

## 느티만가닥버섯의 분자유전학적 분류 및 품종특이적 DNA 마커 탐색

임윤정<sup>1</sup> · 이창윤<sup>2</sup> · 박정은<sup>1</sup> · 김상우<sup>1</sup> · 이현숙<sup>1</sup> · 노현수<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 미생물학과 및 생명과학연구원, <sup>2</sup>그린피스버섯연구소

### Molecular Genetic Classification of *Hypsizygus marmoreus* and Development of Strain-specific DNA Markers

Yun-Jeong Lim<sup>1</sup>, Chang-Yun Lee<sup>2</sup>, Jeong-Eun Park<sup>1</sup>, Sang-Woo Kim<sup>1</sup>, Hyun-Sook Lee<sup>1</sup> and Hyeon-Su Ro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Research Institute of Life Sciences, Gyeongsang National University, 900 Gajwa-Dong, Chinju 660-701, Korea,

<sup>2</sup>Greenpeace Mushroom Co., 715 Haksan-ri, Iseo-myeon, Cheongdo-gun, Gyeongbuk, Korea

(Received June 1, 2010. Accepted June 17, 2010)

**ABSTRACT:** We have attempted to verify 30 strains of *Hypsizygus marmoreus* from various mushroom stocks in Korea using random amplified polymorphic DNA (RAPD) methodology. Chromosomal DNAs of them were extracted and subjected to PCR analyses with 3 random primers. Each PCR produced approximately 30 distinct PCR bands with the size from 200 bp to 3000 bp. A dendrogram was acquired using the unweighted pair-group method with arithmetic average (UPGMA) clustering methodology on the basis of the DNA band pattern. The analysis revealed that 30 strains of *H. marmoreus* were clustered into two distinct clusters. Cluster 1 contained 3 subgroups while the cluster 2 consisted of rather diverse strains. Interestingly, Hm3-10, a wild strain collected from Deog-Yu mountain, was not included in either clusters, indicative of uniqueness of this strain. We nextly attempted to develop strain-specific DNA markers to verify a specific strain. A unique band in the RAPD gel lane of Hm0-4 was extracted and its sequence was determined. PCR with a primer set from the determined sequence revealed that the primer set gave a 250 bp DNA band only for Hm0-4, indicating that this approach works well for the strain-specific identification of *H. marmoreus*.

**KEYWORDS :** Classification, DNA marker, *Hypsizygus marmoreus*, RAPD

느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*)은 담자균류, 주름버섯목, 송이과에 속하는 식용버섯으로 주로 가을에 너도밤나무, 단풍나무 등 각종 활엽수의 고사목이나 생목에 균생한다. 북반구 온대 이북지역에 분포되어 있다. 이 버섯은 서양에서는 “Beech mushroom”으로, 일본에서는 부나시메지(Bunashimeji)로 불리는 대표적인 식용버섯이다. 특히 일본에서는 2008년 생산량이 108,206톤으로, 131,092톤의 팽이버섯(*Flammulina velutipes*) 다음으로 많이 생산되는 버섯이다.

느티만가닥버섯은 저지방 고단백질 식품으로 특히 단백질 구성하는 아미노산 중에서 지미 성분을 갖는 글루탐산을 많이 함유하고 있는 것이 특징이다(Kim *et al.*, 2003). 또한 버섯이 만드는 Hypsin은 항진균 활성과 항종양효과(Lam and Ng, 2001)를 가지며, HM23(collagen-binding protein)(Tsuchida *et al.*, 1995), hypsiziprenol A9(Chang *et al.*, 2004)와 느티만가닥 다당류(Ikekawa *et al.*, 1992)들은 항암효과를 보이는 것으로 보고되었다. 자실체의 수용성 추출물들은 활성 산소에 대한 보호효과와 지질과산화 반응에 대한 항산화 활성

(Matsuzawa *et al.*, 1998)등의 생리활성을 나타낸다고 보고되어 있다.

느티만가닥버섯의 재배측면에서 주요한 특징은 균의 성장 속도가 매우 느려서 배양기간이 100일 전후가 소요된다는 것이다. 이러한 어려움으로 인하여 우리나라에서는 본격적인 재배가 이루어지지 않고 있다가, 최근 들어 국내 몇몇 버섯 업체를 중심으로 일본기술을 도입하여 시장에 출하하고 있다. 그러나 느티만가닥버섯이 일본, 중국, 대만 등지에서 대량 소비되고 있고, 국내버섯시장의 일본시장과의 연계성으로 미루어 볼 때 이 버섯의 국내시장이 폭발적으로 확장될 가능성이 있다. 또한, 버섯의 느린 성장 속도로 인하여 조식이 치밀하고 저장성이 좋기 때문에 세계시장을 바라보는 수출용 버섯으로서의 가능성도 충분하다고 볼 수 있다. 이러한 이유로 국내에서도 새로운 품종개발이나 유용성분분석, 재배기술 개발 등 느티만가닥버섯에 대한 본격적 연구가 필요하다. 현재 국내에서 재배되고 있는 느티만가닥버섯 품종은 일본에서 도입된 품종이나, 최근에는 국내 육종가를 통하여 새로운 느티만가닥 품종이 출원되고 있다. 또한, 여러 경로를 통하여 국내에 반입된 품종과 국내 야생종들이 버섯균주은행(인천대)

