

## 훼리틴 생산 재조합 효모의 철분 결핍성 빈혈 개선 효과

황 은 희<sup>†</sup>

원광대학교 생활과학부 식품영양전공

## Repair of Iron Deficiency in Rats by the Intake of Recombinant Yeast Producing Human H-ferritin

Eun-Hee Hwang<sup>†</sup>

Dept. of Food and Nutrition, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

### Abstract

This study examined whether or not the iron that is accumulated in the recombinant microbes that produce ferritin is bioavailable to rats with iron deficiency. Rats induced with iron deficiency were treated with iron preparations of  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ , horse spleen ferritin, control yeast, and ferritin-producing recombinant yeast for 14 days. The bioavailability of iron was examined by measuring hemoglobin concentration, hematocrit value, and tissue iron stores. Differences between dietary groups were determined by one-way ANOVA, at the level of significance  $p<0.05$ . Based on hemoglobin concentration and hematocrit value, iron in  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ , horse spleen ferritin, and ferritin-producing yeast were bioavailable in rats and cured iron deficiency. The efficacy of ferritin and ferritin-producing yeast was confirmed in establishing tissue iron stores after the induction of iron deficiency. The iron sources of ferritin and the ferritin-producing yeast seemed to be as effective for the recovery from iron deficiency as the iron compounds of ferrous citrate and ferrous ammonium sulfate. The results suggest that the iron stored in ferritin of the recombinant yeast is bioavailable, and that the recombinant yeast may contribute widely as a source of iron to resolve the global problem of iron deficiency.

Key words : Iron deficiency, human H-ferritin, recombinant yeast.

### 서 론

빈혈의 원인 중 가장 주된 것은 철분 결핍으로 적혈구 전 구체에 철분의 이용이 충분하지 못할 때 발생한다. 이 증상은 어린이의 성장 지연, 행동과 학습 능력 저하 등의 장애를 일으키고 가임기 여성에서는 조산, 사산, 저체중아 출산의 위험이 높다(Leung & Chan 2001).

철분 결핍은 철분의 고갈을 가리키며 그 원인은 식사에서 철분 섭취 부족, 식사에 다른 요인에 의한 철분 흡수 저하, 궤양, 치질, 과다 출혈, 감염 등 그 정도가 경과됨에 따라 철분 결핍성 빈혈을 일으킨다. 철분 결핍성 빈혈은 저장율의 고갈, 트랜스 훼린에 의한 철분 이동을 감소에 의한 것으로 결과적으로 적혈구 생성이 감소하게 된다. 철분 결핍시 황산 철분 등이 철분의 경구보충제로 쉽게 이용되기도 하지만 과량의 철분은 소화관내에서 흡수불량증상을 일으키기도 한다 (Harrison & Arosio 1996).

인체에서 철분은 훼리틴, 해모시데린 같은 단백질에 저장되는데 훼리틴은 세포질에 존재하는 수용성인 반면 해모시데린은 물에 불용성이며 세포내에서 발견된다. 훼리틴에 대한 화학적, 분자생물학적 성질은 잘 알려져 있는 반면에 해모시데린의 분자적 성질은 잘 알려져 있지 않다(Harrison & Arosio 1996). 훼리틴은 세포내의 대표적인 철분저장단백질로 이 단백질은 단백질 외피(protein shell)와 내공(core)으로 구성되어 있는데, 단백질 외피는 24개의 subunit이 조합되어 구형을 이루고 이렇게 해서 생긴 내공(직경 약 8 nm)에는 분자 당 최대 4,500개의 철분 원자를 축적할 수 있다. 훼리틴은 내공에 철을  $\text{Fe}(\text{III})$ 상태로 보유함으로써 유리된 철에 의한 세포 내 독성으로부터 세포를 보호할 수 있고, 또한 철을 필요로 할 때는  $\text{Fe}(\text{II})$  상태로 환원시켜 공급한다(Baynes & Bothwell 1990, Theil 1987).

