

Agrocybe cylindracea로 부터 분리한 다당류의 정제와 특성

김선희 · 정인창¹ · 김소연 · 이종숙 · 조현제² · 이항우³ · 이재성*

영남대학교 식품가공학과, ¹동해대학 호텔조리과,
²일리노이즈 주립대학교, ³영남대학교 생물학과

Characteristics and Purification of Polysaccharide Produced from *Agrocybe cylindracea*

Seon-Hee Kim, In-Chang Jung¹, So-Yeun Kim, Jong-Suk Lee, Hyen-Jae Cho²,
Hang-Woo Lee³ and Jae-Sung Lee*

Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Kyungsan 712-749, Korea

¹Department of Hotel Culinary Art, Tonghae Junior College, Tonghae 240-150, Korea

²Department of Crop Science, University of Illinois, USA

³Department of Biology, Yeungnam University, Kyungsan 712-749, Korea

ABSTRACT: The polysaccharides, intracellular and extracellular, extracted from the liquid culture of the *Agrocybe cylindracea* were purified and characterized. The mycelial cellular productivity of *Agrocybe cylindracea* was proved to be almost 2 folds in the shaking culture compared to the standing culture. These polysaccharides were purified by the DEAE-cellulose ion exchange chromatography and the Sepharose 2B size exclusive gel filtration. The two purified fractions of extracellular polysaccharides, ACEPDG and ACEPAG, contained 75.8% and 65.4% total sugar respectively. The total sugar content of ACIPDG and ACIPAG, the two purified fractions of intracellular polysaccharides, were 89.2% and 54.2% respectively. The molecular weights range of all the substances were estimated to be above 100,000, from 300KDa of ACEPDG to 600 KDa of ACIPAG. The results of sugar analysis by HPLC showed that the sugar part of ACEPDG was consisted of glucose and inositol. The ACIPDG, ACEPAG and ACIPAG contained three kinds of monosaccharides, glucose, fructose and inositol.

KEYWORDS: *Agrocybe cylindracea*, Extracellular polysaccharides, Intracellular polysaccharides

Agrocybe cylindracea (DC. ex Fr.) Maire는 벗짚 버섯과에 속하는 우수한 식용균으로 근년에 인공재배를 하게 되었다. 주로 봄에서 가을에 채취되며 활엽수(특히 버드나무류, 단풍나무류)의 마른 줄기나 생목의 썩은 부분에 총생(叢生)하며 북반구 일대에 분포하고 있다(이, 1988).

담자균류에 함유된 유효성분에 대한 연구는 Bose(1955)가 담자균류 수종의 항균성분에 대하여 보고하였으며, Neal 등(1968)은 그 2차 대사산물 축적에 대하여 연구한 바 있다. 그 중 담자균류의 항암성분에 관한 연구는 *Calvatia gigantea*로부터 Calvacin을 분리함으로써 시작되어 지금까지 많은 연구자들에 의해 항암성분 뿐만 아니라 항균물질 등 생리활성물질에 대한 연구가 시행되었다.

담자균에서 추출한 다당류의 항암효과에 관한 연구로는, Fukuda 등(1975)과 Kayoko 등(1975)이 *Lamteromyces japonicus*의 자실체로부터 항암성 다당류를 추출하여 glucose, galactose, mannose로 구성된 heteropolysaccharide라는 것을 밝혔으며, Suzuki 등(1980)은 *Grifolar frondosa*의 자실체로

부터 다당류를 추출, 분리정제한 수용성 다당류가 분자량이 약 2만에서 10만이며 항암효과도 뛰어났음을 증명하였다. Yoshioka 등(1972, 1985)은 *Pleurotus ostreatus*의 자실체로부터 다당류를 추출해 그 특성을 보고하고, 항암능력이 매우 뛰어난 중성다당류인 β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan을 분리하여 구조를 밝혔다.

*Agrocybe cylindracea*에 대한 연구로는 Tadashi 등(1989)이 알카리 추출물이 (1-3)- α -D-Glucan으로 구성되어있고 sarcoma-180에 대해 항종양활성을 가진다고 하였으며, 현(1993)은 *Agrocybe cylindracea*의 자실체로부터 열수추출한 중성 단백 다당체인 cylindan이 sarcoma 180에 대해 70%의 종양 억제율 및 180%의 수명 연장 효과가 있음을 보고한 바 있다.

따라서 본 실험에서는 *Agrocybe cylindracea*의 균사체를 고체배지에서 배양시킨 배양물을 식품으로 제조하기에 앞서 균사체내에 포함된 다당류와 균사체가 분비한 다당류의 특성을 조사하여 기능성 식품의 기초자료를 마련하고자 한다.

재료 및 방법

*Corresponding author

재 료

균주는 농업과학기술연구원 응용미생물과에서 분양받은 *Agrocybe cylindracea*를 사용하였다.

