

## *Flammulina velutipes* 항보체 활성다당의 생산에 미치는 영양원의 효과

이현경 · 신광순<sup>1</sup> · 송치현<sup>2</sup> · 성하진<sup>1</sup> · 양한철\*

고려대학교 식품공학과, <sup>1</sup>고려대학교 생물공학연구소, <sup>2</sup>대구대학교 생물공학과

## The Effect of Nutrients on the Production of Anti-Complementary Polysaccharide by *Flammulina velutipes*

Lee, Hyun-Kyung, Kwang-Soon Shin<sup>1</sup>, Chi-Hyeun Song<sup>2</sup>,  
Ha-Chin Sung<sup>1</sup> and Han-Chul Yang\*

Department of Food Technology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

<sup>1</sup>Institute of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Biotechnology, Taegu University, Kyungsan 713-714, Korea

**Abstract** — The effect of various nutrients for the production of the anti-complementary polysaccharide by *Flammulina velutipes*, was examined and the partial purification of the polysaccharide was carried out. The culture conditions and medium compositions considerably influenced the anti-complementary activity of the polysaccharides. When a culture was carried out at 23°C and pH 5.5 for 6 days in the synthetic medium supplemented with galactose and NaNO<sub>3</sub>, the production of the anti-complementary polysaccharide was maximized. The crude polysaccharide, FV-1 was isolated from the culture broth and partially purified into two fractions, FV-1-II and FV-1-III by gel filtration using Sephadex G-100. FV-1-II was mainly consisted of xylose, mannose, galactose and glucose, and rhamnose, mannose and galactose, for FV-1-III. Also, the anti-complementary activity of FV-1-III was reduced partially in the absence of the Ca ion. When crossed immunoelectrophoresis using anti-human C3 serum was carried out after incubation of normal human serum with the FV-1-III in the Ca ion free condition, a cleavage of C3 precipitin line was observed. These results indicate that the mode of complement activation by polysaccharide from *Flammulina velutipes* is via not only the classical pathway but also the alternative pathway.

자연계에 존재하는 천연물질 중에는 생체에 다양한 기능을 하는 물질들이 존재할 것으로 기대되어 이에 대한 관심이 날로 증가하고 있다. 특히 담자균류(1), 한약재(2), 고등식물(3), 곰팡이류(4)로부터 면역활성 조절물질을 얻으려는 노력이 계속되고 있다. 이들은 주로 저분자획분보다는 고분자획분에서 그 활성을 나타내는데 특히, 이들 천연물 유래의 고분자 물질 중에는 항암 효과(5-7), 항보체 활성(4), lymphocyte 분열 유도활성(8) 등의 면역조절활성이 발견되고 있으며 이들 활성의 일부는 다당에 기인하는 것으로 알려져 있다. 그 예로 표고버섯(*Lentinus edodes*) 자실체에서 정제한 고분자량의 β-1,3 glucan Lenti-

nan(9), 치마 버섯(*Schizophyllum commune*)의 배양액에서 분리한 고분자량의 β-1,3 1,6 glucan Schizophyllan(10)과 구름 버섯(*Coriolus versicolor*)의 균사 배양액에서 추출한 β-1,4 1,3- 또는 β-1,4 1,6 glucan을 함유한 peptide PSK(11) 등이 있다. 이들 다당은 숙주에 대한 부작용을 거의 나타내지 않는 장점을 갖고 있으며 이들의 항암 효과는 암세포에 직접적으로 작용하는 것이 아니라 면역계를 자극하여 숙주의 생물학적 반응의 변화를 유도함으로써 여러 약리효과를 나타내는 biological response modifier(BRM)(12)으로써의 역할을 담당하는 것으로 보고되고 있다.

면역계중에서 보체계(complement system)(13)는 혈청에서 발견되는 일련의 단백질군으로써, 체액성 면역의 효과적 연결을 담당하고 있어 외부로부터 감염된 병원체에 대하여 항체의 존재 혹은 비존재하에 비특이적으로 이들을 제거시킬 수 있는 주요 방어기

**Key words:** Complement system, anti-complementary polysaccharide, *Flammulina velutipes*, action mode

\*Corresponding author

구로써 평가 받고 있으며 염증, 과민반응, 마크로파지 유주활성 등에도 중추적인 역할을 담당하고 있다고 알려져 있다. 보체계는 C1부터 C9까지 9개의 보체 인자(complement component)와 조절 인자(regulator) 등 약 20여종의 성분이 알려져 있으며 가장 중추적인 C3의 활성화 경로에 따라 classical pathway와 alternative pathway로 나누어진다. 특히 alternative pathway는 항체에 의한 특이적 면역 반응이 일어나기 이전에 활성화되므로 숙주가 항원을 인식하기 이전의 일차적인 중요한 방어기작이라고 할 수 있다.

따라서 본인 등(14)은 천연식품소재로서 버섯류를 대상으로 면역활성증진 물질중 보체계활성화 물질들을 검색한 결과, 팽이버섯(팽나무버섯, *Flammulina velutipes*)의 액체 배양액에 높은 항보체활성 물질이 있음을 발견하였다. 팽이버섯은 1980년대 이후 국내에 소개된 이래 건강식품으로 그 소비가 급격히 증가하고 있으며 특히 항암효과(15), 심장기능증진(16) 외에도 여러 약리효과가 알려져 있어 국내외로 관심이 고조되고 있다. 본 연구에서는 팽이버섯의 균사 배양 시 생산되는 활성다당의 형성에 미치는 영양원 및 배양 조건의 영향을 검토하고, 이로부터 항보체 활성이 높은 다당을 분리, 정제하여 제반 특성 및 작용 기구에 대해 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주 *Flammulina velutipes* FV-T는 호주 시드니대학 미생물학과 K.Y. Cho 박사로부터 분양 받았으며 보관용 배지로는 PDA(potato dextrose agar) 사면배지를, 액체배양 기본배지로는 안 등(17)이 보고한 조성(mannitol, 15 g/l;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.85 g/l; M.S.G., 3.12 g/l;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2.5 g/l;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.6 g/l;  $\text{CaCl}_2$ , 1 g/l; thiamine.HCl, 0.3  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ; pH 6.5)의 배지를 사용하였다.

### 시약

Sephadex G-100은 Pharmacia 사의 제품을 사용하였고 양의 감작적혈구(IgM hemolysin sensitized sheep erythrocyte, EA cell)는 일본 Biotest 연구소로부터 구입하여 사용하였으며, rabbit anti-human C3는 Sigma 사 제품을, 5,5'-diethylbarbituric acid sodium salt는 Merck 사 제품을, 그외 기타 시약은 시판 일급 혹은 특급 분석용 시약을 사용하였다. 또한 정상인의 혈청(normal human serum, NHS)은 실험실에서 직접 신선한 상태로 조제, 사용하였다.

### 배양 방법

*F. velutipes* 균사를 PDA 배지 plate에서 23°C, 8일간 배양한 후 직경 8 mm cork borer로 punching 하여 사용하였고 액체 배양시에는 PDB 배지를 이용, 500 ml baffled flask에서 10일간 23°C, 150 rpm에서 배양 한 후 액체배양 실험에 종균으로 사용하였다. 균사 배양 배지는 1 N HCl 또는 1 N NaOH로 살균하기 전에 pH 6.5로 조정하였으며 당은 Maillard 반응을 방지하기 위하여 별도로 살균한 후 상기 조건에서 배양하였다. 액체 배양 균사체의 건조균체량(dry cell weight, D.C.W.)은 여과 또는 원심분리로 회수한 후 105°C에서 건조 평량하였다.

### 정량 방법

총당량은 glucose를 표준 물질로 하여 phenol-sulfuric acid 방법(18)으로, pentose 함량은 arabinose를 표준물질로 phloroglucinol-acetic acid 방법(19)으로 측정하였다. 단백질은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Lowry 법(20)으로 측정하였다.

구성당의 분석(21)은 2 M trifluoroacetic acid로 121°C에서 1.5시간 동안 다당을 가수분해한 후, 가수분해물중 중성당과 산성당은  $\text{NaBH}_4$ 를 사용하여 alditol 및 aldonic acid로 환원시키고 Dowex-1(anion exchange resin, acetate form) column으로 분리한 후 각각 alditol acetate 유도체로 전환시켜 gas chromatography(GC)로 구성당을 분석하였다. GC의 분석조건은 Table 1과 같으며 표준물질의 retention time과 비교하여 시료중의 구성당을 동정하였고 구성당의 함량은 %값으로 나타내었다.

