

## 효모변이주 *Saccharomyces cerevisiae* IS2 세포벽 유래의 베타글루칸 면역활성능에 관한 연구

박정훈\* · 강만식 · 김홍일<sup>1</sup> · 정봉현<sup>2</sup> · 이광호<sup>1</sup> · 문원국<sup>3</sup>

바이오프로젠 기업부설연구소, <sup>1</sup>건국대학교 생명과학부 생명공학과,  
<sup>2</sup>한국생명공학연구원 융합생명공학연구실, <sup>3</sup>엔바이오테크놀로지 부설연구소

### Study on Immuno-stimulating Activity of $\beta$ -Glucan Isolated from the Cell Wall of Yeast Mutant *Saccharomyces cerevisiae* IS2

Jeong-Hoon Park, Man-Sik Kang, Hong-Il Kim<sup>1</sup>, Bong-Hyun Chung<sup>2</sup>,  
Kwang-Ho Lee<sup>1</sup> and Won-Kuk Moon<sup>3</sup>

Research Institute, Bioprogen Co., Ltd.

<sup>1</sup>Department of Biotechnology, Faculty of Life Science, Konkuk University

<sup>2</sup>Laboratory of Integrative Biotechnology, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

<sup>3</sup>Research Institute, En-Bio technology Co., Ltd.

Yeast cell wall mutant, *Saccharomyces cerevisiae* IS2 was screened by the NTG treatment of *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 7911. The mutant was highly resistant to zymolase, which specifically degrades  $\beta$ -1,3-D-glucose chain of  $\beta$ -glucan and mechanical disruption by glass beads. These phenomena demonstrate that the yeast mutant has cell wall structure different from the wild-type. The  $\beta$ -glucan of yeast mutant and wild-type strains was recovered by sequential extraction with NaOH. The injection of  $\beta$ -glucan into the abdominal cavity of mouse resulted in an increase in the number of peritoneal immune cells, NO (nitric oxide) production, and phagocytic activity of macrophage. The number of immune cells was found to be  $3.90 \times 10^6$  cells/10 mL and  $5.48 \times 10^6$  cells/10 mL with the wild-type and mutant  $\beta$ -glucan, respectively. The effect on the NO production and phagocytic activity of mutant  $\beta$ -glucan were 1.69 and 1.43-fold higher than those of wild-type. These results indicate that the immuno-stimulating activity of alternated  $\beta$ -glucan from mutant yeast is higher than that of wild-type.

**Key words:** yeast cell wall mutant,  $\beta$ -glucan, NO production, phagocytic activity, immuno-stimulating activity

## 서 론

글루칸은 자연상태에서 단순한 포도당으로 연결되어 있는 알파글루칸과 베타글루칸으로 분류되며, 알파글루칸은 일반적으로 식물의 전분속에, 베타글루칸은 곡물, 버섯 및 효모의 세포벽 내에 존재하는 것으로 알려져 있다. 특히 베타글루칸은 알파글루칸과 다르게 비특이적 면역반응을 나타내어 소화기관내에 흡수시 체내 면역기능을 획기적으로 증진시키는 것으로 알려져 있으며, 또한 유해 미생물, 바이러스, toxin, 곰팡이 등에 대하여 다양한 자극을 통해 매우 강한 독소를 발생시켜 이를 효율적으로 억제, 제거하는 역할을 한다고 한