배양방법

본 실험에 사용된 배지는 진탕 및 정치배양배지로 ACM (*Agrocybe cylindracea* Medium: Starch 2%, Bacto soytone 0.4%, Yeast extract 0.6%, MgSO₄ · 7H₂O 0.05%, KH₂PO₄ 0.046%, K₂HPO₄ 0.1%)을 500 ml 삼각 플라스크에 200 ml 씩 분주하여 멸균한 뒤 사용하였다. 접종원은 300 ml 삼각 플라스크에 배지 200 ml를 넣고 멸균한 후 한천고체배지에서 생육한 4×4 mm 크기의 균사체 덩어리를 5개 넣고 7일간 액체배양을 하여 균사체를 얻었고 이들 균사체를 진탕 배양과 정치배양에 사용하였다. 진탕배양과 정치배양을 위한 균사체 접종은 접종원에서 얻은 균사체를 homogenizer (Nissei, AN-11, Japan)로 10초간 균질화시켜 각 배양에 5 ml 씩 접종하였다. 배양 온도는 28°C를 유지하였으며, 진탕배양을 위해서 shaking incubator(120 rpm, Hanback scientific Co., HB201S, Korea)를 사용하여 7일간 배양한 후, 각각의 균사체를 회수하여 증류수로 3회 씻은 후 동결건조하여 균사체의 무게를 비교하였다.

다당류의 추출

배양된 균사체와 배양액을 분리하여 김 등(1995)과 이 등(1993)이 사용한 방법을 변형한 Fig. 1에 따라 실시하여 균사체내 및 균사체의 조단백다당류를 얻었다.

다당류의 분리 및 정제

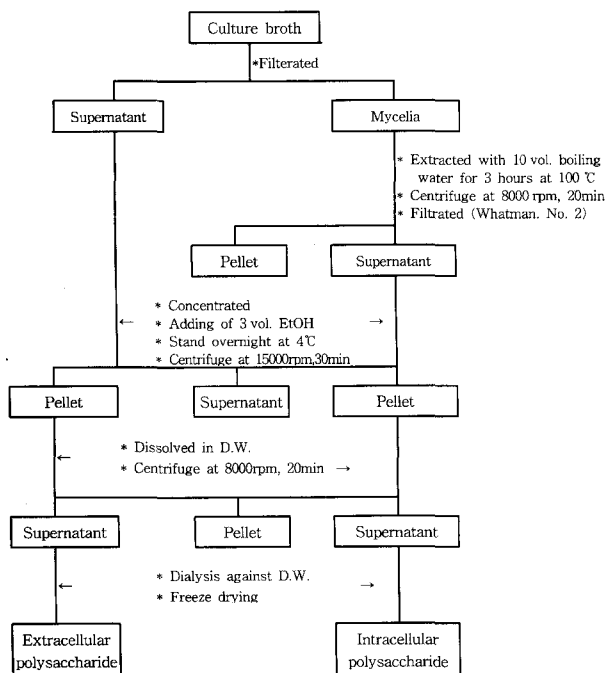


Fig. 1. Total extraction procedure for intra and extracellular polysaccharides.

다당류의 정제는 우선 조단백다당류 분말 1 g을 탈이온수에 용해시켜 원심분리한 상정액을 잘 수세된 DEAE-cellulose(anion form) column(25×600, id, mm)에 loading하여 탈이온수를 1 ml/min의 유속으로 용출시켜 8 ml씩 분획하고, 비흡착성을 가진 다당류의 분획용액은 0.1N-NaOH용액으로 교환하여 동일 유속의 조건으로 재분획을 실시하였다. 이와 같이 1차 정제를 행한 각 분획은 phenol-sulfuric acid 법을 이용하여 490 nm에서 당을, 280 nm에서는 단백질 성분을 확인하였다. 용출한 분획 중 당단백이 확인된 분획은 0.1N-oxalic acid로 중화시켜 흐르는 물에 3일간 투석하고 감압농축한 후 동결건조하여 미백색의 건조분말을 얻었다. 그 다음으로 1차로 정제된 각 분획(ACEPD, ACEPA, ACIPD, ACIPA)의 건조된 분말 1 g을 0.1N sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 녹여 Sepharose 2B gel을 충전시킨 column(25×600, id, mm)에 loading하여 0.1N sodium phosphate buffer(pH 7.0)로 1 ml/min의 유속으로 용출시켜 5 ml씩 분획하여 2차정제를 실시하였다. 이때 당단백이 확인된 각 분획은 흐르는 물에 3일간 투석하고 감압농축하여 동결건조하였다(Fig. 2).

