

Production of selenium peptide from yeast

김영옥, 김은기

인하대학교 생물공학과

전화 (032) 872-2978, FAX (032) 872-4046

Abstract

Baker's yeast was cultured with Na_2SeO_3 . Selenium compounds in yeast were extracted and analyzed by size exclusion chromatography. Selenium was broadly distributed in the fraction of protein. For the inhibition test of MMP-1 induction, selenium containing compounds was fractioned by ultrafiltration

서론

셀레늄은 인간에게 필수적인 원소이다. 체내에서 셀레늄은 여러 가지 작용을 하고 있는데, 그 중 대표적인 것은 셀레늄을 활성부위에 갖고 있는 효소종류이다. 인지질 층의 항산화 작용을 하고 있는 Glutathion peroxidase가 그 예이다. 그러나, 무기 셀레늄은 독성이 높으므로 독성이 없는 형태로 체내에 유입되어야 한다. 유기 셀레늄은 무기 셀레늄보다 안전하며 생체 흡수와 이용률이 높다. 셀레늄은 황과 화학적 성질이 유사하므로 황을 함유한 아미노산의 sulfur residue에 대체하여 들어가게 되므로 동물이나 식물체에서 selenomethionine이나 selenocystein 등 selenium-containing amino acids 형태로 단백질을 이루어 존재한다.^{2), 3)}

효모는 고농도의 무기 셀레늄에 저항성이 있으며 셀레늄을 흡수하여 유기 셀레늄으로 전환하는 능력을 가지고 있다. 효모의 유기 셀레늄은 대부분 selenomethionine의 형태로 존재한다.⁵⁾

유기 셀레늄은 항산화 효과와 항암 효과 등 여러 가지 생리 활성효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 효모에 농축된 유기 셀레늄의 항암 효과도 계속적으로 보고되고 있기 때문에 이에 따라 효모 안의 유기 셀레늄의 조성과 농축 정도를 알기 위한 여러 가지 분석방법도 연구되고 있다.^{1), 2), 4)}

셀레늄 펩타이드를 화장품에 응용하기 위해서는 피부 흡수의 문제로 인하여 분자량이 작을수록 유리하다. 그러나 selenoamino acid의 경우, 독성이 보고되어 있기 때문에 독성이 없으며, 효능이 있는 적당한 크기의 셀레늄 펩타이드가 필요하다.

이에 본 연구에서는 효모를 이용하여 유기 셀레늄을 생산하여 효모 단백질 내 유기 셀레늄의 분포를 살피고, 분자량에 따라 분획하여 MMP 유도 저해 효과를 테스트하고자 한다. 또한 효과가 있는 최적 크기의 셀레늄 펩타이드를 생산하고자

한다.

재료 및 방법

1. 셀레늄 함유 효모 배양

본 연구에서는 baker' yeast를 30ppm의 sodium selenite를 포함한 YM배지에서 250rpm, 25°C의 조건으로 배양하여 사용하였다.

2. 셀레늄 펩타이드 분리

배양된 효모를 회수하여 ultrasonicator를 이용하여 세포를 파쇄하고 세포내 단백질을 회수 하였다. 회수된 단백질을 Size Exclusion Chromatography를 이용하여 분리 한 후 각 분획의 셀레늄 농도를 측정하였다. 컬럼은 HiLoad 16/60 superdex 200 prep grade를 사용하였다. MMP test를 위해 Molecular weight cut off filter를 사용하여 분자량에 따른 단백질 분획을 얻어내었다. 셀레늄 농도는 graphite furnace atomic absorption spectrometer를 사용하여 측정하였고 단백질 농도는 Lowry method를 이용하여 측정하였다.

결과

효모를 셀레늄 존재하에서 배양, 세포 파쇄 하여 얻어낸 단백질의 size exclusion chromatography 결과, 셀레늄은 고분자, 저분자의 단백질 중에 넓게 존재하는 것으로 보여진다. MMP 저해 효과를 살피기 위하여 MWCO filter를 사용하여 분자량에 따른 셀레늄 화합물을 얻어내었다.

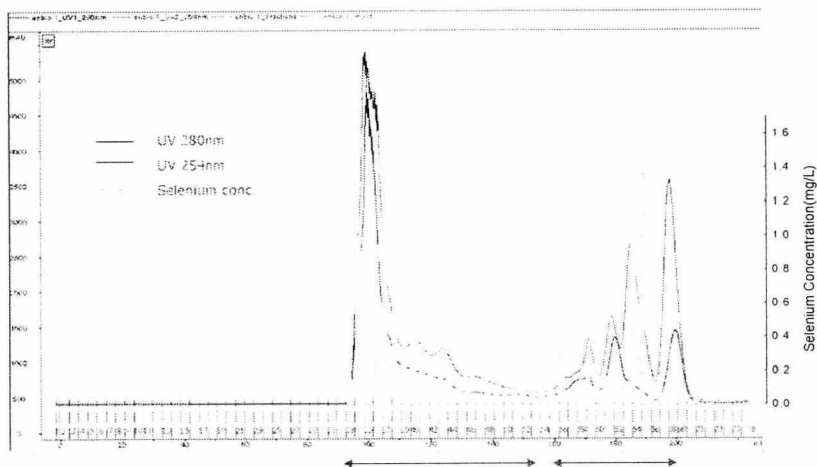


Fig. 1. FPLC with UV detection of leachates containing selenium compounds using size exclusion chromatography. Selenium concentration of fractioned sample was detected by GFAAS.

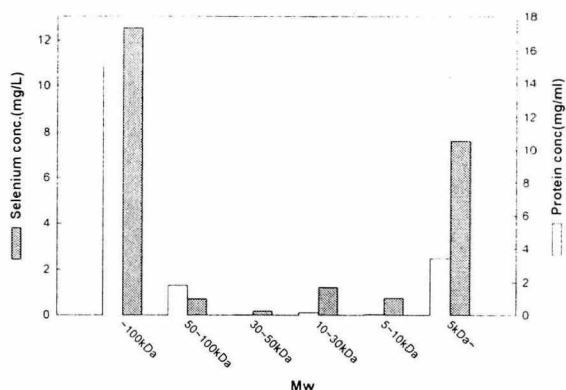


Fig. 2. Selenium and protein concentration of MWCO fractionated sample

참고문헌

1. Gerald F. Combs, Jr. William P. Gray, "Chemopreventive Agents: Selenium"(1998), Pharmacol. Ther. Vol(79), 179-192
2. Corinne Casiot, Joanna Szpunar, "Sample preparation and HPLC separation approaches to speciation analysis of selenium in yeast by ICP-MS"(1999), Journal of analytical atomic spectrometry, Vol(14), 645-650
3. Ali Demirci, Anthony L. Pometto, "Production of organically bound selenium yeast by continuous fermentation"(1999), J. Agric. Food Chem., Vol(47), 2491-2495
4. Cheng Jiang, Howard Ganther, Junxuan Lu, "Monomethyl selenium-specific inhibition of MMP-2 and VEGF expression: Implications for angiogenic switch regulation"(2000), Molecular Carcinogenesis. Vol(29), 236-250