

Study on Polysaccharide Production with *Paecilomyces japonica* in Flask Culture

박석재¹, 한대석², 홍억기¹

¹강원대학교 생물공학과, ²한국식품개발연구원
전화 (0361) 250-6275, FAX (0361) 243-6350

Abstract

The production of polysaccharide from *Paecilomyces japonica* was studied in the shake flask culture. For the cell growth and the polysaccharide production, the optimum synthetic medium was glucose peptone(YMP) medium. The flask culture conditions for the polysaccharide production were 27°C and 200rpm with the initial pH 9 for 8days cultivation.

서 론

지구상에는 수천종의 버섯류가 자생하고 있고, 우리 식생활과 밀접한 관계를 가져 식용뿐만 아니라 산업용, 약용 등으로 널리 이용되어 오고 있다. 이에 따른 여러 가지 균학적 의미에서의 기본적인 연구 및 생리적 특성, 특히 항암성분에 대한 연구가 활발히 진행되어 오고 있다. 특히 담자균류의 버섯류와는 다르게 곤충의 애벌레, 번데기, 성충에 침입하여 곤충의 몸을 기주로 자실체를 형성하는 곤충기생균의 일종인 동충하초는 집합균강의 Entomophthorales목, 자낭균강의 Clavicipitales목, Laboulbeniales목, 불완전균강의 Moniliales목에 포함되며, 전세계적으로 800여종이 알려져 있고, 우리나라의 경우 70여종이 채집되어 보고된 바 있다.¹⁾

중국의 경우 동충하초속균은 예로부터 불로장생, 강정 강장비약으로 사용되어 왔으며²⁾, 신장과 폐질환 치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있을 뿐만 아니라, 허약체질을 튼튼히 하고 면역력을 높이는 효과가 있다고 하였다.

최근에 Kinjo 등.³⁾은 *Cordyceps militaris*의 배양균사로부터 추출한 물질이 생리활성작용을 하며, *Cordyceps* sp., *C. cicadae*, *C. ophioglossoides*로부터 추출한 polysaccharides에서 항종양 치료효과가 있다고 보고했다. 또한 자실체의 성분분석등을 통하여 자실체의 유용 대사물질들이 밝혀지고 있고, 이중 *C. militaris*에서 분리된 cordycepin(3'-deoxyadenosin)이 mRNA의 합성 저해작용 및 상당한 정도의 항암, 항세균, 항진균효과가 있는 것으로 보고되고 있다

동충하초의 다당체 특성에 관한 연구⁴⁾는 많이 보고되고 있지만 액체배양을 통한 종균개발과 세포의 다당체 생산을 위한 배양조건에 대해서는 거의 알려져 있지 않다. 이러한 액체배

양에 의한 세포의 다당체 생산의 경우는 자실체에 의한 다당체보다 노동력과 시간이 절약된다는 장점 및 항상 균일한 균사체 및 배양액을 얻을 수 있으며 원하는 유용물질을 쉽게 획득하는 장점이 있다.

따라서 본 연구에서는 flask culture를 통해 *Paecilomyces japonica*를 이용한 다당체 생산을 위한 기본배지 및 물리적인 조건을 검토하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

본 실험에 사용된 균주는 자낭균류의 일종인 *Paecilomyces japonica*을 사용하였으며, 보관용 배지로는 PDA(potato dextrose agar)를 사용하였다. 균주 배양을 위한 기본배지의 선택은 여러 기본배지로부터 YMP medium으로 결정되었고, 그 조성은 glucose 10 g/L, yeast extract 10 g/L, malt extract 15 g/L 그리고 peptone 10 g/L이다.

배양조건

전배양에서는 8mL의 활성화된 stock culture를 접종하여 진탕배양기에서 25℃, 200rpm으로 2일간 배양하였으며 초기 pH를 7로 조절하였다. 본배양에서는 250mL 삼각플라스크를 사용하여 50mL의 배지에 접종비 2%인 1mL의 전배양액을 접종하였다.

균체 및 세포의 다당체 정량

본 균주가 생산하는 세포의 다당체 생산량을 정량하기 위하여 배양후 filtration를 통하여 균사체와 배양여액을 분리한 후 배양여액에 2배의 ethanol을 가하여 침전된 침전물을 다시 filtration하여 상등액과 분리하였다. 이렇게 분리된 침전물을 80℃ dry oven에서 12-24시간 동안 충분히 건조시킨 후 그 함량을 측정하였다. 또한 균체량은 세포의 다당체 분리 후 얻은 균사체를 증류수로 세정한 후 80℃에서 함량이 될 때까지 12-24시간 건조한 후 건조중량을 측정하였다.

결과 및 고찰

기본배지의 검토

균주의 생육에 미치는 기본배지의 결정을 위해서 균체량과 다당체 생성량을 비교·검토하였다 (Fig. 1). 균체량 및 다당체 생성량은 YMP medium에서 각각 16.2 g/L과 1.1 g/L로써 가장 높았다, 따라서 기본배지로써 YMP medium를 선택하였다.

온도의 영향

온도의 영향을 검토하기 위해서 배양온도를 15~33℃로 달리하여 균체량과 다당체 생성량을

비교·검토하였다(Fig. 2). 균체량은 20℃에서 18.5 g/L로 가장 높은 균체 성장을 나타냈으며, 반면에 다당체 생성량은 0.4 g/L로 낮았다. 한편 27℃에서의 균체량은 14.6 g/L로 다소 적게 나타냈으나 다당체 생성량은 2 g/L로 가장 높았다. Fig. 2에서 보듯이 일반적으로 균체량은 20℃보다 이상에서는 점점 줄어들고 다당체 생성은 27℃까지는 계속 증가하다가 그 이상에서는 감소하였다. 따라서 본 균주의 다당체 생성을 위한 배양온도를 27℃로 결정하였다.

