

*Fomitella fraxinea*로부터 분리한 면역활성 다당류 (I)

- 중성염 용액 추출 다당류의 특성 -

조수목 · 이재훈 · 한상배 · 김환목 · 유승현¹ · 유익동*

한국과학기술연구원 생명공학연구소

¹충남대학교 농생물학과

Immuno-stimulating Polysaccharides from the Fruiting Bodies of *Fomitella fraxinea* (I)

- Characterization of polysaccharides extracted with
neutral sodium chloride solution -

Soo-Muk, Cho, JaeHoon Lee, Sang-Bae Han, Hwan-Mook Kim,

Seung-Hun Yu¹ and Ick-Dong Yoo*

Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology,

KIST P.O. Box 115, Yusong, Taejon 305-600, Korea

¹Department of Agricultural Biology, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

ABSTRACT: Water-soluble polysaccharide (FCW) was extracted from the fruiting body of *Fomitella fraxinea* with neutral sodium chloride solution. The polysaccharide was further fractionated into FCW-I and FCW-II by ion exchange chromatography. The FCW-I and FCW-II were then purified by gel permeation chromatography and named as FCW-Ia and FCW-IIa, respectively. FCW-IIa showed relatively strong immuno-stimulating activity but FCW-Ia did not. By analyses of HPLC and GPC, FCW-Ia and FCW-IIa were identified to be homogeneous and their molecular weights were estimated to be about 15,000 and 8,700, respectively. FCW-Ia consisted of fucose, galactose, and mannose as main sugars and their molar ratio was 19.5 : 63.2 : 25.0. Protein was not detected in FCW-Ia. However, FCW-IIa was composed of glucose, galactose, and mannose at a molar ratio of 1.0 : 0.3 : 0.4 and contained 0.4% protein with a higher amount of glutamic acid. A small amount of uronic acid was detected in both FCW-Ia and FCW-IIa.

KEYWORDS: *Fomitella fraxinea*, polysaccharide, immuno-stimulating activity

Fomitella fraxinea (Fr.) Imaz.는 민주름버섯목 (Aphyllporales) 구멍장이버섯과 (Polyporaceae) 에 속하는 담자균으로서, 흑머섯, 흑잔나비버섯, 아카시 재목버섯 및 장수버섯으로 불리며 (이, 1990; 장, 1995) 벗나무, 아카시나무, 사과나무 등의 뿌리 근처에 무리 지어 생육하는 1년생 백색부후균으로 북반부에 널리 분포한다 (박과 이, 1995). 이 버섯은 영지 (*Ganoderma lucidum*)와 형태적으로 유

사하여 민간에서는 "아카시아 영지"로 불리며 최근 약용 균류로 취급되어 왔으나 장등 (1995)의 자체의 특성과 배양 연구, Kim등 (1993)에 의한 균사체를 이용한 양질의 사료 생산 연구와 김등 (1995)의 열수추출로 얻은 산성다당류의 정제와 분석에 관한 연구 등이 보고되었을 뿐, 정확한 약리활성성분에 관한 연구는 이루어지지 않았다.

한편, 담자균 유래 신규 생리 활성물질의 탐색 연구는 그 동안 많은 연구자에 의하여 실시되었는데 (Kawagishi, 1994; Kim등, 1980; 유, 1995), 그

