline phosphatase unit에 대한  $\beta$ -galactosidase unit의 비율을 R값으로 나타냈다. SOS 유전자의 유도 정도(induction factor, IF)는 돌연변이 원이나 시료가 없을 때의 R값을 R(O), 돌연변이 원이나 시료가 있을 때의 R 값을 R(C)로 나타내어 R(C)/R(O)로 계산하였다.

### 통계분석

대조군과 각 시료에 대한 실험결과는 SAS를 이용한 Duncan's multiple range test로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### Ames test에 의한 항돌연변이 효과

먹물버섯 자실체 및 균사체 배양액의 추출물들의 *S. typhimurium* TA98 및 TA100에 대한 돌연변이원성 유무를 조사한 결과, Table로는 나타나지 않았지만 시료 추출물의 농도를 각 plate당 1.25, 2.5, 5mg으로 첨가하였을 때 농도의 증가에 따른 His<sup>+</sup> revertant의 증가이 없는 것으로 보아 시료 추출물 자체에 의한 돌연변이원성은 존재하지 않았다. 먹물버섯 자실체 추출물의 항돌연변이성 효과를 알아보기 위해 직·간접 발암물질을 첨가하여 이들 발암물질에 대한 억제 효과를 살펴보았다. Benzo(a)pyrene(B(a)P)과 aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)은 S9 mix에 의해서 DNA와 반응성이 강한 물질로 변화해서 돌연변이 활성을 나타내는 간접변이원으로서, 이들 변이원에 대한 먹물버섯 자실체 에탄올 추출물 및 물 추출물의 돌연변이 억제효과를 검토한 결과는 Table 1과 2에 각각 나타내었다. 먹물버섯 자실체 에탄올 추출물의 B(a)P에 대한 돌연변이 억제효과는 *S. typhimurium* TA98에서 추출물의 농도에 관계없이 60% 이상으로 비교적 높았고, 특히 시료 농도 5%에서 91%로 가장 높았다. *S. typhimurium* TA100의 경우도 모든 추출물의 농도에서 90% 정도의 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, TA98과 마찬가지로 추출물 5% 첨가에서 가장 높은 돌연변이 억제효과를 보여주었다. 그리고 AFB<sub>1</sub>에 대한 돌연변이 억제효과는 *S. typhimurium* TA98에서 모든 추출물의 농도에서 약 90%의 높은 저해를 보였고, *S. typhimurium* TA100의 경우는 각 추출물의 농도에서 85% 이상의 저해효과를 나타내었으며, 특히 5% 농도에서 92%의 가장 높은 억제효과를 나타내었다. 그러나 먹물버섯 자실체의 물 추출물은

**Table 1. Antimutagenic effects of the ethanol and water extracts from *Coprinus comatus* on the mutagenicity induced by benzo(a)pyrene(4  $\mu$ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S9 mixture**

| Treatment            | Revertants/plate                |                    |
|----------------------|---------------------------------|--------------------|
|                      | TA98                            | TA100              |
| Spontaneous          | 33 $\pm$ 2 <sup>1)</sup>        | 108 $\pm$ 3        |
| B(a)P (Control)      | 996 $\pm$ 11                    | 1,189 $\pm$ 25     |
| B(a)P + Ethanol ext. |                                 |                    |
| 2.5%                 | 410 $\pm$ 10 (61) <sup>2)</sup> | 227 $\pm$ 7 (89)   |
| 5%                   | 112 $\pm$ 7 (91)                | 193 $\pm$ 7 (92)   |
| 10%                  | 141 $\pm$ 9 (81)                | 231 $\pm$ 10 (89)  |
| B(a)P + Water ext.   |                                 |                    |
| 2.5%                 | 832 $\pm$ 21 (17)               | 1,102 $\pm$ 27 (8) |
| 5%                   | 726 $\pm$ 18 (28)               | 983 $\pm$ 19 (19)  |
| 10%                  | 639 $\pm$ 15 (37)               | 907 $\pm$ 28 (26)  |

<sup>1)</sup>The values are mean  $\pm$  SD of 3 replications significantly different from the control at  $p < 0.05$  level.

<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rate(%).

