

초청강연 논문 5

기능성 유단백질의 연구동향과 전망

기능성 유단백질의 연구동향과 전망

김세현

고려대학교 자연자원대학 응용동물학과

서론

완전 식품인 우유의 영양적 특성과 주요 구성분의 역할 및 기능에 대해서는 오랜 기간에 걸쳐 많은 연구가 이루어져 왔다. 최근 들어 식품의 부가적인 기능에 대한 관심과 이해가 증가되면서 우유내 성분의 기능성에 관한 연구도 급격히 증가하는 실정이며 이러한 기능성은 주로 유단백질과 유단백질 분해물에 의한 것으로 immunoglobulins, enzymes, enzyme inhibitors, binding 또는 carrier proteins, growth factors, antibacterial agents, cholesterol effect, Bifidus factors 및 angiotensin-converting enzyme inhibitor, enterotoxin-binding activity, immunomodulating peptide 같은 유단백질이 분해되어 생성된 peptide들에 의한 것들이 포함된다. 특히, 최근에는 유단백질, 유단백질의 분해물의 기능성 검증에 더하여 유단백질의 일부 구조를 화학적, 유전공학적 방법으로 변형하여 새로운 기능성을 갖게 하려는 시도가 이루어지고 있다(Imafidon 등, 1997).

유단백질의 기능성

1. Binding Proteins

1.1. Metal binding proteins

1.1.1 Casein

Casein은 인단백질로서 serine 잔기에 인이 monoester 형태로 결합되어 있으며 균집형태를 이루고 있다. 이 인은 금속이온과 강하게 결합하여 전하의 상쇄를 일으켜, casein의 침전과 casein micelle 형성에 관여한다.

1.1.1.1. Ca의 결합

우유내 주된 금속이온은 칼슘으로 이들은 주로 casein에 결합된 인과 결합하고 있으나 CCP(colloidal calcium phosphate)로 casein micelle에 존재하기도 한다. 이 두 형태 모두 렌넷 응고, 열 안정성, 알코올에 의한 응고와 영양적인 측면에서 중요성을 갖는다. 칼슘흡수촉진 작용은 casein에서 분해된 인화펩타이드에 의해 나타나며 이 펩타이드는 음이온의 밀도가 높아 단백질분해효소의 영향을 잘 받지 않으며 소장에서 분해되지 않고 장내에서 활력을 유지한다. 이러한 칼슘흡수촉진 작용은 peptide의 인화 정도에 비례한다.

1.1.1.2. Zn

우유가 인유에 비해 Zn 함량은 많으나 이용률은 낮는데 이는 우유에 인화(phosphorylation)가 더 많이 되어있고 이들에 Zn이 결합되어있기 때문이다. 총 Zn의 95%가 casein micelle과 연관되어 있으며 산화나 투석에 의해 CCP (colloidal calcium phosphate)를 줄이면 이용률은 증가한다(Kiely 등, 1988). 인유에서는 14%만 casein과 결합되어 있으며 나머지는 whey protein과 citrate에 각각 1/3씩 결합되어 있다.

1.1.1.3. Iron

철분도 casein내의 인화된 serine 잔기에 결합되어 있으나 이러한 결합과 이용률과의 상관관계는 확실히 밝혀져 있지 않다. 철분의 보강을 위한 첨가제로서 casein phosphopeptide-Fe 복합체가 효과적이라고 알려져 있다.

1.1.2. Lactoferrin

Lactoferrin은 serum transferrin, ovotransferrin, melatransferrin을 포함하는 transferrin계 단백질로서 650-700개의 아미노산으로 구성된 단일 펩타이드 사슬로 구성되어 있으며 철결합작용을 갖는 당단백질이다. 이러한 transferrin계의 단백질은 동물의 젖, 눈물, 침 등 외분비선 체액성 분비물에 존재하고, 유선, 골수 세포 등에서 분비한다. Lactoferrin의 생리적 기능으로 유해미생물 감염에 대한 방어작용, 유아의 장내에서 철분흡수 촉진작용, myelopoiesis 조절작용, 염증반응의 조절작용, lymphocytes의 성장촉진효과, neutrophile에 의한 hydroxyl기의 생성, lysozyme regeneration의 감소, macrophages, granulocyte, neutrophil, leukocytes의 조절작용등이 알려지고 있으나 많은 작용에 대한 주요기작들은 아직 완전히 규명되지 않고 있다. 이러한 lactoferrin의 산업적 이용은 여러 생리적 기능을 이용한 의약품, 화학전달작용을 이용한 약품, 항균 작용을 이용한 식품산업의 이용, lactoferrin이 첨가된 유아용분유, 송아지육성을 위한 사료첨가제, lactoferrin의 분해물로부터 얻어지는 생리활성 peptide의 기능성식품과 의약품에

의 이용, 식품내 천연방부효과등을 이용한 적용이 가능할 것이다(남 등, 1996). 이러한 장점에도 불구하고 lactoferrin은 그 양이 적어 대량생산에 한계가 있어 왔으나 유전자 조작을 이용한 lactoferrin의 대량생산이 활발히 시도되고 있고 특히 최근에 국내에서도 인유의 lactoferrin을 우유에 발현시키는 연구가 성공하여 그 활용이 기대되고 있다. 또한 lactoferrin과 lactoferricin, 그리고 lactoferrin에서 분해된 펩타이드가 항암효과가 있다고 보고되기도 하였다(Yoo 등, 1997).

1.2. Vitamin-binding proteins

포유동물의 젖에는 retinol, folic acid, riboflavin, vitamin B₁₂등을 결합하는 단백질이 존재하는 것으로 알려지고 있으며 이들은 비타민의 흡수를 촉진하고 특수 기능을 갖는 것으로 생각된다.

1.2.1. β -Lactoglobulin

우유의 유청단백질의 주성분인 β -lactoglobulin은 가축화된 다양한 포유류의 젖에 존재하거나 혹은 유사한 형태의 단백질이 존재하기도 한다. 그러나 특이하게도 인유나 설치류의 젖에서는 결핍되어 있다. 이 단백질은 여러 종의 소수성 물질과 결합하는 특징이 있어 비타민의 일종인 retinol과 결합하여 retinol의 산화를 방지하고 일반적으로 위내 소화작용에 저항력이 있어 위를 통과해 소장에도달할 때까지 보호작용이 가능한 것으로 알려지고 있다. 또한 β -lactoglobulin은 비타민 D₂ 및 ergosterol과 강력히 결합하며 retinol이 1 mole 당 1 mole이 결합하는 것에 비하여 2 mole의 비타민 D₂가 반응하는 것으로 나타났다(Wang 등, 1997).

1.2.2. Vitamin B₁₂-binding protein

우유, 인유, 양유 및 많은 포유류의 젖에 존재하는 비타민 B₁₂는 거의 대부분이 유청단백질에 결합되어 있다. 인유에서 비타민 B₁₂가 결합되어 있는 유청단백질은 분자량이 61,000-63,000 Da이고 분자내 약 35%의 당을 함유하고 있다. 이 단백질은 두 종류로 구성되어 있는데 그 하나는 거의 대부분의 비타민 B₁₂가 결합되어 있는 R-type이고 다른 하나는 transcobalamin II로 매우 소량이며 cobalamin을 함유하고 있지 않다. 이 단백질은 비타민 B₁₂의 흡수를 촉진하고 미생물 사멸효과를 갖는다. 이러한 단백질의 흡수는 신생아의 장표피 세포에서 일어나는데 그 기작은 확실하지 않아 분해되지 않은 단백질이 흡수를 촉진한다는 보고와 단백질이 분해된 후 비타민의 흡수가 일어난다는 보고가 상충한다. 또한 B₁₂-binding protein이 장 brush border membrane에 접합된 후 비타민 B₁₂의 흡수를 촉진한다는 보고도 있다. 이 단백질은 인유에서 cyanocobalamin 약 43 ng/ml과 결합할 수 있는 능력이 있으나 대부분 불포화 상태로 존재하며, 75°C, 15분간의 열처리에 의해 결합능력이 감소하나 더 심한 열을 가할 경우 다시 증가한다. 또한 장내세균의 cyanocobalamin의 흡

수를 저해하여 결과적으로 미생물의 성장을 저해하는 효과를 갖는다. 이러한 저해 효과가 75°C, 15분간 가열하면 현저히 감소하나 더 높은 가열에서는 그 정도가 감소된다. 이와 같이 이 단백질은 장내 미생물이 비타민 B₁₂의 이용을 억제하여 장내 미생물 군총의 발달에 관여하며 신생아의 비타민 B₁₂의 영양적 이용에 관여한다.

1.2.3. Folate-binding protein (FBP)

생체내 여러 조직에서 다양한 단백질이 folate결합능을 갖는 것으로 알려져 있다. 이들 단백질은 분자량이 100,000-200,000 Da인 단백질과 25,000-40,000 Da인 단백질로 구분된다. 이들 단백질은 우유, 혈청 등의 세포외액에서도 존재하며 세포막에 결합된 형태로 세포내에 존재하기도 한다. 우유, 인유, 양유에 모두 저분자량과 고분자량의 단백질이 존재하고 당을 함유하고 있으며 단백질과 folate간 복합체의 형성은 중성에서 이루어지나 산성에서는 결합이 이완된다. 우유의 FBP는 222개 아미노산 잔기로 구성되어 있으며 약 10%의 당을 함유한다. 이들 당은 49, 141번째의 Arg잔기에 결합되어 있으며 당을 포함하여 분자량은 약 30,000 Da이다. 인유에 함유된 FBP는 우유와 비교하여 N 말단 5개의 잔기가 결여된 것을 제외하고는 대체로 유사한 성격과 구조를 갖는다.

FBP에 결합된 folate는 장내에서 효과적으로 흡수가 가능한데 모유수유아에는 모체나 다른 성인에 비해 혈장과 적혈구내에 folate 함량이 높은 특징을 갖는 것으로 보아 인유내에 folate의 장흡수를 촉진하는 인자가 존재할 가능성이 높다. In vitro 실험에서 FBP에 결합된 folate가 유리 folate에 비하여 흡수가 더 잘되고 장의 하부로 내려감에 따라 흡수가 증가된 반면, 유리 folate는 장부위에 관계없이 흡수가 일정하였다. 다른 실험에서는 유리 folate가 jejunum에서는 더욱 빨리 흡수되고 ileum에서는 비슷한 속도로 흡수되는 것이 관찰되었다.