다당류의 총당 및 총단백질 정량

2차정제된 다당류의 총당에 대한 정량분석은 Dubois 등

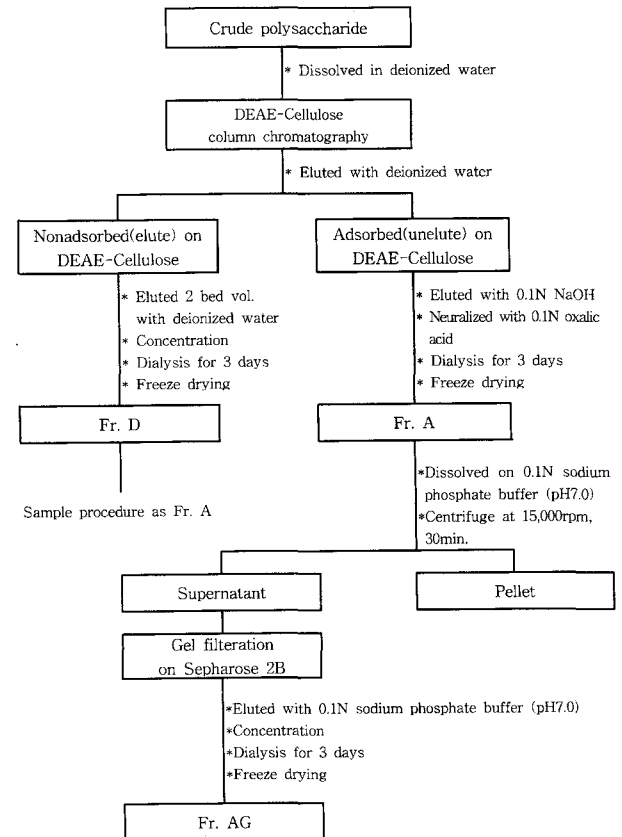


Fig. 2. Purification procedure for crude polysaccharides by the DEAE cellulose ion exchange and gel filtration chromatography.

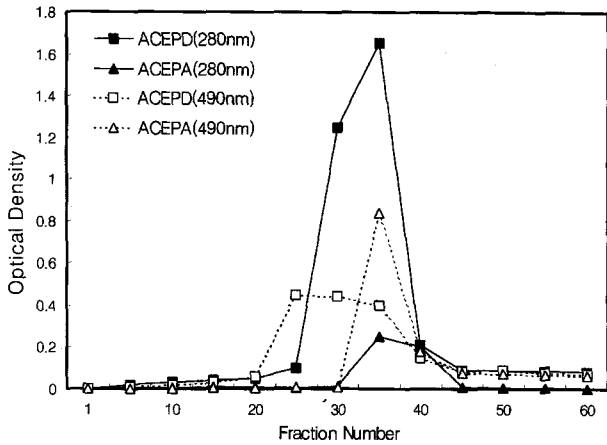


Fig. 3. The DEAE-cellulose ion exchange chromatogram of extracellular polysaccharide produced by *Agrocybe cylindracea*.

The column operations are carried out at the following conditions; The eluent was deionized water and 0.1N NaOH.(flow rate: 1 ml/min, volume: 8 ml/tube) Samples are referred to Table 2.

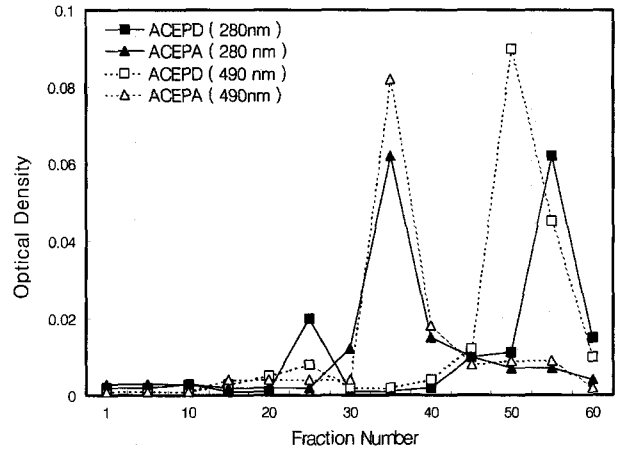


Fig. 5. The Sephacose 2B chromatogram of extracellular polysaccharide produced by *Agrocybe cylindracea*.

The column operations are carried out at the following conditions; The eluent was 0.1N sodium phosphate buffer (flow rate: 1 ml/min, volume: 5 ml/tube) Samples are referred to Table 2.

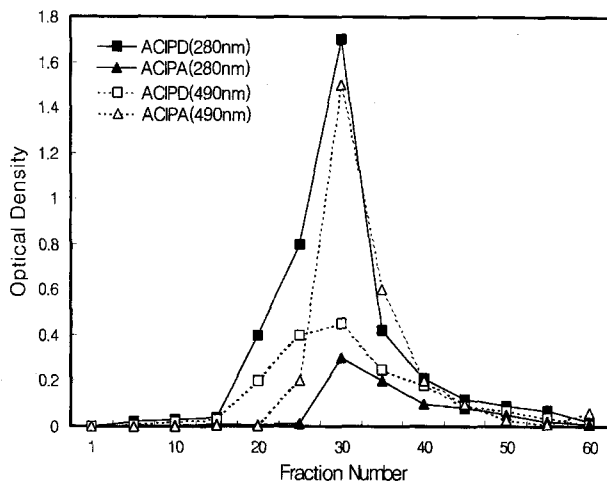


Fig. 4. The DEAE-cellulose ion exchange chromatogram of intracellular polysaccharide produced by *Agrocybe cylindracea*.

The column operation and conditions are the same as Fig. 3. Samples are referred to Table 2.