\*Corresponding author <E-mail : rohyeon@gnu.ac.kr>

과 버섯업체 등 여러 기관에 산재해 있다. 그러나 각 품종들의 무작위적 수집 및 불분명한 반입경로 등으로 인하여 품종들의 기원이 모호해 졌기 때문에, 품종간의 차이를 구분할 수 있는 구분법의 개발이 필요해 졌다. 따라서 본 연구에서는 느티만가닥버섯을 구분하는 방법을 개발하고, 각 품종을 구분할 수 있는 DNA 마커(marker)를 찾는 데 목표를 두었다.

분자유전학적 방법에 의한 생물종의 구분에는 PCR 기반의 DNA 지문검사법(fingerprinting)인 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism) 등의 방법과 SSU rDNA 나 Histone, Tubulin 유전자들과 ITS(Internal Transcribed Spacer)와 같은 유전자 사이의 염기서열이 DNA 마커서열분석법에 동원되고 있다. SSU rDNA의 경우 느타리속 버섯류(*Pleurotus*)의 구분에서 성공적으로 적용된 바 있으며(Gonzalez and Labarere, 2000), ITS1, ITS2 마커 또한 다양한 종류의 곰팡이균 분류에 사용되었다(Alam *et al.*, 2009a, 2009b; Chen *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2004; Tuchwell *et al.*, 2005). 그러나 이러한 DNA 마커서열의 경우 종간의 구분에는 유효하나 같은 종내 변이체의 구분에는 유효하지 못한 것으로 알려져 있다(Gonzalez and Labarere, 2000; Ro *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2006). 반면 PCR을 기반으로 하는 DNA 지문검사법은 PCR 방법 자체의 민감도로 인하여 같은 종내의 변이체들을 고감도로 검출할 수 있어서, 최근 들어 버섯품종구분에 주로 사용되고 있다. 특히 RAPD 방법은 10개 내외의 뉴클레오타이드(nucleotide)를 가진 무작위적 프라이머(random primer)를 사용하기 때문에 방법적으로 매우 간단하게 변이체의 구분에 사용할 수 있는 장점이 있다. 실제로 새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)의 품종간 구분에 이 방법이 성공적으로 적용된 바 있으며(Ro *et al.*, 2007; Zervakis *et al.*, 2001), 곰팡이균 *Fellomyces*의 구분에 도 적용된 바 있다(Lopandic *et al.*, 2005). 느티만가닥버섯의 경우 최근 AFLP 방법을 통하여 분류가 시도된 바 있다(Wang *et al.*, 2009).

본 연구에서는 국내에서 수집된 느티만가닥버섯 30종에 대한 RAPD 분석을 수행하여 각 품종들을 분류하였으며, RAPD 상에 나타난 특이 DNA 조각의 염기서열을 바탕으로 품종 특이적 DNA 마커 개발을 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 느티만가닥버섯균주 수집 및 배양

본 실험에 이용한 느티만가닥버섯(*Hypsizygus marmoreus*) 균주는 일본유래 재배종 및 국내보존기관 보유종(야생버섯 균주은행, 그린피스버섯연구소, 국립원예특작과학원), 덕유산에서 수집된 야생종 1종 등 총 30종의 균주를 사용하였다(Table 1). 각 균주는 potato-dextrose agar(PDA) 배지에 계대배양하며 보관하였다. 버섯염색체의 추출은 다음과 같은 방법으로 수행하였다(Grimberg *et al.*, 1989). 먼저 PDA에서 키운 버섯균사를 모아서, 1X TE(Tris-EDTA) buffer에 현탁한 후

**Table 1.** Strains of *Hypsizygus marmoreus*

No.	Strains No.	Origin	No.	Strains No.	Origin
1	Hm0-2	Japan	16	Hm1-10	Japan
2	Hm0-3	Japan	17	Hm2-7	Taiwan
3	Hm0-3'	Japan	18	Hm2-8	China
4	Hm0-4	Japan	19	Hm2-10	Korea
5	Hm0-5	Japan	20	Hm3-1	Korea
6	Hm0-6	Japan	21	Hm3-2	Korea
7	Hm0-7	Japan	22	Hm3-3	Korea
8	Hm0-9	Japan	23	Hm3-4	Korea
9	Hm0-10	Japan	24	Hm3-5	Korea
10	Hm1-1	Japan	25	Hm3-6	Korea
11	Hm1-4	Japan	26	Hm3-7	Korea
12	Hm1-5	Japan	27	Hm3-8	Korea
13	Hm1-6	China	28	Hm3-9	Korea
14	Hm1-7	Japan	29	Hm3-10	Korea
15	Hm1-8	Japan	29	Hm4-1	Korea

