The Korean Journal of Mycology
© The Korean Society of Mycology
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2012.40.1.054

한국균학회지
Kor. J. Mycol. 40(1) : 54-59 (2012)

예쁜꼬마선충의 생육에 관한 장수상황버섯의 베타글루칸 함유 추출물의 영향

김혜민 · 이동희*

Effect of Beta-glucans Extracted from *Phellinus baumii* on the Growth of *Caenorhabditis elegans*

Hyemin Kim and Dong Hee Lee*

Department of Life Science, University of Seoul 13 Siripdae-Gil Rd, Jeonnong-Dong, Dongdaemun-Gu, Seoul, Korea 130-743

(Received November 26, 2011. 1st Revised November 27, 2011. Accepted January 3, 2012)

ABSTRACT: This study investigates the effect of β-glucans on the growth of *Caenorhabditis* elegans. Comparison was made among lipopolysaccharide (LPS) and β-glucans extracted from *Phellinus baumii,* in the presence of peptidoglycans which is available as the major carbon source from OP50, a non-pathogenic strain of *Escherichia coli*. When the three sources of carbohydrate were added singularly or in mixture to the culture media, a significant level of variation was observed with respect to fecundity. Addition of β-glucans appeared to increase the fecundity. When β-glucans was reinforced in the culture media, the fecundity increased at least 20 percent compared to the OP50-only media which exclusively contains peptidoglycans. In terms of life span, *C. elegans* showed a modest reduction when treated especially with β-glucans. *C. elegans* accumulated less fat in the β-glucans containing media different from the OP50 media. Based on the Sudan black staining, fat deposition significantly decreased corresponding to the β-glucans content in the media. On LPS-supplemented media, no difference was observed in fat deposition compared to the normal OP50 media. At the level of motility, β-glucans-treated worms moved more distance as well as LPS-treated worm. They also showed a comparable degree of motility under similar treatment with each source of carbohydrate. In conclusion, LPS and β-glucans, extracted from *P. baumii,* may not entirely replace the food required for *C. elegans*; however, it might be utilized as valuable alternative food source which *C. elegans* use as forms of carbohydrates in stead of peptidoglycan of OP50.

KEYWORDS : Beta-glucans, *Caenorhabditis* elegans, Functional ingredient, Lipopolysaccharide, Peptidoglycan, *Phellinus baumii*

서 론

상황버섯에 있어 국제적인 관심은 목질진흙버섯(*Phellinus linteus*)에 집중되어 있으며, 상황버섯의 재배와 연구는 사실상 목질진흙버섯을 대상으로 이루어지고 있다. 목질상황버섯은 항염증, 항산화, 및 항암 등의 일반적인 면역기능 증강의 효능이 있는 것으로 많은 연구를 통해 잘 알려져 있다. 이러한 세계적 추세와는 달리 한국의 경우 대부분 장수상황버섯(*Phellinus baumii*)이 재배되고 있다. 장수상황버섯의 자실체는 독성이 없어 식용재료로 사용될 수 있으나, 장수상황버섯을 실제로 식용으로 허용되는 곳은 한국이 유일하다. 장수상황버섯에 관한 연구는 부족한 실정이며, 아울러 세계인의 관심은 미약한 편이다. 위와 같은 사실을 감안할 때 한국의 상황버섯에 대한 체계적이고 심도 있는 연구가 매우 필요한 실정이다.

장수상황버섯은 다양한 다당체를 함유하고 있으나, 대부분의 상황버섯과 비교하여 성분에 있어 큰 차이가 없는 것으로 알려져 있다. 상황버섯류의 기능성 성분은 열수 추출물에 포함된 다당체(탄수화물)에 포함되어 있다. 이러한 다당체 성분은 인체 내에서 다른 화학물질에 비해 독성이 거의 없어, 이를 이용한 치료제 개발에 많은 연구가 이루어지고 있다(Chang *et al*., 2008; Jeoung *et al*., 2009). 이러한 기능성 다당체 중에서 대표적인 물질은 베타글루칸이며, 함량은 종류에 따라 차이가 있다. 베타글루칸은 글루코스가 베타결합을 통해 삼중의 나선형을 형성하는 고분자의 다당체이며, 베타-(1,3)-글루칸이 기본골격이며 베타-(1,6)-글리코실의 분지를 가지는 데, 분자량은 250,000에 달한다(Quing *et al.,* 2010).

