



# *Streptococcus thermophilus* BODY1이 생성하는 Exopolysaccharide가 Rotavirus의 MA-104 세포감염에 미치는 영향

송진옥\* · 김용휘<sup>1</sup>

중부대학교 원격대학원 과학실업교육학과 · <sup>1</sup>중부대학교 호텔외식산업학과

## The Effects of Exopolysaccharide Produced by *Streptococcus thermophilus* BODY1 on Infection of Rotavirus in MA-104 Cell

Jin-Ook Song\* and Yong-Hui Kim<sup>1</sup>

Department of Science & Technology Education, Cyber Graduate School, Joongbu University,

<sup>1</sup>Department of Hotel & Foodservice Industry, Joongbu University

### Abstract

This study was conducted to evaluate the inhibitory effects of exopolysaccharide (EPS) produced by *Streptococcus thermophilus* BODY1 on rotavirus(RV). EPS was isolated from a commercial lactic acid bacteria, *Str. thermophilus* BODY1. The results obtained were as follows : At 0.1% of EPS, inhibitory effects of EPS on the MA-104 cell using MTT assay were, Wa 51.58±8.08%, KU 63.09±7.58%, S2 51.23±5.43%, YO 51.45±5.67%, K-21 52.84±5.49%, NCDV 57.50±10.85%, UK 51.64±4.74%, KK3 54.53±8.44%, JBR 58.67±7.51%, S97 50.63±5.17%, OSU 55.48±5.75%, and RRV 54.36±8.72%, respectively. At 0.1/128%, the effects were Wa 5.5±6.45%, KU 10.33±8.39%, S2 0.98±8.39%, YO 4.25±2.86%, K-21 4.25±6.60%, NCDV 4.01±4.12%, UK 6.44±7.09%, KK3 5.19±4.86%, JBR 11.11±8.11%, S97 6.75±6.95%, OSU 10.14±8.54%, and RRV 3.66±8.57%, respectively. These results indicate that EPS have inhibitory effects on various serotype and sources of RV from different animals.

**Key words** : exopolysaccharide(EPS), rotavirus(RV), MTT assay

### 서론

로타바이러스(Rotavirus: RV)는 1973년 Bishop 등(1973)에 의해 위장염을 앓고 있는 어린 아이의 소장 용모 상피 세포에서 처음 발견된 수레바퀴(Rota) 모양의 바이러스로 유아 및 어린 아이뿐 아니라 많은 포유 동물과 조류 등의 어린 동물에 있어서 비세균성 위장염의 주요 원인이 되는 바이러스로(Kapikian and Chanock, 1990), 개발 도상국에서는 매년 유아 10,000명 이상이 RV에 의한 위장염으로 사망하고 있으며(Kapikian *et al*, 1991), 전 세계에 걸쳐 매년 1,500,000 어린아가 설사병과 구토를 일으키고 있다(Gouvea *et al*, 1994;

Kaga *et al*, 1994; Noel *et al*, 1994 ; Tabassum *et al*, 1994).

이러한 RV의 감염을 막기 위해서 지금까지 백신 개발을 위한 많은 연구가 있어 왔으나(Forrest, 1993), 그 결과가 만족스럽지 못하기 때문에 Bass 등(1992)은 식품 성분에 의해 RV 감염을 막는 것이 RV 문제를 해결할 수 있는 가장 좋은 방법이 될 수 있을 것이라 주장하였다.

세포벽 주위에 협막 형태를 형성하거나 세포벽 외부에 점질물로서 발효 중에 축적되는 다당류로 1차 또는 2차 대사산물인 EPS(Beveridge and Graham, 1991; Wiseman, 1983)의 기능에 대해서 Ruas-madiedo(2002)는 유산균으로부터 생성되어진 EPS의 경우 항암 작용, 항궤양 작용, 면역 증강 작용, 콜레스테롤 저하의 활성을 높이는데 기여하거나, prebiotic로서 인체 건강에 기여한다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 유산균에 의해 생성된 EPS를 분리하여 각종 동물에게 감염을 일으키는 여러 가지 표준 RV(human,

\* **Corresponding author** : Jin-Ook Song. Department of Science & Technology Education, Cyber Graduate School, Joongbu University, #101 Daehak-Ro, Chubu-Myun, Kumsan-Kun, Chungnam, 312-702, Korea. Tel: 82-41-750-6717, Fax: 82-41-752-3255, E-mail: jinook@joongbu.ac.kr

bovine, porcine 및 simian RV)에 각기 다른 농도의 EPS를 첨가하여 그 저해 효과를 규명함으로써, RV로 인한 질병 및 설사증에 대한 EPS의 효과를 알아보고 그 감염 예방의 보조 식품으로서 이용 가능성을 모색하고자 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 유산균 배양액으로부터 EPS의 분리

EPS의 분리는 유산균 배양액을 100℃에서 15분간 열처리하여 유산균 및 효소를 불활성화시키고, 14,000rpm으로 30분간 원심분리한 다음 상정액을 취하여 동량의 40%-trichloroacetic acid(TCA)와 혼합하고 다시 14,000rpm으로 30분간 원심분리하여 상정액만을 취하여 단백질을 제거하였다. 취해진 상정액에 2배의 에탄올(EtOH)을 가하여 4℃에서 20시간 방치 후 14,000rpm으로 30분간 원심분리하였다. 다시 상정액을 제거하고 침전된 EPS를 증류수로 분산시키고, 이것을 투석망(molecular weight cut off : 3,500)에 담아 5 L의 증류수에 4℃에서 24시간 투석하여 잔여 당 성분을 제거한 후 동결건조하는 De Vuyst 등(1998)의 방법을 응용하여 실시하였다.

