

Ribosomal DNA의 ITS부위에 대한 RFLP분석에 의한 *Phellinus baumii* PMO-P4의 유전학적 특성

장윤희 · 김태락 · 김현수¹⁾ · 여익현 · 이상윤 · 하효철*

풀무원 식문화 연구원, ¹건국대학교 미생물공학 전공

Genetic characterization of *Phellinus baumii* PMO-P4 by analyzing restriction fragment length polymorphisms of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS)

Yun-Hee, Chang, Tae-Rack, Kim, Hyun-Su, Kim¹⁾, Ik-Hyun, Yeo, Sang-Youn, Lee and Hyo-Cheol, Ha*

Institute of Food and Culture, Pulmuone Co. Ltd.

¹Seoul, Korea.1, Konkuk University, Microbial Engineering

ABSTRACT : PMO-P4, being cultivated as “Sanghwang” in Korea, was proved to be *P. baumii* based on ITS (internal transcribed spacer) sequencing and RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) patterns along with some *Phellinus* species including *P. linteus*. The similarity of ITS sequencing between PMO-P4 and other *Phellinus* species was given the range of 48.6%~72.2%, showing the highest homology from *P. linteus* and the lowest from *P. gilvus*.

KEYWORDS : *Phellinus baumii*, Restriction enzyme, RFLP, Ribosomal DNA

서 론

일반적으로 상황버섯이라 불리우는 약용버섯은 민주름버섯목 (Aphyllorphales), 소나무 비늘버섯과 (Hymenochaetaceae)의 진흙버섯속 (*Phellinus*)에 속하며 대가 없고 다년생으로 자라는 백색 부후균이며 전 세계적으로 200여종 이상이 분포하고 있는 것으로 알려져 있으며 면역증강, 항암효능이 뛰어난 것으로 보고되어져 왔다.

상황버섯이 항암활성 및 면역증강 효과가 우수하다고 보고된 이후 국내에서는 상황버섯 관련 연구가 활발하게 진행되어져 왔으며 2003년에는 식품원료로 등재되어 국민 건강과 관련하여 상황의 수요가 증가할 것으로 기대하고 있다. 그러나 현재 국내에서 식품공전에 의해 식품원료로 사용할 수 있는 종은 *Phellinus linteus*, *Phellinus baumii*의 두 가지로 정하여져 있으나 위에서 언급한 두 종류의 상황버섯 이외에 검증되지 않은 다수의 상황버섯류들이 최근에 일부 무분별한 유통을 통해 국민건강을 위한 식품원료로 사용되고 있는 현실이다. 이에 법적으로 사용할 수 없는 상황버섯류들을 가려내고 구분하기 위한 노력들이 국가기관, 산업계 및 학계에서 활발하게 진행되고 있다 (Jeong *et al.*, 2005; 조 등, 2003; 하, 2005). 그러나 상황버섯 종간의 형태가 비슷하여 종 동정에 어려움이 있으며

변이가 심하고 종류가 다양할 뿐만 아니라 현재까지도 계통학적 분류가 불분명하여 많은 혼란을 일으키고 있다. 따라서 최근에는 이러한 문제점을 극복하기 위하여 분자생물학적 정보를 이용한 계통분류법이 많이 이용되고 있는 실정이다. 그 중에서 ribosomal DNA중에서 5.8S를 포함하는 ITS I, II부위 유전자의 경우, 그 염기서열을 결정하기가 간편하고 시간적인 제약을 덜 받기 때문에 다수의 균종을 대상으로 하는 분류학적 연구에 적합하며 보존성이 높은 5.8S부위를 포함하고 있으므로 ITS부위와의 각각의 비교가 가능 (Annette *et al.*, 1996)하며, 이러한 풍부한 정보량과 간편성으로 동일 속 내의 종간 및 속간의 유연관계의 연구에 유용하다 (Chen *et al.*, 2002; Shen *et al.*, 2002; 김 등, 2004).

