P - 310

티벳버섯(Tibetan mushroom)에서 분리한 EPS(Exopolysaccharide)가 로타바이러스의 MA-104 세포 감염에 미치는 영향

김태진*, 송진욱, 김현철, 신희철, 이종익, 유제현
건국대학교 축산대학 낙농학과

서 론

미생물 생성 다당류는 크게 세포막의 일부로서 존재하는 intracellular polysaccharide, 세포벽의 구조적 성분인 cell-wall(structural) polysaccharide, 세포벽 외부에 존재하는 extracellular polysaccharide 등으로 나눌 수 있으며, 특히 extracellular polysaccharide는 세포와의 구조적 관계에 따라 slime, capsular, microcapsular의 세가지 형태로 분류할 수 있으며 이것을 총칭하여 exopolysaccharide(EPS)라 명명하였다[1,2].

본 연구에서는 유산균과 효모가 공생하는 티벳버섯 culture로부터 crude EPS를 분리하여 유아 바이러스성 설사병의 주요 원인인 로타바이러스에 억제효과를 나타내는지를 확인함으로서, 기능성 발효유로의 활용을 위한 기초자료로 이용하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

티벳버섯 배양액에서 crude EPS(exopolysaccharide)의 분리

유산균(*Lactobacillus fermentum, Lab. acidophilus, Lab. brevis*)과 효모(*Candida kefyr, Cryptococcus albidus, Pichia ohmeri*) 등이 주요 균총인 티벳버섯 배양액에서 Zakaria 등[3]과 Smitinont 등[4]의 방법을 응용하여 crude EPS를 분리하였다.

세포배양 배지

Medium 199 Earle's Salts(M199 : No. 9466. Irvine scientific, Santa Anna. CA.)를 10ℓ 멸균 증류수에 22g의 sodium bicarbonate와 함께 용해하여 0.22 ㎛ millipore(Bedford, Massac-husetts 01730)로 여과하고, 멸균된 배지 병에 500ml씩 분주 후, 냉장 보관하면서 사용하였다.

공시 세포

로타바이러스를 증식시키기 위해 MA-104 세포(monkey kidney cell : 미국 Stanford University 의과대학의 Greenberg Lab.)를 사용하였다. MA-104 세포는 M199에서 증식시킨 후, 1×10^7 cell/ml씩 동결 tube에 분주하고 10%-dimethyl sulfoxide(DMSO)를 첨가하여 액체 질소 탱크에 동결 보존하였다가 해동

하여 사용하였다.

공시 로타바이러스

바이러스는 건국대학교 유가공연구실에서 보관중인 표준 휴먼 로타바이러스 Wa, S2, YO를 사용하였다.

MTT assay를 이용한 EPS의 세포독성 및 항로타바이러스성 측정

Lee 등[5]의 방법을 응용하여 crude EPS의 세포독성 및 항로타바이러스성을 측정하였다.

결과 및 고찰

티벳버섯 배양액을 열탕처리하여 효소를 불활성화 시킨 후 균체를 제거한 상등액에 에탄올을 가하여 침전시키고, 이를 투석하여 동결건조한 것을 crude EPS로 사용하였으며, 0.061%가 회수되었다.

Fig. 1과 같이 분리된 crude EPS는 0.0026~0.33%의 농도에서 MA-104 세포에 대하여 독성을 보이지 않았다.

Crude EPS가 로타바이러스의 MA-104 cell 감염에 미치는 영향은 Fig. 2에서와 같이 EPS 0.0026%의

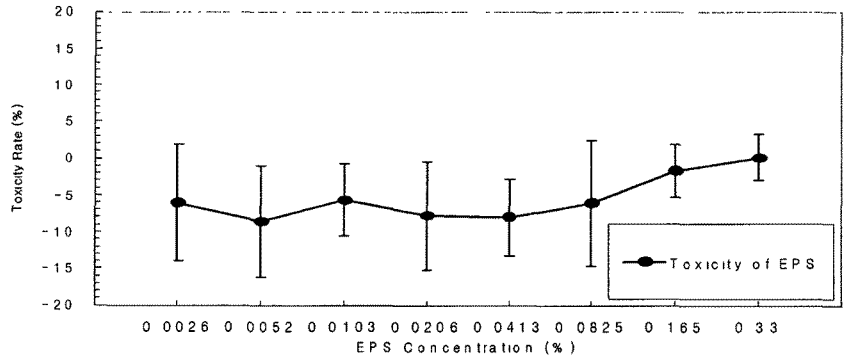

Fig. 1. Toxicity effects of EPS on MA-104 cell

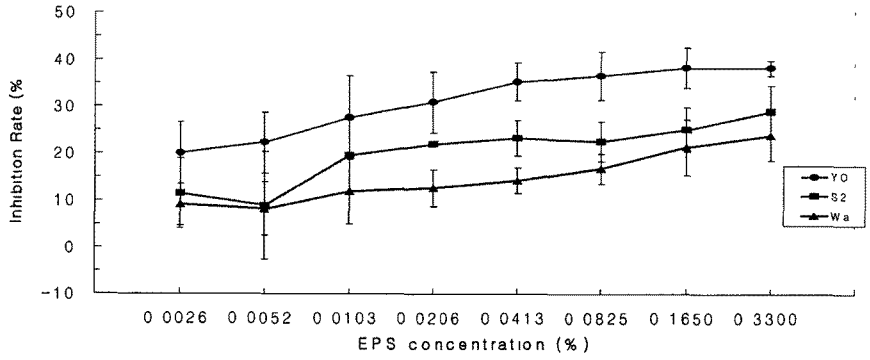

Fig. 2. Inhibition effect of kefir polysaccharide against MA-104 cell infection by human rotavirus.

농도에서 로타바이러스 Wa는 9.11%, 로타바이러스 S2는 11.47%, 로타바이러스 YO는 20.06%의 억제율을 보였으며, EPS 0.33%의 농도에서는 로타바이러스 Wa는 23.69%, 로타바이러스 S2는 28.81%, 로타바이러스 YO는 38.09%의 억제율을 보여 3종의 로타바이러스 중 YO가 가장 많이 억제되는 것으로 나타났고, WA는 가장 낮은 억제율을 보였다.

요 약

본 연구는 유산균(*Lactobacillus fermentum, Lab. acidophilus, Lab. brevis*)과 효모(*Candida kefyr, Cryptococcus albidus, Pichia ohmeri*)등이 주요 균총인 티벳버섯 배양액에서 crude EPS를 분리하여, 로타바이러스의 MA-104 세포감염 억제효과를 측정하였다.

분리된 crude EPS는 0.0026~0.33%의 농도에서 MA-104 세포에 대해 독성효과가 없었다. 로타바이러스 Wa, S2, YO의 MA-104 세포 감염에 대해 EPS 0.0026%의 농도에서는 9.11~20.06%의 억제율을 보였고, EPS 0.33%의 농도에서는 23.69~38.09%의 억제율을 보였다.

참고문헌

1. Sutherland, L. W. (1972) *Adv. Microbiol. Physiol.*, **8**, 143.
2. Philippe, D. and Mollet, B. (2001) *International Dairy J.*, **11**, 759-768.
3. Zakaria, Y. et al. (1998) *Milk Science*, **47**, 17-22.
4. Smitinont, T. et al. (1999) *International J. Food Microbiology*, **51**, 105-111.
5. Lee, J. S. et al. (1991) *J. Kor. Soc. of Virology*, **21(1)**.