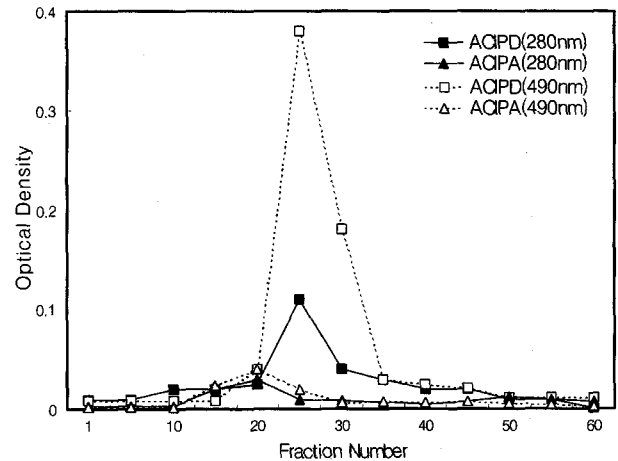


Fig. 6. The Sephacose 2B chromatogram of intracellular polysaccharide produced by *Agrocybe cylindracea*.

The column operation and conditions are the same as Fig. 5. Samples are referred to Table 2.

(1986)의 방법에 준하여 phenol-sulfuric acid법으로 실시하였다. 즉, 5% phenol(w/v) 0.2 ml와 sulfuric acid conc. 1 ml를 시료 0.2 ml과 반응시킨 후 UV-visible spectrophotometer(Shimadzu UV-1201, Japan)로 490 nm에서 흡광도를 측정하여 glucose 표준곡선을 기준으로 시료 중 당의 함량을 정량하였다.

총단백질의 정량분석은 Bradford(1976)방법에 따라 실시하였다. Bradford reagent 1 ml를 시료와 반응시킨 후 UV-visible spectrophotometer(Shimadzu UV-1201)를 사용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였으며, bovine serum albumin(Sigma Co.) 표준곡선을 기준으로 시료중의 총단백질 함량을 정량하였다.

다당류의 분자량 측정

2차정제된 다당류의 분자량측정은 정제된 분말을 0.1N sodium phosphate buffer(pH 7.0)로 평형시킨 Sephacose 2B column(2×95 id, cm)에 blue dextran(MW. 2,000,000)을 이용하여 void volume(V_0)을 구하고 column을 완전히 수세한 후 표준다당류와 각각의 시료를 혼합해서 주입한 후 각각의 elution volume(V_e)을 구하였다.

표준 dextran의 분자량에 대하여 V_e/V_0 값을 plot한 검량선과 대비하여 다당류의 분자량을 측정하였다. 이때 표준품은 blue dextran(MW 2,000,000, Sigma. Co), 515,000과 260,000(Sigma. Co)의 dextran을 사용하였다.

단당류 분석

Gel filtration을 통해 다당류로 확인된 분획을 2N HCl용

액으로 100°C에서 8시간 가수분해시켜 여과한 후, 그 여액을 vacuum pump로 감압건조시킨 다음 이 시료에 대한 다당류분석을 HPLC(Instrument: Young-In 9500 Korea, column: Rezex RNM <7.8×300, id, mm>, column temperature: 85°C, mobile phase: water, flow rate: 0.6 ml/min, RI detector: RID-6A, Shimazu, sample injection volume: 20 μl)로 행하였고, 각 표준당(농도 0.1%)에 대해서도 같은 방법으로 행하였다.

아미노산 분석

다당류분획은 6N HCl용액으로 105°C에서 24시간 가수분해시켜 여과한 후 여액을 vacuum pump로 완전히 건조하였다. 이것을 eluent용액으로 희석해서 아미노산 분석기(Instrument: Biochrom 20 amino acid analyzer, column: High resolution <4.6×250, id, mm>, eluent: Lithium-citrate buffer, flow rate: 20 ml/h, detector: UV <570 nm, 440 nm>, column temperature: 35~80°C, sample injection volume: 10 μl)에 주입하여 분석을 행하였으며 각 표준 아미노산(농도 250 pmol)에 대해서도 같은 방법으로 행하였다. 이때의 아미노산의 정량은 표준 아미노산의 표준정량곡선에 대입하여 계산하였다.

결과 및 고찰

배양방법에 따른 균사체 수율

일반적인 호기배양에 있어서 균체생산의 효율성을 높이기 위한 배양방법의 확립은 균체내 혹은 균체의다당류의 생산이라는 측면에서 보았을 때 우선적으로 검토되어야 한다. 따라서 일반적으로 행하여지고 있는 정치배양과 대량배양을 목적으로 한 진탕배양에서의 균사체 생성수율을 비교 검토하였다. 배양된 균사체를 수거하여 동결건조시켜 건조량을 측정된 결과(Table 1), 진탕배양시, 24.74 g/l로 정치배양 때의 6.49 g/l 보다 약 4배 정도 높게 나타났다. 이 결과로부터 일반적으로 호기성인 담자균이 정치배양보다 진탕배양에서 생산율이 높은 결과(이등, 1993)와 일치하는 것으로 나타났으며, 또한 본 공시균주를 통한 대량배양의 가능성을 시사하였다.