최근에는 Dai and Xu (1998)의 보고에서 한국, 일본, 중국 등에서 항암효과로 널리 알려져 있는 약용버섯인 *P. linteus* (목질 진흙버섯)의 경우 대부분이 *P. baumii*종이라고 밝힌 바 있으며 국내에서도 *P. baumii*에 관한 분류동정에 많은 관심을 나타내고 있다 (Nam *et al.*, 2002; Lim *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2005).

본 연구자 등은 이전에 상황버섯으로 알려져 있는 국내 재배산 진흙버섯인 PMO-P4자실체의 면역증강 및 항암 효과에 관하여 발표한 바 있다 (하 등, 2004). 본 연구에서는 PMO-P4 자실체의 ITS배열을 분석하고 그 특성을 보고 하는 바이다.

*Corresponding author: <hcha@pulmuone.co.kr>

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 상황버섯 자실체는 하 등 (2004)이 보고한 것처럼 풀무원 건강생활주에서 상황원료로 사용하고 있는 PMO-P4 자실체를 가지고 실험하였다. *P. baumii* MPNU 7004 (AF200229), *P. baumii* MPNU 7005 (AF200230)는 부산대학교 이재동 교수님으로부터 균주를 분양받아 실험하였으며, *P. linteus* SFC 990520-2는 서울대학교 정학성 교수님으로부터 ITS 부위의 PCR산물을 받아서 실험하였다.

Total genomic DNA 분리

Chen 등 (1999)의 변형시킨 방법에 따라 Total genomic DNA를 분리하기 위하여 PMO-P4 자실체를 분쇄기로 마쇄시킨 후 100mg의 시료를 400ul LETS buffer [20mM Tris-Cl(pH 7.8), 100mM LiCl, 10mM EDTA, 0.5% SDS, pH 7.8]에 넣고 30°C 배양기에서 4시간 동안 DNA 추출을 유도한 후, 4000rpm에서 10분간 원심분리 한 후 새 튜브에 옮긴 뒤 상등액을 취하였다. 동일 양의 phenol/chloroform을 넣은 후 5분간 혼합한 후 원심분리를 통해 다시 상등액을 취하는 것을 3회 반복하고, 동일양의 chloroform을 첨가한 후 동일한 방법에 의해 상등액을 취하였다. RNA의 제거를 위해 RNase A(10mg/ml)를 10ul 첨가한 후 65°C에서 15분간 반응하였다. 이 상등액을 iNtRON Biotechnology사의 G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit를 사용하여 실험방법에 의해 genomic DNA를 추출하였으며, genomic DNA 추출량을 측정하기 위해 흡광도를 사용하였다.

PCR 제조 및 증폭

곰팡이류의 ITS 영역증폭 primer를 이용하였으며 이들의 oligomer염기서열은 다음과 같이 작성하였다. (ITS1; 5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3', ITS 4; 5'TCC TCCGCTTATTGATATGC 3'). PCR 반응은 10ng DNA template, 1U Taq polymerase (TAKARA co.), 각각 0.2mM dNTP, 2mM MgCl₂, 0.5uM의 primer를 각각 넣어 전체 25ul의 양으로 혼합한 후, PCR을 수행하였으며, ITS 부위를 증폭하기 위한 조건으로는 94°C/1min 1회, 94°C/15초, 60°C/30초, 72°C/1min 조건에서 35회, 72°C/5min 1회의 조건으로 수행 하였으며, 증폭된 PCR 산물은 1.0% agarose gel상에서 전기영동한 뒤 확인하였다. 염기서열 분석을 위해 ITS 원하는 크기의 PCR 산물을 다량 증폭한 후 PCR clean up kit(Genenmed Co.)를 이용하여 PCR산물의 정제를 수행하였다.