FBP에 의한 미생물억제효과는 이 FBP가 folate의 미생물에 의한 이용률을 감소시켜 나타난다. 이러한 folate 결합작용과 항미생물활성은 열처리에 의해 감소하나 일반적인 살균온도에서 약 10%만 감소하므로 크게 영향을 주지 않는다.

최근들어 이 folate가 신경관의 결합, 순환계질병 및 암 등을 억제시킬수 있다는 가능성이 나타나면서 이들의 중요성은 더욱 인정되고 있는데 이러한 folate 결합작용은 UHT유나 발효유등 고온으로 처리한 유에서 그 작용이 현저히 감소되었다 (Wigertz 등, 1997).

1.2.4. Riboflavin binding protein (RBP)

계란의 난황과 난백에는 riboflavin을 혈청으로부터 흡수하기 위한 riboflavin binding protein (RBP)가 존재한다. 이 단백질은 8개의 인화된 serine 잔기를 함유하며 casein과 유사한 특성을 갖는다. 이 단백질은 비타민의 흡수에 필수적이며 특히 세포막의 인식역할을 하는 것으로 알려지고 있다. 또한 이 단백질에 결합된 riboflavin은 강한 항산화제의 성질을 갖는다. 지금까지 casein이 직접 RBP로 작용

한다는 보고는 없으나 RBP와 동일하게 인화된 serine 잔기를 함유하고 있어 세포막 인식인자로 작용할 가능성을 갖는다.

2. Bifidus factors

일반적으로 모유수유아가 인공포유아에 비해 장질환에 대한 저항력이 더 강하다. 이것은 복합적인 요인의 결과로 우수한 위생상태, 모유의 조성분, 항미생물활성, 면역단백질, lysozyme, lactoferrin, 비타민 결합 단백질 등과 낮은 pH의 영향을 들 수 있다. 모유수유아의 분변 pH는 5.1인 반면 우유를 섭취한 경우 pH는 6.4로 나타난다. 이와 같은 pH의 차이는 우유에 많은 인에 의한 완충작용과 장내 미생물균총의 차이에 의한 것이다. 모유를 수유한 유아의 분변내 균총을 조사하여보면 99%가 *Bifidobacterium*, 특히 *Bifidobacterium bifidum*이 주종을 이루고 *B. longum*은 소수 존재한다. 그러나 인공포유아의 경우 비피더스균의 수가 높기는 하나 *Bacteriodes*, *Clostridium*, *Coliforms*의 유해 미생물도 다수 존재하는 것으로 나타난다. 또한 비피더스균중 *B. longum*이 우세하고, *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. adolexcentis*, *B. breve* 등은 소수 존재하여 인유와는 다른 양상을 보인다. 이러한 *B. bifidum*의 우세는 인유내에 비피더스균의 성장을 촉진하는 물질(bifidus factor)에 의한 것이다.

*Bifidobacteria*의 성장촉진 인자로는 인유에서 발견되는 *N*-acetyl-glucosamin (bifidus factor I)과 인유, 우유, pancreatic extract, insulin 및 casein hydrolysate에서 발견되는 bifidus factor II 등이 있다(Gyorgy 등, 1954; Gyorgy와 Rose, 1955). 또한 우유 casein 가수분해물(Poch와 Bezkorovainy, 1991), yeast extract(Lim 등, 1990), lactulose(Asami, 1960), 대두단백질 분해물(Yajima 등, 1992)도 *Bifidobacteria*의 성장촉진 효과가 있다고 보고되었다. Gyorgy 등(1954)은 bifidus factor가 *N*-acetylglucosamin을 함유한 saccharides임을 밝히고 이들이 *Bifidobacteria*의 세포벽 합성에 필수적이라 하였다. 이 물질은 인유 특히 초유에 많으며 우유의 초유에도 존재하나 정상우유에는 매우 적게 존재한다고 하였으며 이와 같은 현상은 양유에서도 관찰되나 자세히 연구되지는 않았다. 이러한 bifidus factor의 대부분(40-75%)이 비투과성인 것으로 미루어 glycoprotein과 oligosaccharides의 혼합물일 것으로 추정되며 이 중 투과성인 물질은 HPLC로 2개의 분획으로 분별되었다(Ashoor와 Monte, 1983). Gyorgy 등(1974)은 비 투과성 물질을 7개의 분획으로 구분하였는데 그 중 1 분획은 glycoprotein, 나머지는 oligosaccharides의 혼합물이라고 보고하였다. 이 중 4개의 fraction (IV-VII)은 *N*-acetylneuraminic acid를 함유하는데 bifidus activity는 없으나, neuraminidase를 처리해 AcNeu를 분해하면 활성이 회복되는 것이 관찰되었다. Raynaud와 Bizzini(1971)은 비투과성이며 당을 함유한 glycopeptide인 bifidus factor를 검출하고 이를 bifidus factor II라 명명하였다.

Lactulose도 비피더스균의 성장을 촉진한다고 알려져왔는데 부가적으로 lactulose는 유산균 특히 *Lactobacillus acidophilus*의 장내 성장을 촉진하며 변비, 설사 등의 장 질환을 완화하고 약물치료등에 의해 교란된 장내균총을 정상화하는데 상당한 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Salminen과 Salminen, 1997).

2.1. Whey glycoprotein

Bezkorovainy(1967)은 우유의 colostrum과 whey에서 수종의 산성 glycoproteins의 존재를 확인하였으며, 그중 가장 산성인 M-1 protein을 분석하여 분자량이 10,000 Da이고, 당 함량의 비가 NANA : Gal : hexosamin = 2 : 3 : 3 으로 존재한다고 보고하였다. Hirano(1968)에 의해 인유의 초유에서도 bifidus activity를 갖는 5개의 glycopeptides가 분리되었으며 Nichols와 Bexekorovainy(1973)는 이 중 하나의 단백질을 분리하여 분자량이 31,000 Da이고, 27%의 Galactose, 22%의 hexosamine, 8%의 fucose, 11%의 NANA를 함유하고 있다고 보고하였다. 인유의 M-1 protein은 우유의 그것에 비하여 분자량이 크고 당 함량이 높으며 fucose를 함유하여 차이를 보였다. 후에 Nichols 등(1975)은 7개의 M-1 glycoproteins을 분리하였고 이중 5개의 protein이 정제되었는데 분자량이 26,000 Da에서 35,000 Da사이의 밀접히 연관된 glycoprotein이며 50-80%의 당함량을 갖으나 neuraminidase로 처리했을 때 bifidus 성장촉진 활성이 증가하지는 않았다. 이외에도 인유의 정상유(Bezkorovainy 등, 1976), 인유의 proteose peptone fraction(Bezkorovainy 등, 1976), 인유 casein의 tryptic/chymotryptic digests(Bezkorovainy 등, 1979)에서 bifidus activity를 가지는 glycoproteins가 검출되었다. Beerens 등(1980)은 bovine, ovine, porcine milk에서는 *B. bifidum*의 성장을 촉진하는 물질은 검출하지 못하였으나 *E. infantis* 및 *B. longum*의 성장을 촉진하는 물질은 존재한다고 보고하였지만 이 물질에 대한 자세한 연구는 이루어지지 않았다.

2.2. Casein

우유의 casein 중 유일하게 κ -casein이 당을 함유하고 있으며 bifidus activity를 나타내는 것으로 생각된다(Vreeman 등, 1986). 우유의 κ -casein에는 대체로 galactose, AcNeu, AcGal이 결합되어 있으며 0-5개의 oligosaccharide moiety를 함유하고 있다. 이러한 우유의 κ -casein은 *B. bifidum*의 성장을 촉진하지는 못하나 약산에 의한 처리나 효소처리에 의해 bifidus growth factors가 분리된다(Kehagias 등, 1977). Yamaguchi 등(1981)은 인유의 κ -casein이 40%의 당을 함유한 glycoprotein이며, 분자량이 33,000 Da(당화되지 않으면 20,000 Da)에 galactose (15%), fucose (3%), AcGlu (10%), AcGal (5%), AcNeu (5%)를 함유하고 있다고 하였다. Brignon 등(1985)은 인유 κ -casein의 아미노산 서열을 조사하여 분자량은 약 37,000 Da이며, 약 52%의 당을 함유하고 있다고 보고하였다. Azuma와 Yamauchi(1987)는 HGPP (highly glycosylated phosphoserine)를 인유로부터 분리,

조사한 결과, 분자량이 41,000 Da이며, 인의 함량이 1.6%, 당함량이 38% (7.5% fucose, 15% galactose, 7% *N*-acetylglucosamin, 2% *N*-acetylgalactosamine, 7.5% NANA)라고 하였고, 전기영동상 κ -casein과 lactoferrin band 사이에 나타나며, κ -casein과 1 : 4 정도의 비율로 존재하고 κ -casein과 강하게 결합되어 있다고 보고하였다. Bezkorovainy 등(1979)은 분해되지 않은 인유에서 bifidus activity는 관찰되지 않았으나 인유를 trypsin, chymotrypsin으로 분해하면 bifidus promoting activity가 검출된다고 하였으며 우유에서도 유사한 결과를 보인다고 보고하였다. 이 peptide는 galactose, *N*-acetylgalactosamine, *N*-acetylglucosamine, fucose, NANA를 함유하며 분자량이 30,000 Da이었다. Poch와 Bezkorovainy(1991)는 우유의 casein을 효소처리하면 bifidus activity가 생성된다고 보고하였으며 Hirano 등(1968)은 DEAE-cellulose column을 이용하여 인유의 초유에 존재하는 glycopeptide를 분석한 결과 5개의 peak로 분별이 가능하였으며, 분자량 분포가 7.4k에서 19kDa 정도였다고 보고하였다 또한 이들 peptide가 *Bifidobacterium bifidum* var. *pennsylvanicus*와 *Bifidobacterium bifidum* var. *tissier*의 성장을 촉진하는 효과가 있음을 밝혀냈다. Nichols와 Bezkorovainy(1973)는 DEAE-Cellulose, CM-Cellulose column을 사용하여 인유의 유청에서 7개의 peak를 확인하였다. 모든 peak에서 *Bifidobacteria*를 촉진시키는 효과가 있었으며, 이러한 성장 촉진 효과는 각 분획에 포함된 당의 함량과 연관성이 있는 것으로 보고하였다. 계속적인 연구에서 이들은 인유의 유청에서 *B. bifidum* var. *pennsylvanicus*의 성장을 촉진시키는 2개의 당단백질을 분리하였는데, 분자량은 29,500 Da 정도였으며, galactose, galactosamin, glucosamin, AcNeu 등이 함유되어 있었다(Bezkorovainy와 Nicohls, 1976). Bezkorovainy와 Nichols(1979)는 가수분해시킨 인유 casein 분해물에서 *B. bifidum* var. *pennsylvanicus*의 성장을 촉진하는 glycopeptide를 분리하였는데, 성장촉진 효과가 인유의 유청에서 분리한 glycopeptide와 유사하였다고 보고하였다. 또한 우유 casein의 trypsin 가수분해물은 *Bifidobacterium infantis*, *B. breve*, *B. longum*의 성장을 촉진시키는 것으로 알려져 왔다(Bezkorovainy와 Topouzian, 1981). 인유의 κ -casein을 chymosin과 pepsin으로 가수분해시킨 다음 얻어진 GMP가 *B. infantis*의 성장을 촉진시키는 것으로 나타나 GMP가 중요한 bifidus factor임이 확인되었다(Azuma 등, 1984). 또한 우유의 κ -casein의 trypsin 분해물은 *B. bifidum*과 *B. longum*의 성장을 촉진시키는 것으로 나타났다(Poch와 Bezkorovainy, 1991; Kehagias 등, 1977). GMP는 *Bifidobacterium* 이외의 다른 유산균에도 성장효과가 있었는데, GMP를 trypsin으로 가수분해시킨 후, membrane (MW cut-off 3000 Da)으로 통과시킨 여액에서 *Lactococcus lactis* subsp *lactis*의 성장을 2배로 촉진시키는 효과가 있었다(Bouhallab 등, 1993), Idota 등(1994)은 AcNeu을 함유한 물질에서 다양한 유산균의 성장을 촉진시키는 효과가 있음을 보고하였다.