다(4,5,9,11,15). 일반적으로 효모, 버섯 및 보리나 귀리 등 곡물 유래의 베타글루칸은 명확한 구분없이 통칭하여 베타글루칸으로 사용되고 있지만 포도당이 연결되어 있는 구조와 효능 및 물성에서 조금씩 차이를 보인다. 예를 들면, 표고버섯 자실체로부터 분리되는  $\beta$ -1,3 glucan인 lentinan을 제외한 대부분의 버섯 유래의 베타글루칸은 수용성으로 알려져 있으며, lentinan은 생체 내에서 감염 방어 등의 면역기능을 나타내는 보체계(complement system)를 활성화시키는 역할을 하여 항종양효과를 발휘하는 것으로 보고되고 있다(12,22). 한편 보리나 귀리 등의 세포벽에 존재하는 베타글루칸은 효모의 경우  $\beta$ -(1,3)과  $\beta$ -(1,6)-glucan 결합이 주된 구조로 되어 있는데 반해  $\beta$ -(1,3)과  $\beta$ -(1,4)-glucan 결합이 3:7의 비율로 이루어진  $\beta$ -glucan으로 보리의 경우 그 함량이 3.0~6.9%이고 그 중 수용성 부분은 38~69%로 알려져 있다(18). 이러한 곡물유래의 베타글루칸의 섭취는 체내 혈중 콜레스테롤치를 저하시켜 심장질환을 예방하며 지방의 축적을 억제하는 등 성인병의 예방에 탁월한 효과가 있다고 보고되고 있다(17,18).

\*Corresponding author : Jeong-Hoon Park, Research Institute, Bioprogen Co., Ltd., 461-6 Jeonmin-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Korea  
Tel: 82-42-861-7184  
Fax: 82-42-861-7189  
E-mail: jhpark@bioprogen.com

효모(*Saccharomyces cerevisiae*)는 인체에 무해한 GRAS 미생물로서 오래전부터 주류, 제빵 및 식품분야에서 사용되어 왔으며 이 외에도 단백질, nucleic acids, 비타민, 지질 등 다양한 유용물질을 생산하기 위한 원료로도 사용되고 있다. 특히 효모의 자가소화(autolysis)에 의해 생산되는 효모추출물(yeast extract)은 미생물 발효배지, 조미료, 건강식품 등의 원료로 전세계적으로 큰 시장을 형성하고 있다<sup>(10)</sup>. 효모추출물의 제조시 얻어지는 부산물인 효모세포벽은 주성분인 베타글루칸( $\beta$ -glucan)과 만노단백질(mannoprotein) 및 소량의 키틴과 지방으로 구성되어 있다<sup>(14,16)</sup>. 특히, 베타글루칸이 동물의 면역기능을 강화시키는 물질로 보고되고 내성이 없는 천연 면역조절제로서 주목을 받으면서 많은 연구결과를 통해 베타글루칸의 탁월한 효능이 밝혀지고 있으며<sup>(7,9,19)</sup> 선진국에서는 화장품, 면역활성 촉진제 및 항암제 혹은 피부재생을 위한 치료제, 식이섬유나 식품첨가제 등 다양한 분야에서 베타글루칸이 응용되고 있다<sup>(8,10,20,21)</sup>. 이러한 베타글루칸의 뛰어난 효능에도 불구하고 국내에서는 효모의 용도가 단순한 효모추출물 혹은 건조효모의 형태로 사용되는 건강보조식품과 생균제 형태로 사용되는 사료첨가제가 주류를 이루고 있는 실정이다. 그리고 관련분야에서 사용되는 효모균주 역시 주류산업에서 생산되는 맥주효모와 제빵산업에 이용되는 빵효모가 주로 사용되고 있어 효모관련 제품의 고부가가치화 및 고기능화를 위해서 효능이 강화된 효모균주의 개발과 함께 개발된 효모균주 유래의 생리활성물질에 대한 연구가 요구되고 있다.

본 연구에서는 이미 효능이 입증된 베타글루칸의 면역활성능을 더욱 향상시키기 위한 연구로 효모에 인위적인 돌연변이를 가하여 효모세포벽에 변이가 유도된 효모변이주를 선발하였으며, 선발된 효모변이주와 wild-type으로부터 추출한 베타글루칸의 면역활성능을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 보존

효모변이주 개발을 위한 모균주로는 *Saccharomyces cerevisiae* KCTC 7911을 사용하였다. 모든 균주는 YPD(2% glucose, 2% peptone, 1% yeast extract) agar 배지에 도말하여 2~3일 항온 incubator에 보관하여 배양한 후 4°C 냉장고에 보관하면서 1개월마다 계대배양하여 사용하거나 YPD 배지에서 대수기 중기까지 액체배양한 후 40% glycerol 에 현탁하여 -70°C deep freezer에 냉동보관하여 사용하였다.