**Table 2. Antimutagenic effects of the ethanol and water extracts from *Coprinus comatus* on the mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub>(1  $\mu$ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S9 mixture**

| Treatment                       | Revertants/plate               |                   |
|---------------------------------|--------------------------------|-------------------|
|                                 | TA98                           | TA100             |
| Spontaneous                     | 33 $\pm$ 2 <sup>1)</sup>       | 108 $\pm$ 3       |
| AFB <sub>1</sub> (Control)      | 882 $\pm$ 10                   | 901 $\pm$ 11      |
| AFB <sub>1</sub> + Ethanol ext. |                                |                   |
| 2.5%                            | 127 $\pm$ 5 (89) <sup>2)</sup> | 228 $\pm$ 10 (85) |
| 5%                              | 122 $\pm$ 2 (89)               | 170 $\pm$ 10 (92) |
| 10%                             | 114 $\pm$ 5 (90)               | 205 $\pm$ 9 (88)  |
| AFB <sub>1</sub> + Water ext.   |                                |                   |
| 2.5%                            | 885 $\pm$ 25 (-)               | 877 $\pm$ 21 (-)  |
| 5%                              | 863 $\pm$ 21 (-)               | 869 $\pm$ 24 (-)  |
| 10%                             | 805 $\pm$ 17 (9)               | 829 $\pm$ 13 (9)  |

<sup>1)</sup>The values are mean  $\pm$  SD of 3 replications significantly different from the control at  $p < 0.05$  level.

<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rate(%).

B(a)P에 대하여 *S. typhimurium* TA98과 TA100에서 모든 추출물 농도에서 40% 이하로 비교적 낮은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, AFB<sub>1</sub>에 대해서는 억제효과를 나타내지 않았다.

한편, 직접변이원인 N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine(MNNG)는 세포내의 DNA에 직접 손상을 주는 강력한 변이원으로 이 변이원에 대한 먹물버섯 자실체의 에탄올 추출물의 돌연변이 억제효과에 대한 결과는 Table 3에 나타내었다. 먹물버섯 자실체의 에탄올 추출물은 *S. typhimurium* TA100에서 추출물 농도가 2.5%일 때 53%의 억제효과를 나타내었으며, 추출물의 농도가 증가함에 따라 저해효과는 점점 높아져 추출물 10%의 농도에서 82%의 가장 높은 억제효과를 나타내었다. 그리고 먹물버섯 자실체의 물 추출물 경

우는 MNNG에 대하여 추출물 10% 농도에서만 다소 높은 돌연변이 억제효과를 보였다. 이와같이 먹물버섯 자실체의 에탄올 추출물은 직·간접변이원에 대해 80~90% 정도의 높은 항변이원 효과가 있었으나, 물 추출물의 경우는 낮거나 저해효과를 나타내지 않음을 알 수 있었다. Ham 등(20)이 약용 식물인 강원도산 당귀 (*Angelica gigantis*)의 에탄올 추출물이 MNNG에 대하여 추출물의 농도에 비례하여 항돌연변이 활성을 나타낸다는 보고와 유사하게 먹물버섯 에탄올 추출물은 추출물 농도에 비례하여 항변이원성 효과가 증가하였다. 그리고 Kim 등(5)은 한국산 야생버섯류중 꽃구멍장이버섯, 갈매기피꼬리버섯, 긴갈색주름버섯, 테미로버섯, 턱수염버섯 등의 에탄올 추출물이 B(a)P 및 MNNG에 대하여 강한 항변이원 효과가 있었으나 물 추출물의 경우 변이원에 대해 대부분 낮거나 저해효과가 없음을 보고하였는데, 먹물버섯의 경우도 이들 야생버섯류와 유사한 경향을 나타내었다.

한편 먹물버섯 균사체 배양액을 균사체와 배양여액으로 각각 분리한 다음, 변이원에 대해 억제효과를 조사한 결과, 균사체 추출물은 MNNG에 대하여 20% 이하의 낮은 돌연변이 억제효과를 나타내었으나, 배양여액 추출물은 시료 농도에 관계없이 약 90%의 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었다(Table 4). 특히 먹물버섯 균사체 배양여액의 경우는 먹물버섯의 자실체 추출물보다 더 높은 항변이원 활성을 가지는 것을 알 수 있었다. 그러나 간접변이원인 B(a)P 및 AFB<sub>1</sub>에 대해서 균사체 추출물과 배양여액 추출물은 농도에 관계없이 각각 약 40%와 50% 이하의 비교적 낮은 억제효과를 나타내었다(Table 5, 6). Mizuno 등(21)이 다발구멍장

