

Ganoderma lucidum 균사체의 액체배양의 의한 sphingolipids의 생산 및 피부 보습 효과

류일환 · 김정은 · 이갑상*
원광대학교 생명자원과학대학

Production of Sphingolipids by Submerged Culture of *Ganoderma lucidum* and Cutaneous Hydration Effect

Il-Hwan Ryu, Jung-enn Kim, and Kap-sang Lee*
College of Life Science and Natural Resources, Wonkwang University

Sphingolipid production was investigated through *Ganoderma lucidum*-submerged cultivation. Crude sphingolipid obtained from *G. lucidum* was purified by methanol precipitation, Dowex AG DW-X8 (H+ form) cation exchange chromatography, and preparative thin layer chromatography. Structure and functionalities of purified sphingolipid were elucidated including cutaneous hydration effect. Possibility of use as cosmetics material and new biomaterial was explored. Production was 0.4 g/L at 1% yield. Purified sphingolipid was identified as D-ribo-1,3,4-trihydroxy-2-aminoocta decan through UV/VIS, FT-IR, and ¹H-NMR. Sphingolipids increased skinmate value for cutaneous hydration effect by 20% at 500 µg/mL and decreased skin roughness at 100 µg/mL. Results suggest sphingolipids from *G. lucidum* are effective for cutaneous hydration and improvement of skin roughness.

Key words: *Ganoderma lucidum*, submerged culture, sphingolipid production, cutaneous hydration, skin roughness

서 론

1세기 전에 발견된 sphingolipids는 세포막의 총 phospholipid 중 10-15% 이상을 차지하는 지질로서(1), eukaryotic membrane에 흔하게 존재하는 성분으로 longchain(monounsaturated)과 dihydroxy amine의 공통구조(sphingosine)를 갖는 지질이며 인체에 존재하는 sphingolipid는 생리활성물질의 receptor로 작용하며 양이온 수송계의 역할 및 세포-표면 사이에 작용하는 물질로서의 transducer, cell antigen, cell-surface marker로 작용하여 세포 인식의 receptor 역할을 주로 한다고 알려져 있다. 또한 사람의 뇌(2) 및 membrane에서 신호전달 매개체로서의 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다(3-6). 또한 일부 sphingolipid 성분이 특유의 라멜라 액정구조를 형성하여 피부 장벽과 수분 유지에 중요한 역할을 수행한다(7,8). 피부에서의 sphingolipids의 대사과정은 최근에서야 Holleran 등(9)과 Baouwatra 등(10) 및 Werz 등(11)에 의해 규명되기 시작하였으나, 피부 장벽 기능에서 가장 중요한 영향을 미치는 이 ceramide는 그 합성 과정이 각질 형성 세포의 어느 층에서 가장 먼저 시작이 되는지는 확

실히 알려져 있지 않으나, Menone 등(12)에 의하여 일반적으로 세포 분화가 시작되는 유극층인 것으로 보고 되었다. 또한 ceramide의 전구체인 phytosphingosine은 그 함량은 적으나 미생물로부터 피부를 정상상태로 유지해주는 항생제 역할을 하는 것으로 최근에 보고되었다(13). Sphingolipid 및 cerebroside는 특정 효소의 활성화, 항균작용, 항암작용 등 여러 가지 생리 활성이 발견되어 비상한 관심을 모으고 있다(14).

최근, 피부 노화 및 아토피성 피부염에 대한 ceramide를 비롯한 sphingolipid 억제 효과에 관심이 모아지고 있다(15). Imokawa 등(16)의 보고에 따르면, 노화가 진행됨에 따라 피부 각질층 중량 중 각질세포 간 지질량이 급격히 감소하고, 그중 주성분인 ceramide의 감소가 가장 크게 나타난다고 보고하였다. 또한 건조피부질환의 일종인 아토피성 피부질환자의 진피 및 각질층의 ceramide의 부족은 아토피성 피부염의 요인이라고 보고하였으며, 서 등(17)도 ceramide 등 sphingolipids가 아토피 피부염에 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 이로부터 ceramide 등 sphingolipid의 함량은 피부 건강의 지표가 되고 피부 항상성 유지에 효과적이라고 판단된다.

이제까지 피부 보습 및 노화억제의 기능을 갖는 화장품 소재로서 합성 ceramide 및 소에서 추출한 동물성 ceramide가 사용되었으나 동물 보호 및 광우병의 원인이 되는 프리온 단백질의 감염 우려로 인해 식물성 및 미생물 유래의 ceramide가 최근 주목되고 있다(15). 식물성 유래의 sphingolipid로는 미강 및 배아로부터 추출한 oryzaceramide(15), Parnela 등(18)이

*Corresponding author: Kap-sang Lee, College of Life Science and Natural Resources, Wonkwang University, 344-2 Sinyong-dong, Iksan-si, Chonbuk 570-749, Korea
Tel: 82-63-850-6675
Fax: 82-63-850-6675
E-mail: kslee@wonkwang.ac.kr

Golden butter wax(*Phaseolus vulgaris*)로부터 분리한 inositol-phosphorylceramide, 소맥으로부터 분리한 sphingoglycosylipid(19) 및 대맥으로부터 분리한 ceramide(20)가 주로 이용되고 있다.