분리된 EPS는 멸균 증류수 및 무혈청 M199에 용해하였으며, 용해물은 0.20 μm pore size micro filter(Advantec MFS, Inc., Japan)에 투과하여 사용하였다.

#### 공시 RV

본 실험에 사용된 RV는 표준 human RV 5종(Wa, KU, S2, YO, K-21), 표준 bovine RV 5종(NCDV, UK, KK3, JBR, S97), 표준 porcine RV 1종(OSU) 및 표준 simian RV 1종(RRV)을 함께 사용하였다(Table 1 참조).

#### RV 배양용 세포

RV를 증식시키기 위한 MA-104 세포(원숭이 신장 세포)는 미국 Stanford University 의과 대학의 Greenberg 연구실에서 분양 받아 사용하였다. MA-104 세포는 Medium 199 Earle's Salts(M199 : No. 9466. Irvine Scientific, Santa Anna, CA.)에서 증식시킨 후, 1×10<sup>7</sup> cell/mL씩 동결 tube에 분주하고 10%-dimethyl sulfoxide (DMSO)를 첨가하여 액체 질소 탱크에 동결 보존하였다가 해동하여 사용하였다.

#### MA-104 세포 배양 배지

M199를 10 L 멸균 증류수에 22g의 sodium bicarbonate와 함께 용해하여 0.20 μm pore size micro filter(Sartorius AG, Germany)로 여과하고, 멸균된 배지 병에 500 mL씩 분주 후, 냉장 보관하면서 사용하였다.

**Table 1. Antigen and RNA pattern of group A rotavirus from human and animal**

VP7 sero-type	Virus strain	Sub group	RNA pattern
1	Human : Wa, KU, K-21 strain	II	L
2	Human : S2 strain	I	S
3	Human : YO strain	II	L
	Animal : Monkey(RRV strain)	I	
5	Animal : Pig(OSU strain)	I	L
6	Animal : Bovine(NCDV, UK, JBR strain)	I	L
10	Animal : Bovine(KK3, S97 strain)	I	L

Source: Urasawa *et al.*, 1992 ; Yu *et al.*, 1996 ; Cha *et al.*, 1999 ; Song *et al.*, 2000.

#### MA-104 세포 배양

RV를 증식시키기 위해 사용된 MA-104 세포의 계대배양은 Feng 등(1994)의 방법에 따라 시행하였다. 조직 배양용 75cm<sup>2</sup> 크기의 T-flask를 이용하여 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37℃ 배양기에서 5일 동안 배양한 후, MA-104 세포의 단층이 형성되면 멸균된 생리적 식염수(0.85%-NaCl)로 2번 세척하고, 10배 희석된 0.25%-trypsin EDTA(GIBCO)로 세포를 분리시켰다. 56℃에서 20분간 불활성화시킨 7% 어린 송아지 혈청(Fetal Bovine Serum : FBS: Hyclone Laboratories, Inc., Logan, Utah)과 1%-L-glutamin penicillin streptomycin (L-GPS : Irvine Scientific, Santa Anna, CA.)이 첨가된 M199를 첨가하여 75 cm<sup>2</sup> 크기의 T-flask에 세포를 분주시킨 후 세포를 계대 배양하여 사용하였다.

#### RV 배양

RV는 Chiarini 등(1983)의 방법에 따라 0.2%-acetylated trypsin(10 μL/mL)을 넣어 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37℃ 배양기에서 30분 동안 활성화시켰고, MA-104 세포의 단층이 형성된 25cm<sup>2</sup> T-flask는 무혈청 M199로 2번 세척하여 활성화시킨 RV를 넣고, 37℃ 배양기에서 1시간 동안 흡착시킨 후, M199 1 mL당 trypsin 1μL가 함유된 무혈청 M199를 3 mL 첨가하여 flask에 넣고 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37℃ 배양기에서 배양하였다. 배양 중 현미경으로 세포 변성 효과(Cytopathic Effect : CPE)를 관찰하면서 CPE가 완전히 일어났을 때 -80℃에서의 동결과 상온에서의 해동을 3회 반복하여 RV를 수확한 후, -20℃에 보관하면서 사용하였다.

#### RV의 역가 분석

RV의 역가 분석은 Kaljot 등(1988)의 방법에 따라 바이러스 1 mL당 0.2%-trypsin 5  $\mu$ L를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 30분간 활성화시킨 후 무혈청 M199로 10<sup>1</sup>에서 10<sup>8</sup>까지 희석하였고, MA-104 세포의 단층이 형성된 6-well plate는 무혈청 M199로 2번 세척 후 각 농도별로 희석한 바이러스 액을 well당 0.5 mL씩 넣어 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 1시간 동안 흡착시킨 후 바이러스를 제거하였다. 그 다음 1.4%-agarose(Seakem ME agarose : FMC Corp., Philadelphia)와 2×M199(1 : 1) 혼합액 1 mL 당 0.2%-trypsin 0.5  $\mu$ L를 첨가하였다. Agarose·M199 혼합액을 4 mL씩 각 well에 중층(overlay)하여 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 6일간 배양하였다. 배양 후 neutral red(GIBCO BRL, USA)를 무혈청 M199와 1 : 20으로 혼합한 다음 1 mL씩 각 well에 넣어 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 7시간 동안 염색하여 fluorescent light box위에서 plaque수를 계수하였다.