이버섯(*Polyporus confluens*)의 자실체와 배양균사체로부터 분리한 polysaccharide의 항암효과를 조사하여 특히 균사체로부터 얻은 mucilaginous polysaccharide가 강한 항암활성을 보였다고 보고한 것과 유사하게 먹물버섯의 경우도 먹물버섯의 균사체 배양여액에서 높은 항변이원 활성을 가지는 것을 알 수 있었다. 특히 고등균류에서는 heteroglycan, chitin, peptidoglycan, proteoglycan, lecithin, nucleic acid, dietary fiber 등이 β-D-glucan과 결합해서 항암효과를 가진다고 보고되고 있으므로, 먹물버섯의 항돌연변이 활성을 나타내는 성분도 이것들과 관련된다고 사료된다. 따라서 높은 돌연변이 억제효과가 있는 먹물버섯 균사체의 배양여액 추출물의 항암작용에 관한 연구와 함께 그 성분의 분리 및 대량생산에 의한 의약학적 이용에 관한 연구도 앞으로 더 진행되어야 하겠다.

**Table 3. Antimutagenic effects of the ethanol and water extracts from *Coprinus comatus* on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine(0.35µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100**

| Treatment           | Revertants/plate      |                    |
|---------------------|-----------------------|--------------------|
| Spontaneous         | 104 ± 3 <sup>1)</sup> |                    |
| MNNG(Control)       | 723 ± 12              |                    |
| MNNG + Ethanol ext. |                       |                    |
| 2.5%                | 398 ± 6               | (53) <sup>2)</sup> |
| 5%                  | 250 ± 6               | (76)               |
| 10%                 | 216 ± 4               | (82)               |
| MNNG + Water ext.   |                       |                    |
| 2.5%                | 425 ± 18              | (48)               |
| 5%                  | 512 ± 17              | (34)               |
| 10%                 | 388 ± 11              | (54)               |

<sup>1)</sup>The values are mean ± SD of 3 replications significantly different from the control at p<0.05 level.

<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rate(%).

**Table 4. Antimutagenic effects of the cultured mycelia fractions of *Coprinus comatus* on the mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine(0.35µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100**

| Treatment          | Revertants/plate      |                    |
|--------------------|-----------------------|--------------------|
| Spontaneous        | 112 ± 4 <sup>1)</sup> |                    |
| MNNG(Control)      | 792 ± 21              |                    |
| MNNG + fraction I  |                       |                    |
| 2.5%               | 646 ± 11              | (22) <sup>2)</sup> |
| 5%                 | 693 ± 15              | (15)               |
| 10%                | 770 ± 24              | (-)                |
| MNNG + fraction II |                       |                    |
| 2.5%               | 182 ± 9               | (90)               |
| 5%                 | 163 ± 11              | (92)               |
| 10%                | 188 ± 9               | (89)               |

<sup>1)</sup>The values are mean ± SD of 3 replications significantly different from the control at p<0.05 level.

<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rate(%).

**Table 5. Antimutagenic effects of the cultured mycelia fractions of *Coprinus comatus* on the mutagenicity induced by benzo(a)pyrene(4µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100**

| Treatment           | Revertants/plate     |                   |           |      |
|---------------------|----------------------|-------------------|-----------|------|
|                     | TA98                 |                   | TA100     |      |
| Spontaneous         | 45 ± 5 <sup>1)</sup> |                   | 119 ± 8   |      |
| B(a)P(Control)      | 922 ± 37             |                   | 1283 ± 32 |      |
| B(a)P + fraction I  |                      |                   |           |      |
| 2.5%                | 844 ± 71             | (-) <sup>2)</sup> | 1024 ± 92 | (22) |
| 5%                  | 805 ± 48             | (13)              | 1121 ± 88 | (14) |
| 10%                 | 807 ± 38             | (13)              | 1183 ± 81 | (-)  |
| B(a)P + fraction II |                      |                   |           |      |
| 2.5%                | 701 ± 22             | (25)              | 905 ± 35  | (32) |
| 5%                  | 615 ± 18             | (35)              | 745 ± 39  | (46) |
| 10%                 | 575 ± 25             | (39)              | 931 ± 29  | (30) |

<sup>1)</sup>The values are mean ± SD of 3 replications significantly different from the control at p<0.05 level.