*Lactococcus*를 포함한 여러종의 유산균의 성장촉진에 대한 효과도 보고되고 있는데 유단백질 중 β -casein의 작용이 큰 것으로 나타났다(Hugenholtze 등, 1987).

*Lactococcus lactis*를 individual casein을 단독 혹은 혼합하여 제조한 media에 성장시키면 β -casein과 소량의 κ -casein을 혼합한 배지에서 최고의 결과를 나타내었다. 이러한 결과를 종합하여 보면 수용상태의 β -casein과 micellar β -casein이 평형상태를 이루고 κ -casein의 친수성 부분이 유산균의 성장을 촉진하는 것으로 추측할 수 있다(Exterkate와 de Veer, 1987).

3. Growth Factors

호르몬과 비슷한 생리적 효과를 나타내는 내분비 요소인 성장인자는 주로 당단백질로서 동물의 거의 모든 세포 및 조직에서 생성·분비되어지며, 생체내에서 방분비, 축분비 혹은 내분비 기전을 이용하여 생리적 대사작용을 조절할 뿐만 아니라 세포의 성장과 분화에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 현재까지 여러 종류의 성장인자가 포유동물의 젖에서 발견되고 있지만, 각각의 동물종내에서는 품종, 산차수, 비유기간 등에 따라서 성장인자의 발현정도는 차이를 보이고 있다. 전반적으로 초유가 정상유보다는 성장인자의 발현이 훨씬 더 많고 비유기간이 경과됨에 따라 성장인자의 농도는 현저히 감소하는 것을 관찰할 수 있는데, 이것은 곧 초유가 갓 태어난 신생동물의 소화기관 및 면역계의 발달 등에 무척 중요한 역할을 하고 있는 것을 나타낸다(Odle 등, 1996). 또한, 많은 양의 성장인자의 초유에서의 발현과 그후의 점차 감소되는 성장인자의 발현양상은 곧 성장인자가 신생동물의 발달에 중요하다는 것을 말해준다. 그런데, 초유와 정상유에 성장인자의 함량이 많다고는 하지만 혈청에 존재하는 함량과 비교하여 보면 훨씬 적은 양에 불과하다. 따라서 초유에 들어있는 각각의 성장인자들은 갓 태어난 동물의 소화기관의 발달 및 신체발달을 위한 생리대사를 시작할 수 있는 자극제로서의 역할을 하고, 이 후에는 혈액에 존재하는 성장인자들이 활발한 체세포 성장과 발달 등의 신체대사작용을 위한 매개체로서의 역할을 대신한다. 분만전 모체의 나쁜 영양상태로 인해 성장 발달이 다른 것에 비해 느린 태아에게 분만후 성장인자의 투여는 곧 정상적으로 성장한 다른 새끼들과 비슷한 발달 수준으로 끌어올렸다는 연구결과 등이 최근 보고되었다(Muaku 등, 1997; Schoknecht 등, 1997). 이것은 곧 성장인자가 비정상적 발달형태를 보이는 동물의 성장률을 촉진시켰다는 새로운 사실도 되지만, 어린 동물의 성장과정동안 포유류의 젖안에 함유되어 있는 성장인자의 중요성을 확인하는 실험결과인 것이다.

인유와 기타 포유류의 젖에서 검출된 성장인자로는 epidermal growth factor (EGF)(Petrides 등, 1985), insulin, insulin-like growth factors 1 & 2 (IGF1 & 2)(Collier 등, 1991; Marcotty 등, 1991), 3개의 인유성장인자(TGF $_{\alpha 1}$, TGF $_{\alpha 2}$, TGF $_{\beta}$)(Jin 등, 1991), 2개의 mammary derived GF (MDGF I, II), colony stimulating factor, nerve growth factor, platelet-derived growth factor (PDGF), bombesin 등이며 계속 새로운 성장인자의 존재가 확인되고 있다.

3.1. Epidermal growth factor (EGF)

Cell membrane의 EGF receptor를 통해 작용하는 부류에 속하는 성장인자로서 53개의 아미노산잔기로 구성되어 있으며(MW 6045 Da, pI 4.4), 분자량 130,000 Da의 전구체로부터 유리되고 침샘과 기타 다른 조직에서 생성된다. 인유의 초유에 그 함량이 높으며 (23-125 nmol/l), 분만후 즉시 감소하여 5nmol/l로 감소된다. 인유의 EGF antibody를 반응시키면 인유내 70%의 성장인자 활력이 감소하는 것으로 보아 EGF가 인유내 주요 성장인자인 것을 알 수 있다.

EGF는 TGF- α 와 같은 계열의 성장인자로서 두인자는 세포 표면의 같은 수용체에 결합한다. EGF/TGF- α 는 사람뿐만 아니라 면양, 산양, 돼지, 소의 milk에서 발현이 관찰되었는데, 초유에서의 발현이 정상유보다 훨씬 많았으며 정상유에서의 EGF 농도는 거의 비슷한 것으로 보고되었다(Jaeger 등, 1987; Okada 등, 1991; Iacopetta 등, 1992; Gow와 Moore, 1993; Donovan과 Odle, 1994). EGF의 역할도 유선세포의 분화 발달 및 신생동물의 소장 발달에 관여하는 것으로 알려져 있다.

3.2. EGF-like activity

쥐나 설치류의 젖에서도 EGF 활성이 검출되었으며 EGF-like activity는 우유의 초유나 정상유에서 검출되었으나 우유를 기본으로한 조제유에는 존재하지 않았다. 이러한 EGF-like activity는 비유기에 따라 현격한 차이를 보였는데 초유에서 그 함량이 가장 높았으며 분만후 8시간에 비하여 32시간에는 20%, 50시간 후에는 1%의 활성만이 검출되었다. 이 물질은 분자량이 30-45,000 Da인 것으로 나타났으며 isoelectric focusing에 의해 등전점이 6.5와 9.0인 2개의 분획으로 분별되었다. 이 EGF-like factor의 성질은 일반적인 EGF와는 판이하였다.

3.3. Human milk growth factor (HMGF)

Shing 등(1987)은 우유의 초유와 정상유로부터 세 개의 성장인자(HMGF I, II, III)를 분리하였는데 이들은 polypeptides로 DNA 합성을 촉진하고 세포배양시 fibroblasts의 증식을 촉진하는 작용을 갖는다. HMGF III는 이 중 75-95%의 HMGF activity를 나타내는 물질로서 분자량 5-6,000 Da, pI 4.4-4.7의 특성을 가지며 이들 특성에 비추어 EGF와 동일한 물질일 것으로 추정된다. 이외에 HMGF I (MW 34-38kDa, pI 4.2-4.5)는 5%, HMGF II (MW 10-20k, pI 3.2-4.8)은 20%의 활성을 갖는다.

3.4. MDGF II (Mammary derived growth factor)

Zwiebel 등(1986)은 모유에서 EGF-like activity를 분리하였으며 분자량 17,000 Da, pI 4.0의 특성을 가지는 이 물질은 EGF와는 다르기 때문에 MDGF II라 명명하였다.

3.5. TGF (Transforming growth factor)

인유내에는 TGF와 유사한 activity 물질이 존재하는데 이 물질이 anchorage dependent cell을 anchorage independent cell로 transform한다. TGF α 는 TGF α_1 (pI 6.5)과 TGF α_2 (pI 7.0)로 분류되며 TGF- β 는 이중기능성 단백질로서 임파세포 및 상피세포에 대하여는 성장억제작용을 보이는 반면 섬유아세포에서는 성장촉진작용을 나타낸다. 다섯가지의 이성질체중 TGF- β_1 과 TGF- β_2 는 사람과 소의 초유와 정상유에서 발현이 보고되었으며(Cox와 Burk, 1991; Jin 등, 1991; Saito 등, 1993; Tokuyama와 Tokuyama, 1993; Belford 등, 1997), 많은 발현정도를 근거로 TGF- β_2 가 주된 형태인 것으로 추측된다(Pakkanen, 1998). 이것은 TGF- β_1 이 거의 모든 체세포의 성장과 분화를 주관하는 것과는 다른 양상을 보이고 있다. 그러나, 초유와 정상유에 있는 TGF- β 의 생물학적 역할에 대해서는 정확히 알려지고 있지 않으며 다만, TGF- β 는 IgG와 B형 임파세포의 IgA 생성을 촉진시킨다는 실험결과(Chen과 Li, 1990)를 근거로 Cox와 Burk(1991)는 신생동물의 면역계 혹은 소장 상피세포 분화에 관여하는 매개체로서 작용할 것이라는 가설을 제시하였다. 또한, TGF- β 는 IgA의 창자강으로의 이동에도 간접적으로 관여한다는 연구결과도 있었으며(McGee 등, 1991), 최근 TGF- β_2 의 주된 기능은 면역체계의 강화에 있는 것으로 보고되었다(Donnet-Hughes 등, 1995). 이와 비슷한 면역체계와 관련하여 얼마전 국내 연구진에 의하여 백혈구증식인자인 G-CSF(granulocyte-colony stimulating factor)의 대량 분비를 위한 형질전환 흑염소 생산에 관한 보고가 있었다. 사람의 초유에서도 이와 관련된 CSF-1의 발현이 최근 보고된 바 있다(Flidel-Rimon과 Roth, 1997).