막자사발로 곱게 갈았다. 이를 microtube에 500 ml씩 분주하고 *Trichoderma harzianum* lysing enzyme(SIGMA) 2 mg을 가하여 잘 섞은 뒤에 2시간 동안 상온에서 교반하며 세포벽을 용해시켰다. 여기에 SDS-TE buffer(2% SDS, 0.1 M Tris-HCl, 10 mM EDTA, pH 8.0) 500 ml를 넣고 잘 섞은 후, 65°C에서 10분간 방치하여 세포를 파괴시켰다. 이후 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 분리하였다. 상등액에 100 ml의 5 M ammonium acetate를 가하고, 2배 부피의 Isopropanol을 가한 뒤 -20°C에서 1시간 이상 방치하였다. 버섯 염색체를 13,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 침전물로 획득하였다. 이 침전물을 80% 에탄올로 씻고 에탄올을 완전히 제거한 후, 증류수 200 ml를 가한 뒤 3 M sodium acetate 20 ml를 넣어 37°C에서 10분간 방치하였다. 이렇게 얻어진 DNA 용액에 동량의 PCI(phenol/chloroform/isomyl alcohol, 25/24/1) 용액을 넣고 섞은 뒤 13,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하여 상등액을 회수하였다. 같은 조작을 한번 더 반복한 후, 최종적으로 얻어진 상등액에 100% 에탄올을 최종 농도 70%가 되게 가하였다. 침전된 DNA는 13,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 획득한 후 70% EtOH로 씻고 증류수로 녹였다.

### RAPD 분석

추출한 염색체 DNA를 주형(template)으로 하고, RAPD용 random primer(Qiagen) OPS-1(5'-CTA CTG CGC T-3'), OPS-10(5'-ACC GTT CCA G-3') 및 OPL13(5'-ACC GCC TGC T-3')을 이용하여 PCR을 수행하였다(11). 반응액은 주형 DNA 2  $\mu$ l, primer(100 mM) 1  $\mu$ l, 10 nM dNTP, Taq polymerase(Solgent Co.) 1  $\mu$ l, 10X Taq buffer(Solgent Co.)

2  $\mu$ l을 가하고 증류수로 반응액의 부피를 20  $\mu$ l로 조정하였다. PCR 조건은 94°C에서 5분간 denaturation 후, 94°C 45초, 40°C 45초, 72°C 3분로 40 cycle 증폭하였으며, 이후 72°C에서 10분간 방치하여 반응을 완결하였다. PCR 산물은 agarose gel electrophoresis(150V에서 1시간 30분)로 분리하였고 EtBr(ethidium bromide)염색 후 Gel documentation system (Vilber-Lourmat Bio-Vision 3000 model)를 사용하여 gel image를 획득하였다. 각 PCR 산물의 크기는 1 kb DNA ladder (New England Biolabs)를 size marker로 사용하여 확인하였다.

### 계통분석

RAPD 결과로 얻어진 DNA 패턴은 특정 위치의 DNA band의 유무를 1과 0의 값으로 엑셀프로그램으로 정리하였고, FreeTree 소프트웨어(Pavlicek *et al.*, 1999)를 이용하여 UPGMA(Unweighted Pair-Group Method With Arithmetic Average) 분석방법(Rohlf, 1989)으로 유연관계 분석하였다. 최종적으로 얻어진 데이터는 TreeView 소프트웨어(Page, 1996)를 이용하여 dendrogram으로 나타내었다.

