

## Effect of Glutamic Acid on Polysaccharide Production from *Agaricus blazei* in Liquid Culture

황정민<sup>1</sup>, 임영수<sup>1</sup>, 권명상<sup>2</sup>, 최정우<sup>3</sup>, 한진수<sup>4</sup>, 홍억기<sup>1</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 환경·생물공학부, <sup>2</sup>수의학과, <sup>3</sup>서강대학교 화학공학과, <sup>4</sup>삼성생명과학연구소  
전화 (0361) 250-6275, FAX (0361) 243-6350

### Abstract

The polysaccharide has been known to have an antitumor activity, which were extracted from the fruiting bodies, mycelia, and culture broths of *Agaricus blazei*. For the cell growth and the polysaccharide production, the optimal medium contained 8% glucose, 2% yeast extract, 0.1% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.2% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.2% CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O and 0.2% MnSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O. When 0.2% of glutamic acid was added at 4day, the cell concentration was 13.5 g/L and the polysaccharide production was 9.9 g/L, respectively.

### 서 론

지구상에 알려진 균류는 약 70,000종으로 이 중에서 약 10,000종이 고도로 진화된 균류의 그룹인 담자균류에 포함되며, 이들은 버섯(mushroom)이라는 육질의 자실체를 형성<sup>1)</sup>하는 특징을 나타낸다. 현재까지 제약 및 의학적인 방법이 질병의 주된 치료방법으로 이용되어 왔지만 최근에 와서 버섯 자실체 및 균사체 추출물의 섭취가 만성질환의 발생을 억제 또는 지연시킨다는 연구보고가 나오면서부터 만성질환의 치료방법으로써 식이요법을 중요하게 생각하게 되었으며, 기능성 식품소재 및 각종 약리 활성을 나타내는 신약개발 소재로도 크게 주목을 받고 있다. 이중 *Coriolus versicolor*<sup>2)</sup>, *Ganoderma lucidum*<sup>3)</sup>, *Phellinus linteus*<sup>4)</sup>, *Agaricus blazei*<sup>5)</sup>등으로부터 얻은 단백다당체가 항암효과가 있다고 보고되고 있으며, 특히 *Agaricus blazei* 버섯은 고형암 이외에 S형 결장암, 난소암, 유방암, 폐암, 간암 등에 효과가 입증되었고, 천연물질에 의한 암 면역요법으로 각광을 받고 있으며, 항암 및 항 virus의 완치율과 저지율에서 현재 여러 가지 약효가 있는 버섯 중에서도 탁월한 효과가 있는 것으로 증명되고 있다. 그러나 아직까지는 *Agaricus blazei*의 자실체로부터 다당체의 특성에 관한 연구가 많이 보고되어 있고 액체배양을 통한 종균개발과 세포의 다당체 생산을 위한 배양조건에 대해서는 알려져 있지 않다. 이러한 액체배양에 의한 세포의 다당체 생산의 경우는 고체 배양에 의한 세포의 다당체 생산에 비해 일정한 조건하에서 배양이 가능하다는 장점이 있으므로 항상 균일한 균사체 및 배양액을 얻을 수 있으며 원하는 유용물질을 쉽게 획득하는 장점이 있다.

따라서 본 연구에서는 *Agaricus blazei*의 균체량 및 세포의 다당체 생산을 향상시키기 위하여 이차대사산물의 생산을 위한 중요한 인자인 amino acid의 영향을 비교 검토한 결과 최적의 amino acid로써 glutamic acid를 결정하였고 결정된 glutamic acid의 최적 첨가 시기를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 담자균류의 일종인 *Agaricus blazei*을 사용하였으며, 보관용 배지로는 PDA(potato dextrose agar)를 사용하였다. 균주 배양을 위한 기본배지로서는 fungi의 기본배지로 사용되고 있는 YMK media를 사용하였으며 그 조성은 glucose 20g/L, yeast extract 5g/L,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  1g/L,  $KH_2PO_4$  2g/L 으로 구성되어 있다.

### 배양조건

전배양에서는 선택배지인 YMK medium(2% glucose, 0.5% yeast extract, 0.2%  $KH_2PO_4$ , 0.1%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )을 기본배지로 사용하였다. 본 배양의 플라스크배양과 생물반응기를 이용한 회분배양에서는 modified medium(8% glucose, 2% yeast extract, 0.2%  $KH_2PO_4$ , 0.1%  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.2%  $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ ,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ )을 사용하여 수행하였다. 이 균주의 배양은 냉동보관된 12ml의 활성화된 stock을 250mL flask (working volume 50mL)에 접종하여 7일간 전배양을 실시하였으며 본 배양은 전배양의 5%를 접종하여 행하였다. Flask 배양은 27°C, 150 rpm, 초기 pH 5.5로 조절하여 배양하였으며 회분배양은 5L 생물반응기에서 working volume 3L로 하여 27°C, 200 rpm, 0.5 vvm으로 7일간 배양하였다.

## 결과 및 고찰

polysaccharide 생산에 가장 좋은 영향을 미친 glutamic acid 2g/L를 배양초기와 exponential phase 단계에 각각 첨가하여 균체성장 및 polysaccharide 생성의 영향을 비교·검토 하였다.

