

Lovastatin을 생산하는 식용버섯 선발과 HMG-CoA reductase 저해 효과

이재원 · 이수민 · 광기섭 · 이지윤¹ · 최인규*

서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부

¹서울대학교 농업생명과학대학 농업과학공동기기센터

국내에서 식용버섯으로 이용되고 있는 8종 균주의 자실체와 균사체로부터 콜레스테롤 합성을 저해하는 lovastatin 생산과 고지혈증 억제활성을 탐색하였다. TLC분석으로 lovastatin 생산 유무를 검색한 결과 자실체와 균사체의 추출물에 대해 Rf값이 표준물질과 같은 약 0.46에서 뚜렷한 밴드가 형성됨을 확인하였다. 자실체로부터 lovastatin 추출을 위한 용매로는 water/acetonitrile/methanol (5:2.5:2.5)을 사용하였을 때 가장 효과적인 lovastatin 생산량을 보였다. Lovastatin 생산량은 자실체 중에서는 *Pleurotus ostreatus*가 0.98 mg/g (dry biomass)으로 가장 높은 생산량을 나타냈고 균사체 배양액 추출물에 대해서도 *P. ostreatus*가 21.90 mg/L로 높은 생산량을 나타냈다. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase 저해활성에서는 자실체에서 *P. ostreatus*가 67.8%, 균사체에서 *P. ostreatus*와 *Laetiporus sulphureus*가 각각 37.2%, 29.1%의 저해활성을 보였다. *L. sulphureus*는 lovastatin 생산량에 비해 높은 저해활성을 나타내서 lovastatin 이외의 다른 고지혈증 억제물질을 GC/MS로 분석한 결과 대사산물로 분리되는 식물성 sterol 물질인 campesterol과 gamma-sitosterol이 검출되었다.

Key words □ campesterol, gamma-sitosterol, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase, *Laetiporus sulphureus*, lovastatin, *Pleurotus ostreatus*

현대인의 생활수준 향상으로 식생활과 질병구조에 많은 변화를 가져왔다. 최근 서구화된 식생활변화로 지방의 섭취량이 증가하였으며 이로부터 발생하는 질병 또한 중요한 사망요인이 되고 있다. 특히 지방 과잉 섭취는 생체 내 콜레스테롤 수치를 증가시켜 고지혈증을 일으키며 이는 각종 혈관질환을 일으키는 현대 주요 질병 중 하나이다.

고지혈증의 치료제로써 최근 가장 많이 사용되어지고 있는 것이 statin 계열의 물질로 알려져 있으며 이러한 statin 계열의 물질들은 인체 내 mevalonate pathway에서 이루어지는 cholesterol 생성단계 중 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA)가 mevalonic acid로 환원되는 과정을 유도하는 HMG-CoA reductase의 활성을 억제하여 cholesterol의 합성을 억제하게 된다. 콜레스테롤 합성반응은 acetyl CoA를 시작으로 하여 20여개의 효소반응을 거치게 된다. 초기 연구에서는 콜레스테롤의 생합성을 억제하기 위하여 생합성 마지막 경로에 관여하는 desmosterol 환원효소에 의해 촉매 생성되는 sterol로의 전환을 저해하는 trilaranol 등이 연구되었으나, 이 경우 중간 대사산물들에 의한 문제가 나타나게 되었다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 생합성 경로 중 desmosterol 환원 효소 보다 앞선 단계인 HMG-CoA reductase가 관여하는 반응을 저해하는 것으로 중간 대사산물에 대한 문제를 해결할 수 있는 방법이 제시되었다(17).

HMG-CoA reductase 저해물질로는 lovastatin, compactin, simvastatin, pravastatin이 대표적이며, 일반적으로 statin계열의 물질들은 filamentous fungi에 의한 대사산물로 알려져 있다(13). 그 중 *Aspergillus terreus*를 이용한 lovastatin의 생성 관련 연구가 다수 진행되어 왔다(11, 16). 특히 *Monascus ruber*와 *A. terreus* 등에서 발견되어진 lovastatin은 현재까지 가장 보편적인 콜레스테롤 합성 저해물질로 사용되어 오고 있다. 최근에는 *A. flavipes*에 의해 액체배양이 아닌 고체배양에서도 lovastatin이 생성된다는 연구도 보고되었다(18). 뿐만 아니라 토양으로부터 분리한 곰팡이 균주를 대상으로 lovastatin 생산에 대한 연구도 보고되고 있으며(1), 최근 몇몇 연구자에 의해 식용 버섯인 느타리 버섯에 lovastatin이 함유되어 있다는 보고가 있었다(7, 8). 하지만 아직 많은 식용버섯을 대상으로 한 콜레스테롤 합성 저해물질에 대한 연구가 미흡한 실정이며 lovastatin이외의 다른 종류의 항 고지혈증 관련 기능성물질의 탐색 및 연구는 전혀 진행되지 못하고 있다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 식용으로 사용되는 버섯의 균사체 및 자실체를 대상으로 하여 함유하고 있는 lovastatin과 고지혈증 억제관련 물질을 탐색하고 함유량을 평가하여 식용버섯의 기능성 및 고부가가치를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