### EPS의 MA-104 세포 독성 효과

실험에 사용된 EPS가 숙주 세포인 MA-104 세포에 대한 독성 효과의 측정은 Weber 등(2003)의 MTT assay를 응용하여 실시하였다. MA-104 세포는 96-well plate의 각 well에 200  $\mu$ L씩 넣고 5일 동안 배양하여 준비하였다. 96-well plate에서 단층이 형성된 MA-104 세포는 무혈청 M199로 2회 세척하였고, 이때 EPS를 계속적으로 2배 계단 희석(1~128배까지 희석)하여, 0.1~0.1/128%의 EPS 150  $\mu$ L를 첨가하였다. EPS와 함께 배양된 MA-104 세포에 well당 0.2%-MTT(Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide : Sigma)를 50  $\mu$ L 첨가하여, 부드럽게 흔들어준 후 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 4시간 정치시켰다. 4시간 정치 중 formazan이 침전되면, 상정액을 제거하고, 이미 형성된 짙은 청색의 결정체인 formazan 용해를 위해 DMSO 150  $\mu$ L를 첨가한 후 가볍게 진탕하였다. Formazan이 완전히 용해되면 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) plate reader(Model : EL311, Bio-TEK Instruments, USA)로 570nm에서 흡광도(OD : Optical density)를 측정하였다.

EPS의 MA-104 세포 독성 효과는 EPS를 첨가하지 않은 세포군의 OD값(cell control)을 기준으로 하여 EPS를 농도별로 첨가한 세포군의 OD값(treatments)과 비교하여 아래와 같은 공식을 이용하여 세포 독성 효과를 결정하였다.

$$\text{Toxic effect}(\%) = \left( \frac{T}{C} - 1 \right) \times 100$$

T: OD value of treatments

C: OD value of cell control

MTT Assay에 의한 EPS의 각종 표준 RV 감염 억제 효과

MTT assay는 Weber 등(2003)의 방법을 응용하여 실시하였다. MA-104 세포는 96-well plate의 각 well에 200  $\mu$ L씩 넣고 5일 동안 배양하여 준비하고, 해동된 RV 100  $\mu$ L에 0.2%-trypsin 1  $\mu$ L를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 30분 동안 활성화시켜 준비하였다. 96-well plate에서 단층이 형성된 MA-104 세포는 무혈청 M199로 2회 세척하였고 RV를 100  $\mu$ L씩 각 well에 넣었다. 이때 EPS를 계속적으로 2배 계단 희석(1~128배까지 희석)하여, 각 농도의 EPS 50  $\mu$ L를 바이러스 100  $\mu$ L에 혼합한 후 EPS의 최종 농도가 0.1%~0.1/128% (0.00078125%)가 되도록 하였다. EPS와 RV를 동시 감염시킨 MA-104 세포를 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 24시간 배양하였다. 감염된 세포에 well당 0.2%-MTT를 50  $\mu$ L 첨가하여, 부드럽게 흔들어준 후 5%-CO<sub>2</sub>가 유지되는 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 4시간 정치시켰다. 4시간 정치 중 formazan이 침전되면, 상정액을 제거하고, 이미 형성된 짙은 청색의 결정체인 formazan 용해를 위해 DMSO 150  $\mu$ L를 첨가한 후 가볍게 진탕하였다. Formazan이 완전히 용해되면 ELISA plate reader로 570nm에서 OD값을 측정하였다.

EPS의 RV 감염 억제 효과는 EPS를 첨가하지 않은 RV에 감염된 세포군(virus control)과 RV를 첨가하지 않은 비감염 대조 세포군(cell control)의 OD값을 기준으로 하여 EPS 농도별 감염 세포군의 OD값과 비교하여 아래와 같은 공식에 의하여 억제율을 결정하였다.

$$\text{Toxic effect}(\%) = \left( \frac{T - VC}{CC - VC} - 1 \right) \times 100$$

T: OD value of treatments

CC : OD value of cell control

VC : OD value of virus control

## 결과 및 고찰

### RV의 역가 측정

실험에 사용된 RV의 역가는 다음 Table 2와 같았다. Wa의 경우 3.2×10<sup>7</sup> PFU/ mL, KU는 2.8×10<sup>7</sup> PFU/ mL, S2는 2.6×10<sup>7</sup> PFU/ mL, YO는 1.8×10<sup>7</sup> PFU/ mL, K-21은 1.8×10<sup>7</sup> PFU/ mL, NCDV는 2.6×10<sup>7</sup> PFU/ mL, UK는 2.4×10<sup>7</sup> PFU/ mL, KK3는 2.4×10<sup>7</sup> PFU/ mL, JBR은 1.8×10<sup>7</sup> PFU/ mL, S97은 1.8×10<sup>7</sup> PFU/ mL, OSU는 2.4×10<sup>7</sup> PFU/ mL, RRV는 2.8×10<sup>7</sup> PFU/ mL를 나타내, 억제능력을 측정하기 위한 기본적인 활력을 갖춘 것으로 나타났다.