훼리틴은 거의 모든 생물 종에 존재하며 지금까지 사람을 포함해서 동물, 식물 및 미생물 등 여러 생물체로부터 분리되었다(Theil 1987, Harrison & Arosio 1996). 사람 훼리틴은 2종류의 subunit 즉, H(heart; heavy)형으로 이루어져 있는데,

<sup>†</sup> Corresponding author : Eun-Hee Hwang, Tel : +82-63-850-6658, Fax : +82-63-850-7301, E-mail: ehhwang@wonkwang.ac.kr

조직에 따라서 그 조성 비율이 달라 여러 isoferitin이 존재한다. 그리하여, 심장과 뇌에 존재하는 isoferitin(H-rich ferritin)은 H subunit의 조성 비율이 높고 비교적 철분함량이 적다 (Harrison & Arosio 1996). 각 조직에 존재하는 isoferitin의 기능상의 차이는 subunit의 조성 비율의 차이와 무관하지 않을 것으로 보인다. 특히, H-rich ferritin은 철분 운반의 기능도 가지는 것으로 여겨지며 조직 내에서 H 또는 L subunit으로만 이루어진 ferritin 동형집합체(homopolymer)는 분리된 바 없으며 아직까지 ferritin subunit의 세포내 기능은 명확하지 않다(Broxmeyer et al 1981, Harrison et al 1990). 철분은 생리적 pH에서  $\text{Fe}^{3+}$ 가 지극히 불용성( $10^{-18}\text{M}$ ) 이어서 훼리틴이 됨으로서 용해도를  $10^{11}$ 배나 증가시켜 세포에서 철분의 저장에 큰 역할을 한다(Linder et al 1972, Lobreaux & Brait 1991).

식품효모(*Saccharomyces cerevisiae*)는 사람에게 안전한 생물체이고 영양이 풍부한 제품으로 효모를 이용한 외래단백질의 상업적 생산이 크게 강조되고 있으며 최근에 이에 관한 많은 보고가 있다(Nam et al 1996, Chun et al 1996, Hovland et al 1989, Park et al 2000, Lee et al 2001). 또한 유전학적, 분자생물학적 정보가 많이 축적되어 있어서 외래단백생산을 위한 숙주세포로서 매우 유용하다. 최근에는 유전자 발현을 위한 숙주세포주의 변이주나 고발현 벡터 개발, 또는 신기능 효모의 개발 등에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(Hovland et al 1989, Park et al 2000). 최근 연구에서 올챙이 훼리틴 유전자를 효모에 발현시킨 결과, 효모의 철분 결합능력이 증진됨이 확인되었다(Shin et al 2001).

그러므로 사람 훼리틴을 효모내에서 발현시킴으로써 철분 함량이 증진된 효모를 개발하여 이를 철분 결핍성 빈혈 등에 활용할 수 있을 것으로 보여진다. 다른 연구에서(Shin et al 2001, Seo et al 2003) 효모에 사람 훼리틴 H-사슬과 L-사슬 유전자를 발현시킴으로써 철분이 증강된 훼리틴 생산 재조합 효모(human ferritin H-chain recombinant yeast, *hfH* 효모) 생산에 성공한 바 있는데 발현된 재조합 H-사슬 훼리틴은 *in vivo*에서 ferroxidase 활성이 있어 L-훼리틴보다 철분흡수율 (iron uptake)이 빠르고, L-훼리틴은 H-사슬 훼리틴보다 더욱 안정하며 core 형성에 우월함이 보고되었다. 또한 대장균에서 H와 L-subunit을 가진 훼리틴 이형집합체(heteropolymer)를 생산하여 실험한 결과 L-훼리틴은 세포내에서 철분 흡수능력이 없었으며 재조합훼리틴에 결합된 철의 양은 H-subunit의 함량과 비례관계에 있다는 보고가 있었다(Shin et al 2001).

철분을 필요로 하는 세포가 훼리틴으로부터 철분을 공급받고, 철분 결핍은 철분의 부적합한 섭취보다는 식이철분의 생체 이용률에 의존하기 때문에 본 연구에서는 *hfH* 효모가 급원이 다른 철분들과 비교하여 생체 이용률에 유용한지 알

아보기 위하여 흰쥐를 사육하여 체중 증가, 사료효율, 혜모글로빈 농도, 혈마토크립, 간과 비장의 철분농도를 비교 검토하였다.

## 재료와 방법

### 1. 재조합 효모 사용균주와 배양조건

사람 훼리틴 H-사슬 유전자(*hfH*)의 이형접합형 발현을 위해서는 숙주세포로 효모(*Saccharomyces cerevisiae*) 2805(MATA pep4:HIS3 prb1-d can1 GAL2 his3 ura3-52, YGT)를 사용하였다.