*Corresponding author

중에서도 특히 새로운 항암 면역 요법제로서 이용될 수 있는 다당류의 연구가 주종을 이루고 있었다 (Srivastava and Kulshreshtha, 1989). 담자균이 생산하는 생리활성물질중 다당류는 주로 β -1,3-glycan으로 sarcoma-180과 같은 allogeneic 및 syngeneic tumors에 효과가 있음이 보고되었다. 또한 숙주 매개성 면역 증강 활성을 지니고 세포독성이 적어 Biological Response Modifiers (BRM)으로 각광받고 있다 (Franz, 1989). 항암면역활성을 증강시키는 다당류에 관한 연구는 구멍장이버섯과에 속하는 버섯이 주된 연구의 대상이 되었는데 (Mizuno 등, 1992), 대표적인 연구로는 *Coriolus versicolor*로부터 Krestin (Hirase 등, 1976), *Lentinus edodes*로부터 Lentinan (Chihara 등, 1970), *Schizophyllum commune* 으로부터 Schizophyllan (Komatsu 등, 1969) 등이 보고되었으며 이미 실용화되었다. 또한 이들 다당류들은 단독 혹은 화학요법제나 방사선 치료와 병행하여 사용되어 왔다 (Franz, 1989). 국내의 연구로는 강등 (1981), 광등 (1992), 박등 (1992) 및 현등 (1990)이 각각 만년버섯, 좁우단버섯, 구름버섯, 영지 버섯으로부터 항암 성분인 단백다당류를 추출 정제하여 활성을 보고하였으며 유등 (1994) 및 Song 등 (1995)은 *Phellinus linteus*로부터 강력한 항암면역활성이 인정되는 heteropolysaccharide를 분리 보고한 바 있다.

본 연구에서는 국내 자생 버섯류로부터 각종 생리 활성 물질을 탐색하던 중 *Fomitella fraxinea*의 자실체로부터 강한 면역 증강 활성이 있음을 확인하고 활성 다당체를 분리 정제한 후 물리화학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

공시 재료

*Fomitella fraxinea*의 자실체는 강원도 원주 일대에 서식하는 아카시나무 (*Robinia pseudo-acacia*)의 절주목으로부터 신선한 상태로 채취하였다 (Fig. 1). 채취 시기는 9월에서 10월경으로 성숙된 자실체만을 수집하였고 풍건한 후 세분하여 실험에 사용하였다.



Fig. 1. Fruiting bodies of *Fomitella fraxinea*.

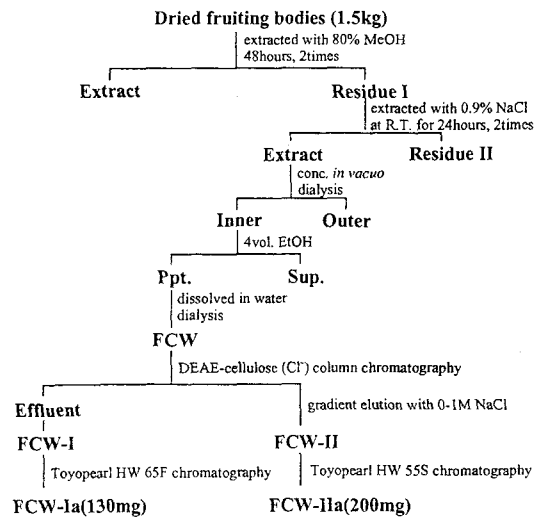


Fig. 2. Preparation scheme of polysaccharides from the fruiting bodies of *Fomitella fraxinea*.

다당류의 추출 및 분획

건조된 자실체 1.5 kg을 80% methanol에 침지하여 48시간 상온에서 추출한 후 methanol 추출물을 제거하고 남아 있는 자실체에 0.9% NaCl 6 l를 첨가하여 2회 반복 추출하였다. 이 추출물을 여과한 다음 감압 농축하였고 농축액에 300 ml의 물을 가하여 용해시킨 다음 이 용액을 투석막 (MWCO : 3500, Spectrum사)을 사용하여 10°C에서 48시간 동안 투석하였다. 투석막 내액에 4배 용량의 ethanol을 가한 뒤 원심 분리하여 다당류 침전물을 얻었다. 다당류를 물로 현탁 하여 위의 방법으로 재투석하고 동결 건조하여 중성염 용액 추출 다당류 FCW 2 g을 얻었다 (Fig. 2). FCW를 pH 7.7로 조절한 5 mM sodium phosphate 완충액에 녹여 동일한 완충액으로 평형화시킨 DEAE-cellulose (Cl-

form, Merck사) 이온 교환 컬럼에 loading하고 동일한 완충액 600 ml 및 0~1 M NaCl gradient로 elution 하였다. 이때 15 ml씩 각 분획을 모았으며, 당은 phenol-sulfuric acid 방법(Dubois 등, 1956)으로, 단백질은 Bradford 방법(Bradford, 1976)으로 각각 정량하였다.