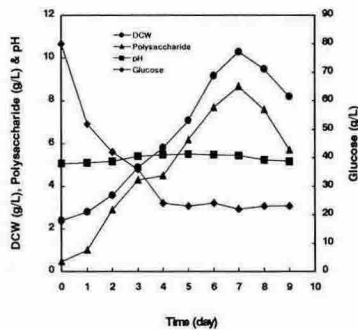


Fig. 1 Profiles of cell growth, glucose, pH and polysaccharide production with adding 2g/L glutamic acid at the start of the cultivation

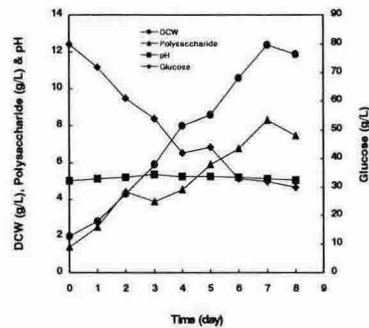


Fig. 2 Profiles of cell growth, glucose, pH and polysaccharide production with adding 2g/L of glutamic acid at 3day

Fig 1.는 glutamic acid를 배양초기에 첨가한 결과로 균체량 및 polysaccharide의 생성량은 10.3 g/L와 8.7 g/L를 나타내었다. 또한 배양 3일째 glutamic acid를 첨가한 경우인 Fig 2.에서는 배양초기에 첨가된 경우보다 균체량이 12.4 g/L로 증가된 결과를 나타내었으며, polysaccharide의 생성량 다소 감소한 결과를 얻었다. Fig 3.은 배양 4일째 glutamic acid를

첨가했을 경우로 균체 성장은 배양 7일 정도에서 stationary phase에 도달하였고, 균체량은 약 12.9 g/L 정도를 얻을 수 있었다. polysaccharide의 생성량은 배양 5일경에 다소 불안하였으나 배양 7일경 9.1 g/L로 가장 많은 생산량을 보였는데 이는 균체성장이 가장 활발한 시기에 첨가된 아미노산이 균체성장 및 대사산물 생산에 기여한 것으로 판단된다. 배양 5일과 배양 6일째 glutamic acid를 첨가했을 경우에는 최대 균체량과 polysaccharide 생성량을 보인 배양 4일째 첨가했을 경우보다 균체량과 polysaccharide 생성량이 다소 감소하는 경향을 관찰할 수 있었다. 그러나 결과적으로 배양초기에 glutamic acid를 첨가하였을 경우와 polysaccharide 생산량에 있어서는 별다른 차이를 보이지 않았다. Fig 4.는 생물반응기를 사용한 회분배양에서 glutamic acid를 대수증식기인 배양 4일째에 첨가한 경우로 균체량은 13.5 g/L, polysaccharide 생성량은 9.9 g/L를 생산하였다.

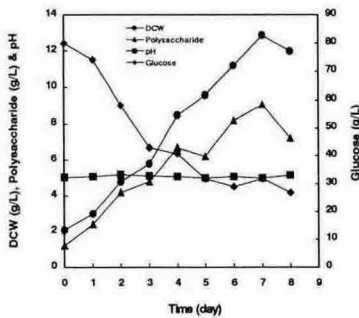


Fig 3. Profiles of cell growth, glucose, pH and polysaccharide production with adding 2g/L of glutamic acid at 4day

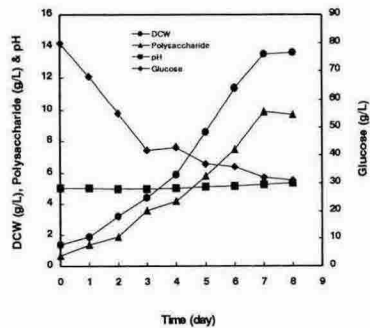


Fig 4. profiles of cell growth, glucose, pH and polysaccharide production with adding 2g/L of glutamic acid at 4day in batch culture

## 요 약

본 연구에서는 담자균류의 일종인 *Agaricus blazei*를 이용한 polysaccharide의 생성을 증가시키고자 glutamic acid의 첨가시기의 영향을 비교·검토하였다. 그결과 2 g/L의 glutamic acid를 배양 4일째인 대수증식기에 첨가하여 polysaccharide 생성을 유도한 경우 배양 7일째에 12.9 g/L의 균체량과 9.1 g/L의 polysaccharide를 생성하였다. 그러나 이러한결과는 배양 초기에 glutamic acid를 첨가했을 경우와 비교하여 볼 때 균체량은 다소 증가 했으나 polysaccharide 생성량에 있어서는 거의 유사한 결과를 나타내는 것이다.

생물반응기를 이용한 회분배양에 있어서도 2 g/L의 glutamic acid를 대수증식기인 배양 4일째에 첨가한 경우 균체량은 13.5 g/L, polysaccharide 생성량은 9.9 g/L를 생산하여 배양결과 최대 생산량을 나타내었다.

## 참 고 문 헌

1. Jae-Yun Lee, Won-Gun An and Jae-Dong Lee, "Studies on the submerged culture of *Lentinula edodes* mycelia in brewer's yeast extract medium" (1994), *The Korean Journal of Mycology.*, 22, 266-275.

2. Lee, B.-W. and M.-S. Lee, "Anticancer activities of the extract from the mycelia of *Coriolus versicolor*" (1992), *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 311-315.
3. M.-D. Han, J.-W. Lee, and H. Jeong, "The effect of carbon sources on antitumor and anticomplementary activities of ganoderan extracted from the mycelium of *Ganoderma lucidum* IY009" (1995), *Kor. J. Mycology.*, **23**, 209-225.
4. 이재훈, 조수목, 고경수, 유익동, "배양 조건에 따른 상황 버섯의 다당류 생산 및 단당류 구성 변화" (1995), *한국균학회지.*, **23**, 325-331.
5. Itoh, H., H. Ito, H. Amano, and H. Noda, "Inhibitory action of a (1→6)- $\beta$ -D-glucan-protein complex isolated from *Agaricus blazei* Murill ("Himematsutake") on meth a fibrosarcoma-bearing mice and its antitumor mechanism" (1994), *Jpn. J. Pharmacol.*, **66**, 265-271.