### 품종특이적 마커의 클로닝

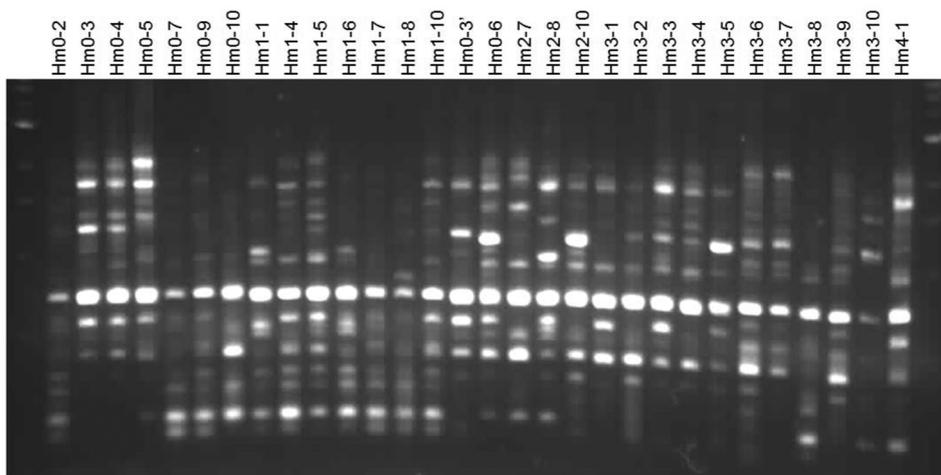
RAPD에서 나타난 특이적 DNA band를 품종 특이적 마커로 개발하기 위하여 각 DNA band의 염기서열을 결정하였다. 이를 위하여 각 품종별 특이 DNA band 18개를 선정하여 gel에서 추출하였다. 추출된 DNA를 pGEM Teasy vector (Promega)와 ligation 후, *Escherichia coli* DH5alpha competent cell에 열 충격(heat shock) 방법으로 삽입하였다. 형질전환 대장균은 LB-ampicillin(100 mg/ml)에 도말하고 37°C에서 12 시간 배양하였다. 각 콜로니를 LB-ampicillin 액체배지에 배양한 후 plasmid를 추출하고 (plasmid prep kit, Solgent), 제한효소 *EcoRI*을 처리하여 insert 존재유무를 확인하였다. Cloning이 완료된 plasmid는 상업적 염기서열결정서비스 회사(Solgent)에 의뢰하여 염기서열을 결정하였다.

## 결과 및 고찰

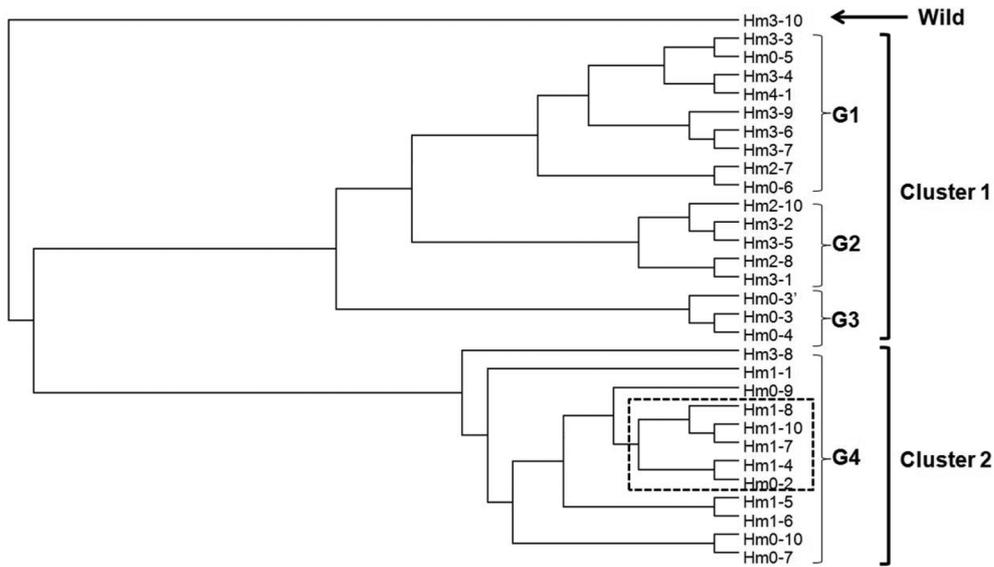
### RAPD를 통한 느티만가닥버섯의 계통분석

수집된 30종 느티만가닥버섯의 계통분석을 위하여, 고체배지상에서 자란 균사체를 모아 염색체 DNA를 추출하였다. 추출된 염색체를 주형으로 하여 OPS-1, OPS-10, OPL-13 등 세가지 primer를 이용하여 PCR 반응을 수행하였다 (Fig. 1). 각 PCR 반응에서 분자량 200 bp~2500 bp 크기의 DNA 단편들이 균주당 30여개씩 증폭됨을 확인하였다. 이러한 DNA 단편들의 각 균주별 패턴을 UPGMA 방법으로 클러스터링 (clustering) 하였다 (Fig. 2). 클러스터링 결과, 대부분의 느티만가닥버섯 품종은 Cluster 1이나 Cluster 2, 둘 중 하나의 클러스터에 속하였으며, 특이하게도 한국 덕유산에서 채집된 야생종(Hm3-10)은 어느 클러스터에도 속하지 않는 독립된 종임을 알 수 있었다. 이러한 현상은 주로 일본, 중국, 대만등지에서 수집된 느티만가닥 품종들이 대부분 유사한 기원에서 출발하였기 때문임을 추정할 수 있는데, 이는 아마도 이들 국가에서 유통 중인 느티만가닥버섯의 재배종 품종들이 대부분 일본의 재배기술과 함께 이들 국가로 흘러들어갔기 때문일 것으로 생각된다. 이들 가운데서 한국 야생종 균주 Hm3-10은 독특한 위치를 점하고 있기 때문에 향후 육종을 통한 균주개발의 중요한 자산이 될 것으로 생각된다.