<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rate(%).

**Table 6. Antimutagenic effects of the cultured mycelia fractions of *Coprinus comatus* on the mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub> (1 $\mu$ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100**

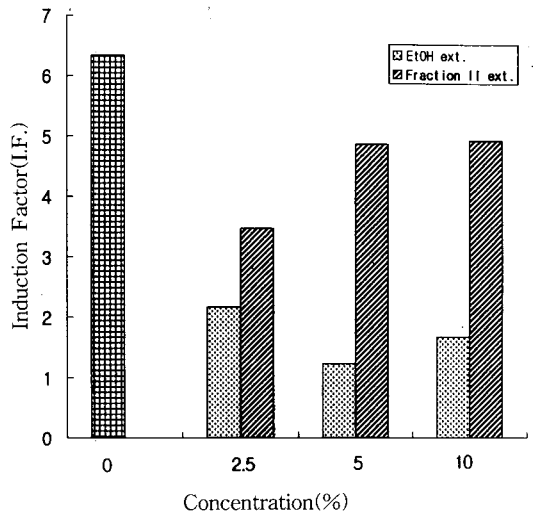
| Treatment                      | Revertants/plate         |              |                   |      |
|--------------------------------|--------------------------|--------------|-------------------|------|
|                                | TA98                     | TA100        |                   |      |
| Spontaneous                    | 45 $\pm$ 5 <sup>1)</sup> | 119 $\pm$ 8  |                   |      |
| AFB <sub>1</sub> (Control)     | 1037 $\pm$ 57            | 817 $\pm$ 95 |                   |      |
| AFB <sub>1</sub> + fraction I  |                          |              |                   |      |
| 2.5%                           | 998 $\pm$ 49             | 683 $\pm$ 41 | (-) <sup>2)</sup> | (19) |
| 5%                             | 1041 $\pm$ 78            | 513 $\pm$ 38 | (-)               | (43) |
| 10%                            | 918 $\pm$ 41             | 497 $\pm$ 19 | (12)              | (46) |
| AFB <sub>1</sub> + fraction II |                          |              |                   |      |
| 2.5%                           | 644 $\pm$ 27             | 627 $\pm$ 25 | (39)              | (27) |
| 5%                             | 677 $\pm$ 30             | 557 $\pm$ 18 | (36)              | (37) |
| 10%                            | 604 $\pm$ 20             | 505 $\pm$ 31 | (43)              | (44) |

<sup>1)</sup>The values are mean  $\pm$  SD of 3 replications significantly different from the control at p<0.05 level.

<sup>2)</sup>The values in parentheses are the inhibition rate(%).

#### SOS chromotest에 의한 항돌연변이 효과

항돌연변이 효과를 살펴보기 위해 또 다른 시험법인 SOS chromotest로 조사하였다. 먹물버섯 자실체의 에탄올 추출물과 균사체 배양여액 추출물의 경우 *S. typhimurium* 시험에서 다소 높은 항돌연변이 효과를 확인하였으므로, 이들 시료의 직접변이원인 4-NQO에 대한 SOS 반응의 유도 억제효과를 살펴보았다. 4-NQO에 의해 유도된 유도지수(IF)값이 6.34이었는데 비해 먹물버섯 자실체의 에탄올 추출물의 투여시 모든 농도에서 65% 이상의 높은 유도 억제효과를 보였고, 특히 추출물 농도 5%에서는 IF값이 1.23으로 81%의 가장 높은 유도 억제효과를 보였다. 그리고 균사체 배양여액의 추출물의 IF값은 3.48~4.93으로 시료 농도에 관계없이 20~50% 정도의 비교적 낮은 유도 억제효과를 나타내어 자실체의 에탄올 추출물보다 낮은 항돌연변이 효과를 나타내었다(Fig. 1). SOS chromotest는 *E. coli* PQ37에 genotoxin이 작용하여 DNA에 손상을 주게 되면 SOS 반응이 유발되면서 생성되는  $\beta$ -galactosidase의 활성을 비색정량하여 DNA가 변이원에 손상받는 정도를 측정하는 방법으로, 특히 돌연변이 유발 메카니즘이 비교적 잘 알려진 물질인 4-NQO는 SOS 수복 과정에 있어서 *umuC*, *umuD* 유전자에 의한 수복 오류로 돌연변이를 유발하는 것으로 알려져 있다(22). Chun 등(23)이 SOS chromotest계를 이용하여 키토산의 가수분해 산물이 4-NQO에 대하여 77%의 돌연변이 억제활성을 나타내었고, Ahn 등(24)도 숙지황 물 추출물의 분획들이 4-NQO에 대하여 세포내외에서 52% 정도의 억제효과를 나타낸다고 하였는데, 먹물버섯 자실체의 에탄올 추