3.6. Insulin family

소의 초유에 있어 양적으로 가장 많으며 제일 많이 연구된 성장인자는 IGF이다. IGF 함량은 포유동물 품종에 따라서 혹은 milk의 형태에 따라서 발현의 차이를 보이고 있는데, 일반적으로 초유의 경우 가축(소, 돼지)에서 사람보다 더 많이 발현되지만 정상유의 경우에는 품종간의 차이를 관찰할 수 없고, 가축의 초유에 함유되어 있는 IGF는 정상유에 있는 것보다 약 500배가량 많은 것으로 보고된다(Vega 등, 1991; Donovan과 Odle, 1994). IGF 계통의 인자로서는 소의 경우 IGF-I, -II 및 변형체인 des-IGF-I 등이 발견되어 정제되었다. IGF-I와 비교하여 3개의 아미노산이 짧은 des-IGF-I는 IGFBP와의 결합력 감소로 인하여 다른 IGF보다 더 강한 생물학적 활력을 갖고 있으며 이것의 초유에서의 상대적 발현정도는 IGF-I : IGF-II : des-IGF-I가 약 1 : 0.05 : 2의 비율로 나타나는 관계로 초유에서의 강한 IGF 활력은 주로 des-IGF-I의 존재에 의하여 나타난다고 보고되었다(Francis 등, 1988). 한편, 혈액내에 존재하는 IGF들은 보통 6종류의 IGF binding protein(IGFBP)과 결합하는데, IGFBP-2와 -3의 존재가 소의 정상유에서 확인되었다(Baumrucker와 Blum, 1993; Donovan과 Odle, 1994).

초유와 정상유에 존재하는 IGF 등은 유선조직으로부터도 생성되지만 대부분 순

관계로부터 유래되는 것으로 여겨진다. 이것의 정확한 기작은 현재까지 밝혀지지 않고 있으나 유선조직에서의 type I와 type II IGF 수용체 발현을 근거로 볼 때, 혈액으로부터 유선세포에 도달한 성장인자는 세포의 옆표면에 있는 수용체와 결합한 후 수용체중재 내포작용(receptor-mediated endocytosis)에 의하여 유두조에 모이는 것으로 추측된다. 유선세포 표면에서의 IGF 수용체 발현은 IGF가 유선조직의 세포발달과 유즙생성에 있어 주요 촉진인자라는 것을 암시한다. 또한, 갓 태어난 소의 창자 상피세포에서 IGF receptor 등의 발현 관찰은 음식을 통하여 섭취된 IGF가 소화 장관의 발달에 직접적인 영향을 주거나 혹은 순환계에 흡수되어 체내 생리작용에 작용하는 것으로 추측된다. 신생 포유동물의 소화기관 상피세포 및 소장 발달이 IGF에 의하여 촉진되었다는 여러 연구결과들은 이를 뒷받침하고 있다 (Tungthanathanich 등, 1992; Baumrucker와 Blum, 1993; Xu 등, 1994; Philipps 등, 1997). 따라서 소의 초유는 음식물에 있는 IGF 등의 역할을 대행할 수 있는 자연식품으로서, 소화기관의 발달을 촉진하여 음식물의 섭취를 촉진하고 면역기능을 강화시키며 단백질 합성작용을 촉진시킴으로써 신생 동물의 전반적인 성장을 조절하는 것으로 사료된다. IGF 계통인 insulin 또한 초유와 정상유에서 정도의 차이를 보이며 발현하고 있다. 이것도 IGF 처럼 모체의 혈액에서 유선으로 전달된 후 초유에 함유되어 분비되는 것으로 보고되어 있으며, IGF와 비슷한 생물학적 특성을 어린 동물에게 나타내는 것으로 알려져 있다.

3.7. rbGH (recombinantly-derived bovine GF)

rbGH를 비유기 35-47주에 소에 처리하면 우유내 IGF1의 함량이 0.44에서 1.6 nmol/l로 증가한다. 그러나 인유와 비교하여 초유내 IGF1 함량이나 같은 비유기의 IGF1 함량에 비하여는 절대량이 적은 것으로 나타났다. 우유내에서는 80%의 IGF1이 결합단백질과 연관되어 있다.

3.8. MDGF1 (Mammary derived growth factor I)

이 polypeptide는 쥐의 유선세포와 설치류의 신장세포에서 세포의 단백질 합성을 촉진하는 것으로 나타났으며 인유로부터 정제된 물질은 분자량이 62,000 Da이고 등전점이 4.8이었다.

3.9. PDGF (Platelet-derived growth factor)

분자량 28,000-35,000 Da, pI 9.9의 polypeptide로서 우유와 양유의 초유와 정상유에 존재한다.

3.10. Colony stimulating factor (CSF)

인유에 존재하며 분자량은 240-250kDa, 등전점은 4.4-4.9인 물질이다.

3.11. Bombesin immunoactive peptide

우유에 존재하는 분자량 32,000Da의 물질이며 인유에서도 존재가 확인되었다.

3.12. Nerve growth factor (NGF)

인유와 쥐의 젖에 존재하며 특정 neuron의 survival과 differentiation에 관여한다.

3.13. bGF

bGF는 최근 사람과 소의 초유 및 정상유에서 각각 발현이 관찰되어 졌으며 (Kirihara와 Ohishi, 1995; Rogers 등, 1995; Hironaka 등, 1997), 소의 정상유의 경우 약 0.5-1.0 ng/ml이 존재하지만 초유에서의 발현과는 달리 분만 후 약 3일 이후부터는 발현이 극히 미미한 정도로 감소된다. 그러나, 초유에서 발현되는 bGF의 기원에 대하여 혈액에서 혹은 유선에서 유래된 것인지에 관하여는 다른 성장인자들처럼 아직도 정확히 알려지지 않고 있으며, 또한 이것의 생리학적 중요성에 대하여도 유선의 발달과 신생 동물의 성장 촉진에 관여하고 있을 것이라는 추측만 할 뿐 작용기전에 관해서는 아직도 많은 연구가 필요한 실정이다.

4. Biological activities of milk protein hydrolysate

우유 단백질은 다른 식품에 존재하는 단백질과는 달리 소화과정 중에서 다양한 생리활성 peptide를 생산하는데, 우유 단백질 분해물에서 얻어진 생리활성 peptide는 우유 단백질로 존재시에는 생리적 효과가 없는 상태로 있으나, 특정 효소에 의하여 가수분해가 되면 독특한 생리적 기능을 갖는 점이 특징이다(McSweeney 등, 1993).

현재까지 우유 단백질에서 유래된 생리활성 peptide들은 angiotensin-I 변환효소(angiotensin-I converting enzyme; ACE), 저해 peptide(Maruyama와 Suzuki, 1982), 칼슘흡수촉진 peptide, 면역 촉진 peptide, antithrombotic peptide, T-cell 분화촉진 peptide, 그리고 세포 성장증진 peptide와 미생물 생육억제 peptide를 들 수 있다(Le Bars와 Gripon, 1993). 또한 우유 단백질 분해물은 *Bifidobacteria* 성장 촉진 인자로 작용할 뿐 아니라 장내 brush border에서 아미노산의 축적에 관여하며, peritoneal lymphocytes로부터 histamine의 유리를 촉진시키는 등 다양한 생리적 기능이 연구되어져 왔다(Mata 등, 1994).

4.1. Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해 peptide

성인병 중 대표적인 질환인 고혈압에는 본태성 고혈압과 2차성 고혈압으로 구분할 수 있는데, 본태성 고혈압은 원인불명의 고혈압으로 1차성 고혈압이라고도 한

다. 2차성 고혈압은 고혈압을 일으킨 원인을 알 수 있는 것으로 신성 고혈압, 심장 질환 고혈압, 심장혈관 고혈압, 내분비성 고혈압, 신경성 고혈압 등이 있으며(서, 1992), 고혈압의 치료를 위해 여러 연구가 수행되어 왔다(김 등, 1990). 지금까지 치료용으로 사용되는 혈압강하제에는 칼슘길항제(calcium channel blocker), 항교감신경계(α -blocker, β -blocker, $\alpha\beta$ -blocker), 이뇨제, 혈관확장제, ACE 저해제 등이 있으며, 이러한 혈압강하제는 주로 고혈압의 증상을 억제한 다음 고혈압에 수반해 일어나는 심장이나 뇌, 신장에 미치는 악영향을 미연에 방지 또는 늦추게 하는 목적으로 사용된다(Goodman과 Gilman, 1985).

ACE (peptidyl dipeptide hydrolase, EC 3.4.15.1)은 zinc protease의 일종으로 활성화되기 위해 아연과 염소가 필요하며, 1970년경에 뱀독에서 처음 발견되었다(Jover와 Mimran, 1994). 혈압은 renin/angiotensin vasoconstrictor enzyme system과 kallikrein/kinin vasodilator enzyme system으로 조절된다.