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 분석

RFLP 분석을 하기 위하여 4 종류의 상황버섯 ITS PCR

산물에 제한효소를 이용하였다. *Hpa II*와 *Dra I* (TAKARA Co.)을 이용하였으며, 증폭된 PCR 산물 당 10ul와 반응 buffer, 10U의 제한효소를 포함한 25ul의 반응액을 37°C에서 4시간 동안 배양기에서 반응을 유도했다. 제한효소에 의해 처리된 DNA 절편을 분석하기 위해 1.0% agarose gel상에서 전기영동을 하였으며, DNA 절편의 크기를 비교하기 위하여 1Kb ladder (iNtRON Biotechnology Co.)를 size marker로 이용하여 비교 분석 하였다.

rDNA ITS 부위의 염기서열 및 상동성분석

PCR로 증폭된 rDNA ITS부위의 염기서열 분석은 마크로젠(주)을 통해 실시하여 염기서열을 얻었으며 3회 반복하여 의뢰한 결과를 가지고 비교 분석 하였다. PMO-P4의 rDNA ITS 부위의 염기서열을 분석한 뒤 Clustral W 프로그램을 이용하여 정렬시킨 후 수작업으로 보정하였다.

결과 및 고찰

ITS 영역의 염기서열 분석

면역증강 및 항암효과가 뛰어난 것으로 보고된 상황버섯 PMO-P4 자실체 DNA로부터 PCR로 증폭한 ITS 염기서열을 분석한 결과 총 크기는 746bp로 GeneBank에 등록된 다른 *P. baumii*, *P. linteus*의 ITS 부위 (700-747 bp)와 비슷한 크기인 것으로 확인되었다. 본 연구에서 사용한 PMO-P4 자실체의 ITS 영역 염기서열을 비교하기 위하여 Fig. 1에서와 같이 multiple alignment를 시행한 결과, PMO-P4 자실체의 ITS I 영역부분인 300번째 염기에 티민(T)이 결실되어 있었으나 Nam et al. (2002)이 보고한 *P. baumii* MPNU 7004, MPNU 7005의 경우에는 동 염기 배열 순서에 티민 (T)이 존재한다는 것을 알 수 있었으며 그 이외의 모든 염기배열은 완전히 일치함을 알 수 있었다. 한편 이전에 정 등 (1999)이 보고한 *P. linteus* 6균주의 경우에는 ITS I영역 중에 그들만의 특이적인 염기서열인 TGAAAGCGAGTG가 존재한다고 보고하였으나 본 연구에서 실험한 PMO-P4의 경우, 이전에 보고된 *P. baumii* MPNU 7004, MPNU 7005와 마찬가지로 TGAAAGCGG와 AGTG사이에 6개의 염기 (AGCGGG)가 더 존재하는 것으로 확인되었으며 그 이외에 ITS I영역의 53-58부위 (GAATTT), 97-99부위 (TCA), 153-157부위 (GTCT), 274-276부위 (CCC) 및 ITS II영역의 699-707부위 (TTGTTACCT)도 본 연구에서 비교한 *P. linteus*에는 없는 특이적인 염기배열이 존재하는 것으로 나타났다. 한편 5.8S영역의 경우, 비교균주들 간에 염기배열이 완전히 일치한 결과를 나타내어 이 부분이 보존성이 높다는 사실을 다시 한번 확인 할 수 있었다.