**Fig. 1. Inhibitory effects of the ethanol extract and the cultured mycelia fraction II of *Coprinus comatus* on the mutagenicity of 4-NQO (0.2 $\mu$ g/assay) in *E. coli* PQ37.**

출물의 경우도 4-NQO에 대하여 비교적 높은 돌연변이 저해 활성이 있음을 알 수 있었다.

이와 같이 먹물버섯 자실체 및 균사체 추출물의 항돌연변이 활성을 살펴본 결과, 먹물버섯 자실체의 에탄올 추출물과 균사체 배양여액의 추출물들은 *in vitro* 실험계인 Ames test와 SOS chromotest에서 높은 돌연변이 억제효과가 있음을 확인할 수 있었다. 그러므로 앞으로 이들 추출물의 돌연변이 억제 mechanism과 아울러 항돌연변이 활성 물질의 규명에 대한 연구를 계속적으로 수행하는 것이 필요하다고 하겠다.

#### 요 약

먹물버섯(*Coprinus comatus*)의 자실체와 배양균사체 추출물을 이용하여 Ames test와 SOS chromotest 실험계로 돌연변이 억제효과를 검토한 결과, 먹물버섯 자실체와 균사배양액 추출물 자체의 돌연변이원성은 없었다. 먹물버섯 자실체의 에탄올 추출물은 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100에서 B(a)P과 AFB<sub>1</sub>에 대하여 80~90%의 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었고, MNNG에 대해서는 농도가 증가할수록 돌연변이 억제효과가 증가하였으며, 물 추출물의 경우는 직·간접변이원에 대하여 약 40~50%의 저해 활성을 나타내었다. 균사체 배양여액 추출물은 MNNG에 대하여 90% 정도의 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었고, B(a)P과 AFB<sub>1</sub>에 대해서도 25~50%의 돌연변이 억제효과를 나타내었다. SOS chromotest에서도 먹물버섯

자실체의 에탄올 추출물은 4-NQO에 대하여 65~81%의 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었으며, 배양여액의 추출물은 20~50%의 낮은 돌연변이 억제효과를 나타내었다.

