

韓國產 高等 菌類의 成分 研究(第37報)

뽕나무버섯의 抗癌 成分

金眞淑 · 崔應七 · 金惠鈴 · 李鍾吉 · 李廷玉 · 鄭敬壽 · 沈美慈* · 金炳珏

서울대학교 藥學大學 微生物藥品化學教室 · *서울市立大學

Studies on Constituents of the Higher Fungi of Korea(XXXVII)

Antitumor Components of *Armillariella mellea*

Jin Sook Kim, Eung Chil Choi, Hye Ryoung Kim, Chong Kil Lee
Chong Ock Lee, Kyeong Soo Chung, Mi Ja Shim* and Byong Kak Kim

Department of Microbial Chemistry, College of Pharmacy, Seoul National University
Seoul 151, and *Seoul City University, Seoul 131, Korea

Abstract: To find antitumor components in Korean basidiomycetes, the carpophores of *Armillariella mellea* which were collected in Gyeong Gi Province were extracted with distilled water at 90~100°C for eight hours. The hot water extract was concentrated under reduced pressure, mixed with three-fold volumes of ethanol and allowed to stand at 4°C overnight. The precipitate was centrifugated and lyophilized to yield a protein-polysaccharide fraction. It was examined for antitumor activity against sarcoma 180 implanted in ICR mice. The fraction showed 75.7%, 83.9%, and 94.1% of tumor inhibition ratios at the doses of 10, 20 and 50 mg/kg/day, respectively. The chemical analysis of the fraction showed that it contained a polysaccharide(41.3%) and a protein(35.0%). The hydrolyzates of the polysaccharide moiety contained fucose(4.5%), xylose(1.1%), galactose(17.4%), glucose(55.4%), mannose(19.4%), and one unknown monosaccharide. The protein moiety contained seventeen amino acids. The protein-polysaccharide from *A. mellea* was administered, *i.p.*, to mice and caused an influx of polymorphonuclear leukocytes (PMN) at 5~24 hours which was followed by an accumulation of macrophages and disappearance of the PMN at 48~72 hours.

Keywords: *Armillariella mellea*, *Tricholomataceae*, Basidiomycete, Protein-polysaccharide, Antitumor activity, Immunopotentialion.

담자균류중에서 항종양작용을 발현하는 균을 발견하려는 연구는 Gregory *et al.* (1966)에 의해서 시작되어 Espenshade와 Griffith (1966), Chihara *et al.* (1969)의 연구 보고가 발표되어 있다. 즉 Chihara와 그 협조자들은 *Lentinus edodes*로부터 sarcoma 180을 강력히 억제하는 다당체 LC-33을 분리하였고, 이것을 lentinan이라 명명하였으며 $\beta(1\rightarrow3)$ glucan임을 밝혔다(Chihara *et al.*, 1970). 한편 Komatsu *et al.* (1969)는 *Schizo-*

*phyllum commune*의 배양 여액으로부터 schizophyllan을 분리하였으며, Tsugagoshi *et al.* (1974)는 *Coriolus versicolor*로부터 항암성 단백질 결합 다당류인 PS-K를 발견하였다.

한국에 자라고 있는 담자균류의 대사 산물중에서 항종양 작용을 나타내는 성분을 탐색하려는 연구는 저자들(Kim *et al.*, 1979)의 연구에서 비롯되었다. 즉 이 연구에서 구름버섯, 표고버섯 및 느타리버섯의 고분자

물질이 마우스에 이식한 육종 180호를 억제하였음을 보고 하였다. 아울러 이 고분자 물질들이 단백질과 다당류로 구성되어 있음을 분석하였다(Park *et al.*, 1979).