ITS 영역의 RFLP분석

최근 Lim et al. (2003)이 *P. linteus*와 *P. baumii*간의 분

```

PMO-P4          TCATTATCGAGTTTTGAAAAGCGAGACTTGGCTGCTGGCGCGAATGAATTTTTGCGCATGTG 60
P.baumii-AF200229 TCATTATCGAGTTTTGAAAAGCGAGACTTGGCTGCTGGCGCGAATGAATTTTTGCGCATGTG 60
P.baumii-AF200230 TCATTATCGAGTTTTGAAAAGCGAGACTTGGCTGCTGGCGCGAATGAATTTTTGCGCATGTG 60
P.linteus-AF200227 TCATTATCGAGTTTTGAAAAGCGAGACTTGGCTGCTGGTGGCAAAA-----TCGCGCATGTG 54
P.linteus-AF200228 TCATTATCGAGTTTTGAAAAGCGAGACTTGGCTGCTGGTGGCAAAA-----TCGCGCATGTG 54
*****
PMO-P4          CACGGCCTTCGCGCTCAAATCCAACTCTCAAACCCCTGTGCACCTTATCATATCGCGAG 120
P.baumii-AF200229 CACGGCCTTCGCGCTCAAATCCAACTCTCAAACCCCTGTGCACCTTATCATATCGCGAG 120
P.baumii-AF200230 CACGGCCTTCGCGCTCAAATCCAACTCTCAAACCCCTGTGCACCTTATCATATCGCGAG 120
P.linteus-AF200227 CACGGCTTCGCGCTCAAATCCAACTC---AAACCCCTGTGCACCTTAT-ATATCGCGAG 110
P.linteus-AF200228 CACGGCTTCGCGCTCAAATCCAACTC---AAACCCCTGTGCACCTTAT-ATATCGCGAG 110
*****
PMO-P4          TCGAAGTTAGTAGTCTGAGGCTCTGCTTGTGTAAGTAATGAGTAGAAGGGCGAAAAGCGAGCG 180
P.baumii-AF200229 TCGAAGTTAGTAGTCTGAGGCTCTGCTTGTGTAAGTAATGAGTAGAAGGGCGAAAAGCGAGCG 180
P.baumii-AF200230 TCGAAGTTAGTAGTCTGAGGCTCTGCTTGTGTAAGTAATGAGTAGAAGGGCGAAAAGCGAGCG 180
P.linteus-AF200227 TCGAAGTTAGTAGCTGAGGCTCT----TGTAACTAATTAGTAGAAGGGCGAAAAGCGAG-- 164
P.linteus-AF200228 TCGAAGTTAGTAGCTGAGGCTCT----TGTAACTAATTAGTAGAAGGGCGAAAAGCGAG-- 164
*****
PMO-P4          AGTGTTCGCTCGTTAGGTAACCCCTTCGAAAATGAAAAGCGAGCGGGAGTGCCTCGGGTGAAG 240
P.baumii-AF200229 AGTGTTCGCTCGTTAGGTAACCCCTTCGAAAATGAAAAGCGAGCGGGAGTGCCTCGGGTGAAG 240
P.baumii-AF200230 AGTGTTCGCTCGTTAGGTAACCCCTTCGAAAATGAAAAGCGAGCGGGAGTGCCTCGGGTGAAG 240
P.linteus-AF200227 --TCTTGCTCGTTAGGTAGCCTTTCGAAAATGAAAAGCG-----AGTGCCTCGGGTGAAG 216
P.linteus-AF200228 --TCTTGCTCGTTAGGTAGCCTTTCGAAAATGAAAAGCG-----AGTGCCTCGGGTGAAG 216
*****
PMO-P4          ACTTGGGCTTGTGTTTACAAAACCCCCCTTATATTGTCTTTGTGAATGTAACGCTCCT- 299
P.baumii-AF200229 ACTTGGGCTTGTGTTTACAAAACCCCCCTTATATTGTCTTTGTGAATGTAACGCTCCTT 300
P.baumii-AF200230 ACTTGGGCTTGTGTTTACAAAACCCCCCTTATATTGTCTTTGTGAATGTAACGCTCCTT 300
P.linteus-AF200227 ACTTGGGCTTGTGCTTACAAAACA---CCTTATATTGGACTTTGTGAATGTAATGCTCCT- 272
P.linteus-AF200228 ACTTGGGCTTGTGCTTACAAAACA---CCTTATATTGTCTTTGTGAATGTAATGCTCCT- 272
*****
PMO-P4          CGTGGGCGAAAATCAATACAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCCGATCGATGAAG 359
P.baumii-AF200229 CGTGGGCGAAAATCAATACAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCCGATCGATGAAG 360
P.baumii-AF200230 CGTGGGCGAAAATCAATACAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCCGATCGATGAAG 360
P.linteus-AF200227 TGTGGGCGAAAATAAATACAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCCGATCGATGAAG 332
P.linteus-AF200228 TGTGGGCGAAAATAAATACAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCCGATCGATGAAG 332
*****
PMO-P4          AACGCAGCGAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT 419
