

Kefir grain에 존재하는 다당체의 분리와 특성

이종익, 권윤진, 김중현, 조진국*, 유제현
 건국대학교 축산대학 동물생명과학부 낙농학과, *동물자원연구센터

Kefir는 Caucasus산간 지방에서 유래된 Kefir grain을 발효시켜 만드는 자연 발효유제품으로, Kefir grain은 각종 유산균과 효모가 혼합되어 공생을 이루는 다당체로 각종 질병예방에 효능이 있는 것으로 알려져 왔다.

본 실험에서는 다당체의 생리활성 기능을 조사하는 일환으로 Kefir grain 100g을 1L 시판우유에 접종하여 23°C의 incubator에서 48시간 계대배양하며 생성이 된 Kefir grain을 회수하여 polysaccharide를 추출하고 chromatography로 분리한 각 획분의 기능을 조사하고자 수행하였다.

실험방법은 당추출을 위하여 Kefir grain 500g을 증류수 1L에 분산시켜 80°C에서 1시간 가열하여 유산균 및 효모균체를 파괴한 후, Yokoi의 방법*에 따라 원심분리와 ethanol침전법을 이용하여 Crude polysaccharide를 조제하였다. Crude polysaccharide는 다시 50 mM Tris-HCl완충액(pH 8.7)으로 평형화한 DEAE-Sephrose 이온교환수지(1.5×20cm)에 주입한 후 0~1.0M NaCl의 직선농도구배를 행하여 polysaccharide를 분리하였다. 당의 농도는 phenol-황산법으로 발색시켜 490nm에서 측정하였으며 단백질농도는 254nm에서의 흡광도치를 monitor하여 측정하였다. 각 polysaccharide의 분리 pattern과 분자량을 측정하기 위하여 TSK G-oligo PW HPLC column(Tosoh)에 주입하여 용출시간별로 RI 검출기로 측정된 peak를 분리하였다.

이상의 실험에서 총 500g의 Kefir grain으로부터 약 21.6mg의 polysaccharide가 얻어졌다. 이온교환 chromatography에서 당은 미결합 획분중의 중성다당체(1.4mg)와 결합획분의 산성다당체(10.9mg)로 나누어졌으며, 특히 산성다당체는 0.2M부터 0.5M까지의 NaCl에 의하여 용출되었으며 단백질과 결합한 glycoconjugate로 나타났다. 이들 다당체는 TSK G-oligo PW HPLC에서 분자량 200,000과 100사이에서 4개의 주요 peak가 나타났다. 현재 이들 다당체 획분이 유아 분변으로부터 분리한 rotavirus의 MA-104 세포 감염에 미치는 영향을 검토 중에 있으며, 또한 당쇄분석을 위하여 1H-NMR 분석 중에 있다.