이어서 저자들은 젓버섯아재비의 항암성분(Min *et al.*, 1980),靈芝의 항종양 성분(Kim *et al.*, 1980), 치마버섯의 항암성분(Lee *et al.*, 1981), 구름버섯의 菌絲培養에 의한 항암성분의 생성(Shim, 1981), 만년버섯의 균사 배양에 의한 항암성분의 생산(Kang *et al.*, 1981), 노랑다발의 항종양성분(Lee *et al.*, 1981), 한입버섯의 항암성분(Kim *et al.*, 1982), 간버섯의 항암성분(Hong *et al.*, 1982), 붉은 싸리버섯의 항암성분(Yoo *et al.*, 1982), 애기 줄자버섯의 항암성분(Kim *et al.*, 1982), 덕다리버섯의 항암성분(Kang *et al.*, 1982), 턱수염버섯의 배양균사의 항종양 성분(Chung *et al.*, 1983)에 관하여 보고하였다.

이와 같은 연구의 일환으로, 경기도 포천군 광릉일대에 야생하는 담자균류를 채집하여 항종양 작용의 검색 실험증 뽕나무버섯의 자실체가 현저한 종양 저지효과를 나타냄을 관찰하였다.

그런데 이 버섯에 관하여는 Yoon(1959)이 항균작용에 관하여 보고한 바 있고, Samakhvalov(1972; 1975)가 생리학적 변화 과정 및 세포벽의 분리에 관하여 발표한 바 있다.

Badyai(1973)와 Poppe(1975)는 각각 이 버섯의 성장조건에 관하여, Zhuk *et al.* (1973)은 그 화학조성에 관하여, 그리고 Gregory(1975)는 호르몬과의 관계에 관하여 연구한 바 있다. Choi와 Lee(1983)는 이 버섯균사체의 생리 및 생태학적 특징을 보고한 바 있다.

그러나 이 버섯의 항암작용에 관한 보고가 발표된 바 없으므로 이 연구에 착수하게 되었으며, 항암 효과에 관한 실험, 항암 작용 기전 및 항암 성분의 화학조성에 관하여 보고하고자 한다.

실험 재료 및 방법

실험 재료

이 실험에 사용한 뽕나무버섯 *Armillariella mellea* (Fr.) Karst (the family *Tricholomataceae*)의 자실체는 1981년 9월 경기도 광릉지역에서 채집한 것이다.

시 약

1) D-(+)-glucose, D-(+)-fucose, D-(+)-galactose, D-(+)-mannose, D-(+)-xylose, hexamethyl-

disilazane (HMDS) 및 trimethylchlorosilane (TMCS)은 東京化成(Tokyo, Japan)의 특급시약을 사용하였으며, bovine serum albumin은 Sigma社의 특급을 사용하였다. 기타 시약은 시판 특급을 사용하였다.

2) Balanced Salt Solution(BSS)

Stock No. 1: dextrose 10.0g, KH_2PO_4 0.6g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 3.58g, 0.5% phenol red solution 20.0ml를 2차 증류수 1000ml에 용해한다.

Stock No. 2: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.86g, KCl 40g, NaCl 80.0g, $\text{MgCl}_2 \cdot \text{anhydrous}$ 1.04g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.0g을 2차 증류수 1000ml에 용해한다.

사용시에는 Stock No. 1 100ml, Stock No. 2 100ml에, 2차 증류수 800ml를 가한 후, pH 7.3으로 하여 사용하였다. 이 BSS는 세포세척에 사용하였다.

3) Phosphate-Buffered Saline (PBS)

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 2.51g과 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 22.4g을 500ml 2차 증류수에 용해한 후 pH 7.2~7.4로 하고 NaCl 87.6g을 가한 후 총 용량을 1l로 한다. 사용시에는 10배로 희석하여 사용하였다.

4) Non-specific Esterase 염색시의 염색액 :

Stock Solution: α -naphthyl acetate (Sigma社) 1g를 acetone 50 ml와 distilled water 50 ml에 용해한다.

Working Solution: α -naphthyl acetate stock solution 2.0ml를 0.1M phosphate buffer (pH 7.3) 15ml와 distilled water 15ml에 희석한 후 사용직전에 fast red TR salt (Polysciences社) 20mg를 넣어 용해시킨후 반드시 여과하여 쓴다.