베타글루칸이 인간에게 미치는 건강증진의 효능 외에 생명체에 있어 에너지 및 생리활성적 차원의 기능적 측면에 관한 연구는 많지 않다. 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans, C. elegans*)은 특정 물질이 생명체에 미치는 영향을 산자수와 지방조직으로의 집적 및 에너지원으로서의 사용 가능성등의 관점에서 평가하기에 적합한 동물시스템이다(Silverman *et al*., 2009; Szewczyk *et al*., 2003; Links *et al*., 2000). *C. elegans*는 OP50이라는 대장균으

*Corresponding author <E-mail : leedh@uos.ac.kr>

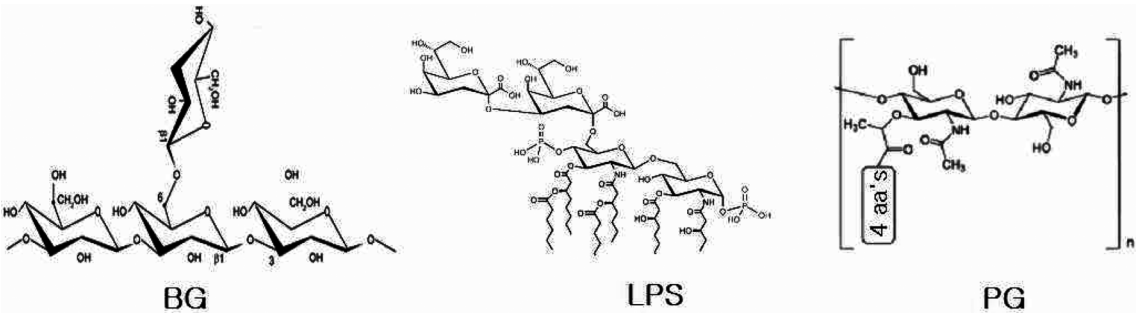


Fig. 1. Structure of various polysaccharides. Beta-glucan (BG), lipopolysaccharide (LPS), and peptidoglycan (PG) consist of glucose as building blocks. BG is a major component typical for the cell wall of mushroom. Bacterial cell wall is made up of LPS and PG. [4aa's] denotes a run of four amino acids.

로부터 탄수화물 등의 필수적 영양소를 얻고 있다. *C. elegans*는 OP50 세포벽의 주성분을 소화하여 탄수화물을 얻는 것으로 알려져 있다. 상황버섯의 베타 글루칸은 항암, 면역 증강 및 항염증효과를 나타내는 핵심성분으로 알려져 있다(Volman *et al*., 2010). 아울러, 주요 구성요소인 베타글루칸은 활성산소를 제거해 주는 성분과 노화를 방지해 주고 아토피 질환을 포함한 피부병의 개선 및 치료에 효능이 있는 성분이 포함되어 있다고 한다. 이러한 버섯류의 주요 다당체가 선충의 영양 및 생육에 미치는 영향은 자세히 알려진 바가 없다(Boyd *et al*., 2007; Estes *et al*., 2005). 최근의 연구에 의하면 소나무 재선충 등의 선충류는 곰팡이류가 제공하는 다당류를 활용하여 성장할 수 있음이 알려진 바 있다(Girard *et al*., 2007).

본 연구는 상황버섯에서 추출한 베타글루칸이 peptidoglycan외의 탄수화물의 공급이 *C. elegans*의 영양과 생육에 미치는 영향을 구명하고자 수행하였다. 장수상황버섯의 베타글루칸 함유 추출물을 단독으로 또는 OP50과 혼합하여 배지에 투입하여 베타글루칸이 선충의 먹이로 대체할 수 있는지의 여부와, 선충의 생육에 미치는 효과는 어떠한지에 대해 알아보았다. 아울러, 세균의 세포벽을 구성하는 다당체 성분인 lipopolysaccharide(LPS)를 단독 또는 OP50과의 혼합물로 선충의 배지에 투입하여 베타글루칸과 비교하여 선충의 생육에 미치는 효과를 검증하였다(Fig. 1). 이들 다당체가 생육에 미치는 효과는 선충의 산자수 및 수명, 고지방 배지에서의 지방 축적을 연구하였다. 아울러, 다당체를 처리한 후, 선충의 동선 및 운동량을 측정하여 장수상황버섯의 베타글루칸 함유 열수추출물과 LPS가 선충의 생육에 미치는 영향에 관한 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