### 효모의 돌연변이 처리법

효모에 돌연변이를 유발하여 목적하는 변이주를 선발하기 위해 Carlton 등<sup>(6)</sup>의 방법을 응용하여 사용하였다. *S. cerevisiae* KCTC 7911 균주를 YPD 배지에 접종하여 대수기 중기까지 배양한 후 7000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 효모를 수확하고 효모의 농도가  $1\sim 2 \times 10^8$  cells/mL이 되게 희석하여 멸균증류수로 3번 세척한 후 돌연변이원인 NTG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, Sigma)를 이용하여 생존률(survival rate)이 0.1%가 되도록 돌연변이시켰다. 상기의 방법으로 돌연변이 처리된 효모를 수확하여 멸균증류수로 세척

한 후 600  $\mu$ g/mL의 zymolase(Sigma)가 첨가된 YPD 배지에 30°C에서 6시간 배양한 후 원심분리하여 수확하였다. 수확한 효모를 멸균증류수로 세척한 후 glass bead를 동량 첨가하고 강력하게 30초 동안 진탕(Vortex GENIE 2, Scientific Industries, Inc., USA)하였다. 액상부분을 취하여 효모를 재수확하고, 다시 600  $\mu$ g/mL의 zymolase가 첨가된 YPD 배지에 30°C에서 3시간 배양한 후 수확하였다. 상기의 과정을 2회 더 반복한 후 수확한 효모를 YPD agar 배지에 도말하고 30°C incubator에 보관하여 자라는 군체(colony)들을 zymolase에 대해 내성을 보이는 변이주로 선발하였다.

### 선발된 효모변이주의 zymolase 농도별 내성실험 방법

효모변이주의 zymolase에 대한 내성실험을 농도별로 수행하였다. 효모변이주들을 0  $\mu$ g/mL에서 800  $\mu$ g/mL의 zymolase를 첨가한 YPD 배지에 접종하여 진탕배양기에서 6시간 배양한 후 상대적인 세포성장 정도를 비교 측정하여 내성정도를 측정하였다.

대조구로는 모균주인 *S. cerevisiae* KCTC 7911를 사용하였으며, 3회 반복실험 후 zymolase가 첨가되지 않은 조건에서 배양한 세포성장 농도와 zymolase가 0~800  $\mu$ g/mL 첨가된 조건에서 배양한 세포성장 농도의 비를 %로 환산하였다.

### 효모세포벽으로부터 베타글루칸의 추출방법

효모세포벽으로부터 베타글루칸의 추출은 Kelly 등<sup>(13)</sup>의 방법을 변형하여 사용하였다.

배양된 효모를 7,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 수확한 후 증류수로 1회 세척한 후 다시 원심분리하였다. 80 g의 건조효모를 3% NaOH 1,000 mL에 분산시켜 90~95°C에서 강력하게 현탁하면서 1시간 동안 반응을 시켰다. 2,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 고형성분을 수확하였다. 고형성분을 3% NaOH 2,000 mL에 재현탁하여 75°C에서 3시간동안 처리한 후 실온에서 24시간 방치하였다. 2,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 고형성분을 다시 수확한 후 HCl로 pH가 4.5로 조정된 2,000 mL에 현탁하여 75°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 완료된 후 2,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 고형성분을 수확하고 증류수로 3회 세척하였다. 최종적으로 ethanol로 1~2회 세척한 후 dry oven에서 건조하여 베타글루칸 분말을 얻었다.

### 복강 면역세포의 NO(nitric oxide) 생성능 측정

추출한 베타글루칸 분말을 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 충분히 녹인 후 이를 PBS(2.56 g/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 22.5 g/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 87.9 g/L NaCl, pH 7.2)에 5 mg/mL의 농도로 희석한 후 7주령의 생쥐(balb/c)에 0.2 mL씩 복강주사 하였다.