### 항보체 활성의 측정

항보체 활성은 Mayer 법(22)으로 측정하였다. 즉

**Table 1. Analytical conditions of gas chromatography for component sugars**

Apparatus : Shimadzu GC 14A
Detector : Flame ionization detector(FID)
Column : Stainless column(0.2×200 cm)
Column material : 3% OV-225 uniport HP 100/120
Column temperature : 225°C
Injector temperature : 250°C
Detector temperature : 250°C
Carrier gas : Nitrogen(2 kg/cm <sup>2</sup> )
Hydrogen : 0.6 kg/cm <sup>2</sup>
Air : 0.6 kg/cm <sup>2</sup>
Integrator : Shimadzu C-R6A chromatopac

NHS, gelatin veronal buffered saline(GVB<sup>++</sup>, pH 7.2)와 시료를 각각 50  $\mu$ l 씩 혼합하여 37°C 에서 30 분간 반응시킨 후, 연속 희석하고 EA cell(10<sup>8</sup> cells/ml)를 이용, 잔존 용혈활성을 측정하였다. 한편 대조구는 동일조건에서 시료를 함유하지 않은 채 측정하였으며 항보체 활성은 대조구 대비 총보체 용혈(50% of total complement hemolysis, TCH<sub>50</sub>)의 저지율(inhibition of TCH<sub>50</sub>, ITCH<sub>50</sub>)로 나타내었다. 활성의 정확도 검정을 위해서는 역가를 알고 있는 항보체 다당 CAP-0(ITCH<sub>50</sub>=80%)를 표준물로 하였다.

$$\text{ITCH}_{50}(\%) = \frac{\text{TCH}_{50} \text{ of control} - \text{TCH}_{50} \text{ treated with sample}}{\text{TCH}_{50} \text{ of control}} \times 100$$

#### 항보체 활성 다당의 추출, 분리 및 정제

최적 배지조건에서 5 l jar fermentor(한국발효기)에 working volume 3 l로 하여 5%의 종균을 접종하고 교반속도를 100 rpm, 통기량은 1.5 vvm으로 조정된 후, 23°C 에서 6일간 배양하였다. 배양 후 원심분리하여 얻어진 배양상등액을 3일간 4°C 증류수에 투석한 후 5배의 ethanol을 가하고 12시간 교반하였다. 12,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 제거한 후 침전물에 소량의 증류수를 가하고 sonication시켜 용해시킨 후, 동결건조하여 조다당 시료(FV-1)를 얻었다. FV-1은 0.2 M NaCl로 평형화된 Sephadex G-100 column(2.6×90 cm)을 사용하여 gel filtration을 행하였다.

#### 교차 면역전기영동

GVB<sup>2+</sup> buffer, 10 mM EDTA와 1% gelatin을 함유한 veronal buffer(EDTA-GVB<sup>2+</sup>), 및 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM EGTA와 1% gelatin을 함유한 veronal buffer(Mg<sup>2+</sup>-EGTA-GVB<sup>2+</sup>)에 각각 희석된 시료액에 정상인의 혈청을 혼합하고 37°C 에서 30분간 반응시킨 후 barbital buffer(pH 8.6,  $\mu$ =0.025)에 용해한 1% agarose 상에서 동 buffer를 이용, 1차원 전기영동(2.1 mA/cm)을 행하고 0.5% anti-human C3 serum이 함유된 1% agarose 상에서 2차원 전기영동을 실시하였다. 전개가 끝난 gel은 bromophenol blue dye로 염색시켜 C3의 분해산물을 관찰하였다(23).

#### 결과 및 고찰

##### 항보체 활성다당 생산에 영양원 및 배양조건이 미치는 영향

본 실험실에서 각종 버섯 균주들의 균체 및 배양

액을 대상으로 항보체 활성 검색한 결과(14) *F. velutipes*(팽이버섯)의 균사 배양액 1,000  $\mu$ g/ml의 농도에서 57.5%의 비교적 높은 활성을 나타내었는 바, 이들 활성 다당의 생산에 미치는 영양원 및 배양조건을 검토한 결과는 아래와 같다.

**탄소원의 영향:** Gruen 등(24)에 의하면 *F. velutipes* 균체 성장에 단당류, 이당류를 이용할 수 있고 Hong 등(25)과 Tokimoto 등(26)은 amylase와 cellulase 등의 세포외 효소를 분비하여 starch, dextrin, carboxymethyl cellulose(CMC) 등의 다당류를 균사체 성장에 이용할 수 있다고 보고하고 있다. 특히 Ahn(17)에 의하면 mannitol이 *F. velutipes*의 균사체 성장에 가장 좋은 탄소원으로 보고된 바 있다. mannitol을 탄소원으로 사용하였을 때 배양액에서 분리한 다당에서는 그다지 높은 항보체 활성을 나타내지 못하였으므로 배지성분이 활성다당 생산에 영향을 미친다는 Ruiter 등(27)의 보고에 따라 여러 탄소원을 배지로 이용하여 항보체 활성다당 생산에 영향을 미치는 지를 검토하였다.

*F. velutipes*가 이용할 수 있는 탄소원중 19가지를 배지의 탄소원으로 이용하여 각각 배양한 후 배양액에서 분리한 다당의 항보체 활성 및 균체량을 측정한 결과는 Fig. 1 및 2와 같다. 탄소원으로 galactose를 사용하였을 경우에는 균사체 성장이 적은 반면 배양액중의 다당의 항보체 활성이 높았으나, 균사 성장이 양호한 탄소원으로 배양시에는 활성이 낮은 상반된 결과를 보여 주었다. 이러한 결과에 비추어 볼 때 lactose, adonitol, inositol 등 대체로 균체 성장이 높지

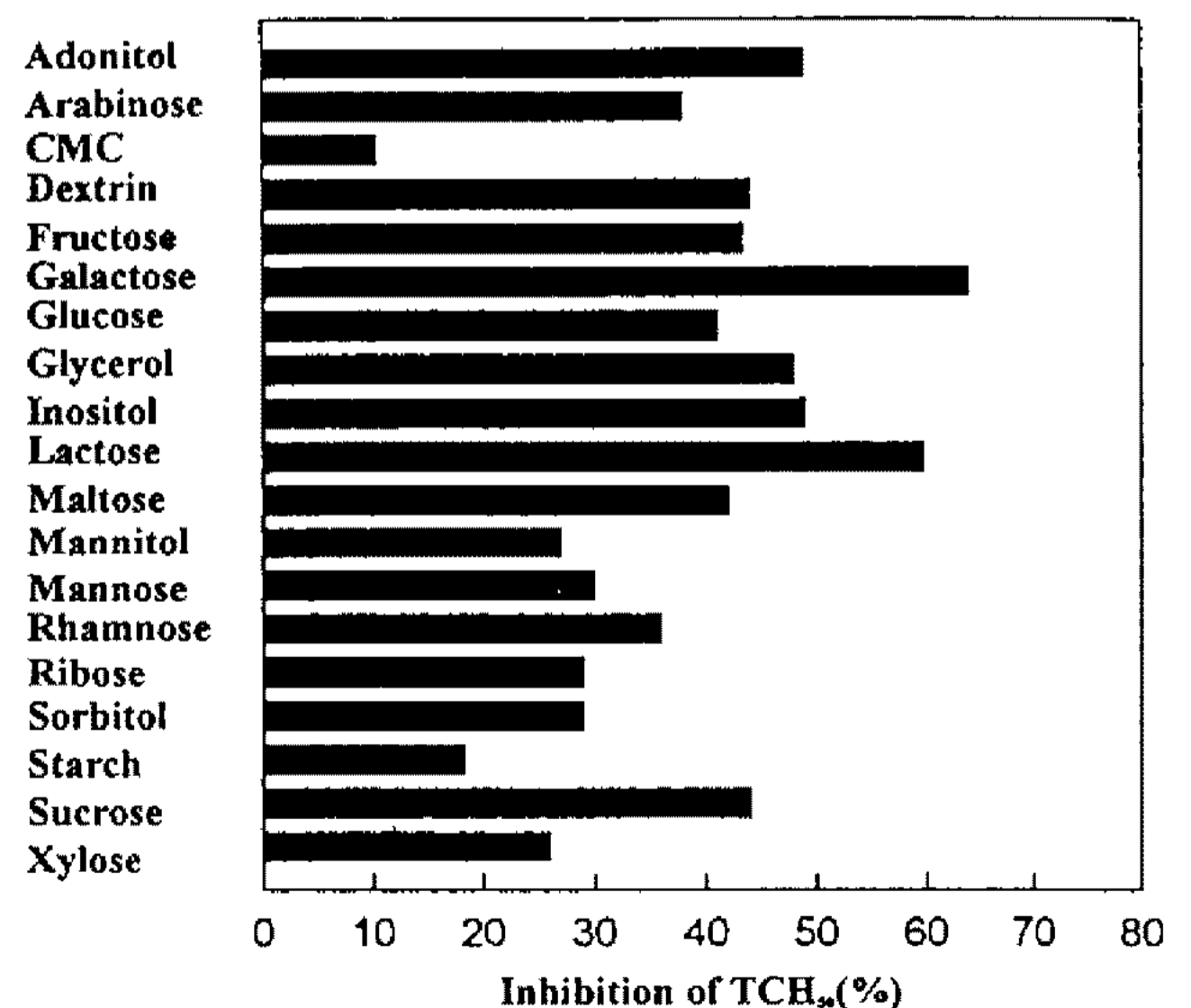


Fig. 1. Anti-complementary activity of polysaccharide from cultured medium with various carbon sources. Culture was carried out at 23°C for 15 days.