5) Giemsa Stain Solution

Giemsa powder (BDH Chemicals, England) 0.5g을 glycerol 33.0ml에 완전히 용해(55~60°C에서 1.5~2시간)한 후 absolute methanol 33ml를 가하고 용해하여 여과(glass wool사용)하여 사용하였다.

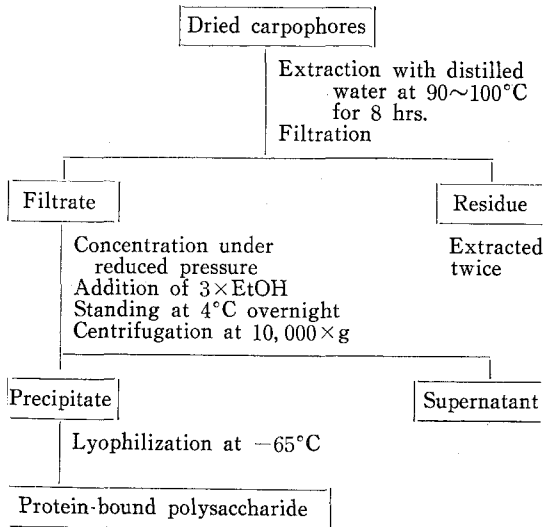
6) 0.83% aqueous ammonium chloride: 적혈구 용해 목적으로 사용하였다.

방 법

1) 항암 성분의 추출 및 분리

25g의 건조한 뽕나무 버섯 자실체를 blender로 갈고 증류수 2l를 가해서 90~100°C에서 8시간 동안 환류냉각시키면서 추출한 후 여과하여 분리하고 잔사는 다시 1l의 증류수로 상기의 방법으로 추출하였다.

이 추출액을 농축한 후 3배의 ethanol을 가해서 침전물을 생성시키고 10,000×g에서 원심분리(Beckman model J-21)하여 침전물을 얻어서 -65°C에서 냉동 건조(Edwards High Vacuum Model EFO 3)하여 갈색



Scheme I. Preparation of the protein-bound polysaccharide from carpophores of *Armillariella mellea*.

분말 4.5g을 얻었다. 그 방법은 Scheme I 과 같다.

2) 항암 실험

본 실험에 사용한 동물은 서울대학교 동물사육장에서 구입한 평균 체중 20g의 암컷 ICR-strain mouse이다. mouse의 왼쪽 서혜부에 sarcoma 180 cell 0.1ml (1×10^6 cell)을 피하 이식하였다. 각 군은 10마리 씩으로 하고 대조군 1개군과 처치군으로써는 10mg/kg/day, 20mg/kg/day, 50mg/kg/day의 3개군으로 하였다. 약물주사는 매일 1회씩 암이식 24시간 후부터 10일간 연속적으로 실시하였다.

암이식일로부터 30일째 되는 날 mouse를 모두 치사시켜 고형암을 적출해내어 암의 무게를 대조군과 비교하여 다음과 같은 식에 의해 저지백분율 inhibition ratio(=I.R.)을 얻었다.

$$\text{I.R.} = \frac{C_w - T_w}{C_w} \times 100$$

여기서 C_w 는 대조군의 평균 종양 무게이고 T_w 는 처치군의 평균 종양 무게이다.

3) 항암 성분이 면역에 미치는 영향

각 군의 실험 동물수는 3마리로 하고 시료 50mg/kg을 PBS에 완전 용해, 멸균하여 1ml씩 복강내 주사하였고, 대조군에는 PBS 1ml을 주사하였다. 각각 주사한 후 1시간, 5시간, 24시간, 48시간, 72시간후 복강내 총세포수(peritoneal exudate cell: PEC), macrophage와 polymorphonuclear leukocyte(PMN)을 아래의 같은 방법으로 측정하였다.

mouse를 cervical dislocation으로 치사시킨후 BSS로 복강액을 세척하여 내고 $200 \times \text{g}$ 에서 10분간 원심분리하였다. 수회 세척한 후 일정량을 취하여 haemocytometer로 PEC를 측정하였다.

macrophage는 non-specific esterase(NSE)의 enzyme reaction을 이용하여 염색한 후 현미경에서 reddish granule을 내포하는 cell을 세었다(Wier, 1979).