다당류의 정제

이온 교환 크로마토그래피를 통하여 얻어진 분획을 정제하기 위하여 Toyopearl HW65F와 HW55S gel (Tosoh사)을 사용하여 겔 여과 크로마토그래피를 행하였다. 물을 분당 1 ml로 용출 시키며 각 분획당 5 ml씩 모았고, 당과 단백질 분석은 위와 동일한 방법으로 정량하였다. 또한, 고속 액체 크로마토그래피로 분자량을 결정하였다. 이 때 사용된 컬럼은 TSK-GMPW (7.8×300 mm, Tosoh사)이며 시료를 1 mg/ml 농도로 물에 녹여 10 ul를 주입하였다. 용매로는 0.1 M NaCl를 사용하였고, 용출 속도는 1 ml/min으로 하였으며 이때의 분압은 12 psi이었다. Detector는 refractive index(RI-8010, Tosoh사)를 사용하였으며 분자량 표준품으로는 dextran (Sigma)을 사용하였다.

구성당의 조사

다당류 2 mg을 1 ml의 Trifluoroacetic acid (TFA)에 녹인 후 121°C에서 1시간 가열하여 완전 가수분해 산물을 얻었다. 가수분해후 TFA를 감압 증발하여 제거하고 sugar alditol를 얻기 위하여 그 가수분해 산물에 1 ml의 0.1 M NaOH와 40 mg의 NaBH₄를 가한 뒤, 37°C에서 4시간 환원시켰다. 초산을 주의 깊게 첨가하여 반응을 중지시킨 뒤 남아 있는 borohydride는 methanol를 첨가하면서 감압 증발 건조시켜 제거하였다. 이 과정을 3회 반복하여 백색의 물질을 얻었다. 얻어진 sugar alditol에 0.5 ml의 acetic anhydride와 0.5 ml의 pyridine을 각각 가하여 110°C에서 1시간 반응시켜 acetylation시켰다. 생성된 sugar alditol acetate를 chloroform으로 추출하여 GC 분석을 행하였다. GC 분석은 fused silica capillary SP 2380 (0.25 mm×30 m, Supelco사) 컬럼을 사용하였고 carrier gas는 N₂을, detector는 flame ion-

ization detector를 사용하였다. 컬럼 온도는 초기에 230°C로 5분간 유지시키고 10°C/min의 속도로 270°C까지 서서히 증가시켜 20분간 유지하면서 분석하였다. 이때 injector와 detector의 온도는 각각 260°C, 300°C이었다.

구성 성분의 조사

당과 단백질 함량은 위의 방법으로 측정하였으며, 이때 D-glucose (Sigma)와 bovine serum albumin (Bio-Rad사)을 각각 표준품으로 사용하였다. Uronic acid의 함량은 D-glucuronic acid (Sigma)를 표준품으로 사용하여 meta-hydroxyphenyl 방법(Blumenkrantz and Hansen, 1973)으로 측정하였다. 아미노산 분석을 위하여, 시료를 110°C 염산으로 24시간 동안 처리한 뒤 HCl를 감압 증발과 triethylamine으로 제거하였다. 생성된 아미노산을 phenylisothiocyanate로 유도체화 시킨 뒤 Pico-tag 유리 아미노산 분석 컬럼(3.9×300 mm, Waters사, USA)으로 분석하였다.

항암 면역 증강 활성 측정

항암 면역 증강 활성은 전보에 기술한 방법에 의하여 실시하였다 (Song등, 1995). 즉 mouse의 spleen cell을 적출, 정제하여 시료 또는 양성대조구인 lipopolysaccharide (LPS)로 2일간 면역화시킨 뒤, 면역 반응후 생긴 antibody forming cell (AFC)을 576 nm에서 흡광도를 조사하여 계수하고 활성의 지표로 사용하였다.