P.baumii-AF200229 AACGCAGCGAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT 420
P.baumii-AF200230 AACGCAGCGAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT 420
P.linteus-AF200227 AACGCAGCGAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT 392
P.linteus-AF200228 AACGCAGCGAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT 392
*****
PMO-P4          GAACGCACCTTGCGCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCGCTGTTTGTAGTGTGATGTTTAT 479
P.baumii-AF200229 GAACGCACCTTGCGCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCGCTGTTTGTAGTGTGATGTTTAT 480
P.baumii-AF200230 GAACGCACCTTGCGCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCGCTGTTTGTAGTGTGATGTTTAT 480
P.linteus-AF200227 GAACGCACCTTGCGCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCGCTGTTTGTAGTGTGATGTTTAT 452
P.linteus-AF200228 GAACGCACCTTGCGCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCGCTGTTTGTAGTGTGATGTTTAT 452
*****
PMO-P4          CTCAAAACCGCTCGTCTTTCTTTAATTGAAGGGCTTGAGGTTTGGACTTGGAGGTTTACTG 539
P.baumii-AF200229 CTCAAAACCGCTCGTCTTTCTTTAATTGAAGGGCTTGAGGTTTGGACTTGGAGGTTTACTG 540
P.baumii-AF200230 CTCAAAACCGCTCGTCTTTCTTTAATTGAAGGGCTTGAGGTTTGGACTTGGAGGTTTACTG 540
P.linteus-AF200227 CTCAAAACCGCTCGTCTTTCTT- AATTGAAGGGCTTGAGGTTTGGACTTGGAGGTTTACTG 511
P.linteus-AF200228 CTCAAAACCGCTCGTCTTTCTT- AATTGAAGGGCTTGAGGTTTGGACTTGGAGGTTTACTG 511
*****
PMO-P4          CTGGCCGCCTTTCGAAAGGGGGTTCGGCTCCTCTTAAATACATTAGCTGGGCTTTGGCTCGC 599
P.baumii-AF200229 CTGGCCGCCTTTCGAAAGGGGGTTCGGCTCCTCTTAAATACATTAGCTGGGCTTTGGCTCGC 600
P.baumii-AF200230 CTGGCCGCCTTTCGAAAGGGGGTTCGGCTCCTCTTAAATACATTAGCTGGGCTTTGGCTCGC 600
P.linteus-AF200227 CTGGC-GCCTTTTCCA---GGGCTCGGCTCCTCTTAAATACATTAGCTGGGCTTTGGCTCGC 568
P.linteus-AF200228 CTGGC-GCCTTTTCCA---GGGCTCGGCTCCTCTTAAATACATTAGCTGGGCTTTGGCTCGC 568
*****
PMO-P4          GCTTACGGTGTAAATAGTTGATTCCGTTACCAACGAGCGCTTGCCTAACGAGCTTGCCTTC 659
P.baumii-AF200229 GCTTACGGTGTAAATAGTTGATTCCGTTACCAACGAGCGCTTGCCTAACGAGCTTGCCTTC 660
P.baumii-AF200230 GCTTACGGTGTAAATAGTTGATTCCGTTACCAACGAGCGCTTGCCTAACGAGCTTGCCTTC 660
P.linteus-AF200227 GTTTACGGTGTAAATAGTTGATTCCATTCACCAACGAGCGCTTGCCTGACGAGCTTGCCTTC 628
P.linteus-AF200228 GTTTACGGTGTAAATAGTTGATTCCATTCACCAACGAGCGCTTGCCTGACGAGCTTGCCTTC 628
*****
PMO-P4          TAACGGTCCGCTTGGTTCGGACAAGGAGTTGTTGTTACCTCCTTTTCTTGACACCTTTGA 719
P.baumii-AF200229 TAACGGTCCGCTTGGTTCGGACAAGGAGTTGTTGTTACCTCCTTTTCTTGACACCTTTGA 720
P.baumii-AF200230 TAACGGTCCGCTTGGTTCGGACAAGGAGTTGTTGTTACCTCCTTTTCTTGACACCTTTGA 720
P.linteus-AF200227 TAGCCGTCGCCGCTCGTTCGGACAAGGAGTCA-----CCTCCTTCTTGACACCTTTGA 679
P.linteus-AF200228 TAGCCGTCGCCGCTCGTTCGGACAAGGAGTCA-----CCTCCTTCTTGACACCTTTGA 679
*****
PMO-P4          CCTCAAATCAGGTAGGAT 737
P.baumii-AF200229 CCTCAAATCAGGTAGGAT 738
P.baumii-AF200230 CCTCAAATCAGGTAGGAT 738
P.linteus-AF200227 CCTCAAATCAGGTAGGAT 697
P.linteus-AF200228 CCTCAAATCAGGTAGGAT 697
*****