한편, PMN은 Giemsa stain하여 multi-lobbed nuclei 또 doughnut-type nuclei를 갖는 cell을 세었다(Gerhardt, 1981).

4) 항암 성분의 분석

a) 다당류 함량 분석

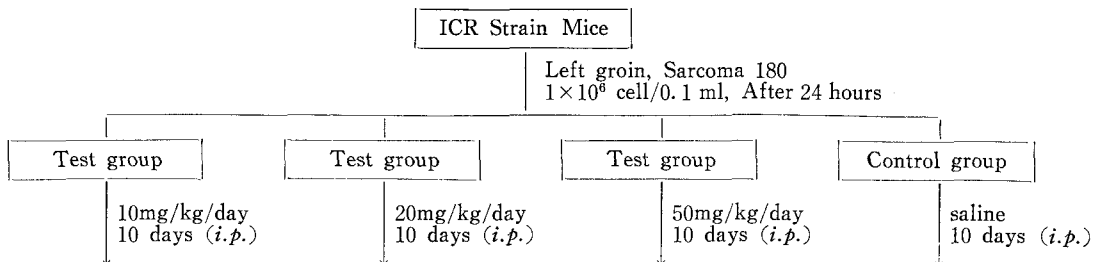
다당류 함량은 포도당을 대조용으로 하여 Anthrone 시험을 행하였다(Norris, 1971).

포도당과 시료에 대하여 Anthrone반응시킨 후 UV spectrophotometer(Unicam Sp 1805)로 625 nm에서 흡광도를 측정하여 작성한 검량곡선으로부터 다당류 함량을 계산했다.

b) 구성 단당류의 분석

Mitruka(1975)에 의한 방법으로 구성 당류를 분석하였다. 시료와 각각의 표준 단당류 20mg을 0.75N HCl-MeOH 2ml에 용해하여 $80 \pm 5^\circ\text{C}$ 에서 24시간동안 methanolysis를 시행하였다.

여과후 여액을 감압 증발 건조하고 1ml의 pyridine에



Tumors were excised 30 days after tumor implantation.

Scheme II. Antitumor test of the extract of *Armillariella mellea* on sarcoma 180 in mice.

Table I. Measurement Condition of G.L.C.

Column	: 1.5% OV-1 (80~100 mesh shimalite) 4mm ID×1.5m boronsilicate glass column.
Temperature:	Column: 160°C Detector: 290°C Injector: 290°C
Flow rate	: N ₂ : 50ml/min. H ₂ : 60ml/min (0.8kg/cm ²) Air: 88ml/min (1.2kg/cm ²)

다시 용해하고 0.2ml의 hexamethyldisilazane과 0.1ml의 trimethylchlorosilane으로 trimethylsilylation하였다. 30초간 격렬히 흔든 후 Table I 과 같은 조건으로 G.L.C.을 하였다. 표준 당당류의 retention time과 비교하여 각각의 당당류를 확인하였고, 그 함량은 각각 peak의 면적으로 정량하였다.

c) 단백질 함량 분석

단백질 함량은 bovine serum albumin을 대조로하여 Lowry-Folin시험을 행하였다(Kim, T.B. *et al.*, 1979). bovine serum albumin과 시료에 대해 각각 Lowry-Folin 반응을 한 후 UV spectrophotometer (Unicam Sp 1805)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하여, 작성한 검량 곡선으로부터 단백질 함량을 계산하였다.

d) 구성 아미노산의 분석

단백질의 구성 아미노산의 분석 및 그 함량을 밝히 고저 Spackman *et al.* (1958)에 의한 반응을 실시하였다. 항암 성분 20mg을 앰플에 넣어 6N HCl 5ml에 용해하였다.