### EPS의 MA-104 세포 독성

EPS가 숙주 세포의 성장에 영향을 미쳐 RV의 억제율을 측정하는데 발생할 수 있는 오차 여부를 검증하기 위하여

**Table 2. Titer of rotavirus<sup>1)</sup>**

Virus strain		Titer
Human	Wa	3.2×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
	KU	2.8×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
	S2	2.6×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
	YO	1.8×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
	K-21	1.8×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
Bovine	NCDV	2.6×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
	UK	2.4×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
	KK3	2.4×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
	JBR	1.8×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
	S97	1.8×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
Porcine	OSU	2.4×10 <sup>7</sup> PFU/ mL
Simian	RRV	2.8×10 <sup>7</sup> PFU/ mL

<sup>1)</sup> Means of three replicated trials.

EPS가 MA-104 세포에 대한 독성 유무를 측정된 결과는 Table 3과 같이 EPS의 농도가 가장 높은 1%일 때 세포의 독성율은 -1.78±2.27%를 나타내었으며, 0.5%일 때는 -0.65±5.56%, 0.1%일 때는 0.53±4.82%를 나타내었다.

세포의 독성은 0.1/32%일 때는 가장 높은 0.96±2.93%를 나타내었으며, 오히려 0.1/64%일 때는 -3.64±3.89%인 것으로 나타났다. 독성의 유무를 알아보기 위하여 SAS를 통한 분산 분석을 실시한 결과 유의차가 없는 것으로 나타나

**Table 3. Toxic effect of EPS on the MA-104 cell<sup>1)</sup>**

EPS concentration(%) <sup>2)</sup>	Toxicity rate (Means±SD %)
1	-1.78±2.27 <sup>a</sup>
0.5	-0.65±5.56 <sup>a</sup>
0.1	0.53±4.82 <sup>a</sup>
0.1/2	-0.60±4.12 <sup>a</sup>
0.1/4	0.44±6.50 <sup>a</sup>
0.1/8	-0.18±3.05 <sup>a</sup>
0.1/16	-2.86±4.84 <sup>a</sup>
0.1/32	0.96±2.93 <sup>a</sup>
0.1/64	-3.64±3.89 <sup>a</sup>
0.1/128	-0.58±6.06 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup> Means of three replicated trials.

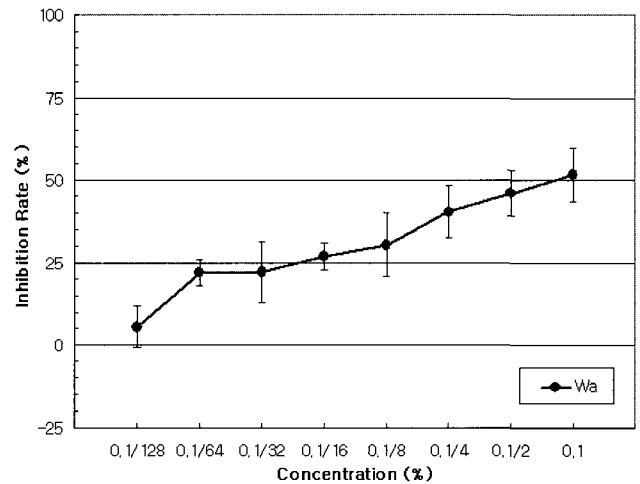
<sup>2)</sup> Means in the column with different superscripts differ( $p < 0.01$ )

( $p < 0.01$ ), EPS는 1% 이하의 농도에서는 독성이 없는 것으로 나타났다. 따라서, 본 실험(0.1% 이하의 EPS를 사용)을 수행하는데 세포 독성에 의한 결과의 오차는 없는 것으로 판정되었다.

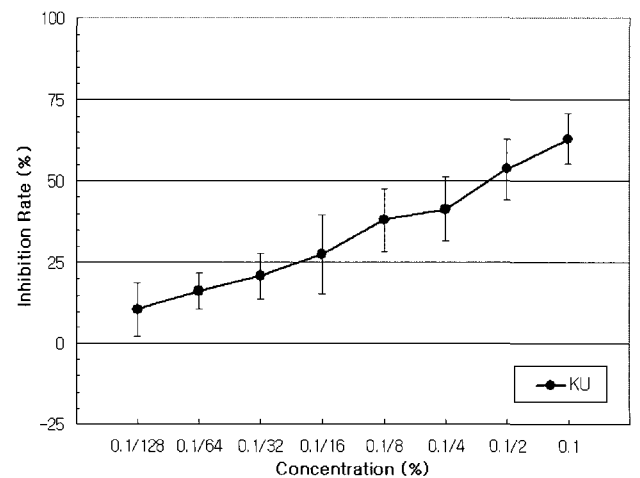
**Human RV 감염 억제 효과**

MTT assay에 의한 EPS의 농도별 human RV의 세포 감염 억제 효과는 Fig. 1~5와 같았다.