주사 3일 후 차가운 Hank's solution(0.185 g/L  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.09767 g/L  $\text{MgSO}_4$ , 0.4 g/L KCl, 0.06 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.8 g/L NaCl, 0.04788 g/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1.0 g/L D-Glucose, 0.011 g/L Phenol Red · Na, 0.35 g/L  $\text{NaHCO}_3$ , pH 7.0) 5 mL에 채취한 복강세포를  $5 \times 10^6$  cells/mL되게 희석한 후 microtiter plate에 100  $\mu$ L씩 분주하고, 글루칸 샘플을 1 mg/mL되게 희석하여 100  $\mu$ L씩 첨가하였다. 37°C에서 20시간 배

양 후 배양 상등액 100  $\mu$ L를 다른 well로 옮긴 후 griess(10 g/L Sulfanilamide, 1.0 g/L N-(1-Naphthyl) ethylenediamine-dihydrochloride, 2.5 g/L  $H_3PO_4$ ) 시약 100  $\mu$ L를 첨가하여 혼합하였다. 상온에서 10분간 방치한 후 microplate reader로 550 nm에서 흡광도를 읽어 NO 생성능을 측정하였다. 대식세포의 활성이 복강주사된 베타글루칸 불용성 입자에 의해 비특이적으로 활성화될 수 있으나, 본 실험에서는 불용성 베타글루칸을 DMSO를 이용하여 현탁 상태로 녹였으며, 비록 입자가 남아있어도 대조구와 실험구에서 동일한 조건의 처리를 거쳐 실험하였으므로 측정된 수치의 변화는 베타글루칸 성분에 의한 차이로 해석하였다.

### 복강 면역세포를 이용한 대식세포 탐식능의 측정

복강 면역세포를 이용한 대식세포 탐식능은 Abel<sup>(1)</sup> 등이 사용한 방법을 응용하여 측정하였다. 글루칸 샘플을 7주령된 생쥐에 복강주사하고 3일 후 채취한 복강 면역세포를 이용하여 대식세포의 활성화와 탐식능을 측정하였다. 세포의 활성화는 beads의 탐식능 정도로 판단하였으며, 세포의 형태 변화를 참고하였다. 탐식능은 탐식한 형광표시 latex beads(poly-science.co. 0.75  $\mu$ m)에 의한 형광강도를 Flow cytometer를 이용하여 측정하여 전체 대식세포 중 형광강도가 강한 집단의 비를 %로 나타내었다. 세포 형태의 변화는 FSC 및 SSC를 측정하였다. 채취한 복강세포를  $1 \times 10^6$  cells/mL로 희석한 후 15 mL 튜브에 희석하고 비드(2.5% 형광 latex beads) 1.125 mL과 세포 0.3 mL을 혼합하였다. 진탕하면서 수시간 37°C에서 방치하였다.

원심분리 후 차가운 PBS로 세포를 3회 세척하고, 2.5% formaldehyde/PBS 5 mL에 현탁하였다. 20분간 얼음에 방치한 후 탐식세포를 Fluorescence-Activated Cell Sorter(FACS)로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 모균주로부터 효모돌변이주의 선발과 zymolase 내성 실험