N₂ gas로 충전시키고 밀봉하였다. 밀봉후 110±5°C에서 20시간 동안 가수분해하였다. 여과한후, 여액을 증발·농축하고 0.02 N-HCl 2ml에 다시 용해시켰

다.

Hitachi社의 Model KLA-5, Amino Acid Analyzer을 사용하여 常法에 따라 분석하였다.

이 항암성분의 단백질 성분의 아미노산의 종류와 함량은 standard amino acids의 chromatogram과 비교하여, peak height method로 계산하였다.

실험 결과

항암 효과

뽕나무버섯의 자실체로 부터 추출한 단백질 다당체가 sarcoma 180에 대하여 나타낸 작용을 Table II에 표시하였다. 이 성분의 10mg/kg, 20mg/kg 및 50mg/kg의 투여군에서 각각 75.7%, 94.1% 및 83.9%의 종양저지율을 나타냈으며, 종양 완전 퇴행은 각군에서 10마리 중 1마리, 2마리 및 4마리였다. 이 중에서 20 mg/kg 투여시 종양 저지율이 가장 높았으나, 완전 퇴행을 보인 마우스의 수가 제일 많았던 것은 50mg/kg 투여군이었으며 이경우 4마리였다.

항암 성분의 면역 촉진 효과

뽕나무버섯의 항암성분을 복강내 주사한 후 복강내 세포들의 증감 여부를 검토하였으며 그 결과를 Fig. 1에 표시하였다.

macrophage는 항암성분을 복강내 주사한 후 24시간 이후부터 증가하기 시작하면서 72시간까지도 계속 유지되었다.

반면, PMN은 주사 후 5시간 만에 최고 숫자에 달했으나, 이후부터 감소하면서 곧 정상치로 회복되었다.

PEC는 항암성분을 투여한 후 시간이 경과함에 따라 계속 증가하였다. 그러므로 뽕나무버섯의 항암성분이 면역을 촉진시킴으로서 종양 억제 작용을 나타내는 것으로 볼 수 있다.

Table II. Antitumor effects of the protein-polysaccharide of *Armillariella mellea* on sarcoma 180 in mice.

Group	Dose (mg/kg/day, <i>i.p.</i>)	Average tumor weight (g)	Tumor inhibition ratio (%)	Complete regression
Control group	saline	11.27 ± 0.05 ^a (p<0.001)	—	0/10 ^b
Treated group	10	2.42 ± 0.811 (p<0.001)	75.7	1/10
	20	0.86 ± 0.344 (p<0.001)	94.1	2/10
	50	0.93 ± 0.485 (p<0.001)	83.9	4/10

a: Values are means ± standard error

b: Number of mice used.

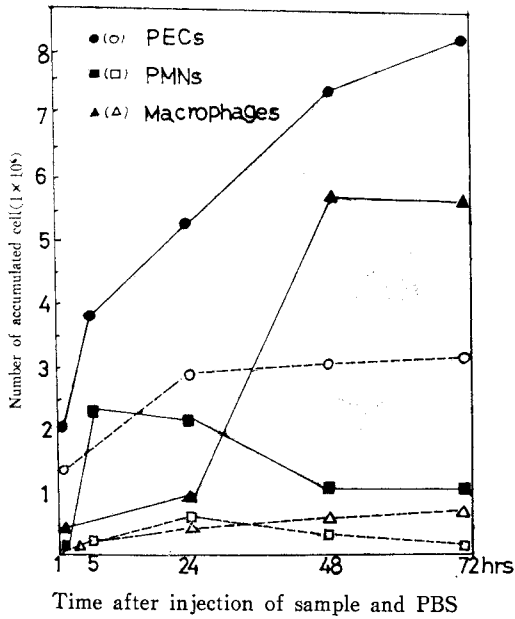


Fig. 1. Kinetics and composition of PEC following *i.p.* injection of the protein-polysaccharide from *Armillariella mellea*.