효모(YGT) 균주가 control로 사용되었고 여기에는 철분이 처리되지 않았으며 철분농도는  $0.1\ \mu\text{mol/g}$  (wet cell weight) 이었다. 유전자재조합 플라스미드는 효모 셔틀 벡터인 YEpl352를 사용하였다. YEpl352에 GAL 1 promotor, GPD promoter 및 GAL7 terminator가 삽입되어진 YEpl352-GAL, YEpl352-GPD 및 pGAL7-TER2를 전북대학교 양문식 박사로부터 제공받았다. 세포배양은 Seo 등(Seo et al 2002, Seo et al 2003)의 방법에 따라 Control인 효모 숙주세포와 재조합효소의 배양을 위한 일반배지로 영양배지인 1% 효모추출물, 유도제로 2% 과당이 함유된 2% 펩톤을 사용하여 30°C, 200 rpm으로 교반하면서 3일간 배양하였다. 5,000 g, 10분(4°C)에서 원심분리하여 회수하였고 세포들은 20 mM 3-(N morpholino) propane sulfonic acid buffer(pH6.5)에서 2회 세척하였다. 5%(w/v) 포도당 함유완충액에서 30분간 preincubating 후 효모세포들은 14.3 mM  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ 를 30°C 2시간 교반(200 rpm) 반응시킴으로써 철분을 축적시켰다.

*hfH* 효모는 YGH2로 표기하였고 이의 철분 농도는 control 균주의 철분보다 높아 총 철분함량의 90% 이상이 철분결합 단백질로 동정된 바 있으며 이것은 철분농도  $16.71\ \mu\text{mol/g}$  (wet cell weight in YGH2)임을 확인하였다(Seo et al 2003). 철분 공급은 용액상에서 +2가 상태로 더 오래 지속되기 때문에 황산철(ferrous sulfate) 대신 황산암모늄철(ferrous ammonium sulfate)을 사용하였고 YGT cell은 1% 효모추출물, 유도제로 2% 과당이 함유된 2% 펩톤에서 배양하였고, 종류수로 2회 세척하여 5,000 g, 10분(4°C)간 원심분리하여 YGT 세포와 YGH2 세포 pellet 150 g(wet weight)을 회수하여 본 실험에 사용하였다.

### 2. 실험 동물과 사료

생후 3주된 SD계 흰쥐 수컷을 중앙실험동물(Seoul, Korea)에서 구입하여 1주일간 고형 배합사료로 적응시킨 뒤 8마리 씩 7군으로 나누었다. Control 군은 정상사료로 AIN-76 사료(Dyets Co, USA, 48 mg Fe/kg diet)를, 철분 결핍군으로는

AIN 철분 결핍사료(Dyets Co, USA, 2 mg Fe/kg diet, AIN-Fe deficient)로 28일간 먹였다. 철분 결핍으로부터 회복 효과를 비교하기 위하여 AIN-Fe deficient 사료를 14일간 먹인 후, YGH2를 비롯한 다른 급원 철분사료를 14일간 공급하면서 실험하였다. 사료효율(Feed Efficiency)은 28일간의 흰쥐 사육기간 동안 섭취한 총 사료무게에 대하여 증가된 체중을 백분율로 계산하였다. 실험에서 분류된 실험군은 7개로 다음과 같다.

1. Control군: 정상사료군: AIN-76 사료, 28일간: Control
2. 철분결핍사료군: AIN-Fe deficient 사료, 28일간: AIN-Fe deficient
3. AIN-Fe deficient, 14일간 +Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 30 mgFe/kg diet, 14일간: FAS(30)
4. AIN-Fe deficient, 14일간 +Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 50 mgFe/kg diet, 14일간: FAS(50)
5. AIN-Fe deficient, 14일간 +말 비장 췌리틴(horse spleen ferritin, 35 mg Fe/kg diet), 14일간: HSF
6. AIN-Fe deficient, 14일간 +YGT(2 mg Fe/kg diet), 14일간: YGT
7. AIN-Fe deficient, 14일간 +YGH2(35 mg Fe/kg diet), 14일간: YGH2

### 3. 시료채취

28일 동안 실험동물의 체중은 매주 측정하였고 실험 14일, 21일후에 꼬리에서(0.5 mL), 28일후에는 심장에서 채혈하였다. 해파린 처리된 시험관에 모아 혜마토크립(Ht)는 마이크로원심분리법으로, 혜모글로빈(Hb) 농도는 Spotchem Kit(Arkay Inc, Japan)를 사용하여 측정하였으며 28후에 희생시켜 간, 비장의 철분 함량을 microwave sample preperation system

(CEM, USA)에 의하여 70% 질산(7 mL), 30% 염산(3 mL)으로 분해시켜 원자흡광광도법(Atomic absorption spectrometer, AAS, Spectr AA-880, Varian, USA)으로 측정하였다.