배양방법에 따른 다당류의 생산수율

담자균에 의한 다당류의 생산은 균주의 특성상 세포벽을 구성하는 당과 균사체외로 배출되는 당이 있다. 따라서 배

양방법에 따른 균사체내외의 다당류생산수율은 담자균의 생육동력학적인 해석뿐 만 아니라 배양방법에 따른 다당류의 회수적인 측면에서도 중요한 의의를 가지게 된다. 이에 우선 진탕배양한 균사체와 정치 배양한 균사체를 수거하여 열추출한 다음 균사체내 다당류함량과 그 생산수율을 비교하였다. 균사체 생산량을 비교할 때 진탕배양은 정치배양의 4배량의 균사체로 생산하였다. 다당류생산량은 이에 반하여, 진탕배양에서(1.65 g) 정치배양에 비하여(0.71 g) 2배를 생산하였다. 결과적으로 단위균체량에 따른 다당류 수율은 오히려 정치배양에서 진탕배양의 2배가 된다.

이와 같이 진탕배양에서의 단위균체당 생산수율은 정치배양보다 2배가 낮아지고 있지만 이는 단위균체당 생산된 다당류를 말하는 것이고 균사체내외의 다당류의 총생산량은 액체배양에서 6.53 g으로 비교적 높은 생산량을 나타내었다. 이는 진탕배양이 비록 단위균체당 생산수율은 낮지만 대량배양조에서의 적용성 및 다당류의 회수공정적인 면등에서 보았을 때, 산업화연구의 가능성을 시사하고있다.

다당류의 분리 및 정제 수율

본 실험을 통해 균사체내외에서 분리된 단백다당류는 DEAE-cellulose(OH- form)를 충전한 column을 이용하여 얻어진 1차정제 분획물과 Sepharose 2B column으로 gel filtration하여 회수한 2차정제 분획물에 대한 결과를 Table 2에 나타내었다.

다당류를 DEAE-cellulose(OH form)를 충전한 column을 통해서 분획한 경우, 균사체의 다당류의 탈이온수 분획물(*Agrocybe cylindracea* Extracellular Polysaccharide Deionized water fraction; 이하 ACEPD) 11% 및 0.1N NaOH 분획물(*Agrocybe cylindracea* Extracellular Polysaccharide Alkaline solution fraction; 이하 ACEPA) 9.0%의 회수율을 나타내었고, 균사체내 다당류의 탈이온수 분획물(*Agrocybe cylindracea* Intracellular Polysaccharide Deionized water fraction; 이하 ACIPD)의 회수율은 10%, 0.1N NaOH 분획물(*Agrocybe cylindracea* Intracellular Polysaccharide Alkaline solution fraction; 이하 ACIPA)은 8.0%의 회수율을 각각 나타내었다.

DEAE-cellulose column에 적용시 전체적인 다당류의 회수율은 38%를 나타냈는데, 균사체내외의 다당류 모두가 거의 같은 비율로 회수되었다. 이 결과는 하 등(1995)이 *Flammulina velutipes*와 *Agrocybe cylindracea*의 회수율이 ion exchange column에 적용시 10.3~17.3%로 나타난 것과 비교해 보면 대체로 높은 것으로 나타났다.

다음으로 분리한 분획물들을 농축한 다음, Size exclusive gel filtration 한 결과, 거의 순수한 단백다당류를 얻을 수 있었는데, ACEPD의 gel filtration 분획물(ACEPD Gel filtration fraction; 이하 ACEPDG)은 57%의 회수율, ACEPA의 gel filtration 분획물(ACEPA Gel filtration fraction; 이하 ACEPAG)은 48%의 회수율, ACIPD의 gel filtration 분획물(ACIPD Gel filtration fraction; 이하

Table 1. The yields of intracellular and extracellular polysaccharides produced from submerged mycelial culture of *Agrocybe cylindracea* on different culture methods

Culture	Cell mass	(unit: g, dry weight/l)	
		Intracellular polysaccharide	Extracellular polysaccharide
Shaking	24.74±1.34	1.65±0.07	4.88±0.15
Standing	6.94±0.31	0.71±0.05	2.78±0.12

Table 2. Total purification yield of intra and extracellular polysaccharide produced by *Agrocybe cylindracea*

Purification step	Amount (g/l)	Stepwise recovery (%)
Crude Polysaccharide^A		
Extracellular polysaccharide	4.88±0.15	
Intracellular polysaccharide	1.65±0.07	
Ion exchange chromatography^B		
Extracellular polysaccharide		
ACEPD	0.11 ^a	11
ACEPA	0.09 ^a	9
Sub total amount	0.20	20
Intracellular polysaccharide		
ACIPD	0.10 ^a	10
ACIPA	0.08 ^a	8
Sub total amount	0.18	18
Size exclusive gel filtration^C		
Extracellular		
ACEPDG	0.57 ^b	57
ACEPAG	0.48 ^b	48
Intracellular		
ACIPDG	0.44 ^b	44
ACIPAG	0.32 ^b	32

^AHot water extraction-Ethanol precipitation-Freeze dried.

^BDEAE-cellulose chromatography, C: Sepharose-2B gel filtration.

^aYield obtained from 1g of crude polysaccharide.

^bYield obtained from 1g of the corresponding partially purified samples.

*ACEPD: *Agrocybe cylindracea* Extracellular Polysaccharide Deionized water fraction.