항암 성분의 화학 조성

1) 항암 성분의 다당류 함량 및 구성 단당류의 분석
Anthrone방법으로 다당류 함량을 측정하고 G.L.C.로 구성 단당류를 분석하였다. 그 결과를 Table III과 Fig. 2에 각각 표시하였다. 다당류의 함량은 41.3%이었다. 이 다당류는 glucose, mannose, galactose, fucose, xylose 및 한 종류의 미지 단당류의 6종으로 구성되어 있으며, 단당류중 glucose가 54.5%로 가장 많았다.

2) 항암 성분의 단백질 함량 및 구성 아미노산 분석

Table III. Contents of polysaccharide and monosaccharides of the antitumor component from *Armillariella mellea*.

	Content (%)
Total polysaccharide	41.3
Monosaccharides:	
Glucose	55.4
Mannose	19.4
Galactose	17.4
Fucose	4.5
Xylose	1.1
Unknown	2.2

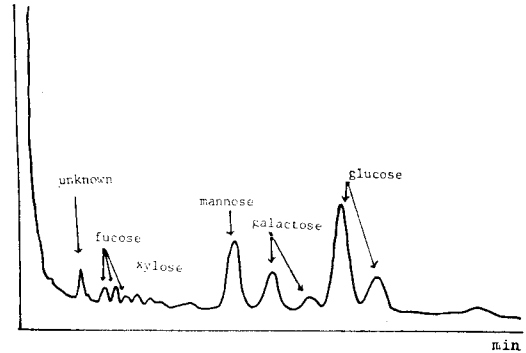


Fig. 2. G.L.C. pattern of the monosaccharides of the polysaccharide moiety of the antitumor component from *Armillariella mellea*.

Lowry-Folin 반응을 시킨 후 UV spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 단백질 함량을 측정하였다.

총 단백질 양은 35%이었고(Table IV) 이 단백질 성분을 아미노산 자동 분석 측정기로 분석한 결과, 총 17종의 아미노산으로 구성되어있음이 확인되었고, 그 중 arginine, serine 및 tryptophan이 가장 많이 포함되어

Table IV. Contents of protein and amino acids of the antitumor component from *Armillariella mellea*.

	Content (%)
Total protein	35.0
Amino acids:	
Trp	25.0
Lys	1.7
His	1.1
Arg	4.3
Asp	3.9
Thr	0.8
Ser	34.9
Glu	11.9
Pro	0.4
Gly	2.2
Ala	2.3
Val	3.9
Met	0.3
Ile	1.5
Leu	3.1
Tyr	1.1
Phe	1.6

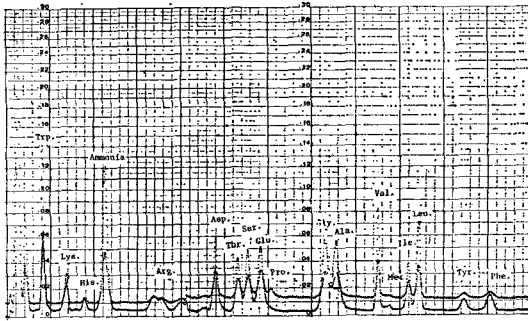


Fig. 3. Chromatogram of the amino acids of the protein moiety of the antitumor component from *Armillariella mellea*.

있었다.

그 chromatogram을 Fig. 3에 표시하였다.

고 찰

한국에 야생하고 있는 담자균류중에서 항종양 작용을 나타내는 성분을 탐색하고자, 뽕나무버섯의 자실체를 온수로 추출한 후, 정제하여 얻은 단백질성 다당류를 20mg/kg/day 용량으로 마우스에 투여하였을때 sarcoma 180의 억제율은 94.1%였다. 비록 10mg/kg/day 용량 투여시에는 저지율이 75.7%였지만 그래도 현저한 저지효과라고 볼 수 있다. 뿐만 아니라 세가지 용량중 제일 큰 용량인 50mg/kg/day 투여군에서의 저지율이 83.9%인 동시에 종양의 완전 퇴행을 나타내는 마리수는 4마리나 되었다는 사실은 이 단백질성 다당류가 높은 저지율을 나타냄과 아울러, 급성 독성이 별로 없음을 보여 주고 있는 것이다. 환언하면 이 성분은 종양세포에 대한 세포독으로 작용한것이 아니라, 종양세포에 대한 마우스의 저항성을 증가시켜 줌으로써 종양을 억제한 것으로 풀이할 수 있다.