EPS의 농도가 각각 0.1%, 0.1/2%, 0.1/4%, 0.1/8%, 0.1/16%, 0.1/32%, 0.1/64% 및 0.1/128%이었을 경우 human RV Wa에 대한 억제 효과는 각각 51.58, 46.06, 40.36, 30.39, 26.82, 22.16, 21.95 및 5.50%로, human RV KU에 대한 억제 효과는 각각 63.09, 53.72, 41.36, 38.00, 27.44, 20.75, 16.11 및 10.33%로, human RV S2에 대한 억제 효과는 각각 51.23, 45.32, 42.80, 40.44, 34.33, 13.59, 3.87 및 0.98%로, human



**Fig. 1. Inhibitory effect of EPS on the infection of human rotavirus Wa in MA-104 cell.**



**Fig. 2. Inhibitory effect of EPS on the infection of human rotavirus KU in MA-104 cell.**

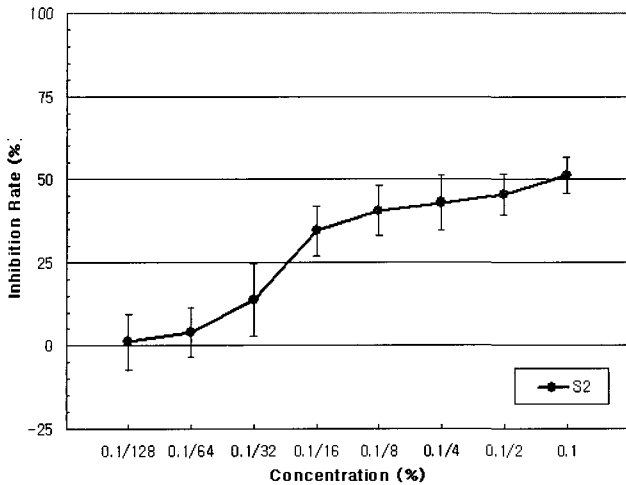


Fig. 3. Inhibitory effect of EPS on the infection of human rotavirus S2 in MA-104 cell.

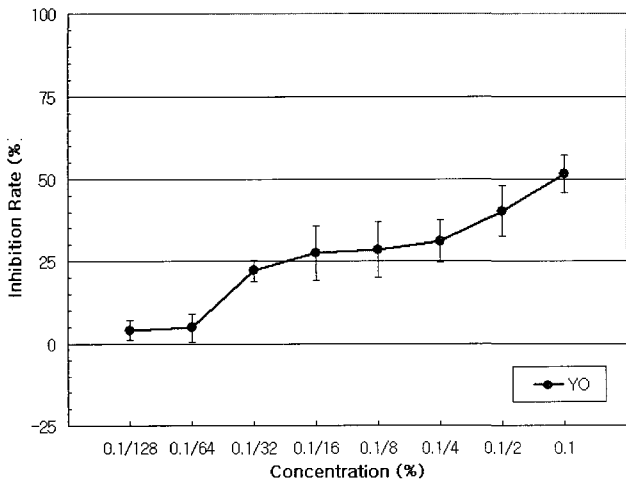


Fig. 4. Inhibitory effect of EPS on the infection of human rotavirus YO in MA-104 cell.

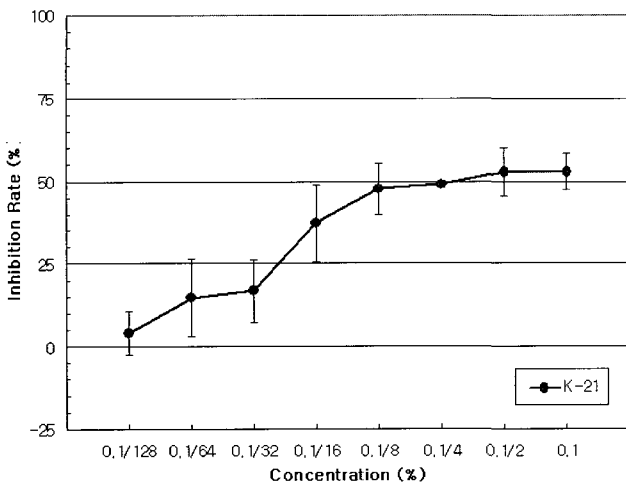


Fig. 5. Inhibitory effect of EPS on the infection of human rotavirus K-21 in MA-104 cell.

RV YO에 대한 억제 효과는 각각 51.45, 40.24, 31.13, 28.57, 27.50, 22.22, 5.01, 4.25%로, human RV K-21에 대한 억제 효과는 각각 52.84, 52.74, 49.01, 47.81, 37.23, 16.84, 14.90, 4.25%로 점차 낮아지는 것으로 나타났다.

**Bovine RV 감염 억제 효과**

MTT assay에 의한 EPS의 농도별 bovine RV의 세포 감염 억제 효과는 Fig. 6~10과 같았다.

EPS의 농도가 각각 0.1%, 0.1/2%, 0.1/4%, 0.1/8%, 0.1/16%, 0.1/32%, 0.1/64% 및 0.1/128%이었을 경우 bovine RV NCDV에 대한 억제 효과는 각각 57.50, 46.34, 38.68, 22.94, 19.12, 10.02, 5.66 및 4.01%로, bovine RV UK에 대한 억제 효과는 각각 51.64, 37.45, 27.81, 26.96, 20.51, 15.89, 9.58 및 6.44%로, bovine RV KK3에 대한 억제 효과는 각각 54.53,

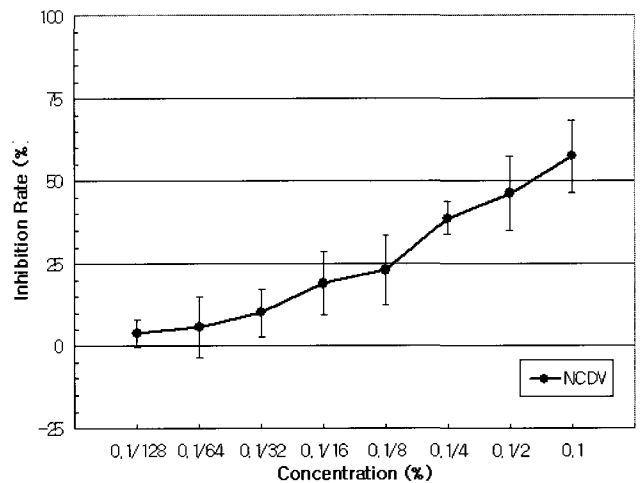


Fig. 6. Inhibitory effect of EPS on the infection of bovine RV NCDV in MA-104 cell.