```

Fig. 1. Comparison of nucleotide sequence of ITS I, 5.8S rRNA and ITS II regions of PMO-P4.

류동정을 위한 방법으로 PCR-RFLP법을 개발하여 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서도 Lim 등이 보고한 방법에 따라 두가지 제한효소인 *HpaII* (4개 염기배열을 절단

하는 효소), *DraI* (6개 염기배열을 절단하는 효소)을 가지고 ITS부위의 RFLP 패턴을 관찰하였다. PCR-RFLP방법을 이용하여 실험한 결과, *DraI*의 경우, *P. baumii* MPNU 7004, 7005 및 PMO-P4의 경우 증폭된 ITS부위의 사이즈 변화가 없었으나 *P. linteus* SFC 990520-2의 경우 약 250 bp의 크기로 절단됨을 보여 주었다. *HpaII*의 경우, *DraI*의 경우와 마찬가지로 *P. baumii* MPNU 7004, 7005 및 PMO-P4의 ITS부위 사이즈에는 변화가 없었으나 *P. linteus* SFC 990520-2의 경우 약 170 bp, 230 bp, 380 bp의 크기로 절단됨을 보여 주었다 (Fig. 2). 이러한 결과는 Lim 등이 제한효소인 *HpaII*, *DraI*을 사용하여 *P. linteus* SFC 990520-2을 가지고 실험한 이전의 결과와 일치하는 것으로 본 연구에 사용된 *P. baumii* MPNU 7004, 7005 및 PMO-P4의 경우 *P. linteus*가 아님을 확인 할 수 있었다. 따라서 Fig. 1, 2의 결과를 종합해 볼 때 본 연구에 사용된 재배용 상황버섯인 PMO-P4는 *P. baumii*일 것으로 판단된다.

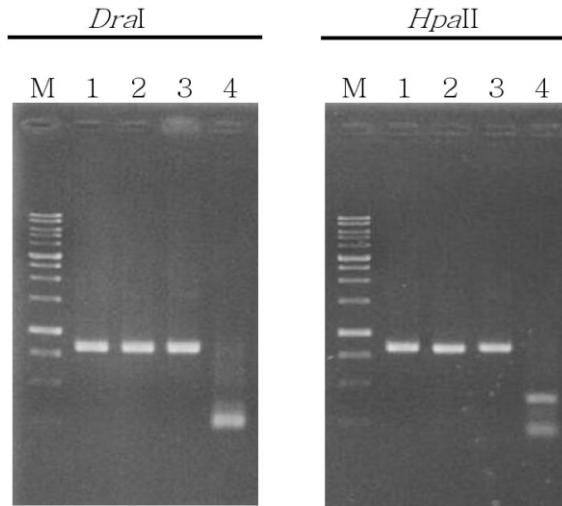


Fig. 2. *DraI* and *HpaII* digestion products of the amplified ITS rDNA region.

M : Size marker(1KB ladder, intron co.)