결과 및 고찰

다당류의 추출, 분획 및 정제

*Fomitella fraxinea*의 자실체 1.5 kg을 풍건하고 세분한 다음 0.9% NaCl로 추출하고 이온 교환 크로마토그래피와 겔 여과 크로마토그래피를 통하여 정제하였다(Fig. 2). 0.9% NaCl 추출물을 투석하여 염을 제거하고 ethanol를 첨가하여 다당류를 침전시켰다. 침전물을 다시 투석하고 동결 건조하여 다당류 FCW를 얻었다. FCW 1 g을 10 ml의 5 mM sodium phosphate 완충액에 용해시켜 DEAE-cel-

lulose로 충전된 컬럼에 loading한 다음 컬럼을 완충액과 NaCl로 용출하였다. 완충액으로 용출된 분획들과 0~1M NaCl gradient로 용출된 분획들로부터 당이 검출되는 부위만을 모았다. 모아진 분획들을 투석하고 동결 건조하여 완충액 용출 부분에서 흰색 분말의 FCW-I과 NaCl 용출 부분에서 갈색 분

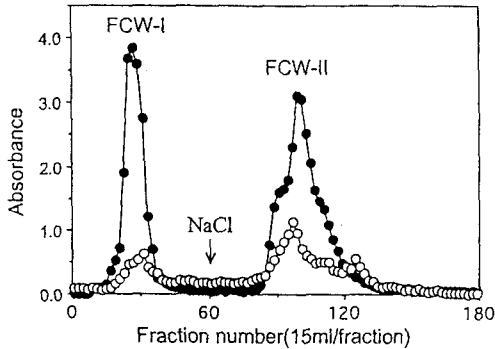


Fig. 3. Elution profile of FCW from *Fomitella fraxinea* on DEAE-cellulose ion exchange chromatography.

The extracted polysaccharide (FCW, 1 g) was chromatographed on DEAE-cellulose column($\phi 48 \times 380$ mm). After washing with 5 mM sodium phosphate buffer (pH 7.7), the column was eluted by linear gradient of 0 to 1 M NaCl. The sugar (●) was determined by phenol sulfuric acid method at 490 nm and protein (○) was by Bradford's method at 590 nm, respectively.

말의 FCW-II를 얻었다(Fig. 3). FCW-I은 이온 컬럼에 흡착성이 적은 것으로 보아 중성 다당류로, FCW-II는 이온성이 강한 NaCl로 용출 되므로 산성 다당류로 추정되었다. 이온 크로마토그래피를 통하여 얻어진 다당류 FCW-I과 FCW-II를 겔 여과 크로마토그래피하여 분자량이 일정한 수용성 다당류 FCW-Ia과 FCW-IIa을 얻을 수 있었다(Fig. 4). Misaki등 (1981)은 *Auricularia auricula-juda*의 자실체로부터 얻은 0.9% NaCl 추출 다당류를 수용성이라고 보고하였다. 따라서 중성염과 열수 추출 다당류는 일반적으로 수용성 다당류인 것 같다(松田, 1989; Harborne, 1973). 또한 분자량이 일정한 균질한 다당류의 정제는 본 실험에서 사용된 이온 교환 크로마토그래피와 겔 여과 크로마토그래피가 효율적임을 증명하고 있다.

항암 면역 증강 활성

*Fomitella fraxinea*로부터 분리한 다당류와 양성대조구인 LPS를 0.01, 0.1 mg/ml의 농도로 처리하여 항암 면역 활성을 조사하였다(Fig. 5). 그 결과 FCW, FCW-I 및 FCW-Ia에는 항암면역활성이 없었으며, FCW-II는 양성 대조구 LPS에 비하여 각각 0.01 mg/ml와 0.1 mg/ml의 농도에서 17%, 61%의 활성을 보였으며 FCW-IIa는 같은 농도에서 80, 78%의 높은 활성을 보였다. 0.9% NaCl 추