시중에서 판매되는 국내산 식용 버섯 *Pleurotus ostreatus* (느

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-2-880-4785, Fax: 82-2-873-2318
E-mail: cingyu@snu.ac.kr

타리버섯), *Agaricus bisporus* (양송이버섯), *Lentinus edodes* (표고버섯), *Flammulina velutipes* (팽이 버섯)을 구입하여 자실체를 사용하였으며, 균사체 배양에 사용되는 *Laetiporus sulphureus* (붉은덕다리버섯), *Pholiota lubrica* (파리비늘버섯), *Hericiium erinaceus* (노루궁뎅이버섯), *Pleurotus eryngii* (새송이버섯), *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*는 서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부 목재화학실에서 보유하고 있는 식용버섯 균주를 사용하였다. 효소원 제조에 사용되는 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 96519는 한국미생물 보존센터로부터 분양받아 사용하였다. Lovastatin 표준물질과 효소저해 활성 측정에 사용되는 HMG-CoA, NADP, Glucose-6-phosphate dehydrogenase, dithiothreitol 등은 Sigma사로부터 구입하여 사용하였다.

미생물 배양

공시균주는 Potato Dextrose Agar (PDA)배지에서 보관하여 사용하였으며, 6종의 식용버섯 균사체 배양을 위해서 lovastatin 생산 배지인 rapeseed meal medium (RPM) 100 ml에 접종하여 30°C, 150 rpm으로 7일 동안 진탕 배양하여 배양액으로부터 lovastatin 생산을 확인하였다. RPM 배지조성은 lactose 4%, rapeseed meal 0.4%, KNO₃ 0.3%, KH₂PO₄ 0.4%, MgSO₄ 0.05%, NaCl, 0.05%, trace element solution 0.05%이며 trace element solution은 1L 증류수에 MnSO₄ 1.6 g, ZnSO₄ · 7H₂O 3.4 g, CoCl₂ · 6H₂O 2.0 g, FeSO₄ · 7H₂O 5 g을 첨가하여 제조하였다(9).

자실체와 균사체로부터 lovastatin 추출

4종의 식용버섯 1 kg을 액체질소를 이용하여 분쇄한 후 추출용매 methanol:water (1:1, v/v, M/W), water:acetonitrile:methanol (5:2.5:2.5, v/v, M/A/M)을 사용하여 각각 추출하였다. 각각의 식용버섯에 2종류의 추출용매를 적용하였으며 30°C에서 150 rpm으로 교반하면서 2일 동안 추출하였다. 추출액을 20배 농축하여 동량의 ethanol을 첨가하여 혼합한 후 -20°C에서 24시간 방치하여 당을 침전시켰다. 침전된 당은 원심분리기 (KR/Mega 17R, Hanil, Korea)를 이용하여 6,720×g에서 20분 동안 원심분리하여 제거한 후 상등액을 감압 농축, 건조한 후 2 ml의 메탄올을 첨가하여 TLC 및 HPLC 시료로 사용하였다.

진탕배양액으로부터 균사체를 제거한 후 배양액과 1:1 (v/v)로 ethyl acetate를 첨가하여 2시간 동안 250 rpm으로 진탕 혼합하였다. 30분 동안 실온에서 방치하여 층 분리한 후 유기용매층만을 분리하여 농축, 건조하였다. 건조된 시료에 2 ml의 ethyl acetate를 넣고 잘 녹여서 TLC 및 HPLC 시료로 사용하였다.

TLC를 이용한 lovastatin 생산 유무 확인

Activation시킨 TLC plate (silica gel 60 F₂₅₄, Merck, Germany)에 10 µl 시료를 spotting 하였다. Spotting한 TLC plate는 상온에서 건조시킨 후 전개용매(dichloromethane:ethyl acetate = 7:3)가 들어있는 TLC chamber에 넣고 전개시킨 후 건조시켰다. 건조된 TLC plate는 254 nm에서 UV light를 이용하여 lovastatin 생산

유무를 확인한 후 발색용액 50% H₂SO₄ 및 iodine vapor를 이용하여 재확인하였다. 비교시료로는 1 mM lovastatin을 사용하였다(6).