Lane 1 : *Phenillus baumii* MPNU7004(AF200229)

Lane 2 : *Phenillus baumii* MPNU7005(AF200230)

Lane 3 : PMO-P4

Lane 4 : *Phenillus linteus* SFC 990520-2(AY558629)

ITS 영역을 이용한 진흙버섯속 균류의 유연관계 분석

ITS영역 (5.8S, 17S, 25S 일부 포함)을 이용한 PMO-P4의 염기서열 상동성은 Table 1에 나타내었다. 비교대상은 일반적으로 상황버섯들 가운데 국내에서 유통되고 있는 *P. baumii* 2균주, *P. linteus* 3균주, *P. igniarius*, *P. pini*, *P. gilvus* 는 각각 1균주를 가지고 실시하였으며 ITS I과 II영역을 모두 정렬하여 조사된 진흙버섯속 (*Phellinus*

Table 1. Levels of similarity based on ITS sequences from *Phenillus* spp.

Organism	PMO-P4	% ITS sequence homology							
		<i>P.baumii</i> MPNU7004	<i>P.baumii</i> MPNU7005	<i>P.linteus</i> MPNU7001	<i>P.linteus</i> SFC990520-2	<i>P.robustus</i> KCTC6657	<i>P.pini</i> ATCC12240	<i>P.gilvus</i> ATCC26729	<i>P.igniarius</i> KCTC16890
PMO-P4	100	99.3	99.3	72.2	58.7	49.5	51.7	48.6	71.7
<i>P.baumii</i> MPNU7004		100	100	71.7	58.5	46.1	49.4	48.6	72.2
<i>P.baumii</i> MPNU7005			100	71.7	58.5	46.1	49.4	48.6	72.2
<i>P.linteus</i> MPNU7001				100	57.3	49.8	54.7	47.1	94.0
<i>P.linteus</i> SFC990520-2					100	45.3	54.2	43.3	54.9
<i>P.robustus</i> KCTC6657						100	51.3	44.4	49.1
<i>P.pini</i> ATCC12240							100	51.6	54.9
<i>P.gilvus</i> ATCC26729								100	46.4
<i>P.igniarius</i> KCTC16890									100

1) (PMO) Pulmuone Co., (MPNU) Microbiological lab. of Pusan National University, (ATCC) American Type Culture Collection, (KCTC) Korean Collection for Type Culture, (SFC) Seoul National University Fungus Collection.

spp.)의 염기서열 상동성은 48.6% 이상으로 조사되었다. 가장 높은 상동성을 나타낸 것은 *P. baumii* MPNU 7004와 7005가 99.3%로 조사된 반면, 가장 낮은 상동성을 나타낸 것은 *P. gilvus* ATCC26729가 48.6%, *P. robustus* KCTC6657이 49.5%로 조사되었다. 한편 *P. baumii*와 함께 식품공전에 의해 식품의 부원료로 사용할 수 있는 *P. linteus* MPNU7001의 경우 PMO-P4와 비교한 결과 72.2%의 상동성을 보였으나 정확성 교수님으로부터 시료를 제공받은 *P. linteus* SFC 990520-2의 경우 58.7%로 다소 상동성이 떨어지는 것을 확인 할 수 있었다. 중국 상항으로 알려져 있는 말뚝진흙버섯인 *P. igniarius*의 경우 KCTC16890이 71.7%의 상동성을 나타내어 *P. linteus* MPNU7001의 상동성과 비슷함을 알 수 있었다. 반면에 낙엽송 진흙버섯으로 알려져 있는 *P. pini* ATCC12240의 경우 51.7%의 상동성을 나타내었으며 마른 진흙버섯으로 알려져 있는 *P. gilvus* ATCC26729의 경우 48.6%의 상동성을 나타내어 이들 종들은 PMO-P4균주와는 다소 먼 그룹으로 생각된다.