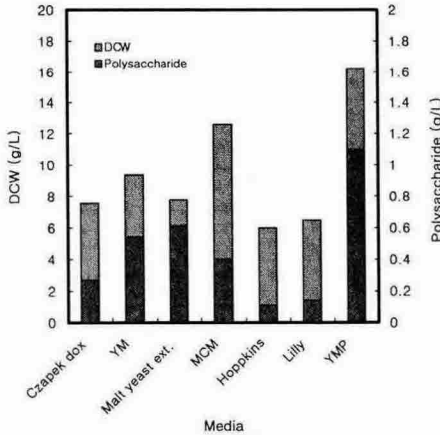


Figure 1. The effect of various media on the cell growth and the polysaccharide production at 25℃ and 200rpm with the initial pH 7

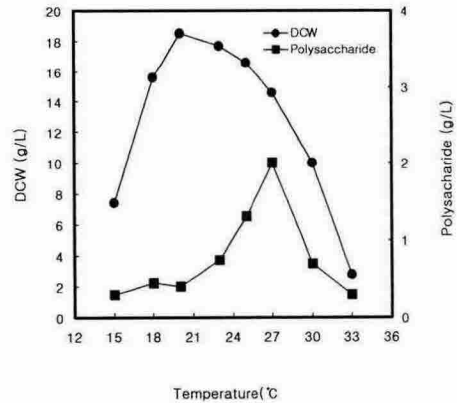


Figure 2. The effect of temperature on the cell growth and the polysaccharide production in YMP medium

pH의 영향

pH의 영향을 검토하기 위해서 pH를 4~11로 달리하여 균체량과 다당체 생성량을 비교·검토하였다(Fig. 3). 균체량은 pH 5.5에서 16.6 g/L로 가장 높은 균체 성장을 나타냈으며, 다당체 생성은 1.8 g/L이었다. pH 9에서는 다소 낮은 14.4 g/L의 균체량을 보였으나 다당체 생성량은 가장 높은 2.67 g/L이었다. Fig. 3에서 보듯이 균체량은 약산성 또는 중성인 pH 5.5~7.0사이에서, 다당체 생성은 약염기인 pH 8~10사이에서 높게 생성되었다. 따라서 본 균주의 다당체 생성을 위한 배양 pH를 9로 결정하였다.

집중량의 영향

집중량의 영향을 검토하기 위해서 집중량을 2~20%로 달리하여 균체량과 다당체 생성량을 비교·검토하였다(Fig. 4). 균체량은 20%에서 17 g/L로 가장 높았고 다당체 생성량은 2.5 g/L이었다. 반면에 2%에서 균체량은 15.2 g/L로 가장 낮았으나 다당체 생성은 2.9 g/L로

가장 높았다. Fig. 4에서 보듯이 균체량은 접종량이 증가할수록 증가했고, 다당체 생성은 접종량에 대해서 크게 영향을 받지 않았다.

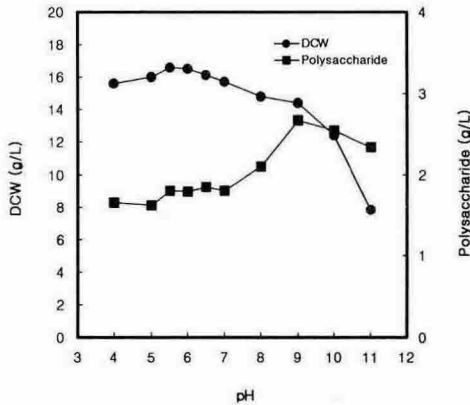


Figure 3. The effect of pH on the cell growth and the polysaccharide production in YMP medium

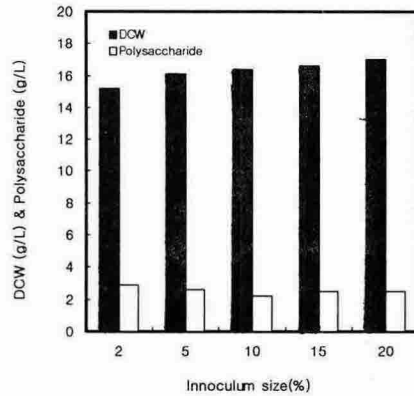


Figure 4. The effect of inoculum size on the cell growth and the polysaccharide production in YMP medium

요 약

*Paecilomyces japonica*의 균체 생육 및 다당체 생성에 미치는 기본배지 및 물리적인 조건에 대한 영향을 조사하였다. 기본배지로는 균체량과 다당체 생성이 가장 좋은 YMP medium로 결정하였고 배양온도는 27°C, pH는 9, 접종량은 2%로 선택하였다.

참 고 문 헌

1. Choi, I. Y., Choi, J. S, and Lee, W. H. " The production of artificial fruiting body of *Paecilomyces japonica* " (1999), *Kor. J. Mycol.*, 27(2), 87-93.
2. Sung, J. M., Lee, H. K, and Yoo, K. J. " Classification of *Cordyceps* spp. by morphological characteritic and protein banding pattern "(1995), *Kor. J. Mycol.*, 23(1), 92-105.
3. Sung, J. M., Choi, J. S, Lee, H. K, Kim, S. H, Kim, Y. O, and Sung, G. H. " Production of fruiting body using culture of entomopathogenic fungal species " (1999), *Kor. J. Mycol.*, 27(1), 15-19.
4. Tadashi, K., Hajime, T, and Shigeo, U, " A minor, protein-containing galectomannan from a sodium carbonate extract of *Cordyceps sinensis* " (1986), *Carbohydr. Res.*, 156, 189-197.