ACEPA: *Agrocybe cylindracea* Extracellular Polysaccharide Alkaline solution fraction.

ACIPD: *Agrocybe cylindracea* Intracellular Polysaccharide Deionized water fraction.

ACIPA: *Agrocybe cylindracea* Intracellular Polysaccharide Alkaline solution fraction.

ACEPDG: ACEPD Gel filtration fraction, ACEPAG: ACEPA Gel filtration fraction.

ACIPDG: ACIPD Gel filtration fraction, ACIPAG: ACIPA Gel filtration fraction.

ACIPDG)은 44%의 회수율, ACIPA의 gel filtration 분획물 (ACIPA Gel filtration fraction; 이하 ACIPAG)은 32%의 회수율을 각각 나타내었다.

다당류의 총당 및 총단백질 정량

Table 3는 각 분획물들의 총당과 총단백질 함량을 나타낸

Table 3. Total sugar and protein content of various fractions (unit: %)

Sample	Total sugar	Total protein
ACEPDG	75.8	2.8
ACEPAG	65.4	22.3
ACIPDG	89.2	9.2
ACIPAG	54.2	24.6

* Samples are referred to Table 2.

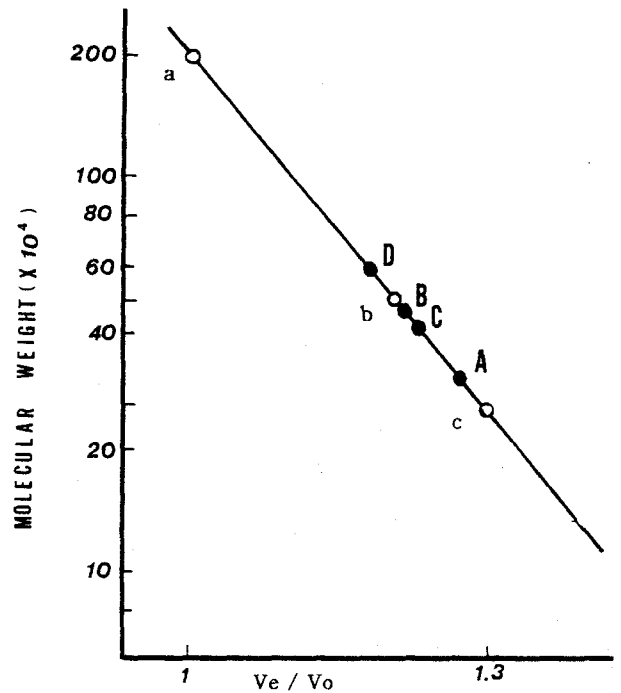


Fig. 7. Determination of molecular weight of each fraction by Sepharose 2B gel filtration.

Vo: void volume Ve : elution volume of each fraction

a: blue dextran (MW 2,000,000)

b: dextran (MW 515,000)

c: dextran (MW 260,000)

A: ACEPDG B: ACIPDG C: ACEPAG D: ACIPAG

Samples are referred to Table 2.

것이다. ACEPDG는 총당 및 총단백질의 함량이 75.8, 2.8%, ACIPDG는 89.2, 9.2%와 ACEPAG의 총당 및 총단백질 함량이 65.4, 22.3%, ACIPAG의 54.2, 24.6%를 비교했을 때, 각 다당류의 증류수 분획물이 알칼리 분획물보다 총당 함량은 높게 나타났고, 총단백질 함량은 낮게 나타났다.

다당류의 분자량

다당류의 분자량은 Fig. 7에서 보는 바와 같이, ACEPDG는 300 KDa, ACEPAG는 416 KDa, ACIPDG는 470 KDa, ACIPAG는 600 KDa이었으며, 균사체의 다당류의 분자량이 균사체내 다당류의 분자량보다 낮았다. 정제된 탈이온수 분획물이 알칼리 분획물보다 분자량이 낮았으나, 모든 분획물들의 분자량이 100KDa가 넘는 거대 분자인 것으로 나타났다. 이 결과는 담자균에서 분리된 항암면역활성 다당류의 일반적인 분자량이 5만에서 100만정도라는 보고((Goro 등, 1970; Komatsu 등, 1969; Mizuno 등, 1992))와 거의 유사하였다.

다당류의 단당류 조성

각 분획물의 단당류 분석 및 조성은 Table 4과 같으며 ACEPDG는 glucose와 inositol, 그외 분획물들은 glucose와 fructose, inositol로 구성되어 있는 것으로 나타났다. 이는

Table 4. Monosaccharide content of the polysaccharide moiety of various samples

Sample	(unit: %)		
	Glucose	Fructose	Inositol
ACEPDG	69.92	N.D.*	30.08
ACEPAG	30.21	23.43	46.36
ACIPDG	85.69	5.23	9.08
ACIPAG	29.64	17.24	53.12

*N.D.: Not detected.