미생물 유래의 sphingolipid는 세균, 효모, 곰팡이 등 다양한 미생물 종에 의해 다양한 형태의 sphingolipid가 분리되어 보고되었다. 세균 유래의 sphingolipid로는 *Bacteroides*속(21,22)의 gram 음성세균에서 phosphorylethanolamine 및 phosphoglycerol 이, Wilkison 등(23)은 *Pytomonas melaninogenica*에서 ceramide-1-phospho ethanolamin 및 *Cystobacter fuscus*에서 sphingolipid를 분리하여 보고하였고, Yano 등(24)은 *Sphingobacterium* sp.로부터 ceramide glucuronic acid를, Yabuchi 등(25)은 *Sphingomonas natatoria*, *Sphingomonas suberifaciens*, *Sphingomonas ursincola* 등 *Sphingomonas*속 gram 음성세균으로부터 galacturonosyl- β (1 \rightarrow 1)-ceramide를 분리하여 보고하였다. Yeast sphingolipid로는 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용한 phosphoinositol sphingolipid(26-30), *Candida lipoliatca*의 phytosphingosine(31) 및 *Candida albicans*(32)의 Inositolphosphoryl ceramide-type sphingolipid가 있으며 fungal sphingolipid로 Gao 등(33)은 *Armillaria mellea*로부터 2-hexadecanoyl-amino-octadecane-1,3,4-triol인 C₁₈-phytosphingosine을 분리하였고, Boas 등(34)은 *Aspergillus* sp.로부터 N-2' hydroxyoctadecenoyl-1- α -D-glucopyranosyl-9-methyl-4,8-sphingadienine이, Toledo 등(35)은 *Aspergillus fumigatus*와 *Paracocidiodes brasiliensis*로부터 cerabroside를 분리하였으며, Brennan 등(36)은 *Aspergillus niger*로부터 sphingolipid를 분리하여 보고하였다. 이들 fungi sphingolipid는 ceramide의 1-OH에 myoinositol 및 그 유도체가 phosphodiester결합된 inositolphosphoceramide와 단당이나 올리고당이 결합된 glycosylceramide로 특징지을 수 있다(37).

이와 같이 다양한 미생물에 의한 다양한 종류의 sphingolipids가 분리되어 보고되었으나, 일부 식물성을 제외하고는 생산 비효율성 및 안전성의 문제로 인해 상용화된 예는 거의 없다.

이러한 관점에서 최근 *Agaricus*를 비롯한 식용버섯의 sphingolipid에 관심이 모아지고 있다(38). 그러나 자실체에 포함된 sphingolipids 성분을 확인 하였을 뿐, 배양을 통해 sphingolipids을 생산시킨 예는 없다.

본 연구에서는 예로부터 다양한 생리활성으로 귀한 약재료 인식되어온 구멍장이 버섯과(*Polyporaceae*)의 불로초에 속하는 담자균류의 일종인 영지(*Ganoderma lucidum* Fr. Karst)균사체의 액체 배양을 통하여 균체 내 sphingolipid의 생산성 및 생산 조건을 사전 조사하여 대량 생산의 가능성을 검토하였으며, 이를 바탕으로 생산된 *Ganoderma lucidum* sphingolipids를 분리 정제하여 그 구조를 규명하고, 피부보습 기능을 탐색하여 화장품 소재 및 새로운 생물 산업소재로서의 이용가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

균주의 배양 및 보존

Sphingolipids 생산이 가장 우수한 *Ganoderma lucidum*(영지 2호)를 사전에 검토한 최적배지(dextrose 5%, peptone 2.5%)를 이용하여 25°C로 7일간 진탕 배양한 후 균사체를 분리하여 sphingolipids 생산에 이용하였으며, 균체는 동일 조건 하에서 배양 후 4°C에 보존하고, 8주마다 계대하면서 실험에 사용하였다.