HPLC를 이용한 lovastatin 정량

추출 후 농축된 시료는 0.45 µm PVDF syringe filter를 이용하여 불순물을 제거하여 사용하였다. 시료 분리 및 lovastatin 정량은 Microsolv C₁₈ (particle size 5 µm, length 25 cm) 컬럼이 장착된 HPLC (Spectrasystem P2000, Thermo separation products, USA)를 사용하였으며, 이동 용매로 초기에는 5% acetonitrile과 95% water로 시작하였으며 최종적으로 1% water와 99% acetonitrile이 되도록 30분 동안 gradient를 주어 물질을 분리하였다. 시료주입량은 10 µl였으며 280 nm에서 signal을 검색하였고 flow rate는 0.7 ml/min으로 수행하였다. 분리된 peak의 면적은 lovastatin 표준곡선 면적에 대입하여 lovastatin을 정량하였다(5, 6, 7).

Microsomal protein 제조

Microsomal protein 제조는 다음과 같다(12, 14). HMG-CoA reductase 억제활성을 측정하기 위해 효소원 제조에 yeast인 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 96519를 사용하였다. *S. cerevisiae*는 1% glucose, 0.5% polypeptone, 1% yeast extract를 포함하고 있는 배지에서 24°C에서 24시간 전배양하였다. *S. cerevisiae* 배양액의 1%를 취해서 3% glucose, 0.5% polypeptone, 0.5% yeast extract, 0.5% KH₂PO₄를 포함하고 있는 새로운 배지에 접종하여 30°C에서 15시간 배양하였다. 배양액은 1,680×g에서 15분 동안 원심분리 하여 yeast 펠렛을 수집하고 증류수로 3회 세척하였다. 이 모든 과정은 4°C에서 행하였다. 수집된 펠렛에 20 mM EDTA (ethylene diamine tetraacetate)를 포함한 0.1 M Triethanolamine buffer (pH 7.4)를 첨가하여 혼합하였다. 펠렛이 포함 된 현탁액은 4°C에서 homogenizer (PH 91, SMT process, Japan)로 분쇄하여(8000 rpm, 15분) mitochondria를 추출하였다. Microsome을 얻기 위해 현탁액은 초원심분리기 (XL-90, Beckman, USA)를 이용하여 4°C에서 48,000×g으로 90분 동안 원심분리 하여 microsome을 분리하였다. Microsomal 단백질은 2 mM DTT (dithiothreitol)를 포함하고 있는 0.1 M Triethanolamine buffer (pH 7.4)로 세척하고 -70°C에서 보관하여 사용하였다.

HMG-CoA reductase 억제활성 측정

HMG-CoA reductase 활성은 Hulcher 등의 방법(12)에 따라 측정하였다. Microsomal protein 1 mg, HMG-CoA 150 nM, NADP 2 µM, glucose-6-phosphate 3 µM, glucose-6-phosphate dehydrogenase 2 units, 시료 100 µl를 혼합하여 37°C에서 30분 반응 시켰다. 반응 후 10 mM sodium arsenite 20 µl를 첨가하였다. 반응액은 실온에서 1분 정도 방치시킨 후 37°C에서 10분간 배양하였다. 반응액에 3% sodium tungstate를 포함하고 있는 2 mM citrate buffer (pH 3.5) 0.1 ml를 첨가하여 반응을 멈춘 후

23,640×g에서 원심분리하여 상등액을 분리하였다. 상등액 1 ml 에 2 M Tris buffer (pH 10.6) 0.2 ml, 2 M Tris buffer (pH 8.0) 0.1 ml와 0.4 M sodium arsenite 50 ml를 첨가하여 5분 배양하고 반응액 1 ml에 3 mM DTNB (5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)) 를 첨가한 후 UV spectrometer (UV-1601 PC, Shimadzu, Japan) 를 이용하여 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 억제활성율 에 대한 식은 다음과 같다(10).

$$\text{억제활성(\%)} = [1 - (\text{대조구의 흡광도 변화} - \text{대조구 blank의 흡광도 변화}) / (\text{시료의 흡광도 변화} - \text{시료 blank의 흡광도 변화})] \times 100$$

단백질 정량

효소원의 단백질량은 Bradford assay(2)에 의해 정량하였고 표준물질은 bovine serum albumin을 사용하였다.

