

Celluclast 가수분해에 의해 제조된 감태 수용성 추출물에 대한 cell상에서의 항산화활성

김길남 · 허수진 · 이기완 · 김수현* · 하진환* · 전유진

제주대학교 해양생산과학부
*제주대학교 식품공학과

서론

대부분의 생물은 호기성 호흡에 의해 생존에 필요한 에너지인 산소 (O_2)를 체내 받아들인다. 그러나 이 산소의 생물체내 대사과정에서 생체에 독성을 나타낼 수 있는 부산물이 생성되기도 하는데 이들을 활성산소 (O_2^- , $O^$, H_2O_2 , $\cdot OH$ 등)라 한다. 활성산소들은 생체내 제거 기작에 의하여 대부분이 소멸되나 생성과 소멸의 균형이 깨어질 때 생체내에서는 각종 질환이 나타난다. 즉, 류마티스성 관절염, 세균성 혹은 바이러스성 감염, 심장병, 파킨스씨병, Alzheimer's disease, 암 그리고 다른 질병도 유발된다고 알려지고 있다. 이런 활성산소들을 제거하기 위해 탁월한 항산화 효과와 경제성 때문에 인공합성항산화제가 많이 이용되었으나, 안정성에 논란이 있고 소비자의 거부감이 날로 심해지고 있다. 따라서 근래에는 인간이 안전하게 오랫동안 먹어 왔던 식물로부터 항산화 효과가 있는 물질을 분리, 이용하려는 시도가 활발히 이루어지고 있다. 이에 본 실험은 제주도에 서식하고 있는 갈조류의 한 종류인 감태를 이용하여 항산화활성이 있는지 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

감태는 celluclast 당분해 효소를 이용하여 얻은 수용성추출물을 분자량별로 분획하여 다음과 같은 실험을 하였다. H_2O_2 의 생성억제를 측정하기 위하여 DCF-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate)를 이용하였다 (Bass 1983, Scott et al., 1988). 자유라디칼 소거 활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 소거활성 측정법을 이용하였다 (Blois 1958). 1 mM H_2O_2 처리에 의한 cell viability는 H_2O_2 처리 24시간 후 MTT assay에 의해 측정되었다 (Hansen et al., 1989). 또한 H_2O_2 처리에 의한 세포 사멸에 대하여 apoptotic bodies의 형광 현미경 사진으로 분석하였다. 즉, 감태 수용성 추출물 처리구 (1-10 kDa획분 및 10-30 kDa획분을 각각 $100\mu g/ml$ 농도로 $10\mu l$ 처리)와 미처리구에 각각 1 mM H_2O_2 처리 24시간 후 형광시약인 Hoechst 33349를 처

리하여 세포 손상 정도를 형광 현미경 사진으로 분석하였다.

결과 및 요약

감태는 celluclast를 이용하여 얻은 수용성 효소 추출물은 3종류의 한외여과막 (MWCO 1, 10 및 30 kDa; Millipore Co.)을 이용하여 분자량별로 4가지획분으로 분리 (<1 kDa, 1~10 kDa, 10~30 kDa, 30 kDa<)하였으며, 이것을 분리되기 전의 원시료 (unfractionated sample)와 함께 DCF-DA 실험을 한 결과, 10~30 kDa분획물에서 80%의 높은 H₂O₂소거활성을 보였고 나머지 분획물들은 70%이하의 소거활성을 보였다. DPPH소거 활성을 측정한 결과 원시료가 약 78%의 소거활성을 보였고 나머지 분획물들은 70%이하의 소거활성을 보였다. H₂O₂처리에 의한 cell viability 측정 결과 H₂O₂만 처리한군이 56%의 생존률을 나타낸 반면 10~30 kDa분획물은 89%의 높은 생존률을 보였다. 30 kDa이상의 분획물은 80%생존률을 보였고 나머지 분획물들은 85~87%의 생존률을 보였다. H₂O₂처리후 apoptosis bodies fomation의 측정은 DCF-DA 실험결과에서 우수한 1~10KDa 획분과 10~30KDa 획분만 하였는데 H₂O₂만 처리한 cell의 경우 cell의 형태가 명확하지 않고 cell이 분해되어 남은 작은 파편들이 많이 관찰되었다. 하지만 H₂O₂와 함께 해조류 분획물을 처리한 cell에서는 H₂O₂를 처리하지 않은 cell과 거의 비슷한 형태를 보였다. 이와 같은 결과로 볼 때 제주도에서 식하고 있는 감태는 H₂O₂의 소거활성에 매우 높은 효과를 보였음을 알 수 있었다.

참고문헌

- Bass, D.A., Parce, J.W., Kechatelet, L.R., Szejda, P., Seeds, M. C and Thomas, M. 1983. Flow cytometric studies of oxidative product fomation by neutrophils ; a graded response to membrane stimulation. *J. Immun.* 130, 1910-1917.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use or a stable free radical. *Nature* 181, 1990-1200.
- Branen, A.S. 1975. Toxicology and biochemistry of buthylate hydroxyanisole and buthylated hydroxytoluene. *JAOCS.* 1, 59-62
- Hansen, M.B., Nielsen, S.E., Berg, K. 1989. Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. *J. Immun.* 119, 203-210.
- Nagatsu, A., Tenmaru, T., Matsuura, H., Murakami, N., Kobayashi, T., Okuyama, H., and Sakakibada, J. 1995. Novel antioxidants from roasted perilla seed. *Chem. Pharm. Bull.* 43(5), 887-889
- Scott, B. and Lew, J. 1988. Effect of chronic hydrogen peroxide exposreon neuronal electRICT membrane potential. *Neurotoxicology* 9, 189-196.