**Samples are referred to Table 2.

Table 5. The total amino acid composition of the protein moiety in various fractions

Amino acids	(unit: %)			
	ACEPDG	ACEPAG	ACIPDG	ACIPAG
Aspartic acid	92.936	18.644	84.985	26.516
Treonine	0.756	2.667	0.752	5.679
Serine	0.66	-	1.757	0.502
Glutamic acid	0.988	2.008	2.147	1.648
Proline	0.039	2.561	1.665	2.956
Glycine	0.141	2.436	0.258	32.805
Alanine	0.564	8.992	0.017	1.379
Cystine	0.705	5.980	2.698	-
Valine	0.124	-	0.155	1.182
Methionine	0.429	1.279	0.844	6.898
Isoleucine	0.062	-	0.086	-
Leucine	0.163	0.525	0.034	-
Tyrosine	0.271	1.304	1.027	-
Phenylalanine	0.169	-	0.028	1.299
Histidine	0.113	-	0.413	0.788
Lysine	0.113	0.349	0.15	0.340
Ammonia	0.440	0.211	0.178	0.116
Arginine	1.321	53.040	2.796	17.889

*Samples are referred to Table 2.

하 등(1995)이 *Agrocybe cylindracea* 균사체에서 추출한 다당체의 다당류 조성을 fucose, galactose, glucose, mannose 4종으로 발표한 결과와는 차이가 있으며, *Agrocybe cylindracea*의 알카리 추출 물이 β -(1→3)-D-glucan이라는 Tadashi 등(1989)의 보고와도 다소 차이가 있었다. 그러나 이러한 결과는 조 등(1995)이 담자균류의 다당류가 세포의 기원과 위치에 따라 물성이 다양하고 양적 차이가 있을 뿐 아니라, 다당류의 종류 또한 사용되는 균주, 추출용매의 종류 및 농도, 추출 온도 및 추출 용매의 농도 등 다양한 요인에 의하여 결정된다고 보고한 것과, 한 등(1995)이 같은 균주라고 하더라도 여러가지 조건에 의하여 다당류의 조성이 달라질 수 있다고 보고한 것을 참조하면 배양조건에 의한 복합적인 요인에 의해 차이가 나타나는 것으로 알 수 있다. 이러한 결과로 보아, 생리활성 기능을 지닌 다당류를 산업적으로 생산하고자 할 때는 다양한 조건에 의한 연구를 진행하여 필요한 다당류의 생산을 유도하는 것이 바람직할 것으로 사료되었다.

아미노산 조성

다당류에 결합된 단백질의 아미노산 조성은 Table 5와 같이 aspartic acid, glutamic acid, arginine 등 17종이었으며, 표준 아미노산에 대한 peak area 측정법으로 계산하여 백분율로 환산하였다. 균사체외 다당류의 탈이온수 분획물인 ACEPDG 분획물에서는 aspartic acid, alanine, leucine, phenylalanine, ammonia의 함량이 균사체내 다당류의 탈이온수 분획물인 ACIPDG 분획물에서 보다 높았으며, 그 외의 아미노산 종류의 함량에서는 모두 낮은 경향을 나타내었다. 균사체외 다당류의 알카리 분획물인 ACEPAG 분획물에서는 glutamic acid, alanine, arginine의 함량이 균사체내 다당류의 알카리 분획물인 ACIPAG 분획물에서 보다 높았으며, 그 외 serine, valine, phenylalanine, histidine은 검출되지 않았고 그 외 성분들의 함량은 대체적으로 낮은 경향을 나타내었다.

적 요

*Agrocybe cylindracea*의 배양방법별 균사체 및 다당류 생산수율비교 실험에서는 모두 진탕배양이 효과적이었다. 다당류의 정제는 조단백다당류를 이용하여 DEAE-cellulose column에 의한 1차 정제를 행하였고, 최종으로 Sepharose 2B를 이용한 2차 정제를 실시하여 최종적으로 균사체내 다당류(ACIPDG, ACIPAG)와 균사체외다당류(ACEPDG, ACEPAG)를 얻었다. ACEPDG는 총당 75.8%, ACEPAG는 총당 65.4%를 함유하였으며, ACIPDG는 총당 89.2%, ACIPAG는 총당 54.2%의 조성을 보였다. 다당류 분획물들의 분자량을 측정된 결과, 모두 10만이 넘는 거대분자로 ACEPDG 300KDa에서 ACIPAG 600KDa까지 나타났다. 다당류의 조성을 HPLC로 분석한 결과, ACEPDG분획물은 glucose, inositol이 검출되었으며 ACIPDG, ACEPAG, ACIPAG 분획물은 glucose, fructose, inositol이 검출되었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술처 선도기술개발사업비의 지원에 의하여 수행된 결과의 일부로서 이를 수행할 수 있도록 지원하여 주신 것에 감사드립니다.

