

키틴·키토 올리고당이 로타바이러스의 MA-104세포 감염에 미치는 영향

지정진*, 박범석, 유대환, 신원선, 차광중, 유제현
건국대학교 낙농학과

키틴은 새우, 게 등 갑각류의 껍질, 곤충의 표피, 균류의 세포 구성성분으로(Skjak-Braek, 1989), 1811년 Bramconot에 의해 버섯에서 최초로 발견되었으며 1823년 Ordier에 의해 생물의 외피를 이루는 물질이란 뜻의 그리스어인 chitin이라 명명되었다. 키틴은 N-acetylglucosamine이 β -1,4 결합한 뮤코다당류의 일종으로서 셀룰로오스중의 글루코오스 잔기의 수산기가 아세틸아미노기로 치환된 화학구조를 가지고 있으며, 분자량 100만 이상의 천연 고분자 다당이다. 연간 약 1000억톤 이상 생산되는 것으로 추산되고 있는 귀중한 생물자원이며 이의 탈아세틸화물인 키토산(poly- β -1,4-D-glucosamine)과 함께 새로운 신소재로서 주목받고 있다(홍 등, 1995). 키틴·키토 올리고당은 키틴 및 키토산을 Rupley 및 Horowitz가 보고한 염산분해법 및 chitinase 및 chitosanase 등 효소를 이용하는 분해법에 의해 얻을 수 있으며 점도가 낮고 수용성이 강하다(Rupley, 1964 과 Horowitz, 1957). 키틴·키토산 및 올리고당은 독성이 없고 흡착성, 보습성, 유화성, 생분해성을 나타내며 항균작용, 제산작용과 궤양억제작용, 장내유용세균의 생장촉진, 항종양활성, 식물포의 활성화작용, 면역부활작용, 항균작용 등 다양한 기능을 나타내는 것으로 알려지고 있다(김 등, 1996). 본 연구는 제주도 제동목장 한우 송아지 설사변으로부터 분리한 rotavirus(이하 J97)과 표준 rotavirus NCDV를 키틴·키토산 올리고당과 비울별로 섞어 각각 MA-104 cell에 감염시켰을 때 키틴·키토산 올리고당이 rotavirus의 세포감염에 미치는 저해효과를 확인하기 위하여 수행하였다. 저해효과의 확인을 위하여서는 Kaljot등(1988)의 방법을 응용하여 96well plate에 MA-104세포가 단층을 형성하도록 배양하고, 활성화된 로타바이러스를 감염시켰으며, 이때 0.45 μ m pore-size filter로 여과한 2% 키틴·키토 올리고당을 계단희석하여 rotavirus와 함께 infect 시켰다. MA-104 cell에 감염된 rotavirus는 1% FCS가 첨가된 TNC로 4000배 희석된 1차항체(1B2)와 1% FCS가 첨가된 TNC로 3000배 희석된 2차항체 affinity purified antibody peroxidase HRP Goat anti-mouse(IgG)(Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, Md.)로 반응시키고 이를 AEC시약으로 발색시켜 well당 rotavirus에 감염된 cell의 수를 count하였다. 이 수치를 키틴·키토 올리고당의 첨가 없이 rotavirus만 감염시킨 well(control)과 비교하여 키틴·키토 올리고당이 rotavirus의 MA-104 세포 감염에 미친 저해효과를 판정하였다. 그 결과 키틴·키토 올리고당은 0.25%에서 표준 rotavirus NCDV의 세포감염을 85.49%저해하였으며, J97의 세포감염은 74.55%저해하였다. 이때 사용한 J97은 MA-104 세포의 변성효과(CPE)를 나타냈으며 역가측정결과 2.0×10^5 PFU/ml 이었다.