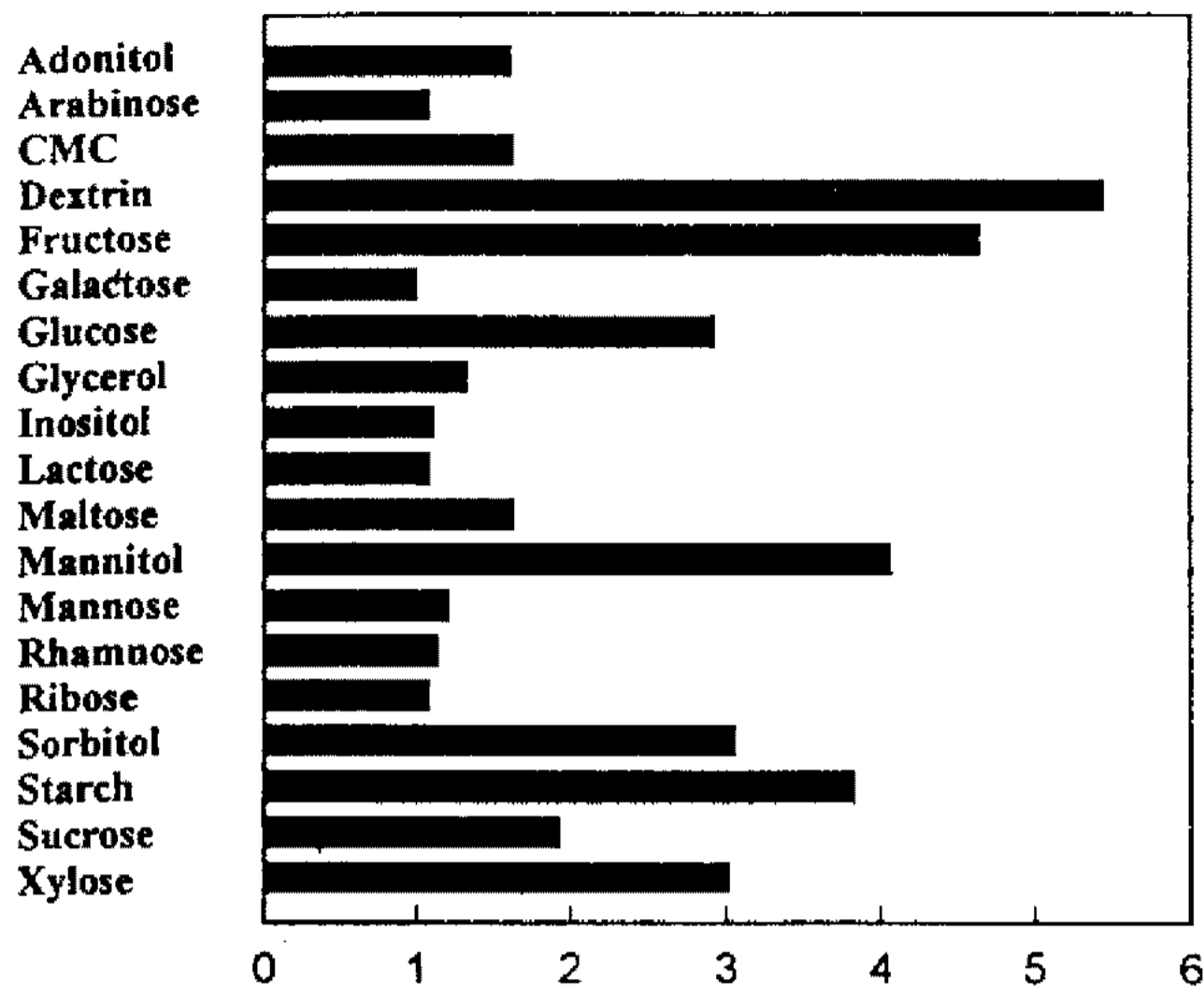


Fig. 2. Mycelial growth of *F. velutipes* on the basal medium with various carbon sources. Culture was carried out at 23°C for 15 days.

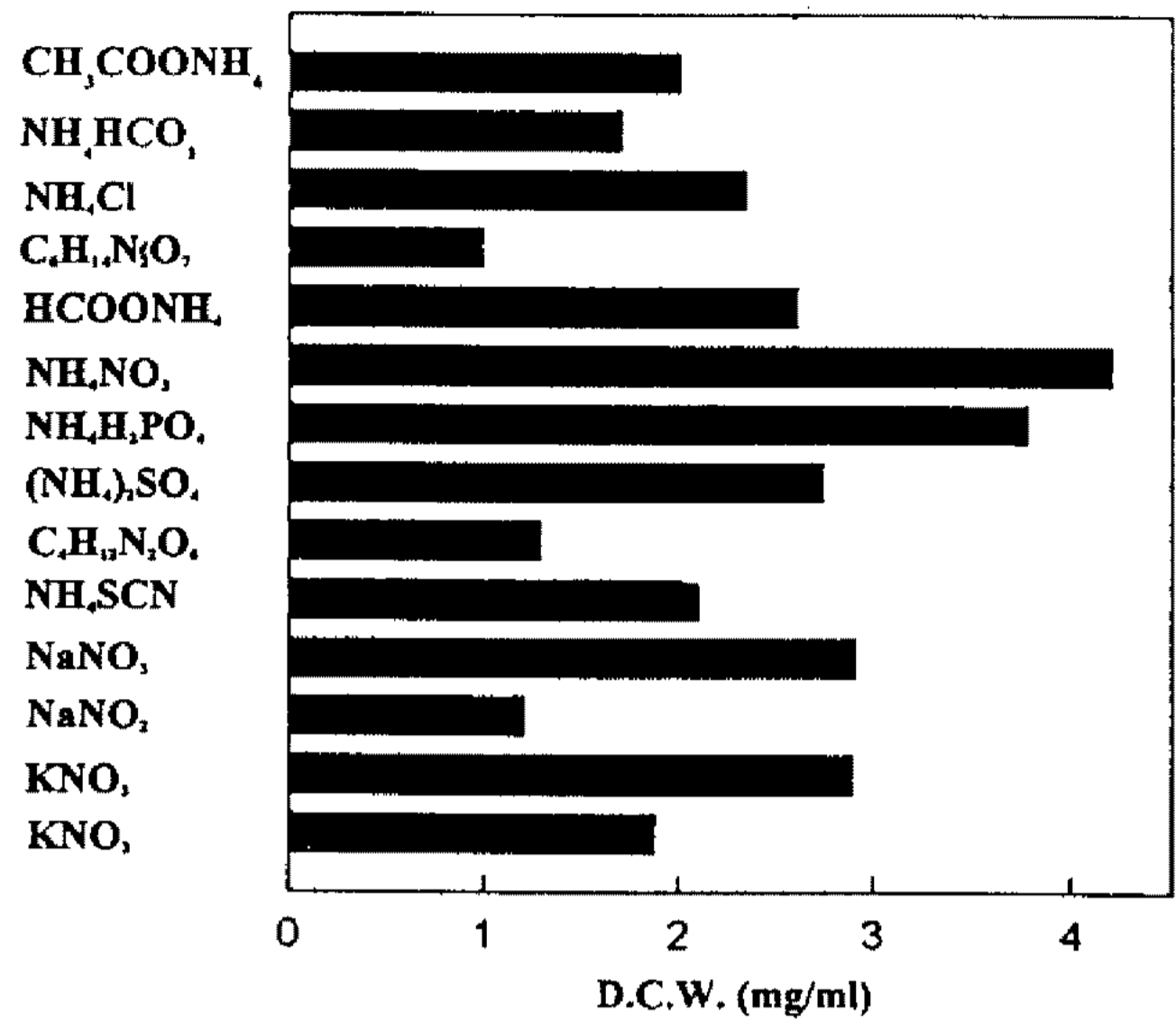


Fig. 4. Mycelial growth of *F. velutipes* on the basal medium with various inorganic nitrogen sources. Culture was carried out at 23°C for 15 days.