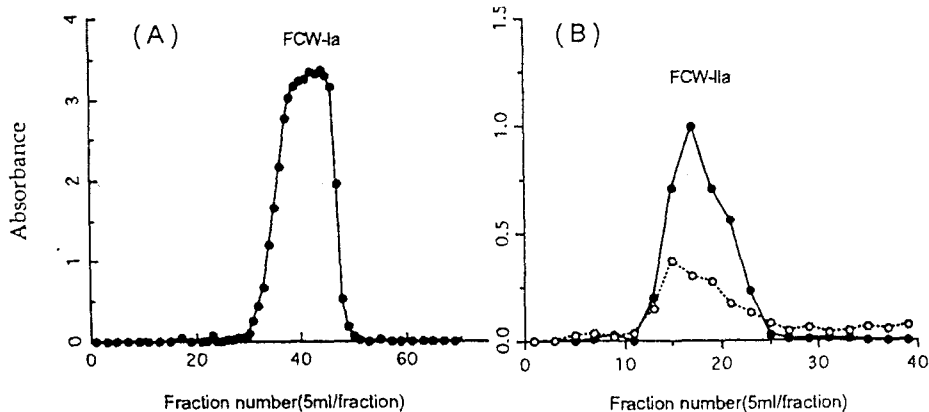


Fig. 4. Elution profiles of FCW-I on Toyopearl HW65F gel column (A) and FCW-II on Toyopearl HW55S gel column (B).

The gel permeation columns ($\phi 2.1 \times 100$ cm) were eluted with water. The sugar and protein were measured by phenol sulfuric acid method (●) and Bradford's method (○), respectively.

출 다당류 중 항암면역활성 다당류 FCW-IIa의 구조 분석 및 구조 활성 관계 실험이 진행 중이다.

항암 면역 증강 활성 다당류의 물리화학적 특성

*Fomitella fraxinea*로부터 분리한 항암면역활성 다당류들의 평균 분자량을 HPLC로 분석하여 결정하였다. 분자량 표준 곡선에 의하여 측정된 FCW-Ia와 FCW-IIa 평균 분자량은 각각 15,000과 8,700이었다(Fig. 6). 이 크기는 담자균에서 보고된 항암면역활성 다당류 homoglucan인 β -glucan의 일반적인 분자량 5만에서 백만 정도(Chihara등, 1970; Komatsu등, 1969; Mizuno등, 1992)보다 작으나, 최근에 보고된 면역 증강 활성 다당류 heteropolysaccharides의 크기인 1만에서 5만 정도와 유사하였다 (Mizuno등, 1989, 1995; Song등, 1995).

FCW, FCW-I, FCW-Ia, FCW-II 및 FCW-IIa의 당 함량은 각각 31, 80, 89, 26 및 43%이었고, FCW, FCW-II 및 FCW-IIa의 단백질 함량은 소량

이었다. FCW-I과 FCW-Ia는 단백질을 함유하지 않았다. 또한 모든 분획에서 소량의 uronic acid가 측정되었으며, 그 양은 FCW, FCW-I, FCW-Ia, FCW-II 및 FCW-IIa 1 mg 기준으로 각각 38, 21, 18, 63, 63 μ g이었다. 산성당의 함량이 높은 FCW, FCW-II 그리고 FCW-IIa의 경우 당의 함량이 낮았는데 이 결과는 당 측정 방법인 phenol-sulfuric acid 방법이 산성당에 의하여 간섭을 받기 때문인 것으로 사료된다. GC로 구성당 성분을 분석한 결과, FCW를 비롯한 모든 분획들은 glucose를 비롯한 7종의 다당류를 갖고 있는 heteropolysaccharides이나 각 구성당의 구성비에 있어서 차이를

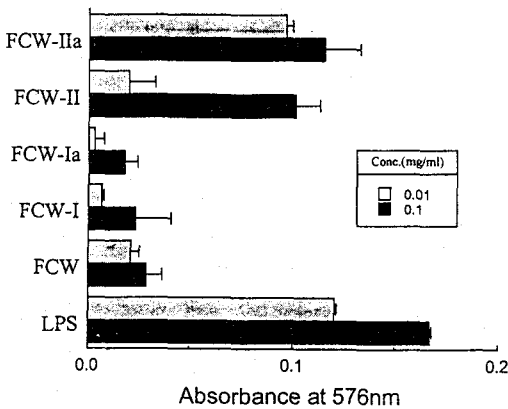


Fig. 5. Immuno-stimulating activities of polysaccharides from *Fomitella fraxinea*.