문 헌

1. Kada, T., Inoue, T., Morita, K. and Namiki, M. : *Dietary desmutagens*. In "Genetic toxicology of the diet" Knudsen, I.(ed.), Alan R. Liss inc., New York, pp.245-251(1986)
2. Micozzi, M. S. and Tangrea, J. A. : General introduction: Rational for the nutritional prevention of cancer. In "Nutrition and cancer prevention" Moon, T. E. and Micozzi, M. S.(eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, pp.3-12(1989)
3. Min, T. J., Kim, E. M., Lee, S. J. and Bae, K. G. : Studies on the screening and development of antibiotics in the mushroom-The screening of antifungal components in basidiomycetes(I). *Kor. J. Mycol.*, **23**, 14-27(1995)
4. Kim, G. J., Kim, H. S. and Chung, S. Y. : Effects of varied mushroom on lipid compositions in dietary hypercholesterolemic rats. *J. Korean. Soc. Food Sci. Nutr.*, **21**, 131-135(1992)
5. Kim, H. J., Lee, B. H., Kim, O. M., Lee, K. D. and Lee, K. R. : Screening for antimutagenic effects of the wild mushrooms in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 688-692(1998)
6. Zang, J., Wang, G. and Mizuno, T. : Antitumor polysaccharides from a chinese mushroom, *Yuhuangmo*, the fruiting body of *Pleurotus citrinopileatus*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1195-1201(1994)
7. Kang, C. Y., Shim, M. J., Choi, E. C., Lee, Y. N. and Kim, B. K. : Studies on antineoplastic component of Korean basidiomycetes. Mycelial Culture and an Antineoplastic Component of *Ganoderma lucidum*, **14**, 101-112(1981)
8. Park, K. S., Lee, J. Y., Lee, S. J., Kim, S. H. and Lee, J. S. : Extraction and separation of protein-bound polysaccharide produced by coriolus versicolor(Fr) quel. *Kor. J. Mycol.*, **20**, 72-76(1992)
9. Woo, M. S. : Studies on antitumor components of *Flammulina velutipes* of Korea(I). Antitumor activity against sarcoma 180. *Kor. J. Mycol.*, **10**, 213-216(1982)
10. Chihara, G., Maeda, Y. Y., Arai, Y. and Fukuoka, F. : Fractionation and purification of the polysaccharide with marked antitumor activity, especially Lentinan from *Lentinus edodes*. *Cancer Res.*, **30**, 2776-2281(1970)
11. Cho, S. M., Lee, J. H., Han, S. B., Kim, H. M., Yu, S. H. and Yoo, I. D. : Immuno-stimulating polysaccharides from the fruiting bodies of *Fomitella fraxinea*(I)-Characterization of polysaccharides extracted with neutral sodium chloride solution. *Kor. J. Mycol.*, **23**, 332-339(1995)
12. Lew, J. W., Chaung, C. H., Jeong, H. J. and Lee, K. H. : Anticomplementary and antitumor activities of the alkal extract from the mycelia of *Lentinus edodes* IY-105. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **18**, 571-579(1996)
13. Hyun, J. W., Lim, K. H., Shin, J. E., Sung, M. S., Won, Y. J., Kim, Y. S., Kang, S. S., Chang, I. M., Woo, W. S., Paik, W. H., Kim, H. J., Woo, E. R., Park, H. K. and Park, J. G. : Antineoplastic effect of extracts from traditional medicinal plants and various plants. *Kor. J. Pharmacology*, **25**, 171-177(1994)
14. Lee, B. W., Lee, M. S., Park, K. M., Kim, C. H., Ahn, P. U. and Choi, C. U. : Anticancer activities of the extract from the mycelia of *Coriolus versicolor*. *Kor. J. Appl. Mycobiol. Biotechnol.*, **20**, 311-315(1992)
15. Kawagishi, H. : Cell-function regulating substance from mushrooms. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **68**, 1671-1678(1994)
16. Lee, K. L., Lee, C. O., Kim, H. W., Kim, J. W., Kim, S. W., Choi, E. C. and Kim, B. K. : Studies on constituents of the higher fungi of Korea(X X X VIII). Antitumor components extracted from cultured mycelia of *Pleurotus pulmonarius*. *Kor. J. Mycol.*, **13**, 11-12(1985)
17. Ahn, D. K. : Medicinal fungi in Korea. *Kor. J. Mycol.*, **20**, 154-166(1992)
18. Ames, B. N. and Maron, D. M. : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173-215(1983)
19. Quillardet, P., Huisman, O., D'ari, R. and Hofnung, M. : SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 5971-5975(1982)
20. Ham, M. S., Kim, S. S., Hong, J. S., Lee, J. H., Chung, E. K., Park, Y. S. and Lee, H. Y. : Screening and comparison of active substances of *Angelica gigas* Nakai produced in Kangwon and *Angelica acutiloba* Kitagawa produced in Japan. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 624-629(1996)
21. Mizuno, T., Motoharu, A., Reiko, S., Ito, H., Shizuma, K., Sumiya, T. and Akira, M. : Antitumor activity of some polysaccharides isolated from an edible mushroom Ningyotake, the fruiting body and the cultured mycelium of *Polyporus confluens*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 34-38(1992)
22. Chun, H. S., Kim, I. H., Kim, Y. J. and Kim, K. H. : Inhibitory effect of rice extract on the chemically induced mutagenesis. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 188-194(1994)
23. Chun, H. S., Chang, H. J. and Lee, J. M. : *In vitro* antimutagenic activity of chitosan and its bio-antimutagenic characteristics. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 1059-1064(1996)
24. Ahn, B. Y., Lee, K. S., Maeng, I. K., Song, G. S. and Choi, D. S. : Bio-antimutagenic effects of water extract from *Rehmannia glutinosa* Liboschitz in SOS chromotest. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 439-445(1998)