장수상황버섯 자실체의 열수 추출

상황버섯의 자실체를 건조하여 절편한 후 다양한 조건별로 추출하였다. 추출 조건으로 온도, 정제수 투입량, pH 및 추출시간을 변수로 하여 절편 및 분쇄상태에서 수율을 조사하였다. 추출온도는 산업적 추출에 많이 사용하고 있는 85°C, 90°C, 95°C, 100°C, 105°C, 110°C별로 추출하였고, 추출시간은 9시간, 18시간, 24시간으로 하였다. 또한 상황버섯의 절편 또는 분쇄물 각 4 g, 10 g에 대해서 정제수 200 ml(20배, 50배)을 가해 현탁액을 만든 후 조건별로 추출한 후 filter로 여과하고 여과액을 취해서 각각의 수율을 측정하였다. 추출 실험에서 나온 베타글루칸 평균 함량은 17.59%였으며, 본 실험의 수행을 위해 자연 증발을 통해 건조한 후 베타글루칸 함유 열수 추출물을 분말 상태로 포집한 후 실험에 사용하였다. Lipopolysaccharide(LPS)는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

선충의 배양 및 탄수화물의 처리 조건

예쁜꼬마선충(*C. elegans,* N2 strain)을 표준 조건에서 3일간 배양한 후, 베타글루칸 함유 열수추출물을 1 μg/㎖ 또는 10 μg/㎖의 농도를 기준으로 5-24시간 처리한 후 선충의 생육과 활동을 관찰하였다. OP50의 stock은 37°C, 15시간 배양 후 10배를 희석하여, 600 nm에서 OD값 측정 하여 0.16에 도달한 것을 통일적으로 사용하였다. 이러한 OP50의 stock과 1 μg/㎖의 농도로 준비된 LPS와 베타글루칸 함유 열수추출물을 부피의 비율로(V_{op50} : V_{LPS} 또는 V_{op50} : $V_{beta\text{-}glucan}$) 7:3, 5:5, 3:7의 비율로 혼합하여 사용하였다. 교반기에서 10초 동안 혼합을 실시한 후, NGM 배지에 도말하여 배지를 완성하였다.

선충의 산자수(fecundity) 및 수명의 변화 측정

베타글루칸이 예쁜꼬마선충의 수명에 미치는 영향은 Hyun 등(2008)에 의한 방법을 이용하였다. 간단히 기술하면 bleaching으로 선충을 완전히 박멸한 뒤, 열 개의 알을 베타글루칸 함유 열수추출물이 포함된 새로운 NGM 배지에 옮긴 후, 초기 성충의 시기까지 배양을 계속하였다. 이 중 50마리의 선충을 위에서 준비된 다양한 비율의 OP50, LPS, 베타글루칸의 혼합 배지에서 배양하여 각각의 조건에서의 백금선으로 자극을 주었을 때 반응하는 선충의 수