### 4. 통계

SPSS 프로그램을 사용하여 실험군과의 차이는 One way ANOVA( $p<0.05$ )를, 사료군의 유의적 차이는 post hot-Tukey's test를 사용하였다.

## 결과

### 1. 췌리틴 생산 재조합 효모에 의한 철분 결핍 흰쥐의 빈혈 개선 효과

각 실험군의 동물체중, 총 사료섭취량, 사료이용효율을 Table 1에 정리하였다.

최종체중과 총 사료섭취량은 실험군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었으나 평균값에서는 다소간 차이를 보인 것은 오차가 크기 때문이라 여겨진다. 체중 증가량은 실험군 간의 차이를 보여 HSF군이 가장 커고 AIN-Fe deficient군, FAF(30)군, FAF(50)군, YGT군은 적었는데 AIN-Fe deficient군, FAF(30)군, FAF(50)군은 사료효율도 유의적으로 낮아 사료효율과 체중 증가 간에 연관을 볼 수 있었다. HSF와 YGH2은 control과 체중 증가, 사료효율이 유사하였다.

### 2. 혜모글로빈(Hb), 혜마토크립(ht)값

각 실험군의 Hb, Ht 값을 Table 2에 정리하였다. 철분함량이 2 mg/kg(diet)인 AIN-Fe deficient군의 혈액 Hb 농도가  $67\pm15$  g/L, Ht는  $0.26\pm0.10$ (volume fraction)으로 각각 control의 54%, 59%였다. YGT군의 경우 Hb와 Ht는 AIN-Fe

Table 1. Body weight, body weight gain, total food intake and feed efficiency of rats

Group	Dietary[Fe] (mg/kg)	Final body weight(g)	Body weight gain(g)	Total food intake(g)	Feed Efficiency
Control(AIN-76)	48	255.0±28.8 <sup>NS</sup>	152.5±19.8 <sup>ab</sup>	419.47±47.3 <sup>NS</sup>	0.36±0.03 <sup>a</sup>
AIN-Fe deficient	2	235.0±26.5	127.5±12.6 <sup>b</sup>	429.2±48.3	0.30±0.03 <sup>c</sup>
FAS(30)	30	228.0± 8.4	132.0±14.8 <sup>b</sup>	432.4±15.9	0.30±0.03 <sup>c</sup>
FAS(50)	50	218.6±27.3	125.7±12.7 <sup>b</sup>	419.1±54.4	0.30±0.02 <sup>c</sup>
HSF	35	260.0±22.8	161.7±14.7 <sup>a</sup>	459.5±40.3	0.35±0.02 <sup>ab</sup>
YGT	2	228.6±17.7	131.4±15.7 <sup>b</sup>	417.2±32.4	0.31±0.02 <sup>bc</sup>
YGH2	35	253.3±25.0	146.7±17.5 <sup>ab</sup>	437.1±43.2	0.34±0.02 <sup>abc</sup>

<sup>NS</sup>. Means not significant at  $\alpha=0.05$  by Tukey's test.

<sup>a-c</sup> Values with different superscript letters indicate significantly different at  $p<0.05$  among the groups in the same period.

Strains are described in Materials and Methods.

**Table 2. Recovery of rats from dietary iron deficiency with iron from purified horsespleen ferritin (HSF) and recombinant yeast\***