적 요

국내에서 재배하여 생산되고 있는 상황버섯의 일종인 PMO-P4균주에 대한 ITS 영역의 염기서열 분석을 실시하였으며 목질 진흙버섯으로 잘 알려져 있는 *P. linteus*와 함께 RFLP분석을 통하여 상호 비교한 결과 PMO-P4균주는 *P. baumii*로 판명되었다. 이 결과를 토대로 이미 보고되어 있는 *Phellinus*속 균주들과의 중간 ITS 영역의 상동성을 비교한 결과 48.6%~72.2%였으며 본 연구에서 비교한 종들 가운데서는 *P. linteus*와 상동성이 가장 높았으며 *P. gilvus*와 상동성이 가장 낮았다.

참고문헌

Annette, K., Li, Y., Szaro, T. and Bruns, T. D. 1996. Internal transcribed spacer from 38 recognized species of *Suillus* sensu lato: Phylogenetic and taxonomic implications. *Mycologia* 88: 776-785.
Chen, X., Romaine, C. P., Ospina-Giraldo M. D. and Royse, D. J. 1999. A polymerase chain reaction-based test for the

identification of *Trichoderma harzianum* biotypes 2 and 4, responsible for the worldwide green mold epidemic in cultivated *Agaricus bisporus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52: 246-250.
Chen, Y-Q., Wang, N., Zhou, H. and Qu, L-H. 2002. Differentiation of medicinal *Cordyceps* Species by rDNA ITS sequence analysis. *Planta Med.* 68:635-639.
Dai, Y. C. and Xu, M. Q. 1998. Studies on the medicinal polypore, *Phellinus baumii*, and its kin, *P. linteus*. *Mycotaxon* 67: 191-200.
Jeong, W. J., Lim, Y. W., Lee, J. S. and Jung, H. S. 2005. Phylogeny of *Phellinus* and Related Genera Inferred from Combined Data of ITS and Mitochondrial SSU rDNA Sequences. *J. Microbiol. Biotechnol.* 15: 1028-1038.
Kim, M. O., Kim, G. Y., Nam, B. H., Jin, C. Y., Lee, K. W., Park, J. M., Lee, S. J. and Lee, J. D. 2005. Development of Species-specific Primers for Rapid Detection of *Phellinus linteus* and *P. baumii*. *Mycobiology* 33: 104-108.
Lim, Y. W., Lee, J. S. and Jung, H. S. 2003. Type studies on *Phellinus baumii* and *Phellinus linteus*. *Mycotaxon* 85: 201-210.
Nam, B. H., Kim, G. Y., Park, H. S., Lee, S. J. and Lee, J. D. 2002. Molecular Detection of *Phellinus linteus* and *P. baumii* by PCR Specific Primer. *Mycobiology* 30: 197-201.
Shen, Q., Geiser, D. M. and Royse, D. J. 2002. Molecular phylogenetic analysis of *Grifola frondosa*(maitake) reveals a species partition separating eastern north american and asian isolates. *Mycologia* 94: 472-482.
김성윤, 이재운, 김기영, 박재민, 김문옥, 이태호, 이재동. 2004. ITS염기서열에 기초한 차가버섯과 근연속간 유연관계분석. *한국균학회지* 32: 152-157.
정지원, 김기영, 하명규, 이태호, 이재동. 1999. Ribosomal DNA의 Internal Transcribed Spacer (ITS)부위의 염기서열 분석에 의한 *Phellinus*속의 계통분석에 관한 연구. *한국균학회지* 27: 124-131.
조소연, 제금련, 성락선, 이종필, 박주영, 강인호, 조창희, 이동미, 한현정, 이송득. 2003. 상황의 규격 제정 연구. *식품의약품 안전청연구보고서* 7: 510-514.
하효철, 김현표, 심지영, 장윤희, 김현수. 2004. *Phellinus baumii* 자실체 열수 추출물의 Sarcoma-180에 대한 항암 및 면역효과. *한국버섯학회지* 2: 169-174.
하효철. 2005. 버섯을 이용한 새로운 건강기능식품 개발. *한국조리과학회 춘계학술대회*: 34-39.