Sphingolipid의 분리·정제

Crude sphingolipids의 추출: Crude sphingolipids 추출은

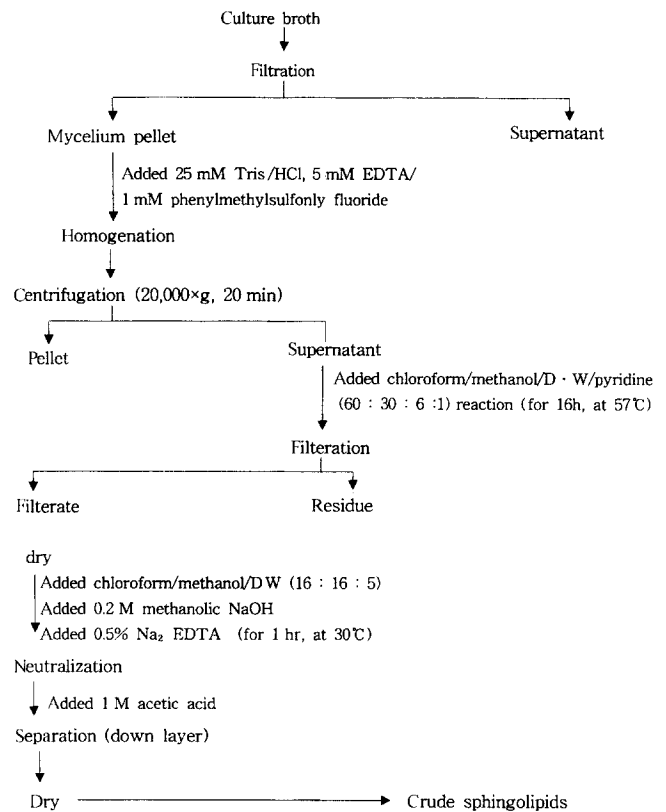


Fig. 1. Extract scheme of crude sphingolipids.

Petra 등(39)의 방법에 준하여 행하였다.

액체 배양한 *Ganoderma lucidum* 배양액을 감압 여과하여 균사체를 분리하고, 5 mM EDTA, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride가 포함된 350 mL의 25 mM Tris/HCl buffer(pH 8.5)에 첨가하여 현탁시켰다. 이를 ultrasonic processor(GE 50, Sigma co., St. Louis, MO, USA)로 5분간 총 3회 반복하여 분쇄 하였다. 분쇄 시킨 pellet을 3,500×g으로 15분간 원심 분리하여 상등액을 분리하였고, 이 분쇄 과정을 2회 반복하였다. 이 상등액에 chloroform : methanol : water : pyridine(60 : 30 : 6 : 1, v/v) 1.5 L를 넣고, 57°C에서 16시간 동안 추출하였다. 그 추출물을 여과한 후 건조시켰다. 건조시킨 residue는 다시 chloroform : methanol : water(16 : 16 : 5, v/v) 250 mL에 현탁시켰다. 또한 glycerolphospholipid를 제거 하기 위하여 residue에 0.2 M methanolic NaOH 1 vol.을 첨가한 후 30°C에서 1시간 동안 약알칼리성 가수분해를 행하였다. 여기에 0.5% Na₂-EDTA 250 mL를 첨가하고, 1 M acetic acid를 사용하여 중화시킨 후, 250 mL chloroform를 넣어 비누화되지 않는 lipid를 제거하고 동결건조시켰다. 추출과정을 Fig. 1에 요약하였다.

Methanol 침전: Crude sphingolipids 25 g에 methanol을 서서히 가한 후 완전히 혼합하여, 용해되지 않는 침전물(MISF)을 감압 여과하여 제거하였다. Methanol 용해분획(MSF)을 모아 감압 농축하여 다음 실험에 사용하였다.

Dowex AG 50W-X8의 cation exchange chromatography: Dowex AG 50W-X8에 0.5 M NaOH 용액을 충분히 가하여 교환반하면서 약 30분 동안 활성화시키고, 증류수로 pH가 중성이 될 때까지 Buchner 깔대기를 이용하여 수세하였다. 여기에 0.5 M

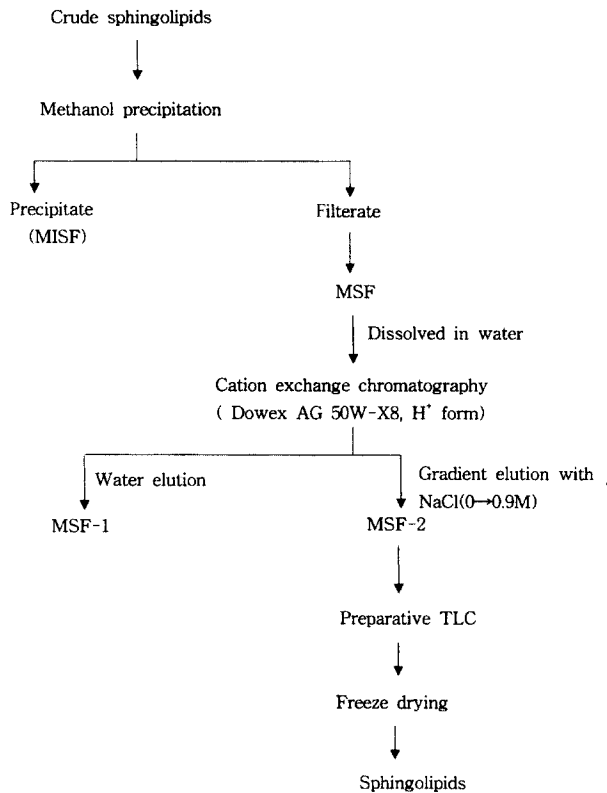


Fig. 2. Purification procedure of sphingolipids.