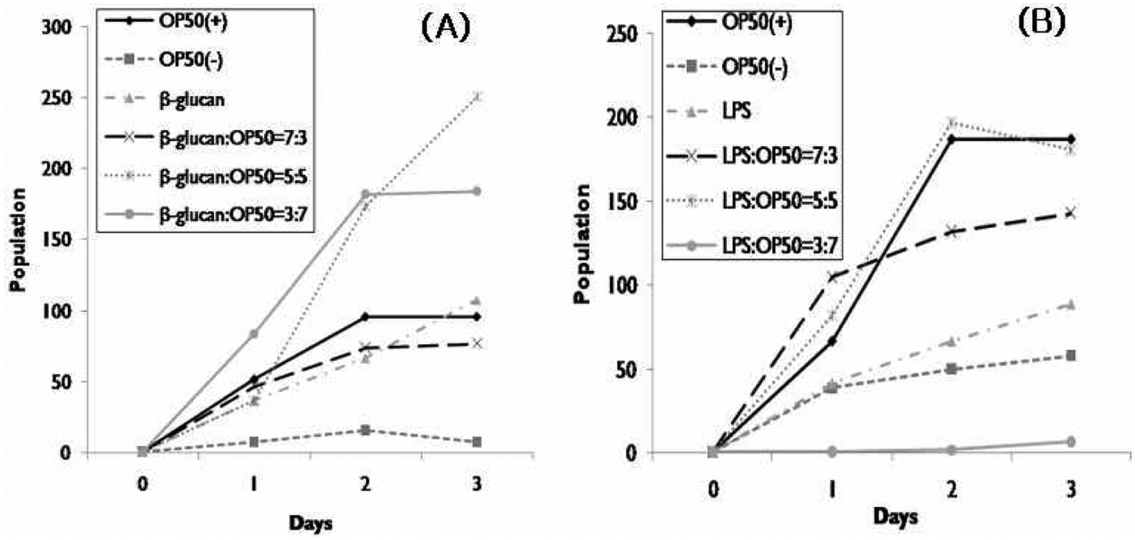


Fig. 2. Effect of β-glucan and LPS on the fecundity of *C. elegans*. The numbers of offsprings were scored daily after worms were treated on the media containing β-glucan (A) or LPS (B) as indicated in the boxed legends. The basis for the ratios of LPS and β-glucan against OP 50 is described in the methods and materials.

를 비교하였다. 마리당 선충의 산자수는 수명을 측정하기 위해 준비된 알을 NGM배지에 3일정도 배양한 후, 육안으로 크기가 비슷한 선충을 LPS, 베타글루칸이 OP50에 혼합된 배지에 옮긴 후, 매일 배지에 존재하는 선충 또는 알을 20일 동안 계수하여 관측된 숫자를 각기 비교하였다.

지방의 축적도 비교

LPS 또는 베타글루칸을 OP50의 배지 용액에 최종농도가 0, 1, 10 μg/㎖이 되도록 조절한 뒤, 배지에 투여하였다. 선충이 보이는 지방의 집적도는 선충을 수단블랙으로 염색한 후, 수단블랙 염색의 농도를 비교하였다. 수단 블랙B 염색의 실험과정은 Brooks 등(2009)의 방법에 의거하여 수행하였다. 우선 선충을 6시간 이상 먹이의 공급을 중단한 후, M9 액상 배지로 세척하였다. 이후 1% paraformamide로 고정한 후 수단블랙B 염색 용액에 10분간 담근 후, 70%에탄올을 이용하여 잉여분의 염색 시약을 세척한 후, 현미경하에서 염색 상태를 관찰하였다.

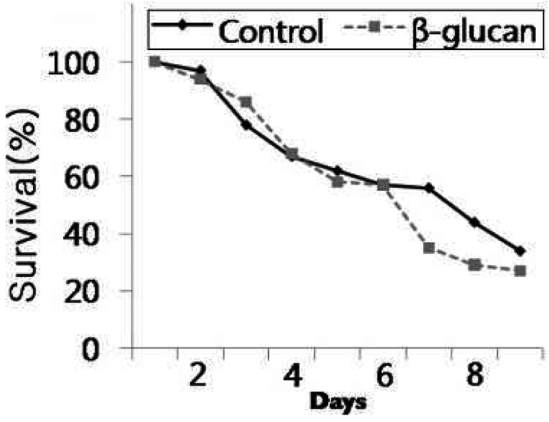


Fig. 3. Effect of β-glucan treatment on the lifespan of *C. elegans*. Approximately 100 worms were cultured on the media containing β-glucan or none in addition to OP50. Surviving worms were counted and the numbers were divided by the initial number to achieve the survival rate percentage.

활동성 측정

OP50과 LPS나 장수상황 베타글루칸 함유 추출물을 정해진 비율대로 혼합한 후, NGM배지에 고르게 도말하여 배지를 마련하였다. 비슷한 크기와 활동성을 가진 선충 한 마리를 배지에 옮긴 다음, 10시간 후에 선충의 이동을 관찰하여 비교하였다. 선충의 이동은 배지에 나타난 궤적을 주광색 형광등 아래에서 관찰한 후, 사진 촬영을 함으로써 기록하였다.

결과 및 고찰

베타글루칸과 LPS는 선충의 생육에 있어 필요한 양분과 영양소를 전적으로 대체할 수 는 없었지만, OP50과의 혼합물을 통해 생육 및 운동을 촉진하고 지방의 대사에 의미 있는 영향을 주는 것으로 나타났다. 베타글루칸의 경우, 수명을 단축시키는 결과를 초래하였고 선충의 산자수(fitness), 지방의 축적도 및 활동성 측면에 있어 유의미한 결과가 나타났다.