Group	Dietary [Fe] (mg/kg)	Hemoglobin(g/L)			Hematocrit(volume fraction)		
		14d	21d	28d	14d	21d	28d
Control	48	102±40 <sup>a</sup>	113± 8 <sup>a</sup>	124±16 <sup>a</sup>	0.49±0.03 <sup>a</sup>	0.30±0.01 <sup>bc</sup>	0.44±0.08 <sup>a</sup>
AIN Fe-deficient	2	69±19 <sup>ab</sup>	69±31 <sup>ab</sup>	67±15 <sup>b</sup>	0.36±0.04 <sup>b</sup>	0.25±0.02 <sup>c</sup>	0.26±0.10 <sup>b</sup>
FAS (30)	30	73±28 <sup>ab</sup>	99±19 <sup>ab</sup>	121± 8 <sup>a</sup>	0.37±0.05 <sup>ab</sup>	0.36±0.06 <sup>b</sup>	0.37±0.06 <sup>ab</sup>
FAS (50)	50	74±19 <sup>ab</sup>	87±28 <sup>ab</sup>	124±10 <sup>a</sup>	0.23±0.01 <sup>c</sup>	0.35±0.05 <sup>b</sup>	0.45±0.02 <sup>a</sup>
HSF	35	62±19 <sup>ab</sup>	70± 3 <sup>ab</sup>	142±11 <sup>a</sup>	0.37±0.08 <sup>ab</sup>	0.47±0.07 <sup>a</sup>	0.46±0.04 <sup>a</sup>
YGT	2	56±18 <sup>b</sup>	59±10 <sup>b</sup>	63±10 <sup>b</sup>	0.41±0.04 <sup>ab</sup>	0.30±0.05 <sup>bc</sup>	0.26±0.05 <sup>b</sup>
YGH2	35	66±14 <sup>ab</sup>	114± 6 <sup>a</sup>	132±13 <sup>a</sup>	0.42±0.09 <sup>ab</sup>	0.44±0.02 <sup>ab</sup>	0.48±0.03 <sup>a</sup>

\* Values are means ± Standard deviation(n=8).

<sup>a~c</sup> Values with different superscript letters indicate significantly different at  $p<0.05$  among the groups in the same period.

Strains are described in Materials and Methods.

**Table 3. Efficacy of ferritin and recombinant yeast on tissue iron stores in iron deficiency-induced rats\***

Group	Dietary [Fe] (mg/kg)	Iron concentration(μmol/g)	
		Liver	Spleen
Control	48	1.03±0.09 <sup>ab</sup>	3.56±0.26 <sup>a</sup>
AIN Fe-deficient	2	0.56±0.03 <sup>c</sup>	1.95±0.21 <sup>b</sup>
FAS(30)	30	0.84±0.10 <sup>b</sup>	3.03±0.50 <sup>a</sup>
FAS(50)	50	0.86±0.08 <sup>ab</sup>	3.32±0.14 <sup>a</sup>
HSF	35	1.10±0.33 <sup>ab</sup>	3.66±0.21 <sup>a</sup>
YGT	2	0.50±0.02 <sup>c</sup>	2.03±0.25 <sup>b</sup>
YGH2	35	1.14±0.12 <sup>a</sup>	3.51±0.40 <sup>a</sup>

\* Values are means ± Standard deviation (n=8)

<sup>a~c</sup> Values with different superscript letters indicate significantly different at  $p<0.05$  among the groups in the same period. Strains are described in Materials and Methods.

deficient 군과 같이 낮았다. FAS와 HSF에 의한 철분공급은 철분결핍을 회복시켜( $p<0.05$ ) 생체 이용성을 나타냈다.

FAS(30), FAS(50)에서 Hb와 Ht에 큰 차이를 보이지 않은 것은 FAS(30)의 철분농도가 빈혈 회복에 충분했다고 볼 수 있으며 YGH2 군은 철분결핍으로부터 흰쥐를 구하였다( $p<0.05$ ).

### 3. 간과 비장의 철 저장

철분 급원이 다른 사료의 조직 철분 저장량을 알아본 결과는 Table 3에 정리하였다.

YGH2군에서 간과 비장의 철분 농도가 1.14±0.12 μmol/g, 3.51±0.41 μmol/g으로 각각 control의 111%, 99%로 control과 거의 같았다. HSF군도 간 1.10±0.33 μmol/g, 비장 3.66±0.21 μmol/g으로 YGH2군과 유사한 값을 보였다. 간철분 농도가 FAS(30)에서 약간 적었으나 FAS(30)과 FAS(50)은 비장 철분농도가 control과 같은 수준이었다. HSF(35 mgFe/Kg)과 YGH2(35 mgFe/Kg)보다 FAS(30)이 간 철분 회복에 불리하였다. 또한 AIN-Fe deficient군, YGH2군에서는 간과 비장의 철분농도가 유의적으로 낮았다.