HCl용액을 충분히 가하고 30분 정도 교반한 다음, 역시 증류수로 중성의 pH가 될 때까지 수세하는 과정을 3회 반복하였다. 최종 H⁺ form으로 전 처리된 Dowex AG 50W-X8를 column(3.5×50 cm)에 충전하고 증류수로 충분히 수세하여 평형화시켰다.

여기에 MSF를 소량의 증류수에 녹여 충전하고, 40 mL/hr의 유속으로 10 mL씩 분획하여 용출하였다. 이로부터 중성분획인 MSF-1을 얻었으며, NaCl gradient elution(0 → 0.9 M)을 행하여 MSF-2를 얻었다.

Preparative thin layer chromatography: Thin layer chromatography (chloroform : methanol : water = 40 : 10 : 1, 0.2% ninhydrin용액으로 spray 후 100°C 가열하여 발색 확인) 상에서 자색으로 나타내는 분획을 취하여, chloroform : methanol : water (40 : 10 : 1)의 전개용매를 사용하여 preparative thin layer chromatography를 행하여 활성 분획을 분리하여 감압 농축한 후, TLC를 행하여 단일 spot임을 확인하였으며, 또한 chloroform : methanol : 2M NH₃ (40 : 10 : 1) 및 chloroform : methanol : acetic acid : water(100 : 20 : 12 : 5)의 solvent system에서 2차 전개를 행하여 정제도를 확인하였다. 이 정제 과정을 Fig. 2에 요약하였다.

Sphingolipids의 구조 분석

UV spectrum에 의한 해석: UV spectrum은 UV/VIS spectrometer(Jasco V-560, Japan)를 이용하여 190-900 nm 파장 범위에서 methanol를 용매로 하여 측정하였다.

Infrared spectrum에 의한 해석: IR spectrum은 Spectrophotometer(Jasco, IR-700, Japan)를 사용하여 측정하였으며 시료는

KBr 정제법으로 조제하였다. 표준물질로서는 시료가 들어 있지 않은 KBr 분말을 가압 정제하여 사용했고, 적외선 산란에 의한 손실이나 불순물의 흡수를 제거한 다음 spectrum에 의한 부분 구조의 추정을 행하였다.

NMR(Nuclear magnetic resonance)에 의한 해석: NMR spectrum은 FT방법(pulse fourier transform method)을 사용하여, 시료 7-10 mg을 측정 용매 methanol에 5-20%(w/v) 비율로 용해시키고 TMS(tetramethylsilane : (CH₃)₄Si)를 기준물질로 하여 JEOL FX-100 NMR로 측정하였다.

Sphingolipid의 피부활성(40)

인체의 피부 보습 측정: 비누와 생리 식염수로 세척한 상박부에 사각형(2×2 cm)모양 크기로 근접하게 좌우측 전박부위에 7개를 표시한 후, sphingolipids를 도포하기 전 피부보습을 측정하고, 동일부위에 분리한 sphingolipids를 0, 10, 50, 100, 200, 500 및 1000 μg/mL로 나누어 2시간 동안 도포한 후 handy moisture & sebum sensor(Moritex co., Japan)를 사용하여 처치부위의 수분량의 변화로 피부보습효과를 측정하였다.

인체피부표면의 거칠기 평가: 비누와 생리 식염수로 닦아낸 상박부에 사각형(2×2 cm)모양 크기로 근접하게 좌우측 전박부위에 7개를 표시한 후, sphingolipids를 도포하기 전 피부보습을 측정하고, 동일부위에 분리한 sphingolipids를 0, 10, 50, 100, 200, 500 및 1000 μg/mL로 나누어 도포하고 2시간 후, image analyser의 화상 입력 장치인 stereomicroscope(Dermalyzer, composite type)을 사용하여 도포 전, 후의 피부 상태를 image analyser에 입력 시킨 후, skinmate v. 2.0 program(pigital skinlab. Korea)을 사용하여 거칠기를 측정하였다.