베타글루칸의 산자수에 미치는 긍정적 효과와 수명에의 부정적 효과

장수상황버섯의 베타글루칸 함유 열수추출물 또는 LPS

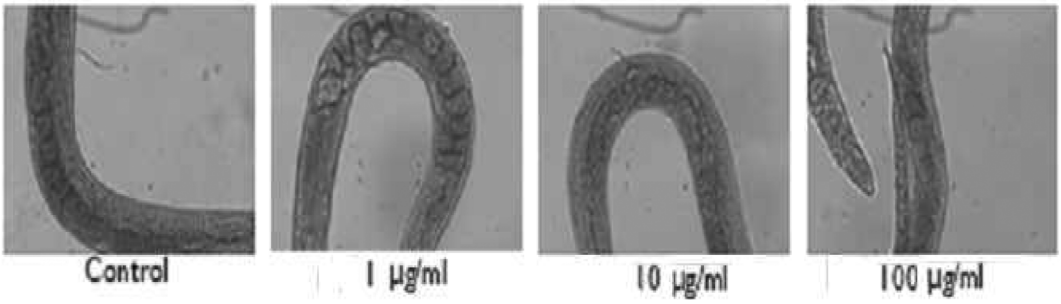


Fig. 4. Sudan Black B staining of *β*-glucan treated *C. elegans*. *C. elegans* were treated with *β*-glucan for 3 days under three concentrations and their effects on lipid storage were studied by sudan black B staining.

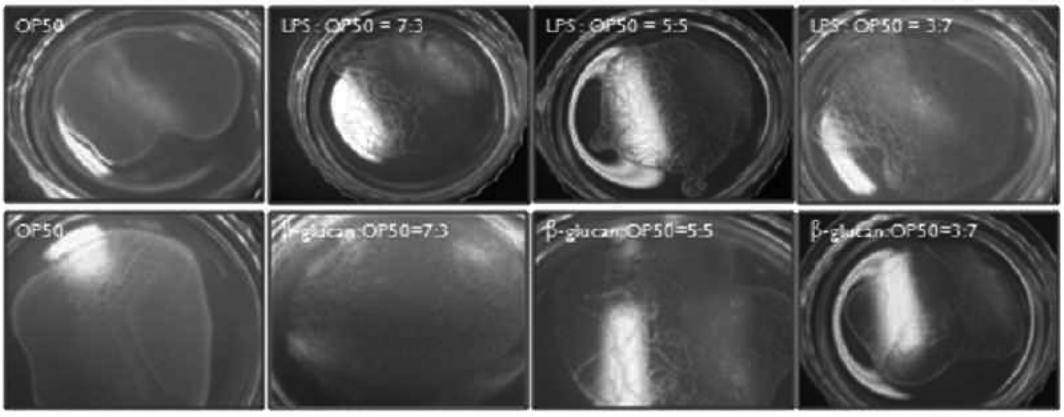
성분이 예쁜꼬마선충의 수명에 미치는 영향은 열 개의 알을 베타글루칸의 추출물 또는 LPS에 배양한 후 증식된 숫자를 비교하였다. 그림 2은 LPS가 포함된 배지와 일반적인 OP50배지에 있어 산자수를 비교한 것이다. LPS만을 포함한 배지에서는 선충의 생육이 어려운 것으로 보인다. 이는 탄수화물을 전혀 넣어 주지 않은 경우와 동일한 결과가 도출되어, LPS 자체로는 선충의 생육에 도움을 줄 수 없음이 나타났다. 그러나, OP50에 다양한 비율의 LPS를 넣어줄 경우 OP50의 단독 배지에 비해 산자수의 증가를 가져왔다. 혼합의 경우에도 혼합의 비율에 따라 산자수가 달라지는 것이 관측되었다. OP50과 LPS의 비율이 7:3인 경우가 가장 많은 산자수를 나타냈다. 그림 2는 장수상황버섯에서 유래한 베타글루칸 함유 추출물 경우에도 산자수의 변화 (Fig. 2-A)는 LPS(Fig. 2-B)와 비슷한 양상을 나타내었다. 이 경우에도 7:3(OP50 : 베타글루칸)의 혼합 비율에서 가장 높은 산자수를 나타내었다. 선충의 수명은 베타글루칸이 포함된 배지에서 낮게 나타났다 (Fig. 3).