모균주를 돌연변이원인 NTG로 처리한 후 원하는 효모돌연변이주의 출현을 높일 수 있는 인자(selective pressure)로 세포벽 분해효소인 zymolase와 glass bead에 의한 mechanical stress를 차례대로 가하여 효모돌변이주를 선발하였다. 그리고 selective pressure 처리과정을 여러번 반복하여 최종적으로 선발된 효모돌변이주가 세포벽에 변화가 일어난 변이주일 가능성을 최대화하여 효모돌변이주라 예상되는 36개의 효모 colony를 1차적으로 얻을 수 있었다. 효모세포벽은  $\beta$ -1,3-D-glucan이 주축에  $\beta$ -1,6 결합으로 연결된 glucose가 곁가지를 구성하는 다당체로서 세포벽 분해효소인 zymolase를 처리할 경우  $\beta$ -1,3-D-glucan을 분해하여 효모 세포벽 구조를 파괴하게 된다. 이로 인해 효모의 lysis가 일어나게 되고 흡광도를 측정할 경우 zymolase에 내성이 약한 변이주는 흡광도가 급격히 떨어지게 된다. 그러므로 세포벽 분해효소인 zymolase가 처리된 조건에서도 흡광도가 높게 유지되는 변이주는 세포벽의 구조에 변이가 일어났을 확률이 높은 것으로 예상된다. 1차 선발된 36종 효모돌변이주들의 zymolase에 대한 내성 실험을 0~800  $\mu$ g/mL의 zymolase 농도에서 수행하여 변이주를

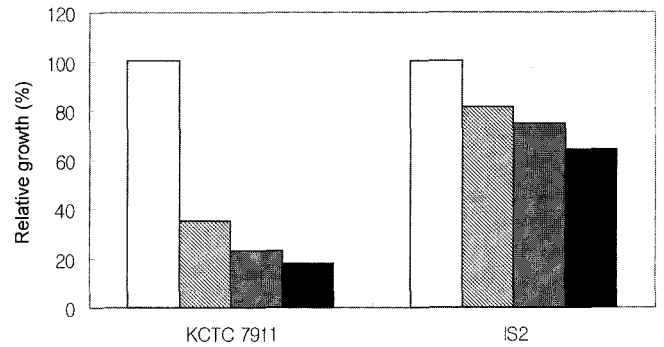


Fig. 1. Comparison of relative growth of wild-type, KCTC 7911 and yeast cell wall mutant, IS2 under various zymolase concentration.

The relative growth was expressed as % ratio of cell growth in YPD broth containing initially added zymolase to control. Zymolase was not added in the control. Each cultivation of KCTC 7911 and IS2 was performed at 30°C for 6 hr.

Table 1. Extraction yields of  $\beta$ -glucan from *S. cerevisiae* KCTC 7911 and *S. cerevisiae* IS2

	Yield (%) <sup>1)</sup>
<i>S. cerevisiae</i> KCTC 7911	13.77 $\pm$ 0.55
<i>S. cerevisiae</i> IS2	14.05 $\pm$ 0.70

<sup>1)</sup>The yield was measured as a dried weight of the  $\beta$ -glucan extracted from 100 g of dried yeast.

최종적으로 선발하였다. 36종 효모 변이주들을 0~800  $\mu$ g/mL의 zymolase를 첨가한 YPD 배지에 접종하여 진탕배양기에서 6시간 배양한 후 상대적인 세포성장 정도를 흡광도로 비교 측정하였으며 최종적으로 zymolase에 대해 내성이 월등한 *S. cerevisiae* IS2를 선발하여 한국생명공학연구원내 미생물기탁센터에 기탁(KCTC 0959BP)하였다(Fig. 1). 그리고 모균주인 *S. cerevisiae* KCTC 7911과 *S. cerevisiae* IS2로부터 베타글루칸을 추출하여 면역활성능을 조사하였다(Table 1).

