

P8-97

랫드 간세포의 일차배양시스템을 통한 미강 추출물 첨가에 따른 항산화 생리활성연구

이진원<sup>1</sup>, 김인환<sup>1</sup>, 이 철, 이광원.

고려대학교 대학원, <sup>1</sup>고려대학교 병설 보건대학

우리나라의 주식인 쌀의 도정과정 중 생산되는 미강에는 단백질 및 지방과 필수지방산이 풍부하게 존재한다. 특히 vitamin류와 tocotrienols 등이 함유되어 있고 콜레스테롤 저하 및 항산화 효과를 나타내고 있다. 따라서, tocotrienol함유 미강 추출물을 이용하여 항산화 생리활성의 효과를 알아보고자 일차배양시스템을 이용하여 랫드의 간세포를 배양하였다. 즉, 랫드의 복부를 개복하고 37°C로 미리 가온한 Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>-free Hank's buffered saline (HBSS)을 관류시키며 일정시간이 지난 후, 0.05% collagenase 함유-HBSS로 바꾸어서 간막에서 간세포가 유리될때까지 관류하였다. 그 다음 간세포 현탁액을 mesh를 이용하여 여과하고 여액을 원심분리하여 pellet부분에 medium을 교환, 처리 후 Percoll을 이용한 원심분리한 다음 최종적으로 얻어지는 세포에 대해 세포수를 0.5×10<sup>6</sup>/ml이 되도록 배양액으로 희석, 조절한다. 그리고 간세포가 배양 용기 표면에 부착하도록 20시간 배양 후, 세포에 산화 스트레스를 가하기 위해 t-butyl hydroperoxide (t-BOOH)를 농도별 (0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 mM)로 처리한 다음, 미리 랫드의 간 microsomal lipid peroxidation와 미강 추출물 첨가에 따른 산화 안정성을 알아보기 위한 실험에서 효과를 나타내었던 미강 추출물의 농도(63.5, 160µg/ml)를 이용하여 세포에 처리하였다. 즉, t-BOOH의 농도에서 50% 세포 감소율을 나타내는 실험군에 63.5 및 160µg/ml의 tocopherol equivalent에 해당하는 미강추출물을 분주하여 2시간 배양 후, LDH(lactate dehydrogenase) assay를 이용하여 산화스트레스에 대한 미강 추출물의 효과를 알아보았다. 그 결과 미강 추출물을 처리한 결과에서 처리하지 않은 실험군에 비하여 산화스트레스에 대한 안정성이 증가하였으며, 특히 microsomal lipid peroxidation의 산화 안정성 결과에서와 같이 63.5µg/ml 농도에 대한 항산화생리활성이 증가하였음을 알 수 있었다.

P8-98

한국산 칩(*Pueraria thunbergiana*)의 에스트로겐성에 관한 연구

최석영\*, 김소정, 박 철, 김혜경, 신완철.

울산대학교 생활과학부 식품영양학전공

칩의 부위별, 지역별 에스트로젠성을 HPLC와 in vitro screening test인 MCF-7 cell에 ERE(estrogen responsive element)의 조절을 받는 luciferase reporter gene을 transfect 시킨 stable cell line을 이용한 Estrogen receptor dependent transcriptional expression assay를 이용해 평가하였다. Estrogen receptor dependent transcriptional expression assay결과 뿌리(Root)>줄기(Stem)>꽃(Flower)>꽃차례(Inflorescence)>잎(Leaf)>종자(Seed)순서로 나타났다. HPLC로 여러 에스트로젠성 물질을 정량한 결과 대표적 물질인 Daidzein의 경우, 뿌리(Root)>줄기(Stem)>잎(Leaf)>꽃(Flower)>꽃차례(Inflorescence)>종자(Seed)의 순서로 나타났고, Puerarin의 경우 뿌리(Root)>줄기(Stem)>잎(Leaf)>꽃(Flower)>꽃차례(Inflorescence)>종자(Seed)순서로 정량 분석 되었다. 분포 지역별로 다소 차이를 보였는데, 진라남도 목포産이 가장 높았고, 경상남도 울산産, 충청북도 제천産, 경기도 포천産, 강원도 태백産 그리고 경상북도 풍기産 순으로 나타났다. 본 연구 결과 칩의 에스트로젠성 물질이 칩의 다른부위(종자, 잎, 꽃, 꽃차례)에도 존재하지만, 특히 뿌리와 줄기에 많음을 알 수 있었다. 또한, Estrogen receptor dependent transcriptional expression assay결과와 HPLC 정량 분석한 결과는 높은 상관성을 보여 주었다.