각 클러스터를 살펴보면, Cluster 1의 경우에는 편의상 3개의 subgroup(G1, G2, G3)으로 나눌 수 있다. G1에는 한국 육성종(Hm0-3  $\times$  Hm0-6) Hm3-3, Hm3-4와 한국수집종 Hm3-6, Hm3-7, Hm3-9이 포함되었으며, G2에는 한국육성종 (Hm0-3  $\times$  Hm0-6) Hm2-10, Hm3-1, Hm3-2, Hm3-5등의 균주들이 포함되었다 (Fig. 2와 Table 1). G3는 주로 일본품종들이었다. Cluster 2의 경우는 dendrogram 상의 거리로 판단하면 Hm1-1이나 Hm3-8등의 균주가 독립적으로 떨어져 있는 등, Cluster 1에 비하여 좀 더 많은 subgroup이 존재할 수 있을 것으로 생각되나, 편의상 하나의 그룹인 G4로 처리하였다.



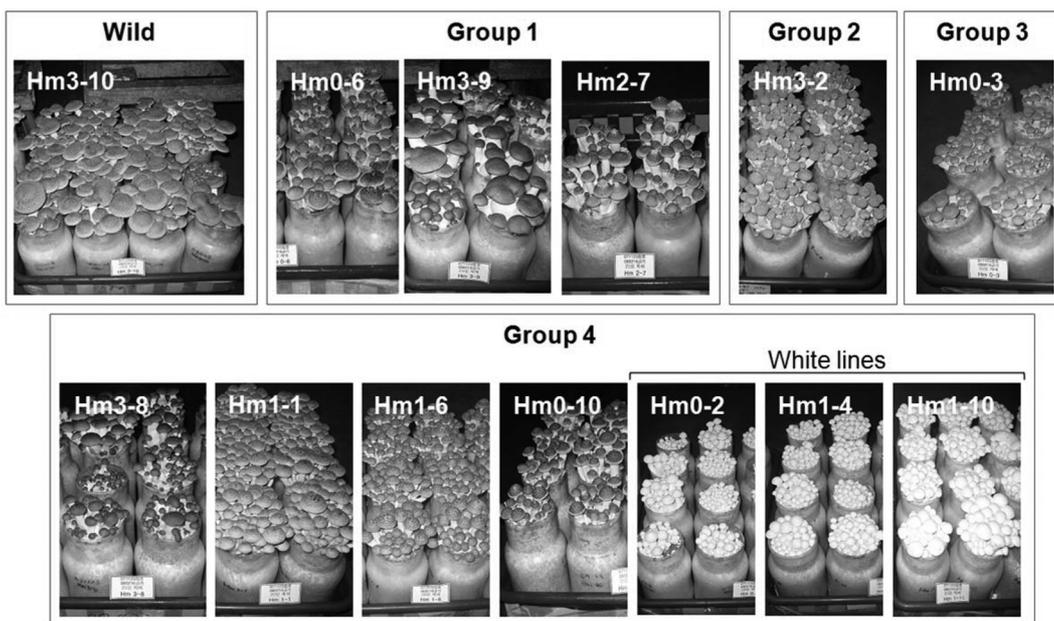
**Fig. 1.** RAPD analysis on strains of *H. marmoreus*. A random primer OPS-10 was used for this analysis. PCR was carried out for 40 cycles of 94°C(45 sec)-40°C(45 sec)-72°C(3 min). The PCR products were analyzed on 1.25% agarose gel.



**Fig. 2.** Dendrogram analysis of the RAPD results. The RAPD gel images using OPS-1, OPS-10, and OPL-13 primers were analyzed with UPGMA cluster analysis methodology. The dendrogram was calculated with 500 repeats of bootstrapping. “Wild” indicates a wild strain collected from Deog-Yu Mt. G1, G2, G3, and G4 are subgroups of clusters. The strains included in the dashed rectangle are white mushroom strains.

이러한 RAPD 결과를 바탕으로 하는 느티만가닥버섯 그룹 분석결과를 각 그룹에 속하는 버섯들의 자실체 특성과 비교하여 Fig. 3에 나타내었다. 각 자실체들은 동일한 병버섯 재배 조건에서 재배된 것이다. 먼저, Hm3-10 야생종의 경우 갓의 모양이 대표적 재배종버섯 Hm1-1에 비하여 크게 벌어져 있으며, 갓 색깔 또한 진한 갈색으로 회갈색의 Hm1-1에 비하여 구분되는 특징을 가지고 있었다. Group 1의 버섯자실체들은 갈색이 강한 버섯들로서 병당 버섯개체수가 Hm1-1에 비하여