### 결론 및 고찰

웨리틴내에 저장된 철분, 재조합 효모의 철분, 무기철복합체의 생체 유용성 차이를 알아보았다. 서 등(Seo et al 2003)의 실험에서 *hfh* 효모는 14.3 mM 철분으로 반응시켜 16.7 μmol/g wet cell YGH2를 얻었으며 *hfh* 효모는 *in vivo*에서 활성이 있었고 원자흡광광도법으로 측정한 *hfh* 효모의 총 철분함량의 90% 이상이 주요 철분결합단백질임을 동정하였다. 다른 연구에서(Seo et al 2002, Beard et al 1996) 웨리틴의 철분과 형질전환된 쌀의 철분을 공급하여 줌으로써 철분결핍으로부터 흰쥐를 회복시킴을 보여주었다.

사료군에 따라 흰쥐의 체중 증가와 사료효율에서 철분 결핍된 AIN-Fe deficient 군, YGT 군에서 팔목할만하게 낮은 결과는 철분이 동물성장에 중요하다는 것을 보여주었다(Mu-

rray-Kolb *et al* 2002). FAS 군에서 체증가와 사료이용효율이 감소한 이유는 본 실험만으로는 분명치 않다. 철분 보충군인 HSF와 YGH2 군은 체중 증가와 시료효율이 control과 유사하였다. Hb와 Ht는 FAS, YGH2가 높아 훈취의 빈혈 치료에 유용성이 더 커졌다(Table 2). FAS(30)군에서 Hb는 control과 유사하였고 FAS(50)군에서 28일에 Ht가 증가하였는데 이는 FAS(50)의 철분 농도가 회복에 더욱 효과적이었음을 가리킨다. HSF와 YGH2 군의 철분 결핍으로부터의 회복은 control과 비슷하였는데 이는 페리틴과 *hfh* 효모의 철분이 control의 철분급원인 구연산철(ferric citrate)이나 황산암모늄철(ferrous ammonium sulfate, FAF)같은 철분 복합체만큼 효과적임을 증명하였다.

YGH2 군은 철분 농도도 높지만 효모 성분이 철분의 생체 이용률을 높이는 중진제로 작용했을 것으로 여겨진다. 인체에서는 식사 철분의 흡수력이 인체에 저장된 철분을 포함하여 적혈구 생성률, 식사 철함량과 종류, 식사에 철분 흡수증진제와 억제제 등 여러 요인의 영향을 받는다(Murray-Kolb *et al* 2002, Strube *et al* 2002). 사람과 훈취는 철분의 생체 이용률에 영향을 주는 식이적 생리적 요인이 유사하다고 보고하였는데(Mahoney & Hendricks 1984) *hfh* 효모가 철분의 이용율과 조직의 철분 흡수를 향상시켰다.

페리틴과 *hfh* 효모의 유용성은 철분 결핍을 유도시킨 경우 조직철분저장에 의함이 확실하게 되었으며 이는 식사 철분이 잘 흡수되었음을 가리킨다. 또한 본 실험의 결과는 훈취 간의 철분 회복에서 FAS(30)이 HSF(35 mg Fe/Kg diet)와 YGH2(35 mg Fe/Kg diet) 사료보다 좋지 않아 HSF와 YGH2에 의한 철분 공급이 조직의 철분을 재충전하는데 무기철분인 FAS보다 효율적임을 가리키며 *hfh* 효모 공급이 철분 결핍을 회복시키는데 도움이 됨을 확인하였다. *hfh* 효모의 철분 결핍성 빈혈 개선에 대한 다른 연구가 아직 이루어지지 않아 본 실험의 결과를 선행 연구들과 비교하지 못하였지만 영양보충제로 사용되는 황산암모늄철과 비교함으로써 *hfh* 효모의 빈혈 개선 효과를 객관적으로 검토할 수 있었다. 본 실험은 *hfh* 효모의 빈혈 개선 기능에 대한 초기단계 연구로 혈장 헤모글로빈 농도, 혜마토크리트, 간과 비장의 철분농도를 측정하여 이 4가지 지표만으로 빈혈 개선 효과를 평정하기에는 무리가 있다고 볼 수 있으므로 총 철분 결합 능력(total iron binding capacity, TIBC), 트랜스페리린 포화도(transferrin saturation, TS), 분변의 철분 농도 등 다른 지표물질에 대한 검토가 이루어져야 하겠다. 세포내 철분흡수기전은 아직 완전히 연구되지 않았으며 효모에서 낮은 비율로 발현 생성된 페리틴이 비교적 많은 양의 유동성 철분을 저장하고 있어 종합적으로 *hfh* 효모의 생체이용성이 높아 철분 공급원으로 우수하다고 할 수 있다.