베타글루칸 함유 열수추출물 배지에서의 지방 집적도 감소

예쁜꼬마선충을 고지방 배지에서 먼저 배양한 후, 각각 LPS 및 베타글루칸이 포함된 배지로 옮긴후 지방의 축적도를 수단 블랙의 기법을 이용하여 관찰하였다. LPS의 경우 지방의 집적도에 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났으나, 베타글루칸의 경우는 농도에 따라 지방의 집적도가 낮아지는 것으로 나타났다(Fig. 4).

베타글루칸 배지에서 예쁜꼬마선충의 활동 증가

선충을 OP50이 단독으로 포함된 배지와 위 두 가지의



OP50 (%)	100	30	50	70
LPS	+	++	+++	++++
β-glucan	+	++++	+++	++

Fig. 5. Worm's movement was visually compared among various LPS or *β*-glucan treatments. *C. elegans* were grown on plates until day 4 of development, after which they were transferred to plates containing LPS(lipopolysaccharide) or *β*-glucan (from *Phellinus baumii*) and movement was recorded after 18 hrs.

탄수화물이 각각 포함된 배지에서 배양하였을 때, 활동 동선에 있어 큰 차이가 있음이 나타났다. 그림 5는 LPS가 포함된 배지에서 선충이 움직인 궤적을 나타낸다. 아울러, 베타글루칸이 포함된 배지의 경우도 OP50이 단독으로 함유된 배지에 비해 선충의 활동을 촉진하는 것으로 보인다 (Fig. 5). 위의 두 그림을 비교해 볼 때 LPS와 베타글루칸의 처리에는 큰 차이가 없으나, OP50의 단독 배지와 비교하여 의미 있는 차이가 있음을 알 수 있다.

본 실험은 상황버섯에서 추출된 베타글루칸과 LPS는 단독으로 선충의 생육에 필요한 양분을 대체하지 못하는 것으로 나타났다. 베타글루칸이나 LPS가 단독으로 배지에 포함되었을 때 선충은 NGM배지에 어떠한 영양소를 첨가하지 않은 것과 같이 생존에 실패한 것으로 나타났다. 그러나, 위의 두 가지 탄수화물이 OP50을 포함하는 정상적인 배지에 첨가하였을 때, 선충의 생육에 매우 긍정적인 효과를 나타냈다. 산자수에 있어 의미 있는 증가를 보여주었고 활동성에 있어 매우 유의미한 영향을 주는 것으로 나타났다. 아울러, 지방의 축적에 있어서는 LPS는 차이를 보이지 않았지만, 베타글루칸의 경우 지방의 축적을 감소시키는 효과를 나타냈다. 평균 수명에 있어 베타글루칸이 포함된 배지에서 배양된 선충은 OP50만의 단독배지에 비해 짧아진 것을 알 수 있었다. 위에 거론된 네 가지 분야의 연구 결과를 종합해 볼 때, 장수상황버섯 베타글루칸 함유 추출물은 선충의 먹이를 대체할 수는 없지만 OP50과 혼합물의 형태로 선충의 생육에 매우 유의미한 영향을 주는 것으로 보인다.

베타글루칸의 공급하에서 지방의 축적이 감소하는 것은 OP50이 제공하는 탄수화물보다 쉽게 대사되어 활동에 필요한 에너지를 얻을 수 있기 때문으로 보인다. 실제로, 선충은 활동범위에 있어 베타글루칸이 배지에 포함된 경우 OP50만의 배지에 비해 긴 거리를 움직인 것으로 나타났다. 이러한 증가된 활동은 베타글루칸의 공급이 주된 이유로 보인다. 그런데, LPS의 경우는 동선에 있어서 긍정적인 효과를 나타내지만, 지방의 축적에 있어서 거의 영향이 없는 것으로 보인다. 이는 지방의 축적에 베타글루칸의 영향은 증가된 활동으로 인한 에너지의 사용으로 인한 것이 주로 관여하는 것으로 보이지만, 이외에 다른 요소가 관여하는 것으로 보인다. 이는 지방의 합성 경로에 관여하는 생화학적 요소의 변화에 기인하는 것이라고 볼 수 있으며 이에 대한 연구가 더 필요하다 할 것이다.