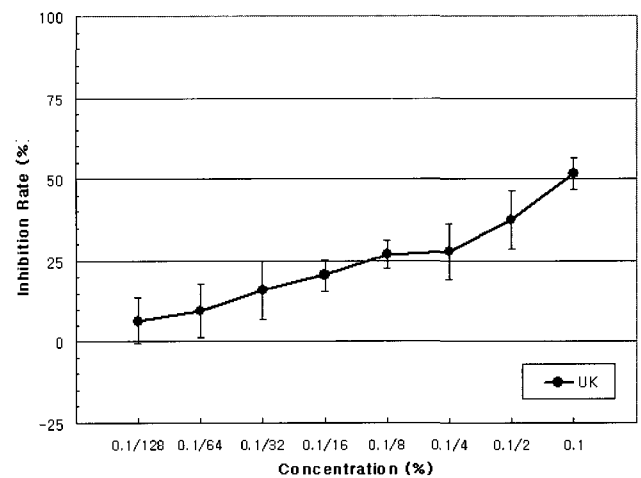


Fig. 7. Inhibitory effect of EPS on the infection of bovine RV UK in MA-104 cell.

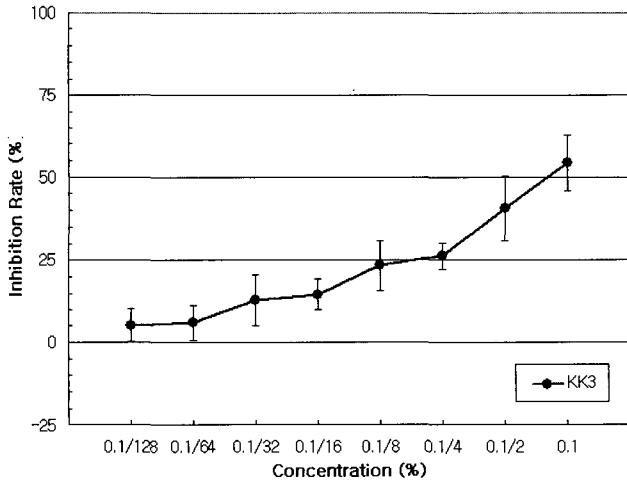


Fig. 8. Inhibitory effect of EPS on the infection of bovine RV KK3 in MA-104 cell.

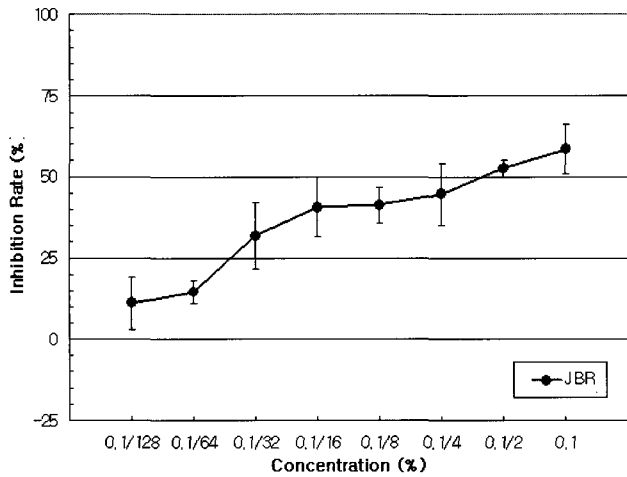


Fig. 9. Inhibitory effect of EPS on the infection of bovine RV JBR in MA-104 cell.

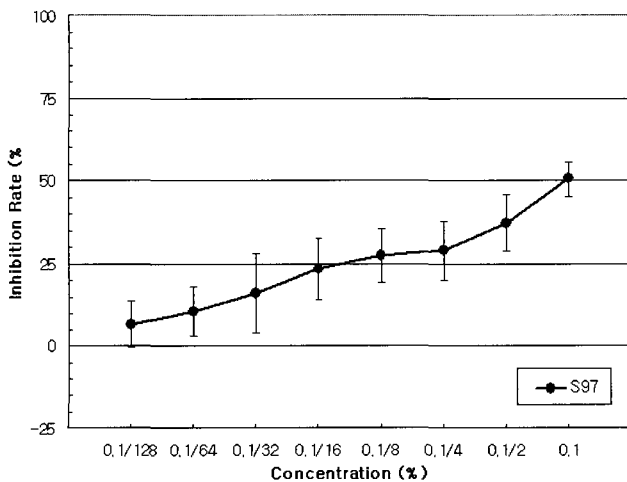


Fig. 10. Inhibitory effect of EPS on the infection of bovine RV S97 in MA-104 cell.