### 효모돌변이주 세포벽 유래 베타글루칸이 면역기능에 미치는 영향

선발된 효모돌변이주의 세포벽 유래 베타글루칸이 면역 활성능 증강에 미치는 효과를 조사하였다. 최근까지 효모세포벽에 존재하는 베타글루칸은 면역기능을 강화시키며, 항암 효과가 있다고 알려져 있으며, 특히 자연 면역세포(innate immune cells)의 활성화에 관여한다고 보고된 바 있다<sup>(2,3,7)</sup>. 자연 면역세포 중 대식세포의 기능은 병원균의 제거, 염증 매개물질의 분비, T 세포의 활성화 및 병원성 균, 바이러스에 감염된 세포, 종양세포, 세포내 침투성 세포를 사멸시키기 위한 cytotoxic protein의 생산과 NO의 분비 등이 있다. 특히, 대식세포가 분비하는 NO의 직접적인 기능은 항 미생물 활성으로 미생물을 사멸시키는 역할을 하며 박테리아, 곰팡이, 기생충, 병원성 원생 동물 등에 대해 아주 강력하게 작용한다. 추출한 베타글루칸을 생쥐에 주사하여 복강면역세포로부터 측정되는 NO와 대식세포의 변화를 분석하여 효모돌변이주 세포벽 유래 베타글루칸이 자연 면역세포의 면역활성에 미치는 영향을 조사하였다. 먼저 베타글루칸 5 mg/mL를 생쥐에

**Table 2. Changes of the number of peritoneal immune cells after the injection of  $\beta$ -glucan into the mouse abdominal cavity**

Samples	Number of peritoneal immune cells <sup>1)</sup> (cells/10 mL)
PBS <sup>2)</sup>	$9.1 \times 10^5$
LPS <sup>2)</sup>	$8.2 \times 10^5$
DMSO <sup>2)</sup>	$2.08 \times 10^6$
Wild-type $\beta$ -glucan	$3.90 \times 10^6$
Mutant $\beta$ -glucan	$5.48 \times 10^6$

<sup>1)</sup>0.2 mL at concentration of 5 mg/mL of samples were injected into the mouse abdominal cavity. Peritoneal immune cells were counted with haemocytometer. The number was expressed as the concentration of immune cells contained in 10 mL.

<sup>2)</sup>Negative control.

**Table 3. Effect of  $\beta$ -glucan on NO production of macrophages from the mouse abdominal cavity**

Samples	O.D. <sup>1)</sup> (550 nm)
PBS <sup>2)</sup>	$0.052 \pm 0.0015$
DMSO <sup>2)</sup>	$0.052 \pm 0.0005$
Wild-type $\beta$ -glucan	$0.052 \pm 0.0006$
Mutant $\beta$ -glucan	$0.058 \pm 0.0006$

<sup>1)</sup>O.D. indicates NO producing ability of macrophages from the mouse abdominal cavity.

<sup>2)</sup>Negative control.

**Table 4. Effect of  $\beta$ -glucan on the phagocytic activity of macrophages from the mouse abdominal cavity**

Samples	Activity of macrophage <sup>1)</sup> (%)	Phagocytosis <sup>2)</sup> (%)
LPS <sup>3)</sup>	32.12	16.32
PBS <sup>3)</sup>	28.98	17.61
Wild-type $\beta$ -glucan	62.61	35.3
Mutant $\beta$ -glucan	74.09	50.45

<sup>1)</sup>Activity of macrophage was expressed as % ratio of activated macrophages to total macrophages after injection of samples into the mouse abdominal cavity.

<sup>2)</sup>Phagocytosis was measured with Fluorescence-Activated Cell Sorter (FACS) and expressed as % ratio of macrophages which emitted intensive fluorescence to total macrophages.

<sup>3)</sup>Negative control.

0.2 mL 복강 주사 후 3일 후에 복강에서 채취한 세포수를 haemocytometer로 측정한 후 10 mL에 포함된 세포의 농도로 나타내었다(Table 2).

Wild-type과 효모변이주로 부터 추출한 베타글루칸을 복강 주사했을 때 복강내 면역세포수가 음성 대조구인 PBS, LPS, DMSO에 비해 2배 이상 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 효모변이주로 부터 추출한 베타글루칸을 복강 주사했을 때 wild-type 베타글루칸에 비해 면역세포의 수치가 약 1.4배 더 증가하였다. 이러한 수치로 미루어 주사된 베타글루칸에 의해 복강내 면역세포의 생성이 촉진되는 것을 확인할 수 있었으며, 변이주 베타글루칸이 wild-type 베타글루칸 보다 면역세포의 촉진에 더욱 효과적임을 알 수 있었다. Wild-type과 효모 변이주 유래의 베타글루칸을 복강주사 한 후 채