적었다. Group 2와 Group 3의 버섯은 갓의 색이 회갈색이며, 갓 크기가 다른 Hm1-1에 비하여 작았다. Group 4의 버섯들은 재배형태학적으로 매우 다양한 특징들을 나타내었다. 대표적 재배품종인 Hm1-1은 회갈색 갓을 가지고 있으며, 많은 개체수와, 중간 크기의 갓크기 등의 특징을 가지나, 국내 품종인 Hm3-8의 경우 암갈색 갓에 불균일한 크기로 재배되었다. 이 그룹에는 특징적으로 흰색계통의 버섯인 Hm0-2, Hm1-4, Hm1-10 등이 하나의 subgroup을 형성하여 갈색 계통의 버섯



**Fig. 3.** Morphology of some selected *H. marmoreus* strains. The *H. marmoreus* strains were cultivated under the commercial production conditions at Greenpeace mushroom farm.

들과는 독립적으로 존재한다. 이는 이들 흰색계통들이 원래 갈색계통의 버섯들에서 육종되어 개발된 품종임을 시사하는 것이다. 이상의 결과들을 종합하면, RAPD에 의한 느티만가닥버섯의 분자유전학적 구분법이, 버섯자실체의 재배형태학적 특성을 비교적 잘 반영하고 있음을 알 수 있다.

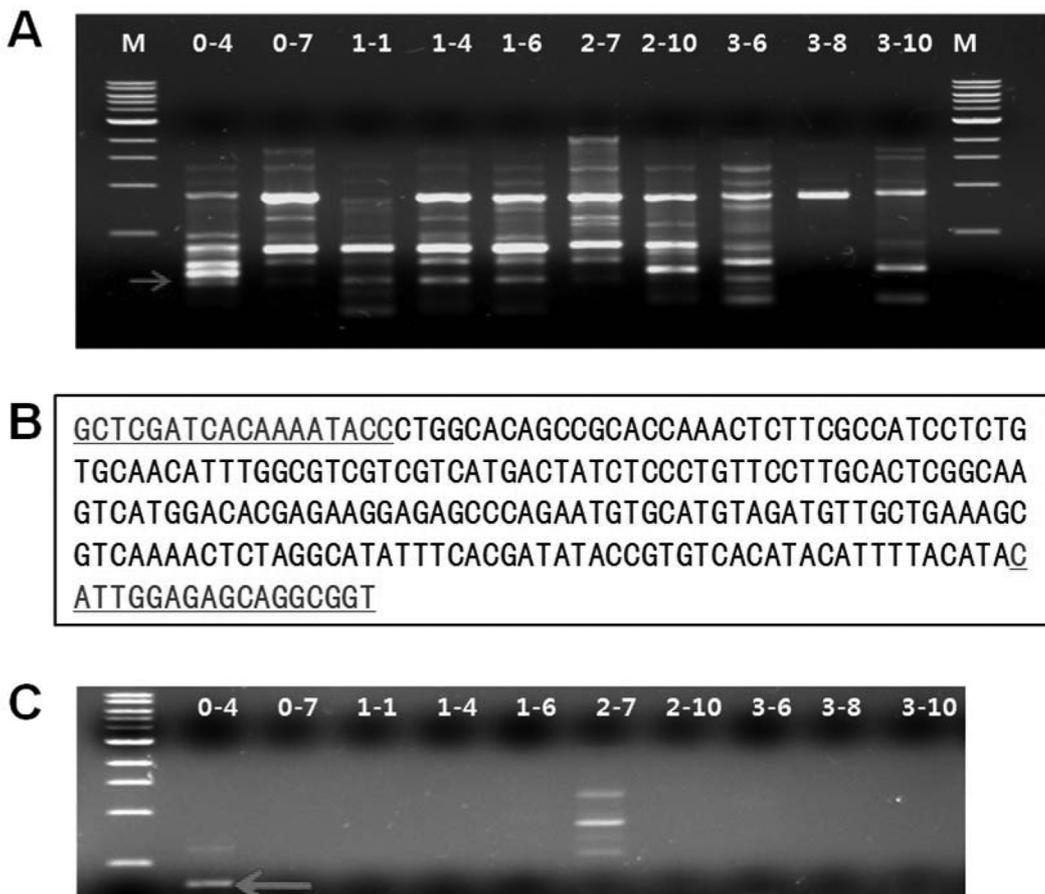
#### 품종특이적 DNA마커 개발

위 실험들을 통하여 RAPD가 느티만가닥버섯의 품종구분에 사용될 수 있음을 보였다. 이와 더불어 RAPD는 버섯 각 품종별로 특징적인 DNA 단편들을 만들어 내기 때문에 RAPD의 각 DNA 단편들이 품종 특이적 마커로 사용될 수 있다. 본 연구에서는 이러한 가능성을 확인하기 위하여, Hm0-4, Hm0-7, Hm1-1, Hm1-4, Hm1-6, Hm2-7, Hm2-10, Hm3-6, Hm3-8, Hm3-10등 10 균주에 대하여, primer OPL-13으로 PCR 반응을 수행하였다 (Fig. 4A). 그 결과 얻어진 PCR 패턴으로부터 느티만가닥 품종 Hm0-4에서만 특이적으로 만들어 지는 250 bp DNA 밴드를 추출하여 TA-cloning 하여 염기서열을 결정하였다 (Fig. 4B). 결정된 염기서열을 바탕으로 18 뉴클레오타이드의 길이를 가진 primer를 제작하였고, 이들을 이용하여