비활성 상태의 decapeptide인 angiotensin I (ANG I)는 carboxypeptidase에 의하여 C-말단의 His-Leu 잔기가 절단되면 활성상태의 angiotensin II (ANG II)로 전환된다. 이 ANG II는 혈압을 상승시키는 강력한 혈관수축제(vasoconstrictor)로 작용하며, 그 외에도 뇌의 갈증중추(thirst center)를 자극시키고 부신피질(adrenal cortex)에서 aldosterone을 분비시킴으로써 sodium의 재흡수에 따른 혈류량의 증가에 의해 혈압을 유지시킨다. Kallikrein/kinin system에서 ACE는 vasodilator bradykinin (BK)의 C-말단을 분해시켜 BK를 불활성 상태로 만든다. 따라서 ACE는 ANG II를 생산시키고, BK를 억제시키는 2가지 작용을 통하여 혈압을 상승시키는 것이다. Angiotensin이란 혈압을 상승시키는 작용을 하는 호르몬으로 ACE 저해제는 angiotensin II라고 하는 활성형 호르몬을 바꾸는 효소에 작용하여 ANG II의 생산을 감소시키고, aldosterone의 분비를 감소시키며, 혈관확장제인 bradykinin을 증가시키고 특이적으로 신장혈관을 확장시켜 sodium 배설을 촉진함으로써 결과적으로 혈압을 강하시키는 작용을 한다(Jover와 Mimran, 1994; Yamazaki 등, 1994). α_{s1} -casein 분해물에서 4종이 ACE 저해효과가 있는 것으로 밝혀졌으며, β -casein 분해물의 경우 6종이, κ -casein의 분해물에서는 2종이 각각 ACE 저해물질임이 보고되었다(Maruyama와 Suzuki, 1982; Shimizu, 1994).

Maruyama와 Suzuki(1982)는 우유 casein을 trypsin으로 가수분해하여 얻어진 peptide 중 Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Lys을 분리하였는데 이는 α_{s1} -casein B의 23번째부터 34번째까지의 아미노산 영역으로, ACE 저해효과가 있었다고 보고하였다. 또한 Kohmura 등(1989)은 casein 가수분해물에 대한 ACE 저해효과를 조사하였는데, β -casein f39~52 분획에서 ACE 저해효과가 있었으며 β -casein f43~52 분획에서도 매우 높은 ACE 저해활성을 나타내었다고 보고하였다. 또한 β -casein f177~183 분획과 f193~202 분획에서도 ACE 저해효과가 높은 것으로 보고되고 있다(Shimizu, 1994). 유산균을 이용한 발효유제품에서도 ACE 저해물질이 발견되었는데, 유산균의 종류에 따라 ACE 저해효과가 다르게 나타났다

(Nakamura 등, 1995). 유청단백질 분해물에서도 이러한 활성이 보고되었는데 Chiba와 Yoshikawa(1991)는 serum albumin에서 유래된 albutensin A가 활성을 갖는다고 하였고, Mullally 등(1996)은 α -lactalbumin과 β -lactoglobulin의 염기서열을 갖는 합성 di- 와 tetra-peptide가 활성을 갖는다고 하였다. 또한 이들은 계속되는 연구에서 유청단백질을 다양한 소화기 단백분해효소로 분해하여 ACE 저해 활성을 확인하였다(Mullally 등, 1997). 이러한 유단백질 분해물 이외에도 gelatin 가수분해물, zein 가수분해물, 정어리와 갈치에서 분획한 peptide, tuna muscle 추출물 등 많은 종류가 ACE 저해효과가 있다고 보고되고 있다. 이러한 물질들의 저해효과는 혈압강화제와 비교하였을 때에는 비교적 낮은 활성을 나타내지만 대량으로 상시 섭취하는 식품 중에 존재한다는 점에서 그 유용성이 기대된다.

4.2. Opioid peptide

Opioid peptide는 진통, 최면 등과 같이 마약이나 morphine과 유사한 작용을 나타내는 peptide를 말하며, 그 자체가 신경조절물질(neuromodulator)로 작용하는데, 특정 receptor들에 결합하여 acetylcholine, noradrenalin, dopamine, serotonin과 같은 신경전달물질(neurotransmitter)의 대사에 관여하는 것으로 알려져 있다(Henschen 등, 1979). 또한 neurotensin과 somatostatin, 그리고 내분비 hormone과 같은 신경조절 물질들에 관여하는 기능이 있는 것으로 보고되고 있다(Chiba와 Yoshikawa, 1986). 이러한 opioid peptide들의 생리학적인 작용을 크게 3가지로 요약하면 morphine과 같은 진통작용, euphoria(쾌감) 그리고 신경전달물질이나 신경조절물질로 작용하는 기능이다. 그 외 기억력, 학습능력, 스트레스에 대한 반응, 통증 전달, 그리고 식욕, 체온과 호흡 조절 등에 중요한 역할을 하리라 보고 있다.

우유 casein 분해물에서 opioid 활성이 존재함을 처음 밝힌 이래로(Wajda 등, 1976), 상업용 유단백분해물과, 우유, 분유 및 조제분유를 chloroform/methanol 추출시 opioid 활성을 지닌 물질이 존재함을 확인하였으며(Brantl, 1985), column chromatography로 분리한 결과 β -casein의 f60~66 잔기로 아미노산 배열은 Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile인 것으로 보고하였다. 또한 이를 carboxypeptidase로 처리하여 Pro-Ile 잔기를 절단한 결과 opioid 활성이 더욱 상승됨을 발견하였다. 이러한 β -casein에서 분리한 heptapeptide와 pentapeptide를 각각 β -casomorphin-7과 β -casomorphin-5로 명명하였다(Brantl, 1985).

유단백질 유래의 peptide들의 opioid 효과를 확인하기 위한 *in vivo* 실험에서 β -casomorphin은 μ -receptor antagonist로 작용할 뿐 아니라, 구강투여시 insulin과 somatostatin의 분비를 촉진함을 확인하였다(Chang 등, 1981). 우유의 α s₁-casein, β -casein, κ -casein을 단백질 분해효소로 가수분해시킨 다음 HPLC를 이용하여 분석한 결과 opioid activity가 높은 3개의 peptide가 발견되었는데(Leppälä 등, 1994), 이들은 α s₁-casein의 f90~95 분획, β -casein의 f59~68 분획, κ -casein의

f33~38 분획으로 각각 밝혀졌다. Trypsin 또는 pepsin의 단독 분해시에는 opioid peptide들을 발견하지 못하였으나, pepsin과 trypsin의 2가지 또는 pepsin, trypsin, 그리고 chymotrypsin의 3가지 효소를 같이 병행하여 사용한 경우에는 opioid peptide가 존재하였다고 보고하였다. Chiba와 Yoshikawa(1986)은 pepsin으로 κ -casein을 5시간동안 분해시킨 결과 opioid 활성이 높은 peptide를 얻을 수 있었다고 보고하였으며, 현재까지 casein으로부터 casomorphin과 casoxin이, 유청단백질로부터 lactorphin이 각각 분리되어 명명되었다.

우유단백질 분해물에서 발견된 opioid peptide는 α s₁-casein, β -casein, 그리고 κ -casein으로부터 각각 분리되었으며, trypsin, chymotrypsin, carboxypeptidase 등과 같은 소화효소에 잘 분해되지 않음도 밝혀져 치료 및 예방용 식품으로 그 이용성이 높은 물질로 생각되고 있다(Chiba와 Yoshikawa, 1986).

또한 우유 단백질에서 anti-opioid 활성도 검출되었는데 우유 κ -casein의 trypsin 분해물에서 분해된 casoxin C가 사람의 C3a receptor에 작용하며 소장의 수축에 관여한다(Takahashi 등, 1997).

4.3. 칼슘 흡수 촉진 Peptide

칼슘의 체내 이용성은 식품에서 섭취된 칼슘의 양과 장관으로부터 흡수되는 정도에 따라 좌우된다. 일반적으로 칼슘의 흡수는 소장 상부에서 능동수송(active transport)에 의해서 이루어지며, 장관의 하부로 내려갈수록 수동수송(passive transport)에 의해서 흡수된다. 이러한 흡수는 비타민 D가 촉진하며, 우유 중에 함유된 유당에 의해서 칼슘의 흡수가 촉진되는 것으로 알려져 있다. 칼슘이 체내로 흡수되려면 장관내에서 가용상태로 존재해야 되는데, 장관의 pH가 알칼리성으로 변하면 칼슘은 쉽게 침전되기 쉬운 상태가 되어 이용성이 낮아진다. 불용성 칼슘염의 형성은 영양가의 저하와 요로결석의 위험성이 높아진다(Watanabe 등, 1985).

그러나 우유중의 casein에서 분리된 phosphopeptide는 소장에서 칼슘을 가용화시키는 ligand의 역할을 수행하여 칼슘의 흡수를 촉진하는 것으로 밝혀졌다. 또한 bovine β -casein으로부터 얻어진 phosphopeptide가 칼슘과 결합하여 장 점막 세포로의 흡수를 촉진하며, phosphopeptide가 칼슘 흡수 및 대퇴부의 칼슘 축적을 유의적으로 증가하였다. β -casein 중 인과 결합된 serine이 많이 존재하는 영역은 소화 효소에서 쉽게 가수분해되지 않으며, 소장내의 칼슘 침전을 억제시켜 궁극적으로 가용성 칼슘 함량을 증가시키며, 회장에서의 칼슘 흡수를 촉진시키는 것으로 밝혀졌다. 또한 casein phosphopeptide (CPP)가 소장내의 인산칼슘 침전을 억제시키는 데, α s₁-casein-5P (59~79), β -casein-4P (1~25)가 이러한 기능을 수행하는 CPP인 것으로 밝혀졌다(Ono 등, 1994). 최근에 국내에서도 한우유내에서 특이하게 발견하며 칼슘가용화 효과가 뛰어난 CPP를 발견하고 유전자 배열을 밝히는 등 이 분야의 연구가 지속적으로 이루어지고 있다.

4.4. 면역활성 Peptide

몇몇 종류의 유단백질 분해물 즉, α s₁-casein 분해물 (f194~199), β -casein 분해물 (f63~68, f191~193)로부터 면역활성(immunoactivating) peptide가 발견되었으며 대표적인 면역활성 peptide는 Pro-Gly-Pro-Ile-Pro-Asp로 구성된 peptide로 β -casein의 63번째부터 68번째까지의 영역이라 보고되었다(Meisel과 Schlimme, 1990). Casein 유래 면역활성 peptide는 대식세포의 식균작용을 증강시키며, 쥐를 대상으로 실험한 결과 *Klebsiella pneumoniae*의 감염으로부터 숙주를 보호하는 효과가 있었다. 또한 이들 peptide는 T cell의 분화와 증식을 촉진시키며, 신생아의 경우 여러 미생물로부터 방어하는 역할을 수행하는 것으로 밝혀졌다(山田耕路, 1995).