취한 복강면역세포로부터 NO 생성능을 측정하였다. 측정결과 대조구인 wild-type 베타글루칸은 0.052의 O.D 값을 나타냈으며, 변이주의 베타글루칸은 각각 0.058을 보여 wild-type 베타글루칸에 비해 1.12배 정도 NO 생산능 증가를 보였다. 이로 미루어 wild-type 베타글루칸에 비해 변이주의 베타글루칸이 복강세포의 생리적 활성의 유도에 더욱 뛰어난 효능을 발휘하는 것으로 밝혀졌다(Table 3).

대식세포의 활성도는 wild-type 베타글루칸과 변이주 베타글루칸을 주사한 경우 각각 62.61%와 74.09%을 보여 NO 생성능과 마찬가지로 변이주의 베타글루칸이 wild-type 베타글루칸에 비해 약 12% 높은 활성도를 보였다. 그리고 대식세포 탐식능은 변이주의 경우 50.45%로 측정되어 wild-type의 35.3%에 비해 약 70% 높은 수치를 기록하여 대식세포의 활성도에 비례하여 탐식능도 증가함을 확인할 수 있었다(Table 4). 이러한 결과들로 미루어 변이주 베타글루칸이 wild-type 베타글루칸보다 훨씬 우수한 면역활성 촉진능력을 가지고 있음을 증명할 수 있었다.

## 요 약

*S. cerevisiae* KCTC 7911에 돌연변이를 유도하고 selective pressure로서 세포벽 분해효소인 zymolase와 mechanical stress인 glass bead를 차례로 처리하여 효모변이주를 *S. cerevisiae* IS2를 선발하였다. *S. cerevisiae* IS2는 세포벽 분해효소인 zymolase의 농도별 내성실험 결과 wild-type에 비해 훨씬 강한 내성을 보여 세포벽에 변화가 일어난 균주로 예상된다. 효모변이주와 wild-type으로부터 베타글루칸을 추출하여 면역활성에 미치는 영향을 조사하기 위해 생쥐의 복강에 주사하고 생성되는 면역세포의 수, NO 생성능, 및 면역세포의 대다수를 차지하는 대식세포의 탐식능을 측정하였다. 베타글루칸을 쥐의 복강에 주사하였을 때 베타글루칸의 종류에 상관없이 면역세포의 수, NO 생성능 및 대식세포의 활성도가 증가하는 결과를 얻을 수 있었다. 특히 변이주 베타글루칸을 주사하였을 경우 wild-type 베타글루칸에 비해 면역세포의 수는 1.40배, NO 생성능은 1.12배, 대식세포의 활성도와 탐식능은 각각 1.18배와 1.43배 높은 수치를 얻을 수 있었다. 이러한 결과들로 미루어 변이주 베타글루칸이 wild-type 베타글루칸보다 우수한 면역활성 촉진능력을 가지고 있음을 증명할 수 있었으며, 고부가가치 기능성 면역물질로서의 응용 가능성을 확인할 수 있었다.

## 문 헌

1. Abel, G., Szollosi, J., Chihara, G. and Facht, J. Effect of lentinan and mannan on phagocytosis of fluorescent latex microbeads by mouse peritoneal macrophages: a flow cytometric study. *Int. J. Immunopharmacol.* 11: 615-621 (1988)
2. Bogward, J., Johnson, E. and Seljelid, R. The cytotoxic effect of mouse macrophages stimulated *in vitro* by a  $\beta$ -1,3-D-glucan from yeast cell walls. *J. Immunol.* 15: 297-304 (1982)
3. Bohn, J.A. and BeMiller, J.N.  $\beta$ -1,3-D-glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydr. Polym.* 28: 3-14 (1995)
4. Browder, I.W., Williams, D., Sherwood, E., McNamee, R., Jones, E. and DiLuzio, N. Synergistic effect of nonspecific immunostim-