PCR 반응을 수행하였다. Fig. 4C는 그 결과를 보여주는 것으로, Hm0-4 균주에서만 특이적인 250 bp의 DNA 밴드가 증폭됨을 확인하였다. Hm2-7 균주의 경우에도 DNA 밴드는 관찰되었으나, 목표크기보다 큰 비특이적 증폭의 결과였다. 이러한 결과는 RAPD에서 관찰되는 품종특이적 DNA 단편들이 각 품종을 구분할 수 있는 DNA 마커로서 개발될 수 있음을 보여주는 것이다.

#### 결론

국내 보유 30종의 느티만가닥버섯의 유전학적인 계통분석을 통해, 이들은 대체로 4개의 그룹으로 나누어짐을 확인하였다(Fig. 1, Fig. 2). 우리나라 야생에서 채취한 느티만가닥버섯 품종은 현재 유통되는 일본유래의 품종과는 확연히 구분되는 분자유전학적, 재배형태학적 특징을 보여주었으며(Fig. 2, Fig. 3), 이를 통하여 우리나라 고유의 느티만가닥버섯 재배종 육성을 위한 바탕이 마련되었다. 또한, RAPD를 통하여 얻어지는 품종특이적 DNA 단편의 염기서열을 결정하였고, 이를 바탕으로 특이적 primer를 제작하였으며, 이들을 이용하여



**Fig. 4.** Development of strain-specific DNA marker. A) PCR with OPL-13 primer. Arrow indicates the selected strain-specific band. B) The determined sequence of the selected band. C) PCR with the specific primer set (forward: 5'-GCTCGATCACAAAATACC-3', reverse: 5'-ACCGCTGCTCTCCAATG-3'). PCR was conducted for 30 cycles with the cyclic process of 94°C(45 sec)-60°C(45 sec)-72°C(30 sec). Arrow indicates the amplification of strain-specific marker.

PCR을 수행한 결과, 특정 품종에서만 특정 DNA 단편이 증폭됨을 보임으로서, 이 방법이 품종 구분용 DNA 마커 개발될 수 있음을 보였다.

## 적요

느티만가닥버섯의 품종구분을 위하여 국내 버섯보존기관으로부터 수집한 30종의 품종에 대한 RAPD 분석을 실시하였다. 이를 위하여 고체배지상의 균사로부터 염색체 DNA를 분리하였고 이를 주형으로 하여 3개의 random primer로 PCR 반응을 수행하였다. 그 결과 각 PCR 반응에서 200 bp 에서 3000 bp 범위의 크기를 가진 DNA 밴드 약 30종이 관찰되었다. DNA 밴드 패턴은 UPGMA 방법으로 분석하여 그 결과를 dendrogram으로 나타내었다. 느티만가닥버섯은 2개의 클러스터로 분석되었으며, 클러스터 1은 다시 3개의 작은 그룹으로 나눌 수 있었다. 반면, 클러스터 2의 경우에는 유전적으로 클러스터 1보다 다양한 품종으로 구성되어 있었다. 흥미롭게도 덕유산에서 채집된 야생종 Hm3-10의 경우 어느 클러스터에도 속하지 않는 고유의 품종임을 확인하였다. RAPD 결과 나타나는 품종별 고유의 DNA 밴드를 품종특이적 마커로 개발하기 위하여, Hm0-4 품종의 250 bp 특이밴드를 TA-클로닝하고 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열을 바탕으로 PCR primer를 디자인하였고 이를 이용하여 PCR 반응을 수행하였다. 그 결과 250 bp DNA 밴드는 Hm0-4 품종에서만 관찰되었으며 이는 이러한 접근법이 품종특이적 마커개발에 잘 적용됨을 보여주는 것이다.