Parker 등(1984)은 인유 casein의 trypsin 가수 분해물에서 면역활성 peptide를 분리하였는데, Sephadex G-50, DEAE-Sephadex A-25, Sephadex G-15, 그리고 역상 HPLC로 각각 분획한 결과 6개의 아미노산으로 구성된 peptide임을 밝혀냈다. 이 peptide의 아미노산 서열은 Val-Glu-Pro-Ile-Pro-Tyr로 인유 β -casein의 f54~59번째 잔기와 일치하였다. 일반적으로 casein에는 다른 단백질과는 다르게 proline 함량이 높은데, β -casein에서 분리된 면역활성 peptide의 공통된 특징은 Pro-Ile-Pro의 아미노산 서열이 항상 존재하는 점이다.

4.5. Cholera 독소결합 작용

1995년 수산물 소비를 격감시켰던 cholera는 *Vibrio cholerae*에 의해 생산되는 독소에 의하여 발병된다. 설사를 유발시키는 cholera 독소는 장관의 brush border에 부착되어 체내로 유입되는데(Sixma 등, 1991), Cholera 독소의 구성성분 중의 하나인 B subunit은 장내상피세포막에 존재하는 monosialoganglioside의 일종인 ganglioside Gm1에 부착하여 독성을 나타나게 되고 그 구조가 GMP의 당 구조와 유사성이 높아 궁극적으로 독소의 세포내 유입을 방지할 수 있다고 하였다(Kawasaki 등, 1992). 치즈 유청에 함유된 GMP에서 cholera 독소를 중화시키는 활성이 있었으며(Kawasaki 등, 1992), 우유를 열처리하여 얻어진 2종류의 당단백질이 enterotoxin과 결합하는 작용이 존재한다고 하였다(Shida 등, 1994). 그러나 GMP는 결합된 당의 함량 및 종류에 따라 chromatography 상에서 여러 peak로 분획되는데, 어느 분획에서 이와 같은 효과가 있는지는 아직 밝혀져 있지 않다.

Ganglioside는 중추신경계의 신경절(ganglion) 세포에 고농도로 존재하는 당지질(glycolipid)의 일종으로 neuraminic acid (Neu) 또는 AcNeu을 함유한 glycosphingolipid의 한 종류이다. 장점막세포에 존재하는 특정 ganglioside는 cholera 독소를 포함한 여러 enterotoxin의 활성에 관여할 뿐만 아니라 influenza A와 Sendai virus에 결합하여 숙주감염을 억제시킨다(Müthing 등, 1993).

Cholera 독소는 숙주세포의 receptor로 monosialoganglioside 1 (Gm1)을 인식하여 장점막에 부착하는데 인유 및 우유에 존재하는 ganglioside는 독소의 작용을

억제하는 기능이 있는 것으로 알려져 있다. 이 Gm1의 구조 [Gal β 1-3Gal-NAc β 1-4(AcNeu α 2-3)Gal β 1-4Gal β 1-1Cer]는 κ -casein이나 GMP에 결합된 당의 구조와 유사한 점이 많기 때문에 장상피세포의 receptor와 유사한 기능을 수행하여 이 독소의 작용을 억제하는 것으로 보고되고 있다(Sixma 등, 1992).

Otnæss 등(1983)은 *V. cholerae*의 독소와 *E. coli*의 heat-labile enterotoxin을 저해할 수 있는 면역글로부린 이외의 물질을 조사한 결과, 인유에 존재하는 ganglioside가 이와같은 독소를 중화시킬 수 있음을 발견하였다. 인유와 우유 중에 존재하는 ganglioside는 cholera 독소를 저해하는데 효과적이었으며, 인유의 경우가 더 높은 저해효과를 나타냈다. 이러한 결과는 ganglioside의 구성성분의 차이에서 기인하는데, 인유에 존재하는 총 ganglioside의 74%가 monosialoganglioside인 반면 우유에는 3% 밖에 존재하지 않기 때문이다(Otnæss 등, 1983).

Kawasaki 등(1992)이 유청에서 얻어진 GMP가 cholera 독소와 동물세포와의 결합을 억제시킨다는 보고를 처음 한 이래로 아직까지 연구보고는 거의 없는 실정이다. 이들의 보고에 의하면 치즈 유청에서 분리한 GMP와 lactoferrin이 cholera 독소에 대한 저해효과가 있었으며, GMP를 sialidase로 처리시 저해효과를 상실하였다고 보고하였다. 그러나 pronase와 trypsin 처리시에는 어느정도 저해효과가 존재하는 것으로 보아 GMP에 결합된 당의 구조가 cholera 독소의 저해효과에 중요하게 작용하는 것으로 보고하였다.

4.6. 기타 생리활성 Peptide

κ -Casein의 유래 GMP에 관한 연구에서 Jollès 등(1978)은 fibrinogen과 결합하여 혈소판 응집을 억제하는 기능이 있음을 보고하였다. 이러한 혈소판 응집 저해작용은 GMP를 trypsin으로 가수분해시켜 저분자의 peptide로 분해시킨 경우 높게 나타났다. 대표적인 antithrombotic peptide는 κ -casein의 f106~116, f112~116, f113~116 분획임이 밝혀졌으며, 분해효소 및 반응조건에 따라 다소 차이를 보임이 보고되었다(Leonil과 Moole, 1991).

Chymosin에 의한 κ -casein의 응유기작과 fibrinogen γ -chain에 의한 혈액응고 기작은 서로 유사한 점이 많은데, 아미노산의 31~42%가 서로 유사성이 있었으며(Jollès, 1975), κ -casein의 f106~116 분획은 사람의 fibrinogen γ -chain의 f400~411 분획과 유사성이 매우 높았다(Jollès 등, 1978; Jollès 와 Henschen, 1982). 또한 GMP는 β -lympocyte의 분화와 성장을 촉진시키는 것으로 보고되고 있다(Otani 등, 1995).

최근 우유 단백질 가수분해물에 존재하는 생리활성 peptide에 관한 연구가 많이 진행되고 있는데, 우유 단백질 분해물은 아미노산이나, 단백질보다 흡수율이 높고(Stan 등, 1983), 유제품의 관능특성을 증진시킬 수 있으며(Cogan 등, 1981), 항알러지 효과(Motion, 1992) 등 다양한 생리 활성을 보인다(Bumberger와 Belitz,

1993; Nakamura 등, 1993).

위에서 열거하지 않은 생리활성 peptide 중에는 platelet-modifying peptide (Brown과 Blakley, 1984), T-cell 분화 촉진 peptide, 그리고 cell-growth-promoting peptide 등이 있으며(Carpenter와 Wahl, 1990), 아직까지 밝혀지지 않은 여러가지 생리적 활성이 존재할 것으로 추정되어 이 부분에 관한 연구는 앞으로도 활발하게 진행될 것으로 예상된다.

또한 최근들어 우유단백질의 구조를 화학적, 유전공학적으로 일부 변형하여 정상적인 단백질에서는 나타나지 않는 기능성을 발현시키고 이를 다량으로 획득하여 이용하려는 시도가 활발히 진행되고 있다 (Imafidon, 1997). 그 한예로 β -lactoglobulin을 3-hydroxyphthalic anhydride로 변형시키면 항 바이러스활성이 생성되며 특히 HIV를 저해하는 것으로 나타났으며 유사한 작용이 변형된 α -lactalbumin과 α_{s2} -casein에서도 관찰되었다 (Berkhout 등, 1997).

References

- Asami, S. 1960. Studies on artificial mothers milk. *Acta Paed. Jpn.* 64:705-708.
- Ashoor, S. H. and W. C. Monte. 1983. High performance liquid chromatographic determination of *Bifidobacterium bifidum* growth factors in human milk. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 66:135-139.
- Azuma, N., K. Yamauchi, and T. Mitsuoka. 1984. Bifidus growth-promoting activity of a glycomacropptide derived from human k-casein. *Agric. Biol. Chem.* 48(8):2159-2162.
- Azuma, N. and K. Yamauchi. 1987. A glycoprotein from human milk. *J. Dairy Res.* 54:199-205.
- Baumrucker, C. R. and J. W. Blum. 1993. secretion of insulin-like growth factors in milk and their effect on the neonate. *Livestock Prod Scie* 35:49
- Beerens, H., C. Romond, and C. Neut. 1980. Influence of breast-feeding on the bifid flora of the newborn intestine. *Am. J. Clin. Nutr.* 33:2434-2439.
- Belford, D. A., Rogers, M. L., Francis, G. L., Payne, C., Ballard, F. J., and C. Goddard. 1997. Platelet-derived growth factor, insulin-like growth factors, fibroblast growth factors and transforming growth factor beta do not account for the cell growth activity present in bovine milk. *J Endocrinol* 154:45
- Berkhout, B., G.C. Derkesen, N.K. Back, B. Klaver, C.G. de Kruif, and S. Visser. 1997. *AIDS Res. Human Retrovirus.* 13:1101-1107.
- Bezkorovainy, A. 1967. Physical and chemical properties of bovine milk and colostrum whey M-1 glycoprotein. *J. Dairy. Sci.* 50:1368-1375.
- Bezkorovainy, A. and J. H. Nichols. 1976. Glycoproteins from mature human milk whey. *Pediat. Res.* 10:1-5.
- Bezkorovainy, A., J. H. Nichols, and D. A. Sly. 1976. Proteose-peptone fractions

- of human and bovine milk. *Int. J. Biochem.* 7:639-645.
- Bezkorovainy, A., D. Grohlich, and J. H. Nichols. 1979. Isolation of a glycopeptide fraction with *Lactobacillus bifidus* subspecies *pennsylvanicus* growth-promoting activity from whole human milk casein. *Am. J. Clin. Nutr.* 32:1428-1432.
- Bezkorovainy, A., and N. Topouzian. 1981. *Bifidobacterium bifidus* var. *pennsylvanicus* growth promoting activity of human milk casein and its derivatives. *Int. J. Biochem.* 13:585-590.
- Bouhallab, S., C. Favrot, and J. L. Maubois. 1993. Growth-promoting activity of tryptic digest of caseinomacropeptide for *Lactococcus lactis* subsp *lactis*. *Lait.* 73:73-77.
- Brantl, V. 1985. Novel opioid peptide derived from human β -casein: Human β -Casomorphins. *European J. of Pharmacology.* 106:213-214.
- Brignon, G., A. Chtourou, and B. Ribadeau Dumas. 1985. Preparation and amino acid sequence of human κ -casein. *FEBS Lett.* 188:48-54.
- Brown, K. D. and D. M. Blakley. 1984. Partial purification and characterization of a growth factor present in goats colostrum. Similarities with platelet-derived growth factor. *Biochemical J.* 219:609-617.
- Bumberger, E., and H. D. Belitz. 1993. Bitter taste of enzymatic hydrolysates of casein: I. Isolation, structural and sensorial analysis of peptides from tryptic hydrolysates of β -casein. *Z Lebensm Unters Forsch.* 197:14-19.
- Carpenter, G. and M. I. Wahl. 1990. The epidermal growth factor. *In* handbook of experimental pharmacology. Vol. 95. pp. 69-71. Berlin.
- Chang, K. J., A. Killian, E. Hazum, and P. Cuatrecasas. 1981. Morphiceptin (NH₄-Tyr-Pro-Phe-Pro-CONH₂) : A potent and specific agonist for morphine (μ) receptors. *Science.* 212(3):75-77.
- Chen, S. S. and Q. Li. 1990. Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) is a

bifunctional immune regulator for mucosal IgA responses. *Cell Immunol* 128:353

Chiba, H. and M. Yoshikawa. 1986. Biologically functional peptides from food proteins: New opioid peptides from milk proteins. *In* protein tailoring for food and medical uses. pp. 123-153. Edited by R. E. Freney and J. R. Whitaker. Mercel Dekker, NY.