베타글루칸을 포함하는 장수상황버섯의 열수 추출물은 선충의 수명에 부정적인 영향을 초래하였다. 이는 이미 알려진 포도당의 공급 증가와 선충의 수명 단축과 연결시켜 고찰할 수 있을 것으로 보인다. 최근의 연구결과에 의하면, 포도당이 높게 함유된 배지에서 선충을 배양할 때 선충의 수명은 배지 및 선충내 포도당의 농도와 반비례하는 것으로 나타났다. 베타글루칸이 함유된 배지에서 선충의 수명은 단축된 것으로 나타났으며, 이는 포도당의 증가에 따른 수명의 단축과 합치하는 패턴을 보였는데, 이는 선충은 베타글루칸을 분해하여 포도당이라는 구성성분을 상대적으로 용이하게 얻을 수 있는 것으로 추측해볼 수 있다(Lee *et al*., 2009). 이러한 사실은 베타글루칸의 존재 하에서 선충은 활동을 증가하는 데, 이는 에너지원인 포도당의 공급이 베타글루칸을 통해 상대적 용이하게 취득할 수 있는 것에 기인한다는 것으로 설명할 수 있을 것으로 보인다.

위의 실험결과를 이용하면, 선충이 유발하는 각종 문제점의 해결의 단초를 제공할 수 있을 것으로 보인다. 소나무재선충은 곰팡이 등에서 베타글루칸을 섭취하여 탄수화물 등의 에너지원으로 사용한다. 섭취는 가능하되 에너지원으로 사용할 수 없는 글루칸의 유도체를 개발할 수 있다면, 소나무의 재선충에 대한 구충제로 사용할 수 있을 것이다. 아울러, 본 실험에서 나타난, 베타글루칸과 LPS와 OP50의 비율을 지속적으로 연구한다면, 선충의 수명과 산자수 및 활동성을 획기적으로 줄이고 산자수의 감소를 초래하는 비율을 찾아내어 숙주에 대한 해악적 영향을 감소시킬 수 있는 방안을 모색할 수 있을 것이다. 예를 들어 베타글루칸을 재선충의 감염부위에 밀도 있게 투입하여 재선충의 영양적 공급원을 희석시킬 수 있을 것이다. 이러한 베타글루칸은 나무의 생육을 저해하지 않으므로 안전한 퇴치 물질로 개발될 수 있을 것이다. 이러한 차원에서 베타글루칸이 선충의 영양원으로서의 연구는 향후 지속되어야할 것이다. 특히, 느타리버섯에서 추출된 베타글루칸과 같이 성분이 입증되고 상업적으로 획득이 가능한 베타글루칸을 이용하여 향후 보강된 비교 실험을 수행하는 것은 매우 의미 있는 연구가 될 것이다.

적요

한국에서 약용버섯으로 주로 재배되는 장수상황버섯은 목질진흙버섯 등 다른 부류의 진흙버섯류에 비해 생리활성 연구가 상대적으로 미흡하다. 본 연구는 예쁜꼬마선충을 사용하여 장수상황버섯의 베타글루칸 함유 추출물의 기능을 탄수화물이라는 영양소의 차원에서 연구하였다. 예쁜꼬마선충의 먹이인 OP50 대장균이 포함된 배지에 장수상황버섯의 베타글루칸 추출물과 버섯류에서 추출되는 lipopolysaccharide(LPS)를 일정한 비율로 혼합하여 예쁜꼬마선충의 생장과 활성에 관한 연구를 수행하였다. 베타글루칸 또는 LPS를 OP50 없이 단독으로 사용한 경우 예쁜꼬마선충은 성장할 수 없음이 나타났다. 반면 두 가지 탄수화물을 1:1 또는 7:3[OP50:베타글루칸 또는 LPS, v/v]으로 예쁜꼬마선충의 배지를 조성할 경우, 예쁜꼬마선충의 생장과 활동성에 의미 있는 결과가 도출되었다. 혼합비율이 7:3의 경우, 산자수가 가장 높았고, 1:1의 경우 두 번째로 높은 산자수를 나타냈다. 이는 OP50의 단독 처리시보다, 각각 20%이상 높았다. 아울러, OP50에 혼합된