GC/MS를 이용한 대사산물 분석

균사 배양액으로부터 대사산물을 분석하기 위해 gas chromatography (HP 4890, USA) - mass selective detector (HP 5792, USA)를 사용하였다. Carrier gas는 He, 유속은 1.0 ml/min이었으며 컬럼은 HP-5 MS (0.25 μm×30 m)를 사용하였다. 주입구 온도는 250°C로 splitless 모드로 사용하였고 검출부 온도는 300°C였으며 오븐 온도는 70°C에서 10분간 유지한 후 10°C/min의 속도로 310°C까지 상승시킨 후 310°C에서 10분간 유지하면서 분석을 수행하였다. GC 컬럼은 mass selective detector에 직접 연결되었으며 물질 분석은 EI 모드에서 70 eV, 50-400 amu로 2초간 scanning하여 내장된 library (Wiley Registry of Mass Spectra Data, 7th ed.)와 비교하였다(4).

결 과

TLC를 이용한 lovastatin 생산 유무 확인

본 연구에서 사용한 TLC 조건으로 균사체 배양에 사용된 6종류의 배양 추출액에 대하여 lovastatin을 분리한 결과 여러 균에서 생산되는 다른 이차대사산물들과 확연히 구분됨을 알 수 있었다. Lovastatin의 경우 표준물질과 비교하여 Rf 값이 약 0.46 정도에서 뚜렷한 밴드가 나타남을 확인하였다(Fig. 1). 4종류의 자실체에 대한 TLC분석 결과에서도 비슷한 Rf 값을 나타냈다.

HPLC를 이용한 lovastatin 정량

1차적으로 lovastatin 생산유무를 TLC상으로 확인한 결과 자실체 4종, 균사체 6종에서 모두 lovastatin 생산을 확인할 수 있었다. 표준시료로 lovastatin을 사용하여 HPLC분석을 한 결과 retention time 약 23분대에서 peak를 관찰할 수 있었고, 자실체 4종과 균사체 6종에서 모두 같은 retention time에서 peak를 나타냈다. Fig. 2는 자실체 4종에 대해 water/acetonitrile/methanol (5: 2.5:2.5)을 추출용매로 사용하여 얻은 추출액을 HPLC로 분석한 결과이며 각 균주들의 lovastatin 생산량은 Table 1, 2에서 나타났다. 자실체에서는 *P. ostreatus*가 lovastatin 생산량이 가장 높았

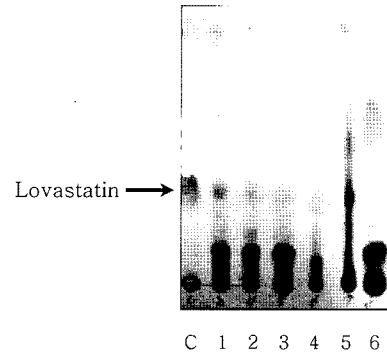


Fig. 1. Detection of lovastatin by TLC analysis (C: Lovastatin standard, 1: *P. ostreatus*, 2: *P. lubrica*, 3: *L. edodes*, 4: *H. erinaceus*, 5: *L. sulphureus*, 6: *P. eryngii*).

으며 추출용매로는 acetonitrile이 첨가된 용매에서 가장 높게 검출되었다. Water/acetonitrile/methanol 추출물이 ethanol을 첨가하여 당을 제거한 것 보다 높은 생산량을 보였다. *P. ostreatus*의 자실체로부터 lovastatin 생산은 기존의 연구결과와 일치하였으며(6), *P. ostreatus* 이외의 3종의 자실체에서도 소량의 lovastatin이 검출된 것을 확인하였다. 6종의 균사체 배양액에서는 *P. ostreatus* 배양액 추출물에서 lovastatin 생산량이 21.90 mg/l로 가장 높았으며 이것은 Gunde-Cimerman (7) 등이 발표한 연구보고와 거의 비슷한 값을 나타냈다. *H. erinaceus*에서는 0.72 mg/l로 가장 낮은 값을 보였다. 균사체 배양액에서도 모두 lovastatin 생산을 보여주었지만 *P. ostreatus* 이외의 균사체에서는 매우 낮았다.