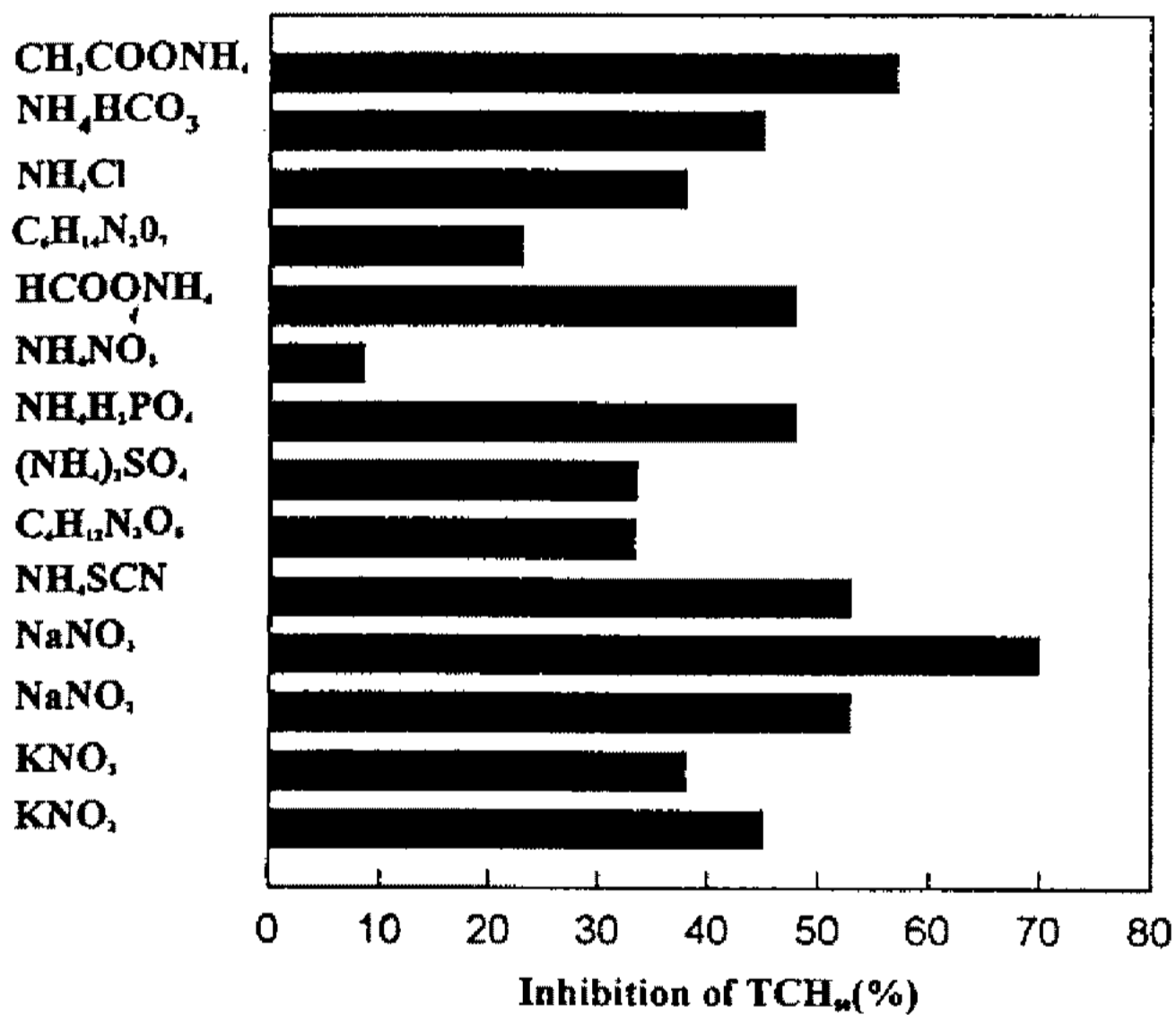


Fig. 3. Anti-complementary activity of polysaccharide from cultured medium with various inorganic nitrogen sources. Culture was carried out at 23°C for 15 days.

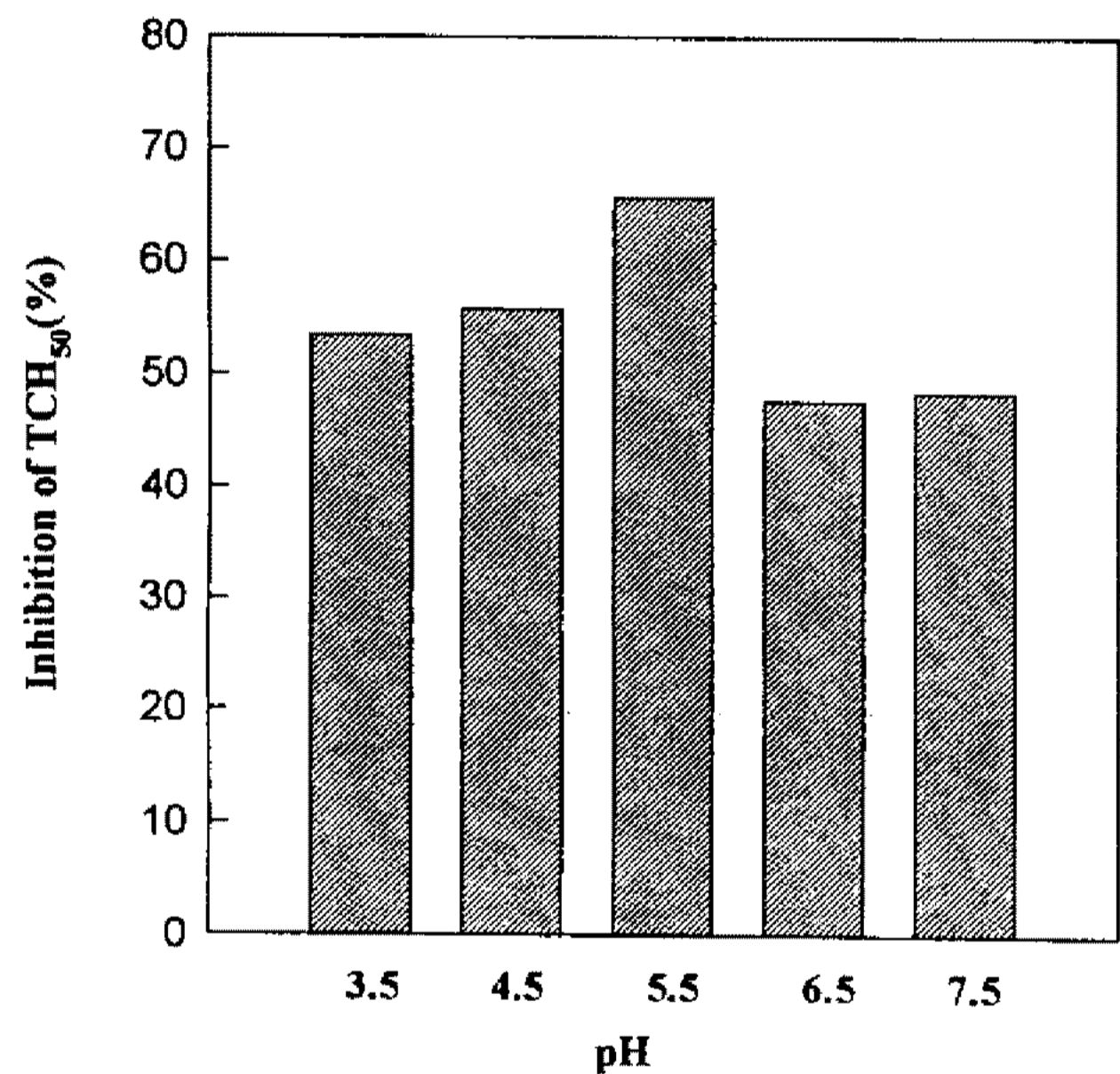


Fig. 5. Anti-complementary activity of polysaccharide from cultured medium with various pHs. Culture was carried out at 23°C for 15 days.

않은 탄소원의 경우, 균체 밖으로 항보체 활성다당을 분비하는 것으로 추정된다. 또한 이들로부터 생산된 항보체 활성다당의 구성당을 GC로 분석한 결과 배지중 galactose를 탄소원으로 사용했음에도 불구하고 구성당 조성은 큰 변화를 나타내지 않았다(자료는 제시하지 않았음).

**질소원의 영향:** 탄소원으로 galactose를 사용한 기본배지에서 여러 질소원을 첨가한 후 배양하여 항보체 활성과 균체량을 측정한 결과는 Fig. 3 및 4와 같다.

Ahn 등(17)의 보고에서와 같이 ammonium nitrate를 질소원으로 사용, 배양하였을 때 가장 높은 균사체 성장의 결과를 얻을 수 있었으나 그 배양액중 다당의 항보체활성은 낮았다. 그러나 sodium nitrate를 질소원으로 사용하였을 때 가장 높은 항보체 활성 다당을 얻을 수 있었다. Fig. 4의 균체량과 Fig. 3의 항보체 활성을 비교했을 때 탄소원에서의 결과와 유사하게 균사체 생산이 적은 경우 대체로 항보체 활성이 높게 나타남을 알 수 있었다.