결과 및 고찰

Sphingolipids의 분리 · 정제

배양한 균주를 분해시켜 원심분리하여 상등액을 분리한 후, 상등액에 chloroform : methanol : water : pyridine(60 : 30 : 6 : 1)를 넣고 lipids를 추출하였다. 추출물을 chloroform : methanol : water (16 : 16 : 5)에 현탁 시킨 후, methanolic NaOH로 가수분해하여 중화시켰다. 여기에 chloroform를 넣어 비누화되지 않는 lipid를 제거하고 건조하여 42.0 g/L의 crude sphingolipids를 얻었다. 이 추출물에 적당량의 methanol을 첨가하여, methanol 용해 분획(MSF) 10.5 g/L을 얻었다. 이 MSF를 Dowex AG 50W-X8(H⁺ form) cation exchange chromatography를 행하여, 흡착구로부터 sphingolipids분획인 MSF-2를 얻었다. MSF-2의 생산량은 2 g/L였으며, 수율은 5%였다. 이 MSF-2를 chloroform : methanol : 2M NH₃(40 : 10 : 1)의 solvent system을 이용하여 preparative thin layer chromatography를 행하여 phytosphingosine 및 ceramide-III와 동일한 TLC pattern을 갖는 분획을 최종적으로 분리하

Table 1. Summary of purification of sphingolipids

Purification step	Sphingolipids (g/L)	Yield (%)
Crude sphingolipids	42.0	100
Methanol precipitation	10.5	25
Cation exchanger	2.0	5
Preparative TLC	0.4	1

Fig. 3. TLC pattern of purification procedure for sphingolipids.
A: Crude sphingolipids, B: Cation exchange chromatography, C: Preparation TLC → Purified Sphingolipid.

Fig. 4. Two dimensional thin layer chromatography of sphingolipids.

1st : chloroform : methanol : 2M NH₃ = 40 : 10 : 1, 2nd : chloroform : methanol : acetic acid : water = 100 : 20 : 12 : 5.

였다(data not shown). 최종 분리 정제한 sphingolipids의 생산량은 0.4 g/L였으며, 수율은 1%였다. 이상의 정제과정을 종합한 결과를 Table 1에 요약하였다. 또한 정제 과정의 TLC pattern을 Fig. 3에 나타내었으며, 2차 전개 후 TLC pattern을 Fig. 4에 나타내었다. TLC를 행한 후, ninhydrin 발색시약으로 도포하여 100°C에서 반응 시켜 단일 spot(R_f: 0.11)임을 확인하였다.

Sphingolipids의 구조 해석

UV/VIS spectrum에 의한 해석: Sphingolipids의 구조를 추정하기 위하여 UV/VIS spectrometer를 이용하여, sphingolipids를 methanol에 녹이고 190-900 nm의 파장 범위에서 흡수 spectrum을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. Spectrum에서 보는 바와 같이 200-210 nm에서 hydroxy group 및 amino group의 흡수파장이 확인되었으며, 이는 $n \rightarrow \lambda^*$ band 또는 $\pi \rightarrow \pi^*$ band의 전자 전이가 예상되었다. 260 nm부근에서 C-O의 전형적인 흡수 파장을 나타내었다.

Infrared spectrum에 의한 해석: Sphingolipids의 구조 성분

Fig. 5. UV/ VIS spectrum of sphingolipids.

Fig. 6. FT-IR spectrum of sphingolipids.

을 추정하기 위하여 KBr pellet법을 이용하여 흡수 spectrum을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다.

Spectrum에서 3,300-3,400 cm⁻¹에서 O-H group의 전형적인 흡수대가 나타나고, 2,900 cm⁻¹에서 long chain C-H₂ group, 1,054 cm⁻¹에서 C-O, C-O-C에 해당하는 흡수를 나타내었다. 또한 CH₂ + CH₃에 해당하는 1,469 cm⁻¹와 1,151 cm⁻¹의 흡수가 있었고, 1,630 cm⁻¹의 amide band에 해당하는 흡수가 특이적으로 나타났었다.

그러나 Kim(41)이 보고한 840 cm⁻¹ 부근에서 β-glucosidic 결합의 흡수 및 Park 등(42)이 보고한 1,180 cm⁻¹에서의 -CH₂-vibration이 나타나지 않아 당을 포함하지 않는 sphingosine 유도체로 추정되었다.

¹H-NMR(Nuclear magnetic resonance)에 의한 해석: Sphingolipids의 구조 성분을 추정하기 위하여 ¹H-NMR을 조사한 결과는 Fig. 7과 같다. NMR(500 MHz, Methanol)의 행한 결과, δ_H 3.31(m, H-4), 3.30(m, H-3), 3.30(dt, 7.9), 3.9(Hz, H-2)-1.77(m, 1H), 1.55(m, 1H), 1.28(m, 24H), 0.89(+, 7Hz, 3H)의 chemical shift signal을 나타내었다. δ_H 1.28과 δ_H 0.89에서 long chain 지방산 -(CH₂)_n- 및 CH₃의 존재를 확인하였으며 δ_H 3.30에서 N(CH₃)₃의 존재를 확인하였다. 반면 Li 등(43)이 보고한 4.0-5.0 ppm에서의 aldohexoside residue에 해당하는 chemical shift 및 4.195 ppm에서의 β-glucopyranosyl 잔기 및 4.281 ppm에서 β-galactopyranosyl 잔기에 해당하는 chemical shift가 확인되지 않았으며 Zhou 등(44) 및 Park 등(42)이 보고한 δ_H 4.13의 glucose

Fig. 9. Changes of skin roughness with the purified sphingolipids

Fig. 7. ¹H-NMR spectrum of sphingolipids.