베타글루칸은 예쁜꼬마선충에 있어 지방 축적과 활동성에 많은 영향을 주었다. 이 경우 7:3의 비율로 배지에 있어 10-100 ㎍/㎖ 의 범위 내에서 지방축적은 베타글루칸의 농도 의존적으로 감소하는 것으로 보였다. LPS의 경우는 해당 농도에서 대조군과 비교하여 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 활동성에 있어 베타글루칸과 LPS는 공히 긍정적인 효과를 보였다. LPS와 베타글루칸을 OP50의 배지에 혼합하여 예쁜꼬마선충을 배양한 결과 해당 두 가지의 탄수화물은 매우 긍정적인 결과를 보였다. 예쁜꼬마선충의 동선을 비교한 결과 혼합물의 경우, 매우 긍정적인 결과가 나타났다. 결론적으로, 베타글루칸과 LPS라는 탄수화물은 OP50의 예쁜꼬마선충 배지에 혼합하여 사용할 경우 탄수화물의 원천 또는 생육을 조절할 수 있는 물질로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

본 과제는 2011년 농림수산식품부 연구개발사업에서 지원받아 수행된 연구 결과임. 베타글루칸의 추출물은 (주)하나바이오텍에서 제공되었음.

참고문헌

Boyd, W. A., McBride, S. and Freedman, J. H. 2007. Effects of genetic mutations and chemical exposures on *Caenorhabditis elegans* feeding: Evaluation of a novel, high-throughput screening assay. *PLoS ONE,* 2(12):e1259.

Brooks, K. K., Liang, B. and Watts, J. L. 2009. The influence of bacterial diet on fat storage in *C. elegans*. *PLoS ONE* 4(10): e7545.

Chang, Z. Q., Oh, B. C., Lee, S. P., Rhee, M. H. and Park, S. C. 2008. Comparative immunomodulating activities of polysaccharides isolated from *Phellinus* spp. on cell-mediated immunity. *Phytother. Res.* 22:1369-1399.

Estes, S., Ajie, B. C., Lynch, M. and Phillips, P. C. 2005. Spontaneous mutational correlations for life-history, morphological and behavioral characters in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 170: 645-653.

Girard, L. R., Fiedler T. J, Harris T. W., Carvalho, F., Antoshechkin, I., Han, M., Sternberg, P. W., Stein, L. D. and Chalfie, M. 2007. WormBook: the online review of *Caenorhabditis elegans* biology. *Nucleic Acids Res.* 35:D472-D475.

Hyun, M. J., Lee, J. H., Lee, K. J., May, A., Bohr, V. A., and Ahn, B. C. 2008. Longevity and resistance to stress correlate with DNA repair capacity in *Caenorhabditis elegans*. *Nucleic Acids Res*. 36: 1380-1389.

Jeoung, Y. J., Choi, S. Y., An, C. S., Jeon, Y. H., Park, D. K. and Lim, B. O. 2009. Comparative effect on anti-inflammatory activity of the *Phellinus linteus* and *Phellinus linteus* grown in germinated brown rice extracts in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 17: 97-101.

Lee S. J., Murphy, C. T. and Kenyon, C. 2009. Glucose shortens the lifespan of *Caenorhabditis elegans* by down-regulating aquaporin gene expression. *Cell Metab*. 10(5): 379-391.

Link, E. M., Hardiman, G., Sluder, A. E., Johnson, C. D. and Liu, L. X. 2000. Therapeutic target discovery using *Caenorhabditis elegans*. *Pharmacogenomics* 1: 203-217.

Qing, G. E., Zhang, A. Q., and Sun, P. L. 2010. Isolation, purification and structural characterization of a novel water-soluble glucan from the fruiting bodies of *Phellinus baumii*. *J. Food Biochem.* 34 (6): 1205‐1215.

Silverman G. A., Luke C. J., Bhatia S. R., Long O. S., Vetica A. C., Perlmutter D. H., and Pak S. C. 2009. Modeling molecular and cellular aspects of human disease using the nematode Caenorhabditis elegans. *Pediatr. Res.* 65(1): 10-8.

Szewczyk, N. J., Kozak, E. and Conley, C. A. 2003. Chemically defined medium and *Caenorhabditis elegans*. *BMC Biotechnol.* 3:19.

Volman J. J., Helsper J. P., Wei, S., Baars J. J., van Griensven, L. J., Sonnenberg, A. S., Mensink, R. P. and Plat, J. 2010. Effects of mushroom-derived β-glucan-rich polysaccharide extracts on nitric oxide production by bone marrow-derived macrophages and nuclear factor-jB transactivation in Caco-2 reporter cells: Can effects be explained by structure? *Mol. Nutr. Food. Res.* 54(2): 268-76.