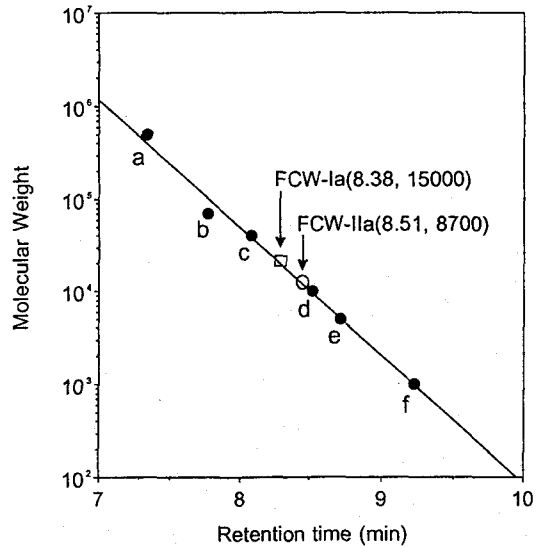


Fig. 6. A calibration curve for molecular weight determination.

The used standard molecule is dextran and molecular weight is a: 5×10^5 , b: 7×10^4 , d: 1×10^4 , e: 5×10^3 , and f: 1×10^3 , respectively.

Table 1. Some properties of polysaccharides from the fruiting bodies of *Fomitella fraxinea*

Fraction	Total sugar (%)	Protein (%)	Uronic acid (μ g/mg)	Constitutive sugar (molar ratio)							Average molecular weight
				Glc	Fuc	Gal	Man	Xyl	Ara	Rha	
FCW	31	1	38	1.0	0.4	1.5	1.1	+	+	+	N.D.*
FCW-I	80	N.A.**	21	1.0	13.6	43.9	17.6	+	+	+	N.D.
FCW-Ia	89	N.A.	18	1.0	19.5	63.2	25.0	+	+	+	15,000
FCW-II	26	0.3	63	1.0	0.1	0.3	0.6	0.1	0.1	0.1	N.D.
FCW-IIa	43	0.4	63	1.0	0.1	0.3	0.4	+	+	0.1	8,700

*Not available, **Not available.

Table 2. Amino acid contents of FCW-IIa

Amino acid	% Amount
Glu	47.1
Asp	9.1
Gly	9.0
Ala	6.7
Thr	6.3
Ser	4.9
Pro	4.6
Val	2.6
Lys	2.2
Leu	1.8
His	1.4
Ile	1.1
Arg	0.8
Phe	0.8
Trp	0.8
Cys	0.6
Tyr	0.3
Met	0.2

보였다. 즉 정제된 FCW-Ia에서 fucose, galactose 및 mannose는 19.5 : 63.2 : 25.0의 몰비로 존재하였고, FCW-IIa에서 glucose, galactose, 및 mannose는 1.0 : 0.3 : 0.4의 몰비로 존재하였다. 그 외의 구성당은 소량으로 존재하였다. 따라서 FCW-Ia는 fuco-mannogalactan으로, FCW-IIa는 galacto-mannoglucan으로 추정하였다. 정제된 다당류의 분자량 및 구성당 등의 물리화학적 특성을 Table 1에 요약하였다. 한편 FCW-IIa의 아미노산 분석 결과(Table 2), glutamic acid의 함유량이 47%로 가장 높았고 glycine, aspartic acid, serine threonine, alanine의 양은 각각 9.0, 9.1, 4.9, 6.3, 6.7%이었다.