## 감사의 글

본 논문은 농림수산식품기술기획평가원 농림기술개발 사업에서 연구비를 지원받았기에 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Alam, N., Shim, M. J., Lee, M. W., Shin, P. G., Yoo, Y. B. and Lee, T. S. 2009a. Phylogenetic relationship in different commercial strains of *Pleurotus nebroidensis* based on ITS sequence and RAPD. *Mycobiol.* 37:183-188.
- Alam, N., Shim, M. J., Lee, M. W., Shin, P. G., Yoo, Y. B. and Lee, T. S. 2009b. Vegetative growth and phylogenetic relationship of commercially cultivated strains of *Pleurotus eryngii* based on ITS sequence and RAPD. *Mycobiol.* 37:258-266.
- Chang, J. S., Son, J. K., Gao, L. and Oh, E. J. 2004. Inhibition of cell cycle progression on HepG2 cells by hypsiziprenol A9, isolated from *Hypsizigus marmoreus*. *Cancer Lett.* 212:7-14.
- Chen, Y. C., Eisner, J. D., Kattar, M. M., Rassoulian-Barrett, S. L., Lefe, K., Bui, U., Limaye, A. P. and Cookson, B. T. 2001. Polymorphic internal transcribed spacer region 1 DNA sequences identify medically important yeasts. *J. Clin. Microbiol.* 39: 4042-4051.
- Grimberg, J., Maguire, S. and Belluscio, L. 1989. A simple method for the preparation of plasmid and chromosomal *E. coli* DNA. *Nucleic Acids Res.* 17:8893-8893.
- Gonzalez, P. and Labarere, J. 2000. Phylogenetic relationships of *Pleurotus* species according to the sequence and secondary structure of the mitochondrial small-subunit rRNA V4, V6, and V9 domains. *Microbiol.* 146:209-221.
- Ikekawa, T., Saitoh, H., Feng, W., Zhang, H., Li, L. and Matsuzawa, T. 1992. Antitumor activity of *Hypsizigus marmoreus*. I. Antitumor activity of extracts and polysaccharides. *Chem. Pharm. Bull.* 40:1954-1957.
- Kim, H. S., Ha, H. C. and Kim, T. S. 2003. Research and prospects in new functional mushroom - *Tremella fuciformis*, *Grifora frondosa* and *Hypsizigus marmoreus*. *Kor. J. Food Sci. Ind.* 36:42-46.
- Lam, S. K. and Ng, T. B. 2001. Hypsin, a novel thermostable ribosome-inactivating protein with antifungal and antiproliferative activities from fruiting bodies of the edible mushroom *Hypsizigus marmoreus*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 285:1071-1075.
- Lopandic, K., Molnar, O. and Prillinger, H. 2005. Application of ITS sequence analysis, RAPD and AFLP fingerprinting in characterising the yeast genus *Fellomyces*. *Microbiol. Res.* 160:13-26.
- Matsuzawa, T., Sano, M., Tomita, I., Saitoh, H., Ohkawa, M. and Ikekawa, T. 1998. Studies on antioxidants of *Hypsizigus marmoreus*. II. Effects of *Hypsizigus marmoreus* for antioxidants activities of tumor-bearing mice. *Yakugaku Zasshi* 118:476-481.
- Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comp. Appl. Biosci.* 12:357-358.
- Park, H. G., Ko, H. G., Kim, S. H. and Park, W. O. 2004. Molecular identification of asian isolates of medicinal mushroom *Hericium erinaceum* by phylogenetic analysis of nuclear ITS rDNA. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14:816-821.
- Pavlicek, A., Hrdá, S. and Flegr, J. 1999. FreeTree-freeeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. *Folia Biologica* 45:97-99.
- Ro, H. S., Kim, S. S., Yu, J. S., Jeon, C. O., Lee, T. S., Yoo, J., Lee, C. W., Kim, J. W. and Lee, H. S. 2007. Comparative studies on the diversity of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*: ITS sequence analysis, RAPD fingerprinting and physiological characteristics. *Mycol. Res.* 111:710-715.
- Rohlf, F. J. 1989. NTSYS-PC Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 1.50. Exeter Publication, New York, USA.
- Tsuchida, K., Aoyagi, Y., Odani, S., Mita, T. and Isemura, M. 1995. Isolation of a novel collagen-binding protein from the mushroom, *Hypsizigus marmoreus*, which inhibits the Lewis lung carcinoma cell adhesion to type IV collagen. *J. Biol. Chem.* 270:1481-1484.
- Tuchwell, D. S., Nicholson, M. J., McSweeney, C. S., Theodorou, M. K. and Brookman, J. L. 2005. The rapid assignment of ruminal fungi to presumptive genera using ITS1 and ITS2 RNA secondary structures to produce group-specific fingerprints. *Microbiol.* 151:1557-1567.
- Wang, L., Hu, X., Feng, Z. and Pan, Y. 2009. Development of AFLP markers and phylogenetic analysis in *Hypsizigus marmoreus*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 55:9-17.
- Zervakis, G. I., Venturella, G. and Papadopoulou, K. 2001. Genetic polymorphism and taxonomic infrastructure of the *Pleurotus eryngii* species-complex as determined by RAPD analysis, isozyme profiles and ecomorphological characters. *Microbiol.* 147:3183-3194.
- Zhang, J., Huang, C. Y., Ng, T. B. and Wang, H. X. 2006. Genetic polymorphism of ferulae mushroom growing on *Ferula sinkiangensis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 71:304-309.