40.64, 26.11, 23.33, 14.62, 12.85, 6.13 및 5.19%로, bovine RV JBR에 대한 억제 효과는 각각 58.67, 52.49, 44.58, 41.18, 40.56, 31.77, 14.63 및 11.11%로, bovine RV S97에 대한 억제 효과는 각각 50.63, 37.25, 28.86, 27.47, 23.25, 16.10, 10.58 및 6.75%로 점차 낮아지는 것으로 나타났다.

Porcine 및 Simian RV 감염 억제 효과

MTT assay에 의한 EPS의 농도별 porcine 및 simian RV의 세포 감염 억제 효과는 Fig. 11과 같았다.

EPS의 농도가 각각 0.1%, 0.1/2%, 0.1/4%, 0.1/8%, 0.1/16 %, 0.1/32%, 0.1/64% 및 0.1/128%이었을 경우 porcine RV OSU에 대한 억제 효과는 각각 55.48, 53.09, 50.71, 31.28, 23.02, 17.90, 15.88 및 10.14%로, simian RV RRV에 대한 억제 효과는 각각 54.36, 44.41, 41.05, 30.46, 22.44, 19.15, 14.18 및

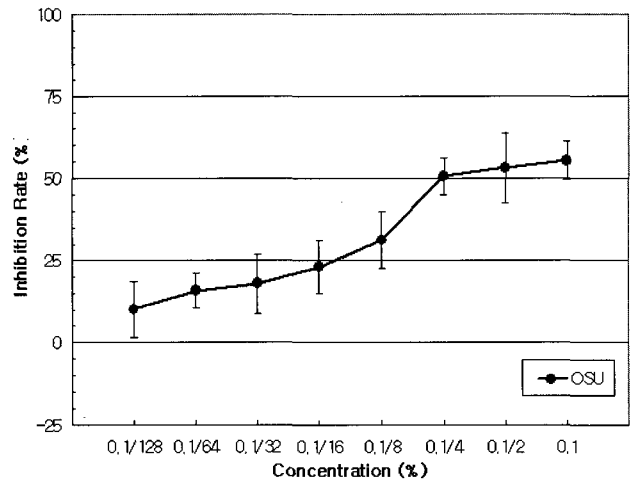


Fig. 11. Inhibitory effect of EPS on the infection of porcine RV OSU in MA-104 cell.

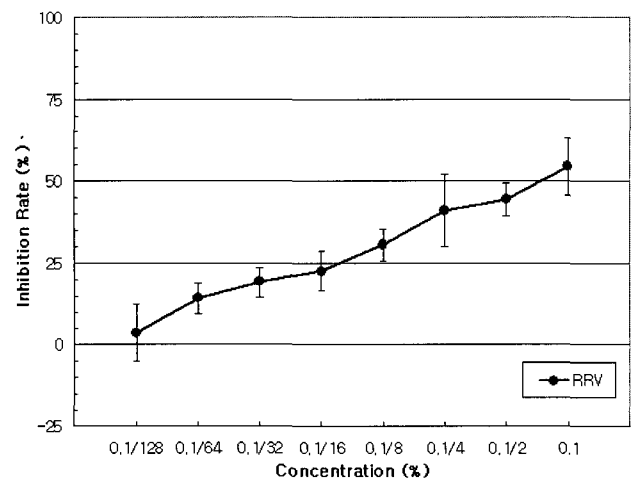


Fig. 12. Inhibitory effect of EPS on the infection of simian RV RRV in MA-104 cell.

3.66%로 점차 낮아지는 것으로 나타났다.

## 요 약

본 연구는 유산균에 의해 생성된 EPS의 병원성 식중독균에 대한 항균 효과와 바이러스성 설사병의 주요 원인인 여러 가지 RV에 대한 억제 효과를 파악하기 위하여 수행하였다. 실험에 이용된 EPS는 식품 성분 중 발효유 제품에 직접 이용이 가능하도록 상용화된 *Streptococcus thermophilus* BODY1에서 분리하였다.

그 결과는 다음과 같다.

측정된 human RV 5종의 역가는  $1.8 \sim 3.2 \times 10^7$  PFU/ mL, bovine RV 5종의 역가는  $1.8 \sim 2.6 \times 10^7$  PFU/ mL, porcine RV의 역가는  $2.4 \times 10^7$  PFU/ mL이었으며, simian RV의 역가는  $2.8 \times 10^7$  PFU/ mL로 나타나, 본 실험에 사용된 표준 RV는 EPS의 억제 능력을 측정하기 위한 기본적인 역가를 충분히 지니고 있는 것으로 나타났다.

MTT assay에 의한 EPS의 12종 공시 RV의 억제 효과는 EPS의 농도가 가장 높은 농도인 0.1%일 때 Wa의 경우  $51.58 \pm 8.08\%$ , KU는  $63.09 \pm 7.58\%$ , S2는  $51.23 \pm 5.43\%$ , YO는  $51.45 \pm 5.67\%$ , K-21은  $52.84 \pm 5.49\%$ , NCDV는  $57.50 \pm 10.85\%$ , UK는  $51.64 \pm 4.74\%$ , KK3는  $54.53 \pm 8.44\%$ , JBR은  $58.67 \pm 7.51\%$ , S97은  $50.63 \pm 5.17\%$ , OSU는  $55.48 \pm 5.75\%$ , RRV는  $54.36 \pm 8.72\%$ 의 억제율을 각각 나타내었으며, 가장 낮은 농도인 0.1/128%일 때 Wa의 경우  $5.5 \pm 6.45\%$ , KU는  $10.33 \pm 8.39\%$ , S2는  $0.98 \pm 8.39\%$ , YO는  $4.25 \pm 2.86\%$ , K-21은  $4.25 \pm 6.60\%$ , NCDV는  $4.01 \pm 4.12\%$ , UK는  $6.44 \pm 7.09\%$ , KK3는  $5.19 \pm 4.86\%$ , JBR은  $11.11 \pm 8.11\%$ , S97은  $6.75 \pm 6.95\%$ , OSU는  $10.14 \pm 8.54\%$ , RRV는  $3.66 \pm 8.57\%$ 의 억제율을 각각 나타내었다. 이러한 결과로 보아 EPS는 다양한 혈청형과 유래 동물의 RV 모두에게 억제 효과가 있는 것으로 확인되었다.