## 감사의 글

본 연구는 2004학년도 원광대학교 교내연구비 지원으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- Baynes RD, Bothwell TH (1990) Iron deficiency. *Annu Rev Nutr* 10: 133-148.
- Beard JL, Burton JW, Theil EC (1996) Purified ferritin and soybean meal can be sources of iron for treating iron deficiency in rats. *J Nutr* 126: 154-160.
- Broxmeyer HE, Bognacki J, Dorner MH, deSousa M, Lu L (1981) Acidic isoferritins as feedback regulators in normal and leukemic myelopoiesis. *Hamatol Bluttransfus* 26: 243-245.
- Chun BW, Kim DH, Chung BW, Lee HC, Yang MS (1996) Production of glucose oxidase using recombinant yeast. *Korean J Biotechnol Bioeng* 11: 270-275.
- Harrison PM, Andrews SC, Artymiuk PJ, Fird GC, Lawson DM, Smith JMA, Treffry A, White HL (1990) Ferritin; in Ioin transport and storage. Pomka, P., Schulman, H. M., Woodworth, R. C. (eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida. p 82-101.
- Harrison PM, Arosio P (1996) The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta* 1275: 161-203.
- Hovland P, Flick J, Johnston M, Salafani RA (1989) Galactose as a gratuitous induces of GAL gene expression in yeasts growing on glucose. *Gene* 83: 57-64.
- Lee J, Seo HY, Jeon ES, Park OS, Lee KM, Park CU, Kim KS (2001) Cooperative activity if subunits of human ferritin Heteropolymers in *Escherichia coli*. *H Biochem Mol Cuil* 34: 365-370.
- Leung AK, Chan KW (2001) Iron deficiency anemia. *Adv Pediatr* 48: 385-408.
- Linder MC, Moor JR, Scott LE, Munro HN (1972) Prenatal and postnatal changes in the content and species of ferritin in rat liver. *Biochem J* 129: 455-462.
- Lobreaux S, Briat JF (1991) Ferritin accumulation and degradation in different organs of pea (*Pisum sativum*) during development. *Biochem J* 274: 601-606.
- Mahoney AW, Hendricks DG (1984) Potential of the rat as a model for predicting iron bioavailability in humans. *Nutr*

- Res 4: 913-922.
- Murray-Kolb LE, Theil EC, Takaiwa F, Goto F, Yoshihara T, Beard JL (2002) Transgenic rice as a source of iron for iron-depleted rats. *J Nutr* 132: 957-960.
- Nam SE, Lim HH, Chung BH, Chang YK (1996) Expression and secretion of recombinant inulinases under the control of GAL OR GAP promoter in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biotechnol Bioeng* 11: 445-452.
- Park EH, Shin YM, Lim YY, Kwon TH, Kim DH, Yang MS (2000) Expression of glucose oxidase by using recombinant yeast. *J Biotech* 81: 35-44.
- Seo HY, Chung YJ, Kim SJ, Park CU, Kim KS (2003) Enhanced expression and functional characterization of the human ferritin H- and L-chain genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotech* 63: 57-63.
- Seo HY, Jeon ES, Chung YJ, Kim KS (2002) Heterologous expression of human ferritin H-chain and L-chain genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 17: 162-168.
- Shin YM, Kwon TH, Kim KS, Chae KS, Kim DH, Kim JH, Yang MS (2001) Enhanced iron uptake of *Saccharomyces cerevisiae* by heterologous expression of a tadpole ferritin gene. *Appl Environ Microbiol* 67: 1280-1283.
- Strube YNJ, Beard JL, Ross AC (2002) Iron deficiency and marginal vitamin A deficiency affect growth, hematological indices and the regulation of iron metabolism genes in rats. *J Nutr* 132: 3607-3615.
- Theil EC (1987) Ferritin; structure, gene, regulation and cellular function in animals, plants and microorganism. *Ann Rev Biochem* 56: 289-315.

(2005년 12월 24일 접수, 2006년 2월 7일 채택)