이상의 결과로부터 강한 항암 면역 증강 활성 다당류 FCW-IIa는 산성당을 함유한 산성 단백-heteroglucan으로 추정된다. 기존에 보고된 항암면역 활성을 지닌 대부분의 다당류는 glucose-polymer이며 그들의 크기 및 구조적 형태에 따라 활성의 차이를 보인다 (Lee, 1994). Hirase등 (1976)과 박등 (1992)은 구름버섯 유래 단백 다당류의 단백질 함량을 2-10%로 보고한 바 있고, 당-단백 복합체에 대한 많은 연구가 있으나 어느 부위가 활성에 관여하는지는 알려지지 않았다 (Mizuno등, 1995;

Zhang등, 1994). FCW-IIa의 강한 항암 면역 증강 활성이 protein moiety에 기인하는지 또는 당에 기인하는지는 아직 확실하지 않다. 그러나, *Agaricus blazei* 유래 protein-polysaccharide complex에 있어서 protein은 활성에 필수적이거나 (Mizuno등, 1989), Song등 (1995)은 *Phellinus linteus* 유래 단백-다당체에서 단백질이 활성에 관여하지 않는다고 보고하였다. 따라서 FCW-IIa의 명확한 구조 해석과 그들의 구조와 면역 활성과의 상관관계에 대한 연구가 진행 중이다.

적 요

*Fomitella fraxinea*의 자실체로부터 중성염 용액을 사용하여 다당류 FCW를 추출하였다. FCW를 이온 교환 크로마토그래피하여 FCW-I과 FCW-II로 분획하였고, 이 두 분획을 겔 여과 크로마토그래피하여 흰색 분말의 FCW-Ia와 갈색 분말의 FCW-IIa를 각각 얻었다. FCW-Ia와 FCW-IIa의 균질성을 HPLC와 GPC로 확인하였고, 그들의 분자량을 각각 15,000과 8,700으로 결정하였다. FCW-Ia에는 항암 면역 증강 활성이 없었고, FCW-IIa는 높은 활성을 나타냈다. 두 분획에서 소량의 uronic acid가 검출되었다. GC에 의한 당당류 분석 결과 FCW-Ia는 fucose, galactose, 그리고 mannose를 갖고 있으며 그 몰비는 19.5 : 63.2 : 25.0이었다. 단백질은 FCW-Ia에서 검출되지 않았다. 한편 FCW-IIa의 주 당당류는 glucose, galactose 및 mannose로서 그 비는 1.0 : 0.3 : 0.4이었으며, 단백질을 0.4% 함유하고 있다. 아미노산 분석 결과 높은 양의 glutamic acid이 검출되었다.