Chiba, H. and M. Yoshikawa. 1991. Bioactive peptides derived from food proteins. *Kagaku to Seibutsu*. 29:454-458.

Cogan, U., M. Moshe, and S. Mokady. 1981. Debittering and nutritional upgrading of enzymic casein hydrolysates. *J. Sci. Food Agric.* 32:459-466.

Collier, R. J., Hildebrandt, J. R., Torkelson, A. R., White, T. C., Vicini, J. L., Eppard, P. J., Miller, M. A., Madsen, K. S. and G. M. Lanza. 1991. Factors affecting insulin-like growth factor-I concentration in bovine milk. *J Dairy Sci* 74:2905

Cox, D. A. and R. R. Burk. 1991. Isolation and characterization of milk growth factor, a transforming growth factor- β -related polypeptide, from bovine milk. *Eur J Biochem* 197:353

Donnet-Hughes, A., E. J. Schiffrin, and A. C. Huggett. 1995. Expression of MHC antigens by intestinal epithelial cells. Effect of transforming growth factor-beta 2 (TGF-beta 2). *Clin Exp Immunol* 99:240

Donovan, S. M. and J. Odle. 1994. Growth factors in milk as mediators of infant development. *Ann Rev Nutr* 14:147

Exterkate F. A. and G.J.C.M. de Veer. 1987. Optimal growth of *Streptococcus cremoris* HP in milk related to β - and κ -casein degradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25:471-475.

Flidel-Rimon, O. and P. Roth. 1997. Effects of milk-borne colony stimulating factor-1 on circulating growth factor levels in the newborn infant. *J Pediatr* 131:748

- Francis, G. L., Upton, F. M., Ballard, F. J., McNeil, K. A., and J. C. Wallace. 1988. Insulin-like growth factors 1 and 2 in bovine colostrum. *Biochem J* 251:95
- Goodman, L. S. and A. G. Gillman. 1982. *The pharmacological basis of therapeutics*. 7th ed. MacMillan Publ. Co., New York.
- Gow, C. B. and G.P.M. Moore. 1993. Epidermal growth factor and fluid balance : a review. *Aust J Agric Res* 44:463
- Gyorgy, P., R. F. Norris, and C. S. Rose. 1954. Bifidus factor I. A variant of *Lactobacillus bifidus* requiring special growth factor. *Arch. Biochem. Biophys.* 48:193-201.
- Gyorgy, P., and C. S. Rose. 1955. Microbiological studies on growth factor for *L. bifidus* var. *pennsylvanicus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 90:219-223.
- Gyorgy, P., R. W. Jeanloz, H. von Nicolai, and F. Zilliken. 1974. Undialyzable growth factor for *Lactobacillus bifidus* var. *pennsylvanicus*. *Eur. J. Biochem.* 43:29-33.
- Henschen A., F. Lottspeich., V. Brantll, and H. Teschemacher. 1979. Novel opioid peptide derived from casein (β -Casomorphins) II. Structure of active components from bovine casein peptone. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.*
- Hirano, S., H. Hayashi, T. Terabayashi, K. Onodera, S. Iseki, N. Kochibe, Y. Nagai, N. Yagi, T. Nakagaki, and T. Imagawa. 1968. Biologically active glycopeptides in human colostrum. *J. Biochem.* 64:563-565.
- Hironaka, T., H. Ohishi, and T. Masaki. 1997. Identification and partial purification of a basic fibroblast growth factor-like growth factor derived from bovine colostrum. *J Dairy Sci* 80:488
- Hugenholtze, J., D. van Sinderen, J. Kok, and W. N. Konings. 1987. Cell-wall associated protease of *Streptococcus cremoris* Wg2. *Appl. Environ. Microbiol.*

53:853-859.

- Iacopetta, B. J., Grieu, F., M. Horisberger, and G. I. Sunahara. 1992. Epidermal growth factor in human and bovine milk. *Acta Paediat* 81:287
- Idota, T., H. Kawakami, and I. Nakajima. 1994. Growth-promoting effects of N-acetylneuraminic acid-containing substances on bifidobacteria. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58(9):1720-1722.
- Imafidon, G. I., N. Y. Farkey, and A. M. Spainer. 1997. Isolation, purification, and alteration of some functional groups of major milk proteins: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 25:663-689.
- Jaeger, L. A., Lamar, C. H., G. D. Bottoms, and T. R. Cline. 1987. Growth-stimulating substances in porcine milk. *Am J Vet Res* 48:1531
- Jin, Y., Cox, D. A., Knecht, R., F. Raschdorf, and N. Cerletti. 1991. Separation, purification, and sequence identification of TGF- β 1 and TGF- β 2 from bovine milk. *J Prot Chem* 10:565
- Jollès, P. 1975. Structural aspects of the milk clotting process. Comparative features with the blood clotting process. *Molecular & Cellular Biochemistry.* 7(2):73-85.
- Jollès, P., M. H. L. Lefebvre, and A. Henschen. 1978. Structural relatedness of κ -casein and fibrinogen γ -chain. *J. Mol. Evol.* 11:271-277.
- Jollès, P., and A. Henschen. 1982. Comparison between the clotting of blood and milk. *TIBS.* p.29-32.
- Jover, B., and A. Mimran. 1994. Angiotensin II receptor antagonists versus angiotensin converting enzyme inhibitors: effect on renal function. *Journal of Hypertension.* 12(9):S3-S9.
- Kawasaki, Y., H. Isoda, M. Tanimoto, S. Dosako, T. Idota, and K. Ahiko. 1992. Inhibition by lactoferrin and κ -casein glycomacropptide of binding of cholera toxin to its receptor. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56(2):195-198.

- Kehagias, C., Y. C. Jao, E. M. Mikolajcik, and P. M. T. Hansen. 1977. Growth response of *Bifidobacterium bifidum* to a hydrolytic product isolated from bovine casein. *J. Food Sci.* 42:146-150.
- Kiely, J., A. Flynn, H. Singh, and P. F. Fox. 1988. Improved zinc bioavailability from colloidal calcium phosphate-free cow's milk. In *Trace elements in man and animals*, 6th ed. Plenum Press, New York.
- Kirihara, O. and H. Ohishi. 1995. Functional proteins in bovine milk. *Jpn J Dairy food Sci* 44:9
- Kohmura, M., N. Nio, K. Kubo, Y. Minoshima, E. Munekata, and Y. Ariyoshi. 1989. Inhibition of angiotensin-converting enzyme by synthetic peptides of human β -casein. *Agric. Biol. Chem.* 53:2107-2110.
- Le Bars, D., and J. C. Gripon. 1993. Hydrolysis of α_{s1} -casein by bovine plasmin. *Lait.* 73:337-344.
- Leonil, J., and D. Molle. 1991. A method for determination of macropeptide by cation-exchange fast protein liquid chromatography and its use for following the action of chymosin in milk. *J. Dairy Res.* 58:321-328.
- Leppala, A. P., P. Antila, P. Mantsala, and J. Hellman. 1994. Opioides peptides produced by in-vitro proteolysis of bovine caseins. *Int. Dairy Journal.* 4:291-301.
- Lim, K. S., C. S. Huh, and Y. J. Baek. 1990. Studies on the growth of *Bifidobacterium bifidum* HY-8108 in milk I. Effect of addition of growth promoting substances and cultivation with other lactic acid bacteria on the growth of *Bifidobacterium bifidum* HY-8108. *Kor. J. Dairy Sci.* 12:172-180.
- Marcotty, C., F. Frankenne, J. Van Beeumen, G. Maghuin-Rogister, and G. Hennen. 1991. Insulin-like growth factor I (IGF-I) from cow colostrum: purification and characterization. *Growth Regul* 1:56
- Maruyama, S., and H. Suzuki. 1982. A peptide inhibitor of angiotensin I

- converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein. *Agric. Biol. Chem.* 46(5):1393-1394.
- Mata, L., H. Castillo, L. Sanchez, P. Puyol, and M. Calvo. 1994. Effect of trypsin on bovine lactoferrin and interaction between the fragments under different conditions. *J. Dairy Res.* 61:427-432.
- McGee, D. W., Aicher, W. K., Eldridge, J. H., Peppard, J. W., Mestecky, J., and J. R. McGhee. 1991. Transforming growth factor-beta enhances secretory component and major histocompatibility complex class I antigen expression on rat IEC-6 intestinal epithelial cells. *Cytokine* 3:543
- McSweeney, P. L. H., N. F. Olson, P. F. Fox, A. Healy, and P. Hojrup. 1993. Proteolytic specificity of plasmin on bovine α_{s1} -casein. *Food Biotechnology.* 7(2):143-158.
- Meisel, H. and E. Schlimme. 1990. Milk proteins : (recursors of bioactive peptides. *Trends in Food Technol.* 8:41-43.
- Motion, R. L. 1992. Hydrolysates of milk proteins. *Proceedings of Nutrition Society of New Zealand.* 17:56-63.
- Muaku, S. M., J.P. Thissen, G. Gerard, J.M. Ketelslegers, and D. Maiter. 1997. Postnatal catch-up growth induced by growth hormone and insulin-like growth factor-I in rats with intrauterine growth retardation caused by maternal protein malnutrition. *Pediatr Res* 42:370
- Mullally, M. M., H. Meisel, and R. J. FitzGerald. 1996. Synthetic peptides corresponding to α -lactalbumin and β -lactoglobulin sequences with angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler.* 377:259-260.
- Mullally, M. M., H. Meisel, and R. J. FitzGerald. 1997. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activities of gastric and pancreatic proteinase digests of whey proteins. *Int. Dairy J.* 7:299-303.
- Müthing, J. F. Unland, D. Heitmann, M. Orlich, F. Hanisch, J. Peter-Katalinić, V.