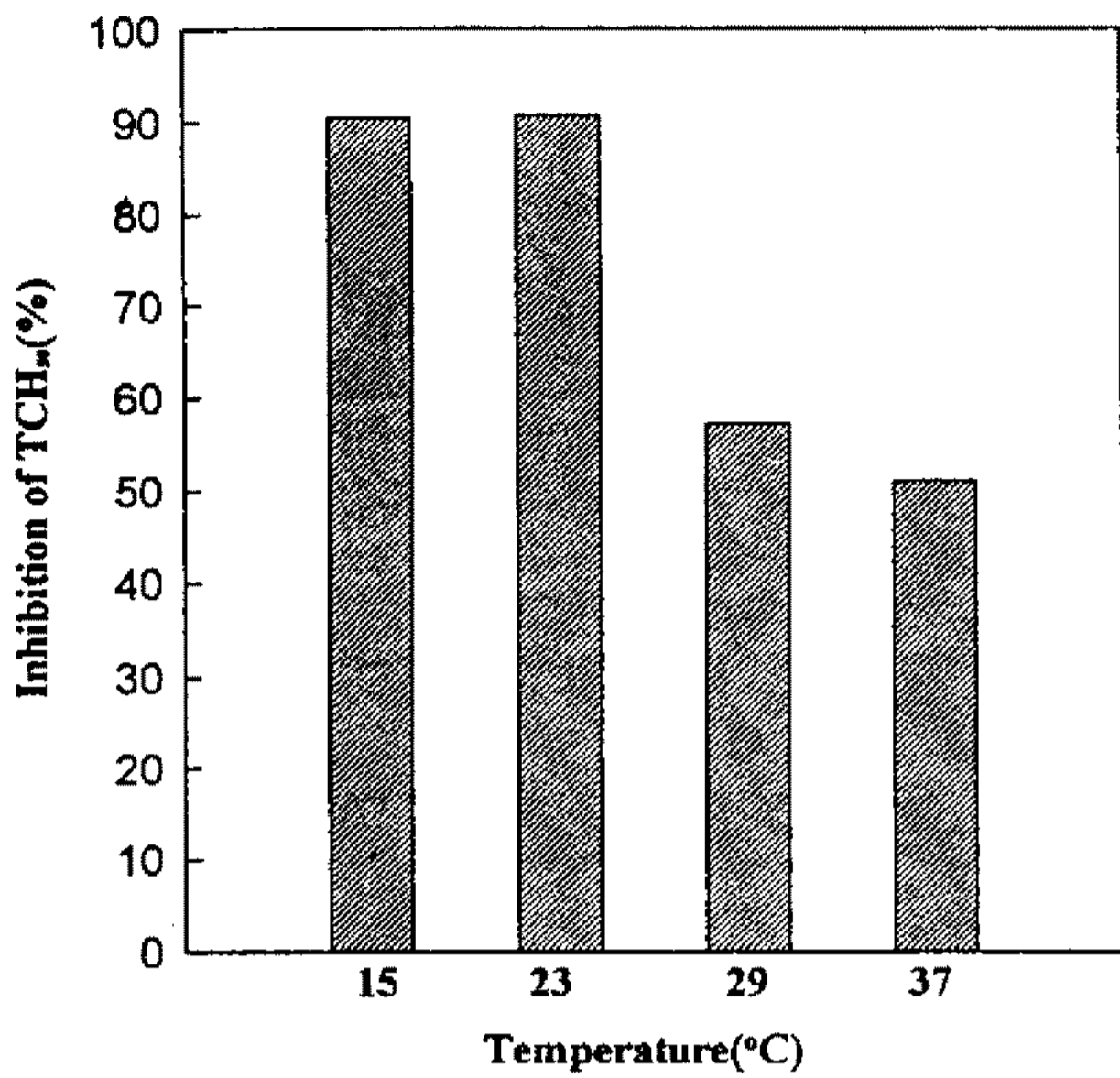


Fig. 6. Anti-complementary activity of polysaccharide from cultured medium with various temperatures.

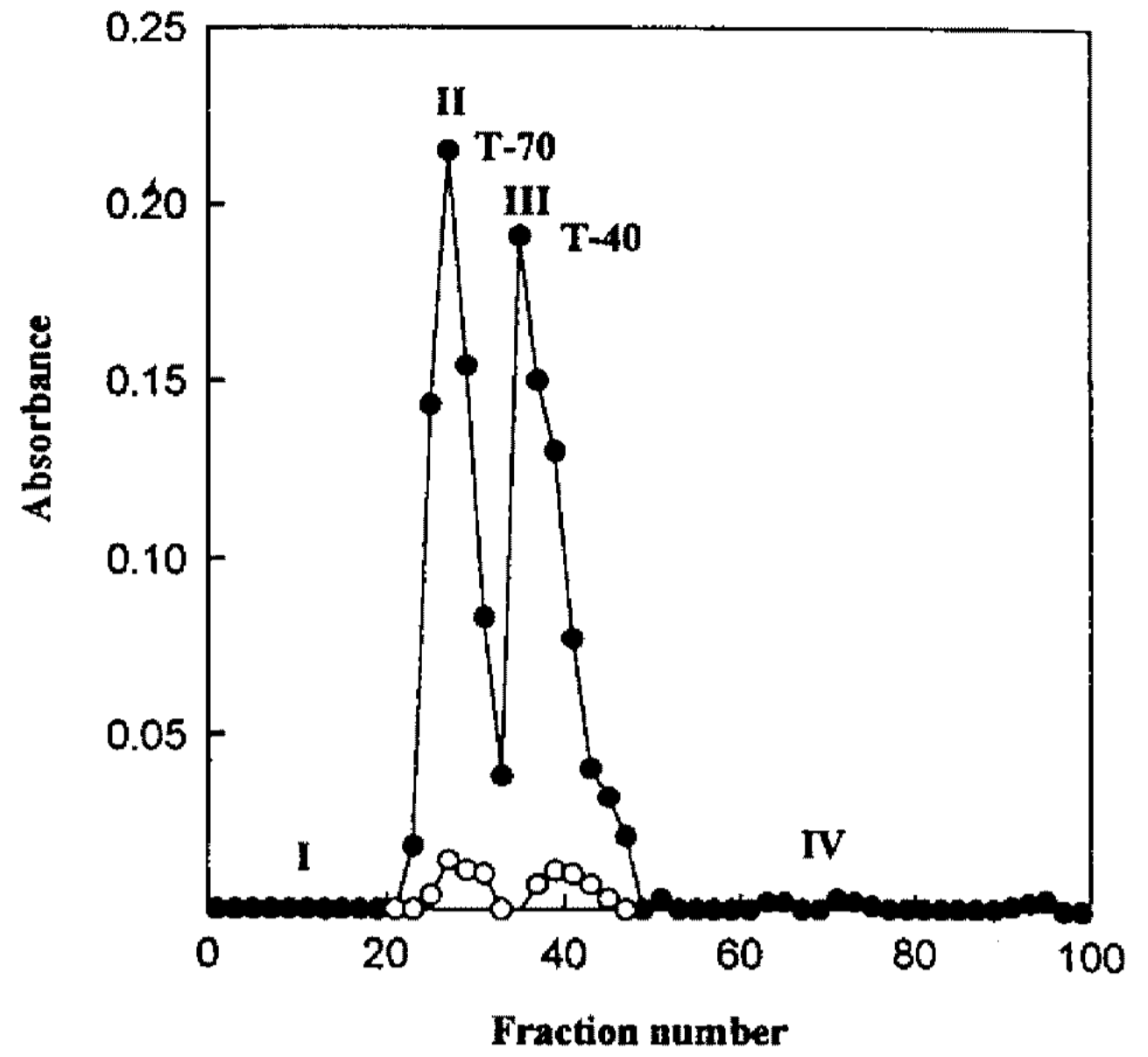


Fig. 8. Gel-filtration of FV-1 on Sephadex G-100. The column was eluted with 0.2 M NaCl. ●: Total sugar (490 nm), ○: Pentose (520 nm)