이러한 사실을 더 구체적으로 밝힐 목적으로 뽕나무버섯의 항종양 성분이 마우스의 면역능에 미치는 영향을 실험하였다. 즉 세포성 면역에 있어서 암세포를 직접 공격하는 식세포의 하나인 macrophage에 미치는 효과를 구명하기 위하여, 뽕나무버섯의 항종양 성분을 마우스의 복강내에 주사한 후, 시간이 경과함에 따라 복강내의 면역 담당 세포의 수를 계수하여 보았다. 복강내의 총 세포수가 증가하였을 뿐만 아니라, macrophage가 특히 현저하게 증가하는 현상을 관찰하였다. 이 결과로 보아서 뽕나무버섯의 단백질성 다당류가 마우스의 sarcoma 180에 대한 면역을 촉진시킨 것으로 사료된다. 그러므로 이 항종양 성분은 세포독으로 작용

한 것이 아니라 면역강화제로서 작용하였다고 볼 수 있다.

이러한 결과는 *Lentinus edodes*의 항암성 다당류인 lentinan이 macrophage를 증가시켰다는 관찰(Bomford and Moreno, 1977)과 일치된다. 뿐만 아니라 구름버섯의 항암 성분이 마우스의 비장에 있는 항체 생성 세포인 임파구를 증가시킨다는 결과(Shim, 1981)와도 유사하다.

뽕나무버섯의 단백질성 다당류와 일반 식물성 다당류가 면역에 미치는 영향을 비교하기 위하여, 수용성 전분을 마우스 복강내에 투여하였던 바, 초기에는 복강내 총 세포수가 다소 증가하였으나 2일 후부터는 감소하였다.

이 비교 실험 결과로 보아, 뽕나무버섯의 항종양 성분은 다당류 1종이 중합되어 형성된 전분과는 다르다는 것을 알 수 있다.

뽕나무버섯의 항종양 성분의 화학적 조성을 밝힐 목적으로, 이를 분석하여 본 바, 다당류 41.3%와 단백질 35.0%를 함유하고 있었다. 이 다당류 부분을 가수분해하여 G.L.C.로 분석하였던 바, glucose, mannose, galactose, fucose, xylose 및 미지 물질의 6종의 단당류로 구성되어 있었다. 또한 그 단백질 부분을 가수분해하여 아미노산 분석을 실시하였던 바, serine을 위시하여 17종의 아미노산이 함유되어 있었다.

저자들이 이미 발표한 구름버섯(Park et al., 1979), 젓버섯아재비(Min et al., 1980), 영지(Kim et al., 1980), 한입버섯(Kim et al., 1982)의 항암성 성분의 다당류 부분이 단지 4종의 단당류로 구성되어 있고, 노랑다발버섯의 다당류 부분은 5종의 단당류로 구성되어 있는 사실(Lee et al., 1981)과 비교할 때, 이 뽕나무버섯의 항종양 성분은 전혀 상이한, 새로운 물질임을 지적하여 주고 있다. 뿐만 아니라 한입버섯, 노랑다발버섯 및 느타리버섯의 항암 성분의 단백질 부분을 구성하고 있는 아미노산중 함유량이 가장 높은것이 glutamic acid이고, 치마버섯과 표고버섯의 경우에는 aspartic acid라는 사실을 감안할 때, serine이 34.9%로 함유된 뽕나무버섯의 항종양 성분은 새로운 물질이라는 점을 더욱 여실히 뒷받침 해주고 있다. 단지 뽕나무버섯의 항종양 성분 중 다당류와 단백질 부분이 외에 또 어떤 물질이 함유되어 있는지에 대해서는 앞으로 더 실험을 계속하고자 하는 바이다.