*A. terreus*부터 생산되는 lovastatin 생산량이 탄소원과 질소원에 따라 생산량에 영향을 미치는 것으로(11) 보고된 연구결과를 바탕으로 본 연구에서 사용된 6종의 식용버섯 균사체 배양액으로부터의 lovastatin 생산은 배지의 탄소원, 질소원 및 배양조건인 pH, rpm에 의해 영향을 받을 것으로 사료된다. 본 연구에서는 기존에 알려진 *A. terreus*로부터 lovastatin 생산을 위한 최적

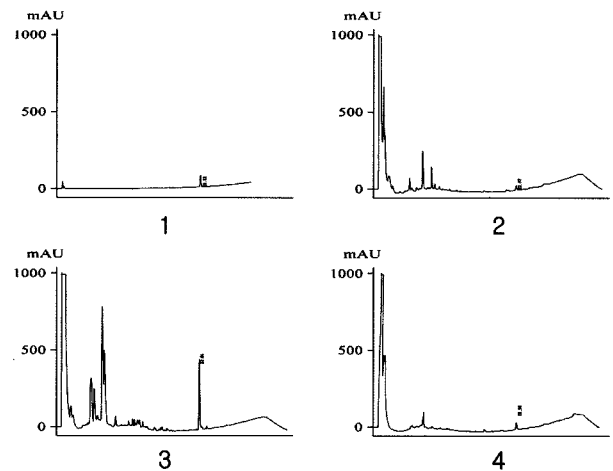


Fig. 2. HPLC analysis of lovastatin production by fruiting bodies of edible mushrooms(1: lovastatin standard, 2: *A. bisporus*, 3: *P. ostreatus*, 4: *L. edodes*).

Table 1. Lovastatin production from fruiting bodies of various edible mushrooms depending on extraction methods(W: water, A: acetonitrile, M: methanol, E: ethanol)

Strain	Method of extraction	Lovastatin (mg/g dry biomass)
<i>P. ostreatus</i>	W/A/M	0.98
<i>A. bisporus</i>	W/A/M	0.081
<i>L. edodes</i>	W/A/M	0.037
<i>F. velutipes</i>	W/A/M	0.004
<i>P. ostreatus</i>	W/A/M/E	0.72
<i>A. bisporus</i>	W/A/M/E	0.016
<i>L. edodes</i>	W/A/M/E	0.029
<i>F. velutipes</i>	W/A/M/E	0.005
<i>P. ostreatus</i>	W/M/E	0.14
<i>A. bisporus</i>	W/M/E	0.003
<i>L. edodes</i>	W/M/E	0.014
<i>F. velutipes</i>	W/M/E	0.004

Table 2. Lovastatin production from mycelium liquid culture of edible mushrooms

Strain	Method of extraction	Lovastatin (mg/l)
<i>P. ostreatus</i>	Ethyl acetate	21.90
<i>P. lubrica</i>	Ethyl acetate	2.21
<i>L. edodes</i>	Ethyl acetate	2.34
<i>H. erinaceus</i>	Ethyl acetate	0.72
<i>L. sulphureus</i>	Ethyl acetate	2.28
<i>P. eryngii</i>	Ethyl acetate	1.74

조건 배지인 RPM배지(16)를 사용하였지만 보다 높은 lovastatin 생산량을 위해서는 식용버섯 균사체에 적합한 최적 배지조건 탐색이 더욱 필요하다.

HMG-CoA reductase 억제활성 측정

HMG-CoA reductase는 HMG-CoA에서 mevalonate로 환원시키는데 필요한 효소이며 콜레스테롤 생합성에 관여하는 핵심 효소이다. 따라서 콜레스테롤 생합성에 관여하는 효소의 억제활성을 자실체와 균사배양액 추출물에 대해 측정하였다.

자실체와 균사배양액의 추출물 농축액 100 µl에 대한 HMG-CoA reductase 억제활성을 측정한 결과는 Table 3, 4와 같다. 자실체에서는 W/A/M용매에 의한 추출물에 대한 억제활성이 다른 추출용매에서보다 높은 값을 나타냈고 표준물질 1 mM lovastatin에 대한 억제활성이 87.5%이며, *P. ostreatus*가 67.8%로 가장 높은 억제활성을 나타냈다. 균사배양액 추출물에서도 *P. ostreatus*가 37.2%로 가장 높은 억제활성을 나타냈으나 자실체 보다는 낮았다.