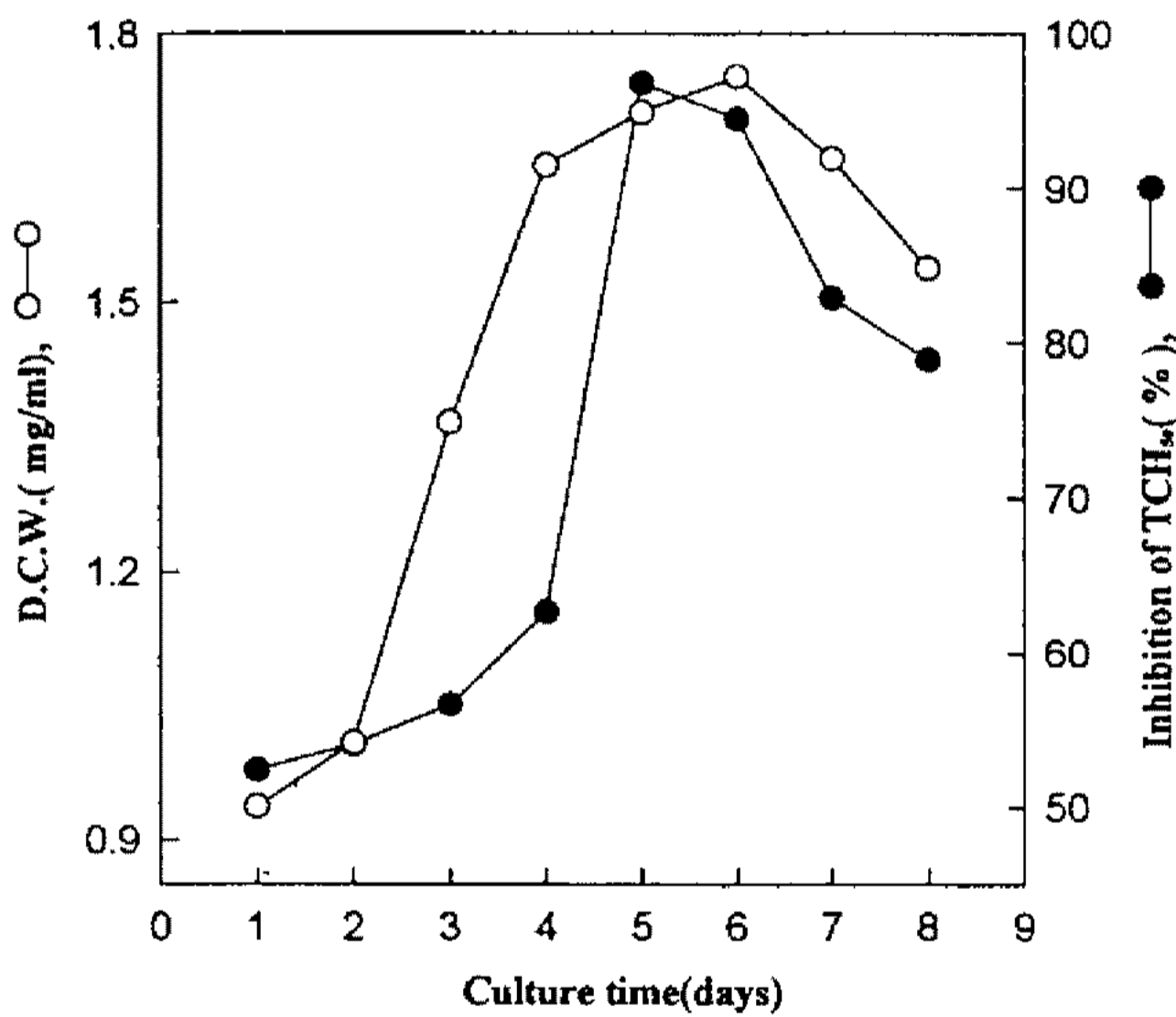


Fig. 7. Growth curve and anti-complementary activity of polysaccharide from cultured medium. Culture was carried out at 23°C for 8 days.

**pH의 영향:** 항보체 활성 다당 생산에 pH가 미치는 영향에 대한 결과는 Fig. 5에 제시하였다. pH 6.5가 기본배지의 배양조건이었으나 pH 5.5에서 배양한 결과 가장 높은 항보체 활성을 나타내는 다당을 얻을 수 있었으며 pH 5.5를 기준으로 낮은 pH에서 보다 높은 활성이 나타났다.

**온도의 영향:** *F. velutipes*는 자연상태에서 계절별로 늦은 가을에서부터 초봄까지의 시기에 basidiocarp를 형성하기 때문에 winter mushroom이라고 알려져 있다. 실험 결과, 23°C에서 가장 높은 항보체 활성을 나타내었으며 25°C 이상의 온도에서보다는 그

이하에서 좋은 결과를 나타내었다(Fig. 6). 따라서 배양 최적 온도범위에서 최대의 활성이 나타나는 것으로 사료된다.

**배양기간의 영향:** 상기 영양원 및 배양조건의 결과를 토대로 총 8일간 배양하면서 분비 다당의 항보체 활성과 균체량을 경시적으로 조사한 결과 Fig. 7에서와 같이 배양 5~6일 째에 최대성장 및 높은 활성을 나타내었다. 이는 trophophase에서 생산되는 다당류로 보아 primary metabolite로 추측된다.

**조다당 FV-1의 조제 및 부분 정제**

상기 최적배지를 이용, 5l jar fermentor에서 23°C, 6일간 배양하여 재료 및 방법에 언급한 방법으로 FV-1을 제조하였다. 조제된 조다당 FV-1은 Sephadex G-100 column(2.6×90 cm)을 이용하여 FV-1-II 및 FV-1-III로 분리하였으며(Fig. 8) 각 분획에 대해 항보체 활성 및 구성당을 분석하였다. Fig. 9에서 나타난 바와 같이 FV-1은 80%, FV-1-II 및 III는 99%, 86%의 높은 ITCH<sub>50</sub> 값을 나타내었으며 구성성분 분석에서는 산성당이 전혀 존재치 않은 상태에서 총당 80~87%, 단백질 함량 13~14% 정도의 비교적 균일한 조성을 나타내었다. 특히 FV-1-II는 xylose, mannose, galactose 및 glucose를 주요 구성당으로 하는 6개 당의 복합다당으로, FV-1-III는 rhamnose, mannose 및 galactose를 높은 비율로 함유한 5개 당으로 구성된 복합다당임을 알 수 있었다(Table 2).

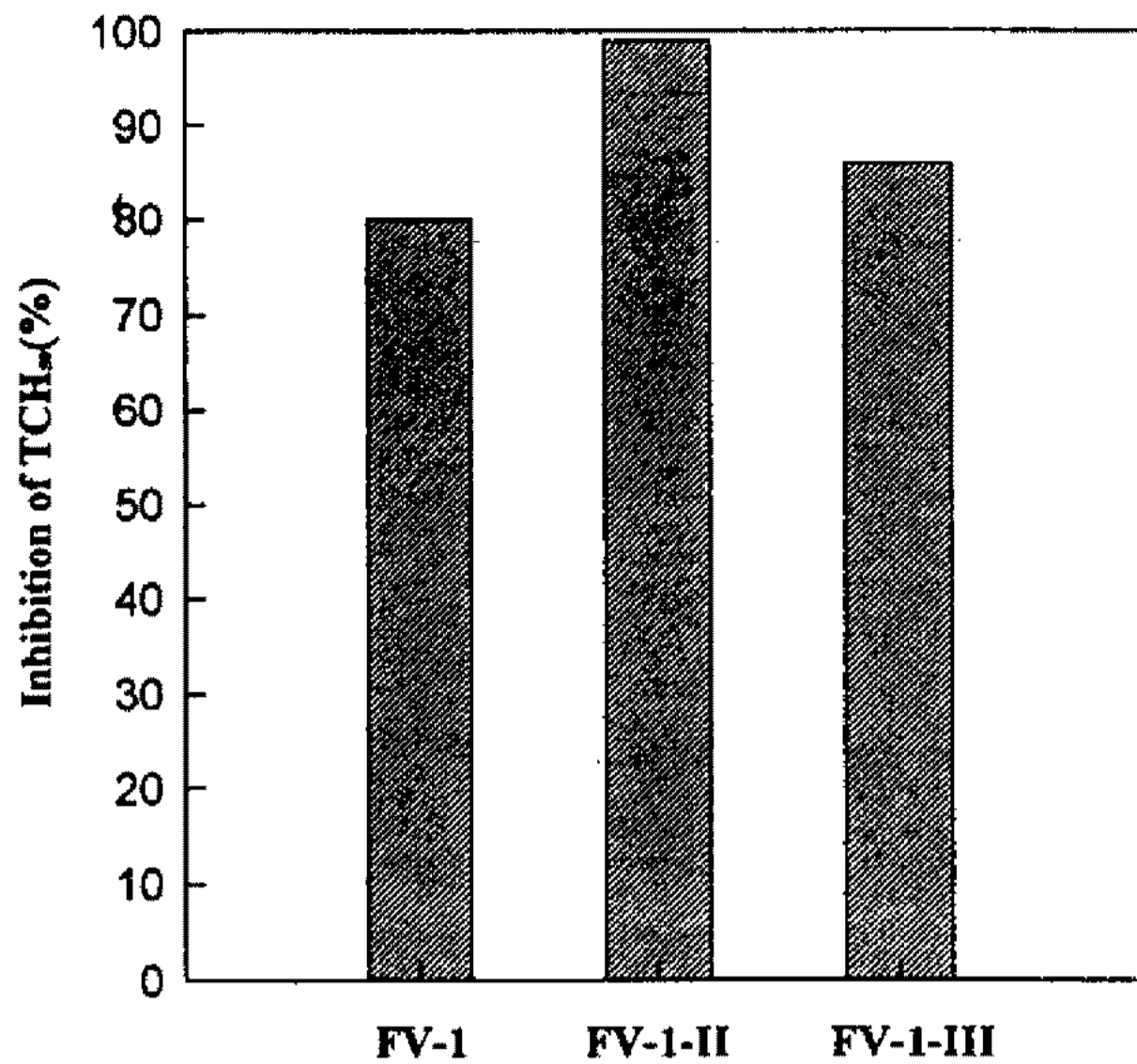


Fig. 9. Anti-complementary activity of polysaccharide fractions on Sephadex G-100.