Fig. 8. Changes of skin moisture with the purified sphingolipids. Liniment before: □, Liniment after: ▨.

moiety에 해당하는 chemical shift가 확인되지 않다. 따라서 분리된 sphingolipids는 그림에서와 같은 구조를 갖는 D-ribo-1,3,4-trihydroxy-2-aminooctadecan(C₁₈H₃₉NO₃)으로 판명되었다.

Sphingolipids의 피부 활성

인체의 피부 보습 효과: 분리한 sphingolipids의 피부의 보습 효과를 알아보기 위하여 상박부에 sphingolipids를 도포한 후, 전 후 상태를 Fig. 8에 나타내었다. 0-200 µg/mL 범위에서는 도포 전 후의 변화가 거의 없었으나, 500 µg/mL 이상의 농도에서 약 20% 정도 skinmate 값이 증가하는 것으로 나타내었다. 그러나 일반적으로 보습제는 보습제가 존재하는 환경에 따라 보습효과가 달라질 수 있으며, 사용 기제의 type에 따라서도 달라질 수 있다. 본 연구에서의 유의성 있는 결과는 분리 sphingolipids 농도에 따른 보습력 차이의 경향을 비교할 수 있으나, 통계학적 유의성을 관찰하기에는 어려움이 있는 것으로 판단되며, 추후 여러 관점에서 면밀히 검토가 필요할 것으로 판단된다.

인체피부표면의 거칠기: 분리한 sphingolipids의 거칠기에 대

한 영향을 알아보기 위하여 sphingolipids를 농도별로 상박부에 도포한 후, 전 후 상태를 image analyser상에 나타난 결과가 Fig. 9와 같다. 증류수만으로 처리한 피부표면은 전 후 별다른 차이를 보이지 않는 것으로 나타내었다. 반면 100 µg/mL 이상의 농도에서 처리한 피부 표면은 처리 전에 비해 굴곡(profile)의 크기가 완만하게 나타났다. 이는 보습 효과를 나타내는 500 µg/mL 보다 낮은 농도에서 피부 표면 거칠기 감소에도 효과가 있는 것으로 나타났다. 이 결과는 sphingolipids가 수소결합을 형성 세포막의 구조적 견고성을 제공하는 필수 building block으로 작용한다는 Löfgren 등(45)의 보고 및 horny cellrks의 lipid barrier를 재생한다는 Clive(46)의 보고와 같이 합수분기능 이전에 membrane leaflet로 작용하는 것으로 판단된다. 이는 aqueous interfaces에서 emollient로 작용한다는 Vaknin(47)의 결과와 일치하였다. 또한, 본 연구에서의 유의성 있는 결과는 보습 효과에서와 마찬가지로 통계학적 유의성을 관찰하기 위하여 연령별, 성별 등 다양한 피부조건에서의 검토가 필요할 것으로 판단된다.

요 약

Ganoderma lucidum 균사체의 액체 배양을 통하여 균체 내 sphingolipid를 분리 정제하여 그 구조를 규명하였으며, 피부보습을 비롯한 각종의 기능성을 탐색하여 화장품 소재 및 새로운 생물 산업소재의 이용가능성을 검토한 결과 배양한 *Ganoderma lucidum*로부터 일련의 과정을 통하여 crude sphingolipids를 얻고, methanol침전, Dowex AG 50W-X8(H⁺ form) cation

exchange chromatography 및 preparative thin layer chromatography를 행하여 sphingolipids를 분리하였다. 생산량은 0.4 g/L였으며, 수율은 1%였다. UV/VIS spectrum, FT-IR 및 1H-NMR 분석을 행하여 구조를 해석한 결과 phytosphingosine 유도체로 판명되었다. 이 phytosphingosine 유도체의 피부에 대한 보습효과는 500 µg/mL 이상의 농도에서 약 20% 정도 skinmate 값이 증가하였으며, 100 µg/mL 이상의 농도에서 거칠기 감소에 유의한 결과를 나타내었다.

이상의 결과로부터 *Ganoderma lucidum*이 생산하는 sphingolipids는 피부보습 및 거칠기 개선에 유의성이 확인되어 화장품 소재 및 새로운 생물 산업소재로서의 이용가능성이 높다고 할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 원광대학교 교비지원에 의해서 수행됨.