- ulation and antibiotics in experimental peritonitis. *Surgery* 102: 206-214 (1987)
5. Buddle, B.M., Pulford, H.D. and Ralston, M. Protective effect of glucan against experimentally induced staphylococcal mastitis in ewes. *Vet. Microbiol.* 16: 67-76 (1988)
  6. Calton, B.C. and Brown, B.J. Gene mutation, pp. 222-242. In: *Manual of Methods for General Bacteriology*. ASM, Washington DC, USA (1981)
  7. Cleary, J.A., Kelly, G.E. and Husband, A.J. The effect of molecular weight and  $\beta$ -1,6-linkages on priming of macrophage function in mice by  $\beta$ -1,3-D-glucan. *Immunol. Cell Biol.* 77: 395-403 (1999)
  8. Donizis, R.A. Substantially purified  $\beta$ -1,3-finely ground yeast cell wall glucan composition with dermatological and nutritional uses. US Patent 5,576,015 (1996)
  9. DiLuzio, N.R. Immunopharmacology of glucan: a broad spectrum enhancer of host defense mechanisms. *Trends Pharmacol. Sci.* 4: 344-347 (1983)
  10. Dziezak, J.D. Yeasts and yeast derivatives-Applications. *Food Technol.* 41: 122-125 (1987)
  11. Franek, J., Malina, J., and Kratka, H. Bacterial infection modulated by glucan: a search for the host defense potentiation mechanisms. *Folia Microbiol. (Praha)* 37: 146-152 (1992)
  12. Hong, J.S., Lee, K.R., Kim, Y.H., Kim, D.H., Kim, M.K., Kim, Y.S. and Yeo, K.Y. Volatile Flavor Compounds of Korean Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*). *Korean J. Food Sci. Technol.* 20: 606-615 (1988)
  13. Kelly, and Edmund, G. Process for glucan preparation and therapeutic uses of glucan. US Patent 6,242,594 (2001)
  14. Klis, F.M. Review: Cell wall assembly in yeast. *Yeast* 10: 851-869 (1994)
  15. Kokoshis, P.L., Williams, D.L., Cook, J.A. and DiLuzio, N.R. Increased resistance to *Staphylococcus aureus* infection and enhancement in serum lysozyme activity by glucan. *Science* 199: 1340-1342 (1978)
  16. Manners, D.J., Masson, A.J. and Patterson, J.C. The structure of a  $\beta$ -(1,3)-D-glucan from yeast cell walls. *Biochem. J.* 135: 19-30 (1973)
  17. Newman, R.K., Lewis, S.E., Newman, C.W., Boik, R.J. and Pamage, R.T. Hypocholesterolemic effect of barley foods on healthy men. *Nutr. Rep. Int.* 39: 749-760 (1989)
  18. Oh, H.J. and Lee, S.R. Physiological function *in vitro* of  $\beta$ -glucan isolated from barley. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 689-695 (1996)
  19. Reynolds, J.A., Castello, M.D., Harrington, D.G., Crabbs, C.L., Peters, C.J., Jemski, J.V., Scott, G.H. and DiLuzio, N.R. (1980) Glucan-induced enhancement of host resistance to selected infectious diseases. *Infection Immunity* 30: 51-57.
  20. Robbins, E.A. and Seeley, R.D. Cholesterol lowering effect of dietary yeast and yeast fractions. *J. Food Sci.* 42: 694-698 (1977)
  21. Seeley, R.D. Fractionation and utilization of baker's yeast. *MBAA Tech. Q.* 14: 35-39 (1977)
  22. Suga, T., Shiio, T., Maeda, Y.Y. and Cjihara, G. Antitumor activity of lentinan in murine syngenic and autochthonous hosts and its suppressive effect on 3-methyl-cholanthrene-induced carcinogenesis. *Cancer Res.* 44: 5132-5137 (1984)

---

(2003년 2월 11일 접수; 2003년 5월 30일 채택)