參考文獻

- Blumenkrantz, N. and Asboe-Hansen, G. 1973. New methods for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* **54**: 484-489.
- 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.
- Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Arai, Y., and Fukuoka, F. 1970. Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially Lentinan from *Lentinus edodes* (Berk) Sing (an edible mushroom). *Cancer Res.* **30**: 2776-2781.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**: 350-356.
- Franz, G. 1989. Polysaccharides in pharmacy: current applications and future concepts. *Planta Med.* **55**: 493-497.
- Harborne, J.B. 1973. Phytochemical methods-A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman and Hall LTD. p261.
- Hirase, S., Nakai, S., and Akatsu, T. 1976. Structure studies on the antitumor active polysaccharides from *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes). I. Fractionation with barium Hydroxide. *Yakugaku Zasshi.* **96**: 413-418.
- Kawagishi, H. 1994. Cell-function regulating substance from mushrooms. *Nippon No-geikagaku Kaishi* **68**: 1671-1677.
- Kim, B.K., Chung, H.S., Chung, K.S. and Yang, M.S. 1980. Studies on the antineoplastic components of korean basidiomycetes. *Kor. J. Mycol.* **8**: 107-113.
- Kim, Y.K. and Kim, Y.I. 1993. High quality fermented feed production from lignocellulosic materials by mycelium. *K. J. Dairy Sci.* **15**: 251-260.
- Komatsu, N., Olubo, S., Kikumoto, S., Kikumuro., Saito, G., and Skai, S., 1969. Host mediated antitumor action of Schizophyllan, a glucan produced by *Schizophyllum commune*. *Gann.* **60**: 137-144.
- Lee, J.H. 1994. Antitumor and immuno-stimulating activity of fungal polysaccharide. *The microorganisms and industry* **20**: 14-21.
- Misaki, A., Kakuta, M., Sasaki, T., Tanaka, M., and Miyaji, M. 1981. Studies on interrelation of structure and antitumor effects of polysaccharides: antitumor action of periodate-modified, branched (1-3)-beta-D-glucan of *Auricularia auricula-juda*, and other polysaccharides containing (1-3)-glycosidic linkages. *Carbohydr. Res.* **92**: 115-129.
- Mizuno, T. 1989. Development and utilization of bioactive substances from medicinal and edible mushroom fungi (1). *The chemical times* **1**: 12-21.
- Mizuno, T., Ando, M., Sugie, R., Ito, H., Shimura, K., Sumiya, T., and Matsuura, A. 1992. Antitumor activity of some polysaccharides isolated from an edible mushroom, Ningyotake, the fruiting body and the cultured mycelium of *Polyporus confluens*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**: 34-41.
- Mizuno, T., Kinoshita, T.K., Zhuang, C., Ito, H., and Mayuzumi, Y. 1995. Antitumor-active heteroglycans from *Niohshimeji Mushroom*, *Tricholoma giganteum*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**: 568-571.
- Song, K.S., Cho, S.M., Lee, J.H., Kim, H.M., Han, S.B., Ko, K.S., and Yoo, I.D. 1995. B-lymphocyte stimulating polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Chem. Pharm. Bull.* in press.
- Srivastava, R. and Kulshreshtha, D.K. 1989. Bioactive polysaccharides from plants. *Phytochemistry* **28**: 2877-2883.
- Zhang, J., Wang, G., Li, H., Zhuang, C., Mizuno, T., Ito, H., Suzuki, C., Okamoto, H., and Li, J. 1994. Antitumor polysaccharides from a chinese mushroom, *Yuhuangmo*, the fruiting body of *Pleurotus citrinopileatus*. *Biosci. Biotech. Biochem.* **58**: 1195-1201.
- 강창울, 심미자, 최응철, 이영남, 김병각. 1981. 한국산 담자균류의 항암성분에 관한 연구, 만년버섯의 균사 배양 및 항암성분. 한국생화학회지

14:101-112.

곽상덕, 복진우, 현진원, 최응칠, 김병각. 1992. 한국산 고등 균류의 성분 연구(제73보), 좁우단버섯 배양 균사체의 항암 성분. 한국균학회지 20: 240-251.

김동현, 임재현, 김화은, 김정봉, 윤상홍, 황영수. 1995. *Fomitella fraxinea* 버섯으로부터 추출한 산성다당류의 분획과 분석. '95 춘계 농화학회 학술발표요지.

박경숙, 이재양, 이상직, 김선희, 이재성. 1992. 구름버섯 배양액으로부터 단백 다당류의 추출 및 정제 방법. 한국균학회지 20: 72-76.

박완희, 이호득. 1995. 한국의 버섯, 교학사.

유익동, 김종평, 김원곤, 이재훈, 조수목, 김환목등. 1994. 생리 활성 선도 물질의 탐색 기술 개발

(III). 과학기술처 연구 보고서 BSN1370-732-3. 유익동. 1995. 버섯 유래 신기능 생리 활성물질의 탐색, 화학구조 및 생리 활성. 균학회 소식지 7: 6-10.

이태수. 1990. 한국 기록종 버섯 총목록. 한국균학회지, 18: 233-259.

장현유, 차동열, 강안석, 홍인표, 김광포, 석순자, 윤호중, 성재모. 1995. 장수버섯의 배양적 특성. 한국균학회지 23: 238-245.

현진원, 최응칠, 김병각. 1990. 한국산 고등 균류의 성분 연구(제67보), 영지 버섯 자실체의 항암 성분. 한국균학회지 18: 58-69.

松田和雄. 1989. 多糖의分離·精製法. 學會出版社.