- Knäuper, H. Tscheche, S. Kelm, R. Schauer, and J. Lehmann. 1993. Different binding capacities of influenza A and Sendai viruses to gangliosides from human granulocytes. *Glycoconjugate J.* 10:120-126.
- Nakamura, T., Y. Syukunobe, T. Sakurai, and T. Idota. 1993. Enzymatic production of hypoallergenic peptides from casein. *Milchwissenschaft.* 48(1):11-14.
- Nakamura, Y., N. Yamamoto, K. Sakai, A. Okubo, S. Yamazaki, and T. Takano. 1995. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *J. Dairy Sci.* 78:777-783.
- Nichols, J. H. and A. Bezkorovainy. 1973. Isolation and characterization of a glycoprotein from human colostrum. *Biochem. J.* 135:875-880.
- Nichols, J. H., A. Bezkorovainy, and R. Paque. 1975. Isolation and characterization of several glycoproteins from human colostrum whey. *Biochem. Biophys. Acta* 412:99-108.
- Odle, J., R. T. Zijlstra, and S. M. Donovan. 1996. Intestinal effect of milkborne growth factors in neonates of agricultural importance. *J Anim Sci* 74:2509
- Okada, M., E. Ohmura, Y. Kamiya, H. Murakami, N. Onoda, M. Iwahita, K. Wakai, T. Tsushima, and K. Shizume. 1991. Transforming growth factor (TGF)-alpha in human milk. *Life Sci* 48:1151
- Ono, T., T. Ohtawa, and Y. Takagi. 1994. Complexes of casein phosphopeptide and calcium phosphate prepared from casein micelles by tryptic digestion. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58:1376-1380.
- Otani, H., M. Monnai, Y. Kawasaki, H. Kawakami, and M. Tanimoto. 1995. Inhibition of mitogen-induced proliferative responses of lymphocytes by bovine -caseinoglycopeptides having different carbohydrate chains. *J. Dairy Res.* 62:349-357.
- Otnæss, A. B. K., A. Læg Reid, and K. Ertresvag. 1983. Inhibition of enterotoxin from *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* by gangliosides from human milk.

- Infect. Immun. 40:563-568.
- Pakkanen, R. 1998. Determination of transforming growth factor-beta 2 (TGF-beta 2) in bovine colostrum samples. J Immunoassay 19:23
- Parker, F., D. Migliore-Samour, F Floch, A. Zerial, G. H. Werner, J. Jollès, M. Casaretto, H. Zahn, and P. Jollès. 1984. Immunostimulating hexapeptide from human casein: amino acid sequence, synthesis and biological properties. Eur. J. Biochem. 145:677-682.
- Petrides, P. E., M. Hosang, E. Shooter, F. S. Esch, and P. Boehlen. 1985. isolation and characterization of epidermal growth factor from human milk. FEBS Lett 187:89
- Philipps, A. F., Anderson, G. G., Dvorak, B., Williams, D. S., Lake, M., Lebouton, A. V., and O. Koldovsky. 1997. Growth of artificially fed infant rats: effect of supplementation with insulin-like growth factor-I. Am J Physiol 272:R1532
- Poch, M., and A. Bezkorovainy. 1991. Bovine milk k-casein trypsin digest is a growth enhancer for the genus *Bifidobacterium*. J. Agric. Food Chem. 39:73-77.
- Raynaud, M. and B. Bizzini. 1971. Purification et proprietes du facteur vifidus 2. Ann. Nutr. Alim. 25:A209-223.
- Rogers, M. L., D. A. Belford, G. L. Francis, and F. J. Ballard. 1995. Identification of fibroblast growth factors in bovine cheese whey. J Dairy Sci 62:501
- Saito, S., M. Yoshida, M. Ichijo, S. Ishizaka, and T. Tsujii. 1993. Transforming growth factor-beta (TGF-beta) in human milk. Clin Exp Immunol 94:220
- Salminen, S. and E. Salminen. 1997. Lactulose, lactic acid bacteria, intestinal microecology and mucosal protection. Scand. J. Gastroenterol. 222:45-48.
- Schoknecht, P. A., S. Ebner, A. Skottner, D.G. Burrin, T.A. Davis, K. Ellis, and W. G. Pond. 1997. Exogenous insulin-like growth factor-I increases weight gain in intrauterine growth-retarded neonatal pigs. Pediatr Res 42:201

- Shida, K., K. Takamizawa, M. Nagaoka, A. Kushiro, and T. Osawa. 1994. Enterotoxin-binding glycoproteins in a proteose-peptone fraction of heated bovine milk. *J. Dairy Sci.* 77:930-939.
- Shimizu, M. 1994. Bioactive peptides from bovine milk proteins. *Animal Sessions in 24th International Dairy Congress 1994*. Melbourne Sept. 18-22, Australia.
- Shing, Y., S. Davidson, and M. Klagsbrun. 1987. Purification of polypeptide growth factors from milk. *Methods Enzymol* 146:42
- Sixma, T. K., S. E. Pronk, K. H. Kalk, E. S. Wartna, S. A. M. van Zanten, B. Witholt, and G. J. Hol. 1991. Crystal structure of a cholera toxin-related heat-labile enterotoxin from *E. coli*. *Nature*. 351:371-377.
- Sixma, T. K., S. E. Pronk, K. H. Kalk, B. A. M. van Zanten, A. M. Berghuis, and W. G. J. Hol. 1992. Lactose binding to heat-labile enterotoxin revealed by X-ray crystallography. *Nature*. 355:561-564.
- Stan, E. Y., S. D. Groisman, K. B. Krasilshikov, and M. P. Chernikov. 1983. Effect of κ -casein glycomacropeptide on gastrointestinal motility in dogs. *Bull. Exp. Biol. Med.* 96:889-891.
- Takahashi, M, S. Moriguchi, H. Suganuma, A. Shiota, F. Tan., H. Usui, K. Kurahashi, R. Sasaki, and M. Yoshikawa. 1997. Identification of casoxin C, an ileum-contracting peptide derived from bovine κ -casein, as an agonist for C3a receptors. *Peptides*. 18:329-336.
- Tokuyama, Y. and H. Tokuyama. 1993. Purification and identification of TGF- β 2-related growth factor from bovine colostrum. *J Dairy Res* 60:99
- Tunghanathanich, P., R. J. Xu, G. W. Reynolds, H. V. Simpson, and D. J. Mellor. 1992. The effect of milk diets on small intestinal growth in newborn piglets. *Proc Nutr Soc New Zealand* 17:51
- Vega, J. R., C.A. Gibson, T.C. Skaar, D.L. Hadsell, and C. R. Baumrucker. 1991. Insulin-like growth factor (IGF)-I and -II and IGF binding proteins in serum

- and mammary secretions during the dry period and early lactation in dairy cows. *J Anim Sci* 69:2538
- Vreeman, H. J., S. Visser, C. J. Slangen, and J.A.M. van Riel. 1986. Characterization of bovine κ -casein fractions and the kinetics of chymosin induced macropeptide release from carbohydrate-free and carbohydrate-containing fractions determined by high performance gel-permeation chromatography. *Biochem J.* 240:87-97.
- Wajda, I. J., A. Neidle, S. Ehrenpreis, and I. Manigault. 1976. In opiates and endogenous opioid peptides. Klosterlitz H. W. (ed.) pp. 129-136. Elsevier/North Holland. Amsterdam.
- Wang, Q., J. C. Allen, and H. E. Swaisgood. 1997. Binding of vitamin D and cholesterol to β -lactoglobulin. *J. Dairy Sci.* 80:1054-1059.
- Watanabe, M., and S. Arai. 1985. Cited from Iwasaki. 1991. Genetic engineering and fermented milk-challenges for the health science. *In* function of fermented milks. Edited by Nakazawa, Y. And Hosono. Elsevier Applied Science. London.
- Wigertze, K., U. K. Svensson, and M. Jerstad. 1997. Folate and folate-binding protein content in dairy products. *J. Dairy Res.* 64:239-252.
- Xu, R. J., D. J. Mellor, M. J. Birtles, B. H. Breier, and P. D. Gluckman. 1994. Effects of oral IGF-I or IGF-II on digestive organ growth in newborn piglets. *Biol Neonate* 66:280
- Yajima, M., S. Hashimoto, T. Saita, and K. Matsuzaki. 1992. Method of preparing milk-fermented food. *Europ. Pat. Appl.* 0486738 A1.
- Yamauchi, K., N. Azuma, H. Kobayashi, and S. Kaminogawa. 1981. Isolation and properties of human κ -casein. *J. Biochem.* 90:1005-1012.
- Yamazaki, T., I. Shiojima, I. Komuro, R. Nagai, and Y. Yazaki. 1994. Involvement of the renin-angiotensin system in the development of left ventricular hypertrophy and dysfunction. *Journal of Hypertension.*

12(9):S23-S27.

Yoo, Y. C., S. Watanabe, R. Watanabe, K. Hata, K. Shimazaki, and I. Azuma. 1997. Bovine lactoferrin and lactoferricin, a peptide derived from bovine lactoferrin, inhibit tumor metastasis in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 88:184-190.

Zwieble, J. A., M. Bano, E. Nexo, D. S. Salomon, and W. R. Kidwell. 1986. Partial purification of transforming growth factors from human milk. *Cancer Res.* 46:933-939

김재완, 황만석, 박의순, 유희순. 1990. ACE inhibitor가 각광받는 최신약제. *의학정보.* 1:16-22.

남명수, 유대열, 이경광, 김종우, 이수원. 1996. 락토페린 : 종설. *한국낙농학회지.* 18:289-298.

山田耕路. 1995. 食品成分の 免疫調節機能と抗アレルギー 食品の開発. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi.* 42(11):952-958.

서정돈. 1992. 본태성고혈압의 병태생리학. *대한의학협회지.* 35:169-173.