GC/MS를 이용한 대사산물 분석

균사체 배양액 추출물을 이용하여 HMG-CoA reductase 억제활성을 조사한 결과 *P. ostreatus* 다음으로 *L. sulphureus*의 억제활성이 높게 나타나 *L. sulphureus*의 배양액에서 lovastatin 이외의 고지혈증 저해물질을 탐색하기 위해서 추출물에 대해 GC/MS

Table 3. Inhibition rate of HMG-CoA reductase activity by fruiting bodies of edible mushrooms *in vitro*

Strain	Solvent	Specific activity (pmols/min/mg protein)	Inhibition rate (%)
Control		70.8	0
Lovastatin 1mM		8.8	87.5
<i>P. ostreatus</i>	W/A/M	22.8	67.8
<i>A. bisporus</i>	W/A/M	42.8	39.6
<i>F. velutipes</i>	W/A/M	32.9	53.6
<i>L. edodes</i>	W/A/M	50.0	29.4
<i>P. ostreatus</i>	W/A/M/E	28.5	59.8
<i>A. bisporus</i>	W/A/M/E	55.6	21.5
<i>F. velutipes</i>	W/A/M/E	39.7	56.0
<i>L. edodes</i>	W/A/M/E	59.4	16.2
<i>P. ostreatus</i>	W/M/E	34.6	51.2
<i>A. bisporus</i>	W/M/E	46.1	35.1
<i>F. velutipes</i>	W/M/E	44.5	37.2
<i>L. edodes</i>	W/M/E	58.3	17.7

Table 4. Inhibition rate of HMG-CoA reductase activity by mycelium liquid culture of edible mushrooms *in vitro*

Strain	Specific activity (pmols/min/mg protein)	Inhibition rate (%)
Control	70.8	
Lovastatin 1 mM	8.8	87.5
<i>P. ostreatus</i>	44.5	37.2
<i>P. lubrica</i>	56.1	20.8
<i>L. edodes</i>	59.7	15.7
<i>H. erinaceus</i>	58.5	27.0
<i>L. sulphureus</i>	50.2	29.1
<i>P. eryngii</i>	64.2	9.6

분석으로 대사산물을 조사하였다. Lovastatin 이외의 다른 대사산물에 의해 생성되는 유효 활성물질을 확인하기 위하여 GC/MS로 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. *L. sulphureus*를 RPM배지에서 7일 배양한 후 ethyl acetate로 추출하여 농축한 후 분석한 결과 *L. sulphureus* 대사산물로 retention time 35.82분에서 분자량 400.68인 campesterol, retention time 36.65분에서 분자량 414.71인 gamma-sitosterol이 검출되었다. Campesterol과 gamma-sitosterol에 대한 mass spectrum은 Fig. 4, 5에서 나타났다. Campesterol과 gamma-sitosterol은 혈중 중성지방 저하와 고지혈증을 억제하는 물질로 알려져 있으며 이러한 식물성 sterol 물질에 의해 HMG-CoA reductase 억제활성이 높게 나타난 것으로 사료된다(3, 15).

고 찰

국내 식용버섯 자실체로부터 고지혈증 억제물질인 lovastatin이 생성됨을 확인하였으며 균사체 배양액으로부터도 lovastatin이 생성됨을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 바탕으로 균사체 배양액의 배지조성원인 탄소원, 복합 질소원, pH 등의 변이에 따라

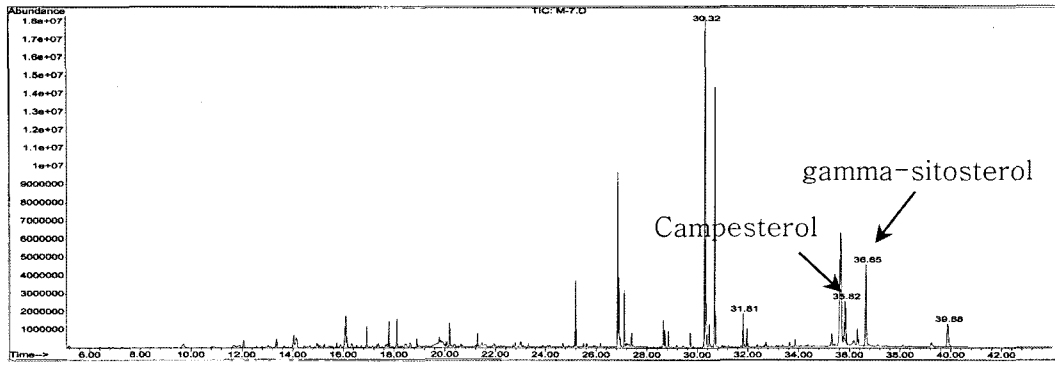


Fig. 3. TIC of liquid culture solution of *L. sulphureus* after 7 days of incubation.