문 헌

- Hunnun YA, Bell RM. Lysosphingolipids inhibits protein kinase C: Implications for sphingolipidoses. *Science* 243: 500-507 (1989)
- Thudichum J, Schekman R. Two distinct subfractions in isolated *Saccharomyces cerevisiae* plasma membranes. *J. Bacteriol.* 156: 222-229 (1983)
- Ghosh TK, Bian J, Gill DL. Intracellular calcium release mediated by sphingosine derivatives generated in cell. *Science* 248: 1653-1656 (1990)
- Hakomri S. Bifunctional role of glycosphingolipids modulators for transmembrane signaling and mediators for cellular interactions. *J. Biol. Chem.* 265: 18713-18716 (1990)
- Hannun YA, Bell RM. Functions of sphingolipids and sphingolipid breakdown products in cellular regulation. *Science* 243: 500-507 (1989)
- Hannun YA, Loomis CR, Merrill AH, Bell RM. Sphingosine inhibition of protein kinase C activity and of phorbol dibutyrate binding *in vitro* and in human platelets. *J. Biol. Chem.* 261: 12604-12609 (1986).
- Elias PM. Lipid and the epidermal permeability barrier. *Arch. Dermatol. Res.* 27: 95-117 (1981)
- Elias PM. Lipid and the epidermal lipid, membranes and keratinization. *Int. J. Dermatol.* 20: 1-19 (1981)
- Holleran WM, Williams ML, Gao WN, Elias PM. Serine palmitoyl transferase activity in cultured human keratinocyte. *J. Lipid Res.* 31: 1655-1661 (1990)
- Bouwatra JA, Gooris GS, Dubbelaar FE. Role of ceramide in the molecular organization of the stratum corneum. *Lipids* 39: 186-196 (1998).
- Wertz PW, Downing DT. Sphingosine in human epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 94: 159-161 (1990)
- Menon GK, Norlen L. Stratum corneum ceramides and their role in skin barrier function. pp. 31-60. In: *Skin Moisturization*. Leyden JJ, Rawlings AV (eds). Marcel Dekker Inc., New York, NY, USA (2002)
- Yang SM, Pack CG, Back SW, Rim GH, Kim NK. Production of sphingosine by homogenizer and biological activity of sphingolipid. In: Abstracts of Korean J. Biotechnol. Bioeng. Ann. Meeting. KBB, Seoul, Korea (2000)
- Moon DC, Hwang KH, Choi KR, Lee YM, Kim JH, Kim YH., Kim MR, Zee OP. Constituents of ceramide of a native mushroom, *Phellinus ribis* in Korea. *Korean J. Anal. Sci.* 7: 547-554 (1994)
- Chou G. Functional and clinical effect of ceramide from rice. *Food Develop.* 35: 56-59 (2002)
- Imokawa G, Abe A, Kumi J, Higaki Y. Decreased level of ceramides in stratum of atopic dermatitis: an etiological factor in atopic dry skin. *J. Invest. Dermatol.* 96: 523-530 (1991)
- Suhr KB, Lee JH, Pack JK. The role of sphingolipid in atopic dermatitis. *Korean J. Invest. Dermatol.* 9: 171-176 (2002)
- Pamela EB, Yuneng OL, Shawan MM, Catherin MS, Daniel VL. Complex sphingolipid synthesis in plant: Characterization of inositolphosphoryl ceramide synthesis activity in bean microsomes. *Arch. Biochem. Biophys.* 417: 219-226 (2003)
- Sapporo Beer Co., Production of Sphingolipid, JP 2000-80394. Sapporo Beer Co., Sapporo, Japan (2000)
- Sapporo Beer Co. Production of barley embryo oil with plant ceramide derivative, JP 2000-1193238. Sapporo Beer Co., Sapporo, Japan (2000)
- Kato M, Mito Y, Tanaka BK, Watanabe K, Ueno K. Sphingolipid composition in *Bacteroides* species. *Anaerobe* 1: 135-139 (1995)
- Miyagawa E, Azuma R, Suto T, Yano I. Distribution of sphingolipids in *Bacteroides* species. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 24: 341-348 (1978)
- Wilkinson SG. Gram-negative bacteria. pp. 299-488. In: *Microbial Lipids*. Ratledge C, Wilkinson SG (eds). Academic Press, London, UK (1988)
- Yano I, Tomiyasu I, Yabuuchi E. Long chain base composition of strains of three species of *Sphingobacterium* gen. nov. *FEMS Microbiol. Lett.* 15: 303-307 (2000)
- Yabuuchi E, Kasako Y, Naka T, Suzuki S, Yano I. Proposal of *Sphingomonas suberifaciens* (van Bruggen, Jochimsen and Brown 1990) comb. *Sphingomonas natatoria* (Sly 1985) comb. nov., *Sphingomonas ursincola* (Yurkor et al., 1997) comb. nov. and emendation of the genus *Sphingomonas*. *Microbiol. Immunol.* 43: 339-349 (1999)
- Gerald WB, Robert LL. Biosynthesis of phosphoinositol containing sphingolipids from phosphodidylinositol by a membrane preparation from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 142: 747-754 (1980)
- Pattam JL, Lester RL. The phosphoinositol sphingolipids of *Saccharomyces cerevisiae* are highly localized in the plasma membrane. *J. Bacteriol.* 173: 3101-3108 (1991)
- Nancy CW, Peter JN. Purification and characterization of constitutive secretory vesicle from yeast. *J. Cell. Biol.* 105: 163-174 (1987)
- Gerald BW, Robert CD, Robert LL. Heat induced elevation of ceramide in *Saccharomyces cerevisiae* via *de novo* synthesis. *J. Biol. Chem.* 273: 7235-7243 (1998)
- Gray MJ, Adrienne R, Tanya W, Cungi M, Lina O. Involvement of yeast sphingolipids in the heat stress response of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 272: 32566-32572 (1997)
- Rupcic J, Blagovic B, Maric V. Cell lipid of *Candida lipolytica* yeast grown on methanol. *J. Chromatogr.* 755: 75-80 (1996)
- Gerald BW, Robert CC, Robert LL. Isolation and composition of inositol phosphorylceramide-type sphingolipid of hyphal form of *Candida albicans*. *J. Bacteriol.* 178: 6233-6226 (1996)
- Gao JM, Yang X, Wang CY, Liu JK. A new sphingolipid from the fungus *Armillaria mellea*. *Fitorapia* 72: 858-864 (2001)
- Bobas MHSV, Egge H, Pohlentz G, Haartmann R, Bergter EB. Structural determination of N-2'-hydroxyoctadecenoyl-1-O-β-D-glucopyranosyl-9-methyl-4,8-sphingadienine from species of *Aspergillus*. *Chem. Phys. Lipids* 70: 11-19 (1994)
- Toledo MS, Levery SB, Straus AH, Suzuki E, Momany M, Glushka J, Moulton JM, Takagashi HK. Characterization of sphingolipids from mycopathogens: factors correlating with expression of 2-hydroxy fatty acyl(E)-delta 3-unsaturation in cerebroside of *Paracoccidioides brasiliensis* and *Aspergillus fumigatus*. *Biochemistry* 38: 7294-7306 (1999)
- Brnman PJ, Roe J. The occurrence of a phosphorylated glycosphingolipid on *Aspergillus niger*. *Biochem. J.* 147: 179-180 (1975)
- Dickson RC, Lester RL. Review. Yeast sphingolipids. *Biochim. Biophys. Acta* 1426: 347-357 (1999)
- Jennemann R, Bauer BL, Bertalanffy H, Geyer R, Gschwind RM, Selmer T, Wiegandt H. Novel glycosphingolipids, basiolipids, from *Agaricus*. *Eur. J. Biochem.* 259: 331-338 (1999)
- Petra H, Erwin Z, Robert S, Klaus H, Fritz P, Gunther D. Characterization, quantification, and subcellular localization of inositol-containing sphingolipids of the yeast, *Saccharomyces*