Table 2. Sugar composition of the polysaccharides by GC (%)

	FV-1	FV-1-II	FV-1-III
Rhamnose	7.6	1.5	16.0
Arabinose	2.1	0.6	1.5
Xylose	12.4	5.6	0.5
Mannose	32.4	60.0	20.0
Galactose	30.0	18.5	60.0
Glucose	14.7	13.0	--
Total sugar	87.0	80.0	85.0
Pentose	1.5	5.2	1.1
Protein	13.0	13.5	14.0

**항보체 다당의 작용양식 검토**

전술한 바와 같이 보체계의 활성화 경로는 크게 classical pathway와 alternative pathway로 구성되어 있는 바, 그 활성화에는 classical pathway에는 Ca<sup>2+</sup> 및 Mg<sup>2+</sup>가, alternative pathway에는 Mg<sup>2+</sup>만이 각각 관여하고 있는 것으로 알려져 있다(13). 따라서 높은 활성이 인지되었던 FV-1을 대상으로 이들이 양 경로중 어느 경로를 통하여 보체계를 활성화시키는 지를 알아보기 위해 GVB<sup>2+</sup> 기본반응계와 2가 금속이온을 모두 제거한 EDTA-GVB<sup>2-</sup> 반응계 및 Ca<sup>2+</sup>을 선택적으로 제거한 Mg<sup>2+</sup>-EGTA-GVB<sup>2-</sup> 반응계로 나누어 항보체 활성(ITCH<sub>50</sub>)을 비교 측정하였다. Fig. 10에서와 같이 EDTA-GVB<sup>2-</sup> 반응계에서는 대조구에 비해 거의 완전하게 활성의 감소를 관찰할 수 있었으나 Mg<sup>2+</sup>-EGTA-GVB<sup>2-</sup> 반응계에서는 활성이 상당량 유지됨(30% 수준)을 알 수 있었다. 따라서 *F. velutipes*

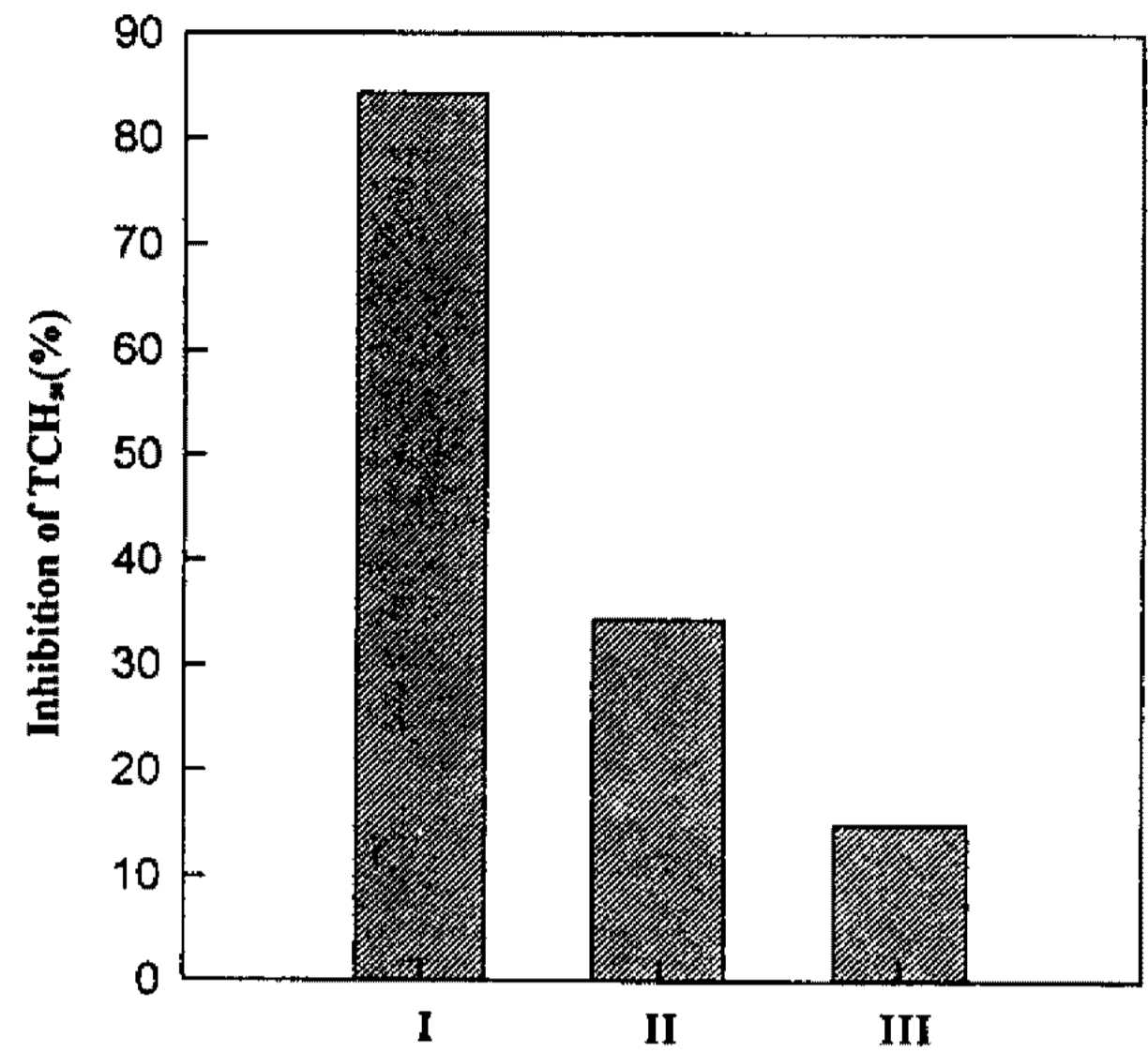


Fig. 10. Changes of anti-complementary activities by incubation with FV-1 in the presence or absence of Ca ion.

I: GVB<sup>2+</sup>, II: Mg<sup>2+</sup>-EGTA-GVB<sup>2-</sup>, III: EDTA-GVB<sup>2-</sup>

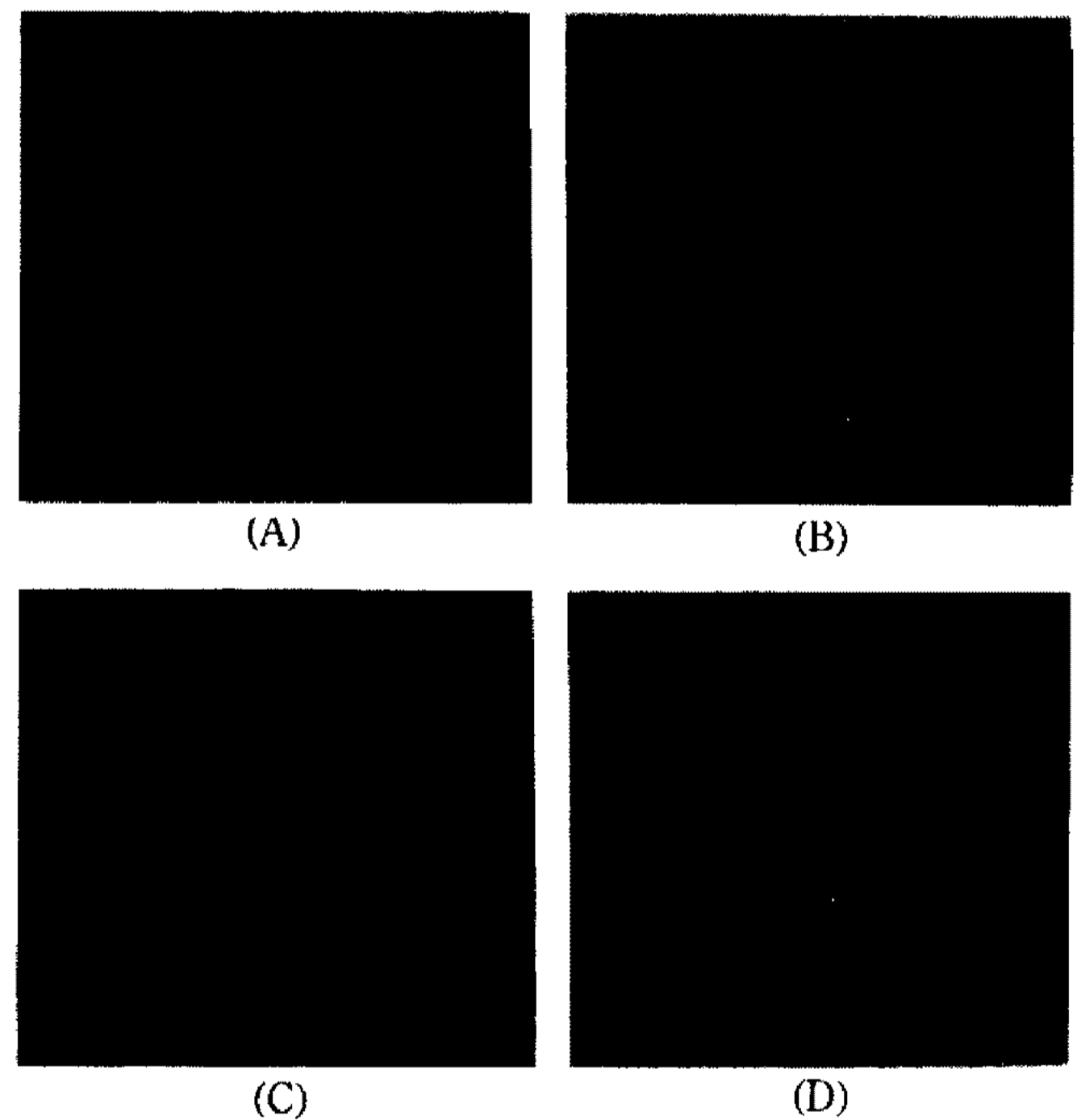


Fig. 11. C3 activation by FV-1-III. NBS was incubated with equal volumes GVB<sup>2+</sup> + PBS (A), Mg<sup>2+</sup>-EGTA-GVB<sup>2-</sup> + FV-1-III(B), EDTA-GVB<sup>2-</sup> + FV-1-III(C) and GVB<sup>2+</sup> + FV-1-III(D).