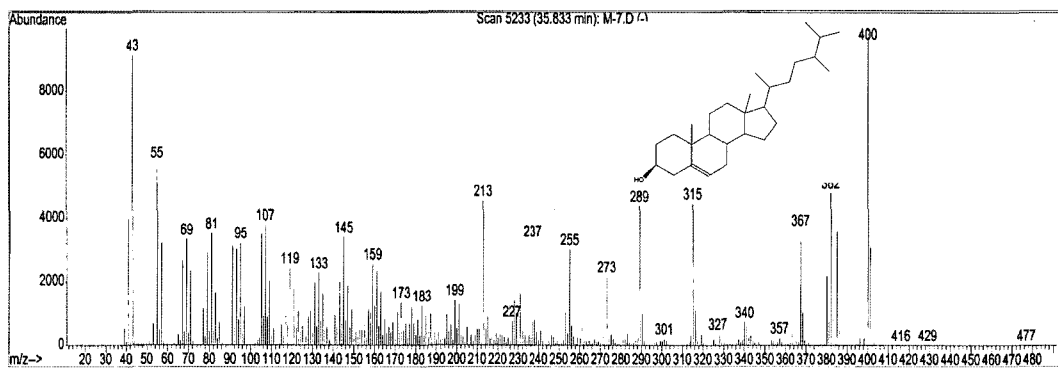


Fig. 4. Mass spectrum of campesterol determined by GC/MS analysis.

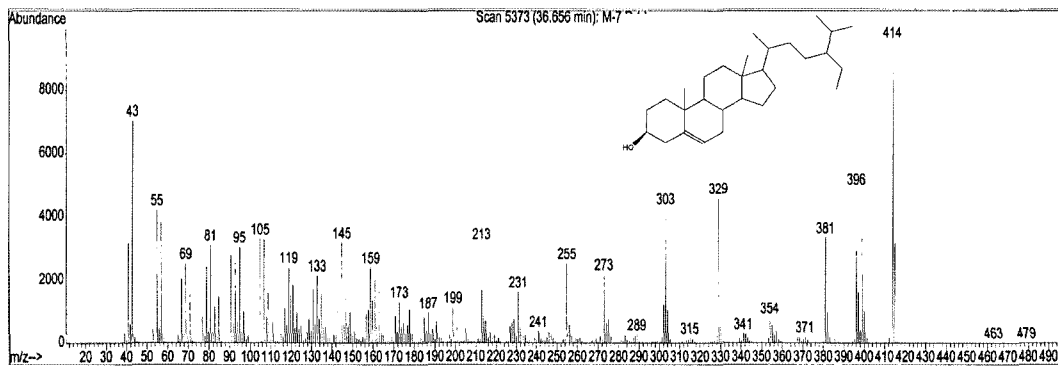


Fig. 5. Mass spectrum of gamma-sitosterol determined by GC/MS analysis.

lovastatin 생산량이 차이가 나타날 것으로 예상되며, lovastatin 생산 최적 조건을 구명함으로써 자실체로부터 lovastatin 생산 증가를 가능하게 할 것으로 판단된다. 균사체 배양액으로부터 campesterol, gamma-sitosterol 등의 식물성 sterol 물질이 검출되어 고지혈증 억제물질로 lovastatin 뿐만 아니라 다양한 유효활성물질이 생산될 것이라 생각되며 균사체 유효활성성분 증가를 위한 방법에 대한 연구가 요구된다.

본 연구로부터 얻어진 결과는 식용버섯에 함유되어 있는 고지혈증 저해물질 함유량 증가 방안에 대한 연구의 기초자료를 제공할 것이며 식용버섯 기능성화에 기여할 것으로 기대된다.

감사의 말

이 연구의 일부분은 서울대학교 NICEM 연구진흥사업, BK21 (임산공학 연구인력 양성사업팀) 지원에 의해서 수행되었습니다.

참고문헌

1. Bang, I. Y., S. H. Whang, J. W. Kim, S. Y. Kim, and C. S. Park. 2003. Screening of fungal strains producing lovastatin, an antihypercholesterolemin agent. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35, 442-446.

2. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.
3. Connor, W. E., D. S. Lin, A. S. Pappu, J. Frohlich, and G. Gerhard. 2005. Dietary sitostanol and campestanol: accumulation in the blood of humans with sitosterolemia and xanthomatosis and in rat tissues. *Lipids.* 40, 919-923.
4. Erturk, S., A. Onal, and S. M. Cetin. 2003. Analytical methods for the quantitative determination of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in biological samples. *J. Chromatogr. B.* 793, 193-205.
5. Friedrich, J., M. Zuzek, M. Bencina, A. Cimerman, A. Strancar, and I. Radez. 1995. High-performance liquid chromatographic analysis of mevinolin as mevinolinic acid in fermentation broths. *J. Chromatogr. A.* 704, 363-367.
6. Gunde-Cimerman, N., and A. Cimerman. 1995. Pleurotus fruiting bodies contain the inhibitor of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A reductase- Lovastatin. *Exp. Mycol.* 19, 1-6.
7. Gunde-Cimerman, N., J. Friedrich, A. Cimerman, and N. Benicki. 1993. Screening fungi for the production of an inhibitor of HMG Co A reductase: Production of mevinolin by the fungi of the genus *Pleurotus*. *FEMS Lett.* 111, 203-206.
8. Gunde-Cimerman, N., A. Plemenitas, and A. Cimerman. 1993. *Pleurotus* fungi produce mevinolin, an inhibitor of HMG Co A reductase. *FEMS Lett.* 113, 333-338.
9. Gyorgy, S., M. Gyorgy, and P. T. Robert. 1998. Production of lovastatin by a wild strain of *Aspergillus terreus*. *Biotechnol. Lett.* 20, 411-415.
10. Ha, T.Y., I. J. Cho, and S. H. Lee. 1998. Screening of HMG-CoA reductase inhibitory activity of ethanol and methanol extracts from cereals and legumes. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30, 224-229.
11. Hajjaj, H., P. Niederberger, and P. Duboc. 2001. Lovastatin biosynthesis by *Aspergillus terreus* in a chemically defined medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2596-2602.
12. Hulcher, F.H. and W. H. Olesson. 1987. Simplified spectrophotometric assay for microsomal-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme. *Am. J. Lipid Res.* 14, 625-630.
13. Manzoni, M. and M. Rollini. 2002. Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol-lowering drugs. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58, 555-564.
14. Moon, Y.J., K. H. Yeom, and C. K. Sung. 2002. Screening of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A reductase inhibitors in vitro and its application to pullets. *Korean J. Food & Nutr.* 15, 307-313.
15. Sudhop, T., Y. Sahin, B. Lindenthal, C. Hahn, C. Luers, H. K. Berthold, and K. Bergmann. 2002. Comparison of the hepatic clearances of campesterol, sitosterol, and cholesterol in healthy subjects suggests that efflux transporters controlling intestinal sterol absorption also regulate biliary secretion. *GUT.* 51, 860-863.
16. Szakacs, G., G. Morovjan, and R. P. Tengerty. 1998. Production of lovastatin by a wild strain of *Aspergillus terreus*. *Biotechnol. Lett.* 20, 411-415.
17. Tobert, J.A. 1987. New developments in lipid-lowering therapy: the role of inhibitors of hydroxymethyl-glutaryl-coenzyme A reductase. *Circulation* 76, 534-538
18. Valera, H.R., J. Gomes, S. Lakshmi, R. Gururaja, S. Suryanarayan, and D. Kumar. 2005. Lovastatin production by solid state fermentation using *Aspergillus flavipes*. *Enzyme Microb. Technol.* 37, 521-526.

(Received February 6, 2006/Accepted March 3, 2006)

ABSTRACT : Screening of Edible Mushrooms for the Production of Lovastatin and its HMG-CoA Reductase Inhibitory Activity

Jae-Won Lee, Soo-Min Lee, Ki-Seob Gwak, Ji-Yoon Lee¹, and In-Gyu Choi* (Department of Forest Sciences, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Republic of Korea, ¹NICEM, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Republic of Korea)

This research was performed to determine the production of lovastatin and its HMG-CoA reductase activity produced by fruit bodies and mycelial liquid cultures of domestic edible mushrooms (8 fungal strains). By determining TLC analysis for the confirmation of the presence of lovastatin, all the extracts from fruit bodies and mycelial liquid culture showed same R_f value (0.46), which was identical to that of the standard lovastatin. In order to extract lovastatin from fruit body, the mixture of water/acetonitrile/methanol was chosen as the most effective solvent. Extracts from fruit body and mycelial liquid culture of *Pleurotus ostreatus* produced the highest lovastatin 0.98 mg/g based on dry biomass, and 21.90 mg/L, respectively. In the inhibition rate of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase, the highest was obtained in *P. ostreatus* as 67.8% among fruit bodies, and the rates of mycelial liquid culture extracts from *P. ostreatus* and *Laetiporus sulphureus* were 37.2% and 29.1%, respectively. Unusually *L. sulphureus* showed high inhibition rate with low content of lovastatin due to the contribution of campesterol and gamma-sitosterol with hypocholesterolemic activity as metabolites.