- cerevisiae*. J. Biochem. 255: 641-649 (1994)
40. Hyeon KJ, Kim HJ, Kim JI. Study of cutaneous hydration effect according to the vehicles of moisturizers. Korean J. Dermatol. 29: 8-17 (1991)
41. Kim KC. Studies on glycolipid in Bacteria. J. Korean Agric. Chem. Soc. 17: 117-124 (1974)
42. Park OJ, Lee YE, Cho JH, Chin HJ, Yoon BD, Yang JW. Purification and structural characterization of glycolipid biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* YPJ-80. Biootechnol. Bioprocess Eng. 3 : 61-66 (1998)
43. Li YT, Yoshio H, Rita D, Robert KY, Tochio A, Theodere AW, Li SC. Isolation and characterization of a novel phytosphingosine containing GM2 ganglioside from Mullet Roe (*Mugilcephalus*). J. Biol. Chem. 259: 8980-8985 (1984)
44. Zhou BN, Mattern MP, Johnson RK, David GI. Structure and stereochemistry novel bioactive sphingolipid from a *Calyx* sp. Tetrahedron 57: 9549-9554 (2001)
45. Löfgren H, Pascher I. Molecular arrangement of spingolipids the monolayer behavior of ceramides. Chem. Phys. Lipids 20: 273-284 (1977).
46. Clive RH. The stratum corneum: structure and function in health and disease. Dermatol, Therapy. 17: 6-15 (2004)
47. Vaknin D. Sphingosine membrane leaflets at aqueous interfaces. J. Am. Chem. Soc. 125: 1313-1318 (2003)
-
- (2004년 2월 19일 접수; 2004년 7월 7일 채택)