배양액중 항보체 활성다당은 보체계의 alternative pathway도 활성화시킬 수 있음을 추측할 수 있었다.

FV-1-III이 보체계를 활성화시키는 경로를 확인하기 위해 교차 면역전기영동에 의한 C3의 분해산물 생성여부를 관찰하였다. FV-1-III을 NHS와 혼합하고 GVB<sup>2+</sup>, EDTA-GVB<sup>2-</sup> 및 Mg<sup>2+</sup>-EGTA-GVB<sup>2-</sup> 반응

계에서 반응시킨 후 C3의 반응산물을 확인한 결과는 Fig. 11에서 보는 바와 같다. 정상인 혈청만을 반응시킨 경우와 2가 금속이온을 모두 제거한 EDTA-GVB<sup>2-</sup>에서는 C3의 활성화가 이루어지지 않음에 기인한 1개의 큰 침강선이 관찰된 반면, GVB<sup>2+</sup>와 Mg<sup>2+</sup>-EGTA-GVB<sup>2-</sup>에서는 각각 2개씩의 침강선을 관찰할 수 있었다. 특히 Mg<sup>2+</sup>-EGTA-GVB<sup>2-</sup> 반응계에서는 well로부터 두번째 peak가 GVB<sup>2-</sup> 반응계에서 보다 작게 나타났다. 이는 well로부터 첫번째 peak는 C3에, 두번째 peak는 C3a 및 C3b에 기인한 침강선임을 고려할 때 alternative pathway 활성화가 상대적으로 낮음을 알 수 있었다. 이상의 결과로부터 *F. velutipes* 배양액중 항보체 활성다당은 classical pathway와 alternative pathway 양경로를 공히 활성화시킬 수 있음을 알 수 있었다.

## 요 약

팽이버섯(*Flammulina velutipes*)으로부터 항보체 활성다당의 생산을 위해 여러 영양원의 효과를 검토하고 이들 활성다당의 부분정제를 행하였다. Galactose, NaNO<sub>3</sub>를 각각의 탄소, 질소원으로 한 배지를 이용하여 23°C, pH 5.5에서 6일간 배양시 최대의 활성다당 생산을 보였다. 또한 동조건의 배양상등액으로부터 조다당 FV-1을 분리한 후, 이를 Sephadex G-100을 이용한 젤여과를 통하여 활성이 우수한 FV-1-II와 III로 정제하였다. FV-1-II의 경우 xylose, mannose, galactose 및 glucose가, FV-1-III의 경우 rhamnose, mannose 및 galactose가 주요 구성당이였다. 한편 FV-1-III 희분은 Ca 이온 부재시에 활성의 부분적 감소를 일으켰으며, Ca 이온 부재 조건에서 정상인의 혈청과 반응 후 anti-human C3를 이용하여 2차원 면역전기영동을 행한 결과 C3의 분해산물을 관찰할 수 있었다. 이러한 사실로부터 FV 다당의 보체 활성화 양식은 classical pathway와 alternative pathway 양경로를 경유함을 알 수 있었다.

## 참고문헌

1. Yamada, H. 1984. Structure and antitumor activity of an alkali-soluble polysaccharide from *Cordyceps ophioglossoides*. *Carbohydr. Res.* **125**: 107-115.
2. Yamada, H. and H. Kiyohara. 1989. Bioactive polysaccharides from chinese herbal medicines. *Abstracts of Chinese Medicines* **3**: 104-124.
3. Roesler, J., A. Emmendorffer, C. Steinmüller, B.

- Luettig, H. Wagner, and M.L.L. Matthes. 1991. Application of purified polysaccharide from cell cultures of the plant *Echinacea purpurea* to test subjects mediates activation of the phagocyte system. *Int. J. Immunopharmac.* **13**: 931-941.
4. Saito, K., M. Nishijima, N. Ohno, N. Nagi, T. Yadomae, and T. Miyazaki. 1992. Activation of complement and *Limulus* coagulation systems by an alkali-soluble glucan isolated from *Omphalia lapidescens* and its less-branched derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **40**: 1227-1230.
5. Ohmori, T., K. Tamura, A. Wakaiki, G. Kawaniishi, S. Tsuru, T. Yadomae, and K. Nomoto. 1988. Dissociation of a glucan fraction (CO-1) from protein-bound polysaccharide of *Cordyceps ophioglossoides* and analysis of its antitumor effect. *Chem. Pharm. Bull.* **36**: 4512-4518.
6. Kanayama, H., N. Adachi, and M. Togami. 1983. A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf. *Chem. Pharm. Bull.* **31**: 1115-1118.
7. Ohkuma, T., K. Otagiri, T. Ikekawa, and S. Tanaka. 1982. Augmentation of antitumor activity by combined cryodestruction of sarcoma 180 and protein-bound polysaccharide, EA, isolated from *Flammulina velutipes* (cult. ex fr.) sing. in ICR mice. *J. Pharm. Dyn.* **5**: 439-444.
8. Hara, C., Y. Kumazawa, K. Inagaki, M. Kaneko, T. Kiho, and S. Ukai. 1991. Mitogenic and colony-stimulating factor-inducing activities of polysaccharide fractions from the fruit bodies of *Dicthyophora indusiata* FISCH. *Chem. Pharm. Bull.* **39**: 1615-1616.
9. Maeda, Y.Y. and G. Chihara. 1971. Lentinan, a new immuno-accelerator of cell-mediated responses. *Nature* **229**: 634-634.
10. Komatsu, N.S., S. Okubo, S. Kikumoto, K. Kimura, G. Saito, and S. Sakai. 1969. Host mediated antitumor action of schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann* **60**: 137-144.
11. Ohno, R., K. Imai, S. Yokomaku, and K. Yamada. 1975. Antitumor effect of protein-bound polysaccharide preparation, PS-K, against 3-methyl-cholanthrene-induced fibrosarcoma in C57 BL/6 mice. *Gann* **66**: 679-681.
12. 紫田承仁. 1988. 新篇生物活性 天然物質. Pp. 334-337. 醫齒藥出版社, 東京.
13. Law, S.K.A. and K.B.M. Reid. 1988. *Complement*. Pp. 1-67. IRL press, Oxford.
14. Lee, H.K. 1993. Partial purification and characterization of anti-complementary polysaccharides from *Flammulina velutipes*. Master thesis, Korea Univ.
15. Komatsu, J., H. Terekawa, K. Nakanishi, and Y.

- Watanabe. 1963. Flammulin, a basic protein of *Flammulina velutipes* with antitumor activities. *J. Antibiot. Ser. A* **16**: 139-143.
16. Lin, J.Y., Y.J. Lin, C.C. Chen, H.L. Wu, G.Y. Shi, and T.W. Jeng. 1974. Cardiotoxic protein from edible mushrooms. *Nature* **252**: 235-237.
17. Ahn, J.H. 1992. Studies on the mycelial growth and the mass production of sporophores in *Flammulina velutipes*. Master thesis, Korea Univ.
18. Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**: 350-358.
19. Dische, Z. and E. Borenfreund. 1957. A new color reaction for the determination of aldopentose in presence of other saccharides. *Biochem. Biophys. Acta.* **23**: 639-642.
20. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, L. Farr, and R.J. Rindall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-195.
21. Jones, T.M. and P. Aldersheim. A gas chromatographic method for the determination of aldose and uronic acid constituents of plant cell wall polysaccharides. *Plant Physiol.* **49**: 926-936.
22. Kabat, E.A. and M.M. Mayer. 1961. Complement and complement fixation, Pp. 149-153. *Experimental Immunochimistry*, Thomas Charles Publisher, Springfield.
23. Shimura, K., H. Ito, and H. Hibasami. 1983. Screening of host-mediated antitumor polysaccharides by crossed immunoelectrophoresis using fresh human serum. *Japan. J. Pharmacol.* **33**: 403-408.
24. Gruen, H.E. and S.H. Wu. 1971. Promotion of stipe elongation in isolated *Flammulina velutipes* fruit bodies by carbohydrates, natural extracts and amino acids. *Can. J. Bot.* **50**: 803-818.
25. Hong, W.B., K.S. Chung, M.S. Woo, and B.K. Kim. 1982. Studies on constituents of higher fungi of Korea(XXXIII). *Kor. J. Mycol.* **10**: 147-154.
26. Tokimoto, K., N. Fukuda, H. Kishimoto, and H. Koshitani. Activities of enzymes in bedlogs of *Leontinus edodes* during fruit body development. *Rept. Tottori Mycol. Inst.* **25**: 24-35.
27. Ruitter, G.A., A.W. Lugt, A.G.J. Voragen, and F.M. Rombouts. 1991. High-performance size-exclusion chromatography and ELISA detection of extracellular polysaccharides from Mucorales. *Carbohydr. Res.* **215**: 47-57.

(Received June 1, 1994)