## 참고문헌

- Bass, D. M., Baylor, M. R., Chen, C., Meng, L., and Greenberg, H. B. (1992) Liposome mediated transfection of intact viral particles reveals that plasma membrane determines permissivity of tissue culture cells to rotavirus. *J. Clin. Invest.* **90**, 2313-2320.
- Beveridge, T. J. and Graham, L. L. (1991) Surface layers of bacteria. *Microbiol. Rev.*, **55**, 684-705.
- Bishop, R. F., Davidson, G. P., Holmes, I. H., and Ruck, B. J. (1973) Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with viral gastroenteritis. *Lancet.* **2**, 1281-1283.
- Chiarini, A., Arista, S., Giammanco, A., and Sinatra, A. (1983) Rotavirus persistence in cell culture : select of resistant cells in the presence of fetal calf serum. *J. Gen. Virol.* **64**, 1101-1110.
- De Vuyst, Vanderveken, L. F., Van de Ven, S., and Degeest, B. (1998) Production by and isolation of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in a milk medium and evidence for their growth-associated biosynthesis. *J. Applied Microbiology.* **84**(6), 1059-68.
- Feng, N., Burns, J. W., Bracy, L., and Greenberg, H. B. (1994) Comparison of mucosal and systemic humoral immune responses and subsequent protection in mice orally inoculated with a homologous rotavirus. *J. Virol.* **68**(2), 7766-7773.
- Feng, N., Burns, J. W., Bracy, L., and Greenberg, H. B. (1994) Comparison of mucosal and systemic humoral immune responses and subsequent protection in mice orally inoculated with a homologous rotavirus. *J. Virol.* **68**(2), 7766-7773.
- Gouvea, V., Decastro, L., Timenetsky, M. D., Greenberg, H. B., and Santos, N. (1994) Rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in Brazilian children. *J. Clin. Microbiol.* **32**, 1408-1409.
- Kaga, E., Iizuka, M., Nakagomi, T., and Nakagomi, O. (1994) The distribution of G(VP7) and P(VP4) serotypes among human rotaviruses recovered from Japanese children with diarrhea. *Microbiol. Immunol.* **38**, 317-320.
- Kaljot, K. T., Shaw, R. D., Rubin, D. H., and Greenberg, B. H. (1988) Infectious rotavirus enters cells direct cell membrane penetration, not by endocytosis. *J. Virol.* **62**(4), 1136-1144.
- Kapikian, A. Z and Chanock, R. M. (1990) Rotaviruses. *Virology* 2, 2nd ed.: In B. N. Fields and D. M. Knipe (ed), Raven press, New York. p 1353-1404.
- Noel, J., Mansoor, A., Thaker, U., Hermann, J., Perronhenry, D., and Cubitt, W. D. (1994) Identification of adenoviruses in faeces from patients with diarrhoea at the hospitals for sick children, London, 1989-1992. *J. Med. Virol.* **43**, 84-90.
- Ruas-Madiedo, P., Hufenholtz, J., and Zoon, P. (2002) An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal.* **12**, 163-171.

14. Tabassum, S., Shears, P., and Hart, C. A. (1994) Genomic characterization of rotavirus strains obtained from hospitalized children with diarrhoea in Bangladesh. *J. Med. Virol.* **43**, 50-56.
15. Weber, J. M., Ruzindana-Umunyana, A., Imbeault, L., and Sircar, S. (2003) Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins. *Antiviral Research* **58**, 167-173.
16. Wiseman, A. (1983) Principles of biotechnology. Blackie & Son Ltd., London. p. 23.
17. 浦澤正三, 谷口孝喜, 小林宣道 (1992) 로타바이러스의血清型. *ウイルス*. **42(2)**, 145-153.
18. 송진욱, 조홍찬, 이영건, 이종익, 박범석, 김용휘, 차광중, 유제현 (2000) 감초산이 송아지 로타바이러스의 MA-104 세포 감염에 미치는 영향. *한국 BRM 학회지*. **10(1)**, 115-126.
19. 유제현, 이영건, 주지선, 김유성, 김순재, Ebina, T. Nakagomi, O., Urasawa, S., Taniguchi, K., Greenberg, H. B. . (1996) 제주도 Bovine Rotavirus의 분리와 그 특성. *대한바이러스학회지* **26(2)**, 181-189.
20. 차광중, 유대열, 유제현, 이종기. (1999) 락토페린이 국내 분리 유아 로타바이러스의 MA-104 세포 감염에 미치는 영향. *대한바이러스학회지* **29(2)**, 87-97.

---

(2006. 6. 29 접수 ; 2006. 11. 13. 채택)