

Kefir grain으로부터 분리한 다당체가 Human Rotavirus의 MA-104 세포감염에 미치는 영향

조진국*, 이종익¹, 권윤진¹, 김종현¹, 송진욱¹, 김영식², 유제현¹
*동물자원연구센터, ¹건국대학교 낙농학과, ²서울대학교 천연물과학연구소

Kefir는 Caucasus 산악지방에서 유래된 kefir grain을 발효시켜 만드는 자연 발효유제품으로, kefir grain은 각종 유산균과 효모가 혼합되어 공생을 이루는 점액질의 다당체로 각종 질병예방에 효능이 있는 것으로 알려져 왔다. 본 연구에서는 kefir grain의 다당체의 생리활성기능을 조사하는 일환으로 kefir grain에서 다당체를 추출하고 ion-exchange chromatography로 분리한 각 fraction이 유아 장염의 원인이 되는 human rotavirus(HRV)의 MA-104 세포감염에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행하였다. 실험방법은 kefir grain 500g을 증류수 1L에 분산시켜 80℃에서 1시간 가열하여 유산균 및 효모균체를 파괴한 후, Yokoi(1991)의 방법에 따라 원심분리와 ethanol 침전법을 이용하여 crude 다당체를 조제하였다. Crude 다당체는 다시 50mM Tris-HCl buffer (pH 8.7)로 미리 평형화 한 DEAE-Sephrose 이온교환칼럼(1.5×20cm)에 주입한 후 0~1.0M NaCl의 linear gradient로 다당체를 분리하였다. 칼럼에 미결합한 분획은 fraction I으로 하였고, 결합한 fraction은 약 0.05에서 0.2M까지의 NaCl에 의하여 3개의 peak로 용출되어 각각 fraction II, III, IV로 나누어 졌다. fraction II, III, IV는 증류수에 중 4℃에서 2일간 투석한 후 동결건조 하였으며 필요시 각각 탈이온수 1 ml에 용해시켜 HRV의 세포감염 억제실험에 사용하였다. 억제효과는 Kaljot 등(1988)의 방법을 응용하여 MA-104 세포가 단층을 형성한 96 well plate에 HRV를 감염시키면서, fraction II, III, IV를 첨가하여 그 감염도와 저해정도를 판정하였다. HRV는 Greenberg Lab 에서 분양받은 표준 RV인 S2(G2, PIB)를 사용하였으며, 세포에 감염된 바이러스의 수는 AEC(3-amino-9-ethylcarbazole) staining을 실시하여 측정하였다.

그 결과 모두 HRV의 세포감염에 상당한 억제효과를 보였고, fraction II, III, IV가 4.8, 5.4, 1.4mg/ml의 농도에서 97%이상, 99%이상, 100%의 억제효과를 나타냈으며, 50% 억제농도(IC50)는 0.075, 0.083, 0.022mg/ml로 나타났다. Fraction II, III, IV는 단백질도 포함된 것으로 고려되어 전기영동을 실시하였을 때 fraction IV는 단백질이 보였으나, fraction II와 III에는 단백질이 관찰되지 않았다. 따라서 fraction II와 III에 있는 유리 다당체가 HRV의 MA-104 세포감염에 억제효과가 있는 것으로 사료되어 이들의 당조성을 분석하고 있다.