결 론

뽕나무버섯 *Armillariella mellea*의 자실체로부터 추출된 단백질성 다당류는 마우스에 이식된 Sarcoma 180에

대한 높은 저지율을 나타내었다.

이 항암성분은 다당류와 단백질로 구성되어 있고 그 다당류는 41.3% 였으며 glucose, xylose, mannose, galactose, fucose 그리고 미지 1종을 함유하고 있었다. 그 단백질 부분은 35.0%였으며 16종의 아미노산을 함유하고 있었다.

이 항암성분은 마우스의 복강내의 macrophage수를 현저히 증가시켰다.

감사의 말씀

이 연구에 소요되는 경비의 일부는 1983學年度 文教部 學術 研究 助成費로 충당되었으며 이에 대하여 깊이 감사하는 바입니다. 이 연구를 수행하는 동안 격려와 조언을 주신 金泳根교수님, 沈吉淳교수님과 李相燮교수님께 감사의 뜻을 올리는 바입니다.

참고 문헌

- Badyai, S.V. (1973): *Lesoved. Les. Kho.* 7, 133.
- Bomford, R., and Mereno, C., (1977): *Br. J. Cancer* 36, 41.
- Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T., and Fukuoka, F. (1969): *Nature* 222, 687.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y., Arai, Y., and Fukuoka, F. (1970): *Cancer Research* 30, 2276.
- Choi, M.J., and Lee, J.Y. (1983): *Kor. J. Mycol.* 11, 79.
- Espenshade, M.A. and Griffith, E.W. (1966): *Mycologia* 58, 511.
- Gerhardt, P. (1981): "*Manual of Methods for General Bacteriology*," p.32, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Gregory, H. (1975): *FEBS Lett.* 51, 201.
- Gregory, F.J., Healy, E.M., Agerborg, H.P.K., Jr., Warren, G.H. (1966): *Mycologia* 58, 80.
- Kim, B.K., Park, E.K. and Shim, M.J. (1979): *Arch. Pharm. Res.* 2, 145.
- Kim, B.K., Chung, H.S., Chung, K.S. and Yang, M.S. (1980): *Kor. J. Mycol.* 14, 107.
- Kim, B.K., J.E. Robbers., Chung, H.S. and Choi, E.C. (1982): *Kor. J. Mycol.* 10, 3.
- Kim, T.B., Lee, K.B., and Joo, C.N. (1929): "*Experimental Biochemistry*," p.242, Tamgoodang, Seoul, Korea.
- Lee, S.A., Chung, K.S., Shim, M.J., Choi, E.C. and Kim, B.K. (1981): *Kor. J. Mycol.* 9, 25.
- Mitruka, B.M. (1975): "*Gas Chromatographic Applications in Microbiology and Medicine*," p.159, John Willey & Sons, New York.
- Norris, J.R. (1971): "*Methods in Microbiology*," 5B, 242, Academic Press, London.
- Park, E.K., Kim, B.K., and Choi, E.C. (1979): *Arch. Pharm. Res.* 2, 153.
- Poppe, J. (1975): *Meded. Fac. Landbouwwet, Rijksuniv. Gent.* 40, 577.
- Samokhvalov, G.K. (1975): *Physiol. Plant Pathol.* 5, 99.
- Samokhvalov, G.K., and Zatssepa, Yu. F. (1972): *Tr. Khark S-kh. Inst.* 176, 124.
- Shim, M.J. (1981): *Kor. J. Mycol.* 9, 49.
- Spackman, D.M. Stein, W.H., and Moor, S. (1958): *Anal. Chem.* 30, 1190.
- Weir, D.M. (1979): "*Handbook of Experimental Immunology*," 3rd ed., p.31, and p.21, Blackwell Sci. Publications, Oxford.
- Zhuk, Yu T., Tsapalova, I.E., Dyagileva, A.A., and Rodkina, N.A. (1973): *Izv Sib. Otd. Akad. Nauk USSR, Ser. Biol. Nauk* 3, 47.

<Received October 15, 1983>