참고문헌

김성환, 김을상, 김영식. 1995. 영지버섯에서 분리한 항암성 다당체에 관한 연구. 한국영양과학회지 **24**: 147-153.
 박경숙, 이재성. 1991. *Coriolus versicolor*와 *Lentinus edodes*의 영양배지조성 및 배양조건에의 최적화. 한국생물공학회지 **6**: 91-98.
 이권행, 이준우, 한만덕, 정훈, 김영일, 오두환. 1994. *Ganoderma lucidum* IY009로부터 분리된 항암성 다당류의 약리 및 독성. 한국산업미생물학회지 **22**: 190-196.
 이병우, 임근형, 김동욱, 박기문, 손세형, 손태화. 1993. 표고버

- 섯 균사체의 배양특성 및 Pilot Scale 생산. 한국산업미생물학회지 **21**: 609-614.
- 이재훈, 안원근, 이재동. 1995. 맥주효모 추출물을 이용한 표고버섯 균사체의 심부배양에 관한 연구. 한국균학회지 **23**: 325-331.
- 이재훈, 조수목, 고정수, 유익동. 1995. 배양조건에 따른 상황버섯(*Phellinus linteus*)의 다당류생산 및 단당류 구성변화. 한국균학회지 **23**: 325-331.
- 이지열. 1988. 원색한국버섯도감. 아카데미서적. 137쪽.
- 조수목, 이재훈, 한상배, 김환목, 유승현, 유익동. 1995. *Fomitella fraxinea*로부터 분리한 면역활성 다당류(II)-열수추출 다당류의 분리 및 특성. 한국균학회지 **23**: 340-347.
- 하효철, 박신, 박경숙, 이춘우, 정인창, 김선희, 권용일, 이재성. 1995. 팽나무버섯 수확후의 톱밥 배지로부터 단백다당류의 분리 및 정제. 한국생물공학회지 **10**: 589-597.
- 하효철, 박신, 박경숙, 이춘우, 정인창, 김선희, 권용일, 이재성. 1995. 톱밥배양한 버들송이의 균사체로부터 단백다당류의 분리 및 정제. 한국균학회지 **23**: 121-128.
- 한만덕, 이준우, 정 훈, 정성균, 이승룡, 윤경하. 1995. *Ganoderma lucidum* IY009 균사체로부터 추출된 ganoderan의 항암 및 항보체 활성화에 미치는 탄소원의 영향. 한국균학회지 **23**: 209-225.
- Bose. S. R. 1995. Campestrin the antibiotic of *Psalliota campestris*. *Nature*. **175**: 468. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
- Chaplin, M. F. and Kenndy, J. F. 1986. Carbohydrate analysis, A Practical Approach. IRL Press. Oxford and Washington, D. C. 2.
- Fukuda, K., Uematsu, T., Hamada, A., Akiya, S., Komatsr, N. and Okubo, S. 1975. The polysaccharide from *Lamptermomyces japonicus*. *Chem. Pharm. Bull.* **23**: 9.
- Goro, C., Juxji, H., Yukiko, M., Yoshiko, A. and Fumiko, F. 1970. Antitumor polysaccharide derived chemically from natural glucan (pachyman). *Nature* **225**: 943.
- Hyun, J. W. 1993. Studies on antitumor components of *Agrocybe cylindracea*. Ph.D. thesis. University of seoul national, Korea.
- Kayoko, F., Takayosh, U., Akira, H, Shichiro, A, Noaumiko, K. and Sachie, O. 1975. The polysaccharide from *Lamptermomyces japonicus*. *Chem. Pharm. Bull.* **23**: 1955-1959.
- Komatsu, N., Olubo, S., Kikumoto. S., Kikmuro., Saito, G., and Skai, S. 1969. Host mediated antitumor action of schizophyllan a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann.* **60**: 137-144.
- Mizuno, T., Ando, M., Sugie, R., Ito, H., Shimura, K., Sumiya, T., and Matsura, A. 1992. Antitumor activity of some polysaccharides isolated from an edible mushroom, Ningyotake, the fruiting body and the cultured mycellum of *polyporus confluens*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**: 34-41.
- Neal. J. M., Benedict, R. G. and Brady, L. R. 1968. Interrelationship of phosphate nutrition, nitrogen metabolism and accumulation of key secondary metabolites saprophytic cultures of *Psilocybo cubensis*, *Psilocybe cyanescens* and *Panaevlus companulatus*. *J. Pharm. Sci.* **57**: 166-167.
- Suzuki, I., K. Hashimoto, S. Oikawa, K. Sato, M. Osawa, M. and Yadomae, T. 1980. Antitumor and immunomodulating activities of a β -glucan obtained from liquid-cultured *Grifola flondosa*. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 410-413.
- Tadashi K., Isao Y., Katsuyuki N., Shigeo U. and Chihiro H. 1989. (1-3)- α -D-Glucan from alkaline extract of *Agrocybe cylindracea*, and antitumor activity of its-O-(carboxy methylated) derivatives, *Carbohydrate Research* **189**: 273-279.
- Yuko Yoshioka, Ryoko Tabeta, Hazime Saito, Nobuaki Uehara and Fumiko Fukuoka. 1985. Antitumor polysaccharides from *P. Ostreatus* (FR.) QUCL.; Isolation and structure of α - β -glucan. *Carbohydrate Research* **140**: 93-100.
- Yuko Y. T. I., Masako, N. and Fumiko F. 1972. Studies on antitumor activity of some fractions from basidiomyces I. An antitumor acidic polysaccharide fraction of *P. ostreatus* (Fr.). *Chem. Pharm. Bull.* **20**: 1175-1180.